



Síntese e avaliação *in vitro* contra a toxoplasmose congênita de um derivado de piperazina-acetamida com potente ação anti-*Toxoplasma gondii*

Ana Paula C. Procópio^{1*} (PG); Marcos Paulo Oliveira Almeida² (PQ), Bellisa Freitas Barbosa² (PQ), Celso de O. R. Júnior¹ (PQ);

¹ Instituto de Química (IQ), Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

² Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM), UFU.

* E-mail: ana.procopio@ufu.br

RESUMO

RESUMO - A toxoplasmose, causada pelo parasita *Toxoplasma gondii*, é um problema de saúde pública no mundo e afeta um terço da população brasileira. A infecção ocorre por ingestão de alimentos contaminados ou via transplacentária, denominando-se toxoplasmose congênita. Apesar da maioria dos casos ser assintomático, a problemática consiste no estabelecimento de cistos do parasito nos tecidos do hospedeiro, o que pode culminar na reativação da infecção em casos de supressão do sistema imunológico ou até mesmo durante a gravidez, podendo ser grave, exigindo tratamento com fármacos que apresentam eficácia limitada e efeitos adversos. Diante disso, propomos neste trabalho a síntese do composto **MMV007791**, um derivado de piperazina-acetamida com atividade anti-*T. gondii* destacada, e a avaliação da sua capacidade de prevenir e tratar a toxoplasmose congênita através do estudo em células placentárias infectadas ou não com o *T. gondii*.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, Toxoplasmose Congênita, descoberta de fármaco, piperazina acetamida.

Introdução

A toxoplasmose, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* (*T.gondii*), é uma zoonose de ampla distribuição mundial, com prevalência elevada em regiões tropicais, e considerada endêmica no Brasil. O parasita possui três formas infectantes (taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos) e pode ser transmitido por via oral ou vertical (transplacentária) (1-2).

A toxoplasmose congênita ocorre quando a infecção materna leva à transmissão transplacentária de taquizoítos ao feto. O risco de transmissão aumenta com o tempo gestacional, mas os danos ao feto são mais severos nas fases iniciais podendo ocasionar alterações encefálicas, distúrbios neurológicos, lesões visuais, ou interrupção da gestação por aborto espontâneo (3-5). O tratamento da doença geralmente é feito com fármacos antiparasitários, como pirimetamina e sulfadiazina ou ácido folínico e espiramicina (na fase aguda da infecção), os quais, no entanto, apresentam limitações como resistência parasitária e efeitos colaterais para a mãe e/ou para o feto, incluindo efeitos teratogênicos. Sendo assim, faz-se necessário a descoberta de novos compostos seguros e eficazes (3, 6-7).

O derivado de piperazina-acetamida, **MMV007791**, foi recentemente descoberto como um promissor agente contra o *T. gondii*, com IC_{50} de 0,19 μ M e um índice de seletividade maior que 157, configurando-se como um potente *hit* (composto com atividade *in vitro*) contra a toxoplasmose (Figura 1A) (6).

Dessa forma, esse trabalho visa a síntese desse composto e avaliação das suas propriedades de prevenção e tratamento da toxoplasmose congênita utilizando modelos *in vitro* de interface

materno-fetal humana. Nosso objetivo é avaliar a capacidade do composto de reduzir a infecção congênita do *T. gondii*, o que corrobora para melhoria das condições de vida das crianças infectadas, e redução dos custos do sistema público de saúde.

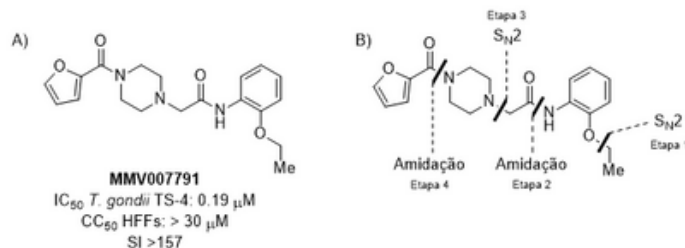


Figura 1. A) Estrutura química e propriedades anti-*T. gondii* do **MMV007791**. B) Planejamento de síntese para obtenção do **MMV007791**.

Experimental

Síntese

Composto 2- O 2-nitrofenol 1 foi solubilizado em DMF (0,1 M) seguido da adição de ButONa (1,3 eq.) e bromoetano (5 eq.). A reação permaneceu em agitação à temperatura ambiente por 122 horas, seguido por extração líquido-líquido com água e acetato de etila e posterior lavagem da fase orgânica com hidróxido de sódio e evaporação, levando à formação de 2.

Composto 3- O nitrobenzeno 2 foi solubilizado em AcOEt/MeOH (1/1; 0,1M) seguido da adição de Pd/C (0,3 eq) e hidrogênio gasoso (via bexiga) à temperatura ambiente. A reação permaneceu sob agitação por 2 horas, seguido de filtração em celite e evaporação para formar a anilina 3.



Composto 4- A anilina 3 foi solubilizada em DCM (0,1 M) seguido da adição de trietilamina (3 eq.), ácido 2-cloroacético (1,5 eq.) e HBTU (1,5 eq.). A reação permaneceu em agitação à temperatura ambiente por 8 horas, seguido por extração líquido-líquido com água e acetato de etila, lavagem com hidróxido de sódio, e posterior coluna cromatográfica da fase orgânica, levando à formação de 4.

Composto 5- O cloreto de alquila 4 foi solubilizado em acetonitrila (0,1 M) seguido da adição de piperazina (3 eq.). A reação ficou sob agitação à 60°C por 10 horas, seguido da realização de uma extração líquido-líquido com acetato de etila e água. A fase orgânica foi evaporada gerando 5.

Composto MMV007791- A amina 5 foi solubilizada em DMF (0,1 M) seguido da adição de trietilamina (3 eq.), ácido furanóico (1,5 eq.) e HBTU (1,5 eq.). A reação permaneceu em agitação à temperatura ambiente por 24 horas, seguido por extração líquido-líquido com água e acetato de etila e posterior coluna cromatográfica da fase orgânica, gerando MMV007791.

Todos os compostos sintetizados foram caracterizados e tiveram a pureza avaliada por RMN de ^1H e ^{13}C APT.

Ensaios biológicos

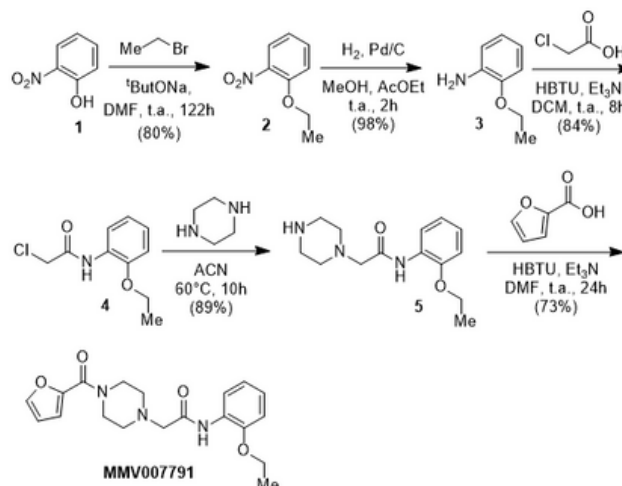
Células BeWo foram infectadas com o *T. gondii* seguido da administração do MMV007791 em diferentes concentrações. Estão sendo avaliado a capacidade desse composto em prevenir a infecção, bem como tratar as células infectadas e possíveis mecanismos de ação.

Resultados e Discussão

A estratégia sintética proposta para a preparação do MMV007791 envolveu as quatro desconexões representadas na figura 1B, passando por duas etapas de substituição nucleofílica $\text{S}_{\text{N}}2$ e duas etapas de amidação. O esquema 1 representa a rota de síntese do MMV007791, tendo como precursor o 2-nitrofenol 1 e se destacando por ser uma rota linear de cinco etapas e rendimento global de 3%. Inicialmente, o fenol 1 foi alquilado a presença de brometo de etila e terc-butoxido de potássio levando à formação de 2 em 80%. Posteriormente, o grupo nitro de 2 foi reduzido com hidrogênio e paládio em 98% de rendimento, seguido de uma reação de amidação entre a anilina 3 com ácido 2-cloroacético na presença de HBTU e trietilamina formando a amida 4, 84% de rendimento. Na sequência, 4 foi transformado em 5 com 89% de rendimento através de uma reação $\text{S}_{\text{N}}2$ com a piperazina. Finalmente, MMV007791 foi obtido em 73% de rendimento a partir da reação de amidação entre a amina 5 e o ácido furanóico na presença de HBTU e trietilamina.

Posteriormente, o composto MMV007791 foi submetido aos ensaios *in vitro* visando o estudo da sua capacidade de prevenir e tratar a toxoplasmose congênita utilizando células *BeWo*, células trofoblásticas que se desenvolvem na placenta, infectadas com o *T. gondii* simulando a interface materno-fetal humana. Esses estudos estão sendo finalizados, onde está sendo avaliado os efeitos desse composto quanto à proliferação, reversibilidade,

invasão e possíveis mecanismos de ação, incluindo alterações morfológicas, indução de morte celular e modulação de citocinas (Obs.: Pretendemos apresentar os resultados *in vitro* na apresentação do poster ou oral).



Esquema 1. Rota de síntese do MMV007791.

Conclusão

Apesar do baixo rendimento global, as etapas de alquilação, redução do grupo nitro e amidação apresentaram elevados rendimentos individuais, demonstrando a viabilidade e eficiência da rota sintética proposta. As próximas etapas envolvem a análise dos dados *in vitro*, visando validar o potencial do MMV007791 como uma estratégia terapêutica promissora para a toxoplasmose congênita, atendendo ao propósito deste estudo.

Agradecimentos

FAPEMIG, CAPES, CNPQ, PPGQUI-UFU, RELAM-UFU.

Referências

1. D. Kalogeropoulos, N. B. Kokkinos, M. D. Nikolaou, A. A. Sikalidis, *Parasite Epidemiol. Control* 2022, 16, e00271.
2. E. V. M. Carellos, F. S. Andrade, A. C. Aguiar, M. B. Lopes, D. M. Neves, J. G. Ribeiro, A. C. Silva, *Rev. Med. Minas Gerais* 2017, 27, e2099.
3. J. G. Montoya, J. S. Remington, *Clin. Infect. Dis.* 2008, 47, 1303–1313.
4. J. G. Montoya, O. Liesenfeld, *Lancet* 2004, 363, 1965–1976.
5. J. P. Dubey, M. R. Lago, R. H. de Oliveira, D. Lehmann, G. S. Gennari, *J. Parasitol.* 2021, 107, 1–9.
6. M. Boyom, C. F. Fokou, V. Zollo, D. Menard, V. Tsouh Fokou, J. C. Ebo'o Fabo, M. C. F. Nkondjio, F. B. Ngemenya, B. R. Rosenthal, *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014, 58, 3584–3592.
7. M. Doliwa, C. Escotte-Binet, C. Aubert, M. Sauvage, I. Velard, N. Schmid, E. Francois, F. Candolfi, *J. Antimicrob. Chemother.* 2013, 68, 2245–2252.