

## Síntese de inibidores de galectina-3 com aplicações em distúrbios neurocomportamentais

**Autores:** Felipe Tanaka Leite<sup>1</sup>, Vanessa Leiria Campo<sup>2</sup>

**Colaboradores:** Priscila de Freitas Lima<sup>3</sup>, Laise Aparecida Santos<sup>4</sup>

<sup>1,2,3,4</sup>Centro Universitário Barão de Mauá

*ftanakaleite@gmail.com (Curso de medicina), vanessa.campo@baraodemaua.br*

### Resumo

Em diversas desordens neurocomportamentais, o aumento de galectina-3 (uma lectina específica) nos pacientes está associado a um prognóstico de distúrbios neurocomportamentais. Assim, considerando a influência desta lectina em tais distúrbios, a síntese de inibidores de galectina-3, tal como proposto neste trabalho, pode representar uma forma de intervenção terapêutica frente a doenças neurocomportamentais.

### Introdução

As galectinas são proteínas carboidrato-específicas (lectinas) que se ligam a moléculas de  $\beta$ -galactose de glicoconjugados por meio de seus domínios de reconhecimento de carboidratos (CRD) (ARGÜESO; PANJWANI, 2011). Existem cerca de 15 tipos de galectinas em mamíferos, dentre as quais a galectina-3, classificada como quimérica (HIRABAYASHI, 2002), é uma das mais estudadas em decorrência do seu envolvimento em diversos eventos biológicos no organismo, tais como mediação das respostas inflamatória e imunomodulatória, e desenvolvimento/progressão tumoral (YANG *et al.*, 2008; BURGUILLOS *et al.*, 2015; CAMPO *et al.*, 2016).

Estudos recentes indicam a relação da galectina-3 em desordens neurodegenerativas como Doença de Alzheimer e Esclerose Lateral Amiotrófica, nas quais níveis elevados de galectina-3 no soro e líquido de pacientes com estas patologias estão possivelmente correlacionados a um aumento de inflamação, apoptose e neurodegeneração (ASHRAF *et al.*, 2018). Além do mais, foi observado que pacientes com esquizofrenia apresentam níveis séricos elevados de galectina-3 (SIEW *et al.*, 2019), o que pode explicitar uma associação entre progressão de inflamação induzida por galectina-3 e esquizofrenia. Desta forma, a galectina-3 pode atuar como um biomarcador, independente de idade, índice de massa corporal (IMC) ou sexo (SCHINDLER *et al.*, 2016), em desordens neurológicas tais como as supracitadas, além de outras como depressão e ansiedade,

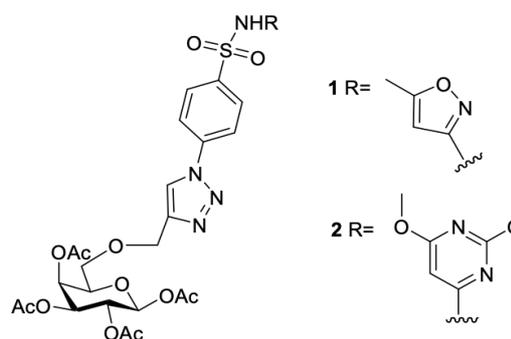
representando um potencial alvo para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas e diagnósticas frente a graves distúrbios neurocomportamentais (KAJITANI *et al.*, 2017).

De acordo com o exposto, a galectina-3 está relacionada a vários processos biológicos no organismo, dentre os quais variadas doenças neurodegenerativas, o que demonstra a potencial relevância de inibidores sintéticos capazes de bloquear os efeitos de galectina-3 em processos patológicos tais como os supracitados.

### Objetivos

O objetivo deste trabalho foi a realização da síntese química dos inibidores de galectina-3 representados por 1,2,3-triazol-galactosil arilsulfonamidas **1** e **2** (Figura 1), os quais serão submetidos a ensaios em modelos neurocomportamentais.

**Figura 1. Estruturas químicas dos inibidores de galectina-3: 1,2,3-triazol-galactosil arilsulfonamidas **1** e **2**.**



**Inibidores de galectina-3**

Fonte: os autores

## Materiais e métodos

As reações químicas para a obtenção dos compostos **1** e **2** foram realizadas em laboratório de síntese orgânica e as análises de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) para comprovação das estruturas obtidas foram realizadas no equipamento Bruker Advance DPX 400 (400 MHz) da FFCLRP- USP.

### Síntese do açúcar 1,2,3,4-tetra-O-acetil-6-prop-2-il-D-galactopiranosse **3**

A uma solução do composto isopropilideno-galactose **4** (12 g, 49 mmol) foi adicionado NaH puro a 0 °C, sendo a solução agitada por 15 min. Brometo de propargila (5,5 g, 46,4 mmol, 1,1 eq) foi adicionado lentamente (~ 20 min.) à mistura reacional citada, fornecendo o composto isopropilideno propinil-galactose **5** (5,06 g, 16,9 mmol, 40%), o qual foi tratado com solução aquosa de TFA 80% para obtenção do composto propinil-galactose **6** (2,76 g, 12,6 mmol, 100%). Como última etapa, foi realizada a reação de peracetilação do composto **6** (1 g, 4,5 mmol), utilizando piridina anidra (9,4 mL) e anidrido acético (5,3 mL), com agitação à temperatura ambiente por 2 h, o que conduziu à obtenção do açúcar final 1,2,3,4-tetra-O-acetil-6-prop-2-il-D-galactopiranosse **3** com rendimento de 90% após purificação cromatográfica.

### Síntese de azido-benzenosulfonamidas **7** e **8**

As 4-aminobenzenosulfonamidas sulfametoxazol **9** e sulfadimetoxina **10** (3,0 mmol) foram adicionadas em uma solução de ácido sulfúrico (0,5 mL) e H<sub>2</sub>O (3,0 mL) e então resfriadas a 0°C. Uma solução de NaNO<sub>2</sub> (3,0 mmol) em água (2,0 mL) foi então adicionada vagorosamente com agitação por 10 min. A seguir, foi adicionada ureia sólida e solução do reagente NaN<sub>3</sub> (9,0 mmol, 1,5 eq), sendo as misturas reacionais agitadas por alguns minutos, filtradas, lavadas e concentradas, fornecendo os compostos **7** e **8** com os respectivos rendimentos de 90% e 45%.

### Síntese de 1,2,3-triazol-galactosil arilsulfonamida **1**

Uma solução constituída pelo açúcar 1,2,3,4-tetra-O-acetil-6-prop-2-il-D-galactopiranosse **3** (32 mg, 0,083 mmol), 4-azidobenzenosulfonamida **7** (32 mg, 0,12 mmol), ascorbato de sódio (24 mg, 0,12 mmol) e CuSO<sub>4</sub> (20 µL solução 1M) em DMF (1,0 mL) foi inserida em tudo de microondas laboratorial e então submetida à irradiação por microondas por 15 min (150 W) à temperatura de 100 °C. A reação foi acompanhada por placa cromatográfica, e após o término a mistura reacional foi concentrada e purificada por coluna cromatográfica clássica utilizando o sistema de solventes acetato de etila: hexano (7:3). Desta forma, após purificação o composto triazólico **1** foi obtido com 49% de rendimento (27 mg, 0,04 mmol).

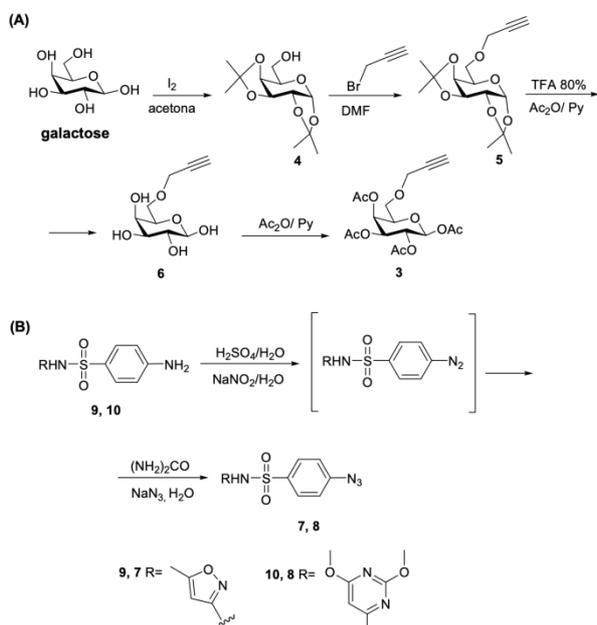
### Síntese de 1,2,3-triazol-galactosil arilsulfonamida **2**

Uma solução constituída pelo açúcar 1,2,3,4-tetra-O-acetil-6-prop-2-il-D-galactopiranosse **3** (32 mg, 0,083 mmol), 4-azidobenzenosulfonamida **7** (32 mg, 0,096 mmol), ascorbato de sódio (19 mg, 0,096 mmol) e CuSO<sub>4</sub> (20 µL solução 1M) em DMF (0,5 mL) foi inserida em tudo de microondas laboratorial e então submetida à irradiação por microondas por 15 min (150 W) à temperatura de 100 °C. A reação foi acompanhada por placa cromatográfica, e após o término a mistura reacional foi concentrada e purificada por coluna cromatográfica clássica utilizando o sistema de solventes acetato de etila: hexano (7:3). Desta forma, após purificação o composto triazólico **1** foi obtido com 30% de rendimento (0,024 mmol).

## Resultados e Discussão

A síntese dos compostos-alvo representados por 1,2,3-triazol-galactosil arilsulfonamidas **1** e **2** (Figura 1) envolveu a preparação prévia dos precursores representados pelo açúcar 1,2,3,4-tetra-O-acetil-6-prop-2-il-D-galactopiranosse **3** e pelas azido-benzenosulfonamidas **7** e **8** (Esquema 1). Assim, o açúcar **3** foi obtido em etapas, envolvendo a proteção clássica de galactose em acetona catalisada por iodo, seguida do tratamento do composto obtido isopropilideno-galactose **4** com hidreto de sódio e brometo de propargila, fornecendo o produto isopropilideno propinil-galactose **5** com 40% de rendimento (KARTHA, 1986). A seguir, foi realizada a desproteção das hidroxilas secundárias do composto **5** na presença de ácido trifluoracético (TFA) 80% em água, com obtenção do produto **6**, o qual foi então submetido à reação de acetilação das hidroxilas utilizando piridina anidra e anidrido acético, fornecendo o açúcar final peracetilado **3** com 90% de rendimento após purificação em coluna cromatográfica (JEANLOZ; FLOWERS, 1962) (Esquema 1A). Subsequentemente, a síntese das azido-benzenosulfonamidas **7** e **8** foi realizada a partir da solubilização das arilsulfonamidas sulfametoxazol **9** e sulfadimetoxina **10** em solução de ácido sulfúrico 17% (v/v) a 0°C e da adição de solução de NaNO<sub>2</sub> por gotejamento ao meio reacional e agitação por 10 minutos. Após esse período, ureia sólida foi adicionada seguida de solução de NaN<sub>3</sub>. Uma vez que a azida de sódio foi incorporada, houve precipitação dos produtos **7** e **8**, os quais foram filtrados por funil de Buchner e lavados com solução de NaHCO<sub>3</sub> 5% (Esquema 1B). Os produtos obtidos **7** e **8** foram caracterizados por <sup>1</sup>H RMN e seus rendimentos foram de 90% e 45%, respectivamente.

**Esquema 1. (A) Síntese do açúcar 1,2,3,4-tetra-O-acetil-6-prop-2-il-D-galactopiranoose 3. (B) Síntese das azido-benzenosulfonamidas 7 e 8.**



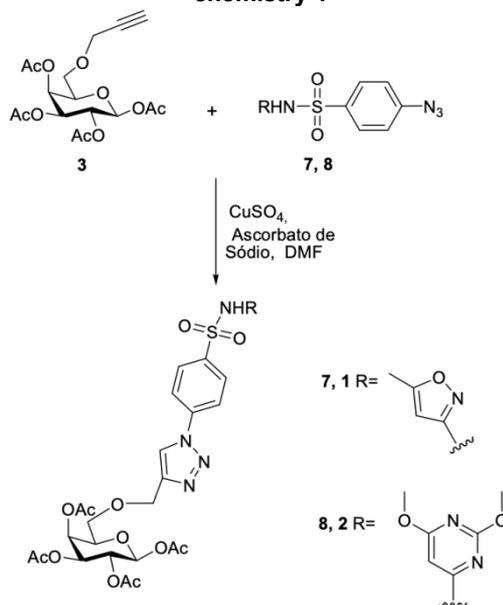
Fonte: os autores

Uma vez obtidos o açúcar **3** e azido-benzenosulfonamidas **7** e **8**, a etapa seguinte foi a realização das reações de ciclo-adição 1,3-dipolar de Huisgen, conhecidas como “click chemistry”, a partir da condensação entre um grupo azido e um acetileno terminal para a geração de um grupo triazol (KOLB; SHARPLESS, 2003).

De fato, o emprego de “click chemistry” na descoberta de novos protótipos permite que o universo químico de interesse seja rapidamente explorado, e a sua otimização estrutural seja facilitada pelos estudos de relação estrutura-atividade (REA) e geração de biblioteca de compostos análogos.

Assim, foram realizadas as reações de “click chemistry” entre o açúcar **3** (alcino) e as azido-benzenosulfonamidas **7** e **8** em tubo de microondas selado, em DMF, na presença de  $\text{CuSO}_4$ / ascorbato de sódio como sistema catalítico. As reações foram feitas sob irradiação de microondas, à 100°C, com potência de 150W por 15 minutos (Esquema 2) (MARCHIORI *et al.*, 2017). Sob essas condições os produtos finais **1** e **2** foram obtidos com rendimentos de 49% e 30%, respectivamente, após purificação por coluna cromatográfica.

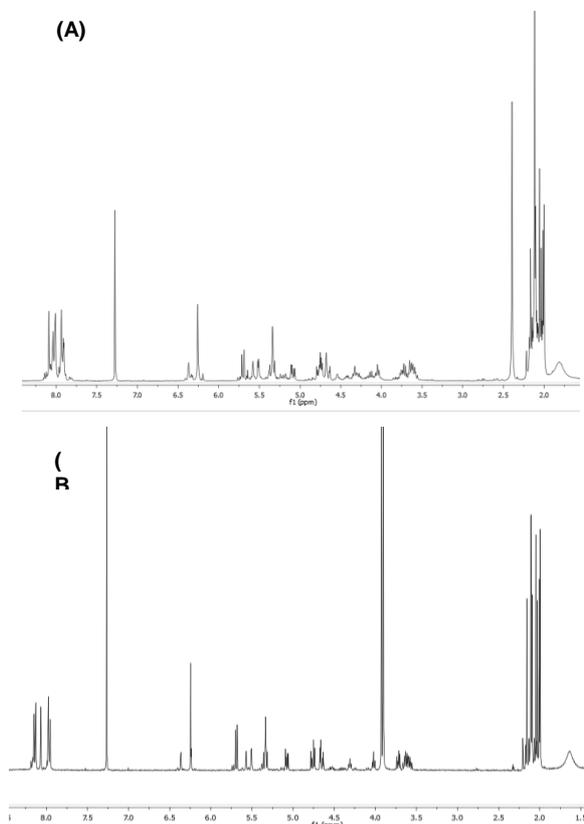
**Esquema 2. Síntese de 1,2,3-triazol-galactosil arilsulfonamidas 1 e 2 por reações de “click chemistry”.**



Fonte: os autores

As estruturas químicas dos compostos **1** e **2** foram confirmadas por meio das análises de Ressonância Magnética Nuclear (RMN de  $^1\text{H}$ ), as quais apresentaram sinais característicos de grupos químicos destas moléculas (Figura 2).

**Figura 2. Espectros de RMN  $^1\text{H}$  dos compostos 1 (A) e 2 (B).**



Fonte: os autores

## Conclusão

As metodologias sintéticas utilizadas foram eficazes para a obtenção dos inibidores de galectina-3 representados por 1,2,3-triazol-galactosil arilsulfonamidas **1** e **2**, os quais são inéditos na literatura. Estes compostos serão submetidos a ensaios em modelos neurocomportamentais, tais como depressão e ansiedade, e poderão representar importantes ferramentas para a investigação de novas terapias frente a estes distúrbios, os quais figuram entre atuais ações prioritárias em saúde dado seus impactos negativos sobre a sociedade.

## Referências

ARGÜESO, P.; PANJWANI, N. Focus on Molecules: galectin-3. **Experimental Eye Research**, [S.L.], v. 92, n. 1, p. 2-3, jan. 2011. Elsevier BV. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.exer.2010.11.009>>. Acesso em: 06 de Out. 2020.

ASHRAF, G. M.; BAEESA, S. S. Investigation of Gal-3 expression pattern in serum and cerebrospinal fluid of patients suffering from neurodegenerative disorders. **Frontiers in Neuroscience**, vol 12, p 1-8, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00430>>. Acesso em: 31 de Maio. 2021.

BURGUILLOS, M. A.; SVENSSON, M.; SCHULTE, T.; BOZA-SERRANO, A.; GARCIA-QUINTANILLA, A.; KAVANAGH, E.; SANTIAGO, M.; VICECONTE, N.; OLIVA-MARTIN, M. J.; OSMAN, A. M. Microglia-Secreted Galectin-3 Acts as a Toll-like Receptor 4 Ligand and Contributes to Microglial Activation. **Cell Reports**, [S.L.], v. 10, n. 9, p. 1626-1638, mar. 2015. Elsevier BV. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2015.02.012>>. Acesso em: 11 de Out. 2020.

CAMPO, V. L.; MARCHIORI, M. F.; RODRIGUES, L. C.; DIAS-BARUFFI, M. YANG. Synthetic glycoconjugates inhibitors of tumor-related galectin-3: an update. **Glycoconjugate Journal**, v. 33, p. 853-876, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10719-016-9721-z>>. Acesso em: 31 de Maio. 2021.

HIRABAYASHI, J. Oligosaccharide specificity of galectins: a search by frontal affinity chromatography. **Biochimica et Biophysica Acta (Bba) - General Subjects**, [S.L.], v. 1572, n. 2-3, p. 232-254, 19 set. 2002. Elsevier BV. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/s0304-4165\(02\)00311-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0304-4165(02)00311-2)>. Acesso em: 11 de Out. 2020.

JEANLOZ, R. W.; FLOWERS, H. M.. The Isolation and Synthesis of the Methyl Ester-Methyl  $\alpha$ -Glycoside of 3-O- $\beta$ -D-Glucuronosyl-N-Acetyl-D - Glucosamine (Hyalobiuronic Acid). **Journal of The American Chemical Society**, [S.L.], v. 84, n. 15, p. 3030-3030, ago. 1962. American Chemical Society (ACS). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/ja00874a045>>. Acesso em: 08 de Out. 2020.

KAJITANI, K.; YANAGIMOTO, K.; NAKABEPPU, Y. Serum galectin-3, but not galectin-1, levels are elevated in schizophrenia: implications for the role of inflammation. **Psychopharmacology**, v. 234, p. 2919-2927, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00213-017-4683-9>>. Acesso em: 31 de Maio. 2021.

KARTHA, K. P. R.. Iodine, a novel catalyst in carbohydrate reactions I. -isopropylidination of carbohydrates. **Tetrahedron Letters**, [S.L.], v. 27, n. 29, p. 3415-3416, jan. 1986. Elsevier BV. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/s0040-4039\(00\)84810-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0040-4039(00)84810-8)>. Acesso em: 06 de Out. 2020.

KOLB, H. C.; SHARPLESS, K. B. The growing impact of click chemistry on drug discovery. **Drug Discovery Today**, [S.L.], v. 8, n. 24, p. 1128-1137, dez. 2003. Elsevier BV. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/s1359-6446\(03\)02933-7](http://dx.doi.org/10.1016/s1359-6446(03)02933-7)>. Acesso em: 08 de Out. 2020.

MARCHIORI, M. F.; RIUL, T. B.; BORTOT, L. O.; ANDRADE, P.; JUNQUEIRA, G. G.; FOCA, G.; DOTI, N.; RUVO, M.; DIAS-BARUFFI, M.; CARVALHO, I. Binding of triazole-linked galactosyl arylsulfonamides to galectin-3 affects *Trypanosoma cruzi* cell invasion. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 25, n. 21, p. 6049-6059, nov. 2017. Elsevier BV. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2017.09.042>>. Acesso em: 09 de Out. 2020.

SCHINDLER, E. I.; SZYMANSKI, J. J.; HOCK, K. G.; GELTMAN, E. M.; SCOTT, M. G. Short- and Long-term Biologic Variability of Galectin-3 and Other Cardiac Biomarkers in Patients with Stable Heart Failure and Healthy Adults. **Clinical Chemistry**, [S.L.], v. 62, n. 2, p. 360-366, 1 fev. 2016. Oxford University Press (OUP). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2015.246553>>. Acesso em: 11 de Out. 2020.

SIEW, J. J.; CHEN, H. M.; CHEN, H. Y.; CHEN, H. L.; CHEN, C. M.; SOONG, B. W.; WU, Y. R.; CHANG, C. P.; CHAN, Y. C.; LIN, C. H. Galectin-3 is required for the microglia-mediated brain inflammation in a model of Huntington's disease.

**Nature Communications**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 3473-1, 2 ago. 2019. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41467-019-11441-0>>. Acesso em: 11 de Out. 2020.

YANG, RI-Y.; RABINOVICH, G. A.; LIU, F-T. Galectins: structure, function and therapeutic potential. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v. 10, p. 1-24, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1017/S1462399408000719>>. Acesso em: 31 de Maio. 2021.