

Ciencia Latina
Internacional

Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinaria, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), noviembre-diciembre 2024,
Volumen 8, Número 6.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i6

IMPACTO DE LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN LA SALUD HUMANA: ESTRATEGIAS DE SÍNTESIS Y EVALUACIÓN DE REACTIVADORES DE ACETILCOLINESTERASA

**IMPACT OF ORGANOPHOSPHATE PESTICIDES ON HUMAN
HEALTH: SYNTHESIS STRATEGIES AND EVALUATION OF
ACETYLCHOLINESTERASE REACTIVATORS**

María Fernanda Martínez Hernández
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México

Jacqueline Jiménez Hernández
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México

Jorge Rigoberto Juárez Posadas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México

Victor Gomez-Calvario
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México

Andrea Sosa-Barrios
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México

Impacto de los Plaguicidas Organofosforados en la Salud Humana: Estrategias de Síntesis y Evaluación de Reactivadores de Acetilcolinesterasa

María Fernanda Martínez Hernández¹

mh224470035@alm.buap.mx

<https://orcid.org/0000-0002-1513-6272>

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Facultad de Ciencias Químicas
México

Jorge Rigoberto Juárez Posadas

jorge.juarez@correo.buap.mx

<https://orcid.org/0000-0002-2553-5285>

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Instituto de Ciencias
México

Andrea Sosa-Barrios

sb224470037@alm.buap.mx

<https://orcid.org/0009-0006-1099-8478>

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Instituto de Ciencias
México

Jacqueline Jiménez Hernández

jacqueline.jimenez@correo.buap.mx

<https://orcid.org/0000-0002-0316-2721>

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Facultad de Ciencias Químicas
México

Victor Gomez-Calvario

victor.gomez@correo.buap.mx

<https://orcid.org/0000-0002-5644-7114>

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Facultad de Ciencias Químicas
México

RESUMEN

El uso de plaguicidas organofosforados ha desempeñado un papel importante en la agricultura, facilitando el control de plagas y aumentando la producción de alimentos. Sin embargo, la falta de selectividad de estos compuestos puede provocar daños colaterales en otros organismos, incluidos los seres humanos. La contaminación por organofosforados es preocupante, ya que puede causar neurotoxicidad e incluso la muerte. Esta neurotoxicidad se debe a la acumulación de acetilcolina, un neurotransmisor que, debido a la acción de los plaguicidas, no puede unirse a la enzima acetilcolinesterasa, provocando su inhibición, generando una sobreactividad en los tejidos, músculos y el sistema nervioso en general. Esta sobreactividad puede desencadenar una crisis colinérgica, ocasionando un fallo multiorgánico que, sin tratamiento oportuno, resulta en la muerte del individuo. Por lo tanto, es crucial investigar la síntesis de reactivadores de la acetilcolinesterasa para contrarrestar la actividad de estos plaguicidas y mejorar la calidad de vida de las personas expuestas. En este estudio se desarrollan compuestos reactivadores de la acetilcolinesterasa, obtenidos mediante una metodología sintética y evaluados *in silico* a través de docking molecular para explorar su posible actividad biológica.

Palabras clave: acetilcolinesterasa, acoplamiento molecular, síntesis orgánica, reactivador-inhibidor, organofosforado

¹ Autor principal

Correspondencia: jacqueline.jimenez@correo.buap.mx

Impact of Organophosphate Pesticides on human Health: Synthesis Strategies and Evaluation of Acetylcholinesterase Reactivators

ABSTRACT

The use of organophosphate pesticides has been fundamental to agriculture, facilitating pest control and increasing food production. However, the lack of selectivity of these compounds can cause collateral damage to other organisms, including humans. Organophosphate contamination is of concern because it can cause neurotoxicity and even death. This neurotoxicity results from the accumulation of acetylcholine, a neurotransmitter that cannot bind to the enzyme acetylcholinesterase due to the action of pesticides, resulting in enzyme inhibition, leading to hyperactivity in tissues, muscles, and the nervous system in general. This hyperactivity can lead to a cholinergic crisis, resulting in multiple organ failure and, if not treated in time, death. Therefore, it is crucial to study the synthesis of acetylcholinesterase reactivators to counteract the activity of these pesticides and improve the quality of life of exposed individuals. In this study, acetylcholinesterase reactivator compounds are developed using a synthetic methodology and evaluated *in silico* via molecular docking to explore their potential biological activity.

Keywords: acetylcholinesterase, molecular docking, organic synthesis, reactivator/inhibitor, organophosphate

*Artículo recibido 02 noviembre 2024
Aceptado para publicación: 28 noviembre 2024*

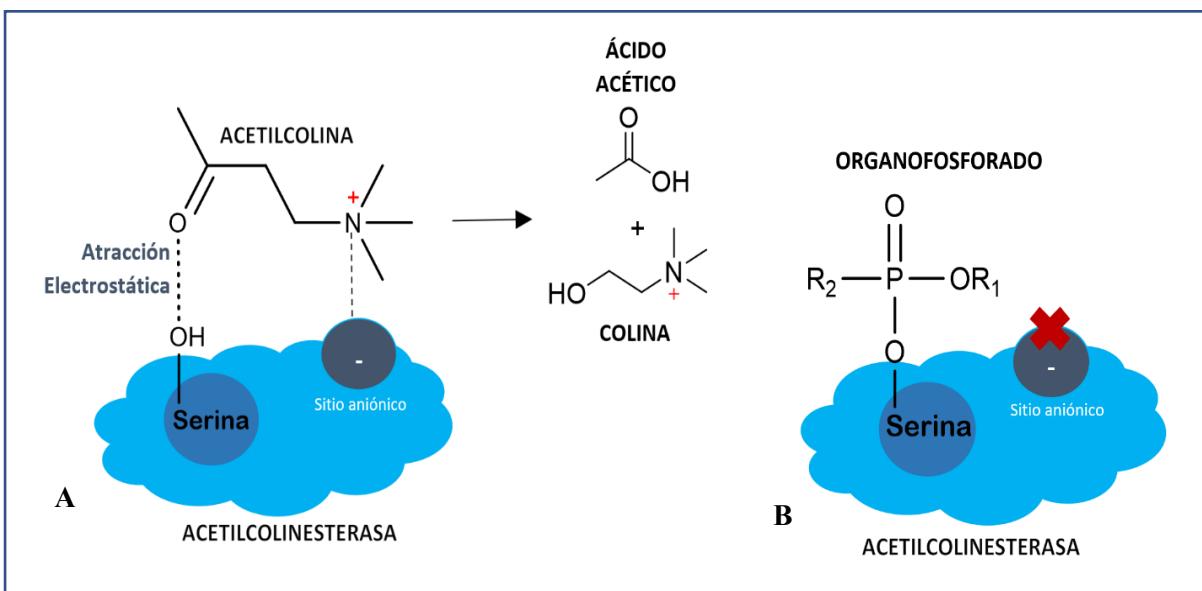


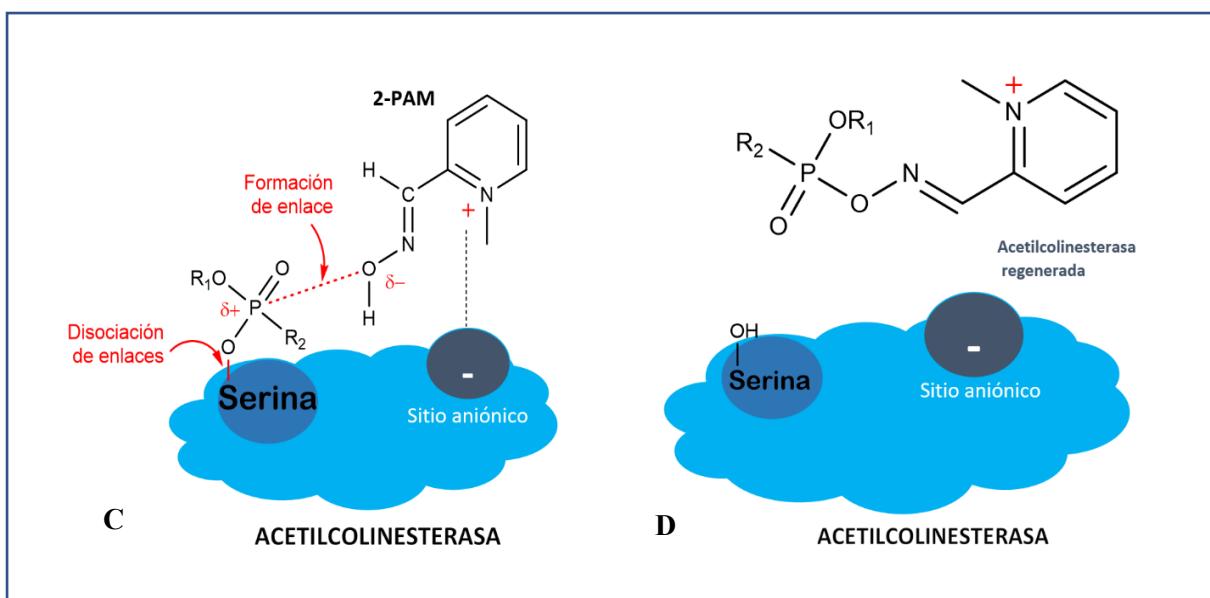
INTRODUCCIÓN

Según datos de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural en México, Puebla se posiciona en el duodécimo lugar a nivel nacional en producción agropecuaria, con un volumen cercano a los nueve millones de toneladas. De esta cifra, el 84.6% corresponde a la producción de maíz en grano y caña de azúcar. (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2022). En cuanto al control de plagas, las familias de pesticidas de uso más común son los organofosforados y los carbamatos (Mdeni, Adeniji , Okoh, & Okoh, 2022).

El uso indiscriminado de pesticidas organofosforados genera efectos severos; entre ellos, el metil paratión (MPT), malatión, paraoxón y clorpirifos actúan como inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) en humanos, lo que causa una acumulación de acetilcolina (ACh). Esta acumulación conduce a una crisis colinérgica que, sin tratamiento oportuno, puede ser fatal (Moore, Yedjou, & Tchounwou, 2010). Los reactivadores de acetilcolinesterasa son esenciales en el tratamiento de la neurotoxicidad causada por estos compuestos, ya que ayudan a descomponer el exceso de acetilcolina, restaurando su funcionalidad normal. El proceso de inhibición y reactivación se ilustra en la Imagen 1 (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2010).

Imagen 1. Proceso de inhibición y reactivación





- A. Función Normal AChE.** La molécula de acetilcolina, cargada positivamente, es atraída al sitio aniónico de la acetilcolinesterasa, donde se cataliza su hidrólisis, generando colina y ácido acético.
- B. Función con la intervención de un Inhibidor de AChE.** El átomo de fósforo, con carga parcialmente positiva, es atraído hacia el residuo de serina en la acetilcolinesterasa, que tiene carga parcialmente negativa, formando un enlace estable que impide la hidrólisis de la acetilcolina.
- C. Función con la intervención de un Reactivador de AChE.** El nitrógeno del reactivador, con carga positiva, es atraído al sitio aniónico de la acetilcolinesterasa, facilitando la liberación del inhibidor del sitio activo y restaurando la función de la enzima.
- D. Acetilcolinesterasa Regenerada.** La función de la acetilcolinesterasa se restablece, recuperando su actividad normal.

La síntesis de compuestos antagonistas de organofosforados representa una prioridad en el ámbito de la química médica y farmacéutica, debido a su potencial para contrarrestar los efectos tóxicos de ciertos pesticidas y agentes neurotóxicos (Richardson, Fitsanakis, Westerink , & Kanthasamy, 2019). En este contexto, la reacción de Mannich (Mannich, 1912) se convierte en una herramienta fundamental para la obtención de compuestos β -aminocarbonílicos, esenciales en la construcción de estructuras químicas con propiedades biológicas significativas. Este proceso permite no solo la formación de enlaces carbono-carbono, sino también la introducción de grupos funcionales nitrogenados en una sola etapa, optimizando así la síntesis de moléculas complejas.

Estos grupos nitrogenados son cruciales para modificar y potenciar la actividad biológica de los compuestos, ya que mejoran su afinidad y selectividad en la interacción con blancos biológicos específicos.

De esta manera, la reacción de Mannich no solo facilita la síntesis eficiente de antagonistas de organofosforados, sino que también permite el diseño de nuevas estructuras que puedan servir como agentes protectores en entornos vulnerables a la exposición química. Esto resalta la importancia de explorar y perfeccionar métodos sintéticos que puedan dar respuesta a desafíos médicos y ambientales emergentes.

La síntesis de antagonistas de organofosforados mediante herramientas como la reacción de Mannich es solo una parte del proceso; para maximizar su efectividad, es esencial comprender y predecir cómo estas moléculas interactuarán con sus blancos biológicos. En este sentido, el *docking* molecular se convierte en una técnica de gran importancia, ya que permite modelar las interacciones entre los compuestos sintetizados y las enzimas u otros objetivos biológicos, proporcionando información crucial sobre la afinidad y el modo de unión de las moléculas (Xuan-Yu, Hong-Xing, Mihaly, & Cui, 2011). Realizar el estudio de modelado molecular en la búsqueda de nuevos antagonistas de organofosforados permite identificar modificaciones estructurales que pueden optimizar la actividad inhibitoria y selectividad de los compuestos sintetizados.

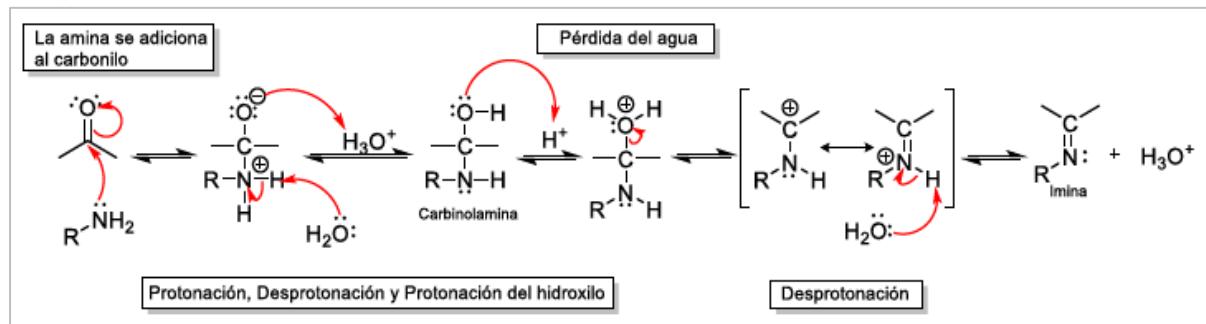
En este trabajo se investigó la actividad biológica de diversos compuestos β -aminocarbonílicos, obtenidos a través de una reacción de tipo Mannich, mediante análisis de acoplamiento molecular (*docking*). El objetivo de esta investigación es evaluar el potencial de estos compuestos como reactivadores de la enzima acetilcolinesterasa, con el propósito de contrarrestar los efectos nocivos derivados de la exposición a compuestos organofosforados.

METODOLOGÍA

Se realizó una reacción de Mannich empleando distintos sustituyentes. La reacción comienza con un aldehído, un catalizador y una imina preformada (Imagen 2), catalizada en medio ácido. La síntesis de la imina se lleva a cabo al hacer reaccionar un compuesto carbonílico con una amina, con la posible adición de un agente azeotrópico para favorecer la eliminación del agua generada en la reacción (Wade, 2011).

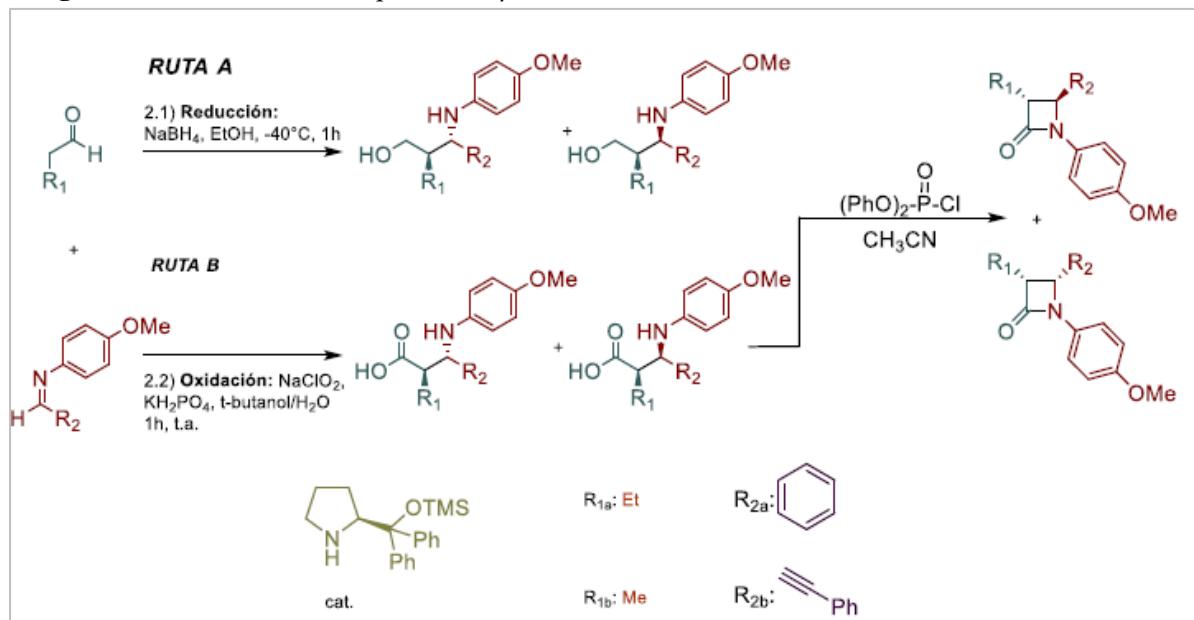


Imagen 2. Preformación de la imina.



El producto se sometió ya sea a una reducción (Ruta A) o a una oxidación (Ruta B) (Imagen 3). En la Ruta A, se realiza una reducción *in situ* utilizando NaBH₄ en etanol, obteniéndose el correspondiente β-aminoalcohol (Martínez Hernández, Jiménez Hernández, & Juárez Posadas, 2023).

Imagen 3. Rutas de síntesis de productos β-aminocarbonílicos.

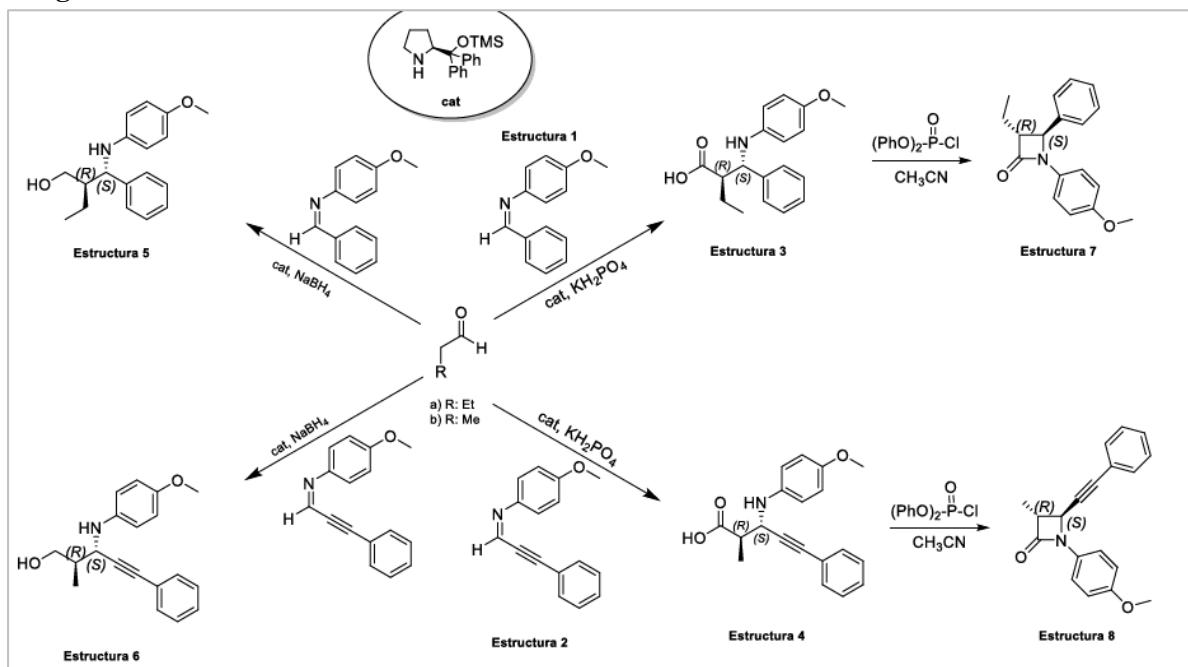


En la Ruta B, se lleva a cabo una oxidación *in situ* de los aductos de Mannich, con el fin de generar los correspondientes ácidos carboxílicos. Al concluir la Ruta B, en una última etapa, se realiza una reacción de ciclación a partir de los ácidos carboxílicos para obtener β-lactamas ópticamente activas, las cuales pueden tener actividad biológica, farmacéutica y bioquímica. La comprobación de su obtención se realizó mediante diversas técnicas espectroscópicas.

La evaluación biológica de los intermediarios y productos de reacción frente a diversas proteínas se llevó a cabo utilizando acoplamiento molecular (*docking*). El análisis comenzó con una búsqueda en SciFinder de las ocho estructuras objetivo presentadas en la Imagen 4, con el propósito de obtener

información sobre sus actividades biológicas y posibles sitios de unión. Las estructuras teóricas se optimizaron en MOE (Molecular Operating Environment) para minimizar su energía y, finalmente, se acoplaron con proteínas cribadas de la base de datos PDB (Protein Data Bank).

Imagen 4. Estructuras involucradas en la reacción de Mannich



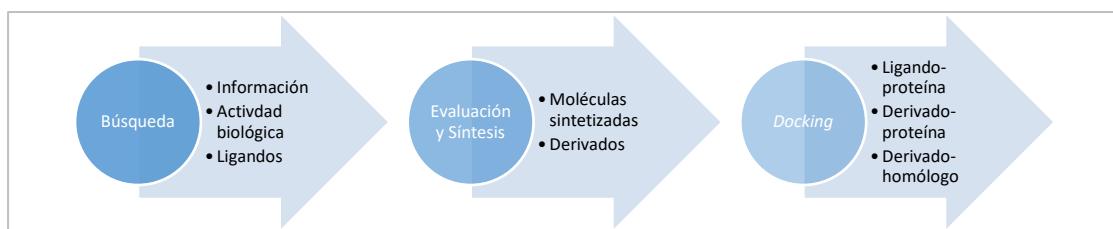
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluaron las proteínas seleccionada con diez estructuras derivadas de la síntesis. En caso de que la proteína presentara valores de energía de acoplamiento buenos a excelentes, se procedió a buscar sus homólogos utilizando la herramienta BLAST del NCBI. Además, se empleó el programa Way2Drug, el cual ofrece una extensa información sobre la actividad biológica documentada en la literatura para estructuras similares, recopilando datos sobre las actividades reportadas de proteínas similares y proporcionando una probabilidad de coincidencia con las estructuras investigadas.

En la base de datos PDB se seleccionaron las 20 mejores actividades candidatas para identificar las proteínas que podrían contribuir, considerando factores como los valores de difracción de rayos X y el organismo en el que se expresa la proteína. Las proteínas seleccionadas cumplen diversas funciones, destacando entre ellas los neuroreceptores (McGuire, y otros, 2021), agentes antiproliferativos (Çankaya & Yalçın, 2022), desacetilasas (Blander & Guarente, 2004), canales iónicos (Morgenstern & Colecraft, 2021) y receptores de estrógeno (Kumar, y otros, 2011).

El análisis de *docking* se realizó en el programa Molecular Operating Environment (MOE), donde se visualizaron las interacciones entre las estructuras y las proteínas. Posteriormente, se identificaron los valores de energía que mostraban la afinidad más baja en comparación con el ligando original, lo cual es indicativo de un mejor acoplamiento y, por lo tanto, de una mayor probabilidad de que estas estructuras actúen como sustituyentes optimizados para la actividad deseada (Imagen 5).

Imagen 5. Esquema general para realizar un *docking* molecular



Se identificaron nueve proteínas con actividades biológicas, 6WUY, 5HFA, 6NTO destacan como excelentes candidatas para ser proteínas blanco como reactivadores de acetilcolinesterasas, tal como se muestra en la Tabla 1.

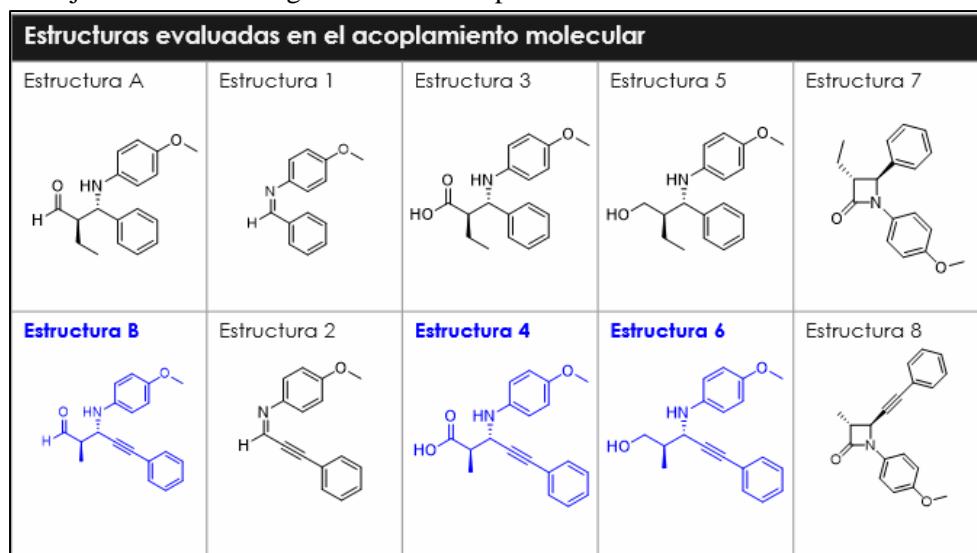
Tabla 1. Energías resultantes de los acoplamientos realizados en Kcal/mol.

Proteína	Ligando	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	EA	EB
2HI4	BHF	-7.17	-7.95	-8.84	-8.96	-8.66	-8.93	-8.35	-8.05	-8.88	-8.77
2HI4	HEM	-7.05	-7.57	-8.33	-8.91	-8.71	-9.02	-8.17	-8.61	-8.34	-9.12
2HI4	HEM-BHF	-7.26	-8.62	-8.49	-8.95	-8.35	-8.94	-8.49	-8.73	-8.44	-9.15
3RUK	HEM-AER	-6.37	-6.83	-7.95	-8.08	-7.59	-8.14	-7.46	-7.91	-7.95	-8.21
3RUK	AER	-6.33	-6.95	-7.83	-8.11	-7.51	-7.93	-7.4	-7.87	-7.4	-7.97
2R24	NAP	-6.55	-6.85	-7.22	-8.43	-6.82	-8.39	-7.1	-8.04	-7.4	-8.42
2R24	LDT	-6.61	-6.6	-7.54	-8.07	-7.46	-7.79	-7.27	-7.82	-7.71	-8.05
6WUY	HI6	-6.36	-6.74	-7.34	-8.02	-7.37	-7.82	-7.38	-7.38	-7.89	-7.87
5HFA	FPI	-6.57	-6.92	-7.54	-7.68	-7.66	-7.63	-7.35	-7.65	-7.66	-7.63
4PNR	G18	-6.2	-6.57	-7.47	-7.82	-7.42	-7.62	-7.56	-7.39	-7.35	-7.79
7E3H	E20	-5.81	-6.63	-7.38	-7.81	-7.37	-7.55	-7.47	-7.59	-7.53	-7.85
6AJV	HCC	-6.15	-6.86	-6.97	-7.64	-6.99	-7.57	-7.16	-7.51	-7.09	-7.64
6NTO	L2Y	-5.92	-6.65	-7.36	-7.52	-7.19	-7.5	-6.97	-7.18	-7.5	-7.6

También se descubrió que estas estructuras presentan actividades en diferentes citocromos como son 2HI4 en el citocromo P450 1A2 (Sansen, y otros, 2007) y 3RUK en el citocromo 17A1 (DeVore & Scott, 2012)

Los acoplamientos realizados muestran que, entre las estructuras propuestas para la posible actividad biológica, las que presentan mejores valores son aquellas con grupos propargílico y metilo como sustituyentes (Tabla 2).

Tabla 2. Las moléculas con mayor afinidad por las proteínas se muestran en color azul, lo que sugiere la mejor actividad biológica reactivadora posible.



Entre las proteínas identificadas, aquellas que muestran una interacción más destacada con los ligandos se presentan en las siguientes imágenes. En particular, se incluyen las proteínas con funciones inhibitorias de la acetilcolinesterasa, que interactúan con diferentes ligandos como 6WUY (McGuire, y otros, 2021) (Imagen 6), 5HFA (Franklin, Rudolph, Ginter, Cassidy , & Cheung , 2016) (Imagen 7), 6NTO (Height, y otros) (Imagen 8), e incluso aldosas reductasas como 2R24 (Blakeley MP, 2008).

Imagen 6. Ejemplos de acoplamientos estructura – aminoácidos de la proteína 6WUY.

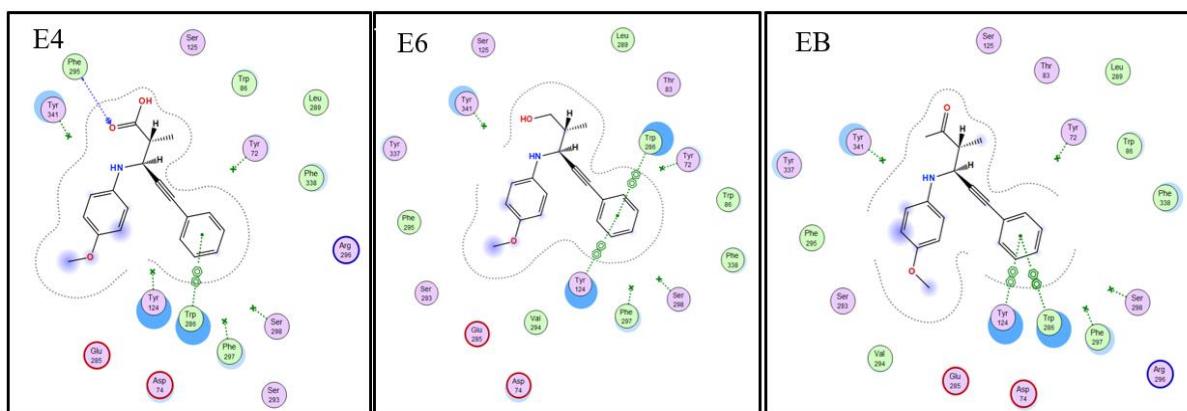


Imagen 7. Ejemplos de acoplamientos estructura – aminoácidos de la proteína 5HFA.

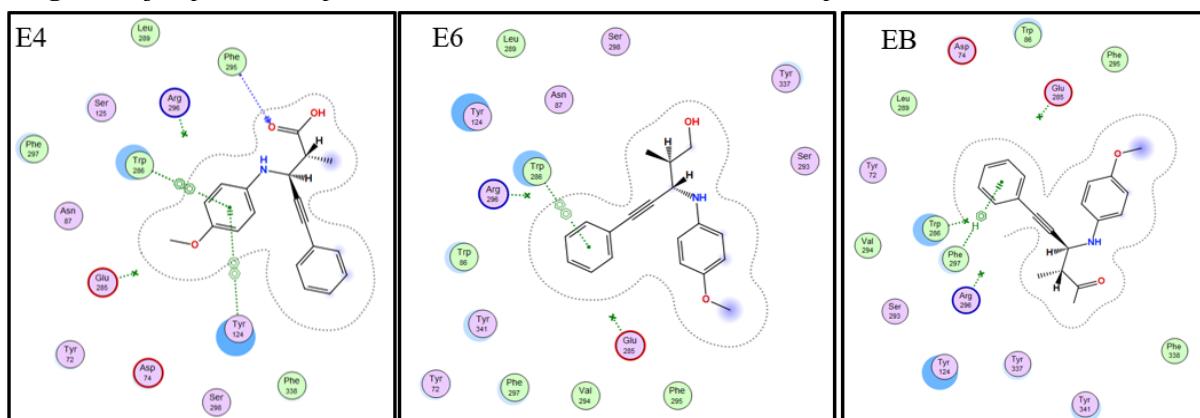
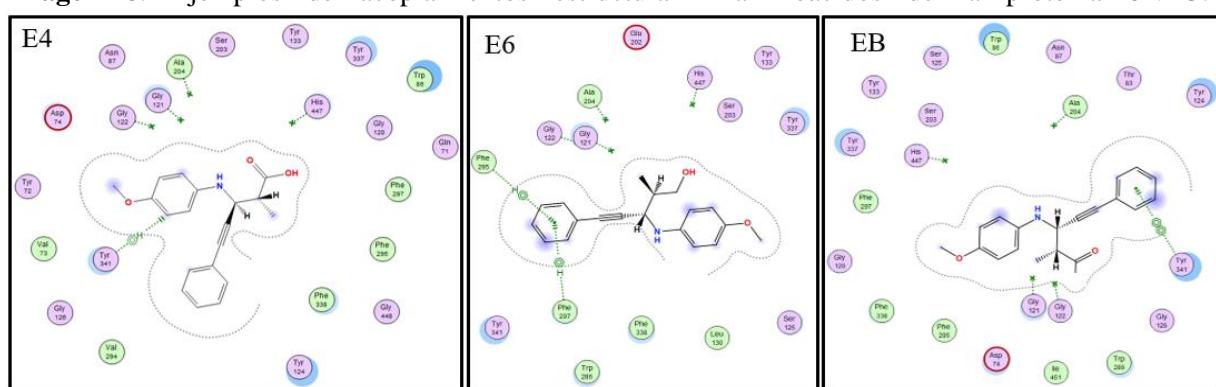


Imagen 8. Ejemplos de acoplamientos estructura – aminoácidos de la proteína 6NTO.



CONCLUSIONES

Para la obtención de la molécula reactivadora de AChE, se sintetizó una imina que fue empleada en la reacción de Mannich. Se optimizaron diez moléculas involucradas en la reacción de Mannich, de las cuales las estructuras **B**, **4** y **6** (Tabla 2) mostraron los mejores resultados en más de 100 acoplamientos, destacando por su interacción con ligandos que presentan funciones reactivadoras de las acetilcolinesterasas 5HFA, 6WUY y 6NTO. Asimismo, se identificaron posibles nuevas actividades biológicas para las moléculas sintetizadas, incluyendo su participación en la actividad de los citocromos 2HI4 y 3RUK, así como en la actividad de la aldosa reductasa 2R24, entre otras.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2010). *Part 2: What are cholinesterase inhibitors?*

Obtenido de Cholinesterase Inhibitors: Including Insecticides and Chemical Warfare Nerve Agents: <https://www.atsdr.cdc.gov/csem/cholinesterase-inhibitors/inhibitors.html>

- Blakeley MP, R. F.-S. (2008). Quantum model of catalysis based on a mobile proton revealed by subatomic x-ray and neutron diffraction studies of h-aldose reductase. *PNAS*, 1844-1848.
- Blander, G., & Guarente, L. (2004). The Sir2 family of protein deacetylases. *Annual Review of Biochemistry*, 417-435.
- Çankaya, N., & Yalçın, S. (2022). Antiproliferative activity and interaction with proteins of N-cyclohexylacrylamide. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 101670.
- DeVore, N., & Scott, E. (2012). CYTOCHROME P450 17A1 STRUCTURES WITH PROSTATE CANCER DRUGS ABIRATERONE AND TOK-001. *Nature*, 116–119.
- Franklin, M., Rudolph, M., Ginter, C., Cassidy , M., & Cheung , J. (2016). Structures of paraoxon-inhibited human acetylcholinesterase reveal perturbations of the acyl loop and the dimer interface. *Proteins*, 1246-56.
- Height, J., Bester, S., Guelta, M., Bae, S., Cheung, J., & Pegan, S. (s.f.). Insights into inhibition of human acetylcholinesterase by Novichok, A-series Nerve Agents.
- Kumar, R., Zakharov, M., Khan, S., Miki, R., Jang, H., Toraldo, G., . . . Jasuja, R. (2011). The dynamic structure of the estrogen receptor. *Journal of Amino Acids*, 812540.
- Mannich, C. (1912). Über Morphinglucosid. *Chemistry Europe*, 223-228.
- Martínez Hernández, M. F., Jiménez Hernández, J., & Juárez Posadas, J. (2023). *Síntesis asimétrica catalítica aplicada a reacciones de condensación*. Puebla: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- McGuire, J., Bester, S., Guelta, M., Cheung, J., Langley, C., Winemiller, M., . . . Height, J. (2021). Structural and Biochemical Insights into the Inhibition of Human Acetylcholinesterase by G-Series Nerve Agents and Subsequent Reactivation by HI-6. *Chemical Research in Toxicology*, 804-816.
- Mdeni, N. L., Adeniji , A. O., Okoh, A. I., & Okoh, O. O. (2022). Analytical Evaluation of Carbamate and Organophosphate Pesticides in Human and Environmental Matrices: A Review. *Molecules*, 618. Obtenido de IFAS EXTENTION: <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/PI242>
- Moore, P., Yedjou, C., & Tchounwou, P. (2010). Malathion-Induced Oxidative Stress, Cytotoxicity and Genotoxicity in Human Liver Carcinoma (HepG2) Cells. *Environ Toxicol*, 221-226.



Morgenstern, T., & Colecraft, H. (2021). Chapter Six - Controlling ion channel trafficking by targeted ubiquitination and deubiquitination. En D. Minor, & H. Colecraft, *Methods in Enzymology* (págs. 139-167). Estados Unidos: Academic Press.

Richardson, J., Fitsanakis, V., Westerink , R., & Kanthasamy, A. (2019). Neurotoxicity of Pesticides. *Acta Neuropathol*, 343–362.

Rural, S. d. (5 de mayo de 2022). *Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural*. Obtenido de Producción agropecuaria y pesquera de Puebla: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/produccion-agropecuaria-y-pesquera-de-puebla>

Sansen, S., Yano, J., Reynald, R., Schoch, G., Griffin , K., Stout, C., & Johnson, E. (2007). Adaptations for the oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons exhibited by the structure of human P450 1A2. *J Biol Chem*, 14348-55.

Wade, L. (2011). *Química Orgánica* (Séptima ed., Vol. 1). (M. A. Lanto Arriola, & V. González y Pozo, Trads.) México: PEARSON EDUCACIÓN.

Xuan-Yu, M., Hong-Xing, Z., Mihaly, M., & Cui, M. (2011). Molecular Docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, 146-157.

