

## PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO DE NOVOS COMPOSTOS DERIVADOS DA D-GLICOSE COMO REATIVADORES DA ACETILCOLINESTERASE INIBIDA POR PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS

Larissa Mérci da Silva Inacio<sup>1</sup> (IC), Daniel Henriques Soares Leal (PQ)<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Itajubá

**Palavras-chave:** Acetilcolinesterase. Compostos organofosforados. Desenvolvimento de fármacos. D-glicose. Química computacional

### Introdução

A acetilcolina (ACh) (Figura 1) é um neurotransmissor encontrado no sistema nervoso central e periférico e a enzima responsável por sua hidrólise nas sinapses colinérgicas é a acetilcolinesterase (AChE). A ação da acetilcolina está diretamente ligada a funções como regular o sono, a memória e o aprendizado.

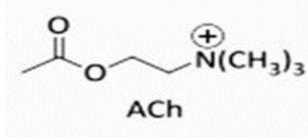


Figura 1 – Estrutura da Acetilcolina

Compostos inibidores da acetilcolinesterase são classificados em a) reversíveis: não formam ligação covalente ou, quando formam, geram ainda assim intermediários facilmente hidrolisáveis que permitem a regeneração da enzima e são aplicados ao tratamento de doenças como Alzheimer e Parkinson); ou b) irreversíveis: formam ligações covalentes com o sítio ativo da AChE formando ésteres do ácido fosfônico ou fosfórico com o sítio ativo e que são mais resistentes à hidrólise regenerativa da enzima (processo denominado de envelhecimento da acetilcolinesterase), sendo utilizados como pesticidas agrícolas, reguladores do crescimento de plantas e armas químicas.

A pralidoxima é um fármaco empregado em situações de exposição da AChE inibida por compostos irreversíveis, porém sua eficiência é pequena, visto que só apresenta resultados suficientes até poucas horas do início do processo de envelhecimento da AChE. O fato que faz a pralidoxima ser aplicada é a presença de um grupo oxima, que se liga covalentemente à AChE inibida e promove a remoção do grupo fosfato. A literatura aponta que a reação geral da reativação da

AChE fosforilada pelas oximas acontece em duas etapas (Figura 2) 1) Associação da oxima à AChE inibida; e 2) Regeneração da enzima por transferência do grupo fosfato (ou semelhante) para a oxima. Então o grupo amônio presente na pralidoxima interage com o sítio aniônico da AChE fosforilada, aproximando os átomos de oxigênio do antídoto (nucleofílico) e fósforo da enzima inibida. O ataque nucleofílico resultante leva à quebra da ligação fosfoéster, regenerando a AChE por transesterificação

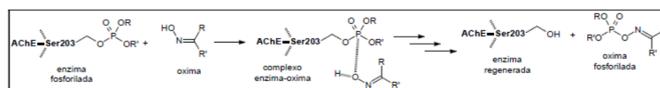


Figura 2 - Reação de reativação da AChE fosforilada por oximas.

O objetivo do trabalho é desenvolver estruturas derivadas da D-glicose (Figura 3) com foco na reativação da AChE inibida por compostos organofosforados. Levou-se em consideração a necessidade geral de desenvolvimento de novos compostos para cura ou tratamento de doenças para as quais ainda não existam recursos terapêuticos eficazes.

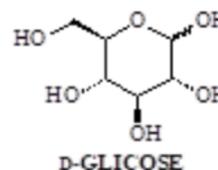


Figura 3 - Estrutura da D-glicose

O planejamento dos compostos foi realizado com base na estrutura da D-glicose e das características necessárias para conseguir reativar a AChE. Foram assim desenvolvidos os compostos **GL1**, **GL2** e **GL3**.

## Metodologia

A – Planejamento dos compostos: com base na estrutura da D-glicose e das características necessárias para conseguir reativar a AChE (presença de um grupo oxima e de uma carga positiva), como na estrutura da pralidoxima, foram concebidos os compostos **GL1**, **GL2** e **GL3**.(Figura 4).

B - Análise Conformacional: posteriormente, as estruturas da **GL1**, **GL2** e **GL3** foram construídas tridimensionalmente a partir do programa GaussView® e salvas no formato MOL2. Após o processo de criação, não foi possível realizar a otimização dos compostos devido a dificuldades com o acesso remoto.

C – *Docking* molecular: Após a etapa de análise conformacional, as estruturas mais representativas seriam selecionadas para a etapa de *docking* molecular. O *docking* molecular não foi realizado devido a problemas com o uso do software selecionado (AutoDock®), e não foi possível obter mais resultados com a pesquisa.

## Resultados e discussão

A rota sintética para obtenção dos compostos **GL1**, **GL2** e **GL3** (Figura 4) foi planejada de forma a se obter os mesmos com facilidade, exigindo o mínimo de etapas possíveis para sua obtenção, como discutido a seguir:

A primeira etapa consiste na obtenção do intermediário **I** ( $\alpha$ -D-glicopiranosídeo de metila) por tratamento com metanol em meio ácido, de modo a converter a hidroxila da posição C1 do anel glicopiranosídico em um grupo metoxila. Esta etapa tem por finalidade mascarar o caráter mais ácido desta hidroxila, devido ao seu caráter de hemiacetal, convertendo-a em um acetal.

A segunda etapa consiste na conversão da hidroxila da posição C6, nucleofílicamente mais reativa devido ao seu caráter primário, em um grupo tosila

(com caráter de grupo abandonador), por substituição nucleofílica com cloreto de tosila (*p*-toluenosulfonila) em piridina e levando ao intermediário **II**.

A terceira etapa consiste na substituição nucleofílica do grupo tosila pelos grupos 2-, 3- e 4-formilpiridino, formando-se os intermediários **III-1**, **III-2** e **III-3** respectivamente. Isto deve ser feito tratando-se o intermediário **II** com 2-, 3- e 4-formilpiridina, respectivamente.

A quarta etapa pode ser alcançada tratando-se os intermediários **III-1**, **III-2** e **III-3** com hidroxilamina, levando-se aos compostos planejados **GL1**, **GL2** e **GL3**.

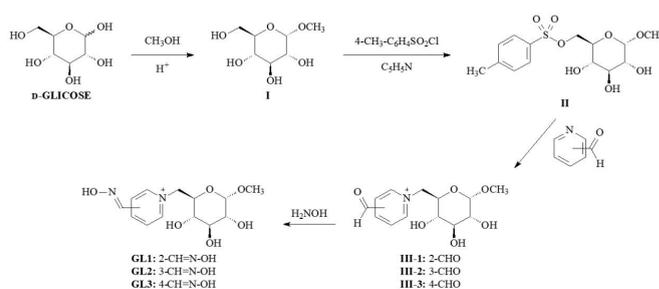


Figura 4 – Rota de obtenção dos compostos **GL1**, **GL2** e **GL3**.

## Conclusões

Não foi possível executar todos os objetivos propostos devido a limitações surgidas por ocasião da pandemia de COVID-19, que restringiu a circulação e o acesso às máquinas para realização dos cálculos, e também devido a limitações encontradas com o software. Ainda assim foi possível observar a importância das etapas iniciais de análise conformacional evidenciando particularidades dos compostos que irão evitar a execução de cálculos potencialmente desnecessários.

## Agradecimento

Ao Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pelo fomento com a concessão de bolsa durante o período de desenvolvimento dessa Iniciação Científica. Ao professor Daniel, pela oportunidade de orientação no decorrer dessa pesquisa. À Universidade Federal de Itajubá. E aos colegas que contribuíram no desenvolvimento deste trabalho.

## Referências

DIAS, C.; RAUTER, A. P., Carbohydrates and glycomimetics in Alzheimer's disease therapeutics and diagnosis in Carbohydrates in drug design and discovery. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 2015, pages 180-208.

DRIANT, T. et al. On the Influence of the Protonation States of Active Site Residues on AChE. Reactivation: A QM/MM Approach. *ChemBioChem*, v. 18, p. 666-675, 2017.

FIFER, E. K. Drugs Affecting Cholinergic Neurotransmission. In: LEMKE, T. L.; WILLIAMS, D. A.; ROCHE, V. F.; ZITO, S. W. (Ed.). *Foye's Principles of Medicinal Chemistry*, 7th. ed. Philadelphia: Lippincott, 2013. 1500p. cap. 9, p. 309-339.

GONÇALVES, A. S.; FRANÇA, T. C. C., SILVA, A. W. S.; FIGUEROA-VILLAR, J.D. Molecular dynamics of the interaction of pralidoxime and deazapralidoxime with acetylcholinesterase inhibited by the neurotoxic agent tabun. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 2006, 17, 968.

LEAL, D. H. S. MACROLACTAMAS DERIVADAS DE CARBOIDRATOS: SÍNTESE E ANÁLISE CONFORMACIONAL POR MÉTODOS QUANTO-MECÂNICOS. 2009. 404 p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas - Fármacos e Medicamentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

Nelson, D. L.; Cox, M. M., *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. 6ª edição, Artmed: Porto Alegre, 2014.

OCHOA, R.; RODRIGUEZ, C. A.; ZULUAGA, A. F. Perspectives for the structure-based design of acetylcholinesterase reactivators. *J. Mol. Graph. Model.*, v. 68, p. 176-183, 2016.

OLSEN, J. I.; PLATA, G. B.; PADRON, J. M.; LOPEZ, O.; BOLS, M.; FERNANDEZ-BOLAÑOS, J. G., Selenoureido-imosugars: A new family of multitarget drugs. *Eur. J. Med. Chem.* 2016, 123, 155-160.

RAMALHO, T. R. et al. Development of new acetylcholinesterase reactivators: Molecular modeling versus in vitro data. *Chem. Biol. Inter.*, v. 185, n. 1, p. 73-77, 2010.

SILVA, L., Síntese de glicosil amidas e glicoconjugação via utilização de selenocarboxilatos como reagentes traceless. Dissertação de mestrado, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016

SPIWOK, V., CH/ $\pi$  interactions in carbohydrate recognition. *Molecules* 2017, 22, 1038-1049.

VARGAS, J. P.; PINTO, L. M.; SAVEGNAGO, L.; LÜDTKE, D. S., Synthesis of alkylselenocarbohydrates and evaluation of their antioxidant properties. *J. Braz. Chem. Soc.* 2015, 26, 810-815.

VINHAL, D. C., SOARES, V. H. C. *Intoxicação por Organofosforados: Uma Revisão da Literatura.*, 2018.