

EDER DO COUTO TAVARES

**ENCAPSULAMENTO DE MOLÉCULAS BIOATIVAS
COM CALIX[N]ARENOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
FITOTÓXICA DE COMPLEXOS DE INCLUSÃO COM
ALDIMINAS**

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: 28 de julho de 2009.

Prof. Elson Santiago de Alvarenga
(Coorientador)

Prof. Antônio Jacinto Demuner

Prof. Ângelo de Fátima

Dr. Róbson Ricardo Teixeira

Prof. Sergio Antonio Fernandes
(Orientador)

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

***Dedico este trabalho aos meus
queridos pais, meu exemplo de vida, pelo
incentivo e apoio incondicional***

**“... Pois isto me faz muito mais forte
Me faz trabalhar mais arduamente
Me faz muito mais sábio
Então obrigado por fazer de mim um lutador
Me fez aprender mais rápido
Fez minha pele um pouco mais espessa
Me faz muito mais esperto
Então obrigado por fazer de mim um lutador...”**

Scott Storch

AGRADECIMENTOS

Ao grande Deus em primeiro lugar, por sempre me guiar em minhas escolhas e me amparar nos momentos de dificuldade.

À minha querida mãe e ao meu querido pai, pelo apoio incondicional, sem eles eu não estaria realizando mais essa conquista. À minha família por estar sempre torcendo por mim, principalmente minha irmã Juliana, meu primo-irmão Gabriel, meus queridos avós e minha tia Bete.

Ao meu orientador Sergio, pela paciência devotada, pela orientação e por ter feito parte de meu amadurecimento pessoal.

Aos Professores Ângelo de Fátima, Elson (boas conversas e risadas no RMN), Róbson (pelas constantes dicas) e Demuner (por sua sapiência e experiência de vida) e por participarem da banca examinadora.

Aos meus grandes amigos e irmãos Guilherme (por tudo feito nesses mais de 4 anos de convivência), Tiagão, Montanari, Leonel, Tiaguinho, Formigão e Lucas que me acompanharam e fizeram parte de meu amadurecimento pessoal. Obrigado por serem exemplos de superação e profissionalismo.

Aos meus eternos amigos de laboratório, Xuxu (Remela 2), Paula (pelos puxões de orelha e pela diplomacia), Milena, Juca, Abney, Milene, enfim a todos do Lab 309. Obrigado pela ótima convivência, tornando o nosso ambiente de trabalho muito agradável. Tenham certeza que aprendi muito com todos vocês.

Às minhas amigas, irmãs, minhas mães de Viçosa, Vivianne, Katalin Elisinha e em especial a Dona Zainha. Obrigado pelos puxões de orelha, almoços maravilhosos e, sobretudo o carinho devotado. Não posso me esquecer da Bruta (Nath), que adoro de montão.

À minha eterna amiga Juzinha (Estrelinha para os íntimos) que compartilhou momentos maravilhosos comigo e que Deus me deu a oportunidade de conhecer.

Aos meus amigos Berlini, Elba, Natália, Cassiano, Roberta, Aparecida, Flaviano, Leandro e aos funcionários Marisa, Zé Luis, Carine, Irani e Onezina. Obrigado por tudo e por serem extremamente prestativos.

A professora Mayura e ao professor Luís Henrique pelas maravilhosas aulas ministradas e por me ensinarem o verdadeiro sentido de se fazer ciência.

BIOGRAFIA

Eder do Couto Tavares, filho de Edson Tavares e Solange do Couto Alves Tavares, nasceu na cidade de Resende, Rio de Janeiro, em 8 de janeiro de 1986.

Em 2004, ingressou no curso de Bacharelado e Licenciatura em Química na Universidade Federal de Viçosa – UFV, diplomando-se em janeiro de 2008.

Durante este período atuou como monitor nas disciplinas de Cálculo II, Química Orgânica I, Química Orgânica II, Química Orgânica III e Química Orgânica Experimental I. Além disso, atuou como tutor-líder na disciplina QUI 098 (Fundamentos de Química Orgânica).

Em março de 2008, iniciou o curso no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, em nível de Mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de dissertação em julho de 2009.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
Capítulo 1 – Encapsulamento de moléculas bioativas com calix[n]arenos	1
1. Introdução	1
1.2. Encapsulamento de moléculas bioativas	3
1.3. Aplicação da RMN no estudo de complexos supramoleculares	6
1.3.1. Determinação da estequiometria dos complexos	7
1.3.2. Experimentos de difusão	8
1.3.3. Medidas <i>PGSE</i> e a técnica <i>DOSY</i>	8
1.3.4. Experimentos de <i>NOESY</i>	10
2. Objetivos Gerais	11
3. Material e métodos	12
3.1. Técnicas espectroscópicas	12
3.2. Preparo das amostras	12
3.3. Experimentos de titulação	13
3.3.1. Experimentos de <i>DOSY</i>	13
3.3.2. Experimentos de <i>NOESY</i>	14
3.3.3. Obtenção das aldiminas e retronecina	14
3.4. Procedimentos sintéticos	14
4. Resultados e discussão	21
4.1. Síntese do <i>p-terc</i> -butilcalix[6]areno	21
4.2. Síntese do calix[6]areno	26
4.3. Síntese do ácido <i>p</i> -sulfônicocalix[6]areno	31
4.4. Síntese do <i>p-terc</i> -butilcalix[4]areno	36
4.5. Síntese do calix[4]areno	41
4.6. Síntese do ácido <i>p</i> -sulfônicocalix[4]areno	45
4.7. Estudo do encapsulamento de moléculas bioativas	49

4.7.1. Encapsulamento da retronecina	50
4.7.2. Encapsulamento do cloreto de prilocaínio	58
4.7.3. Encapsulamento do butil-4-aminobenzoato e cloreto de pramoxínio	65
4.7.4. Encapsulamento do (<i>E</i>)- <i>N</i> -benzilidenoanilina e (<i>E</i>)-4-(fenilimino)metilfenol	65
5. Conclusões	73
Capítulo 2 – Avaliação da atividade fitotóxica de complexos de inclusão com aldiminas	74
1. Introdução	74
2. Material e métodos	76
2.1. Preparo das formulações	76
2.2. Condução dos experimentos	77
2.2.1. Germinação das sementes	77
2.2.2. Avaliação do crescimento radicular em placa de Petri	77
2.2.3. Avaliação do ganho de biomassa em casa de vegetação	77
2.2.4. Análises estatísticas	78
3. Resultado e discussão	79
4. Conclusão	92
Anexos	93
Referências Bibliográficas	101

LISTA DE ABREVIATURAS

β -CD	β -ciclodextrina
CD	Ciclodextrinas
D	Dupleto
DOSY	Diffusion Ordered Spectroscopy
DSC	Differential scanning calorimetry
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
M	Multiplete
nOe	efeito nuclear Overhauser
NOESY	Nuclear Overhauser Spectroscopy
PGSE	Pulsed field gradient spin-echo
RMN de ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de carbono 13
RMN de ^1H	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
S	Simpleto
$\text{S}_{\text{E}}\text{A}_{\text{R}}$	Substituição eletrofílica aromática
$\text{SO}_3\text{HCX}[6]$	Ácido <i>p</i> -sulfônicocalix[6]areno
T	Triplete
TMS	Tetrametilsilano
δ	Deslocamento químico

RESUMO

TAVARES, Eder do Couto, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2009. **Encapsulamento de moléculas bioativas com calix[n]arenos e avaliação da atividade fitotóxica de complexos de inclusão com aldiminas.** Orientador: Sergio Antonio Fernandes. Co-Orientadores: Antônio Alberto da Silva e Elson Santiago de Alvarenga

A presente investigação teve como objetivo principal estudar interações intermoleculares empregando a espectroscopia de RMN de ^1H . O primeiro capítulo descreve a síntese de seis moléculas, sendo duas delas empregadas como moléculas hospedeiras: o ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno ($\text{SO}_3\text{HCX}[6]$) **(3)** e ácido *p*-sulfônicocalix[4]areno ($\text{SO}_3\text{HCX}[4]$) **(6)**. Os calixarenos sintetizados foram empregados no encapsulamento das substâncias: retronecina **(7)**, cloreto de prilocaínio **(8)**, cloreto de pramoxínio **(9)**, 4-aminobenzoato de butila **(10)**, (*E*)-*N*-benzilidenoanilina **(11)** e (*E*)-4-(fenilimino)metilfenol **(12)**. No entanto, apenas quatro moléculas tiveram seu estudo realizado por RMN de ^1H . As moléculas **(9)** e **(10)** não puderam ser analisadas devido à sua precipitação, comprometendo assim os experimentos. As topologias dos complexos retronecina/ $\text{SO}_3\text{HCX}[6]$ e cloreto de prilocaínio/ $\text{SO}_3\text{HCX}[4]$ foram determinadas. As estequiometrias dos complexos envolvendo as aldiminas **(11)** e **(12)** com o ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno foram obtidas, empregando-se o Método de Job. O segundo capítulo buscou avaliar o potencial fitotóxico das aldiminas **11-14** bem como o efeito de seu encapsulamento pelo $\text{SO}_3\text{HCX}[6]$ e β -CD sobre esta atividade. Foram avaliados 15 tratamentos e 1 branco (água) com quatro repetições em delineamento estatístico inteiramente casualizado. As características avaliadas foram o crescimento radicular de plântulas de sorgo e pepino, ganho de biomassa do sistema radicular e da parte aérea de sorgo e pepino e a percentagem de inibição destas plantas em relação ao tratamento branco. A formulação TPX (Tween 80 0,15%, pentan-3-ona 0,05% e xilol 0,01%) não se demonstrou adequada para a solubilização dos compostos **11-14**. As formulações $\text{SO}_3\text{HCX}[6]$ e β -CD apresentaram atividade, sendo a do primeiro mais pronunciada. Os resultados mostraram que o efeito das aldiminas sobre o crescimento dessas espécies depende da formulação utilizada.

ABSTRACT

TAVARES, Eder do Couto, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, april 2009.
Encapsulation of bioactive molecules with calix[n]arenes and evaluation of phytotoxic activity the inclusion complexes with aldimines. Adviser: Sergio Antonio Fernandes. Co-advisers: Antônio Alberto da Silva and Elson Santiago de Alvarenga.

This research had as main objective to study intermolecular interactions using ^1H NMR as major tool. The first chapter describes the synthesis of six molecules, two of them employed as molecular hosts: *p*-sulphonic acid calix[6]arene ($\text{SO}_3\text{HCX}[6]$) (**3**) and *p*-sulphonic acid calix[4]arene ($\text{SO}_3\text{HCX}[4]$) (**6**). The calixarenes synthesized were employed in the encapsulation of substances: retronecine (**7**), chloride prilocaine (**8**), chloride pramoxine (**9**), butyl-4-aminobenzoate (**10**), (*E*)-*N*-benzilideneaniline (**11**) e (*E*)-4-(phenylimine)metylphenol (**12**). Nevertheless, only 4 molecules had its study carried through for RMN of ^1H . The molecules **9** and **10** could not be analyzed due to its precipitation, thus compromising the experiments. The topology of complexes retronecine/ $\text{SO}_3\text{HCX}[6]$ and chloride prilocaine/ $\text{SO}_3\text{HCX}[4]$ were determined. The stoichiometry of the complexes involving the aldimines (**11**) and (**12**) with *p*-sulphonic acid calix[6]arene were obtained, using the Job's Method. The second chapter describes the evaluation phytotoxic potential of the aldimines **11-14** as well as the effect of its encapsulation for the $\text{SO}_3\text{HCX}[6]$ and β -CD on this activity. 15 treatments and 1 white (water) with four repetitions in statistical delineation entirely randomized were evaluated. The evaluated characteristics were the root growth of seedlings of sorghum and cucumber, gain of biomass of the root and aerial part of sorghum and cucumber and the percentage of inhibition of these plants in relation to the white treatment. The formulation TPX (0.15% Tween 80, pentan-3-one and 0.05% xylene 0.01%) did not show suitable for the solubilization of compounds **11-14**. The formulations $\text{SO}_3\text{HCX}[6]$ and β -CD showed activity, the first being the most pronounced. The results showed that the effect of aldimines on the growth of these species depends on the formulation used.

CAPÍTULO 1

ENCAPSULAMENTO DE MOLÉCULAS BIOATIVAS COM CALIX[N]ARENOS

1. Introdução

Calix[*n*]arenos tem sido sintetizados, consciente ou acidentalmente, desde 1970 (GUTSCHE *et al.*, 1981). Certamente, calix[*n*]arenos, e em particular calix[4]arenos, tornaram-se estreitamente identificados com a química supramolecular desde que Gutsche otimizou condições para sua síntese. Após este fato, várias revisões, monografias e livros têm sido publicados sobre a história e uso dos calix[*n*]arenos (GUTSCHE, 1989; GUTSCHE, 1997; GUTSCHE, 1983; BOHMER, 1995, de FÁTIMA *et al.*, 2009, SAMENI *et al.*, 2009).

Calix[*n*]arenos são 2,6-metaciclofanos derivados de fenóis com um único grupo metileno separando cada unidade fenólica. Muitos grupos podem ser introduzidos na posição 4, ou coroa superior como é usualmente conhecida, e calix[*n*]arenos com quatro unidades fenólicas, junto com muitos homólogos superiores, tem sido preparados, como os calix[6]areno e calix[8]areno. Os oxigênios fenólicos podem ser usados para fixar uma variedade de grupos funcionais como éteres e ésteres, conhecidos geralmente como substituintes da coroa inferior (CRAGG, 2005).

O nome calix[*n*]areno foi sugerido por Gutsche devido à semelhança por ele encontrada entre a forma de um vaso grego e o modelo molecular de um dos confôrmeros do tetrâmero cíclico (GUTSCHE, 1997; LAZZAROTTO *et al.*, 1995). Assim, *calix* significa vaso e *areno* indica a presença de anéis aromáticos. Para adaptar este nome a outros oligômeros cíclicos, o tamanho do macrociclo é indicado por um número entre colchetes, inserido entre as palavras “calix” e “areno”.

Os calixarenos são caracterizados por possuírem temperaturas de fusão muito elevadas, geralmente acima de 300 °C, sendo superior a 400 °C para o *p-terc*-butilcalix[8]areno. Outra característica dos calix[*n*]arenos é a sua insolubilidade em água, mesmo em condições básicas, e a baixa solubilidade

em solventes orgânicos. Embora isto dificulte o seu isolamento, purificação e caracterização, a maioria dos calix[*n*]arenos é suficientemente solúvel em solventes orgânicos comuns para permitir a sua caracterização estrutural (GUTSCHE, 1997).

Outro aspecto interessante dos calix[*n*]arenos reside na variedade de conformações que podem assumir. A possibilidade dos *p*-*tert*-butilcalix[4]arenos poderem existir em quatro conformações estáveis, resultantes da interconversão dos anéis aromáticos relativamente ao plano médio da molécula, foi proposta pela primeira vez por Cornforth em 1955. Posteriormente, Gutsche designou estas conformações por cone, cone parcial, 1,2-alternada e 1,3-alternada (**Figura 1**).

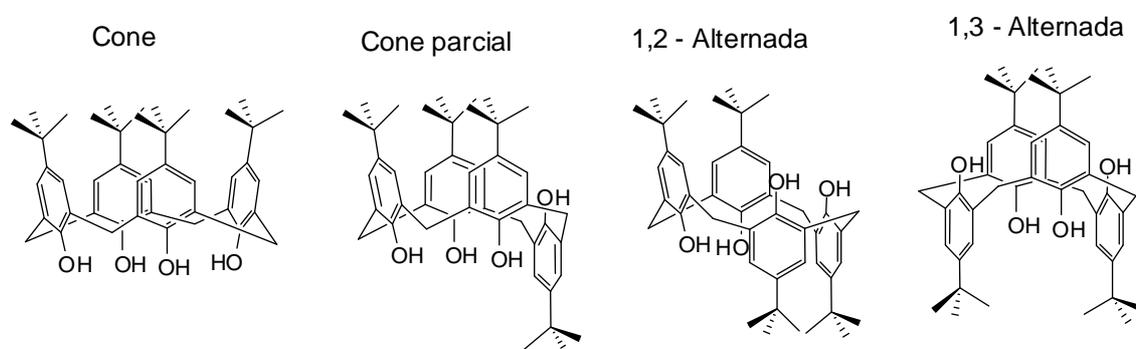
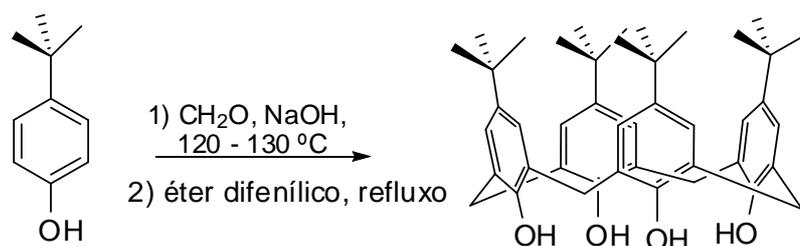


Figura 1 - Conformações mais estáveis do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno.

À medida que o número de anéis aromáticos aumenta, o número de conformações mais estáveis é também aumentado. A estrutura cristalina do calix[4]areno contendo grupos OH livres adota a conformação cone, que é estabilizada por ligações de hidrogênio intramoleculares. Para os *p*-*tert*-butilcalix[6]arenos foram observadas duas conformações no estado sólido, uma onde todos os grupos OH estão de um mesmo lado da molécula e outra onde três grupos adjacentes estão para cima e os outros três estão para baixo (GUTSCHE, 1983).

A rota sintética usualmente empregada para o preparo do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno é apresentada no **Esquema 1**. Este método requer a preparação inicial de um precursor pelo aquecimento de *p*-*tert*-butilfenol, na presença de formaldeído, sob condições básicas quando dissolvido numa mistura de éter difenílico. A mistura reagente é então aquecida sob atmosfera

de nitrogênio para a pirólise do precursor e o produto é isolado pela precipitação com acetato de etila.



Esquema 1 - Síntese convencional de *p*-*tert*-butilcalix[4]areno.

A razão molar dos reagentes, a quantidade de base, o cátion e a temperatura são fatores que contribuem para determinar as seletividades e os rendimentos de formação de cada produto. As condições ótimas para a formação do tetrâmero são baixa concentração de base (0,045 mols de NaOH por mol de *p*-*tert*-butilfenol) e temperaturas elevadas (refluxo em éter difenílico). A preparação do hexâmero requer quantidades mais elevadas de base (0,3 mols), cátions maiores, como por exemplo, K⁺, e temperaturas mais baixas (refluxo em xileno) e finalmente o octâmero forma-se à mesma temperatura, mas com pequenas quantidades de base (0,03 mols de base).

1.2. Encapsulamento de moléculas bioativas

No fim de 1960, pesquisadores como Pedersen, Lehn, e Cram entre outros, publicaram a síntese de moléculas macrocíclicas (éteres de coroa, “cryptands”, “spherands”, etc) capazes de se ligar seletivamente a íons ou pequenas moléculas orgânicas por interações não covalentes e com reconhecimento específico (ligação e seleção). Lehn cunhou o termo química supramolecular (“supramolecular chemistry”) ou química além da molécula (“chemistry beyond the molecule”) para este campo. Na química supramolecular, as moléculas (hospedeiros) são projetadas e sintetizadas para interagir especificamente com moléculas hóspedes ou formar grandes agregados (LEHN, 1988, CRAGG, 2005). Juntamente com ciclodextrinas e éteres de coroa, calix[*n*]arenos são a terceira maior classe de supramoléculas (GUTSCHE, 1997). Ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos naturais,

compostos por unidades de glicose unidas através de ligações do tipo α (1 \rightarrow 4), originados da degradação do amido pelas enzimas ciclodextrinaglicosiltransferases, sintetizadas por alguns microorganismos (UEKAMA, 2004). As três ciclodextrinas naturais são a alfa ciclodextrina (α -CD), a beta (β -CD) (Figura 2) e a gama (γ -CD), compostas de 6, 7 e 8 unidades de D-(+)-glicopirranose, respectivamente.

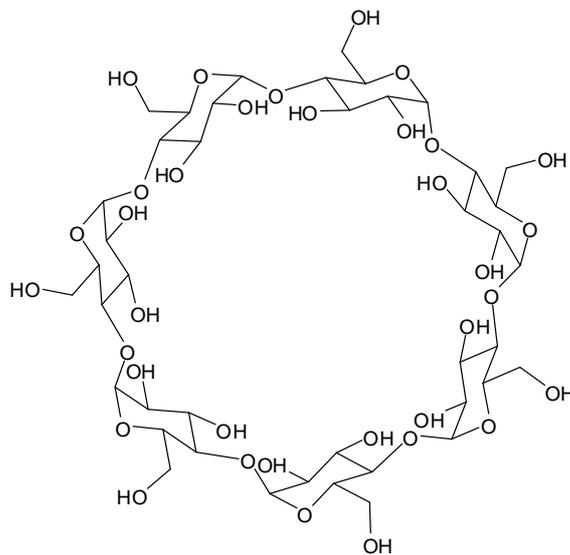


Figura 2 - Estrutura da β -ciclodextrina.

Nas ciclodextrinas, os grupos hidroxilas primários e secundários estão orientados para o exterior do anel formado pelas unidades de glicose, conferindo-lhe um exterior bastante hidrofílico e uma cavidade interna hidrofóbica. Tal cavidade permite a formação de complexos de inclusão entre as ciclodextrinas e moléculas que apresentem dimensões compatíveis com esta cavidade interna (UEKAMA, 2004; MATIOLI, 2000).

Mesmo que calix[n]arenos possuam muitas similaridades estruturais com ciclodextrinas, eles são moléculas altamente flexíveis comparadas com ciclodextrinas (ANSLYN & DOUGHERTY; 2006). Os calix[n]arenos podem reconhecer espécies catiônicas e aniônicas, bem como moléculas neutras. Estes receptores têm a possibilidade de formar interessantes complexos com cátions metálicos e compostos biológicos exibindo extratabilidade e seletividade. Além disso, calix[n]arenos têm sido extensivamente estudados em conexão com muitas áreas, tais como, simulação de enzimas, solubilização e modificação de drogas, alimentos, agroquímicos, catálise e em síntese orgânica.

Apesar da biocompatibilidade das ciclodextrinas, estas podem mostrar, por exemplo, resistência ao poder de degradação de enzimas humanas. As ciclodextrinas podem ser tóxicas dependendo de sua rota de administração. Em determinadas concentrações, a β -CD tem uma grande afinidade com colesterol podendo carregá-la da membrana lipídica das células e, em concentrações suficientemente altas, pode causar hemólise dos eritrócitos. A administração parenteral de β -CD não é possível devido a sua baixa lipofilicidade, que a faz precipitar como microcristais nos rins, além do fato de formar complexos com o colesterol que se acumulam nos rins danificando os néfrons. A funcionalização da β -CD pode suavizar este problema (FERREIRA *et al.*, 2009). Já os calix[n]arenos podem sofrer modificação química utilizando reações de baixa toxicidade, baixo custo de produção e sem a toxicidade natural das ciclodextrinas (SHAHGALDIAN *et al.*, 2001). Isto aumentou o interesse para o uso deles no campo de aplicações biofarmacêuticas (GUTSHE, 1998), principalmente no que diz respeito ao carregamento de moléculas bioativas, como anestésicos locais, herbicidas, entre outras (de FATIMA *et al.*, 2009; KALCHENKO *et al.*, 2003). Devido a esta habilidade para formar complexos de inclusão com uma variedade de compostos orgânicos ou inorgânicos, os calix[n]arenos têm recebido uma considerável e crescente atenção durante as últimas duas décadas e se tornaram uma das áreas de pesquisa mais ativas em química supramolecular (ZHANG *et al.*, 2001). Na química dos calix[n]arenos, a complexação de inclusão é realizada pela interação intermolecular entre calixareno e hóspedes, que conduz a inserção da molécula hóspede parcialmente ou completamente no interior da cavidade do calix[n]areno.

A complexação de inclusão entre calix[n]arenos e moléculas orgânicas tem sido estudada por várias décadas. Estes estudos indicam que o processo de inclusão é dirigido por forças eletrostáticas, forças de van der Waals, interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio, liberdades de tensão conformacionais, entre outras. Além disso, diferentemente das ciclodextrinas, calix[n]arenos tem uma composição única que incluem anéis aromáticos, que determinam interações π - π . É interessante notar que as forças motrizes sempre coexistem ou tem um efeito sinérgico. A intensidade relativa de cada força é normalmente relacionada a certo sistema de inclusão. Mais

especificamente, o tamanho da cavidade do calix[*n*]areno e a natureza dos grupos ligados a ele; o volume, o formato, polarizabilidade, número e características dos grupos substituintes do hóspede, assim como meio reagente, temperatura, força iônica e outros fatores afetarão a intensidade relativa dessas forças (ANSLYN & DOUGHERTY; 2006).

Além disso, a facilidade com que vários grupos funcionais podem ser introduzidos seja na coroa inferior ou superior, muda facilmente a afinidade desses macrociclos sobre as moléculas alvo e/ou aumenta a solubilidade dos calix[*n*]arenos (SHINKAI, 1986). Entre estes vários derivados de calix[*n*]arenos, a química dos *p*-sulfonatocalixarenos vem ganhando destaque, uma vez que sendo estes solúveis em água seu estudo torna-se muito mais relevante, já que muitos processos biológicos ocorrem em meio aquoso. Os *p*-sulfonatocalixarenos possuem flexibilidade, cavidade rica em elétrons π e também podem fornecer pontos de ancoragem adicionais de grupos sulfonato que os favorecem de propriedades de inclusão/complexação versáteis, para diferentes tipos de moléculas hóspedes. Durante as últimas duas décadas, o reconhecimento iônico/molecular baseado em *p*-sulfonatocalixarenos vem sendo largamente investigado (GUO, 2008). Fora isto, *p*-sulfonatocalixarenos tem demonstrado promissoras atividades biológicas, farmacêuticas, analíticas e crescimento de cristais devido a suas estruturas pré-organizadas perfeitas e características especiais de ligação, que foram revisadas por Atwood, Raston e Coleman em anos recentes, respectivamente (ATWOOD *et al.*, 2001, PERRET *et al.*, 2006, DALGARNO *et al.*, 2006, de FÁTIMA *et al.*, 2009, SAMENI *et al.*, 2009).

1.3. Aplicação da RMN no estudo de complexos supramoleculares

Vários métodos experimentais podem ser utilizados para o estudo de complexos supramoleculares. Dentre eles, os mais empregados são espectroscópicos (RMN, UV, e IV), espectrométricos (MS), métodos eletroquímicos (potenciometria), calorimetria e difração de raios-X. Dentre estes métodos a **RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR** destaca-se por permitir obter informações, ao nível molecular, de moléculas em solução. A

espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) é hoje uma das ferramentas analíticas, não destrutivas, mais poderosas e versáteis para o estudo estrutural de moléculas e de imagens. Análises por RMN podem comprovar a estrutura do complexo formado, a partir da observação de uma alteração sensível dos sinais obtidos tanto para calix[*n*]arenos como para o hóspede.

A modificação dos sinais dos calixarenos é consequência direta das alterações causadas pela associação com o hospedeiro, que altera o microambiente ao redor dos átomos de hidrogênio no interior da cavidade. Da mesma forma, o hospedeiro incluído sofre alteração na leitura dos sinais correspondentes aos átomos que penetram na cavidade do calixareno, a qual constitui um microambiente diferente daquele em que ele estava originalmente solvatado (ANSLYN & DOUGHERTY; 2006).

1.3.1. Determinação da estequiometria dos complexos

Com o intuito de entendermos melhor as características moleculares que determinam a interação hóspede-hospedeiro em complexos supramoleculares é fundamental determinarmos primeiramente a estequiometria de complexação. Os métodos mais comuns empregados para a determinação da estequiometria de complexação são: **a)** variação contínua de um dos componentes e **b)** variação contínua de ambos os componentes (Método de Job). 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 3a**). 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 máximo (**Figura 3b**) (JOB, 1926; HUANG, 1982; FIELDING, 2000).

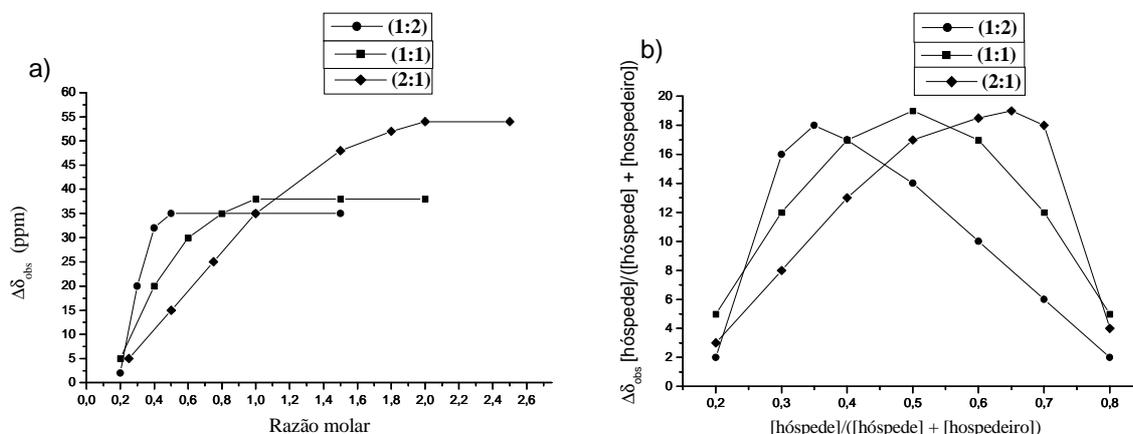


Figura 3 - Titulação por RMN de 1H: a) método com variação contínua de um dos componentes e **b)** método de Job.

1.3.2. Experimentos de difusão

O coeficiente de difusão (D) de uma molécula é a medida de sua mobilidade em solução e depende da viscosidade do solvente e, mais precisamente, do “efetivo” tamanho e forma molecular. Portanto, fenômenos como agregação, encapsulamento e outras interações intermoleculares, refletirão sobre as medidas dos valores de D de uma espécie molecular. Além disso, medidas de difusão são freqüentemente usadas em conjunção com experimentos de nOe, com o intuito de investigar interações iônicas ou intermoleculares (PASTOR & VIVIENTE, 2008, de SOUZA *et al.*, 2008). Com isto, esta estratégia tem se tornado incrivelmente popular na química supramolecular.

1.3.3. Medidas PGSE e a técnica DOSY

A técnica de RMN de gradiente de campo pulsado (*PGSE*) foi usada durante algum tempo como uma medida direta do coeficiente de difusão molecular (D). A intensidade do sinal de RMN no experimento de *PGSE NMR* ("pulsed field gradient spin-echo") é descrito por:

$$I = I_0 e^{-D(\Delta-\delta/3)q^2}$$

Equação 1

onde I e I_0 são as intensidades do sinal de RMN na presença e na ausência de pulsos de gradiente externos, respectivamente; D é o coeficiente de difusão; Δ é o tempo sob o qual é permitido ocorrer a difusão translacional; q é a área do gradiente de campo ($q = \gamma g \delta$, sendo γ a constante magnetogírica; g e δ a amplitude e a duração do gradiente de pulso, respectivamente).

Numa sequência básica, um pulso de 90° transfere magnetização para o plano xy , fazendo com que os spins percam sua coerência de fase. Um pulso de 180° refocalizador produz um “eco de spin” depois de um intervalo apropriado e somente spins que não sofreram nenhum deslocamento durante o intervalo Δ são refocalizados, sendo então a amplitude do eco relacionada ao coeficiente de difusão (D). Os dados são tratados plotando-se o logaritmo da intensidade do sinal contra $\delta^2 g^2 (\Delta - \delta/3)$, sendo o coeficiente angular desta reta o valor do coeficiente de difusão.

Se houver troca química para uma razão que seja rápida relativa à Δ , o coeficiente de difusão observado (D_{obs}) refletirá uma média ponderada dos coeficientes das populações das espécies em troca, de acordo com a equação que segue:

$$D_{obs} = x_{compl} D_{compl} + x_{livre} D_{livre} \quad \text{Equação 2}$$

Aqui é considerado que a troca ocorre entre um estado livre e complexado e a fração do ligante em quaisquer dos estados, livre ou complexado, é representada por x_{livre} ou x_{compl} . A fração do ligante complexado (x_{compl}) e a constante de associação aparente (K_{ap}) podem ser calculadas pelas equações 3 e 4, respectivamente.

$$x_{compl} = \frac{D_{obs} - D_{livre}}{D_{compl} - D_{livre}} \quad \text{Equação 3}$$

$$K_{ap} = \frac{x_{compl}}{(1 - x_{compl})([hospedeiro] - x_{compl}[hospede])} \quad \text{Equação 4}$$

onde $[hospedeiro]$ e $[hospede]$ são as concentrações totais do hospedeiro e do hóspede, respectivamente.

Os coeficientes de difusão (D) típicos em sistemas líquidos à temperatura ambiente variam de cerca de 10^{-9} (moléculas pequenas em soluções não viscosas) a 10^{-12} $m^2 s^{-1}$ (polímeros densos em solução) (de SOUZA *et al.*, 2008, de SOUZA *et al.*, 2002).

Medidas de difusão PGSE podem também ser apresentadas em um “espectro 2D”, onde os deslocamentos químicos são dispostos em uma dimensão e o coeficiente de difusão numa segunda dimensão. Este experimento é então chamado DOSY (Diffusion Ordered Spectroscopy) e também tem sido referido como “cromatografia de spins”, pela sua habilidade em “separar” os componentes de uma mistura complexa de acordo com seus coeficientes de difusão. Assim, as diferentes espécies moleculares podem ser identificadas com base em seus diferentes tamanhos moleculares. Esta metodologia também tem sido largamente empregada em várias áreas da química, como por exemplo, polímeros, resinas, bioquímica, química de organometálicos, incluindo agregados supramoleculares (de SOUZA & LAVERDE JR., 2002; PASTOR & VIVIENTE; 2008; FERNANDES *et al.*, 2007).

1.3.4. Experimentos de NOESY

Experimentos de NOESY (Nuclear Overhauser Spectroscopy) correlacionam interações magnéticas através do espaço (acoplamento dipolar), que dão origem ao efeito nuclear Overhauser (nOe). O nOe diminui rapidamente com a distância entre os núcleos, e assim o espectro de RMN de ^1H NOESY somente relaciona hidrogênios que estão espacialmente próximos, mesmo se eles não estejam conectados por ligações químicas. O nOe é freqüentemente usado em química supramolecular, sendo especialmente útil para confirmar a formação de um complexo hóspede-hospedeiro, bem como elucidar a orientação de um hóspede no interior da cavidade do hospedeiro.

2. Objetivos Gerais

1. Síntese de seis calix[*n*]arenos sendo dois empregados nos estudos de encapsulamento;
2. Realização da complexação ou encapsulamento de seis compostos bioativos nos respectivos carreadores (ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno e ácido *p*-sulfônicocalix[4]areno);
3. Empregar a espectroscopia de RMN de ¹H para investigar as interações intermoleculares que governam os complexos, utilizando para tanto, técnicas como a titulação de Job, HR-DOSY e NOESY;
4. Avaliação da atividade fitotóxica das aldiminas **7-10**, dos complexos de inclusão aldiminas/ β -ciclodextrina, aldiminas/ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno e das moléculas hospedeiras (ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno e β -ciclodextrina).

3. Material e Métodos

3.1. Técnicas espectroscópicas

- **Infravermelho**

Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro PERKIM ELMER SPECTRUM 1000 (Departamento de Química – UFV). As amostras foram analisadas em forma de pastilhas de KBr.

- **Ressonância Magnética Nuclear**

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos em espectrômetro *VARIAN MERCURY* de 300 MHz no Departamento de Química da UFV. TMS foi utilizado como padrão interno de referência ($\delta=0$) nos espectros obtidos para as amostras solubilizadas em clorofórmio. As constantes de acoplamento escalar (J) foram expressas em Hertz (Hz). Para os espectros adquiridos em D_2O , utilizou-se como referência o sinal HDO ($\delta=4,67$). Alguns espectros dos experimentos envolvendo a retronecina foram obtidos em espectrômetro *VARIAN INOVA* de 500 MHz no Instituto de Química da UNICAMP.

3.2. PREPARO DAS AMOSTRAS

O complexo entre retronecina e o ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno foi preparado solubilizando-se quantidades equimolares do hospedeiro e do hóspede (2 mmol L^{-1} , cada) em 0,6 mL de D_2O e mantidos em contato por 96 h antes da realização dos experimentos. O mesmo procedimento foi adotado para a preparação dos complexos entre as aldiminas e o ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno e para os complexos envolvendo os anestésicos locais (cloreto de prilocaíneo, 4-aminobenzoato de butila e cloreto de pramoxínio), com exceção das quantidades equimolares, que passaram a ser de 5 mmol L^{-1} .

3.3. EXPERIMENTOS DE TITULAÇÃO

3.3.1.1. ESTEQUIOMETRIA: Método de Job

As soluções a serem tituladas e analisadas por RMN de ^1H 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 ($[\text{hospedeiro}] + [\text{hóspede}] = 5 \text{ mmol L}^{-1}$). Para a titulação envolvendo a retronecina essa concentração foi de 2 mmol L^{-1} .

Após o hospedeiro e o hóspede terem sido colocados em contato, o volume foi completado para 0,6 mL e os mesmos foram deixados em contato por 96 h antes da análise. Os espectros de RMN de ^1H das amostras tituladas foram referenciados com o padrão interno ($\delta_{\text{HDO}} = 4,67$). Os valores de $\Delta\delta_{\text{obs}}$ de alguns sinais dos hóspedes foram correlacionados com as concentrações das espécies tituladas através de gráficos ($\Delta\delta_{\text{obs}} [\text{hóspede}]/([\text{hospedeiro}] + [\text{hóspede}])$ versus $[\text{hóspede}]/([\text{hospedeiro}] + [\text{hóspede}])$).

3.3.1. EXPERIMENTOS DE DOSY

Os coeficientes de difusão foram extraídos de uma série de espectros de ^1H como função da amplitude do gradiente, empregando a seqüência de pulsos GCSTESL. Em todas as análises foram utilizadas 25 diferentes amplitudes de gradiente de pulsos para cada experimento. As amplitudes dos gradientes variaram entre $0,000685$ e $0,003427 \text{ T m}^{-1}$, com uma diminuição na intensidade de ressonância de aproximadamente 80-90% nos gradientes de maior amplitude. Os experimentos foram realizados sob uma janela espectral média de 8 KHz (número de dados: 1 K pontos), com tempos de aquisição 3 s e todos os valores de reciclagem foram estimados através de medidas de T_1 ($d_1 = 3$ a $5 \times T_1$). Foram adquiridos entre 8 e 32 transientes. As linhas de base de todos os espectros em cada experimento foram corrigidas antes do processamento dos dados. O programa de processamento de dados (macro DOSY no espectrômetro VARIAN) envolve a determinação da altura dos picos de todos os sinais previamente selecionados para a análise, onde cada pico apresenta um decaimento exponencial específico. Os coeficientes calculados para cada sinal selecionado foram listados, juntamente com os respectivos desvios

padrão. O valor do coeficiente de difusão e do desvio padrão de cada espécie envolvida na análise foi dado através da média aritmética de todos os coeficientes da mesma espécie. Coeficientes com valores diferentes daqueles apresentados pela maioria de uma mesma espécie foram descartados.

3.3.2. EXPERIMENTOS DE NOESY

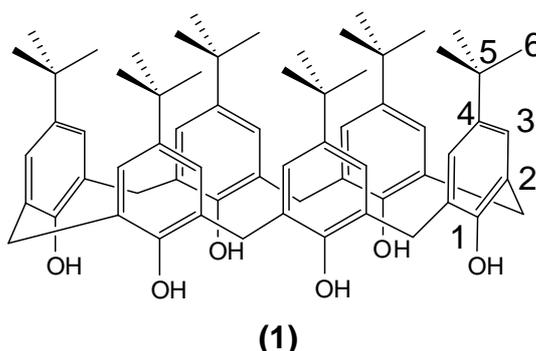
As soluções para análise dos experimentos de NOESY foram preparadas com 20 mmol L⁻¹ do hóspede e 40 mmol L⁻¹ do hospedeiro (ácido *p*-sulfônico calix[6]areno ou ácido *p*-sulfônico calix[4]areno) em 0,6 mL de D₂O e mantidos em contato por 96 h antes da realização dos experimentos, conforme a metodologia descrita por SPETCH *et al* (2002).

3.3.3. Obtenção das aldiminas e da retronecina

As aldiminas, juntamente com a retronecina foram gentilmente cedidas pelo professor Ângelo de Fátima do Departamento de Química da UFMG. Os anestésicos e a β-ciclodextrina foram adquiridas da Sigma-Aldrich.

3.4. Procedimentos sintéticos

3.4.1. Síntese do *p*-*terc*-butilcalix[6]areno (1)



O *p*-*terc*-butilfenol (3,00 g; 0,02 mol), uma solução de formaldeído (37%) (4,1 mL; 0,055 mol) e hidróxido de potássio (0,45 g; 0,007 mol) foram transferidos para um balão de duas bocas acoplado a condensador de refluxo e placa aquecedora com agitação magnética. O aquecimento (110-130 °C) e

agitação foram iniciados, e após 15 min um fluxo de nitrogênio foi inserido ao sistema reagente para a remoção da água, sendo mantido por duas horas a 110-130 °C. Após este período foi adicionado à mistura reagente xileno (200 mL) para dissolver a massa semi-sólida, dando uma solução amarela que imediatamente foi colocada sob refluxo. O refluxo foi mantido por três horas, e após este período a manta de aquecimento foi removida, e a mistura deixada esfriar até a temperatura ambiente. A mistura foi filtrada a frio em um funil de Buchner e o precipitado foi lavado com xileno a frio resultando num produto menos colorido. O material foi pulverizado, transferido para um erlenmeyer, dissolvido parcialmente em 100 mL de clorofórmio, e tratado com 25 mL de solução aquosa de ácido clorídrico 1 mol L⁻¹. Após 10-15 min de agitação a solução tornou-se amarelo-alaranjada, a agitação foi mantida por mais 10 min. A mistura foi transferida para um funil de separação e a fase orgânica separada. A fase aquosa foi lavada com 3 x 25 mL de clorofórmio e as frações orgânicas foram reunidas e secas com sulfato de sódio. O sulfato de sódio foi removido por filtração e a solução de clorofórmio foi concentrada para aproximadamente 60 mL por aquecimento. A essa mistura foram adicionados 60 mL de acetona quente. A mistura foi deixada esfriar e filtrada fornecendo 2,4 g (80%) do produto como um pó branco (GUTSCHE, 1997).

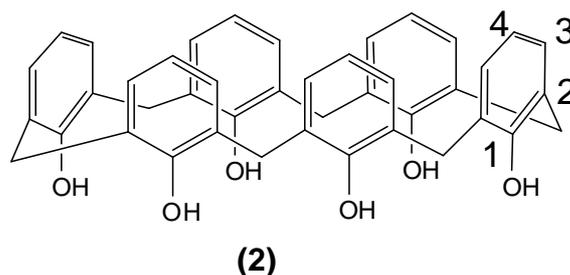
Dados espectroscópicos referentes ao composto **(1)**:

IV (KBr, v/cm⁻¹): 3133; 3049; 2960; 1484; 1393; 1362; 1203; 872; 808; 747.

RMN de ¹H (300 MHz; CDCl₃; δ_{TMS} 0,00) δ (integração, multiplicidade, atribuição): 1,29 (54H, s, H-6); 3,90 (12H, s, CH₂); 7,16 (12H, s, H-3); 10,42 (6H, sl, OH).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃; δ_{CDCl₃} 77,0): δ 31,44 (C-6); 32,27 (C-5); 33,98 (CH₂); 125,49 (C-3); 128,66 (C-2); 144,67 (C-4); 146,57 (C-1).

3.4.2. Síntese do calix[6]areno (2)



O *p*-*tert*-butilcalix[6]areno (**1**) (0,50 g; 0,51 mmol), fenol (0,29 g; 3,13 mmol) e tolueno seco (6 mL) foram transferidos para um balão de duas bocas sob atmosfera de nitrogênio. Em seguida foi adicionado cloreto de alumínio (0,56 g; 4,17 mmol), e a mistura reagente foi mantida sob agitação por uma hora à temperatura ambiente.

Após este período, a reação foi interrompida pela adição de 50 mL de água gelada. A fase orgânica foi separada e o tolueno foi removido por evaporação. O resíduo obtido foi recristalizado em metanol-clorofórmio fornecendo 0,25 g de um pó branco pálido com 75% de rendimento (GUTSCHE, 1986).

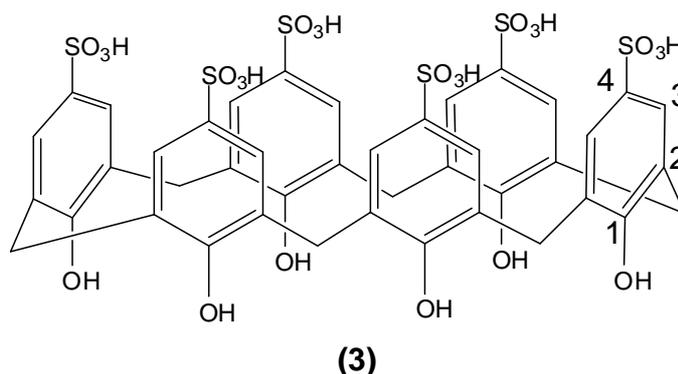
Dados referentes ao composto (**2**):

IV (KBr, ν/cm^{-1}): 3167; 2950; 1609; 1590; 1465; 1259; 1210; 1160; 1081; 958; 834; 773; 751.

RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3 ; δ_{TMS} 0,00) δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição): 3,89 (12H, sl, **CH₂**); 6,81 (6H, t, $^3J = 7,6$ Hz, H-4), 7,13 (12H, d, $^3J = 7,6$ Hz, H-3); 10,36 (6H, s, **OH**).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,0): δ 32,40 (**CH₂**); 122,05 (C-4); 127,59 (C-2); 129,68 (C-3); 149,84 (C-1).

3.4.3. Síntese do ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno (**3**)



O ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno foi preparado por tratamento do calix[6]areno (**2**) (1 g) com 10 mL de H₂SO₄ concentrado sob aquecimento a 100 °C por três horas, sob agitação magnética. A reação foi considerada completa quando nenhum material insolúvel em água foi detectado. Após resfriamento, a mistura foi filtrada a vácuo através de um funil sinterizado. O precipitado foi lavado com metanol e o resíduo foi re-precipitado em mistura de água e metanol, fornecendo o produto desejado com rendimento de 70% (SHINKAI *et al.*, 1986).

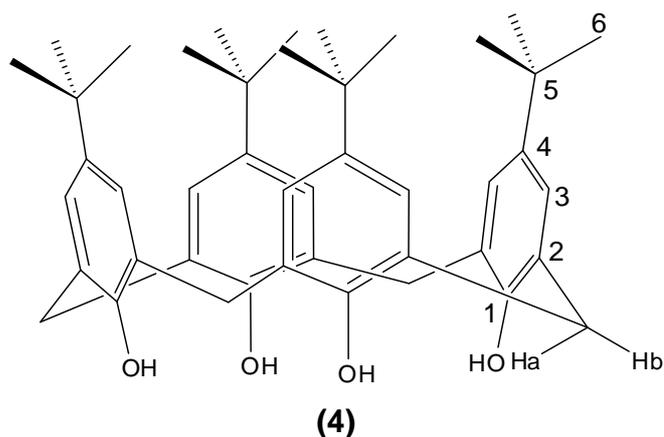
Dados espectroscópicos referentes ao composto **[3]**:

IV (KBr, v/cm⁻¹): 3424; 2600; 1592; 1166; 623.

RMN de ¹H (300 MHz; D₂O; δ_{HDO} 4,67) δ (integração, multiplicidade, atribuição): 3,81 (12H, sl, **CH₂**); 7,37 (12H, sl, H-3).

RMN de ¹³C (75 MHz, D₂O): δ 30,75 (**CH₂**); 126,37 (C-2); 127,93 (C-3); 135,19 (C-4); 153,22 (C-1)

3.4.4. Síntese do *p*-*terc*-butilcalix[4]areno (4)



Para a obtenção do composto **(4)**, o *p*-*terc*-butilfenol (50 g, 97%), hidróxido de sódio (0,6 g) e formaldeído (31 mL, 37%) foram reunidos em um balão de duas bocas e colocados sob agitação magnética. A mistura reagente foi aquecida gradualmente até 230 °C por um período de duas horas. Após esse período adicionaram-se 400 mL de éter difenílico e a mistura reagente foi mantida sob agitação magnética por uma hora. A mistura foi mantida sob refluxo por duas horas. Em seguida o aquecimento foi removido e a mistura reagente foi deixada em repouso até atingir a temperatura ambiente. O produto foi precipitado com adição de 750 mL de acetato de etila, agitado por 15-30 minutos e depois permaneceu em 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. O sólido foi seco fornecendo um pó branco (29,9 g; 55,5 % de rendimento) do produto desejado.

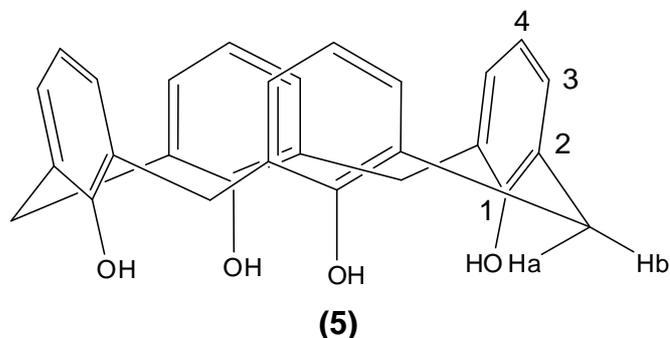
Dados espectroscópicos referentes ao composto **(4)**:

IV (KBr, ν/cm^{-1}): 3161; 2953; 1604; 1482; 1465; 1391; 1362; 1239; 1200; 871; 817; 782.

RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3 ; δ_{TMS} 0,00) δ (integração, multiplicidade, constante de acoplamento, atribuição): 1,21 (36H, s, H-6); 3,49 (4H, dl, $^2J = 13,2$, H-a); 4,26 (4H, dl, $^2J = 13,2$, H-b); 7,05 (8H, s, H-3); 10,34 (4H, s, OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,0): δ 31,61 (C-6); 32,83 (**CH₂**); 127,59 (C-2); 34,22 (C-5); 126,15 (C-3); 127,90 (C-2); 144,58 (C-4); 146,88 (C-1).

3.4.5. Síntese do calix[4]areno (5)



O *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (2,90 g; 0,51 mmol), fenol (1,68 g; 3,13 mmol) e tolueno (35 mL) foram transferidos para um balão de duas bocas sob atmosfera de nitrogênio. Em seguida foi adicionado 3,58 g de cloreto de alumínio, e a mistura reacional foi mantida sob agitação por uma hora e mantida sob atmosfera inerte (nitrogênio).

Após esse período, a reação foi interrompida por adição de 50 mL de água gelada, e a fase orgânica foi separada. O tolueno foi removido por evaporação sob pressão reduzida. O resíduo foi triturado com 30 mL de metanol, resultando em um produto menos colorido. O material foi recristalizado em metanol-clorofórmio, obtendo-se 0,69 g de um pó branco, com 36,7% de rendimento (GUTSCHE, 1986).

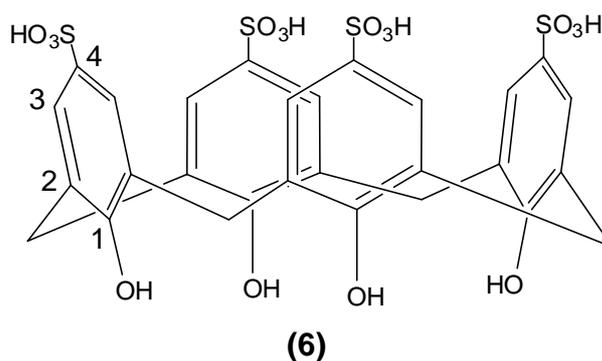
Dados espectroscópicos referentes ao composto **(5)**

IV (KBr, v/cm^{-1}): 3145; 3091; 2933; 1465; 1448; 1376; 1212; 773; 752.

RMN de ^1H (300 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, $^3J = 7,55$, H-4); 7,05 (8H, d, $^3J = 7,55$, H-3); 10,20 (6H, s, **OH**).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 ; δ_{CDCl_3} 77,0): δ 31,93 (**CH₂**); 122,46 (C-4); 128,46 (C-2); 129,19 (C-3); 148,99 (C-1).

3.4.6. Síntese do ácido *p*-sulfônicocalix[4]areno (6)



O ácido *p*-sulfônicocalix[4]areno foi preparado por tratamento do calix[4]areno (5 g) com 50 mL de H₂SO₄ concentrado e a mistura reacional foi aquecida a 100 °C por 4 horas sob agitação magnética. A reação é considerada completa quando nenhum material insolúvel em água é detectado. Após resfriamento, a mistura foi filtrada a vácuo através de um funil sinterizado. O resíduo foi re-precipitado algumas vezes numa mistura de água e metanol, com rendimento de 53,9% (SHINKAI *et al.*, 1987).

Dados espectroscópicos referentes ao composto **(6)**

IV (KBr, v/cm⁻¹): 3258; 2962; 2602; 2478; 2224; 1599; 1162; 630.

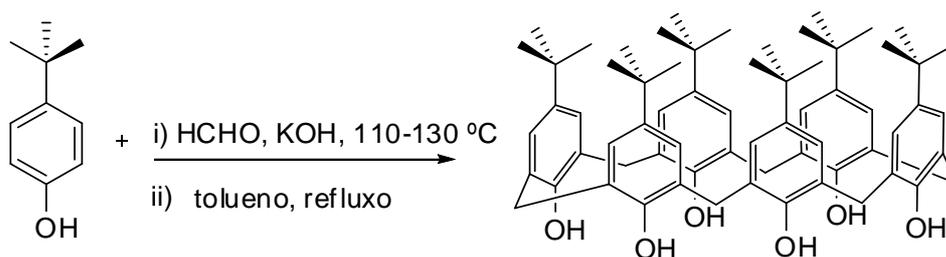
RMN de ¹H (300 MHz; D₂O; δ_{HDO} 4,67) δ (integração, multiplicidade, atribuição): 3,87 (8H, sl, **CH₂**), 7,42 (8H, sl, H-**3**).

RMN de ¹³C (75 MHz, D₂O): δ 30,86 (**CH₂**); 126,76 (C-**2**); 128,38 (C-**3**); 135,96 (C-**4**); 151,89 (C-**1**).

4. Resultados e Discussão

4.1. Síntese do *p*-*terc*-butilcalix[6]areno (1)

Neste trabalho, utilizou-se a metodologia desenvolvida por Gutsche e colaboradores (GUTSCHE, 1997) para a síntese do *p*-*terc*-butilcalix[6]areno. O composto **[1]** foi obtido em 80% de rendimento. O esquema geral da reação está apresentado abaixo.



Esquema 2 - Síntese do *p*-*terc*-butilcalix[6]areno a partir do *p*-*terc*-butilfenol.

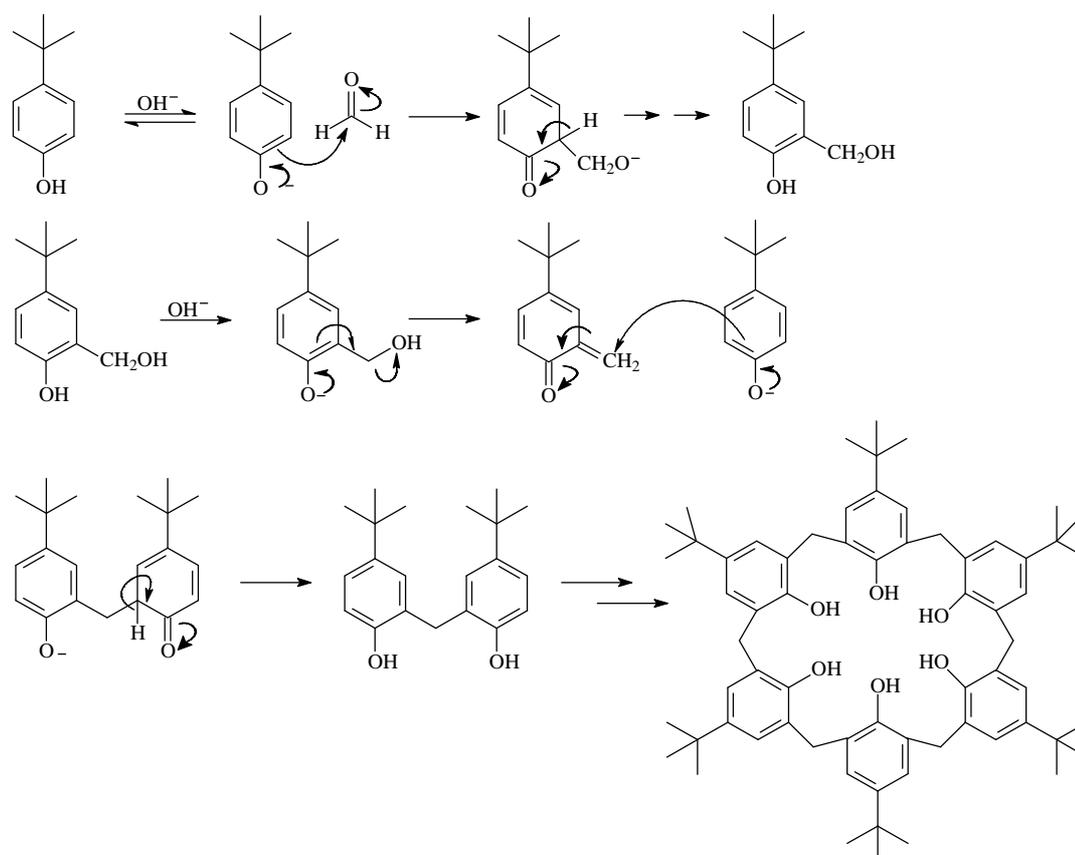
O composto **(1)** foi caracterizado pelas técnicas espectroscópicas no infravermelho, RMN de ^1H e RMN de ^{13}C . Analisando-se o espectro no infravermelho do *p*-*terc*-butilcalix[6]areno, observa-se um duplete em 1362 e 1391 cm^{-1} , onde a primeira banda é mais intensa que a segunda, característica essa, típica do grupo *terc*-butil (**Figura 5**). Essas bandas são referentes à deformação angular simétrica dos grupos metila. A banda larga em 3433 cm^{-1} é devido ao estiramento da ligação O-H.

No espectro de RMN de ^1H (**Figura 6**) o sinal em δ 1,29, integrado para 54 hidrogênios é referente ao grupo *terc*-butil (H-6), o sinal em δ 3,90 um simpleto largo referente aos 12 hidrogênios metilênicos, sendo este sinal uma evidência para a formação do produto, e o sinal em δ 7,16, um simpleto integrado para 12 hidrogênios referente à H-3. Observou-se ainda um sinal em δ 10,42 um simpleto largo integrado para 6 hidrogênios referente aos hidrogênios das hidroxilas. Eles se encontram desblindados, já que nos compostos acíclicos os sinais aparecem entre 7 e 9 ppm. Essa variação se deve ao fato de que nestes compostos a formação de ligações de hidrogênio intramoleculares, diminui a densidade eletrônica ao redor do hidrogênio e,

assim, causa deslocamentos para frequências mais baixas (LAZZAROTTO *et al.*, 1995).

No espectro de ^{13}C (**Figura 7**) foram observados sinais em δ 31,44 e 32,27 referentes à C-6 e C-5, respectivamente. Além disso, o espectro apresentou quatro sinais na região entre δ 100 a 150 ppm, região típica de carbonos sp^2 , referentes a C-3, C-2, C-4 e C-1. O sinal em 33,98 atribuído aos átomos de carbono dos grupos metileno confirma a formação do produto desejado.

No **Esquema 3** é apresentada a proposta mecanística de formação do *p-terc*-butilcalix[6]areno. Sob as condições específicas de reação, o fenol é desprotonado pelo hidróxido de potássio, o que leva à formação do ânion fenóxido. Este, por sua vez, é mais reativo que o próprio fenol uma vez que a densidade eletrônica presente no anel aromático é maior, o que facilita a ocorrência de uma reação com o formaldeído por meio de um mecanismo de substituição eletrofílica aromática ($\text{S}_{\text{E}}\text{Ar}$).



Esquema 3 – Proposta mecanística de formação do *p-terc*-butilcalix[6]areno.

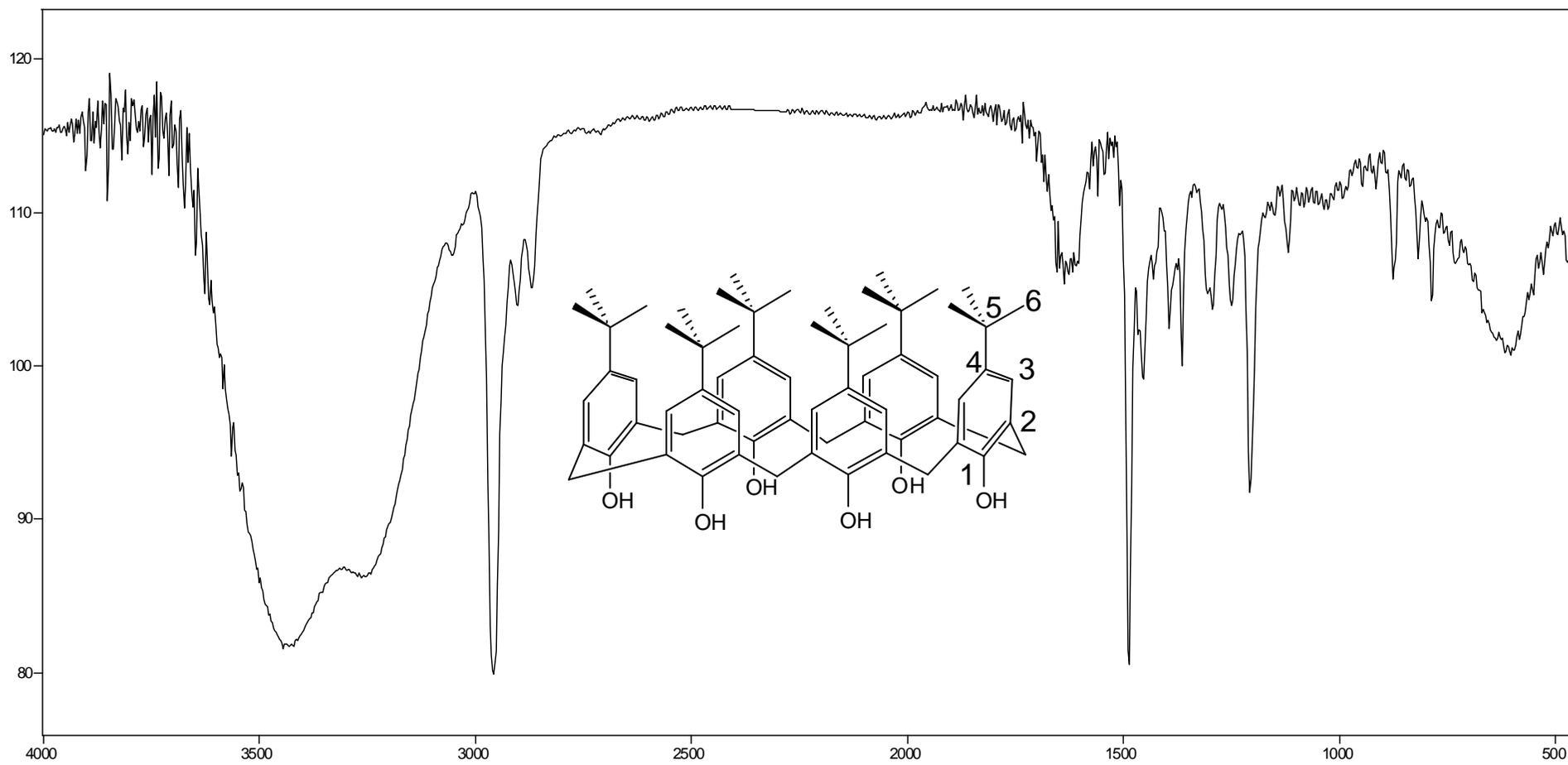


Figura 5 - Espectro no IV do *p*-*tert*-butilcalix[6]areno (**1**) (pastilha de KBr).

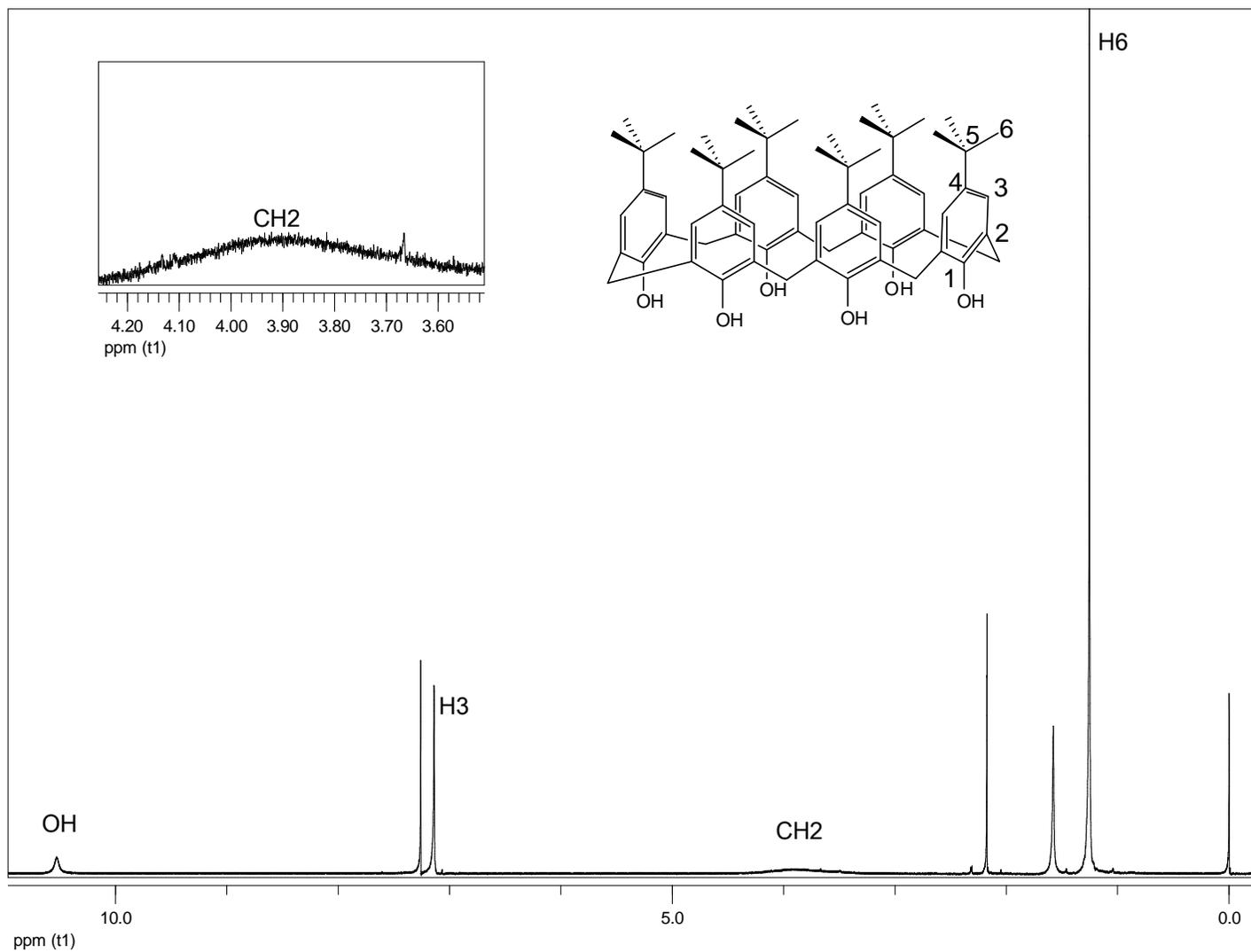


Figura 6 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3 , δ_{TMS} 0,00) do *p*-*tert*-butilcalix[6]areno (**1**).

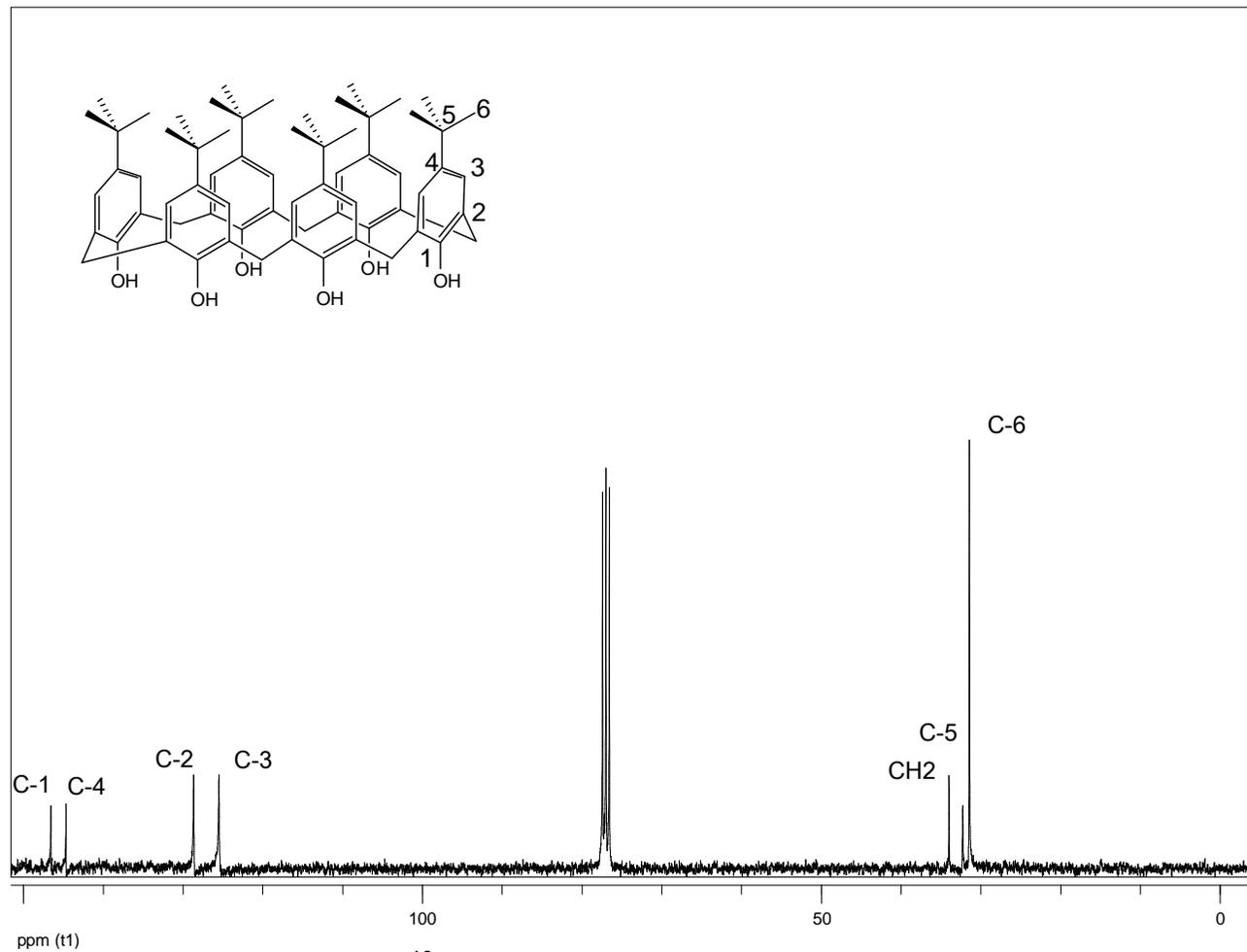
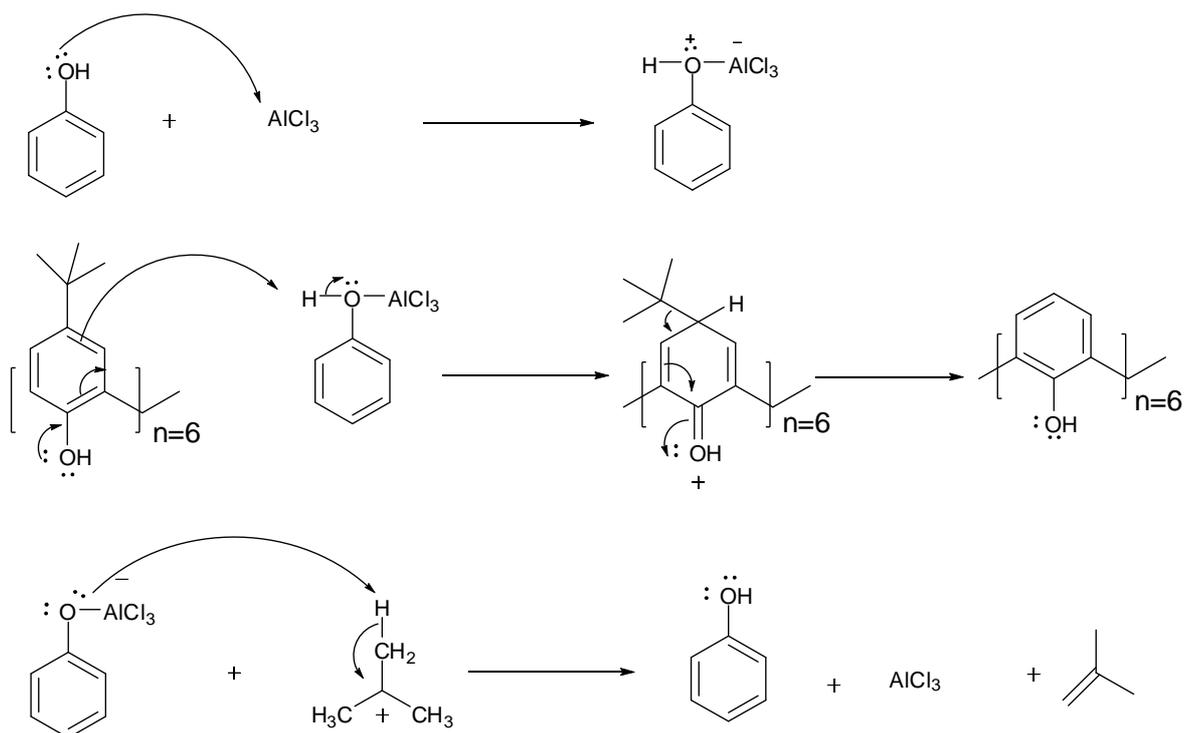


Figura 7 - Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ CDCl₃ 77,00) do *p*-*terc*-butilcalix[6]areno (**1**).

4.2. Síntese do calix[6]areno (2)

A síntese do composto (2) foi realizada por meio de uma reação de retirada do grupo *terc*-butil do *p-terc*-butilcalix[6]areno. Os grupos *terc*-butil de (1) são removidos por substituições *ipso*, obtendo como produto final o calix[6]areno como um sólido branco pálido em 75% de rendimento. O mecanismo da reação é apresentado no esquema abaixo (GUTSCHE, 1986).



Esquema 4 - Proposta mecanística de formação do calix[6]areno

Na primeira etapa do mecanismo ocorre uma reação ácido-base entre o fenol e o cloreto de alumínio. O fenol atua como base de Lewis e doa um par de elétrons para o orbital *p* vazio do alumínio. Dessa forma, o próton ligado ao oxigênio fenólico torna-se mais ácido, devido principalmente a uma maior polarização da ligação O-H. Em seguida ocorre a captura deste próton pelo *p-terc*-butilcalix[6]areno, com a conseqüente formação de um intermediário. O grupo *terc*-butil se desprende do intermediário na forma de um cátion e restitui a aromaticidade do anel, formando assim o calix[6]areno. Na última etapa os cátions *terc*-butila liberados do composto de partida são desprotonados pelo

ânion fenóxido. A força motriz da reação é a formação do gás isobutileno, que contribui para o aumento de entropia do sistema.

O composto **(2)** teve sua estrutura confirmada através da espectroscopia no infravermelho (IV), RMN de ^1H e ^{13}C . O espectro no infravermelho (**Figura 8**) apresentou bandas de absorção em 3167 e 1590 cm^{-1} , relativas aos estiramentos do grupo hidroxila e de átomos de carbono sp^2 , respectivamente. Além disso, observa-se que o duplete referente ao grupo *terc*-butil, presente no espectro de **(1)** em 1391 e 1362 cm^{-1} não é observado no espectro do composto obtido, o que constitui um indicativo de formação do calix[6]areno.

No espectro de RMN de ^1H (**Figura 9**) o sinal em $\delta 3,89$, um simpleto largo, integrado para 12 hidrogênios é referente aos hidrogênios metilênicos. Uma evidência de formação do produto desejado é o aparecimento de um sinal em $\delta 6,81$, integrado para 6 hidrogênios e atribuído aos hidrogênios das posições *para* (H-4). Já os hidrogênios das posições *meta* (H-3) apresentaram sinal em $\delta = 7,13$ integrado para 12 hidrogênios. Os sinais de H-3 e H-4 foram observados como duplete e tripleto respectivamente, mostrando assim um acoplamento entre eles, com uma constante (3J) no valor de 7,6 Hz. O simpleto presente no espectro de **(1)** em $\delta 1,29$ não é observado no espectro do composto obtido, o que representa outra evidência de formação do calix[6]areno. O espectro de ^{13}C apresenta um sinal em $\delta 122,5$ (**Figura 10**) referente à C-4. Este sinal aparece em uma intensidade maior que no espectro do composto de partida, uma vez que ao removermos o grupo *terc*-butil este deixa de ser um carbono quaternário, o que também constitui um indicativo de formação do composto.

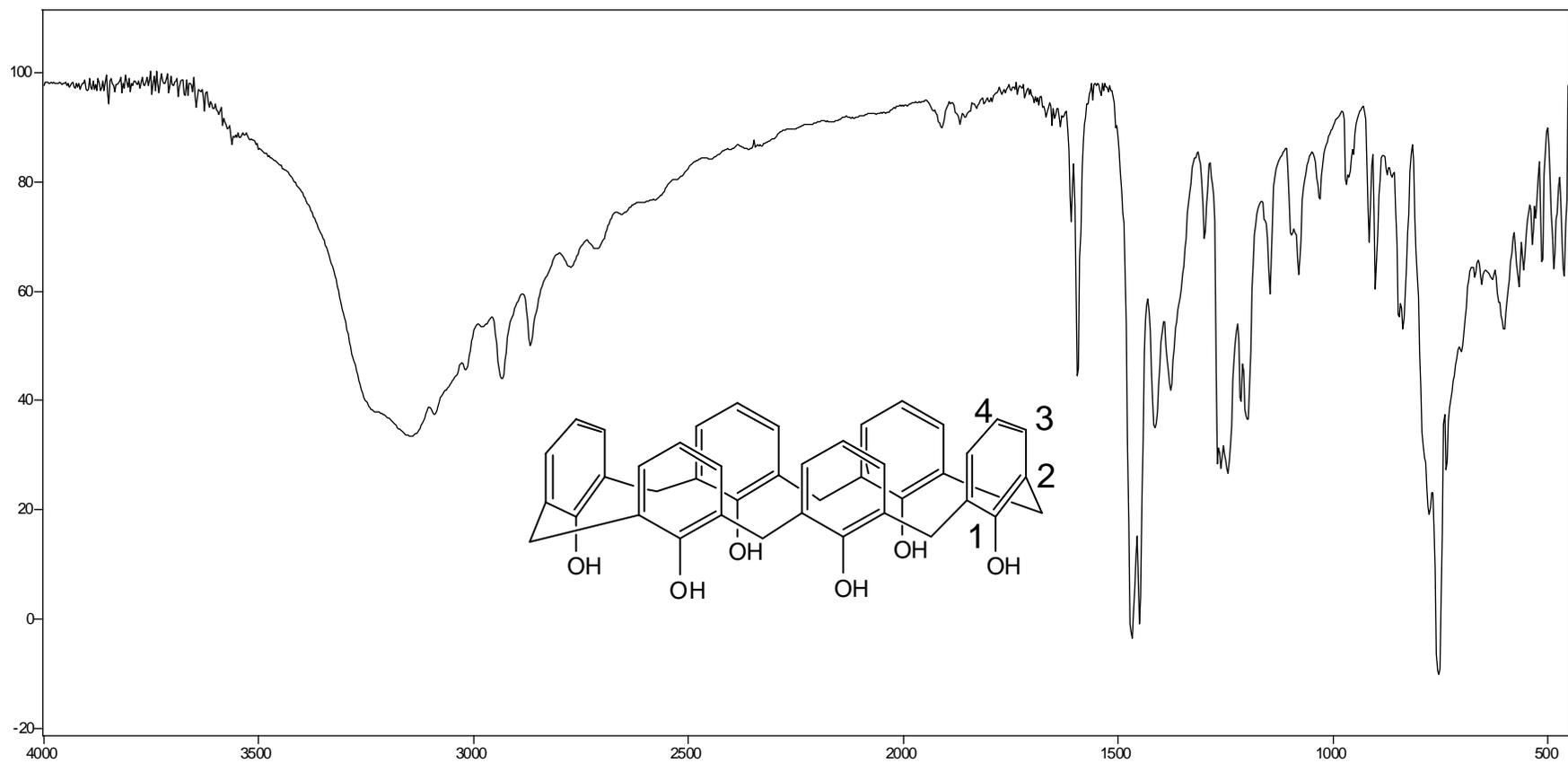


Figura 8 - Espectro no IV do calix[6]areno (**2**) (pastilha de KBr).

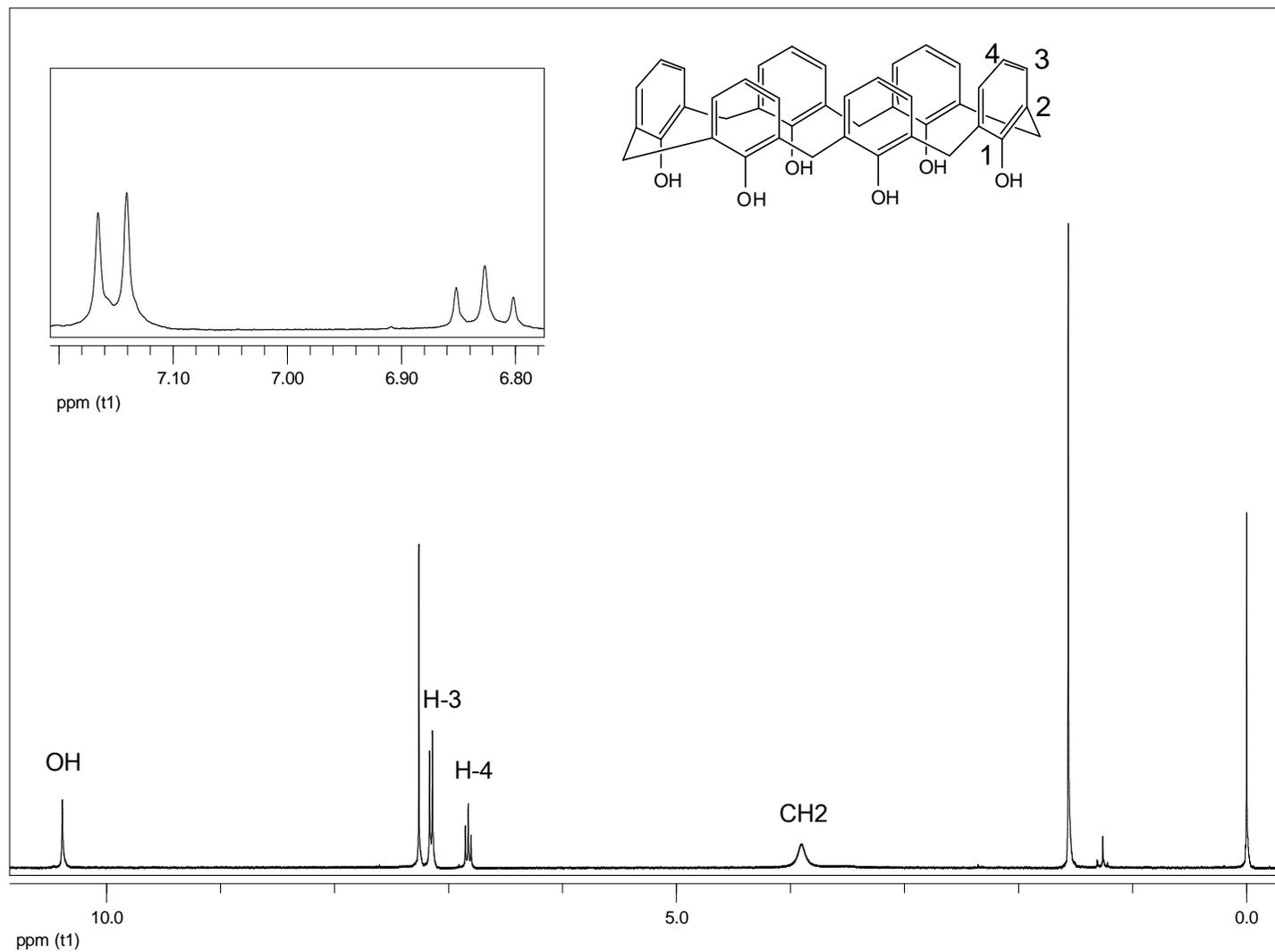


Figura 9 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ_{TMS} 0,00) do calix[6]areno (**2**).

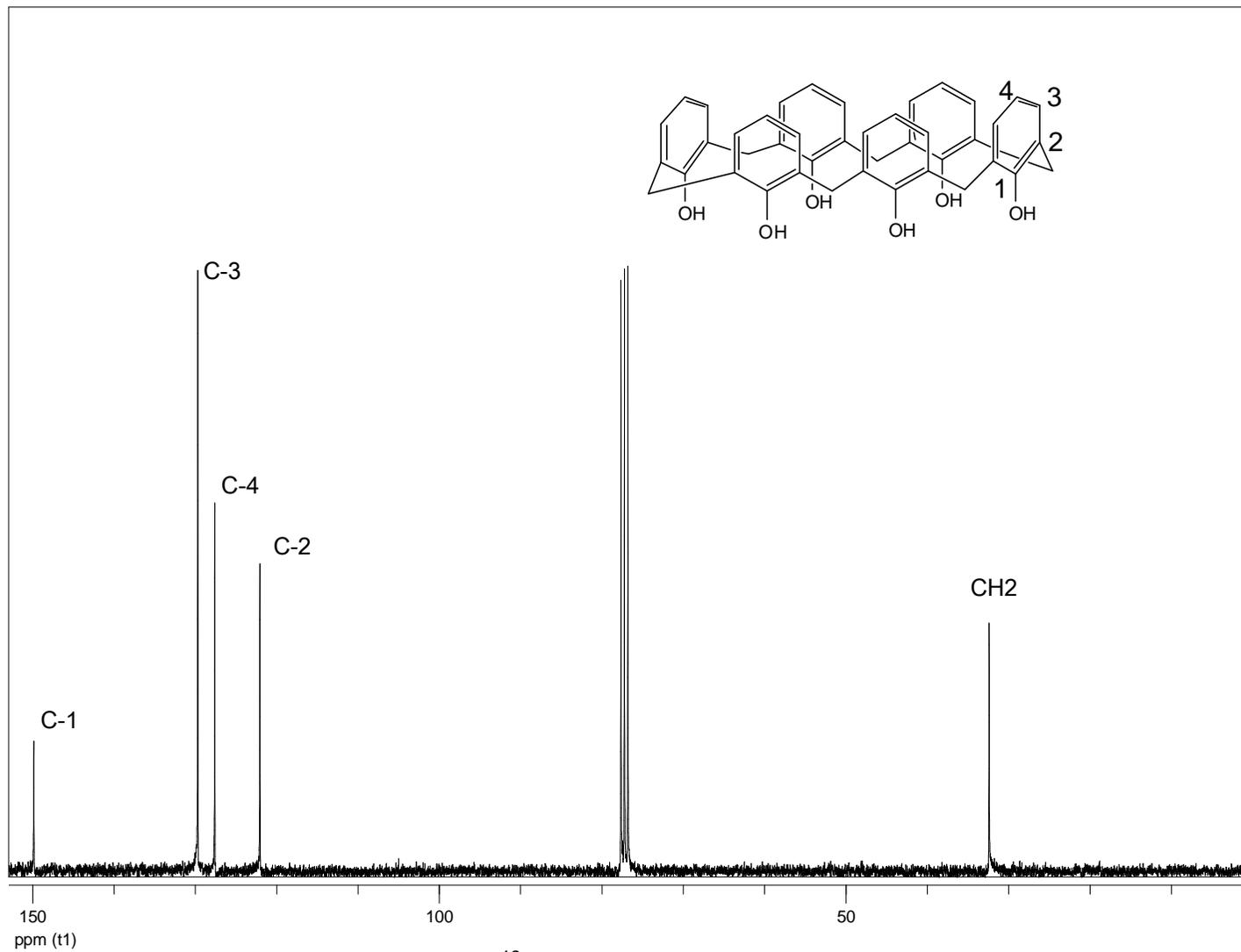
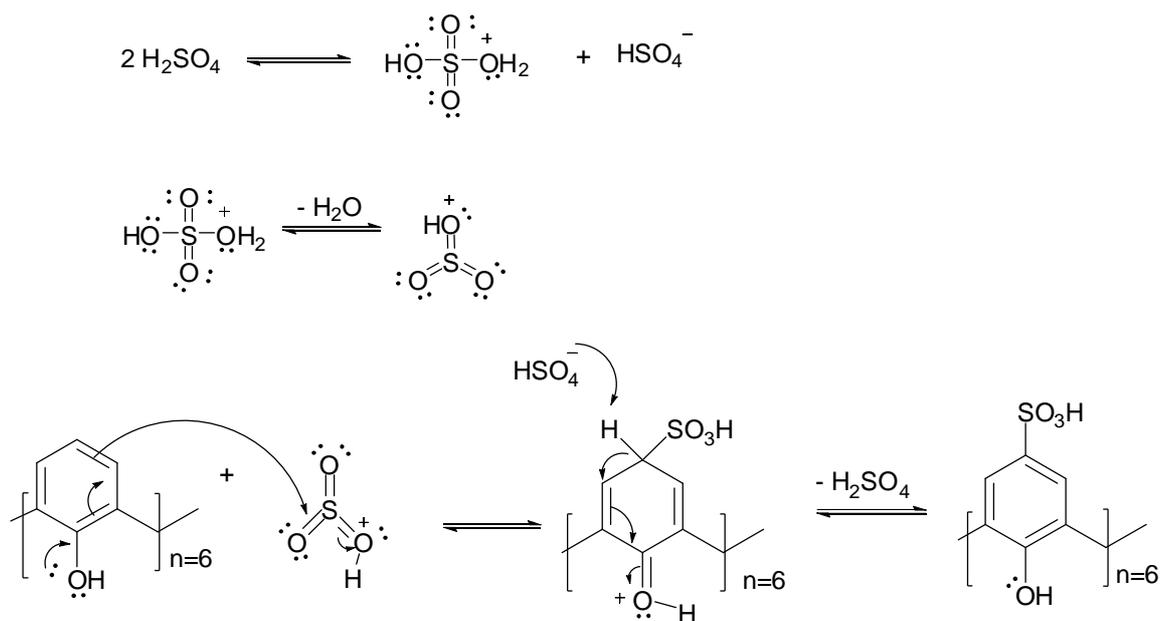


Figura 10 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , δ_{CDCl_3} 77,00) do calix[6]areno (**2**).

4.3. Síntese do ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno (**3**)

O composto (**3**) foi obtido como um sólido cinza em 70% de rendimento. Sua preparação envolveu uma reação de sulfonação do anel aromático. Foram adicionados seis grupos sulfônicos, com o objetivo de aumentar a solubilidade do calix[6]areno em meio aquoso. O esquema abaixo mostra o mecanismo envolvido na reação.



Esquema 5 - Mecanismo de formação do ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno.

A reação começa com a protonação de uma molécula de ácido sulfúrico por outra e a perda de uma molécula de água. O cátion produzido então reage com uma molécula de calix[6]areno (**2**), produzindo o ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno (**3**).

O composto (**3**) foi caracterizado por meio da espectroscopia no infravermelho (IV), RMN de ^1H e ^{13}C . O espectro no IV (**Figura 11**) apresentou uma banda em 1167 cm^{-1} relativa ao estiramento da ligação S-O. Ao compararmos o espectro do composto obtido com o do calix[6]areno, observa-se que a banda referente ao estiramento da ligação O-H do grupo fenol sofreu alargamento e aumento na frequência de absorção para 3424 cm^{-1} . Como relatado na literatura (GUTSCHE, 1997) esta diferença se deve a mudanças de conformação do calixareno, que por sua vez, influenciam no tipo e na intensidade da ligação de hidrogênio apresentada por estes compostos.

Observaram-se mudanças também na região de 900-650 cm^{-1} , devido principalmente a mudanças no padrão de substituição dos anéis aromáticos.

O RMN de ^1H (**Figura 12**) apresentou um simpleto largo em δ 3,81 referente aos hidrogênios metilênicos e outro simpleto largo em δ 7,37 atribuído a H-3. Como o solvente utilizado para se obter o espectro de RMN de ^1H foi D_2O , os hidrogênios ligados aos oxigênios sofrem troca química rápida para a escala de tempo da ressonância, ou seja, são rapidamente substituídos por deutério, e os sinais dos hidrogênios não aparecem no espectro de RMN de ^1H . O espectro de ^{13}C (**Figura 13**) apresentou um sinal em δ 135,19 referente à C-4. Comparando-se os espectros de ^{13}C do calix[6]areno com o do produto obtido observa-se que C-4 agora se encontra mais desblindado, uma vez que em [3] este se encontra ligado a um grupo sulfônico.

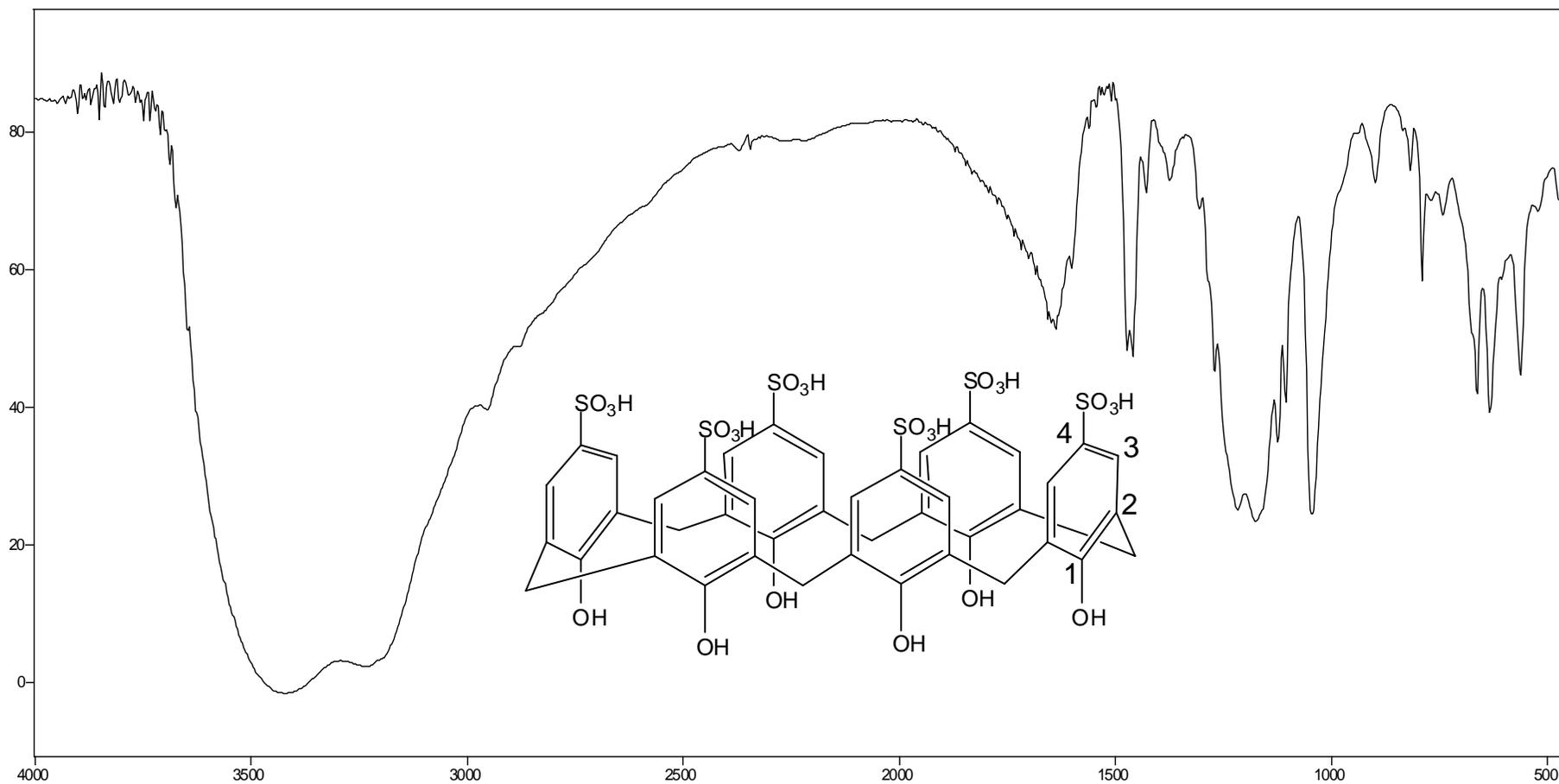


Figura 11 - Espectro no IV do ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno (**3**) (pastilha de KBr).

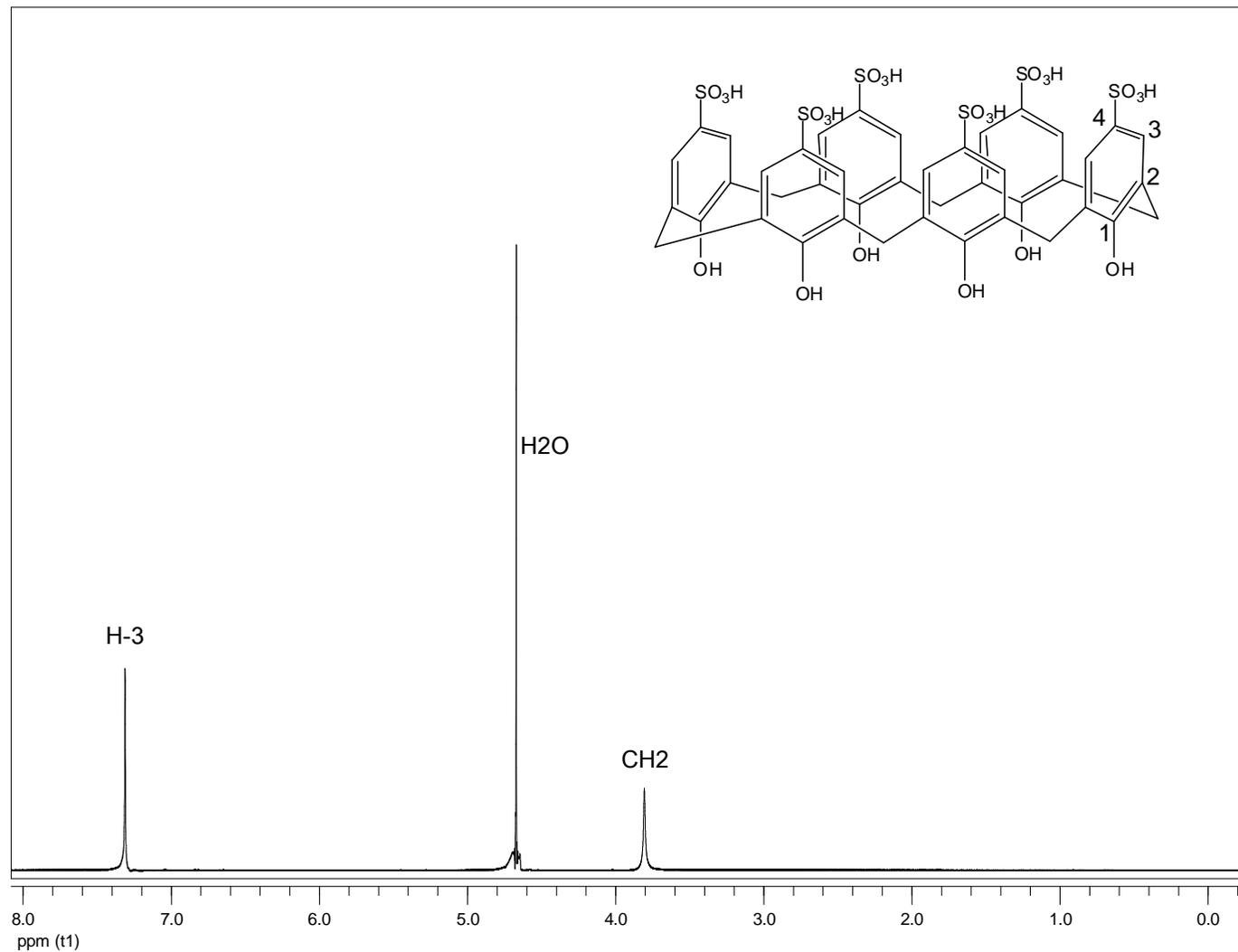


Figura 12 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, D₂O, δ_{H₂O} 4,67) do ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno (**3**).

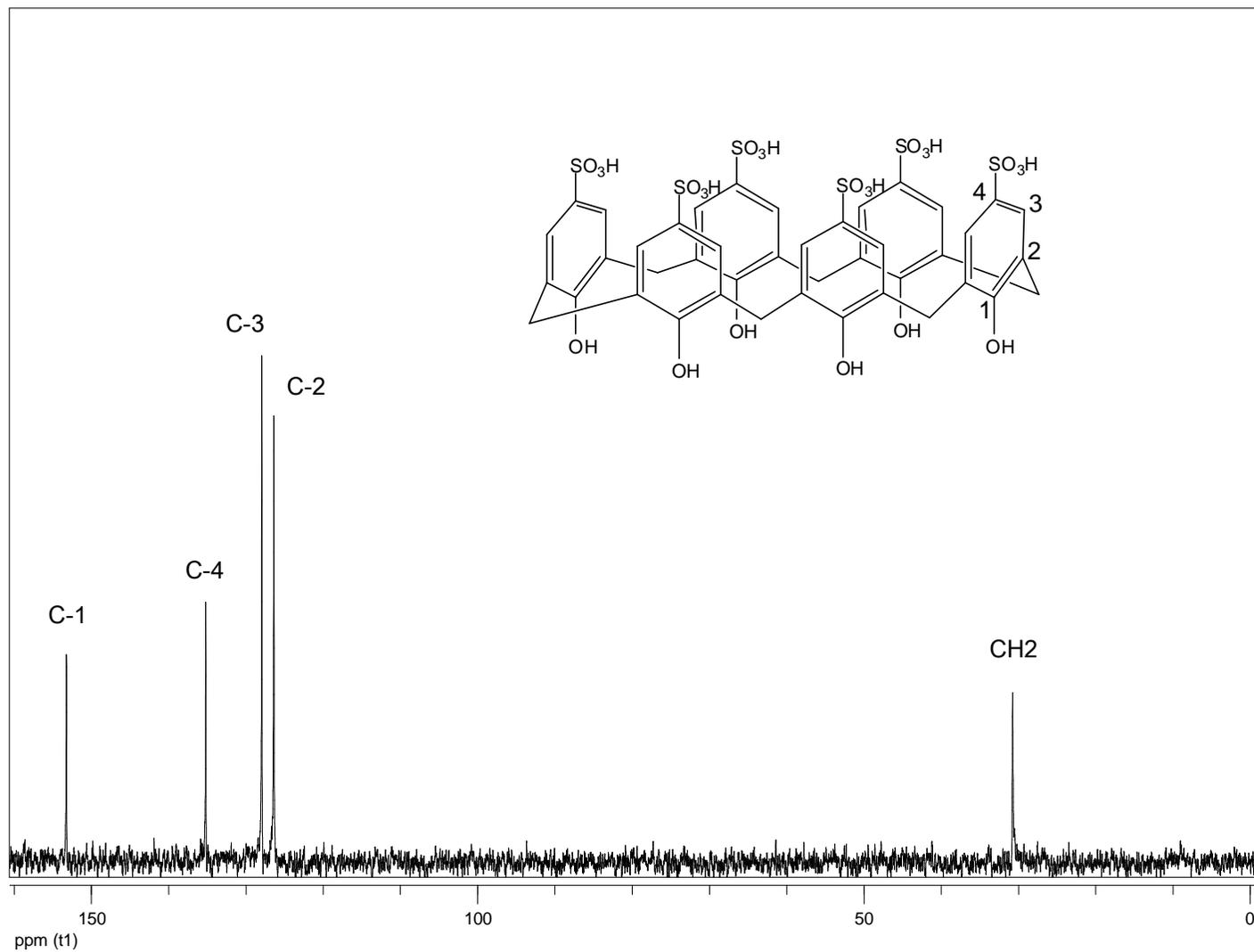
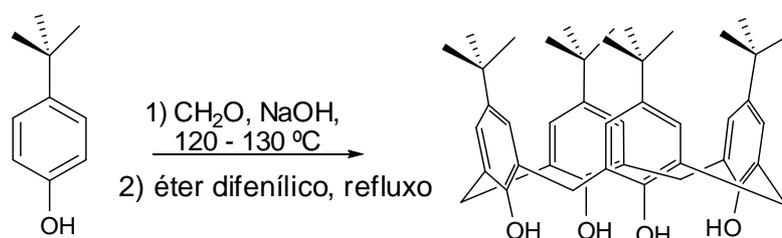


Figura 13 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, D_2O) do ácido *p*-sulfônico calix[6]areno (**3**).

4.4. Síntese do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**4**)

O *p*-*tert*-butilcalix[4]areno foi obtido como um sólido branco em 56 % de rendimento. O esquema geral da reação está apresentado abaixo.



Esquema 6 - Síntese do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno.

O composto (**4**) foi caracterizado pelas espectroscopias no infravermelho (IV), RMN de ¹H e ¹³C. O espectro no IV (**Figura 14**) apresentou uma banda larga e muito intensa em 3161 cm⁻¹ correspondente ao estiramento da ligação O-H.

O espectro de RMN de ¹H (**Figura 15**) apresentou um simpleto em δ 1,21, integrado para 36 hidrogênios, atribuído aos hidrogênios metílicos do grupo *tert*-butil (H-6). Apresentou também dois dupletos largos em δ 3,49 e 4,26 referente aos hidrogênios metilênicos, sendo estes sinais uma evidência de formação do produto de interesse.

Diferentemente do espectro de RMN de ¹H do *p*-*tert*-butilcalix[6]areno (**1**) no qual o sinal dos hidrogênios metilênicos aparecem como um simpleto em δ 3,90, o composto (**4**) exibe um par de dupletos para os hidrogênios CH₂. Isto se deve à sua conformação a temperatura ambiente que não permite a rotação livre do grupo fenol, tornando seus hidrogênios heterotópicos.

O espectro de RMN de ¹H ainda apresentou sinais em δ 7,05 e 10,34 referentes à H-3 e aos hidrogênios ligados as hidroxilas, respectivamente. No espectro de RMN de ¹³C (**Figura 16**) observou-se dois sinais em δ 31,61 e 32,83 referentes à C-6 e aos carbonos metilênicos, respectivamente, e um sinal em δ 34,22 correspondente a C-5. Os carbonos do anel aromático (C-3, C-2, C-4 e C-1) aparecem em δ 126,16, 127,90, 144,58, 146,88, respectivamente. O

mecanismo envolvido na reação de obtenção de **4** é similar ao apresentado no **Esquema 3 (pág. 27)**.

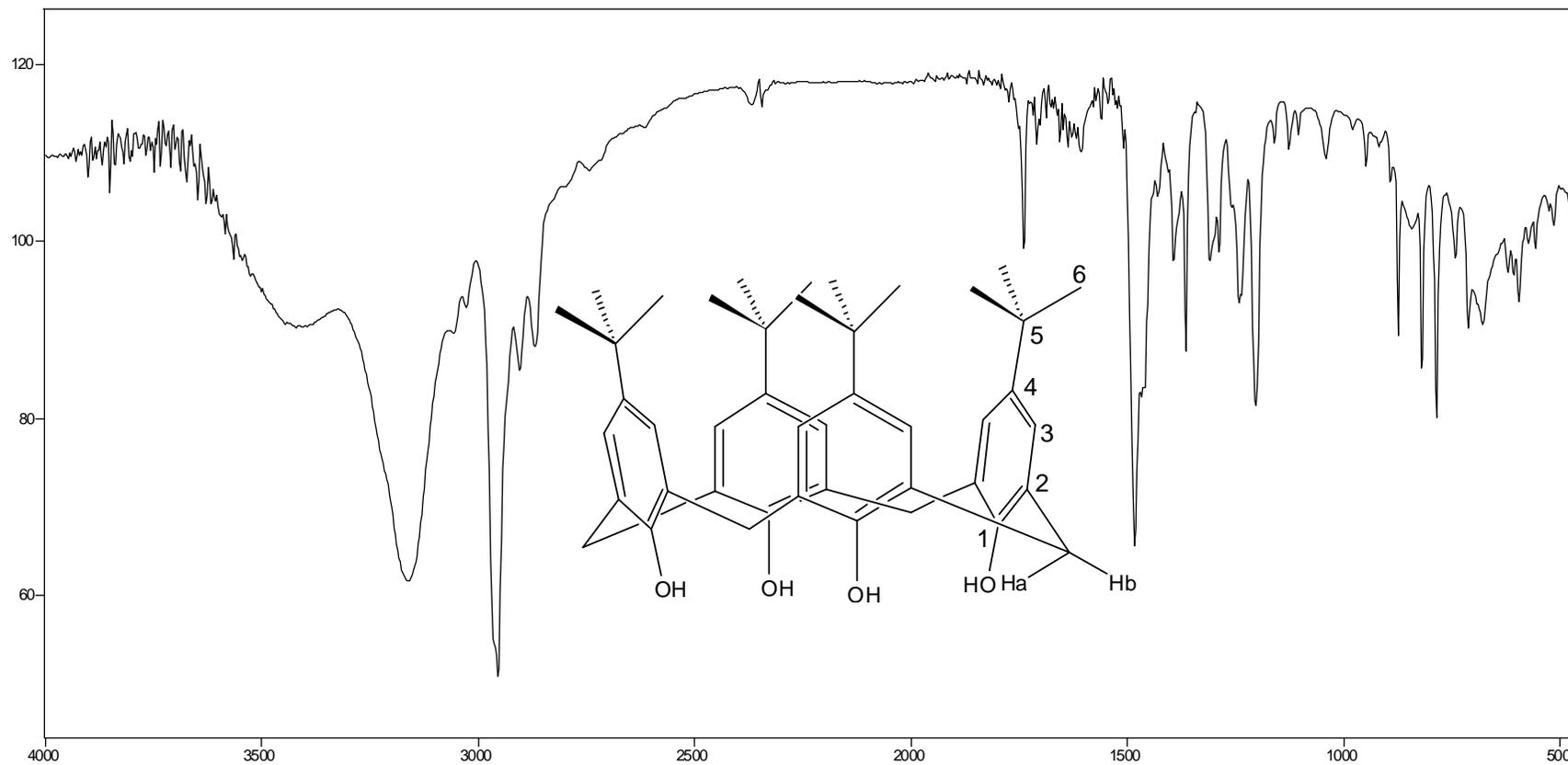


Figura 14 - Espectro no IV do composto *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**4**) (pastilha de KBr).

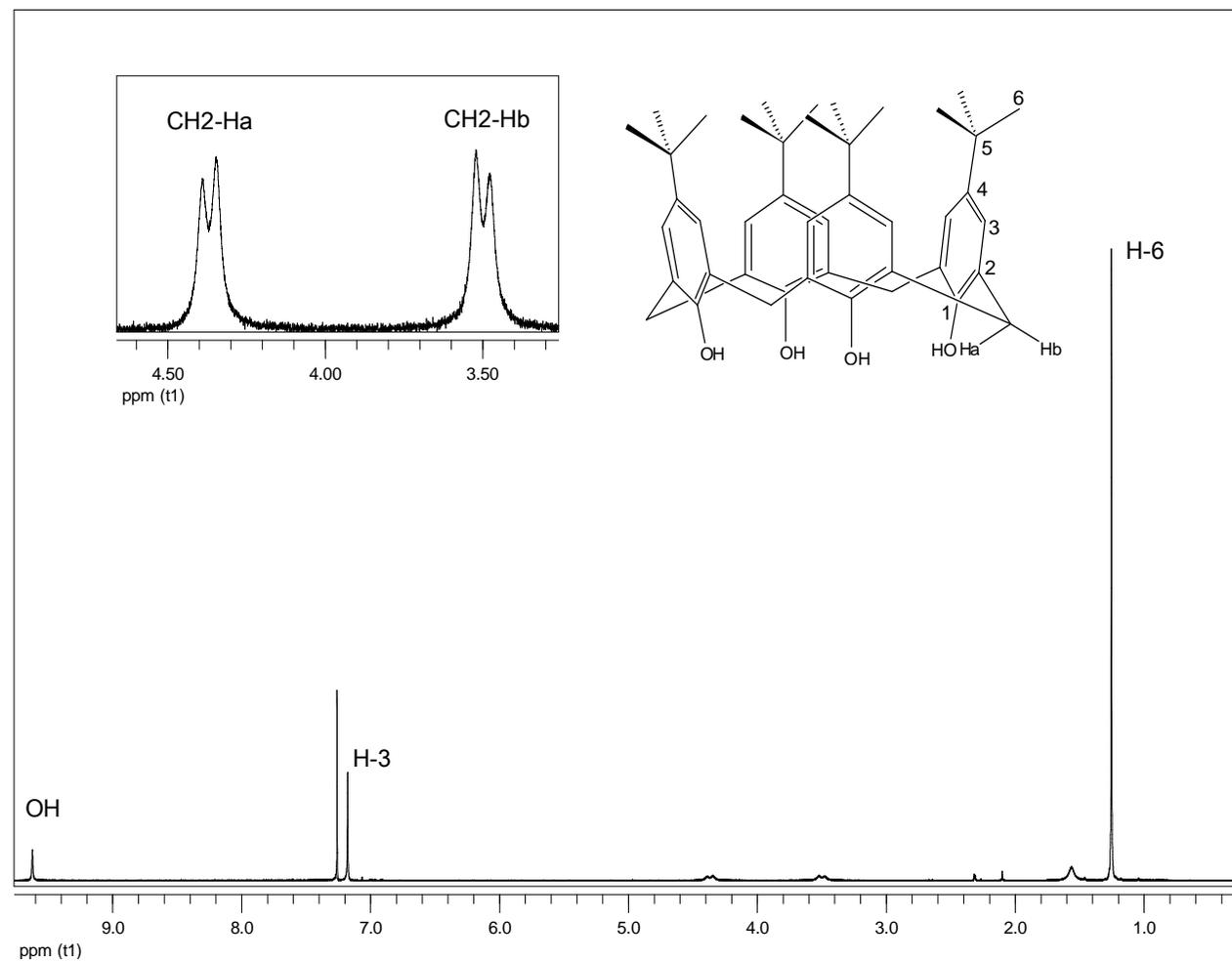


Figura 15 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3 , δ_{TMS} 0,00) do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**4**).

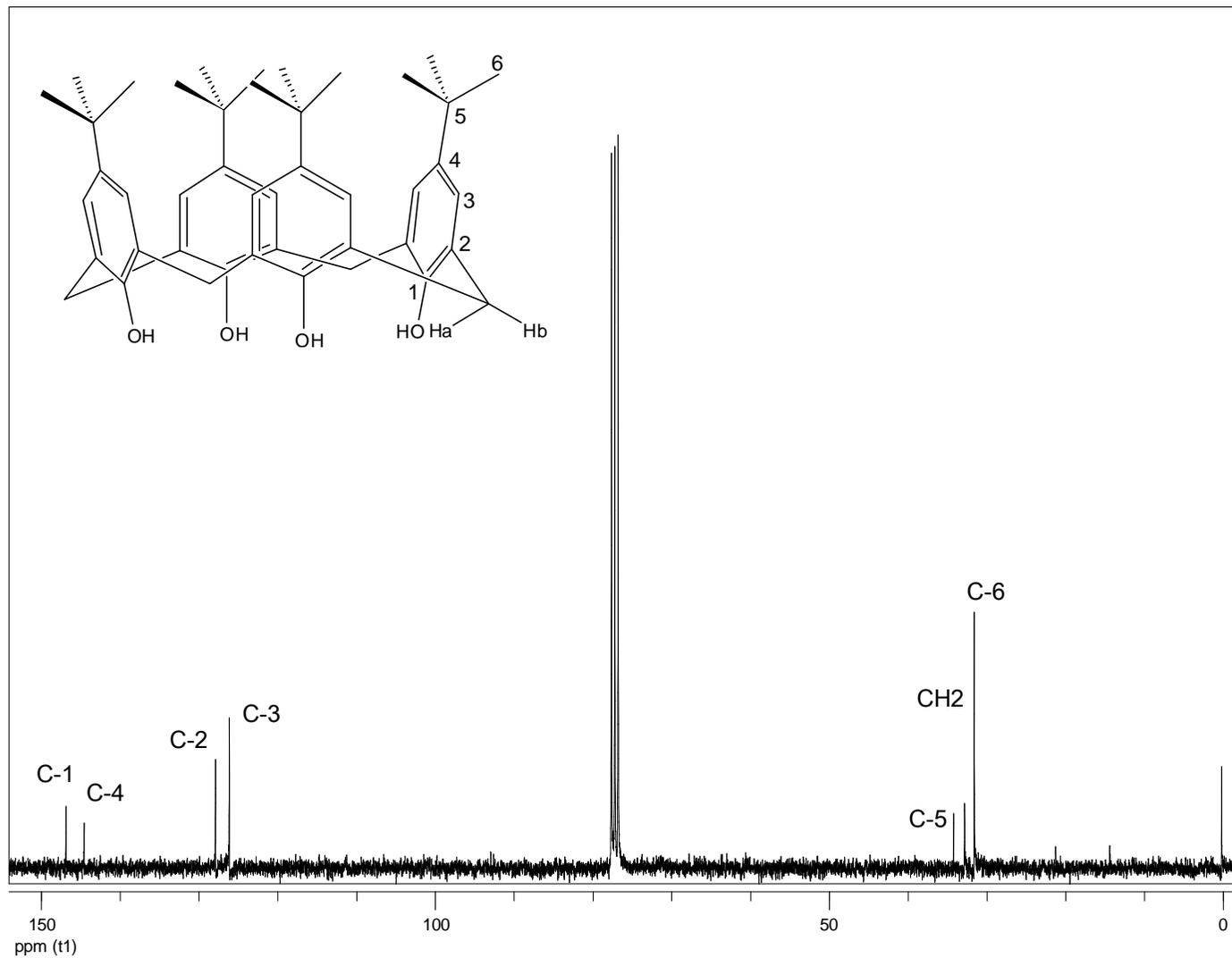


Figura 16 - Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ_{CDCl₃} 77,00) do *p*-*tert*-butilcalix[4]areno (**4**).

4.5. Síntese do calix[4]areno (5)

A metodologia utilizada para a obtenção do calix[4]areno foi a mesma relatada para a síntese de **(2)** (pág. 32) (GUTSCHE, 1986,). O composto **5** foi obtido como um sólido branco em 36,7% de rendimento. O composto **5** teve sua estrutura confirmada através da espectroscopia no infravermelho (IV), RMN de ^1H e ^{13}C . O espectro no infravermelho (**Figura 17**) apresentou bandas de absorção em 3145 e 3091 cm^{-1} , relativas ao estiramento do grupo O-H e de $\text{C}_{\text{sp}^2} - \text{H}$, respectivamente. O duplete referente ao grupo *tert*-butil, presente no espectro do *p-tert*-butilcalix[4]areno (**4**) não é observado no espectro do composto obtido, o que é um indicativo de formação do produto.

O produto da reação foi confirmado após análise do espectro de RMN de ^1H e ^{13}C . O espectro de ^1H (**Figura 18**) não apresentou um sinal na região de 1,21 ppm, sinal este que aparecia nitidamente no espectro do composto de partida **4**. Os sinais em δ 3,55 e 4,25, aparecem como dois simpletos largos, e são referentes aos hidrogênios metilênicos. O número de sinais observados no espectro da **Figura 19** é inferior ao número de sinais observado no espectro do material de partida (**Figura 16, pág. 44**). Além disso, observou-se um aumento da intensidade do sinal relativo à C-4, confirmando assim a formação do calix[4]areno (**5**). O mecanismo de formação de (**5**) é similar ao apresentado para a formação do calix[6]areno (pág. 32).

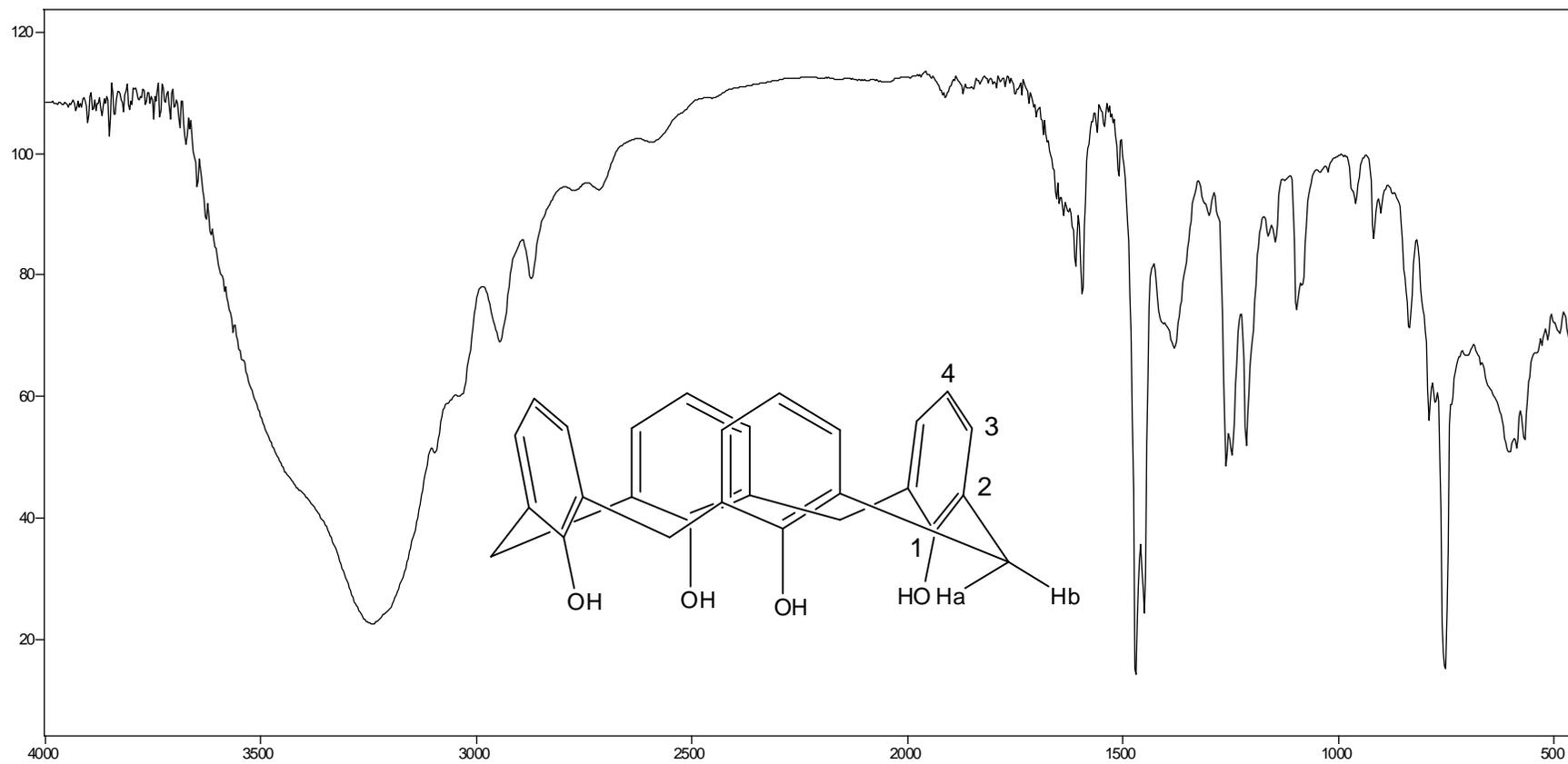


Figura 17 - Espectro no IV do calix[4]areno **(5)** (pastilha de KBr).

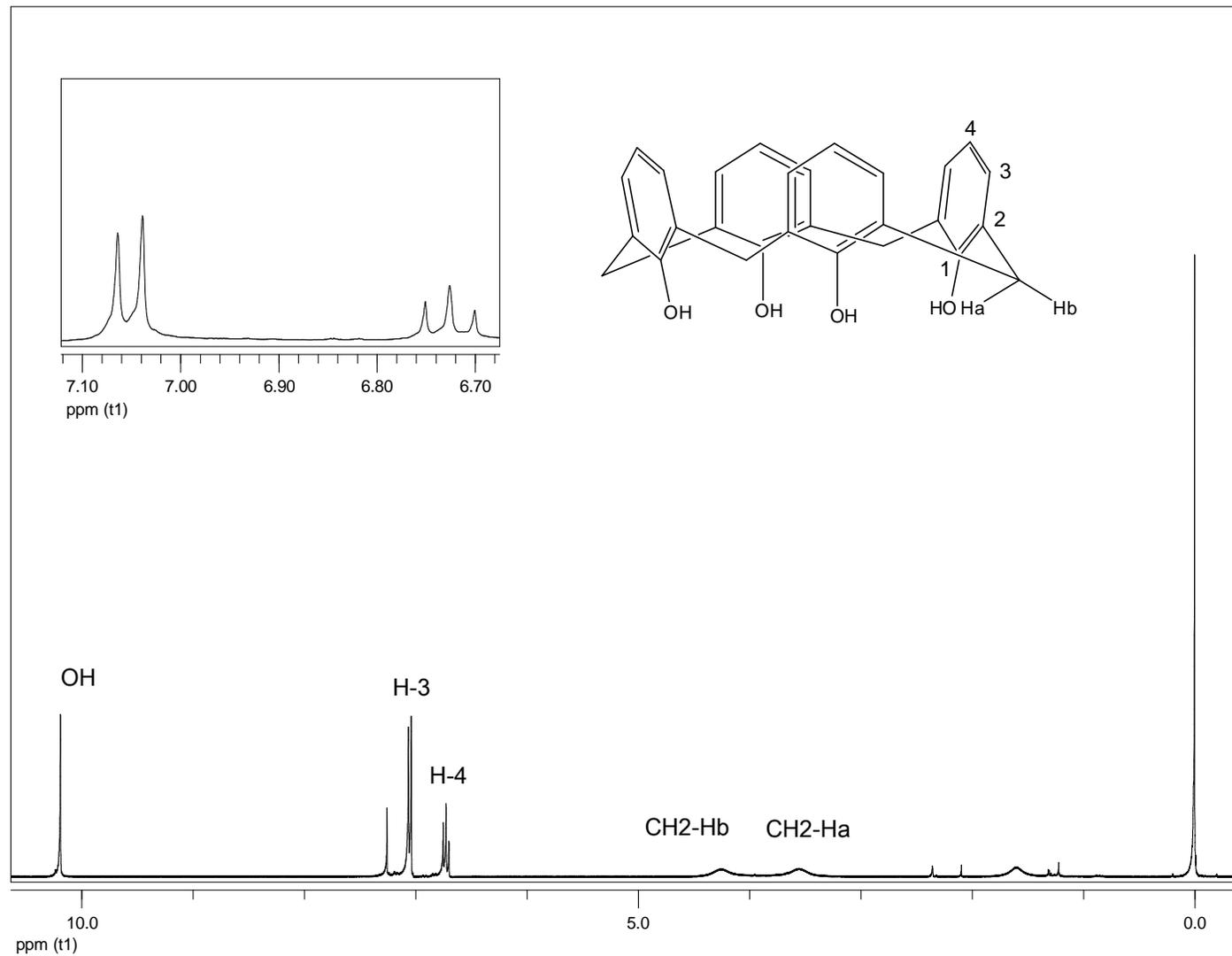


Figura 18 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3 , δ_{TMS} 0,00) do calix[4]areno (**5**).

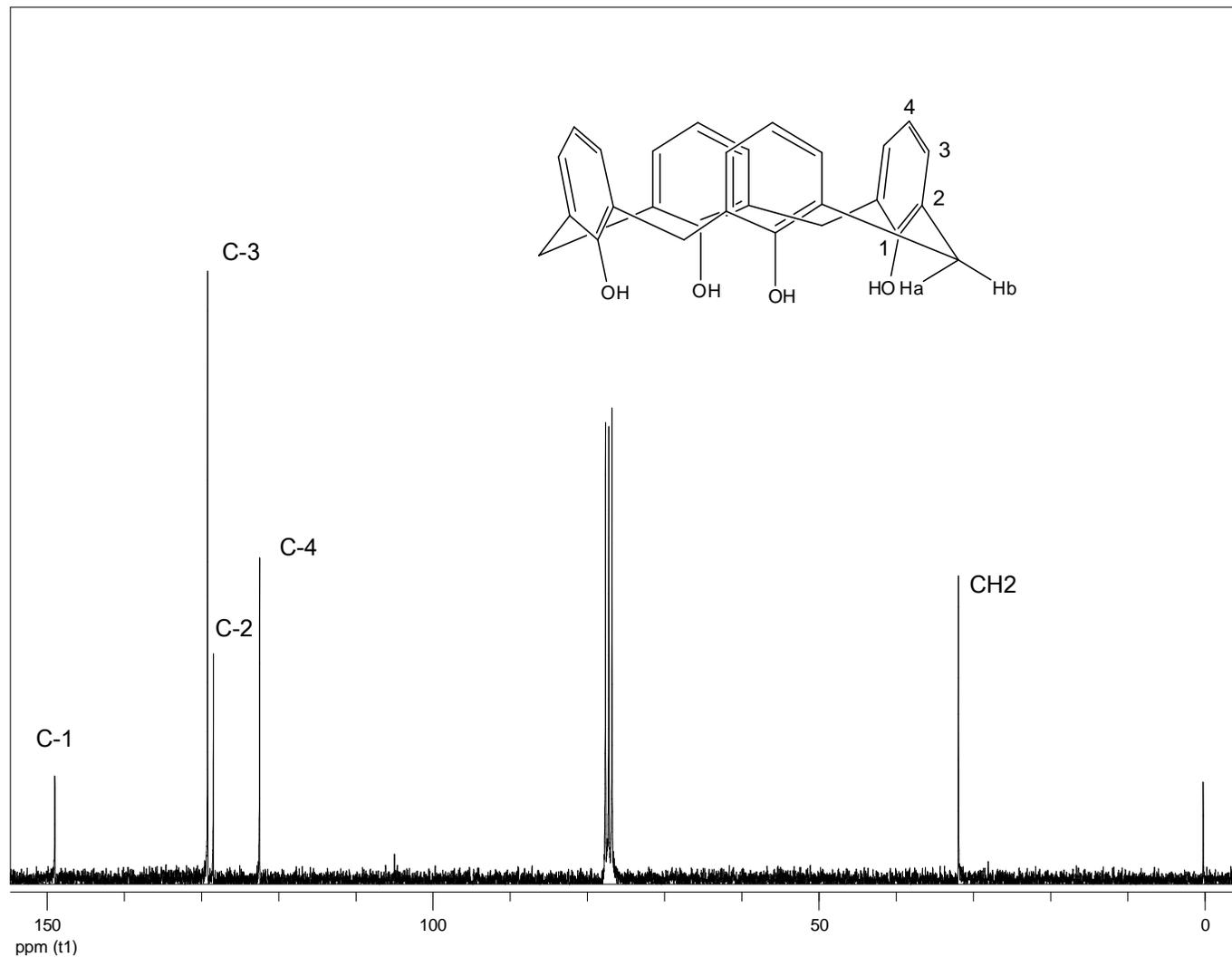


Figura 19 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , δ_{CDCl_3} 77,00) do calix[4]areno (5).

4.6. Síntese do ácido *p*-sulfônicocalix[4]areno (6)

Foi realizada a sulfonação do calix[4]areno (5), seguindo-se a mesma metodologia utilizada para a obtenção do composto (3) (SHINKAI *et al.*, 1987). O mecanismo de sua formação é similar ao apresentado no **Esquema 5** (pág. 37).

O composto (6) foi caracterizado por meio da espectroscopia no infravermelho (IV), RMN de ^1H e ^{13}C . O espectro no infravermelho (**Figura 20**) apresentou bandas de absorção em 3420 e 1636 cm^{-1} , referentes ao estiramento das ligações O-H e de ligações C-C sp^2 . Além disso, o espectro no IV apresentou uma banda em 2962 cm^{-1} , relativa ao estiramento das ligações OH do grupo sulfônico. Esta banda ocorre com ombros, que apareceram no espectro em 2602 cm^{-1} (BARBOSA, 2007).

O espectro de RMN de ^1H (**Figura 21**) apresentou dois simpletos largos em δ 3,87 e 7,84, referente aos hidrogênios metilênicos e aos hidrogênios das posições *meta* nos anéis aromáticos, respectivamente.

Analisando-se os espectros de RMN de ^{13}C do composto (6) (**Figura 22**) observou-se sinais em δ 126,72 (C-2), 128,38 (C-3), 135,96 (C-4) e 151,89 (C-1), que foram atribuídos aos carbonos dos anéis aromáticos e também um sinal em δ 30,86 referente ao carbono metilênico.

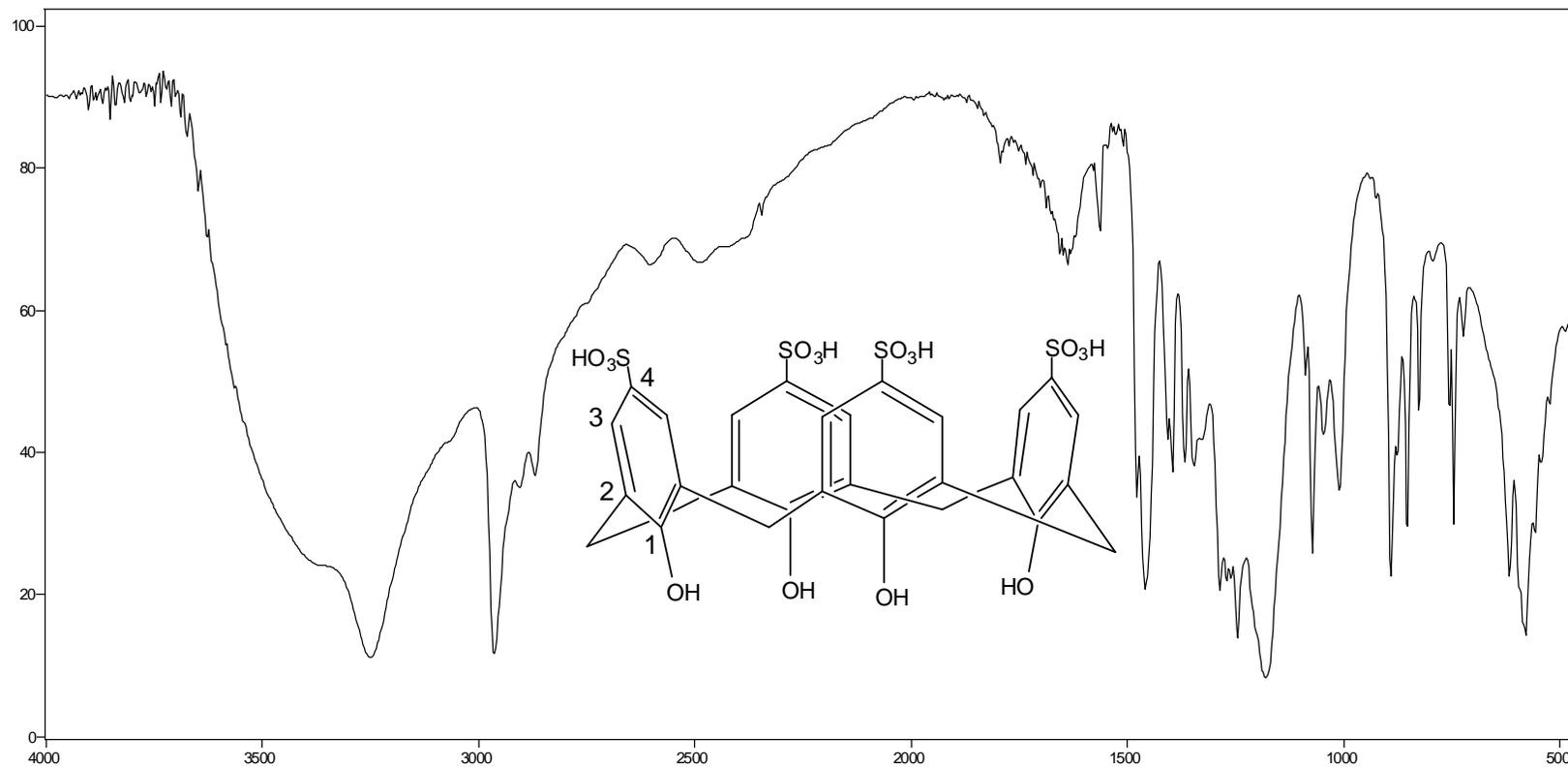


Figura 20 - Espectro no IV do ácido *p*-sulfônicocalix[4]areno (**6**) (pastilha de KBr).

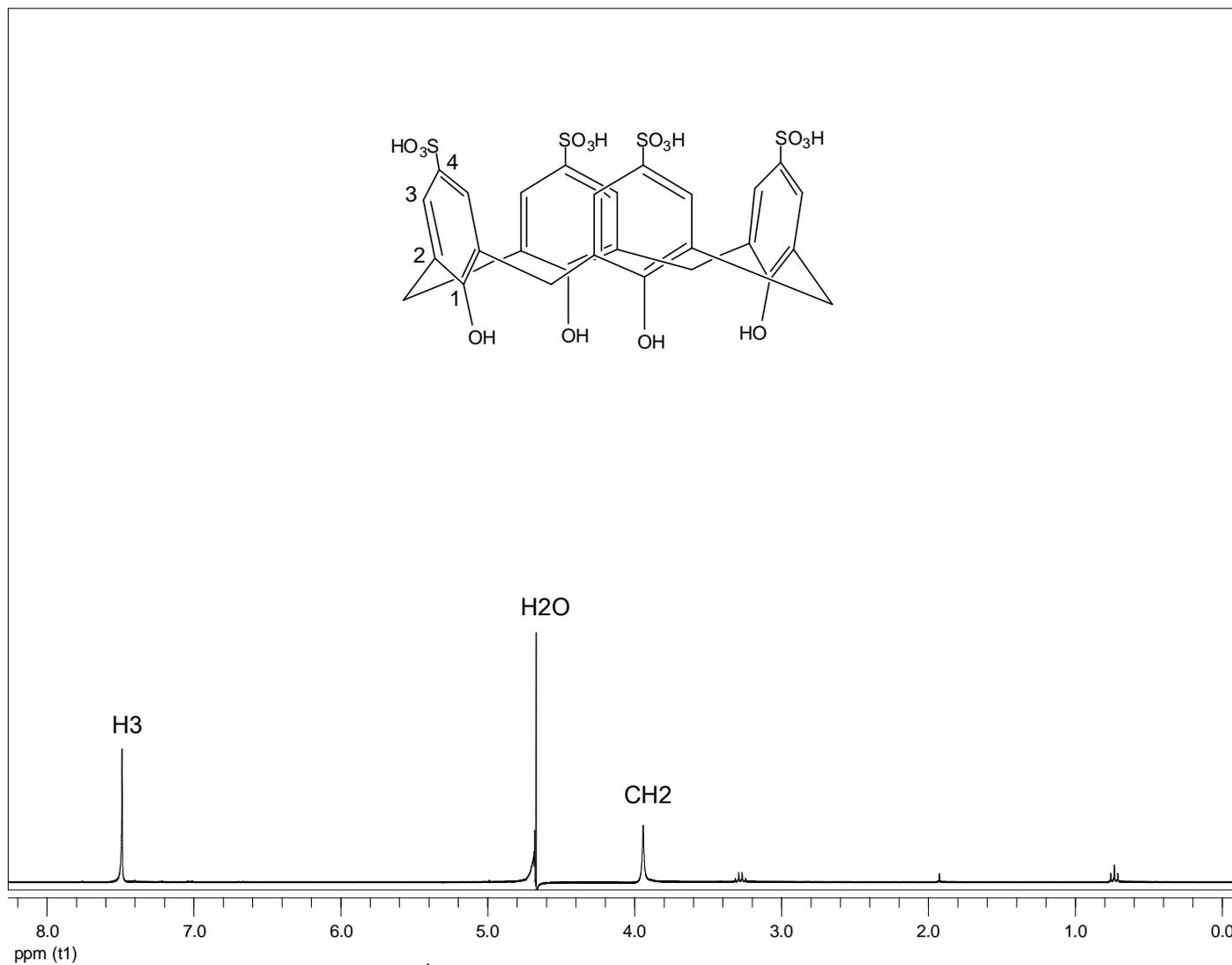


Figura 21 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, D₂O, δ_{H₂O} 4,67) do ácido *p*-sulfônicocalix[4]areno (**6**).

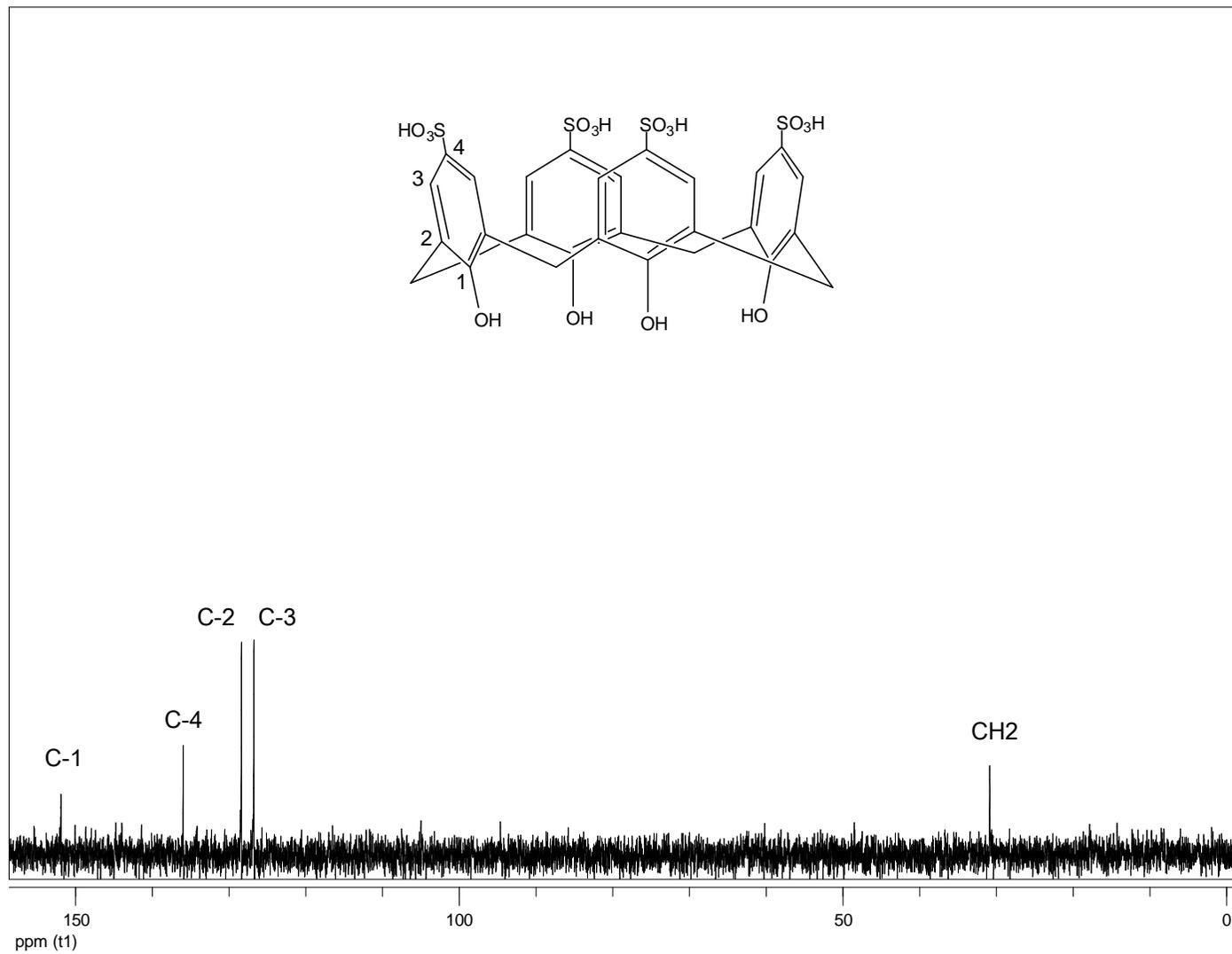


Figura 22 - Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, D₂O) do ácido *p*-sulfônico calix[4]areno (6).

4.7. Estudo de encapsulamento de moléculas bioativas

Nesta parte do trabalho foram estudados o encapsulamento de 6 compostos: retronecina (**7**), (*E*)-*N*-benzilidenoanilina (**11**), (*E*)-4-(fenilimino)metilfenol (**12**), e os anestésicos locais cloreto de prilocaíno (**8**), 4-aminobenzoato de butila (**10**) e cloreto de pramoxíno (**9**) (**Figura 23**) e dois sistemas carreadores: o ácido *p*-sulfônico calix[6]areno (**3**) e o ácido *p*-sulfônico calix[4]areno (**6**).

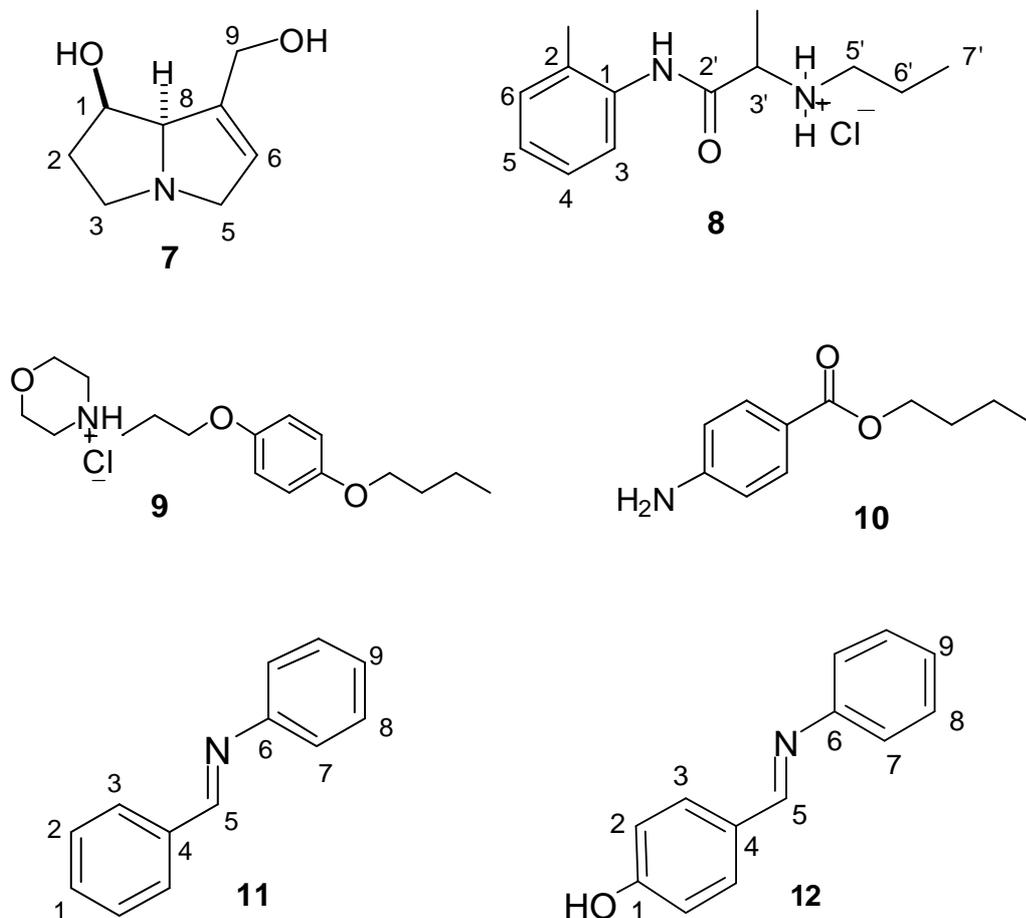


Figura 23 - Moléculas empregadas no estudo de encapsulamento.

4.7.1. Encapsulamento da retronecina (7)

Alcalóides pirrolizidínicos (APs) são produtos naturais encontrados principalmente em plantas. Os APs possuem atividade antitumoral, antiinflamatória, inseticida, bactericida, hipotensiva, e anestésica, além de exercer um importante papel ecológico na interação planta-inseto-predador (ROBINS, 1989). Entre os APs podemos destacar a retronecina e seus derivados que têm demonstrado promissoras atividades inibitórias do apetite de insetos. Porém, muitos destes alcalóides apresentam severos efeitos hepatóxicos. Visando diminuir estes efeitos tóxicos, Anderton e colaboradores estudaram a formação de complexos supramoleculares de APs com β -ciclodextrina (ANDERTON et al., 1994). No entanto, percebe-se na literatura uma escassez de estudos explorando o uso de calix[n]arenos como agentes desentoxicantes.

Portanto, o objetivo deste estudo é investigar a capacidade do ácido *p*-sulfônico-calix[6]areno (**3**) de formar complexos com alcalóides pirrolizidínicos, que então devem ser úteis para a desintoxicação de animais e homens envenenados pela ingestão de alcalóides nocivos. Técnicas de RMN foram empregadas para obter informações detalhadas sobre as interações entre retronecina (**7**) e o ácido *p*-sulfônico-calix[6]areno (**3**). Os espectros de RMN de ^1H de (**7**) em D_2O na presença de (**3**) e na ausência dele foram obtidos. Os hidrogênios do hospedeiro e do hóspede são observados como um único sinal (não há duplicação de sinais) o que demonstra que as formas livres e complexadas estão em equilíbrio dinâmico rápido para a escala de tempo da RMN.

A complexação entre (**7**) e (**3**) causou grandes efeitos de blindagem sobre todos os hidrogênios de (**7**) principalmente H-2a, H-2b, H-3a, H-3b e H-6 (Tabela 1; Figura 28). Isso forneceu indícios de que a retronecina forma complexos de inclusão com (**3**) pela inserção de sua cauda apolar no interior da cavidade hidrofóbica do ácido *p*-sulfônico-calix[6]areno, fato este comprovado por experimentos de NOESY (Figura 26 e Figura 29). Para a determinação da estequiometria de complexação foi empregado o método de Job, através do qual pode-se constatar que o complexo **7/3** apresenta estequiometria de 1:1 (Figura 27).

Tabela 1. Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e diferenças de deslocamento químico ($\Delta\delta = \delta_{7 \text{ livre}} - \delta_{7 \text{ complexado}}$) para o alcalóide (**7**) puro e seu complexo com **3** (**7/3**; amostras 2 mmol L^{-1} cada; $25 \text{ }^\circ\text{C}$)

	7	7/3	7/3
hidrogênio	δ	δ	$\Delta\delta = \delta_{7 \text{ livre}} - \delta_{7 \text{ complexo}}$
H-2a	1,91	1,05	0,86
H-2b	1,96	1,43	0,53
H-3a	2,79	2,49	0,30
H-3b	3,35	2,82	0,53
H-5a	3,46	3,25	0,21
H-5b	3,92	3,65	0,27
H-9	4,14	3,93	0,21
H-8*	4,32	----	----
H-1	4,38	4,16	0,22
H-6	5,66	5,28	0,38

*Os valores de deslocamento químico de H-8 do alcalóide **7** complexado com **3** não pode ser determinado devido a sobreposição de sinais entre H-8 e os hidrogênios metilênicos do ácido *p*-sulfônico-calix[6]areno (**3**)

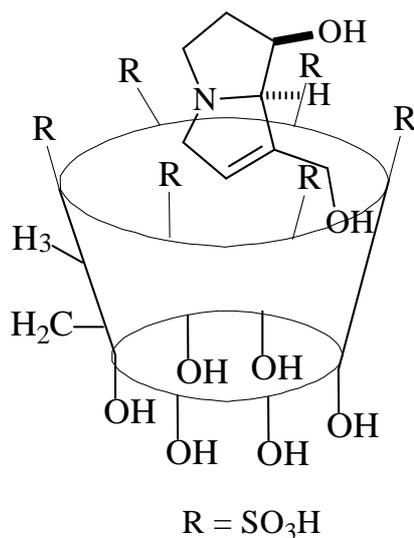


Figura 26 - Topologia proposta para o complexo **7/3** baseado nos dados de variação de deslocamento químico, estequiometria do complexo, HR-DOSY e nos dados de NOESY.

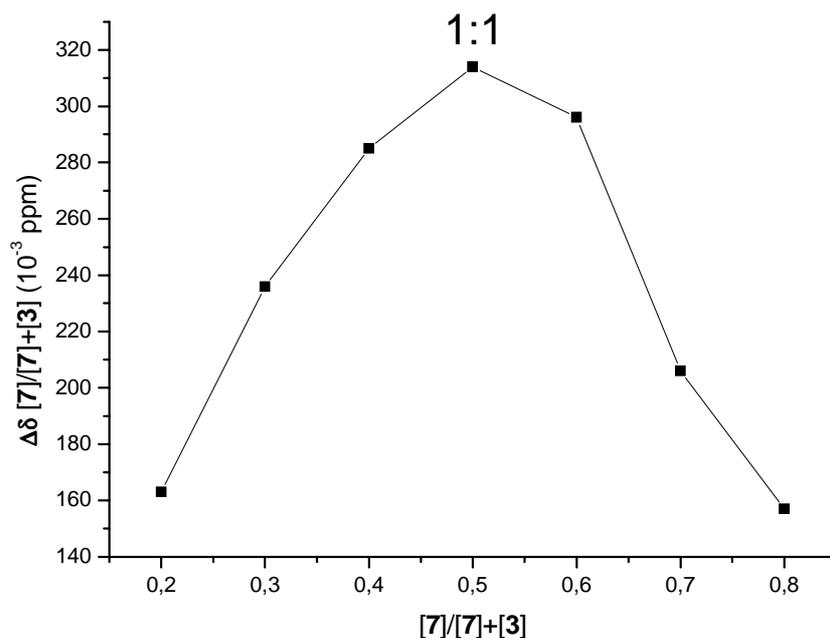


Figura 27 - Gráfico da titulação através do método de Job para o complexo retronecina/ácido *p*-sulfônico calix[6]areno **7/3**.

Informação adicional sobre a estrutura supramolecular do complexo **7/3** foi obtida usando experimentos de RMN de ¹H (HR-DOSY). Esta técnica confirmou a formação de um complexo estável **7/3** (de SOUZA, 2008; STILBES, P., 1987). Os coeficientes de difusão dos compostos individuais e do complexo são listados na **Tabela 2** (ver também **Figura 30**). O alcalóide (**7**) mostrou uma diminuição significativa dos valores de coeficiente de difusão quando associado com o composto (**3**) (**Tabela 2**, **Figura 31**) novamente indicando a formação do complexo **7/3**.

De posse dos coeficientes de difusão, calculamos a porcentagem de população complexada (%*p*_{compl}) e a constante de associação aparente (*K*_{ap}) do complexo **7/3**. O complexo **7/3** exibiu um valor de %*p*_{compl} de 56,3% e de *K*_{ap} (1446,3 M⁻¹) confirmando uma forte associação entre as espécies **7** e **3** (GOUNARIDES, J. S., 1999).

Tabela 2. Coeficientes de difusão dos compostos individuais **7** e **3** e seu complexo de inclusão em D₂O, além da porcentagem de população complexada (%*p*_{complexada}) e constante de associação aparente (*K*_a (M⁻¹)) (amostras 2 mmol L⁻¹ cada; 25 °C)

Complexo	Compostos	<i>D</i> (10⁻¹⁰ m² s⁻¹)	<i>D</i>/<i>D</i>^{H₂O}	%<i>p</i>_{complexada}	<i>K</i>_a (M⁻¹)
-	7	6,47 ± 0,21	0,30	-	-
-	3	3,05 ± 0,02	0,14	-	-
7/3	7	4,52 ± 0,20	0,21	56,3	1446,3
	3	3,06 ± 0,03	0,14		

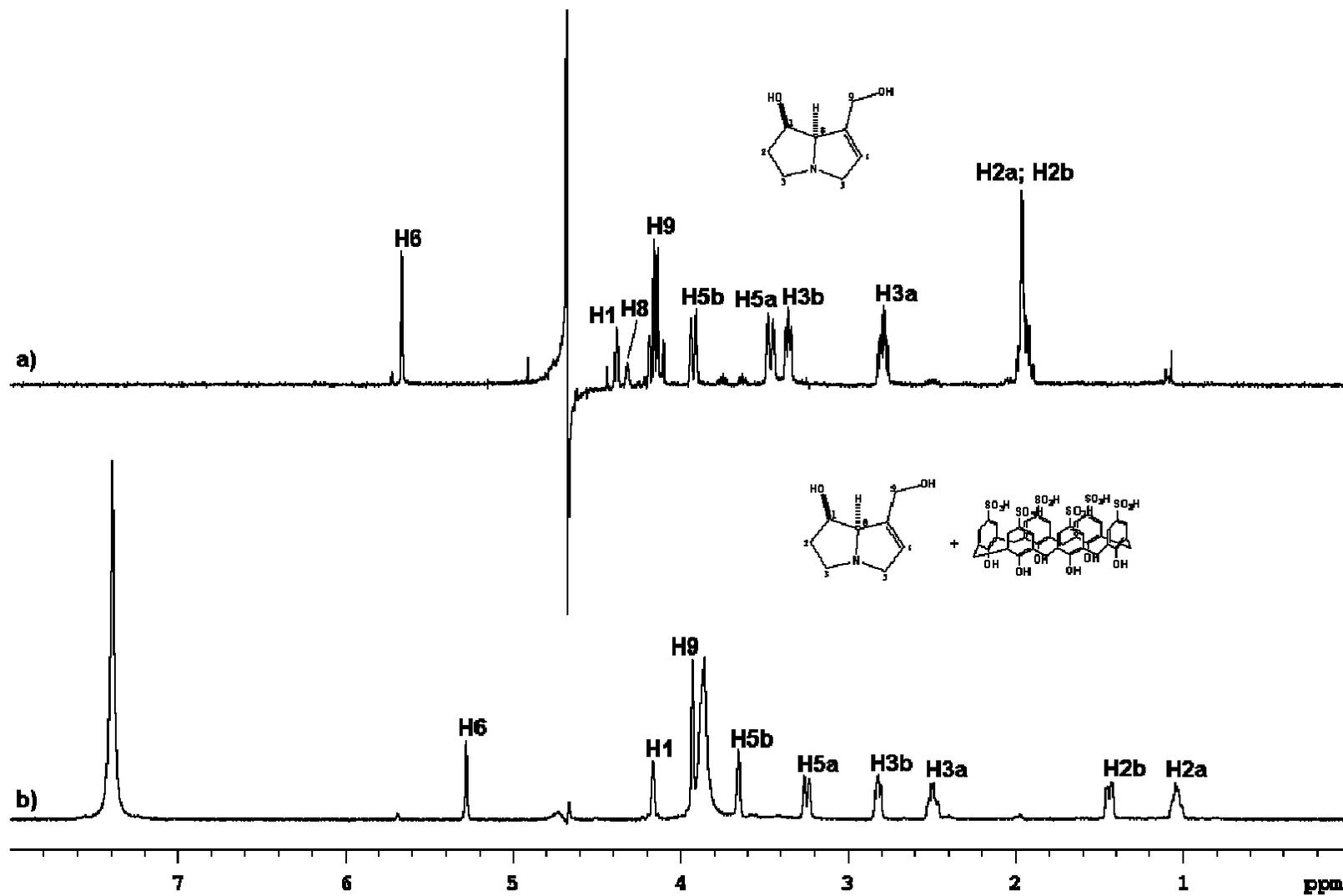


Figura 28 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, D_2O , 25 $^\circ\text{C}$, 2 mmol L^{-1} cada): **a)** 7; **(b)** complexo 7/3.

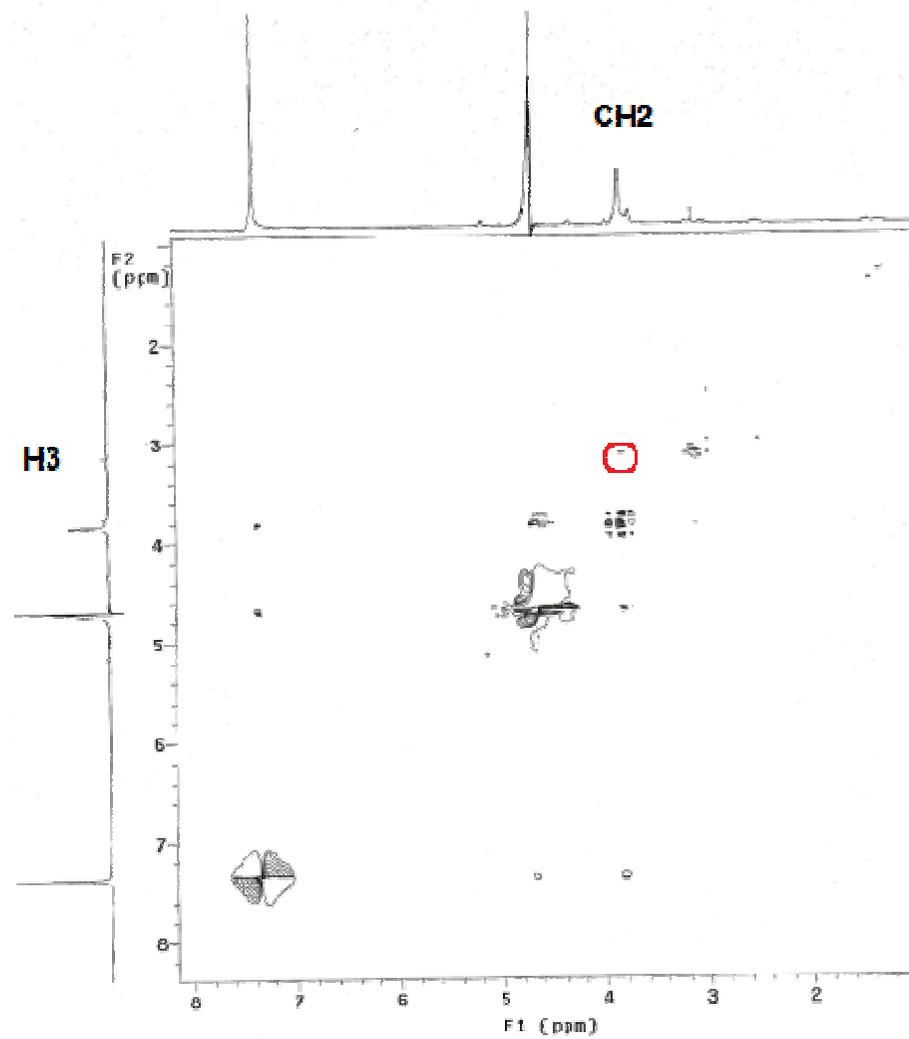


Figura 29 - Mapa de Contornos NOESY do complexo **7/3**.

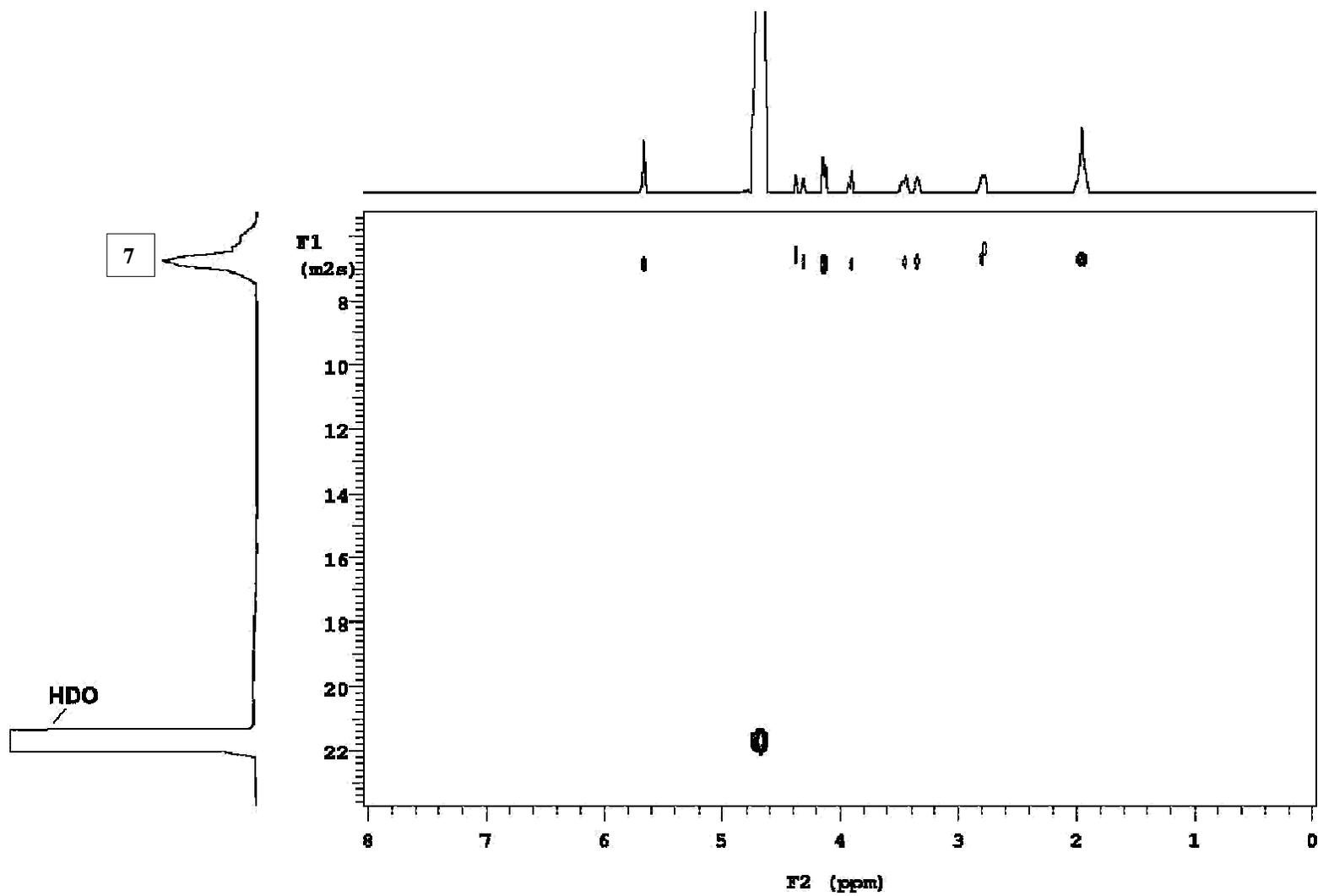


Figura 30 - Experimento de RMN de ¹H DOSY (500 MHz, D₂O, 25 °C, 2 mmol L⁻¹) da retronecina (7).

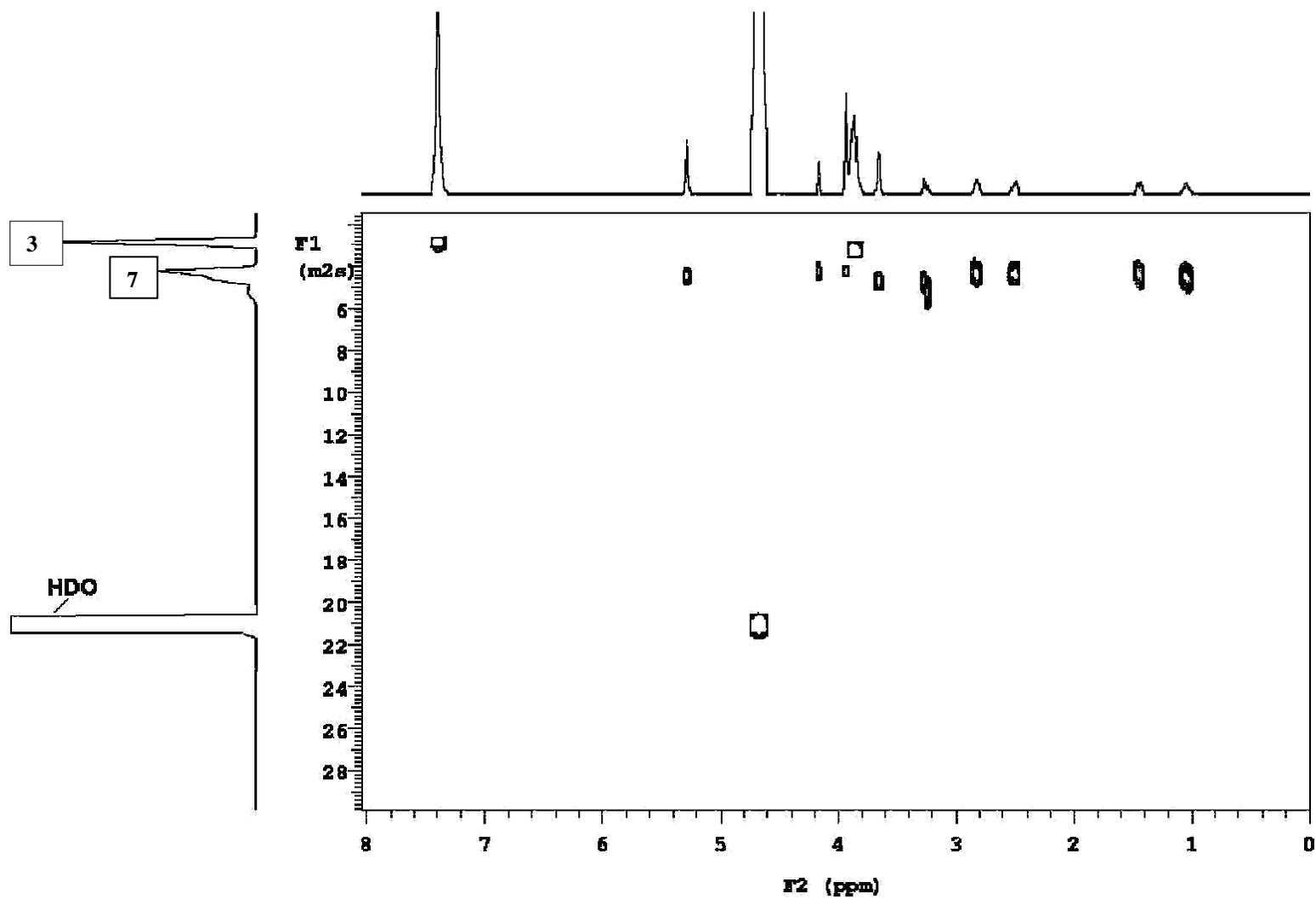


Figura 31 - Espectro de ¹H DOSY (500 MHz, D₂O, 25 °C, 2 mmol L⁻¹ cada) para o complexo **7/3**.

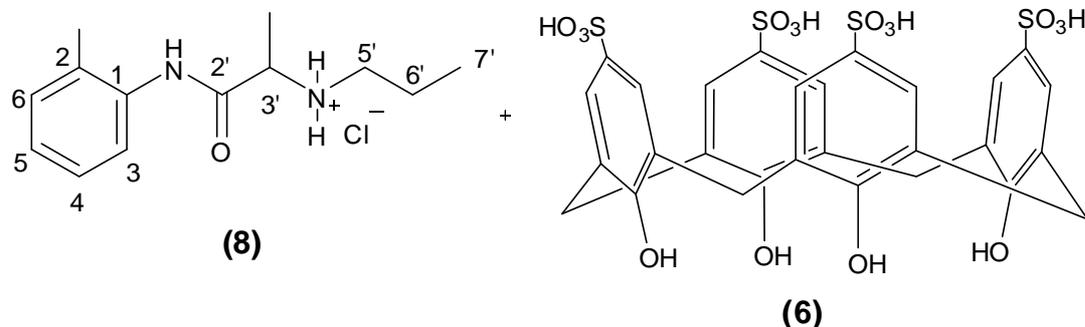
4.7.2. Encapsulamento do cloreto de prilocaínio (8)

Os calix[*n*]arenos desempenham um importante papel na química medicinal no que diz respeito à tecnologia de liberação controlada de fármacos, que representa atualmente uma das fronteiras da ciência envolvendo diferentes aspectos multidisciplinares. Os sistemas de liberação, frequentemente descritos como *drug delivery systems*, oferecem inúmeras vantagens quando comparados a outros de dosagem convencional, pois estas formulações alteram substancialmente certos parâmetros farmacocinéticos como, por exemplo, a meia-vida do fármaco, sua depuração do organismo e seu volume de distribuição. Ademais, a toxicidade de medicamentos é também drasticamente reduzida com o emprego destas formas (BUXTON, 2005).

Prilocaína (**8**) é um anestésico local do grupo amida e atua bloqueando reversivelmente os impulsos nervosos. Neste trabalho resolveu-se realizar a complexação do cloreto de prilocaínio com os ácidos *p*-sulfônicocalix[4]areno (**6**) e ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno (**3**) e empregar a RMN de ¹H para estudar os complexos supramoleculares formados. A caracterização de sistemas de liberação formados pela complexação da prilocaína (**8**) em ácido *p*-sulfônicocalix[4]areno (**6**) ou ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno (**6**) fornecerá importantes informações para otimizar seu futuro desempenho, que requer um melhor conhecimento de suas propriedades moleculares.

Primeiramente realizou-se a complexação de (**8**) com o ácido *p*-sulfônicocalix[4]areno (**6**), sendo que a primeira avaliação de formação do complexo entre eles foi feita pela variação de deslocamento químico ($\Delta\delta$) dos hidrogênios do cloreto de prilocaínio/ácido *p*-sulfônicocalix[4]areno, relativo ao cloreto de prilocaínio livre (**Tabela 3**).

Tabela 3. Valores de deslocamento químico de RMN de ^1H do cloreto de prilocaínio puro e do complexo cloreto de prilocaínio/ácido *p*-sulfônicocalix[4]areno (amostras 5 mmol L $^{-1}$ cada; 25 °C) e a diferenças de deslocamento químico ($\Delta\delta = \delta_{8 \text{ livre}} - \delta_{8 \text{ complexado}}$)



	8	8/6	8/6
hidrogênio	δ	δ	$\Delta\delta = \delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexada}}$
CH₃-C-2	2,13	2,04	0,09
H-3, H-4, H-5, H-6	7,15-7,29*	7,0*	0,15
H-3'	4,10	3,87	0,23
CH₃-C-3'	1,58	1,45	0,13
H-5'	2,86*	2,18*	0,68
H-6'	1,61	0,47	1,14
H-7'	0,891	- 0,879	1,77

* Estes sinais apareceram como um multipeto no espectro de RMN de ^1H .

Através dos espectros de RMN de ^1H (**Figura 34 e 35**) observou-se que os hidrogênios de **(8)** que sofreram as maiores variações de deslocamento químico foram H-3', H-5', H-6' e H-7' quando em contato com **(6)** (**Tabela 3**) o que forneceu uma indicação de uma interação forte entre o grupo amônio do cloreto de prilocaínio e o grupo SO₃H de **(6)**. Para a determinação da estequiometria do complexo empregou-se o método de Job, onde pôde-se constatar que o complexo **8/6** apresenta estequiometria de 2:3 conforme mostrado na **Figura 32**.

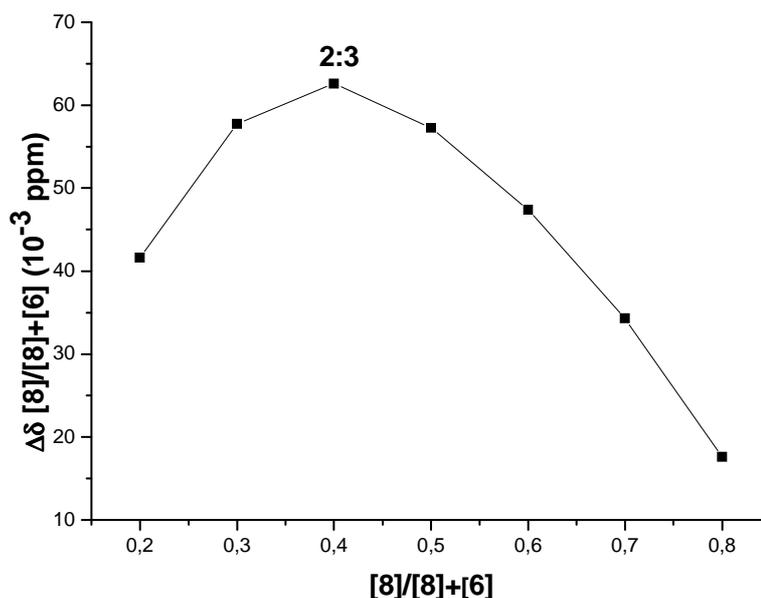
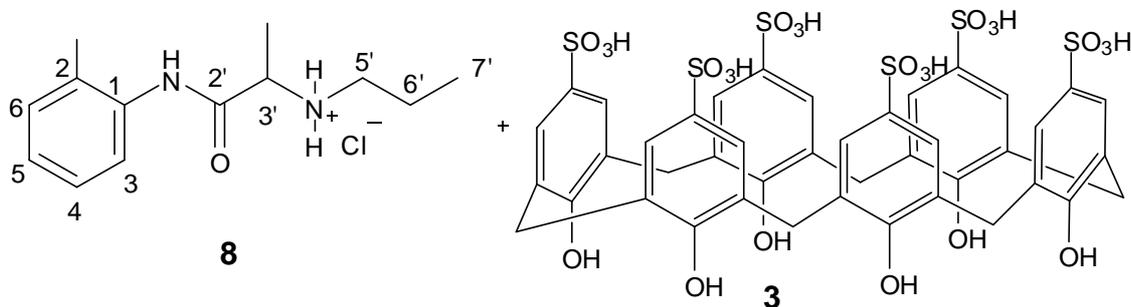


Figura 32 - Gráfico da titulação através do método de Job para o complexo cloreto de prilocaínio/ácido *p*-sulfônicocalix[4]areno.

Experimentos de NOESY foram conduzidos e observou-se incrementos de nOe entre os hidrogênios H-5' e H-7' de **(8)** e os hidrogênios H-3 de **(6)** (**Figura 36**). Este complexo precisa ser melhor investigado através de HR-DOSY e também por cálculos teóricos para que possamos propor a estrutura do agregado formado.

A complexação de **(8)** com o ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno, em sua forma de sal de amônio e na forma neutra em pH 10, também foram realizadas. Novamente foi observado que sob a forma de sal de amônio os hidrogênios que mais sofreram efeitos de blindagem foram H-3', H-5', H-6' e H-7', conforme observado na **Tabela 4**. Já em pH 10, os hidrogênios da prilocaína mostraram variações de deslocamento químico discretas ($\leq 0,04$ ppm) na presença de **(3)**. Este fato pode ser racionalizado já que a prilocaína na forma de sal apresenta interação mais efetivas do tipo íon-dipolo que não existem para a forma neutra. Foram realizados experimentos de titulação empregando o método de Job para determinar a estequiometria dos complexos **8/3**. De acordo com o gráfico apresentado abaixo a estequiometria do complexo **8/3** é de 1:1 (**Figura 33**).

Tabela 4. Valores de deslocamento químico de hidrogênio de **8**⁺ na forma de sal e **8** neutro, complexos **8**⁺/**3**, **8**/**3** e a diferença de deslocamento químico ($\Delta\delta = \delta_{[8]}$ livre - $\delta_{[8]}$ complexada) (amostras 5 mmol L⁻¹ cada; 25 °C)



Hidrogênios	8⁺/3	8/3
	$\Delta\delta = \delta_{(8)^+ \text{ livre}} - \delta_{(8)^+ \text{ compl}}$	$\Delta\delta = \delta_{(8) \text{ livre}} - \delta_{(8) \text{ compl}}$
H-3'	0,25	-0,01
H-5'	0,43	-0,04
H-6'	0,43	-0,01
H-7'	0,43	-0,02
CH ₃ -C-3'	0,14	-0,02
CH ₃ -C-2	0,22	-0,03

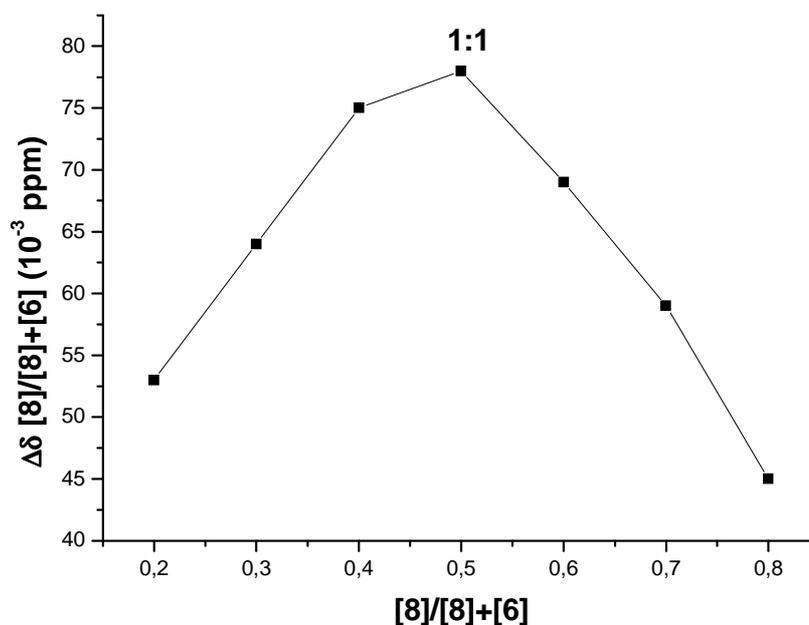


Figura 33 - Gráfico da titulação através do método de Job para o complexo cloreto de prilocaínio/ácido *p*-sulfônico calix[6]areno.

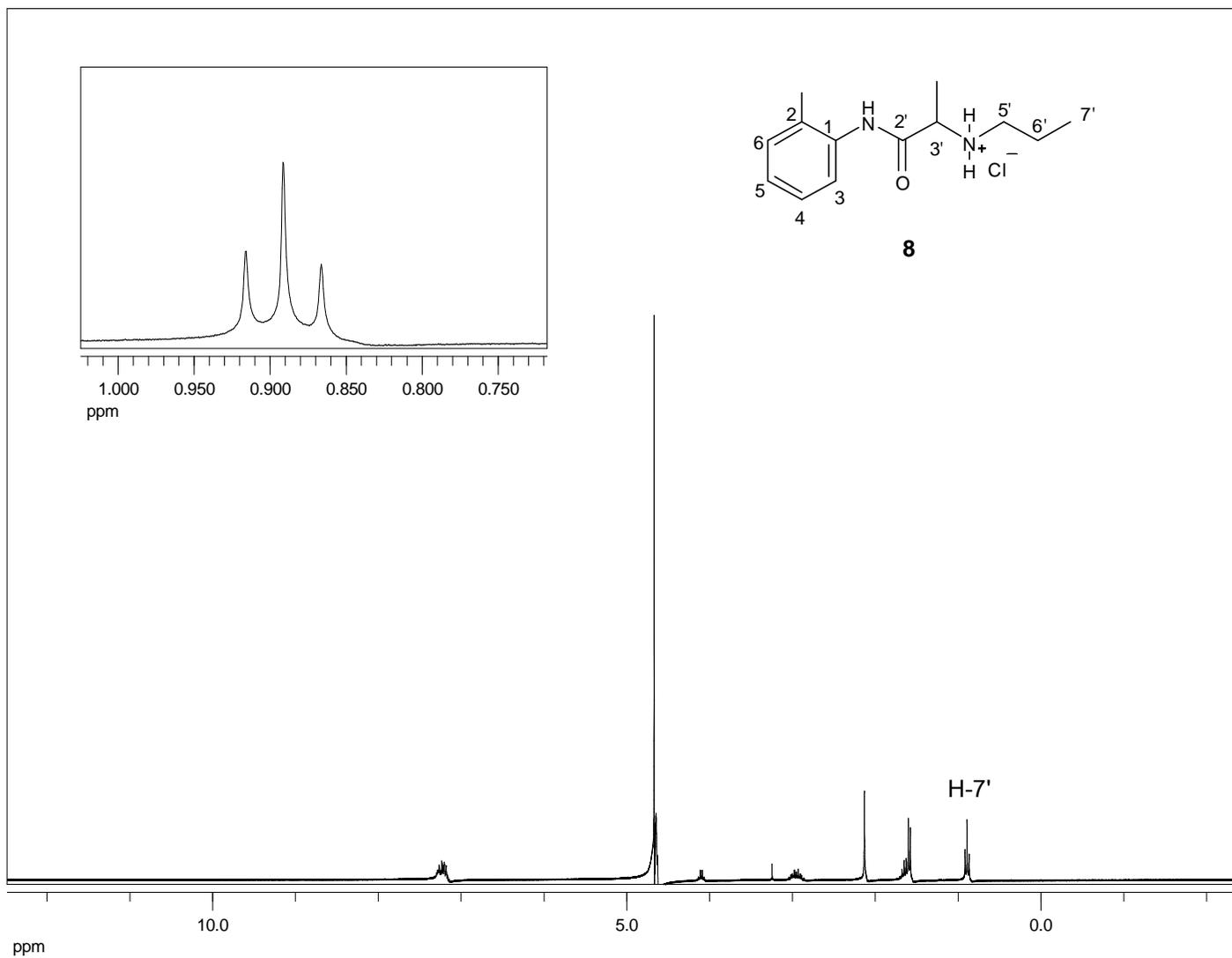


Figura 34 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, D₂O, δ_{HDO} 4,67, 25 °C, 5 mmol L⁻¹), do cloreto de prilocaíno.

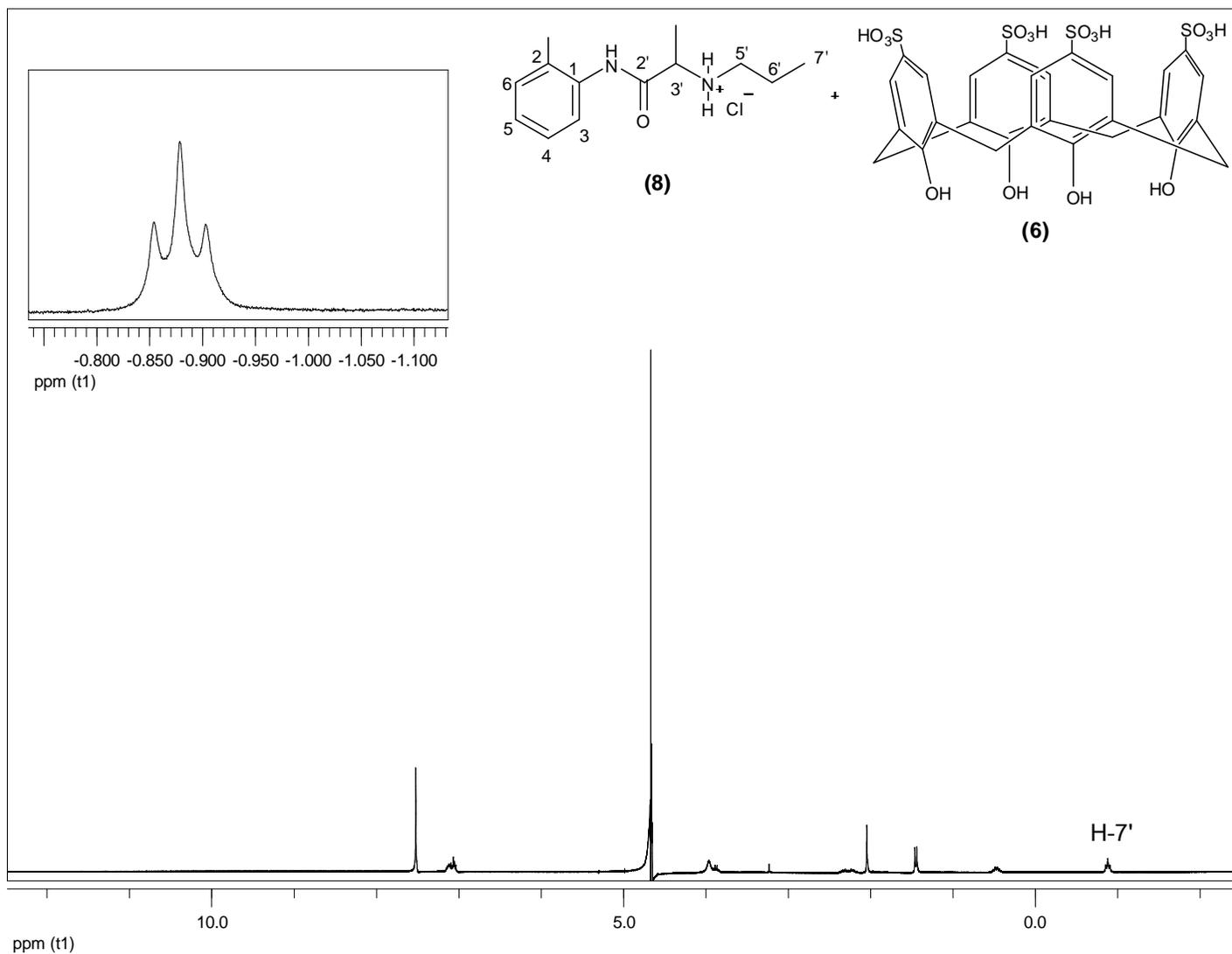


Figura 35 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, D_2O , δ_{HDO} 4,67, 25 °C, 5 mmol L^{-1}), do complexo **8/6**.

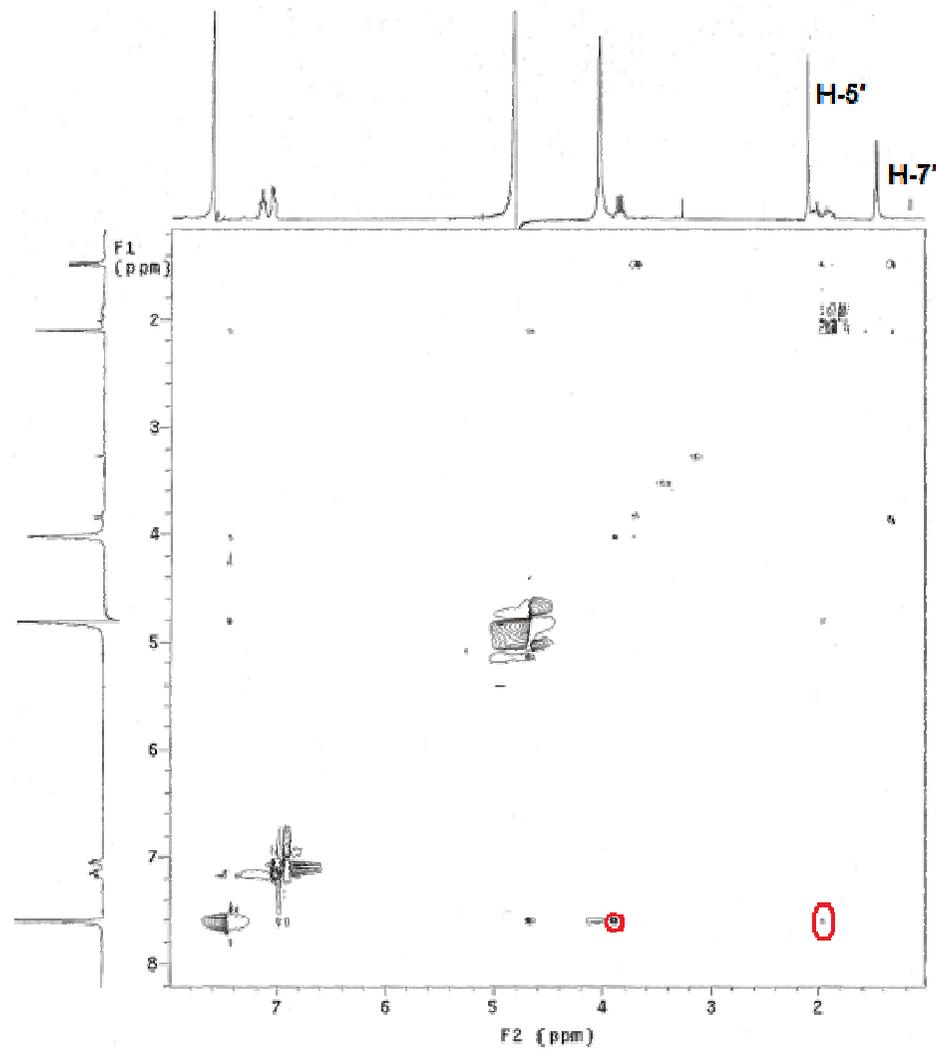
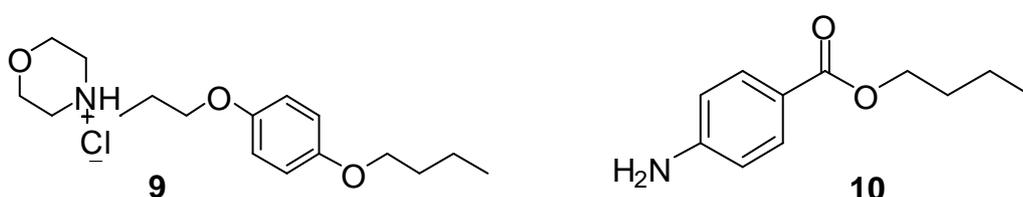


Figura 36 - Mapa de Contornos NOESY do complexo 8/6.

4.7.3. Encapsulamento do cloreto de pramoxínio (9) e 4-aminobenzoato de butila (10)

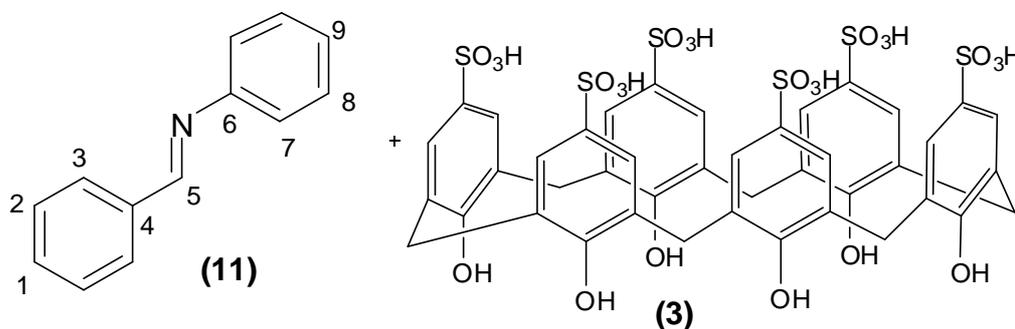
Para os anestésicos locais (9) e (10) foram realizadas tentativas de encapsulamento com o ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno e ácido *p*-sulfônicocalix[4]areno. No entanto, observou-se que após as 96 horas, os mesmos precipitavam em alguns dos tubos de RMN, o que comprometeu os experimentos, não sendo possível tirarmos nenhuma conclusão sobre estes complexos.



4.7.4. Encapsulamento do (*E*)-*N*-benzilidenoanilina (11) e (*E*)-4-(fenilimino)metilfenol (12)

Realizou-se a complexação das aldiminas (11) e (12) com o ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno (3). Observa-se que em ambos os casos, a complexação causou efeitos de blindagem em todos os hidrogênios (Figuras 40 e 42).

Tabela 5. Valores de deslocamento químico de RMN de ^1H de **(11)** e do complexo **11/3** (amostras 5 mmol L^{-1} cada; $25 \text{ }^\circ\text{C}$) e a diferença de deslocamento químico ($\Delta\delta = \delta_{11 \text{ livre}} - \delta_{11 \text{ complexado}}$)



	11	11/3*	11/3
hidrogênio	δ	δ	$\Delta\delta = \delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexada}}$
H-9	7,25-7,31	6,73-6,80	0,52
H-3	7,86-7,89	7,71-7,68	0,15
H-5	9,88	9,86	0,02

*Os sinais referentes aos outros hidrogênios de **11** foram de difícil atribuição devido à sobreposição de sinais

Realizou-se a titulação das aldiminas, empregando o método de Job, com o objetivo de se determinar as estequiometrias dos complexos para posteriores testes de avaliação biológica. Para o complexo entre **(11)** e o ácido *p*-sulfônico-calix[6]areno **(3)** as estequiometrias obtidas foram de 1:4, 2:3 e 4:1 (**Figura 37**). Este comportamento pode ser atribuído a alta hidrofobicidade da aldimina **(11)**. À medida que a concentração deste composto aumenta, é mais favorável, em termos de energia para o sistema, concentrar as moléculas da aldimina **(11)** no interior da cavidade hidrofóbica do calixareno do que agrupá-las em solução aquosa. Este fato justifica as três diferentes estequiometrias encontradas.

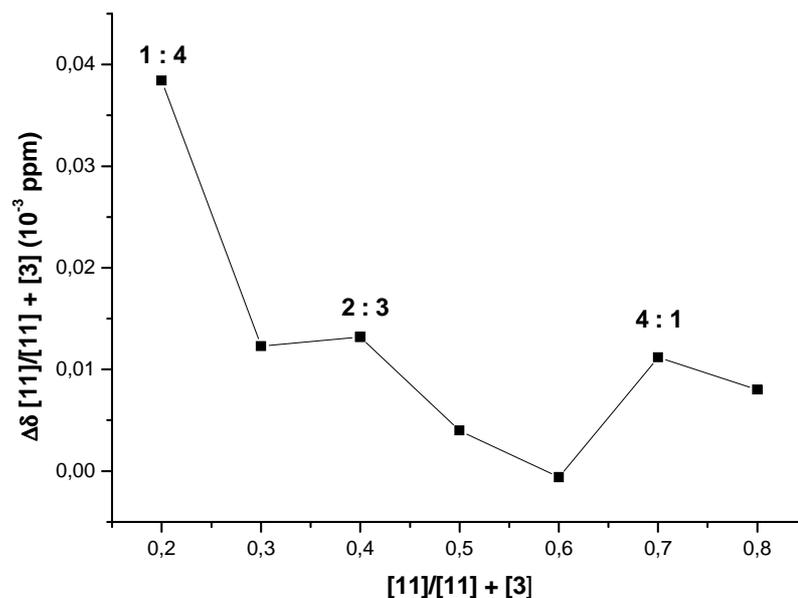
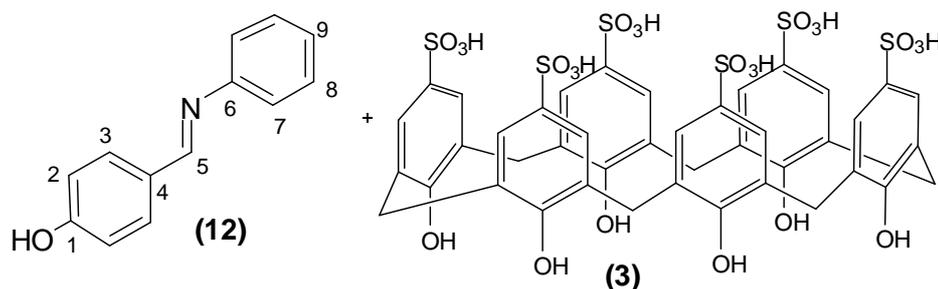


Figura 37 - Gráfico da titulação através do método de Job para o complexo 11/3.

Para o complexo de inclusão formado entre a aldimina (**12**) e o ácido *p*-sulfônico calix[6]areno (**3**) a estequiometria encontrada foi de 1:1, conforme o gráfico mostrado na **Figura 38**.

Tabela 6. Valores de deslocamento químico de RMN de ¹H de **12** e do complexo **12/3** (amostras 5 mmol L⁻¹ cada; 25 °C) e a diferenças de deslocamento químico ($\Delta\delta = \delta_{12 \text{ livre}} - \delta_{12 \text{ complexado}}$)



hidrogênio	12 δ	12/3 δ	12/3 Δδ = δ _{livre} - δ _{complexada}
H-9	6,74-6,81	6,69-6,72	0,05
H-7	6,96-6,99	6,81-6,84	0,15
H-8 e H-2	7,13-7,19	7,09-7,14	0,04
H-3	7,80-7,84	7,46*	0,34
H-5	9,89	9,55	0,34

* Este sinal apareceu no espectro de RMN de ¹H como um simpleto largo.

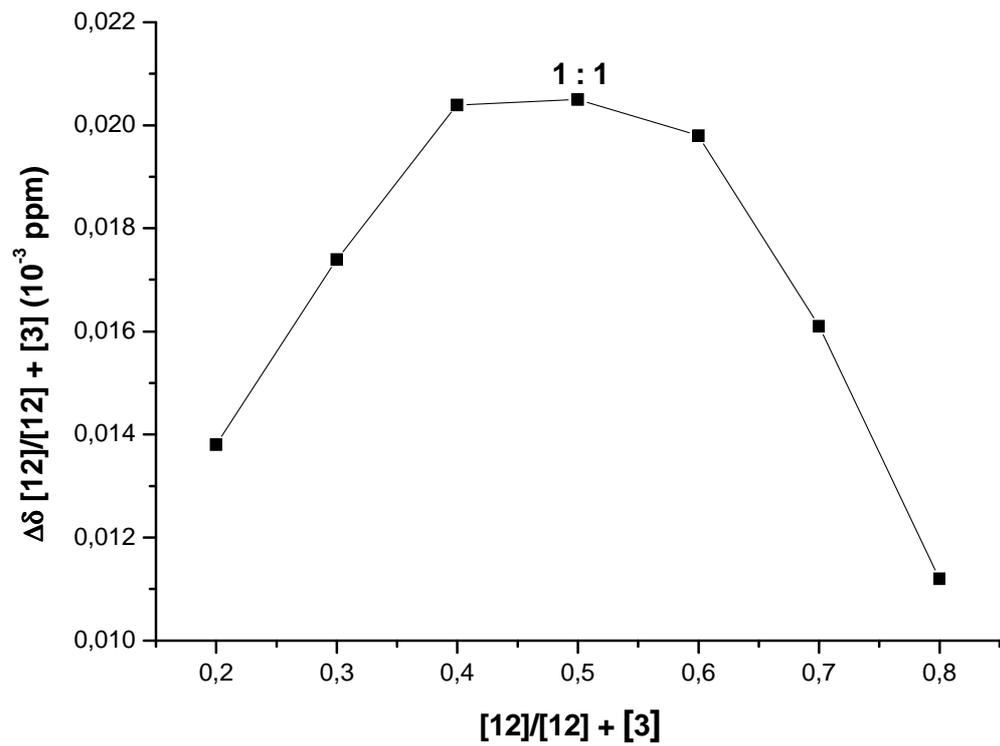


Figura 38 - Gráfico da titulação através do método de Job para o complexo 12/3.

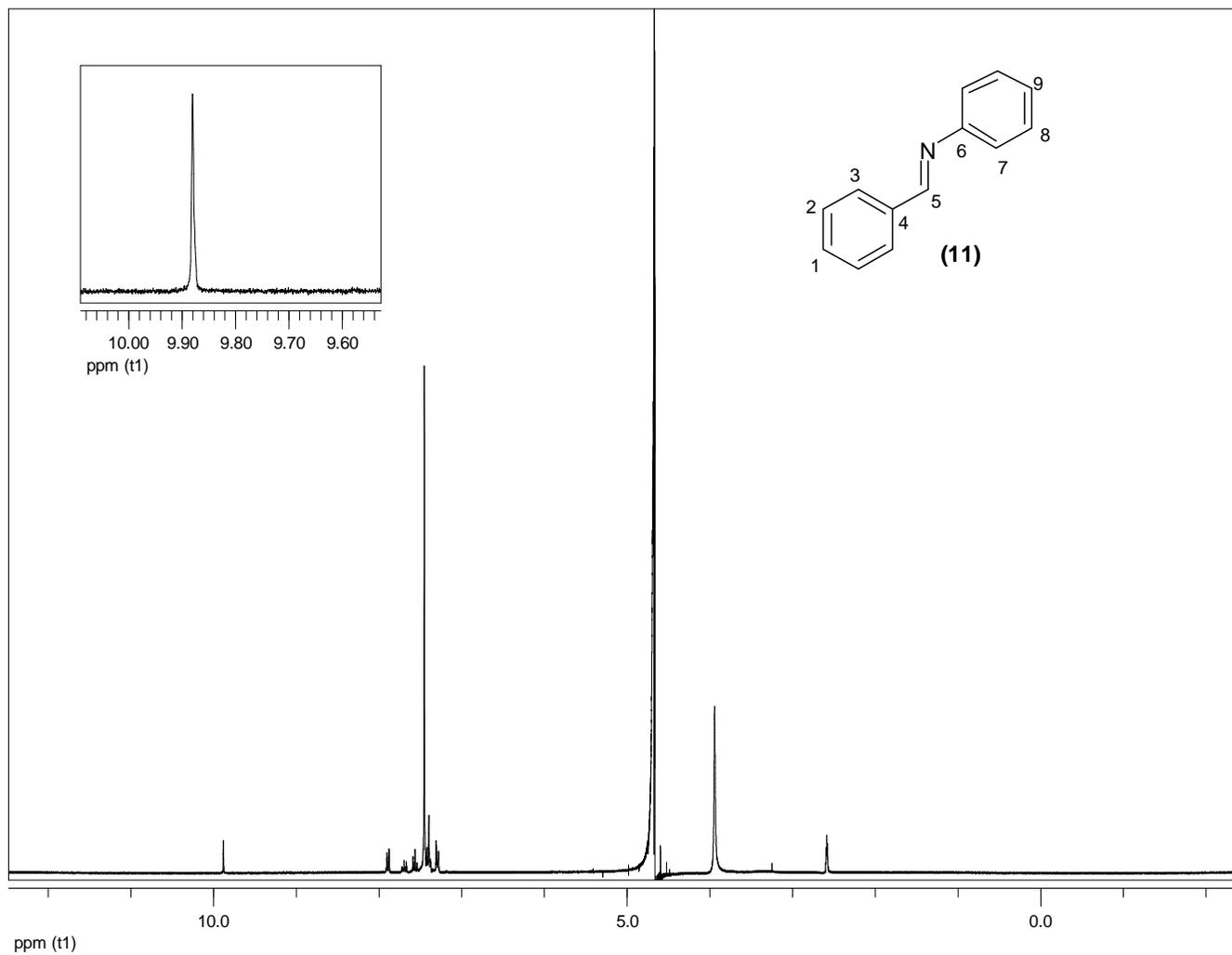


Figura 39 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, D_2O , $\delta_{\text{H}_2\text{O}}$ 4,67, 25 °C; 5 mmol L^{-1}), da aldimina **(11)**.

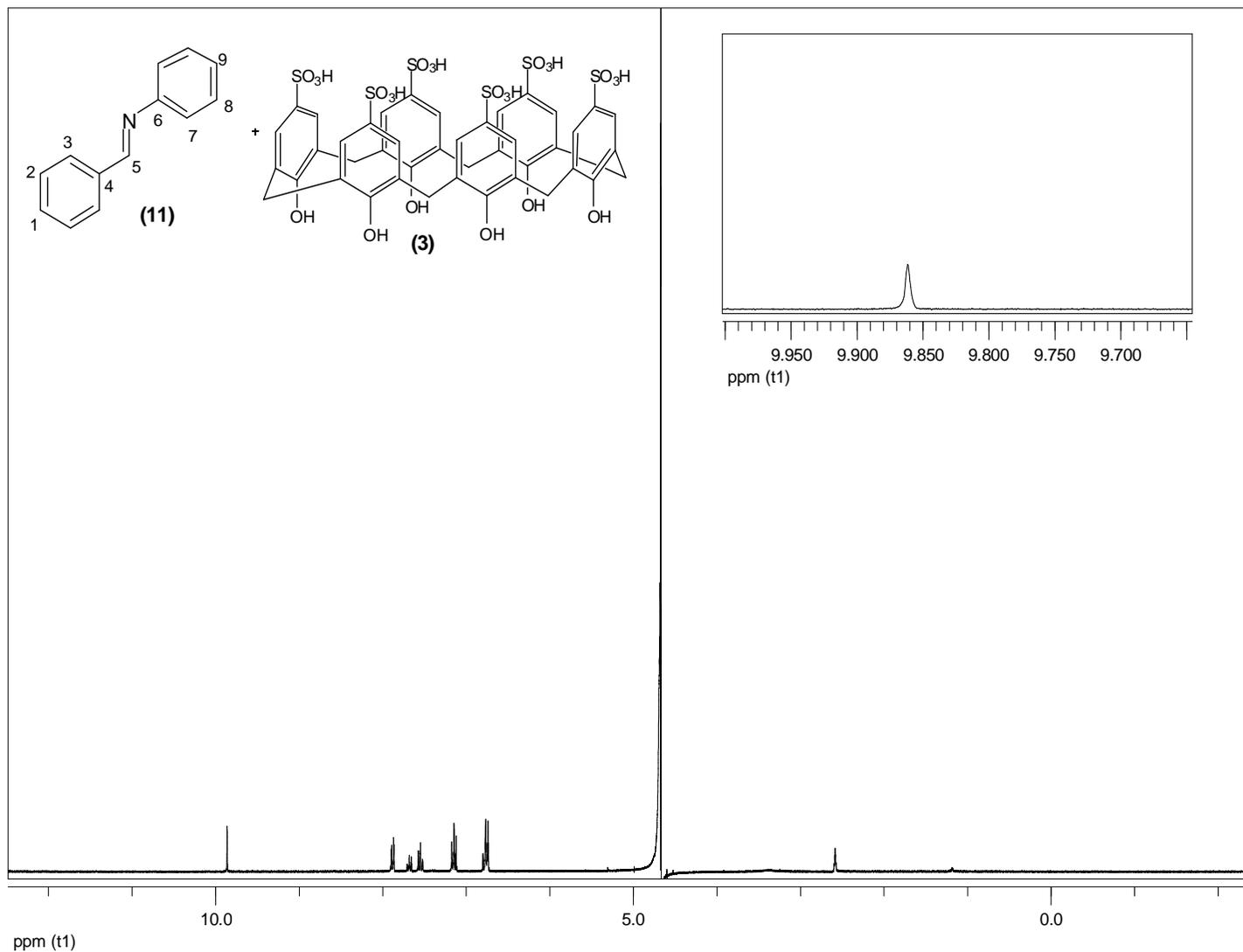


Figura 40 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, D_2O , δ_{HDO} 4,67, 25 °C; 5 mmol L^{-1}), do complexo aldimina **11/3**.

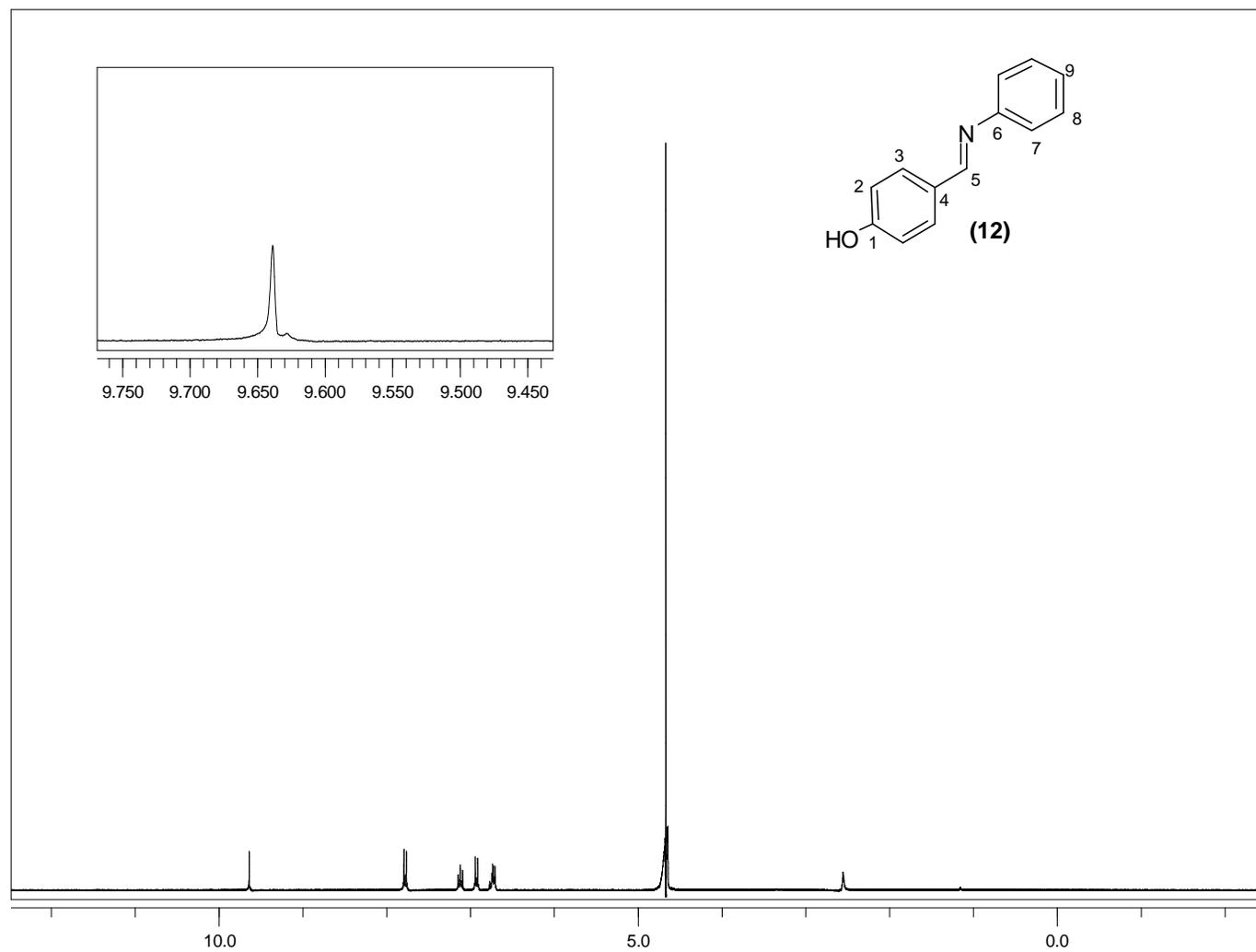


Figura 41 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, D_2O , δ_{HDO} 4,67, 25 °C; 5 mmol L^{-1}), da aldimina (12).

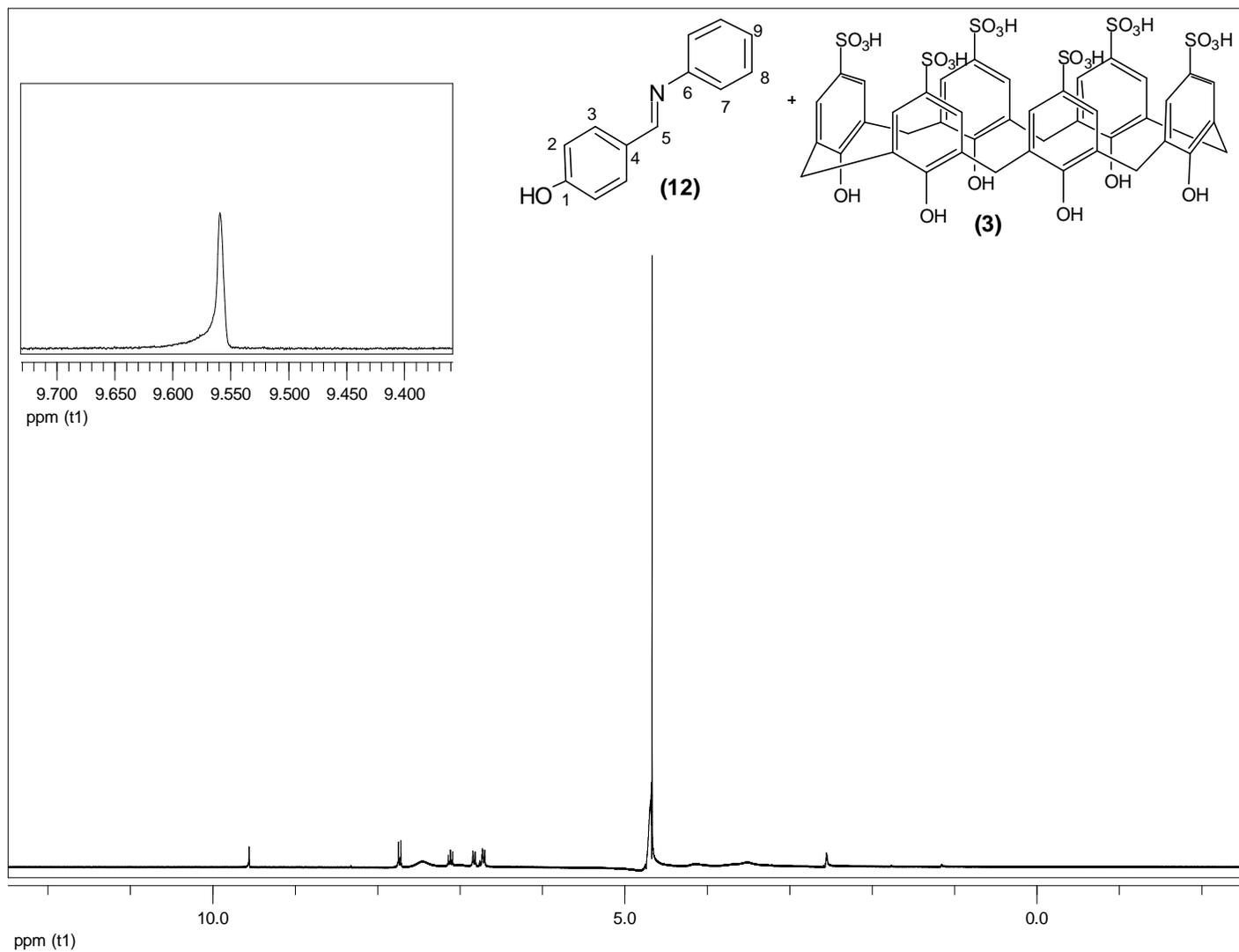


Figura 42: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, D_2O , $\delta_{\text{H}_2\text{O}}$ 4,67, 25 °C; 5 mmol L^{-1}), do complexo **12/3**.

5. Conclusão

O uso de técnicas de RMN de ^1H , tais como titulação, HR-DOSY e NOESY demonstraram excelentes resultados na determinação da estrutura, estequiometria, estabilidade e grau de encapsulamento em solução para os complexos estudados.

A caracterização do complexo de inclusão envolvendo a retronecina e o ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno revelou uma forte associação do grupo amino do alcalóide (**7**) e o grupo SO_3H de (**3**). A estequiometria do complexo também foi determinada sendo esta de 1:1. Os complexos de inclusão cloreto de prilocaínio/ ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno e cloreto de prilocaínio/ ácido *p*-sulfônicocalix[4]areno também tiveram suas estequiometrias determinadas, sendo elas de 2:3 e 1:1, respectivamente. Experimentos de NOESY do complexo cloreto de prilocaínio/ ácido *p*-sulfônicocalix[4]areno foram conduzidos e observou-se incrementos de nOe entre os hidrogênios H-5' e H-7' de (**12**) e os hidrogênios H-3 de (**6**).

A alta hidrofobicidade da aldimina (**11**) pode ser a justificativa para as três estequiometrias encontradas (1:4, 2:3 e 4:1) do complexo de inclusão 11/3. O complexo envolvendo a aldimina (**12**) e o ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno (**3**) apresentou estequiometria de 1:1.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FITOTÓXICA DE COMPLEXOS DE INCLUSÃO COM ALDIMINAS

1. Introdução

A química de funções heteropolares insaturadas é bastante explorada (PATAI, 1970) e percebe-se na literatura que as iminas, em particular, apresentam um interesse especial, devido às numerosas aplicações práticas (ECHEVARRIA *et al.*, 1999, KOLL, 2003).

Atualmente tem crescido o interesse no estudo de compostos que apresentem ligações duplas carbono-nitrogênio, uma vez que estes são precursores de uma série de substâncias com atividades biológicas e intermediários úteis para a síntese de diversos compostos (BROWN *et al.*, 1991). Além disso, na literatura são descritos as atividades antibacteriana e antifúngica de aldiminas e seus derivados (CHOHAN, 2007, SHI *et al.*, 2006).

A demanda cada vez maior de alimentos, fibras e energia, para uma população crescente de consumidores, requer aumento de área cultivada ou de produtividade. Em ambos os casos, um dos entraves é o manejo inadequado das plantas daninhas. O elevado custo de mão-de-obra no campo tem obrigado os produtores a optarem por tecnologias que favoreçam a redução dos custos de produção. Nesse aspecto, a alta eficiência e, principalmente, a economicidade do controle químico das plantas daninhas tornaram o uso de herbicida uma prática indispensável (SILVA & SILVA, 2007).

No entanto, a pressão seletiva imposta pela aplicação contínua de produtos, com o mesmo mecanismo de ação, tem favorecido o surgimento de plantas daninhas resistentes às formulações comerciais existentes. Como consequência, novas substâncias são necessárias para efetivo controle delas, oferecendo maior segurança, seletividade, biodegradabilidade, viabilidade econômica e aplicabilidade em programas integrados de controle de plantas daninhas com baixo impacto ambiental (DIAS *et al.*, 2009).

As aldiminas **11-14** apresentam em sua estrutura um grupo imina conjugado a um anel aromático, susceptível ao ataque de nucleófilos. Segundo MACÍAS *et al.*, (2004), a presença de grupos que podem reagir com nucleófilos é um dos fatores relacionados à atividade fitotóxica de alguns compostos

como, por exemplo, os germacranolídeos, annuiononas, entre outros (BARBOSA *et al.*, 2008). Com base nesses fatos, objetivou-se avaliar a atividade fitotóxica dos compostos **11-14** em diferentes formulações.

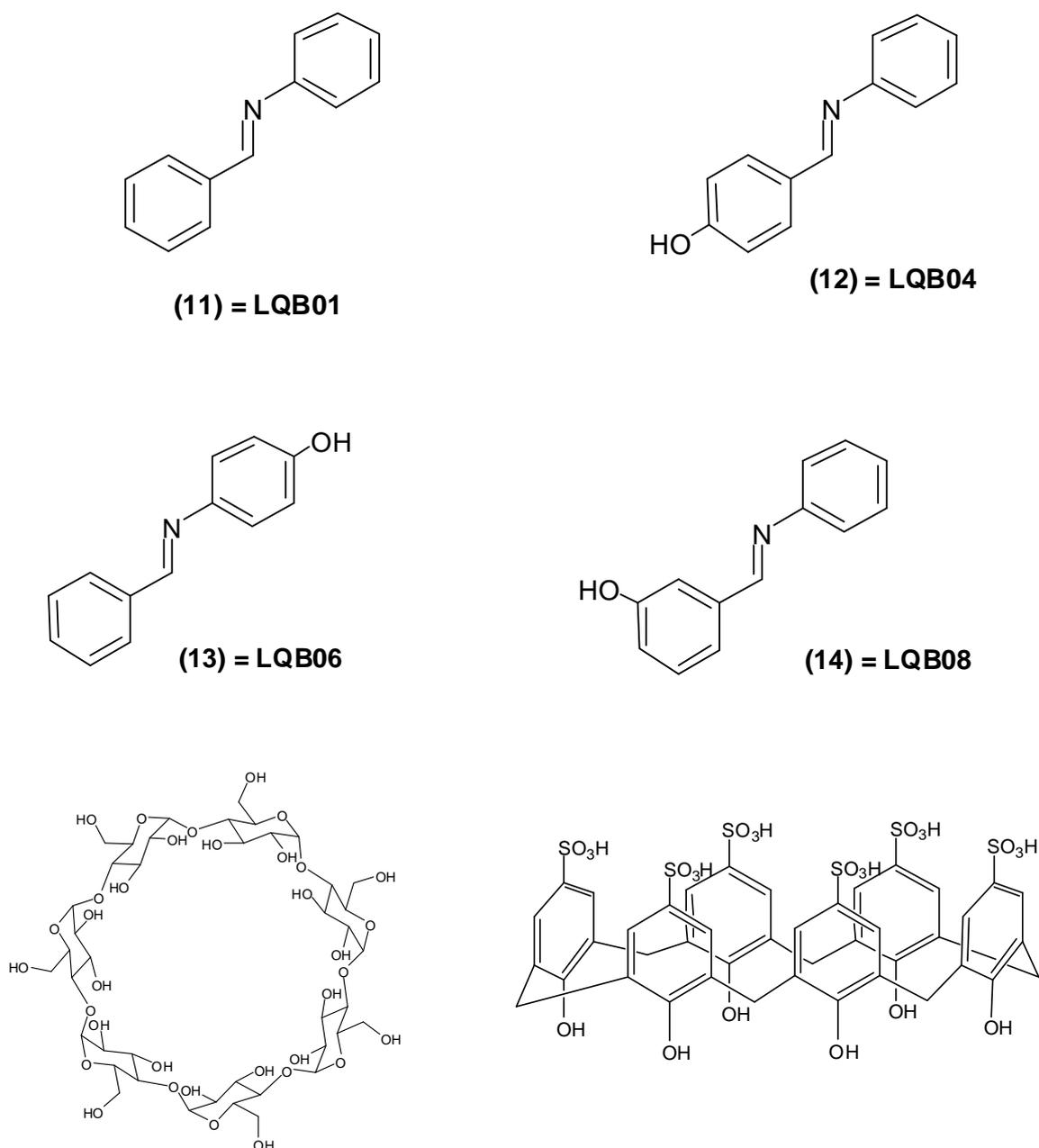


Figura 1. Moléculas utilizadas nos bioensaios.

2. Material e métodos

Avaliou-se a possível atividade fitotóxica dos compostos **11-14**, solubilizados ou encapsulados, sobre o alongamento inicial da radícula e sobre o ganho de biomassa em plântulas de pepino (*Cucumis sativus*) e sorgo (*Sorghum bicolor*). A formulação utilizada para solubilização dos compostos, bem como os encapsuladores, conforme descrito adiante, também foi avaliada sobre as plantas estudadas.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Herbicida na Planta do Departamento de Fitotecnia (DFT) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, no período de abril a junho de 2009.

2.1. Preparo das Formulações

Foram utilizadas três formulações para solubilizar os compostos **11-14**. Uma delas consistiu da dissolução de quantidades apropriadas de cada aldimina em Tween 80 (254 µL), pentan-3-ona (84 µL) e xilol (168 µL) (DIAS *et al.*, 2009). Em seguida, os volumes foram completados para 175 mL com água destilada para obtenção de soluções com concentração final de $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, que foram mantidas em agitação por 4 dias em mesa agitadora orbital. A formulação de Tween 80 (0,15%), pentan-3-ona (0,05%) e xilol (0,01%) (**TPX**), isenta de aldiminas, também foi avaliada quanto ao seu possível efeito sobre as plantas.

Outras duas formulações consistiram do encapsulamento dos compostos **11-14** com ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno ou β -ciclodextrina, em razão molar 1:1. Soluções de ácido *p*-sulfônicocalix[6]areno e de β -ciclodextrina $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ também foram avaliadas quanto ao seu possível efeito sobre as plantas.

2.2. Condução dos Experimentos

2.2.1. Germinação das Sementes

As sementes foram acondicionadas em cartuchos de papel absorvente embebidos com água destilada e mantidas em câmara escura para germinação, com umidade relativa saturada e temperatura de 28 ± 1 °C, por 24 horas. Após este período, sementes com radículas emergentes de tamanhos homogêneos foram utilizadas para montagem dos experimentos em placas de Petri e casa de vegetação.

2.2.2. Avaliação do Crescimento Radicular em Placa de Petri

Placas de Petri (9 cm de diâmetro por 3 cm de altura) foram preenchidas com areia lavada com HCl e embebida com água destilada ou com $0,125 \text{ ml g}^{-1}$ das formulações descritas anteriormente. Sete sementes germinadas de sorgo ou pepino foram acondicionadas em cada placa. As placas foram seladas com Parafilm® e encubadas à temperatura de 28 ± 1 °C. Os comprimentos das radículas foram medidos após 24 e 48 horas.

2.2.3. Avaliação do Ganho de Biomassa em Casa de Vegetação

Potes plásticos (120 mL) foram preenchidos com areia lavada com HCl e embebida com água destilada ou com $0,125 \text{ ml g}^{-1}$ das formulações descritas anteriormente. Quatro sementes germinadas de sorgo ou pepino foram acondicionadas em cada pote. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação por 17 dias, irrigadas com água, sempre que necessário, e com solução nutritiva uma vez por semana. Após este período, as plântulas foram coletadas e os sistemas radiculares e partes aéreas separados, secos em estufa de ventilação forçada a 60 °C, até peso constante.

2.2.4. Análises Estatísticas

Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. As médias foram comparadas pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade, utilizando o programa de computação GENES (versão 2007.0.0), do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa.

3. Resultados e discussão

Observa-se nas Tabelas 1 e 2 (ANEXO, pág. 93 e 94) que a formulação constituída de Tween 80 (0,15%), pentan-3-ona (0,05%) e xilol (0,01%) (**TPX**) e o ácido *p*-sulfônico-calix[6]areno (**SO₃HCX[6]**) promoveram um menor crescimento inicial da radícula de sorgo em relação ao controle.

Após a exposição por 17 dias (Tabelas 3 e 4, ANEXO, pág. 95 e 96, Gráficos 1, 2, 3, 4, 5 e 6), observa-se que estas formulações reduziram o ganho de biomassa das partes aéreas de sorgo (-24% para o TPX e -11% para o **SO₃HCX[6]**), porém promoveram um incremento no crescimento do sistema radicular (63% para o TPX e 73% para o **SO₃HCX[6]**). O tratamento com a β -ciclodextrina (**β -CD**) não alterou significativamente o crescimento inicial da radícula (Tabelas 1 e 2) e do sistema radicular de plântulas de sorgo (Tabela 4, ANEXO, pág. 96), no entanto, reduziu o crescimento da parte aérea (-16%) (Tabela 3, ANEXO, pág. 95 e Gráficos 1, 2, 3, 4, 5 e 6). A Figura 2 mostra um aspecto geral de plântulas de sorgo cultivadas na presença de **TPX** e encapsuladores.



Figura 2. Aspecto geral de plântulas de sorgo cultivadas 17 dias na presença de TPX e encapsuladores.

Embora as formulações **TPX**, **SO₃H CX[6]** e **β-CD** não tenham influenciado o crescimento inicial das radículas de pepino (Tabela 5 e 6, ANEXO, pág. 97 e 98), após a exposição por 17 dias os crescimentos dos sistemas radiculares e das partes aéreas de pepino foram fortemente reduzidos por estas formulações (Tabelas 7 e 8, ANEXO, pág. 99 e 100). Destaca-se o forte efeito do **TPX** (-70%) e do **SO₃H CX[6]** (-85%) sobre o sistema radicular e do **SO₃H CX[6]** (-42%) sobre a parte aérea.

A formulação **TPX** foi utilizada neste trabalho para a solubilização dos compostos **11-14**. Entretanto, os resultados demonstram que esta formulação apresentou efeito sobre o crescimento das plantas testadas, indicando que formulações mais adequadas necessitam ser elaboradas e testadas para o tipo de ensaio utilizado.

Uma alternativa para o carreamento de moléculas bioativas é o encapsulamento com macrociclos, como as ciclodextrinas e calixarenos (de FATIMA *et al.*, 2009). No entanto, os resultados demonstraram que o **SO₃H CX[6]** e a **β-CD** também apresentaram efeito sobre o crescimento das plantas. FAI *et al.* (2009) observaram que a hidroxipropil-β-ciclodextrina inibiu o crescimento da alga *Selenastrum capricornutum*, quando aplicada em concentrações maiores ou igual a $3 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. A toxicidade de

ciclodextrinas naturais e derivados está relacionada com a complexação de componentes de membrana, como os fosfolípidos, resultando na destruição da membrana celular e levando assim a citotoxicidade (LECHAT *et al.*, 1994).

Além de possíveis efeitos no interior da planta, as reduções de crescimento promovidas pelo **SO₃H CX[6]**, podem estar associadas ao “sequestro” de nutrientes da solução do solo, tornando-os menos disponíveis para a planta. Todavia, percebe-se na literatura uma escassez de estudos sistemáticos referentes à atividade fitotóxica dessa classe de moléculas. Portanto, a utilização destas substâncias em preparações para aplicação em plantas necessita de estudos mais aprofundados.

Com relação às formulações contendo **TPX** mais os compostos **11-14**, observa-se que os crescimentos iniciais das radículas de sorgo apresentaram valores semelhantes às plantas tratadas ou com água ou com **TPX**. Após 17 dias de cultivo (Tabelas 3 e 4, ANEXO, pag. 95 e 96), as formulações **(12)/TPX** e **(13)/TPX** promoveram redução no crescimento da parte aérea de sorgo (-39% e -34%, respectivamente) (Gráficos 2 e 3, respectivamente), e somente a formulação **(12)/TPX** inibiu o crescimento do sistema radicular (-13%) (Gráfico 6).

Para plantas de pepino, a adição dos compostos **(12)**, **(13)** e **(14)** à formulação **TPX** causou a redução do crescimento inicial das radículas (Tabelas 5 e 6). Inibição significativa também foi causada pelas formulações **(13)/TPX** (-38%) e **(14)/TPX** (-73%) para a parte aérea de pepino.

Os complexos de inclusão do composto **(13)**, tanto com o **SO₃H CX[6]** como com a **β -CD**, promoveram redução do crescimento inicial da radícula de sorgo nos tempos de 24 e 48 horas (Tabelas 1 e 2, ANEXO, pág. 93 e 94). Após os 17 dias de cultivo em casa de vegetação observa-se que, das formulações encapsuladas com o **SO₃H CX[6]**, somente a formulação **(12)/SO₃H CX[6]** não promoveu redução no ganho de biomassa da parte aérea de plântulas de sorgo (Tabela 3, ANEXO, pág. 95 e Gráfico 2). Já os complexos de todas as aldiminas com a **β -CD** causaram uma forte inibição na parte da parte aérea de plântulas de sorgo (Gráficos 1, 2, 3, e 4). A figura 3 ilustra os efeitos causados em plantas de sorgo após o tratamento com **(12)/ β -CD**.

Contrastando com esse fato, grande parte das formulações encapsuladas teve como efeito a indução do crescimento do sistema radicular de sorgo (Tabela 4, ANEXO, pág. 96).

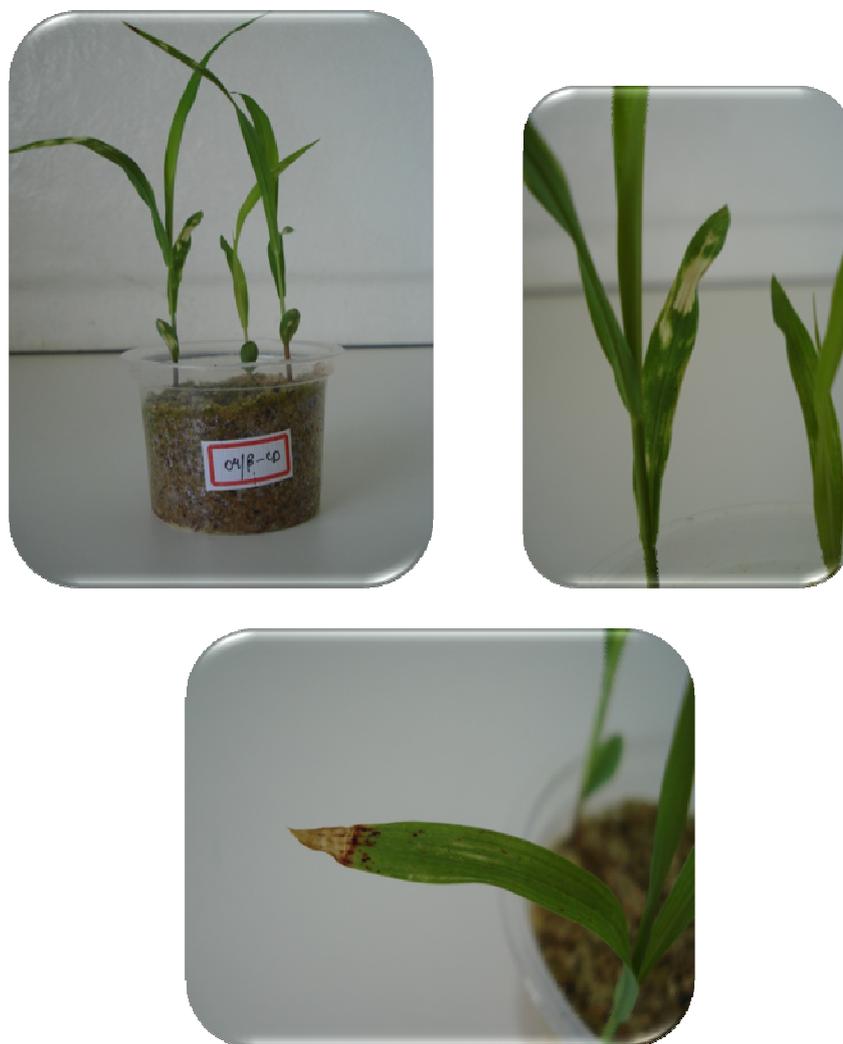
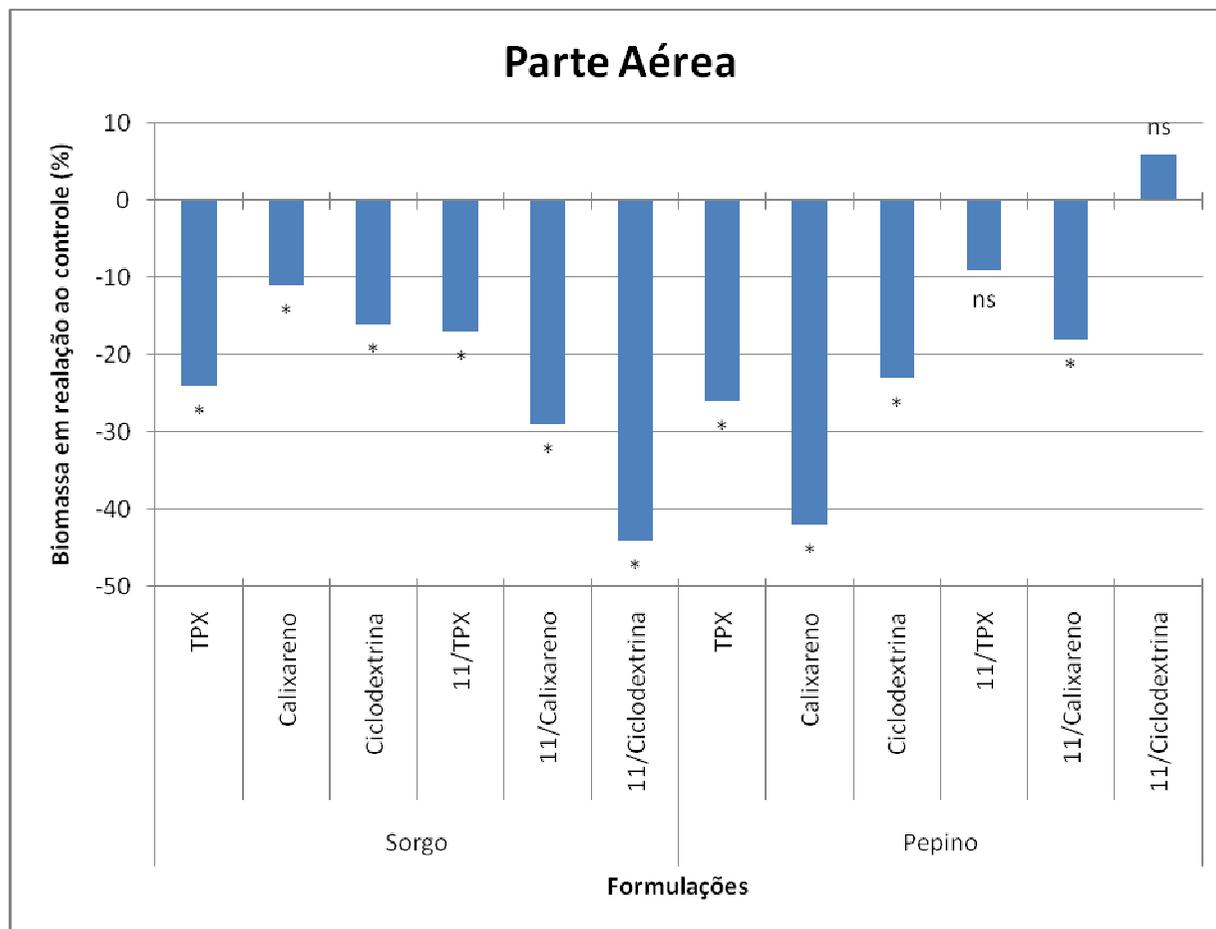


Figura 3. Lesões foliares em plântulas de sorgo cultivadas 17 dias na presença de **(12)/ β -CD**.

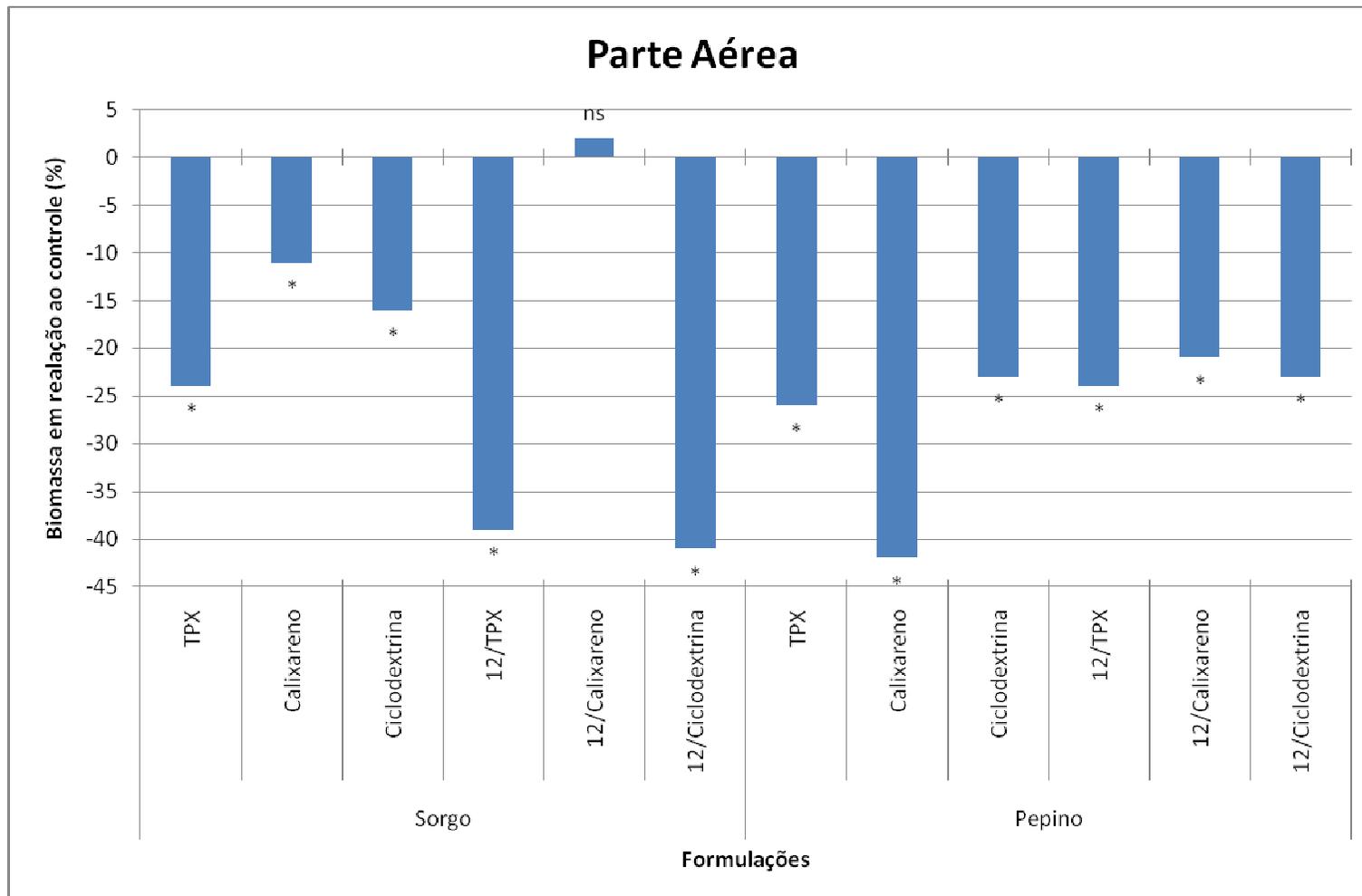
Sobre plântulas de pepino, verificou-se que, em curto prazo (48 horas), as formulações **(11)/SO₃HCX[6]**, **(13)/SO₃HCX[6]**, **(14)/SO₃HCX[6]**, **(11)/ β -CD**, foram as mais ativas, inibindo o alongamento da radícula em -29, -28, -21 e -26%, respectivamente (Tabela 6, ANEXO, pág. 98). Com relação ao ganho de biomassa do sistema radicular, verifica-se que, embora todas as formulações encapsuladas com o **SO₃HCX[6]** apresentem altos valores de inibição, nenhuma delas difere do próprio **SO₃HCX[6]**, que se mostrou ser o mais ativo (-85%) (Gráficos 5, 6, 7 e 8). O mesmo ocorre com as formulações

encapsuladas com a β -CD, exceto para a formulação **(13)/ β -CD** (-51%) (Gráfico 7). Para a parte aérea, observa-se que nenhuma formulação encapsulada foi ativa. É interessante ressaltar que em alguns casos, como o da formulação **(12)/SO₃H CX[6]**, o encapsulamento resulta em um menor efeito inibitório, em relação ao **SO₃H CX[6]**. Isto pode ser atribuído a formação de complexos estáveis com as aldiminas, fato que deve ser verificado com a realização de mais experimentos, como o de DOSY. Este fato pode acarretar numa disputa com alguns nutrientes presentes no solo pela cavidade hidrofóbica do calixareno, o que resulta numa diminuição do efeito inibitório do mesmo.



* diferem do branco (H₂O) pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Gráfico 1 – Ganho de biomassa da parte aérea de plântulas de sorgo e pepino após o tratamento com (11) em diferentes formulações.



* diferem do branco (H₂O) pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Gráfico 2 – Ganho de biomassa da parte aérea de plântulas de sorgo e pepino após o tratamento com **(12)** em diferentes formulações.

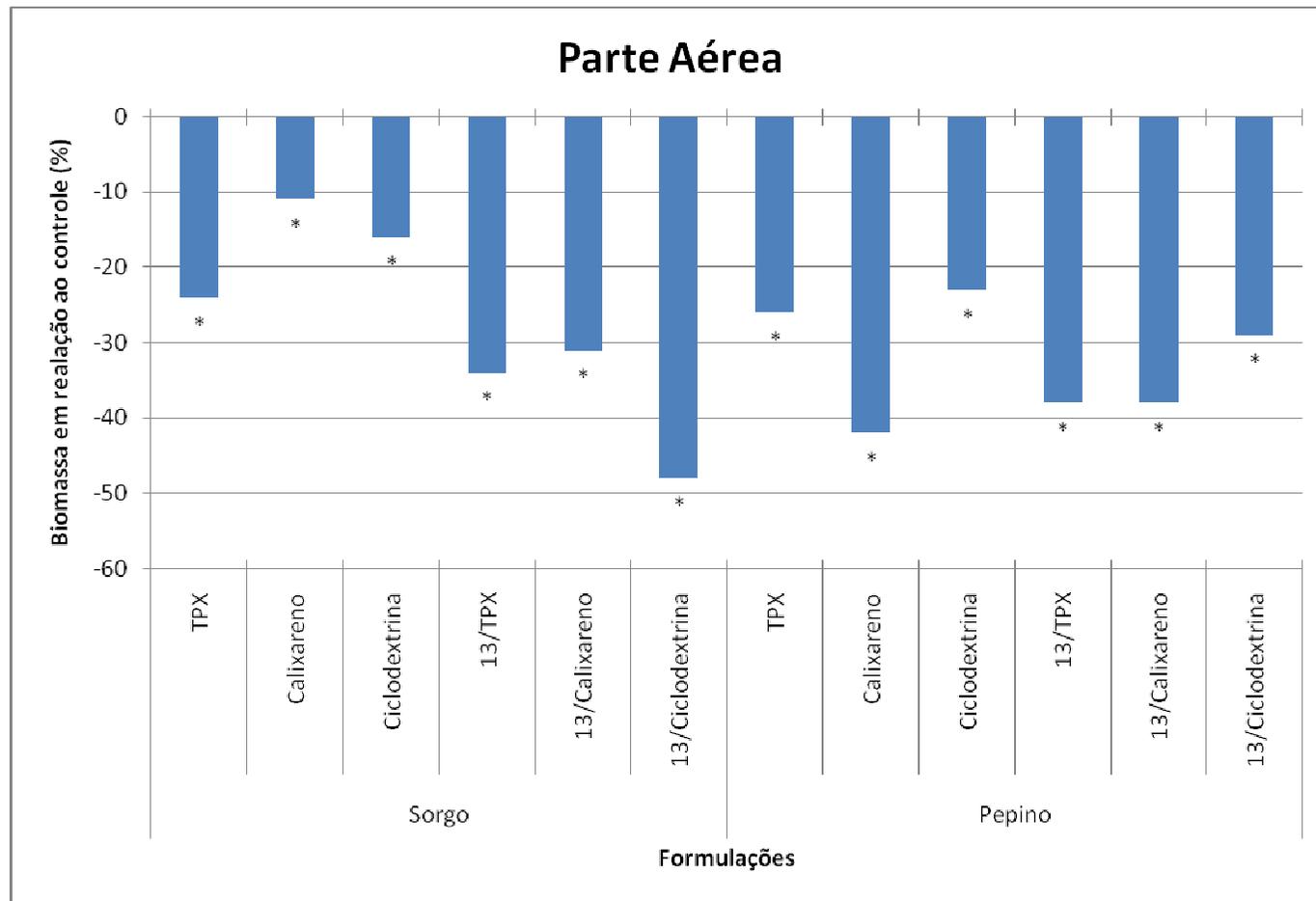
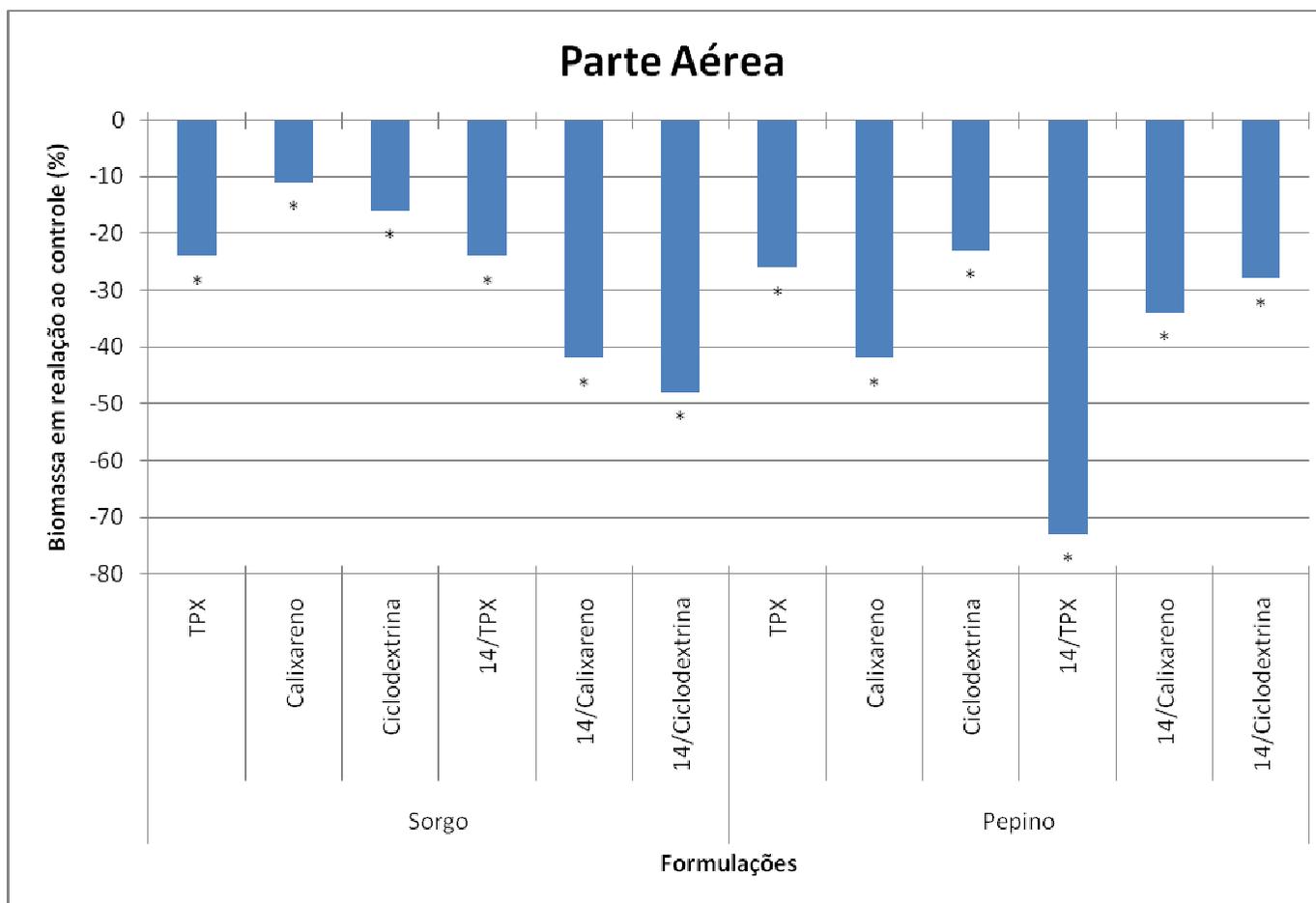
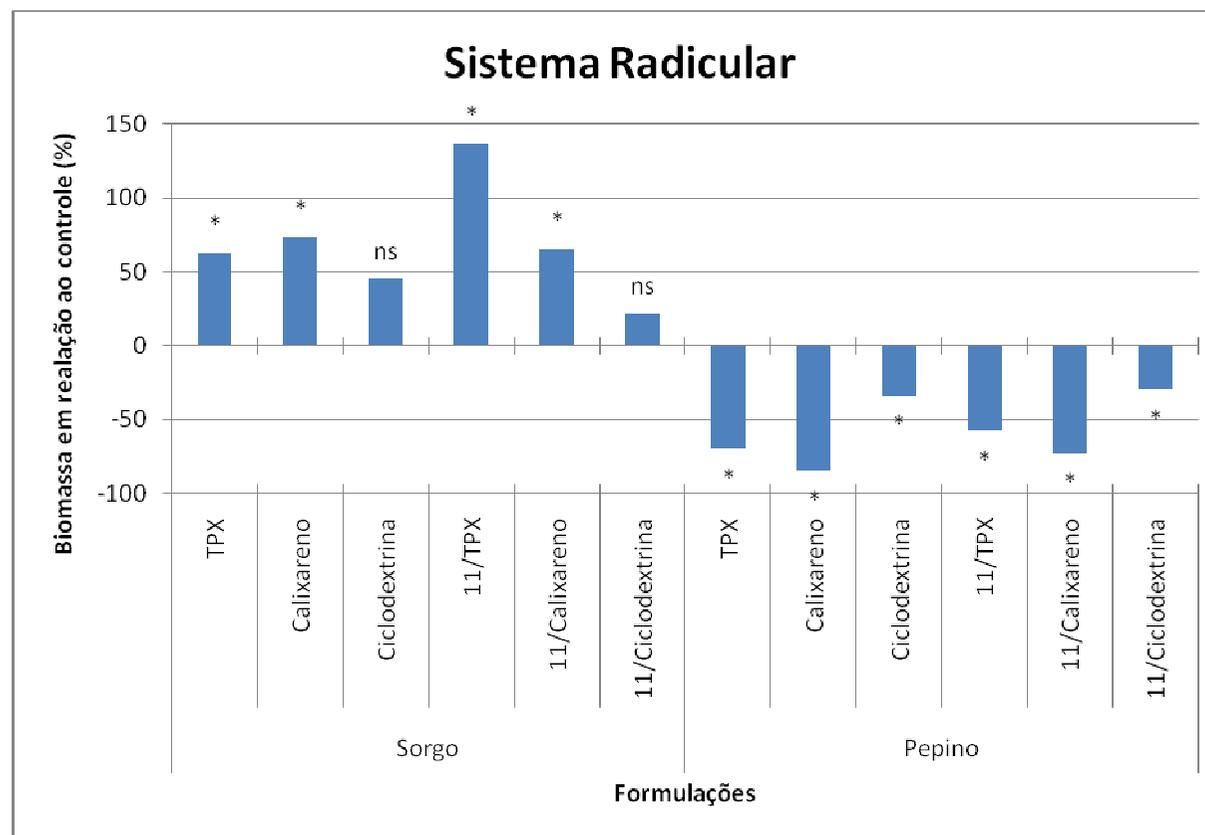


Gráfico 3 – Ganho de biomassa da parte aérea de plântulas de sorgo e pepino após o tratamento com **(13)** em diferentes formulações.



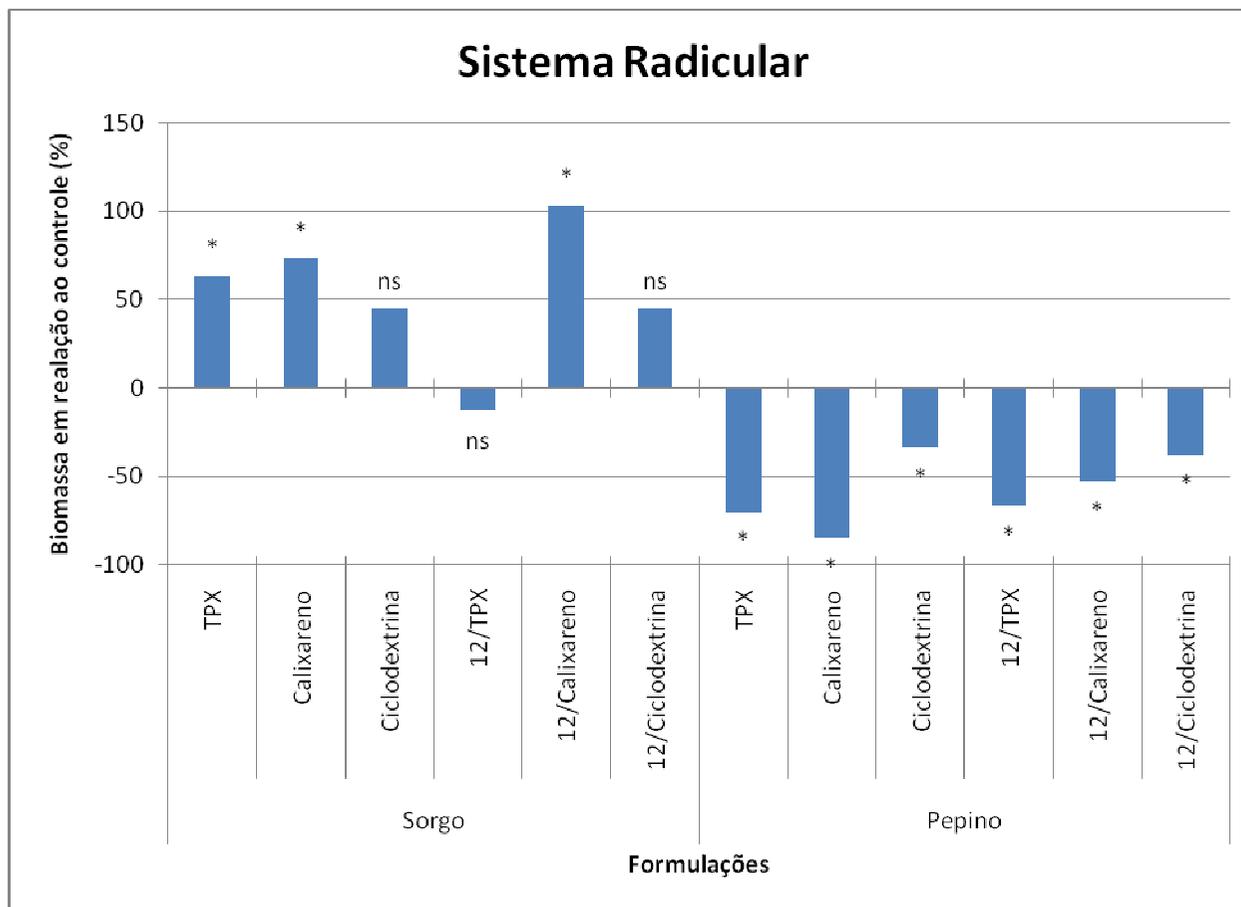
* diferem do branco (H₂O) pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Gráfico 4 – Ganho de biomassa da parte aérea de plântulas de sorgo e pepino após o tratamento com (14) em diferentes formulações.



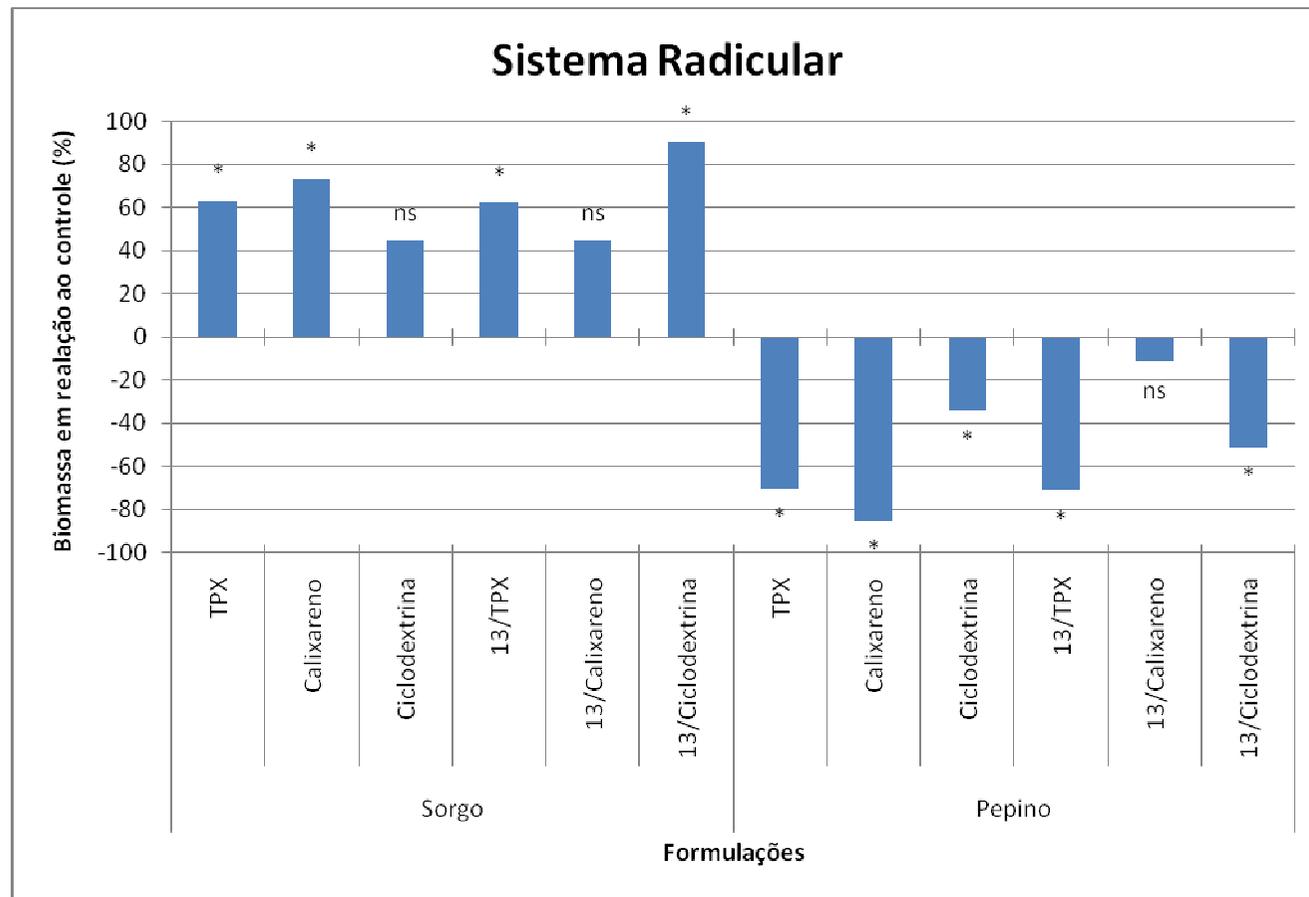
* diferem do branco (H₂O) pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Gráfico 5 – Ganho de biomassa do sistema radicular de plântulas de sorgo e pepino após o tratamento com **(11)** em diferentes formulações.



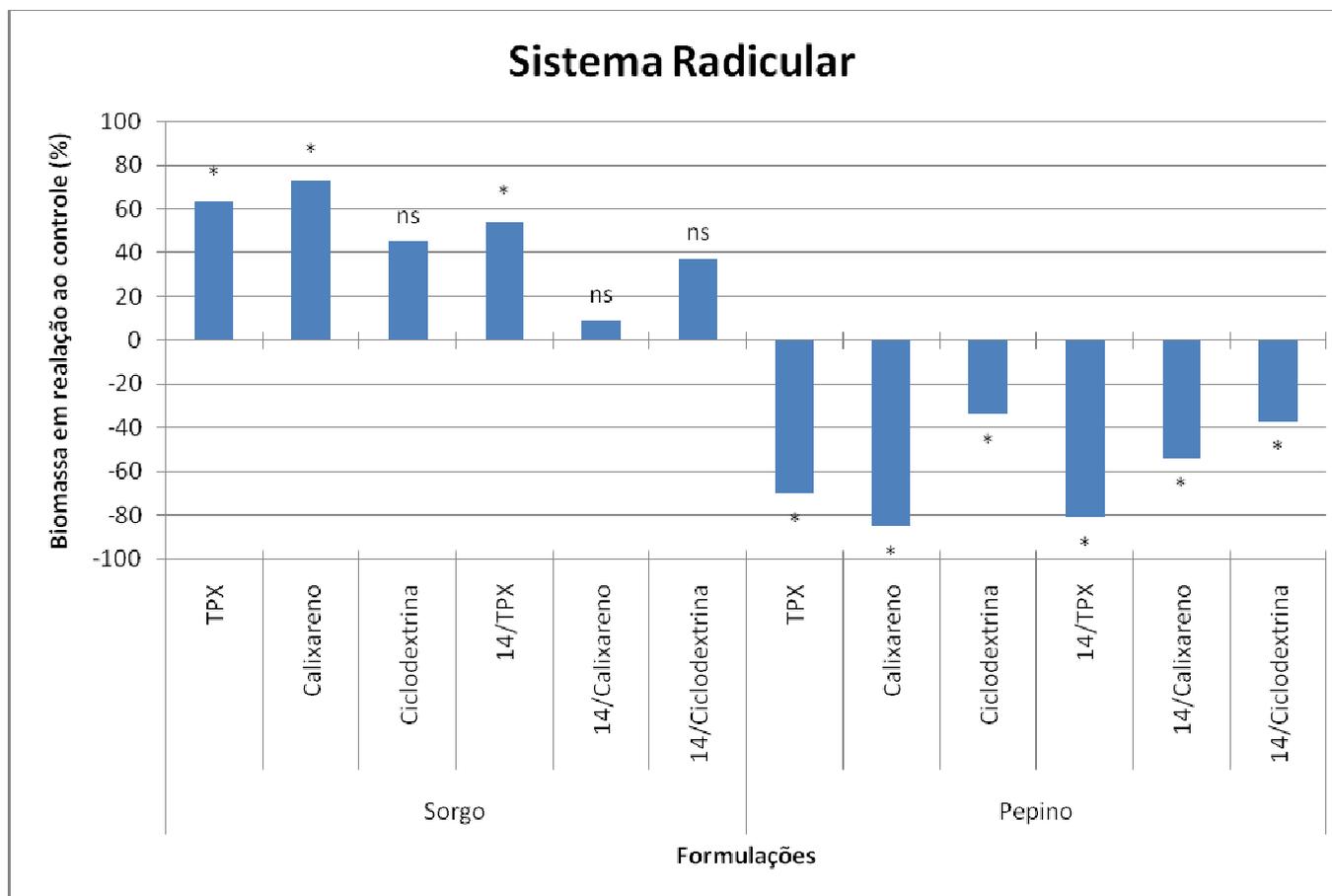
* diferem do branco (H₂O) pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Gráfico 6 – Ganho de biomassa do sistema radicular de plântulas de sorgo e pepino após o tratamento com **(12)** em diferentes formulações.



* diferem do branco (H₂O) pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Gráfico 7 – Ganho de biomassa do sistema radicular de plântulas de sorgo e pepino após o tratamento com **(13)** em diferentes formulações.



* diferem do branco (H₂O) pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Gráfico 8 – Ganho de biomassa do sistema radicular de plântulas de sorgo e pepino após o tratamento com **(14)** em diferentes formulações.

4. Conclusão

Os resultados dos ensaios biológicos mostraram que o efeito das aldiminas sobre o crescimento de sorgo e pepino depende da formulação utilizada, como por exemplo, as formulações **(12)/SO₃H CX[6]** e **(12)/β-CD** que apresentaram porcentagens de crescimento em relação a água de 2 e -41, respectivamente. Além disso, pode-se concluir que a formulação **TPX** (Tween 80 0,15%, pentan-3-ona 0,05% e xilol 0,01%) não se demonstrou adequada para a solubilização dos compostos [11-14]. As formulações **SO₃H CX[6]** e **β-CD** apresentaram atividade, sendo a do primeiro mais pronunciada.

As formulações envolvendo a **β-CD** apresentaram um efeito inibitório mais acentuado sobre a parte aérea de plântulas de sorgo do que aquelas envolvendo o **SO₃H CX[6]**. Já as formulações envolvendo o **SO₃H CX[6]** foram mais ativas sobre o sistema radicular de plântulas de pepino do que aquelas a **β-CD**.

Anexos

Tabela 1. Crescimento da radícula de plântulas de sorgo, 24 horas após aplicação dos compostos 11-14 em diferentes formulações

Tratamentos	Crescimento Radicular (cm) ¹	Crescimento em relação à água (%)
Água	1,93 a	-
TPX	1,49 b	-23
(11)/TPX	1,91 a	-1
(12)/TPX	1,7 a	-12
(13)/TPX	1,43 b	-26
(14)/TPX	1,98 a	3
SO ₃ HCX[6]	1,55 b	-20
(11)/SO ₃ HCX[6]	1,43 b	-26
(12)/SO ₃ HCX[6]	1,61 b	-17
(13)/SO ₃ HCX[6]	1,12 c	-42
(14)/SO ₃ HCX[6]	1,55 b	-20
β-CD	1,76 a	-9
(11)/β-CD	2,00 a	4
(12)/β-CD	1,17 c	-39
(13)/β-CD	1,07 c	-45
(14)/β-CD	1,85 a	-4
C.V. (%)	12	

¹ Médias seguidas por uma mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Crescimento da radícula de plântulas de sorgo, 48 horas após aplicação dos compostos 11-14 em diferentes formulações

Tratamentos	Crescimento Radicular (cm) ¹	Crescimento em relação à água (%)
Água	5,43 a	-
TPX	4,31 b	-21
(11)/TPX	5,5 a	1
(12)/TPX	4,24 b	-22
(13)/TPX	4,46 b	-18
(14)/TPX	5,68 a	5
SO ₃ HGX[6]	4,81 b	-11
(11)/SO ₃ HGX[6]	4,34 b	-20
(12)/SO ₃ HGX[6]	4,49 b	-17
(13)/SO ₃ HGX[6]	3,22 c	-41
(14)/SO ₃ HGX[6]	4,24 b	-22
β-CD	5,83 a	7
(11)/β-CD	5,03 a	-7
(12)/β-CD	2,41 d	-56
(13)/β-CD	4,82 b	-11
(14)/β-CD	5,61 a	3
C.V. (%)	10	

¹ Médias seguidas por uma mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Ganho de biomassa da parte aérea de plântulas de sorgo, cultivadas 17 dias na presença dos compostos **11-14** em diferentes formulações

Tratamentos	Biomassa (mg) ¹	Crescimento em relação à água (%)
Água	34,3 a	-
TPX	26,1 b	-24
(11)/TPX	28,43 b	-17
(12)/TPX	20,93 d	-39
(13)/TPX	22,63 c	-34
(14)/TPX	26,0 b	-24
SO ₃ HGX[6]	30,56 b	-11
(11)/SO ₃ HGX[6]	24,2 c	-29
(12)/SO ₃ HGX[6]	34,96 a	2
(13)/SO ₃ HGX[6]	23,63 c	-31
(14)/SO ₃ HGX[6]	20 d	-42
β-CD	28,96 b	-16
(11)/β-CD	19,16 d	-44
(12)/β-CD	20,4 d	-41
(13)/β-CD	17,9 d	-48
(14)/β-CD	17,76 d	-48
C.V. (%)	10,44	

¹ Médias seguidas por uma mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Ganho de biomassa do sistema radicular de plântulas de sorgo, cultivadas 17 dias na presença dos compostos **11-14** em diferentes formulações

Tratamentos	Biomassa (mg) ¹	Crescimento em relação à água (%)
Água	13,16 c	-
TPX	21,4 b	63
(11)/TPX	31,2 a	137
(12)/TPX	11,4 c	-13
(13)/TPX	21,26 b	62
(14)/TPX	20,3 b	54
SO ₃ HGX[6]	22,8 b	73
(11)/SO ₃ HGX[6]	21,73 b	65
(12)/SO ₃ HGX[6]	26,73 a	103
(13)/SO ₃ HGX[6]	19,1 c	45
(14)/SO ₃ HGX[6]	14,36 c	9
β-CD	19 c	45
(11)/β-CD	16,1 c	22
(12)/β-CD	19,03 c	45
(13)/β-CD	25,03 a	90
(14)/β-CD	18 c	37
C.V. (%)	20	

¹ Médias seguidas por uma mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 5. Crescimento da radícula de plântulas de pepino, 24 horas após aplicação dos compostos 11-14 em diferentes formulações

Tratamentos	Crescimento Radicular (cm) ¹	Crescimento em relação à água (%)
Água	2,82 a	-
TPX	2,44 b	-13
(11)/TPX	2,06 c	-27
(12)/TPX	2,41 b	-15
(13)/TPX	2,05 c	-27
(14)/TPX	1,78 c	-37
SO ₃ HGX[6]	2,39 b	-15
(11)/SO ₃ HGX[6]	1,92 c	-32
(12)/SO ₃ HGX[6]	2,22 b	-21
(12)/SO ₃ HGX[6]	1,76 c	-38
(13)/SO ₃ HGX[6]	2,19 b	-22
β-CD	2,15 b	-24
(11)/β-CD	1,85 c	-34
(12)/β-CD	2,26 b	-20
(13)/β-CD	2,19 b	-22
(14)/β-CD	2,15 b	-24
C.V. (%)	10	

¹ Médias seguidas por uma mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 6. Crescimento da radícula de plântulas de pepino, 48 horas após aplicação dos compostos 11-14 em diferentes formulações

Tratamentos	Crescimento Radicular (cm) ¹	Crescimento em relação à água (%)
Água	5,82 a	-
TPX	4,84 a	-17
(11)/TPX	4,01 b	-31
(12)/TPX	4,74 a	-19
(13)/TPX	4,78 a	-18
(14)/TPX	3,45 b	-41
SO ₃ HGX[6]	5,70 a	-2
(11)/SO ₃ HGX[6]	4,13 b	-29
(12)/SO ₃ HGX[6]	5,23 a	-10
(13)/SO ₃ HGX[6]	4,17 b	-28
(14)/SO ₃ HGX[6]	4,57 b	-21
β-CD	4,88 a	-16
(11)/β-CD	4,33 b	-26
(12)/β-CD	5,28 a	-9
(13)/β-CD	5,18 a	-11
(14)/β-CD	4,98 a	-14
C.V. (%)	12	

¹ Médias seguidas por uma mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 7. Ganho de biomassa da parte aérea de plântulas de pepino, cultivadas 17 dias na presença dos compostos 11-14 em diferentes formulações

Tratamentos	Biomassa (mg) ¹	Crescimento em relação à água (%)
Água	38,03 a	-
TPX	28,03 b	-26
(11)/TPX	34,66 a	-9
(12)/TPX	29,03 b	-24
(13)/TPX	23,6 c	-38
(14)/TPX	10,26 c	-73
SO ₃ HGX[6]	22,16 c	-42
(11)/SO ₃ HGX[6]	31,36 b	-18
(12)/SO ₃ HGX[6]	30,06 b	-21
(13)/SO ₃ HGX[6]	23,6 c	-38
(14)/SO ₃ HGX[6]	25,1 c	-34
β-CD	29,4 b	-23
(11)/β-CD	40,4 a	6
(12)/β-CD	29,2 b	-23
(13)/β-CD	27 b	-29
(14)/β-CD	27,46 b	-28
C.V. (%)	19,3	

¹ Médias seguidas por uma mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 8. Ganho de biomassa do sistema radicular de plântulas de pepino, cultivadas 17 dias na presença dos compostos **11-14** em diferentes formulações

Tratamentos	Biomassa (mg) ¹	Crescimento em relação à água (%)
Água	26,2 a	-
TPX	7,76 c	-70
(11)/TPX	10,93 c	-58
(12)/TPX	8,53 c	-67
(13)/TPX	7,6 c	-71
(14)/TPX	5,06 c	-81
SO ₃ HGX[6]	3,76 c	-85
(11)/SO ₃ HGX[6]	7,03 c	-73
(12)/SO ₃ HGX[6]	12,43 c	-53
(13)/SO ₃ HGX[6]	23,2 a	-11
(14)/SO ₃ HGX[6]	12,13 c	-54
β-CD	17,3 b	-34
(11)/β-CD	18,26 b	-30
(12)/β-CD	16,23 b	-38
(13)/β-CD	12,83 c	-51
(14)/β-CD	16,6 b	-37
C.V. (%)	33,7	

¹ Médias seguidas por uma mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Referências Bibliográficas

ANDERTON, N., GOSPER, J. J., MAY, C.; The inclusion of pyrrolizidine alkaloids by alpha-cyclodextrins and beta-cyclodextrins, **Aust. J. Chem.**, v. 47, p. 853-857, 1994.

ANSLYN, E. V., DOUGHERTY, D. A.; **Modern Physical Organic Chemistry**, University Science Books , 2006.

ATWOOD, J. L., BARBOUR, L. J., HARDIE, M. J., RASTON, C. L.; Metal sulfonatocalix[4,5]arene complexes: bi-layers, capsules, spheres, tubular arrays and beyond, **Coord. Chem. Rev.**, v. 222, p. 3-32, 2001.

BARBOSA, L. C. A.; TEIXEIRA, R. R.; MONTANARI, R. M.; Phytotoxic natural products as models for the development of crop protection agents. In: Francesco Epifano. (Org.). **Current Trends in Phytochemistry**. Kerala: Research Signpost, p. 22-59, 2008.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 189p.

BOHMER, V. Calixarenes, Macrocycles with (Almost) Unlimited Possibilities, **Angew. Chem. Int. Ed. Engl.**, v. 34, p. 713-745, 1995.

BROWN, A. D.; COLVIN, E. W., Stereoselective synthesis of β -lactams, **Tetrahedron Lett.**, v. 32, p. 5187-5190, 1991.

BUXTON, I. L.; em Goodman & Gilman, **The Pharmacological Basis of Therapeutic**, McGraw Hill, 2005.

CHOHAN, Z. H., Metal-based sulfonamides: Their preparation, characterization and in-vitro antibacterial, antifungal & cytotoxic properties. X-ray structure of 4-[(2-

hydroxybenzylidene) amino]benzenesulfonamide, **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 23, p. 120-130, 2008.

CRAG, P. J.; **A practical guide to supramolecular chemistry**. John Wiley & Sons, 2005.

DALGARNO, S. J., ATWOOD, J. L., RASTON, C. L.; Sulfonatocalixarenes: molecular capsule and 'Russian doll' arrays to structures mimicking viral geometry, **Chem. Commun.**, v. 44, p. 4567–4574, 2006.

de SOUZA, A. A., LAVERDE JR, A.; Aplicação da espectroscopia de ressonância magnética nuclear para estudos de difusão molecular em líquidos: A técnica DOSY, **Química Nova**, v. 25, p. 1022-1026, 2002.

de SOUZA, A. A., MARSAIOLI, A. J., FERREIRA, A. G., LAVERDE Jr., A., FUJIWARA, F. Y., FIGUEIREDO, I. M., VIZZOTTO, L., FERNANDES, S. A.; **Difusão Molecular por RMN - Fundamentos e Aplicações da Ressonância Magnética Nuclear**, Associação de Usuários de Ressonância Magnética Nuclear Editora, 2008.

DIAS, L. C.; DEMUNER, A. J.; VALENTE, V. M. M.; BARBOSA, L. C. A.; MARTINS, F. T.; DORIGUETTO, A. C.; ELLENA, J., Preparation of Achiral and Chiral (*E*)-Enaminopyran-2,4-diones and Their Phytotoxic Activity, **J. Agric. Food Chem.**, v. 57, p. 1399-1405, 2009.

ECHEVARRIA, A.; NASCIMENTO, M.G.; GERÔNIMO, V.; MILLER, J.; GIESBRECHT, A., NMR Spectroscopy, Hammett Correlations and Biological Activity of Some Schiff Bases Derived from Piperonal, **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 10, p. 60-64, 1999.

FAI, P. B.; GRANT, A.; REID, B. J.; Compatibility of hydroxypropyl- β -cyclodextrin with algal toxicity bioassays, **Environmental Pollution**, v. 157, p. 135-140, 2009.

de FATIMA, A., FERNANDES, S. A., SABINO, A. A.; Calixarenes as New Platforms for Drug Design, **Current Drug Discovery Technologies**, v. 6, p. 151-170, 2009.

FERNANDES, S. A., CABECA, L. F., MARSAIOLI, A. J., PAULA, E.; Investigation of tetracaine complexation with beta-cyclodextrins and p-sulphonic acid calix[6]arene by nOe and PGSE NMR, **J. Inc. Phen. and Macrocyclic Chem.**, v. 57, p. 395-401, 2007.

FERREIRA, V. F., da ROCHA, D. R., da SILVA, F. C.; Potencialidades e oportunidades na química da sacarose e outros açúcares. **Química Nova**, v. 32, p. 623-638, 2009.

FIELDING, L.; Determination of association constants (K_a) from solution NMR data, **Tetrahedron**, v. 56, p. 6156–6170, 2000.

GOUNARIDES, J. S., CHEN, A., SHAPIRO, M. J.; Nuclear magnetic resonance chromatography: applications of pulse field gradient diffusion NMR to mixture analysis and ligand–receptor interactions, **J. Chrom. B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 725, p. 79-90, 1999.

GUO, D. S., WANG, K., LIU, Y.; Selective binding behaviors of p-sulfonatocalixarenes in aqueous solution, **J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.**, v. 62, p. 1-21, 2008.

GUTSCHE, C. D., DHAWAN, B., NO, K. H., MUTHUKRISHNAN, H.; Calixarenes 4. The synthesis, characterization, and properties of the calixarenes from para-tert-butylphenol, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 103., p. 3782-3792, 1981.

GUTSCHE, C. D.; **Calixarenos**. Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1989.

GUTSCHE, C. D.; **Calixarenes Revisited**. Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1997.

GUTSCHE, C. D.; Calixarenes. **Acc. Chem. Res.**, v. 16, p. 161-170, 1983.

HUANG, C. Y.; Determination of binding stoichiometry by the continuous variation method: The job plot, **Methods in Enzymology**, v. 87, p. 509–525, 1982.

JOB, P.; “Apud”, **Ann. Chim.**, v. 9, p. 113-203, 1928.

KALCHENKO, O. I., SOLOVYOV, A. V., CHERENOK, S. A., STARODUB, N. F., KALCHENKO, V. I.; Complexation of Calix[4]arenephosphonic Acids with 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid and Atrazine in Water, **J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.**, v. 46, p. 19-25, 2003.

KOLL, A., Specific features of intramolecular proton transfer reaction in schiff bases, **Int. J. Mol. Sci.**, v. 4, p. 434-444, 2003.

LAZZAROTTO, M., NACHTIGALL, F. F., NOME, F.; Calixarenes: Receptores para reconhecimento molecular, **Química Nova**, v. 18, p. 444-451, 1995.

LEHN, J. M.; Supramolecular Chemistry - Scope and Perspectives Molecules, Supermolecules, and Molecular Devices (Nobel Lecture), **Angew. Chem. Int. Ed. Engl.**, v. 27, p. 89-112, 1988.

LEROY-LECHAT, F.; WOUESSIDJEW, D.; ANDREUX, J. P.; PUISIEUX, F.; DUCHENE, D., Evaluation of the cytotoxicity of cyclodextrins and hydroxypropylated derivatives, **Int. J. Pharm.**, v. 101, p. 97-103, 1994.

MACÍAS, F. A.; GALINDO, J. C. G.; CASTELLANO, D.; VELASCO, R. F., Sesquiterpene Lactones with Potential Use as Natural Herbicide Models (I): *trans,trans*-Germacranolides, **J. Agric. Food Chem.**, v. 47, p. 4407-4414, 1999.

MATIOLI, G.; **Ciclodextrinas e suas aplicações em: alimentos, fármacos, cosméticos, agricultura, biotecnologia, química analítica e produtos gerais**, Ed. UEM: Maringá, 2000.

PASTOR, A.; VIVIENTE, E.M.; NMR spectroscopy in coordination supramolecular chemistry: A unique and powerful methodology, **Coordination Chem. Rev.**, v. 252, p. 2314-2345, 2008.

PATAI, S., **The Chemistry of the (C = N) bond**, Interscience Publisher New York, London, Chapter 1, 1970.

PERRET, F., LAZAR, A.N., COLEMAN, A.W.; Biochemistry of the *para*-sulfonato-calix[n]arenes, **Chem. Commun.**, v. 23, p. 2425–2438, 2006.

SAMENI, S., JEUNESSE, C., MATT, D., HARROWFIELD, J.; Calix[4]arene daisychains, **Chemical Society Reviews**, v. 38, p. 2117-2146, 2009.

SHAHGALDIAN, P.; COLEMAN, A.W., KALCHENKO, V. I.; Synthesis and properties of novel amphiphilic calix[4]arene derivatives, **Tetrahedron Lett.**, v. 42, p. 577-579, 2001.

SHINKAI, S., MORI, S., KOREISHI, H., TSUBACK, T., MANABE, O.; Hexasulfonated Calix[6]arene Derivatives: A New Class of Catalysts, Surfactants, and Host Molecules, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 108, p. 2409-2416, 1986.

SHI, L.; GE, H. M.; TAN, S. H.; LI, H. Q.; SONG, Y. C.; ZHU, H. L.; TAN, R. X., Synthesis and antimicrobial activities of Schiff bases derived from 5-chlorosalicylaldehyde, **Eur. J. Med. Chem.**, v. 42, p. 558-564, 2006.

SHINKAI, S., MORI, S., KOREISHI, H., TSUBACK, T., MANABE, O.; New Syntheses of Calixarene *p*-sulphonates and *p*-Nitrocalixarenes, **J. CHEM. SOC. PERKIN TRANS. I**, v. 6, p. 2297-2299, 1987.

SILVA, A. A.; SILVA, J. F., **Tópicos em manejo de plantas daninhas**, Viçosa: Editora UFV, 2007.

SPECHT, A., BERNARD, P., MAURICE, G., PENG, L.; Mutually induced formation of host-guest complexes between *p*-sulfonated calix[8]arene and photolabile cholinergic ligands, **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 41, p. 4706-4708, 2002.

STILBES, P., Fourier transform pulsed-gradient spin-echo studies of molecular diffusion progress in nuclear magnetic resonance, **Spectroscopy**, v. 19, p. 1-45, 1987.

UEKAMA, K.; Design and Evaluation of Cyclodextrin-Based Drug Formulation **Chem. Pharm. Bull.**, v. 52, p. 900–915, 2004.

ZHANG, Y., CAO, W.; Self-assembly of small molecules: an approach combining electrostatic self-assembly technology with host–guest chemistry, **New J. Chem.**, v. 25, p. 483-486, 2001.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)