

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Aplicações Biológicas de Compostos Macrocíclicos

Sofia Marques Garrido Teixeira

Monografia orientada pela Professora Doutora Paula Maria de Jorge
Marcos, Professora Auxiliar

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2022

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia



Aplicações Biológicas de Compostos Macrocíclicos

Sofia Marques Garrido Teixeira

**Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentado à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Paula Maria de Jorge
Marcos, Professora Auxiliar

2022

Agradecimentos

Gostaria de agradecer em primeiro lugar à minha orientadora, a Professora Doutora Paula Maria de Jorge Marcos pelo tempo e atenção que me dedicou durante o desenvolvimento desta monografia e pelas suas correções e indicações. Agradeço ainda a disponibilidade constante e o encorajamento e compreensão demonstrados durante todo o processo.

Agradeço também aos amigos que fiz durante este percurso, Irma, Maryna, Carolina, André, Diogo, Susana e Mafalda pelo apoio ao longo destes meses.

Aos amigos de sempre, Zé, Filipa, Nuno, Cruz, Mateus, Catarina, Ana Teresa, Pedro e Constança agradeço o apoio e preocupação constantes. Agradeço também ao Diogo, além do apoio, toda a ajuda informática e técnica que, generosamente, me dispensou.

À minha família agradeço a incansável disponibilidade em me ajudar das mais variadas formas, bem como o apoio e incentivo constantes.

Ao Filipe agradeço por toda a paciência, carinho e encorajamento que demonstrou durante este período.

Por último, agradeço à Ema e à Bia pela compreensão e pela generosidade de aceitarem a minha menor disponibilidade ao longo deste percurso.

Resumo

Os compostos macrocíclicos são compostos de origem natural ou sintética que de um modo geral apresentam uma cavidade central hidrófila com átomos doadores eletronegativos e uma estrutura exterior hidrófoba. São uma classe de moléculas orgânicas que podem formar complexos hóspede-hospedeiro de forma seletiva. Estas características permitem que estes compostos tenham aplicações nas mais variadas áreas.

A procura de compostos com atividade biológica para fazer face aos desafios crescentes na saúde é uma área da ciência em grande desenvolvimento. As propriedades físico-químicas dos compostos macrocíclicos permitem-lhes interagir de forma seletiva com diversas biomoléculas, apresentando assim diversas aplicações como modelos biológicos, como sensores, como veículos de fármacos e até como agentes terapêuticos, entre outras.

O objetivo desta monografia é rever a utilização dos compostos macrocíclicos e as suas aplicações biológicas, perceber o que tem sido feito até aos dias de hoje, bem como as perspetivas para o futuro. Para tal foi realizada uma pesquisa bibliográfica eletrónica que abrangeu conteúdos publicados nos últimos 20 anos.

Atualmente, existem várias famílias de compostos macrocíclicos com aplicações nas mais variadas áreas. Este trabalho focou-se nos éteres de coroa, nos calixarenos e nos pilararenos, compostos para os quais se encontraram na literatura um maior número de aplicações biológicas. Estes compostos desempenham as suas funções principalmente através do reconhecimento seletivo de espécies hóspede, nomeadamente com interesse biológico, que são incluídas no interior das suas cavidades, permitindo assim a sua separação e/ou transporte.

A evidência crescente das aplicações biológicas dos compostos macrocíclicos indica o seu potencial uso em várias áreas, principalmente na da saúde.

Palavras-chave: Éteres de coroa, calixarenos, pilararenos, compostos macrocíclicos, aplicações biológicas.

Abstract

Macrocyclic compounds are natural or synthetic compounds that generally have a hydrophilic central cavity with electronegative donor atoms and a hydrophobic outer structure. These are a class of organic molecules which can selectively form host-guest complexes. These features allow these compounds to have applications in the most varied areas.

The search for compounds with biological activity to face the growing health challenges is an area of science in great development. The physicochemical properties of macrocyclic compounds allow them to interact selectively with several biomolecules, thus presenting several applications as biological models, as sensors, as drug vehicles and even as therapeutic agents, among others.

The aim of this monograph is to review the use of macrocyclic compounds and their biological applications, understand what has been done to date, as well as perspectives for the future. For this, an electronic bibliographic search was carried out, covering content published in the last 20 years.

Currently, there are several families of macrocyclic compounds with several applications in different areas. This work focused on crown ethers, calixarenes and pillararenes, compounds for which a greater number of biological applications have been found in the literature. These compounds perform their functions mainly through the selective recognition of guest species, namely with biological interest that are included inside their cavities, thus allowing their separation and/or transport.

The growing evidence of the biological applications of macrocyclic compounds indicates their potential use in several areas, mainly in health.

Keywords: Crown ethers, calixarenes, pillararenes, macrocyclic compounds, biological applications.

Índice

1	Introdução.....	1
2	Objetivos	2
3	Métodos.....	3
4	Compostos Macro-cíclicos	4
4.1	Introdução.....	4
4.2	Éteres de Coroa	6
4.3	Calixarenos.....	9
4.4	Pilararenos	13
5	Aplicações Biológicas de Compostos Macro-cíclicos.....	16
5.1	Modelos Biológicos.....	16
5.1.1	Transportadores Membranares	16
5.1.2	Simuladores/Catalisadores enzimáticos	21
5.2	Sensores.....	26
5.3	Separação de Biomoléculas.....	30
5.4	Aplicações Biomédicas	32
5.4.1	Sistemas de Libertação de Fármacos	33
5.4.2	Agentes Terapêuticos	39
5.4.2.1	Propriedades Antibacterianas, Antifúngicas e Antivirais	39
5.4.2.2	Inibição da Amiloidogénese.....	43
5.4.2.3	Desintoxicação	44
5.4.3	Vetores de Genes.....	45
5.4.4	Diagnóstico.....	47
6	Conclusões	49
7	Bibliografia.....	50

1 Introdução

A atividade biológica é uma área da ciência em grande desenvolvimento, uma vez que para fazer face aos desafios crescentes na saúde, a procura de novos compostos ativos biologicamente é um objetivo importante em áreas como a medicina e a farmácia.

Ao longo dos últimos cinquenta anos os compostos macrocíclicos sintéticos têm vindo a ser estudados devido à sua semelhança com compostos naturais presentes em sistemas biológicos, como o anel de porfirina presente no grupo heme ou o anel corrina da Vitamina B12, em que se observam complexos metálicos de ligandos macrocíclicos. Os compostos macrocíclicos sintéticos possuem átomos de oxigénio de grupos éter, carbonilo e hidroxilo como sítios ligantes. Estes compostos têm aplicações ou potenciais aplicações em diversas áreas, desde a bioquímica às ciências ambientais, passando pela química farmacêutica e pela medicina. Algumas dessas aplicações são como modelos artificiais para a compreensão de sistemas biológicos, como sensores, agentes de contraste em ressonância magnética e veículos de fármacos, entre outras aplicações que irão ser exploradas ao longo desta monografia.

Os compostos macrocíclicos são ligandos polidentados, naturais ou de origem sintética, que apresentam os seus átomos dadores incorporados numa estrutura cíclica. A sua capacidade para formar complexos hospedeiro-hóspede deve-se precisamente à sua estrutura cíclica, que permite a formação de uma cavidade central hidrófila de dimensões bem definidas, com átomos dadores eletronegativos e uma estrutura exterior hidrófoba e flexível.

O interesse crescente neste tipo de compostos prende-se com a sua capacidade de reconhecimento seletivo de certas moléculas ou iões. A sua elevada estabilidade, a capacidade para alterar propriedades físico-químicas do seu hóspede, como a solubilidade, a baixa toxicidade e a baixa imunogenicidade são outras das características dos macrociclos sintéticos que têm chamado à atenção.

Dos vários compostos macrocíclicos existentes, os mais estudados e, conseqüentemente, que apresentam um maior número de aplicações biológicas são os éteres de coroa, os calixarenos e os pilararenos, pelo que serão os compostos abordados neste trabalho.

2 Objetivos

A presente monografia tem por objetivo a revisão da literatura e apresentar o estado da arte das aplicações biológicas de compostos macrocíclicos de forma a descrever o que tem sido feito até ao momento, bem como as perspetivas de futuro. Com este objetivo foi compilada a informação considerada essencial, abrangendo os últimos vinte anos, através de uma pesquisa bibliográfica eletrónica.

O trabalho tem início com uma introdução geral sobre os compostos macrocíclicos, sendo depois introduzidas cada uma das famílias abordadas ao longo do trabalho. Posteriormente, são descritas as aplicações biológicas mais relevantes destes compostos, bem como exemplos dentro de cada família. Em último lugar são apresentadas as principais conclusões resultantes deste trabalho, bem como as perspetivas para o futuro.

3 Métodos

Para a realização deste trabalho intitulado “Aplicações biológicas de compostos macrocíclicos” foi efetuada uma pesquisa e análise da literatura dos últimos vinte anos sobre o tema, recorrendo essencialmente à biblioteca do conhecimento online (*Isi Web of Knowledge*). Outras bases de dados, como *PubMed* e *ScienceDirect* também foram utilizadas. Para complementar a informação obtida, foram ainda consultados alguns capítulos de livros, bem como outro material cedido pela professora orientadora desta monografia.

Ao longo da pesquisa, que decorreu de janeiro a agosto de 2022, foram usadas palavras chave como *macrocyclic compounds*, *biological applications*, *pillararenes*, *calixarenes* e *crown ethers*. Neste processo, selecionaram-se apenas os artigos mais interessantes para a temática abordada, dado o elevado número encontrado, dando também atenção à atualidade dos mesmos.

4 Compostos Macrocíclicos

4.1 Introdução

Um composto macrocíclico é definido como um composto cíclico formado por nove ou mais átomos (incluindo todos os heteroátomos) e com três ou mais átomos ligantes. A estrutura cíclica destes ligandos polidentados (de origem natural ou sintética), permite que formem complexos hospedeiro-hóspede.^{1,2}

O interesse pelos compostos macrocíclicos sintéticos surgiu na década de 60 do século XX, principalmente após a publicação do trabalho de Pedersen, no final da mesma década, sobre a síntese dos primeiros compostos macrocíclicos – os éteres de coroa.^{3,4}

Como referido anteriormente, os compostos macrocíclicos sintéticos, à semelhança dos antibióticos macrocíclicos naturais, como a valinomicina (Figura 1), contêm átomos de oxigénio dadores de grupos éter, carbonilo e hidroxilo. Atualmente é possível sintetizar, de forma relativamente simples, uma grande variedade destes compostos, alterando o número total de átomos, bem como o número e o tipo de átomos dadores. Assim, é possível obter compostos com diferentes propriedades e especificidades para diferentes moléculas, nomeadamente biomoléculas. A introdução de grupos funcionais também permite alterar as propriedades destes compostos, bem como adicionar-lhes novas funcionalidades.^{1,5}

A capacidade de complexação dos macrociclos é maior que a de compostos lineares com os mesmos locais de ligação, uma vez que estes têm de alterar a sua conformação durante a formação do complexo. O anel do macrociclo permite que se atinja um nível de pré-organização estrutural tal que os grupos funcionais podem interagir ao longo de vários sítios de ligação, sem uma grande perda de entropia. Desta forma, os compostos macrocíclicos apresentam-se extremamente potentes e seletivos. No entanto, estes não são compostos rígidos, ao contrário, apresentam um equilíbrio entre pré-organização espacial e flexibilidade suficiente para que se possam moldar a uma molécula alvo, maximizando os locais de ligação.^{4,5}

A possibilidade que estes compostos apresentam de alterar a dimensão da cavidade do anel, bem como a capacidade para formar complexos seletivos com pequenas moléculas orgânicas e inorgânicas e com iões metálicos, traduz-se num elevado número de aplicações. Outras características estruturais dos macrociclos que chamaram à atenção são a sua estrutura simétrica, a capacidade de formar blocos de construção de dimensões nano, a facilidade de auto-agregação e a possibilidade de funcionalização, como referido anteriormente. A capacidade de

auto-agregação, bem como a capacidade de formar complexos hôte-hospedeiro são a base da química supramolecular, em que entidades organizadas e complexas resultam da associação de duas ou mais espécies químicas unidas por forças intermoleculares.⁴

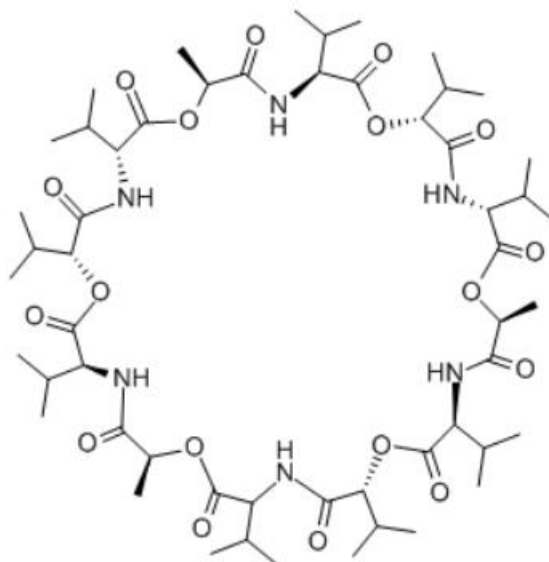
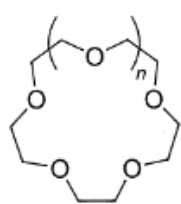
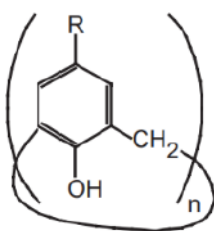


Figura 1 - Estrutura da Valinomicina.

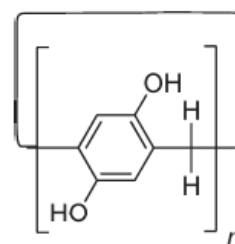
Ao longo deste trabalho irão ser abordados três tipos de compostos macrocíclicos, os éteres de coroa, os calixarenos e os pilararenos (Figura 2) e por fim as suas aplicações biológicas.



Éter de Coroa



Calixareno



Pilarareno

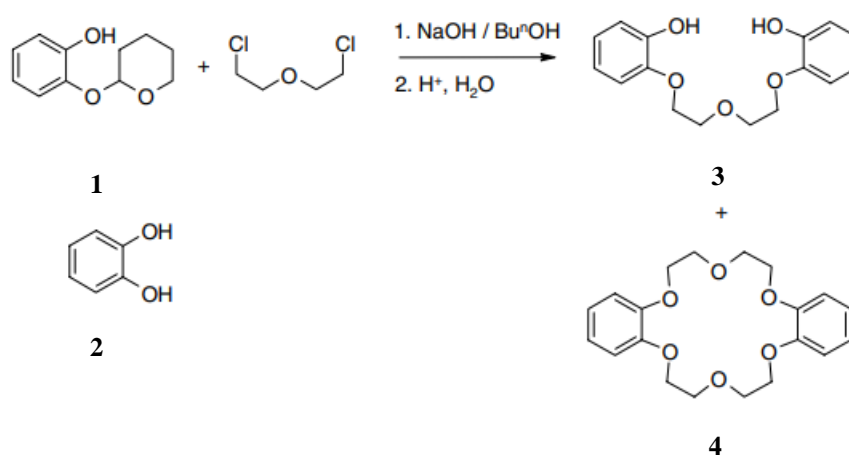
Figura 2 - Estruturas químicas dos compostos macrocíclicos estudados nesta monografia.

4.2 Éteres de Coroa

Os éteres de coroa são poliéteres cíclicos que apresentam quatro ou mais átomos de oxigênio separados por unidades etilénicas. Estes compostos, de fórmula geral $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$, apresentam uma estrutura formada por um anel hidrofóbico que rodeia uma cavidade hidrofílica. Estes compostos têm sido usados para formar estruturas supramoleculares e, desde a sua descoberta, têm tido um grande interesse como agentes complexantes.^{3,6}

Os éteres de coroa são a primeira geração de compostos macrocíclicos e foram descobertos por Pedersen em 1967, valendo-lhe o Prémio Nobel da Química em 1987.^{3,7} A síntese do primeiro éter de coroa foi, no entanto, acidental. Enquanto tentava sintetizar o diol linear **3**, que Pedersen esperava que pudesse atuar como ligando para o íon vanadilo, realizou a reação representada no esquema 1. O reagente de partida foi um derivado do catecol, o 1,2-dihidroxibenzeno (**1**), em que um dos grupos hidroxilo estava protegido por um anel tetra-hidropirano, de forma a impedir a sua reação. Porém, sem que Pedersen se apercebesse, o material de partida estava contaminado com algum catecol (**2**) livre. O produto resultante desta reação foi uma mistura do composto pretendido juntamente com uma pequena quantidade do éter de coroa **4**, formado apenas com 0,4% de rendimento. Apesar da diminuta quantidade, Pederson conseguiu isolar e caracterizar este subproduto.³

No que diz respeito à nomenclatura, Pedersen apercebendo-se da dificuldade que seria utilizar a nomenclatura IUPAC para nomear estes compostos, simplificou o processo utilizando um nome que incluía apenas o número total de átomos (primeiro número) e o número de átomos de oxigênio (segundo número) intercalados pela palavra coroa. Assim, por exemplo, o 1,4,7,10,13,16-hexaciclooctadecano é vulgarmente designado por 18-coroa-6 e o composto **4** por dibenzo 18-coroa-6.⁷

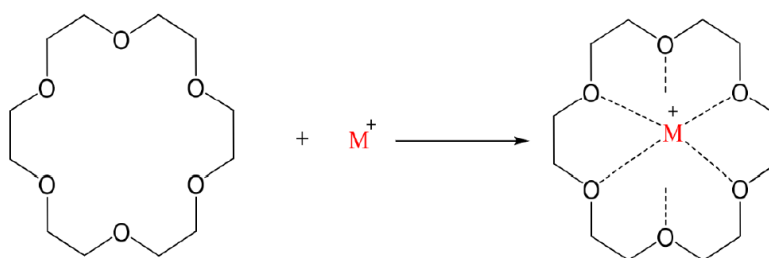


Esquema 1 - Síntese do primeiro éter de coroa, dibenzo-18-coroa-6 (**4**). Esquema adaptado da ref. 6.

Este composto cíclico, formado por um anel de dezoito átomos com seis de oxigénio e com dois substituintes aromáticos apresentava-se sob a forma de cristais brancos, aparentemente insolúveis em solventes hidroxílicos. Pedersen concluiu também que a solubilidade deste composto em metanol aumentava na presença de hidróxido de sódio, percebendo assim a capacidade destes compostos para complexarem catiões.^{3,6} Na continuação dos seus estudos, Pedersen concluiu que o ião potássio se encaixava no centro da molécula, o que o levou à síntese de mais compostos relacionados para estudar as suas capacidades de complexação. Concluiu que os compostos mais eficazes como agentes complexantes são os que contêm entre cinco a dez átomos de oxigénio no anel, separados por dois átomos de carbono.³

Os éteres de coroa aromáticos são compostos cristalinos, insolúveis em água e álcoois à temperatura ambiente, mas são bastante solúveis em diclorometano e clorofórmio. Os éteres de coroa saturados apresentam muito maior solubilidade em todos os solventes e são também incolores. Podem ser líquidos viscosos ou sólidos com baixo ponto de fusão e sofrem reações de substituição características dos éteres, como a halogenação e a nitração e decompõem-se por reações que causam cisão de éteres.³

A partir do trabalho de Pedersen, os éteres de coroa tornaram-se muito populares na química de complexação de catiões. A principal característica destes macrociclos, e a que tem atraído mais interesse, é a sua capacidade para complexar várias espécies químicas, nomeadamente sais e catiões de metais alcalinos. Os átomos de oxigénio do anel estabelecem interações ião-dipolo entre os seus eletrões de valência e a carga positiva do catião complexado (Esquema 2). Os catiões orgânicos também podem ligar-se aos éteres de coroa, uma vez que os átomos de oxigénio do anel podem funcionar como aceitadores de ligações de hidrogénio. Do ponto de vista estrutural, podem comparar-se estes compostos a *donuts*, sendo que um catião com a dimensão adequada pode encaixar-se no interior do *donut*, para dar origem a um complexo.⁷ A possibilidade de sintetizar éteres de coroa com cavidades de diferentes tamanhos permite que complexem de forma seletiva catiões de vários tamanhos (Figura 3).⁴



Esquema 2 - Exemplo da complexação de um catião monovalente com o 18-coroa-6

Como referido anteriormente, outra característica importante dos éteres de coroa é a possibilidade de funcionalização. O objetivo principal no *design* de éteres de coroa é sintetizar macrociclos que consigam discriminar diferentes tipos de espécies químicas e biológicas. Assim, variando o número e a natureza dos substituintes do anel pode modificar-se não só a sua forma como as suas propriedades e seletividade para determinada espécie. Por fim, modificar o tipo, o número e o arranjo de heteroátomos dadores também altera as propriedades destes compostos. Esta possibilidade de funcionalização levou à síntese de uma enorme variedade de compostos derivados dos iniciais com diferentes seletividades para um elevado número de espécies hóspede.^{4,6}

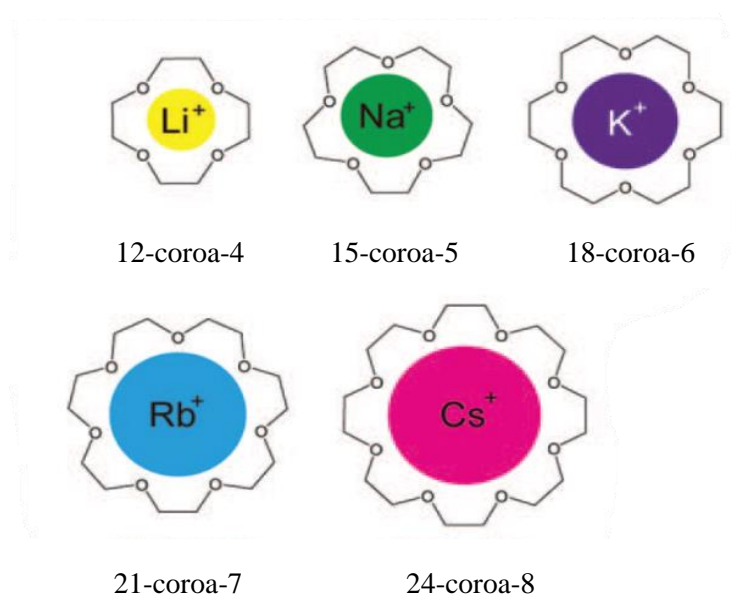
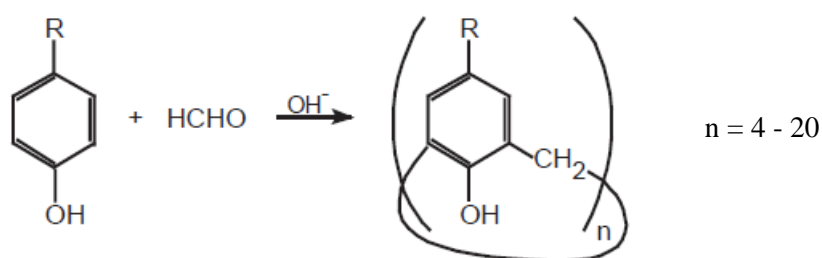


Figura 3 - Estruturas químicas de complexos éter de coroa-catião metálico.

As propriedades dos éteres de coroa referidas anteriormente, bem como a possibilidade de funcionalização, permitem-lhes aplicações em diversas áreas. Por exemplo, a analogia entre a capacidade de ligação ao ião potássio do primeiro éter de coroa sintetizado e os complexos metálicos de ionóforos como a valinomicina ou a nonactina, mostrou a importância destes compostos como modelos para estudos em processos biológicos, nomeadamente processos de transporte de iões através de membranas. Estes compostos apresentam ainda aplicações como catalisadores, como sensores e também aplicações biomédicas e farmacêuticas.^{6,8}

4.3 Calixarenos

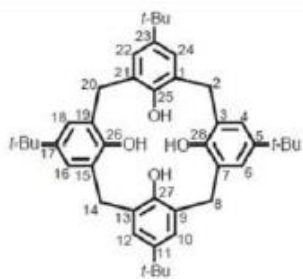
Os calixarenos são uma família de compostos macrocíclicos que resultam da condensação direta de fenóis *para*-substituídos com formaldeído em meio básico, como representado no esquema 3. Estes compostos apresentam uma cavidade tridimensional que pode acomodar moléculas hóspede, num processo de complexação hospedeiro-hóspede. O número de anéis aromáticos pode variar entre quatro e vinte, sendo que os calixarenos com quatro a oito anéis são os mais comuns. O tamanho da cavidade macrocíclica irá depender do número de anéis.^{9,10}



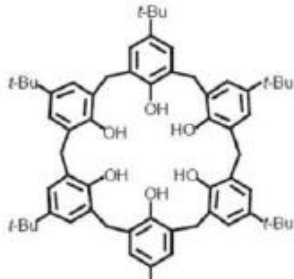
Esquema 3 - Síntese geral de calixarenos.

A história dos calixarenos remonta ao final do século XIX, quando Adolf von Bayer, ao aquecer formaldeído com fenol, observou a formação de um produto duro e resinoso que não conseguiu caracterizar. Esta situação foi retomada nos anos 40 e 50 do século XX com as experiências de Zinke e Ziegler, que trataram fenóis *para*-substituídos (*p*-alquilfenóis) com formaldeído aquoso na presença de hidróxido de sódio. Obtiveram misturas de compostos com elevados pontos de fusão e reduzida solubilidade em solventes orgânicos, aos quais atribuíram estruturas tetraméricas cíclicas. Mais tarde, John Cornforth repetiu as experiências de Zinke com dois fenóis *p*-substituídos (o *para-terc*-butil e o *para-terc*-octil) tendo isolado em cada caso um par de produtos com pontos de fusão distintos, o que o levou a concluir que se tratavam de conformações diferentes dos tetrâmeros cíclicos.^{9,10}

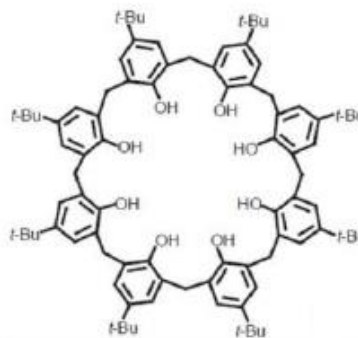
No início da década de 70, David Gutsche foi o primeiro a considerar os tetrâmeros cíclicos obtidos por Zinke como substâncias contendo cavidades apropriadas para funcionar como simuladores enzimáticos. Mostrou que a condensação direta de fenóis *para*-substituídos em meio básico levava à formação de misturas de oligômeros cíclicos com anéis de vários tamanhos. A reação com o *p-terc*-butilfenol, o fenol mais estudado, permitia obter o tetrâmero **5**, o hexâmero **6** e o octâmero **7**.⁹



5



6



7

A designação “calixareno”, proposta por Gutsche, deve-se à semelhança entre a forma de um vaso grego (*calix crater*) e o modelo molecular de um dos conformêros do tetrâmero cíclico. Desta forma, “calix” vem de vaso e “areno” indica a presença de anéis aromáticos. Para adaptar o nome a outros oligômeros cíclicos, o tamanho do macrociclo é indicado por um número entre parêntesis retos, inserido entre as palavras “calix” e “areno”. A natureza e a posição da substituição nos anéis aromáticos são indicadas por números e prefixos apropriados. Por exemplo, o tetrâmero **5** é designado por 5,11,17,23-tetra-*tert*-butil-25,26,27,28-tetrahidroxicalix[4]areno ou simplesmente *p-tert*-butilcalix[4]areno.⁹

As percentagens dos calixarenos obtidos dependem das condições experimentais, como a razão molar dos reagentes, a quantidade de base, o catião e a temperatura. Estas condições foram desenvolvidas por Gutsche e colaboradores partindo do *p-tert*-butilfenol. Desta forma é possível obter com bons rendimentos calixarenos precursores com número par de unidades fenólicas. Os calixarenos análogos com número ímpar de unidades fenólicas apresentam rendimentos inferiores. Embora o *p-tert*-butilfenol seja o mais usado na síntese de calixarenos, outros fenóis como o *p-tert*-pentil e o *p-tert*-octil, também têm sido utilizados, embora com rendimentos inferiores. Outros exemplos de reagentes utilizados nestas sínteses são fenóis com grupos *n*-alquila de cadeia longa em posições *para*. Uma vantagem destes compostos reside na relativa facilidade de síntese dos precursores, com bons rendimentos e recorrendo a reagentes pouco dispendiosos.^{9, 10}

Em relação às propriedades físicas, os calixarenos precursores (que contêm grupos hidroxilo livres) caracterizam-se por apresentarem elevados pontos de fusão, serem insolúveis em água e pouco solúveis na maioria dos solventes orgânicos. Os pontos de fusão, geralmente superiores a 300 °C, aumentam com o tamanho do anel e são menores nos compostos com número ímpar de unidades fenólicas. A baixa solubilidade em solventes orgânicos, embora

difícil o seu isolamento, purificação e caracterização não impede, contudo, as determinações espectrais destes compostos. A solubilidade pode ser alterada através da introdução de substituintes nas coroas superior e/ou inferior dos calixarenos.^{9,10} Os calixarenos precursores apresentam ligações de hidrogénio intramoleculares entre os grupos hidroxilo. Nos calix[4]arenos estas ligações são bastante fortes, afetando a acidez daqueles grupos. Estes compostos apresentam também elevada estabilidade térmica e química e reduzida toxicidade.^{10,11}

Estruturalmente, estes macrociclos apresentam uma cavidade tridimensional composta por uma coroa superior formada pelos substituintes *para* (geralmente apontados para cima) e uma coroa inferior constituída pelos grupos hidroxilo (apontados para baixo) (Figura 4). As unidades aromáticas unidas por pontes metilénicas conferem à cavidade acentuada hidrofobicidade.^{10,11}

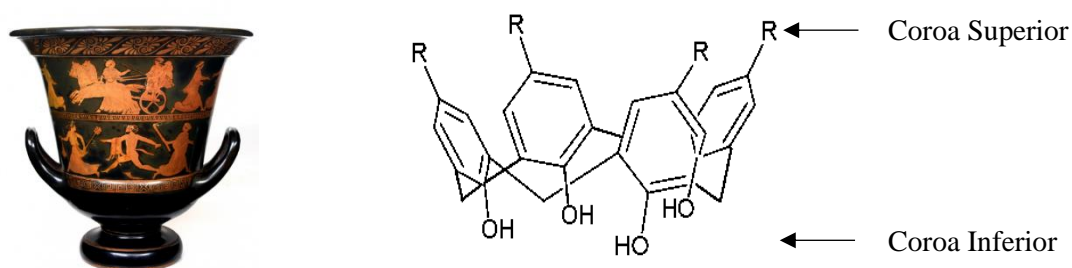


Figura 4 - Vaso grego (esquerda) e representação esquemática de um calix[4]areno (direita).

Uma das particularidades dos calixarenos é a variedade de conformações que podem assumir, sendo esta uma das suas propriedades mais interessantes. A inversão das unidades fenólicas em torno das ligações σ das pontes metilénicas permite a formação de diferentes isómeros conformacionais, cujo número aumenta com as unidades que compõem o anel. Com o aumento do tamanho do anel, as conformações adotadas vão sendo progressivamente mais planares. Esta inversão pode ocorrer por intermédio da rotação da coroa superior ou inferior através do anel. Os calix[4]arenos apresentam quatro conformações mais estáveis, denominadas por Gutsche como *cone*, *cone-parcial*, *1,2-alternada* e *1,3-alternada* (Figura 5). Todos os calixarenos com grupos hidroxilo livres são conformacionalmente flexíveis em solução e à temperatura ambiente.^{9,10}

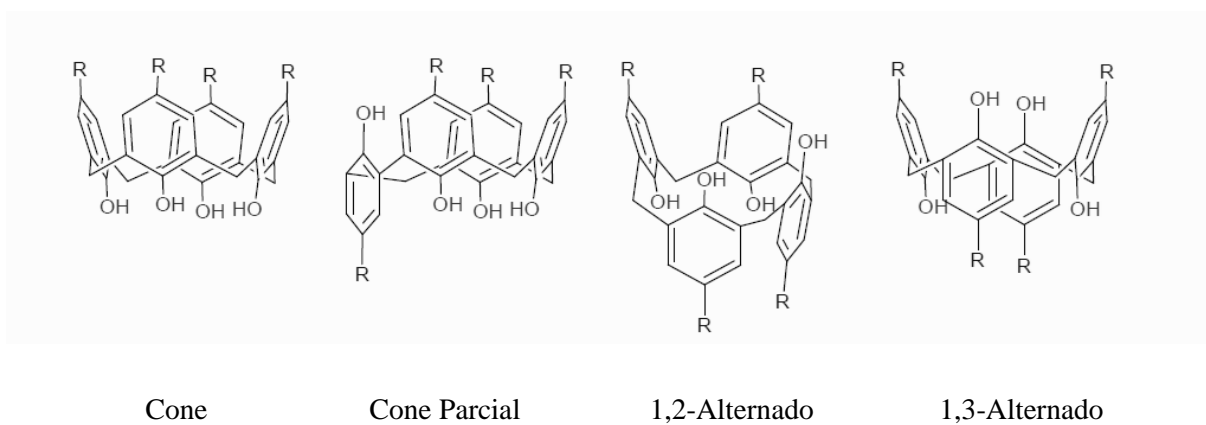
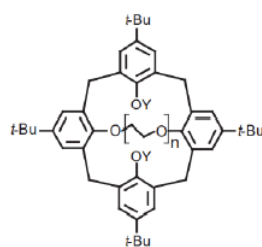


Figura 5 - Conformações mais estáveis de calix[4]arenos. Figura adaptada da ref. 9.

Como referido anteriormente, os calixarenos têm capacidade para incluir diversas espécies químicas, mas não possuem cavidades rígidas. Assim, a funcionalização nas coroas superior e/ou inferior permite fixá-los numa determinada conformação, conferindo rigidez ao macrociclo e originando compostos versáteis com diferentes capacidades de complexação.⁹

Na coroa inferior, as reações possíveis são a esterificação e a eterificação, com a substituição dos átomos de hidrogénio. Os grupos hidroxilo são excelentes plataformas para a incorporação de outros grupos funcionais via reações com eletrófilos. As principais funcionalizações realizadas nesta coroa são *O*-alquilações e *O*-acilações. É também possível formar pontes de hidrogénio entre dois grupos hidroxilo dando origem às chamadas calixcoroas **8**. As modificações da coroa superior envolvem a remoção do grupo *tert*-butilo da posição *para*. Neste caso, reações de substituição eletrofílica aromática, como a halogenação, a nitração e a sulfonação permitem a introdução de novos grupos.⁹⁻¹¹



8

A importância destes compostos reside na sua capacidade de complexação e transporte seletivos de iões (catiões, aniões) e moléculas neutras. No estado líquido, os calixarenos precursores não apresentam atividade ionofórica em relação aos catiões metálicos, sendo os seus derivados, através da funcionalização (principalmente) da coroa inferior, que se tornam importantes moléculas hospedeiras. Assim, o tamanho, a conformação e a natureza dos

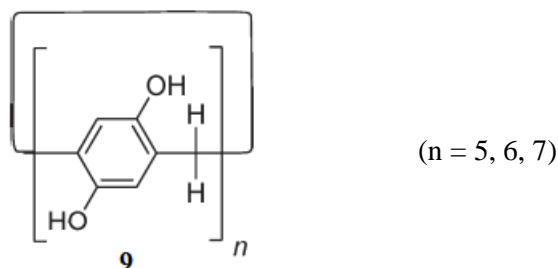
substituintes na coroa inferior vão determinar a afinidade de cada derivado para um hóspede alvo. Vários calixarenos funcionalizados na coroa inferior têm sido sintetizados e estudadas as suas propriedades complexantes. Os estudos revelaram que os calix[4], [5] e [6] arenos contendo grupos éster mostram preferência pelos cátions alcalinos relativamente aos alcalino-terrosos. Dentro destes, os calix[4]arenos são seletivos ao Na^+ , enquanto que os calix[5]arenos preferem os cátions K^+ , Rb^+ e Cs^+ e os calix[6]arenos têm preferência pelo cátion Cs^+ . As cetonas exibem as mesmas propriedades de complexação, embora formando complexos mais fortes. No que diz respeito às amidas, complexam fortemente, embora de forma menos seletiva, tanto metais alcalinos como metais alcalino-terrosos. Por último, derivados de calixarenos contendo ácidos carboxílicos formam complexos bem mais estáveis do que as respetivas amidas com os metais alcalinos e alcalino-terrosos. Os calixarenos podem também complexar cátions de metais de transição, de metais pesados, de lantanídeos e de actinídeos. Complexos com cátions orgânicos, como o aquilamónio e o guanidínio e com moléculas neutras como o clorofórmio e hidrocarbonetos aromáticos têm também sido obtidos. A complexação seletiva de aniões é mais complexa, mas tem sofrido um avanço notável nos últimos anos. A introdução de unidades carregadas positivamente ou deficientes em eletrões, resulta num aumento da afinidade para os aniões, mas também calixarenos neutros complexam seletivamente aniões, através de ligações de hidrogénio.^{9,11}

A grande versatilidade dos calixarenos como agentes complexantes permite a sua utilização como catalisadores, como sensores, como estruturas modelo de sistemas biológicos, como veículos de fármacos e até como agentes terapêuticos. Por exemplo, a introdução de grupos polares permite a formação de macrociclos anfifílicos com uma cabeça hidrofílica e uma cauda hidrofóbica que se podem associar em micelas, vesículas, lipossomas ou outros agregados muito úteis no transporte de moléculas, nomeadamente de fármacos. O elevado número de patentes registadas demonstra bem a sua importância e utilidade.^{12,13}

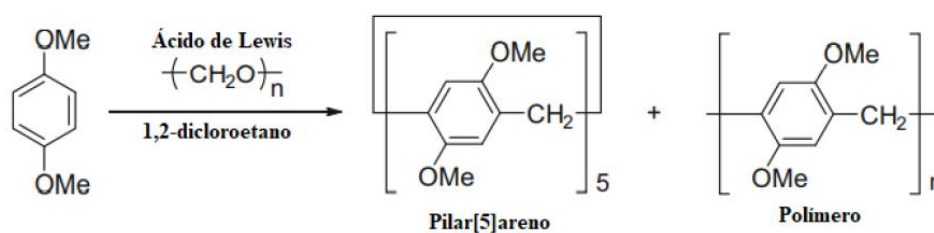
4.4 Pilararenos

Os pilar[*n*]arenos são uma nova classe de compostos macrocíclicos em forma de pilar, constituídos por unidades de hidroquinona ligadas por pontes metilénicas na posição *para* (**9**). À semelhança dos calixarenos, o *n* representa o número de unidades aromáticas do macrociclo, sendo os pilararenos com *n* = 5, 6 e 7 os mais comuns.¹⁴⁻¹⁶

Estes compostos foram descobertos acidentalmente em 2008 por Tomoki Ogoshi e pela sua equipa.¹⁴ Enquanto tentavam sintetizar novos polímeros fenólicos através da reação do



1,4-dimetoxibenzeno com *para*-formaldeído na presença de um ácido de Lewis, obtiveram o pilar[5]areno, como produto secundário (Esquema 4). Descobriram então que alterando os ácidos de Lewis usados poderiam obter o pilarareno como produto principal, cujo rendimento poderia ser aumentado alterando as proporções dos reagentes iniciais.¹⁶

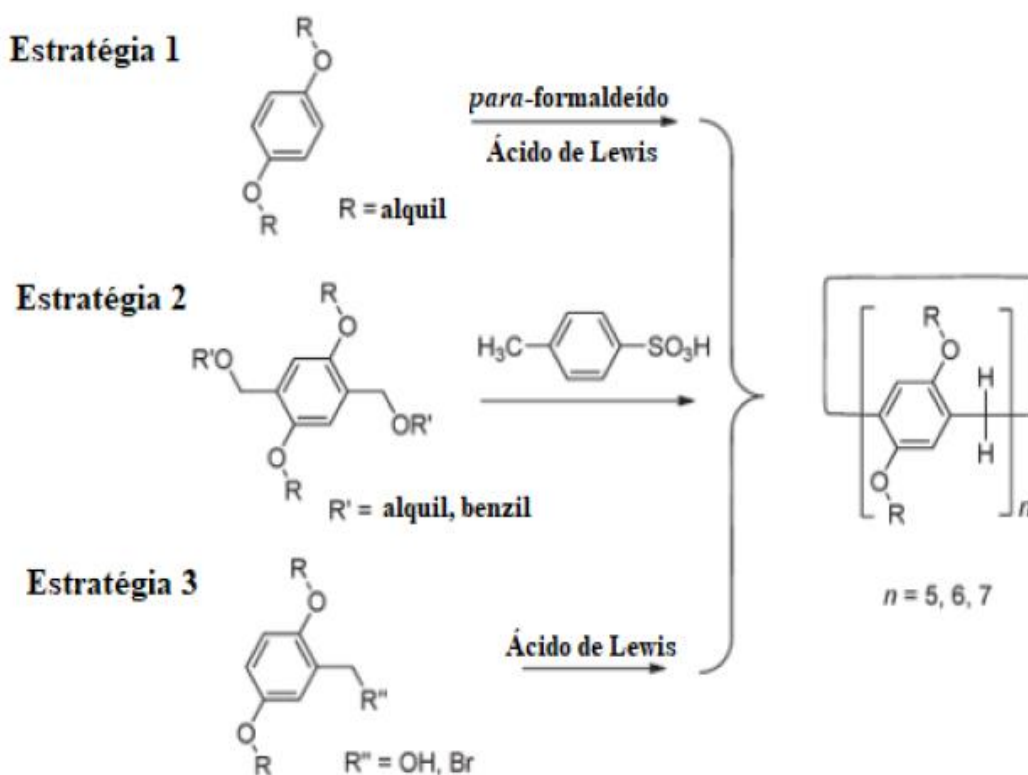


Esquema 4 - Condensação do 1,4-dimetoxibenzeno e *para*-formaldeído com um ácido de Lewis. Esquema adaptado da ref. 16.

Para a síntese de pilar[5], [6] e [7]arenos foram desenvolvidas três vias sintéticas (Esquema 5)¹⁵. A primeira é a condensação entre o 1,4-dialcoxibenzeno e o *para*-formaldeído catalisada por um ácido de Lewis. Na segunda, a condensação do 1,4-dialcoxi-2,5-bis(alcoximetil)benzeno é catalisada pelo ácido *p*-toluenossulfónico. Por fim, na terceira via, a ciclooligomerização de álcoois 2,5-dialcoxibenzílicos ou brometos de 2,5-dialcoxibenzilos é catalisada também por um ácido de Lewis.¹⁵

A introdução de grupos funcionais tem um efeito significativo na solubilidade e nas capacidades de reconhecimento molecular e de auto-agregação dos pilararenos. Para a funcionalização destes compostos pode partir-se diretamente de reagentes com vários substituintes, como é o caso dos pilar[5]arenos substituídos com grupos alquila. Outro método para a funcionalização de pilararenos baseia-se na modificação química dos anéis dos precursores. À semelhança dos calixarenos, os grupos hidroxilo providenciam uma boa

plataforma para a funcionalização. Por exemplo, a introdução de aniões carboxilato em ambas as coroas torna estes compostos solúveis em água.^{15,16}



Esquema 5 - Três vias sintéticas para a obtenção de pilar[5], [6] e [7]arenos. Esquema adaptado da ref. 15.

Desde a sua descoberta, os pilararenos têm atraído imensa atenção da comunidade científica, encontrando-se entre os macrociclos mais estudados. Este interesse deve-se às vantagens que apresentam em relação a outros hospedeiros macrocíclicos, como sejam a sua forma em pilar, a sua elevada simetria e rigidez, que os torna bastante seletivos, a facilidade de síntese e de funcionalização. Além disto, são também solúveis em solventes orgânicos, apresentando uma cavidade hidrofóbica rica em eletrões que pode atuar como recetor de moléculas deficientes em eletrões.¹⁴⁻¹⁶

Os pilar[*n*]arenos podem ainda formar polímeros e estruturas supramoleculares e têm sido usados nas mais variadas áreas como sejam sensores, nanomateriais e aplicações biomédicas.^{15,16}

5 Aplicações Biológicas de Compostos Macrocíclicos

5.1 Modelos Biológicos

Muitos processos biológicos essenciais tais como transporte através de membranas, reconhecimento molecular, transdução de sinal, biocatálise, armazenamento e processamento de informação e reprodução baseiam-se em interações supramoleculares.⁵ Enzimas, vírus, membranas e muitas outras estruturas com funções biologicamente relevantes constroem-se essencialmente através de processos simples de auto-agregação. Como mencionado anteriormente, é precisamente nas capacidades de reconhecimento molecular, bem como de auto-agregação dos compostos macrocíclicos que reside o seu maior interesse. Desta forma, nos últimos anos, estes compostos têm sido muito utilizados quer para estudar processos biológicos, quer para mimetizar alguns destes processos.⁵

5.1.1 Transportadores Membranares

Os iões sódio, cloreto e potássio encontram-se entre os eletrólitos mais abundantes nos fluidos biológicos e são essenciais para a regulação do pH, do potencial de membrana e do volume celular dos seres vivos. Os canais iónicos e os transportadores (ionóforos) desempenham um papel crucial na comunicação química e elétrica da célula com o meio extracelular (Figura 6). Desta forma, o transporte transmembranar de espécies carregadas é crucial para a maioria dos processos biológicos, uma vez que estas espécies não se difundem livremente, estando dependentes do bom funcionamento de proteínas de membranas especializadas. As perturbações neste transporte têm impacto na homeostasia dos organismos vivos, estando associadas a várias patologias.¹⁷

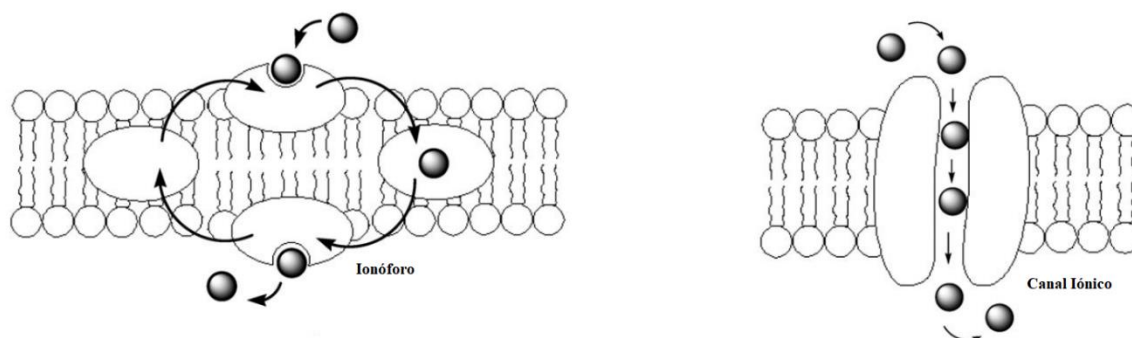
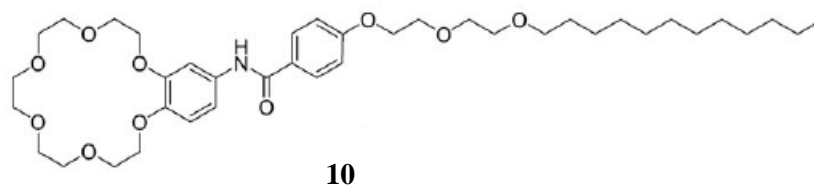
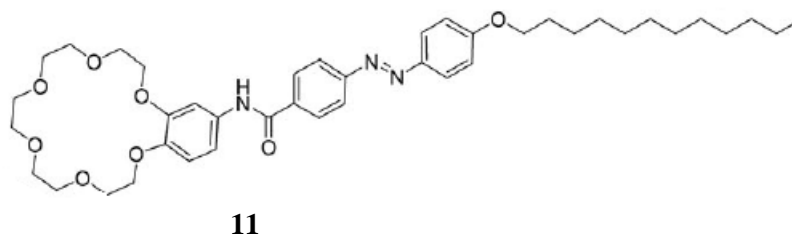


Figura 6 – Representação esquemática do transporte de íons mediado por ionóforo e por canais iónicos através de uma membrana celular. Figura adaptada da ref.17.

Para uma melhor compreensão destes sistemas, bem como para a mimetização do transporte transmembranar, têm sido sintetizados vários transportadores artificiais baseados em éteres de coroa.¹⁷⁻²⁰ Liu *et al*¹⁸ realizaram estudos que sugerem o papel importante da estrutura molecular na atividade de transporte dos canais iónicos. Para tal, sintetizaram alguns compostos, entre os quais o composto **10** que reúne quatro blocos de construção funcionais: um benzo éter coroa, um grupo amida, um anel benzénico com um substituinte dietileno-glicol e uma cadeia alquílica para funcionar como cauda hidrofóbica. Estes grupos funcionais são habitualmente usados na construção de sistemas supramoleculares anfifílicos, uma vez que os éteres de coroa e as cadeias alquílicas conferem o carácter anfifílico, o grupo amida providencia as ligações por pontes de hidrogénio e o anel aromático promove as interações π .¹⁸

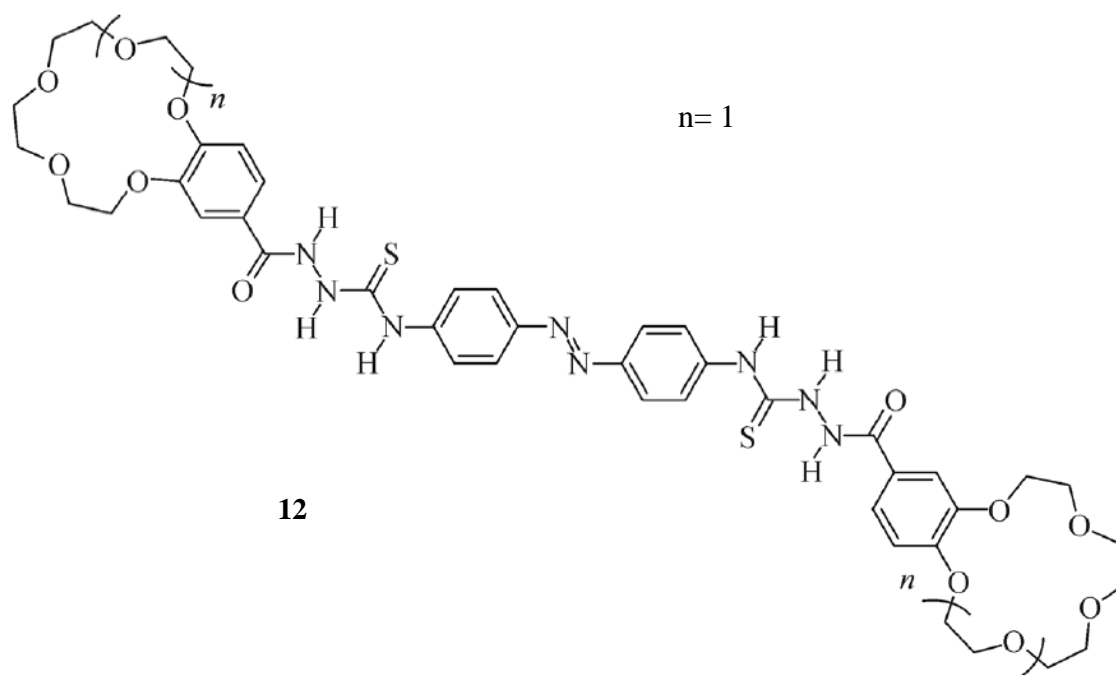


Este composto apresentou uma atividade de transporte eficiente através de membranas, com um valor de EC_{50} 3 vezes inferior ao do composto **11**, que continha um anel aromático azobenzeno conjugado em vez do anel benzénico com um substituinte dietileno-glicol. Estes resultados mostraram ser possível desenvolver canais iónicos eficientes a partir de éteres de coroa, através da manipulação das suas estruturas.¹⁸



Mais recentemente, éteres de coroa conjugados com tioureia mostraram-se também eficientes no transporte de iões através da membrana, nomeadamente de Na^+ , K^+ e Cl^- e também no simporte de $NaCl$. O composto **12** foi desenhado de forma a que a unidade de benzo-15-coroa-5 fosse empregue para complexar e transportar Na^+ e K^+ e que os grupos tioureia

complexassem e transportassem Cl^- . A unidade de azobenzeno surge como espaçador e promove a lipofilia dos transportadores.¹⁹



Outro estudo, onde foi usado o fulareno- C_{60} funcionalizado com éteres de coroa, sugere que a elevada seletividade de ligação dos éteres de coroa pode ser traduzida em transporte seletivo através da membrana, o que pode ser utilizado para desenhar diversos tipos de transportadores para diferentes aplicações (Figura 7). Os resultados obtidos mostraram que estes compostos contendo éteres 12-coroa-4, 15-coroa-5, 18-coroa-6 e 21-coroa-7 transportavam seletivamente o Li^+ , o Na^+ , o K^+ e o par Rb^+/Cs^+ , com valores de EC_{50} de 0,13, 0,47, e 0,40 μM e de $-105 \text{ nM} / 77 \text{ nM}$, respectivamente.²⁰

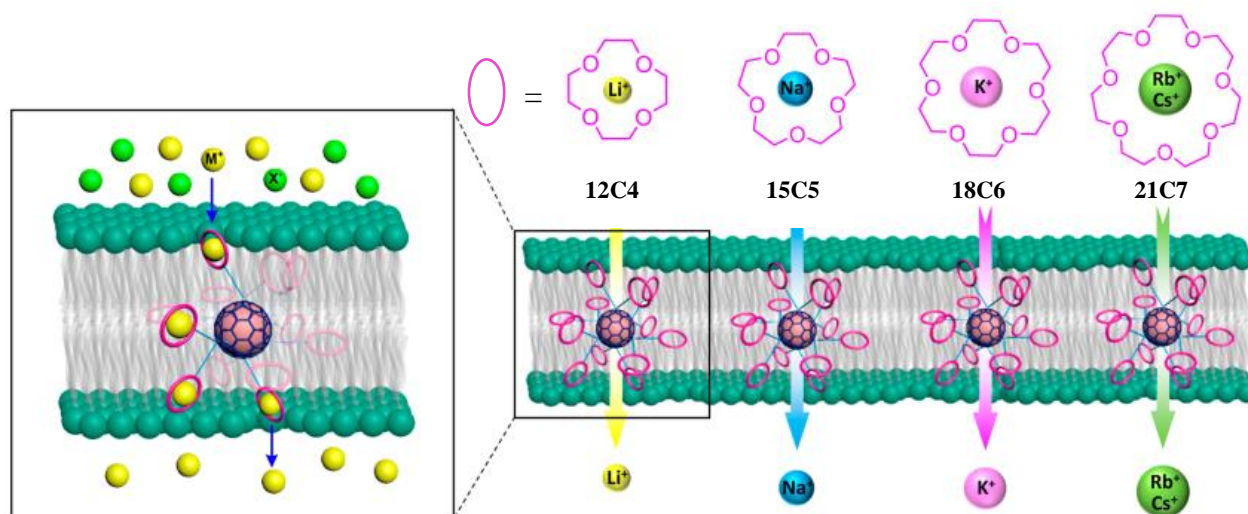


Figura 7 - Ilustração esquemática da influência dos éteres de coroa na seletividade do transporte através de membranas. Figura adaptada da ref. 20.

No que diz respeito aos calixarenos, Raston²¹ sintetizou o composto **13**, um calix[4]areno *O*-alquilado com substituintes *n*-octadecil. No estado sólido, as cadeias alquílicas interligam-se formando bicamadas cristalinas com 33 Å de espessura. A capacidade que este composto apresenta para formar bicamadas sugere que calixarenos expandidos através das coroas inferior e/ou superior apresentam o potencial de ser inseridos nas membranas biológicas, formando canais permanentes.²¹



13

Um estudo de 2019²² demonstrou a eficiência de transportadores baseados em calix[6]arenos funcionalizados com grupos tioureia na coroa inferior (**14** e **15**), que transportam não só o íon Cl^- , como também fazem o co-transporte de pares iônicos como o PrNH_3Cl (Figura 8). Neste estudo verificaram que a presença da cavidade do calixareno tem um impacto positivo na taxa de transporte, quando comparado com transportadores sem cavidades. Demonstraram também que o catião é transportado no interior de vesículas. Os resultados obtidos com este estudo abrem portas para o desenho de mais transportadores baseados em calixarenos para compostos de amónia biologicamente relevantes, como as catecolaminas ou a lisina.²²

Os calix[4]arenos também têm sido bastante utilizados no desenvolvimento de transportadores membranares²³ e, recentemente foi desenvolvido um transportador membranares (Figura 9) baseado num calix[4]-coroa-5, na conformação 1,3-alternado (**16**).²⁴ Os hospedeiros iónicos baseados neste composto mimetizam as propriedades de reconhecimento e

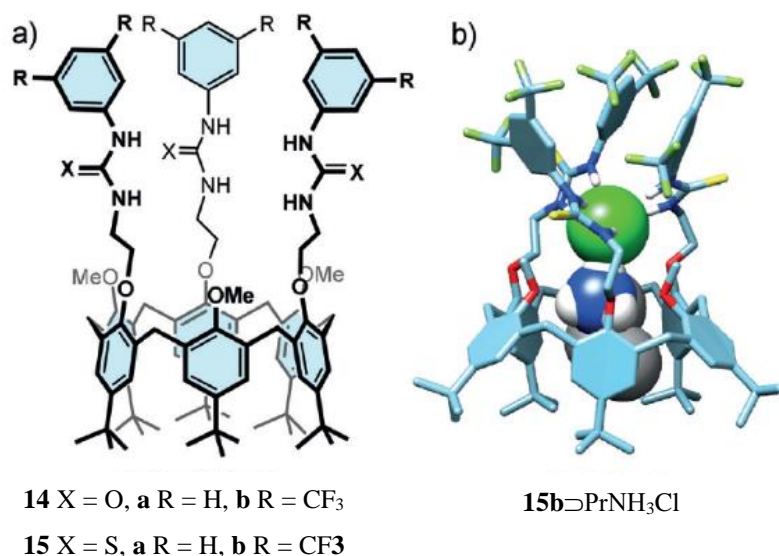


Figura 8 - a) Estrutura dos calixarenos usados. b) Modelo molecular do complexo formado entre o **15b** e o PrNH₃Cl, com o Cl⁻ ligado às tioureias e o PrNH₃⁺ na cavidade do calixareno. Figura adaptada da ref. 22.

ligação da valinomicina e dos canais iônicos do íon K⁺, juntando os dois mecanismos de ligação num só transportador. A valinomicina apresenta uma estrutura rígida e forma uma cavidade com o tamanho ideal para complexar o íon Na⁺ com maior afinidade do que para complexar o íon K⁺. Por seu lado, o mecanismo de seleção dos canais de K⁺ baseia-se em fatores cinéticos, que permitem que os íões sejam transportados a velocidades diferentes. Neste caso, além da carga e do raio do íon, a facilidade de dessolvatação do íon contribui para a seletividade do canal iônico para esse mesmo íon. Os estudos mostraram que hospedeiros deste tipo apresentam uma seletividade para o par K⁺/Na⁺ muito superior à da valinomicina e de outros transportadores sintéticos, conseguindo discriminá-lo de outros pares iônicos com muita eficiência.

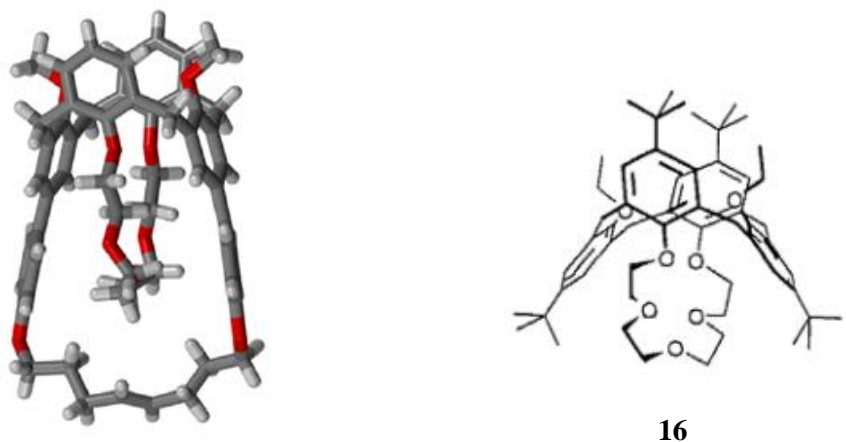


Figura 9 – Modelo molecular do transportador baseado no composto **16**. Figura adaptada da ref. 24.

À semelhança dos compostos macrocíclicos anteriores, os pilararenos apresentam aplicações como transportadores transmembranares. O pilar[6]areno **17** (Figura 10) foi conjugado com moléculas de azobenzeno **18** para formar canais iónicos sintéticos ativados pela luz, à semelhança dos canais de rodopsina. Outra característica importante dos compostos macrocíclicos e bastante útil na síntese de canais iónicos ou recetores membranares é a sua capacidade para formar ligações reversíveis com o seu hóspede. Desta forma, podem ser utilizados para alterar a carga do interior do canal iónico, o que é o ponto chave do transporte seletivo de iões. No estudo em questão, estímulos luminosos promoviam a formação de complexos de inclusão entre o pilarareno e o azobenzeno ou a sua dissociação, alterando assim a carga do canal e conseqüentemente a sua afinidade para catiões ou aniões. Desta forma, a irradiação com luz visível promovia a formação dos complexos de inclusão, tornando o canal seletivo a catiões devido à carga negativa do pilarareno. Por outro lado, a irradiação com luz UV promove a dissociação do complexo e as cargas positivas das unidades de azobenzeno, que se situam à superfície do canal, conferem seletividade para os aniões.²⁵

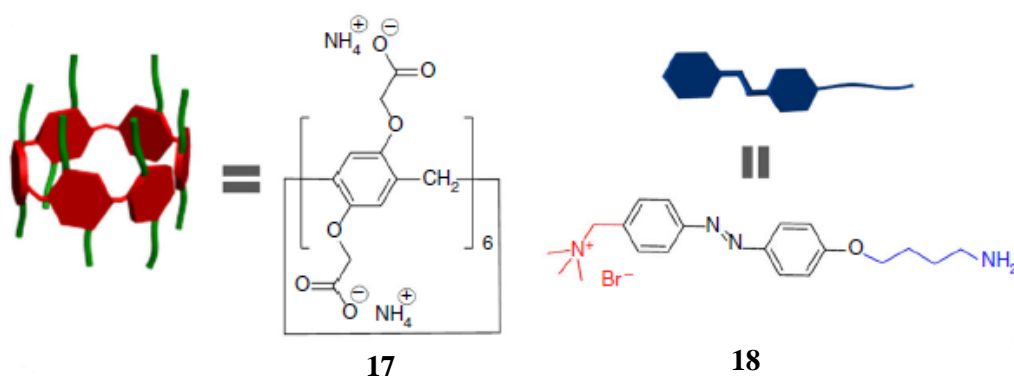


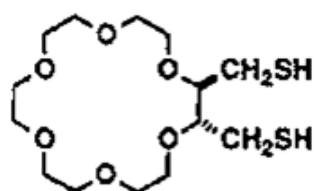
Figura 10 - Representação esquemática e estrutural do pilar[6]areno **17** e azobenzeno. Figura adaptada da ref. 25.

5.1.2 Simuladores/Catalisadores enzimáticos

As enzimas possuem naturalmente locais de ligação ao substrato, essenciais à formação do complexo enzima-substrato de forma a ultrapassar a energia de ativação necessária à reação catalítica. Estes locais de ligação formam-se quando os péptidos se rearranjam em conformações que se assemelham a cavidades que são espacialmente complementares aos substratos. Os compostos macrocíclicos sintéticos por apresentarem as propriedades de reconhecimento e ligação ao substrato, providenciam na sua cavidade excelentes plataformas

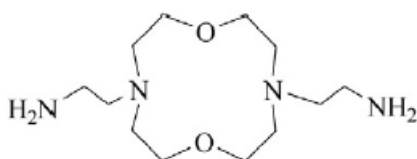
para reações catalíticas altamente eficientes e seletivas. Além disso, as possibilidades de funcionalização destes compostos permitem que mimetizem os sítios ativos de muitas enzimas naturais.²⁶ Estes compostos apresentam também a capacidade de inibir ou ativar enzimas, o que representa potenciais aplicações biomédicas e farmacêuticas (que serão abordadas mais à frente nesta monografia), uma vez que a regulação enzimática poderá ter impacto, por exemplo, na atividade microbiana e na libertação de fármacos.^{12,17}

O estudo de éteres de coroa para mimetizar enzimas não é recente,²⁷ como é o caso do composto **19**, um 18-coroa-6 funcionalizado com dois grupos tiol, que é usado como um modelo enzimático para a síntese de péptidos. Este composto providencia locais de ligação para os iões amónia e para os iões metálicos e dois locais de reação com os substratos, os dois grupos tiol. Neste modelo, o crescimento da cadeia peptídica faz-se recorrendo à formação de um complexo entre o éter de coroa e o aminoácido. Reações sucessivas de tiólise e aminólise intracomplexo, formam as ligações peptídicas, promovendo a formação da cadeia peptídica.²⁷

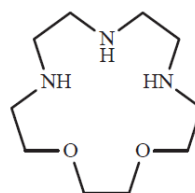


19

Mais recentemente as azacoroas, uma classe de éteres de coroa em que alguns átomos de oxigénio foram substituídos por átomos de azoto, têm tido especial destaque na mimetização de metaloenzimas, uma vez que formam complexos bastante estáveis com iões metálicos. Embora ainda se encontrem limitações na sua utilização como enzimas artificiais, principalmente pela dificuldade de síntese, na literatura encontram-se várias referências a azacoroas como hidrolases, enzimas que desempenham papéis cruciais nos sistemas biológicos, como é o caso dos compostos **20**²⁸ e **21**²⁹. Os resultados obtidos mostraram que estes complexos exibem atividade catalítica favorável na hidrólise de ácidos nucleicos, ésteres fosfato e proteínas, entres outros. Demonstrou-se também que o sinergismo entre os grupos funcionais e o ião metálico é crucial para o *design* de hidrolases baseadas nestes complexos.^{28,29}



20



21

No que respeita aos calixarenos, existem também vários estudos sobre a sua capacidade de mimetizar enzimas. Gutsche, nos anos 70¹⁰ e Ungaro³⁰ mais tarde verificaram que calixarenos covalentemente ligados a átomos de azoto podiam coordenar-se com metais de transição, conseguindo formar metaloenzimas artificias. Num estudo de 2006,³¹ pegando naquela abordagem inicial, os autores criaram um modelo de uma metaloenzima formando um complexo ternário entre um calix[4]areno substituído com grupos sulfonato na posição *para*, uma molécula hóspede e um ião metálico (Figura 11).

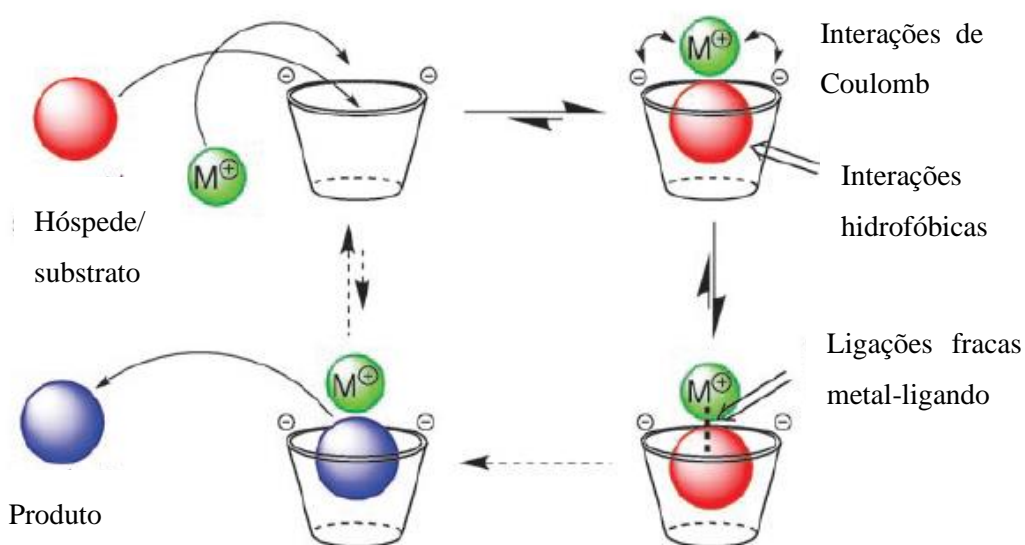
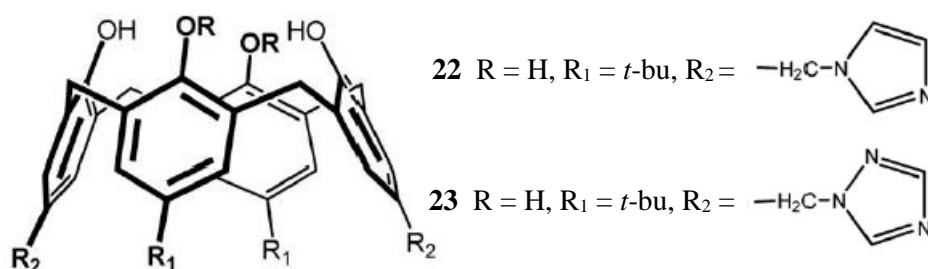


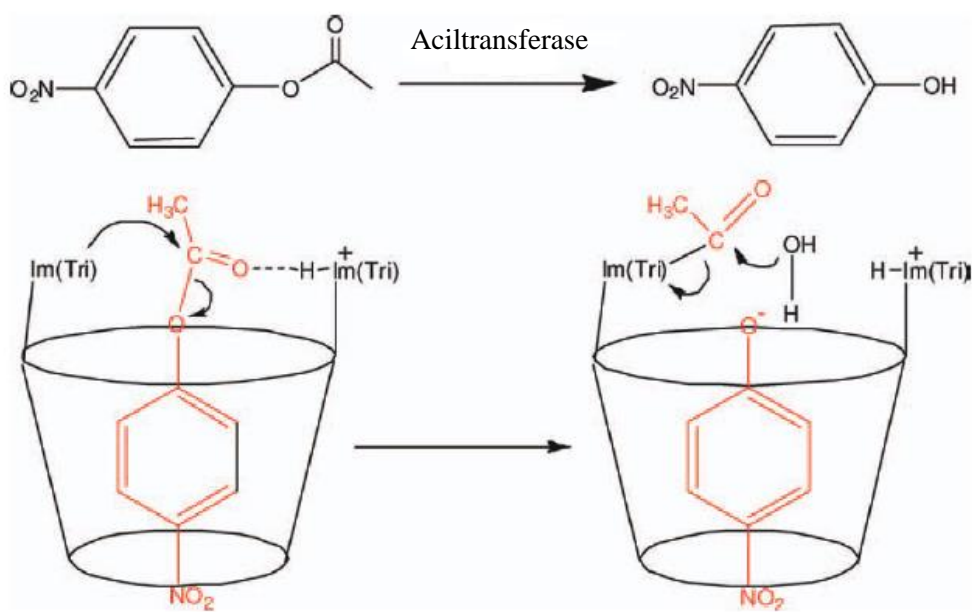
Figura 11 - Processo de auto-agregação de um modelo de metaloenzima. Figura adaptada da ref. 31.

Neste complexo, a molécula hóspede estabelece ligações hidrofóbicas com o hospedeiro e o metal forma interações eletrostáticas com as cargas negativas na entrada da cavidade do macrociclo. A molécula hospedeira promove ainda a ligação entre a molécula hóspede e o íon metálico, reforçando a estabilidade do complexo. Finalmente, ocorre a reação química pretendida com o grupo funcional da molécula hóspede, catalisada pelo íon metálico.³¹

Outro exemplo reportado na literatura demonstra a capacidade de calix[4]arenos substituídos com grupos imidazol como o composto **22**, ou triazol como o composto **23**, para mimetizar a enzima aciltransferase na hidrólise de *p*-nitrofenil ésteres.³²



Neste caso, um átomo de azoto protonado dos resíduos de imidazol ou de triazol liga-se por pontes de hidrogénio ao substrato que sofre um ataque nucleofílico do outro átomo de azoto não protonado, resultando na hidrólise do éster (Esquema 6). Os resultados obtidos mostraram que os calixarenos substituídos com grupos imidazol são mais eficientes a mimetizar a atividade da aciltransferase do que os calixarenos que contêm grupos triazol.³⁶



Esquema 6 - Reação catalisada pela aciltransferase (em cima). Representação do possível mecanismo de hidrólise de ésteres catalisada pelos compostos **22** e **23** (em baixo). Esquema adaptado da ref. 32.

Vários estudos mostram também a potencial aplicação dos pilararenos como catalisadores ou como enzimas artificiais. Os compostos **24** e **25** (Figura 12) promovem a hidrólise de hidrazonas. Estes compostos são pilar[5] e [6]arenos respetivamente, funcionalizados com grupos carboxílicos nas coroas. Nestes casos, demonstraram que os efeitos catalíticos dependiam dos tamanhos das moléculas hóspede e hospedeiras e que a distância entre as coroas e o grupo hidrazona afetava a reatividade. Ficou também demonstrado que a estabilização eletrostática do substrato protonado acelerava a reação.³³

Um outro exemplo é o do pilar[5]areno **26** funcionalizado com grupos imidazol, que promove a hidrólise de ligações fosfodiéster de compostos como o bis-2,4-dinitrofenil fosfato (**27**), o fenil 2,4-dinitrofenil fosfato (**28**) e o etil 2,4-dinitrofenil fosfato (**29**).³⁴ A hidrólise desta ligação realiza-se através de um ataque nucleofílico dos resíduos de imidazol, no complexo hóspede-hospedeiro, com a expulsão do grupo abandonante (2,4-dinitrofenolato) no

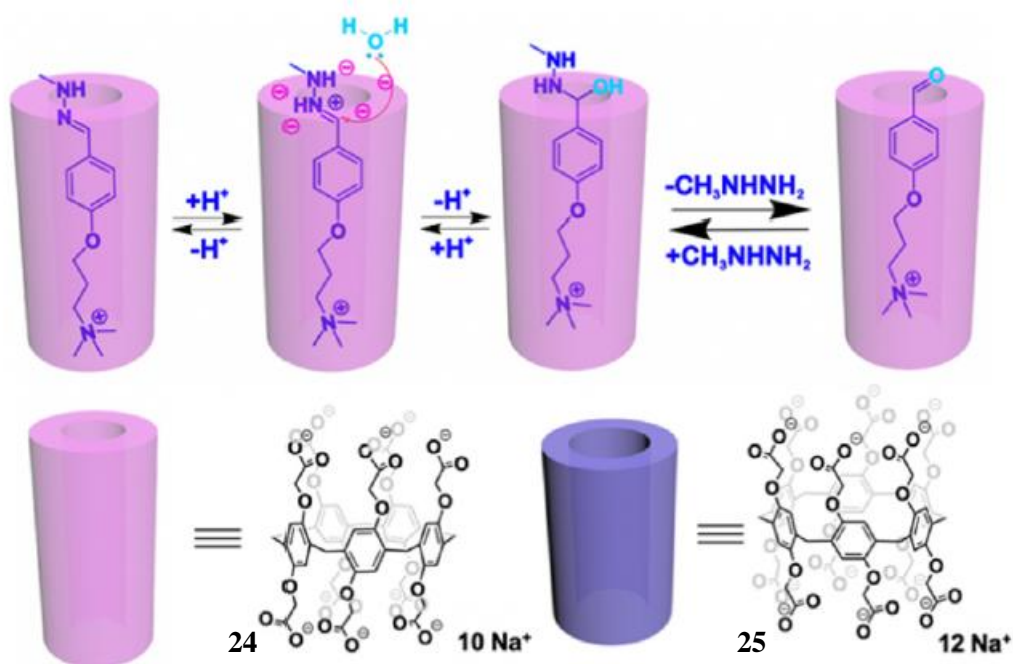
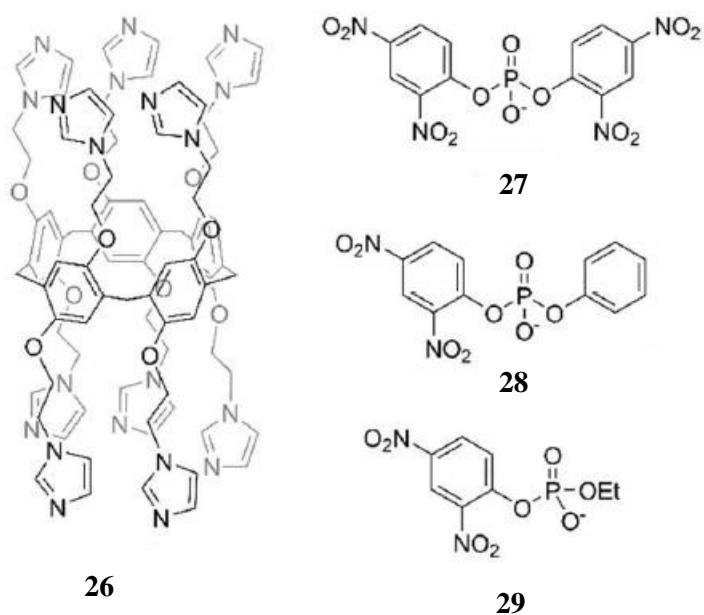


Figura 12 - Hidrólise de hidrazonas utilizando os pilar[5] e [6]arenos **24** e **25**, respectivamente. Figura adaptada da ref. 33.

exterior da cavidade do pilarareno e com a formação de fosfato 2,4-dinitrofenil e de fosforoamidatos, os quais regeneram o catalisador. Este pilar[5]areno apresenta elevada seletividade bem como um elevado efeito catalítico na clivagem desta ligação, que é acelerada por um fator de 10^4 . Sabendo da importância da transferência do grupo fosfato na maioria dos processos biológicos, este composto apresenta-se como um bom modelo enzimático para aplicações futuras.³⁴

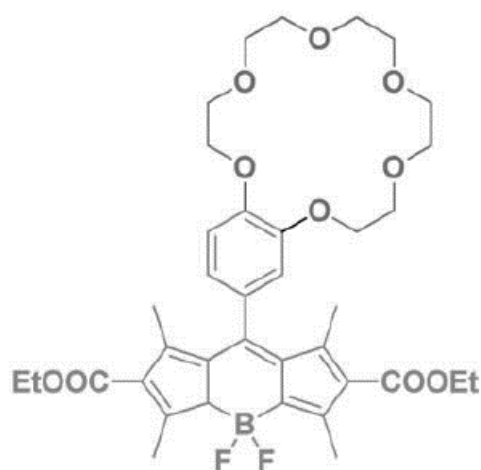


5.2 Sensores

A detecção de moléculas biologicamente relevantes tem atraído bastante atenção na química supramolecular. Nas últimas décadas tem-se observado um interesse crescente no desenvolvimento de novos métodos para a detecção de espécies químicas, nomeadamente através de sensores. Neste contexto, *sensor*, designa a espécie química que interage com o analito. A interação do analito com o sensor dá origem a uma forma de energia (transdução de sinal) mensurável baseada em métodos espectroscópicos ou eletroquímicos. De acordo com o mecanismo de transdução de sinal envolvido, os sensores podem classificar-se como sensores óticos, eletroquímicos, de ressonância magnética ou fluorescentes.³⁵

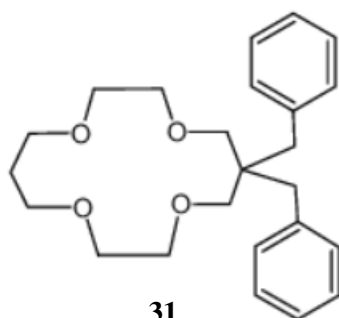
Por apresentarem estruturas moleculares particulares e possuírem seletividade para iões envolvidos em processos biológicos a nível de reconhecimento molecular, os compostos macrocíclicos são sensores promissores nas áreas da biologia e da medicina. Iões como o sódio, o potássio, o cálcio e o magnésio estão envolvidos em processos biológicos tais como a regulação da atividade celular, a transmissão de impulsos nervosos e a contração muscular, entre outros, pelo que a sua detecção e monitorização é de extrema importância. Em medicina é importante monitorizar o nível de certos iões ou de outras espécies, uma vez que as suas concentrações se relacionam com determinadas patologias. Também é importante controlar os níveis de alguns iões em doentes sujeitos a determinados tratamentos, como é o caso de doentes sujeitos a tratamento com lítio.³⁶

Os quimiossensores fluorescentes são utilizados no reconhecimento molecular, uma vez que são muito sensíveis e fáceis de usar. A afinidade do composto macrocíclico para o analito a detetar pode extinguir (*quenching*) ou potenciar a emissão de fluorescência de determinado fluoróforo, conforme esteja ou não ligado ao mesmo. Sistemas compostos por fluoróforos ligados a éteres de coroa podem ser utilizados como sensores para iões metálicos, aniões e biomoléculas, podendo ser empregues para entender determinados processos biológicos *in vivo*.^{35,37} Por exemplo, o composto **30**, que consiste num benzo-18-coroa-6 ligado a uma unidade boro-dipirrometeno, apresenta um aumento na intensidade da emissão de fluorescência após a adição dos iões sódio e potássio, em metanol. Além de iões como o sódio, o potássio, o mercúrio, entre outros, os éteres de coroa também detetam biomoléculas, como por exemplo a glutatona, importante antioxidante, amplamente distribuída na maioria dos tecidos dos seres vivos ou a saxitocina, uma toxina com profundo impacto ambiental e económico.³⁷



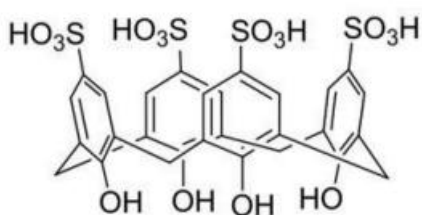
30

Um outro exemplo de sensor baseado em éteres de coroa é o de um sensor eletroquímico utilizado num sistema de testes rápidos para monitorizar as concentrações serológicas de Li^+ . Neste caso, o 6,6'-dibenzil-14-coroa-4 (**31**) deteta o lítio com boa sensibilidade e elevada seletividade em relação a outros iões como o sódio, o potássio e o cálcio.³⁶

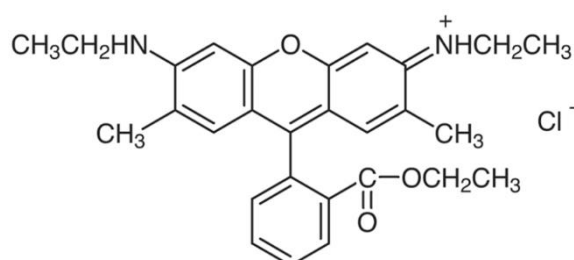


31

Relativamente ao uso dos calixarenos, como sensores, um exemplo é a deteção de colesterol por fluorescência através de compósitos de *p*-sulfonatocalix[4]arenos (**32**), na presença de rodamina 6G (**33**).³⁸ Estes compósitos diminuem a intensidade da emissão de fluorescência da rodamina 6G, na ausência de colesterol. No entanto, esta aumenta significativamente após a adição de colesterol, uma vez que estes compósitos apresentam maior seletividade para o colesterol, desligando-se da rodamina, que volta a emitir fluorescência (Figura 13). Este resultado indica uma forte interação entres estes compósitos de calix[4]arenos e o colesterol. A formação de complexos com o colesterol permite a deteção desta molécula em várias concentrações até um limite de $109 \mu\text{M}$.³⁸



32



Rodamina 6G

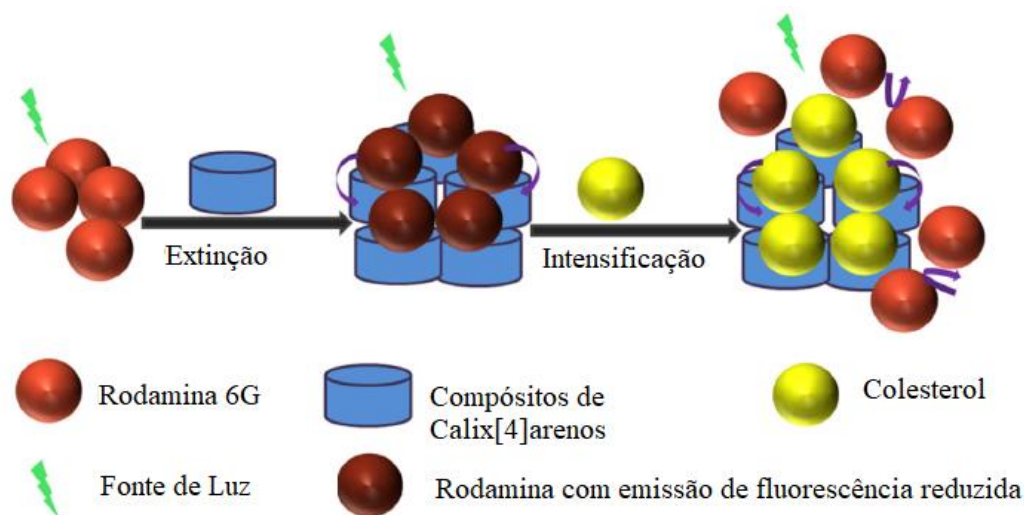
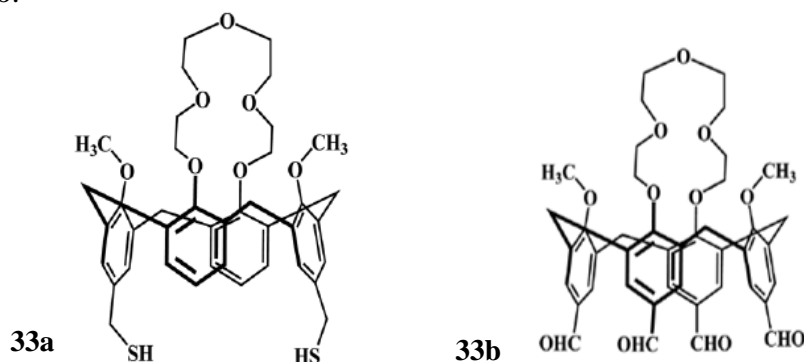


Figura 13 - Ilustração esquemática da extinção da fluorescência da Rodamina 6G por compostos de calix[4]arenos e intensificação da mesma na presença de colesterol. Figura adaptada da ref. 38.

Os calixarenos podem também ser aplicados na detecção de proteínas.^{39,40} Por exemplo, os derivados de calix[4]coroa-5 (**33a** e **33b**) apresentam um par de elétrons livre que pode facilmente ligar-se ao íon amônio, presente nos aminoácidos que constituem as proteínas. A presença de vários grupos amina nas proteínas, bem como a possibilidade de complexação levou ao desenvolvimento de *chips* de proteínas. Neste processo, é importante imobilizar as proteínas numa fase sólida, sem que percam a sua integridade estrutural e, conseqüentemente, a sua atividade. Um destes exemplos é a criação de uma monocamada dos compostos **33a** e **33b** numa lâmina de vidro para a detecção com elevada sensibilidade do biomarcador tumoral PSA (Antigénio Específico da Próstata). Esta técnica pode ser também utilizada para a construção de *chips* de DNA que podem ser utilizados para a detecção de outros marcadores tumorais ou de vírus, por exemplo.³⁹



Os sensores também podem ser utilizados para monitorizar reações enzimáticas em tempo real, como é o caso de um sistema indicador composto pelo composto **17**, um pilar[6]areno hidrossolúvel e um corante aromático fluorescente, o laranja de acridina (**34**) (Figura 14).⁴¹ Quando ocorre a complexação entre o pilarareno e o laranja de acridina, a sua

emissão de fluorescência é inibida e a cor que apresenta em solução passa de amarelo a vermelho. Este sistema foi utilizado como sensor de compostos de colina e, posteriormente, utilizado para monitorizar a reação catalisada pela colina oxidase. Esta enzima é responsável por regular o equilíbrio osmótico celular, mantendo os níveis de aminas orgânicas solúveis em água, oxidando os compostos de colina a betaína aldeído. O pilar[6]areno utilizado apresenta uma maior afinidade para os compostos de colina do que para o laranja de acridina, observando-se uma mudança da cor da solução com a adição dos compostos de colina, bem como um aumento da fluorescência, uma vez que o corante ao deixar de estar complexado, volta a emitir fluorescência. Ao contrário da colina, a betaína aldeído não é complexada pelo pilar[6]areno. Desta forma, durante a reação catalisada pela colina oxidase, à medida que a colina é oxidada e se forma betaína, é possível observar uma diminuição da fluorescência, permitindo monitorizar o processo (Figura 15).⁴¹

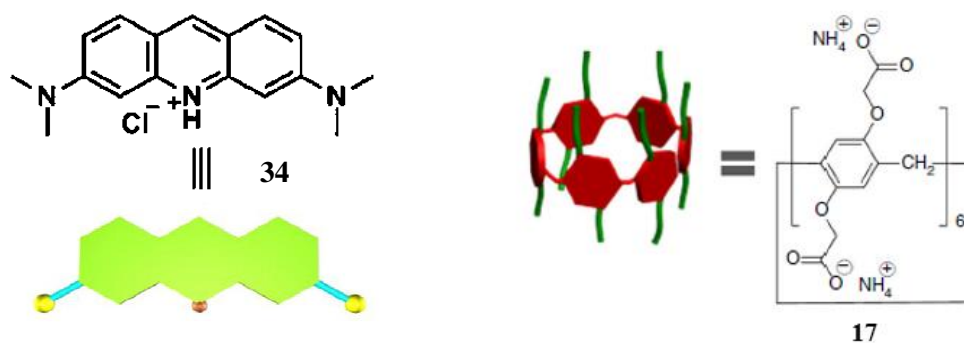


Figura 14 – Representação esquemática e estrutural do laranja de acridina (34) e do pilarareno 17. Figura adaptada da ref. 41.

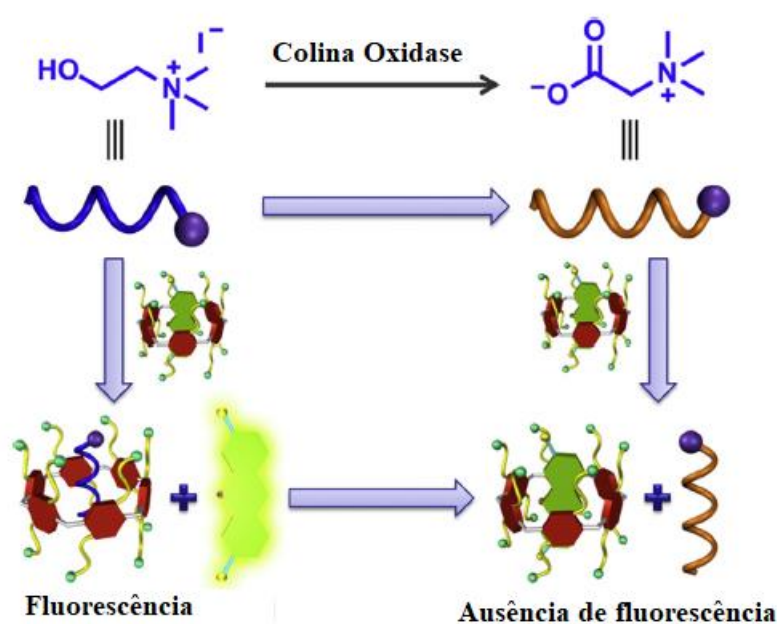
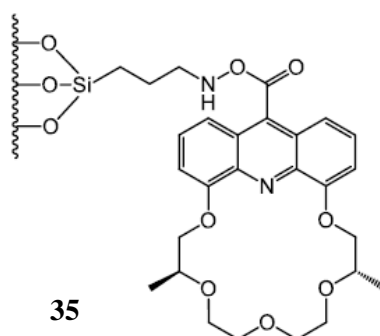


Figura 15 - Reação catalisada pela colina oxidase e o complexo enzimático usado para a sua monitorização. Figura adaptada da ref. 41.

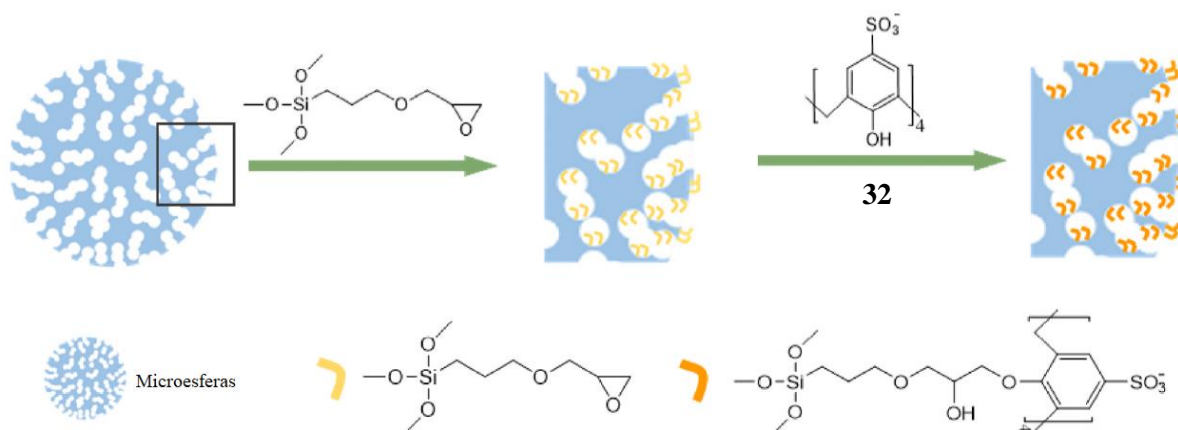
5.3 Separação de Biomoléculas

Os compostos macrocíclicos podem também ser utilizados para separar ou extrair moléculas ou íons de interesse biológico.

Um exemplo é a utilização de éteres de coroa na separação de enantiómeros com atividade biológica ou farmacêutica por cromatografia líquida de alta eficiência. Os éteres de coroa são utilizados como constituintes da fase estacionária quiral e podem ser aplicados na separação de enantiómeros contendo um grupo amina primário, uma vez que formam complexos com íons amônia. Estes sistemas têm sido utilizados na separação de vários tipos de compostos, desde aminoácidos a fármacos, como é o exemplo dos antibióticos quinolonas.⁴²⁻⁴⁴ Um exemplo é o composto **35**, um derivado do 18-coroa-6 utilizado na preparação de uma fase estacionária quiral para a separação enantiomérica de arilalquilaminas e de ésteres de α -aminoácidos. Os autores verificaram que a capacidade de resolução do derivado de éter de coroa aumentava com a inserção de uma unidade de acridina ou derivados, uma vez que torna o composto mais rígido.⁴²



A adsorção de proteínas em matrizes sólidas tem atraído bastante atenção. A imobilização de calixarenos em suportes sólidos, maioritariamente sílica, é essencial para a sua aplicação na separação e purificação de proteínas. Um destes exemplos é a utilização de um calix[4]areno tetrasulfonado **32** ligado a microesferas de sílica para produzir um adsorvente sólido de proteínas (Esquema 7).⁴⁵ O elevado número de sítios de ligação aliado à grande especificidade conferida pelo calixareno resultou numa elevada eficiência na adsorção e captura do citocromo c e da lisozima. Os autores conseguiram demonstrar a aplicação prática desta matriz, ao isolar lisozima da clara do ovo e o citocromo c do coração de porco.⁴⁵

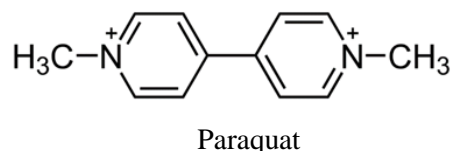


Esquema 7 - Representação esquemática da preparação de calix[4]arenos tetrasulfonados (**32**) ligados a microesferas de sílica. Esquema adaptado da ref. 45.

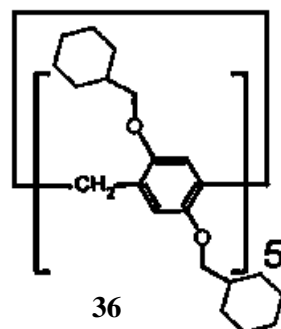
Um outro exemplo baseado também em calixarenos, é a sua utilização para extrair moléculas bioativas de produtos naturais. Os compostos naturais têm recebido cada vez mais importância, daí a necessidade de desenvolver métodos para a sua extração e isolamento mais eficientes e com elevada seletividade. As características químicas e estruturais destes compostos permitem que atuem como recetores sintéticos de determinadas biomoléculas, possibilitando, no entanto, que estas mantenham a sua estabilidade, atividade e enantioseletividade.⁴⁶

Num estudo de 2016,⁴⁶ os autores desenvolveram um método de extração baseado em interações hóspede-hospedeiro entre o *p-terc*-butilcalix[6]areno (**6**) e moléculas como aminoácidos e pequenos péptidos, permitindo a sua extração de misturas complexas de duas plantas medicinais. As moléculas foram posteriormente identificadas e as interações entre o calixareno e as biomoléculas foram demonstradas por microscopia eletrónica de varrimento. Os autores compararam um método tradicional de extração de aminoácidos de extratos naturais e o método utilizando o derivado de calixareno e os resultados mostraram que este é mais rápido, mais simples de aplicar e apresenta menos problemas de interferência. O macrociclo em estudo consegue acomodar aminoácidos e até pequenos péptidos na sua cavidade. Os resultados obtidos sugerem que a incorporação das biomoléculas na cavidade do calixareno estudado se deve ao tamanho da cavidade, bem como à sua compatibilidade e seletividade para a molécula hóspede, justificando que estes compostos devam continuar a ser investigados e desenvolvidos para aplicação nesta área.⁴⁶

No que diz respeito aos pilararenos, nomeadamente o pilar[6]areno com substituintes carboxílicos (**17**), a sua afinidade para o herbicida paraquat é de tal modo elevada que lhe permite, de forma bastante eficiente, diminuir as concentrações de paraquat livre e reduzir a sua toxicidade ao nível celular. Desta forma, estes compostos apresentam uma potencial aplicação na desintoxicação celular.⁴⁷



Embora o reconhecimento enantiomérico seletivo por pilararenos planares quirais, como é o caso do composto **36**,⁴⁸ já tenha sido reportado, ao contrário dos éteres de coroa, não conseguem ainda separar os enantiómeros correspondentes. Desta forma, é necessário continuar a desenvolver materiais de resolução quiral baseados em pilararenos.^{47,48}



5.4 Aplicações Biomédicas

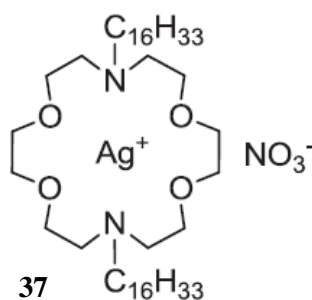
As inúmeras aplicações biomédicas das ciclodextrinas, macrociclos naturais constituídos por oligossacáridos unidos por ligações α -1,4 glicosídicas, inspiraram o desenvolvimento de outros macrociclos para aplicação naquela área, como os éteres de coroa, os calixarenos, e os pilararenos. Embora o uso clínico destes macrociclos não esteja ainda implementado, os estudos realizados até ao presente indicam o potencial destes compostos para aplicações biomédicas.¹²

5.4.1 Sistemas de Liberação de Fármacos

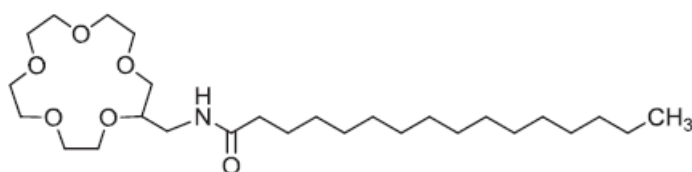
Um sistema de liberação de fármacos é definido como uma formulação ou um dispositivo que permite a introdução de uma substância terapêutica no organismo e melhora a sua eficácia e segurança ao controlar a sua velocidade, tempo e local de liberação. Este processo inclui a administração do fármaco, a liberação da substância ativa e o subsequente transporte através das membranas até ao local de ação pretendido.⁴⁹

A atividade da substância ativa depende de propriedades físico-químicas tais como a solubilidade, a lipofilia, a permeabilidade e a carga, entre outras. No entanto, para que mantenham a estabilidade e conseqüentemente a atividade no interior do corpo, é preciso proteger estas moléculas.^{49,50} O interesse em utilizar macrociclos na liberação de fármacos prende-se com a sua capacidade de formar complexos hóspede-hospedeiro, bem como estruturas supramoleculares, assegurando a estabilidade do fármaco complexado e melhorando outras propriedades, como a sua solubilidade. Estes sistemas permitem também diminuir alguns efeitos secundários dos fármacos uma vez que possibilitam que estes sejam libertados nos locais de ação pretendidos.^{49,50} Adicionalmente, as estruturas rígidas destes compostos apresentam vantagens sobre estruturas lineares no que respeita à permeabilidade membranar, estabilidade metabólica e farmacocinética. Todas estas características melhoram a estabilidade, a biocompatibilidade, a capacidade de transporte do fármaco, bem como a permeação tecidual dos sistemas de liberação de fármacos. Atualmente existem vários compostos macrocíclicos com capacidade para atuar como sistemas de liberação dos mais variados tipos de fármacos, como anti-hipertensores, citotóxicos e antibióticos, entre outros.^{49,50}

Formulações vesiculares, como lipossomas, desempenham um papel importante na liberação e transporte. Estes sistemas podem transportar fármacos hidrofílicos por encapsulação na fase aquosa ou fármacos hidrofóbicos por intercalação dos mesmo nos domínios hidrofóbicos. Em 1980 sintetizaram-se vesículas esféricas a partir de azacoroas, como o composto **37**, sendo este um passo importante para a utilização destes compostos como sistemas de liberação de fármacos.⁵¹

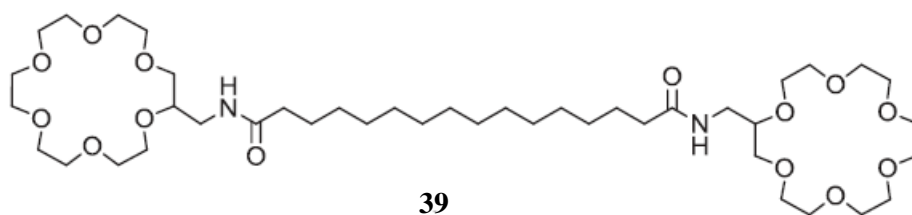


A partir daí têm sido sintetizados éteres de coroa com o objetivo de formar lipossomas ou niossomas (lipossomas não iônicos) para atuarem como veículos de fármacos. Um exemplo é o *N*-hexadecanoil-2-aminometil-15-coroa-5 (**38**) usado como um sistema de liberação controlada, sensível a um catião. Neste sistema o éter de coroa é combinado com colesterol para preparar niossomas que encapsulam a rodamina B, um marcador fluorescente. Os autores mostraram que a liberação do marcador dos niossomas aumentava na presença do íon cálcio, mantendo-se, no entanto, inalterada na presença do íon sódio.⁵¹

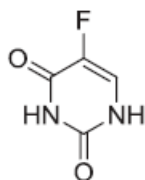


38

Estas descobertas sugeriram que era possível utilizar a capacidade de formação de sistemas micelares dos éteres de coroa, aliada à sua capacidade de complexação seletiva de determinadas espécies químicas para o transporte e liberação de fármacos. Um exemplo mais recente é o da utilização de vesículas formadas pelo composto **39**, constituído por duas unidades idênticas de éteres de coroa como cabeças polares, para o transporte de 5-fluorouracilo (**40**), um agente citostático muito utilizado no tratamento de carcinomas metastáticos. Os resultados mostraram que a estabilidade do fármaco encapsulado era maior do que a do fármaco livre em solução.⁵¹

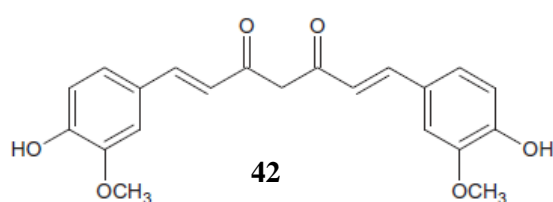
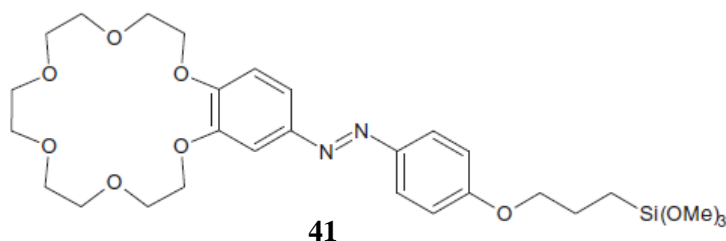


39

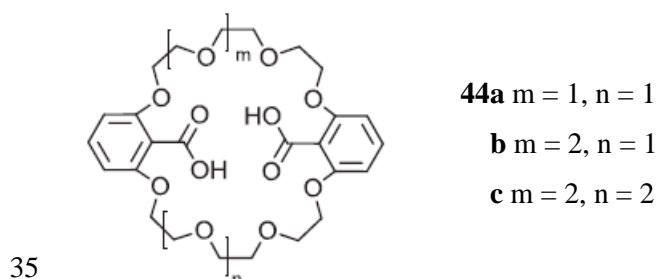
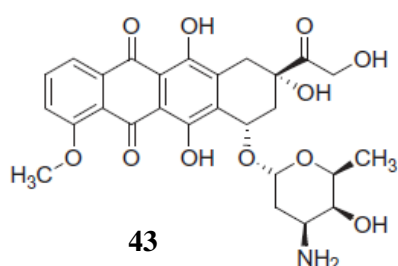


40

Os éteres de coroa também podem atuar como veículos de fármacos transportando pequenas moléculas nas suas cavidades ou moléculas maiores através da sua ligação aos macrociclos e consequente passagem através da membrana celular.⁵¹ Mais recentemente os éteres de coroa têm sido utilizados como transportadores de nanopartículas. Estas têm atraído muito interesse no tratamento de diversas doenças e a sua presença nos sistemas de libertação de fármacos requer proteção e elevada sensibilidade. Um exemplo é a utilização de nanopartículas de sílica funcionalizadas com um 18-coroa-6 (**41**). Para estudar a capacidade de libertação controlada de fármacos deste sistema, utilizou-se a curcumina (**42**), um composto natural com atividade biológica e farmacológica diversa, como modelo de fármaco. A libertação da curcumina pode ser controlada através da complexação do éter de coroa com os cátions Cs^+ e K^+ e o processo pode ser monitorizado, uma vez que a curcumina emite fluorescência. A formação de um complexo éter de coroa - Cs^+ na proporção de 2:1 permite fechar os mesoporos da sílica e encapsular a curcumina. Por outro lado, a adição de K^+ à solução, permite a abertura dos poros e consequente libertação da curcumina, uma vez que a constante de estabilidade deste ião é muito maior que a do Cs^+ , formando complexos 1:1 com o macrociclo, permitindo a abertura do canal.⁵¹



Outro exemplo é o de um sistema de nanopartículas para o transporte da doxorrubicina (**43**), fármaco amplamente utilizado em quimioterapia, funcionalizado com éteres dibenzo-coroa como os compostos **44 a, b e c**. Neste sistema, as ligações de hidrogénio intramoleculares e a interação de iões metálicos como o Cs^+ e o Na^+ com os éteres de coroa controlam a libertação da doxorrubicina.⁵¹



A encapsulação de fármacos nas cavidades dos calixarenos também tem sido amplamente utilizada, quer para melhorar as propriedades dos fármacos, quer como sistemas de liberação de fármacos. Os *para*-sulfonato-calix[*n*]arenos são bastante utilizados como agentes complexantes de moléculas orgânicas. Uma vez que são solúveis em água, surgem como potenciais candidatos para resolver problemas de solubilidade, nomeadamente de fármacos.¹² Num estudo de 2012,⁵² os autores sintetizaram *para*-sulfonato-calix[4] e [6]arenos com o objetivo de formar complexos de inclusão com o carvedilol (**45**), um fármaco anti-hipertensor praticamente insolúvel em água (Figura 16). Os estudos de solubilidade de fase, bem como os estudos de liberação *in vivo* e *in vitro* realizados mostraram que a solubilidade aquosa do fármaco melhorou com a formação de complexos de inclusão com os calixarenos. Os mesmos *p*-sulfonato-calixarenos já tinham sido estudados com a carbamazepina (**46**) (fármaco anticonvulsivo) com resultados semelhantes.⁵³

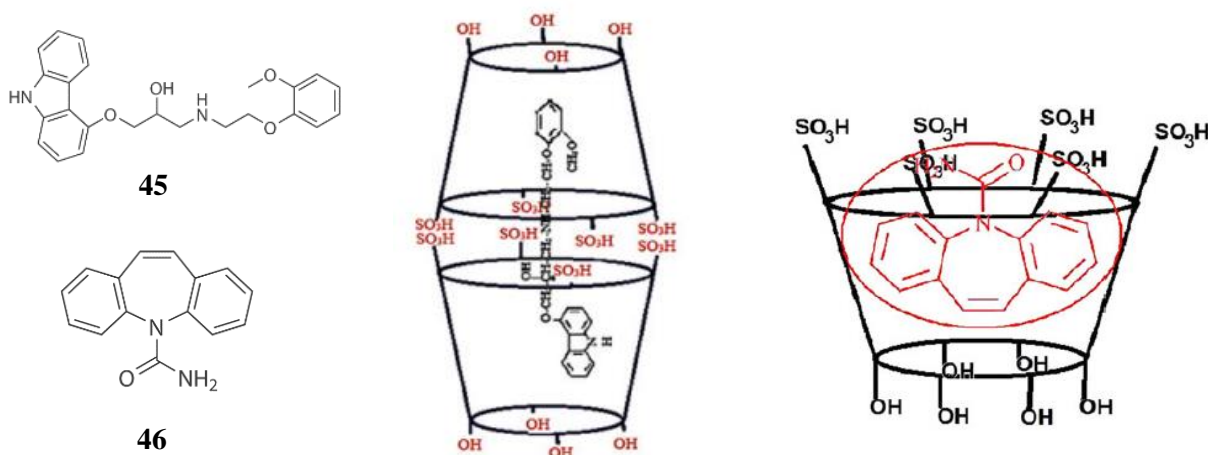


Figura 16 - Complexos de inclusão formados entre o carvedilol e o *p*-sulfonato-calix[4]areno à esquerda e a carbamazepina e o *p*-sulfonato-calix[6]areno à direita. Figura adaptada das ref. 52 e 53.

À semelhança dos éteres de coroa, os calixarenos também podem formar agregados moleculares, como vesículas ou micelas, as quais podem transportar fármacos. Um exemplo disto é um nanoagregado micelar derivado do calix[4]areno **47** usado para encapsular a curcumina (**42**) para aplicação oftalmológica. A curcumina é pouco solúvel em água, degrada-se rapidamente e apresenta baixa biodisponibilidade, características que comprometem os efeitos terapêuticos, no entanto, a sua encapsulação nestas micelas melhorou a sua solubilidade, reduziu a sua degradação e melhorou os seus efeitos anti-inflamatórios. O complexo calixareno-curcumina foi administrado topicamente a ratos, reduzindo significativamente os sinais inflamatórios oculares dos mesmos.⁵⁴ Os resultados obtidos fazem deste complexo

supramolecular uma formulação promissora para a administração oftálmica de curcumina e possivelmente de outros fármacos hidrofóbicos (Figura 17).⁶⁴

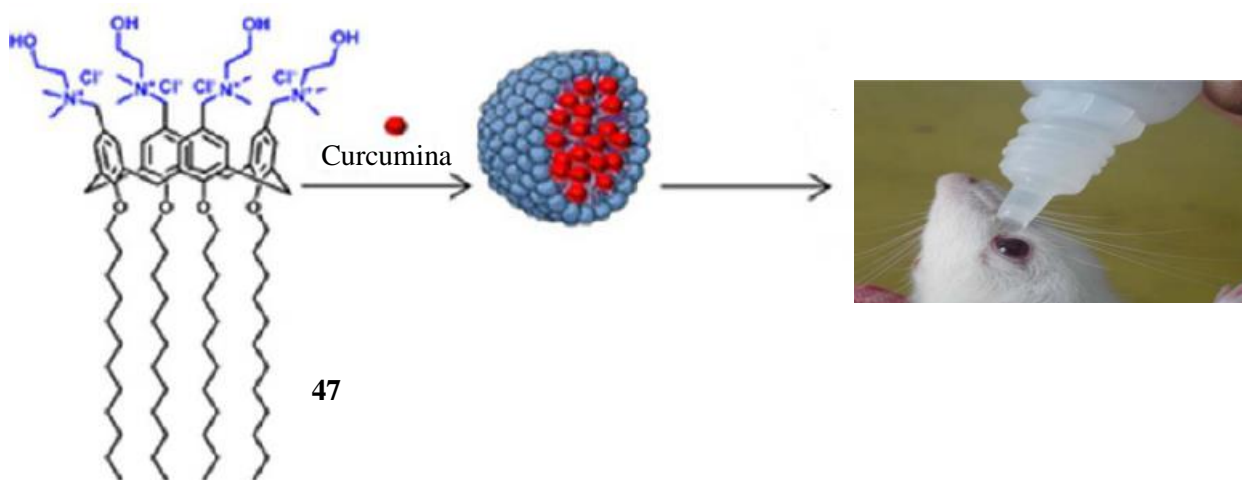


Figura 17 – Representação da formação do complexo calixareno-curcumina para posterior administração tópica em ratos. Figura adaptada da ref. 54.

Mais recentemente, foram realizados estudos teóricos (DFT) de complexação de vários derivados de calix[4]arenos (**48-50**) com o antiviral, favipiravir, fármaco utilizado no tratamento de doentes com COVID-19 (Figura 18).⁵⁵ Os resultados sugeriram que estes compostos podiam atuar como bons sistemas de libertação deste fármaco, protegendo-o até à chegada ao local pretendido e diminuindo os seus efeitos secundários. Devido à possibilidade de utilizar estes compostos como sensores de biomoléculas, os autores sugeriram que com estes calixarenos também seria possível monitorizar as concentrações séricas e também ambientais do favipiravir.⁵⁵

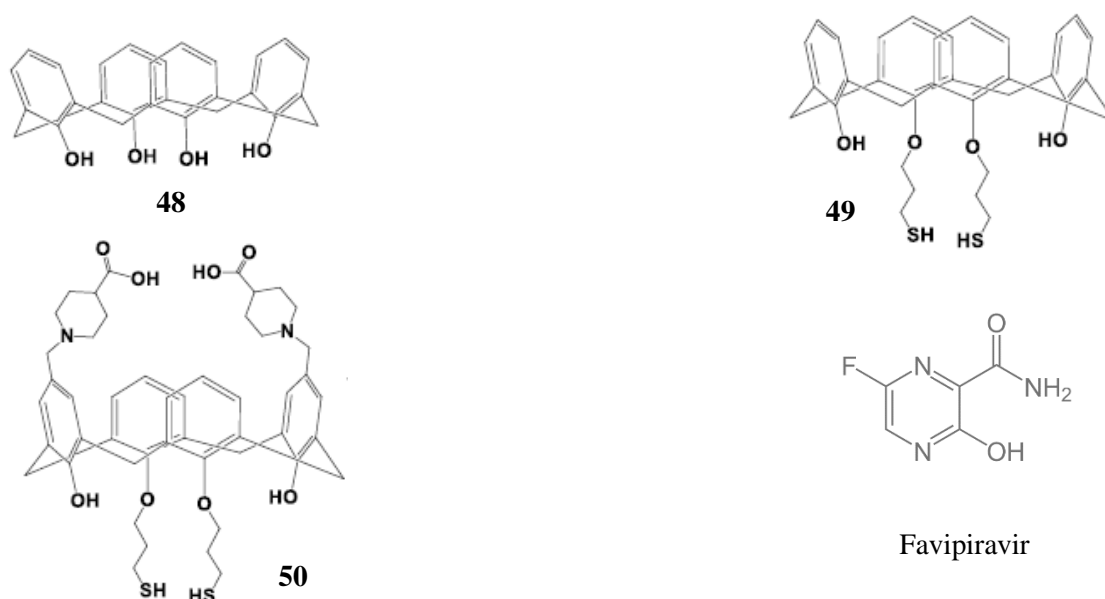


Figura 18 – Estruturas dos calix[4]arenos **48-50** e do favipiravir.

Os pilararenos que apresentem boa solubilidade aquosa, estabilidade e elevada afinidade para moléculas hóspede também são bons candidatos para a libertação controlada de fármacos. Um estudo de 2013⁵⁶ mostrou o potencial de um pilar[5]areno carboxilado (**25**), para atuar como um sistema de libertação dirigida do antibiótico amicacina. A dissociação do complexo pilarareno-amicacina é dependente do pH e ocorre em ambientes acídicos, como o microambiente de uma infecção. Os resultados indicam que este macrociclo é um potencial veículo para a libertação dirigida de amicacina e possivelmente de outros antibióticos, reduzindo a sua toxicidade, uma vez que o fármaco só será libertado no local de ação pretendido.

Os pilararenos também podem formar agregados supramoleculares como micelas, vesículas ou nanopartículas nos quais podem encapsular fármacos. Um método comum é introduzir os fármacos hidrofóbicos nas regiões hidrofóbicas destes agregados supramoleculares ou introduzir fármacos hidrofílicos nos poros das vesículas.⁴⁷ Pei *et al.*⁵⁷ reportaram um sistema de libertação de fármacos sensível ao microambiente tumoral que consiste em nanovesículas resultantes da formação de um complexo hóspede-hospedeiro entre o dímero de pilar[5]arenos substituídos com selénio (**51**) e o derivado da manose (**52**). Este sistema permitiu transportar e libertar de forma dirigida moléculas de doxorubicina (**43**), conferindo-lhe assim citotoxicidade seletiva (Figura 19). Neste sistema, o resíduo de manose é responsável por dirigir as vesículas ao local de ação e a quebra das ligações de selénio, sensíveis ao microambiente tumoral, permite a libertação da doxorubicina.

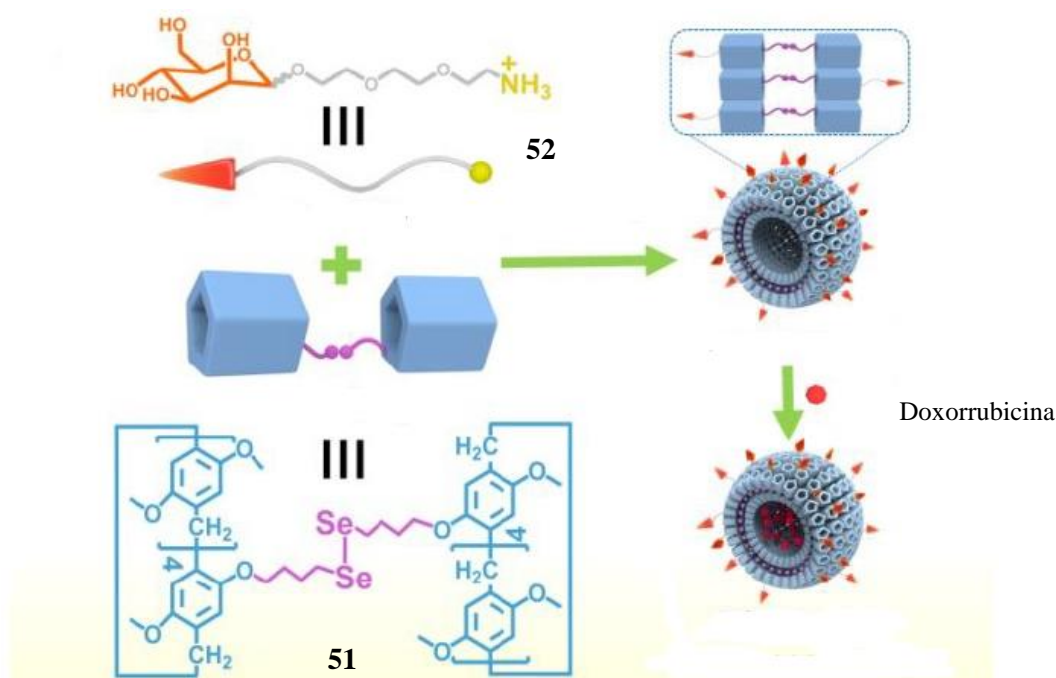


Figura 19 – Ilustração da formação das nanovesículas do complexo **51**⊃**52** para encapsulação da doxorubicina. Figura adaptada da ref. 57.

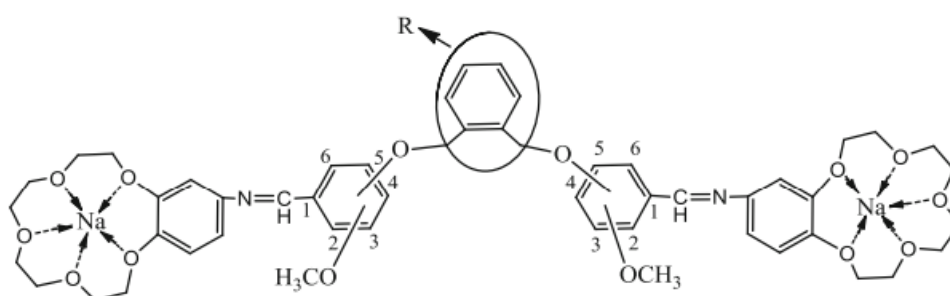
5.4.2 Agentes Terapêuticos

Além da aplicação como excipientes farmacêuticos, como visto anteriormente, os compostos macrocíclicos que exibem atividade biológica também podem ser utilizados como agentes terapêuticos, dando origem ao conceito de terapêutica macrocíclica. Muitos destes compostos apresentam atividade antibacteriana, antifúngica, antiviral e anti-cancerígena, podendo também ser usados como antídotos ou como inibidores enzimáticos, entre outros.¹²

5.4.2.1 Propriedades Antibacterianas, Antifúngicas e Antivirais

A possibilidade de sintetizar diferentes compostos com diversos substituintes confere aos macrociclos formas diferentes de eliminar estes micro-organismos, seja através da desorganização membranar, da inibição da replicação do DNA ou através da inibição da formação do biofilme bacteriano, entre outras.^{12, 58}

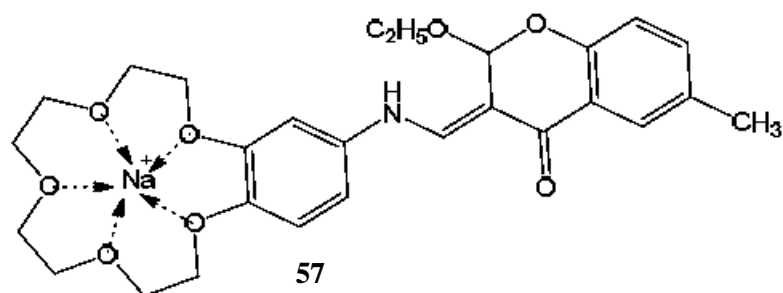
A atividade de bases de Schiff contendo bis-benzo-15-coroa-5 (**53-56**) e os seus complexos com Na^+ foi estudada contra diversas estirpes bacterianas e comparada com fármacos antibióticos comercializados, sendo que alguns destes compostos exibiram maior potência na inibição do crescimento bacteriano que alguns dos fármacos comercializados. Estes complexos mostraram ser mais potentes do que os hospedeiros e exibiram atividade contra a *Escherichia coli*, a *Salmonella typhi* H e a *Brucella abortus*.⁵⁸



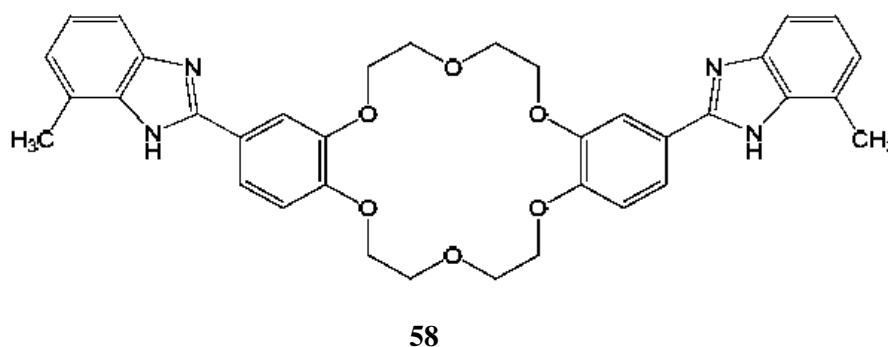
53 2-OR, 3-OCH₃ **54** 2-OR, 4-OCH₃

55 2-OR, 5-OCH₃ **56** 4-OR, 3-OCH₃

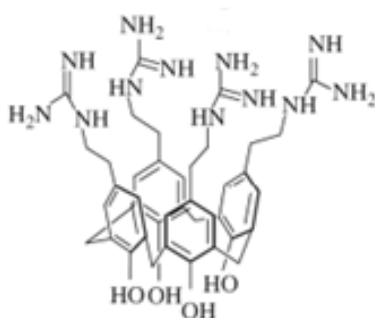
Por outro lado, os éteres de coroa com unidades cromeno como o **57** exibiram atividade moderada contra a *Shigella dysenteria* tipo 2, o *Staphylococcus epidermidis*, o *Proteus vulgaris* e a *Klebsiella pneumoniae*.⁵⁸



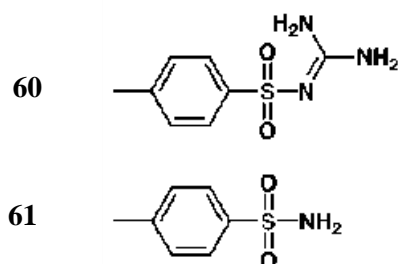
No que diz respeito à atividade antifúngica, alguns éteres de coroa e os seus complexos com Na^+ também foram investigados contra estirpes de *Candida albicans* mostrando atividade moderada, enquanto que o dibenzo 18-coroa-6 **58** mostrou uma atividade elevada contra o *Aspergillus* sp.⁵⁸



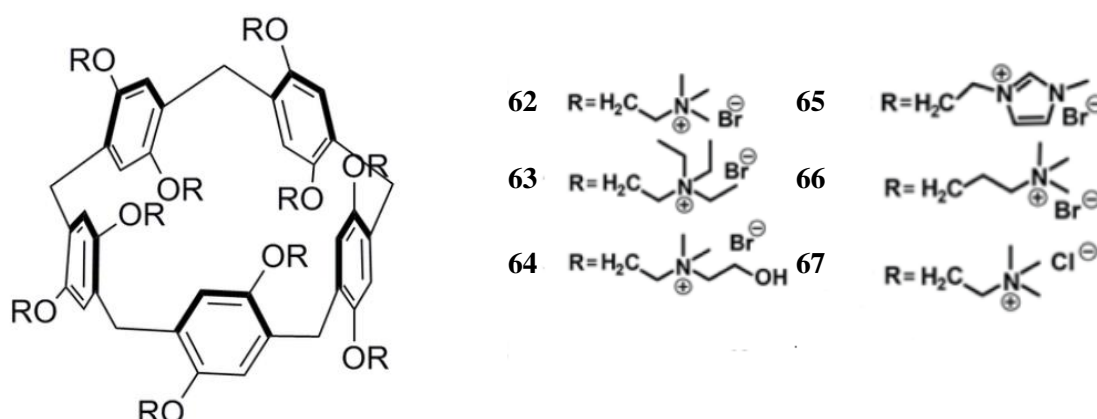
Os calixarenos também apresentam atividade antibacteriana, como é o caso do calix[4]areno **59**, que apresenta um valor de MIC (concentração mínima inibitória) contra a *E. coli* muito inferior ao de outros compostos, indicando o seu potencial para o tratamento de infecções causadas por esta bactéria.⁵⁹



A utilização de sulfonamidas como antibióticos bacteriostáticos antecede a utilização da penicilina, o que as torna potencialmente eficientes quando introduzidas como grupo funcional nos compostos macrocíclicos, nomeadamente nos calixarenos. A introdução de resíduos das sulfonamidas **60** e **61** na coroa superior de calix[4]arenos, resultou em compostos que apresentam atividade inibitória do crescimento do *Staphylococcus epidermidis*, do *Staphylococcus aureus* e do *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). Estes compostos apresentam também atividade antifúngica, inibindo o crescimento de estirpes de *Candida albicans*.⁶⁰

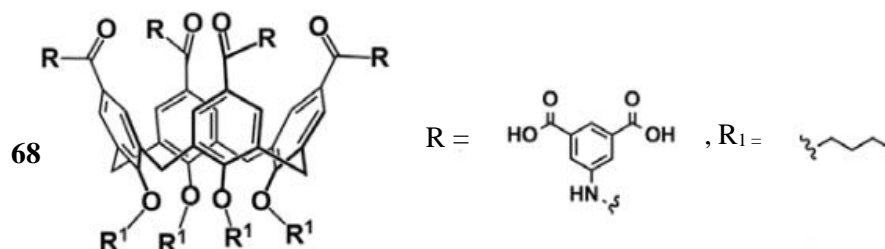


Existem estudos que mostram a atividade de alguns pilararenos como inibidores da formação de biofilmes bacterianos.⁶¹ Foram sintetizados derivados de pilar[5]arenos (**62-67**) carregados positivamente, substituídos com grupos de amónia quaternária ou imidazol que se mostraram eficazes na inibição da formação do biofilme. Os autores concluíram que a carga positiva conferida por estes grupos é um pré-requisito essencial para a inibição da formação do biofilme, uma vez que os pilar[5]arenos funcionalizados com grupos carboxilato não inibem a formação do mesmo.⁶¹

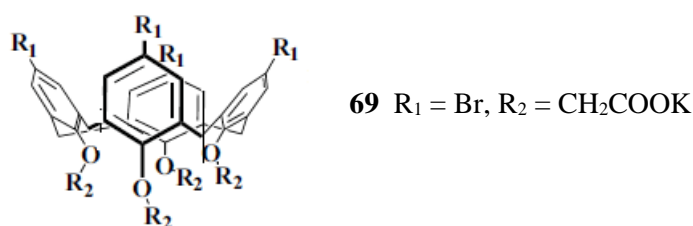


Os compostos macrocíclicos como os calixarenos e os pilararenos também exibem atividade antiviral. Calix[4]arenos alquilados com grupos *n*-butil na coroa inferior, como o composto **68**, mostraram-se potentes inibidores do vírus da hepatite C e do vírus da

imunodeficiência humana. Os resultados sugeriram que a alquilação permitiu manter a conformação cone, importante para a atividade viral dupla. Além disso, concluíram também que a introdução de isoftalatos aromáticos na coroa superior é essencial para a atividade antiviral contra o vírus da imunodeficiência humana e a introdução de grupos diácido é necessária para a atividade contra o vírus da hepatite C.¹²



O calixareno **69** foi administrado oralmente a 3 doentes infetados com HIV, num ensaio clínico,⁵⁹ numa dosagem de 500 mg por dia. A administração deste macrociclo reduziu consideravelmente a carga viral destes doentes, sem efeitos secundários e a sua condição clínica melhorou significativamente, diminuindo também a incidência de infeções oportunistas associadas a esta doença.



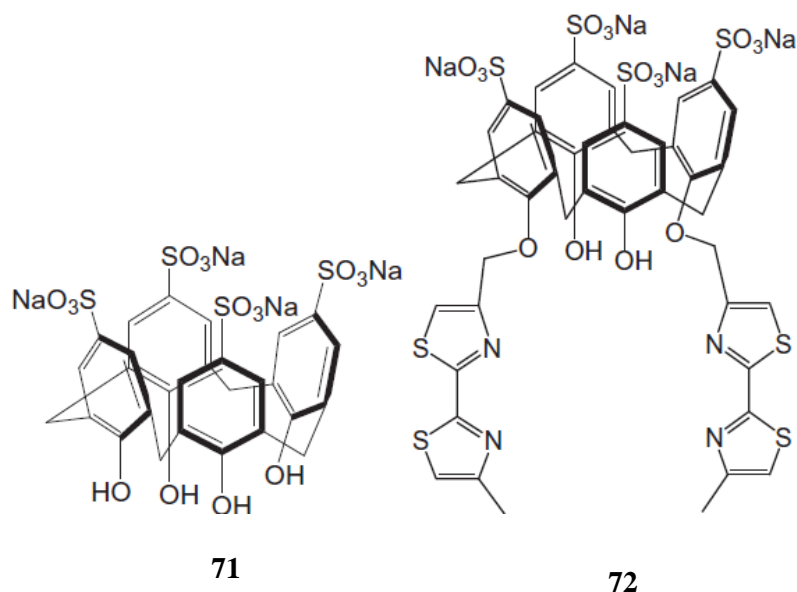
Estes compostos podem também inibir vírus, regulando as suas enzimas, como é o caso de um inibidor da integrase do vírus da imunodeficiência humana baseado em derivados de calix[4]areno, como o composto **70**. Esta enzima é responsável pela integração do DNA viral no genoma do hospedeiro, essencial para a sua replicação.¹²



70

Os calixarenos apresentam também atividade contra os coronavírus. Um estudo de 2010⁶² mostrou a potencial atividade de dois derivados de calix[4]arenos, o **71** e o **72** contra o coronavírus humano 229E. Estes compostos apresentam maior atividade virucida quando

comparados com outros antissépticos, apresentando ainda menor toxicidade. Estes resultados mostram o potencial destes compostos como antissépticos, representando uma possibilidade na prevenção de infecções causadas por coronavírus, nomeadamente por SARS-CoV-2.



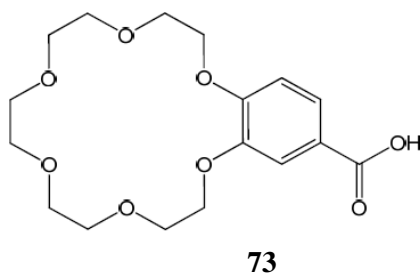
Os pilararenos também apresentam atividade antiviral, como é o caso de um pilar[5]areno carboxilado que impede a formação da cápside do vírus do papiloma humano, resultando na sua inibição. Este composto forma agregados supramoleculares com os resíduos de lisina da proteína L1 da cápside viral, impedindo assim a sua formação.⁶¹

5.4.2.2 Inibição da Amiloidogénese

O estado amiloide de uma proteína resulta de um agregado altamente organizado, no qual a cadeia peptídica adota uma estrutura fibrilar, causando efeitos adversos graves ao acumular-se em tecidos específicos. A formação de fibrilhas amiloides relaciona-se com uma série de patologias como Parkinson, doença de Alzheimer e diabetes tipo II. Desta forma, inibir a formação desta fibrilha surge como uma estratégia para impedir ou atrasar o aparecimento destas doenças.^{12,58}

Existem compostos macrocíclicos com capacidade para inibir a amiloidogénese de determinadas proteínas, como é o caso do éter de coroa **73** que inibe a formação de fibrilhas amiloides da proteína transtirretina, responsáveis pela miocardiopatia amiloide.⁵⁸ Também já foram reportados os efeitos de *p*-sulfonatocalix[*n*]arenos na inibição da amiloidogénese,

nomeadamente da β -amiloide, associada à doença de Alzheimer e também na inibição e desintegração de fibrilhas amiloides de insulina.¹²

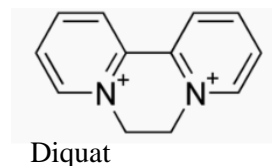
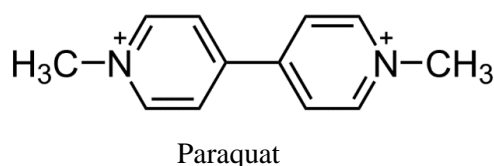


5.4.2.3 Desintoxicação

A capacidade de reconhecimento seletivo dos compostos macrocíclicos, bem como a sua capacidade para formar complexos hóspede-hospedeiro permite, como referido anteriormente, que estes se liguem a determinadas moléculas ou espécies químicas e as separem do meio em que se encontram. Desta forma, estes compostos apresentam-se como potenciais agentes desintoxicantes.^{12, 61}

Dos compostos abordados, os calixarenos e os pilararenos são os que apresentam mais aplicações neste campo. Ambas as famílias de compostos mostraram ligar-se com elevada afinidade a viologéneos, como o paraquat e o diquat (herbicidas de ampla utilização), mostrando o seu potencial para ser utilizados no tratamento clínico de envenenamento por estes herbicidas. Ao complexarem estes compostos tóxicos, os compostos macrocíclicos reduzem de tal forma a sua concentração livre, a ponto de diminuir o seu envolvimento no ciclo redox, logo reduzindo a sua toxicidade.^{12,61}

Derivados de sulfonatocalix[*n*]arenos mostraram capacidade para inibir a toxicidade de paraquat em ratinhos envenenados com o mesmo, cuja mortalidade diminuiu significativamente após a administração dos macrociclos em questão.⁶³ Um pilar[6]areno carboxilado hidrossolúvel também mostrou o seu potencial no tratamento do envenenamento por paraquat.⁶¹



Os sulfonatocalix[*n*]arenos, como o composto **32** e o pilar[6]areno carboxilado **17** mostraram ainda elevada afinidade para a succinilcolina, um bloqueador neuromuscular muito utilizado em doentes sujeitos a anestesia geral, apresentando-se como potenciais candidatos

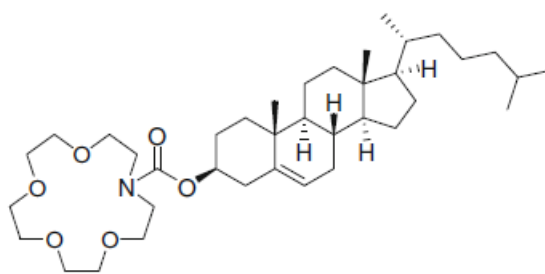
para tratar os efeitos secundários deste composto, ao conseguirem sequestrá-lo *in vivo*. Isto assume particular importância, uma vez que este composto é usado em milhões de procedimentos cirúrgicos anualmente, apresentando no entanto vários efeitos secundários graves. Desta forma, os compostos macrocíclicos surgem como potenciais antídotos e ou agentes terapêuticos para reduzir estes efeitos secundários.⁶⁴

5.4.3 Vetores de Genes

A terapia génica recorre ao uso de ácidos nucleicos como estratégia terapêutica e consiste na substituição, adição, silenciamento ou edição de genes, com o objetivo de curar ou modificar a progressão de doenças. A entrega de material genético, transportado por um vetor, deverá resultar na expressão de um gene em células ou tecidos alvos específicos, fazendo com que a terapia génica seja uma terapêutica promissora para o tratamento de diversas doenças genéticas e adquiridas.^{12, 65}

As características dos compostos macrocíclicos referidas anteriormente e que lhes permitem atuar como sistemas de libertação de fármacos, permitem também que possam ser bons vetores de genes, apresentando desta forma potencial para utilização em terapia génica. A sua estrutura rígida com capacidade de formar complexos supramoleculares com o DNA, bem como a baixa imunogenicidade, quando comparados com os vetores virais utilizados, abre portas ao seu potencial uso para este fim.^{12, 65}

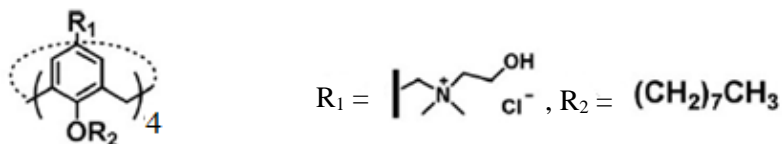
Um exemplo descrito na literatura é o de lipossomas catiónicos baseados em azacoroas ligados a um esqueleto de colesterol, como o composto **74**. Estes lipossomas formam complexos protetores estáveis com o DNA permitindo a transfeção de células de rim embrionárias humanas com eficiência.⁶⁵



74

Entre os calixarenos também se encontram exemplos para a entrega de DNA.¹² Um destes exemplos é o calix[4]areno anfifílico **75**, modificado com colina na coroa superior, que

pode formar micelas de 6 nm de diâmetro e servir como vetor de DNA. A adição de DNA causa agregação e aumenta o diâmetro das micelas para 50 nm. Estas nanopartículas mostraram elevada eficiência na transfeção de genes em culturas celulares (Figura 20).¹²



75

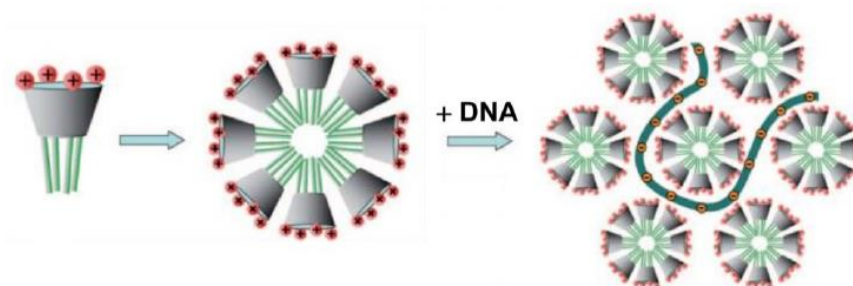
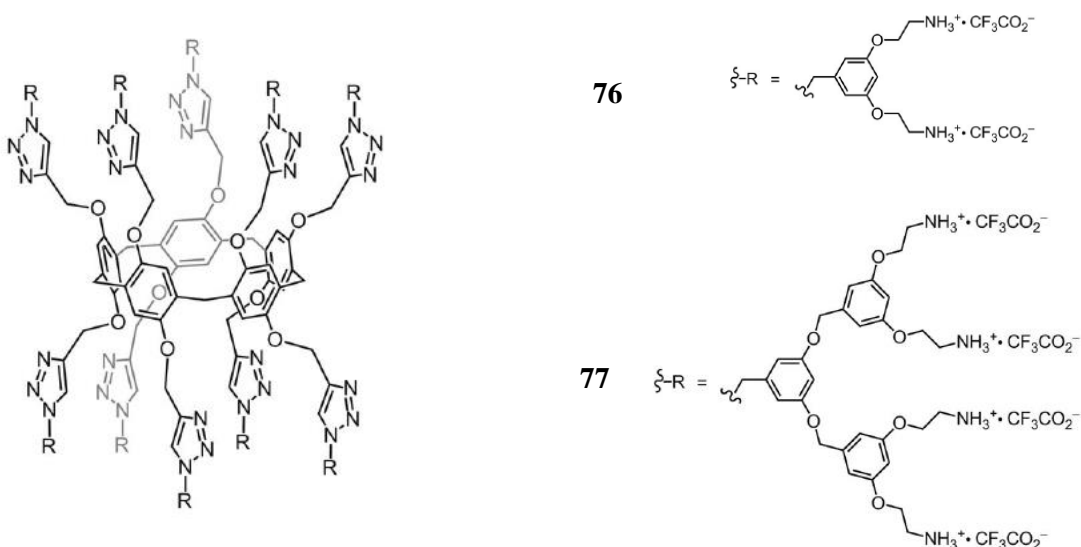
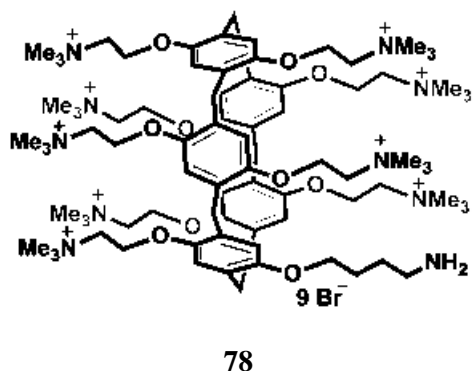


Figura 20 - Ilustração da formação de micelas do calixareno **75** e formação do complexo com o DNA. Figura adaptada da ref. 12.

Os pilararenos também têm potencial para ser usados como vetores de genes, como o demonstra um estudo em que se sintetizaram os derivados dendríticos de pilar[5]arenos **76** e **77** que formaram complexos estáveis com DNA plasmídeo.⁶⁶ Estes complexos apresentaram elevada eficiência de transfeção *in vitro*, com pouca ou nenhuma toxicidade. Um estudo mais



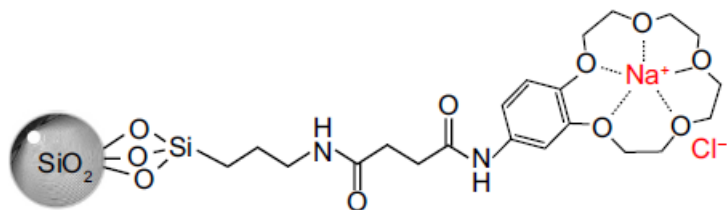
recente⁶⁷ utilizou o pilar[5]areno **78** para modificar um péptido conjugado com guanidinocarbonil pirrolo para melhorar as suas propriedades como vetor de genes.



5.4.4 Diagnóstico

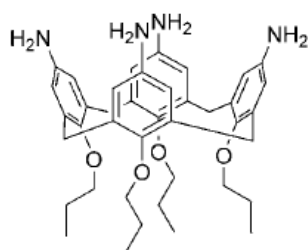
Os compostos macrocíclicos apresentam uma potencial aplicação no diagnóstico de doenças *in vitro* e *in vivo*. A deteção de biomoléculas de interesse é crítica para o diagnóstico precoce de determinadas doenças.¹² Como abordado no ponto 5.2, estes compostos podem ser utilizados como sensores de biomoléculas em amostras biológicas, realizando desta forma diagnóstico *in vitro*.¹² Estes compostos podem também ser utilizados como agentes de contraste em imagiologia. Os agentes de contraste permitem a visualização das estruturas no interior do corpo humano e a distinção entre tecidos saudáveis e tecidos não saudáveis, contribuindo de forma significativa para o diagnóstico e para a escolha do melhor tratamento.^{12, 68} Na literatura encontram-se referências à utilização destes compostos em imagiologia ótica,^{12,47} em tomografia por emissão de positrões (PET)⁶⁸ e em ressonância magnética⁶⁹. Mais uma vez, a capacidade de reconhecimento seletivo, aliada à baixa toxicidade e à baixa imunogenicidade que estes compostos apresentam, mostra o seu potencial como agentes de contraste em imagiologia médica.

Um exemplo é o de um sistema de nanopartículas de sílica conjugadas com um éter de coroa e carregadas com o marcador radioativo ²²Na (**79**), utilizadas em PET. Embora este marcador apresente as propriedades químicas ideais para ser utilizado em imagiologia nuclear, o seu tempo de semivida demasiado longo (2,6 anos) excluiu-o da utilização biomédica. Os resultados deste estudo levantam a possibilidade de voltar a administrar este marcador de forma segura, uma vez que ao ser administrado no interior destas partículas foi eliminado do organismo de ratinhos em 2 semanas.⁶⁸

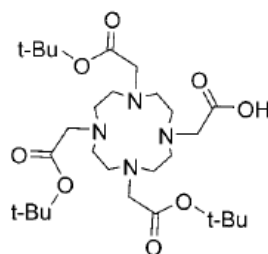


79

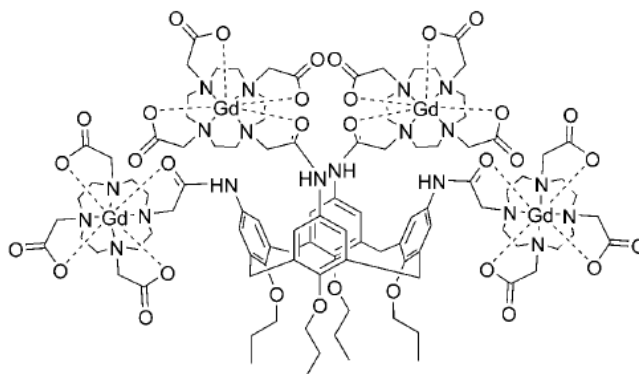
Outro exemplo é o do calixareno **80** conjugado com 4 complexos Gd-DOTA. O DOTA (**81**) é um agente quelante muito utilizado em ressonância magnética para complexar o Gd^{III} , agente de contraste. A conjugação com o calixareno forma o complexo **82**, mais rígido, melhorando as suas propriedades com agente de contraste.⁶⁹



80



81



82

6 Conclusões

As aplicações biológicas de compostos macrocíclicos, nomeadamente de éteres de coroa, de calixarenos e de pilararenos foram revistas neste trabalho. Desde a descoberta dos éteres de coroa, na década de 60 do século passado, a química macrocíclica tem sofrido um grande desenvolvimento. A semelhança dos compostos macrocíclicos sintéticos com compostos naturais como os antibióticos valinomicina e nonactina, despertou o interesse por estes compostos e pelas suas potenciais aplicações biológicas. Embora a sua utilização nas aplicações apresentadas ainda não tenha sido generalizada, nem o seu uso clínico implementado, estes compostos apresentam potencial para ser utilizados para compreender e mimetizar sistemas biológicos, para detetar biomoléculas, para separar compostos, apresentando também aplicações biomédicas relevantes que podem ir desde o diagnóstico ao tratamento de uma doença.

A variedade de aplicações que estes compostos apresentam relaciona-se com a sua natureza supramolecular e com as inúmeras possibilidades de funcionalização. A sua capacidade de reconhecimento seletivo, bem como a existência de uma cavidade, permite a ligação e complexação a biomoléculas de interesse.

Apesar do enorme avanço feito para compreender as aplicações biológicas dos compostos macrocíclicos e de todos os estudos que mostram o seu potencial nesta área, são necessários ainda mais estudos para caracterizar a sua complexação com um maior número de biomoléculas, para entender os seus efeitos tóxicos e hemolíticos de forma a garantir a segurança na utilização destes compostos.

O potencial demonstrado por estes compostos nas aplicações referidas, aliada à sua relativa facilidade de síntese e elevada estabilidade justifica que se invista na continuação do desenvolvimento destes compostos para aplicações biológicas, nomeadamente para aplicações biomédicas.

7 Bibliografia

1. G. A. Melson General Introduction. Cap.1 in. Coordination Chemistry of Macrocyclic Compounds. Ed. G.A. Melson, Plenum Press, New York 1979.
2. R. Delgado, Co-ordination Chemistry with Macrocyclic Compounds Química de Coordenação com Compostos Macrocíclicos. *Rev. Port. Quím.* **1995**, 2,18.
3. C. J. Pedersen, The Discovery of Crown Ethers. *Science* **1979**, 241, 536.3.
4. T. Ogoshi, T. A. Yamagishi. Historical background of macrocyclic compounds. Cap. 1.in *Monographs in Supramolecular Chemistry n° 18, Pillararenes*, Ed. T. Ogoshi, The Royal Society of Chemistry, 2016.
5. E. M. Driggers, S. P. Hale, J. Lee, N. K. Terrett. The exploration of macrocycles for drug discovery - An underexploited structural class. *Nat. Rev. Drug Disc.* **2008**, 7, 608.
6. J. W. Steed, J. L. Atwood. Cation-Binding Host. Cap. 3 in *Monographs in Supramolecular chemistry*. Wiley, 2009.
7. C. J. Pedersen, H. K. Frensdorff. Macrocyclic polyethers and their complexes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1972**, 11,11.
8. J. M. Patil, M. Ravindra, S. Chigare. Crown ethers and their applications. *J. App. Sci. Comp.* **2019**, 6, 1156.
9. P. M. Marcos, S. Félix. Calixarenes. I. Obtenção e propriedades. *Química* **2007**, 107, 31.
10. C. D. Gutsche, *Calixarenes*, Royal Society of Chemistry, 1989.
11. *Calixarenes and Beyond*; Ed. P. Neri, J. L. Sessler, M. X. Wang, International Publishing Switzerland, 2016.
12. Y. Pan, X. Hu, D.Guo. Biomedical applications of calixarenes: state of the art and perspectives. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, 60, 2768.
13. S. Félix, P. M. Marcos. Calixarenes. II. Aplicações. *Química* **2009**, 1, 33.
14. T.Ogoshi, S. Kanai, S. Fujinami, T. A Yamagishi, Y. Nakamoto. *para*-bridged symmetrical pillar[5]arenes: their Lewis acid catalyzed synthesis and host-guest property. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 5022.
15. M. Xue, Y. Yang, X. Chi, Z. Zhang, F. Huang. Pillararenes, a new class of macrocycles for supramolecular chemistry. *Acc. Chem. Res.* **2012**, 45, 1294.

16. T. Ogoshi, T. A. Yamagishi. Pillar[n]arenes: Easy-to-make pillar-shaped macrocyclic hosts for supramolecular chemistry. Cap. 19. *In Calixarenes and Beyond*; Editado por P. Neri, J. L. Sessler, M. X. Wang, International Publishing Switzerland, 2016.
17. M. Kralj, L. Tušek-Božić, L. Frkanec. Biomedical potentials of crown ethers: prospective antitumor agents. *ChemMedChem* **2008**, *3*(10), 1478.
18. T. Liu, C. Bao, H. Wang, L. Fei, R. Yang, Y. Long, L. Zhu. Self-assembly of crown ether-based amphiphiles for constructing synthetic ion channels: the relationship between structure and transport activity. *New J.Chem.* **2014**, *38*, 3507.
19. Z. Zhao, B. Tang, X. Yan, X. Wu, Z. Li, P. A. Gale, Y. B. Jiang. Crown ether-thiourea conjugates as ion transporters. *Front. Chem. Sci. Eng.* **2022**, *16*(1), 81.
20. N. Li, F. Chen, J. Shen, H. Zhang, T. Wang, R. Ye, T. Li, T.P. Loh, Y.Y. Yang, H. Zeng. Buckyball-Based Spherical Display of Crown Ethers for De Novo Custom Design of Ion Transport Selectivity *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 21082.
21. T. E. Clark, M. Makha, C. L. Raston, A. N. Sobolev. Supersized bilayers based on an O-alkyl substituted calix[4]arene. *Cryst. Eng. Comm.* **2006**, *8*, 707.
22. G. Grauwels, H. Valkenier, A. P. Davis, I. Jabin, K. Bartik. Repositioning Chloride Transmembrane Transporters: Transport of Organic Ion Pairs. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 6921.
23. L. Mutihac. Calix[n]arenes as synthetic membrane transporters: a minireview. *Anal. Lett* **2010**, *43*, 1355.
24. Z. Xu, N. Fang, Y. Zhao. Calix[4]trap: A Bioinspired Host Equipped with Dual Selection Mechanisms. *J. Am. Chem. Soc* **2021**, *143* (8), 3162.
25. Y. Sun, J. Ma, F. Zhang.. A light-regulated host-guest-based nanochannel system inspired by channelrhodopsins protein. *Nat. Commun.* **2017**, *8*, 260.
26. S. Jie, L. Yao, P. Tiezheng. Macrocycles in Bioinspired Catalysis: From Molecules to Materials. *Front. Chem.* **2021**, *9*, 1.
27. K. Koga, S. Sasaki. Functionalization of crown ethers: an approach to the enzyme model for peptide synthesis. *Pure Appl. Chem.* **1988**, *60*, 539.
28. L. Yu, F. Li, J. Wu, J. Xie, S. Li. Development of the aza-crown ether metal complexes as artificial hydrolase. *J. Inorg. Biochem.* **2016**, *154*, 89.
29. F. Z. Li, F. M. Feng, L. Yu, J. Q. Xie. Nucleic acid and phosphoester hydrolytic cleavage catalysed by aza-crown ether metal complexes as synthetic nucleases. *Prog. React. Kinet.* **2014**, *39*, 209.

30. F. Sansone, M. Segura, R. Ungaro. Calixarenes in Bioorganic and Biomimetic Chemistry, cap. 27 in *Calixarenes 2001*. Eds. Z.Asfari, V. B.Jhmer, J. Harrowfield, J. Vicens. Kluwer, Dordrecht, 2001.
31. H. Bakirci, A. L. Koner, M.H. Dickman, U., W.M. Nau. Dynamically Self-Assembling Metalloenzyme Models Based on Calixarenes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7400.
32. B. Tabakci, M. Yilmaz, A.D.Beduk. Novel calix[4]arene-based polymeric catalysts as acyltransferase enzyme mimics. *J. Appl. Polym. Sci.* **2012**, *125*, 1012.
33. K. Wang, X. Tian, J. H. Jordan, K. Velmurugan, L. Wang, X. Hu. The emerging applications of pillararene architectures in supramolecular catalysis. *Chin. Chem. Lett.* **2022**, *33*, 89.
34. E, H. Wanderlind, D. G. Liz, A. P. Gerola, R. F. Affeldt, V. Nascimento, L. C. Bretanha, R. Montecinos, L. Garcia-Rio, H. D. Fiedler, F. Nome. Imidazole-Functionalized Pillar[5]arenes: Highly Reactive and Selective Supramolecular Artificial Enzymes. *ACS Catalysis* **2018**, *8*, 3343.
35. A. W. Czarnik. Cap 1 in *Fluorescent chemosensors for ion and molecule recognition*, Ed. A. W. Czarnik, American Chemical Society, Washington, DC, 1993.
36. U. Singh, S. Kumbhat. Ready to Use Electrochemical Sensor Strip for Point-of-Care Monitoring of Serum Lithium. *Electroanalysis* **2021**, *33*, 393.
37. J. Li, D. Yim, W. Jang, J. Yoon. Recent progress in the design and applications fluorescence probes containing crown ethers. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2437.
38. K. P. Aryal, T. K. Ekanayaka, S. Gilbert, P. A. Dowben, H. K. Jeong. Fluorescent detection of cholesterol using p-Sulfonatocalix[4]arene functionalized carbon nanotubes and thermally reduced graphite oxide composites. *Chem. Phys. Lett.* **2020**, *738*, 136856.
39. S. B. Nimsea, T. Kim. Biological applications of functionalized calixarenes. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 366.
40. P. Blond, R. Bevernaegie, L. Troian-Gautier, C. Lagrost, J. Hubert, F. Reniers, V. Raussens, I. Jabin. Ready-to-Use Germanium Surfaces for the Development of FTIR-Based Biosensors for Proteins. *Langmuir* **2020**, *36*, 12068.
41. B. Hua, L. Shao, Z. Zhang, J. Sun, J. Yang. Pillar[6]arene/acridine orange host–guest complexes as colorimetric and fluorescence sensors for choline compounds and further application in monitoring enzymatic reactions. *Sens Actuators B Chem.* **2018**, *255*, 1430.

42. R. Berkecz, G. Németi, A. Péter, I. Ilisz. Liquid Chromatographic Enantioseparations Utilizing Chiral Stationary Phases Based on Crown Ethers and Cyclofructans. *Molecules* **2021**, *26*, 4648.
43. T. Németh, G. Dargó, J. L. Petró, Z. Petrik, S. Lévai, B. Krámos, Z. Béni, J. Nagy, G.T. Balogh, P. Huszthy, T. Tóth. Synthesis and pKa determination of new enantiopure dimethyl-substituted acridino-crown ethers containing a carboxyl group: Useful candidates for enantiomeric recognition studies. *Chirality* **2017**, *29*, 522.
44. Z. A. ALOthman, A. Y. Badjah, K. M. Alsheetan, M. Suhail, I. Ali. Enantiomeric resolution of quinolones on crown ether CSP: Thermodynamics, chiral discrimination mechanism and application in biological samples. *J. Chromatograf. B* **2021**, *1166*, 122550.
45. W. Gao, Y. Wang, F. Zhang, S. Zhang, H. Lian. Tetrasulfonate calix[4]arene modified large pore mesoporous silica microspheres: Synthesis, characterization, and application in protein separation. *Talanta* **2021**, *226*, 122171.
46. A. Segneanu, D. Damian, I. Hulka, I. Grozescu A. Salifoglou. A simple and rapid method for calixarene-based selective extraction of bioactive molecules from natural products. *Amino Acids* **2016**, *48*, 849.
47. H. Zhu, Q. Li, L. E. Khalil-Cruz, N. Khashab, G. Yu, F. Huang. Pillararene-based supramolecular systems for theranostics and bioapplications. *Sci. China Chem.* **2021**, *64*, 688.
48. J. Chen, J. Dingb, T. Wei. Pillararenes: fascinating planar chiral macrocyclic arenes. *Chem. Commun.* **2021**, *57*, 9029.
49. K. K. Jain. An Overview of Drug Delivery Systems. In: *Drug Delivery Systems. Methods in Molecular Biology*. Ed. Jain, K. Humana, New York, 2020.
50. M. J. Webber, R.Langer. Drug delivery by supramolecular design. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 6600.
51. G. Chehardoli, A. Bahmani. The role of crown ethers in drug delivery. *Supramol. Chem.* **2019**, *31*, 221.
52. S. K. Menon, B. R. Mistry, K. V. Joshi, N. R. Modi, D. Shashtri. Evaluation and solubility improvement of Carvedilol: PSC[n]arene inclusion complexes with acute oral toxicity studies. *J. Incl. Phenom. Macrocycle Chem.* **2012**, *73*, 295.
53. J. Panchal, R. Patel, S. Menon. Preparation and physicochemical characterization of carbamazepine (CBMZ): para-sulfonated calix[n]arene inclusion complexes. *J. Incl. Phenom. Macrocycle Chem.* **2010**, *67(8)*, 201.

54. G. Granata, I. Paterniti, C. Geraci, F. Cunsolo, E. Esposito, M. Cordaro, A. R. Blanco, S. Cuzzocrea, G. Consoli. Potential Eye Drop Based on a Calix[4]arene Nanoassembly for Curcumin Delivery: Enhanced Drug Solubility, Stability, and Anti-Inflammatory Effect. *Mol. Pharmaceutics* **2017**, *14*, 1610.
55. N. Yuksel, A. Köse, M.F. Fellah. The supramolecularly complexes of calix[4]arene derivatives toward favipiravir antiviral drug (used to treatment of COVID-19): a DFT study on the geometry optimization, electronic structure and infrared spectroscopy of adsorption and sensing. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2021**, *101*,77.
56. L. Barbera, D. Franco, L. De Plano, G. Gattuso, S. Guglielmino, G. Lentini, N. Manganaro, N. Marino, S. Pappalardo, M. F. Parisi, F. Puntoriero, I. Pisagatti, A. Notti. A water-soluble pillar[5]arene as a new carrier for an old drug *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 3192.
57. T Y. Wang, M. Jin, Z.Chen, X. Hu, L. Pu, Z. Pei, Y. Pei. Tumor microenvironment responsive supramolecular glyco-nanovesicles based on diselenium-bridged pillar[5]arene dimer for targeted chemotherapy. *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 10642.
58. F. Ullah, T. A. Khan, J. Iltaf, S. Anwar, M. F. Khan, M. R. Khan, S. Ullah, M. F. Rehman, M. Mustaqeem, K. Kotwica-Mojzych, M. Mojzych. Heterocyclic Crown Ethers with Potential Biological and Pharmacological Properties: From Synthesis to Applications. *Appl. Sci.* **2022**, *12*, 1102.
59. Y. Tauran, A. W. Coleman, F. Perret, B. Kim. Cellular and in Vivo Biological Activities of the Calix[n]arenes. *Curr. Org. Chem.* **2015**, *19*, 2250.
60. D. N. Shurpik, P. L. Padny, I. I. Stoikov, P. J. Cragg. Antimicrobial Activity of Calixarenes and Related Macrocycles. *Molecules* **2020**, *25*, 5145.
61. S. Cuhananthan, R. R. Shaikh, Q. Han, Y. Zhang, K. Meguellati, Y. Yang. Biological and Related Applications of Pillar[n]arenes. *Chem. Commun.* **2016**, *53*, 677.
62. C. Geller, S. Fontanay, M. Mourer, H. Massimba Dibama, J.-B. Regnouf-de-Vains, C. Finance, R.E. Duval. Antiseptic properties of two calix[4]arenes derivatives on the human coronavirus 229E. *Antiviral Res.* **2010**, *88*(3), 343.
63. K. Wang, D. Guo, H. Zhang, D. Li, X. Zheng, Y. Liu. Highly Effective Binding of Viologens by p-Sulfonatocalixarenes for the Treatment of Viologen Poisoning. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6402.
64. X. Zhang, Q. Cheng, L. Li, L. Shanguan, C. Li, S. Li1, F. Huang, J. Zhang, R. Wang. Supramolecular therapeutics to treat the side effects induced by a depolarizing neuromuscular blocking agent. *Theranostics* **2019**, *9*, 3017.

65. A. Sewbalas, R. Ul Islam, W. A. L. van Otterlo, C. B. de Koning, M. Singh, P. Arbuthnot, M. Ariatti. Enhancement of transfection activity in HEK293 cells by lipoplexes containing cholesteryl nitrogen-pivoted aza-crown ethers. *Med. Chem. Res.* **2013**, *22*, 2561.
66. I. Nierengarten, M. Nothisen, D. Sigwalt, T. Biellmann, M. Holler, J. Remy, J. Nierengarten. Polycationic Pillar[5]arene Derivatives: Interaction with DNA and Biological Applications. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 17552.
67. X. Hu, M. Ehlers, T. Wang, E. Zellermann, S. Mosel, H. Jiang, J. Ostwaldt, S. K. Knauer, L. Wang, C. Schmuck Formation of Twisted β -Sheet Tapes from a Self-Complementary Peptide Based on Novel Pillararene-GCP Host–Guest Interaction with Gene Transfection Properties. *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 9754.
68. A. Al Faraj, B. Alotaibi, A. Shaik, K. Shamma, I. Al Jammaz, J. Gerl. Sodium-22-radiolabeled silica nanoparticles as new radiotracer for biomedical applications: in vivo positron emission tomography imaging, biodistribution, and biocompatibility. *Int. J. Nanomedicine* **2015**, *10*, 6293.
69. D. T. Schuhle, J. Schatz, S. Laurent, L. Elst, R. N. Muller, M. C. A. Stuart, J. A. Peters. Calix[4]arenes as Molecular Platforms for Magnetic Resonance Imaging (MRI) Contrast Agents. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 3290.