



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS (UFG)
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

MEIRY EDIVIRGES ALVARENGA

**Calixarenos como plataforma de
luminóforos e de co-cristalização com
nutracêuticos**

Goiânia
2024



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

Meiry Edivirges Alvarenga

3. Título do trabalho

Calixarenos como plataforma de luminóforos e de co-cristalização com nutracêuticos

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **Felipe Terra Martins, Professor do Magistério Superior**, em 11/04/2024, às 07:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Meiry Edvirges Alvarenga, Usuário Externo**, em 24/04/2024, às 16:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4504025** e o código CRC **5C43FE38**.

MEIRY EDIVIRGES ALVARENGA

Calixarenos como plataforma de luminóforos e de co-cristalização com nutracêuticos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química, da Universidade Federal de Goiás (UFG), como requisito para obtenção do título de Doutor em Química.

Área de concentração: Química.

Linha de pesquisa: Cristalografia

Orientador: Prof. Dr. Felipe Terra Martins

Goiânia
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Alvarenga, Meiry Edivirges

Calixarenos como plataforma de luminóforos e de co-cristalização com nutracêuticos [manuscrito] / Meiry Edivirges Alvarenga. - 2024. LXIX, 69 f.

Orientador: Prof. Felipe Terra Martins.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Química (IQ), Programa de Pós-Graduação em Química, Goiânia, 2024.

Bibliografia. Anexos. Apêndice.

Inclui tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. calixareno - pirazinamida. 2. luminescência. 3. calix[4]tubo. 4. nutracêutico. 5. resveratrol. I. Martins, Felipe Terra, orient. II. Título.

CDU 546



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

INSTITUTO DE QUÍMICA

ATA DE DEFESA DE TESE

Ata nº 161 da sessão da Defesa de Doutorado de **Meiry Edvirges Alvarenga**, que confere o título de **Doutora em Química**, na área de concentração em **Química**.

Aos **15 (quinze) dias do mês de agosto de 2023 (dois mil e vinte e três)**, a partir das **08h00m**, via **videoconferência**, realizou-se a sessão pública da Defesa de Doutorado intitulada "Calixarenos como plataforma de luminóforos e de co-cristalização com nutracêuticos". Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, **Prof. Dr. Felipe Terra Martins (UFG)**, com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Prof. Dr. Antonio Carlos Doriguetto (UNIFAL-MG); Prof. Dr. João Honorato de Araujo Neto (USP); Prof. Dr. Sauli dos Santos Júnior (UFG) e; Prof.^a Dra. Danielle Cangussu de Castro Gomes (UFG). Durante a arguição, os membros da banca não fizeram sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Defesa de Doutorado, tendo sido a candidata **aprovada** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo **Prof. Dr. Felipe Terra Martins, Presidente da Banca Examinadora**, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos 15 (quinze) dias do mês de agosto de 2023 (dois mil e vinte e três).

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **Danielle Cangussu De Castro Gomes, Professora do Magistério Superior**, em 10/04/2024, às 16:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Felipe Terra Martins, Professor do Magistério Superior**, em 11/04/2024, às 07:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sauli Dos Santos Junior, Professor do Magistério Superior**, em 16/04/2024, às 13:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **JOAO HONORATO DE ARAUJO NETO, Usuário Externo**, em 16/04/2024, às 13:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Antonio Carlos Doriguetto, Usuário Externo**, em 17/04/2024, às 13:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4503755** e o código CRC **412C50C7**.

Referência: Processo nº 23070.041668/2023-83

SEI nº 4503755

Dedicatória

Aos meus pais José Adão e Maria Aparecida que sempre contribuíram e me incentivaram na jornada acadêmica. Me mostrando que com fé e amor tudo se torna possível.

Agradecimentos

Agradeço a Deus, pois Ele sempre está comigo.

Ao Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás pela oportunidade oferecida.

Estendo meus sinceros agradecimentos ao meu orientador, ao Dr. Felipe Terra Martins. Sua confiança, orientação e conhecimentos foram essenciais para a execução deste trabalho. Agradeço por sua paciência e amizade ao longo desses seis anos, bem como pela humanidade e compreensão demonstradas. Seu papel como um excepcional orientador e pesquisador tem sido inestimável para o meu desenvolvimento.

Aos Dr. Ângelo de Fátima e Dr. Cleiton Moreira da Silva (GEQOB- UFMG) pela colaboração e por fornecer amostras dos compostos orgânicos abordados neste trabalho.

A Dra. Ana Karoline Silva Mendanha Valdo pela colaboração, pelos conhecimentos transmitidos, e principalmente pela paciência e companheirismo durante a realização deste trabalho.

A Dra. Ângela Leão Andrade e Dra. Viviane Martins Rebello dos Santos, agradeço pela oportunidade que me deram na Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP-MG). A confiança que depositaram em mim ao me permitir iniciar minha jornada de pesquisa, extensão e ensino de química foi um marco fundamental em minha carreira acadêmica.

Agradeço ao Rogério Dias Guerreiro, que é meu companheiro de todas as horas. A minha família, em especial ao meu pai (José Adão de Alvarenga) e minha mãe (Maria Aparecida de Alvarenga Amaral) e meus irmãos (Imaculada Aparecida de Alvarenga e Márcio José Amaral), e todos aqueles que sempre acreditaram em mim, incentivando e apoiando em seguir carreira acadêmica.

Aos meus amigos do LPDC, agradeço todas as discussões, conselhos, paciência, ajudas e momentos de descontração que deixaram tudo mais leve.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação pela política de incentivo à produção científica acadêmica. A CAPES pela bolsa de doutorado e a FAPEG pelos auxílios financeiros.

“Você não pode esperar construir um mundo melhor sem melhorar os indivíduos. Para que tal aconteça, cada um de nós deve trabalhar para o seu próprio aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, compartilhar um dever geral para com a humanidade, sendo nossa particular obrigação ajudar aqueles a quem pensamos que podemos ser mais úteis.”

Marie curie

RESUMO

Os calixarenos são compostos macrocíclicos notáveis por possuírem uma quantidade variável de unidades fenólicas ligadas por pontes metilênicas, possuem uma série de características vantajosas que os tornam uma escolha ideal para diversas aplicações. Sua facilidade de obtenção em larga escala, a partir de precursores de baixo custo, aliada à sua estabilidade química e térmica, além da facilidade de funcionalização, elevam os calixarenos ao status de plataformas extremamente versáteis. Eles podem ser utilizados no desenvolvimento de uma ampla gama de materiais com potenciais aplicações em áreas tecnológicas e farmacológicas. Com base nas propriedades de hóspede-hospedeiro dos calixarenos e na alta eficiência da aminopirazina como emissor de luz azul, esta pesquisa focou-se na investigação de dois híbridos de calixareno-pirazinamida. O objetivo principal era unir as capacidades de hospedagem e a emissão de luz em uma única estrutura molecular. Dois compostos renderam três formas cristalinas luminescentes, cujas estruturas e propriedades óticas puderam ser correlacionadas. Um deles cristalizou em duas formas, não solvatada e um solvato DMF, enquanto o outro, sem substituições de t-butil, formou três conformeros com DMF. As variações na substituição molecular afetaram a conformação das estruturas, influenciando a coplanaridade e o perfil conformacional dos anéis fenólicos. Sob motivação de 388 nm, ambos emitiram luz na faixa de 400-550 nm, com pico em cerca de 500 nm, mas com eficiências quânticas baixas. A baixa eficiência foi atribuída à presença do DMF e às interações de empilhamento do tipo $\pi\cdots\pi$. Outro objetivo desta pesquisa foi explorar uso do calix[4]tubo na formação de co-cristais com resveratrol, um nutracêutico ativo reconhecido por seus potenciais benefícios antibacterianos, antioxidantes, anti-inflamatórios e anticarcinogênicos, porém, de baixa solubilidade aquosa. Este trabalho representa a primeira tentativa bem-sucedida de formação de um co-cristal de resveratrol em seu estado neutro, dobrou a sua solubilidade em água. Em suma, este estudo representa um avanço significativo no uso de calixarenos como bases moleculares de grupos luminóforos e na cristalização do nutracêutico resveratrol. O processo empregado futuras aplicações em campos tecnológicos e farmacêuticos. Portanto, a pesquisa foca na síntese de híbridos calixareno com propriedades de emissão de luz e no desenvolvimento de co-cristais para melhorar a solubilidade de compostos candidatos a fármacos, demonstrando a versatilidade dos calixarenos em diferentes áreas da química.

Palavras-chave: calixareno - pirazinamida, luminescência, calix[4]tubo, nutracêutico, resveratrol.

ABSTRACT

Calixarenes are notable macrocyclic compounds characterized by a variable number of phenolic units linked by methylene bridges. They possess a series of advantageous features, making them an ideal choice for diverse applications. Their ease of large-scale production from low-cost precursors, coupled with their chemical and thermal stability, as well as the ease of functionalization, elevate calixarenes to the status of highly versatile platforms. They can be utilized in the development of a broad range of materials with potential applications in technological and pharmacological areas. Based on the host-guest properties of calixarenes and the high efficiency of aminopyrazine as a blue light emitter, this research focused on the investigation of two calixarene-pyrazinamide hybrids. The primary goal was to combine hosting capabilities and light emission in a single molecular structure. Two compounds yielded three luminescent crystalline forms, whose structures and optical properties could be correlated. One of them crystallized in two forms, non-solvated and a DMF solvate, while the other, without t-butyl substitutions, formed three conformers with DMF. Variations in molecular substitution affected the conformation of the structures, influencing the coplanarity and conformational profile of the phenolic rings. Under an excitation of 388 nm, both emitted light in the 400-550 nm range, peaking at around 500 nm, but with low quantum efficiency. The low efficiency was attributed to the presence of DMF and $\pi\cdots\pi$ stacking interactions. Another aim of this research was to explore the use of calix[4]tube in forming cocrystals with resveratrol, an active nutraceutical known for its potential antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory, and anticarcinogenic benefits, yet with low aqueous solubility. This work represents the first successful attempt to form a neutral-state resveratrol cocrystal, doubling its water solubility. In summary, this study signifies a significant advancement in using calixarenes as molecular bases for luminophores and in the crystallization of the nutraceutical resveratrol. The employed process proved commercially viable, underlining the immense potential of these methods for future applications in technological and pharmaceutical fields. Therefore, the research focuses on the synthesis of calixarene hybrids with light-emitting properties and the development of cocrystals to enhance the solubility of pharmaceutical compounds, demonstrating the versatility of calixarenes in various areas of chemistry.

Keywords: Co-crystallization, calixarene-pyrazinamide, calix[4]tube, nutraceutical, resveratrol.

Lista de Figuras

Figura 2. 1. Estrutura básica do calix[4]areno com grupos funcionais nas coroas superior e inferior.	4
Figura 2. 2. Possíveis conformações para o p-terc-butilcalix[4]areno. Cone, cone parcial, 1,2-alternada e 1,3-alternada cone, cone parcial, 1,2-alternada e 1,3-alternada (GUTSCHE, 2008).	4
Figura 2. 3. Estruturas dos ácidos p-sulfônico calix[4]areno (CX ₄ SO ₃ H) e p-sulfônico calix[6]areno (CX ₆ SO ₃ H) (VAREJÃO et al., 2013).	5
Figura 2. 4. Representação esquemática do modo de inclusão do tipo hóspede-hospedeiro (REIS, 2014).	6
Figura 2. 5. (a) Visão geral do empacotamento cristalino do co-cristal de 2-(2-tienil)-1,3- benzotiazol com tetra(carboximetoxi)calix[4]areno. (b-d) Detalhes das principais interações intermoleculares responsáveis pela estruturação do co-cristal (ALVARENGA et al., 2019).	8
.....	9
Figura 2. 6. a) Estrutura do tetra(carboximetoxi)calix[4]areno (MARTINS et al., 2016). b) Calix [4]tubo, composto por duas unidades de tetra(carboximetoxi)calix[4]areno, com três íons de Na ⁺ inclusos, e as respectivas ligações de hidrogênio clássicas CH...O encontradas nos grupos carboximetoxi parcialmente desprotonado (ALVARENGA et al., 2019).	9
Figura 2. 7. Estrutura química cis-resveratrol e trans-resveratrol.	11
Figura 2. 8. Representação esquemática do diagrama de Jablonski envolvendo os processos de luminescência. Adaptado (LAKOWICZ, 2006).	11
Figura 2. 9. Diagrama ilustrando os possíveis estados de spin dos elétrons no orbitais moleculares, a) estado fundamental b) singleto (elétrons no estado excitado com spins opostos) c) tripleto (elétrons no estado excitado com spins emparelhados).	12
Figura 2.10. Estruturas químicas dos diferentes núcleos diazina.	13
Figura 2. 11. Representação simplificada do monômero obtido.	13
Figura 2. 12. Estrutura química do calixareno-pirazinamida.	15
Equação 1. As energias dos monômeros 1 e 2 são subtraídas da energia total da molécula. (3-1)	22
Figura 4. 1. A unidade assimétrica do calixareno-pirazinamida em 1 foi apresentada com as indicações dos átomos de oxigênio e nitrogênio da molécula. Os átomos não-	

Lista de Figuras

hidrogenóides foram ilustrados com elipsoides a 30% de probabilidade, enquanto os átomos de hidrogênio.	28
Figura 4.2. A unidade assimétrica do híbrido calixareno-pirazinamida em 2 foi apresentada, com os rótulos dos átomos de oxigênio e nitrogênio da molécula. Os átomos não-hidrogenóides foram ilustrados com elipsóides a 30% de probabilidade, enquanto os átomos de hidrogênio foram omitidos.....	29
Figura 4. 4. Sobreposição molecular entre a estrutura teórica (M062X/ Def2TZV) e as geometrias cristalinas dos híbridos calixareno-pirazinamida em 1 (RMSD), para a sobreposição de átomos não hidrogenóides, incluindo 2 (solvato de DMF) que foi otimizado. Para 1 , o valor foi de 0,989 Å; e para 2 , foi de 0,831 Å.	32
Figura 4. 5. O empacotamento cristalino da forma cristalina 1 possui a formação de dímeros centrossimétricos nos quais as moléculas estavam auto-incluídas na coroa da outra molécula. Os contatos do tipo CH. . . π ocorrem entre uma parte t-butil de uma molécula e os quatro anéis fenólicos da outra molécula.....	32
Figura 4.6. As ligações de hidrogênio intermoleculares clássicas NH. . . O entre os grupos amina e carbonila das moléculas relacionadas centrossimetricamente atuam como ramificações, mantendo-as lateralmente unidas no dímero.....	32
Figura 4. 9. Superposição molecular entre as moléculas do híbrido calixareno- pirazinamida otimizadas para compostos 1 e 2 . Em seguida a sobreposição das moléculas otimizadas B e C de 3	36
Figura 4. 12. Espectros de excitação (azul) e emissão (vermelho) para estruturas cristalinas dos híbridos do calixareno- pirazinamida que foram estudados.	41
Figura 4. 13. Os espectros de excitações TD-DFT (M06-2X/def2-TZVP) foram calculados para o composto 1 para suas conformações encontradas nas estruturas cristalinas não solvatada (em preto) e composto 2 na estrutura solvatada com DMF (em vermelho). Por último, a molécula de DMF também foi considerada nos cálculos. Os orbitais moleculares que contribuem para as transições eletrônicas do cálculo TD-DFT com oscilador demais alta intensidade na região de 320-380 nm dos espectros teóricos também foram representadas (rotuladas com letras minúsculas).	42
Figura 4. 14. A estrutura do co-cristal composta por RES e calix[4]tubo. Átomos não-hidrogenóides foram mostrados com elipsóides de 30% de probabilidade. Apenas os hidrogênios do OH foram descritos como esferas de raio arbitrário. As linhas tracejadas	

Lista de Figuras

ciano indicam as ligações de hidrogênio que envolvem grupos carboxílicos (operador de simetria: i = -x,y,1/2-z ; ii = -x,-y,-z).....	43
Figura 4. 15. Calix[4]tubo presente no cocrystal mostrando (a) estrutura do Calix[4]tubo (b) A estrutura do Calix[4]tubo com oxigênio nomeados que ligam com os dois íons de sódio.	45
Figura 4. 17. O padrão de ligação de hidrogênio entre dois calix[4]tubos e as moléculas de solventes (água e DMF) presentes no co-cristal com resveratrol.	47
Figura 4. 18. Calix[4]tubo e resveratrol interagem por interações do tipo CH... π e CH... O foram representadas por linhas tracejadas.	47
Figura 4. 19. Espectro no infravermelho (KBr) do resveratrol, calix[4]tubo e cocrystal de resveratrol, com calix[4]tubo.....	48
Figura 4. 20. O termograma TG do calix[4]tubo e do resveratrol.....	49
Figura 4. 21. Gráfico de análise de DSC de fluxo de calor (W/g) versus temperatura.	49
.....	50
Figura 4. 23. Curva analítica obtida pela análise espectrofotométrica de soluções de RESV no intervalo de 0,5 a 8 $\mu\text{g/mL}$. Diluente: etanol. Comprimento de onda: 298 nm.	50
Figura 4. 24. Curvas analíticas obtidas pela análise espectrofotométrica de soluções de RESV com concentrações próximas ao suposto limite de detecção (intervalo de 0,1 a 0,5 $\mu\text{g/mL}$). Diluente: etanol. Comprimento de onda: 298 nm.	52
Figura 4. 25. Os padrões de Difração de Raios-X em pó (XRPD) de amostras de co- cristal, calix[4]tubo e resveratrol após testes de solubilidade foram obtidos usando um difractor Shimadzu XRD-6000 sob as seguintes condições: temperatura ambiente (298 K), radiação CuK α (λ = 0,15418 nm) gerada a 40 kV e 30 mA, modo de varredura contínua -2 com taxa de varredura de 1,000 $^\circ$ /min, passo de aquisição de 0,020 $^\circ$, fendas de divergência e espalhamento ajustadas em 1.000 $^\circ$, e largura de fenda de 0,300 mm.....	53
A.1.3. Síntese da obtenção dos compostos	68
Esquema 1. Síntese dos compostos 5, 8, 9 e 10. vi,xi) K ₂ CO ₃ , KI, n-BuBr, MeCN, refluxo; Síntese dos compostos 5, 8, 9 e 10. vi,xi) K ₂ CO ₃ , KI, n-BuBr, MeCN, refluxo; vii, xii) HOAc/HNO ₃ , CH ₂ Cl ₂ , t.a; viii,xiii) N ₂ H ₄ .H ₂ O, Pd/C, EtOH, refluxo; ix,xiv) Ácido pirazínico, N,N-diisopropiletilamina (DIPEA), benzotriazol-1-il-oxitripirrolidino-fosfonio hexafluorofosfato (Pybop), DMF, t.a. x) AlCl ₃ , fenol, tolueno, t.a.	68

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Dados cristalográficos e estatística de refinamento.....	26
Tabela 2 . Valores calculados para os ângulos de torção (ω e \square) para as estruturas 1 e 2 , bem como para as estruturas otimizadas 1 e 2	31
Tabela 3 . Os valores dos ângulos de torção ω e φ foram apresentados para as geometrias teóricas dos compostos 1 , 2 e 3 (incluindo as moléculas B e C de 3). Também foi apresentado o desvio (*) correspondente à pirazinamida-fenílico no plano basal.	36
Tabela 4 . Precisão do método analítico para a quantificação do resveratrol.....	51
Tabela 5 . Exatidão do método analítico para a quantificação do resveratrol.	51
Tabela A 1 . Geometria das principais interações intermoleculares na estrutura cristalina dos compostos 1 , 2 e 3	63
Tabela A 2 . Geometria das principais interações intermoleculares na estrutura cristalina de 4	64
Tabela A 3 . Geometria das principais interações intermoleculares no cocrystal RES-calix[4]tube.....	65

Sumário

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	1
1.1 OBJETIVO	2
1.2 Os objetivos específicos	2
CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Calixarenos: propriedades físicas e conformacionais.....	3
2.2 Complexos hóspede – hospedeiro	5
2.3 Co-cristalização de calixarenos para obtenção de complexos do tipo hóspede – hospedeiro.....	7
2.4 Tetra(carboximetoxi)calix[4]areno e Calix[4]tubo.....	9
2.5 Co-cristal de Calix[4]tubo-Resveratrol.....	10
2.6 Processo de emissão de fluorescência	11
2.7 Pirazinas.....	13
2.8 Propriedades luminescentes de calixarenos	14
CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 Reagentes e amostras de calixarenos	16
3.2 Preparação das fases cristalinas	16
3.3 Técnicas de Caracterização.....	18
3.3.1 Difração de Raios X por monocristal (DRXM).....	18
3.3.2 Cálculos de energia	21
3.3.3 Espectroscopia de fluorescência	22
3.3.4 Espectroscopia vibracional na região de infravermelho (IV).....	23
3.3.5 Análise térmica.....	23
3.3.6 Avaliação da solubilidade do resveratrol no co-cristal	23
3.3.7 Desenvolvimento do método analítico para quantificação do resveratrol	

Sumário

por Espectrofotometria UV/Vis	24
CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4. Determinação das formas cristalinas 1, 2 e 3	28
5. Determinação da forma cristalina 4	43
4.5.1 Espectroscopia Vibracional	48
4.5.2 Análises Térmicas	49
4.5.3 Solubilidade da forma cristalina	50
5 Conclusão e Perspectivas	55
6 Referências Bibliográficas	57
Apêndice	63
A.1 Sínteses dos calixarenos 1 e 3	66
A.1.1 Síntese de 5,17-di-terc-butil-11,23-di-pirazina-2-carboxamida-25,27-dibutoxicalix[4]areno:	66
A.1.2 Síntese do 11,23-di-pirazina-2-carboxamida-25,27-di butoxicalix[4]areno	67
Apêndice	69

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A química supramolecular é uma área que se concentra no estudo das interações e propriedades de sistemas moleculares além das ligações covalentes tradicionais. Essa área da química se baseia na organização e montagem de moléculas para formar estruturas maiores e mais complexas por meio de interações não covalentes, como ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas, forças de dispersão de London e interações $\pi\cdots\pi$. Dentro da perspectiva da química supramolecular, o uso dos calixarenos é de vital importância pois, apresentam diversas conformações e uma cavidade flexível que permite a inclusão de íons e moléculas, permitindo a construção de estruturas em nanoescala, como cápsulas e nanotubos. Essas moléculas são importantes ferramentas em diversas áreas como a catálise, separação de compostos e no armazenamento de moléculas. Estudos recentes têm mostrado que os calixarenos apresentam potencial aplicação como transportadores de fármacos ou como agentes de imagem em diagnósticos médicos. A capacidade dos calixarenos de reconhecer e ligar-se seletivamente a moléculas específicas abre novas possibilidades para a concepção de terapias mais eficientes e seguras. Assim, esses compostos têm sido estudados com o objetivo de novas aplicações farmacológicas. Adicionalmente, os calixarenos podem apresentar propriedades óticas de emissão de luz, isso os torna candidatos para o sensoriamento de drogas por meio da fotodinâmica, além de melhorar a eficiência de luminóforos na triagem de materiais luminescentes. Durante este trabalho foram obtidos diferentes compostos a partir das moléculas de calixarenos. Em um primeiro experimento foram sintetizados dois compostos de calixareno- pirazinamida que apresentaram propriedades luminescentes. Também durante este trabalho, foi obtido um co-cristal do calix[4]tubo com a molécula de resveratrol. Posteriormente foi prospectado o potencial de aplicação do calix[4]tubo na co-cristalização com resveratrol, o que pode melhorar a solubilidade e as propriedades físicas desse ingrediente farmacêutico ativo (IFA).

1.1 OBJETIVO

Com base nas propriedades de hóspede-hospedeiro dos calixarenos e na alta eficiência da aminopirazina como emissor de luz azul, esta pesquisa focou-se na investigação de dois híbridos de calixareno-pirazinamida. O objetivo principal foi unir as capacidades de hospedagem e a emissão de luz em uma única estrutura molecular. Dois compostos renderam três formas cristalinas luminescentes, cujas estruturas e propriedades ópticas puderam ser correlacionadas. A caracterização ótica das três formas cristalinas de calixareno-pirazinamida foi conduzida por meio da análise dos espectros de excitação e emissão de fotoluminescência.

Em outra abordagem foi utilização dos calixarenos como plataformas moleculares para aperfeiçoamento de propriedades de estado sólido de compostos de interesse social, o objetivo foi obter um co-cristal de calix[4]tubo com resveratrol e avaliá-lo quanto ao aumento de sua solubilidade aquosa.

1.2 Os objetivos específicos

- Determinação das estruturas de monocristais através do método de Difração de Raios-X em Monocristal (DRXM) e por demais técnicas de caracterização em estado sólido.
- Comparação das geometrias intra e intermoleculares das novas estruturas obtidas com os dados existentes no banco de dados CSD.
- Caracterização das propriedades físicas, com foco nas propriedades luminescentes e de solubilidade.
- Análise dos cálculos de energia dos híbridos de calixareno-pirazinamida, obtidos a partir das geometrias determinadas por DRXM e após otimização geométrica.
- Análise dos cálculos de parâmetros de propriedades eletrônicas dos híbridos de calixarenos-pirazinamida.

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Calixarenos: propriedades físicas e conformacionais

Os calixarenos são compostos macrocíclicos que consistem em anéis fenólicos ligados entre si por grupos metileno (-CH₂-). A palavra "calixareno" deriva de "calix" (que significa cálice) e "arenos" (que se refere aos anéis aromáticos). Os calixarenos possuem uma estrutura tridimensional única e altamente estável. O composto mais conhecido e estudado dessa classe é o calix[4]areno, contudo, outros calixarenos também são amplamente estudados, como o calix[6]areno, calix[8]areno e calix[5]pirrol (GUTSCHE, 1998).

Uma das principais características dos calixarenos que levam ao grande interesse por estes compostos é sua conformação espacial (GUTSCHE, 2008). A flexibilidade estrutural e a capacidade dos calixarenos de adotar diferentes conformações são atributos relevantes que influenciam suas propriedades e aplicações, especialmente no contexto de reconhecimento molecular e interação com outras moléculas (DUPONT et al., 2008; VAREJÃO et al., 2013). A conformação do calixareno é determinada pelos ângulos diédricos entre os anéis fenólicos e os grupos metileno (-CH₂-) que ligam os anéis. Essas conformações podem variar de acordo com as condições de síntese: solventes, substituintes, temperatura e interações com outras moléculas. Além disso, a introdução de substituintes nos anéis fenólicos ou a modificação da estrutura do grupo metileno levam a diferentes arranjos e geometrias dos compostos sintetizados (GUTSCHE, 2008).

No geral, os calixarenos com quatro ou mais unidades fenólicas dispostas em uma conformação simétrica formam uma estrutura chamada de "coroa" Figura 2.1. A coroa é formada pelos átomos que estão acima ou abaixo do anel fenólico, os substituintes na posição para são direcionados acima (nomeados como "coroa superior") e os grupos hidroxilas são direcionados abaixo (nomeados como "coroa inferior"). Desta forma, as coroas formam uma região polar (hidrofílica) e outra apolar (hidrofóbica), esse arranjo ocorre devido a presença de ligações de hidrogênio, interações intermoleculares devido ao empacotamento, além da rigidez da estrutura cíclica (GUTSCHE et al., 1981). Outras conformações espaciais dos calixarenos podem ser obtidas dependendo do número de grupos fenólicos e do tipo de substituintes ligados aos anéis aromáticos. Algumas conformações comuns dos calixarenos incluem: cone, cone parcial, 1,3-alternada e 1,2-alternada conforme mostrado na Figura 2.2 (BAKLOUTI et al., 2007; GUTSCHE, 2008).

A conformação em cone é a mais comum, determinada pelas ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila localizados na coroa inferior. Entretanto, a modificação dos grupos ligados aos anéis fenólicos pode resultar em alterações no arranjo espacial dos monômeros. Os calixarenos apresentam conformações estáveis, devido à inversão dos anéis fenólicos à medida que coroa fenólica rotaciona. A estabilidade de cada conformação é determinada por uma combinação de interações intramoleculares, tais como ligações de hidrogênio, empilhamento do tipo $\pi \dots \pi$, juntamente com as interações com o ambiente químico (GUTSCHE, 2008; KALCHENKO, 2018).

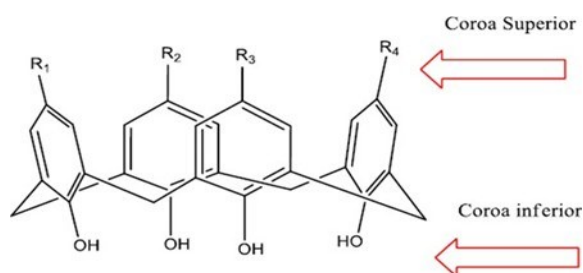


Figura 2. 1. Estrutura básica do calix[4]areno com grupos funcionais nas coroas superior e inferior.

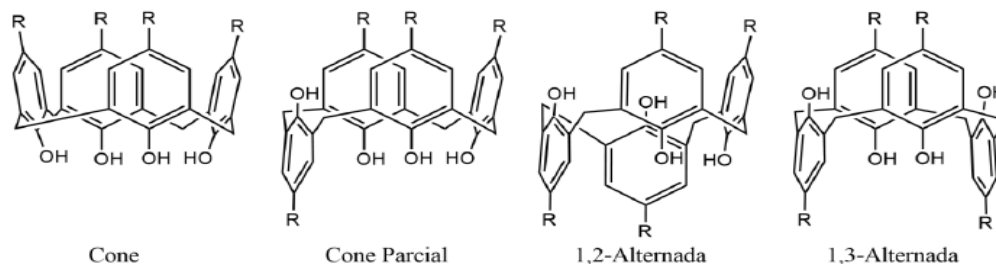


Figura 2. 2. Possíveis conformações para o p-terc-butilcalix[4]areno. Cone, cone parcial, 1,2-alternada e 1,3-alternada cone, cone parcial, 1,2-alternada e 1,3-alternada (GUTSCHE, 2008).

Um segundo fator que afeta a conformação são os grupos substituintes ligados ao anel fenólico. Os principais grupos substituintes ligados ao anel são: terc-butil, ácido sulfônico, ácido carboxílico e amina, entre outros (SHI; ZHANG, 1994, SHINKAI et al., 1987). Na Figura 2.3 mostra as estruturas dos ácidos p-sulfônico calix[4]areno e p-sulfônico calix[6]areno (VAREJÃO et al., 2013). A posição desses grupos ao redor do anel fenólico altera a conformação espacial e influencia nas propriedades físicas e químicas. A modificação dos grupos ligantes da molécula permite a interação com diferentes tipos de moléculas bem como com biomoléculas (GUTSCHE, 2008; PAQUET; ZUMBUEHL; CARREIRA, 2006). A conformação pode ter um efeito significativo nas propriedades físicas da molécula. Os principais fatores afetados são:

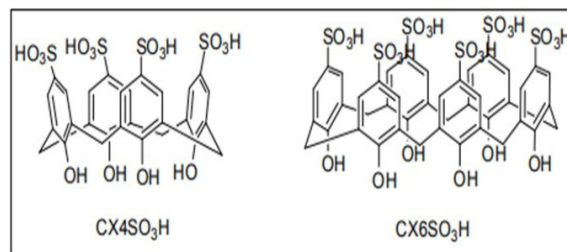


Figura 2.3. Estruturas dos ácidos p-sulfônico calix[4]areno (CX4SO₃H) e p-sulfônico calix[6]areno (CX6SO₃H) (VAREJÃO et al., 2013).

Solubilidade: A conformação pode afetar a sua solubilidade em diferentes solventes. Mudanças conformacionais podem modificar o padrão de interação entre as partes hidrofóbicas do calixareno e o solvente, influenciando na sua solubilidade e dispersão (VAREJÃO et al., 2013).

Estabilidade: Diferentes conformações apresentam diferentes energias, resultando em estados mais ou menos estáveis (GUTSCHE, IQBAL, 1990).

Propriedades hóspede-hospedeiro: Diferentes conformações podem levar a diferentes geometrias de ligação e interações não covalentes, influenciando a força e a natureza das interações com diferentes moléculas (KALCHENKO, 2018; VAREJÃO et al., 2013).

Reatividade: A conformação pode expor diferentes grupos funcionais e, assim, torná-los mais ou menos disponíveis para reações químicas (GUTSCHE; LIN, 1986).

Propriedades ópticas: As mudanças conformacionais podem afetar a estrutura eletrônica do calixareno, resultando em alterações nas bandas de absorção e emissão (KUMAR et al., 2019; TERAN et al., 2016; HU et al., 2020).

Desta forma, a conformação de um calixareno é um fator importante a ser considerado no projeto e na síntese do calixareno (GUTSCHE, 2008).

2.2 Complexos hóspede – hospedeiro

Os calixarenos são compostos orgânicos que apresentam uma cavidade cônica em sua estrutura. Esta cavidade tem uma importância significativa, pois pode acomodar moléculas ou íons formando complexos de inclusão, nos quais o calixareno interage seletivamente com as moléculas hóspedes (DOS SANTOS et al., 2020; MARTINS et al., 2016). Essa cavidade pode interagir com moléculas ou íons, fazendo com que os calixarenos

sejam amplamente estudados como potenciais receptores em química supramolecular (SATHEESHKUMAR, 2004; JIN MEI; AINLIAH; AHMAD, 2021). Esta interação do calixareno com outras moléculas é chamada de complexo do tipo hóspede-hospedeiro. Esses complexos ocorrem devido forças intermoleculares, tais como ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, eletrostáticas e de van der Waals do calixareno com a molécula hóspede (BHAT et al; 2005; MEI; AINLIAH; AHMAD, 2021; KALCHENKO, 2018). Na Figura 2.4 apresenta esquema do modo de inclusão do tipo hóspede – hospedeiro(REIS, 2014).

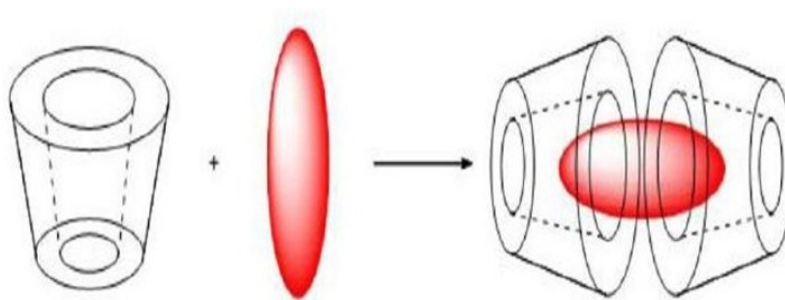


Figura 2. 4. Representação esquemática do modo de inclusão do tipo hóspede-hospedeiro(REIS, 2014).

As pequenas moléculas hospedadas são conhecidas como hóspedes. O tamanho e a forma da molécula hóspede, bem como suas propriedades químicas, podem influenciar as interações que ocorrem com a cavidade do calixareno. Assim, moléculas menores e mais polares podem interagir mais fortemente com o hospedeiro devido à ligação de hidrogênio. Enquanto, os hóspedes maiores e mais hidrofóbicos podem estar menos fortemente ligados. (ATWOOD et al., 2002 ; MARTINS et al., 2016). Uma das principais aplicações dos complexos hóspedes–hospedeiro é na separação seletiva de pequenas moléculas ou íons de metais pesados dissolvidos em soluções aquosas, e na separação de enantiômeros (moléculas que são imagens espelhadas umas das outras) em separações quirais (SVIBEN et al., 2013, ZHANG et al, 2023). Os complexos do tipo hóspede–hospedeiro, também têm sido usados em aplicações de liberação de fármacos devido a capacidade de ligar e liberar seletivamente moléculas hóspedes. Ao projetar cuidadosamente as interações de inclusão do fármaco, podem melhorar a solubilidade do fármaco em água, aumentar sua estabilidade química, e controlar a liberação de um fármaco ao longo do tempo, potencialmente levando a tratamentos mais eficazes (INAM et al, 2023; ZIMMER et al., 2016).

2.3 Co-cristalização de calixarenos para obtenção de complexos do tipo hóspede – hospedeiro

Um dos meios para obtenção de complexos do tipo hóspede–hospedeiro é pela técnica de co-cristalização. A co-cristalização envolve a formação de cristais compostos por dois ou mais componentes moleculares diferentes. Dentro deste contexto, os co-cristais farmacêuticos emergem como uma subcategoria importante, onde um dos componentes é um ingrediente farmacêutico ativo (IFA), e o outro é um coformador devidamente aprovado e reconhecido como seguro para uso em aplicações farmacêuticas (BOLLA et al., 2022). Esses cristais compostos, chamados de co-cristais, são estruturas sólidas onde as moléculas dos componentes individuais estão organizadas em uma rede cristalina regular (XIAO et al., 2023). Entretanto, é importante destacar que um co-cristal é formado por compostos neutros que não estabelecem interações iônicas (AITIPAMULA et al., 2012). Esta constatação sugere que diferentes moléculas interagem por meio de interações não covalentes. Assim, co-cristais são estruturados a partir de interações intermoleculares, como forças de van der Waals, interações de empilhamento do tipo $\pi \dots \pi$ e ligações de hidrogênio (KUMAR et al., 2019; KARIMI-JAFARI et al., 2018). Além disso, os co-cristais exibem similaridades com os solvatos, dado que ambos contêm mais de um componente na estrutura cristalina. Nesse contexto, do ponto de vista físico-químico, co-cristais são considerados casos especiais de solvatos e hidratos. No co-cristal, o coformador, que é o segundo componente, difere-se de um solvente e é caracterizado por sua natureza não volátil (BOLLA et al., 2022).

Um dos métodos amplamente empregados para aumentar a solubilidade no equilíbrio e, por consequência, a biodisponibilidade de um fármaco é o uso de co-cristais (BOLLA et al., 2016; KARIMI-JAFARI et al., 2018; DUGGIRALA et al., 2020). Estes apresentam-se como uma promissora estratégia no campo de desenvolvimento de fármacos, uma vez que permitem a alteração das propriedades físico-químicas do ingrediente farmacêutico ativo (IFA), resultando em um aumento da biodisponibilidade e da estabilidade (KARIMI-JAFARI et al., 2018; KUMINEK et al., 2016; BERRY et al., 2017). Os benefícios primordiais associados à co-cristalização incluem a modulação da solubilidade e da velocidade de dissolução de um fármaco pouco solúvel (AITIPAMULA et al., 2012; BOLLA, NANGIA, 2016). A co-cristalização de compostos farmacêuticos não implica em interferências na atividade farmacológica do IFA, sendo, portanto, empregada como uma estratégia para o aprimoramento da solubilidade e estabilidade dos fármacos (BOLLA;

NANGIA, 2016). Em trabalhos anteriores nossa equipe conseguiu obter o primeiro co-cristal entre um calix[4]areno e um benzotiazol. Parte da estrutura tridimensional deste co-cristal é mostrada na Figura 2.5 (ALVARENGA et al., 2019). Desta forma, a partir dessa notável descoberta o nosso grupo buscou novas moléculas para a obtenção de co-cristais que poderiam levar a propriedades melhoradas de ingredientes farmacêuticos ativos (IFAs).

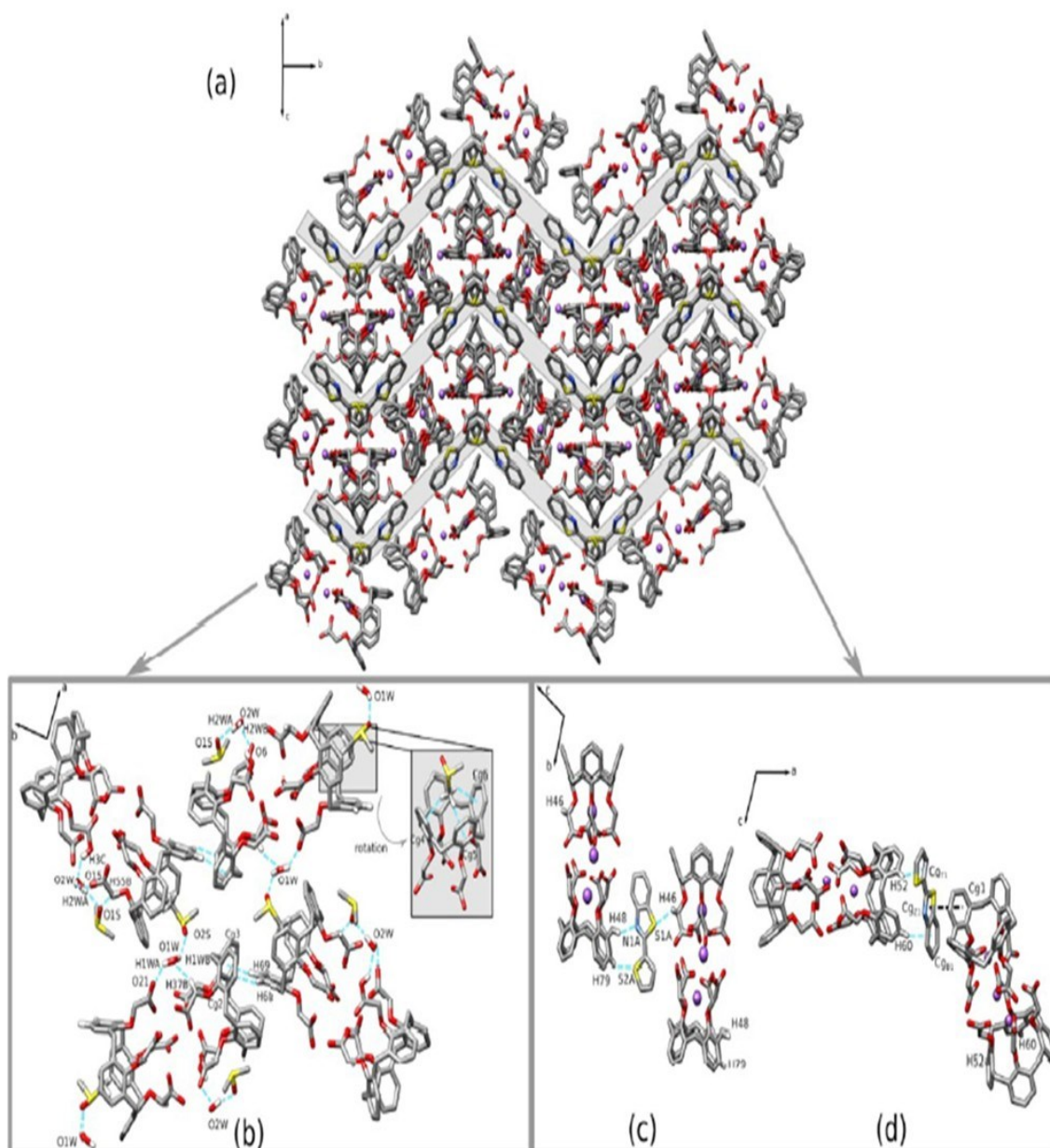


Figura 2. 5. (a) Visão geral do empacotamento cristalino do co-cristal de 2-(2-tienil)-1,3- benzotiazol com tetra(carboximetoxi)calix[4]areno. (b-d) Detalhes das principais interações intermoleculares responsáveis pela estruturação do co-cristal (ALVARENGA et al., 2019)

2.4 Tetra(carboximetoxi)calix[4]areno e Calix[4]tubo

A obtenção de uma nova classe de nanotubos diméricos, conhecidos como calix[4]tubos, é feita através da síntese de tetra (carboximetoxi) calix[4]areno com íons de sódio. A Figura 2.6.a apresenta a estrutura do tetra(carboximetoxi)calix[4]areno-CX4A, nota-se uma conformação na forma de um "cone", com os grupos substituintes carboximetoxi posicionados de no arranjo cauda-a-cauda. Esta disposição espacial das unidades monoméricas de CX4A, que resultam na formação do calix[4]tubo (MARTINS et al., 2016). As unidades monoméricas de CX4A que compõem o calix[4]tubo incorporam íons de sódio em seu interior, rodeados por grupos carbonílicos e carboxilatos. Esse arranjo propicia a formação de ligações de hidrogênio, resultando no selamento das coroas superiores e inferiores ao centro do dímero. (MARTINS et al., 2016). A estrutura do calix[4]tubo, apresentada na Figura 2.6.b, composto por duas unidades de tetra(carboximetoxi) calix[4]areno, com três íons de Na^+ inclusos, e as respectivas ligações de hidrogênio clássicas do tipo $\text{CH} \cdots \text{O}$ são encontradas nos grupos carboximetoxi parcialmente desprotonado (ALVARENGA et al., 2019). Essa estrutura demonstra estabilidade tanto em solução quanto no estado sólido (MARTINS et al., 2016).

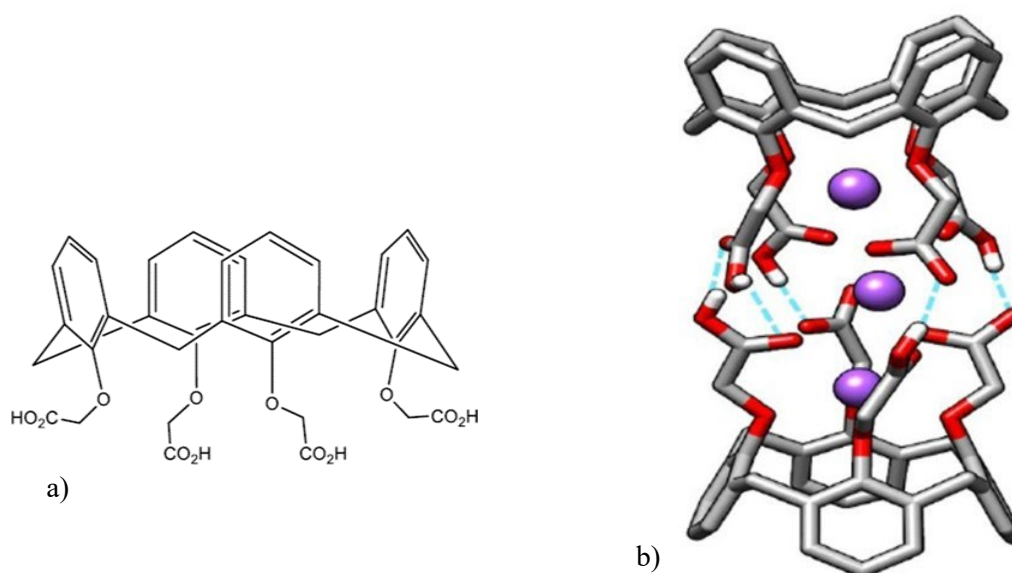


Figura 2. 6. a)Estrutura do tetra(carboximetoxi)calix[4]areno (MARTINS et al., 2016). b)Calix [4]tubo, composto por duas unidades de tetra(carboximetoxi)alix[4]areno, com três íons de Na^+ inclusos, e as respectivas ligações de hidrogênio clássicas $\text{CH} \cdots \text{O}$ encontradas nos grupos carboximetoxi parcialmente desprotonado (ALVARENGA et al., 2019).

2.5 Co-cristal de Calix[4]tubo-Resveratrol

Compostos nutracêuticos são moléculas que combinam características de alimentos e medicamentos. O termo "nutracêutico" é uma junção das palavras "nutrição" e "farmacêutico". Eles são substâncias bioativas encontradas em alimentos ou suplementos alimentares que oferecem benefícios à saúde além da nutrição básica. Esses benefícios podem incluir a prevenção de doenças, promoção da saúde e bem estar, melhora do desempenho físico e cognitivo, entre outros (SANTINI et al, 2018). Os nutracêuticos, são bastantes utilizados em suplementos alimentares, e têm um papel fundamental na prevenção e tratamento de várias doenças (SANTINI et al, 2018).

A formação de co-cristais envolvendo nutracêuticos e coformadores oferece uma estratégia eficaz para aprimorar as propriedades físico-químicas dos compostos bioativos. Essa sinergia pode resultar em melhorias na solubilidade e estabilidade destes compostos. Muitos nutracêuticos apresentam desafios significativos devido à sua baixa solubilidade em água e, conseqüentemente, à sua baixa biodisponibilidade. Esses problemas fazem dos nutracêuticos candidatos ideais para a formação de co-cristais (MEENAMBAL; SRINIVAS BHARATH, 2020).

O resveratrol (Figura 2.7) é reconhecido como um nutracêutico devido aos seus benefícios biológicos. Resveratrol (RES), cujo nome químico é trans-3,5,4'-trihidroxiestilbeno, é um dos compostos polifenólicos naturais que têm sido extensivamente pesquisados no âmbito do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS), sendo classificado como Classe 2 (BCS II). O resveratrol é um polifenol encontrado na casca da uva que é amplamente conhecido por suas atividades biológicas, incluindo propriedades antioxidantes (AHMAD, GANI, 2021), anti-inflamatórias (OLIVEIRA et al., 2021), cardioprotetoras (FAN et al., 2022) e anticarcinogênicas (ANCIC et al. 2022; ANNAJI et al., 2021). Contudo o resveratrol apresenta baixa solubilidade em água, e conseqüentemente resulta em uma baixa biodisponibilidade, a absorção e a eficácia no corpo humano (LI et al, 2023; YI, et al, 2022).

Com o objetivo de resolver problemas relacionados à baixa solubilidade em água e aumentar a estabilidade do resveratrol, tem-se obtido o co-cristal do resveratrol com calix[4]tubo, recorrendo à formação de co-cristais. Esta abordagem sintética permite combinar as propriedades dos calixarenos e do resveratrol, gerando um composto potencialmente com forte atividade antioxidante (LEE et al., 2020).

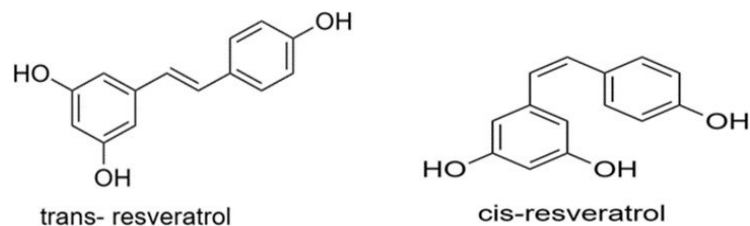


Figura 2. 7. Estrutura química cis-resveratrol e trans-resveratrol

O co-cristal, resultante da conjugação do calixareno e resveratrol, podem ser formados devido à presença de interações de ligação de hidrogênio fortes. Essas interações são fundamentais, pois determinam como os diferentes componentes do co-cristal se organizam e interagem uns com os outros em nível molecular (AITIPAMULA et al., 2012; STEED; STEED, 2015). A solubilidade melhorada do resveratrol neste co-cristal é obtida através de menor energia de rede e maior afinidade com solventes (água e etanol).

2.6 Processo de emissão de fluorescência

A fotoluminescência é definida como a emissão de luz por qualquer substância, a partir de estados eletronicamente excitados. A fotoluminescência pode ocorrer de duas formas: fluorescência e fosforescência dependendo da natureza dos estados excitados (LAKOWICZ, 2006), como mostrado na Figura 2.8. Neste trabalho, iremos discutir somente a fluorescência.

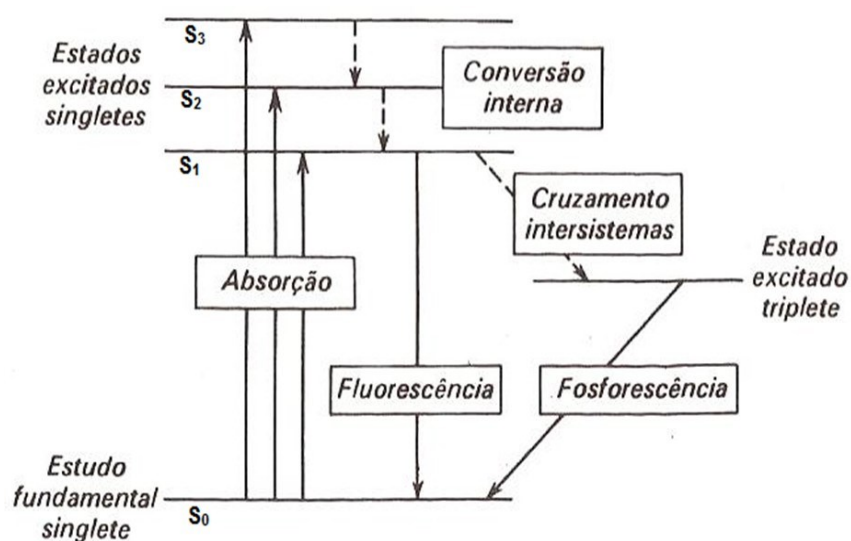


Figura 2. 8. Representação esquemática do diagrama de Jablonski envolvendo os processos de luminescência. Adaptado (LAKOWICZ, 2006).

A absorção (excitação) e emissão de energia nas transições eletrônicas por um complexo é um processo regido por regras de seleção da mecânica quântica. A transição ocorre entre o estado fundamental S_0 e o estados excitados S_1, S_2, \dots, S_n . Estes níveis de energia estão subdivididos em um conjunto de subníveis associados com a energia translacional e rotacional da molécula. A fluorescência é atribuída à absorção de energia onde o elétron é excitado de um estado fundamental S_0 (Figura 2.9.a) para os estados excitados. Após a excitação, mesmo se houver mais energia do que o necessário para a transição, o excesso de energia é rapidamente dissipado por um processo de relaxamento vibracional (chamado de conversão interna) nos níveis translacionais e rotacionais, deixando a molécula no nível vibracional mais baixo do estado excitado S_1 . Este processo de relaxamento possui tempo de vida médio de 10^{-12} s, e ocorre devido a sobreposição entre numerosos estados rotacionais e translacionais do estado excitado. Ocorrendo após isso um rápido processo de relaxamento entre os estados de maior energia S_2, S_3, \dots, S_n para o estado excitado S_1 . A transição entre o estado S_1 e o estado S_0 é permitida para os estados singletos (elétrons com spins oposto) como mostrado na Figura 2.9.b de forma que a transição ocorre rapidamente com a consequente emissão de um fóton com energia igual a diferença entre os níveis S_1-S_0 (LAKOWICZ, 2006). Paralelo à emissão de fluorescência ocorrem outros processos de desativação que competem com emissões, como decaimento não-radiativo onde a energia do estado excitado não é convertida em fótons, mas é dissipada por processos térmicos. Ocorre também o “quenching”, que é a perda de energia via colisão entre as moléculas ou com o solvente.

A energia da emissão de fluorescência é tipicamente menor que a de excitação. Portanto, a emissão de luz ocorre em comprimentos de onda maiores do que ocorre a excitação da molécula, este fenômeno é conhecido como desvio de Stokes, onde tem-se que o espectro de emissão de fluorescência é independente do comprimento de onda de excitação.

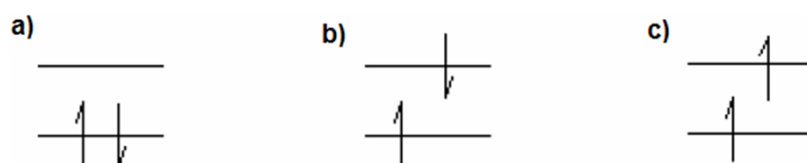


Figura 2. 9. Diagrama ilustrando os possíveis estados de spin dos elétrons no orbitais moleculares, a) estado fundamental b) singleto (elétrons no estado excitado com spins opostos) c) tripleto (elétrons no estado excitado com spins emparelhados).

2.7 Pirazinas

As diazinas são uma classe de compostos heterocíclicos que contêm um átomo de nitrogênio ligado a dois átomos de carbono em um anel de seis membros. Existem três estruturas diferentes que podem ser identificadas de acordo com a posição dos nitrogênios no anel: piridazina (1,2–diazina), pirimidina (1,3–diazina) e pirazina (1,4–diazina). Devido aos anéis das diazinas ser deficiente em elétrons, o grupo diazenil pode ser usado como um grupo retirador de elétrons, quando substituídos por grupos doadores de elétrons, como o grupo amino, apresentam propriedades de fotofísicas com aplicação em íodos orgânicos emissores de luz (OLEDs) (ACHELLE, ROBIN-LE GUEN, 2017).

A molécula de pirazina possibilita ligações de hidrogênio no grupo amino, bem como interações de empilhamento do anel aromático. Essas interações intermoleculares e padrões de coordenação atuam na formação de diversos complexos. Na Figura 2.10 apresenta as estruturas químicas dos diferentes núcleos de diazina.

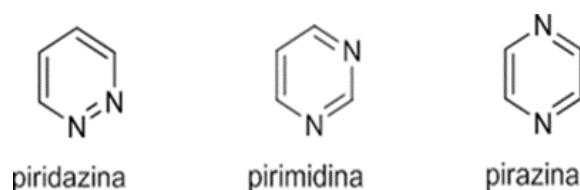


Figura 2.10. Estruturas químicas dos diferentes núcleos diazina.

Em estudo recente (DO NASCIMENTO NETO et al., 2019), foi observado que a molécula de aminopirazina forma cadeias poliméricas unidimensionais com acetato de cádmio (Figura 2.11), emitindo luz azul de alta intensidade. Entretanto, o rendimento quântico necessário para absorver radiação UV e reduzir a conversão em luz visível depende de vários fatores, como o íon metálico de transição e raio de esfera de coordenação e configuração eletrônica, o ligante dentro da cadeia, o número de moléculas de água coordenadas, bem como o padrão de rede (DO NASCIMENTO NETO et al., 2019; LEMES et al., 2021).

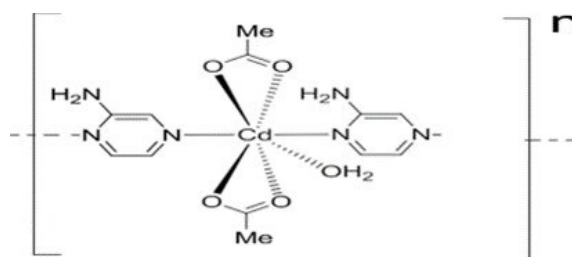


Figura 2. 11. Representação simplificada do monômero obtido.

No entanto, todos esses fatores são otimizados no polímero de acetato de cádmio com uma molécula de água coordenada para cada plataforma, e então as transições eletrônicas estão centradas no anel da pirazina, onde ocorre uma alta taxa de conversão externa de 75,4%, relacionada a uma estrutura rígida que bloqueia o heterociclo no estado excitado (DO NASCIMENTO NETO et al., 2019).

2.8 Propriedades luminescentes de calixarenos

Os calixarenos são conhecidos por suas propriedades ópticas devido a alta estabilidade e rigidez estrutural, isso pode levar a um aumento na intensidade da fluorescência, bem como em mudanças espectrais, como deslocamentos de comprimento de onda e variações na forma do espectro de emissão (KUMAR et al., 2019; TERAN et al., 2016, HU et al., 2020, KIM, QUANG, 2007). As propriedades ópticas dos calixarenos são influenciadas por uma série de fatores, incluindo sua estrutura, ambiente químico e presença de outras moléculas em solução (D SOUZA et al, 2011 HU et al., 2020) . Assim, em soluções orgânicas, por exemplo, os calixarenos podem formar agregados ou complexos com outras moléculas, o que pode levar a um quenching (extinção) da fluorescência ou a mudanças nas propriedades espectrais do composto (VALEUR, 2003; CHOUDHURY et al., 2010, HUA et al., 2018, XIA et al. 2018; HU et al., 2020). Outra propriedade óptica interessante dos calixarenos é a capacidade de atuar como sensores para íons metálicos e outras moléculas. A presença de íons metálicos em solução pode levar a mudanças no espectro de emissão do calixareno, o que permite a detecção e quantificação desses íons (ULLMANN et al., 2019). Os calixarenos também são utilizados no desenvolvimento de sensores que funcionam através do reconhecimento molecular e de meios de transporte bioquímicos muitas vezes depende das capacidades de interação hóspede-hospedeiro em compostos. Isso se deve à sua notável seletividade e sensibilidade, características proeminentes destes complexos moleculares formados por ligações não covalentes (ALVARENGA et al., 2022; CHENG et al., 2021; LIM et al., 2021, GAO et et al., 2021; RAVAL et al., 2021). Outra aplicação dos calixarenos em que suas propriedades ópticas são utilizadas é no desenvolvimento de materiais ópticos não lineares. Os calixarenos demonstraram ter uma grande resposta óptica não linear, que é a capacidade de produzir uma mudança na polarização da luz quando ela interage com um material. Os calixarenos luminescentes, adicionando uma habilidade óptica de emissão de luz na qual a modulação

do comprimento de onda pode ser útil para sinalizar o reconhecimento hóspede-hospedeiro, para auxiliar liberação de medicamentos através da ativação ou extinção fotodinâmica, ou até mesmo para melhorar a eficiência de luminóforos em dispositivos de iluminação de alto desempenho (SHARMA et al., 2020; MARTINS et al.; 2017; LINS et al., 2021). Essa propriedade torna os calixarenos úteis no desenvolvimento de dispositivos como lasers, fibras ópticas e outros dispositivos eletrônicos. Desta forma, essas propriedades podem ser exploradas para uma ampla gama de aplicações em química supramolecular, química de materiais e sensoriamento químico (KUMAR et al., 2019; MEI et al.; 2021). Com a descoberta da aminopirazina como potente luminóforo, nosso grupo de estudo sintetizou um novo composto utilizando pirazina e o calix[4]areno, a fim de obter o composto denominado como calixareno-pirazinamida mostrado na Figura 2.12 (ALVARENGA et al., 2022).

O calixareno-pirazinamida possui propriedades luminescentes e foi analisado com o intuito de verificar seu potencial como plataforma na obtenção de materiais luminescentes e liberação controlada de fármacos. A partir do uso calixareno-pirazinamida como plataforma para obtenção de co-cristais de ingrediente farmacêutico ativos, pode se obter novos fármacos com melhor propriedades físicas e químicas. Os compostos foram sintetizados e caracterizados para se obter um melhor entendimento sobre conformações do complexo do tipo hóspede-hospedeiro e a relação com espectros de excitação e emissão de fotoluminescência.

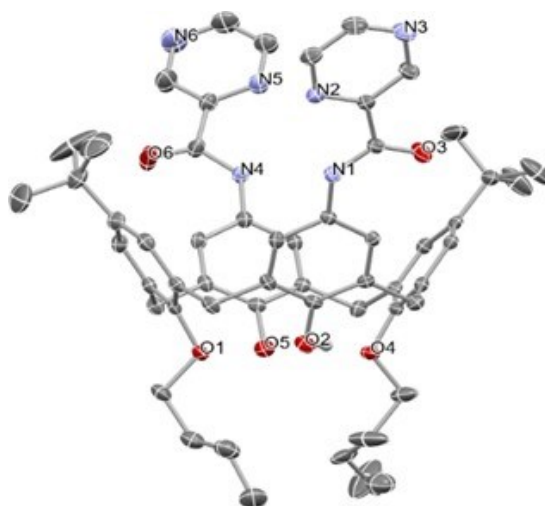


Figura 2. 12.Estrutura química do calixareno-pirazinamida.

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes e amostras de calixarenos

No preparo das amostras cristalinas foram utilizados reagentes de alto grau analítico (P.A.). Os reagentes utilizados foram os solventes: acetato de etila, clorofórmio, dimetilformamida (DMF), hexano, metanol e tolueno, todos da marca Sigma-Aldrich.

Os calixarenos 5,17-di-terc-butil-11,23-di-pirazina-2-carboxamida-25,27-dibutoxicalix[4]areno, 11,23-di-pirazinacarboxamida-25,27dibutoxicalix[4]areno, tetra(carboximetoxi)calix[4]areno (CX4A) foram sintetizados e fornecidos pelo Grupo de Estudos em Química Orgânica e Biológica da Universidade Federal de Minas Gerais (GEQOB-UFGM), para realização deste trabalho (visto na Figura 3.1). As forma cristalina (1-4) possuem na sua composição dimetilformamida (DMF), enquanto a forma cristalina 4 possui íons de sódio proveniente da síntese.

3.2 Preparação das fases cristalinas

O preparo das fases cristalinas dos novos calixarenos foi realizado seguindo a metodologia descrita em Martins et al. (2016) e Alvarenga et al. (2022). A razão dos reagentes foi alterada na triagem de cristalização, e as quantidades estequiométricas que geraram os cristais descritas na sequência. Os rendimentos das fases cristalinas dos calixarenos não foram avaliados.

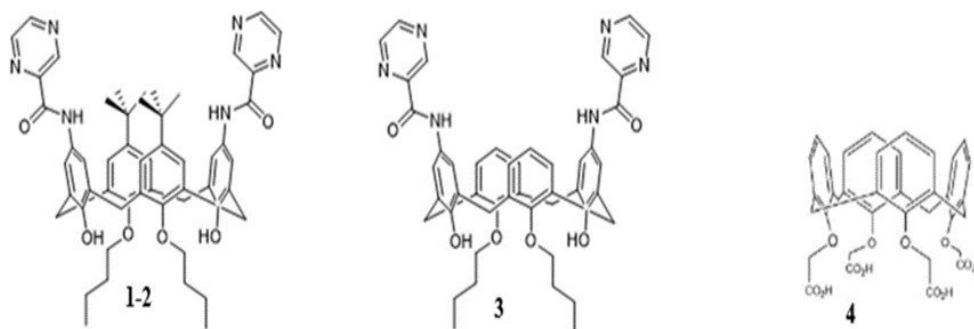


Figura 3.1. Fórmula estrutural do 5,17- di-terc- butil- 11,23- di-pirazina-2-carboxamida-25,27dibutoxicalix[4]areno, 11,23-di-pirazinacarboxamida-25,27dibutoxicalix[4]areno, tetra(carboximetoxi)calix[4]areno (CX4A).

A forma cristalina **1** foi recristalizado utilizando 5 mL de solução de etanol com 5,17-di-terc-butil-11,23-di-pirazina-2-carboxamida-25,27-dibutoxicalex[4]areno (0,0056 mmol, 5mg), à temperatura ambiente. Durante o processo, a amostra é submetida a agitação, o que resulta na solubilização do sólido. A técnica utilizada para a obtenção dos monocristais é a evaporação lenta de solvente. Nessa técnica, a solução do composto foi colocada em um local sem perturbações e, com a evaporação do solvente, ocorreu precipitação controlada do sólido, formando monocristais através dos processos de nucleação e crescimento durante o processo de evaporação lenta. Os cristais se formaram no período de 5 dias.

A forma cristalina **2** foi cristalizada utilizando 5 mL de solução de etanol com 300 μ L de DMF e 5 mg do composto 5,17-di-terc-butil-11,23-di-pirazina-2-carboxamida-25,27-dibutoxicalex[4]areno (**1**) (0,0056 mmol, 5mg), à temperatura ambiente. A amostra foi agitada para solubilizar o sólido. A técnica empregada para a obtenção dos monocristais foi a evaporação lenta, formando monocristais através dos processos de nucleação e crescimento ao longo de 15 dias.

A forma cristalina **3** foi cristalizada utilizando (0,0064 mmol, 5 mg) do composto 11,23-di-pirazinacarboxamida-25,27-dibutoxicalex[4]areno foi solubilizado em 5 mL de etanol. A amostra é submetida a agitação para solubilizar o sólido. Obtenção dos monocristais é a evaporação lenta, ocorre a precipitação controlada do sólido, formando monocristais através dos processos de nucleação e crescimento ao longo de 15 dias.

Forma cristalina **4**: A descrição detalhada dos dados de síntese e caracterização do calix[4]tubo encontram-se no estudo de Martins et al. (2016). Os testes de co-cristalização com resveratrol (3,5,4'-trihidroxi-trans-estilbeno) foram realizados utilizando o (tetra carboximetoxi)calix[4]areno como conformador.

A forma cristalina **4** foi cristalizada com (2,00 mg, 0,0088 mmol) de resveratrol que foi dissolvida em mistura de solventes de 2 mL de álcool metílico, 200 μ L de dimetilformamida (DMF) e 300 μ L de tolueno, sob agitação durante 5 minutos à temperatura ambiente (25°C) com (2,00 mg, 0,003 mmol) de CX4A. As amostras foram agitadas por 48 horas sob agitação. Em seguida, a amostra foi colocada em evaporação lenta até que o solvente evaporasse completamente por um período de 45 dias.

3.3 Técnicas de Caracterização

3.3.1 Difração de Raios X por monocristal (DRXM)

O experimento de difração de raios X por monocristal (DRXM) foi realizado com cristais sintetizados, que foram analisados e selecionados sob um microscópio com luz polarizada. Os monocristais escolhidos para a coleta de dados de difração de Raios X exibiram faces bem definidas e ausência de defeitos, como geminação. Os dados para os cristais **1 - 4** foram coletados do sistema de cristalização de cada forma cristalina, após a diferenciação das morfologias externas. Posteriormente, foram separados do recipiente de cristalização e montados em um loop de μm (MiTeGen MicroLoops TM) com o auxílio de um polímero (graxa).

Foram utilizados dois difratômetros para a coleta dos dados. O primeiro foi o difratômetro Bruker AXS Kappa Duo, localizado no Instituto de Física da UFG. O segundo equipamento foi o Bruker-D8 Venture Dual Source com detector Photon, localizado no Instituto de Física da Universidade Federal Fluminense (UFF). Este último foi utilizado pela parceria estabelecida com o Prof. Dr. Guilherme Pereira Guedes do Instituto de Química da UFF. As medições tiveram que ser conduzidas utilizando dois diferentes equipamentos devido a uma paralisação no funcionamento do difratômetro de raios X de monocristal no Instituto de Física da UFG. Este equipamento essencial ficou inativo por um período de um ano e cinco meses, uma situação provocada pela falta de recursos financeiros necessários para a manutenção contínua do mesmo.

Os monocristais foram centralizados em relação ao feixe de Raios-X no goniômetro do difratômetro (Bruker-AXS Kappa Duo), que possui um detector APEX II CCD (Dispositivo de Carga Acoplada). Foram utilizados dois difratômetros para a coleta dos dados como mencionado no texto acima. As coletas dos dados de difração de Raios X foram realizadas à temperatura ambiente (298 ± 2 K), utilizando uma microfona de $\text{I}\mu\text{S}$ com monocromador de espelhos em multicamadas. Para as amostras **1, 2, 4**, foi utilizada a radiação $\text{MoK}\alpha$ ($\alpha = 0,71073$ Å) e amostra **3** foi utilizada a radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\alpha = 1,5418$ Å). Inicialmente, foram coletados os dados para a indexação da cela unitária, por meio da varredura de $i.f$. Após a determinação dos parâmetros da cela unitária, foram realizadas pesquisas no banco de dados do CSD (GROOM et al., 2016) para verificar se a estrutura já era conhecida. Se as pesquisas indicassem que não existia nenhuma estrutura da forma cristalina já indexada no banco de dados, o processo de coleta dos dados era prosseguido.

A etapa final da coleta de dados envolveu a obtenção de informações sobre os índices de Miller (hkl), cossenos diretores e intensidade dos feixes difratados. Isso foi realizado através de varreduras de ϕ e ω utilizando o programa APEX2 (Bruker AXS KappaDuo) (BRUKER, 2016) e APEX3 (Bruker D8 Venture Dual Source) (BRUKER, 2016).

Para o tratamento dos dados brutos, foram utilizados os programas APEX2, APEX3, Bruker SAINT e SADABS. Estes programas realizaram a indexação, integração, redução e escalonamento das reflexões de Bragg, incluindo a correção por absorção do tipo multi-scan. A resolução das estruturas foi obtida através de métodos diretos com o uso do programa SHELX-2014 (SHELDRICK, 2014). Os refinamentos das estruturas foram realizados pelo método de mínimos quadrados de matriz completa no programa SHELX-2014 (SHELDRICK, 2014), visando minimizar a diferença entre os fatores de estruturas (F^2) calculados e observados, acompanhada da análise dos parâmetros estatísticos. Todos os programas para refinamento da estrutura foram acessados através do programa de interface WINGX (FARRUGIA, 1999).

Os átomos não-hidrogenóides foram encontrados diretamente nos mapas de densidade eletrônica, que foram calculados a partir da síntese de Fourier usando programas anteriores. Esses átomos tiveram seus parâmetros de deslocamento térmico anisotrópicos refinados livremente, exceto nas estruturas 1-4 que apresentavam desordem. Nesses casos, os parâmetros de deslocamento térmico isotrópicos foram fixados em $0,05 U_{eq}$ e refinados com parâmetro de ocupação livre. Em seguida, o parâmetro de ocupação foi fixado e os sítios dos átomos desordenados foram refinados anisotropicamente em relação aos parâmetros térmicos. Utilizou-se a mesma estratégia para resolver as desordens das 4 estruturas cristalinas.

Durante o processo de refinamento da estrutura, alguns átomos de hidrogênio tiveram suas posições determinadas diretamente através do mapa de densidade eletrônica, enquanto outros foram posicionados estereoquimicamente. Todos os parâmetros de deslocamento térmico isotrópicos foram fixados em [$U_{iso} = 1.2U_{eq}$ (Csp² ou N) ou $1.5U_{eq}$ (Csp³ ou O)], usando o modelo riding com distâncias de ligação fixas em $0,98 \text{ \AA}$ para (Csp³) ligado a apenas um hidrogênio, $0,96 \text{ \AA}$ (Csp³) para átomos de carbono com ligação a três hidrogênios, $0,93 \text{ \AA}$ para átomos envolvidos na aromaticidade, $0,86 \text{ \AA}$ (N-H terminal) e $0,82 \text{ \AA}$ (O-H terminal).

Para criar representações gráficas das estruturas, interpretar análises geométricas como ângulos e distâncias) e estudar a supramolecularidade, foram usados os programas ORTEP-3 (FARRUGIA, 2012), MERCURY (MACRAE et al., 2008), CHIMERA

(PETTERSEN et al., 2004) e DIAMOND (BRANDENBURG; PUTZ, 2017), bem como os valores dos parâmetros geométricos medidos nas estruturas. Esses programas permitem visualizar e analisar as estruturas cristalinas, incluindo a disposição espacial dos átomos e suas relações geométricas. Além disso, eles podem ser usados para calcular e visualizar parâmetros geométricos, como ângulos e distâncias entre átomos. Isso é útil para entender a conformação da molécula e como ela pode se relacionar com outras moléculas na estrutura cristalina.

A forma cristalina **1** não solvatada apresenta uma particularidade: os grupos t-butil da molécula possuem dois sítios de ocupação, sendo 66% e 34% para os átomos de carbono (átomos desordenados). O fator do sítio de ocupação (s.o.f) foi definido como uma variável livre durante todo o refinamento da desordem, utilizando parâmetro térmico para avaliar a porcentagem dos sítios de ocupação dos átomos de carbono. Os grupos terc- butil em foram divididos em dois sítios de ocupação, com proporções de 0,55(2)/0,45(2) e 0,598(8)/0,402(8). Na forma cristalina **2**, solvatado com DMF, os grupos terc-butyl apresentam proporções de 0,622(6)/0,378(6) e 0,525(6)/0,475(6). Há também um grupo n- butil com proporções de 0,685(8)/0,315(8). A molécula de DMF possui dois sítios de ocupação, com proporções de 0,751(11)/0,249(11), enquanto o grupo n-butyl apresenta desordem em três conformações, com proporções de 0,395(3)/0,308(3)/0,297(3). O fator do sítio de ocupação (s.o.f) foi definido como uma variável livre durante todo o refinamento da desordem. Este mesmo procedimento foi aplicado aos dois sítios de ocupação dos grupos n-butyl e à molécula de pirazina presente na estrutura da forma cristalina **3** solvatada com DMF. A forma cristalina **4** a cela unitária é composta por três íons de sódio com dois íons sódio com ocupação de 50% rotulado como Na02 e o outro íon remanescente com ocupação 100% rotulado como Na01, uma molécula de CX4A parcialmente desprotonada e meia molécula de resveratrol, além de três moléculas de DMF e duas moléculas de água cristalograficamente independentes. A unidade assimétrica contém quatro hidrogênios do grupo carboxila, dos quais três apresentam ocupação de 50%, totalizando 1.5 cargas negativas líquidas. Essas cargas negativas são contrabalanceadas por 1.5 cargas positivas dos íons de sódio. Os detalhes dos parâmetros cristalográficos e dos refinamentos das formas cristalinas **1** a **4** foram resumidos e apresentados na Tabela 1. Quanto às ligações de hidrogênio de todas as estruturas, essas informações foram consolidadas e podem ser encontradas nas Tabelas 1A e 2A no apêndice.

Após o refinamento das estruturas cristalinas, arquivos com extensão “.cif” (Crystallographic Information File) foram preparados e validados usando os relatórios

gerados para cada estrutura por programas de aferição da consistência e aceitabilidade da determinação das estruturas cristalinas. Para as avaliações dos arquivos “.cif” foram utilizados os programas PLATON e Check CIF. Este último programa é uma facilidade disponibilizada pela União Internacional de Cristalografia na rede mundial de computadores. Uma vez validados, os arquivos “.cif” contendo todas as informações sobre as coletas e processamento dos dados de DRXM, constantes de cela unitária, resolução e refinamento das estruturas, incluindo procedimentos, estatísticas das determinações estruturais, coordenadas fracionárias, parâmetros térmicos dos átomos, características geométricas moleculares que foram depositados no Centro de Dados Cristalográficos de Cambridge (CCDC- Cambridge Crystallographic Data Centre). Os parâmetros cristalográficos e os refinamentos de **1** a **4** foram sumarizados na Tabela 1. As ligações de hidrogênio para todas as estruturas foram agrupadas nas tabelas em apêndice. Todos os dados cristalográficos estão disponíveis no CCDC com números depositados: **1**, não-solvato (2128256); **2** solvato, DMF (2128255); **3** solvato, DMF (2128254); **4** co-cristal (1973144).

3.3.2 Cálculos de energia

Para a realização dos cálculos de energia e otimização geométrica, estabeleceu-se uma colaboração. Os cálculos, que envolveram a determinação da energia das interações intermoleculares foram conduzidos utilizando o programa Gaussian 09 (FRISCH et al., 2009), em parceria com o Professor Dr. Freddy Fernandes Guimarães, do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás (IQ-UFG). O estudo das energias presentes nas interações intermoleculares das moléculas presentes nas estruturas cristalinas **1**, **2** e **3** foram realizados a partir de cálculos teóricos, com o objetivo de explicar o comportamento dessas interações, que possuem um papel fundamental para a compreensão da formação dos solvatomorfos neste estudo. Para isso, os cálculos de energia foram realizados considerando os sistemas moleculares no vácuo. Tais cálculos forneceram bons resultados na determinação da energia molecular e das interações intramoleculares e/ou intermoleculares. Foi empregada o método no modelo teórico de sistemas moleculares, a metodologia computacional Teoria do Funcional da Densidade (Density Functional Theory, DFT) (HOHENBERG, KOHN, 1951) utilizando o funcional híbrido meta-GGA (meta - generalized gradient approximation) M06- 2X (ZHAO; TRUHLAR, 2008), recomendado para aplicações que envolvem as interações não covalentes, ou seja, as interações

intermoleculares e o conjunto de funções da base 6-31G (d, p). Todos os cálculos foram realizados utilizando o programa Gaussian 09 A (FRISCH et al., 2009).

Os arranjos moleculares contendo as principais interações intermoleculares e as moléculas isoladas, foram extraídos a partir das estruturas cristalinas usando o programa MERCURY (MACRAE et al., 2008). As energias para as moléculas agregadas e as isoladas foram obtidas sem otimização, pois isso alteraria significativamente a geometria das interações intermoleculares, produzindo estruturas teóricas incapazes de serem comparadas com as estruturas experimentais. As energias das interações foram estimadas subtraindo as energias correspondentes das moléculas isoladas de seus arranjos moleculares e do seu sistema molecular como um todo. Neste estudo, a energia molecular livre é calculada conforme a Equação 1, na qual as energias dos monômeros 1 e 2 são subtraídas da energia total da molécula (AVARAND et al., 2018).

$$\Delta E = E_{total\ da\ molécula} - E_{monômero\ 1} - E_{monômero\ 2}(1)$$

Equação 1. As energias dos monômeros 1 e 2 são subtraídas da energia total da molécula. (3-1)

3.3.3 Espectroscopia de fluorescência

Os testes de emissão de fluorescência foram realizados em parceria com os professores Dr. Lauro June Queiroz Maia e Dr. Ricardo Costa de Santana, do Instituto de Física da Universidade Federal de Goiás (IF-UFG). Os espectros de emissão de fluorescência para as amostras **1**, **2** e **3** foram medidos usando o fluorímetro Fluorolog FL3-221 Horiba Jobin-Yvon, com lâmpada de xenônio e potência de 450 W. O espectro de excitação das amostras foi medido na faixa de 250 nm a 560 nm, e de 380 a 700 nm para o espectro de emissão. O bandpass foi ajustado para 1,5 nm e todos os pontos foram obtidos em cada intervalo de 1,5 nm. Uma esfera de integração de 152 mm, fabricada pela Horiba® Jobin Yvon (modelo Quanta F 3029), foi utilizada para estimar o rendimento quântico (WRIGHTON et al., 1974). O software Flúor Essence V3.5 foi usado na última medição e os perfis espectrais do suporte da amostra, esfera de integração, monocromadores e detector foram subtraídos das emissões das formas cristalinas.

3.3.4 Espectroscopia vibracional na região de infravermelho (IV)

As amostras foram analisadas utilizando-se 100 mg de KBr e 5 mg da forma cristalina 4. Os espectros foram obtidos no equipamento PerkinElmer Spectrum 400, sendo feitas 16 varreduras na região de 4000 a 220 cm^{-1} com resolução de 2 cm^{-1} . A técnica utilizada foi a de transmitância. Não foram observadas bandas de absorção na região visível.

3.3.5 Análise térmica

A amostra do composto 4 foram caracterizados através das técnicas térmicas de calorimetria exploratório diferencial (DSC) e termogravimetria (TG). As análises por DSC foram conduzidas sob fluxo de calor em atmosfera de nitrogênio com vazão e taxa de aquecimento controladas. As análises poderão compreender uma faixa de temperatura entre 25 e 750 $^{\circ}\text{C}$, embora faixas de 40 a 350 $^{\circ}\text{C}$ sejam suficientes para caracterizar o comportamento térmico de sólidos moleculares. Cadinhos de alumínio serão utilizados como porta-amostra e referência. Cerca de 5 mg de cada amostra serão exatamente pesadas diretamente sobre os cadinhos, os quais serão então selados e perfurados antes das análises. Anteriormente aos experimentos de DSC, o ambiente dentro do equipamento será purgado com nitrogênio por 15 minutos para remoção de ar. As análises por TG também foram conduzidas sob atmosfera de nitrogênio. Uma massa de aproximadamente 12 mg das formas cristalinas será utilizada, sob as mesmas condições analíticas das corridas de DSC.

3.3.6 Avaliação da solubilidade do resveratrol no co-cristal

Determinação do teor de resveratrol no co-cristal

Inicialmente, foi realizada avaliação, em triplicata, do teor de resveratrol nos co-cristais. Para isso, amostras de 0,01g foram pesadas, apropriadamente diluídas em etanole quantificadas por espectrofotometria UV-Vis. O teor de resveratrol no co-cristal foi de 452 mg/g.

Determinação da solubilidade aquosa do resveratrol e do co-cristal

A solubilidade em equilíbrio do resveratrol e do co-cristal (resveratrol com calix[4]tubo) foi determinada utilizando o método de miniaturização do shake-flask. Os testes foram realizados em triplicata da seguinte maneira: uma amostra (com a adição de cerca de 10 mg) foi adicionada à água de osmose reversa (1 mL) em cada eppendorf, à temperatura ambiente, até a observação de material não dissolvido em excesso. A mistura foi agitada por 48 horas a 250 rpm a uma temperatura de 20 °C. A presença de precipitação foi verificada a cada hora ao longo de um total de 6 horas após o início da agitação. Após as 48 horas de ensaio, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 20 minutos. Após a equilíbrio, as amostras foram filtradas através de um filtro de 0,45 mm (Millipore) e foram realizadas diluições de 1000 vezes de alíquotas de filtrado (50 mL) em etanol. A concentração do composto no filtrado foi quantificada por interpolação de medidas espectroscópicas das soluções diluídas em uma curva de calibração cujas concentrações variaram. Um espectrofotômetro UV-vis (Shimadzu) foi usado a 298 nm, e as soluções padrão usadas para gerar a curva de calibração foram preparadas usando um material padrão de resveratrol (DA SILVA et al., 2013).

3.3.7 Desenvolvimento do método analítico para quantificação do resveratrol por Espectrofotometria UV/Vis

O método analítico para a quantificação do resveratrol por espectrofotometria realizado a partir dos critérios recomendados pelo ICH (2005) e ANVISA (2017) que preconiza a avaliação dos parâmetros analíticos de linearidade, exatidão, precisão, limite de quantificação, limite de detecção e seletividade. As análises foram realizadas no espectrofotômetro UV-Vis Genesys 50, ThermoFisher®, em comprimento de onda 298 nm, empregando etanol como diluente.

Seletividade

Para determinar a seletividade do método, avaliou-se isoladamente, o resveratrol, o CX4A e o co-cristal. Para isso, os analitos foram devidamente diluídos em etanol. Em seguida, foi realizada varredura por espectrofotometria.

Linearidade

A linearidade foi determinada pela construção de curva analítica utilizando-se soluções com concentração de resveratrol no intervalo linear de 0,5 a 8,0 µg/mL, em triplicata. O desvio padrão relativo entre as áreas dos picos, coeficiente e variação (CV%) da curva de calibração, o coeficiente de determinação (R^2) e coeficiente de correlação (r) foram determinados.

Precisão e Exatidão

A precisão A precisão foi determinada no ponto médio da curva (4,0 µg/mL), em sextuplicata, a partir da proximidade dos resultados obtidos no mesmo dia e em dias diferentes (intra e interdia, respectivamente) e seus respectivos CV(%). A exatidão foi determinada analisando concentrações de três pontos da curva (0,5; 4,0 e 8,0 µg/mL), em triplicata, avaliando a relação entre as concentrações encontradas e seus respectivos valores teóricos.

Limite de Quantificação (LQ) e Limite de Detecção (LD)

O LQ é representado pela menor concentração de resveratrol que pode ser determinada com precisão e exatidão. Dessa forma, foram preparadas soluções com concentrações decrescentes de RESV (0,5; 0,4; 0,3; 0,2 e 0,1 µg/mL) e analisadas. A partir da análise de absorvância de concentrações do analito próximas ao suposto limite de detecção, foi possível extrair três curvas de calibração. Para a determinação do LD e LQ, foram utilizadas as equações abaixo :

$$LD = \frac{3,3 \cdot \sigma}{IC} \qquad LQ = \frac{10 \cdot \sigma}{IC}$$

Onde IC é a inclinação da a curva de calibração, é o desvio padrão obtido a partir do desvio padrão do intercepto com o eixo Y de, no mínimo, 3 curvas de calibração construídas contendo concentrações do analito próximas ao suposto limite de detecção. A seguir a Tabela 1 apresenta os dados do refinamentos e parâmetros cristalográficos das estruturas cristalinas de 1 a 4.

Tabela 1– Dados cristalográficos e estatística de refinamento.

	1	2	3	4
Fórmula Estrutural	C ₅₄ H ₆₂ N ₆ O ₆	C ₅₇ H ₆₉ N ₇ O ₇	C ₄₆ H ₁₆₆ N ₂₂ O ₂₂	C ₁₀₄ H ₁₁₈ N ₆ Na ₃ O ₃₇
Massa Molecular	891,10	964,19	2629,05	2118,05
Sistema Cristalino	<i>P</i> 21/ <i>c</i>	<i>P</i> $\bar{1}$	<i>P</i> $\bar{1}$	<i>Pbcn</i>
Grupo Espacial	monoclínico	triclinico	triclinico	Ortorrômico
λ (Å)	0,71073	0,71073	1,54178	0,71073
a (Å)	13,7397(17)	11,531(3)	13,0327(9)	16,790(3)
b (Å)	23,978(3)	15,648(4)	24,5724 (15)	20,081(4)
c (Å)	14,9453(18)	15,803(5)	25,6214(17)	31,917(6)
α (°)	90	83,361(7)	63,320(3)	90
β (°)	94,826(3)	87,437(8)	87,609(4)	90
γ (°)	90	79,217(7)	75,037(4)	90
V (Å ³)	4906,3(10)	2781,5(14)	7056,7(8)	10761(4)
Z	4	2	2	4
Densidade calculada (mg/m ³)	1,206	1,151	1,237	1,307
Coefficiente de absorção (mm ⁻¹)	0,079	0,076	0,683	0,109
Intervalo θ para coleta de dados (°)	2,112-25,477	2,193-25,399	5,012-67,006	2,028-25,626
Dados coletados	225730	116322	62130	182904
Reflexões únicas	9078	10237	24096	10069
Reflexões únicas com $l > 2\sigma(l)$	5017	6336	11790	4472
R _{int}	0,2765	0,1131	0,0886	0,991
Completeza para θ_{max} (%)	99,5	99,6	95,6	99,5
F(000)	1904	1032	2792	
Parâmetros refinados	614	705	1952	690
Qualidade de ajuste em F ²	1,052	1,146	1,376	0,971
Fator R ₁ final para $l > 2\sigma(l)$	0,0797	0,1194	0,1347	0,1365
Fator wR ₂ para todos os dados	0,1822	0,3032	0,4706	0,3601
Maior pico/buraco difração ($e/\text{Å}^3$)	0,385 /-0,355	0,382/-0,429	0,868/-0,689	0,358/ -0,334
Número de deposição CCDC	2128256	2128255	2128254	1973144

Fonte: Alvarenga et, 2022. Journal of Molecular Structure,1258, 132694, 2022.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. Determinação das formas cristalinas 1, 2 e 3

As formas cristalinas **1** e **2**, que são formados pelo mesmo híbrido de calixareno-pirazinamida, organizaram-se em duas diferentes formas sólidas, dependendo do solvente de cristalização. Utilizou uma mistura de solventes acetato de etila/hexano/etanol na proporção 5:1:1, foi obtida uma forma sólida de única molécula, caracterizada por um sistema cristalino monoclinico e grupo espacial $P2_1/c$, conforme ilustrado na Figura 4.1.

A forma cristalina **2**, quando cristalizada a partir de uma mistura de solventes de acetato de etila/hexano/etanol/dimetilformamida, apresenta uma molécula cristalograficamente independente solvatada com DMF. Esta estrutura foi caracterizada por um sistema cristalino triclinico e grupo espacial $P\bar{1}$, conforme ilustrado na Figura 4.2. A inclusão desse solvente influenciou a conformação e o empacotamento molecular. Apesar de o calixareno em adotar uma conformação em cone em ambas as formas cristalinas **1** e **2**, auxiliado por duas ligações de hidrogênio intramoleculares clássicas entre os grupos hidroxila e butoxi, a conformação dos substituintes inteiros nas coroas superiores são diferentes nestas variantes no estado sólido, conforme mostrado nas Figuras 4.3.

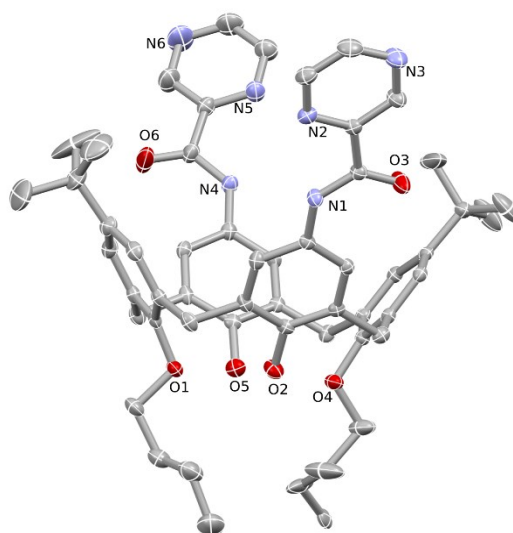


Figura 4. 1. A unidade assimétrica do calixareno-pirazinamida em **1** foi apresentada com as indicações dos átomos de oxigênio e nitrogênio da molécula. Os átomos não-hidrogenóides foram ilustrados com elipsoides a 30% de probabilidade, enquanto os átomos de hidrogênio.

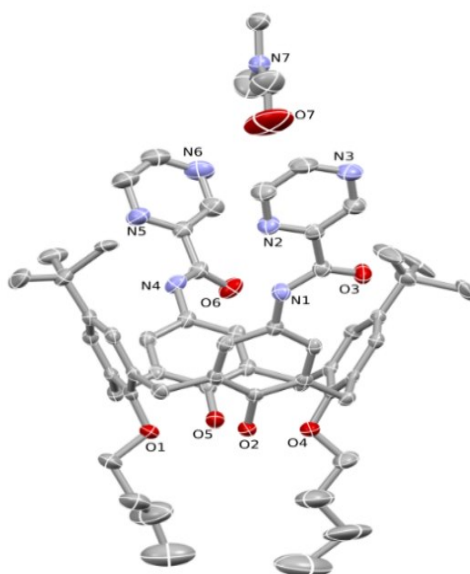


Figura 4.2. A unidade assimétrica do híbrido calixareno-pirazinamida em **2** foi apresentada, com os rótulos dos átomos de oxigênio e nitrogênio da molécula. Os átomos não-hidrogenóides foram ilustrados com elipsóides a 30% de probabilidade, enquanto os átomos de hidrogênio foram omitidos.

Na forma não solvatada **1**, os grupos carbonila dos dois substituintes da borda superior estão quase alinhados por um eixo de duplo perpendicular à base da coroa, enquanto no solvato de DMF esses grupos podem estar quase alinhados por um plano espelho perpendicular à base da coroa. Isso é consequência da rotação no eixo da ligação N-C que conecta o substituinte de pirazinamida aos anéis fenólicos, que posiciona os grupos carbonila na direção oposta da cauda do cone do calixareno na forma não solvatada em **1** e para o mesmo sentido da cauda no solvato de DMF em **2**.

Em ambas as formas cristalinas, uma característica notável é a coplanaridade entre um substituinte de pirazinamida inteiro e seu anel fenólico ligado, com um desvio quadrático médio (RMSD) para os planos de mínimos quadrados pirazinamida-fenólica abaixo de 0,1 Å, e ângulos de torção ω , na ligação entre o anel fenólico e o nitrogênio da amina, e ϕ , na ligação entre o anel de pirazina e o carbono carbonílico, próximos de 0° na Figura 4.3 e apresentados na Tabela 2. Em contraste, o outro substituinte é torcido em relação ao anel fenólico (veja os maiores valores correspondentes de RMSD e ângulos de torção ω e ϕ). Neste substituinte torcido, o anel de pirazina também é torsionado (curvado) em relação ao grupo carbonila, conforme observado pelo maior valor do ângulo de torção ϕ em ambas as formas cristalinas. Da mesma forma, interações intramoleculares não covalentes mais fracas entre o grupo amina e o nitrogênio da pirazina na 2- posição auxiliam

na estabilização molecular. As moléculas das formas cristalinas **1** e **2** foram totalmente otimizadas por DFT, com e sem DMF aprisionado, apresentam maiores valores de RMSD para os átomos não hidrogenóides de toda estrutura de pirazinamida-fenólica, revelando que a coplanaridade da estrutura toda fundida da forma cristalina de **1** e **2** no estado sólido pode ser função de contatos $\text{CH}\dots\pi$ e $\pi\dots\pi$ formados na parte externa da coroa. Os hidrogênios metílicos do DMF envolvidos no aprisionamento do solvente na cavidade da coroa foram mostrados na Figura 4.3. As linhas tracejadas verdes e ciano ilustram as interações $\text{CH}\dots\pi$ e $\text{OH}\dots\text{O}$, respectivamente. Para cada contato $\text{CH}\dots\pi$, a distância $\text{Cg}\dots\text{H}$ é mostrada em angstroms, onde Cg é o centróide calculado através dos seis carbonos fenólicos do anel aromático ligado. Os ângulos de torção ϕ e ω são definidos uma vez com barras coloridas para a estrutura não solvatada do **1**, enquanto todas as outras moléculas cristalograficamente independentes relacionadas aqui seguem essa mesma definição. Apenas átomos de oxigênio envolvidos nas interações intramoleculares $\text{OH}\dots\text{O}$ são rotulados para acompanhar as métricas das interações na Tabela 1A. Os valores dos ângulos de torção ϕ e ω em cada porção de pirazinamida foram apresentados na **Erro! Fonte de referência não encontrada..** Também como o desvio padrão quadrático médio (marcado com asterisco) para o plano de mínimos quadrados pirazinamida-fenólica correspondente (calculado através dos seis carbonos fenólicos, os seis átomos de pirazina e os três átomos de amida de cadeia aberta de átomos não-hidrogenóides), são mostrados nessas imagens rotuladas com O.

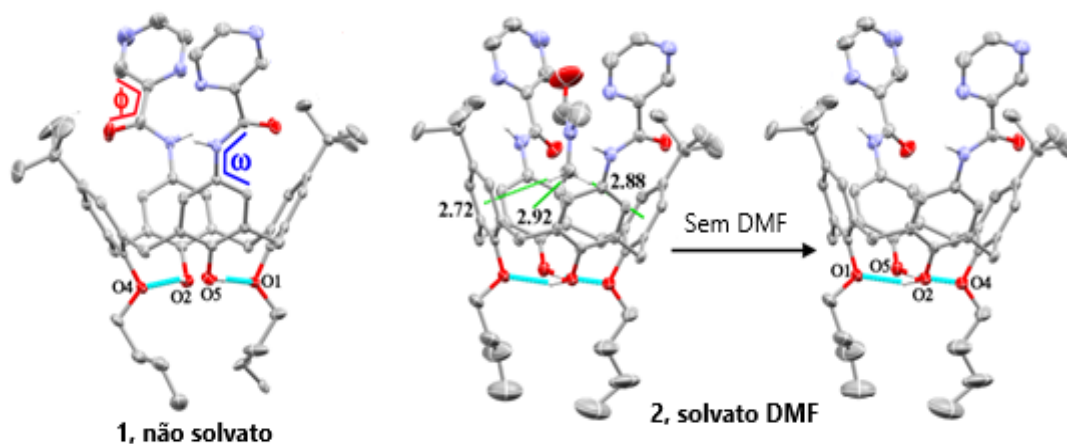


Figura 4. 3. Inicialmente tem-se a forma cristalina **1** e segundo momento a forma cristalina **2** com DMF e sem DMF. Os átomos não hidrogenoides foram representados por elipsóides com uma probabilidade de 30%, enquanto os átomos de hidrogênio foram omitidos. Todos os átomos de hidrogênio presentes nos grupos CH dos híbridos de calixareno-pirazinamida também foram omitidos. Os locais de átomos com fatores de ocupação menores nas três estruturas não foram exibidos para maior clareza e todas as medições se referem às conformações de maior ocupação.

Tabela 2 . Valores calculados para os ângulos de torção (ω e ϕ) para as estruturas **1** e **2**, bem como para as estruturas otimizadas **1** e **2**.

Ângulos de torção (ω e ϕ)	1	1 otimizado	2	2 otimizado
ϕ	-0,8(5)°	-18,4 (6)°	-18,2 (7)°	-3,6 (7)°
ω	2,7(5)°	-6,2 (6)°	33,8 (8)°	10,4 (8)°
* (Å)	0,0272	0,248	0,333	0,0825

A coplanaridade entre os grupos pirazina e carbonila na pirazinamida é notável nas moléculas totalmente otimizadas por DFT, como observado pelos baixos valores de ângulo de torção ϕ , ilustrado na (Figura 4.4) e valores apresentados na Tabela 3. No empacotamento cristalino da forma cristalina não solvato **1** e solvato **2**, destacam-se a formação de dímeros centrossimétricos nos quais as moléculas estão inseridas nas coroas umas das outras, como mostrado na Figura 4.5. Os contatos CH... π são estabelecidos entre um grupo t-butil de uma molécula e os quatro anéis fenólicos de outra, de forma recíproca. Além disso, duas ligações de hidrogênio intermoleculares clássicas NH...O entre os grupos amina e carbonila de moléculas relacionadas centrossimetricamente atuam como ramificações, mantendo-as lateralmente unidas no dímero (Figura 4.5). A geometria dessas interações de ligação de hidrogênio clássica encontrada nesta estrutura e nas outras relatadas pode ser vista na Tabela 1A. Por outro lado, na forma solvatada com DMF em **2**, este solvente também está incluído na coroa, igualmente por meio de contatos CH... π , conforme ilustrado na Figura 4.3. Nesta forma solvatada, ligações de hidrogênio intermoleculares NH...O também são formadas entre as mesmas partes das moléculas da forma cristalina não solvatada **1**, no entanto, as moléculas relacionadas pela simetria de translação foram mantidas em contato através dessas ligações, formando cadeias unidimensionais, como mostrado na Figura 4.6.

A forma cristalina **3**, assim como nas formas cristalinas **1** e **2**, também cristalizou na forma de um solvato de DMF, mas com três moléculas híbridas de pirazinamida-calixareno na unidade assimétrica e quatro moléculas de solvente (sistema cristalino triclinico, grupo espacial $P\bar{1}$). Molecularmente, a forma cristalina **3** difere de **1** e **2** pela ausência de substituintes t-butil nos anéis fenólicos nas 2,4 - posições da coroa. Isso se reflete em anéis fenólicos substituídos mais inclinados entre si na forma cristalina **3** do que na forma cristalina **1** e **2**.

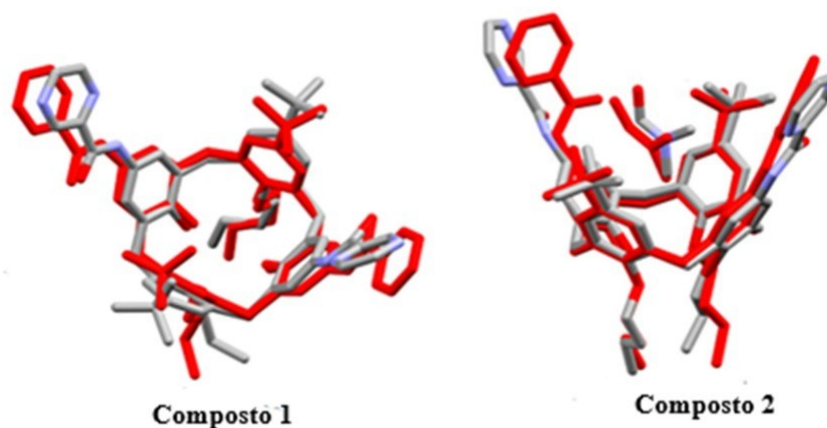


Figura 4. 4. Sobreposição molecular entre a estrutura teórica (M062X/ Def2TZV) e as geometrias cristalinas dos híbridos calixareno-pirazinamida em **1** (RMSD), para a sobre- posição de átomos não hidrogenóides, incluindo **2** (solvato de DMF) que foi otimizado. Para **1**, o valor foi de 0,989 Å; e para **2**, foi de 0,831 Å.

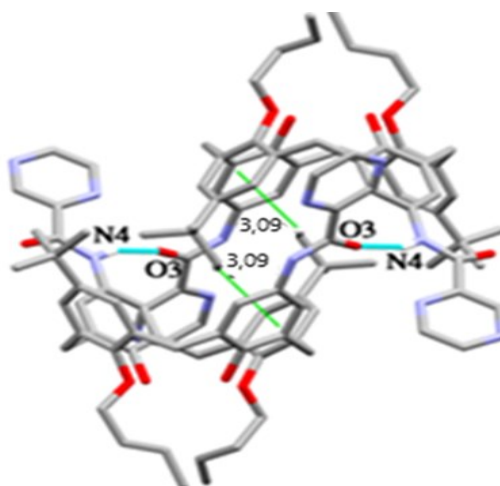


Figura 4. 5. O empacotamento cristalino da forma cristalina **1** possui a formação de dímeros centrossimétricos nos quais as moléculas estavam auto-incluídas na coroa da outra molécula. Os contatos do tipo $\text{CH} \cdots \pi$ ocorrem entre uma parte t-butil de uma molécula e os quatro anéis fenólicos da outra molécula.

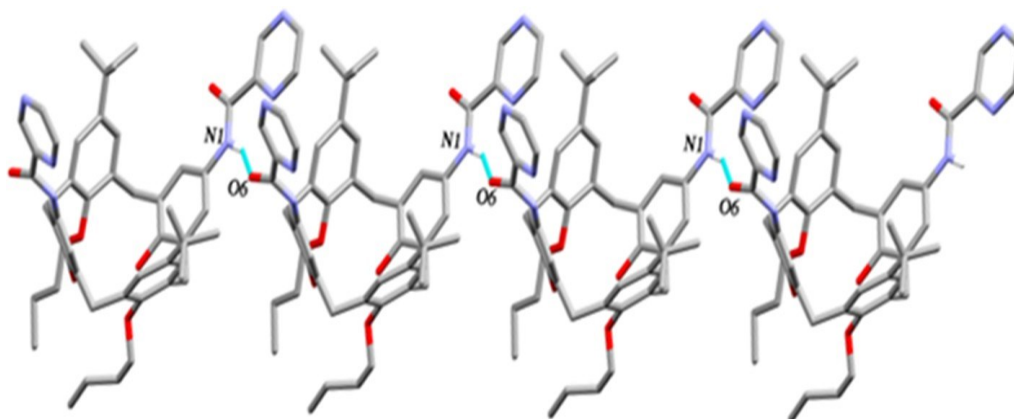


Figura 4.6. As ligações de hidrogênio intermoleculares clássicas $\text{NH} \cdots \text{O}$ entre os grupos amina e carbonila das moléculas relacionadas centrossimetricamente atuam como ramificações, mantendo-as lateralmente unidas no dímero.

Os planos de mínimos quadrados, calculados com base nos seis carbonos dos anéis fenólicos substituídos por pirazinamida, formam ângulos de $88,9(2)^\circ$, $89,47(19)^\circ$ e $85,3(4)^\circ$ nas moléculas rotuladas como A, B e C na forma cristalina **3**. Em contraste, esta mesma medida é de $64,88(10)^\circ$ e $69,93(18)^\circ$ nas formas não solvatada **1** e solvato de DMF **2**, respectivamente.

Similarmente ao encontrado em ambas as formas cristalinas do **1** e **2**, duas das três moléculas cristalográficas independentes da forma cristalina **3** possuem um substituinte de pirazinamida em alta coplanaridade com seu anel fenólico correspondente, especificamente aquelas rotuladas como B e C (observe seus valores de RMSD abaixo de $0,1 \text{ \AA}$). Entretanto, na molécula A, ambas as partes de pirazinamida estão torcidas nas ligações N-C que as conectam aos grupos fenólicos correspondentes (ângulo de torção $\omega=34,7(7)^\circ$ e $36,5(7)^\circ$), embora ambos os anéis de pirazina sejam coplanares aos seus grupos amida (ângulo de torção ϕ próximo de 0°). Este comportamento também é encontrado na parte de pirazinamida do substituinte torcido na molécula C (ângulos de torção ω e $\phi=20(3)^\circ$ e $-7(2)^\circ$), enquanto o anel de pirazina é torsionado (dobrado) em relação ao grupo carbonila em um dos substituintes da molécula B (ângulo de torção $\phi=45(2)^\circ$) visto na Figura 4.7.

Quanto ao padrão de conformação em torno da mencionada ligação N-C, as moléculas A e C apresentam grupos carbonila apontando para sentido opostos da coroa, como na forma não solvatada do **1**, enquanto a molécula B se assemelha ao solvato de DMF com ambos os grupos carbonila orientados para o mesmo lado (Figura 4.7 e 4.8). Por essa razão, as moléculas B e C, e o DMF aprisionado nelas, foram totalmente otimizadas apenas no nível de teoria M062X/Def2TZV, assumindo-se que a molécula A convergiria para sua conformação semelhante na molécula C. Exceto por uma parte inteira de pirazinamida-fenólica da molécula B, que apresentou um valor de $19,17^\circ$, todas as outras apresentaram alta coplanaridade tanto nas moléculas totalmente otimizadas por DFT da forma cristalina **3**, exibindo, portanto, baixos ângulos de torção ϕ e ω , e também com baixos valores de RMSD pirazinamida-fenil (Figura 4.8). É importante notar que as geometrias totalmente otimizadas por DFT e geometrias cristalinas concordaram bem, com valores de RMSD para todos os átomos não hidrogênóides sobrepostos (incluindo aqueles do DMF aprisionado) inferiores a $1,0 \text{ \AA}$ na conformação não solvatada do **1** e nas formas solvatadas de DMF do **2** e **3** (Figura 4.8). Nas formas cristalinas **1** e **2**, o desvio resultante da sobreposição molecular foi de $0,985 \text{ \AA}$ (Figura 4.8). Em relação ao composto **3**, a

sobreposição molecular foi calculada entre as estruturas teóricas (M062X/Def2TZV) e as geometrias cristalinas dos híbridos calixareno-pirazinamida. O desvio (RMSD) para a sobreposição dos átomos não hidrogenóides, considerando a inclusão do solvato com DMF, foi otimizado. Na estrutura cristalina de **3**, os desvios encontrados foram os seguintes: entre as moléculas A e B, o desvio foi de 1,076 Å, entre as moléculas A e C, o desvio foi de 0,608 Å, e entre as moléculas B e C, o desvio foi de 0,949 Å (Figura 4.8).

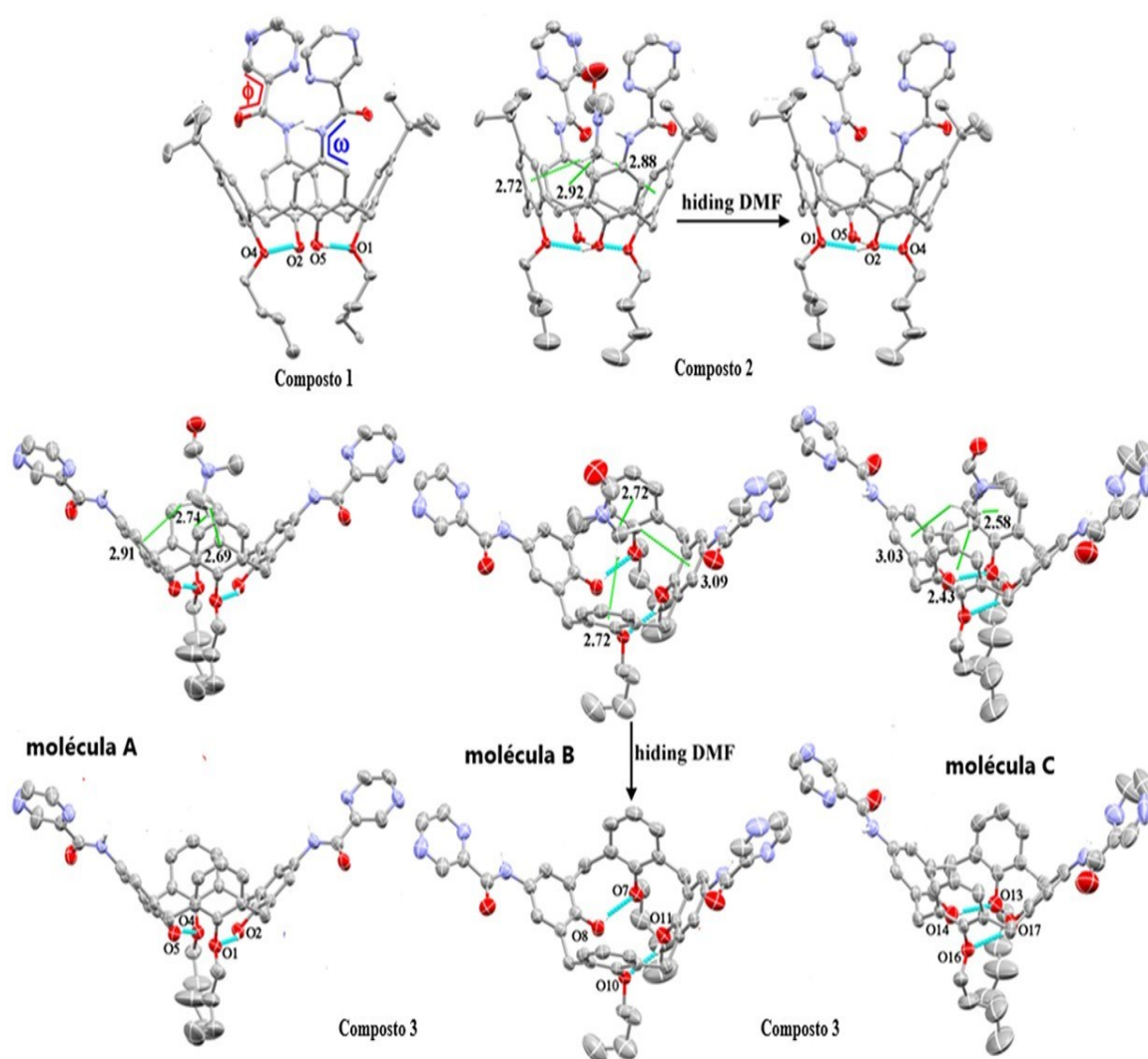


Figura 4. 7. As estruturas cristalinas dos híbridos de calixareno-pirazinamida de **1**, **2** e **3** são apresentadas, onde os átomos não hidrogenóides são representados por elipsóides e os átomos de hidrogênio foram omitidos. As interações do tipo CH... π e OH...O são representadas por linhas tracejadas verdes e ciano, medidas e os átomos de oxigênio envolvidos nessas interações intramoleculares foram identificados.

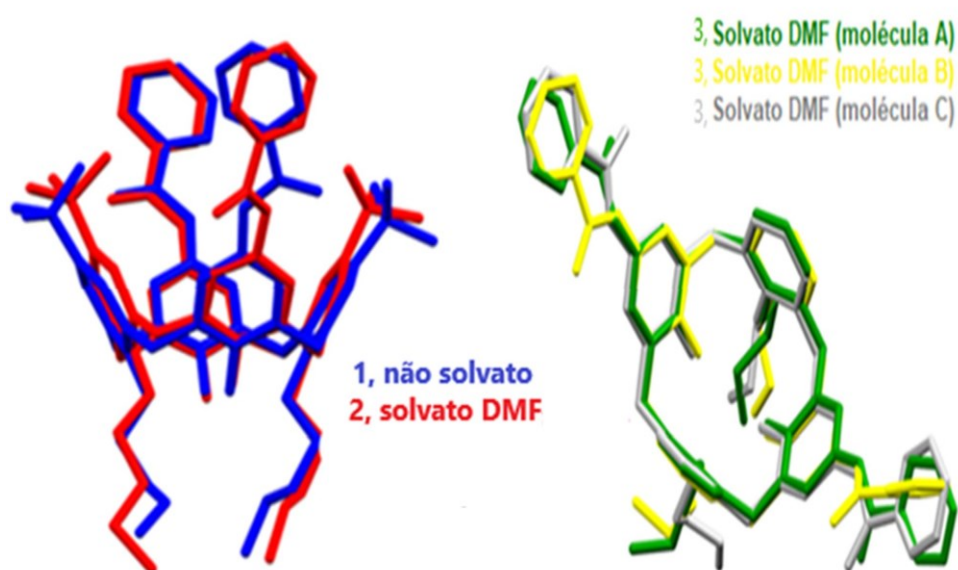


Figura 4.8. Superposição molecular entre as moléculas do híbrido calixareno-pirazinamida cristalograficamente independente para compostos **1** e **2**. Em seguida a sobreposição das três moléculas (A, B, C) do composto **3**.

Com exceção da pirazinamida da molécula B, que apresentou uma torção ω de $19,17^\circ$, todas as outras moléculas apresentam alta coplanaridade, assim como as moléculas otimizadas por DFT da forma cristalina **3**. Essas moléculas apresentam ângulos de torção (ω e ϕ) baixos e valores baixos de RMSD para o anel de pirazinamida (apresentados na Tabela 3). É importante destacar que as geometrias das estruturas cristalinas otimizadas por DFT apresentam valores de RMSD para os átomos não hidrogenóides sobrepostos (incluindo os átomos da molécula de DMF inclusa) inferiores a $1,0 \text{ \AA}$ na conformação da molécula não solvatada de **1** e nas moléculas solvatadas com DMF das formas cristalinas **2** e **3** (Figura 4.9). A sobreposição molecular entre as estruturas teóricas (M062X/Def2TZV) e as geometrias cristalinas dos híbridos calixareno-pirazinamida de **1** e **2** foram analisadas. Para a sobreposição dos átomos não hidrogenóides, incluindo o solvato de DMF, o desvio (RMSD) foi otimizado. No caso da molécula não solvatada de **1**, o desvio foi de $0,989 \text{ \AA}$, para a molécula solvatada com DMF de **2**, o desvio foi de $0,831 \text{ \AA}$. Na forma cristalina **3**, a mesma análise foi conduzida entre as estruturas teóricas (M062X/Def2TZV) e as geometrias cristalinas dos híbridos calixareno-pirazinamida. Para a sobreposição dos átomos não hidrogenóides, incluindo o solvato de DMF, o desvio foi otimizado. Aqui, a molécula **B** apresentou um desvio de $0,886 \text{ \AA}$, e a molécula **C**, de $0,516 \text{ \AA}$. A molécula **A** de **3** não foi otimizada, visto que sua conformação é similar à da molécula **C** (Figura 4.9). Os ângulos

de torção ϕ e ω são apresentados na Tabela 3 e na Figura 4.7, e seus valores são apresentados apenas para as geometrias teóricas nesta Figura 4.7, assim como o desvio quadrático médio para o plano mínimo quadrado correspondente de pirazinamida-fenil (medições marcadas com asterisco, também apresentadas na tabela 3 e na Figura 4.7).

Tabela 3. Os valores dos ângulos de torção ω e ϕ foram apresentados para as geometrias teóricas dos compostos **1**, **2** e **3** (incluindo as moléculas B e C de **3**). Também foi apresentado o desvio (*) correspondente à pirazinamida-fenílico no plano basal.

Ângulos de torção (ω e ϕ)	Estrutura 1	Estrutura 1 otimizada	Estrutura 2	Estrutura 2 otimizada
ϕ	-0,77	-0,86	-4,66°	-0,84
ω	19,55	23,26	-26,39	29,23
* (Å)	0,158	0,190	0,313	0,244
Ângulos de torção (ω e ϕ)	Estrutura 3B	Estrutura 3B otimizada	Estrutura 3A	Estrutura 3A otimizada
ϕ	-1,04	-0,82	-0,04	-0,05
ω	0,79	19,17	-1,84	0,33
* (Å)	0,0312	0,157	0,0203	0,0181

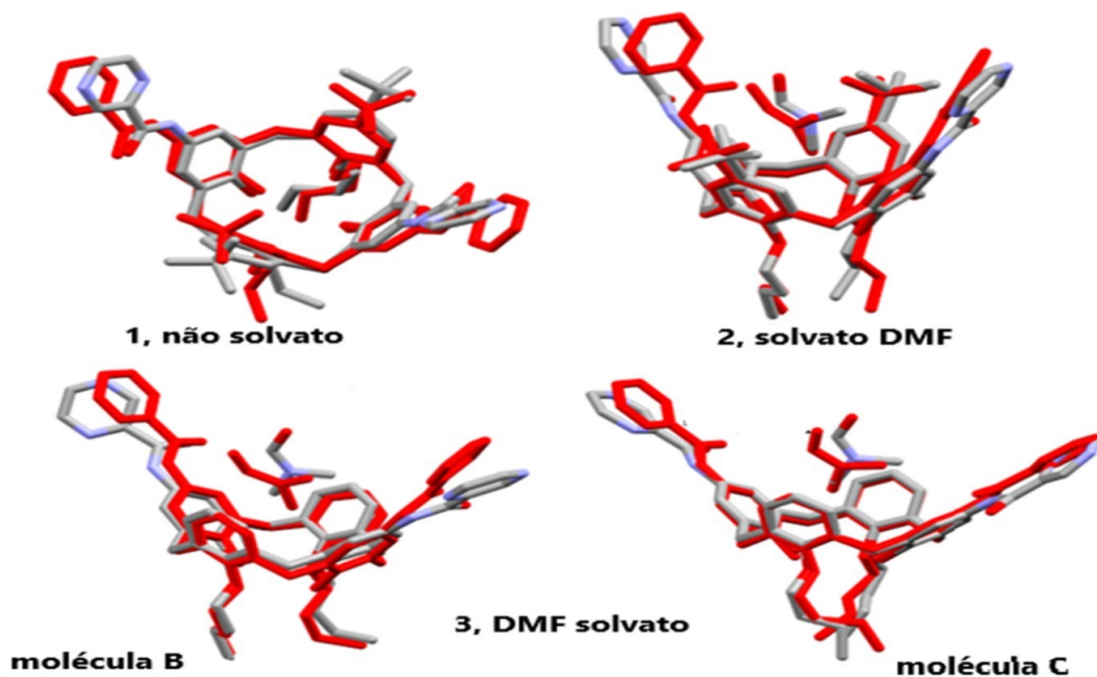


Figura 4.9. Superposição molecular entre as moléculas do híbrido calixareno- pirazinamida otimizadas para compostos **1** e **2**. Em seguida a sobreposição das moléculas otimizadas B e C de **3**.

Três das quatro moléculas de DMF cristalograficamente independentes são aprisionadas nas coroas por meio de contatos CH... π , como na forma solvatada de **2**. No entanto, diferentemente do **1** e **2**, estas três moléculas de DMF aprisionadas são aceitadoras de ligação de hidrogênio intermolecular dos grupos amina de moléculas vizinhas da forma cristalina **3** (Figura 4.10). Na forma cristalina **3**, notou-se a inclusão de três das quatro moléculas de DMF, independentes cristalograficamente, nas coroas. Este fenômeno ocorre por meio dos contatos CH... π , conforme ilustrado na Figura 4.9. Esta disposição assemelha-se à estrutura solvatada observada na forma cristalina **2**. No entanto, na forma cristalina **3**, verifica-se que estas moléculas de DMF desempenham um papel de receptor para ligações de hidrogênio intermoleculares do grupo amina originadas de moléculas vizinhas, apresentando uma distinção em relação ao solvato **2**. Além disso, observou-se outra particularidade notável no empacotamento molecular da estrutura **3** e na estrutura de **1** a presença da conformação cauda-a-cauda, que surgiu do empilhamento do tipo π ... π entre as moléculas de pirazinamida (visto nas Figuras 4.11 e 4.12.b). Estas, por sua vez, mostram-se coplanares às moléculas relacionadas centrossimétricas. Finalmente, as características intramoleculares se mostram comparáveis à forma solvatada com DMF **2**, decorrentes dos contatos do tipo CH... π , presentes em ambos os lados planares das moléculas (Figuras 4.8, 4.11e 4.12.c). Nestes casos, as interações CH... π ajudam a estabilizar a orientação e a conformação das moléculas dentro da estrutura cristalina. A Figura 4.10 as ligações de hidrogênio clássicas observadas no composto **3** e as moléculas de DMF, juntamente com os contatos tipo π ... π entre as moléculas do mesmo composto, demonstram uma similaridade com os contatos encontrados na forma cristalina não solvatada **1**. As interações do tipo π ... π e NH...O estão representadas por linhas tracejadas. Os átomos doadores e receptores dessas ligações de hidrogênio foram nomeados em sequência, de acordo com os valores das interações medidas, que estão listados na Tabela 1A (apêndice). A medida apresentada (em Å) refere-se à distância Cg...Cg, em que Cg representa o centróide calculado a partir de seis átomos do anel fenólico ou seis átomos de carbono da pirazina.

A disposição cristalina da forma cristalina **1** sólida não-solvatada é marcada pela formação de dímeros centrossimétricos nos quais as moléculas estão profundamente auto-incluídas na coroa uma da outra. Contatos CH... π são estabelecidos entre uma unidade t-butil de uma molécula e os quatro anéis fenólicos de outra, de maneira recíproca. Além disso, duas ligações de hidrogênio intermoleculares clássicas NH...O entre os grupos amina

e carbonila das moléculas relacionadas centrossimetricamente atuam como ramificações segurando-as lateralmente no dímero (4.12.a). O fenômeno de auto-inclusão é evidente na estrutura cristalina não solvatada **1**, o qual também apresenta contatos $\pi\cdots\pi$ visto na Figura 4.11.a. O empilhamento do tipo $\pi\cdots\pi$ ocorre entre o anel substituído da pirazina na borda superior e a molécula fenil da borda inferior visto na Figura 4.11.b-c. Por outro lado, o DMF está profundamente inserido na coroa, também por meio de contatos $\text{CH}\cdots\pi$ (Figura 4.7). Nesta forma solvatada **2**, ligações de hidrogênio intermoleculares $\text{NH}\cdots\text{O}$ são formadas entre as mesmas partes da forma cristalina não-solvatada **1**. Contudo, moléculas relacionadas pela simetria de translação são mantidas em contato através desses contatos, formando cadeias unidimensionais visto na Figura 4.11.d. Os contatos $\text{CH}\cdots\pi$ e os contatos $\pi\cdots\pi$ são responsáveis por conectar as moléculas nas estruturas cristalinas de **3** e as moléculas solvatadas com DMF. As linhas tracejadas verdes representam os contatos $\text{CH}\cdots\pi$ e $\pi\cdots\pi$ e as interações do tipo $\text{NH}\cdots\text{O}$ estão destacadas com linhas tracejadas ciano. Os átomos doadores e receptores dessas ligações de hidrogênio foram nomeados na ordem em que os valores das interações foram calculados, conforme mostrado na Tabela 1A em apêndice. Nos contatos do tipo $\text{CH}\cdots\pi$ e $\pi\cdots\pi$, as distâncias $\text{Cg}\cdots\text{H}$ e $\text{Cg}\cdots\text{Cg}$ foram indicadas em angstroms. Aqui, Cg representa o centróide, calculado a partir dos seis átomos que interagem com o anel aromático. A única exceção é a Figura 4.11. c, onde o Cg é calculado a partir dos dois carbonos ligados aos carbonos do fenil (Figura 4.11.d).

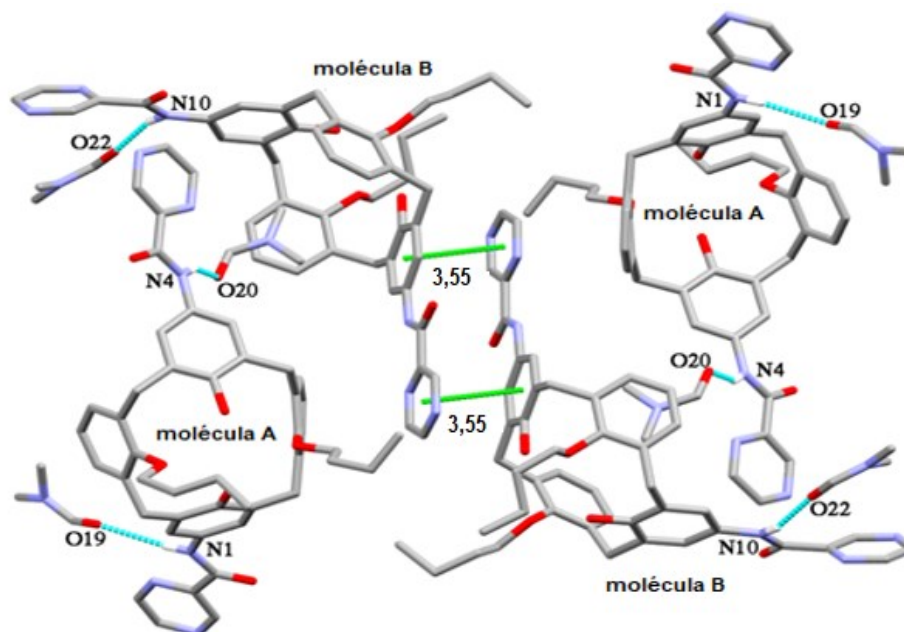


Figura 4. 10. O padrão de ligações de hidrogênio em **3** inclui contatos do tipo $\text{CH}\cdots\pi$ e $\pi\cdots\pi$, $\text{NH}\cdots\text{O}$ que foram representados por linhas tracejadas verde e ciano. A geometria dessas interações de ligação de hidrogênio, encontradas nesta estrutura, é apresentada na Tabela 3.

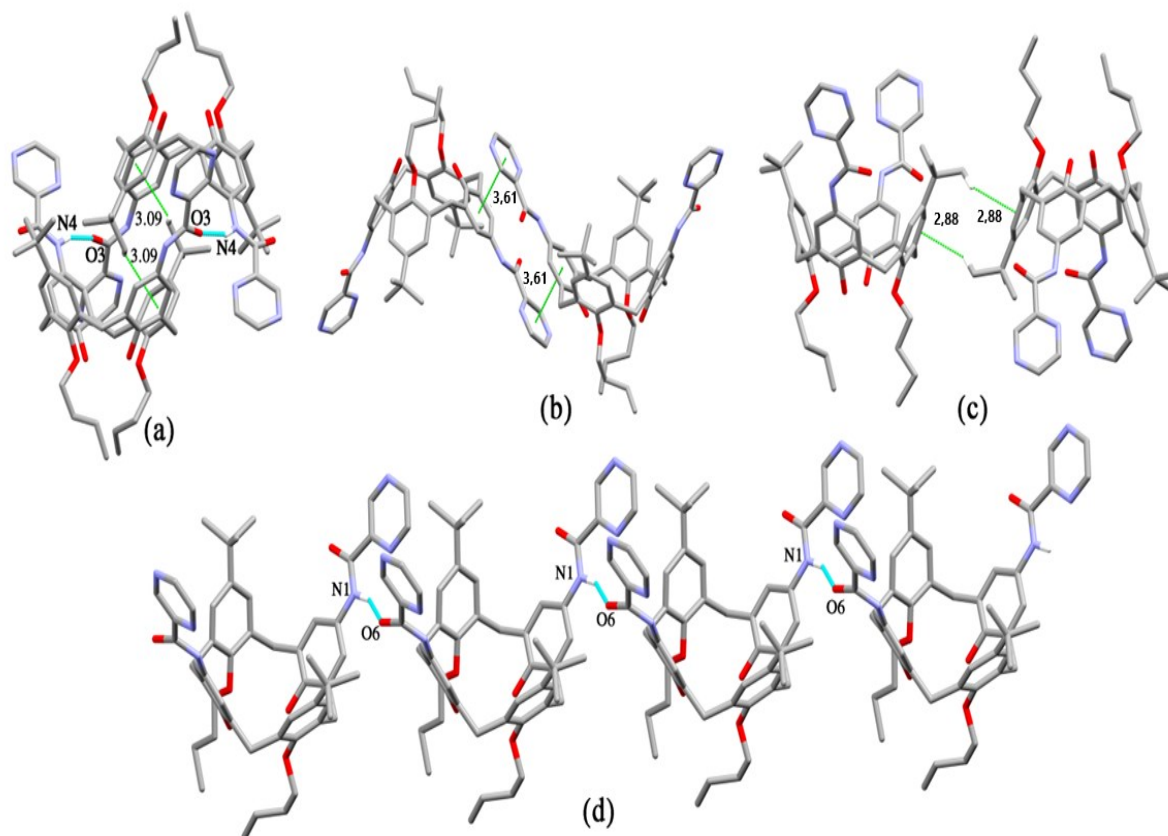


Figura 4. 11. a) O fenômeno de auto inclusão apresentado na estrutura cristalina não solvatada de **1**, no qual apresenta também com contatos em **2**, no qual apresentou-se também contatos $\pi\cdots\pi$ (b) Em **1** o empilhamento do tipo $\pi\cdots\pi$ apresentou-se entre o substituinte anel da pirazina na coroa superior e a molécula fenil da coroa. (c) Os contatos CH... π e (d) os contatos são responsáveis por conectar as moléculas das estruturas cristalinas de **3** e as moléculas solvatadas com DMF. As linhas tracejadas verdes e ciano representam os contatos CH... π e $\pi\cdots\pi$ e as interações do tipo NH...O os átomos doadores e receptores foram nomeados em ordem no qual foram calculados os valores das interações de ligações de hidrogênio apresentados na Tabela 1A. No qual os contatos do tipo CH... π e $\pi\cdots\pi$ contacts, as distâncias Cg...H e Cg...Cg foram mostradas em angstroms, enquanto Cg é o centróide calculado através dos seis átomos que interagem com anel aromático (exceção da figura (c), enquanto o Cg foi calculado através de dois carbonos conectados aos carbonos do fenil).

Espectroscopia de fluorescência

Os espectros de excitação e emissão de fotoluminescência das três estruturas cristalinas estudadas são ilustrados na Figura 4.12. Quando submetidas a um comprimento de onda de excitação de 388 nm, todas as três estruturas exibiram uma emissão no intervalo entre 400 nm e 550 nm (emissões azuis e verdes). Os picos de emissão foram registrados em 480 nm, 500 nm e 520 nm para 1-3, respectivamente. No entanto, o rendimento quântico observado foi baixo, com valores de $0,4\pm 0,1$, $0,15\pm 0,05$ e $0,4\pm 0,1$, respectivamente. Os espectros de excitação e emissão de fotoluminescência referem-se às propriedades ópticas de um material. Quando uma amostra é exposta à luz de um determinado comprimento de onda, ela pode absorver essa luz e ser excitada para um estado energético superior. Uma vez que a amostra relaxa de volta ao seu estado fundamental, ela emite luz, um fenômeno conhecido como emissão de fotoluminescência. Na Figura 4.12, três estruturas cristalinas são submetidas a um comprimento de onda de excitação de 388 nm, que corresponde à energia que essas moléculas precisam para serem excitadas para um estado energético superior. Após a absorção dessa energia, as moléculas retornam ao estado fundamental, emitindo luz de comprimentos de onda entre 400 nm e 550 nm. Este intervalo de comprimentos de onda está no espectro de luz visível que percebemos como luz azul e verde. O rendimento quântico é uma medida da eficiência com que a absorção de luz resulta na geração de luz de emissão. Um rendimento quântico baixo, como os valores observados ($0,4\pm 0,1$, $0,15\pm 0,05$ e $0,4\pm 0,1$), indica que apenas uma pequena fração da luz absorvida é reemitida. A maioria da luz absorvida é perdida através de outros processos, como a conversão não-radiativa de energia para o ambiente.

A complexidade estrutural da forma cristalina **3**, apresenta três conformações diferentes, contribui para as transições eletrônicas que influenciam a similaridade entre os espectros experimentais de excitação das três estruturas cristalinas relatadas neste estudo. Utilizando cálculos TD-DFT, os espectros de excitação para ambas as conformações de **3** em suas duas estruturas cristalinas (incluindo a molécula com a inclusão de DMF) foram avaliados, como ilustrado na Figura 4.13. Em ambos os casos, várias transições eletrônicas teóricas com energias comparáveis foram identificadas na região de 320-380 nm, explicando o amplo espectro de excitação experimental. As transições eletrônicas mais robustas nesta região estão associadas ao HOMO-1, LUMO e HOMO para LUMO+1 nas conformações não solvatadas **1** e nas conformações solvatadas com DMF **2**,

respectivamente. Tais transições são centralizadas no anel fenólico substituído por pirazinamida (HOMO-1 e HOMO) ou nas moléculas de pirazinamida (LUMO e LUMO+1), como esperado de acordo com o objetivo direcionado pela luminescência, conforme a Figura 4.13. Além disso, as variações de baixa frequência nos comprimentos de onda de emissão máxima podem ser resultado tanto da ausência de solventes na rede quanto da falta de substituintes terc-butílicos nos anéis fenólicos em **3**. A baixa eficiência pode ser atribuída tanto ao efeito da inclusão de DMF quanto ao empilhamento do tipo $\pi \dots \pi$. Tais interações são conhecidas por diminuir a fluorescência no estado sólido, especialmente quando as distâncias de ligação estão na faixa de 3,3-3,5 Å. Os contatos do tipo $\pi \dots \pi$, conforme demonstrado nas Figuras 4.12 e 4.13, apresentam distâncias na faixa de 3,63 Å e 3,52 Å, respectivamente, o que significa que possuem força suficiente para extinguir a fotoluminescência.

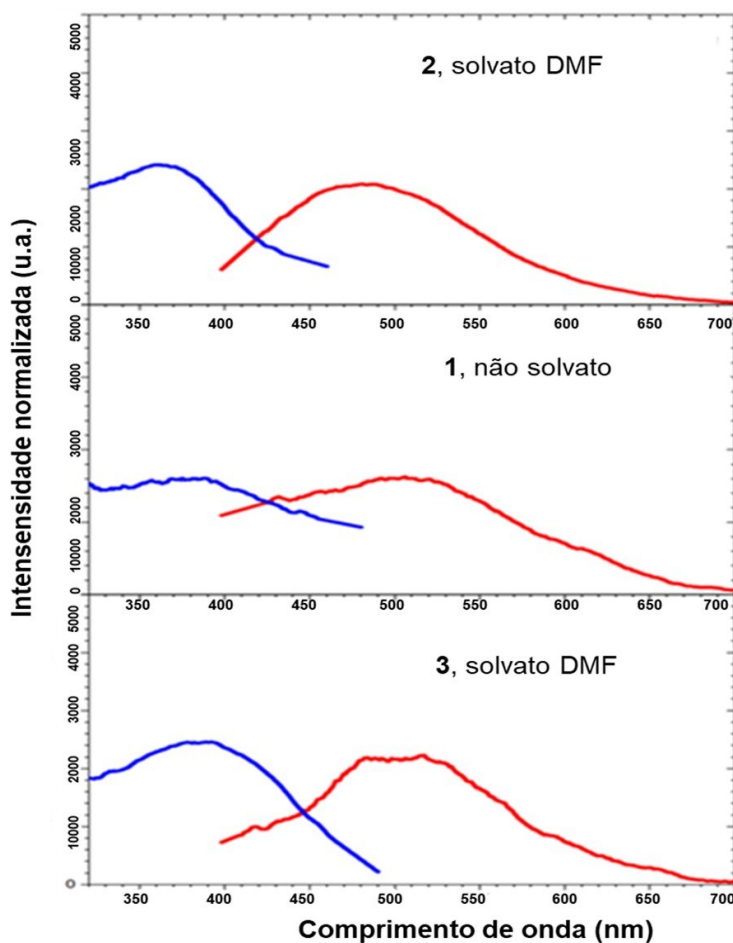


Figura 4. 12. Espectros de excitação (azul) e emissão (vermelho) para estruturas cristalinas dos híbridos do calixareno- pirazinamida que foram estudados.

Essas interações, tanto a inclusão do DMF quanto o empilhamento $\pi\cdots\pi$, podem ser particularmente eficazes na redução da fluorescência quando as distâncias de ligação estão entre 3,3 e 3,5 Å. Isso se deve ao fato de que tais distâncias são apropriadas para a interação entre as nuvens de elétrons das moléculas envolvidas, potencializando a transferência de energia não radiativa. Neste estudo, os contatos do tipo $\pi\cdots\pi$ mostra dos nas Figuras 4.12 e 4.13 têm distâncias na faixa de 3,63 Å e 3,52 Å, respectivamente. Essas distâncias estão próximas o suficiente para que tais interações ocorram e tenham uma força suficiente para extinguir a fotoluminescência, ou seja, diminuir a emissão de luz do composto.

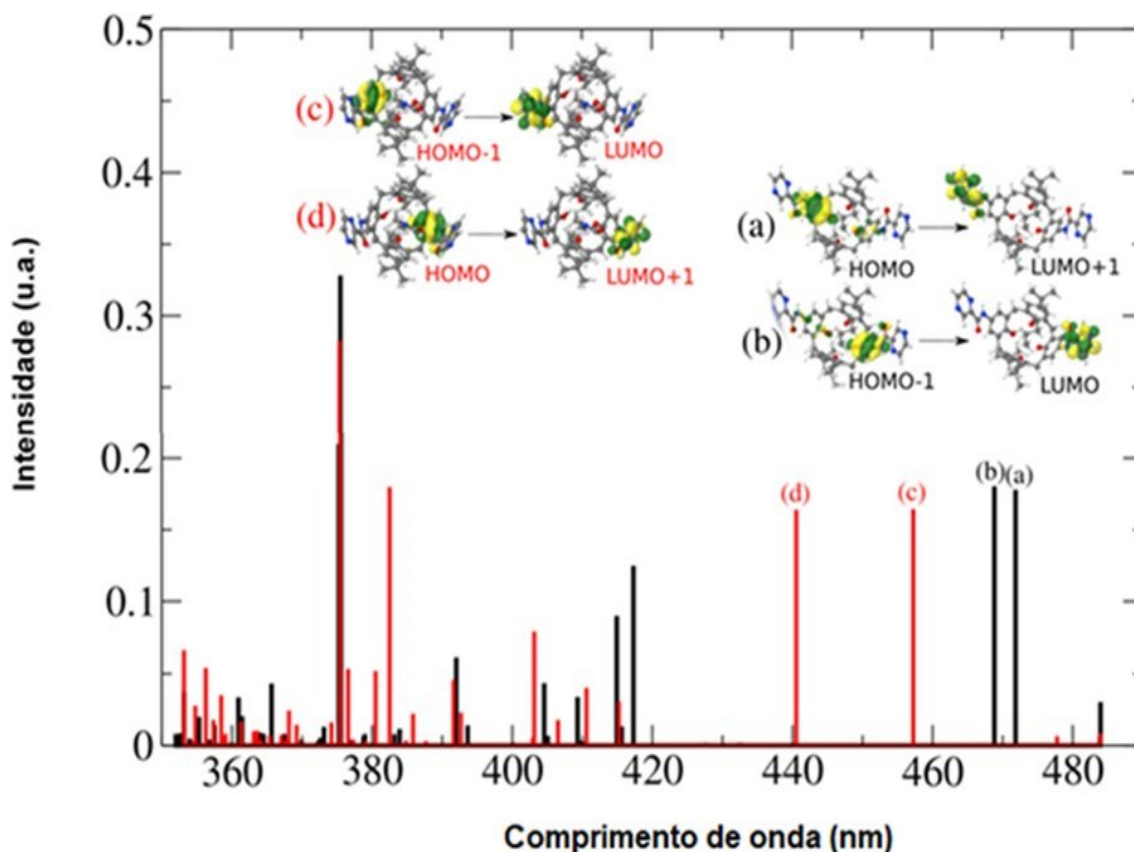


Figura 4. 13. Os espectros de excitações TD-DFT (M06-2X/def2-TZVP) foram calculados para o composto **1** para suas conformações encontradas nas estruturas cristalinas não solvatada (em preto) e composto **2** na estrutura solvatada com DMF (em vermelho). Por último, a molécula de DMF também foi considerada nos cálculos. Os orbitais moleculares que contribuem para as transições eletrônicas do cálculo TD-DFT com oscilador demais alta intensidade na região de 320-380 nm dos espectros teóricos também foram representadas (rotuladas com letras minúsculas).

5. Determinação da forma cristalina 4

O calix[4]tubo com sódio (MARTINS, 2016; ALVARENGA et al., 2019), em estudos anteriores, já havia sido co-cristalizado com uma molécula de benzotiazol. Neste estudo, expandimos a aplicação do calix[4]tubo para um importante nutracêutico, o resveratrol. De forma, a buscar a viabilidade do calixareno como um possível conformador para a formação de novos co-cristais. Neste estudo, conseguimos superar o desafio de co-cristalizar dois componentes não solventes.

A estrutura cristalina 4 foi resolvida no grupo espacial *Pbcn* sistema cristalino ortorrômbico. A célula unitária é composta por dois íons de sódio com íon de sódio (Na2) com ocupação de 50% e o outro íon (Na1) remanescente com ocupação 100% ,uma molécula de CX4A parcialmente desprotonada e meia molécula de resveratrol, alémde três moléculas de DMF e duas moléculas de água cristalograficamente independentes (Figura 4.14). A unidade assimétrica contém quatro hidrogênios do grupo carboxila, dosquais três apresentam ocupação de 50%, totalizando 1,5 cargas negativas líquidas. Essas cargas negativas são contrabalanceadas por 1,5 cargas positivas dos íons de sódio.

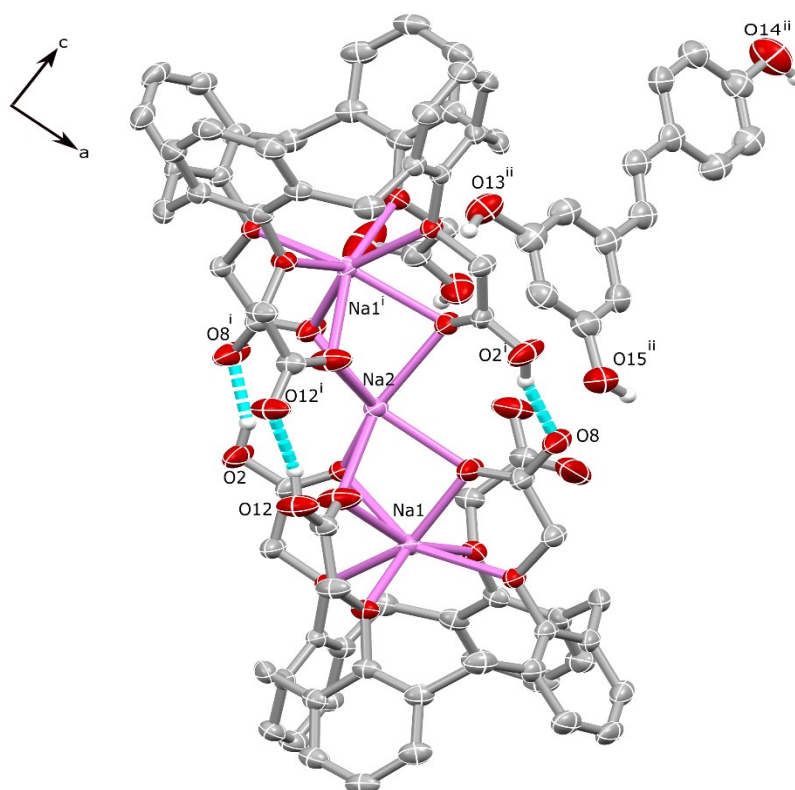


Figura 4. 14. A estrutura do co-cristal composta por RES e calix[4]tubo. Átomos não- hidrogenóides foram mostrados com elipsóides de 30% de probabilidade. Apenas os hidrogênios do OH foram descritos como esferas de raio arbitrário. As linhas tracejadas ciano indicam as ligações de hidrogênio que envolvem grupos carboxílicos (operador de simetria: $i = -x, y, 1/2-z$; $ii = -x, -y, -z$).

Em relação à desordem encontrada na estrutura cristalina, pode-se observar a meia ocupação do grupo carboxila, uma vez que estes estão associados a outra molécula de CX4A por simetria de eixo duplo. Neste caso, o operador de simetria ($i = -x, y, 1/2-z$) gera a outra metade do íon sódio, ocupado a 50% (Na2), compartilhado entre as duas unidades CX4A relacionadas pela simetria de eixo duplo. O padrão de desordem encontrado em CX4A é compatível com a formação de ligações de hidrogênio entre os grupos carboxílicos e carboxilatos das diferentes unidades CX4A, formando um calix[4]areno, onde o hidrogênio ácido envolvido nesta interação pode ser alternado entre essas duas entidades. Adicionalmente, identificou-se uma desordem na estrutura do resveratrol, onde os três grupos hidroxila possuem uma ocupação de 50% na unidade assimétrica (O13 ii , O14 ii , O15 ii ; operador de simetria $ii = -x, -y, -z$). Neste caso na estrutura cristalina o resveratrol devido a desordem é interpretado como uma média de moléculas sobrepostas através de seus átomos de carbonos e hidrogênios CH, em que a porção 3,5-dihidroxifenil de uma molécula é sobreposta a porção 4-hidroxifenil da outra.

Neste trabalho, descobriu-se que o CX4A, de forma análoga às estruturas cristalinas do calix[4]tubo de sódio já relatadas por Martins (2016) e (Alvarenga et al., 2019), assume uma conformação cônica. Esta estrutura posiciona os quatro anéis fenólicos acima do plano basal, que é formado pelos carbonos metilênicos que interconectam os anéis fenólicos. Essa conformação apresenta uma coroa hidrofílica, constituída por um grupo metoxicarbonil que interage com íons de sódio, e a coroa hidrofóbica, formada por anéis aromáticos. Verificou-se que o íon de sódio presente na borda inferior de uma única unidade de CX4A demonstra interações distintas (Figura 4.15.a). Notadamente, o átomo de Na1, que interage com sete átomos de oxigênio (O1, O3, O4, O7, O9, O10 e O11), apresenta uma coordenação heptacoordenada. Esta coordenação envolve quatro oxigênios fenólicos e três carboxílicos, organizados em uma estrutura ge-ométrica de prisma trigonal. Por outro lado, o íon de sódio compartilhado entre as duas unidades de CX4A em um calix[4]tubo exibe uma coordenação hexacoordenada. Neste caso, o átomo Na2 interage com seis átomos de oxigênio (O3, O9, O11), relacionados aos três oxigênios carboxílicos de cada unidade de CX4A. Estes se organizam em uma estrutura geométrica de prisma trigonal, conforme ilustrado na Figura 4.15.b. Nas Tabelas A2 e A3 apresenta os valores dos comprimentos das ligações (Å) e ângulos (°) para calix[4]tubo com íons de sódio.

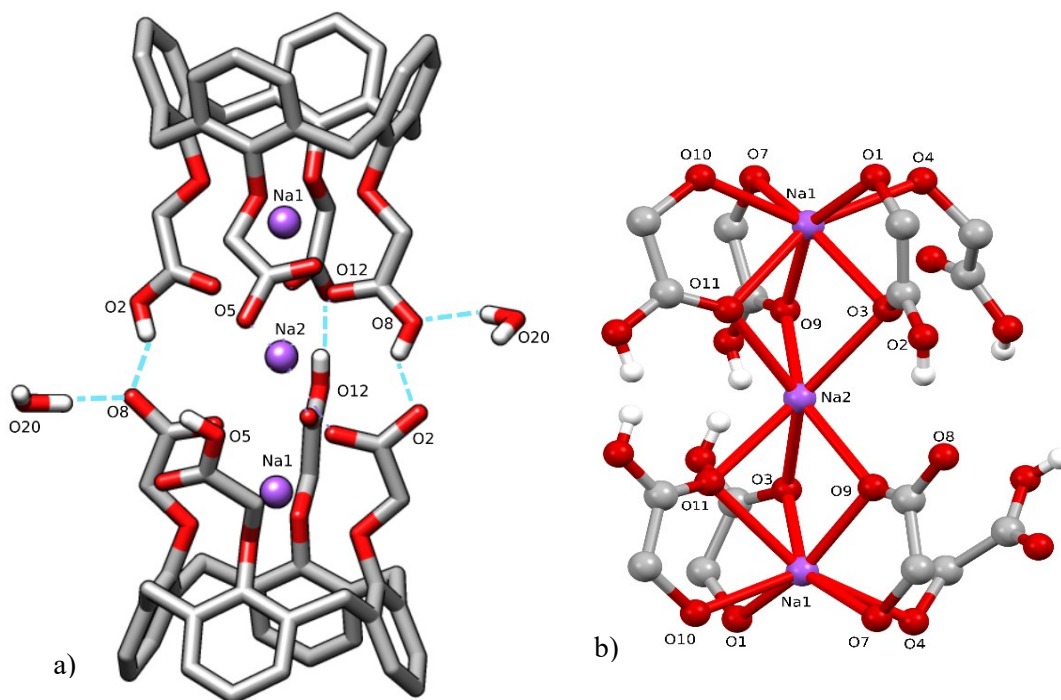


Figura 4.15. Calix[4]tubo presente no cocrystal mostrando (a) estrutura do Calix[4]tubo (b) A estrutura do Calix[4]tubo com oxigênio nomeados que ligam com os dois íons de sódio.

O calix[4]tubo apresenta um comprimento de 17,91 Å e um diâmetro de 8,77 Å. Estas medidas foram obtidas através do cálculo da distância entre os centróides dos dois átomos de hidrogênio mais externos localizados na posição para dos anéis fenólicos (para o comprimento), e a maior distância entre os átomos de hidrogênio também situados na posição para dos anéis fenólicos (para o diâmetro). O empacotamento do co-cristal foi arranjado por dois calix[4]tubo (CX4A) em camadas alternadas de resveratrol, enquanto as moléculas de solvente (água e DMF) foram distribuídas sobre eles por meio de ligações de hidrogênio com ambos os conformadores dos co-cristais. Na Figura 4.16 ilustra o empacotamento do co-cristal mostrando o arranjo molecular em camadas alternadas de moléculas de resveratrol e calix[4]tubo, enquanto que nas moléculas de água e DMF interagem em ambas as camadas foram omitidas para maior clareza. Na **Erro! Fonte de referência não encontrada.**¹⁷ apresenta as interações de ligação de hidrogênio entre as moléculas de solvente água e DMF com as moléculas de resveratrol e o calixareno ao longo da estrutura cristalina. A interação entre o resveratrol e o calix[4]tubo é mediada por contatos CH... π e CH...O, onde o composto nutracêutico desempenha o papel de aceptor (Figura 4.18). Na Tabela A2 apresenta os valores das principais interações de ligações de

hidrogênio da forma cristalina **4**. Esses contatos, embora mais fracos, foram também fundamentais na formação do co-cristal precedente entre calix[4]tubo e benzotiazol (Alvarenga et al., 2019), confirmando sua importância na estruturação de co-cristais, apesar de sua força ser inferior à das ligações de hidrogênio clássicas. É relevante destacar que as cadeias de calix[4]tubo são quase perpendiculares entre si, apresentando um ângulo de 72° entre calix[4]tubos adjacentes intercalados por resveratrol (Figura 4.18).

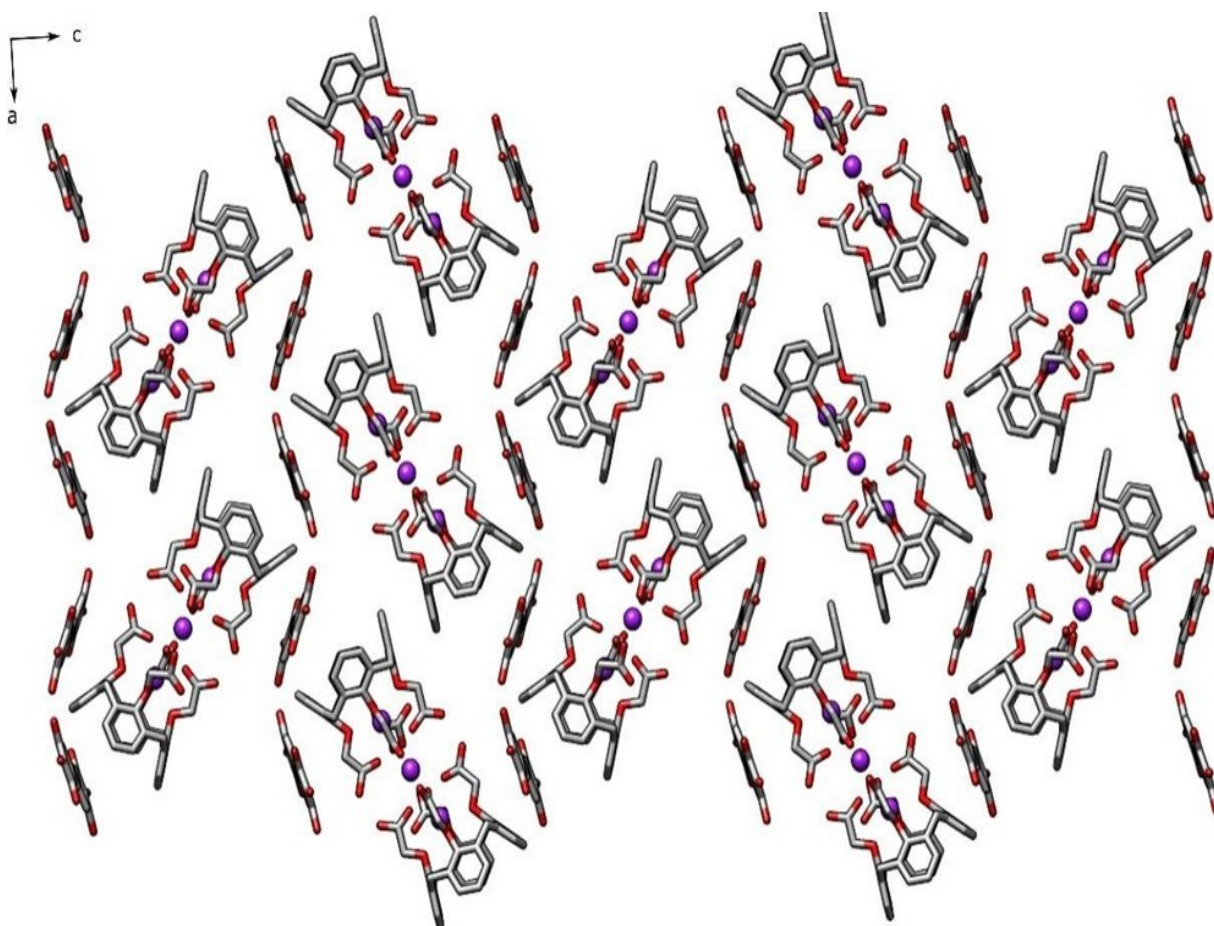


Figura 4. 16. O empacotamento do co-cristal mostrando o arranjo molecular em camadas alternadas de moléculas de resveratrol e calix[4]tubo, enquanto que nas moléculas de água e DMF interagem em ambas as camadas (foram omitidas para maior clareza).

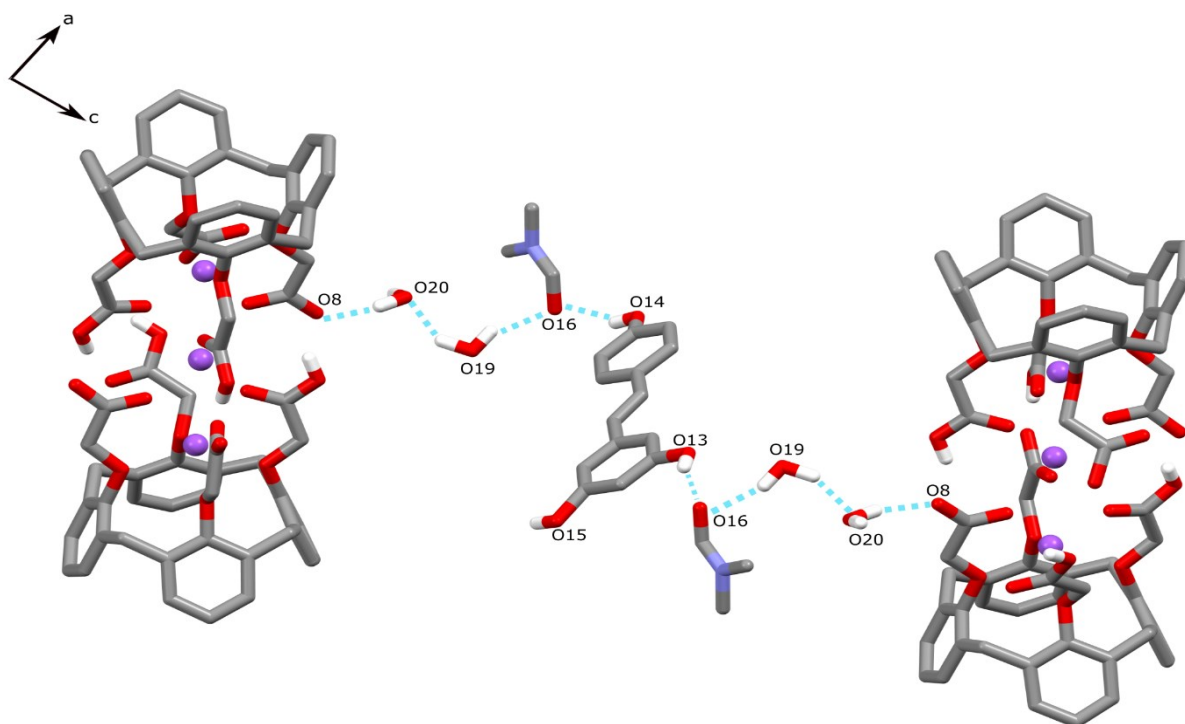


Figura 4. 17. O padrão de ligação de hidrogênio entre dois calix[4]tubos e as moléculas desolventes (água e DMF) presentes no co-cristal com resveratrol.

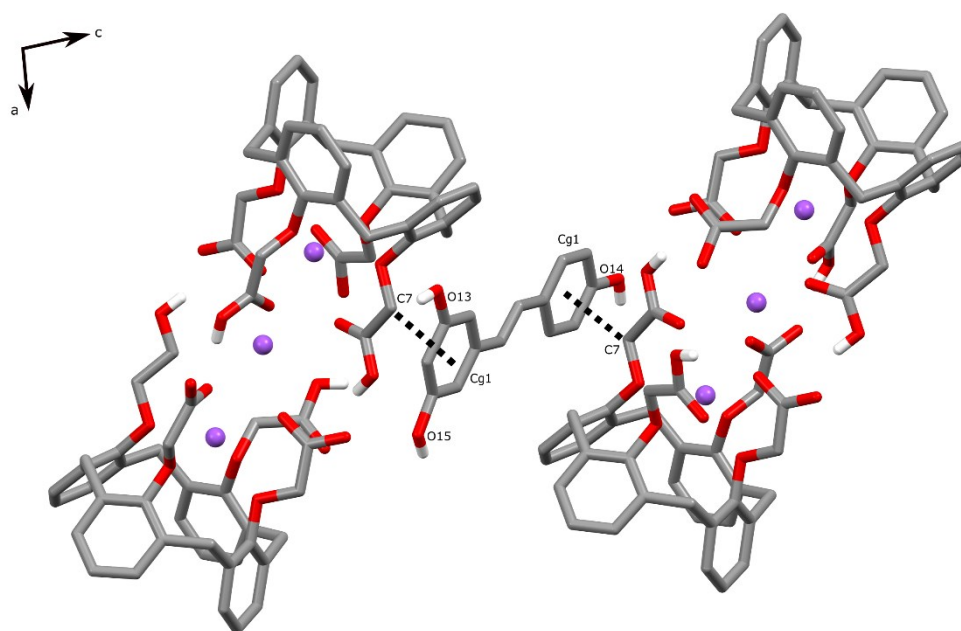


Figura 4. 18. Calix[4]tubo e resveratrol interagem por interações do tipo CH... π e CH... O foram representadas por linhas tracejadas.

4.5.1 Espectroscopia Vibracional

O espectro do co-cristal mostrado na Figura 4.19 revela diversas características distintas relacionadas à sua estrutura molecular. O resveratrol apresentou picos em 3660, 3174–3291 cm^{-1} (νOH , largo), 1606, 1589, 1535 e 1511 cm^{-1} ($\nu\text{C}=\text{C}$, grupo aromático). Notavelmente, a banda em 3470 cm^{-1} indica vibração de estiramento OH (νOH , ampla), sugerindo a presença de grupos hidroxila ou mesmo moléculas de água. Além disso, as bandas em 2930 cm^{-1} e 2852 cm^{-1} representam vibrações de alongamento CH ($\nu\text{C}-\text{H}$, ampla). É interessante notar que a banda em 1726 cm^{-1} ($\nu\text{C}=\text{O}$) revela a presença de grupos carbonila, especificamente derivados de ácidos carboxílicos encontrados no calix[4]tubo. Além disso, as bandas na banda co-cristal em 3470 cm^{-1} indicam OH (νOH , largo), vibração de alongamento, sugerindo a presença de grupos hidroxila ou mesmo moléculas de água. banda em 1660 cm^{-1} ($\nu\text{C}=\text{O}$) indica a presença de ácidos carboxílicos.

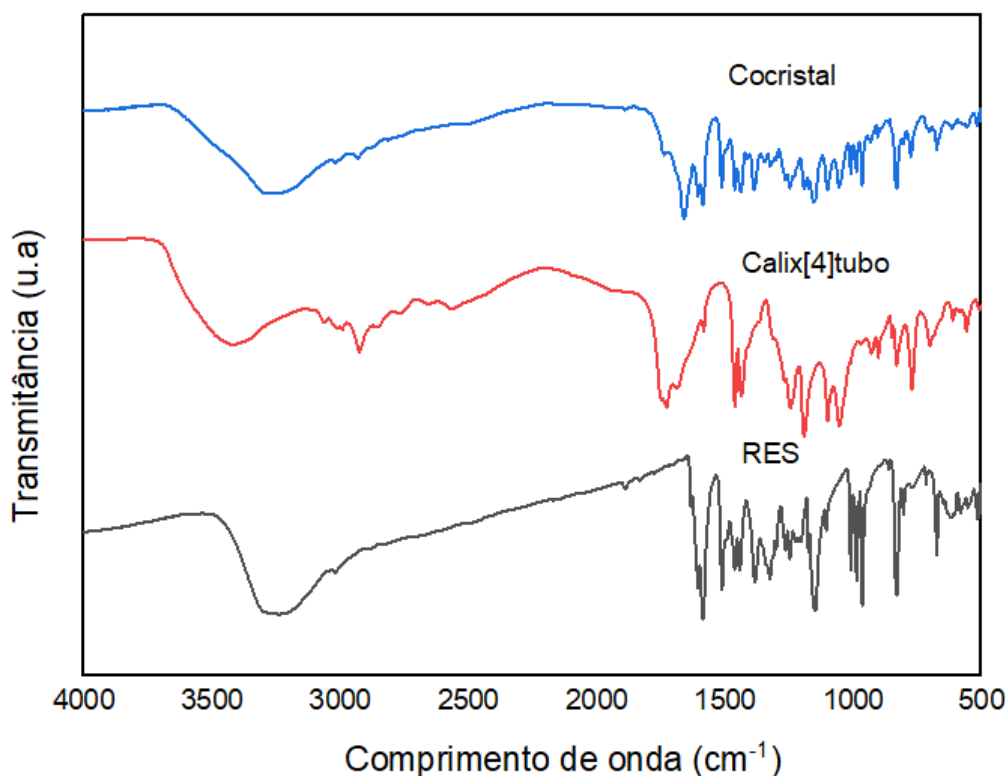


Figura 4. 19. Espectro no infravermelho (KBr) do resveratrol, calix[4]tubo e cocrystal de resveratrol, com calix[4]tubo.

4.5.2 Análises Térmicas

O termograma TG do calix[4]tubo e do resveratrol mostra um evento endotérmico entre 50 e 100°C atribuído à eliminação de duas moléculas estruturais de água, resultando em uma perda de massa de 7%. A partir de 100°C, o termograma TG mostra uma redução contínua de massa até 600°C, sugerindo a decomposição progressiva do co-cristal. Especificamente, por volta de 200°C, há uma perda significativa de massa, totalizando 17,4%, indicando um estágio de decomposição mais pronunciado. No termograma DSC do calix[4] tubo e do co-cristal de resveratrol, observa-se um evento endotérmico entre 89°C e 100°C, atribuído à perda de água. A característica dominante do termograma DSC para o co-cristal foi o evento exotérmico começando em 180°C, associado à decomposição térmica (visto nas Figuras 4.20 e 4.21).

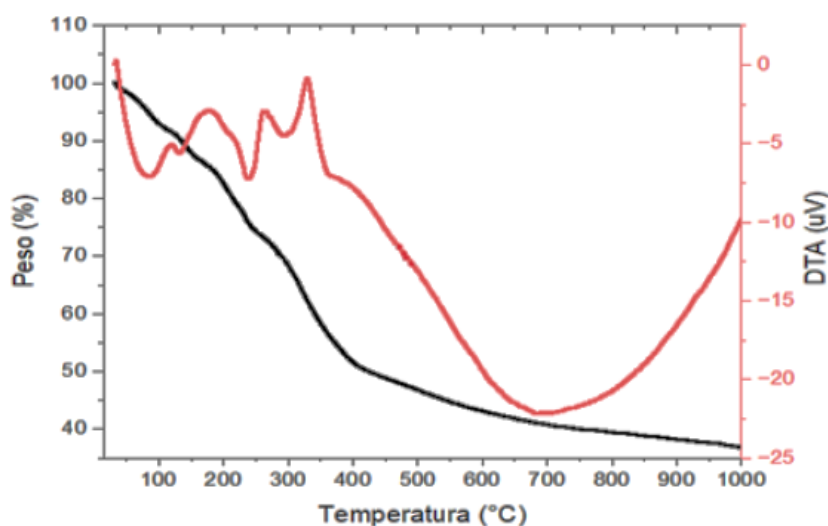


Figura 4. 20. O termograma TG do calix[4]tubo e do resveratrol.

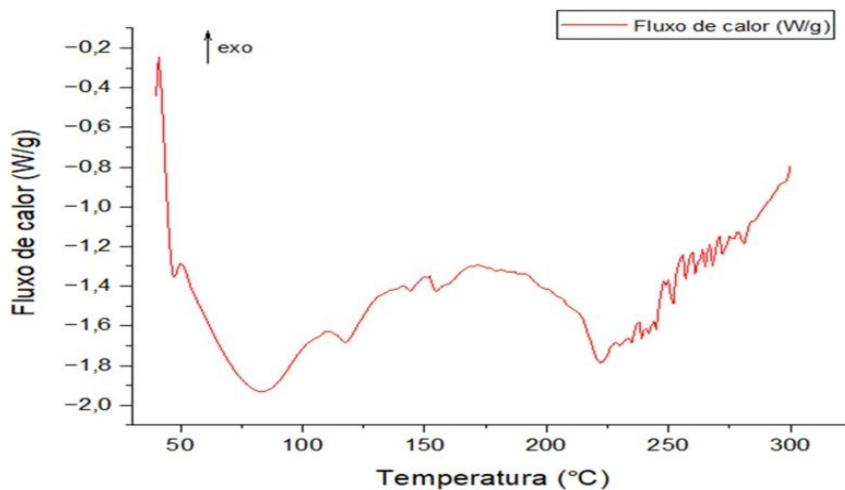


Figura 4. 21. Gráfico de análise de DSC de fluxo de calor (W/g) versus temperatura.

4.5.3 Solubilidade da forma cristalina

Seletividade

A avaliação da seletividade é essencial para assegurar a capacidade do método analítico de identificar e quantificar de forma incontestável o fármaco em meio a outros compostos que possam estar presentes nas amostras. Neste contexto, a seletividade foi testada individualmente para os analitos, resveratrol, CX4A, co-cristal e resveratrol e CX4A. Os perfis de absorção para estes analitos, registrados em vários comprimentos de onda, são mostrados na Figura 4.22. O comprimento de onda de 298 nm foi identificado como o mais adequado, visto que proporcionou a máxima absorbância para o co-cristal.

Linearidade

A curva de calibração construída para o Resveratrol (RESV), que correlaciona a concentração e a absorbância correspondente, apresentou uma relação linear representada pela equação $y = 0,1196x + 0,0087$, com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9999 e coeficiente de correlação (r) de 0,9999 (Adicionalmente, todos os pontos desta curva tiveram um coeficiente de variação (CV) inferior a 5, demonstrando a precisão adequada. Portanto, o método exibiu linearidade satisfatória na faixa de concentração de 0,5 a 8,0 g/mL para o resveratrol visto na Figura 4.23.

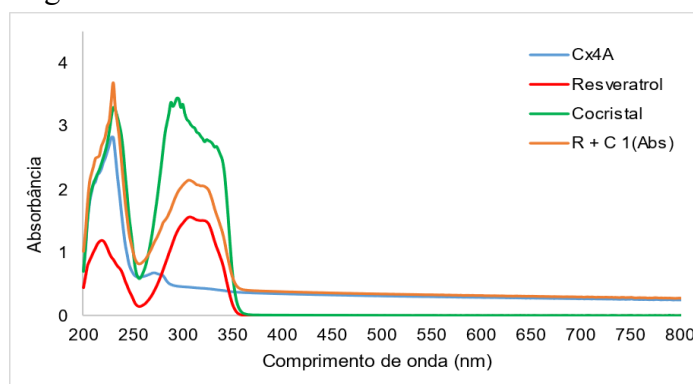


Figura 4. 22. Varredura na região do ultravioleta de soluções de Calix[4]tubo (Cx4A), resveratrol (R), co-cristal, resveratrol e calix[4]tubo (R + C).

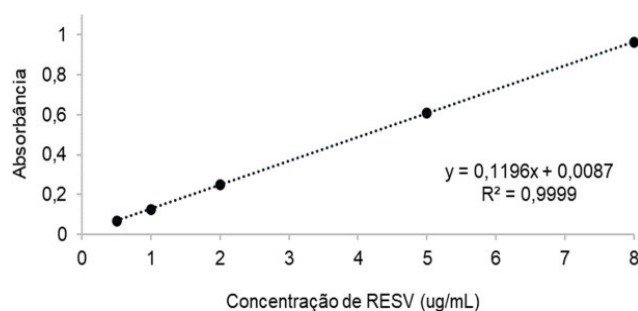


Figura 4. 23. Curva analítica obtida pela análise espectrofotométrica de soluções de RESV no intervalo de 0,5 a 8 µg/mL. Diluente: etanol. Comprimento de onda: 298 nm.

Precisão e Exatidão

A precisão do método foi avaliada na concentração de 4,0 µg/mL, em sextuplicata, em dois dias distintos, sendo obtidos os coeficientes de variação inter e intradia (precisão intermediária). O método mostrou-se exato para essa concentração e todos os coeficientes de variação da precisão foram menores que 5. Nas Tabelas 4 e 5 foram apresentados os valores encontrados para precisão (inter e intradia), respectivamente. A absorção médiavariou entre 0,495 e 0,505, resultando em uma concentração real entre 4,07 e 4,15 µg/mL. De acordo com os resultados obtidos, o método mostrou-se preciso e exato.

Tabela 4. Precisão do método analítico para a quantificação do resveratrol.

Concentração teórica (µg/mL)	Precisão	Absorbância (Média ± DPR ^a)	Concentração real (µg/mL)	CV (%) ^b
4,0	Interdia 1	0,495 ± 0,011	4,07 ± 0,10	2,35
	Interdia 2	0,505 ± 0,013	4,15 ± 0,11	2,57
	Intradia	0,500 ± 0,013	4,11 ± 0,11	2,56

^a Desvio Padrão; ^b Coeficiente de variação.

Tabela 5. Exatidão do método analítico para a quantificação do resveratrol.

Concentração teórica (µg/mL)	Concentração real (µg/mL)	Média da concentração real (µg/mL) (Média ± DP ^a)	Recuperação (%)	Média da Recuperação (%)	CV (%) ^b
0,5	0,51	0,51 ± 0,01	102,51	101,39	1,90
	0,51		102,51		
	0,50		99,16		
4,0	3,99	3,99 ± 0,03	99,77	99,77	0,63
	4,02		100,40		
	3,97		99,14		
8,0	8,15	8,17 ± 0,11	101,83	102,17	1,35
	8,08		100,99		
	8,29		103,68		

^a Desvio Padrão; ^b Coeficiente de variação.

Limite de Quantificação (LQ) e Limite de Detecção (LD)

Após construção de três curvas (Figura 4.24) de calibração construídas contendo concentrações do resveratrol próximas ao suposto limite de detecção (0,5; 0,4; 0,3; 0,2 e 0,1 µg/mL), foi possível calcular os limites de detecção e quantificação segundo preconizado por normas nacionais e internacionais. O LQ do método foi 0,16 µg/mL e o LD foi de 0,05 µg/mL.

Avaliação da solubilidade do resveratrol e co-cristal

A concentração do resveratrol no intervalo de 0,412 ug/mL a 0,496 ug/mL em etanol indica que o resveratrol possui uma solubilidade limitada nesse solvente. Valores relativamente baixos de concentração sugerem que o resveratrol não se dissolve facilmente em etanol nessas condições experimentais. Por outro lado, a concentração do co-cristal no intervalo de 1,457 ug/mL a 1,708 ug/mL em etanol indica que o co-cristal é mais solúvel neste solvente do que o resveratrol. Os valores mais altos de concentração sugerem uma maior solubilidade do co-cristal em etanol nas condições experimentais utilizadas. Portanto, com base nessas observações, pode-se dizer que o co-cristal apresenta uma solubilidade superior ao resveratrol no etanol nessas condições experimentais específicas.

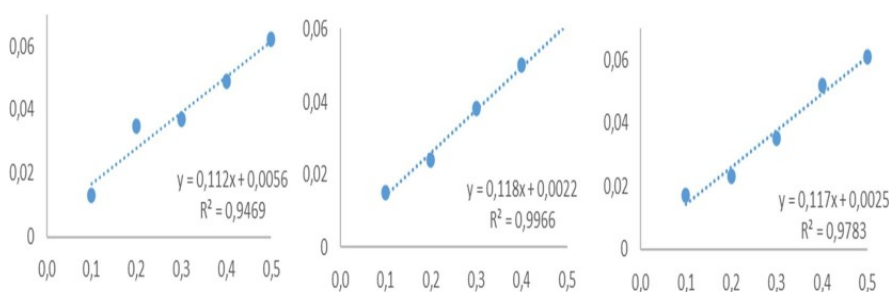


Figura 4. 24. Curvas analíticas obtidas pela análise espectrofotométrica de soluções de RESV com concentrações próximas ao suposto limite de detecção (intervalo de 0,1 a 0,5µg/mL). Diluente: etanol. Comprimento de onda: 298 nm.

A solubilidade é a capacidade de uma substância se dissolver em um solvente. No caso do co-cristal e do resveratrol, a solubilidade do co-cristal é superior à do resveratrol na água. A maior solubilidade do co-cristal na água pode ser atribuída ao processo de empacotamento dos calix[4]tubos CX4A, conforme mencionado anteriormente. A estrutura do co-cristal, com as moléculas de resveratrol organizadas em camadas alternadas entre os calix[4]tubos, pode favorecer interações mais fortes entre as moléculas de resveratrol e as moléculas de água.

Essas interações podem ocorrer por meio de ligações de hidrogênio, que são forças atrativas entre o hidrogênio de uma molécula (água) e átomos eletronegativos (como o oxigênio presente no resveratrol). Essas ligações de hidrogênio facilitam a dissolução do co-cristal na água, resultando em uma maior solubilidade. Uma maior solubilidade do co-cristal na água é relevante para a biodisponibilidade da substância, que se refere à quantidade e velocidade com que uma substância é absorvida pelo organismo após a administração. Uma maior solubilidade geralmente está associada a uma melhor biodisponibilidade, pois uma maior quantidade da substância é dissolvida e disponível para ser absorvida pelo trato

gastrointestinal. Assim, a maior solubilidade do co-cristal em relação ao resveratrol na água pode contribuir para uma melhor biodisponibilidade do resveratrol quando administrado na forma de co-cristal. Isso significa que o co-cristal pode apresentar vantagens em termos de absorção e aproveitamento da substância pelo organismo. Solubilidade é a capacidade de uma substância se dissolver em um solvente. No caso do co-cristal e do resveratrol, a solubilidade do co-cristal é superior à do resveratrol em água. A maior solubilidade do co-cristal em água pode ser atribuída ao processo de empacotamento dos calix[4]tubo - CX4A, conforme mencionado anteriormente. A estrutura do co-cristal, com moléculas de resveratrol organizadas em camadas alternadas entre os calix[4] tubos, pode favorecer interações mais fortes entre as moléculas de resveratrol e as moléculas de água. Após o teste de solubilidade, a amostra de co-cristal foi centrifugada e secada para recuperar a amostra. Em seguida, foi realizada uma difração de Raios-X em pó (PXRD) para caracterizar e avaliar a composição do co-cristal e resveratrol (código referência DAGON) visto na Figura 4.25.

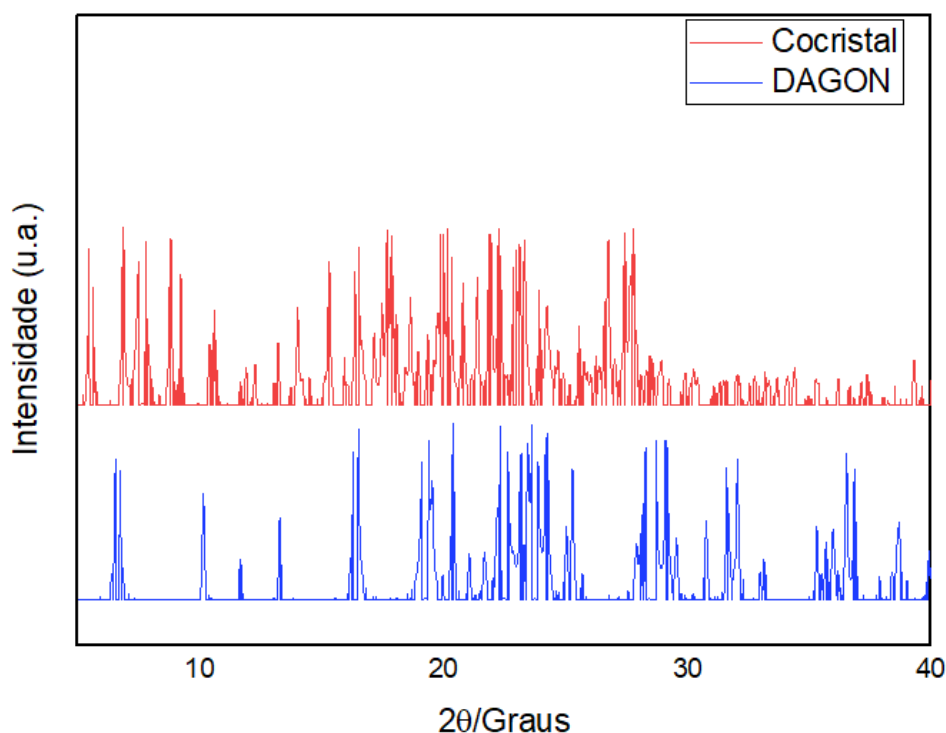


Figura 4. 25. Os padrões de Difração de Raios-X em pó (XRPD) de amostras de co- cristal, calix[4]tubo e resveratrol após testes de solubilidade foram obtidos usando um difractor Shimadzu XRD-6000 sob as seguintes condições: temperatura ambiente (298 K), radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 0,15418 \text{ nm}$) gerada a 40 kV e 30 mA, modo de varredura contínua -2 com taxa de varredura de $1,000^\circ/\text{min}$, passo de aquisição de $0,020^\circ$, fendas de divergência e espalhamento ajustadas em 1.000° , e largura de fenda de $0,300 \text{ mm}$.

No estudo, foram examinados difratogramas de resveratrol puro e calixareno puro para estabelecer seus padrões característicos. O difratograma de resveratrol puro exibiu picos correspondentes à sua estrutura cristalina, permitindo uma identificação clara. Da mesma forma, o difratograma de calixareno puro foi indicativo de sua natureza cristalina. Notavelmente, no difratograma do co-cristal, observamos picos correspondentes tanto ao resveratrol quanto ao calixareno. Esse resultado sugere a inclusão do resveratrol dentro da estrutura do calixareno. A coexistência de picos de ambos os compostos no mesmo difratograma fornece evidências convincentes de sua interação e apoia a conclusão de que o resveratrol foi encapsulado com sucesso dentro da estrutura do calixareno.

Este tipo de análise é fundamental para confirmar a formação de co-cristais para entender a natureza da interação entre os componentes. A presença de picos característicos de ambos os componentes indica não apenas a presença física de ambos no mesmo material, mas também sugere uma possível interação supramolecular que mantém os dois compostos juntos na forma de co-cristal. Estes achados são essenciais para aplicações em áreas como a farmacêutica, onde co-cristais podem ser usados para modificar as propriedades físicas e químicas de substâncias ativas, melhorando a sua solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade.

5 Conclusão e Perspectivas

Neste estudo, foram sintetizados e elucidados a estrutura cristalina de dois híbridos de pirazinamida-calixareno. A substituição com pirazinamida ocorreu na borda superior, especificamente em dois anéis fenólicos alternados no calixareno de quatro unidades fenólicas. Um dos dois derivados apresentava o grupo t-butil nos outros dois anéis fenólicos, também na borda superior, enquanto o outro tinha hidrogênio no lugar do grupo $-C(CH_3)_3$. Este padrão de substituição molecular impactou na conformação da coroa, estando relacionado a planos médios de pirazinamida-fenil mais inclinados na ausência de t-butil. Além disso, três conformadores foram encontrados na forma cristalina solvatada com DMF sem grupos t-butil, enquanto apenas um foi encontrado tanto nas formas cristalinas não solvatadas quanto nas solvatadas com DMF que continham $-C(CH_3)_3$.

O padrão de coplanaridade entre a pirazinamida e seu anel fenílico ligado e o padrão de rotação deste substituinte na ligação N-C que os une mudaram entre os três conformadores do derivado sem t-butil e entre aqueles que compõem as duas formas cristalinas do outro composto. Além disso, otimizações completas por DFT dos compostos híbridos e do DMF aprisionado permitiram acompanhar os padrões conformacionais encontrados no estado sólido.

As três formas cristalinas apresentaram fotoluminescência centrada em cerca de 500 nm, e seus espectros de excitação estavam de acordo com os espectros TD-DFT. No entanto, suas taxas de conversão de luz foram insignificantes e principalmente extintas por fortes interações $\pi\cdots\pi$ observadas em seu empacotamento cristalino. O aprisionamento do solvente na coroa, uma característica intermolecular marcante presente em todas as moléculas das duas formas solvatadas com DMF relatadas aqui, também pode ser responsável por abrogar o rendimento quântico da fotoluminescência.

A síntese de co-cristais de resveratrol com calix[4]tubo foi realizada com sucesso, mostrando potencial comercial. Nossos métodos teóricos forneceram aproximações das energias para as interações intermoleculares dentro do co-cristal. Além disso, esses métodos sugerem potencial no uso de calix[4]tubos como hospedeiros para outros compostos bioativos. As moléculas de ingrediente farmacêutico ativo, com estruturas semelhantes ao resveratrol, parecem ser abordagens viáveis para melhorar o desempenho e introduzir novas formas sólidas de liberação controlada. Na forma cristalina da combinação calix[4]tubo-

resveratrol, observamos um aumento na solubilidade do resveratrol no co-cristal em comparação com sua forma pura em água.

Essa maior solubilidade pode ser atribuída à estrutura cristalina específica do co-cristal e as ligação de hidrogênio que ocorre no empacotamento cristalino. O arranjo dentro do co-cristal, onde as moléculas de resveratrol estão organizado em camadas alternadas com calix[4]tubos, pode levar a interações mais fortes entre o resveratrol e poderia elevar a biodisponibilidade do resveratrol, apresentando vantagens na absorção e assimilação pelo organismo com liberação do co-cristal.

Os calixarenos, devido às suas propriedades químicas únicas, têm potencial para aplicações em alimentos e produtos farmacêuticos. Contudo, a obtenção do status GRAS (Reconhecido Geralmente como Seguro) para esses usos depende de avaliações detalhadas de segurança e eficácia. Embora apresentem possibilidades inovadoras, é necessário realizar mais pesquisas para entender completamente suas propriedades, segurança e eficácia em aplicações práticas. Além disso, qualquer uso de calixarenos em produtos consumíveis exigirá uma rigorosa avaliação de segurança e deve atender às regulamentações específicas, que variam conforme a região e o tipo de aplicação.

Como perspectiva, a formação de co-cristais através de complexos de inclusão, combinada com o estudo de mecanismos de reconhecimento supramolecular, abre caminhos para o emprego desta classe de compostos para aumentar a biodisponibilidade de moléculas específicas. Esses insights têm o potencial de trazer avanços em áreas como maior biodisponibilidade, liberação eficiente de compostos e sinergia farmacológica. Os resultados ressaltam a importância e o potencial da química supramolecular para o refinamento de novos materiais e ingredientes nutracêuticos.

6 Referências Bibliográficas

ACHELLE, S.; ROBIN-LE GUEN, F. Emission properties of diazines chromophores: Structure-properties relationship. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 348, p. 281-286, 2017.

AHMAD, M.; GANI, A. Development of novel functional snacks containing nano-encapsulated resveratrol with anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 352, n. February, p. 129323, 2021.

ANCIC D, ORSOLIC N, ODEH D, et al. Resveratrol and its nanocrystals: a promising approach for cancer therapy? **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 435, p.115851, 2022.

ANNAJI, M., POUDEL, I., BODDU, S. H., ARNOLD, R. D., TIWARI, A. K., & BABU, R. J. Resveratrol-loaded nanomedicines for cancer applications. **Cancer reports**, v.4, n.3, p. 1353, 2021.

ALVARENGA, M. E.; VALDO, A. K. S. M.; RIBEIRO, L.; et al. Exploring the structural landscape of 2-(Thio-phen-2-yl)-1,3-benzothiazole: High-z' packing polymorphism and cocrystallization with calix[4]tube. **Acta Crystallographica Section C: Structural Chemistry**, v. 75, p. 667–677, 2019.

ALVARENGA, M. E.; GUIMARÃES, F. F.; DA SILVA, C. M., ALVES, R. B.; LARA, T.V. C.; MAIA, L. J. Q.; DE SANTANA, R. C.; MARTINS, F. T. Joining a host-guest platform and a light-emission motif: pyrazinamide-calixarene hybrids. **Journal of Molecular Structure**, v. 1258, p. 132694, 2022.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 166, de 24 de junho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Diário Oficial da União, 2017.

ATWOOD, J. L.; NESS, T.; NICHOLS, P. J.; RASTON, C. L. Confinement of amino acids in tetra-p-sulfonated calix [4] arene bilayers. **Crystal growth & design**, v. 2, n. 3, p. 171-176, 2002.

AVARAND, S.; MORSALI, A.; HERAVI, M. M.; BEYRAMABADI, S. A. DFT study on the mechanistic, energetic and structural aspects of adsorption of Tirapazamine onto pristine and functionalized carbon nanotubes. **Química Nova**, v. 41, n. 1, p. 49-54, 2018.

BAKLOUTI, L. ; HARROWFIELD, J.; PULPOKA, B.; VICENS, J.; 1,3-Alternate, the Smart Conformation of Calix[4]arenes. **ChemInform**, v. 38, n. 8, p. 355–384, 2007.

BERRY, D. J.; STEED, J. W. **Adv. Drug Delivery Rev.** v.117, p. 3., 2017.

BHATT, P. M.; RAVINDRA, N.V.; BANERJEE, R.; DESIRAJU, G. R. **Chem. Comm.**, p.1073, 2005.

BRANDENBURG, K; PUTZ, H. *Diamond*. Madison, Winsconsin, USA: [s.n.], 2017. Crystal and molecular Structure Visualization v.4.0. BRUKER. *SADABS, APEX3 and SAINT*. Madison, Winsconsin, USA: [s.n.], 2016. Bruker XSInc.

- BOLLA, G.; NANGIA, A. Pharmaceutical cocrystals: Walking the talk. **Chemical Communications**, v. 52, n. 54, p. 8342–8360, 2016. Royal Society of Chemistry.
- BOLLA, G.; SHARMA, B.; NANGIA, A. K. Crystal Engineering of Pharmaceutical Cocrystals in the Discovery and Development of Improved Drugs. **Chemical Reviews**, v. 122, n. 13, p. 11514–11603, 2022.
- CHENG, M.; LI, G.; XU, W.; et al. Synthesis of a facile fluorescent 8-hydroxyquinoline-pillar[5]arene chemosensor based host-guest chemistry for phoxim. **Dyes and Pigments**, v. 194, n. May, p. 109646, 2021.
- CHOU DHURY, S.D.; MOHANTY, J.; PAL, H.; BHASIKUTTAN, A.C. Cooperative Metal Ion Binding to a Cucurbit[7]uril–Thioflavin T Complex: Demonstration of a Stimulus-Responsive Fluorescent Supramolecular Capsule. **J. Am. Chem. Soc.** v. 132, p. 1395–1401, 2010.
- DA SILVA, C. C.; CIRQUEIRA, M. L.; MARTINS, F. T. Lamivudine salts with 1,2-dicarboxylic acids: A new and a rare synthon with double pairing motif fine-tuning their solubility. **CrystEngComm**, v.15, p. 6311-6317, 2013.
- DO NASCIMENTO NETO, José Antônio et al. A Blue-Light-Emitting Cadmium Coordination Polymer with 75.4% Photoluminescence Quantum Yield. **Journal of the American Chemical Society**, v. 141, n. 8, p. 3400–3403, 2019.
- DOS SANTOS, F. M.; ALVARENGA, M. E.; VALDO, A. K. S. M.; RABELO, R.; GOMES, D. C. C.; DE FÁTIMA, A.; LARA, T. V. C.; DA SILVA, C. M.; TASSO, T. T.; NETO, J. H. A., BATISTA, A. A.; AYALA, A. P.; ELLENA, J. A.; GUIMARÃES, V. F.; OLIVEIRA, C. M. A.; DA SILVA, L. C.; VAZ, B. G.; MARTINS, F. T. A Giant Hybrid Organic-Inorganic Octahedron from a Narrow Rim Carboxylate Calixarene. **Chem. Commun.**, v. 56, n. 95, p. 15024-15027, 2020.
- DSOUZA, R.N.; PISCHEL, U.; NAU, W.M. Corantes fluorescentes e seus complexos supramoleculares hospedeiro/hóspede com macrociclos em solução aquosa. **Química. Rev.**, v.111, p. 7941–7980, 2011.
- DUPONT, N.; LAZAR, A. N.; PERRET, F.; DANYLYUK, O.; SUWINSKA, K.; NAVAZA, A.; COLEMAN, A. W. Solid state structures of the complexes between the antiseptic chlorhexidine and three anionic derivatives of calix[4]arene. **The Royal Society of Chemistry**, v. 10, p. 975-977, 2008.
- FAN, S.; HU, Y.; YOU, Y.; et al. Role of resveratrol in inhibiting pathological cardiac remodeling. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, n. September, p. 924473, 2022.
- FARRUGIA, L. J. WinGX suite for small-molecule single-crystal crystallography. **Journal of Applied Crystallography**, v. 32, n. 4, p. 837-838, 1999.
- FARRUGIA, L. J. WinGX and ORTEP for Windows: an update. **Journal of Applied Crystallography**, v. 45, n. 4, p. 849-854, 2012.
- FRISCH, M.J.etal. Gaussian09. Madison, Winsconsin,USA:[s.n.],2009.GAO, C.; CHENG, Q.; LI, J.; et al. Supramolecular Macrophage-Liposome Marriage for Cell-Hitchhiking Delivery

and Immunotherapy of Acute Pneumonia and Melanoma. **Advanced Functional Materials**, v. 31, n. 37, p. 1–14, 2021.

GROOM, C. R.; BRUNO, I. J.; LIGHTFOOT, M. P.; WARD, S. C. The Cambridge structural data base. **Acta Crystallographica Section B: Structural Science, Crystal Engineering and Materials**, v. 72, n. 2, p. 171-179, 2016.

GUTSCHE, C. D.; DHAWAN, B.; NO, K. H.; MUTHUKRISHNAN, R. Calixarenes. 4. The synthesis, characterization, and properties of the calixarenes from p-tert-butylphenol. **Journal of the American Chemical Society**, v. 103, n. 13, p. 3782-3792, 1981.

GUTSCHE, C. D.; LIN, L. Calixarenes 12: the synthesis of functionalized calixarenes. **Tetrahedron**, v. 42, n. 6, p. 1633-1640, 1986.

GUTSCHE, C.D.; IQBAL, M. *p-tert*-Butylcalix[4]arene. **Org Synth**, v.68, p. 234- 236, 1990.

GUTSCHE, C. D. “Calixarenes Revisited”. *In*: Filling the baskets: complex formation with calixarenes. [S. I.]: **The Royal Society of Chemistry**, p. 161–170, 1998.

GUTSCHE, C. D. Calixarenes: an introduction. **Royal Society of Chemistry**, n. 10, 2008.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous Electron Gas, *Phys. Rev.* v. 385, n. 1951, 1965.

HU, XIN-YUE; WANG, YU-YING; LI, HUA-BIN; GUO, DONG-SHENG. Fluorescence Enhancement by Calixarene Supramolecular **Aggregate Molecules**, v. 25, p. 5912; 2020.

HUA, B.; ZHOU, W.; YANG, Z.; ZHANG, Z.; SHAO, L.; ZHU, H.; HUANG, F. Supramolecular Solid-State Microlaser Constructed from Pillar [5] arene-Based Host–Guest Complex Microcrystals. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 140, p. 15651–15654, 2018.

INAM, M.; SAREH SADAT, M. F.; CHEN, W. Cyclodextrin Based Host-Guest Inclusion Complex, an Approach to Enhancing the Physicochemical and Biopharmaceutical Application of Poorly Water-soluble Drugs. **Chemical Research in Chinese Universities**, v. 39(6), p. 857—861, 2023.

KALCHENKO, V. Functional calixarene nanostructures. **Theoretical and Experimental Chemistry**, v. 54, n. 2, p. 74-84, 2018.

KARIMI-JAFARI, M.; PADRELA, L.; WALKER, G. M.; CROKER, D. M. Creating cocrystals: A review of pharmaceutical cocrystal preparation routes and applications. **Crystal Growth and Design**, v. 18, n. 10, p. 6370–6387, 2018.

KIM, J., QUANG, S. D. T. Calixarene-Derived Fluorescent Probes. **Chem. Rev.** v. 107, n. 9, p. 3780–3799, 2007.

KUMAR, R.; SHARMA, A.; SINGH, H.; SUATING, P.; KIM, H. S. ; SUNWOO, K.; SHIM, I.; GIBB, B. C.; KIM, J. S. Revisiting Fluorescent Calixarenes: **From Molecular Sensors to Smart Materials**. *Chemical Reviews*, v. 119, n. 16, p. 9657–9721, 2019.

- KUMINEK, G.; CAO, F.; BAHIA DE OLIVEIRA DA ROCHA, A.; GONÇALVES CARDOSO, S.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystals to facilitate delivery of poorly soluble compounds beyond-rule-of-5. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 101, p. 143–166, 2016.
- LAKOWICZ, J. R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. 2006.
- LEE, J. S. *et al.* Macrocycles and supramolecules as antioxidants: Excellent scaffolds for development of potential therapeutic agents. **Antioxidants**, v. 9, n. 9, p. 1–21, 2020.
- LEMES, M. A., DO NASCIMENTO NETO, J. A., GUIMARÃES, F.F., MAIA, L. J. Q. ;DE SANTANA, R. C; MARTINS, F. T. Isostructural coordination chains assembled with aminopyrazine: Decreasing photoluminescence yield by Cd(II) replacement for Mn(II), **Journal of Molecular Structure**, vol.1236, 130352, 2021.
- LI, C., WANG, Z., LEI, H., & ZHANG, D. Recent progress in nanotechnology-based drug carriers for resveratrol delivery. **Drug Delivery**, v.30, n.1, p. 2174206, 2023.
- LIM, S.; KUANG, Y.; ARDOÑA, H. A. M. Evolution of Supramolecular Systems Towards Next-Generation Biosensors. **Frontiers in Chemistry**, v. 9, n. August, p. 1–21, 2021.
- LINS, I. M. SILVA; FONSECA, J. D.S.; DA LUZ, L. L.; *et al.* Novel luminescent calixarene-based lanthanide materials: From synthesis and characterization to the selective detection of Fe³⁺. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 295, n. December 2020, 2021.
- MACRAE, C.; BRUNO, I.; CHISHOLM, J.; EDINGTON, P. *et al.* Mercury CSD 2.0-New Features for the Visualization and Investigation of Crystal Structures. **J. Appl. Crystallogr**, v.41, p. 466-470, 2008.
- MARTINS, F.T.; DA SILVA, C. M.; VASCONCELOS, G. A.; VAZ, B. G. *et al.* Lower rim dimerization of a calixarene through the encapsulation of sodium ions. **CrystEngComm**, v.18, n. 37, p. 6987-6991, 2016.
- MARTINS, F. T.; MAIA, L. J. Q.; DA SILVA NETO, L.; *et al.* Solvatomorphs of 25,26,27,28-tetrahydroxycalix[4]arene and 5,11,17,23-tetramino-25,26,27,28-tetrabutoxycalix[4]arene: quenching photoluminescence through switching the guest. **CrystEngComm**, v. 19, n. 13, p. 1792–1800, 2017.
- MEI, C. J.; AINLIAH, S.; AHMAD, A. REVIEW ARTICLE A review on the determination heavy metals ions using calixarene-based electrochemical sensors. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 14, n. 9, p. 103303, 2021.
- MEENAMBAL, R.; SRINIVAS BHARATH, M. M. Nanocarriers for effective nutraceutical delivery to the brain. **Neurochemistry International**. v.140, n.104851, 2020.
- OLIVEIRA, M.T.P.; COUTINHO, D.D.S.; GUTERRES, S.S.; POHLMANN, A.R.; SILVA, P.M.R.E; MARTINS, M.A.; BERNARDI, A. Resveratrol-Loaded Lipid-Core Nanocapsules Modulate Acute Lung Inflammation and Oxidative Imbalance Induced by LPS in Mice. **Pharmaceutics**, v. 13, p. 683, 2021.
- PAQUET, V.; ZUMBUEHL, A; CARREIRA, E. K. M. Biologically Active Amphotericin B-

- Calix[4]arene Conjugates. **Bioconjugate Chem.** v. 17, p.1460-1463, 2006.
- PETTERSEN, E. F.; GODDARD, T. D.; HUANG, C. C.; COUGH, G. S. et al. UCSF Chimera – a visualization system for exploratory research and analysis. **Journal of computational chemistry**, v. 25, n. 13, p. 1605-1612, 2004.
- RAVAL, J.; TRIVEDI, R.; PRAJAPATI, P. Preparation, Characterization, and In-Vitro Assessment of Calixarene Nanovesicles: A Supramolecular Based Nano-Carrier for Paclitaxel Drug Delivery. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 55, n. 6, p. 570–579, 2021.
- REIS, S. 2014. Ciclodextrinas como Plataforma de Desenvolvimento de Sistemas de Liberação Controlada de Inibidores de Urease: Uma Investigação Teórica. Monografia de TCC (Química-Bacharelado). Universidade Federal de São João Del Rei, São João Del Rei, 2014.
- SANTINI, A.; CAMMARATA, S. M.; CAPONE, G.; et al. Nutraceuticals: opening the debate for a regulatory framework. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 84, n. 4, p. 659–672, 2018.
- SHARMA, V. S.; SHARMA, A. S.; WORTHINGTON, S. J. B.; SHAH, P. A.; SHRIVASTAV, P. S. Columnar self-assembly, electrochemical and luminescence properties of basket-shaped liquid crystalline derivatives of Schiff-base-moulded: P-tert -butyl-calix[4]arene. **New Journal of Chemistry**, v. 44, n. 47, p. 20610–20619, 2020.
- SHELDRIK, G.M. Crystal structure refinement with shelxl. **Acta Crystallographica Section C**, v.71, p.3–8, 2014.
- SHI, Y. ZHANG, Z. A New Water-soluble Host Molecule, a p-tert-Butylcalix[8]arene bearing Polyoxyethylene Chains. **J. CHEM. SOC., CHEM. COMMUN.** p. 375–376, 1994.
- SHINKAI, S.; ARAKI, K.; TSUBAKI, T.; ARIMURA, T.; MANABE, O. New syntheses of calixarene-p-sulphonates and p-nitrocalixarenes. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions**, v. 6, p. 2297–2299, 1987.
- STEED, K. M.; STEED, J. W. Packing Problems: High Z' Crystal Structures and Their Relationship to Cocrystals, Inclusion Compounds, and Polymorphism. **Chemical Reviews**, v.115, n. 8, p. 2895-2933, 2015.
- SVIBEN, I.; GALIC, N.; TOMISIC, V.; FRKANEC, L. Extraction and complexation of alkali and alkaline earth metal cations by lower-rim calix[4]arene diethylene glycol amide derivatives. **New Journal of Chemistry**, v. 39, p. 6099-6107, 2013.
- TERAN, N.B.; HE, G.S.; BAEV, A.; SHI, Y.; SWIHART, M.T.; PRASAD, P.N.; MARKS, T.J.; REYNOLDS, J.R. Twisted Thiophene-Based Chromophores with Enhanced Intramolecular Charge Transfer for Cooperative Amplification of Third-Order Optical Nonlinearity. **J. Am. Chem. Soc.**, 138, 6975–6984, 2016.
- ULLMANN, S.; HAHN, P.; BLÖMER, L.; MEHNERT, A.; LAUBE, C.; ABEL, B.;

KERSTING, B. Dinuclear lanthanide complexes supported by a hybrid salicylaldiminato/calix[4]arene-ligand: synthesis, structure, and magnetic and luminescence properties of (HNEt₃)[Ln₂(HL)(L)](Ln= Sm^{III}, Eu^{III}, Gd^{III}, Tb^{III}). **Dalton Transactions**, 2019.

VALEUR, B. Molecular fluorescence. **Encyclopedia of Applied Physics**, p. 477-531, 2003.

VAREJÃO, E. V. V.; DE FÁTIMA, A.; FERNANDES, S. A. Calix[n]arenes as Goldmines for the Development of Chemical Entities of Pharmaceutical Interest. **Current Pharmaceutical Design**, v. 19, p. 1-15, 2013.

XIA, Y.; CHEN, S.; NI, X.-L. WHITE Light Emission from Cucurbituril-Based Host-Guest Interaction in the Solid State: New Function of the Macrocyclic Host. **ACS Appl. Mater. Interfaces**. V. 10, p. 13048–13052, 2018.

XIAO, Y.; WU, C.; HU, X.; et al. Mechanochemical Synthesis of Cocrystal : From Mechanism to Application. **Crystal Growth & Design**, v. 23, p. 4680–4700, 2023.

YI, J., HE, Q., PENG, G., & FAN, Y. Improved water solubility, chemical stability, antioxidant and anticancer activity of resveratrol via nanoencapsulation with pea protein nanofibrils. **Food Chemistry**, v. 377, p. 131942, 2022.

ZHAO, Y.; TRUHLAR, D. G. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: Two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other function. **Theoretical Chemistry Accounts**, v. 120, n. 1–3, p. 215–241, 2008.

ZIMMER, S.; GREBE, A.; BAKKE, S. S.; BODE, N.; HALVORSEN, B.; ULAS, T.; SKJELLAND, M.; DE NARDO, D., LABZIN, LI.; KERKSIEK, A., HEMPEL, C.; HENEKA, M.T.; HAWXHURST, V.; FITZGERALD M. L.; TREBICKA, J.; BJÖRKHEM, I.; GUSTAFSSON, J. A.; WESTERTERP, M.; TAL, L. A.R.; WRIGHT, S. D.; ESPEVIK, T.; SCHULTZE, J. L.; NICKENIG, G.; LÜTJOHANN, D.; LATZ, E. Cyclodextrin promotes atherosclerosis regression via macrophage reprogramming. **Sci Transl Med**. Apr 6; v. 8(333), 2016.

WRIGHTON, M. S.; GINLEY, D. S.; MORSE, D. L. A Technique for the Determination of Absolute Emission Quantum Yields of Powdered Samples, **J. Phys. Chem.-Us.**, v. 78, 1974.

Apêndice

Tabela A 1. Geometria das principais interações intermoleculares na estrutura cristalina dos compostos **1**, **2** e **3**.

Estrutura Cristalina	Ligação de Hidrogênio	D-H/Å	H...A/Å	D...A/Å	D-H...A/°
1, não solvatado	O2-H2...O4	0,82	1,92	2,735(4)	174
	O5-H5O...O1	0,82	2,04	2,781(4)	151
	N4-H4A...O3	0,86	2,15	2,969(4)	159
2, solvato DMF	O2-H2...1	0,82	2,10	2,790 (4)	141
	O5-H5A...4	0,82	1,97	2,686(4)	145
	N1-H1...O6	0,86	2,41	3,111(5)	139
3, solvato DMF	O2-H2...O1	0,82	2,04	2,770(6)	148
	O5-H5...O4	0,82	1,98	2,786(7)	167
	O8-H8...O7	0,82	1,96	2,728(4)	156
	O11-H11A...O10	0,82	1,98	2,712(4)	149
	O14-H14J...O13	0,82	2,04	2,784(8)	152
	O17-H17A...O16	0,82	2,05	2,807(6)	153
	N1-H1...O19	0,86	2,34	3,099(9)	148
	N4-H4...O20	0,86	2,22	3,016(9)	154
N10-H10...O22	0,86	2,03	2,853(7)	161	

Tabela A 2. Geometria das principais interações intermoleculares na estrutura cristalina de **4**.

D—H...A	D—H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	D—H...A
Cocrystal				
C7-H7B...Cg1	0,97	3,46	3,713(1)	127
C9-H9A...Cg2	0,97	3,53	4,283(1)	161
O5A-H5a...O17	0,82	1,82	2,638(7)	175
O12-H12a...O12A	0,82	1,66	2,408(5)	150
O13-H13A...O16	0,82	1,87	2,61(1)	150
O14-H14...O16	0,82	2,06	2,800(1)	151
O15-H15...O19	0,82	1,88	2,700(1)	173
O19-H19A...O16	0,86	2,13	2,901(9)	149
O19-H19A...O20	0,99	1,98	2,840(1)	145
O20-H19A...O8	1,03	1,92	2,780(1)	139
O20-H19A...O18	0,94	2,31	2,710(2)	117

Tabela A 3. Geometria das principais interações intermoleculares no cocrystal RES- calix[4]tube.

Distância (Å)		Ângulo (°)			
Na ₁ -O ₁	2,378(3)	O ₁ -Na ₁ -O ₃	68,6	O ₄ -Na ₁ -O ₉	94,1
Na ₁ -O ₃	2,429(4)	O ₁ -Na ₁ -O ₄	80,9	O ₄ -Na ₁ -O ₁₀	136,6
Na ₁ -O ₄	2,528(4)	O ₁ -Na ₁ -O ₇	133,4	O ₄ -Na ₁ -O ₁₁	157,1
Na ₁ -O ₇	2,384(3)	O ₁ -Na ₁ -O ₉	152,2	O ₇ -Na ₁ -O ₉	70,4
Na ₁ -O ₉	2,307(4)	O ₁ -Na ₁ -O ₁₀	83,2	O ₇ -Na ₁ -O ₁₀	85,7
Na ₁ -O ₁₀	2,403(3)	O ₁ -Na ₁ -O ₁₁	100,1	O ₇ -Na ₁ -O ₁₁	115,9
Na ₁ -O ₁₁	2,507(4)	O ₃ -Na ₁ -O ₄	89,6	O ₉ -Na ₁ -O ₁₀	117,1
Na ₂ -O ₃	2,549(3)	O ₃ -Na ₁ -O ₇	149,9	O ₉ -Na ₁ -O ₁₁	74,3
Na ₂ -O ₉	2,418(4)	O ₃ -Na ₁ -O ₉	84,0	O ₁₀ -Na ₁ -O ₁₁	65,8
Na ₂ -O ₁₁	2,418(4)	O ₃ -Na ₁ -O ₁₀	121,1	O ₃ -Na ₂ -O ₃	144,4
		O ₃ -Na ₁ -O ₁₁	69,8	O ₃ -Na ₂ -O ₉	91,8
		O ₄ -Na ₁ -O ₇	76,9	O ₃ -Na ₂ -O ₁₁	141,3
				O ₉ -Na ₂ -O ₁₁	128,9

A.1 Sínteses dos calixarenos 1 e 3

Os calixarenos pirazinamidas foram preparados seguindo uma rota sintética específica, que é descrita no Esquema 1. reação de nitração e redução subsequente resultou no intermediário 4. O processo de síntese começa com o p-terc-butilcalix[4]areno, que é tratado com 1-bromobutano e carbonato de potássio, na presença de iodeto de potássio. A reação de nitração e redução subsequente resultou no intermediário 4. Este intermediário é então submetido a uma reação de acoplamento com ácido carboxílico pirazino usando o reagente de acoplamento do tipo PyBOP, resultando no composto 1 com 11 de rendimento. O composto 3 é obtido da mesma forma, com rendimento de 6, após uma reação de alquilação de 1. A mesma sequência de etapas é seguida para obter o composto 1. Os compostos 1 e 3 foram descritos pelo estudo (Alvarenga, 2022).

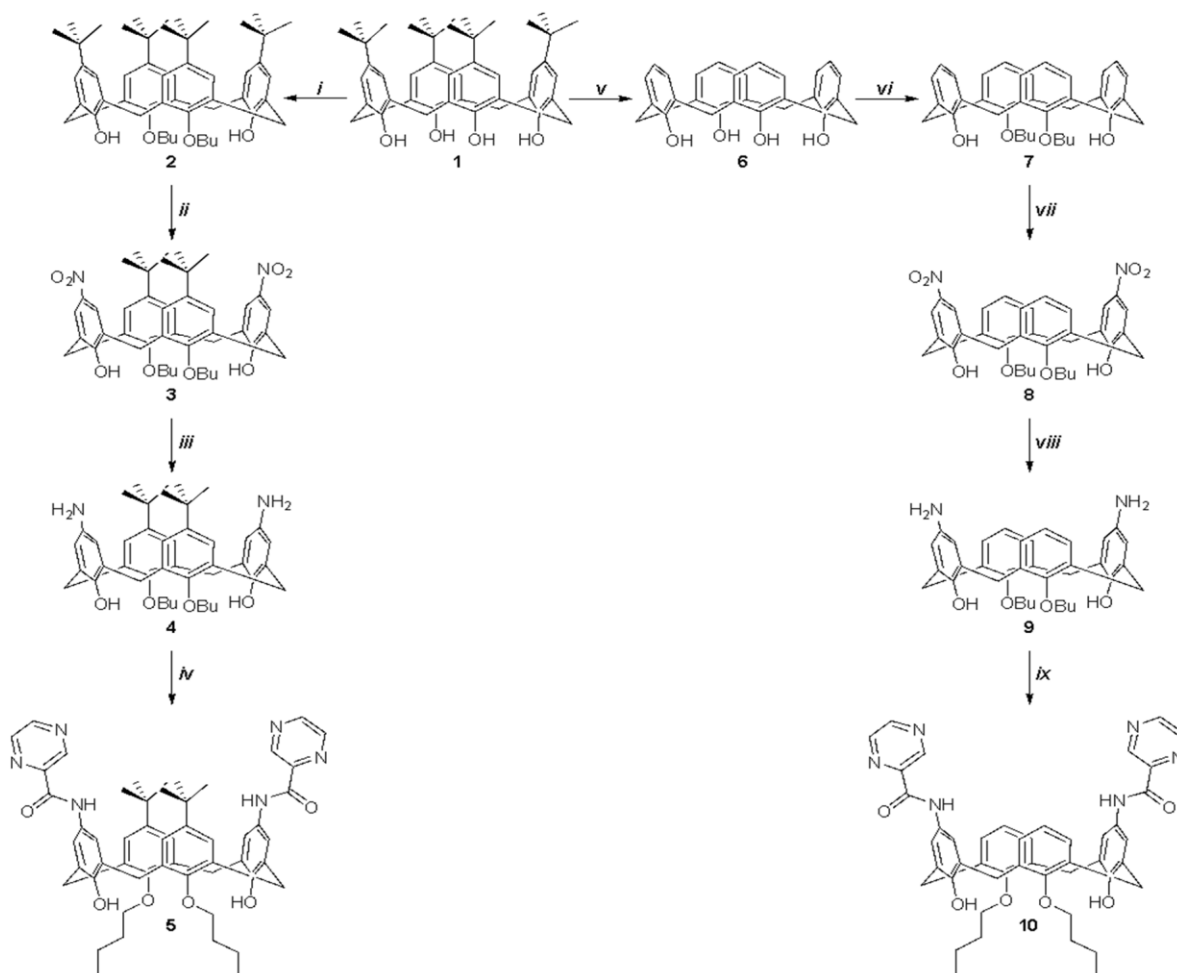
A.1.1 Síntese de 5,17-di-terc-butil-11,23-di-pirazine-2-carboxamida-25,27- dibutoxicalix[4]areno:

Em um balão de fundo redondo de 50 mL, foram adicionados 346 mg (0,509 mmol) do composto 4, 190 mg (1,53 mmol) de ácido pirazino carboxílico e 20 mL de dimetilformamida seca (DMF). O sistema reacional foi fechado e agitado em atmosfera de argônio. Em seguida, adicionou-se 833 mg (1,60 mmol) de hexafluorofosfato de benzotriazol-1- iloxitripirrolidino-fosfônio (Pybop®), seguido de 301 µL (1,73 mmol) de N,N- diisopropiletilamina (DIPEA). A reação foi mantida sob agitação à temperatura ambiente por 72 horas, sendo monitorada por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando hexano/acetato de etila na proporção de 1:1 como eluentes. No final da reação, foi realizada uma extração líquido-líquido com três vezes 50 mL de clorofórmio. A fase orgânica foi seca com solução saturada de carbonato de sódio anidro e concentrada em um rota-evaporador. O sólido foi recristalizado a partir de uma mistura acetato etílico/hexano 5:1, sob agitação em banho de gelo por 20 minutos, obtendo 300 mg do produto final.

A.1.2 Síntese do 11,23-di-pirazina-2-carboxamida-25,27-di butoxicalix[4]areno

Em um balão de fundo redondo de 50 mL, foram adicionados 350 mg (0,62 mmol) do 11,23-diamina-25,27-dibutoxicalix[4]areno, 230 mg (1,85 mmol) de pirazina ácido carboxílico e 20 mL de dimetilformamida anidra. O sistema foi fechado, colocado sob agitação e mantido em atmosfera de argônio. Em seguida, adicionou-se 1,0 g (1,94 mmol) de hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxitripirrolidino-fosfônio (Pybop®) seguindo-se da adição de 364 L (2,09 mmol) de N, N-diisopropiletilamina (DIPEA). A reação foi agitada à temperatura ambiente por vinte e quatro horas, sendo monitorada por CCD, utilizando-se como eluentes hexano/acetato de etila 1:2. No final da reação, foi realizada uma extração líquido-líquido com três vezes de 50 mL de clorofórmio. A fase orgânica foi lavada três vezes com 50 mL de solução saturada de carbonato de sódio e duas vezes com 50 mL de água. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e concentrada em um rotavaporador. O sólido foi recristalizado com etanol, sob agitação em banho de gelo por uma hora, obtendo-se 415mg do 11,23-di-pirazina-2-carboxamida-25,27-di buto-xicalix[4]areno.

A.1.3. Síntese da obtenção dos compostos



Esquema 1. Síntese dos compostos 5, 8, 9 e 10. vi,xi) K_2CO_3 , KI, n-BuBr, MeCN, refluxo; Síntese dos compostos 5, 8, 9 e 10. vi,xi) K_2CO_3 , KI, n-BuBr, MeCN, refluxo; vii, xii) HOAc/ HNO_3 , CH_2Cl_2 , t.a; viii,xiii) $N_2H_4 \cdot H_2O$, Pd/C, EtOH, refluxo; ix,xiv) Ácido pirazinóico, N,N-diisopropiletilamina (DIPEA), benzotriazol-1-il-oxitripirrolidino-fosfônio hexafluorofosfato (Pybop), DMF, t.a. x) $AlCl_3$, fenol, tolueno, t.a.

Apêndice

Artigos Publicados

Joining a host-guest platform and a light-emission motif: pyrazinamide calixarene hybrids

Meiry Edivirges Alvarenga, Freddy Fernandes Guimarães, Cleiton Moreira da Silva, Rosemeire Brondi Alves, Thiago Vinicius Costa Lara, Lauro June Queiroz Maia, Ricardo Costa de Santana, Felipe Terra Martins. *Journal of Molecular Structure: Journal of Molecular Structure*, 2022.

The critical role of the coordination sphere in the high-efficiency blue-light emission from aminopyrazine metal-organic polymers

João Humberto Dias Campos, Meiry Edivirges Alvarenga, Maykon Alves Lemes, José Antônio do Nascimento Neto, Freddy Fernandes Guimarães, Lauro June Queiroz Maia, Ricardo Costa de Santana, Felipe Terra Martins. *Dyes and Pigments*, Vol. 186, 2020.

A Giant Hybrid Organic-Inorganic Octahedron from a Narrow Rim Carboxylate Calixarene

Fernando Machado dos Santos, Meiry Edivirges Alvarenga, Ana Karoline Silva Mendanha Valdo, Renato Rabelo, Danielle Cangussu de Castro Gomes, Ângelo de Fátima, Thiago Vinicius Costa Lara, Cleiton Moreira da Silva, Thiago Teixeira Tasso, João Honorato Araujo Neto, Alzir Azevedo Batista, Alejandro Pedro Ayala, Javier Alci- des Ellena, Vinicius Ferraz Guimarães, Cecília Maria Alves Oliveira, Lidya Cardozo da Silva, Boniek Gontijo Vaz e Felipe Terra Martins. *The Royal Society of Chemistry, Chem. Commun.*, 2020,00,1-3.

Exploring the structural landscape of 2-(thiophen- 2-yl)-1,3-benzothiazole: high-Z' packing polymorphism and cocrystallization with calix[4]tube

Meiry E. Alvarenga, Ana Karoline S. M. Valdo, Leandro Ribeiro, José Antônio Do Nascimento Neto, Debora P. De Araújo, Cleiton Moreira Da Silva, Ângelo De Fátima e Felipe T. Martins. *Acta Cryst.* (2019). C75, 667–677.