

MILENA GALDINO TEIXEIRA

**CALIX[*n*]ARENOS COMO SISTEMAS DE ENCAPSULAMENTO E
PLATAFORMA PARA CATALISADORES ASSIMÉTRICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2011**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

T266c
2011

Teixeira, Milena Galdino, 1985-

Calix[n]arenos como sistemas de encapsulamento e
plataforma para catalisadores assimétricos / Milena Galdino
Teixeira. – Viçosa, MG, 2011.
xviii, 142f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Inclui anexos.

Orientador: Sergio Antonio Fernandes.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Calixarenos. 2. Ciclodextrinas. 3. Encapsulação.
4. Catálise enantiosseletiva. 5. Isoniazida. I. Universidade
Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 547.7

MILENA GALDINO TEIXEIRA

**CALIX[n]ARENOS COMO SISTEMAS DE ENCAPSULAMENTO E
PLATAFORMA PARA CATALISADORES ASSIMÉTRICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Aprovada: 25 de julho de 2011

Prof. Róbson Ricardo Teixeira
(Coorientador)

Prof. José Roberto da Silveira Maia
(Coorientador)

Prof. Antônio Jacinto Demuner

Prof. Adilson Vidal Costa

Prof. Sergio Antonio Fernandes
(Orientador)

Dedico este trabalho à minha família,
meus pais, Antonio e Maria, a minha
irmã Lorena e ao João Francisco, pelo
carinho, pela paciência, pelo incentivo
e apoio durante o período de
mestrado.

Agradecimentos

A Deus, por ser o meu melhor amigo, nunca me deixando sozinha e sempre iluminando-me e mostrando-me o melhor caminho a ser seguido.

À Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Química e ao Laboratório de Química Supramolecular e Biomimética, pela oportunidade de realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Sergio Antonio Fernandes, pelo incentivo e pela dedicação na orientação.

Ao professor Róbson Ricardo Teixeira, pela atenção e pelas sugestões apresentadas na co-orientação deste trabalho.

Ao professor José Roberto da Silveira Maia, pela co-orientação e pela disponibilização de reagentes.

Aos meus queridos pais, pela educação que me foi dada, pelo amor sem limites, por sempre acreditarem nos meus sonhos e pela dedicação incansável.

À minha irmã Lorena, por sempre estar ao meu lado alegrando a minha vida.

Ao meu amado João Francisco, pelos desabafos, pelo amor incondicional e pela paciência.

Aos amigos do Laboratório de Química Supramolecular e Biomimética (LQSB), pela convivência agradável e amizade. Em especial, Cássia e Help.

Aos amigos do departamento de química, em especial Gabi e Eder que não mediram esforços para me ajudar.

Aos amigos e técnicos Eduardo e Onesina, pela amizade e disponibilidade.

Ao técnico Márcio, pela aquisição dos espectros no infravermelho.

À prof. Anita Joceline Marsaioli, do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas, pela realização dos experimentos de RMN e CG quiral.

E a todos aqueles que, de uma maneira ou de outra, contribuíram para a realização deste trabalho.

Índice

	Página
Lista de abreviaturas, símbolos e notas	vii
Lista de figuras	ix
Lista de tabelas	xv
Lista de esquemas	xvi
Resumo	xvii
Abstract	xviii
1. Introdução	1
1.1. Química Supromolecular.....	1
2. Capítulo 1	4
2.1. Introdução	4
2.1.1. Calix[<i>n</i>]arenos: nomenclatura	4
2.1.2. Síntese de calix[<i>n</i>]arenos.....	6
2.1.3. Conformações.....	7
2.1.4. Propriedades espectroscópicas dos calix[<i>n</i>]arenos	10
2.2. Aplicações dos calix[<i>n</i>]arenos em síntese orgânica.....	11
2.2.1. Calix[<i>n</i>]arenos quirais aplicados em síntese orgânica	13
2.2.2. Catálise Assimétrica	14
2.2.3. Calix[<i>n</i>]arenos aplicados como catalisadores em reações de adição a carbonila	15
3. Objetivos	17
4. Resultados e discussões	17
4.1. Síntese dos calix[4]arenos quirais e aplicação.....	17
4.1.1. <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (1a)	19
4.1.2. 25,27-bis(2-bromoetoxi)-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (2a)	23
4.1.3. 25,27-bis[2-(<i>S</i>)-1-feniletilamina]etoxi]-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (3a).....	28
4.1.4. 25,27-bis[4-(<i>R</i>)-1-feniletilamina]butoxi]-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (3c).....	34
4.1.5. 25-[3-(<i>S</i>)-1-feniletilamina]propoxi]-26,27,28-triidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (4a).....	37
4.2. Reação de adição de dietilzinco ao benzaldeído	41
4.3. Caracterização dos produtos da adição de dietilzinco ao benzaldeído.....	44
4.3.1. 1-fenilpropan-1-ol (6)	44
4.3.1. fenilmetanol (7)	45

5. Conclusão	47
6. Parte experimental	47
6.1 Considerações gerais	47
6.2. Descrição dos compostos sintetizados	49
6.2.1. <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (1a)	49
6.3. Procedimento geral para obtenção dos derivados do <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno bromados (2a-2d)	51
6.3.1. 25,27-bis(2-bromoetoxi)-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (2a)	52
6.3.2. 25,27-bis(2-bromopropoxi)-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (2b) ..	53
6.3.3. 25,27-bis(2-bromobutoxi)-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (2c)	54
6.3.4. 25,27-bis(2-bromoexoxi)-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (2d)	55
6.4. Procedimento geral para obtenção dos derivados quirais do <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (3a-d e 4a)	56
6.4.1. 25,27-bis[2-(S)-1-feniletilamina)etoxi]-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (3a).....	57
6.4.2. 25,27-bis[3-(S)-1-feniletilamina)propoxi]-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (3b)	59
6.4.3. 25,27-bis[4-(R)-1-feniletilamina)butoxi]-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (3c).....	60
6.4.4. 25,27-bis[6-(R)-1-feniletilamina)exoxi]-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (3d)	62
6.4.5. 25-[3-(S)-1-feniletilamina)propoxi]-26,27,28-triidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (4a).....	64
6.5. Procedimento geral para a tentativa de adição enantiosseletiva de dietilzinco ao benzaldeído promovida por ligantes enantiopuros	65
6.5.1. 1-fenilpropan-1-ol (6)	66
6.5.2. fenilmetanol (7)	66
7. Capítulo 2	68
7.1. Introdução	68
7.1.1. Encapsulamento de moléculas bioativas	68
7.1.2. Calix[<i>n</i>]arenos: propriedades e aplicações	69
7.1.3. Ciclodextrinas: propriedades e aplicações.....	71
7.2. Isoniazida.....	75
7.3. Aplicação da RMN no estudo dos complexos entre a isoniazida e calix[<i>n</i>]arenos ou ciclodextrinas	76
8. Objetivos	79
9. Resultados e discussões	79

9.1. Síntese dos hospedeiros.....	81
9.1.1. <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (1a)	81
9.1.2. calix[4]areno (1b)	81
9.1.3. ácido <i>p</i> -sulfônico calix[4]areno (1c)	85
9.1.4. <i>p</i> -sulfonato de sódio calix[4]areno (1d).....	88
9.1.5. <i>p-tert</i> -butilcalix[6]areno (8a)	91
9.2. Caracterização dos complexos de inclusão	93
9.2.1. Complexo entre o <i>p</i> -sulfonato de sódio calix[4]areno (1d) e a ISZ (11)..	93
9.2.2. Complexo entre o <i>p</i> -sulfonato de sódio calix[6]areno (8a) e a ISZ (11)..	99
9.2.3. Complexo entre a Me-β-CD (9) e a ISZ (11)	103
9.2.4. Complexo entre a Hp-β-CD (10) e a ISZ (11)	108
9.3. Avaliação da atividade antibacterial <i>in vitro</i> da ISZ, de seus complexos de inclusão e misturas físicas frente ao <i>M. tuberculosis</i>	112
10. Conclusão	115
11. Parte experimental	115
11.1. Instrumentação e condições	115
11.1.2. Preparo das amostras.....	117
11.1.2.1. Solventes e reagentes	117
11.1.2.2. Preparo das amostras para estudos de RMN de ¹ H	117
11.1.2.3. Preparo das amostras para estudos de RMN de ¹ H (ROESY)	118
11.1.2.4. Preparo dos complexos de inclusão e misturas físicas para teste biológico.....	118
11.1.3. Experimentos de titulação (método de Job).....	118
11.1.4. Medidas de DSC	119
11.2. Descrição dos compostos sintetizados	119
11.2.1 <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (1a)	119
11.2.2. calix[4]areno (1b)	120
11.2.3. ácido <i>p</i> -sulfônico calix[4]areno (1c)	121
11.2.4. <i>p</i> -sulfonato de sódio calix[4]areno (1d).....	122
11.2.5. <i>p-tert</i> -butilcalix[6]areno (8a)	123
11.2.6. calix[6]areno (8b)	125
11.2.7. ácido <i>p</i> -sulfônico calix[6]areno (8c)	126
11.2.8. <i>p</i> -sulfonato de sódio calix[6]areno (8d).....	126
11.3 Teste Biológico	127
12. Anexos	129

Lista de abreviaturas, símbolos e notas

at.....	Tempo de aquisição
B_0	Campo magnético estático de um espectrômetro de RMN
β -CD.....	Beta-ciclodextrina
CD.....	Ciclodextrina
d.....	Dupleto
dd.....	Dupleto duplo
DSC.....	Calorimetria Diferencial de Varredura
d1.....	Tempo de espera para reciclagem
ee.....	excesso enantiomérico
Hp- β -CD.....	Hidroxipropil-beta-ciclodextrina
Hz.....	Hertz
ISZ.....	Isoniazida
IV.....	Infravermelho
J	Constante de acoplamento escalar
m.....	Multipeto
Me.....	Grupo metila
Me- β -CD.....	Metil-beta-ciclodextrina
ppm.....	Partes por milhão
q.....	quarteto
quint.....	quinteto
RMN.....	Ressonância magnética nuclear
RMN de ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN de ^1H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
rOe.....	“nuclear Overhauser effect”
ROESY.....	Rotating Frame Overhauser Effect Spectroscopy
s.....	Simpleto
sw.....	largura de varredura (espectral)
T.....	tesla
t.....	Tripleto
T_1	Tempo de relaxação longitudinal
t.a.	Temperatura ambiente
TMS.....	Tetrametilsilano

WALTZ.....	sequência de pulso utilizada em RMN para desacoplamento heteronuclear de sinais
δ	Deslocamento químico
$\Delta\delta$	Varição de deslocamento químico
$\bar{\nu}$	Número de onda

Lista de figuras

	Página
Figura 1: Representação da formação de um nova molécula na química clássica a) e de uma supramolécula b)	1
Figura 2: Modelo molecular do tipo espaço preenchido para o tetrâmero cíclico (à esquerda) e o vaso “calix crater” (à direita)	4
Figura 3: Desenho representativo do <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (à esquerda) e do <i>p-tert</i> -butilcalix[6]areno (à direita) numerados de acordo com as regras de nomenclatura IUPAC	5
Figura 4: Exemplos de dois calix[<i>n</i>]arenos: o <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (1) e o <i>p-tert</i> -butilcalix[6]areno (2)	6
Figura 5: Movimento de interconversão dos anéis fenólicos relativo ao plano médio da molécula do <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno.....	8
Figura 6: Conformações estáveis para o <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno	8
Figura 7: Conformações possíveis para o <i>p-tert</i> -butilcalix[6]areno	9
Figura 8: Espectro no IV (reflectância) do <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (1a)	20
Figura 9: Espectro no IV (reflectância) do <i>p-tert</i> -butilfenol	21
Figura 10: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{TMS} 0,00; 25 °C) do <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (1a)	22
Figura 11: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (1a)	23
Figura 12: Espectro no IV (reflectância) do 25,27-bis(2-bromoetoxi)-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (2a).....	25
Figura 13: Desenho esquemático: a) <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno realizando o número máximo de ligações de hidrogênio possíveis, formando um “cinturão de ligações de hidrogênio”; b) composto (2a) onde o número de possibilidades de formação de ligações de hidrogênio intramoleculares é menor	25
Figura 14: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{TMS} 0,00; 25 °C) do 25,27-bis(2-bromoetoxi)-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (2a).....	27
Figura 15: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do 25,27-bis(2-bromoetoxi)-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (2a).....	28

Figura 16: Espectro no IV (reflectância) do 25,27-bis[2-(S)-1-feniletilamina)etoxi]-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (3a).....	30
Figura 17: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) do 25,27-bis[2-(S)-1-feniletilamina)etoxi]-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (3a)	31
Figura 18: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do 25,27-bis[2-(S)-1-feniletilamina)etoxi]-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (3a)	32
Figura 19: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) do 25,27-bis[4-(<i>R</i>)-1-feniletilamina)butoxi]-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (3c)	36
Figura 20: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do 25,27-bis[4-(<i>R</i>)-1-feniletilamina)butoxi]-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (3c)	37
Figura 21: Espectro no IV (reflectância) do 25-[3-(S)-1-feniletilamina)propoxi]-26,27,28-triidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (4a)	39
Figura 22: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) do 25-[3-(S)-1-feniletilamina)propoxi]-26,27,28-triidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (4a)	40
Figura 23: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do 25-[3-(S)-1-feniletilamina)propoxi]-26,27,28-triidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (4a)	41
Figura 24: Cromatograma (CG-FID) representativo para a resolução de uma amostra (\pm)-1-fenilpropan-1-ol (6).....	43
Figura 25: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) do 1-fenilpropan-1-ol (6)	44
Figura 26: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do 1-fenilpropan-1-ol (6)	45
Figura 27: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) do fenilmetanol (7)	46
Figura 28: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do fenilmetanol (7)	46
Figura 29: Exemplos de calix[<i>n</i>]arenos solúveis em água	69

Figura 30: Representação esquemática: a) β -CD (à esquerda); b) β -CD encapsulando o fármaco paracetamol (à direita).....	72
Figura 31: Estruturas químicas dos principais fármacos utilizados na terapia da tuberculose	75
Figura 32: Titulação por RMN de ^1H : a) método com variação contínua de um dos componentes e b) método de Job	78
Figura 33: Estrutura química da isoniazida (11) e dos hospedeiros (1d , 8d , 9 e 10).....	80
Figura 34: Espectro no IV (reflectância) do calix[4]areno (1b)	82
Figura 35: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) do calix[4]areno (1b).....	83
Figura 36: Estruturas de ressonância para o calix[4]areno (1b).....	84
Figura 37: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do calix[4]areno (1b).....	85
Figura 38: Espectro no IV (reflectância) do ácido <i>p</i> -sulfônico calix[4]areno (1c)	86
Figura 39: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67; 25 °C) do ácido <i>p</i> -sulfônico calix[4]areno (1c)	87
Figura 40: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; D_2O ; 25 °C) do ácido <i>p</i> -sulfônico calix[4]areno (1c)	88
Figura 41: Espectro no IV (reflectância) do <i>p</i> -sulfonato de sódio calix[4]areno (1d)	89
Figura 42: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67; 25 °C) do <i>p</i> -sulfonato de sódio calix[4]areno (1d).....	90
Figura 43: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; D_2O ; 25 °C) do <i>p</i> -sulfonato de sódio calix[4]areno (1d)	91
Figura 44: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CHCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) do <i>p-tert</i> -butilcalix[6]areno (8a)	93
Figura 45: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67; 25 °C) a) ISZ (11) pura e b) (1d:11).....	94
Figura 46: Gráfico da titulação através do método de Job para o complexo <i>p</i> -sulfonato de sódio calix[4]areno:ISZ (1d:11)	95

Figura 47: a) Espectro de RMN de ^1H (400 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67, 25 °C) do complexo de 40 mmol/L do <i>p</i> -sulfonato de sódio calix[4]areno e 20 mmol/L da isoniazida; b) Experimento de ROESY 1D irradiando seletivamente H-6,8 de (11)	96
Figura 48: Curvas de DSC das amostras: a) ISZ; b) 1d; c) mistura física (1d:11) e d) complexo (1d/11)	98
Figura 49: Topologia proposta para o complexo (1d:11) baseados nos dados de deslocamento químico e titulação	98
Figura 50: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67; 25 °C) a) substância (11) pura e b) (8d:11)	100
Figura 51: Gráfico da titulação através do método de Job para o complexo <i>p</i> -sulfonato de sódio calix[6]areno:isoniazida (8d:11)	100
Figura 52: a) Espectro de RMN de ^1H (400 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67, 25 °C) da mistura de 40 mmol/L do <i>p</i> -sulfonato de sódio calix[6]areno e 20 mmol/L da isoniazida; b) Experimento de ROESY 1D irradiando seletivamente H-6,8 de (11)	101
Figura 53: Curvas de DSC das amostras: a) ISZ; b) 8d; c) mistura física (8d/11); d) complexo de inclusão (8d:11)	102
Figura 54: Topologia proposta para o complexo (8d:11) baseados nos dados de deslocamento químico e titulação	103
Figura 55: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67; 25 °C) a) substância (11) pura e b) (9:11)	104
Figura 56: Gráfico da titulação através do método de Job para o complexo metil- β -ciclodextrina:isoniazida (9:11)	105
Figura 57: a) Espectro de RMN de ^1H (400 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67, 25 °C) da mistura de 40 mmol/L da Me- β -CD e 20 mmol/L da isoniazida; b) Experimento de ROESY 1D irradiando seletivamente H-5,9 de (11)	106
Figura 58: Topologia proposta para o complexo (9:11) baseados nos dados de deslocamento químico, titulação e incrementos de rOe	106
Figura 59: Curvas de DSC das amostras: a) ISZ; b) Me- β -CD; c) mistura física (9/11); d) complexo de inclusão (9:11)	107
Figura 60: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67; 25 °C) a) substância (11) pura e b) (10:11)	109

Figura 61: Gráfico da titulação através do método de Job para o complexo Hp-β-ciclodextrina:isoniazida (10:11).....	109
Figura 62: a) Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz; D ₂ O; δ _{HDO} 4,67, 25 °C) da mistura de 40 mmol/L da Hp-β-CD e 20 mmol/L da isoniazida; b) Experimento de ROESY 1D irradiando seletivamente H- 5,9 de (11).....	110
Figura 63: Topologia proposta para o complexo (10:11) baseados nos dados de deslocamento químico, titulação e incrementos de rOe	110
Figura 64: Curvas de DSC das amostras: a) ISZ; b) Hp-β-CD; c) mistura física (10/11); d) complexo de inclusão (10:11)	112
Figura 65: Espectro no IV (reflectância) do 25,27-bis(3-bromopropoxi)-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (2b)	129
Figura 66: Espectro de RMN de ¹ H (300,069 MHz; CDCl ₃ ; δ _{TMS} 0,00; 25 °C) 25,27-bis(2-bromopropoxi)-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (2b)	129
Figura 67: Espectro de RMN de ¹³ C (75,459 MHz; CDCl ₃ ; δ _{CDCl₃} 77,00; 25 °C) do 25,27-bis(3-bromopropoxi)-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (2b)	130
Figura 68: Espectro no IV (reflectância) do 25,27-bis(4-bromobutoxi)-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (2c).....	130
Figura 69: Espectro de RMN de ¹ H (300,069 MHz; CDCl ₃ ; δ _{TMS} 0,00; 25 °C) 25,27-bis(4-bromo butoxi)-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (2c).....	131
Figura 70: Espectro de RMN de ¹³ C (75,459 MHz; CDCl ₃ ; δ _{CDCl₃} 77,00; 25 °C) do 25,27-bis(4-bromobutoxi)-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (2c).....	131
Figura 71: Espectro no IV (reflectância) do 25,27-bis(6-bromoexoxi)-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (2d)	132
Figura 72: Espectro de RMN de ¹ H (300,069 MHz; CDCl ₃ ; δ _{CHCl₃} 7,27; 25 °C) 25,27-bis(6-bromoexoxi)-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (2d).....	132
Figura 73: Espectro de RMN de ¹³ C (75,459 MHz; CDCl ₃ ; δ _{CDCl₃} 77,00; 25 °C) do 25,27-bis(6-bromoexoxi)-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (2d).....	133
Figura 74: Espectro no IV (reflectância) do composto 25,27-bis[3-(S)-1-feniletilamina]propoxi]-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (3b)	133
Figura 75: Espectro de RMN de ¹ H (300,069 MHz; CDCl ₃ ; δ _{CHCl₃} 7,27; 25 °C) do 25,27-bis[3-(S)-1-feniletilamina]propoxi]-26,28-diidroxi- <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (3b)	134

Figura 76: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do 25,27-bis[3-(S)-1-feniletilamina]propoxi]-26,28-diidroxi- <i>p</i> - <i>tert</i> -butilcalix[4]areno (3b)	134
Figura 77: Espectro no IV (reflectância) do 25,27-bis[4-(R)-1-feniletilamina]butoxi]-26,28-diidroxi- <i>p</i> - <i>tert</i> -butilcalix[4]areno (3c).....	135
Figura 78: Espectro no IV (reflectância) do 25,27-bis[6-(R)-1-feniletilamina]exoxi]-26,28-diidroxi- <i>p</i> - <i>tert</i> -butilcalix[4]areno (3d).....	135
Figura 79: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) do 25,27-bis[6-(R)-1-feniletilamina]exoxi]-26,28-diidroxi- <i>p</i> - <i>tert</i> -butilcalix[4]areno (3d)	136
Figura 80: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do 25,27-bis[3-(R)-1-feniletilamina]exoxi]-26,28-diidroxi- <i>p</i> - <i>tert</i> -butilcalix[4]areno (3d)	136
Figura 81: Espectro no IV (reflectância) do <i>p</i> - <i>tert</i> -butilcalix[6]areno (8a)	137
Figura 82: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do <i>p</i> - <i>tert</i> -butilcalix[6]areno (8a)	137
Figura 83: Espectro no IV (reflectância) do calix[6]areno (8b)	138
Figura 84: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) do calix[6]areno (8b)	138
Figura 85: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do calix[6]areno (8b)	139
Figura 86: Espectro no IV (reflectância) do ácido <i>p</i> -sulfônico calix[6]areno (8c)	139
Figura 87: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67; 25 °C) do ácido <i>p</i> -sulfônico calix[6]areno (8c)	140
Figura 88: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; D_2O ; 25 °C) do ácido <i>p</i> -sulfônico calix[6]areno (8c)	140
Figura 89: Espectro no IV (reflectância) do <i>p</i> -sulfonato de sódio calix[6]areno (8d)	141
Figura 90: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67; 25 °C) do <i>p</i> -sulfonato de sódio calix[6]areno (8d)	141
Figura 91: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; D_2O ; 25 °C) do <i>p</i> -sulfonato de sódio calix[6]areno (8d)	142

Lista de tabelas

	Página
Tabela 1: Valores de deslocamento químico para os hidrogênios metilênicos	11
Tabela 2: Porcentagem dos produtos obtidos nas reações de adição de dietilzinco ao benzaldeído na presença dos ligantes quirais (3a , 3b , 3c , 3d e 4a).....	42
Tabela 3: Propriedades dos sulfonato-calix[<i>n</i>]arenos	70
Tabela 4: Propriedades físico-químicas das ciclodextrinas naturais	73
Tabela 5: Valores de deslocamento químico de RMN de ¹ H das substâncias (11) e (1d) puras e do complexo (1d:11) e as diferenças de deslocamento químico ($\Delta\delta = \delta_{livre} - \delta_{complexada}$)	94
Tabela 6: Valores de deslocamento químico de RMN de ¹ H das substâncias (11) e (8d) puras e do complexo (8d:11) e as diferenças de deslocamento químico ($\Delta\delta = \delta_{livre} - \delta_{complexada}$)	99
Tabela 7: Valores de deslocamento químico de RMN de ¹ H das substâncias (11) e (9) puras e do complexo (9:11) e as diferenças de deslocamento químico ($\Delta\delta = \delta_{livre} - \delta_{complexada}$).....	104
Tabela 8: Valores de deslocamento químico de RMN de ¹ H das substâncias (11) e (10) puras e do complexo (10:11) e as diferenças de deslocamento químico ($\Delta\delta = \delta_{livre} - \delta_{complexada}$)	108
Tabela 9: Atividade <i>in vitro</i> dos complexos e misturas físicas frente ao <i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv ATCC n ^o 27294 (suceptível a rifampicina)	113
Tabela 10: Atividade <i>in vitro</i> dos compostos (1d , 8d , Me-β-CD e Hp-β-CD) e (2a-d) (Capítulo 1) frente ao <i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv ATCC n ^o 27294 (suceptível a rifampicina)	114

Lista de esquemas

	Página
Esquema 1: Proposta mecanística para a formação do <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno	7
Esquema 2: Reações de acoplamento cruzado na presença de calix[4]areno	12
Esquema 3: Reação de adição de dietilzinco ao benzaldeído	15
Esquema 4: Rota sintética para obtenção de derivados do <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno quirais	18
Esquema 5: Adição de dietilzinco ao benzaldeído na presença de ligantes assimétricos	18
Esquema 6: Reação de obtenção do <i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno (1a)	19
Esquema 7: Reação de obtenção do 25,27-bis(2-bromoetoxi)-26,28-diidroxip- <i>tert</i> -butilcalix[4]areno (2a)	24
Esquema 8: Reação de obtenção do 25,27-bis[2-(<i>S</i>)-1-feniletilamina]etoxi]-26,28-diidroxip- <i>tert</i> -butilcalix[4]areno (3a)	29
Esquema 9: Reação de obtenção do 25,27-bis[4-(<i>R</i>)-1-feniletilamina]butoxi]-26,28-diidroxip- <i>tert</i> -butilcalix[4]areno (3c)	35
Esquema 10: Reação de obtenção do 25-[3-(<i>S</i>)-1-feniletilamina]propoxi]-26,27,28-triidroxip- <i>tert</i> -butilcalix[4]areno (4a)	38
Esquema 11: Adição de dietilzinco ao benzaldeído na presença de ligantes quirais	41
Esquema 12: Bioconversão da isoniazida em sua forma ativa pela catalase-peroxidase	76
Esquema 13: Rota sintética para obtenção de derivados do <i>p-tert</i> -butilcalix[<i>n</i>]areno solúveis em água	79
Esquema 14: Reação de obtenção do calix[4]areno (1b)	81
Esquema 15: Reação de obtenção do ácido <i>p</i> -sulfônico calix[4]areno (1c).....	85
Esquema 16: Reação de obtenção do <i>p</i> -sulfonato de sódio calix[4]areno (1d)	88
Esquema 17: Reação de obtenção do <i>p-tert</i> -butilcalix[6]areno (8a)	92

Resumo

TEIXEIRA, Milena Galdino, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2011. **Calix[n]arenos como sistemas de encapsulamento e plataforma para catalisadores assimétricos**. Orientador: Sergio Antonio Fernandes. Co-orientadores: Róbson Ricardo Teixeira e José Roberto da Silveira Maia.

A química supramolecular tem evoluído ao longo das últimas três décadas, e tem se mostrado um campo extremamente dinâmico e verdadeiramente interdisciplinar. O presente trabalho teve por meta sintetizar derivados do *p-tert*-butilcalix[4 e 6]areno, visando aplicá-los como plataforma para ligantes assimétricos e sistemas carreadores da isoniazida. Primeiramente, são descritas as sínteses de cinco derivados do *p-tert*-butilcalix[4]areno ligados a (*R*)- ou (*S*)-1-feniletilamina. Os ligantes quirais (**3a-d** e **4a**) foram obtidos com rendimentos totais que variaram de 4 a 16%. Esses compostos foram testados como ligantes quirais na reação de adição de dietilzinco ao benzaldeído, porém, não foram obtidos excessos enantioméricos. Também são descritas as sínteses de dois calix[n]arenos hospedeiros (**1d** e **8b**). Esses hospedeiros além da metil- β -ciclodextrina (**9**) e da 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (**10**) foram empregados como sistemas carreadores da isoniazida (**11**), que é um fármaco utilizado no tratamento da tuberculose, devido a sua alta potência. Desta forma propusemo-nos a preparar e caracterizar complexos moleculares entre (**11**) e os hospedeiros (**1d**, **8b**, **9** e **10**) e testar a atividade biológica desses complexos contra o *Mycobacterium tuberculosis*, por meio de testes biológicos *in vitro*. Os melhores resultados foram obtidos para os complexos (**1d:11**) e (**9:11**) que apresentaram uma CMI de 1,7 nmol/mL. Esse resultado se equivale ao obtido para a isoniazida pura que apresenta uma CMI de 1,5 nmol/mL.

Abstract

TEIXEIRA, Milena Galdino, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2011. **Calix[n]arenes as encapsulation systems and platform for asymmetric catalysts.** Advisor: Sergio Antonio Fernandes. Co-advisors: Róbson Ricardo Teixeira and José Roberto da Silveira Maia.

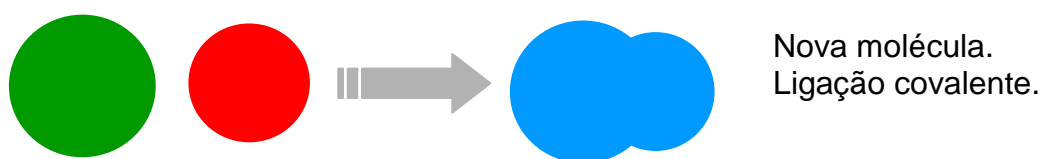
The supramolecular chemistry has evolved over the past three decades, and has been an extremely dynamic field and truly interdisciplinary. In this work was synthesized derivatives of *p-tert*-butylcalix[4 and 6]arene, in order to apply them as a platform for asymmetric ligands and carriers systems of isoniazid. First the synthesis of five derivatives of *p-tert*-butylcalix[4]arene linked to (*R*)- or (*S*)-1-phenylethylamine was described. The chiral ligands (**3a-d** e **4a**) were obtained with total yields between from 4 to 16%. These compounds were tested as chiral ligands in the reaction addition of diethylzinc in benzaldehyde, however, enantiomeric excesses were not obtained. It also describes the synthesis of two hosts calix[n]arenes (**1d** and **8b**) was described. These hosts, in addition to methyl- β -cyclodextrin (**9**) and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (**10**) were used as carriers systems of isoniazid (**11**), which is a drug used to treat tuberculosis, due to its high potency. Thus we decided to prepare and characterize molecular complexes between (**11**) and hosts (**1d**, **8b**, **9** and **10**) and test the biological activity of these complexes against *Mycobacterium tuberculosis*, by means of biological tests *in vitro*. The best results were obtained for the complex (**1d:11**) and (**9:11**) that presented a MIC of 1.7 nmol/mL. This result is equivalent to that obtained for pure isoniazid which presents a MIC of 1.5 nmol/mL.

1. Introdução

1.1. Química Supramolecular

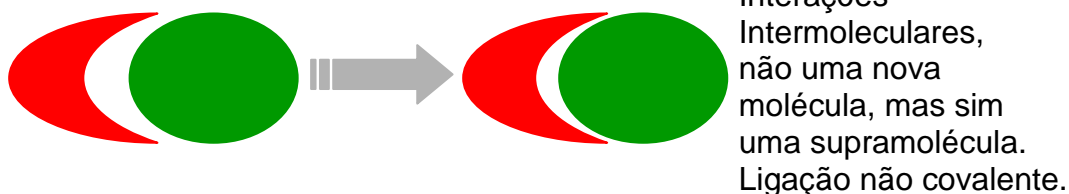
O termo *supramolecular*, descrito por Lehn, refere-se a agregados moleculares ordenados mantidos unidos por forças intermoleculares como ligações de hidrogênio, interações π - π e eletrostáticas, forças de van der Waals, efeitos hidrofóbicos ou mesmo ligações metal-ligante¹. Na química clássica, uma nova molécula pode ser formada por meio de ligações covalentes, já na química supramolecular ocorrem apenas interações intermoleculares, portanto é possível obter uma supramolécula (**Figura 1**).

a) Química Clássica:



Nova molécula.
Ligação covalente.

b) Química Supramolecular:



Interações
Intermoleculares,
não uma nova
molécula, mas sim
uma supramolécula.
Ligação não covalente.

Figura 1: Representação da formação de uma nova molécula na química clássica **a)** e de uma supramolécula **b)**.

A química supramolecular tem evoluído ao longo das últimas três décadas, e tem se mostrado um campo extremamente dinâmico e verdadeiramente interdisciplinar. Uma vez que, está envolvida com o desenvolvimento das principais pesquisas nas interfaces da química e em áreas como biologia, física, ciência de materiais e engenharia¹.

¹ Pastor, A.; Viviente, E. M. *Coord. Chem. Rev.* **2008**, 252, 2314.

As supramoléculas podem ser idealizadas de modo a serem consideradas inteligentes, isto é, com capacidade de compreender e responder a sinais químicos. Portanto, podem interagir especificamente com moléculas hóspedes ou formar grandes agregados^{2,3}. O artifício usado para desenhar hospedeiros satisfatórios considera propriedades físico-químicas como: tamanho, carga, caráter do átomo, entre outras de acordo com as propriedades das moléculas hóspedes designadas. A otimização da pré-organização hospedeiro-hóspede é atingida se a complementariedade da interface de ligação hospedeiro-hóspede é adequada e correta. Além disso, uma característica fundamental para a formação de um complexo do tipo hóspede-hospedeiro é a solubilidade das espécies envolvidas⁴.

Nos últimos anos, a química supramolecular tem sido alvo de muitos estudos. Dentre esses, podemos destacar pesquisas destinadas ao desenvolvimento de novos sistemas catalíticos, envolvendo calix[*n*]arenos e metais, com potencial aplicação em síntese enantiosseletiva. Dentro desse contexto, um tópico desafiador em química orgânica tem sido o desenvolvimento de novas metodologias para a formação de ligações carbono-carbono (C-C) em versões assimétricas. Para tanto, as reações de adição a carbonila são um dos métodos mais eficientes e extensivamente aplicados. Portanto, diante do exposto, o primeiro capítulo do presente trabalho tem como principal objetivo o desenvolvimento de sistemas supramoleculares quirais e aplicação dos mesmos em reações de adição de dietilzinco ao benzaldeído.

Ainda dentro do conceito de química supramolecular, podemos destacar a aplicação de supramoléculas (calix[*n*]arenos e ciclodextrinas) como sistemas

² Konovalov, A. I.; Antipin, I. S. *Mendeleev Commun.* **2008**, *18*, 229.

³ Araki, K.; Toma, H. E. *Quím. Nova* **2002**, *25*, 6, 962.

⁴ Reinhoudt, D. N.; Crego-Calama M. *Science* **2002**, *295*, 2403.

carreadores (hospedeiros) de moléculas bioativas (hóspedes). Isso se deve, em grande parte, às importantes melhorias que podem ser obtidas nas propriedades químicas da molécula encapsulada como: solubilidade, estabilidade química e biodisponibilidade. Muitos estudos têm sido direcionados ao encapsulamento de fármacos, porém não há muitas pesquisas envolvendo medicamentos utilizados no tratamento de doenças negligenciadas, como é o caso da tuberculose. A terapia de tuberculose é longa e problemas como o aparecimento de bactérias resistentes vem comprometendo o tratamento dos pacientes. Portanto, o principal objetivo no segundo capítulo desse trabalho é o a obtenção de complexos entre os calix[*n*]arenos e ciclodextrinas com a isoniazida, principal fármaco empregado no tratamento da tuberculose.

Como já foi mencionado, o presente trabalho está dividido em dois capítulos:

Capítulo 1- “Síntese de derivados do *p-tert*-butilcalix[4]areno quirais e aplicação como ligantes assimétricos para obtenção do (\pm)1-fenilpropan-1-ol”;

Capítulo 2- “Caracterização e avaliação da atividade antibacteriana dos complexos de inclusão entre a isoniazida e calix[4 e 6]arenos ou β -ciclodextrinas frente ao *Mycobacterium tuberculosis*”

2. Capítulo 1

Síntese de derivados do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno quirais e aplicação como ligantes assimétricos para obtenção do (\pm) 1-fenilpropan-1-ol

2.1. Introdução

2.1.1. Calix[*n*]arenos: nomenclatura

Calix[*n*]arenos formam junto com os éteres de coroa e as ciclodextrinas uma das maiores classes de compostos macrocíclicos em química supramolecular⁵.

O nome calix[*n*]areno foi sugerido por Gutsche devido à semelhança por ele encontrada entre a geometria de um vaso grego (*calix crater*) e o modelo molecular do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**Figura 2**). Desse modo, *calix* vem de vaso e *areno* indica a presença de grupos arila⁶. Para adaptar este nome a todos os calixarenos, o tamanho do macrociclo é indicado por um número entre colchetes, inserido entre as palavras “calix” e “areno”.



Figura 2: Modelo molecular do tipo espaço preenchido para o tetrâmero cíclico (à esquerda) e o vaso “calix crater” (à direita)⁶.

⁵ **a)** Gutsche, C. D. *Host Guest Complex Chemistry Macrocycles: Synthesis, Structures, Applications*, ed. E. Weber, Springer, Berlin, **1985**; **b)** Gutsche, C. D.; Alam, I. *Tetrahedron* **1988**, *44*, 4689; **c)** Gutsche, C. D.; Levine, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 2652; **d)** Gutsche C. D.; Nam, K. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 6153; **e)** Asfari, Z.; Bohmer, V.; Harrowfield, J. M.; Vicens, J. *Calixarenes 2002*, Dordrecht, **2001**.

⁶ Gutsche, C. D. *Calixarenes: An Introduction*, 2^a Ed., ed. RSC Publishing, Arizona, **2008**.

Utilizando o sistema de nomenclatura da IUPAC para nomear as estruturas dos calix[*n*]arenos, os nomes resultantes são muito extensos e nem sempre de fácil compreensão. A natureza e a posição do substituinte nos anéis aromáticos são indicadas por números e prefixos apropriados. Por exemplo, o tetrâmero cíclico derivado do *p-tert*-butilfenol é designado por 5,11,17,23-tetra-*tert*-butil-25,26,27,28-tetrahidroxicalix[4]areno (**Figura 3**) e o hexâmero cíclico por 5,11,17,23,29,35-hexa-*tert*-butil-37,38,39,40,41,42-hexahidroxicalix[6]areno⁷. Os calix[*n*]arenos supracitados são rotineiramente denominados de *p-tert*-butilcalix[4]areno e *p-tert*-butilcalix[6]areno, respectivamente.

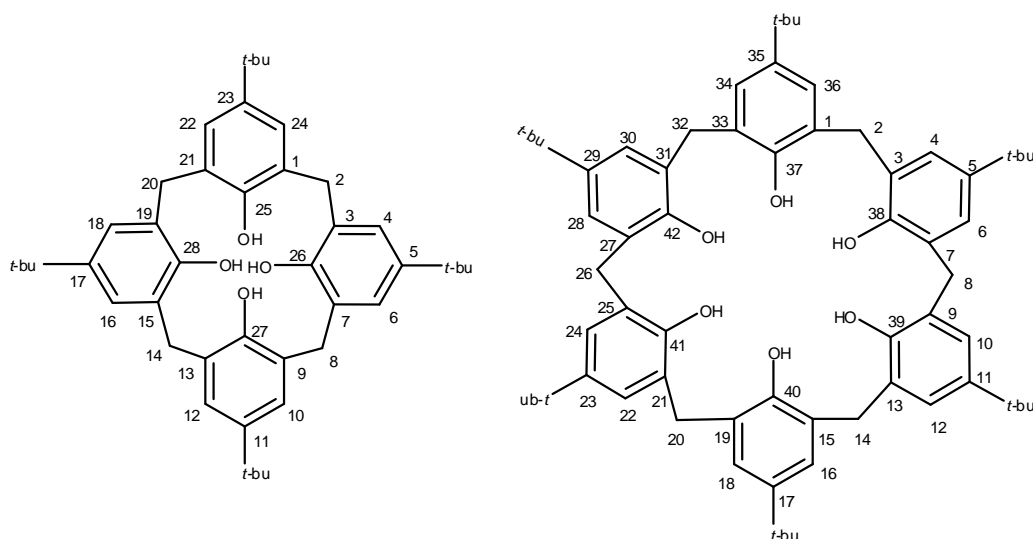


Figura 3: Desenho representativo do *p-tert*-butilcalix[4]areno (à esquerda) e do *p-tert*-butilcalix[6]areno (à direita) numerados de acordo com as regras de nomenclatura IUPAC.

Devido à semelhança com um vaso grego, as estruturas dos calix[*n*]arenos são geralmente desenhadas com os substituintes *para* direcionados para cima (“coroa superior”) e com os grupos hidroxilas direcionados para baixo (“coroa inferior”) **Figura 4** (p. 6).

⁷ Marcos, P. M.; Félix S. *Química*, **2007**, *107*, 31.

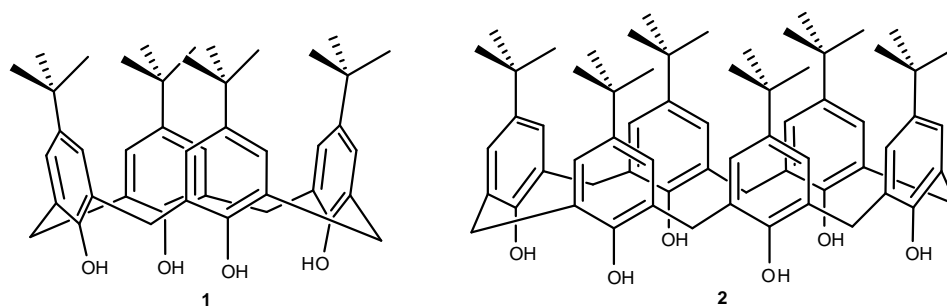


Figura 4: Exemplos de dois calix[*n*]arenos: o *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (1) e o *p*-*tert*-butilcalix[6]areno (2).

2.1.2. Síntese de calix[*n*]arenos

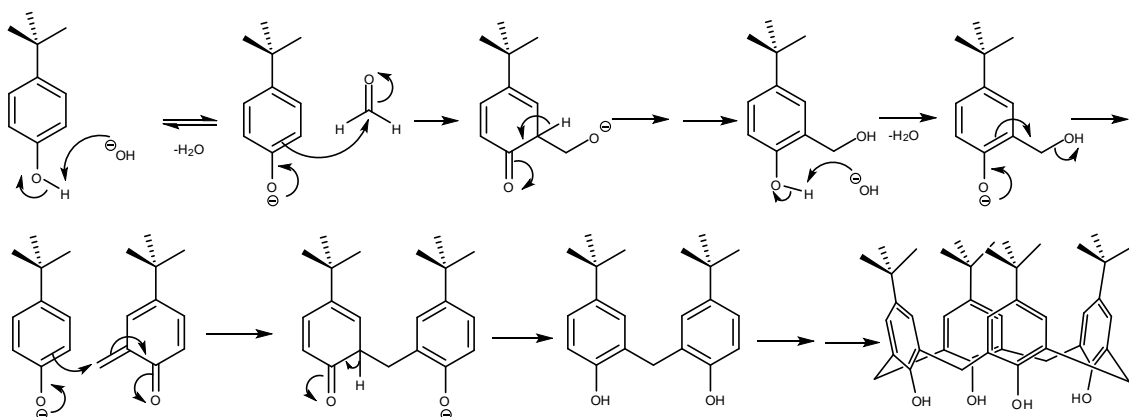
Os calix[*n*]arenos são facilmente preparados pela reação entre o *p*-*tert*-butilfenol e formaldeído, a escolha da base, solvente e temperatura de reação permitem a síntese seletiva de macrociclos que contém quatro, seis ou oito unidades fenólicas⁸. Os calix[*n*]arenos apresentam uma química distinta dos fenóis *para*-substituídos, o que permite modificações químicas aparentemente não-triviais. Como consequência, a gama de derivados de calix[*n*]arenos excede de longe outras classes de compostos macrocíclicos.

A síntese dos calix[*n*]arenos pode ser realizada por dois métodos principais. No primeiro método conhecido como condensação de fragmentos, sintetiza-se um produto linear com duas ou três unidades que é subsequentemente ciclizado com outros fenóis ou unidades adequadamente substituídas. O outro método para a obtenção de calix[*n*]arenos envolve a condensação de fenóis *p*-substituídos com formaldeído em meio básico⁹. Este método é chamado de síntese sequencial uma vez que as unidades fenólicas

⁸ Gutsche, C. D. *Calixarenes Revisited: Monographs in Supramolecular Chemistry*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, **1998**.

⁹ Gutsche, C. D.; Iqbal, M. *Org. Synth.* **1989**, 68, 234.

são acrescentadas e posteriormente ciclizadas¹⁰. Dentre os métodos supramencionados, o segundo é o mais utilizado uma vez que em uma única etapa é possível obter calix[*n*]arenos com rendimentos satisfatórios. No **Esquema 1** é apresentada a proposta mecanística para a síntese do *p-tert*-butilcalix[4]areno (**1**) via condensação do *p-tert*-butilfenol e formaldeído.



Esquema 1: Proposta mecanística para a formação do *p-tert*-butilcalix[4]areno (**1**)⁶.

2.1.3 Conformações

Um dos aspectos mais interessantes sobre a química dos calix[*n*]arenos reside na variedade de conformações que tais compostos podem assumir. Para o *p-tert*-butilcalix[4]areno (**1**), por exemplo, existem quatro conformações estáveis, resultantes da inversão dos anéis fenólicos relativamente ao plano médio da molécula, como descrito por Cornforth em 1955¹¹ (**Figura 5**, p. 8).

¹⁰ **a)** Happel, G.; Mathiasch, B.; Kammerer, H. *Makromol. Chem.* **1975**, 176, 3317; **b)** Kammerer, H.; Happel, G.; Bohmer, V.; Rathay, D. *Monatsh. Chem.* **1978**, 109, 767.

¹¹ Cornforth, J. W.; D'Arcy Hart, P.; Nicholls, G. A.; Rees, R. J. W.; Stock, J. A. *Br. J. Pharmacol.* **1955**, 10, 73.

Posteriormente, em 1983, Gutsche¹² nomeou tais conformações como: cone, cone parcial, 1,2-alternada e 1,3-alternada (**Figura 6**).

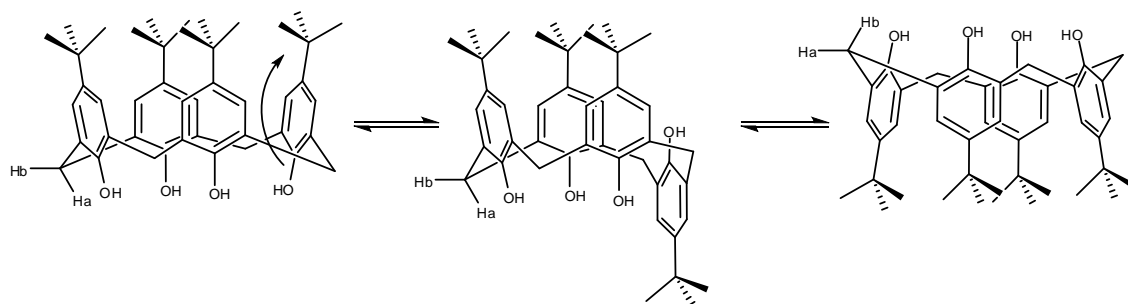


Figura 5: Movimento de interconversão dos anéis fenólicos relativo ao plano médio da molécula do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno¹³.

Na estrutura dos calix[*n*]arenos podemos observar que grupos metilênicos são os responsáveis pelas junções dos anéis fenólicos, possibilitando a liberdade conformacional (livre rotação dos grupos arilas)¹⁴.

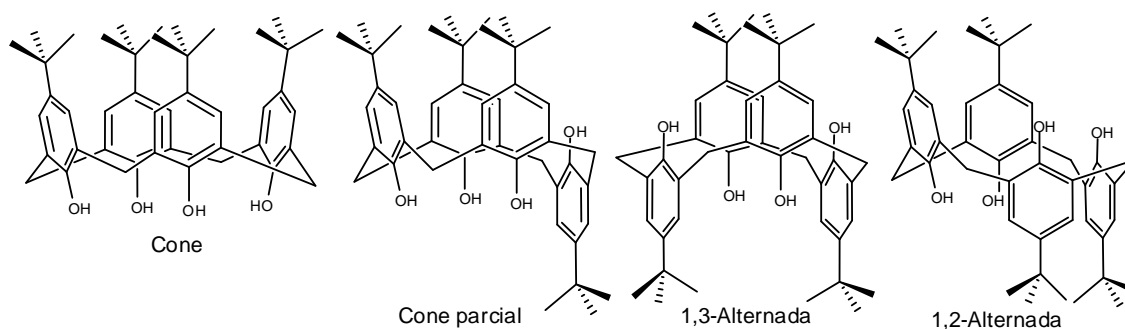


Figura 6: Conformações estáveis para o *p*-*tert*-butilcalix[4]areno¹².

O número de conformações estáveis aumenta à medida que cresce o número de grupos arila. Embora os calix[5]arenos apresentem apenas quatro conformações, os calix[6]arenos apresentam oito (**Figura 7**, p. 9), os calix[8]arenos dezesseis, etc. As estruturas cristalinas dos calix[4 e 5]arenos

¹² Gutsche, C. D.; Dhawan, B.; Levine, J. A.; No, K. H. Bauer, L. J. *Tetrahedron*, **1983**, 39, 409.

¹³ Gutsche, C. D.; Muthukrishnan, R.; No, K. H. *Tetrahedron Lett.* **1979**, 20, 2213.

¹⁴ Ikeda, A.; Shinkai, S. *Chem. Rev.* **1997**, 97, 1713.

contendo grupos OH livres adotam preferencialmente a conformação cone, a qual é estabilizada por ligações de hidrogênio intramoleculares. Para os calix[6]arenos foram observadas duas conformações no estado sólido: uma onde todos os grupos OH estão de um mesmo lado da molécula (cone) e outra onde três grupos adjacentes estão para cima e os outros três para baixo (1,2,3-alternado)⁷, **Figura 7**.

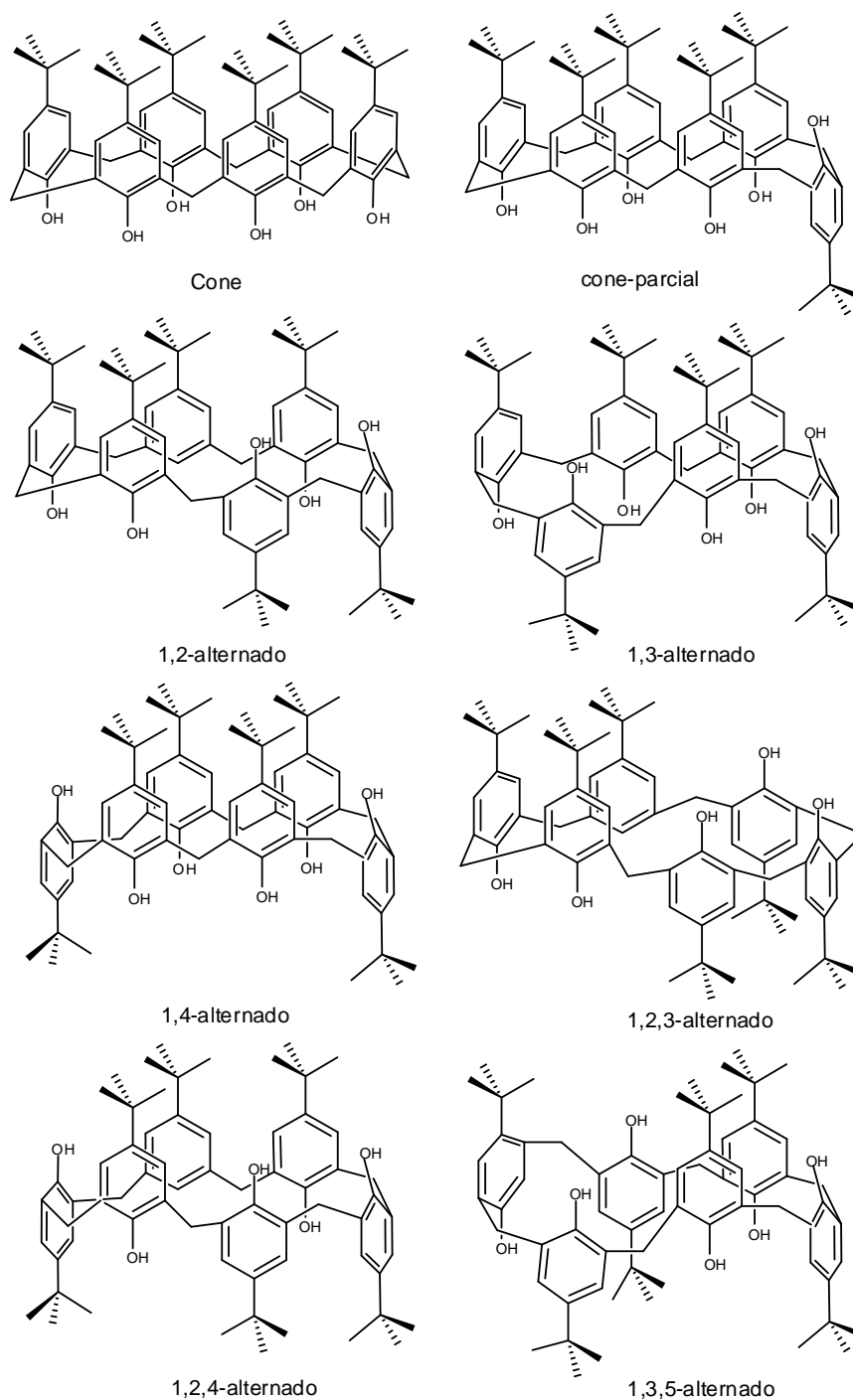


Figura 7: Conformações possíveis para o *p*-*tert*-butilcalix[6]areno¹⁴.

É digno de nota que, para os calix[*n*]arenos o número de conformações possíveis aumenta drasticamente se o valor do ângulo que cada núcleo aromático faz com o plano da molécula for levado em consideração¹⁵. As oito conformações possíveis para o *p-tert*-butilcalix[6]areno representadas na **Figura 7** (p. 9), por exemplo, são possíveis considerando apenas as orientações relativas (*syn* ou *anti*) do núcleo aromático.

2.1.4 Propriedades espectroscópicas dos calix[*n*]arenos

Os calix[*n*]arenos exibem absorções no infravermelho devido ao estiramento dos grupos OH em frequências bastante baixas, geralmente entre 3100–3300 cm⁻¹, devido às ligações de hidrogênio intramoleculares. A força destas ligações pode ser estabelecida por IV, verificando-se que são mais fortes para os calix[4, 6 e 8]arenos e mais fracas para os calix[5 e 7]arenos⁶.

Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C dos calix[*n*]arenos são relativamente simples, devido a simetria característica dessas moléculas. Para os espectros de RMN de ¹H, um aspecto importante está relacionado com a ressonância dos hidrogênios do grupo CH₂.

O espectro de RMN de ¹H do *p-tert*-butilcalix[4]areno à temperatura ambiente exibe um par de dupletos correspondentes aos hidrogênios metilênicos. O *p-tert*-butilcalix[8]areno comporta-se de modo semelhante ao descrito anteriormente, onde a diferenciação entre essas duas moléculas pode ser feita por meio dos deslocamentos químicos (**Tabela 1**, p. 11). Essas substâncias para alcançarem ligações de hidrogênio intramoleculares mais eficazes adotam a conformação cone, desse modo o movimento de interconversão conformacional ocorre lentamente (**Figura 5**, p. 8). Em outras

¹⁵ Harada, T.; Shinkai, S. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2* **1995**, 2231.

palavras a magnitude da barreira energética a ser vencida é maior para essas moléculas se comparada com a do *p-tert*-butilcalix[6]areno, por exemplo. Para o *p-tert*-butilcalix[4]areno a energia necessária para a interconversão é de 15,7 kcal/mol⁶.

Tabela 1: Valores de deslocamento químico para os hidrogênios metilênicos

Amostra	Solvente deuterado	δ ArCH ₂ Ar	
		H(b)	H(a)
<i>p-tert</i> -butilcalix[4]areno	CDCl ₃	4,25	3,50
<i>p-tert</i> -butilcalix[6]areno	CDCl ₃	3,90	
<i>p-tert</i> -butilcalix[8]areno	CDCl ₃	4,33	3,51

O espectro de RMN de ¹H do *p-tert*-butilcalix[6]areno apresenta apenas um simpleto largo à temperatura ambiente correspondente aos hidrogênios metilênicos, devido a maior flexibilidade dessa molécula¹⁶. A barreira de energia para a interconversão conformacional do *p-tert*-butilcalix[6]areno é de 13,1 kcal/mol⁶.

Para os *p-tert*-butilcalix[*n*]areno o espectro de RMN de ¹³C apresenta quatro sinais relativos às frequências de ressonância dos carbonos aromáticos, um sinal para os carbonos metilênicos e dois sinais para os carbonos do grupo *tert*-butil⁷. Desse modo, é possível confirmar a simetria característica dessas moléculas.

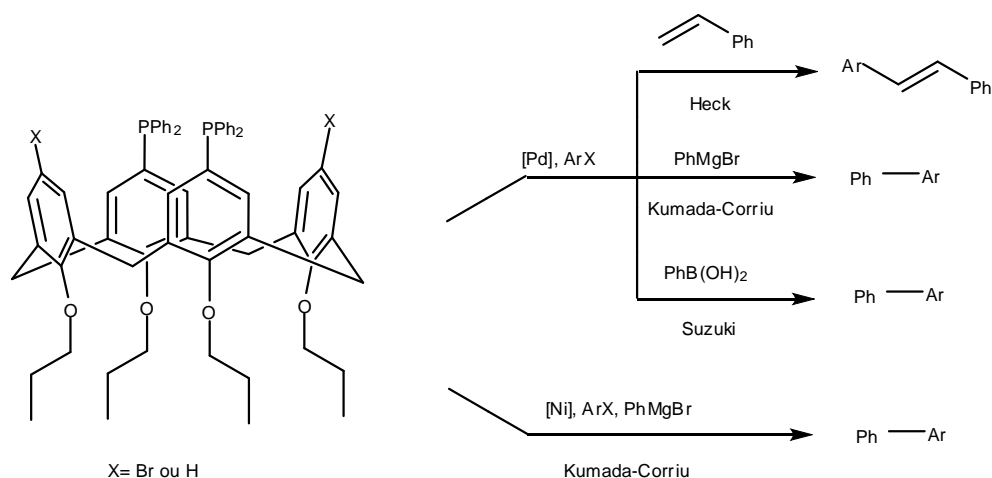
2.2. Aplicações dos calix[*n*]areno em síntese orgânica

O uso dos calix[*n*]areno como ligantes para a obtenção de complexos organometálicos e a aplicação destes em catálise tem sido amplamente

¹⁶ Gutsche, C. D.; Bauer, L. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 6052.

explorado. Diversas reações, nas quais foram empregados complexos organometálicos baseados em calix[*n*]arenos como catalisadores, foram descritas, como por exemplo: reações de adição aldólicas, epoxidação, Diels-Alder, etc¹⁷.

Sémeril e colaboradores, descreveram o emprego de ligantes baseados em calix[4]areno em reações de acoplamento cruzado de Heck, Suzuki e Kumada-Corriu com vários haletos de arila¹⁸ (**Esquema 2**).



Esquema 2: Reações de acoplamento cruzado na presença de calix[4]areno¹⁸.

Na literatura outros exemplos de reações envolvendo a formação de ligações carbono-carbono e que utilizam calix[*n*]arenos como ligantes, tem sido descritos. Tais como a ciclotrimerização de alquinos^{19,20} e reação de adição aldólica de Mukaiyama²¹, etc.

¹⁷ Homden, D. M.; Redshaw, C. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 5086.

¹⁸ Sémeril, D.; Lejeune, M.; Jeunesse, C.; Matt, D. *J. Mol. Catal. A-Chem.* **2005**, *239*, 257.

¹⁹ **a)** Ladipo, F. T.; Sarveswaran, V.; Kingston J. V.; Huyck, R. A.; Bylikin, S. Y.; Carr, S. D.; Watts, R.; Parkin, S. *J. Organomet. Chem.* **2004**, *689*, 502; **b)** Ozerov, O. V.; Ladipo, F. T.; Patrick, B. O. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7941.

²⁰ Ozerov, O. V.; Patrick, B. O.; Ladipo, F. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6423.

²¹ Morohashi, N.; Hattori, T.; Yokomakura, K.; Kabuto, C.; Miyano, S. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 7769.

2.2.1. Calix[*n*]areno quirais aplicados em síntese orgânica

Calix[*n*]arenos inerentemente quirais representam uma classe de compostos macrocíclicos, cuja quiralidade é oriunda da matriz assimétrica introduzida nas subunidades aquirais presentes nas estruturas dos calix[*n*]areno²². Para atingir o “status” de molécula quiral, os calix[*n*]arenos devem ser modificados agregando-lhes fragmentos moleculares assimétricos, seja por reação química (ligações covalentes) ou através de complexação (onde predominam interações intermoleculares). As estratégias frequentemente empregadas para conferir quiralidade aos calix[*n*]arenos são: **i)** ancorar covalentemente resíduos quirais nas hidroxilas, ou na parte superior do esqueleto do mesmo (posição *para* às hidroxilas) **ii)** trocar a unidade metilênica por uma unidade quiral²³.

Nos últimos anos, têm sido desenvolvidas estratégias eficientes para obtenção de calix[*n*]arenos quirais enantiomericamente puros pela introdução de um auxiliar quiral e subsequente separação dos diastereoisômeros²³. A utilização de compostos enantiomericamente puros como materiais de partida para promover modificações nos calix[*n*]arenos é uma alternativa eficaz para se obter calix[*n*]arenos quirais na forma de apenas um enântiômero.

Desde que Gutsche e No reportaram o primeiro exemplo de calix[4]areno inerentemente quiral em 1982, tem havido um crescente interesse na síntese de calix[*n*]arenos assimétricos e nas suas estruturas únicas com potencial aplicação em reconhecimento quiral e catálise assimétrica²².

²² Xu, Z. X.; Li, G. K.; Chen, C. F.; Huang, Z. T. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 8668.

²³ **a)** Ikeda, A.; Nagasaki, T.; Shinkai, S. *J. Phys. Org. Chem.* **1992**, *5*, 699; **b)** Iwamoto, K.; Shimizu, H.; Araki, K.; Shinkai, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 3997; **c)** Nagasaki, T.; Fujishima, H.; Shinkai, S. *Chem. Lett.* **1994**, 989; **d)** Dondoni, A.; Marra, A.; Sherrmann, M. C.; Casnati, A.; Sansone, F.; Ungaro, R. *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 177.

Embora tenha sido alcançado bons resultados, o uso de calix[4]arenos como plataforma para ligantes quirais em catálise assimétrica tem sido pouco estudado e apenas algumas aplicações foram descritas²⁴. Dieleman e colaboradores²⁵, relataram o emprego de calix[4]arenos quirais em reações de alquilação alílica obtendo 67 % de excesso enantiomérico (ee) e hidrogenação com 48 % ee. Gaeta e colaboradores²⁶, reportaram a utilização de calix[4]arenos como ligantes quirais aplicados em reações aldólicas com enantiosseletividade máxima de 28 % ee. Por fim, Amato e colaboradores²⁷ descreveram o emprego de calix[4]arenos em reações de epoxidação assimétrica com obtenção de até 72 % ee.

Recentemente, Ru e colaboradores²⁸ descreveram o emprego de calix[4]areno quirais como ligantes assimétricos em reações de adição de dietilzinco ao benzaldeído e a enantiosseletividade máxima alcançada foi de aproximadamente 18 % ee.

2.2.2. Catálise Assimétrica

A capacidade de se controlar a estrutura tridimensional da arquitetura molecular, conhecida como síntese assimétrica, revolucionou a química na segunda metade do século XX. Este conceito continua a influenciar o desenvolvimento de basicamente todos os campos da ciência. Entre as várias maneiras de sintetizar produtos enantiomericamente puros e/ou enriquecidos,

²⁴ Quintard, A.; Darbost, U.; Vocanson, F.; Pellet-Rostaing, S.; Lemaire, M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 1926.

²⁵ Dieleman, C.; Steyer, S.; Jeunesse, C.; Matt, D. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2001**, *17*, 2508.

²⁶ Gaeta, C.; de Rosa, M.; Fruilo, M.; Sociante, A.; Neri, P. *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 2333.

²⁷ Amato, M. E.; Ballistreri, F. P.; Pappalardo, A.; Tomaselli, G. A.; Toscano, R. M.; Williams, D. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *16*, 3562.

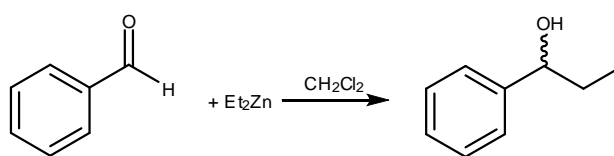
²⁸ Ru, M.; ZhenXiang, X.; ZhiTang, H.; ChuanFeng, C. *Sci. China Ser. B-Chem.* **2009**, *52*, 505.

os métodos catalíticos (ou seja, quando as transformações químicas são controladas por uma pequena quantidade de compostos quirais) são considerados como os mais atraentes²⁹.

A obtenção de espécies enantiomericamente puras é um dos maiores desafios na química fina e de medicamentos. A este respeito, a catálise enantiosseletiva tem sido um método frequentemente usado na indústria, e que cumpre esta finalidade³⁰.

2.2.3. Calix[*n*]arenos aplicados como catalisadores organometálicos em reações de adição a carbonila

Um dos principais obstáculos encontrados em algumas áreas da síntese orgânica é a construção de sistemas catalíticos para a formação de ligações carbono-carbono (C-C). As reações de adição à carbonila são um dos métodos mais eficientes e extensivamente aplicados para a formação de ligações C-C. Estes métodos são empregados para o preparo de álcoois por meio de reações de adição de dietilzinco a aldeídos sendo formado um centro estereogênico em uma única etapa química (**Esquema 3**). A reação tem relevância industrial na obtenção de substâncias com aplicações em química fina, indústria farmacêutica, fragrância, agroquímica, etc³¹.



Esquema 3: Reação de adição de dietilzinco ao benzaldeído.

²⁹ Dalko, P. I. *Enantioselective Organocatalysis Reactions and Experimental Procedures*, Wiley-VCH, **2007**.

³⁰ Quintard, A.; Darbost, U.; Vocanson, F.; Pellet-Rostaing, S.; Lemaire, M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 1926.

³¹ Mestres, R. *Green Chem.* **2004**, *6*, 583.

Dessa maneira o desenvolvimento de reações de formação de ligações C-C em versões assimétricas é um tópico desafiador em síntese orgânica³².

Recentemente, calix[*n*]arenos e resorcinarenos foram descritos como plataforma para a construção de catalisadores para adição enantiosseletiva de dietilzinco ao benzaldeído^{28,33}. Os melhores resultados foram alcançados utilizando resorcinarenos como ligantes quirais, e os ee obtidos variaram de 5 a 52 %. Neste contexto justifica-se o emprego de calix[4]arenos quirais para o desenvolvimento de novos sistemas catalíticos para as reações de adição a compostos carbonílicos em versões assimétricas.

É importante ressaltar que, estruturalmente, os calix[*n*]arenos podem ser modificados tanto na coroa superior quanto na coroa inferior. Essas modificações podem, por exemplo, modular a afinidade desses compostos por metais ou por outras moléculas orgânicas; conferindo diferenças de solubilidades; possibilitando a preparação de catalisadores ancorados em resinas ou sílicas, etc. De fato, os calix[*n*]arenos e as possibilidades de modificação que essas moléculas apresentam nos permite potencializar as aplicações envolvendo esses macrociclos nas diferentes áreas da química.

A química supramolecular tem crescido consideravelmente nos últimos 30 anos e teve avanços significativos na interface entre a química, biologia e física, demonstrando claramente sua inerente interdisciplinaridade. A interface entre a Química Supramolecular e reações assimétrica tem se mostrado uma

³² **a)** Li, C. J. *Chem. Rev.* **1993**, 93, 2023; **b)** Li, C. J.; Chan, T. H. *Tetrahedron* **1999**, 55, 11149; **c)** Kara, S.; Long, W. S.; Berheide, M.; Peper, S.; Niemeyer, B.; Liese, A. *J. Biotechnol.* **2011**, 152, 87; **d)** Xu, D.; Liu, Y.; Li, H.; Wang, Y. *Tetrahedron* **2010**, 66, 8899.

³³ **a)** Arnott, G.; Hunter, R. *Tetrahedron* **2006**, 62, 992; **b)** Arnott, G.; Hunter, R.; Su, H. *Tetrahedron* **2006**, 62, 977; **c)** Arnott, G.; Page, P. C. B.; Heaney, H.; Hunter, R.; Sampler, E. P. *Synlett* **2001**, 3, 412.

nova e elegante estratégia, para o desenvolvimento de novos sistemas catalíticos com potencial aplicação em síntese assimétrica.

Esta perspectiva nos permite propor o desenvolvimento de sistemas supramoleculares quirais, que envolvem a combinação dos preceitos da química supramolecular no desenvolvimento indutores assimétricos para reações enantiosseletivas.

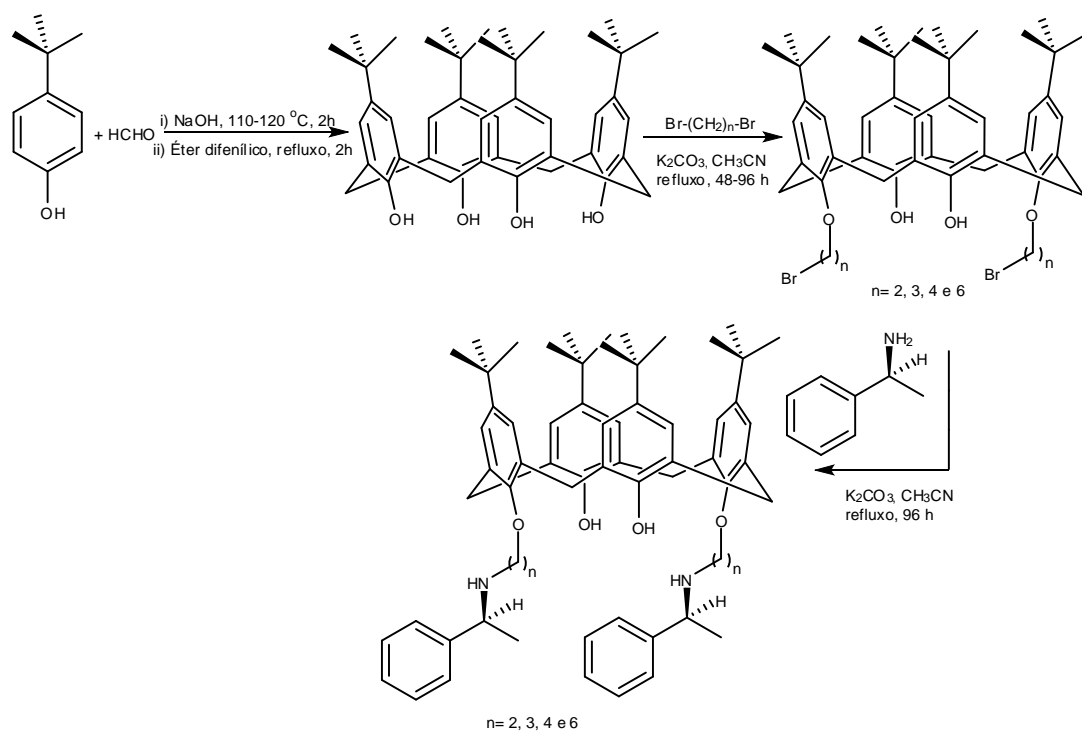
3. Objetivos

- 1) Sintetizar cinco derivados do *p-tert*-butilcalix[4]areno quirais;
- 2) Empregar os calix[4]areno quirais como ligantes assimétricos em reações de adição de dietilzinco ao benzaldeído.

4. Resultados e Discussões

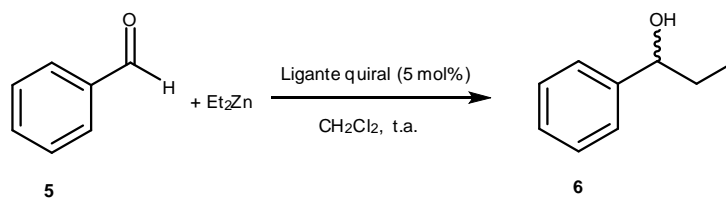
4.1. Síntese dos calix[4]areno quirais e aplicação

A primeira etapa do desenvolvimento do presente estudo consistiu na síntese dos calix[4]areno quirais. A proposta para a obtenção dos mesmos envolve três etapas, a partir do *p-tert*-butilcalix[4]areno, conforme descrito no **Esquema 4** (p. 18).



Esquema 4: Rota sintética para obtenção de derivados do *p-tert*-butilcalix[4]areno quirais.

A segunda etapa do desenvolvimento do presente trabalho consistiu na investigação dos calix[4]arenos quirais como indutores assimétricos na reação de adição de dietilzinco ao benzaldeído, conforme o **Esquema 5**.

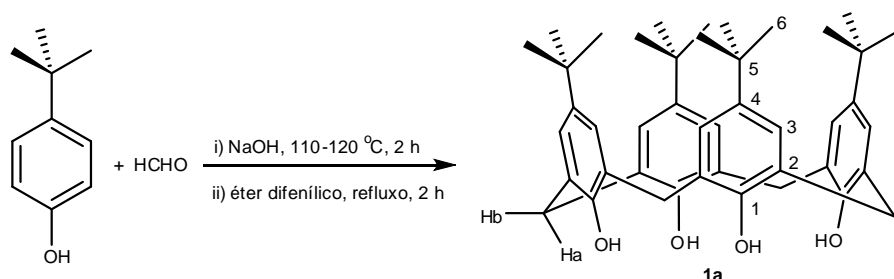


Esquema 5: Adição de dietilzinco ao benzaldeído na presença de ligantes assimétricos.

A seguir serão discutidas as metodologias de síntese utilizadas para o preparo dos compostos derivados do *p-tert*-butilcalix[4]areno a partir do *p-tert*-butilfenol, seguindo a proposta de trabalho apresentada no **Esquema 4**.

4.1.1. *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**1a**)³⁴

Para a obtenção do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**1a**), optou-se pelo método de síntese sequencial, que envolveu a condensação do *p*-*tert*-butilfenol em solução de formaldeído com meio básico e sob aquecimento, conforme mostrado no **Esquema 6**, seguindo a metodologia descrita por Gutsche⁹.



Esquema 6: Reação de obtenção do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**1a**).

O produto planejado foi obtido como um pó branco que foi posteriormente identificado e caracterizado como sendo o *p*-*tert*-butilcalix[4]areno, cujo rendimento de síntese foi de 55 %.

A obtenção da substância (**1a**) foi inicialmente investigada pela análise do seu espectro no infravermelho (**Figura 8**, p. 20).

O espectro no IV do composto (**1a**) apresentou uma banda larga em 3150 cm^{-1} , devido ao estiramento da ligação OH (**Figura 8**, p. 20). Comparando o espectro do material de partida *p*-*tert*-butilfenol (**Figura 9**, p. 21) com o do produto (**1a**), observa-se que no primeiro a banda devido ao estiramento da ligação OH é mais larga e aparece em um número de onda maior 3219 cm^{-1} . Essa alteração no formato e na posição das bandas está relacionada com o tipo de ligação de hidrogênio que os compostos apresentam³⁵.

³⁴ Os nomes sistemáticos atribuídos às substâncias daqui para frente estão de acordo com as regras da IUPAC, porém as numerações das estruturas para as atribuições nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C não seguem a recomendação da IUPAC.

³⁵ Barbosa, L. C. A. *Espectroscopia no Infravermelho na caracterização de compostos orgânicos*, ed. UFV, Viçosa, **2007**.

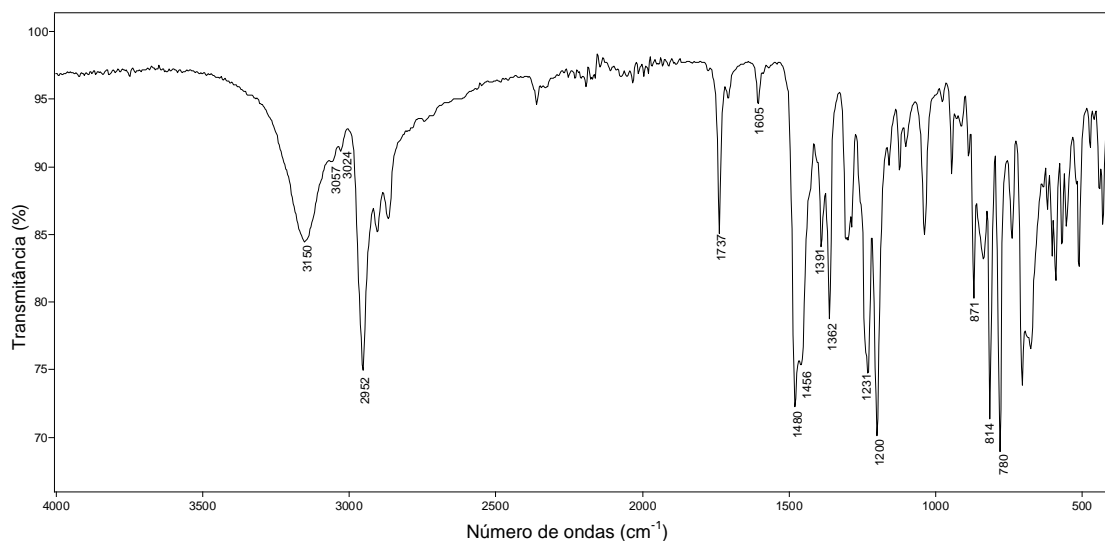


Figura 8: Espectro no IV (reflectância) do *p-tert*-butilcalix[4]areno (**1a**).

No *p-tert*-butilfenol, as ligações de hidrogênio são intermoleculares, enquanto que as do composto (**1a**) são predominantemente intramoleculares³⁶, o que justifica as diferenças observadas nos dois espectros. Ainda com relação ao espectro da **Figura 8**, podemos observar bandas de absorção em 2952 e 3024 cm^{-1} correspondentes ao estiramento das ligações $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ e $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$, respectivamente. As bandas referentes à deformação angular das metilas do grupo *tert*-butil estão presentes em 1362 e 1391 cm^{-1} .

³⁶ Andretti, G. D.; Pochini, A.; Ungaro, R. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2* **1983**, 1773.

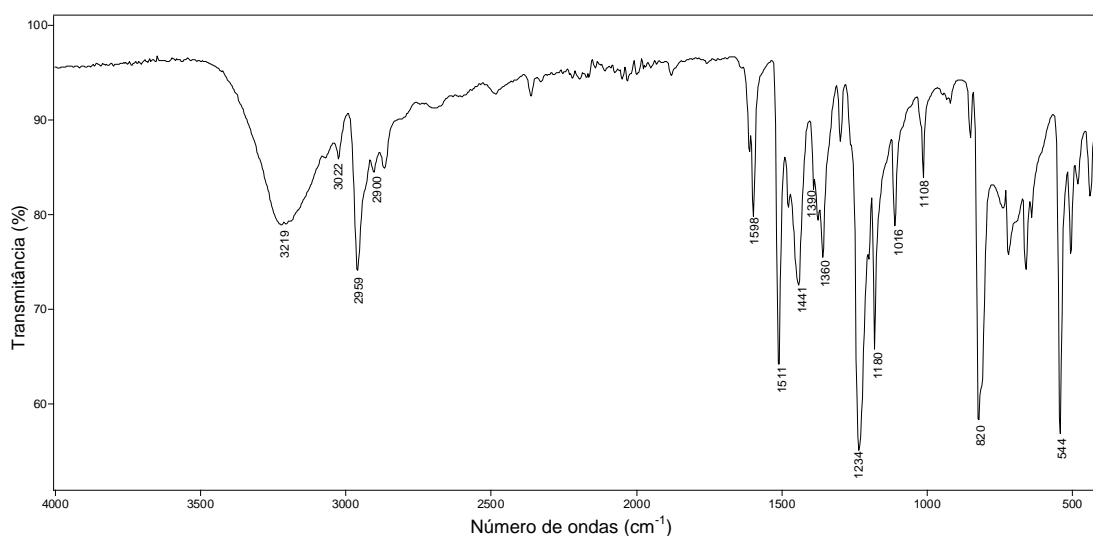


Figura 9: Espectro no IV (reflectância) do *p-tert*-butilfenol.

No espectro de RMN de ^1H de (**1a**), o sinal correspondente aos hidrogênios das hidroxilas foi observado em δ 10,34, esse sinal se encontra consideravelmente desblindado, devido a formação de ligações de hidrogênio intramoleculares (**Figura 10**, p. 22). Para análogos acíclicos os sinais para este tipo de átomo de hidrogênio ligado ao oxigênio são observados entre 7 e 9 ppm³⁷. Ainda com respeito ao espectro da (**Figura 10**, p. 22), o sinal para os átomos de hidrogênio aromáticos em δ 7,05 (8H, s, H-3) é típico de um anel aromático 1,2,4,6-tetrasubstituído e simétrico. Os sinais para os átomos de hidrogênios dos grupos metilênicos do composto (**1a**) foram observados em δ (3,49, H-a) e (4,26, H-b) na forma de dois dupletos largos integrados para quatro hidrogênios cada, com constante de acoplamento geminal de 13,0 Hz. Os hidrogênios H-a se encontram voltados para o interior da cavidade, dessa maneira encontram-se mais blindados. Já os hidrogênios H-b, os quais estão voltados para fora da cavidade, apresentam-se mais desblindados. A diferença nos deslocamentos químicos desses hidrogênios é observada devido ao fato

³⁷ Silverstein, R. M.; Welester, F. X. **2000**. Identificação de compostos orgânicos. 6 ed.

do *p-tert*-butilcalix[4]areno adotar a conformação cone como preferencial, o que faz com que tais hidrogênio sejam heterotópicos. Estes deslocamentos químicos e as multiplicidades são diagnósticos para a identificação do *p-tert*-butilcalix[4]areno¹⁶. O sinal para os átomos de hidrogênios metílicos do grupo *tert*-butil (H-6) foi observado em δ 1,21 como um simpleto integrado para 36 hidrogênios.

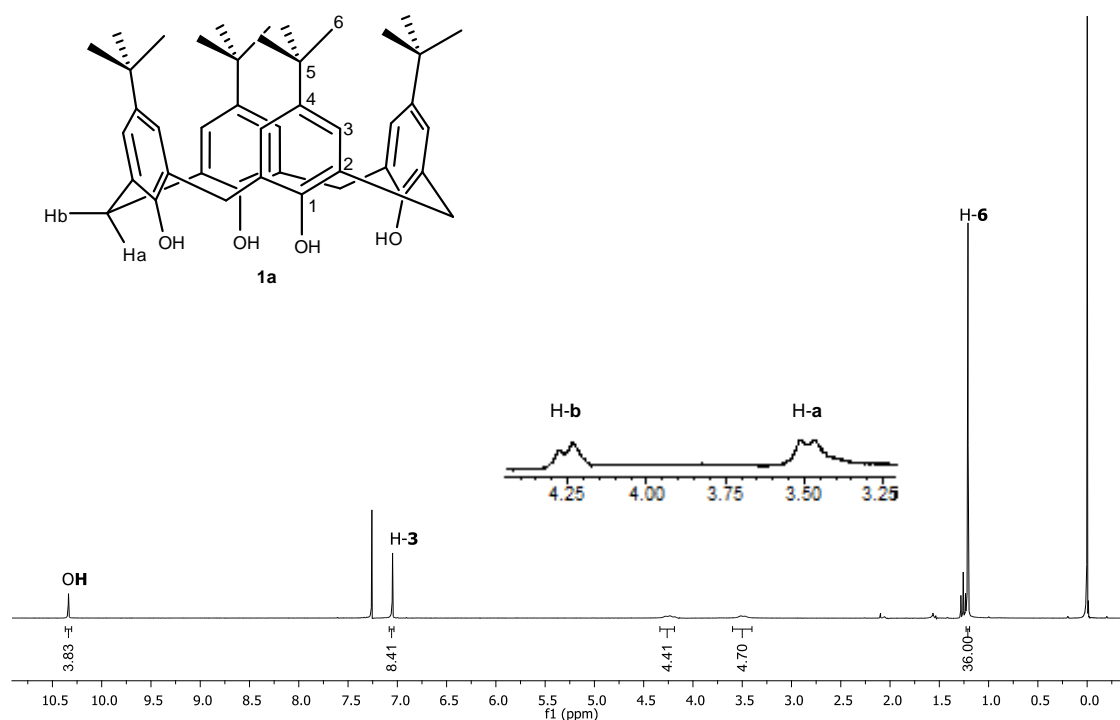


Figura 10: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{TMS} 0,00; 25 °C) do *p-tert*-butilcalix[4]areno (**1a**).

No espectro de RMN de ^{13}C de (**1a**), o sinal correspondente ao carbono C-6 (metilas do grupo *tert*-butila) foi observado em δ 31,6 (**Figura 11**, p. 23). O sinal correspondente aos carbonos metilênicos (ArCH_2Ar) foi observado em δ 32,8. O carbono quaternário do grupo *tert*-butila apresentou um sinal em δ 34,2.

Nota-se ainda no espectro da **Figura 11** (p. 23), os sinais dos carbonos aromáticos em: δ 126,1 (C-3), 127,9 (C-2), 144,6 (C-4) e 146,7 (C-1).

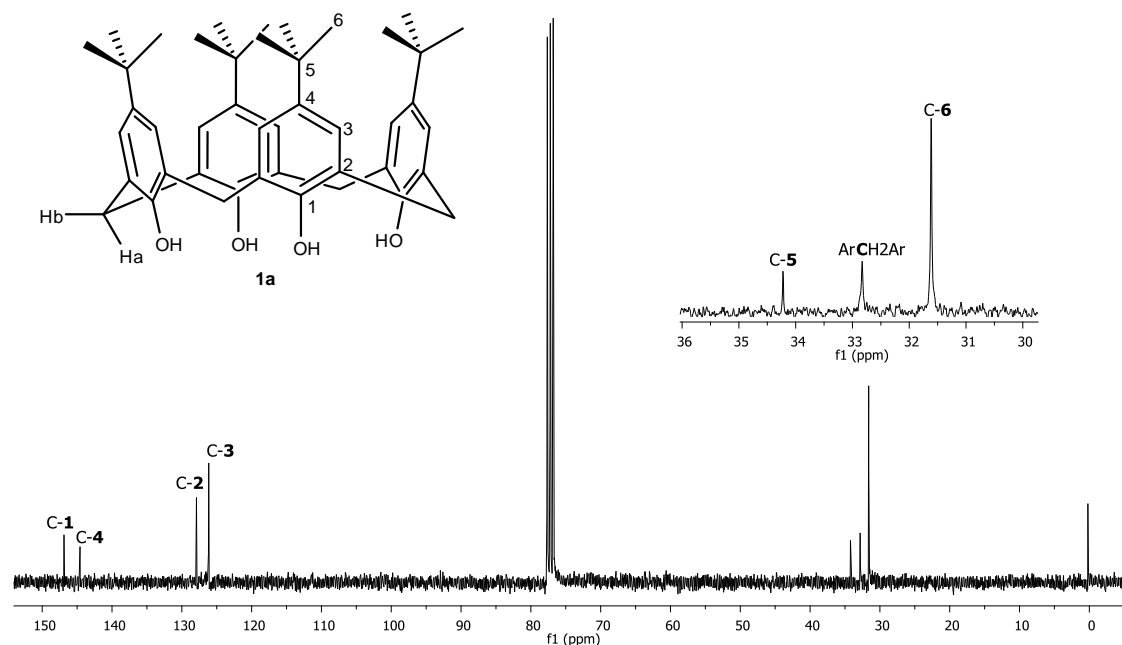


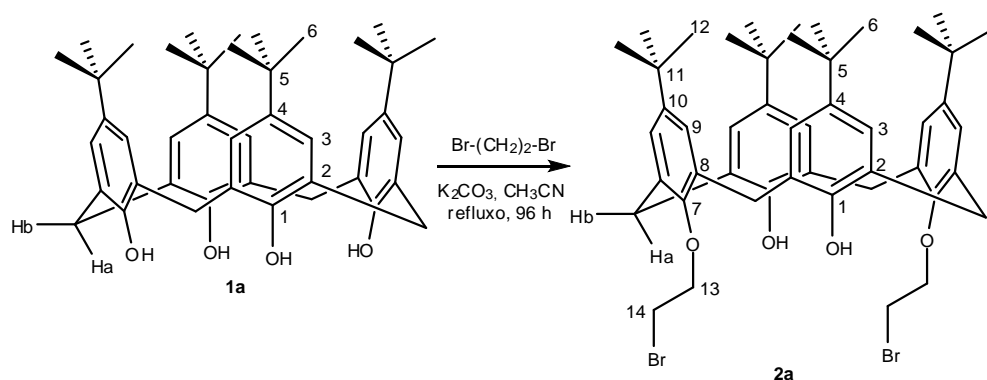
Figura 11: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**1a**).

4.1.2. 25,27-bis(2-bromoetoxi)-26,28-diidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**2a**)

Para a obtenção do 25,27-bis(2-bromoetoxi)-26,28-diidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**2a**), optou-se por um método adaptado do trabalho publicado por Wei e colaboradores³⁸, que envolveu a substituição dos átomos de bromo pelos átomos de oxigênio das hidroxilas do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno de acordo com o **Esquema 7** (p. 24). A síntese da substância (**2a**), foi realizada utilizando-se *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**1a**), 1,2-dibromoetano, em meio básico (K_2CO_3) e acetonitrila anidra como solvente, conforme **Esquema 7** (p. 24).

A preparação do composto (**2a**) é uma etapa importante para a obtenção dos calix[4]arenos quirais uma vez que torna possível o ancoramento de uma subunidade quiral a estrutura da substância (**2a**) por meio da substituição do átomo de bromo.

³⁸ Li, Z.; Ji, G.; Zhao, C.; Yuan, S.; Ding, H.; Huang, C.; Du, A.; Wei, M. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 3572.



Esquema 7: Reação de obtenção do 25,27-bis(2-bromoetoxi)-26,28-diidroxip-*tert*-butilcalix[4]areno (**2a**).

Após elaboração o produto planejado foi obtido como um pó branco que foi posteriormente identificado e caracterizado como sendo o 25,27-bis(2-bromoetoxi)-26,28-diidroxip-*tert*-butilcalix[4]areno (**2a**), cujo rendimento de síntese foi de 60 %.

A obtenção da substância (**2a**) foi inicialmente investigada pela análise do seu espectro no infravermelho (**Figura 12**, p. 25).

Analisando-se o espectro no infravermelho de (**2a**), observa-se uma banda em 3442 cm^{-1} , característica de estiramento da ligação O-H (**Figura 12**, p. 25). No produto (**2a**), o número de ligações de hidrogênio intramoleculares possíveis diminui, portanto as ligações O-H são mais fortes. Esse aumento na força da ligação O-H é devido à alquilação de dois grupos hidroxilas que ocasiona a quebra do cinturão de ligações de hidrogênio intramoleculares (**Figura 13**, p. 25).

Ainda a respeito do espectro da **Figura 12** (p. 25), podemos observar uma banda intensa de absorção em 1193 cm^{-1} correspondente ao estiramento assimétrico do sistema C-O-C. Nota-se também bandas de absorção abaixo de 3000 cm^{-1} correspondentes ao estiramento das ligações $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$.

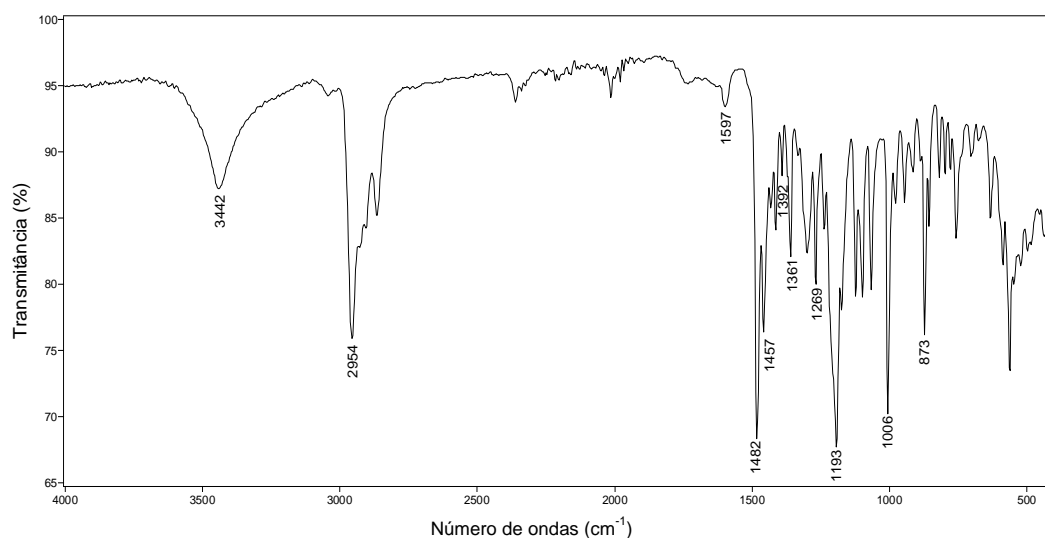


Figura 12: Espectro no IV (reflectância) do 25,27-bis(2-bromoetoxi)-26,28-diidroxip-*tert*-butilcalix[4]areno (**2a**).

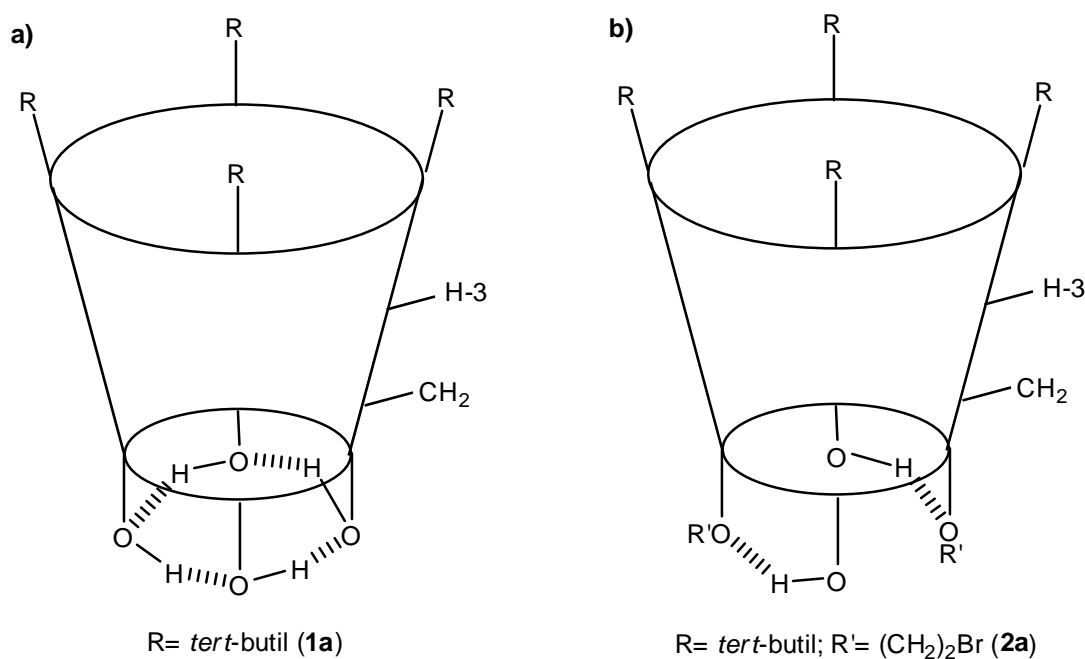


Figura 13: Desenho esquemático: **a)** *p*-*tert*-butilcalix[4]areno realizando o número máximo de ligações de hidrogênio possíveis, formando um “cinturão de ligações de hidrogênio”; **b)** composto (**2a**) onde o número de possibilidades de formação de ligações de hidrogênio intramoleculares é menor.

No espectro de RMN de ¹H de (**2a**), os sinais para os átomos de hidrogênio dos grupos metilênicos foram observados em δ 4,31 (4H, t, ³J=6,5 Hz, H-13) e 3,84 (4H, t, ³J=6,5 Hz, H-14) (**Figura 14**, p. 27). Outra informação importante que podemos inferir a respeito desses sinais, é que ocorreu à

alquilação em dois grupos hidroxilas (primeira evidência), uma vez que cada sinal está integrado para quatro hidrogênios.

O sinal observado em δ 6,92 (2H, s) foi atribuído aos átomos de hidrogênio das hidroxilas. A presença desse sinal é uma segunda evidência da alquilação em dois grupos hidroxilas, visto que está integrado para dois hidrogênios. Além disso, esse sinal se encontra blindado se comparado com o mesmo sinal no espectro do composto de partida (**1a**) δ 10,34 (4H, O-H). A explicação para essa última observação é a diminuição no número de ligações de hidrogênio intramoleculares possíveis para a substância (**2a**) (**Figura 13**, p. 25).

Nota-se ainda no espectro da **Figura 14** (p. 27), dois sinais referentes aos hidrogênios aromáticos em δ 6,79 (4H, s, H-9) e 7,06 (4H, s, H-3). A presença desses dois sinais está de acordo com o esperado, uma vez que a estrutura da substância (**2a**) contém dois anéis aromáticos distintos (substituintes em *para* diferentes).

Os sinais para os átomos de hidrogênios do grupo *tert*-butila foram observados em δ 0,95 (18H, s, H-12) e 1,29 (18H, s, H-6), diferentemente da substância (**1a**) onde os hidrogênios do grupo *tert*-butila apresentam apenas um sinal em δ 1,21 (**Figura 14**, p. 27). Novamente a explicação para esse fato é devido à presença de anéis aromáticos distintos.

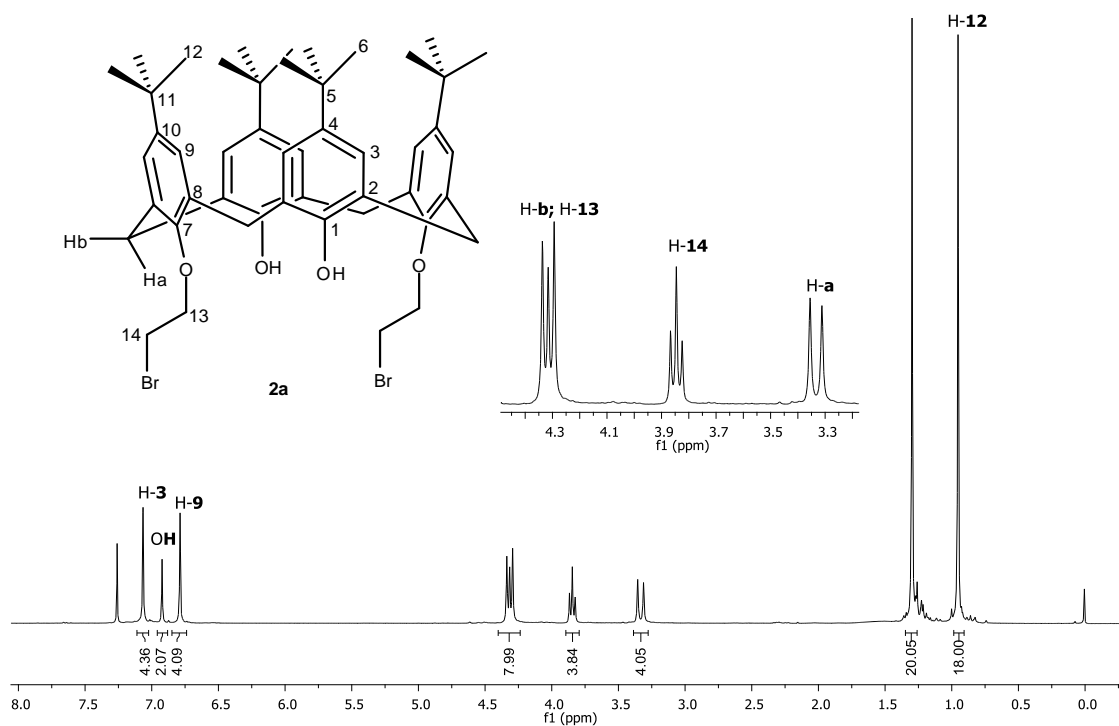


Figura 14: Espectro de RMN de ¹H (300,069 MHz; CDCl₃; δ_{TMS} 0,00; 25 °C) do 25,27-bis(2-bromoetoxi)-26,28-diidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**2a**).

No espectro de RMN de ¹³C de (**2a**), o sinal correspondente ao carbono diretamente ligado ao átomo de oxigênio (OCH₂) foi observado em δ 75,4 e o sinal do BrCH₂ foi observado em δ 29,3 (**Figura 15**, p. 28).

Nota-se ainda no espectro da **Figura 15** (p. 28) a presença de oito sinais para os carbonos aromáticos, entre eles: δ 125,1 (C-9), 132,3 (C-8), 141,6 (C-10) e 150,5 (C-7). Os sinais supramencionados correspondem aos carbonos dos anéis aromáticos que possuem como substituinte na posição *para* o grupo 2-bromoetoxi. Os sinais dos carbonos dos anéis aromáticos ligados ao grupo OH foram observados em δ 125,7 (C-3), 127,7 (C-2), 147,2 (C-4) e 149,3 (C-1).

Os sinais dos carbonos do grupo *tert*-butila foram observados em δ 31,0 (C-12), 31,7 (C-6), 33,8 (C-11), 33,9 (C-5).

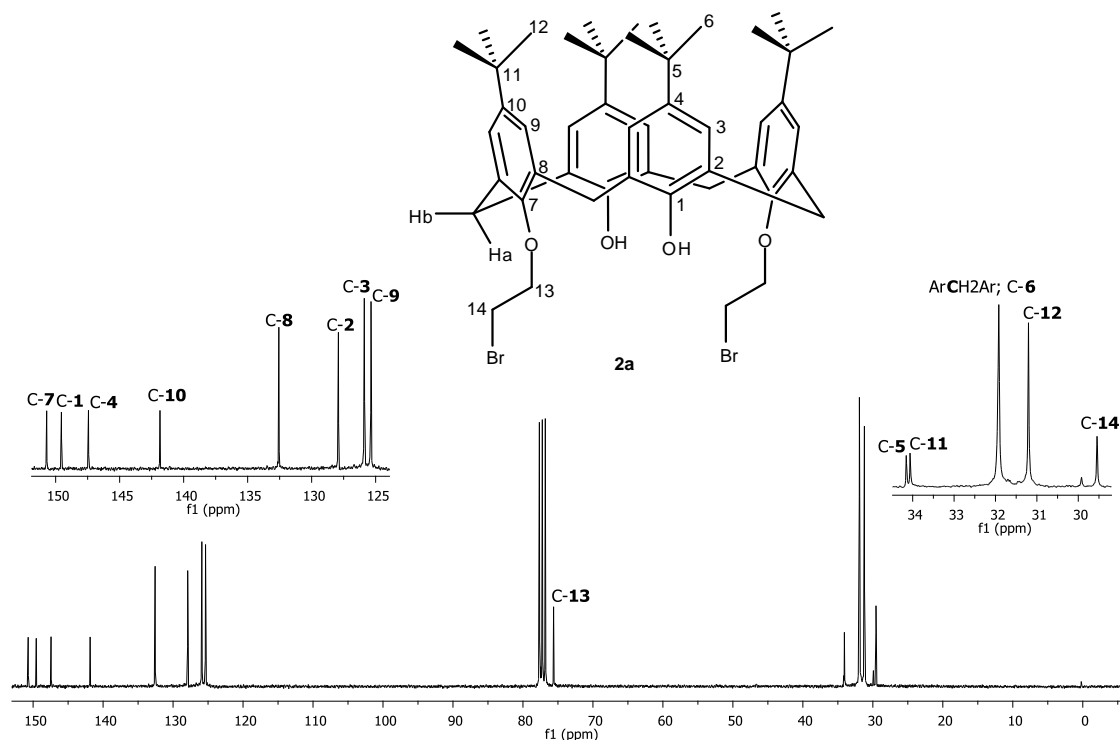


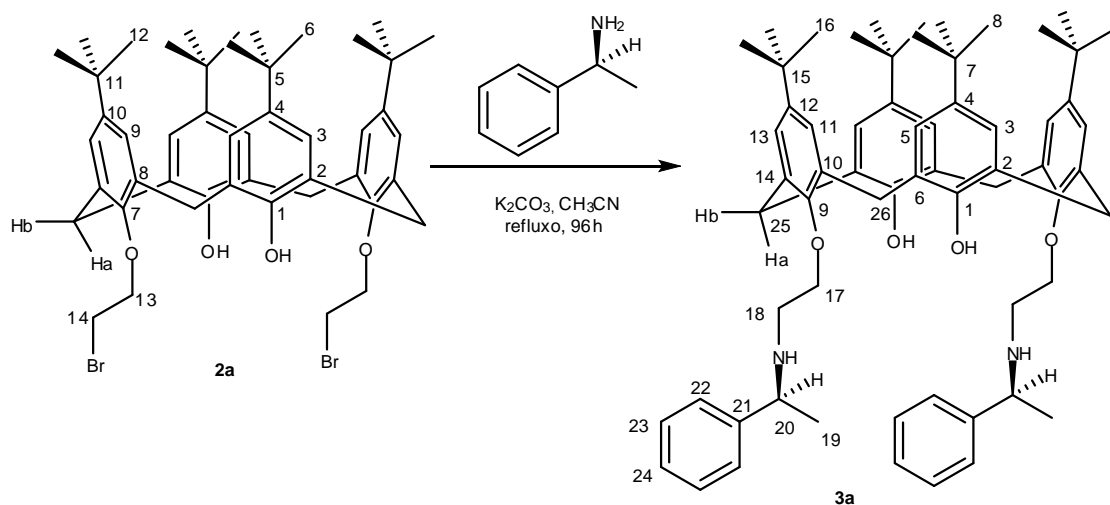
Figura 15: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do 25,27-bis(2-bromoetoxi)-26,28-diidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**2a**).

Neste ponto devido à alta similaridade das moléculas (**2b-d**) com o composto (**2a**) optou-se por não discutir os dados espectroscópicos (IV e RMN de ^1H e ^{13}C). Os espectros no IV e de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos para as substâncias (**2b-d**) encontram-se nos anexos (p. 129). Os dados espectroscópicos assim como as metodologias empregadas para a obtenção das substâncias (**2b-d**) encontram-se descritos na parte experimental (p. 47).

4.1.3. 25,27-bis[2-(*S*)-1-feniletilamina]etoxi]-26,28-diidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**3a**)

A obtenção do 25,27-bis[2-(*S*)-1-feniletilamina]etoxi]-26,28-diidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**3a**), envolveu a substituição do átomo de bromo pelo átomo de nitrogênio da (*S*)-1-feniletilamina de acordo com o **Esquema 8** (p. 27). A síntese da substância (**3a**), foi realizada utilizando-se 25,27-bis(2-bromoetoxi)-

26,28-diidroxip-*tert*-butilcalix[4]areno (**2a**), (*S*)-1-feniletilamina*, em meio básico (K_2CO_3) e acetonitrila anidra como solvente, conforme **Esquema 8**.



Esquema 8: Reação de obtenção do 25,27-bis[2-(*S*)-1-feniletilamina]etoxi]-26,28-diidroxip-*tert*-butilcalix[4]areno (**3a**).

Após a elaboração o produto planejado foi obtido como um pó branco que foi posteriormente identificado e caracterizado como sendo o 25,27-bis[2-(*S*)-1-feniletilamina]etoxi]-26,28-diidroxip-*tert*-butilcalix[4]areno (**3a**), cujo rendimento de síntese foi de 51,5 %.

Analisando-se o espectro no infravermelho de (**3a**), observou-se uma banda em 3317 cm^{-1} , característica de estiramento da ligação O-H de fenóis realizando ligações de hidrogênio intramoleculares (**Figura 16**, p. 30). A banda de absorção correspondente ao estiramento da ligação N-H na região do espectro de $3550\text{-}3250\text{ cm}^{-1}$, não pôde ser observada porque ficou encoberta pela banda de estiramento da ligação O-H.

* De acordo com a disponibilidade de reagentes em nosso laboratório, ora foi utilizada a (*S*)-1-feniletilamina ora a (*R*)-1-feniletilamina.

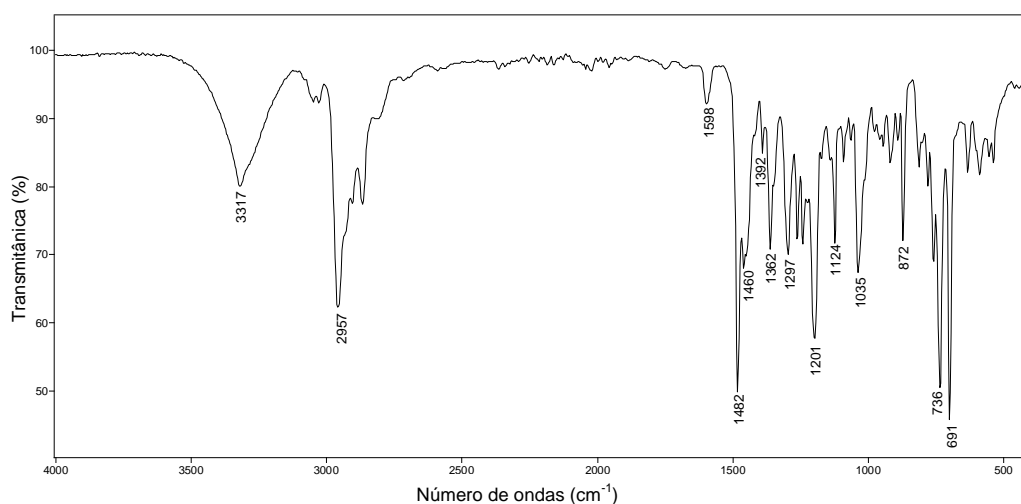


Figura 16: Espectro no IV (reflectância) do 25,27-bis[2-(*S*)-1-feniletilamina)etoxi]-26,28-diidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**3a**).

Os dados de espectroscopia de RMN (^1H e ^{13}C) estão em completo acordo com informações previamente publicadas na literatura³⁹. O espectro de RMN de ^1H de (**3a**), apresenta sinais em δ 7,24-7,29 (2H, m, H-**24**), 7,37 (4H, t, $^3J=7,1$ Hz, H-**23**) e 7,48 (4H, d, $^3J=7,1$ Hz, H-**22**). O sinal correspondente aos hidrogênios H-**24** encontra-se sobreposto ao sinal do CHCl_3 (**Figura 17**, p. 31). Os sinais supracitados correspondem aos hidrogênios aromáticos provenientes da (*S*)-1-feniletilamina. Situação similar ocorre para os sinais observados em δ 1,50 (6H, d, $^3J=6,6$ Hz) e 4,01-4,06 (2H, m) que são atribuídos aos átomos de hidrogênios H-**19** e H-**20**, respectivamente.

Ainda com relação ao espectro da **Figura 17** (p. 31), um aspecto importante são os sinais para os átomos de hidrogênio H-**18** que encontram-se em ambientes químicos diferentes, já que esses hidrogênios são vizinhos ao centro estereogênico da molécula. Os sinais para tais, são observados em δ_{H} 2,90-2,96 (2H, m, H-**18'**) e 3,06-3,13 (2H, m, H-**18''**).

³⁹ Liu, X. X.; Zheng, Y. S.; Mo, W. L. *Chinese Chem. Lett.* **2006**, *17*, 1169.

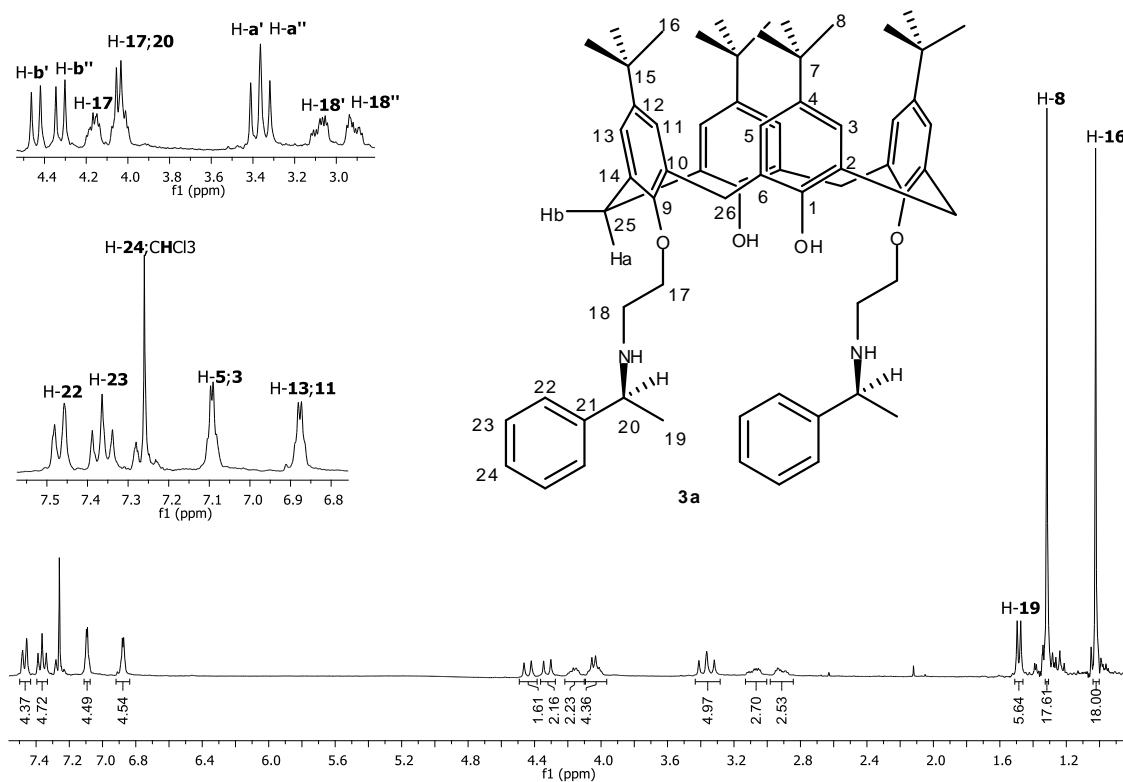


Figura 17: Espectro de RMN de ¹H (300,069 MHz; CDCl₃; δ_{CHCl₃} 7,27; 25 °C) do 25,27-bis[2-(S)-1-feniletilamina]etoxi]-26,28-diidroxi-p-tert-butilcalix[4]areno (**3a**).

No espectro de RMN de ¹³C da substância (**3a**), o sinal correspondente ao carbono diretamente ligado ao átomo de nitrogênio (HNCH₂) foi observado em δ 46,4 (**Figura 18**, p. 32). Esse deslocamento químico é diagnóstico para a caracterização da substância (**3a**), uma vez que no composto de partida (**2a**) esse mesmo carbono está ligado ao átomo de bromo e o sinal correspondente foi observado em δ 29,3.

Nota-se ainda no espectro da **Figura 18** (p. 32), os sinais dos carbonos aromáticos provenientes da (S)-1-feniletilamina: δ 126,9 (C-24, C-22), 128,4 (C-23) e 145,6 (C-21). Os deslocamentos químicos dos átomos C-19 e C-20 correspondem, respectivamente, a δ 25,0 e 58,3. A presença de todos os sinais supracitados comprova a ocorrência da substituição dos átomos de bromo pela amina, levando a formação do composto (**3a**).

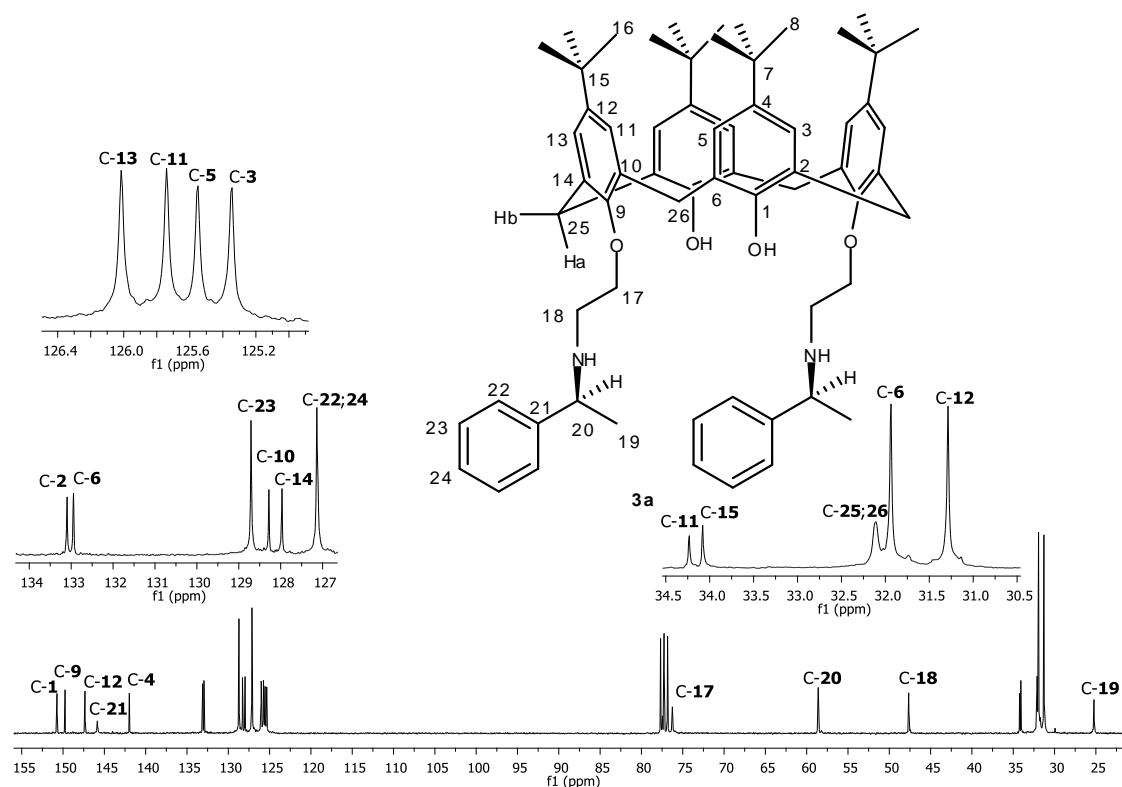


Figura 18: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do 25,27-bis[2-(S)-1-feniletamina)etoxi]-26,28-diidroxip-*tert*-butilcalix[4]areno (**3a**).

A substância (**3a**) se encontra na conformação cone, uma vez que o sinal dos carbonos ArCH_2Ar possui um deslocamento químico de δ 31,8 o que está consistente com a regra de Mendoza e Prados⁴⁰. Essa regra nos diz que se o sinal para os átomos de carbonos metilênicos responsáveis pela junção dos anéis fenólicos dos calix[4]arenos tem um deslocamento químico em cerca de 31 ppm, podemos afirmar que a molécula está preferencialmente na conformação cone. Portanto, em uma primeira análise, assumindo que a substância (**3a**) possui conformação cone poderíamos precipitadamente concluir que se trata de uma molécula simétrica.

Para determinar a presença de simetria na estrutura de um calix[*n*]areno um dos métodos utilizados é a análise da simetria dos anéis fenólicos. Se o

⁴⁰ Jaime, C.; Mendoza, J.; Prados, P.; Nieto, P. M.; Shched, C. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 10, 3372.

anel fenólico é assimétrico, então, neste caso, a estrutura do calix[*n*]areno também é assimétrica³⁹.

No caso de um composto simétrico como o material de partida (**2a**), os espectros de RMN de ¹H e ¹³C (seção 4.1.2., p. 23), indicam a presença de um plano de simetria nos dois anéis aromáticos distintos presente na estrutura do composto (**2a**). Portanto, observa-se apenas dois simpletos para os hidrogênios aromáticos e apenas oito sinais de carbonos aromáticos provenientes dos dois anéis aromáticos distintos. Na ausência de plano de simetria deveríamos observar quatro simpletos para os hidrogênios aromáticos e doze sinais de carbonos aromáticos provenientes dos dois anéis aromáticos distintos e isso pode ser observado nos espectros de RMN de ¹H e ¹³C da substância (**3a**).

No espectro de RMN de ¹H de (**3a**), os átomos de hidrogênios aromáticos associados aos dois anéis aromáticos distintos podem ser descritos da seguinte maneira: 6,86 (2H, d, ⁴J=2,4 Hz, H-11); 6,89 (2H, d, ⁴J=2,4 Hz, H-13); 7,10 (2H, d, ⁴J=2,4 Hz, H-3); 7,11 (2H, d, ⁴J=2,4 Hz, H-5) (**Figura 17**, p. 31). Além disso é importante ressaltar, que os átomos de hidrogênio do grupos metilênicos que fazem a junção dos anéis aromáticos (ArCH₂Ar), estão presentes como quatro dupletos no espectro de RMN de ¹H de (**3a**) (**Figura 17**, p. 31).

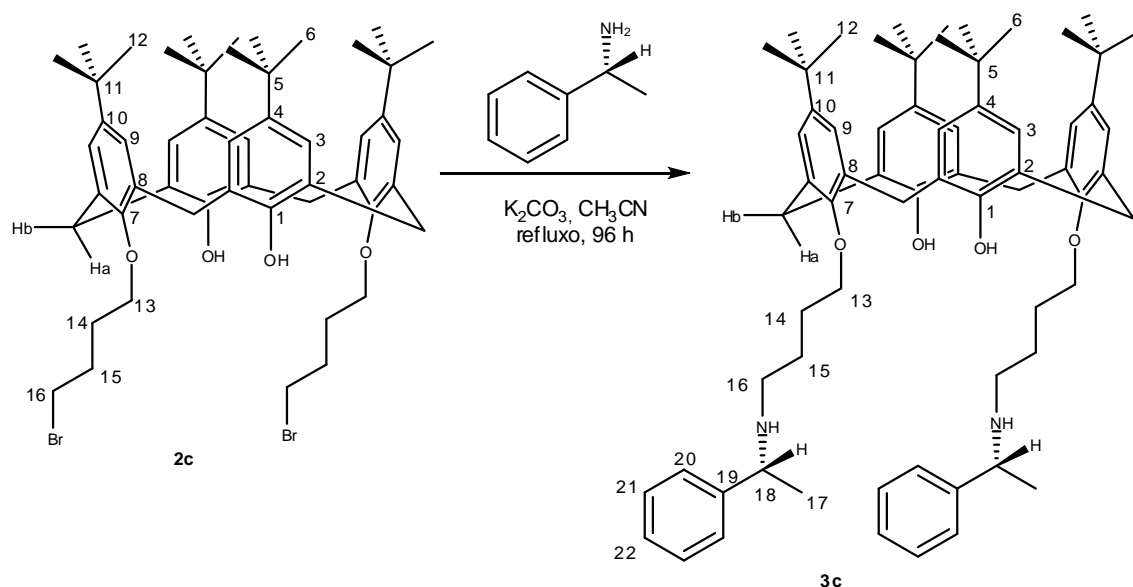
No espectro de RMN de ¹³C de (**3a**), os átomos de carbono aromáticos são observados em: δ (atribuição) 125,1 (C-3); 125,3 (C-5); 125,5 (C-11); 125,7 (C-13); 127,7 (C-14); 128,0 (C-10); 132,7 (C-6); 132,8 (C-2); 141,7 (C-4); 147,1 (C-12); 149,5 (C-9); 150,5 (C-1) (**Figura 18**, p. 32).

A explicação para a assimetria do calix[4]areno (**3a**), se baseia no fato de que a repulsão estérica entre as duas moléculas de (*S*)-1-feniletilamina impedem a livre rotação em torno da ligação C-N³⁹.

Da mesma forma que para os compostos (**2b-2d**) optamos por não discutir detalhadamente os dados espectroscópicos (IV, RMN de ¹H e ¹³C) devido a similaridade das estruturas (**3b-d** e **4a**) com o composto (**3a**). Foram discutidas apenas algumas informações consideradas relevantes para o entendimento da caracterização dessas substâncias. Os espectros no IV e de RMN de ¹H e ¹³C obtidos para as substâncias (**3b-d** e **4a**) que não estão presentes nos resultados e discussões encontram-se nos anexos (p. 129). Os dados espectroscópicos assim como as metodologias empregadas para obtenção das substâncias (**3b-d** e **4a**) estão descritos na parte experimental (p. 47)

4.1.4. 25,27-bis[4-(*R*)-1-feniletilamina)butoxi]-26,28-diidroxip-*tert*-butilcalix[4]areno (3c**)**

A síntese do 25,27-bis[4-(*R*)-1-feniletilamina)butoxi]-26,28-diidroxip-*tert*-butilcalix[4]areno (**3c**), foi realizada nas mesmas condições descritas para a substância (**3a**) (seção 4.1.3., p. 28) conforme **Esquema 9** (p. 35).



Esquema 9: Reação de obtenção do 25,27-bis[4-(*R*)-1-feniletilamina]butoxi]-26,28-diidroxi-*p-tert*-butilcalix[4]areno (**3c**).

Para a substância (**3c**) um aspecto relevante é a presença de um plano de simetria passando pelos dois anéis fenólicos, outro através dos dois anéis aromáticos onde dois grupos hidroxilas foram alquilados, além de outro plano passando por dois grupos metilênicos. Tal afirmação está respaldada nos dados obtidos através dos espectros de RMN de ^1H (**Figura 19**, p. 36) e ^{13}C (**Figura 20**, p. 37) da substância (**3c**).

No espectro de RMN de ^1H da substância (**3c**), observam-se apenas dois sinais para os átomos de hidrogênio aromáticos provenientes dos anéis fenólicos em: δ 6,93 (4H, s, H-9) e 7,04 (4H, s, H-3) (**Figura 19**, p. 36).

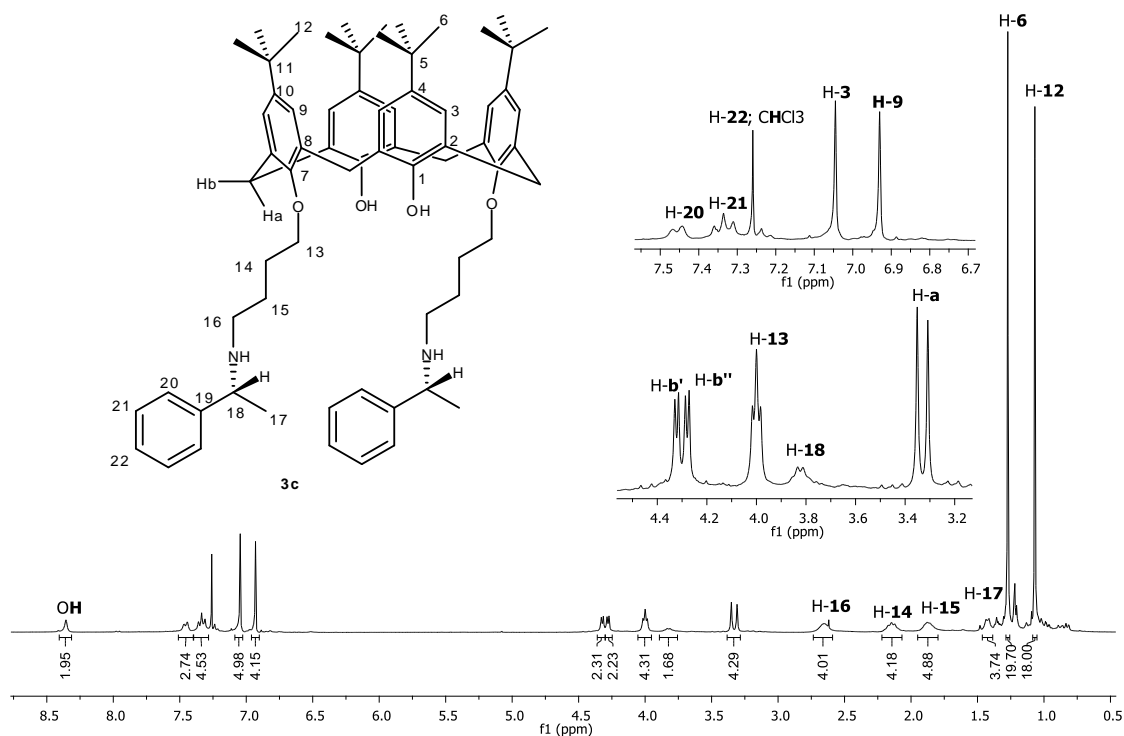


Figura 19: Espectro de RMN de ¹H (300,069 MHz; CDCl₃; δ_{CHCl₃} 7,27; 25 °C) do 25,27-bis[4-(*R*)-1-feniletilamina]butoxi]-26,28-diidroxi-*p-tert*-butilcalix[4]areno (**3c**).

O espectro de RMN de ¹³C de (**3c**), apresenta apenas cinco sinais para os átomos de carbono aromáticos, que são observados em: δ (atribuição) 127,50 (C-3 e C-9); 133,05 (C-2 e C-8); 141,24 (C-4 e C-10); 150,03 (C-1); 151,06 (C-7) (**Figura 20**, p. 37).

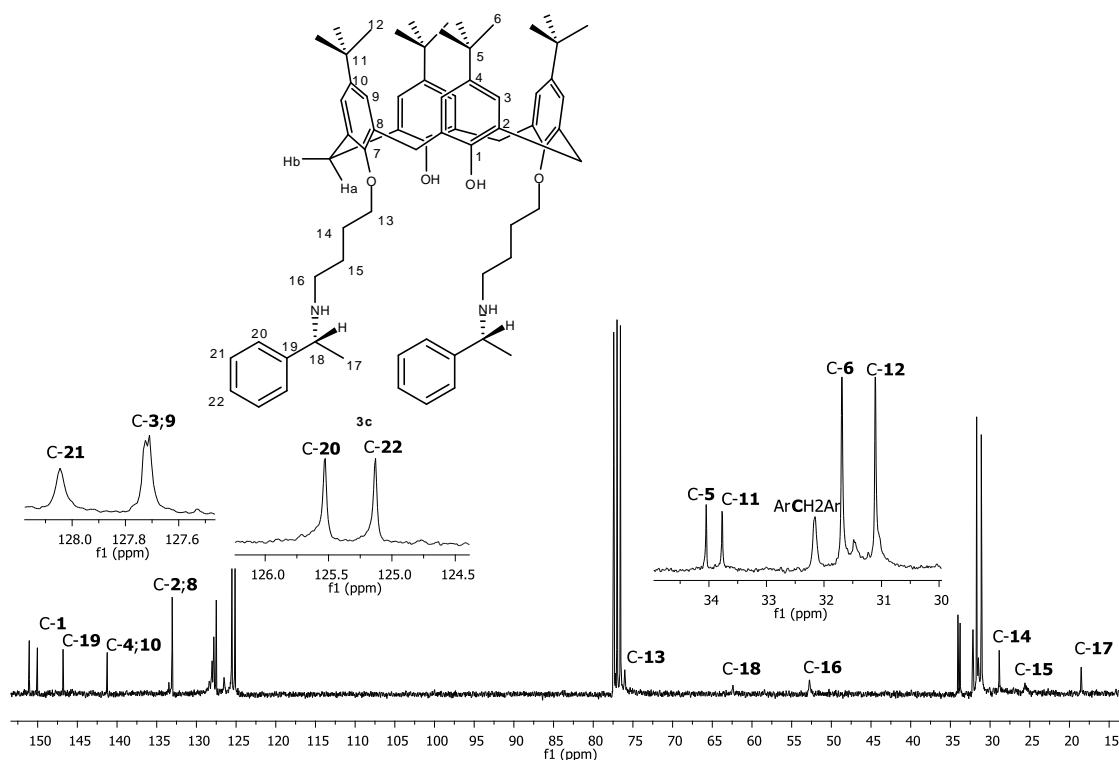


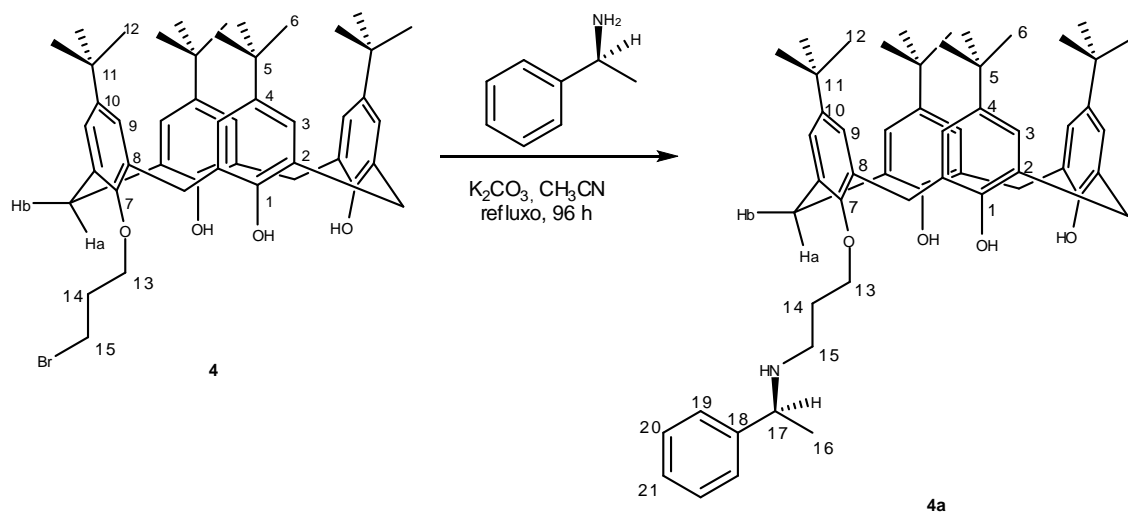
Figura 20: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do 25,27-bis[4-(*R*)-1-feniletilamina]butoxi]-26,28-diidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**3c**).

A presença de planos de simetria na estrutura do composto (**3c**), pode ser explicada pela não existência da repulsão estérica entre as duas porções oriundas da (*R*)-1-feniletilamina no composto (**3c**). Tal repulsão antes observada para o composto (**3a**) (seção 4.1.3., p. 28) não é observada para a substância (**3c**). Esta afirmação está fundamentada no aumento da cadeia alquílica ligada ao oxigênio o que aumenta a flexibilidade da molécula não sendo observado mais a restrição com relação a livre rotação da ligação C-N.

4.1.4. 25-[3-(*S*)-1-feniletilamina]propoxi]-26,27,28-triidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**4a**)

A obtenção do 25-[3-(*S*)-1-feniletilamina]propoxi]-26,27,28-triidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**4a**), envolveu a substituição de um átomo de bromo pelo átomo de nitrogênio da (*S*)-1-feniletilamina de acordo com o **Esquema 10** (p.

38). A síntese da substância (**4a**), foi realizada nas mesmas condições descritas para a substância (**3a**) (seção 4.1.3., p. 28) conforme **Esquema 10** apresentado a seguir.



Esquema 10: Reação de obtenção do 25-[3-(S)-1-feniletilamina)propoxi]-26,27,28-triidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**4a**).

Em uma das tentativas de se obter o composto (**2b**) que contém dois grupos alquil ligados ao *p*-*tert*-butilcalix[4]areno, obtivemos o composto (**4**) que não foi totalmente caracterizado. O composto (**4**) foi empregado para a obtenção do composto (**4a**) que também foi utilizado como indutor quiral na tentativa de se obter o (\pm)-1-fenilpropan-1-ol.

Após a elaboração o produto planejado foi obtido como um pó branco que foi posteriormente identificado e caracterizado como sendo o 25-[3-(S)-1-feniletilamina)propoxi]-26,27,28-triidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**4a**), cujo rendimento de síntese foi de 49 %.

Analisando-se o espectro no infravermelho de (**4a**), observou-se uma banda em 3296 cm⁻¹, característica de estiramento da ligação O-H de fenóis realizando ligações de hidrogênio intramoleculares (**Figura 21**, p. 39). A banda

de absorção correspondente ao estiramento da ligação N-H foi observada em 3499 cm^{-1} .

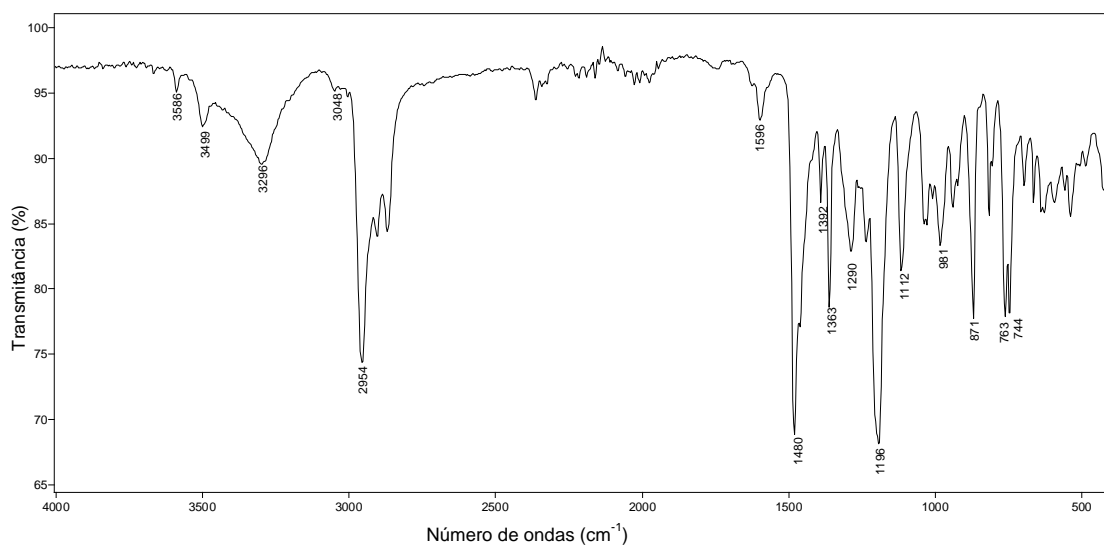


Figura 21: Espectro no IV (reflectância) do 25-[3-(*S*)-1-feniletilamina)propoxi]-26,27,28-triidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**4a**).

O espectro de RMN de ^1H de (**4a**), apresenta sinais em δ 7,33-7,41 (4H, m, H-**19** e H-**20**) e 7,22-7,29 (1H, t, $^3J=7,1$ Hz, H-**21**). O sinal correspondente aos hidrogênios H-**21** encontra-se sobreposto ao sinal do CHCl_3 (**Figura 22**, p. 40). Os sinais supracitados correspondem aos hidrogênios aromáticos provenientes da (*S*)-1-feniletilamina. Situação similar ocorre para os sinais observados em δ 1,42 (3H, d, $^3J=6,6$ Hz) e 4,07-4,21 (1H, m) que são atribuídos aos átomos de hidrogênios H-**16** e H-**17**, respectivamente.

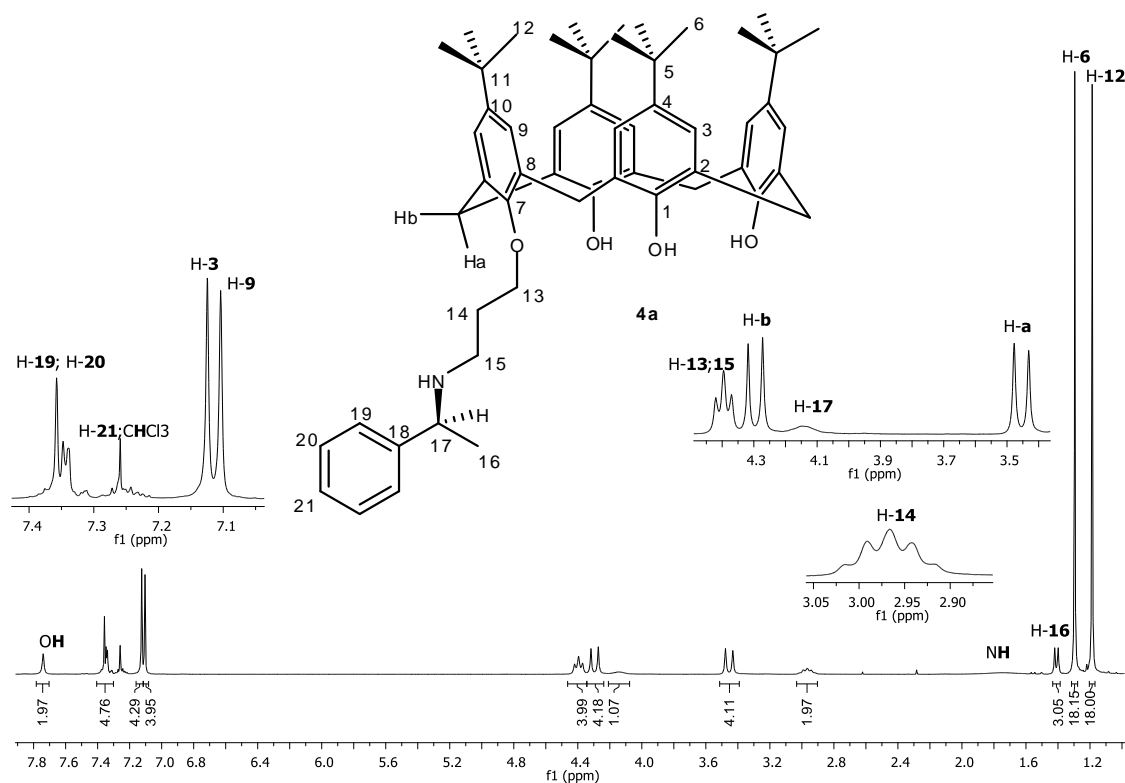


Figura 22: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) do 25-[3-(*S*)-1-feniletilamina]propoxi]-26,27,28-triidroxi-*p-tert*-butilcalix[4]areno (**4a**).

No espectro de RMN de ^{13}C da substância (**4a**), o sinal correspondente ao carbono diretamente ligado ao átomo de nitrogênio (HNCH_2) foi observado em δ 51,3 (**Figura 23**, p. 41).

Nota-se ainda no espectro da **Figura 23** (p. 41), os sinais dos carbonos aromáticos provenientes da (*S*)-1-feniletilamina: δ 126,8 (C-21), 127,3 (C-19), 128,5 (C-20) e 147,3 (C-18). Os deslocamentos químicos dos átomos C-16 e C-17 correspondem, respectivamente, a δ 25,6 e 77,2. A presença de todos os sinais supracitados comprova a ocorrência da substituição do átomo de bromo pela amina, levando a formação do composto (**4a**).

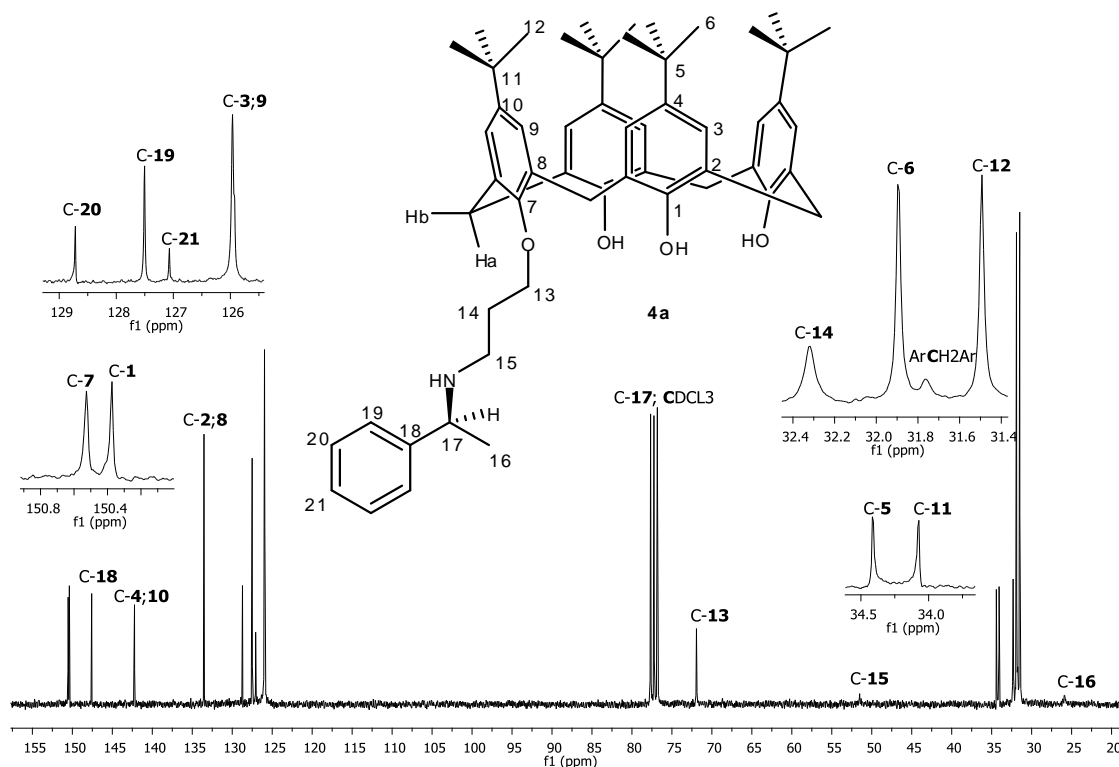
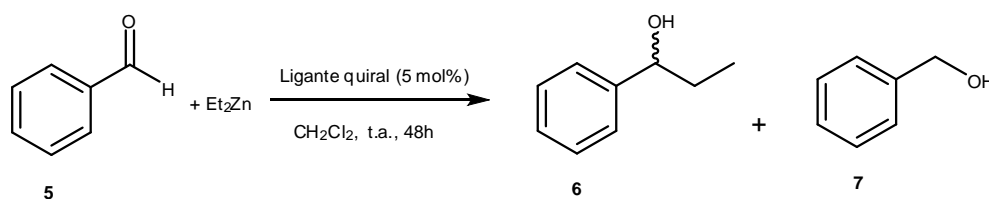


Figura 23: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do 25-[3-(S)-1-feniletilamina]propoxi]-26,27,28-triidroxi-*p-tert*-butilcalix[4]areno (**4a**).

4.2. Reação de adição de dietilzinco ao benzaldeído

Após a obtenção dos *p-tert*-butilcalix[4]arenos quirais (**3a**, **3b**, **3c**, **3d** e **4a**) a próxima etapa para o desenvolvimento desse estudo foi a realização das reações de adição de dietilzinco ao benzaldeído na presença dos ligante assimétricos. Para tanto foram empregados os ligantes quirais (**3a**, **3b**, **3c**, **3d** e **4a**) na complexação com o dietilzinco e posterior adição ao benzaldeído na tentativa de se obter o 1-feniletan-1-ol enantiomericamente puro ou enriquecido (**Esquema 11**). Os resultados encontram-se sumarizados na **Tabela 2** (p. 42).



Esquema 11: Adição de dietilzinco ao benzaldeído na presença de ligantes quirais.

Tabela 2: Porcentagem dos produtos obtidos nas reações de adição de dietilzinco ao benzaldeído na presença dos ligantes quirais (**3a**, **3b**, **3c**, **3d** e **4a**)

Entrada	Ligante quiral	5 (%)	6 (%)	7 (%)	ee (%)
1	nenhum	48	25	27	0,0
2	(S)-1-feniletilamina	49	25	26	0,0
3	(3a)	41	21	38	0,0
4	(3b)	55	16	29	0,0
5	(3c)	24	27	49	0,0
6	(3d)	26	31	43	0,0
7	(4a)	23	36	41	0,0

Antes de iniciarmos os testes catalíticos empregando os ligantes quirais (**3a-3d** e **4a**) descritos anteriormente, foi realizado um experimento teste sem a presença dos ligantes quirais. O álcool racêmico (**6**) foi obtido com 25 % de rendimento após 48 horas de reação, e juntamente com o mesmo foi obtido o fenilmetanol (**7**) (27 %). Portanto, fica clara a existência de uma competição entre a reação de adição de dietilzinco ao benzaldeído com a reação de redução do mesmo. O motivo pelo qual a reação de redução acontece ainda não está bem estabelecido na literatura, mas provavelmente é devido a impurezas presentes na solução de dietilzinco comercial utilizada⁴¹.

A resolução dos enantiômeros foi realizada em um cromatógrafo a gás, equipado com coluna quiral. Um exemplo de cromatograma está representado na **Figura 24** (p. 43). Os excessos enantioméricos foram calculados com base nas áreas de cada enantiômero segundo a equação:

$$ee = \frac{A_1 - A_2}{A_1 + A_2} \times 100$$

Onde A_1 e A_2 correspondem à área de cada um dos enantiômeros.

⁴¹ Scarpi, D.; Occhiato, E. G.; Guarna, A. *Tetrahedron:Asymmetry* **2009**, *20*, 340.

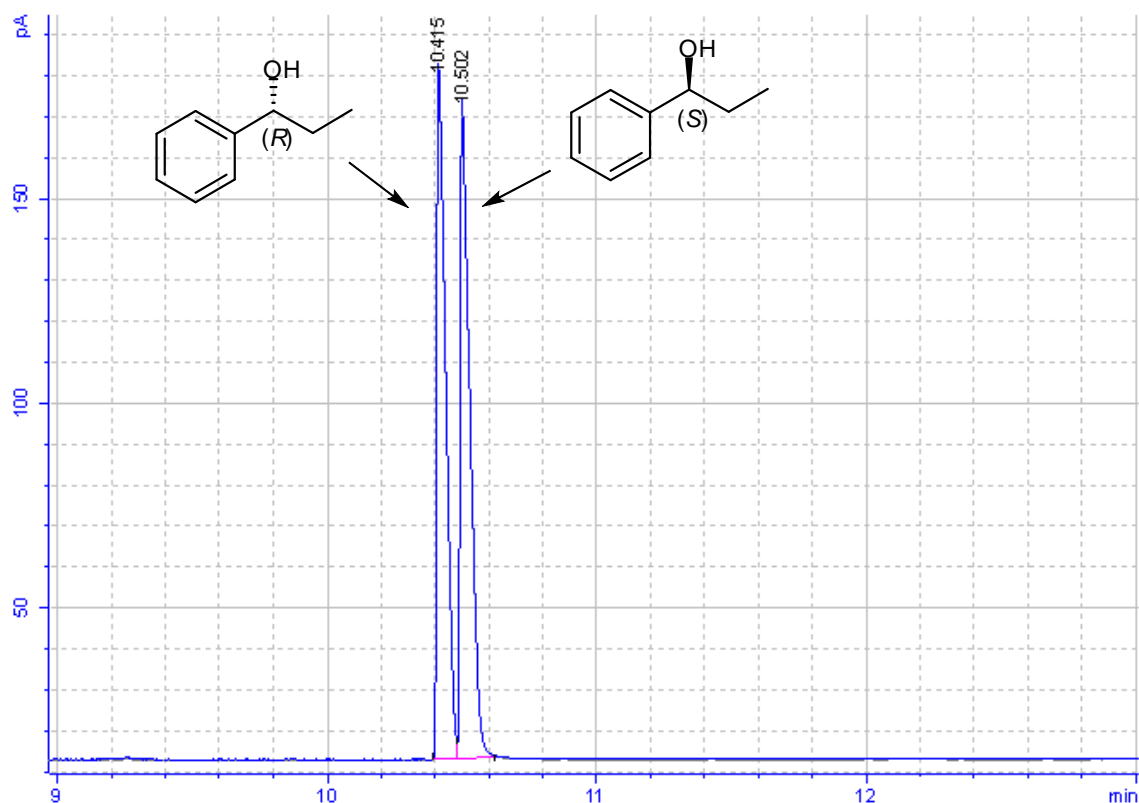


Figura 24: Cromatograma (CG-FID) representativo para a resolução de uma amostra (\pm)-1-fenilpropan-1-ol (**6**).

Na literatura⁴² a configuração absoluta desses compostos foi determinada por fortificação do (\pm)-**6**, com o (*R*)-**6**. Dessa maneira, observou-se que o primeiro pico é correspondente ao (*R*)-**6** e o segundo referente ao (*S*)-**6**.

Após os testes catalíticos sem a presença de ligante quiral e a resolução dos enantiômeros por cromatografia gasosa quiral realizamos os testes catalíticos na presença dos indutores quirais (**3a-3d** e **4a**). Os resultados dos excessos enantioméricos encontram-se sumarizados na **Tabela 2** (p. 42). Após analisarmos os dados apresentados na **Tabela 2** (p. 42) podemos constatar que nenhum dos ligantes quirais foi efetivo na indução enantiosseletiva na adição dietilzínco ao benzaldeído para a obtenção do 1-fenilpropan-1-ol.

⁴² Mantovani, S. M. Dissertação de Mestrado – Unicamp – 2007.

4.3. Caracterização dos produtos da adição de dietilzinco ao benzaldeído

4.3.1. 1-fenilpropan-1-ol (6)

A síntese do 1-fenilpropan-1-ol foi realizada a partir do benzaldeído e dietilzinco em diclorometano anidro, na presença dos ligantes quirais (**3a-3d** e **4a**) conforme o **Esquema 11** (p. 41).

No espectro de RMN de ^1H da substância (**6**), podemos observar um sinal em δ 0,93 (3H, t, $^3J=7,4$ Hz) correspondente aos hidrogênios do grupo metila (**Figura 25**). O sinal em δ 1,69-1,97 (3H, m) foi atribuído aos átomos de hidrogênio H-2 e do grupo hidroxila. O tripleto em δ 4,60 com constante de acoplamento igual a 6,6 Hz e integrado para um hidrogênio foi atribuído ao hidrogênio H-1. Nota-se ainda, o sinal em δ 7,25-7,39 (5H, m) correspondente aos átomos de hidrogênio aromáticos.

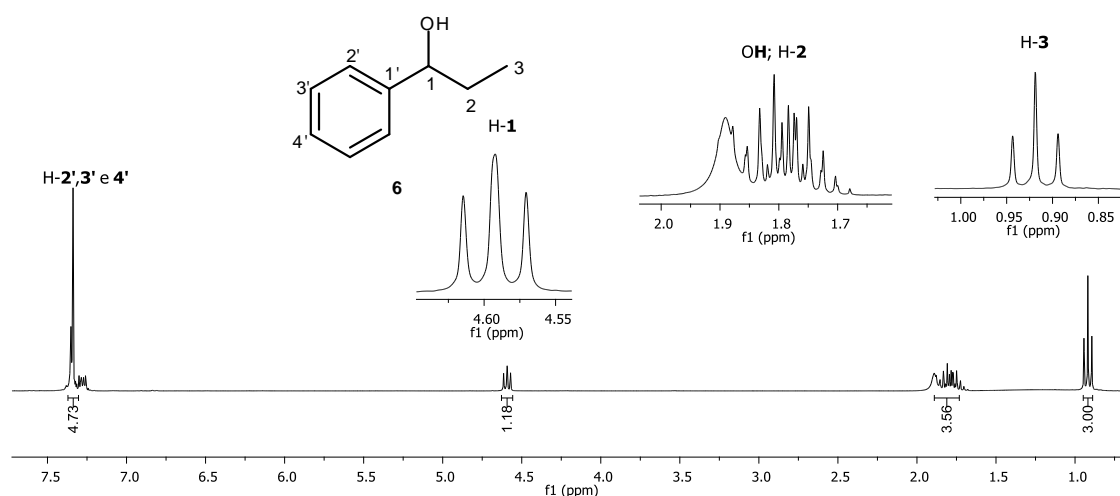


Figura 25: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) do 1-fenilpropan-1-ol (**6**).

No espectro de RMN de ^{13}C da substância (**6**), o sinal correspondente ao carbono diretamente ligado à hidroxila (HOCH) foi observado em δ 76,0 (**Figura 26**). Os sinais em δ 10,1 e 31,8 foram atribuídos aos átomos de carbono C-3 e C-2, respectivamente. Os sinais para os átomos de carbonos aromáticos foram observados em: δ 125,9 (C-2'); 127,5 (C-4'); 128,4 (C-3'); 144,5 (C-1').

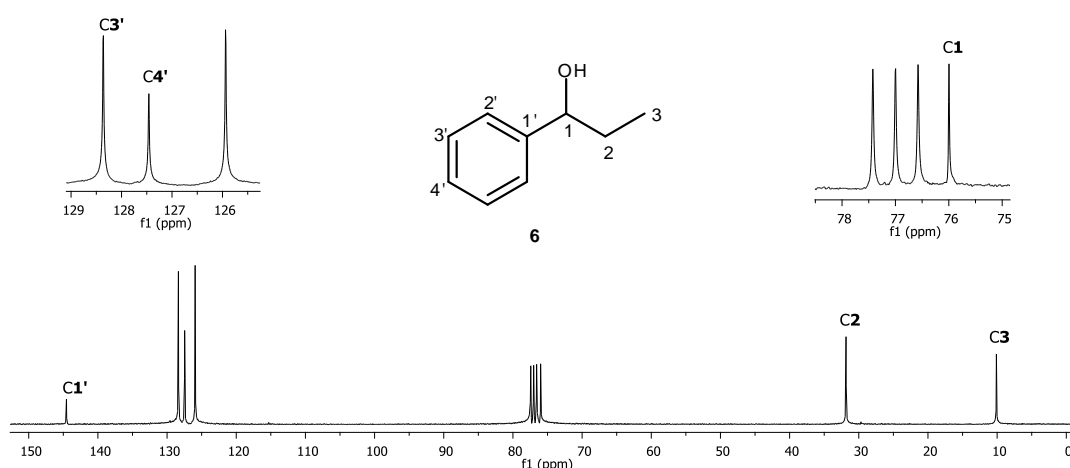


Figura 26: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do 1-fenilpropan-1-ol (**6**).

4.3.2. fenilmetanol (**7**)

O fenilmetanol foi obtido como um subproduto da reação de adição de dietilzinco ao benzaldeído. O reação se processou na presença dos ligantes quirais (**3a-3d e 4a**) e diclorometano anidro, conforme o **Esquema 11** (p. 41).

No espectro de RMN de ^1H da substância (**7**), podemos observar um sinal em δ 2,16 (1H, s) correspondente ao hidrogênio do grupo hidroxila (**Figura 27**, p. 46). O simpleto em δ 4,67 integrado para dois hidrogênios foi atribuído aos hidrogênios H-1. Nota-se ainda, o sinal em δ 7,24-7,41 (5H, m) correspondente aos átomos de hidrogênio aromáticos.

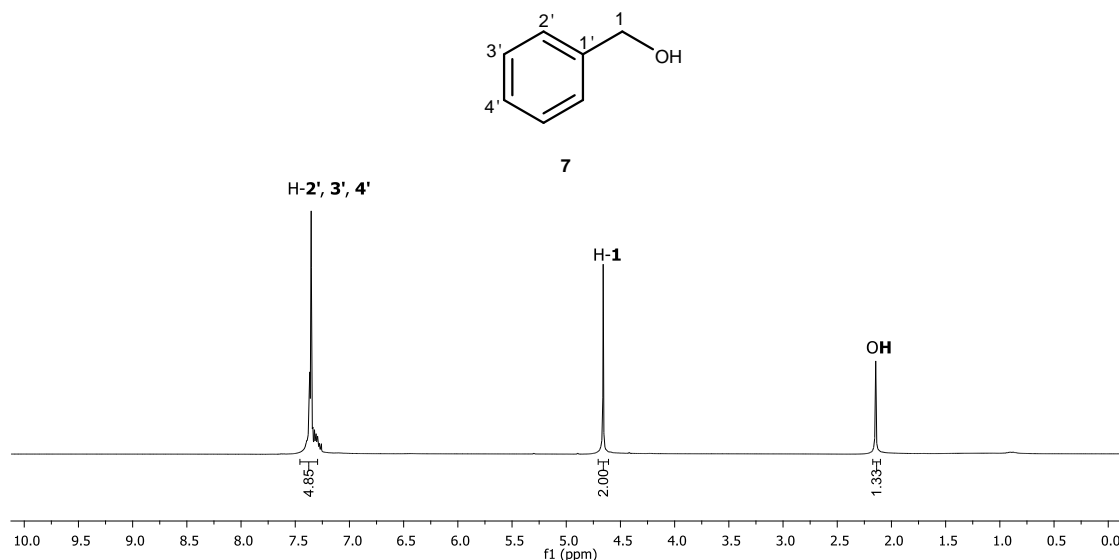


Figura 27: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) do fenilmetanol (**7**).

No espectro de RMN de ^{13}C da substância (**7**), o sinal correspondente ao carbono diretamente ligado à hidroxila (HOCH_2) foi observado em δ 65,2 (**Figura 28**). Os sinais para os átomos de carbonos aromáticos foram observados em: δ 126,9 (C-2'); 127,5 (C-4'); 128,5 (C-3'); 140,8 (C-1').

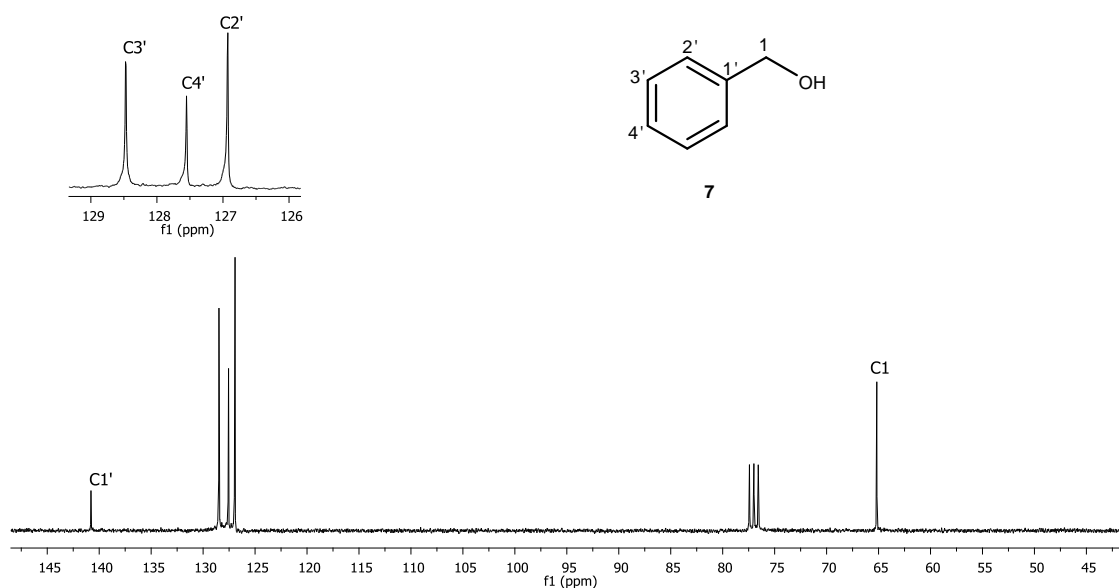


Figura 28: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do fenilmetanol (**7**).

5. Conclusão

Neste trabalho, foi empregado uma metodologia adaptada para a síntese de quatro derivados bromados do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**2a-d**), sendo o composto (**2d**) inédito. Além disso, foram sintetizados cinco derivados do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno ligados a (*S*) ou (*R*)-1-feniletilamina (**3a-3d** e **4a**). As substâncias (**3b-3d** e **4a**) não foram descritas na literatura até o momento. Os calixarenos (**2a-d**, **3a**, **3d** e **4a**) foram obtidos na forma de cristais e estão em fase final de caracterização de suas estruturas por raio-X.

As substâncias **3a-3d** e **4a**, foram empregadas como ligantes quirais em reações de adição de dietilzinco ao benzaldeído, não sendo observado nenhum excesso enantiomérico nas condições reacionais empregadas. Apesar de não ter sido observado excesso enantiomérico, as reações na presença dos ligantes quirais (**3c**, **3d** e **4a**) apresentaram maior conversão do benzaldeído em (\pm)-1-fenilpropan-1-ol.

Como próximas etapas deste trabalho visualizamos testar os ligantes quirais em concentrações mais elevadas no intuito de se obter alguma indução assimétrica na adição de dietilzinco ao benzaldeído assim como empregar outros aldeídos com grupos doadores e retiradores de elétrons. Também visualizamos empregar a RMN para caracterizarmos os complexos calixarenos/dietilzinco para planejamento racional de novos ligantes.

6. Parte Experimental

6.1 Considerações Gerais

As reações envolvendo reagentes sensíveis à umidade foram realizadas sob atmosfera de nitrogênio.

Os solventes comerciais utilizados foram previamente tratados e destilados. O diclorometano (CH_2Cl_2) foi seco por refluxo sobre hidreto de cálcio por três horas, seguido de destilação. O solvente foi armazenado sobre peneira molecular de 4Å, em um recipiente fechado e sob atmosfera de nitrogênio⁴³.

Para secagem da acetonitrila (CH_3CN) inicialmente adicionou-se peneira molecular em pó de 4Å e manteve-se sob agitação por um período de 24 horas. Após esse tempo, adicionou-se hidreto de cálcio e a mistura foi mantida sob refluxo por 24 horas. Em seguida o solvente foi recolhido por destilação.

O benzaldeído (100 mL) foi primeiramente submetido a uma extração com solução saturada de bicarbonato de sódio (3x 50 mL). Em seguida foi destilado sob pressão reduzida⁴⁴. O dietilzinco (1M, solução em heptano) foi adquirido junto a Sigma-aldrich, lote 03511DH.

As análises por cromatografia em camada delgada (CCD) foram realizadas empregando-se placas cromatográficas de sílica-gel impregnadas sobre alumínio (espessura de 250 μm). As separações cromatográficas em coluna foram feitas utilizando-se sílica-gel (63-200 mesh), como fase estacionária.

As placas de CCD, após observadas em uma câmara contendo luz ultravioleta, foram reveladas com solução aquosa de permanganato de potássio.

Os espectros no infravermelho foram realizados em espectrômetro FT-IR Varian 660 equipado com GladiATR (Departamento de Química – UFV).

Os experimentos unidimensionais de RMN ^1H , ^{13}C , DEPT e bidimensionais ^1H , ^1H COSY e ^1H , ^{13}C Hetcor foram realizados em

⁴³ Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F.; Perrin, D. R. *Purification of Laboratory Chemicals*, 2th Ed., Pergamon Press, New York, **1980**.

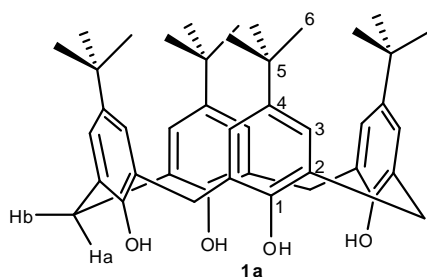
⁴⁴ Vogel, A. I. *Química Orgânica: Análise Orgânica Qualitativa*, 3^a Ed., ed. Ao Livro Técnico, **1996**.

espectrômetro *Varian Mercury* 300 MHz ($B_0=7\ T$), operando a 300,069 MHz para ^1H e 75,459 MHz para ^{13}C (Departamento de Química – UFV). Todos os espectros de RMN foram adquiridos a $25,0 \pm 0,1\ ^\circ\text{C}$.

A discriminação dos enantiômeros foi feita em cromatógrafo Agilent 6850 e detector de ionização de chama (FID), equipado com injetor automático e coluna capilar de sílica fundida Chrompack®, de fase quiral Chirasil- β -ciclodextrina (25 m x 0,25 mm x 0,25 μm) (Instituto de Química- UNICAMP). As condições de análise foram com fluxo constante de H_2 de 1 mL/min, com injetor a $220\ ^\circ\text{C}$ e detector a $240\ ^\circ\text{C}$, e as injeções feitas no modo “split”, com injeção de cerca de 1 μL na concentração de 1 mg/mL. A programação utilizada foi de 40–180 $^\circ\text{C}$ com rampa de aquecimento à 10 $^\circ\text{C}/\text{min}$, manteve-se a 180 $^\circ\text{C}$ por 5 min.

6.2. Descrição dos compostos sintetizados

6.2.1. *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (1a)



Para um balão bitubulado de 1000 mL, foram transferidos o *p*-*tert*-butilfenol (50 g, 0,33 mol), hidróxido de sódio (0,6 g, 15 mmol) e formaldeído (solução 40%, 31 mL), que foram submetidos à agitação mecânica. A mistura reacional foi aquecida entre 110-120 $^\circ\text{C}$. Com o progresso da reação, a solução originalmente transparente tornou-se amarelo limão luminoso e com a remoção da água, a mistura reacional adquiriu uma consistência espessa (‘goma’) com

coloração amarela dourada. Observou-se também a formação de um pouco de espuma e a mistura reacional se expandiu antes de regredir ao volume original. Após um período de aproximadamente duas horas adicionou-se 400 mL de éter difenílico e manteve-se uma agitação magnética por uma hora, até que toda a massa semi-sólida fosse solubilizada. Em seguida a mistura reacional foi aquecida sob um fluxo de nitrogênio para a remoção de água residual formada durante a reação. Posteriormente, submeteu-se o sistema a refluxo por duas horas. Durante o refluxo notou-se uma mudança na cor da mistura reacional de amarelo para marrom escuro. Decorrido esse período, o aquecimento foi removido e a mistura reacional atingiu a temperatura ambiente, sendo o produto precipitado pela adição de 750 mL de acetato de etila. A mistura resultante foi agitada por 30 minutos e depois foi colocada sob repouso por mais 30 minutos. O sólido foi filtrado e lavado com 50 mL de acetato de etila, 100 mL de ácido acético e 50 mL de água nessa ordem⁹. Esse procedimento levou à obtenção de um pó branco com 29,9 g (46,1 mmol) com 55 % de rendimento.

DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3150, 3057, 3024, 2952, 1737, 1605, 1480, 1456, 1391, 1362, 1231, 1200, 871, 814, 780.

RMN de ¹H (300,069 MHz; CDCl₃; δ_{TMS} 0,00) δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição); 1,29 (36H, s, H-6); 3,50 (4H, dl, ²J= 13,0 Hz, H-a); 4,26 (4H, dl, ²J= 13,0 Hz, H-b); 7,05 (8H, s, H-3); 10,34 (4H, s, OH).

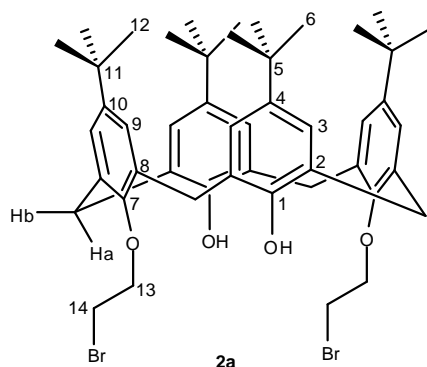
RMN de ¹³C (75,459 MHz; CDCl₃; δ_{CDCl_3} 77,00): δ (atribuição); 31,6 (C-6); 32,8 (ArCH₂Ar); 34,2 (C-5); 126,1 (C-3); 127,9 (C-2); 144,6 (C-4); 146,7 (C-1).

6.3. Procedimento geral para obtenção dos derivados do *p-tert*-butilcalix[4]areno bromados (**2a-2d**)

O procedimento descrito a seguir foi adaptado do trabalho publicado por Wei e colaboradores³⁸.

Para um balão tritubulado de 100 mL, sob atmosfera de nitrogênio, foram transferidos o *p-tert*-butilcalix[4]areno (1,0 g, 1,5 mmol), carbonato de potássio (0,5 g, 3,6 mmol), Br-(CH₂)_n-Br (6 mmol) e acetonitrila anidra (31,0 mL). A mistura reacional foi submetida a refluxo por um período de 96 horas. Decorrido esse período, os voláteis foram removidos sob pressão reduzida, e o material resultante foi tratado com solução aquosa de HCl 5% (20 mL) e CHCl₃ (40 mL). A mistura resultante foi transferida para um funil de separação. Recolheu-se a fase orgânica resultante e adicionou-se sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) para eliminar a água residual. Em seguida, a fase orgânica foi filtrada e concentrada sob pressão reduzida, resultando num material oleoso de coloração amarelada, que foi dissolvido em metanol e deixado em repouso por 24 horas para a precipitação do produto desejado. As estruturas das substâncias (**2a-2d**) são confirmadas pelos dados espectroscópicos descritos a seguir.

6.3.1. 25,27-Bis(2-bromoetoxi)-26,28-diidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**2a**)



Característica: sólido branco.

Rendimento: 60 % (2,566 g; 2,98 mmol) a partir de 4,98 mmol do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**1a**) (p. 49).

Após recristalização em uma mistura de clorofórmio-metanol foi obtido o monocristal de (**2a**).

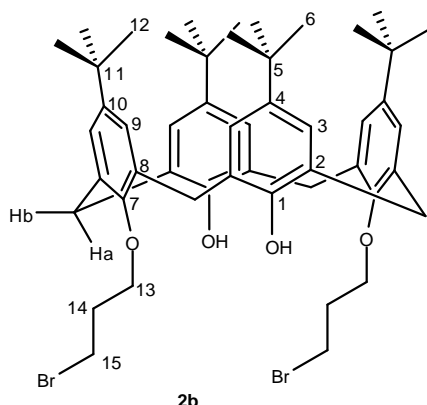
DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3442, 2954, 1597, 1482, 1457, 1392, 1361, 1269, 1193, 1006, 873.

RMN de ¹H (300,069 MHz; CDCl₃; δ_{TMS} 0,00) δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição); 0,95 (18H, s, H-**12**); 1,29 (18H, s, H-**6**); 3,32 (4H, d, ²J= 13,0 Hz, H-**a**); 3,84 (4H, t, ³J= 6,5 Hz, H-**14**); 4,31 (4H, d, ²J= 13,0 Hz, H-**b**); 4,31 (4H, t, ³J= 6,5 Hz, H-**13**); 6,79 (4H, s, H-**9**); 6,92 (2H, s, OH); 7,06 (4H, s, H-**3**).

RMN de ¹³C (75,459 MHz; CDCl₃; δ_{CDCl_3} 77,00): δ (atribuição); 29,3 (C-**14**); 31,0 (C-**12**); 31,7 (C-**6**); 31,7 (ArCH₂Ar); 33,8 (C-**11**); 33,9 (C-**5**); 75,4 (C-**13**); 125,1 (C-**9**); 125,6 (C-**3**); 127,7 (C-**2**); 132,3 (C-**8**); 141,6 (C-**10**); 147,2 (C-**4**); 149,3 (C-**1**); 150,5 (C-**7**).

6.3.2. 25,27-Bis(3-bromopropoxi)-26,28-diidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (2b)



Característica: sólido branco.

Rendimento: 73 % (6,438 g; 7,23 mmol) a partir de 9,97 mmol do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (1a) (p. 49).

Após recristalização em uma mistura de clorofórmio-etanol foi obtido o monocristal de (2b).

DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

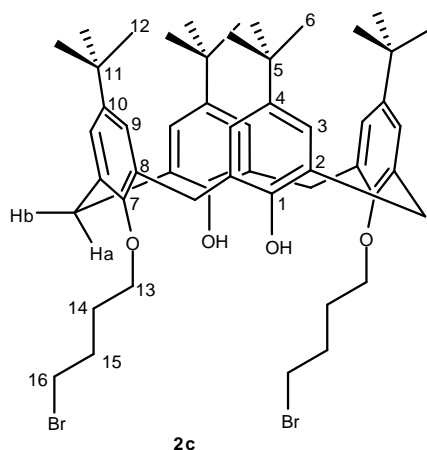
IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3294, 2954, 1598, 1482, 1456, 1392, 1362, 1236, 1288, 1196, 871, 818, 763.

RMN de ¹H (300,069 MHz; CDCl₃; δ_{TMS} 0,00) δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição); 1,02 (18H, s, H-12); 1,27 (18H, s, H-6); 2,52 (4H, quint, ³J= 5,9 Hz, H-14); 3,35 (4H, d, ²J= 12,9 Hz, H-a); 4,00 (4H, t, ³J= 5,9 Hz, H-15); 4,11 (4H, t, ³J= 5,9 Hz, H-13); 4,26 (4H, d, ²J= 12,9 Hz, H-b); 6,88 (4H, s, H-9); 7,05 (4H, s, H-3); 7,69 (2H, s, OH).

RMN de ¹³C (75,459 MHz; CDCl₃; δ_{CDCl_3} 77,00): δ (atribuição); 30,3 (C-14); 31,0 (C-12); 31,6 (C-6); 31,8 (ArCH₂Ar); 33,5 (C-15); 33,8 (C-11); 34,0 (C-5); 73,3

(C-13); 125,2 (C-9); 125,7 (C-3); 127,5 (C-2); 132,8 (C-8); 141,7 (C-10); 147,3 (C-4); 149,1 (C-1); 150,5 (C-7).

6.3.3. 25,27-Bis(4-bromobutoxi)-26,28-diidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (2c)



Característica: sólido branco.

Rendimento: 48 % (1,429 g; 1,56 mmol) a partir de 3,24 mmol do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (1a) (p. 49).

Após recristalização em uma mistura de clorofórmio-hexano foi obtido o monocristal de (2c).

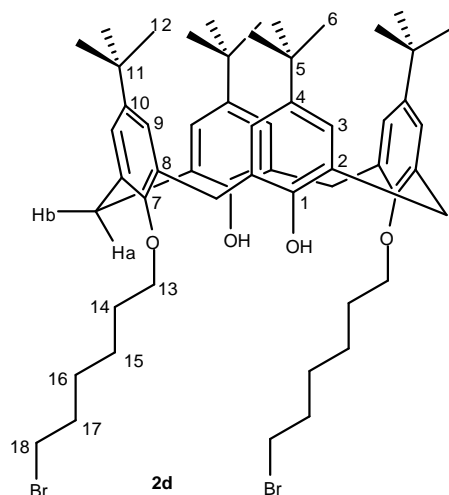
DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3399, 2953, 1599, 1484, 1391, 1361, 1299, 1197, 1122, 1033, 943, 870, 781.

RMN de ¹H (300,069 MHz; CDCl₃; δ_{TMS} 0,00) δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição); 0,96 (18H, s, H-12); 1,29 (18H, s, H-6); 2,11-2,20 (4H, m, H-15); 2,28-2,37 (4H, m, H-14); 3,31 (4H, d, ²J= 12,9 Hz, H-a); 3,64 (4H, t, ³J= 6,6 Hz, H-16); 4,00 (4H, t, ³J= 6,2 Hz, H-13); 4,23 (4H, d, ²J= 12,9 Hz, H-b); 6,80 (4H, s, H-9); 7,05 (4H, s, H-3); 7,42 (2H, s, OH).

RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00): δ (atribuição); 28,7 (C-15); 29,6 (C-14); 31,0 (C-12); 31,7 (C-6, ArCH₂Ar); 33,76 (C-11); 33,81 (C-5); 33,9 (C-16); 75,3 (C-13); 125,1 (C-9); 125,5 (C-3); 127,6 (C-2); 132,5 (C-8); 141,5 (C-10); 146,9 (C-4); 149,7 (C-1); 150,7 (C-7).

6.3.4. 25,27-Bis(6-bromoexoxi)-26,28-diidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (2d)



O composto (**2d**) foi preparado utilizando-se o procedimento experimental geral descrito para a síntese dos compostos (**2a-2d**) (p. 51), alterando apenas a maneira como o obtido foi tratado. Para obtenção da substância (**2d**) o óleo bruto foi fracionado em coluna de sílica-gel, eluída com clorofórmio-éter de petróleo (2:1 v/v). Esse procedimento levou à obtenção de 2,668 g (2,74 mmol) da substância (**2d**) com 55 % de rendimento, a partir de 4,98 mmol do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (p. 49).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,45$ (CHCl_3 -éter de petróleo 2:1 v/v).

Obs: Após fracionamento em coluna de sílica-gel, eluída com clorofórmio-éter de petróleo (2:1 v/v), o composto (**2d**) que ainda se encontrava dissolvido no eluente da coluna, após um período de repouso foi obtido na forma de cristais.

DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3368, 2950, 1597, 1483, 1461, 1390, 1361, 1298, 1195, 1124, 1096, 982, 870.

RMN de ¹H (300,069 MHz; CDCl₃; δ_{TMS} 0,00) δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição); 1,01 (18H, s, H-**12**); 1,29 (18H, s, H-**6**); 1,53-1,67 (4H, m, H-**16**); 1,68-1,82 (4H, m, H-**15**); 1,97 (4H, quint, ³J= 7,0 Hz, H-**17**); 2,05 (4H, quint, ³J= 6,6 Hz, H-**14**), 3,33 (4H, d, ²J= 12,9 Hz, H-**a**); 3,48 (4H, t, ³J= 7,0 Hz, H-**18**); 4,00 (4H, t, ³J= 6,6 Hz, H-**13**); 4,29 (4H, d, ²J= 12,9 Hz, H-**b**); 6,85 (4H, s, H-**9**); 7,06 (4H, s, H-**3**); 7,73 (2H, s, OH).

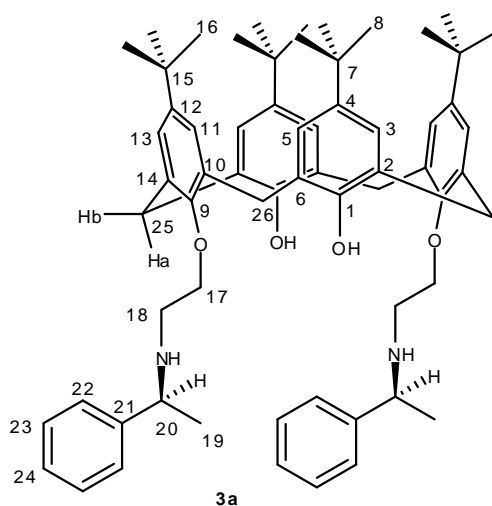
RMN de ¹³C (75,459 MHz; CDCl₃; δ_{CDCl_3} 77,00): δ (atribuição); 25,2 (C-**16**); 28,0 (C-**17**); 29,8 (C-**15**); 31,0 (C-**12**); 31,7 (C-**6**); 31,8 (ArCH₂Ar); 32,8 (C-**14**); 33,8 (C-**11**); 33,9 (C-**5**, C-**18**); 76,1 (C-**13**); 125,0 (C-**9**); 125,4 (C-**3**); 127,8 (C-**2**); 132,7 (C-**8**); 141,4 (C-**10**); 146,7 (C-**4**); 150,0 (C-**1**); 150,7 (C-**7**).

6.4. Procedimento geral para a síntese dos derivados quirais do *p*-tert-butilcalix[4]areno (3a-d** e **4a**)**

Para um balão bitubulado de 100 mL, sob atmosfera de nitrogênio, foram transferidos os derivados bromados do *p*-tert-butilcalix[4]areno (**2a-d**) (0,6 mmol), (*R*)- ou (*S*)-1-feniletilamina (5,8 mmol) e acetonitrila anidra (40,0 mL). A mistura reacional foi submetida a um refluxo por 96 horas. Decorrido esse período, esperou-se o sistema atingir a temperatura ambiente e a mistura resultante foi filtrada com celite sob pressão reduzida. Em seguida, o celite foi

lavado com porções de 25 mL de clorofórmio, até que o produto de interesse fosse completamente removido. As frações foram recolhidas e transferidas para um funil de separação, empregando-se 20 mL de água destilada. Na fase orgânica resultante adicionou-se sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) para remoção da água residual. Em seguida, a fase orgânica foi filtrada e concentrada sob pressão reduzida, resultando num material oleoso de coloração amarelada. A precipitação do produto de interesse foi realizada por meio de adição de metanol. Ocorreu a precipitação do produto após um período de aproximadamente 3 dias. As estruturas das substâncias (**3a-3d** e **4a**) são confirmadas pelos dados espectroscópicos descritos a seguir.

6.4.1. 25,27-Bis[2-(S)-1-feniletilamina]etoxi]-26,28-diidroxip-terbutilcalix[4]areno (**3a**)



Característica: sólido branco.

Rendimento: 51,5 % (0,282 g; 0,299 mmol) a partir de 0,580 mmol do composto (**2a**) (p. 52).

Após recristalização em uma mistura de clorofórmio-etanol foi obtido o monocrystal de (**3a**).

DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3317, 2957, 1598, 1482, 1460, 1392, 1362, 1297, 1201, 1124, 1035, 872, 736, 691.

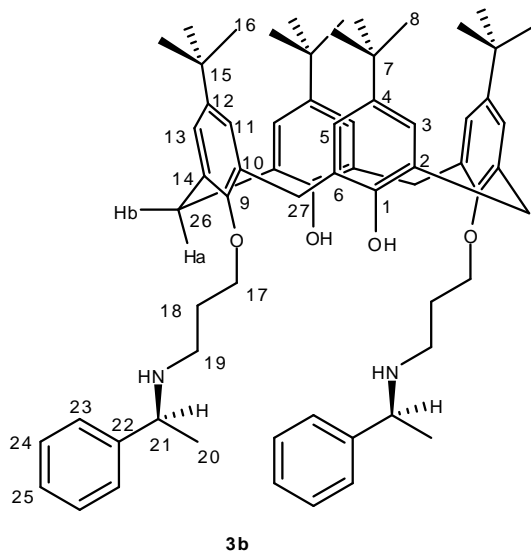
RMN de ¹H (300,069 MHz; CDCl₃; δ_{TMS} 0,00) δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição); 1,03 (18H, s, H-**16**); 1,33 (18H, s, H-**8**); 1,50 (6H, d, ³J= 6,6 Hz, H-**19**); 2,90-2,96 (2H, m, H-**18''**); 3,06-3,13 (2H, m, H-**18'**); 3,35 (2H, d, ²J= 12,9 Hz, H-**a''**); 3,40 (2H, d, ²J= 12,9 Hz, H-**a'**); 4,01-4,06 (4H, m, H-**17** e H-**20**); 4,17-4,21 (2H, m, H-**17**); 4,33 (2H, d, ²J= 12,9 Hz, H-**b''**); 4,45 (2H, d, ²J= 12,9 Hz, H-**b'**); 6,86 (2H, d, ⁴J= 2,4 Hz, H-**11**)^{**}; 6,89 (2H, d, ⁴J= 2,4 Hz, H-**13**)^{**}; 7,10 (2H, d, ⁴J= 2,4 Hz, H-**3**)^{*}; 7,11 (2H, d, ⁴J= 2,4 Hz, H-**5**)^{*}; 7,24-7,29 (2H, m, H-**24**); 7,37 (4H, t, ³J= 7,1 Hz, H-**23**); 7,48 (4H, d, ³J= 7,1 Hz, H-**22**).

* e ** Essas atribuições podem estar invertidas.

RMN de ¹³C (75,459 MHz; CDCl₃; δ_{CDCl_3} 77,00): δ (atribuição); 25,0 (C-**19**); 31,0 (C-**16**); 31,7 (C-**8**); 31,85 (C-**25**, C-**26**); 33,81 (C-**15**); 34,0 (C-**7**); 47,4 (C-**18**); 58,3 (C-**20**); 76,0 (C-**17**); 125,1 (C-**3**)^{*}; 125,3 (C-**5**)^{*}; 125,5 (C-**11**)^{**}; 125,7 (C-**13**)^{**}; 126,9 (C-**22**, C-**24**); 127,7 (C-**14**); 128,0 (C-**10**); 128,4 (C-**23**); 132,7 (C-**6**); 132,8 (C-**2**); 141,7 (C-**4**); 145,6 (C-**21**); 147,1 (C-**12**); 149,5 (C-**9**); 150,5 (C-**1**).

* e ** Essas atribuições podem estar invertidas.

6.4.2. 25,27-bis[3-(S)-1-feniletilamina]propoxi]-26,28-diidroxip-tert-butilcalix[4]areno (3b)



Característica: sólido branco.

Rendimento: 55 % (0,899 g; 0,927 mmol) a partir de 1,68 mmol do composto (2b) (p. 53).

DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3250, 3048, 3026, 2954, 2867, 1597, 1489, 1463, 1392, 1362, 1294, 1265, 1245, 1192, 1123, 925, 735, 698.

RMN de ¹H (300.069 MHz; CDCl₃; δ_{TMS} 0,00) δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição); 1,22 (18H, s, H-16); 1,23 (18H, s, H-8); 1,43 (6H, d, ³J= 6,3 Hz, H-20); 1,88 (2H, sl, NH); 2,08-2,20 (4H, m, H-19''); 2,39-2,46 (2H, m, H-19'); 3,18-3,30 (2H, m, H-18); 3,35 (2H, d, ²J= 12,9 Hz, H-a'); 3,40 (2H, d, ²J= 12,9 Hz, H-a''); 3,54-3,69 (2H, m, H-21); 3,89-4,02 (4H, m, H-17); 4,22 (2H, d, ²J= 12,9 Hz, H-a''); 4,32 (2H, d, ²J= 12,9 Hz, H-a'); 6,98-7,01 (2H, m, H-11)**; 7,01-7,05 (2H, m, H-13)**; 7,07-7,09 (2H, m, H-3)*; 7,10-

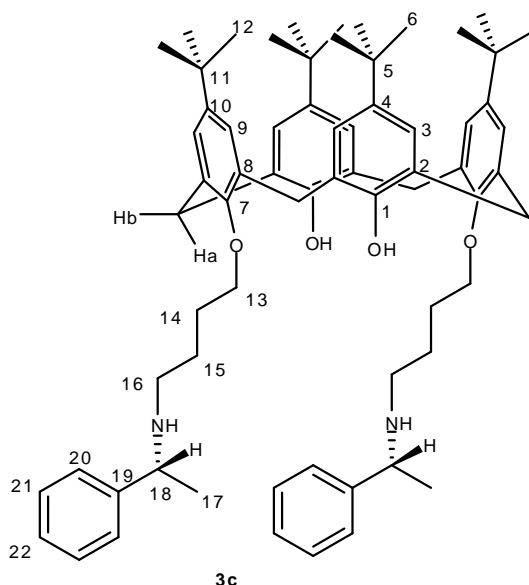
7,13 (2H, m, H-5)*; 7,22-7,32 (2H, m, H-25); 7,33-7,40 (4H, m, H-24); 7,48 (4H, d, $^3J= 6,9$ Hz, H-23); 9,36 (2H, s, OH).

* e ** Essas atribuições podem estar invertidas.

RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00): δ (atribuição); 23,3 (C-20); 27,9 (C-18); 31,2 (C-16); 31,6 (C-8); 32,5 (C-27)*; 33,1 (C-26)*; 33,8 (C-15); 34,2 (C-7); 47,0 (C-19); 61,0 (C-21); 73,5 (C-17); 125,2 (C-3 e C-5); 126,0 (C-25); 126,1 (C-23); 127,5 (C-11 e C-13); 128,0 (C-10 e C-14); 128,3 (C-24); 133,8 (C-2 e C-6); 134,2 (C-4); 141,6 (C-22); 147,3 (C-12); 149,6 (C-1); 150,6 (C-9).

*Essas atribuições podem estar invertidas.

6.4.3. 25,27-Bis[4-(*R*)-1-feniletilamina]butoxi]-26,28-diidroxip-*tert*-butilcalix[4]areno (3c)



Característica: sólido branco.

Rendimento: 49 % (0,256 g; 0,256 mmol) a partir de 0,523 mmol do composto (2c) (p. 54).

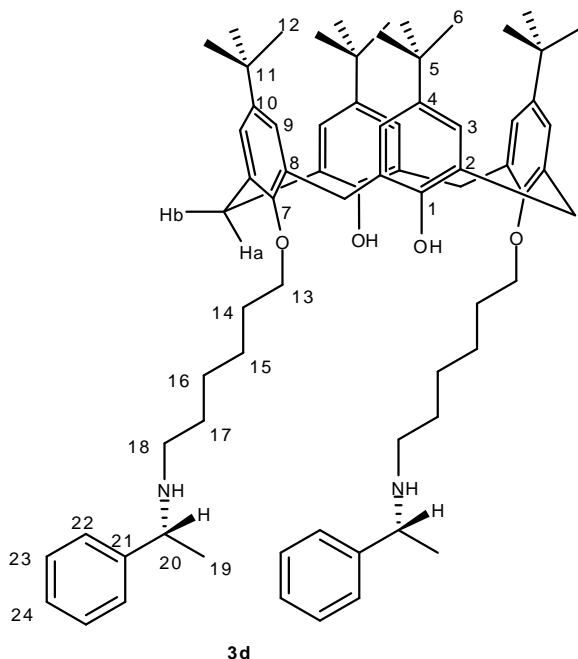
DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3318, 3029, 2954, 1599, 1485, 1464, 1391, 1361, 1299, 1196, 1124, 1034, 944, 869, 701.

RMN de ¹H (300,069 MHz; CDCl₃; δ_{TMS} 0,00) δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição); 1,08 (18H, s, H-12); 1,28 (18H, s, H-6); 1,43 (6H, d, ³J= 7,1 Hz, H-17); 1,79-1,96 (4H, m, H-15); 2,08-2,25 (4H, m, H-14); 2,59-2,78 (4H, m, H-16); 3,34 (4H, d, ²J= 12,8 Hz, H-a' e H-a''); 3,77-3,89 (2H, m, H-18); 4,01 (4H, t, ³J= 4,9 Hz, H-13); 4,28 (2H, d, ²J= 12,8 Hz, H-b'); 4,32 (2H, d, ²J= 12,8 Hz, H-b''); 6,94 (4H, s, H-9); 7,06 (4H, s, H-3); 7,21-7,29 (2H, m, H-22); 7,35 (4H, t, ³J= 7,6 Hz, H-21); 7,46 (4H, d, ³J= 7,6 Hz, H-20); 8,37 (2H, s, O-H).

RMN de ¹³C (75,459 MHz; CDCl₃; δ_{CDCl_3} 77,00): δ (atribuição); 18,5 (C-17); 25,5 (C-15); 28,8 (C-14); 31,1 (C-12); 31,7 (C-6); 32,1 (ArCH₂Ar); 33,8 (C-11); 34,0 (C-5); 52,8 (C-16); 62,4 (C-18); 76,0 (C-13); 125,1 (C-22); 125,5 (C-20); 127,5 (C-3 e C-9); 127,8 (C-21); 133,0 (C-2 e C-8); 141,2 (C-4 e C-10); 146,8 (C-19); 150,0 (C-1); 151,0 (C-7).

6.4.4. 25,27-bis[6-(*R*)-1-feniletilamina]exoxi]-26,28-diidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (3d)



O composto (**3d**) foi preparado utilizando-se o procedimento experimental geral descrito para a síntese dos compostos (**3a-3d** e **4a**) (p. 56), alterando apenas a maneira como o material oleoso obtido foi tratado. Para obtenção da substância **2d** o óleo bruto foi fracionado em coluna de sílica-gel, eluída com diclorometano-acetato de etila (3:2 v/v). Em cada 100 mL de eluente foram adicionadas 20 gotas de hidróxido de amônio. Esse procedimento levou à obtenção de frações que continham o material de partida (**2d**) e o produto desejado composto (**3d**). Essas novas frações foram fracionadas em coluna de sílica-gel, eluída com diclorometano-acetato de etila (1:1 v/v). Em cada 100 mL de eluente foram adicionadas 10 gotas de hidróxido de amônio. Esse procedimento levou à obtenção de 0,139 g (0,13 mmol) do derivado quiral (**3d**) com 12,6 % de rendimento, a partir de 1,05 mmol de (**2d**) (p. 55).

Característica: sólido amarelado.

CCD: $R_f = 0,54$ (CH_2Cl_2 -EtOAc 3:2 v/v).

CCD: $R_f = 0,33$ (CH_2Cl_2 -EtOAc 1:1 v/v).

Após recristalização em uma mistura de clorofórmio-etanol foi obtido o monocrystal de **(3d)**.

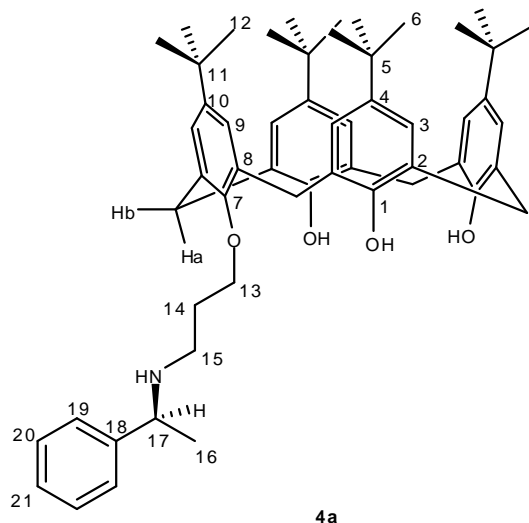
DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

IV (cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3312, 3033, 2948, 1598, 1484, 1462, 1392, 1361, 1194, 1123, 1092, 1008, 981, 869, 701.

RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{TMS} 0,00) δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição); 1,00 (18H, s, H-12); 1,27 (18H, s, H-6); 1,34-1,41 (6H, m, H-19); 1,41-1,63 (8H, m, H-15 e H-16); 1,64-1,78 (4H, m, H-17); 1,97-2,10 (4H, m, H-14); 2,40-2,60 (4H, m, H-18); 3,31 (4H, d, $^2J = 12,8$ Hz, H-a); 3,68-3,86 (2H, m, H-20); 3,96 (4H, t, $^3J = 6,3$ Hz, H-13); 4,31 (4H, d, $^2J = 12,8$ Hz, H-b); 6,84 (4H, s, H-9); 7,05 (4H, s, H-3); 7,20-7,29 (2H, m, H-24); 7,33 (4H, t, $^3J = 7,6$ Hz, H-23); 7,38-7,45 (4H, m, H-22); 7,81 (2H, s, OH).

RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00): δ (atribuição); 16,9 (C-19); 26,1 (C-16); 27,4 (C-15); 28,6 (C-17); 30,3 (C-14); 31,0 (C-12); 31,7 (C-6); 31,8 (ArCH₂Ar); 33,8 (C-11); 33,9 (C-5); 51,6 (C-18); 61,5 (C-20); 76,8 (C-13); 125,0 (C-24); 125,4 (C-22); 127,8 (C-3 e C-9); 127,9 (C-23); 132,8 (C-2 e C-8); 141,2 (C-4 e C-10); 146,7 (C-21); 150,0 (C-1); 150,8 (C-7).

6.4.5 25-[3-(*S*)-1-feniletilamina]propoxi]-26,27,28-triidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (4a)



Característica: sólido branco.

Rendimento: 49 % (0,547 g; 0,675 mmol) a partir de 1,30 mmol do composto (4) (Esquema 10, p. 38).

Após recristalização em uma mistura de clorofórmio-etanol foi obtido o monocristal de (4a).

DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3586, 3499, 3296, 3048, 2954, 1596, 1480, 1392, 1363, 1290, 1196, 1112, 981, 871, 763, 744.

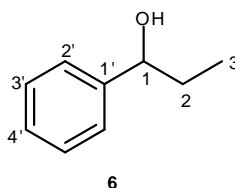
RMN de ¹H (300,069 MHz; CDCl₃; δ_{TMS} 0,00) δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição); 1,20 (18H, s, H-12); 1,31 (18H, s, H-6); 1,42 (3H, d, ³J= 6,7 Hz, H-16); 1,76 (1H, sl, NH); 2,98 (2H, quint, ³J= 6,6 Hz, H-14); 3,46 (4H, d, ²J= 12,8 Hz, H-a); 4,07-4,21 (1H, m, H-17); 4,31 (4H, d, ²J= 12,8 Hz, H-b); 4,41 (4H, t, ³J= 6,6 Hz, H-13 e H-15); 7,11 (4H, s, H-9); 7,11 (4H, s, H-3); 7,22-7,29 (1H, m, H-21); 7,33-7,41 (4H, m, H-19 e H-20); 7,75 (3H, s, OH).

RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00): δ (atribuição); 25,6 (C-16); 31,2 (C-12); 31,5 (ArCH₂Ar); 31,6 (C-6); 32,1 (C-14) 33,8 (C-11); 34,2 (C-5); 51,3 (C-15); 71,7 (C-13); 77,2 (C-17) 125,7 (C-3 e C-9); 126,8 (C-21); 127,3 (C-19); 128,5 (C-20); 133,3 (C-2 e C-8); 142,0 (C-4 e C-10); 147,3 (C-18); 150,1 (C-1); 150,3 (C-7).

6.5. Procedimento geral para a tentativa de adição enantiosseletiva de dietilzinco ao benzaldeído promovida por ligantes enantiopuros

Há uma solução do ligante **3a** (0,05 mmol) em diclorometano anidro (5 mL) sob atmosfera de nitrogênio e temperatura de 0 °C foi adicionado uma solução de dietilzinco em heptano (1,0 M; 1,88 mmol). A mistura resultante foi agitada por 30 minutos, em seguida o benzaldeído (100 mg; 0,94 mmol) foi adicionado gota a gota. Manteve-se o sistema sob agitação magnética a temperatura ambiente por 48 horas. Decorrido esse período, adicionou-se uma solução saturada de NH_4Cl (3 mL). Em seguida, a mistura resultante foi extraída com diclorometano (3 x 20 mL). As fases orgânicas foram combinadas e acrescidas de Na_2SO_4 para remoção da água residual. Após a filtração, o solvente foi removido a pressão reduzida. Obteve-se um material oleoso que foi fracionado em coluna de sílica-gel, eluída com diclorometano-hexano (5:1 v/v). O 1-fenilpropan-1-ol foi analisado por cromatografia gasosa para a determinação dos excessos enantioméricos.

6.5.1. 1-fenilpropan-1-ol (6)



Característica: óleo amarelado.

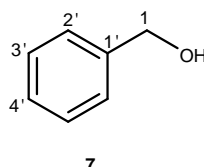
CCD: $R_f = 0,20$ (CH_2Cl_2 -hexano 5:1 v/v).

DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; $\delta_{\text{TMS}} 0,00$) δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição); 0,93 (3H, t, $^3J = 7,4$ Hz, H-3); 1,69-1,97 (3H, m, H-2 e OH); 4,60 (1H, t, $^3J = 6,6$ Hz, H-1); 7,25-7,39 (5H, m, H-2',3',4').

RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; $\delta_{\text{CDCl}_3} 77,00$): δ (atribuição); 10,1 (C-3); 31,8 (C-2); 76,0 (C-1); 125,9 (C-2'); 127,5 (C-4'); 128,4 (C-3'); 144,5 (C-1').

6.5.2. fenilmetanol (7)



Característica: óleo amarelado.

CCD: $R_f = 0,16$ (CH_2Cl_2 -hexano 5:1 v/v).

DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; $\delta_{\text{TMS}} 0,00$) δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição); 2,16 (1H, s, OH); 4,67 (2H, s, H-1); 7,24-7,41 (5H, m, H-2',3',4').

RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00): δ (atribuição); 65,2 (C-1); 126,9 (C-2'); 127,5 (C-4'); 128,5 (C-3'); 140,8 (C-1').

7. Capítulo 2

Caracterização e avaliação da atividade antibacterial dos complexos de inclusão entre a isoniazida e calix[4 e 6]arenos ou β -ciclodextrinas frente ao *Mycobacterium tuberculosis*

7.1 Introdução

7.1.1. Encapsulamento de moléculas bioativas

Hoje muitos sistemas supramoleculares são conhecidos (ciclodextrinas, éteres de coroa, lipossomas, curcubitais, porfirinas, calix[n]arenos, entre outros) e a aplicação destes como sistemas transportadores de várias substâncias vem merecendo destaque nos últimos anos⁴⁵.

Em meio líquido ou eventualmente sólido, essas supramoléculas são capazes de formar complexos de inclusão com numerosas substâncias orgânicas e inorgânicas tais como fármacos (ácido acetil salicílico, piroxicam, albendazol, etc.), corantes (vermelho do congo, fenolftaleína, etc.) íons metálicos, adoçantes, aromas, óleos, vitaminas, dentre outros. Na prática a inclusão pode melhorar vários aspectos da molécula hóspede com, por exemplo, aumentar a estabilidade térmica, reduzir a volatilidade, diminuir a degradação enzimática, aumentar a solubilidade em meio fisiológico e biodisponibilidade⁴⁶.

Dentro desse contexto, podemos destacar o interesse crescente pela aplicação de calix[n]arenos e ciclodextrinas como sistemas carreadores de diversas moléculas bioativas.

⁴⁵ de Fátima, A.; Fernandes, S. A.; Sabino, A. A. *Curr. Drug Discovery Technol.* **2009**, *6*, 151.

⁴⁶ Matioli, G.; Moriwaki, C.; Mazzoni, R. B.; Zanin, G. M.; de Moraes, F. F. *Acta Scientiarum* **2000**, *22*, 311.

7.1.2. Calix[*n*]arenos: propriedades e aplicações

Em virtude de sua geometria, calix[*n*]arenos são substâncias atraentes para aplicações em química, física, biologia, medicina e muitos outros campos interdisciplinares⁴⁷.

Nos últimos anos, muitos estudos envolvendo calix[*n*]arenos como sistemas carreadores de moléculas bioativas têm sido descritos na literatura⁴⁸. Para esse propósito, os calix[*n*]arenos são funcionalizados a fim de melhorar aspectos relativos a inclusão de moléculas bioativas como por exemplo aumentar sua solubilidade em água⁴⁹. Algumas derivatizações possibilitam a obtenção de calix[*n*]arenos solúveis em água, como sulfonamida-calix[*n*]arenos⁵⁰, sulfonato-calix[*n*]arenos⁵¹ (**Figura 29**) e carboxil-calix[*n*]arenos⁵².

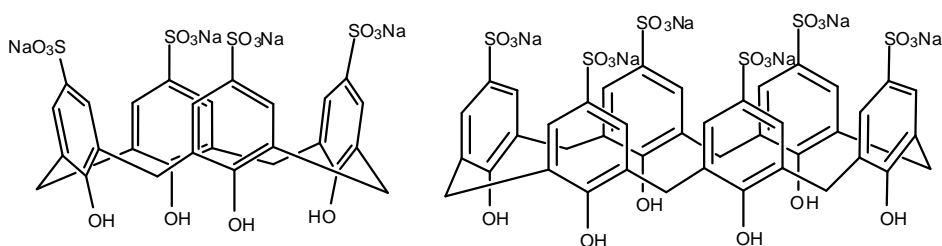


Figura 29: Exemplos de calix[*n*]arenos solúveis em água.

A seguir são apresentadas algumas propriedades dos sulfonato-calix[*n*]arenos (**Tabela 3**, p. 70).

⁴⁷ Schühle, D. T.; Peters, J. A.; Schatz, J. *Coordin. Chem. Rev.* **2011**, *in press*.

⁴⁸ Arantes, L. M.; Scarelli, C.; Marsaioli, A. J.; de Paula, E.; Fernandes, S. A. *Magn. Reson. Chem.* **2009**, *47*, 757.

⁴⁹ Gutsche, C. D. *In Calixarenes*, Royal Society of Chemistry, Cambridge **1989**.

⁵⁰ Gansey, M. H. B. G.; Verboom, W.; Reinhoudt, D. N. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 7127.

⁵¹ Shinkai, S.; Araki, K.; Tsubaki, T.; Manabe, O. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1987**, 2297.

⁵² Arduini, A.; Pochini, A.; Reverberi, S.; Ungaro, R. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 981.

Tabela 3: Propriedades dos sulfonato-calix[*n*]arenos^{53,54}

Propriedade	calix[4]areno	calix[6]areno
<i>para</i> substituinte	SO ₃ Na	SO ₃ Na
Massa molecular	832,67	1247,88
Diâmetro da cavidade inferior (Å)	4,0	7,5
Diâmetro da cavidade superior (Å)	10,0	11,9
Altura da cavidade (Å)	5,9	5,9
Solubilidade (mol/L)	≥ 0,1	≥ 0,1

Sulfonato-calix[*n*]arenos representam uma classe de moléculas hospedeiras particularmente importantes porque esses versáteis compostos fenólicos são altamente solúveis em água, apresentam toxicidade menor que as ciclodextrinas e possuem promissoras aplicações biológicas, farmacêuticas e analíticas⁵⁵.

Exemplos da utilização de calix[*n*]arenos para a encapsulação de moléculas bioativas incluem o "screening" de beta-adrenérgicos e beta-bloqueadores⁵⁶, encapsulação de drogas como nifedipina⁵⁷, ibuprofeno⁵⁸, e seu transporte ativo para liberação na membrana celular⁵⁹, interações com albumina⁶⁰, anestésicos locais⁶¹, lipase de *Candida rugosa*⁶² entre outros.

⁵³ Fernandes, S. A.; Cabeça, L. F.; Marsaioli, A. J.; de Paula, E. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2007**, *57*, 395.

⁵⁴ Douteau-Guével, N.; Coleman, A. W.; Morel, J.; Morel-Desrosiers, N. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1999**, 629.

⁵⁵ Megyesi, M.; Biczók, L. *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *424*, 71.

⁵⁶ Bazylak, G.; Nagels, L. J.; Geise, H. J. *Comb. Chem. High Throughput Screening* **2004**, *7*, 345.

⁵⁷ Yang, W. Z.; de Villiers, M. M. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2004**, *58*, 629.

⁵⁸ Amrhein, P.; Shivanyuk, A.; Johnson, D. W.; Rebek, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10349.

⁵⁹ Rudkevich, D. A. *B. Chem. Soc. Jpn.* **2002**, *3*, 393.

⁶⁰ Gualbert, J.; Shahgaldian, P.; Coleman, A. W. *Int. J. Pharm.* **2003**, *257*, 69.

⁶¹ **a)** Arantes, L. M.; Scarelli, C.; Marsaioli, A. J.; de Paula, E.; Fernandes, S. A. *Magn. Reson. Chem.* **2009**, *47*, 757; **b)** Silva, D. L.; Couto, E. T.; Souza, L. C.; Fátima, A.; Pilli, R. A.; Fernandes, S. A. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2010**, *66*, 149.

⁶² Uyanik, A.; Sen, N.; Yilmaz, M. *Bioresource Technol.* **2011**, *102*, 4313.

7.1.3. Ciclodextrinas: propriedades e aplicações

Ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos naturais, compostos por seis ou mais unidades de *D*-glicopiranosose unidas entre si por ligações do tipo α (1→4). As CDs foram isoladas pela primeira vez em 1891, por Villiers, como subprodutos da degradação do amido pela bactéria *Bacillus amylobacter*⁶³. Mais tarde demonstrou-se que não só bactérias, mas algumas espécies de plantas possuem enzimas do tipo ciclodextrinas glicosiltransferases, responsáveis pela hidrólise parcial do amido e ciclização das unidades de glicopiranosose, formando as ciclodextrinas⁶⁴.

As três CDs naturais mais comuns são: alfa, beta e gama-CDs, apresentando seis, sete e oito unidades de *D*(+)-glicopiranososes, respectivamente^{63b}. Estas subunidades apresentam grupos hidroxila primários e secundários em sua estrutura, orientados para o exterior da molécula (**Figura 30**, p. 72), o que confere a superfície exterior um caráter hidrofílico, enquanto a cavidade interior é hidrofóbica.

Curiosamente, a β -CD apresenta solubilidade em soluções aquosas de 18,5 mg mL⁻¹ que é bem inferior que à solubilidade da α -CD e da γ -CD, 145 e >500 mg mL⁻¹, respectivamente⁶⁵. Segundo Szejtli^{63a}, isso ocorre devido às ligações de hidrogênio intramoleculares entre os grupos hidroxil secundários. Para a β -CD essa interação intramolecular é bastante intensa, já que todas as hidroxilas secundárias participam das ligações de hidrogênio intramoleculares. Portanto, é possível formar um “cinturão” de ligações de hidrogênio que é o responsável pela rigidez da estrutura da β -CD (**Figura 30**, p. 72). Na molécula

⁶³ **a)** Szejtli, J.; Osa, T. *In Comprehensive Supramolecular Chemistry*, ed. Pergamon Press: Oxford, **1996**, Vol. 3, cap. 1; **b)** Szejtli, J. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1743; **c)** Saenger, W. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, *19*, 344.

⁶⁴ Loftsson, T.; Masson, M. *Int. J. Pharm.* **2001**, *225*, 15.

⁶⁵ Wenz, G. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 803.

de α -CD, este cinturão encontra-se incompleto, porque uma das unidades de *D*-glicopiranosose encontra-se torcida. Consequentemente, das seis ligações de hidrogênio possíveis, apenas quatro podem ocorrer plenamente. Já a γ -CD é a mais flexível, logo a mais solúvel das três CDs^{63b}.

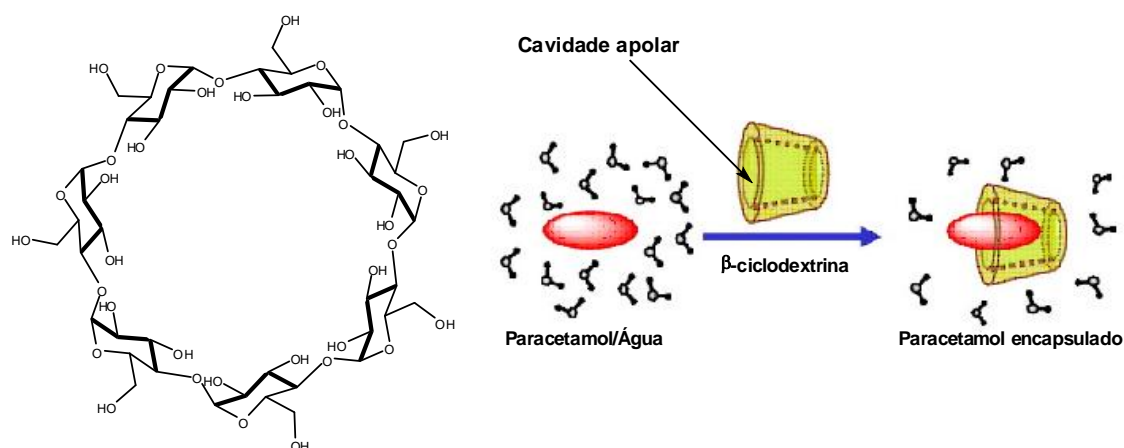


Figura 30: Representação esquemática: **a)** β -CD (à esquerda); **b)** β -CD encapsulando o fármaco paracetamol (à direita)⁶⁶.

Em **1953**, Freudenberg e Cramer obtiveram a primeira patente para a aplicação de CDs em formulações de fármacos, demonstrando que a complexação com CDs protegia substâncias da oxidação atmosférica, aumentava a solubilidade de fármacos pouco solúveis e reduzia a volatilidade de alguns compostos⁶⁷.

Nos últimos anos, as CDs têm sido utilizadas com sucesso na formação de complexos de inclusão do tipo hóspede-hospedeiro⁶⁸. Entre as CDs encontradas na natureza, as β -CD são as mais utilizadas, por apresentarem uma cavidade interna com cerca de 6 Å de diâmetro (**Tabela 4**, p. 73), adequada para incorporar anéis aromáticos em sua cavidade, frequentemente

⁶⁶ El-Kemary, M.; Sobhy, S.; El-Daly, S.; Abdel-Shafi, A. *Spectrochim. Acta A* **2011**, *79*, 1904.

⁶⁷ Freudenberg, K.; Cramer, F.; Plieminger, H. *Chem. Abst.* **54**: 4485b (ref. orig.: Ger. Patent 895,769; **1953**).

⁶⁸ Kim, H.; Choi, J.; Jung, S. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2009**, *64*, 43.

encontrados em moléculas com atividade biológica⁶⁹. Porém, devido à baixa solubilidade aquosa da β -CD, modificações químicas tem sido introduzidas em sua estrutura, a fim de melhorar esta propriedade. Dois derivados obtidos através destas modificações são: a 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina (Hp- β -CD) e a metil- β -ciclodextrina (Me- β -CD).

Tabela 4: Propriedades físico-químicas das ciclodextrinas naturais⁷⁰

Propriedade	α -CD	β -CD	γ -CD
Resíduos de Glicose	6	7	8
Massa molecular	972,84	1134,98	1297,12
Solubilidade 25 °C (g/100mL)	14,5	1,85	>50
Diâmetro externo (Å)	14,6	15,4	17,5
Diâmetro interno (Å)	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3
Altura da cavidade (Å)	7,9	7,9	7,9
Volume da cavidade (Å ³)	174	262	427

Entre todos os hospedeiros em potencial, as CDs parecem ser as mais importantes, pelas seguintes razões:

- (1) São produtos seminaturais, produzidos a partir de uma substância natural renovável (amido), por meio de uma conversão enzimática relativamente simples;
- (2) São produzidas em milhares de toneladas por ano, através de tecnologias ambientalmente seguras;
- (3) Como resultado do ponto 2, foram obtidos valores comercial aceitáveis para muitos propósitos industriais;
- (4) Devido à habilidade de formação de complexos de inclusão, importantes propriedades das substâncias complexadas podem ser modificadas

⁶⁹ Matioli, G. *Ciclodextrinas e suas aplicações em alimentos, fármacos, agricultura, biotecnologia, química analítica e produtos gerais*, Ed. Eduem, Maringá, **2000**.

⁷⁰ Del Valle, E. M. M. *Biochem* **2004**, 39, 1033.

significativamente. Portanto, as CDs são amplamente utilizadas em muitos produtos industriais e métodos analíticos;

(5) Qualquer um de seus efeitos tóxicos é de caráter secundário, e pode ser eliminado pela seleção do tipo de CD e/ou derivados apropriados ou modo de aplicação;

(6) Como resultado do ponto 5, as CDs podem ser consumidas por seres humanos como ingredientes de fármacos, alimentos ou cosméticos^{63b}, etc.

Exemplos da utilização de CDs para liberação controlada de drogas incluem a complexação de fármacos como hipericina⁷¹, fluasterona⁷², violaceína⁷³, metazolamide⁷⁴, claritromicina⁷⁵, oxazepam⁷⁶, acetazolamida⁷⁷, praziquantel⁷⁸, lactato de levofloxacina⁷⁹, entre outros. De fato, as β -CD são as ciclodextrinas mais utilizadas para a complexação com várias classes de drogas como agentes antitumorais (doxorubicina), antidiabéticos (tolbutamida), corticosteróides (dexametasona, prednisolona) e vitaminas A e D₃, e são

⁷¹ Sattler, S.; Schaefer, U.; Schneider, W.; Hoelzl, J.; Lehr, C. M. *J. Pharm. Sci.* **1997**, *86*, 1120.

⁷² Zhao, L. W.; Li, P.; Yalkowsky, S. H. *J. Pharm. Sci.* **1999**, *88*, 967.

⁷³ de Azevedo, M. B. B.; Alderete, J.; Rodriguez, J. A.; de Souza, A. O.; Rettori, D.; Torsoni, M.; Faljoni-Alário, A.; Haun, M. *J. Incl. Phen. Mol. Recogn.* **2000**, *76*, 135.

⁷⁴ Guomundsdottir, E.; Stefansson, E.; Bjarnadottir, G.; Sigurjonsdottir, J. R.; Guomundsdottir, E.; Masson, R.; Loftsson, T. *Inv. Ophthalmol. Vis. Res.* **2000**, *41*, 3552.

⁷⁵ Salem, I.; Duzgunes, N. *Int. J. Pharm.* **2003**, *250*, 403.

⁷⁶ Franco, M.; Montenegro, L.; Lopodota, A.; Trapani, G.; Puglisi, G.; Liso, G. *J. Drug Deliv. Sci. Techn.* **2004**, *14*, 63.

⁷⁷ Kaur, I. P.; Smitha, R.; Aggarwal, D.; Kapil, M. *Int. J. Pharmacol.* **2002**, *248*, 1.

⁷⁸ Rodrigues, S. G.; Chaves, I. S.; de Melo, N. F. S.; de Jesus, M. B.; Fraceto, L. F.; Fernandes, S. A.; de Paula, E.; de Freitas, M. P.; Pinto, L. M. A. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2010**, *70*, 19.

⁷⁹ Tian, W.; Fan, X.; Kong, J.; Liu, Y.; Liu, T.; Huang, Y. *Polymer* **2010**, *51*, 2556.

administrados por diversas vias como intratecal, intravenosa, intramuscular, epidural, oral, nasal e dérmica⁸⁰.

7.2. Isoniazida

A Tuberculose, como declarado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em 1993 tornou-se um problema de saúde global. Esta doença infecciosa é transmitida através do ar por uma bactéria Gram-positiva *Mycobacterium tuberculosis*, que foi identificada pela primeira vez em 1882 pelo cientista alemão Robert Koch (1843-1910)⁸¹.

A terapia contra a tuberculose é árdua, devido a sua longa duração e a utilização de um coquetel de drogas. Os medicamentos padrões utilizados são a isoniazida (ISZ), a rifampicina (R) e a pirazinamida (PZA) (**Figura 31**), com a necessidade de um tratamento diário com duração de seis a nove meses. Em parte devido ao abandono do tratamento, a terapia tem se tornado cada dia mais complicada devido ao surgimento de cepas resistentes⁸².

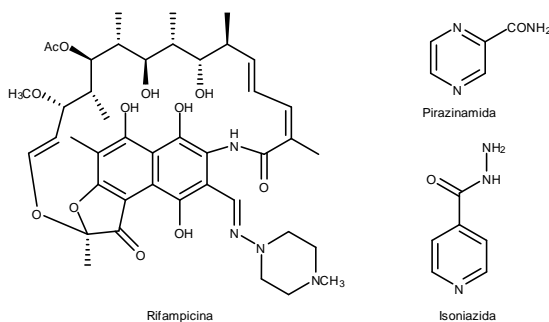


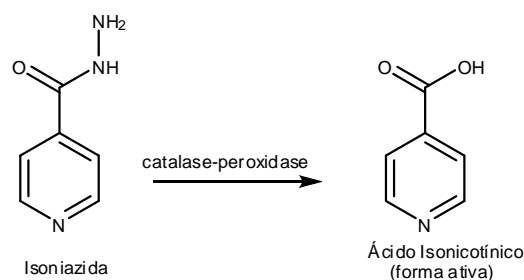
Figura 31: Estruturas químicas dos principais fármacos utilizados na terapia da tuberculose⁸¹.

⁸⁰ Irie, T.; Uekama, K. *J. Pharm. Sci.* **1997**, *86*, 147.

⁸¹ Cardoso, S. H.; de Assis, J. V.; de Almeida, M. V.; Lourenço, M. C. S.; Vicente, F. R. C.; de Souza, M. V. N. *Quím. Nova.* **2009**, *32*, 1557.

⁸² Lenaerts, A. J.; Gruppo, V.; Marietta, K. S.; Johnson, C. M.; Driscoll, D. K.; Tompkins, N. M.; Rose, J. D.; Reynolds, R. C.; Orme, I. M. *Antimicrob. Agents Ch.* **2005**, *49*, 2294.

A ISZ (**Figura 31**, p. 75) é o principal agente para a quimioterapia da tuberculose. Estudos sugerem que a ISZ, é um pró-fármaco que é convertido em sua forma ativa pela catalase-peroxidase micobacteriana (**Esquema 12**). A forma ativa atua sobre a parede celular micobacteriana, impedindo a síntese de ácidos graxos de cadeia longa que são precursores dos ácidos micólicos. Tais ácidos são essenciais na formação da parede celular do bacilo⁸³.



Esquema 12: Bioconversão da isoniazida em sua forma ativa pela catalase-peroxidase⁸³.

7.3. Aplicação da RMN no estudo dos complexos entre a isoniazida e calix[*n*]arenos ou ciclodextrinas

Vários métodos experimentais podem ser utilizados para o estudo de complexos supramoleculares do tipo *hóspede-hospedeiro*. Os mais empregados são os métodos espectroscópicos (RMN, UV e IV), espectrométricos (MS), eletroquímicos (potenciometria), calorimétricos e cristalográficos (raios-X). Destaque é dado à Ressonância Magnética Nuclear (RMN) por permitir a obtenção de informações sobre as interações intermoleculares entre *hóspede-hospedeiro* em nível molecular. Uma característica no estudo por RMN de ¹H de complexos é a variação no deslocamento químico dos sinais dos hidrogênios induzidos por complexação do tipo *hóspede-hospedeiro*. Logo, esta análise pode dar a primeira indicação

⁸³ Ventura, C.; Martins, F. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 612.

sobre a natureza das interações, fornecendo informações sobre os sítios e/ou posições das mesmas.

Outra etapa necessária para a caracterização de um complexo molecular é a determinação de sua estequiometria de complexação. Os métodos mais comuns empregados para a determinação da estequiometria de um complexo são: **a)** variação contínua de um dos componentes⁸⁴ e **b)** variação contínua de ambos os componentes, método de Job⁸⁵. O primeiro método consiste em observar a variação de deslocamentos químicos ($\Delta\delta_{\text{obs}}$) dos hidrogênios do hospedeiro em soluções distintas perante a variação da razão molar do hóspede em relação ao hospedeiro, cuja concentração se mantém constante. Pela observação de $\Delta\delta_{\text{obs}}$ é possível avaliar a estequiometria através de um gráfico ($\Delta\delta_{\text{obs}}$ versus razão molar). O ponto estequiométrico é atingido quando $\Delta\delta_{\text{obs}}$ permanece constante, de forma análoga à titulação de pH (**Figura 32a**, p. 78)⁸⁴. No método de Job, as concentrações de ambos componentes (hóspede e hospedeiro) variam continuamente enquanto a soma total das concentrações permanece constante e, da mesma forma que no método anterior, a partir de dados racionalizados em gráfico ($r\Delta\delta_{\text{obs}}$ versus r ; onde $r = \frac{[\text{hóspede}]}{[\text{hóspede}] + [\text{hospedeiro}]}$) observa-se o ponto estequiométrico, o qual é atingido quando a variante y ($r\Delta\delta_{\text{obs}}$) do mesmo atinge o valor máximo⁸⁵ (**Figura 32b**, p. 78).

⁸⁴ Botsi, A.; Perly, B.; Hadjoudis, E. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1997**, 89.

⁸⁵ Job, P. *Ann. Chim.* **1928**, 9, 113.

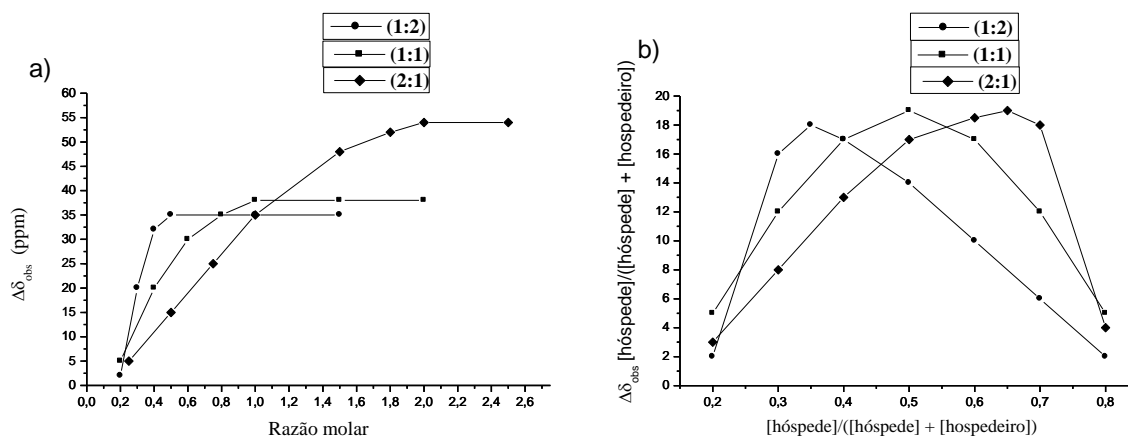


Figura 32: Titulação por RMN de ^1H : **a)** método com variação contínua de um dos componentes e **b)** método de Job⁸⁶.

Os complexos de inclusão envolvendo moléculas hospedeiras (calix[n]arenos e ciclodextrinas) e substâncias bioativas (hóspedes) tem sido considerado atrativos alvos de estudos. Isso se deve, em grande parte, às importantes melhorias que podem ser obtidas nas propriedades químicas da molécula hóspedes como: solubilidade, estabilidade química e biodisponibilidade. Portanto, o objetivo principal dessa parte do nosso trabalho é o estudo dos complexos entre a isoniazida e calix[n]arenos ou ciclodextrinas. Visto que, a **ISZ** é um fármaco bastante utilizado no tratamento da tuberculose, devido a sua alta potência⁸¹. E como já foi discutido, a terapia da tuberculose é longa. Por esse motivo objetivamos, por meio da complexação desse fármaco com os calix[n]arenos e as ciclodextrinas, aumentar a sua biodisponibilidade na tentativa de diminuir a dose diária desse medicamento e/ou prolongar seu tempo de ação. Desta forma propusemo-nos a preparar e caracterizar os complexos moleculares da **ISZ** com calix[n]arenos e ciclodextrinas e testar sua atividade biológica. Para tanto, análises da atividade antibacteriana da **ISZ** e dos complexos frente ao *M. tuberculosis* foram realizadas por meio de testes biológicos *in vitro*.

⁸⁶ Laverde Jr., A. Tese de Doutorado – Unicamp – 2001.

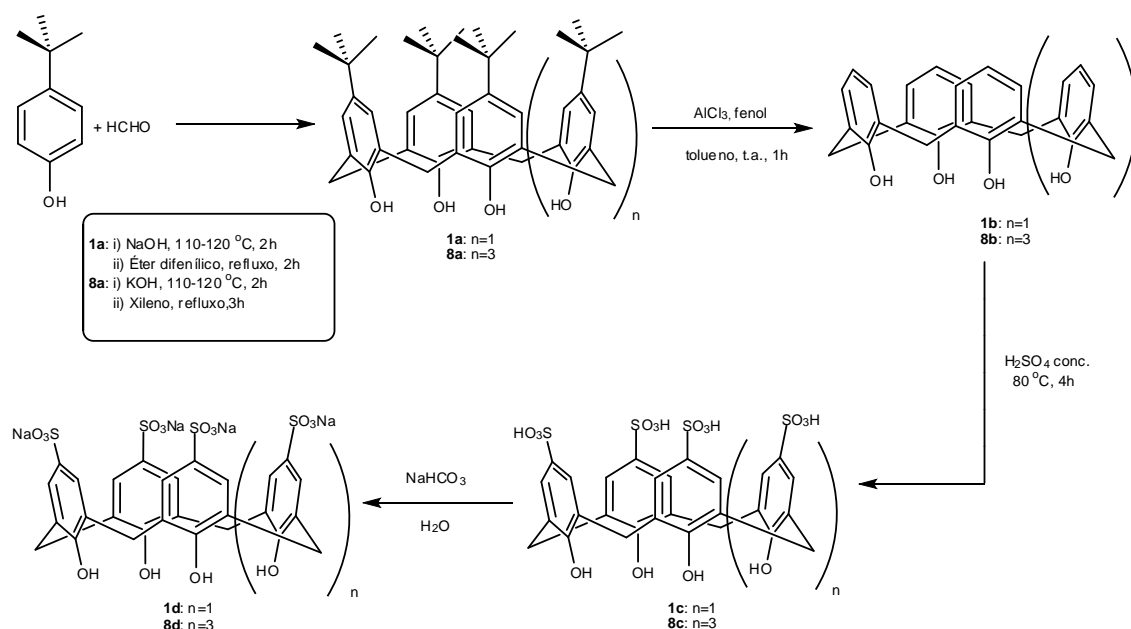
8. Objetivos

- 1) Sintetizar os *p*-sulfonatos de sódio calix[4 e 6]areno;
- 2) Caracterizar os complexos do tipo hóspede-hospedeiro entre a isoniazida e os sistemas carreadores (*p*-sulfonato de sódio calix[4 e 6]areno, Metil- β -CD e 2-hidroxipropil- β -CD), empregando como ferramenta RMN de ^1H e DSC;
- 3) Avaliar a atividade antibacteriana frente ao *M. tuberculosis* dos complexos, das misturas físicas, dos hospedeiros e também das substâncias (**2a**, **2b**, **2c** e **2d**) descritas no **Capítulo 1**, por meio de testes biológicos *in vitro*.

9. Resultados e discussão

A primeira etapa do desenvolvimento do presente estudo consistiu na síntese dos sais de calix[*n*]arenos. A proposta para a obtenção dos mesmos envolve quatro etapas, a partir do *p*-*tert*-butilfenol, conforme descrito no

Esquema 13.



Esquema 13: Rota sintética para obtenção de derivados do *p*-*tert*-butilcalix[*n*]areno solúveis em água.

A segunda etapa do desenvolvimento do presente trabalho consistiu na investigação dos *p*-sulfonatos de sódio calix[*n*]arenos juntamente com a metil- β -ciclodextrina e a 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina como sistemas carreadores da isoniazida.

Para tanto, foram caracterizados os complexos entre a isoniazida e os sistemas hospedeiros (*p*-sulfonato de sódio calix[4 e 6]areno, Me- β -CD e Hp- β -CD) (**Figura 33**).

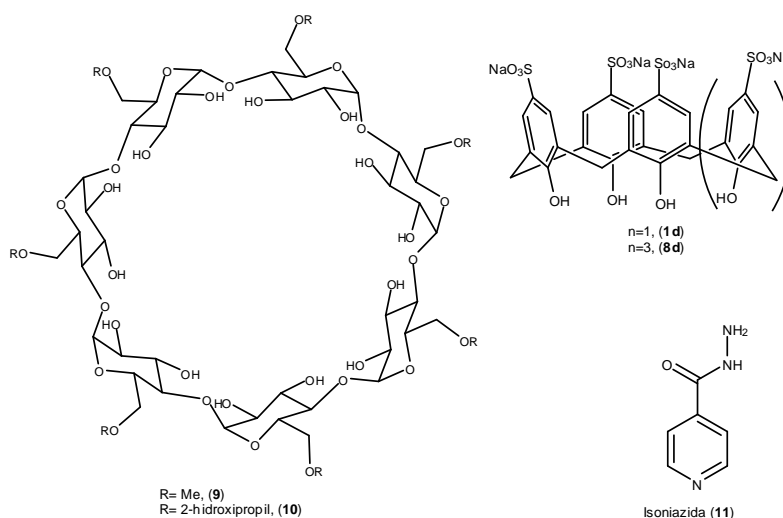


Figura 33: Estrutura química da isoniazida (11) e dos hospedeiros (1d, 8d, 9 e 10).

A seguir serão discutidas as metodologias de síntese utilizadas para o preparo dos *p*-sulfonatos de sódio calix[4 e 6]areno a partir do *p*-*tert*-butilfenol, seguindo a proposta de trabalho apresentada no **Esquema 13** (p. 79).

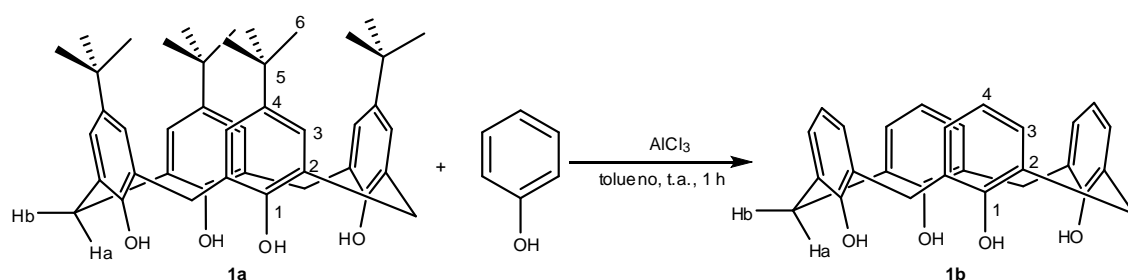
9.1. Síntese dos hospedeiros

9.1.1. *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**1a**)

A síntese do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**1a**) juntamente com sua caracterização estrutural foram discutidas anteriormente no **Capítulo 1**, seção **4.1.1.** (p. 19).

9.1.2. calix[4]areno (**1b**)

A síntese do calix[4]areno (**1b**) foi realizada a partir do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**1a**), fenol, cloreto de alumínio e tolueno anidro. O sistema foi mantido sob agitação e atmosfera de nitrogênio à temperatura ambiente, durante uma hora (**Esquema 14**).



Esquema 14: Reação de obtenção do calix[4]areno (**1b**).

O espectro no IV do composto (**1b**), apresenta uma banda de absorção correspondente ao grupo hidroxila observada em 3152 cm^{-1} , que é característica de fenóis que realizam ligações de hidrogênio intramoleculares (**Figura 34**, p. 82). Ainda analisando o espectro da **Figura 34** (p. 82), podemos observar que a reação para a retirada do grupo *tert*-butila foi realizada com sucesso, pois as bandas referentes à deformação angular de CH_3 em torno de 1380 cm^{-1} não estão presentes. Como esperado, a substância (**1a**, material de partida), apresenta um duplete correspondente a deformação angular de CH_3 em 1361 cm^{-1} e 1391 cm^{-1} (**Figura 8**, p. 20), que não está presente no espectro

do composto (**1b**). Desse modo, é possível confirmar a perda do grupo *tert*-butila.

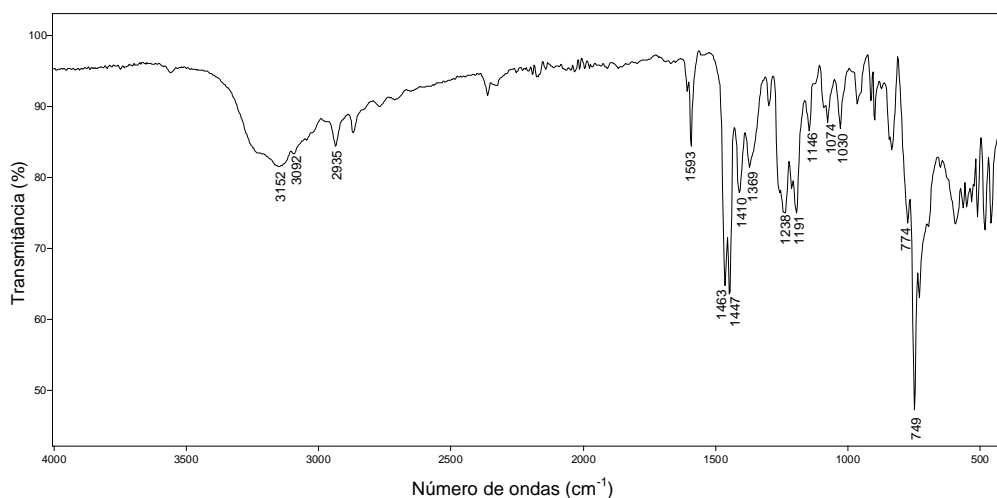


Figura 34: Espectro no IV (reflectância) do calix[4]areno (**1b**).

No espectro de RMN de ¹H de (**1b**), o sinal correspondente aos hidrogênios das hidroxilas foi observado em δ 10,20 (**Figura 35**, p. 83). Esse deslocamento químico indica uma diminuição na intensidade das ligações de hidrogênio intramoleculares, visto que para o material de partida (**1a**) o sinal para os hidrogênios das hidroxilas está presente em δ 10,34 (**Figura 10**, p. 22). Para o calix[4]areno (**1b**) a barreira energética (14,9 kcal/mol) para o movimento de interconversão de uma conformação cone em sua imagem especular é menor quando comparado com a do material de partida (**1a**) (15,7 kcal/mol)⁶. Essa diminuição na barreira energética explica o enfraquecimento das ligações de hidrogênio intramoleculares e é consequência da perda do grupo *tert*-butila.

Os sinais de RMN de ¹H para os átomos de hidrogênios dos grupos metilênicos do composto (**1b**) foram observados em δ 3,55 e 4,25 na forma de dois simpletos largos integrados para quatro hidrogênios cada. No espectro de

RMN de ^1H do material de partida (**1a**), os sinais para os hidrogênios metilênicos foram observados na forma de dois dupletos largos (**Figura 10**, p.22). Essa diferença nos dois espectros novamente é devido ao decréscimo da barreira energética para o movimento de interconversão. Em outras palavras, a maior flexibilidade da substância (**1b**) faz com que os sinais dos hidrogênios metilênicos tenham uma menor resolução no espectro de RMN de ^1H sendo observados na forma de simpletos largos.

Os sinais de RMN de ^1H para os átomos de hidrogênio aromáticos δ 7,05 (8H, d, $^3J = 7,5$ Hz, H-3) e 6,73 (4H, t, $^3J = 7,5$ Hz, H-4) são os esperados para um anel aromático 1,2,6-trissubstituído⁸⁷ e simétrico.

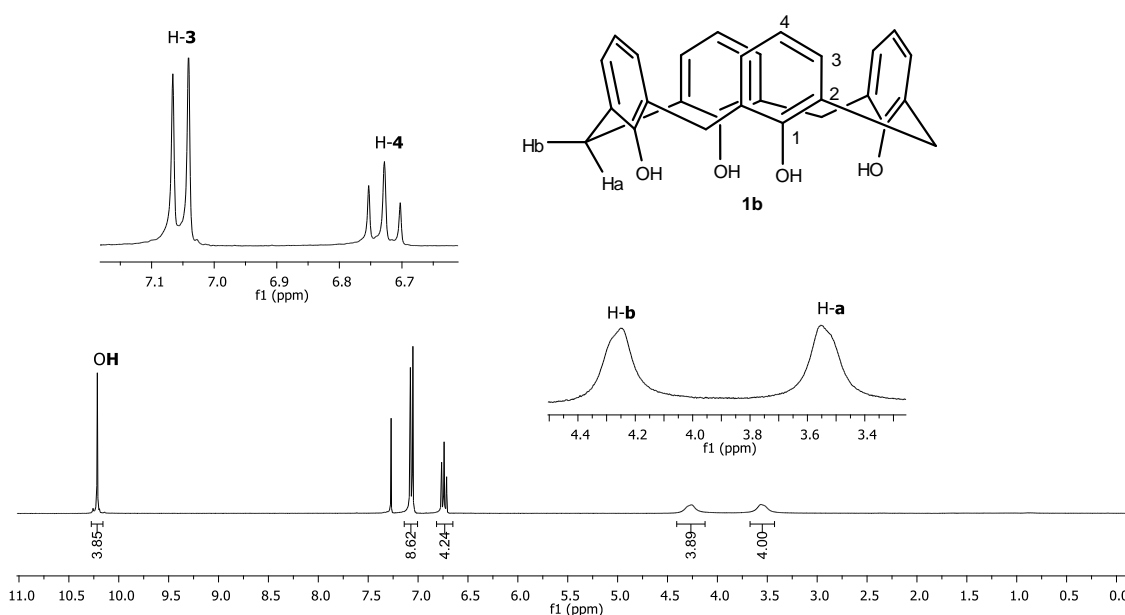


Figura 35: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) do calix[4]areno (**1b**).

No espectro de RMN de ^{13}C de (**1b**), estão presentes apenas cinco sinais (**Figura 37**, p. 85), enquanto que o espectro de RMN de ^{13}C do material de partida (**1a**) apresenta sete sinais (**Figura 11**, p. 23). Essa observação

⁸⁷ A numeração utilizada para definir o padrão de substituição do anel aromático daqui para frente está de acordo com a empregada para as atribuições nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C .

confirma a perda do grupo *tert*-butila. O sinal correspondente aos carbonos metilênicos (ArCH₂Ar) foi observado em δ 31,7.

Nota-se ainda no espectro de RMN de ¹³C da **Figura 37** (p. 85), os sinais dos carbonos aromáticos: 122,2 (C-4), 128,4 (C-2), 128,9 (C-3) e 148,7 (C-1). É importante ressaltar, que ocorreu uma blindagem significativa no sinal do C-4, quando comparado com o mesmo sinal (δ 144,6) no espectro de RMN de ¹³C da substância (**1a**) (**Figura 11**, p. 23). Com a perda do grupo *tert*-butil a flexibilidade da molécula aumenta, como consequência ocorre uma mudança no efeito anisotrópico que um anel aromático exerce sobre o outro. Além disso, de acordo com as estruturas de ressonância para o calix[4]areno (**Figura 36**), nota-se que a estrutura 3, sem o grupo *tert*-butila contribui mais para o híbrido de ressonância.

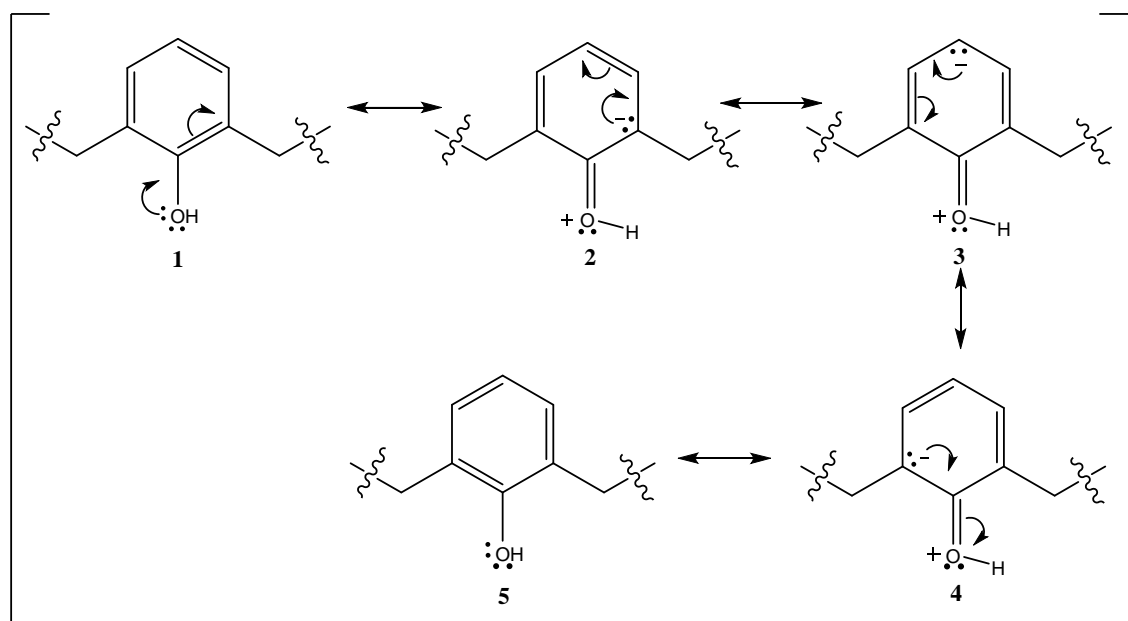


Figura 36: Estruturas de ressonância para o calix[4]areno (**1b**).

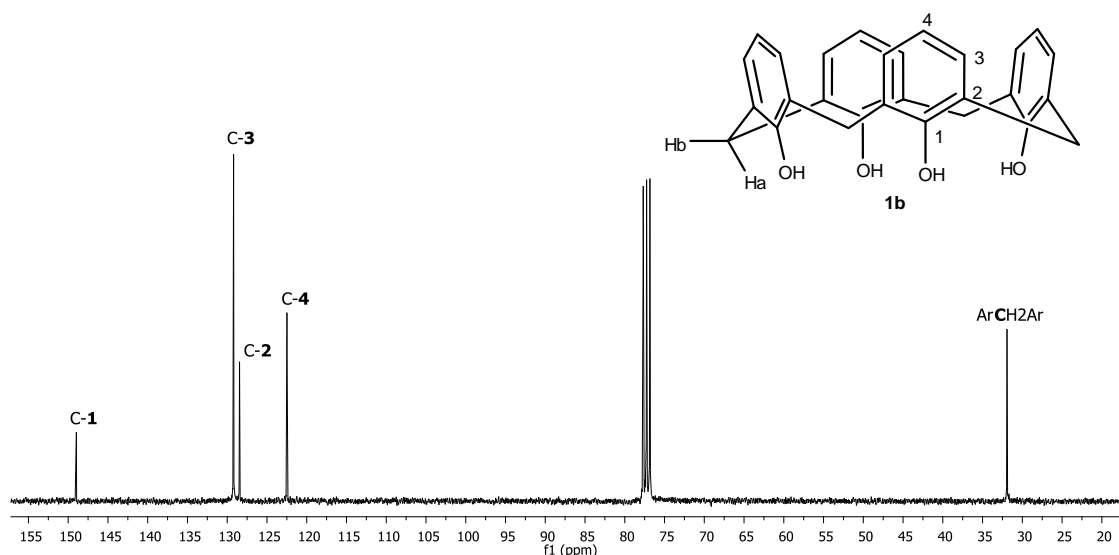
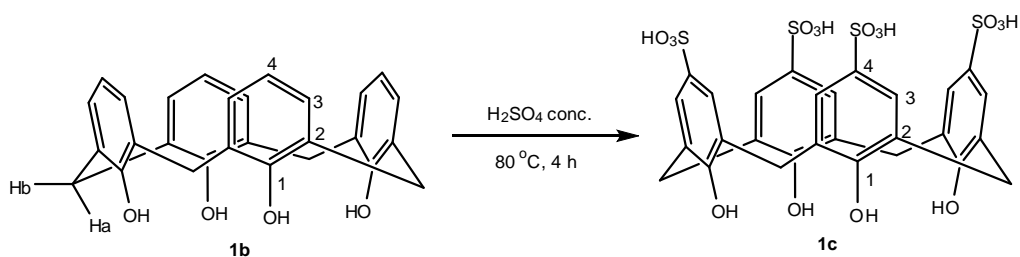


Figura 37: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do calix[4]areno (**1b**).

9.1.3. ácido *p*-sulfônico calix[4]areno (**1c**)

A síntese do ácido *p*-sulfônico calix[4]areno (**1c**) foi realizada a partir do calix[4]areno (**1b**), na presença de ácido sulfúrico concentrado e aquecimento (**Esquema 15**).



Esquema 15: Reação de obtenção do ácido *p*-sulfônico calix[4]areno (**1c**).

O espectro no IV do composto (**1c**), apresenta uma banda de absorção correspondente as hidroxilas do anel fenólico observada em 3182 cm^{-1} , que é característica de fenóis que realizam ligações de hidrogênio intramoleculares (**Figura 38**, p. 86). Essa banda de absorção está mais alargada e presente em um maior número de onda se comparada com a mesma banda (3152 cm^{-1}) do espectro do material de partida calix[4]areno (**Figura 34**, p. 82). Como relatado

na literatura, esta diferença se deve à mudanças de conformação do calix[4]areno, que por sua vez, influenciam o tipo e a intensidade das ligações de hidrogênio⁶.

Ainda a respeito do espectro de IV da **Figura 38**, podemos observar uma banda de absorção em 1147 cm^{-1} correspondente ao estiramento da ligação S-O³⁵.

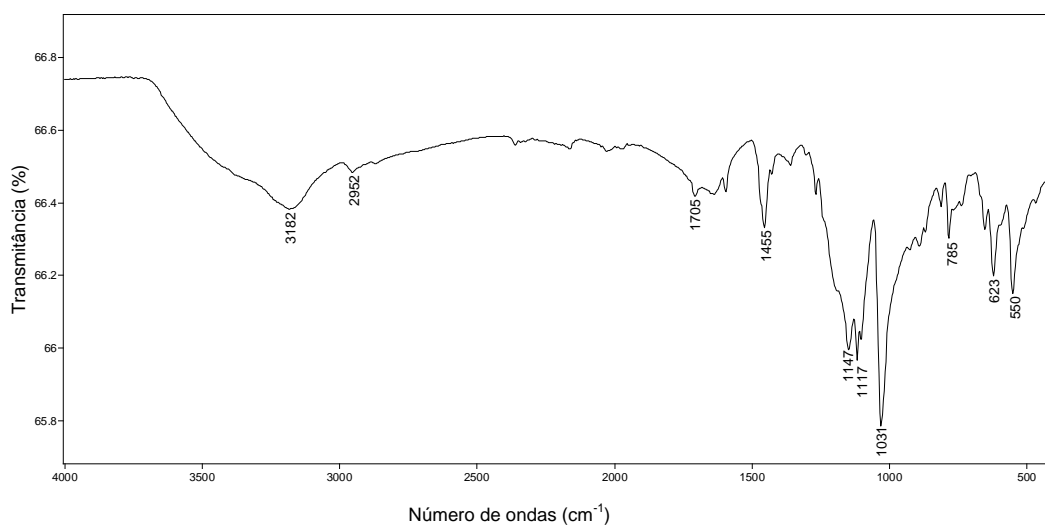


Figura 38: Espectro no IV (reflectância) do ácido *p*-sulfônico calix[4]areno (**1c**).

No espectro de RMN de ^1H de (**1c**), o sinal para os átomos de hidrogênio aromáticos δ 7,42 (8H, s, H-3) é o esperado para o produto, que contém um anel aromático 1,2,4,6-tetrasubstituído e simétrico (**Figura 39**, p. 87). Nota-se ainda no espectro da **Figura 39** (p. 87), um sinal que é diagnóstico para a caracterização do produto, um simpleto em δ 3,90 (8H, ArCH₂Ar). Para a substância (**1c**) observa-se um simpleto largo à temperatura ambiente correspondente aos hidrogênios metilênicos, devido à maior flexibilidade dessa molécula. Desse modo, os hidrogênios metilênicos não são heterotópicos, diferentemente dos mesmos hidrogênios do material de partida que são observados como dois sinais (**Figura 35**, p. 83).

Como o solvente utilizado para a obtenção do espectro de RMN de ^1H de **(1c)** foi água deuterada (D_2O), os hidrogênios ligados aos oxigênios (OH e SO_3H) sofreram troca química e foram substituídos por deutério não sendo observados no espectro (**Figura 39**).

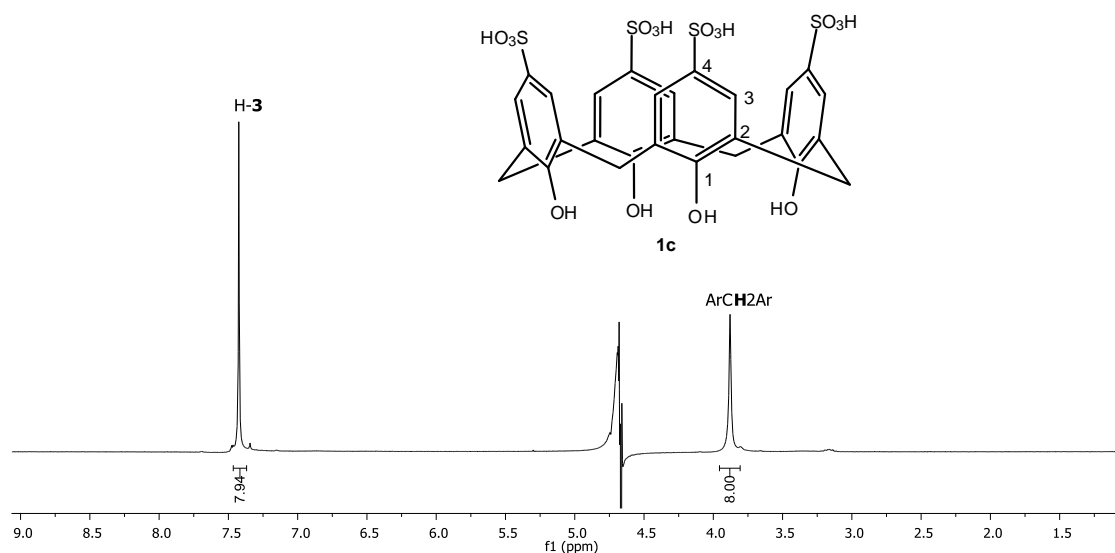


Figura 39: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67; 25 °C) do ácido *p*-sulfônico calix[4]areno (**1c**).

No espectro de RMN de ^{13}C de **(1c)**, o sinal correspondente aos carbonos metilênicos (ArCH_2Ar) foi observado em δ 30,8 (**Figura 40**, p. 88).

Nota-se ainda no espectro de RMN de ^{13}C da **Figura 40** (p. 88), os sinais dos carbonos aromáticos: δ 126,7 (C-2), 128,3 (C-3), 135,8 (C-4) e 151,7 (C-1). É digno de nota que para a substância **(1c)** o grupo sulfônico (SO_3H) se encontra diretamente ligado ao C-4, por se tratar de um grupo retirador de elétrons é esperado que ocorra um deslocamento do sinal do C-4 para frequências mais altas. Este fato foi observado no espectro de RMN de ^{13}C da substância **(1c)**, ou seja, ocorreu uma desblindagem do sinal do C-4, quando comparado com o mesmo sinal (δ 122,2) no espectro de RMN de ^{13}C da substância **(1b)** (**Figura 37**, p. 85).

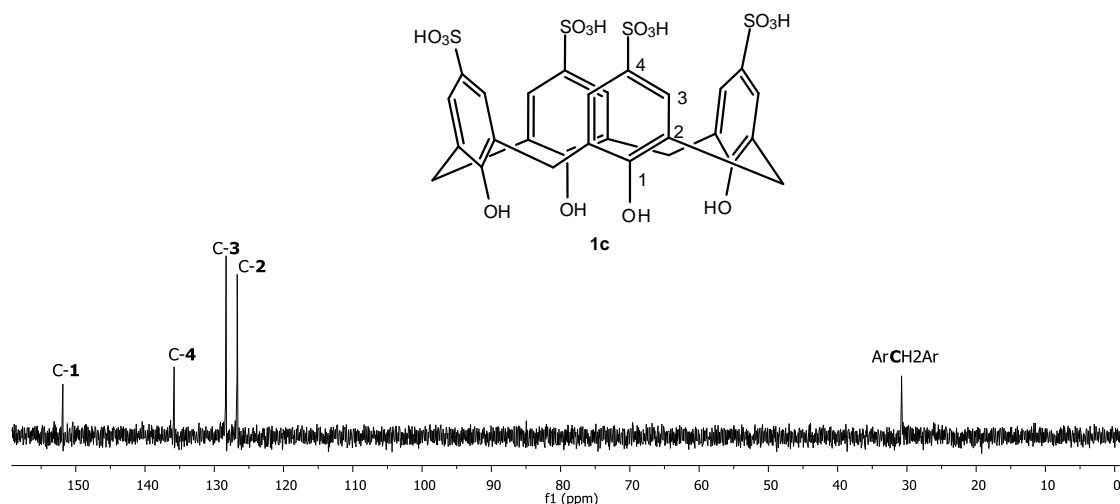
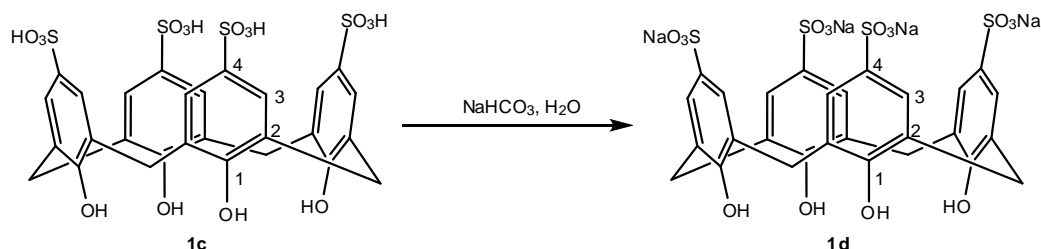


Figura 40: Espectro de RMN de ¹³C (75,459 MHz; D₂O; 25 °C) do ácido *p*-sulfônico calix[4]areno (**1c**).

9.1.4. *p*-sulfonato de sódio calix[4]areno (**1d**)

A síntese do *p*-sulfonato de sódio calix[4]areno (**1d**) foi realizada a partir do ácido *p*-sulfônico calix[4]areno (**1c**) e adição de uma solução de bicarbonato de sódio (**Esquema 16**).



Esquema 16: Reação de obtenção do *p*-sulfonato de sódio calix[4]areno (**1d**).

O espectro no IV do composto (**1d**), apresenta uma banda de absorção correspondente ao grupo hidroxila observada em 3433 cm⁻¹, que é característica de fenóis que realizam ligações de hidrogênio intramoleculares (**Figura 41**, p. 89). Portanto, a substância (**1d**) adota uma conformação na qual a formação de ligações de hidrogênio intramoleculares não é favorecida ou

muito pouco intensa. Isso ocorre, provavelmente devido a repulsão entre os grupos (SO_3Na) na coroa superior do *p*-sulfonato de sódio calix[4]areno (**1d**).

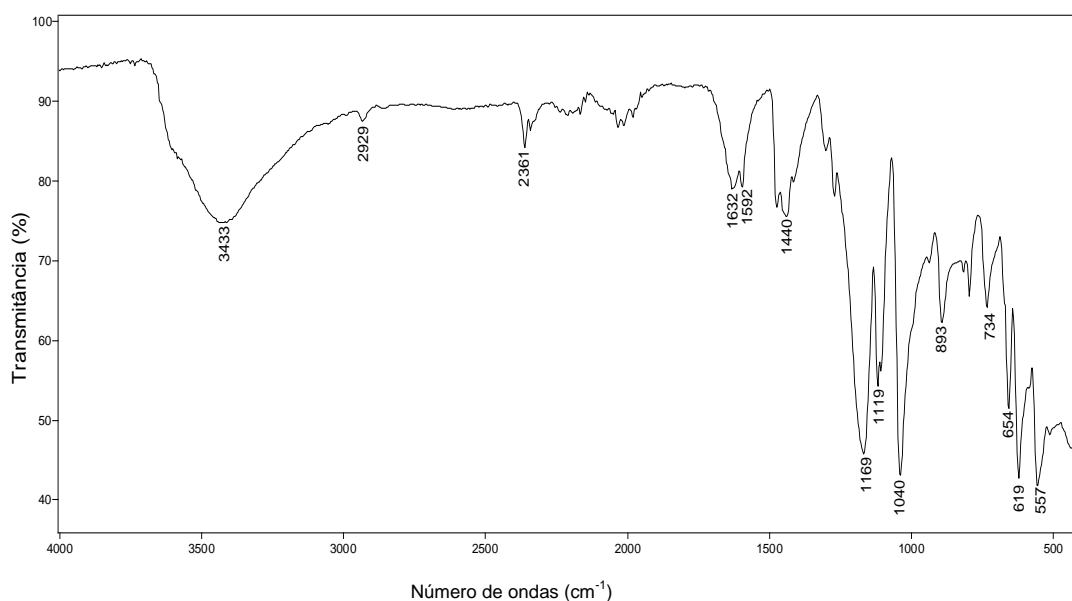


Figura 41: Espectro no IV (reflectância) do *p*-sulfonato de sódio calix[4]areno (**1d**).

No espectro de RMN de ^1H de (**1d**), o sinal para os átomos de hidrogênio aromáticos δ 7,45 (8H, s, H-3) é o esperado para o produto, que contém um anel aromático 1,2,4,6-tetrasubstituído e simétrico (**Figura 42**, p. 90). Os sinais para os átomos de hidrogênios dos grupos metilênicos do composto (**1c**) foram observados em δ 3,88 como um simpleto largo integrado para oito hidrogênios.

Como o solvente utilizado para a obtenção do espectro de RMN de ^1H foi água deuterada (D_2O), os hidrogênios ligados aos oxigênios (OH) sofreram troca química e foram substituídos por deutério não sendo observados no espectro (**Figura 42**, p. 90).

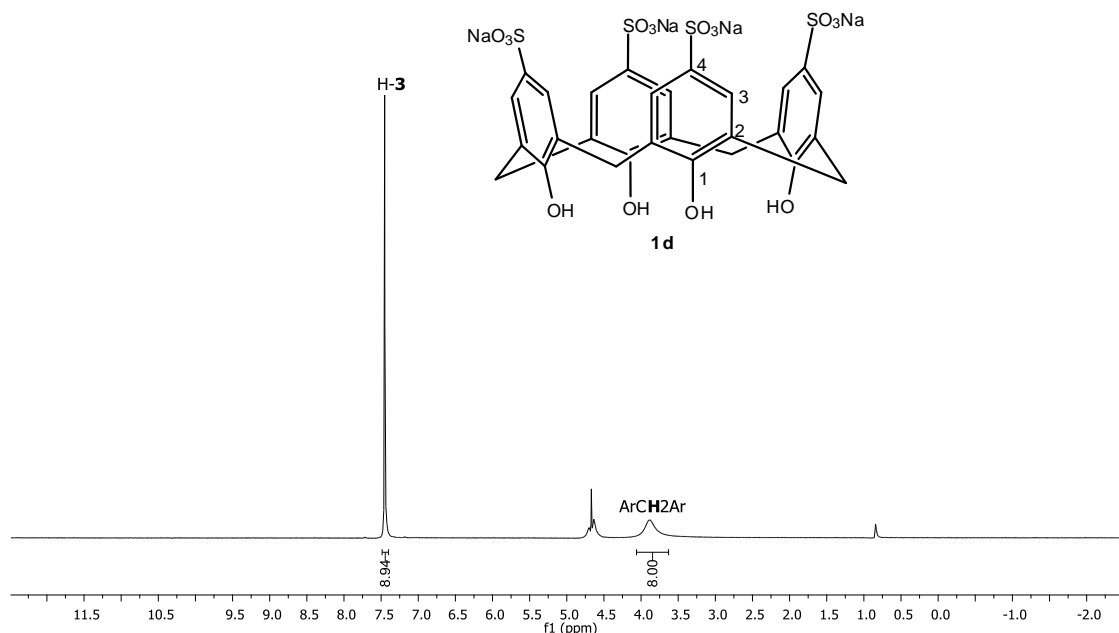


Figura 42: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; D_2O ; $\delta_{\text{H}_2\text{O}}$ 4,67; 25 °C) do *p*-sulfonato de sódio calix[4]areno (**1d**).

No espectro de RMN de ^{13}C de (**1d**), o sinal correspondente aos carbonos metilênicos (ArCH_2Ar) foi observado em δ 32,0 (**Figura 43**, p. 91).

Nota-se ainda no espectro de RMN de ^{13}C da **Figura 43** (p. 91), os sinais dos carbonos aromáticos: δ 126,1 (C-2), 130,7 (C-3), 133,7 (C-4) e 155,9 (C-1). O sinal para o C-4 está mais blindado se comparado com o mesmo sinal para o material de partida (δ 135,8). Uma vez que, ao trocarmos o hidrogênio do grupo sulfônico por um átomo de sódio, a carga parcial positiva sobre o átomo de enxofre diminui.

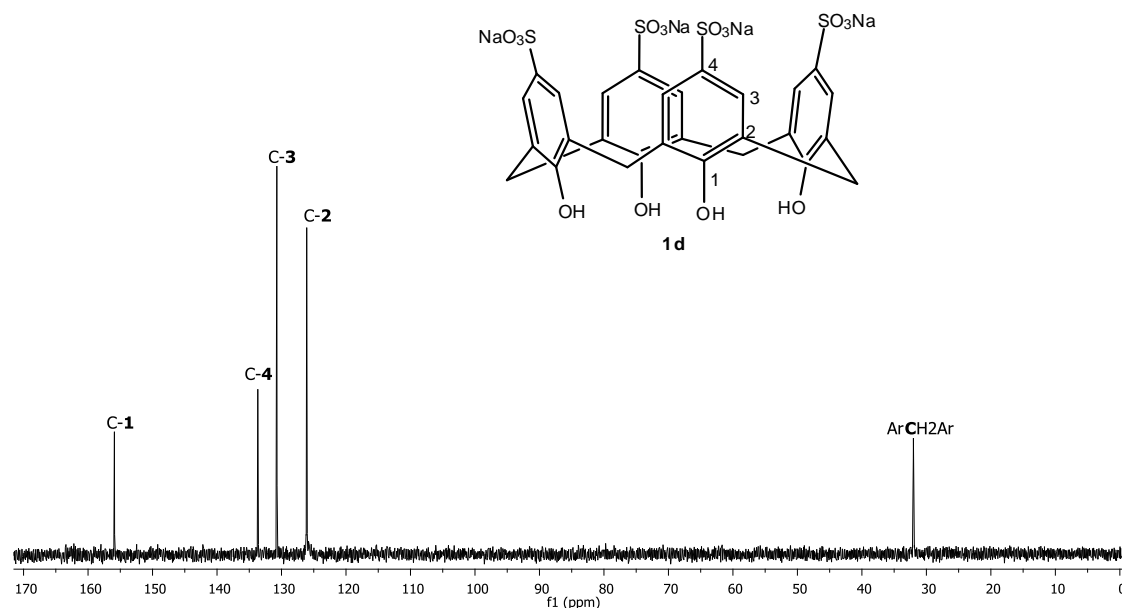
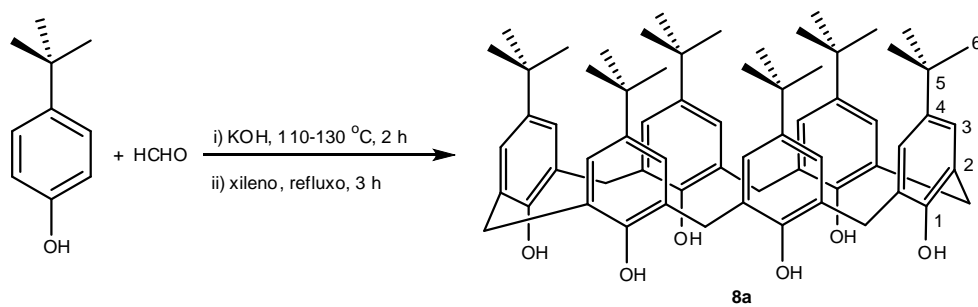


Figura 43: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; D_2O ; 25 °C) do *p*-sulfonato de sódio calix[4]areno (**1d**).

Devido à similaridade entre as substâncias (**1a-d**) discutidas anteriormente, e os compostos que serão descritos a seguir (**8a-d**), optamos por destacar apenas algumas informações consideradas relevantes para a caracterização das substâncias (**8a-d**). Os espectros no infravermelho e de RMN de ^1H e de ^{13}C obtidos para as substâncias (**8a-d**) encontram-se nos anexos (p. 129). Os dados espectroscópicos obtidos estão descritos na parte experimental (p. 115).

9.1.5. *p*-*tert*-butilcalix[6]areno (**8a**)

A síntese do *p*-*tert*-butilcalix[6]areno (**8a**), foi realizada sob aquecimento, utilizando-se *p*-*tert*-butilfenol, solução de formaldeído e meio básico conforme apresentado no **Esquema 17** (p. 92).



Esquema 17: Reação de obtenção do *p-tert*-butilcalix[6]areno (**8a**).

No espectro de RMN de ^1H da substância (**8a**), um sinal que é diagnóstico para a caracterização do produto é o simpleto largo em δ 3,90 (12H, ArCH_2Ar) (**Figura 44**, p. 93). O espectro de RMN de ^1H da substância (**8a**) apresenta apenas um simpleto largo à temperatura ambiente correspondente aos hidrogênios metilênicos, devido a maior flexibilidade dessa molécula. A barreira de energia para a interconversão conformacional do *p-tert*-butilcalix[6]areno (**8a**) é de 13,1 kcal/mol enquanto que para o *p-tert*-butilcalix[4]areno (**1a**) é de 15,7 kcal/mol⁶. Portanto, os hidrogênios do grupo CH_2 não são heterotópicos como foi observado para a substância (**1a**) (**Figura 10**, p. 22).

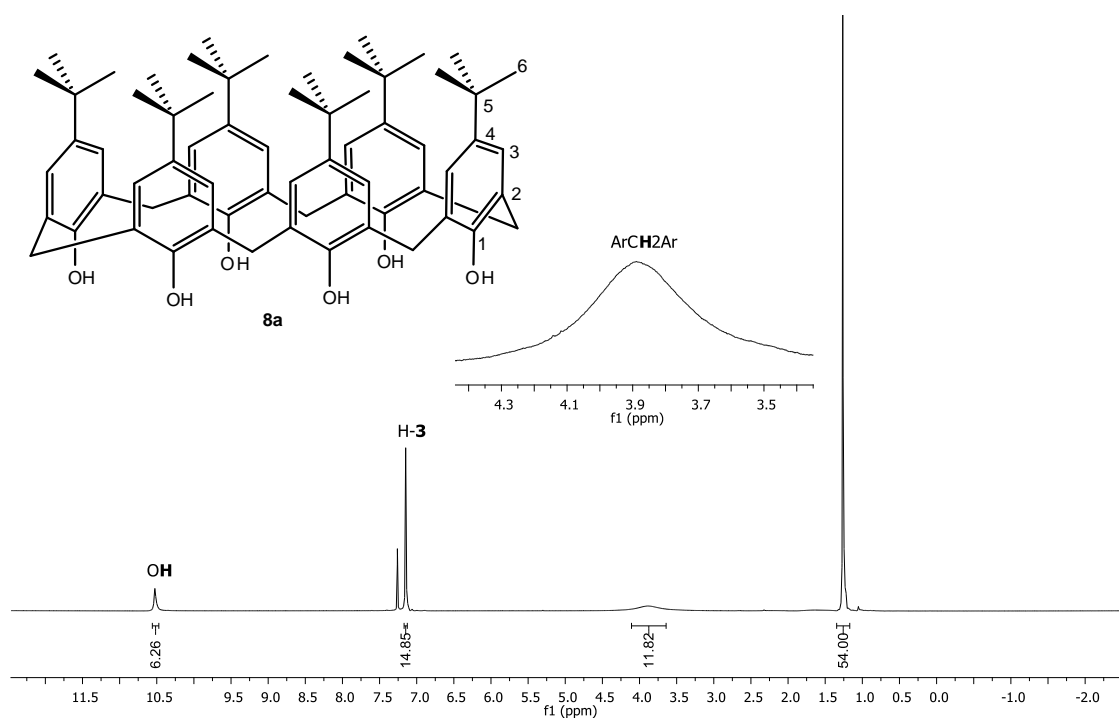


Figura 44: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CHCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) do *p-tert*-butilcalix[6]areno (**8a**).

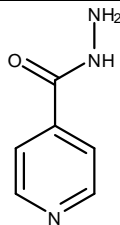
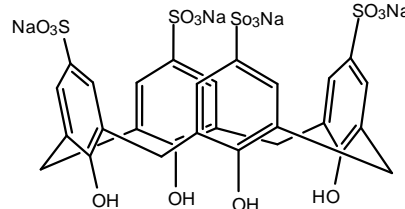
9.2. Caracterização dos complexos de inclusão

9.2.1. Complexo entre o *p*-sulfonato de sódio calix[4]areno (**1d**) e a ISZ (**11**)

Iniciamos a caracterização por avaliar a variação nos deslocamentos químicos dos hidrogênios da **ISZ** pura e na presença do hospedeiro (**1d**). Os resultados encontram-se sumarizados na **Tabela 5** (p. 94) e mostram que, os hidrogênios da **ISZ** sofreram variações nos deslocamentos químicos. Portanto podemos inferir que houve alteração nas características espectrais da **ISZ** devido à redistribuição da densidade eletrônica. Em outras palavras, isso significa que as moléculas de **ISZ** se encontram em ambiente químico diferente. Esse resultado é um indício das interações entre a **ISZ** e o *p*-sulfonato de sódio calix[4]areno (**1d**). Podemos observar na **Tabela 5** (p. 94), que os hidrogênios H-**5,9** foram os que sofreram maior variação de

deslocamento químico, o que nos fornece os primeiros indícios de que estes hidrogênios se encontram inseridos na cavidade do *p*-sulfonato de sódio calix[4]areno (**1d**).

Tabela 5: Valores de deslocamento químico de RMN de ^1H das substâncias (**11**) e (**1d**) puras e do complexo (**1d:11**) e as diferenças de deslocamento químico ($\Delta\delta = \delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexada}}$)

			
	Isoniazida (11)	<i>p</i> -sulfonato de sódio calix[4]areno (1d)	
	Substâncias puras	(1d:11)	(1d:11)
Hidrogênios	δ	δ	$\Delta\delta = \delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexada}}$
(11) H-5,9	7,59	7,51	0,08
(11) H-6,8	8,57	8,41	0,06
(1d) H-3	7,48	7,38	0,10
(1d) CH ₂	3,85	3,84	0,01

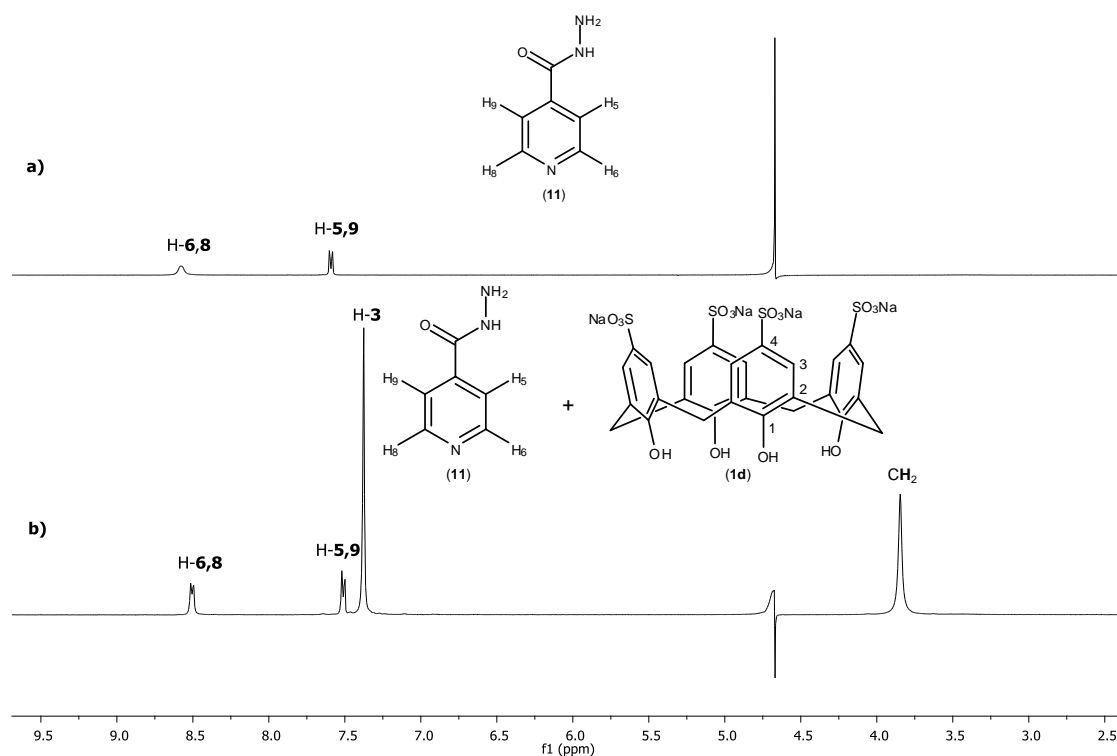


Figura 45: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; D₂O; δ_{HDO} 4,67; 25 °C) **a)** ISZ (**11**) pura e **b)** (**1d:11**).

Para a caracterização de um complexo do tipo hóspede-hospedeiro uma etapa fundamental é a determinação da estequiometria do complexo. Para tanto, foi realizada a titulação do complexo por RMN de ^1H empregando o método de Job⁸⁵. Tratando os dados de RMN de ^1H e plotando o gráfico de variação da razão molar *versus* variação de deslocamento químico multiplicado pela razão molar (**Figura 46**) podemos observar que o ponto máximo corresponde a estequiometria de 1:1 para o complexo (**1d:11**).

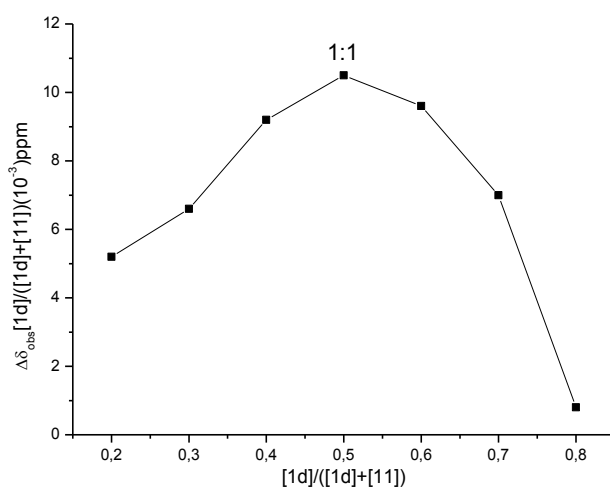


Figura 46: Gráfico da titulação através do método de Job⁸⁵ para o complexo *p*-sulfonato de sódio calix[4]areno:ISZ (**1d:11**).

Prosseguindo com a caracterização do complexo, realizamos experimentos de ROESY 1D para mapearmos as interações intermoleculares e diagnosticarmos quais átomos de hidrogênio da **ISZ** estão próximos dos átomos de hidrogênio de (**1d**) no espaço.

Optamos por irradiar seletivamente os hidrogênios H-6,8 de (**11**), uma vez que o sinal dos hidrogênios H-5,9 de (**11**) encontram-se muito próximos ao sinal dos hidrogênios H-3 de (**1d**), o que impossibilita a irradiação seletiva do mesmo. Analisando o espectro de ROESY 1D (**Figura 47**, p. 96) pôde-se verificar que não foram observados incrementos de rOe com os hidrogênios H-3 e CH₂ de (**1d**) quando o sinal dos hidrogênios H-6,8 de (**11**) foram irradiados

seletivamente. Apesar de não observamos incrementos de rOe entre (11) e (1d) pode-se observar incrementos de rOe entre H-5,9 e H-6,8 quando o sinal dos hidrogênios H-6,8 foram irradiados seletivamente. Esta constatação já era esperada devido a proximidade no espaço destes hidrogênios e por se tratar de incrementos de rOe intramoleculares que são mais fáceis de serem observados.

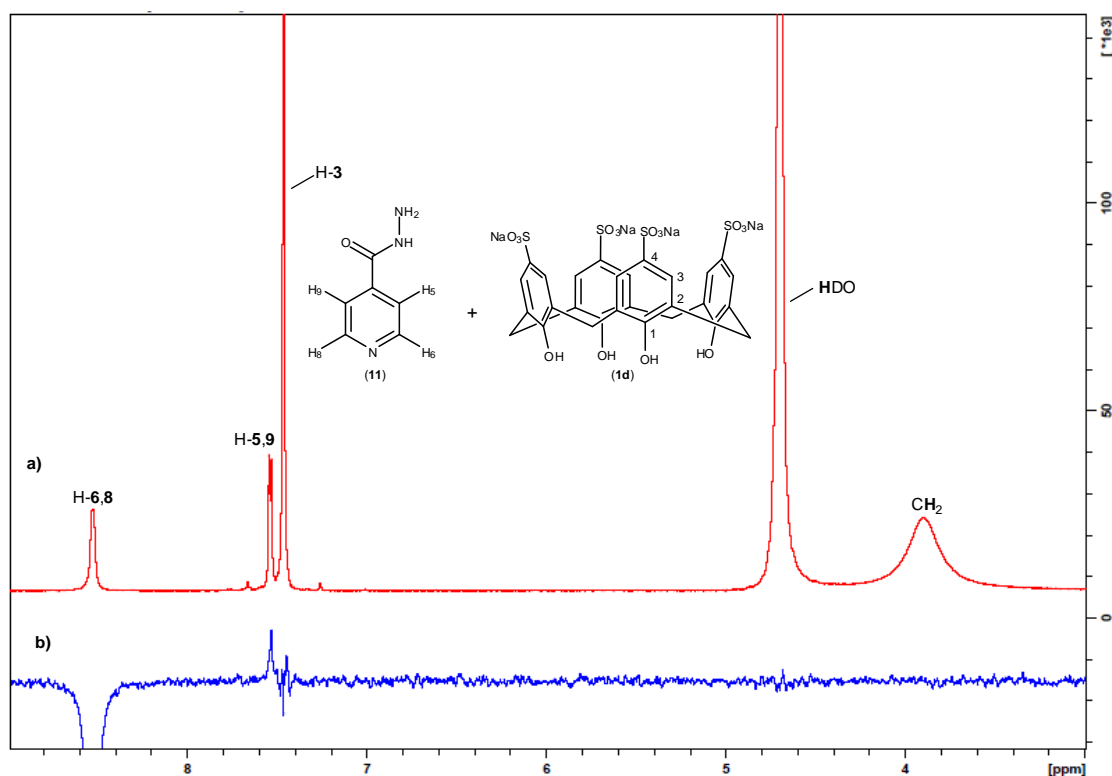


Figura 47: a) Espectro de RMN de ¹H (400 MHz; D₂O; δ_{HDO} 4,67, 25 °C) do complexo de 40 mmol/L do *p*-sulfonato de sódio calix[4]areno e 20 mmol/L da isoniazida; b) Experimento de ROESY 1D irradiando seletivamente H-6,8 de (11).

Como não foi possível obter informações sobre as interações intermoleculares com a formação do complexo entre (1d:11) por meio de experimentos de ROESY 1D, optamos por usar outra técnica na caracterização desse complexo. Para tanto optamos por realizar experimentos de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC). Neste sentido, avaliamos o complexo isoniazida (11) e *p*-sulfonato de sódio calix[4]areno (1d) por DSC.

Novas evidências da ocorrência da complexação podem ser observadas pelas curvas de análise térmica comparativa entre as substâncias puras (**ISZ** e **1d**), o complexo (**1d:ISZ**) e misturas físicas da **ISZ** com o hospedeiro (**1d**) (**Figura 48**, p. 98).

Na curva de DSC obtida para a **ISZ** apenas um evento endotérmico foi observado com temperatura de transição entre 171-178 °C, que corresponde ao ponto de fusão da **ISZ**⁸⁸ (**Figura 48**, p. 98). A curva de DSC obtida para a substância (**1d**) mostra um pico endotérmico largo entre 25-100 °C, correspondente a perda de moléculas de água inseridas na cavidade de (**1d**)⁸⁹ (**Figura 48**, p. 98). Em geral a indicação da formação de complexos de inclusão do tipo hóspede-hospedeiro é verificada pela ausência do pico de transição endotérmico característico da molécula hóspede⁹⁰. De fato, na **Figura 48** (p. 98), pode-se notar que a curva de DSC do complexo (**1d:11**) apresenta um pico endotérmico alargado entre 25-100 °C, além disso podemos verificar que o pico de transição da **ISZ** não está presente. Tais resultados indicam a perda da estrutura cristalina da **ISZ**, devido à complexação com (**1d**). Ainda de acordo com a **Figura 48** (p. 98), podemos observar que a curva de DSC correspondente a mistura física entre (**1d/11**), apresenta um pico endotérmico entre 171-178 °C, devido a presença de cristais da **ISZ** que não sofreram alterações em suas propriedades, indicando assim que não ocorreu a complexação. De posse dessas informações sugerimos a inclusão de (**11**) na cavidade de (**1d**).

⁸⁸ Freire, F. D.; Aragão C. F. S.; Moura, T. F. A. L.; Raffin, F. N. *J Therm Anal Calorim* **2009**, *97*, 333.

⁸⁹ Liu, C.; Luo, F.; Bi, Y.; Liao, W.; Zhang, H. *J. Mol. Struct.* **2008**, *888*, 313.

⁹⁰ Lin, S. Y.; Kao, Y. H. *Int. J. Pharm.* **1989**, *56*, 249.

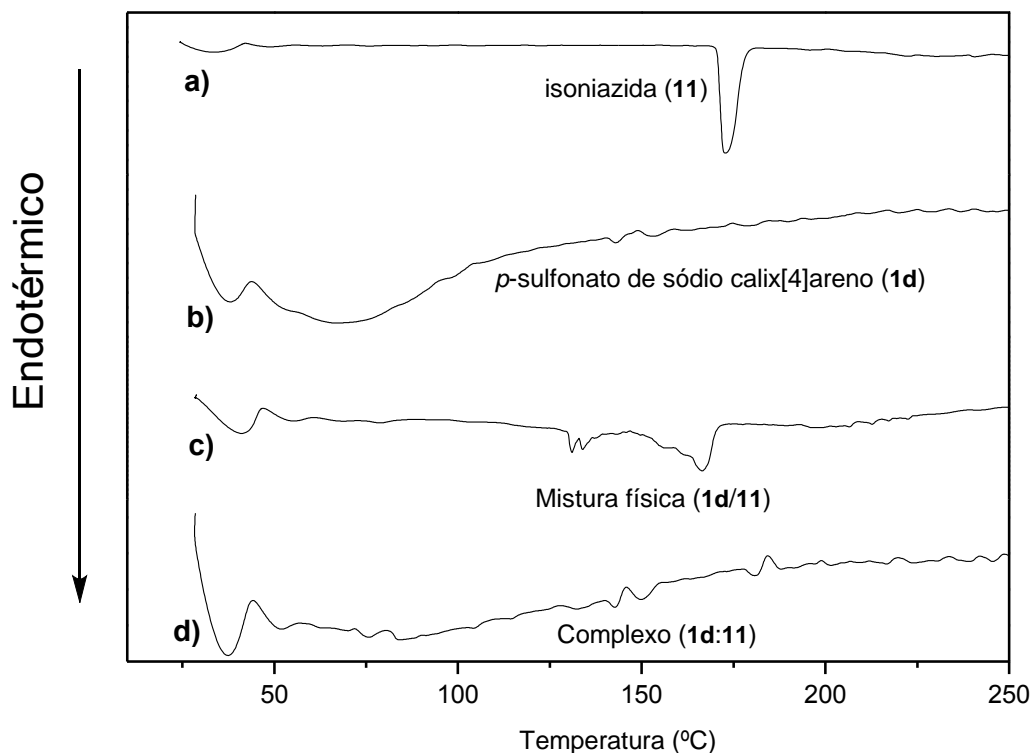


Figura 48: Curvas de DSC das amostras: **a)** ISZ; **b)** **1d**; **c)** mistura física (**1d:11**) e **d)** complexo (**1d:11**).

Apesar de não observarmos nenhum incremento de rOe entre (**11**) e (**1d**), observamos variação de deslocamento químico dos hidrogênios da isoniazida, sendo evidente a interação de (**11**) com (**1d**). Baseados nos dados de deslocamento químico e titulação por RMN de ^1H descritos anteriormente podemos propor a topologia do complexo (**11:1d**) conforme **Figura 49**.

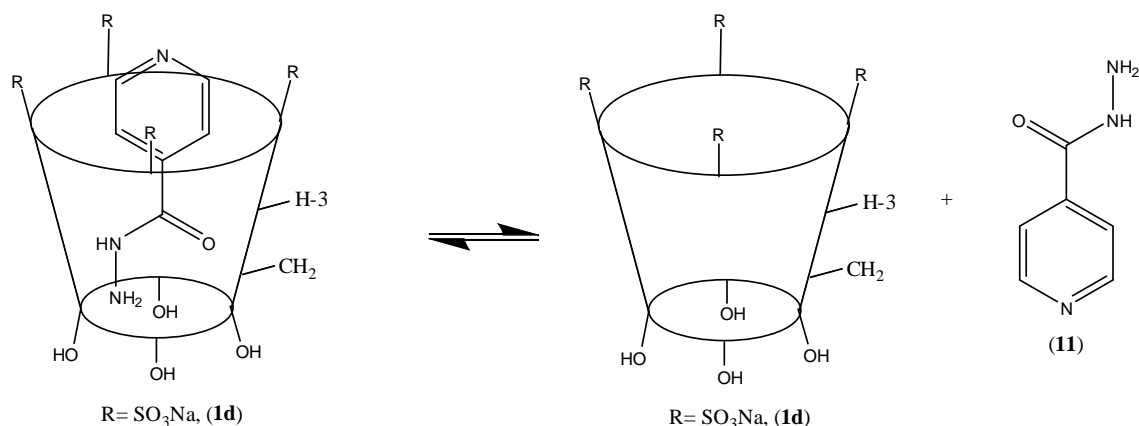
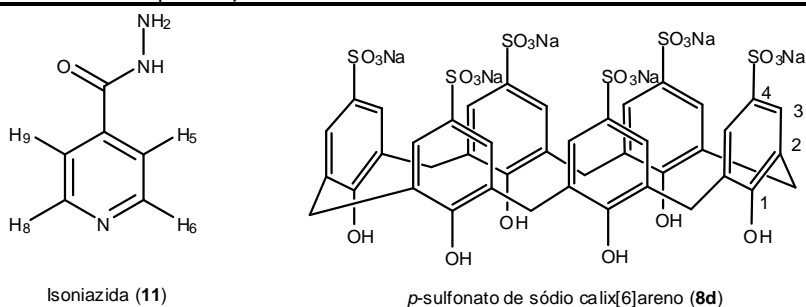


Figura 49: Topologia proposta para o complexo (**1d:11**) baseados nos dados de deslocamento químico e titulação.

9.2.2. Complexo entre o *p*-sulfonato de sódio calix[6]areno (**8d**) e a ISZ (**11**)

Os resultados sumarizados na **Tabela 6** mostram que, os hidrogênios da **ISZ** sofreram variações nos deslocamentos químicos. Essa observação nos fornece os primeiros indícios de que houve interação entre os compostos (**8d**) e (**11**). Podemos observar que os hidrogênios H-**5,9** foram os que sofreram maior variação de deslocamento químico, o que nos indica uma maior interação dos mesmos com a cavidade do *p*-sulfonato de sódio calix[4]areno (**8d**).

Tabela 6: Valores de deslocamento químico de RMN de ^1H das substâncias (**11**) e (**8d**) puras e do complexo (**8d:11**) e as diferenças de deslocamento químico ($\Delta\delta = \delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexada}}$)



Substâncias puras	(8d:11)	
	δ	$\Delta\delta = \delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexada}}$
Hidrogênios	δ	$\Delta\delta = \delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexada}}$
(11) H- 5,9	7,59	0,09
(11) H- 6,8	8,57	0,07
(8d) H- 3	7,38	0,01
(8d) CH ₂	3,86	0,01

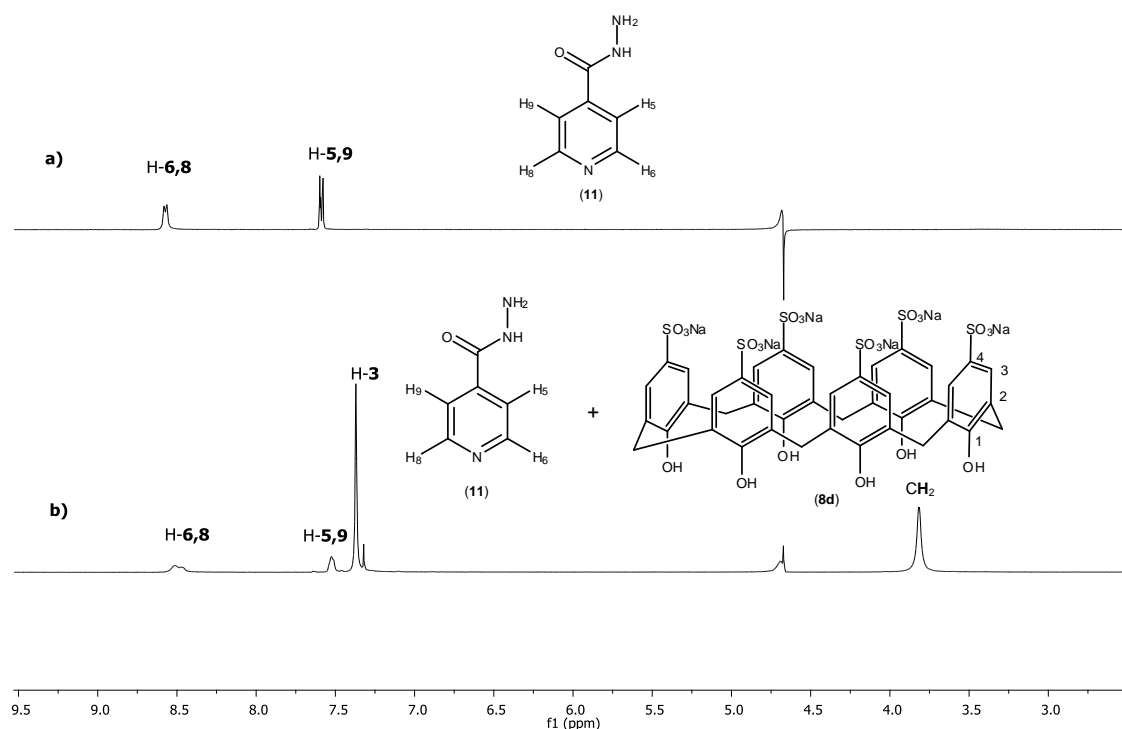


Figura 50: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67; 25 °C) **a)** substância (11) pura e **b)** (8d:11).

Após realizarmos a titulação por RMN de ^1H (método de Job)⁸⁵, observamos que o complexo predominante é o de estequiometria 1:1 para (8d:11) (Figura 51).

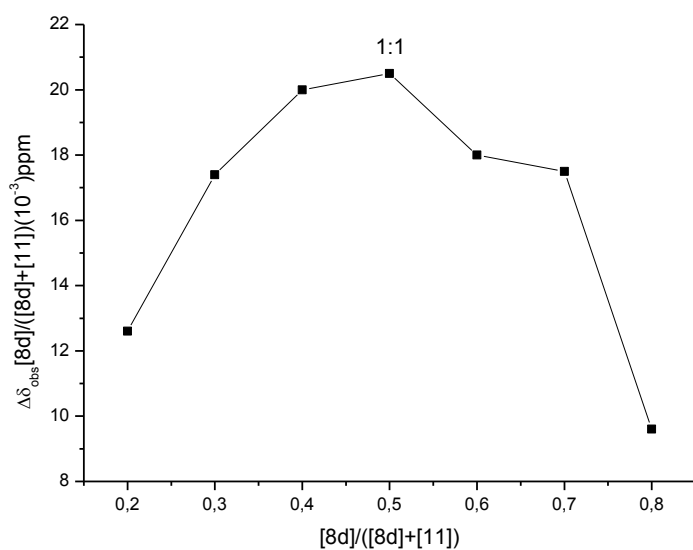


Figura 51: Gráfico da titulação através do método de Job⁸⁵ para o complexo *p*-sulfonato de sódio calix[6]areno:isoniazida (8d:11).

Prosseguindo com a caracterização do complexo (**8d:11**), realizamos experimentos de ROESY 1D para mapearmos as interações intermoleculares entre (**8d**) e (**11**) buscando diagnosticar quais os átomos de hidrogênio que estão próximos no espaço.

Optamos por irradiar seletivamente os hidrogênios H-6,8 de (**11**), uma vez que o sinal dos hidrogênios H-5,9 de (**11**) encontra-se muito próximo ao sinal dos hidrogênios H-3 de (**8d**) o que impossibilita a irradiação seletiva dos mesmos. Analisando o espectro de ROESY 1D pôde-se verificar que não foram observados incrementos de rOe com os hidrogênios H-3 e CH₂ de (**8d**) quando os hidrogênios H-6,8 de (**11**) foram irradiados seletivamente (**Figura 52**).

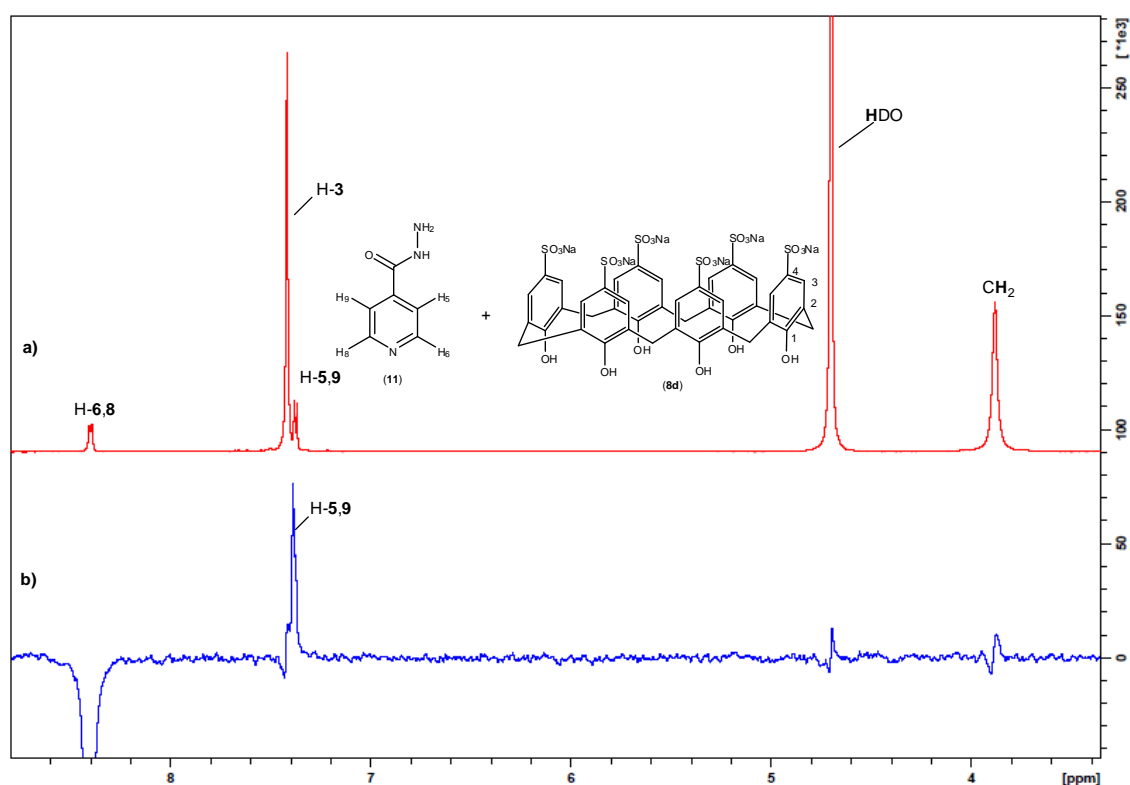


Figura 52: a) Espectro de RMN de ¹H (400 MHz; D₂O; δ_{HDO} 4,67, 25 °C) da mistura de 40 mmol/L do *p*-sulfonato de sódio calix[6]areno e 20 mmol/L da isoniazida; b) Experimento de ROESY 1D irradiando seletivamente H-6,8 de (**11**).

Apesar de não obtermos resultados que confirmem as interações intermoleculares entre (8d) e (11) observamos interações entre os hidrogênios H-6,8 e H-5,9 o que era esperado devido a proximidade dos mesmos.

Para verificarmos a obtenção do complexo de inclusão optamos novamente pela técnica de DSC. Analisando a curva de DSC para o complexo (8d:11), podemos observar evidências das interações entre (8d) e (11). De acordo com a curva obtida para o complexo (8d:11) podemos observar a presença de pico endotérmico alargado entre 25-100 °C, além disso podemos verificar a ausência do pico de transição da **ISZ** (**Figura 53**). Portanto, podemos inferir que ocorreu a perda da estrutura cristalina do fármaco, devido à complexação. Ainda de acordo com a **Figura 53**, podemos observar que a curva de DSC correspondente a mistura física entre (8d/11), apresenta um pico endotérmico entre 171-178 °C, devido a presença de cristais da **ISZ** que não sofreram alterações em suas propriedades, indicando assim que não ocorreu a complexação. De posse dessas informações sugerimos a inclusão de (11) na cavidade de (8d).

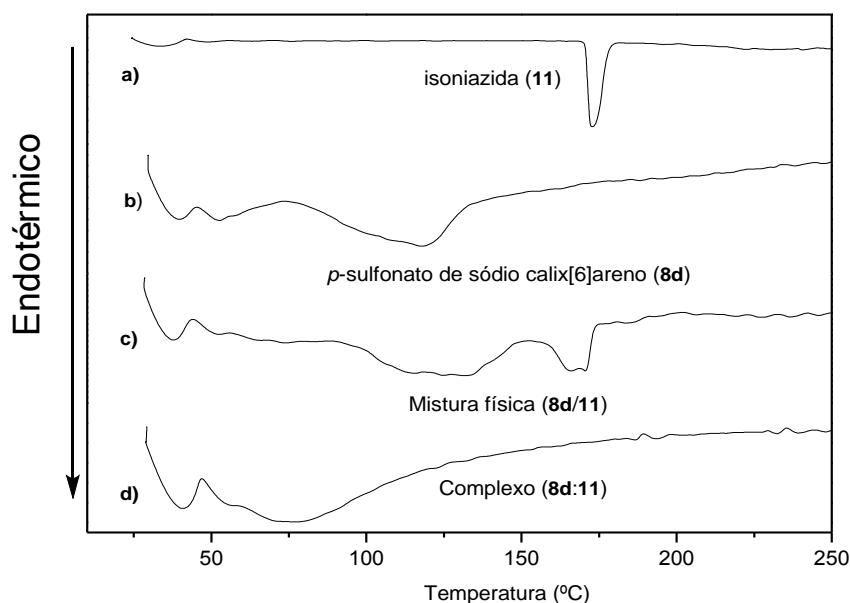


Figura 53: Curvas de DSC das amostras: **a) ISZ;** **b) 8d;** **c) mistura física (8d/11);** **d) complexo de inclusão (8d:11).**

Tabela 7: Valores de deslocamento químico de RMN de ^1H das substâncias (11) e (9) puras e do complexo (9:11) e as diferenças de deslocamento químico ($\Delta\delta = \delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexada}}$)

		Substâncias puras		(9:11)	(9:11)
Hidrogênios		δ	δ	$\Delta\delta = \delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexada}}$	
(11)	H-5,9 de 11	7,59	7,60	0,01	
(11)	H-6,8 de 11	8,57	8,54	0,03	
(9)	H-3 de 9	3,85	3,76	0,09	
(9)	H-5 de 9	3,80	3,72	0,08	

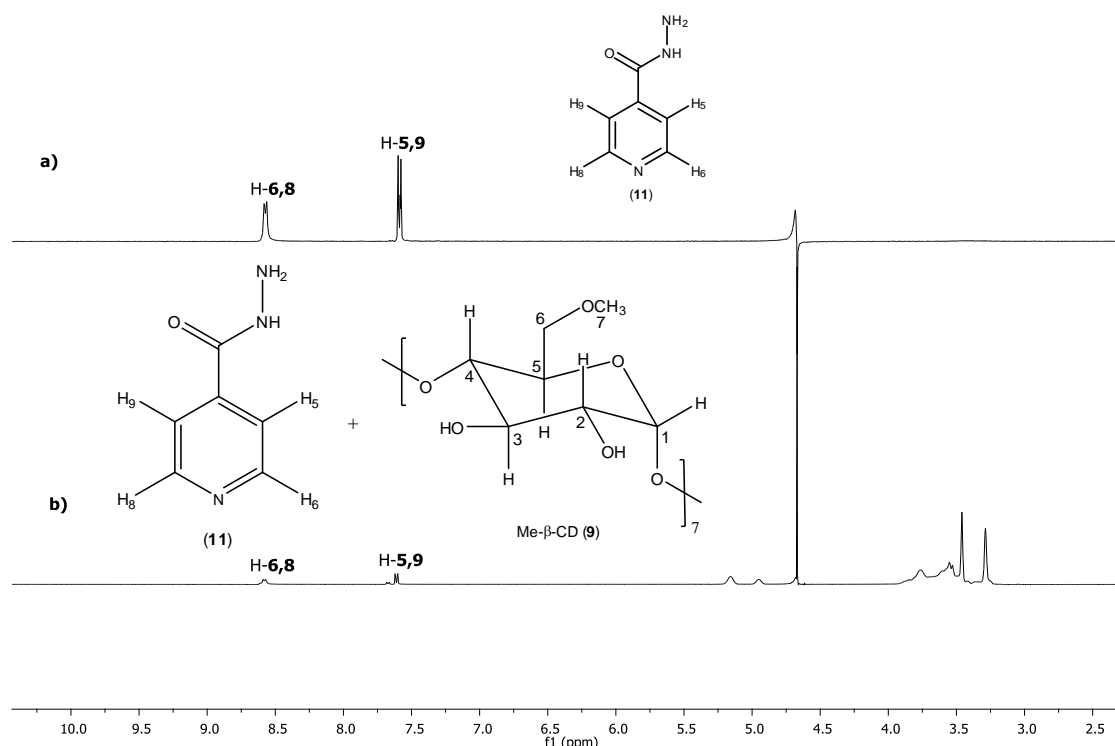


Figura 55: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67; 25 °C) a) substância (11) pura e b) (9:11).

Por meio da titulação por RMN de ^1H (método de Job)⁸⁵, observamos que a estequiometria do complexo (9:11) é de 1:1 (Figura 56, p. 105).

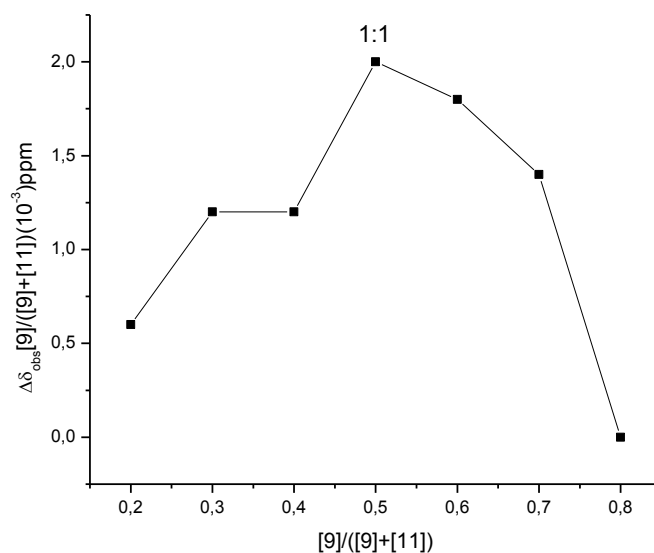


Figura 56: Gráfico da titulação através do método de Job⁸⁵ para o complexo metil-β-ciclodextrina:isoniazida (9:11).

Para mapearmos as interações intermoleculares optamos por realizar experimentos de ROESY 1D, irradiando os hidrogênios H-5,9 e H-6,8 de (11). Podemos observar que ao irradiarmos os H-5,9 de (11) verificamos incrementos de rOe para os hidrogênios de H-3 e H-5 da Me-β-CD (Figura 57, p. 106).

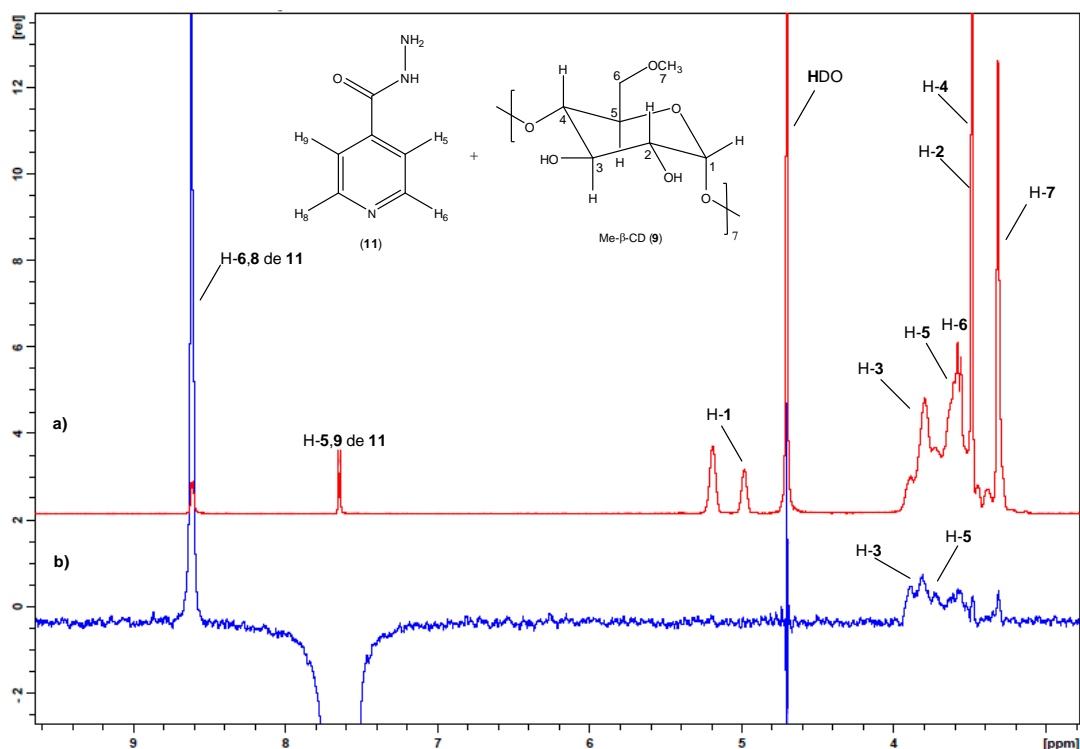


Figura 57: a) Espectro de RMN de ^1H (400 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67, 25 °C) da mistura de 40 mmol/L da Me- β -CD e 20 mmol/L da isoniazida; b) Experimento de ROESY 1D irradiando seletivamente H-5,9 de (11).

Com os dados de deslocamento químico, estequiometria e incrementos de rOe podemos propor a topologia do complexo (9:11) conforme indicado a seguir (Figura 58).

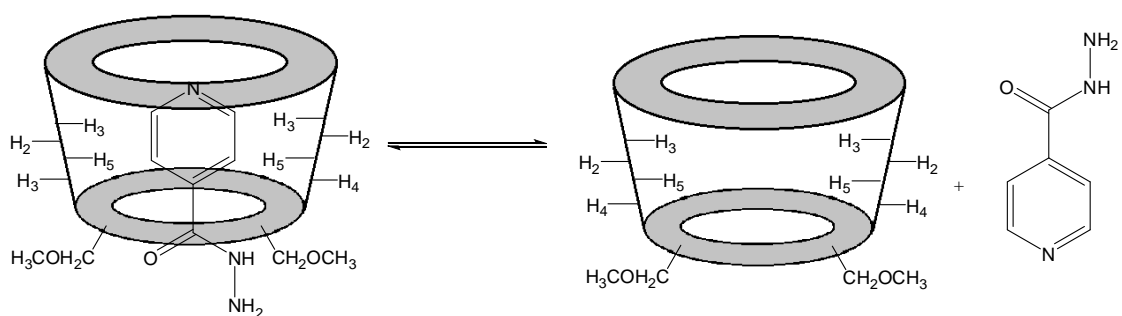


Figura 58: Topologia proposta para o complexo (9:11) baseados nos dados de deslocamento químico, titulação e incrementos de rOe.

Foram realizados também experimentos de DSC para o complexo (9:11). Por meio dos quais, foi possível observar que as CDs não apresentam ponto de fusão bem definido, mas sim uma transição que está relacionada com

a perda de moléculas de água que estavam inseridas na cavidade, para a **Me-β-CD** observa-se um pico endotérmico largo de 25 a 75 °C⁹¹. Na **Figura 59**, pode-se observar na curva de DSC para o complexo (**9:11**), um pico endotérmico alargado entre 25 e 75 °C e a ausência do pico de transição da **ISZ**, indicando assim perda da estrutura cristalina da **ISZ**, devido a formação do complexo de inclusão.

Ainda de acordo com a **Figura 59**, podemos observar que a curva de DSC correspondente a mistura física entre (**9/11**), apresenta um pico endotérmico entre 171-178 °C, devido a presença de cristais do fármaco que não sofreram alterações em suas propriedades, indicando assim que não ocorreu a formação do complexo.

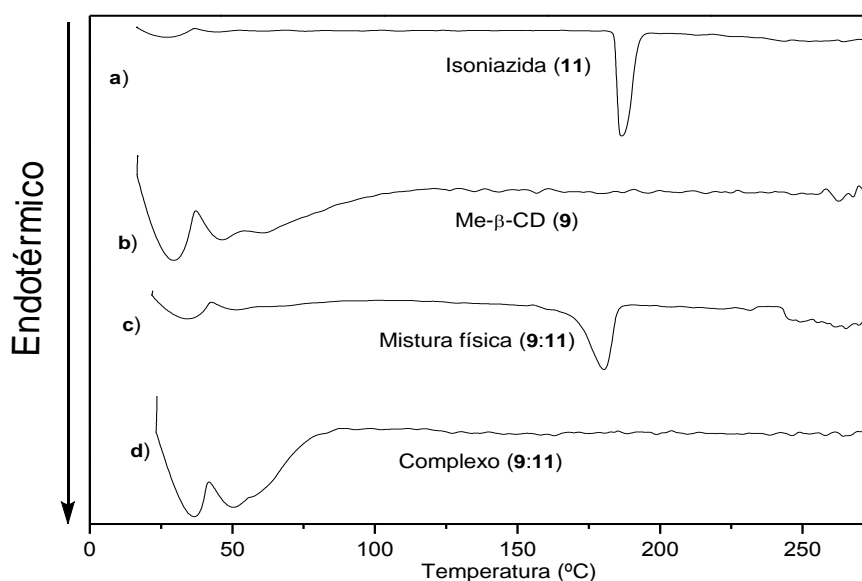


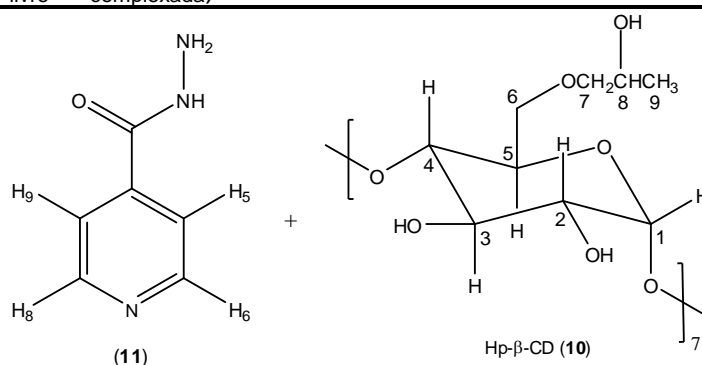
Figura 59: Curvas de DSC das amostras: **a) ISZ; b) Me-β-CD; c) mistura física (9/11); d) complexo de inclusão (9:11).**

⁹¹ Charoenchaitrakool, M.; Dehghani, F.; Foster, N. R. *Int. J. Pharm.* **2002**, 239, 103.

9.2.4. Complexo entre a Hp-β-CD (10) e a ISZ (11)

Os resultados sumarizados na **Tabela 8** mostram que os hidrogênios da H-5,9 de (11) sofreram maior variação no deslocamentos químicos. Esse resultado é um indício da formação do complexo, portanto podemos sugerir a interação de (11) com a cavidade da Hp-β-CD (10).

Tabela 8: Valores de deslocamento químico de RMN de ^1H das substâncias (11) e (10) puras e do complexo (10:11) e as diferenças de deslocamento químico ($\Delta\delta = \delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexada}}$)



	Substância puras	(10:11)	(10:11)
Hidrogênios	δ	δ	$\Delta\delta = \delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexada}}$
(11) H-5,9 de 11	7,59	7,62	0,03
(11) H-6,8 de 11	8,57	8,58	0,01
(10) H-3 de 10	3,92	3,91	0,01
(10) H-5 de 10	3,77	3,76	0,01

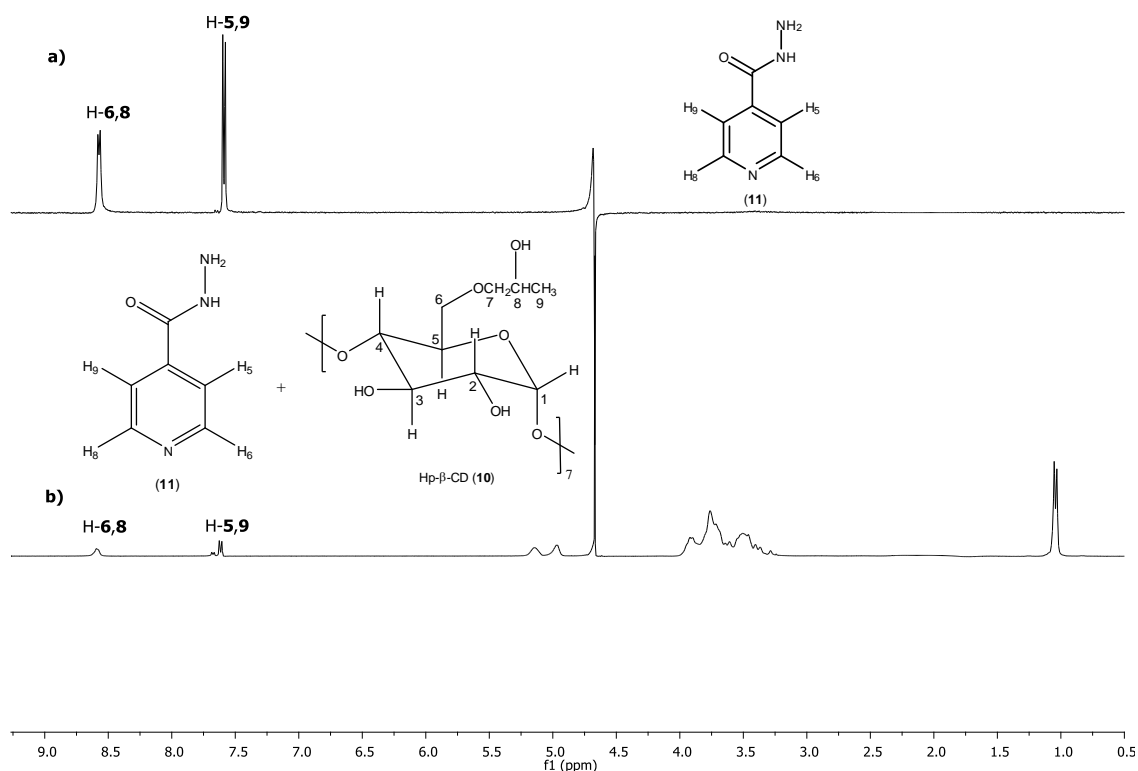


Figura 60: Espectro de RMN de ¹H (300,069 MHz; D₂O; δ_{HDO} 4,67; 25 °C) a) substância (11) pura e b) (10:11).

Por meio da titulação por RMN de ¹H (método de Job)⁸⁵, verificamos que a estequiometria do complexo (10:11) é de 1:1 (Figura 61).

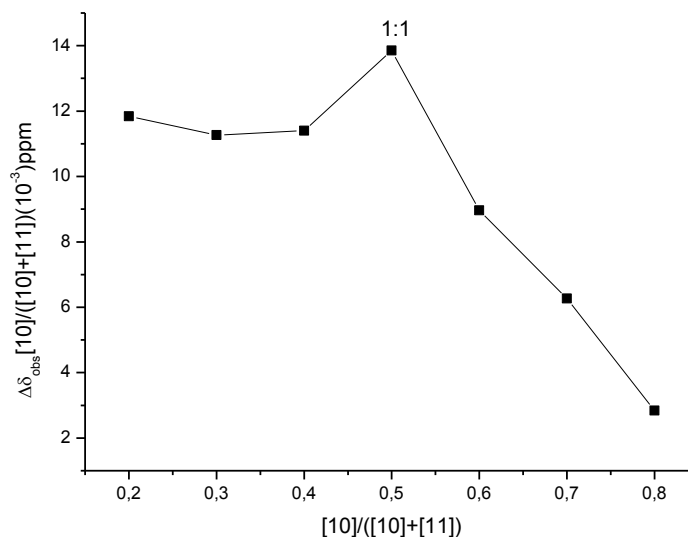


Figura 61: Gráfico da titulação através do método de Job⁸⁵ para o complexo Hp-β-ciclodextrina:isoniazida (10:11).

Para mapearmos as interações intermoleculares decidimos realizar experimentos de ROESY 1D, irradiando os hidrogênios H-5,9 e H-6,8 de (11).

Podemos observar que ao irradiarmos os H-5,9 de (11) verificamos incrementos de rOe para os hidrogênios de H-3 e H-5 da Hp-β-CD (Figura 62).

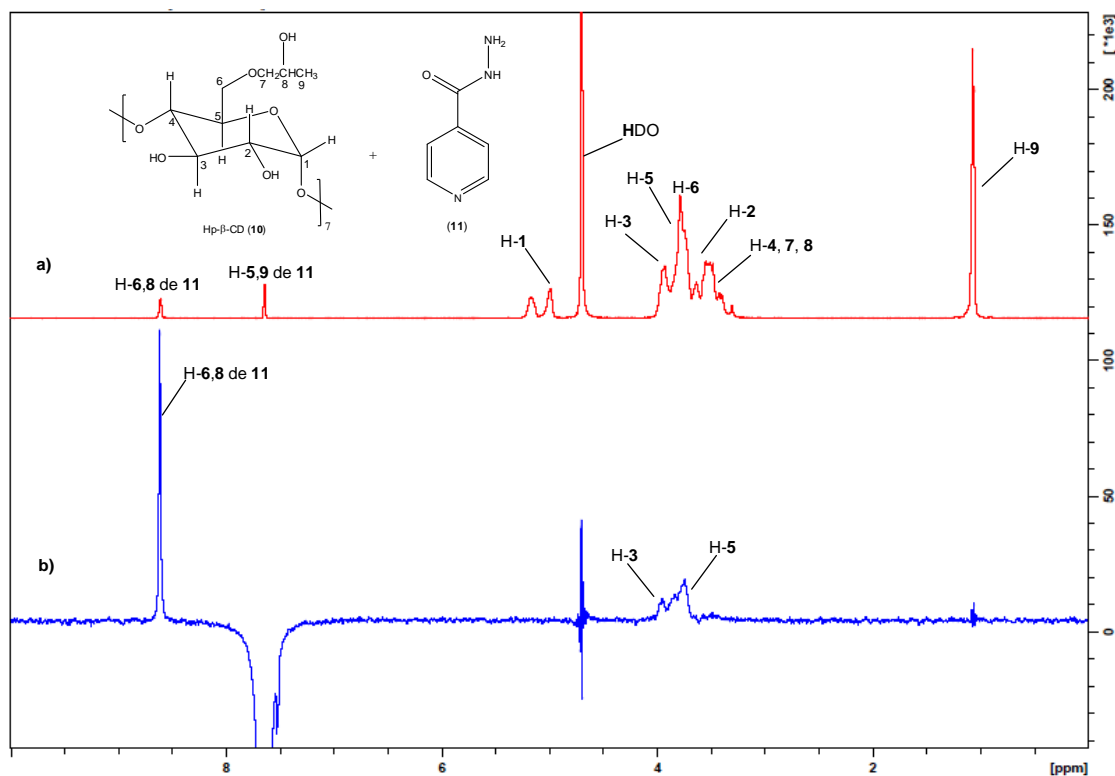


Figura 62: **a)** Espectro de RMN de ^1H (400 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67, 25 °C) da mistura de 40 mmol/L da Hp-β-CD e 20 mmol/L da isoniazida; **b)** Experimento de ROESY 1D irradiando seletivamente H-5,9 de (11).

Com os dados de deslocamento químico, estequiometria e incrementos de rOe podemos propor a topologia do complexo (9:11) conforme indicado a seguir (Figura 63).

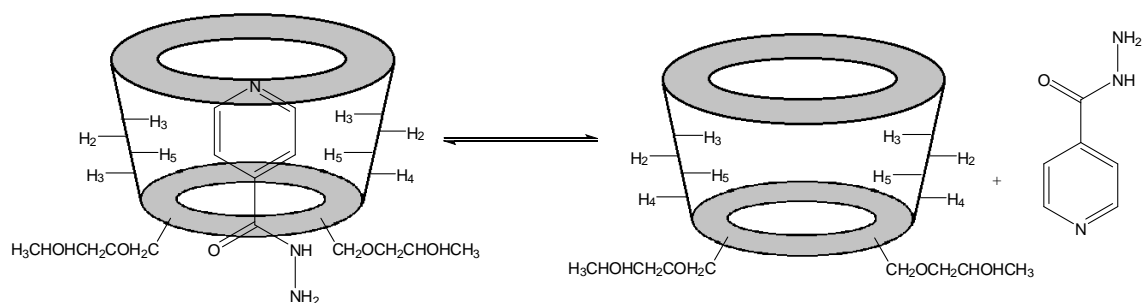


Figura 63: Topologia proposta para o complexo (10:11) baseados nos dados de deslocamento químico, titulação e incrementos de rOe.

Assim como para os demais complexos estudados até o momento, foram também realizadas medidas de DSC. Na curva de DSC da **Hp-β-CD** observa-se um pico endotérmico largo de 25 a 90 °C⁹², que está relacionado com a perda de moléculas de água que encontram-se inseridas na cavidade (**Figura 64**, p. 112). De acordo com as curvas de DSC encontradas para o complexo (**10:11**), evidências da ocorrência de inclusão podem ser observadas. Nota-se que a curva de DSC do complexo (**10:11**), apresenta um pico endotérmico alargado entre 25-90 °C, além disso podemos verificar a ausência do pico de transição da **ISZ** (**Figura 64**, p. 112). Portanto, podemos inferir que ocorreu a perda da estrutura cristalina do fármaco, devido à complexação. Ainda de acordo com a **Figura 64** (p. 112), podemos observar que a curva de DSC correspondente a mistura física entre (**10/11**), apresenta um pico endotérmico entre 171-178 °C, devido a presença de cristais do fármaco que não sofreram alterações em suas propriedades, indicando assim que não ocorreu a formação do complexo.

⁹² Spulber, M.; Pinteala, M.; Harbagiu, V.; Simionescu, B. C. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2008**, *61*, 41.

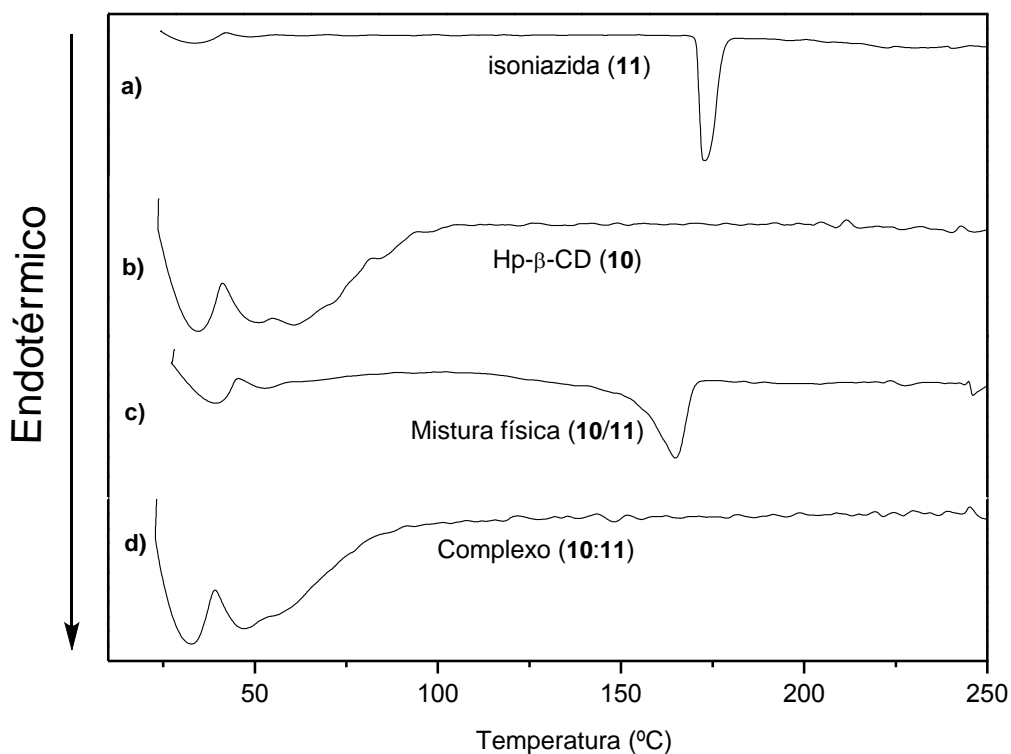


Figura 64: Curvas de DSC das amostras: **a) ISZ**; **b) Hp-β-CD**; **c) mistura física (10/11)**; **d) complexo de inclusão (10:11)**.

9.3. Avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* da ISZ, de seus complexos de inclusão e misturas físicas frente ao *M. tuberculosis*

A atividade antibacteriana dos complexos e misturas físicas (1d:11, 8d:11, 9:11 e 10:11) e os compostos (1d, 8d, Me-β-CD e Hp-β-CD) e (2a-d) (Capítulo 1), foram avaliadas contra o *M.tuberculosis* H₃₇Rv ATCC nº 27294 utilizando um método colorimétrico. Para a realização dos testes é utilizado o indicador Alamar Blue® de fluorescência/colorimétrico com a propriedade redox. A forma oxidada é azul (não fluorescente/ célula não viável) e a forma reduzida é rósea (fluorescente/célula viável)⁹³.

⁹³ Ribeiro, M. O.; Gomes, M. S.; Senna S. G.; Rosseti, M. L. R.; Fonseca, L. S. *J. Bras. Pneumol.* **2004**, 30, 455.

De acordo com os dados sumarizados na **Tabela 9**, podemos observar que os melhores resultados foram obtidos para os complexos (1d:11) e (9:11) que apresentaram uma CMI de 1,7 nmol/mL. Esse resultado é comparável ao obtido para a **ISZ** pura que apresenta uma CMI de 1,5 nmol/mL. O *M. tuberculosis* mostrou-se resistente a todos os complexos e misturas físicas quando concentrações menores que a CMI da **ISZ** foram testadas. No entanto, podemos notar que na tentativa de cálculo de CMI as concentrações testadas para todos os complexos e misturas físicas, foram consideravelmente inferiores a CMI da **ISZ**.

Os resultados sumarizados na **Tabela 10** (p. 114), mostram que o *M. tuberculosis* é resistente a todos os compostos testados (1d, 8d, Me-β-CD e Hp-β-CD) e (2a-d) (Capítulo 1).

Tabela 9: Atividade *in vitro* dos complexos e misturas físicas frente ao *M. tuberculosis* H₃₇Rv ATCC nº 27294 (suceptível a rifampicina)

Amostra	Concentrações**			
	6,5 nmol/mL	3,0 nmol/mL	1,7 nmol/mL	1,2 nmol/mL
(1d/11)*	Sen	Sen	Sen	Res
(1d:11)	Sen	Sen	Sen	Res
(8d/11)*	Sen	Sen	Res	Res
(8d:11)	Sen	Sen	Sen	Res
(9/11)*	Sen	Sen	Sen	Res
(9:11)	Sen	Sen	Sen	Res
(10/11)*	Sen	Sen	Res	Res
(10:11)	Sen	Sen	Sen	Res
Sen- Sensível / Res- Resistente				
Controles:				
Controle interno: 7H9, cepa padrão e Rifampicina – 1,0 µg/mL				
Controle do crescimento: 7H9 e cepa padrão				

* Mistura física.

** As concentrações correspondem ao número de mols da isoniazida presente nos complexos e misturas físicas.

CMI Isoniazida = 0,2 µg / mL (1,5 nmol/mL)

Tabela 10: Atividade *in vitro* dos compostos (**1d**, **8d**, **Me-β-CD** e **Hp-β-CD**) e (**2a-d**) (**Capítulo 1**) frente ao *M. tuberculosis* H₃₇Rv ATCC nº 27294 (suceptível a rifampicina)

Amostra	Concentrações*			
	6,5 nmol/mL	3,0 nmol/mL	1,7 nmol/mL	1,2 nmol/mL
1d	Res	Res	Res	Res
8d	Res	Res	Res	Res
Me-β-CD	Res	Res	Res	Res
Hp-β-CD	Res	Res	Res	Res
2a	Res	Res	Res	Res
2b	Res	Res	Res	Res
2c	Res	Res	Res	Res
2d	Res	Res	Res	Res
Sen- Sensível / Res- Resistente				
Controles:				
Controle interno: 7H9, cepa padrão e Rifampicina – 1,0 µg/mL				
Controle do crescimento: 7H9 e cepa padrão				

* As concentrações correspondem ao número de mols da isoniazida presente nos complexos e misturas físicas.

CMI Isoniazida = 0,2 µg / mL (1,5 nmol/mL)

10. Conclusão

Foram sintetizados três derivados do *p-tert*-butilcalix[4]areno (**1b-1d**) e três derivados do *p-tert*-butilcalix[6]areno (**8b-d**).

Foi realizada a caracterização por RMN de ^1H e DSC dos respectivos complexos entre a isoniazida e os hospedeiros (**1d**, **8d**, **Me- β -CD** e **Hp- β -CD**). Estes complexos, os hospedeiros e as misturas físicas foram submetidos à avaliação contra o *M. tuberculosis*. Observamos que os complexos (**1d:11**) e (**9:11**) apresentaram as melhores atividades *in vitro* frente o *M. tuberculosis* com uma CMI de 1,7 nmol/mL. Esse resultado se equivale ao obtido para a **ISZ** pura que apresenta uma CMI de 1,5 nmol/mL. Já as substâncias (**1d**, **8d**, **Me- β -CD** e **Hp- β -CD**) não foram ativas contra o *M. tuberculosis*.

Cálculos computacionais estão sendo realizados para auxiliar a caracterização dos complexos (**1d:11**, **8d:11**, **Me- β -CD:11** e **Hp- β -CD:11**) o que nos permite planejar novos sistemas hospedeiros.

11. Parte experimental

11.1. Instrumentação e condições

Espectroscopia no infravermelho

Todos os espectros no infravermelho foram realizados em espectrômetro FT-IR Varian 660 equipado com GladiATR (Departamento de Química – UFV).

Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os experimentos unidimensionais de RMN foram realizados em espectrômetro *Varian Mercury* 300 MHz ($B_0=7\text{ T}$), operando a 300,069 MHz para ^1H e 75,459 MHz para ^{13}C . O Espectrômetro *Varian Mercury* 300 MHz

($B_0=7\text{ T}$), é equipado com sondas de 5 mm para detecção inversa e estações de trabalho Sun para processamento de espectros.

Todos os espectros unidimensionais de RMN foram adquiridos a $25,0 \pm 0,1\text{ }^\circ\text{C}$. Os experimentos unidimensionais foram adquiridos utilizando “softwares” padrão Varian sob condições típicas, como seguem o programa VNMR do equipamento (Varian, Inc.).

RMN de ^1H

Os espectros de RMN de ^1H foram adquiridos com pulsos de 45° (largura 2,5-4,0 μs), largura de varredura de 4,5 kHz (número de pontos 16 K), tempos de aquisição (at) e espera de reciclagem (d1) de 3,64 e 2,0 s, respectivamente. Foram acumuladas cerca de 32-128 transientes e a resolução digital do espectro de 0,25 Hz/ponto. Os deslocamentos químicos foram registrados em ppm, tomando-se como padrões de referência interna o tetrametilsilano 0,3% (TMS, 0,00 ppm), o sinal HDO (4,67 ppm) ou o sinal do clorofórmio (7,27 ppm). Os sinais obtidos foram caracterizados como: s = simpleto, sl = simpleto largo, d = duplete, dl = duplete largo, t = tripleto, q = quarteto, m = mutiplete. As constantes de acoplamento (J) foram citadas em Hz.

RMN de ^{13}C

Os espectros de RMN de ^{13}C foram adquiridos com pulsos de 45° (largura:4-6 μs), empregando desacoplamento em faixa larga (sequência de WALTZ), sob uma janela de 18 kHz, com um número de 64 K pontos (tempo de aquisição: 0,87 s) e tempo de espera para reciclagem (d1) de 1,2 s. Nestes experimentos foram acumulados 3000-5000 *scans*, com resolução digital de 1,0 Hz/ponto. Os deslocamentos químicos foram registrados em δ (ppm),

tornando-se como padrões de referência interna o tetrametilsilano (TMS, 0,00 ppm) ou CDCl_3 (77,00).

Experimentos de rOe (efeito nuclear Overhauser)

A sequência de pulso utilizada é ROESY 1D disponível no *Brucker* 400 MHz.

Os espectros foram obtidos com tempos de aquisição (at) = 3,0 s; largura de varredura (sw) = 4 kHz; número de transientes (nt) = 512 e alargamento de linha (lb) = 3,0 Hz.

11.1.2. Preparo das amostras

11.1.2.1. Solventes e reagentes

Os reagentes e solventes utilizados foram produtos analiticamente puros e/ou indicados pelos fabricantes, para uso em síntese orgânica. Sempre que necessário os reagentes e solventes foram submetidos aos métodos gerais de purificação, descritos na literatura⁴³. A isoniazida, Hp- β -CD, Me- β -CD e os solventes deuterados (CDCl_3 99,80% e D_2O 99,75%) foram adquiridas junto a Sigma-Aldrich.

11.1.2.2. Preparo das amostras para estudos de RMN de ^1H

Os complexos entre a ISZ e seus carreadores (**1d**, **8d**, **Me- β -CD** e **Hp- β -CD**) foram preparados solubilizando-se quantidades equimolares do hospedeiro e do hóspede (10 mmol L^{-1} , cada) em 0,6 mL de D_2O e mantidos em contato por um período de 48 h antes da realização dos experimentos.

11.1.2.3. Preparo das amostras para estudos de RMN de ^1H (ROESY)

As amostras dos complexos para espectroscopia de RMN de ^1H (ROESY) foram preparadas em soluções contendo 40 mmol L^{-1} do hospedeiro e 20 mmol L^{-1} do hospede em $0,6 \text{ mL}$ de água deuterada (D_2O).

11.1.2.4. Preparo dos complexos de inclusão e misturas físicas para teste biológico

Os complexos de inclusão entre a ISZ e os carreadores (**1d**, **8d**, **Me- β -CD** e **Hp- β -CD**) foram preparados utilizando-se o método de co-solubilização, conforme metodologia descrita na literatura⁹⁴. Desse modo, foram preparadas soluções de fármaco e hospedeiros em água, na razão molar 1:1, mantidas sob agitação por 48 h, em temperatura ambiente. Após esta etapa os complexos foram liofilizados e armazenados em dessecador para posterior utilização.

As misturas físicas foram preparadas adicionando-se ISZ e os respectivos carreadores em grau, de modo que a razão molar obtida fosse de 1:1. Posteriormente as substâncias foram misturadas manualmente com a ajuda de um pistilo.

11.1.3. Experimentos de titulação (método de Job)

As soluções a serem tituladas foram preparadas a partir de soluções estoque dos hospedeiros e dos hóspedes, diluindo-as através da variação contínua das concentrações das espécies, de tal forma que a soma das concentrações das mesmas se mantivesse constante ($[\text{hospedeiro}] + [\text{hóspede}]$)

⁹⁴ de Jesus, M. B.; Pinto, L. M. A.; Fraceto, L. F.; Lino, A. C. S.; Takahata, Y.; de Paula, E. *J. Pharmac. Biomed. Anal.* **2006**, *41*, 1428.

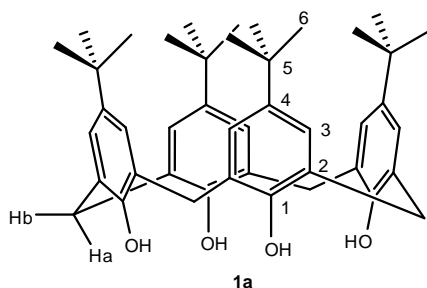
=10 mmol L⁻¹). Foram empregadas soluções nas razões de [12:3]; [10,5:4,5]; [9:6]; [7,5:7,5]; [6:9]; [4,5:10,5] e [3:12].

11.1.4. Medidas de DSC

As amostras analisadas foram: **ISZ**, **1d**, **8d**, **Hp-β-CD**, **Me-β-CD**, misturas físicas (calixarenos:ISZ e ciclodextrinas:ISZ, razão molar 1:1) e os complexos de inclusão, preparados em água e previamente liofilizados (razão molar 1:1), conforme descrito na seção **11.1.2.4.** (p. 118). Os termogramas foram obtidos no equipamento DSC-60 da Shimadzu (pertencente a Universidade Federal de Juiz de Fora) utilizando um fluxo de nitrogênio de 10 mL/min com variação de temperatura de 10 °C/min, em uma faixa de 0-250 °C. Aproximadamente 4 mg de cada amostra foram colocadas em recipientes (panelas) de alumínio e selados. Para calibração do equipamento foi utilizado Índio como referência.

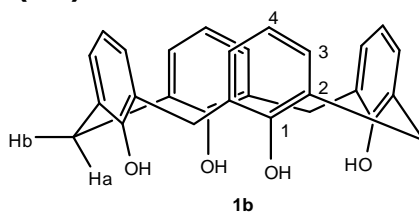
11.2. Descrição dos compostos sintetizados

11.2.1 *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**1a**)



A síntese do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**1a**) e os seus dados espectroscópicos foram apresentados na seção **6.2.1.** (p. 49).

11.2.2. calix[4]areno (1b)



Para um balão bitubulado de 250 mL sob atmosfera de nitrogênio, foram transferidos o *p*-tert-butilcalix[4]areno (5,897 g; 9,10 mmol), fenol (4,00 g; 42,5 mmol) e tolueno (60 mL). Agitou-se a mistura resultante à temperatura ambiente por cinco minutos. Em seguida, adicionou-se cloreto de alumínio (11,0 g; 82,4 mmol) e submeteu-se o sistema a agitação por uma hora a temperatura ambiente. Após a adição de cloreto de alumínio a solução resultante tornou-se vermelho intenso.

Decorrido esse período, a reação foi interrompida pela adição de 200 mL de solução aquosa de HCl (0,2 mol L⁻¹). A fase orgânica foi separada em funil de separação e em seguida adicionou-se Na₂SO₄ para a remoção da água residual. Após filtração, concentrou-se a fase orgânica sob pressão reduzida, obtendo-se um sólido de coloração amarelada que foi lavado com 150 mL de metanol. O material foi recristalizado em uma mistura de metanol-clorofórmio⁹⁵. Esse procedimento levou à obtenção de 3,12 g (7,36 mmol) de um sólido branco com 81 % de rendimento.

DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

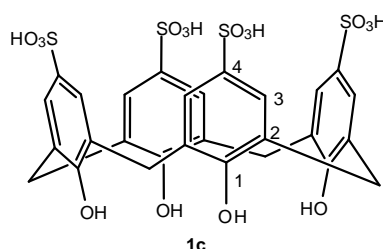
IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3152, 3092, 2935, 1593, 1463, 1447, 1410, 1369, 1238, 1191, 1146, 1074, 1030, 774, 749.

⁹⁵ Gutsche, C. D.; Lin, L. *Tetrahedron* **1986**, *42*, 1633.

RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{TMS} 0,00): δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição); 3,55 (4H, sl, H-a); 4,25 (4H, sl, H-b); 6,73 (4H, t, $^3J=7,5$ Hz, H-4); 7,05 (8H, d, $^3J=7,5$ Hz, H-3); 10,20 (4H, s, OH).

RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00): δ (atribuição); 31,7 (ArCH₂Ar); 122,2 (C-4); 128,4 (C-2); 128,9 (C-3); 148,7 (C-1).

11.2.3. ácido *p*-sulfônico calix[4]areno (1c)



Para um balão de 100 mL, foram transferidos o calix[4]areno (3,00 g; 7,07 mmol) e 30 mL de ácido sulfúrico concentrado (98%). A mistura reacional permaneceu sob agitação magnética a uma temperatura de 80 °C. A solução resultante após a adição de ácido sulfúrico tornou-se marrom escuro.

Decorrido um período de quatro horas, retirou-se uma alíquota que foi submetida a um teste de solubilidade em água, como essa foi totalmente solúvel a reação foi considerada completa.

Após o término da reação, filtrou-se a mistura reacional sob pressão reduzida em um funil G4. Em seguida, o sólido obtido foi solubilizado em uma quantidade mínima de metanol e reprecipitado pela adição de 150 mL de acetato de etila. O precipitado foi separado e mantido sob vácuo por vários dias⁹⁶. Esse procedimento levou a obtenção de 4,71 g (6,33 mmol) do ácido *p*-sulfônico calix[4]areno (89 % de rendimento).

⁹⁶ Scharff, J.; Mahjoubi, M. *New. J. Chem.* **1991**, *15*, 883.

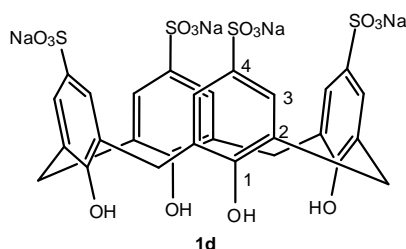
DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

IV (cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3182, 2952, 1705, 1445, 1147, 1117, 1031, 785, 623, 550.

RMN de ^1H (300,069 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67): δ (integração, multiplicidade, atribuição); 3,88 (8H, sl, ArCH_2Ar); 7,42 (8H, sl, H-3).

RMN de ^{13}C (75,459 MHz; D_2O): δ (atribuição); 30,8 (ArCH_2Ar); 126,7 (C-2); 128,3 (C-3); 135,8 (C-4); 151,9 (C-1).

11.2.4. *p*-sulfonato de sódio calix[4]areno (1d)



Para um béquer de 100 mL, foi transferido o ácido *p*-sulfônico calix[4]areno (4,712 g; 5,20 mmol) que foi solubilizado em uma quantidade mínima de água destilada. Em seguida, ajustou-se o pH para aproximadamente 7, com uma solução de bicarbonato de sódio. A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética até que o pH se mantivesse constante. Decorrido esse período, evaporou-se a água até quase *secura*. Posteriormente, precipitou-se o produto de interesse pela adição de 50 mL de metanol. A mistura resultante foi filtrada e o sólido obtido foi solubilizado em uma quantidade mínima de água, e o produto reprecipitado pela adição de 50 mL de metanol, esse procedimento foi repetido por mais duas vezes⁹⁷. Ao final, obteve-se 4,532 g (5,45 mmol) do *p*-sulfonato de sódio calix[4]areno com 86 % de rendimento.

⁹⁷ Shinkai, S.; Mori, S.; Tsubaki, T. *Tetrahedron Letters* **1984**, 25, 5315.

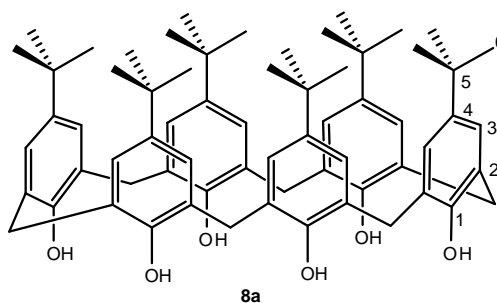
DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

IV (cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3433, 2929, 2361, 1632, 1592, 1440, 1169, 1119, 1040, 893, 734, 654, 619, 557.

RMN de ^1H (300,069 MHz; D_2O ; δ_{HDO} 4,67): δ (integração, multiplicidade, atribuição); 3,88 (8H, sl, ArCH_2Ar); 7,45 (8H, sl, H-3).

RMN de ^{13}C (75,459 MHz; D_2O): δ (atribuição); 32,0 (ArCH_2Ar); 126,1 (C-2); 130,7 (C-3); 133,7 (C-4); 155,9 (C-1).

11.2.5. *p*-tert-butilcalix[6]areno (8a)



Para um balão bitubulado, foram transferidos o *p*-tert-butilfenol (3,00 g; 20 mmol), formaldeído (solução 40%, 4,1 mL) e hidróxido de potássio (0,45 g; 8,03 mmol). A mistura reacional foi submetida a aquecimento (110-130 °C) e agitação mecânica, e após 15 min um fluxo de nitrogênio foi acoplado ao sistema. Com o progresso da reação, a solução originalmente transparente tornou-se amarelo limão luminoso e, com a remoção da água, a mistura reacional adquiriu uma consistência espessa (‘goma’) na cor amarela dourada. Durante este período um pouco de espuma foi observado, e a mistura reacional se expandiu antes de regredir ao volume original. Após um período de aproximadamente duas horas adicionou-se 200 mL de xileno para solubilizar completamente a massa semi-sólida que havia sido formada. Em seguida, submeteu-se o sistema a refluxo, depois de 30 minutos um precipitado

começou a se formar, e a cor da mistura reacional mudou de amarela para laranja. O refluxo foi mantido por um total de três horas e em seguida deixou-se a mistura reacional atingir à temperatura ambiente. Posteriormente, filtrou-se em um funil de Buchner e o precipitado foi lavado com xileno a frio. O material foi pulverizado, transferido para um erlenmeyer, dissolvido em 100 mL de clorofórmio e tratado com 25 mL de ácido clorídrico (1 mol L^{-1}) sob agitação (10-15 min). Logo após esse período, transferiu-se a mistura para um funil de separação. A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com clorofórmio (3 x 25 mL). Os extratos orgânicos foram combinados e na fase orgânica resultante adicionou-se Na_2SO_4 para remoção da água residual. Após filtração, a fase orgânica foi concentrada sob aquecimento até aproximadamente 60 mL. Em seguida, adicionou-se 60 mL de acetona quente à solução resultante fervente. Posteriormente, a mistura atingiu a temperatura ambiente e foi submetida a uma filtração simples⁹. Esse procedimento levou à obtenção de 2,4 g (2,5 mmol) do *p*-tert-butilcalix[6]areno com 50% de rendimento.

DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

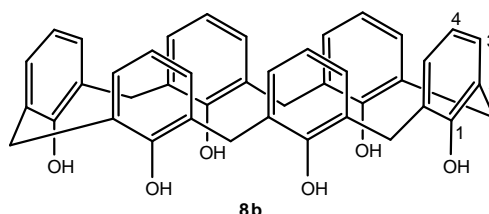
IV (cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3141, 3050, 2953, 1712, 1605, 1479, 1392, 1361, 1291, 1248
1200, 1117, 868, 720.

RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{TMS} 0,00) δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição); 1,27 (54H, s, H-6); 3,90 (12H, sl, ArCH_2Ar); 7,16 (12H, s, H-3); 10,54 (6H, s, OH).

RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00): δ (atribuição); 31,5 (C-6); 33,0 (ArCH_2Ar); 34,0 (C-5); 126,2 (C-3); 127,0 (C-2); 144,3 (C-4); 147,3 (C-1).

O composto (**8b**) foi preparado utilizando-se o procedimento experimental descrito para a síntese do composto (**1b**). A estrutura da substância (**8b**) é confirmada pelos dados experimentais descritos a seguir.

11.2.6. calix[6]areno (**8b**)



Característica: sólido branco.

Rendimento: 75% (01,18 g; 1,85 mmol) a partir de 42,47 mmol do *p*-tert-butilcalix[6]areno (p.123), 14,8 mmol de fenol e 20,2 mmol de cloreto de alumínio.

DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

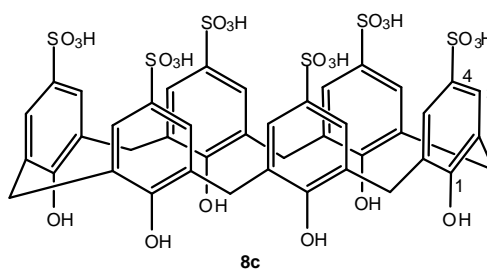
IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3140, 3091, 3033, 2953, 1612, 1590, 1460, 1389, 1259, 1246, 1203, 1080, 960, 750.

RMN de ¹H (300,069 MHz; CDCl₃; δ_{TMS} 0,00): δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição); 3,93 (12H, sl, ArCH₂Ar); 6,85 (6H, t, ³J = 7,6 Hz, H-4), 7,17 (12H, d, ³J = 7,6 Hz, H-3); 10,41 (6H, s, OH).

RMN de ¹³C (75,459 MHz; CDCl₃; δ_{CDCl_3} 77,00): δ (atribuição); 32,2 (ArCH₂Ar); 121,8 (C-4); 127,4 (C-2); 129,4 (C-3); 149,6 (C-1).

O composto (**8c**) foi preparado utilizando-se o procedimento experimental descrito para a síntese do composto (**1c**). A estrutura da substância (**8c**) é confirmada pelos dados experimentais descritos a seguir.

11.2.7. ácido *p*-sulfônico calix[6]areno (**8c**)



Característica: sólido branco.

Rendimento: 74% (1,30 g; 1,16 mmol) a partir de 1,57 mmol do calix[6]areno (p.125).

DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

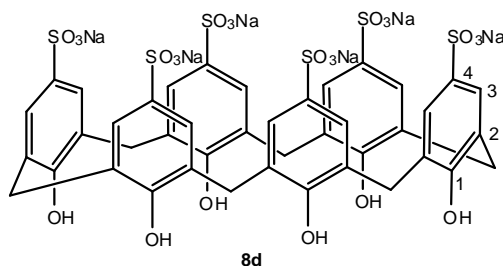
IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3225, 1695, 1593, 1443, 1103, 1024, 995, 883.

RMN de ¹H (300,069 MHz; D₂O; δ_{HDO} 4,67): δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição); 3,83 (12H, s, ArCH₂Ar), 7,34 (12H, s, H-3).

RMN de ¹³C (75,459 MHz; D₂O): δ (integração); 30,8 (CH₂); 126,4 (C-2); 128,0 (C-3); 135,3 (C-4); 153,2 (C-1).

O composto (**8d**) foi preparado utilizando-se o procedimento experimental descrito para a síntese do composto (**1d**). A estrutura da substância (**8d**) é confirmada pelos dados experimentais descritos a seguir.

11.2.8. *p*-sulfonato de sódio calix[6]areno (**8d**)



Característica: sólido branco.

Rendimento: 86 % (1,25 g; 1,0 mmol) a partir de 1,16 mmol do ácido *p*-sulfônico calix[6]areno (p.126).

DADOS ESPECTROSCÓPICOS:

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3406, 2360, 1632, 1587, 1468, 1435, 1161, 1117, 1043, 887.

RMN de ¹H (300,069 MHz; D₂O; δ_{HDO} 4,67): δ (integração, multiplicidade, atribuição); 3,87 (12H, s, ArCH₂Ar), 7,40 (12H, s, H-3).

RMN de ¹³C (75,459 MHz; D₂O): δ (atribuição); 32,8 (ArCH₂Ar); 125,9 (C-3); 129,2 (C-2); 132,2 (C-4); 158,1 (C-1).

11.3 Teste Biológico

O teste foi realizado em microplacas de 96 orifícios, de fundo plano, com tampa estéril (Costar, Corning). Foi utilizado o meio Middlebrook 7H9 Broth (Difco), contendo glicerol e enriquecido com OADC a 10% e Bacto Casitone (Difco). As amostras (**ISZ**, complexos e misturas físicas) foram preparadas como solução estoque na concentração de 73 $\mu\text{mol/mL}$, em água destilada estéril e etilenoglicol (Difco), respectivamente. As concentrações finais das drogas testadas variaram de 1,2-6,5 nmol/mL.

A solução de uso do indicador foi preparada no dia do teste. A partir do produto original Alamar Blue® (Fisher Scientifics), foi feita uma mistura com uma solução de Tween 80 a 10% (Interlab) em água, na proporção volume a volume. Na microplaca foi usado volume de 25 μL em cada orifício.

Os orifícios da periferia de uma microplaca foram preenchidos com 200 μL de água destilada estéril, para evitar a evaporação do meio na estufa. Foram incluídos orifícios para controle das drogas (complexos e misturas

físicas) e do meio de cultura. Com exceção dos orifícios da periferia, os demais receberam 100µL de meio líquido 7H9 e uma serie de diluição dos complexos e misturas físicas foram aplicadas diretamente na microplaca. A microplaca foi selada com filme plástico e permaneceu incubada na estufa a 37 °C por cinco dias. Decorrido esse período, 25 µL da solução do indicador foram adicionados à microplaca e essa incubada por mais 24 horas. A cor azul foi interpretada como ausência de crescimento bacteriano e a cor rosa indicou a ocorrência de crescimento bacteriano.

A Concentração Mínima Inibitória (CMI) foi definida como a menor concentração da droga capaz de inibir o crescimento bacteriano em 90%, inibição essa que impediu a mudança de cor do azul para o rosa.

12. Anexos

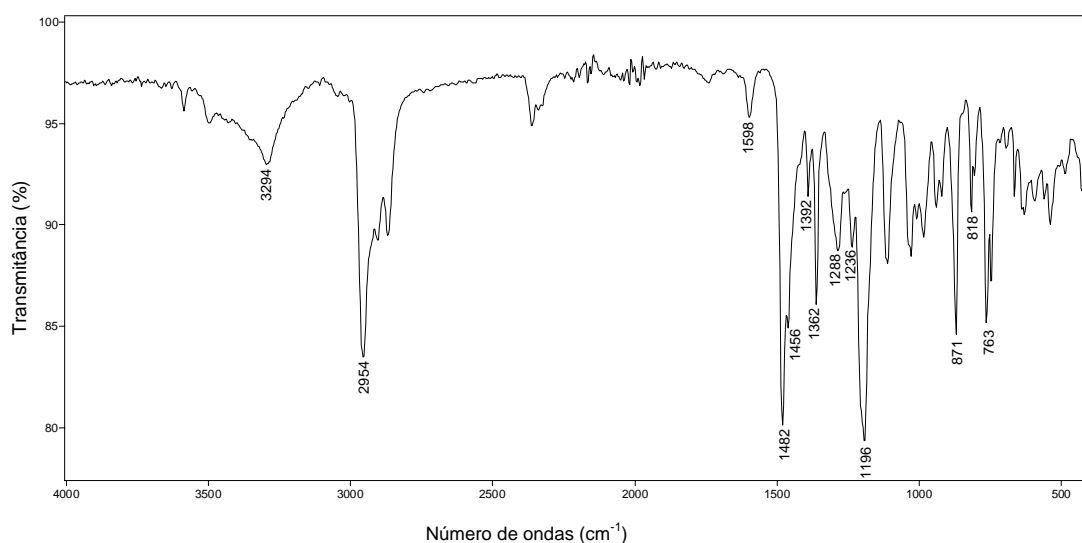


Figura 65: Espectro no IV (reflectância) do 25,27-bis(3-bromopropoxi)-26,28-diidroxi-*p-tert*-butilcalix[4]areno (**2b**).

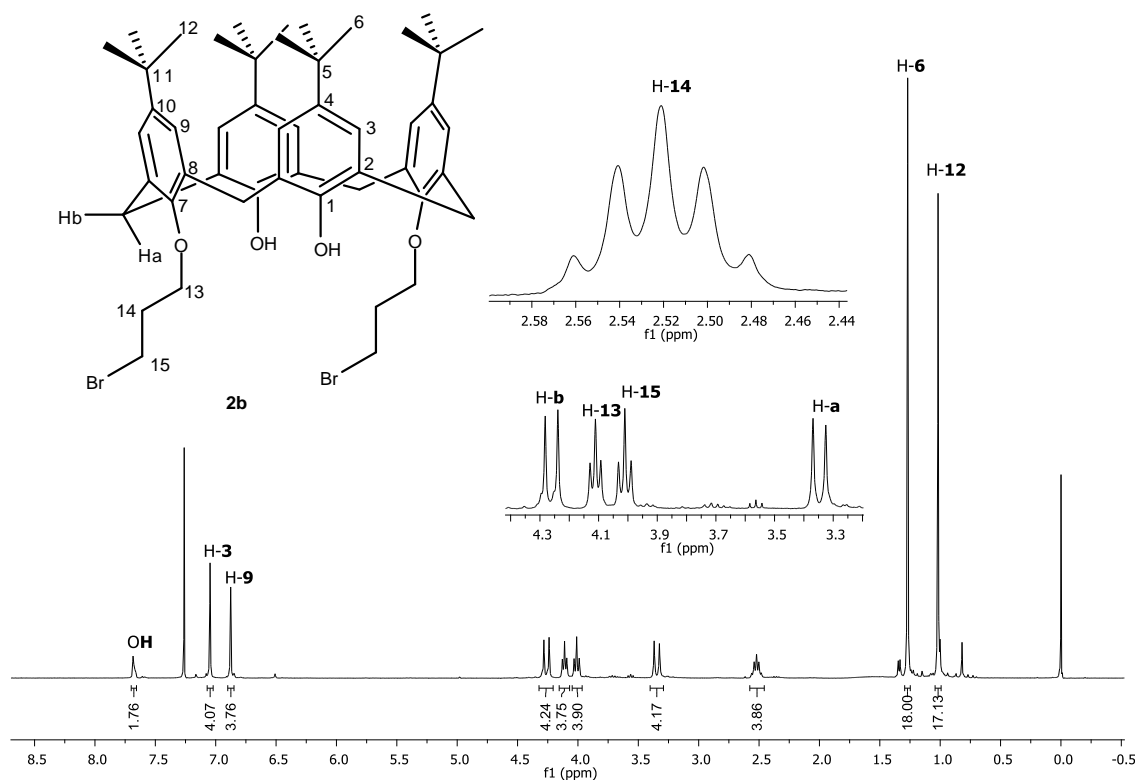


Figura 66: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{TMS} 0,00; 25 °C) 25,27-bis(2-bromopropoxi)-26,28-diidroxi-*p-tert*-butilcalix[4]areno (**2b**).

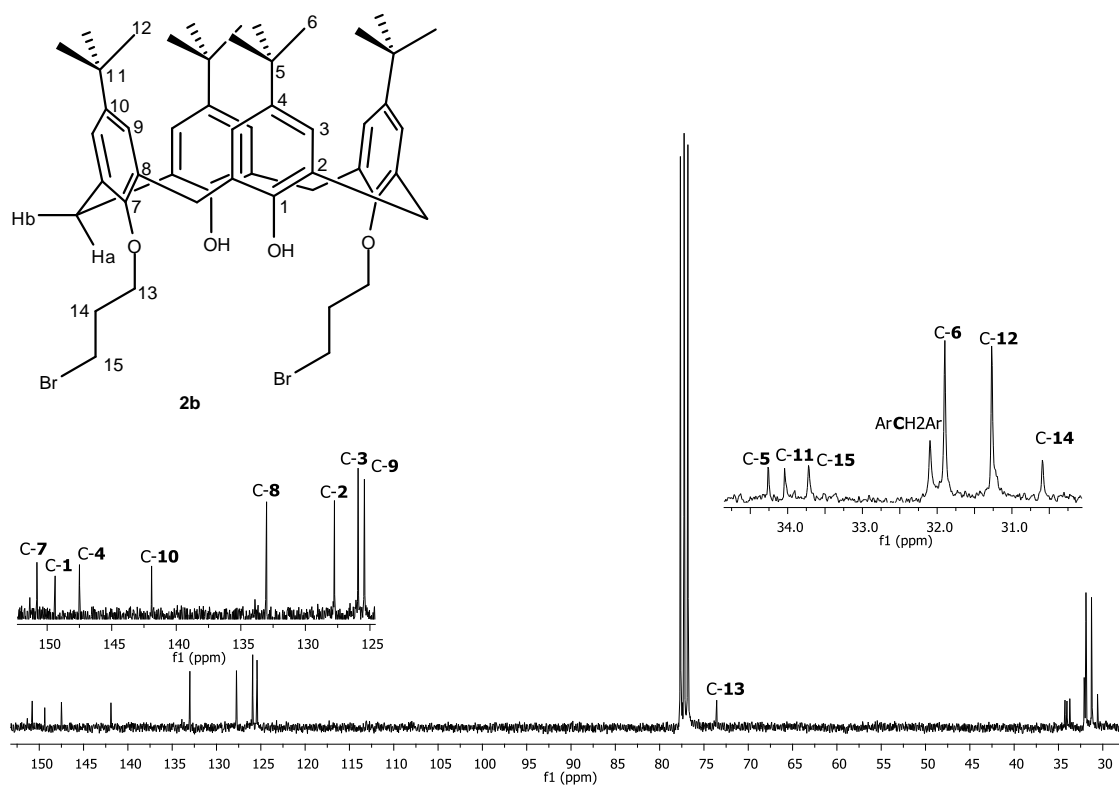


Figura 67: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do 25,27-bis(3-bromopropoxi)-26,28-dihidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**2b**).

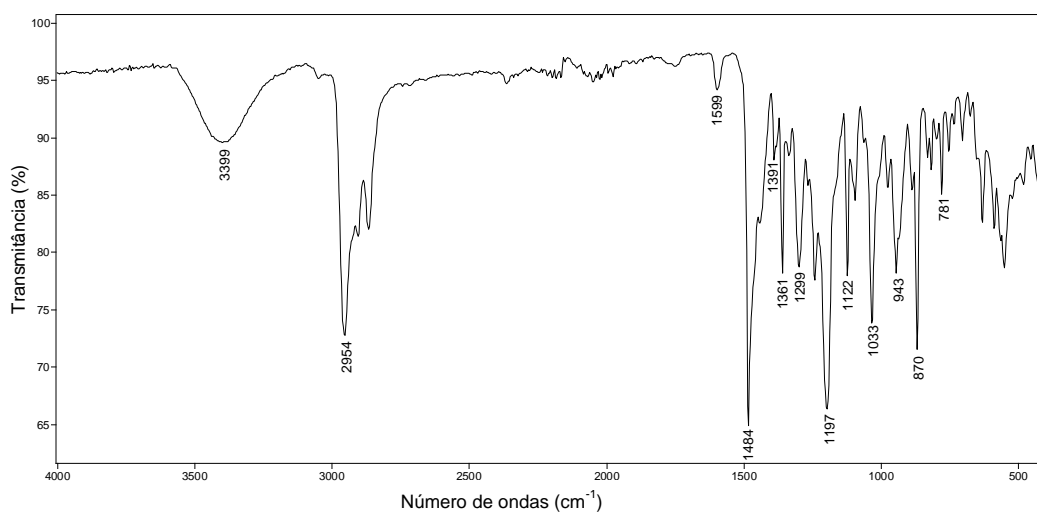


Figura 68: Espectro no IV (reflectância) do 25,27-bis(4-bromobutoxi)-26,28-dihidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**2c**).

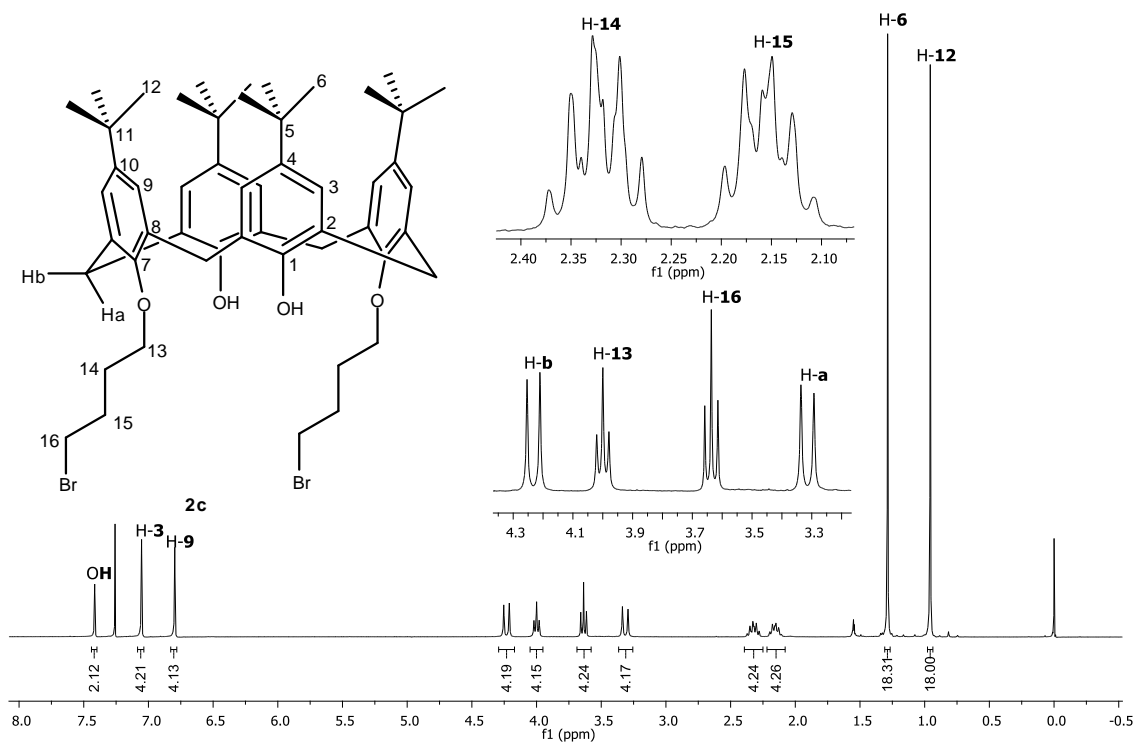


Figura 69: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{TMS} 0,00; 25 °C) do 25,27-bis(4-bromo butoxi)-26,28-diidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**2c**).

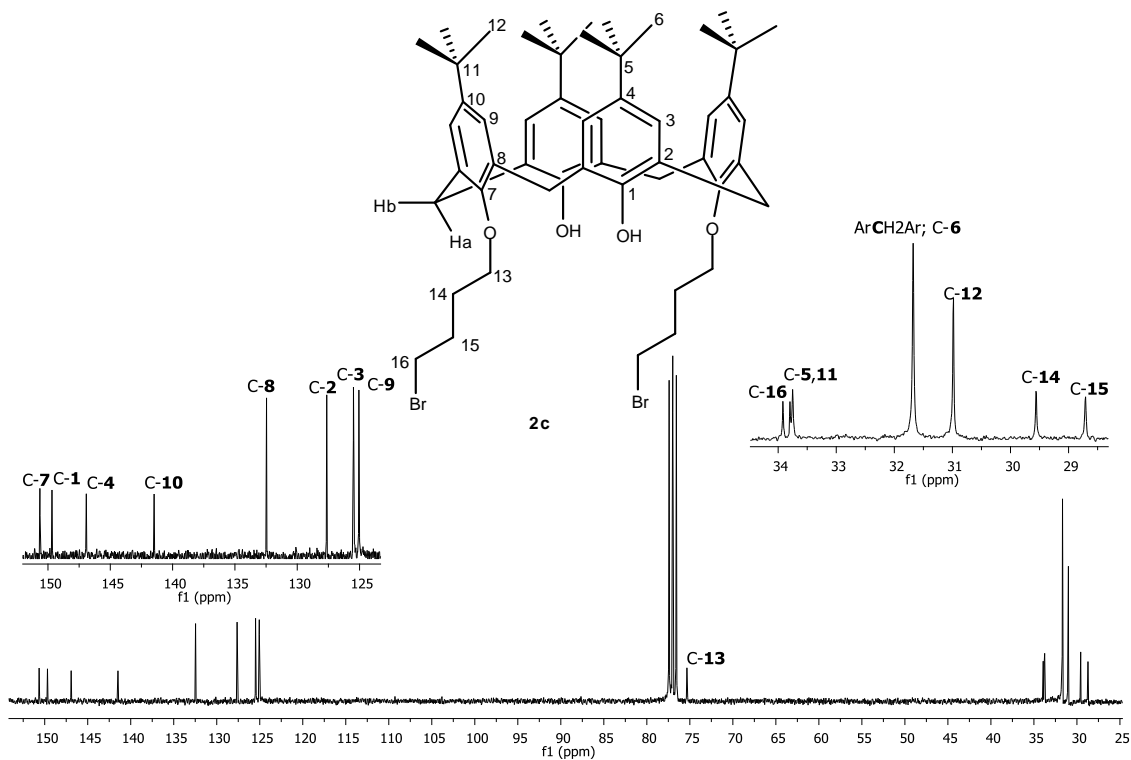


Figura 70: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do 25,27-bis(4-bromobutoxi)-26,28-diidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**2c**).

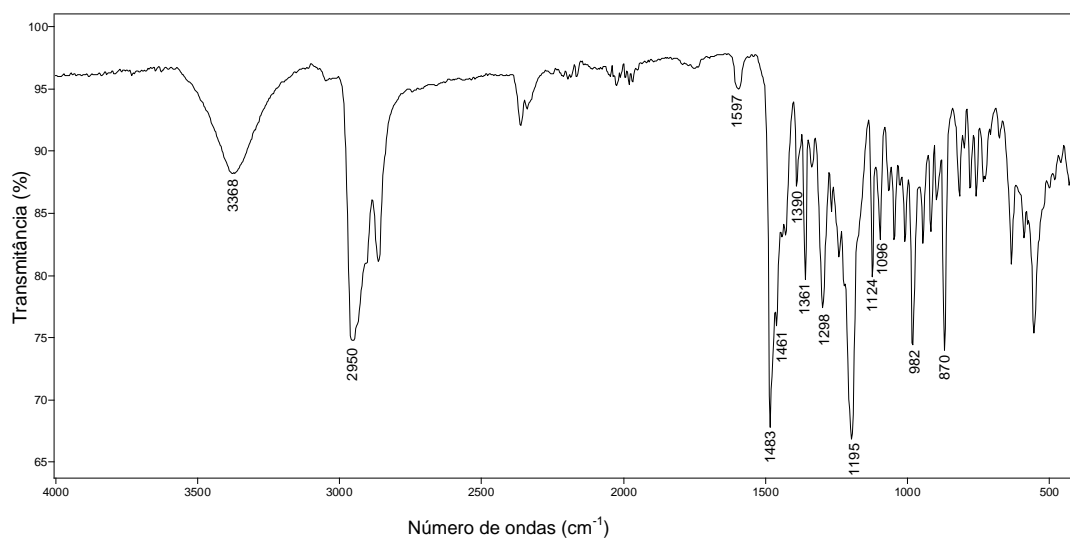


Figura 71: Espectro no IV (reflectância) do 25,27-bis(6-bromoexoxi)-26,28-diidroxip-*tert*-butilcalix[4]areno (**2d**).

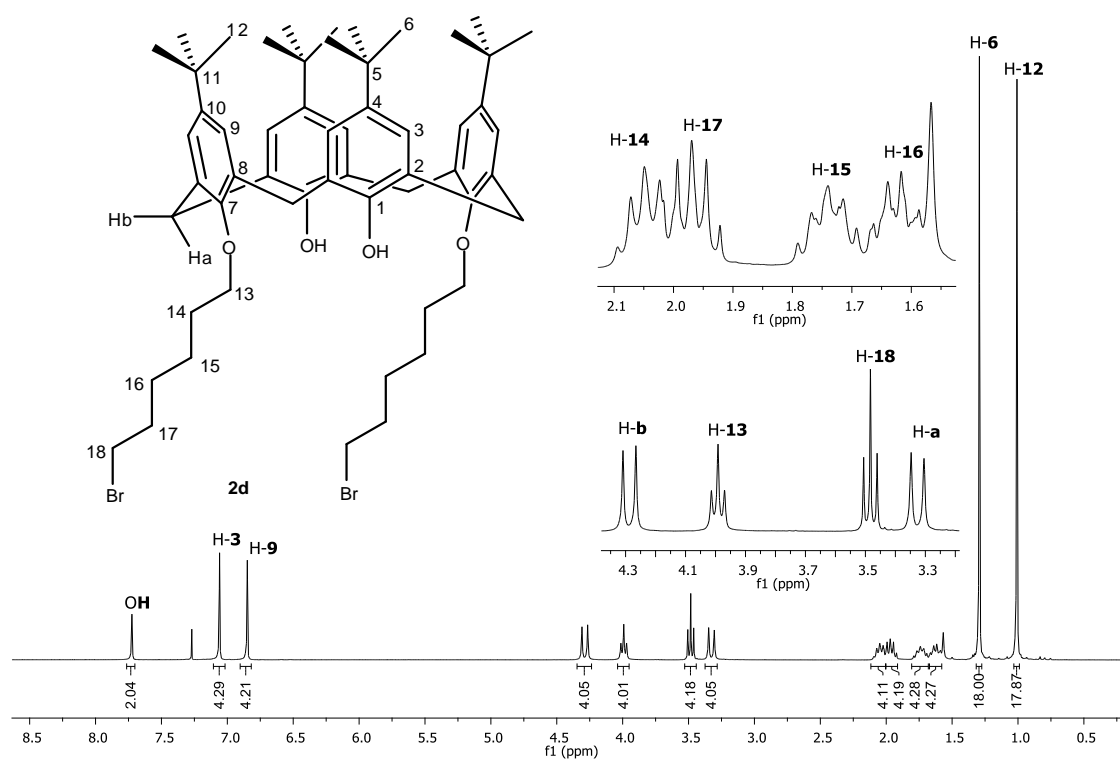


Figura 72: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) 25,27-bis(6-bromoexoxi)-26,28-diidroxip-*tert*-butilcalix[4]areno (**2d**).

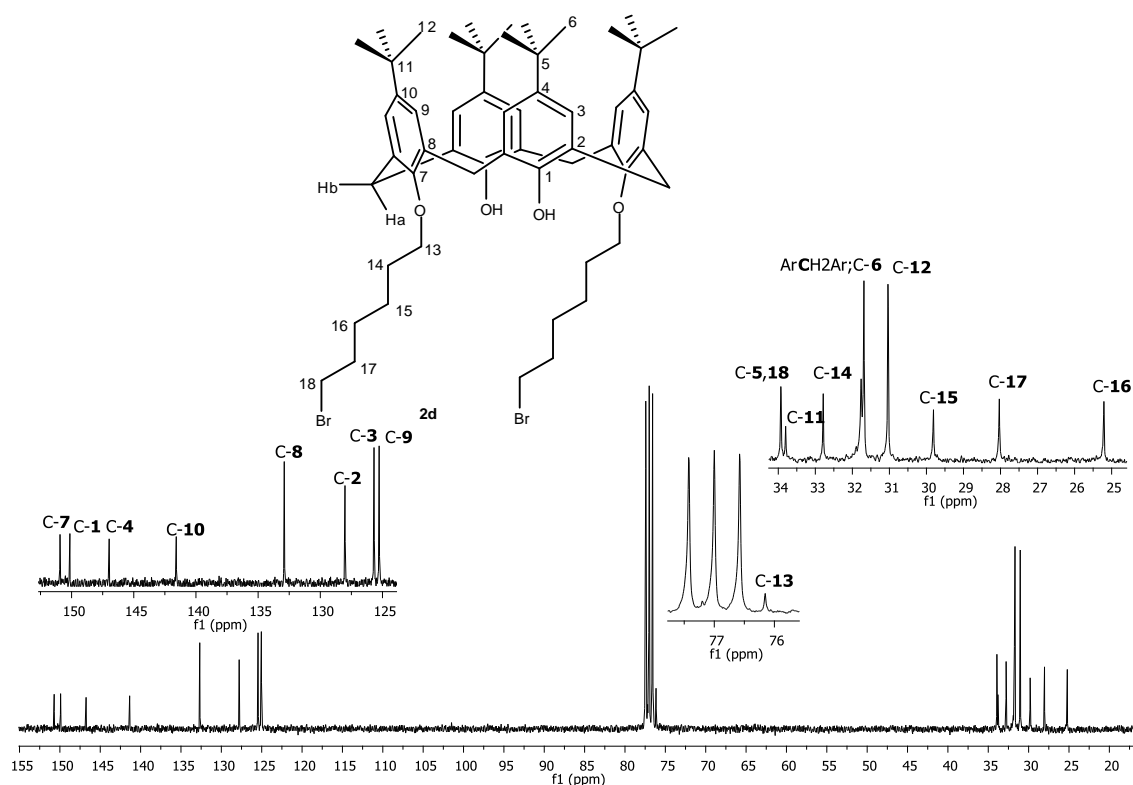


Figura 73: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do 25,27-bis(6-bromoexoxi)-26,28-diidroxi-*p-tert*-butilcalix[4]areno (**2d**).

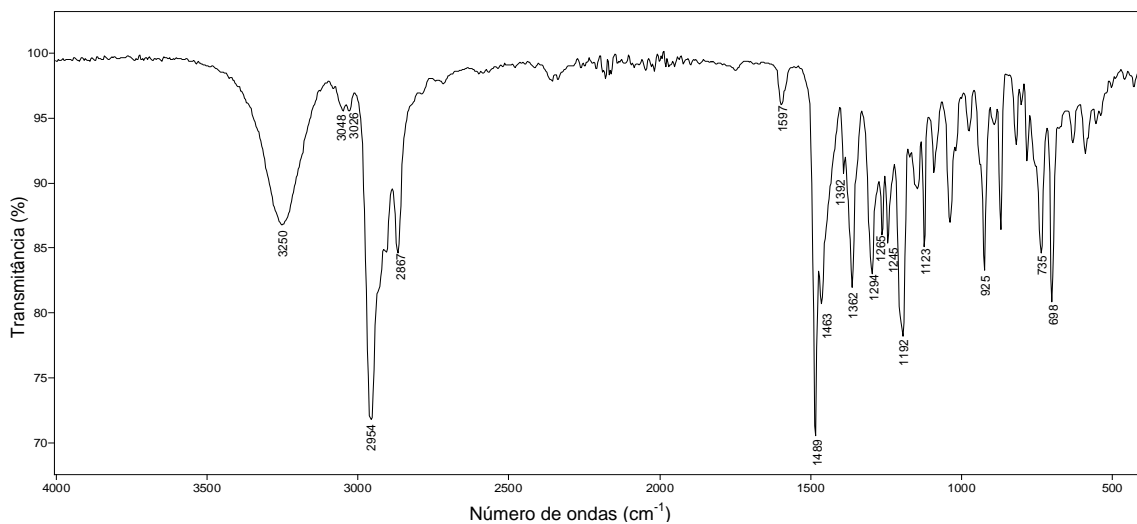


Figura 74: Espectro no IV (reflectância) do composto 25,27-bis[3-(*S*)-1-feniletilamina]propoxi]-26,28-diidroxi-*p-tert*-butilcalix[4]areno (**3b**).

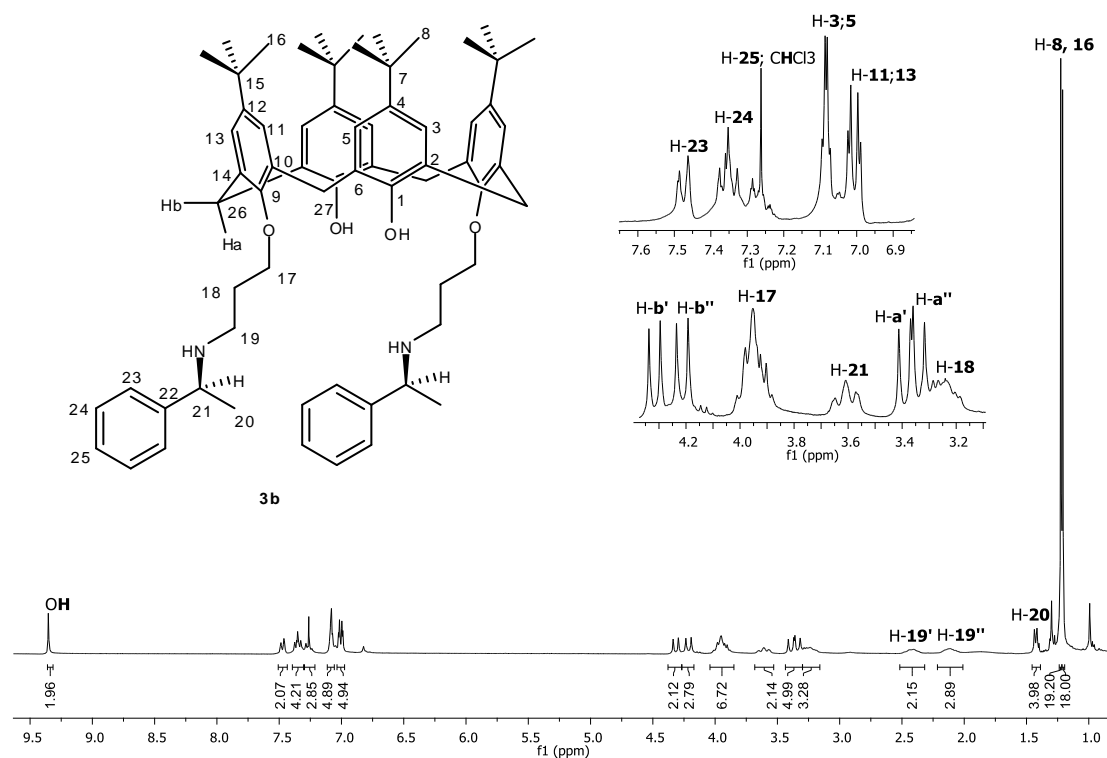


Figura 75: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) do 25,27-bis[3-(S)-1-feniletilamina]propoxi]-26,28-diidroxi-*p*-tert-butilcalix[4]areno (**3b**).

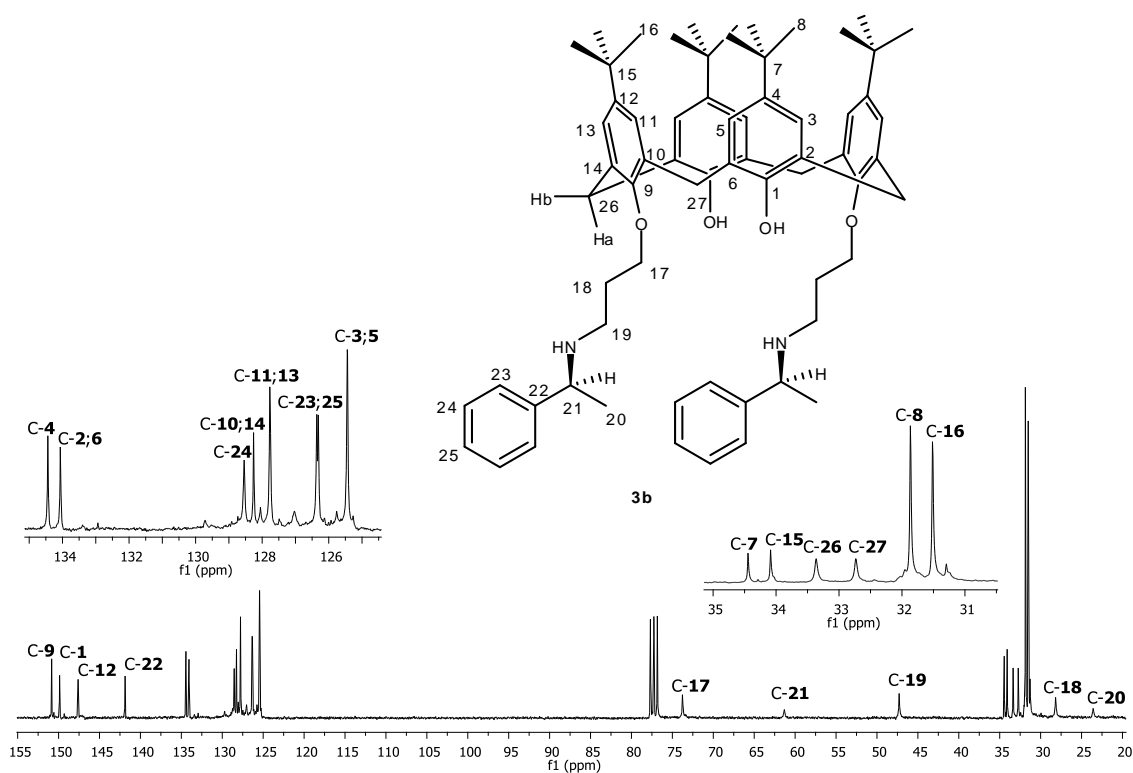


Figura 76: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do 25,27-bis[3-(S)-1-feniletilamina]propoxi]-26,28-diidroxi-*p*-tert-butilcalix[4]areno (**3b**).

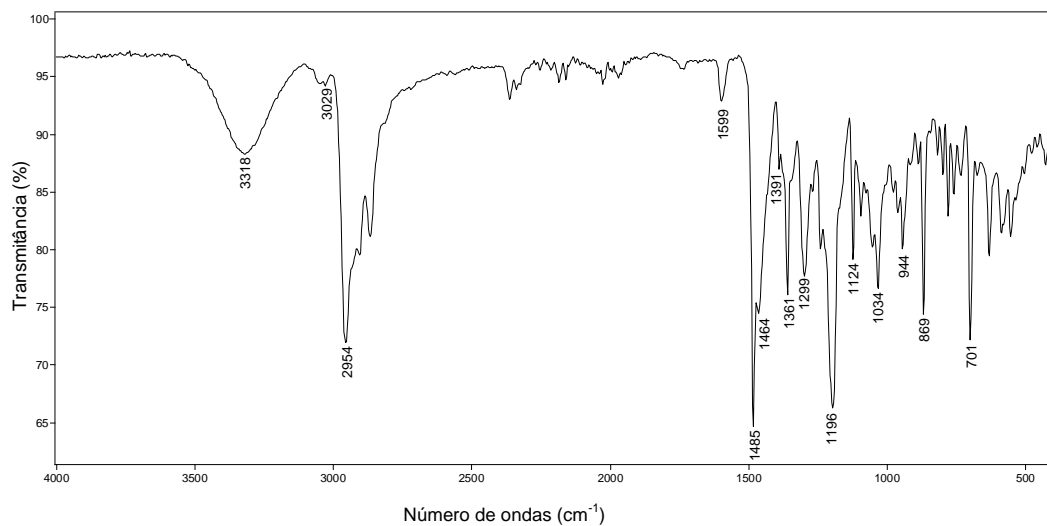


Figura 77: Espectro no IV (reflectância) do 25,27-bis[4-(*R*)-1-feniletilamina]butoxi]-26,28-diidroxip-*tert*-butilcalix[4]areno (**3c**).

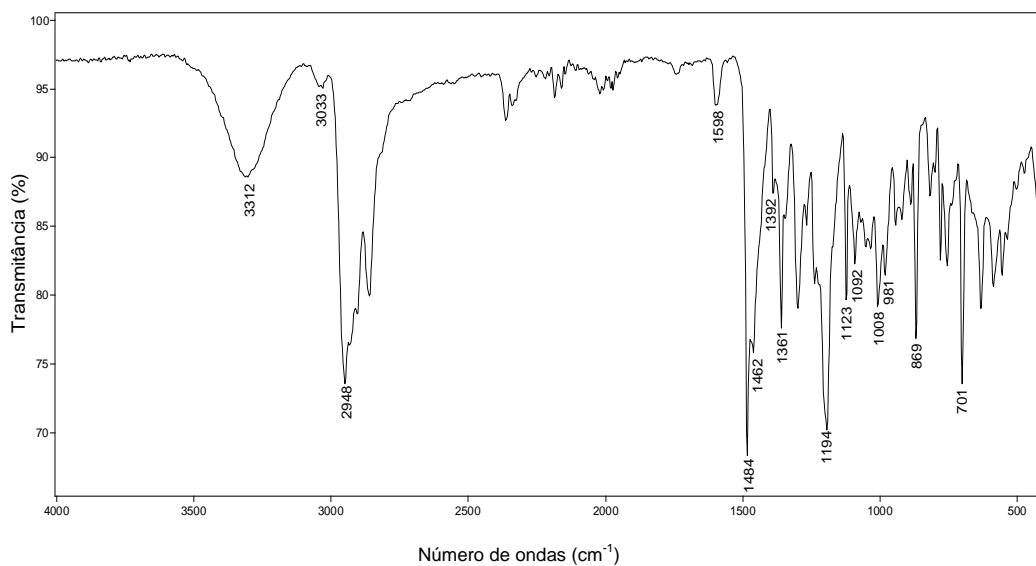


Figura 78: Espectro no IV (reflectância) do 25,27-bis[6-(*R*)-1-feniletilamina]exoxi]-26,28-diidroxip-*tert*-butilcalix[4]areno (**3d**).

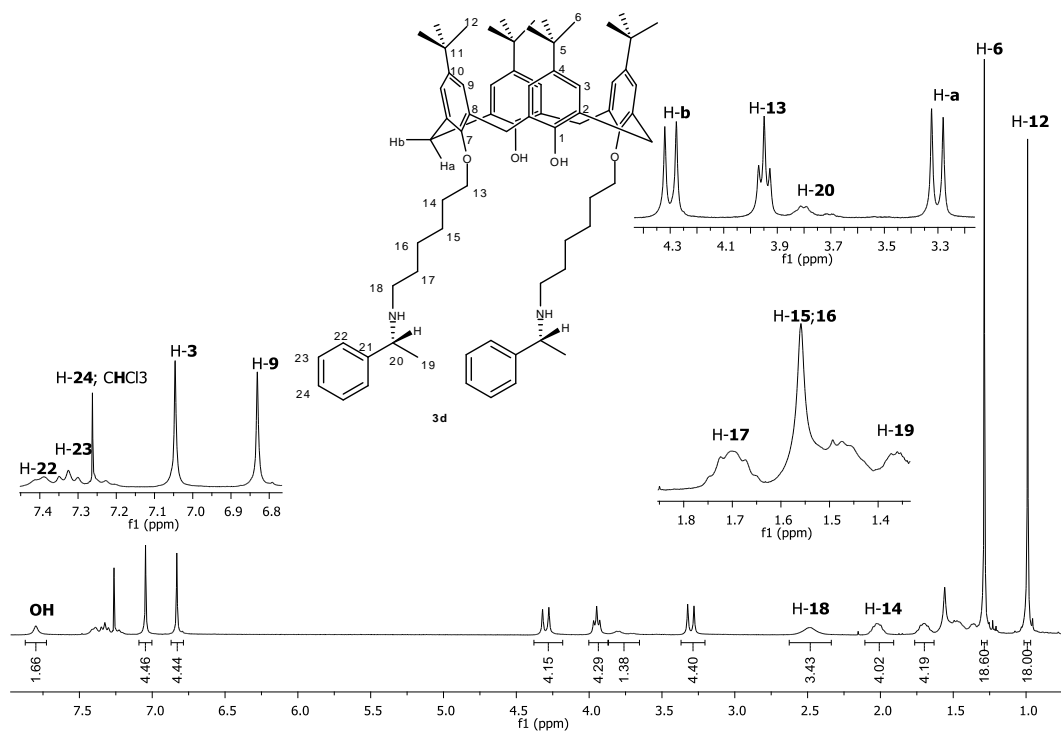


Figura 79: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) do 25,27-bis[6-(*R*)-1-feniletilamina]exoxi]-26,28-diidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**3d**).

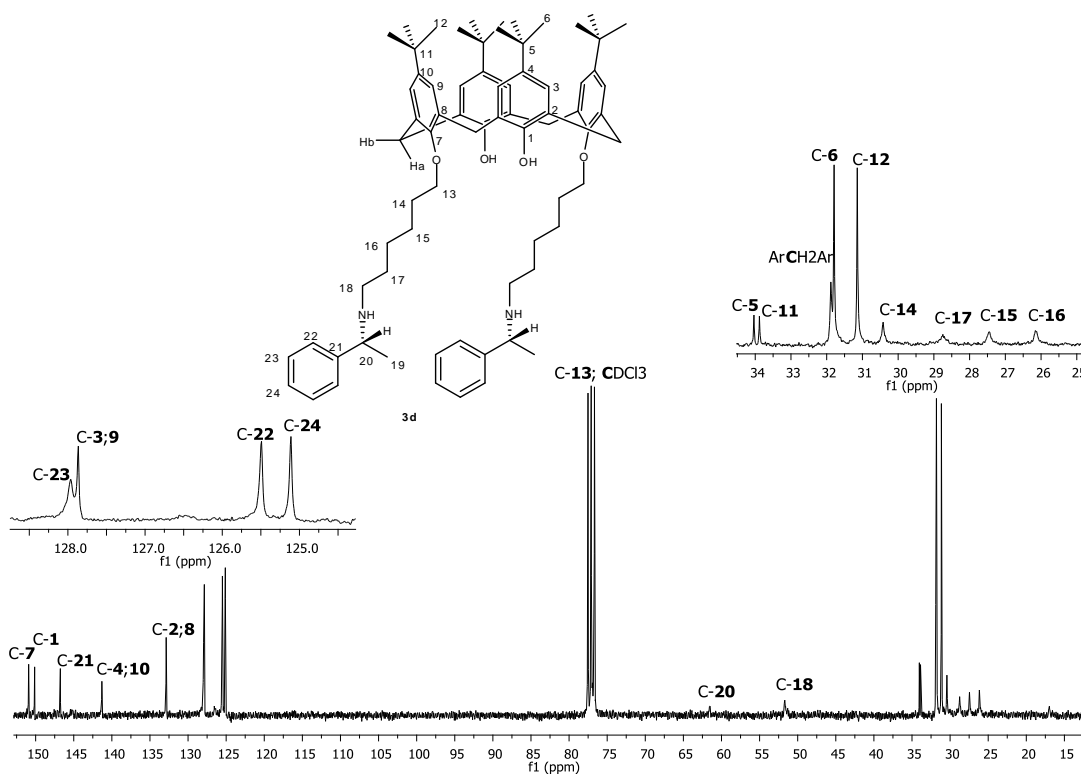


Figura 80: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do 25,27-bis[3-(*R*)-1-feniletilamina]exoxi]-26,28-diidroxi-*p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**3d**).

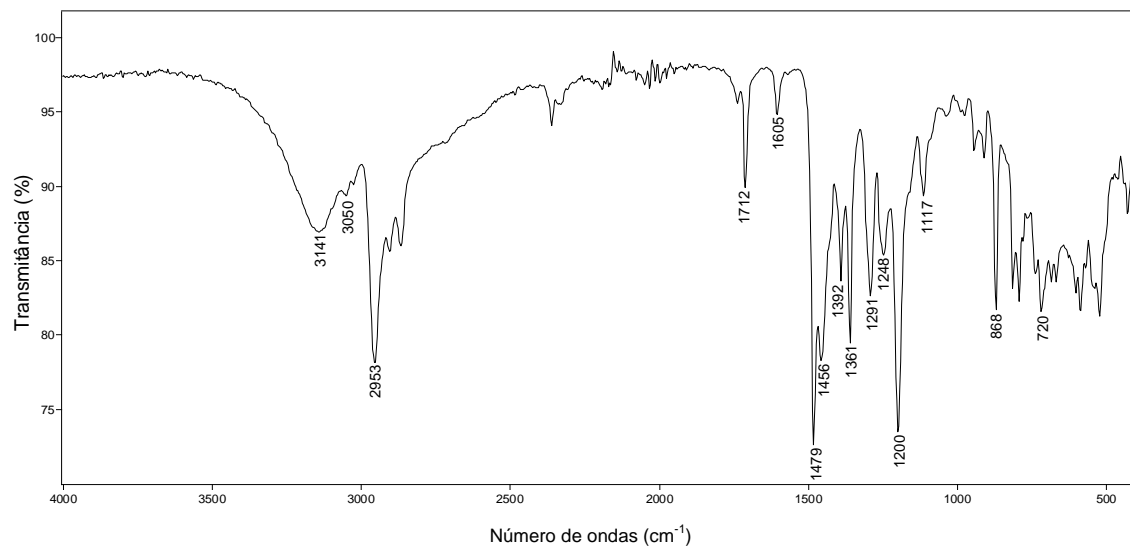


Figura 81: Espectro no IV (reflectância) do *p-tert*-butilcalix[6]areno (**8a**).

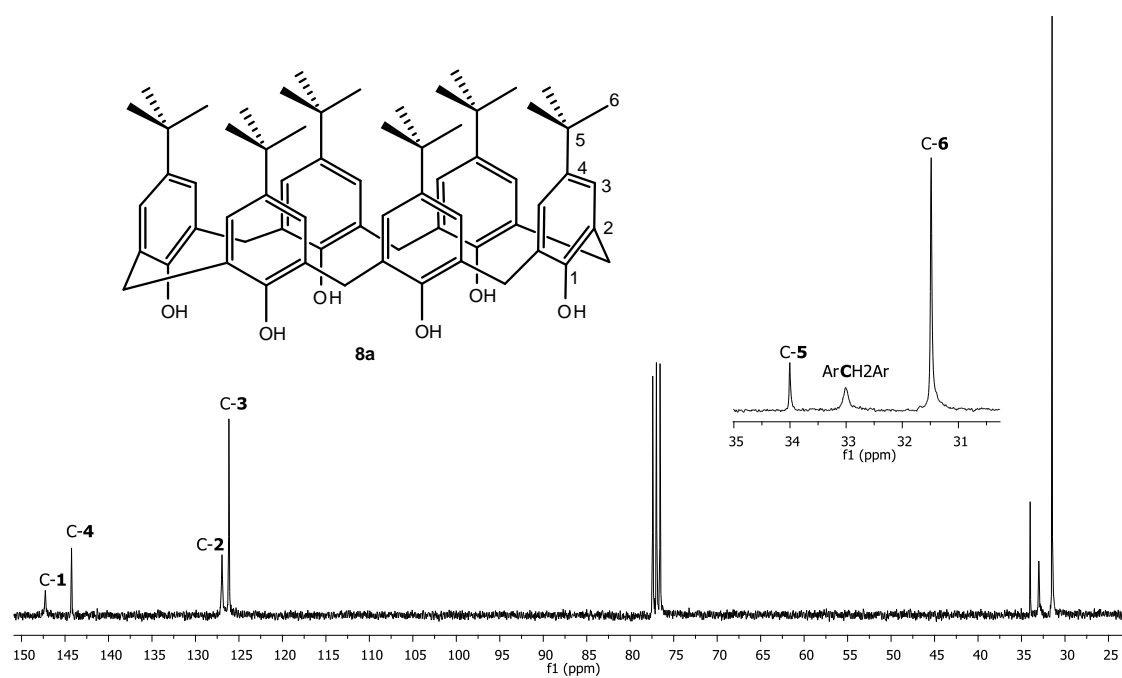


Figura 82: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,00; 25 °C) do *p-tert*-butilcalix[6]areno (**8a**).

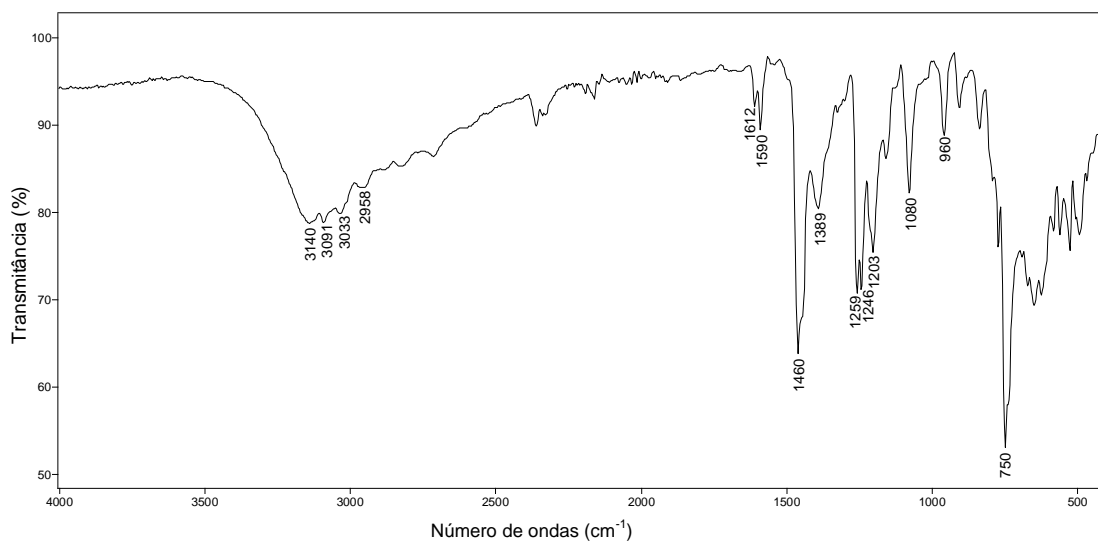


Figura 83: Espectro no IV (reflectância) do calix[6]areno (**8b**).

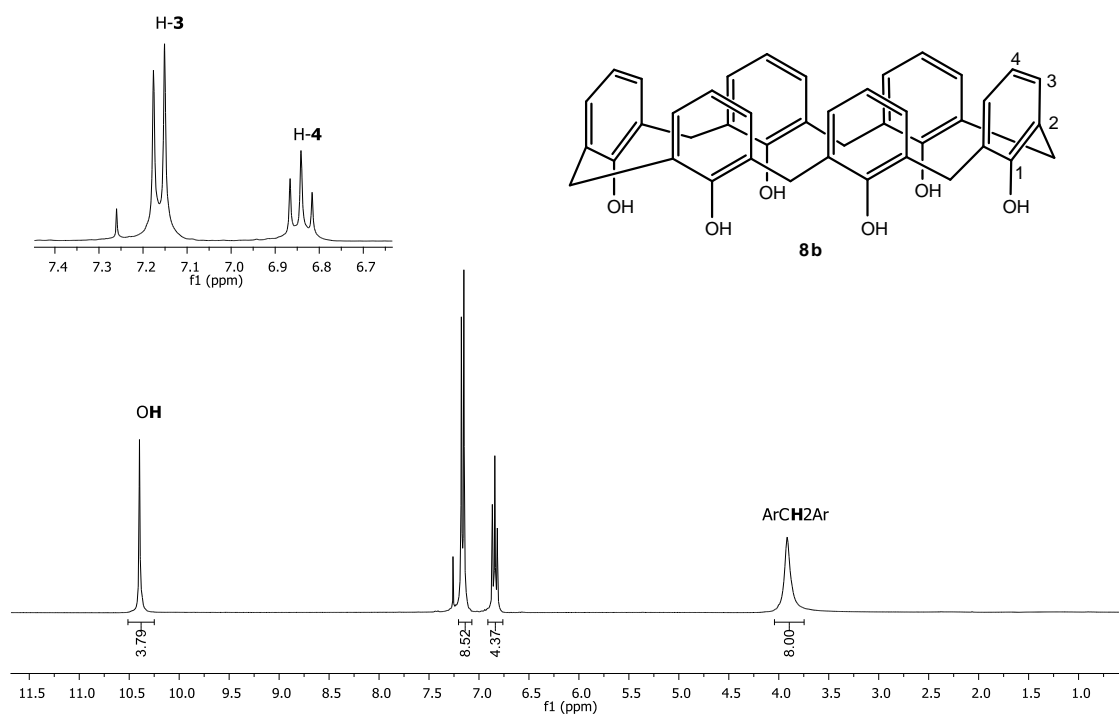


Figura 84: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; CDCl_3 ; δ_{CHCl_3} 7,27; 25 °C) do calix[6]areno (**8b**).

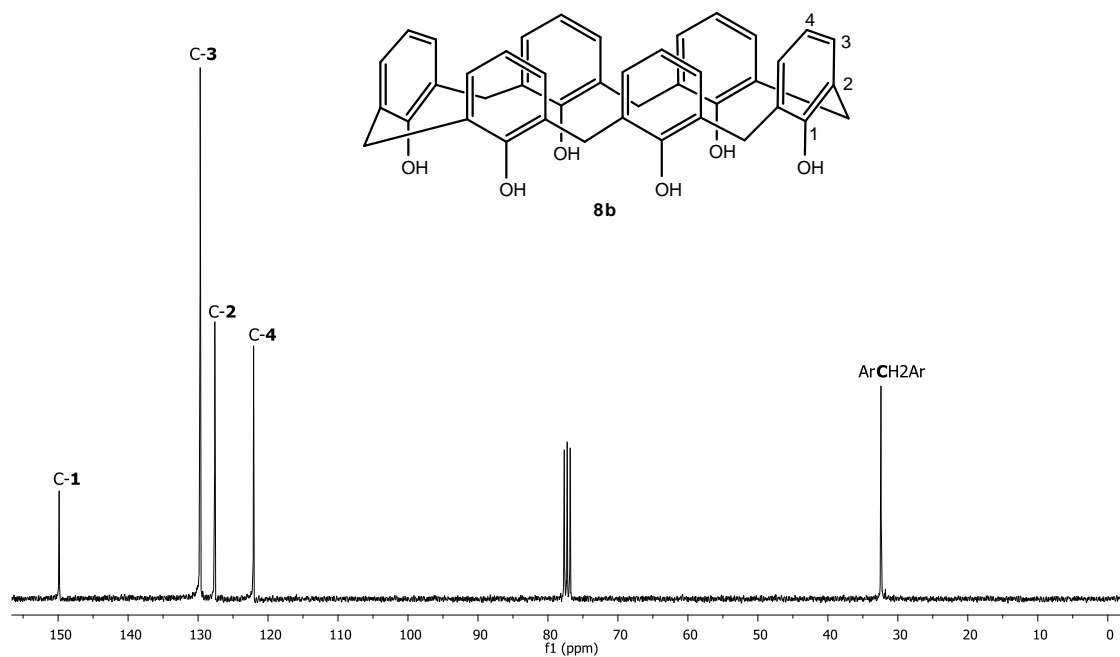


Figura 85: Espectro de RMN de ¹³C (75,459 MHz; CDCl₃; δ_{CDCl₃} 77,00; 25 °C) do calix[6]areno (**8b**).

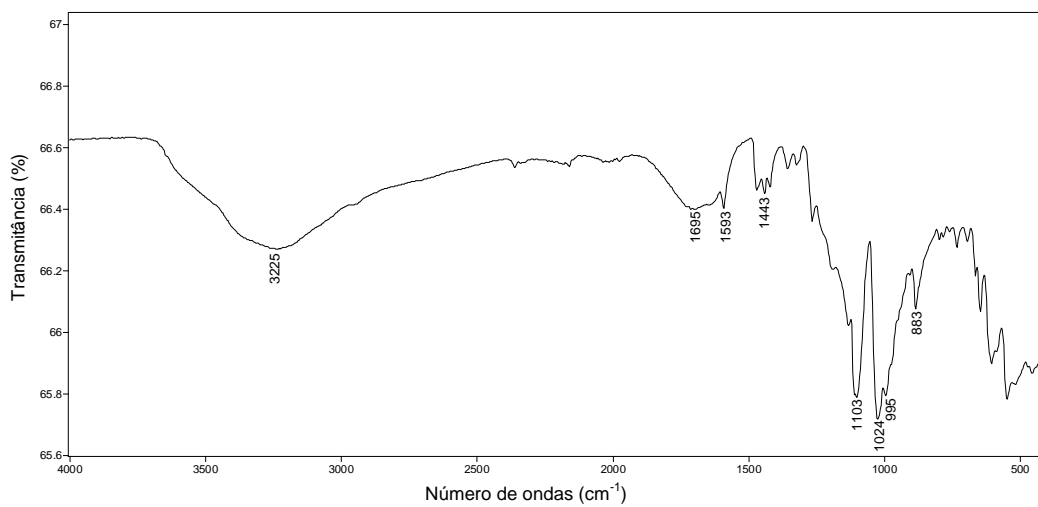


Figura 86: Espectro no IV (reflectância) do ácido *p*-sulfônico calix[6]areno (**8c**).

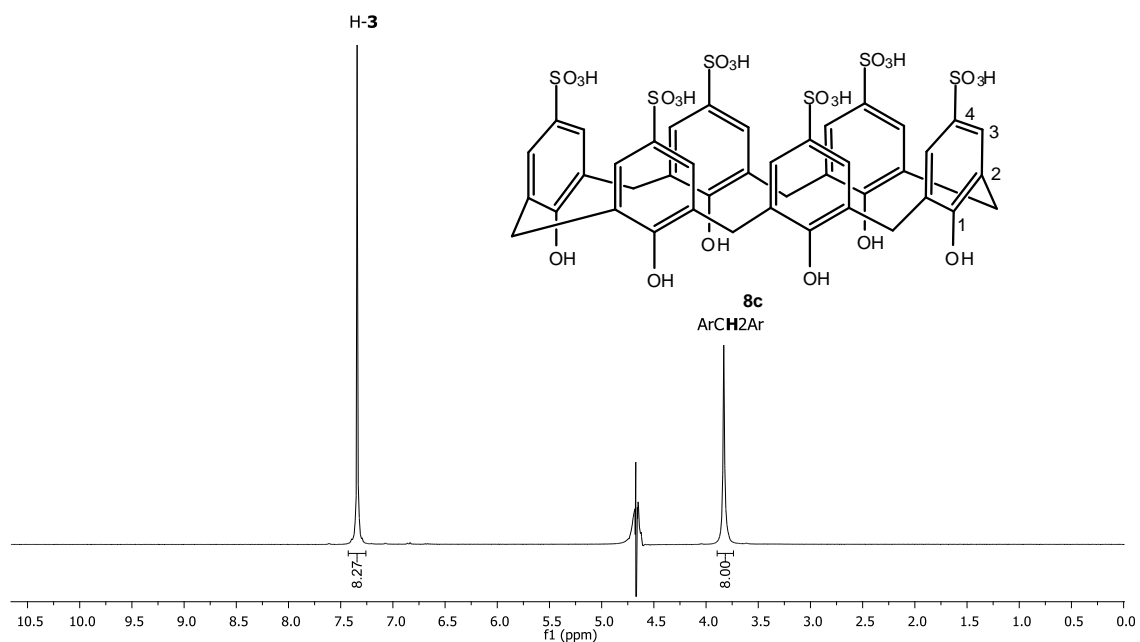


Figura 87: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; D_2O ; $\delta_{\text{H}_2\text{O}}$ 4,67; 25 °C) do ácido *p*-sulfônico calix[6]areno (**8c**).

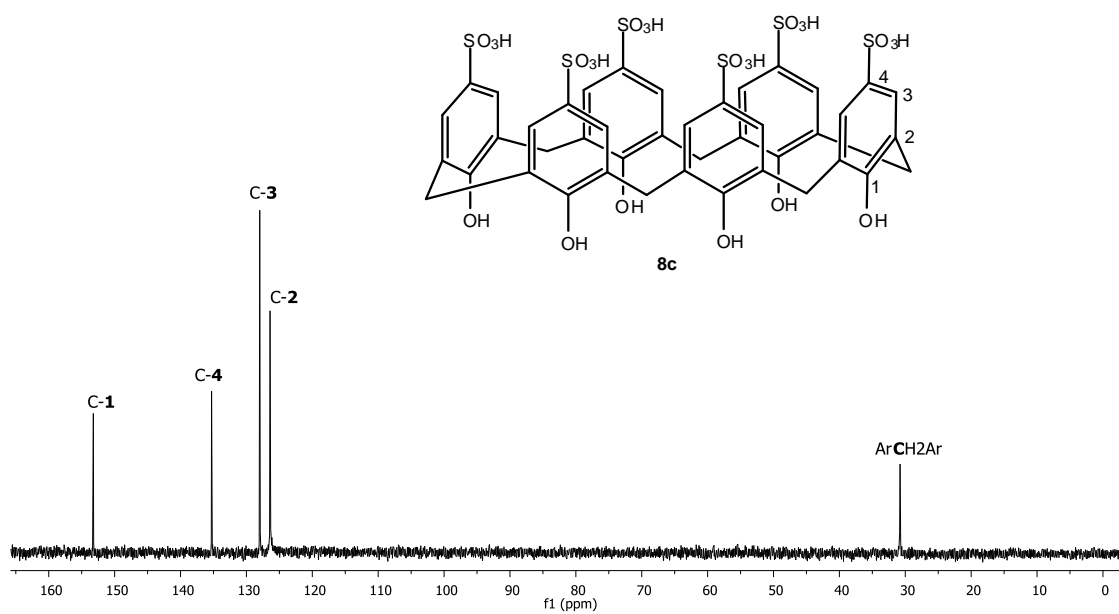


Figura 88: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; D_2O ; 25 °C) do ácido *p*-sulfônico calix[6]areno (**8c**).

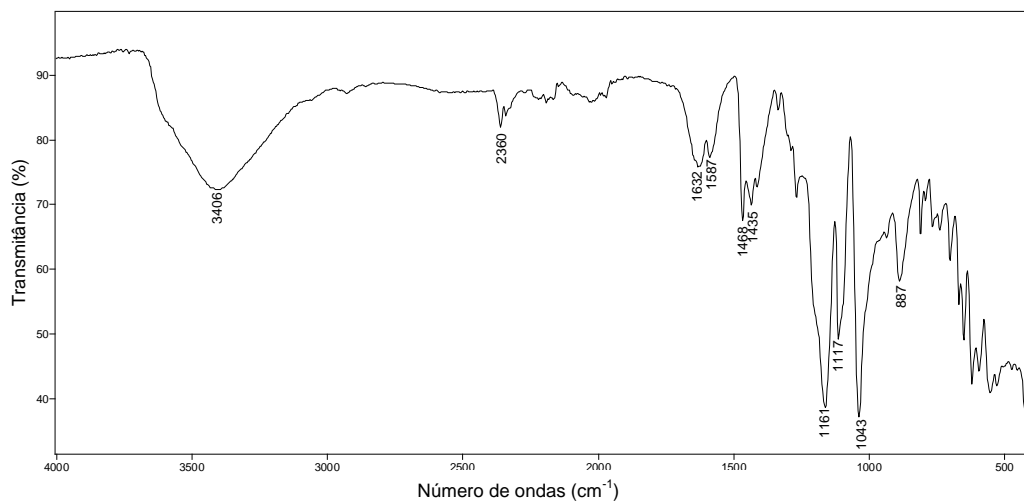


Figura 89: Espectro no IV (reflectância) do *p*-sulfonato de sódio calix[6]areno (**8d**).

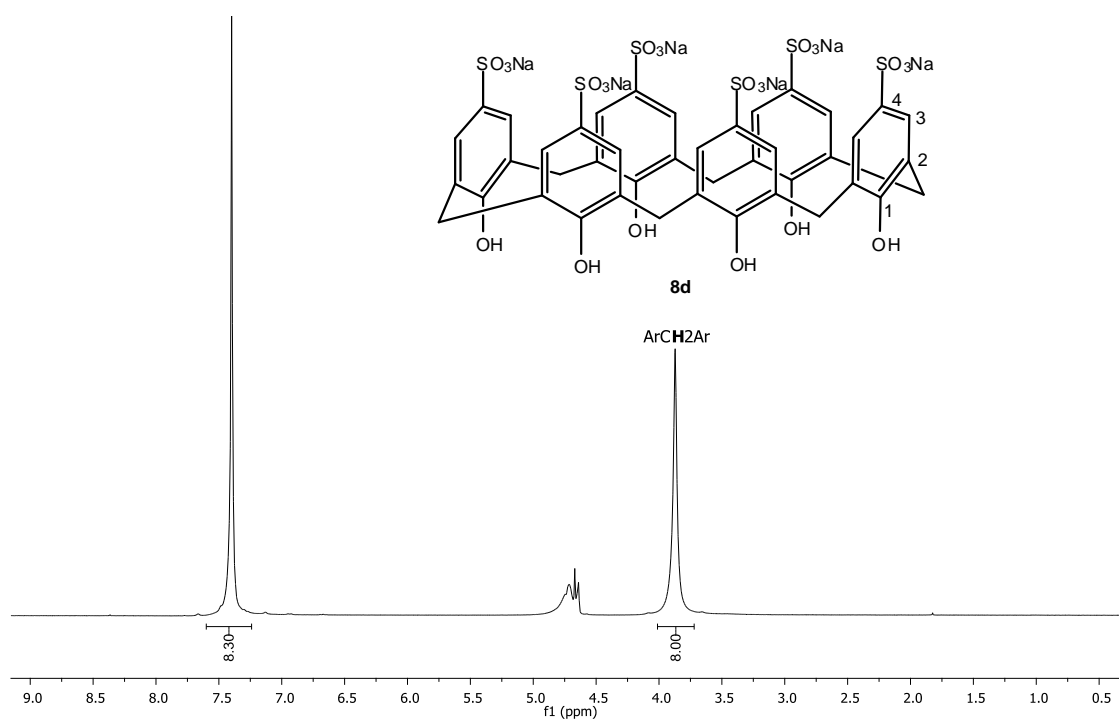


Figura 90: Espectro de RMN de ^1H (300,069 MHz; D_2O ; $\delta_{\text{H}_2\text{O}}$ 4,67; 25 °C) do *p*-sulfonato de sódio calix[6]areno (**8d**).

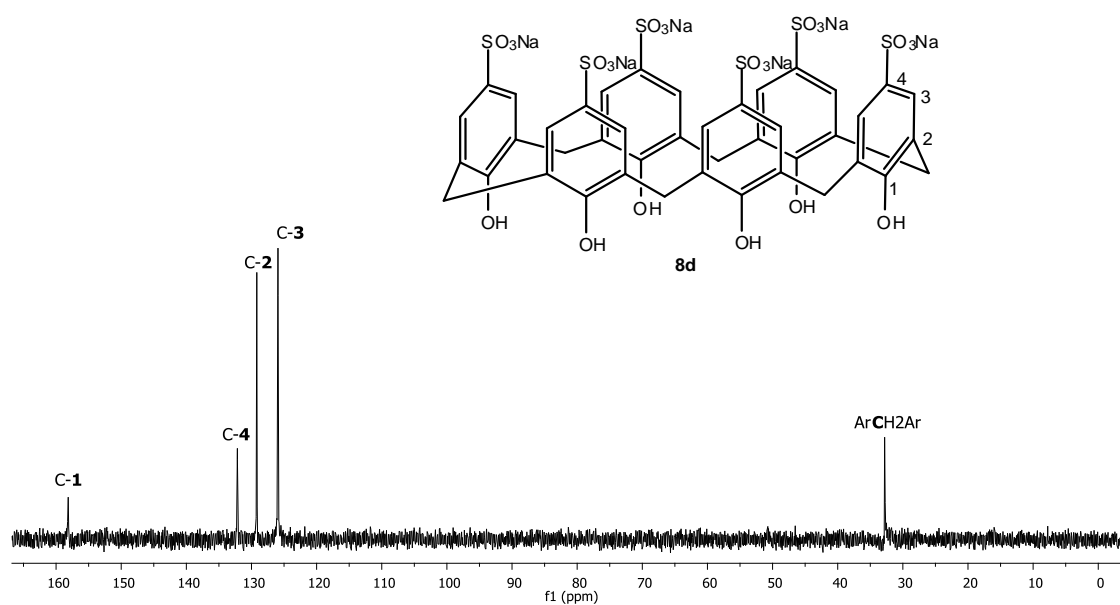


Figura 91: Espectro de RMN de ^{13}C (75,459 MHz; D_2O ; 25 °C) do *p*-sulfonato de sódio calix[6]areno (**8d**).