

TRATAMENTO DE SINAIS OBTIDOS ATRAVES DE EQUIPAMENTOS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR: CARACTERIZAÇÃO DE NOVOS MATERIAIS

Douglas Gassetta¹, Prof. Dr^a Máira Rodrigues Magini²

¹UNIVAP/FEAU, Av. Shishima Hifumi, 2911 - Urbanova – SJC/SP, dgassetta@yahoo.com.br

²UNIVAP/IP&D, Av. Shishima Hifumi, 2911 - Urbanova – SJC/SP, mrr@univap.br

Resumo - A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear é uma técnica de grande importância que permite identificar átomos dos elementos pelo spin de seu núcleo, assim como caracterizar as vizinhanças destes núcleos, servindo para determinadas análises químicas. Os polissacarídeos são constituídos de longas cadeias contendo centenas de monossacarídeos, como por exemplo, a dextrana é um polissacarídeo obtido durante o crescimento de *Leuconostoc mesenteroides*. Dextranas hidrofobicamente modificadas com cloreto de acila foram caracterizados através da espectroscopia de ressonância magnética nuclear. Este trabalho tem como objetivo caracterizar materiais produzidos em laboratório dando ênfase nos princípios de funcionamento do equipamento.

Palavras-chave: Espectroscopia, RMN, polímeros, novos materiais.

Área do Conhecimento: Engenharia Biomédica

Introdução

Inicialmente, os carboidratos receberam este nome devido a fórmula empírica geral de muitos deles ser $C_n(H_2O)_n$. Eles possuem função energética e exercem o que os bioquímicos denominam função plástica ou estrutural, pois participam da arquitetura corporal dos seres vivos. Os carboidratos são classificados de acordo com seu tamanho. Polissacarídeos são macromoléculas e os exemplos mais conhecidos são o amido, o glicogênio e a celulose (MORRISON et al. 1996; LEHNINGER, 2002). Vários polissacarídeos vêm sendo utilizados como sistemas carregadores de drogas a partir de formulações que forneçam compartimentos de estruturas com diâmetros bem definidos, permitindo o transporte sustentado de drogas. Modificações realizadas nos polissacarídeos podem potencializar o transporte sustentado de drogas. Uma forma de caracterizar a modificação realizada no polissacarídeo é a utilização da espectroscopia de ressonância magnética nuclear (STENEKES, 2001; CLEMENTT, 1973).

Ressonância Magnética é uma técnica que permite identificar átomos dos elementos pelo spin de seu núcleo, assim como caracterizar as vizinhanças destes núcleos, servindo para determinadas análises químicas. É comum nos referirmos a ressonância magnética como um exame realizado para visualizar partes internas do corpo humano em funcionamento (REY, 1970; SILVERSTEIN, 2003). Conceitualmente a técnica de Ressonância Magnética funciona da seguinte forma. Dentre os números quânticos que caracterizam as propriedades dos átomos, o número quântico de spin descreve a propriedade de alguns núcleos de possuir momento angular.

Para os átomos terem momento magnético é necessário que os mesmos tenham número de spins (I) diferente de zero ($I \neq 0$). Assim, devido a presença do momento magnético, núcleos com número de $spin$ diferente de zero ($I \neq 0$) geram um pequeno campo magnético local, atuando como ímãs atômicos. Na presença de um campo magnético externo, B_0 , o momento magnético nuclear terá uma componente M_0 alinhada com B_0 . Podendo assumir duas orientações, paralela (α) e anti-paralela (β), os dois estados de spin de um núcleo possuirão uma diferença de energia, ΔE , entre estas duas orientações paralela e anti-paralela a B_0 . Cada nível de energia apresenta uma diferente população de núcleos (N), ou seja, diferença de energia entre as populações. Como a diferença de energia entre os dois estados α e β será tão maior quanto maior for a força do campo magnético B_0 aplicado, tem-se que $\Delta B_0 = \Delta E$. Nesta condição, não há magnetização líquida, mas somente a orientação dos spins dos núcleos de acordo com a orientação de B_0 . Para que ocorra magnetização líquida, é necessária a aplicação de um segundo campo magnético B_1 , perpendicular a B_0 . Neste momento, haverá uma alteração na direção do vetor magnetização M_0 , pela aplicação de B_1 , surgindo uma resultante no plano x,y .

Como resultado do surgimento da magnetização líquida, os spins dos núcleos serão detectados quando B_1 é suprimido, e o vetor magnetização M_0 volta a se orientar ao longo do eixo Z , por um processo denominado relaxação. A velocidade com que cada diferente núcleo (do mesmo tipo, 1H) irá levar para retornar a se orientar em relação ao eixo z durante a supressão de B_1 irá determinar sua frequência de precessão, que é

característica de cada átomo de ^1H em uma molécula.

Esta frequência de precessão de cada núcleo em torno de z chamamos deslocamento químico (δ). A frequência de ressonância não é idêntica para todos os núcleos de uma molécula. Além do mais, é muito difícil de medir a Frequência de Ressonância Absoluta de um determinado núcleo. Muito mais fácil é se medir as Frequências de Ressonância Relativas dos núcleos com relação a um parâmetro definido. Pelo fato dos núcleos dos átomos com $I \neq 0$ terem momento magnético, comportam-se como “ímãs”, os núcleos “sentirão” uns aos outros através das ligações químicas entre os átomos. Isso por que os elétrons que constituem as ligações químicas também apresentam $I \neq 0$, e “sentirão” o momento magnético dos núcleos, “transmitindo esta informação” entre os núcleos - acoplamento spin-spin (SILVERSTEIN, 2003).

O objetivo deste trabalho é descrever os princípios de funcionamento do equipamento de Ressonância Magnética de maneira simples e objetiva para um usuário pouco familiarizado com a técnica e, além disso, a caracterização de novos produtos poliméricos utilizando esta técnica.

Materiais e Métodos

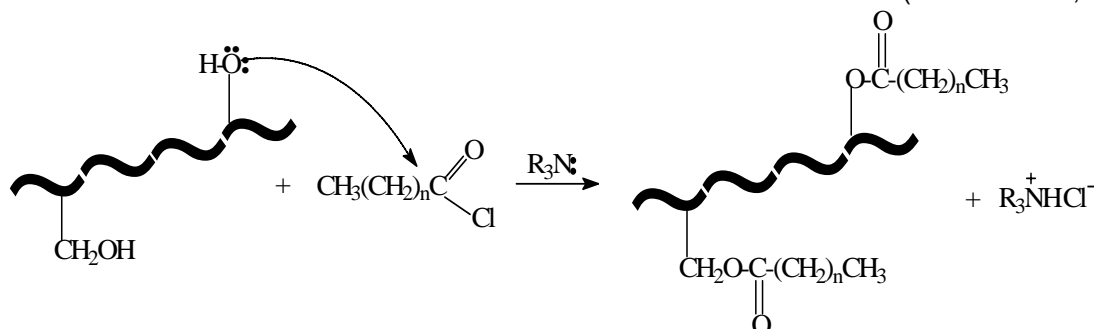


Figura 1 - Reação de obtenção dos polissacarídeos substituídos onde R_3N corresponde a TEA, e N corresponde ao número de carbonos do cloreto de acila usado.

A dextrana foi adicionada lentamente a 100ml de solução aquosa de ácido acético 1%, em agitação. Após 20 minutos todo o polissacarídeo foi solubilizado e então a síntese de derivados de dextrana foi conduzido (RODRIGUES, 2002). A proporção entre os reagentes é dada na Tabela 2.

Tabela 2- Relação entre numero de mol's usados na síntese. As razões molares de referem-se à dextrana: cloreto de lauroila: trietilamina.

Amostra	Razões Molares	Dextrana	Cloreto de Lauroila	TEA
DL-1	1:1:6,7	0,006	0,0060	0,040

Os produtos foram analisados pela técnica de Ressonância Magnética Nuclear. As medidas

Os reagentes utilizados na síntese são dados na Tabela 1.

Tabela 1- Reagentes

Reagentes
Dextrana massa molar de 250.000
Cloreto de Lauroila (dodecanoila) $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{C}(=\text{O})\text{Cl}$
Trietilamina (TEA)

O polissacarídeo dextrana foi modificado conforme a rota de síntese exemplificada na Figura 1. A seta indica a etapa inicial da reação com o ataque nucleofílico sobre a carbonila. Na reação, a amina impede que o meio se torne ácido, pois, caso isso ocorra, a carbonila do cloreto de acila será protonada, tornando-se mais reativa e a reação violenta com liberação de calor. Pelo mesmo motivo a reação é conduzida à baixa temperatura. Além disso, a amina deve ser estericamente impedida para que não ataque a carbonila como nucleófilo (RODRIGUES, 2002).

espectroscópicas foram realizadas em um equipamento BRUKER de 4,7 Tesla (200 MHz para frequência do hidrogênio), modelo AC200, utilizando uma sonda de 5 mm BBO (Broad Band Observe), mantendo-se a temperatura constante e utilizando-se como referência interna o próprio solvente (DMSO). Todos os espectros foram adquiridos nas seguintes condições: tempo de aquisição (AQ= 0,606 s. para ^{13}C -e 3,14s para ^1H), número de pontos utilizados na aquisição do espectro (TD=32K), janela espectral (SWH= 12820 Hz para ^{13}C - e 2604 Hz para ^1H) e o tempo de espera entre as aquisições (d1=1,28 s para ^{13}C -e 3,14 s para ^1H). Eles foram processado utilizando-se 32K de pontos (SI=32K) e os FIDs foram multiplicados exponencialmente com um fator (LB=3Hz para ^{13}C - e 0,1Hz para ^1H).

Os espectros de ^1H foram referenciados pelo sinal do DMSO em 2,49 ppm e os de ^{13}C foram referenciados, usando-se como referência DMSO em 39,7 ppm. Os espectros foram adquiridos a 80°C devido à pouca solubilidade do produto. As amostras de dextranas foram dissolvidas em DMSO-d_6 , pelo qual foram referenciados os espectros.

Todos os espectros foram processados utilizando-se o software Mestre-C.

Resultados

A Figura 2 apresenta o espectro de ^1H -RMN da dextrana de onde é possível observar-se os deslocamentos químicos relativos à contribuição dos diversos tipos de núcleos de hidrogênio na molécula de dextrana no solvente DMSO-d_6 .

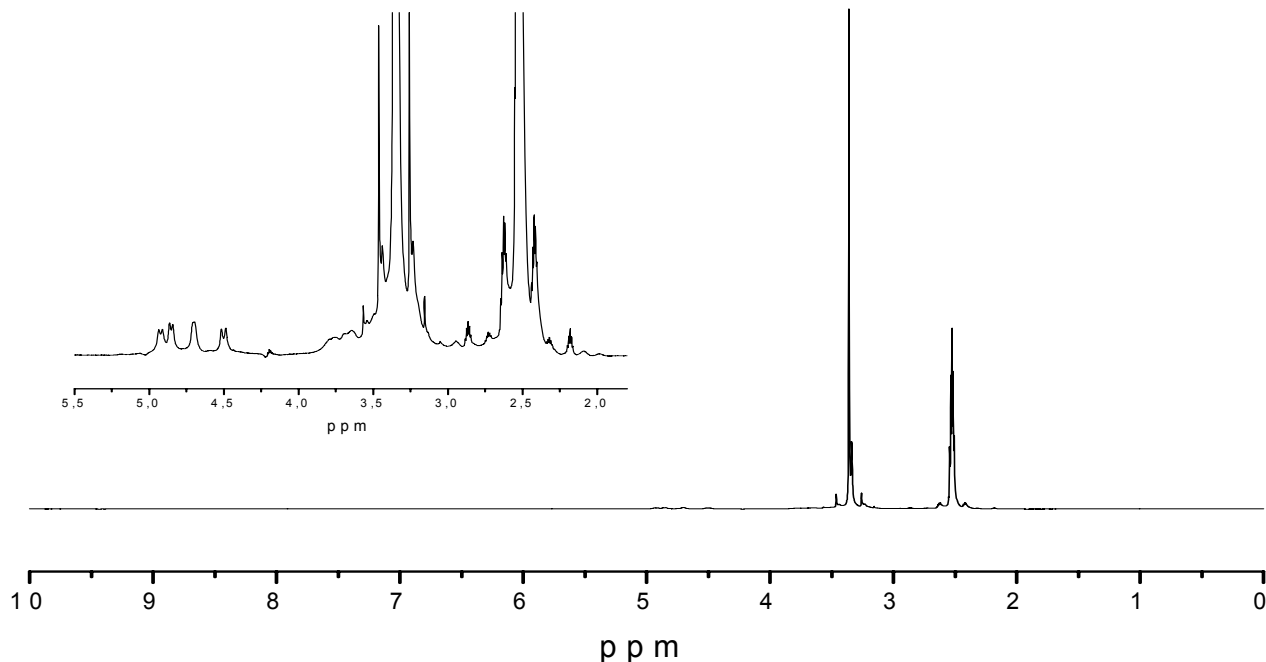


Figura 2- Espectro de ^1H -RMN obtido para a dextrana.

Para a devida caracterização dos derivados de dextrana, foram analisados os espectros de ^1H -RMN. A Figura 3 mostra o espectro obtido após esterificação por cloreto de lauroíla (DX-L1).

O grau de substituição (DS) para os diversos

derivados foi obtido dos correspondentes espectros de ^1H -RMN considerando a razão entre as áreas relativas dos picos dos prótons do substituinte e do próton anomérico.

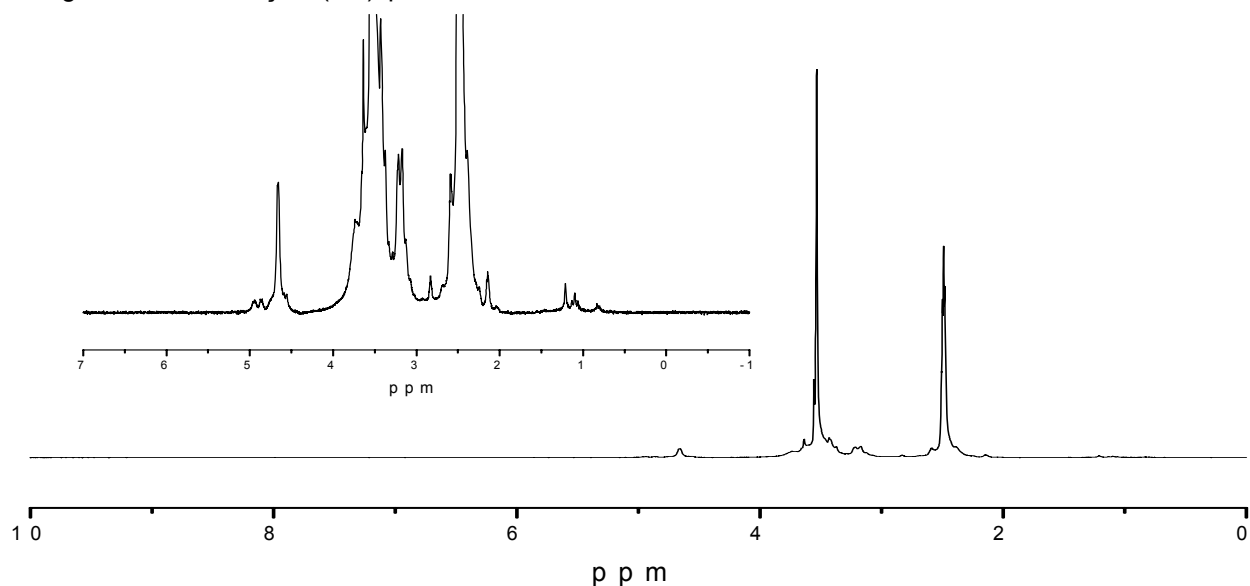


Figura 3. Espectro de ^1H -RMN obtido para a amostra de DX-L1

Discussão

Na Figura 2 observa-se o espectro de ^1H -RMN da dextrana de onde é possível observar-se os deslocamentos químicos relativos à contribuição dos diversos tipos de núcleos de hidrogênio na molécula de dextrana no solvente DMSO-d_6 , a saber: $\delta = 4,90$ e $4,88$ (duplete, 1H, OH); $\delta = 4,83$ e $4,81$ (duplete, 1H, OH); $\delta = 4,66$ (singleto, 1H, H-1, próton anomérico); $\delta = 4,48$ e $4,45$ (duplete, 1H, OH); $\delta = 3,80$ - $3,10$ ppm (multiplete, 6H, H-2 a H-6, prótons do anel anidroglicose) e $\delta = 2,50$ ppm (DMSO-d_6). Os mesmos estão de acordo com a literatura.

Os espectros de ^1H -RMN obtidos para os derivados de dextrana após reação de esterificação também foram obtidos e são exemplificados na FIGURA 3. Observa-se o aparecimento de novos picos e uma modificação nos espectros de forma geral devido à diferenciação do ambiente eletrônico devido a reação. Picos novos aparecem aproximadamente em $0,9$, $1,23$, $1,20$ e $1,15$ ppm, com diferentes intensidades dependendo do grau de substituição, sendo o primeiro atribuído aos prótons do grupo $-\text{CH}_3$ (terminal do substituinte) e os outros ao próton do metileno ($-\text{CH}_2-$ do substituinte). Outro pico seria esperado aproximadamente em $2,3$ ppm, relativo ao próton do metileno próximo à carbonila, entretanto este deve estar encoberto pelo pico relativo ao solvente.

Na região relativa aos deslocamentos entre $4,90$ e $4,45$ ppm os espectros de dextrana modificadas mostram dois picos mais intensos centrados aproximadamente em $4,70$ e $4,50$ ppm. Ambos têm sido atribuídos ao próton anomérico, porém, o último seria relativo à influência da hidroxila sobre o carbono C-2, que reagiu para formar o éster, sobre o próton anomérico (H-1 sobre C-1).

Conclusão

Através da espectroscopia de ressonância magnética nuclear foi possível determinar que o polissacarídeo dextrana pode ser modificado por reação de esterificação com cloretos de lauroíla. Sendo que a espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H foi de grande importância para determinar a ocorrência da modificação esperada nos derivados obtidos. A técnica mostrou-se muito útil na caracterização de estruturas moleculares de compostos.

Agradecimentos

Agradecemos a FAPESP e a CNPq que tornaram possível a realização deste projeto.

Referências

- CLEMENTT, C.J. Anal. Chem., pagina 45-186, 1973.
- LEHNINGER, A.L.; Princípios de bioquímica, Editora Saevier; 3ªed., 2002.
- MORRISON, R.T; BOYD, R.N. Química orgânica, 13ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996.
- REY, A.B.; Física - Química moderna. Físico-química básica. São Paulo: Cbl, p.346, 1970.
- RODRIGUES, M.R.; Carregadores de drogas – possibilidades de utilização de polissacarídeos modificados. Revista Univap, n. 16, 2002.
- SANTOS, J.E.; SOARES, J.P.; DOCKAL, E.R.; CAMPANA FILHO, S.P.; CAVALHEIRO, E.T.G. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. Polímeros: Ciência e Tecnologia. n. 13, p. 242, 2003.
- SILVERSTEIN, R.M; BASSLER, G.C; MORRILL, T.C. Spectrometric identification of organic compounds. New york: John wiley, 4. ed, p442, 1981.
- STENEKES, R.J.H.; TALSMA, H.; HENNIK, W.E. Biomaterials, 2001.
- ZHANG, J.; PELTON, R.; WAGBERG, L. Colloid Polym Sci., pagina 276 - 476, 1998.