

Pralidoxima: revisão sobre sua síntese e propriedades antidotais contra agentes neurotóxicos de guerra

Pedro Augusto Gomes Buitrago^{1*}, Samir Frontino de Almeida Cavalcante¹, Valdir Florêncio da Veiga Júnior¹.

¹Instituto de Defesa Química, Biológica, Radiológica e Nuclear; Centro Tecnológico do Exército; Instituto Militar de Engenharia

Avenida das Américas, 28705, CEP 23020-470, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Praça General Tibúrcio, 80, CEP 222290-270, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

*pedro@ime.eb.br

RESUMO: A acetilcolinesterase (AChE), enzima presente nos sistemas nervosos central (SNC) e periférico, é estudada em pesquisas relacionadas à doença de Alzheimer e à doença de Parkinson. Os inibidores de AChE podem ser naturais ou sintéticos, como os organofosforados desenvolvidos para o uso como armas químicas ou pesticidas, sendo estes menos tóxicos. A inibição por organofosforados ocorre irreversivelmente através da formação de uma ligação entre o átomo de fósforo e a hidroxila do resíduo de serina presente no sítio ativo da AChE. Com isso, a AChE perde sua capacidade de cumprir sua função fisiológica nas transmissões colinérgicas, podendo levar à parada respiratória e morte. Os reativadores de AChE, devido ao seu forte caráter nucleofílico, conseguem romper a ligação entre o resíduo de serina e o aduto, restabelecendo a atividade enzimática. Este trabalho aborda diferentes metodologias sintéticas e propriedades biológicas da pralidoxima, o primeiro reativador de AChE empregado clinicamente.

PALAVRAS-CHAVE: Acetilcolinesterase. Antídoto. Oxima. Organofosforado. Pralidoxima. Reativador Quaternário.

ABSTRACT: Acetylcholinesterase (AChE) is an enzyme in the central and peripheral nervous systems that has been studied in fields of research such as that for Alzheimer's and Parkinson's diseases. AChE inhibitors may be either natural or synthetic, which is the case of the organophosphorus compounds, developed as chemical weapons or pesticides, the latter of which is less toxic. The inhibition of organophosphorus is irreversible and is carried out by binding the phosphorus atom to the hydroxyl group of the serine residue within the active site of the AChE, thus preventing AChE from fulfilling its physiological task in cholinergic transmissions, possibly leading to respiratory failure and death. Due to their strong nucleophilic character, AChE reactivators can cleave the bond between the serine residue and the adduct, reestablishing enzymatic activity. This study describes the biological properties and the diverse synthetic methods for pralidoxime, the first AChE reactivator clinically applied.

KEYWORDS: Acetylcholinesterase. Antidote. Oxime. Organophosphorus. Pralidoxime. Quaternary reactivator.

1. Introdução

1.1 Estrutura e função da acetilcolinesterase e acetilcolina

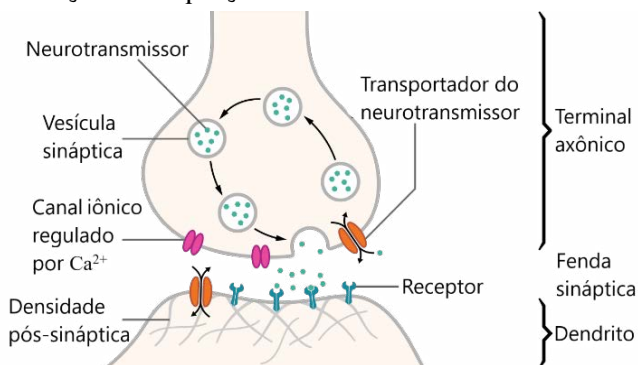
A acetilcolinesterase (AChE; E.C. 3.1.1.7) é uma enzima da classe das hidrolases, responsáveis pela hidrólise de ésteres de ácidos carboxílicos [1], cujo sítio ativo é composto por uma tríade catalítica contendo resíduos de serina, histidina e glutamato, sendo o resíduo de serina o responsável pelo ataque ao éster carboxílico [2]. Sua atuação ocorre nos sistemas nervosos central e periférico, bem como nas junções neuromusculares em que, em conjunto com os receptores de acetilcolina (ACh)

muscarínicos e nicotínicos, a AChE regula a transmissão de impulsos elétricos (potenciais de ação) ao longo das sinapses neuromusculares. A função fisiológica da AChE é a hidrólise do neurotransmissor ACh, pondo fim aos potenciais de ação gerados pelo estímulo aos receptores colinérgicos. A enzima atua quando da liberação da ACh pelo neurônio pré-sináptico em resposta a um potencial de ação, impedindo o acúmulo do neurotransmissor na fenda sináptica (Fig. 1) [3]–[5].

A ACh é transportada ao longo da sinapse e, ao ligar-se aos seus receptores, leva, dentre outras respostas, a um influxo de íons K⁺ no processo nervoso pós-sináptico ou em uma célula muscular. Este processo dá início aos potenciais de ação na célula pós-

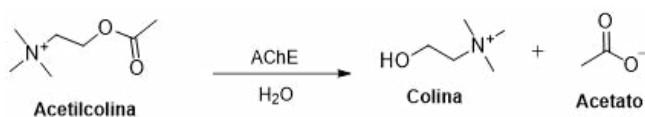
-sináptica, o qual é rapidamente cessado pela atuação da AChE ao hidrolisar a ACh em seus produtos de decomposição, colina e acetato (Fig. 2), os quais são utilizados para regenerar a ACh no nervo periférico [3, 4].

Fig. 1 - Estrutura de uma sinapse, em que ocorre a liberação e a captação de um neurotransmissor



Fonte: [6]

Fig. 2 - Hidrólise enzimática da acetilcolina em seus precursores: acetato e colina.



Fonte: elaborado pelos autores

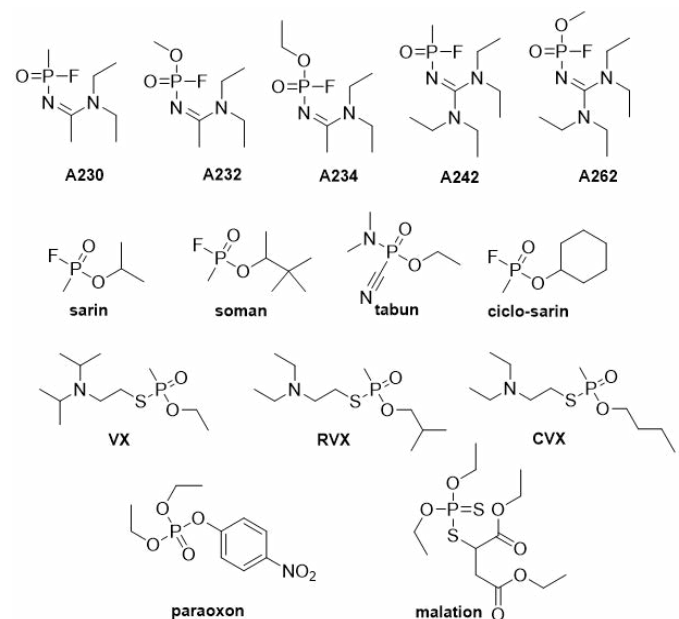
1.2 Inibição da acetilcolinesterase

A inibição da AChE provoca um acúmulo do neurotransmissor ACh na fenda pós-sináptica, levando à hiperestimulação dos receptores colinérgicos (muscarínicos e nicotínicos). Tal inibição pode ser reversível, sendo, portanto, temporária, como ocorre no caso das terapias para o tratamento da doença de Alzheimer (DA), em que inibidores reversíveis como donepezila, galantamina e rivastigmina são empregados, abordagem conhecida como “hipótese colinérgica” [7] mainly affecting older people. The unclear root cause and involvement of various enzymes in the pathological conditions confirm the complexity of the disease. Quantitative structure-activity relationship (QSAR).

No entanto, no caso de intoxicação por pesticidas (paraoxon, malation; Fig. 3) ou agentes neurotóxicos, a inibição ocorre de forma irreversível. Embora os pesticidas sejam menos tóxicos do que os agentes neurotóxicos, ambas as intoxicações podem levar ao mau funcionamento do sistema nervoso central (SNC) e de junções neuromusculares, podendo ser letal [8], [9].

Os agentes neurotóxicos são substâncias organofosforadas que podem ser divididas em três séries: a mais antiga, conhecida como série G (sarin, soman, tabun e ciclo-sarin, dentre outros), compostos dotados de volatilidade nas condições normais de temperatura e pressão; a série V (VX, RVX e CVX, por exemplo) (Fig. 3), mais persistente no ambiente [10] e.g. in Alzheimer's disease, Parkinson's disease, or in eco-toxicology as a biological marker. Many inhibitors of AChE have been identified in nature as well as prepared in chemical labs as a result of systematic synthetic efforts. The organophosphorus (OP; e a série A, cujas substâncias são conhecidas como Novichoks (Fig. 3) [11], acrescentada em junho de 2020 ao Anexo 1 da Convenção de Proibição de Armas Químicas (CPAQ) [12].

Fig. 3 - Estruturas dos agentes neurotóxicos das séries G, V e A e de exemplos de pesticidas

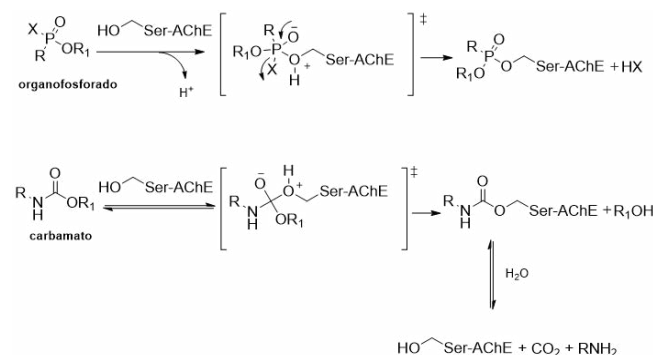


Fonte: elaborado pelos autores.

A inibição da AChE se dá pela formação de uma ligação covalente entre o organofosforado e a hidroxila do resíduo de serina no sítio ativo da enzima, o que impossibilita a interação da enzima com a molécula de ACh (Fig. 4). O acúmulo deste neurotransmissor resulta em hiperestimulação de receptores colinérgicos, falha da transmissão sináptica colinérgica, paralisia muscular e comprometimento do SNC. Tais efeitos perfazem a “síndrome colinérgica”, cujos sintomas representativos são a miose (contração pupilar), salivação excessiva, bradicardia, diarreia, êmese e broncoconstrição, causados pela hiperestimulação dos receptores muscarínicos; também causam convulsões, paralisia e disfunções musculares, provocadas pela hiperestimulação dos receptores nicotínicos. A ação nas junções neuromusculares da musculatura lisa do diafragma pode levar a morte por parada respiratória [13], [14].

A reação de inibição da AChE segue um mecanismo de adição e eliminação (Fig. 4), em que a hidroxila do resíduo de serina da AChE se liga ao sítio eletrofílico do inibidor, seguido da eliminação de um grupo de saída. No caso de inibidores irreversíveis, como organofosforados, o grupo de saída pode ser, por exemplo, um halogênio (fluoreto no caso de sarin e soman, Fig. 3) ou um cianeto (tabun, Fig. 3). No caso de inibidores reversíveis, como carbamatos, o grupo de saída é um alcóxido [8], [15], [16].

Fig. 4 - Reações da AChE com inibidores irreversíveis e reversíveis.



Fonte: elaborado pelos autores.

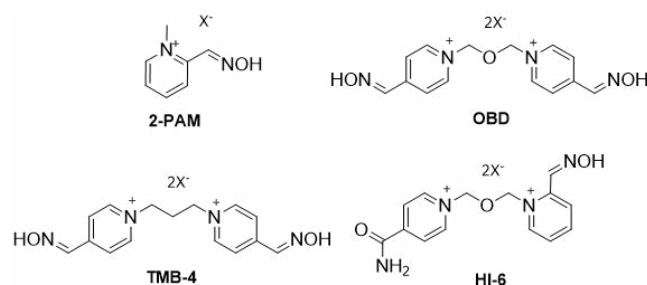
1.3 Reativação da acetilcolinesterase

Visando evitar a letalidade da intoxicação por organofosforados, a administração de medidas médi-

cas deve ser realizada o mais breve possível, principalmente nos casos em que a AChE pode sofrer um processo chamado de “envelhecimento”, situação na qual os antídotos disponíveis na clínica perdem sua capacidade de atuação, sendo o soman um dos agentes mais propensos a causar tal fenômeno. A rápida ação medicamentosa permite ainda a redução de riscos relacionados à problemas neurológicos que afligem vítimas de agentes neurotóxicos [17], [18]. Além de um agente antimuscarínico (atropina), o qual age antagonizando os efeitos do excesso de neurotransmissor na fenda sináptica, e de um anticonvulsivante (diazepam), faz-se essencial a administração de um antídoto reativador de AChE de maneira a reverter o quadro de intoxicação [19].

Os reativadores da AChE devem possuir um forte caráter nucleofílico para que sejam capazes de quebrar a forte ligação P-O entre o organofosforado e o resíduo de serina da tríade catalítica da AChE. Tal característica se faz presente nas oximas catiônicas derivadas de aldeídos piridínicos, única classe de substância empregada clinicamente no tratamento de intoxicação por agentes neurotóxicos, dentre as quais encontram-se disponíveis no mercado a pralidoxima (2-PAM), obidoxima (OBD), trimedoxima (TMB-4) e asoxima (HI-6) (Fig. 5) [20]–[23].

Fig. 5 - Reativadores clínicos de acetilcolinesterase (X: Cl⁻, I⁻, MsO⁻).

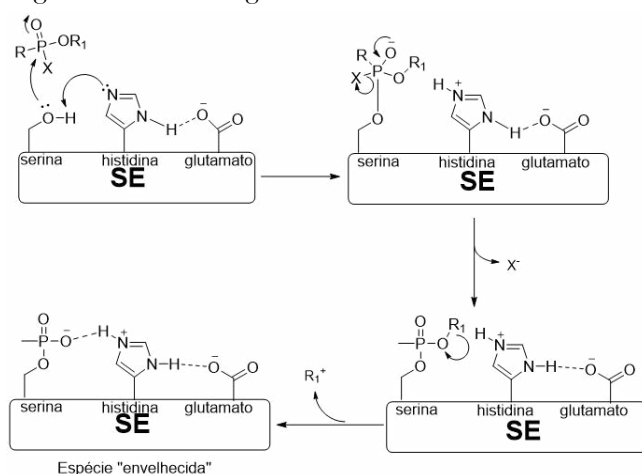


Fonte: elaborado pelos autores.

Apesar destas oximas serem empregadas em clínica, elas têm limitações como elevada toxicidade, restringindo sua dosagem ao paciente, e espectro limitado de atuação contra organofosforados estru-

turalmente distintos, não havendo ainda uma oxima de amplo espectro de reativação [13]. Outras limitações incluem a sua baixa penetração da barreira hematoencefálica em virtude de seu caráter catiônico e a impossibilidade de reativar a forma “envelhecida” de AChE, causada pela desproporção do aduto enzimático formado. O processo de “envelhecimento” consiste na desalquilação do aduto fosforado da AChE inibida (Fig. 6). De forma a melhorar o espectro de reativação das oximas clínicas atuais, pode-se combinar uma ou mais delas em caso de AChE inibida por diferentes agentes neurotóxicos [24], [25].

Fig. 6 - Mecanismo de inibição da AChE por um organofosforado seguido de seu envelhecimento.



Fonte: elaborado pelos autores.

2. Pralidoxima – propriedades e síntese

2.1 Propriedades biológicas

A 2-PAM, sintetizada nos Estados Unidos em 1955 [20], foi a primeira molécula capaz de reativar a AChE inibida por organofosforado a encontrar aplicação clínica. Por se tratar de uma oxima catiônica, ela é encontrada na forma de um sal, podendo estar associada aos ânions cloreto, iodeto, metilsulfato ou mesilato. A 2-PAM é empregada não só pelo Exército Brasileiro, mas também pelos exércitos dos Estados

Unidos, França e Reino Unido, além de estar listada no RENAME (Relação Nacional de Medicamentos Essenciais) do Ministério da Saúde [10], [26], [27] e.g. in Alzheimer's disease, Parkinson's disease, or in ecotoxicology as a biological marker. Many inhibitors of AChE have been identified in nature as well as prepared in chemical labs as a result of systematic synthetic efforts. The organophosphorus (OP).

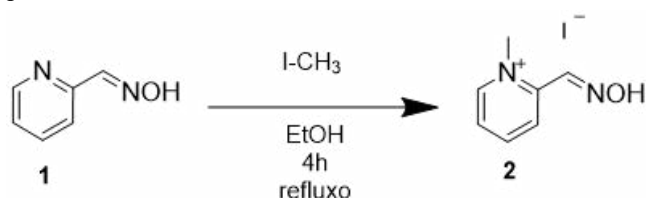
A pralidoxima demonstrou eficácia na reativação da AChE inibida por sarin ou VX, especialmente quando combinada com atropina [28], [29], porém não é adequada na reativação da enzima inibida por tabun ou soman [30], o que reitera a ausência de um “antídoto universal” [13]. Outra limitação deste reativador reside em sua baixa taxa de penetração da barreira hematoencefálica, dada pela presença de um nitrogênio positivamente carregado. Sakurada e colaboradores [31] determinaram que tal taxa seja de aproximadamente 10%, porém estudos posteriores sugerem que este valor esteja superestimado [32]. Esta limitação farmacocinética é comum a todos os reativadores de AChE disponíveis em clínica, o que propulsiona a pesquisa de novos compostos cada vez mais ativos e eficientes para reativação do SNC.

A administração da 2-PAM em humanos a uma dose de 10 mg/kg levou a concentrações maiores do que $4 \mu\text{g/ml}$ no plasma sanguíneo em menos de 10 minutos, o que se manteve pelos 50-55 minutos subsequentes em decorrência de sua elevada estabilidade em água [33], [34]. O emprego deste reativador pode incluir efeitos colaterais como tontura, visão embaçada, diplopia (visão dupla), náusea e dores de cabeça [33], [35].

2.2 Metodologias sintéticas para a pralidoxima

Green e colaboradores [36] descreveram, em 1956, uma síntese do iodeto de pralidoxima (**2**) na qual reagiu-se 2-piridinaldoxima (**1**) com iodeto de metila em etanol sob refluxo durante 4 horas (Fig. 7). O grupo de pesquisa também apresentou uma possível interação entre oximas e o agente neurotóxico sarin. O rendimento da reação não foi reportado no artigo.

Fig. 7 - Síntese do iodeto de pralidoxima proposta por Green.

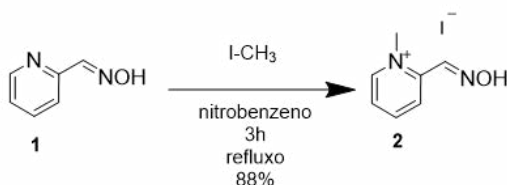


Fonte: elaborado pelos autores.

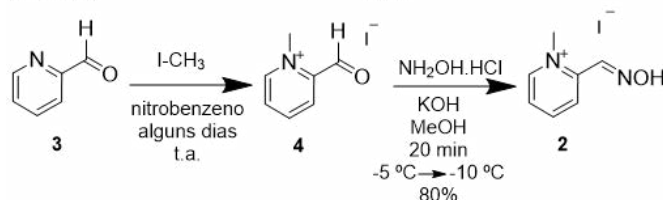
Em 1957, Ginsburg e colaboradores [37] descreveram a síntese da pralidoxima e de diversos outros derivados desta. Para a síntese do iodeto de pralidoxima, três rotas sintéticas diferentes foram apresentadas (Fig.8).

Fig. 8 - Três diferentes rotas sintéticas para o iodeto de pralidoxima apresentadas por Ginsburg.

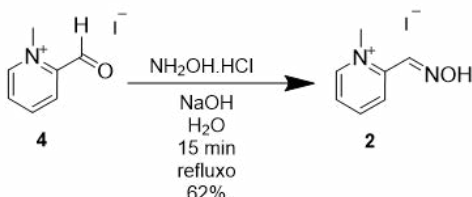
Método 1:



Método 2:



Método 3:



Fonte: elaborado pelos autores.

No 1º método, **1** reage com excesso de iodeto de metila em nitrobenzeno por 3h com refluxo, formando **2** com um rendimento de 88% (Fig.8) [37].

Em seguida no 2º método, reagiu-se 2-piridina-carboxaldeído (**3**) com excesso de iodeto de metila em nitrobenzeno com agitação durante alguns dias a temperatura ambiente. O produto obtido (iodeto de

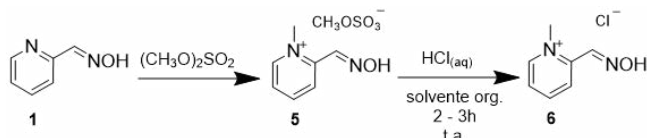
2-formil-1-metil piridínio, **4**) foi precipitado utilizando-se acetona. Na etapa seguinte, **4** foi adicionado a uma solução metanólica de cloridrato de hidroxilamina e hidróxido de potássio a -5 °C e deixado sob agitação por 20 minutos enquanto a temperatura reduzia até -10 °C. O produto foi precipitado em éter dietílico, obtendo-se 80% de rendimento (Fig. 8).

No 3º método, reagiu-se **4** com excesso de cloridrato de hidroxilamina em água por 15 minutos sob refluxo seguido de um ajuste de pH a uma faixa de 6-7 usando-se uma solução de hidróxido de sódio. A oxima foi recristalizada por metanol ou etanol, chegando-se a um rendimento de 62% (Fig.8).

Em 1964, uma rota inovadora foi proposta por Bloch para a síntese do cloreto de pralidoxima (**6**) [38]. Anteriormente, **6** era sintetizado a partir da reação de uma solução de **2** com cloreto de prata sólido. Então o iodeto de prata formado era filtrado e a solução aquosa evaporada até a secar a baixas temperaturas. A desvantagem deste método estava nos traços de prata remanescentes no produto, difíceis de se remover, e no fato de se utilizar um reagente caro, o cloreto de prata. Outro método de conversão do iodeto de pralidoxima no cloreto envolvia o uso de uma resina de troca aniônica, porém este método era caro e não muito prático, pois a regeneração da resina saturada de iodeto era difícil e, assim como no método anterior, também era necessário a evaporação de grandes volumes de água a baixas temperaturas. Também era feita a quaternarização direta de **1** com cloreto de metila em um reator de pressão, porém o rendimento obtido era baixo e eram necessárias sucessivas recristalizações para se alcançar uma pureza aceitável [38]. Tendo conhecimento de tais desvantagens, Bloch propôs uma metodologia sintética em que se passaria por uma etapa intermediária formando-se metilsulfato de pralidoxima (**5**) através da reação de **1** com sulfato de dimetila. A molécula **5** era então convertida em cloreto ao reagir com ácido clorídrico concentrado e um solvente orgânico miscível em água (Fig. 9). Os solventes testados foram isopropanol (rendimento de 85%), metanol (30%), etanol absoluto (70%), isobutanol (84%), propileno glicol (27%), dioxano (29%) e acetona (75%). Como **5** se mostrou significativamente

mais solúvel do que **6** nos solventes citados, ao fim da reação o produto podia ser facilmente separado por filtração e então lavado com acetona, obtendo-se um alto grau de pureza [38].

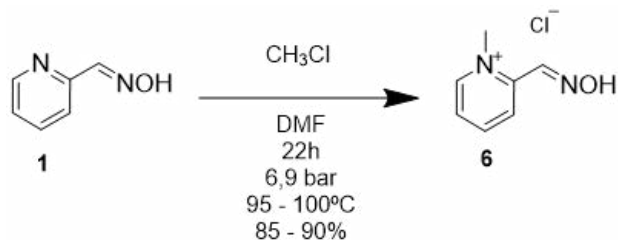
Fig. 9 - Síntese do cloreto de pralidoxima proposta por Bloch.



Fonte: elaborado pelos autores.

No trabalho de Ellin e colaboradores [39], a molécula **6** foi sintetizada reagindo **1** com cloreto de metila em *N,N*-dimetilformamida (DMF) (Fig. 10). À pressão atmosférica, tanto DMF como outros solventes como acetona, etanol, tetraidrofurano e benzeno apresentaram baixos rendimentos para o método apresentado. No entanto, ao se utilizar DMF a pressões da ordem de aproximadamente 7 bar, obteve-se um rendimento em torno de quatro vezes maior do que os obtidos quando os outros solventes foram empregados. O motivo deste aumento se deve ao fato de o DMF ser um solvente polar aprótico e a reação seguir um mecanismo do tipo S_N2 , que tem como etapa lenta a formação de um estado de transição dipolar, o qual tem sua energia diminuída pelo efeito de solvatação do DMF, levando a uma maior estabilidade [39].

Fig. 10 - Síntese do cloreto de pralidoxima proposta por Ellin.

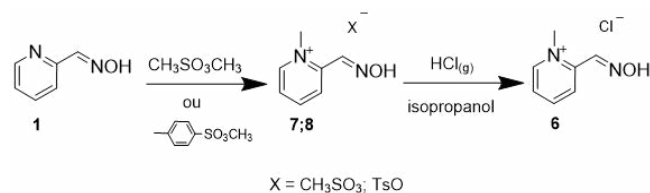


Fonte: elaborado pelos autores.

No estudo de Rao e colaboradores [40], tendo por objetivo a síntese do cloreto de pralidoxima através da metilação de **1**, foram testados diversos agentes de metilação tais como metanossulfonato de metila

e *para*-toluenossulfonato de metila (Fig. 11). No caso da metilação com metanossulfonato de metila, os solventes testados foram tolueno (rendimento de 70%), éter metil terc-butílico (52%), dimetoxietano (60%), acetonitrila (90%) e 1,4-dioxano (55%). Para a metilação com *para*-toluenossulfonato de metila, foram testados os solventes tolueno (91%) e acetonitrila (70%). Em todas as reações, com exceção da metilação com metanossulfonato de metila em acetonitrila, foi realizada a cristalização do produto bruto em uma solução de etanol com acetato de etila. Na etapa final, para a conversão em cloreto de pralidoxima, foi feita uma solução em isopropanol do produto da metilação, a qual foi borbulhada com gás de cloreto de hidrogênio anidro para formar **6** (Fig. 11).

Fig. 11 - Síntese do cloreto de pralidoxima proposta por Rao.



Fonte: elaborado pelos autores.

3. Discussão

A 2-PAM faz parte de uma ampla família de compostos com forte caráter nucleofílico, capazes de reativar a AChE inibida por agentes neurotóxicos. Do ponto de vista estrutural, é empregada como um sal de amônio quaternário e possui apenas um grupo oxima, enquanto os outros três reativadores disponíveis possuem dois. A quaternarização das oximas tem a finalidade de aumentar a afinidade com o sítio catalítico aniônico da AChE, aumentar a solubilidade em água e ajustar os valores de pKa (entre 7,0 e 8,35), de modo a contribuir com o processo de reativação [41]. Uma das principais limitações das oximas catiônicas é a sua fraca penetração pela barreira hematoencefálica, o que se deve à baixa lipofilicidade e faz com que ajam predominantemente no sistema nervo-

so periférico [42]. No entanto, a 2-PAM apresentou uma penetração de 10% da barreira hematoencefálica de ratos, contra valores de 1 a 3% para as oximas biperidínicas [31], [43]. Dentre os antídotos disponíveis, tem-se a asoxima como a menos tóxica, seguida da 2-PAM, e a obidoxima e trimedoxima como as mais tóxicas [44].

Embora os antídotos de emprego clínico sejam catiônicos e possuam um ou dois anéis piridínicos, estudos recentes têm buscado reativadores de AChE com outras características estruturais. Em busca de uma maior lipofilicidade, oximas neutras e derivados de oximas contendo heterociclos com nitrogênio em sua estrutura têm sido testados como potenciais novas classes de reativadores de AChE [45]–[47]. Outros tipos de abordagens com o mesmo objetivo são dadas pela modificação estrutural das oximas catiônicos por meio da adição de átomos de flúor ligados aos anéis piridínicos e pela transformação destas oximas em pró-fármacos – fármacos administrados em uma forma inativa e ativados após uma biotransformação dentro do organismo por meio de alguma rota metabólica [48]. Além das abordagens químicas, existem também pesquisas que buscam novos métodos de administração dos antídotos, desenvolvendo técnicas que facilitem a entrada do reativador no SNC, tais como a administração intranasal [49].

No que tange as metodologias de síntese apresentadas, levando-se em consideração o número de etapas e rendimento, nota-se que as metodologias sintéticas mais eficientes foram aquelas apresentadas por Ginsburg (uma etapa; rendimento de 88%) e Ellin (uma etapa; rendimento de 85-90%).

Referências

- [1] SCHOMBURG, I.; CHANG, A.; SCHOMBURG, D. BRENDA, enzyme data and metabolic information. Nucleic Acids Research, Oxford, v. 30, n. 1, p. 47–49, 2002. DOI: 10.1093/nar/30.1.47.
- [2] SOREQ, H.; SEIDMAN, S. Acetylcholinesterase: new roles for an old actor. Nature Reviews Neuroscience, [s.l.], v. 2, n. 4, p. 294–302, 2001. DOI: 10.1038/35067589.
- [3] FRANJESEVIC, A. J.; SILLART, S. B.; BECK, J. M.; VYAS, S.; CALLAM, C. S.; HADAD, C. M. Resurrection and reactivation of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase. Chemistry - A European Journal, Weinheim, v. 25, n. 21, p. 5337–5371, 2019. DOI: 10.1002/chem.201805075.
- [4] QUINN, D. M. Acetylcholinesterase: enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states. Chemical Reviews, Washington, D.C., v. 87, n. 5, p. 955–979, 1987. DOI: 10.1021/cr00081a005.

4. Conclusão

Foram descritas diversas metodologias sintéticas para a 2-PAM, uma das mais relevantes dentre as oximas piridínicas disponíveis no combate à intoxicação por agentes neurotóxicos. Foram pesquisados artigos publicados desde 1955, ano em que a 2-PAM foi reportada pela primeira vez. Na discussão, as rotas sintéticas foram comparadas em termos de eficiência, levando-se em consideração o número de etapas, rendimento e a praticidade das sínteses, e foi feita uma comparação entre as propriedades e limitações da 2-PAM em relação a outros reativadores de AChE. Também foram citadas abordagens na pesquisa por novas classes de reativadores de AChE.

Lista de abreviaturas e siglas

| | | |
|---------------|---|---|
| 2-PAM | = | Pralidoxima |
| ACh | = | Acetilcolina |
| AChE | = | Acetilcolinesterase |
| CPAQ | = | Convenção de Proibição de Armas Químicas |
| DA | = | Doença de Alzheimer |
| DMF | = | <i>N,N</i> -Dimetilformamida |
| EC | = | Número EC (em inglês, <i>Enzyme Commission Number</i>) |
| HI-6 | = | Asoxima |
| OBD | = | Obidoxima |
| RENAME | = | Relação Nacional de Medicamentos Essenciais |
| SNC | = | Sistema Nervoso Central |
| TMB-4 | = | Trimedoxima |

- [5] TAYLOR, P. The cholinesterases. *Journal of Biological Chemistry*, Washington, D.C., v. 266, n. 7, p. 4025–4028, 1991. DOI: 10.1016/S0021-9258(20)64277-6.
- [6] SPLETTSTOESSER, T. Schematic of a synapse. In: Wikimedia Commons, 2015. Disponível em: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:SynapseSchematic_en.svg. Acesso em: 5 dez. 2020.
- [7] AMBURE, P.; ROY, K. Advances in quantitative structure-activity relationship models of anti-Alzheimer's agents. *Expert Opin on Drug Discovery*, Londres, v. 9, n. 6, p. 697–723, 2014. DOI: 10.1517/17460441.2014.909404.
- [8] DELFINO, R. T.; RIBEIRO, T. S.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. Organophosphorus compounds as chemical warfare agents: a review. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Campinas, v. 20, n. 3, p. 407–428, 2009. DOI: 10.1590/S0103-50532009000300003.
- [9] POHANKA, M. Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology. *Biomedical Papers*, [s.l.], v. 155, n. 3, p. 219–223, 2011. DOI: 10.5507/bp.2011.036.
- [10] MALINAK, D.; KORABECNY, J.; SOUKUP, O.; GORECKI, L.; NEPOVIMOVA, E. A review of the synthesis of quaternary acetylcholinesterase reactivators. *Current Organic Chemistry*, [s.l.], v. 22, n. 6, p. 1619–1648, 2018. DOI: 10.2174/1385272822666180711123529.
- [11] KLOSKE, M.; WITKIEWICZ, Z. Novichoks – The a group of organophosphorus chemical warfare agents. *Chemosphere*, [s.l.], v. 221, p. 672–682, 2019. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.01.054.
- [12] COSTANZI, S.; SLAVICK, C. K.; HUTCHESON, B. O.; KOBLINTZ, G. D.; CUPITT, R. T. Lists of chemical warfare agents and precursors from international nonproliferation frameworks: structural annotation and chemical fingerprint analysis. *Journal Chemical Information Modeling*, Washington, D.C., v. 60, n. 10, p. 4804–4816, 2020. DOI: 10.1021/acs.jcim.0c00896.
- [13] KONING, M. C. de; HORN, G.; WOREK, F.; VAN GROEL, M. Discovery of a potent non-oxime reactivator of nerve agent inhibited human acetylcholinesterase. *European Journal Medicinal Chemistry*, [s.l.], v. 157, p. 151–160, 2018, doi: 10.1016/j.ejmech.2018.08.016.
- [14] VITOROVIĆ-TODOROVIĆ, M. D.; WOREK, F.; PERDIH, A.; BAUK, S. D.; VUJATOVIĆ, T. B.; CVIJETIĆ, I. N. The in vitro protective effects of the three novel nanomolar reversible inhibitors of human cholinesterases against irreversible inhibition by organophosphorous chemical warfare agents. *Chemico-Biological Interactions*, [s.l.], v. 309, 108714, 2019. DOI: 10.1016/j.cbi.2019.06.027.
- [15] GREENFIELD, S.; VAUX, D. Parkinson's disease, Alzheimer's disease and motor neurone disease: identifying a common mechanism. *Neuroscience*, [s.l.], v. 113, n. 3, p. 485–492, 2002. DOI: 10.1016/S0306-4522(02)00194-X.
- [16] TOUGU, V. Acetylcholinesterase: mechanism of catalysis and inhibition. *Current Medicinal Chemistry – Central Nervous System Agents*, [s.l.], v. 1, n. 2, p. 155–170, 2005. DOI: 10.2174/1568015013358536.
- [17] YANAGISAWA, N.; MORITA, H.; NAKAJIMA, T. Sarin experiences in Japan: acute toxicity and long-term effects. *Journal of the Neurological Science*, [s.l.], v. 249, n. 1, p. 76–85, 2006. DOI: 10.1016/j.jns.2006.06.007.
- [18] YOKOYAMA, K. Our recent experiences with sarin poisoning cases in Japan and pesticide users with references to some selected chemicals. *Neurotoxicology*, [s.l.], v. 28, n. 2, p. 364–373, 2007. DOI: 10.1016/j.neuro.2006.04.006.
- [19] CANNARD, K. The acute treatment of nerve agent exposure. *Journal of the Neurological Science*, [s.l.], v. 249, n. 1, p. 86–94, 2006. DOI: 10.1016/j.jns.2006.06.008.
- [20] WILSON, I. B.; GINSBURG, B. A powerful reactivator of alkylphosphate-inhibited acetylcholinesterase. *BBA - Biochimica et Biophysica Acta*, [s.l.], v. 18, n. 1, p. 168–170, 1955. DOI: 10.1016/0006-3002(55)90040-8.
- [21] POZIOMEK, E. J.; HACKLEY Jr., B. E.; STEINBERG, G. M. Pyridinium Aldoximes. *Journal of Organic Chemistry*, v. 23, n. 5, p. 714–717, 1958. DOI: 10.1021/jo01099a019.
- [22] LUTTRINGHAUS, A.; HAGEDORN, I.; ENGELHARD, H.; ENGELHARD, N. Preparation of bis-quaternary pyridinium salts. 3,187,702. Concessão: 16 jun. 1964.
- [23] OLDIGES, H.; SCHOENE, K. Pyridinium- und Imidazoliumsalze als Antidote gegenüber Soman- und Paraoxonvergiftungen bei Mäusen. *Fühner-Weilands Sammlung von Vergiftungsfällen Archives für Toxikologie*, Welling, v. 26, p. 293–305, 1970. DOI: 10.1007/BF00577721.
- [24] AMEND, N.; NIESSEN, K. V.; SEEGER, T.; WILLE, T.; WOREK, F.; THIERMANN, H. Diagnostics and treatment of nerve agent poisoning –current status and future developments. *Annals of the New York Academy Sciences*, Nova Iorque, v. 1479, n. 1, p. 1–16, 2020. DOI: 10.1111/nyas.14336.
- [25] WOREK, F.; THIERMANN, H. The value of novel oximes for treatment of poisoning by organophosphorus compounds. *Pharmacology & Therapeutics*, [s.l.], v. 139, n. 2, p. 249–259, 2013. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2013.04.009.

- [26] JOKANOVIĆ, M.; PROSTRAN, M. Pyridinium oximes as cholinesterase reactivators: structure-Activity relationship and efficacy in the treatment of poisoning with organophosphorus compounds. *Current Medicinal Chemistry*, [s.l.], v. 16, n. 17, p. 2177–2188, 2009. DOI: 10.2174/092986709788612729.
- [27] BRASIL. Ministério da Saúde. Relação Nacional de Medicamentos Essenciais. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2020. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relacao_medicamentos_rename_2020.pdf. Acesso em: jan. 15, 2022.
- [28] SIDELL, F. R.; GROFF, W. A. The reactivability of cholinesterase inhibited by VX and sarin in man. *Toxicology and Applied Pharmacology*, [s.l.], v. 27, n. 2, p. 241–252, 1974. DOI: 10.1016/0041-008X(74)90195-1.
- [29] HARRIS, L. W.; STITCHER, D. L. Reactivation of VX-Inhibited Cholinesterase by 2-Pam and Hs-6 in Rats. *Drug and Chemical Toxicology*, Londres, v. 6, n. 3, p. 235–240, 1983. DOI: 10.3109/01480548309017814.
- [30] KOPLOVITZ, I.; STEWART, J. R. A comparison of the efficacy of HI6 and 2-PAM against soman, tabun, sarin, and VX in the rabbit. *Toxicology Letters*, [s.l.], v. 70, n. 3, p. 269–279, 1994. DOI: 10.1016/0378-4274(94)90121-X.
- [31] SAKURADA, K.; MATSUBARA, K.; SHIMIZU, K.; SHIONO, H.; SETO, Y.; TSUGE, K.; YOSHINO, M.; SAKAI, I.; MUKOYAMA, H.; TAKATORI, T. Pralidoxime iodide (2-PAM) penetrates across the blood-brain barrier. *Neurochemical Research*, [s.l.], v. 28, n.9, p. 1401–1407, 2003.
- [32] LORKE, D.; KALASZ, H.; PETROIANU, G.; TEKES, K. Entry of oximes into the Brain: a review. *Current Medicinal Chemistry*, [s.l.], v. 15, n. 8, p. 743–753, 2008. DOI: 10.2174/092986708783955563.
- [33] SIDELL, F. R.; GROFF, W. A. Intramuscular and intravenous administration of small doses of 2-pyridinium aldoxime methochloride to man. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, [s.l.], v. 60, n. 8, p. 1224–1228, 1971. DOI: 10.1002/jps.2600600823.
- [34] DAWSON, R. M. Review of oximes available for treatment of nerve agent poisoning. *Journal Applied Toxicology*, [s.l.], v. 14, n. 5, p. 317–331, 1994. DOI: 10.1002/jat.2550140502.
- [35] JAGER, B. V.; STAGG, G. N. Toxicity of diacetyl monoxime and of pyridine-2-aldoxime methiodide in man. *Bulletins of the John Hopkins Hospital*, Baltimore, v. 102, n. 4, p. 203–11, 1958. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13523283>. Acesso em: 7 mar. 2022.
- [36] GREEN, A. L.; SAVILLE, B. The reaction of oximes with isopropyl methylphosphono-fluoridate (Sarin). *Journal of the Chemical Society*, n. 0, p. 3887–3892, 1956. DOI: 10.1039/jr9560003887.
- [37] GINSBURG, S.; WILSON, I. B. Oximes of the Pyridine Series. *Journal American Chemical Society*, v. 79, n. 2, p. 481–485, 1957. DOI: 10.1021/ja01559a067.
- [38] BLOCH, L. P. Method for producing 2-pyridinealdoxime methochloride. 3,123,613. Concessão: 3 mar. 1964.
- [39] ELLIN, R. I.; EASTERDAY, D. E.; KONDRITZER, A. A. Process for preparing methyl pyridinium 2 aldoxime chloride. 3,140,289. Concessão: 7 jul. 1964.
- [40] UNNISA, L.; SUMAKANTH, M.; RAO, B. L.; DIVI, M. K.; RAO, M. A. A simple process for the preparation of pralidoxime chloride. *Indian Journal of Chemistry*, v. 53B, n. 4, p. 431–435, 2014.
- [41] GORECKI, L.; KORABECNY, J.; MUSILEK, K.; DAVID, M.; NEPOVIMOVA, E.; DOLEZAL, R.; JUN, D.; SOUKUP, O.; KUČA, K. SAR study to find optimal cholinesterase reactivator against organophosphorous nerve agents and pesticides. *Archives of Toxicology*, v. 90, n. 12, p. 2831–2859, 2016. DOI: 10.1007/s00204-016-1827-3.
- [42] CHAMBERS, J. E.; MEEK, E. C.; CHAMBERS, H. W. Novel brain-penetrating oximes for reactivation of cholinesterase inhibited by sarin and VX surrogates. *Annals New York Academy of Sciences*, Nova Iorque, v. 1374, n. 1, p. 52–58, 2016. DOI: 10.1111/nyas.13053.
- [43] KARASOVA, J. Z.; ZEMEK, F.; BAJGAR, J.; VASATOVA, M.; PROCHAZKA, P.; NOVOTNY, L.; KUČA, K. Partition of bispyridinium oximes (trimedoxime and K074) administered in therapeutic doses into different parts of the rat brain. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, [s.l.], v. 54, n. 5, p. 1082–1087, 2011. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.11.024.
- [44] SOUKUP, O.; TOBIN, G.; KUMAR, U. K.; BINDER, J.; PROSKA, J.; JUN, D.; FUSEK, J.; KUČA, K. Interaction of nerve agent antidotes with cholinergic systems. *Current Medicinal Chemistry*, [s.l.], v. 17, n. 16, p. 1708–1718, 2010. DOI: 10.2174/092986710791111260.
- [45] SIT, R. K.; RADIĆ, Z.; GERARDI, V.; ZHANG, L.; GARCIA, E.; KATALINIĆ, M.; AMITAI, G.; KOVARIK, Z.; FOKIN, V. V.; SHARPLESS, K. B.; TAYLOR, P. New structural scaffolds for centrally acting oxime reactivators of phosphorylated cholinesterases. *Journal of Biological Chemistry*, [s.l.], v. 286, n. 22, p. 19422–19430, 2011. DOI: 10.1074/jbc.M111.230656.
- [46] RADIĆ, Z.; SIT, R. K.; KOVARIK, Z.; BEREND, S.; GARCIA, E.; ZHANG, L.; AMITAI, G.; GREEN, C.; RADIĆ, B.; FOKIN, V. V.; SHARPLESS, K. B.; PALMER, T. Refinement of structural leads for centrally acting oxime

- reactivators of phosphylated cholinesterases. *Journal of Biological Chemistry*, [s.l.], v. 287, n. 15, p. 11798–11809, 2012. DOI: 10.1074/jbc.M111.333732.
- [47] KOVARIK, Z.; NIKOLINA, M.; SIT, R. K.; RADIĆ, Z.; FOKIN, V. V.; SHARPLESS, K. B.; TAYLOR, P. Centrally acting oximes in reactivation of tabun-phosphoramidated AChE. *Chemical Biological Interaction*, [s.l.], v. 203, n. 1, p. 77–80, 2013. DOI: 10.1016/j.cbi.2012.08.019.
- [48] MERCEY, G.; VERDELET, T.; RENOU, J.; KLIACHYNA, M.; BAATI, R.; NACHON, F.; JEAN, L.; RENARD, P. Y. Reactivators of acetylcholinesterase inhibited by organophosphorus nerve agents. *Accounts of Chemical Research*, Washington, D.C., v. 45, n. 5, p. 756–766, 2012. DOI: 10.1021/ar2002864.
- [49] Krishnan, J. K. S.; ARUN, P.; APPU, A. P.; VIJAYAKUMAR, N.; FIGUEIREDO, T. H.; BRAGA, M. F. M.; BASKOTA, S.; OLSEN, C. H.; FARKAS, N.; DAGATA, J.; FREY, W. H.; MOFFETT, J. R.; NAMBOODIRI, A. M. A. Intranasal delivery of obidoxime to the brain prevents mortality and CNS damage from organophosphate poisoning. *Neurotoxicology*, [s.l.], v. 53, p. 64–73, 2016. DOI: 10.1016/j.neuro.2015.12.020.