



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Eduardo Vieira Silveira

**RECONHECIMENTO MOLECULAR DE PILARARENOS SOBRE ÁCIDOS 3-CARBOXI-1,2-BENZISOXAZÓIS, ÁCIDO 2-CARBOXIFTALANÍLICO E METANFETAMINA: INVESTIGAÇÃO DE EFEITOS CINÉTICOS, APLICABILIDADES E PERSPECTIVAS**

Florianópolis – SC  
2019

Eduardo Vieira Silveira

**RECONHECIMENTO MOLECULAR DE PILARARENOS SOBRE ÁCIDOS 3-CARBOXI-1,2-BENZISOXAZÓIS, ÁCIDO 2-CARBOXIFTALANÍLICO E METANFETAMINA: INVESTIGAÇÃO DE EFEITOS CINÉTICOS, APLICABILIDADES E PERSPECTIVAS**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Doutor em Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Amadeu Micke

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Ferreira Affeldt

Florianópolis – SC

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Silveira, Eduardo Vieira

RECONHECIMENTO MOLECULAR DE PILARARENOS SOBRE ÁCIDOS 3  
CARBOXI-1,2-BENZISOXAZÓIS, ÁCIDO 2-CARBOXIPTALANÍLICO E  
METANFETAMINA: INVESTIGAÇÃO DE EFEITOS CINÉTICOS,  
APLICABILIDADES E PERSPECTIVAS / Eduardo Vieira Silveira ;  
orientador, Gustavo Amadeu Micke, coorientador, Ricardo  
Ferreira Affeldt, 2019.

151 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas,  
Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Química. 2. Pilararenos. 3. Receptor-substrato. 4.  
Química supramolecular. 5. Anfetaminas de abuso. I. Micke,  
Gustavo Amadeu. II. Affeldt, Ricardo Ferreira. III.  
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós  
Graduação em Química. IV. Título.

Eduardo Vieira Silveira

**RECONHECIMENTO MOLECULAR DE PILARARENOS SOBRE ÁCIDOS 3-CARBOXI-1,2-BENZISOXAZÓIS, ÁCIDO 2-CARBOXIFTALANÍLICO E METANFETAMINA: INVESTIGAÇÃO DE EFEITOS CINÉTICOS, APLICABILIDADES E PERSPECTIVAS**

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Elisa Souza Orth, Dra.

Universidade Federal do Paraná

Prof. Vanderlei Gageiro Machado, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Lizandra Maria Zimmermann, Dra.

Universidade Regional de Blumenau

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutor em química orgânica.

---

Prof. Marcus Cesar Mandolesi Sá, Dr.

Coordenador do Programa

---

Prof. Gustavo Amadeu Micke, Dr.

Orientador

Florianópolis – SC, 2019

*Que a moralidade e a intelectualidade sejam exercidas por todos.*

## AGRADECIMENTOS

À minha família, a base de toda a minha dedicação e paciência perante as adversidades.

Ao Professor Faruk Nome por acreditar em minha capacidade e me aceitar como seu aluno, um convívio de três anos com grande enriquecimento intelectual e moral.

Ao Professor Ricardo Affeldt pela coorientação e amizade, mostrando-se sempre humilde e proativo com todos os seus alunos.

Ao Professor Gustavo Mücke pela amizade e colaboração em todos os trabalhos, bem como pelo aceite de orientação durante o quarto ano de meu doutorado.

Aos colegas do LaCFI que tiveram participação direta ou indireta na realização dos trabalhos apresentados nesta tese: Michelle Medeiros (medidas cinéticas), Vanessa do Nascimento (síntese), Eduardo Wanderlind (medidas cinéticas) e Leandro Scorsin (cálculos computacionais).

À todos os colegas (professores e alunos) associados ao Laboratório de Catálise e Fenômenos Interficiais (LaCFI) e Laboratório de Eletroforese Capilar (LabEC).

Aos Professores estrangeiros: Anthony Kirby (University of Cambridge, estudo mecanístico), Luis García Ríó (Universidade de Santiago de Compostela, estudo mecanístico) e Rodrigo Montecinos (Pontificia Universidad Católica de Chile, simulações de dinâmica molecular) pela colaboração nos trabalhos.

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao Departamento de Química por oferecer uma ótima infraestrutura para o desenvolvimento dos trabalhos.

Aos servidores técnicos, técnicos-administrativos, terceiros e àqueles que de alguma forma contribuíram para o bom andamento das atividades da instituição.

Ao INCT-Catálise, CNPq, CAPES e FAPESC, pelo apoio financeiro e infraestrutura.

À Andrieli, minha companheira de todos os momentos.

## RESUMO

Esta tese de doutoramento está dividida em 3 capítulos correlacionados. No primeiro, foram investigadas as reações de descarboxilação de dois derivados nitrados do ácido 3-carboxi-1,2-benzisoxazol (CBI), o 6-NitroCBI e o 5,6-DinitroCBI. O estudo foi realizado tanto na ausência quanto na presença de pilar[n]arenos ( $n = 5$  e  $6$ ) funcionalizados com grupos trimetilamônio (P5A e P6A, respectivamente). Na ausência dos macrociclos, o 5,6-DinitroCBI apresentou maior reatividade em solução e maior estabilidade térmica no estado sólido. Cálculos computacionais revelaram estados de transição similares para ambos os CBIs. Na presença dos pilararenos as reações foram catalisadas, exceto o sistema 6-NitroCBI-P5A que apresentou efeitos inibitórios. Os dados experimentais e simulações de dinâmica molecular elucidaram os efeitos catalíticos e inibitórios como resultado de 3 principais fatores: (1) alteração do número de ligações de hidrogênio entre o solvente ( $H_2O$ ) e o grupo carboxila dos CBIs, (2) mudança na polarização da ligação O-N do anel isoxazol e (3) redução do efeito indutivo do grupo  $NO_2$  por efeitos de campo. No segundo, foi investigada a decomposição do ácido 2-carboxifitalanílico (CPA) na presença do P5A e P6A. Apenas o P5A apresentou influência cinética sobre a reação, com aumento dos efeitos inibitórios em direção ao pH fisiológico. Os dados de RMN (titulação e ROESY) e ESI-MS elucidaram a geometria do complexo como R:S<sub>2</sub>. O tratamento dos dados revelaram a ocorrência de inversão de cooperatividade (negativa para positiva) com o aumento do pH, um comportamento similar ao observado em enzimas alostéricas. O mecanismo inibitório foi elucidado com base na teoria espaço-temporal, sendo a restrição dos grupos carboxila do CPA o fator determinante sobre os efeitos observados. No terceiro, dados preliminares mostraram grande faixa de tamponamento (pH 3,2–7,2) para o pilar[5]areno funcionalizado com grupos carboxila (P5C). Seu reconhecimento molecular sobre a metanfetamina (MA) em condições próximas à fisiológica apresentou indícios de um sistema R<sub>2</sub>:S ( $K_{1:1}$  e  $K_{2:1}$  iguais à 23,42 e 28,72 L·mol<sup>-1</sup>, respectivamente) com capacidade de autoconversão para R:S com dependência pela concentração de MA. Todos os três capítulos desenvolvidos nesta tese tiveram o conceito de reconhecimento molecular como princípio base dos efeitos cinéticos observados (catálise ou inibição) e das perspectivas de aplicação (sensores químicos, entrega controlada e terapia de associação).

**Palavras-chave:** Pilarareno. Receptor-substrato. Supramolecular.

## ABSTRACT

This doctoral thesis is divided into 3 correlated chapters. In the first one, the decarboxylation reactions of two nitrated derivatives of 3-carboxy-1,2-benzisoxazole acid (CBI) were investigated, 6-NitroCBI and 5,6-DinitroCBI. The study was performed both in the absence and in the presence of pillar[n]arenes ( $n = 5$  and  $6$ ) functionalized with trimethylammonium groups (P5A and P6A, respectively). In the absence of the macrocycles, the 5,6-DinitroCBI presented higher reactivity in solution and thermal stability in solid state. Computational calculations revealed similar transition states for both CBIs. In the presence of the pillararenes the reactions were catalyzed, except for the 6-NitroCBI-P5A system that presented inhibitory effects. The experimental data and molecular dynamics simulations elucidated the catalytic and inhibitory effects as a result of 3 main factors: (1) change in the number of hydrogen bonds between the solvent ( $H_2O$ ) and the carboxyl groups of the CBIs, (2) change in the polarization of the O-N bond of the isoxazole ring and (3) reduction of the inductive effect of the  $NO_2$  group by field effects. In the second, the decomposition of 2-carboxyphthalanilic acid (CPA) was investigated in the presence of P5A and P6A. Only P5A showed kinetic influence on the reaction, with inhibitory effects increased towards the physiological pH. NMR (titration and ROESY) and ESI-MS data elucidated the geometry of the complex as  $R:S_2$ . The data analysis revealed the occurrence of cooperativity inversion (negative to positive) with increasing pH, the similar behavior to that observed in allosteric enzymes. The inhibitory mechanism was elucidated based on the spatiotemporal theory, with the restriction of the carboxyl groups of CPA being the determining factor on the observed effects. In the third, preliminary data showed a wide buffering region (pH 3.2–7.2) for the pillar[5]arene functionalized with carboxyl groups (P5C). Its molecular recognition on methamphetamine (MA) at pH close to physiological presented evidence of  $R_2:S$  system ( $K_{1:1}$  and  $K_{2:1}$  values of 23.42 and 28.72  $L \cdot mol^{-1}$ , respectively) with autoconversion capacity for  $R:S$  depending on the MA concentration. All three chapters developed in this thesis had the concept of molecular recognition as the basic principle of the observed kinetic effects (catalysis or inhibition) and of the application perspectives (chemical sensors, drug delivery and association therapy).

**Keywords:** Pillararene. Receptor-substrate. Supramolecular.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama de Venn representando as propriedades intrínsecas e compartilhadas entre as químicas molecular e supramolecular, adaptado da literatura. <sup>2</sup> .....	20
Figura 2 - Representação estrutural do éter 12-coroa-4 (A, de Pedersen), 2,2,2-criptante (B, de Lehn) e de um esferando (C, de Cram), todos associados à cátions metálicos do grupo I da tabela periódica. ....	21
Figura 3 - Representação estrutural de interações intermoleculares por efeito hidrofóbico (A), eletrostática (B), ligação de hidrogênio (C), cátion- $\pi$ (D), ânion- $\pi$ (E), empilhamento em forma de T (F), em sanduíche (G) e em paralelo deslocado (H), todas favoráveis para minimização energética.....	23
Figura 4 - Representação estrutural dos macrociclos <i>p</i> -sulfonatocalix[4]areno (A), $\alpha$ -ciclodextrina (B), cucurbit[6]urila (C) e pilar[5]areno (D). ....	24
Figura 5 - Número de trabalhos publicados por ano com os termos “ <i>pillararene</i> ”, “ <i>pillararenes</i> ”, “ <i>pillar[5]arene</i> ” e “ <i>pillar[6]arene</i> ” presentes nos principais tópicos (título, resumo e palavras-chave) dos artigos científicos. Pesquisa realizada em março de 2019, considerando todas as bases de dados da <i>Web of Science</i> . Inserido estão os mesmos dados apresentados na forma de símbolo e linha.....	25
Figura 6 - Representação estrutural em 3D para o 1,4-dimetoxipilar[5]areno (A), carboxilatopilar[5]areno ou P5C (B), trimetilamônio pilar[5]areno ou P5A (C), imidazolopilar[5]areno ou P5I (D), não-simétrico1pilar[5]areno (E) <sup>68</sup> e não-simétrico2pilar[5]areno (F) <sup>69</sup> .....	26
Figura 7 - Representação do ciclo termodinâmico para o DNPP $\subset$ P5A (A) <sup>90</sup> e do ataque nucleofílico no sistema BDNPP $\subset$ P5I (B), <sup>19</sup> adaptados da literatura.....	27
Figura 8 - Transformações térmicas e fotoquímicas da $\alpha$ -pirona (A) e estrutura molecular do carcerando (B) empregado na estabilização das espécies envolvidas em sua conversão (adaptado da literatura). <sup>91</sup> .....	28
Figura 9 - Ilustração esquemática da preparação das micelas e do possível mecanismo para inibição da bomba de efluxo via formação do complexo R:S entre o P6A e o ATP intracelular (adaptado da literatura). <sup>92</sup> .....	29
Figura 10 - Representação esquemática da formação de micelas e do encapsulamento de doxorubicina no seu núcleo hidrofóbico. Em seguida, há a clivagem enzimática para a liberação do fármaco (adaptado da literatura). <sup>94</sup> .....	30

Figura 11 - Representação esquemática do sensor químico naftilimidazepina. <sup>98</sup> .....	31
Figura 12 - Representação esquemática para a formação do sensor químico fluorescente DSS-P6A, seguido do deslocamento do DSS para a formação do complexo ATP-P6A não-fluorescente (adaptado da literatura). <sup>48</sup> .....	31
Figura 13 - Estrutura molecular da risperidona e da zonisamida.....	32
Figura 14 - Estruturas moleculares de derivados do CBI.....	34
Figura 15 - Estruturas moleculares de <i>N</i> -fenilbenzamidias substituídas e seus respectivos perfis cinéticos em água. Dados reproduzidos da literatura. <sup>115</sup> .....	35
Figura 16 - Estruturas moleculares de naftilamidias substituídas e seus respectivos perfis cinéticos em água. Dados reproduzidos da literatura. <sup>116</sup> .....	36
Figura 17 - Estruturas moleculares de anfetaminas de abuso. ....	37
Figura 18 - Estruturas moleculares do EDTA e da deferoxamina. ....	38
Figura 19 - Equação geral para a reação de descarboxilação do 6-NitroCBI ou 5,6-DinitroCBI na presença de um pilar[n]areno (n = 5 ou 6) para a formação do 6-NitroCF ou 5,6-DinitroCF, respectivamente.....	59
Figura 20 - Influência da percentagem de acetonitrila sobre a $k_{obs}$ para a descarboxilação espontânea do 6-NitroCBI (●) e 5,6-DinitroCBI (●) ( $[CBI] = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; pH 7,0; $[Bis-Tris \text{ metano}] = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 25,0 °C). ....	60
Figura 21 - Influência do pH sobre a $k_{obs}$ para a reação de descarboxilação espontânea do 5,6-DinitroCBI (A) e 6-NitroCBI (B) ( $[CBI] = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 25,0 °C).....	61
Figura 22 - Espectros de ESI-MS de varredura completa para solução aquosa do 6-NitroCF (A) e MS <sup>2</sup> no intervalo de 200-220 Da para solução aquosa do 5,6-DinitroCF (B) ( $[CF] \sim 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; modo íon negativo). ....	62
Figura 23 - Gráfico de $\ln(k_{obs}\cdot h/\kappa\cdot k_B\cdot T)$ vs. $1/T$ para a reação de descarboxilação espontânea do 6-NitroCBI (●) e 5,6-DinitroCBI (●) ( $[CBI] = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; pH 7,0; $[Bis-Tris \text{ metano}] = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ). ....	64
Figura 24 - Estados de transição do 6-NitroCBI (Esquerda) e 5,6-DinitroCBI (Direita) para a reação de descarboxilação espontânea, com nível de teoria M06/6-31G+(d,p). ....	65
Figura 25 - Coordenadas intrínsecas de reação (IRCs) para a descarboxilação espontânea do 6-NitroCBI (—■—) e 5,6-DinitroCBI (—■—), com nível de teoria M06/6-31G+(d,p). ....	66

Figura 26 - Curva de DSC para o ciclo de aquecimento do 6-NitroCBI. Inserido na parte superior esquerda está o mesmo ciclo com a ordenada representada pela derivada do fluxo de calor em função da temperatura. ....	68
Figura 27 - Curva de DSC para o ciclo de aquecimento do 5,6-DinitroCBI. Inserido na parte superior esquerda está o mesmo ciclo com a ordenada representada pela derivada do fluxo de calor em função da temperatura. ....	69
Figura 28 - Influência da concentração do P5A (●) e P6A (●) sobre a $k_{obs}$ para a reação de descarboxilação do 6-NitroCBI (A) e 5,6-DinitroCBI (B) (pH 7,0; [Bis-Tris metano] = 0,01 mol·L <sup>-1</sup> ; 25,0 °C). Dados ajustados com modelos estequiométricos R:S (linhas sólidas) e R:S <sub>2</sub> (linhas tracejadas). ....	71
Figura 29 - Influência da concentração do brometo de tetrametilamônio (TMA) sobre a $k_{obs}$ para a reação de descarboxilação do 6-NitroCBI (●) e 5,6-DinitroCBI (●) em água (pH 7,0; [Bis-Tris metano] = 0,01 mol·L <sup>-1</sup> ; 25,0 °C). ....	73
Figura 30 - <i>Snapshots</i> dos complexos 6-NitroCBI⊂P5A (Esquerda) e 5,6-DinitroCBI⊂P5A (Direita), obtidos após 15 ns de simulação. ....	74
Figura 31 - <i>Snapshots</i> dos complexos 6-NitroCBI⊂P6A (Esquerda) e 5,6-DinitroCBI⊂P6A (Direita), obtidos após 15 ns de simulação. ....	75
Figura 32 – Distâncias calculadas entre o centro da cavidade dos pilararenos (P5A, azul; P6A, vermelho) e o carbono C6 do 6-NitroCBI (A) e 5,6-DinitroCBI (B), em função do tempo de simulação. ....	76
Figura 33 - Ângulos entre os vetores longitudinais V1 (centro da cavidade dos pilararenos) e V2 (carbonos C3 e C6) para o 6-NitroCBI (A) e 5,6-DinitroCBI (B), em função do tempo. Ao lado direito dos gráficos estão apresentadas as estruturas simuladas para os complexos, vistas da parte superior. ....	77
Figura 34 - Distância entre os grupos NMe <sub>3</sub> <sup>+</sup> dos pilararenos (P5A, azul; P6A, vermelho) e COO <sup>-</sup> para o 6-NitroCBI (A) e 5,6-DinitroCBI (B). ....	78
Figura 35 - Minimização energética promovida por interações eletrostáticas (potencial coulombiano) e de Van der Waals (potencial de Lennard-Jones) entre os pilararenos (P5A, azuis; P6A, vermelhos) e o 6-NitroCBI (Superior) e 5,6-DinitroCBI (Inferior). ....	80
Figura 36 - Número de ligações de hidrogênio entre água e o grupo COO <sup>-</sup> dos CBIs para os complexos 6-NitroCBI⊂P5A (A), 5,6-DinitroCBI⊂P5A (B), 6-NitroCBI⊂P6A (C) e 5,6-DinitroCBI⊂P6A (D), calculados em função do tempo. ....	81

Figura 37 - Representação em 3D dos potenciais eletrostáticos em torno dos CBIs quando na cavidade dos pilararenos (considerando as geometrias calculadas) e solvatados com água (PCM). Calculados com DFT/B3LYP com nível de teoria 6-31G*.....	83
Figura 38 - Espectros sucessivos de RMN de $^1\text{H}$ para o 6-NitroCBI na presença de diferentes equivalentes de P5A (Superior) e P6A (Inferior) ( $\text{D}_2\text{O}:\text{MeOD}$ , 4:1; pD 7,0; 25,0 °C; 200 MHz).....	85
Figura 39 - Espectros sucessivos de RMN de $^1\text{H}$ representativos para os hidrogênios do P5A (Superior) e P6A (Inferior) com equivalentes de 6-NitroCBI crescente de cima para baixo ( $\text{D}_2\text{O}:\text{MeOD}$ , 4:1; pD 7,0; 25,0 °C; 200 MHz).....	86
Figura 40 - Variação dos deslocamentos químicos para “Hb-c” em resposta ao aumento da concentração do P5A (A) e P6A (B), ambos ajustados para a estequiometria R:S. Inserido estão os gráficos de $\Delta\delta$ vs. equivalentes do pilarareno correspondente ( $[\text{6-NitroCBI}]_{\text{P5A}} = 12,93 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; $[\text{6-NitroCBI}]_{\text{P6A}} = 7,65 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; $\text{D}_2\text{O}:\text{MeOD}$ , 4:1; 25,0 °C; 200 MHz).....	88
Figura 41 – Equilíbrios de dissociação ácida do CPA e sua decomposição. ....	89
Figura 42 - Influência do pH sobre a constante de velocidade de primeira ordem para a hidrólise espontânea do CPA (—) e para sua decomposição na cavidade do P5A (—■—), a 25,0 °C ( $[\text{CPA}] = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; $[\text{P5A}] = 4,0 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ). ....	90
Figura 43 - Frações relativas das espécies do CPA em $\text{H}_2\text{O}$ (—) e na cavidade do P5A (— ■ —), em função do pH.....	91
Figura 44 - Influência da concentração do P5A sobre a $k_{\text{obs}}$ para a decomposição da espécie $\text{CPA}^{2-}$ (pH 6,0; 25,0 °C; $[\text{Bis-Tris propano}] = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Dados ajustados com modelos estequiométricos R:S (— ■ —) e R:S <sub>2</sub> (—). ....	92
Figura 45 - Influência da concentração do P5A sobre a $k_{\text{obs}}$ para a decomposição do CPA em pH 2,50 (25,0 °C; $[\text{HEPES}] = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Dados ajustados com modelos estequiométricos R:S (— ■ —) e R:S <sub>2</sub> (—). ....	94
Figura 46 - Influência da concentração do P5A sobre a $k_{\text{obs}}$ para a decomposição do CPA nos pHs 3,45 (A; $[\text{HEPES}] = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e 4,25 (B; $[\text{Anilina}] = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), ambos à 25,0 °C. Dados ajustados com modelos estequiométricos R:S (— ■ —) e R:S <sub>2</sub> (—). ....	95
Figura 47 - Espectros de ESI-MS de varredura completa no modo íon positivo para uma solução aquosa do P5A (A), uma solução aquosa equimolar de CPA e P5A (B) e MS <sup>2</sup> para o sinal de 324,0 Da (C) (todos os compostos em $\sim 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ). ....	100
Figura 48 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ (COSY, Superior) e heteronuclear $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ (HETCOR, Inferior) para o CPA ( $\text{DMSO-D}_6$ ; 25,0 °C; 400 MHz).....	101

Figura 49 - Espectros sucessivos de RMN de $^1\text{H}$ para o CPA $^{2-}$ (31,87 mmol·L $^{-1}$ ) com diferentes equivalentes de P5A (D $_2$ O:MeOD, 1:1; pD 7,0; [Bis-Tris metano] = 0,01 mol·L $^{-1}$ ; 25,0 °C; 200 MHz).....	103
Figura 50 - Variação dos deslocamentos químicos para “Hc” em resposta ao aumento da concentração do P5A, ajustado para as estequiometrias R:S (— —) e R:S $_2$ (—). ([CPA $^{2-}$ ] = 31,87 mmol·L $^{-1}$ ; D $_2$ O:MeOD, 1:1; 25,0 °C; 200 MHz). .....	104
Figura 51 - Método da tangente aplicado sobre a variação dos deslocamentos químicos de “Hc” em resposta ao aumento da concentração do P5A. Inserido está o gráfico de Job’s com o máximo em $x(\text{P5A}) = 0,21$ ([CPA $^{2-}$ ] = 31,87 mmol·L $^{-1}$ ; D $_2$ O:MeOD, 1:1; 25,0 °C; 200 MHz). .....	105
Figura 52 - Espectro parcial de ROESY de $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ do CPA $^{2-}$ (6,4 mmol·L $^{-1}$ ) com o P5A (3,2 mmol·L $^{-1}$ ) com tempo de mistura de 225 ms. Ao lado direito estão ambas as estruturas moleculares com todos os hidrogênios identificados (pD 7,0; D $_2$ O:MeOD, 1:1; 25,0 °C; 400 MHz).....	106
Figura 53 - Mapa de interações H-H deduzido a partir dos sinais de correlação da Figura 52. As 14 interações observadas estão enumeradas e identificadas em cor vermelha. ....	107
Figura 54 - Cisão ou <i>splitting</i> de “Hc” devido à grande diferença de ambiente químico para os dois CPAs na cavidade do P5A (Superior). Cisão e alargamento de hidrogênios alifáticos do P5A (H $_2$ >> H $_3$ ) devido à grande diferença de ambiente químico nos dois portais do P5A (Inferior). ....	108
Figura 55 - Espectros sucessivos de RMN de $^1\text{H}$ para o CPA $^{2-}$ (21,57 mmol·L $^{-1}$ ) com diferentes equivalentes de P6A (D $_2$ O:MeOD, 1:1; pD 7,0; [Bis-Tris propano] = 0,01 mol·L $^{-1}$ ; 25,0 °C; 200 MHz).....	109
Figura 56 - Variação dos deslocamentos químicos para os hidrogênios aromáticos do CPA $^{2-}$ em resposta ao aumento da concentração do P6A (A) ([CPA $^{2-}$ ] = 21,57 mmol·L $^{-1}$ ; D $_2$ O:MeOD, 1:1; 25,0 °C; 200 MHz). Estrutura proposta para os agregados formados entre P6A e CPA $^{2-}$ numa estequiometria 1:2 (B). ....	110
Figura 57 - Estruturas moleculares do receptor (P5C) e substrato (MA) ionizados. ....	112
Figura 58 - Titulação potenciométrica de 24,00 mL de uma solução de P5C (4,675 × 10 $^{-6}$ mol) com solução padronizada de HCl (8,8305 × 10 $^{-3}$ mol·L $^{-1}$ ) sob aborbulhamento de N $_2$ (H $_2$ O:CH $_3$ CN, 4:1 (v/v); 22,0 °C). ....	113
Figura 59 - Equilíbrios de dissociação ácida para os grupos carboxila do P5C em água. ....	113

Figura 60 - Frações relativas das espécies do P5C em função do pH. ....	114
Figura 61 - Espectros de RMN de $^1\text{H}$ (Superior) e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (Inferior) do sulfato de pseudoefedrina extraído (MeOD- $\text{D}_4$ ; 200 MHz; 25,0 °C).....	116
Figura 62 - Espectros sucessivos de RMN de $^1\text{H}$ para hidrogênios aromáticos na presença de diferentes equivalentes de MA ( $\text{D}_2\text{O}$ ; pD 7,0; 25,0 °C; 200 MHz). ....	117
Figura 63 - Espectros sucessivos de RMN de $^1\text{H}$ para hidrogênios alifáticos da MA (Superior) e do P5C (Inferior) na presença de diferentes equivalentes de MA ( $\text{D}_2\text{O}$ ; pD 7,0; [Bis-Tris metano] = 0,01 mol·L $^{-1}$ ; 25,0 °C; 200 MHz). ....	117
Figura 64 - $\Delta\delta$ vs. $[\text{MA}]_0/[\text{P5C}]_0$ para todos os hidrogênios aromáticos e alifáticos da MA.....	119
Figura 65 - $\Delta\delta$ vs. $[\text{MA}]_0/[\text{P5C}]_0$ para todos os hidrogênios aromáticos e alifáticos do P5C. ....	120
Figura 66 - $\Delta\delta$ para “H $\beta$ ” em resposta ao aumento da concentração da MA, ajustado para a estequiometria R $_2$ :S. Inserido está o gráfico de Job’s para os mesmos dados experimentais, com o máximo em $x(\text{MA}) < 0,36$ . ( $[\text{P5C}]_0 = 11,51 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; $\text{D}_2\text{O}$ ; [Bis-Tris metano] = 0,01 mol·L $^{-1}$ ; 25,0 °C). ....	122
Figura 67 - Espectros parciais de ROESY de $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ da MA (8,3 mmol·L $^{-1}$ ) com P5C (1,7 mmol·L $^{-1}$ ), com tempo de mistura de 225 ms ( $\text{D}_2\text{O}$ ; pD 7,0; 25,0 °C; 400 MHz).....	122

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de $k_{obs}$ para a reação de descarboxilação de diferentes derivados do CBI em água (Superior) e para o CBI em diferentes solventes (Inferior), todas à 30 °C. <sup>108</sup> ....	33
Tabela 2 - Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o 6-NitroCF e 5,6-DinitroCF (Acetona- $\text{D}_6$ ; TMS; 25,0 °C). ....	62
Tabela 3 - Valores de $k_{obs}$ para a hidrólise espontânea dos CBIs entre 25-65 °C (pH 7,0; [Bis-Tris metano] = 0,01 mol·L <sup>-1</sup> ). ....	63
Tabela 4 - Parâmetros de ativação para a reação de descarboxilação espontânea dos CBIs (pH 7,0; [Bis-Tris metano] = 0,01 mol·L <sup>-1</sup> ). ....	65
Tabela 5 - Parâmetros de ativação, ângulos diedros e distâncias interatômicas calculados para os estados de transição da reação de descarboxilação espontânea dos CBIs, com nível de teoria M06/6-31G+(d,p). ....	67
Tabela 6 - Constantes de velocidade e de associação para os CBIs com o P5A e P6A, obtidos por ajustes não-lineares sobre os dados da Figura 28. ....	72
Tabela 7 - Cargas atômicas calculadas para os átomos de O e N na ligação O-N dos CBIs, em todos os ambientes químicos (cavidades do P5A e P6A, bem como solvatados com água). ....	82
Tabela 8 - Frações relativas das espécies do CPA nos pHs 2,50, 3,45 e 4,25, em ambos os ambientes. ....	93
Tabela 9 - Constantes de velocidade e de associação para o CPA na cavidade do P5A nos pHs 2,50, 3,45, 4,25 e 6,00. ....	96
Tabela 10 - Constantes de velocidade e equilíbrio para as espécies do CPA em água e na cavidade do P5A (detalhado para CPA <sup>2-</sup> e global para CPAH <sub>2</sub> e CPAH <sup>-</sup> ). ....	98
Tabela 11 - Constantes de associação obtidas pelo ajuste dos dados (Equação 4) para todos os hidrogênios do CPA (ajustados com a ferramenta online BindFit, supramolecular.org). ....	104
Tabela 12 - Solventes (S1 e S2) utilizados nas extrações líquido-sólido para obtenção do sulfato de pseudoefedrina. Percentagens calculadas com base na massa informada na bula do medicamento. ....	115
Tabela 13 - Constantes de associação obtidas pelos ajustes de dados de $H_f$ nas estequiometrias R:S, R:S <sub>2</sub> e R <sub>2</sub> :S (ajustados com a ferramenta online BindFit, supramolecular.org). ....	120

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Reação de descarboxilação do ácido 3-carboxi-1,2-benzisoxazol (CBI). .....	33
Esquema 2 - Rota sintética para obtenção do 6-NitroCBI (4) e 5,6-DinitroCBI (6)..	49
Esquema 3 - Rota sintética para obtenção do P5A e P6A.....	50
Esquema 4 - Rota sintética para obtenção do CPA.....	54
Esquema 5 - Equilíbrios de acidez para o CPA (em H <sub>2</sub> O e na cavidade do P5A) e de associação para todas as suas espécies com o P5A (detalhado para o CPA <sup>2-</sup> e global para CPAH <sub>2</sub> e CPAH <sup>-</sup> ). .....	97
Esquema 6 - Estruturas dos complexos e equilíbrio proposto para a formação do sistema P5C $\rightleftharpoons$ MA $\leftarrow$ P5C, bem como sua interconversão em MA $\leftarrow$ P5C dependente da concentração de MA.....	124

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ADN – Ácido desoxirribonucleico;
- LaCFI – Laboratório de Catálise e Fenômenos Interfaciais;
- RMN – Ressonância magnética nuclear;
- ESI – Ionização por eletropulverização (do inglês *electrospray ionization*);
- MS – Espectrometria de massas (do inglês, *mass spectrometry*);
- P5A – Pilar[5]areno funcionalizado com grupos trimetilamônio;
- P6A – Pilar[6]areno funcionalizado com grupos trimetilamônio;
- P5C – Pilar[5]areno funcionalizado com grupos carboxila;
- 6-NitroCBI – Ácido 3-carboxi-6-nitro-1,2-benzisoxazol;
- 5,6-DinitroCBI – Ácido 3-carboxi-5,6-dinitro-1,2-benzisoxazol;
- CPA – Ácido 2-carboxiftalanílico;
- MA – Metanfetamina;
- $k_{\text{obs}}$  – Constante de velocidade observada;
- $\text{p}K_{\text{a}}$  – Logaritmo da constante de dissociação de uma espécie ácida;
- R:S – Abreviatura para receptor-substrato;
- $K_{1:1}$  – Constante de associação para estequiometria R:S ou 1:1;
- $K_{1:2}$  – Constante de associação para estequiometria R:S<sub>2</sub> ou 1:2;
- $K_{2:1}$  – Constante de associação para estequiometria R<sub>2</sub>:S ou 2:1;
- $K_{\text{G}}$  – Constante de associação global ( $K_{1:1} \times K_{1:2}$ );
- $k_{1:1}$  – Constante de velocidade para estequiometria R:S ou 1:1;
- $k_{1:2}$  – Constante de velocidade para estequiometria R:S<sub>2</sub> ou 1:2;
- $k_{\text{w}}$  – Constante de velocidade em água;
- DFT – Teoria do funcional da densidade (do inglês, *Density Functional Theory*);
- PME – Malha de partículas Ewald (do inglês, *particle mesh Ewald*);
- PCM – Modelo do contínuo polarizável (do inglês, *polarizable continuum model*);
- DM – Dinâmica molecular;
- LHs – Ligações de hidrogênio.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>19</b>
1.1	A QUÍMICA SUPRAMOLECULAR .....	19
<b>1.1.1</b>	<b>Associação receptor-substrato .....</b>	<b>21</b>
<b>1.1.2</b>	<b>Os pilararenos e suas aplicações.....</b>	<b>24</b>
1.2	REAÇÃO MODELO 1: DESCARBOXILAÇÃO DO ÁCIDO 3-CARBOXI-1,2-BENZISOXAZOL E SEUS DERIVADOS .....	32
1.3	REAÇÃO MODELO 2: DECOMPOSIÇÃO DE AMIDAS .....	34
1.4	ANFETAMINAS DE ABUSO - METANFETAMINA .....	36
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>40</b>
2.1	OBJETIVOS GERAIS .....	40
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	41
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>43</b>
3.1	MEDIDAS CINÉTICAS .....	43
3.2	MEDIDAS CINÉTICAS - TRATAMENTO DOS DADOS .....	43
3.3	TITULAÇÃO DE RMN DE <sup>1</sup> H - TRATAMENTO DOS DADOS.....	45
3.4	EXPERIMENTOS DE ESI-MS .....	48
3.5	CAPÍTULO 1) DESCARBOXILAÇÃO DOS CBIs NA AUSÊNCIA E PRESENÇA DO P5A E P6A .....	48
3.6	CAPÍTULO 2) MODIFICAÇÃO DA REATIVIDADE INTRAMOLECULAR DO ÁCIDO 2-CARBOXIFTALANÍLICO NA PRESENÇA DO P5A E P6A.....	54
3.7	CAPÍTULO 3) RECONHECIMENTO MOLECULAR DO P5C SOBRE A METANFETAMINA .....	56
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>58</b>
4.1	CAPÍTULO 1) DESCARBOXILAÇÃO DOS CBIS NA AUSÊNCIA E PRESENÇA DO P5A E P6A .....	58
4.2	CAPÍTULO 2) MODIFICAÇÃO DA REATIVIDADE INTRAMOLECULAR DO ÁCIDO 2-CARBOXIFTALANÍLICO NA PRESENÇA DO P5A E P6A.....	89

4.3	CAPÍTULO 3) RECONHECIMENTO MOLECULAR DO P5C SOBRE A METANFETAMINA .....	111
5	CONCLUSÕES.....	125
6	REFERÊNCIAS.....	127
	APÊNDICE A - Espectros de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do 6-NitroCF, o produto de descarboxilação do 6-NitroCBI (Acetona- $\text{D}_6$ ; 200 MHz; TMS; 25,0 °C). .....	143
	APÊNDICE B - Espectros de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do 5,6-DinitroCF, o produto de descarboxilação do 5,6-DinitroCBI (Acetona- $\text{D}_6$ ; 200 MHz; TMS; 25,0 °C). .....	144
	APÊNDICE C - Espectros de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do ácido 2-ftaloimidobenzóico (DMSO- $\text{D}_6$ ; 200 MHz; TMS; 25,0 °C). .....	145
	APÊNDICE D - Espectros de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do ácido 2-carboxiftalanílico ou CPA (DMSO- $\text{D}_6$ ; 200 MHz; TMS; 25,0 °C). .....	146
	APÊNDICE E - Espectros de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da metanfetamina (MeOD- $\text{D}_4$ ; 200 MHz; TMS; 25,0 °C). .....	147
	APÊNDICE F - Gráfico de $k_{\text{obs}}$ vs. pH/pD para a decomposição do CPA em água à 25,0 °C (A). Mecanismo concertado para a decomposição da espécie reativa CPAH $^-$ , calculado com o nível de teoria M06/PCM-SMD/6-311++G(d,p) (B). .....	148
	APÊNDICE G - Fragmentogramas de HRMS/ESI-TOF obtidos para soluções aquosas do P5A (A e B) e P6A (C e D). .....	149
	APÊNDICE H - Espectros de RMN de $^1\text{H}$ de soluções aquosas do CPA hidrolisado (A) e de uma mistura de ácido antranílico e anidrido ftálico (B). Adicionou-se acetonitrila tanto na solução do CPA hidrolisado (C) quanto na mistura do ácido antranílico e anidrido ftálico (D) (200 MHz; 25,0 °C; TMSP). .....	150
	APÊNDICE I - ECZ/DAD-UV eletroferogramas do CPA totalmente hidrolisado (A), ácido antranílico (B) e anidrido ftálico (C), em 25,0 °C e pH ~9,50. ....	151

## 1 INTRODUÇÃO

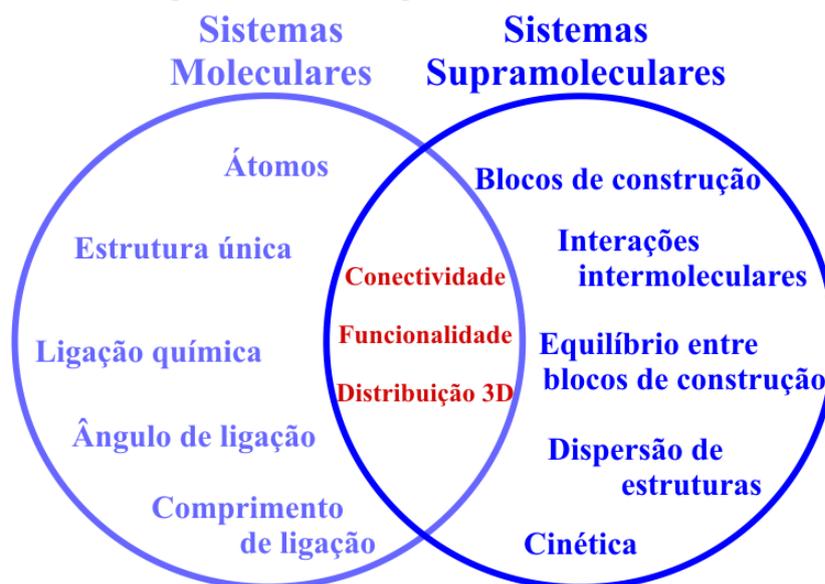
Uma breve revisão bibliográfica com conteúdo estritamente selecionado é apresentado neste tópico. A abordagem de conceitos relacionados à química supramolecular, às reações modelo e moléculas alvo preparam os leitores para melhor compreensão dos tópicos subsequentes. Além disto, ao longo do trabalho e principalmente nos tópicos “materiais e métodos” e “resultados e discussão” são apresentadas metodologias e fundamentos que podem ser aplicados na elucidação de sistemas supramoleculares envolvendo diferentes técnicas.

Como fruto dos trabalhos realizados pelo doutorando, é apresentada uma investigação completa envolvendo o reconhecimento molecular de diferentes pilararenos (catiônicos e aniônicos de diferentes tamanhos de cavidade) sobre três classes de substratos orgânicos: derivados do ácido 3-carboxi-1,2-benzisoxazol (2 substratos nitrados), amidas ftálicas (1 substrato) e anfetaminas de abuso (1 substrato). Estas investigações contaram com experimentos de cinética por UV-Vis, titulação potenciométrica, RMN (titulações de  $^1\text{H}$  e ROESY de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ), ESI-MS, eletroforese capilar, cálculos computacionais e simulações de dinâmica molecular. A partir disto, elucidações foram alcançadas para todos os efeitos cinéticos observados, para a afinidade entre receptores e substratos e para a dinâmica de formação e interconversão dos complexos receptor-substrato. Desta forma, esta tese oferece conteúdo acadêmico de qualidade aos leitores interessados em sistemas supramoleculares do tipo receptor-substrato, sendo ainda abordado assuntos relacionados às perspectivas de aplicação dos pilararenos.

### 1.1 A QUÍMICA SUPRAMOLECULAR

A grande maioria dos trabalhos em química mantiveram-se direcionados quase que estritamente para investigações envolvendo interações covalentes. Com o passar dos tempos, a descoberta das interações intermoleculares e sua grande participação nos sistemas biológicos deu início à diversos campos de estudo dentro e fora da química, sendo a química supramolecular (QS) uma delas.<sup>1</sup> A Figura 1 apresenta algumas das propriedades intrínsecas tanto dos sistemas moleculares quanto dos supramoleculares, bem como as compartilhadas entre si.

Figura 1 - Diagrama de Venn representando as propriedades intrínsecas e compartilhadas entre as químicas molecular e supramolecular, adaptado da literatura.<sup>2</sup>



A QS é precisamente definida pela IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada) como “um campo relacionado à espécies de maior complexidade, sendo estas formadas por unidades menores mantidas juntas por interações intermoleculares”.<sup>3</sup> Esta definição é capaz de abranger diversos tipos de sistemas artificiais poliméricos,<sup>4,5</sup> micelares,<sup>6,7</sup> nanoparticulados associadas à macrociclos<sup>8,9</sup> e uma infinita gama de sistemas possíveis, bem como a grande diversidade de sistemas biológicos naturais.<sup>10,11</sup> Estas estruturas podem ainda apresentar comportamentos responsivos à determinado tipo de estímulo físico ou químico, como variação da temperatura,<sup>12</sup> luminosidade,<sup>13</sup> pH,<sup>14</sup> corrente elétrica,<sup>15</sup> e outros.

Arquiteturas químicas supramoleculares fascinantes têm sido desenvolvidas nos últimos anos. No ano de 2016, a QS tornou-se ainda mais forte após três pesquisadores serem laureados com o Prêmio Nobel de Química pela grande contribuição no planejamento e síntese das “máquinas moleculares”. Estas estruturas são classificadas como supramoleculares e promissoras, por exemplo, na conversão de energia química em força mecânica e movimento. Um exemplo de máquina molecular biológica é a cinesina, uma proteína que movimenta-se ao longo de microtúbulos usando a hidrólise do ATP (trifosfato de adenosina) como fonte energética.<sup>16</sup>

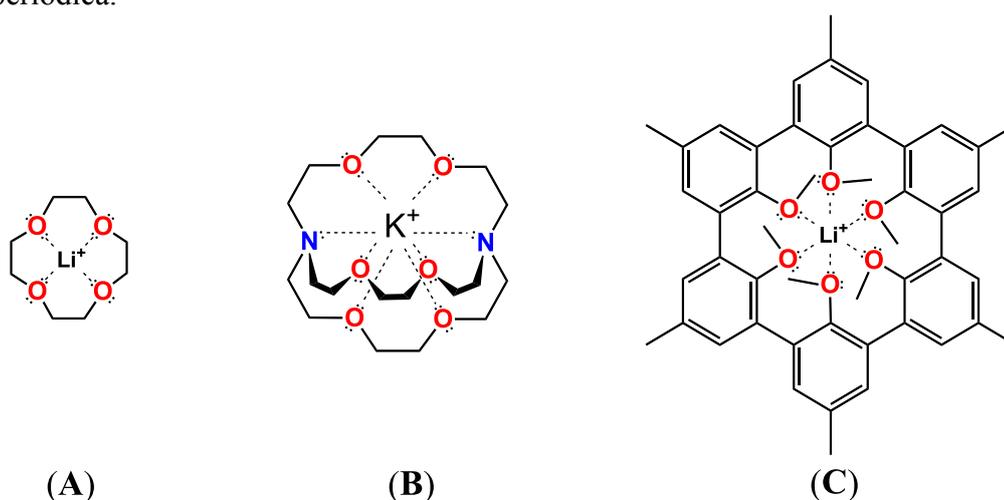
Conceitos de automontagem são considerados como fundamentais na construção de micro e nanoestruturas supramoleculares, sendo comumente empregados processos de automontagem *bottom-up* (de baixo para cima), ou seja, de porções menores à estruturas

maiores. Na literatura é nítida a diversidade de novas estruturas moleculares desenvolvidas e aperfeiçoadas para uso na formação de sistemas supramoleculares. Neste contexto, as associações do tipo receptor-substrato (R:S) têm representado uma grande parcela dos trabalhos publicados em QS.

### 1.1.1 Associação receptor-substrato

Trabalhos pioneiros envolvendo associações R:S tiveram grande sucesso no desenvolvimento de receptores moleculares de alta seletividade, sendo estes empregados primeiramente no reconhecimento molecular de substratos metálicos catiônicos. Estas contribuições renderam o Prêmio Nobel de Química de 1987 para três pesquisadores: Donald J. Cram, Jean-Marie Lehn e Charles J. Pedersen.<sup>17</sup> Pedersen e Lehn foram os criadores dos éteres-coroa e criptantes (Figura 2), respectivamente. Após isto, Lehn e Cram continuaram à aperfeiçoar tais compostos cíclicos no intuito de aumentar sua seletividade sobre determinados metais, levando Cram à publicar um trabalho intitulado “*Host-Guest Chemistry*”,<sup>18</sup> onde foram definidas as abordagens da pesquisa premiada. Após isto, diversas contribuições oferecidas principalmente por Cram ajudaram na compreensão de sistemas biológicos, como o transporte de íons via membranas biológicas.

Figura 2 - Representação estrutural do éter 12-coroa-4 (A, de Pedersen), 2,2,2-criptante (B, de Lehn) e de um esferando (C, de Cram), todos associados à cátions metálicos do grupo I da tabela periódica.



No campo da QS, as associações do tipo R:S descrevem complexos formados por dois ou mais componentes (moléculas ou íons) unidos por interações intermoleculares. Intuitivamente, este tipo de associação oferece a ideia de reconhecimento molecular do receptor

sobre o substrato, sendo muitos dos sistemas R:S já desenvolvidos mencionados como enzimas artificiais<sup>19,20</sup> ou sistemas miméticos enzimáticos.<sup>21,22</sup>

A formação do complexo de inclusão ocorre como resultado da redução da energia total dos componentes quando no complexo. Em outras palavras, se o substrato encontra um ambiente de minimização energética no sítio de ligação do receptor, a formação do complexo é favorecida, ou seja,  $\Delta G^\circ < 0$ .<sup>23</sup> Diversos fatores influenciam na energia livre do receptor e substrato tanto em solução (ou fora do complexo) quanto no complexo, sendo as interações intermoleculares entre eles as principais forças motrizes responsáveis pela minimização energética. Neste contexto, diversos tipos de interações intermoleculares podem estar presentes em um complexo R:S, com destaque para as resultantes de efeitos hidrofóbicos, eletrostáticas, ligações de hidrogênio, envolvendo os sistemas  $\pi$  ( $\pi$ - $\pi$ , CH- $\pi$ , íon- $\pi$ ) e ligações de halogênio.

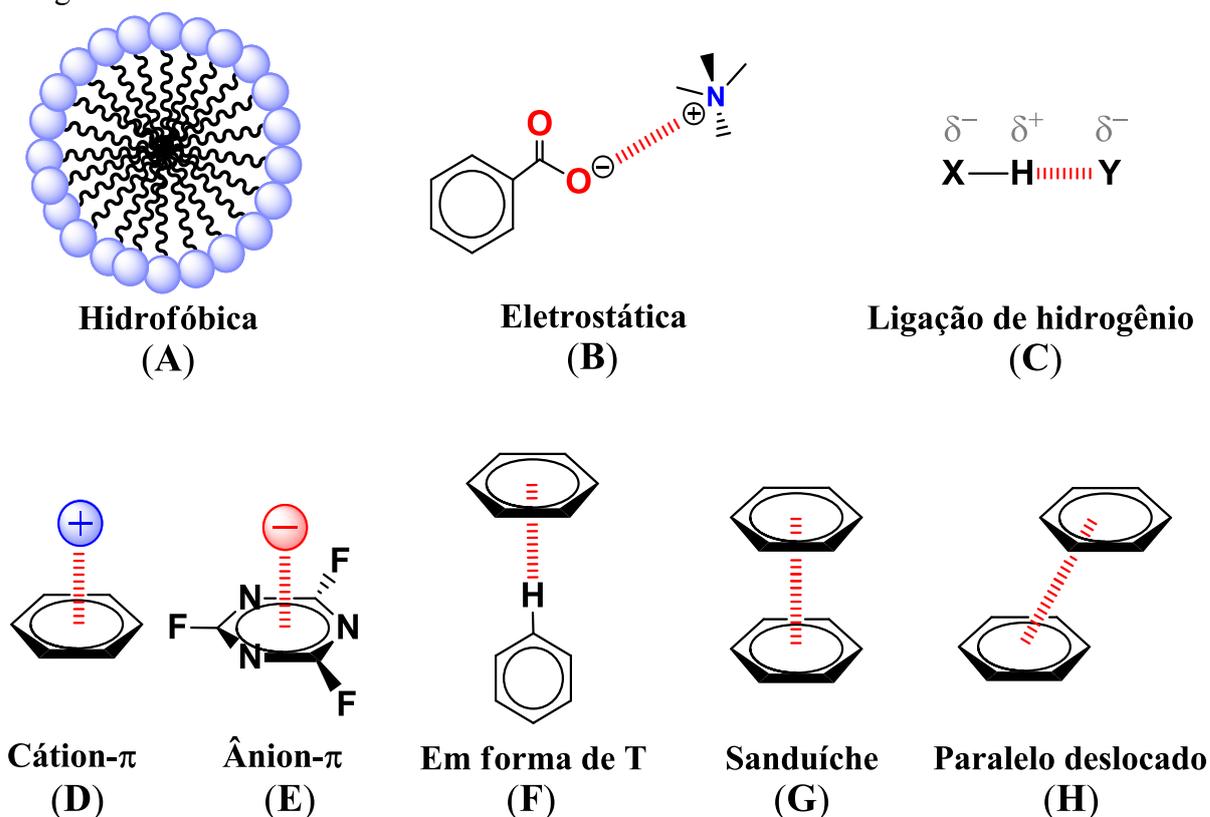
As interações por efeitos hidrofóbicos (Figura 3A) ocorrem entre duas espécies apolares quando em meio aquoso, sendo a geometria do complexo a mais favorável para exclusão de água.<sup>24</sup> Associações deste tipo reduzem significativamente a energia do sistema, uma vez que a alta ordenação das moléculas de água em sua interface é reduzida. Estes efeitos são comumente discutidos como uma das principais forças motrizes envolvidas na formação de complexos R:S,<sup>25,26</sup> desde que o sistema encontre-se em meio aquoso e o sítio de ligação do receptor seja parcial ou totalmente hidrofóbico.

A ionização do receptor e substrato, quando com cargas opostas, é um fator de grande potencial para promover a formação do complexo R:S (Figura 3B). A magnitude destas interações é considerada de significativa superioridade à de efeitos hidrofóbicos. Em fase gasosa, sua força é considerada próxima à das ligações covalentes, no entanto, solventes com grandes constantes dielétricas reduzem sua magnitude por efeitos de solvatação.<sup>27</sup>

As ligações de hidrogênio (Figura 3C) são as interações não-covalentes mais comuns tanto nos complexos artificiais quanto nos naturais biológicos, sendo de fundamental importância para a manutenção da vida. Sua força é variável e depende de diferentes fatores, por exemplo, da eletronegatividade do átomo ligado diretamente ao hidrogênio. Por exemplo, em fase gasosa a entalpia da interação  $[F \cdots HF]$  de aproximadamente  $-40 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$  é consideravelmente maior do que a observada para a interação  $[H-O-H \cdots OH_2]$ , esta última de aproximadamente  $-3 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ .<sup>28,29</sup> Estas interações são extensivamente encontradas na natureza, sendo as ligações de hidrogênio entre os pares de bases nitrogenadas no ADN (ácido desoxirribonucleico) um dos exemplos mais conhecidos.<sup>30</sup>

A presença de sistemas  $\pi$  na estrutura de um ou de ambos os componentes do complexo oferecem novas possibilidades de interações intermoleculares entre eles. Interações areno-areno são comuns envolvendo receptores e substratos contendo estas porções em suas estruturas moleculares. Na Figura 3F-H estão apresentadas as estruturas de empilhamento em forma de T, em sanduíche e em paralelo deslocado, todas capazes de minimização energética em interações areno-areno. Em fase gasosa, a interação benzeno-benzeno atinge maior minimização energética no empilhamento em forma de T. Isto ocorre pela interação entre a densidade eletrônica de um dos benzenos e o hidrogênio parcialmente positivo do outro. Em contrapartida, interações entre benzeno e benzenos substituídos deficientes eletrônicos (como no  $C_6F_6$ ) apresentam preferência pela estrutura em sanduíche, sendo esta geometria a mais favorável para minimização energética.<sup>31,32</sup>

Figura 3 - Representação estrutural de interações intermoleculares por efeito hidrofóbico (A), eletrostática (B), ligação de hidrogênio (C), cátion- $\pi$  (D), ânion- $\pi$  (E), empilhamento em forma de T (F), em sanduíche (G) e em paralelo deslocado (H), todas favoráveis para minimização energética.

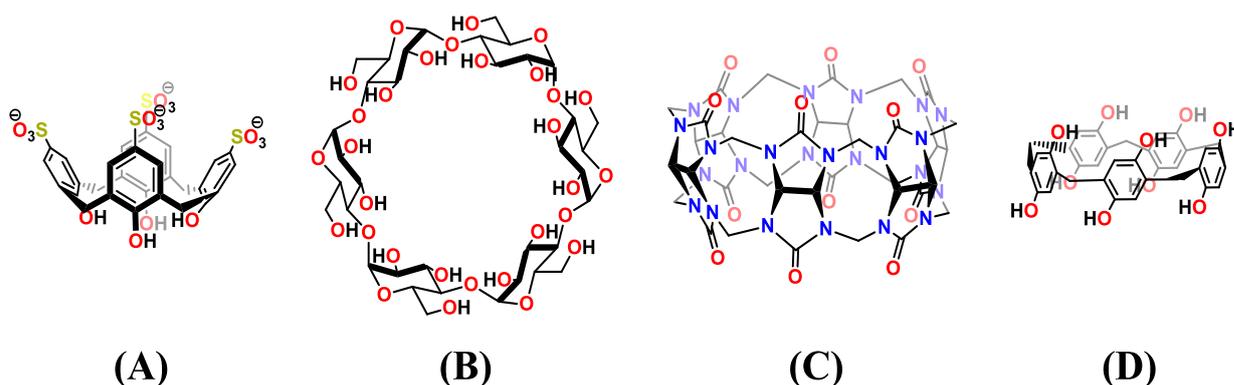


Os sistemas  $\pi$  podem ainda interagir com espécies iônicas, dando forma às interações do tipo cátion- $\pi$  ou ânion- $\pi$  (Figura 3D-E). A força das interações cátion- $\pi$  é considerada de grande magnitude. Em fase gasosa, a energia de interação entre o cátion  $Li^+$  com benzeno e

etileno foram determinadas como  $-38$  e  $-19$  kcal·mol<sup>-1</sup>, respectivamente. Além disto, diversos estudos mostram que estas interações podem contribuir em até  $5$  kcal·mol<sup>-1</sup> para a formação de complexos, tornando-as competitivas com os demais tipos de interações.<sup>33</sup> Já as interações ânion- $\pi$  são comuns e exploradas envolvendo ânions e sistemas  $\pi$  deficientes de elétrons.<sup>34</sup> Por exemplo, as energias de interação entre o ânion F<sup>-</sup> e os sistemas  $\pi$  da 1,3,5-triazina e do trifluoro-1,3,5-triazina (Figura 3E) foram calculadas para  $-9,2$  e  $-24$  kcal·mol<sup>-1</sup>, respectivamente.<sup>35</sup>

O número e a diversidade de interações intermoleculares entre receptor e substrato são fatores de grande importância para o planejamento de novos sistemas altamente seletivos. No entanto, os trabalhos encontrados na literatura comumente fornecem resultados experimentais ausentes de metodologias ou estratégias empregadas no planejamento de tais sistemas. Com isto, nota-se a necessidade do desenvolvimento de métodos ou elaboração de tendências que possibilitem a construção de sistemas não baseados somente na tentativa e erro. Para isto, diversos tipos de macrociclos têm sido desenvolvidos e aperfeiçoados para atuarem como estruturas reconhecedoras de espécies orgânicas e inorgânicas, com destaque para os calixarenos,<sup>36-38</sup> as cucurbiturilas,<sup>39-41</sup> as ciclodextrinas<sup>42,43</sup> e os pilararenos,<sup>44-46</sup> todos apresentados na Figura 4.

Figura 4 - Representação estrutural dos macrociclos *p*-sulfonatocalix[4]areno (A),  $\alpha$ -ciclodextrina (B), cucurbit[6]urila (C) e pilar[5]areno (D).



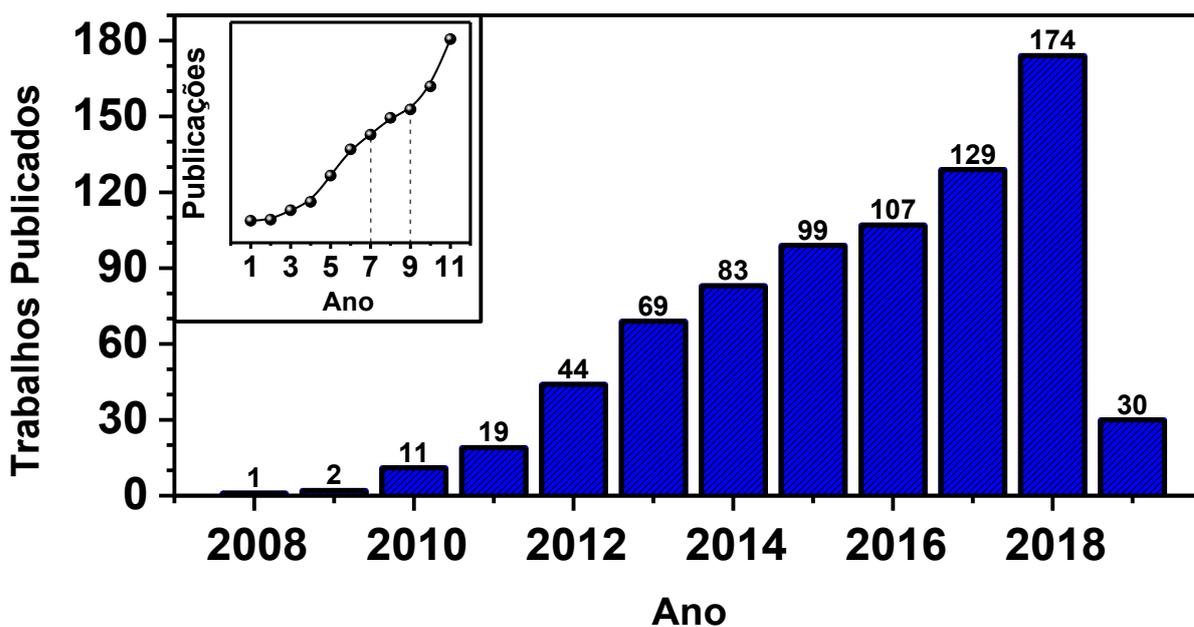
### 1.1.2 Os pilararenos e suas aplicações

Em 2008, Tomoki Ogoshi reportou os pilararenos como uma nova classe de macrociclos,<sup>47</sup> sendo atualmente considerada como a mais recente e uma das mais populares classes de hospedeiros utilizadas na formação de complexos R:S. Outro fator em destaque é a

interdisciplinaridade alcançada por estes compostos, reconhecida pela diversidade de trabalhos voltados para as áreas de química analítica,<sup>48,49</sup> alimentos,<sup>50,51</sup> materiais,<sup>52,53</sup> medicinal ou terapêutica,<sup>54-56</sup> ambiental<sup>57</sup> e outras.

Desde a sua repercussão, o número de publicações envolvendo o uso de pilararenos como estrutura reconhecedora tem crescido ao longo dos anos. A Figura 5 mostra o resultado de uma pesquisa realizada nas bases de dados da *Web of Science* no mês de março de 2019. Para isto, considerou-se apenas os termos *pillararene*, *pillararenas*, *pillar[5]arene* e *pillar[6]arene* presentes nos principais tópicos (título, resumo e palavras-chave), sendo observado um perfil exponencial crescente com irregularidade apenas entre o 7º e 9º ano após a publicação do primeiro trabalho. Estes dados representam o crescimento na popularidade desta classe de compostos e são compreensíveis por sua característica de versatilidade já constatada. Isto é justificável pela maior capacidade de modificação estrutural dos pilararenos quando comparado com as demais classes de macrociclos. A possibilidade de modificação tanto na região aromática (cavidade) quanto na alifática dos pilararenos são características desejáveis no âmbito da pesquisa, motivando diversos pesquisadores a empregar esta classe de receptores em seus estudos.

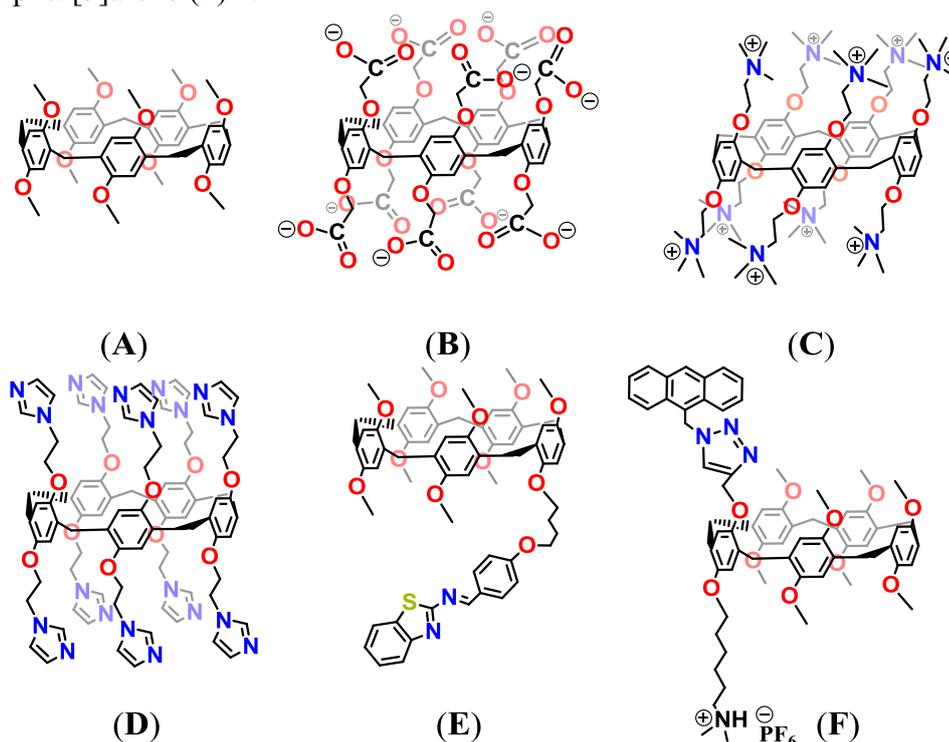
Figura 5 - Número de trabalhos publicados por ano com os termos “*pillararene*”, “*pillararenas*”, “*pillar[5]arene*” e “*pillar[6]arene*” presentes nos principais tópicos (título, resumo e palavras-chave) dos artigos científicos. Pesquisa realizada em março de 2019, considerando todas as bases de dados da *Web of Science*. Inserido estão os mesmos dados apresentados na forma de símbolo e linha.



A estrutura básica destes macrociclos é constituída por monômeros de hidroquinona unidos por pontes de metileno na posição *para*. A configuração desta porção confere alta simetria e rigidez à sua cavidade, fator essencial para manutenção das propriedades de seletividade nesta região. Adicionalmente, a alta densidade eletrônica e hidrofobicidade dentro da cavidade destes macrociclos fazem deles ótimos receptores para substratos com porções hidrofóbicas e deficientes de elétrons, como alcanos,<sup>58,59</sup> alcanodiaminas,<sup>46</sup> sais de amônio secundários e quaternários,<sup>60,61</sup> derivados de piridínio<sup>62-64</sup> e diversas outras classes estruturais com propriedades similares.

Quando comparado às demais classes de macrociclos, os pilararenos apresentam características particulares e vantagens estruturais, como a facilidade em serem funcionalizados com grupos orgânicos neutros, catiônicos ou aniônicos, como demonstrado na Figura 6. Esta característica confere aos pilararenos a possibilidade de modulação da solubilidade frente à diferentes solventes, já sendo reportado diversas estruturas com solubilidade adequada tanto em água quanto em diferentes solventes orgânicos.<sup>65-67</sup> Além disto, torna-se possível a promoção de maior número e diversidade de interações intermoleculares com o substrato para aumento da afinidade entre eles.

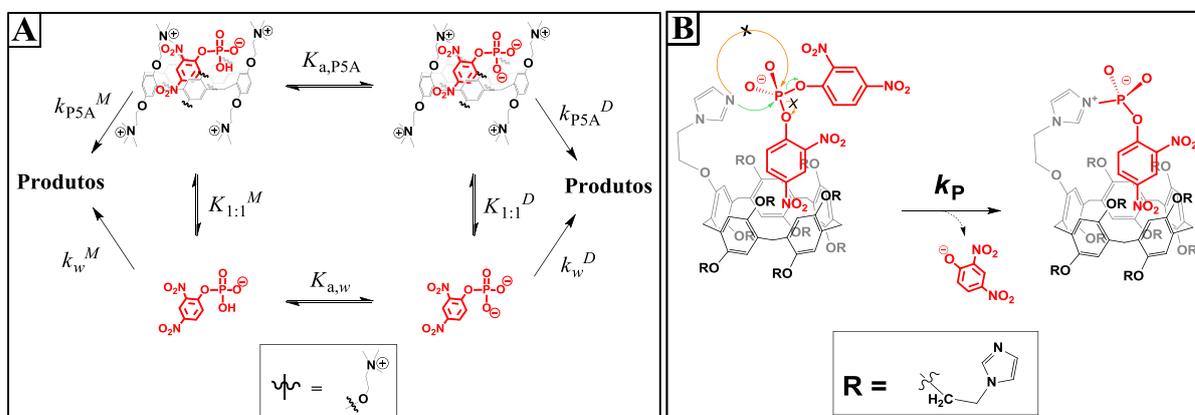
Figura 6 - Representação estrutural em 3D para o 1,4-dimetoxipilar[5]areno (A), carboxilatopilar[5]areno ou P5C (B), trimetilamôniopilar[5]areno ou P5A (C), imidazolopilar[5]areno ou P5I (D), não-simétrico1pilar[5]areno (E)<sup>68</sup> e não-simétrico2pilar[5]areno (F)<sup>69</sup>.



Na literatura, diversos são os métodos empregados na ciclização e funcionalização de pilararenos,<sup>67,70,71</sup> e as propriedades intrínsecas alcançadas pelas estruturas moleculares fazem deles receptores ideais para aplicação como catalisadores em reações orgânicas;<sup>19,72</sup> canais transmembranas;<sup>73,74</sup> entrega de fármacos;<sup>75,76</sup> sensores químicos para cátions,<sup>77</sup> ânions<sup>78</sup> e moléculas orgânicas;<sup>79,80</sup> e outras.

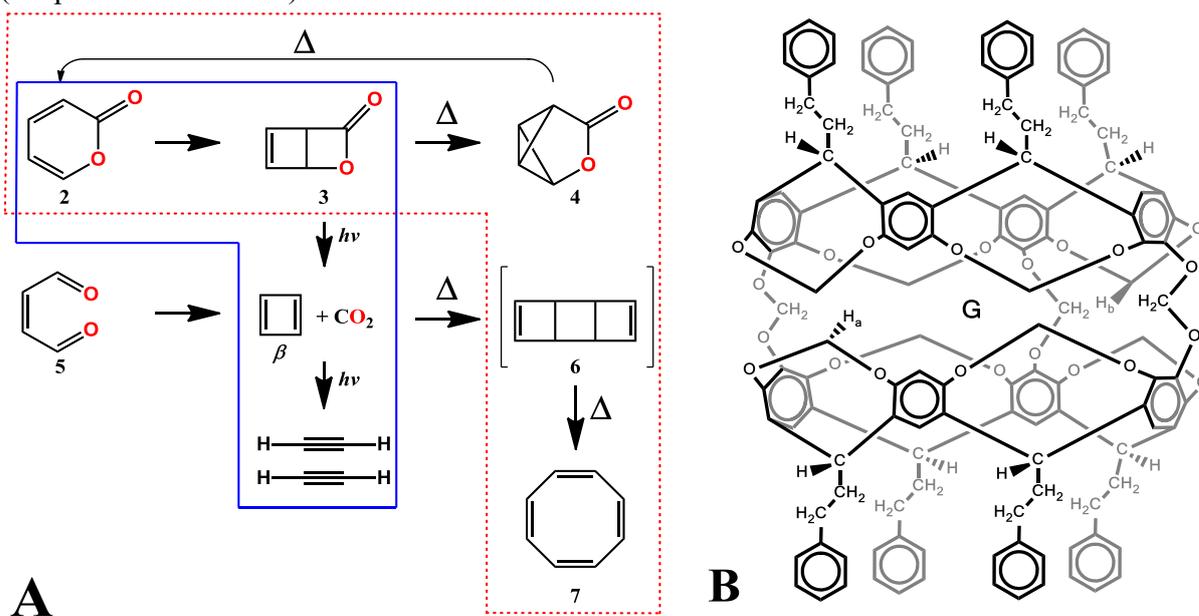
A alta eficiência catalítica observada em estruturas naturais, como nas enzimas,<sup>81-83</sup> tem inspirado vários grupos de pesquisa no desenvolvimento de macromoléculas artificiais capazes de atuar como nanoreatores,<sup>84-87</sup> já sendo reportado diversos sistemas capazes de aumentar em várias ordens de grandeza a constante de velocidade em reações orgânicas.<sup>88,89</sup> Dois trabalhos desenvolvidos por nosso grupo de pesquisa determinaram as vias mecanísticas e magnitudes dos efeitos catalíticos de pilararenos sobre reações de desfosforilação de ésteres de fosfato. No primeiro (Figura 7A),<sup>72</sup> o trimetilamôniopillar[5]areno (P5A) apresentou alta afinidade ( $K_{1:1} = 5.150 \pm 660 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) e efeito catalítico de 10 vezes sobre a reação de hidrólise do monoéster 2,4-dinitrofenilfosfato (DNPP). Os dados permitiram atribuir tal efeito à simultânea desestabilização do DNPP (pela modificação das propriedades estruturais da água) e estabilização eletrostática do produto  $\text{PO}_3^{2-}$ . No segundo (Figura 7B),<sup>19</sup> o imidazolpillar[5]areno (P5I) demonstrou ser um eficiente catalisador supramolecular na desfosforilação de diferentes ésteres de fosfato. Reportada como uma enzima artificial, o P5I apresentou maior afinidade ( $K_{1:1} = 7.170 \pm 26 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) e eficiência catalítica ( $k_{1:1}/k_w = 10^4$ ) sobre o diéster bis-(2,4-dinitrofenil)fosfato (BDNPP), efeitos cinéticos resultantes da catálise nucleofílica exercida pelos grupos imidazóis do pilarareno.

Figura 7 - Representação do ciclo termodinâmico para o  $\text{DNPP} \subset \text{P5A}$  (A)<sup>90</sup> e do ataque nucleofílico no sistema  $\text{BDNPP} \subset \text{P5I}$  (B),<sup>19</sup> adaptados da literatura.



Assim como na catálise, o uso destes macrociclos artificiais no intuito de inibir total ou parcialmente determinadas reações orgânicas é de grande interesse, por exemplo, para a preservação de espécies altamente reativas. O ciclobutadieno (Figura 8-A- $\beta$ ), por exemplo, é altamente instável e sofre rápida expansão do anel para formação do ciclooctatetraeno (Figura 8-A-7). No entanto, em 1991 sua síntese foi realizada na cavidade de um carcerando (Figura 8-B), sendo a variação da temperatura a condição empregada no controle de saída e entrada das espécies envolvidas em sua síntese. Em resumo, o sistema mostrou-se altamente eficiente em reduzir a reatividade das espécies envolvidas nas transformações da  $\alpha$ -pirona ao ciclooctatetraeno, tornando capaz a visualização de praticamente todas as espécies por análises de RMN de  $^1\text{H}$ .<sup>91</sup>

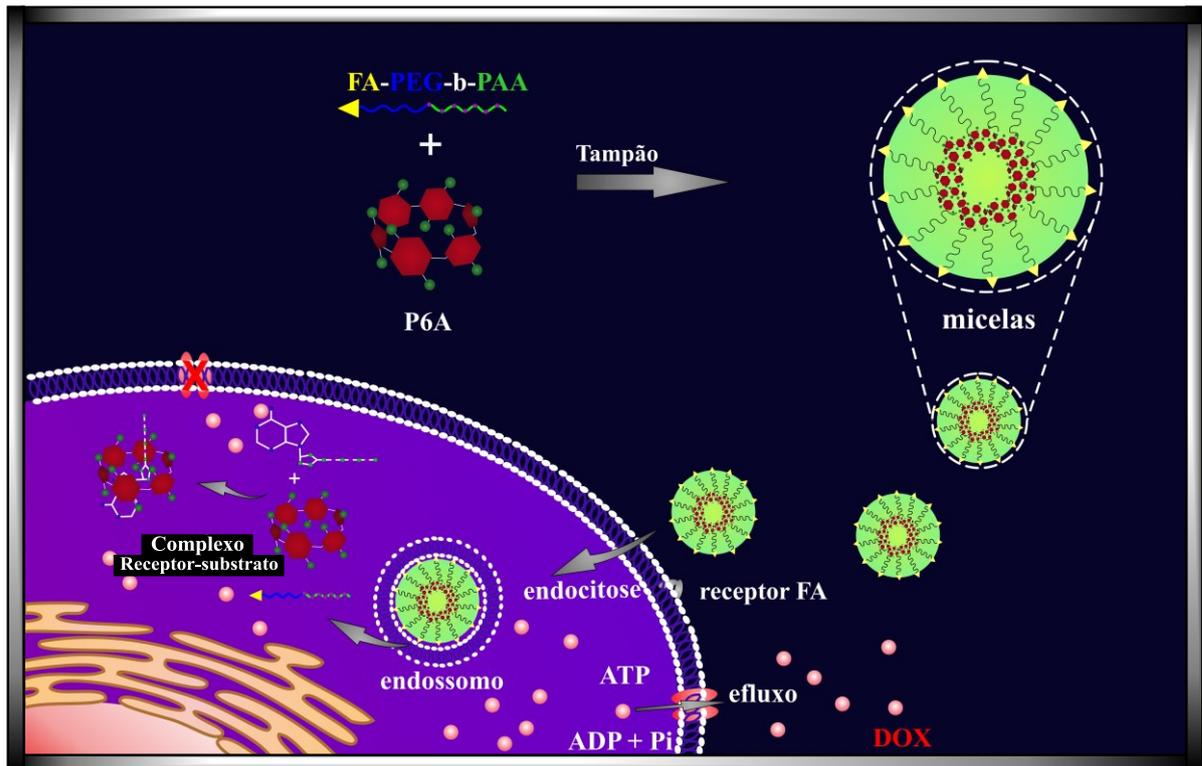
Figura 8 - Transformações térmicas e fotoquímicas da  $\alpha$ -pirona (A) e estrutura molecular do carcerando (B) empregado na estabilização das espécies envolvidas em sua conversão (adaptado da literatura).<sup>91</sup>



Adicionalmente, a ideia de inibição mostra-se como uma ferramenta valiosa tanto para investigação mecanística quanto para aplicações nos diversos setores, e para isto, os pilararenos já têm sido empregados. Num estudo recente,<sup>92</sup> um sistema formado por trimetilamôniopilar[6]arenos (P6A) encapsulados em micelas mostrou-se eficiente em direcionar-se para dentro de células através de receptores de folato, receptores comumente encontrados em células cancerígenas KB. Após este processo de endocitose, a alta afinidade entre o pilarareno e o ATP (trifosfato de adenosina) intracelular ( $K_{1:1} = 152.000 \pm 16.000 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) resultou em efeitos inibitórios sobre a hidrólise do organofosforado, sendo a supressão desta

fonte energética o fator chave para o bloqueio da bomba de efluxo. Com isto, a evasão intracelular de doxorrubicina, um fármaco quimioterápico, foi reduzida a ponto de atingir concentrações capazes de aumentar a eficiência da terapia anticâncer, como representado na Figura 9.

Figura 9 - Ilustração esquemática da preparação das micelas e do possível mecanismo para inibição da bomba de efluxo via formação do complexo R:S entre o P6A e o ATP intracelular (adaptado da literatura).<sup>92</sup>

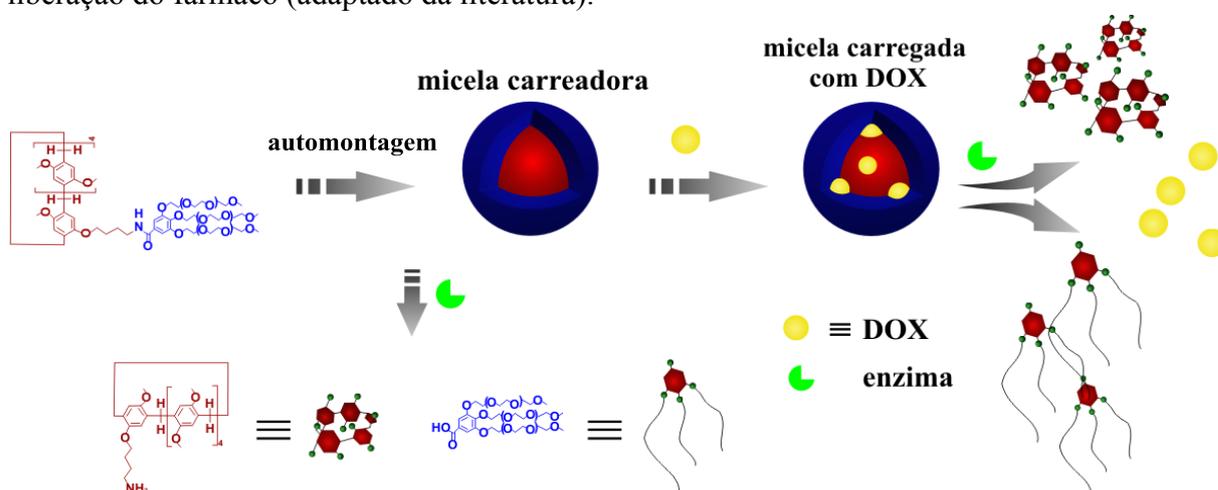


Os exemplos supracitados expõem a grande importância em desenvolver catalisadores seletivos capazes de gerar efeitos cinéticos sobre determinadas reações orgânicas, seja de catálise ou de inibição, possibilitando atingir aplicações de grande contribuição aos setores de interesse.

É notável que nos últimos anos o avanço em tecnologias de carreamento de fármacos tem evoluído significativamente para diversos tipos de patologias, deixando as terapias farmacológicas cada vez mais eficientes e livres de efeitos colaterais. Tais mecanismos são comumente denominados de entrega controlada de fármacos (do inglês, *drug delivery*). Para isto, uma série de catalisadores têm sido preparados, por exemplo, com porções anfifílicas para entrega de drogas, muitos destes sistemas sendo responsivos à diferentes estímulos externos.<sup>75,93</sup>

Um sistema micelar baseado em copilar[5]arenos ramificados com polietilenoglicol foi desenvolvido para o encapsulamento e transporte de fármacos hidrofóbicos em geral. Os estudos foram realizados para encapsulação da doxorubicina, um fármaco comum para tratamento anticâncer. O sistema mostrou-se eficiente na liberação do fármaco em resposta à catálise enzimática promovida por enzimas ativas, tais como a L-asparaginase. As micelas carregadas com doxorubicina apresentaram citotoxicidade significativa para células cancerígenas, tais como a MCF-7 (Figura 10).<sup>94</sup>

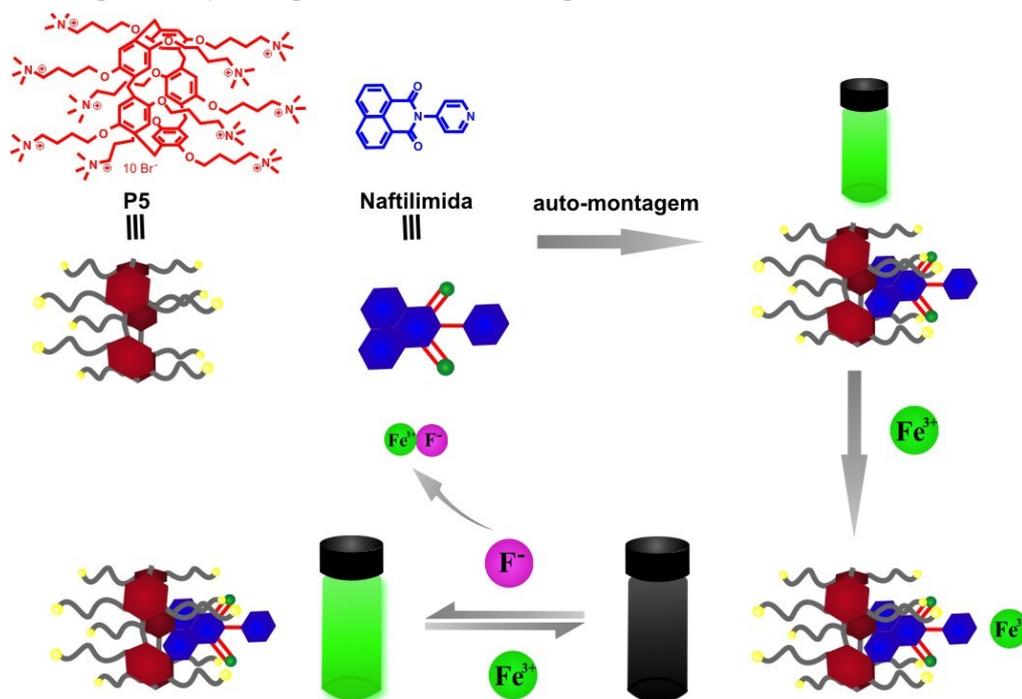
Figura 10 - Representação esquemática da formação de micelas e do encapsulamento de doxorubicina no seu núcleo hidrofóbico. Em seguida, há a clivagem enzimática para a liberação do fármaco (adaptado da literatura).<sup>94</sup>



Os pilararenos têm sido empregados ainda no desenvolvimento de sensores químicos para uma variedade de analitos orgânicos e inorgânicos, como para agrotóxicos,<sup>63,64,95</sup> cátions e ânions,<sup>49,77,96,97</sup> aminoácidos<sup>79</sup> e diversas outras classes de analitos.

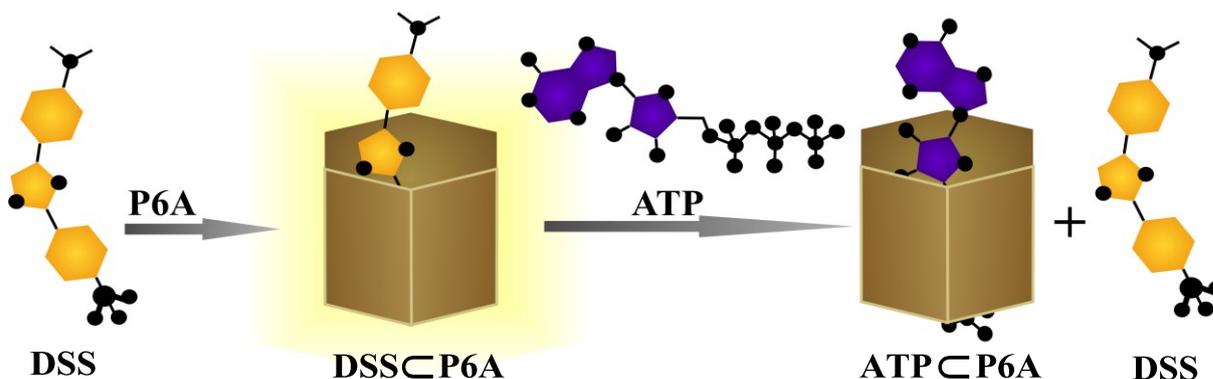
Um complexo R:S fluorescente formado pelo trimetilamôniopilar[5]areno (P5A) e uma naftilimida foi empregado como sensor químico seletivo para íons  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{F}^-$  em meio aquoso, sendo que este aumenta e aquele reduz a emissão de fluorescência.<sup>98</sup> Para este sistema, testes de falso positivo validaram sua seletividade diante diversos cátions e ânions, sendo proposta sua aplicação através de fitas de teste rápido para uso em campo (Figura 11).

Figura 11 - Representação esquemática do sensor químico naftilimida⊂P5A.<sup>98</sup>



Em outro trabalho,<sup>48</sup> uma forte associação R:S entre o trimetilamônio-pilar[6]areno (P6A) e o dapoxil sulfonato de sódio (DSS) foi observada em meio aquoso e pH fisiológico ( $K_{1:1} = 7,62 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ ). Este complexo apresentou grande emissão de fluorescência, sendo empregado como sensor químico para mono-, di- e trifosfato de adenosina (AMP, ADP e ATP, respectivamente) via deslocamento do indicador fluorescente. Em resumo, o sistema mostrou-se seletivo para ATP ( $K_{1:1} = 4,45 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), sendo o único organofosforado capaz de superar a afinidade entre o DSS e o P6A (Figura 12).

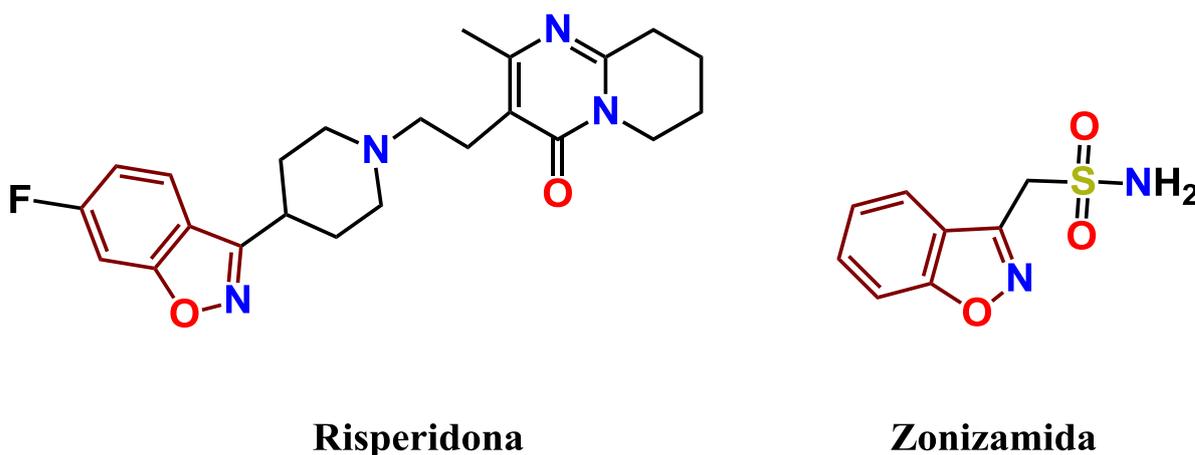
Figura 12 - Representação esquemática para a formação do sensor químico fluorescente DSS⊂P6A, seguido do deslocamento do DSS para a formação do complexo ATP⊂P6A não-fluorescente (adaptado da literatura).<sup>48</sup>



## 1.2 REAÇÃO MODELO 1: DESCARBOXILAÇÃO DO ÁCIDO 3-CARBOXI-1,2-BENZISOXAZOL E SEUS DERIVADOS

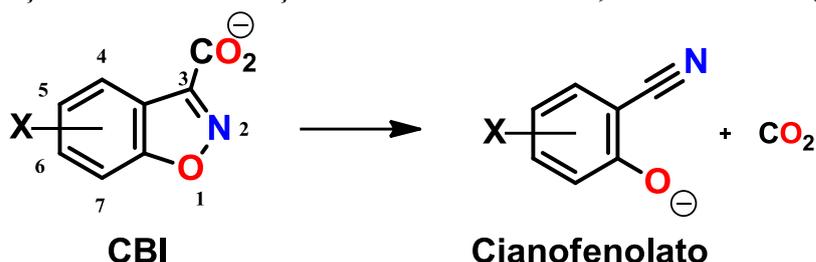
Uma classe de heterociclos bicíclicos bastante promissora é a dos 1,2-benzisoxazóis com grupos substituintes na posição 3 do anel. Geralmente, estes compostos apresentam atividades biológicas e farmacológicas interessantes, já sendo reportados efeitos analgésicos,<sup>99</sup> antimicrobianos,<sup>100</sup> antipsicóticos,<sup>101</sup> anticonvulsivantes<sup>102</sup> e anticâncer,<sup>103</sup> sendo comumente associados à receptores serotoninérgicos e dopaminérgicos.<sup>104</sup> A zonizamida e a risperidona (Figura 13), por exemplo, compõem a formulação de medicamentos antiepilépticos e antipsicóticos, respectivamente. Ambos os fármacos contêm o 1,2-benzisoxazol como fragmento de suas estruturas moleculares, sendo comumente administrados por via oral.<sup>105,106</sup>

Figura 13 - Estrutura molecular da risperidona e da zonizamida.



Um outro derivado bastante investigado na literatura é o ácido 3-carboxi-1,2-benzisoxazol (CBI), um composto também heterocíclico bicíclico com um grupo carboxila ligado diretamente ao carbono 3 de sua estrutura. Tanto o CBI quanto seus derivados são propícios à reação de descarboxilação, sendo os produtos de sua decomposição o cianofenolato correspondente e mais um equivalente de dióxido de carbono, como representado no Esquema 1. Diversos fatores têm influência sobre a velocidade de descarboxilação dos CBIs, o que caracteriza esta classe de compostos como sendo sensíveis ao pH, à presença de base (quando em solventes orgânicos), à temperatura e, principalmente, à polaridade e proticidade do solvente.<sup>107</sup>

Esquema 1 - Reação de descarboxilação do ácido 3-carboxi-1,2-benzisoxazol (CBI).



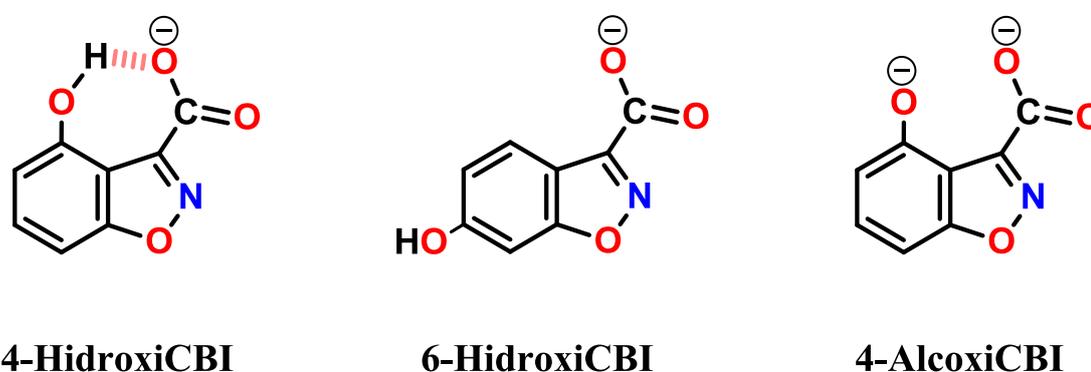
Daniel S. Kemp foi o pioneiro na investigação destas reações, o que as tornou popularmente conhecidas como “descarboxilações de Kemp”. Os dados experimentais divulgados por Kemp forneceram informações importantes acerca dos CBIs, sendo a reatividade destes compostos significativamente aumentada quando em: (1) sua forma aniônica, (2) solventes apróticos, (3) solventes polares e (4) temperaturas elevadas. Na Tabela 1 estão apresentadas as constantes de velocidade observada ( $k_{\text{obs}}$ ) para a reação de descarboxilação de diferentes derivados do CBI em água, bem como para o CBI em diferentes solventes.<sup>108,109</sup>

Tabela 1 - Valores de  $k_{\text{obs}}$  para a reação de descarboxilação de diferentes derivados do CBI em água (Superior) e para o CBI em diferentes solventes (Inferior), todas à 30 °C.<sup>108</sup>

<b>Derivados do CBI em água (<math>\mu = 1,0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}</math> de KCl)</b>		
<b>Substituinte</b>	<b><math>k_{\text{obs}}, \text{s}^{-1}</math></b>	<b><math>\log(k_{\text{obs}})</math></b>
CBI	$1,06 \times 10^{-6}$	-5,97
6-AminoCBI	$2,00 \times 10^{-6}$	-5,70
6-MetoxiCBI	$2,45 \times 10^{-6}$	-5,61
6-CloroCBI	$4,40 \times 10^{-6}$	-5,35
6-NitroCBI	$7,35 \times 10^{-6}$	-5,13
5-NitroCBI	$9,45 \times 10^{-5}$	-4,02
5,6-DinitroCBI	$1,02 \times 10^{-3}$	-2,99
<b>CBI em diferentes solventes (Base = Tetrametilguanidina)</b>		
<b>Solvente</b>	<b><math>k_{\text{obs}}, \text{s}^{-1}</math></b>	<b><math>\log(k_{\text{obs}})</math></b>
Água	$7,4 \times 10^{-6}$	-5,13
Clorofórmio	$8,0 \times 10^{-4}$	-3,09
Álcool etílico	$1,0 \times 10^{-3}$	-3,00
Benzeno	$4,8 \times 10^{-3}$	-2,32
Éter dietílico	$9,0 \times 10^{-2}$	-1,05
Nitrometano	$5,8 \times 10^{-1}$	-0,24
Benzonitrila	2,5	0,40
Acetonitrila	2,9	0,46
Dimetilsulfóxido	10,0	1,00
Acetona	24,0	1,38
Dimetilformamida	37,0	1,56
Dimetilacetamida	160,0	2,20
N-metilpirrolidona	250,0	2,40
Hexametiltriâmina fosfórica	~700,0	2,84

Os dados da Tabela 1 sugeriram, desde o início, que as ligações de hidrogênio entre solvente e o grupo carboxilato dos CBIs eram as interações responsáveis pela diminuição da reatividade destes compostos. Esta ideia foi fortemente aceita principalmente após Kemp determinar a influência quase nula do solvente sobre a  $k_{obs}$  do 4-HidroxiCBI, um derivado estabilizado por ligação de hidrogênio intramolecular altamente eficiente (Figura 14).<sup>109,110</sup> Neste sentido, enquanto as tendências observadas na Tabela 1 foram obedecidas pelo 6-HidroxiCBI e 4-AlcoxiCBI, o 4-HidroxiCBI apresentou variações insignificantes sobre sua  $k_{obs}$ .

Figura 14 - Estruturas moleculares de derivados do CBI.



### 1.3 REAÇÃO MODELO 2: DECOMPOSIÇÃO DE AMIDAS

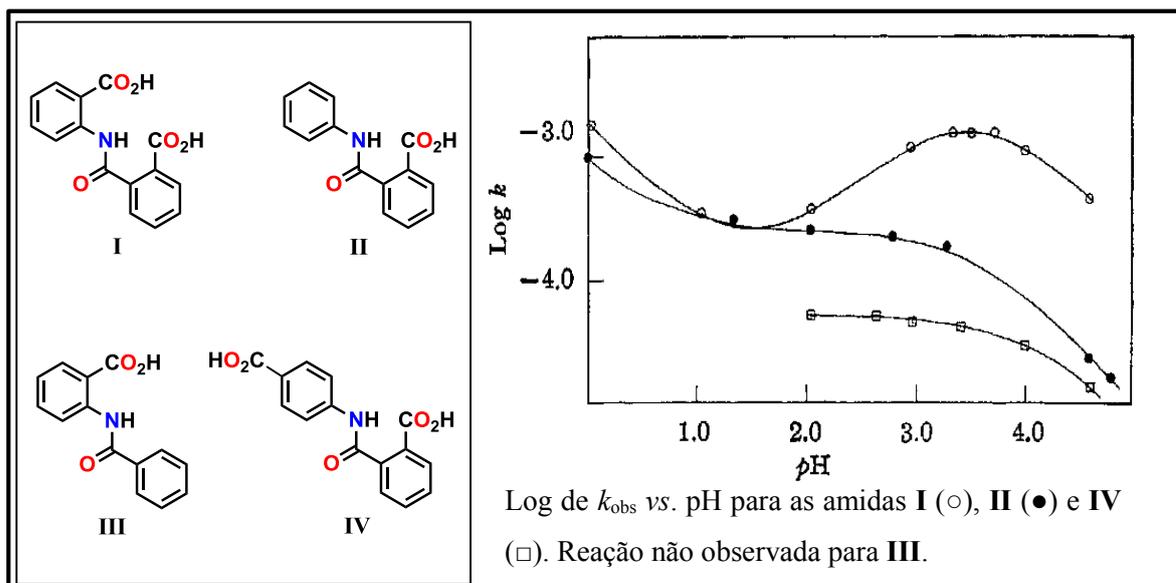
A formação da função amida representa um importante papel na construção de sistemas biológicos, por exemplo, na formação de aminoácidos para subsequente construção de proteínas. Além disto, grande parte das drogas terapêuticas contêm esta função em sua estrutura molecular, como a penicilina, o paracetamol, os barbitúricos e determinados benzodiazepínicos.<sup>111,112</sup>

As ligações químicas no grupo amida são bastante estáveis em condições ambientes, sendo sua hidrólise favorecida em condições fortemente básicas/ácidas e temperaturas elevadas para formação da amina e ácido carboxílico correspondentes.<sup>113</sup> A benzamida, por exemplo, tem sua hidrólise observável apenas nas condições drásticas mencionadas, com tempo de meia vida de 169 min para sua hidrólise à 85 °C e  $[H_2SO_4] = 5,9 \%$ .<sup>114</sup>

Esta função orgânica pode ter sua decomposição acelerada pela presença de grupos funcionais adjacentes, como já relatado envolvendo grupos carboxila. Num primeiro trabalho,<sup>115</sup> dados cinéticos envolvendo quatro *N*-fenilbenzamidias (Figura 15) mostraram a influência de grupos substituintes carboxila sobre suas velocidades de decomposição. Neste

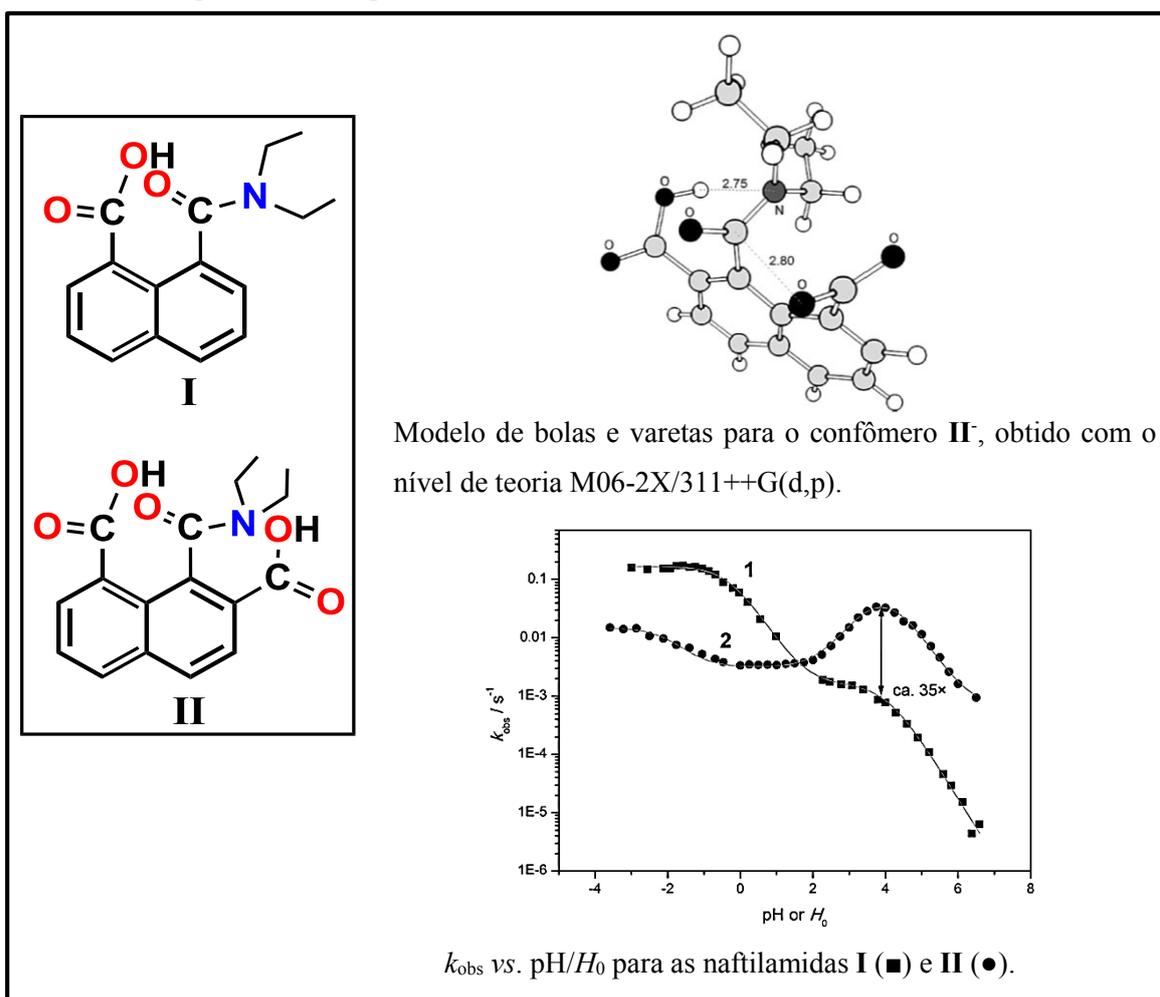
estudo, os compostos *orto*-substituídos apresentaram efeitos catalíticos sobre a reação, com o perfil cinético na forma de sino (para o composto I) similar ao observado em catálises enzimáticas. Estes efeitos foram discutidos com base apenas na ocorrência de catálise intramolecular pelos grupos carboxila, não havendo elucidação mecanísticas satisfatória.

Figura 15 - Estruturas moleculares de *N*-fenilbenzamidias substituídas e seus respectivos perfis cinéticos em água. Dados reproduzidos da literatura.<sup>115</sup>



Num estudo atual,<sup>116</sup> dados de  $k_{\text{obs}}$  vs. pH envolvendo duas naftilamidias substituídas com grupos carboxila apresentaram comportamentos similares ao observado para as *N*-fenilbenzamidias (Figura 16). As evidências experimentais foram consideravelmente melhores discutidas, servindo ainda de contestação para ideias elaboradas por Arieh Warshel (laureado com o Prêmio Nobel de Química de 2013). Os dados cinéticos do estudo apontaram ganhos na  $k_{\text{obs}}$  para a naftilamida I ao deslocar-se entre os pHs 6,5–2,0, um resultado da ativação de seu único grupo catalítico carboxila de  $pK_a = 4,0$ . Enquanto isto, a naftilamida II apresentou um perfil de sino no intervalo de pHs 2,0-6,0, similar ao observado em catálises enzimáticas. Tais evidências experimentais, juntamente com os cálculos teóricos baseados na DFT, indicaram um mecanismo via simultânea transferência de próton e ataque nucleofílico, ambos promovidos pelos dois grupos carboxila adjacentes ao grupo amida do composto II. Por fim, a teoria espaço-temporal foi empregada para a compreensão do efeito da distância e ângulo (espaço), bem como do tempo de permanência dos grupos catalíticos,<sup>117</sup> fornecendo evidências de grande valia para elucidação mecanística sobre catálise enzimática.

Figura 16 - Estruturas moleculares de naftilamidás substituídas e seus respectivos perfis cinéticos em água. Dados reproduzidos da literatura.<sup>116</sup>



#### 1.4 ANFETAMINAS DE ABUSO - METANFETAMINA

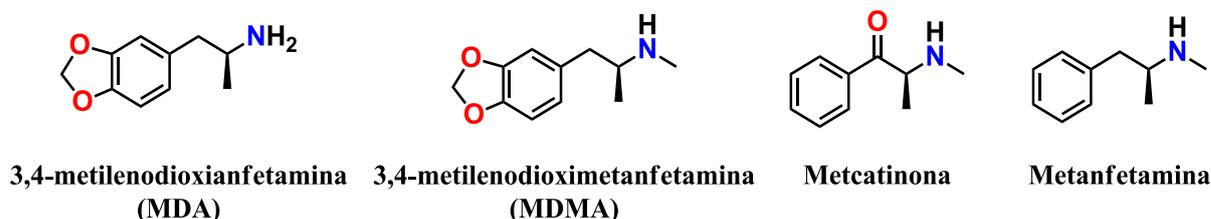
As anfetaminas de abuso compreendem uma classe de compostos sob proibição de uso e comercialização em todo o território brasileiro, bem como em diversos países do mundo. Os principais efeitos fisiológicos decorrentes de seu uso são de aumento dos níveis de aminas biogênicas nas fendas sinápticas, um processo que ocorre via mecanismos múltiplos envolvendo principalmente a dopamina, noradrenalina e serotonina. Tais efeitos provocam aumento do estado de euforia, sensações de prazer e felicidade, fatores que levaram à sua popularização entre pessoas de todas as idades e classes sociais.<sup>118,119</sup>

No Brasil, o abuso de anfetaminas se dá principalmente na forma de *ecstasy* (em eventos festivos) ou rebite (entre caminhoneiros), uma situação preocupante para os setores de saúde e segurança pública. Num estudo de campo envolvendo 160 caminhoneiros,<sup>120</sup> enquanto

32,9 % admitiram ter feito uso de rebite nos últimos três meses, 17,9 % assumiram fazer uso diário do entorpecente, dados que deveriam atrair a atenção de pesquisadores para o desenvolvimento de dispositivos fiscalizadores neste setor. Diante disto, a falta de testes prévios seletivos e de baixo custo (para auxílio efetivo nas fiscalizações), bem como de pesquisas voltadas para o desenvolvimento de sistemas aplicáveis à identificação destes compostos são justificativas de grande mérito para execução de projetos deste tipo.

Nos comprimidos de *ecstasy* já apreendidos no Brasil diversas substâncias psicoativas já foram determinadas,<sup>121</sup> sendo bastante comum a presença de precursores, intermediários, subprodutos, impurezas e excipientes.<sup>122,123</sup> Estas características exigem o desenvolvimento de sistemas altamente seletivos para eficiência em sua identificação, tornando os interferentes incapazes de gerar sinais de falso positivo. A Figura 17 apresenta quatro dos principais derivados anfetamínicos encontrados no *ecstasy* e rebite, sendo a metanfetamina a selecionada para este trabalho.

Figura 17 - Estruturas moleculares de anfetaminas de abuso.

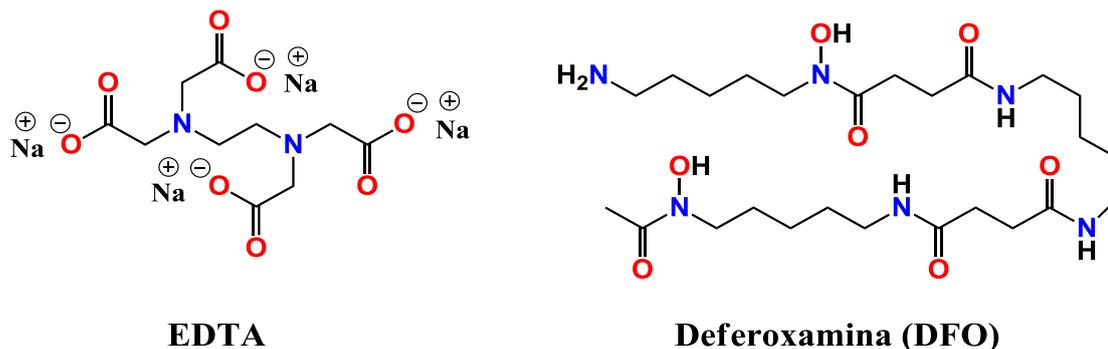


A metanfetamina (MA) é uma droga simpatomimética com grande potencial viciante, capaz de gerar efeitos danosos aos órgãos periféricos e cérebro.<sup>124,125</sup> Sua administração intraperitoneal em ratos e camundongos forneceram dados de DL<sub>50</sub> iguais à 55 e 57 mg/kg, respectivamente.<sup>126</sup> Em humanos, concentrações sanguíneas de 10 mg/L foram reportadas como letais,<sup>127</sup> caracterizando-a como uma das drogas recreacionais de maior toxicidade. Num caso específico,<sup>128</sup> um homem de 49 anos engoliu uma quantidade significativa de MA ao acreditar estar sendo perseguido pela polícia, sendo a *causa mortis* constatada como arritmia cardíaca resultante da superdosagem. Na autópsia, foram constatadas concentrações sanguíneas de MA de até 63,5 mg/L, muito superior à concentração letal mencionada.

As considerações do parágrafo anterior revelam ainda a importância do desenvolvimento de mecanismos compatíveis com o sistema circulatório, sendo estes capazes de associar-se seletivamente à substâncias superdosadas para subsequente excreção e/ou metabolização desacelerada. Este mecanismo já é utilizado em terapias de quelação, uma

prática empregada em intoxicações por metais como ferro, cobre, chumbo e outros, sendo o mecanismo terapêutico baseado na formação de quelatos para subsequente excreção. Para isto, são empregados diferentes agentes quelantes, como o EDTA e a deferoxamina (Figura 18), ambos empregados em terapia de quelação para chumbo e ferro, respectivamente.<sup>129,130</sup>

Figura 18 - Estruturas moleculares do EDTA e da deferoxamina.



O desenvolvimento de mecanismos similares para captação de substâncias orgânicas, como as anfetaminas de abuso, seriam de grande interesse para tratamentos hospitalares emergenciais, sendo a prevenção de overdoses uma delas. Este tipo de mecanismo já tem sido investigado para captura de cocaína no organismo,<sup>131</sup> com experimentos em cobaias já mostrando resultados promissores. Neste estudo, o sistema utilizado pelos pesquisadores é baseado em nanopartículas e mostra-se capaz de capturar até 70 % da cocaína administrada nas cobaias, um mecanismo capaz de reverter o estado de overdose iminente.

Mecanismos similares envolvendo condições mais drásticas (diferentes da fisiológica) podem ser desenvolvidos para o reconhecimento molecular da MA em campo. Esta ideia oferece aplicações de grande interesse ao setor de segurança pública, possibilitando a criação de dispositivos analíticos portáteis para identificação da droga. Para exemplificar isto, no início de 2019 uma operação conjunta entre a Polícia Federal e Polícia Civil de Santa Catarina resultou no fechamento de um laboratório clandestino de produção de *ecstasy* em Itajaí-SC, sendo imediatamente anunciada uma manufaturação de “MDMA”.<sup>132</sup> Com base nas notícias, o princípio ativo MDMA foi proposto por policiais sem a realização de testes científicos para sua confirmação, uma prática capaz de enfraquecer a credibilidade e eficiência da segurança pública no combate à ilegalidade. Um fato ocorrido em 2017 exemplifica isto, quando um herbicida gerou falso positivo no teste de Scott (triagem para cocaína) realizado pela Polícia Rodoviária Federal, resultando numa prisão de 21 dias por falsa suspeita de tráfico de drogas.<sup>133</sup>

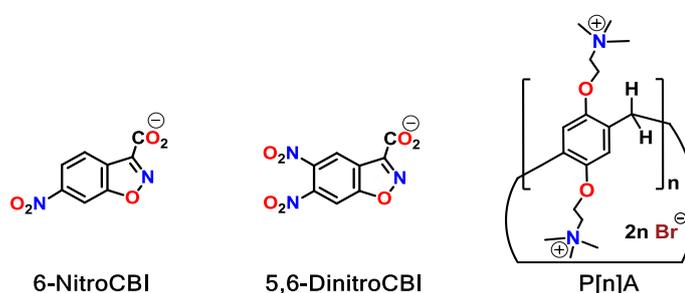
Como alternativa, um aparelho eletrônico denominado DDS<sup>®</sup>2,<sup>134</sup> popularmente chamado de “salivômetro” ou “drogômetro”, tem sido alvo de estudos pelo Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) como promessa de eficácia na determinação de drogas de abuso em amostras de saliva. No entanto, há relatos de pesquisadores brasileiros que contestam sua aplicabilidade no Brasil devido à não-detecção de substâncias entorpecentes comuns no país, bem como a geração de falsos positivos e/ou negativos decorrentes do próprio funcionamento do aparelho.<sup>135</sup>

## 2 OBJETIVOS

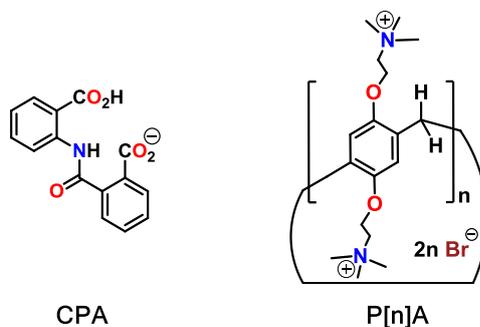
Esta tese de doutoramento está dividida em três capítulos correlacionados. Com isto, os objetivos gerais e específicos estão identificados de acordo com seus respectivos capítulos.

### 2.1 OBJETIVOS GERAIS

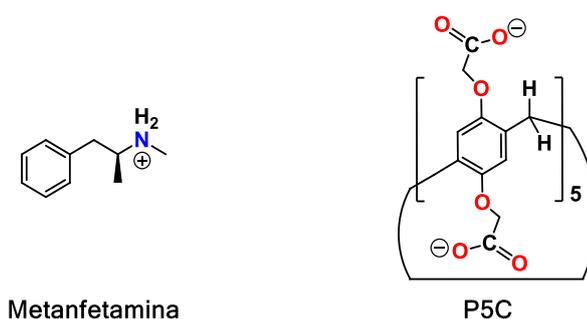
Capítulo 1) Investigar a reação de descarboxilação espontânea de dois derivados nitrados do ácido 3-carboxi-1,2-benzisoxazol (CBI), bem como a influência de dois pilar[n]arenos ( $n = 5$  e  $6$ ) catiônicos funcionalizados com grupos trimetilamônio (P5A e P6A).



Capítulo 2) Investigar a influência de dois pilar[n]arenos ( $n = 5$  e  $6$ ) catiônicos funcionalizados com grupos trimetilamônio (P5A e P6A) sobre a reatividade intramolecular do ácido 2-carboxiftalanílico (CPA).



Capítulo 3) Investigar os equilíbrios de dissociação ácida de um pilar[5]areno aniônico funcionalizado com grupos carboxila (P5C) e seu reconhecimento molecular sobre a metanfetamina.



## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Capítulo 1) DESCARBOXILAÇÃO DOS CBIs NA AUSÊNCIA E PRESENÇA DO P5A E P6A:

- Acompanhar a cinética de descarboxilação dos CBIs em água pura na ausência e presença do P5A e P6A por espectroscopia de UV-Vis;
- Acompanhar a cinética de descarboxilação dos CBIs em diferentes proporções de CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O por espectroscopia de UV-Vis;
- Caracterizar os produtos da descarboxilação dos CBIs;
- Realizar cálculos computacionais para determinar os estados de transição dos CBIs na reação de descarboxilação espontânea em H<sub>2</sub>O;
- Realizar simulações de dinâmica molecular para investigar a forma de acomodação, ângulos e energias envolvidas na formação dos complexos entre CBIs e pilararenos;
- Realizar titulações de RMN de <sup>1</sup>H envolvendo os CBIs e os pilararenos para elucidar a estrutura dos complexos e obter parâmetros de afinidade e estequiometria;
- Investigar a estabilidade térmica dos CBIs por calorimetria exploratória diferencial (DSC);

Capítulo 2) MODIFICAÇÃO DA REATIVIDADE INTRAMOLECULAR DO ÁCIDO 2-CARBOXIFTALANÍLICO NA PRESENÇA DO P5A E P6A:

- Sintetizar o CPA;
- Acompanhar a cinética de decomposição do CPA em água pura por espectroscopia de UV-Vis;
- Caracterizar os produtos da decomposição do CPA;
- Investigar o mecanismo de catálise bifuncional intramolecular do CPA por cálculos baseados na DFT;
- Acompanhar a cinética de decomposição do CPA na presença do P5A e P6A por espectroscopia de UV-Vis;
- Realizar experimentos de RMN de <sup>1</sup>H (titulação e ROESY) para elucidar a estrutura dos complexos e obter parâmetros de afinidade, estequiometria e cooperatividade.
- Realizar experimentos de infusões diretas num ESI-MS para avaliar as razões *m/z* dos complexos receptor-substrato.

Capítulo 3) RECONHECIMENTO MOLECULAR DO P5C SOBRE A METANFETAMINA:

- Avaliar a facilidade na extração do sulfato de pseudoefedrina de um fármaco comercial;
- Sintetizar a metanfetamina;
- Realizar titulação potenciométrica do P5C para determinar a distribuição de espécies em função do pH;
- Realizar titulações de RMN de  $^1\text{H}$  entre o P5C e a metanfetamina para elucidar a estrutura dos complexos e obter parâmetros de afinidade e estequiometria.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais também estão apresentados de maneira estratégica para melhor compreensão. Para isto, serão apresentados os procedimentos comuns aos três capítulos e, na sequência, os procedimentos exclusivos de cada capítulo.

#### 3.1 MEDIDAS CINÉTICAS

As medidas de pH foram realizadas com um pHmetro digital Hanna, calibrado com soluções padrões de pHs 4,01, 7,01 e 10,01 (Sigma-Aldrich). Em experimentos acima de 25 °C, as medidas foram realizadas com compensação de temperatura em cela acoplada a um banho termostático.

As reações foram acompanhadas com um espectrofotômetro de UV-Vis Cary 50, acoplado a um computador contendo sistemas de aquisição e tratamento de dados CaryWinUV 3.00. Todas as medidas foram feitas em cubetas de quartzo com capacidade de 3,50 mL e 1,0 cm de caminho óptico. As reações iniciaram após a adição de 20 µL da solução estoque do substrato ( $0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  em acetonitrila) à 2,0 mL da solução tamponada, na presença ou ausência dos pilararenos ( $[\text{substrato}]_{\text{Final}} = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ). As constantes de velocidade observada ( $k_{\text{obs}}$ ) foram determinadas pelo aparecimento do produto em um comprimento de onda adequado (6-NitroCF = 400 nm; 5,6-DinitroCF = 380 nm; Ácido Antranílico = 330-350 nm).

#### 3.2 MEDIDAS CINÉTICAS - TRATAMENTO DOS DADOS

Experimentos de  $k_{\text{obs}}$  vs. concentração de pilarareno foram realizados para determinação dos parâmetros cinéticos e de equilíbrio envolvendo a formação do complexo receptor-substrato. Os efeitos cinéticos observados, seja de catálise ou de inibição, foram tratados considerando a ocorrência da reação simultaneamente em ambos os ambientes (em solução e na cavidade do pilarareno). Portanto, o valor de  $k_{\text{obs}}$  é avaliado como a soma das constantes de velocidade em ambos os ambientes ponderada pelas frações em mol das espécies. Para isto, os modelos foram selecionados com base na estequiometria do complexo para ajustes não-lineares dos dados, como descrito abaixo:

**Estequiometria R:S:** Assumindo apenas a existência de complexos de baixa ordem ( $R + S \rightleftharpoons R:S$ ), a constante de associação é definida como:

$$K_{1:1} = \frac{[R:S]}{[R] \cdot [S]}$$

Com isto, a fração em mol do substrato no complexo ( $X_{1:1}$ ) e em solução ( $X_S$ ) podem ser definidas como:

$$X_S = \frac{1}{1 + K_{1:1}[R]} \quad X_{1:1} = \frac{K_{1:1}[R]}{1 + K_{1:1}[R]}$$

Por fim, os dados experimentais foram ajustados com a Equação 1:

$$k_{obs} = k_S X_S + k_{1:1} X_{1:1} \quad (1)$$

$k_S$  e  $k_{1:1}$  são as constantes de velocidade em solução e na cavidade do pilarareno, respectivamente;  $X_S$  e  $X_{1:1}$  são as frações em mol do substrato em solução e na cavidade do pilarareno, respectivamente.

**Estequiometria R:S<sub>2</sub>:** Assumindo a existência de complexos de ordem superior em relação ao substrato ( $R + S \rightleftharpoons R:S + S \rightleftharpoons R:S_2$ ), as constantes de associação macroscópicas são definidas como:

$$K_{1:1} = \frac{[R:S]}{[R] \cdot [S]} \quad K_{1:2} = \frac{[R:S_2]}{[R:S] \cdot [S]}$$

Com isto, a fração em mol do substrato nos complexos R:S ( $X_{1:1}$ ) e R:S<sub>2</sub> ( $X_{1:2}$ ), bem como em solução ( $X_S$ ) podem ser definidas como:

$$X_S = \frac{1}{1 + K_{1:1}[R] + K_{1:1}K_{1:2}[R]^2}$$

$$X_{1:1} = \frac{K_{1:1}[R]}{1 + K_{1:1}[R] + K_{1:1}K_{1:2}[R]^2}$$

$$X_{1:2} = \frac{K_{1:1}K_{1:2}[R]^2}{1+K_{1:1}[R]+K_{1:1}K_{1:2}[R]^2}$$

Por fim, os dados experimentais foram ajustados com a Equação 2:

$$k_{obs} = k_S X_S + k_{1:1} X_{1:1} + k_{1:2} X_{1:2} \quad (2)$$

$k_S$ ,  $k_{1:1}$  e  $k_{1:2}$  são as constantes de velocidade em solução, no complexo R:S e R:S<sub>2</sub>, respectivamente;  $X_S$ ,  $X_{1:1}$  e  $X_{1:2}$  são as frações em mol do substrato em solução, no complexo R:S e R:S<sub>2</sub>, respectivamente.

### 3.3 TITULAÇÃO DE RMN DE <sup>1</sup>H - TRATAMENTO DOS DADOS

Experimentos de titulação de RMN de <sup>1</sup>H foram realizados para determinação de estequiometria, constantes de associação e elucidação estrutural dos complexos. Em todos os capítulos desta tese foram observados equilíbrios mais rápidos do que o tempo de aquisição da técnica (ms). Com isto, a variação espectroscópica observada correspondia à média da espécie no complexo e fora dele, com o deslocamento químico no patamar correspondendo apenas ao complexo.

Diferentes modelos foram selecionados com base na estequiometria do complexo para ajustes não-lineares dos dados,<sup>136</sup> como descrito abaixo:

**Estequiometria R:S:** Assumindo apenas a existência de complexos de baixa ordem ( $R + S \rightleftharpoons R:S$ ), a constante de associação é definida como:

$$K_{1:1} = \frac{[R:S]}{[R] \cdot [S]}$$

Devido à impossibilidade de determinação direta das concentrações do receptor e substrato livres, um tratamento alternativo para uso de suas concentrações iniciais pode ser feito utilizando a equação abaixo:

$$[R:S] = \frac{1}{2} \left\{ [R]_0 + [S]_0 + \frac{1}{K_{1:1}} - \sqrt{\left( [R]_0 + [S]_0 + \frac{1}{K_{1:1}} \right)^2 - 4[R]_0[S]_0} \right\}$$

Por fim, os dados experimentais foram ajustados com a Equação 3:

$$\Delta\delta = \delta_{1:1} \left( \frac{[R:S]}{[R]_0} \right) \quad (3)$$

$\delta_{1:1}$  é o deslocamento químico em ppm do complexo;  $[R:S]$  é a concentração do complexo;  $[R]_0$  é a concentração inicial do receptor.

**Estequiometria R:S<sub>2</sub>:** Assumindo a existência de complexos de ordem superior em relação ao substrato ( $R + S \rightleftharpoons R:S + S \rightleftharpoons R:S_2$ ), as constantes de associação macroscópicas são definidas como:

$$K_{1:1} = \frac{[R:S]}{[R] \cdot [S]} \quad K_{1:2} = \frac{[R:S_2]}{[R:S] \cdot [S]}$$

Devido à impossibilidade de determinação direta das concentrações do receptor e substrato livres, um tratamento alternativo para uso de suas concentrações iniciais pode ser feito utilizando a equação cúbica abaixo:

$$a[S]^3 + b[S]^2 + c[S] - [S]_0 = 0$$

Onde:

$$a = K_{1:1}K_{1:2}$$

$$b = K_{1:1}(2K_{1:2}[R]_0 - K_{1:2}[S]_0 + 1)$$

$$c = K_{1:1}([R]_0 - [S]_0) + 1$$

Por fim, os dados experimentais foram ajustados com a Equação 4:

$$\Delta\delta = \frac{\delta_{1:1}K_{1:1}[S] + \delta_{1:2}K_{1:1}K_{1:2}[S]^2}{1 + K_{1:1}[S] + K_{1:1}K_{1:2}[S]^2} \quad (4)$$

$\delta_{1:1}$  e  $\delta_{1:2}$  são os deslocamentos químicos em ppm dos complexos R:S e R:S<sub>2</sub>, respectivamente;  $K_{1:1}$  e  $K_{1:2}$  são as constantes de associação para formação dos complexos R:S e R:S<sub>2</sub>, respectivamente; [S] é a concentração do substrato livre.

**Estequiometria R<sub>2</sub>:S:** Assumindo a existência de complexos de ordem superior em relação ao receptor ( $R + S \rightleftharpoons R:S + R \rightleftharpoons R_2:S$ ), as constantes de associação macroscópicas são definidas como:

$$K_{1:1} = \frac{[R:S]}{[R] \cdot [S]} \quad K_{1:2} = \frac{[R_2:S]}{[R:S] \cdot [R]}$$

Devido à impossibilidade de determinação direta das concentrações do receptor e substrato livres, um tratamento alternativo para uso de suas concentrações iniciais pode ser feito utilizando a equação cúbica abaixo:

$$a[R]^3 + b[R]^2 + c[R] - [R]_0 = 0$$

Onde:

$$a = K_{1:1}K_{2:1}$$

$$b = K_{1:1}(2K_{2:1}[S]_0 - K_{2:1}[R]_0 + 1)$$

$$c = K_{1:1}([S]_0 - [R]_0) + 1$$

Por fim, os dados experimentais foram ajustados com a Equação 5:

$$\Delta\delta = \frac{\delta_{1:1}[S]_0K_{1:1}[R] + 2\delta_{2:1}[S]_0K_{1:1}K_{2:1}[R]^2}{[R]_0(1 + K_{1:1}[R] + K_{1:1}K_{2:1}[R]^2)} \quad (5)$$

$\delta_{1:1}$  e  $\delta_{2:1}$  são os deslocamentos químicos em ppm dos complexos R:S e R<sub>2</sub>:S, respectivamente;  $K_{1:1}$  e  $K_{2:1}$  são as constantes de associação para formação dos complexos R:S

e  $R_2:S$ , respectivamente;  $[R]$  é a concentração do receptor livre;  $[S]_0$  e  $[R]_0$  são as concentrações iniciais do substrato e receptor, respectivamente.

Para as estequiometrias  $R:S_2$  e  $R_2:S$  os ajustes dos dados foram realizados com o uso da ferramenta online BindFit.<sup>137</sup>

### 3.4 EXPERIMENTOS DE ESI-MS

A caracterização de produtos e de complexos receptor-substrato foram realizadas por infusões diretas num espectrômetro de massas triplo-quadrupolo híbrido com ion trap linear (Q Trap 3200 - Applied Biosystems/MDS Sciex, Concord, Canada), com resolução de massa de 1.700 Da. Os experimentos foram realizados utilizando uma fonte de ionização Turbo Ion Spray™ (electrospray ionization – ESI, Applied Biosystems/MDS Sciex, Concord, Canada) no modo íon negativo ou positivo. As amostras foram diluídas para 1-10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  em água e infundidas na velocidade de 10  $\mu\text{L}/\text{min}$ . A interface íon-spray foi mantida em 0 °C; voltagem de -4,5 ou 5,5 kV para o modo íon negativo ou positivo, respectivamente; cortina de gás de solvatação (Curtain Gas™), 10 psi; gás nebulizante (GS1, ar sintético), 18 psi; gás secante (GS2, ar sintético), 0 psi; gás de colisão (CAD Gas™, nitrogênio), médio. Para registro e tratamento de dados foi utilizado o *software* Analyst (versão 1.5.1; Applied Biosystems).

### 3.5 CAPÍTULO 1) DESCARBOXILAÇÃO DOS CBIs NA AUSÊNCIA E PRESENÇA DO P5A E P6A

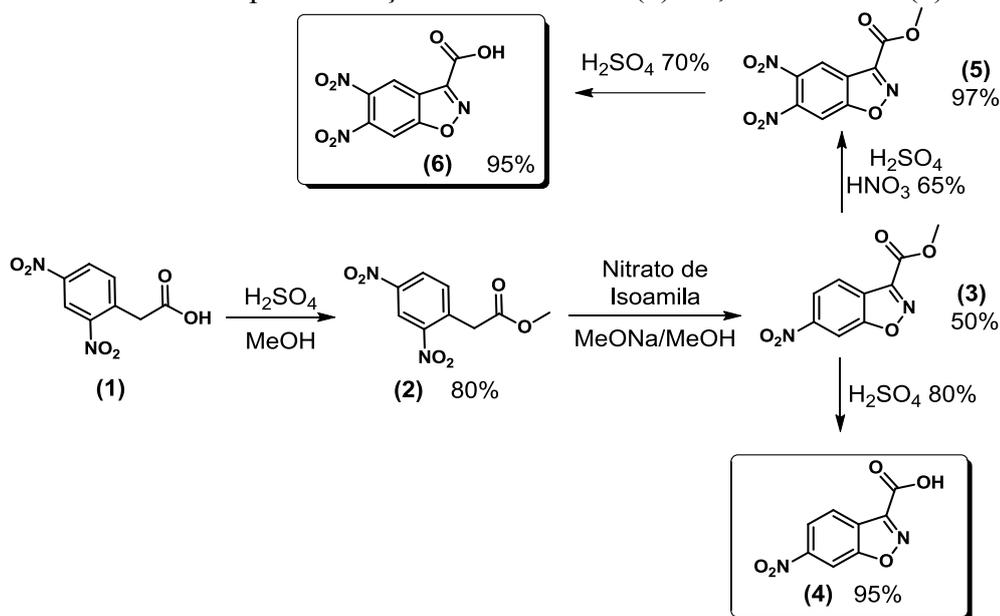
#### **Materiais**

Tanto os CBIs quanto os pilar[n]arenos foram disponibilizados pelo Laboratório de Catálise e Fenômenos Interfaciais (LaCFI-UFSC). A síntese destes compostos foram realizadas seguindo procedimentos já descritos na literatura, no entanto, modificações experimentais foram realizadas e estão descritas abaixo:

#### **Síntese dos CBIs**

O Esquema 2 mostra a rota sintética utilizada para obtenção do 6-NitroCBI (**4**) e 5,6-DinitroCBI (**6**), baseando-se em procedimentos já descritos.<sup>108</sup> Na sequência, todas as etapas reacionais estão descritas de maneira detalhada.

Esquema 2 - Rota sintética para obtenção do 6-NitroCBI (4) e 5,6-DinitroCBI (6).



**Síntese do metil 2-(2,4-dinitrofenil)acetato (2):** Em um balão reacional, sob atmosfera de argônio, foram adicionados o ácido 2,4-dinitrofenilacético (44,0 mmol), metanol (5,3 mL), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (13,0 mL) e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,66 mL). A mistura foi mantida sob refluxo por 20 h e, após resfriamento, foi lavada com 20,0 mL de água, 20,0 mL de uma solução saturada de NaHCO<sub>3</sub> e 20,0 mL de água novamente. A fase orgânica foi seca com MgSO<sub>4</sub> e evaporada. O produto foi obtido como um óleo pastoso amarelo após lavagem com etanol, em 80% de rendimento. A identificação do mesmo foi realizada através do CG-MS.

**Síntese do metil 6-nitro-1,2-benzisoxazol-3-carboxilato (3):** Em um balão de 3 bocas, munido de condensador de refluxo e funil de adição, foram adicionados o composto 2 (14,6 mmol) e metanol seco (50,0 mL) a 40°C. Em seguida foi adicionado o nitrato de isoamila (18,0 mmol). No funil de adição, foram adicionados o metanol seco (10,0 mL) e sódio metálico (0,330 g). Quando todo o sólido foi consumido o MeONa foi adicionado lentamente sob vigorosa agitação. Depois de 4 h de reação a suspensão foi resfriada e o sólido formado filtrado a vácuo. Os cristais amarelos foram recristalizados em metanol. O produto foi obtido como um sólido amarelo em 50% de rendimento. A identificação do mesmo foi realizada por CG-MS.

**Síntese do ácido 3-carboxi-6-nitro-1,2-benzisoxazol (4):** Em um balão, munido de condensador de refluxo, foram adicionados o composto 3 (4,5 mmol) e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 80% (20,0 mL). A mistura reacional foi agitada por 40 min à 80 °C, posteriormente resfriada e colocada em 10,0 mL de gelo. O sólido formado foi filtrado a vácuo e lavado com água deionizada gelada.

Rendimento de 95% como um sólido branco. RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz, Acetona- $\text{D}_6$ , TMS)  $\delta$  (ppm): 8,7 (s, 1H); 8,4 (s, 2H); 5,6 (sl, OH).

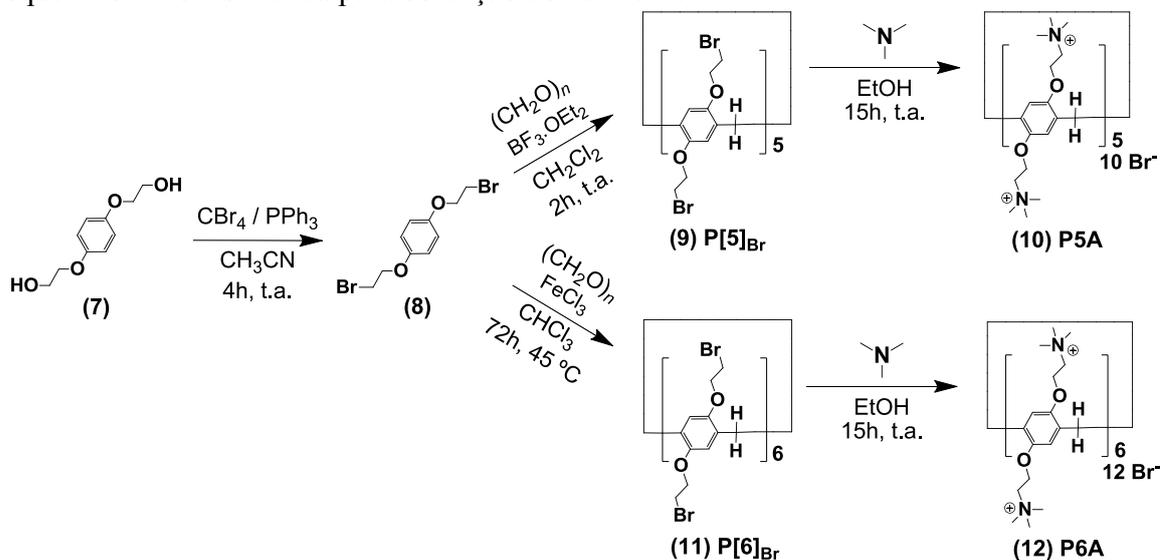
**Síntese do metil 5,6-dinitro-1,2-benzisoxazol-3-carboxilato (5):** Em um balão, munido de condensador de refluxo, foram adicionados o composto **3** (5,0 g) e o  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (25,0 mL). A mistura reacional foi mantida à 30 °C e sob agitação adicionou-se lentamente o  $\text{HNO}_3$  65 % (5,0 mL). Posteriormente, a reação foi conduzida por 4 h à 50 °C, resfriada e colocada no gelo. O precipitado foi filtrado, lavado com água gelada e seco em alto vácuo. Rendimento de 97 % como um sólido branco. RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS)  $\delta$  (ppm): 8,8 (s, 1H); 8,2 (s, 1H); 4,2 (s, 3H).

**Síntese do ácido 3-carboxi-5,6-dinitro-1,2-benzisoxazol (6):** Em um balão, munido de condensador de refluxo, foram adicionados o composto **5** (2,0 g) e  $\text{H}_2\text{SO}_4$  70 % (20,0 mL). A mistura reacional foi aquecida à 80 °C e agitada por 3 h. Posteriormente, a reação foi resfriada e colocada no gelo. O precipitado foi coletado e lavado com água deionizada gelada e seco em alto vácuo. Rendimento de 95 % como um sólido acinzentado. RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz, Acetona- $\text{D}_6$ , TMS)  $\delta$  (ppm): 8,9 (s, 1H); 8,6 (s, 1H); 5,5-4,0 (sl, OH).

### Síntese do P5A e P6A

O Esquema 3 mostra a rota sintética utilizada para obtenção do P5A e P6A, baseando-se em procedimentos já descritos.<sup>71</sup> Na sequência, todas as etapas reacionais estão descritas de maneira detalhada.

Esquema 3 - Rota sintética para obtenção do P5A e P6A.



**Síntese da hidroquinona bromada (8):** Em um balão de reação sob atmosfera de argônio, foram adicionados o composto **7** (10,0 mmol), trifenilfosfina (23,81 mmol) e acetonitrila seca (50,0 mL). A mistura reacional foi resfriada à 0 °C e o CBr<sub>4</sub> (23,81 mmol) foi adicionado lentamente. Após isto, a reação foi mantida em temperatura ambiente e agitada por 4 h. Adicionou-se água deionizada gelada (40,0 mL). O precipitado formado foi filtrado, lavado com MeOH/H<sub>2</sub>O (3:2, 3×25,0 mL), recristalizado em metanol e seco em alto vácuo. Rendimento de 93 % como um sólido branco. RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS): 6,86 (s, 4H); 4,24 (t, 4H, *J* = 4 Hz); 3,61 (t, 4H, *J* = 4 Hz). RMN de <sup>13</sup>C {<sup>1</sup>H} (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, solvente residual como referência): 152,9; 116,2; 68,8; 29,4.

**Síntese do pilar[5]areno bromado P[5]<sub>Br</sub> (9):** Em um balão de reação sob atmosfera de argônio, foram adicionados o composto **8**, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (230 mL), paraformaldeído (30,87 mmol) e BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (33,86 mmol). A mistura foi agitada por 2 h à temperatura ambiente. Após este período, a mistura reacional foi lavada com água deionizada, solução saturada de NaHCO<sub>3</sub> e solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca com MgSO<sub>4</sub>, filtrada e evaporada sob vácuo. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia em coluna (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:Hexano). Rendimento de 70 % como um sólido branco. RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS) δ (ppm): 6,91 (s, 10H); 4,23 (t, 20H, *J* = 2 Hz); 3,84 (s, 10H); 3,63 (t, 20H, *J* = 4 Hz). RMN de <sup>13</sup>C {<sup>1</sup>H} (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, solvente residual como referência) δ (ppm): 149,8; 129,2; 116,2; 69,1; 30,9; 29,5.

**Síntese do pilar[6]areno bromado P[6]<sub>Br</sub> (11):** Em um balão de reação sob atmosfera de argônio, foram adicionados o composto **8**, CH<sub>3</sub>Cl (90 mL), paraformaldeído (30,87 mmol) e FeCl<sub>3</sub> (1,24 mmol). A mistura foi agitada por 72 h à 45 °C. Após este período, a mistura reacional foi lavada com água deionizada, solução saturada de NaHCO<sub>3</sub> e solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca com MgSO<sub>4</sub>, filtrada e evaporada sob vácuo. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia em coluna (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:Hexano). Rendimento de 30 % como um sólido amarelo pálido. RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS) δ (ppm): 6,91 (s, 10H); 4,23 (t, 20H, *J* = 2 Hz); 3,84 (s, 10H); 3,63 (t, 20H, *J* = 4 Hz). RMN de <sup>13</sup>C {<sup>1</sup>H} (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, solvente residual como referência) δ (ppm): 149,8; 129,2; 116,2; 69,1; 30,9; 29,5.

**Síntese do P5A e P6A (10 e 12):** Em um balão de reação, foram adicionados o P[5]<sub>Br</sub> ou P[6]<sub>Br</sub> (**9** ou **11**, respectivamente, 1,19 mmol), etanol (100,0 mL) e trimetilamina (48,11 mmol). A mistura reacional foi mantida sob refluxo *overnight*. Após este período, o precipitado formado foi filtrado, lavado com etanol e seco em alto vácuo. Rendimento de 95 % para o P5A (sólido branco) e 91 % para o P6A (sólido amarelo pálido). RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, D<sub>2</sub>O, TMS) δ (ppm): 6,86 (s, 1H); 4,37 (s, 2H); 3,85 (s, 1H); 3,72 (s, 2H); 3,14 (s, 9H). RMN de <sup>13</sup>C {<sup>1</sup>H} (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ (ppm): 149,43; 129,97; 116,54; 64,93; 63,50; 54,08; 29,54. HRMS/ESI-

TOF ( $m/z$ ) para o P5A:  $[P5A-3Br^-]^{3+}$  ( $C_{85}H_{150}N_{10}O_{10}Br_7$ ), calculado 677,1917, observado 677,1919;  $[P5A-2Br^-]^{2+}$  ( $C_{85}H_{150}N_{10}O_{10}Br_8$ ), calculado 1055,7472, observado 1055,7473. HRMS/ESI-TOF ( $m/z$ ) para o P6A:  $[P6A-3Br^-]^{3+}$  ( $C_{102}H_{180}N_{12}O_{12}Br_9$ ), calculado 828,5472, observado 828,5474;  $[P6A-2Br^-]^{2+}$  ( $C_{102}H_{180}N_{12}O_{12}Br_{10}$ ), calculado 1282,7799, observado 1282,7795 (fragmentogramas no Apêndice G).

### Tratamento dos dados cinéticos

Para ambos os CBIs, o  $pK_a$  cinético ( $pK_{ac}$ ) foi determinado através de ajustes não-lineares sobre os dados de  $k_{obs}$  vs. pH. Para isto, a Equação 6 foi utilizada.

$$k_{obs} = k_{HA} \left( \frac{1}{1+10^{(pH-pK_a)}} \right) + k_{A-} \left( \frac{1}{1+10^{(pK_a-pH)}} \right) \quad (6)$$

$k_{obs}$  é a constante de velocidade observada;  $k_{HA}$  e  $k_{A-}$  são as constantes de velocidade das espécies neutra e monoaniônica, respectivamente.

Os parâmetros de ativação ( $\Delta G^\ddagger$ ,  $\Delta H^\ddagger$  e  $\Delta S^\ddagger$ ) para a reação de descarboxilação dos CBIs foram determinados experimentalmente. Para isto, os valores de  $k_{obs}$  foram determinados na faixa de 25-65 °C e pH 7,0, onde há a predominância da espécie aniônica dos CBIs. Por fim, o ajuste linear sobre os dados de  $\ln(k_{obs} \cdot h / \kappa \cdot k_B \cdot T)$  vs.  $1/T$  (Equação 7, relação de Eyring) forneceram os valores de entalpia (coeficiente angular) e entropia (intercepto) de ativação.

$$\ln \left( \frac{k_{obs} \cdot h}{\kappa \cdot k_B \cdot T} \right) = - \left( \frac{\Delta H^\ddagger}{R} \right) \left( \frac{1}{T} \right) + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} \quad (7)$$

$k_{obs}$  é a constante de velocidade observada;  $h$  é a constante de Planck ( $6,6269 \times 10^{-34}$  J·s);  $\kappa$  é o coeficiente de transmissão (1);  $k_B$  é a constante de Boltzmann ( $1,3807 \times 10^{-23}$  J·K<sup>-1</sup>);  $T$  é a temperatura absoluta;  $R$  é a constante universal dos gases ( $8,314$  J·K<sup>-1</sup>·mol<sup>-1</sup>).

### Estudo de estabilidade térmica

A decomposição térmica dos CBIs sólidos foi investigada por calorimetria diferencial exploratória (DSC). As curvas de aquecimento foram adquiridas no equipamento DSC-Q20 (*TA Instruments*). As medidas foram realizadas sob atmosfera de hélio com vazão de 50 mL·min<sup>-1</sup>, rampa de aquecimento de 10 °C·min<sup>-1</sup>, cadinho de alumínio com tampa hermética

(para amostra e referência) e faixa de temperatura de 25 °C até a ocorrência de decomposição térmica.

### **Cálculos computacionais**

Foram realizados cálculos baseados na teoria do funcional da densidade (DFT) com nível de teoria M06/6-31+G(d, p), usando o pacote GAUSSIAN 09 implementado no sistema operacional Linux. A rotina de otimização de gradiente analítico de Berny foi utilizado como parâmetros padrões para convergência. A convergência na matriz de densidade foi de  $10^{-9}$  unidades atômicas, o valor limite para o deslocamento máximo foi de 0,0018 Å e a força máxima 0,00045 Hartree/Bohr. Uma vez que os efeitos do solvente são importantes (cruciais quando um reagente), principalmente por participar efetivamente na estabilização dos CBIs, todas as otimizações e cálculos de frequência foram realizados utilizando o Modelo do Contínuo Polarizável (PCM) e o Modelo de Solvatação Baseado na Densidade Eletrônica (SMD), de Truhlar e colaboradores.<sup>138</sup> Os estados de transição (ET) foram identificados por suas frequências imaginárias únicas para os CBIs.

Simulações de dinâmica molecular foram realizadas para investigar as estruturas mais prováveis para a interação entre os CBIs (6-NitroCBI e 5,6-DinitroCBI) e os pilararenos (P5A e P6A). Cada complexo contendo 1 CBI e 1 pilarareno foi solvatado com 4.714 moléculas de água (SPC) na presença de quantidade adequada dos contraíons  $\text{Br}^-$  e  $\text{Na}^+$  para atingir a eletroneutralidade do sistema. As simulações foram realizadas utilizando o programa *Gromacs* (versão 4.6.5).<sup>139</sup> Os CBIs e os pilararenos foram construídos com parâmetros do campo de força GROMOS96 54A7<sup>140</sup> e solvatados com o modelo de água SPC.<sup>141</sup> Condições de contorno periódicas foram aplicadas em todas as três dimensões, com todas as simulações realizadas no conjunto isotérmico-isobárico. A temperatura foi mantida em 300 K utilizando o termostato de Berendsen (redimensionamento-v) com os pilararenos e os CBIs, sendo os íons e água acoplados independentemente, com constante de tempo de acoplamento de 0,1 ps. A pressão foi mantida em 1 bar utilizando o barostato de Berendsen, com constante de tempo de acoplamento de 1,0 ps. O algoritmo LINCS foi utilizado para restringir os comprimentos de ligação dos pilararenos e CBIs, e SETTLE para restringir a estrutura das moléculas de água. Um corte de 1,20 nm foi utilizado para as interações de Van der Waals. Interações eletrostáticas de longo alcance foram calculadas utilizando a malha de partículas Ewald (PME, do inglês *particle mesh Ewald*).<sup>142</sup> Um período de 2 fs foi utilizado ao longo das simulações, sendo a lista de vizinhos atualizada a cada 10 períodos. Os sistemas foram equilibrados por 500 ps. Trajetórias de 20 ns foram calculadas para cada sistema.

## Experimentos de RMN

As caracterizações ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ) e titulações de RMN de  $^1\text{H}$  foram realizadas num espectrômetro Bruker AC 200 MHz. Para a titulação, no tubo de RMN contendo a solução do CBI (MeOD:D<sub>2</sub>O, 1:4) e TMS<sup>+</sup> como referência, foram adicionadas frações sólidas do pilarareno e, após total solubilização, o espectro foi adquirido.

Para caracterização dos produtos de descarboxilação, os CBIs foram solubilizados em acetona-D<sub>6</sub>, aquecidos e sonicados para induzir a descarboxilação, sendo observado produtos de coloração amarelada. Após isto, a amostra foi submetida à análise de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

## 3.6 CAPÍTULO 2) MODIFICAÇÃO DA REATIVIDADE INTRAMOLECULAR DO ÁCIDO 2-CARBOXIFTALANÍLICO NA PRESENÇA DO P5A E P6A

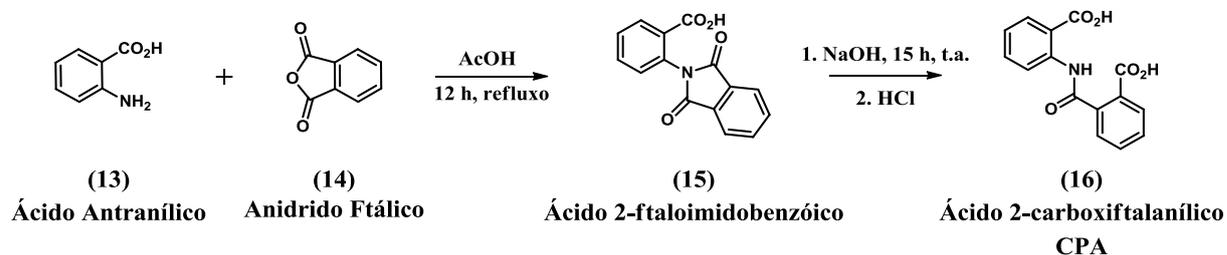
### Materiais

Ambos os pilararenos foram disponibilizados pelo LaCFI (procedimentos sintéticos descritos acima). O ácido 2-carboxiftalanílico (CPA) foi sintetizado através de duas etapas reacionais, com os procedimentos descritos abaixo.

### Síntese do CPA

O Esquema 4 mostra a rota sintética utilizada para obtenção do CPA (**16**), baseando-se em procedimentos já descritos.<sup>143</sup> Na sequência, todas as etapas reacionais estão descritas de maneira detalhada.

Esquema 4 - Rota sintética para obtenção do CPA.



**Síntese do ácido 2-ftaloimidobenzóico (15):** Em um balão de reação, foram adicionados ácido acético glacial (6,0 mL), anidrido ftálico **14** (1,481 g, 10 mmol) e ácido antranílico **13** (1,246 g, 9,09 mmol). A solução foi mantida sob refluxo por 12 h. Após esfriar, a mistura reacional foi colocada em HCl 0,01 mol·L<sup>-1</sup> (10,0 mL). O sólido formado foi filtrado,

lavado com HCl 0,01 mol·L<sup>-1</sup> e seco sob alto vácuo. Rendimento de 1,280 g (53 %) como um sólido acinzentado. Espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} apresentados no Apêndice C.

**Síntese do ácido 2-carboxiftalanílico (16):** Em um balão de reação, foram adicionados água deionizada (6,0 mL), NaOH (179,0 mg, 4,49 mmol) e o composto **15** (300,0 mg, 1,12 mmol). A mistura foi mantida em temperatura ambiente e agitada por 15 h. A mistura foi filtrada e acidificada com HCl 12 mol·L<sup>-1</sup> até pH 2,0. O precipitado formado foi filtrado, lavado com HCl 0,01 mol·L<sup>-1</sup> e seco sob alto vácuo. Rendimento de 270,5 mg (84 %) como um sólido branco. Espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} apresentados no Apêndice D.

### Tratamento dos dados cinéticos

Experimentos de  $k_{obs}$  vs. pH foram realizados tanto em água pura quanto em excesso de pilarareno. Com isto, tornou-se possível a determinação das duas constantes de acidez do CPA em ambos os ambientes, em água e na cavidade do pilarareno. Este tratamento foi realizado ao considerarmos a  $k_{obs}$  como resultado da constante de velocidade das espécies (neutra, monoaniônica e dianiônica) ponderadas por suas frações em mol. Para isto, o ajuste dos dados foi realizado com a Equação 8:

$$k_{obs} = \frac{k_1}{1 + \frac{K_{a1}}{[H_3O^+]} + \frac{K_{a1}K_{a2}}{[H_3O^+]^2}} + \frac{k_2}{1 + \frac{[H_3O^+]}{K_{a1}} + \frac{K_{a2}}{[H_3O^+]}} + \frac{k_3}{1 + \frac{[H_3O^+]}{K_{a2}} + \frac{[H_3O^+]^2}{K_{a1}K_{a2}}} \quad (8)$$

$k_1$ ,  $k_2$  e  $k_3$  são as constantes de velocidade das espécies neutra (CPAH<sub>2</sub>), monoaniônica (CPAH<sup>-</sup>) e dianiônica (CPA<sup>2-</sup>), respectivamente;  $K_{a1}$  e  $K_{a2}$  são as constantes de acidez do CPA.

Obtidas as constantes ácidas do CPA em água e na cavidade do pilarareno, as frações relativas de suas espécies em função do pH foram calculadas para ambos os ambientes pela Equação 9:

$$\alpha_{Total} = \alpha_{CPAH_2} + \alpha_{CPAH^-} + \alpha_{CPA^{2-}} \quad (9)$$

Onde:

$$\alpha_{CPAH_2} = \frac{[H_3O^+]}{[H_3O^+]^2 + K_{a1}[H_3O^+] + K_{a1}K_{a2}}$$

$$\alpha_{CPAH^-} = \frac{K_{a1}[H_3O^+]}{[H_3O^+]^2 + K_{a1}[H_3O^+] + K_{a1}K_{a2}}$$

$$\alpha_{\text{CPA}^{2-}} = \frac{K_{a1}K_{a2}}{[\text{H}_3\text{O}^+]^2 + K_{a1}[\text{H}_3\text{O}^+] + K_{a1}K_{a2}}$$

### Experimentos de RMN

As caracterizações ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , COSY e HETCOR) e investigação estrutural (titulação de  $^1\text{H}$  e ROESY de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) foram realizados em dois espectrômetros Bruker AC, um de 200 e outro de 400 MHz.

Na titulação, a baixa solubilidade do CPA exigiu condições diversas do estudo cinético. No tubo de RMN contendo a solução do CPA ( $\text{D}_2\text{O}:\text{MeOD}$ , 1:1; pD 7,0; Bis-Tris metano  $0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e TMSP como referência, foram adicionadas frações sólidas do pilarareno e, após total solubilização, o espectro foi adquirido.

Experimentos de ROESY de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  foram realizados para elucidação estrutural do complexo R:S. Para isto, utilizou-se o pacote ROESYPHSW com tempo de mistura de 225 ms.

## 3.7 CAPÍTULO 3) RECONHECIMENTO MOLECULAR DO P5C SOBRE A METANFETAMINA

### Materiais

O pilarareno empregado nos estudos deste capítulo (P5C) foi disponibilizado pelo LaCFI. A síntese deste composto foi realizada seguindo estritamente os procedimentos descritos na literatura.<sup>63</sup> A metanfetamina foi obtida através da redução da pseudoefedrina (extraída de um fármaco anticongestionante comercial) via método de Moscow ( $\text{I}_2 + \text{P}$ ), sendo purificada por extrações ácido-base e destilação sob pressão reduzida num aparelho Kugelrohr. O produto foi obtido como um óleo incolor e sua caracterização foi realizada por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (ver Apêndice E).

### Experimentos de RMN

As caracterizações ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ) e titulações de RMN de  $^1\text{H}$  foram realizadas num espectrômetro Bruker AC de 200 MHz. Para as titulações, no tubo de RMN contendo a solução do pilarareno e TMSP como referência, foram adicionadas alíquotas de 4-20  $\mu\text{L}$  de uma solução concentrada da metanfetamina e, após total homogeneização com auxílio de um agitador vortex, o espectro foi adquirido.

### Titulação Potenciométrica

Devido à insolubilidade da espécie neutra do P5C, sua titulação procedeu-se em uma mistura de H<sub>2</sub>O:CH<sub>3</sub>CN (4:1, v/v), tanto para o titulante quanto para o titulado. Para isto, utilizou-se um eletrodo de vidro combinado Hanna HI1330 acoplado à um medidor de pH Hanna HI113. Uma solução do P5C (24,00 mL;  $4,675 \times 10^{-6}$  mol; pH 9,685) foi titulada manualmente com uso de uma micropipeta aferida para adição de alíquotas de uma solução padronizada de HCl ( $8,8305 \times 10^{-3}$  mol·L<sup>-1</sup>). O experimento procedeu-se à 22,0 °C sob aborbulhamento de N<sub>2</sub>. Todas as soluções foram preparadas com solventes à temperatura ambiente previamente fervidos para expulsão de gases solubilizados. Os dados da titulação foram analisados utilizando o *software* CurTiPot.<sup>144</sup>

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

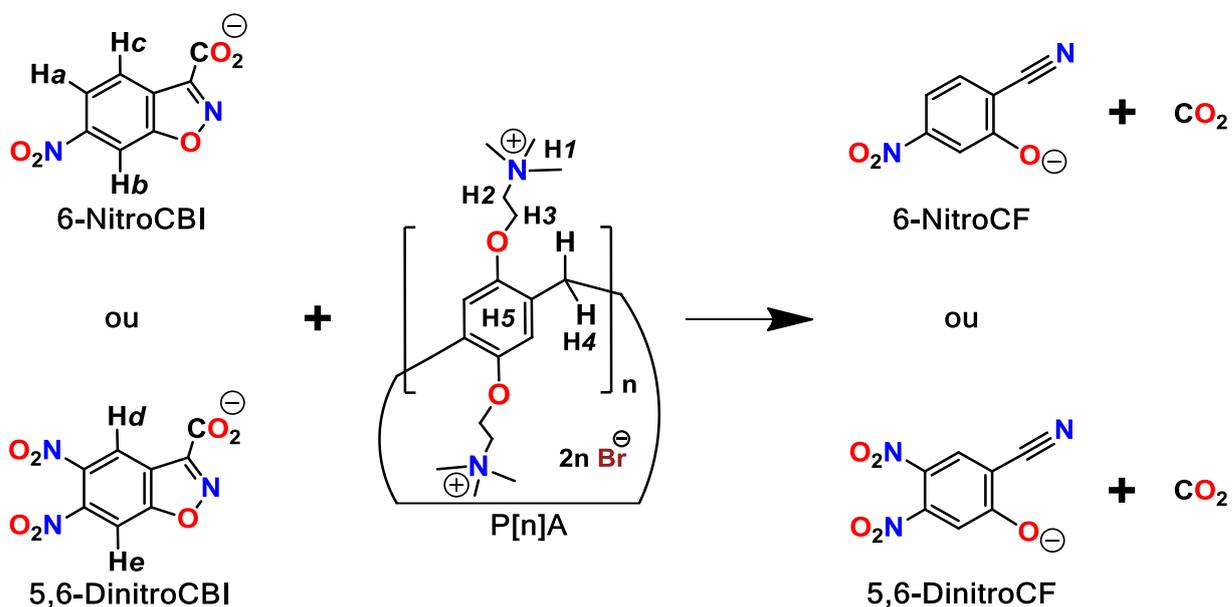
Assim como nos demais tópicos, os resultados e discussão estão divididos em três capítulos para melhor compreensão. As evidências experimentais apresentadas neste tópico satisfazem todos os objetivos propostos e conclusões alcançadas pelo trabalho. Somado à isto, a leitura dos capítulos 2 e 3 permite ao leitor fazer relação com as evidências experimentais e discussões realizadas nos capítulos antecessores, o que caracteriza este trabalho como um material didático para o estudo de sistemas do tipo receptor-substrato. Enquanto os capítulos 1 e 2 concentram-se na investigação dos principais fatores estéricos e eletrônicos envolvidos nos efeitos cinéticos promovidos pelos pilararenos, o capítulo 3 fornece um mecanismo terapêutico modelo para o uso de pilararenos em casos de overdose iminente, todos os estudos baseados nos conceitos de reconhecimento molecular. Por fim, os dados fornecem diversas perspectivas para aplicação dos pilararenos, por exemplo, como sensores químicos, catalisadores ou inibidores de reações orgânicas, sequestrantes de espécies orgânicas, entrega controlada e outras.

### 4.1 CAPÍTULO 1) DESCARBOXILAÇÃO DOS CBIS NA AUSÊNCIA E PRESENÇA DO P5A E P6A

Compostos derivados do 1,2-benzisoxazol, especificamente substituídos na posição 3 do heterociclo, têm sido descritos como uma classe de grande atividade farmacológica para elaboração de fármacos antipsicóticos, anticonvulsivantes, anticâncer e analgésicos, como descrito na revisão bibliográfica desta tese. Deste modo, o desenvolvimento de sistemas R:S envolvendo esta classe de compostos é de grande interesse ao setor terapêutico, seja para aumento de eficácia, redução de efeitos colaterais, liberação controlada ou outra finalidade de interesse.

A reação de descarboxilação do ácido 3-carboxi-1,2-benzisoxazol (CBI) e de seus derivados têm sido estudada por diferentes pesquisadores envolvendo diversos tipos de sistemas. Os estudos mostram que a velocidade da reação é fortemente dependente do meio, sendo que a mudança do solvente pode aumentar em até  $10^8$  vezes o valor da constante de velocidade observada ( $k_{obs}$ ).<sup>108</sup> Neste sentido, o uso de pilararenos como microambiente reacional para estudar estas reações é uma proposta inédita e totalmente capaz de fornecer informações sobre ambos os componentes, tanto individualmente quanto como complexo (Figura 19).

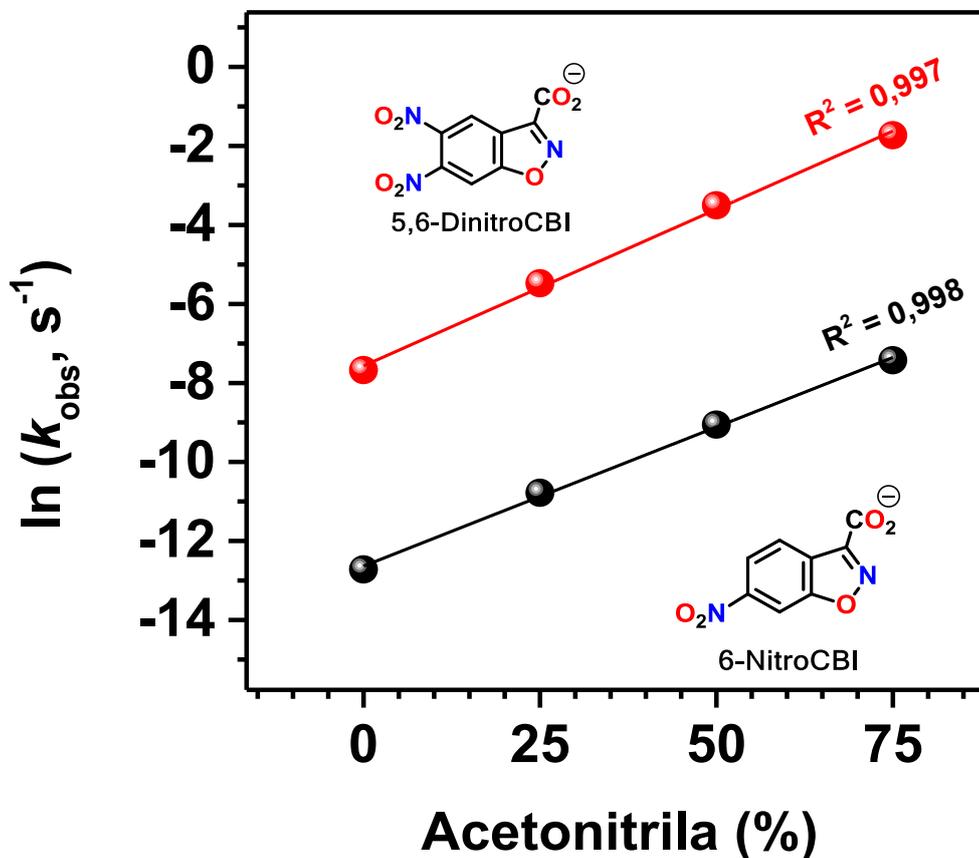
Figura 19 - Equação geral para a reação de descarboxilação do 6-NitroCBI ou 5,6-DinitroCBI na presença de um pilar[n]areno ( $n = 5$  ou  $6$ ) para a formação do 6-NitroCF ou 5,6-DinitroCF, respectivamente.



Primeiramente, foram realizados experimentos de cinética por UV-Vis para investigar a influência da percentagem de acetonitrila em água (v/v) sobre a  $k_{\text{obs}}$  de descarboxilação de ambos os CBIs. A partir disto, tornou-se possível estabelecer relações entre os efeitos cinéticos gerados pela polaridade do solvente (ou percentagem de acetonitrila) e pela cavidade dos pilararenos através da comparação dos valores de  $k_{\text{obs}}$ . Tal comparação não poderia ser realizada com as  $k_{\text{obs}}$  em solventes orgânicos puros, pois o menor efeito (em metanol) representa aumento de 34 vezes sobre a  $k_{\text{obs}}$  da espécie menos reativa, o 6-NitroCBI. Outro motivo é a falta de dados na literatura para a reação do 5,6-DinitroCBI, que certamente seriam incrementos ainda mais expressivos devido sua maior reatividade.

O aumento na fração de acetonitrila gerou respostas similares para ambos os CBIs (Figura 20). Tais efeitos corroboram com a literatura e representam a grande capacidade de solventes polares próticos em estabilizar os CBIs por ligações de hidrogênio (LHs).<sup>110</sup> O gráfico mostra aumentos exponenciais sobre os valores de  $k_{\text{obs}}$  em resposta à diminuição de água, chegando à incrementos de aproximadamente 200 e 400 vezes em 75 % de acetonitrila para o 6-NitroCBI e 5,6-DinitroCBI, respectivamente. O comparativo entre a percentagem de acetonitrila e os microambientes oferecidos pelo P5A e P6A serão realizados mais adiante.

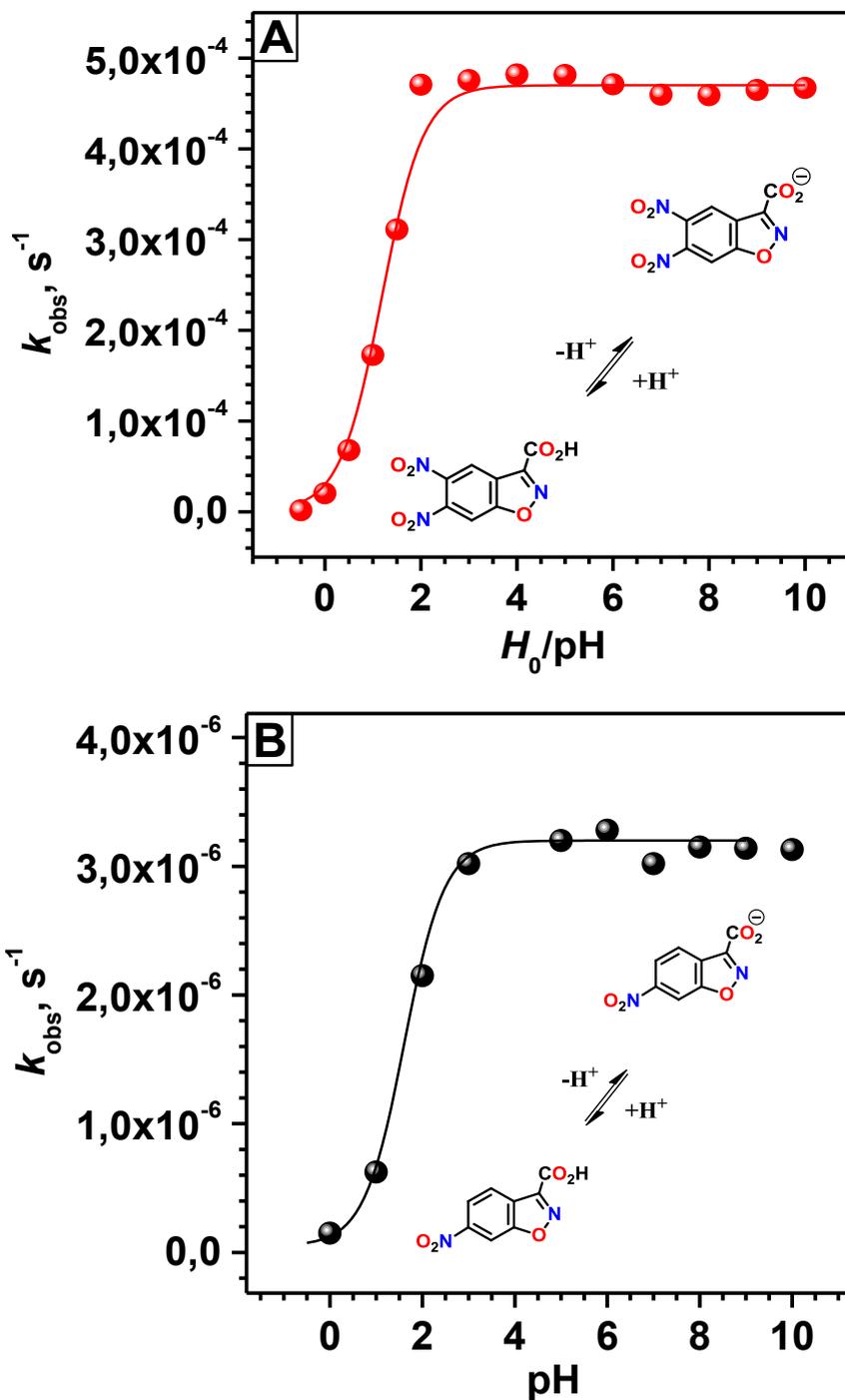
Figura 20 - Influência da percentagem de acetonitrila sobre a  $k_{\text{obs}}$  para a descarboxilação espontânea do 6-NitroCBI (●) e 5,6-DinitroCBI (●) ( $[\text{CBI}] = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; pH 7,0; [Bis-Tris metano] =  $0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ ).



Experimentos de cinética na faixa de  $H_0/\text{pH} = -0,5-10$  foram realizados para determinação do  $\text{p}K_{\text{a}}$  cinético ( $\text{p}K_{\text{ac}}$ ) de ambos os CBIs (Figura 21). Os ajustes dos dados (Equação 6) forneceram valores de  $\text{p}K_{\text{ac}}$  de 1,61 e 1,18 para o 6-NitroCBI e 5,6-DinitroCBI, respectivamente. Estes dados revelam a maior reatividade dos CBIs quando em sua forma aniônica, mostrando-se mais propícios à reação de descarboxilação.

A identidade destes produtos de descarboxilação (cianofenolatos) já é reportada, no entanto, não há evidências de caracterizações destes compostos após a reação de descarboxilação. Diante disto, a descarboxilação de ambos os CBIs foi induzida por sonicação e aquecimento para posterior caracterização por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , bem como infusões diretas num ESI-MS para determinação de suas razões  $m/z$ .

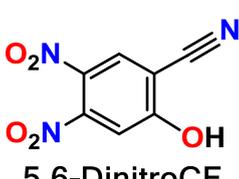
Figura 21 - Influência do pH sobre a  $k_{\text{obs}}$  para a reação de descarboxilação espontânea do 5,6-DinitroCBI (A) e 6-NitroCBI (B) ( $[\text{CBI}] = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ ).



A Tabela 2 apresenta todos os deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  observados após a descarboxilação dos CBIs. Destaca-se que os sinais de OH, característicos de fenóis, foi observado apenas para o 6-NitroCF. Tal observação é justificada pela ausência de HDO nesta amostra, o que impediria a ocorrência de troca com a água. Em contrapartida, a presença de água na amostra do 5,6-DinitroCF justifica a não observação deste sinal. Já os espectros de

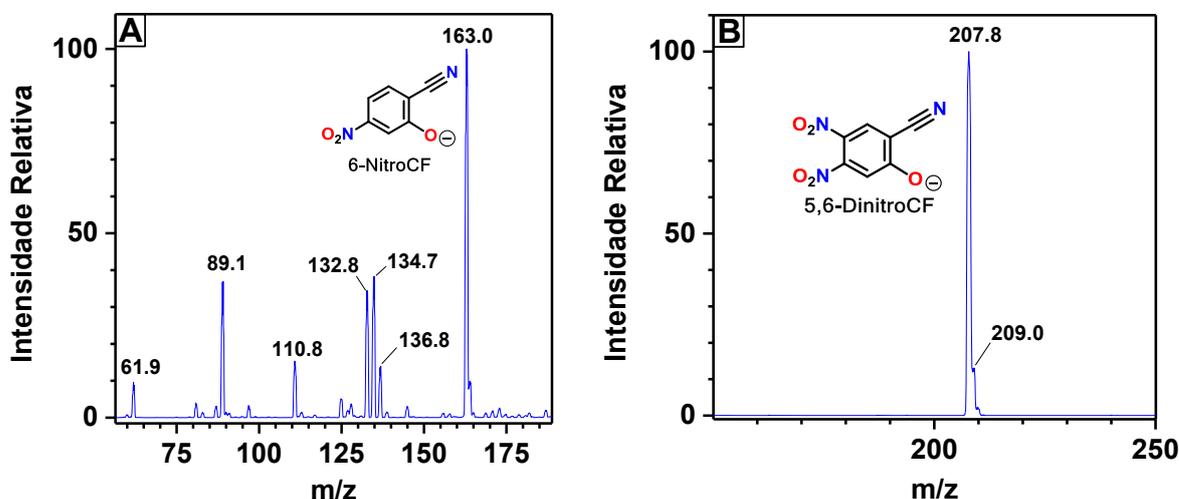
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  mostraram 7 sinais para ambos os cianofenóis, como esperado. Para melhor visualização os espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  estão apresentados nos Apêndices A e B.

Tabela 2 - Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  para o 6-NitroCF e 5,6-DinitroCF (Acetona- $\text{D}_6$ ; TMS; 25,0 °C).

Produto	$^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ ( $\delta$ , ppm)
 6-NitroCF	5,61 (s, 1H, OH); 8,40 (s, 2H, Ar); 8,74 (s, 1H, Ar);	107,25;
		120,98;
		125,34;
		150,38;
		151,99;
		160,41;
		164,03;
 5,6-DinitroCF	---- (s, 1H, OH); 7,65 (s, 1H, Ar); 8,65 (s, 1H, Ar);	104,02;
		113,06;
		114,06;
		125,71;
		133,14;
		148,32;
		166,11;

As infusões diretas de soluções aquosas dos CBIs ( $\sim 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), também submetidas à descarboxilação induzida por aquecimento e sonicação, forneceram os sinais de  $m/z$  esperados para os cianofenolatos, como podem ser observados na Figura 22.

Figura 22 - Espectros de ESI-MS de varredura completa para solução aquosa do 6-NitroCF (A) e  $\text{MS}^2$  no intervalo de 200-220 Da para solução aquosa do 5,6-DinitroCF (B) ( $[\text{CF}] \sim 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; modo íon negativo).



A razão entre os valores de  $k_{\text{obs}}$  obtidos em H<sub>2</sub>O e D<sub>2</sub>O ( $k_{\text{w}}/k_{\text{D}}$ , Tabela 3) revelam efeitos isotópicos de 1,18 e 1,07 para o 6-NitroCBI e 5,6-DinitroCBI, respectivamente. Estes valores representam efeitos isotópicos pequenos e, sobre esta classe de reação em específico, indicam aumento na efetividade da estabilização dos CBIs por LHs entre seus grupos COO<sup>-</sup> e o solvente. A participação do solvente na estabilização dos CBIs permite compreender estes efeitos e estão baseados na menor amplitude e frequência vibracional da ligação O-D (oxigênio-deutério) quando comparada com a ligação O-H. A magnitude destes efeitos são ainda reduzidos pela grande diferença entre os pK<sub>as</sub> da água (15,7) e dos CBIs (1,18-1,61),<sup>145</sup> o que justifica o menor efeito observado para o 5,6-DinitroCBI.

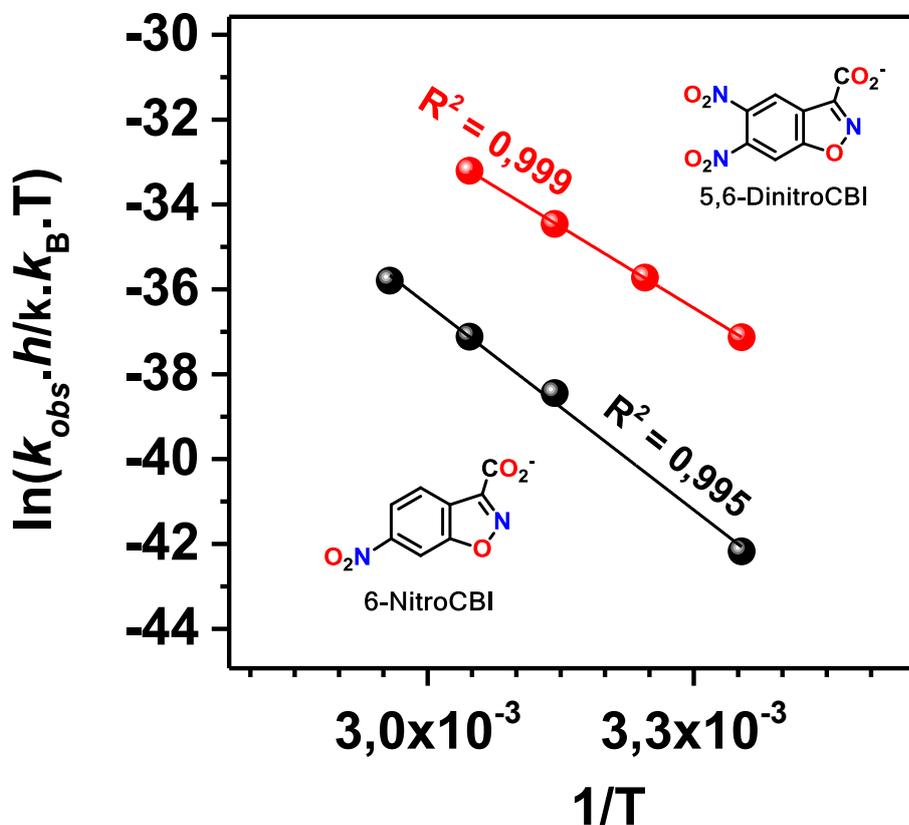
As constantes de velocidade para a hidrólise espontânea de ambos os CBIs foram determinadas em diferentes temperaturas para obtenção dos parâmetros de ativação. Estas medidas foram realizadas em pH 7,0, onde os CBIs apresentavam-se em sua forma mais reativa (aniônica). Os dados da Tabela 3 mostram incrementos exponenciais sobre os valores de  $k_{\text{obs}}$  como resultado do aumento da temperatura. Desta forma, a linearidade no gráfico de Eyring permite a determinação dos valores intrínsecos de  $\Delta H^{\ddagger}$  e  $\Delta S^{\ddagger}$  para as reações de descarboxilação dos CBIs.

Tabela 3 - Valores de  $k_{\text{obs}}$  para a hidrólise espontânea dos CBIs entre 25-65 °C (pH 7,0; [Bis-Tris metano] = 0,01 mol·L<sup>-1</sup>).

T (°C)	6-NitroCBI (s <sup>-1</sup> )	5,6-DinitroCBI (s <sup>-1</sup> )
25	$3,00 \times 10^{-6}$	$4,65 \times 10^{-4}$
35	---	$1,96 \times 10^{-3}$
45	$1,33 \times 10^{-4}$	$7,18 \times 10^{-3}$
55	$5,20 \times 10^{-4}$	$2,59 \times 10^{-2}$
65	$2,01 \times 10^{-3}$	---
$k_{\text{w}}/k_{\text{D}} \text{ (6-NitroCBI)} = (3,00 \times 10^{-6} / 2,55 \times 10^{-6}) = 1,18$		
$k_{\text{w}}/k_{\text{D}} \text{ (5,6-DinitroCBI)} = (4,65 \times 10^{-4} / 4,34 \times 10^{-4}) = 1,07$		

A Figura 23 representa o gráfico de Eyring para os CBIs, sendo observado excelentes relações lineares para ambos. Isto sugere a ocorrência de um mecanismo constante na faixa de temperatura estudada (25-65 °C), o que permite determinar com confiabilidade os parâmetros de ativação para a reação de descarboxilação espontânea de ambos os CBIs.

Figura 23 - Gráfico de  $\ln(k_{\text{obs}} \cdot h / \kappa \cdot k_B \cdot T)$  vs.  $1/T$  para a reação de descarboxilação espontânea do 6-NitroCBI (●) e 5,6-DinitroCBI (●) ( $[\text{CBI}] = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; pH 7,0;  $[\text{Bis-Tris metano}] = 0,01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ).



Na Tabela 4 estão apresentados os valores de entalpia e entropia de ativação para os dois CBIs, bem como valores já reportados na literatura. Os parâmetros mostram claramente o favorecimento do 5,6-DinitroCBI para a reação de descarboxilação espontânea, um efeito que pode ser compreendido pela menor barreira energética no estado de transição ( $\Delta\Delta G^\ddagger = 2,98 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ). Em termos entrópicos e entálpicos, a menor entalpia de ativação para o 5,6-DinitroCBI estabelece sua maior reatividade comparada ao 6-NitroCBI, mesmo apresentando ganhos de apenas 45 % da entropia observada para o 6-NitroCBI.

Adicionalmente, as energias envolvidas nestas reações foram determinadas por cálculos computacionais para comparação e elucidação da estrutura do ET de cada CBI. Para isto, foram determinadas as estruturas e energias dos ETs, bem como as energias dos reagentes de partida para posterior obtenção das coordenadas intrínsecas das reações (IRCs, do inglês *intrinsic reaction coordinate*).

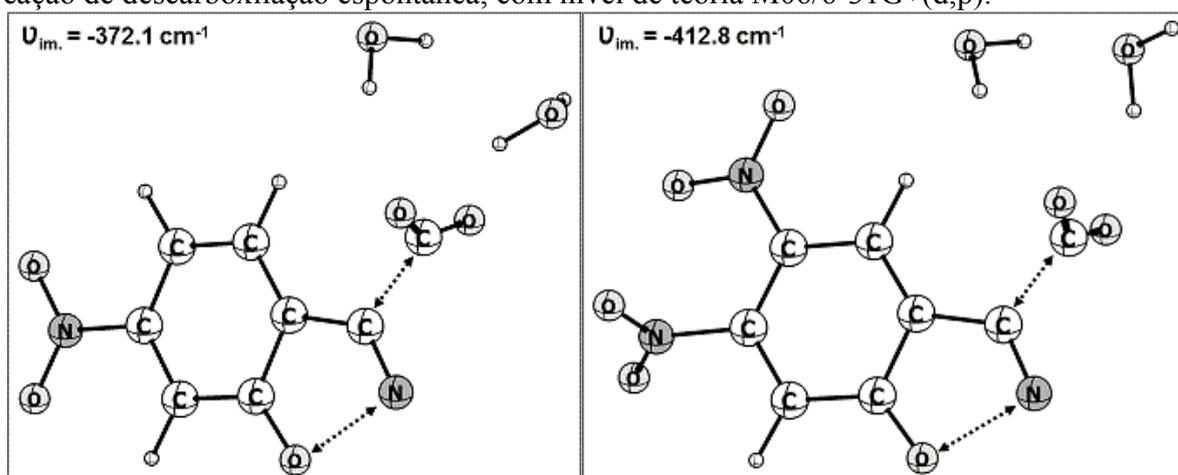
Tabela 4 - Parâmetros de ativação para a reação de descarboxilação espontânea dos CBIs (pH 7,0; [Bis-Tris metano] = 0,01 mol·L<sup>-1</sup>).

CBI	$\Delta H^\ddagger$ (kcal·mol <sup>-1</sup> )	$\Delta S^\ddagger$ (cal·mol <sup>-1</sup> ·K <sup>-1</sup> )	$\Delta G^\ddagger$ (kcal·mol <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
 6-NitroCBI	32,42 (32,00)	24,95 (22,90)	24,98 (25,17)	0,995 ---
 5,6-DinitroCBI	25,34 (24,60)	11,23 (8,40)	22,00 (22,09)	0,999 ---

\*Valores entre parênteses representam dados da literatura.<sup>108</sup>

A Figura 24 mostra as estruturas dos ETs dos CBIs com seus grupos carboxilatos assistidos por 2 moléculas de água, como já descrito.<sup>110,146,147</sup> Suas frequências imaginárias ( $\nu_{im}$ ) apresentaram valores de -372,1 cm<sup>-1</sup> e -412,8 cm<sup>-1</sup> para o 6-NitroCBI e 5,6-DinitroCBI, respectivamente. As setas representam o rompimento das ligações C-C e O-N nos ETs, sendo observado distâncias similares para ambos os CBIs (Tabela 5). Outra evidência comum entre os ETs é a rotação de 90° do ângulo diedro [C-C-C-O] em relação ao reagente de partida, um indício de que o reagente de partida deve ser ligeiramente estabilizado por ligação de hidrogênio intramolecular com o hidrogênio na posição 4 do heterociclo.

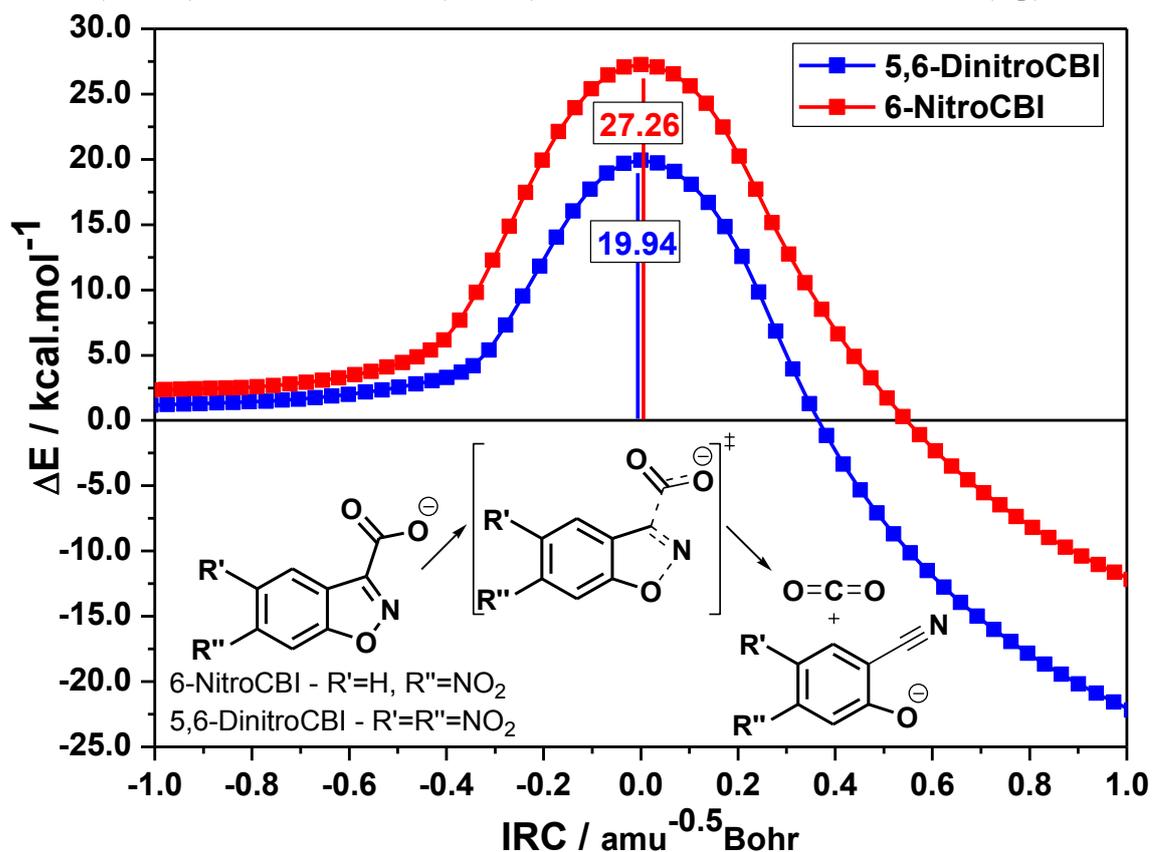
Figura 24 - Estados de transição do 6-NitroCBI (Esquerda) e 5,6-DinitroCBI (Direita) para a reação de descarboxilação espontânea, com nível de teoria M06/6-31G+(d,p).



Considerando as estruturas dos reagentes otimizadas como ponto inicial ( $E = 0$ ), as IRCs foram calculadas (Figura 25) e as estruturas dos ETs confirmadas como adequadas para avaliação das energias relativas ( $\Delta E$ ). Tomando o 6-NitroCBI como referência, a adição de mais

um grupo  $\text{NO}_2$  na posição 5 do heterociclo representa uma diminuição substancial sobre a energia do ET, calculada por  $\Delta\Delta E = 7,32 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Esta diferença corrobora com os dados cinéticos e representa a maior reatividade do 5,6-DinitroCBI, gerando incrementos de 155 vezes sobre a  $k_{\text{obs}}$  à  $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Figura 25 - Coordenadas intrínsecas de reação (IRCs) para a descarboxilação espontânea do 6-NitroCBI (—■—) e 5,6-DinitroCBI (—■—), com nível de teoria M06/6-31G+(d,p).



A energia livre de ativação ( $\Delta G^\ddagger$ ) reflete diretamente na barreira energética entre reagente e produtos, ou seja, no controle da velocidade da reação. Os valores de  $\Delta G^\ddagger$  calculados para os CBIs (Tabela 5) representaram tendências condizentes com os dados experimentais, com a entalpia de ativação governando o favorecimento da reação para o 5,6-DinitroCBI. No entanto, a diferença entre as energias livre de ativação calculadas para os CBIs ( $\Delta\Delta G^\ddagger = 7,60 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) mostrou-se superior ao obtido experimentalmente ( $\Delta\Delta G^\ddagger = 2,98 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ), um resultado dos baixos valores de parâmetros de ativação calculados.

Tabela 5 - Parâmetros de ativação, ângulos diedros e distâncias interatômicas calculados para os estados de transição da reação de descarboxilação espontânea dos CBIs, com nível de teoria M06/6-31G+(d,p).

CBI	$\Delta S^\ddagger$	$\Delta H^\ddagger$	$\Delta G^\ddagger$	Diedro (°)	Distância (Å)	
	(cal·mol <sup>-1</sup> ·K <sup>-1</sup> )	(kcal·mol <sup>-1</sup> )		[C-C-C-O]	C-C	O-N
 6-NitroCBI	1,31	25,16	24,77	90,51	1,76	2,15
 5,6-DinitroCBI	1,34	17,57	17,17	92,24	1,72	2,06

Adicionalmente, as propriedades dos CBIs foram investigadas no estado sólido através da técnica de calorimetria exploratória diferencial (DSC). A DSC fornece informações tanto qualitativas quanto quantitativas sobre as energias envolvidas nos processos de transição de fase (fusão, solidificação, transição vítrea) ou modificação estrutural (estabilidade térmica e oxidativa, tempo de indução, cinética de cura). Tais informações são obtidas pela relação entre a temperatura na câmara de aquecimento e o fluxo de calor associado à determinado processo físico ou químico, seja ele endotérmico ou exotérmico.<sup>148</sup>

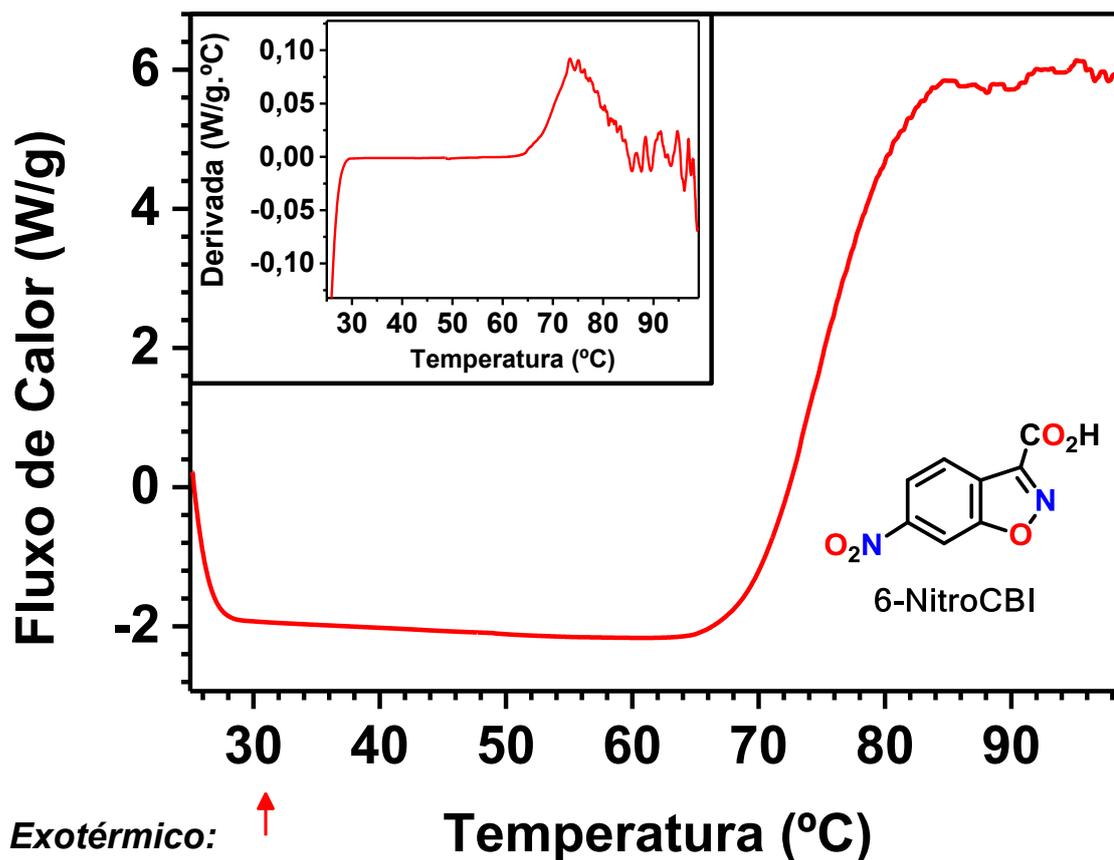
Eventos sucessivos foram observados durante a decomposição térmica dos CBIs. A estrutura heteroatômica bicíclica dos substratos (capacidade de decomposição em diferentes regiões estruturais) justifica isto, o que impossibilitou a determinação precisa das entalpias dos processos individuais (J/g, por integração das áreas) e dos parâmetros cinéticos (constantes de velocidade e energias de ativação) envolvidos nestas transições. Uma alternativa para isto seria a realização de modificações nas condições de análise (redução na velocidade de aquecimento), sendo julgadas além dos objetivos propostos nesta tese. No entanto, informações importantes sobre manuseio, estocagem e transporte dos CBIs são oferecidas a partir dos dados experimentais.

As curvas obtidas para os ciclos de aquecimento (Figuras 26 e 27) mostram diferentes comportamentos térmicos para os CBIs, no entanto, ambos os substratos decompõem-se antes do processo de fusão. Isto foi confirmado num equipamento específico para determinação de ponto de fusão, com a decomposição (escurecimento e liberação de gás) ocorrendo nas mesmas temperaturas observadas nas análises de DSC e antes da transição da fase sólida para líquida.

Para o 6-NitroCBI, o principal evento (exotérmico) ocorre entre 63-85 °C, correspondendo à uma janela de 2,2 min. Este evento provocou grande desvio na linha de base

e indica a modificação na massa inicial da amostra, confirmando sua decomposição térmica associada à liberação de gás e perda de massa.

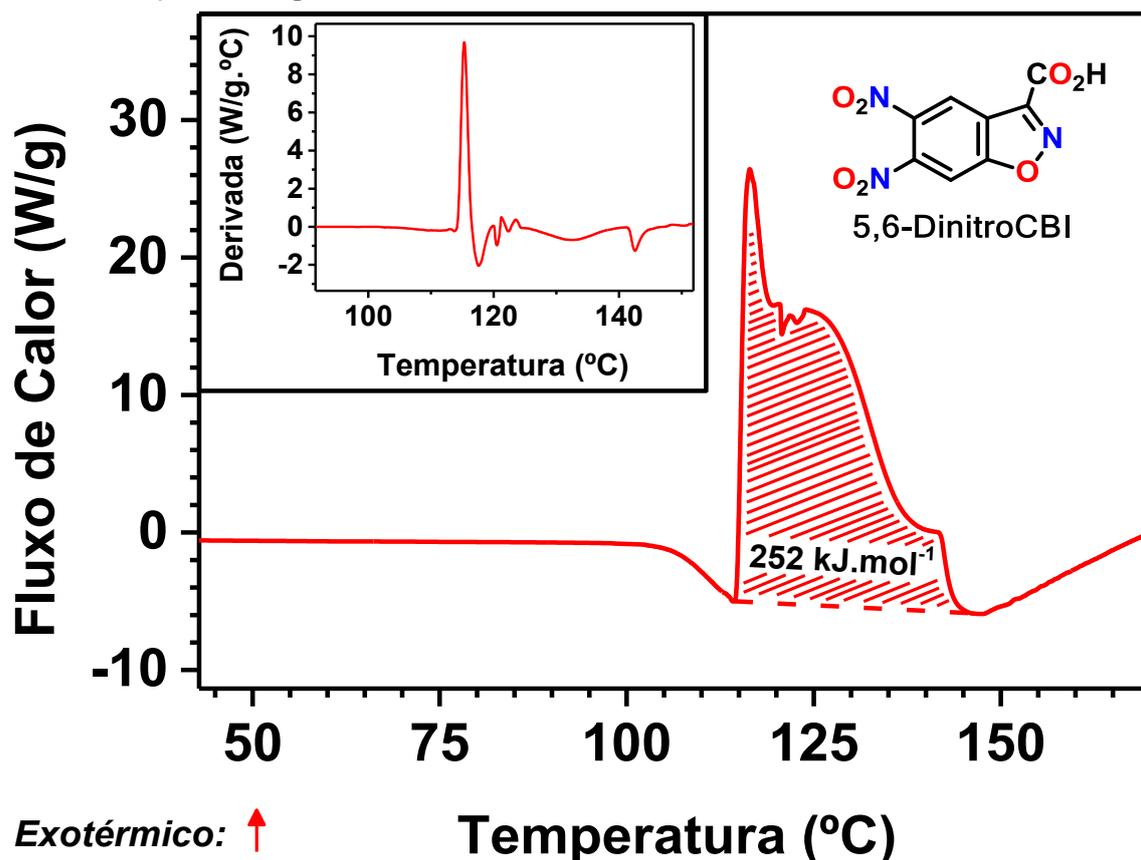
Figura 26 - Curva de DSC para o ciclo de aquecimento do 6-NitroCBI. Inserido na parte superior esquerda está o mesmo ciclo com a ordenada representada pela derivada do fluxo de calor em função da temperatura.



O 5,6-DinitroCBI mostrou-se termicamente mais estável, com sua decomposição iniciando em 114 °C ( $\Delta\Delta T_{\text{inicial}} = 51$  °C), logo após a evaporação de água (101-114 °C). Adicionalmente, observou-se maior vigor em sua decomposição, com o primeiro evento térmico completando-se em 30 s (114-119 °C) com grande liberação de calor. Esta modificação no comportamento térmico é resultado do grupo NO<sub>2</sub> adicional na porção areno, sendo os efeitos estéricos e eletrônicos responsáveis pela maior quantidade de energia acumulada em sua estrutura. Tais conceitos são amplamente empregados no desenvolvimento de materiais explosivos de uso militar e civil, sendo os derivados do nitrobenzeno uma classe de compostos comumente empregados para isto, com destaque para o 2,4,6-trinitrotolueno (TNT,  $\Delta H = -1.223$  kJ·mol<sup>-1</sup>).<sup>149,150</sup> Como dito, a ocorrência de eventos consecutivos impossibilitou a quantificação

energética dos eventos térmicos individuais, no entanto, a energia liberada no intervalo de 114-147 °C (energia total, Figura 27) foi determinada e constatada uma similaridade com compostos de mesma classe, como o ácido 2,6-dinitrobenzóico ( $\Delta H = -222 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ).<sup>151</sup>

Figura 27 - Curva de DSC para o ciclo de aquecimento do 5,6-DinitroCBI. Inserido na parte superior esquerda está o mesmo ciclo com a ordenada representada pela derivada do fluxo de calor em função da temperatura.



Os dados térmicos mostrados acima apresentam a baixa estabilidade térmica dos CBIs. Destaca-se ainda a importância da correta estocagem e manuseio destes substratos para a conservação de sua pureza e, principalmente, para redução do risco de explosões. Tais efeitos tendem a ser mais danosos para compostos com maior número de substituintes NO<sub>2</sub> no anel, onde grande quantidade de energia deve ser acumulada em sua estrutura molecular.

As reações de descarboxilação dos CBIs foram estudadas em meio aquoso, pH 7,0 e na presença do P5A e P6A. Desde o princípio, esperava-se relacionar os efeitos cinéticos promovidos por cada pilarareno com as propriedades de sua cavidade. Tal relação seria possível devido à alta sensibilidade destas reações ao ambiente químico, sendo a cavidade dos pilararenos os ambientes responsáveis por estes efeitos. Neste sentido, efeitos catalíticos eram

esperados para cavidades capazes de desestabilizar os CBIs, como observado para os solventes polares apróticos. De maneira similar, efeitos inibitórios eram esperados para cavidades capazes de maior estabilização dos CBIs, como observado para os solventes polares próticos.

Inicialmente foi investigada a influência da concentração dos pilararenos sobre a  $k_{obs}$ , sendo observado efeitos cinéticos tanto catalíticos quanto inibitórios (Figura 28). Tais efeitos mostram o aumento da  $k_{obs}$  na presença dos pilararenos, exceto para o complexo 6-NitroCBI⊂P5A, o único sistema capaz de inibir a reação de descarboxilação. Os sistemas foram avaliados pelo ajuste dos dados considerando as estequiometrias R:S (linhas sólidas) e R:S<sub>2</sub> (linhas tracejadas). Para todos os sistemas os ajustes dos dados foram satisfatórios com ambos os modelos, no entanto, para R:S<sub>2</sub> foram observados erros de até 400 e 1.900 % sobre os parâmetros de velocidade ( $k_{1:1}$  e  $k_{1:2}$ ) e de associação ( $K_{1:1}$  e  $K_{1:2}$ ), respectivamente. Diante disto, as constantes de velocidade na cavidade dos pilararenos ( $k_{1:1}$ ) e de associação ( $K_{1:1}$ ) foram determinadas considerando apenas a formação de complexos de baixa ordem (R:S), sendo esta estequiometria confirmada para alguns dos sistemas por titulação de RMN de <sup>1</sup>H (demonstrado adiante).

Os ajustes dos dados da Figura 28 forneceram parâmetros condizentes com sistemas de estequiometria R:S envolvendo receptores catiônicos e substratos aniônicos (Tabela 6).<sup>19,72,92</sup> O P5A oferece um ambiente químico capaz de gerar efeitos distintos sobre a descarboxilação dos CBIs. Sua associação com o 6-NitroCBI resultou em efeitos inibitórios sobre a reação ( $k_w/k_{1:1} = 3,9$ ), representando o complexo de maior estabilização energética observada ( $\Delta G = -29,13 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ). Sobre o 5,6-DinitroCBI foram observados efeitos catalíticos ( $k_{1:1}/k_w = 4,3$ ) com alcance de patamar em aproximadamente  $4,0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  do macrociclo. Já o P6A gerou efeitos catalíticos tanto para o 6-NitroCBI ( $k_{1:1}/k_w = 4,1$ ) quanto para o 5,6-DinitroCBI ( $k_{1:1}/k_w = 7,1$ ), com ambos os patamares atingidos em  $2,0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  do macrociclo. Após a obtenção destes dados, dúvidas principalmente em relação aos efeitos inibitórios surgiram e estimularam a criação de hipóteses relacionadas à estrutura dos complexos. Deste modo, era esperado que cada efeito cinético seria fortemente dependente da geometria do complexo, o que estimulou a realização de novos experimentos.

Figura 28 - Influência da concentração do P5A (●) e P6A (●) sobre a  $k_{obs}$  para a reação de descarboxilação do 6-NitroCBI (A) e 5,6-DinitroCBI (B) (pH 7,0; [Bis-Tris metano] = 0,01 mol·L<sup>-1</sup>; 25,0 °C). Dados ajustados com modelos estequiométricos R:S (linhas sólidas) e R:S<sub>2</sub> (linhas tracejadas).

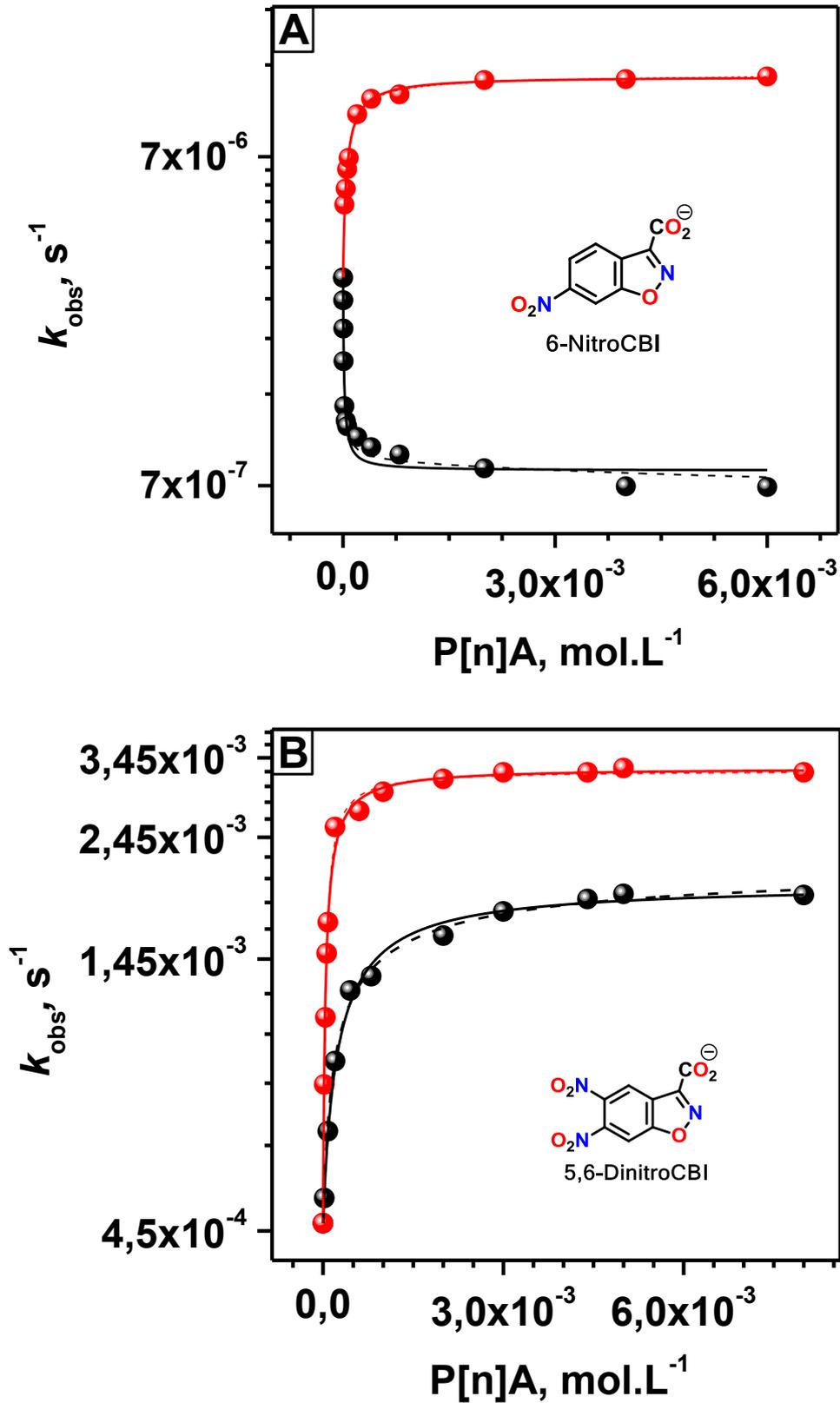


Tabela 6 - Constantes de velocidade e de associação para os CBIs com o P5A e P6A, obtidos por ajustes não-lineares sobre os dados da Figura 28.

	6-NitroCBI		5,6-DinitroCBI	
	$k_{1:1}$ (s <sup>-1</sup> )	$K_{1:1}$ (L·mol <sup>-1</sup> )	$k_{1:1}$ (s <sup>-1</sup> )	$K_{1:1}$ (L·mol <sup>-1</sup> )
<b>P5A</b>	$(7,77 \pm 0,5) \times 10^{-7}$	$(1,27 \pm 0,2) \times 10^{5(a)}$	$(2,01 \pm 0,0) \times 10^{-3}$	$(2,03 \pm 0,2) \times 10^{3(c)}$
<b>P6A</b>	$(1,23 \pm 0,0) \times 10^{-5}$	$(1,01 \pm 0,0) \times 10^{4(b)}$	$(3,30 \pm 0,0) \times 10^{-3}$	$(9,49 \pm 0,7) \times 10^{3(d)}$

<sup>(a)</sup> $\Delta G = -29,13$  kJ·mol<sup>-1</sup>; <sup>(b)</sup> $\Delta G = -22,85$  kJ·mol<sup>-1</sup>; <sup>(c)</sup> $\Delta G = -18,88$  kJ·mol<sup>-1</sup>; <sup>(d)</sup> $\Delta G = -22,70$  kJ·mol<sup>-1</sup> (Calculado por  $\Delta G = -R \cdot T \cdot \ln K_{1:1}$ ).

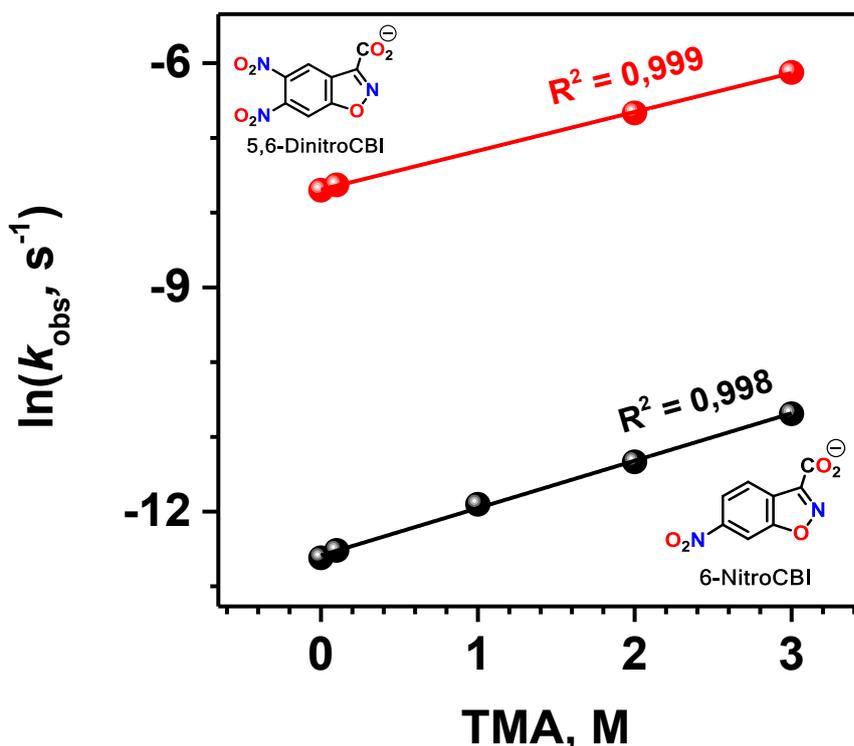
De forma geral, os efeitos catalíticos observados foram inicialmente compreendidos pela capacidade dos pilararenos em desestabilizar os CBIs, um mecanismo baseado na redução do número de LHs entre água e seus grupos COO<sup>-</sup>. A proposição deste mecanismo apenas em função da hidrofobicidade na cavidade dos pilararenos são considerações vagas e levam à interpretações errôneas acerca da principal causa destes efeitos. Adicionalmente, simulações de dinâmica molecular (DM, demonstrados adiante) indicam maior proximidade entre os grupos carregados do complexo (COO<sup>-</sup> e NMe<sub>3</sub><sup>+</sup>), excluindo a possibilidade dos grupos COO<sup>-</sup> encontrar-se no centro da cavidade dos macrociclos.

As considerações do parágrafo anterior juntamente com os dados de DM levaram à uma proposta racional para o mecanismo catalítico, baseando-se principalmente na alta capacidade dos grupos NMe<sub>3</sub><sup>+</sup> (concentrados nos portais do macrociclo) em modificar a estrutura da água. Tal proposta corrobora com décadas de estudo acerca destas reações e propõe os microambientes oferecidos pelos pilararenos como modificadores estruturais do solvente na região de seus portais. Para demonstrar isto, a descarboxilação dos CBIs foi investigada na presença de diferentes concentrações de brometo de tetrametilamônio (TMA) a fim de simular a alta concentração de grupos NMe<sub>3</sub><sup>+</sup> encontrada nos portais dos pilararenos. A influência do TMA sobre as propriedade estruturais da água é largamente estudada.<sup>152-154</sup> Tais estudos demonstram que o cátion TMA<sup>+</sup> apresenta baixa concentração de água em sua camada de hidratação, comportamento típico de compostos apolares. O aumento deste efeito ocorre com sua concentração, reduzindo ainda mais o número de moléculas de água de hidratação e, consequentemente, o número de LHs entre elas.

A Figura 29 mostra a influência da concentração do TMA sobre a  $k_{obs}$  de ambos os CBIs, sendo observado incrementos exponenciais com o aumento da concentração do sal. Efeitos de força iônica são desprezados nesta discussão, visto que vários CBIs similares têm sua reatividade inalterada na faixa de 0–1 mol·L<sup>-1</sup> de KCl.<sup>108</sup> Com isto, os efeitos catalíticos observados para os sistemas 6-NitroCBI⊂P6A, 5,6-DinitroCBI⊂P5A e 5,6-DinitroCBI⊂P6A

equivalem à descarboxilação dos CBIs correspondentes em concentrações de TMA iguais à 2,02, 2,85 e 3,80 mol·L<sup>-1</sup>, respectivamente. Para estes dois últimos, a presença de 1 grupo NMe<sub>3</sub><sup>+</sup> adicional no pilarareno equivale ao aumento em 1 mol·L<sup>-1</sup> de TMA, uma tendência que corrobora com o mecanismo catalítico proposto.

Figura 29 - Influência da concentração do brometo de tetrametilamônio (TMA) sobre a  $k_{obs}$  para a reação de descarboxilação do 6-NitroCBI (●) e 5,6-DinitroCBI (●) em água (pH 7,0; [Bis-Tris metano] = 0,01 mol·L<sup>-1</sup>; 25,0 °C).



A catálise promovida pelos pilararenos baseia-se principalmente na redução do número de LHs entre água e os grupos COO<sup>-</sup> dos CBIs. Tais efeitos podem ainda ser equiparados com os ambientes químicos oferecidos pelas diferentes frações de acetonitrila. Neste sentido, os efeitos catalíticos observados para os complexos 6-NitroCBI⊂P6A, 5,6-DinitroCBI⊂P5A e 5,6-DinitroCBI⊂P6A equiparam-se à descarboxilação dos respectivos CBIs ocorrendo em 18,9, 17,1 e 23,4 % de acetonitrila, respectivamente.

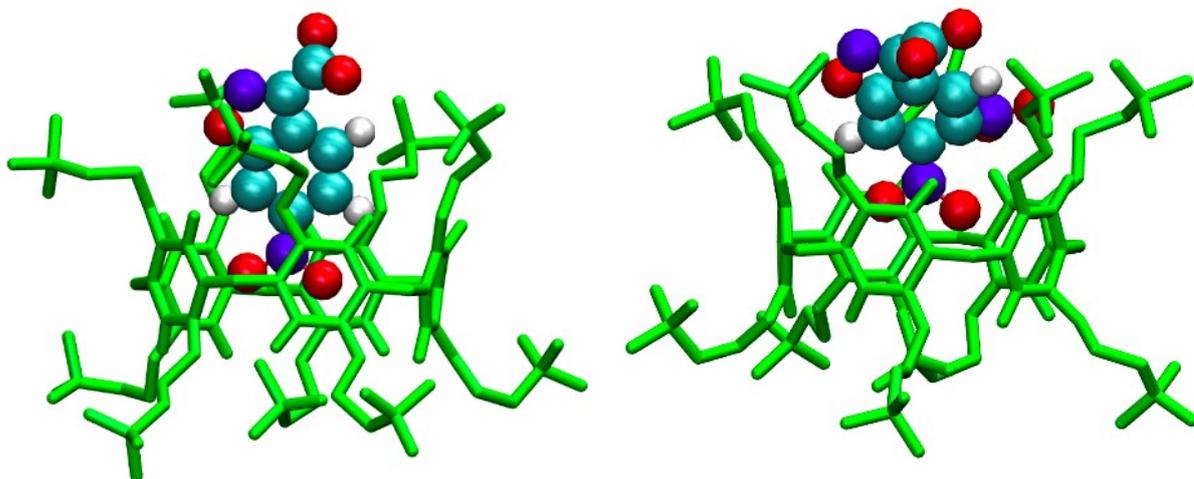
Em contrapartida, os efeitos inibitórios observados para o sistema 6-NitroCBI⊂P5A apresenta-se como exceção ao mecanismo catalítico. Tal efeito indica a cavidade do P5A como um ambiente de maior estabilização energética para o 6-NitroCBI, superando sua estabilidade em água pura. A elucidação mecanística desta inibição surgiu logo após a obtenção dos resultados de DM, onde foi constatada uma geometria particular para este complexo. Em

resumo, a maior distância entre os grupos carregados do complexo ( $\text{COO}^-$  e  $\text{NMe}_3^+$  para o 6-NitroCBI e o P5A, respectivamente) e a particularidade no posicionamento do 6-NitroCBI na cavidade do P5A explicam bem o efeito inibitório, fatores que serão melhores compreendidos após a apresentação dos dados de DM e RMN.

As estruturas mais prováveis para a interação entre os CBIs e os pilararenos foram investigadas por simulações de DM. Para isto, cada um dos quatro sistemas foi solvatado com 4.714 moléculas de água (SPC) e quantidades dos contraíons  $\text{Br}^-$  e  $\text{Na}^+$  suficientes para alcançar a eletroneutralidade do sistema. Os *snapshots* ou imagens dos complexos (Figuras 30 e 31) foram obtidos após 15 ns de simulação e todos os sistemas convergiram para a formação de complexos de inclusão. Para todos os sistemas, a região do nitrobenzeno dos CBIs mantiveram-se inseridas na cavidade dos macrociclos, sendo as estruturas condizentes com condições experimentais de  $[\text{CBI}] \leq [\text{Pilarareno}]$ .

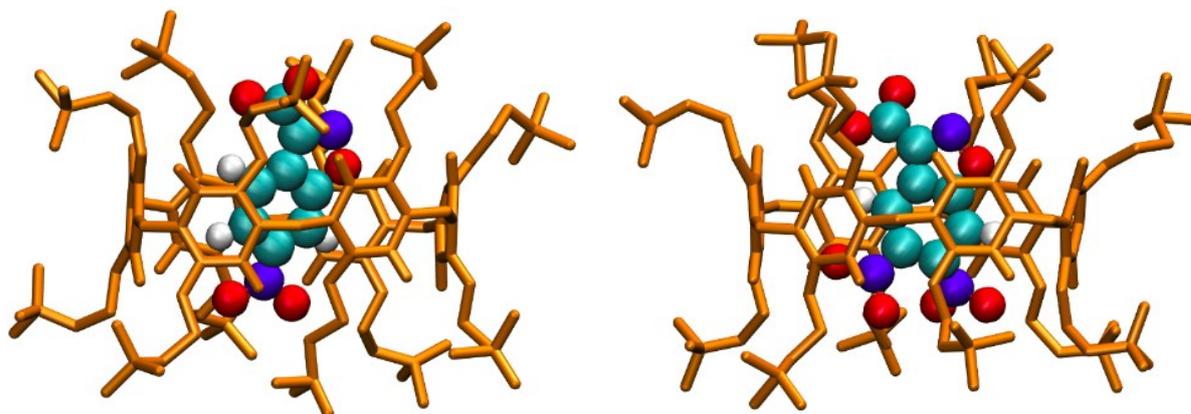
A Figura 30 mostra as estruturas simuladas para os complexos formados entre os CBIs e o P5A. Em ambos os sistemas, os CBIs mantiveram-se posicionados mais externamente ao P5A, compreendido pelo menor diâmetro interno da cavidade do macrociclo (4,7 Å).<sup>71</sup>

Figura 30 - *Snapshots* dos complexos 6-NitroCBI⊂P5A (Esquerda) e 5,6-DinitroCBI⊂P5A (Direita), obtidos após 15 ns de simulação.



Em contrapartida, o maior diâmetro interno do P6A (6,7 Å) resultou em estruturas geométricas diferentes aos complexos. A Figura 31 mostra a acomodação dos CBIs numa região mais profunda na cavidade do macrociclo, onde a minimização energética é nitidamente favorecida por interações eletrostáticas e do tipo  $\pi$ - $\pi$ .

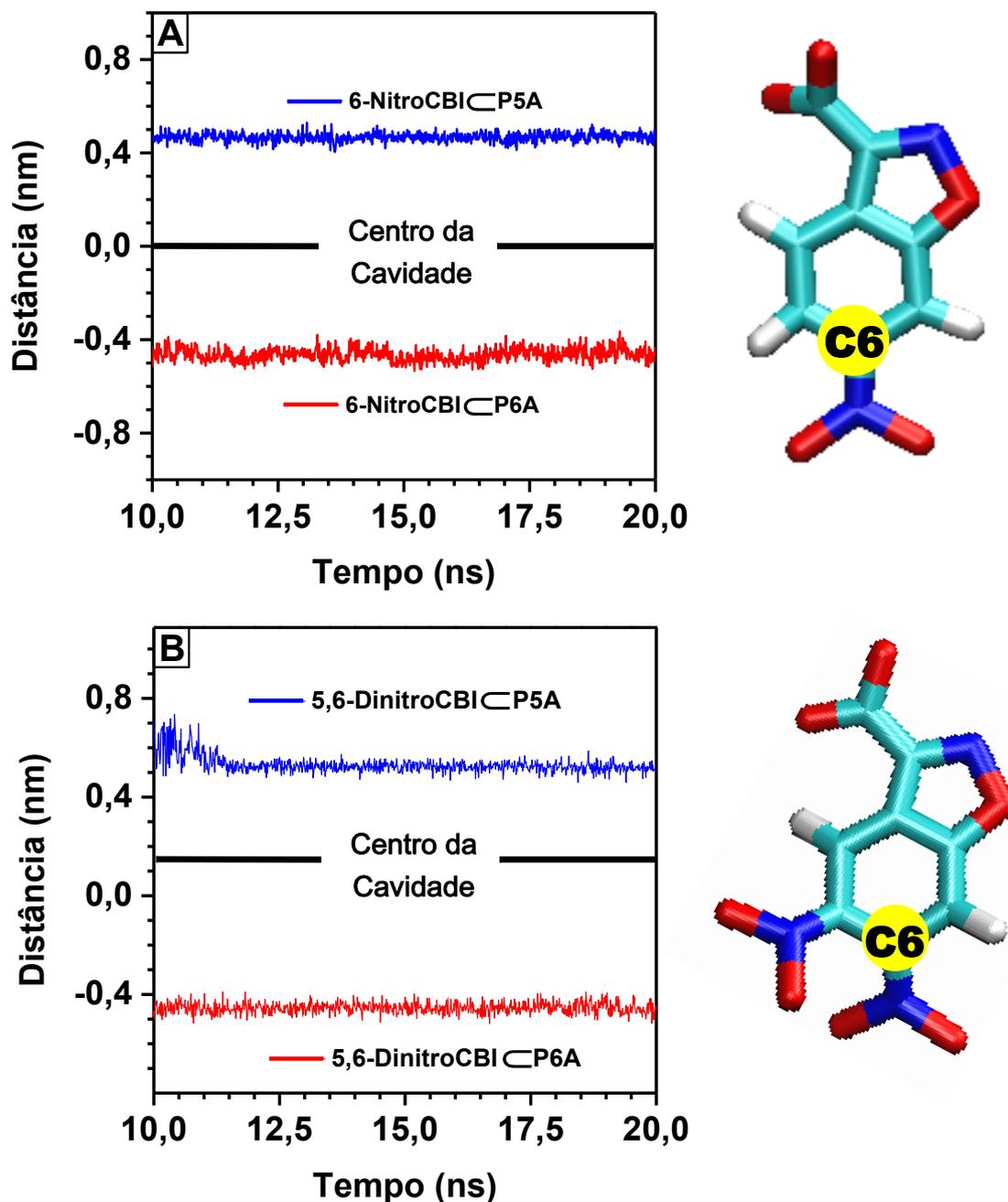
Figura 31 - *Snapshots* dos complexos 6-NitroCBI⊂P6A (Esquerda) e 5,6-DinitroCBI⊂P6A (Direita), obtidos após 15 ns de simulação.



A estabilidade dos complexos foram investigadas em função do tempo, considerando os últimos 10 ns de simulação. Neste contexto, para todos os complexos de inclusão foram calculados: 1) a distância entre o centro da cavidade do macrociclo e o carbono 6 (C6) do CBI; 2) a orientação espacial do CBI na cavidade do macrociclo; 3) a distância mínima entre os grupos carregados  $\text{COO}^-$  e  $\text{NMe}_3^+$ ; 4) as contribuições energéticas resultantes de interações eletrostáticas e de Van der Waals e 5) o número de LHs entre água e o grupo  $\text{COO}^-$  do CBI. O conjunto destas informações foram capazes de fornecer dados qualitativos e quantitativos sobre os complexos, sendo de grande importância para compreender os efeitos cinéticos resultantes de suas formações.

As distâncias médias entre o carbono C6 e o centro da cavidade dos macrociclos estão apresentadas na Figura 32. Para o macrociclo de menor cavidade (P5A), o C6 do 6-NitroCBI e 5,6-DinitroCBI permaneceram à uma distância média de 0,45 e 0,55 nm acima do centro da cavidade, respectivamente. Estes dados indicam que o grupo  $\text{NO}_2$  adicional no 5,6-DinitroCBI dificulta sua acomodação na cavidade do P5A, justificando a menor constante de associação observada para este complexo. Já para o P6A, o C6 de ambos os CBIs permaneceram à uma distância média de 0,45 nm abaixo do centro da cavidade do macrociclo, refletindo em condições de ambiente químico similares para os CBIs. Estes dados confirmam que há a formação de complexos receptor-substrato para todas as quatro combinações entre CBIs e pilararenos.

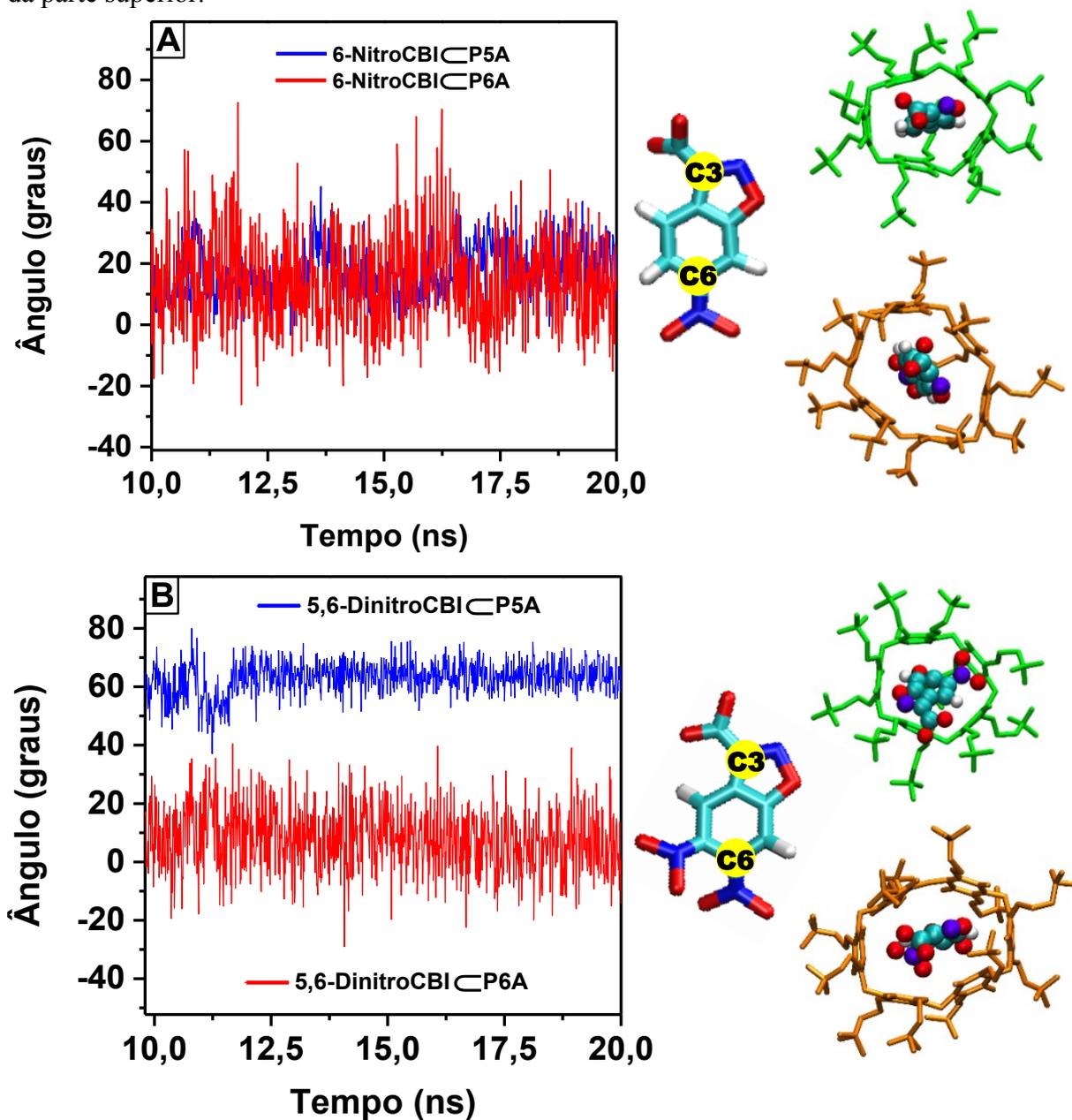
Figura 32 – Distâncias calculadas entre o centro da cavidade dos pilararenos (P5A, azul; P6A, vermelho) e o carbono C6 do 6-NitroCBI (A) e 5,6-DinitroCBI (B), em função do tempo de simulação.



Para obtenção de maiores detalhes sobre as estruturas geométricas dos distintos complexos, as orientações espaciais dos CBIs quando na cavidade dos pilararenos foram calculadas para todos os quatro sistemas. A Figura 33 mostra os ângulos entre os vetores longitudinais V1 e V2 dos componentes do complexo, incluindo o centro da cavidade do macrociclo (vetor V1) e o vetor longitudinal formado pelos carbonos C3 e C6 dos CBIs (vetor V2). Os resultados mostram ângulos de inserção de  $15^\circ$  para todos os sistemas, exceto o 5,6-

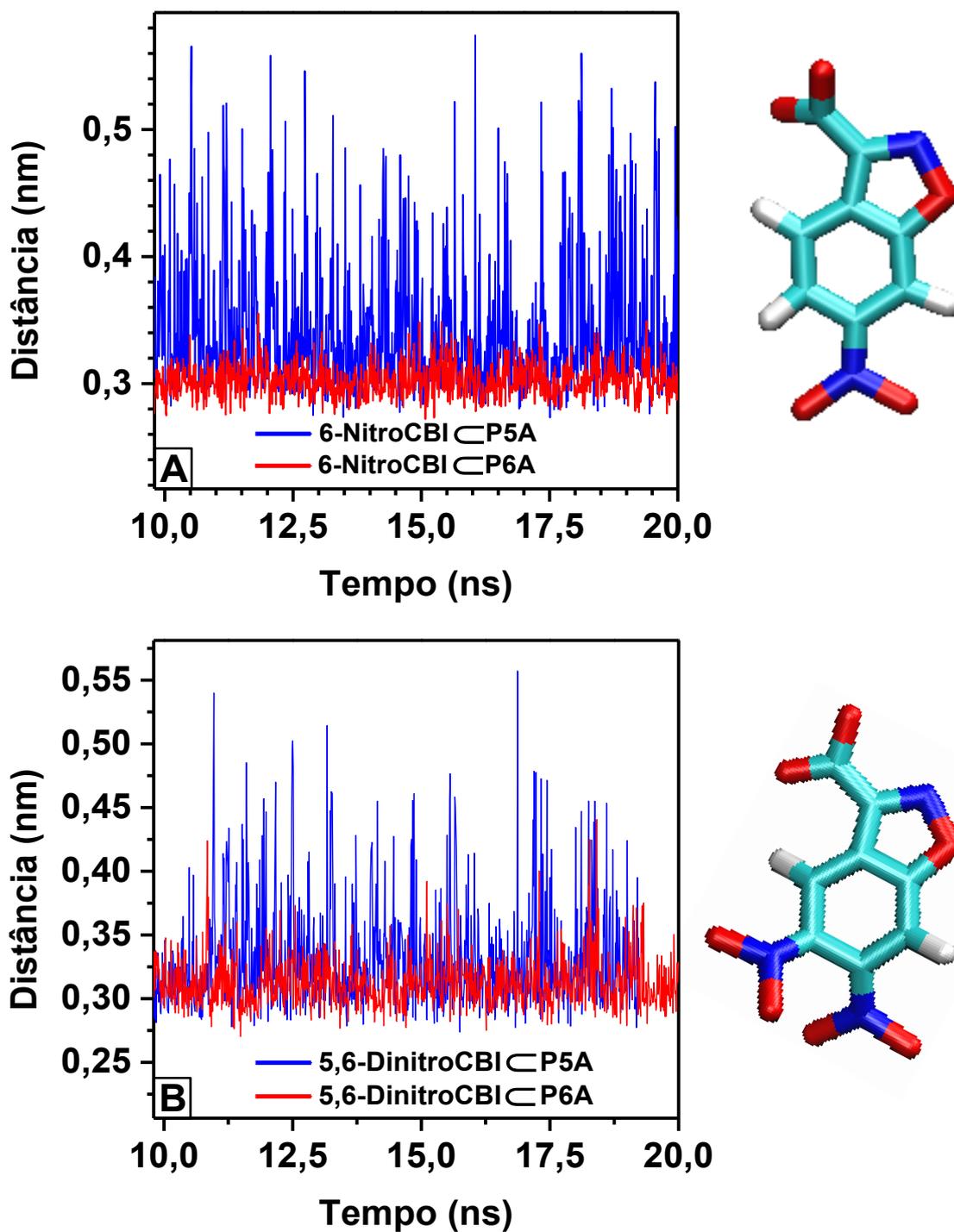
DinitroCBI⊂P5A que apresentou ângulo de 65°. Os CBIs com ângulos de 15° têm seus grupos COO<sup>-</sup> orientados entre o solvente e os grupos NMe<sub>3</sub><sup>+</sup> do pilarareno. Enquanto isto, o sistema com ângulo de 65° acomoda o grupo COO<sup>-</sup> mais direcionado entre os grupos NMe<sub>3</sub><sup>+</sup> do pilarareno e distante do solvente. É importante destacar que a maior cavidade oferecida pelo P6A confere liberdade adicional aos CBIs, refletindo diretamente em maiores flutuações sobre os ângulos calculados.

Figura 33 - Ângulos entre os vetores longitudinais V1 (centro da cavidade dos pilararenos) e V2 (carbonos C3 e C6) para o 6-NitroCBI (A) e 5,6-DinitroCBI (B), em função do tempo. Ao lado direito dos gráficos estão apresentadas as estruturas simuladas para os complexos, vistas da parte superior.



No intuito de investigar a geometria dos complexos e as forças motrizes envolvidas em sua formação, foram calculadas as distâncias mínimas entre os grupos carregados  $\text{COO}^-$  e  $\text{NMe}_3^+$  para todos os quatro sistemas (Figura 34).

Figura 34 - Distância entre os grupos  $\text{NMe}_3^+$  dos pilararenos (P5A, azul; P6A, vermelho) e  $\text{COO}^-$  para o 6-NitroCBI (A) e 5,6-DinitroCBI (B).

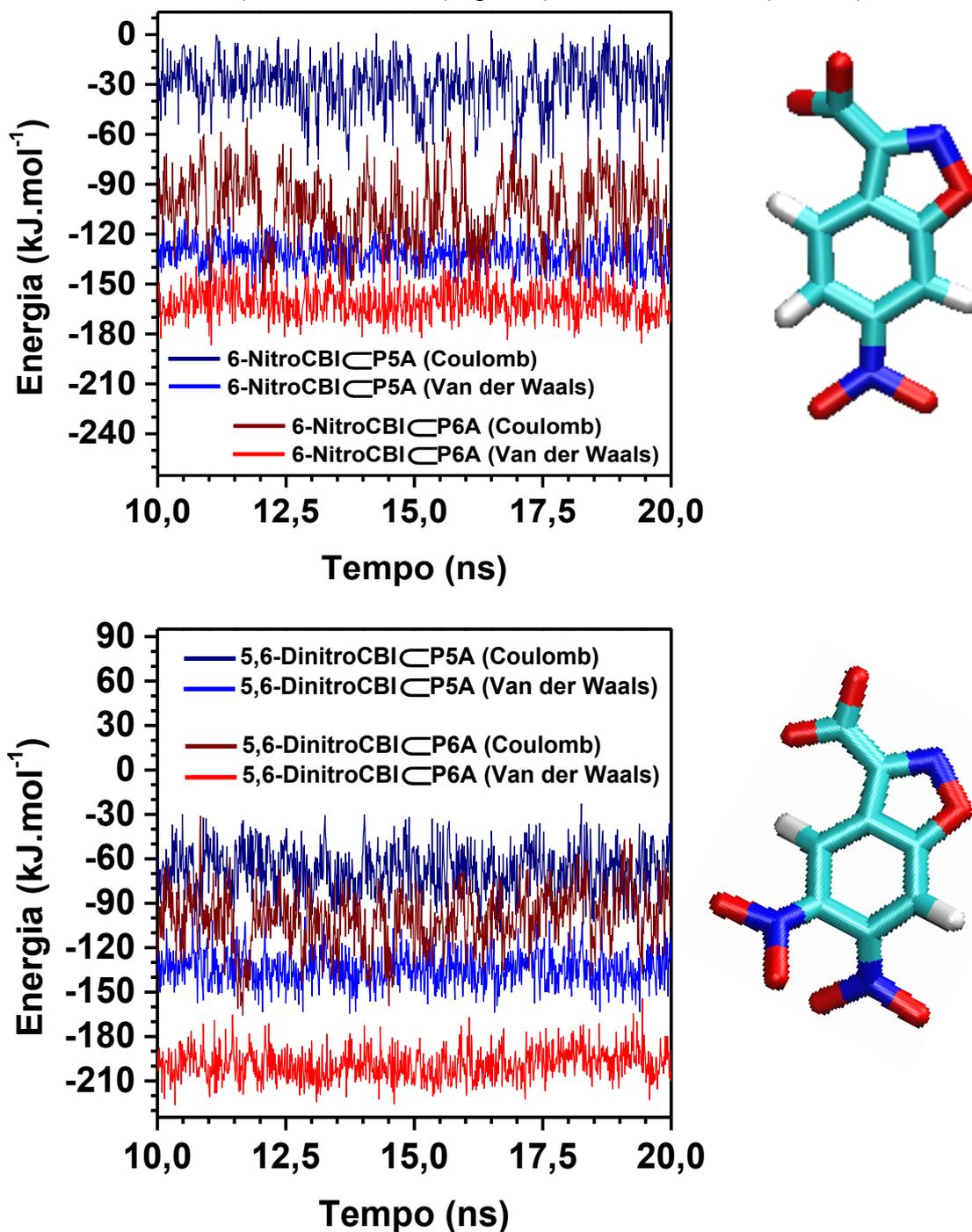


A distância mínima de interação entre os grupos  $\text{NMe}_3^+$  do P5A e os grupos  $\text{COO}^-$  de ambos os CBIs (Figura 34-azuis) apresentaram grandes flutuações, principalmente quando associado ao 6-NitroCBI. Tal comportamento evidencia uma alta dinâmica de interação entre estes grupos e deve estar diretamente relacionado com a alocação mais externa dos CBIs no P5A. Em contrapartida, os grupos carregados do P6A apresentaram distâncias mínimas preferenciais de 0,30 e 0,31 nm com os grupos carregados do 6-NitroCBI e 5,6-DinitroCBI, respectivamente. Estas proximidades preferenciais indicam a formação de interações estáveis entre estes grupos em função do tempo.

Adicionalmente, contribuições energéticas oriundas de interações intermoleculares entre os CBIs e os pilararenos foram determinadas para todos os sistemas. Para isto, foram calculadas as componentes eletrostáticas (potencial coulombiano) e de Van der Waals (potencial de Lennard-Jones) para a formação dos complexos, sendo observadas minimizações energéticas menos significativas com o P5A (Figura 35). Neste sentido, a menor contribuição eletrostática ( $-25 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) foi observada para o sistema inibitório 6-NitroCBI $\subset$ P5A, concordando com a grande flutuação na distância mínima de seus grupos carregados ( $\text{NMe}_3^+$  e  $\text{COO}^-$ ). Já o complexo 5,6-DinitroCBI $\subset$ P5A apresentou estabilização eletrostática ligeiramente maior ( $-65 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ), também corroborando com a menor flutuação na distância de seus grupos carregados. Em ambos os complexos envolvendo o P5A as interações de Van der Waals promoveram minimizações energéticas equivalentes ( $-130 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) como resultado da acomodação mais externa dos CBIs.

Os complexos envolvendo o P6A apresentaram as maiores estabilizações energéticas, tanto eletrostáticas quanto de Van der Waals. Sua associação com os CBIs resultou em contribuições eletrostáticas equivalentes ( $-100 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ), estando de acordo com as características das distâncias mínimas calculadas entre os seus grupos carregados. Tal estabilização é resultado da inclusão dos CBIs numa região mais profunda da cavidade do P6A e da conseqüente proximidade entre os grupos  $\text{NMe}_3^+$  e  $\text{COO}^-$ . A contribuição energética por interações de Van der Waals mostrou-se mais significativa para o complexo 5,6-Dinitro $\subset$ P6A ( $-205 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) do que para o 6-NitroCBI $\subset$ P6A ( $-165 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ), compreendido pela interação adicional do segundo grupo  $\text{NO}_2$  com o P6A.

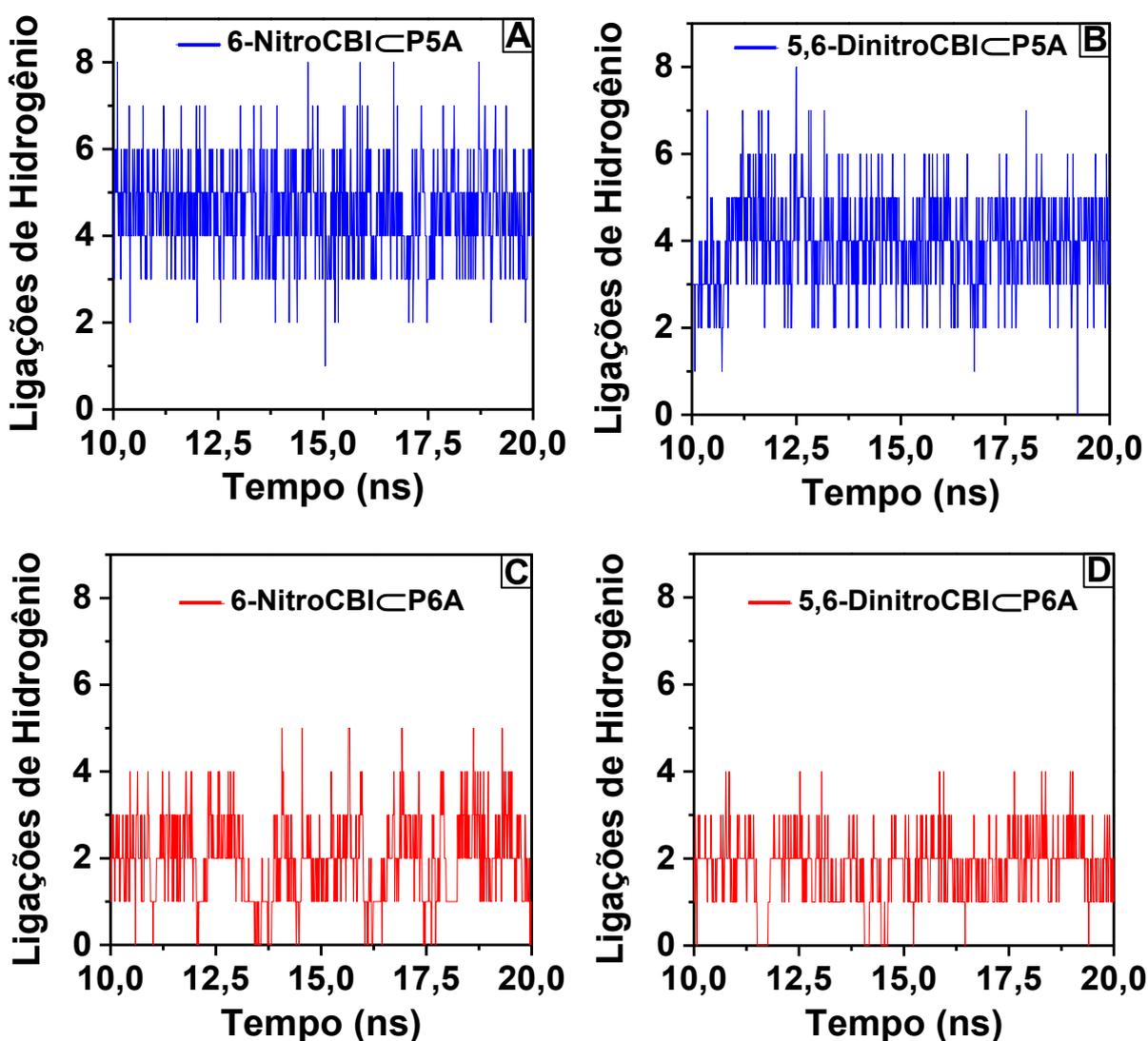
Figura 35 - Minimização energética promovida por interações eletrostáticas (potencial coulombiano) e de Van der Waals (potencial de Lennard-Jones) entre os pilararenos (P5A, azuis; P6A, vermelhos) e o 6-NitroCBI (Superior) e 5,6-DinitroCBI (Inferior).



Como complemento aos dados estruturais e de reatividade, foram calculados o número de LHs entre o solvente (água) e o grupo COO<sup>-</sup> dos CBIs, para todos os quatro complexos. O número de LHs indica a quantidade de doadores de hidrogênio (H-O-H) orientados em ângulo e distância apropriados para estabelecer a interação com o grupo COO<sup>-</sup>. A Figura 36A-D mostra

a quantidade de LHs calculadas para todos os quatro complexos em função do tempo. O grupo  $\text{COO}^-$  no complexo 6-NitroCBI-P5A apresentou o maior número de LHs com o solvente, com média de 5 e máximo de 8 interações (Figura 36-A). Em seguida está o 5,6-DinitroCBI-P5A, com média de 4 e máximo de 7 interações (Figura 36-B). Já os complexos formados com o P6A apresentaram média de 2 LHs, com máximos de 5 e 4 interações quando associado ao 6-NitroCBI e 5,6-DinitroCBI (Figura 36-C-D), respectivamente.

Figura 36 - Número de ligações de hidrogênio entre água e o grupo  $\text{COO}^-$  dos CBIs para os complexos 6-NitroCBI-P5A (A), 5,6-DinitroCBI-P5A (B), 6-NitroCBI-P6A (C) e 5,6-DinitroCBI-P6A (D), calculados em função do tempo.



O número de LHs calculados para os quatro complexos estão de acordo tanto com as estruturas geométricas dos complexos quanto com os efeitos cinéticos observados. Os complexos formados entre os CBIs e o P6A apresentam estrutura e reatividade condizentes,

com efeitos catalíticos resultantes principalmente do baixo número de LHs com o solvente. De maneira similar, a estrutura geométrica do complexo 5,6-DinitroCBI⊂P5A (vetores longitudinais em 65°) favorece a redução do número de LHs entre o solvente e o grupo COO<sup>-</sup>, gerando efeitos catalíticos sobre a reação. Os dados de DM elucidam ainda a inibição observada para o complexo 6-NitroCBI⊂P5A como um efeito sinérgico entre: (1) o maior número de LHs estabilizantes (já demonstrado), (2) a redução do efeito indutivo do grupo NO<sub>2</sub> por efeito de campo (originado da alta densidade eletrônica na cavidade do P5A) e (3) a alta polarização da ligação O-N do anel isoxazol quando na cavidade do P5A.

Para confirmar as considerações (2) e (3) do parágrafo anterior, foram calculadas as cargas atômicas e o potencial eletrostático dos CBIs quando nas geometrias médias de cada complexo CBI⊂Pilarareno (determinadas pelas simulações de DM) bem como quando solvatadas com água (PCM). As cargas atômicas foram determinadas por cálculos baseados na DFT com nível de teoria B3LYP/6-31G++(d,p) no programa GAUSSIAN 09. As cargas atômicas e os potenciais eletrostáticos calculados estão apresentados na Tabela 7 e Figura 37, respectivamente.

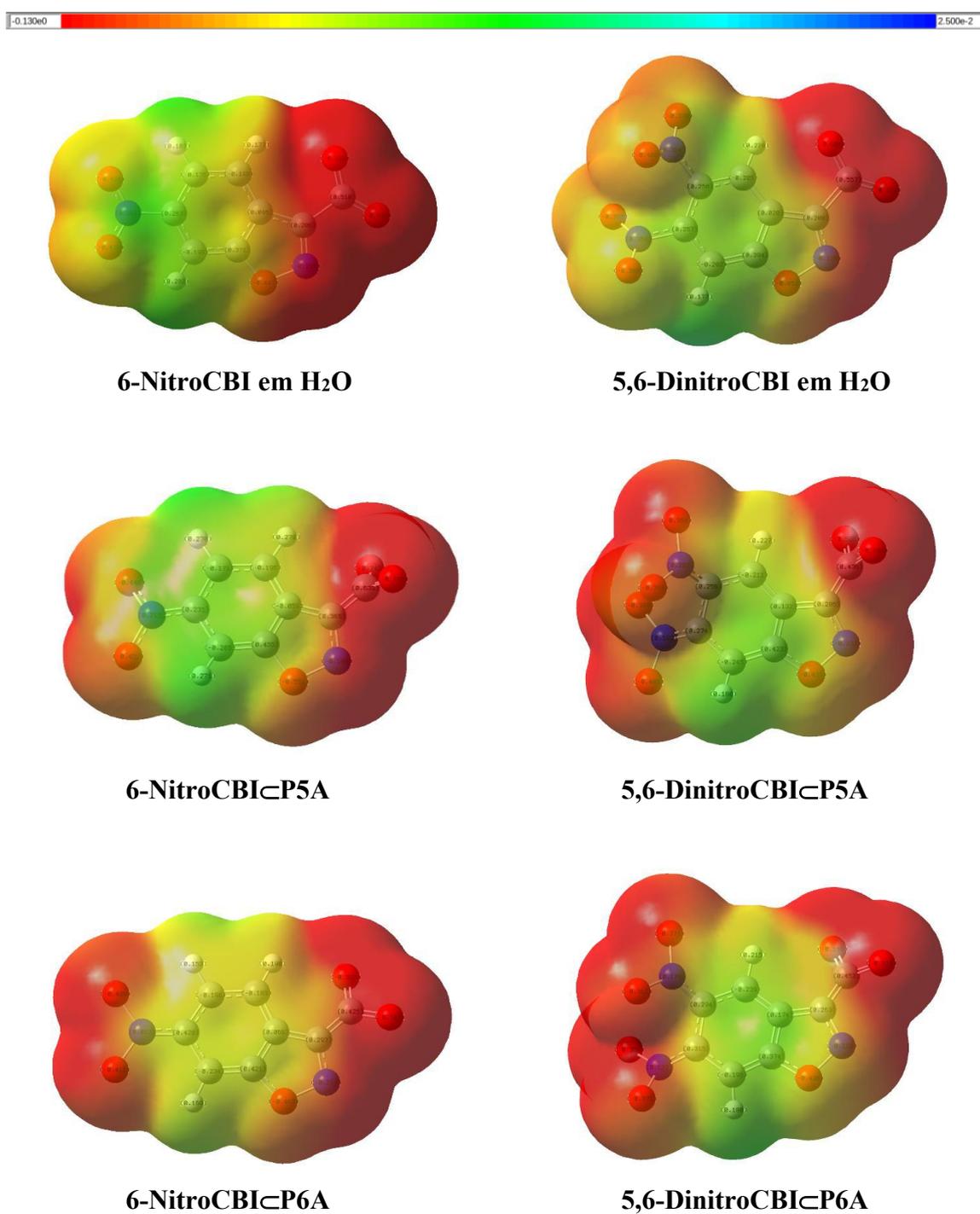
Tabela 7 - Cargas atômicas calculadas para os átomos de O e N na ligação O-N dos CBIs, em todos os ambientes químicos (cavidades do P5A e P6A, bem como solvatados com água).

ÁTOMO	6-NitroCBI			5,6-DinitroCBI		
	P5A	P6A	H <sub>2</sub> O	P5A	P6A	H <sub>2</sub> O
O	-0,551	-0,462	-0,447	-0,436	-0,436	-0,452
N	-0,180	-0,217	-0,255	-0,232	-0,212	-0,225

Já é conhecido que as reações de descarboxilação dos CBIs seguem em apenas uma etapa num mecanismo concertado.<sup>108,155</sup> Além disto, o estado de transição da reação é acompanhado pela quebra da ligação O-N para a formação do cianofenolato correspondente, ocorrendo ganho de carga eletrônica principalmente pelo átomo de oxigênio. Estas considerações permitem relacionar diretamente os valores das cargas atômicas calculadas para os átomos dos CBIs com os efeitos cinéticos observados. Os dados da Tabela 7 mostram que o sistema 6-NitroCBI⊂P5A é consideravelmente mais eficiente em polarizar a ligação O-N do anel isoxazol, um efeito favorecido tanto pela maior densidade eletrônica da cavidade do P5A quanto pela geometria do complexo. Adicionalmente, a maior carga eletrônica sobre o átomo de O no sistema inibitório (-0,551) elucidada seu desfavorecimento cinético para a reação de descarboxilação. Em outras palavras, quanto maior a densidade de carga eletrônica sobre o átomo de oxigênio menor é sua

capacidade em receber carga no estado de transição e, portanto, menor é sua velocidade de descarboxilação.

Figura 37 - Representação em 3D dos potenciais eletrostáticos em torno dos CBIs quando na cavidade dos pilararenos (considerando as geometrias calculadas) e solvatados com água (PCM). Calculados com DFT/B3LYP com nível de teoria 6-31G\*.



Os dados supracitados permitem sugerir que a diferença de carga líquida de quase -0,1e sobre o átomo de O (comparado ao mesmo átomo nos demais complexos) é um fator de grande influência no efeito inibitório do sistema 6-NitroCBI $\subset$ P5A. Além disto, os potenciais eletrostáticos da Figura 37 mostram uma menor densidade de carga sobre o grupo NO<sub>2</sub> deste sistema, sugerindo que seu efeito indutivo retirador de elétrons é parcialmente suprimido por efeito de campo dos arenos do P5A. Este último efeito também foi evidenciado nos estudos de RMN de <sup>1</sup>H, como demonstrado adiante.

Titulações de RMN de <sup>1</sup>H foram realizadas sobre determinados complexos a fim de confirmar a estequiometria, constantes de associação e estrutura dos complexos. A baixa solubilidade dos CBIs exigiu o uso de uma mistura de D<sub>2</sub>O:MeOD 4:1 (v/v) como solvente em todos os experimentos. Tal condição experimental, comparada com a do estudo cinético, é capaz de modificar tanto os parâmetros cinéticos (constantes de velocidade) quanto os de equilíbrio de associação (constantes de associação), no entanto, informações qualitativas importantes foram obtidas. Devido à reação de descarboxilação do 5,6-DinitroCBI ser consideravelmente mais rápida dentre os CBIs, catalisada por ambos os pilararenos e por frações de solvente orgânico, a precisão na obtenção dos espectros sucessivos foi consideravelmente comprometida a ponto de não apresentação destes dados. Com isto, os dados de RMN apresentados abaixo correspondem apenas aos sistemas 6-NitroCBI $\subset$ P5A e 6-NitroCBI $\subset$ P6A.

Os espectros sucessivos das titulações (Figura 38) mostram comportamentos similares para os hidrogênios aromáticos do 6-NitroCBI. Estes sinais variam em sentido à campos mais altos como resultado de sua inclusão na região de blindagem magnética na cavidade dos pilararenos, variações mais significativas na presença do P5A ( $\Delta\delta = 1,26$  ppm) do que no P6A (0,24 ppm). Enfatiza-se que, em ambos os sistemas todos os hidrogênios dos pilararenos deslocaram-se para campo alto quando no complexo, no entanto, nenhum patamar foi observado. Esta desblindagem contínua é indicio de aumento na associação de seus contraíons Br<sup>-</sup> como resultado de sua concentração, como já evidenciado para o mesmo macrociclo contendo contraíons aniônicos diferentes.<sup>156</sup> Outra observação importante é a cisão ou *splitting* dos hidrogênios alifáticos do P5A (Figura 39-Superior), sendo mais expressivos na ordem de H<sub>2</sub> > H<sub>5</sub> >> H<sub>3</sub>. Tal efeito corrobora com a acomodação mais externa do 6-NitroCBI onde há grande influência magnética sobre um dos portais do P5A, efeitos não observados para sua complexação com P6A (Figura 39-Inferior).

Figura 38 - Espectros sucessivos de RMN de  $^1\text{H}$  para o 6-NitroCBI na presença de diferentes equivalentes de P5A (Superior) e P6A (Inferior) ( $\text{D}_2\text{O}:\text{MeOD}$ , 4:1; pD 7,0; 25,0 °C; 200 MHz).

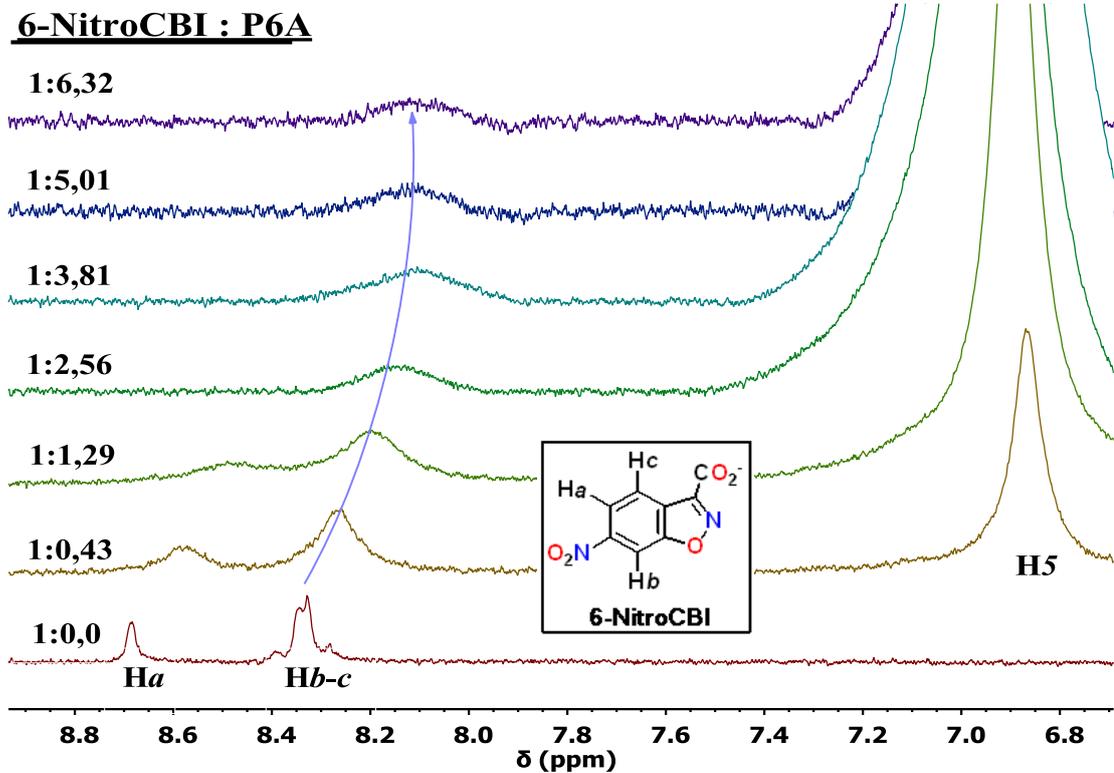
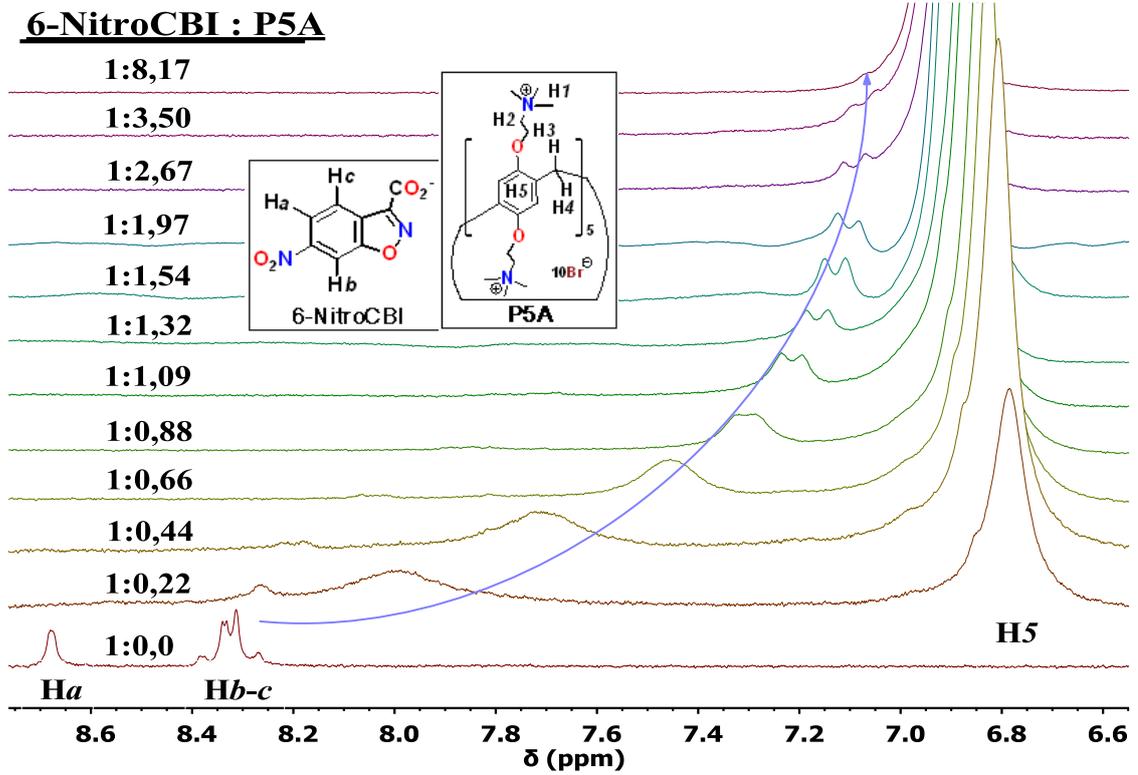
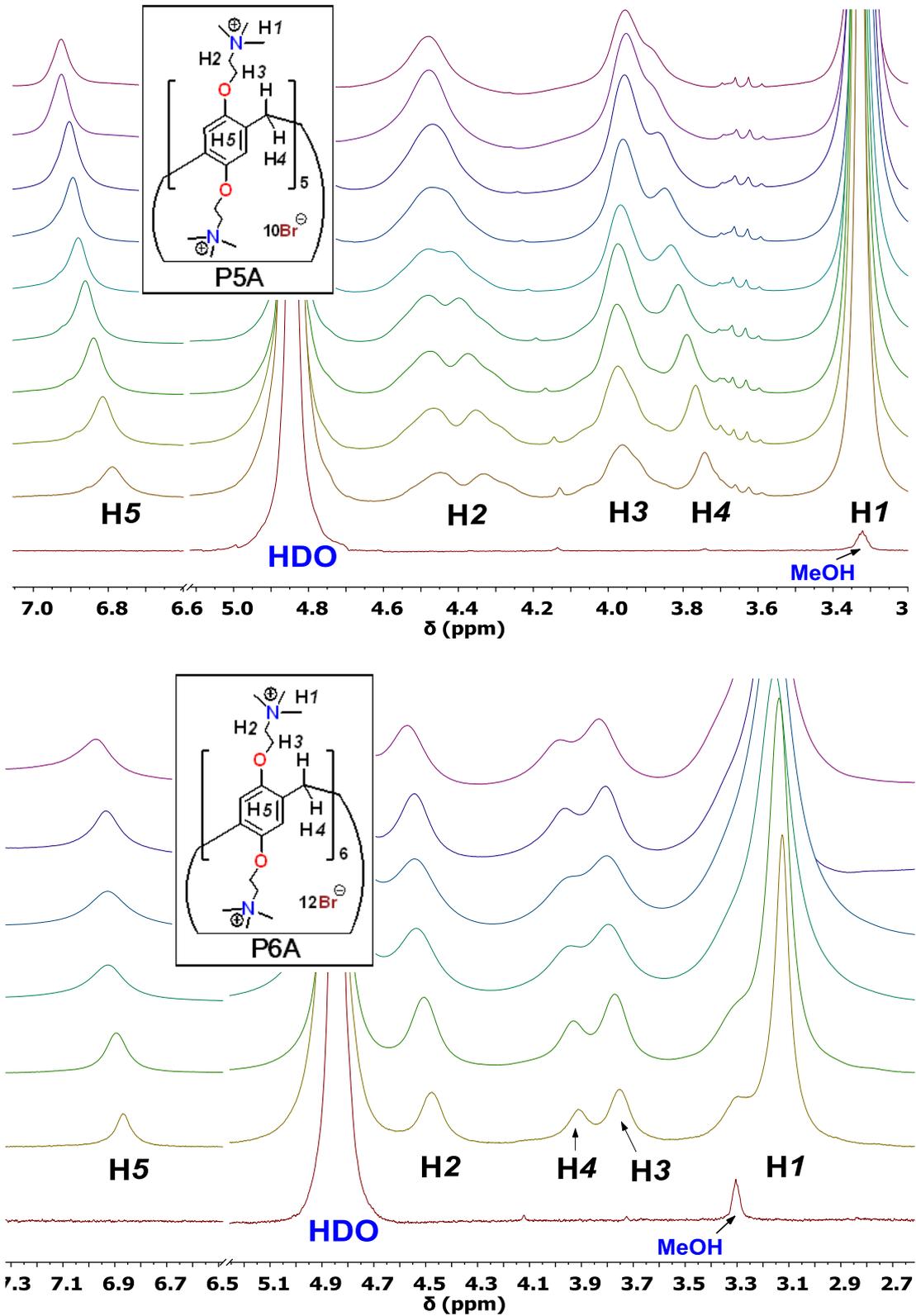


Figura 39 - Espectros sucessivos de RMN de  $^1\text{H}$  representativos para os hidrogênios do P5A (Superior) e P6A (Inferior) com equivalentes de 6-NitroCBI crescente de cima para baixo ( $\text{D}_2\text{O}:\text{MeOD}$ , 4:1; pD 7,0; 25,0 °C; 200 MHz).



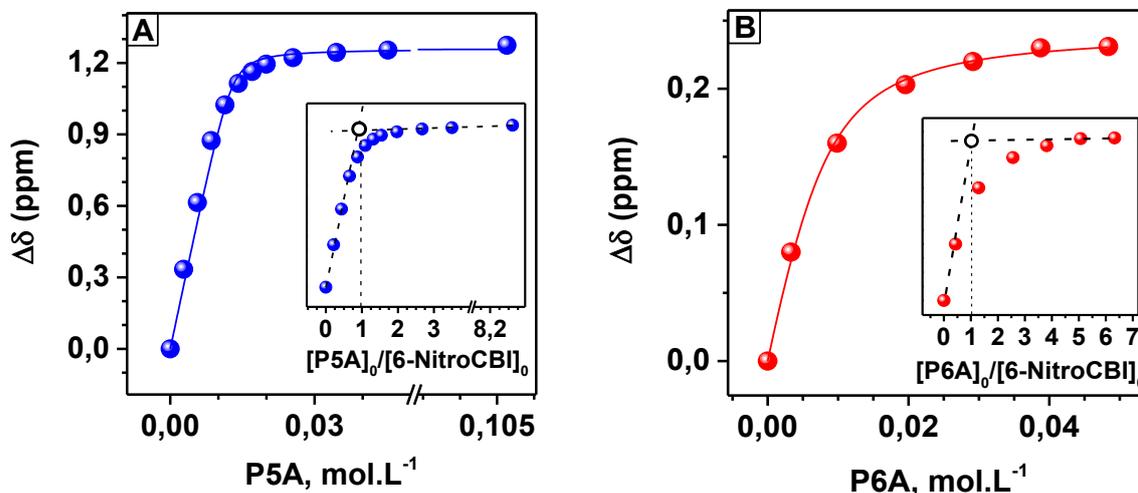
Os espectros sucessivos da Figura 39 fornecem evidências experimentais sobre uma das principais causas do efeito inibitório do 6-NitroCBI◄P5A: a redução do efeito indutivo do grupo NO<sub>2</sub>. Isto é evidenciado pela forte blindagem magnética dos hidrogênios H4 como resultado do posicionamento do grupo NO<sub>2</sub> no centro da cavidade do P5A. A alta densidade eletrônica nesta região favorece o efeito de campo (doador) sobre o NO<sub>2</sub> e a redução de seu efeito indutivo sobre a estrutura do CBI. Ao mesmo tempo, o grande volume do grupo NO<sub>2</sub> desloca parcialmente esta densidade eletrônica sobre os hidrogênios H4 deixando-os mais blindados ao campo magnético externo. Em contrapartida, no complexo 6-NitroCBI◄P6A o grupo NO<sub>2</sub> encontra-se muito abaixo da cavidade do pilarareno e não exerce tais efeitos.

Os gráficos de  $\Delta\delta$  vs. [Pilarareno] para os hidrogênios “Hb-c” do 6-NitroCBI estão apresentados na Figura 40. Estes sinais foram selecionados devido à sua manutenção ao longo da titulação, tornando possível o acompanhamento de sua variação.

O dados da Figura 40 foram satisfatoriamente ajustados com o modelo de estequiometria R:S (Equação 3), sendo obtido valores de  $K_{1:1}$  iguais à  $(4.201 \pm 1.513)$  e  $(429,68 \pm 69,76)$  L·mol<sup>-1</sup> para o 6-NitroCBI◄P5A e 6-NitroCBI◄P6A, respectivamente. Como esperado, a afinidade entre o 6-NitroCBI e os pilararenos foi prejudicada pela adição de 20 % de solvente orgânico, reduzindo em 30 e 23 vezes o valor de  $K_{1:1}$  para associação com o P5A e o P6A, respectivamente. Comparando com os dados do estudo cinético, a redução de  $K_{1:1}$  sugere os efeitos hidrofóbicos como uma das principais forças motrizes envolvidas na associação dos CBIs. Outra observação importante é que em ambientes altamente hidrofóbicos, como membranas celulares, o sistema deve liberar os CBIs como resultado da desestabilização energética do complexo, conferindo características de entrega controlada para estes sistemas. Esta perspectiva é de grande interesse terapêutico pois vários compostos 1,2-benzisoxazol-3-substituídos são comercializados como drogas terapêuticas, sendo estes capazes de atuar em sistemas de liberação controlada pelo ambiente químico.

O método da tangente (ou razão molar) foi aplicado sobre os gráficos de  $\Delta\delta$  vs.  $[\text{Pilarareno}]_0/[\text{CBI}]_0$  (inserido na Figura 40) como um recurso extra para confirmação da estequiometria dos complexos. Neste sentido, o ponto de inflexão em 1,0 confirma a estequiometria R:S para a complexação do 6-NitroCBI com ambos os pilararenos.

Figura 40 - Variação dos deslocamentos químicos para “Hb-c” em resposta ao aumento da concentração do P5A (A) e P6A (B), ambos ajustados para a estequiometria R:S. Inserido estão os gráficos de  $\Delta\delta$  vs. equivalentes do pilarareno correspondente ( $[\text{6-NitroCBI}]_{\text{P5A}} = 12,93 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $[\text{6-NitroCBI}]_{\text{P6A}} = 7,65 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{D}_2\text{O}:\text{MeOD}$ , 4:1;  $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 200 MHz).

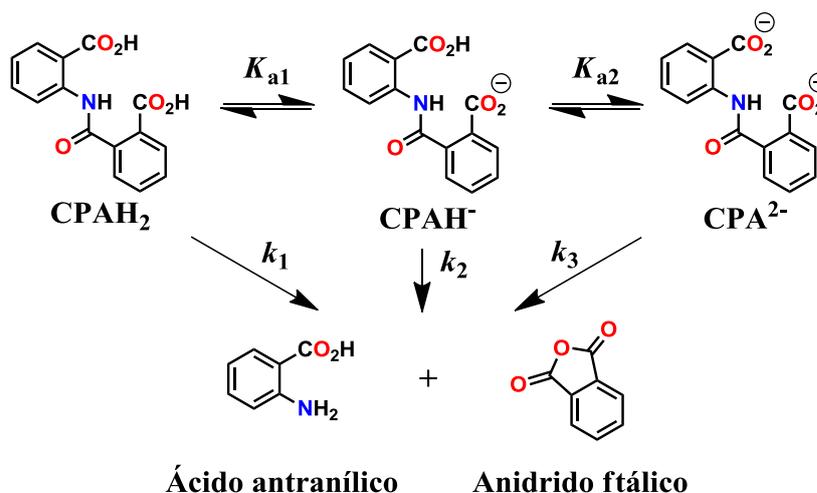


Os dados e discussões apresentados neste capítulo oferecem conteúdos conclusivos acerca dos componentes (CBIs e pilararens) tanto individualmente quanto como complexos. O grupo  $\text{NO}_2$  adicional no 5,6-DinitroCBI resulta em maior reatividade em solução e maior estabilidade térmica no estado sólido (com decomposição significativamente mais vigorosa e energética). Na presença dos pilararens, a geometria do complexo mostrou ser o principal fator na determinação entre efeitos catalíticos e inibitórios. De maneira específica, efeitos intrínsecos envolvendo a modificação na polaridade de regiões específicas dos CBIs, modificação no número de ligações de hidrogênio com o solvente e efeitos de campo sobre seus grupos  $\text{NO}_2$  foram os principais fatores responsáveis pelos efeitos cinéticos observados.

## 4.2 CAPÍTULO 2) MODIFICAÇÃO DA REATIVIDADE INTRAMOLECULAR DO ÁCIDO 2-CARBOXIFTALANÍLICO NA PRESENÇA DO P5A E P6A

Num primeiro trabalho, a hidrólise espontânea do ácido 2-carboxiftalanílico (CPA, Figura 41) teve seus produtos caracterizados (Apêndices H e I) e mecanismo de catálise bifuncional intramolecular elucidado por experimentos de cinética e cálculos computacionais. Em resumo, os dados convergiram para um mecanismo concertado ocorrendo simultaneamente uma transferência de próton e ataque nucleofílico, ambos promovidos pelos dois grupos carboxila adjacentes ao grupo amida (dados apresentados no Apêndice F). Tais evidências, discutidas em termos da teoria espaço-temporal de Frederick Menger (colaborador no trabalho),<sup>117</sup> forneceram evidências experimentais para melhor compreensão da alta eficiência catalítica observada em enzimas, tais como as proteases aspárticas (acelerações de até  $10^{10}$  vezes).<sup>157</sup>

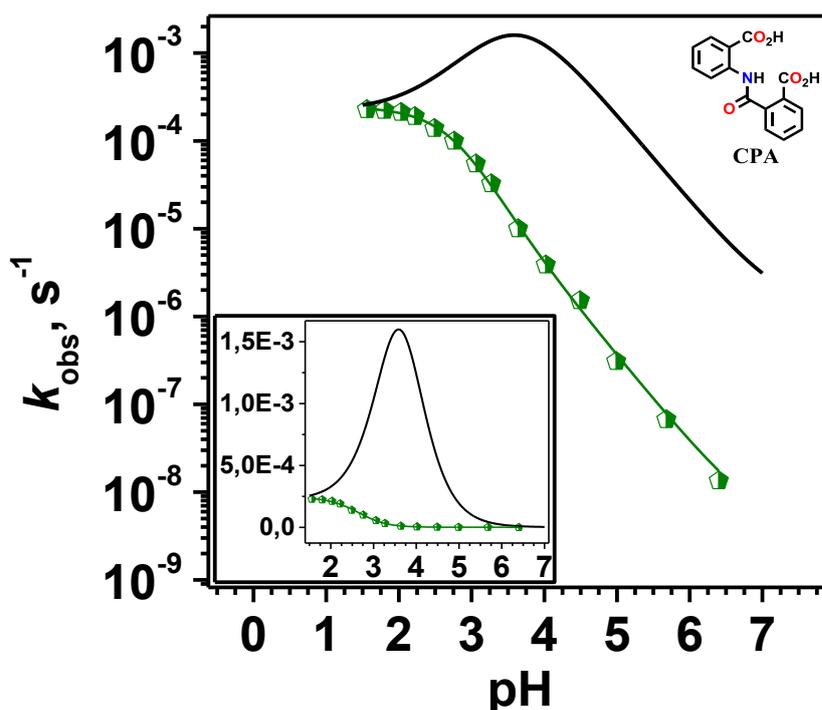
Figura 41 – Equilíbrios de dissociação ácida do CPA e sua decomposição.



Ao longo dos trabalhos surgiu a ideia de, de alguma forma, comprometer os grupos catalíticos do CPA para reduzir sua reatividade intramolecular ou eficiência catalítica. Assim, os mesmos conceitos de posição desfavorável (distância e ângulo, espaço) e reduzido tempo de permanência (temporal) poderiam ser empregados para compreender a redução da reatividade do CPA. Tal ideia teria capacidade de fornecer uma perspectiva contrária ao da catálise enzimática (discutida no primeiro trabalho), ou seja, a noção de inibição enzimática pelo comprometimento dos grupos catalíticos. Esta ideia estimulou a realização de testes envolvendo dois pilar[n]arenos ( $n = 5$  e  $6$ ) catiônicos, ambos funcionalizados com grupos trimetilamônio (P5A e P6A) para complexação receptor-substrato com o CPA.

Primeiramente, foram realizados experimentos de cinética para investigar a influência do pH sobre a reatividade do CPA, tanto na presença do P5A quanto do P6A. Os dados indicaram a influência quase nula do P6A (inibição máxima de 2,5 vezes), no entanto, a presença do pilarareno de menor cavidade e carga positiva líquida (P5A) foi capaz de gerar efeitos inibitórios significativos sobre a decomposição do CPA. Estas evidências justificaram a realização de experimentos de cinética na faixa de pH 1,50-6,40 com excesso de P5A para garantir a total complexação do CPA. Com isto, o comparativo entre os perfis de pH para a decomposição do CPA em água e na cavidade do P5A (Figura 42) evidenciam o significativo efeito inibitório sobre a reação em direção ao pH fisiológico.

Figura 42 - Influência do pH sobre a constante de velocidade de primeira ordem para a hidrólise espontânea do CPA (—) e para sua decomposição na cavidade do P5A (—■—), a 25,0 °C ( $[\text{CPA}] = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $[\text{P5A}] = 4,0 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

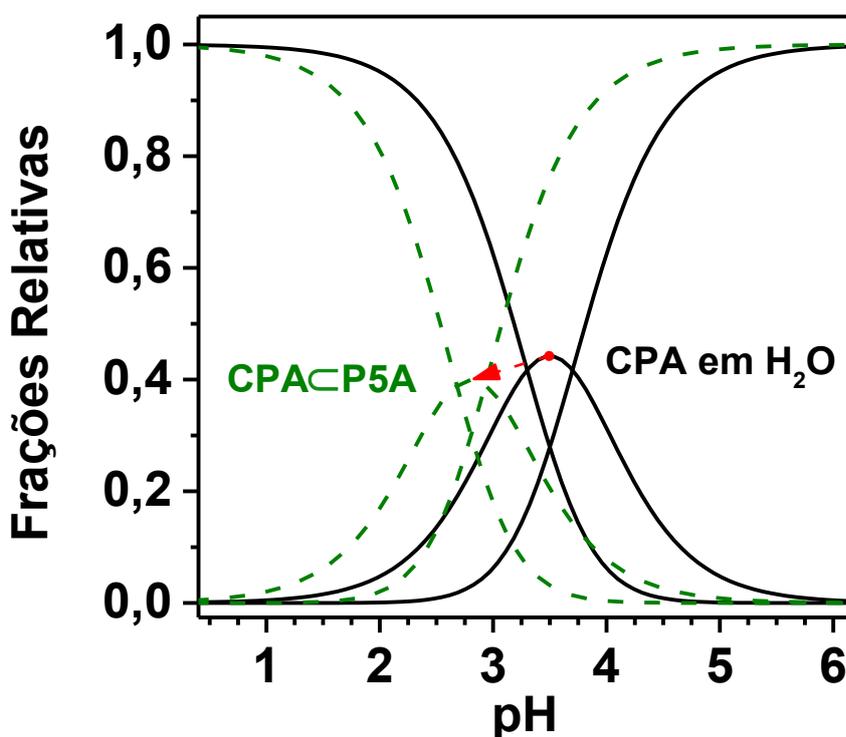


Os ajustes dos dados da Figura 42 (Equação 8) forneceram os valores de  $pK_a$  para o CPA tanto em água ( $pK_{a1}^w$  e  $pK_{a2}^w$ ) quanto na cavidade do P5A ( $pK_{a1}^{P5A}$  e  $pK_{a2}^{P5A}$ ). Estes dados indicaram a redução de quase 1 unidade sobre os  $pK_a$ s após a inclusão do CPA na cavidade do macrociclo. Este aumento de acidez é compreendido pela forte estabilização eletrostática promovida pelos grupos  $\text{NMe}_3^+$  do P5A sobre os grupos carboxila do CPA, atingindo uma variação de  $\Delta pK_{a1} = -0,62$  e  $\Delta pK_{a2} = -0,77$ . Com isto, tornou-se possível o cálculo das frações relativas das espécies do CPA (neutra,  $\text{CPAH}_2$ ; monoaniônica,  $\text{CPAH}^-$  e dianiônica,  $\text{CPA}^{2-}$ ) em

função do pH, para ambos os ambientes. Esta distribuição está apresentada na Figura 43 e ilustra a diferença entre os equilíbrios de acidez do CPA em água e na cavidade do P5A (calculado pela Equação 9), sendo a aproximação entre  $pK_{a1}^{P5A}$  e  $pK_{a2}^{P5A}$  responsável pela redução de 4,2 % da espécie CPAH<sup>-</sup> na cavidade do P5A (seta de cor vermelha na Figura 43).

Uma análise mais cuidadosa sobre os dados do parágrafo anterior sugere a ocorrência de importantes modificações sobre as propriedades do CPA após sua complexação com o P5A. A redução da espécie CPAH<sup>-</sup>, por exemplo, por si só reduz a eficiência catalítica do CPA. Esta observação baseia-se na maior reatividade desta espécie em água, com  $k_{CPAH^-}$  sendo 19 e 286 vezes maior do que  $k_{CPAH_2}$  e  $k_{CPA^{2-}}$ , respectivamente. Com isto, no pH ótimo para a reação em água (topo do perfil de sino da Figura 42) a redução de 4,2 % da espécie mais reativa acarretaria em prejuízos significativos sobre a constante de velocidade observada ( $k_{obs}$ ), mesmo se seus grupos estivessem hipoteticamente livres para realização da catálise intramolecular, ou seja, fora da cavidade do P5A.

Figura 43 - Frações relativas das espécies do CPA em H<sub>2</sub>O (—) e na cavidade do P5A (---), em função do pH.

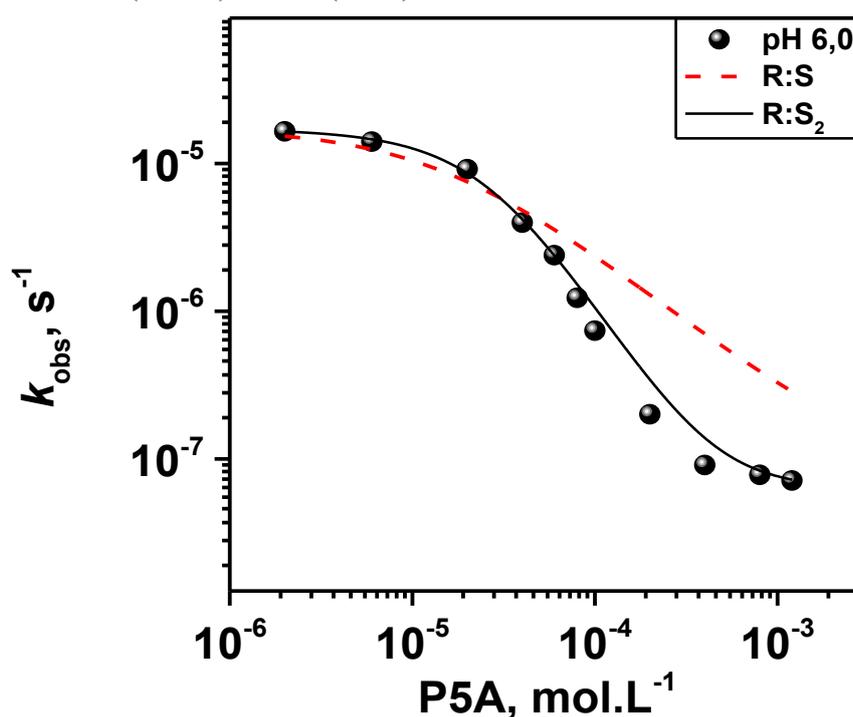


Até este ponto os dados experimentais sugeriram que: (1) o complexo é pH-dependente; (2) os efeitos inibitórios sobre a decomposição do CPA aumentam com o pH e (3)

a alta estabilização eletrostática sobre as espécies aniônicas do CPA devem resultar em constantes de associação crescentes na ordem de  $\text{CPAH}_2 < \text{CPAH}^- < \text{CPA}^{2-}$ .

O gráfico da Figura 43 mostra a grande complexidade do sistema em estudo, onde um grande número de espécies podem ser visualmente pré-determinadas ao considerarmos os dois ambientes ( $\text{H}_2\text{O}$  e P5A) e as possíveis estequiometrias (R:S,  $\text{R}_2\text{:S}$  e  $\text{R:S}_2$ ). Com isto, o próximo passo para elucidação deste sistema foi investigar a influência da concentração do P5A em pH 6,0 (Figura 44), uma condição que mantém o  $\text{CPA}^{2-}$  como a espécie predominante em ambos os ambientes. Uma análise da estequiometria do complexo foi realizada pelo ajuste dos dados (Equações 1 e 2), sendo nítido o comportamento típico de um sistema  $\text{R:S}_2$  com alto efeito de cooperatividade ( $\alpha = 10,9$ ; calculado por  $\alpha = 4K_{1:2}/K_{1:1}$ ). Os parâmetros obtidos pelo ajuste (constantes de velocidade e de associação, Tabela 9) indicam a modificação da cavidade do P5A após a ligação do primeiro  $\text{CPA}^{2-}$ , havendo no complexo  $\text{CPA}^{2-}\text{-P5A}$  um sítio de ligação muito mais favorável do que no P5A livre. Este efeito pode ser apresentado em termos quantitativos e energéticos pela diferença entre as variações de energia livre das subsequentes associações, como  $\Delta\Delta G = \Delta G_{1:2} - \Delta G_{1:1} = -2.48 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ . As constantes de velocidade na cavidade do P5A mostraram-se compatíveis com os dados da Figura 42, com valores de  $k_{1:1}^D$  e  $k_{1:2}^D$  na ordem de  $10^{-7}$  e  $10^{-8} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente.

Figura 44 - Influência da concentração do P5A sobre a  $k_{\text{obs}}$  para a decomposição da espécie  $\text{CPA}^{2-}$  (pH 6,0; 25,0 °C; [Bis-Tris propano] = 0,01 mol·L<sup>-1</sup>). Dados ajustados com modelos estequiométricos R:S (—) e  $\text{R:S}_2$  (—).



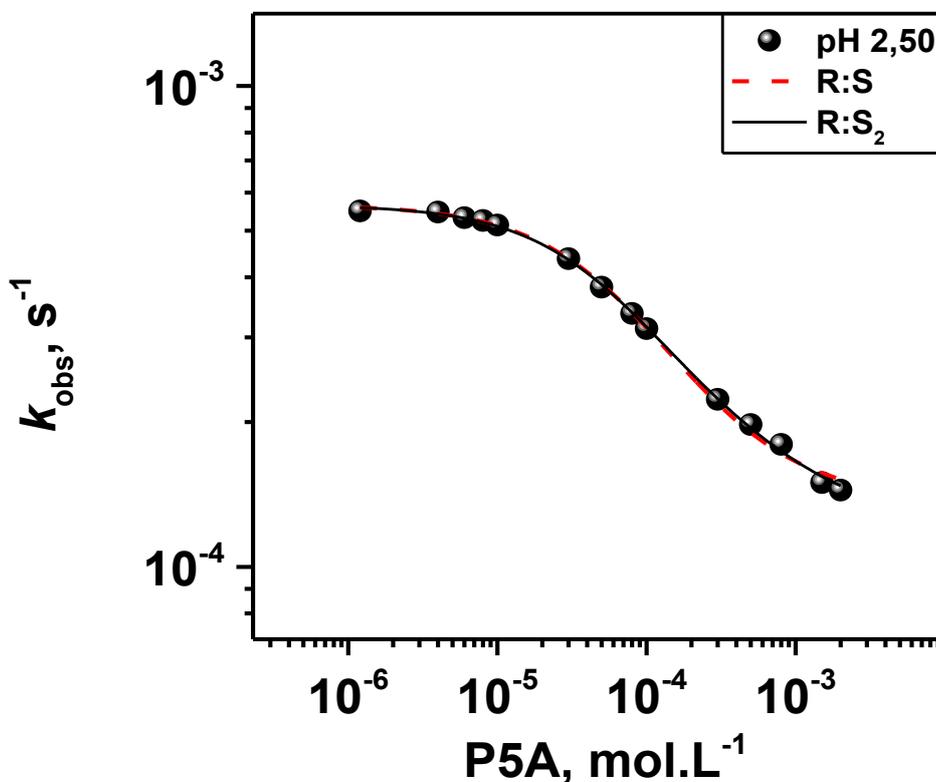
Para as demais espécie do CPA ( $\text{CPAH}_2$  e  $\text{CPAH}^-$ ) a determinação direta e precisa dos parâmetros cinéticos e de equilíbrio tornou-se difícil devido à mudança nas frações relativas das espécies em resposta ao aumento da concentração do P5A. Este efeito, previsto pela alteração dos valores de  $\text{p}K_a$  do CPA ao ligar-se no P5A, seria capaz de gerar erros significativos sobre os parâmetros individuais de cada espécie. Outro efeito gerador de erros seria a mudança na estequiometria de complexação para as diferentes espécies, o que tornaria o tratamento do sistema ainda mais difícil. Dito isto, a influência da concentração do P5A foi investigada nos pHs 2,50, 3,45 e 4,25 para auxiliar na avaliação da estequiometria, magnitudes das constantes de associação e efeitos de cooperatividade. Destaca-se que os efeitos observados nestes pHs não devem ser atribuídos à somente uma espécie ou distribuição de espécies do CPA, mas sim, tratados como efeitos médios considerando as percentagens máximas e mínimas de cada espécie calculadas para estes três pHs, como mostra a Tabela 8 abaixo.

Tabela 8 - Frações relativas das espécies do CPA nos pHs 2,50, 3,45 e 4,25, em ambos os ambientes.

<b>pH</b>	<b>Ambiente</b>	<b><math>\text{CPAH}_2</math> (%)</b>	<b><math>\text{CPAH}^-</math> (%)</b>	<b><math>\text{CPA}^{2-}</math> (%)</b>
<b>2,50</b>	<b><math>\text{H}_2\text{O}</math></b>	85,5	13,6	0,9
	<b>P5A</b>	52,5	34,6	12,9
<b>3,45</b>	<b><math>\text{H}_2\text{O}</math></b>	31,2	44,0	24,8
	<b>P5A</b>	3,8	22,3	73,9
<b>4,25</b>	<b><math>\text{H}_2\text{O}</math></b>	2,4	21,5	76,1
	<b>P5A</b>	0,1	4,6	95,3

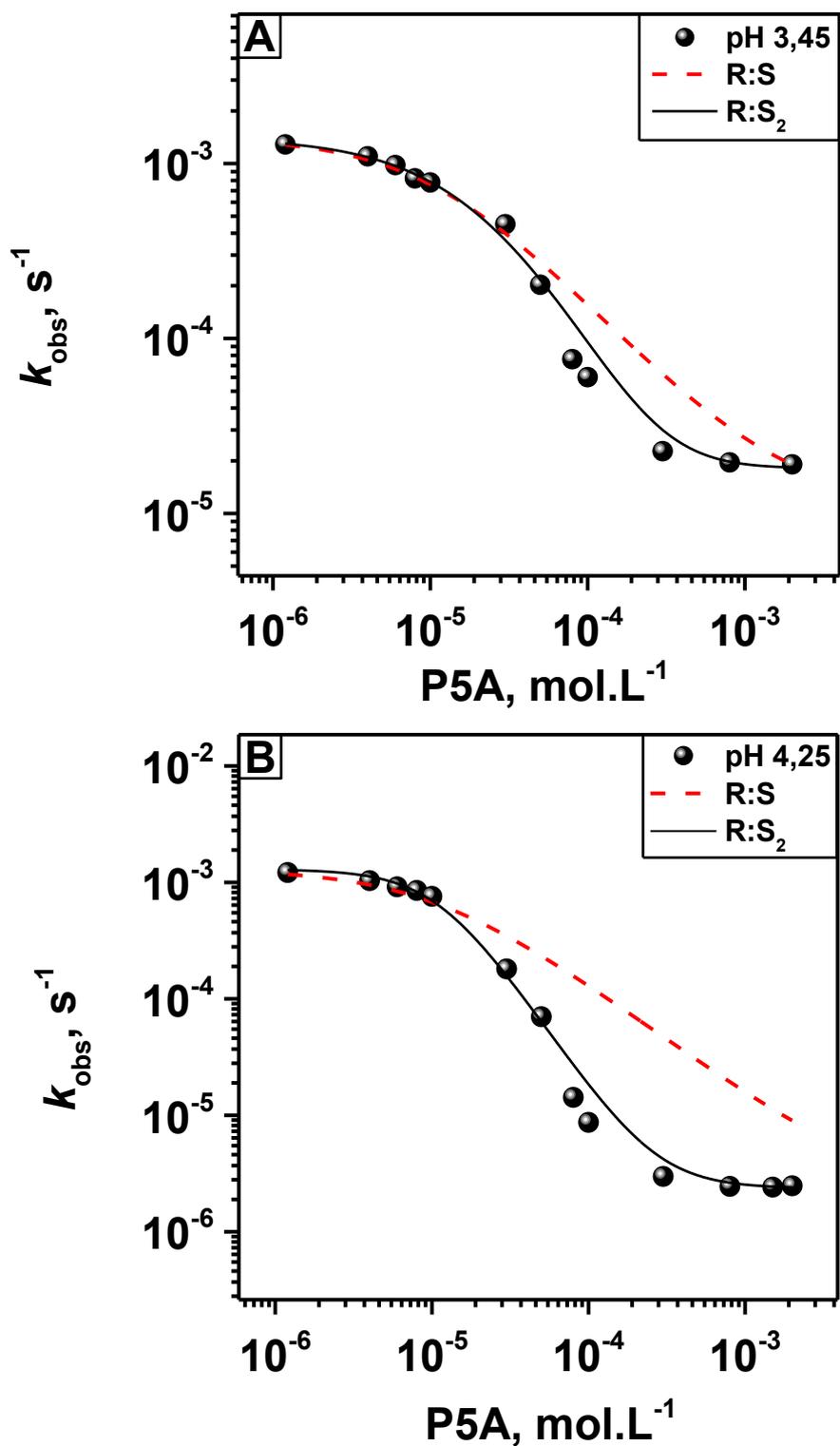
Os dados obtidos em pH 2,50 apresentaram ajustes satisfatórios tanto para a estequiometria R:S quanto para R:S<sub>2</sub> (Figura 45), o que gerou certa dúvida sobre a estequiometria do complexo neste pH. No entanto, a predominância da espécie  $\text{CPAH}_2$  em ambos os ambientes ( $\text{H}_2\text{O} = 85,5\%$  e  $\text{P5A} = 52,5\%$ ) e os valores das constantes de associação obtidas para as estequiometrias R:S ( $K_{1:1} = 1,43 \times 10^4 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) e R:S<sub>2</sub> global ( $K_G = K_{1:1} \times K_{1:2} = 1,68 \times 10^7 \text{ L}^2\cdot\text{mol}^{-2}$ ) sugerem o complexo como R:S<sub>2</sub>. Esta conclusão foi confirmada pela obtenção de mesma magnitude de  $K_G$  para a espécie  $\text{CPAH}_2$  através de cálculos envolvendo o ciclo termodinâmico da complexação, como demonstrado mais adiante. Outra observação importante é o efeito de cooperatividade negativa neste pH ( $\alpha = 0,24$ ), um efeito que deve ser majoritariamente influenciado pela espécie  $\text{CPAH}_2$ .

Figura 45 - Influência da concentração do P5A sobre a  $k_{obs}$  para a decomposição do CPA em pH 2,50 (25,0 °C; [HEPES] = 0,01 mol·L<sup>-1</sup>). Dados ajustados com modelos estequiométricos R:S (—) e R:S<sub>2</sub> (—).



Nos pHs 3,45 e 4,25 os ajustes dos dados foram satisfatórios apenas com o modelo R:S<sub>2</sub> (Figura 46), sendo possível determinar os parâmetros cinéticos e de equilíbrio para ambos os sistemas presentes em solução (R:S e R:S<sub>2</sub>). Uma análise dos parâmetros de equilíbrio (Tabela 9) mostram valores de  $K_G^{\text{pH}_{3,45}} = 10^8 \text{ L}^2 \cdot \text{mol}^{-2}$  e  $K_G^{\text{pH}_{4,25}} = 10^9 \text{ L}^2 \cdot \text{mol}^{-2}$ , magnitudes similares às obtidas para as espécies CPAH<sup>-</sup> (pelo ciclo termodinâmico) e CPA<sup>2-</sup> (diretamente em pH 6,0), respectivamente. A coerência entre estes dados experimentais e os valores obtidos pelo ciclo termodinâmico confirmam a formação de complexos R:S<sub>2</sub> para todas as espécies do CPA. Os valores de “ $\alpha$ ” nestes pHs ( $\alpha^{\text{pH}_{3,45}} = 0,72$  e  $\alpha^{\text{pH}_{4,25}} = 14,63$ ) apontam uma evolução sobre os efeitos de cooperatividade do sistema. Neste sentido, há a ocorrência de inversão da cooperatividade (negativa para positiva) quando [CPAH<sub>2</sub>]  $\ll$  [CPA<sup>2-</sup>], ou seja, a cooperatividade positiva é promovida pela espécie dianiônica do CPA. Os ajustes também forneceram as constantes de velocidade de decomposição na cavidade do P5A ( $k_{1:1}$  e  $k_{1:2}$ ), havendo boa relação com os dados da Figura 42.

Figura 46 - Influência da concentração do P5A sobre a  $k_{obs}$  para a decomposição do CPA nos pHs 3,45 (A; [HEPES] = 0,01 mol·L<sup>-1</sup>) e 4,25 (B; [Anilina] = 0,01 mol·L<sup>-1</sup>), ambos à 25,0 °C. Dados ajustados com modelos estequiométricos R:S (—) e R:S<sub>2</sub> (—).



Deve-se destacar que os ajustes dos dados apresentaram erros padrões crescentes com o pH, sendo mais expressivos em pH 6,0. Isto sugere que a principal causa dos erros não está diretamente relacionada com a variação das frações relativas das espécies ao aumentar a

concentração do P5A, mas sim com a modificação dos valores de  $pK_{a1}^{P5A}$  e  $pK_{a2}^{P5A}$  após a ligação do primeiro CPA na cavidade do P5A. Este efeito é resultado de interações CPA--CPA na cavidade do P5A e aumenta com sua ionização, ou seja, são mais expressivos na ordem de  $CPAH_2 < CPAH^- < CPA^{2-}$ .

Tabela 9 - Constantes de velocidade e de associação para o CPA na cavidade do P5A nos pHs 2,50, 3,45, 4,25 e 6,00.

pH	$k_{1:1}$ ( $s^{-1}$ )	$k_{1:2}$ ( $s^{-1}$ )	$K_{1:1}$ ( $L \cdot mol^{-1}$ )	$K_{1:2}$ ( $L \cdot mol^{-1}$ )
<b>2,50<sup>(a)</sup></b>	$(1,87 \pm 0,1) \times 10^{-4}$	$(1,21 \pm 0,1) \times 10^{-4}$	$(1,69 \pm 0,4) \times 10^4$	$(997 \pm 478)$
<b>3,45<sup>(b)</sup></b>	$(1,16 \pm 3,5) \times 10^{-5}$	$(1,82 \pm 2,3) \times 10^{-5}$	$(7,15 \pm 1,1) \times 10^4$	$(1,29 \pm 2,4) \times 10^4$
<b>4,25<sup>(c)</sup></b>	$(1,81 \pm 7,1) \times 10^{-5}$	$(2,30 \pm 11,1) \times 10^{-6}$	$(3,58 \pm 0,8) \times 10^4$	$(1,31 \pm 0,6) \times 10^5$
<b>6,00<sup>(d)</sup></b>	$(1,50 \pm 8,3) \times 10^{-7}$	$(6,31 \pm 15,4) \times 10^{-8}$	$(2,29 \pm 0,5) \times 10^4$	$(6,22 \pm 2,6) \times 10^4$

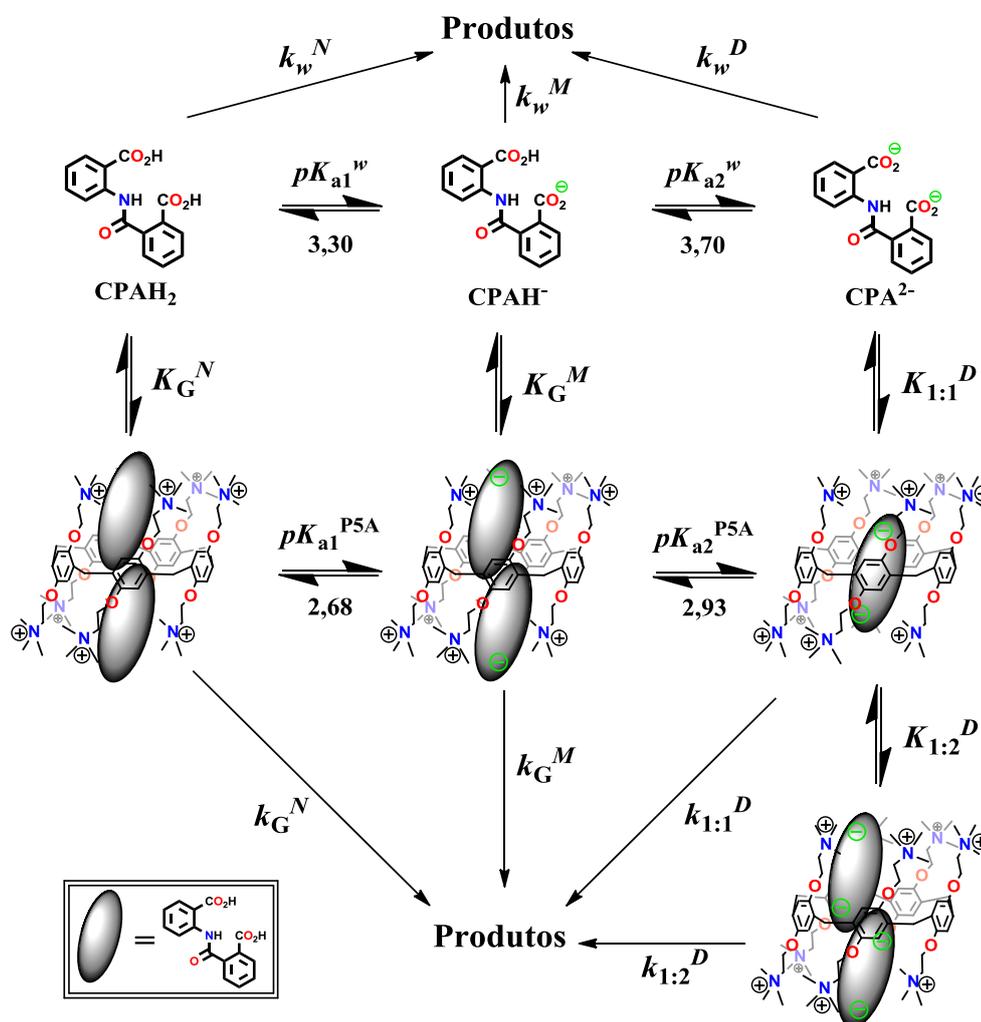
<sup>(a)</sup> $K_G = 1,68 \times 10^7 L^2 \cdot mol^{-2}$ ; <sup>(b)</sup> $K_G = 9,22 \times 10^8 L^2 \cdot mol^{-2}$ ; <sup>(c)</sup> $K_G = 4,69 \times 10^9 L^2 \cdot mol^{-2}$ ; <sup>(d)</sup> $K_G = 1,42 \times 10^9 L^2 \cdot mol^{-2}$ .

Os dados da Tabela 9 permitem a realização de duas importantes observações sobre o sistema. Primeiro, a magnitude de  $K_{1:1} = 10^4 L \cdot mol^{-1}$  em todos os pHs sugere as interações não-eletrostáticas como as principais forças motrizes envolvidas na associação do primeiro CPA, tais como as envolvendo os sistemas  $\pi$  (cátion- $\pi$ ,  $\pi$ - $\pi$  e CH- $\pi$ ) e efeitos hidrofóbicos. Segundo, a inversão da cooperatividade (negativa para positiva) é dependente da concentração da espécie  $CPA^{2-}$ , ou seja, o sistema é pH-dependente. Isto indica que as interações eletrostáticas entre os componentes ( $CPA^{2-}$  e P5A) é a força motriz responsável por aumentar a força de ligação do segundo CPA na cavidade do P5A.

As observações enumeradas no parágrafo anterior apontam uma similaridade comportamental entre o sistema e as enzimas alostéricas. Esta classe de enzimas, comumente chamadas de enzimas reguladoras do metabolismo, sofrem modificação estrutural após a ligação de uma espécie denominada reguladora ou efetora, passando a ter sua atividade aumentada ou diminuída.<sup>158-160</sup> Tal similaridade pode ser compreendida quando há a variação nas frações relativas das espécies do CPA, havendo a inversão da cooperatividade entre as espécies  $CPAH_2$  e  $CPA^{2-}$ . A inversão da cooperatividade é acompanhada pelo aumento nos efeitos inibitórios sobre a decomposição do CPA, o que permite atribuir certa inteligência ao sistema em estudo.

As observações experimentais obtidas até este ponto levaram à elaboração do Esquema 5, um ciclo termodinâmico complexo que representa o comportamento detalhado para a espécie  $CPA^{2-}$  e comportamento global (cinético e de equilíbrio) para as espécies  $CPAH_2$  e  $CPAH^-$ .

Esquema 5 - Equilíbrios de acidez para o CPA (em H<sub>2</sub>O e na cavidade do P5A) e de associação para todas as suas espécies com o P5A (detalhado para o CPA<sup>2-</sup> e global para CPAH<sub>2</sub> e CPAH<sup>-</sup>).



Como aproximação, considerou-se que a ligação do primeiro CPA não modifica os valores de  $pK_{a1}^{P5A}$  e  $pK_{a2}^{P5A}$ . Assim, os valores de  $K_G^N$  e  $K_G^M$  foram calculados através do ciclo termodinâmico do Esquema 5. Para isto, as Equações 10 e 11 foram deduzidas e os valores de  $K_G^D$  e os  $pK_{as}$  em ambos os ambientes foram substituídos nas mesmas.

$$K_G^D = K_G^M \frac{K_{a2}^{P5A}}{K_{a2}^w} \quad (10)$$

$$K_G^M = K_G^N \frac{K_{a1}^{P5A}}{K_{a1}^w} \quad (11)$$

$K_G^D$ ,  $K_G^M$  e  $K_G^N$  são as constantes de associação globais para as espécies CPA<sup>2-</sup> (determinada em pH 6,0), CPAH<sup>-</sup> e CPAH<sub>2</sub>, respectivamente;  $K_{a1}^w$  e  $K_{a2}^w$  são as constantes de acidez do CPA em H<sub>2</sub>O;  $K_{a1}^{P5A}$  e  $K_{a2}^{P5A}$  são as constantes de acidez do CPA na cavidade do P5A.

Os valores de  $K_G^N$  e  $K_G^M$  obtidos pelo ciclo termodinâmico (Tabela 10) estão na mesma ordem de magnitude dos valores obtidos nos experimentos realizados nos pHs 2,50-3,45 (Tabela 9). Para estas mesmas espécies, as constantes de velocidade global ou aparente na cavidade do P5A ( $k_G^N$  e  $k_G^M$ ) foram determinadas pelo ajuste dos dados da Figura 42 (—■—), todas elas apresentadas na Tabela 10.

Mesmo sem a componente eletrostática, o CPAH<sub>2</sub> liga-se fortemente na cavidade hidrofóbica do P5A em um sistema R:S<sub>2</sub>. Este comportamento é similar ao de substratos apolares associando-se em geometrias favoráveis para exclusão de água, ou seja, associações hidrofóbicas.<sup>24</sup> Outros tipos de interações também foram previstas para o sistema CPAH<sub>2</sub>⊂P5A⊃CPAH<sub>2</sub> e serão discutidas após a apresentação dos dados experimentais de RMN.

Os efeitos inibitórios sobre a decomposição do CPA são muito bem explicados pela teoria espaço-temporal, sendo nitidamente observados pela anulação do perfil de sino na Figura 42. Deve-se relembrar que a proximidade entre  $pK_{a1}^{P5A}$  e  $pK_{a2}^{P5A}$  provoca redução de 4,2 % do CPAH<sup>-</sup>, a espécie mais reativa do CPA. Em seguida e corroborando com a teoria, a posição favorável (distância e ângulo, espaço) e o tempo de permanência (temporal) dos grupos carboxila do CPA devem ser consideravelmente prejudicados no complexo CPAH<sup>-</sup>⊂P5A⊃CPAH<sup>-</sup>, um sistema mimético para inibição enzimática. Somado às restrições estéricas das carboxilas do CPA no sistema R:S<sub>2</sub>, suas interações eletrostáticas com os grupos NMe<sub>3</sub><sup>+</sup> devem ter grande participação nos efeitos inibitórios observados, sendo uma força motriz atuante sobre ambas as variáveis chave da teoria (espaço e tempo). O mesmo raciocínio pode ser empregado para compreender os efeitos inibitórios de apenas 2,5 vezes na presença do P6A, onde os grupos carboxila do CPA devem estar livres para realização da catálise.

Tabela 10 - Constantes de velocidade e equilíbrio para as espécies do CPA em água e na cavidade do P5A (detalhado para CPA<sup>2-</sup> e global para CPAH<sub>2</sub> e CPAH<sup>-</sup>).

Espécie	$k_w$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{1:1}$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{1:2}$ (s <sup>-1</sup> )	$K_{1:1}$ (L·mol <sup>-1</sup> )	$K_{1:2}$ (L·mol <sup>-1</sup> )
CPAH <sub>2</sub>	$2,1 \times 10^{-4}$	$k_G^N = 2,37 \times 10^{-4}$		$K_G^N = 5,81 \times 10^7$ L <sup>2</sup> ·mol <sup>-2</sup>	
CPAH <sup>-</sup>	$4,0 \times 10^{-3}$	$k_G^M = 4,10 \times 10^{-5}$		$K_G^M = 2,42 \times 10^8$ L <sup>2</sup> ·mol <sup>-2</sup>	
CPA <sup>2-</sup>	$1,4 \times 10^{-5}$	$(1,50 \pm 8,3) \times 10^{-7}$	$(6,31 \pm 15,4) \times 10^{-8}$	$(2,29 \pm 0,5) \times 10^4$ <sup>(a)</sup>	$(6,22 \pm 2,6) \times 10^4$ <sup>(b)</sup>
		$pK_{a1}^w = 3,30$ $pK_{a2}^w = 3,70$		$pK_{a1}^{P5A} = 2,68$ $pK_{a2}^{P5A} = 2,93$	

<sup>(a)</sup> $\Delta G = -24,88$  kJ·mol<sup>-1</sup>; <sup>(b)</sup> $\Delta G = -27,36$  kJ·mol<sup>-1</sup> (calculado por  $\Delta G = -R \cdot T \cdot \ln K$ ).

A investigação do sistema contou com experimentos de infusões diretas num ESI-MS para avaliação das razões de  $m/z$  tanto do P5A livre quanto do sistema CPA $\leftarrow$ P5A $\rightarrow$ CPA. Apesar das condições de análise no ESI-MS serem muito diferentes quando comparadas às condições empregadas no estudo cinético, utilizou-se apenas água como solvente, concentrações de  $\sim 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e nenhuma adição de aditivos.

De início, a infusão do P5A livre forneceu expectativa do aparecimento de 9 sinais de  $m/z$  referentes às diferentes combinações entre a estrutura do macrociclo e 9 de seus 10 contraíons  $\text{Br}^-$ , não sendo detectada apenas a espécie neutra, obviamente. No espectro de massas da Figura 47-A estão apresentados 8 dos 9 sinais esperados, não sendo detectada apenas a espécie de menor ionização  $[\text{P5A}-1\text{Br}^-]^+$ . Além disto, a estrutura de ambos os pilararenos foram confirmadas por análises de HRMS/ESI-TOF, com os fragmentogramas apresentando erros abaixo de 2 ppm entre os valores de  $m/z$  calculados e observados (ver Apêndice G).

Já a infusão de uma solução aquosa equimolar de CPA e P5A forneceu vários sinais de  $m/z$  referentes à diferentes combinações entre CPA, P5A e  $\text{Br}^-$  (Figura 47-B). Destaca-se ainda que, mesmo nas condições da técnica, houve a predominância das estequiometrias R:S e R:S<sub>2</sub>, como observado nos estudos cinéticos. Para confirmar a validade dos sinais observados o sinal de  $m/z$  de maior intensidade (324,0 Da) foi selecionado para fragmentação e/ou desagregação num próximo estágio de quadrupolos. O estudo complementar de MS<sup>2</sup> (Figura 47-C) forneceu 4 sinais de  $m/z$  referentes à fragmentação/desagregação do sistema  $[\text{R:S}_2-7\text{Br}^-]^7+$ , indicando a desagregação dos contraíons  $\text{Br}^-$  restantes ( $m/z = 186,8$  Da), desagregação dos  $\text{Br}^-$  e de um dos CPAs ( $m/z = 175,9$  Da), o ácido antranílico como fragmento do CPA ( $m/z = 138,2$  Da) e o radical propadienil como fragmento comum do benzeno ( $m/z = 39,0$  Da).

A investigação do sistema contou ainda com experimentos de RMN, iniciando com a identificação de todos os hidrogênios aromáticos do CPA. Para isto, foram realizados experimentos de COSY e HETCOR para tornar possível a atribuição de cada efeito sobre determinada região estrutural do CPA. Todos os 8 hidrogênios aromáticos do CPA foram identificados com letras e cores. Neste sentido, hidrogênios derivados do ácido antranílico foram nomeados com as letras *a*, *b*, *c* e *d*, todos em cor azul. Já os derivados do anidrido ftálico foram nomeados de *e*, *f*, *g* e *h*, todos em cor verde, como apresentado na Figura 48.

Figura 47 - Espectros de ESI-MS de varredura completa no modo íon positivo para uma solução aquosa do P5A (A), uma solução aquosa equimolar de CPA e P5A (B) e MS<sup>2</sup> para o sinal de 324,0 Da (C) (todos os compostos em ~10 μmol·L<sup>-1</sup>).

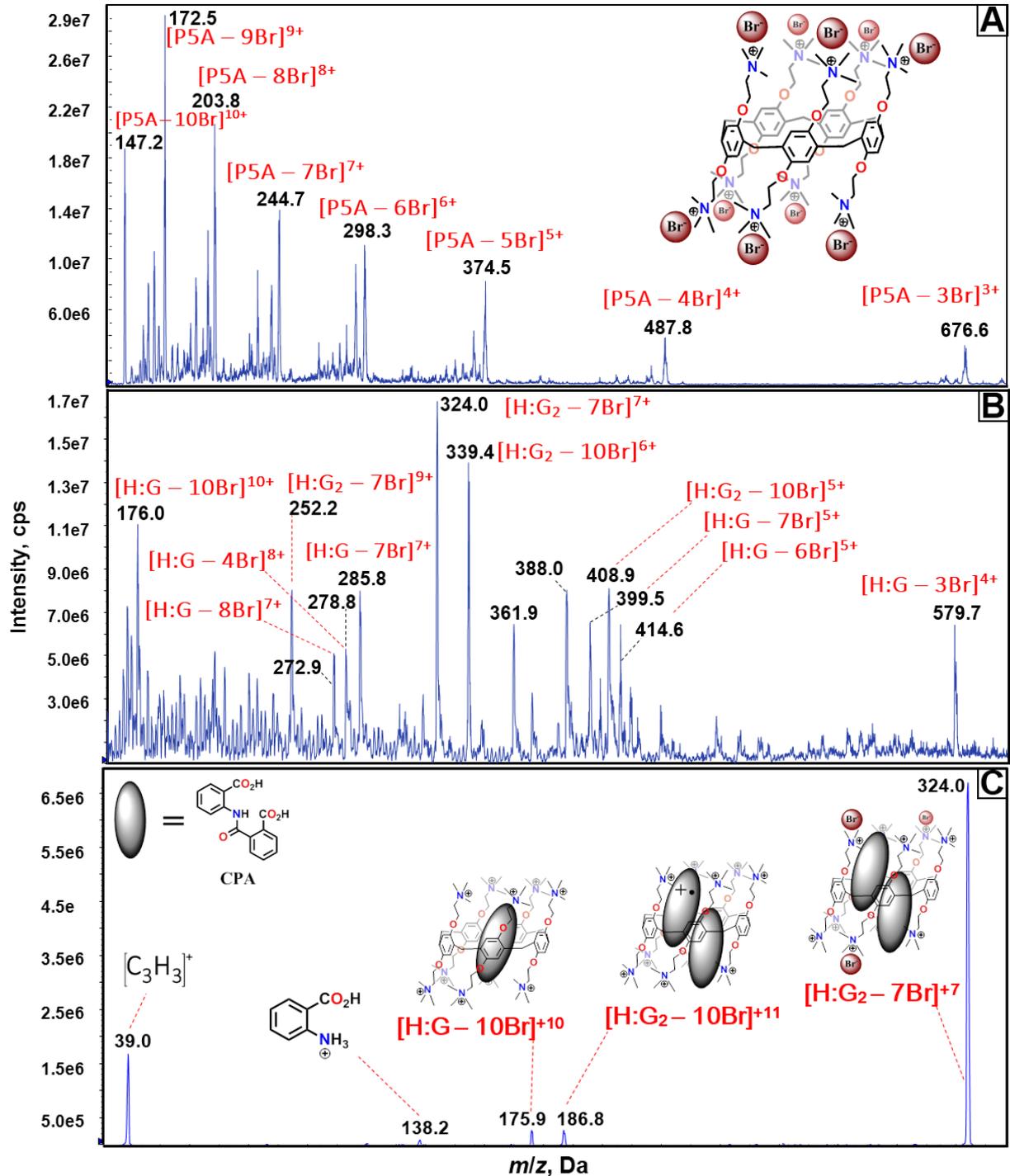
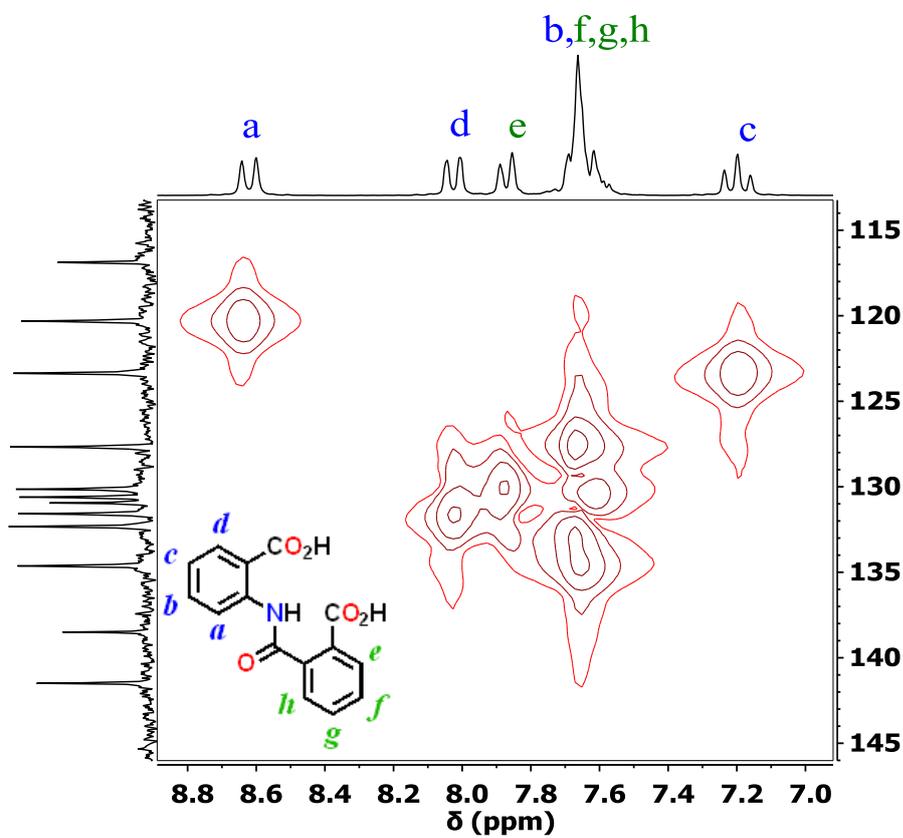
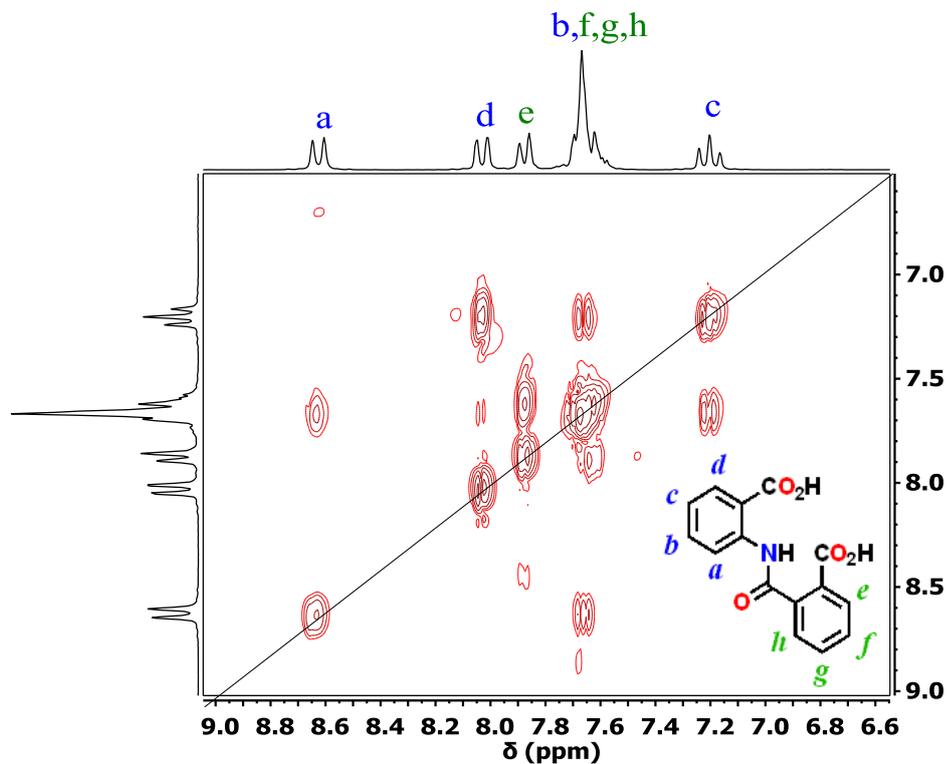


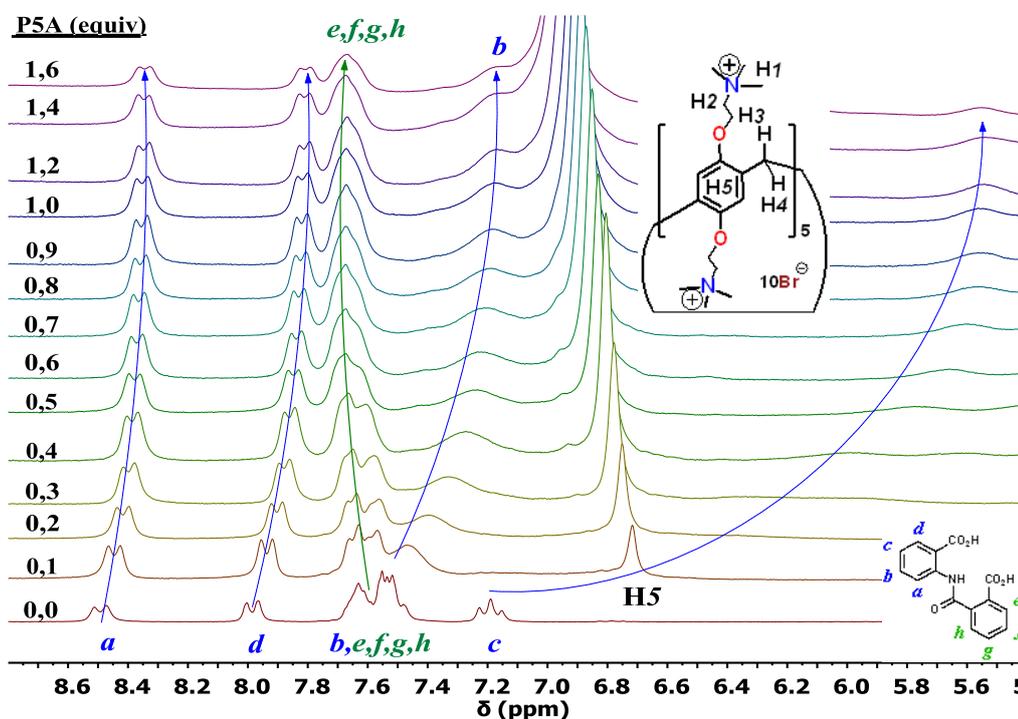
Figura 48 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (COSY, Superior) e heteronuclear  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HETCOR, Inferior) para o CPA (DMSO- $\text{D}_6$ ; 25,0  $^\circ\text{C}$ ; 400 MHz).



Em seguida, foram realizados experimentos de RMN sobre o sistema  $\text{CPA}^{2-} \rightleftharpoons \text{P5A} \rightleftharpoons \text{CPA}^{2-}$  a fim de confirmar as observações já feitas nos estudos cinéticos, bem como promover a elucidação da estrutura geométrica do complexo. Para isto, experimentos de titulação de  $^1\text{H}$  e ROESY de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  foram realizados em pD 7,0 ( $[\text{Bis-Tris metano}] = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e  $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ . Deve-se destacar que a baixa solubilidade do CPA exigiu o uso de uma mistura de  $\text{D}_2\text{O}:\text{MeOD}$  (1:1) como solvente em ambos os experimentos (titulação e ROESY). Comparada às condições de cinética, o uso de 50 % de solvente orgânico representa uma ação suficiente para a ocorrência de modificações nos parâmetros de equilíbrio do CPA, tanto de acidez quanto de associação com o P5A, bem como sobre os efeitos de cooperatividade. Mesmo assim, observações qualitativas importantes foram feitas a partir de ambos os experimentos, fornecendo informações tanto individuais de cada componente quanto do complexo.

Os espectros sucessivos da titulação de  $^1\text{H}$  (Figura 49) mostra comportamentos distintos para os hidrogênios aromáticos do  $\text{CPA}^{2-}$ . Os hidrogênios derivados do anidrido ftálico (hidrogênios verdes) apresentaram pequeno deslocamento para campo baixo ( $\Delta\delta = 0,062 \text{ ppm}$ ), provavelmente por sua proximidade à grupos eletronegativos ou carregados positivamente, como R-O-R e  $\text{NMe}_3^+$ . Já os hidrogênios derivados do ácido antranílico (hidrogênios azuis) apresentaram forte deslocamento para campo alto na ordem de  $H_c \gg H_b > H_d \cong H_a$ , indicando sua acomodação na região de grande blindagem magnética na cavidade do P5A. Enfatiza-se que todos os hidrogênios do P5A também deslocaram-se para campo alto quando no complexo, no entanto, nenhum patamar foi alcançado, como observado para os hidrogênios do  $\text{CPA}^{2-}$ . Esta desblindagem contínua é um forte indício de aumento na associação de seus contraíons  $\text{Br}^-$  em resposta ao aumento da concentração do P5A, como já evidenciado para o mesmo pilar[5]areno contendo contraíons aniônicos diferentes.<sup>156</sup> Outra observação importante é a cisão ou *splitting* de alguns hidrogênios, sendo mais expressivos na ordem de  $H_c \gg H_2 \gg H_3 > H_b$ . Este efeito é compreendido pela modificação na multiplicidade dos sinais (simpleto para duplete) e indica uma acomodação assimétrica dos  $\text{CPA}^{2-}$  na cavidade do P5A.

Figura 49 - Espectros sucessivos de RMN de  $^1\text{H}$  para o  $\text{CPA}^{2-}$  ( $31,87 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) com diferentes equivalentes de P5A ( $\text{D}_2\text{O}:\text{MeOD}$ , 1:1;  $\text{pD}$  7,0;  $[\text{Bis-Tris metano}] = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 200 MHz).



Como exemplo, o gráfico de  $\Delta\delta$  vs.  $[\text{P5A}]$  para o hidrogênio “Hc” do CPA mostra um perfil levemente sigmoidal com ajuste de dados satisfatórios apenas como um sistema  $\text{R}:\text{S}_2$  (Figura 50; ajustado com as Equações 3 e 4). O mesmo foi observado para os demais hidrogênios do  $\text{CPA}^{2-}$ , sendo a grande similaridade entre os valores dos parâmetros um indício da não modificação na forma de acomodação ao longo da titulação (Tabela 11). Os ajustes dos dados forneceram, para todos os hidrogênios do  $\text{CPA}^{2-}$ , valores de  $K_{1:2} = 10^4\text{--}10^5 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$ ,  $K_{1:1} < 1$  e  $\delta_{1:1} < 0$ , havendo pouco sentido físico nestes dois últimos. Comportamentos similares já foram reportados quando  $K_{1:1} \ll K_{1:2}$ , onde uma discussão exemplificada demonstra a impossibilidade de determinação inequívoca das constantes de associação individuais.<sup>161</sup> No entanto, mesmo com pequenos erros associados ao ajuste dos dados informações qualitativas importantes foram obtidas.

Comparando com os dados cinéticos, a redução significativa de  $K_{1:1}$  e a conservação de  $K_{1:2}$  sugere os efeitos hidrofóbicos como a principal força motriz envolvida na associação do primeiro  $\text{CPA}^{2-}$ . Enquanto isto,  $K_{1:2}$  deve ser fortemente dependente de interações dentro da cavidade do P5A. Isto indica que há um significativo aumento do efeito de cooperatividade positiva nesta condição, fazendo do sistema  $\text{CPA}^{2-}:\text{P5A}$  um receptor ainda mais seletivo para o segundo  $\text{CPA}^{2-}$ . Isto sugere ainda que em ambientes altamente hidrofóbicos, como

membranas celulares, o sistema deve liberar o CPA<sup>2-</sup> como resultado da desestabilização energética do complexo, conferindo também características de entrega controlada ao sistema.

Figura 50 - Variação dos deslocamentos químicos para “Hc” em resposta ao aumento da concentração do P5A, ajustado para as estequiometrias R:S (— —) e R:S<sub>2</sub> (—). ([CPA<sup>2-</sup>] = 31,87 mmol·L<sup>-1</sup>; D<sub>2</sub>O:MeOD, 1:1; 25,0 °C; 200 MHz).

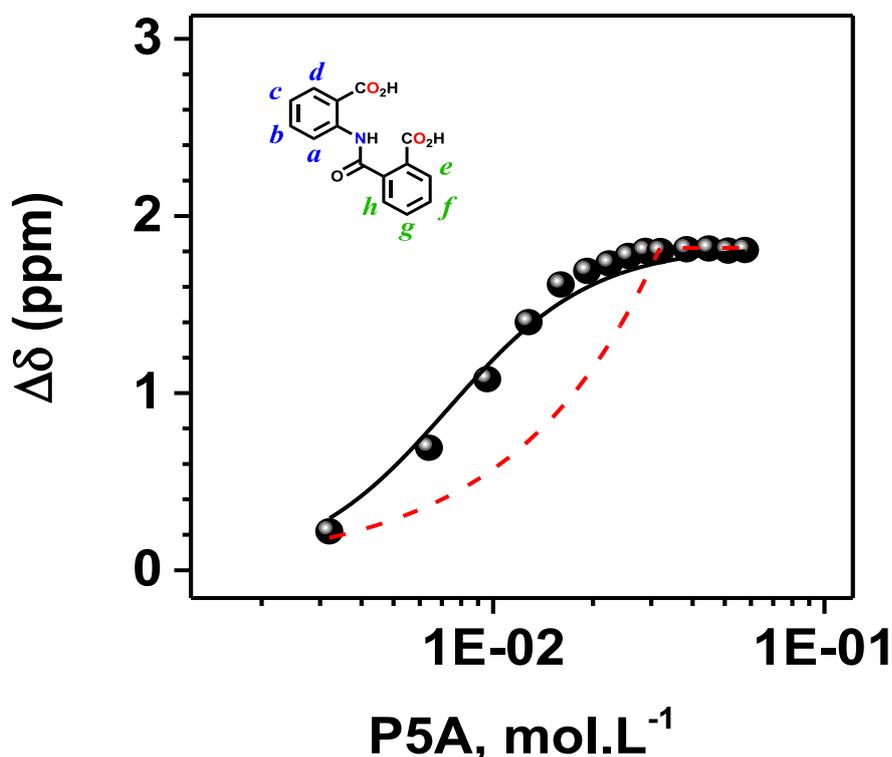


Tabela 11 - Constantes de associação obtidas pelo ajuste dos dados (Equação 4) para todos os hidrogênios do CPA (ajustados com a ferramenta online BindFit, [supramolecular.org](http://supramolecular.org)).

Hidrogênio	Link	$K_{1:1}$ (L·mol <sup>-1</sup> )	$K_{1:2}$ (L·mol <sup>-1</sup> )
<i>a</i>	<a href="#">BindFit<sup>(a)</sup></a>	$1,21 \times 10^{-2} \pm 2,9\%$	$(8,45 \pm 1,7\%) \times 10^4$
<i>b</i>	<a href="#">BindFit<sup>(b)</sup></a>	$4,21 \times 10^{-2} \pm 3,3\%$	$(1,41 \pm 2,3\%) \times 10^5$
<i>c</i>	<a href="#">BindFit<sup>(c)</sup></a>	$6,00 \times 10^{-2} \pm 15,7\%$	$(3,11 \pm 11,8\%) \times 10^5$
<i>d</i>	<a href="#">BindFit<sup>(d)</sup></a>	$7,17 \times 10^{-3} \pm 1,4\%$	$(1,72 \pm 0,8\%) \times 10^5$
<i>e-h</i>	<a href="#">BindFit<sup>(e)</sup></a>	$2,03 \times 10^{-2} \pm 9,1\%$	$(4,22 \pm 6,8\%) \times 10^5$
N-H	<a href="#">BindFit<sup>(f)</sup></a>	$1,32 \times 10^{-2} \pm 5,7\%$	$(3,42 \pm 4,1\%) \times 10^5$

<sup>(a)</sup> <http://app.supramolecular.org/bindfit/view/980700dd-562e-4025-8996-80d6f6b5e925>;

<sup>(b)</sup> <http://app.supramolecular.org/bindfit/view/3a8dbed5-dad5-4753-b851-7df6618465a5>;

<sup>(c)</sup> <http://app.supramolecular.org/bindfit/view/61cecle8-b19c-493a-a71e-74163017712e>;

<sup>(d)</sup> <http://app.supramolecular.org/bindfit/view/58445371-37e4-4d62-a19b-a4517d7cfb30>;

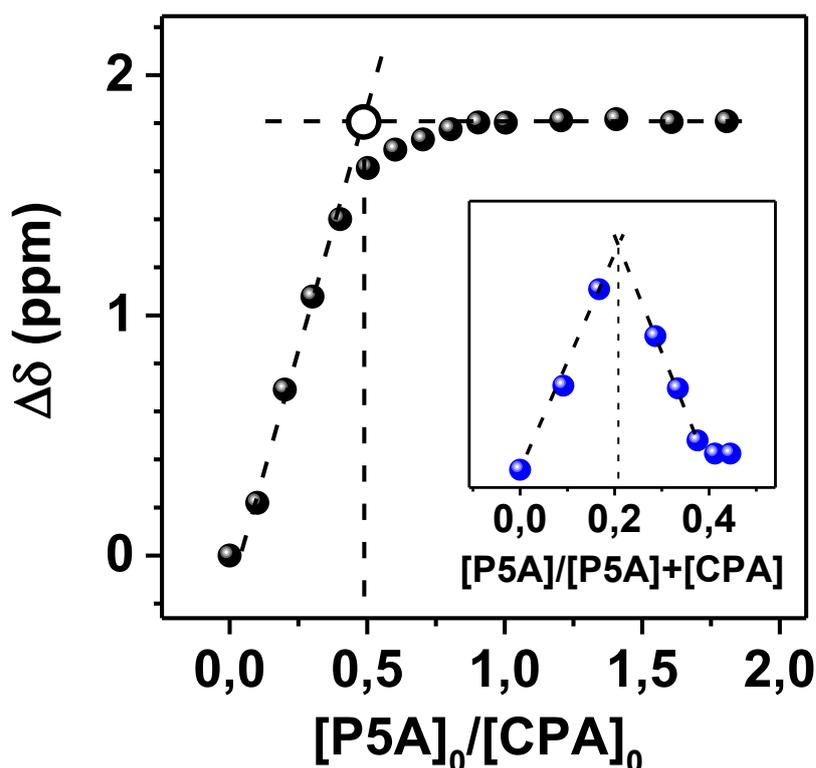
<sup>(e)</sup> <http://app.supramolecular.org/bindfit/view/9d471d24-5f50-43ad-9796-2a4dff10196a>;

<sup>(f)</sup> <http://app.supramolecular.org/bindfit/view/2115de34-dd27-4c59-8393-3243daa85658>;

A Figura 51 mostra o método da tangente (ou da fração molar) aplicado sobre o gráfico de  $\Delta\delta$  vs.  $[P5A]_0/[CPA]_0$ , sendo o ponto de inflexão em 0,5 uma confirmação da estequiometria R:S<sub>2</sub>. Comumente, para um sistema R:S<sub>2</sub> um máximo de  $x(\text{Receptor}) = 0,33$  é esperado num

gráfico de Job's, e valores diferentes disto certamente causam confusão sobre a estequiometria do complexo. No entanto, diversos fatores influenciam tanto a forma quanto o valor máximo nestes gráficos, como a concentração do receptor, a proporção  $K_{1:2}/K_{1:1}$  e as variações espectrais dos complexos ( $\delta_{1:1}$  e  $\delta_{1:2}$ ). Como já demonstrado,<sup>162</sup> um sistema R:S<sub>2</sub> em condições comuns ( $[R]_0 = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $K_{1:1} = 1.000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$ ;  $K_{1:2} = 250 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$ ;  $\delta_{1:1} = 0$  e  $\delta_{1:2} = 1$ ) podem reduzir o máximo num gráfico de Job's para  $x(\text{Receptor}) = 0,29$ . O máximo de  $x(\text{P5A}) = 0,21$  obtido (inserido na Figura 51) representa um efeito ainda mais pronunciado da influência destes fatores, corroborando com as condições experimentais da titulação de RMN (altas concentrações de P5A) e, principalmente, com os parâmetros de equilíbrio do sistema ( $K_{1:1} \ll K_{1:2}$ ).

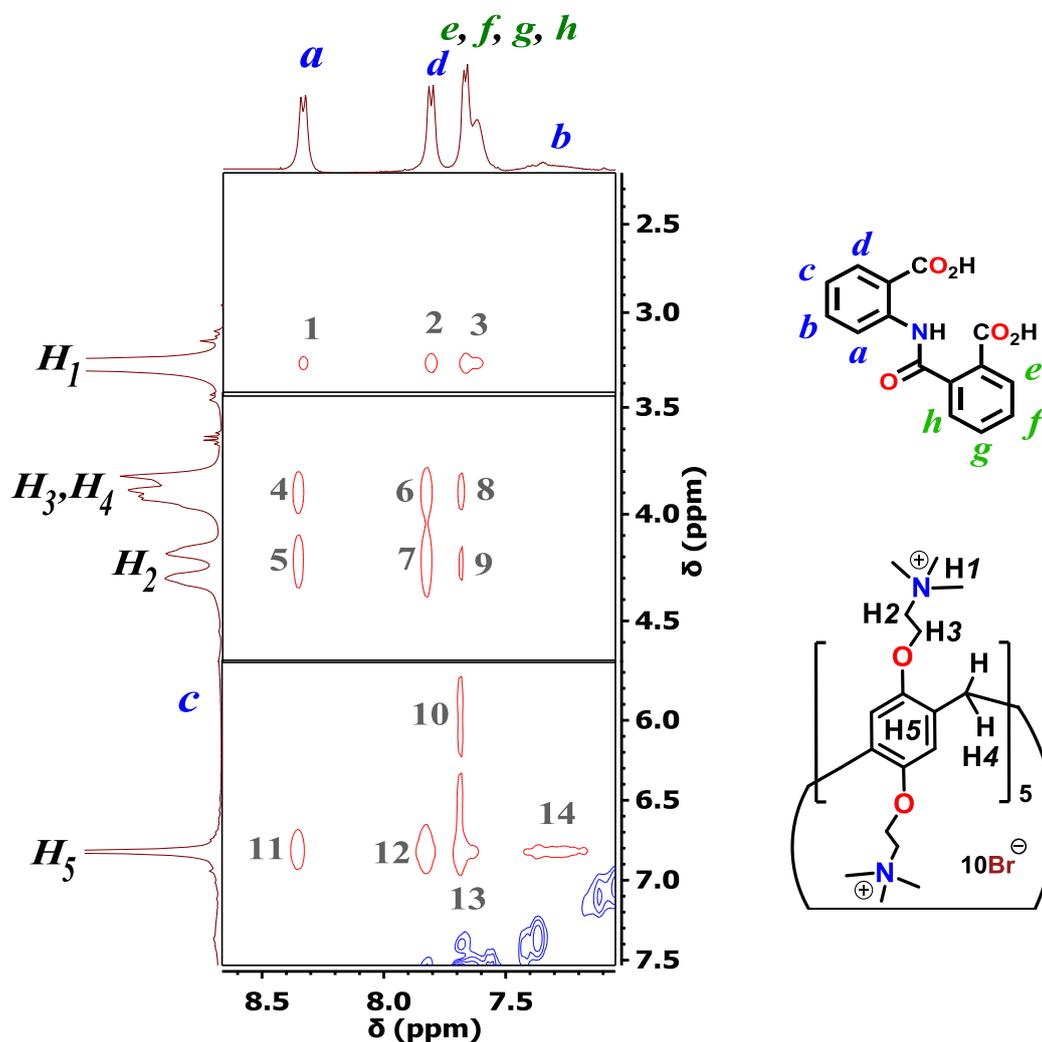
Figura 51 - Método da tangente aplicado sobre a variação dos deslocamentos químicos de "Hc" em resposta ao aumento da concentração do P5A. Inserido está o gráfico de Job's com o máximo em  $x(\text{P5A}) = 0,21$  ( $[\text{CPA}^{2-}] = 31,87 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; D<sub>2</sub>O:MeOD, 1:1; 25,0 °C; 200 MHz).



Um estudo de ROESY de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  foi realizado para obtenção de informações estruturais do complexo, uma técnica amplamente utilizada na determinação de proximidade entre hidrogênios em interações intermoleculares.<sup>163</sup> A Figura 52 representa o espectro parcial de ROESY com 14 sinais de correlação correspondentes às interações entre  $\text{CPA}^{2-}$ -P5A e  $\text{CPA}^{2-}$ - $\text{CPA}^{2-}$ , sendo suas intensidades proporcionais à distância entre os núcleos. Os hidrogênios

aromáticos do P5A (H5) apresentam sinais de correlação com hidrogênios derivados de ambos os anéis aromáticos do CPA<sup>2-</sup> (11, 12, 13 e 14), o que sugere a acomodação antiparalela dos CPAs na cavidade do P5A. O sinal de número 10 confirma isto (entre “Hc” e hidrogênios verdes) e corrobora com o efeito de *splitting* já mencionado.

Figura 52 - Espectro parcial de ROESY de <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H do CPA<sup>2-</sup> (6,4 mmol·L<sup>-1</sup>) com o P5A (3,2 mmol·L<sup>-1</sup>) com tempo de mistura de 225 ms. Ao lado direito estão ambas as estruturas moleculares com todos os hidrogênios identificados (pD 7,0; D<sub>2</sub>O:MeOD, 1:1; 25,0 °C; 400 MHz).



Baseando-se nos sinais de correlação apresentados acima, um “mapa de interações H-H” foi construído para representação estrutural do complexo CPA<sup>2-</sup>⊂P5A⊃CPA<sup>2-</sup>, com todas as 14 interações identificadas em cor vermelha (Figura 53). Esta perspectiva do complexo deixa clara a grande diversidade e número de interações possíveis entre os componentes do complexo, como interações eletrostáticas, cátion-π, ânion-π, CH-π e associações por efeitos hidrofóbicos

(pelos anéis aromáticos). Esta perspectiva do complexo permite compreender a grande estabilidade energética alcançada nesta geometria, fazendo deste sistema uma referência para o planejamento de novas estruturas. O mapa também elucida a inexistência de interações entre H<sub>b</sub> e H<sub>c</sub> com os hidrogênios alifáticos do P5A, bem como o alargamento ou cisão destes sinais pela diferença de ambientes químicos devido à complexação assimétrica com o P5A. Para reforçar estas afirmações, na sequência está apresentada a Figura 54 que mostra estas evidências experimentais em maiores detalhes, correspondendo à espectros sucessivos de RMN de <sup>1</sup>H com diferentes magnificações para melhor visualização.

Figura 53 - Mapa de interações H-H deduzido a partir dos sinais de correlação da Figura 52. As 14 interações observadas estão enumeradas e identificadas em cor vermelha.

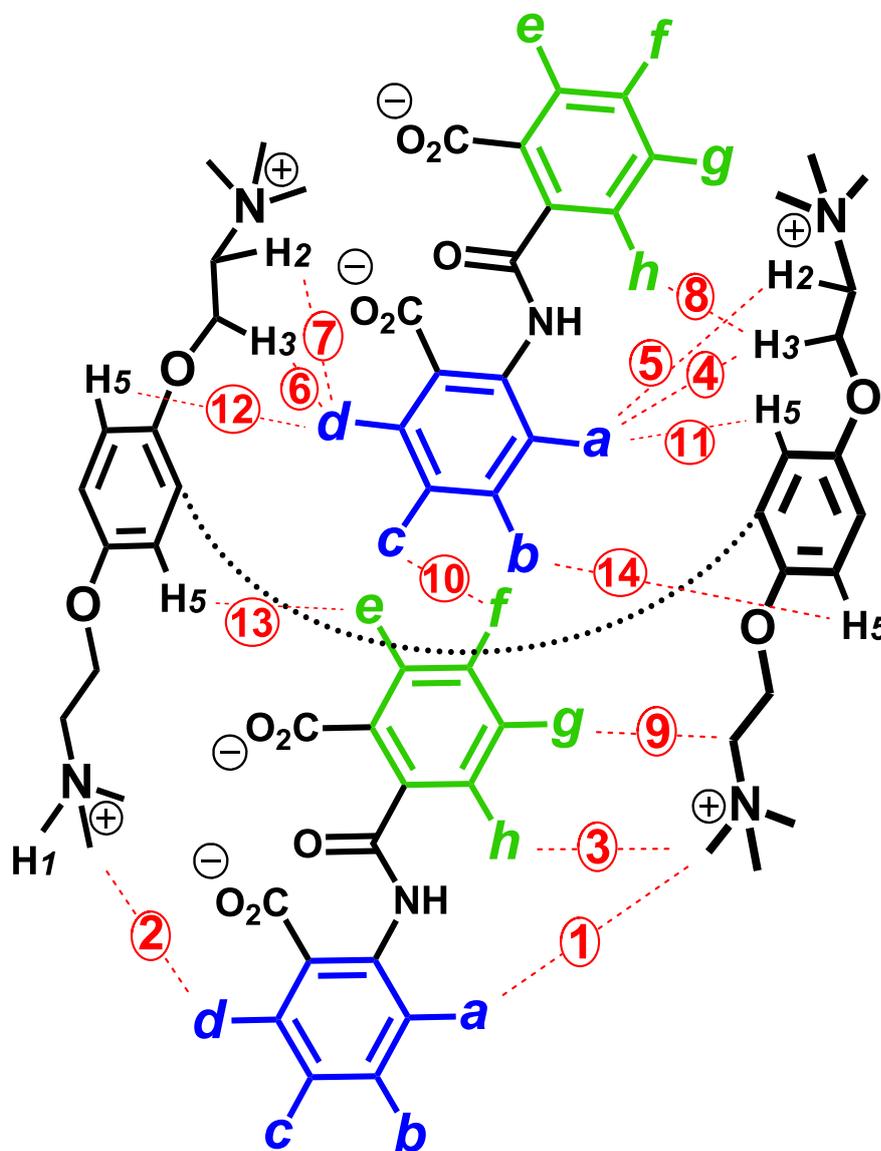
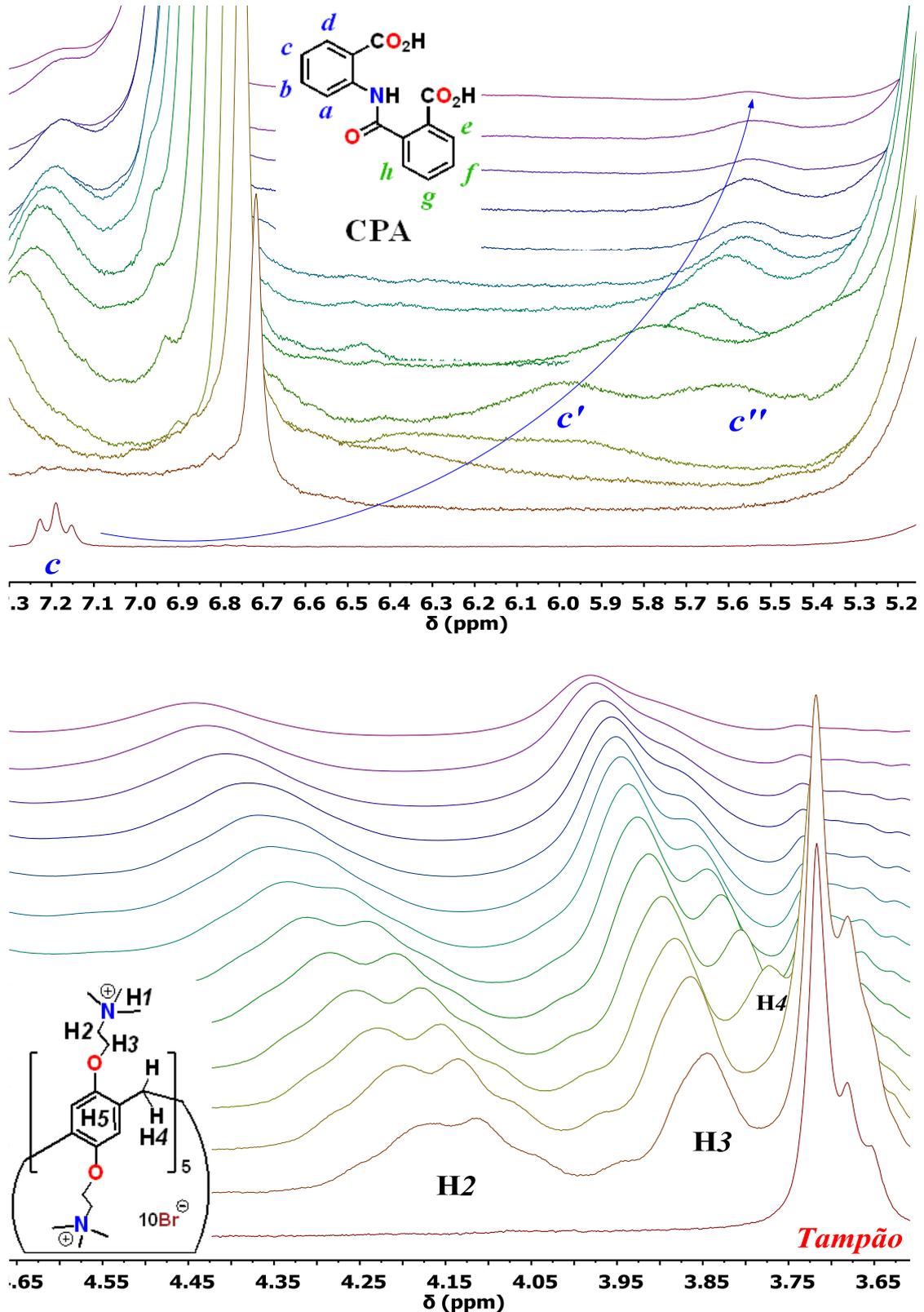
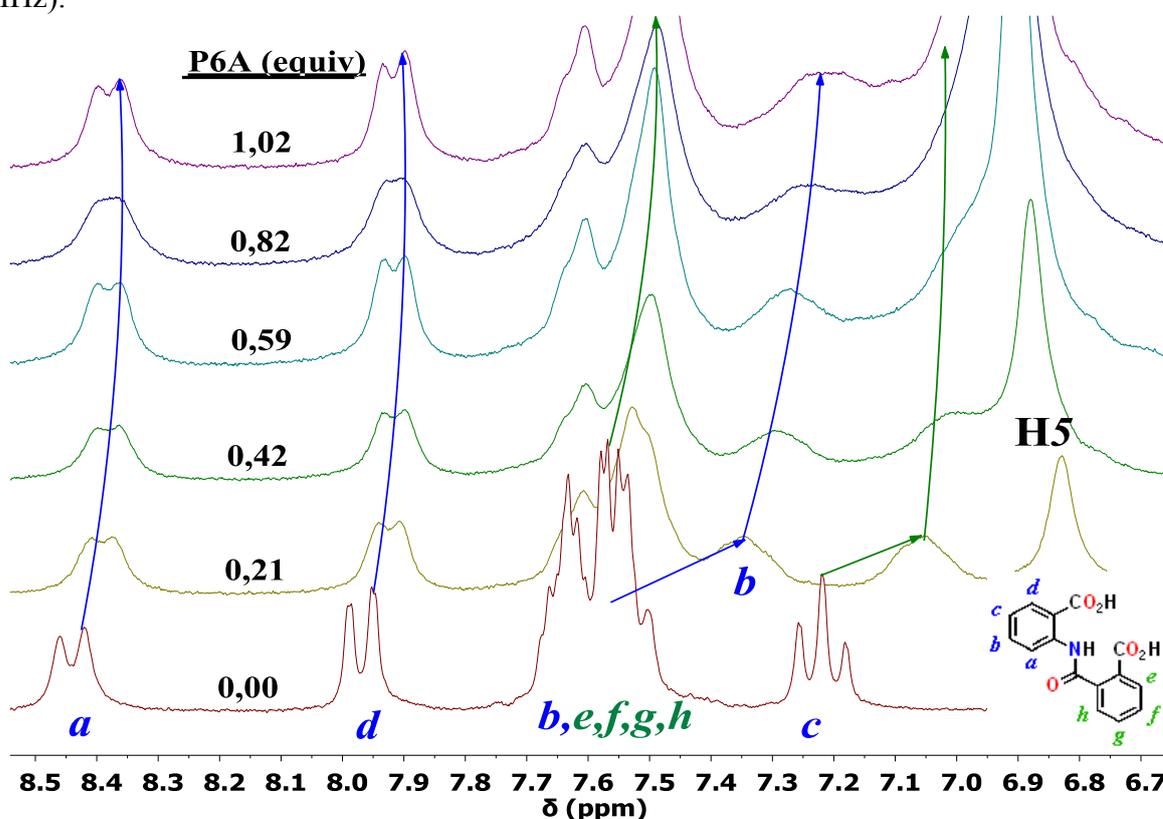


Figura 54 - Cisão ou *splitting* de “Hc” devido à grande diferença de ambiente químico para os dois CPAs na cavidade do P5A (Superior). Cisão e alargamento de hidrogênios alifáticos do P5A (H2 >> H3) devido à grande diferença de ambiente químico nos dois portais do P5A (Inferior).



Apesar de o P6A apresentar efeitos cinéticos inibitórios considerados como desprezíveis (2,5 vezes), a sua complexação com o CPA<sup>2-</sup> também foi investigada por titulação de RMN de <sup>1</sup>H. Os espectros sucessivos da titulação (Figura 55) mostram comportamentos similares para os hidrogênios aromáticos do CPA<sup>2-</sup>, todos apresentando pequenas variações nos deslocamentos químicos (abaixo de 0,2 ppm) em sentido à campos mais altos quando na presença do P6A, na ordem de Hc >> He,f,g,h > Ha ≅ Hd.

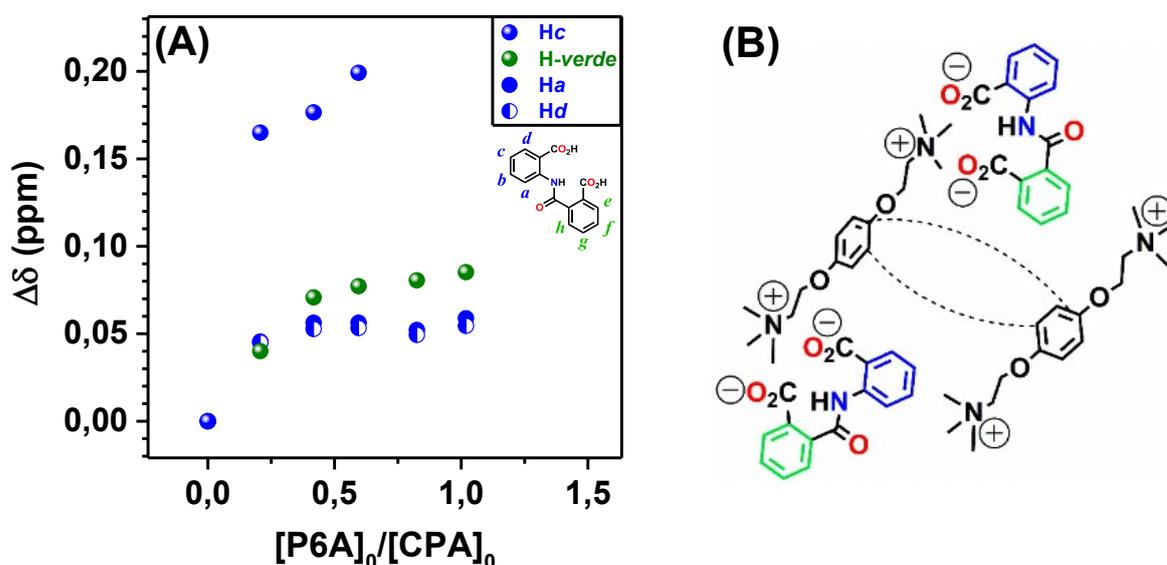
Figura 55 - Espectros sucessivos de RMN de <sup>1</sup>H para o CPA<sup>2-</sup> (21,57 mmol·L<sup>-1</sup>) com diferentes equivalentes de P6A (D<sub>2</sub>O:MeOD, 1:1; pD 7,0; [Bis-Tris propano] = 0,01 mol·L<sup>-1</sup>; 25,0 °C; 200 MHz).



Outra observação importante é a flutuação na variação dos deslocamentos químicos, com todas as isotermas de ligação apresentando perfis imprecisos (Figura 56-A). Apesar disto, todas as isotermas apresentaram patamares similares ao observado nos estudos envolvendo o P5A, com valores aproximados de  $[P6A]_0/[CPA]_0 \cong 0,5$  indicando uma estequiometria 1:2 entre o P6A e CPA<sup>2-</sup>. O conjunto dos dados cinéticos e de RMN indicam a capacidade do CPA<sup>2-</sup> em realizar associações externas à cavidade do P6A, com interações eletrostáticas atuando como as principais forças motrizes envolvidas na associação. Tal consideração exclui a ocorrência de reconhecimento molecular envolvendo a cavidade do P6A, onde as porções areno de ambos os componentes deixam de contribuir para a minimização energética (como observado com o

P5A). Estas considerações oferecem uma perspectiva diferente para a observada entre o P5A e o CPA<sup>2-</sup>, sendo um sistema capaz de permitir a ação dos grupos carboxila do CPA em sua catálise bifuncional intramolecular (Figura 56-B).

Figura 56 - Variação dos deslocamentos químicos para os hidrogênios aromáticos do CPA<sup>2-</sup> em resposta ao aumento da concentração do P6A (A) ([CPA<sup>2-</sup>] = 21,57 mmol·L<sup>-1</sup>; D<sub>2</sub>O:MeOD, 1:1; 25,0 °C; 200 MHz). Estrutura proposta para os agregados formados entre P6A e CPA<sup>2-</sup> numa estequiometria 1:2 (B).



Os dados experimentais e discussões acerca deste capítulo oferecem conteúdo de grande contribuição para avanço nos conhecimentos de reconhecimento molecular e catálise/inibição enzimática. A associação receptor-substrato altamente eficiente entre o P5A e o CPA com efeitos cinéticos significativos mostrou ser um ótimo modelo para planejamento de novos sistemas. O conjunto dos dados comprovaram a estequiometria do complexo como R:S<sub>2</sub> com cooperatividade variável e dependente da concentração das espécies do CPA, um sistema mimético de enzimas alostéricas. Enquanto isto, a maior cavidade do P6A ofereceu um sítio de ligação de baixa afinidade pelo CPA, dados que exemplificam muito bem os conceitos de reconhecimento molecular.

#### 4.3 CAPÍTULO 3) RECONHECIMENTO MOLECULAR DO P5C SOBRE A METANFETAMINA

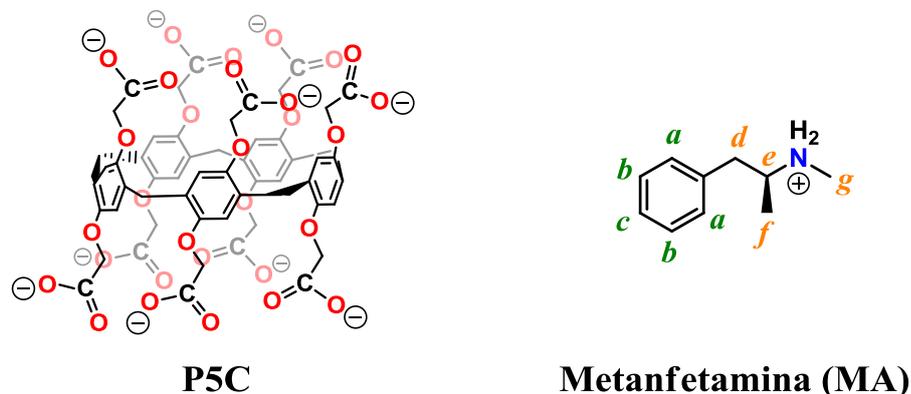
No intuito de estimular o desenvolvimento de sistemas R:S capazes de reconhecer estruturas moleculares de grande impacto nos setores da saúde e segurança, o último capítulo desta tese compreende resultados preliminares de reconhecimento molecular de um pilarareno sobre a metanfetamina (MA). O desenvolvimento e aprimoramento destes sistemas é de grande interesse social e justifica o principal objetivo almejado pelo trabalho: atingir a aplicabilidade.

Como discutido na revisão bibliográfica, a MA representa uma das principais drogas de abuso comercializadas ilegalmente em todo o mundo, com grande impacto tanto na saúde quanto na segurança pública. Com isto, o alcance de sistemas capazes de reconhecer sua estrutura molecular com alta afinidade prevê duas grandes possibilidades de aplicação: terapia de associação e sensores químicos.

Terapia de associação (TA) é um termo inédito e criado para definir o mecanismo terapêutico proposto neste trabalho. Em resumo, qualquer sistema capaz de associar-se à determinada substância *in vivo* e excretá-la para fora do organismo pode ser aplicado em TA, desde que seus efeitos colaterais sejam mínimos. Em contrapartida, os sensores químicos (SQs) já são amplamente estudados e podem ser planejados em condições muito diferentes da fisiológica, como em solventes orgânicos, pHs drásticos ou presença de substâncias de alta toxicidade.

Como ponto de partida, buscou-se selecionar um pilarareno já reportado na literatura para atuar como estrutura reconhecadora da MA em condições fisiológicas. Para isto, o pilar[5]areno funcionalizado com grupos carboxila (P5C, Figura 57) foi selecionado para os estudos iniciais de complexação, servindo de referência para posterior aperfeiçoamento e proposição de aplicabilidade. A escolha deste macrociclo foi baseada em sua alta solubilidade em pH fisiológico e baixa citotoxicidade comprovada,<sup>164</sup> oferecendo parte das propriedades mínimas para aplicação em TA. Nos resultados preliminares apresentados neste capítulo estão reunidos dados de caracterização do P5C (grande faixa de tamponamento), de segurança pública (facilidade na extração de material precursor para síntese clandestina da MA) e de complexação entre P5C e MA (dados de afinidade e elucidação estrutural do complexo R:S).

Figura 57 - Estruturas moleculares do receptor (P5C) e substrato (MA) ionizados.

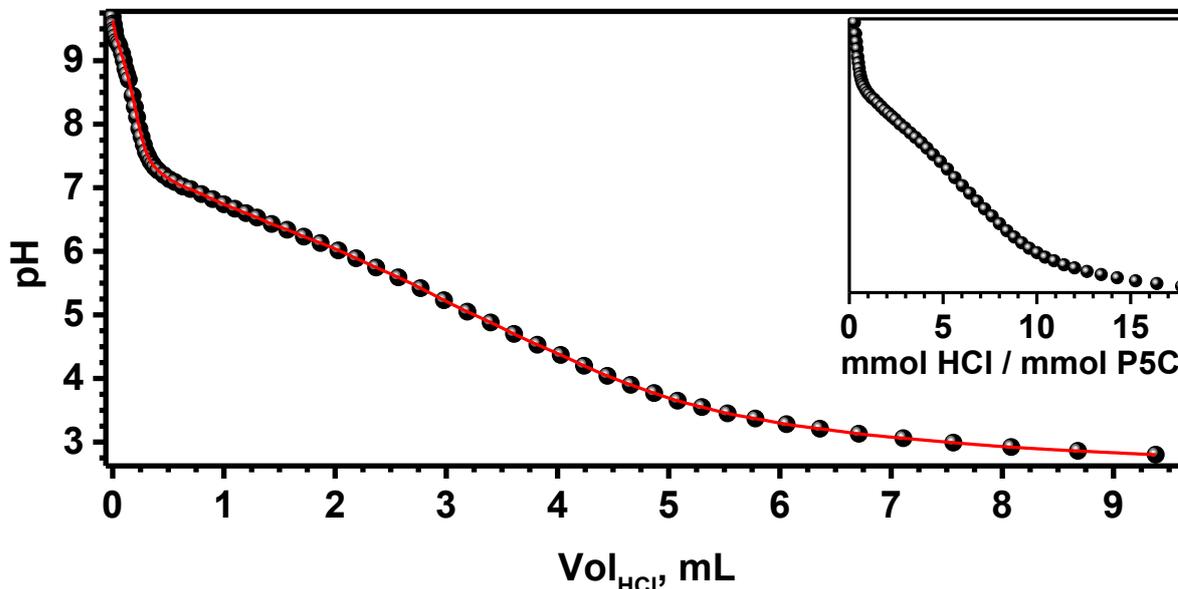


A afinidade entre determinado receptor e substrato é comumente medida pela constante de associação entre eles, um parâmetro dependente de fatores como a diversidade e número de interações intermoleculares envolvidas na complexação. Diante disto, o nível de ionização dos grupos carboxila do P5C apresenta-se como uma das propriedades intrínsecas do macrociclo capaz de modificar tanto sua solubilidade quanto sua afinidade sobre a MA. Estas considerações estimulou a investigação dos equilíbrios de dissociação ácida dos grupos carboxila do P5C em meio aquoso em função do pH, para assim, fornecer informações acerca do nível de interações eletrostáticas (atrativas e repulsivas) para melhor compreensão da afinidade e estrutura dos complexos.

Devido à baixa solubilidade em água da espécie neutra do P5C, sua titulação potenciométrica foi realizada em uma mistura de H<sub>2</sub>O:CH<sub>3</sub>CN 4:1 (v/v). A Figura 58 mostra o perfil obtido para a titulação do P5C ( $4,675 \times 10^{-6}$  mol) iniciada em pH 9,685, com a redução do pH ocorrendo após a adição de alíquotas de uma solução padronizada de HCl ( $8,8305 \times 10^{-3}$  mol·L<sup>-1</sup>).

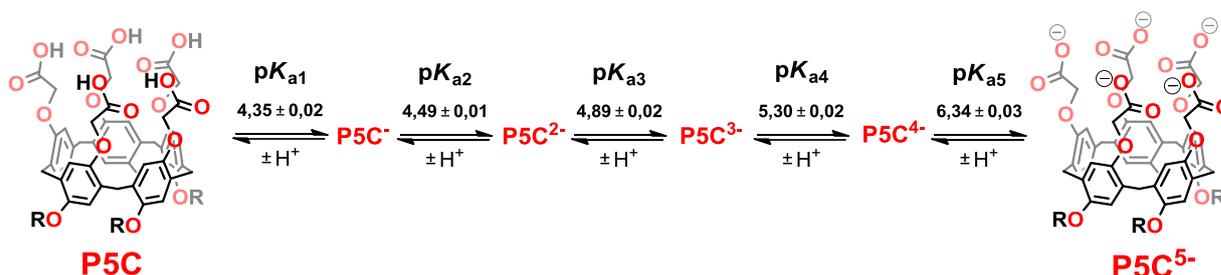
O perfil da Figura 58 mostra uma ampla região de tamponamento entre os pHs 3,20–7,20. Esta faixa é significativamente maior do que a esperada para um único grupo carboxila, uma evidência da existência de equilíbrios de protonação múltiplos e consecutivos para a formação de diferentes espécies do P5C em função do pH. Este efeito pode ser compreendido pela proximidade entre os cinco grupos carboxila do P5C em cada portal, resultando em desestabilização eletrostática entre os grupos COO<sup>-</sup>--COO<sup>-</sup> vizinhos e a consequente redução na acidez dos subsequentes grupos ionizáveis. Um efeito similar e contrário foi recentemente reportado para um pilar[5]areno funcionalizado com grupos imidazóis,<sup>19</sup> sendo sua acidez aparentemente aumentada em ~ 4 unidades de pK<sub>a</sub> devido à repulsão eletrostática entre as múltiplas cargas positivas nos anéis imidazóis.

Figura 58 - Titulação potenciométrica de 24,00 mL de uma solução de P5C ( $4,675 \times 10^{-6}$  mol) com solução padronizada de HCl ( $8,8305 \times 10^{-3}$  mol·L<sup>-1</sup>) sob aborbulhamento de N<sub>2</sub> (H<sub>2</sub>O:CH<sub>3</sub>CN, 4:1 (v/v); 22,0 °C).



Ao considerar a independência e equivalência entre os dois portais do P5C, uma aproximação pode ser feita considerando a existência de cinco equilíbrios de protonação consecutivos. Diante disto, a Figura 59 representa estes cinco equilíbrios para o P5C com seus valores de  $pK_a$  deduzidos a partir do ajuste dos dados da Figura 58.

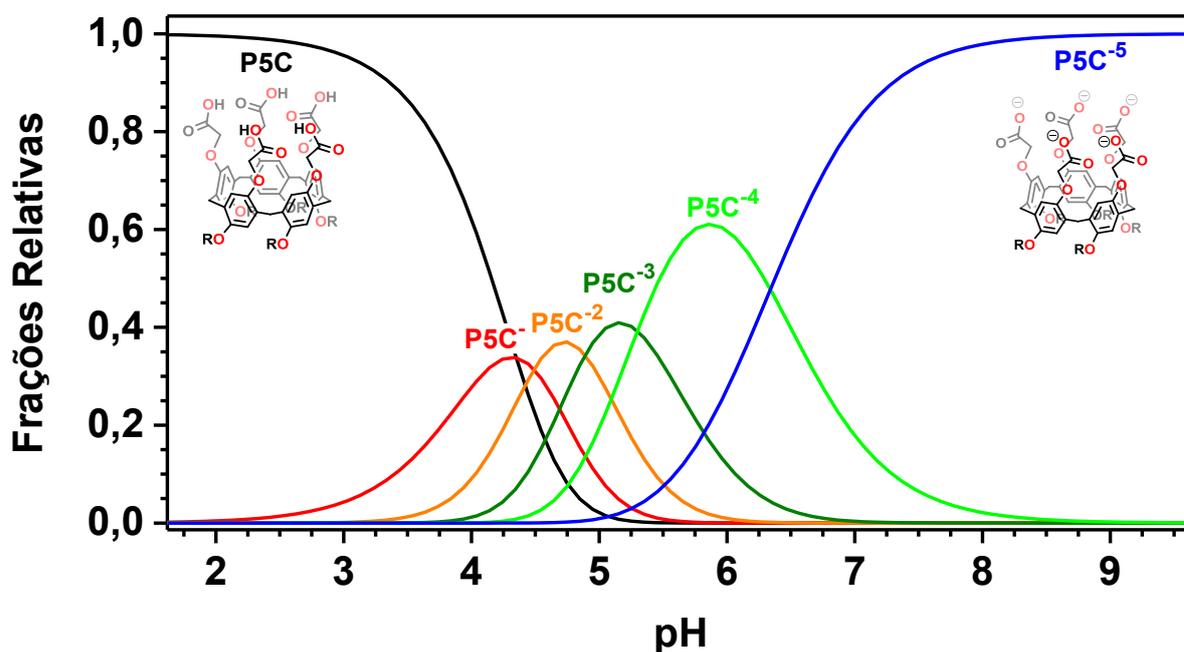
Figura 59 - Equilíbrios de dissociação ácida para os grupos carboxila do P5C em água.



É importante destacar que os cinco  $pK_a$ s determinados para o P5C são valores estimados com base num tratamento clássico de dados volumétricos, ou seja, assumindo que os cinco equilíbrios são independentes entre si. Este tratamento caracteriza estes valores de  $pK_a$ s como não totalmente exatos, visto que no cenário real há a dependência mútua entre estes equilíbrios, sendo uma propriedade que se altera ao longo da titulação. Esta perspectiva pode ser facilmente compreendida ao imaginar a espécie neutra do P5C, com a mínima influência

pelos grupos COOH vizinhos. Em contrapartida, a dissociação ácida progressiva deve aumentar (de maneira não-linear) a desestabilização eletrostática promovida pelos novos grupos COO<sup>-</sup> vizinhos, explicando também a inexistência de pK<sub>a</sub>s aparentemente mais baixos. Diante disto, pode-se considerar que os equilíbrios de dissociação múltipla nestes sistemas é significativamente mais complexo devido à dependência de diversos fatores, incluindo a presença de substratos em sua cavidade. Dito isto, expressa-se que a investigação aprofundada desta propriedade do P5C está fora do escopo desta tese, sendo necessário apenas a identificação de sua quase total desprotonação em pH fisiológico para promover tanto sua solubilidade em água quanto interações eletrostáticas com a MA catiônica, esta última com pK<sub>a</sub> = 9,87. Com base nos valores de pK<sub>a</sub>s estimados, as frações relativas das espécies do P5C foram calculadas em função do pH (Figura 60), sendo nítido o distanciamento entre os pK<sub>a</sub>s como resultado da desestabilização eletrostática crescente em direção ao pH fisiológico.

Figura 60 - Frações relativas das espécies do P5C em função do pH.



Após isto, a MA foi preparada pela redução da pseudoefedrina (extraída de um fármaco anticongestionante comercializado sem prescrição médica) através do método de Moscow (I<sub>2</sub> + P), uma rota sintética comumente empregada por químicos clandestinos.<sup>122,123</sup> Esta iniciativa foi baseada em dois importantes fundamentos: (1) verificar a dificuldade de extração da pseudoefedrina precursora e (2) empregar nos testes de complexação R:S a MA com os traços de impurezas persistentes.

A fundamentação (1) do parágrafo anterior é tratada pelos colaboradores do trabalho como uma contribuição inicial à sociedade e aos órgãos de segurança pública. Sabe-se que determinadas tecnologias farmacêuticas, como a IMPEDE® da *Acura Pharmaceuticals*,<sup>165</sup> compõe a fórmula de comprimidos à base de pseudoefedrina para proteção contra sua extração e conversão em metanfetamina ou metcatinona. No entanto, a presença de mecanismos deste tipo em medicamentos comercializados no Brasil não é divulgada, o que torna nítida a necessidade de pesquisas para verificação e, se necessário, estimulação de seu uso.

Uma caixa do medicamento selecionado para o estudo continha 12 comprimidos revestidos, cada um com  $(550 \pm 4)$  mg. Estes comprimidos foram triturados em um almofariz e tiveram seu revestimento eliminado por peneiração. Em sua bula, o campo “composição” descrevia a presença de três principais componentes: loratadina (5 mg), sulfato de pseudoefedrina (120 mg) e excipientes. Com isto, foram empregadas duas etapas gerais para obtenção do sulfato de pseudoefedrina: (1) extração líquido-sólido para remoção da loratadina e (2) extração líquido-sólido para obtenção do sulfato de pseudoefedrina, ambas em proporção de material sólido/solvente de 1g/2mL. Para isto, foram testadas diferentes combinações de solventes, sendo os melhores resultados apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 - Solventes (S1 e S2) utilizados nas extrações líquido-sólido para obtenção do sulfato de pseudoefedrina. Percentagens calculadas com base na massa informada na bula do medicamento.

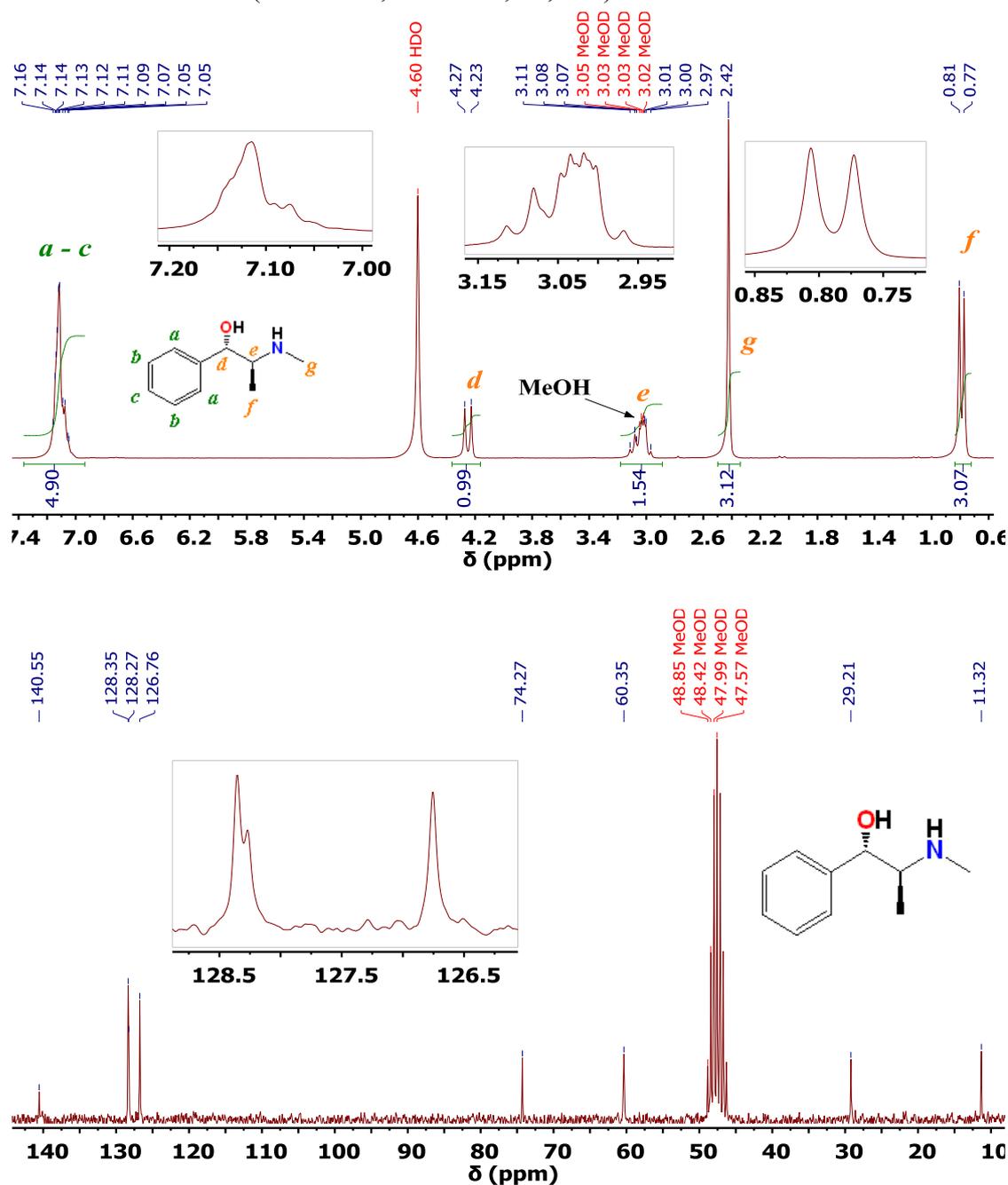
<b>(Etapa) // Solvente</b>	<b>Loratadina</b>	<b>Sulfato de Pseudoefedrina</b>
(1) ou (2) // H <sub>2</sub> O	N.E.	N.E.
(1) // S1	~100 %	< 19 %
(2) // S2	---	81,0 %

\*N.E. (não extraível devido à formação de gel).

Os dados da Tabela 12 mostram a impossibilidade de extração líquido-sólido empregando água como solvente. A presença de água no material sólido mostrou-se altamente eficiente na formação de um gel espesso de difícil manipulação. Após esta observação, constatou-se a presença de hipromelose como um dos excipientes do fármaco (descrita na bula), uma matriz polimérica comumente empregada na liberação prolongada de fármacos pela sua conversão em gel.<sup>166</sup> Em seguida, as etapas 1 e 2 contaram com o uso de dois solventes orgânicos (S1 e S2) capazes de remover praticamente toda loratadina e extrair 81,0 % do sulfato de pseudoefedrina total, considerando a massa informada na bula como referência (120 mg/comprimido). Estes dados mostram que mecanismos similares ao IMPEDE® devem ser desenvolvidos para compor a formulação de medicamentos à base de pseudoefedrina/efedrina,

para assim, impedir sua extração e produção clandestina de metanfetamina ou metcatinona. Na Figura 61 estão apresentados os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do sulfato de pseudoefedrina extraído, sem nenhuma purificação posterior.

Figura 61 - Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (Superior) e de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  (Inferior) do sulfato de pseudoefedrina extraído (MeOD- $\text{D}_4$ ; 200 MHz; 25,0 °C).



Titulações de RMN de  $^1\text{H}$  foram realizadas para determinação da afinidade entre P5C e MA, bem como para elucidação estrutural do complexo. O experimento foi realizado em condições próximas à fisiológica considerando a ocorrência de superdosagem de MA, onde há

a redução do pH sanguíneo por efeitos de acidose metabólica. As Figuras 62 e 63 mostram os espectros sucessivos da titulação, sendo observado comportamentos distintos para os hidrogênios de ambos os componentes. Todos os hidrogênios da MA apresentaram deslocamentos para campo alto quando no complexo na ordem de  $H_c \gg H_b \gg H_a > H_e > H_f > H_d > H_g$ , todos alcançando patamares em  $[MA]_0/[P5C]_0 \cong 20$ . Esta tendência oferece informações estruturais importantes acerca da formação do complexo. O efeito de blindagem crescente da região alifática ( $H_g$ ) para a aromática ( $H_c$ ) sugere a acomodação desta última na região de grande blindagem magnética dentro da cavidade do P5C, com valores de  $\Delta\delta$  iguais à 0,86 e 0,094 ppm para  $H_c$  e  $H_g$ , respectivamente. Enquanto isto, hidrogênios alifáticos do P5C ( $H_2$ ) e os da região de sua cavidade ( $H_1$  e  $H_3$ ) apresentaram deslocamentos não-uniformes para campos altos e baixos quando no complexo, respectivamente. Esta variação em sentidos opostos indica que, para o P5C, há uma dinâmica de complexação diferente da observada para a MA, sugerindo a formação de complexos ou agregados numa estequiometria diferente da R:S (1:1).

Figura 62 - Espectros sucessivos de RMN de  $^1H$  para hidrogênios aromáticos na presença de diferentes equivalentes de MA ( $D_2O$ ; pD 7,0; 25,0 °C; 200 MHz).

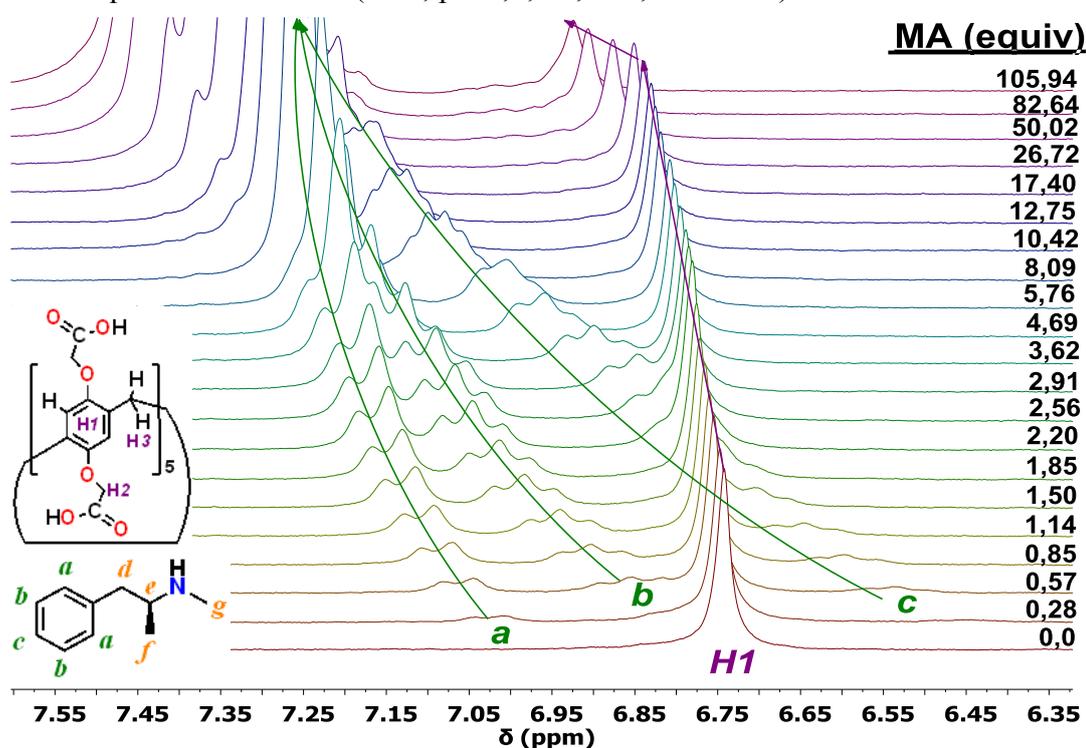
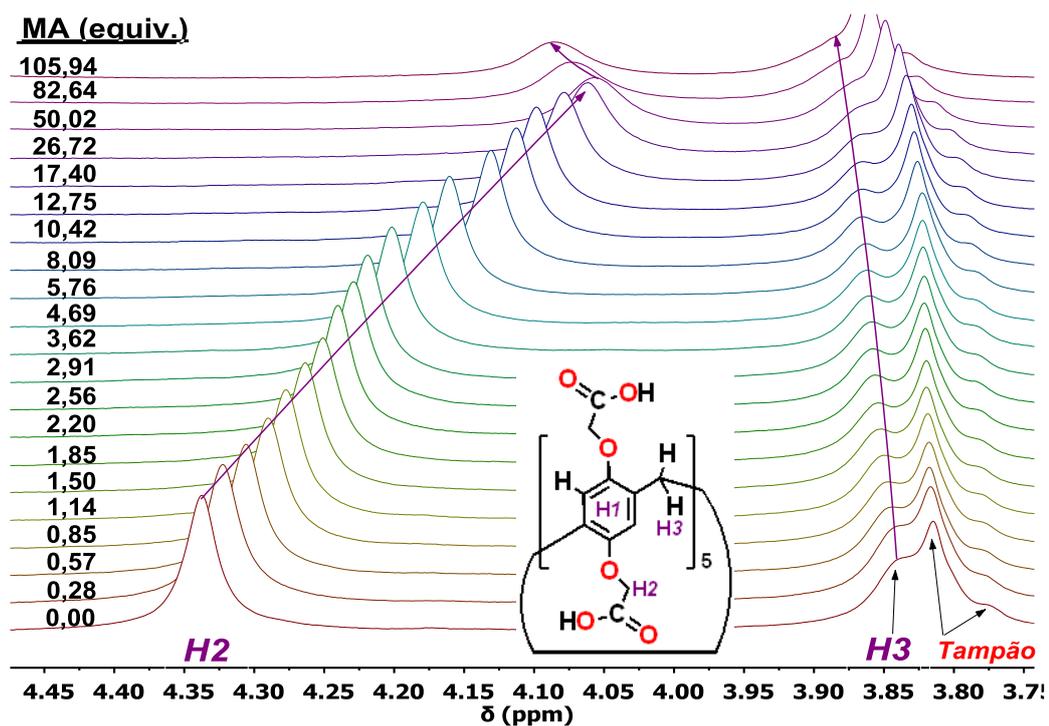
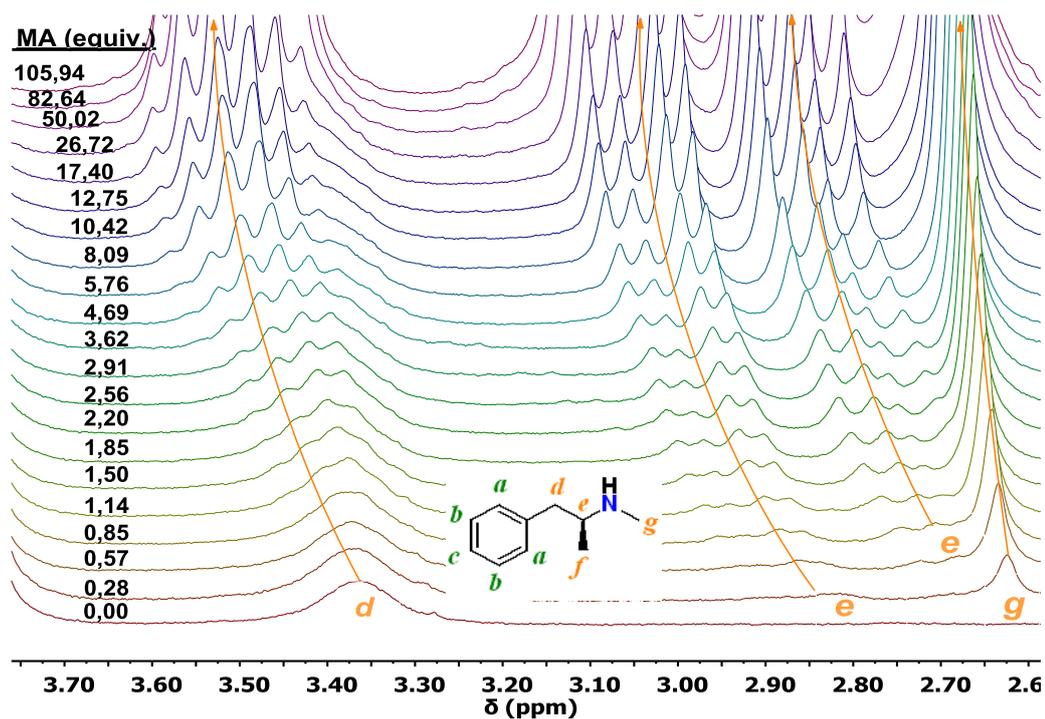


Figura 63 - Espectros sucessivos de RMN de  $^1H$  para hidrogênios alifáticos da MA (Superior) e do P5C (Inferior) na presença de diferentes equivalentes de MA ( $D_2O$ ; pD 7,0; [Bis-Tris metano] = 0,01 mol·L<sup>-1</sup>; 25,0 °C; 200 MHz).

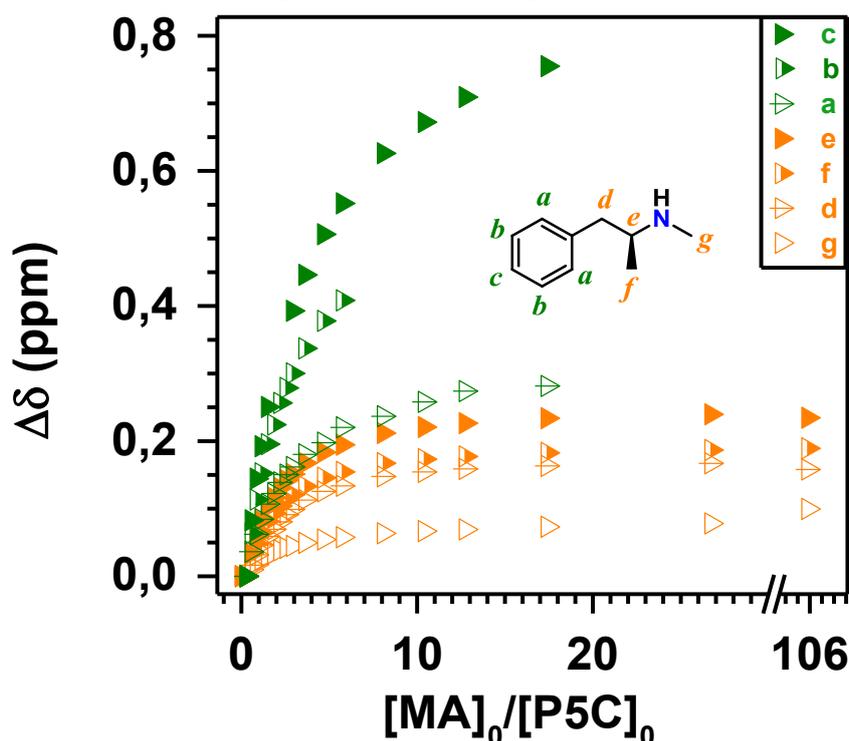


Os espectros sucessivos apresentados acima mostram que há uma associação não-uniforme entre a MA e o P5C, o que indica a possibilidade da existência de complexos com diferentes modos ou estequiometrias de associação. Isto pode ser inferido pelos diferentes comportamentos entre os hidrogênios da MA e P5C. Diferentes fatores podem provocar tais efeitos, como a associação externa e contínua da MA em excesso, ou ainda, pela modificação

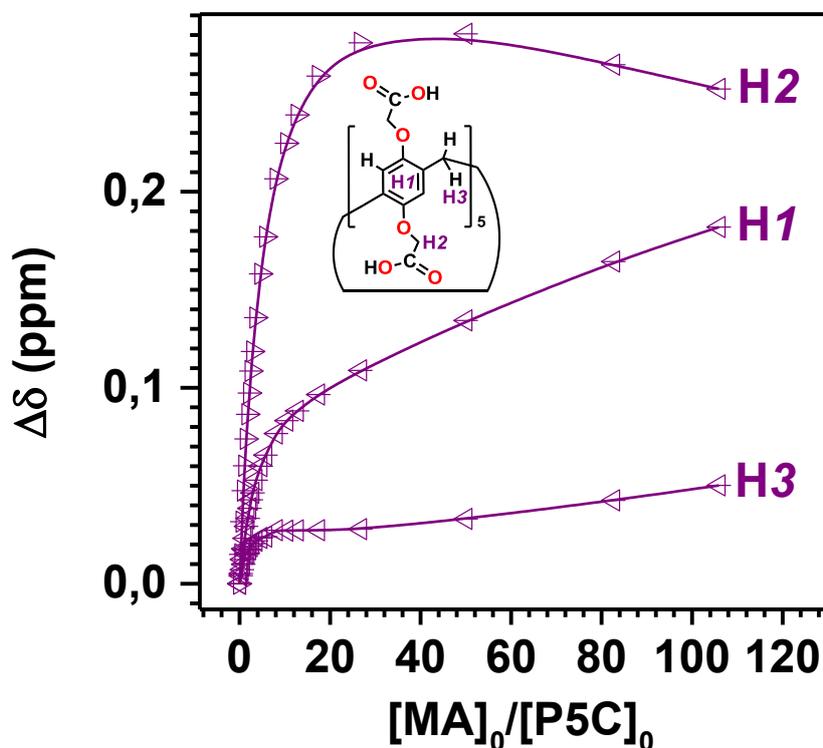
da geometria ou estequiometria do complexo. Outra observação importante é a ocorrência de modificação ou reorganização do sistema acima de 20 equivalentes de MA, onde há a simultânea magnificação nos efeitos de desblindagem sobre H1 e H3 e inversão do efeito sobre H2 (de campo alto para campo baixo).

Para melhor visualização dos efeitos supracitados, foram criados gráficos de  $\Delta\delta$  vs.  $[MA]_0/[P5C]_0$  tanto para os hidrogênios da MA quanto para os do P5C (Figuras 64 e 65, respectivamente). Para a MA, todos os hidrogênios apresentaram  $\Delta\delta$  uniformes ao longo da titulação com alcance de patamar em  $[MA]_0/[P5C]_0 \cong 20$ . Destaca-se ainda que associações externas da MA ao P5C acarretaria em contribuições muito pequenas sobre  $\Delta\delta$  quando comparada à sua acomodação na cavidade do macrociclo. Esta consideração permite o uso destes dados para obtenção das constantes de associação do complexo R:S, onde as associações externas gerariam erros mínimos sobre o ajuste.

Figura 64 -  $\Delta\delta$  vs.  $[MA]_0/[P5C]_0$  para todos os hidrogênios aromáticos e alifáticos da MA.



Os hidrogênios do P5C apresentaram  $\Delta\delta$  não-uniformes ao longo da titulação, sendo observados patamares tanto em  $[MA]_0/[P5C]_0 \cong 20$  (H1 e H2) quanto em  $[MA]_0/[P5C]_0 \cong 8$  (H3). Vale destacar que o patamar mencionado para H2 refere-se apenas ao observado até 20 equivalentes de MA, desconsiderando a inversão no comportamento (de campo alto para campo baixo) após esta condição.

Figura 65 -  $\Delta\delta$  vs.  $[MA]_0/[P5C]_0$  para todos os hidrogênios aromáticos e alifáticos do P5C.

Os dados supra-apresentados fornecem evidências de afinidade moderada entre o P5C e a MA, o que justificaria a modificação espectral observada ao longo da titulação. Para confirmar isto, um dos hidrogênios da MA com toda a variação espectral observada (Hf) foi selecionado para ajuste dos dados com modelos de estequiometria R:S, R:S<sub>2</sub> e R<sub>2</sub>:S, uma estratégia para avaliação da estequiometria e afinidade entre os componentes do complexo. Para isto, utilizou-se a ferramenta online BindFit, com as constantes de associação, erros dos ajustes e links para acesso aos dados apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 - Constantes de associação obtidas pelos ajustes de dados de Hf nas estequiometrias R:S, R:S<sub>2</sub> e R<sub>2</sub>:S (ajustados com a ferramenta online BindFit, [supramolecular.org](http://supramolecular.org)).

Estequiometria	$K_{1:1}$ (L·mol <sup>-1</sup> )	$K_{1:2}$ ou $K_{2:1}$ (L·mol <sup>-1</sup> )
R:S	83,42 ± 2,9 %	---
R:S <sub>2</sub>	(4,42 × 10 <sup>14</sup> ) ± 10 <sup>8</sup> %	20,96 ± 2,3 %
R <sub>2</sub> :S	23,42 ± 5,3 %	28,72 ± 5,3 %

(R:S) <http://app.supramolecular.org/bindfit/view/ac04073e-05eb-42ed-adb8-e18583988a79>;

(R:S<sub>2</sub>) <http://app.supramolecular.org/bindfit/view/16ff20f6-bc9e-4d69-847a-a47dc737628b>;

(R<sub>2</sub>:S) <http://app.supramolecular.org/bindfit/view/733e249f-89b5-426a-958d-b856bb38a306>.

Dentre as constantes de associação obtidas para as três estequiometrias propostas, apenas R:S e R<sub>2</sub>:S apresentaram sentido físico. Além disto, os erros associados ao ajuste na estequiometria R:S<sub>2</sub> exclui a possibilidade de predominância de complexos deste tipo, restando

apenas realizar considerações entre os modelos R:S e R<sub>2</sub>:S. Os parâmetros determinados para R:S e R<sub>2</sub>:S são condizentes com os dados da titulação de RMN, onde uma afinidade moderada entre MA e P5C já era esperada. Logo, para solucionar a estequiometria do sistema, três importantes considerações devem ser feitas. Primeiro, o início da titulação contou com condições de [P5C] >> [MA], uma situação que favorece a estequiometria R<sub>2</sub>:S. Segundo, no caso da estequiometria ser R:S, o aumento progressivo da concentração de MA seria favorável para conversão de R:S para R:S<sub>2</sub>, uma inversão capaz de modificar os valores de  $\Delta\delta$  da MA, o que não foi observado (Figura 64). Terceiro, a reorganização observada para os hidrogênios do P5C (Figura 65) são condizentes com um sistema R<sub>2</sub>:S convertendo-se em R:S, sendo evidenciado pelo aumento na desblindagem de H1 e H3 (a proporção MA/P5C no complexo muda de 0,5 para 1,0) e pela inversão de H2 (a desagregação de P5C<sub>1</sub>--P5C<sub>2</sub> elimina a alta densidade eletrônica dos grupos COO<sup>-</sup> sobre H2 de ambos os pilararenos, um efeito recíproco).

As considerações do parágrafo anterior fornecem fortes evidências de um sistema R<sub>2</sub>:S capaz de converter-se em R:S como resultado do excesso de MA. A Figura 66 mostra o ajuste dos dados realizados sobre  $H_f$  empregando o modelo estequiométrico R<sub>2</sub>:S. Para esta estequiometria, um gráfico de Job's ideal apresentaria um máximo em  $x(\text{substrato}) = 0,33$ . Inserido na Figura 66 está um gráfico de Job's construído com os mesmos dados do ajuste, sendo o máximo de  $x(\text{MA}) < 0,36$  uma informação importante para, pelo menos, excluir a possibilidade da estequiometria R:S ou de qualquer outra de ordem superior em relação à MA, como R:S<sub>2</sub> ou R:S<sub>3</sub>. Justifica-se que a não observação do máximo no gráfico de Job's deve-se à falta de dados em condições de [MA] << [P5C].

Um estudo de ROESY de <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H foi realizado para obtenção de informações estruturais acerca dos complexos, uma técnica útil para determinação de proximidade entre hidrogênios em interações intermoleculares. O experimento foi realizado em condições de [MA]<sub>0</sub>/[P5C]<sub>0</sub> << 20, onde há a prevalência de complexos de estequiometria R<sub>2</sub>:S. Os espectros parciais (Figura 67) mostram 4 importantes sinais de correlação correspondendo à interações MA--P5C, com suas intensidades proporcionais à distância entre os núcleos. Os hidrogênios aromáticos do P5C (H1) apresentaram sinais de correlação com hidrogênios aromáticos da MA (H<sub>a</sub> ou H<sub>b</sub>, Figura 67-B), confirmando a acomodação da porção areno dentro da cavidade do macrociclo. Os hidrogênios alifáticos do P5C (H2) apresentaram maior proximidade ao H<sub>g</sub> do que H<sub>e</sub> (Figura 67-A), sendo também confirmada sua proximidade com hidrogênios aromáticos da MA (H<sub>a</sub> ou H<sub>b</sub>, Figura 67-C).

Figura 66 -  $\Delta\delta$  para “Hf” em resposta ao aumento da concentração da MA, ajustado para a estequiometria R<sub>2</sub>:S. Inserido está o gráfico de Job’s para os mesmos dados experimentais, com o máximo em  $x(\text{MA}) < 0,36$ . ( $[\text{P5C}]_0 = 11,51 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; D<sub>2</sub>O; [Bis-Tris metano] =  $0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 25,0 °C).

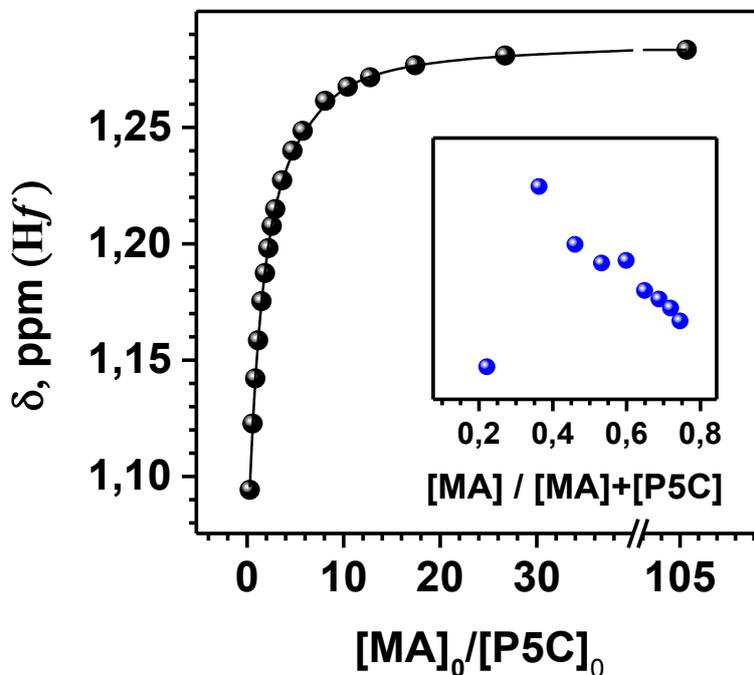
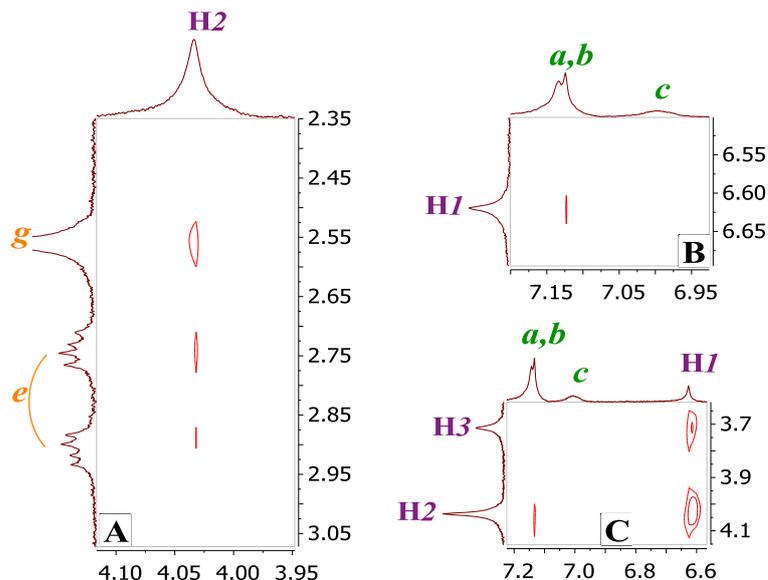


Figura 67 - Espectros parciais de ROESY de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  da MA ( $8,3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) com P5C ( $1,7 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), com tempo de mistura de 225 ms (D<sub>2</sub>O; pD 7,0; 25,0 °C; 400 MHz).



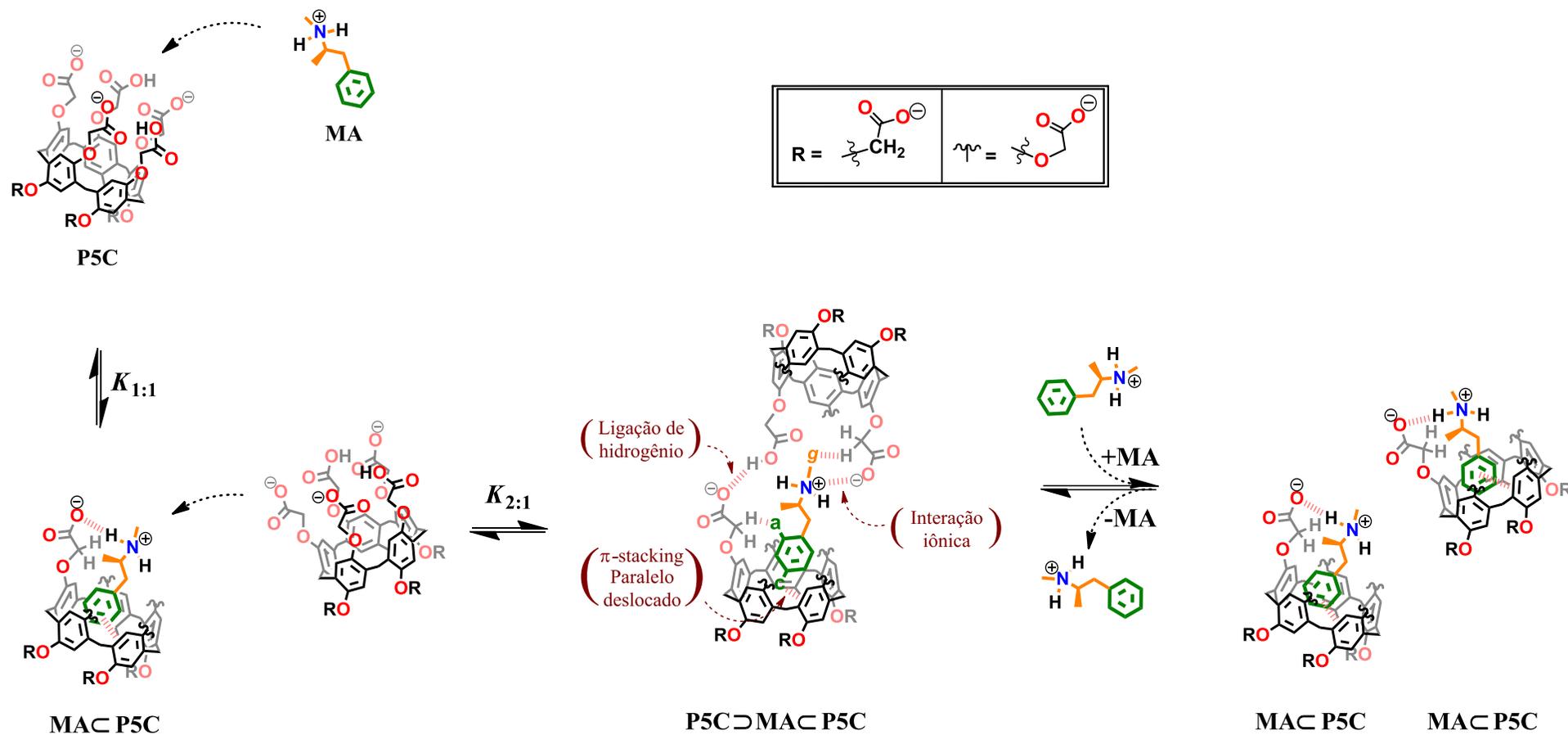
Com base nos dados já obtidos até a defesa desta tese uma estrutura geométrica consistente com diferentes tipos de interações intermoleculares foi proposta para o sistema  $\text{P5C} \supset \text{MA} \subset \text{P5C}$ , bem como sua interconversão para  $\text{MA} \subset \text{P5C}$  regulada pela concentração da droga (Esquema 6). Estas características indicam certa inteligência ao sistema, sendo a

interconversão  $R_2:S \rightleftharpoons R:S$  uma propriedade que hipoteticamente permitiria a administração de quantidades acima ou abaixo da requerida para o P5C durante o tratamento de overdoses iminentes. Esta dinâmica viabiliza, por exemplo, o planejamento de seringas personalizadas (contendo o P5C como agente sequestrante) para aplicações emergenciais em pessoas com suspeita de overdose iminente por MA, eventos que já reportados na literatura.<sup>167</sup>

Esta interconversão já foi reportada para o P5C envolvendo sais de amônio quaternário com cadeias alifáticas de diferentes tamanhos.<sup>168</sup> Neste trabalho, a interconversão de  $R:S$  para  $R_2:S$  foi conseguida pelo aumento da cadeia alifática do substrato para promover o distanciamento entre  $P5C_1$  e  $P5C_2$ , uma estratégia para minimizar a repulsão eletrostática entre os grupos  $COO^-$  dos macrociclos. Com a MA nas condições empregadas em nosso estudo isto não foi necessário devido ao P5C apresentar grupos neutros ( $COOH$ ) capazes de realizar ligações de hidrogênio com grupos aniônicos ( $COO^-$ ) de outro P5C, como demonstrado no Esquema 6. Esta dedução está baseada nos valores de  $pK_{as}$  obtidos para o P5C, sendo que na condição do experimento (pD 7,0) as espécies estão distribuídas entre  $P5C^{5-}$  (~81,7 %),  $P5C^{4-}$  (~17,9 %) e  $P5C^{3-}$  (~0,4 %). É importante mencionar que a presença da MA catiônica na cavidade do P5C deve reduzir os valores de  $pK_{as}$  do P5C por efeitos de estabilização eletrostática dos grupos  $COO^-$ , o que certamente modifica a distribuição das espécies calculadas acima.

A afinidade entre MA e P5C apresentou magnitude abaixo à de fármacos atualmente empregados em terapia de quelação, como o mesilato de deferoxamina ( $K_{1:1} = 10^{30} \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$ ).<sup>169</sup> Constantes de associação moderadas também foram reportadas em estudos de liberação controlada envolvendo o P5C,<sup>170</sup> o que poderia resultar em perda de eficiência terapêutica devido à provável afinidade do P5C sobre outra substância presente no sistema circulatório. No entanto, o sistema mostrou-se satisfatório para atuar como ponto de partida para sua otimização e posterior propositura de uso em terapia de associação em casos de abuso de MA. Além disto, a dinâmica observada pode ser investigada envolvendo outras substâncias com grande potencial para geração de overdoses (fármacos ou drogas de abuso) ou envenenamento.

Esquema 6 - Estruturas dos complexos e equilíbrio proposto para a formação do sistema  $P5C \supset MA \subset P5C$ , bem como sua interconversão em  $MA \subset P5C$  dependente da concentração de MA.



## 5 CONCLUSÕES

Por fim, as conclusões estão divididas em três subtópicos correspondentes aos seus respectivos capítulos, seguidas de conclusões gerais pertinentes ao tema da tese.

### 5.1 CAPÍTULO 1) DESCARBOXILAÇÃO DOS CBIs NA AUSÊNCIA E PRESENÇA DO P5A E P6A

Na ausência dos pilararenos, o 5,6-DinitroCBI mostrou-se mais reativo como resultado de um grupo NO<sub>2</sub> adicional, no entanto, estados de transição similares foram observados. O grupo NO<sub>2</sub> adicional conferiu ainda maior estabilidade térmica no estado sólido, no entanto, sua decomposição significativamente mais vigorosa e energética exige maiores cuidados em sua estocagem e manuseio. Os efeitos cinéticos inibitórios no sistema 6-NitroCBI-P5A foram fortemente dependentes de três fatores: (1) maior número de ligações de hidrogênio entre água e os grupos COO<sup>-</sup> do CBI, (2) maior polarização da ligação O-N do anel isoxazol e (3) redução do efeito indutivo do grupo NO<sub>2</sub> por efeitos de campo. Já os efeitos catalíticos observados para os demais complexos foram fortemente dependentes do inverso do fator (1) supracitado.

### 5.2 CAPÍTULO 2) MODIFICAÇÃO DA REATIVIDADE INTRAMOLECULAR DO ÁCIDO 2-CARBOXIFTALANÍLICO NA PRESENÇA DO P5A E P6A

A decomposição do CPA em água pura apresentou catálise intramolecular com simultânea transferência de próton e ataque nucleofílico, ambos promovidos por seus dois grupos carboxila. Efeitos cinéticos inibitórios significativos foram observados apenas na presença do pilarareno de menor cavidade (P5A), efeitos crescentes em direção ao pH fisiológico. O conjunto dos dados cinéticos, de RMN (titulação e ROESY) e de ESI-MS comprovaram a estequiometria do complexo como R:S<sub>2</sub> com cooperatividade variável e dependente da concentração das espécies do CPA, um sistema mimético de enzimas alostéricas.

### 5.3 CAPÍTULO 3) RECONHECIMENTO MOLECULAR DO P5C SOBRE A METANFETAMINA

A extração do precursor (sulfato de pseudoefedrina) foi realizada com facilidade a partir de duas etapas com uso de dois solventes orgânicos. O P5C apresentou grande faixa de tamponamento quando comparado à um grupo carboxila comum, com desestabilização eletrostática crescente em direção ao pH fisiológico. Os dados preliminares indicam a interconversão entre R<sub>2</sub>:S  $\rightleftharpoons$  R:S regulada pela concentração da metanfetamina.

#### 5.4 CONCLUSÕES GERAIS

Todos os três capítulos desenvolvidos nesta tese tiveram o conceito de reconhecimento molecular como princípio base dos efeitos cinéticos observados (catálise ou inibição) e aplicabilidades propostas (sensores, entrega controlada e terapia de associação).

Duas características básicas do substrato devem ser conhecidas e consideradas para a escolha de um pilarareno capaz de gerar os efeitos catalíticos ou inibitórios desejados: (1) estrutura e reatividade da espécie e (2) sua dependência de fatores externos. Estas características foram previamente determinadas tanto para os CBIs aniônicos (dependentes de ligações de hidrogênio e polaridade do meio) quanto para as três espécies do CPA (liberdade de seus grupos carboxila). Com isto, a escolha dos pilararenos pôde ser feita com base em conceitos químicos e lógicos, fazendo com que determinados resultados experimentais já fossem esperados.

O reconhecimento molecular dos pilararenos sobre as espécies investigadas oferecem perspectivas de sua aplicação como sensor químico, principalmente para àqueles que apresentaram altas afinidades e possam oferecer sinalização do reconhecimento. De maneira implícita, os dados experimentais ofereceram também informações de aplicabilidade em entrega controlada, efeitos bastante nítidos nos resultados do capítulo 2. Neste sentido, a redução de 50 % de água reduziu em algumas ordens de grandeza a constante de associação do substrato na cavidade do P5A, sugerindo a boa capacidade do sistema de atuar em entrega controlada por hidrofobicidade do meio. Uma nova linha de pesquisa envolvendo os pilararenos foi proposta no último capítulo desta tese, denominada de “terapia de associação”. Conceitos interdisciplinares são empregados nestes estudos e oferecem grandes perspectivas para aplicação em tratamentos terapêuticos emergenciais.

A apresentação dos dados experimentais, interpretações e as respectivas discussões oferecem ainda material de estudo envolvendo duas diferentes técnicas (UV-Vis e RMN) e diferentes modelos estequiométricos ( $R:S$ ,  $R:S_2$  e  $R_2:S$ ) para determinação de constantes de associação e elucidação estrutural.

## 6 REFERÊNCIAS

- (1) Vicens, J.; Vicens, Q. Origins and Emergences of Supramolecular Chemistry. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 65, n. 1, p. 221–235, 2009.
- (2) Bohne, C. Supramolecular Dynamics. **Chemical Society Reviews**, v. 43, p. 4037–4050, 2014.
- (3) McNaught, A. D.; Wilkinson, A. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology - Gold Book. Disponível em: <https://goldbook.iupac.org/>. Acessado em: 03 Jun 2019.
- (4) Li, B.; He, T.; Shen, X.; Tang, D.; Yin, S. Fluorescent Supramolecular Polymers with Aggregation Induced Emission Properties. **Polymer Chemistry**, v. 10, n. 7, p. 796–818, 2019.
- (5) Liqin, D.; Hollis, T.; Fishwick, S.; Connolly, B. A.; Wright, N. G.; Horrocks, B. R.; Houlton, A. Synthesis, Manipulation and Conductivity of Supramolecular Polymer Nanowires. **Chemistry - A European Journal**, v. 13, n. 3, p. 822–828, 2007.
- (6) Wanderlind, E. H.; Bittencourt, C. R.; Manfredi, A. M.; Gerola, A. P.; Souza, B. S.; Fiedler, H. D.; Nome, F. Cu(II)-Catalyzed Hydrolysis of Tris-2-Pyridyl Phosphate Assisted by Sodium Dodecyl Sulfate Micelles. **Journal of Physical Organic Chemistry**, v. 32, n. 1, p. 1–8, 2019.
- (7) Gohy, J. F. Metallo-Supramolecular Block Copolymer Micelles. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, n. 17, p. 2214–2225, 2009.
- (8) Li, H.; Yang, Y. W. Gold Nanoparticles Functionalized with Supramolecular Macrocycles. **Chinese Chemical Letters**, v. 24, n. 7, p. 545–552, 2013.
- (9) Li, B.; Feng, Z.; He, L.; Li, W.; Wang, Q.; Liu, J.; Huang, J.; Zheng, Y.; Ma, Y.; Yang, X.; et al. Self-Assembled Supramolecular Nanoparticles for Targeted Delivery and Combination Chemotherapy. **ChemMedChem**, v. 13, n. 19, p. 2037–2044, 2018.
- (10) Pieters, B. J. G. E.; Van Eldijk, M. B.; Nolte, R. J. M.; Mecinović, J. Natural Supramolecular Protein Assemblies. **Chemical Society Reviews**, v. 45, n. 1, 24–39, 2016.
- (11) Marsh, J. A.; Teichmann, S. A. Structure, Dynamics, Assembly, and Evolution of Protein Complexes. **Annual Review of Biochemistry**, v. 84, n. 1, p. 551–575, 2014.
- (12) Kiyonaka, S.; Sugiyasu, K.; Shinkai, S.; Hamachi, I. First Thermally Responsive Supramolecular Polymer Based on Glycosylated Amino Acid. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 37, p. 10954–10955, 2002.
- (13) Stricker, L.; Fritz, E. C.; Peterlechner, M.; Doltsinis, N. L.; Ravoo, B. J.

- Arylazopyrazoles as Light-Responsive Molecular Switches in Cyclodextrin-Based Supramolecular Systems. **Journal of the American Chemical Society**, v. 138, n. 13, p. 4547–4554, 2016.
- (14) Wang, L.; Shi, X.; Zhang, J.; Zhu, Y.; Wang, J. Self-Assembled PH-Responsive Supramolecular Hydrogel for Hydrophobic Drug Delivery. **RSC Advances**, v. 8, n. 55, p. 31581–31587, 2018.
- (15) Jintoku, H.; Ihara, H.; Matsuzawa, Y.; Kihara, H. Static Electricity-Responsive Supramolecular Assembly. **Chemistry - A European Journal**, v. 23, n. 67, p. 16961–16965, 2017.
- (16) Ravindran, M. S.; Engelke, M. F.; Verhey, K. J.; Tsai, B. Exploiting the Kinesin-1 Molecular Motor to Generate a Virus Membrane Penetration Site. **Nature Communications**, v. 8, p. 1–14, 2017.
- (17) The Nobel Prize in Chemistry 1987. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1987/summary/>. Acessado em: 4 Jun 2019.
- (18) Cram, D. J.; Cram, J. M. Host-Guest Chemistry. **Science**, v. 183, n. 4127, p. 803–809, 1974.
- (19) Wanderlind, E. H.; Liz, D. G.; Gerola, A. P.; Affeldt, R. F.; Garcia-Rio, L.; Nascimento, V.; Fiedler, H. D.; Montecinos, R.; Bretanha, L. C.; Nome, F. Imidazole-Functionalized Pillar[5]Arenes: Highly Reactive and Selective Supramolecular Artificial Enzymes. **ACS Catalysis**, v. 8, n. 4, p. 3343–3347, 2018.
- (20) Dong, Z.; Luo, Q.; Liu, J. Artificial Enzymes Based on Supramolecular Scaffolds. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 23, p. 7890–7908, 2012.
- (21) Bakirci, H.; Koner, A. L.; Schwarzlose, T.; Nau, W. M. Analysis of Host-Assisted Guest Protonation Exemplified for p-Sulfonatocalix[4]Arene-towards Enzyme-Mimetic PKa Shifts. **Chemistry - A European Journal**, v. 12, n. 18, p. 4799–4807, 2006.
- (22) Gao, L.; Yan, X. Nanozymes: An Emerging Field Bridging Nanotechnology and Biology. **Science China Life Sciences**, v. 59, n. 4, p. 400–402, 2016.
- (23) Chang, C.; Gilson, M. K. Free Energy, Entropy, and Induced Fit in Host-Guest Recognition: Calculations with the Second-Generation Mining Minima Algorithm. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 40, p. 13156–13164, 2004.
- (24) Jiang, M.; Li, M.; Liu, L.; Xiang, M.; Zhu, L. Macromolecular Aggregation: Complexation Due to Hydrogen Bonding and Hydrophobic Association. **Macromolecular Symposia**, v. 124, p. 135–146, 1997.

- (25) Hua, B.; Zhou, J.; Yu, G. Hydrophobic Interactions in the Pillar[5]Arene-Based Host-Guest Complexation and Their Application in the Inhibition of Acetylcholine Hydrolysis. **Tetrahedron Letters**, v. 56, n. 8, p. 986–989, 2015.
- (26) Jeong, D.; Joo, S. W.; Shinde, V. V.; Cho, E.; Jung, S. Carbohydrate-Based Host-Guest Complexation of Hydrophobic Antibiotics for the Enhancement of Antibacterial Activity. **Molecules**, v. 22, n. 8, p. 1311–1326, 2017.
- (27) Collins, K. D. Why Continuum Electrostatics Theories Cannot Explain Biological Structure, Polyelectrolytes or Ionic Strength Effects in Ion-Protein Interactions. **Biophysical Chemistry**, v. 167, p. 43–59, 2012,
- (28) Szcześniak, M. M.; Scheiner, S.; Bouteiller, Y. Theoretical Study of H<sub>2</sub>O–HF and H<sub>2</sub>O–HCl: Comparison with Experiment. **The Journal of Chemical Physics**, v. 81, n. 11, p. 5024–5030, 2003.
- (29) Guthrie, J. P. Short Strong Hydrogen Bonds: Can They Explain Enzymic Catalysis? **Chemistry & Biology**, v. 3, n. 3, p. 163–170, 1996.
- (30) Rätz, M. H.; Sturla, S. J.; Gahlon, H. L. Hydrogen-Bonding Interactions at the DNA Terminus Promote Extension from Methylguanine Lesions by Human Extender DNA Polymerase  $\zeta$ . **Biochemistry**, v. 57, n. 41, p. 5978–5988, 2018.
- (31) Chipot, C.; Jaffe, R.; Maignet, B.; Pearlman, D. A.; Kollman, P. A. Benzene Dimer: A Good Model for  $\pi$ - $\pi$  Interactions in Proteins? A Comparison between the Benzene and the Toluene Dimers in the Gas Phase and in an Aqueous Solution. **Journal of the American Chemical Society**, v. 118, n. 45, p. 11217–11224, 1996.
- (32) Williams, J. H. Modeling the Vibrational Dynamics of Solid Benzene: Hexafluorobenzene. The Anatomy of a Phase Transition. **Chemical Physics**, v. 172, n. 1, p. 171–186, 1993.
- (33) Dougherty, D. A. The Cation- $\pi$  Interaction. **Accounts of Chemical Research**, v. 46, n. 4, p. 885–893, 2013.
- (34) Schottel, B. L.; Chifotides, H. T.; Dunbar, K. R. Anion- $\pi$  Interactions. **Chemical Society Reviews**, v. 37, n. 1, p. 68–83, 2008.
- (35) Mascal, M.; Armstrong, A.; Bartberger, M. D. Anion-Aromatic Bonding: A Case for Anion Recognition by  $\pi$ -Acidic Rings. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 22, p. 6274–6276, 2002.
- (36) Francisco, V.; Basilio, N.; García-Riño, L. Counterion Exchange as a Decisive Factor in the Formation of Host: Guest Complexes by p-Sulfonatocalix[4]Arene. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 116, n. 17, p. 5308–5315, 2012.

- (37) Ludwig, R. Calixarenes for Biochemical Recognition and Separation. **Microchimica Acta**, v. 152, p. 1–19, 2005.
- (38) Francisco, V.; Basilio, N.; García-Río, L. Ionic Exchange in P-Sulfonatocalix[4]Arene-Mediated Formation of Metal-Ligand Complexes. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 118, n. 17, p. 4710–4716, 2014.
- (39) Barrow, S. J.; Kasera, S.; Rowland, M. J.; del Barrio, J.; Scherman, O. A. Cucurbituril-Based Molecular Recognition. **Chemical Reviews**, v. 115, n. 22, p. 12320–12406, 2015.
- (40) Basilio, N.; Pischel, U. Drug Delivery by Controlling a Supramolecular Host–Guest Assembly with a Reversible Photoswitch. **Chemistry - A European Journal**, v. 22, n. 43, p. 15208–15211, 2016.
- (41) Assaf, K. I.; Nau, W. M. Cucurbiturils: From Synthesis to High-Affinity Binding and Catalysis. **Chemical Society Reviews**, v. 44, n. 2, p. 394–418, 2015.
- (42) Liao, Y.; Zhang, X.; Li, C.; Huang, Y.; Lei, M.; Yan, M.; Zhou, Y.; Zhao, C. Inclusion Complexes of HP- $\beta$ -Cyclodextrin with Agomelatine: Preparation, Characterization, Mechanism Study and in Vivo Evaluation. **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 415–425, 2016.
- (43) Saha, S.; Roy, A.; Roy, K.; Roy, M. N. Study to Explore the Mechanism to Form Inclusion Complexes of  $\beta$ -Cyclodextrin with Vitamin Molecules. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1–12, 2016.
- (44) Zhang, H.; Zhao, Y. Pillararene-Based Assemblies: Design Principle, Preparation and Applications. **Chemistry - A European Journal**, v. 19, n. 50, p. 16862–16879, 2013.
- (45) Khadieva, A.; Gorbachuk, V.; Shurpik, D.; Stoikov, I. Synthesis of Tris-Pillar[5]Arene and Its Association with Phenothiazine Dye: Colorimetric Recognition of Anions. **Molecules**, v. 24, n. 9, p. 1807–1816, 2019.
- (46) Strutt, N. L.; Forgan, R. S.; Spruell, J. M.; Botros, Y. Y.; Stoddart, J. F. Monofunctionalized Pillar [ 5 ] Arene as a Host for Alkanediamines. **Journal of the American Chemical Society**, v. 70, n. 15, p. 5668–5671, 2011.
- (47) Ogoshi, T.; Kanai, S.; Fujinami, S.; Yamagishi, T. A.; Nakamoto, Y. Para-Bridged Symmetrical Pillar[5]Arenes: Their Lewis Acid Catalyzed Synthesis and Host-Guest Property. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 15, p. 5022–5023, 2008.
- (48) Bojtár, M.; Kozma, J.; Szakács, Z.; Hessz, D.; Kubinyi, M.; Bitter, I. Pillararene-Based Fluorescent Indicator Displacement Assay for the Selective Recognition of ATP.

- Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 248, p. 305–310, 2017.
- (49) Zhang, Y. M.; Su, J. X.; Li, Q.; Qu, W. J.; Zhu, X.; Leng, Y. L.; Xin, S. F.; Yao, H.; Lin, Q.; Wei, T. B. Novel Fluorescent Cyanide-Selective Chemosensor Based on a Functionalised Pillar[5]Arene Copper(II) Complex. **Supramolecular Chemistry**, v. 29, n. 6, p. 411–416, 2017.
- (50) Reddy Kothur, R.; Anil Patel, B.; Cragg, P. J. A Co-Pillar[5]Arene Sensor for Linear Biogenic Amines. **Chemical Communications**, v. 53, n. 65, p. 9078–9080, 2017.
- (51) Tian, M. M.; Chen, D. X.; Sun, Y. L.; Yang, Y. W.; Jia, Q. Pillararene-Functionalized Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles as Magnetic Solid-Phase Extraction Adsorbent for Pesticide Residue Analysis in Beverage Samples. **RSC Advances**, v. 3, p. 22111–22119, 2013.
- (52) Nierengarten, I.; Guerra, S.; Holler, M.; Nierengarten, J. F.; Deschenaux, R. Building Liquid Crystals from the 5-Fold Symmetrical Pillar[5]Arene Core. **Chemical Communications**, v. 48, n. 65, p. 8072–8074, 2012.
- (53) Pan, S.; Ni, M.; Mu, B.; Li, Q.; Hu, X. Y.; Lin, C.; Chen, D.; Wang, L. Well-Defined Pillararene-Based Azobenzene Liquid Crystalline Photoresponsive Materials and Their Thin Films with Photomodulated Surfaces. **Advanced Functional Materials**, v. 25, n. 23, p. 3571–3580, 2015.
- (54) Joseph, R.; Naugolny, A.; Feldman, M.; Herzog, I. M.; Fridman, M.; Cohen, Y. Cationic Pillararenes Potently Inhibit Biofilm Formation without Affecting Bacterial Growth and Viability. **Journal of the American Chemical Society**, v. 138, n. 3, p. 754–757, 2016.
- (55) Yao, Y.; Huang, F.; Gao, C.; Ma, Y.; Tang, G.; Han, C.; Mao, Z.; Yu, G. A Sugar-Functionalized Amphiphilic Pillar[5]Arene: Synthesis, Self-Assembly in Water, and Application in Bacterial Cell Agglutination. **Journal of the American Chemical Society**, v. 135, n. 28, p. 10310–10313, 2013.
- (56) Wu, D.; Li, Y.; Shen, J.; Tong, Z.; Hu, Q.; Li, L.; Yu, G. Supramolecular Chemotherapeutic Drug Constructed from Pillararene-Based Supramolecular Amphiphile. **Chemical Communications**, v. 54, n. 59, p. 8198–8201, 2018.
- (57) Zhou, T.; Song, N.; Yu, H.; Yang, Y. W. Pillar[5,6]Arene-Functionalized Silicon Dioxide: Synthesis, Characterization, and Adsorption of Herbicide. **Langmuir**, v. 31, n. 4, p. 1454–1461, 2015.
- (58) Sueto, R.; Yamagishi, T.; Yoshikoshi, K.; Akine, S.; Ogoshi, T.; Sakata, Y. Host-Guest Complexation of Perethylated Pillar[5]Arene with Alkanes in the Crystal State. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 54, n. 34, p. 9849–9852, 2015.
- (59) Ma, Y.; Ji, X.; Xiang, F.; Chi, X.; Han, C.; He, J.; Abliz, Z.; Chen, W.; Huang, F. A

- Cationic Water-Soluble Pillar[5]Arene: Synthesis and Host–guest Complexation with Sodium 1-Octanesulfonate. **Chemical Communications**, v. 47, n. 45, p. 12340–12342, 2011.
- (60) Han, C.; Yu, G.; Zheng, B.; Huang, F. Complexation between Pillar[5]Arenes and a Secondary Ammonium Salt. **Organic Letters**, v. 14, n. 7, p. 1712–1715, 2012,
- (61) Han, C.; Ma, F.; Zhang, Z.; Xia, B.; Yu, Y.; Huang, F. X-Ray Crystal Structures, and Complexation with n-Octyltriethyl Ammonium Hexafluorophosphate. **Organic Letters**, v. 12, n. 3, p. 9721–9723, 2010,
- (62) Li, C.; Shu, X.; Li, J.; Chen, S.; Han, K.; Xu, M.; Hu, B.; Yu, Y.; Jia, X. Complexation of 1,4-Bis(Pyridinium) Butanes by Negatively Charged Carboxylatopillar[5]Arene Electronic Supplementary Information (ESI). **The Journal of Organic Chemistry**, v. 76, p. 8458–8465, 2011.
- (63) Li, H.; Chen, D.-X.; Sun, Y.-L.; Zheng, Y. B.; Tan, L.-L.; Weiss, P. S.; Yang, Y.-W. Viologen-Mediated Assembly of and Sensing with Carboxylatopillar[5]Arene-Modified Gold Nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 135, n. 4, p. 1570–1576, 2013.
- (64) Chi, X.; Xue, M.; Yao, Y.; Huang, F. Redox-Responsive Complexation between a Pillar[5]Arene with Mono(Ethylene Oxide) Substituents and Paraquat. **Organic Letters**, v. 15, n. 18, p. 4722–4725, 2013.
- (65) Bojtár, M.; Simon, A.; Bombicz, P.; Bitter, I. Expanding the Pillararene Chemistry: Synthesis and Application of a 10+1 Functionalized Pillar[5]Arene. **Organic Letters**, v. 19, n. 17, p. 4528–4531, 2017.
- (66) Sun, Y.; Wang, J.; Yao, Y. The First Water-Soluble Pillar[5]Arene Dimer: Synthesis and Construction of a Reversible Fluorescent Supramolecular Polymer Network in Water. **Chemical Communications**, v. 53, n. 1, p. 165–167, 2017.
- (67) Ogoshi, T.; Yamagishi, T. A.; Nakamoto, Y. Pillar-Shaped Macrocyclic Hosts Pillar[n]Arenes: New Key Players for Supramolecular Chemistry. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 14, p. 7937–8002, 2016.
- (68) Wei, T. B.; Cheng, X. Bin; Li, H.; Zheng, F.; Lin, Q.; Yao, H.; Zhang, Y. M. Novel Functionalized Pillar[5]Arene: Synthesis, Assembly and Application in Sequential Fluorescent Sensing for Fe<sup>3+</sup> and F<sup>-</sup> in Aqueous Media. **RSC Advances**, v. 6, n. 25, p. 20987–20993, 2016.
- (69) Wang, K.; Wang, C. Y.; Zhang, Y.; Zhang, S. X. A.; Yang, B.; Yang, Y. W. Ditopic

- Pillar[5]Arene-Based Fluorescence Enhancement Material Mediated by [C2]Daisy Chain Formation. **Chemical Communications**, v. 50, n. 67, p. 9458–9461, 2014.
- (70) Strutt, N. L.; Zhang, H.; Schneebeli, S. T.; Stoddart, J. F. Functionalizing Pillar[n]Arenes. **Accounts of Chemical Research**, v. 47, n. 8, p. 2631–2642, 2014.
- (71) Huang, F.; Chi, X.; Xue, M.; Yang, Y.; Zhang, Z. Pillararenes, A New Class of Macrocycles for Supramolecular Chemistry. **Accounts of Chemical Research**, v. 45, n. 8, p. 1294–1308, 2012.
- (72) Liz, D. G.; Manfredi, A. M.; Medeiros, M.; Montecinos, R.; Gómez-González, B.; Garcia-Rio, L.; Nome, F. Supramolecular Phosphate Transfer Catalysis by Pillar[5]Arene. **Chemical Communications**, v. 52, n. 15, p. 3167–3170, 2016.
- (73) Chen, Z.; Si, W.; Chen, L.; Li, Z.-T.; Hu, X.-B.; Tang, G.; Hou, J.-L. Selective Artificial Transmembrane Channels for Protons by Formation of Water Wires. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 50, n. 52, p. 12564–12568, 2011.
- (74) Martínez-Negro, M.; García-Río, L.; Barrán-Berdón, A. L.; Domènech, Ò.; Aicart, E.; Junquera, E.; Tros de Ilarduya, C. A Biophysical Study of Gene Nanocarriers Formed by Anionic/Zwitterionic Mixed Lipids and Pillar[5]Arene Polycationic Macrocycles. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 5, n. 17, p. 3122–3131, 2017.
- (75) Wang, Y.; Du, J.; Wang, Y.; Jin, Q.; Ji, J. Pillar[5]Arene Based Supramolecular Prodrug Micelles with PH Induced Aggregate Behavior for Intracellular Drug Delivery. **Chemical Communications**, v. 51, n. 14, p. 2999–3002, 2015.
- (76) Tan, L. L.; Li, H.; Qiu, Y. C.; Chen, D. X.; Wang, X.; Pan, R. Y.; Wang, Y.; Zhang, S. X. A.; Wang, B.; Yang, Y. W. Stimuli-Responsive Metal-Organic Frameworks Gated by Pillar[5]Arene Supramolecular Switches. **Chemical Science**, v. 6, n. 3, p. 1640–1644, 2015.
- (77) Yao, Q.; Lü, B.; Ji, C.; Cai, Y.; Yin, M. Supramolecular Host-Guest System as Ratiometric Fe<sup>3+</sup> Ion Sensor Based on Water-Soluble Pillar[5]Arene. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 9, n. 41, p. 36320–36326, 2017.
- (78) Wei, T.-B.; Liu, J.; Liu, L.; Yao, H.; Zheng, F.; Lin, Q.; Zhang, Y.-M.; Mao, P.-P. A Novel Water Soluble Self-Assembled Supramolecular Sensor Based on Pillar[5]Arene for Fluorescent Detection CN<sup>-</sup> in Water. **Tetrahedron**, v. 73, n. 35, p. 5307–5310, 2017.
- (79) Wei, T. B.; Chen, J. F.; Cheng, X. Bin; Li, H.; Han, B. B.; Zhang, Y. M.; Yao, H.; Lin, Q. A Novel Functionalized Pillar[5]Arene-Based Selective Amino Acid Sensor for l-Tryptophan. **Organic Chemistry Frontiers**, v. 4, n. 2, p. 210–213, 2017.
- (80) Lin, Q.; Liu, L.; Zheng, F.; Mao, P. P.; Liu, J.; Zhang, Y. M.; Yao, H.; Wei, T. B. A

- Water-Soluble Pillar[5]Arene-Based Chemosensor for Highly Selective and Sensitive Fluorescence Detection of L-Methionine. **RSC Advances**, v. 7, n. 55, p. 34411–34414, 2017.
- (81) Hammes-Schiffer, S. Catalytic Efficiency of Enzymes: A Theoretical Analysis. **Biochemistry**, v. 52, p. 2012–2020, 2013.
- (82) Chapman, J.; Ismail, A.E.; Dinu, C.Z. Industrial Applications of Enzymes: Recent Advances, Techniques, and Outlooks. **Catalysts**, v. 8, n. 6, p. 238–264, 2018.
- (83) Gao, J.; Ma, S.; Major, D. T.; Nam, K.; Pu, J.; Truhlar, D. G. Mechanisms and Free Energies of Enzymatic Reactions. **Chemical Reviews**, v. 106, n. 8, p. 3188–3209, 2006.
- (84) Nau, W. M. The Nau Group. Disponível em: <http://wernernau.user.jacobs-university.de/>. Acesso em: 28 Mar 2019.
- (85) Nome, F. Laboratório de Catálise e Fenômenos Interfaciais. Disponível em: <http://www.inct-catalise.com.br/lacfi/>. Acesso em: 28 Mar 2019.
- (86) Río, L. G. Centro Singular de Investigación en Química Biolóxica e Materiais Moleculares. Disponível em: <https://www.usc.es/ciqus/en/general-information/staff/luis-garcia-rio>. Acesso em: 28 Mar 2019.
- (87) Schatz, J. Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg. Disponível em: <http://www.jschatz.de/cv.html>. Acesso em: 28 Mar 2019.
- (88) Kashapov, R. R.; Pashirova, T. N.; Zhiltsova, E. P.; Lukashenko, S. S.; Ziganshina, A. Y.; Zakharova, L. Y. Supramolecular Systems Based on Aminomethylated Calix[4]Resorcinarene and a Cationic Surfactant: Catalysts of the Hydrolysis of Esters of Phosphorus Acids. **Russian Journal of Physical Chemistry**, v. 86, n. 2, p. 200–204, 2012.
- (89) Dospil, G.; Schatz, J. Synthesis and Characterization of Imidazole-Substituted Calix[4]Arenes as Simple Enzyme-Mimics with Acyltransferase Activity. **Tetrahedron Letters**, v. 42, p. 7837–7840, 2001.
- (90) Liz, D. G.; Manfredi, A. M.; Medeiros, M.; Montecinos, R.; Gómez-González, B.; Garcia-Rio, L.; Nome, F. Supramolecular Phosphate Transfer Catalysis by Pillar[5]Arene. **Chemical Communications**, v. 52, n. 15, p. 3167–3170, 2016.
- (91) Cram, D. J.; Tanner, M. E.; Thomas, R. The Taming of Cyclobutadiene. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 30, n. 8, p. 1024–1027, 1991.
- (92) Guocan Yu, Jiong Zhou, Jie Shen, Guping Tang, F. H. Cationic Pillar[6]Arene/ATP Host–guest Recognition: Selectivity, Inhibition of ATP Hydrolysis, and Application in

- Multidrug Resistance Treatment. **Chemical Science**, v. 7, p. 4073–4078, 2016.
- (93) Duan, Q.; Cao, Y.; Li, Y.; Hu, X.; Xiao, T.; Lin, C.; Pan, Y.; Wang, L. PH-Responsive Supramolecular Vesicles Based on Water-Soluble Pillar[6]Arene and Ferrocene Derivative for Drug Delivery. **Journal of the American Chemical Society**, v. 135, n. 28, p. 10542–10549, 2013.
- (94) Gao, L.; Zheng, B.; Chen, W.; Schalley, C. A. Enzyme-Responsive Pillar[5]Arene-Based Polymer-Substituted Amphiphiles: Synthesis, Self-Assembly in Water, and Application in Controlled Drug Release. **Chemical Communications**, v. 51, n. 80, p. 14901–14904, 2015.
- (95) Wang, P.; Yao, Y.; Xue, M. A Novel Fluorescent Probe for Detecting Paraquat and Cyanide in Water Based on Pillar[5]Arene/10-Methylacridinium Iodide Molecular Recognition. **Chemical Communications**, v. 50, n. 39, p. 5064–5067, 2014.
- (96) Fang, Y.; Li, C.; Wu, L.; Bai, B.; Li, X.; Jia, Y.; Feng, W.; Yuan, L. A Non-Symmetric Pillar[5]Arene Based on Triazole-Linked 8-Oxyquinolines as a Sequential Sensor for Thorium(IV) Followed by Fluoride Ions. **Dalton Transactions**, v. 44, n. 33, p. 14584–14588, 2015.
- (97) Wei, T. B.; Cheng, X. Bin; Li, H.; Zheng, F.; Lin, Q.; Yao, H.; Zhang, Y. M. Novel Functionalized Pillar[5]Arene: Synthesis, Assembly and Application in Sequential Fluorescent Sensing for  $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{F}^-$  in Aqueous Media. **RSC Advances**, v. 6, n. 25, p. 20987–20993, 2016.
- (98) Lin, Q.; Mao, P. P.; Zheng, F.; Liu, L.; Liu, J.; Zhang, Y. M.; Yao, H.; Wei, T. B. Novel Supramolecular Sensors Constructed from Pillar[5]Arene and a Naphthalimide for Efficient Detection of  $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{F}^-$  in Water. **New Journal of Chemistry**, v. 41, n. 20, p. 12172–12177, 2017.
- (99) Zheng, G.; Chen, T.; Peng, X.; Long, S. Synthesis, Anti-Inflammatory, and Analgesic Activities of Derivatives of 4-Hydroxy-2-Benzoxazolone. **Journal of Chemistry**, v. 2015, p. 1–5, 2015.
- (100) Shastri, R. A.; Varudkar, J. S. Synthesis and Antimicrobial Activity of 3-Propene 1,2-Benzisoxazole Derivatives. **Indian Journal of Chemistry - Section B**, v. 48B, p. 1156–1160, 2009.
- (101) P., S. C. S.; Sharada, A. C. Benzisoxazole Derivatives as Atypical Antipsychotic Drugs : A Review. **International Journal of Pharma Sciences and Research**, v. 5, n. 12, p. 1006–1010, 2014.
- (102) Masuda, Y.; Utsui, Y.; Shiraishi, Y.; Karasawa, T.; Yoshida, K.; Shimizu, M.

- Relationships Between Plasma Concentrations of Diphenylhydantoin, Phenobarbital, Carbamazepine, and 3-Sulfamoylmethyl-1,2-Benzisoxazole (AD-810), a New Anticonvulsant Agent, and Their Anticonvulsant or Neurotoxic Effects in Experimental Animals. **Epilepsia**, v. 20, n. 6, p. 623–633, 1979.
- (103) Ashwini, N.; Garg, M.; Mohan, C. D.; Fuchs, J. E.; Rangappa, S.; Anusha, S.; Swaroop, T. R.; Rakesh, K. S.; Kanojia, D.; Madan, V.; et al. Synthesis of 1,2-Benzisoxazole Tethered 1,2,3-Triazoles That Exhibit Anticancer Activity in Acute Myeloid Leukemia Cell Lines by Inhibiting Histone Deacetylases, and Inducing P21 and Tubulin Acetylation. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 18, 6157–6165, 2015.
- (104) Nuhrich, A.; Varache-Lembège, M.; Vercauteren, J.; Dokhan, R.; Renard, P.; Devaux, G. Synthesis and Binding Affinities of a Series of 1,2-Benzisoxazole-3-Carboxamides to Dopamine and Serotonin Receptors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 31, n. 12, p. 957–964, 1996.
- (105) Kwan, S. Y.; Chuang, Y. C.; Huang, C. W.; Chen, T. C.; Jou, S. Bin; Dash, A. Zonisamide: Review of Recent Clinical Evidence for Treatment of Epilepsy. **CNS Neuroscience and Therapeutics**, v. 21, n. 9, p. 683–691, 2015.
- (106) Bishop, J. R.; Pavuluri, M. N. Review of Risperidone for the Treatment of Pediatric and Adolescent Bipolar Disorder and Schizophrenia. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, v. 4, n. 1A, p. 55–68, 2008.
- (107) Kemp, D. S.; Paul, K. Decarboxylation of Benzisoxazole-3-Carboxylic Acids. Catalysis by Extraction of Possible Relevance to the Problem of Enzymatic Mechanism. **Journal of the American Chemical Society**, v. 92, n. 8, p. 2553–2554, 1970.
- (108) Kemp, D. S.; Paul, K. G. The Physical Organic Chemistry of Benzisoxazoles. III. The Mechanism and the Effects of Solvents on Rates of Decarboxylation of Benzisoxazole-3-Carboxylic Acids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 97, n. 25, p. 7305–7312, 1975.
- (109) Kemp, D. S.; Cox, D. D.; Paul, K. G. The Physical Organic Chemistry of Benzisoxazoles. IV. The Origins and Catalytic Nature of the Solvent Rate Acceleration for the Decarboxylation of 3-Carboxybenzisoxazoles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 97, n. 25, p. 7312–7318, 1975.
- (110) Acevedo, O.; Jorgensen, W. L. Influence of Inter- and Intramolecular Hydrogen Bonding on Kemp Decarboxylations from QM/MM Simulations. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 24, p. 8829–8834, 2005.

- (111) Valeur, E.; Bradley, M. Amide Bond Formation: Beyond the Myth of Coupling Reagents. **Chemical Society reviews**, v. 38, n. 2, p. 606–631, 2009.
- (112) Pattabiraman, V. R.; Bode, J. W. Rethinking Amide Bond Synthesis. **Nature**, v. 480, p. 471–479, 2011.
- (113) Mabey, W.; Mill, T. Critical Review of Hydrolysis of Organic Compounds in Water under Environmental Conditions. **Journal of Physical and Chemical Reference Data**, v. 7, n. 2, p. 383–415, 1978.
- (114) McClelland, R. A. Benzamide Oxygen Exchange Concurrent with Acid Hydrolysis. **Journal of the American Chemical Society**, v. 97, n. 18, p. 5281–5282, 1975.
- (115) Morawetz, H.; Shafer, J. Intramolecular Bifunctional Catalysis of Amide Hydrolysis. **Journal of the American Chemical Society**, v. 84, n. 19, p. 3783–3784, 1962.
- (116) Souza, B. S.; Mora, J. R.; Wanderlind, E. H.; Clementin, R. M.; Gesser, J. C.; Fiedler, H. D.; Nome, F.; Menger, F. M. Transforming a Stable Amide into a Highly Reactive One: Capturing the Essence of Enzymatic Catalysis. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 56, n. 19, p. 5345–5348, 2017.
- (117) Menger, F. M. Enzyme Reactivity from an Organic Perspective. **Accounts of Chemical Research**, v. 26, n. 4, p. 206–212, 1993.
- (118) Ciccarone, D. Stimulant Abuse: Pharmacology, Cocaine, Methamphetamine, Treatment, Attempts at Pharmacotherapy. **Primary Care - Clinics in Office Practice**, v. 38, n. 1, p. 41–58, 2011.
- (119) Greene, S. L.; Kerr, F.; Braitberg, G. Review Article: Amphetamines and Related Drugs of Abuse. **EMA - Emergency Medicine Australasia**, v. 20, n. 5, p. 391–402, 2008.
- (120) Santos, A. M. da S.; Rodrigues, B. B.; Venancio, J. C.; Silva, G. B. E.; Ferreira, G. C. O.; Fernandes, T. M. Uso de Drogas Por Caminhoneiros Que Trafegam Na Rodovia Br-153. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 27, p. 27–30, 2017.
- (121) Togni, L. R.; Lanaro, R.; Resende, R. R.; Costa, J. L. The Variability of Ecstasy Tablets Composition in Brazil. **Journal of Forensic Sciences**, v. 60, n. 1, p. 147–151, 2015.
- (122) Lee, J. S.; Han, E. Y.; Lee, S. Y.; Kim, E. M.; Park, Y. H.; Lim, M. A.; Chung, H. S.; Park, J. H. Analysis of the Impurities in the Methamphetamine Synthesized by Three Different Methods from Ephedrine and Pseudoephedrine. **Forensic Science International**, v. 161, p. 209–215, 2006.
- (123) Stojanovska, N.; Fu, S.; Tahtouh, M.; Kelly, T.; Beavis, A.; Kirkbride, K. P. A Review of Impurity Profiling and Synthetic Route of Manufacture of Methylamphetamine, 3,4-Methylenedioxymethylamphetamine, Amphetamine, Dimethylamphetamine and p-

- Methoxyamphetamine. **Forensic Science International**, v. 224, p. 8–26, 2013.
- (124) Kiyatkin, E. A.; Sharma, H. S. Acute Methamphetamine Intoxication: Brain Hyperthermia, Blood-Brain Barrier and Brain Edema. **International Review of Neurobiology**, v. 88, n. 09, p. 65–100, 2009.
- (125) Paratz, E. D.; Cunningham, N. J.; MacIsaac, A. I. The Cardiac Complications of Methamphetamines. **Heart Lung and Circulation** **2016**, 25 (4), 325–332. <https://doi.org/10.1016/j.hlc.2015.10.019>.
- (126) YAMAMOTO, H. The Central Effects of Xylopinine in Mice. **The Japanese Journal of Pharmacology**, v. 13, n. 3, p. 230–239, 2008.
- (127) Winek, C. L.; Wahba, W. W.; Winek C. L. Jr.; Balzer, T. W. Drug and Chemical Blood-Level Data 2001. **Forensic Science International**, v. 122, p. 107–123, 2001.
- (128) Kiely, E.; Lee, C. J.; Marinetti, L. A Fatality from an Oral Ingestion of Methamphetamine. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 33, n. 8, p. 557–560, 2009.
- (129) Kontoghiorghes, C. N.; Kontoghiorghes, G. J. Efficacy and Safety of Iron-Chelation Therapy with Deferoxamine, Deferiprone, and Deferasirox for the Treatment of Iron-Loaded Patients with Nontransfusion-Dependent Thalassemia Syndromes. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 10, p. 465–481, 2016.
- (130) McKay, C. A. Role of Chelation in the Treatment of Lead Poisoning: Discussion of the Treatment of Lead-Exposed Children Trial (TLC). **Journal of Medical Toxicology**, v. 9, n. 4, p. 339–343, 2013.
- (131) Fernandes, L. F. Pesquisadora da UFG desenvolve partícula que reverte overdose por cocaína. Disponível em: <https://jornal.ufg.br/n/116080-pesquisadoras-da-ufg-desenvolvem-particula-que-reverte-overdose-por-cocaina>. Acesso em: 6 Jun 2019.
- (132) Polícia Civil de Santa Catarina. Operação psy trance intercepta quadrilha e fecha laboratório de fabricação de drogas em Santa Catarina. Disponível em: <http://www.pc.sc.gov.br/informacoes/noticias/33-itajai-04-delegacia-regional-de-policia/40965-operacao-psy-trance-prende-pessoas-e-apreende-droga-sintetica>. Acesso em: 28 Mar 2019.
- (133) Wurmeister, F. Teste falha ao indicar que herbicida é cocaína, e homem fica 21 dias preso no Paraná. Disponível em: <https://g1.globo.com/pr/oeste-sudoeste/noticia/teste-indica-que-herbicida-era-cocaina-e-homem-fica-21-dias-presno-no-parana.ghtml>. Acesso em: 6 Jun 2019.
- (134) Alere. Rapid screening for drugs of abuse in oral fluid. Disponível em:

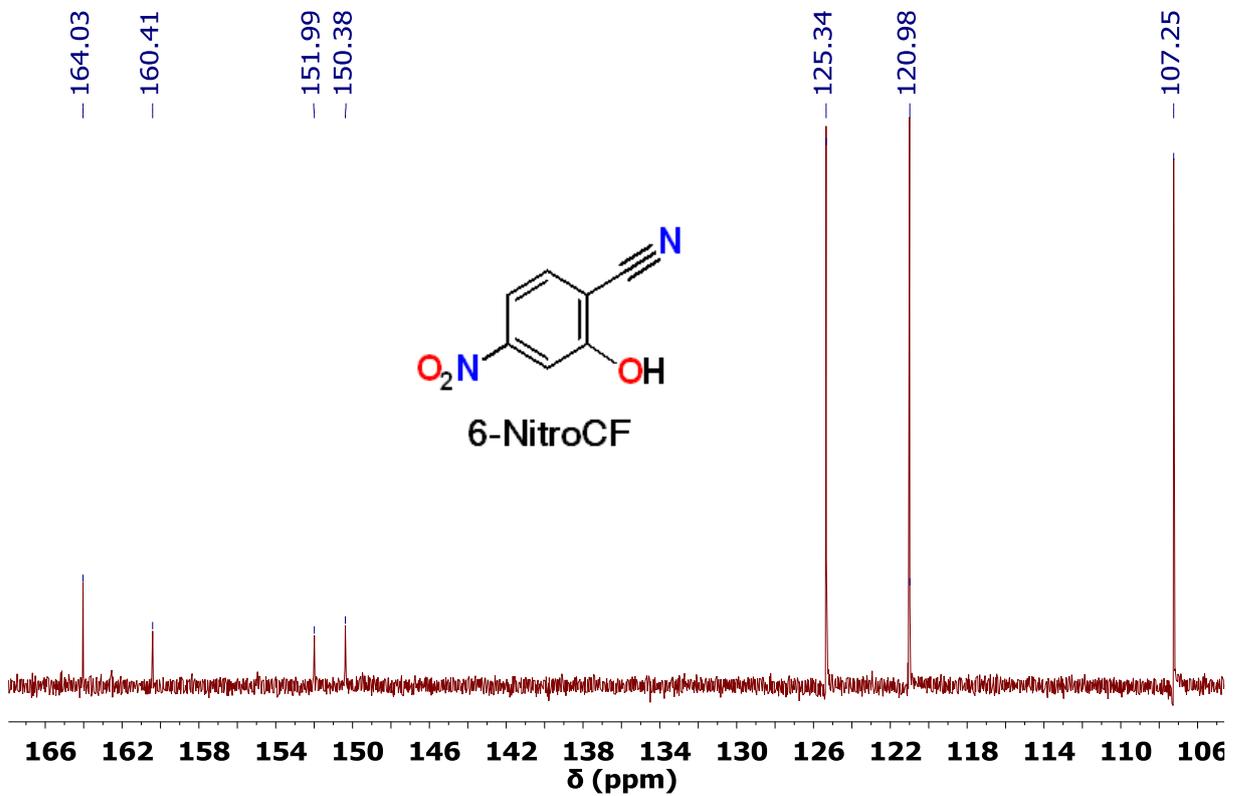
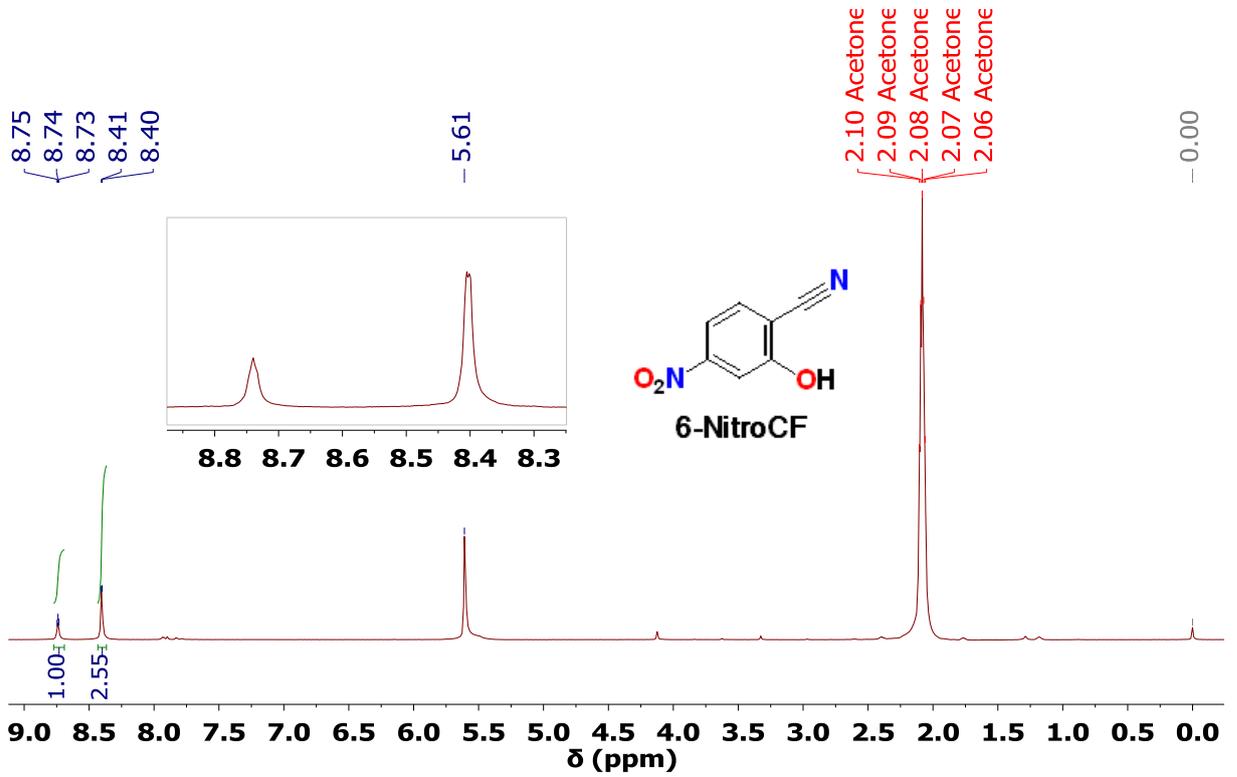
- www.alere.com/en/home/product-details/dds2-mobile-test-system.html. Acesso em: 9 Jun 2019.
- (135) Pechansky, F.; Scherer, J. N.; Schuch, J. B.; Roglio, V.; Telles, Y. M.; Silvestrin, R.; Pasa, G.; Sousa, T. User Experience and Operational Feasibility of Four Point-of-Collection Oral Fluid Drug-Testing Devices According to Brazilian Traffic Agents. **Traffic Injury Prevention**, v. 20, n. 1, p. 30–36, 2019.
- (136) Thordarson, P. Determining Association Constants from Titration Experiments in Supramolecular Chemistry. **Chemical Society Reviews**, v. 40, n. 3, p. 1305–1323, 2011.
- (137) Pall Thordarson. Supramolecular.org. Disponível em: <http://supramolecular.org/>. Acesso em: 10 Mar 2019.
- (138) Marenich, A. V.; Cramer, C. J.; Truhlar, D. G. Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 113, n. 18, p. 6378–6396, 2009.
- (139) Pronk, S.; Páll, S.; Schulz, R.; Larsson, P.; Bjelkmar, P.; Apostolov, R.; Shirts, M. R.; Smith, J. C.; Kasson, P. M.; Van Der Spoel, D.; et al. GROMACS 4.5: A High-Throughput and Highly Parallel Open Source Molecular Simulation Toolkit. **Bioinformatics**, v. 29, n. 7, p. 845–854, 2013.
- (140) Schmid, N.; Eichenberger, A. P.; Choutko, A.; Riniker, S.; Winger, M.; Mark, A. E.; Van Gunsteren, W. F. Definition and Testing of the GROMOS Force-Field Versions 54A7 and 54B7. **European Biophysics Journal**, v. 40, n. 7, p. 843–856, 2011.
- (141) Berendsen, H. J. C.; Grigera, J. R.; Straatsma, T. P. The Missing Term in Effective Pair Potentials. **Journal of Physical Chemistry**, v. 91, n. 24, p. 6269–6271, 1987.
- (142) Darden, T.; York, D.; Pedersen, L. Particle Mesh Ewald: An  $N \cdot \log(N)$  Method for Ewald Sums in Large Systems. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 12, p. 10089–10092, 1993.
- (143) Wiklund, P.; Romero, I.; Bergman, J. Products from Dehydration of Dicarboxylic Acids Derived from Anthranilic Acid. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 1, n. 19, p. 3396–3403, 2003.
- (144) Gutz, I. G. R. CurTiPot. Disponível em: <http://www.iq.usp.br/gutz/Curtipot.html>. Acesso em: 5 Mar 2019.
- (145) Grzyska, P. K.; Czyryca, P. G.; Purcell, J.; Hengge, A. C. Transition State Differences in Hydrolysis Reactions of Alkyl versus Aryl Phosphate Monoester Monoanions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 43, p. 13106–13111, 2003.

- (146) Zipse, H.; Apaydin, G.; Houk, K. N. A Quantum Mechanical and Statistical Mechanical Exploration of the Thermal Decarboxylation of Kemp's Other Acid (Benzisoxazole-3-Carboxylic Acid). The Influence of Solvation on the Transition State Geometries and Kinetic Isotope Effects of a Reaction With an Awesome Solvent Effect. **Journal of the American Chemical Society**, v. 117, n. 33, p. 8608–8617, 1995.
- (147) Gao, J. An Automated Procedure for Simulating Chemical Reactions in Solution. Application to the Decarboxylation of 3-Carboxybenzisoxazole in Water. **Journal of the American Chemical Society**, v. 117, n. 33, p. 8600–8607, 1995.
- (148) Khoshooei, M. A.; Fazlollahi, F.; Maham, Y.; Hassan, A.; Pereira-almao, P. A Review on the Application of Differential Scanning Calorimetry (DSC) to Petroleum Products: Wax Crystallization Study and Structural Analysis. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2019.
- (149) Brill, T. B.; James, K. J. Kinetics and Mechanisms of Thermal Decomposition of Nitroaromatic Explosives. **Chemical Reviews**, v. 93, n. 8, p. 2667–2692, 1993.
- (150) Constantinou, C. P.; Mukundan, T.; Chaudhri, M. M.; Cooper, J. Sensitization of Nitrocompounds by Amines. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A: Physical and Engineering Sciences**, v. 339, n. 339, p. 403–417, 1992.
- (151) Ando, T.; Fujimoto, Y.; Morisaki, S. Analysis of Differential Scanning Calorimetric Data for Reactive Chemicals. **Journal of Hazardous Materials**, v. 28, n. 3, p. 251–280, 1991.
- (152) Turner, J.; Soper, A. K.; Finney, J. L. Water Structure in Aqueous Solutions of Tetramethylammonium Chloride. **Molecular Physics**, v. 77, n. 3, p. 411–429, 1992.
- (153) Nilsson, E. J.; Alfredsson, V.; Bowron, D. T.; Edler, K. J. A Neutron Scattering and Modelling Study of Aqueous Solutions of Tetramethylammonium and Tetrapropylammonium Bromide. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 18, n. 16, p. 11193–11201, 2016.
- (154) Wirth, H. E. Equilibria in Solutions of Tetraalkylammonium Bromides. **Journal of Physical Chemistry**, v. 71, n. 9, p. 2922–2929, 1967.
- (155) Shulman, H.; Keinan, E. Catalysis of the Kemp Elimination by Natural Coals. **Organic Letters**, v. 2, n. 23, p. 3747–3750, 2000.
- (156) Gómez, B.; Francisco, V.; Fernández-Nieto, F.; Garcia-Rio, L.; Martín-Pastor, M.; Paleo, M. R.; Sardina, F. J. Host-Guest Chemistry of a Water-Soluble Pillar[5]Arene:

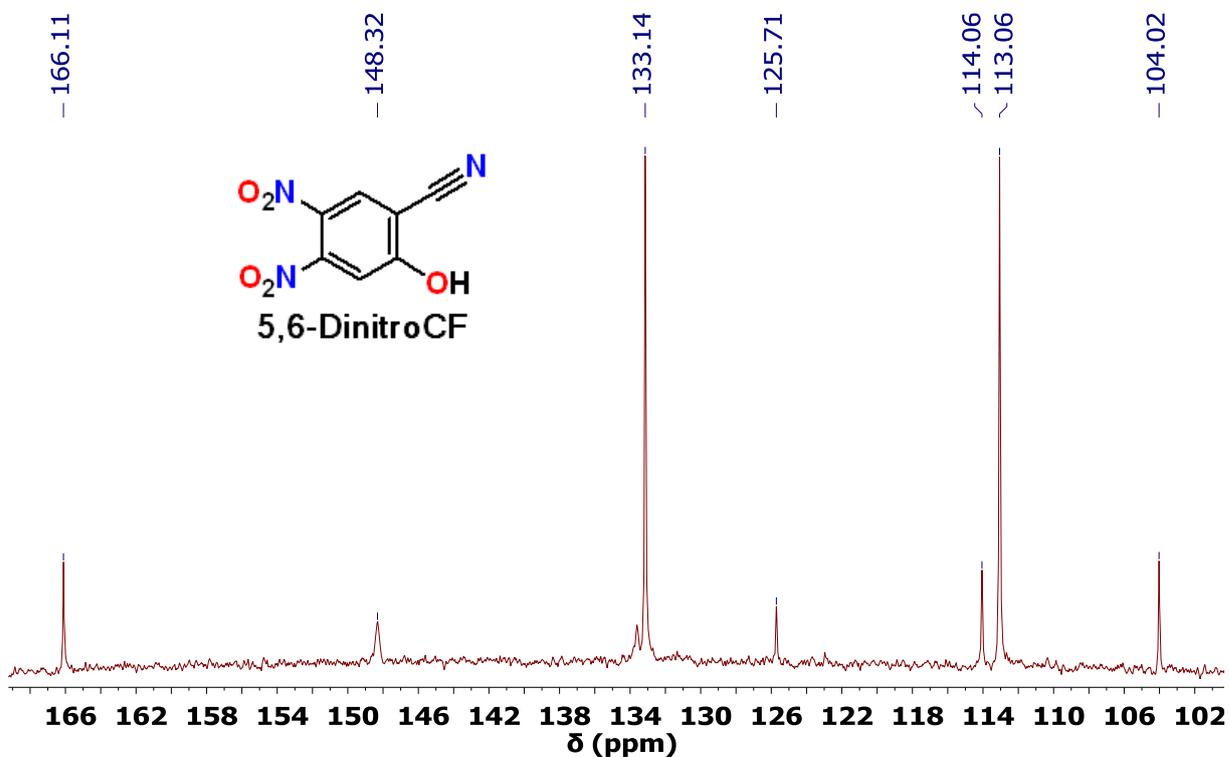
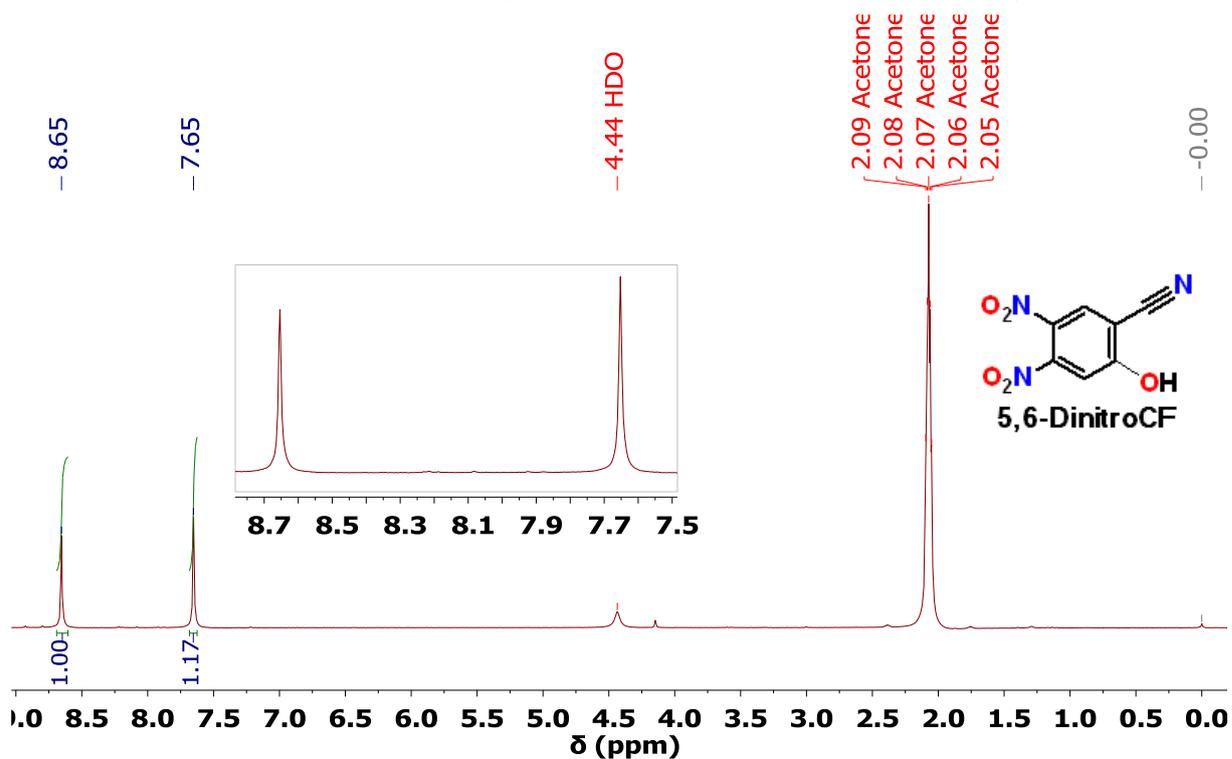
- Evidence for an Ionic-Exchange Recognition Process and Different Complexation Modes. **Chemistry - A European Journal**, v. 20, n. 38, p. 12123–12132, 2014.
- (157) Bjelic, S.; Åqvist, J. Catalysis and Linear Free Energy Relationships in Aspartic Proteases. **Biochemistry**, v. 45, n. 25, p. 7709–7723, 2006.
- (158) Choi, J. H.; Laurent, A. H.; Hilser, V. J.; Ostermeier, M. Design of Protein Switches Based on an Ensemble Model of Allostery. **Nature Communications**, v. 6, 2015.
- (159) Pastra-Landis, S. C.; Evans, D. R.; Lipscomb, W. N.; Lipscomb, N. The Effect of PH on the Cooperative Behavior of Aspartate Transcarbamylase from Escherichia Coli\*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 253, p. 4624–4630, 1978.
- (160) Maurer, D.; Lohkamp, B.; Krumpel, M.; Widersten, M.; Dobritsch, D. Crystal Structure and PH-Dependent Allosteric Regulation of Human  $\beta$ -Ureidopropionase, an Enzyme Involved in Anticancer Drug Metabolism. **Biochemical Journal**, v. 475, n. 14, p. 2395–2416, 2018.
- (161) Dodziuk, H.; Nowinski, K. S.; Kozminski, W.; Dolgonos, G. On the Impossibility of Determination of Stepwise Binding Constants for the 1:2 Complex of (+)-Camphor with  $\alpha$ -Cyclodextrin. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 1, n. 3, p. 581–584, 2003.
- (162) Ulatowski, F.; Dabrowa, K.; Bałakier, T.; Jurczak, J. Recognizing the Limited Applicability of Job Plots in Studying Host-Guest Interactions in Supramolecular Chemistry. **Journal of Organic Chemistry**, v. 81, n. 5, p. 1746–1756, 2016.
- (163) Sedaghat Doost, A.; Akbari, M.; Stevens, C. V.; Setiowati, A. D.; Van der Meeren, P. A Review on Nuclear Overhauser Enhancement (NOE) and Rotating-Frame Overhauser Effect (ROE) NMR Techniques in Food Science: Basic Principles and Applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 86, p. 16–24, 2019.
- (164) Sun, Y. L.; Yang, Y. W.; Chen, D. X.; Wang, G.; Zhou, Y.; Wang, C. Y.; Stoddart, J. F. Mechanized Silica Nanoparticles Based on Pillar[5]Arenes for on-Command Cargo Release. **Small**, v. 9, n. 19, p. 3224–3229, 2013.
- (165) Acura Pharmaceuticals Inc. IMPEDE® Technology. Disponível em: <http://acurapharm.com/platforms/impede-technology/>. Acesso em: 2 Jun 2019.
- (166) Joshi, S. C. Sol-Gel Behavior of Hydroxypropyl Methylcellulose (HPMC) in Ionic Media Including Drug Release. **Materials**, v. 4, n. 10, p. 1861–1905, 2011.
- (167) Kiely, E.; Lee, C. J.; Marinetti, L. A Fatality From an Oral Ingestion of Methamphetamine. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 33, p. 557–560, 2009.
- (168) Dasgupta, S.; Chowdhury, A.; Mukherjee, P. S. Binding of Carboxylatopillar[5]arene with alkyl and aryl ammonium salts in aqueous medium. **RSC Advances**, v. 5, p. 85791–

- 85798, 2015.
- (169) Ihnat, P. M.; Vennerstrom, J. L.; Robinson, D. H. Solution Equilibria of Deferoxamine Amides. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 91, n. 7, p. 1733–1741, 2002.
- (170) Tan, L. L.; Li, H.; Zhou, Y.; Zhang, Y.; Feng, X.; Wang, B.; Yang, Y. W. Zn<sup>2+</sup>-Triggered Drug Release from Biocompatible Zirconium MOFs Equipped with Supramolecular Gates. **Small**, v. 11, n. 31, p. 3807–3813, 2015.

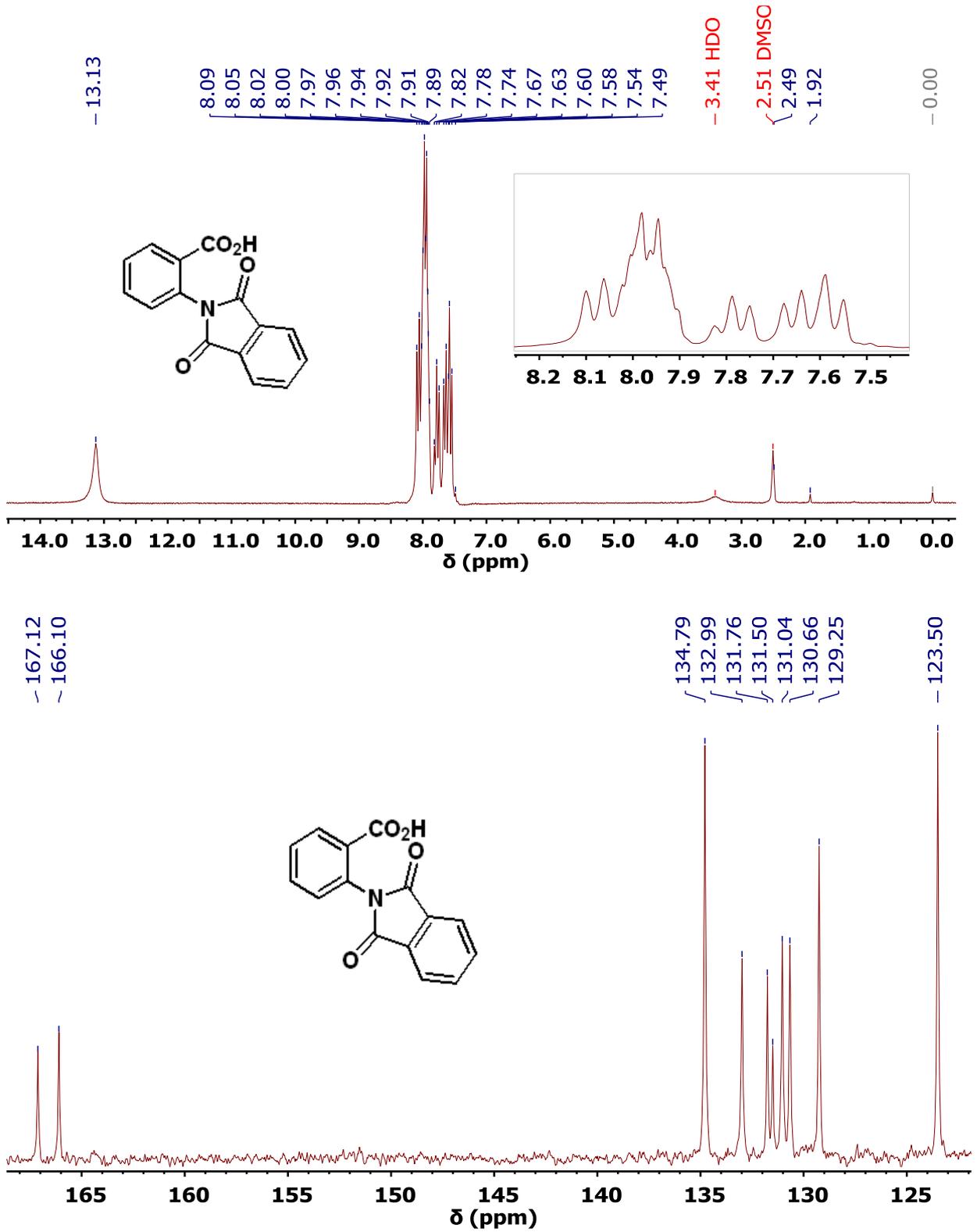
APÊNDICE A - Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do 6-NitroCF, o produto de descarboxilação do 6-NitroCBI (Acetona- $\text{D}_6$ ; 200 MHz; TMS; 25,0 °C).



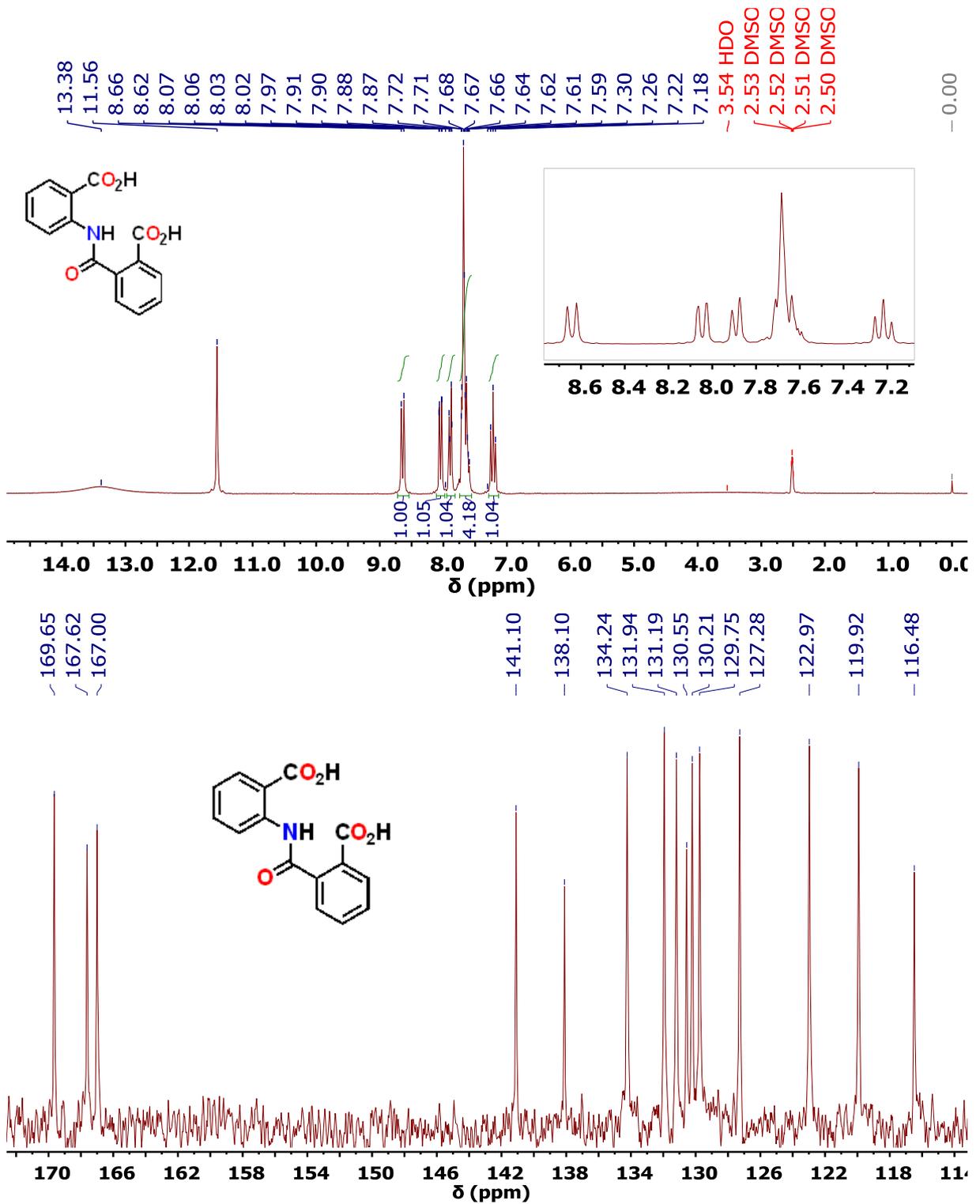
**APÊNDICE B - Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do 5,6-DinitroCF, o produto de descarboxilação do 5,6-DinitroCBI (Acetona- $\text{D}_6$ ; 200 MHz; TMS; 25,0 °C).**



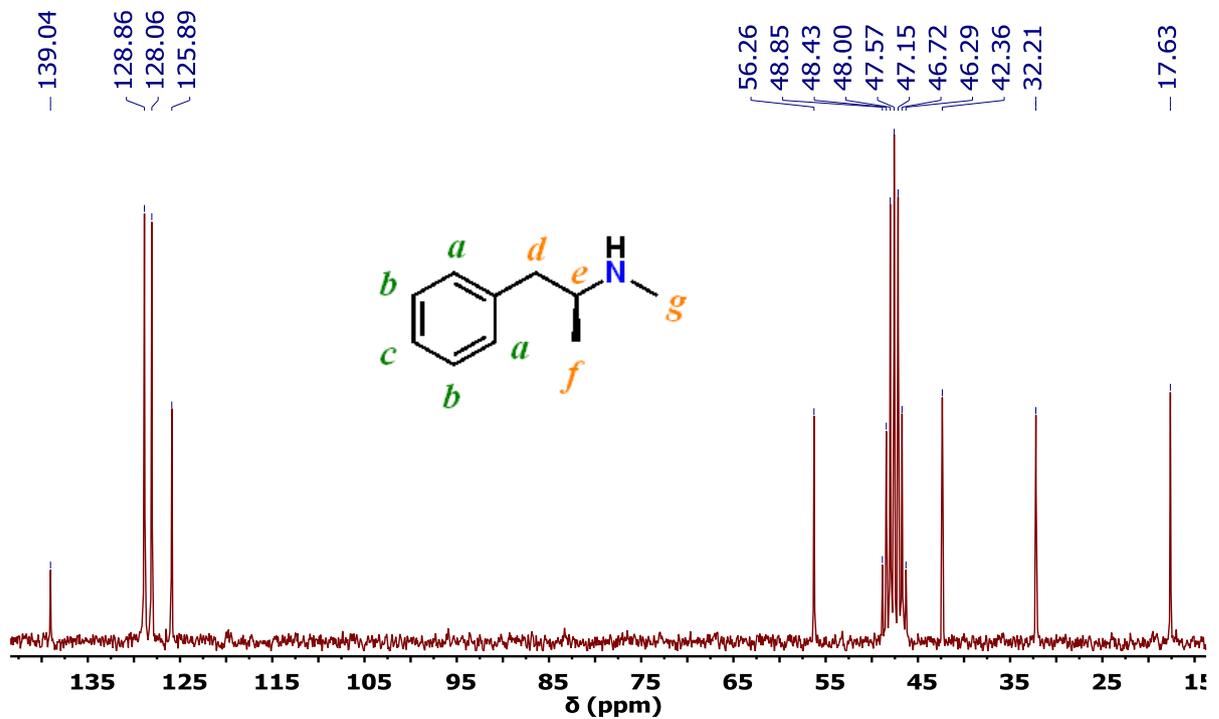
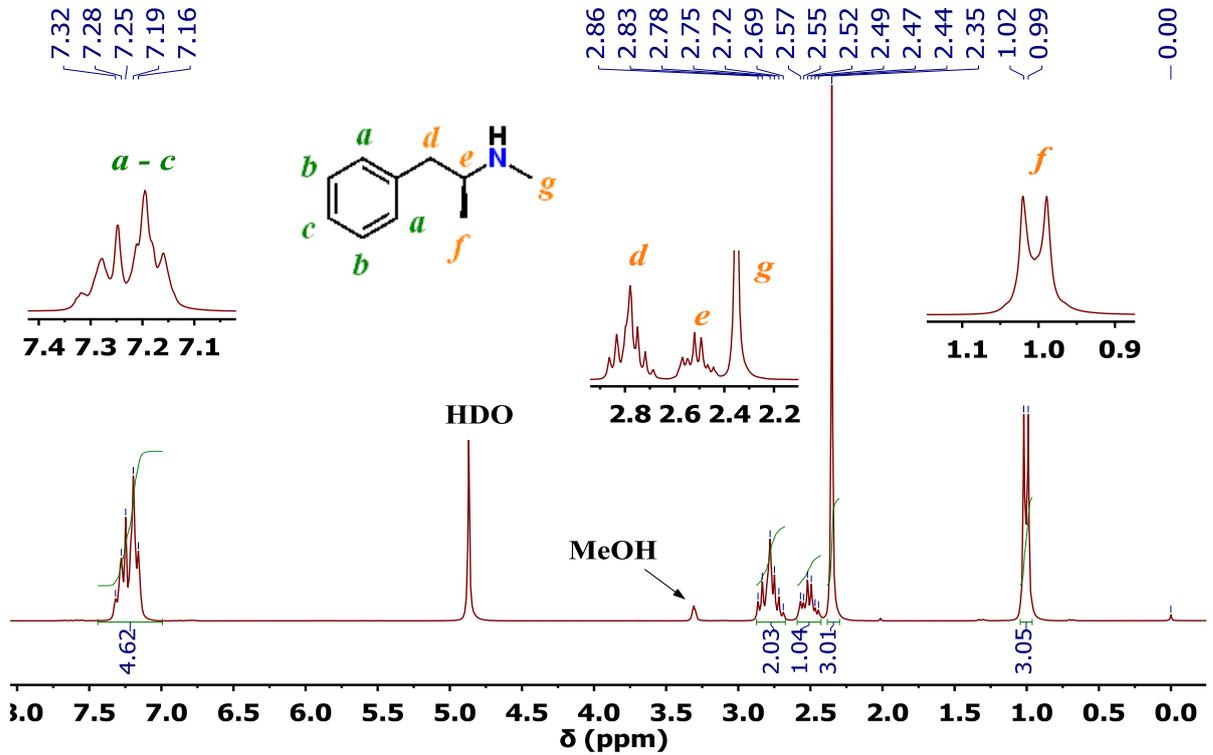
APÊNDICE C - Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do ácido 2-ftaloimidobenzóico (DMSO- $\text{D}_6$ ; 200 MHz; TMS; 25,0 °C).



APÊNDICE D - Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do ácido 2-carboxiftalanílico ou CPA (DMSO- $\text{D}_6$ ; 200 MHz; TMS; 25,0 °C).

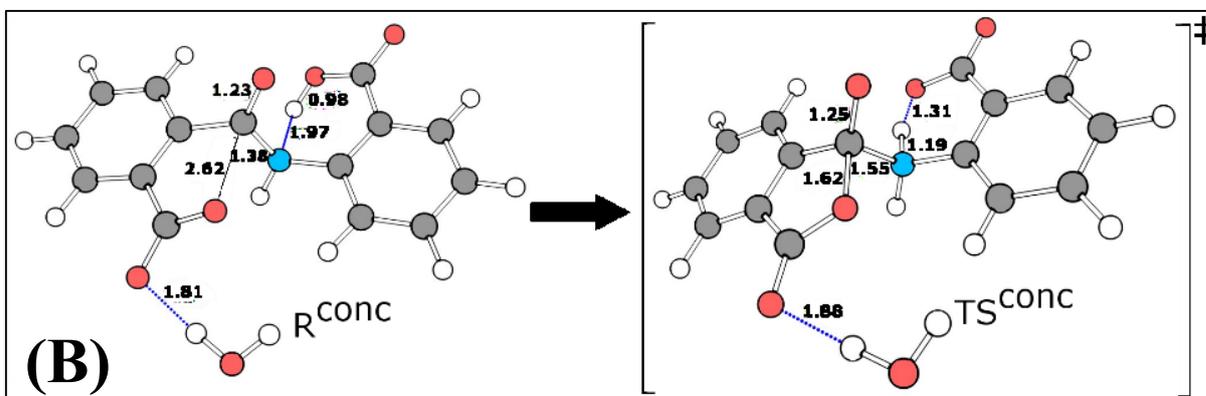
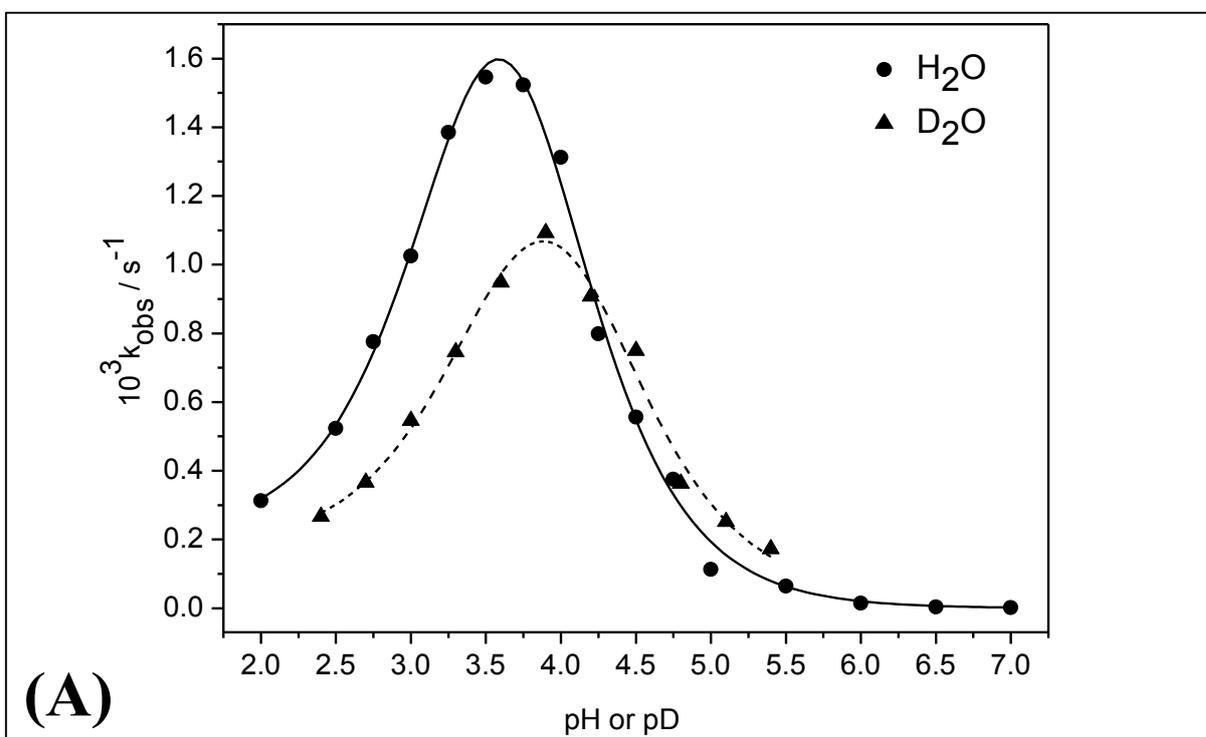


APÊNDICE E - Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  da metanfetamina (MeOD- $\text{D}_4$ ; 200 MHz; TMS; 25,0 °C).



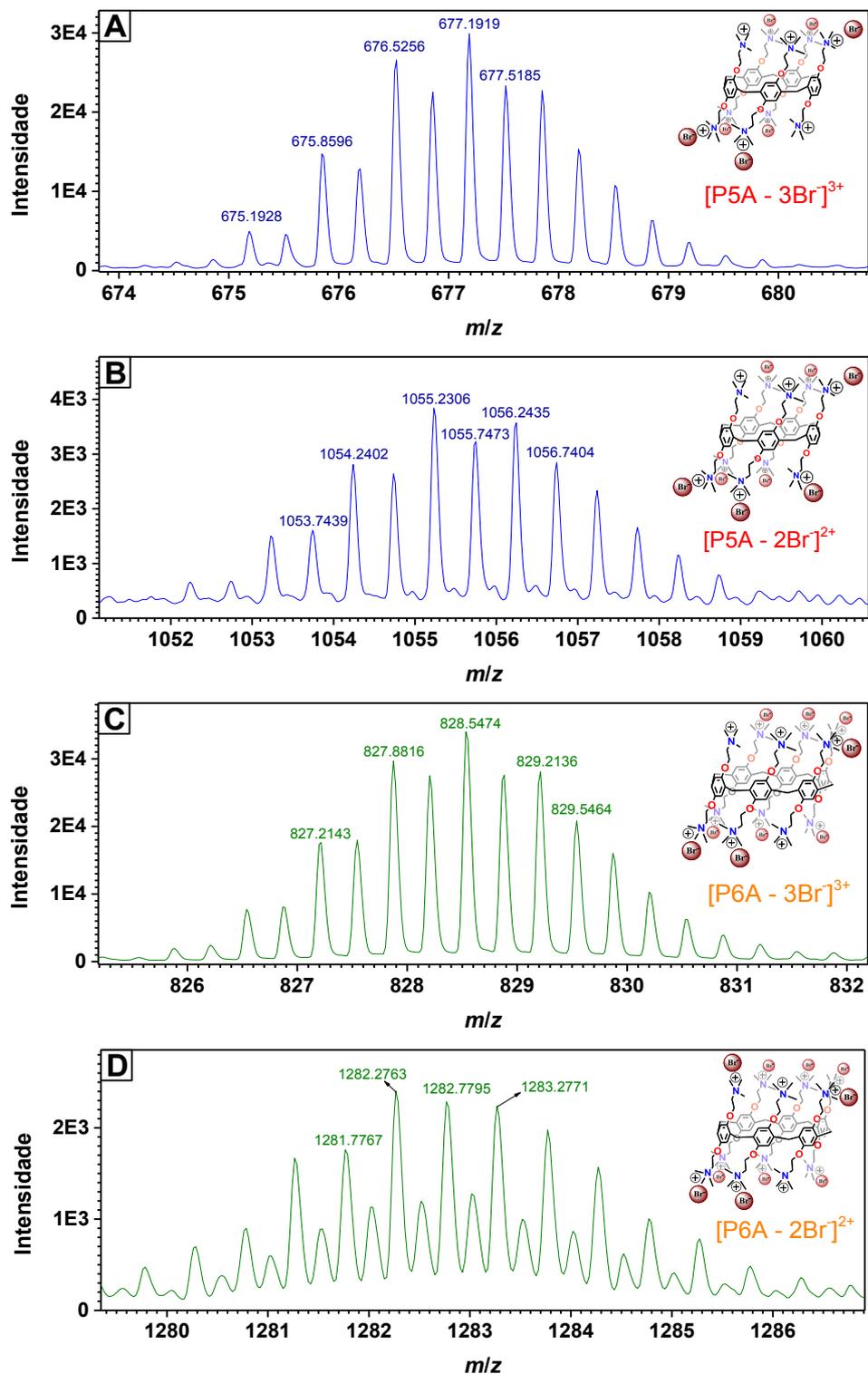
APÊNDICE F - Gráfico de  $k_{\text{obs}}$  vs. pH/pD para a decomposição do CPA em água à 25,0 °C (A). Mecanismo concertado para a decomposição da espécie reativa CPAH<sup>-</sup>, calculado com o nível de teoria M06/PCM-SMD/6-311++G(d,p) (B).

As figuras abaixo representam as evidências experimentais (cinética por UV-Vis) e teóricas (cálculos computacionais) para a catálise intramolecular bifuncional do CPA, um mecanismo concertado com a simultânea transferência de próton e ataque nucleofílico promovidos por seus dois grupos carboxila ( $k_w/k_D = 1,90$ ).



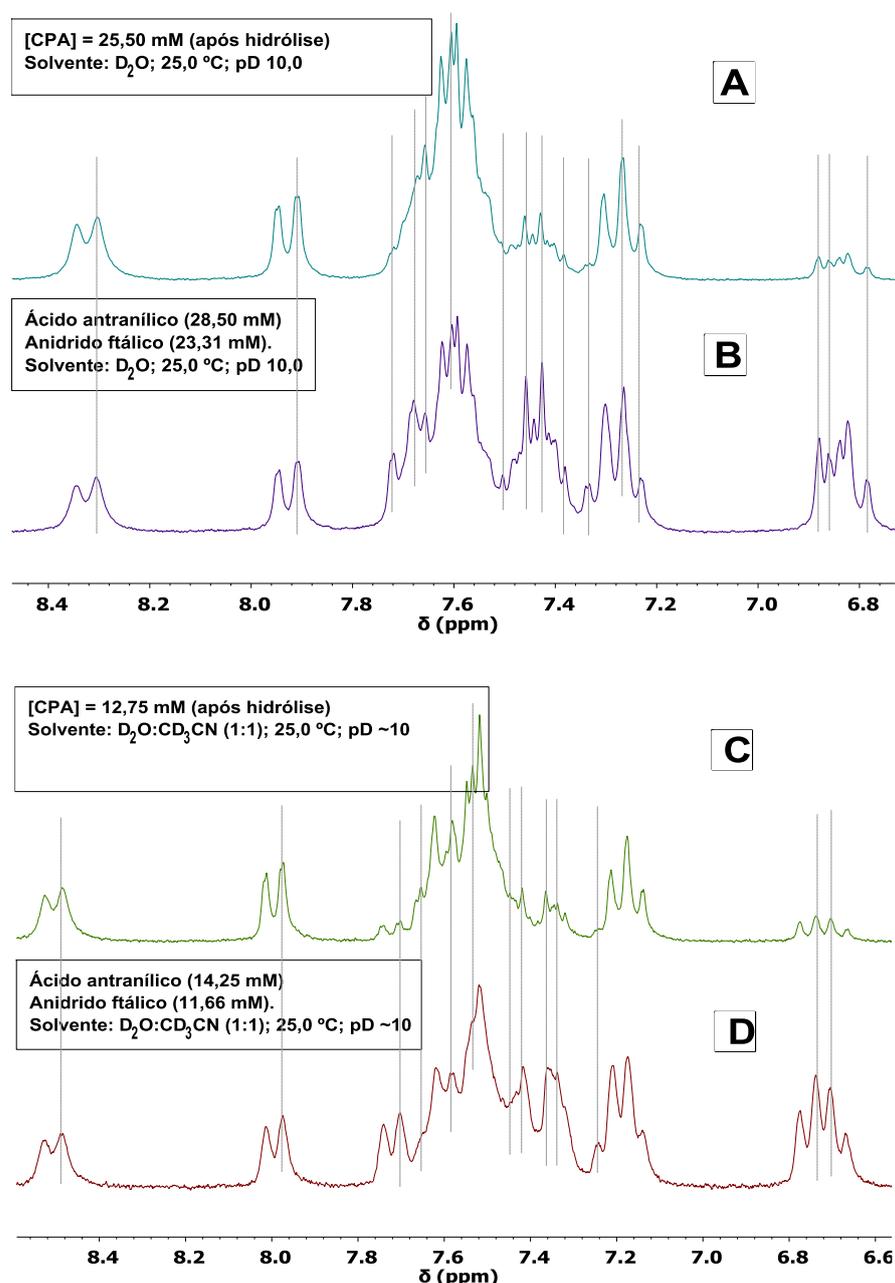
## APÊNDICE G - Fragmentogramas de HRMS/ESI-TOF obtidos para soluções aquosas do P5A (A e B) e P6A (C e D).

Os fragmentogramas de HRMS dos pilararenos foram obtidos num espectrômetro de massas Bruker Daltonics – micrOTOF-Q II/ESI-Qq-TOF.



**APÊNDICE H - Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  de soluções aquosas do CPA hidrolisado (A) e de uma mistura de ácido antranílico e anidrido ftálico (B). Adicionou-se acetonitrila tanto na solução do CPA hidrolisado (C) quanto na mistura do ácido antranílico e anidrido ftálico (D) (200 MHz; 25,0 °C; TMS $^+$ ).**

Os produtos da hidrólise do CPA foram confirmados primeiramente pela comparação entre os espectros **A** e **B**, correspondendo à soluções aquosas do CPA totalmente hidrolisado (25,50 mM) e uma mistura de ácido antranílico (28,50 mM) e anidrido ftálico (23,31 mM), respectivamente. Para confirmação, nas mesmas amostras foram adicionados acetonitrila para observar a variação dos deslocamentos químicos dos hidrogênios aromáticos (espectros **C** e **D**).



**APÊNDICE I - ECZ/DAD-UV eletroferogramas do CPA totalmente hidrolisado (A), ácido antranílico (B) e anidrido ftálico (C), em 25,0 °C e pH ~9,50.**

Os produtos da hidrólise do CPA também foram confirmados por análises de eletroforese capilar num equipamento Agilent HP 3D com detector UV ajustado em 214 nm.

