



Universidade Federal de Uberlândia



Pós-graduação em Química

Ana Clara Cassiano Martinho

Planejamento, síntese e estudo da relação entre estrutura química e atividade biológica de uma classe de sulfonilpiperazinas potente contra o *Trypanosoma cruzi*.

Uberlândia

2021

Ana Clara Cassiano Martinho

Planejamento, síntese e estudo da relação entre estrutura química e atividade biológica de uma classe de sulfonilpiperazinas potente contra o *Trypanosoma cruzi*.

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Química, área de concentração: Química, Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Celso de Oliveira Rezende Júnior.

Uberlândia

2021

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU com dados  
informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

M385 Martinho, Ana Clara Cassiano, 1994-  
2021 Planejamento, síntese e estudo da relação entre  
estrutura química e atividade biológica de uma classe de  
sulfonilpiperazinas potente contra o Trypanosoma cruzi.  
[recurso eletrônico] / Ana Clara Cassiano Martinho. 2021.

Orientador: Celso de Oliveira Rezende Júnior.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de  
Uberlândia, Pós-graduação em Química.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em:

<http://doi.org/10.14393/ufu.di.2021.456> Inclui  
bibliografia. Inclui ilustrações.

1. Química. I. Rezende Júnior, Celso de Oliveira ,  
1987-, (Orient.). II. Universidade Federal de  
Uberlândia. Pós-graduação em Química. III. Título.

CDU: 54

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091



### ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 331, PPGQUI				
Data:	Vinte e sete de agosto de dois mil e vinte e um	Hora de início:	9:00	Hora de encerramento:	11:10
Matrícula do Discente:	11912QMI001				
Nome do Discente:	Ana Clara Cassiano Martinho				
Título do Trabalho:	Planejamento, síntese e estudo da relação entre estrutura química e atividade biológica de uma classe de sulfonilpiperazinas potente contra o Trypanosoma cruzi				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Química Medicinal, Química de Produtos Naturais e Síntese Orgânica				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Otimização hit-to-lead de uma classe de sulfonamidas potente contra doença de chagas, doença do sono e leishmaniose				

Reuniu-se por meio de webconferência, Plataforma Microsoft Teams, link <https://teams.microsoft.com/l/meetup-join/19:Otxlp5SaAaHoHCSSJlvP3Oc3WMS8y2dcJBfZm6p5rc1@thread.tacv2/1629111793188?context=%7B%22Tid%22:%22cd5e6d23-cb99-4189-88ab-1a9021a0c451%22,%22Oid%22:%222ecde213-61de-4c81-b9de-ef777fb029a7%22%7D>, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: Mauro Vieira de Almeida, da Universidade Federal de Juiz de Fora; Amanda Danue lo Pivatto, da Universidade Federal de Uberlândia e Celso de Oliveira Rezende Júnior, orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr. Celso de Oliveira Rezende Júnior, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **Celso de Oliveira Rezende Júnior**, **Professor(a) do Magistério Superior**, em 27/08/2021, às 11:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do

---

[Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.](#)



Documento assinado eletronicamente por **Amanda Danuello Pivatto**, **Professor(a) do Magistério Superior**, em 27/08/2021, às 11:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.](#)



Documento assinado eletronicamente por **Mauro Vieira de Almeida, Usuário Externo**, em 03/09/2021, às 08:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.](#)



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2868451** e o código CRC **D8CDEB26**.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Maria Izabel e Robson, pelo apoio, e especialmente à minha mãe, por acreditar e acolher meus sonhos. À minha madrinha, Maria Cristina, que compartilha comigo todos os momentos, de alegria e de dificuldades. Em especial, ao Augusto, pelo companheirismo, amor e suporte, que torna minha jornada de vida mais leve e feliz.

Ao meu orientador prof. Celso, pela oportunidade de cursar o mestrado, por todo conhecimento científico que adquiri nesses dois anos e, especialmente, por me incentivar e acreditar no meu potencial.

Aos meus melhores amigos Rafael, Mateus, Fernando, Chris e melhores amigas Jéssica e Isabella pela amizade, independente do tempo ou distância e por sempre acreditarem em mim e nunca me deixarem desistir dos meus objetivos.

Aos amigos do LaSFar, pelas experiências e vivências compartilhadas. Aos professores do Instituto de Química da UFU. Ao Magayver, técnico do Laboratório de Multiusuários, pela realização de experimentos de RMN. A dra. Silvane Maria Fonseca Murta e dra. Daniela de Melo Resende, do Instituto René Rachou da FIOCRUZ de Belo Horizonte, pela realização dos ensaios biológicos. Ao prof. Eduardo Pilau, da Universidade Estadual de Maringá (UEM), pela realização das análises de massas.

À CAPES, CNPq e FAPEMIG pelos auxílios financeiros.

## RESUMO

A doença de Chagas, causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi*, é reconhecida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma doença tropical negligenciada. Ela é endêmica em 21 países da América Latina, infectando aproximadamente de seis a sete milhões de pessoas por ano no mundo e até hoje sua cura não foi encontrada. O medicamento mais utilizado para o tratamento da doença de Chagas é o benznidazol, contudo, ele apresenta eficácia moderada apenas na fase inicial da doença, além de não ser acessível à maioria das pessoas infectadas e causar uma série de efeitos colaterais que levam os pacientes a abandonarem o tratamento. Diante desse contexto, se faz necessário o desenvolvimento de novos fármacos, mais eficientes, menos tóxicos e de baixo custo para o tratamento da doença de Chagas. Neste trabalho foram selecionados três *hits* (**1-3**) derivados de sulfonamida a partir do trabalho de Pena e colaboradores, 2015, que se destacam pela potente atividade biológica contra o *T. cruzi* ( $IC_{50} < 1\mu M$ ) e baixa citotoxicidade em células HepG2 humanas não infectadas ( $IC_{50} > 50\mu M$ ). Este trabalho apresenta a síntese do *hit 2*, a tentativa de síntese do *hit 1* além do planejamento, síntese e avaliação anti *T. cruzi* dos compostos análogos aos *hits 1-3*, nomeados nesse trabalho como série de sulfonilpiperazinas. Foram sintetizados 28 compostos que foram enviados para ensaios iniciais *in vitro* contra o *T. cruzi*, sendo 26 deles inéditos. Com esses resultados, foi possível estabelecer uma relação entre estrutura química e atividade biológica preliminar dessa série de sulfonilpiperazinas. O *hit 2* apresentou  $IC_{50}$  19  $\mu M$  e  $CC_{50}$  227  $\mu M$  e os compostos **44b** ( $IC_{50}$  3,0  $\mu M$ ,  $CC_{50}$  463  $\mu M$  e IS 156) e **52a** ( $IC_{50}$  3,0  $\mu M$ ,  $CC_{50}$  327  $\mu M$  e IS 107) apresentaram alta atividade anti-*T. cruzi* e baixa toxicidade em células L929 de camundongo nos primeiros testes e, apesar de serem menos seletivos, apresentaram equipotência com o benznidazol ( $IC_{50}$  3,8  $\mu M$ ,  $CC_{50}$  2401  $\mu M$  e IS 625), utilizado como o controle no ensaio *in vitro*. Ensaios em triplicata estão em andamento, para que sejam obtidos valores de  $IC_{50}$  mais confiáveis. Assim, esse trabalho contribui para o desenvolvimento de novos candidatos a fármaco que sejam mais eficazes, menos tóxicos e de baixo custo para o tratamento da doença de Chagas.

Palavras-chave: Sulfonilpiperazinas. *Trypanosoma cruzi*. Doença de Chagas. Desenvolvimento de fármaco. Novos candidatos a fármacos.

## ABSTRACT

Chagas disease, caused by the parasite *Trypanosoma cruzi*, is considered by the World Health Organization (WHO) as a neglected tropical disease. It is endemic in 21 countries in Latin America and infects about six to seven million people worldwide per year and until this day, its cure has not been found. The medicine most used for Chagas disease treatment is benznidazole. However, it only presents moderate efficacy in the disease's initial phase; in addition, it is not accessible to most of the infected people and causes a series of side effects that leads patients to abandon treatment. Within this context, it is necessary to develop new drugs that are more efficient, less toxic, and low cost for Chagas disease treatment. In this work, three sulfonamides derivatives *hits* (**1-3**) were selected from Pena's and collaborators work, 2015, which stand out for their potent biological activity against *T. cruzi* ( $IC_{50} < 1 \mu M$ ) and low cytotoxicity in HepG2 human non infected cells ( $IC_{50} > 50 \mu M$ ). This work presents the synthesis of *hit 2*, the synthesis attempt of *hit 1* and also the planning, synthesis and anti-*T.cruzi* evaluation of the analogous compounds of *hits 1-3* named in this work as a class of sulfonylpiperazines. There were 28 synthesized compounds which were sent to *in vitro* initial trials against *T. cruzi*, 26 being unpublished. With these results, it was possible to establish a preliminary structure activity relationship of this sulfonylpiperazine series. The *hit 2* showed  $IC_{50}$  19  $\mu M$  e  $CC_{50}$  227  $\mu M$  and compounds **44b** ( $IC_{50}$  3,0  $\mu M$ ,  $CC_{50}$  463  $\mu M$  e IS 156) and **52a** ( $IC_{50}$  3,0  $\mu M$ ,  $CC_{50}$  327  $\mu M$  e IS 107) showed high anti-*T.cruzi* activity and low toxicity in mouse L929 cells. Although **44b** and **52a** are less selective, they presented equipotency with benznidazole ( $IC_{50}$  3,8  $\mu M$ ,  $CC_{50}$  2401  $\mu M$  e IS 625), used as the control in the *in vitro* assay. Therefore, this work contributes with the development of new drug candidates that are more effective, less toxic and of low cost for the treatment of Chagas disease.

Key-words: Sulfonylpiperazines. Chagas Disease. *Trypanosoma cruzi*. Drug development. New drug candidate.



## LISTA DE ABREVIACES

- BINAP:** 2,2'-bis(difenilfosfina)-1,1'-binaftil
- CCD:** Cromatografia em camada delgada
- CC50:** Concentração citotxica para redução de 50% da viabilidade celular
- DCM:** Diclorometano
- DMF:** *N,N*-dimetilformamida
- DMAP:** 4-(dimetilamino)piridina
- DNDi:** Drugs for Neglected Disease iniciative
- EDC:** Cloridrato de 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
- EM-IES-(+):** Espectrometria de Massas com Ionização por Eletrospray em modo positivo
- Et<sub>3</sub>N:** Trietilamina
- EtOH:** Etanol
- HOBt:** *N*-hidroxibenzotriazol
- IC<sub>50</sub>:** Concentração para inibição de 50% do alvo
- IS:** Índice de Seletividade
- MeOH:** Metanol
- OMS:** Organização mundial de saúde
- THF:** Tetraidrofurano

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição na Região Amazônica dos surtos da doença de Chagas aguda.	13
Figura 2. Ciclo de vida do <i>T. cruzi</i> no vetor e no hospedeiro vertebrado.	14
Figura 3. Estrutura dos fármacos utilizados para tratamento de Chagas.	15
Figura 4. Estrutura geral da série de sulfonamidas e dos <i>hits</i> (1-3) com seus valores de IC <sub>50</sub> .	17
Figura 5. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>8</b> .	20
Figura 6. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (101 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>8</b> .	21
Figura 7. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>10</b> .	22
Figura 8. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (101 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>10</b> .	23
Figura 9. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>19</b> .	29
Figura 10. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (101 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>19</b> .	29
Figura 11. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do <i>hit</i> <b>2</b> .	32
Figura 12. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (101 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do <i>hit</i> <b>2</b> .	33
Figura 13. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>25</b> .	35
Figura 14. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (101 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>25</b> .	36
Figura 15. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>26</b> obtido pelo procedimento 1 (Esquema 16).	38
Figura 16. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>26</b> obtido pelo procedimento 2 (Esquema 16).	39
Figura 17. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>26</b> obtido pelo procedimento 3 (Esquema 16).	40
Figura 18. Espectro de RMN de <sup>13</sup> C (101 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>26</b> .	40
Figura 19. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da mistura reacional de <b>1</b> .	43
Figura 20. Espectro de EM-IES-(+) da mistura reacional de <b>1</b> .	44
Figura 21. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>29</b> .	46
Figura 22. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (101 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>29</b> .	47
Figura 23. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>1</b> impuro.	48
Figura 24. Comparação das estruturas dos <i>hits</i> (1-3) e estrutura geral dos derivados de sulfonamidas.	50
Figura 25. Modificações no espaçador de <b>2</b> e estrutura dos análogos propostos <b>30</b> e <b>31</b> .	51
Figura 26. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>30</b> .	53
Figura 27. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (101 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>30</b> .	54
Figura 28. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>38</b> .	57
Figura 29. Estrutura dos <i>hits</i> 1-3 e hibridizada para sintetizar análogos almeçados	59

Figura 30. Estrutura das sulfonilpiperazinas com modificações no fragmento da benzenosulfonila (amarelo).	59
Figura 31. Estratégia sintética para preparação dos análogos modificados no fragmento benzenosulfonila.	60
Figura 32. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>49</b> .	61
Figura 33. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{DMSO-d}_6$ ) de <b>47</b> impuro.	62
Figura 34. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{DMSO-d}_6$ ) de <b>47</b> puro.	63
Figura 35. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>50c</b> .	65
Figura 36. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (101MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>50c</b> .	65
Figura 37. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>44c</b> .	67
Figura 38. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (101 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>44c</b> .	67
Figura 39. Estrutura das sulfonilpiperazinas com modificações no fragmento do grupo nitrogenado (vermelho).	69
Figura 40. Estratégia sintética para preparação das sulfonilpiperazinas modificadas no fragmento do grupo nitrogenado.	70
Figura 41. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>58c</b> .	73
Figura 42. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (101 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>58c</b> .	73
Figura 43. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>52c</b> .	75
Figura 44. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (101 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>52c</b> .	75
Figura 45. Estrutura hibridizada de <b>30</b> e <b>52a-c</b> para preparo dos análogos <b>59a-b</b> .	77
Figura 46. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>59b</b> .	79
Figura 47. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (101 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>59b</b> .	80
Figura 48. Espectro de RMN HSQC $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ do composto <b>59b</b> .	80
Figura 49. Estruturas dos compostos enviados para teste biológico.	82
Figura 50. Estrutura geral das modificações no espaçador e no grupo nitrogenado	83
Figura 51. Estrutura hibridizada para modificações no fragmento benzenosulfonila (em amarelo) e análogos obtidos	86
Figura 52. Estrutura hibridizada para modificações no fragmento grupo nitrogenado (em vermelho) e análogos obtidos	88
Figura 53. Estruturas dos compostos <b>44a</b> , <b>52b</b> e benznidazol e seus resultados biológicos.	91

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Estratégia sintética para a preparação de <b>2</b> .	19
Esquema 2. Síntese da sulfonamida <b>8</b> .	20
Esquema 3. Síntese do cloreto de alquila <b>7</b> e do composto <b>10</b> .	22
Esquema 4. Preparação do ligante <b>11</b> .	24
Esquema 5. Condição geral para síntese de <b>13a-e</b> e rendimentos (Adaptado; BHUNIA, 2017).	24
Esquema 6. Preparação de <b>15</b> .	25
Esquema 7. Tentativa de obtenção do composto <b>16</b> .	25
Esquema 8. Rota alternativa para obtenção de <b>2</b> .	26
Esquema 9. Condição para síntese de <b>18a-c</b> e rendimentos (Adaptado; BHUNIA, 2017).	27
Esquema 10. Tentativa de síntese de <b>19</b> via reação de Ullmann.	27
Esquema 11. Síntese de <b>19</b> via reação de Buchwald-Hartwing.	28
Esquema 12. Tentativa de síntese para obtenção de <b>2</b> .	31
Esquema 13. Preparação do <i>hit 2</i> a partir de <b>20</b> .	32
Esquema 14. Estratégia sintética para a preparação de <b>1</b> .	34
Esquema 15. Preparação da sulfonamida <b>25</b> .	35
Esquema 16. Procedimentos para síntese do composto <b>26</b> .	37
Esquema 17. Mecanismo proposto para obtenção de <b>26</b> .	42
Esquema 18. Tentativa de obtenção do <i>hit 1</i> .	42
Esquema 19. Mecanismo proposto para a reação de Buchwald-Hartwig (SURRY; BUCHWALD, 2011).	45
Esquema 20. Rota sintética alternativa para obtenção de <b>1</b> .	46
Esquema 21. Estratégia sintética para preparação de <b>30</b> .	51
Esquema 22. Síntese do análogo <b>30</b> .	52
Esquema 23. Proposta de mecanismo para as reações de amidação com EDC e HOBt.	52
Esquema 24. Tentativa de síntese do análogo <b>31</b> .	55
Esquema 25. Análise retróssintética para obtenção de <b>31</b> .	55
Esquema 26. Rota sintética para obtenção de <b>36</b> e tentativa de obtenção de <b>37</b> .	56
Esquema 27. Rota alternativa para obtenção de <b>31</b> .	56
Esquema 28. Rota sintética para obtenção de <b>38</b> e tentativa de obtenção de <b>31</b> .	57
Esquema 29. Preparação dos análogos <b>42</b> e <b>43</b> .	58
Esquema 30. Rota sintética para obtenção do intermediário <b>47</b> .	61
Esquema 31. Síntese dos análogos <b>44a-e</b> e <b>50b-e</b> .	64

Esquema 32. Síntese do análogo <b>51</b> .	69
Esquema 33. Estratégia sintética para obtenção do intermediário <b>54</b> .	71
Esquema 34. Síntese dos análogos <b>52a-c</b> e <b>58a-d</b> .	72
Esquema 35. Estratégia sintética para preparação dos análogos <b>59a-b</b> .	78
Esquema 36. Síntese do intermediário <b>61</b> e dos análogos <b>59a-b</b> .	78

### LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>8</b> ( $\text{CDCl}_3$ )	21
Tabela 2. Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>10</b> ( $\text{CDCl}_3$ )	23
Tabela 3. Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>19</b> ( $\text{CDCl}_3$ )	30
Tabela 4. Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ do <i>hit 2</i> ( $\text{CDCl}_3$ )	33
Tabela 5. Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>25</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	36
Tabela 6. Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>26</b> ( $\text{CDCl}_3$ )	41
Tabela 7. Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>29</b> ( $\text{CDCl}_3$ )	47
Tabela 8. Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>30</b> ( $\text{CDCl}_3$ )	54
Tabela 9. Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>49</b> ( $\text{CDCl}_3$ )	62
Tabela 10. Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>47</b> ( $\text{DMSO-d}_6$ )	63
Tabela 11. Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>50c</b> ( $\text{CDCl}_3$ )	66
Tabela 12. Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>44c</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	68
Tabela 13. Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>58c</b> ( $\text{CDCl}_3$ )	74
Tabela 14. Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>52c</b> ( $\text{CDCl}_3$ ).	76
Tabela 15. Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>59b</b> ( $\text{CDCl}_3$ )	81
Tabela 16. Resultados de $\text{IC}_{50}$ , $\text{CC}_{50}$ e IS dos compostos com modificações no espaçador, no fragmento do grupo nitrogenado e <i>hit 2</i> .	84
Tabela 17. Resultados de $\text{IC}_{50}$ , $\text{CC}_{50}$ e IS dos compostos com modificações no fragmento benzenosulfonila	87
Tabela 18. Resultados de $\text{IC}_{50}$ , $\text{CC}_{50}$ e IS dos compostos com modificações no fragmento do grupo nitrogenado.	89

## SÚMARIO

1.	Introdução .....	12
1.1.	Doença de Chagas.....	12
1.2.	Transmissão, agente etiológico e fases da doença.....	13
1.3.	Tratamentos disponíveis .....	15
1.4.	Desenvolvimento de Fármaco .....	15
2.	Objetivos.....	18
3.	Resultados e discussão.....	19
3.1.	Planejamento das sínteses dos <i>hits</i> 1 e 2.....	19
3.2.	Análise retrossintética e síntese do <i>hit</i> 2.....	19
3.3.	Análise retrossintética e tentativa de síntese do <i>hit</i> 1 .....	34
3.4.	Planejamento e desenvolvimento de modificações estruturais.....	49
3.4.1.	Modificações no espaçador.....	50
3.4.2.	Modificações no fragmento benzenosulfonila.....	58
3.4.3.	Modificações no fragmento do grupo nitrogenado.....	69
3.4.4.	Modificações no espaçador e fragmento do grupo nitrogenado .....	77
3.5.	Ensaio biológicos .....	81
4.	Conclusões e Perspectivas .....	92
5.	Parte Experimental.....	94
5.1.	Reagentes e Solventes.....	94
5.2.	Métodos Cromatográficos .....	94
5.3.	Métodos Analíticos.....	94
5.4.	Procedimento Experimental (Síntese) .....	95
5.5.	Procedimento Experimental (Biológico) .....	124
6.	Referências .....	127
7.	Anexos.....	127

## 1. Introdução

### 1.1. Doença de Chagas

A doença de Chagas, também conhecida como tripanossomíase americana, é causada pelo agente etiológico *Trypanosoma cruzi* e foi descoberta por Carlos Chagas em 1909. A forma de transmissão mais comum é por insetos hematófagos triatomíneos de várias espécies, sendo o “barbeiro” (*Triatoma infestans*) o mais conhecido por ser um vetor estritamente domiciliar no Brasil. Entretanto, a transmissão também pode ocorrer por transfusão de sangue ou órgãos, pela ingestão de alimentos contaminados com os dejetos do vetor ou de forma congênita, mães infectadas que passam para os filhos durante a gestação. (COURA, 2002; PAUCAR, 2016; AGÊNCIA FIOCRUZ, 2021).

Reconhecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma doença tropical negligenciada, a doença de Chagas é endêmica em 21 países da América latina, infecta de 6 a 8 milhões de pessoas no mundo e causa aproximadamente 14 mil mortes por ano (DNDi, 2021). Hoje em dia, a doença de Chagas tem sido uma preocupação para os países não endêmicos como EUA, Canadá, Austrália e Japão, devido à migração dos indivíduos não diagnosticados dos países endêmicos. Nesses casos, a transmissão ocorre via transfusão de sangue ou transplante de órgãos (LIDANI, 2019; DNDi, 2021).

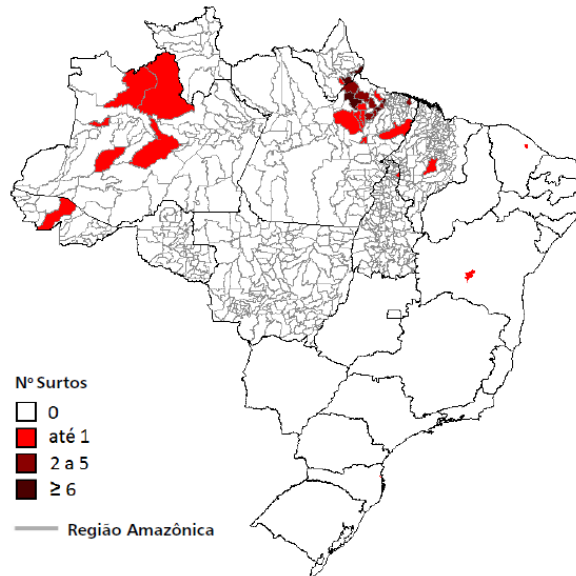
Nos anos 1970, a área endêmica no Brasil abrangia 18 estados do país e mais de 2,2 mil municípios com variadas espécies de triatomíneos, sendo que em 711 destes a espécie predominante era a do “barbeiro” (*T. infestans*). A partir de 1975, foram instituídas ações regulares de controle químico dos vetores nas casas, o que levou a redução significativa da população do *T. infestans* e, conseqüentemente, a diminuição dos casos de transmissão da doença de Chagas nas pessoas. Em decorrência disso, a Organização Panamericana de Saúde e Organização Mundial da Saúde concederam ao Brasil o certificado internacional de interrupção da transmissão da doença pelo principal vetor em 2006 (AGÊNCIA FIOCRUZ, 2021).

Atualmente, a doença de Chagas apresenta um perfil epidemiológico de surtos, sendo a maioria na Região Amazônica, por transmissão oral (ingestão de alimentos contaminados) ou vetorial, ocorrendo fora das residências e durante atividades noturnas (AGÊNCIA FIOCRUZ, 2021). De 2005 a 2013, foram contabilizados 112 surtos da doença de Chagas em

35 municípios da Região Amazônica, sendo a provável fonte de infecção a ingestão de alimentos contaminados típicos da região como o açaí, palmito de babaçu e jaci (coquinho) (Figura 1) (MINISTÉRIO DE SAÚDE, 2015).

Figura 1. Distribuição na Região Amazônica dos surtos da doença de Chagas aguda.

Fonte: Boletim epidemiológico, (Ministério de Saúde, 2015).



Após mais de um século desde sua descoberta, a cura para Chagas ainda é inexistente e continua sendo um problema de saúde pública na maioria dos países da América Latina (PAUCAR, 2016). Estima-se que existam 12 milhões de pessoas portadoras da doença crônica nas Américas e cerca de 2 a 3 milhões no Brasil, que foram infectados décadas atrás (AGÊNCIA FIOCRUZ, 2021).

Frente a esse contexto, a Universidade pública e as organizações internacionais sem fins lucrativos, como a DNDi (Drugs for Neglected Diseases *initiative*), são de extrema importância e necessidade para que a pesquisa e desenvolvimento de tratamentos acessíveis para as doenças negligenciadas, como a Chagas, possa salvar milhões de vidas (DNDi, 2021).

## 1.2. Transmissão, agente etiológico e fases da doença

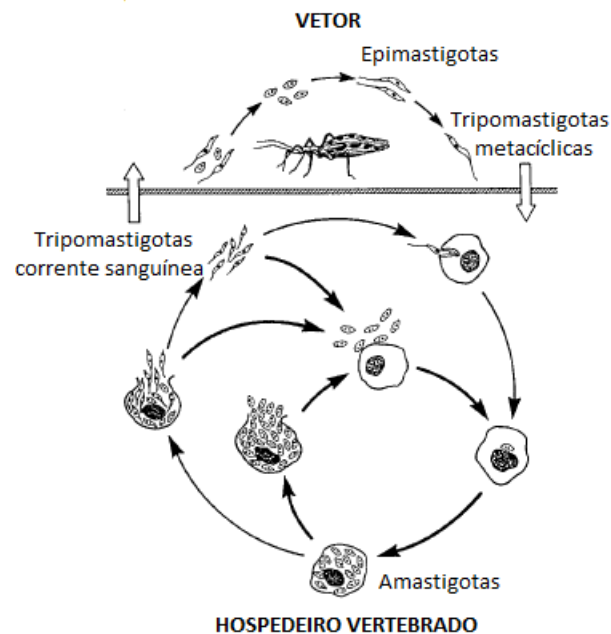
A transmissão vetorial clássica se dá quando o “barbeiro” termina de se alimentar do sangue humano, defeca eliminando os protozoários de *Trypanosoma cruzi*, que entram em contato com a ferida e penetram a pele da vítima (AGÊNCIA FIOCRUZ, 2021).



O agente etiológico *T. cruzi* é um parasita multi-hospedeiro de ciclo de vida complexo, apresentando quatro estágios de desenvolvimento em ambos os hospedeiros. No vetor, o parasita se prolifera no trato gastrointestinal na forma epimastigota, não infecciosa, mas se transforma em tripomastigotas metacíclicas infecciosas no reto do inseto, que são descartadas nas fezes e entram em contato com a ferida oriunda da picada no ser humano. Após a infecção por tripomastigotas, elas percorrem a corrente sanguínea e invadem vários tipos de células, incluindo células do coração e gastrointestinais, se transformam em amastigotas, que se proliferam por fissão binária, causando a condição clínica da doença de Chagas no órgão em que se instalou. Eventualmente, as amastigotas se transformam em tripomastigotas, rompendo as células e caindo na corrente sanguínea, que podem infectar outros tecidos ou o vetor, quando esse se alimenta do sangue de um indivíduo contaminado. Assim, as tripomastigotas encontradas no inseto se transformam novamente em epimastigotas, completando o ciclo (Figura 2) (URBINA, 1999).

Figura 2. Ciclo de vida do *T. cruzi* no vetor e no hospedeiro vertebrado.

Fonte: Adaptado, (URBINA, 1999).



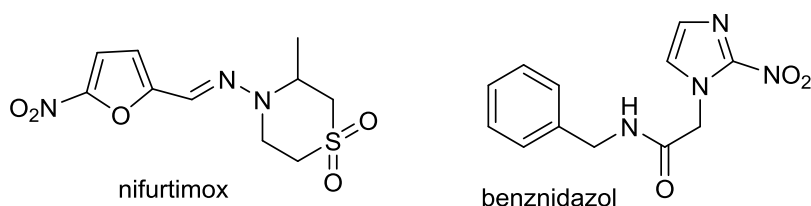
A doença de Chagas se desenvolve em duas fases: aguda, em que há presença do parasita no sangue, durando de quatro a oito semanas, podendo ou não haver sintomas que são parecidos com os de um resfriado e, por não serem específicos, o diagnóstico é incomum nessa fase; e crônica, podendo se manifestar de 10 – 30 anos após a infecção, em que 30 –

40% dos pacientes desenvolvem uma forma determinada da doença, cardíaca ou digestiva, que muitas vezes só é descoberta quando alcança um estado crítico (HARRISON, 2020, PAUCAR, 2016).

### 1.3. Tratamentos disponíveis

Atualmente, os medicamentos usados para o tratamento da doença de Chagas são o benznidazol, desenvolvido pela Roche em 1972 e o nifurtimox, desenvolvido pela Bayer em 1967 (Figura 3), sendo que o último não é comercializado na América Latina. Esses medicamentos possuem eficiência moderada com maior sucesso para tratamento da fase aguda, sendo frequentemente interrompido devido a sua alta toxicidade que causa efeitos colaterais como anorexia, náuseas, vômito e vertigem, levando os pacientes a abandonarem o tratamento (COURA, 2002).

Figura 3. Estrutura dos fármacos utilizados para tratamento de Chagas.



Recentemente, em 2017, a agência regulamentadora estadunidense Food and Drug Administration, aprovou o benznidazol para o tratamento da doença de Chagas em crianças de 2 a 12 anos, sendo o primeiro medicamento aprovado para o tratamento nos Estados Unidos (FDA, 2021).

Nesse cenário, se faz necessário a busca de novos fármacos, menos tóxicos, de baixo custo e mais eficientes para o tratamento da doença de Chagas.

### 1.4. Desenvolvimento de Fármaco

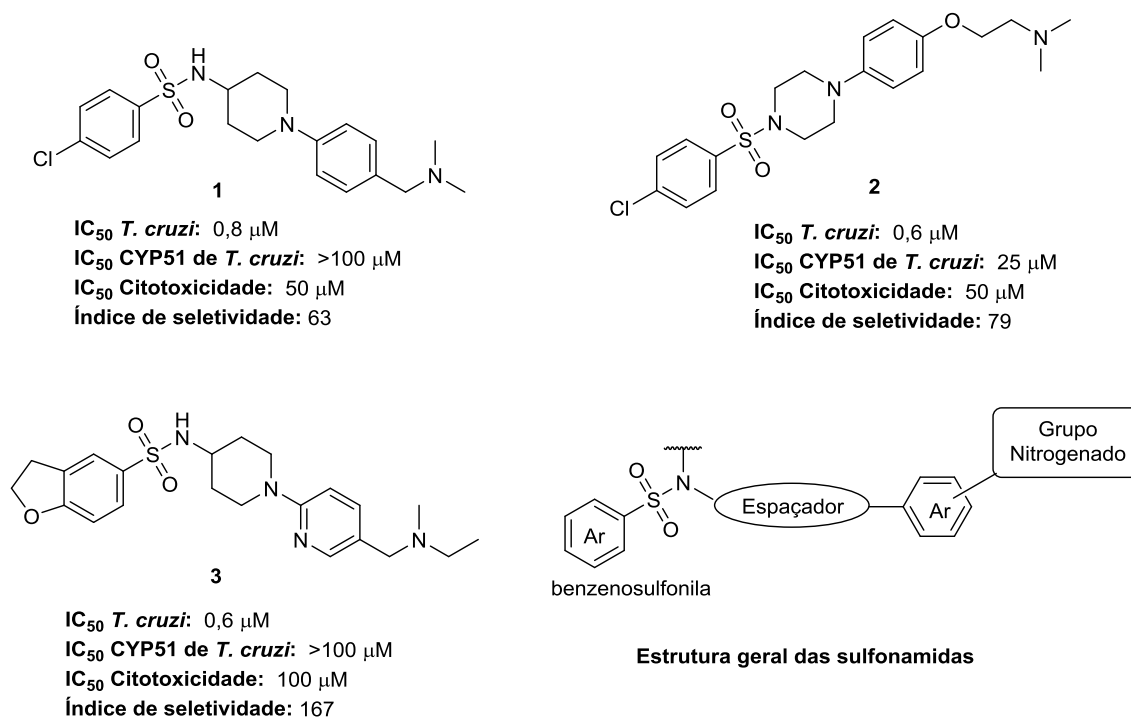
No processo de desenvolvimento de um fármaco, é na etapa de descoberta que se encontra uma molécula que apresenta atividade biológica *in vitro* contra uma doença específica. Essa molécula pode ser chamada de *hit*, e com conhecimentos em Química

Medicinal e Síntese Orgânica, estratégias racionais, distintas e eficientes são exploradas para o planejamento e síntese de derivados do *hit* possibilitando modificações estruturais para a transformação do *hit* em um líder (do inglês, *hit-to-lead*). O líder é uma molécula com melhores propriedades farmacológicas e potentes em ensaios *in vivo*. Essa etapa do processo de desenvolvimento de fármacos é chamada de *hit-to-lead*, e tem o objetivo de preparar compostos com melhores propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas que o *hit*.

Nesse trabalho, a escolha do *hit* potente contra o *Trypanosoma cruzi*, parasita causador da doença de Chagas, foi feita baseada no trabalho publicado por Pena e colaboradores, em 2015, no qual foram testados 1,8 milhões de compostos da biblioteca da Glaxo Smith Kline contra o *T. cruzi*, a partir de uma triagem automatizada em grande escala (HTS, do inglês *high throughputscreening*). A publicação de Pena e colaboradores teve como objetivo disponibilizar *hits* para qualquer grupo de pesquisa com interesse em realizar estudos no desenvolvimento de fármacos contra algumas doenças negligenciadas.

Após uma minuciosa análise dos resultados publicados, foram selecionados três derivados de sulfonamidas **1-3** com semelhanças estruturais, que classificamos como representantes de uma mesma série e que podem ser representados por uma estrutura geral constituída por um grupo benzenosulfonila ligado a uma diamina (espaçador) que se liga a um anel aromático contendo um grupo nitrogenado (Figura 4). Esses três compostos se destacam pela potência contra *T. cruzi* ( $IC_{50} < 1 \mu M$ ), sendo o valor de  $IC_{50}$  calculados para a concentração inibitória de 50% do alvo, e baixa citotoxicidade em células HepG2 humanas não infectadas, gerando-se valores de índice de seletividade entre 63 e 167, calculado a partir da razão entre a citotoxicidade para células humanas e a atividade tripanocida. Além disso, são compostos que possuem pouca atividade de inibição da enzima CYP51 do parasita ( $IC_{50} > 25 \mu M$ ), evidenciando que o mecanismo de ação principal não ocorre via inibição de CYP, o que é muito promissor, já que possivelmente não terá atividade inibitória contra a enzima CYP450 humana. Diante dessas análises, **1-3** foram selecionados como *hits* para o presente trabalho (Figura 4).

Figura 4. Estrutura geral da série de sulfonamidas e dos *hits* (1-3) com seus valores de IC<sub>50</sub>.



A etapa de transformação do *hit* em líder tem como objetivo melhorar a eficácia do *hit* avaliando o perfil *drug-like* do composto, termo em inglês que define o quanto um composto apresenta parâmetros estruturais, físico-químicos, bioquímicos e farmacocinéticos aceitáveis para iniciar ensaios *in vivo*. O aperfeiçoamento do *hit* é dado através de sucessivas modificações estruturais, de forma a obter compostos líderes com melhores propriedades farmacodinâmicas (potência e seletividade) e farmacocinéticas (absorção, distribuição, metabolismo e excreção, representados pela sigla ADME), obtendo um composto protótipo a fármaco, que geralmente possui atividade biológica comprovada em ensaios *in vivo* (BAXTER, 2006; WUNBERG, 2006; WENLOCK, 2003). De uma maneira geral, chegar até o composto líder não é uma tarefa trivial, devido à necessidade de um perfil farmacodinâmico e farmacocinético adequado para esse composto, além de exigir uma rede de colaboradores que possam contribuir, de forma contínua, na determinação desses parâmetros.

Levando em consideração os aspectos que fazem a doença de Chagas ser uma doença negligenciada, como o grande número de pessoas infectadas, a falta de medicamentos eficientes e de difícil acesso para o tratamento, se faz necessário o desenvolvimento de novos fármacos mais eficientes, menos tóxicos e de baixo custo para seu tratamento. Dessa forma, o presente trabalho visa contribuir para o desenvolvimento de novas moléculas potentes contra o parasita *T. cruzi* e contra a doença de Chagas.

## 2. Objetivos

### 2.1. Objetivo Geral

- Desenvolver processos de *hit-to-lead* a partir de *hits* potentes contra a doença de Chagas.

### 2.2. Objetivos Específicos

- Sintetizar os *hits* e confirmar a potência anti-*T. cruzi*;
- Planejar, sintetizar e caracterizar os compostos análogos aos *hits*;
- Determinar a atividade biológica contra *T. cruzi* e citotoxicidade dos compostos sintetizados;
- Obter uma relação entre estrutura química e atividade anti-*T. cruzi*.

### 3. Resultados e discussão

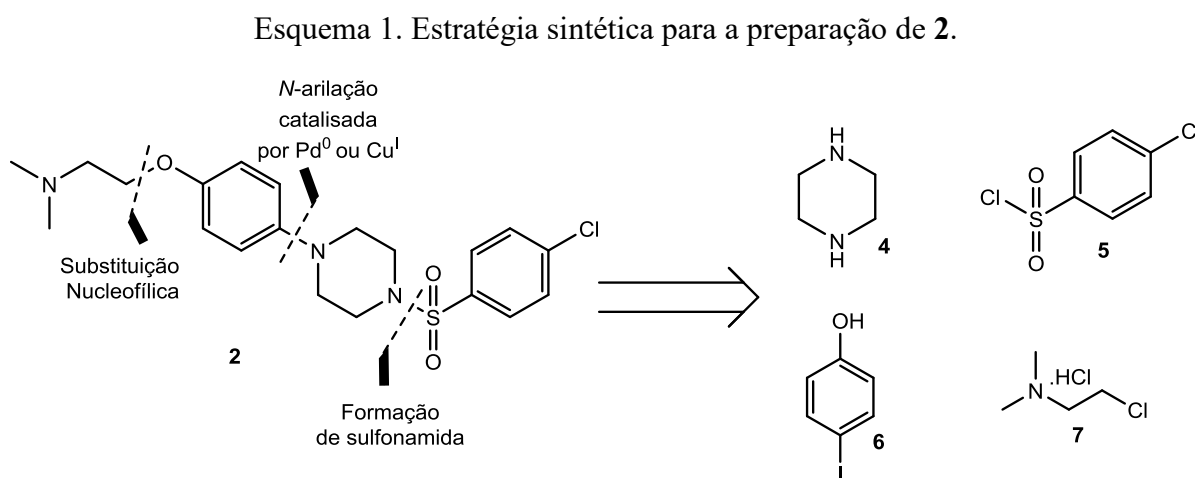
#### 3.1. Planejamento das sínteses dos *hits* 1 e 2

Após a seleção dos *hits* representados na Figura 2, foi necessário planejar a síntese no laboratório para que, posteriormente, ensaios biológicos fossem feitos a fim de confirmar a potência, bem como testes para obtenção e avaliação de propriedades farmacocinéticas de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME), ainda não descritas no artigo de referência de Pena e colaboradores (2015). Com o sucesso da síntese de um dos *hits* e com os resultados do perfil farmacológico em mãos, seria possível propor e planejar modificações estruturais para melhorias das propriedades da série, dando início ao processo de otimização do *hit* em um líder (do inglês: *hit-to-lead*).

Tendo isso em mente, a partir de uma análise retrossintética dos *hits*, o composto **2** foi escolhido para que começasse com o planejamento de sua síntese, já que os reagentes estavam disponíveis no laboratório e a rota sintética apresentava poucas etapas.

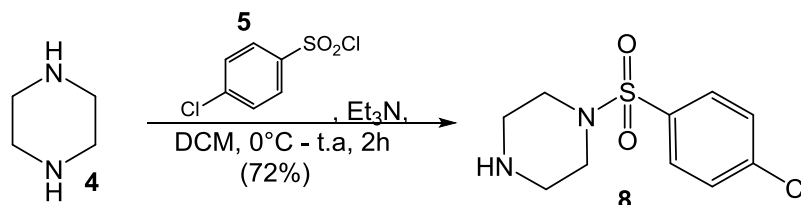
#### 3.2. Análise retrossintética e síntese do *hit* 2

O *hit* **2** poderia ser obtido a partir de três reações principais, sendo elas formação de sulfonamida, utilizando a piperazina comercial **4** e o cloreto de 4-clorobenzenosulfonila **5**, substituição nucleofílica, utilizando o *p*-iodofenol **6** e o cloreto de alquila **7** e *N*-arilação catalisada por cobre ou paládio (Esquema 1).



Para a formação da sulfonamida **8**, a piperazina comercial **4** reagiu com o cloreto de 4-clorobenzenosulfonila **5** na presença de trietilamina ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) como base e diclorometano (DCM) como solvente, obtendo um rendimento de 72% (Esquema 2).

Esquema 2. Síntese da sulfonamida **8**.



O composto **8** foi caracterizado por RMN  $^1\text{H}$  (Figura 5) e  $^{13}\text{C}$  (Figura 6). Com a formação de sulfonamida a partir da piperazina **4**, foram observados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  dois dupletos referentes aos quatro hidrogênios aromáticos provindos do cloreto de sulfonila **5**, sinais que evidenciam a obtenção de **8**. As atribuições aos hidrogênios e carbonos estão reportadas na Tabela 1.

Figura 5. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **8**.

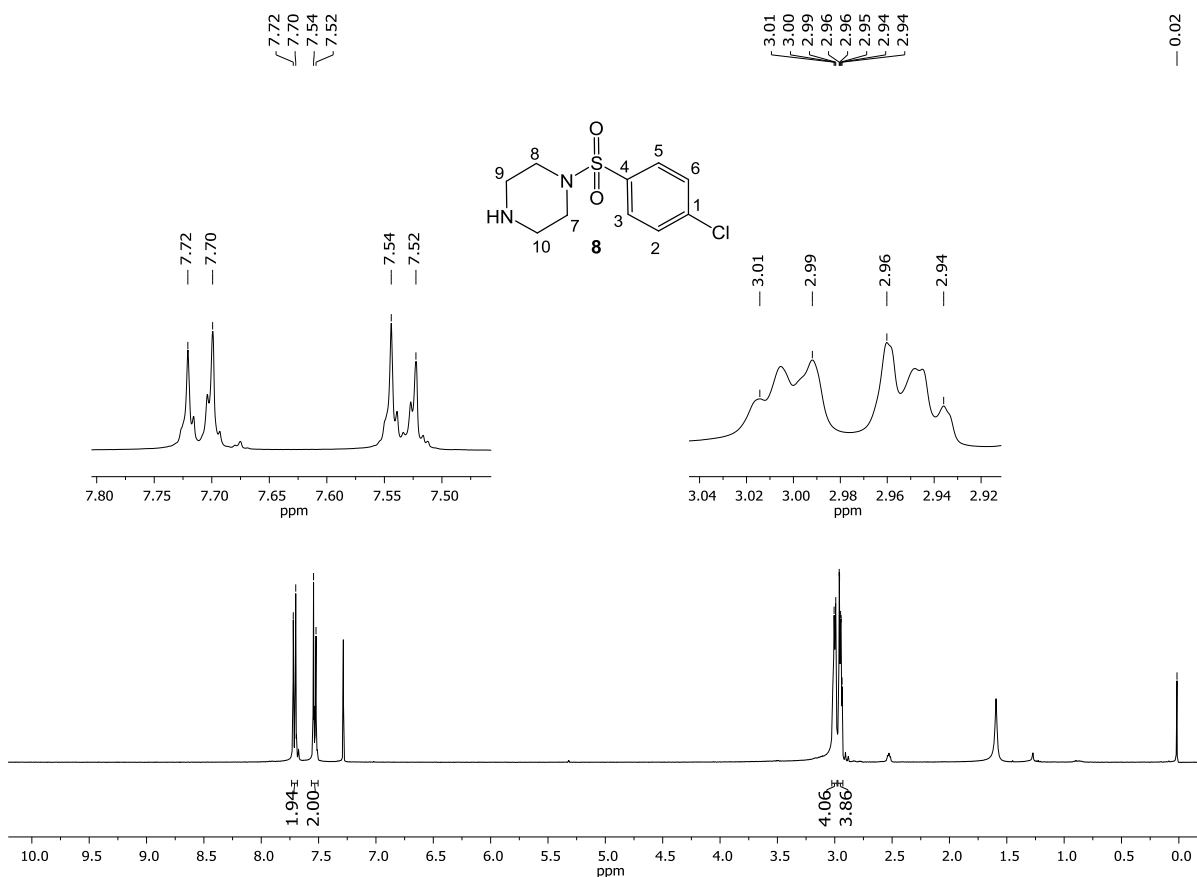
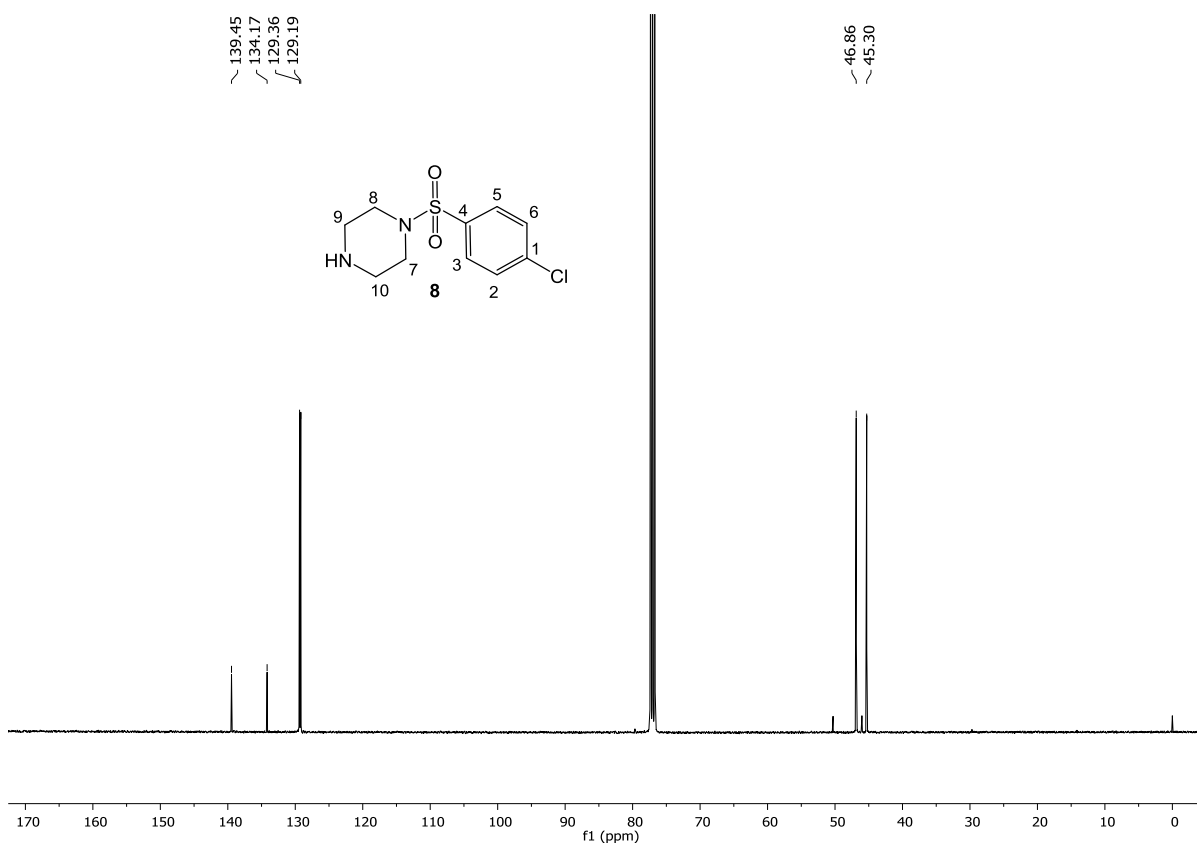


Figura 6. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **8**.Tabela 1. Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **8** ( $\text{CDCl}_3$ )

Posição H	$\delta_{\text{H}}^a$ ( $m^b$ , $J^c$ )	Posição C	$\delta_{\text{C}}^a$ ( $m^b$ )
-	-	C1	139,45 (C)
-	-	C4	134,17 (C)
H2 e H6	7,53 (d, 8,6)	C2 e C6	129,36 (CH)
H3 e H5	7,71 (d, 8,6)	C3 e C5	129,19 (CH)
H7 e H8	3,01 – 2,99 (m)	C7 e C8	46,86 ( $\text{CH}_2$ )
H9 e H10	2,96 – 2,94 (m)	C9 e C10	45,30 ( $\text{CH}_2$ )

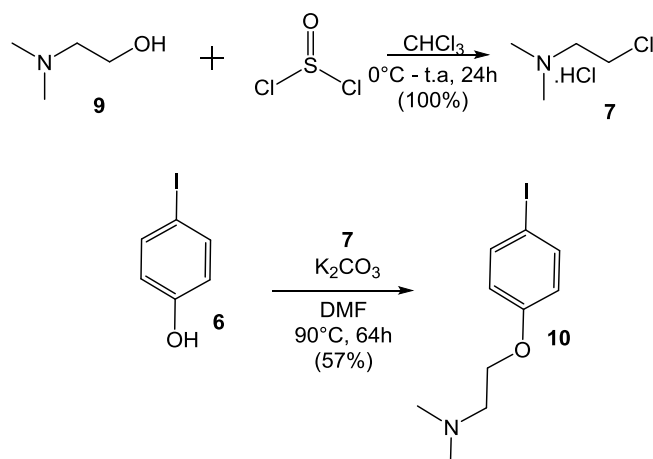
<sup>a</sup> deslocamentos químicos em ppm, em relação ao TMS como padrão interno

<sup>b</sup> multiplicidade

<sup>c</sup> constantes de acoplamento em Hz

O cloreto de alquila **7** foi obtido em 100% de rendimento a partir da reação do álcool **9** com cloreto de tionila, utilizando clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ) como solvente. O *p*-iodofenol **6** foi alquilado na presença do cloreto de alquila **7**, carbonato de potássio ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) como base e dimetilformamida (DMF) como solvente, obtendo o composto **10** em 57% de rendimento (Esquema 3).



Esquema 3. Síntese do cloreto de alquila **7** e do composto **10**.

O composto **10** foi caracterizado por RMN  $^1\text{H}$  (Figura 7) e  $^{13}\text{C}$  (Figura 8). Com a reação de substituição nucleofílica do *p*-iodofenol **6** foram observados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  dois tripletos e um singlete referente aos hidrogênios alifáticos provindos do cloreto de alquila **7**, sinais que evidenciam a obtenção de **10**. As atribuições aos hidrogênios e carbonos estão reportadas na Tabela 2.

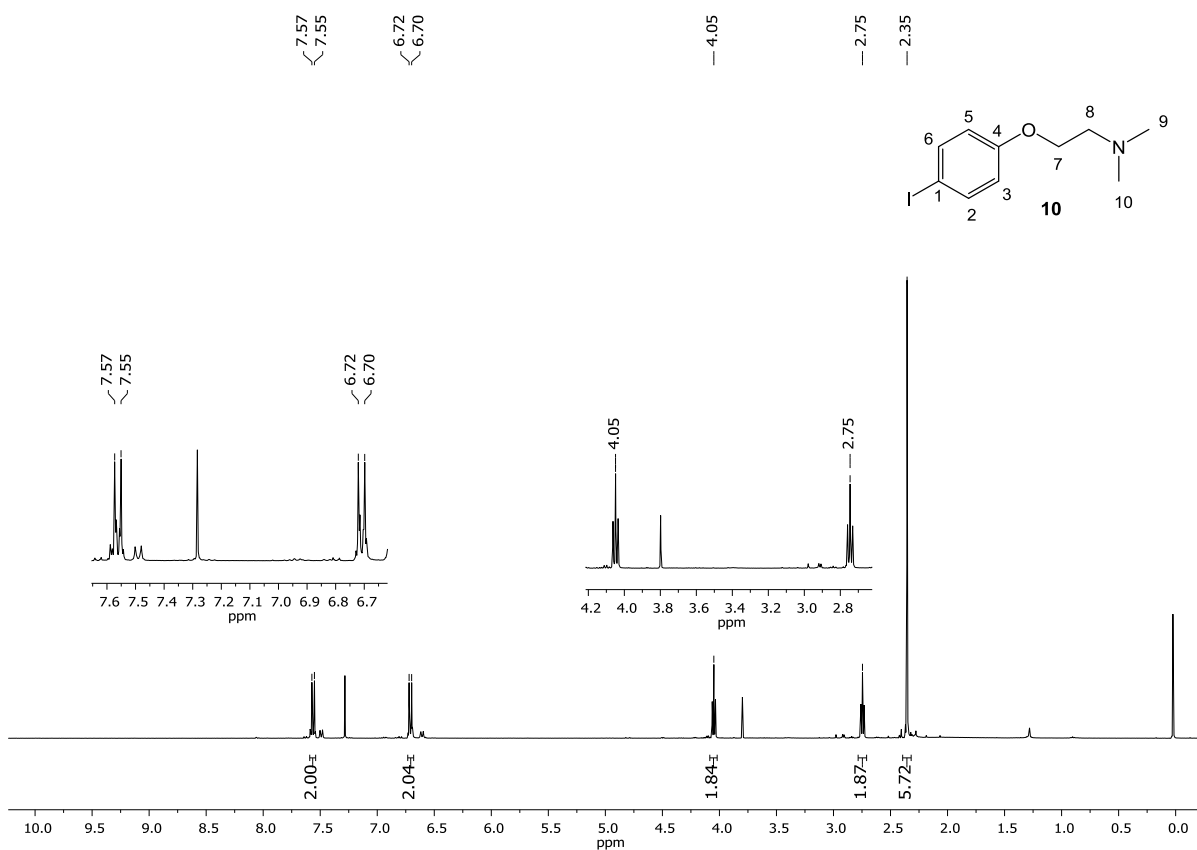
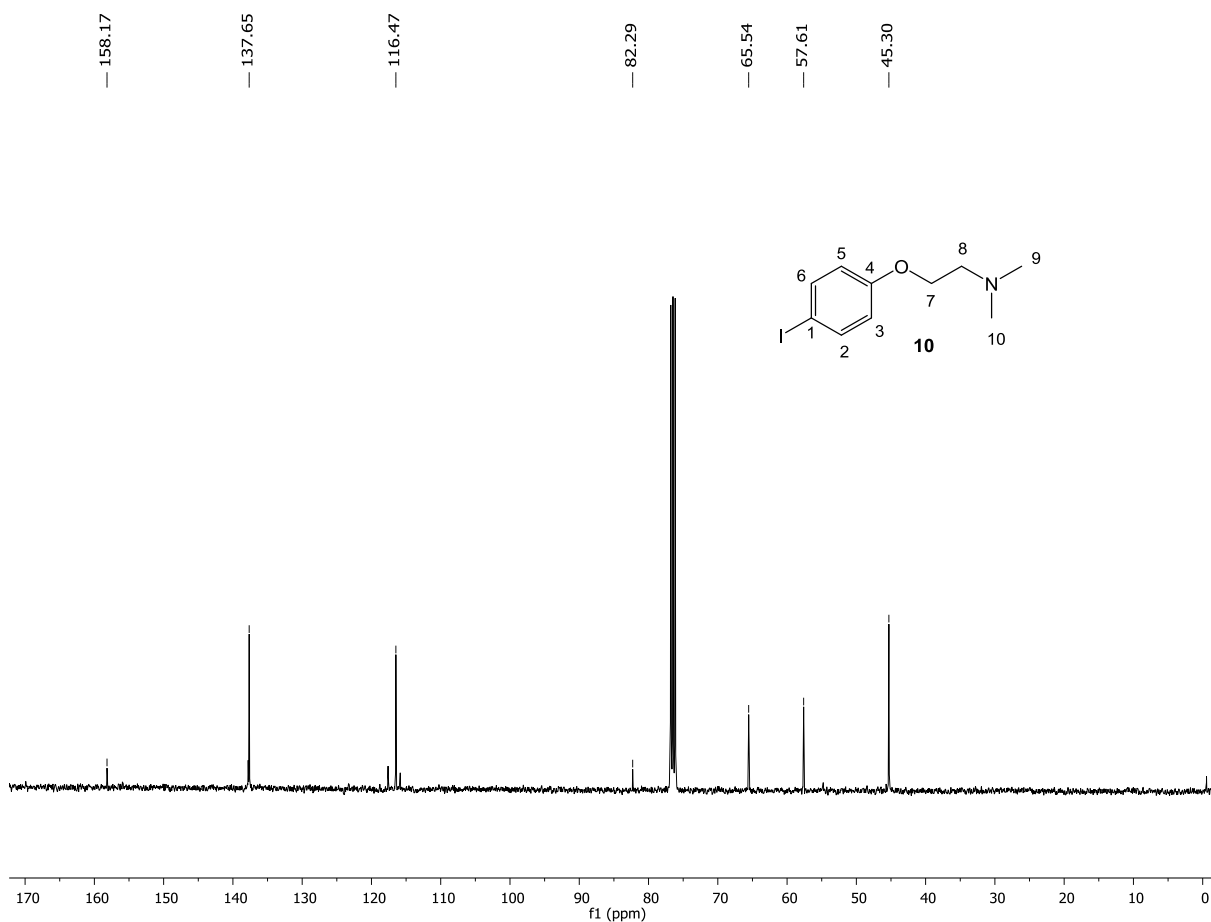
Figura 7. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **10**.

Figura 8. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **10**.Tabela 2. Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **10** ( $\text{CDCl}_3$ )

Posição H	$\delta_{\text{H}}^a$ ( $m^b$ , $J^c$ )	Posição C	$\delta_{\text{C}}^a$ ( $m^b$ )
-	-	C1	82,29 (C)
-	-	C4	158,17 (C)
H2 e H6	7,56 (d, 8,9)	C2 e C6	137,65 (CH)
H3 e H5	6,71 (d, 8,9)	C3 e C5	116,47 (CH)
H7	4,05 (t, 5,7)	C7	65,54 ( $\text{CH}_2$ )
H8	2,75 (t, 5,7)	C8	57,61 ( $\text{CH}_2$ )
H9 e H10	2,35 (s)	C9 e C10	45,30 ( $\text{CH}_3$ )

<sup>a</sup> deslocamentos químicos em ppm, em relação ao TMS como padrão interno

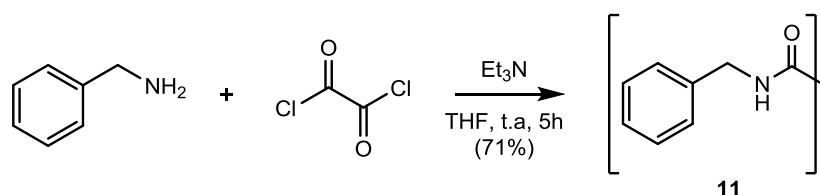
<sup>b</sup> multiplicidade

<sup>c</sup> constantes de acoplamento em Hz

A próxima etapa para a obtenção do *hit 2* seria a reação de acoplamento catalisada por  $\text{Pd}(0)$  ou  $\text{Cu}^{\text{I}}$  entre os compostos **8** e **10**. Então, primeiramente foram estudadas condições de *N*-arilação catalisada por  $\text{Cu}^{\text{I}}$ , conhecida como reação de Ullmann (BHUNIA, 2017).

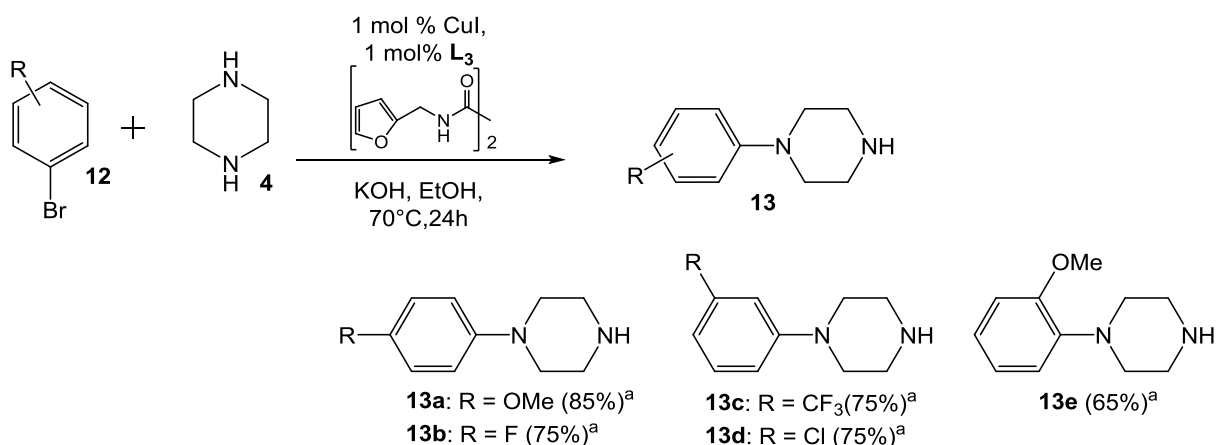
Para que as condições apresentadas no artigo de Bhunia e colaboradores (2017) fossem testadas com reagentes disponíveis no laboratório, o composto **11** foi escolhido para ser sintetizado e utilizado como ligante. A partir da amidação entre a benzilamina e o cloreto de oxalila comercial, utilizando trietilamina como base e tetraidrofurano (THF) como solvente, o ligante **11** foi obtido em 71% de rendimento (Esquema 4).

Esquema 4. Preparação do ligante **11**.



O artigo de Bhunia e colaboradores (2017) apresentou condições sintéticas para as reações de *N*-arilação entre os bromobenzenos substituídos **12** com a piperazina **4**, utilizando CuI como catalisador, o composto **L<sub>3</sub>** como ligante, hidróxido de potássio (KOH) como base e etanol (EtOH) anidro como solvente. Os rendimentos de obtenção dos produtos de *N*-arilação **13a-e** foram variados dependendo do substrato utilizado, mas todos se apresentaram acima de 60% (Esquema 5). O Esquema 5 foi adaptado para exemplificar os rendimentos da condição geral abordada no artigo de referência (BHUNIA, 2017).

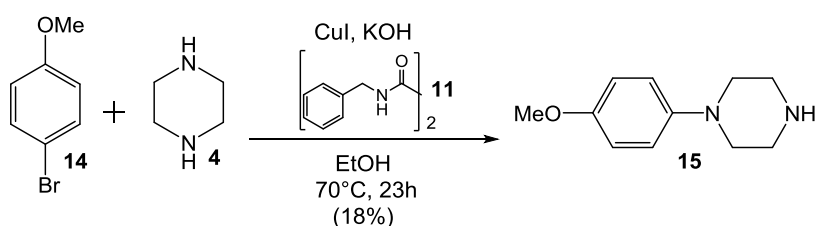
Esquema 5. Condição geral para síntese de **13a-e** e rendimentos (Adaptado; BHUNIA, 2017).



<sup>a</sup>Condição geral: **12** (2 mmol), **4** (8 mmol), KOH (2,6 mmol), EtOH (0,5 mL), 70°C, 24h.

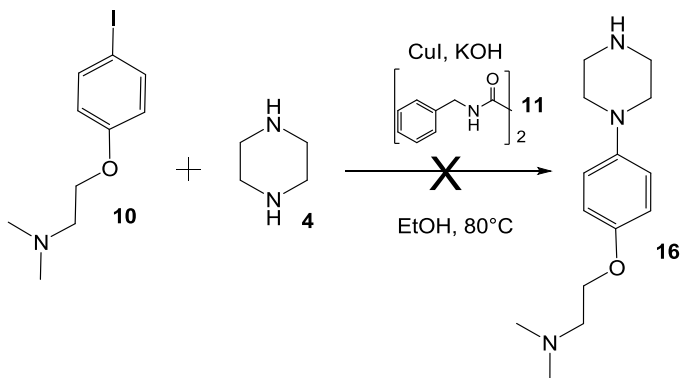
No laboratório estavam disponíveis os substratos que poderiam gerar o composto **13a**, que apresentou rendimento de 85% utilizando o ligante **L<sub>3</sub>** (BHUNIA, 2017) (Esquema 5). Então, baseado nas condições com diferentes ligantes e rendimentos reportados no artigo de Bhunia e colaboradores (2017), a condição geral foi testada com o 1-bromo-4-metoxibenzeno **14** e a piperazina comercial **4**, utilizando iodeto de cobre (CuI) como catalisador, o composto **11** como ligante (Esquema 4), hidróxido de potássio como base e etanol anidro como solvente para obter **15**, contudo o rendimento obtido foi de apenas 18% (Esquema 6).

Esquema 6. Preparação de **15**.



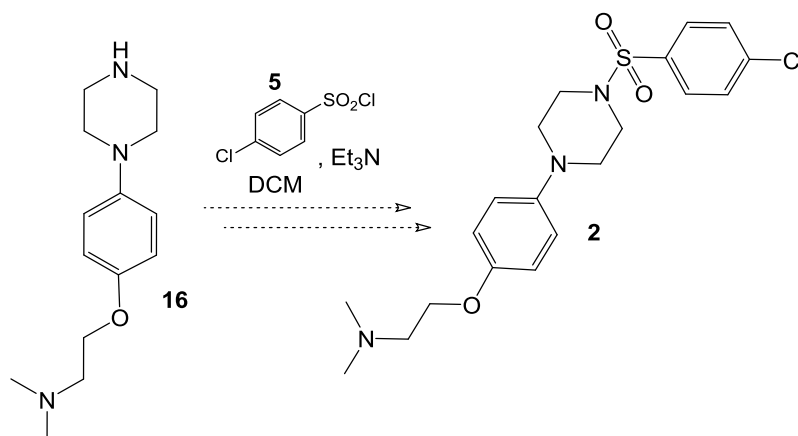
Utilizando o composto **11** como ligante para essa reação, o rendimento para a obtenção de **15** foi menor do que o reportado no artigo de Bhunia e colaboradores, em que utilizaram os mesmos materiais de partida e o ligante **L<sub>3</sub>** para obtenção do composto **13a** em 85% de rendimento (2017). Entretanto, a mesma condição reacional de *N*-arilação apresentada no Esquema 6 foi utilizada para teste de reação entre o composto **10** e a piperazina comercial **4**, que são os materiais de partida que compõe parte da estrutura do *hit 2* (Figura 2), composto de interesse. Então, foram utilizados CuI como catalisador, o composto **11** ligante, hidróxido de potássio como base e etanol anidro como solvente na tentativa de obtenção do composto **16** (BHUNIA, 2017) (Esquema 7).

Esquema 7. Tentativa de obtenção do composto **16**.

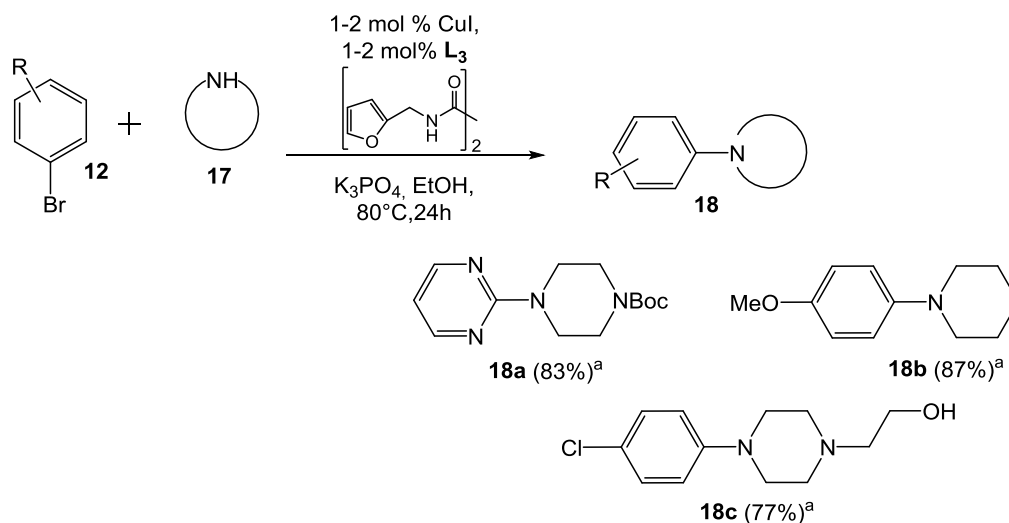


A partir do composto **16**, a sulfonamida poderia ser formada utilizando o cloreto de 4-clorobenzenosulfonila **5**, trietilamina como base e diclorometano como solvente para síntese do composto **2** (Esquema 8). Porém, não foi possível isolar **16** devido a formação de uma mistura complexa e de difícil purificação, evidenciada por cromatografia de camada delgada (CCD).

Esquema 8. Rota alternativa para obtenção de **2**.

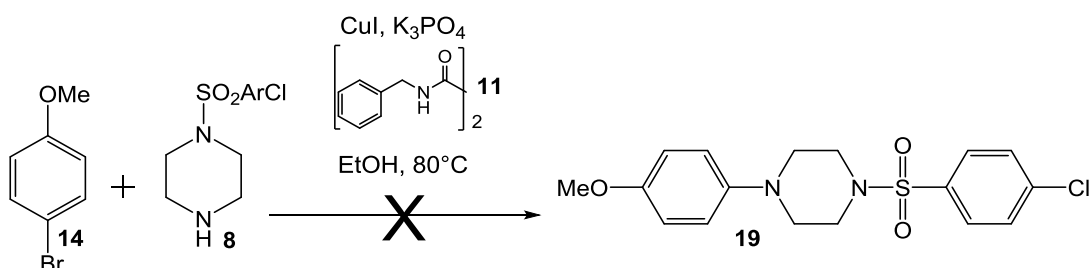


Buscando uma condição que pudesse conduzir a obtenção de **2**, o artigo de Bhunia e colaboradores (2017) foi revisitado e outra condição para reação de Ullmann foi selecionada para teste, em que se utiliza trifosfato de potássio ( $\text{K}_3\text{PO}_4$ ) como base para a *N*-arilação entre as aminas cíclicas secundárias **17** e os bromobenzenos substituídos **12**, utilizando  $\text{CuI}$  como catalisador, o ligante **L<sub>3</sub>** e etanol anidro como solvente para obtenção dos produtos de *N*-arilação **18a-c** (Esquema 9). O Esquema 9 foi adaptado para exemplificar os rendimentos da condição apresentada no artigo (BHUNIA, 2017).

Esquema 9. Condição para síntese de **18a-c** e rendimentos (Adaptado; BHUNIA, 2017).

<sup>a</sup>Condição geral: **12** (5 mmol), **17** (7,5 mmol),  $\text{K}_3\text{PO}_4$  (10 mmol), EtOH (5 mL),  $80^\circ\text{C}$ , 24h.

Com base na condição apresentada no Esquema 9, um teste foi realizado utilizando  $\text{CuI}$  como catalisador, o composto **11** como ligante,  $\text{K}_3\text{PO}_4$  como base, etanol anidro como solvente, o 1-bromo-4-metoxibenzeno **14** e a sulfonamida **8**, por ser uma amina secundária cíclica e também ser um fragmento do *hit* **2**, que é o produto almejado e motivo da investigação de condições reacionais. Porém não foi possível obter o produto de teste **19** (Esquema 10).

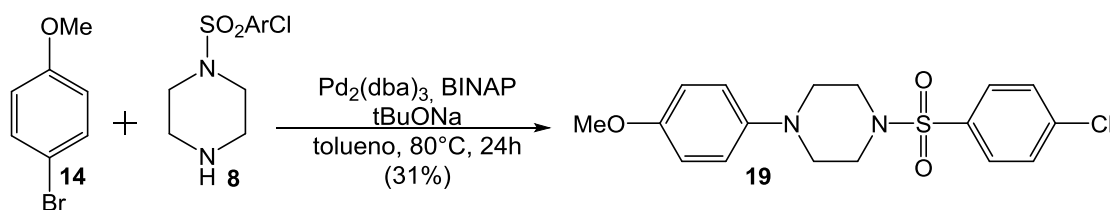
Esquema 10. Tentativa de síntese de **19** via reação de Ullmann.

Uma hipótese para as falhas na etapa da reação de acoplamento catalisada por  $\text{Cu}^{\text{I}}$ , pode ser justificada pelo fato de o iodeto de cobre comercial utilizado na síntese não ter sido purificado previamente, como indicado no artigo de Buhina e colaboradores (2017) (BHUNIA, 2017).

Após realizar vários testes de condição sintética para a reação de acoplamento catalisada por  $\text{Cu}^I$ , foram estudadas outras condições de *N*-arilação que utilizavam  $\text{Pd}(0)$  como catalisador, mais conhecidas como reações de Buchwald-Hartwig (HEPPERLE, 2002; HERAVI, 2018).

Baseado nas condições apresentadas por Hepperle e colaboradores (2002) que apresentaram rendimento variando entre 10% – 82% dependendo do substrato, foi feito um teste para obtenção de **19** a partir das condições da reação de Buchwald-Hartwig, utilizando o 1-bromo-4-metoxibenzeno **14**, a sulfonamida **8**, tris(dibenzilidenoacetona)dipaladio(0) ( $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ ) como catalisador, 2,2'-bis(difenilfosfina)-1,1'-binaftil (BINAP) como ligante, *tert*-butóxido de sódio (tBuONa) como base e tolueno como solvente, que gerou o produto **19** em 31% de rendimento (Esquema 11).

Esquema 11. Síntese de **19** via reação de Buchwald-Hartwig.



O composto **19** foi caracterizado por RMN  $^1\text{H}$  (Figura 9) e  $^{13}\text{C}$  (Figura 10). Com a reação de *N*-arilação de **14**, foram observados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  dois dupletos referentes aos quatro hidrogênios aromáticos e um multipletto referente aos oito hidrogênios da piperazina provindos da sulfonamida **8**, sinais que evidenciam a obtenção de **19**. As atribuições aos hidrogênios e carbonos estão reportadas na Tabela 3.

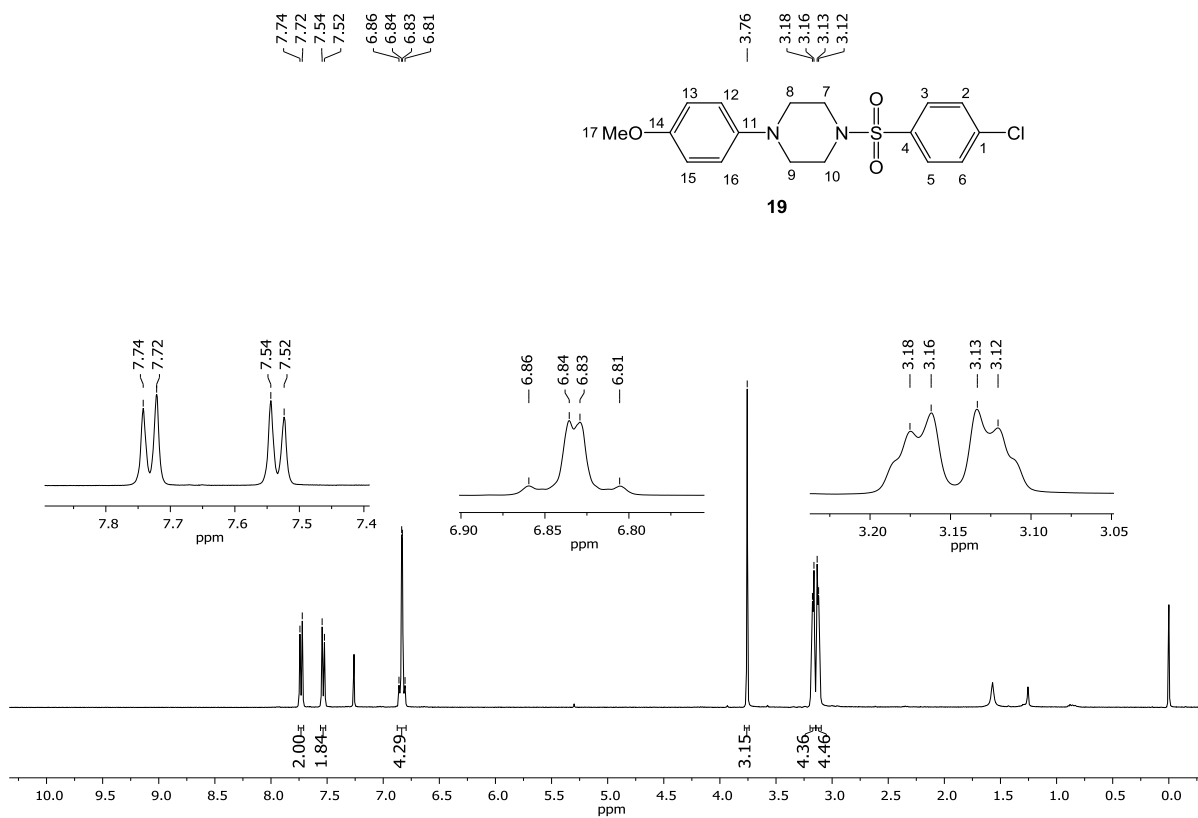
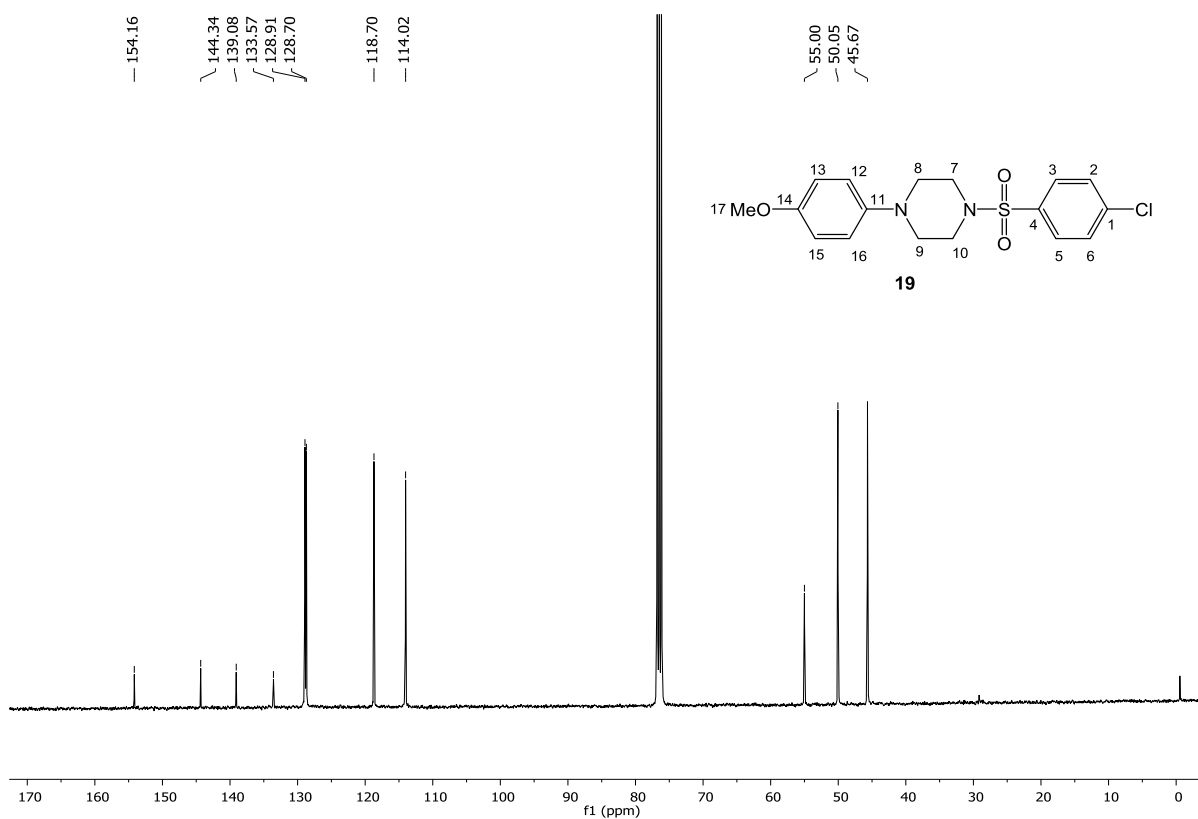
Figura 9. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **19**.Figura 10. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **19**.



Tabela 3. Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **19** ( $\text{CDCl}_3$ )

Posição H	$\delta_{\text{H}}^a$ ( $m^b$ , $J^c$ )	Posição C	$\delta_{\text{C}}^a$ ( $m^b$ )
-	-	C1	139,08 (C)
-	-	C4	133,57 (C)
H2 e H6	7,73 (d, 8,1)	C2 e C6	128,91 (CH)
H3 e H5	7,53 (d, 8,1)	C3 e C5	128,70 (CH)
H7 e H10	3,13 – 3,12 (m)	C7 e C10	45,67 ( $\text{CH}_2$ )
H8 e H9	3,18 – 3,16 (m)	C8 e C9	50,05 ( $\text{CH}_2$ )
-	-	C11	144,34 (C)
-	-	C14	154,16 (C)
H12 e H16	6,86 – 6,81 (m)	C12 e C16	114,02 (CH)
H13 e H15	6,86 – 6,81 (m)	C13 e C15	118,70 (CH)
H17	3,76 (s)	C17	55,00 ( $\text{CH}_3$ )

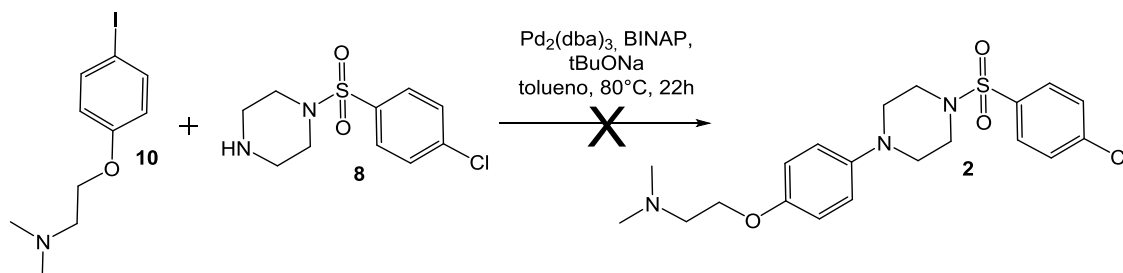
<sup>a</sup> deslocamentos químicos em ppm, em relação ao TMS como padrão interno

<sup>b</sup> multiplicidade

<sup>c</sup> constantes de acoplamento em Hz

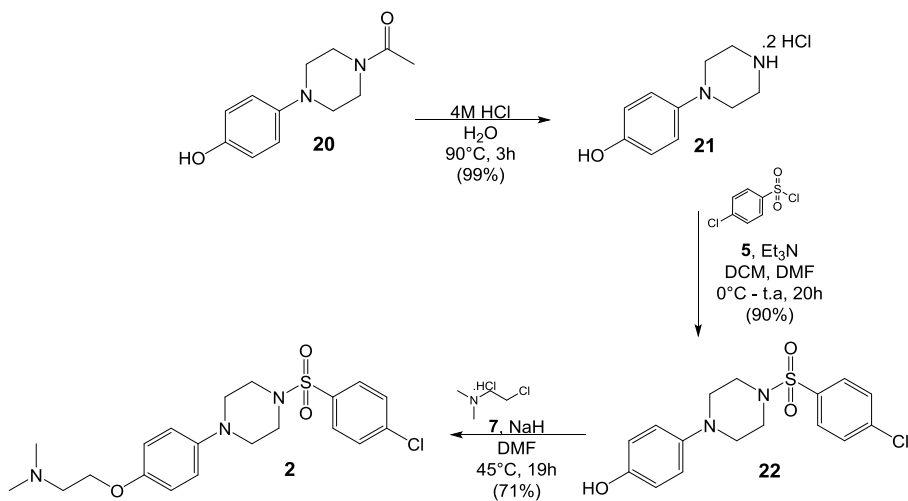
Como foi discutido na introdução deste trabalho, os ensaios biológicos foram realizados com a intenção de avaliar a atividade dos compostos contra o causador da doença de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, para promover um estudo de relação entre estrutura e atividade biológica. O composto **19** foi enviado para teste biológico contra o *T. cruzi*, a fim de avaliar a influência da metoxila na atividade biológica desse composto quando comparado ao *hit 2*, além de avaliar se o grupo nitrogenado é um fragmento farmacofórico da molécula (Figura 4).

Após o sucesso da obtenção de **19** via reação de acoplamento catalisada por Pd(0), as mesmas condições foram utilizadas para a *N*-arilação da sulfonamida **8** com o iodeto de arila **10**, utilizando  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  como catalisador, BINAP como ligante, *t*BuONa como base e tolueno como solvente, a fim de obter o *hit 2*, porém não houve formação de produto (Esquema 12).

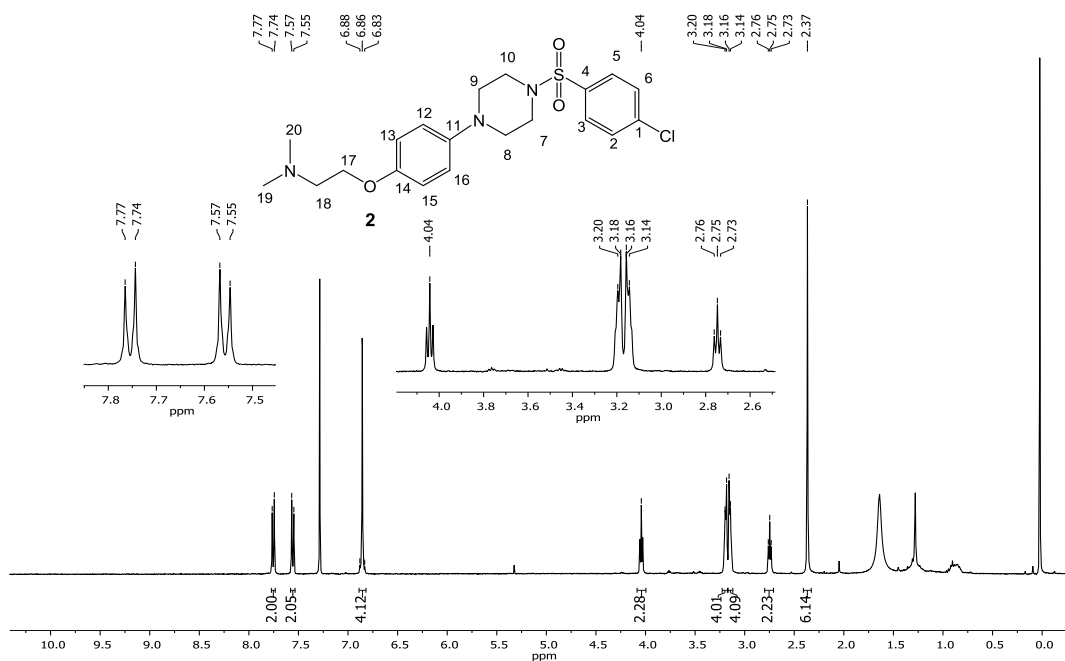
Esquema 12. Tentativa de síntese para obtenção de **2**.

Com as dificuldades enfrentadas na síntese de **2**, principalmente na etapa de *N*-arilação catalisada por  $\text{Cu}^{\text{I}}$  e  $\text{Pd}(0)$ , o reagente comercial 1-acetil-4-(4-hidroxifenil)piperazina **20** foi adquirido comercialmente..

A partir de **20**, seria possível obter o *hit* **2** em apenas três etapas: hidrólise de amida, formação de sulfonamida e substituição nucleofílica utilizando o cloreto de alquila **7** e o cloreto de 4-clorobenzenosulfonila **5**, conforme descrito no Esquema 13. Primeiramente, o composto comercial **20** sofreu uma clivagem do grupo acetil na presença de uma solução de HCl 4M, formando o cloridrato **21** em 99% de rendimento, que foi submetido a uma formação de sulfonamida utilizando o cloreto de 4-clorobenzenosulfonila **5**, trietilamina como base, diclorometano e dimetilformamida como solventes, obtendo o composto **22** em 90% de rendimento. Por fim, este foi submetido a uma reação de substituição nucleofílica para alquilação do fenol, utilizando o cloreto de alquila **7**, hidreto de sódio como base e dimetilformamida como solvente, gerando o composto **2** em 71% de rendimento (Esquema 13).

Esquema 13. Preparação do *hit 2* a partir de **20**.

Analisando o espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 11) do *hit 2* sua obtenção foi evidenciada pela presença de dois dupletos em  $\delta$  7,75 ( $J = 8,1$  Hz) e 7,56 ( $J = 8,1$  Hz) referentes aos quatro hidrogênios aromáticos provindos do cloreto de sulfonila **5**; um multipletto em  $\delta$  6,88 – 6,86 referente aos quatro hidrogênios aromáticos e um multipletto em  $\delta$  3,20 – 3,14 referente aos oito hidrogênios da piperazina provindos do composto **20**; dois tripletos em  $\delta$  4,04 ( $J = 5,7$  Hz) e 2,75 ( $J = 5,7$  Hz) referentes aos quatro hidrogênios metilênicos e um singletto em  $\delta$  2,37 referente aos seis hidrogênios das duas metilas provindos do cloreto de alquila **7** (Figura 11).

Figura 11. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do *hit 2*.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  complementa as evidências de obtenção do *hit 2*, pois apresenta quatro sinais de carbonos não hidrogenados C1 em  $\delta$  139,09, C4 em  $\delta$  133,49, C11 em  $\delta$  144,40 e C14 em 153,30; quatro sinais referentes aos carbonos aromáticos C2 e C6 em  $\delta$  128,92, C3 e C5 em  $\delta$  128,71, C12 e C16 em  $\delta$  118,58 e C13 e C15 em  $\delta$  114,79; os sinais dos carbonos metilênicos C17 em  $\delta$  65,70 e C18 em  $\delta$  57,78; os sinais dos carbonos da piperazina C7 – C10 em  $\delta$  49,97 e 45,67 e um sinal referente as duas metilas em  $\delta$  45,30 (Figura 12). Todos os sinais estão atribuídos na Tabela 4.

Figura 12. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do *hit 2*.

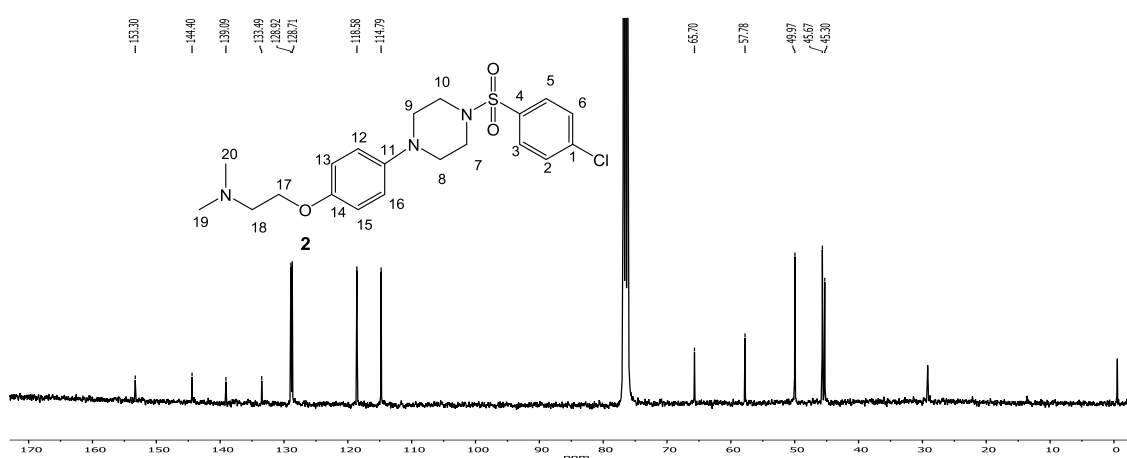


Tabela 4. Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do *hit 2* ( $\text{CDCl}_3$ )

Posição H	$\delta_{\text{H}}^a$ ( $m^b$ , $J^c$ )	Posição C	$\delta_{\text{C}}^a$ ( $m^b$ )
-	-	C1	139,09 (C)
-	-	C4	133,49 (C)
H2 e H6	7,75 (d, 8,1)	C2 e C6	128,92 (CH)
H3 e H5	7,56 (d, 8,1)	C3 e C5	128,71 (CH)
H7 e H10	3,16 – 3,14 (m)	C7 e C10	45,67 ( $\text{CH}_2$ )
H8 e H9	3,20 – 3,18 (m)	C8 e C9	49,97 ( $\text{CH}_2$ )
-	-	C11	144,40 (C)
-	-	C14	153,30 (C)
H12 e H16	6,88 – 6,86 (m)	C12 e C16	118,58 (CH)
H13 e H15	6,88 – 6,86 (m)	C13 e C15	114,79 (CH)
H17	4,04 (t, 5,7)	C17	65,70 ( $\text{CH}_2$ )
H18	2,75 (t, 5,7)	C18	57,78 ( $\text{CH}_2$ )
H19 e H20	2,37 (s)	C19 e C20	45,30 ( $\text{CH}_3$ )

<sup>a</sup> deslocamentos químicos em ppm, em relação ao TMS como padrão interno

<sup>b</sup> multiplicidade <sup>c</sup> constantes de acoplamento em Hz

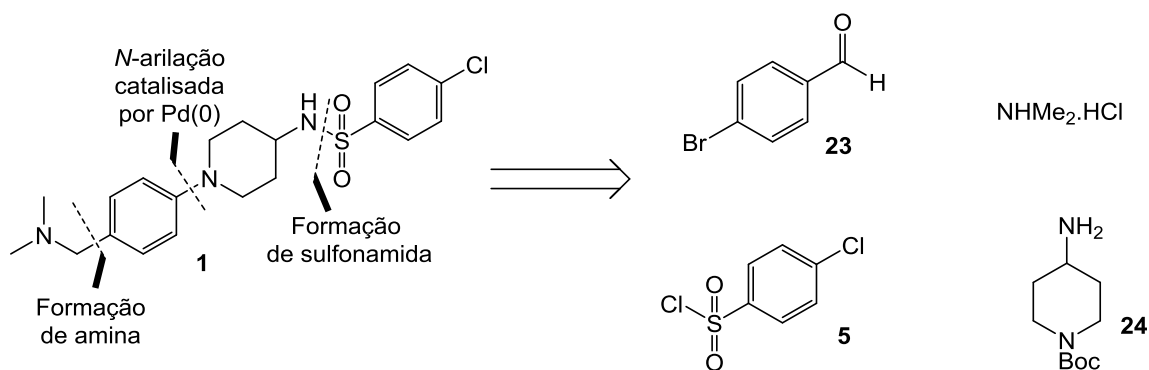
A obtenção do *hit 2* foi essencial para o andamento do trabalho, já que é o composto de referência para comparação de potência com todos os compostos almejados neste trabalho. Com os ensaios biológicos, foi possível confirmar a potência de **2** contra o parasita causador da doença de Chagas, o *T. cruzi*, e obter um valor padrão para avaliar a potência dos compostos análogos. Além disso, serão feitos ensaios farmacocinéticos para obtenção de propriedades de ADME ainda desconhecidas, a fim de desenvolver um processo *hit-to-lead* e entender melhor as deficiências dessa molécula e como transformá-la em um líder.

Em sequência, foi planejada a síntese do *hit 1* para avaliar a viabilidade de sua síntese no laboratório.

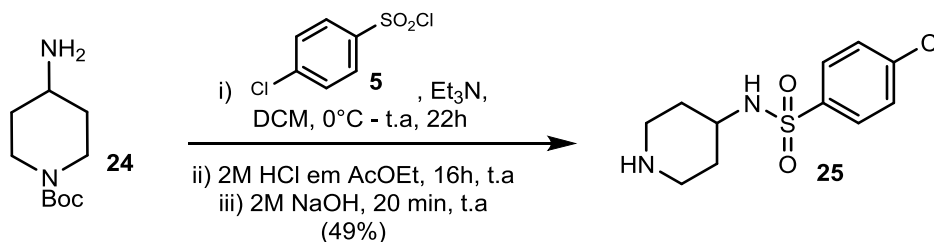
### 3.3. Análise retrossintética e tentativa de síntese do *hit 1*

O planejamento de síntese para obtenção de **1** envolve três desconexões representadas no Esquema 14, sendo elas: formação de amina, utilizando o aldeído **23** e cloridrato de dimetilamina, *N*-arilação catalisada por cobre ou paládio e formação de sulfonamida, utilizando o cloreto de 4-clorobenzenosulfonila **5** e aminopiperidina **24** (Esquema 14).

Esquema 14. Estratégia sintética para a preparação de **1**.



Primeiramente, a sulfonamida **25** foi preparada a partir da reação entre a aminopiperidina protegida e comercial **24**, que reagiu com o cloreto de 4-clorobenzenosulfonila **5** na presença de trietilamina como base e diclorometano como solvente. Posteriormente, foi realizada a clivagem do grupo protetor Boc na presença de uma solução de ácido clorídrico em acetato de etila (AcOEt), para gerar o composto **25** em 49% de rendimento nas duas etapas reacionais (Esquema 15).

Esquema 15. Preparação da sulfonamida **25**.

O composto **25** foi caracterizado por RMN  $^1\text{H}$  (Figura 13) e  $^{13}\text{C}$  (Figura 14). Com a formação de sulfonamida a partir de **24**, foram observados dois dupletos referentes aos quatro hidrogênios aromáticos provindos do cloreto de sulfonila **5**, o que evidencia a obtenção de **25**. As atribuições aos hidrogênios e carbonos estão reportadas na Tabela 5.

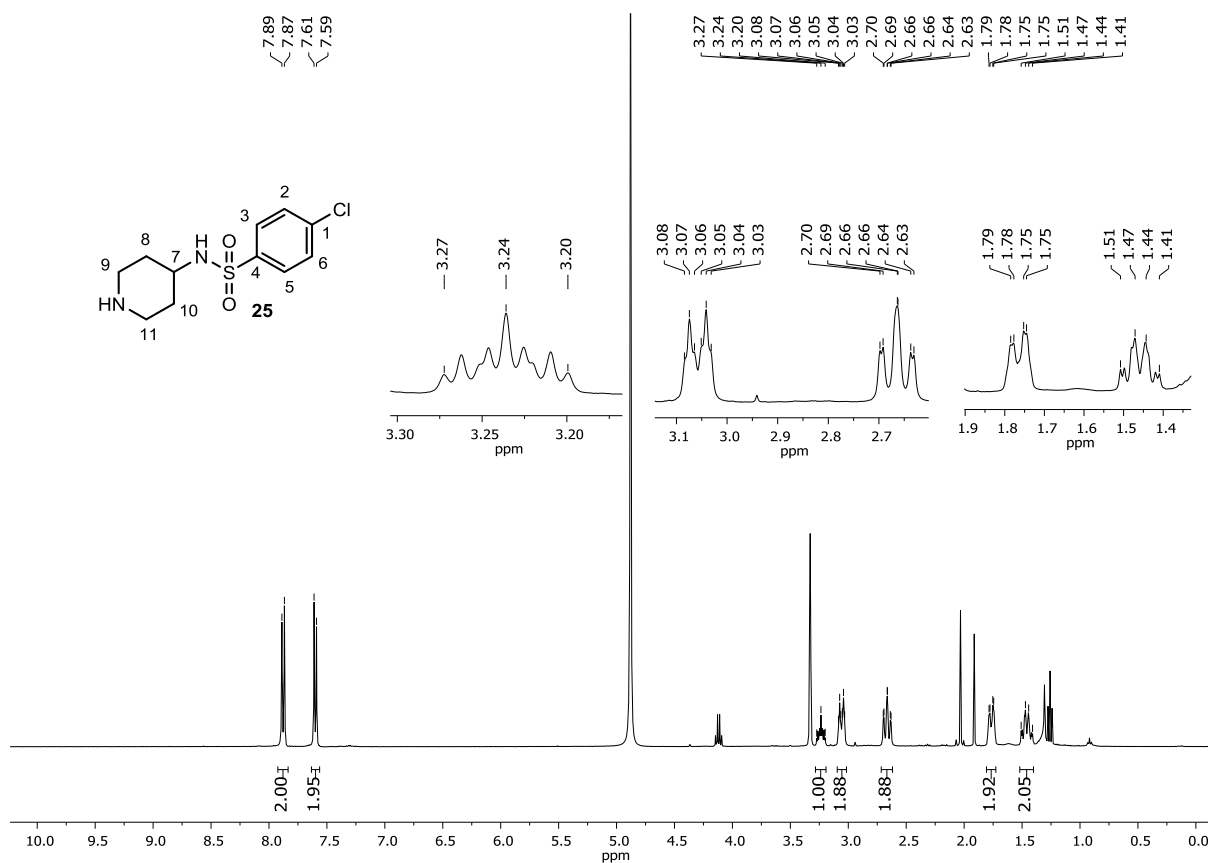
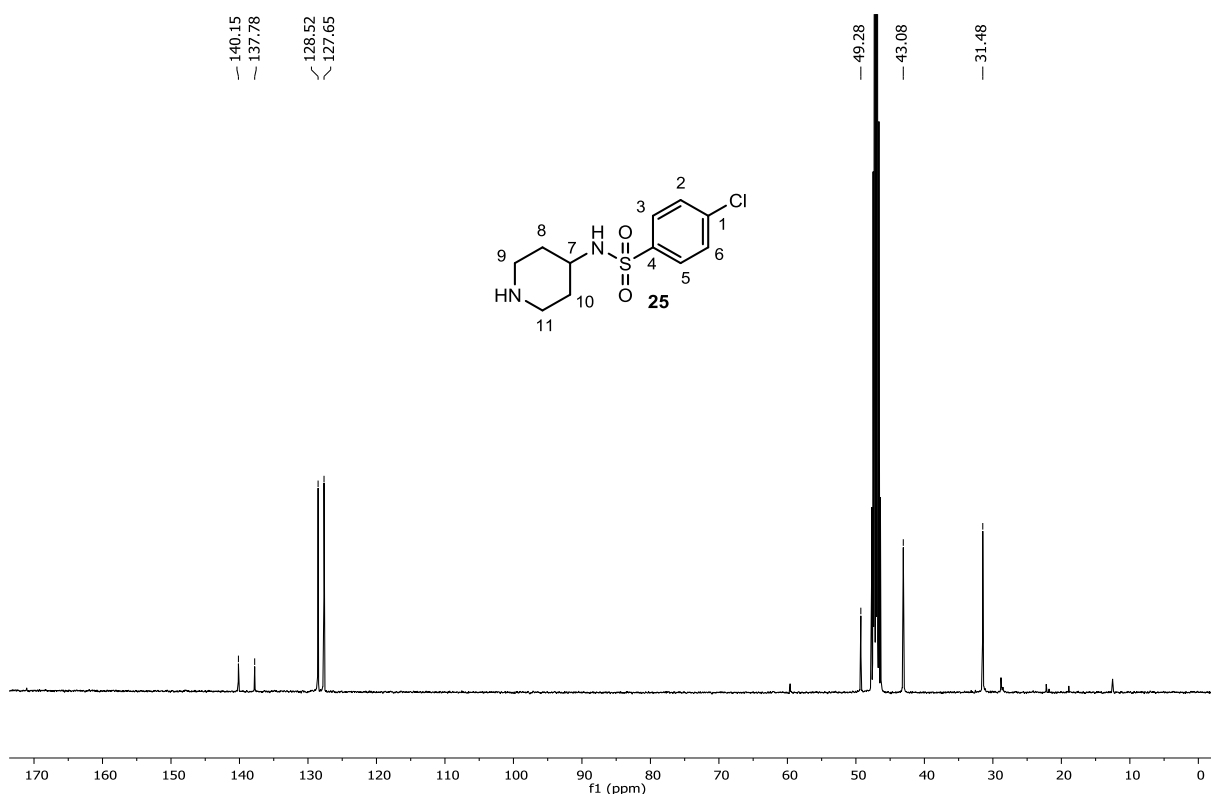
Figura 13. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **25**.

Figura 14. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **25**.Tabela 5. Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **25** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Posição H	$\delta_{\text{H}}^a$ ( $m^b$ , $J^c$ )	Posição C	$\delta_{\text{C}}^a$ ( $m^b$ )
-	-	C1	140,15 (C)
-	-	C4	137,78 (C)
H2 e H6	7,60 (d, 8,6)	C2 e C6	127,65 (CH)
H3 e H5	7,88 (d, 8,6)	C3 e C5	128,52 (CH)
H7	3,27 – 3,20 (m)	C7	49,28 (CH)
H8 e H10	1,76 (dd, 13,2; 3,9) e 1,51 – 1,41 (m)	C8 e C10	31,48 ( $\text{CH}_2$ )
H9 e H11	3,06 (td, 13,2; 3,9) e 2,66 (dt, 12,8; 12,2; 2,9)	C9 e C11	43,08 ( $\text{CH}_2$ )

<sup>a</sup> deslocamentos químicos em ppm, em relação ao TMS como padrão interno

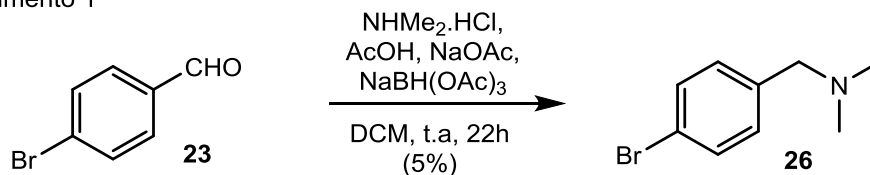
<sup>b</sup> multiplicidade

<sup>c</sup> constantes de acoplamento em Hz

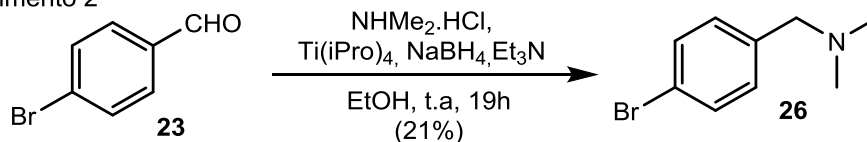
Dando sequência na rota sintética proposta, foram feitas algumas tentativas de síntese do intermediário **26**, fragmento importante para construção do *hit* **1**, a partir de diferentes procedimentos de aminação redutiva a partir do aldeído **23** (Esquema 16) (WU, 2017; HOHMANN, 2016; YANG, 2018).

Esquema 16. Procedimentos para síntese do composto **26**.

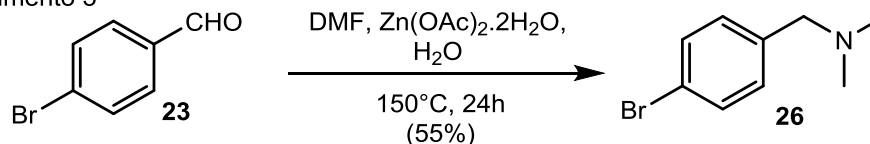
## Procedimento 1



## Procedimento 2



## Procedimento 3

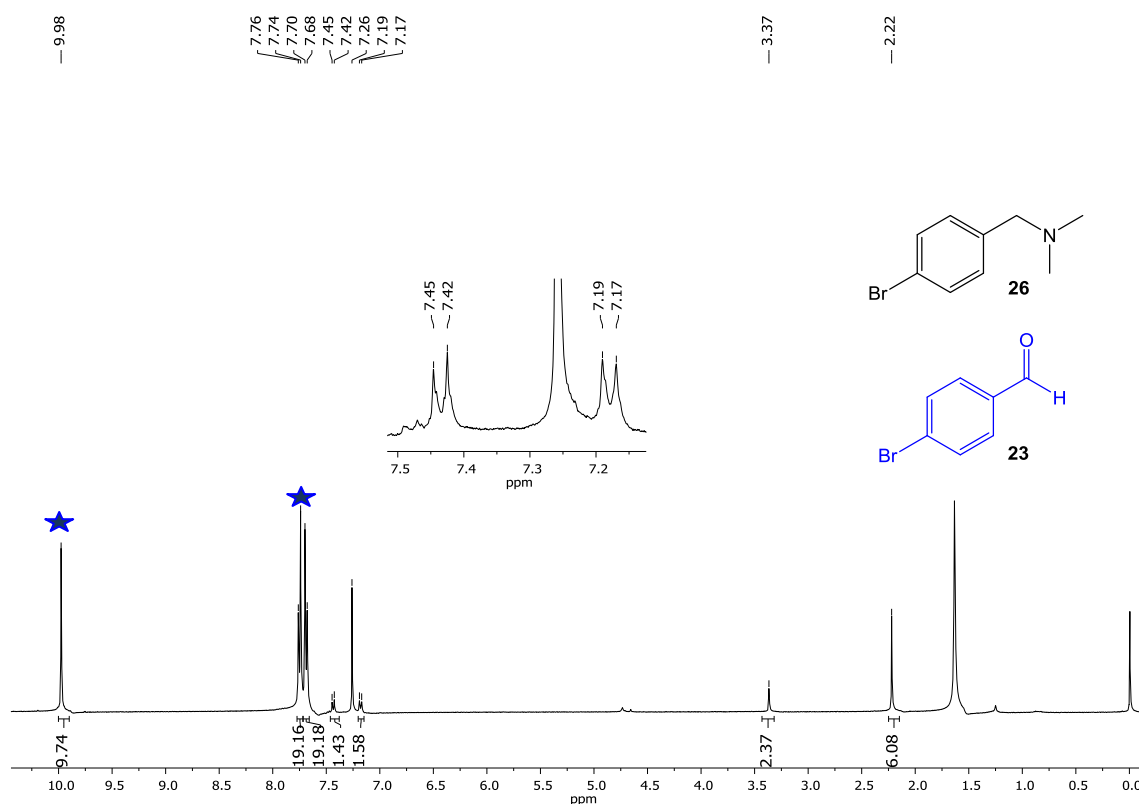


No procedimento 1 (Esquema 16), o aldeído **23** reagiu com o cloridrato de dimetilamina, utilizando solução tampão de acetato e diclorometano como solvente para formação de imina, que foi reduzida na presença de triacetoxiboro-hidreto de sódio ( $\text{NaBH(OAc)}_3$ ) (HOHMANN et al., 2016), sendo obtido o produto **26** em 5% de rendimento, pois a conversão foi incompleta.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  da mistura reacional após término da reação e extração no procedimento 1, apresenta os sinais do produto com os dois dupletos referentes aos quatro hidrogênios da região aromática em  $\delta$  7,44 ( $J = 8,3$  Hz) e 7,18 ( $J = 8,3$  Hz), um singlete referente aos dois hidrogênios do metileno gerado pela redução da imina em  $\delta$  3,37 e um singlete referente aos seis hidrogênios das metilas da amina terciária em  $\delta$  2,22. Contudo, a presença dos sinais em  $\delta$  9,98, característico do hidrogênio da função orgânica aldeído, e os sinais  $\delta$  7,76 ( $J = 8,5$  Hz) e 7,69 ( $J = 8,5$  Hz), referentes aos hidrogênios aromáticos, enfatizam que parte do aldeído **23** não foi convertido (destacados com estrelas em azul, Figura 15).



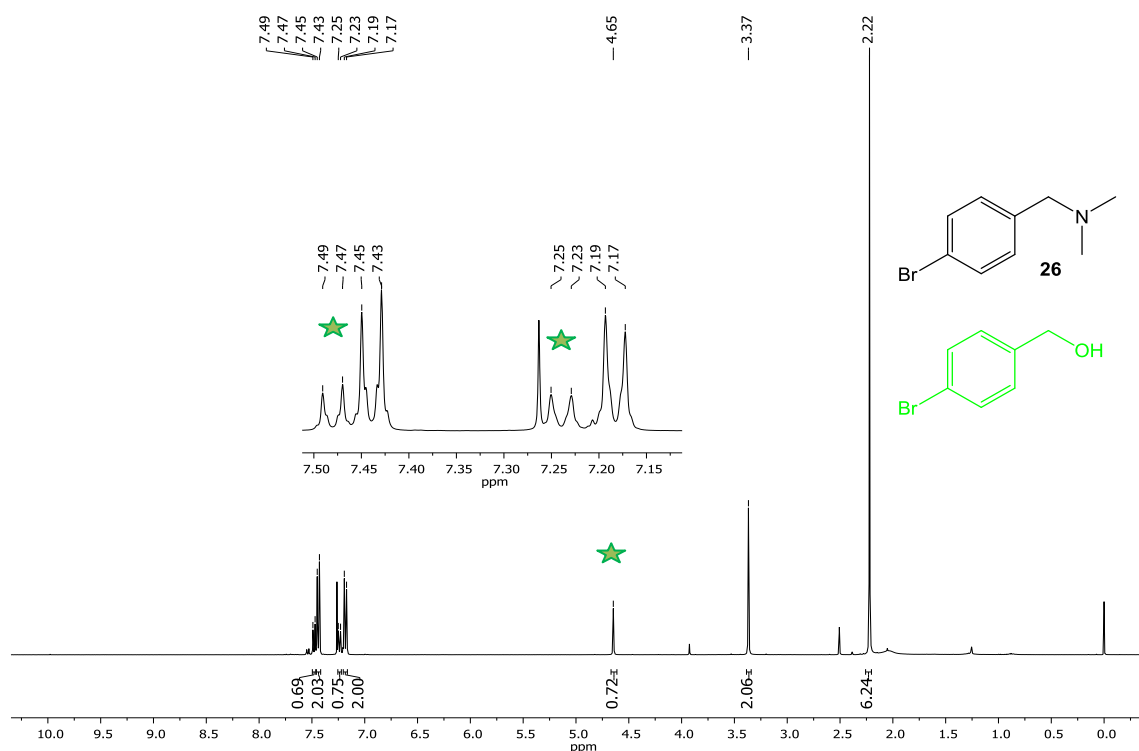
Figura 15. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **26** obtido pelo procedimento 1 (Esquema 16).



Com o intuito de melhorar o rendimento da síntese de **26**, as condições reacionais para o procedimento 2 (Esquema 16) foram testadas. O aldeído **23** reagiu com o cloridrato de dimetilamina utilizando tetraisopropóxido de titânio ( $\text{Ti}(\text{iPro})_4$ ) como catalisador, trietilamina como base e etanol como solvente para a formação de uma imina, que seria reduzida *in situ* pela presença de borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ) (WU, 2017). Porém, o produto **26** foi obtido em apenas 21% de rendimento, pois o aldeído também foi convertido em álcool.

O RMN de  $^1\text{H}$  da mistura reacional após o término da reação e extração apresentou os sinais do produto com dois dupletos referentes aos quatro hidrogênios aromáticos em  $\delta$  7,44 ( $J = 8,3$  Hz) e  $\delta$  7,18 ( $J = 8,3$  Hz), um singlete referente aos dois hidrogênios do metileno gerado pela redução da imina em 3,37 e o singlete referente aos seis hidrogênios das duas metilas da amina terciária em  $\delta$  2,22. Contudo, pode ser observado que parte do aldeído **2** não foi convertido em produto, mas sim reduzido a álcool por apresentar os dois dupletos dos quatro hidrogênios da região aromática em  $\delta$  7,48 ( $J = 8,4$  Hz) e 7,24 ( $J = 8,4$  Hz) e um singlete referente aos dois hidrogênios do metileno gerado pela redução do aldeído **23** em álcool em  $\delta$  4,65 (destacados com estrelas em verde, Figura 16).

Figura 16. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **26** obtido pelo procedimento 2 (Esquema 16).



Por fim, foi testado um último procedimento que poderia melhorar o rendimento da reação de aminação redutiva. Uma hipótese para os baixos rendimentos dos procedimentos 1 e 2 (Esquema 16), poderia ser que a dimetilamina estaria sendo perdida do sistema, já que sua temperatura de ebulição é de  $7^\circ\text{C}$ . Dessa forma, ao invés de utilizar o cloridrato de dimetilamina e base como fonte de amina livre, foi pensado em utilizar uma condição que a dimetilamina fosse constantemente gerada *in situ*, de acordo com o procedimento 3 (Esquema 16).

O aldeído **23** reagiu com a dimetilamina formada pela degradação da dimetilformamida na presença de acetato de zinco dihidratado ( $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (YANG, 2018), que também teve papel de catalisar a formação de imina, e água em quantidades catalíticas, sendo gerado o produto **26** em 55% de rendimento.

O composto **26** foi caracterizado por RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . O que evidenciou sua formação foi a ausência do sinal característico de aldeído no espectro de  $^1\text{H}$  (Figura 11) e a presença do sinal em  $\delta$  3,39 referente aos hidrogênios metilênicos (H7) gerados pela redução da imina. O espectro de  $^{13}\text{C}$  (Figura 12) confirma essa informação apresentando o do carbono metilênico (C7) em  $\delta$  60,83. As atribuições aos hidrogênios e carbonos estão reportadas na Tabela 6.

Figura 17. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **26** obtido pelo procedimento 3 (Esquema 16).

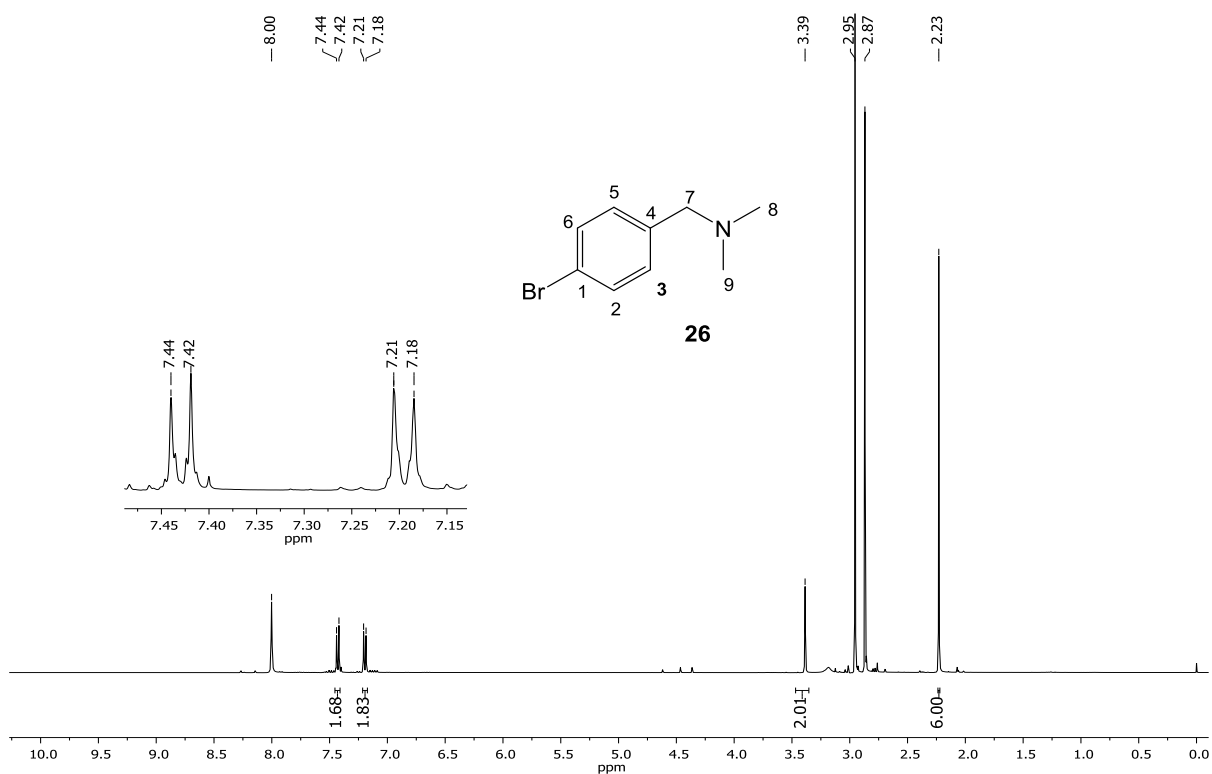


Figura 18. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **26**.

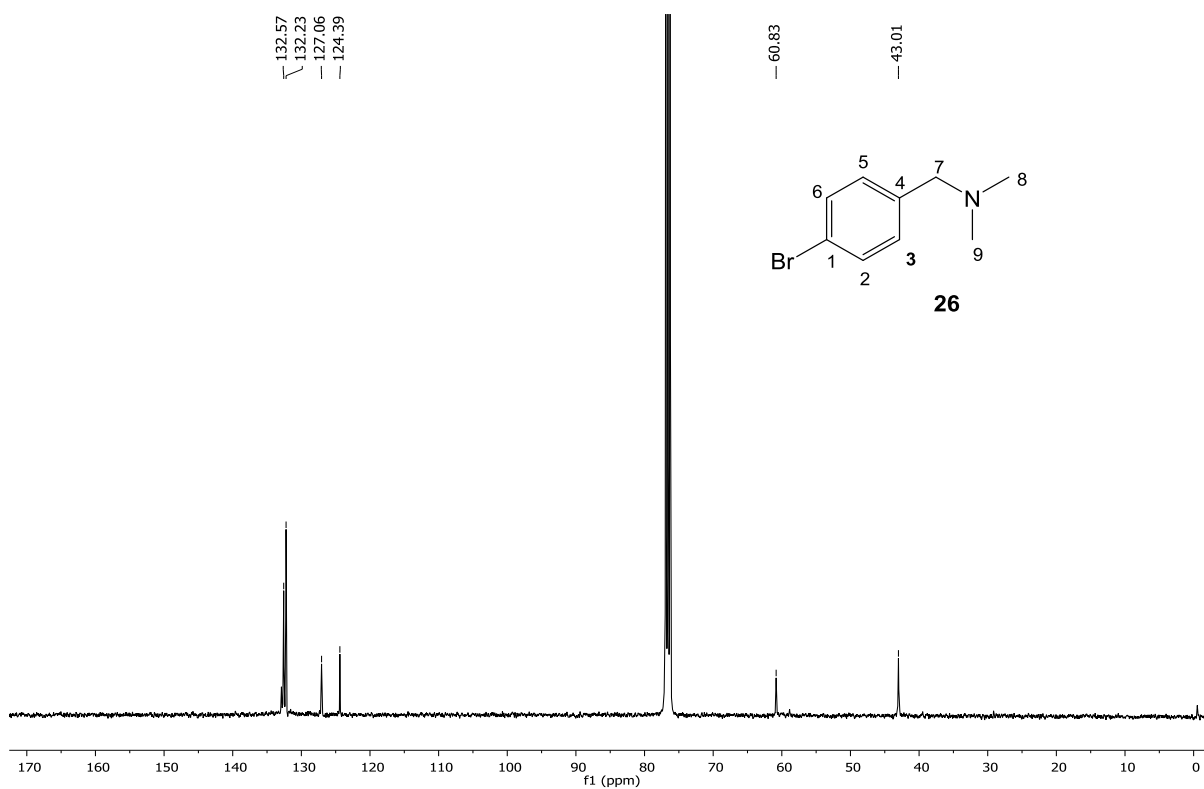


Tabela 6. Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **26** ( $\text{CDCl}_3$ )

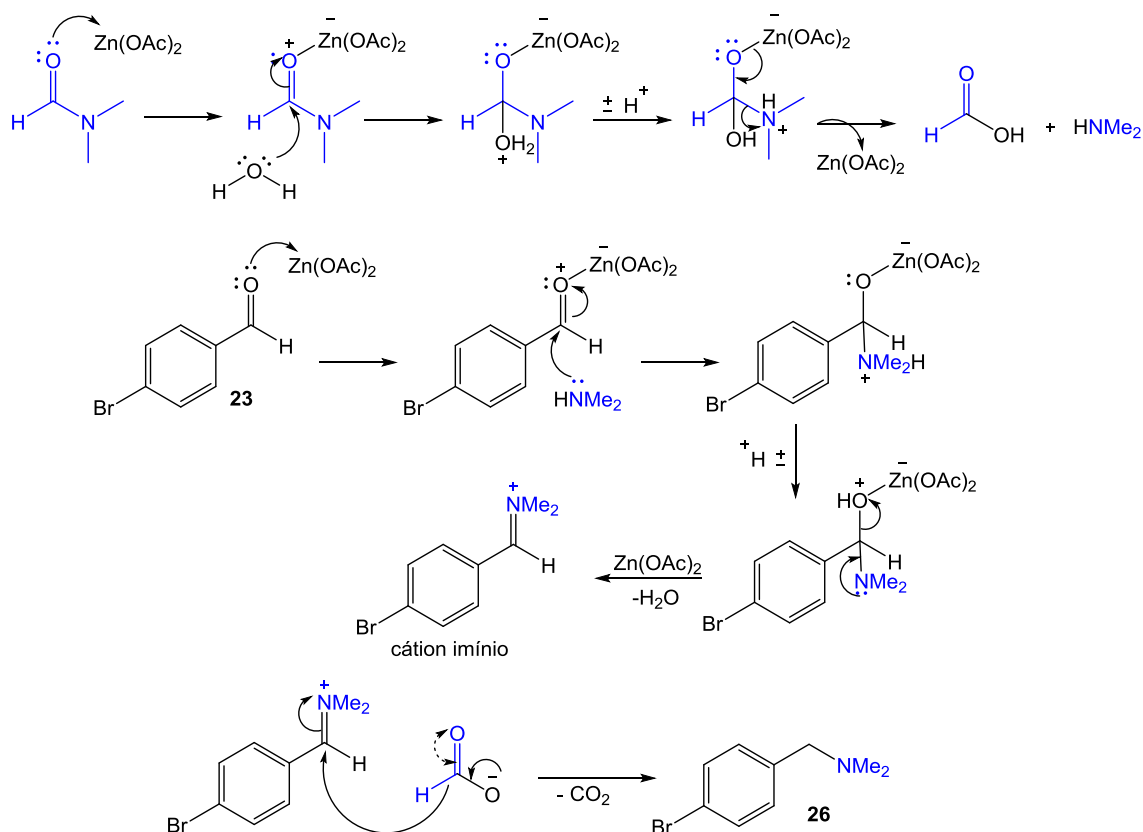
Posição H	$\delta_{\text{H}}^a$ ( $\text{m}^b, J^c$ )	Posição C	$\delta_{\text{C}}^a$ ( $\text{m}^b$ )
-	-	C1	127,06 (C)
-	-	C4	124,39 (C)
H2 e H6	7,43 (d, 8,4)	C2 e C6	132,57 (CH)
H3 e H5	7,20 (d, 8,4)	C3 e C5	132,23 (CH)
H7	3,29 (s)	C7	60,83 ( $\text{CH}_2$ )
H8 e H9	2,23 (s)	C8 e C9	43,01 ( $\text{CH}_3$ )

<sup>a</sup> deslocamentos químicos em ppm, em relação ao TMS como padrão interno

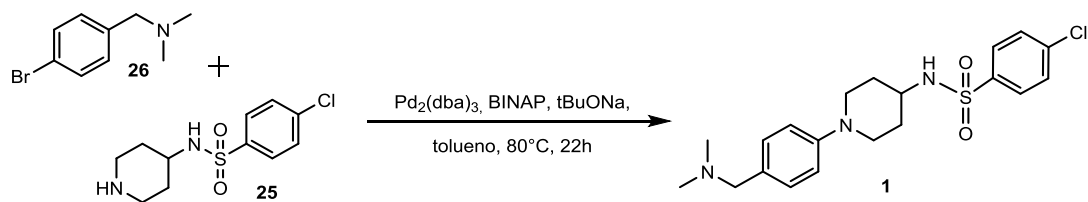
<sup>b</sup> multiplicidade

<sup>c</sup> constantes de acoplamento em Hz

A reação de aminação redutiva do procedimento 3 (Esquema 16) ocorre via hidrólise do DMF catalisada pelo acetato de zinco, gerando a dimetilamina e ácido fórmico. Em seguida, o acetato de zinco promove a condensação do aldeído **23** e da dimetilamina, formando o intermediário cátion imínio, que é reduzido pelo ácido fórmico, obtendo assim o produto da amina terciária **26** (Esquema 17) (YANG, 2018).

Esquema 17. Mecanismo proposto para obtenção de **26**.

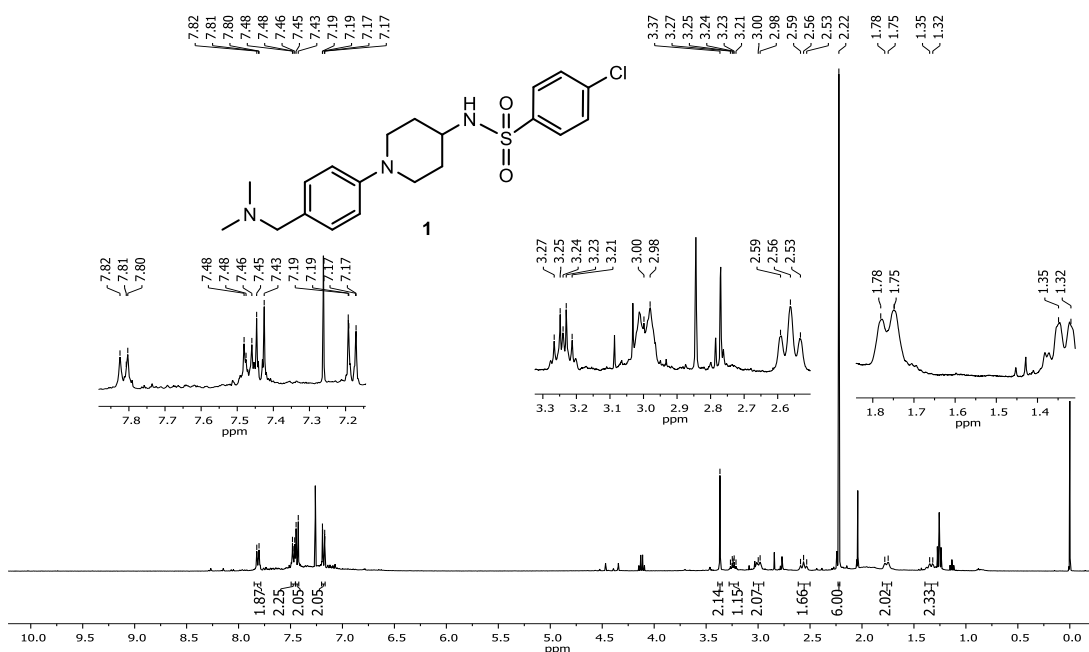
Com a obtenção dos intermediários **25** e **26**, conforme a análise retrossintética do *hit 1* (Esquema 14), partiu-se para as tentativas de *N*-arilação entre os dois. Inicialmente, foi realizada uma tentativa de aminação de Buchwald-Hartwig catalisada por  $\text{Pd}(0)$  utilizando BINAP como ligante, terc-butoxi de sódio como base e tolueno como solvente, conforme as condições descritas anteriormente nas tentativas de síntese do *hit 2* (Esquema 18) (HEPPERLE, 2002; HERAVI, 2018).

Esquema 18. Tentativa de obtenção do *hit 1*.

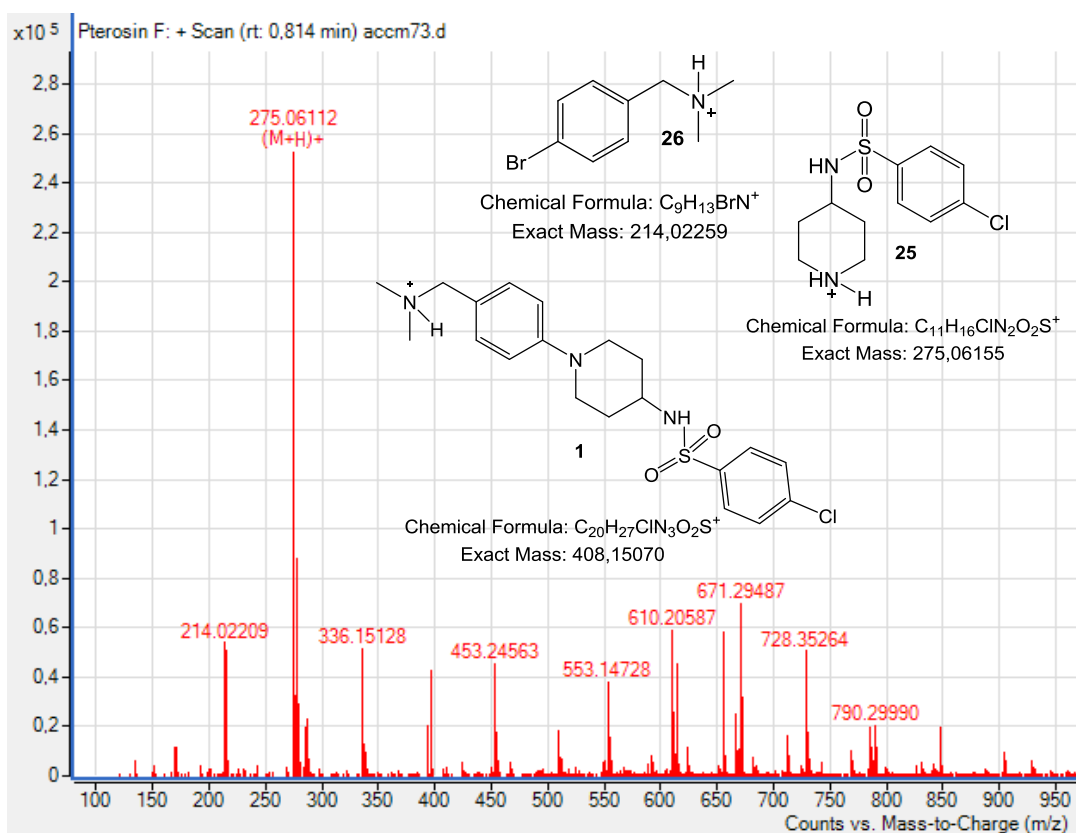
O acompanhamento da reação por CCD foi inconclusivo e não ficou evidenciado a formação do produto da reação nem o consumo dos materiais de partida. O espectro de RMN  $^1\text{H}$  da mistura reacional de **1** mostrou sinais que poderiam ser dos materiais de partida e/ou do

produto de interesse. Isso porque a diferença do deslocamento dos sinais seria muito sutil se o produto fosse formado; não haveria alteração de multiplicidade ou integral dos sinais dos materiais de partida e nenhum sinal seria acrescentado ou excluído, dificultando a análise de obtenção do produto (Figura 19).

Figura 19. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da mistura reacional de **1**.



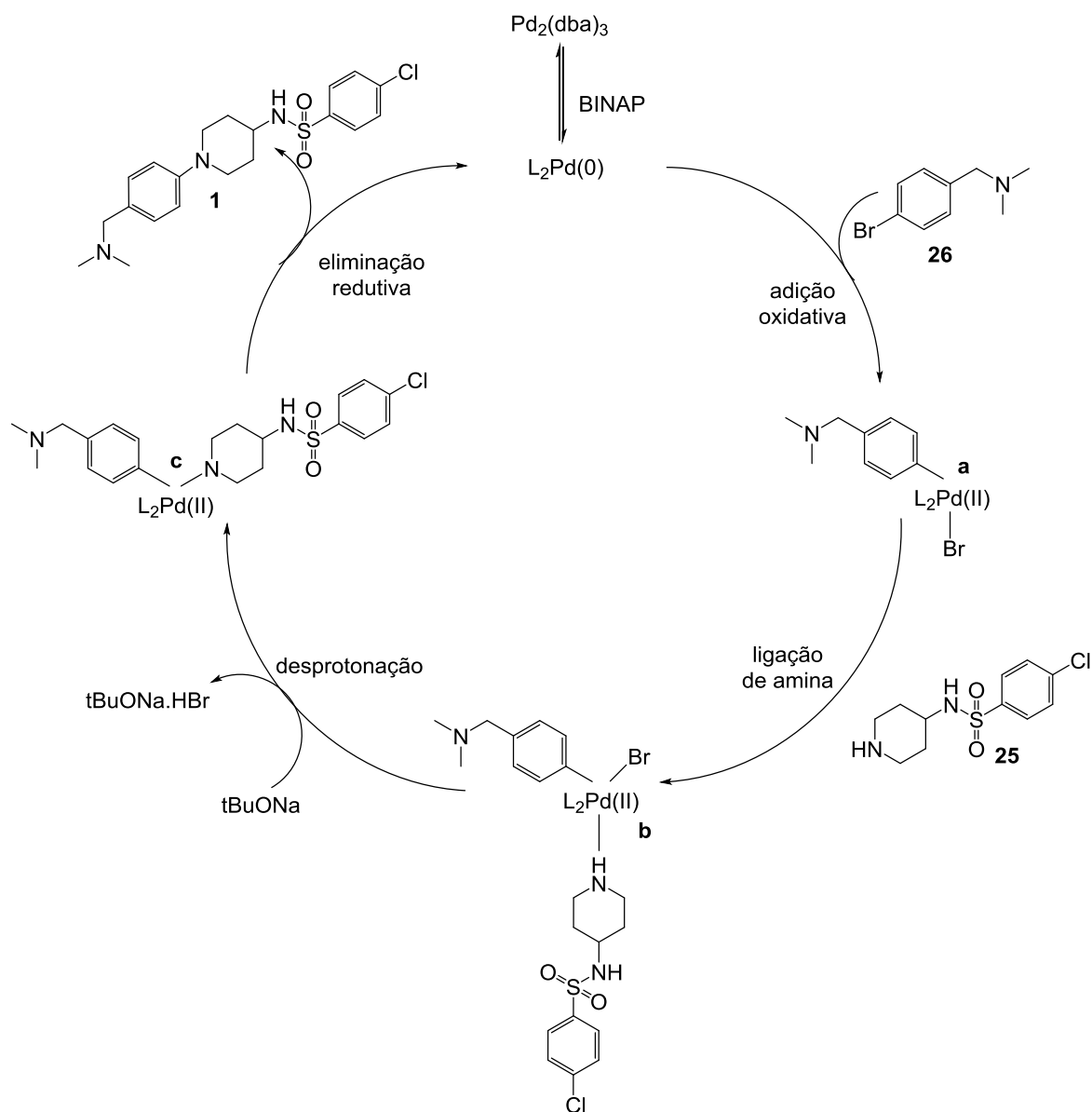
Para confirmar se ocorreu a formação do produto **1**, foi feita uma análise por Espectrometria de Massas por Ionização de Eletrospray (EM/IES) em modo positivos da mistura reacional, onde pode ser observado o pico do íon molecular de **25** em  $m/z$  275,06112 com erro de 1,5 ppm, um pico referente a **26** em  $m/z$  214,02209 com erro de 2,3 ppm e nenhum pico referente ao produto **1** que seria evidenciado em  $m/z$  408,15070 (Figura 20).

Figura 20. Espectro de EM-IES-(+) da mistura reacional de **1**.

O mecanismo proposto para a reação de Buchwald-Hartwig está apresentado no Esquema 19, em que o  $Pd_2(dba)_3$  se complexa com o ligante BINAP, representado como  $L_2Pd(0)$ , sofre uma adição oxidativa pelo composto **26**, formando o intermediário **a**. Em seguida há a ligação da amina **25** formando o intermediário **b**, que é desprotonado pela base  $tBuONa$ , formando o intermediário **c**. Por fim, por meio de uma eliminação redutiva, o produto **1** é obtido restaurando o  $Pd(0)$ , catalisador dessa reação (Esquema 19) (SURRY; BUCHWALD, 2011).

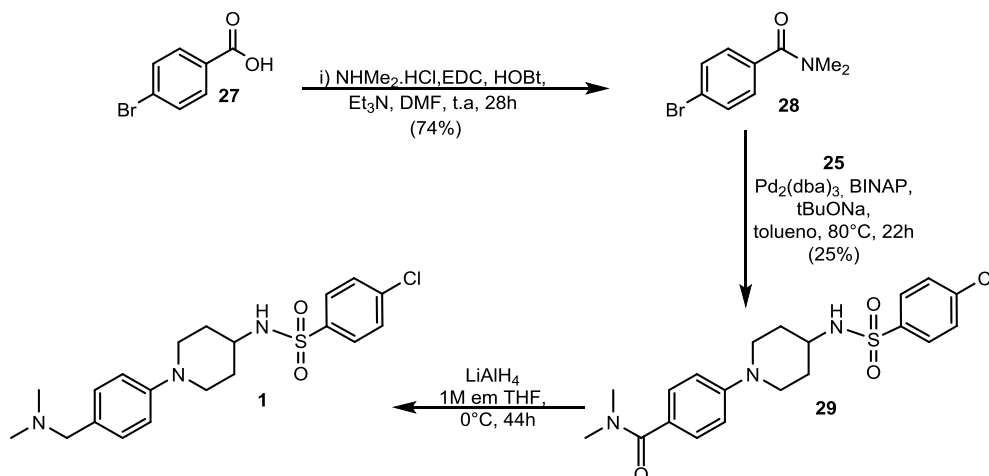
Uma hipótese para o não sucesso da obtenção de **1** (Esquema 18), pode ser o fato do  $Pd_2(dba)_3$  comercial utilizado estar impuro e por isso não catalisou eficientemente a reação, além de inserir impurezas de nano partículas de paládio à reação (ZALESSKIY; ANANIKOV, 2012).

Esquema 19. Mecanismo proposto para a reação de Buchwald-Hartwig (SURRY; BUCHWALD, 2011).



Uma alternativa para obtenção do *hit* **1** foi a partir de uma reação de amidação entre o ácido carboxílico **27** e o cloridrato de dimetilamina, na presença do ativador 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), do catalisador hidroxibenzotriazol (HOBT), utilizando trietilamina como base e DMF como solvente, obtendo a dimetilamida **28** em 74% de rendimento. Em seguida, a partir da reação de acoplamento de Buchwald-Hartwig com a amina **25** (Esquema 20) utilizando  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  como catalisador, BINAP como ligante,  $t\text{BuONa}$  como base e tolueno como solvente, gerou a arilamina **29** em 25% de rendimento.



Esquema 20. Rota sintética alternativa para obtenção de **1**.

O composto **29** foi caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 21) e  $^{13}\text{C}$  (Figura 22). No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 21) foram observados quatro dupletos referentes aos oito hidrogênios aromáticos, os sinais correspondentes aos nove hidrogênios do anel piperidínico e um singlete referente aos seis hidrogênios das duas metilas que evidenciam a obtenção de **29**. As atribuições aos hidrogênios e carbonos estão reportadas na Tabela 7.

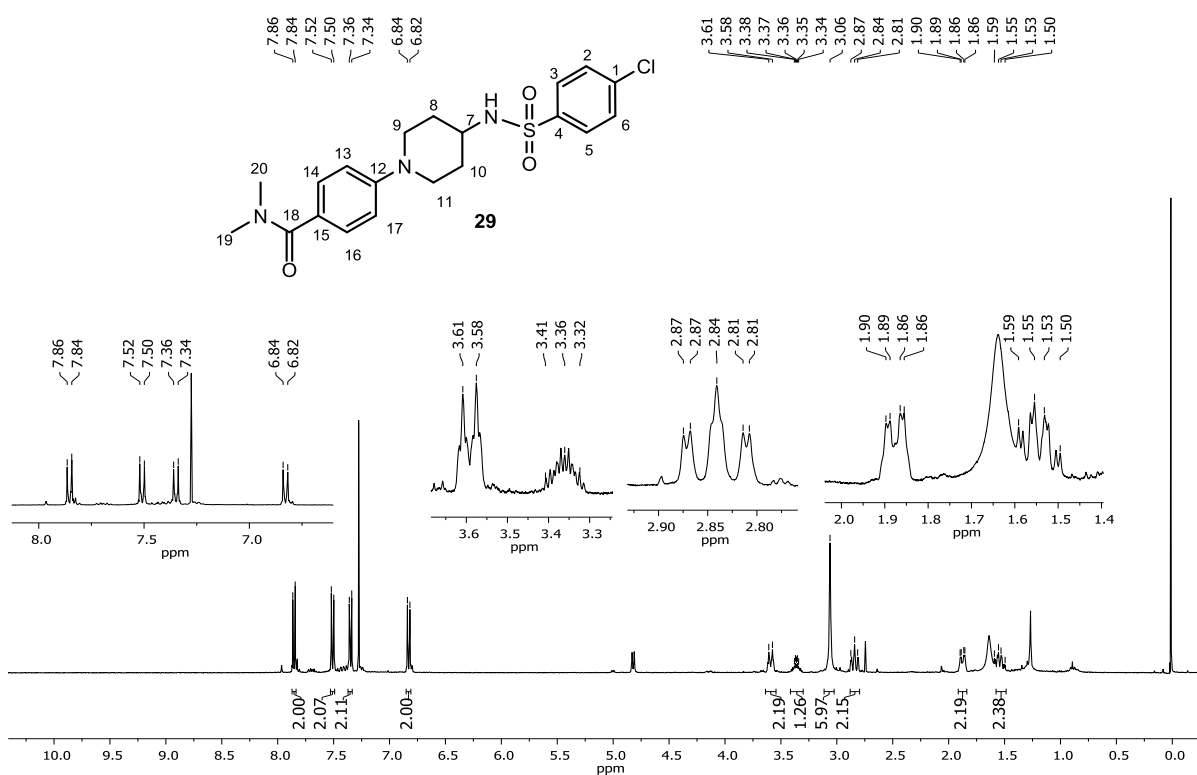
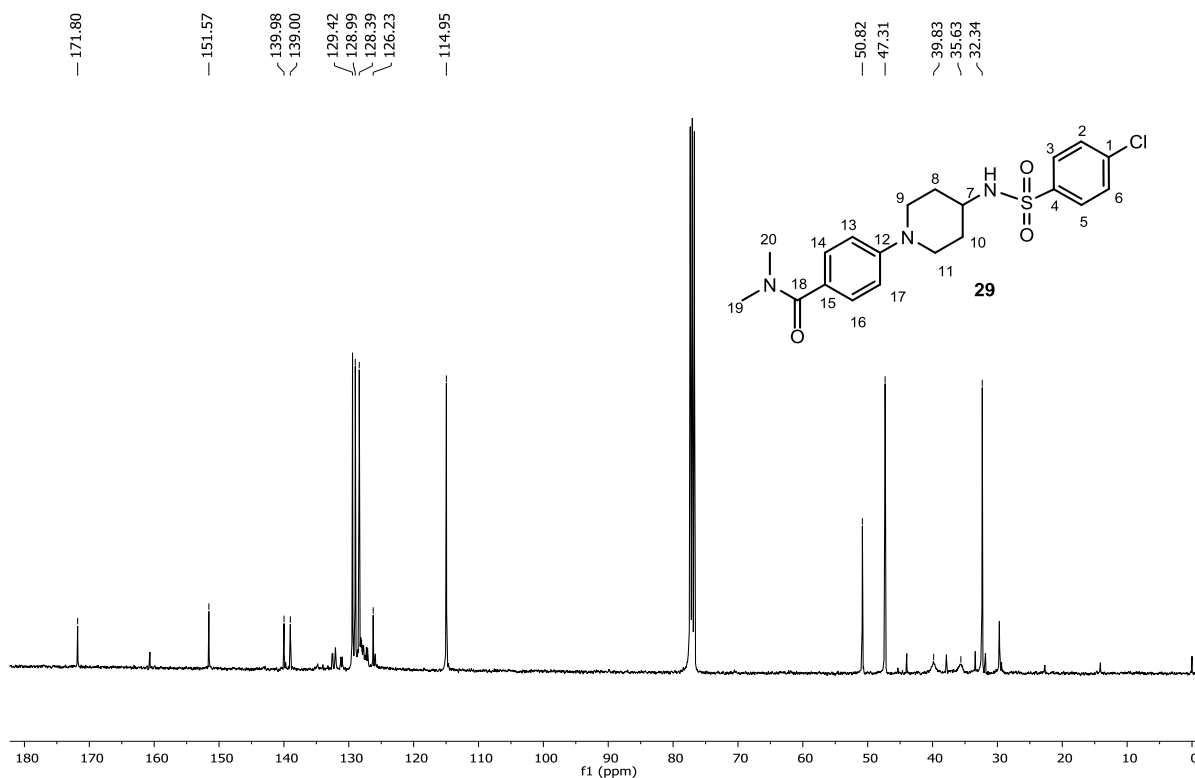
Figura 21. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **29**.

Figura 22. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **29**.Tabela 7. Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **29** ( $\text{CDCl}_3$ )

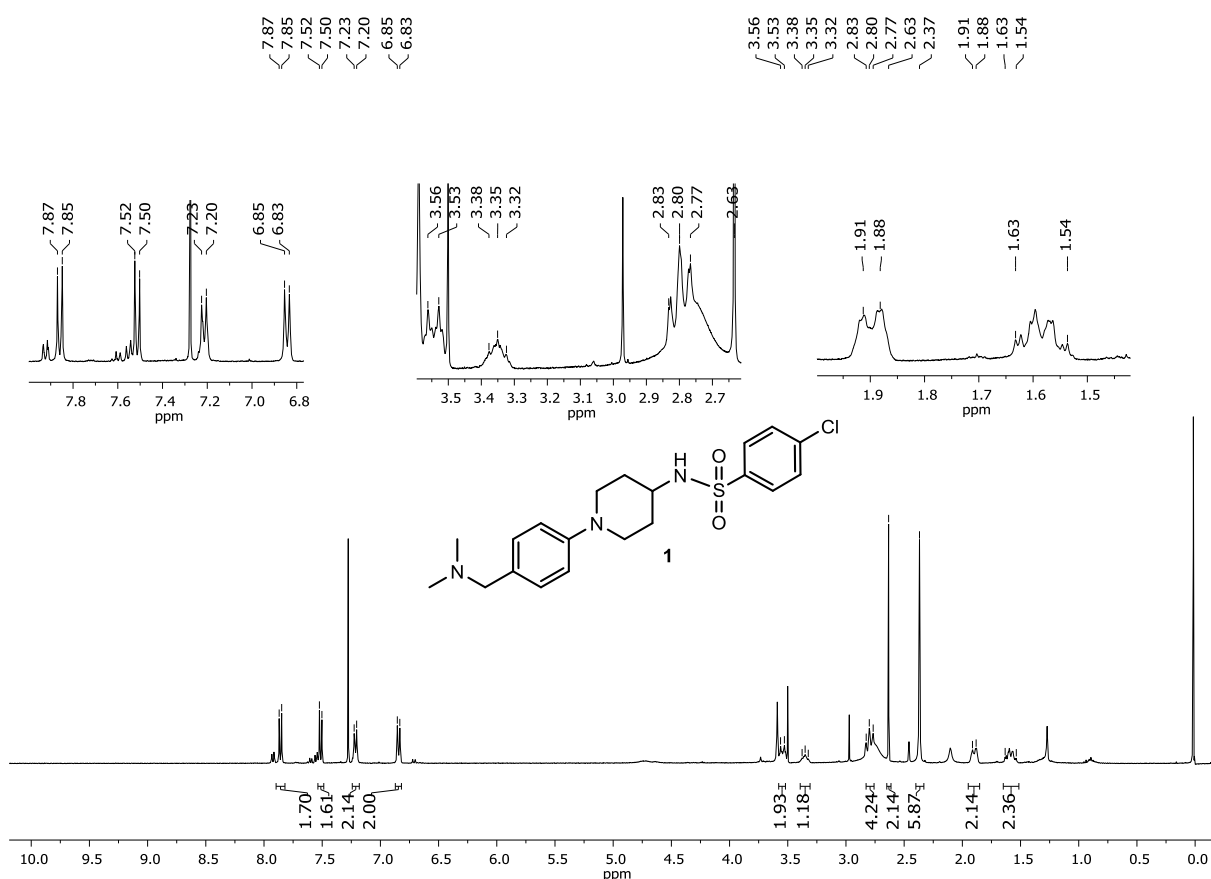
Posição H	$\delta_{\text{H}}^a$ ( $m^b$ , $J^c$ )	Posição C	$\delta_{\text{C}}^a$ ( $m^b$ )
-	-	C1 e C4	139,98
-	-	C4	139,00 (C)
H2 e H6	7,85 (d, 8,7)	C2 e C6	129,42 (CH)
H3 e H5	7,51 (d, 8,7)	C3 e C5	128,99 (CH)
H7	3,41 – 3,32 (m)	C7	50,82 (CH)
H8 e H10	1,87 (dd, 13,2; 3,9) e 1,59 – 1,50 (m)	C8 e C10	32,34 ( $\text{CH}_2$ )
H9 e H11	3,59 (td, 13,2; 3,9) e 2,84 (dt, 12,8; 12,2; 2,9)	C9 e C11	47,31 ( $\text{CH}_2$ )
-	-	C12	151,57 (C)
-	-	C15	126,23 (C)
H13 e H17	6,83(d, 8,8)	C13 e C17	114,79 (CH)
H14 e H16	7,35 (d, 8,8)	C14 e C16	128,39 (CH)
-	-	C18	171,80 (C=O)
H19 e H20	3,06 (s)	C19 e C20	39,83 e 35,63 ( $\text{CH}_3$ )

<sup>a</sup> deslocamentos químicos em ppm, em relação ao TMS como padrão interno<sup>b</sup> multiplicidade<sup>c</sup> constantes de acoplamento em Hz

Por fim, para a obtenção do *hit* **1**, a arilamina **29** foi reduzida na presença de uma solução de  $\text{LiAlH}_4$  1 M em tetraidrofurano (THF) (Esquema 20) e o produto formado foi submetido a purificação por coluna cromatográfica.

Comparando o espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **29** (Figura 21) e o espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **1** (Figura 23) fica evidenciado que a reação de redução ocorreu, pois apresenta um singlete referente aos dois hidrogênios metilênicos em  $\delta$  2,63, indicando que houve redução de **29**. Porém, o procedimento de purificação de **1** por coluna cromatográfica não foi totalmente eficiente.

Figura 23. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **1** impuro.



Para que **1** fosse devidamente isolado das impurezas apresentadas no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 23), foi investido mais tempo para estudar um melhor sistema de eluente para a purificação do produto. Foram obtidos apenas 12 mg da mistura e por isso, a separação foi feita por cromatográfica em camada delgada preparativa utilizando uma mistura 80% de clorofórmio e 20% metanol, eluída três vezes. Porém o produto foi perdido, não sendo possível recuperá-lo da sílica.

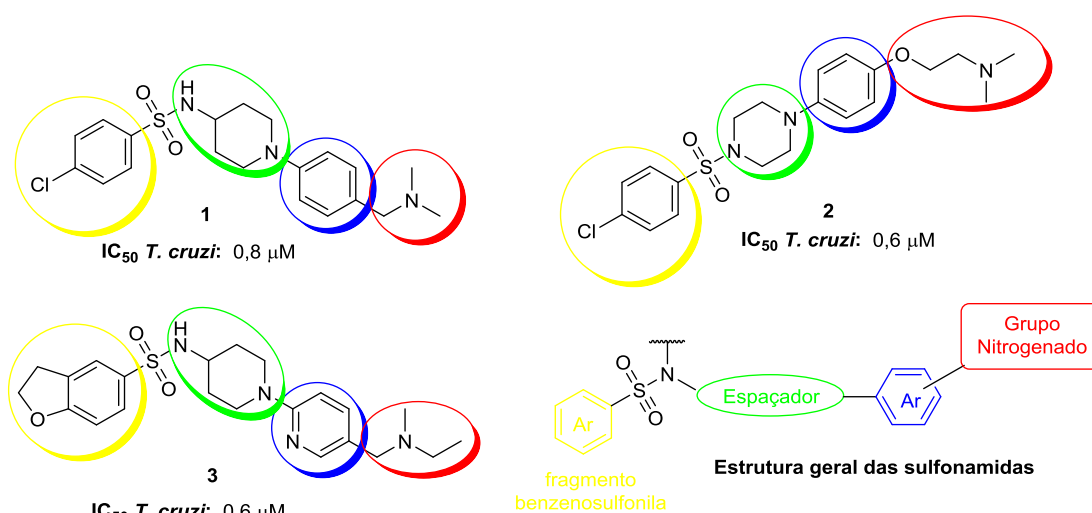
Em resumo, a maior dificuldade para obtenção dos *hits* **1** e **2** foram as reações de *N*-arilação utilizando os catalisadores Pd(0) e Cu<sup>I</sup> que gerariam, por diferentes condições reacionais e procedimentos, os produtos finais almejados. Porém, foi possível obter o *hit* **2** a partir do composto comercial 1-acetil-4-(4-hidroxifenil)piperazina **20**, o que foi essencial para alcançar os objetivos do trabalho de desenvolver um processo *hit-to-lead*.

Prosseguindo com os objetivos do trabalho, deu-se início a etapa de planejamento e síntese de análogos, racionalizando as modificações das estruturas dos *hits* utilizando as ferramentas de Química Medicinal e Síntese Orgânica.

### 3.4. Planejamento e desenvolvimento de modificações estruturais

As modificações para obtenção dos análogos foram propostas levando em consideração a estrutura geral dos *hits* derivados de sulfonamida. Os ensaios biológicos de potência e citotoxicidade auxiliaram no estudo de relação entre a estrutura química e atividade biológica dos análogos obtidos. Comparando as estruturas dos *hits* da Figura 24, os compostos foram agrupados baseados nas suas semelhanças estruturais, que podem estar relacionadas com suas atividades contra o *T. cruzi*. A estrutura geral das sulfonamidas apresenta um fragmento bezenosulfonila (amarelo), ligado a um espaçador diaminado (verde), que está ligado a um anel aromático (azul), que se liga a um grupo nitrogenado, em vermelho (Figura 24).

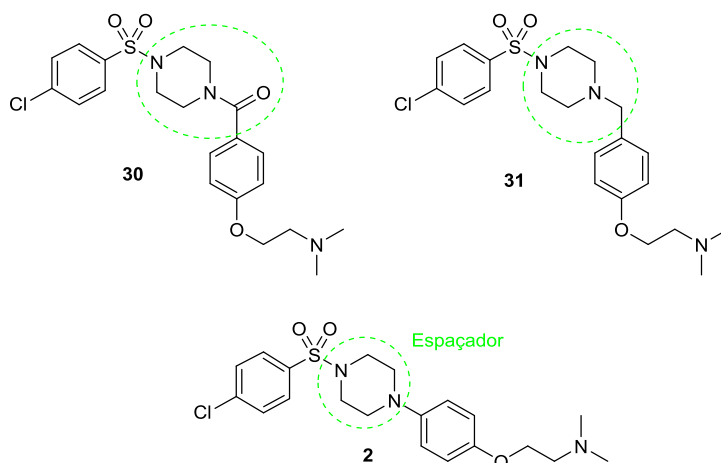
Figura 24. Comparação das estruturas dos *hits* (1-3) e estrutura geral dos derivados de sulfonamidas.



### 3.4.1. Modificações no espaçador

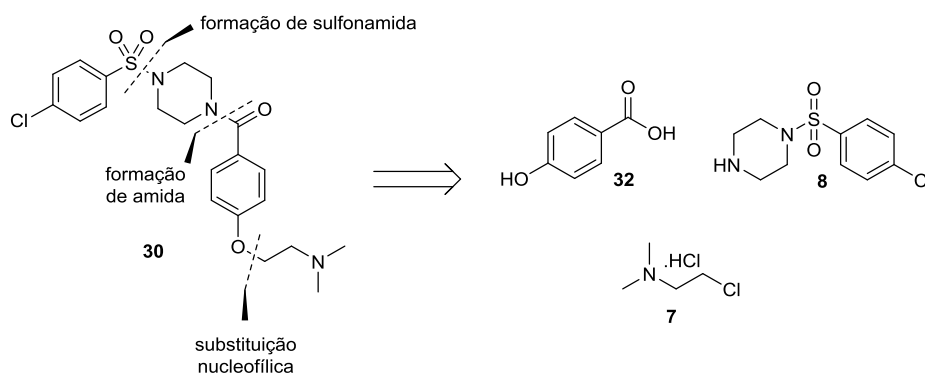
Uma das primeiras modificações propostas para a estrutura do *hit 2* foi no espaçador. Visando uma rota sintética mais simples, que não envolvesse uma reação de *N*-arilação, uma carbonila poderia ser inserida ao espaçador, destacado em verde, que posteriormente seria reduzida, obtendo-se dois análogos, **30** e **31** (Figura 25), por uma mesma estratégia sintética. Esses compostos foram escolhidos para dar início à síntese dos análogos aos *hits* que fazem parte da série de sulfonilpiperazinas, já que todos apresentam a piperazina ligada a um grupo sulfonila. Essa modificação estrutural no espaçador corroboraria para um estudo de relação entre estrutura e atividade biológica, sendo avaliado a influência da carbonila e do metileno, que não estão presentes na estrutura do *hit 2*, na potência desses compostos contra o *T. cruzi*.

Figura 25. Modificações no espaçador de **2** e estrutura dos análogos propostos **30** e **31**.

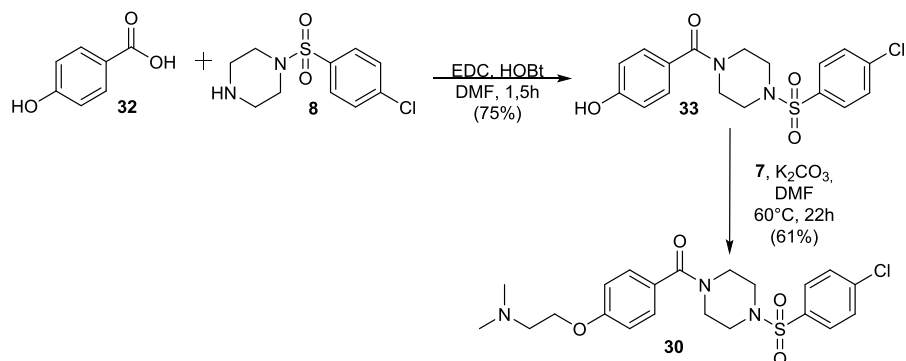


A partir de uma análise retrossintética foi possível propor uma rota sintética para a preparação de **30** a partir do ácido carboxílico **32**, do cloreto de alquila **7** e da sulfonamida **8** (sintetizados previamente) (Esquema 21).

Esquema 21. Estratégia sintética para preparação de **30**.

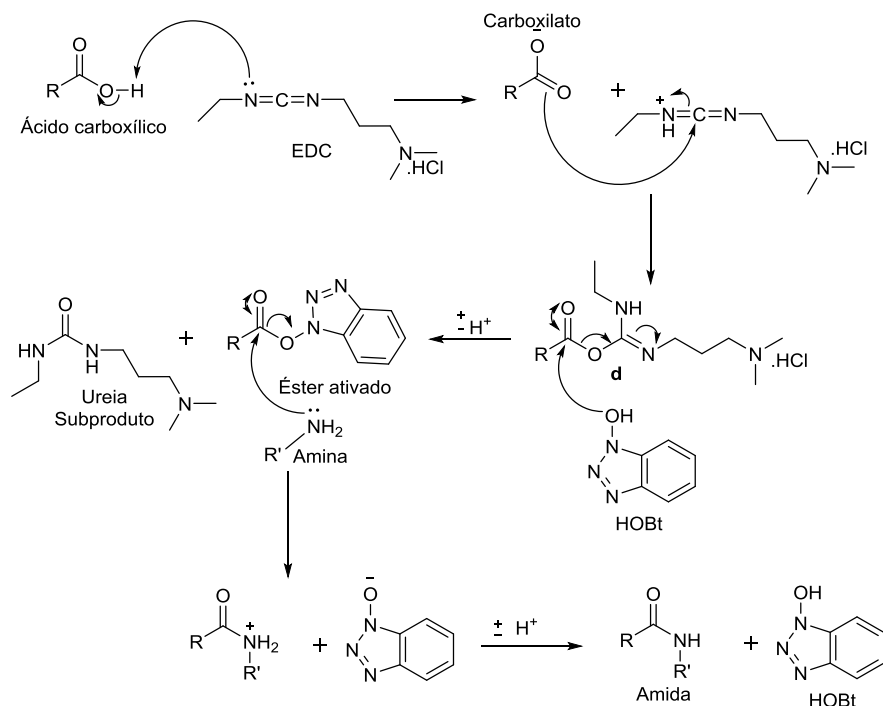


O composto **33** foi preparado em 75% de rendimento pela reação de amidação entre o ácido carboxílico **32** e a sulfonamida **8**, utilizando EDC, HOBt e dimetilformamida como solvente. Em seguida, ocorreu a alquilação do fenol **33** utilizando o cloreto de alquila **7**, carbonato de potássio como base e dimetilformamida como solvente, obtendo o produto **30** em 61% de rendimento (Esquema 22).

Esquema 22. Síntese do análogo **30**.

A proposta de mecanismo de reação de amidação utilizando EDC como ativador e HOBt como catalisador pode ser descrito conforme o Esquema 23. A primeira etapa é a desprotonação do ácido carboxílico pelo EDC, depois ocorre o ataque nucleofílico do carboxilato ao carbono eletrofílico do EDC formando o intermediário **d**. Na presença do catalisador HOBt, ocorre o ataque nucleofílico de sua hidroxila ao carbono eletrofílico do intermediário **d**, liberando ureia como subproduto dessa etapa e formando um éster ativado que terá o ataque nucleofílico da amina facilitado, já que apresenta um bom grupo de saída. Então, ocorre uma transferência de próton, o catalisador HOBt é restaurado e a amida é formada (Esquema 23).

Esquema 23. Proposta de mecanismo para as reações de amidação com EDC e HOBt.



Os compostos **30** e **33** foram enviados para o ensaio biológico para obter informações sobre a influência da carbonila no espaçador e a ausência do grupo nitrogenado (em **33**) na atividade contra o *T. cruzi*.

O composto **30** foi caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 26) e  $^{13}\text{C}$  (Figura 27). No espectro de RMN  $^1\text{H}$  foram observados os quatro dupletos referentes aos oito hidrogênios aromáticos, dois multipletos referentes aos oito hidrogênios da piperazina, dois tripletos referentes aos quatro hidrogênios metilênicos e um singlete referente aos seis hidrogênios das duas metilas, sinais que evidenciam a obtenção de **30**. As atribuições aos hidrogênios e carbonos estão reportadas na Tabela 8.

Figura 26. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **30**.

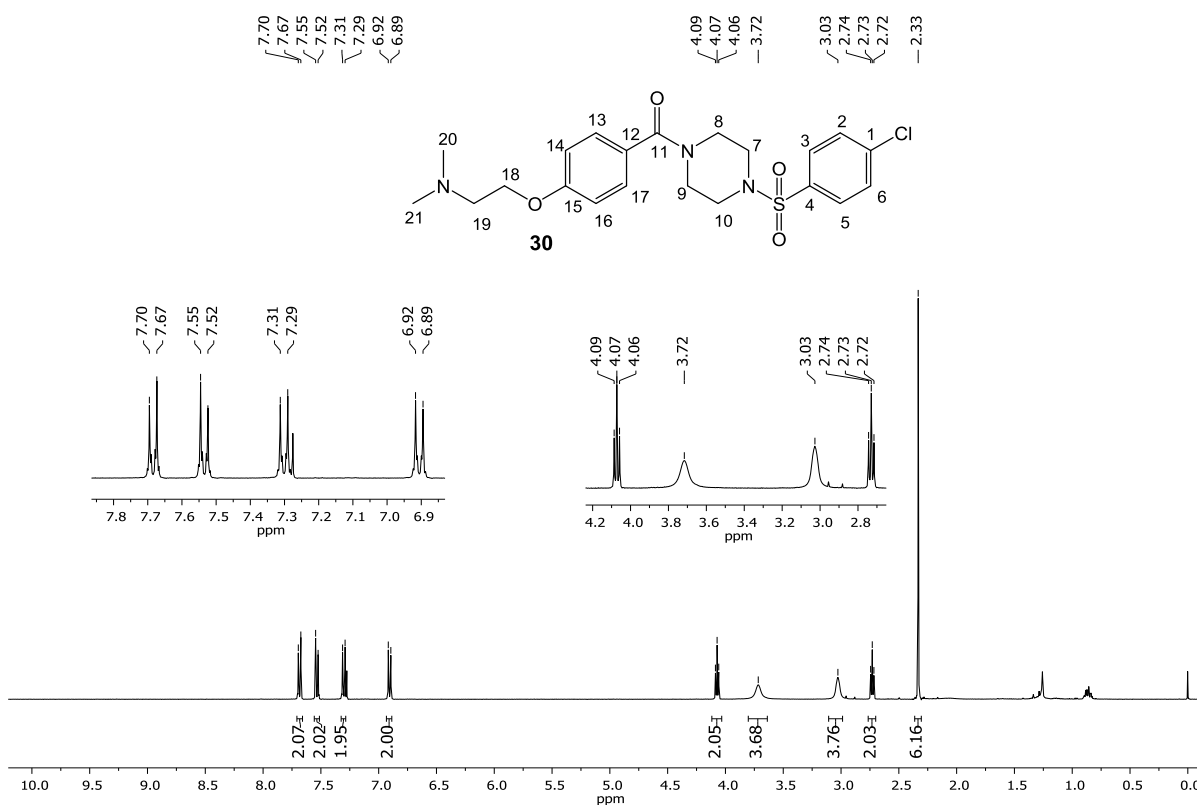
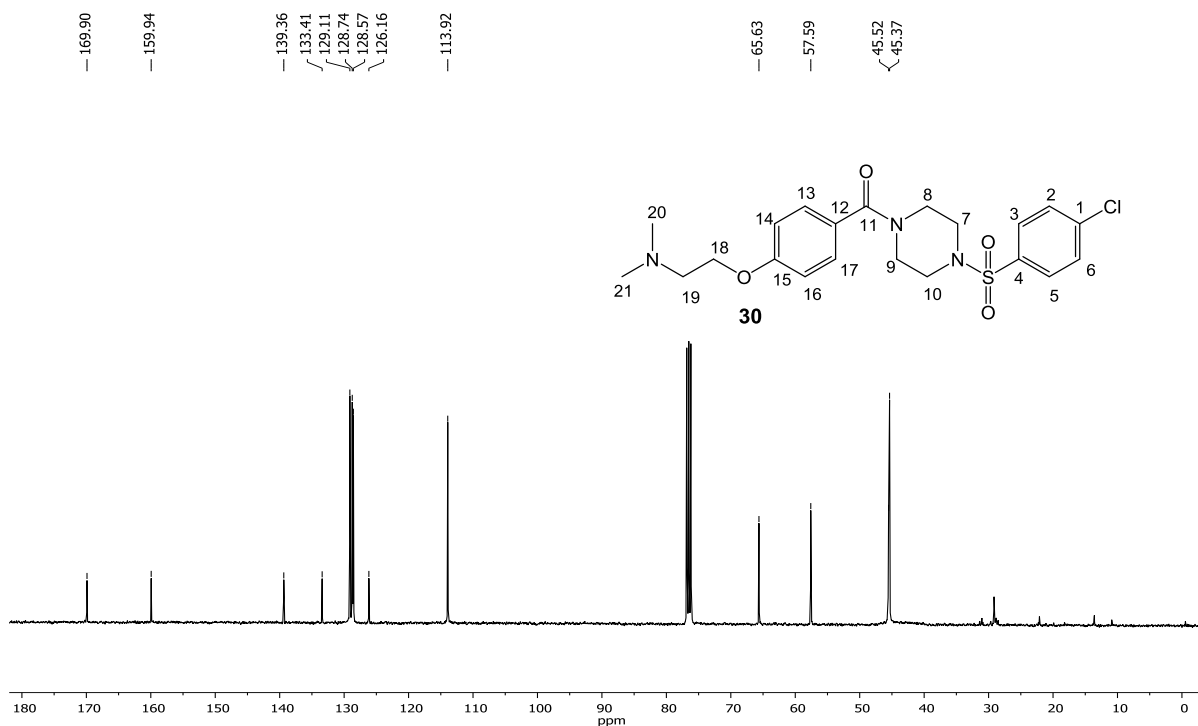




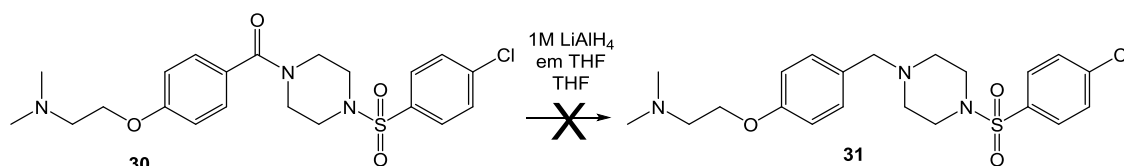
Figura 27. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **30**.Tabela 8. Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **30** ( $\text{CDCl}_3$ )

Posição H	$\delta_{\text{H}}^a$ ( $m^b$ , $J^c$ )	Posição C	$\delta_{\text{C}}^a$ ( $m^b$ )
-	-	C1	139,36 (C)
-	-	C4	133,41 (C)
H2 e H6	7,69 (d, 8,7)	C2 e C6	128,74 (CH)
H3 e H5	7,30 (d, 8,7)	C3 e C5	128,57 (CH)
H7 e H10	3,03 (sl)	C7 e C10	45,52 ( $\text{CH}_2$ )
H8 e H9	3,72 (sl)	C8 e C9	45,52 ( $\text{CH}_2$ )
-	-	C11	169,90 (C=O)
-	-	C12	126,16 (C)
-	-	C15	159,94 (C)
H13 e H17	7,54 (d, 8,8)	C13 e C17	129,11 (CH)
H14 e H16	6,91 (d, 8,8)	C14 e C16	113,92 (CH)
H18	4,07 (t, 5,7)	C18	65,63 ( $\text{CH}_2$ )
H19	2,75 (t, 5,7)	C19	57,78 ( $\text{CH}_2$ )
H20 e H21	2,33 (s)	C20 e C21	45,47 ( $\text{CH}_3$ )

<sup>a</sup> deslocamentos químicos em ppm, em relação ao TMS como padrão interno<sup>b</sup> multiplicidade<sup>c</sup> constantes de acoplamento em Hz

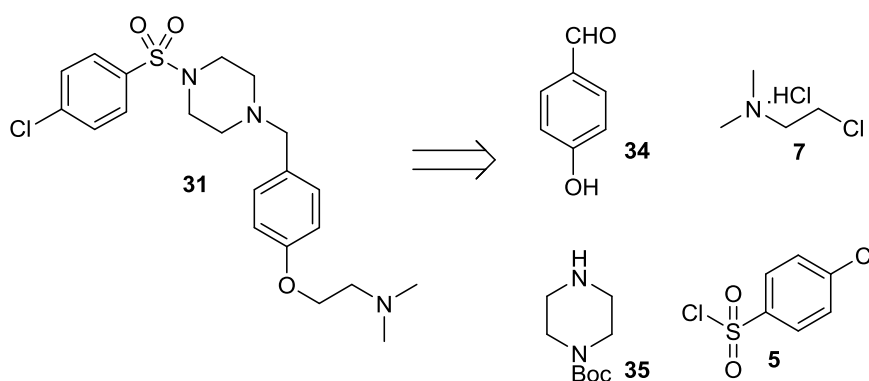
Para obter o composto **31**, análogo ao *hit 2* (Figura 25), o composto **30** foi submetido a uma redução utilizando uma solução de  $\text{LiAlH}_4$  1M em THF, porém o produto não foi formado (Esquema 24).

Esquema 24. Tentativa de síntese do análogo **31**.



Era importante para o estudo de relação entre estrutura e atividade biológica obter o composto **31**, pois poderia ser avaliada a influência do metileno no espaçador e, com os resultados dos ensaios biológicos, seria possível comparar com a potência dos compostos **30** e **2** (Figura 25). Dessa forma, uma alternativa de síntese de **31** foi planejada a partir de uma reação de aminação redutiva, tendo como materiais de partida o aldeído **34**, a piperazina protegida **35**, o cloreto de alquila **7** (sintetizado previamente) e o cloreto de 4-clorobenzenosulfonila **5** (Esquema 25).

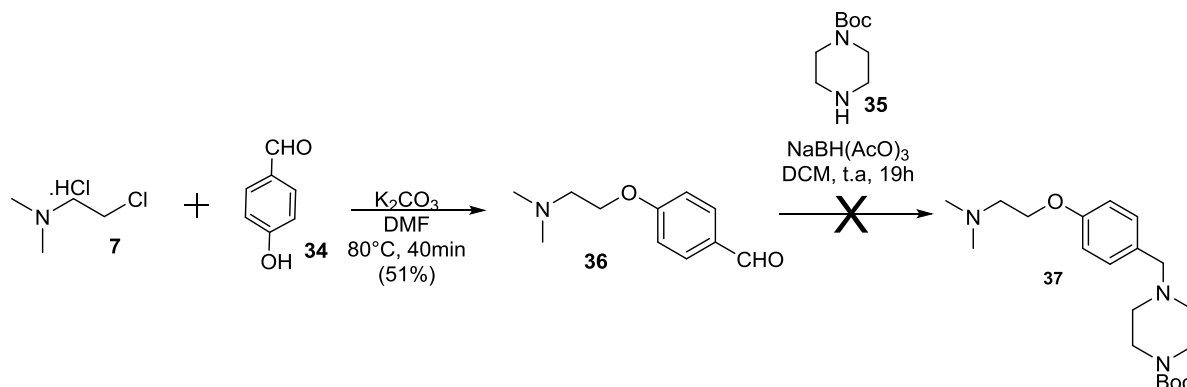
Esquema 25. Análise retrossintética para obtenção de **31**.



Primeiramente, o aldeído **34** foi alquilado por meio da reação com o cloreto de alquila **7**, utilizando carbonato de potássio como base e dimetilformamida como solvente, obtendo-se o produto **36** em 51% de rendimento. Em seguida, realizou-se uma tentativa de *N*-alquilação através de uma reação de aminação redutiva entre o aldeído **36** e a piperazina protegida **35**, utilizando triacetoxiboro-hidreto de sódio como agente redutor e diclorometano como

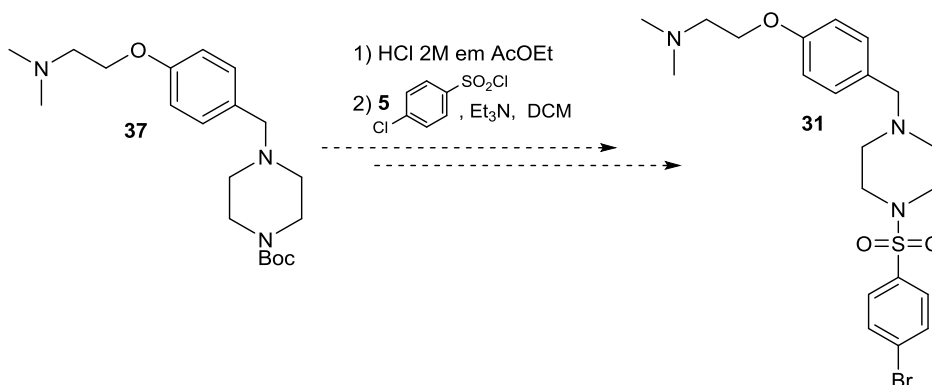
solvente, porém o composto **37** não foi obtido (ABDEL-MAGID; MARYANOFF, 1990) (Esquema 26).

Esquema 26. Rota sintética para obtenção de **36** e tentativa de obtenção de **37**.

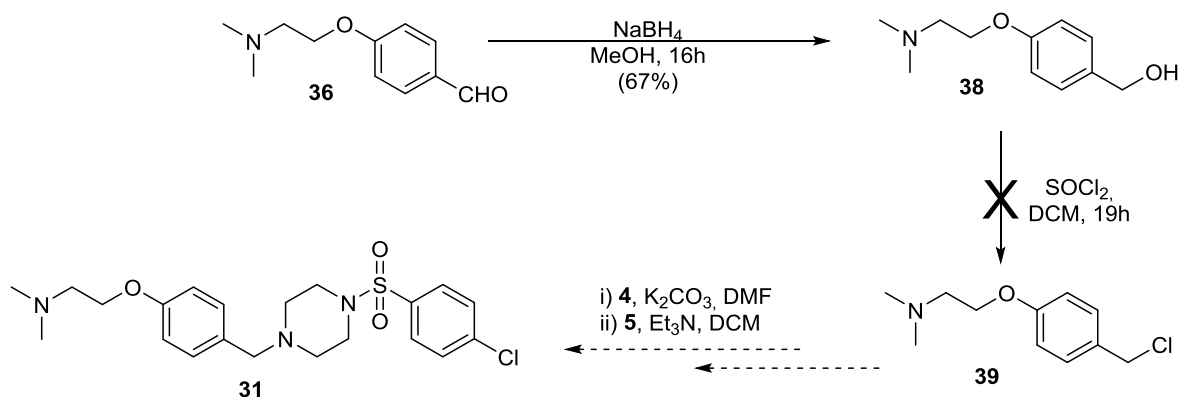


Caso **37** tivesse sido obtido, as próximas etapas para síntese de **31** teriam sido a desproteção do grupo Boc utilizando uma solução de ácido clorídrico em AcOEt e em seguida formação de sulfonamida na presença do cloreto de 4-clorobenzenosulfonila **5**, trietilamina como base e diclorometano como solvente (Esquema 27).

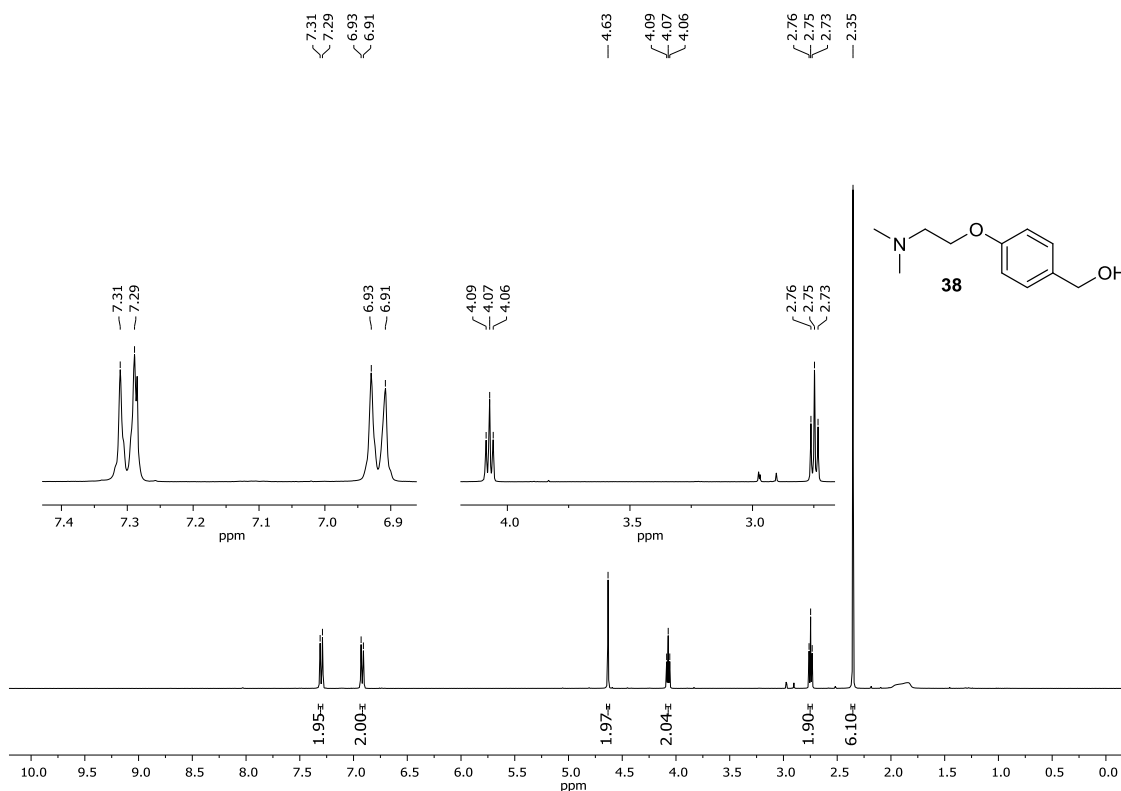
Esquema 27. Rota alternativa para obtenção de **31**.



Outra alternativa para obtenção de **31** poderia ser a partir de uma substituição nucleofílica utilizando o cloreto de alquila **39** com a piperazina **4**, para posteriormente formar a sulfonamida com o cloreto de 4-clorobenzenosulfonila **5**. Com isso em mente, o aldeído **36** foi reduzido a álcool na presença de borohidreto de sódio, sendo obtido o álcool **35** em 67% de rendimento. Em seguida, **38** foi submetido à reação com o cloreto de tionila, porém não houve formação do produto **39** esperado, e, portanto, não foi possível seguir com as etapas consequentes para preparar o análogo **31** (Esquema 28).

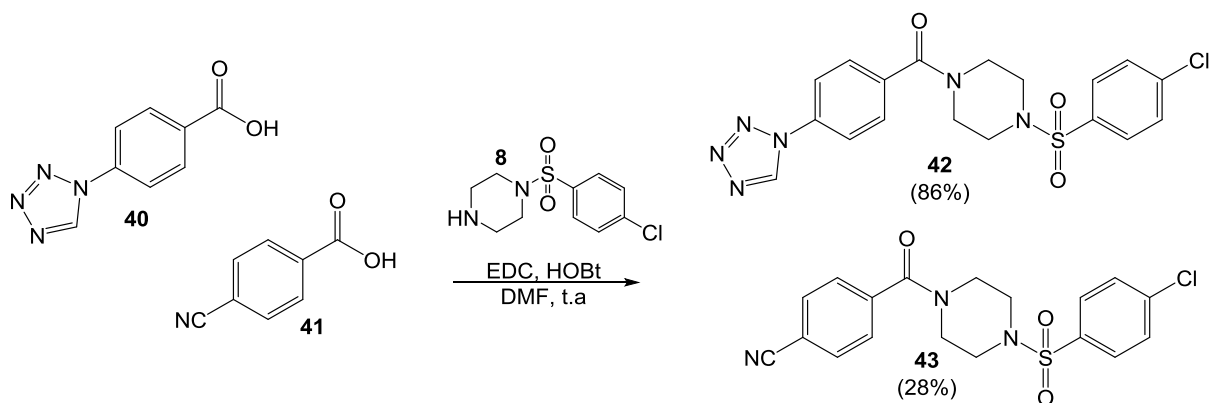
Esquema 28. Rota sintética para obtenção de **38** e tentativa de obtenção de **31**.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **38** evidencia a formação do álcool, pois apresenta dois dupletos referentes aos quatro hidrogênios do anel aromático em  $\delta$  7,30 ( $J = 8,6$  Hz) e 6,92 ( $J = 8,6$  Hz), um singlete referente aos dois hidrogênios metilênicos gerado pela redução do aldeído em álcool em  $\delta$  4,63, dois tripletos referentes aos quatro hidrogênios metilênicos do grupo nitrogenado em  $\delta$  4,07 ( $J = 5,8$  Hz) e 2,75 ( $J = 5,8$  Hz) e um singlete referente aos seis hidrogênios das duas metilas da amina terciária em  $\delta$  2,35 (Figura 28).

Figura 28. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **38**.

Com a disponibilidade de diferentes ácidos carboxílicos no laboratório, foram planejadas mais duas modificações no espaçador e no fragmento do grupo nitrogenado através de reações de amidação, utilizando os ácidos carboxílicos **40** e **41** e a sulfonamida **8**, na presença do ativador EDC, do catalisador HOBt e dimetilformamida como solvente (Esquema 29). Os análogos com o grupo tetrazol **42** e com o grupo nitrila **43**, foram obtidos em 86% e 28% de rendimento, respectivamente. Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  estão em anexo. Dessa forma, foi possível complementar o arsenal de compostos com modificações no espaçador que foram enviados para testes biológicos, que corroborará para um estudo abrangente de relação entre estrutura e atividade biológica, onde a influência dos grupos poderá ser correlacionada com os valores de  $\text{IC}_{50}$ .

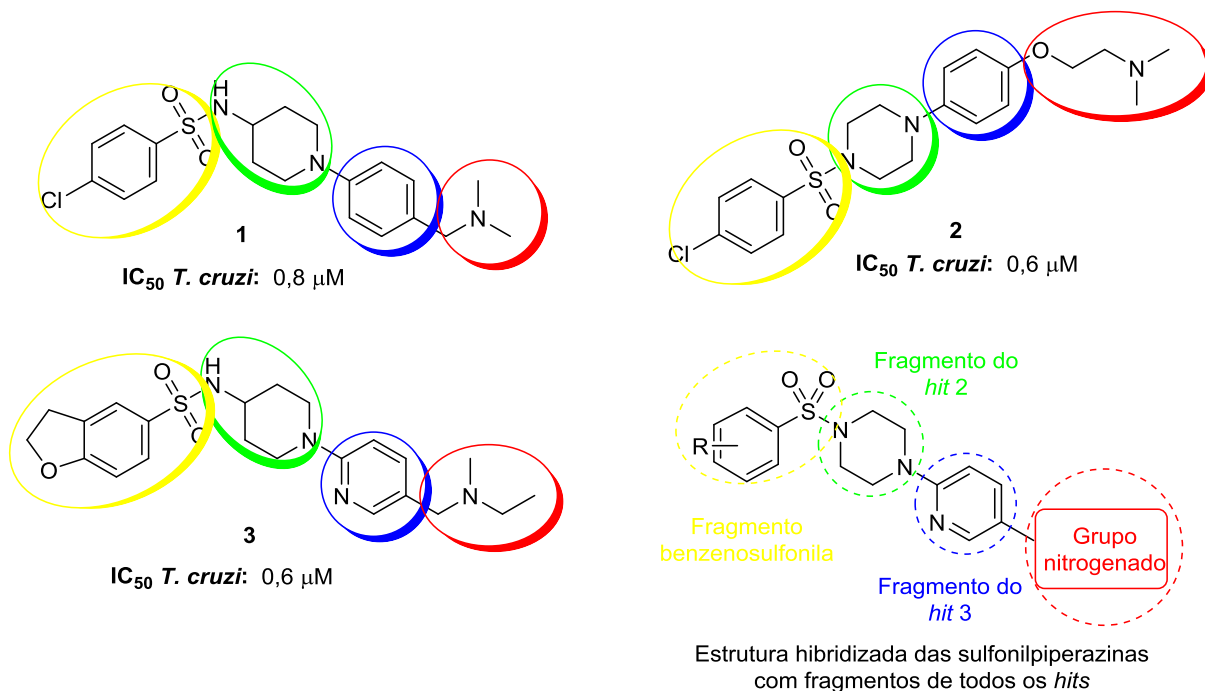
Esquema 29. Preparação dos análogos **42** e **43**.



### 3.4.2. Modificações no fragmento benzenosulfonila

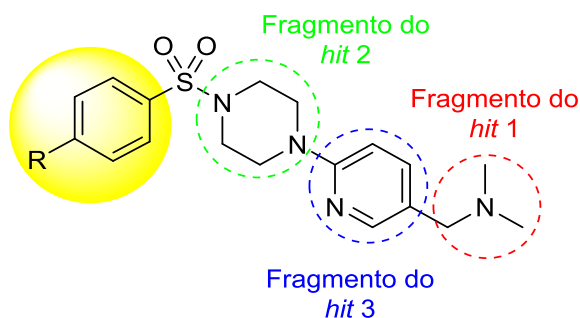
Ao revisitar as estruturas dos *hits* **1-3** (Figura 4), foi possível elaborar uma hibridação dos seus principais fragmentos e propor a síntese de novas moléculas, pertencentes à série de sulfonilpiperazinas, sem utilizar as reações de Buchwald-Hartwig e Ullmann, que foram os principais desafios nas tentativas de síntese dos *hits* **1** e **2** reportadas anteriormente (Figura 29).

Figura 29. Estrutura dos *hits* 1-3 e hibridizada para sintetizar análogos almeçados



A princípio foram planejadas as modificações estruturais no anel aromático do fragmento benzenosulfonila, destacado em amarelo na estrutura hibridizada (Figura 30), mantendo os fragmentos pertencentes aos *hits* 1, 2 e 3 em vermelho, verde e azul, respectivamente. Os diferentes substituintes que foram inseridos no fragmento benzenosulfonila possuem efeitos estéricos e eletrônicos diversos, a fim de complementar o estudo de relação entre estrutura química e atividade biológica.

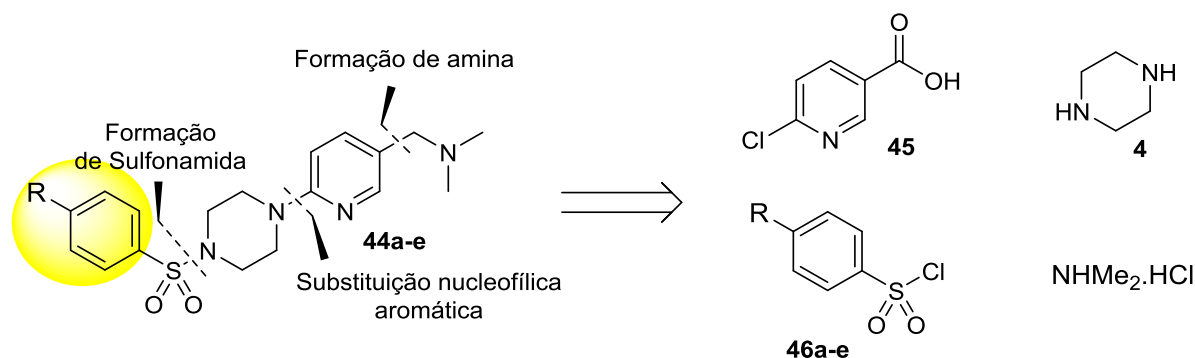
Figura 30. Estrutura das sulfonilpiperazinas com modificações no fragmento da benzenosulfonila (amarelo).



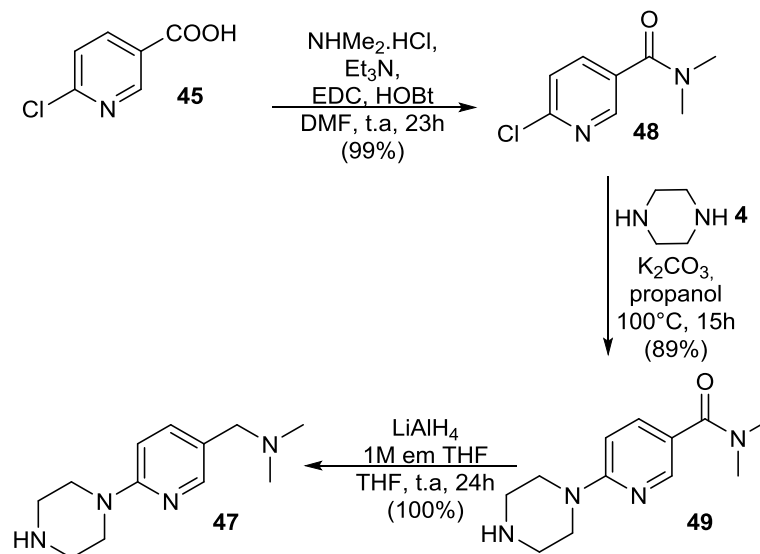
A estratégia sintética proposta para obtenção dos análogos **44a-e** envolve as três desconexões representadas na Figura 31, sendo elas: formação de amina, substituição

nucleofílica aromática e formação de sulfonamida, tendo como materiais de partida o ácido carboxílico **45**, a piperazina comercial **4**, os cloretos de sulfonila **46a-e** e o cloridrato de dimetilamina (Figura 31).

Figura 31. Estratégia sintética para preparação dos análogos modificados no fragmento benzenosulfonila.



Primeiramente, foi sintetizado o intermediário **47**, que é um fragmento presente em todos os compostos almejados. O ácido *p*-cloronicotínico **45** foi transformado na 6-cloro-*N,N*-dimetilnicotinamida **48** em 99% de rendimento, através de uma reação de amidação utilizando o cloridrato de dimetilamina, o ativador EDC, o catalisador HOBt, trietilamina como base e dimetilformamida como solvente. Em seguida, **48** foi submetido a uma substituição nucleofílica aromática com a piperazina **4** em meio básico, gerando o composto **49** em 89% de rendimento, que posteriormente teve o grupo amida reduzido na presença de uma solução de  $\text{LiAlH}_4$  1M em THF, produzindo o intermediário **47** em rendimento quantitativo, porém com uma impureza não identificada e de difícil remoção (Esquema 30).

Esquema 30. Rota sintética para obtenção do intermediário **47**.

O composto **49** foi caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 32) e foram observados três duplo dupletos referentes aos hidrogênios do anel piridínico, dois tripletos referentes aos oito hidrogênios referentes a piperazina e um singlete referente aos seis hidrogênios das duas metilas, sinais que evidenciam a obtenção de **49**. As atribuições aos hidrogênios estão reportadas na Tabela 9.

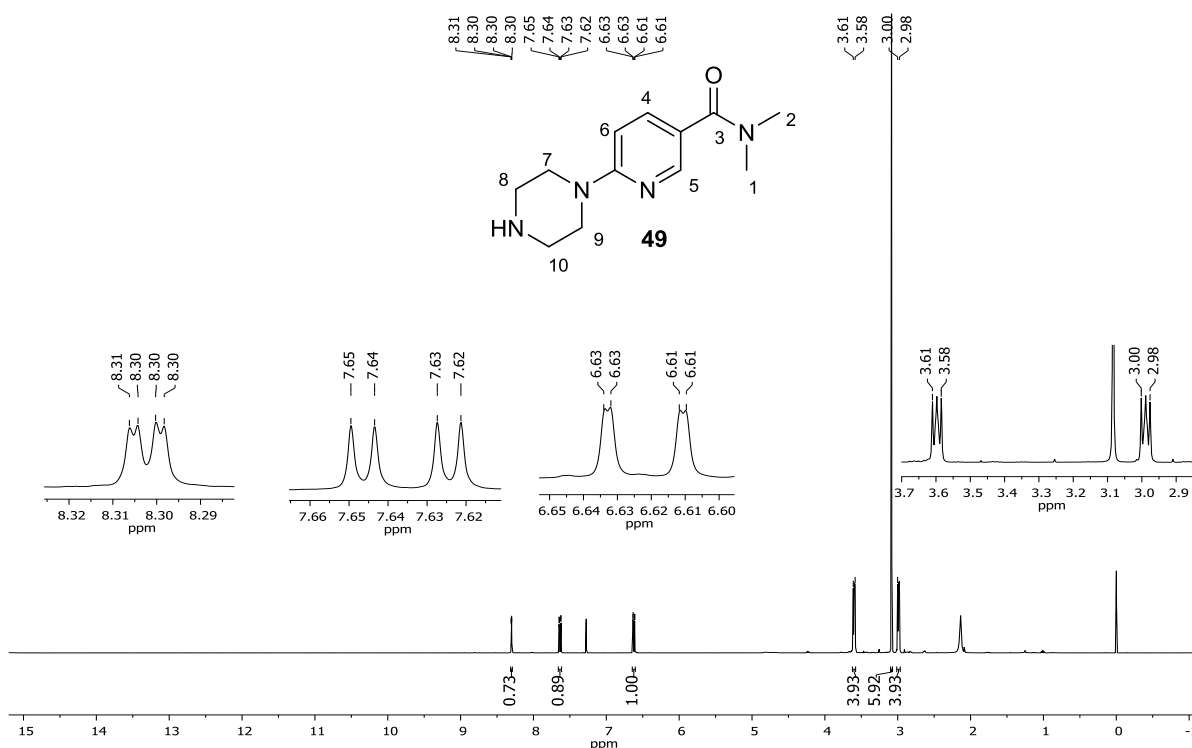
Figura 32. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **49**.



Tabela 9. Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **49** ( $\text{CDCl}_3$ )

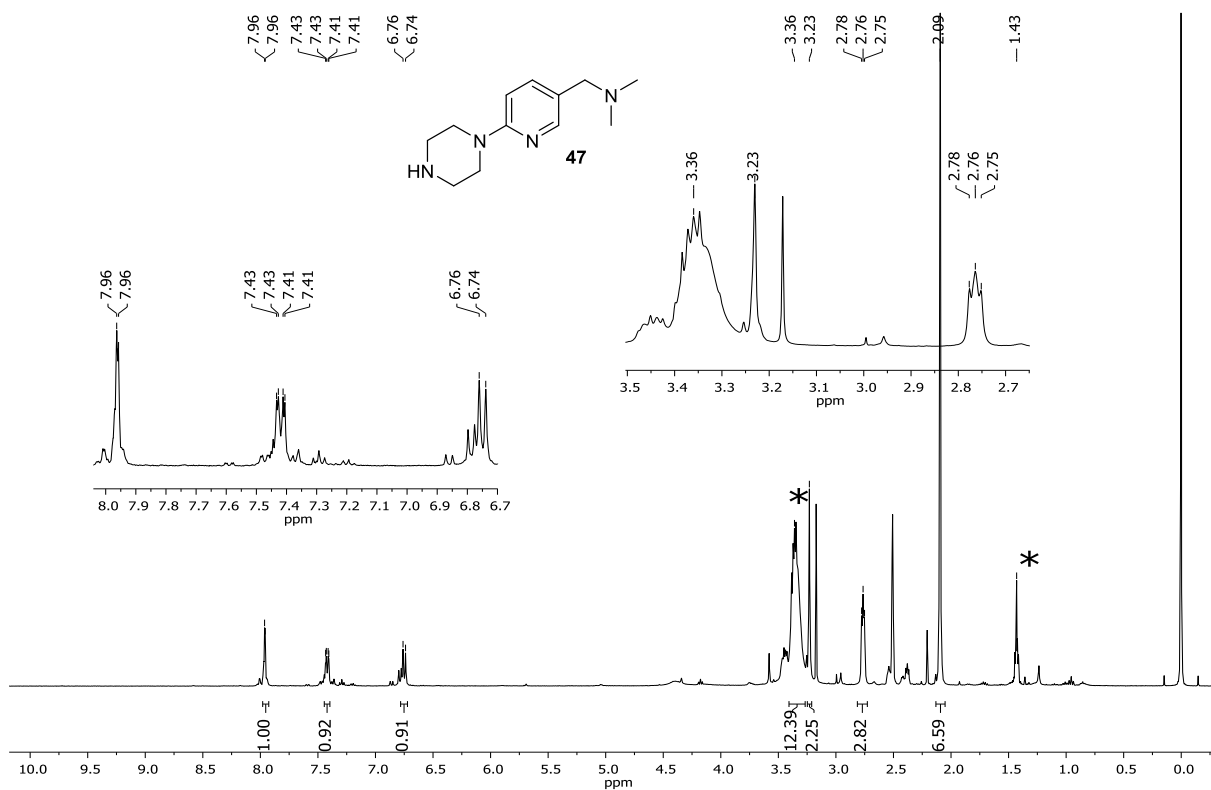
Posição H	$\delta_{\text{H}}^a$ ( $m^b$ , $\mathcal{J}^c$ )
H1 e H2	3,08 (s)
H4	7,64 (dd, 8,9, 2,4)
H5	8,30 (dd, 2,4, 0,8)
H6	6,62 (dd, 8,9, 0,8)
H7 e H9	3,60 (t, 10,3)
H8 e H10	2,99 (t, 10,3)

<sup>a</sup> deslocamentos químicos em ppm, em relação ao TMS como padrão interno

<sup>b</sup> multiplicidade

<sup>c</sup> constantes de acoplamento em Hz

Após a redução de **49** para a formação de **47**, o espectro de RMN  $^1\text{H}$  apresentou os sinais característicos do produto e o singlete referente aos dois hidrogênios metilênicos gerado pela redução em  $\delta$  3,23. Porém, havia sinais em  $\delta$  3,4 e 1,4 de uma impureza desconhecida, mesmo após diversas tentativas de purificação (Figura 33).

Figura 33. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) de **47** impuro.

Desde que os sinais em  $\delta$  3,4 e 1,4 em DMSO-d6 foram identificados, uma série de purificações do intermediário **47** foram feitas para a obtenção de uma fração pura. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 34) evidenciou a obtenção de **47** puro pela ausência dos sinais da impureza. As atribuições aos hidrogênios estão reportadas na Tabela 10.

Figura 34. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO-d6) de **47** puro.

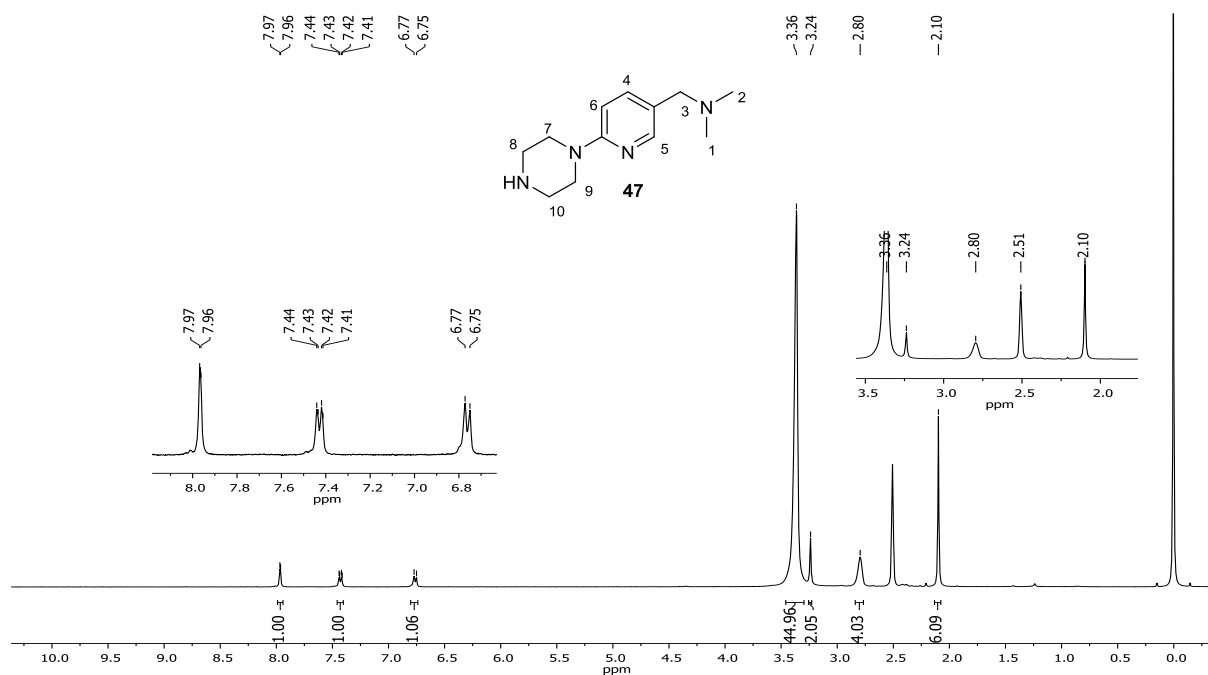


Tabela 10. Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **47** (DMSO-d6)

Posição H	$\delta_{\text{H}}^a$ ( $m^b$ , $\mathcal{J}^c$ )
H1 e H2	2,10 (s)
H3	3,24 (s)
H4	7,43 (dd, 8,9, 2,4)
H5	7,97 (dd, 2,4, 0,8)
H6	6,76 (dd, 8,9, 0,8)
H7 e H9	3,36 (sl) <sup>d</sup>
H8 e H10	2,80 (sl)

<sup>a</sup> deslocamentos químicos em ppm, em relação ao TMS como padrão interno

<sup>b</sup> multiplicidade

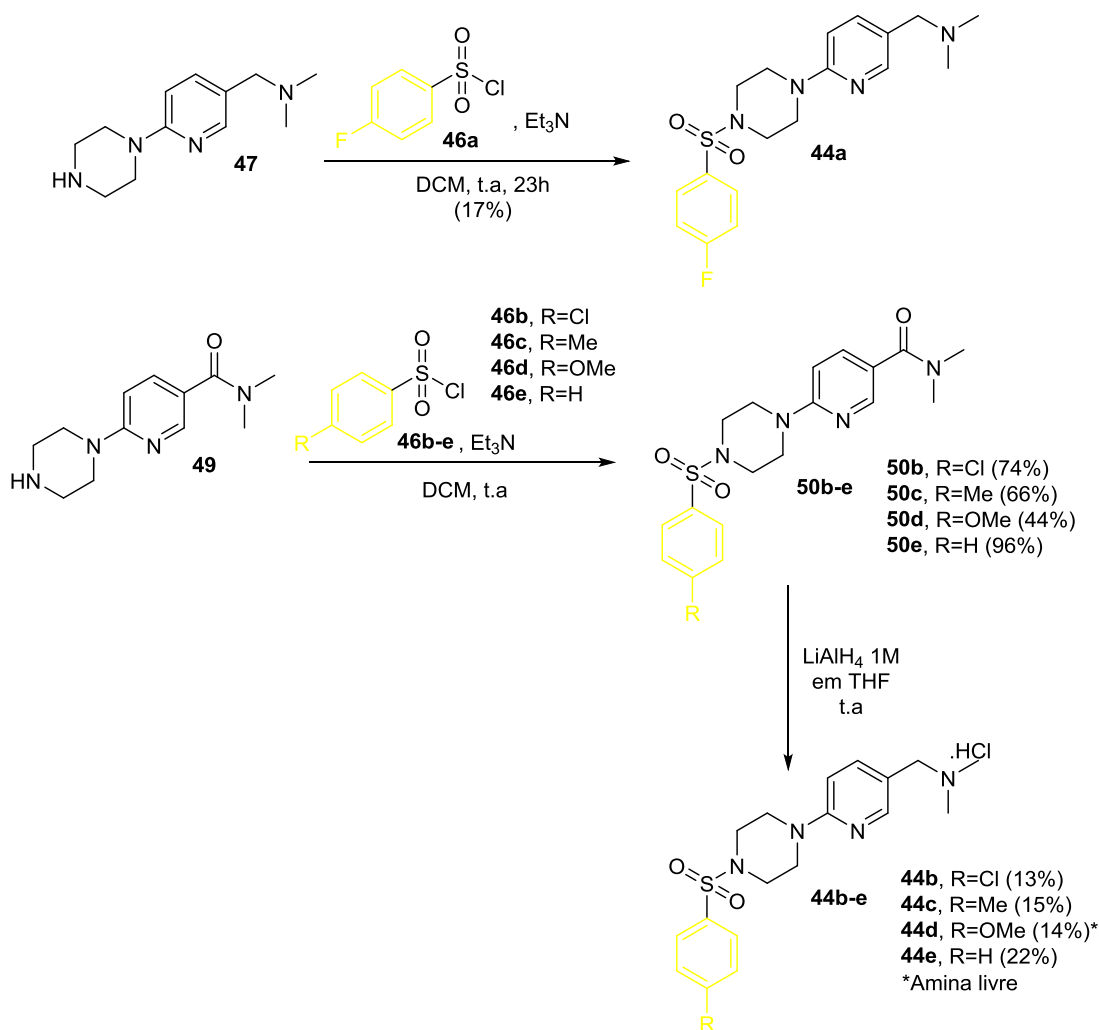
<sup>c</sup> constantes de acoplamento em Hz

<sup>d</sup> sinal camuflado pelo sinal de  $\text{H}_2\text{O}$  em  $\delta$  3,33

A amina **47** reagiu com o cloreto de sulfonila **46a**, utilizando trietilamina como base e diclorometano como solvente, obtendo o análogo **44a** em 17% rendimento (Esquema 31).

Para contornar a dificuldade em isolar o intermediário **47**, o composto **49** foi utilizado como intermediário para obtenção dos análogos **44b-e**. Dessa forma, **49** reagiu com os cloretos de sulfonila **46b-e** na presença de trietilamina para formar as sulfonamidas **50b-e** em rendimentos que variaram de 44 a 96%. Na sequência, tais compostos foram reduzidos a aminas utilizando solução de  $\text{LiAlH}_4$  1M em THF, gerando os análogos **44b-e** em rendimentos de 14% a 22% (Esquema 31).

Esquema 31. Síntese dos análogos **44a-e** e **50b-e**.



De forma a ilustrar a caracterização desses análogos, que possuem muitas semelhanças estruturais, os compostos **50c** e **44c** foram selecionados para ilustrar a análise de seus espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Todos os outros espectros estão reportados em anexo.

O composto **50c** foi caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 35) e  $^{13}\text{C}$  (Figura 36). No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  foram observados dois dupletos referentes aos quatro hidrogênios do

anel aromático e um singlete referente à metila do fragmento da benzenosulfonila, três dupletos referentes aos hidrogênios do anel piridínico, dois tripletos referentes aos oito hidrogênios da piperazina e um singlete referente aos hidrogênios das duas metilas, sinais que evidenciam a obtenção de **50c**. As atribuições aos hidrogênios e carbonos estão reportadas na Tabela 1.

Figura 35. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **50c**.

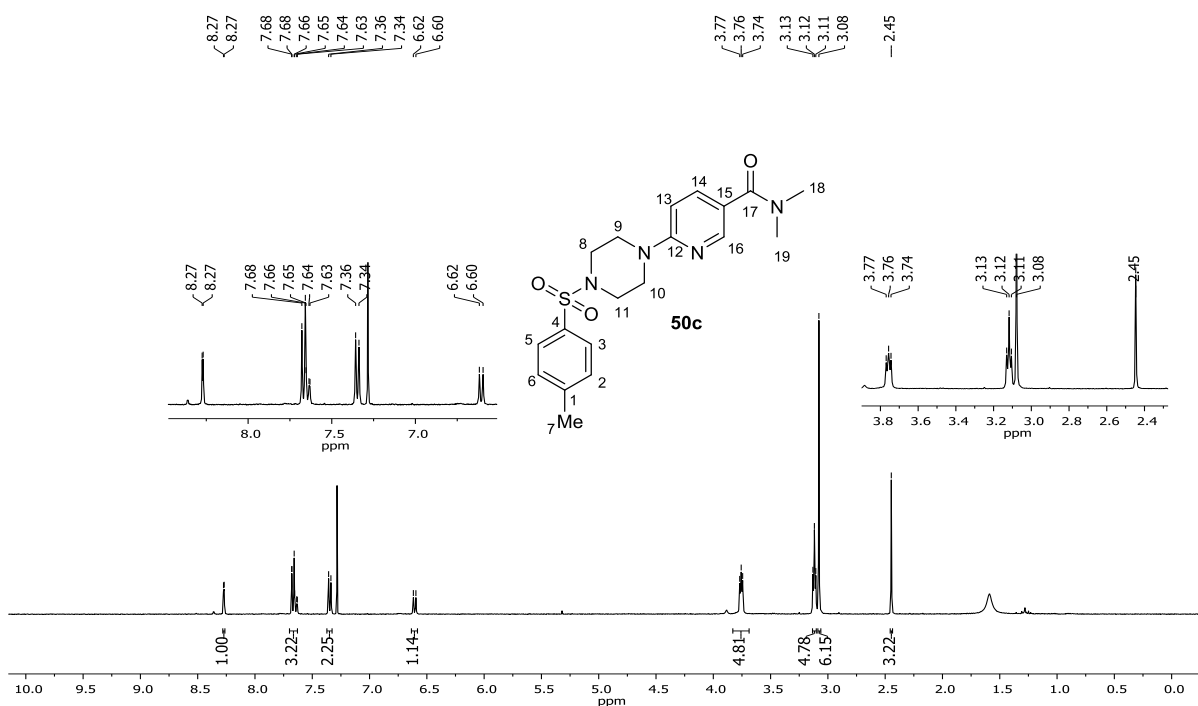


Figura 36. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **50c**.

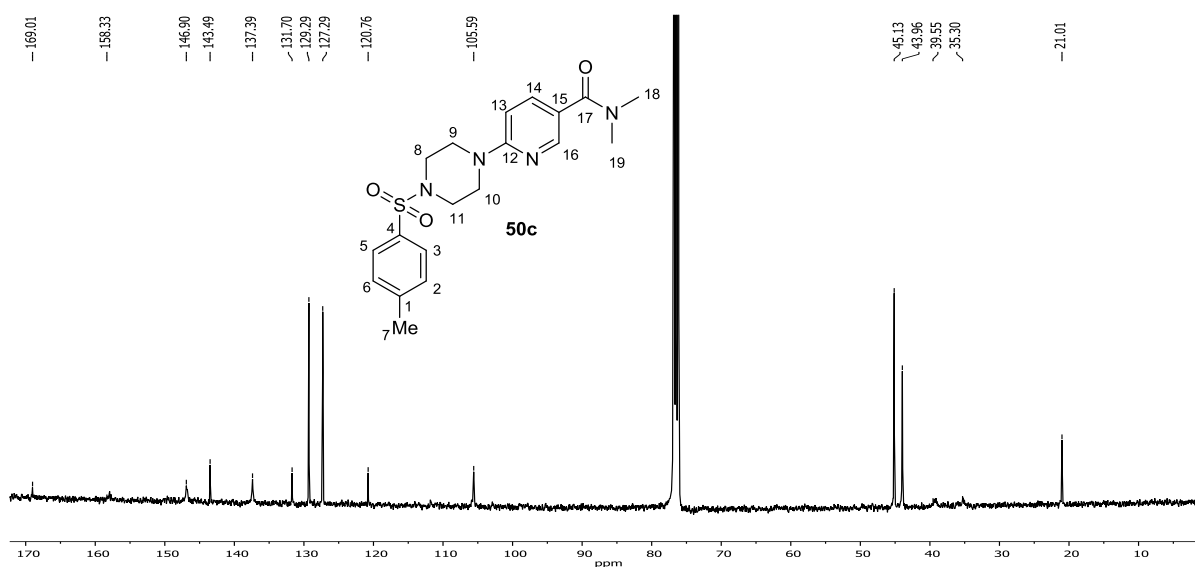


Tabela 11. Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **50c** ( $\text{CDCl}_3$ )

Posição H	$\delta_{\text{H}}^a$ ( $m^b$ , $\mathcal{J}$ )	Posição C	$\delta_{\text{C}}^a$ ( $m^b$ )
-	-	C1	143,49 (C)
-	-	C4	137,39 (C)
H2 e H6	7,67 (d, 8,3)	C2 e C6	129,29 (CH)
H3 e H5	7,35 (d, 8,3)	C3 e C5	127,79 (CH)
H7	2,45 (s)	C7	21,01 ( $\text{CH}_3$ )
H8 e H11	3,12 (t, 5,1)	C8 e C11	43,96 ( $\text{CH}_2$ )
H9 e H10	3,76 (t, 5,1)	C9 e C10	45,13 ( $\text{CH}_2$ )
-	-	C12	158,33 (C)
H13	6,61 (d, 8,9)	C13	105,59 (CH)
H14	7,63 (d, 2,4)	C14	126,23 (CH)
-	-	C15	120,76 (C)
H16	8,27 (d, 2,4)	C16	146,90 (CH)
-	-	C17	169,01 (C=O)
H18 e H19	3,08 (s)	C18 e C19	39,55 e 35,30 ( $\text{CH}_3$ )

<sup>a</sup> deslocamentos químicos em ppm, em relação ao TMS como padrão interno

<sup>b</sup> multiplicidade

<sup>c</sup> constantes de acoplamento em Hz

A redução de **50c** com solução de  $\text{LiAlH}_4$  1M em THF gerou o análogo **44c** (Esquema 31). O espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **44c** evidencia sinais do produto com a presença do singlete referente aos dois hidrogênios metilênicos gerado pela redução de **50c** em  $\delta$  4,13, (Figura 37). O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **44c** evidencia a ocorrência da reação de redução de **50c**, pois não apresenta o sinal da carbonila, mas sim o sinal do metileno C17 em  $\delta$  57,48 (Figura 38). As atribuições de todos os sinais de hidrogênio e carbonos estão descritas na Tabela 12.

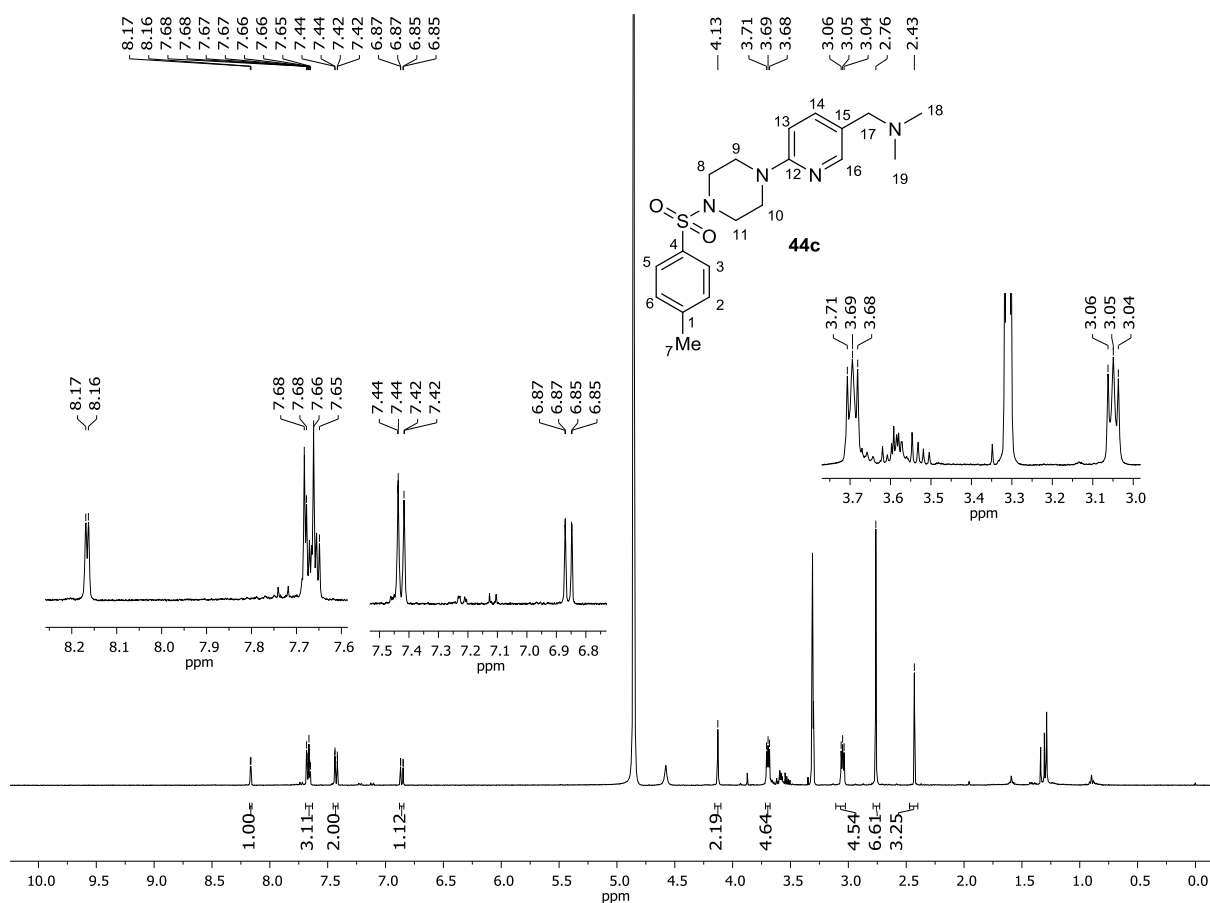
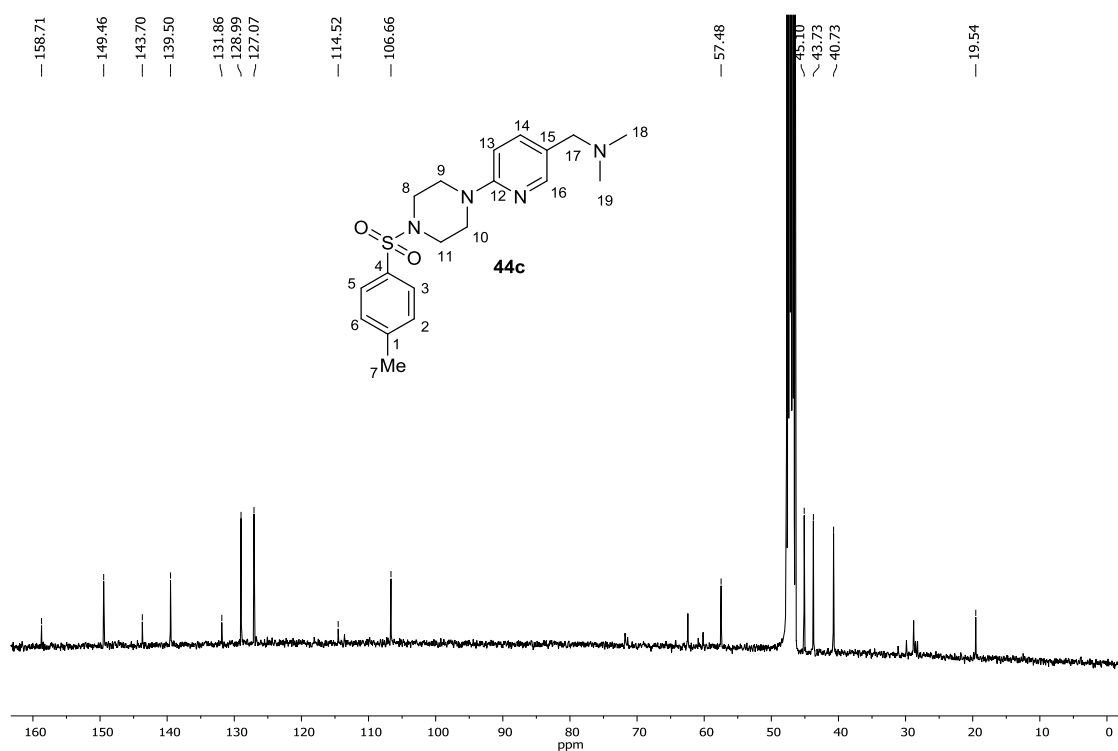
Figura 37. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **44c**.Figura 38. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **44c**.

Tabela 12. Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **44c** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Posição H	$\delta_{\text{H}}^a$ ( $\text{m}^b$ , $\mathcal{J}^c$ )	Posição C	$\delta_{\text{C}}^a$ ( $\text{m}^b$ )
-	-	C1	143,70 (C)
-	-	C4	139,50 (C)
H2 e H6	7,67 (d, 8,3)	C2 e C6	128,99 (CH)
H3 e H5	7,35 (d, 8,3)	C3 e C5	127,07 (CH)
H7	2,45 (s)	C7	19,54 ( $\text{CH}_3$ )
H8 e H11	3,12 (t, 5,1)	C8 e C11	43,73 ( $\text{CH}_2$ )
H9 e H10	3,76 (t, 5,1)	C9 e C10	45,10 ( $\text{CH}_2$ )
-	-	C12	158,71 (C)
H13	6,61 (d, 8,9)	C13	106,66 (CH)
H14	7,63 (d, 2,4)	C14	131,86 (CH)
-	-	C15	114,52 (C)
H16	8,27 (d, 2,4)	C16	149,46 (CH)
-	-	C17	57,48 ( $\text{CH}_2$ )
H18 e H19	3,08 (s)	C18 e C19	40,73 ( $\text{CH}_3$ )

<sup>a</sup> deslocamentos químicos em ppm, em relação ao TMS como padrão interno

<sup>b</sup> multiplicidade

<sup>c</sup> constantes de acoplamento em Hz

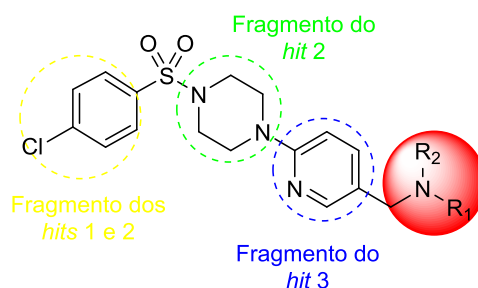
A estratégia de síntese a partir da amida **49** (Esquema 31) gerou derivados de amidas e aminas no fragmento nitrogenado, o que agregará uma melhor discussão no estudo de relação entre estrutura química e atividade biológica contra o *T. cruzi*. Os cloretos de sulfonila **46a-e** foram racionalmente escolhidos para que pudesse ser estudada a influência de efeitos estéricos e eletrônicos considerando que os substituintes se apresentam na mesma posição do anel aromático (*para*). O cloreto de sulfonila **46b**, que contém um grupo cloro, foi escolhido para que o análogo híbrido **44b** tivesse o fragmento benzenosulfonila em comum aos *hits* **1** e **2**, e para que a comparação da potência deles pudesse ser mais assertiva (Figura 24). Com isso, o cloreto de sulfonila **46a**, que contém o flúor como substituinte, foi escolhido, pois o flúor exerce efeito retirador de elétrons, assim como o cloro, porém é um átomo menor e que pode fazer ligações de hidrogênio com o alvo biológico, podendo assim, influenciar e potencializar a atividade biológica do análogo **44a**. Os compostos **44c-e**, foram planejados para que o estudo de relação entre estrutura química e atividade biológica fosse complementado com informações da influência de grupos doadores de elétrons (metoxila e metila), além de grupo que exerça pouco efeito eletrônico e estérico (H). Da mesma forma, os

análogos **50b-e** poderão ser comparados com os análogos **44b-e** em relação à influência da carbonila em suas respectivas potências.

### 3.4.3. Modificações no fragmento do grupo nitrogenado.

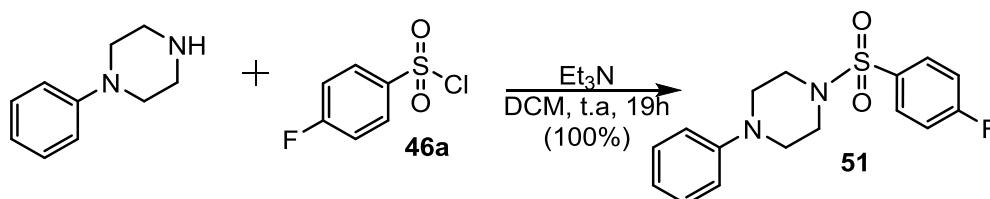
Na sequência, foram planejadas as modificações estruturais no grupo nitrogenado, destacado em vermelho na Figura 38, mantendo os fragmentos pertencentes aos *hits* 1, 2 e 3 em amarelo, verde e azul, respectivamente. As aminas escolhidas para serem inseridas no fragmento do grupo nitrogenado possuem efeitos estéricos diversos a fim de complementar o estudo de relação entre estrutura química e atividade biológica, avaliando assim a influência desses grupos nas extremidades das moléculas (Figura 39).

Figura 39. Estrutura das sulfonilpiperazinas com modificações no fragmento do grupo nitrogenado (vermelho).



O primeiro análogo com modificação no fragmento benzenosulfonila foi o composto **51**, sintetizado em 100% de rendimento a partir da 1-fenilpiperazina e o cloreto de 4-fluorobenzenosulfonila **46a**, utilizando trietilamina como base e diclorometano como solvente (Esquema 32).

Esquema 32. Síntese do análogo **51**.

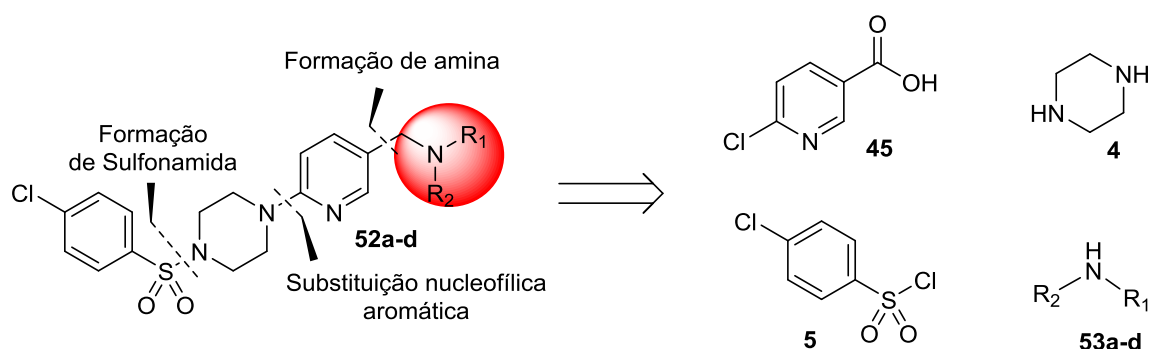




A síntese do análogo **51** foi realizada a fim de estudar se do fragmento do grupo nitrogenado é um dos grupos essenciais para a atividade biológica, juntamente com a influência do substituinte flúor no fragmento benzenosulfonila quando comparados os resultados do ensaio biológico dos análogos **44a-e** (Esquema 31).

Seguindo o mesmo raciocínio para a síntese dos análogos modificados no fragmento benzenosulfonila (Figura 31), a estratégia sintética proposta para as modificações no fragmento do grupo nitrogenado e obtenção dos análogos **52a-d**, envolve as três desconexões representadas na Figura 40, sendo elas: formação de amina, substituição nucleofílica aromática e formação de sulfonamida, tendo como materiais de partida o ácido carboxílico **45**, a piperazina **4**, o cloreto de 4-clorobenzenosulfonila **5** e as aminas **53a-d** (Figura 40).

Figura 40. Estratégia sintética para preparação das sulfonilpiperazinas modificadas no fragmento do grupo nitrogenado.

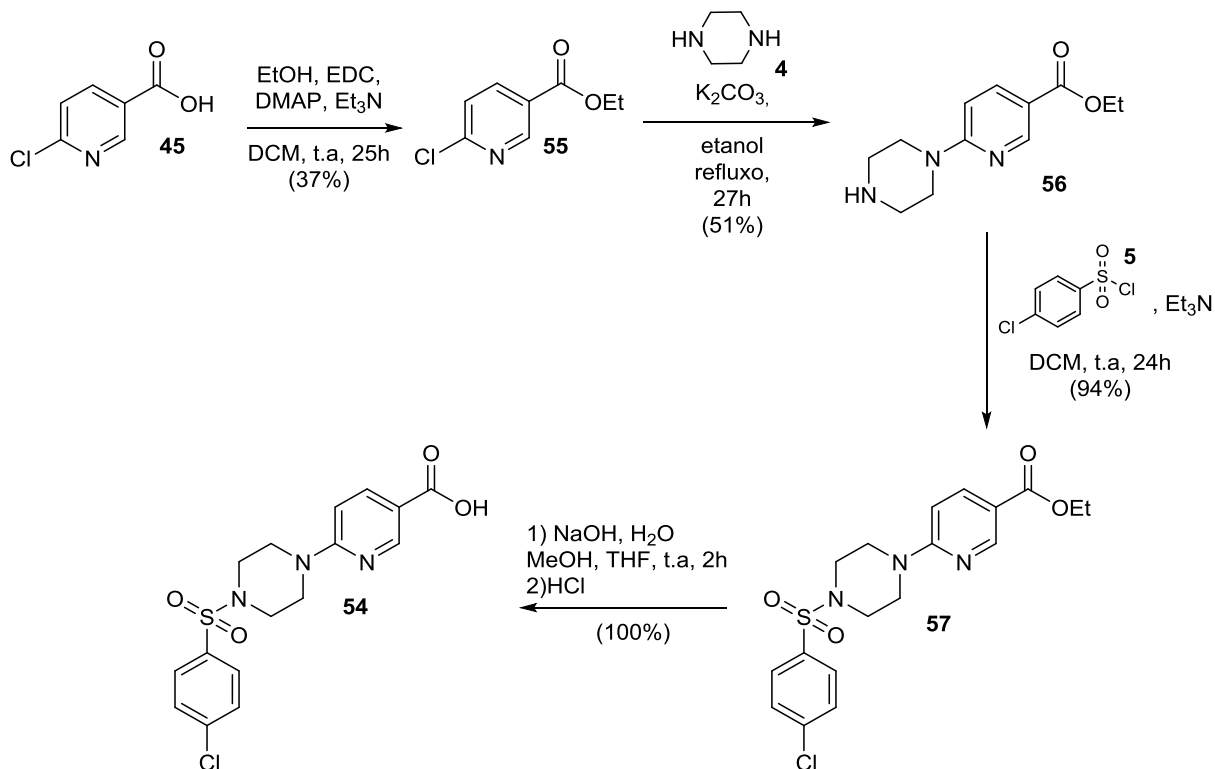


Para a inclusão de diferentes aminas no fragmento destacado em vermelho (Figura 40), a estratégia foi sintetizar o intermediário **54** (Esquema 33), já que a estrutura química está presente em todos os compostos almejados. Além disso, esse intermediário terá o fragmento 4-clorobenzenosulfonil, que está presente em ambos os *hits* **1** e **2** (Figura 24).

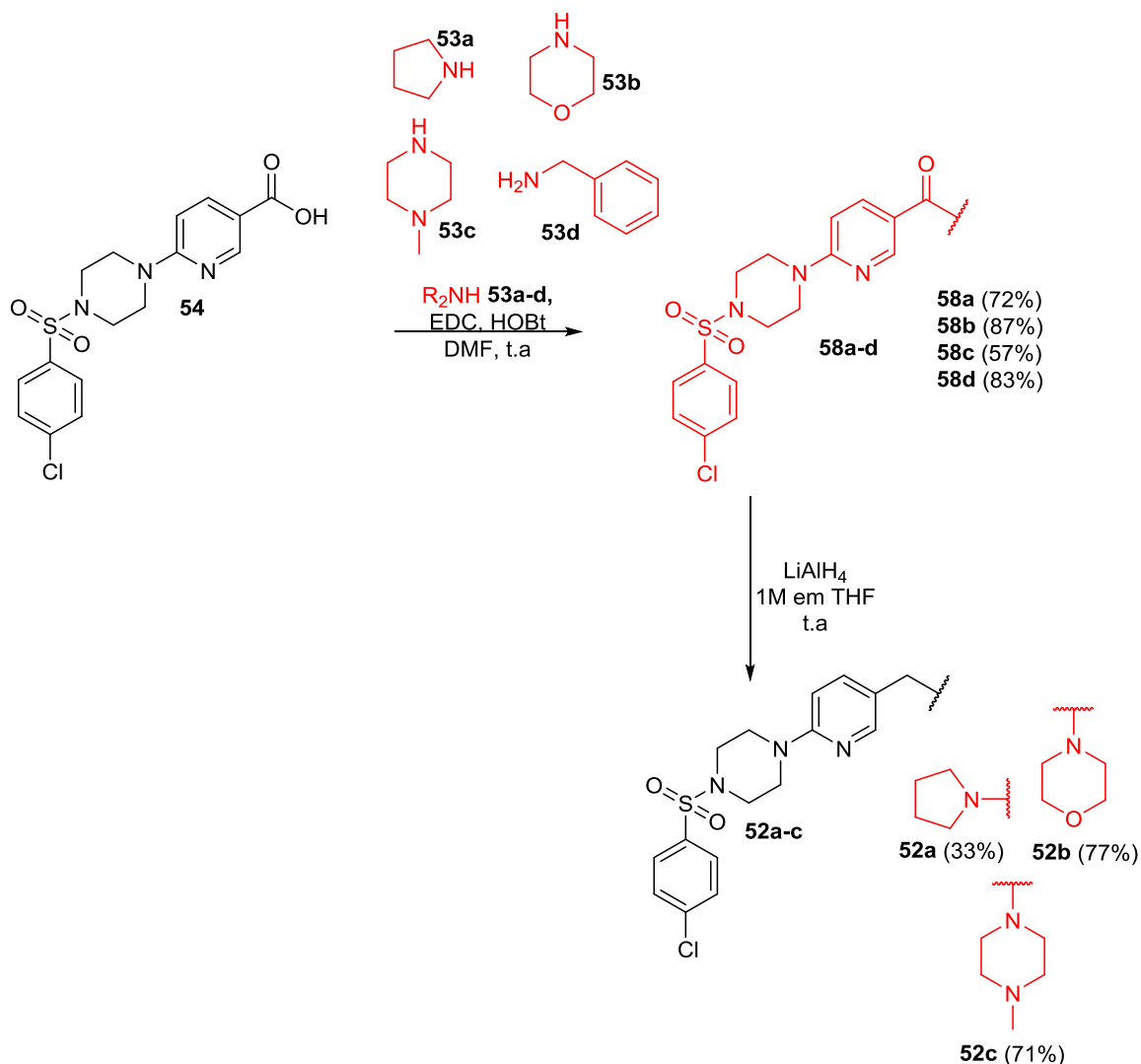
Primeiramente o ácido *p*-cloronicotínico **45** foi convertido no éster **55** em 37% de rendimento na presença de etanol, EDC, DMAP e trietilamina como base, que em seguida foi reagido com a piperazina **4**, através de uma reação de substituição nucleofílica aromática em meio básico utilizando etanol como solvente, formando o composto **56** em 51% de rendimento. Posteriormente, a sulfonamida **57** foi formada em 94% de rendimento a partir de uma reação entre a amina **56** com o cloreto de 4-clorobenzenosulfonila **5**, na presença de trietilamina como base e diclorometano como solvente. Em seguida, **57** foi submetido a uma hidrólise básica, obtendo-se o intermediário **54** em rendimento quantitativo (Esquema 33).

Ambos os intermediários **54** e **57** também foram enviados para os ensaios biológicos a fim de se estudar a influência da ausência do fragmento do grupo nitrogenado.

Esquema 33. Estratégia sintética para obtenção do intermediário **54**.



Por fim, para obtenção dos compostos planejados, o ácido carboxílico **54** reagiu com diferentes aminas **53a-d** na presença do ativador EDC, do catalisador HOBt e dimetilformamida como solvente, obtendo-se as amidas **58a-d**, que também serão importantes para o estudo da relação entre estrutura química e atividade biológica, já que poderá ser avaliada a influência da carbonila na atividade biológica. Por último, as amidas **58a-c** foram reduzidas na presença de uma solução LiAlH<sub>4</sub> 1M em THF, obtendo assim os análogos **52a-c** em rendimentos de 33% a 71% (Esquema 34).

Esquema 34. Síntese dos análogos **52a-c** e **58a-d**.

De forma a ilustrar a caracterização desses análogos, foram escolhidos os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos análogos **52c** e **58c**. Todos os outros espectros estão reportados em anexo.

O composto **52c** foi caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 41) e  $^{13}\text{C}$  (Figura 42). No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  foram observados dois dupletos referentes aos quatro hidrogênios do anel aromático, três duplo dupletos referentes aos hidrogênios do anel piridínico, dois tripletos referentes aos oito hidrogênios da piperazina do espaçador, dois multipletos e um singletos referentes a metilpiperazina provindos da amina **53c**, sinais que evidenciam a obtenção de **52c**. As atribuições aos hidrogênios e carbonos estão reportadas na Tabela 13.

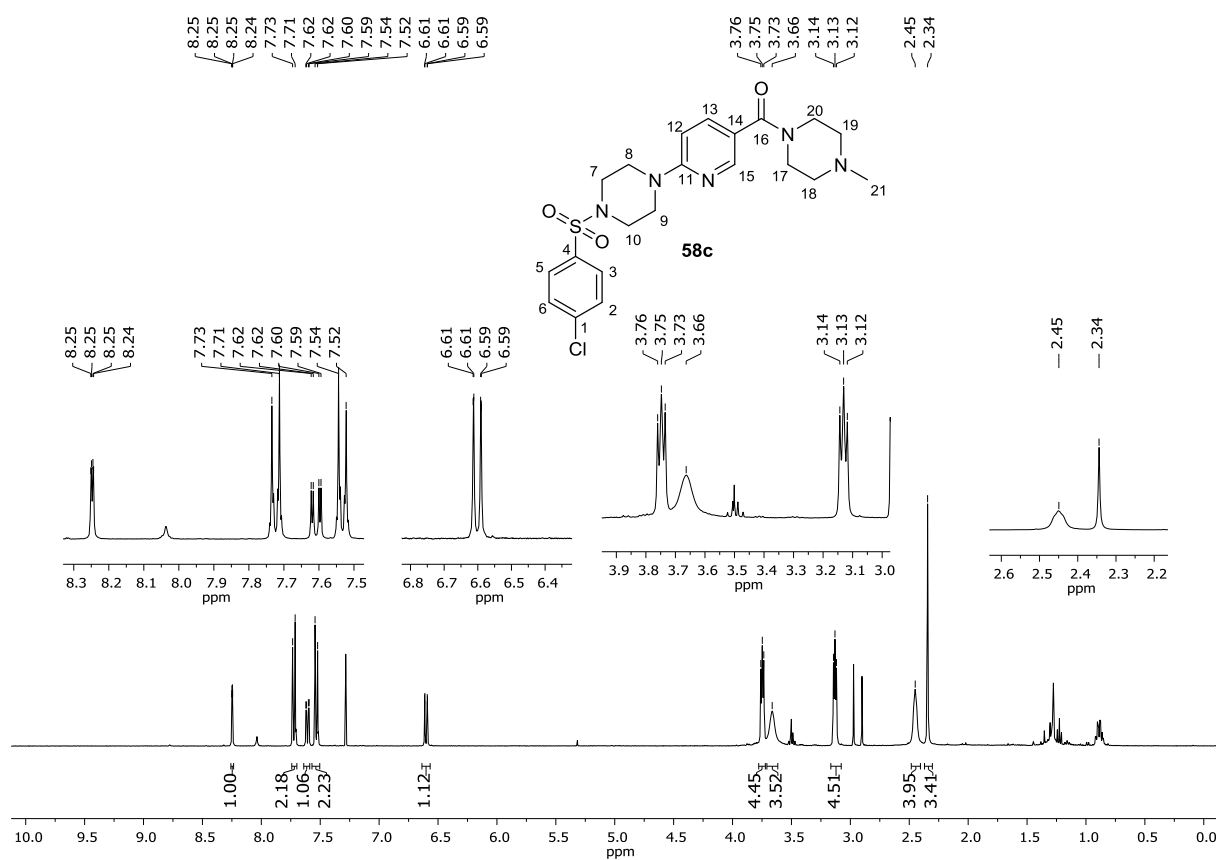
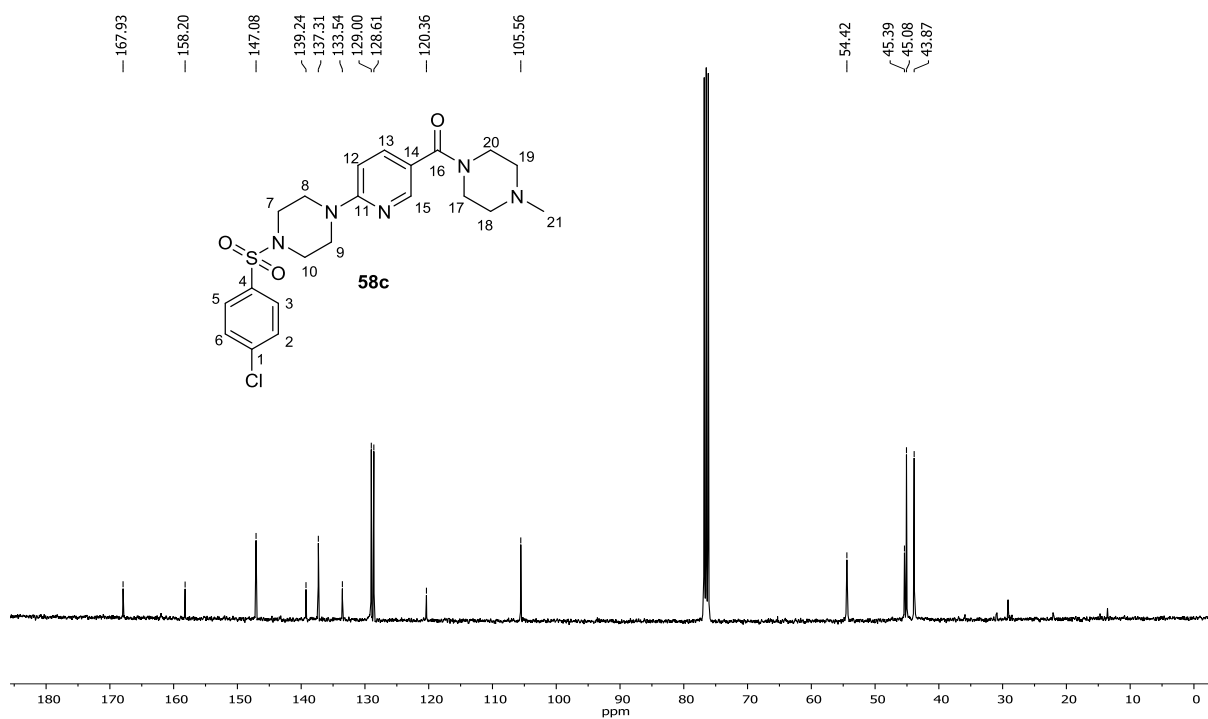
Figura 41. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **58c**.Figura 42. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **58c**.

Tabela 13. Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **58c** ( $\text{CDCl}_3$ )

Posição H	$\delta_{\text{H}}^a$ ( $m^b$ , $\mathcal{J}$ )	Posição C	$\delta_{\text{C}}^a$ ( $m^b$ )
-	-	C1	139,24 (C)
-	-	C4	133,54 (C)
H2 e H6	7,72 (d, 8,6)	C2 e C6	129,00 (CH)
H3 e H5	7,53 (d, 8,6)	C3 e C5	128,07 (CH)
H8 e H9	3,75 (t, 5,1)	C8 e C9	54,42 ( $\text{CH}_2$ )
H7 e H10	3,13 (t, 5,1)	-	-
-	-	C11	158,20 (C)
H12	6,60 (dd, 8,8; 0,8)	C12	105,56 (CH)
H13	7,61 (dd, 8,8; 2,4)	C13	137,31 (CH)
-	-	C14	120,36 (C)
H15	8,25 (dd, 2,4, 0,8)	C15	147,08 (CH)
-	-	C16	167,93 (C=O)
H17 e H20	3,66 (sl)	C7 – C10 C17 – C20 C21	45,39 45,08, 43,87 (2 $\text{CH}_2$ e 1 $\text{CH}_3$ )
H18 e H19	2,45 (sl)	-	-
H21	2,34 (s)	-	-

<sup>a</sup> deslocamentos químicos em ppm, em relação ao TMS como padrão interno

<sup>b</sup> multiplicidade

<sup>c</sup> constantes de acoplamento em Hz

A redução de **58c** com solução de  $\text{LiAlH}_4$  1M em THF gerou o análogo **49c** (Esquema 33). O espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **52c** evidenciou sua formação, pois apresenta o singlete referente aos dois hidrogênios metilênicos gerado pela redução de **58c** em  $\delta$  3,40, (Figura 43). O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **52c** confirma que ocorreu a reação de redução de **58c**, pois não apresentou o sinal da carbonila, mas sim o sinal do metileno C16 em  $\delta$  58,95 (Figura 44). As atribuições aos carbonos estão descritas na Tabela 14.

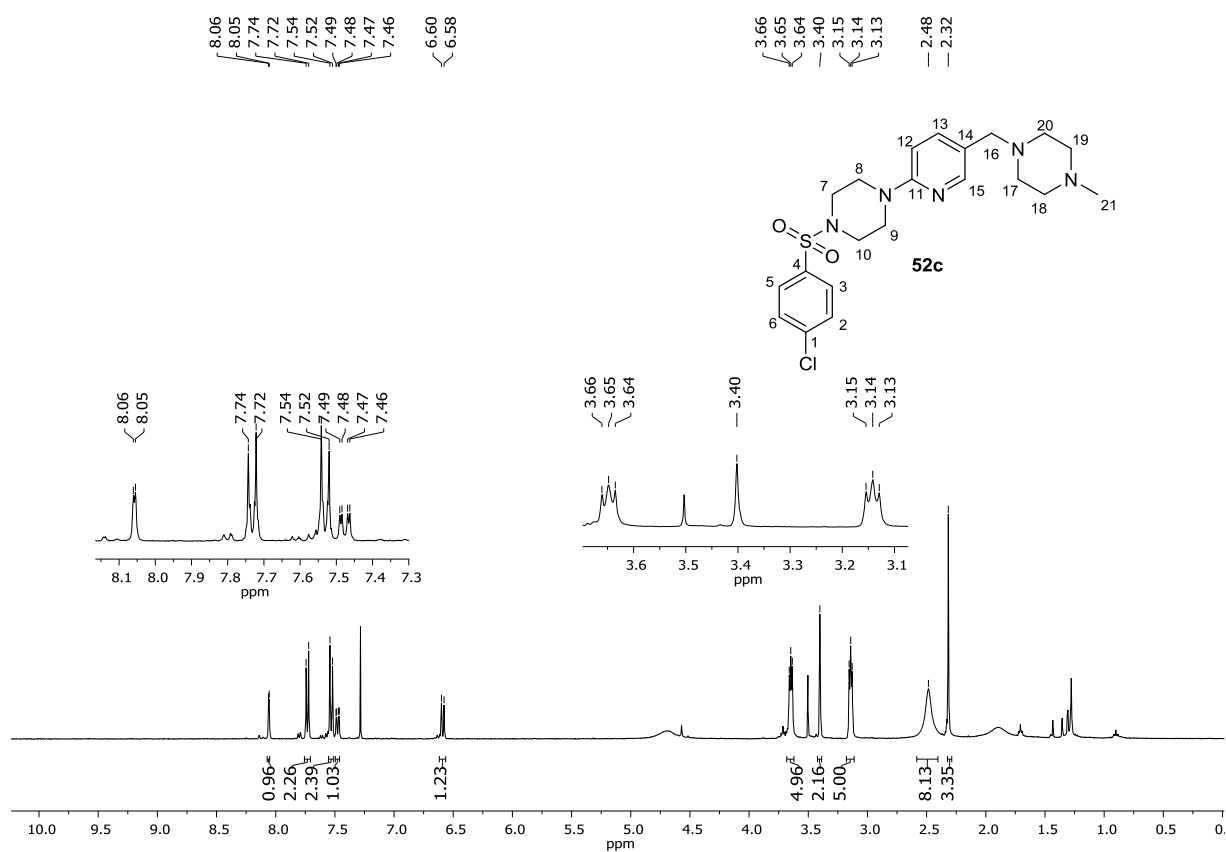
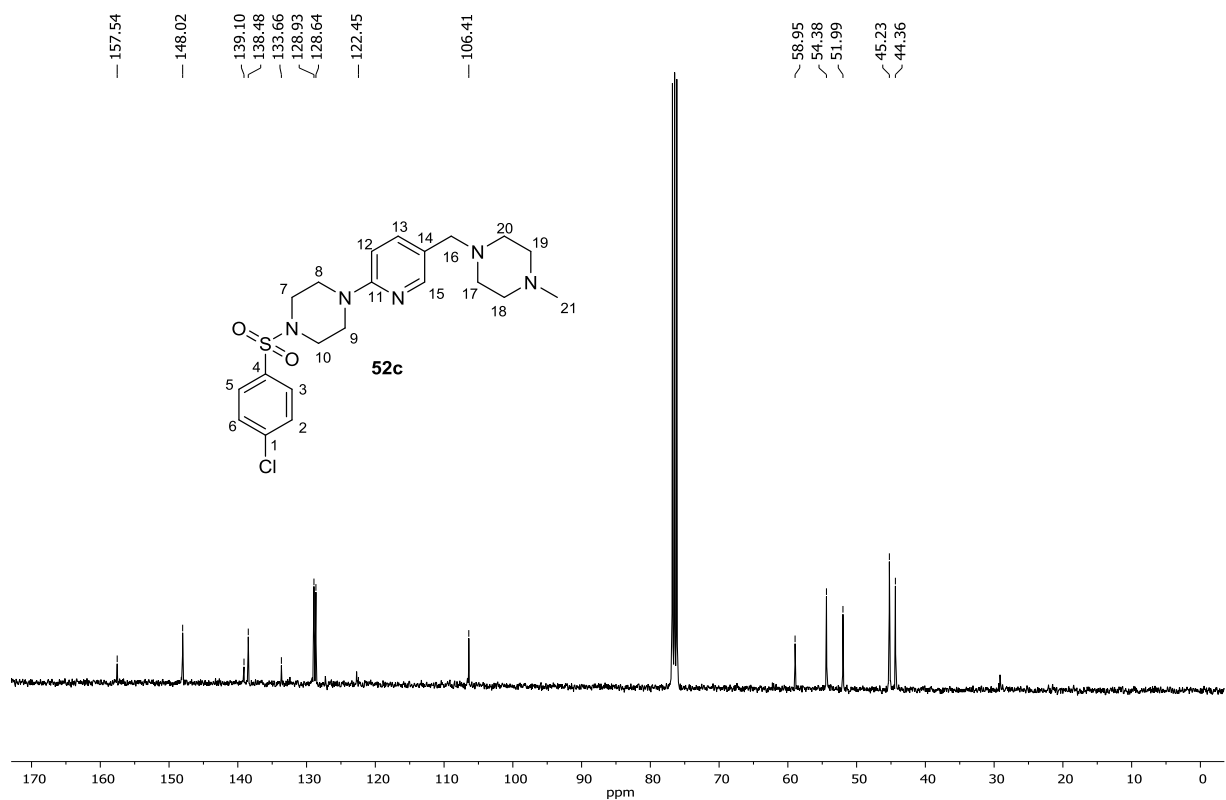
Figura 43. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **52c**.Figura 44. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **52c**.

Tabela 14. Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **52c** ( $\text{CDCl}_3$ ).

Posição H	$\delta_{\text{H}}^a$ ( $m^b$ , $\mathcal{J}^c$ )	Posição C	$\delta_{\text{C}}^a$ ( $m^b$ )
-	-	C1	139,10 (C)
-	-	C4	138,54 (C)
H2 e H6	7,73 (d, 8,6)	C2 e C6	128,93 (CH)
H3 e H5	7,53 (d, 8,6)	C3 e C5	128,64 (CH)
H8 e H9	3,65 (t, 5,1)	C8 e C9	54,38 ( $\text{CH}_2$ )
H7 e H10	3,14 (t, 5,1)	C7 e C10	51,99 ( $\text{CH}_2$ )
-	-	C11	157,54 (C)
H13	6,59 (d, 8,6)	C12	106,41 (CH)
H14	7,48 (dd, 8,6; 2,4)	C13	131,86 (CH)
-	-	C14	122,45 (C)
H15	8,06 (d, 2,4)	C15	148,02 (CH)
H16	3,40 (s)	C16	58,95 ( $\text{CH}_2$ )
H17 e H20	3,40 (sl)	C17 – C20 C21	45,23, 44,36 ( $\text{CH}_2$ e $\text{CH}_3$ )
H18 e H19	2,48 (sl)	-	-
H21	2,32 (s)	-	-

<sup>a</sup> deslocamentos químicos em ppm, em relação ao TMS como padrão interno

<sup>b</sup> multiplicidade

<sup>c</sup> constantes de acoplamento em Hz

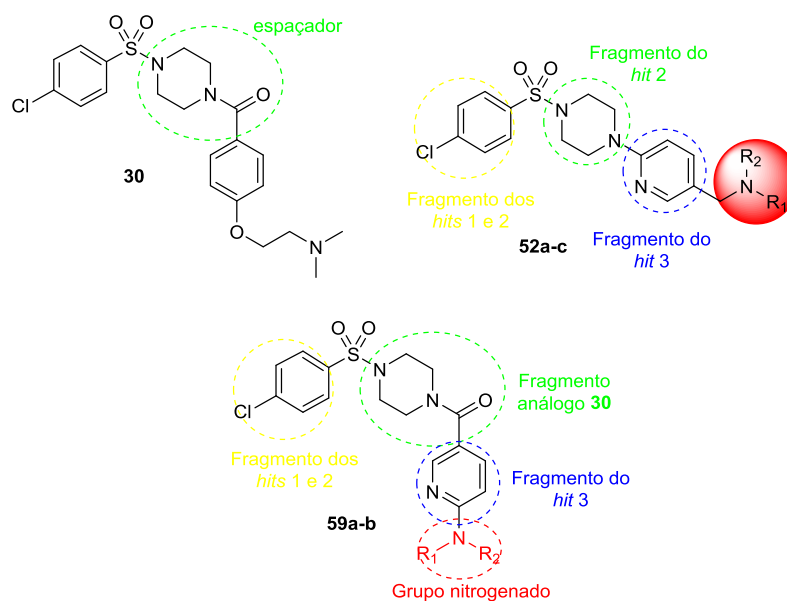
As aminas **55a-c** (Esquema 34) foram escolhidas racionalmente para agregar no estudo de relação entre estrutura química e atividade biológica, tendo em vista o número de carbonos dos ciclos e os heteroátomos. As aminas **53a** foi escolhida para que fosse avaliada a influência do número de membros do anel. Já a **53b** e **53c** foram escolhidas para que fosse avaliado a influência do oxigênio (**53b**) e do nitrogênio (**53c**) como heteroátomos aceptores de ligação de hidrogênio nesse fragmento. A benzilamina **53d** foi escolhida para que fossem avaliados a influência de um grupo aromático nesse fragmento, porém não foi possível obter o análogo **52d** a partir da redução de **58d**.

Utilizando as condições reacionais conhecidas para obtenção dos análogos **44a-e** e **52a-c**, foram planejados mais dois análogos com modificações no espaçador e grupo nitrogenado.

### 3.4.4. Modificações no espaçador e fragmento do grupo nitrogenado

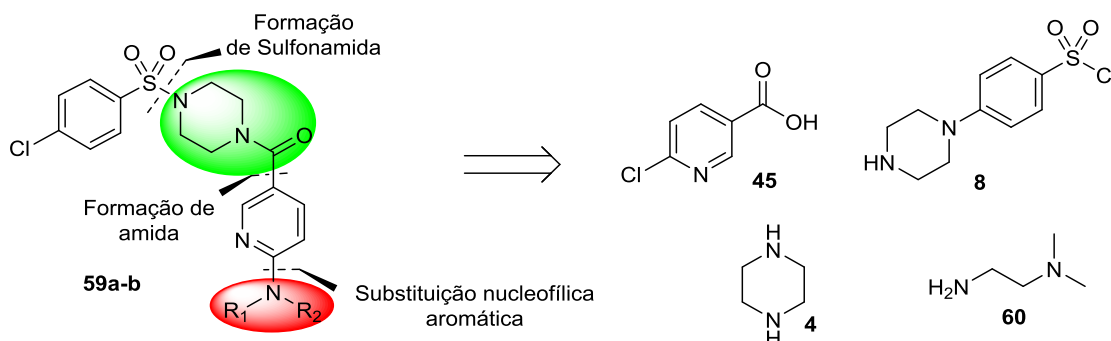
Com a estratégia sintética otimizada para as modificações no espaçador no tópico 3.4.1 e no grupo nitrogenado no tópico anterior 3.4.3, foram propostos mais dois análogos aos *hits*, **59a** e **59b**, hibridizando as estruturas **30** e **52a-c** (Figura 45).

Figura 45. Estrutura hibridizada de **30** e **52a-c** para preparo dos análogos **59a-b**.

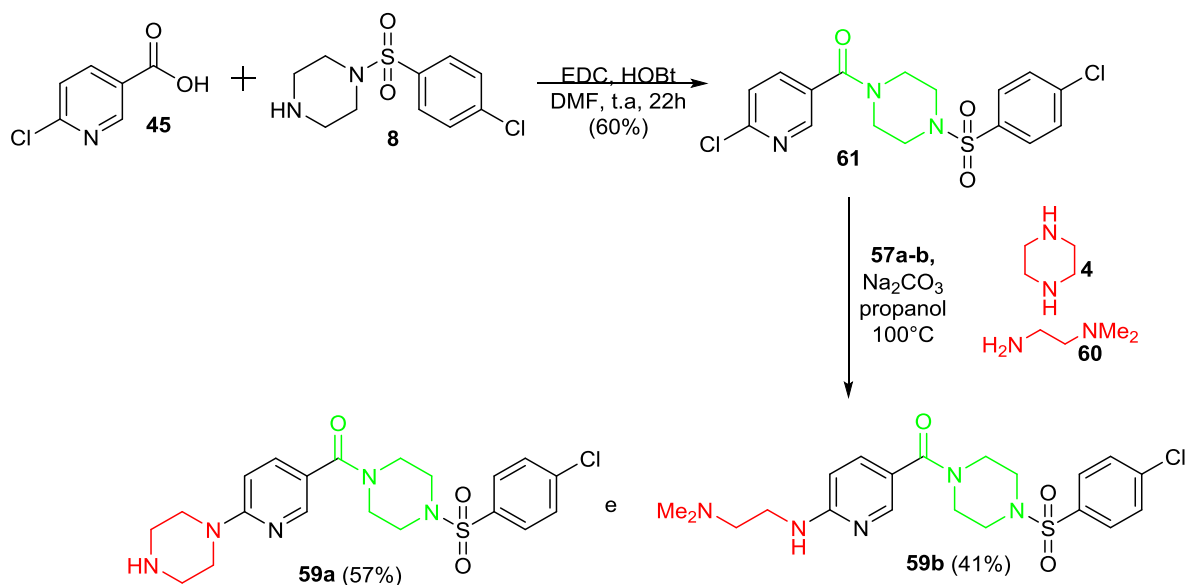


A estratégia sintética proposta para as modificações nos dois fragmentos, espaçador e grupo nitrogenado, envolve as três desconexões representadas no Esquema 35, sendo elas: substituição nucleofílica aromática, formação de amida e formação de sulfonamida, tendo como materiais de partida o ácido carboxílico **45**, a sulfonamida **8**, já conhecidos, a piperazina **4** e a *N1,N1*-dimetiletano-1,2-diamina **60** (Esquema 35).



Esquema 35. Estratégia sintética para preparação dos análogos **59a-b**.

Primeiramente, foi sintetizado o intermediário **61**, que é um fragmento comum para os dois análogos almejados. O ácido *p*-cloronicotínico **45** foi transformado em amida utilizando a amina **8**, o ativador EDC, o catalisador HOBt e dimetilformamida como solvente, obtendo o intermediário **61** em 60% de rendimento. Em seguida, **61** reagiu com as aminas **4** e **60** a partir da reação de substituição nucleofílica aromática utilizando carbonato de sódio como base e propanol como solvente, obtendo os análogos **59a** e **59b** em 57% e 41% de rendimento, respectivamente (Esquema 36).

Esquema 36. Síntese do intermediário **61** e dos análogos **59a-b**.

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do análogo **59b** foi escolhido para exemplificar a caracterização desses análogos. Os espectros de RMN do análogo **59a** se encontram em anexo.

O composto **59b** foi caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 46),  $^{13}\text{C}$  (Figura 47) e RMN HSQC (do inglês, *Heteronuclear Single Quantum Coherence*) (Figura 48). Todos os sinais que evidenciam sua obtenção foram observados e as atribuições aos hidrogênios e carbonos estão reportadas na Tabela 14.

Figura 46. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **59b**.

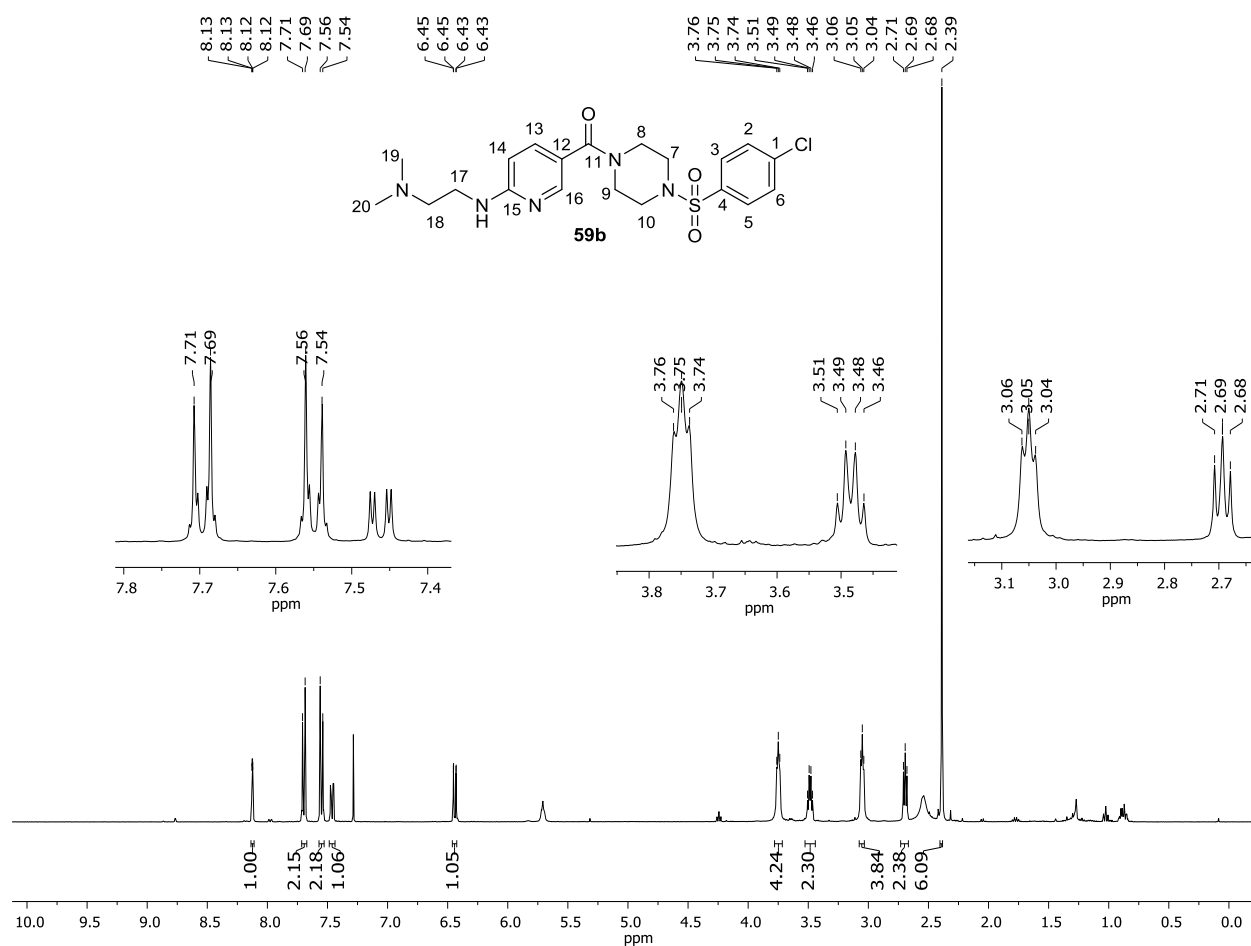


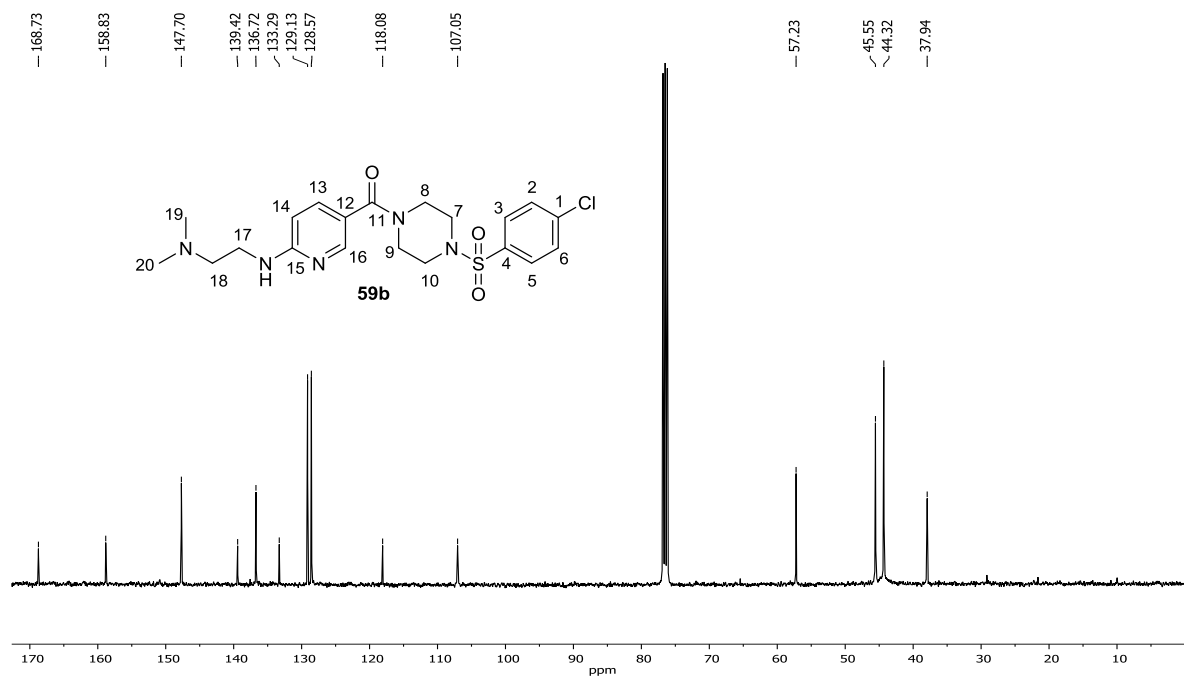
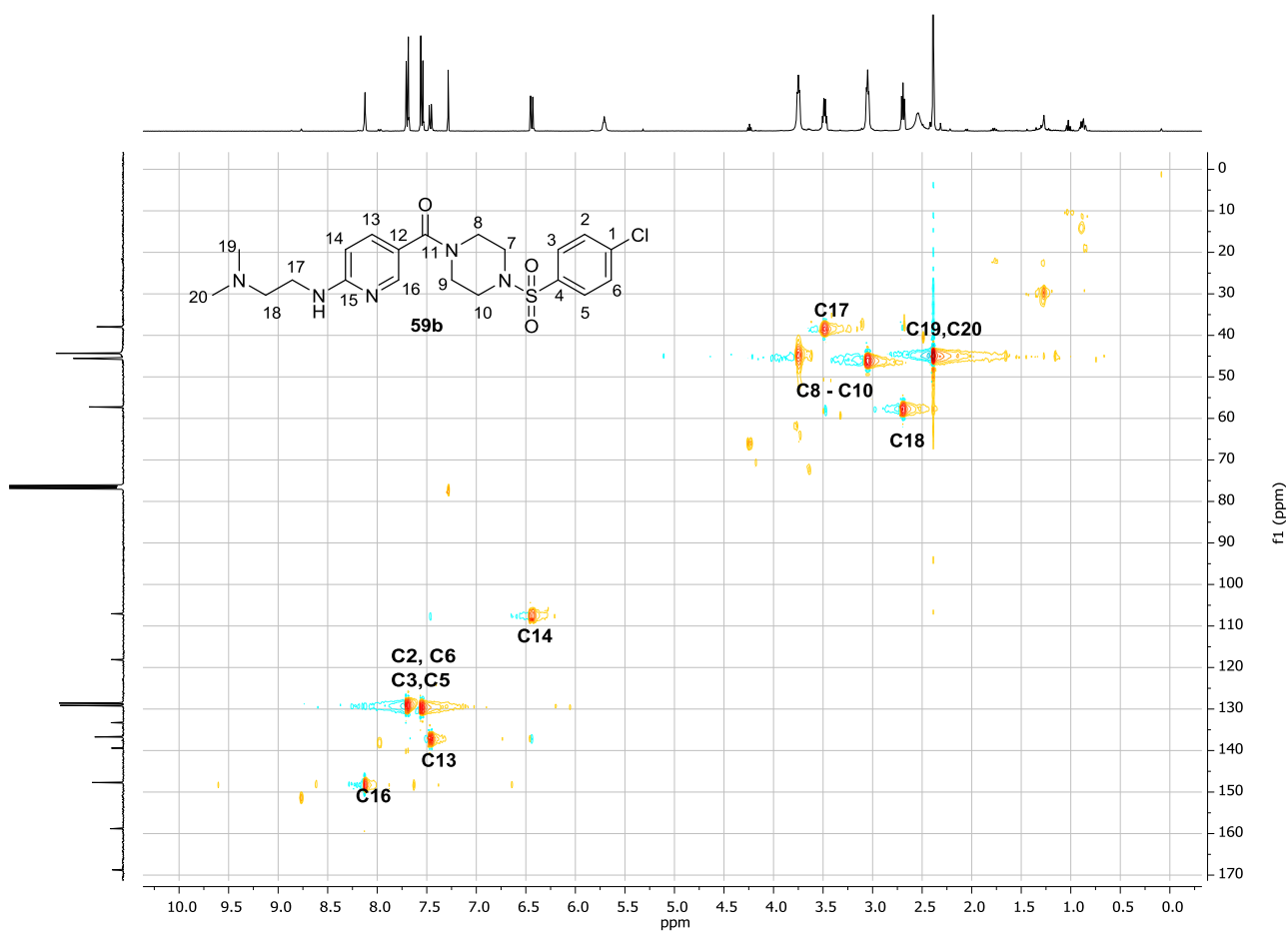
Figura 47. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **59b**.Figura 48. Espectro de RMN HSQC  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  do composto **59b**.

Tabela 15. Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **59b** ( $\text{CDCl}_3$ )

Posição H	$\delta_{\text{H}}^a$ ( $m^b$ , $J^c$ )	Posição C	$\delta_{\text{C}}^a$ ( $m^b$ )
-	-	C1	136,72 (C)
-	-	C4	133,29 (C)
H2 e H6	7,70 (d, 8,6)	C2 e C6	129,13 (CH)
H3 e H5	7,55 (d, 8,6)	C3 e C5	128,57 (CH)
H8 e H9	3,75 (t, 5,0)	C8 e C9	45,55 ( $\text{CH}_2$ )
H7 e H10	3,05 (t, 5,0)	C7 e C10	45,55 ( $\text{CH}_2$ )
-	-	C11	168,73 (C=O)
-	-	C12	118,08 (C)
H13	7,46 (dd, 8,7; 2,4)	C13	139,42 (CH)
H14	6,44 (dd, 8,7 e 0,8)	C14	107,05 (CH)
-	-	C15	158,83 (C)
H16	8,13 (dd, 2,4, 0,8)	C16	147,70 (CH)
H17	3,49 (q, 5,4)	C17	37,94 ( $\text{CH}_2$ )
H18	2,69 (t, 5,4)	C18	57,23 ( $\text{CH}_2$ )
H19 e H20	2,39 (s)	C19 e C20	44,32 ( $\text{CH}_3$ )

<sup>a</sup> deslocamentos químicos em ppm, em relação ao TMS como padrão interno

<sup>b</sup> multiplicidade

<sup>c</sup> constantes de acoplamento em Hz

No total, 28 compostos foram sintetizados, sendo 26 inéditos e enviados para teste biológico *in vitro* contra o parasita *T. cruzi* com o intuito de estudar a relação estrutura química e atividade biológica desses compostos, comparando os valores de  $\text{IC}_{50}$  do *hit 2* com seus análogos para desenvolver um processo *hit-to-lead*.

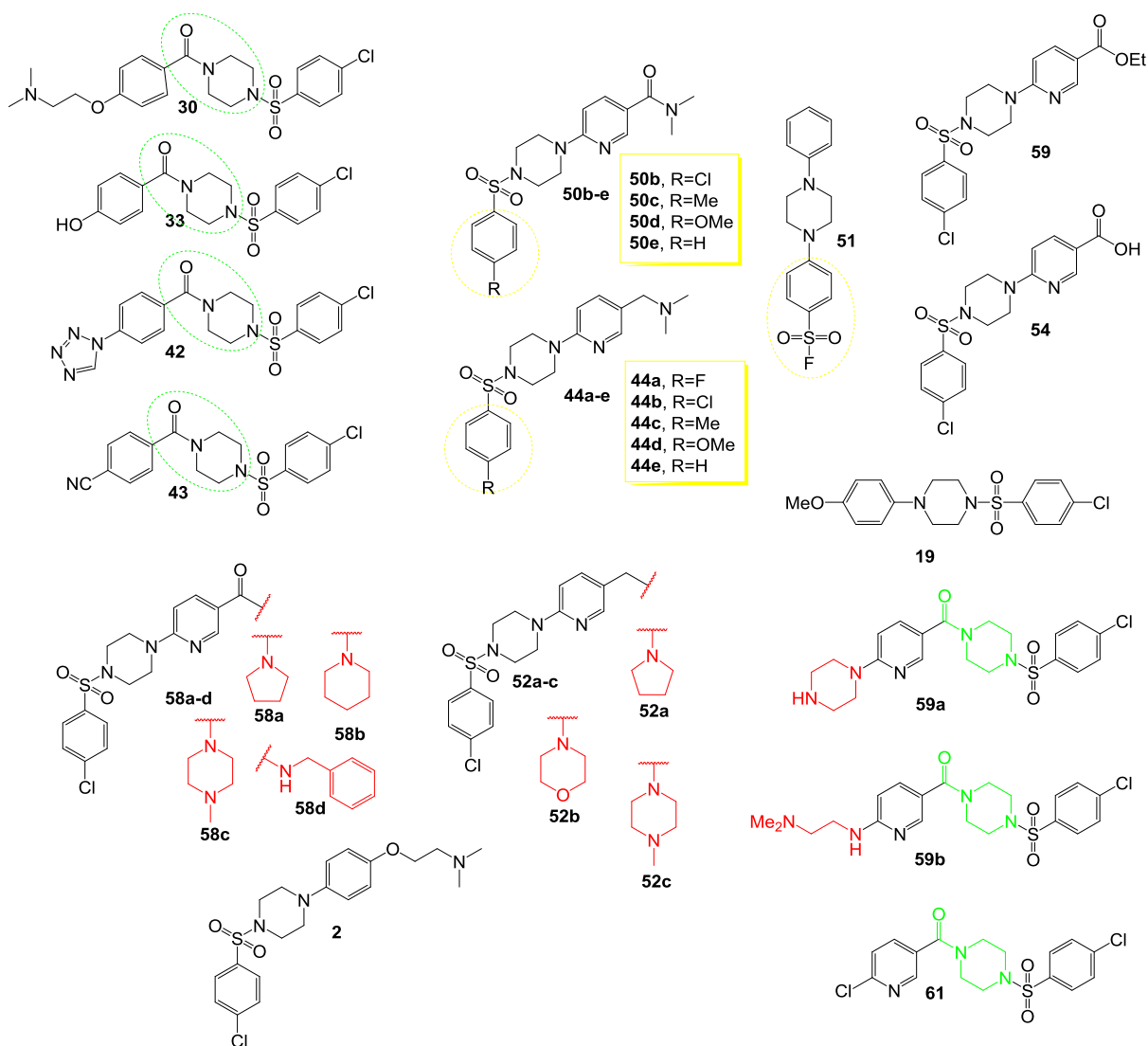
### 3.5. Ensaios biológicos

#### 3.5.1 Resultados contra *T. cruzi*

Todos os compostos finais, o *hit 2* e alguns intermediários importantes para o estudo da relação entre estrutura química e atividade biológica foram enviados para teste biológico de potência contra duas fases do parasita *T. cruzi* (tripomastigota e amastigota) e teste de citotoxicidade, que estão sendo realizados em colaboração com a dra. Silvane Maria Fonseca

Murta, do Instituto René Rachou da FIOCRUZ de Belo Horizonte. O *hit 2* foi enviado para a realização de ensaios para a determinação de algumas propriedades ADME *in vitro*, tais como estabilidade metabólica (clearance e tempo de meia-vida), permeabilidade e coeficiente de distribuição (logD), que estão sendo realizados em colaboração com a dra Lídia Moreira Lima, da Universidade Federal do Rio de Janeiro. As estruturas dos compostos enviados para os ensaios biológicos estão representadas na Figura 49.

Figura 49. Estruturas dos compostos enviados para teste biológico.

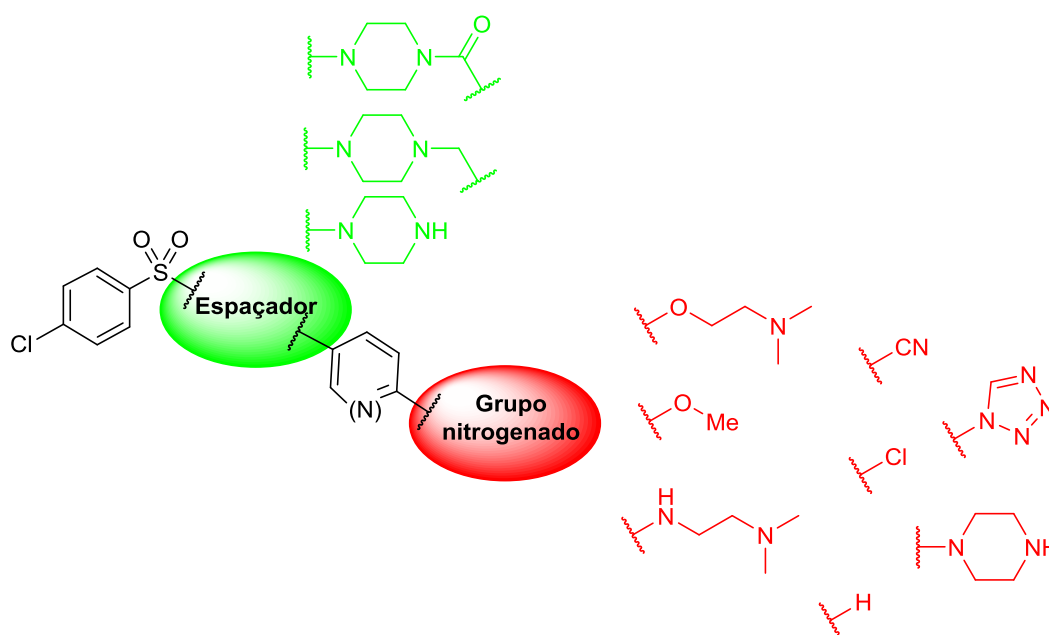


Até o momento, foram feitos ensaios preliminares com alguns compostos que foram testados uma única vez contra as duas formas do parasita *T. cruzi*, amastigota e tripomastigotas. Os ensaios em triplicata estão em andamento para que sejam obtidos valores de IC<sub>50</sub> e citotoxicidade mais confiáveis e validáveis.

A fim de se estudar uma relação entre estrutura química e atividade biológica com os resultados disponíveis, os compostos foram agrupados em tabelas de acordo com o planejamento de modificações estruturais discutidas nos tópicos anteriores.

Os compostos que tiveram modificações realizadas no espaçador (em verde) e no fragmento do grupo nitrogenado (em vermelho) (Figura 50) foram agrupados na Tabela 16 para estudar a relação estrutura química e atividade biológica juntamente com o *hit 2*.

Figura 50. Estrutura geral das modificações no espaçador e no fragmento do grupo nitrogenado.



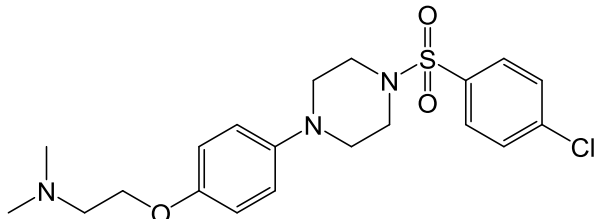
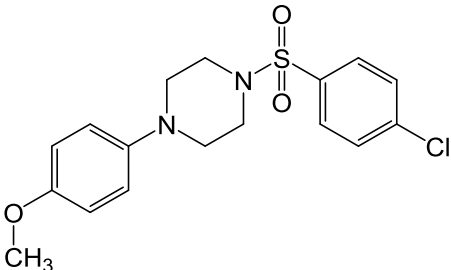
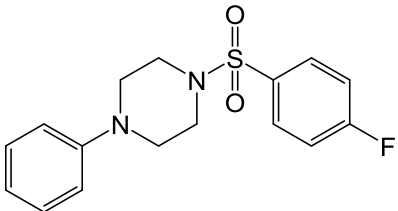
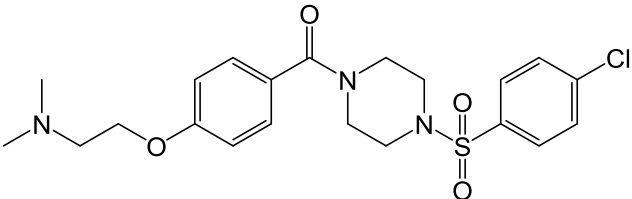
O *hit 2* foi sintetizado e testado contra as duas formas do *T. cruzi*, tripomastigota e amastigota, para confirmar sua potência e índice de seletividade. Os resultados iniciais indicaram que **2** apresentou  $IC_{50}$  19  $\mu$ M e  $CC_{50}$  227  $\mu$ M. Esses resultados foram muito diferentes do que aqueles reportados por Peña e colaboradores, 2015, em que **2** apresentou  $IC_{50}$  0,6  $\mu$ M. Isso pode ser justificado pelas diferentes metodologias utilizadas para realizar os ensaios biológicos, além de que os ensaios em triplicata ainda estão em andamento, o que trará um valor de  $IC_{50}$  mais confiável e validável (Tabela 16).

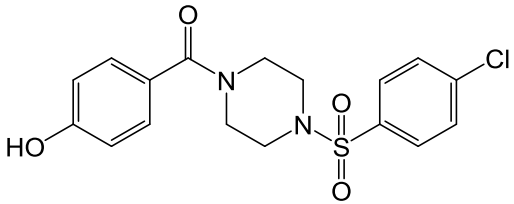
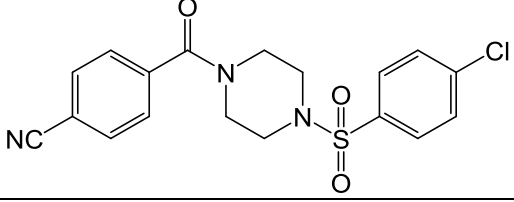
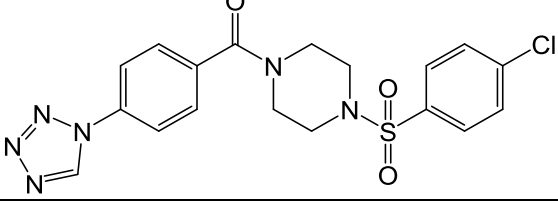
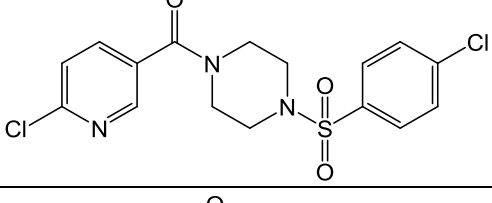
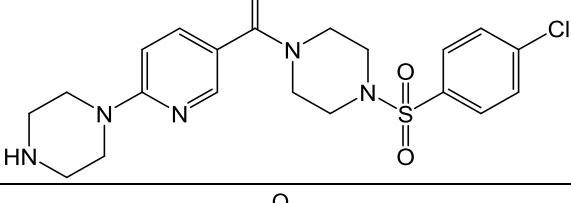
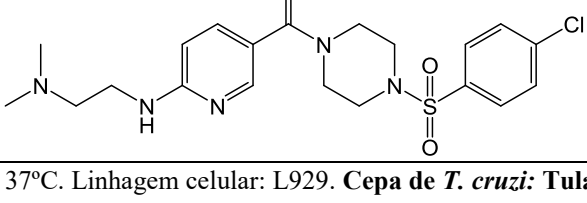
Comparando **19** e **51** com **2**, ambos apresentaram perda na atividade biológica, o que evidencia a essencialidade do fragmento do grupo nitrogenado. O composto **19** possui um grupo metoxila, enquanto **51** possui um hidrogênio e ambos têm ausência de um grupo nitrogenado, o que corroborou para a perda de atividade desses compostos (Tabela 16).

O composto **30** apresentou uma melhora na atividade ( $IC_{50}$  15  $\mu$ M) e na citotoxicidade ( $CC_{50}$  351  $\mu$ M) em módulo quando comparado a **2** ( $IC_{50}$  19  $\mu$ M e  $CC_{50}$  227  $\mu$ M), mas ambos são equipotentes. A carbonila é um grupo aceptor de ligação de hidrogênio, desativante do anel aromático e sua presença no espaçador pode estar relacionada a melhora no perfil farmacológico de **30** em relação a **2** (Tabela 16).

Os compostos listados como “não testados” estão presentes na Tabela 16, pois quando os resultados ficarem disponíveis irão agregar no estudo da relação estrutura química e atividade biológica desse grupo, podendo ajudar na conclusão de investir em outros compostos com a carbonila presente no espaçador, já que o composto **30** apresentou melhora no perfil farmacológico.

Tabela 16. Resultados de  $IC_{50}$ ,  $CC_{50}$  e IS dos compostos com modificações no espaçador, no fragmento do grupo nitrogenado e *hit 2*.

Composto	Estrutura	$IC_{50}^1$ ( $\mu$ M)	$CC_{50}$ L929 <sup>2</sup> ( $\mu$ M)	IS <sup>3</sup>
<i>Hit 2</i>		19	227	12
19		218	273	1,0
51		Inativo <sup>‡</sup>	-	-
30		15	351	24

33		Não testado	-	-
43		Não testado	-	-
42		Não testado	-	-
61		Não testado	-	-
59a		Não testado	-	-
59b		Não testado	-	-

**Condições do ensaio:** 37°C. Linhagem celular: L929. **Cepa de *T. cruzi*:** Tulahuen expressando  $\beta$ -galactosidase. Infecção: 10 tripomastigotas/ célula/ 2 horas. Desenvolvimento da infecção: 2 dias. Tempo de contato dos compostos: 4 dias. Concentração de uso: diluídos a partir da solução estoque no momento do ensaio. Solução estoque: 20 mg/mL em DMSO, preparada no momento do ensaio.

<sup>1</sup> Concentração do composto que reduz em 50% o crescimento parasitário.

<sup>2</sup> Concentração do composto que induz 50% de morte celular (L929).

<sup>3</sup> CC<sub>50</sub> do composto sobre as células dividido pelo IC<sub>50</sub> do composto sobre o parasita.

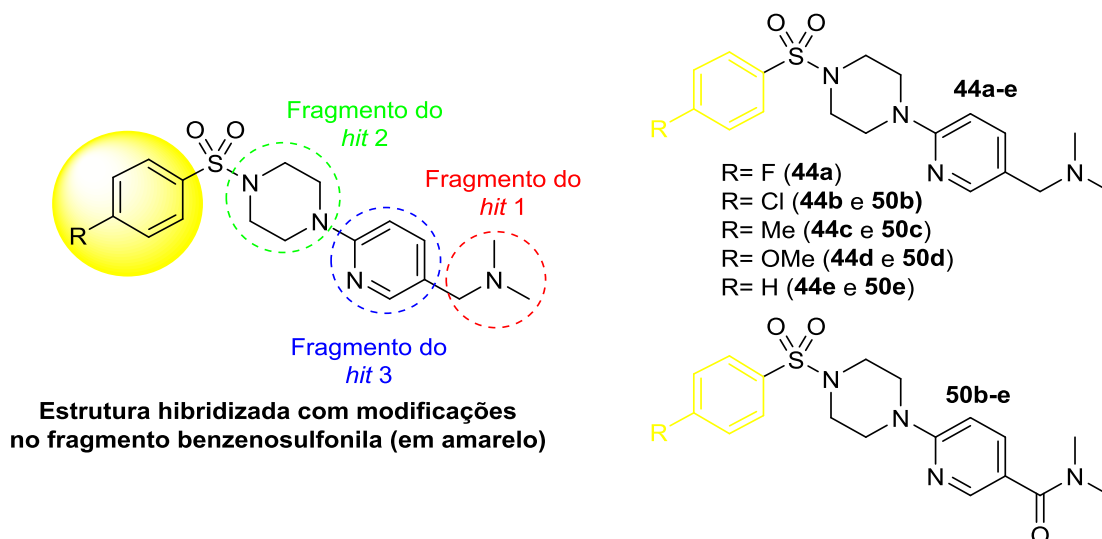
\* Inativo quando testado na concentração máxima de 80 ( $\mu$ g/mL) da curva de IC<sub>50</sub>

Os análogos com modificações no fragmento benzenosulfonila foram planejados a partir de uma estrutura hibridizada com os principais fragmentos de cada um dos *hits* 1-3 (Figura 29). Para a obtenção dos análogos 44b-e foi necessário utilizar a rota sintética com os intermediários de amida 50b-e. Todos esses análogos que possuem as modificações no



fragmento da benzenosulfonila (em amarelo) (Figura 51) foram agrupados na Tabela 17 para estudar a relação estrutura química e atividade biológica.

Figura 51. Estrutura hibridizada para modificações no fragmento benzenosulfonila (em amarelo) e análogos obtidos.



Dentre os compostos com modificação no fragmento benzenosulfonila, o composto **44b**, que possui presença do grupo cloro, apresentou o melhor perfil farmacológico com  $IC_{50}$  3,0  $\mu$ M,  $CC_{50}$  463  $\mu$ M e IS 156 (Tabela 17). Inclusive, quando comparado com o *hit 2* ( $IC_{50}$  19  $\mu$ M,  $CC_{50}$  227, IS 12) (Tabela 16), apresenta melhores valores de  $IC_{50}$  e  $CC_{50}$ , sendo um composto mais potente, menos citotóxico e mais seletivo que o próprio *hit* diante desses resultados preliminares.

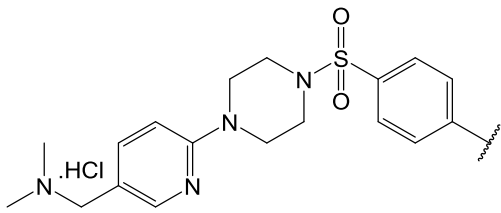





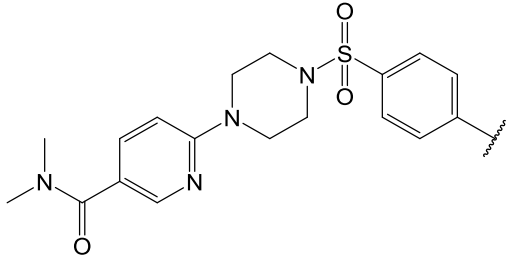




O composto **44a**, que possui o substituinte flúor, foi testado para avaliar a influência do efeito retirador de elétrons, assim como o cloro, porém possui menor tamanho e maior eletronegatividade. Essas modificações levaram a perda de atividade de **44a** em quase 17x quando comparado com **44b** (Tabela 17).

Os compostos **44c-e** foram testados para estudar a influência de grupos doadores de elétrons (metila, **44c** e metoxila, **44d**) e grupo com pouco efeito eletrônico e estérico (H, **44e**). Em resumo, o que foi observado é que o substituinte cloro é importante para manter a atividade, já que em todos os outros ela foi perdida, não importando o efeito que o substituinte exerce na molécula (Tabela 17).

Comparando os análogos **44b-e** com os análogos **50b-e**, que possuem amina e amida no fragmento do grupo nitrogenado, respectivamente, os resultados foram interessantes. Os

compostos **50c-d** perderam a atividade quando comparados com os análogos **44b-d**, porém o composto **50e** apresentou melhor  $IC_{50}$  do que seu análogo **44e** (Tabela 17).

Tabela 17. Resultados de  $IC_{50}$ ,  $CC_{50}$  e IS dos compostos com modificações no fragmento benzenosulfonila.

				
Composto	Estrutura	$IC_{50}^1$ ( $\mu M$ )	$CC_{50}$ L929 <sup>2</sup> ( $\mu M$ )	IS <sup>3</sup>
<b>44a*</b>		50	>528	>11
<b>44b</b>		3,0	>463	>156
<b>44c</b>		33	>534	>16
<b>44d*</b>		45	>512	>11
<b>44e</b>		170	>503	>3
				
Composto	Estrutura	$IC_{50}^1$ ( $\mu M$ )	$CC_{50}$ L929 <sup>2</sup> ( $\mu M$ )	IS <sup>3</sup>
<b>50b</b>		>195	-	-
<b>50c</b>		206	294	<1,0
<b>50d</b>		Inativo <sup>‡</sup>	-	-
<b>50e</b>		31	-	-

**Condições do ensaio:** 37°C. Linhagem celular: L929. **Cepa de *T. cruzi*:** Tulahuen expressando  $\beta$ -galactosidase. Infecção: 10 tripomastigotas/ célula/ 2 horas. Desenvolvimento da infecção: 2 dias. Tempo de contato dos compostos: 4 dias. Concentração de uso: diluídos a partir da solução estoque no momento do ensaio. Solução estoque: 20 mg/mL em DMSO, preparada no momento do ensaio.

<sup>1</sup> Concentração do composto que reduz em 50% o crescimento parasitário.

<sup>2</sup> Concentração do composto que induz 50% de morte celular (L929).

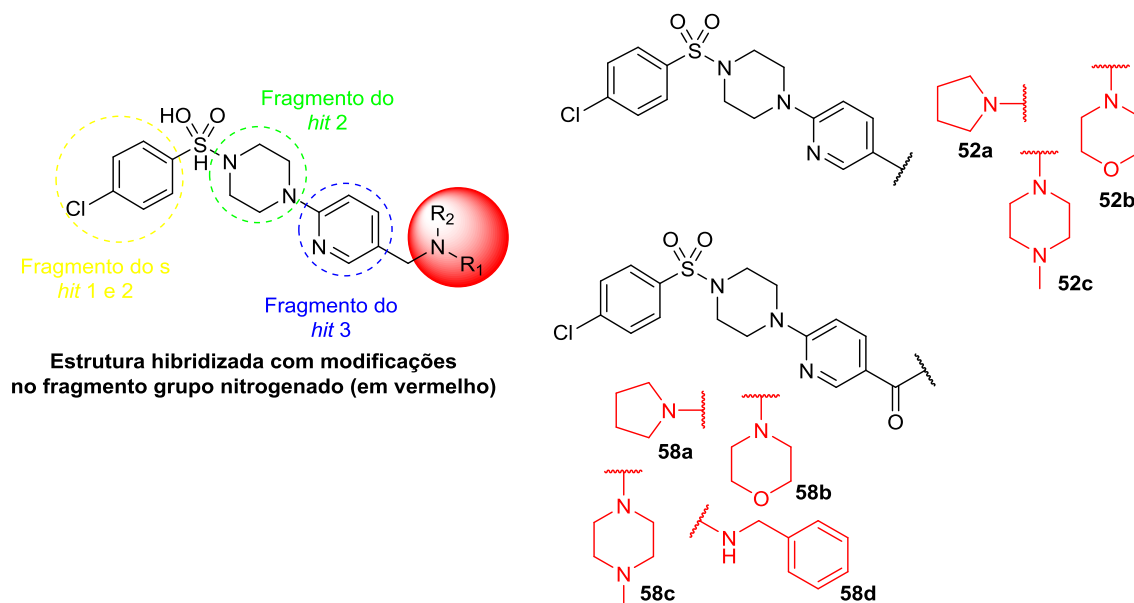
<sup>3</sup>  $CC_{50}$  do composto sobre as células dividido pelo  $IC_{50}$  do composto sobre o parasita.

\* Inativo quando testado na concentração máxima de 80 ( $\mu$ g/mL) da curva de  $IC_{50}$

\*Amina Livre

Os compostos **52a-c** com modificações no fragmento do grupo nitrogenado também foram planejados baseando-se na estrutura hibridizada que contém os principais fragmentos dos *hits* **1-3** (Figura 52). Além disso, também foram obtidos a partir da rota sintética com intermediários de amida **58a-c**. Todos esses análogos foram agrupados na Tabela 18 para estudar a relação estrutura química e atividade biológica.

Figura 52. Estrutura hibridizada para modificações no fragmento do grupo nitrogenado (em vermelho) e análogos obtidos.



Dentre os compostos com modificação no fragmento do grupo nitrogenado, o composto **52a**, que possui presença da pirrolidina, apresentou o melhor perfil farmacológico com  $IC_{50}$  3,0  $\mu$ M,  $CC_{50}$  327  $\mu$ M e IS 107 (Tabela 18). Quando comparado com **44b** ( $IC_{50}$  3,0  $\mu$ M,  $CC_{50}$  463  $\mu$ M e IS 156) (Tabela 17), que possui a presença da dimetilamina, apresenta valores de  $IC_{50}$  e  $CC_{50}$  semelhantes, sendo compostos equipotentes diante desses resultados preliminares.

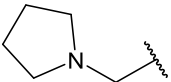
Os compostos **52b** e **52c** quando comparados com **52a** apresentaram atividades menores em 6x e 3x, respectivamente. A presença de grupos com maior número de membros no anel e heteroátomo (morfolina, **52b** e metilpiperazina, **52c**) pode estar relacionada com a perda da atividade. Já em relação a citotoxicidade do composto **52b** comparado com **52a**, apresentou melhora (Tabela 18).

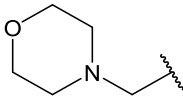
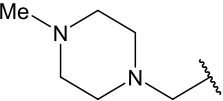
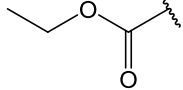
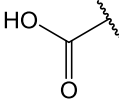
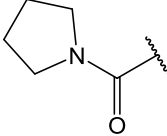
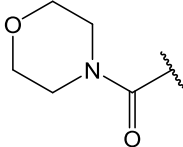
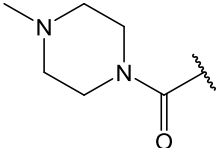
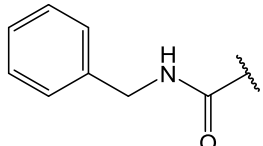
Os compostos **54** e **57**, que são um ácido carboxílico e um éster, respectivamente, apresentaram perda na atividade, evidenciando a essencialidade do grupo nitrogenado (Tabela 18). O mesmo ocorreu com os compostos **19** e **51** (Tabela 16), podendo inferir a partir desses ensaios preliminares que o fragmento grupo nitrogenado é um possível grupo farmacofórico dessa série de sulfonilpiperazinas.

O composto **58a** ( $IC_{50}$  16  $\mu M$ ) apresentou uma perda na atividade de aproximadamente 5x quando comparado com **52a** ( $IC_{50}$  3,0  $\mu M$ ). A única diferença entre eles é a presença da carbonila em **58a**, que exerce influência na rotação da ligação entre nitrogênio e carbono e na basicidade do nitrogênio, podendo estar relacionada com a perda de atividade (Tabela 18).

Os compostos listados como “não testados” estão presentes na Tabela 18, pois quando os resultados ficarem disponíveis irão agregar no estudo da relação entre estrutura química e atividade biológica desse grupo, podendo ajudar na conclusão de investir em outros compostos com a carbonila presente no grupo nitrogenado, já que o composto **58a** apresentou perda na atividade mas não foi inativo.

Tabela 18. Resultados de  $IC_{50}$ ,  $CC_{50}$  e IS dos compostos com modificações no fragmento do grupo nitrogenado.

Composto	Estrutura	$IC_{50}^1$ ( $\mu M$ )	$CC_{50}$ L929 <sup>2</sup> ( $\mu M$ )	IS <sup>3</sup>
<b>52a</b>		3,0	327	107

<b>52b</b>		18	458	25
<b>52c</b>		9,0	173	19
<b>57</b>		Inativo <sup>‡</sup>	-	-
<b>54</b>		Inativo <sup>‡</sup>	-	-
<b>58a</b>		16	-	-
<b>58b</b>		Não testado	-	-
<b>58c</b>		Não testado	-	-
<b>58d</b>		Não estado	-	-

**Condições do ensaio:** 37°C. Linhagem celular: L929. **Cepa de *T. cruzi*:** Tulahuen expressando beta-galactosidase. Infecção: 10 tripomastigotas/ célula/ 2 horas. Desenvolvimento da infecção: 2 dias. Tempo de contato dos compostos: 4 dias. Concentração de uso: diluídos a partir da solução estoque no momento do ensaio. Solução estoque: 20 mg/mL em DMSO, preparada no momento do ensaio.

<sup>1</sup> Concentração do composto que reduz em 50% o crescimento parasitário.

<sup>2</sup> Concentração do composto que induz 50% de morte celular (L929).

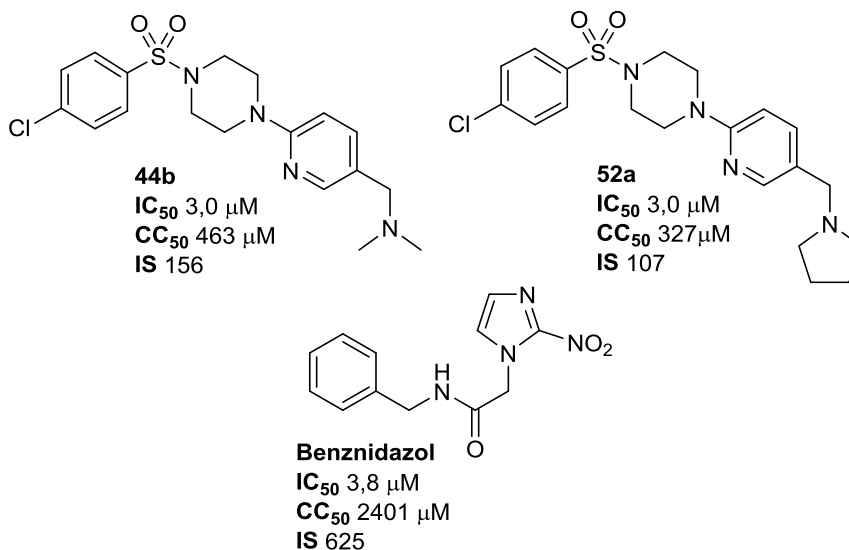
<sup>3</sup> CC<sub>50</sub> do composto sobre as células dividido pelo IC<sub>50</sub> do composto sobre o parasita.

<sup>‡</sup> Inativo quando testado na concentração máxima de 80 (µg/mL) da curva de IC<sub>50</sub>

Dentre os 28 compostos enviados para os ensaios biológicos, nove ainda não foram testados, três possuem alta atividade com IC<sub>50</sub> < 10µM, quatro possuem atividade moderada com IC<sub>50</sub> entre 10 – 30 µM, oito apresentam baixa atividade com IC<sub>50</sub> > 30 µM e quatro são inativos nas maiores concentrações testadas. Neste ensaio, o benznidazol também foi testado nas mesmas condições e apresentou IC<sub>50</sub> 3,8 µM, CC<sub>50</sub> 2401 µM e IS 625. Entre os compostos que possuem alta atividade, o **44b** (IC<sub>50</sub> 3,0 µM, CC<sub>50</sub> 463 µM e IS 156) e o **52a**

( $IC_{50}$  3,0  $\mu$ M,  $CC_{50}$  327  $\mu$ M e IS 107) se destacam, pois possuem  $IC_{50}$  na mesma escala que o benznidazol (Figura 53).

Figura 53. Estruturas dos compostos **44b**, **52a** e benznidazol e seus resultados biológicos.



Com os resultados em triplicata em mãos dos compostos que se destacaram, **44b**, **52a** e do *hit 2*, juntamente com os ensaios para obtenção de propriedades ADME *in vitro*, que serão realizados em colaboração com a dra Lídia Moreira Lima, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, será possível propor outras modificações a fim de promover o desenvolvimento *hit-to-lead* desses compostos, visando um melhor perfil farmacológico.

#### 4. Conclusões e Perspectivas

Neste trabalho foram realizadas várias tentativas de síntese dos *hits* **1** e **2**, potentes contra o *T. cruzi* (PENA, 2015), com o intuito de confirmar sua potência e avaliar propriedades de ADME através de ensaios biológicos e farmacocinéticos. Sabendo do perfil farmacológico de um dos *hits*, poderiam ser propostas modificações em sua estrutura química de forma a otimizar e melhorar aquelas características deficientes. Porém, com a proposta de síntese envolvendo etapas de *N*-arilação catalisada por Pd(0) ou Cu(I), não foi possível isolá-los. Felizmente, com a aquisição do reagente comercial 1-acetil-4-(4-hidroxifenil)piperazina **20**, foi possível cumprir um dos objetivos específicos desse trabalho que era obter o *hit* **2** e enviá-lo para os ensaios biológicos contra o *T. cruzi* (tripomastigota e amastigota) para confirmar sua potência, ser o padrão de referência para os valores de IC<sub>50</sub> de todos os análogos sintetizados testados e para a avaliação do perfil farmacocinético *in vitro*.

Além do *hit* **2**, foram sintetizados mais 26 compostos inéditos e análogos aos *hits* **1-3**, explorando modificações dos fragmentos benzenosulfonila, espaçador e grupo nitrogenado, cumprindo outro objetivo específico do trabalho. Esse compilado de moléculas foi enviado para ensaios biológicos contra as formas amastigota e tripomastigota do parasita *T. cruzi*, causador da doença de Chagas, em colaboração com a dra. Silvane Maria Fonseca Murta, do Instituto René Rachou da FIOCRUZ de Belo Horizonte.

Com os resultados preliminares desses ensaios, foram obtidos valores de IC<sub>50</sub>, os quais refletem a potência desses compostos e foi feito um estudo preliminar da relação entre estrutura química e atividade biológica para essa série de sulfonilpiperazinas.

O *hit* **2** apresentou IC<sub>50</sub> 19 µM e CC<sub>50</sub> 227 µM, resultados diferentes daqueles reportados por Peña e colaboradores, 2015, em que **2** apresentou IC<sub>50</sub> 0,6 µM, podendo ser justificado pelas diferentes metodologias utilizadas para realizar os ensaios biológicos, além de os valores de IC<sub>50</sub> do presente trabalho não corresponderem a testes em triplicata, que são valores mais confiáveis. Os compostos **44b** (IS 156) e **52a** (IS 170), ambos com IC<sub>50</sub> 3,0 µM, merecem destaque por apresentarem atividade semelhante e equipotente ao benznidazol (IC<sub>50</sub> 3,8 µM, IS 625), apesar de serem menos seletivos. Foi possível evidenciar com os resultados desse ensaio a essencialidade do fragmento do grupo nitrogenado, pois em compostos que apresentavam sua ausência (**19**, **51**, **54** e **57**), a atividade biológica foi perdida. Além disso, as modificações no fragmento benzenosulfonila evidenciaram a importância do substituinte cloro na estrutura, já que os compostos que possuem diferentes grupos nesse fragmento perderam a

atividade. Por fim, em relação a presença da carbonila no espaçador ou no grupo nitrogenado, é necessário aguardar a finalização dos ensaios para poder analisar se sua influência é importante para manter a atividade dos compostos.

Além da possibilidade de gerar compostos mais ativos que os *hits* inicialmente selecionados, esse estudo pode evidenciar novas propostas de modificações estruturais que possam melhorar o perfil farmacocinético e farmacodinâmico dessa série. Com isso, será possível complementar o processo de *hit-to-lead* proposto nesse trabalho, que é transformar um composto com atividade *in vitro* (*hit*) em um composto com atividade *in vivo* (líder), visando um melhor perfil farmacológico dos candidatos a fármacos contra a doença de Chagas. Entretanto, os ensaios ainda estão em andamento e por isso, não foi possível atingir esse objetivo do trabalho.

Como perspectiva desse trabalho, pretende-se, após a complementação dos ensaios biológicos, selecionar os compostos mais promissores, levando em consideração a atividade anti-*T. cruzi* e citotoxicidade, para os ensaios de determinação do perfil farmacocinético, mecanismo de ação e ensaios de potência *in vivo*.

Em suma, os medicamentos utilizados para o tratamento da doença de Chagas são os mesmos desde a década de 70, pouco eficazes e que causam muitos efeitos colaterais. Por isso, esse trabalho se torna relevante para a contribuição de desenvolvimento de novos candidatos a fármacos para o tratamento da doença.



## 5. Parte Experimental

### 5.1. Reagentes e Solventes

Os reagentes e solventes disponíveis comercialmente foram utilizados sem purificação prévia. Trietilamina ( $\text{Et}_3\text{N}$ ), diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), dimetilformamida (DMF), tetraidrofurano (THF), etanol (EtOH) e tolueno foram secos em peneira molecular. Acetato de Etila (AcOEt) e hexano (Hex) foram destilados antes do uso. Os demais solventes foram utilizados sem tratamento prévio.

### 5.2. Métodos Cromatográficos

Cromatografia de adsorção em coluna (cromatografia *flash*) foi realizada utilizando sílica-gel Aldrich (35-70 *mesh*). Os eluentes empregados estão descritos nas respectivas preparações. Cromatografia em camada delgada (CCD) foi realizada utilizando placas obtidas a partir de cromatofolhas de alumínio impregnadas com sílica-gel 60 F<sub>254</sub> (Sigma Aldrich). A visualização se deu através de luz ultravioleta (254 nm), atmosfera de iodo e/ou através de revelação com solução permanganato de potássio, seguido de aquecimento.

### 5.3. Métodos Analíticos

#### 5.3.1. Espectroscopia de Ressonância Magnética

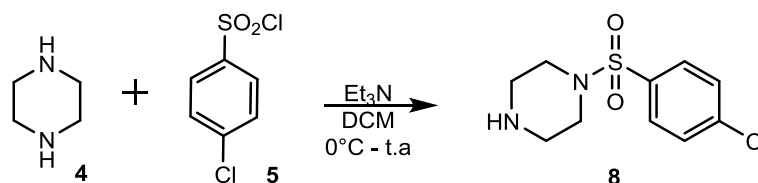
Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de  $^1\text{H}$ ) e de carbono 13 (RMN de  $^{13}\text{C}$ ) foram obtidos no aparelho Bruker Ascend 400 (400 MHz para RMN de  $^1\text{H}$  e 101 MHz para RMN de  $^{13}\text{C}$ ) do Laboratório de Multiusuários do Instituto de Química da UFU. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em partes por milhão (ppm) tendo como referência interna, resíduos de solvente não deuterado: clorofórmio (7,25 ppm para RMN de  $^1\text{H}$ ; 77,0 ppm para RMN de  $^{13}\text{C}$ ), metanol (3,30 ppm para RMN de  $^1\text{H}$  e 49,0 ppm para RMN de  $^{13}\text{C}$ ), dimetilsulfóxido (2,50 ppm para RMN de  $^1\text{H}$ ; 39,5 ppm para RMN de  $^{13}\text{C}$ ) e tetrametilsilano (0,00 ppm para RMN de  $^1\text{H}$ ). Os valores das constantes de acoplamento foram medidos diretamente nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  utilizando o programa MestReNova, versão 12.

### 5.3.2. Espectrometria de Massa

As análises de espectrometria de massas foram realizadas em parceria com o Prof. Eduardo Jorge Pilau, coordenador do Laboratório de Biomoléculas e Espectrometria de Massas (LABIOMASS) na Universidade Estadual de Maringá (UEM), em um espectrômetro de massas de alta resolução Impact II (Bruker Daltonics Corporation, Alemanha) de geometria Q-TOF, equipado com uma fonte de ionização do tipo electrospray, operado em modo positivo 1 Hz (MS) na faixa de massas de  $m/z$  50 – 1000. As análises foram realizadas com voltagem do capilar de 3.0 kV; temperatura da fonte 180°C; e fluxo do gás de dessolvatação 4 L min<sup>-1</sup>. Os experimentos de MS/MS foram realizados utilizando dissociação induzida por colisão (CID) com uma rampa de energia de colisão na faixa de 15 – 40 eV.

## 5.4. Procedimento Experimental (Síntese)

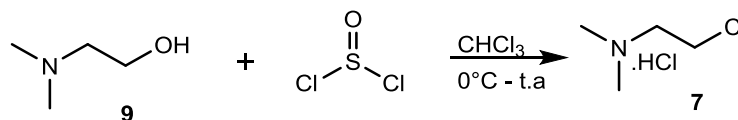
### 5.4.1. Preparação da sulfonamida **8**



Em uma solução da piperazina **4** (1 g, 11,6 mmol) em diclorometano (20 mL) e trietilamina (78 mg, 7,74 mmol), foi adicionada uma solução do cloreto de 4-clorobenzenosulfonila **5** (820 mg, 3,87 mmol) em diclorometano (20 mL) à 0°C lentamente gota a gota (1mL/min). A reação foi agitada por 1,5 horas a temperatura ambiente com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1) e, em seguida, foi tratada com 20mL de água destilada e extraída com éter (3 x 20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio e concentrada sob pressão reduzida, levando a obtenção do composto **8**.

**(8)** 725 mg, 72%, sólido branco. **RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 7,71 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,53 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 3,01 – 2,99 (m, 4H), 2,96 – 2,94 (m, 4H). **RMN de <sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 139,45, 134,17, 129,36, 129,19, 46,86, 45,30.

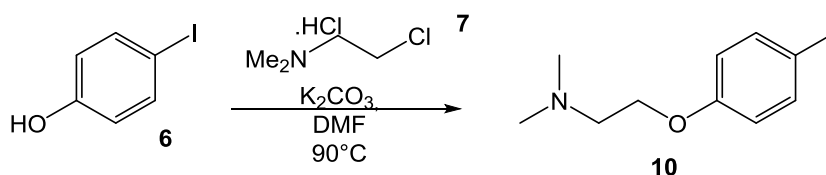
#### 5.4.2. Preparação do cloreto de alquila 7



Em uma solução do 2-(dimetilamina)etan-1-ol **9** (5g, 0,056 mmol) em clorofórmio (14 mL), o cloreto de tionila (8,14 mL, 0,112 mmol) foi adicionado lentamente à 0°C. A reação foi agitada por 24 horas a temperatura ambiente e sob atmosfera de argônio. Após esse tempo, foi adicionado etanol em banho de gelo formando um precipitado, em seguida o solvente foi evaporado sob pressão reduzida, levando a obtenção de **7**.

**(7)** 8,33 g, 100%, sólido laranja. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)**  $\delta$  11,05 (s, 1H), 4,02 (t,  $J = 6,7$  Hz, 2H), 3,45 (t,  $J = 6,7$  Hz, 2H), 2,78 (s, 6H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)**  $\delta$  56,60, 42,14, 37,52.

#### 5.4.3. Preparação do intermediário 10

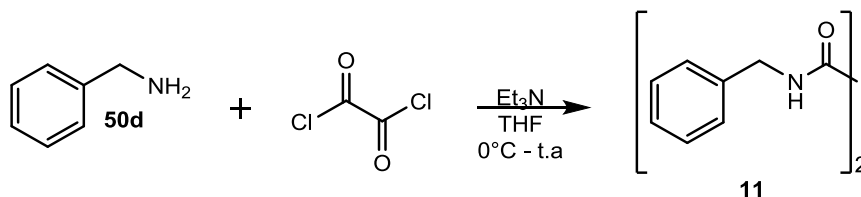


Em uma solução do *p*-iodofenol **6** (300 mg, 1,4 mmol) em dimetilformamida (5 mL), foram adicionados o cloreto de alquila **7** (684 mg, 4,7 mmol) e carbonato de potássio (1,2 g, 8,4 mmol). A reação foi agitada a 90°C por 64 horas com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1), em seguida foi resfriada, tratada com 20 mL de água destilada e extraída com acetato de etila (1 x 20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida, levando a obtenção de **10**.

**(10)** 226 mg, 57%, óleo castanho.

**RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$  7,56 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H), 6,71 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H), 4,05 (t,  $J = 5,7$  Hz, 2H), 2,75 (t,  $J = 5,7$  Hz, 2H), 2,35 (s, 6H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$  158,17, 137,65, 116,47, 82,29, 65,54, 57,61, 45,30.

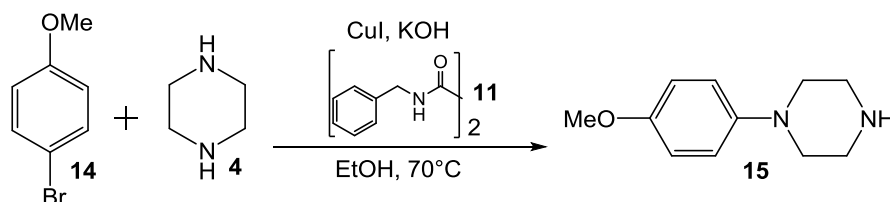
#### 5.4.4. Preparação do ligante 11



Em uma solução da benzilamina **50d** (1 g, 9,33 mmol) e trietilamina (1,07 g, 10,6 mmol) em tetraidrofurano (20 mL), o cloreto de oxalila (0,54 g, 4,24 mmol) foi adicionado lentamente à 0°C. A reação foi agitada por 5 horas a temperatura ambiente com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1), em seguida foi concentrada sob pressão reduzida, água destilada foi adicionada formando um precipitado que foi filtrado. O sólido foi recolhido e seco sob pressão reduzida, levando a obtenção **11**.

(**11**) 0,8034 g, 71%, sólido branco. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9,31 (t,  $J = 6,5$  Hz, 2H), 7,32 – 7,21 (m, 10H), 4,32 (d,  $J = 6,5$  Hz, 4H). RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  160,60, 139,21, 128,76, 127,83, 127,39, 42,87.

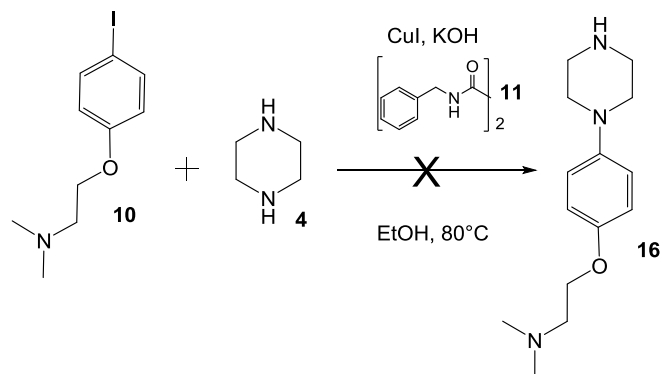
#### 5.4.5. Preparação do composto 15



Em um vial, a piperazina **4** (280 mg, 3,2 mmol), hidróxido de potássio (58 mg, 1,04 mmol), CuI (8 mg, 5 mol%) e o ligante **11** (11 mg, 5 mol%) foram submetidos a atmosfera de argônio e vácuo (3 vezes), em seguida etanol anidro (0,8 mL) e o 1-bromo-4-metoxibenzeno **14** (150 mg, 0,80 mmol) foram adicionados. A reação foi agitada por 23 horas à 70°C e sob atmosfera de argônio, com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 95:5). Após esse tempo a reação foi resfriada, diluída com diclorometano e filtrada com auxílio de uma pipeta e algodão. O filtrado foi extraído com diclorometano (5 x 15mL) e 10mL de água destilada. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e concentrada sob pressão reduzida, levando a obtenção de **15**.

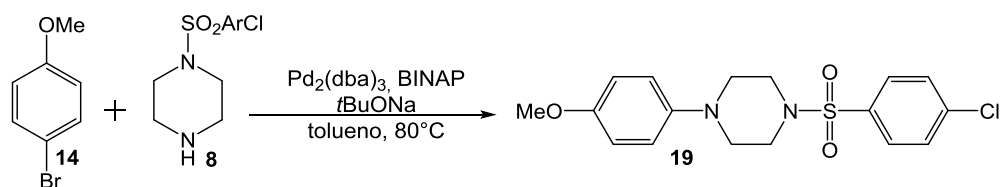
(15) 28 mg, 18%, sólido marrom. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  6,92 (d,  $J = 9,2$  Hz, 2H), 6,86 (d,  $J = 9,2$  Hz, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,05 (s, 8H), 1,83 (s, 1H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  153,34, 145,75, 117,75, 113,93, 55,04, 51,40, 45,71.

#### 5.4.6. Tentativa de síntese do composto 16



Em um vial, a piperazina **4** (86 mg, 1 mmol), hidróxido de potássio (18 mg, 0,33 mmol), CuI (5 mg, 10 mol %) e o ligante **11** (10 mol %) e foram submetidos a atmosfera de argônio e vácuo (3 vezes). Uma solução de **10** (99 mg, 0,25 mmol) em etanol anidro (1 mL) foi adicionada sob atmosfera de argônio. A reação foi agitada a 65°C por 20 horas e não houve formação de produto.

#### 5.4.7. Preparação do composto 19

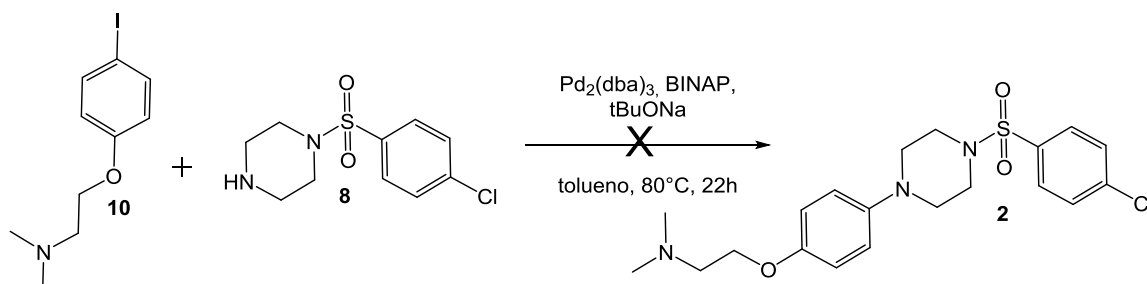


Em uma solução do 1-bromo-4-metoxibenzeno **14** (50 mg, 0,27 mmol) e *t*BuONa (45 mg, 0,40 mmol) em tolueno (0,5 mL), a sulfonamida **8** (50 mg, 0,27 mmol), BINAP (10 mg, 6 mol%) e  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (10 mg, 4 mol%) foram adicionados sob atmosfera de argônio. A reação foi agitada por 24 horas à 80°C sob atmosfera de argônio com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1 e AcOEt:Hex, 2:8), em seguida a reação foi resfriada, concentrada sob pressão reduzida e purificada por coluna cromatográfica *flash* utilizando uma mistura 20% de acetato de etila e 80% hexano, levando a obtenção de **19**.

(19) 31 mg, 31%, sólido amarelo. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  7,73 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H), 7,53 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H), 6,86 – 6,81 (m, 4H), 3,76 (s, 3H), 3,15 (dd,  $J = 16,7, 5,2$  Hz, 8H).

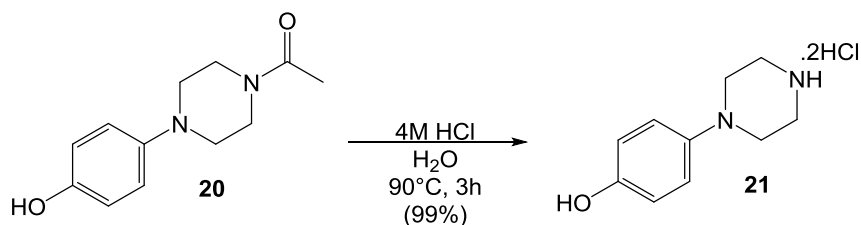
RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  154,6, 144,34, 139,08, 133,57, 128,91, 128,70, 118,70, 114,02, 55,00, 50,05, 45,67. EM/IES  $[\text{M} + \text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}^+$ : 452,1405. Encontrado: 452,1410. Erro -1,10 ppm.

#### 5.4.8. Tentativa de síntese do *hit* 2



Em uma solução de **10** (124 mg, 0,31 mmol) em tolueno (3,4 mL), foram adicionados a sulfonamida **8** (86 mg, 0,31 mmol),  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (28 mg, 10 mol %), BINAP (19 mg, 10 mol %), tBuONa (57 mg, 0,47 mmol) sob atmosfera de argônio. Foi passada uma bexiga de argônio para retirar todo ar do recipiente. A reação foi agitada a  $85^\circ\text{C}$  em refluxo e atmosfera de argônio por 22 horas, porém não houve formação de produto.

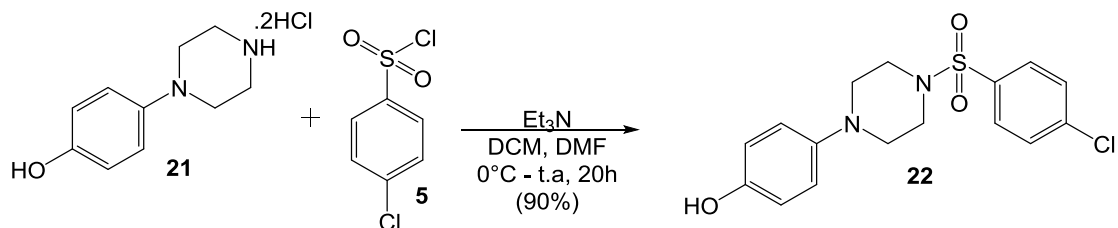
#### 5.4.9. Preparação do composto **21**



Em uma solução de **20** (500 mg, 2,27 mmol) em  $\text{H}_2\text{O}$  (2,5 mL), uma solução de HCl 4M (3,4 mL, 13,6 mmol) foi adicionada lentamente. A reação foi agitada por 3 horas a  $90^\circ\text{C}$  com acompanhamento por CCD (AcOEt:Hex, 9:1 e DCM:MeOH, 8:2), em seguida foi resfriada e solvente evaporado sob pressão reduzida, levando a obtenção de **21**.

(**21**) 568 mg, 99%, sólido branco. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  9,34 (s, 2H), 7,02 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,76 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 3,32 (d,  $J = 9,6$  Hz, 8H). RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  153,34, 140,64, 119,39, 115,73, 48,07, 42,22.

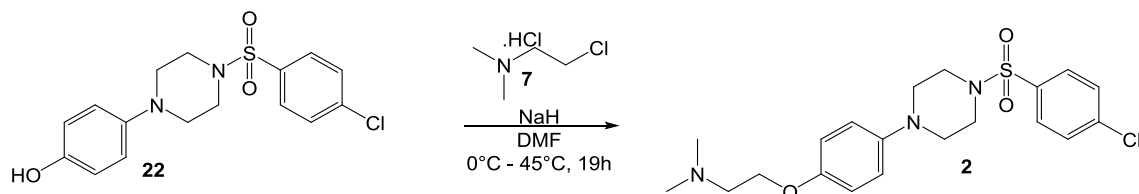
#### 5.4.10. Preparação do composto 22



Em uma solução de **21** (99,6 mg, 0,40 mmol) em DCM (5,5 mL), DMF (3,0 mL) e  $\text{Et}_3\text{N}$  (2,5 mL), foi adicionada uma solução de **5** (83,7 mg, 0,40 mmol) em DCM (1 mL) gota a gota a  $0^\circ\text{C}$ . A reação foi agitada por 20 horas sob atmosfera de argônio a temperatura ambiente com acompanhamento por CCD (AcOEt: Hex, 2:8 e DCM:MeOH, 8:2), em seguida foi tratada com 20 mL água destilada e houve formação de precipitado. O sólido foi filtrado e seco sob pressão reduzida, levando a obtenção de **22**.

**(22)** 125 mg, 90%, sólido branco. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,03 (s, 1H), 7,74 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,55 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 6,79 (d,  $J = 2,3$  Hz, 4H), 3,26 – 3,06 (m, 8H).

#### 5.4.11. Síntese do hit 2

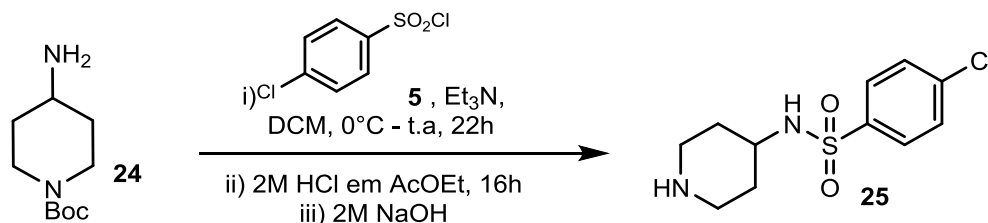


Em uma solução de **22** (40,0 mg, 0,11 mmol) em DMF (1,5 mL), foi adicionado lentamente hidreto de sódio (35,6 mg, 0,79 mmol) e em seguida o cloreto de alquila **7** (32,7 mg, 0,23 mmol) a  $0^\circ\text{C}$  e atmosfera de argônio. A reação foi agitada a  $45^\circ\text{C}$  por 19 horas com acompanhamento por CCD (AcOEt:Hex, 1:1 e DCM:MeOH, 9:1), em seguida foi resfriada e tratada com 20 mL de água destilada em banho de gelo, que formou um precipitado. O sólido foi filtrado e submetido a purificação em coluna cromatográfica *flash* utilizando uma mistura 90% de acetato de etila e 10% hexano e depois um gradiente de 90% diclorometano e 10% metanol a 70% diclorometano e 30% metanol, levando a obtenção de **2**.

**(2)** 34,2 mg, 71%, sólido branco. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,75 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,56 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 6,86 (s, 4H), 4,04 (t,  $J = 5,7$  Hz, 2H), 3,29 – 3,07 (m, 8H), 2,75 (t,  $J$

= 5,7 Hz, 2H), 2,37 (s, 6H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  153,30, 144,40, 139,09, 133,49, 128,92, 128,71, 118,58, 114,79, 65,70, 57,78, 49,97, 45,67, 45,30, 29,18.

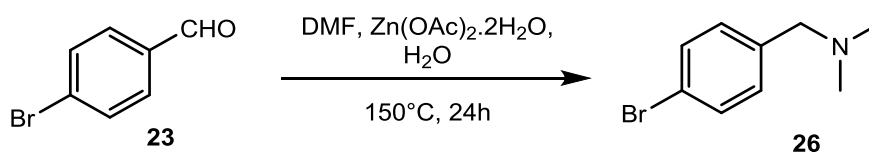
#### 5.4.12. Preparação da sulfonamida **25**



Em uma solução de **24** (200 mg, 1 mmol) e trietilamina (202,4 mg, 2 mmol) em diclorometano (1 mL), foi adicionada uma solução do cloreto de 4-clorobenzenosulfonila **5** (232,2 mg, 1,1 mmol) em diclorometano (2 mL), lentamente à 0°C. A reação foi agitada durante 22 horas em temperatura ambiente com acompanhamento por CCD (DCM: MeOH, 9:1), em seguida foi tratada com 20 mL de água destilada e extraída com diclorometano (2 x 15 mL). A fase orgânica foi lavada com uma solução saturada de cloreto de amônio (1 x 10 mL) e em seguida seca com sulfato de sódio e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica *flash* utilizando uma mistura 50% de acetato de etila e 50% de hexano. Em seguida, foi adicionada uma solução de HCl 2M em AcOEt (2,4 mL, 4,8 mmol) em agitação e a temperatura ambiente por 16 horas, com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1). Após esse tempo, o solvente da reação foi evaporado sob pressão reduzida e ao sólido formado foi adicionada uma solução de NaOH 2M (10 mL), em agitação por 20 minutos e em seguida foi extraída com acetato de etila (3 x, 20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio e concentrada sob pressão reduzida, levando a obtenção de **25**.

**(25)** 135 mg, 49% (rendimento global), sólido branco. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )**  $\delta$  7,88 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,60 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 3,27 – 3,20 (m, 1H), 3,06 (dt,  $J = 13,2, 3,9$  Hz, 2H), 2,66 (td,  $J = 12,8, 12,2, 2,9$  Hz, 2H), 1,76 (dd,  $J = 13,2, 3,9$  Hz, 2H), 1,51 – 1,41 (m, 2H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )**  $\delta$  140,15, 137,78, 128,52, 127,65, 49,28, 43,08, 31,48.

#### 5.4.13. Preparação do intermediário **26**

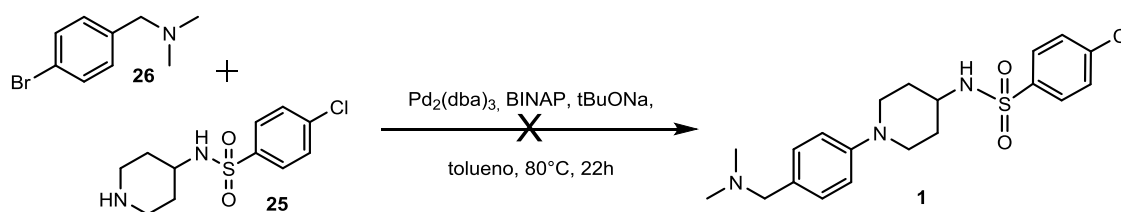




Em um tubo de schlenk, o 4-bromobenzaldeído **23** (290 mg, 1,6 mmol), dimetilformamida (3,9 mL), acetato de zinco dihidratado (35 mg, 10% mol) e água destilada (0,16 mL, 8,8 mmol) foram adicionados e a reação foi agitada por 24 horas à 150°C. Após esse tempo, a reação foi resfriada e tratada com uma solução saturada de NaCl (25 mL) formando um precipitado que foi filtrado e extraído com éter (3 x 20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio e concentrada sob pressão reduzida, levando a obtenção de **26**.

(**26**) 190 mg, 55%, óleo castanho. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,43 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 7,20 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 3,39 (s, 2H), 2,23 (s, 6H). RMN de  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  132,57, 132,23, 127,06, 124,39, 60,83, 43,01.

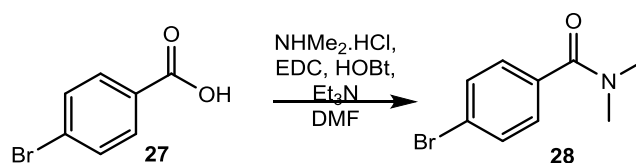
#### 5.4.14. Tentativa de síntese do *hit* 1



Em uma solução de **26** (67 mg, 0,31 mmol) em tolueno (0,9 mL), a sulfonamida **25** (78 mg, 0,28 mmol), tBuONa (48 mg, 1,5 mmol), BINAP (14 mg, 6 mol %),  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (10 mg, 4 mol %) foram adicionados sob atmosfera de argônio. A reação foi agitada por 10 horas à 80°C. Após esse tempo, a reação foi resfriada e foi feita uma CCD para verificar a evolução da reação e não foi possível concluir se houve formação do produto devido a formação de uma mistura complexa.

EM/IES  $[\text{M} + \text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}^+$ : 275,06155. Encontrado: 275,06112.

#### 5.4.15. Preparação do composto 25

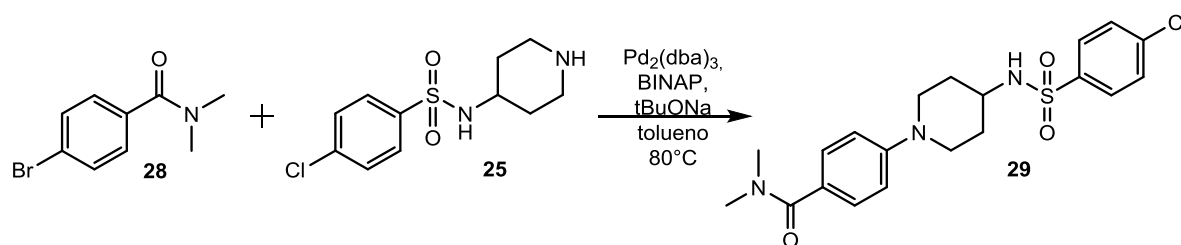


Em uma solução do ácido carboxílico **24** (500 mg, 2,49 mmol) em dimetilformamida (3 mL), HOBt (336 mg, 2,49 mmol), EDC (668 mg, 3,49 mmol),  $\text{NHMe}_2\cdot\text{HCl}$  (508 mg,

6,22 mmol) e trietilamina (1,73 mL, 12,45 mmol) foram adicionados. A reação foi agitada por 24 horas com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 8:2), a temperatura ambiente, em seguida foi tratada com 10 mL de água destilada e extraída com éter (4 x 15 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido a purificação por coluna cromatográfica *flash* utilizando uma mistura 90% de diclorometano e 10% metanol, levando a obtenção de **28**.

**(28)** 418 mg, 74%, óleo castanho. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  7,54 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,30 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 3,10 (sl, 3H), 2,97 (sl, 3H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  170,00, 134,63, 131,04, 128,28, 123,27, 38,97, 34,86.

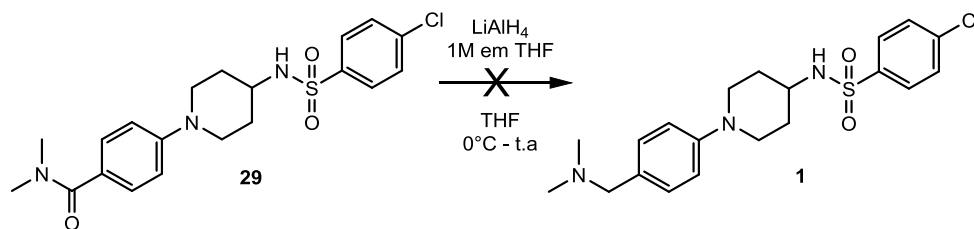
#### 5.4.16. Preparação do intermediário 29



Em uma solução de **28** (46 mg, 0,2 mmol) em tolueno (0,9 mL), a sulfonamida **25** (50 mg, 0,18 mmol) tBuONa (30 mg, 0,27 mmol), BINAP (7 mg, 6 mol%) e  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (7 mg, 4 mol%) foram adicionados sob atmosfera de argônio. A reação foi agitada por 21 horas com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1), à  $80^\circ\text{C}$  e sob atmosfera de argônio, em seguida foi submetida a purificação em coluna cromatográfica *flash* utilizando uma mistura 90% de acetato de etila e 10% hexano, levando a obtenção de **29**.

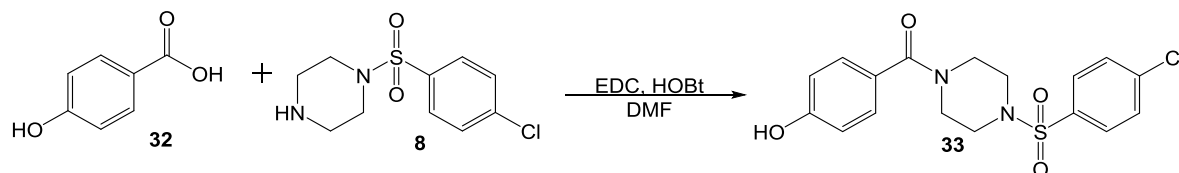
**(29)** 19 mg, 25%, óleo castanho. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  7,85 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 7,51 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 7,35 (d,  $J = 8,88$  Hz, 2H), 6,83 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H), 3,59 (d,  $J = 13,3$  Hz, 2H), 3,36 (s, 1H), 2,84 (ddd,  $J = 13,3, 11,0, 2,7$  Hz, 2H), 1,88 (dd,  $J = 13,3, 3,8$  Hz, 2H), 1,59 – 1,50 (m, 2H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  171,80, 151,57, 139,98, 139,00, 129,42, 128,99, 128,39, 126,23, 114,95, 50,82, 47,31, 32,34, 29,70.

#### 5.4.17. Tentativa de preparação do *hit* 1



Em uma solução do intermediário **29** (19 mg, 0,045 mmol) em tetraidrofurano (0,5 mL), foi adicionado uma solução de  $\text{LiAlH}_4$  1M em THF (0,09 mL, 0,09 mmol) à 0°C e sob atmosfera de argônio. A reação foi agitada por 19 horas a temperatura ambiente com acompanhamento por CCD, em seguida foram adicionados 1 mL de água destilada, 1 mL de uma solução 15% de NaOH e 3 mL de água destilada para cada grama de  $\text{LiAlH}_4$ , respectivamente, a 0°C em agitação por 1h. O sólido foi filtrado e lavado com acetato de etila. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida e submetido a purificação por coluna cromatográfica *flash* utilizando uma mistura 80% de clorofórmio e 20% metanol, porém não foi possível retirar o produto **1** da sílica e ele foi perdido.

#### 5.4.18. Preparação do composto **33**

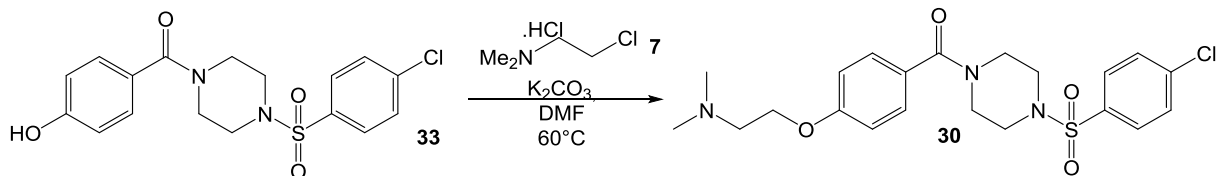


Em uma solução do ácido carboxílico **32** (53 mg, 0,38 mmol) em dimetilformamida (0,2 mL), foram adicionados a sulfonamida **8** (102 mg, 0,38 mmol), EDC (87 mg, 0,46 mmol) e HOBT (51 mg, 0,38 mmol). A reação foi agitada a temperatura ambiente por 1,5 horas com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1), em seguida foi tratada com 10 mL água destilada e extraída com diclorometano (1 x 15 mL). A fase aquosa foi lavada com acetato de etila (1 x 15 mL) e todas as fases orgânicas foram juntadas, secas com sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas sob pressão reduzida, levando a obtenção de **33**.

**(33)** 109 mg, 75%, sólido branco. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )**  $\delta$  9,87 (s, 1H), 7,62 (d,  $J = 8,3$  Hz, 2H), 7,46 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H), 7,19 (d,  $J = 8,3$  Hz, 2H), 6,75 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H), 3,54 (d,  $J = 6,0$  Hz, 4H), 2,91 (d,  $J = 6,0$  Hz, 4H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz, DMSO- $d_6$ )**  $\delta$

171,15, 159,02, 138,84, 133,88, 128,80, 128,67, 128,55, 124,61, 114,31, 45,32. EM/IES  $[M + H]^+$  calculado para  $C_{17}H_{17}ClN_2O_4S^+$ : 381,0670. Encontrado: 381,0670. Erro: 0,00 ppm.

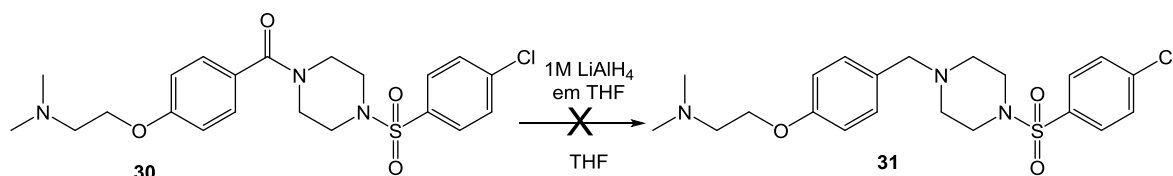
#### 5.4.19. Preparação do composto 30



Em uma solução de **33** (109 mg, 0,29 mmol) em dimetilformamida (5 mL), foram adicionados o cloreto de alquila **7** (100 mg, 0,69 mmol) e carbonato de potássio (200 mg, 1,45 mmol). A reação foi agitada a 80°C por 22 horas com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1), em seguida a reação foi resfriada, tratada com 15mL de água destilada e extraída com acetato de etila (2 x 20 mL). A fase orgânica foi lavada com uma solução 2 M NaOH (1 x 15 mL) e em seguida seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida, levando a obtenção de **30**.

**(30)** 80 mg, 61%, óleo amarelo. **RMN de  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ )**  $\delta$  7,68 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 7,53 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H), 7,30 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,91 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H), 4,07 (t,  $J = 5,7$  Hz, 2H), 3,72 (s, 4H), 3,03 (s, 4H), 2,73 (t,  $J = 5,7$  Hz, 2H), 2,33 (s, 6H). **RMN de  $^{13}C$  (101 MHz,  $CDCl_3$ )**  $\delta$  169,90, 159,94, 139,36, 133,41, 129,11, 128,74, 128,57, 126,16, 113,92, 65,63, 57,59, 45,52, 45,37, 29,15. EM/IES  $[M + H]^+$  calculado para  $C_{21}H_{26}ClN_3O_4S^+$ : 452,1405. Encontrado: 452,1410. Erro: -1,10 ppm.

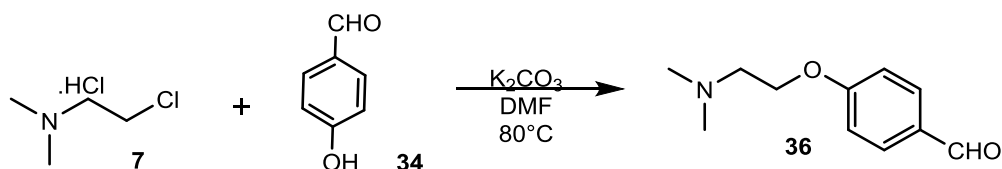
#### 5.4.20. Tentativa de síntese do composto 31



Em uma solução de **27** (60 mg, 0,13 mmol) em tetraidrofurano (5 mL), foi adicionado uma solução de  $LiAlH_4$  1M em THF (1,1 mL, 1,1 mmol) à 0°C e sob atmosfera de argônio. A reação foi agitada a temperatura ambiente por 48 horas temperatura ambient com acompanhamento por CCD e, em seguida foram adicionados 1 mL de água destilada, 1 mL de uma solução 15% de NaOH e 3 mL de água destilada para cada grama de  $LiAlH_4$ , respectivamente, a 0°C em agitação por 1 hora. O sólido foi filtrado e lavado com clorofórmio. O

filtrado foi concentrado sob pressão reduzida e submetido a purificação por coluna cromatográfica *flash* utilizando uma mistura 95% de diclorometano e 5% metanol, porém não houve formação de produto.

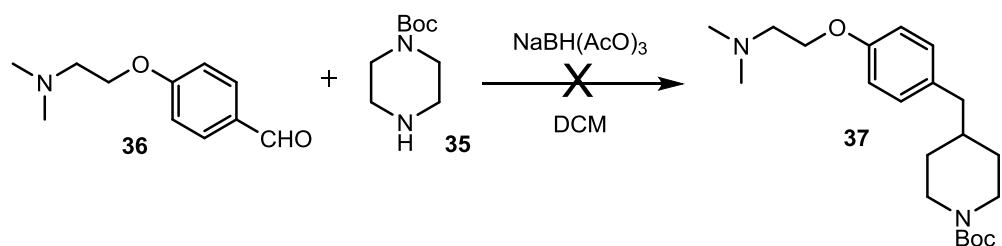
#### 5.4.21. Preparação do composto 36



Em uma solução do aldeído **34** (1,5 g, 12,28 mmol) e carbonato de potássio (3,85 g, 27,91 mmol) em dimetilformamida (20 mL), o cloreto de alquila **7** (1,61 g, 11,16 mmol) foi adicionado. A reação foi agitada por 40 minutos a 80°C e refluxo com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1), em seguida foi resfriada, tratada com 15 mL de água destilada e extraída com éter (3 x 30 mL). A fase aquosa foi lavada com uma solução de KOH 2M (2 x 10 mL) e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio e concentrada sob pressão reduzida, levando a obtenção de **36**.

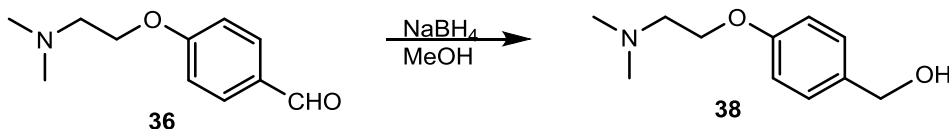
**(36)** 1,03g, 51%, óleo castanho. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9,88 (s, 1H), 7,83 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H), 7,02 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H), 4,15 (t,  $J = 5,7$  Hz, 2H), 2,77 (t,  $J = 5,7$  Hz, 2H), 2,35 (s, 6H).

#### 5.4.22. Tentativa de síntese do composto 37



Em uma solução da piperazina **35** (106 g, 0,57 mmol) em tetraidrofurano (2,6 mL), uma solução de **36** (100 mg, 0,52 mmol) em tetraidrofurano (2,6 mL) e  $\text{NaBH}(\text{AcO})_3$  (65,3 mg, 0,78 mmol) foram adicionados, respectivamente. A reação foi agitada por 19 horas a temperatura ambiente e atmosfera de argônio, em seguida foi tratada com uma solução de KOH 2M e extraída com acetato de etila (3 x, 15mL), porém não houve formação de produto.

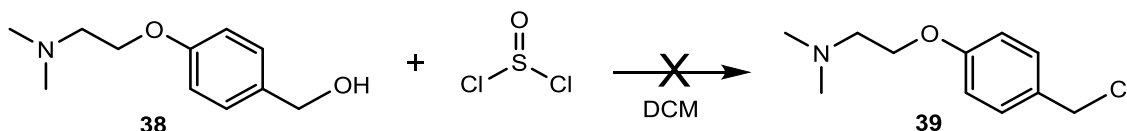
#### 5.4.23. Preparação do composto 38



Em uma solução de **36** (383 mg, 1,98 mmol) em metanol (2 mL), NaBH<sub>4</sub> (75 mg, 1,98 mmol) foi adicionado. A reação foi agitada por 16 horas, com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1), a temperatura ambiente, em seguida foi tratada com 5 mL de uma solução saturada de NH<sub>4</sub>Cl e 5 mL de H<sub>2</sub>O e extraída com acetato de etila (4 x 15 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio e concentrada sob pressão reduzida, levando a obtenção de **38**.

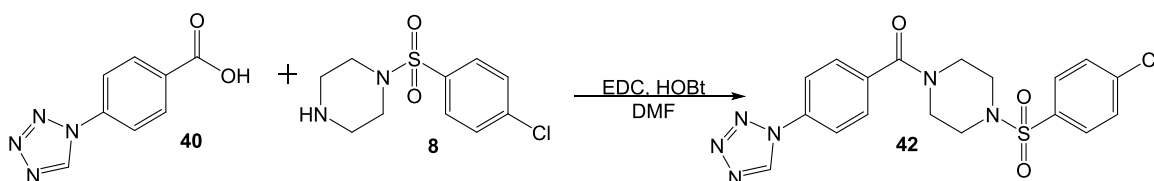
**(38)** 260 mg, 67%, óleo incolor. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,31 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 6,92 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 4,63 (s, 2H), 4,07 (t, *J* = 5,8 Hz, 2H), 2,75 (t, *J* = 5,8 Hz, 2H), 2,35 (s, 6H). RMN de <sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 158,41, 133,37, 128,59, 114,63, 65,98, 65,01, 58,24, 45,86.

#### 5.4.24. Tentativa de síntese do composto 39



Em uma solução do cloreto de tionila (10,2 mL, 2,66 mmol) em diclorometano (7 mL), uma solução do álcool **38** (26 g, 1,33 mmol) em diclorometano (7 mL) foi adicionada lentamente à 0°C. A reação foi agitada por 19 horas, com acompanhamento por CCD, a temperatura ambiente, em seguida o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e a mistura foi extraída com acetato de etila (4 x 10mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio e concentrada sob pressão reduzida, porém não houve formação de produto.

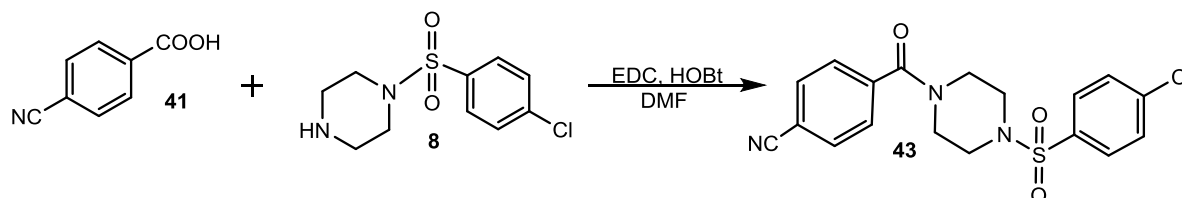
#### 5.4.25. Preparação do composto 42



Em uma solução do ácido carboxílico **40** (22 mg, 0,11 mmol) em dimetilformamida (0,5 mL), EDC (26 mg, 0,14 mmol), HOBT (16 mg, 0,12 mmol) e a sulfonamida **8** (30 mg, 0,12 mmol) foram adicionados. A reação foi agitada a temperatura ambiente por 24 horas com acompanhamento por CCD, em seguida foi tratada com água destilada e filtrada. O sólido foi recolhido com diclorometano, seco com sulfato de sódio anidro e o solvente removido sob pressão reduzida, levando a obtenção de **42**.

**(42)** 43 mg, 86%, sólido amarelo. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )**  $\delta$  10,14 (s, 1H), 7,97 (d,  $J = 8,2$  Hz, 2H), 7,76 (s, 4H), 7,66 (d,  $J = 8,2$  Hz, 2H), 3,58 (d,  $J = 117,1$  Hz, 4H), 3,03 (s, 4H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz, DMSO- $d_6$ )**  $\delta$  167,80, 142,30, 138,34, 136,40, 134,30, 133,93, 130,93, 129,65, 128,86, 121,04, 45,49.

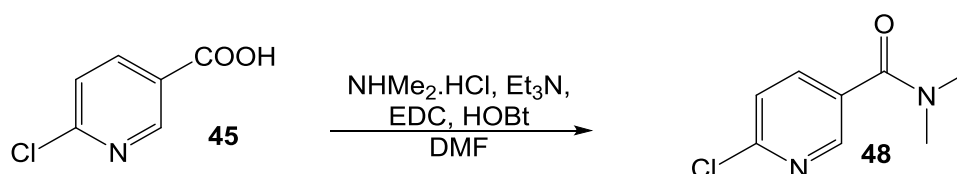
#### 5.4.26. Preparação do composto 43



Em uma solução do ácido carboxílico **41** (28 mg, 0,19 mmol) em dimetilformamida (0,5 mL), EDC (44 mg, 0,23 mmol), HOBT (26 mg, 0,19 mmol) e a sulfonamida **8** (50 mg, 0,19 mmol) foram adicionados. A reação foi agitada a temperatura ambiente por 17 horas com acompanhamento por CCD (AcOEt:Hex, 7:3), em seguida foi tratada com água destilada e filtrada. O sólido foi recolhido com diclorometano, seco com sulfato de sódio anidro e o solvente removido sob pressão reduzida, levando a obtenção de **43**.

**(43)** 21 mg, 28%, sólido branco. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  7,72 – 7,67 (m, 4H), 7,55 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,44 (d,  $J = 8,3$  Hz, 2H), 3,68 (d,  $J = 42,4$  Hz, 4H), 3,06 (d,  $J = 42,4$  Hz, 4H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  167,80, 139,57, 138,46, 133,35, 132,04, 129,21, 128,55, 127,30, 117,28, 113,60, 46,41, 45,32. EM/IES  $[\text{M} + \text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_3\text{S}^+$ : 390,0673. Encontrado: 390,0675. Erro: -0,51 ppm.

#### 5.4.27. Preparação do composto 48

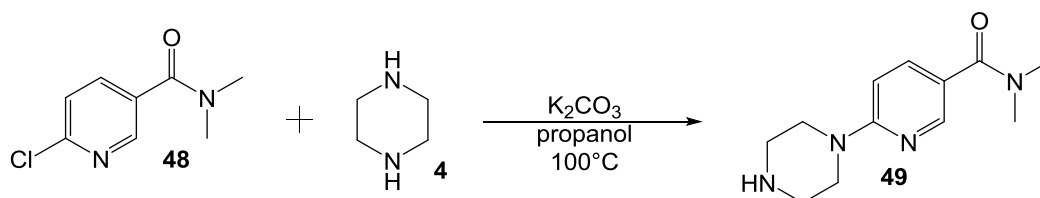


Em uma solução do ácido carboxílico **45** (300 mg, 1,9 mmol) em dimetilformamida (1,3 mL), foram adicionados EDC (509 mg, 2,66 mmol), HOBt (249 mg, 1,90 mmol). Após 30 minutos HNMe<sub>2</sub>.HCl (388 mg, 4,75 mmol) foi adicionado, em seguida com o balão selado trietilamina (961 mg, 9,5 mmol) foi adicionado. A reação foi agitada a temperatura ambiente com o recipiente fechado por 23 horas com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1), em seguida foi tratada com 10mL de água destilada e extraída com diclorometano (3 x 10 mL), que foi lavada com solução de NaOH 2M (1 x 10 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido a purificação por coluna cromatográfica *flash* utilizando uma mistura 70% de acetato de etila e 30% hexano.

**(48)** 350 mg, 99%, óleo castanho. **RMN de <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 8,45 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,73 (dd, *J* = 8,2, 2,4 Hz, 1H), 7,38 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 3,06 (d, *J* = 40,4 Hz, 6H).

**RMN de <sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 167,35, 151,93, 147,61, 137,33, 130,34, 123,68, 38,98, 35,00.

#### 5.4.28. Preparação do intermediário 49

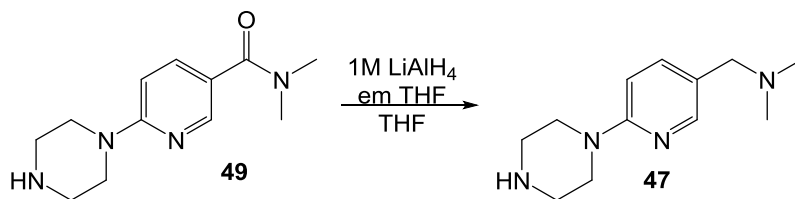


Uma solução de **48** (1,14 g, 6,17 mmol) e da piperazina **4** (1,6 g, 18,5 mmol) em propanol (15 mL), foi adicionado carbonato de potássio (2,56 g, 18,5 mmol). A reação foi agitada a 100°C e refluxo por 15 horas com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 8:2), em seguida foi resfriada, concentrada sob pressão reduzida e extraída com acetato de etila (3 x 20 mL) e 10mL de solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida, levando a obtenção de **49**.

**(49)** 1,28 g, 89%, sólido branco. **RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 8,30 (dd, *J* = 2,4, 0,8 Hz, 1H), 7,64 (dd, *J* = 8,9, 2,4 Hz, 1H), 6,62 (dd, *J* = 8,9, 0,8 Hz, 1H), 3,60 (t, *J* = 10,3 Hz, 4H), 3,08 (s, 6H), 2,99 (t, *J* = 10,3 Hz, 6H). **RMN de <sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 169,44, 159,06, 147,17, 137,09, 119,96, 105,24, 45,20, 45,12.



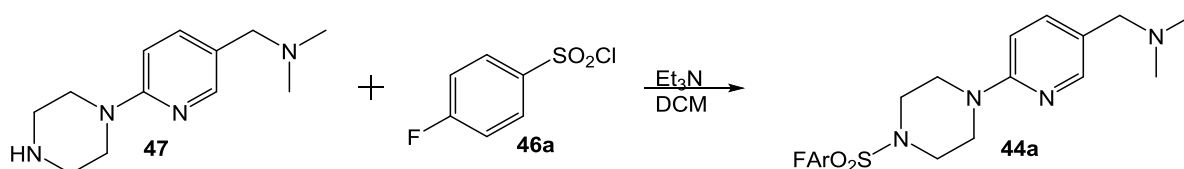
#### 5.4.29. Preparação do intermediário 47



Em uma solução de **49** (0,922 mg, 3,93 mmol) em tetraidrofurano (25 mL), foi adicionado uma solução de  $\text{LiAlH}_4$  1M em THF (7,86 mL, 7,86 mmol) à  $0^\circ\text{C}$  e sob atmosfera de argônio. A reação foi agitada a temperatura ambiente por 24 horas com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 8:2), em seguida foram adicionados 1 mL de água destilada, 1 mL de uma solução 15% de NaOH e 3 mL de água destilada para cada grama de  $\text{LiAlH}_4$ , respectivamente, a  $0^\circ\text{C}$  em agitação por 1 hora. O sólido foi filtrado em uma coluna de sílica flash com diclorometano, concentrado sob pressão reduzida e triturado com DCM e Hex, levando a obtenção de **47**.

**(47)** 174 mg, 100%, óleo amarelo. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )**  $\delta$  7,97 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H), 7,43 (dd,  $J = 8,7, 2,4$  Hz, 1H), 6,76 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H), 3,36 (s, 4H, sinal camuflado), 3,24 (s, 2H), 2,80 (s, 4H), 2,10 (s, 6H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz, DMSO- $d_6$ )**  $\delta$  158,61, 147,67, 138,36, 122,61, 106,46, 59,97, 45,48, 45,09, 44,54.

#### 5.4.30. Preparação do composto 44a

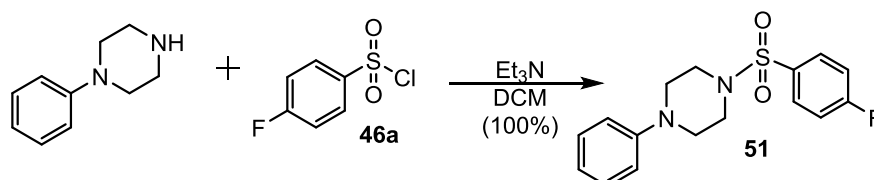


Em uma solução de **47** (46 mg, 0,21 mmol) e trietilamina (0,14 mL, 1,05 mmol) em diclorometano (2,1 mL), **B** (45 mg, 0,23 mmol) foi adicionado lentamente a  $0^\circ\text{C}$ . Reação agitada a temperatura ambiente por 23 horas com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1), em seguida o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e foi adicionado ao resíduo DMSO (0,2 mL) em agitação. A solução foi tratada com água destilada para formar um precipitado, que foi filtrado. O sólido foi submetido a purificação por coluna cromatográfica *flash* utilizando uma mistura 90% de diclorometano e 10% metanol, levando a obtenção de **44a**.

**(44a)** 14 mg, 17%, sólido branco. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  8,04 (d,  $J = 2,3$  Hz, 1H), 7,83 – 7,80 (m, 2H), 7,53 (dd,  $J = 8,8, 2,3$  Hz, 1H), 7,24 (t,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 6,62 (d,  $J = 8,8$

Hz, 1H), 3,66 (t,  $J = 5,1$  Hz, 4H), 3,38 (s, 2H), 3,13 (t,  $J = 5,1$  Hz, 4H), 2,64 (s, 2H), 2,27 (s, 6H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  166,00, 163,67, 157,69, 148,06, 138,56, 131,20, 129,99, 115,99, 106,56, 60,07, 45,24, 44,29, 44,16, 40,49. EM/IES  $[\text{M} + \text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{FN}_4\text{O}_2\text{S}^+$ : 379,1598. Encontrado: 379,1595. Erro: 0,79 ppm.

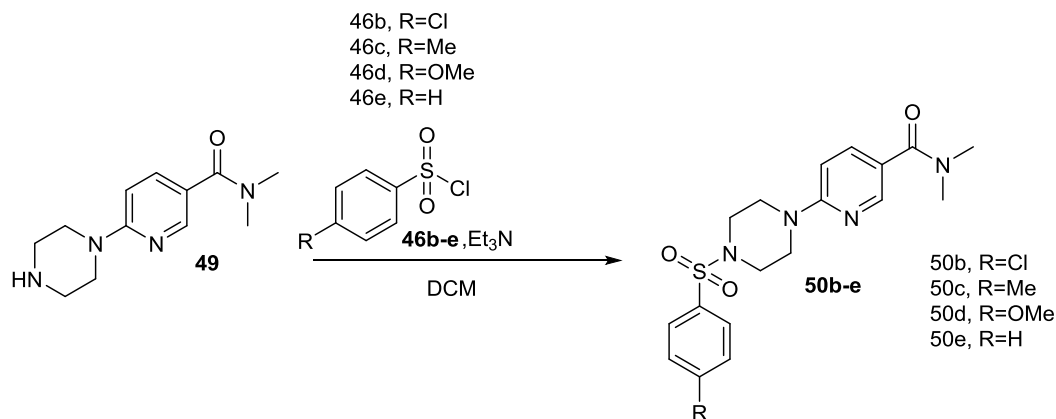
#### 5.4.31. Preparação do composto 51



Em uma solução de fenilpiperazina (50 mg, 0,31 mmol) e trietilamina (0,09 mL, 0,62 mmol) em diclorometano (1 mL), uma solução do cloreto de 4-fluorosulfonila **46a** (66 mg, 0,34 mmol) em diclorometano (mL) foi adicionada lentamente à 0°C. A reação foi agitada por 19 horas em temperatura ambiente com acompanhamento por CCD (AcOEt:Hex, 2:8), em seguida tratada com uma solução saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (10 mL) e extraída com DCM (2 x 15mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio e concentrada sob pressão reduzida, levando a obtenção de **51**.

**(51)** 103 mg, 100%, sólido lilás. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  7,85 – 7,82 (m, 2H), 7,34 – 7,24 (m, 4H), 7,10 – 6,99 (m, 3H), 3,33 – 3,30 (m, 8H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  166,16, 163,62, 131,06, 128,96, 127,65, 117,04, 115,89, 114,67, 49,45, 45,12. EM/IES  $[\text{M} + \text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{FN}_2\text{O}_2\text{S}^+$ : 321,1067. Encontrado: 321,1066. Erro: 0,31 ppm.

#### 5.4.32. Procedimento geral A para preparação dos compostos 50b-e

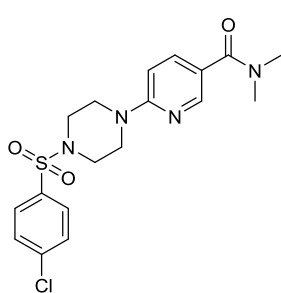


Em uma solução de **49** e trietilamina em diclorometano, foram adicionados os cloretos de sulfonila **46b-e**. A reação foi agitada a temperatura ambiente por 24 horas, em seguida o solvente foi evaporado sob pressão reduzida, foi adicionada água destilada e o sobrenadante foi separado do sólido formado, que foi seco sob vácuo. As quantidades de cada reagente estão descritas na Tabela 16.

Tabela 19. Dados das reações de formação de sulfonamidas para obtenção dos compostos **50b-e**.

Produto n <sup>a</sup>	49		Cloretos			Et <sub>3</sub> N	DCM
	mg	mmol	n <sup>a</sup>	mg	mmol	mmol	mL
<b>50b</b>	148,0	0,63	<b>46b</b>	198,0	0,94	1,26	5,0
<b>50c</b>	50,0	0,21	<b>46c</b>	45,0	0,23	1,05	2,0
<b>50d</b>	50,0	0,21	<b>46d</b>	44,0	0,21	1,05	2,1
<b>50e</b>	50,0	0,21	<b>46e</b>	37,0	0,21	1,05	2,1

<sup>a</sup>Numeração do composto

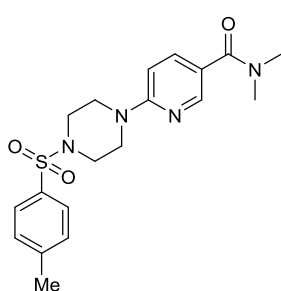


**(50b)** 189,0 mg, 74%, sólido branco. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8,27 (dd, *J* = 2,4, 0,8 Hz, 1H), 7,72 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,63 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 7,53 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 6,60 (dd, *J* = 8,9, 0,8 Hz, 1H), 3,74 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H), 3,13 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H), 3,07 (s, 6H).

RMN de <sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169,07, 158,08, 147,08, 139,23, 137,24, 133,52, 129,00, 128,60, 120,99, 105,48, 45,08, 43,90.

EM/IES [M + H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S<sup>+</sup>: 409,1095. Encontrado: 409,1095. Erro: 0,00 ppm.

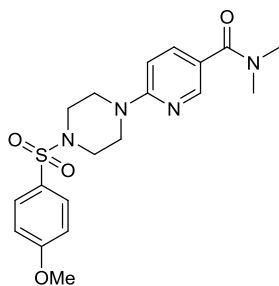


**(50c)** 54,0 mg, 66%, sólido branco. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 8,27 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,67 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,63 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,35 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 6,61 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 3,76 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H), 3,12 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H), 3,08 (s, 6H), 2,45 (s, 3H).

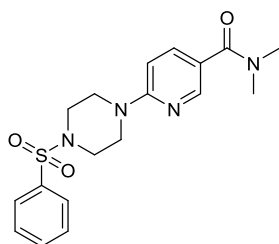
RMN de <sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169,01, 158,33, 146,90, 143,49, 131,70, 129,29, 127,29, 120,76, 105,59, 45,13, 43,96, 39,55, 35,30,

21,01. EM/IES [M + H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S<sup>+</sup>: 389,1641. Encontrado: 389,1636. Erro: 1,28 ppm.



**(50d)** 38,0 mg, 44%, sólido branco. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  8,27 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H), 7,72 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H), 7,64 (dd,  $J = 8,8$ , 2,4 Hz, 1H), 7,01 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H), 6,60 (d,  $J = 8,9$  Hz, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,75 (t,  $J = 5,0$  Hz, 4H), 3,10 (t,  $J = 5,0$  Hz, 4H), 3,08 (s, 6H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  170,02, 162,74, 158,66, 147,25, 137,41, 129,39, 126,26, 120,77, 113,83, 105,60, 55,10, 45,14, 43,94,

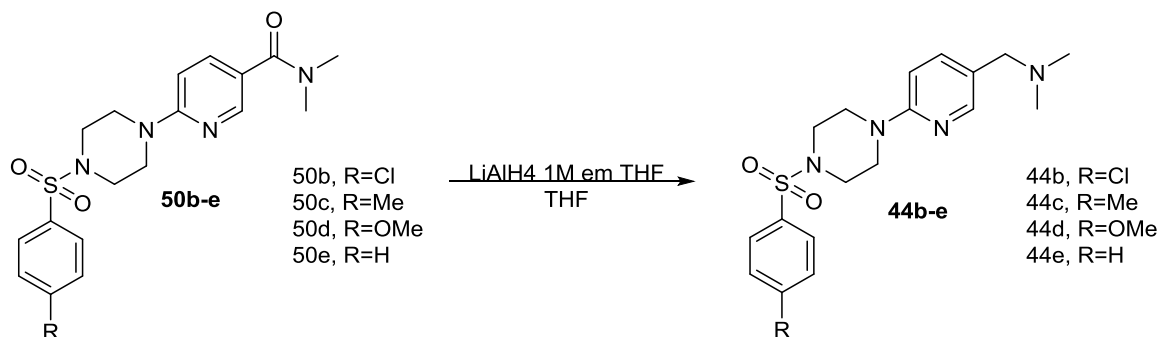
39,49, 35,16.



**(50e)** 76,0 mg, 96%, sólido branco. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  8,25 (dd,  $J = 2,4$ , 0,7 Hz, 1H), 7,78 (d,  $J = 7,0$  Hz, 1H), 7,61 (dd,  $J = 6,8$ , 2,1 Hz, 2H), 7,58–7,51 (m, 2H), 6,59 (dd,  $J = 8,8$ , 0,7 Hz, 1H), 3,72 (t,  $J = 5,3$  Hz, 4H), 3,12 (t,  $J = 5,3$  Hz, 4H), 3,06 (s, 6H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  169,11, 158,14, 147,06, 137,21, 134,80, 132,59, 128,66, 127,22, 120,81, 105,45, 45,16, 43,85,

39,08, 35,16. EM/IES  $[\text{M} + \text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}^+$ : 375,1485. Encontrado: 375,1479. Erro: 1,59 ppm.

#### 5.4.33. Procedimento geral B para preparação dos compostos 44b-e



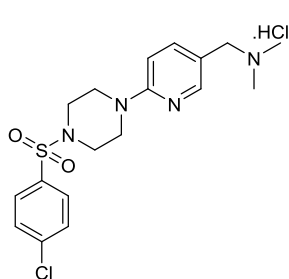
Em uma solução de **50b-e** em tetraidrofurano foi adicionada uma solução de  $\text{LiAlH}_4$  1M em THF à  $0^\circ\text{C}$  e sob atmosfera de argônio. A reação foi agitada a temperatura ambiente por 24 horas temperatura ambiente com acompanhamento por CCD, em seguida foram adicionados 1 mL de água destilada, 1 mL de uma solução 15% de NaOH e 3 mL de água destilada para cada grama de  $\text{LiAlH}_4$ , respectivamente, a  $0^\circ\text{C}$  em agitação por 1 hora. O sólido foi filtrado em uma coluna de sílica flash com diclorometano. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida e submetido a purificação por coluna cromatográfica *flash*. Em seguida, o sólido foi transformado em cloridrato utilizando uma solução de HCl 2M em AcOEt e submetido a

sucessivas triturações utilizando metanol, diclorometano e hexano. As quantidades de cada reagente e a mistura de eluente para as colunas realizadas estão descritas na Tabela 17.

Tabela 20. Dados das reações de redução para obtenção dos compostos **44b-e**.

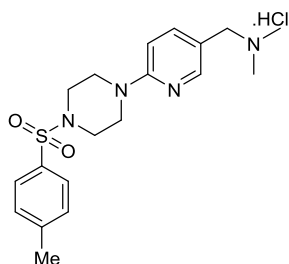
Produto	Amida		LiAlH <sub>4</sub> 1M em THF	THF	Mistura de eluente para coluna
	n <sup>a</sup>	mg mmol			
<b>44b</b>	<b>50b</b>	24,0 0,30	0,60	3,0	90% DCM 10%MeOH
<b>44c</b>	<b>50c</b>	27,0 0,07	1,30	1,0	95% DCM 5%MeOH
<b>44d</b> *	<b>50d</b>	30,0 0,12	0,70	1,2	95% DCM 5%MeOH
<b>44e</b>	<b>50e</b>	39,0 0,10	0,50	1,0	95% DCM 5%MeOH

<sup>a</sup>Numeração do composto; \*Amina livre



**(44b)** 17 mg, 13%, sólido branco. **RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)** δ 8,23 (s, 1H), 8,12 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,84 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,68 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,42 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 4,34 (s, 2H), 3,89 (t, *J* = 5,0 Hz, 4H), 3,27 (t, *J* = 5,0 Hz, 4H), 2,89 (s, 6H). **RMN de <sup>13</sup>C (101 MHz, CD<sub>3</sub>OD)** δ 152,76, 144,36, 140,20, 139,02, 133,80, 128,91, 128,74, 114,77, 112,19, 55,79, 45,16, 44,51, 40,99. EM/IES

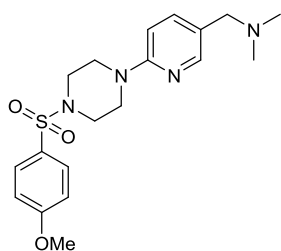
[M + H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S<sup>+</sup>: 395,1303. Encontrado: 395,1292. Erro: 2,78 ppm.



**(44c)** 4,4 mg, 15%, sólido branco. **RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)** δ 8,17 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 7,67 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,68 – 7,65 (m, 1H), 7,43 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,86 (dd, *J* = 8,9, 0,8 Hz, 1H), 4,13 (s, 2H), 3,69 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H), 3,05 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H), 2,76 (s, 6H), 2,43 (s, 3H). **RMN de <sup>13</sup>C (101 MHz, CD<sub>3</sub>OD)** δ 158,71, 149,46,

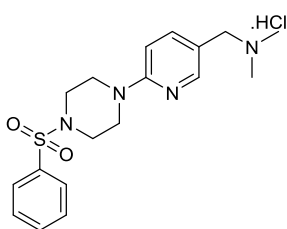
143,70, 139,50, 131,86, 128,99, 127,07, 114,52, 106,66, 57,48, 45,10, 43,73, 40,73, 19,54.

EM/IES [M + H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S<sup>+</sup>: 411,1616. Encontrado: 413,2654.



**(44d)** 6,4 mg, 14%, sólido branco. **RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 8,07 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 8,01 (dd, *J* = 9,1, 2,5 Hz, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 7,02 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 6,68 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 4,00 (s, 2H), 3,89 (s, 3H), 3,72 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H), 3,10 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H), 2,73 (s, 6H). **RMN de <sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 162,72, 158,57,

149,39, 139,92, 130,45, 129,41, 126,36, 113,84, 113,01, 106,74, 58,17, 55,11, 45,20, 43,67, 41,39. EM/IES  $[M + H]^+$  calculado para  $C_{19}H_{26}N_4O_3S^+$ : 391,1798. Encontrado: 391,1788. Erro: 2,55 ppm.



**(44e)** 8,9 mg, 22%, sólido branco. **RMN de  $^1H$  (400 MHz,  $CD_3OD$ )**  $\delta$  8,19 (d,  $J = 2,5$  Hz, 1H), 7,82 (dd,  $J = 8,8, 2,5$  Hz, 2H), 7,71 – 7,67 (m, 2H), 7,66 – 7,61 (m, 2H), 6,88 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H), 4,16 (s, 2H), 3,72 (t,  $J = 5,2$  Hz, 4H), 3,09 (t,  $J = 5,2$  Hz, 4H), 2,79 (s, 6H). **RMN de  $^{13}C$  (101 MHz,  $CD_3OD$ )**  $\delta$  158,71, 149,49, 139,51, 134,91, 132,47, 128,49, 127,00, 114,44, 106,66, 57,45, 45,11, 43,73, 40,70.

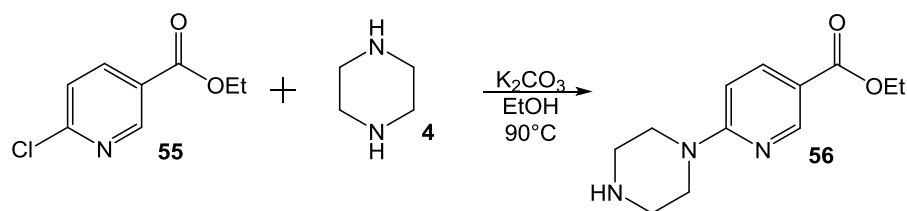
#### 5.4.34. Preparação do composto 55



Em uma solução do ácido *p*-cloronicotínico **45** (1 g, 6,34 mmol) em diclorometano (25 mL), foram adicionados etanol anidro (2,92 g, 63,4 mmol), trietilamina (0,96 g, 9,51 mmol), EDC (1,34 g, 6,98 mmol) e DMAP (0,077 g, 0,63 mmol). A reação foi agitada a temperatura ambiente com o recipiente fechado por 25 horas com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1), em seguida foi tratada com extraída com DCM (3 x 15mL) e 10 mL de solução saturada de cloreto de amônio. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido a purificação por coluna cromatográfica *flash* utilizando uma mistura 90% de diclorometano e 10% metanol, levando a obtenção de **55**.

**(55)** 432 mg, 37%, óleo incolor. **RMN de  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ )**  $\delta$  9,02 (dd,  $J = 2,4, 0,8$  Hz, 1H), 8,27 (dd,  $J = 8,3, 2,4$  Hz, 1H), 7,43 (dd,  $J = 8,3, 0,8$  Hz, 1H), 4,44 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2H), 1,43 (t,  $J = 7,1$  Hz, 4H).

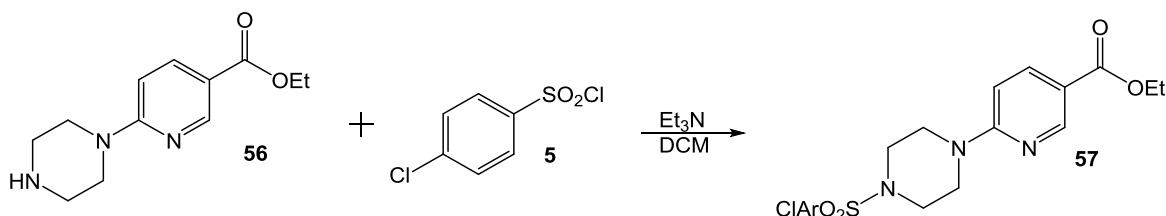
### 5.4.35. Preparação do composto 56



Uma solução de **55** (402 mg, 2,16 mmol) e da piperazina **4** (559 mg, 6,49 mmol) em etanol (13 mL), foi adicionado  $K_2CO_3$  (920 mg, 6,49 mmol). A reação foi agitada a  $90^\circ C$  e refluxo por 27 horas com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1), em seguida foi resfriada, concentrada sob pressão reduzida e extraída com acetato de etila (3 x 15 mL) e 10mL de água destilada. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida, levando a obtenção de **56**.

**(56)** 268 mg, 53%, sólido branco. **RMN de  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ )**  $\delta$  8,82 (dd,  $J = 2,3, 0,7$  Hz, 1H), 8,04 (dd,  $J = 9,0, 2,3$  Hz, 1H), 6,60 (dd,  $J = 9,0, 0,7$  Hz, 1H), 4,35 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2H), 3,68 (t,  $J = 5,1$  Hz, 4H), 3,00 (t,  $J = 5,1$  Hz, 4H), 1,38 (t,  $J = 7,1$  Hz, 3H). **RMN de  $^{13}C$  (101 MHz,  $CDCl_3$ )**  $\delta$  165,48, 160,28, 150,49, 137,92, 114,47, 104,50, 59,86, 45,27, 45,18, 13,86.

### 5.4.36. Preparação do composto 57

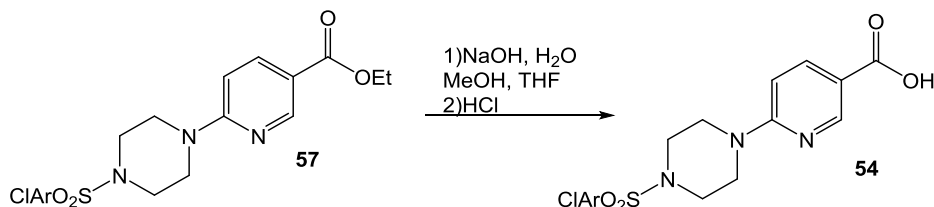


Em uma solução de **56** (615 mg, 2,61 mmol) e trietilamina (1,32 g, 13,05 mmol) em diclorometano (13,5 mL), o cloreto de 4-clorobenzenosulfonila **5** (664 mg, 3,13 mmol) foi adicionado. A reação foi agitada a temperatura ambiente por 24 horas com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1), em seguida foi lavada com água destilada (2 x 15 mL) e depois com solução saturada de cloreto de amônio (2 x 15mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida, levando a obtenção de **57**.

**(57)** 894 mg, 84%, sólido amarelo. **RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ )**  $\delta$  8,78 (dd,  $J = 2,3, 0,7$  Hz, 1H), 8,04 (dd,  $J = 9,0, 2,3$  Hz, 1H), 7,72 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 7,53 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H), 6,57 (dd,  $J = 9,0, 0,7$  Hz, 1H), 4,34 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2H), 3,82 (t,  $J = 5,1$  Hz, 4H), 3,14 (t,  $J = 5,1$  Hz,

4H), 1,37 (t,  $J = 7,1$  Hz, 3H). **RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  165,10, 159,33, 150,27, 139,26, 138,31, 133,52, 129,01, 128,60, 115,53, 104,76, 60,04, 45,12, 43,67, 13,81.

#### 5.4.37. Preparação do intermediário 54

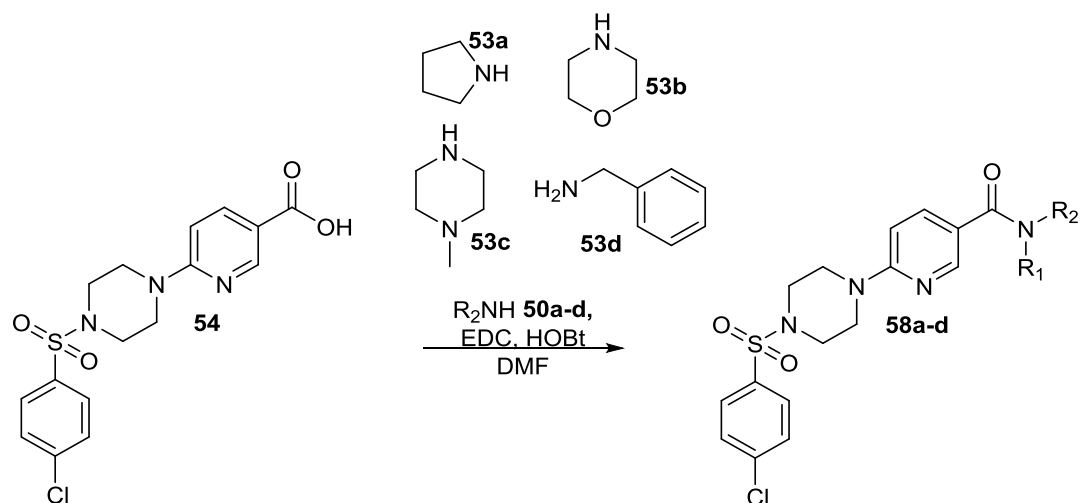


Em uma solução de **57** (779 mg, 1,90 mmol) em tetraidrofurano (16 mL) e metanol (12 mL) foi adicionada uma solução de NaOH 2M (14,25 mL, 28,5 mmol) gota a gota. A reação foi agitada a temperatura ambiente por 2 horas com acompanhamento por CCD (AcOEt:Hex, 1:1). Em seguida, o solvente foi concentrado sob pressão reduzida e a mistura reacional tratada com uma solução de HCl 4M até pH 4 – 5, em banho de gelo. O sólido formado foi filtrado, levando a obtenção de **54**.

**(54)** 728 mg, 100%, sólido branco. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )**  $\delta$  8,53 (d,  $J = 2,2$  Hz, 1H), 7,90 (dd,  $J = 8,8, 2,2$  Hz, 1H), 7,78 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H), 7,72 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H), 6,70 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H), 3,64 (t,  $J = 5,1$  Hz, 4H), 3,00 (t,  $J = 5,1$  Hz, 5H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )**  $\delta$  167,42, 158,45, 149,85, 149,27, 138,49, 138,28, 133,76, 129,57, 129,40, 105,45, 45,46, 43,92. EM/IES  $[\text{M} + \text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}^+$ : 382,0622. Encontrado: 382,0614. Erro: 2,09 ppm.



### 5.4.38. Procedimento geral C para preparação dos compostos 58a-d

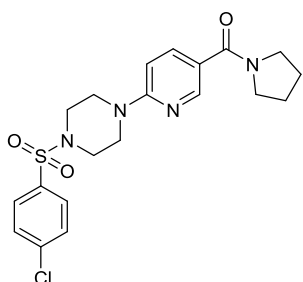


Em uma solução do ácido carboxílico **54** em dimetilformamida, foram adicionados EDC, HOBt e as aminas **53a-d**. A reação foi agitada a temperatura ambiente com o recipiente fechado por 24 horas, em seguida foi tratada com água destilada, o precipitado formado foi filtrado e recuperado com diclorometano e concentrado sob pressão reduzida. O sólido foi submetido a purificação por coluna cromatográfica *flash*. As quantidades de reagentes e a mistura de eluente para a purificação dos produtos formados estão descritos na Tabela 18.

Tabela 21. Dados das reações de amidação para obtenção dos compostos **58a-d**.

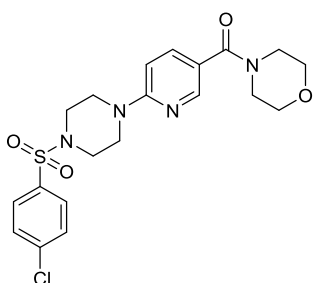
Produto	54		Amina			EDC	HOBt	DMF	Mistura de eluente para coluna
	mg	mmol	n <sup>a</sup>	mg	mmol				
<b>58a</b>	100,0	0,26	<b>53a</b>	22,0	0,31	0,37	0,026	1,9	90% DCM 10%MeOH
<b>58b</b>	100,0	0,26	<b>53b</b>	27,0	0,31	0,36	0,026	2,6	*
<b>58c</b>	200,0	0,52	<b>53c</b>	81,0	0,62	0,73	0,052	2,0	95% DCM 5%MeOH
<b>58d</b>	130,0	0,34	<b>53d</b>	44,0	0,41	0,48	0,034	2,0	*

<sup>a</sup>Numeração do composto; \* Não foi realizada coluna cromatográfica

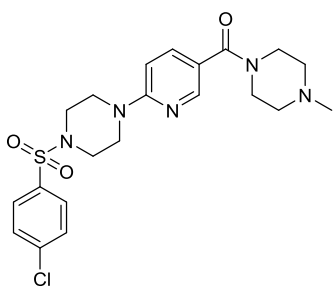


**(58a)** 81,5 mg, 72%, sólido laranja. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,39 (dd, *J* = 2,3, 0,8 Hz, 1H), 7,77 – 7,71 (m, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 7,53 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 6,60 (dd, *J* = 8,8, 0,8 Hz, 1H), 3,75 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H), 3,58 (d, *J* = 38,2 Hz, 4H), 3,13 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H), 1,93 (d, *J* = 15,0 Hz, 4H). RMN de <sup>13</sup>C (101 MHz,

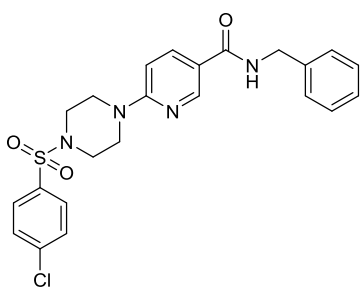
**CDC13**)  $\delta$  167,09, 158,33, 146,98, 139,24, 137,42, 133,53, 129,00, 128,61, 122,01, 105,50, 49,18, 45,94, 45,09, 43,95, 26,01, 23,81. EM/IES  $[M + H]^+$  calculado para  $C_{20}H_{23}ClN_4O_3S^+$ : 435,1252. Encontrado: 152,1232. Erro: 4,59 ppm.



**(58b)** 102,0 mg, 87%, sólido laranja. **RMN de  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ )**  $\delta$  8,25 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H), 7,72 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,61 (dd,  $J = 8,6, 2,4$  Hz, 1H), 7,53 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 6,61 (d,  $J = 8,9$  Hz, 1H), 3,75 (t,  $J = 5,1$  Hz, 4H), 3,70 (d,  $J = 4,8$  Hz, 4H), 3,65 (d,  $J = 5,9$  Hz, 4H), 3,13 (t,  $J = 5,1$  Hz, 4H). **RMN de  $^{13}C$  (101 MHz,  $CDCl_3$ )**  $\delta$  168,07, 158,26, 147,14, 139,25, 137,35, 133,54, 129,01, 128,60, 119,86, 105,59, 66,34, 45,07, 43,84. EM/IES  $[M + H]^+$  calculado para  $C_{20}H_{23}ClN_4O_4S^+$ : 451,1201. Encontrado: 451,1179. Erro: 4,87 ppm.

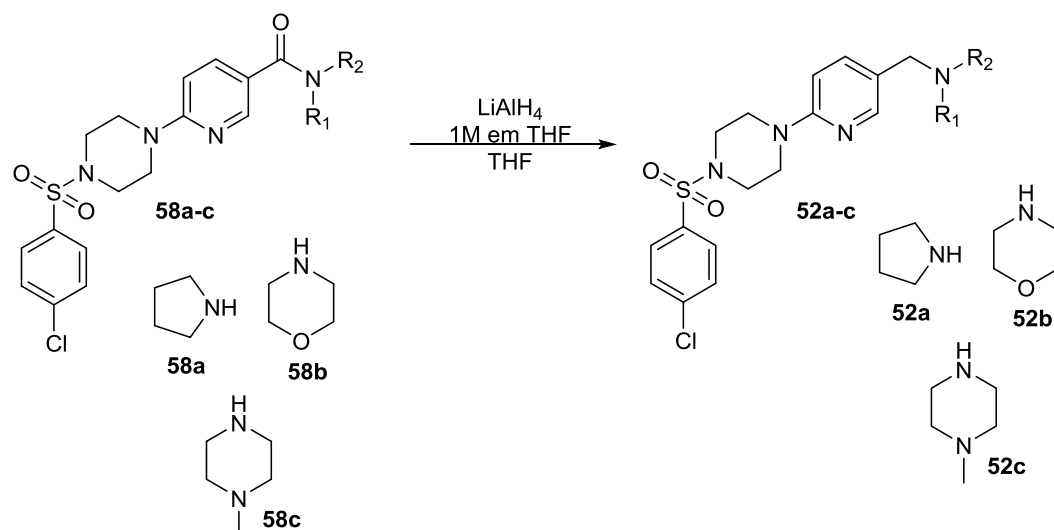


**(58c)** 138,0 mg, 57%, sólido branco. **RMN de  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ )**  $\delta$  8,25 (dd,  $J = 2,4, 0,8$  Hz, 1H), 7,72 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,61 (dd,  $J = 8,8, 2,4$  Hz, 1H), 7,53 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 6,60 (dd,  $J = 8,8, 0,8$  Hz, 1H), 3,75 (t,  $J = 5,1$  Hz, 4H), 3,66 (s, 4H), 3,13 (t,  $J = 5,1$  Hz, 4H), 2,45 (s, 4H), 2,34 (s, 3H). **RMN de  $^{13}C$  (101 MHz,  $CDCl_3$ )**  $\delta$  167,93, 158,20, 147,08, 139,24, 137,31, 133,54, 129,00, 128,61, 120,36, 105,56, 54,42, 45,39, 45,08, 43,87, 29,15. EM/IES  $[M + H]^+$  calculado para  $C_{21}H_{26}ClN_5O_3S^+$ : 464,1517. Encontrado: 464,1510. Erro: 1,50 ppm.



**(58d)** 133,0 mg, 83%, sólido branco. **RMN de  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ )**  $\delta$  8,56 (dd,  $J = 2,5, 0,7$  Hz, 1H), 7,93 (dd,  $J = 8,9, 2,5$  Hz, 1H), 7,72 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,53 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,37 – 7,30 (m, 5H), 6,59 (dd,  $J = 8,9, 0,7$  Hz, 1H), 4,63 (d,  $J = 5,7$  Hz, 2H), 3,77 (t,  $J = 5,1$  Hz, 4H), 3,12 (t,  $J = 5,1$  Hz, 4H). **RMN de  $^{13}C$  (101 MHz,  $CDCl_3$ )**  $\delta$  164,99, 158,93, 146,70, 139,25, 137,71, 136,60, 133,52, 129,01, 128,60, 128,25, 127,34, 127,10, 119,13, 105,31, 45,09, 43,76, 43,43. EM/IES  $[M + H]^+$  calculado para  $C_{23}H_{23}ClN_4O_3S^+$ : 471,1252. Encontrado: 471,1242. Erro: 2,12 ppm.

### 5.4.39. Procedimento geral D para preparação dos compostos 52a-c

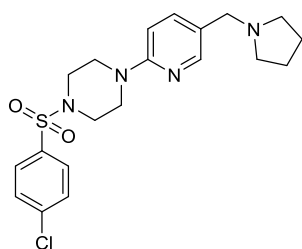


Em uma solução das amidas **58a-c** em tetraidrofurano, foi adicionado uma solução de  $\text{LiAlH}_4$  1M em THF a  $0^\circ\text{C}$  e sob atmosfera de argônio. A reação foi agitada a temperatura ambiente por 24 horas, em seguida foram adicionados 1 mL de água destilada, 1 mL de uma solução 15% de NaOH e 3 mL de água destilada para cada grama de  $\text{LiAlH}_4$ , respectivamente, a  $0^\circ\text{C}$  em agitação por 1 hora. O sólido foi filtrado em uma coluna de sílica com diclorometano. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida e triturado com MeOH e  $\text{H}_2\text{O}$ , em seguida o resíduo foi submetido a purificação por coluna cromatográfica *flash*. As quantidades dos reagentes e a mistura de eluente utilizada para a purificação dos produtos finais estão descritos na Tabela 19.

Tabela 22. Dados das reações de redução para obtenção dos compostos **52a-c**

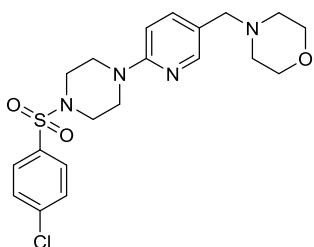
Produto	Amida			$\text{LiAlH}_4$ 1M em THF	THF	Mistura de eluente para coluna
n <sup>a</sup>	n <sup>a</sup>	mg	mmol	mmol	mL	
<b>52a</b>	<b>58a</b>	48,9	0,11	0,45	1,10	*
<b>52b</b>	<b>58b</b>	45,0	0,09	0,40	0,55	95% DCM 5%MeOH
<b>52c</b>	<b>58c</b>	103,0	0,26	1,00	2,00	*

<sup>a</sup>Numeração do composto; \*Não foi realizada coluna cromatográfica



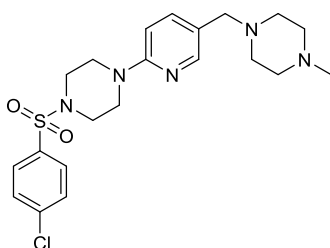
**(52a)** 15,2 mg, 33%, sólido amarelo. **RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  8,07 (d,  $J = 2,3$  Hz, 1H), 7,73 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,63 (dd,  $J = 8,6, 2,3$  Hz, 1H), 7,53 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,61 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H), 3,66 (t,  $J = 5,1$  Hz, 6H), 3,14 (t,  $J = 5,1$  Hz, 4H), 2,70 (s, 4H), 1,87

(s, 4H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  157,70, 147,96, 146,70, 139,13, 138,68, 133,62, 128,94, 128,63, 106,59, 56,08, 52,96, 45,20, 44,21, 29,15, 22,72. EM/IES  $[\text{M} + \text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}^+$ : 435,1252. Encontrado: 435,1232. Erro: 4,59 ppm.



**(52b)** 5,9 mg, 14%, sólido branco. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  8,07 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H), 7,73 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H), 7,53 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 6,60 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H), 3,70 (d,  $J = 6,1$  Hz, 6H), 3,66 (t,  $J = 5,0$  Hz, 4H), 3,41 (s, 2H), 3,15 (t,  $J = 5,0$  Hz, 4H), 2,44 (s, 4H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  157,63, 148,08,

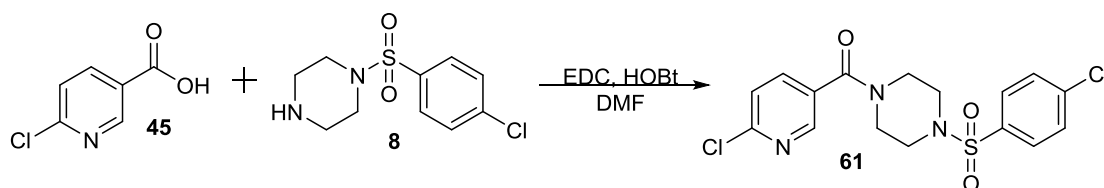
146,73, 139,11, 138,53, 137,07, 133,66, 128,93, 128,64, 127,26, 106,46, 66,29, 59,42, 52,76, 45,24, 44,32. EM/IES  $[\text{M} + \text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}^+$ : 437,1408. Encontrado: 437,1408. Erro: 0,00 ppm.



**(52c)** 70,0 mg, 71%, sólido branco. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  8,06 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H), 7,73 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,53 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 7,48 (dd,  $J = 8,6, 2,4$  Hz, 1H), 6,59 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H), 3,65 (t,  $J = 5,1$  Hz, 4H), 3,40 (s, 2H), 3,14 (t,  $J = 5,1$  Hz, 5H), 2,48 (s, 8H), 2,32 (s, 3H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**

$\delta$  157,54, 148,02, 139,10, 138,48, 133,66, 128,93, 128,64, 122,45, 106,41, 58,95, 54,38, 51,99, 44,36, 29,14. EM/IES  $[\text{M} + \text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{ClN}_5\text{O}_2\text{S}^+$ : 450,1725. Encontrado: 450,1724. Erro: 0,22 ppm.

#### 5.4.40. Preparação do intermediário 58

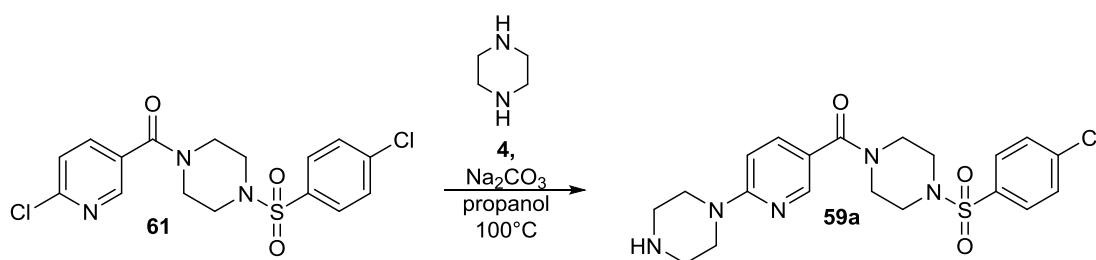


Em uma solução do ácido *p*-cloronicotínico **45** (206 mg, 0,34 mmol) em dimetilformamida (1,5 mL), foram adicionados EDC (267 mg, 1,39 mmol), HOBt (12,0 mg, 0,087 mmol) e a sulfonamida **8** (228 mg, 0,87 mmol). A reação foi agitada a temperatura ambiente com o recipiente fechado por 22 horas com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1), em seguida foi tratada com água destilada, o sólido formado foi filtrado e recolhido com 20mL de DCM. Em seguida, foi feita uma extração básica utilizando 10mL de

solução saturada de carbonato de sódio, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida, levando a obtenção de **61**.

**(61)** 219 mg, 60%, sólido branco. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  8,39 (dd,  $J = 2,4, 0,8$  Hz, 1H), 7,73 – 7,66 (m, 3H), 7,56 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,41 (dd,  $J = 8,6, 0,8$  Hz, 1H), 3,93 – 3,54 (m, 4H), 3,08 (s, 4H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  166,26, 152,71, 147,57, 139,60, 137,45, 133,26, 129,22, 128,55, 124,00, 45,40. EM/IES  $[\text{M} + \text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{S}^+$ : 400,0283. Encontrado: 400,0287. Erro: -0,99 ppm.

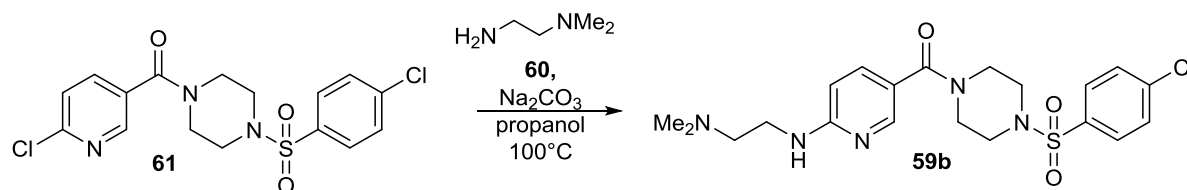
#### 5.4.41. Preparação do composto **59a**



Em uma solução do intermediário **61** (104 mg, 0,26 mmol) e carbonato de sódio (83 mg, 0,78 mmol) em propanol (2,5 mL), a piperazina **4** (67 mg, 0,78 mmol) foi adicionada. A reação foi agitada a  $100^\circ\text{C}$  e refluxo por 22 horas com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1), em seguida foi resfriada, concentrada sob pressão reduzida e extraída com acetato de etila (3 x 15 mL) e 10mL de água destilada, a fase orgânica foi se a com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida, levando a obtenção de **59a**.

**(59a)** 65 mg, 57%, sólido branco. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  8,17 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H), 7,68 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,63 – 7,40 (m, 3H), 6,59 (d,  $J = 8,9$  Hz, 1H), 3,74 (t,  $J = 5,0$  Hz, 4H), 3,58 (t,  $J = 5,2$  Hz, 4H), 3,04 (t,  $J = 5,0$  Hz, 4H), 2,96 (t,  $J = 5,2$  Hz, 4H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  168,57, 159,35, 147,33, 139,42, 137,23, 133,29, 129,12, 128,56, 117,91, 105,30, 45,55, 45,32, 45,29. EM/IES  $[\text{M} + \text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{ClN}_5\text{O}_3\text{S}^+$ : 450,1361. Encontrado: 450,1360. Erro: 0,22 ppm.

#### 5.4.42. Preparação do análogo 59b



Em uma solução do intermediário **61** (102,0 mg, 0,26 mmol) e carbonato de sódio (111,0 mg, 1,4 mmol) em propanol (2,5 mL), a amina **60** (137,5 mg, 1,56 mmol) foi adicionada. A reação foi agitada a 100°C e refluxo por 18 horas com acompanhamento por CCD (DCM:MeOH, 9:1), depois a temperatura foi reduzida para 80°C por mais 16 horas. Em seguida, a reação foi resfriada, o solvente foi concentrado sob pressão reduzida e foi adicionada água destilada formando um sólido que foi filtrado e recolhido com DCM. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi submetido a purificação por coluna cromatográfica *flash* utilizando uma mistura 90% de diclorometano e 10% metanol, levando a obtenção de **59b**.

**(59b)** 47,8 mg, 41%, sólido branco. **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  8,13 (dd,  $J = 2,4, 0,8$  Hz, 1H), 7,70 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,55 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,46 (dd,  $J = 8,7, 2,4$  Hz, 1H), 6,44 (dd,  $J = 8,7, 0,8$  Hz, 1H), 3,75 (t,  $J = 5,0$  Hz, 4H), 3,49 (q,  $J = 5,4$  Hz, 2H), 3,05 (t,  $J = 5,0$  Hz, 4H), 2,69 (t,  $J = 5,4$  Hz, 2H), 2,39 (s, 6H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  168,73, 158,83, 147,70, 139,42, 136,72, 133,29, 129,13, 128,57, 118,08, 107,05, 57,23, 45,55, 44,32, 37,94. EM/IES  $[\text{M} + \text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{ClN}_5\text{O}_3\text{S}^+$ : 452,1517. Encontrado: 452,1518. Erro: -0,22 ppm.

## **5.5. Procedimento Experimental (Biológico)**

### **5.5.1. Ensaio in vitro da $\beta$ -galactosidase das formas amastigotas e tripomastigotas de *T.cruzi* (cepa Tulahuen lacZ C4)**

#### **5.5.1.1. Manutenção de células para plaqueamento**

Os experimentos foram realizados conforme protocolo descrito por Buckner (1996) modificado. Culturas de células NTCT clone 929 (L929) (ATCC CCL 1) de tecido conectivo de camundongo, em meio RPMI 1640 com vermelho de fenol e suplementado com SBF 10% e glutamina 2mM, foram semeadas em garrafas de 25cm<sup>2</sup>, 150.000 células, ou garrafas de 75cm<sup>2</sup>, 450.000 células.

As culturas foram incubadas em estufa 37°C 5% CO<sub>2</sub>. Culturas em garrafas de 25cm<sup>2</sup> ou 75cm<sup>2</sup> foram infectadas após um período de aproximadamente 24 horas com formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* da cepa Tulahuen transformada para expressar o gene da  $\beta$ -galactosidase, 20 parasitas por célula. Os parasitas que não penetraram foram retirados por lavagem após 24h, e a cultura foi incubada em estufa 37°C 5% CO<sub>2</sub>.

#### **5.5.1.2. Plaqueamento das células, infecção e tratamento**

Para o teste de atividade anti *T. cruzi*, uma placa de 96 poços foi semeada com 4.000 células NTCT clone 929 (L929) (ATCC CCL 1) de tecido conectivo de camundongo em 80  $\mu$ l por poço de RPMI com vermelho fenol e suplementado. A placa foi incubada “overnight” em estufa a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. As células foram infectadas com 40.000 tripomastigotas por poço, diluídos em 20  $\mu$ l de RPMI com vermelho fenol suplementado. A placa foi incubada por 2 horas a 37°C 5% CO<sub>2</sub> e os parasitas que não penetraram foram retirados por substituição com 200  $\mu$ l por poço de RPMI sem vermelho de fenol e suplementado.

A placa foi novamente incubada a 37°C e 5% CO<sub>2</sub> por 48 horas para o estabelecimento da infecção. Após 48 horas, o meio de cultura foi trocado por 180 de RPMI sem vermelho de fenol suplementado e 20  $\mu$ l do composto a ser testado. Compostos pré-diluídos em DMSO tiveram uma concentração máxima de 10% de DMSO na solução-estoque.

A adição dos compostos à placa foi realizada da seguinte forma: 180 µl de RPMI suplementado e sem vermelho de fenol foram adicionados a cada poço; a seguir, 20 µl dos compostos solubilizados em água ou meio foram adicionados e foi realizada a homogeneização com a pipeta (determinação IC<sub>50</sub>) ou agitador de placas (triagem). Desta forma, a concentração final dos compostos pós-diluição no meio foi de 1 a 80 µg/ml.

A placa foi incubada em estufa a 37°C e 5% CO<sub>2</sub> por 96 horas. Após esse período, foram adicionados 50 µl por poço do substrato CPRG 500 µM com nonidet p40 0,5% e a leitura da placa foi realizada 16 a 20 horas após a adição do substrato, em leitor de ELISA com filtro de 570nm.

Adicionalmente, foram utilizados os seguintes controles em cada placa: culturas de células não infectadas por parasitas e sem adição de compostos, culturas de células infectadas pelo parasita sem adição de compostos, culturas de células infectadas pelo parasita e tratadas com Benznidazol a 1 µg/ml, culturas de células infectadas pelo parasita tratadas com DMSO 1%. A análise foi realizada considerando a redução do desenvolvimento da infecção estabelecida, promovida pelo composto testado, em relação ao cultivo de células infectadas pelo parasita na ausência de compostos.

## **5.5.2. Ensaio alamarBlue<sup>®</sup>**

### **5.5.2.1. Manutenção de células para plaqueamento**

Os experimentos foram realizados utilizando-se culturas de células NTCT clone 929 (L929) (ATCC CCL 1) de tecido conectivo de camundongo, em meio RPMI 1640 com vermelho de fenol e suplementado com SBF 10% e glutamina 2mM. Para a manutenção, as células foram semeadas em garrafas de 25cm<sup>2</sup>, 150.000 células, ou garrafas de 75cm<sup>2</sup>, 450.000 células.

### **5.5.2.2. Plaqueamento das células e tratamento**

A placa de 96 poços foi semeada com 4.000 células em 200 µl por poço de RPMI com vermelho fenol e suplementado e a placa foi incubada em estufa a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub> por 72 horas. Após incubação por 72 horas a 37°C o meio de cultura foi substituído pelas soluções dos compostos que apresentaram um IC<sub>50</sub> sobre o parasita igual ou maior que o Benznidazol



no ensaio da  $\beta$ -galactosidase em concentrações entre 78 a 200  $\mu\text{g/ml}$ . Os compostos foram diluídos num volume final de 200  $\mu\text{l}$  em RPMI-1640 sem vermelho de fenol e suplementado com 10% de soro fetal bovino e 2 mM de glutamina;

A placa foi incubada em estufa a 37°C e 5%  $\text{CO}_2$  por 96 horas. Foram adicionados 20  $\mu\text{L}$  de alamarBlue<sup>®</sup> por poço, a placa foi incubada por 4 a 6 h e a leitura foi realizada a 570 e 600 nm. Controle com células não tratadas foi utilizado em paralelo. Os resultados foram expressos como a diferença na porcentagem de redução entre células tratadas (CT) e células não tratadas (CNT), através da seguinte equação:

$$\frac{(117,216) (Abs_{570} \text{ CT}) - (80,586) (Abs_{600} \text{ CT})}{(117,216) (Abs_{570} \text{ CNT}) - (80,586) (Abs_{600} \text{ CNT})} \times 100$$

## 6. Referências

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

ABDEL-MAGID, A. F.; MARYANOFF, C. A. Reductive amination of aldehydes and ketones with weakly basic anilines using sodium triacetoxyborohydride. **Synlett**, v. 1990,n.9,p.537-539,1990. <https://doi.org/10.1055/s-1990-21991>

AGÊNCIA FIOCRUZ, disponível em <https://agencia.fiocruz.br/doença-de-chagas>, acesso em 13 de fevereiro de 2021.

BAXTER, A. et al. Hit-to-Lead studies: The discovery of potent, orally bioavailable thiazolopyrimidine CXCR2 receptor antagonists. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**.v.16,p.960-963,2006.<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.10.091>

BHUNIA, S.; KUMAR, S. V.; MA, D. N,N'-Bisoxalamides enhance the catalytic activity in Cu-catalyzed coupling of (hetero)aryl bromides with anilines and secondary amines. **Journal of Organic Chemistry**, v. 82, n. 23, p. 12603-12612, 2017. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b02363>

COURA, J. R.; DE CASTRO, S. L. A critical review on chagas disease chemotherapy. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 1, p. 3-24, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000100001>

DNDi, disponível em <https://www.dndi.org/diseases-projects/chagas/>, acesso em: 13 de fevereiro de 2021.

FDA, disponível em <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-us-treatment-chagas-disease>, acesso em 13 de fevereiro de 2021.

HARRISON, J. R. et al.; Discovery and optimization of a compound series active against *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas Disease. **Jornal of Medicinal Chemistry**, v. 63, n. 6, p. 3066 - 3089, 2020.

HEPPERLE, M. et al. Mono N-arylation of piperazine(III): metal-catalyzed N-arylation and its application to the novel preparations of the antifungal posaconazole and its advanced intermediate. **Tetrahedron Letters**, v. 43, n. 18, p. 3359-3363, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(02\)00556-7](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(02)00556-7)

HERAVI, M. M. et al. Buchwald-Hartwig reaction: An overview. **Journal of Organometallic Chemistry**, v.861, p. 17-104, 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2018.02.023>

HOHMANN, A. F. et al. Sensitivity and engineered resistance of myeloid leukemia cells to BRD9 inhibition. **Nature Chemical Biology**, v. 12, n. 9, p. 672-679, 2016. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2115>

LIDANI, K.C.F. et al.; Chagas Disease: from discovery to a worldwide health problem. **Frontiers in Public Health**, v. 7, n. 166, p. 1 - 13, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.00166>

MINISTÉRIO DE SAÚDE. Boletim epidemiológico. Chagas aguda no Brasil: série histórica de 2000 a 2013. Secretaria de Vigilância em saúde, v. 46, n. 2358-9450, p. 1-9, 2015.

PAUCAR, R.; MORENO-VIGURI, E.; PÉREZ-SILANES, S. Challenges in Chagas Disease drug discovery: A review. **Current Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 28, p. 3154-3170, 2016. <https://doi.org/10.2174/0929867323999160625124424>

PEÑA, I. et al. New compound sets identified from high throughput phenotypic screening against three kinetoplastid parasites: An open resource. **Scientific Reports**, v. 5, 2015. <https://doi.org/10.1038/srep08771>

SURRY, D. S.; BUCHWALD, S. L. Dialkylbiaryl phosphines in Pd-catalyzed amination: A user's guide. **Chemical Science**, v. 2, n. 1, p. 27-50, 2011. <https://doi.org/10.1039/C0SC00331J>

URBINA, J. A. Chemotherapy of Chagas' disease: The how and the why. **Journal of Molecular Medicine**, v. 77, n. 3, p. 332-338, 1999. <https://doi.org/10.1007/s001090050359>

WENLOCK, M. C. A comparison of physiochemical property profiles of development and marketed oral drugs. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 46, p. 1250 - 1256, 2003. <https://doi.org/10.1021/jm021053p>

WU, H. et al. Iterative design of a biomimetic catalyst for amino acid thioester condensation. **Organic Letters**, v. 19, n. 19, p. 5122-5125, 2017. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.7b02412>

WUNBERG, T. et al. Improving the hit-to-lead process: data-driven assessment of drug-like and lead-like screening hits. **Drug Discovery Today**. v. 11, n. 3/4, p. 175 - 180, 2006. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(05\)03700-1](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(05)03700-1)

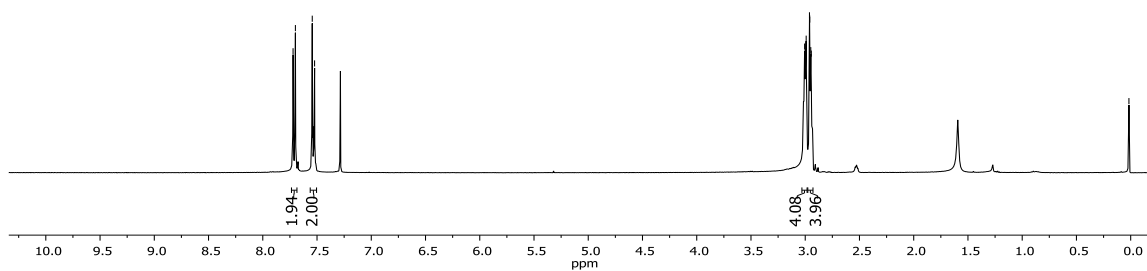
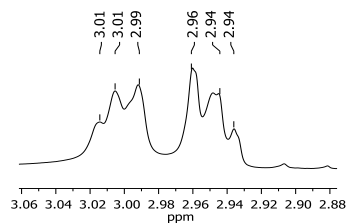
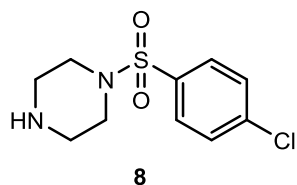
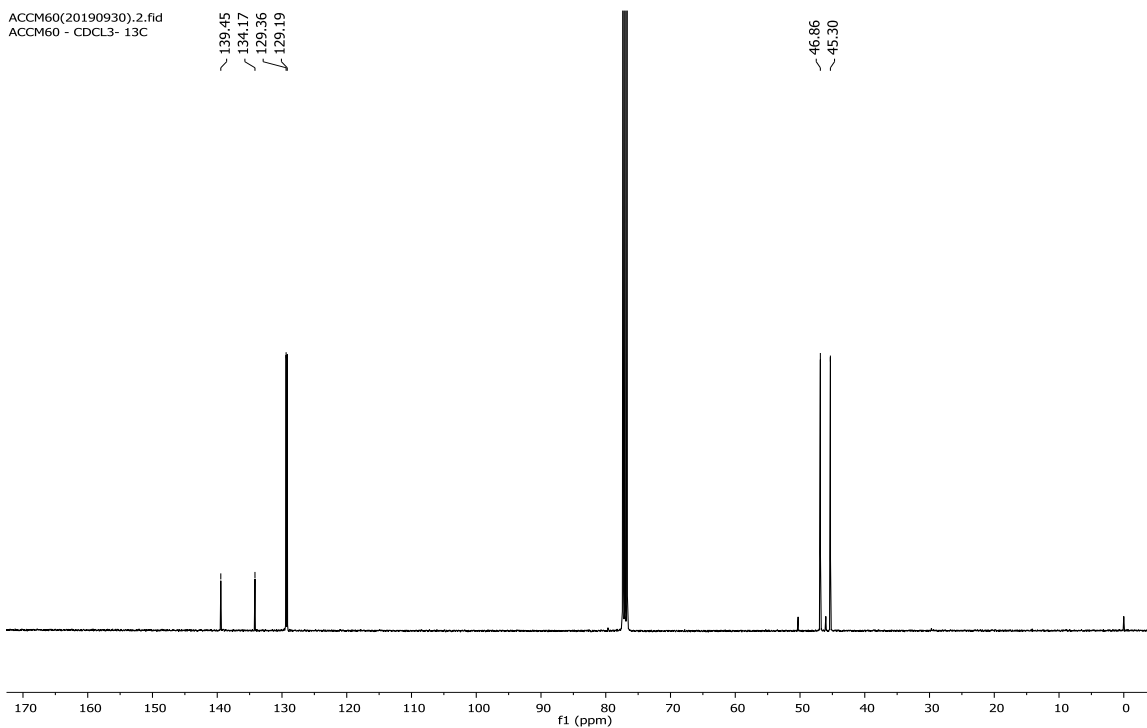
YANG, L. et al. Lewis acid-catalyzed reductive amination of aldehydes and ketones with N,N-dimethylformamide as dimethylamino source, reductant and solvent. **Advanced Synthesis and Catalysis**, v. 360, n. 3, p. 485-490, 2018. <https://doi.org/10.1002/adsc.201701221>

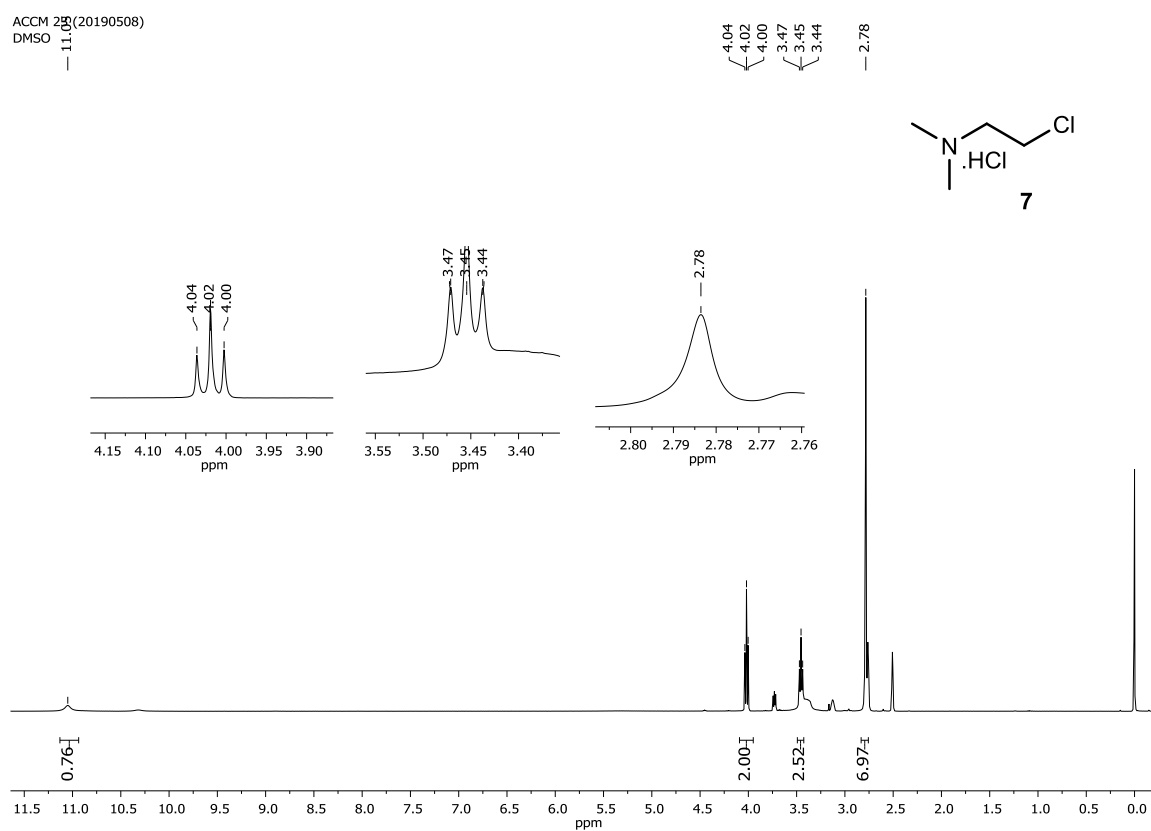
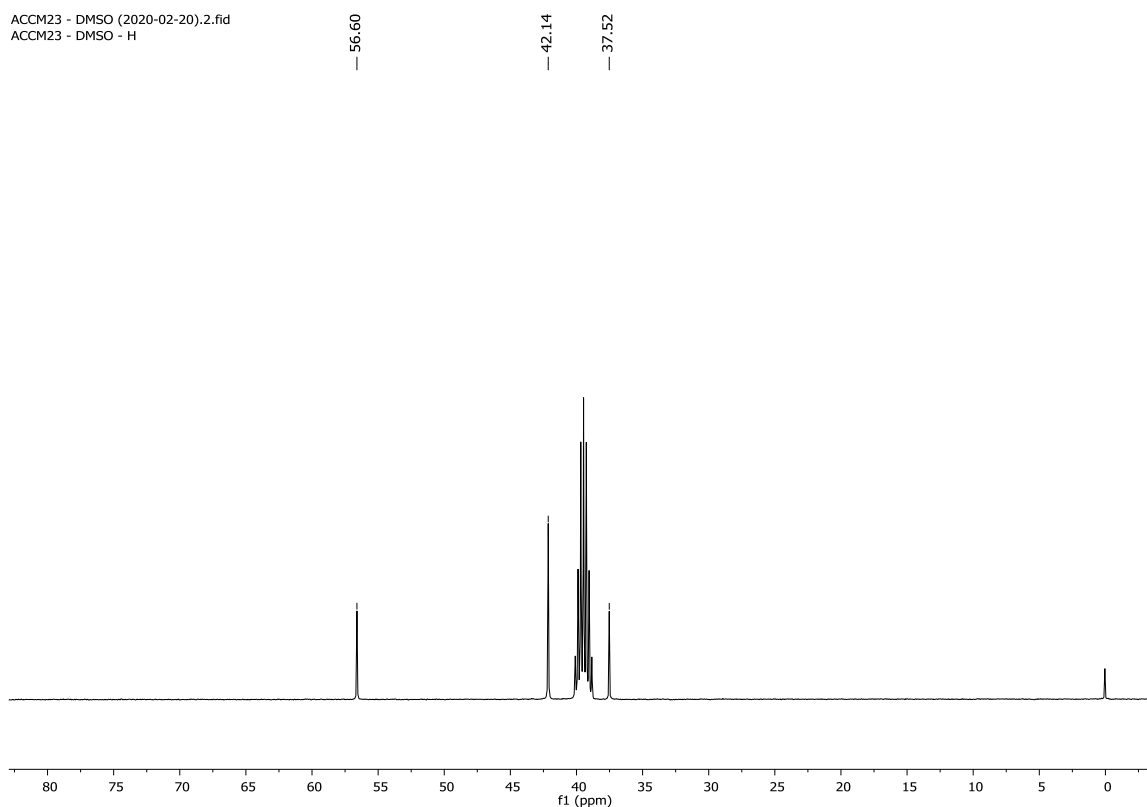
ZALESSKIY, S. S.; ANANIKOV, V. P. Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> as a precursor of soluble metal complexes and nanoparticles : Determination of palladium active species for catalysis and synthesis. **Organometallics** v. 2, n.31, p. 2302-2309, 2012. <https://doi.org/10.1021/om201217r>

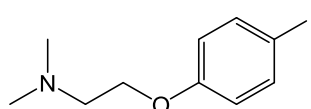
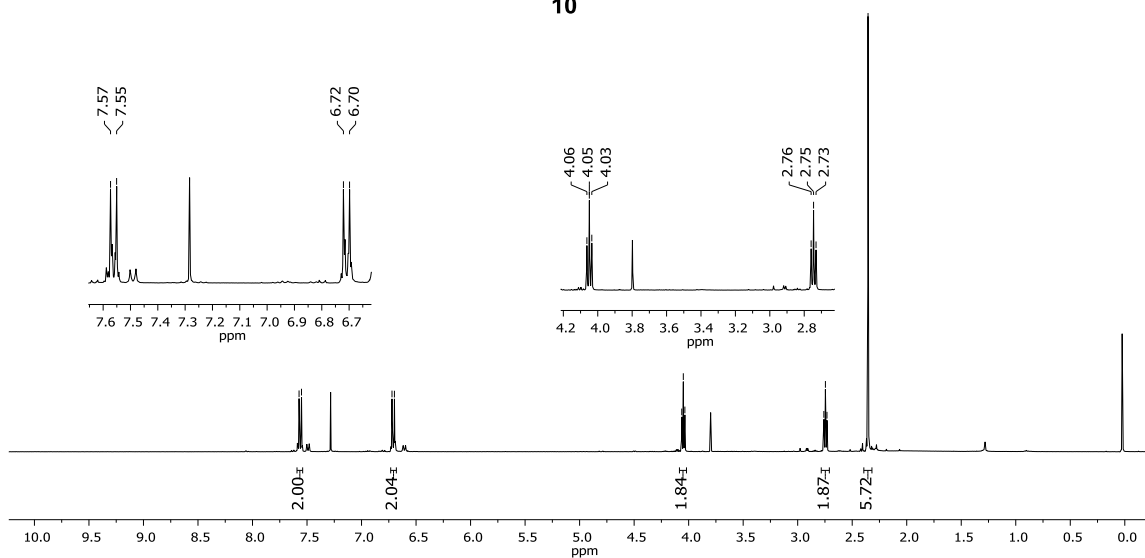
## 7. Anexos

Anexo 1. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **8**.ACCM60(20190930).1.fid  
ACCM60 -  $\text{CDCl}_3$ 7.72  
7.70  
7.54  
7.523.01  
3.00  
2.99  
2.96  
2.95  
2.94

- 0.02

Anexo 2. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **8**.ACCM60(20190930).2.fid  
ACCM60 -  $\text{CDCl}_3$ -  $^{13}\text{C}$ 139.45  
134.17  
129.36  
129.1946.86  
45.30

Anexo 3. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO-d $_6$ ) do composto **7**.Anexo 4. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz, DMSO-d $_6$ ) do composto **7**.

Anexo 5. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **10**.ACCM88 -  $\text{CDCl}_3$  (06MAR20).1.fid  
ACCM88 -  $\text{CDCl}_3$  - H7.57  
7.556.72  
6.704.06  
4.05  
4.032.76  
2.75  
2.73  
— 2.35**10**Anexo 6. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **10**.ACCM88 -  $\text{CDCl}_3$  (06MAR20).2.fid  
ACCM88 -  $\text{CDCl}_3$  - H

156.33

137.65

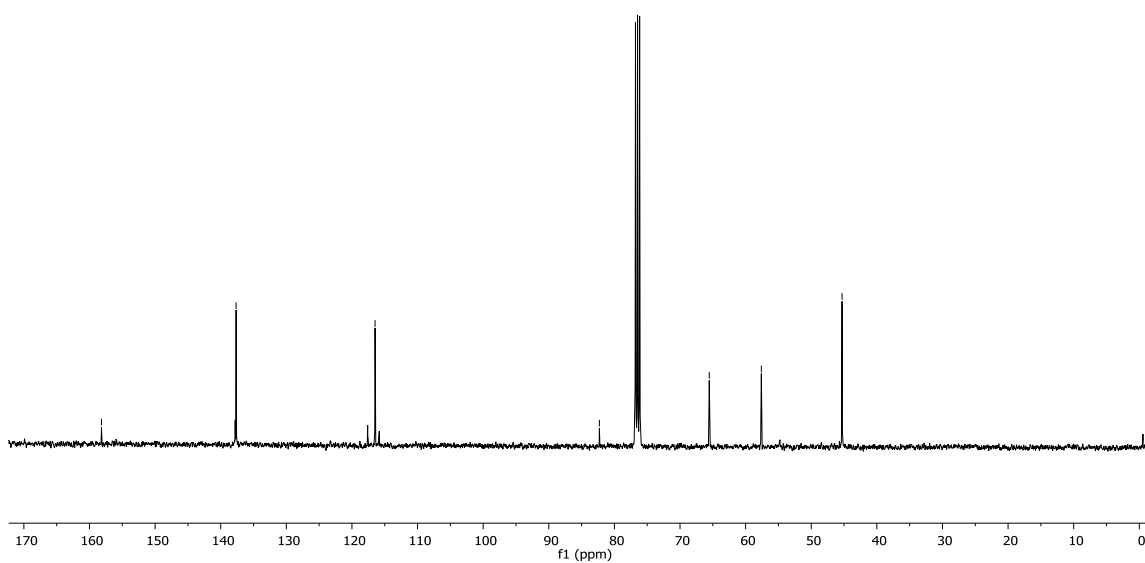
116.47

82.29

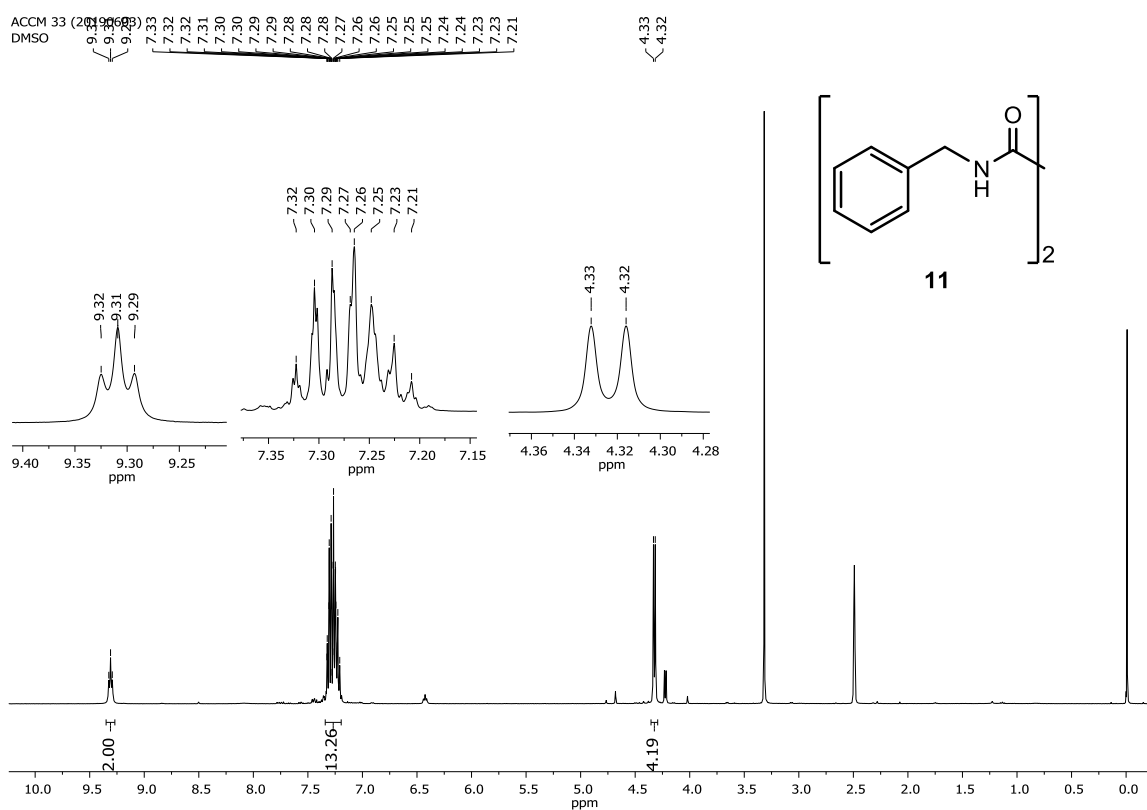
65.54

57.61

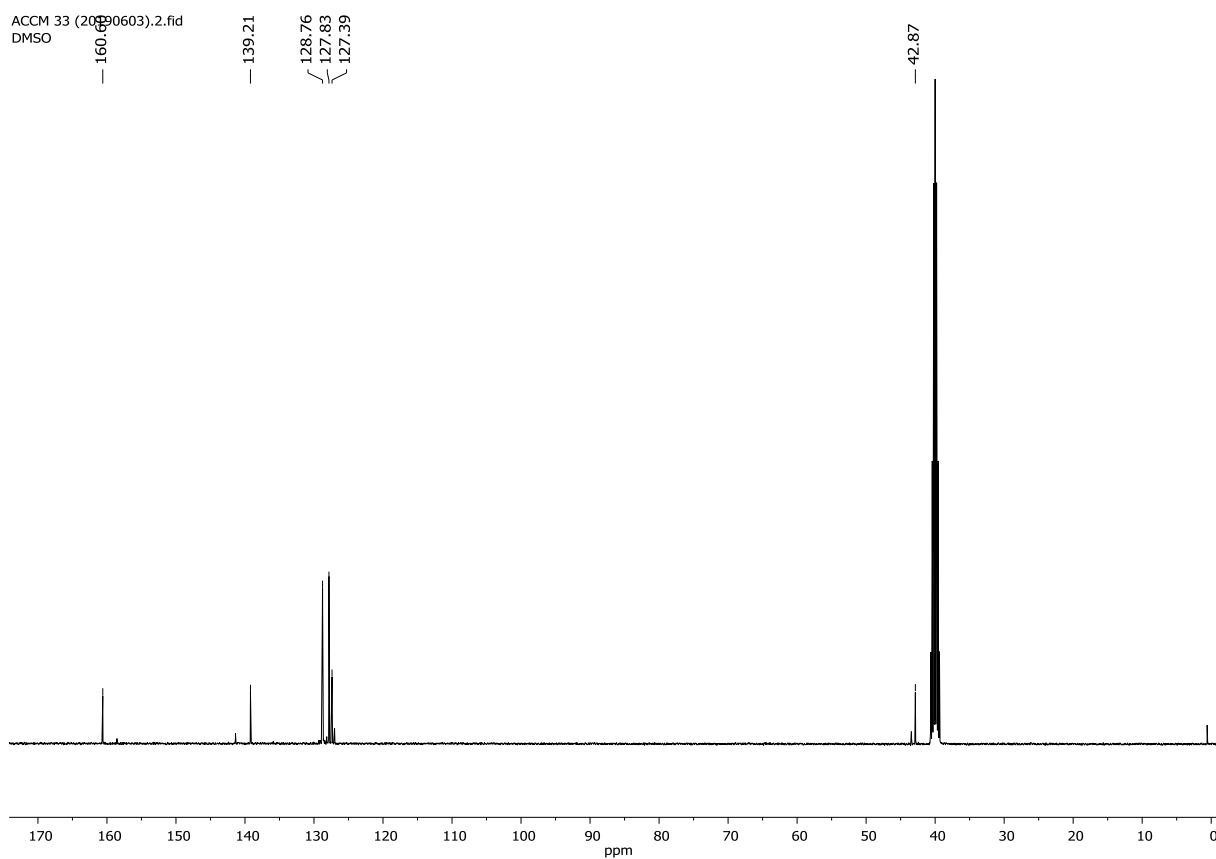
45.30



Anexo 7. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) do composto **11**.



Anexo 8. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) do composto **11**.



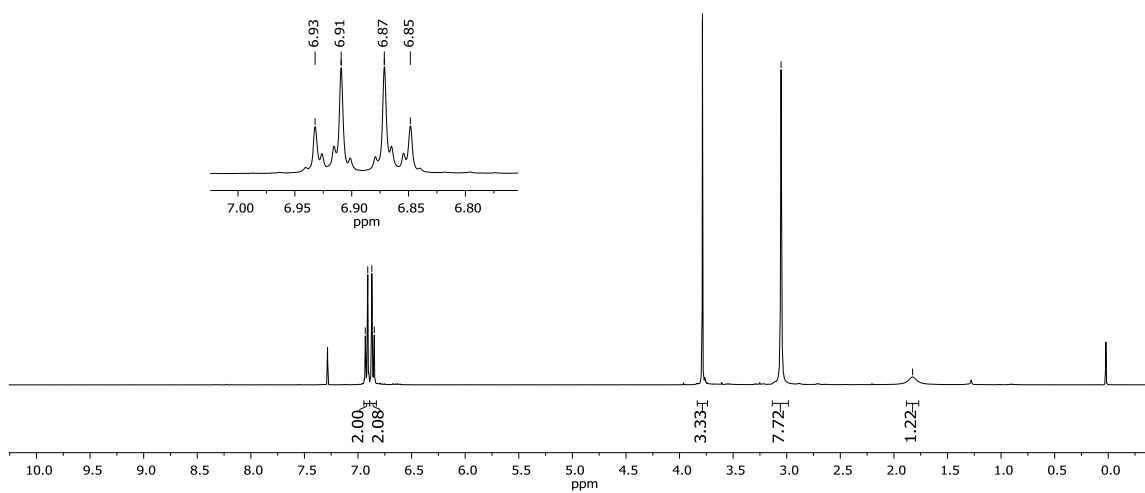
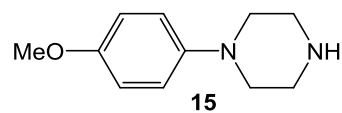


Anexo 9. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **15**.ACCM 36 A (20190709)  
ACCM 36 -  $\text{CDCl}_3$ 6.93  
6.91  
6.87  
6.85

3.79

3.05

1.83

Anexo 10. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **15**.ACCM 36A (20190717), 248  
ACCM 36A -  $\text{CDCl}_3$ 

153.33

145.76

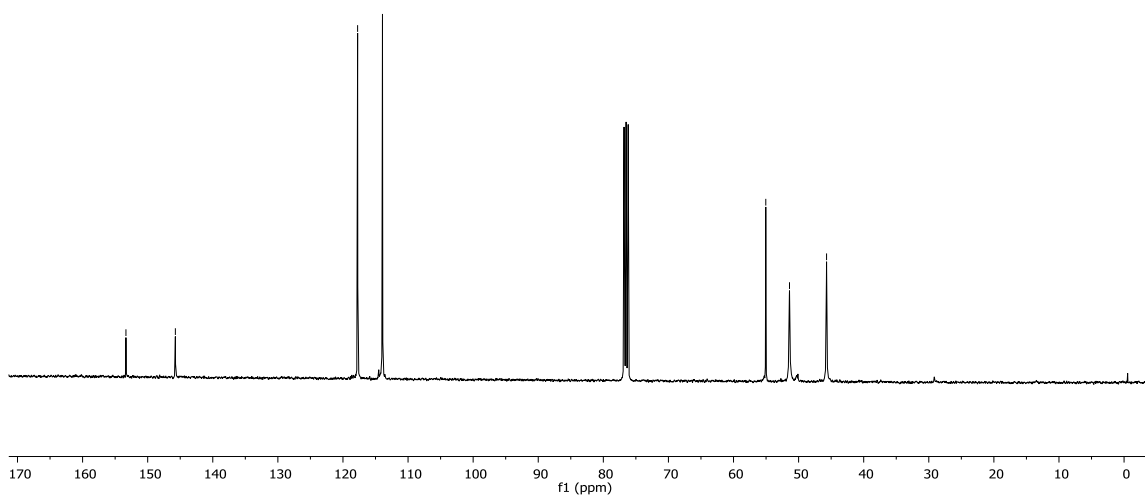
117.75

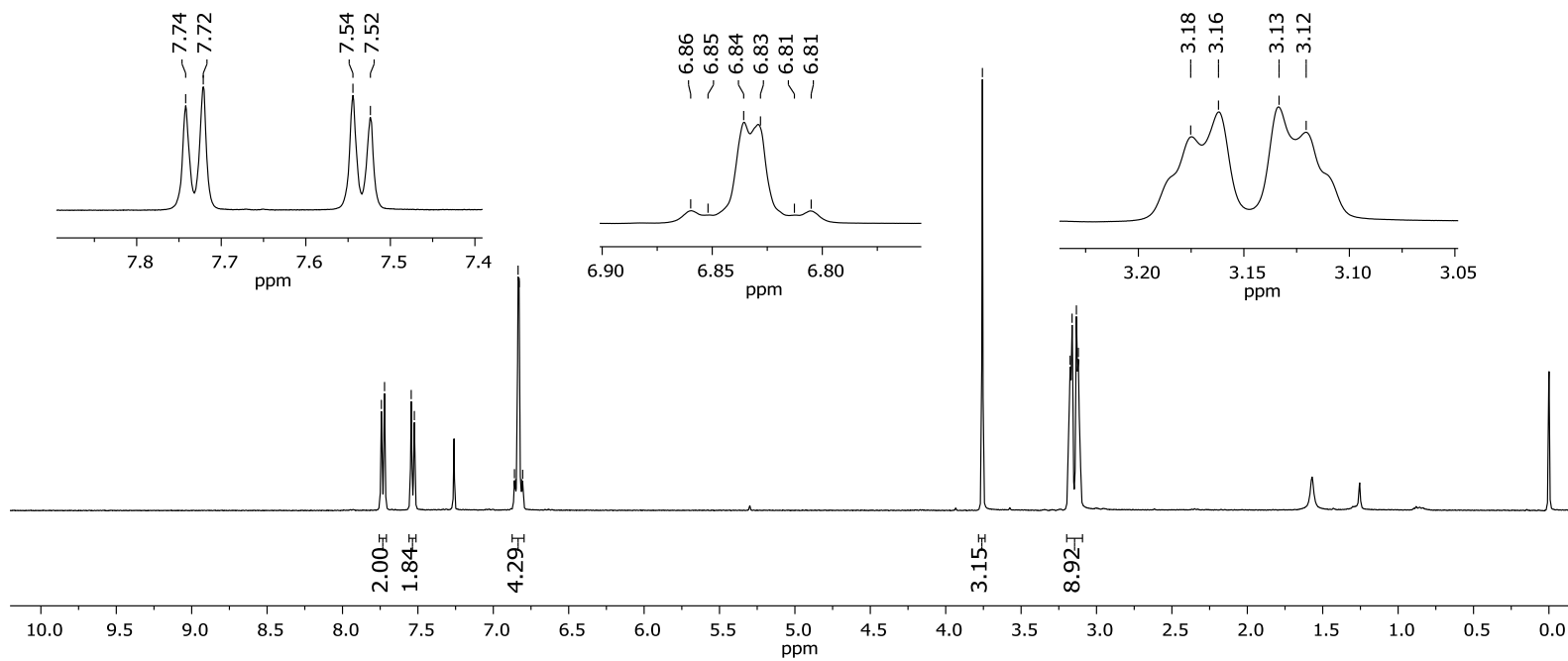
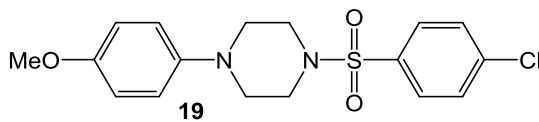
113.93

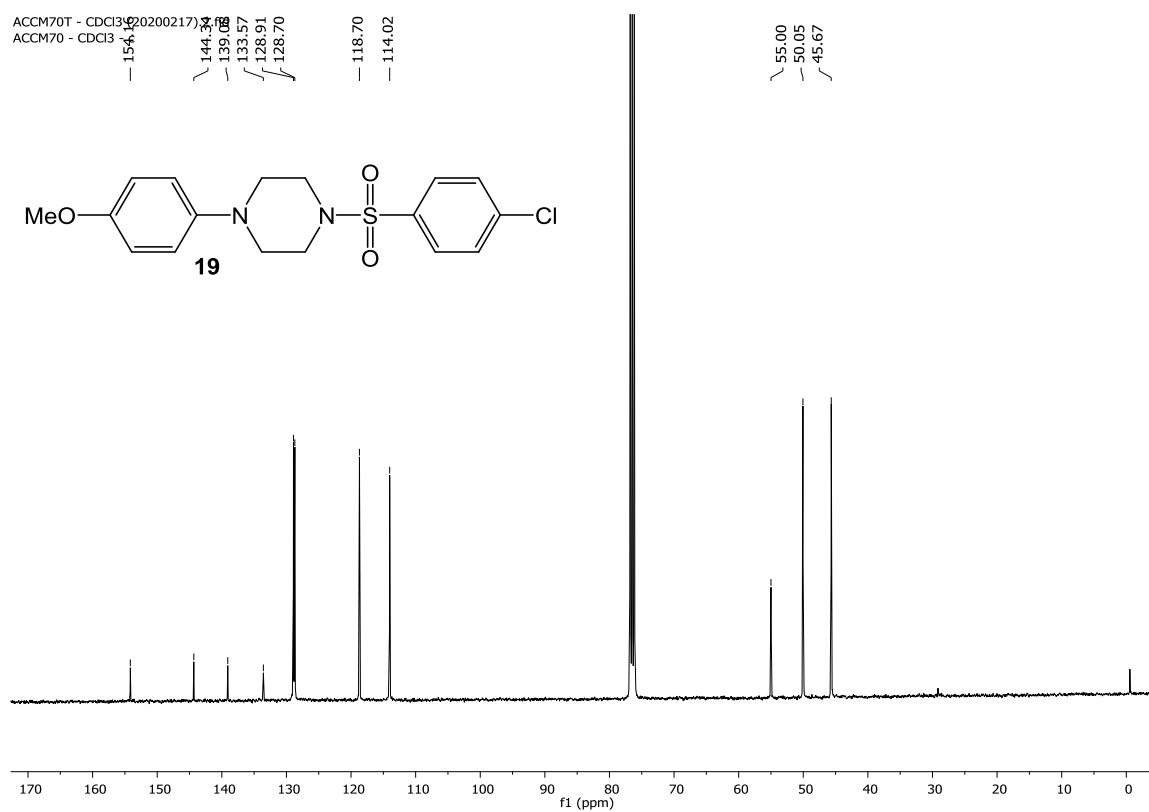
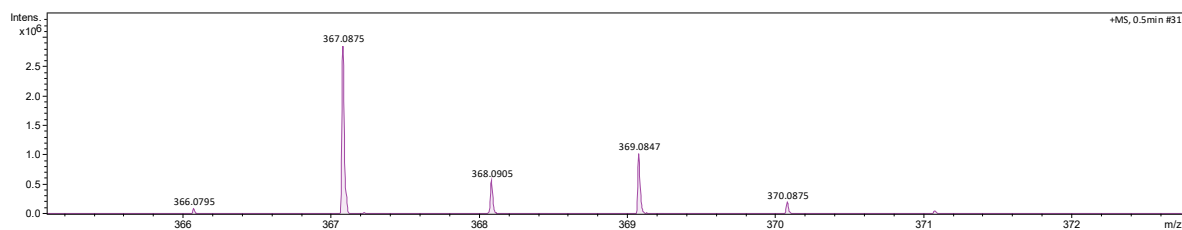
55.04

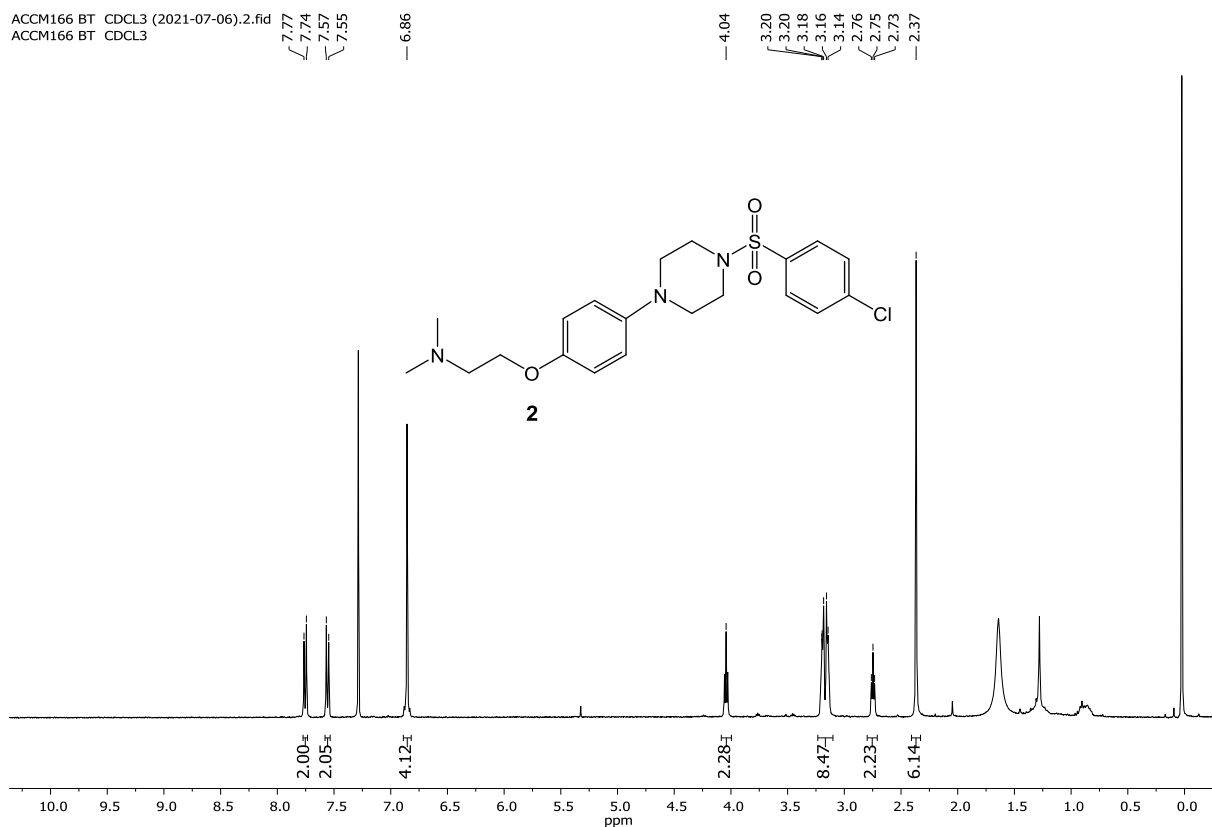
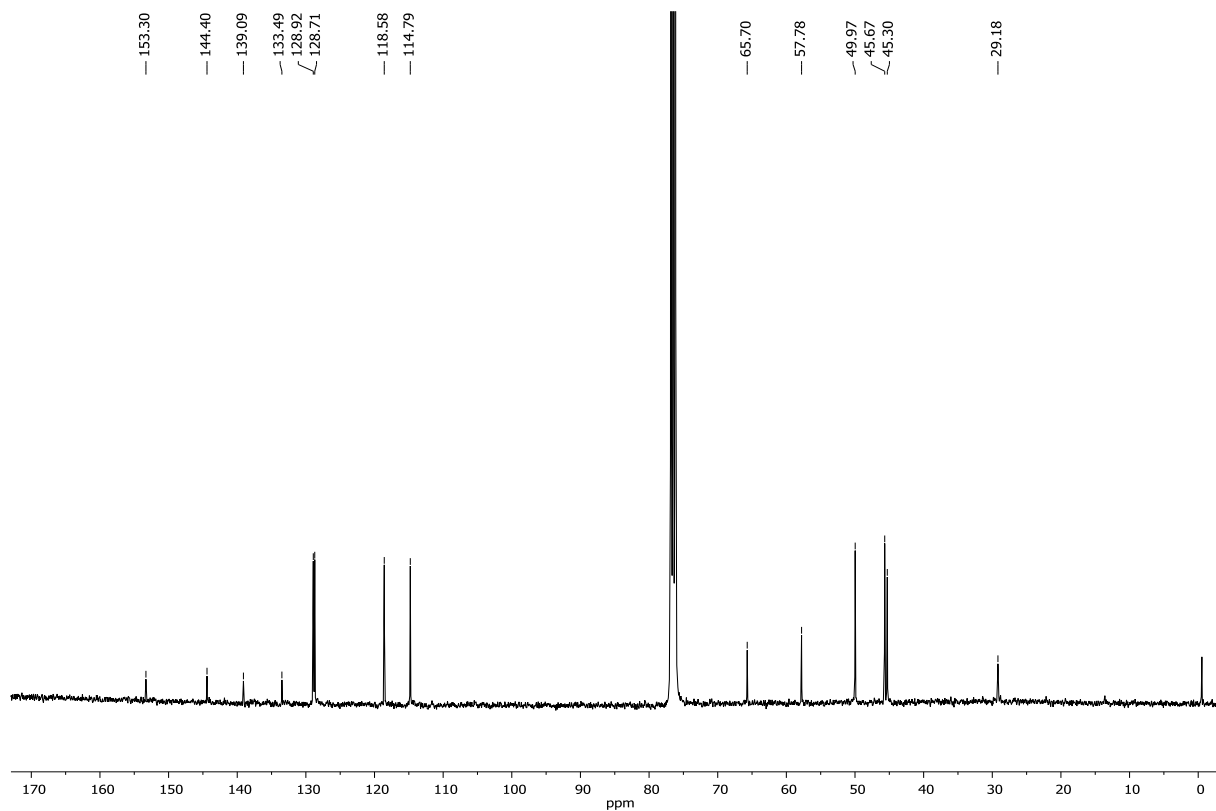
51.40

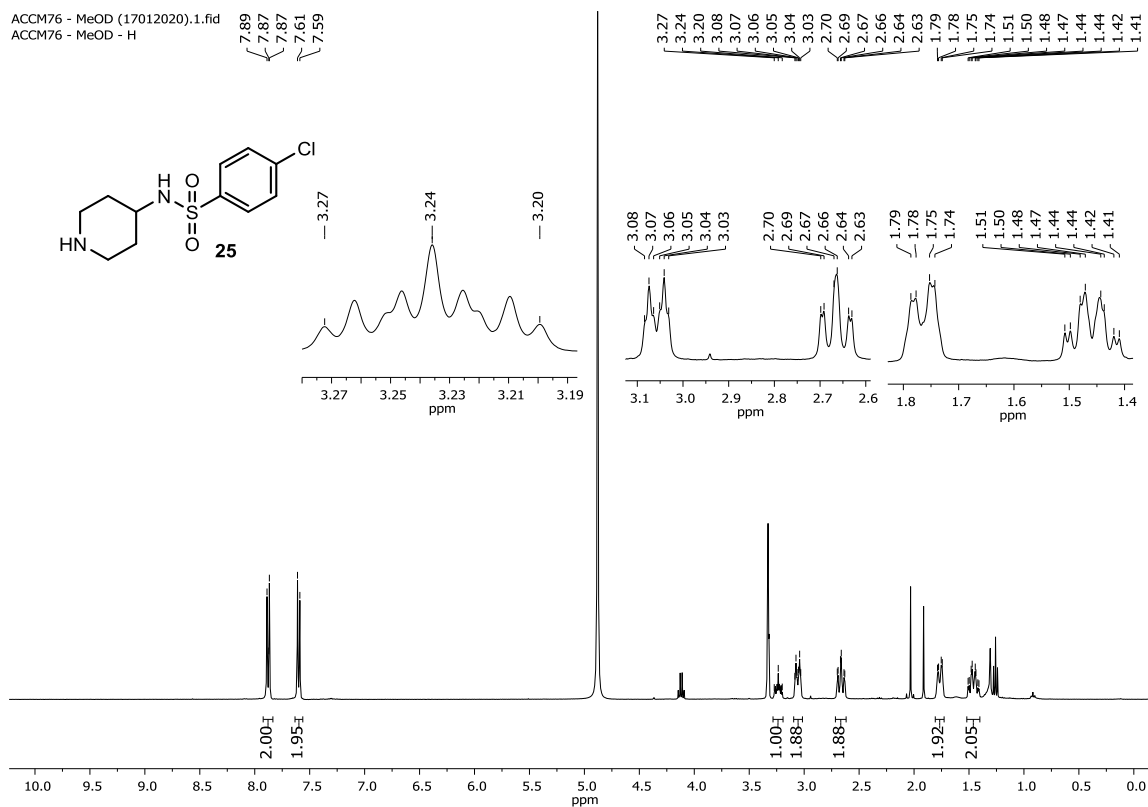
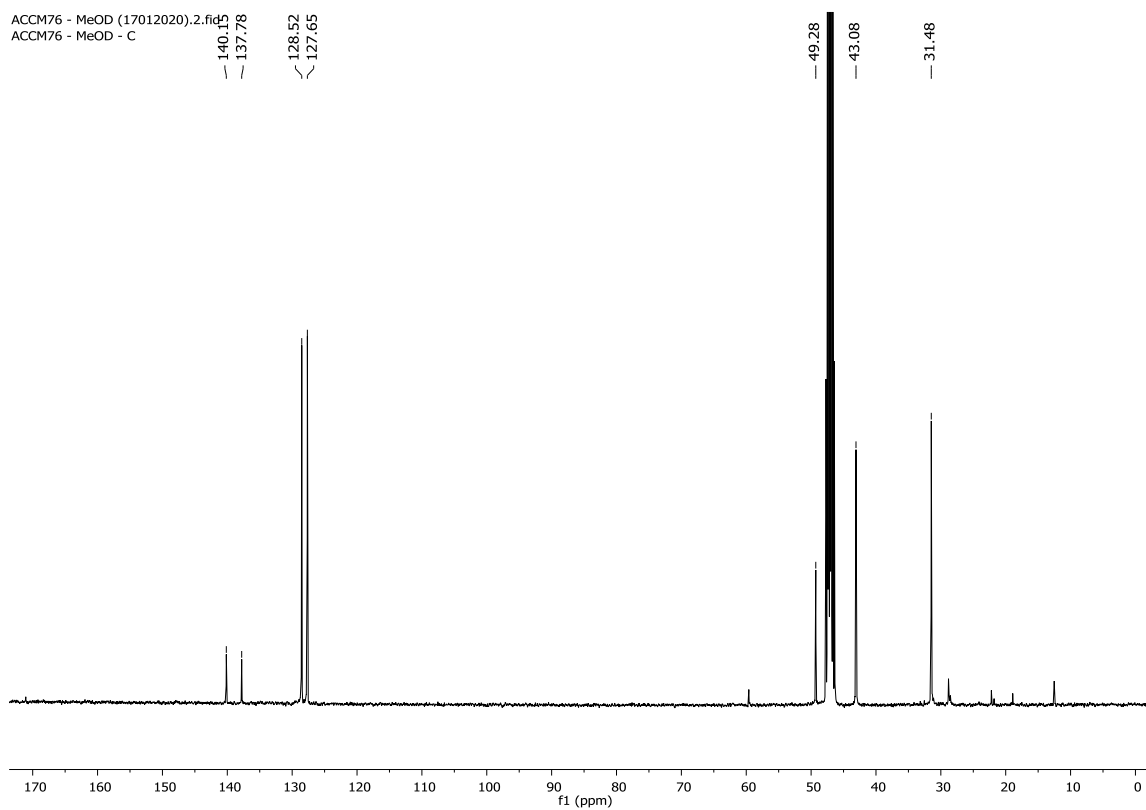
45.71

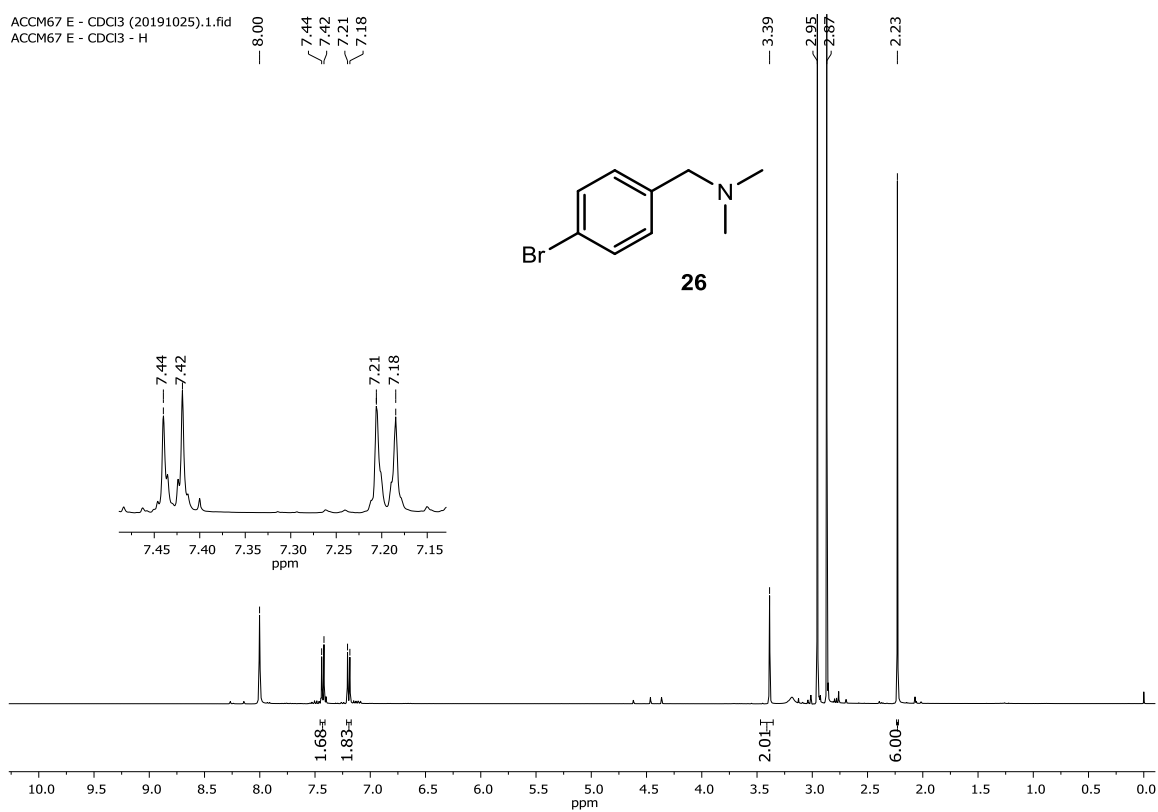
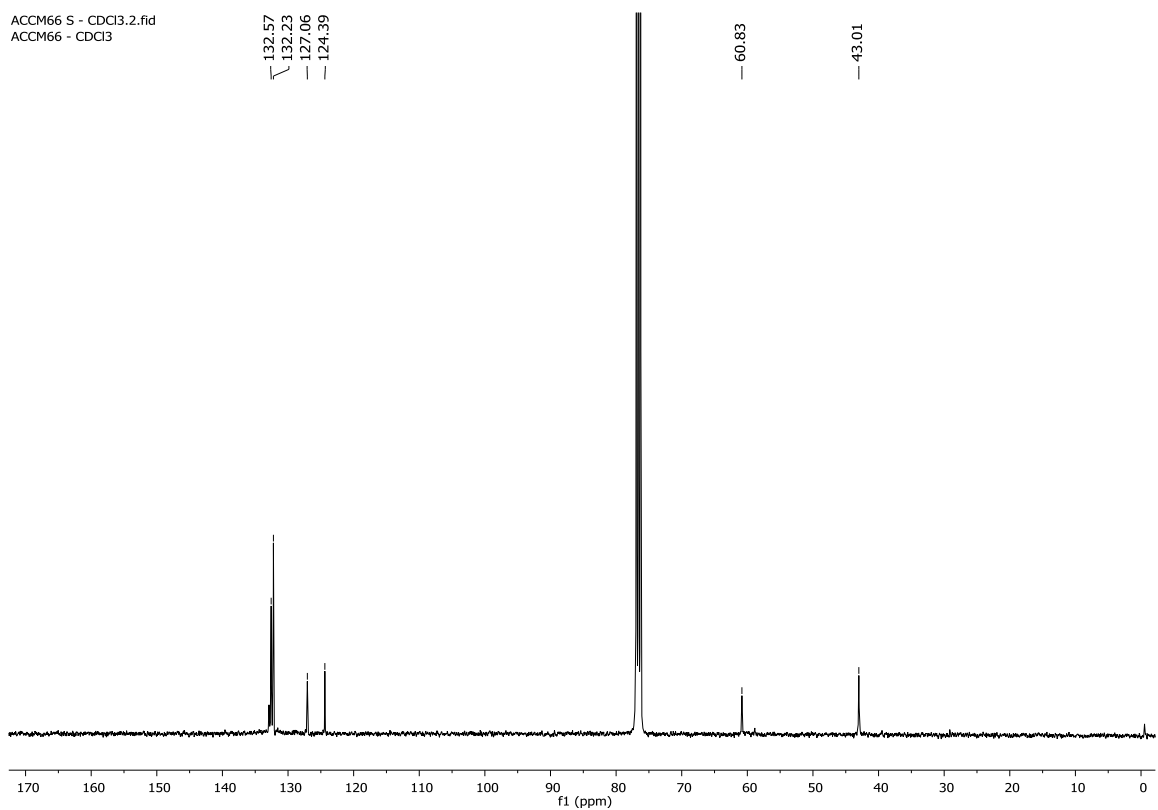


Anexo 11. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **19**.ACCM70T -  $\text{CDCl}_3$  (20200217).1.fid  
ACCM70 -  $\text{CDCl}_3$  - c7.74  
7.72  
7.54  
7.52  
6.86  
6.85  
6.84  
6.83  
6.81  
6.81  
— 3.76  
3.18  
3.16  
3.13  
3.12

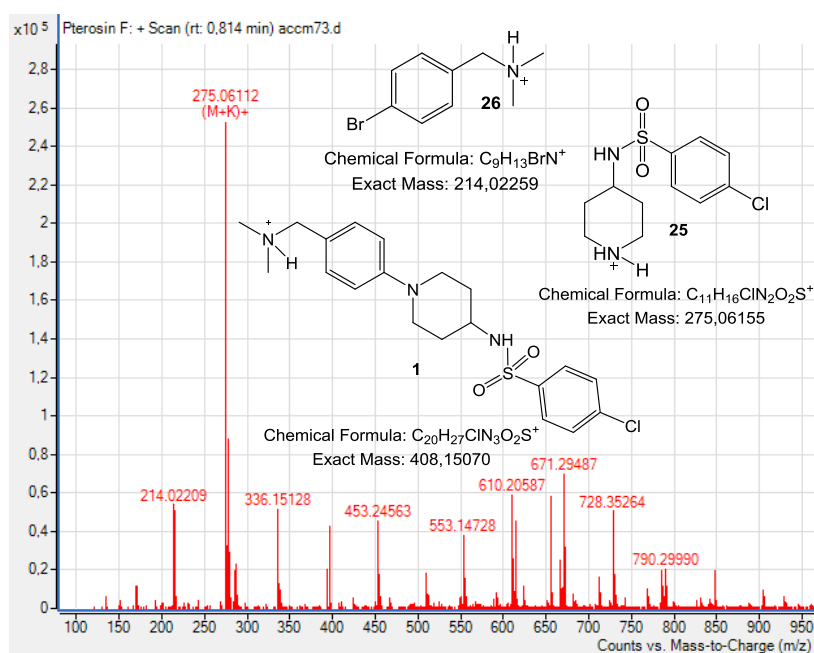
Anexo 12. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **19**.Anexo 13. Espectro de EM/IES(+) de **19**.

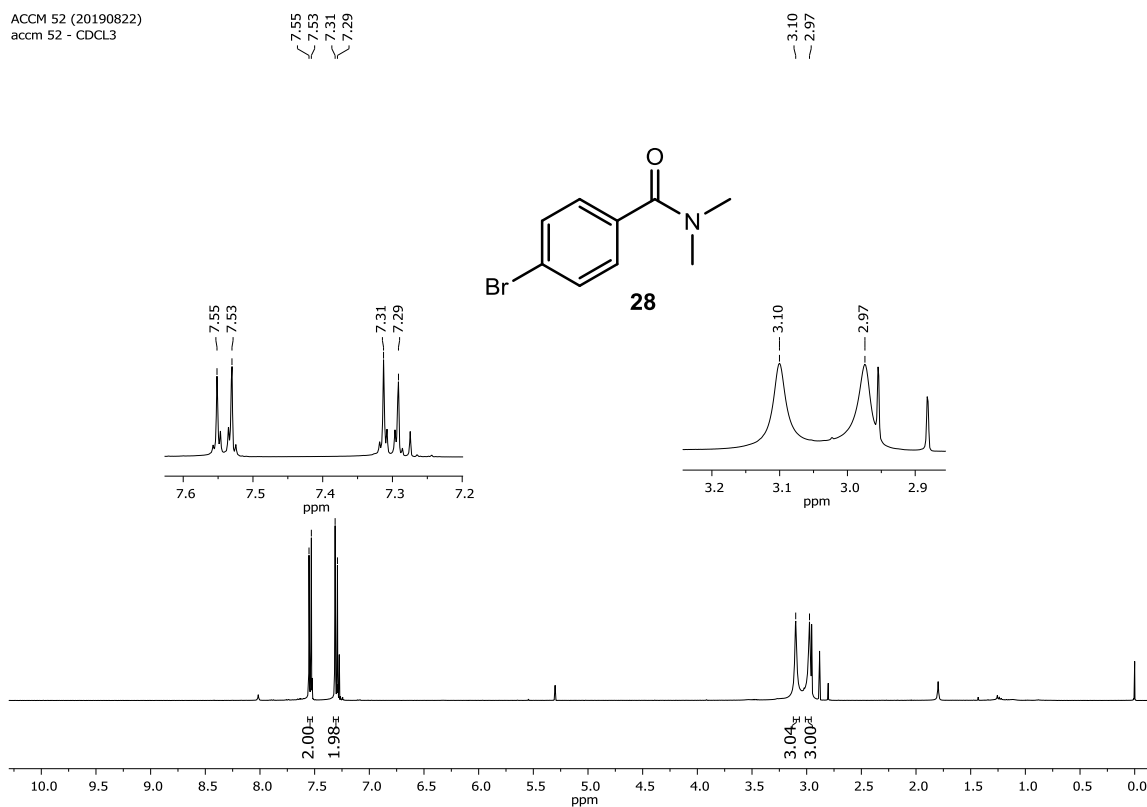
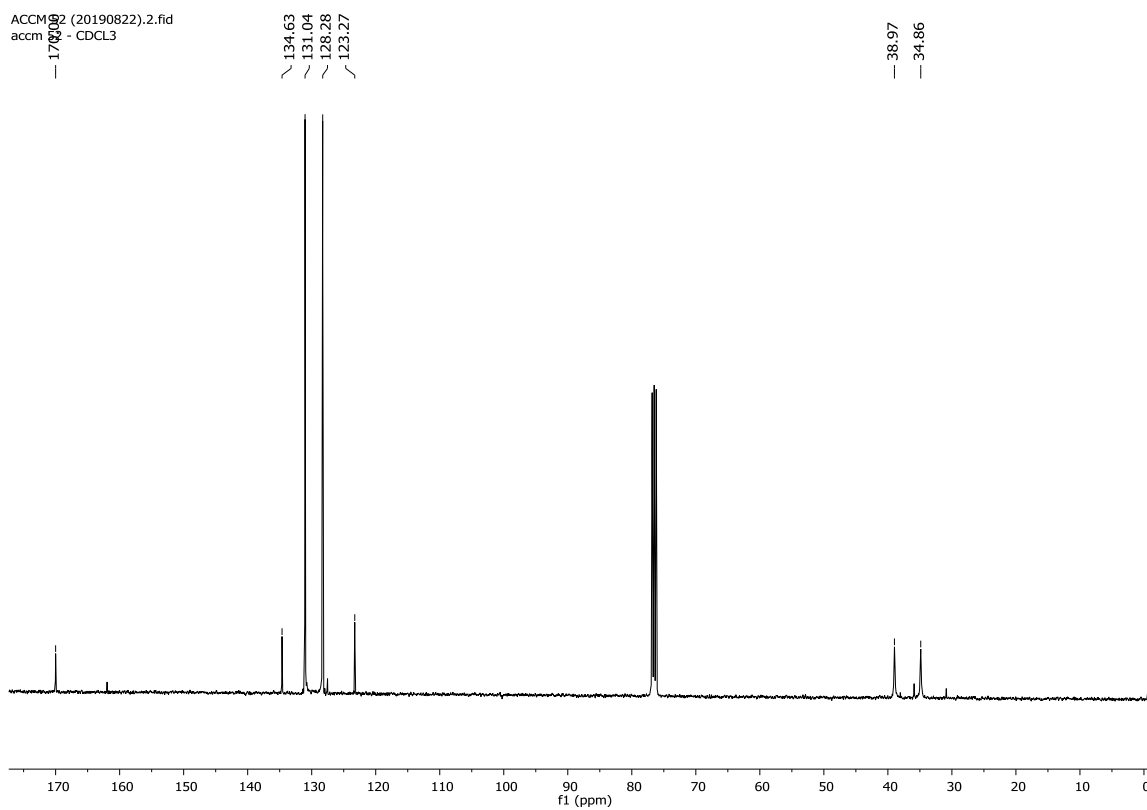
Anexo 14. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do *hit 2*.ACCM166 BT CDCL3 (2021-07-06).2.fid  
ACCM166 BT CDCL3Anexo 15. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do *hit 2*.

Anexo 16. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) do composto **25**.Anexo 17. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) do composto **25**.

Anexo 18. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **26**.Anexo 19. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **26**.

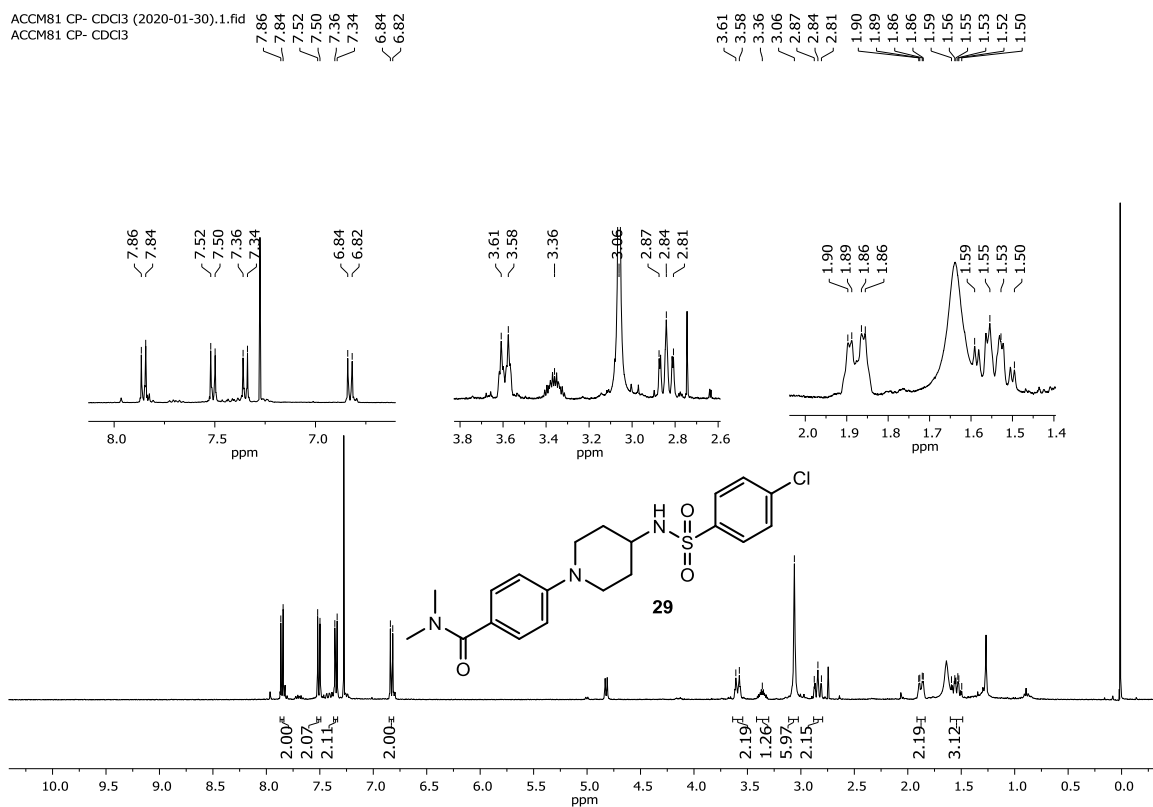
## Anexo 20. Espectro de EM/IES da mistura reacional de 1.



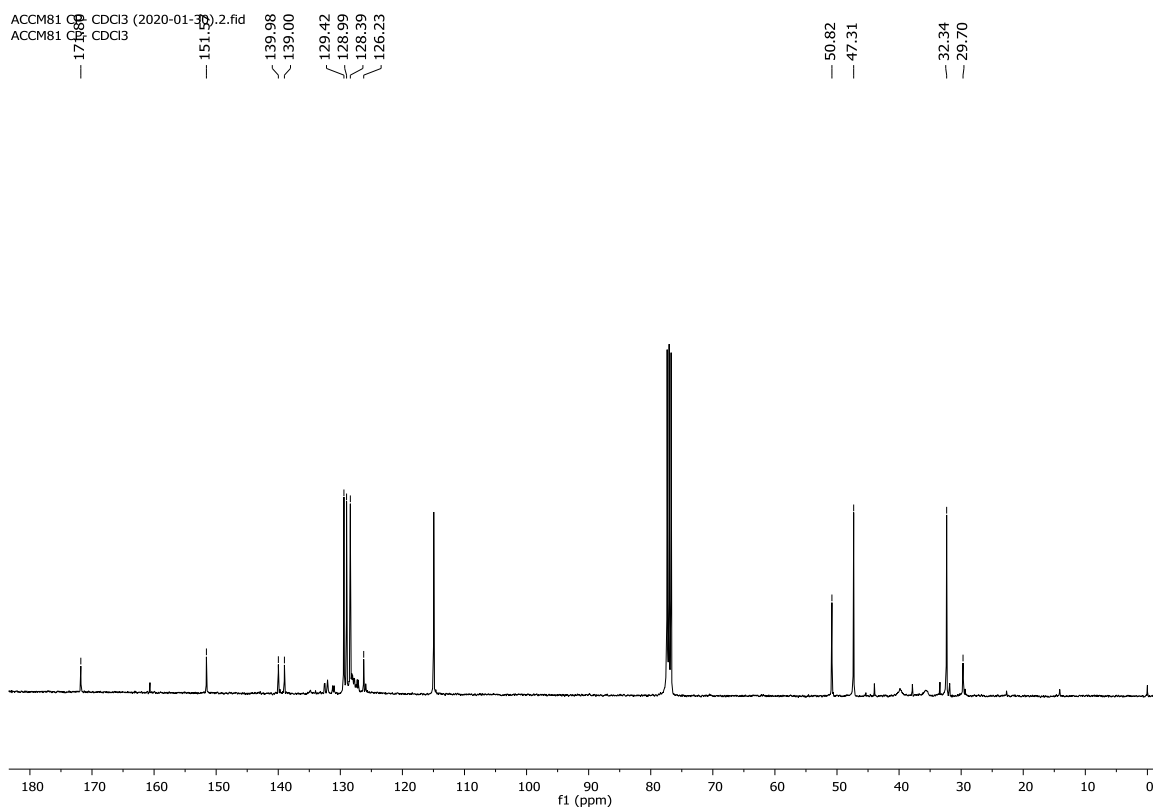
Anexo 21. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **28**.ACCM 52 (20190822)  
accm 52 -  $\text{CDCl}_3$ Anexo 22. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **28**.ACCM 52 (20190822).2.fid  
accm 52 -  $\text{CDCl}_3$ 

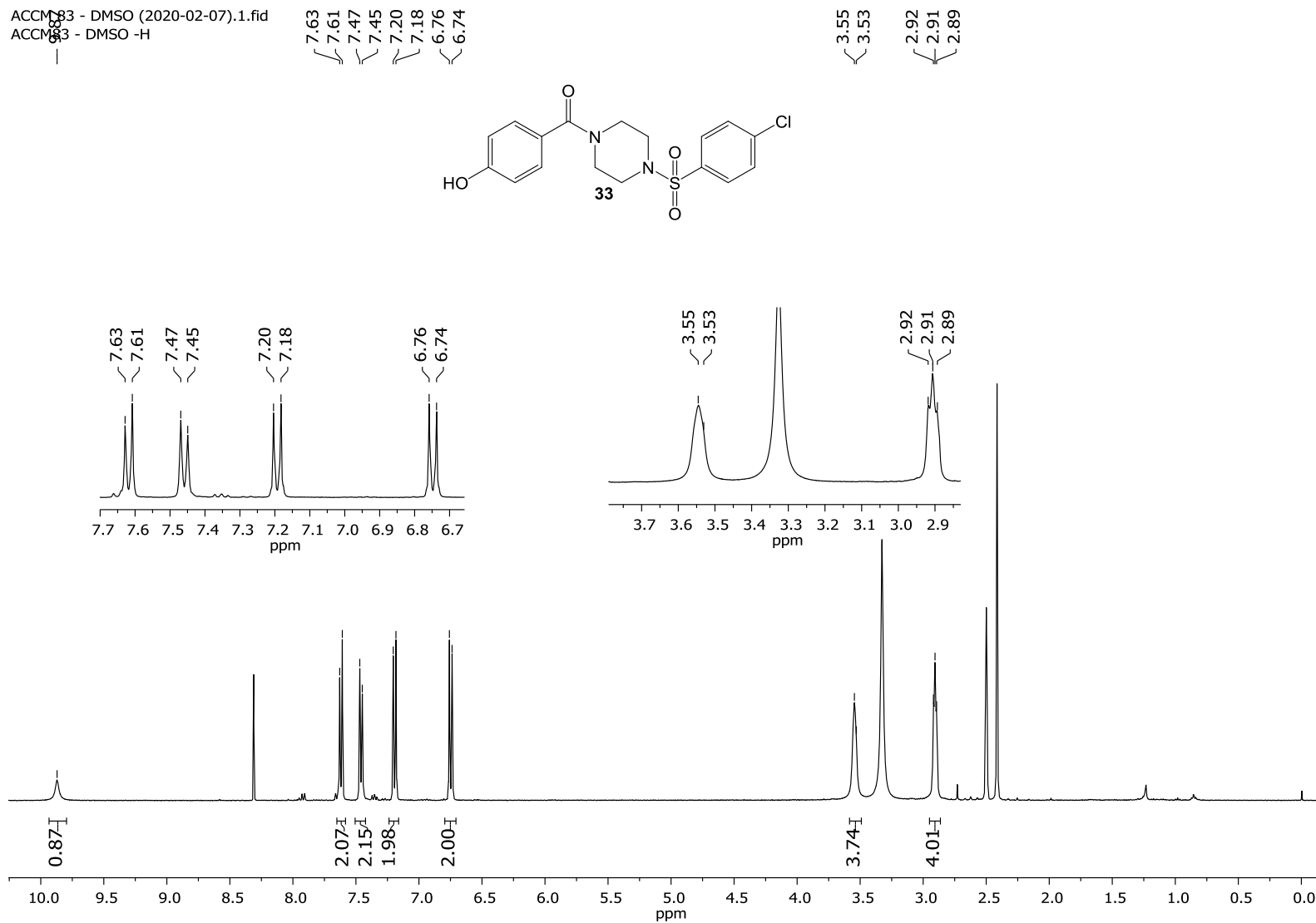
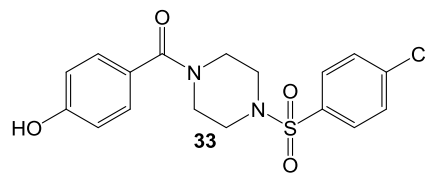


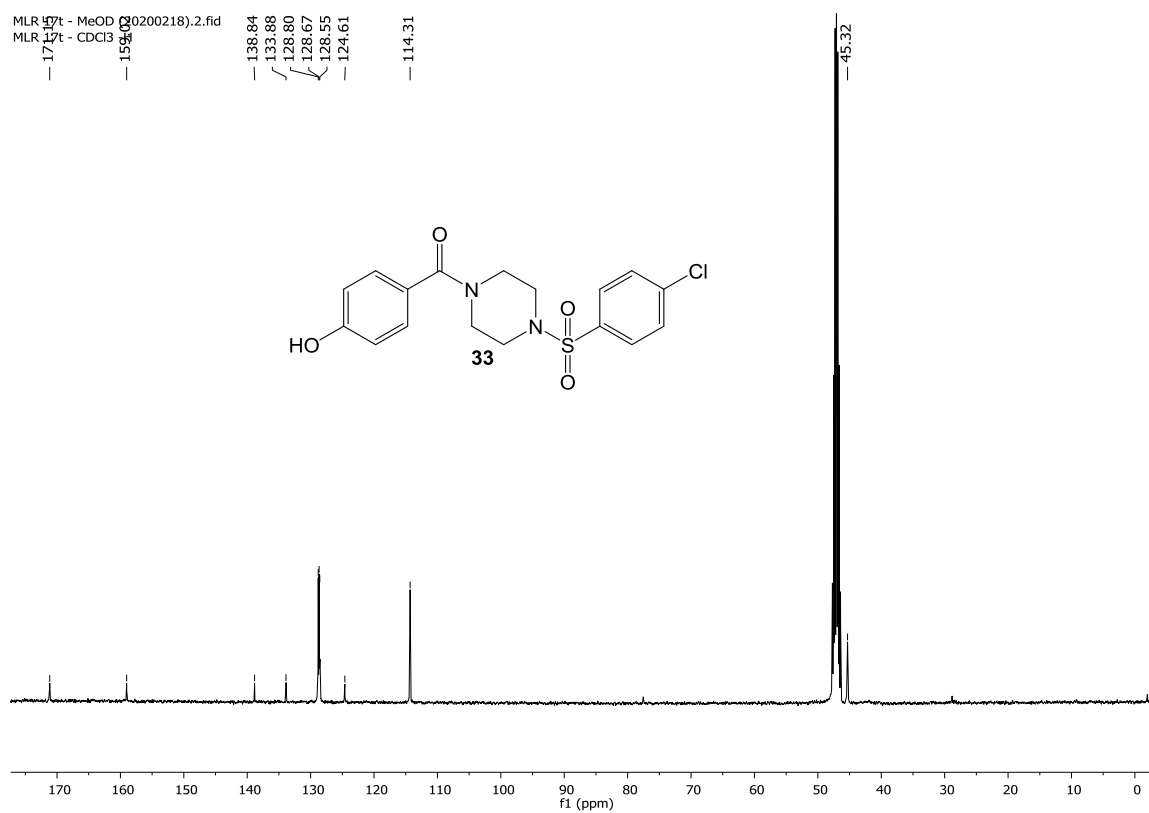
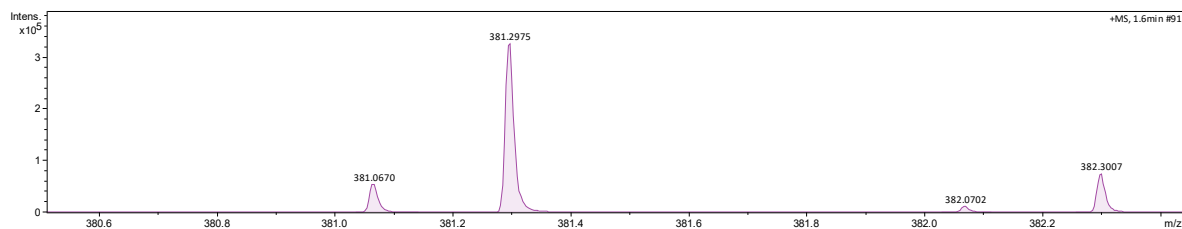
### Anexo 23. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto **29**.

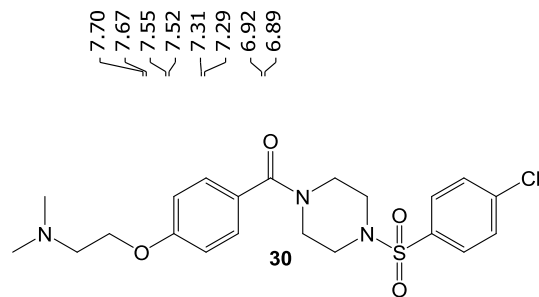
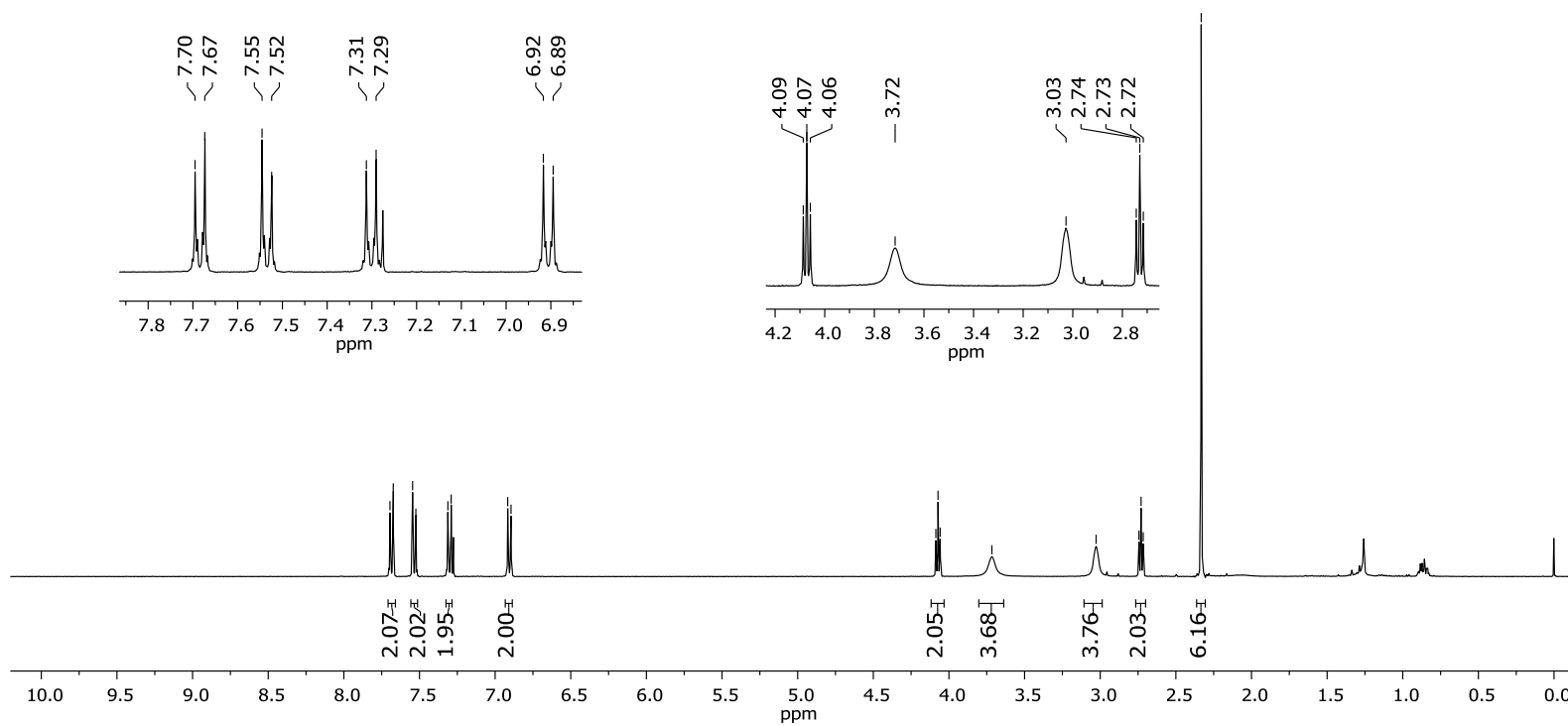


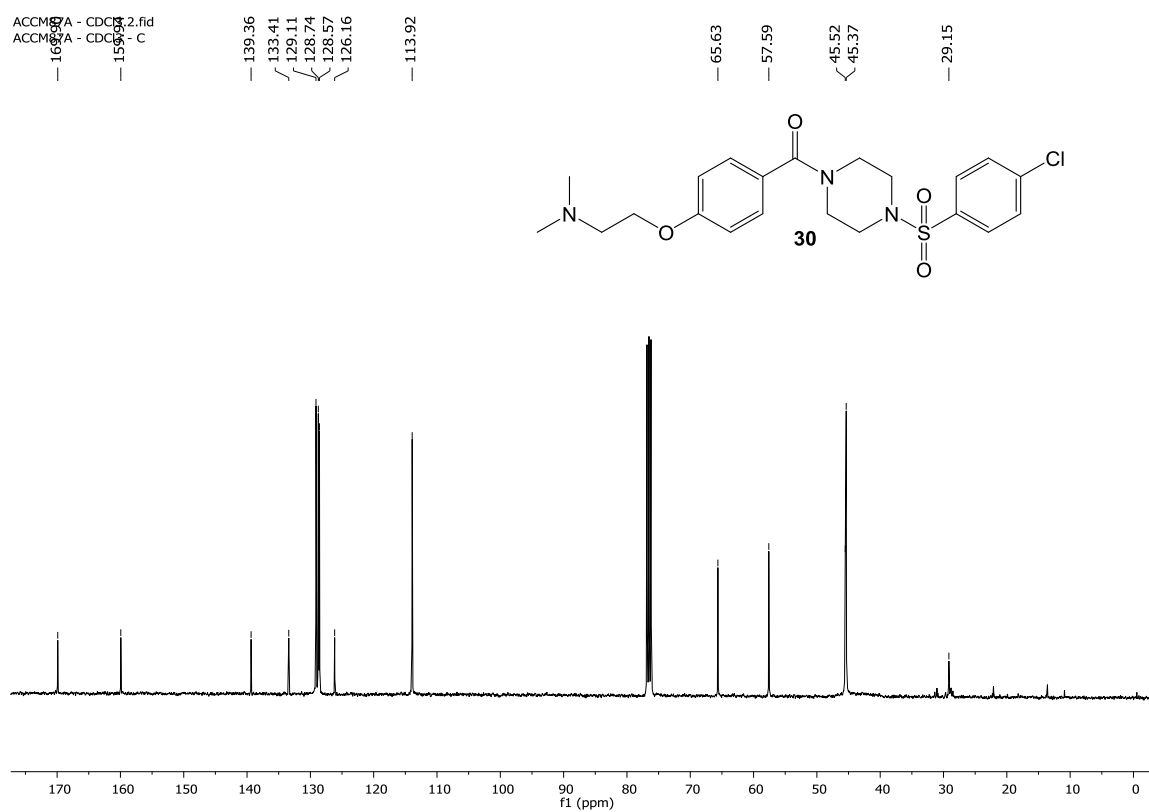
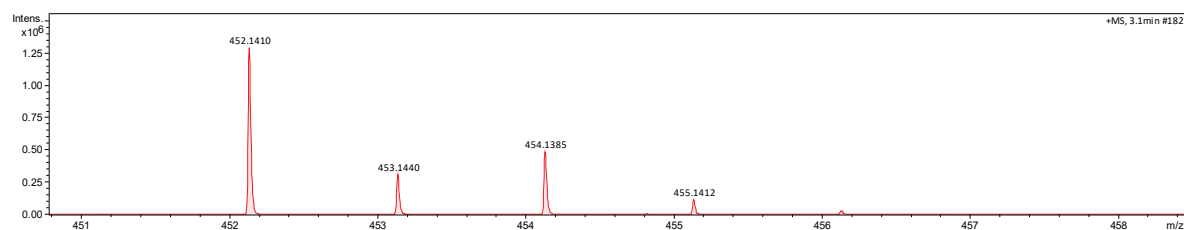
### Anexo 24. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (101 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto **29**.

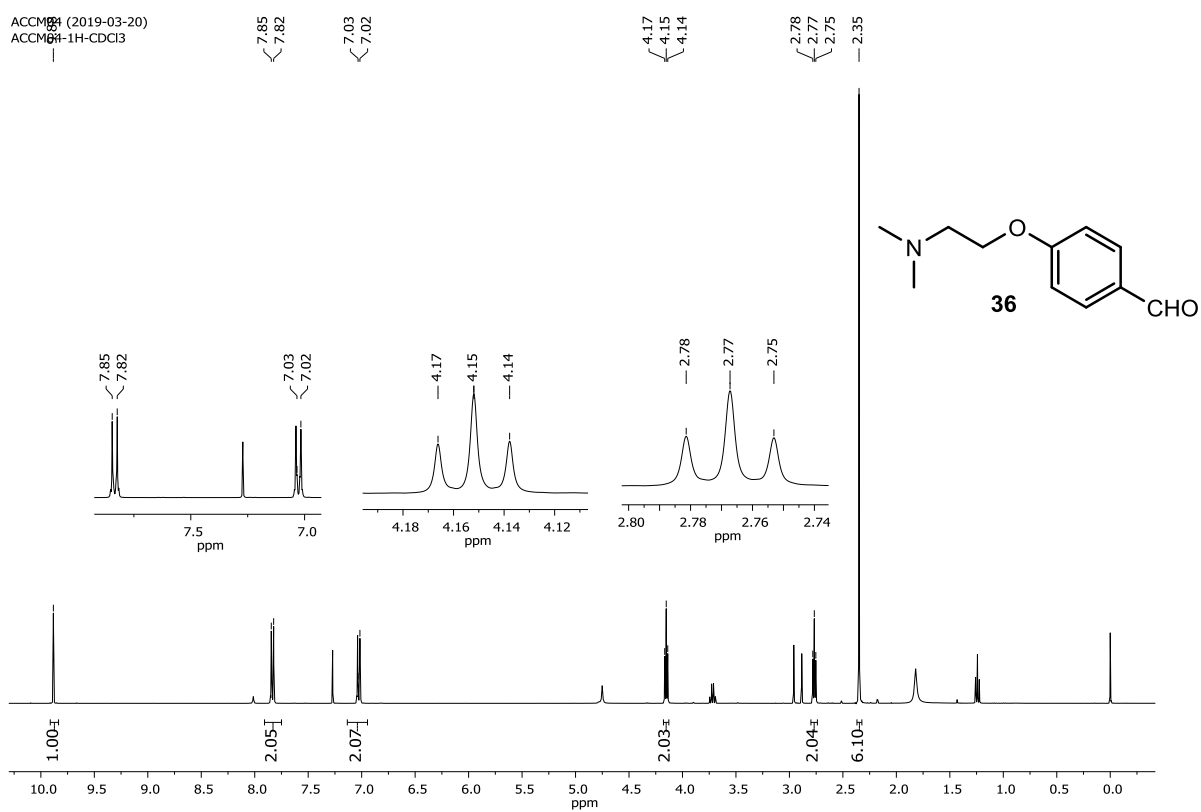


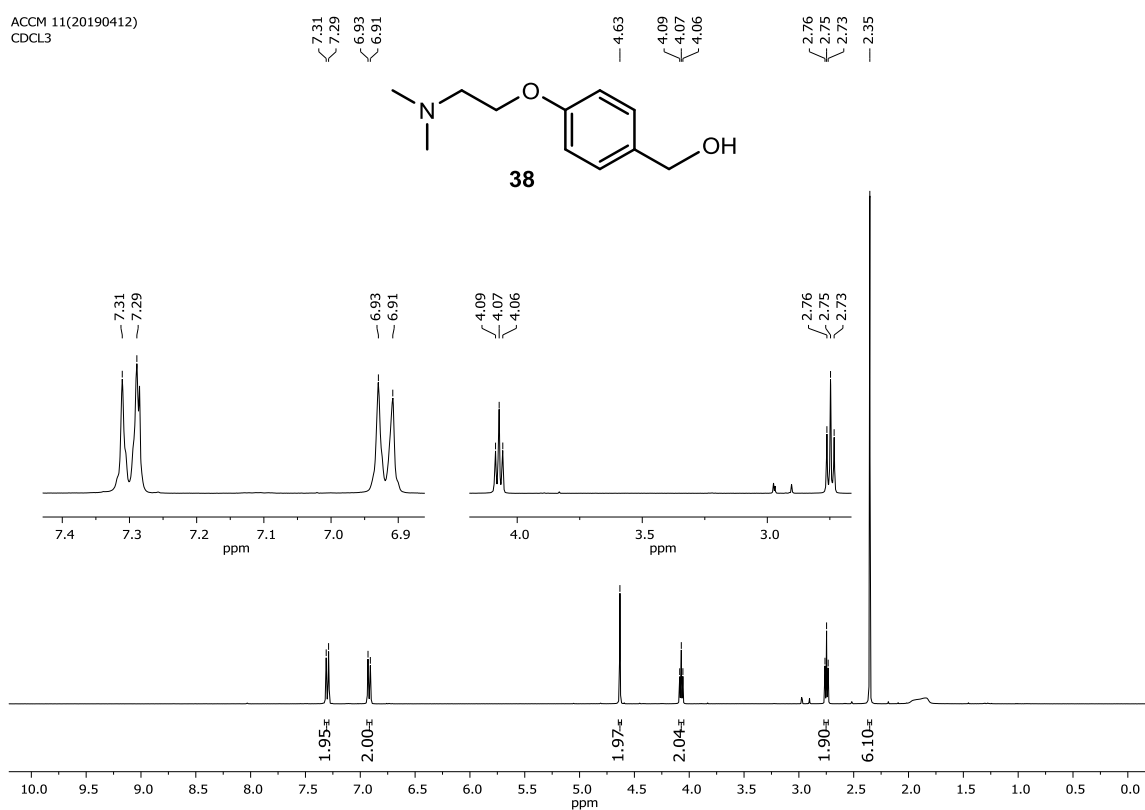
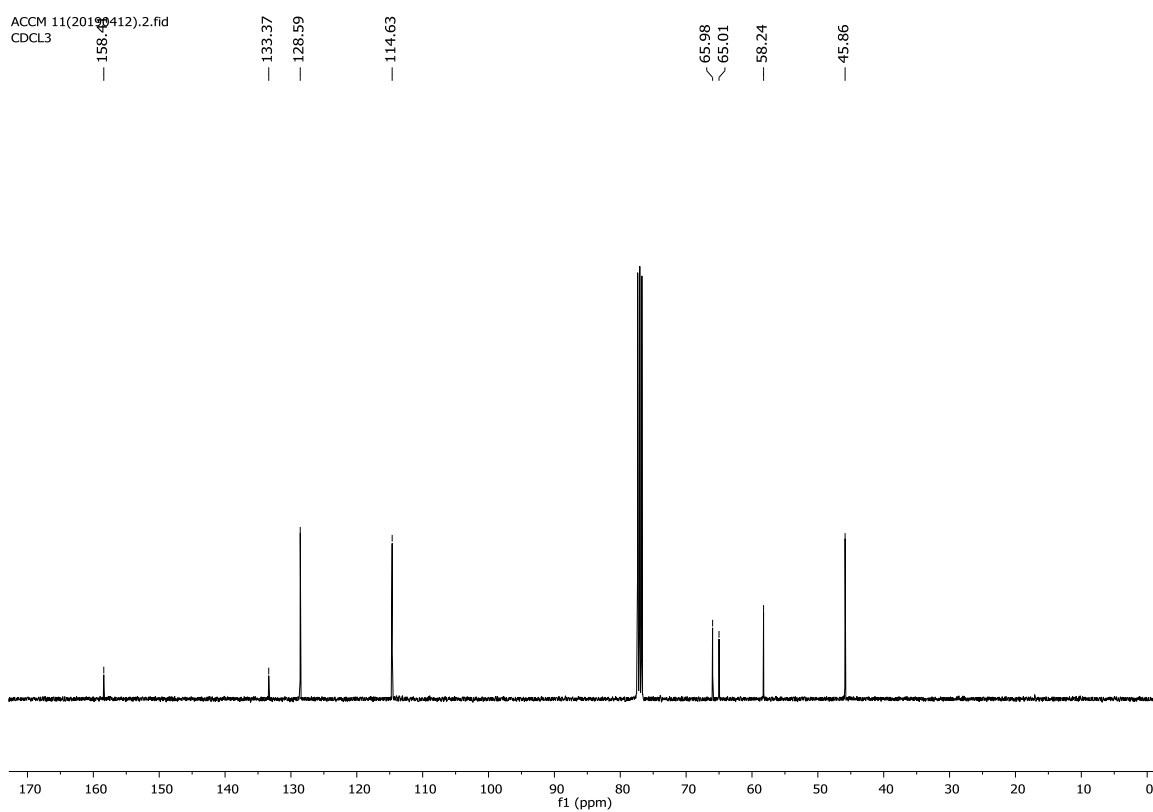
Anexo 25. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto **33**.ACCN083 - DMSO (2020-02-07).1.fid  
ACCN083 - DMSO -H

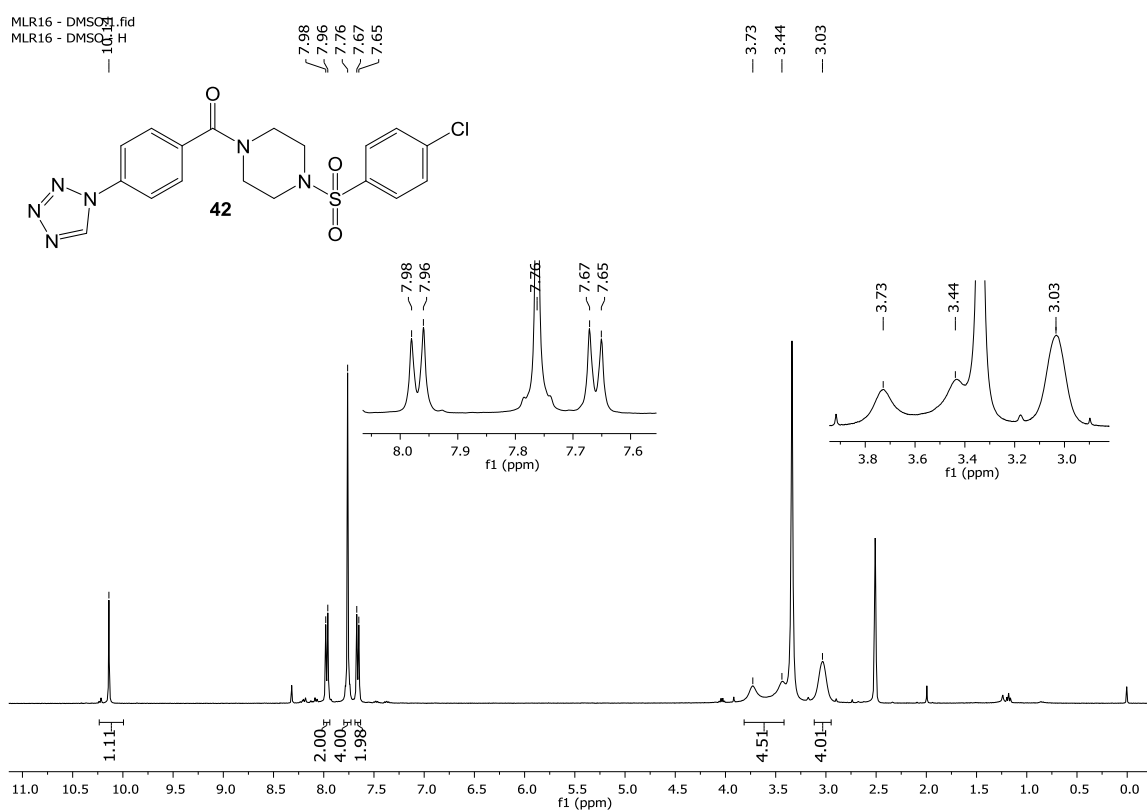
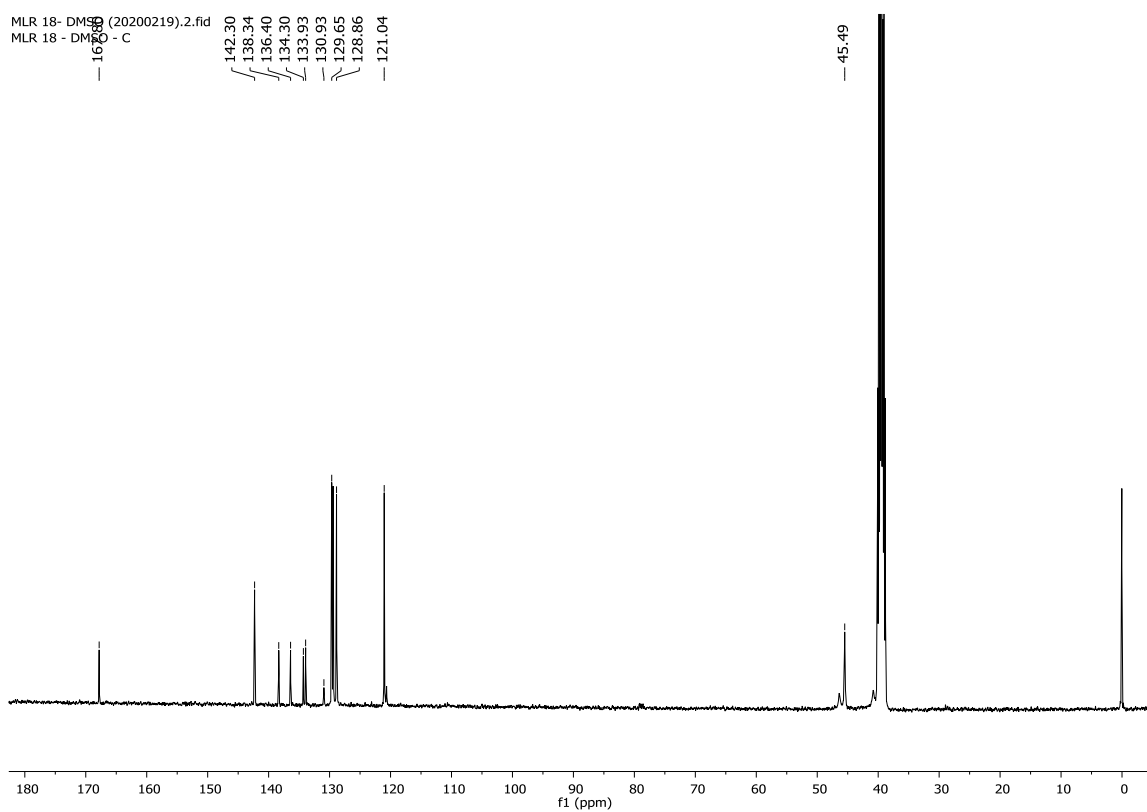
Anexo 26. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) do composto **33**.Anexo 27. Espectro de EM/IES(+) de **33**.

Anexo 28. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **30**.ACCM87A -  $\text{CDCl}_3$ .1.fid  
ACCM87A -  $\text{CDCl}_3$  - H7.70  
7.67  
7.55  
7.52  
7.31  
7.29  
6.92  
6.894.09  
4.07  
4.06  
3.723.03  
2.74  
2.73  
2.72  
2.33

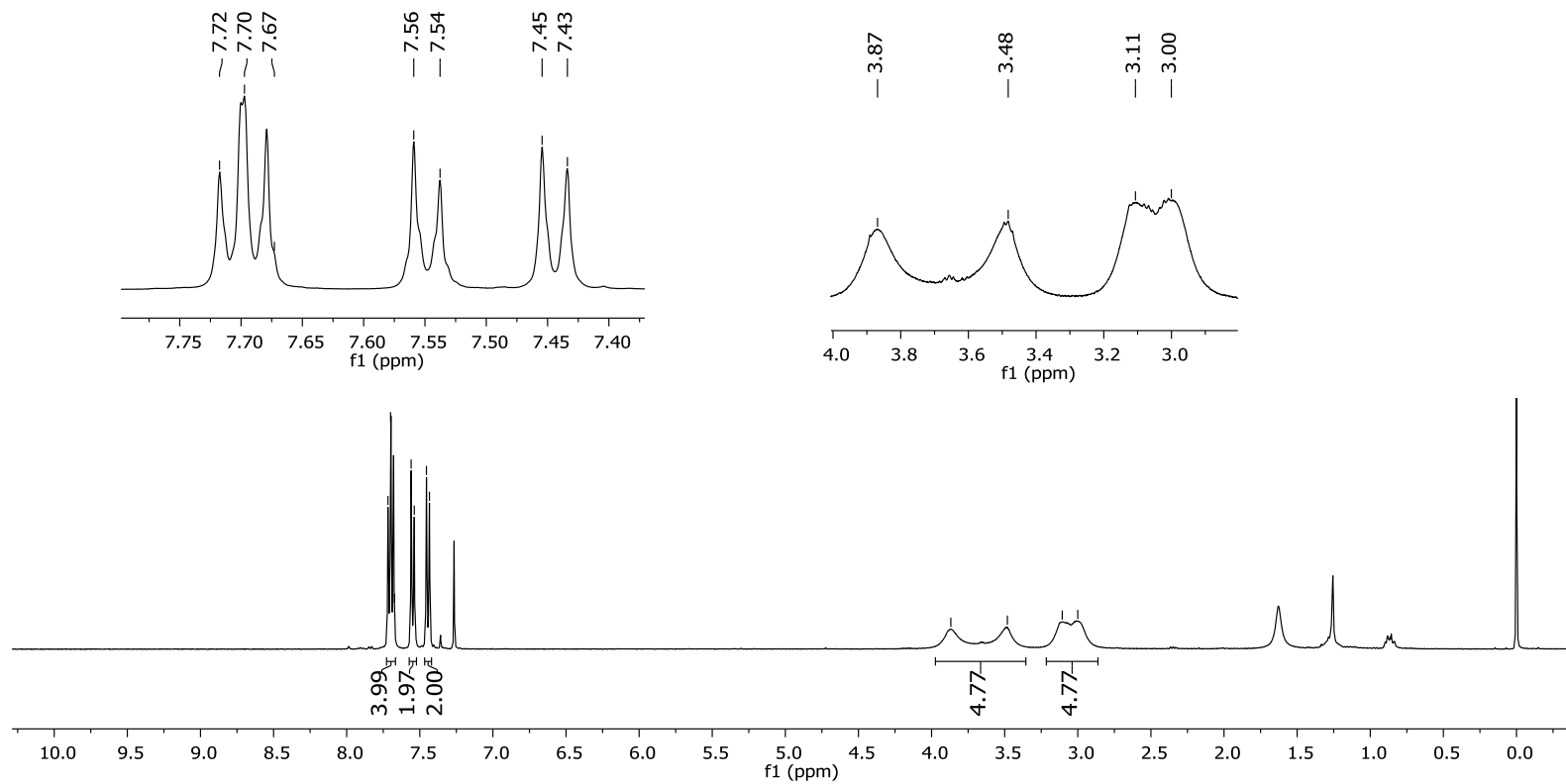
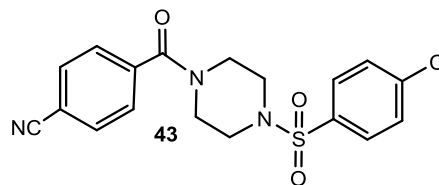
Anexo 29. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **30**.Anexo 30. Espectro de EM/IES(+) de **30**.

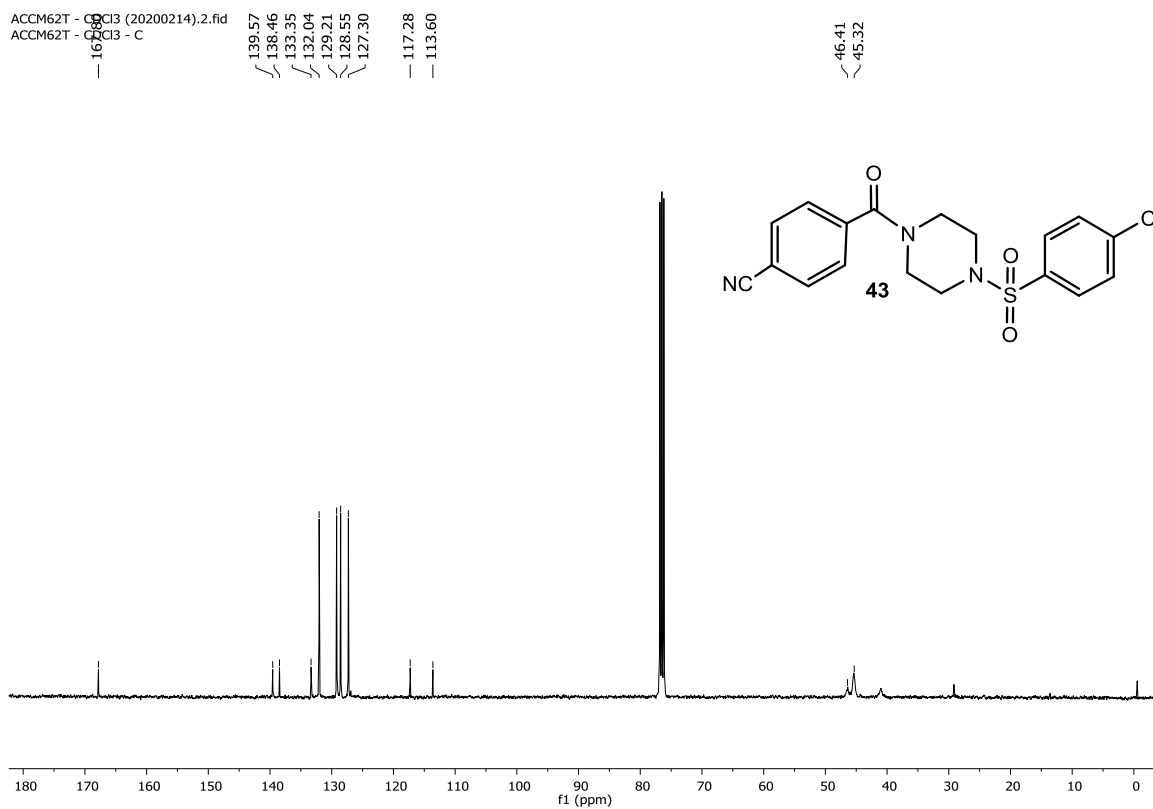
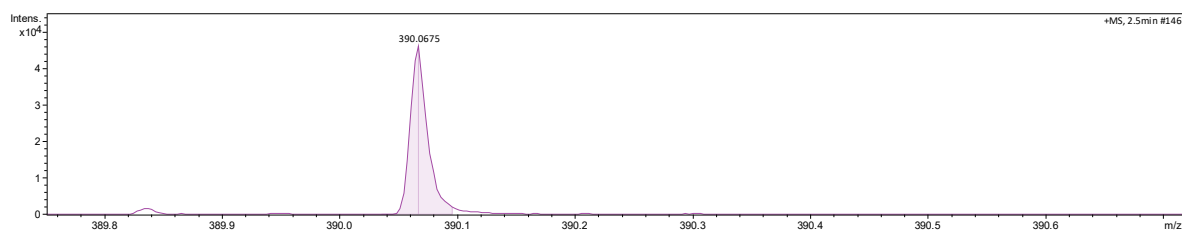
Anexo 31. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **36**.

Anexo 32. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **38**.ACCM 11(20190412)  
 $\text{CDCl}_3$ Anexo 33. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **38**.ACCM 11(20190412).2.fid  
 $\text{CDCl}_3$ 

Anexo 34. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto **42**.Anexo 35. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto **42**.



Anexo 36. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **43**.ACCM62T -  $\text{CDCl}_3$  (20200214).1.fid  
ACCM62T -  $\text{CDCl}_3$  - H7.72  
7.70  
7.67  
7.56  
7.54  
7.45  
7.433.87  
3.48  
3.11  
3.00

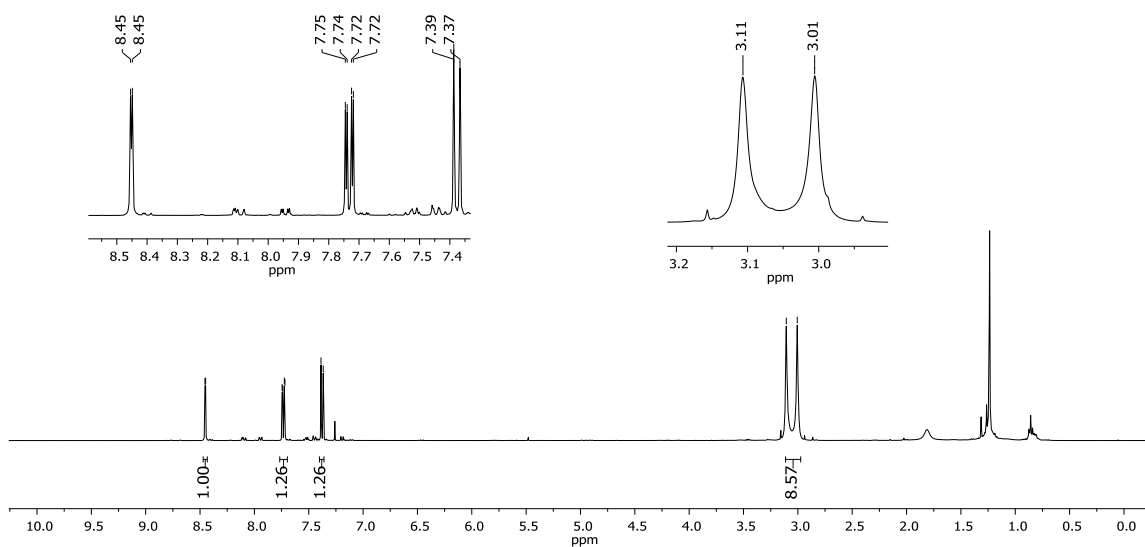
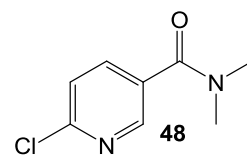
Anexo 37. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **43**.Anexo 38. Espectro de EM/IES(+) de **43**.

### Anexo 39. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto **48**.

ACCM79 P-  $\text{CDCl}_3$  (2020-01-29).fid  
ACCM79 P-  $\text{CDCl}_3$

8.45  
8.45  
7.75  
7.74  
7.72  
7.72  
7.39  
7.37

3.11  
3.01

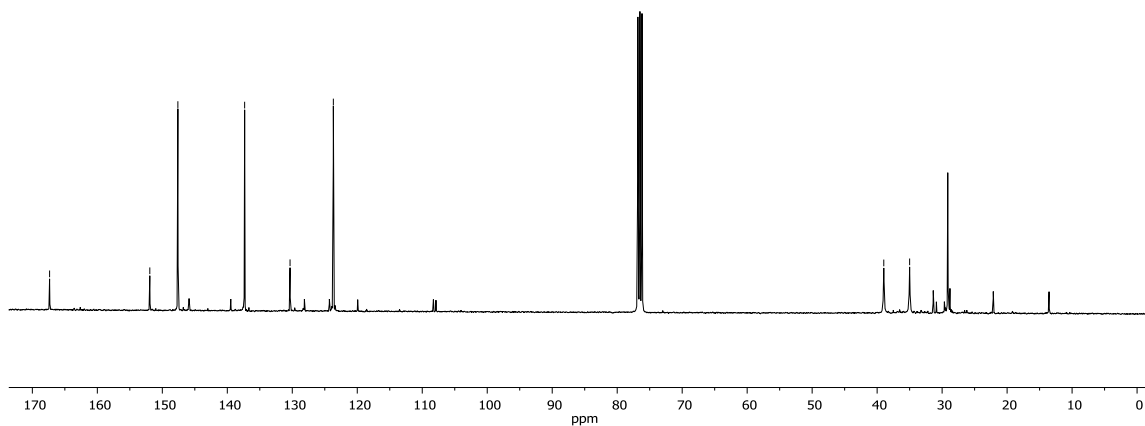


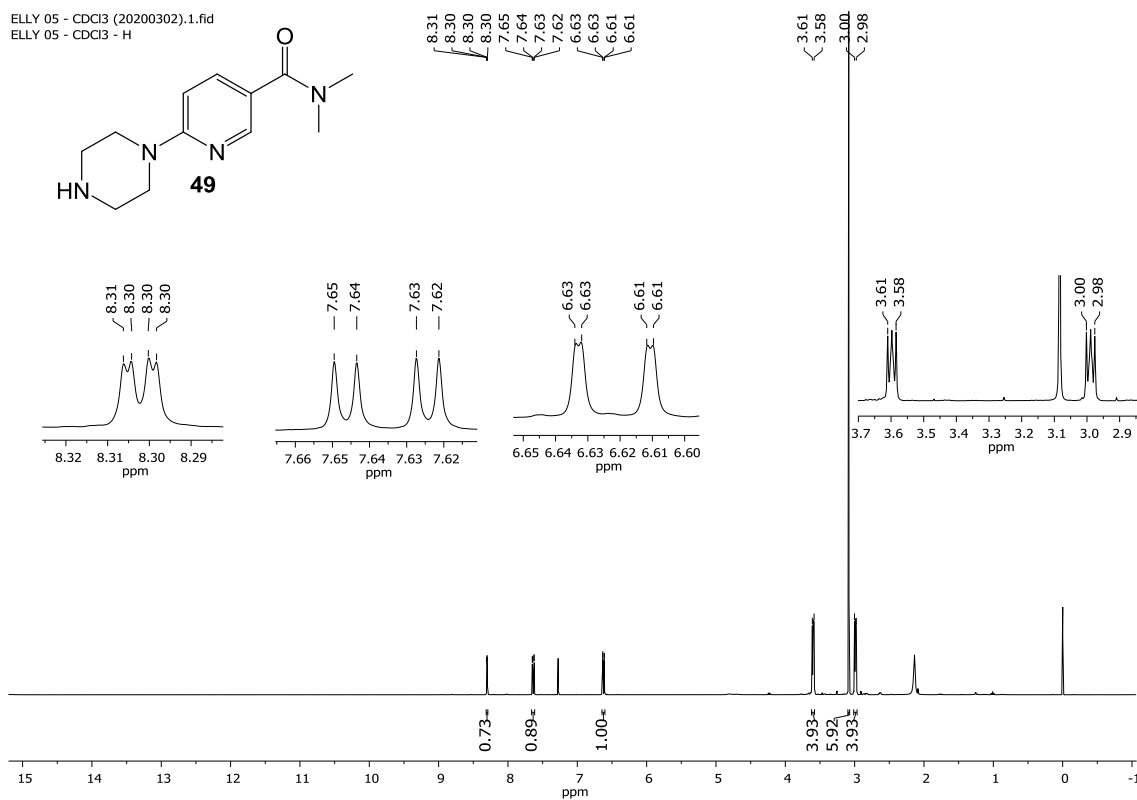
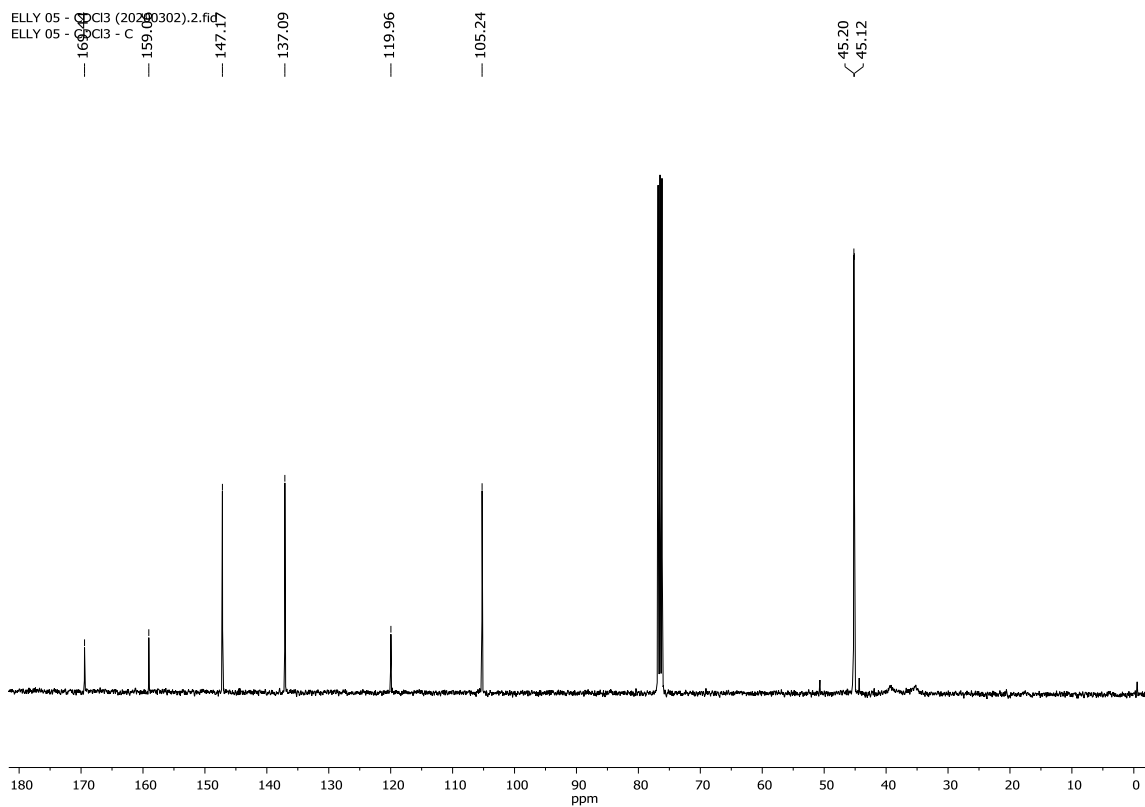
### Anexo 40. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (101 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto **48**.

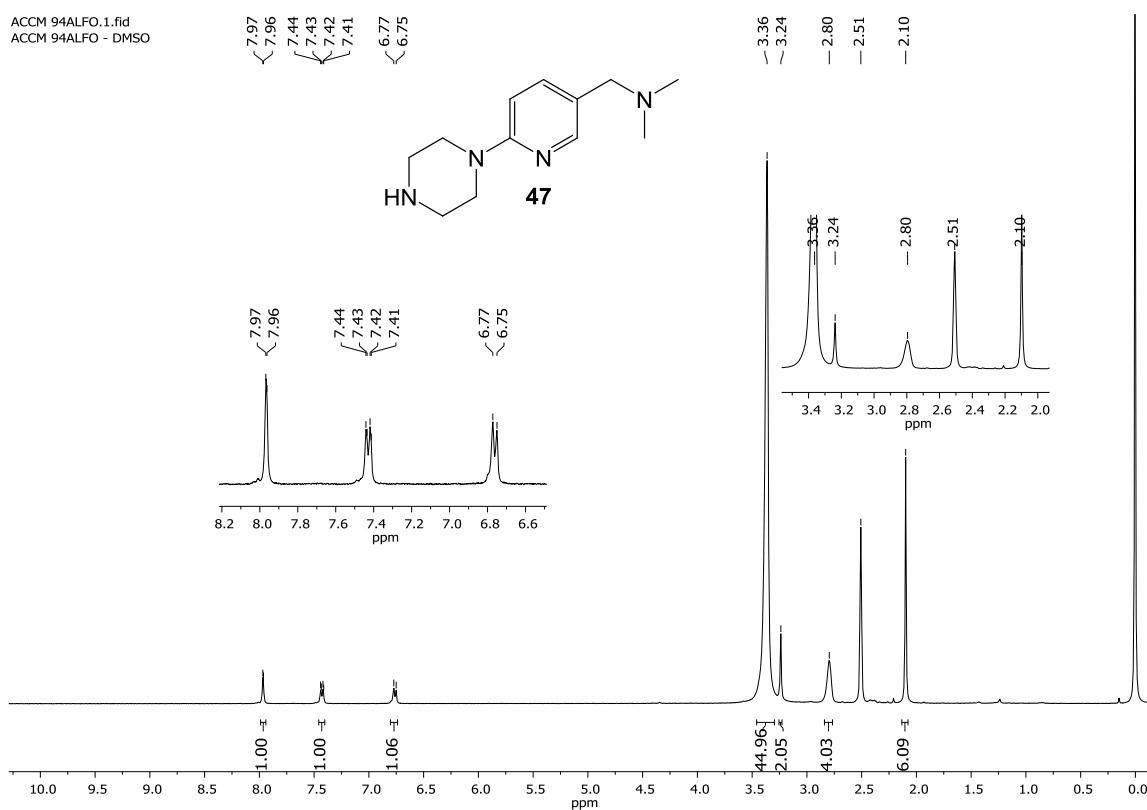
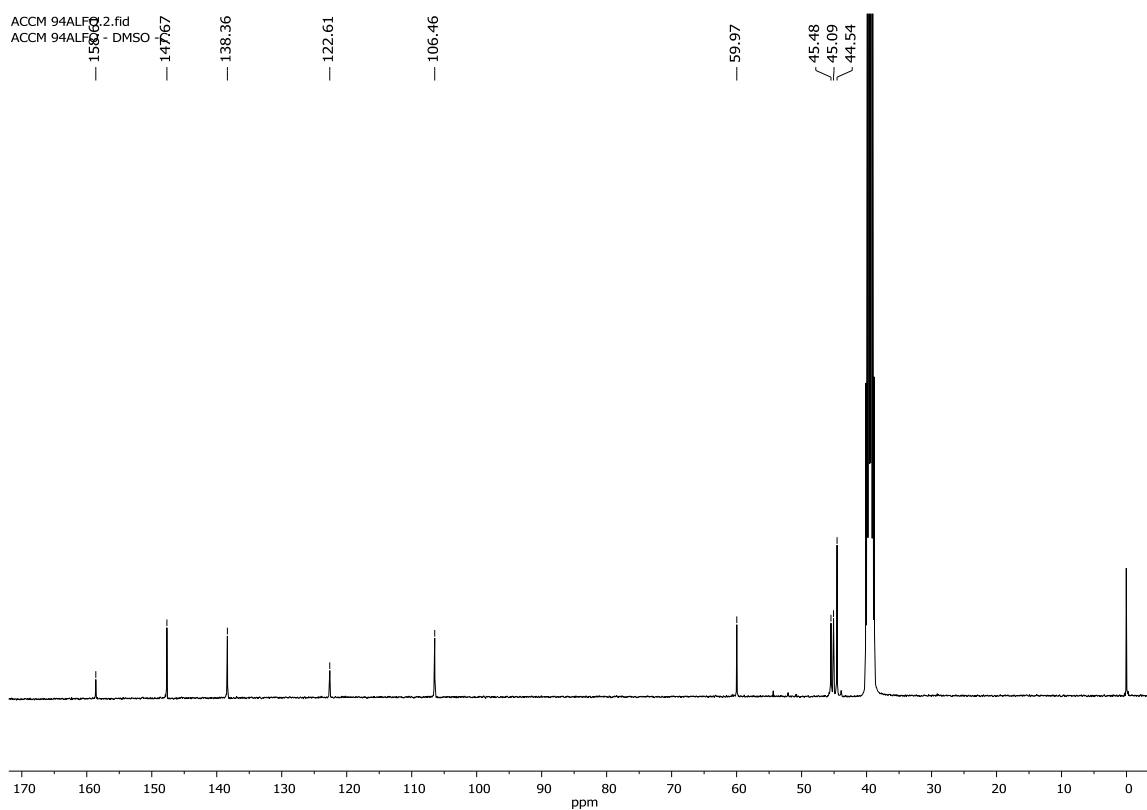
ACCM79 P-  $\text{CDCl}_3$  (2020-01-29).fid  
ACCM79 P-  $\text{CDCl}_3$

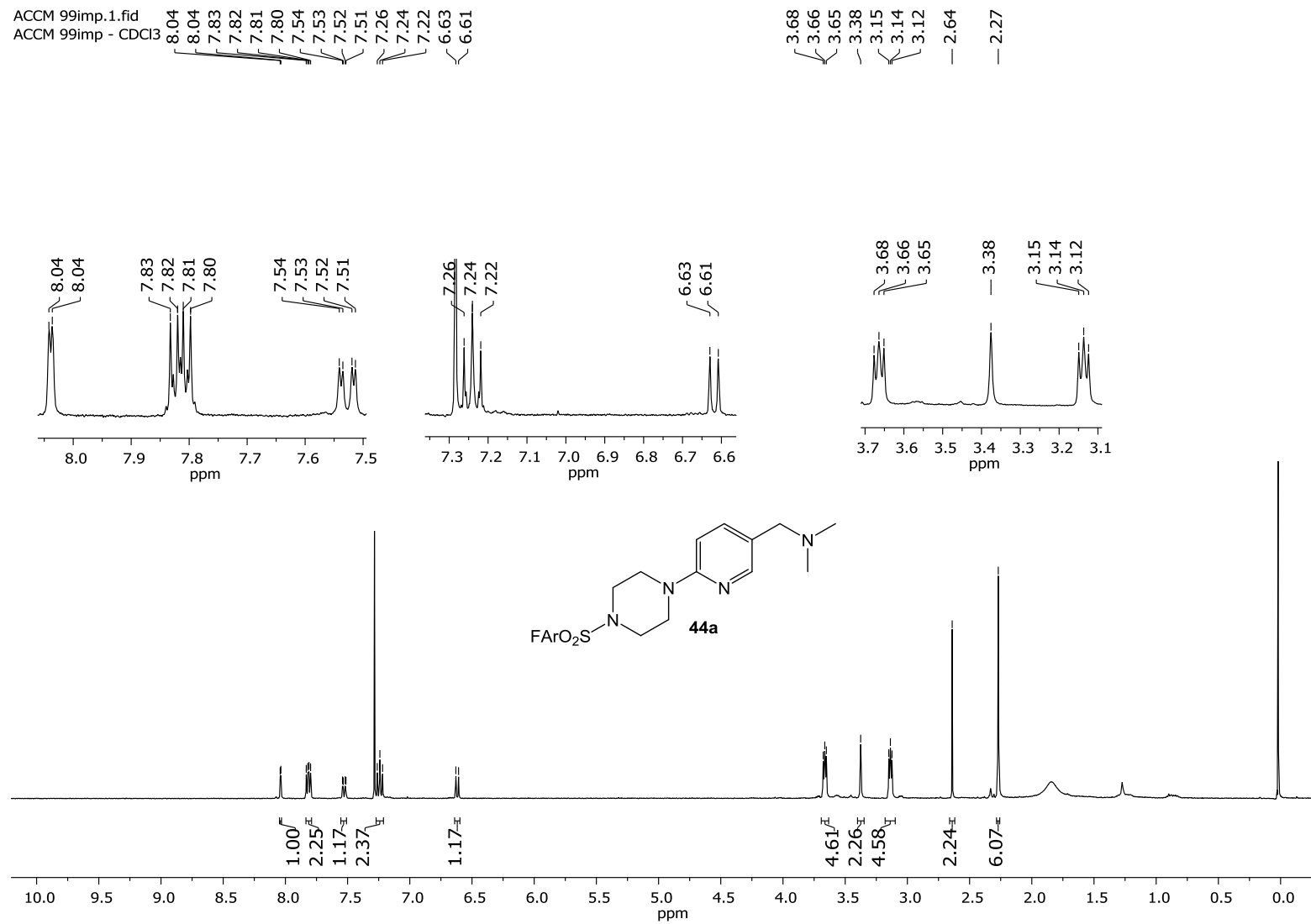
167.33  
151.90  
147.61  
137.33  
130.34  
123.68

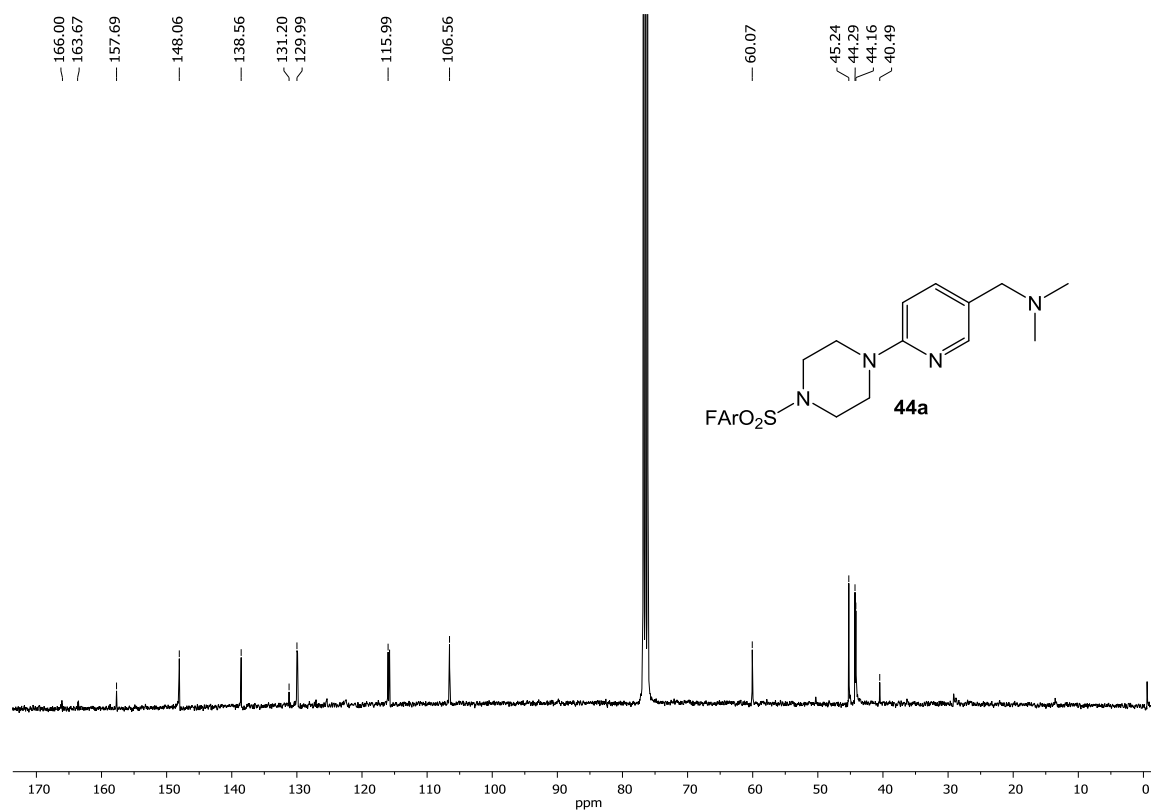
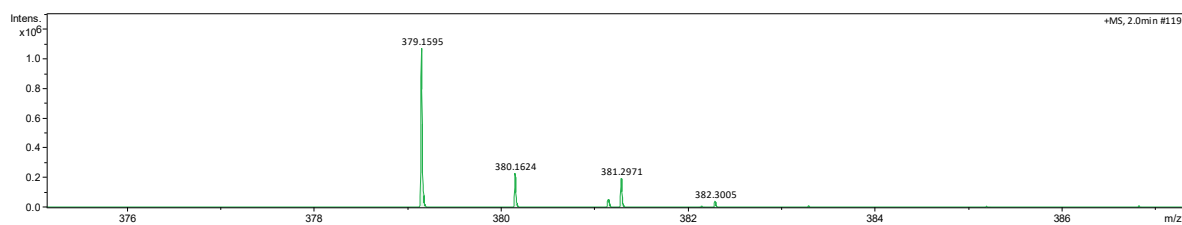
38.98  
35.00

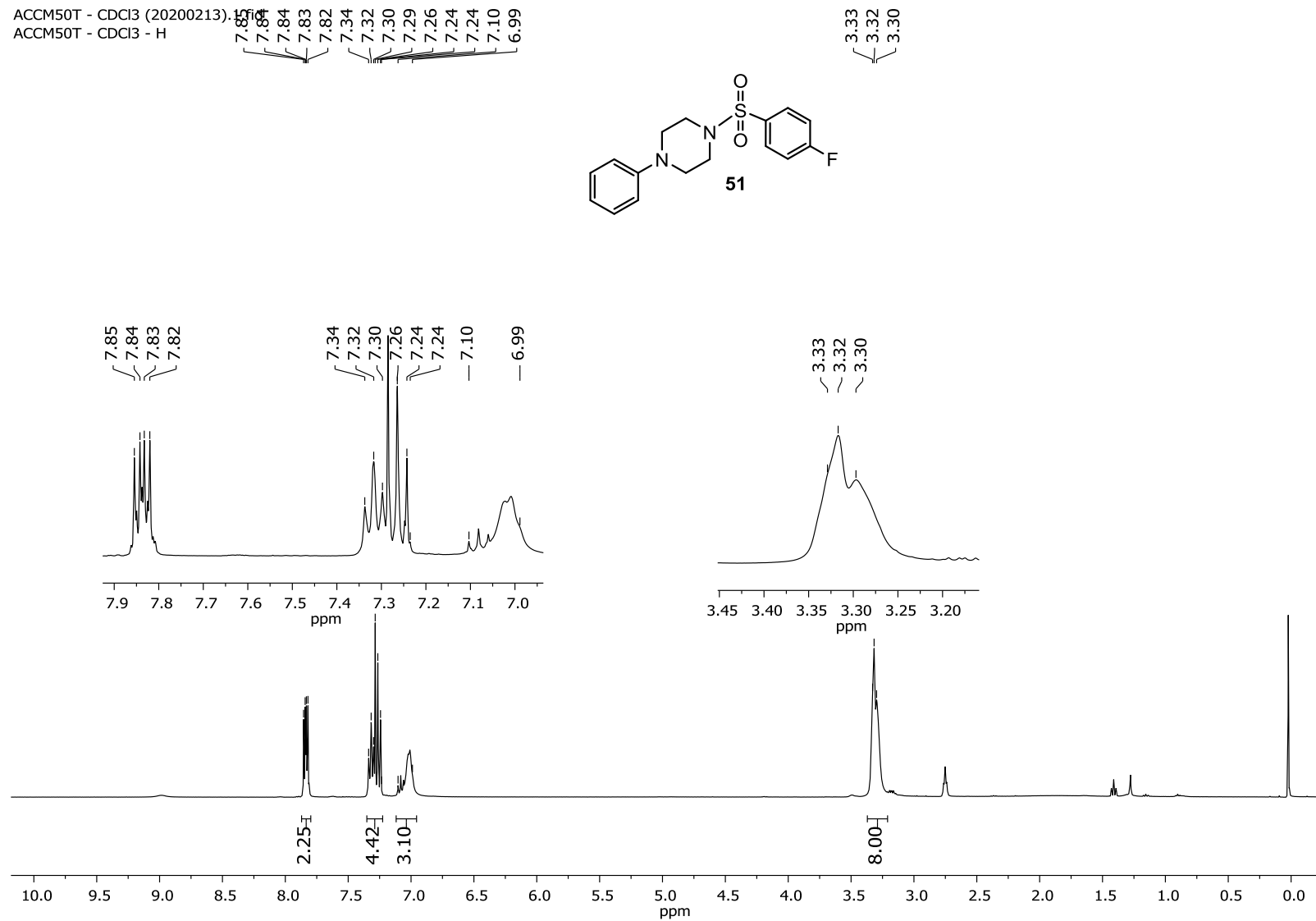
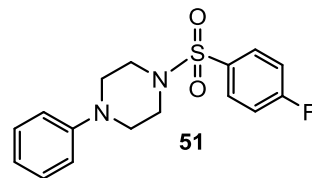


Anexo 41. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **49**.Anexo 42. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **49**.

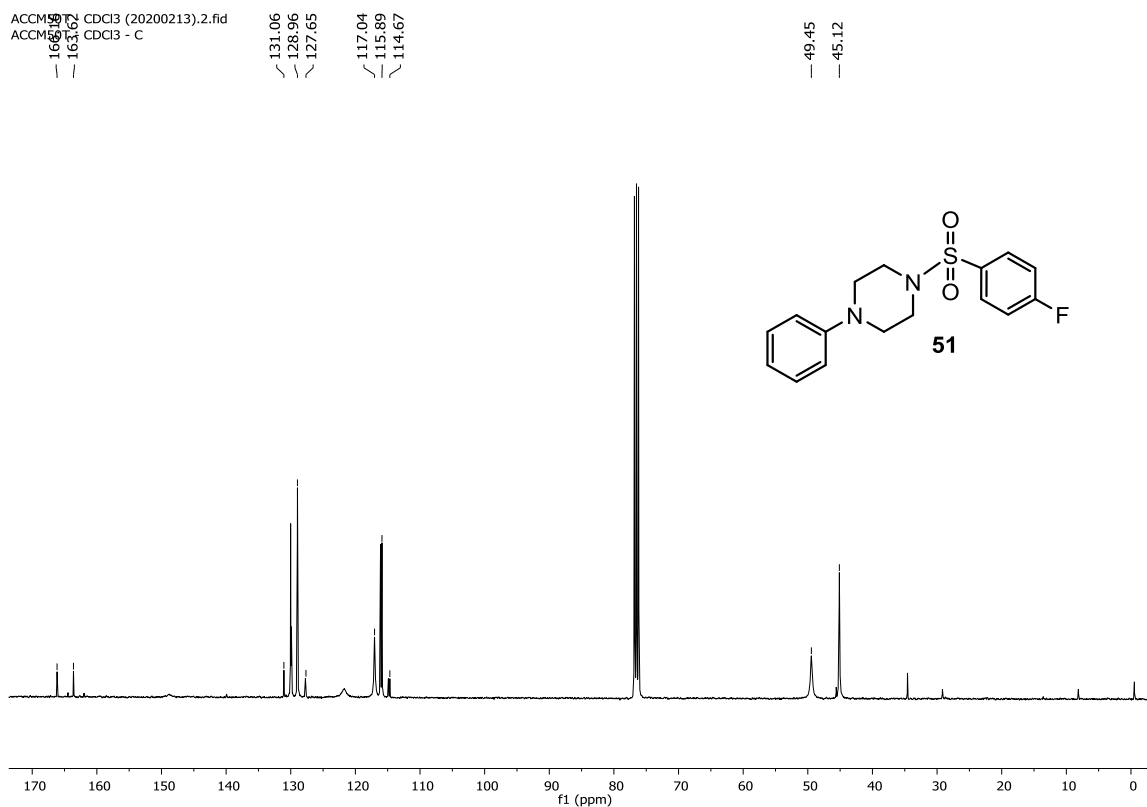
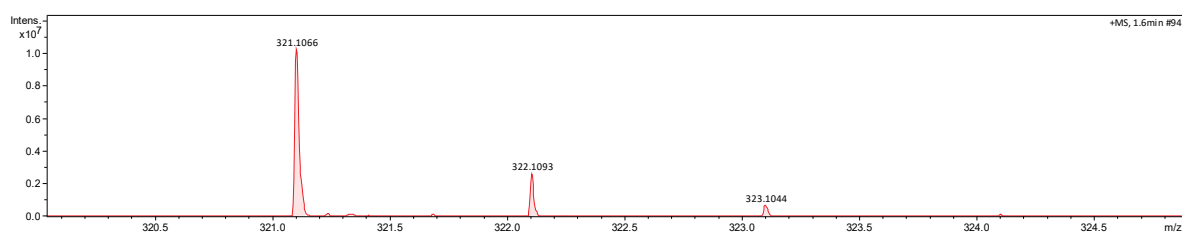
Anexo 43. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto **47**.Anexo 44. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto **47**.

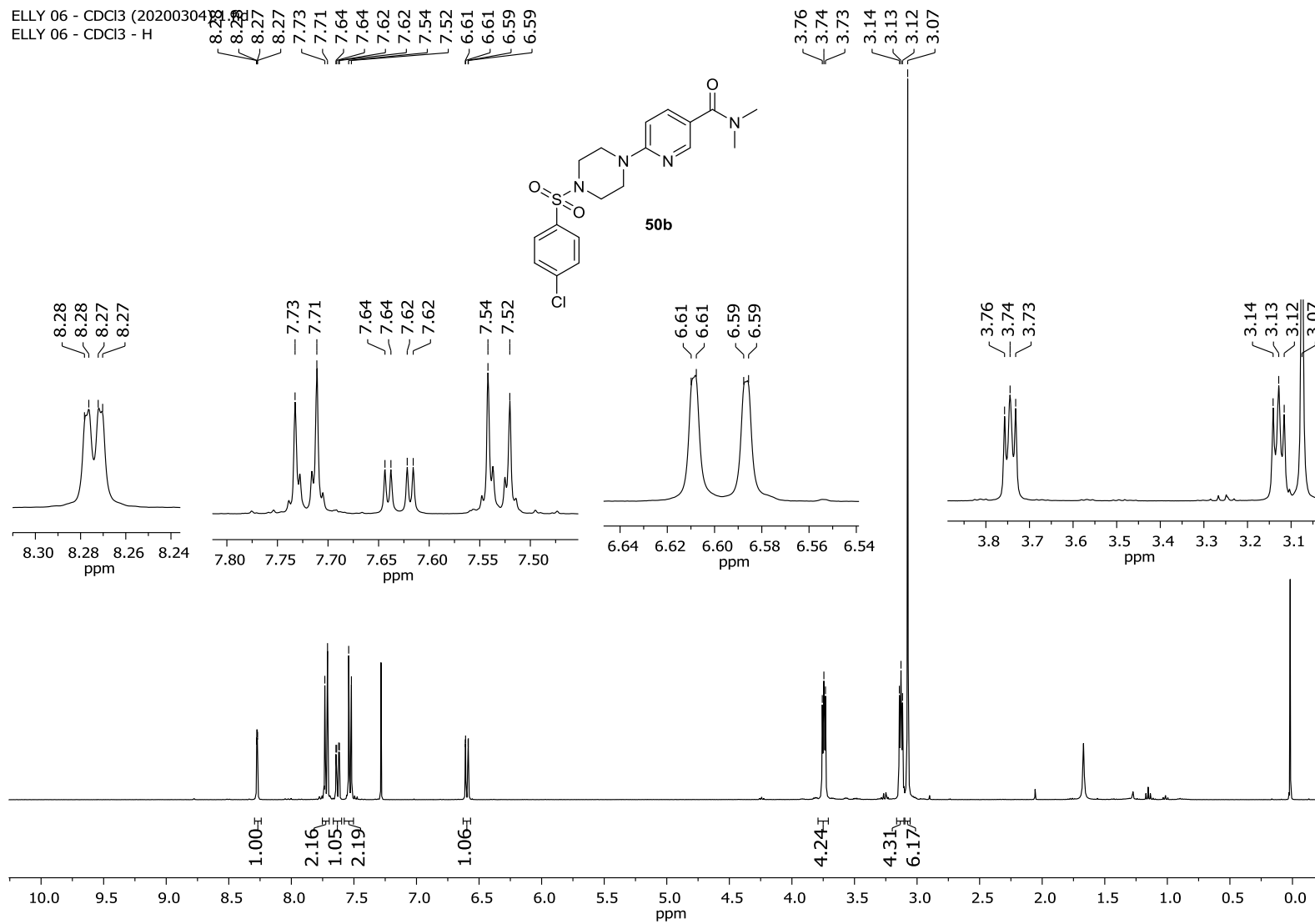
Anexo 45. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto **44a**.

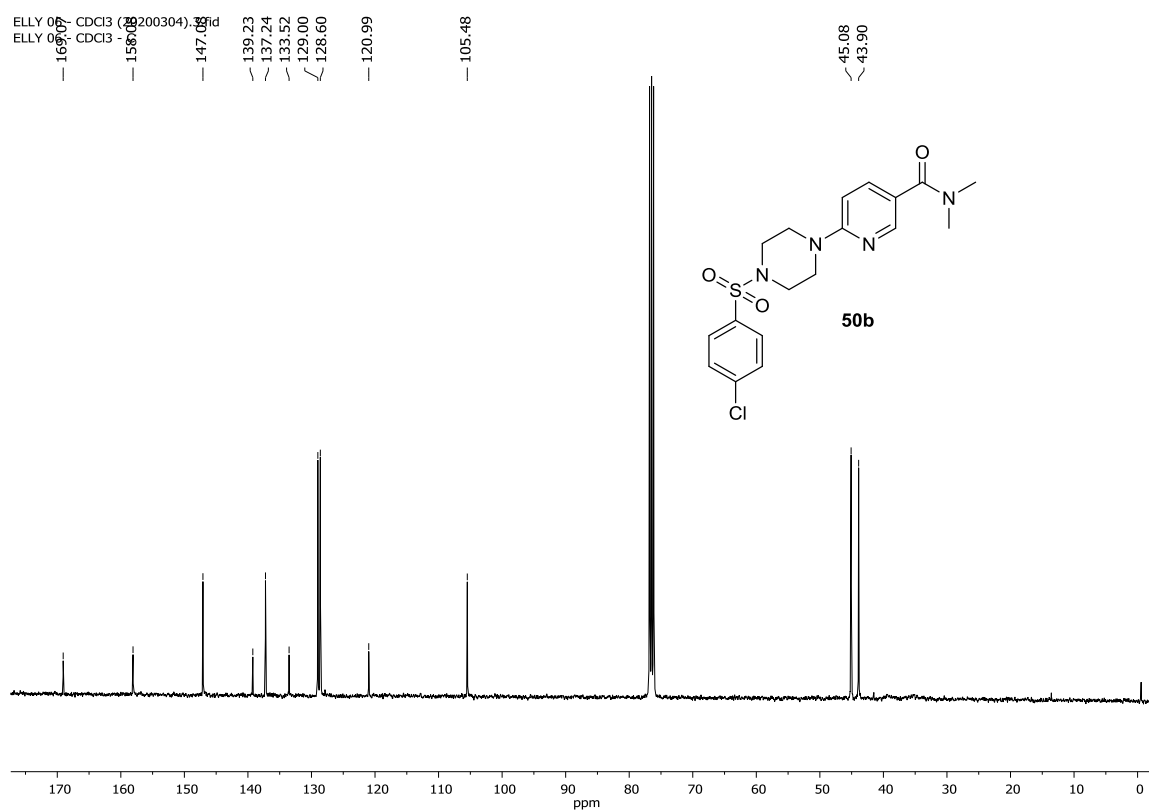
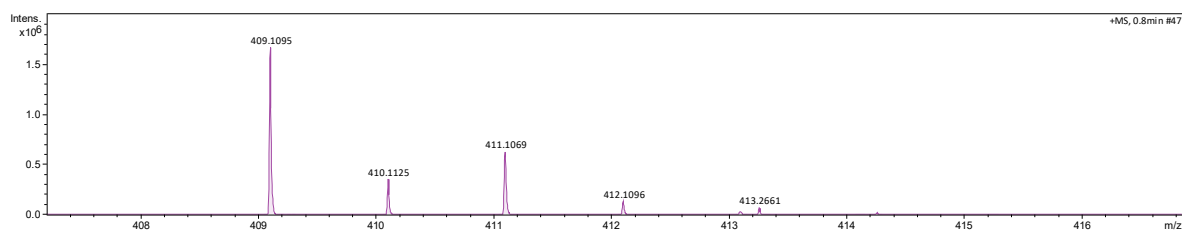
Anexo 46. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) do composto **44a**.Anexo 47. Espectro de EM/IES(+) de **44a**.

Anexo 48. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **51**.ACCM50T -  $\text{CDCl}_3$  (20200213), 15  
ACCM50T -  $\text{CDCl}_3$  - H



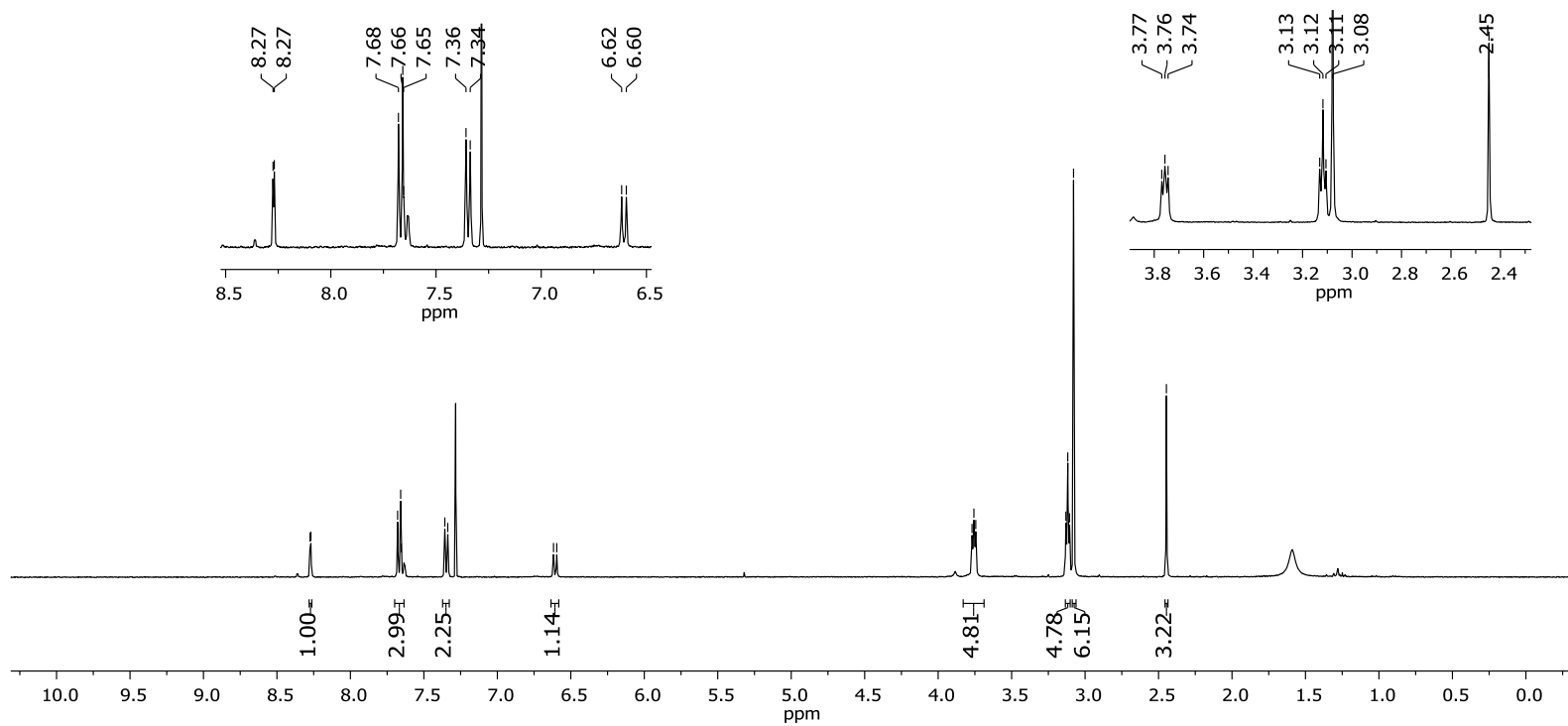
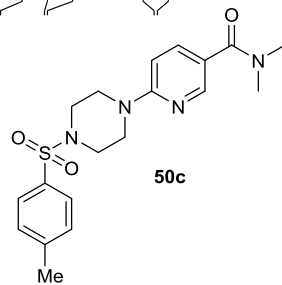
Anexo 49. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **51**.Anexo 50. Espectro de EM/IES(+) de **51**.

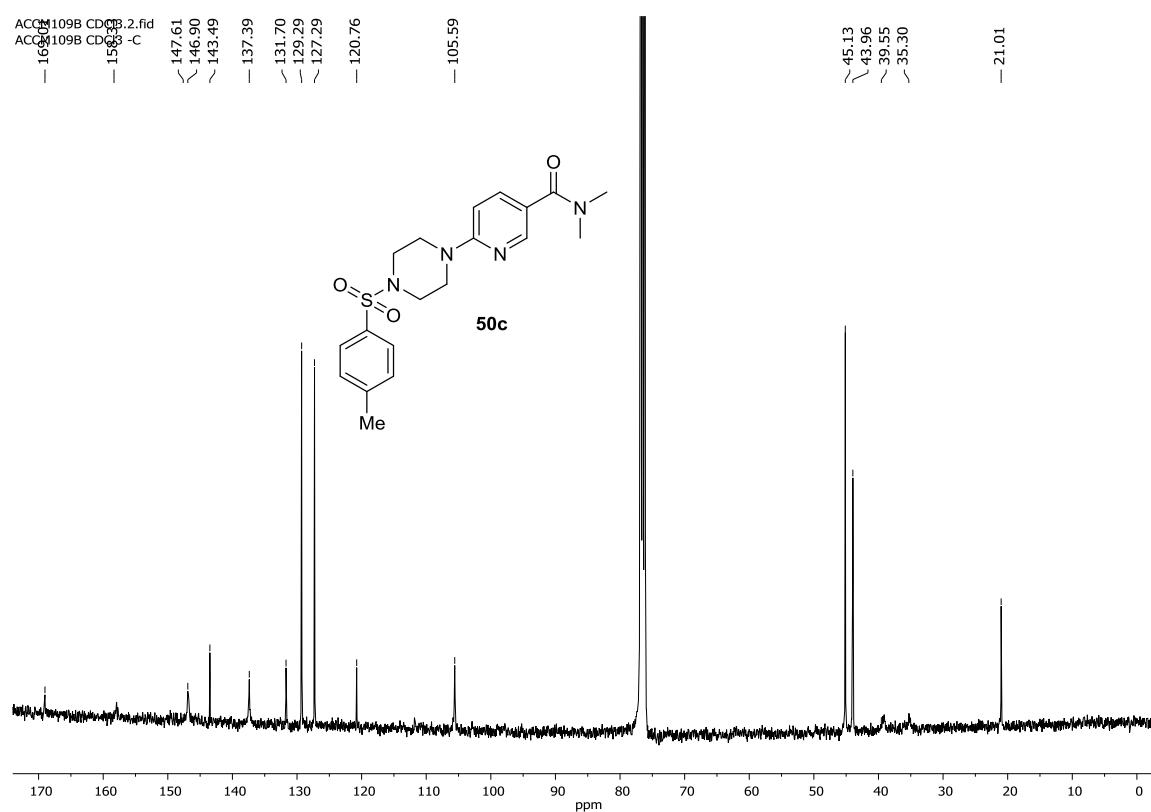
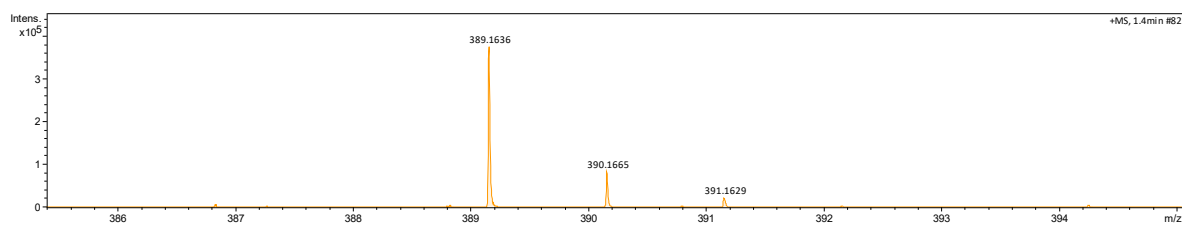
Anexo 51. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **50b**.

Anexo 52. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **50b**.Anexo 53. Espectro de EM/IES(+) de **50b**.

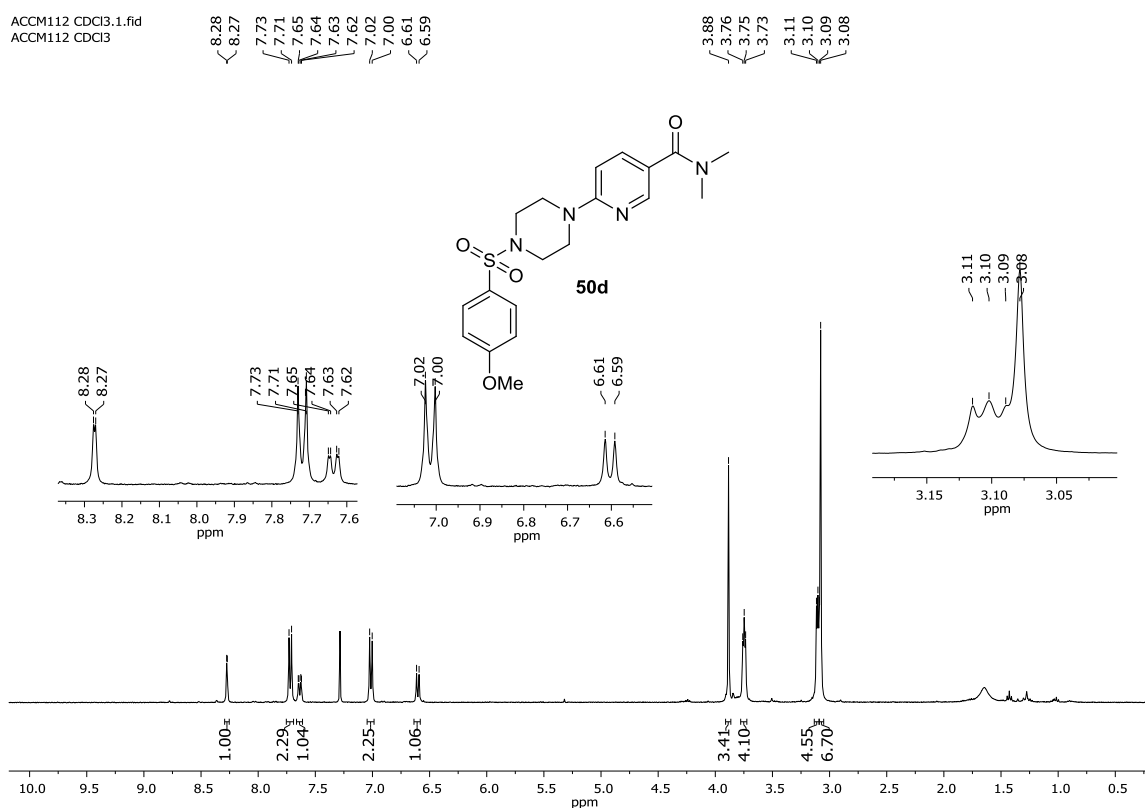
Anexo 54. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **50c**.ACCM109B CDCl3.1.fid  
ACCM109B CDCl3

8.27 8.27 7.68 7.66 7.65 7.36 7.34 6.62 6.60 3.77 3.76 3.74 3.13 3.12 3.11 3.08 2.45

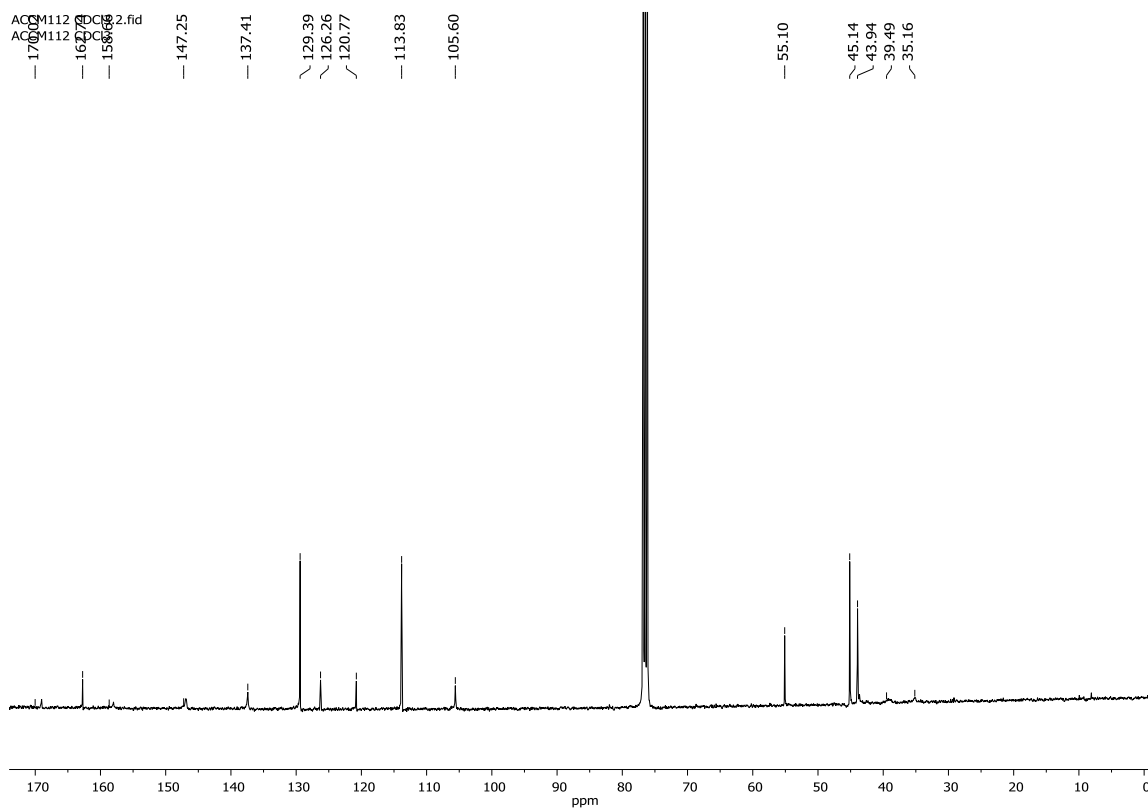


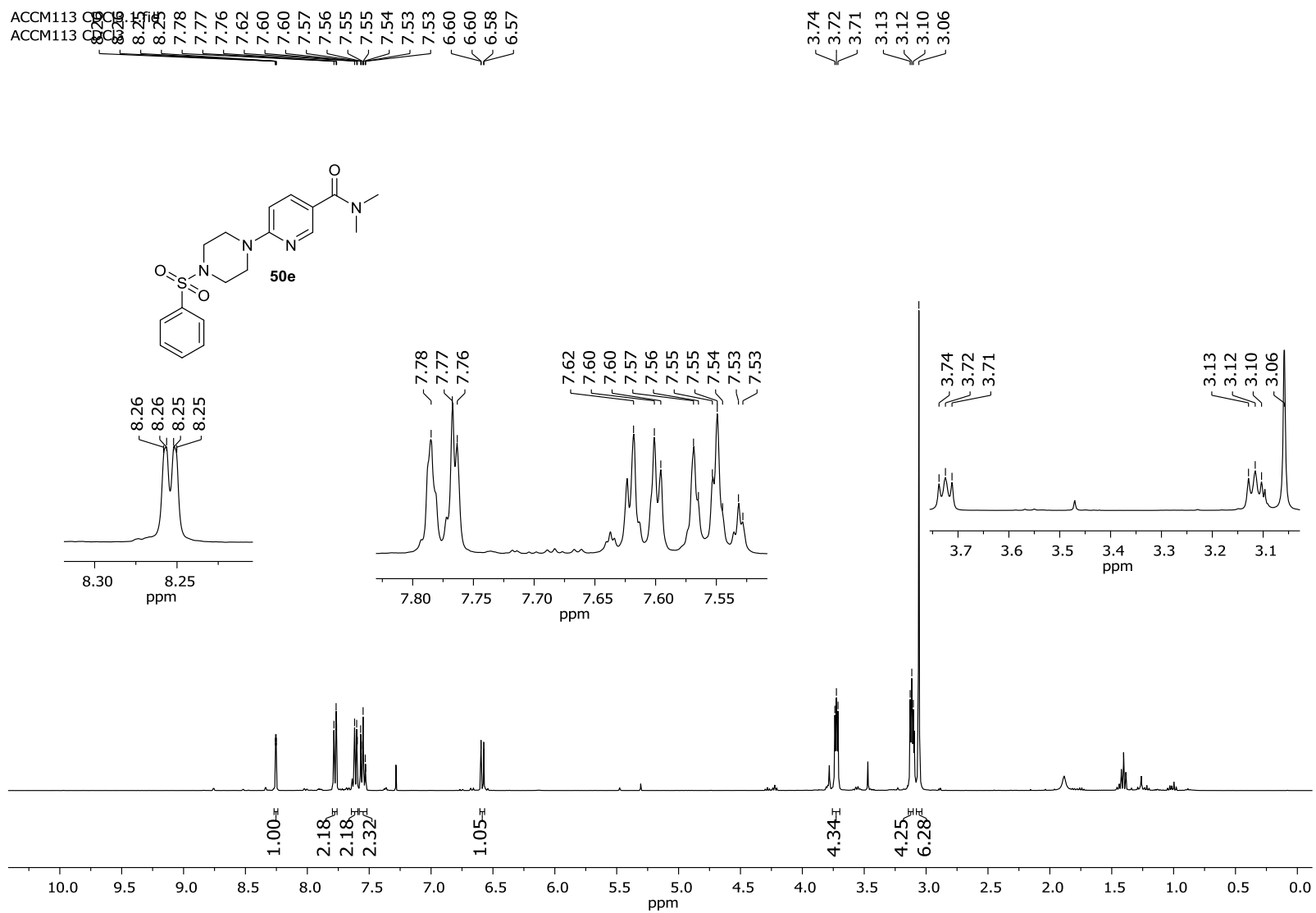
Anexo 55. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **50c**.Anexo 56. Espectro de EM/IES(+) de **50c**.

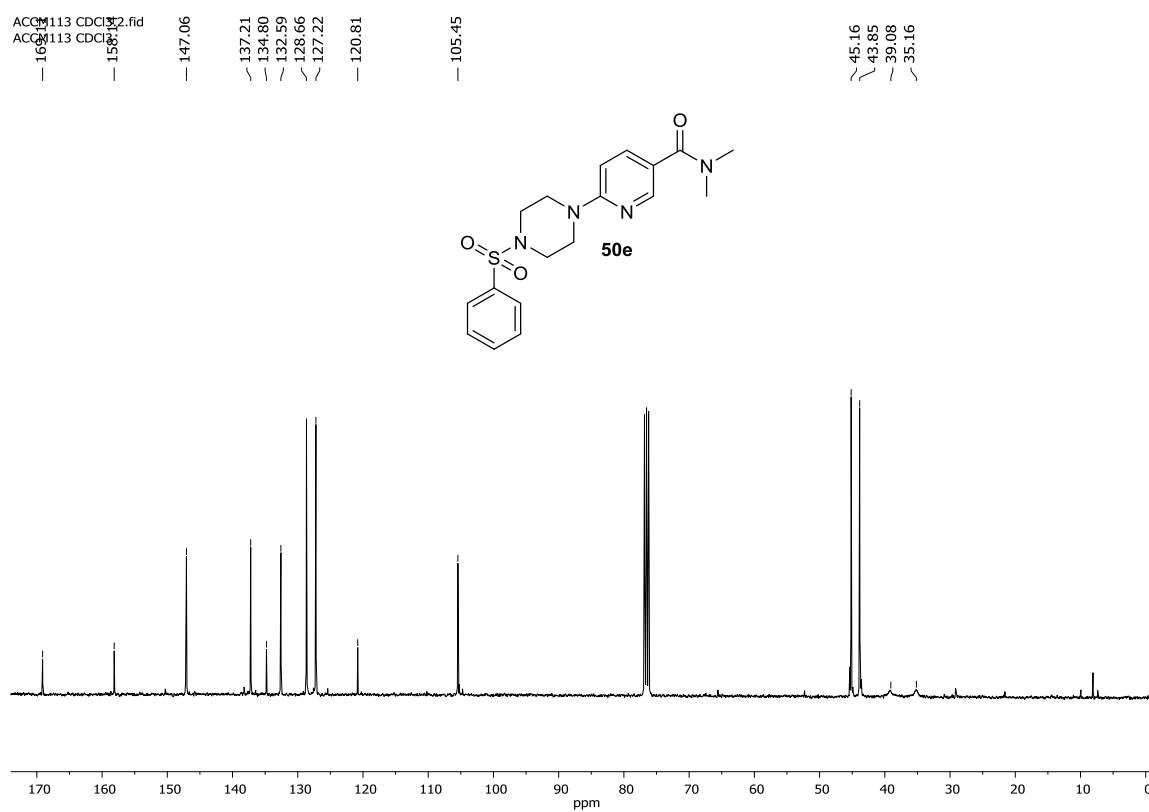
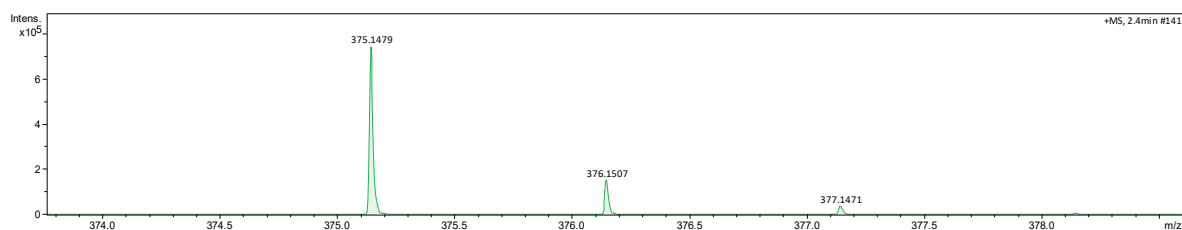
Anexo 57. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **50d**.



Anexo 58. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **50d**.

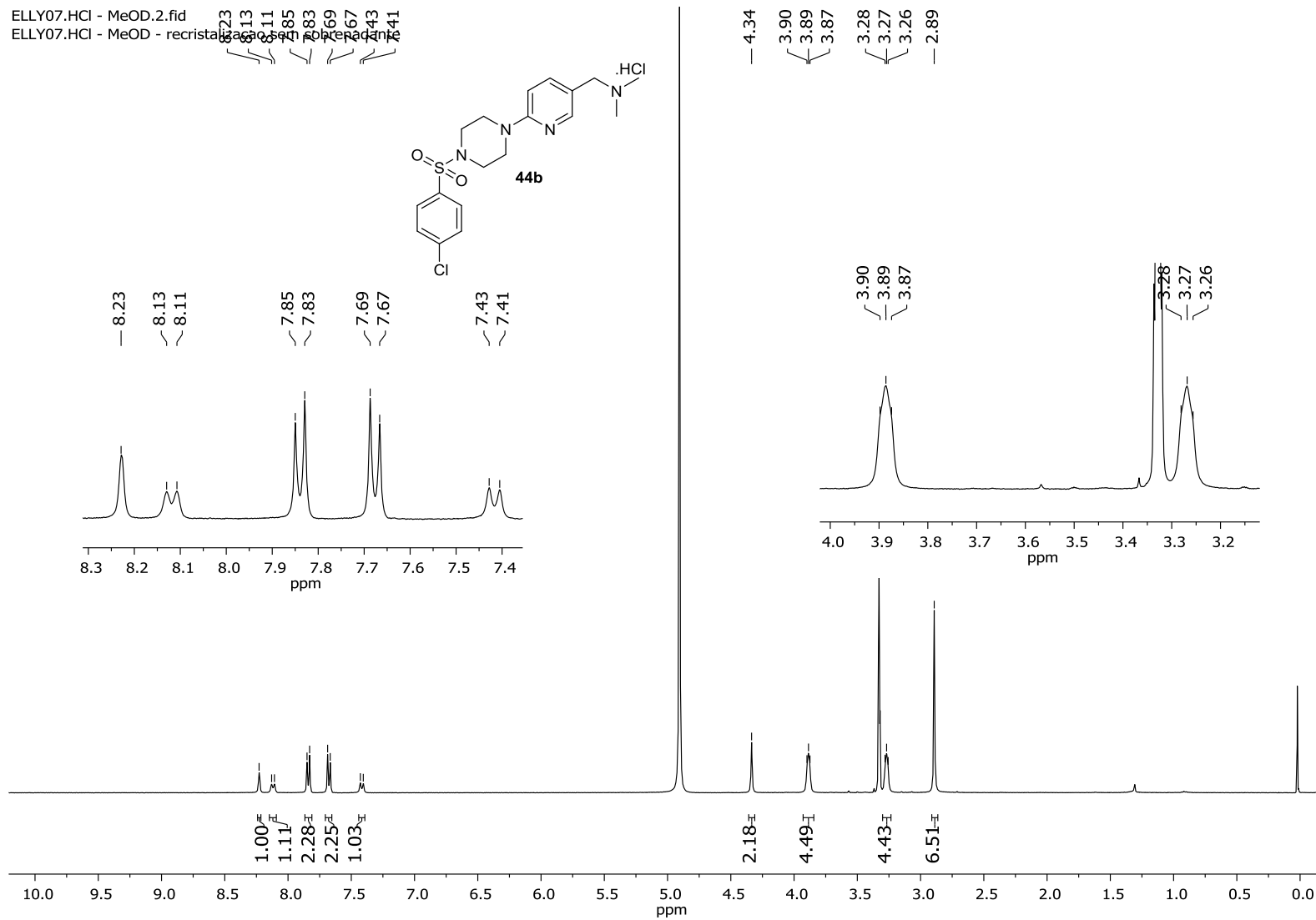


Anexo 59. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **50e**.

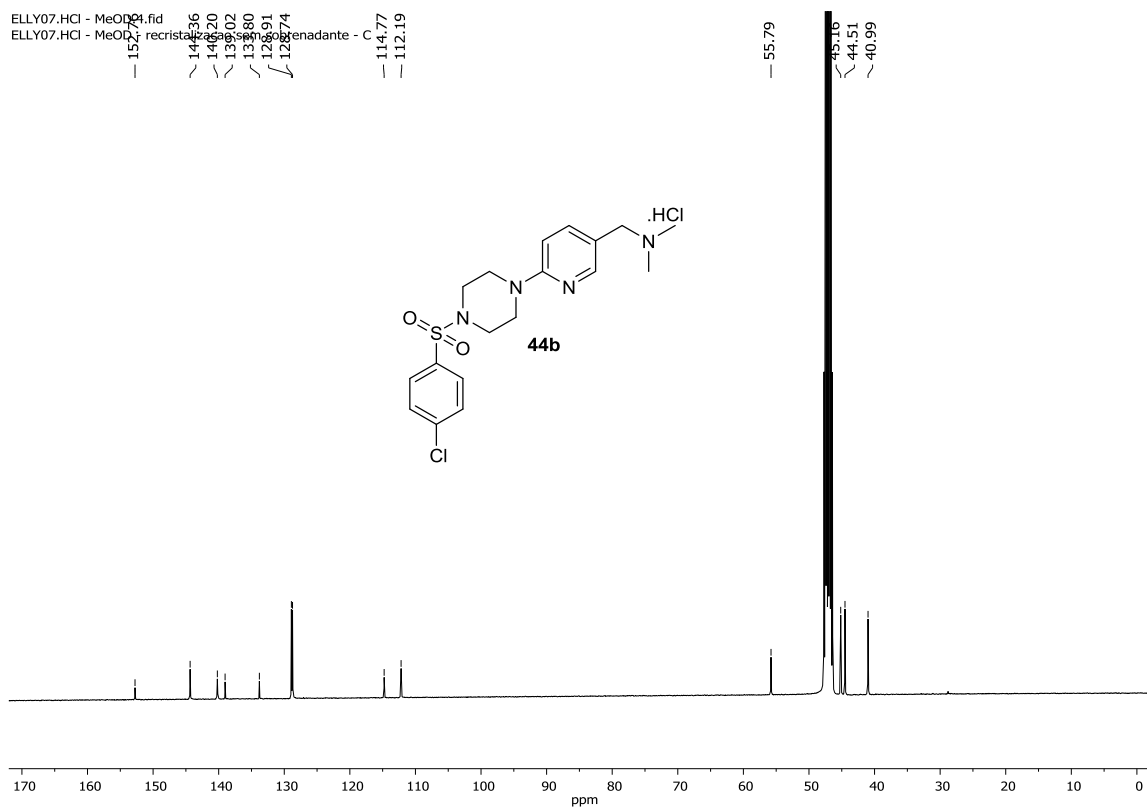
Anexo 60. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **50e**.Anexo 61. Espectro de EM/IES(+) de **50e**.



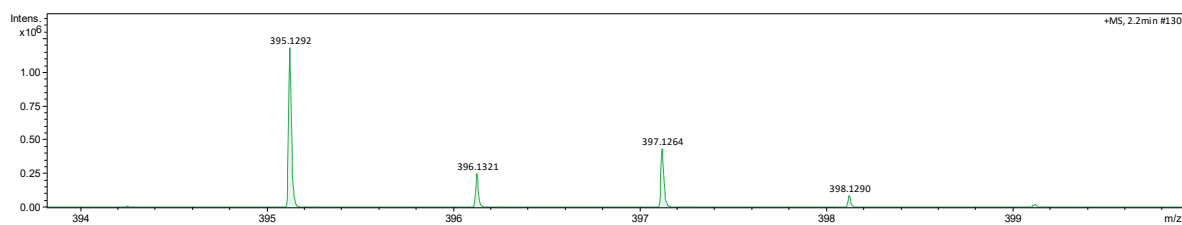
Anexo 62. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) do composto **44b**.

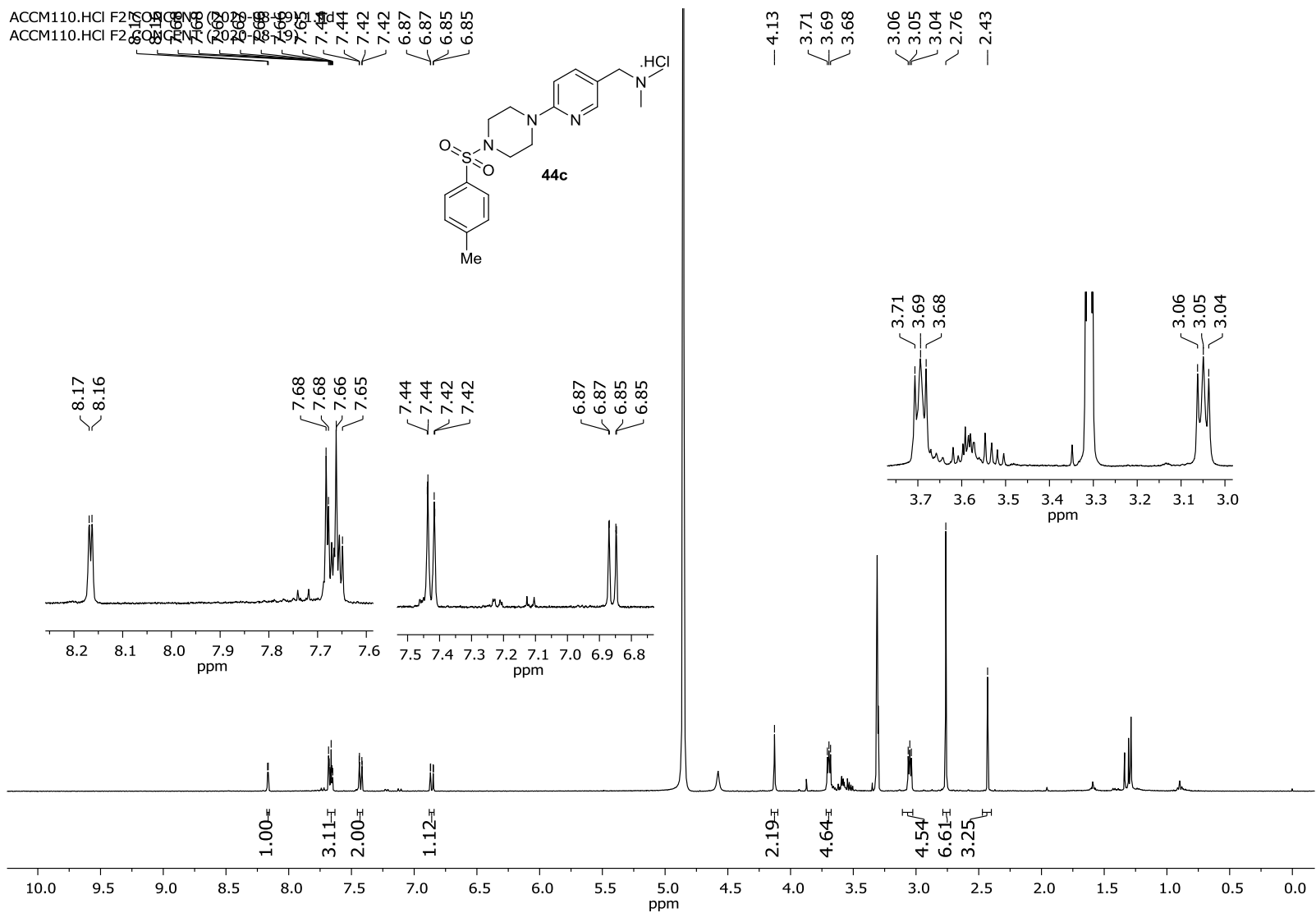


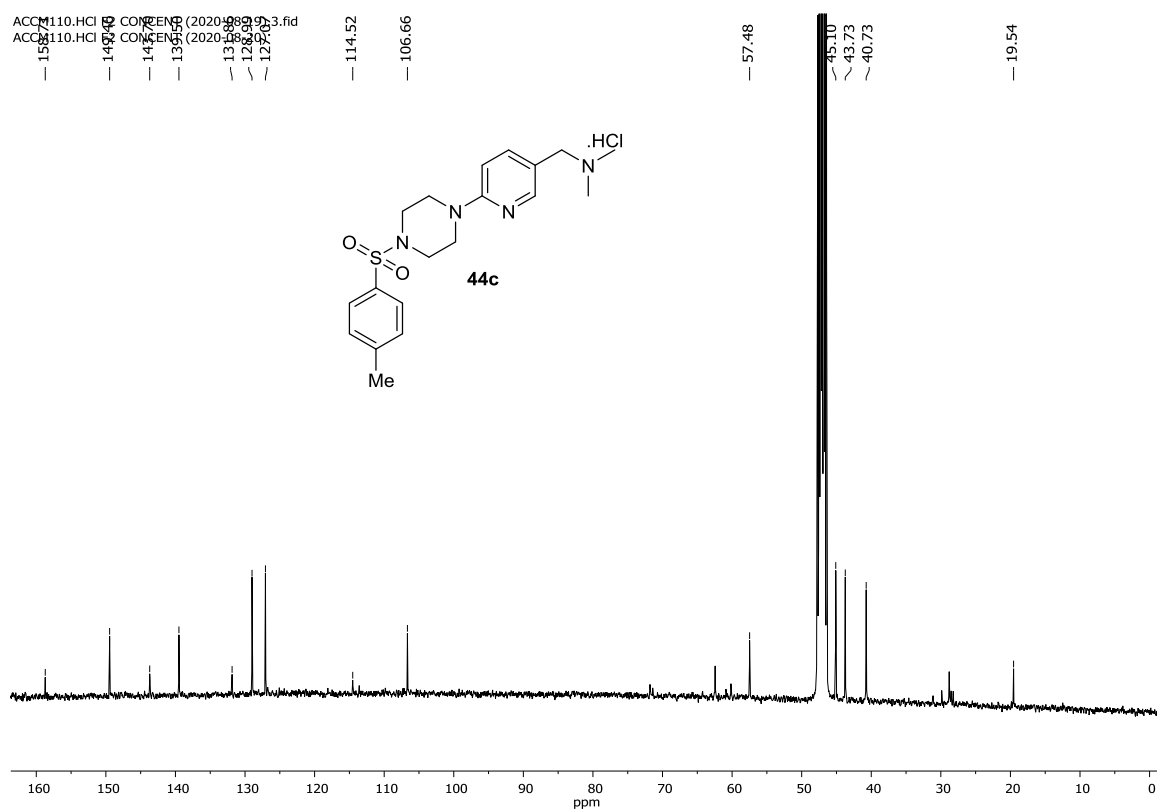
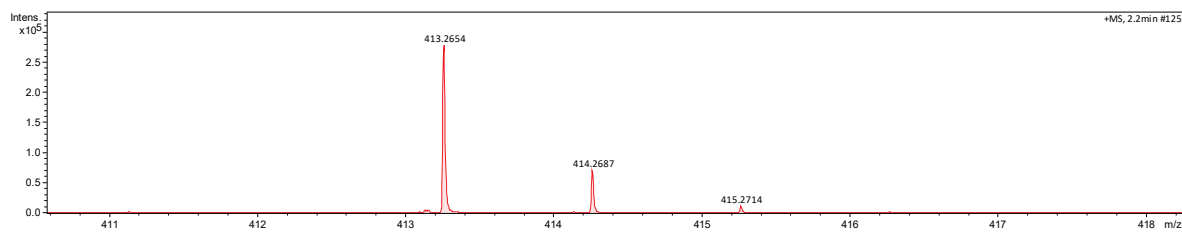
### Anexo 63. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (101 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) do composto **44b**.



### Anexo 64. Espectro de EM/IES(+) de **44b**.

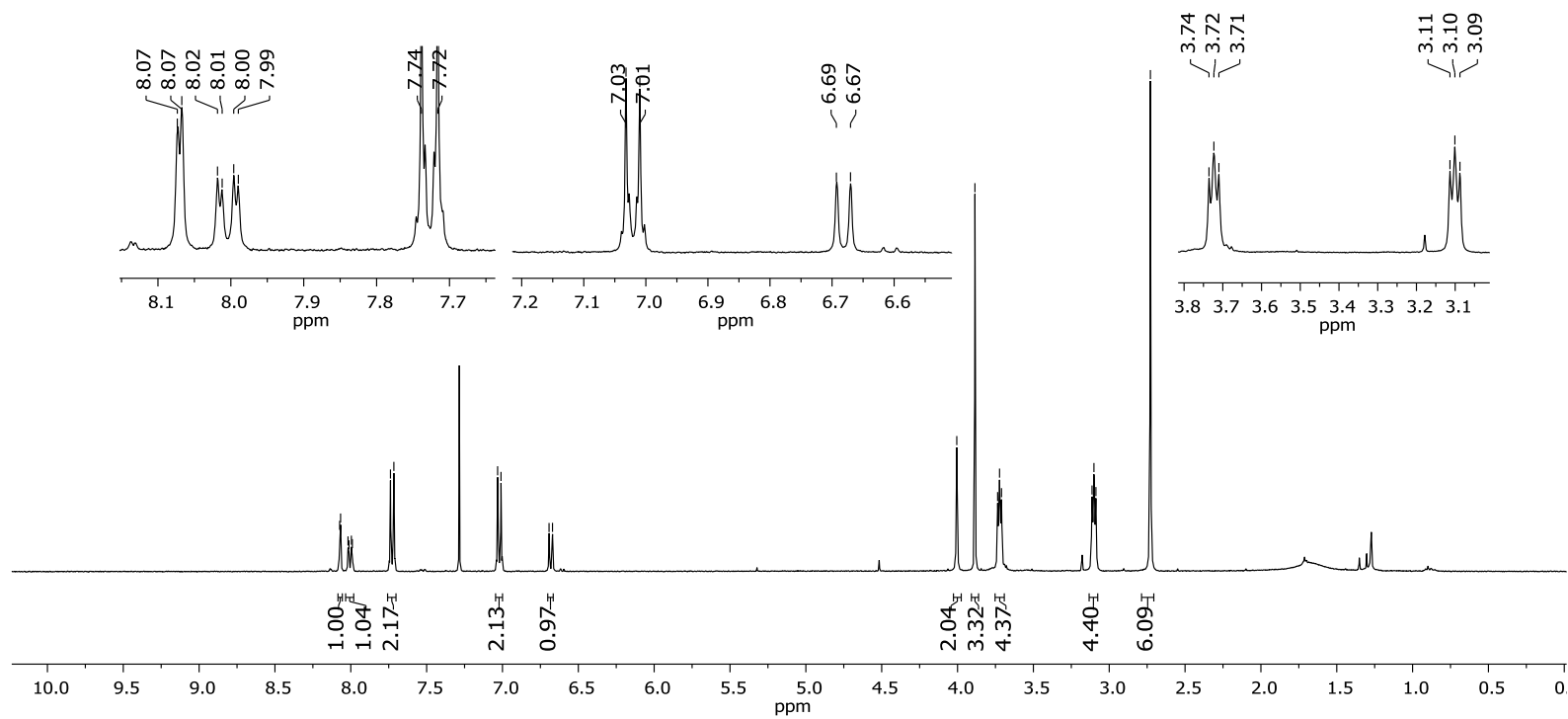
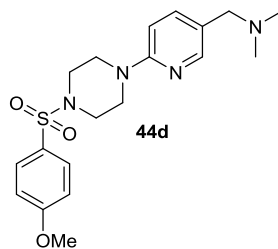


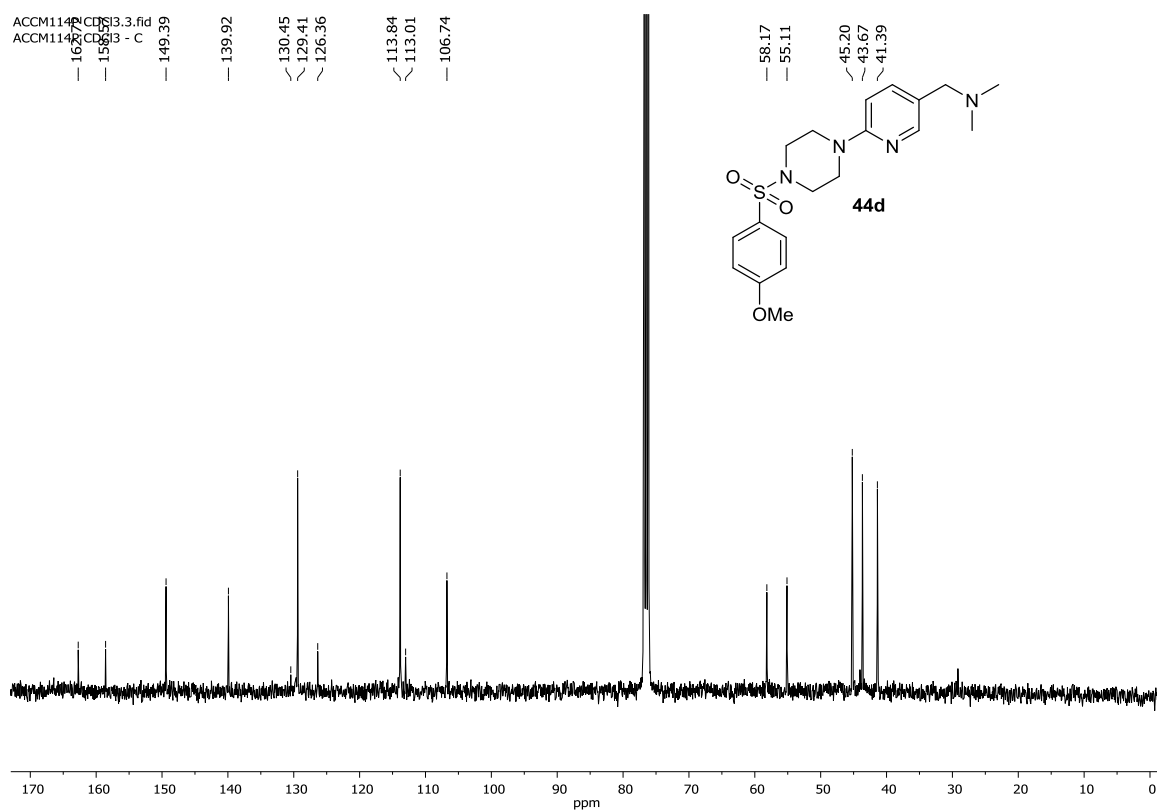
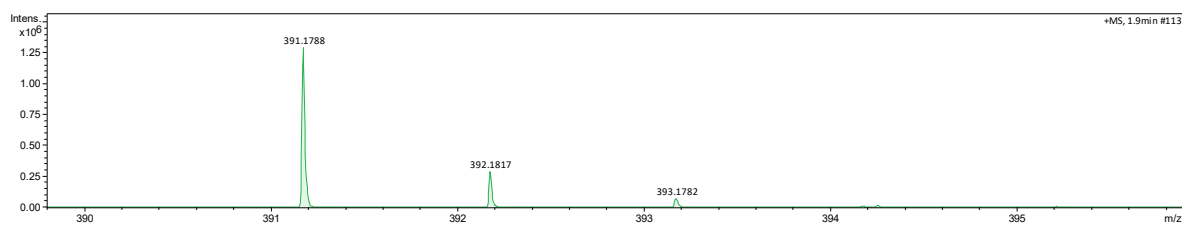
Anexo 65. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) do composto **44c**.

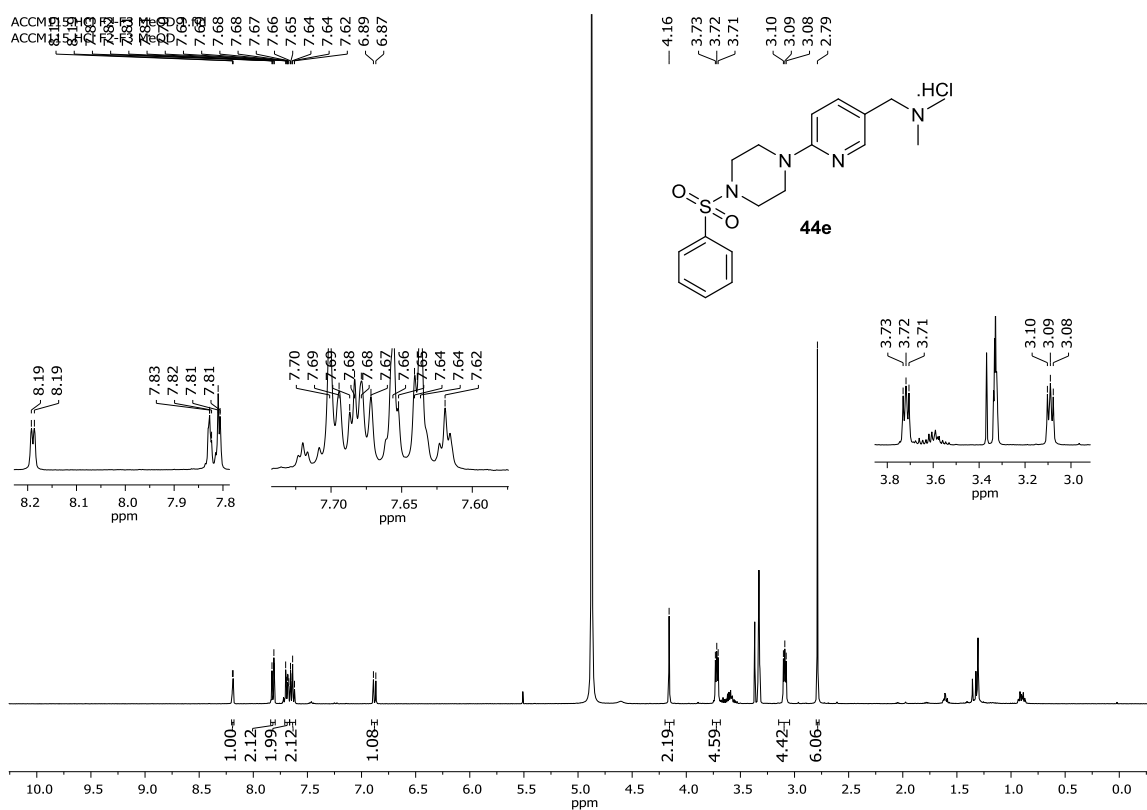
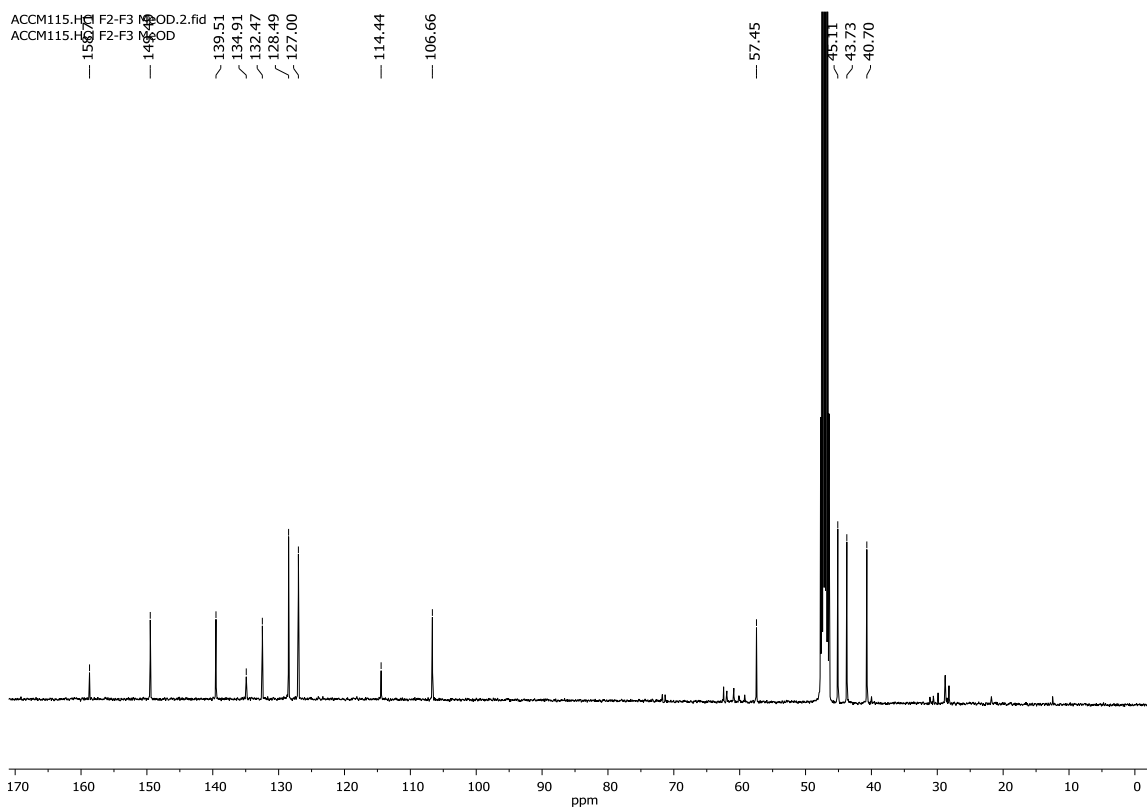
Anexo 66. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) do composto **44c**.Anexo 67. Espectro de EM/IES(+) de **44c**.

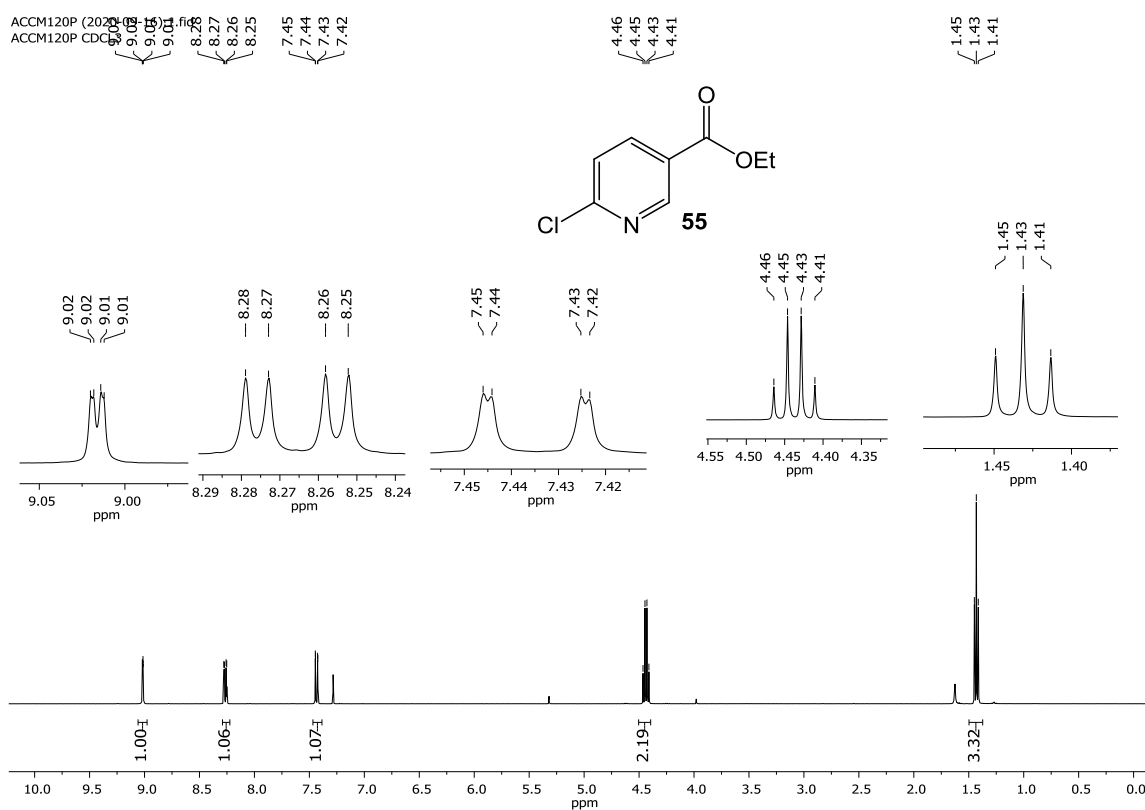
Anexo 68. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **44d**.ACCM114P CDCl3.1.fid  
ACCM114P CDCl3

8.07 8.07 8.02 8.01 8.00 7.99 7.74 7.72 7.03 7.01 6.69 6.67 4.00 3.89 3.74 3.72 3.71 3.11 3.10 3.09 2.73

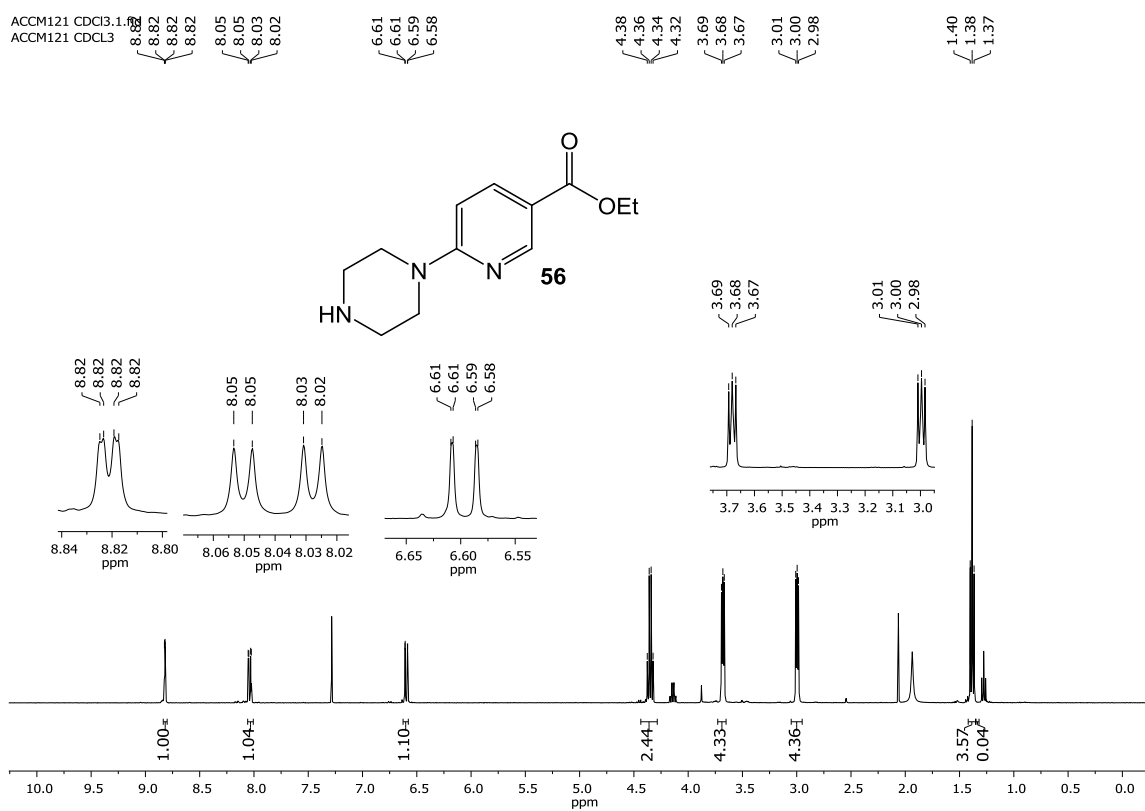
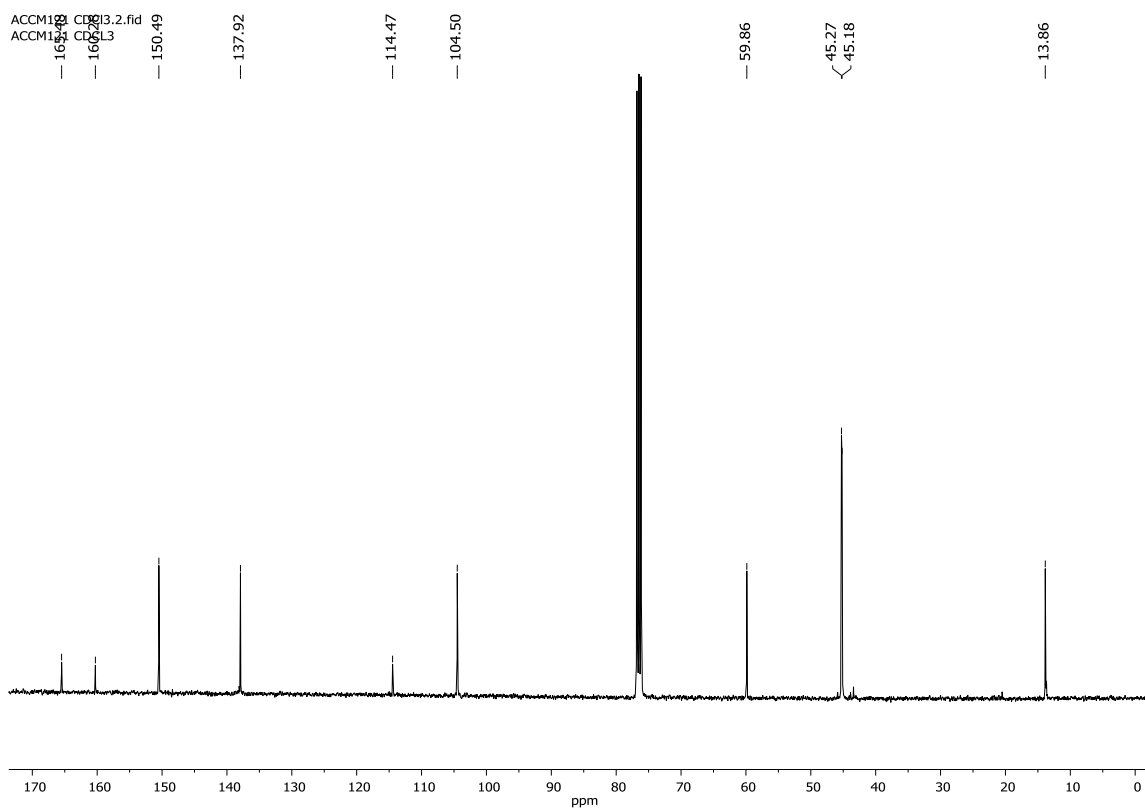


Anexo 69. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **44d**.Anexo 70. Espectro de EM/IES(+) de **44d**.

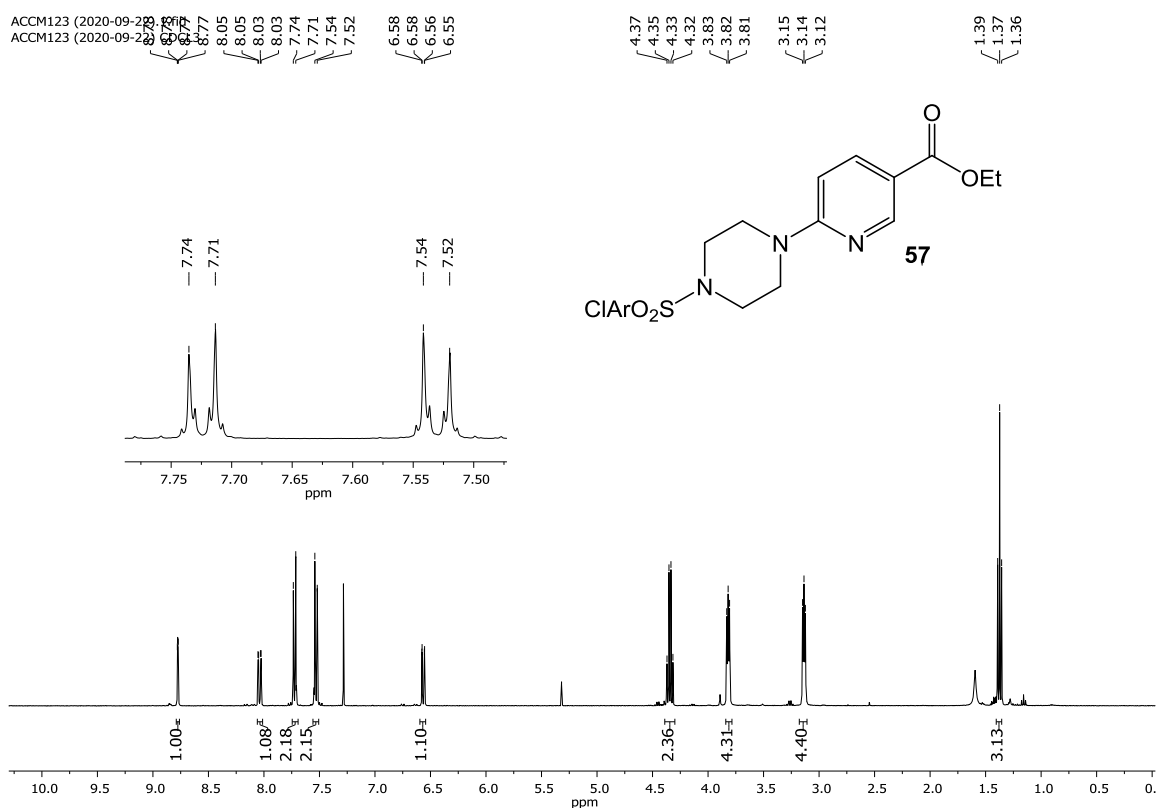
Anexo 71. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) do composto **44e**.Anexo 72. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) do composto **44e**.

Anexo 73. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **55**.

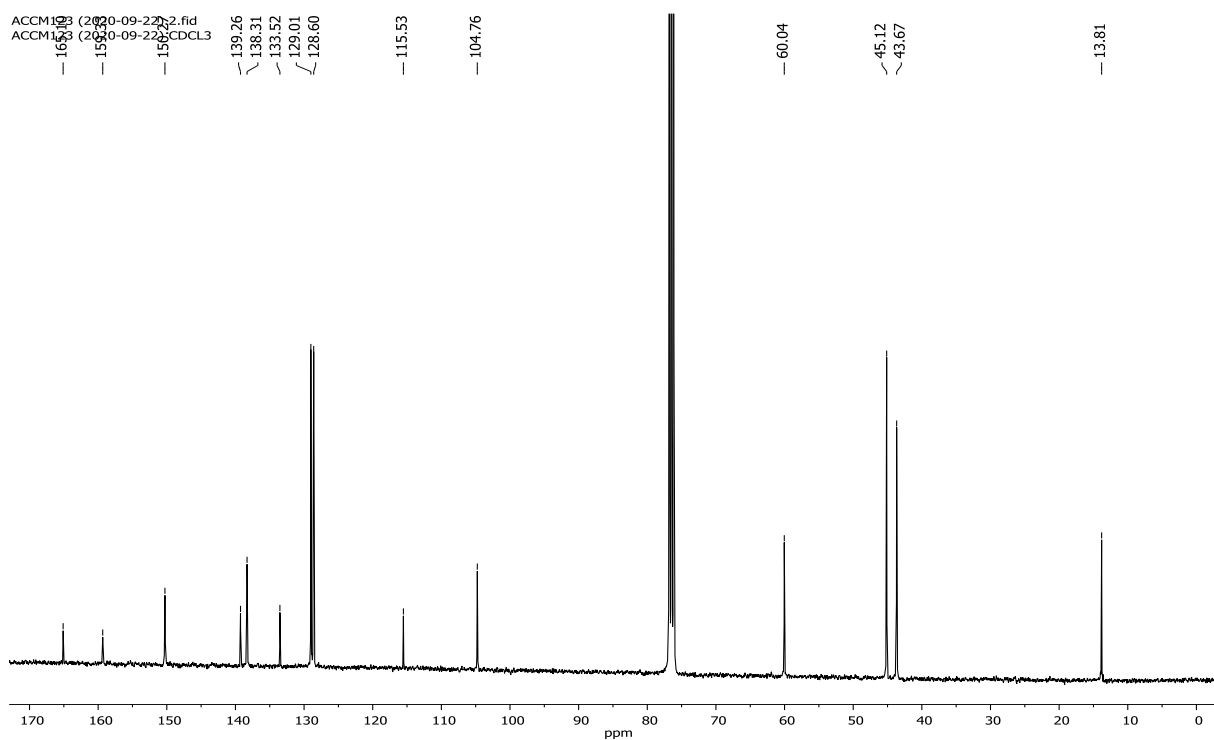


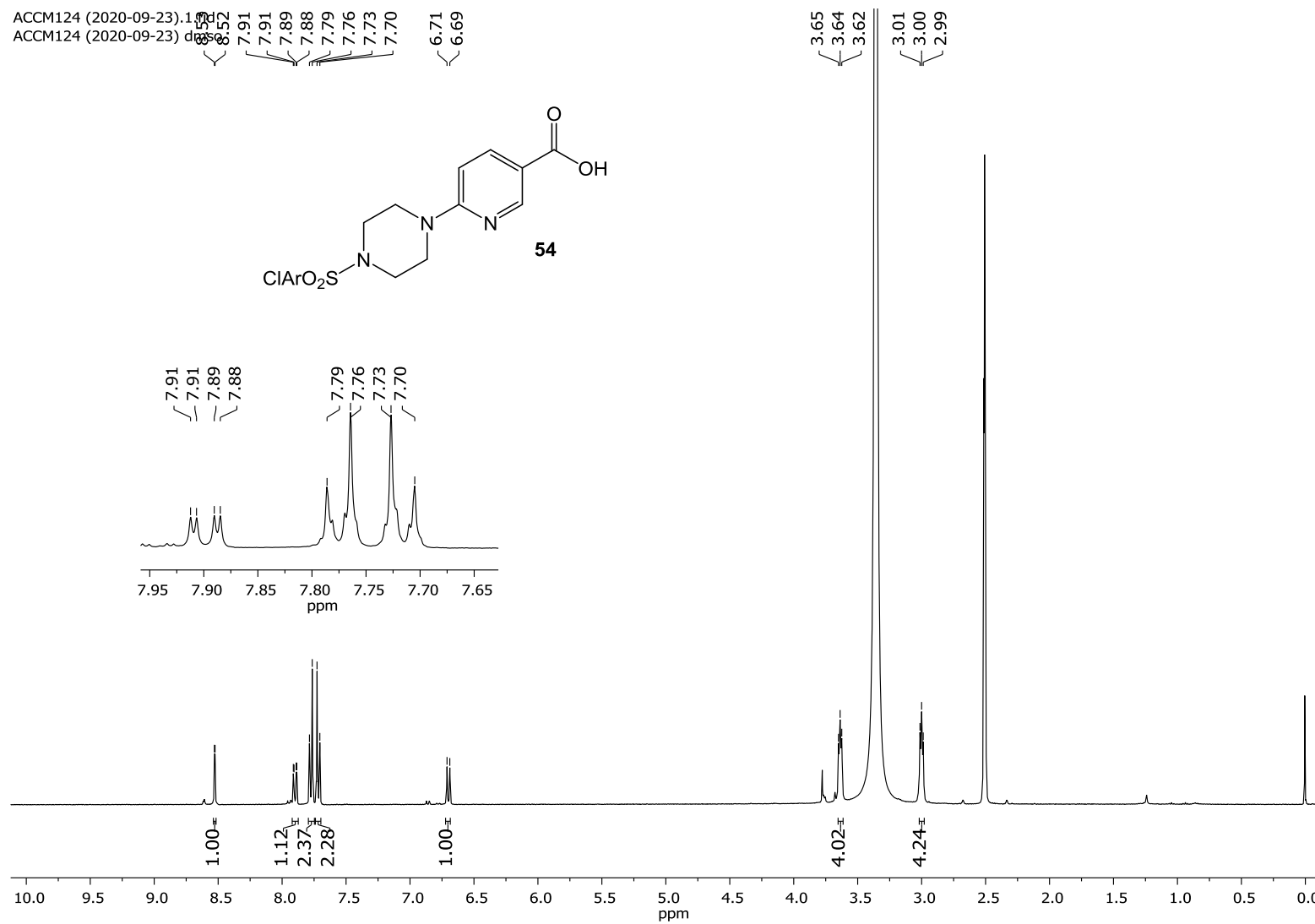
Anexo 74. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **56**.Anexo 75. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **56**.

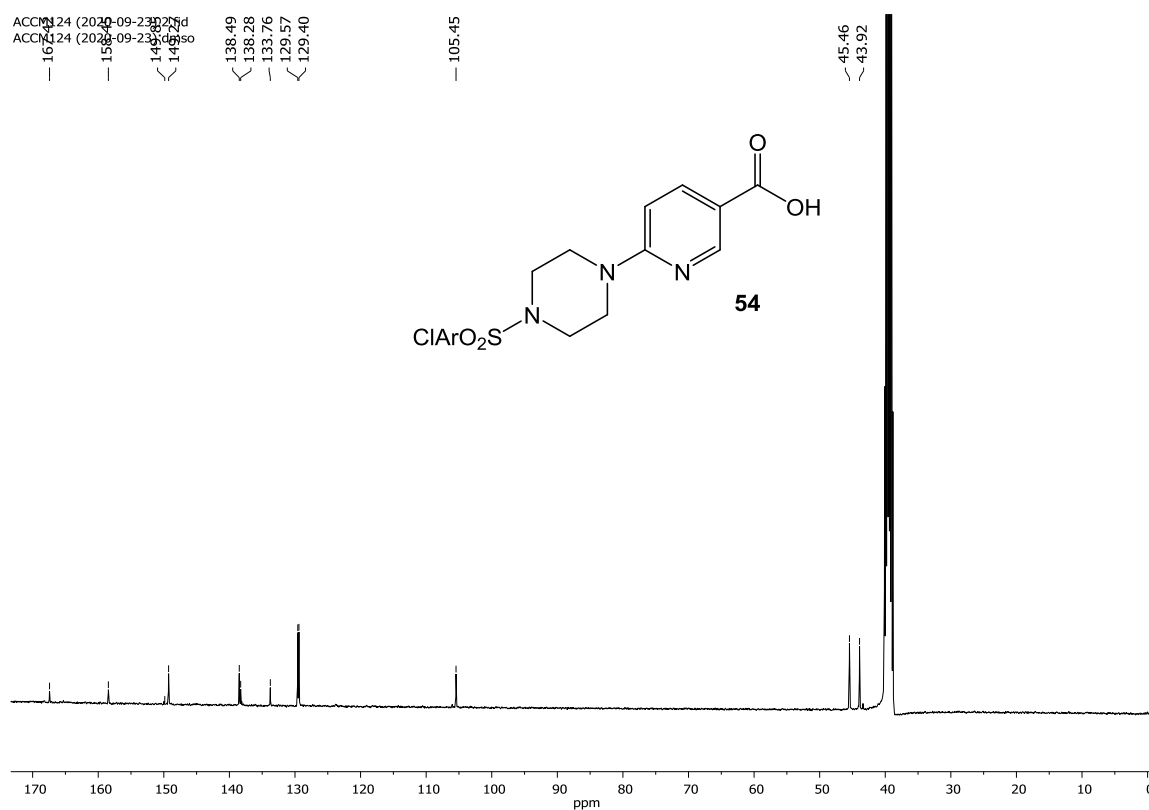
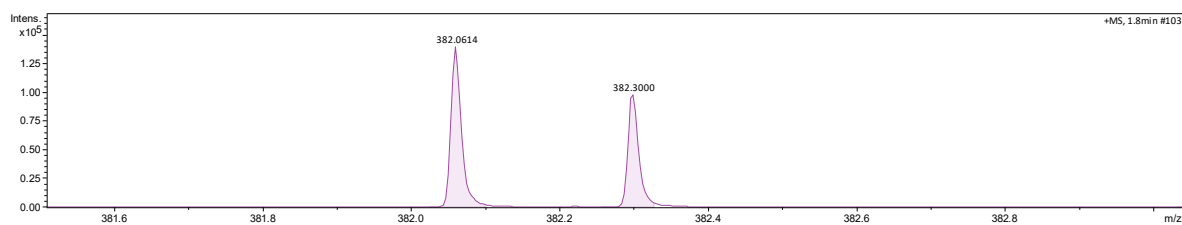
Anexo 76. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **57**.



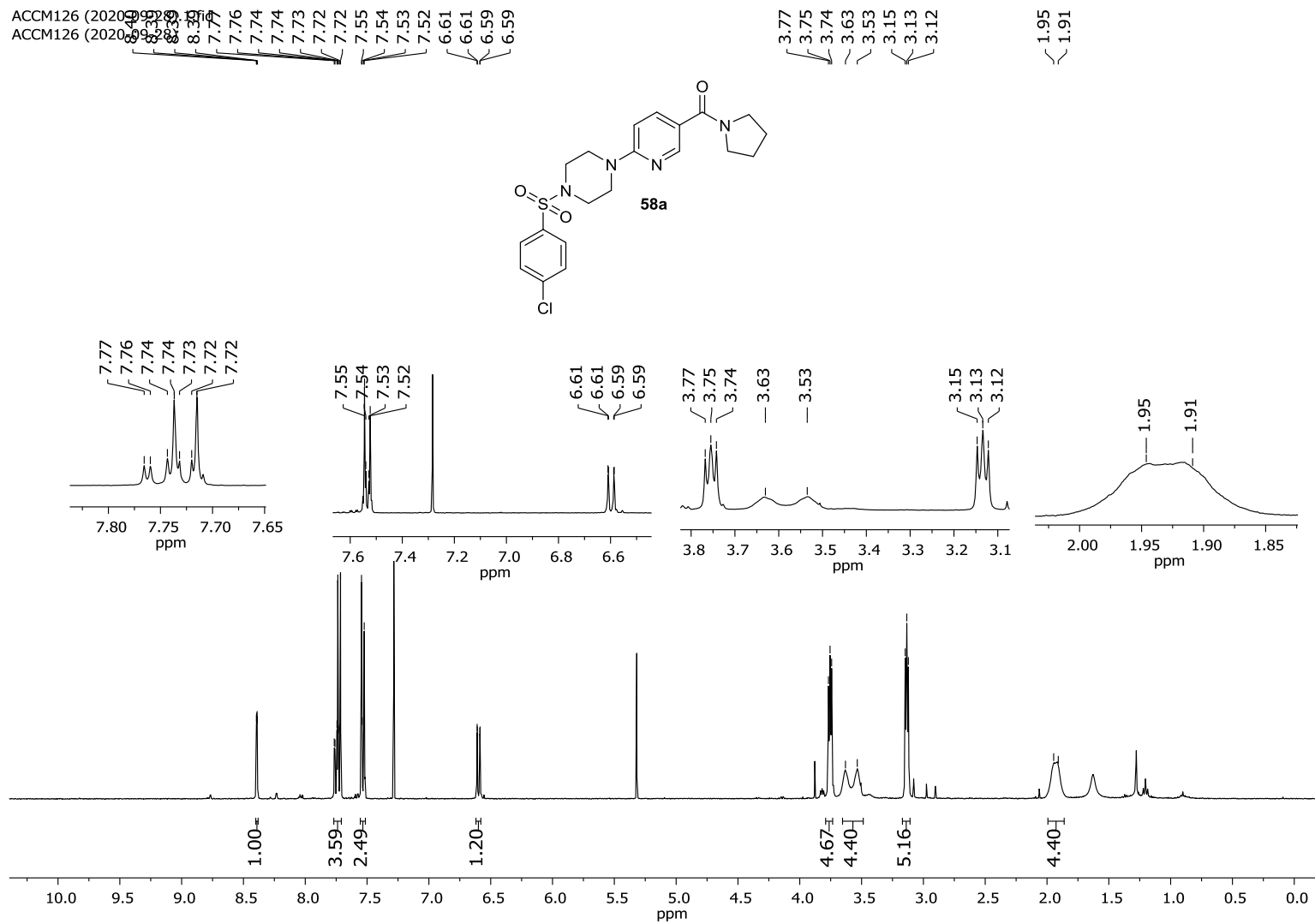
Anexo 77. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **57**.

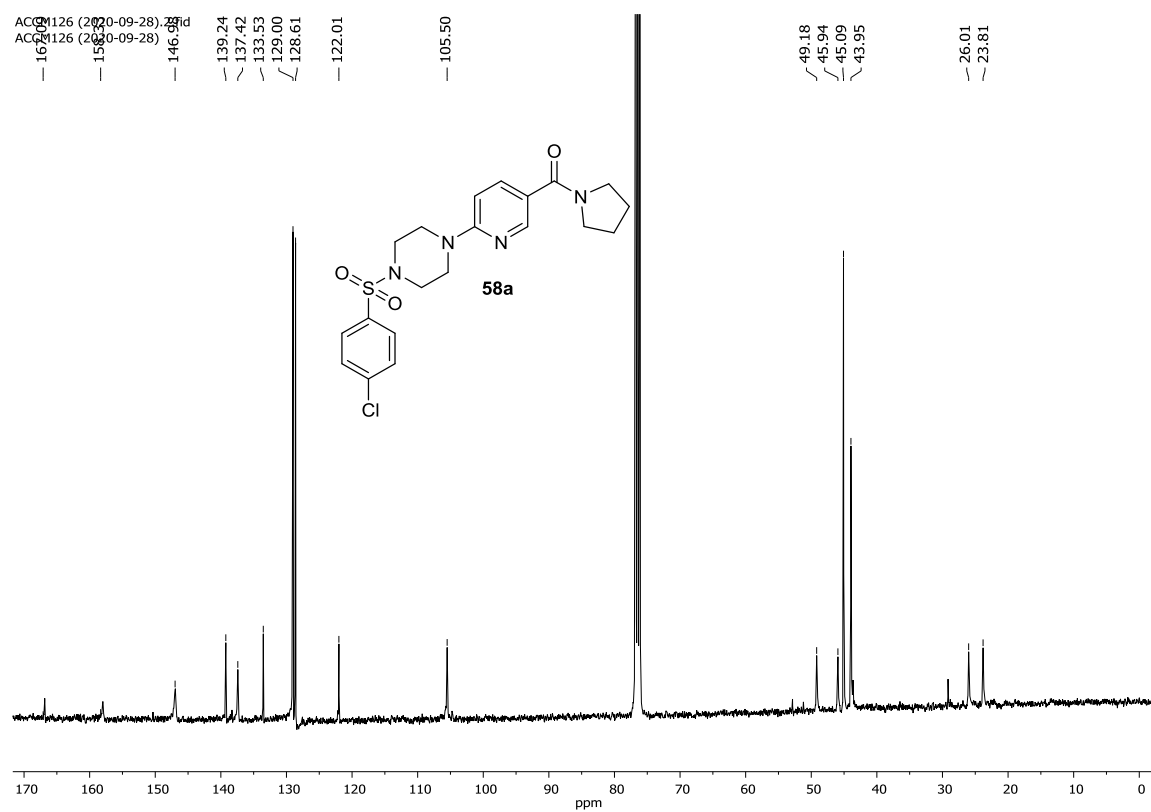
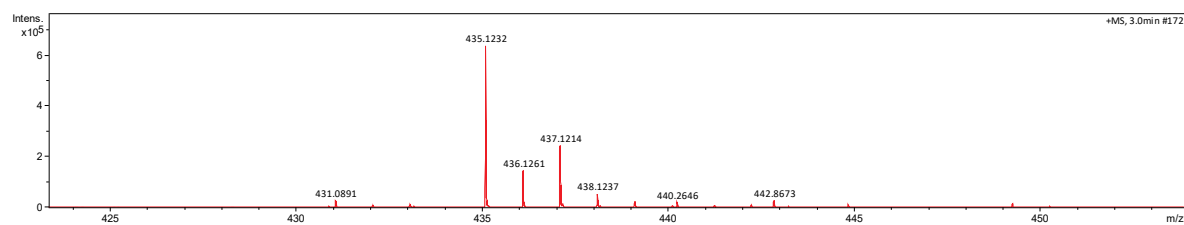


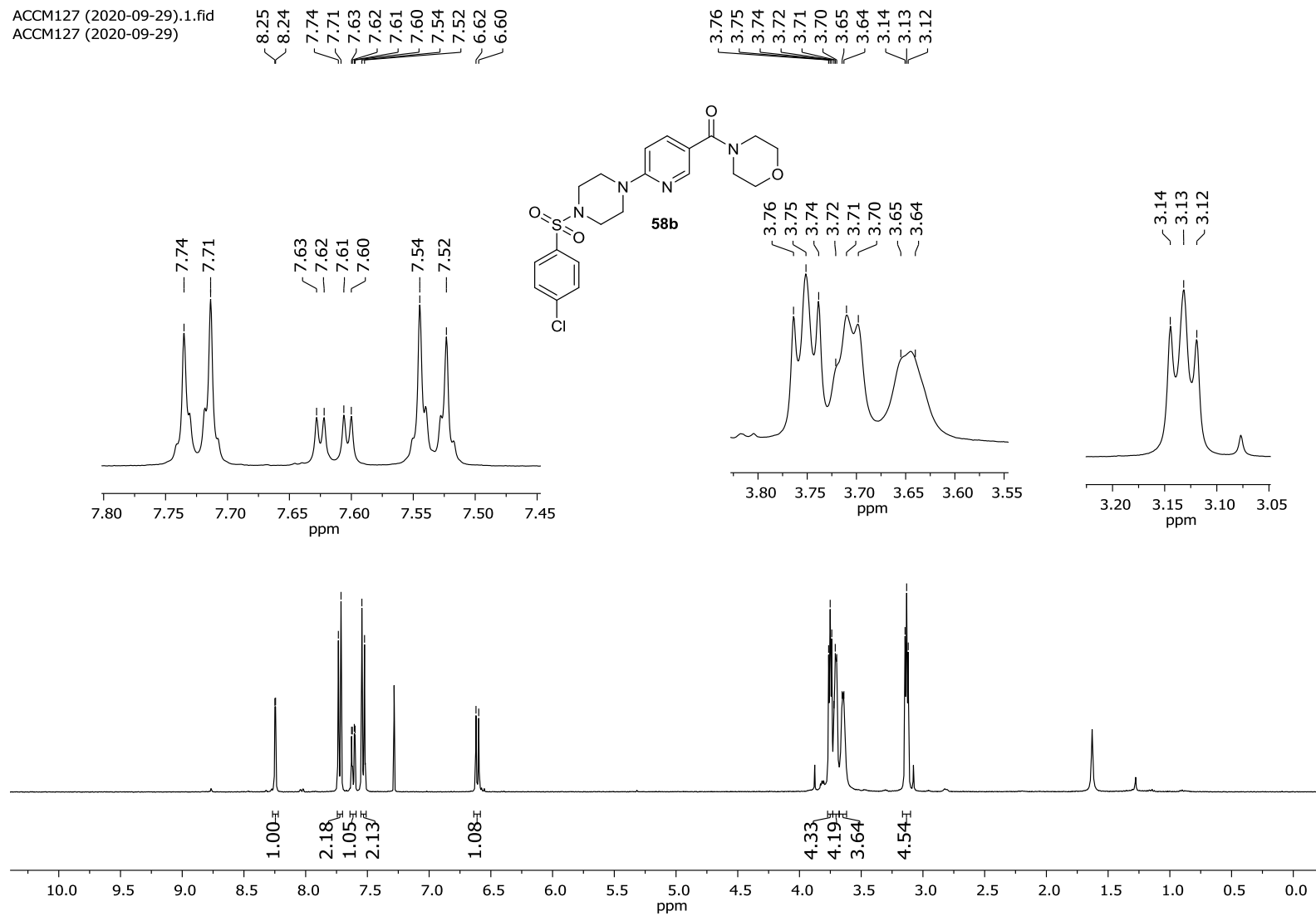
Anexo 78. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **54**.

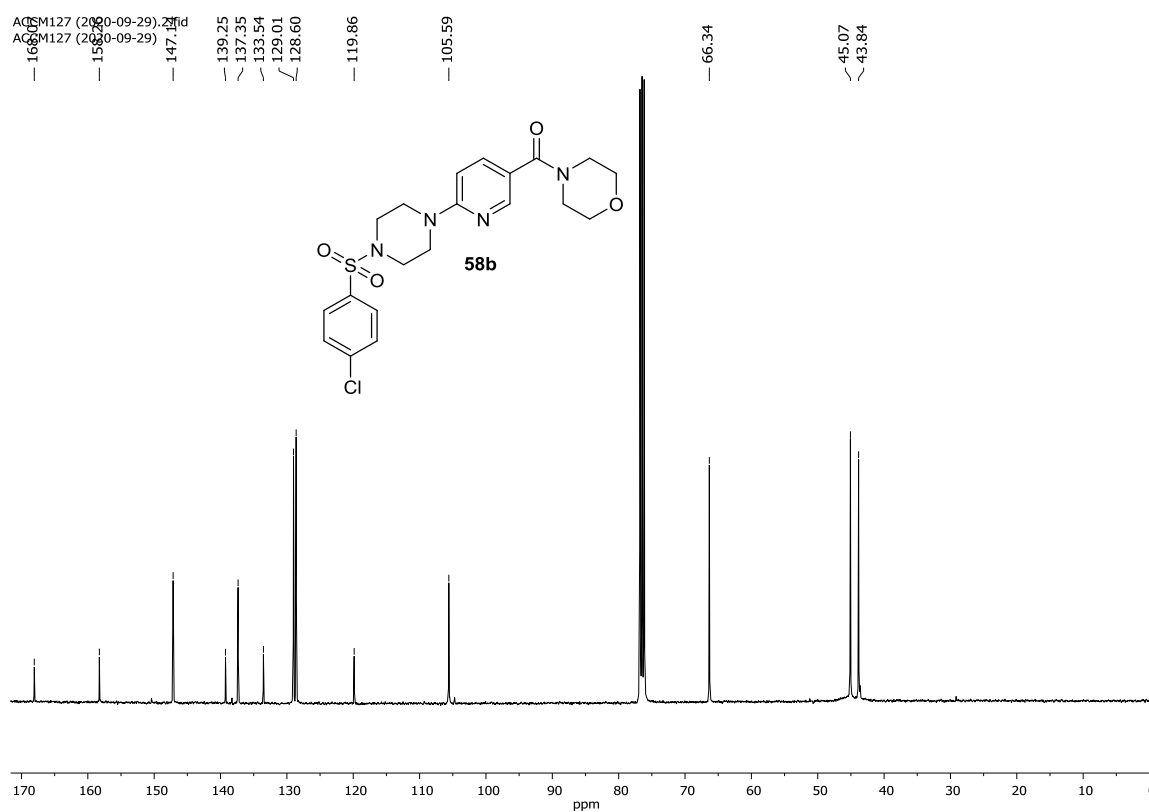
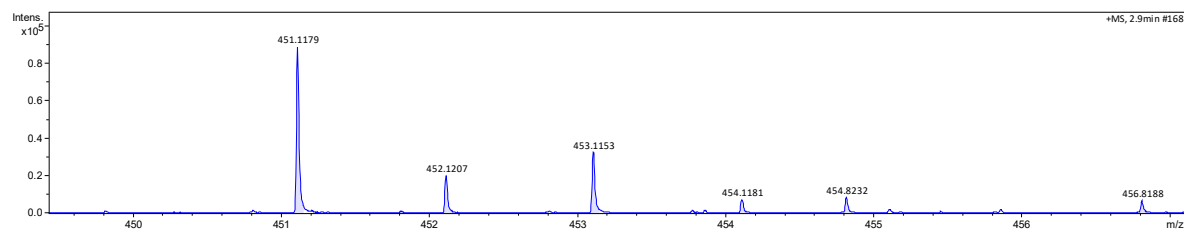
Anexo 79. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **54**.Anexo 80. Espectro de EM/IES(+) de **54**.

Anexo 81. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **58a**.



Anexo 82. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **58a**.Anexo 83. Espectro de EM/IES(+) de **58a**.

Anexo 84. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **58b**.ACCM127 (2020-09-29).1.fid  
ACCM127 (2020-09-29)

Anexo 85. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **58b**.Anexo 86. Espectro de EM/IES(+) de **58b**.

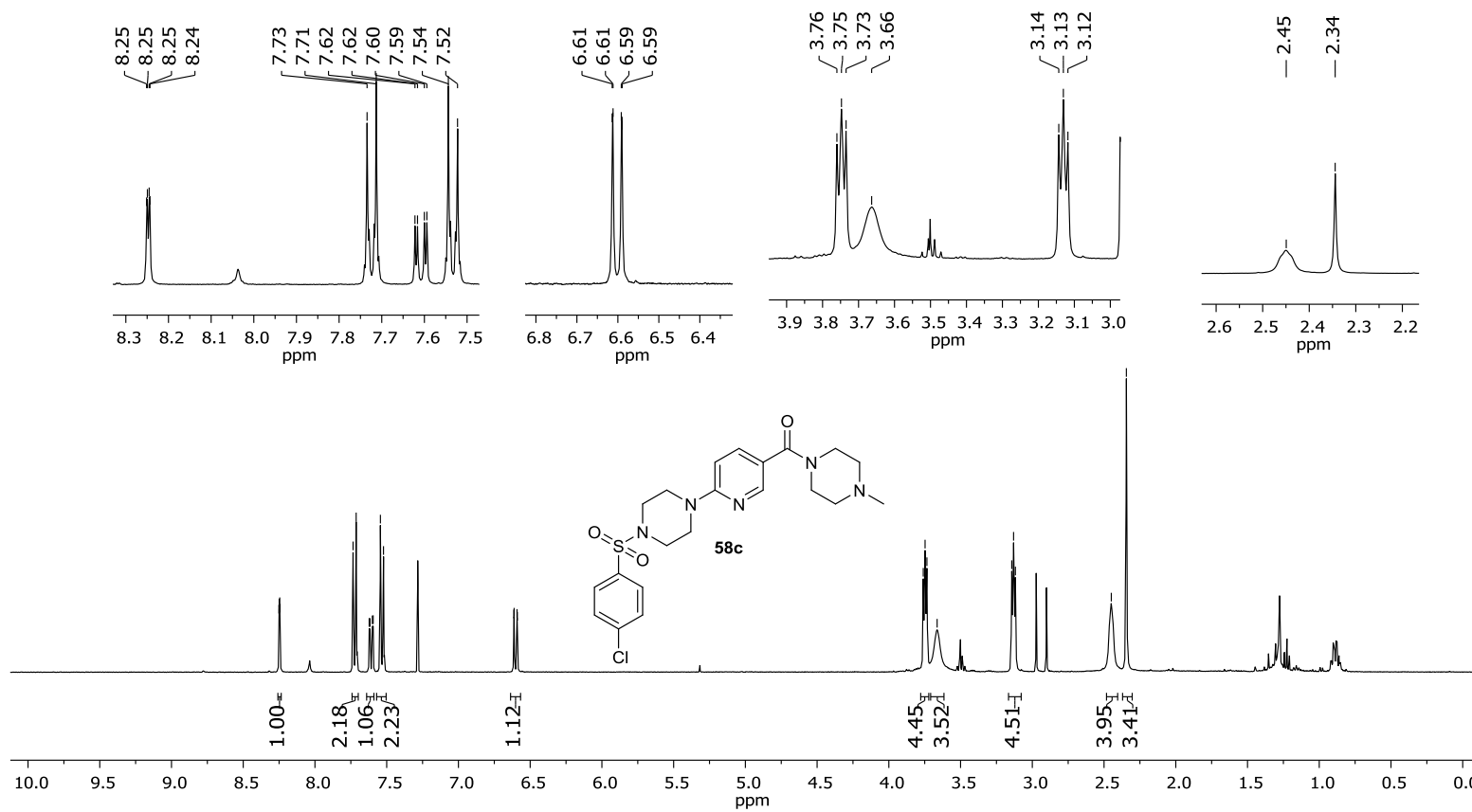


Anexo 87. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **58c**.

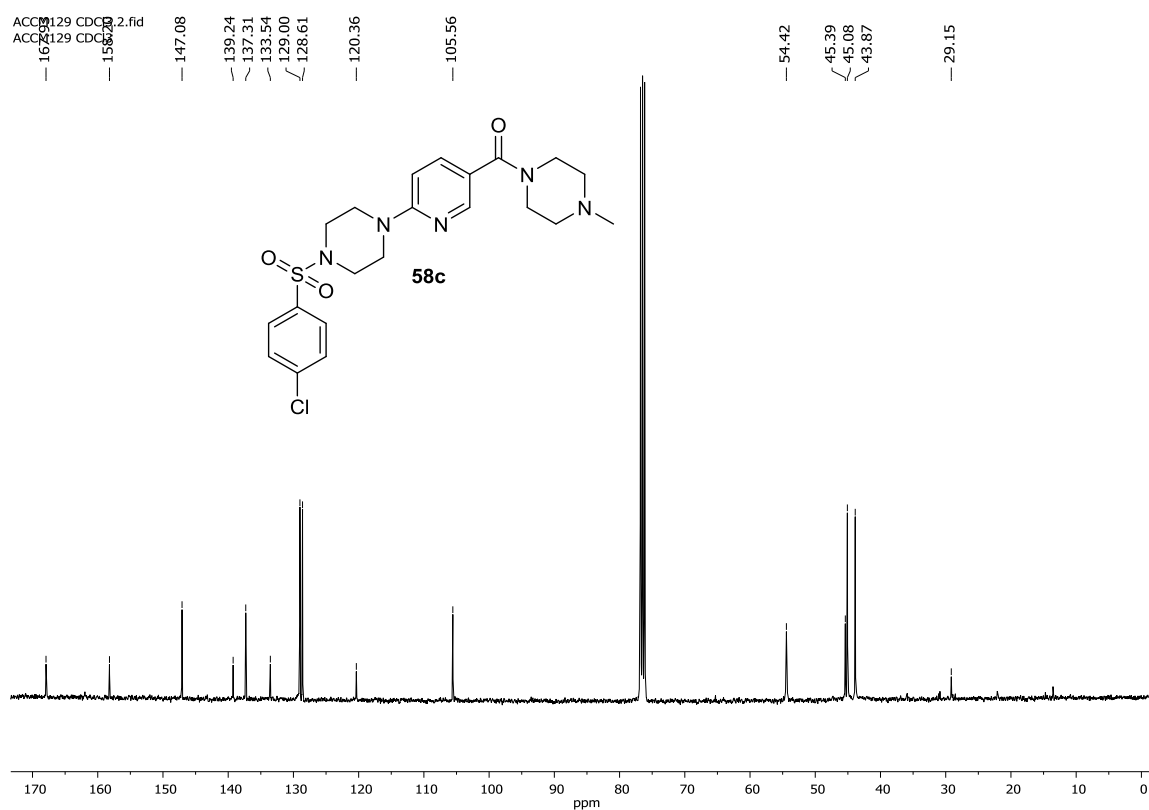
ACCM129 CDCl3.1.fid  
ACCM129 CDCl3

8.25  
8.25  
8.25  
8.24  
7.73  
7.71  
7.62  
7.62  
7.60  
7.59  
7.54  
7.52  
6.61  
6.61  
6.59  
6.59

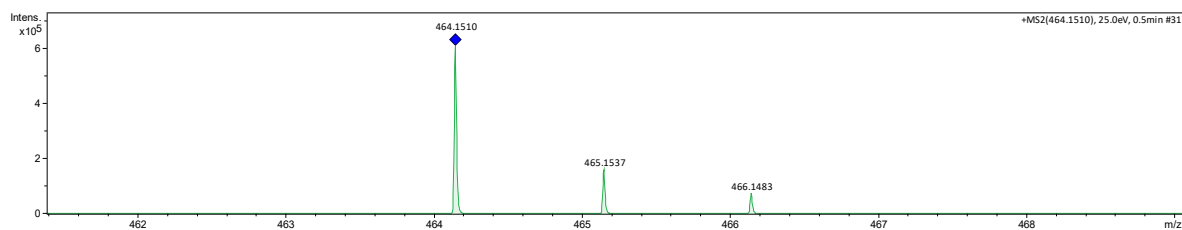
3.76  
3.75  
3.73  
3.66  
3.14  
3.13  
3.12  
2.45  
2.34

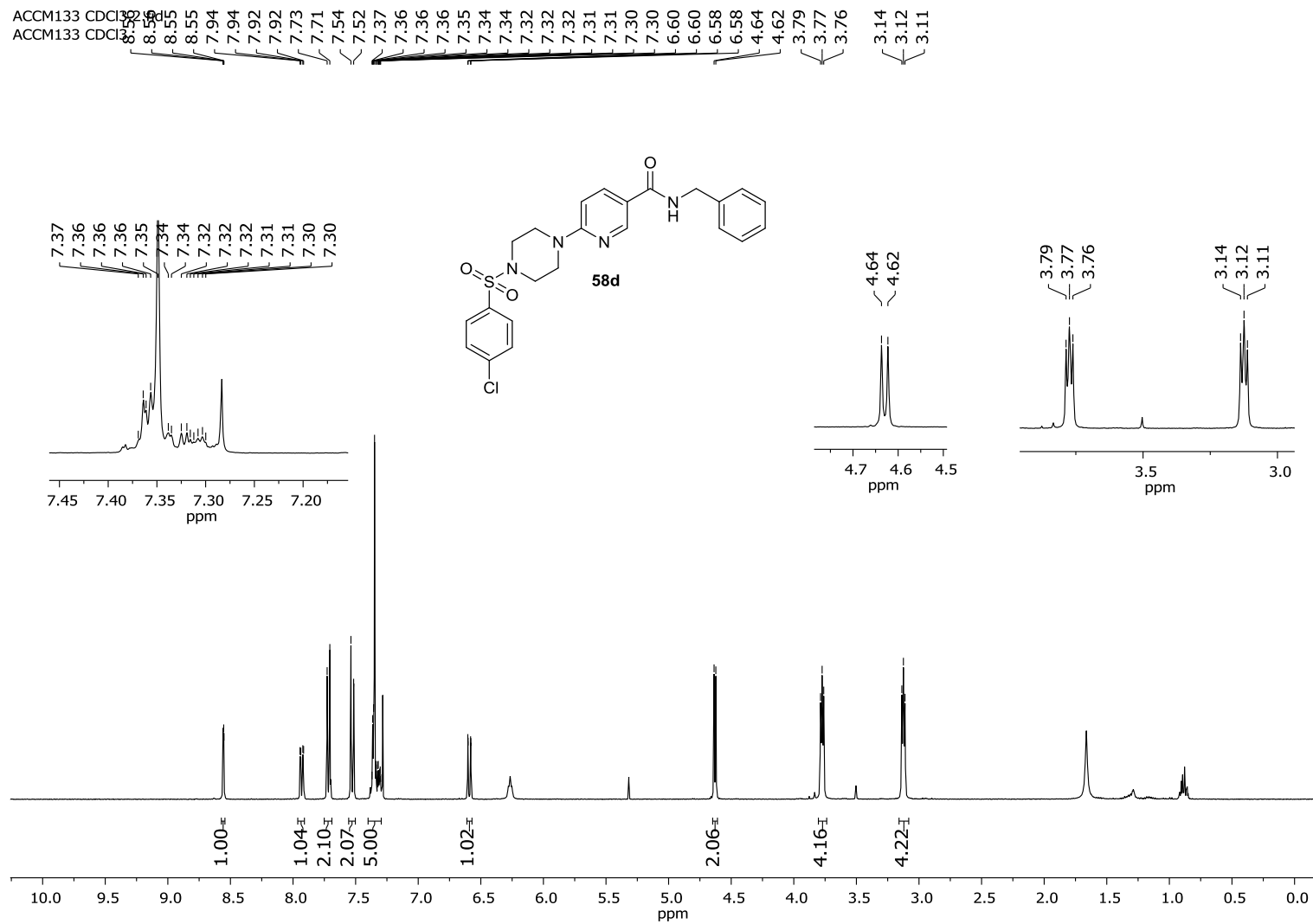


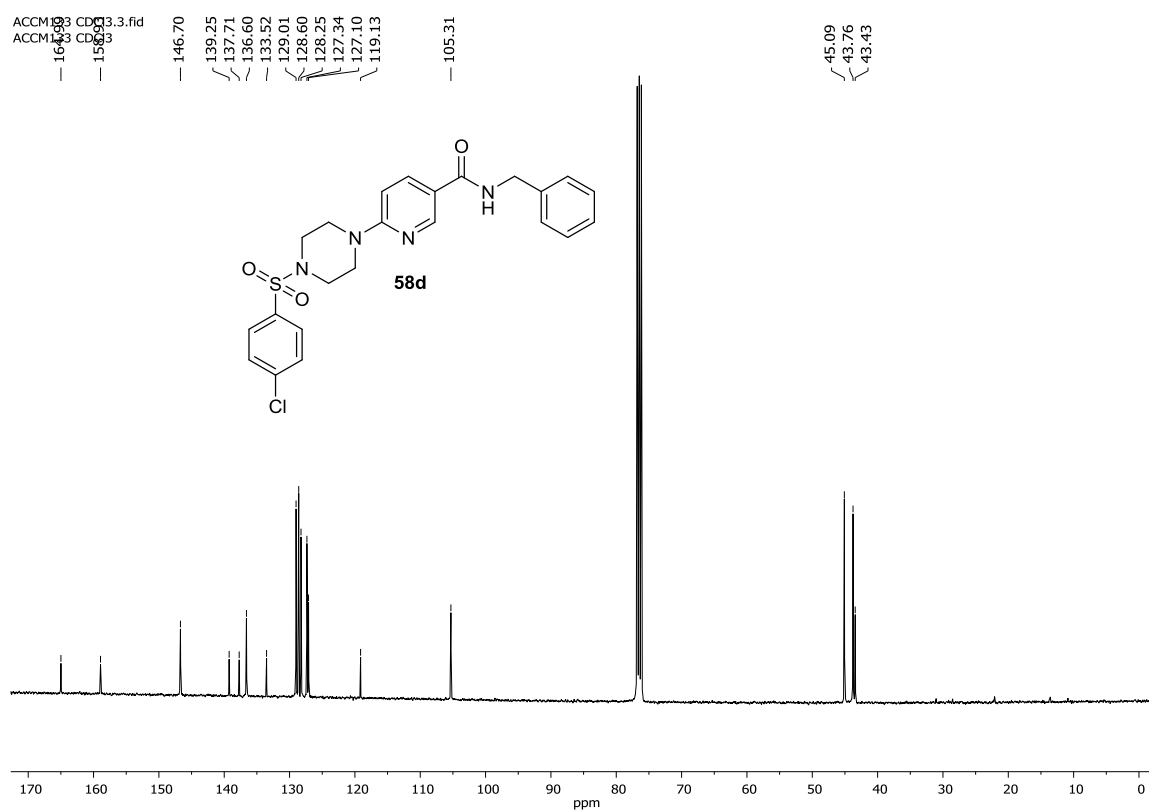
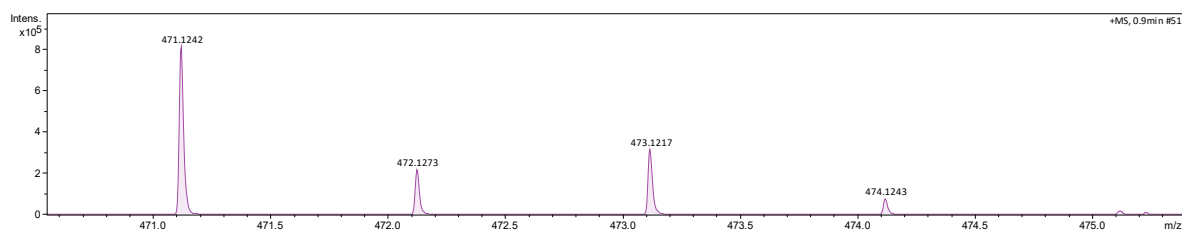
Anexo 88. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **58c**.

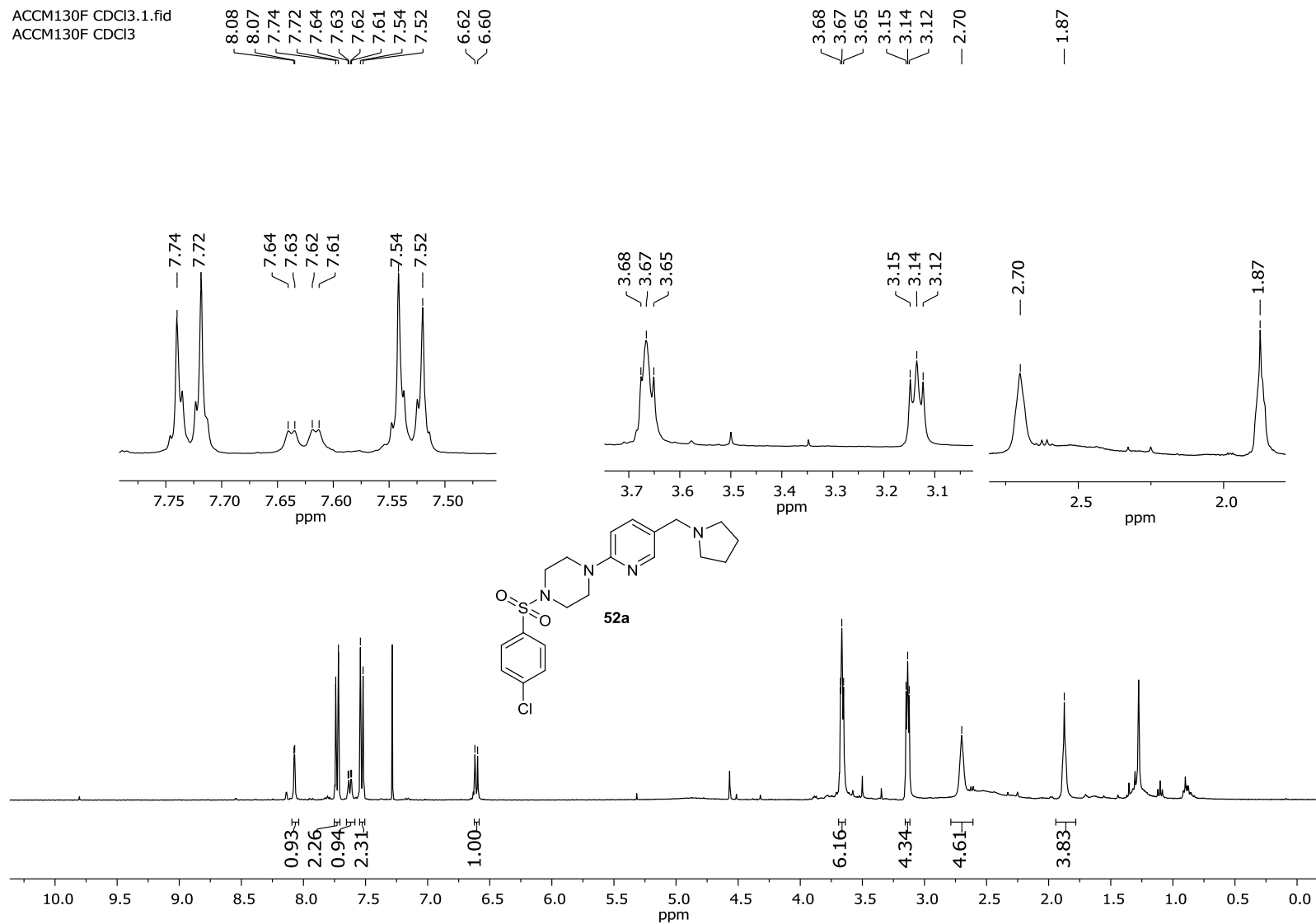


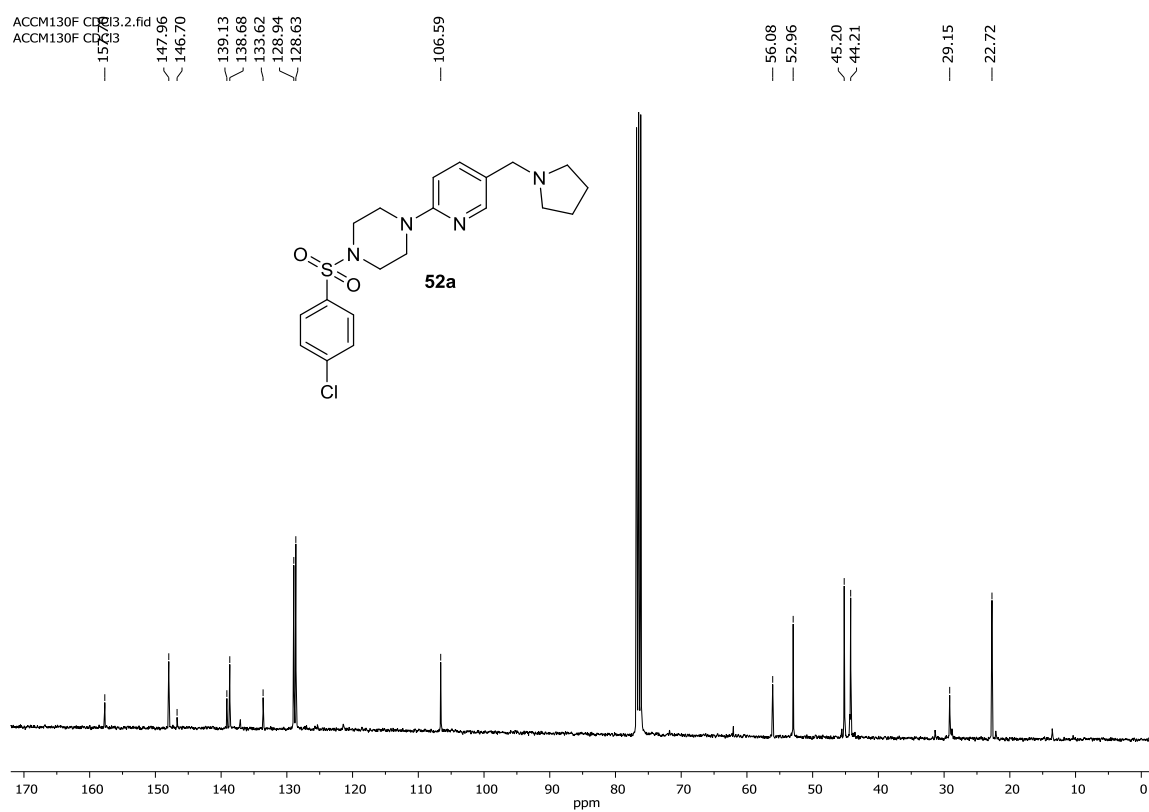
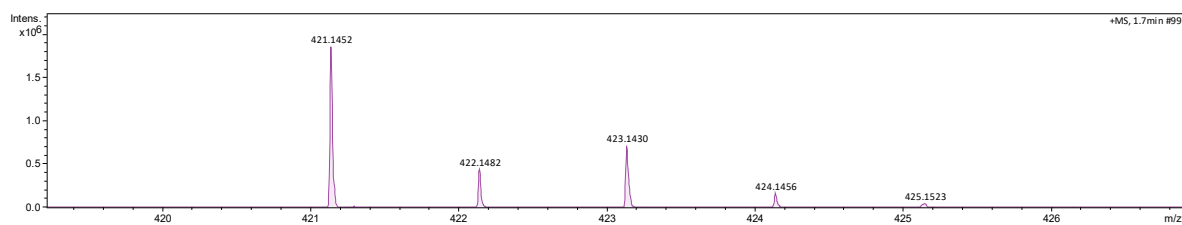
Anexo 89. Espectro de EM/IES(+) de **58c**.



Anexo 90. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **58d**.

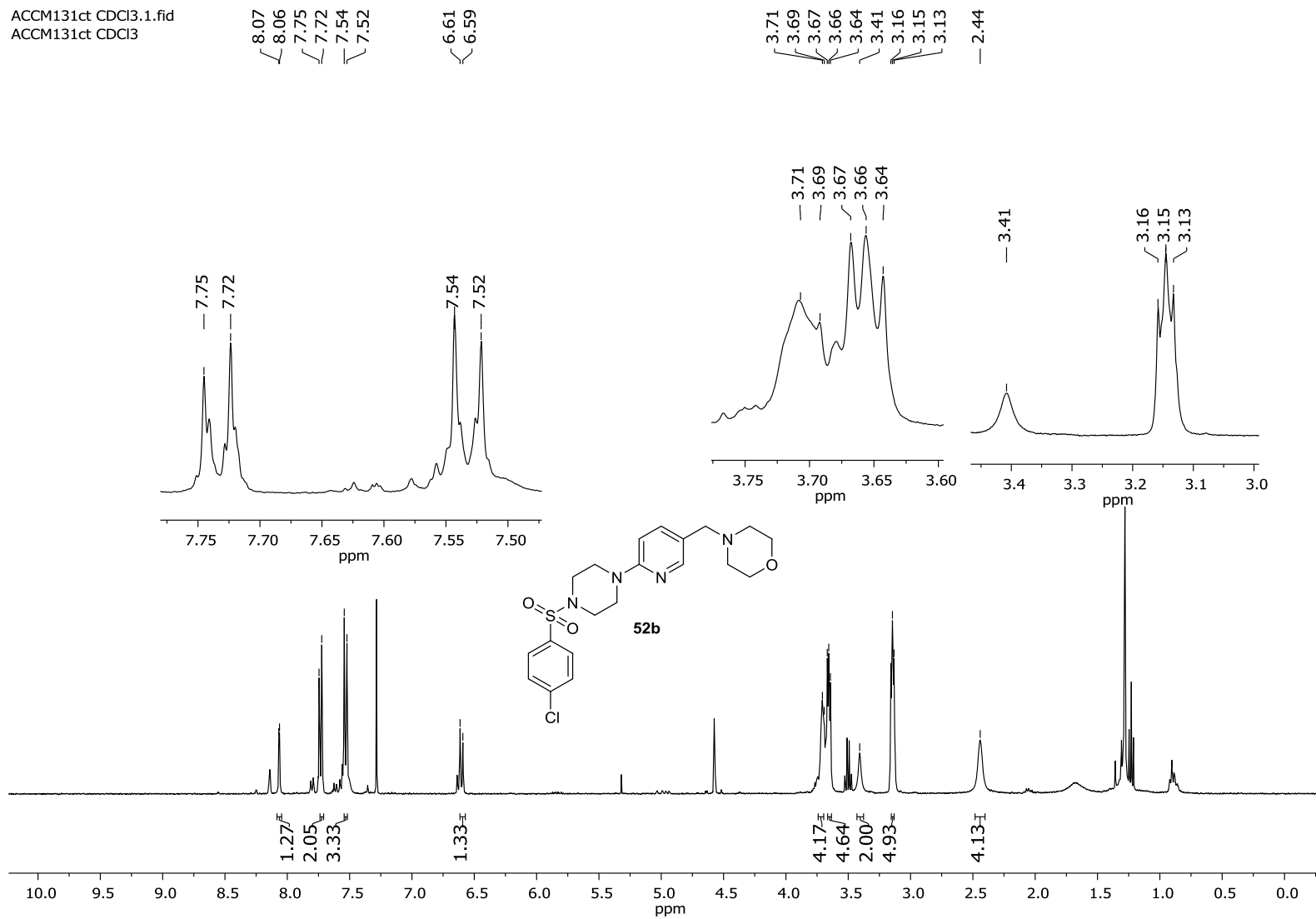
Anexo 91. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **58d**.Anexo 92. Espectro de EM/IES(+) de **58d**.

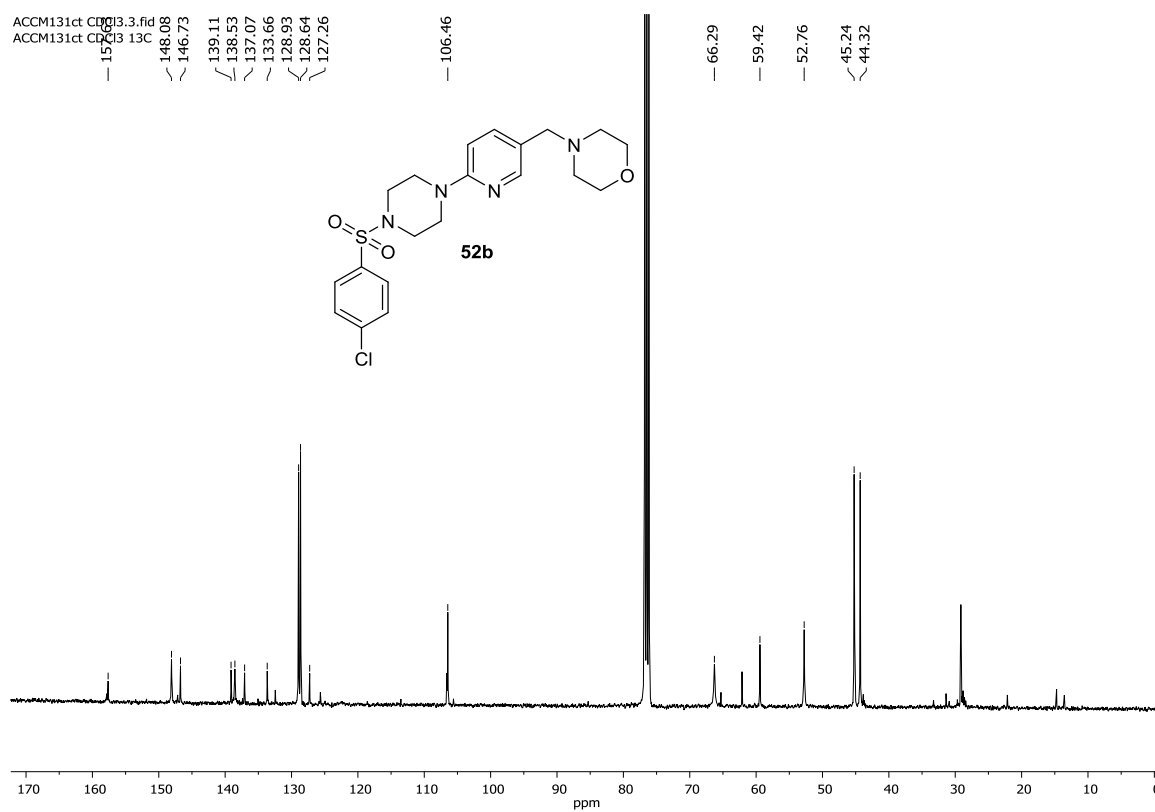
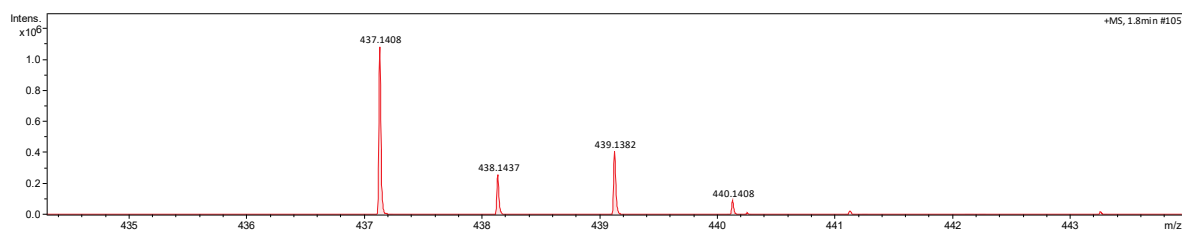
Anexo 93. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **52a**.ACCM130F CDCl<sub>3</sub>.1.fid  
ACCM130F CDCl<sub>3</sub>

Anexo 94. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **52a**.Anexo 95. Espectro de EM/IES(+) de **52a**.

Anexo 96. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **52b**.

ACCM131ct CDCl3.1.fid  
ACCM131ct CDCl3

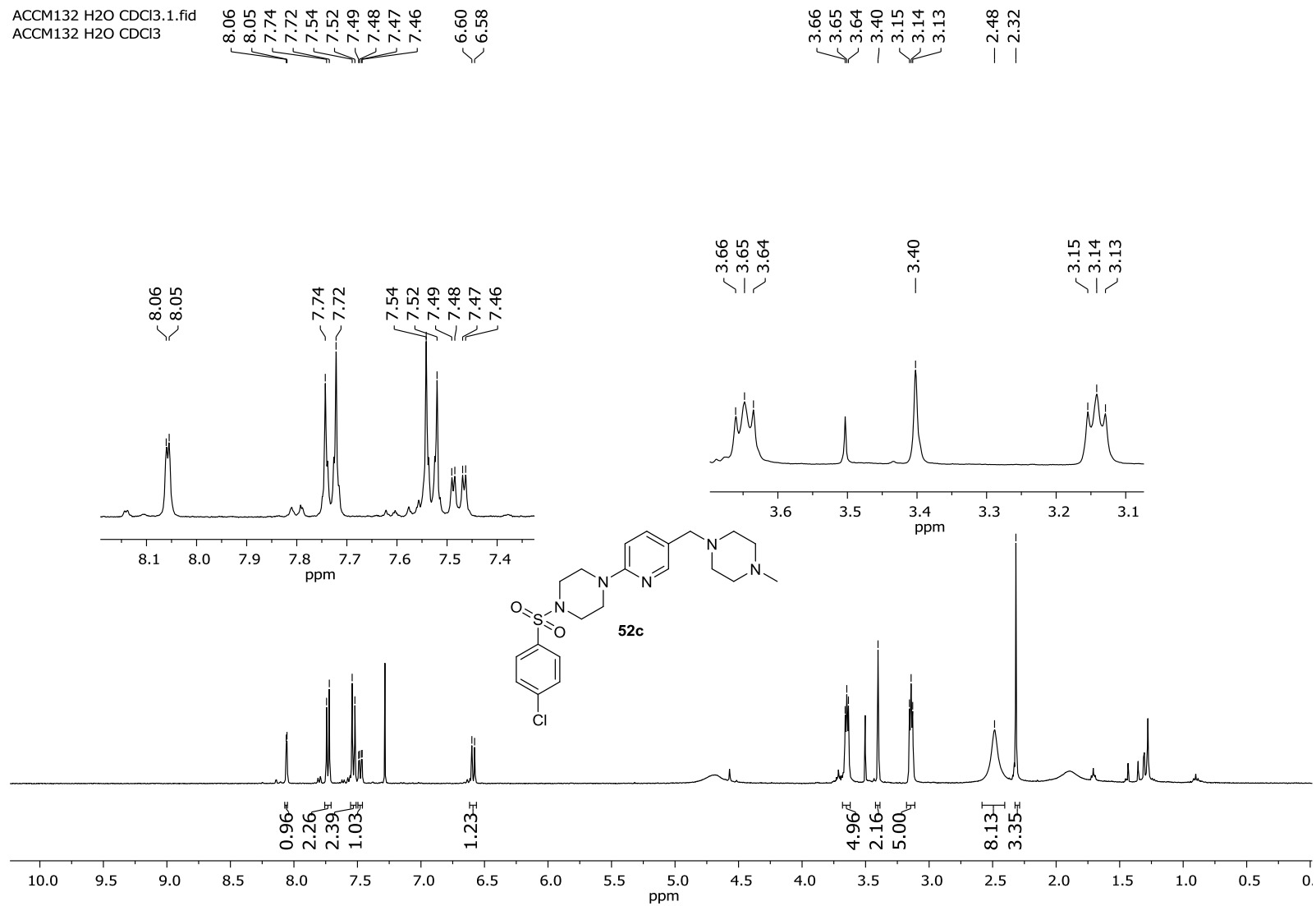


Anexo 97. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **52b**.Anexo 98. Espectro de EM/IES(+) de **52b**.

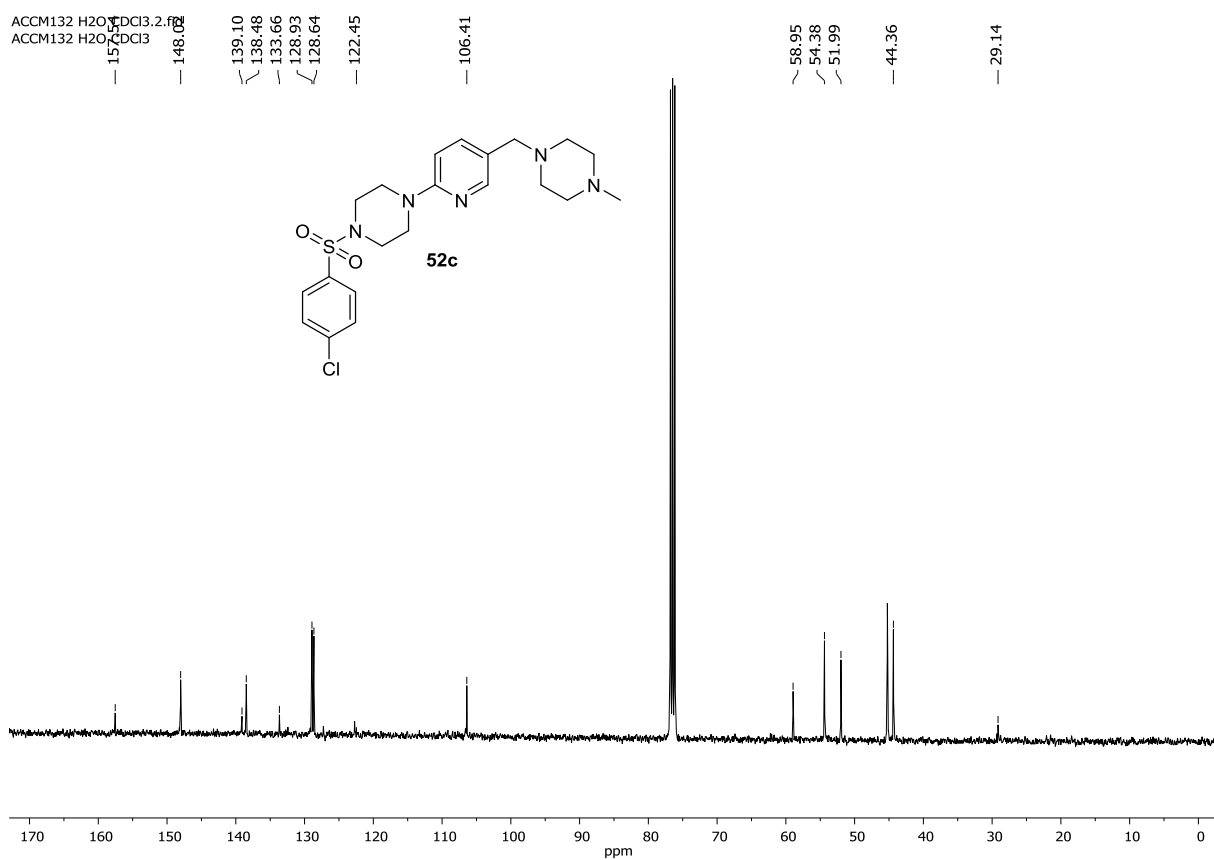


Anexo 99. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **52c**.

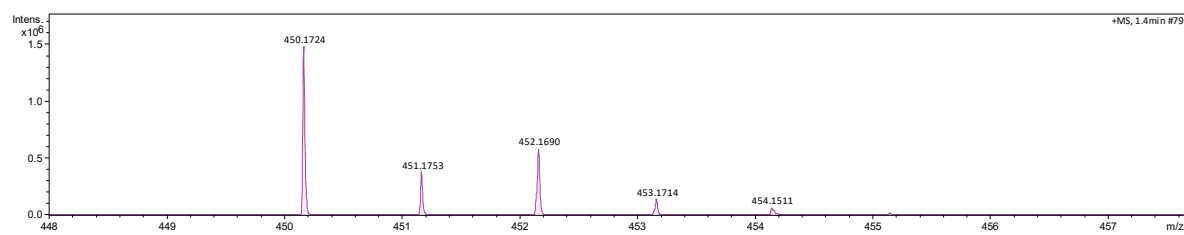
ACCM132 H2O CDCl3.1.fid  
ACCM132 H2O CDCl3



Anexo 100. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **52c**.

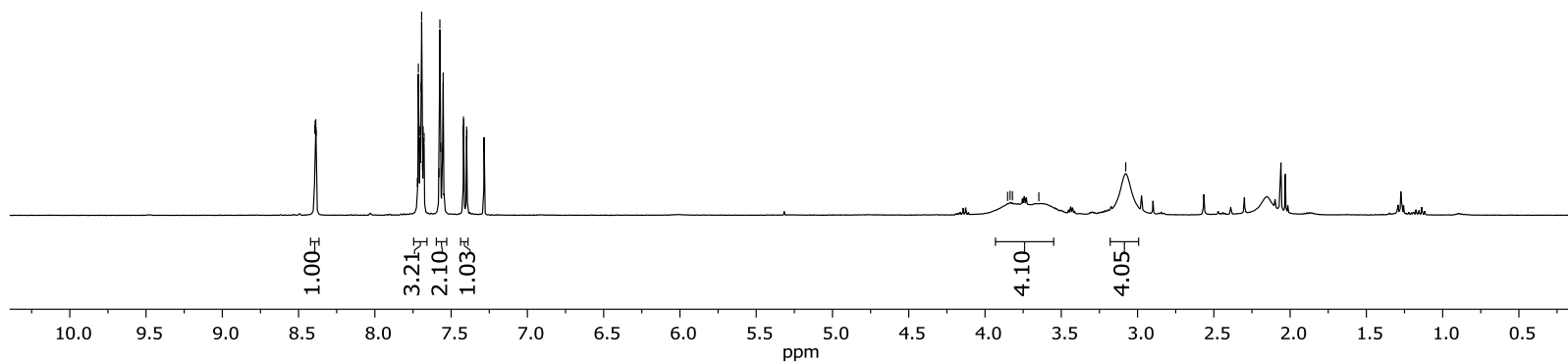
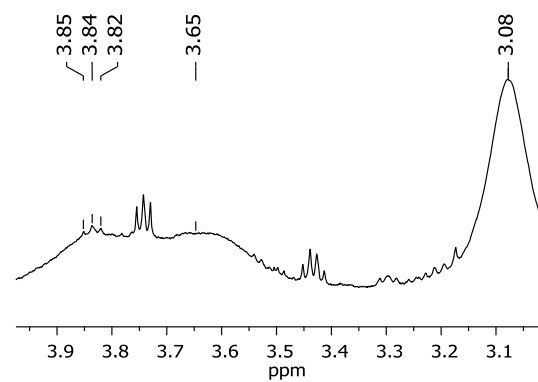
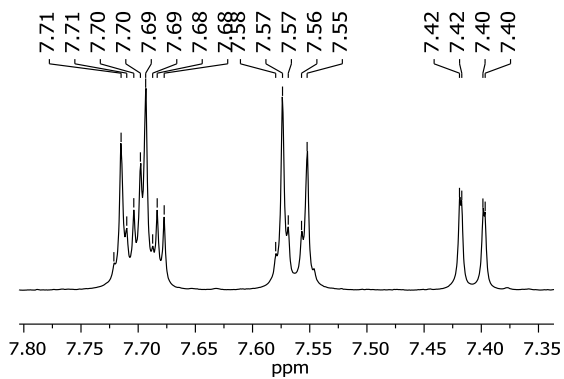
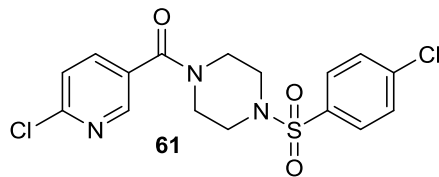


Anexo 101. Espectro de EM/IES(+) de **52c**.

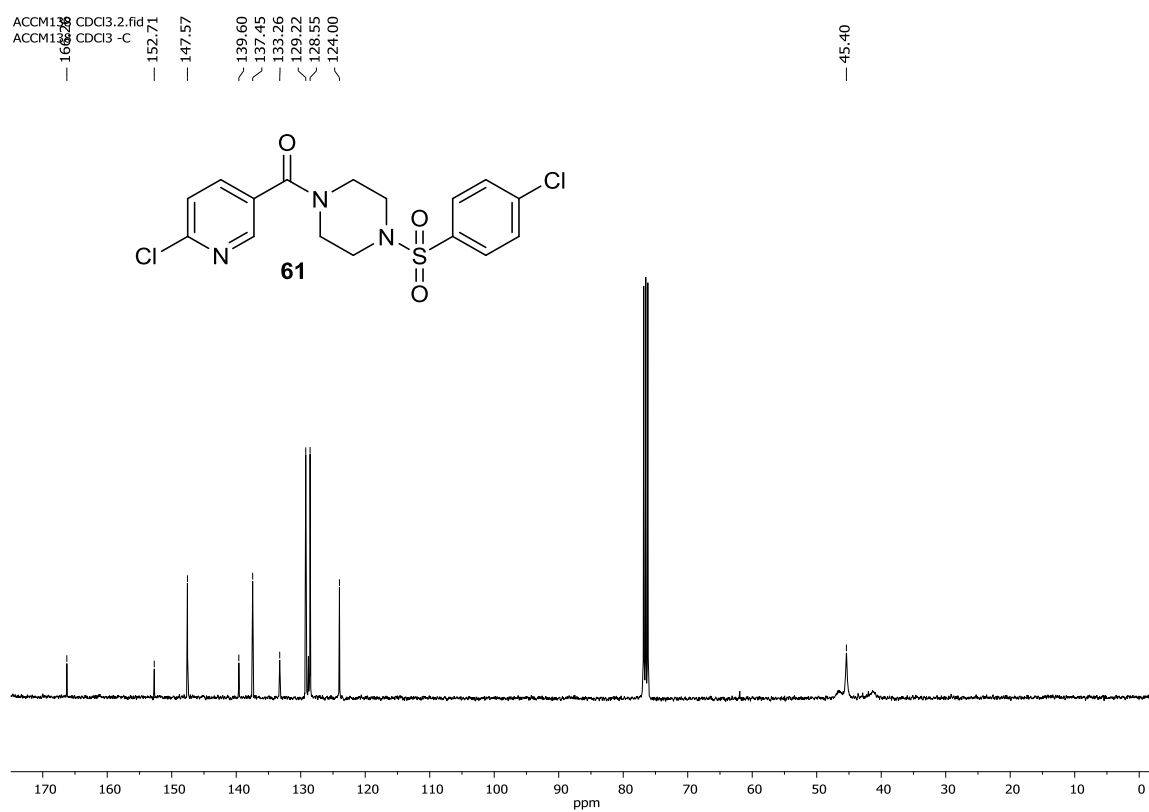


Anexo 102. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **61**.

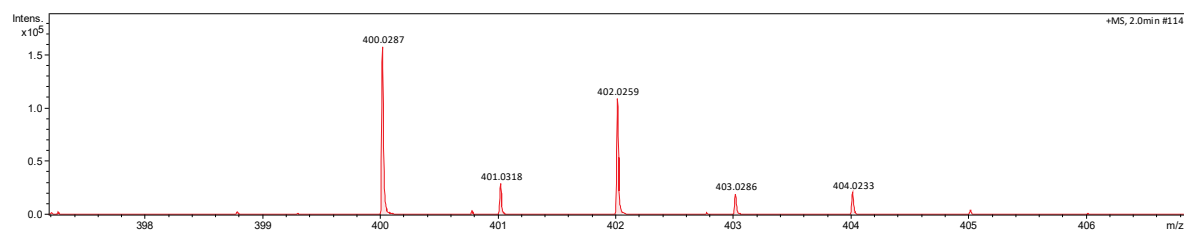
ACCM138 CDCl3.1.fid  
ACCM138 CDCl3

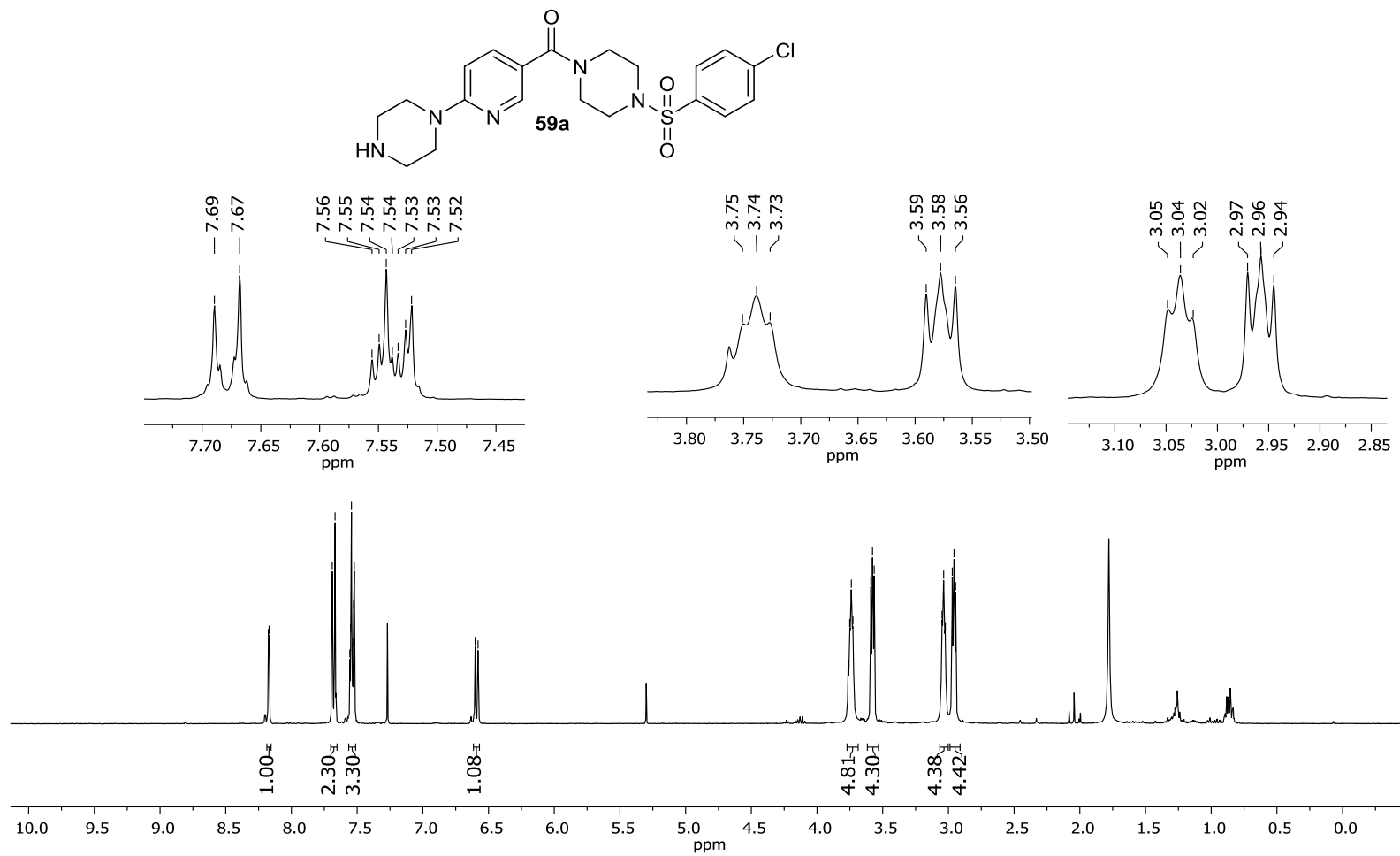
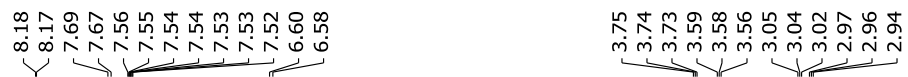


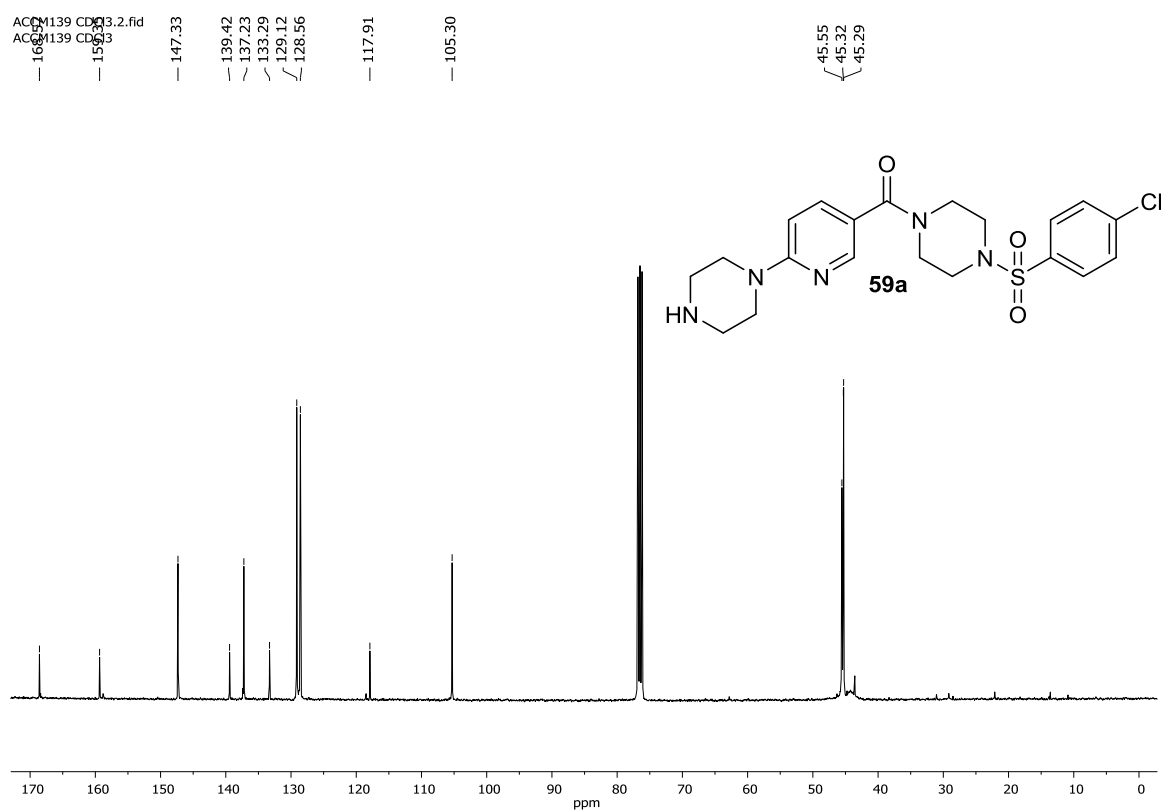
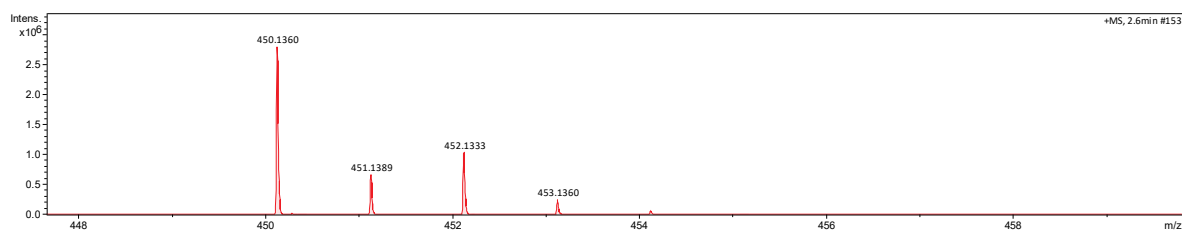
Anexo 103. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **61**.

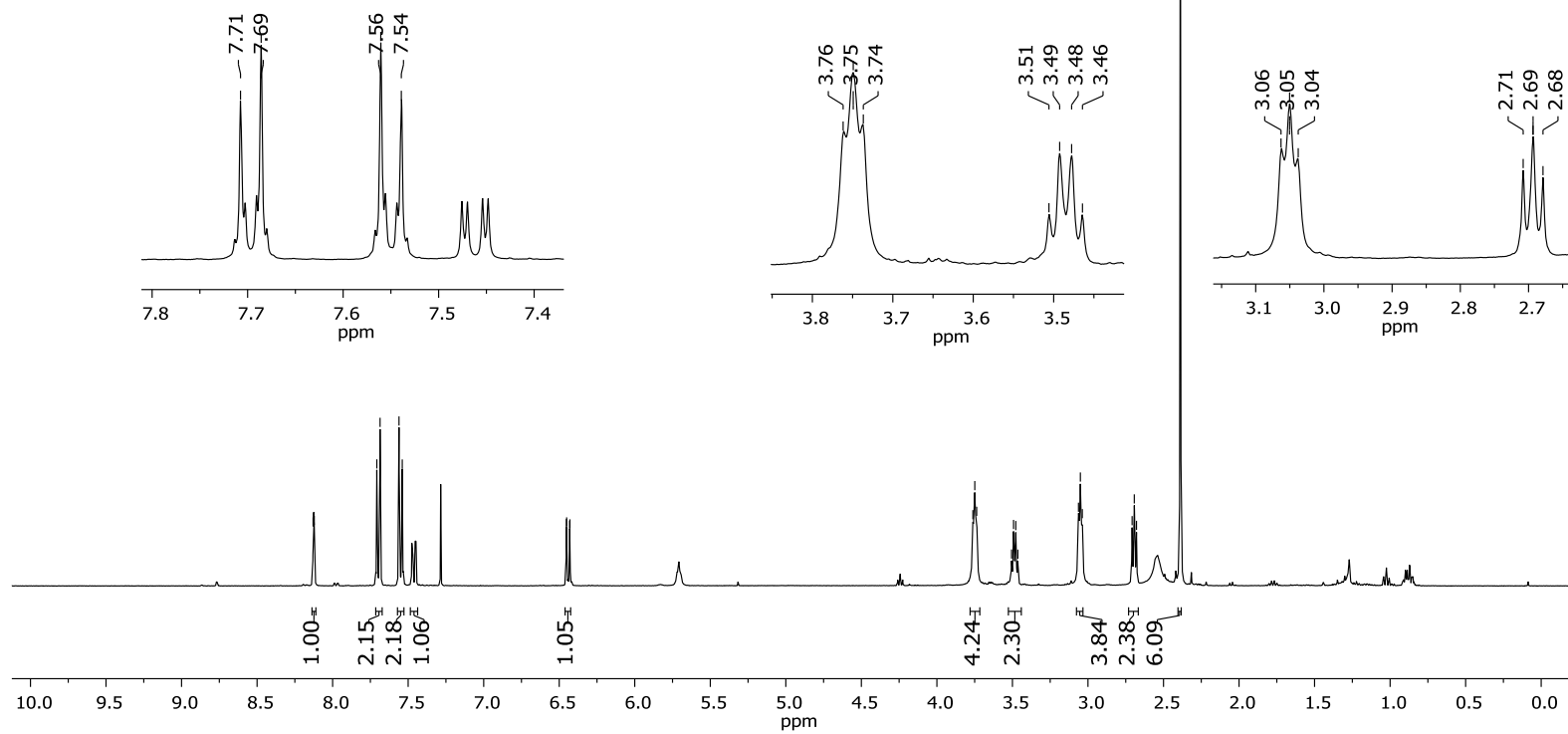
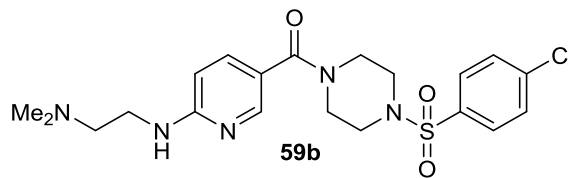


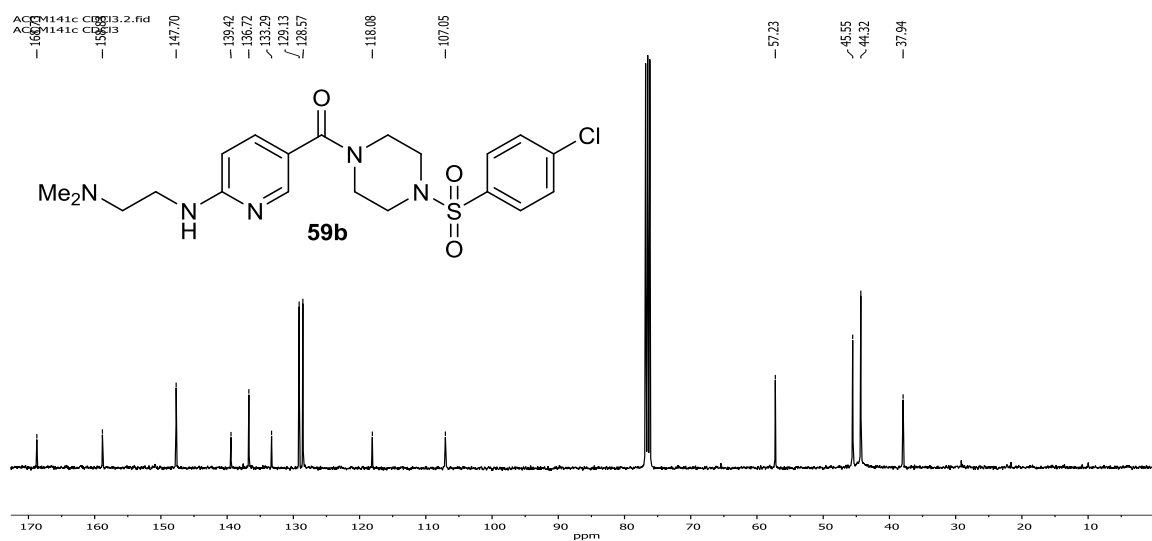
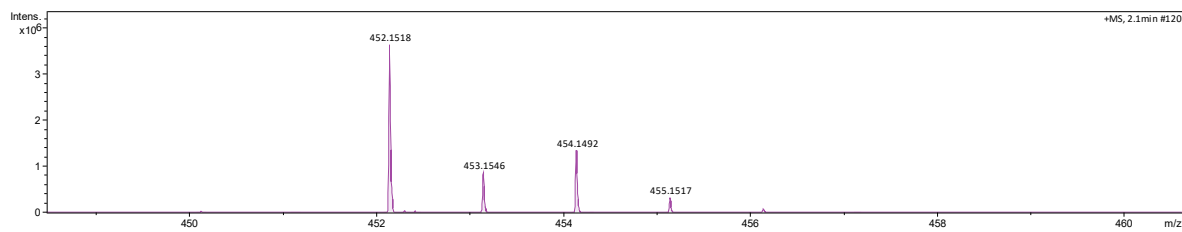
Anexo 104. Espectro de EM/IES(+) de **61**.



Anexo 105. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **59a**.ACCM139  $\text{CDCl}_3$ .1.fid  
ACCM139  $\text{CDCl}_3$ 

Anexo 106. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **59a**.Anexo 107. Espectro de EM/IES(+) de **59a**.

Anexo 108. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **59b**.ACCM141c  $\text{CDCl}_3$ .1.fid  
ACCM141c  $\text{CDCl}_3$ 8.13  
8.13  
8.12  
8.12  
7.71  
7.69  
7.56  
7.546.45  
6.45  
6.43  
6.433.76  
3.75  
3.74  
3.51  
3.49  
3.48  
3.46  
3.06  
3.05  
3.04  
2.71  
2.69  
2.68  
2.39

Anexo 109. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **59b**.Anexo 110. Espectro de EM/IES(+) de **59b**.Anexo 111. Espectro de RMN HSQC  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  do composto **59b**.