

## Síntese da 6-Hidroxitripargina, Toxina do Veneno da Aranha *Parawixia bistriata* e Caracterização Funcional de Seus Enantiômeros

Daniel M. Saidemberg (PG),<sup>1\*</sup> Tatiane N. Takahashi (IC),<sup>1</sup> Marco A. B. Ferreira (PG),<sup>2</sup> Paulo C. Gomes (PG),<sup>1</sup> Lilian M. M. Cesar-Tognoli (PQ),<sup>1</sup> Luiz C. Silva-Filho (PQ),<sup>1</sup> Cláudio F. Tormena (PQ),<sup>3</sup> Roberto Rittner (PQ),<sup>3</sup> Gil V. J. da Silva (PQ)<sup>2</sup> e Mario S. Palma (PQ)<sup>1</sup> (saidem@rc.unesp.br)

<sup>1</sup>LBEZ, CEIS-Depto. Biologia-IBRC-UNESP, Av. 24-A, 1515, 13506-900, Rio Claro, SP, Brasil. <sup>2</sup>LSO, FFCLRP-USP, Av. Bandeirantes, 3900, 14040-901, Ribeirão Preto, SP, Brasil. <sup>3</sup>LFQO, IQ-UNICAMP, 13084-971, Campinas, SP, Brasil.

Palavras Chave: Enantiômeros, inibidores de MAO, tetrahydro-beta-carbolinas, 6-hidroxitripargina.

### Introdução

Compostos  $\beta$ -carbolínicos possuem capacidade de se ligarem a diferentes tipos de receptores, devido à grande semelhança de seu grupamento indol, com a molécula de serotonina.<sup>1</sup> As  $\beta$ -carbolinas exibem um amplo espectro de ações farmacológicas e neuroativas, ligando-se a vários receptores no cérebro como benzodiazepínicos, imidazólicos, serotoninérgicos, alterando os níveis de neurotransmissores.<sup>2</sup> Algumas tetrahydro- $\beta$ -carbolinas podem ser encontradas como componentes do veneno de aranhas como a *Parawixia bistriata* e a *Nephila clavipes*;<sup>3,4</sup> esses compostos são análogos naturais da tripargina (**1**), um alcalóide previamente isolado da pele do sapo africano *Kassina senegalensis*.<sup>5</sup> Dentre os compostos  $\beta$ -carbolínicos, a 6-hidroxitripargina (6-HT) (**2**) é considerada a primeira tetrahydro- $\beta$ -carbolina encontrada em venenos de aranhas.<sup>3</sup>

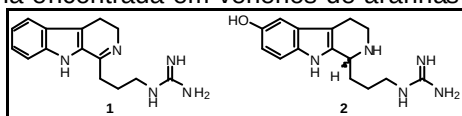
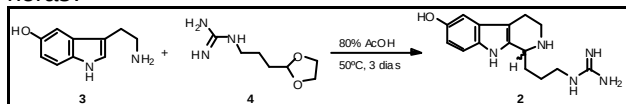


Figura 1: Estruturas dos compostos **1** e **2**.

Os objetivos desse trabalho foram: sintetizar a 6-hidroxitripargina (6-HT), separar os enantiômeros da toxina sintética por cromatografia de quirais e submeter os enantiômeros a ensaios cinéticos das enzimas Monoamino oxidase A e B (MAO), pois os derivados  $\beta$ -carbolínicos são considerados potentes inibidores reversíveis dessa enzima.<sup>5</sup>

### Resultados e Discussão

A 6-hidroxitripargina (**2**) foi preparada pela condensação de Pictet-Spengler, entre a Serotonina (**3**) e Sulfato de *N*-(3-[1,3]dioxolano-2-propil)-guanidina (**4**) em ácido acético 80%, a 50°C, por 72 horas.



Esquema 1: Síntese da 6-hidroxitripargina (**2**).

A separação dos enantiômeros foi realizada através de cromatografia quiral (Chiralcel-OD-H (250 x 4,6mm; 10 $\mu$ m)), sendo a eluição feita com gradiente linear de fase móvel de metanol em isopropanol de 30% a 40% em 30 minutos, com um fluxo de 0,4ml/min e a eluição foi monitorada a 31<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

224nm. Os enantiômeros separados tiveram suas rotações específicas medidas, obtendo-se um  $[\alpha]^{25} = +13^\circ$  para um dos enantiômeros e  $[\alpha]^{25} = -13^\circ$  para o outro. A cinética de inibição das enzimas MAO (A e B) foram realizadas variando-se as concentrações de kinuramina (utilizada como substrato para ambas as enzimas), conforme pode ser observado na figura 2. A inibição foi medida através da fluorescência do produto da reação, a 4-Hidroxiquinolina (4HQ) com  $\lambda_{Ex}$ : 315nm e  $\lambda_{Em}$ : 380nm.

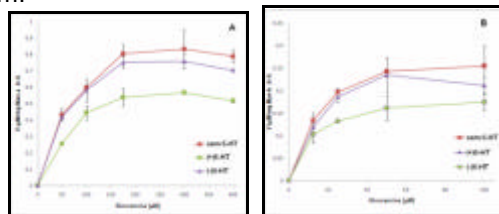


Figura 2. Cinética das enzimas a) MAO A, b) MAO B (com e sem os enantiômeros da 6-HT).

Através dos gráficos dos duplos recíprocos de Lineweaver-Burk, pôde-se observar que a inibição foi do tipo “não competitiva” para ambos os inibidores. Os valores de  $V_{max}$  para MAO A foram de 990 nM/mg.h<sup>-1</sup> sem inibidor, 880 nM/mg.h<sup>-1</sup> em presença de (+)6-HT e 740 nM/mg.h<sup>-1</sup> em presença de (-)6-HT,  $K_m = 65,21 \mu M$ . Os valores de  $V_{max}$  para MAO B foram de 313 nM/mg.h<sup>-1</sup> sem inibidor, 283 nM/mg.h<sup>-1</sup> em presença de (+)6-HT e 193 nM/mg.h<sup>-1</sup> em presença de (-)6-HT,  $K_m = 16,48 \mu M$ . Os valores de  $IC_{50}$  obtidos para a MAO A foram de 2010  $\mu M/mg$  em presença de (+)6-HT e de 561  $\mu M/mg$  em presença de (-)6-HT e para MAO B foram de 15  $\mu M/mg$  em presença de (+)6-HT e de 8  $\mu M/mg$  em presença de (-)6-HT.

### Conclusões

Ambos os enantiômeros são inibidores não competitivos das enzimas MAO A e B.

O enantiômero (-)6-HT é um inibidor mais potente das enzimas MAO A e MAO B em relação ao seu congênere (+)6-HT

### Agradecimentos

FAPESP, BIOprospecTA e CNPq

<sup>1</sup>Solis-Maldonado, R., et al. *Int. Immunopharmacol.*, **2003**, 3, 1261-1271.

<sup>2</sup>Herraziz, T, Chaparro, C. J. *Chromatogr. A*, **2005**, 1120, 795-802.

<sup>3</sup>Cesar, L. M. M., et al. *Toxicon*, **2005**, 46, 786-796.

<sup>4</sup>Marques, et al. *Chem. Biodivers*, **2005**, 2, 525-534.

<sup>5</sup>Shimizu, M. et al., *Chem. Pharm. Bull.*, **1982**, 30, p. 3453-3456.