

Sandra Vasconcellos Al-Asfour

**ESTUDO DE EQUILÍBRIOS QUÍMICOS COM
2-AMINOETANOL-DIHIIDROGENOFOSFATO PARA FINS BIOLÓGICOS**

Tese apresentada ao Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências (Química Analítica).

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Orivaldo Chierice

São Carlos

2008

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1. Considerações gerais sobre a fosfoetanolamina.....	18
1.2. Papel biológico da FOS/ Justificativa do trabalho	19
1.2.1. Metodologias de obtenção da FOS.....	24
1.3. Estudos de equilíbrio.....	25
1.3.1. Estudos de agregação	25
1.3.2. Estudos de complexação	27
1.4. Determinação de constantes de ionização	29
1.5. Utilização do sistema FOS/MEA como tampão biológico.....	31
1.6. Estudos por condutimetria	32
1.7. Método potenciométrico	34
1.8. Importância da força iônica	35
1.9. OBJETIVOS.....	38
2. PARTE EXPERIMENTAL	40
2.1. Reagentes e soluções.....	40
2.2. Caracterização da FOS.....	41
2.2.1. Análise Elementar	41
2.2.2. Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho.....	41
2.3. Estudo da resposta do eletrodo de vidro	42
2.4. Determinação do pK'_{a1} : estudo em meio ácido e determinação da constante de agregação	42
2.5. Estudo espectrofotométrico pelo Método Azul de Molibdênio: comprovação do fenômeno de agregação.....	42
2.6. Determinação do pK'_{a2} : titulações com MEA.....	43
2.7. Determinação do pK'_{a3} : titulações com NaOH na presença e ausência de formaldeído	43
2.8. Determinação simultânea das três constantes de ionização.....	43
2.9. Determinação do número médio de protonação.....	44
2.10. Determinação da capacidade tamponante máxima ou índice de tampão.....	44
2.11. Curva de distribuição de espécies para a FOS	45
2.12. Estudo do equilíbrio de complexação de íons cálcio e magnésio com fosfoetanolamina.....	46

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
3.1. Caracterização da FOS	49
3.1.1. Análise Elementar	49
3.1.2. Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho.....	50
3.2. Estudo da resposta do eletrodo de vidro	51
3.2.1. Estudo do slope da resposta do eletrodo de vidro $\mu = 0,15$	51
3.2.2. Estudo do slope da resposta do eletrodo de vidro $\mu = 0,50$	52
3.2.3. Estudo do slope da resposta do eletrodo de vidro $\mu = 1,0$	53
3.3. Determinação do $pK'a_1$	54
3.3.1. Determinação da constante de agregação	58
3.3.2. Estudo espectrofotométrico pelo método “Azul de molibdênio”	61
3.4. Determinação do $pK'a_2$	63
3.5. Determinação do $pK'a_3$; interação de <i>zwitterions</i> com formaldeído	69
3.6. Determinação simultânea das três constantes de ionização	72
3.7. Determinação da capacidade tamponante máxima	75
3.8. Curva de distribuição de espécies e número médio de protonação	76
3.9. Estudos de equilíbrio por condutimetria	85
3.9.1. Estudo condutométrico de complexação com cálcio e FOS	87
3.9.2. Estudo condutométrico de complexação com magnésio	88
4. CONCLUSÕES	92
ETAPAS FUTURAS	95
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural plana da fosfoetanolamina.....	18
Figura 2. Comportamento da FOS frente a ácidos e bases.....	19
Figura 3. Biossíntese da acetilcolina.	22
Figura 4. Rota sintética de CHERBULIEZ (1959).	24
Figura 5. Síntese proposta por RIBEIRO FILHO (1999).....	25
Figura 6. Estrutura do agregado - íon dipolar (fosfoetanolamina).	26
Figura 7. Protonação da metade da fosfoetanolamina.....	33
Figura 8. Protonação total da fosfoetanolamina.	33
Figura 9. Reação de formação do par iônico do cloreto com a FOS.....	33
Figura 10. Fórmula do par iônico do cloreto com a FOS.....	34
Figura 11. Espécies presentes nos equilíbrios da FOS.....	45
Figura 12. Espectro vibracional obtido na região do infravermelho da FOS.....	50
Figura 13. Determinação da resposta Nernstiana do eletrodo de vidro em relação ao potencial e pH em eletrólito de NaCl 1,00 mol L ⁻¹	53
Figura 14. Valores de pK calculados seguindo a Equação 1 vs. valores de pH obtidos experimentalmente.....	56
Figura 15. Valores de K ⁻¹ /10 calculados seguindo a Equação 1 vs. CHFOS.....	57
Figura 16. Valores de K _{a1} ' obtidos pela extrapolação de vários gráficos obtidos em diversas concentrações, vs. CFOS.....	58
Figura 17. Determinação da constante de agregação.	60
Figura 18. Espectros de absorção obtidos na região do visível.....	62
Figura 19. Curva analítica com padrões de dihidrogenofosfato de sódio.	62
Figura 20. Curva de titulação da FOS 0,020 mol L ⁻¹ vs. MEA 0,040 mol L ⁻¹ , μ = 1,00.	64
Figura 21. Derivada da curva da Figura 20.	64
Figura 22. Curva de titulação condutométrica de 10 mL de FOS 0,020 mol L ⁻¹ vs. MEA 0,040 mol L ⁻¹	65
Figura 23. Determinação de K'a ₂	68
Figura 24. Capacidade tamponante máxima vs. pH	68
Figura 25. Reações de equilíbrios de aminoácidos com formaldeído.....	69

Figura 26. Curva de titulação de FOS 0,020 mol L ⁻¹ vs. NaOH 0,040 mol L ⁻¹ na presença e ausência de formaldeído 37%.....	71
Figura 27. Razão total/K _{eq} em função de FOS (determinação de K' a ₃).	72
Figura 28. Curva de titulação de 10,00 mL da FOS 0,05 mol L ⁻¹ com 1,00 mL HCl.....	73
1,00 mol L ⁻¹ vs NaOH 0,20 mol L ⁻¹	73
Figura 29. Curva derivada da titulação da FOS 0,050 mol L ⁻¹ com 1,00 mL HCl 1,00 mol L ⁻¹ vs. NaOH 0,20 mol L ⁻¹	74
Figura 30. Capacidade tamponante vs. pH com os valores obtidos no presente trabalho.....	75
Figura 31. Número médio de protonação vs. pH.....	79
Figura 32. Determinação de K' a ₃ (pK' a ₃ =10,9).....	80
Figura 33. Curva de distribuição de espécies para a FOS.	81
Figura 34. Curva de distribuição para a FOS com os valores da literatura.	81
Figura 35. Diagrama de equilíbrio para fosfoetanolamina considerando os valores de constante de ionização calculados no presente trabalho.....	83
Figura 36. Diagrama de equilíbrio para fosfoetanolamina com os valores da literatura.....	84
Figura 37: Comparação das curvas condutométricas da FOS e da Gli.	86
Figura 38. Curva de titulação condutométrica de 25,00 mL da FOS 0,040 mol L ⁻¹ com CaCl ₂ .2H ₂ O 0,20 mol L ⁻¹	87
Figura 39. Curva de titulação condutométrica de 25,00 mL da FOS 0,040 mol L ⁻¹ com MgCl ₂ .6H ₂ O 0,20 mol L ⁻¹	88
Figura 40. Estrutura proposta para o primeiro complexo.....	89
Figura 41. Estrutura proposta para o segundo complexo.	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Relação das procedências e dos reagentes.....	40
Tabela 2. Valores calculados e encontrados de N, C e H.....	49
Tabela 3. Números de onda observados no IR e as possíveis atribuições (SILVERSTEIN et al, 1979).....	50
Tabela 4. Valores de medida de potencial para obtenção do desvio da resposta Nernstiana do eletrodo de vidro, em titulação de HCl 0,010 mol L ⁻¹ com NaCl, $\mu = 0,15$ mol L ⁻¹	51
Tabela 5. Valores de medida de potencial para obtenção do desvio da resposta Nernstiana do eletrodo de vidro, em titulação de HCl 0,010 mol L ⁻¹ com NaCl, $\mu = 0,50$ mol L ⁻¹ ...	52
Tabela 6. Valores de medida de potencial para obtenção do desvio da resposta Nernstiana do eletrodo de vidro, em titulação de HCl 0,010 mol L ⁻¹ com NaCl, $\mu = 1,00$ mol L ⁻¹	53
Tabela 7. Valores para determinação de K'_{a1} com CFOS e CH ⁺ 0,10 mol L ⁻¹	55
Tabela 8. Valores referentes aos tratamentos matemáticos para determinação de K_{ag} , em várias concentrações, força iônica constante.....	60
Tabela 9. Valores calculado e experimental da porcentagem de fosfato livre da FOS	63
Tabela 10. Valores utilizados da titulação de retorno para cálculo de pK'	77
Tabela 11. Valores referentes ao cálculo do número médio de protonação	78
Tabela 12. Valores de constantes de ionização obtidos no presente trabalho	94
Tabela 13. Valores de constantes de ionização da FOS da literatura.....	94

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

FOS - fosfoetanolamina

MEA- monoetanolamina

GQATP- Grupo de Química Analítica e Tecnologia de Polímeros

CFOS - concentração analítica da FOS

[FOS] – concentração livre de FOS

CHFOS – concentração analítica de fosfoetanolamina na forma protonada

[HFOS]- concentração da forma catiônica monoprotônica

CFOS'-concentração molar da FOS na forma não protonada

CH⁺- concentração de íons de hidrogênio proveniente da titulação da FOS com ácido forte

CHH- concentração de ácido corrigida pelo efeito de diluição

[FOS]₂ – fosfoetanolamina na forma agregada

Kh- constante de hidrólise

Ka- constante de acidez

Kb- constante de basicidade

H₃FOS- Fosfoetanolamina totalmente protonada

H₂FOS⁻ - Fosfoetanolamina com uma dissociação

HFOS²⁻ - Fosfoetanolamina com duas dissociações

FOS³⁻ - Fosfoetanolamina totalmente desprotonada

[FOS⁻] – concentração de fosfato livre

Sistema FOS/MEA- solução obtida da neutralização da FOS com MEA até pH 7,4.

Gli- Glicina

IR- Infravermelho

GLOSSÁRIO DE SÍMBOLOS

K_{ag} - Constante de agregação

K'_{a_1} - Primeira constante de ionização na ausência de agregação

K'_{a_2} - Segunda constante de ionização

K'_{a_3} - Terceira constante de ionização

β - Capacidade máxima tamponante ou índice de tampão

α - Grau de formação da espécie

Δ - variação

\bar{n} - Número médio de protonação

K_{total} - constante de equilíbrio da neutralização de FOS com NaOH

K_{eq} - constante de equilíbrio da neutralização da FOS na presença de formaldeído com NaOH

Log SH^+ = logaritmo da concentração de H_3O^+

Log SH^- = logaritmo da concentração de OH^-

Ppm- mg/L

E – potencial

RESUMO

No presente trabalho foram realizados estudos de equilíbrios químicos da fosfoetanolamina (FOS) ou 2-aminoetanol-dihidrogenofosfato, substância produzida no organismo humano, um precursor de fosfatidiletanolamina importante por regularizar o metabolismo de disfunção celular e metabólica. A constante de ionização de uma molécula é uma ferramenta interessante a fim de prever a sua absorção no organismo que geralmente, apenas ocorre com as moléculas na forma não ionizada. Na determinação usual de constantes de *zwiterions* como a FOS, não se considera o equilíbrio de formação de espécies não ionizadas como dímero (agregado). Neste trabalho comprovou-se o fenômeno de agregação da FOS por titulações potenciométricas e pelo método espectrofotométrico "Azul de Molibdênio". Determinou-se a constante de agregação pelo método potenciométrico como sendo da ordem de 10^6 . Realizou-se a determinação da primeira constante de ionização da FOS por titulações em meio ácido, na ausência do fenômeno de agregação, e verificou-se que é da ordem de 10^{-4} . Pelo método espectrofotométrico "Azul de Molibdênio" determinou-se a porcentagem de fosfato iônico 1%, coerente com os resultados potenciométricos. A determinação da segunda constante de ionização da FOS foi realizada por titulações com monoetanolamina (MEA), uma base fraca. Verificou-se a possibilidade de utilização do sistema FOS/MEA como um tampão biológico, por meio do gráfico de máxima capacidade tamponante vs pH. A determinação de terceira constante de ionização da FOS foi realizada por meio de titulações com NaOH na ausência e na presença de formaldeído, bloqueando o grupo amino. A determinação simultânea das três constantes de ionização foi realizada por meio de uma titulação de retorno, com HCl e adição de NaOH. Com o tratamento matemático desta curva, determinou-se o número médio de protonação e verificaram-se as regiões de máxima capacidade tamponante. Obteve-se a curva de distribuição de espécies e o diagrama logarítmico para a FOS, com os valores de constante de ionização determinados na ausência do fenômeno de agregação. Estudou-se a interação de íons cálcio e magnésio com a FOS, verificou-se que os complexos são do tipo ML e M_2L . É importante salientar ainda, que não há relato na literatura desses estudos.

Palavras-chave: fosfoetanolamina, equilíbrios, Química.

ABSTRACT

Studies on the chemical equilibrium of phosphoethanolamine (PEA) or 2-aminoethanol-dihydrogen phosphate, produced by the human body, as an important phosphatidylethanolamine precursor that regularizes the cell and metabolic disfunction have been performed. The ionization constant is an interesting tool to foresee organic absorption which often occurs in non ionized form. In the usual determination of zwitterion, constants like PEA, the dimer formation equilibrium is not always considered. In this work aggregation phenomena of PEA has been demonstrated by potentiometric titration and molybdenum blue spectrophotometric method. The aggregation constant was determined by potentiometric method as 10^6 . The first ionization constant determination of PEA was made by titration in acidic medium without aggregation phenomena and it was 10^{-4} . The molybdenum blue spectrophotometric method was used to determine the free phosphate amount, 1%, was coherent with potentiometric results. The second ionization constant determination was made by titration with monoethanolamine (MEA), a weak base. There is the possibility of using the system PEA/MEA as a biological buffer, according to the maximum buffer capacity graphic versus pH. The third ionization constant determination was made by titration with NaOH, with and without formaldehyde, blocking the amino group. The simultaneous determination of the three constants of ionization was made by back titration, with HCl after the addition of NaOH. The average number of bound protons was done with mathematical treatment of back titration curve and then, the maximum buffer capacity regions were observed. The species distribution curve and logarithmic diagram were obtained using the ionization constant values determined in the aggregation phenomena absence. The interaction between calcium, magnesium and PEA was studied and the ML and M_2L species were observed, not described in literature yet.

Keywords: phosphoethanolamine, equilibrium, chemistry.

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

