



Calix[n]arenos: Plataformas Não-Proteicas Inovadoras no Desenvolvimento de Vacinas Terapêuticas para o Tratamento de Transtorno de Uso de Cocaína.

Davi U. Alves (G)^{1*}, Fábio P. Z. Guilherme (G)¹, Gabriele A. Cardoso (PG)¹, Heber V. Tolomeu (PG)¹, Angélica F. S. Maia¹ (PG), Cleiton M. da Silva (PQ)¹, Ângelo de Fátima (PQ)¹.

¹ Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Química, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

*davi39@ufmg.br

RESUMO

Calix[n]arenos têm se destacado como plataformas inovadoras para o desenvolvimento de vacinas, atuando como carreadores e elementos imunogênicos não proteicos. Sua estrutura versátil permite modificações que potencializam a resposta imune. Neste trabalho, foram sintetizados derivados de calix[4]areno e calix[8]areno com o objetivo de avaliar seu potencial imunoterapêutico. A rota sintética envolveu alquilação, *ipso*-nitração e redução. Os derivados de calix[4]areno apresentaram rendimentos satisfatórios e foram confirmados por RMN, resultando no *p*-aminocalix[4]areno tetrabutil éter – base da vacina UFMG-VAC-V4N2 e calix[8]areno. Os resultados reforçam o potencial dos calixarenos como plataformas promissoras em imunoterapia.

Palavras-chave: Calixarenos, Vacina, Cocaína, Química Orgânica Farmacêutica

Introdução

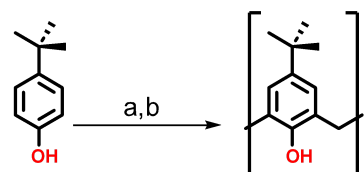
A modulação da resposta imune é uma estratégia fundamental no desenvolvimento de novas terapias para uma ampla gama de doenças, desde o abuso de substâncias ilícitas até o câncer. O uso de calix[n]arenos na ativação da resposta imunológica tem sido amplamente investigado nas últimas décadas devido à sua propriedade anfifílica intrínseca, que permite sua aplicação como plataforma molecular para apresentação antígenoica ou conjugação com moléculas de interesse imunológico (1).

Os calix[n]arenos são macrociclos compostos por unidades fenólicas ligadas por pontes metilênicas nas posições *orto* à hidroxila. Seu nome deriva da sua conformação predominante em forma de cone truncado (2), o que os torna potenciais carreadores moleculares. Estes macrociclos são explorados para estimular a produção de anticorpos contra moléculas pequenas (< 1KDa) que, por si só, não conseguem induzir uma resposta imune (3).

Para tal aplicação, é necessária uma série de reações para a modificação dessas plataformas, com o objetivo de otimizar o desempenho imunogênico por meio da ligação nestes macrociclos de haptenos – moléculas pequenas modificadas de forma a serem conjugadas aos calix[n]arenos. Como exemplo, a vacina anticocaína UFMG-VAC-V4N2 (3) é uma das estratégias terapêuticas contra o abuso de substâncias ilícitas que se baseia nessa abordagem, utilizando o calix[4]areno para induzir a produção de anticorpos específicos contra a cocaína/crack. A molécula de cocaína é acoplada à plataforma *p*-aminocalix[n]areno-*O*-butil éter (CX7).

Experimental

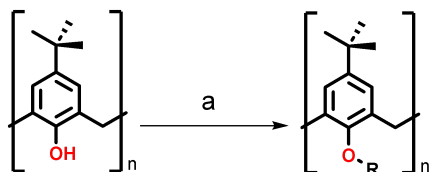
Síntese do Calix[4]areno e Calix[8]areno: A síntese dos calix[n]arenos CX1 e CX2 foi realizada a partir da *orto*-condensação do *p*-terc-butil-fenol em meio contendo formaldeído e hidróxido de sódio. As condições de reação são ajustadas de forma a permitir a obtenção de CX1 ou CX2 em 44% e 30% de rendimentos, respectivamente.



Reagente e condições de reação: (a) *p*-terc-butilfenol, HCOH, NaOH, agitação a 120°C por 1h, difenil éter (CX1: 44%). (b) *p*-terc-butilfenol, HCOH, NaOH, agitação a 120°C por 1h, xileno (CX2: 30%).

Figura 1. Síntese dos calix[n]arenos [*n* = 4 (CX1) ou 8 (CX2)].

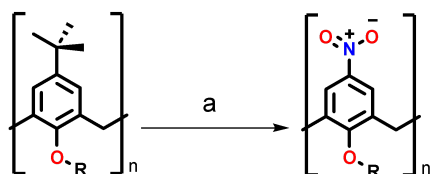
Alquilação da Coroa Inferior: A reação *O*-alquilação de CX1 ou CX2 foi realizada, inicialmente, por meio do tratamento destes com hidreto de sódio em dimetilformamida. Após 1 hora sob as condições supracitadas, adicionou-se bromo-butano ao meio de reação. A reação de substituição nucleofílica procedeu-se à 80°C por 24 horas, fornecendo ao final os calixarenos CX3 (*n* = 4) ou CX4 (*n* = 8) em 66% de rendimento.



Reagente e condições de reação: (a) DMF, NaH, agitação t.a por 1h. BrC₄H₉, agitação a 80°C por 24h (CX3: 66% e CX4: 66%).

Figura 2. Síntese dos calix[n]arenos alquilados [$n = 4$ (CX3) e $n = 8$ (CX4)].

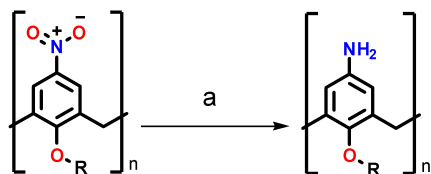
Ipsso-Nitração da Coroa Superior: Uma vez obtidos os O-alkil derivados CX3 e CX4, procedeu-se a conversão destes aos correspondentes derivados nitrados - CX5 e CX6. A *ipso*-nitração de CX3 ou CX4 foi realizada empregando-se a mistura ácido trifluoroacético e ácido nítrico fumegante em diclorometano como mistura reagente. Após 24h à temperatura ambiente foram obtidos os calixarenos nitrados CX5 ($n = 4$) ou CX6 ($n = 8$) em 59% e 40% de rendimentos, respectivamente.



Reagente e condições de reação: (a) DCM, TFA, HNO₃ fumegante, agitação em t.a por 24h (CX5: 59% e CX6: 40%).

Figura 3. Síntese dos calix[n]arenos nitrados [$n = 4$ (CX5) e $n = 8$ (CX6)].

Conversão do grupo NO₂ à correspondente amina (NH₂): A redução do grupo NO₂ foi realizada pela ação da hidrazina monohidratada na presença de paládio em carvão Pd/C (5%) sob aquecimento a 80 °C por 24 horas. Os calixarenos de interesse CX7 ($n = 4$) e CX8 ($n = 8$) foram obtidos em 84% e 86% de rendimentos.



Reagente e condições de reação: (a) EtOH, N₂H₄.H₂O, Pd/C (5%), refluxo a 80 °C por 24 horas (CX7: 84% e CX8: 86%).

Figura 4. Síntese dos calix[n]arenos aminados [$n = 4$ (CX7) e $n = 8$ (CX8)].

Resultados e Discussão

A primeira etapa envolveu a reação de *orto*-condensação do *p*-*tert*-butilfenol conduzindo a formação de CX1 ($n = 4$) e CX2 ($n = 8$). O sinal de RMN de ¹H correspondente às hidroxilas fenólicas de CX1 ($\delta = 10,34$ ppm) em região mais desblindada quando comparado aos correspondentes hidrogênios de CX2 ($\delta = 9,62$ ppm) evidencia que estes hidrogênios apresentam forte interações de hidrogênio intramoleculares compatíveis com a estrutura tetramérica de CX1. Adicionalmente, as massas calculadas para CX1 ([M+H]⁺ 647,4106 (m/z)) e CX2 ([M+H]⁺ 1.298,8340 (m/z)) estão de acordo com as massas observadas nas análises de espectrometria de massas: CX1 ([M+H]⁺ 647,4112 (m/z)) e CX2 ([M+H]⁺ 1.298,8239 (m/z)).

A segunda etapa envolveu a reação de *O*-alkilação de CX1 e CX2. Os sinais de RMN de ¹H correspondentes aos grupos alquila do grupo butila, encontrados na região de deslocamento químico alifática evidenciam a presença dos éteres de CX3 e CX4. Além disso, é possível notar que nos espectros de RMN de ¹H não se observa mais os sinais referentes as hidroxilas fenólicas de CX1 e CX2.

A terceira etapa envolveu a reação de *ipso*-nitração de CX3 e CX4. Os sinais de RMN de ¹H correspondentes as *tert*-butila presentes em CX3 e CX4 ($\delta \sim 1,00$ ppm) não foram identificadas, evidenciando a obtenção de CX5 e CX6.

A quarta e última etapa envolveu a reação de redução do grupo nitro (NO₂) presentes em CX5 e CX6. Os sinais alargados de RMN de ¹H correspondentes aos grupamentos amino (NH₂) para CX7 ($\delta = 3,04$ ppm) e CX8 ($\delta \sim 3,51$ ppm) evidenciam a obtenção de CX7 e CX8.

Conclusões e Perspectivas

As plataformas não-proteicas CX7 e CX8 foram obtidas em 4 etapas com rendimentos globais de 14% e 7%, respectivamente. As plataformas supracitadas serão empregadas no desenvolvimento de vacinas terapêuticas para o transtorno de uso de drogas de abuso, em particular para cocaína/crack.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPEMIG, ao CNPq, à CAPES e à FINEP pelo apoio financeiro. DUA agradece à FAPEMIG pela concessão da bolsa de IC.

Referências

1. Satish Kumar, N. D. Kurur, H. M. Chawla & R. Varadarajan. A CONVENIENT ONE POT ONE STEP SYNTHESIS OF p-NITROCALIXARENES VIA IPSONITRATION. 2001. Synthetic Communications, 31:5, 775-779,
2. M. Lazzarotto; F. F. Nachtigall; F. Nome. Calixarenos: Receptores para reconhecimento molecular. *Química Nova*. 1995. 18(5). 444-451.
3. S. Brian et al. Safety and immunogenicity of the anti-cocaine vaccine UFMG-VAC-V4N2 in a non-human primate model. *Vaccine*, v. 41, n. 13, p. 2127-2136, 2023.