

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

FLÁVIO LUIS CARDOSO SILVEIRA

Síntese de derivados de di(2-piridil)piperazinas como potenciais agentes antimaláricos

Uberlândia

2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

FLÁVIO LUIS CARDOSO SILVEIRA

Síntese de derivados de di(2-piridil)piperazinas como potenciais agentes antimaláricos

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Química.

Linha de pesquisa: Química Medicinal, Química de Produtos Naturais e Síntese Orgânica.

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

Uberlândia

2026

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

S587
2026 Silveira, Flávio Luis Cardoso, 1999-
Síntese de derivados de di(2-piridil)piperazinas como potenciais
agentes antimaláricos [recurso eletrônico] / Flávio Luis Cardoso
Silveira. - 2026.

Orientador: Celso de Oliveira Rezende Júnior.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Pós-graduação em Química.
Modo de acesso: Internet.
DOI <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2026.101>
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
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 419, PPGQUI				
Data:	Doze de fevereiro de dois mil e vinte e seis	Hora de início:	8h	Hora de encerramento:	10h 40 min
Matrícula do Discente:	12412QMI006				
Nome do Discente:	Flávio Luis Cardoso Silveira				
Título do Trabalho:	Síntese de derivados de di(2-piridil)piperazinas como potenciais agentes antimaláricos				
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 piridilpiperazinas como potenciais agentes antimaláricos				
ODS	ODS 3 - Saúde e bem-estar: assegurar uma vida saudável e promover o bem estar para todos, em todas as idades				

Reuniu-se, por webconferência, no link: <https://teams.microsoft.com/l/team/19%3ArGj29xNYfu3n3ilSwRf3jElBmanw7oMuq0KrInFjcv51%40thread.tacv2/conversations?groupId=0a4fdd56-5ac1-4de3-88f5-f1dc54177036&tenantId=cd5e6d23-cb99-4189-88ab-1a9021a0c451>, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta pelos professores doutores: **Bruno Henrique Sacoman Torquato da Silva**, da Universidade Federal de Uberlândia; **Lucas Lopardi Franco**, da Universidade Federal de Alfenas; e **Celso de Oliveira Rezende Júnior**, orientador do candidato.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr. **Celso de Oliveira Rezende Júnior**, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do 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):

Aprovado.

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

O discente compromete-se a acatar as sugestões de correção da banca examinadora e depositar a versão final da dissertação no repositório da UFU em até 30 (trinta) dias.

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 12/02/2026, às 10:43, 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 **Bruno Henrique Sacoman Torquato da Silva, Professor(a) do Magistério Superior**, em 12/02/2026, às 10:44, 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 **Lucas Lopardi Franco, Usuário Externo**, em 12/02/2026, às 10:44, 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, informando o código verificador **6995891** e o código CRC **329C5977**.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a todas as pessoas que puderam me ajudar na caminhada de colaboração para o meu mestrado. Em especial agradeço ao Prof. Dr. Celso de Oliveira Rezende Júnior pelo incentivo e orientação, fundamentais para o desenvolvimento do meu conhecimento e da minha trajetória acadêmica. Sua dedicação e paciência foram essenciais para a realização deste trabalho. Agradeço imensamente ao Prof. Dr. Rafael Victorio Carvalho Guido, do Instituto de Física de São Carlos (IFSC/USP), da Universidade de São Paulo (USP), pela realização dos ensaios dos biológicos *in vitro*, e ao Prof. Dr. Eduardo Jorge Pilau do Laboratório de Biomoléculas e Espectometria de Massas (Labiomass) da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Sou grato, ainda, aos técnicos, professores e demais funcionários do Instituto de Química e da Universidade Federal de Uberlândia. Sem o apoio de vocês, este trabalho não seria possível. Agradeço aos membros da banca, Prof. Dr. Lucas Lopardi Franco e ao Prof. Dr. Bruno Henrique Sacoman Torquato da Silva, pela disponibilidade e pelas valiosas contribuições ao meu trabalho. Por fim, agradeço aos órgãos de financiamento: à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio essencial ao desenvolvimento deste projeto.

*“Não conheço propósito maior na vida do que morrer
tentando realizar aquilo que é grandioso e
impossível...”*
– Friedrich Nietzsche

RESUMO

Este trabalho descreve o planejamento, síntese e avaliação biológica de uma nova série de derivados de di(2-piridil)piperazinas, visando a obtenção de agentes eficazes contra cepas resistentes de *Plasmodium falciparum*. A estratégia sintética adotada baseou-se na construção convergente do esqueleto heteroaromático através de reações de Substituição Nucleofílica Aromática (S_NAr), empregando carbonato de sódio em DMF ou propanol sob aquecimento (60 – 100°C). Esta etapa mostrou-se robusta, fornecendo os intermediários nitrados com rendimentos elevados, variando majoritariamente entre 65 a 100%. Para a funcionalização subsequente, a redução dos grupos nitro foi otimizada utilizando cloreto de estanho (II) di-hidratado ($SnCl_2 \cdot 2H_2O$) em etanol, método que se revelou superior à hidrogenação catalítica clássica em termos de custo-efetividade e seletividade, alcançando rendimentos na faixa de 61 a 84%. A diversificação final dos compostos foi realizada via reações de amidação, com a utilização em grande parte de reagentes de acoplamento EDC e HOBt (com rendimentos variados entre 17 a 93%), a síntese do análogo mais promissor (**13b**) exigiu a ativação prévia do ácido carboxílico ao seu cloreto de ácido correspondente, isolado com 31% de rendimento. A análise da Relação Estrutura-Atividade (SAR) demonstrou que a substituição bioisostérica do anel tiofênico original por furano ou oxazol preservou a atividade antiparasitária, enquanto a introdução de heterociclos mais polares foi importante. O avanço mais significativo, contudo, residiu na modificação do ligante central: a expansão do anel de piperazina de seis membros para um núcleo de homopiperazina do diazepano de sete membros resultou no candidato otimizado do estudo. O derivado **13b**, obtido via rota do cloreto de ácido, apresentou potência submicromolar ($IC_{50} = 0,60 \pm 0,05 \mu M$) e um índice de seletividade extremamente elevado ($IS > 166$), validando a hipótese de que a maior flexibilidade conformacional conferida pelo anel de sete membros favorece a atividade antiparasitária.

Palavras-chave: *Malária; P. falciparum; Atividade antiparasitária; Relação Estrutura-Atividade; di(2-piridil)piperazinas.*

ABSTRACT

This work describes the planning, synthesis, and biological evaluation of a new series of di(2-pyridyl)piperazine derivatives, aiming to obtain effective agents against resistant strains of *Plasmodium falciparum*. The synthetic strategy adopted was based on the convergent construction of the heteroaromatic skeleton through Nucleophilic Aromatic Substitution (S_NAr) reactions, employing sodium carbonate in DMF or propanol under heating (60 – 100°C). This step proved robust, providing nitrated intermediates with high yields, mainly ranging from 65 to 100%. For subsequent functionalization, the reduction of nitro groups was optimized using tin(II) chloride dihydrate ($SnCl_2 \cdot 2H_2O$) in ethanol, a method that proved superior to classical catalytic hydrogenation in terms of cost-effectiveness and selectivity, achieving yields in the range of 61 to 84%. The final diversification of the compounds was carried out via amidation reactions, largely using EDC and HOBt coupling reagents (with yields ranging from 17 to 93%), the synthesis of the most promising analog (**13b**) required prior activation of the carboxylic acid to its corresponding acid chloride, isolated in 31% yield. Structure-Activity Relationship (SAR) analysis demonstrated that bioisosteric substitution of the original thiophene ring with furan or oxazole preserved antiparasitic activity, while the introduction of more polar heterocycles was important. The most significant advance, however, lay in the modification of the central ligand: the expansion of the six-membered piperazine ring to a seven-membered diazepam homopiperazine core resulted in the optimized candidate of the study. The **13b** derivative, obtained via the acid chloride route, showed submicromolar potency ($IC_{50} = 0,60 \pm 0,05 \mu M$) and an extremely high selectivity index ($SI > 166$), validating the hypothesis that the greater conformational flexibility conferred by the seven-membered ring favors antiparasitic activity.

Keywords: *Malaria; P. falciparum; Antiparasitic activity; Structure-Activity Relationship; di(2-pyridyl)piperazines.*

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ac: Acetil

AcOEt: Acetato de etila

ADME: Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CC₅₀: Concentração citotóxica para redução de 50% da viabilidade celular

CCD: Cromatografia de camada delgada

d: Dupleto

DCM: Diclorometano

dd: Duplo dupleto

ddt: duplo dupleto de tripletos

DMF: *N,N*-dimetilformamida

dq: Duplo quarteto

dt: Duplo tripleto

EDC: 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida

FDA/AAM: Administração de Alimentos e Medicamentos (em inglês, *Food and Drug Administration*)

FGI/IGF: Interconversão de Grupo Funcional (em inglês, *Functional Group Intervention*)

Hex: Hexano

EMA/AEM: Agência Europeia de Medicamentos (em inglês, *European Medicines Agency*)

HOBt: Hidroxibenzotriazol

HRMS: Espectrometria de massas de alta resolução (em inglês, *High Resolution Mass Spectrometry*)

IC₅₀: Concentração para inibição de 50%

IS/SI: Índice de Seletividade (em inglês, *Selectivity Index*)

m: Multiplete

Me: Metila

MeOH: Metanol

PNM/NDA: Pedido de Novo Medicamento (em inglês, *New Drug Application*)

OMS: Organização Mundial da Saúde

Pf: *Plasmodium falciparum*

PrOH: Propanol

q: Quarteto

RMN: Ressonância Magnética Nuclear

s: Singuleto

SAR: Relação estrutura-atividade (em inglês, *Structure-Activity Relationship*)

S_NAr: Substituição Nucleofílica Aromática

t: Tripleto

td: Tripleto de dupletos

TMS: Tetrametilsilano

UV: Ultravioleta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Ciclo de reprodução assexuada do <i>P. falciparum</i> no organismo humano.	17
Figura 2 – Ciclo de reprodução sexuada do <i>P. falciparum</i> na fêmea do mosquito.	18
Figura 3 – Estrutura química dos compostos que compõem as ACTs.	19
Figura 4 – Representação esquemática do processo <i>hit-to-lead</i> de descoberta de fármacos. ..	21
Figura 5 – Estrutura do <i>hit-1</i> e valor de IC ₅₀ contra o <i>P. falciparum</i>	22
Figura 6 – Espectro de ¹ H do <i>hit-1</i> (400 MHz, CDCl ₃).....	31
Figura 7 – Espectro de ¹³ C do <i>hit-1</i> (101 MHz, CDCl ₃).....	33
Figura 8 – Espectograma de HRMS do <i>hit-1</i>	35

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Retrossíntese do <i>hit-1</i>	25
Esquema 2 – Primeira rota utilizada para obtenção do intermediário 5	26
Esquema 3 – Segunda rota utilizada para obtenção do intermediário 5	26
Esquema 4 – Mecanismo proposto para primeira rota.	27
Esquema 5 – Mecanismo proposto para segunda rota.....	27
Esquema 6 – Rota sintética para a obtenção do intermediário 6	28
Esquema 7 – Síntese do <i>hit-1</i> por reação de amidação.....	28
Esquema 8 – Proposta de formação do <i>hit-1</i>	29
Esquema 9 – Síntese dos derivados 7a-n , utilizando EDC e HOBt.	38
Esquema 10 – Exemplo geral da síntese e modificação no fragmento arilamínico.	39
Esquema 11 – Redução dos grupos nitro dos derivados 5a-c para formação dos derivados 6a-c	40
Esquema 12 – Reação de redução da nitrila para formação do intermediário 6d	40
Esquema 13 – Reações de amidações entre os intermediários 6a-b e 6d	41
Esquema 14 – Tentativas de síntese e diferentes rotas utilizadas para o derivado 9c	42
Esquema 15 – Síntese do intermediário 10a via S _N Ar.	43
Esquema 16 – Síntese do intermediário 10b via S _N Ar.	43
Esquema 17 – Síntese do intermediário 10d	44
Esquema 18 – Síntese dos compostos 11a-b e 11d , via S _N Ar.	45
Esquema 19 – Reação de redução do grupo nitro para obtenção dos intermediários 12a-b	45
Esquema 20 – Reação amidação via EDC e HOBt para o derivado 13a	46
Esquema 21 – Reação amidação via cloreto de ácido para o derivado 13b	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do <i>hit-1</i> (CDCl_3).....	34
Tabela 2 – Resultados dos testes biológicos do <i>hit-1</i>	36
Tabela 3 – Resultados dos testes biológicos efetuados nos derivados do anel tiofênico.	48
Tabela 4 – Resultados dos testes biológicos dos derivados do fragmento arilamínico.....	51
Tabela 5 – Resultados dos testes biológicos das modificações no fragmento piperazínico.....	53

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1 Malária	16
1.2 Processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos	19
1.3 Escolha do <i>hit</i>-1 e a importância da classe das di(2-piridil)piperazinas.....	21
2. OBJETIVOS	23
2.1 Objetivo geral.....	23
2.2 Objetivos específicos	23
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
3.1 Planejamento, síntese e caracterização do <i>hit</i>-1.....	24
3.2 Ensaio biológico <i>in vitro</i> do <i>hit</i>-1	35
3.3 Planejamento de derivados do <i>hit</i>-1	37
3.4. Síntese de derivados do <i>hit</i>-1	37
3.4.1 Síntese dos derivados com modificações no fragmento tiofênico	37
3.4.2 Síntese de derivados com modificações no fragmento arilamínico	39
3.4.3 Síntese de derivados com modificações no fragmento piperazínico	43
3.4.4 SAR dos derivados com modificações no fragmento tiofênico	47
3.4.5 SAR dos derivados com modificações no fragmento arilamínico	49
3.4.6 SAR para os derivados com modificações no fragmento piperazínico.....	52
4. MATERIAL E MÉTODOS	56
4.1 Materiais e reagentes (Síntese)	56
4.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	56
4.3 Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HRMS)	56
4.4 Procedimentos experimentais	57
4.4.1 Procedimento Geral A: Reação de S_NAr para diaminas.....	57
4.4.1.1 Preparação do 1-(5-nitropiridin-2-il)piperazina (3).....	57

4.4.1.2	Preparação do 1-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazina (8)	58
4.4.1.3	Preparação do N ¹ -(3-(trifluorometil)piridin-2-il)etano-1,2-diamina (10a)	58
4.4.1.4	Preparação do 1-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)-1,4-diazepano (10b)	59
4.4.2	Procedimento Geral B: Reação de S _N Ar para monoaminas	59
4.4.2.1	Preparação do 1-(5-nitropiridin-2-il)-4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazina (5) (Rota A)	60
4.4.2.2	Preparação do 1-(5-nitropiridin-2-il)-4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazina (5) (Rota B)	60
4.4.2.3	Preparação do 1-(4-nitro-2-(trifluorometil)fenil)-4-(2-(trifluorometil)fenil)piperazina (5a)	61
4.4.2.4	Preparação do 1-(6-nitropiridin-3-il)-4-(2-(trifluorometil)fenil)piperazina (5b)	62
4.4.2.5	Preparação do 1-(6-nitropiridin-3-il)-4-(2-(trifluorometil)fenil)piperazina (5c)	62
4.4.2.6	Preparação do 6-(4-(2-(trifluorometil)fenil)piperazin-1-il)nicotinonitrila (5d)	63
4.4.2.7	Preparação do N ¹ -(5-nitropiridin-2-il)-N ² -(3-(trifluorometil)piridin-2-il)etano-1,2-diamina (11a)	63
4.4.2.9	Preparação do tert-butil 4-((3-(trifluorometil)piridin-2-il)amino)piperidina-1-carboxilato (10c)	65
4.4.2.10	Preparação do N-[1-(5-nitropiridin-2-il)piperidin-4-il]-3-(trifluorometil)piridin-2-amina (11d)	65
4.4.3	Procedimento Geral C: Reação de redução dos grupos nitro (–NO ₂)	66
4.4.3.1	Preparação do 6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-amina (6)	66
4.4.3.2	Preparação do 3-(trifluorometil)-4-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)anilina (6a)	67
4.4.3.3	Preparação do 5-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-2-amina (6b)	67

4.4.3.4 Preparação do 2-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-amina (6c).....	68
4.4.3.5 tert-butil ((6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)metil)carbamato (18).....	68
4.4.3.6 Preparação do N ² -(2-((2-(trifluorometil)fenil)amino)etil)piridina-2,5-diamina (12a)	69
4.4.3.7 Preparação do 6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)-1,4-diazepan-1-il)piridin-3-amina (12b).....	70
4.4.4 Procedimento Geral D: Reação de desproteção do grupo Boc.....	70
4.4.4.1 Preparação do N-(piperidin-4-il)-3-(trifluorometil)piridin-2-amina (10d)	71
4.4.4.2 Preparação do (6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)metanamina (6d)	71
4.4.6 Procedimento geral E: reações de amidação via EDC e HOBt	72
4.4.6.1 Preparação do N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)thiazol-2-carboxamida (7a).....	72
4.4.6.2 Preparação do N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)furan-2-carboxamida (7b)	73
4.4.6.3 Preparação do N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)-1H-pirrol-2-carboxamida (7c)	73
4.4.6.4 Preparação do N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)isoxazol-5-carboxamida (7d)	74
4.4.6.5 Preparação do N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)oxazol-5-carboxamida (7e)	75
4.4.6.7 Preparação do 1-metil-N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)-1H-pirazol-5-carboxamida (7f).....	76
4.4.6.8 Preparação do 3-(trifluorometil)-N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)-1H-pirazol-5-carboxamida (7g).....	76
4.4.6.9 Preparação do 1-metil-N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)-1H-1,2,3-triazol-5-carboxamida (7h)	77

4.4.6.12	Preparação do N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)nicotinamida (7k)	79
4.4.6.13	Preparação do N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)picolinamida (7l).....	79
4.4.6.14	Preparação do 6-(trifluorometil)-N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)nicotinamida (7m).....	80
4.4.6.15	Preparação do N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)pirazina-2-carboxamida (7n)	81
4.4.6.16	Preparação do N-[3-(trifluorometil)-4-(4-[3-(trifluorometil)piridin-2-il]piperazin-1-il)fenil]tiofeno-2-carboxamida (9a).....	81
4.4.6.17	Preparação do N-(5-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-2-il)tiophene-2-carboxamida (9b)	82
4.4.6.18	Preparação do N-[(6-(4-[3-(trifluorometil)piridin-2-il]piperazin-1-il)piridin-3-il)metil]tiofeno-2-carboxamida (9d).....	83
4.4.6.19	Preparação do N-[6-({2-[(3-(trifluorometil)piridin-2-il)amino]etil}amino)piridin-3-il]tiofeno-2-carboxamida (13a).....	83
4.4.6.20	Preparação do cloreto de tiofeno-2-carbonoila (19)	84
4.4.6.21	Preparação do N-[6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)-1,4-diazepan-1-il)piridin-3-il]tiofeno-2-carboxamida (13b).....	84
4.5	Procedimento Experimental (Biológico)	86
4.5.1	Preparação dos Compostos.....	86
4.5.2	Cultivo in vitro do <i>P. falciparum</i>	86
4.5.3	Ensaio de SYBR Green para Avaliação da Atividade Inibitória contra <i>P. falciparum</i>	86
4.5.4	Citotoxicidade em Células HepG2	87
5.	CONCLUSÃO.....	89
	REFERÊNCIAS	91

1. INTRODUÇÃO

1.1 Malária

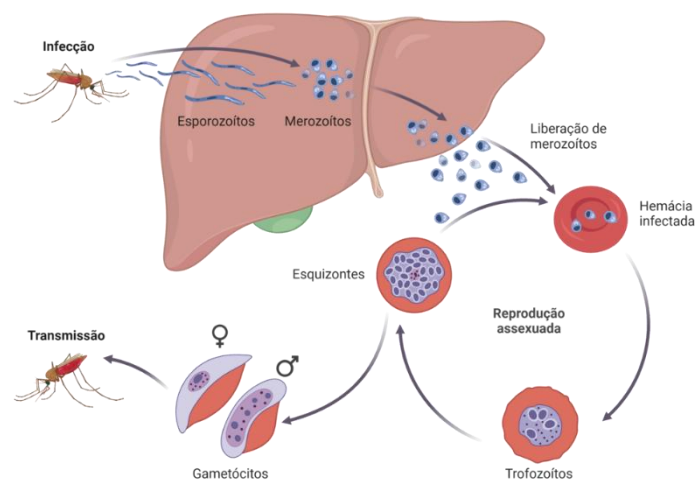
A malária é uma doença infecciosa causada por protozoários do gênero *Plasmodium* (*P*), sendo transmitida principalmente pela picada da fêmea do mosquito do gênero *Anopheles*. Dentre as espécies patogênicas ao ser humano, destacam-se *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale*. Além dessas, *P. knowlesi*, embora mais frequentemente associado a símios, apresenta reconhecido potencial zoonótico e capacidade de infectar humanos. Dentre as espécies mencionadas, o *P. falciparum* é considerado o agente etiológico mais grave, sendo responsável pela maior parte das formas severas da doença e pela maioria dos óbitos relacionados à malária (Njoroge et al., 2014).

De acordo com o Relatório Mundial da Malária de 2024, publicado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se a ocorrência de aproximadamente 263 milhões de casos e 597 mil mortes em nível global no ano de 2023. A região africana continua a concentrar a maior carga da doença, respondendo por cerca de 94% dos casos e 95% dos óbitos, com um impacto desproporcional sobre crianças menores de cinco anos, que representam aproximadamente 76% de todas as mortes por malária na região. Na região das Américas, Brasil, Colômbia e Venezuela concentram cerca de 80% das notificações, predominantemente associadas a infecções por *P. vivax* (cerca de 72% dos casos na região), enquanto o *P. falciparum* e infecções mistas respondem pelos demais registros. Embora a malária seja endêmica principalmente em países em desenvolvimento, seu impacto permanece global, com quase metade da população mundial vivendo em áreas de risco de infecção (OMS, 2024).

O ciclo de vida do parasita causador da malária é complexo e exige a interação obrigatória entre dois hospedeiros, em que a fase de reprodução do parasita no ser humano ocorre de forma assexuada, e a reprodução da fêmea do mosquito ocorre de forma sexuada. Segundo o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC, 2020), o desenvolvimento do parasita ocorre através de três ciclos distintos: o ciclo exoeritrocítico e o ciclo eritrocítico, que ocorrem no hospedeiro humano, e o ciclo esporogônico, que ocorre no vetor. A infecção humana tem início com a picada da fêmea do mosquito infectado, que inocula esporozoítos na corrente sanguínea. De acordo com o CDC (2020), estas formas infectantes migram rapidamente para o fígado, invadindo os hepatócitos para iniciar o ciclo exoeritrocítico. Dentro das células hepáticas, os esporozoítos amadurecem transformando-se em esquizontes, que posteriormente se rompem e liberam milhares de merozoítos na circulação.

Na etapa seguinte, conhecida como ciclo eritrocítico, os merozoítos invadem os glóbulos vermelhos. Dentro dos eritrócitos, o parasita sofre multiplicação assexuada, desenvolvendo-se de trofozoítos imaturos para maduros e, finalmente, para esquizontes. A ruptura dos esquizontes eritrocitários libera novos merozoítos, perpetuando a infecção e desencadeando os sintomas clínicos característicos da doença pelo *P. falciparum* (CDC, 2020). A Figura 1 demonstra o ciclo de reprodução do parasita no hospedeiro humano.

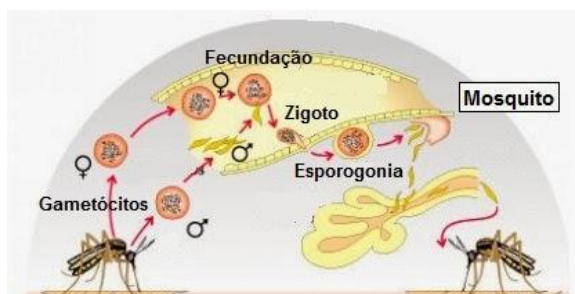
Figura 1- Ciclo de reprodução assexuada do *P. falciparum* no organismo humano.



Fonte: Redação Cursau (2023)

Para que o ciclo de transmissão se complete, é essencial a fase sexuada. Conforme descreve Baker (2010), uma proporção dos parasitas intraeritrocíticos diferencia-se em formas sexuadas denominadas gametócitos (masculinos e femininos), que não sofrem divisão celular e permanecem na circulação periférica. O ciclo esporogônico inicia-se quando o mosquito vetor ingere estes gametócitos ao picar um indivíduo infectado. No estômago do mosquito, ocorre a fecundação: os microgametas fertilizam os macrogametas, formando o zigoto. Este se diferencia em uma forma móvel e alongada, o oocineto, que atravessa a parede do intestino médio do inseto e se desenvolve em oocisto. Após a maturação, os oocistos rompem-se e liberam esporozoítos, que migram para as glândulas salivares do mosquito, tornando-o apto a transmitir a infecção a um novo hospedeiro humano (CDC, 2020). A Figura 2 ilustra a fase sexuada de reprodução do parasita na fêmea do mosquito.

Figura 2 – Ciclo de reprodução sexuada do *P. falciparum* na fêmea do mosquito.



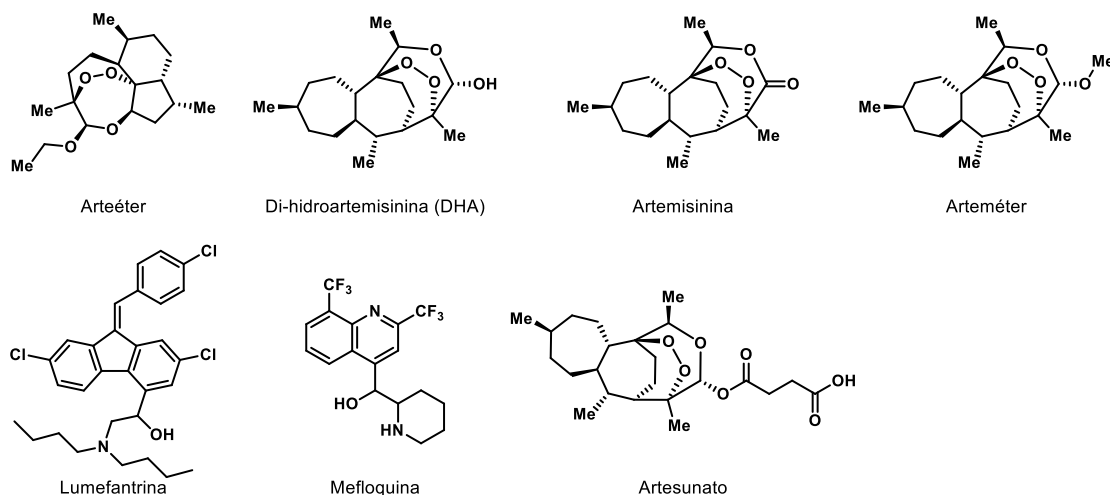
Fonte: Adaptado de PARISE (s.d.)

As medidas adotadas para o tratamento da doença são desenvolvidas com o objetivo de interromper o ciclo de vida do parasita em seus diferentes estágios. Segundo França et al. (2008), os medicamentos podem ser classificados de acordo com o alvo específico: esporonticidas, que atacam as formas infectantes iniciais; eritrocíticos, que combatem as formas sanguíneas responsáveis pelos sintomas; e gametocíticos, que eliminam as formas sexuadas, interrompendo a transmissão para o vetor.

Historicamente, a quinina, um alcaloide extraído da casca da *Chinchona*, e seus derivados sintéticos da família das quinolinas, como a cloroquina, desempenharam um papel central no controle da doença. A cloroquina, em particular, estabeleceu-se como a melhor alternativa na quimioterapia devido à sua eficácia inicial. No entanto, o uso extensivo desses fármacos foi severamente comprometido e o estudo de Shanks (2016) aponta que a alta toxicidade das quininas e, principalmente, o surgimento de cepas de *Plasmodium* resistentes à cloroquina reduziram drasticamente a utilidade clínica dessa classe, sendo inclusive ineficaz contra o *P. falciparum*.

Atualmente, a principal estratégia recomendada pela OMS para o tratamento da malária é a Terapia Combinada à base de Artemisinina (ACT). Conforme descrevem Lalloo et al. (2016), esta abordagem associa derivados de artemisinina (como artesunato ou arteméter) a outros fármacos com mecanismos de ação distintos, como a lumefantrina ou a mefloquina. Esta combinação demonstrou altas taxas de eficácia clínica, frequentemente superiores a 95% na supressão da parasitemia (Kinfu et al., 2012). A Figura 3 destaca os principais compostos da classe das ACTs utilizadas para o tratamento contra o *P. falciparum*.

Figura 3 – Estrutura química dos compostos que compõem as ACTs.



Fonte: autoria própria

Apesar do sucesso das ACTs, o cenário terapêutico enfrenta limitações críticas. Relatórios recentes indicam o surgimento de cepas de *P. falciparum* resistentes aos derivados de artemisinina, especialmente no sudeste asiático, o que ameaça os avanços globais no controle da doença (Woodrow & White, 2016). Além disso, Teixeira et al. (2014) destacam que um dos principais fatores que favorecem o desenvolvimento de resistência cruzada e multirresistência é a falta de diversidade estrutural entre os antimaláricos disponíveis, evidenciando a necessidade urgente de pesquisa e desenvolvimento de novas classes químicas de fármacos.

1.2 Processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos

A conversão de uma molécula em um medicamento aprovado é um processo longo, de alta complexidade e inerentemente multidisciplinar, no qual decisões científicas, regulatórias e tecnológicas caminham juntas. Em linhas gerais, essa trajetória pode ser organizada em duas macroetapas: descoberta e desenvolvimento não-clínico (pré-clínico) e desenvolvimento clínico, que se inicia após a seleção de um candidato e a geração de um pacote mínimo de evidências de qualidade, segurança e racional biológico para progressão (Lombardino; Lowe, 2004; Hughes et al., 2011).

No início, a pesquisa costuma partir de uma necessidade médica não atendida, o que orienta hipóteses sobre mecanismos de doença, alvos terapêuticos e critérios de “produto-alvo”. A etapa de descoberta concentra-se na identificação de moléculas bioativas “hits” e na sua

validação experimental. Esses podem emergir de diferentes estratégias, incluindo triagem virtual e, sobretudo, triagens biológicas em larga escala (HTS), nas quais a confirmação experimental do efeito observado tem papel central na priorização (Guido et al., 2010). Em geral, após a identificação inicial, é necessário confirmar reprodutibilidade, relação concentração–resposta e especificidade do efeito para reduzir o risco de falsos positivos, além de iniciar um mapeamento preliminar de propriedades relevantes para uso em sistemas biológicos.

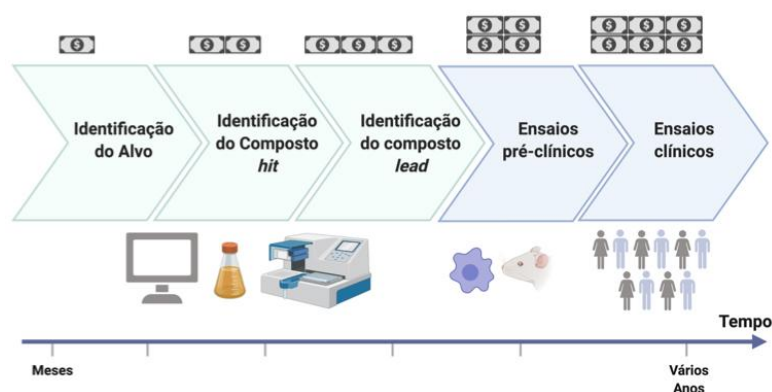
Uma vez confirmado um *hit*, o trabalho de química medicinal entra em ciclos iterativos de desenho–síntese–teste, com o objetivo de transformá-lo em um composto líder (*lead*). Nesse percurso, a fase *hit-to-lead* busca tornar o perfil mais “robusto” para progressão: além de ganhos graduais em potência e seletividade, passa a ser crítico equilibrar atributos físico-químicos e parâmetros associados a desempenho *in vivo*, como solubilidade, permeabilidade, estabilidade metabólica, interação com proteínas plasmáticas e sinais iniciais de segurança (Keserü; Makara, 2006). Em seguida, na otimização de líder (*lead optimization*), as hipóteses geradas por SAR (Relação Estrutura–Atividade) tornam-se a principal bússola para consolidar uma série química com maior chance de sucesso em avaliações não-clínicas, integrando dados farmacodinâmicos com evidências dos resultados de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) e além de tolerabilidade (Hughes et al., 2011; Keserü; Makara, 2006).

Paralelamente à otimização, a transição para estudos em humanos exige um conjunto de avaliações não-clínicas planejadas para sustentar o escopo, a duração e a dose pretendida na clínica, em conformidade com diretrizes internacionais harmonizadas (ICH, 2009). Nessa fase, além do desempenho biológico, aspectos como reprodutibilidade, caracterização do material, pureza e consistência (incluindo elementos de qualidade/CMC) tornam-se determinantes para a escolha de um candidato a fármaco, minimizando incertezas antes do início de testes em humanos.

Com um candidato selecionado e um pacote não-clínico considerado adequado, inicia-se o desenvolvimento clínico, cujo propósito é demonstrar, de modo progressivo e controlado, segurança e eficácia em humanos. De forma geral, os estudos são distribuídos em fases: Fase 1 (segurança/tolerabilidade e escalonamento de dose), Fase 2 (evidência inicial de eficácia e refinamento posológico), Fase 3 (confirmação em maior escala e consolidação do balanço benefício–risco) e Fase 4 (monitoramento pós-registro em condições reais, farmacovigilância e efetividade) (FDA, 2018). Todo esse percurso deve seguir padrões de boas práticas clínicas, que estruturam requisitos éticos e operacionais para condução dos ensaios (ICH, 2016).

Ao final, a submissão regulatória reúne o conjunto de evidências geradas. Nos Estados Unidos, a proposta de aprovação comercial ocorre via *New Drug Application* (NDA) (FDA, 2022). Na União Europeia, há procedimentos formais para autorização de comercialização sob a coordenação da EMA (EMA, s.d.). No contexto brasileiro, o desenvolvimento clínico e a tramitação associada envolvem dossiês e fluxos específicos, como DDCM e DEEC, conforme orientações e normas vigentes (ANVISA, 2025). A Figura 4 demonstra de forma geral o processo de desenvolvimento de um medicamento. Nota-se que ele se configura como um funil decisório, no qual cada etapa reduz incertezas e aumenta o nível de evidência exigido para avançar, até alcançar um padrão de qualidade, segurança e eficácia compatível com o uso em população.

Figura 4 – Representação esquemática do processo *hit-to-lead* de descoberta de fármacos.



Fonte: adaptado Oliveira (2020)

1.3 Escolha do *hit-1* e a importância da classe das di(2-piridil)piperazinas

A erradicação da malária impõe a necessidade urgente de novas ferramentas terapêuticas, particularmente fármacos quimioprotetores capazes de eliminar o parasita durante seu estágio hepático, prevenindo assim a infecção sanguínea e a doença clínica. Neste cenário, Antonova-Koch et al. (2018) conduziram uma triagem massiva de mais de 500.000 compostos, focada especificamente na inibição do desenvolvimento dos estágios hepáticos do *Plasmodium*.

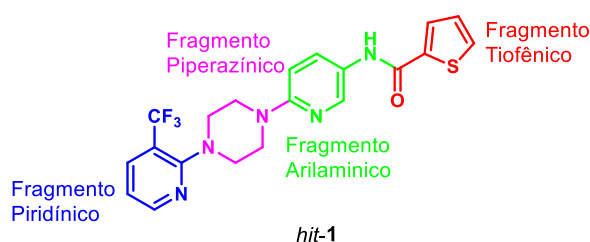
O *hit-1* pertence à classe das di(2-piridil)piperazinas, sendo referente a uma classe estrutural amplamente explorada na química medicinal devido à sua capacidade de modular diversos alvos biológicos (Faizan et al., 2024; Kumar et al., 2014). Estruturalmente, o composto apresenta um núcleo central de piperazina ligado a dois sistemas heteroaromáticos: uma piridina

substituída com um grupo CF_3 e um anel piridínico contendo uma porção amida derivada do tiofeno. Esta arquitetura molecular oferece múltiplos pontos para modificação e exploração dos fragmentos destacados na Figura 5.

Nos ensaios de atividade antiplasmodial, este composto apresentou uma Concentração Inibitória Média (IC_{50}) de $2,25 \mu\text{M}$. Isso torna esse composto apropriado para os estudos *hit-to-lead*. Segundo os critérios de "atividade promissora" em HTS discutidos por Lombardino e Lowe (2004), moléculas com atividade na faixa micromolar baixa ($1\text{-}10 \mu\text{M}$) são frequentemente selecionadas para ciclos de química medicinal focados no aumento da afinidade pelo alvo. Além disso, o perfil deste composto diferencia-se dos antimaláricos clássicos (como as quinolinas), sugerindo um potencial para contornar os mecanismos de resistência cruzada já estabelecidos.

Portanto, além da síntese e caracterização do *hit-1* existe a necessidade de modificações nos diferentes fragmentos dessas moléculas, explorando tópicos como: bioisosterismo para derivados do anel tiofênico e o fragmento arilamínico, conformação e efeitos estéricos do fragmento piperazínico. Isso decorre da necessidade de otimização dos valores de IC_{50} para os diferentes análogos sintetizados, visando a faixa nanomolar (nM) de acordo com Lombardino e Lowe (2004), aprimorando concomitantemente suas propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e perfil ADME.

Figura 5 – Estrutura do *hit-1* e valor de IC_{50} contra o *P. falciparum*.



$\text{IC}_{50} \text{ } P. \text{ falciparum} = 2,25 \mu\text{M}$

Fonte: adaptado Antonova-Koch et al. (2018)

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Sintetizar e caracterizar o *hit-1* e seus derivados estruturais, identificando os determinantes moleculares da atividade antiplasmodial e seletividade através da correlação entre modificações realizadas e perfis de atividade biológica contra o *P. falciparum*.

2.2 Objetivos específicos

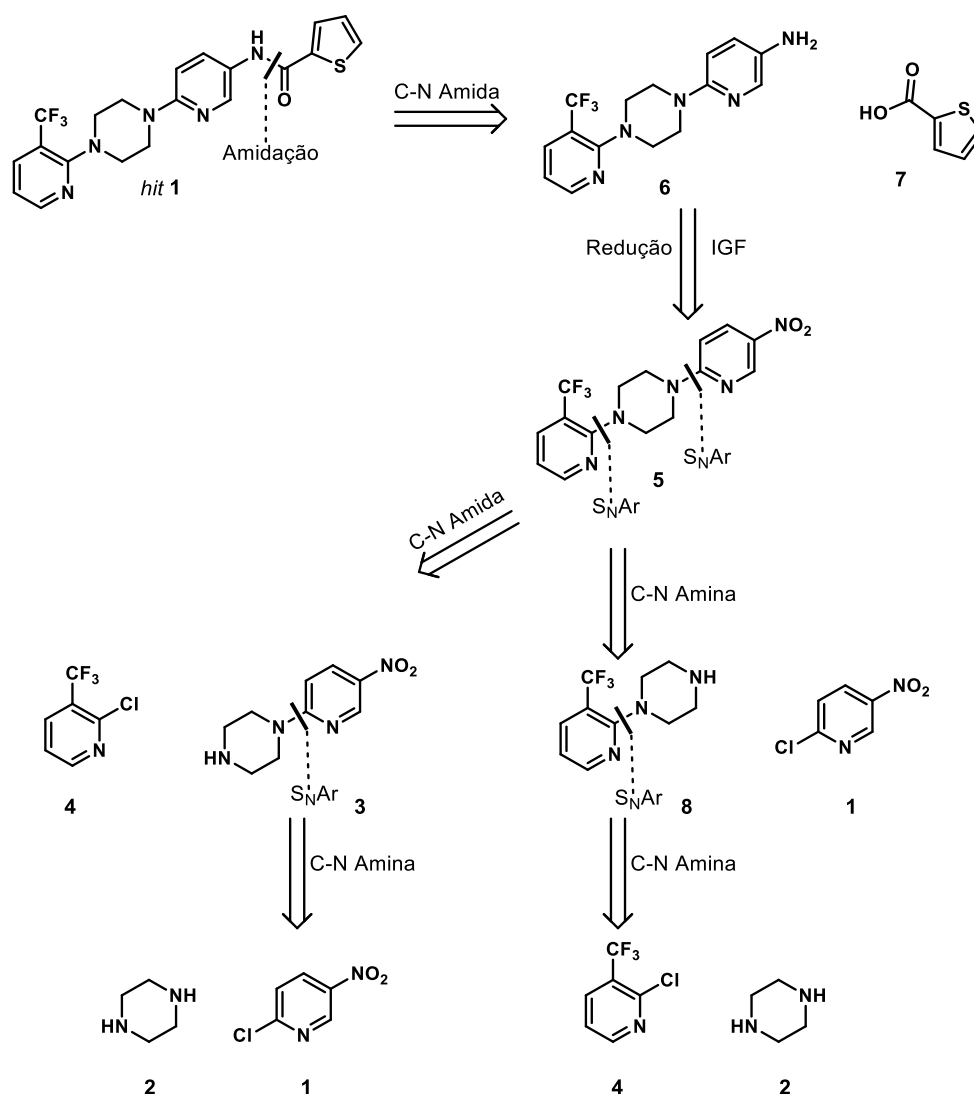
- Desenvolver e otimizar uma rota sintética eficiente para a preparação do *hit-1* e seus derivados;
- Avaliar a atividade antiplasmodial *in vitro* e citotoxicidade dos compostos sintetizados através de ensaios biológicos apropriados;
- Estabelecer um estudo SAR entre os derivados sintetizados e os resultados biológicos obtidos;
- Realizar modificações estruturais nos seguintes fragmentos: tiofênico, arilamínico e piperazínico.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Planejamento, síntese e caracterização do *hit-1*

O *hit-1* foi sintetizado com o objetivo de validar sua potência frente a *P. falciparum*. A partir de sua estrutura, propõe-se uma análise retrossintética em que a desconexão principal corresponde à formação da ligação amida, por acoplamento entre a anilina **6** e o ácido carboxílico **7**. O intermediário **6** pode ser acessado pela redução do grupo nitro ($-\text{NO}_2$) do precursor **5** sob hidrogenação catalítica (Pd/C , H_2). Para a obtenção de **5**, duas abordagens convergentes são viáveis: a primeira é uma sequência de reações de substituição nucleofílica aromática ($\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$) envolvendo a formação de **3** a partir do cloreto de arila **1** e piperazina **2**, seguida de uma $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ entre **3** e o reagente **4**; ou uma segunda rota em que o cloreto de arila **1** reage por $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ com o intermediário **8**, o qual, por sua vez, é obtido previamente por $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ entre **4** e a piperazina **2**. O Esquema 1 apresenta a retrossíntese proposta.

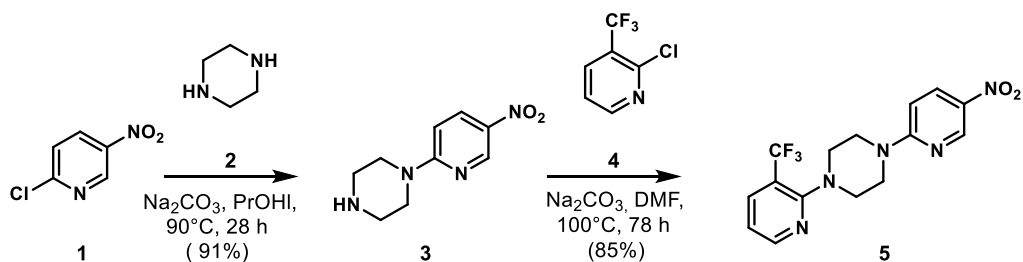
Esquema 1 – Retrossíntese do *hit-1*.



Fonte: autoria própria.

Com base na análise retrossintética, iniciou-se a síntese do *hit-1*. Na primeira rota (Esquema 2), realizou-se uma reação de $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ entre os reagentes **1** e **2**, utilizando o Na_2CO_3 em PrOH a 90°C sob refluxo por 28 h, obtendo-se o intermediário **3** com rendimento de 91%. Em seguida, uma segunda $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ com **4**, na presença de Na_2CO_3 e DMF a 100°C por 78 h, forneceu o intermediário **5** com rendimento de 85%.

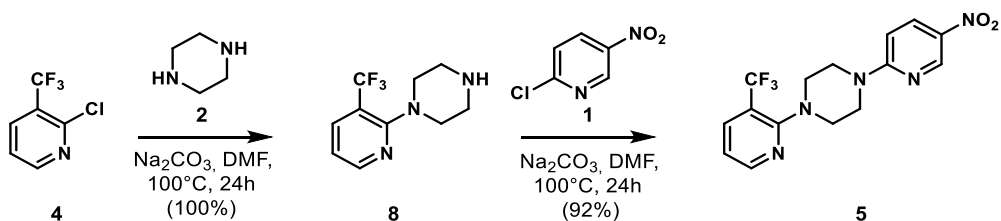
Esquema 2 – Primeira rota utilizada para obtenção do intermediário **5**.



Fonte: autoria própria.

Na segunda rota (Esquema 3), a reação de S_NAr entre **4** e **2** em DMF a 100°C por 24h resultou na formação intermediário **8** com rendimento de 100%. Posteriormente, uma segunda S_NAr com **1**, na presença de Na_2CO_3 em DMF a 100 °C por 24h, forneceu também o intermediário **5** com rendimento de 92%.

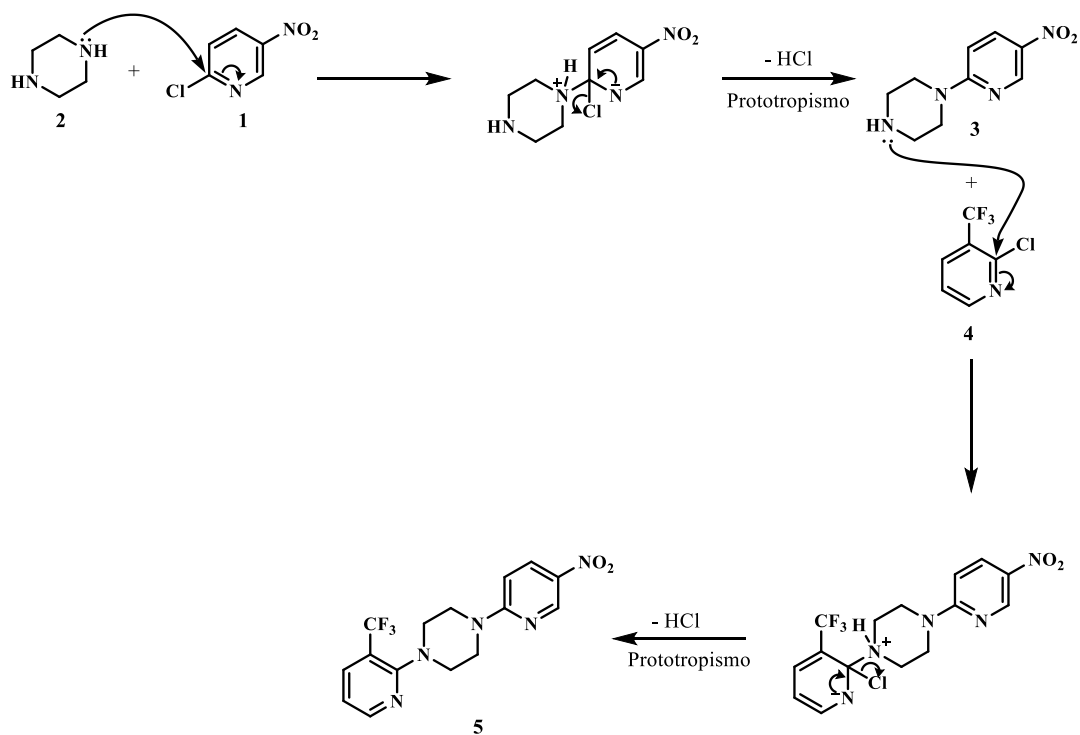
Esquema 3 – Segunda rota utilizada para obtenção do intermediário **5**.



Fonte: autoria própria.

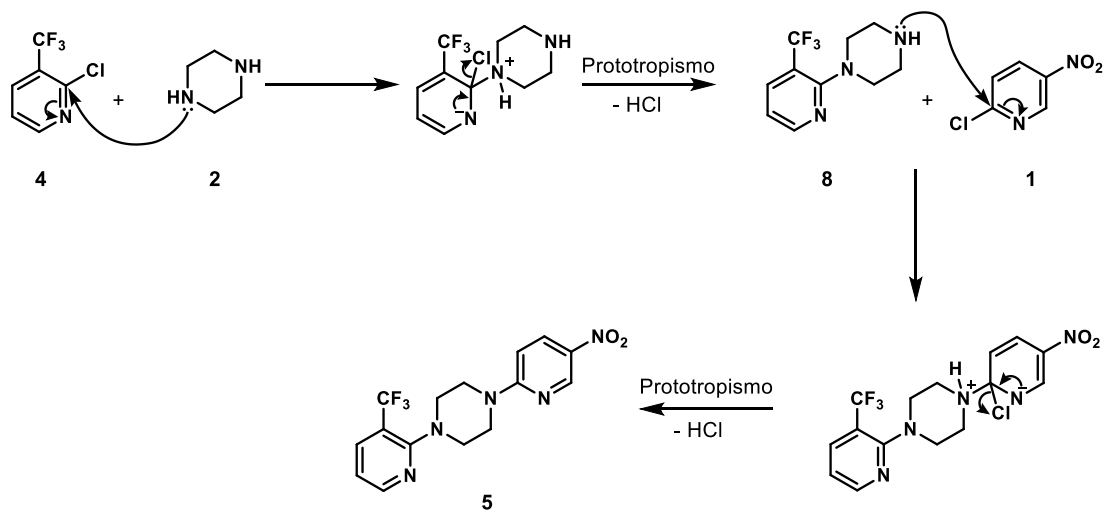
Em S_NAr , as reações feitas em anéis ativados por grupos retiradores de elétrons, como NO_2 , ativam as posições *orto* e *para*, como no caso do reagente **1**, pois deslocalizam densidade eletrônica e estabilizam o intermediário carregado negativamente (complexo Meisenheimer). Há também a presença de nitrogênio endocíclico, como nas piridinas **4** e **1**, que retiram densidade eletrônica do anel e facilitam o ataque nucleofílico nas posições 2 e 4, onde um nucleófilo, as piperazinas substituídas por exemplo, substitui um grupo abandonador, o cloro ($-Cl$) nos dois casos, via mecanismo de adição-eliminação. Essa reação é essencial na síntese de compostos bioativos, como derivados de aminopiridina, exigindo um anel deficiente em elétrons e condições básicas para prosseguir eficientemente (Clayden; Greeves; Warren, 2012, p. 514—527). O Esquema 4 demonstra o mecanismo sugerido para primeira rota sintética proposta, e o Esquema 5 demonstra o mecanismo da segunda rota sintética utilizada.

Esquema 4 – Mecanismo proposto para primeira rota.



Fonte: autoria própria

Esquema 5 – Mecanismo proposto para segunda rota.

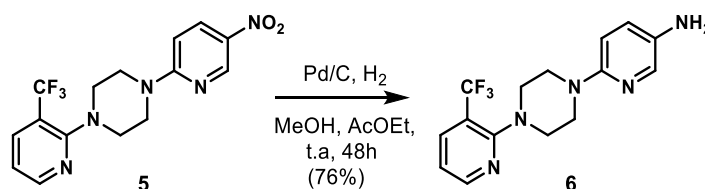


Fonte: autoria própria

Com a aquisição do intermediário **5**, foi realizada a conversão do grupo nitro ($-\text{NO}_2$) em uma amina ($-\text{NH}_2$), com uma típica reação de redução. Ela foi feita a partir de uma

hidrogenação catalítica, usando Pd/C como catalisador e H₂ gasoso, sendo feita em MeOH e AcOEt na proporção de (1:1), à temperatura ambiente, durante 48 h, resultando no intermediário **6** com rendimento de 76%, conforme ilustra o Esquema 6.

Esquema 6 – Rota sintética para a obtenção do intermediário **6**.

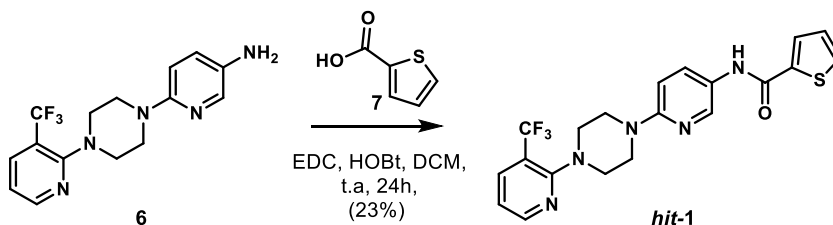


Fonte: autoria própria

Embora o mecanismo de redução catalítica de grupos nitro com metais de transição, como o paládio, não seja totalmente elucidado, aceita-se que envolva etapas de adsorção do substrato e do H₂ na superfície do catalisador, seguidas pela transferência sequencial de átomos de hidrogênio. Evidências experimentais indicam que a reação ocorre via formação de espécies reativas de hidrogênio, adsorção seletiva no grupo nitro e estabilização de intermediários-chave (Clayden; Greeves; Warren, 2012, p. 538).

Em seguida, procedeu-se à reação de amidação entre a anilina **6** e o ácido carboxílico **7**, empregando EDC e HOBt como reagentes de acoplamento. O Esquema 7 mostra que a reação foi realizada em DCM, à temperatura ambiente, por 24 h, fornecendo o *hit-1* com rendimento de 23%.

Esquema 7 – Síntese do *hit-1* por reação de amidação.

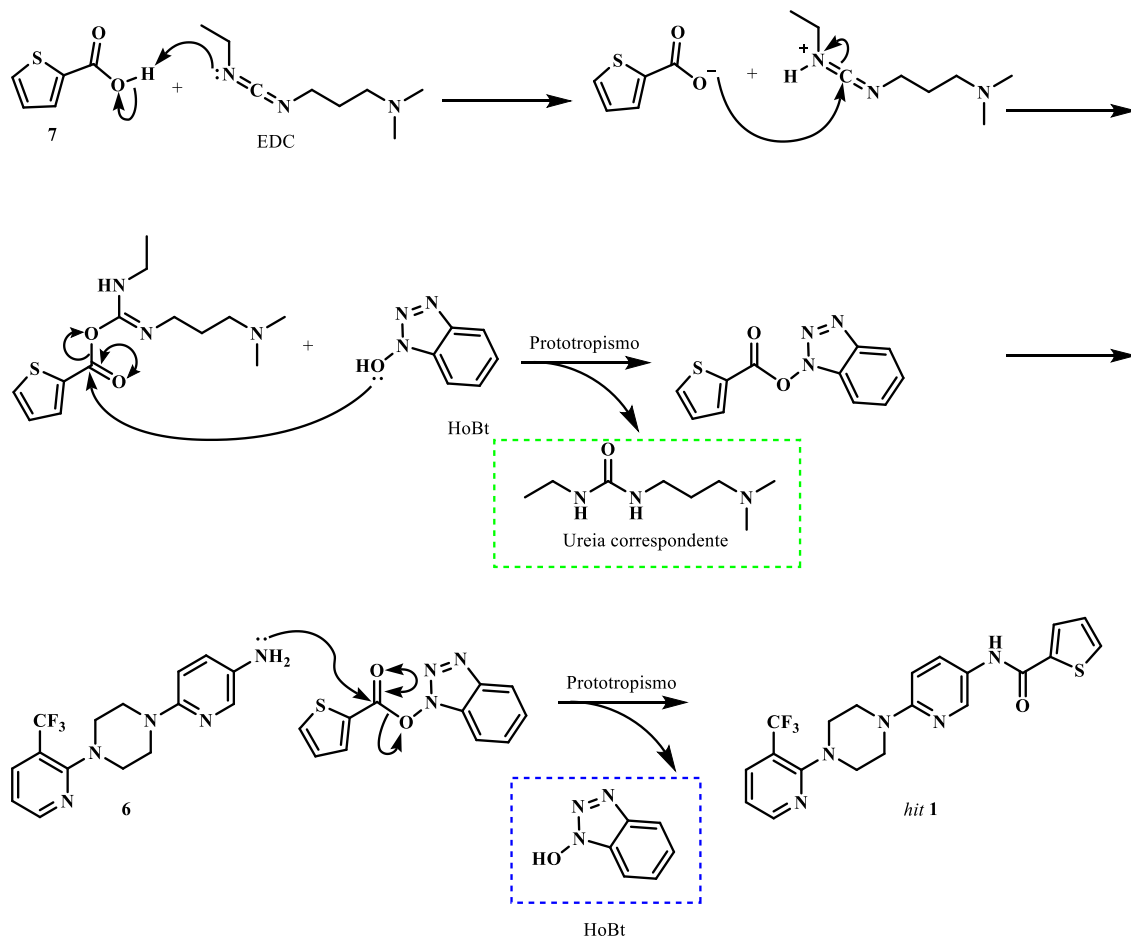


Fonte: autoria própria.

Neste caso, tem-se a ativação ácido carboxílico **7**, isso ocorre porque ele possui uma hidroxila (-OH) que é um mau grupo abandonador, dessa forma, o ácido ataca o EDC, formando o éster correspondente como intermediário, que é então catalisado pelo HOBt, gerando outro éster ainda mais reativo. Em seguida, a amina **6** age como nucleófilo e ataca o carbono da

carbonila, regenerando o HOBT, garantindo a formação da amida, o *hit-1* (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 747-748). O Esquema 8 ilustra o mecanismo proposto para formação do *hit-1* com base no que foi efetuada para sua obtenção.

Esquema 8 – Proposta de formação do *hit-1*.



Fonte: autoria própria.

Após a síntese do *hit-1*, sua caracterização estrutural foi realizada por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C APT (*Attached Proton Test*) e por espectrometria de massas de alta resolução (HRMS). Para os resultados do RMN, foi utilizado o solvente deuterado CDCl_3 . Nos espectros de RMN de ^1H (Figura 2) foi possível observar onze sinais referentes aos hidrogênios do *hit-1*, com os deslocamentos expressos em parte por milhão (ppm) e as integrais representando a proporção de hidrogênios por sinal. As atribuições desses sinais podem ser observadas no espectro com a numeração de cada um.

No fragmento tiofênico, observam-se dois sinais em δ 7,56 (dd, $J = 5,0$; 1,1 Hz, 1H) e δ 7,14 (dd, $J = 5,0$; 3,8 Hz, 1H), compatíveis com prótons do anel tiofênico submetidos a

acoplamentos vicinais ($^3J \approx 5$ Hz) e de longo alcance ($^4J \approx 1$ Hz), padrão típico desse heteroaromático (Silverstein; Webster; Kiemle, 2014, p. 197). Dessa forma, esses duplos dupletos podem ser atribuídos, respectivamente, aos hidrogênios H-19 e H-20. O terceiro próton do tiofeno (H-21) é esperado na mesma região aromática; entretanto, sua identificação fica prejudicada pela sobreposição com o sinal do NH amídico, resultando no envelope em δ 7,68–7,61 (m), cuja integração totalizou 2H. Em CDCl_3 , prótons NH de amidas frequentemente aparecem como sinais alargados e com deslocamento variável, em função de ligações de hidrogênio intermoleculares e de processos de troca protônica. Além disso, a amida apresenta caráter de ressonância com densidade eletrônica reduzida no nitrogênio, o que tende a desblindar o NH e posicioná-lo na região aromática baixa (tipicamente $\sim 6\text{--}9$ ppm), favorecendo a coincidência com sinais do anel tiofênico. Assim, a integração aumentada desse multipeto é consistente com a coalescência de H-21 e do NH da amida em uma mesma faixa de deslocamento químico.

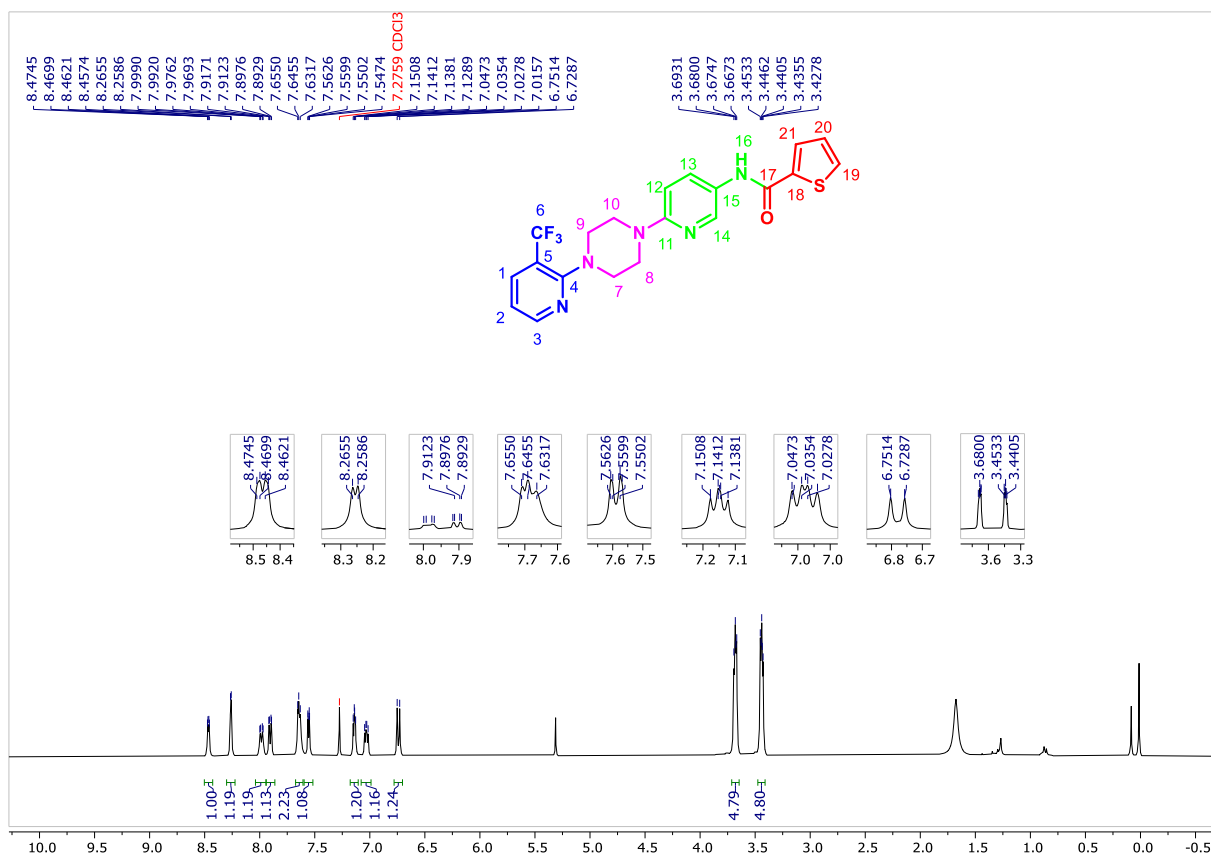
No fragmento arilamínico, os sinais em δ 8,26 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), δ 7,98 (dd, $J = 9,1$; 2,8 Hz, 1H) e δ 6,74 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H) compõem um conjunto característico de um sistema aromático trissubstituído, no qual predominam acoplamentos *orto* ($^3J \sim 8\text{--}9$ Hz) e *meta* ($^4J \sim 2\text{--}3$ Hz). O sinal em δ 7,98 como dd ($J = 9,1$; 2,8 Hz) é típico do próton que acopla simultaneamente com um vizinho em *orto* e outro em *meta*, sendo, portanto, consistente com H-13. O duplete em δ 8,26 ($J = 2,8$ Hz) evidencia acoplamento *meta* como interação dominante e, por se tratar do próton mais desblindado do conjunto (influência dos nitrogênios do heteroanel e da vizinhança de substituintes), pode ser atribuído a H-14. Por fim, o duplete em δ 6,74 ($J = 9,1$ Hz) apresenta apenas acoplamento *orto*, compatível com H-12, relativamente mais blindado por estar mais afastado de centros fortemente desblindantes.

No anel piperazínico, a presença de dois conjuntos de sinais como multipletos em δ 3,72–3,64 (m, 4H) e δ 3,48–3,41 (m, 4H) é compatível com piperazinas *N,N*-disubstituídas, nas quais os oito hidrogênios metilênicos se distribuem em dois ambientes magnéticos (dois pares equivalentes), frequentemente com sinais alargados devido à dinâmica conformacional e ao padrão de acoplamento complexo entre os metilênicos. O conjunto mais desblindado em δ 3,72–3,64 pode ser atribuído aos hidrogênios H-7/H-9, por estarem, em média, sob maior influência eletrônica dos substituintes heteroaromáticos ligados aos nitrogênios, enquanto o envelope em δ 3,48–3,41 é coerente com H-8/H-10.

No fragmento piridínico (anel 3-(trifluorometil)piridin-2-il), os sinais em δ 8,47 (dd, $J = 5,0$; 1,9 Hz, 1H), δ 7,03 (dd, $J = 7,8$; 4,8 Hz, 1H) e δ 7,90 (dd, $J = 7,8$; 1,9 Hz, 1H) são compatíveis com um anel piridínico substituído, no qual se observam acoplamentos *orto* ($^3J \sim$

7–8 Hz) e *meta* ($^4J \sim 1\text{--}2$ Hz). O sinal mais desblindado, em δ 8,47, é esperado para o próton mais próximo ao nitrogênio piridínico e sob forte influência do grupo CF_3 retirador de elétrons, sustentando sua atribuição a H-3. O dd em δ 7,03 ($J = 7,8; 4,8$ Hz) indica acoplamento com dois vizinhos e é consistente com H-2, enquanto o dd em δ 7,90 ($J = 7,8; 1,9$ Hz) combina um acoplamento *orto* forte e um *meta* fraco, sendo atribuído a H-1. A figura a seguir demonstra a estrutura do *hit-1*, com a identificação de cada H associado ao seu deslocamento.

Figura 6 – Espectro de ^1H do *hit-1* (400 MHz, CDCl_3).



Fonte: autoria própria

No espectro de ^{13}C APT, a atribuição inicial foi guiada pela fase do sinal, na qual os carbonos di-hidrogenados (CH_2) e os carbonos não hidrogenados aparecem na fase negativa, enquanto os carbonos mono-hidrogenados e tri-hidrogenados (CH e CH_3) surgem na fase positiva. Esse critério é particularmente útil para compostos como o *hit-1*, que contém uma gama de tipos diferentes de carbonos, além de seus derivados, o que faz o teste de ^{13}C APT ser o mais eficaz para essa classe de compostos (Silverstein; Webster; Kiemle, 2014).

O sinal em δ 160,18 foi atribuído ao carbono carbonílico da amida (C-17), uma vez que carbonilas de amida tipicamente ressoam na faixa de $\sim 160\text{--}175$ ppm e aparecem como carbono

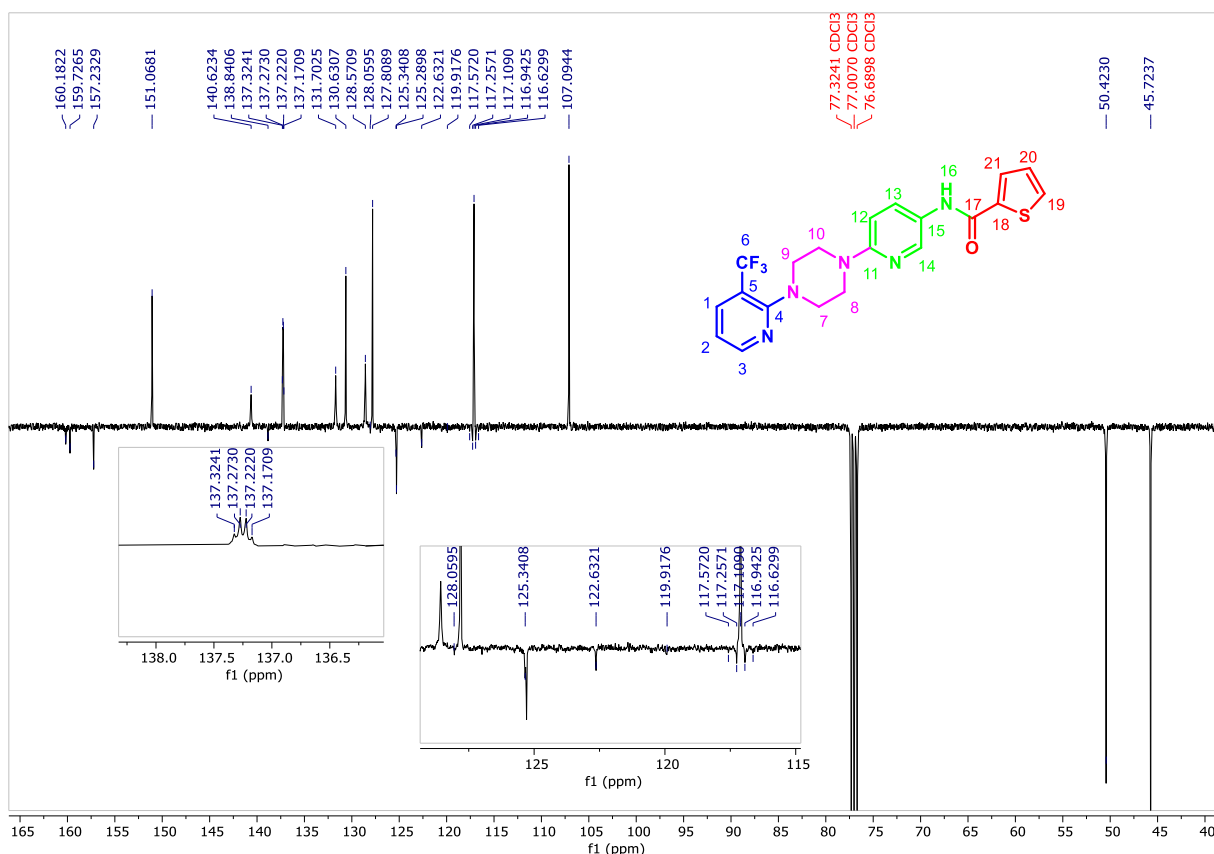
não protonado, compatível com a fase negativa no APT. Além disso, o caráter conjugado da função amida com o anel tiofênico desloca esse carbono para a região esperada de carbonilas aromáticas. Os demais sinais na região δ 159,73–138,84 (δ 159,73; 157,23; 138,84; 125,29) foram atribuídos a carbonos não hidrogenados (C-4, C-11, C-18 e C-15, respectivamente). Essa faixa é típica de carbonos aromáticos/heteroaromáticos desblindados por heteroátomos (N, S) ou por substituição, sobretudo quando se trata de carbonos ligados a nitrogênios de anéis piridínicos e pirimidínicos ou adjacentes a funções retiradoras de elétrons. Como esses centros não carregam hidrogênio diretamente, a observação em fase negativa reforça a atribuição. Na porção trifluorometilada, o carbono do CF₃ (C-6) aparece entre δ 128,06–119,92 na forma de quarteto com $J = 274,32$ Hz, valor muito característico de acoplamento $^2J_{C-F}$, que é grande, tipicamente na faixa de ~250–300 Hz, para carbonos diretamente ligados a três flúores equivalentes. De maneira coerente, o carbono C-5 também surge como quarteto em δ 117,57–116,63 com $J = 31,7$ Hz, compatível com um acoplamento de duas ligações $^2J_{C-F}$ com os flúores do CF₃, que é consideravelmente menor do que $^1J_{C-F}$, mas ainda bem diagnosticável. Esses dois padrões, tanto quarteto grande para o carbono do CF₃ e quarteto menor para o carbono vizinho, endossam a presença e posicionamento do grupo CF₃, servindo como uma base fiel na determinação da possível estrutura almejada.

Ainda na fase negativa, os sinais alifáticos em δ 50,42 foram atribuídos aos carbonos C-7 e C-9, enquanto o sinal em δ 45,72 foi atribuído aos carbonos C-8 e C-10, todos pertencentes aos CH₂ da piperazina. Em piperazinas *N,N*-disubstituídas, é comum observar dois conjuntos principais de metilênicos devido a ambientes magnéticos distintos, com os pares de CH₂ sendo equivalentes quimicamente, e a diferença de deslocamento entre ~50 e ~45 ppm é coerente com metilênicos sob influências eletrônicas diferentes dos substituintes heteroaromáticos ligados aos nitrogênios, que se baseia onde o conjunto mais desblindado é mais fortemente influenciado pelo efeito indutivo retirador de elétrons.

Na fase positiva, os sinais entre δ 151,07–127,81 (δ 151,07; 140,62; 131,70; 130,63; 128,57; 127,81) foram atribuídos aos carbonos CH aromáticos (C-3, C-14, C-19, C-21, C-20 e C-13, respectivamente). Essa região é típica de carbonos aromáticos mono-hidrogenados, e a presença de valores mais altos (~151 ppm) é consistente com carbonos de anéis heteroaromáticos, especialmente aqueles próximos ao nitrogênio, que sofrem desblindagem adicional. Já os sinais na faixa ~127–132 ppm são compatíveis com carbonos mono-hidrogenados de anéis aromáticos como tiofeno e piridina substituída. O conjunto em δ 137,32; 137,27; 137,22; 137,17 foi atribuído ao C-1 como um quarteto com $J = 5,1$ Hz, o que é compatível com um acoplamento de terceira ordem $^3J_{C-F}$ com os flúores do grupo CF₃. Embora

$^3J_{C-F}$ seja pequeno, ele pode ser observado quando há boa resolução e quando o carbono está situado a três ligações do CF_3 , reforçando a atribuição desse carbono como vizinho “a distância” do substituinte trifluorometil. Por fim, o sinal em δ 117,11 foi atribuído ao C-2 do anel piridínico lateral, enquanto δ 107,09 foi atribuído ao C-12. A posição em ~ 117 ppm é coerente com carbono aromático protonado em anel heteroarômático sob influência de substituição e proximidade a heteroátomo, enquanto o deslocamento mais blindado em ~ 107 ppm é compatível com um carbono CH em heteroarômático com ambiente eletronicamente distinto. A Figura 7 ilustra o RMN de ^{13}C APT em conjunto com a estrutura do *hit-1* para melhor visualização.

Figura 7 – Espectro de ^{13}C do *hit-1* (101 MHz, $CDCl_3$).



Fonte: autoria própria.

A tabela a seguir (Tabela 1) demonstra todos os dados dos espectros apresentados até aqui do *hit-1*.

Tabela 1 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do *hit-1* (CDCl_3).

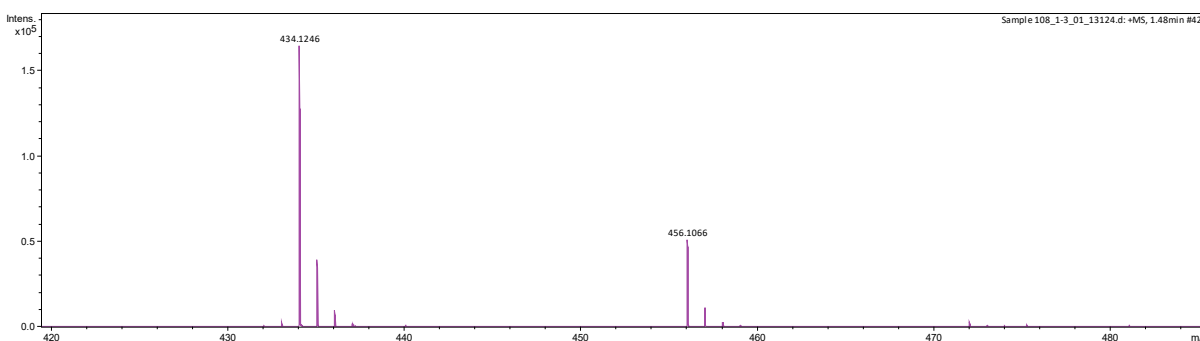
Posição H	δ_{H}^a (m^b , J^c)	Posição C	δ_{C}^d
H-1	δ 7,90 (dd, $J = 7,8$, $1,9$ Hz, 1H)	C-1	δ 137,32 – 137,17 (q, $J = 5,1$ Hz)
H-2	δ 7,03 (dd, $J = 7,8$, $4,8$ Hz, 1H)	C-2	δ 117,11
H-3	δ 8,47 (dd, $J = 5,0$, $1,9$ Hz, 1H)	C-4	δ 159,73
H-7/H-9	δ 3,72 – 3,64 (m, 4H)	C-5	δ 117,57 – 116,63 (q, $J = 31,7$ Hz)
H-8/H-10	δ 3,48 – 3,41 (m)	C-6	δ 128,06 – 119,92 (q, $J = 274,32$ Hz)
H-12	δ 6,74 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H)	C-7/C-9	δ 50,42
H-13	δ 7,98 (dd, $J = 9,1$, $2,8$ Hz, 1H)	C-8/C-10	δ 45,72
H-14	δ 8,26 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H)	C-11	δ 157,23
H-16/NH	δ 7,68 – 7,61 (m, 2H)	C-12	δ 107,09
H-19	δ 7,56 (dd, $J = 5,0$, $1,1$ Hz, 1H)	C-13	δ 127,81
H-20	δ 7,14 (dd, $J = 5,0$, $3,8$ Hz, 1H)	C-14	δ 140,62
H-21	δ 7,68 – 7,61 (m, 2H)	C-15	δ 125,29
		C-17	δ 160,18
		C-18	δ 138,84
		C-19	δ 131,70
		C-20	δ 128,57
		C-21	δ 130,63

a: deslocamento químico (ppm) de hidrogênio em relação ao TMS como padrão interno. *b*: multiplicidade. *c*: constante de acoplamento em Hz. *d*: deslocamento químico (ppm) de carbono em relação ao TMS como padrão interno.

Fonte: autoria própria

Em conjunto, os padrões de fase do APT e, sobretudo, os quartetos diagnósticos de acoplamento C-F permitiram atribuir com segurança a porção trifluorometilada, enquanto os dois sinais de CH_2 corroboram a presença de uma piperazina *N,N*-disubstituída. Além disso, a caracterização do *hit-1* foi finalizada pela análise do HRMS, utilizando ionização por eletrospray (ESI+). A Figura 8 ilustra o espectro de HRMS, que revelou um pico de íon molecular em m/z 434,1246, correspondente ao aduto $[\text{M}+\text{H}]^+$. Este valor está em estreita concordância com a massa exata teórica calculada para a fórmula molecular $[\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{F}_3\text{N}_5\text{OS}+\text{H}]^+$ (m/z 434,1257), apresentando um erro experimental de apenas 2,53 ppm. Tal resultado confirma, de maneira inequívoca, a identidade e a fórmula molecular proposta para o *hit-1* do trabalho.

Figura 8 – Espectograma de HRMS do *hit-1*.



Fonte: autoria própria

3.2 Ensaios biológicos *in vitro* do *hit-1*

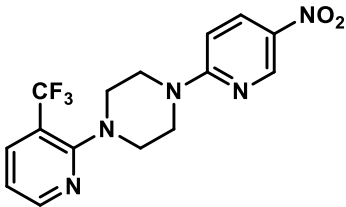
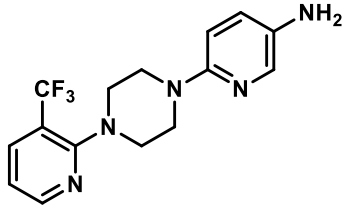
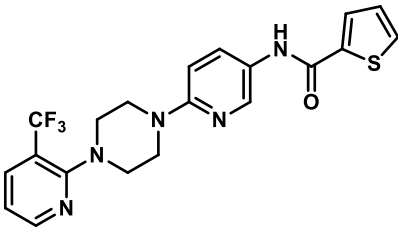
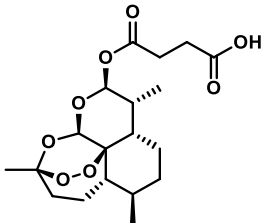
Os ensaios fenotípicos foram conduzidos em colaboração com o grupo do Prof. Dr. Rafael V. C. Guido (CIBFar/IFSC–USP). A potência antiplasmodial foi expressa como IC₅₀ frente à cepa *P. falciparum* 3D7, obtida a partir de curva concentração–resposta, enquanto a citotoxicidade foi determinada em células HepG2 e reportada como CC₅₀, permitindo o cálculo do Índice de Seletividade ($IS = CC_{50}^{HepG2} / IC_{50}^{3D7}$). Conforme apresentado na Tabela 2, o *hit-1* apresentou IC₅₀ = 2,0 ± 0,7 µM e CC₅₀ > 100 µM, resultando em IS > 50. Esse perfil indica atividade antiplasmodial na faixa micromolar, acompanhada por uma janela inicial de seletividade frente a células humanas, caracterizando o *hit-1* como um ponto de partida adequado para otimização *hit-to-lead*.

A avaliação dos intermediários também trouxe informações úteis para o planejamento: o intermediário **5** (contendo o grupo nitro) apresentou baixa atividade, enquanto o intermediário **6** exibiu melhora de potência (IC₅₀ > 13,0 µM), sugerindo que a conversão –NO₂ → –NH₂ favorece o desempenho biológico dentro desse quimiotipo.

Como controle positivo, o artesunato apresentou IC₅₀ = 0,011 ± 0,001 µM no mesmo ensaio, confirmando a adequação do sistema experimental e oferecendo um parâmetro

comparativo de potência. Adicionalmente, o IC₅₀ obtido para o *hit-1* mostrou-se consistente com valor previamente reportado para o mesmo quimiotipo (IC₅₀ = 2,25 µM), corroborando a reprodutibilidade do resultado e fortalecendo a escolha do *hit-1* para etapa de otimização estrutural. A Tabela 2 demonstra os dados dos ensaios biológicos realizados para o *hit-1* e seus precursores.

Tabela 2 – Resultados dos testes biológicos do *hit-1*.

Composto	Estrutura	IC ₅₀ ^{3D7} (µM)	CC ₅₀ ^{He} pG2 (µM)	IS	cLogP (o/w) ^a
5		49,0 ± 7	N.D.	N.D.	2,00
6		13,0 ± 0,5	N.D.	N.D.	2,19
<i>hit-1</i>		2,0 ± 0,7	> 100	> 50	3,51
Art		0,011 ± 0,001	N.T.	N.D.	N.D.

N.T. – Não Testado; N.D. – Não Determinado. a) valores de cLogP foram calculados *in silico* usando a ferramenta online SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>). Art: Artesunato – utilizado como fármaco de referência (controle positivo) nos ensaios contra *P.falciparum*.

Fonte: autoria própria

Diante disso, o perfil inicial do *hit-1* permite a elaboração de mudanças estruturais no composto, tendo como objetivo a melhora do perfil farmacocinético e nos resultados referentes

a atividade inibitória (IC₅₀, CC₅₀ e IS), utilizando como principal ferramenta o processo de análise da SAR para identificar os grupos farmacofóricos.

3.3 Planejamento de derivados do *hit-1*

Utilizando a estrutura do *hit-1* como protótipo, foram planejadas alterações moleculares nos três setores principais da molécula (tiofeno, arilamina e piperazina). Essas modificações tiveram como objetivo melhorar a atividade antiparasitária apresentada pelo *hit-1*, mapear o farmacofórico e identificar quais regiões da molécula são determinantes para a atividade frente ao *P. falciparum* e quais apresentam maior tolerância a substituições. Isso pode ser feito aplicando os conceitos de bioisosterismo e varredura estereoeletrônica visando modular tamanho, polaridade e distribuição eletrônica. Para além disso, essas modificações podem abranger os parâmetros físico-químicos relacionados ao desempenho em sistemas biológicos, como lipofilicidade (cLogP), propriedades farmacocinéticas (ADME) e flexibilidade conformacional, os quais impactam permeação celular, ligação inespecífica e risco de citotoxicidade. Em paralelo, a avaliação de citotoxicidade em HepG2 e o cálculo do índice de seletividade permitiram direcionar a otimização para compostos que mantivessem o efeito antiplasmodial com margem terapêutica adequada, evitando que ganhos de atividade estivessem associados a aumento proporcional de toxicidade. Dessa forma, o conjunto de modificações não foi orientado exclusivamente por IC₅₀, mas por uma abordagem integrada de química medicinal, voltada a gerar candidatos estruturalmente informativos e mais favoráveis ao avanço para estágios posteriores de otimização.

3.4. Síntese de derivados do *hit-1*

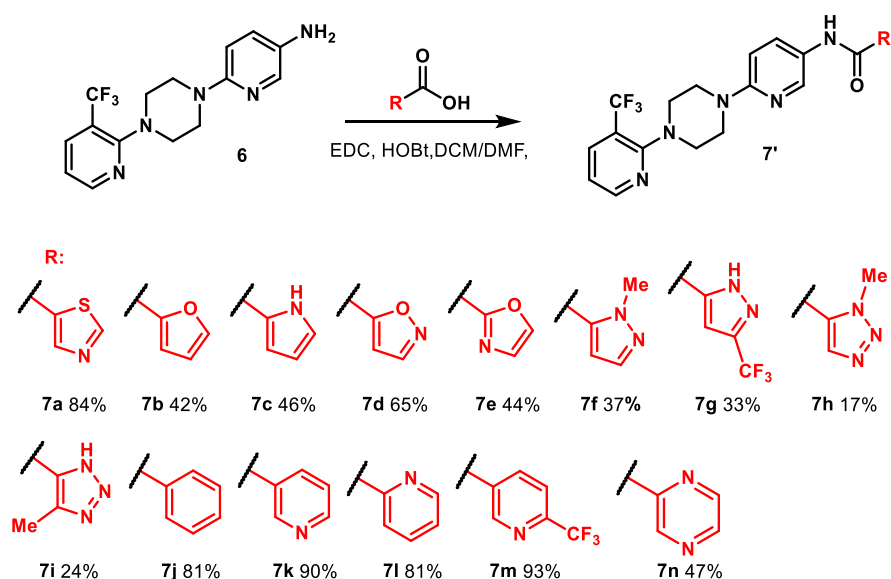
3.4.1 Síntese dos derivados com modificações no fragmento tiofênico

A síntese dos derivados foi conduzida mantendo-se a mesma estratégia reacional estabelecida para o *hit-1*, de modo que inicialmente as alterações estruturais se concentrassem no fragmento tiofênico, sem necessidade de mudanças substanciais na rota utilizada. Em primeiro lugar, foram exploradas substituições bioisostéricas nesse fragmento, como a troca do enxofre por oxigênio (furano, **7b**) ou por nitrogênio (pirrol, **7c**). Também foram introduzidos heteroátomos endocíclicos adicionais, gerando anéis como tiazol (**7a**), oxazol (**7e**) e isoxazol (**7d**), além de sistemas exclusivamente nitrogenados (**7f-i**), portadores de grupos doadores (–

CH₃) ou retiradores de elétrons (–CF₃). Adicionalmente, foram planejados derivados aromáticos de seis membros (**7j–n**), com ou sem heteroátomos, visando avaliar a influência de fatores eletrônicos e estéricos sobre a atividade biológica.

Os compostos foram obtidos por reações de amidação entre o intermediário **6** e os respectivos ácidos carboxílicos (ou equivalentes aromáticos), conforme indicado no Esquema 9, empregando EDC e HOBt como reagentes de acoplamento. Essa estratégia convergente permitiu acessar uma série de análogos estruturalmente relacionados a partir de um intermediário comum, reduzindo a necessidade de reotimização de condições reacionais e assegurando maior comparabilidade entre os derivados. Consequentemente, as variações de atividade e seletividade observadas podem ser atribuídas predominantemente às modificações no fragmento tiofênico, uma vez que o núcleo molecular e o conector amídico permaneceram inalterados, favorecendo a interpretação do SAR

Esquema 9 – Síntese dos derivados **7a–n**, utilizando EDC e HOBt.



Fonte: autoria própria.

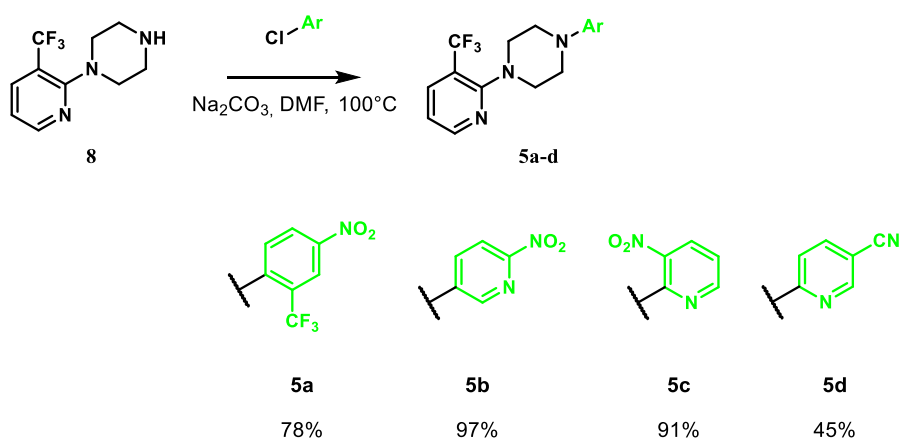
Essa abordagem mostrou-se particularmente robusta porque o intermediário **6** apresenta uma anilina como único sítio nucleofílico livre para formação da ligação amida, enquanto os demais nitrogênios presentes são heteroaromáticos (pouco nucleofílicos em reações de acilação) ou pertencem a uma piperazina *N,N*-disubstituída, não contendo N–H disponível para acilação competitiva. Assim, as amidações mediadas por EDC/HOBt em DCM/DMF ocorreram de forma quimiosseletiva e reprodutível, com baixo perfil de subprodutos, o que também

contribuiu para a facilidade de elucidação estrutural. Mesmo que a obtenção desses derivados necessite de processos de purificação adicional – tratamento da graxa, cromatografia, preparativa, dentre outros – o modo de obtenção pouco foi alterado, apenas se destaca a escolha do solvente, o DCM é preferível ao DMF por ser mais facilmente retirado no tratamento da reação. Consequentemente, mesmo com a introdução de diferentes fragmentos aromáticos ou heteroaromáticos, não foram necessárias mudanças drásticas no planejamento reacional, e as variações de rendimento observadas estiveram mais relacionadas às características de cada reagente envolvido.

3.4.2 Síntese de derivados com modificações no fragmento arilamínico

As modificações realizadas no fragmento arilamínico foram feitas por meio de reações de S_NAr envolvendo o intermediário **8** e seu respectivo cloreto de arila, utilizando o Na_2CO_3 em DMF à $100^\circ C$, isso gerou os compostos **5a-d** com diferentes rendimentos conforme o Esquema 10 mostra a seguir:

Esquema 10 – Exemplo geral da síntese e modificação no fragmento arilamínico.

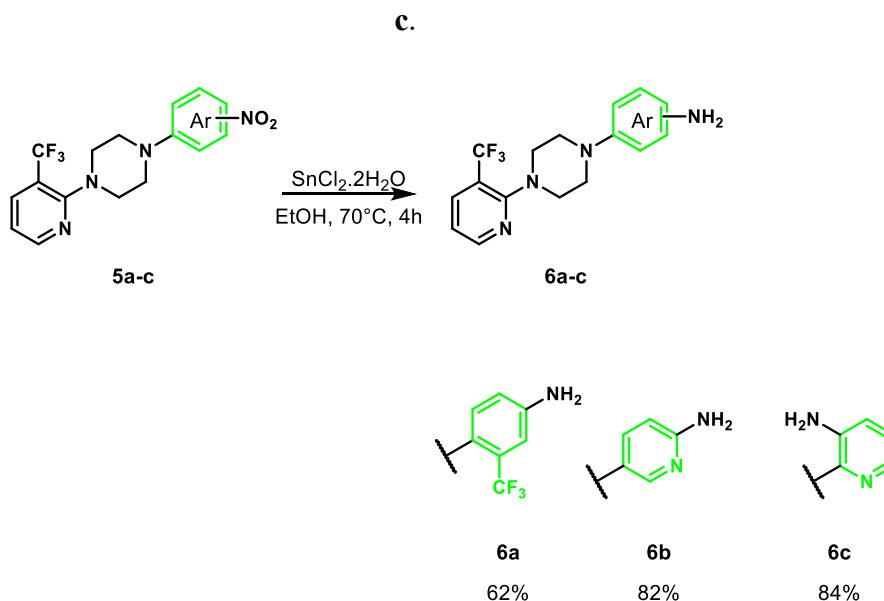


Fonte: autoria própria

Consequentemente, os derivados **5a-c** sofreram uma reação de redução do grupo nitro com a utilização do $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ em EtOH, com aquecimento à $70^\circ C$ durante 4h, com rendimento de 62 a 84%. O $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ é citado como reagente clássico frequentemente empregado na redução compostos nitroaromáticos a anilinas (Hudlicky, 1984). Ele foi preterido ao Pd/C por se tratar de um reagente mais acessível economicamente, ter um tempo de utilização menor, não envolver o risco de utilizar o H_2 gasoso, que é um gás inflamável, e o

principal é pelo fato dele gerar produtos com menos impurezas que o Pd/C, justamente por ser menos reativo e mais seletivo para esse tipo de reação. As condições para os intermediários **5a-c** não sofreram mudanças drásticas, ressaltando que a escolha por esse meio de redução é majoritariamente superior de acordo com o Esquema 11.

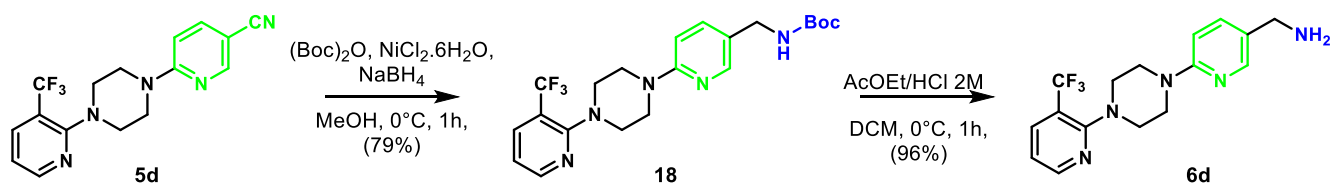
Esquema 11 – Redução dos grupos nitro dos derivados **5a-c** para formação dos derivados **6a-c**



Fonte: autoria própria

Para a conversão da benzonitrila **5d** em sua respectiva amina primária, utilizou-se a estratégia descrita por Caddick et al. (2003). Esta metodologia baseia-se no sistema catalítico $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}/\text{NaBH}_4$ na presença de $(\text{Boc})_2\text{O}$, permitindo a redução da nitrila com proteção *in situ* da amina formada. A opção por essa via visou evitar a formação de subprodutos e processos competitivos comuns em reduções de nitrilas livres com borohidretos, resultando na obtenção do carbamato protegido (intermediário **18**) com rendimento de 79%. Subsequentemente, a desproteção ácida em meio de HCl em AcOEt (2 M) forneceu a amina livre **6d** com 96% de rendimento, demonstrando a eficiência da rota para o acesso a esse bloco sintético. O Esquema 12 demonstra o processo reacional envolvido para obtenção do derivado.

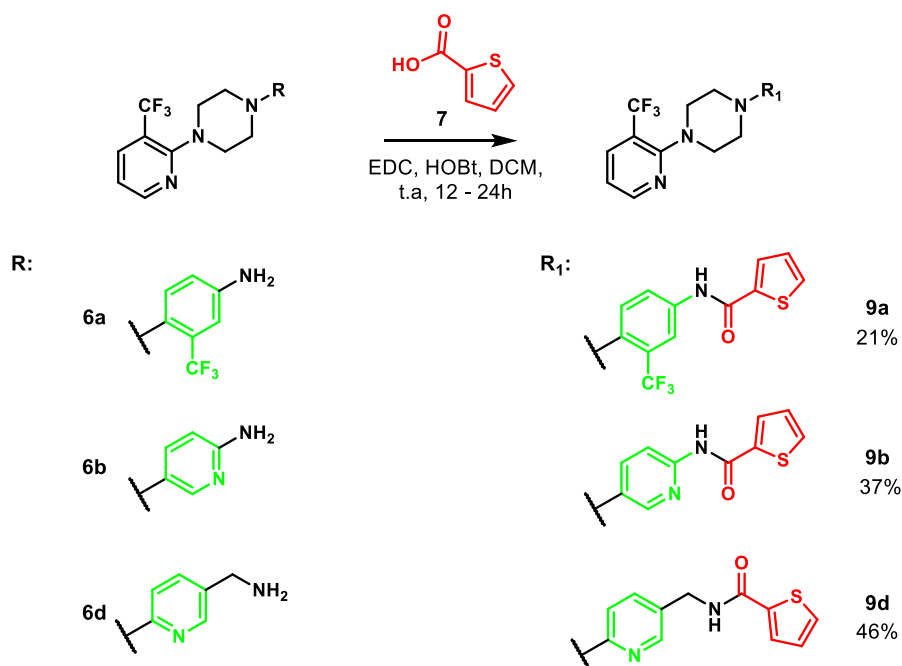
Esquema 12 – Reação de redução da nitrila para formação do intermediário **6d**.



Fonte: autoria própria

Dessa forma, a obtenção do intermediário já protegido favorece o rendimento global e a reprodutibilidade da etapa, além de facilitar o prosseguimento das etapas subsequentes. Após a etapa redutiva, prosseguiu-se para a realização de amidações, com o derivado do ácido tiofênico. Essa decisão foi tomada com base em um critério de priorização do “*head group*” já identificado como mais promissor no painel biológico preliminar, uma vez que o derivado correspondente (*hit-1*) apresentou o menor valor de IC₅₀ frente a *P. falciparum* entre os compostos avaliados até então. A síntese dos derivados **9a**, **9c** e **9d** tiveram como precursores as aminas **6a**, **6c** e **6d** através do método padrão de amidação utilizando o EDC e HOBT em DCM a temperatura ambiente, por aproximadamente 24h, o rendimento variando entre 21 a 46%, conforme ilustra o Esquema 13 a seguir:

Esquema 13 – Reações de amidações entre os intermediários **6a-b** e **6d**.



Fonte: autoria própria

A síntese do derivado **9c** não pôde ser concretizada através das diferentes rotas sintéticas

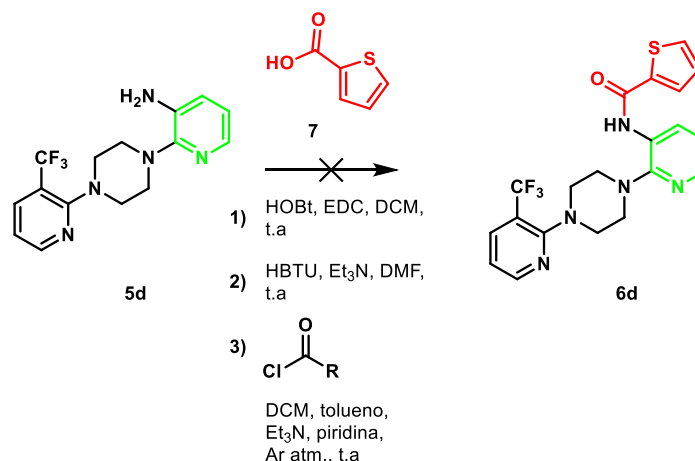
exploradas neste estudo. Inicialmente, realizou-se a tentativa de amidação via acoplamento clássico utilizando HOBt e EDC em diclorometano (DCM) à temperatura ambiente. No entanto, a reação não progrediu satisfatoriamente, possivelmente devido à formação de um sal estável entre a amina básica e o ácido carboxílico, o que reduziu drasticamente a nucleofilicidade do centro reacional e impediu o ataque ao intermediário ativado.

Numa segunda abordagem, visando aumentar a eficiência da ativação do grupo carboxilato, empregou-se o reagente de acoplamento HBTU em dimetilformamida (DMF) anidra e trietilamina (Et_3N). Apesar do uso de um agente de acoplamento mais potente e de um sistema de solventes mais polar para favorecer a solubilidade, não foi detectada a formação do produto desejado por monitoramento cromatográfico.

Como estratégia final e mais rigorosa, buscou-se a ativação do ácido tiofênico mediante a sua conversão ao respectivo cloreto de ácido *in situ*, empregando cloreto de oxalila ou cloreto de tionila. O intermediário altamente reativo foi colocado a reagir com a amina na presença de bases orgânicas (Et_3N ou piridina) em solventes anidros apolares, como DCM ou tolueno.

Contudo, mesmo sob estas condições de elevada reatividade, a obtenção do derivado **9c** não foi verificada. Este resultado sugere que fatores de impedimento estérico ou a desativação eletrônica intrínseca deste precursor específico inviabilizaram a formação da ligação amida sob as condições testadas. Em todas as rotas utilizadas, o RMN de ^1H não pode confirmar a presença do produto esperado. Isso pode decorrer do fato de que a posição *orto* da amina tem um impedimento estérico grande quando reagido com o ácido tiofênico, outro motivo é que aminas aromáticas tendem a ser menos básicas por doarem um par de elétrons para o anel aromático, principalmente piridinas que possuem o efeito indutivo retirador de elétrons, portanto, a amina do intermediário **6c** é pouco reativa, o intermediário formado tem impedimento estérico grande e por conta disso é instável, e o ácido carboxílico utilizado também não muito reativo. Esses motivos podem propor o porquê de a formação desse derivado ter sido ineficaz. O Esquema 14 ilustra as diferentes tentativas de síntese para esse derivado.

Esquema 14 – Tentativas de síntese e diferentes rotas utilizadas para o derivado **9c**.



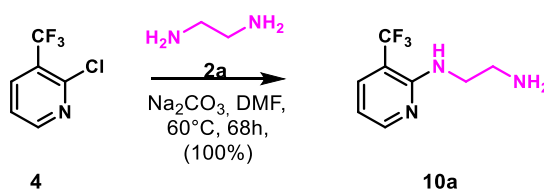
(1) EDC/HOBt; (2) HBTU/Et₃N; (3) via cloreto de acila.

Fonte: autoria própria

3.4.3 Síntese de derivados com modificações no fragmento piperazínico

A síntese de derivados com a modificação no *linker* da molécula (piperazina) foram planejadas com uso de reações do tipo S_NAr, visibilizando principalmente o efeito conformacional que esse fragmento traz a estrutura. Novamente, os fragmentos posteriores se basearam na estrutura do *hit-1* do processo *hit-to-lead*. A formação do derivado **10a** foi feita utilizando o reagente **4** em DMF, Na₂CO₃, mantidos à temperatura de 60°C por 48h, o rendimento da reação foi de 100% conforme descrito no Esquema 15:

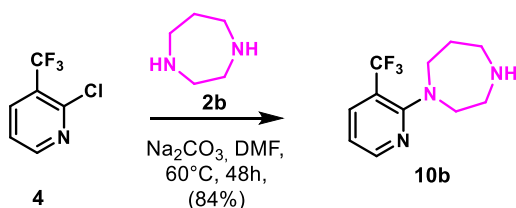
Esquema 15 – Síntese do intermediário **10a** via S_NAr.



Fonte: autoria própria

A síntese do intermediário **10b** foi feita por uma S_NAr, **4** e o reagente **2b** em DMF, Na₂CO₃, mantidos à temperatura de 100°C por 48h, o rendimento da reação foi de 100% conforme o Esquema 16.

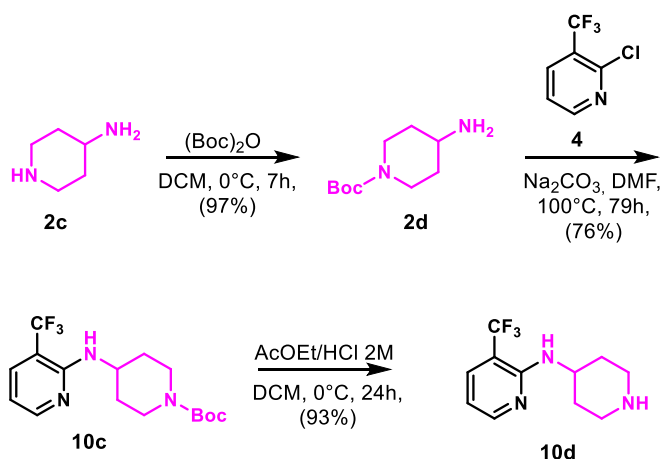
Esquema 16 – Síntese do intermediário **10b** via S_NAr.



Fonte: autoria própria

O Esquema 17 demonstra que para síntese do composto **10d**, utilizou-se o intermediário **2d**, uma vez que foi necessária a proteção da amina secundária para que a reação ocorresse apenas na amina primária do derivado **2c**, essa proteção aconteceu com o uso do (Boc)₂O em DCM em 0 °C por 7h com 97% de rendimento. Em seguida ocorre a S_NAr entre os intermediário **2d** e o reagente **4** em DMF com adição de Na₂SO₄ em 100°C com 79h de duração e 76% gera o intermediário **10c**. Por fim, ocorreu a reação de desproteção do Boc com uso de AcOEt/HCl à 2M usando o DCM em 0°C com duração de 24h com 93% de rendimento, obtendo-se o intermediário **10d**.

Esquema 17 – Síntese do intermediário **10d**.



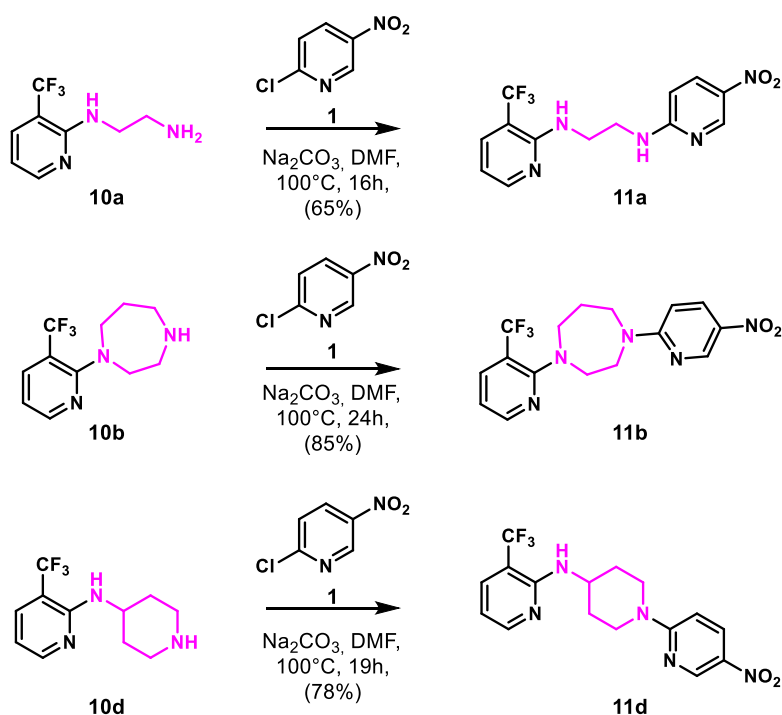
Fonte: autoria própria

Dada a complexidade em determinar a regioseletividade da proteção exclusivamente por RMN (¹H e ¹³C APT), utilizou-se o teste de ninidrina como método auxiliar. O reagente atua como um indicador colorimétrico sensível: a amina secundária livre, se presente, resultaria em uma mancha rósea/púrpura na placa de CCD após aquecimento. Em contrapartida, a obtenção de uma coloração amarelada confirmou a presença da amina primária ligada ao grupo

Boc e a ausência da amina secundária livre, validando a estratégia sintética empregada. Em seguida, houve a procedência de reações padrão do tipo S_NAr para formação do intermediário **10c**, e a desproteção do Boc para que possa ocorrer a próxima etapa de reação.

O Esquema 18, demonstra a síntese dos intermediários **11a-b** e **11d** sendo obtidos por meio de uma reação de S_NAr com o reagente **1**, utilizando as mesmas condições de Na₂CO₃ em DMF mantidos a 100°C, com a variação de tempo por volta de 16 a 24h, e rendimento entre 65 a 85%.

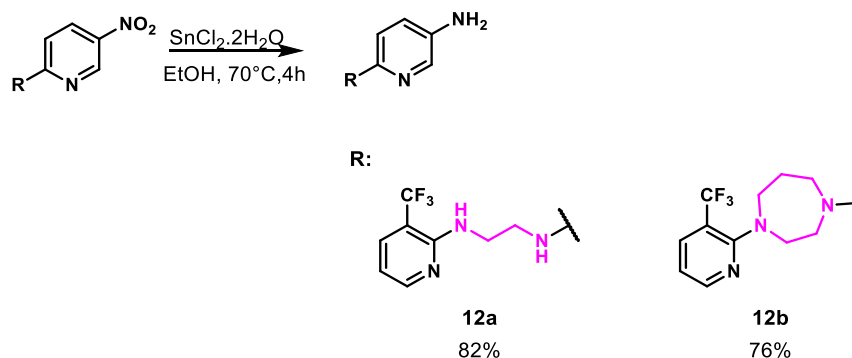
Esquema 18 – Síntese dos compostos **11a-b** e **11d**, via S_NAr.



Fonte: autoria própria

Com os intermediários formados, a reação seguinte foi de redução do grupo nitro com SnCl₂.6H₂O em EtOH à 70°C, o tempo de reação foi de aproximadamente 4h, com rendimento entre 76 a 82%. Essas reações ocorreram apenas com os intermediários **11a-b**, já que para o **11d** não houve tempo hábil até a apresentação deste trabalho para sua reação e caracterização por RMN. As reduções geraram respectivamente os análogos **12a-b**, de acordo com o Esquema 19.

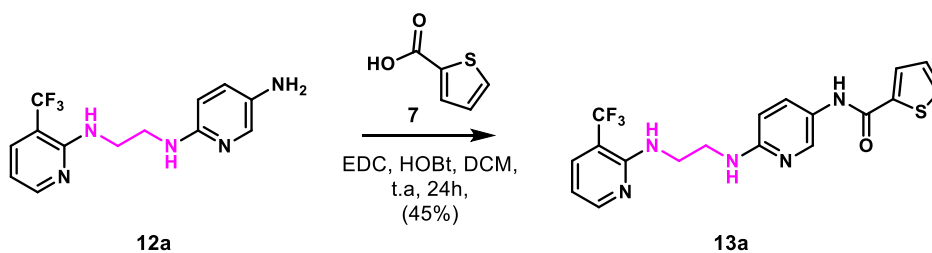
Esquema 19 – Reação de redução do grupo nitro para obtenção dos intermediários **12a-b**.



Fonte: autoria própria

Por último, a etapa de amidação entre os intermediários **12a-b** com o ácido tiofênico (**7**), para reação de síntese do derivado **13a**, utilizou-se o procedimento padrão com EDC e HOBt em DCM à temperatura ambiente por 24h, apresentando um rendimento de 45%. O esquema a seguir demonstra a síntese do derivado **13a**.

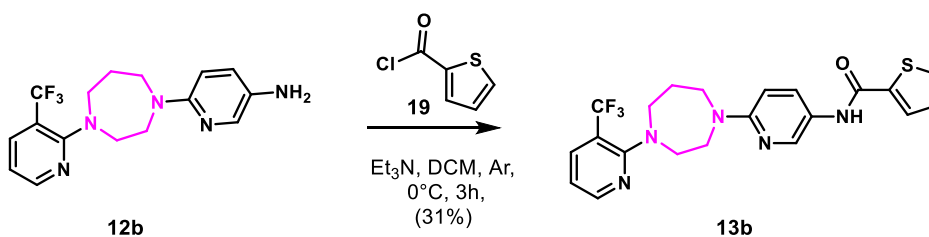
Esquema 20 – Reação amidação via EDC e HOBt para o derivado **13a**.



Fonte: autoria própria

O Esquema 21 ilustra que para obtenção do derivado **13b**, foi feito por meio de uma reação via cloreto de ácido do reagente **7**, em DCM anidro e adição de Et₃N anidra, sob atmosfera de argônio a 0°C por 3h, com rendimento de 31%. Essa rota foi utilizada em detrimento do tempo de reação ser menor para sua execução.

Esquema 21 – Reação amidação via cloreto de ácido para o derivado **13b**.



Fonte: autoria própria

Cabe destacar que no presente trabalho, o cronograma desenvolvido para síntese e avaliação de testes biológicos são processos interdependentes, porém, com tempos de execução distintos. Devido ao tempo de envio desses compostos ser recente, os resultados dos compostos **6d**, **9d**, **11b**, não foram possíveis de serem obtidos até a presente data de execução desse projeto.

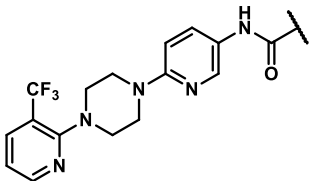
3.4.4 SAR dos derivados com modificações no fragmento tiofênico

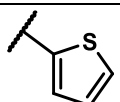
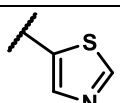
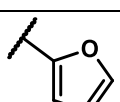
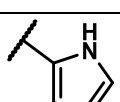
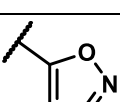
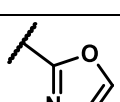
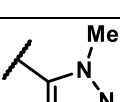
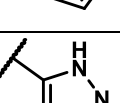
As modificações estruturais realizadas no *hit-1* ($IC_{50} = 2,0 \pm 0,7 \mu M$) através da substituição bioisostérica do anel tiofênico por diversos núcleos heteroaromáticos de cinco e seis membros revelaram a importância crítica da densidade eletrônica e da natureza dos heteroátomos nesta posição para a atividade contra a cepa 3D7 de *P. falciparum*. Segundo Patani e LaVoie (1996), a substituição de anéis bioisostéricos visa otimizar a afinidade pelo receptor mantendo o volume estérico, porém, no presente estudo, a maioria das substituições resultou em uma redução da potência antiparasitária. O derivado mais potente dessa série foi o análogo furânico **7b**, que apresentou um $IC_{50} = 4,0 \pm 1,0 \mu M$, representando uma potência equivalente ao *hit-1*, da mesma forma que o derivado oxazólico **7e** ($IC_{50} = 5,0 \pm 2,0 \mu M$), indica que a presença de átomos de oxigênio em anéis de cinco membros é a estratégia mais bem-sucedida para mimetizar o anel tiofênico original. Os demais resultados de CC_{50} e índice de seletividade indicam que o *hit-1* foi superior aos compostos com atividade antiparasitária semelhantes (**7b** e **7e**) com um valor de $IS > 50$. Em contrapartida, a introdução de anéis nitrogenados ou mais polares foi acompanhada de decréscimos acentuados na potência: o análogo pirrólico **7c** e o tiazólico **7a** mostraram-se, respectivamente, dez e quinze vezes menos potentes que o *hit-1*, enquanto os derivados pirazólicos e triazólicos (**7f-i**) apresentaram os piores desempenhos da série, com o composto **7f** sendo inativo na maior concentração testada.

A expansão do anel para sistemas de seis membros também não superou a atividade do *hit-1*. O derivado fenílico **7j** exibiu uma redução de aproximadamente cinco vezes na potência em comparação ao fragmento tiofênico. Entre as piridinas, observou-se uma correlação interessante entre a substituição do anel e a atividade: a inserção do grupo CF_3 na posição 6 da piridina **7m**, conferiu uma potência superior à piridina não substituída **7l**, o que pode ser atribuído ao aumento da lipofilicidade e do volume estérico, favorecendo interações em bolsos hidrofóbicos específicos do alvo molecular. Do ponto de vista físico-químico, os valores de $cLogP$ obtidos via plataforma SwissADME (Daina et al., 2017) variaram de 1,98 (**7h**) a 3,85 (**7m**), mantendo-se dentro dos critérios de Lipinski para candidatos a fármacos. Com base nos dados dispostos na Tabela 3, torna-se evidente que a substituição do enxofre por nitrogênios

adicionais ou a redução da lipofilicidade nesta porção da molécula é prejudicial, reafirmando que o padrão eletrônico do anel tiofênico ou furânico é essencial para a manutenção da atividade inibitória satisfatória, provavelmente devido à sua capacidade de atuar como aceitador de ligação de hidrogênio ou realizar interações do tipo π -stacking de forma otimizada no sítio ativo do parasita.

Tabela 3 – Resultados dos testes biológicos efetuados nos derivados do anel tiofênico.



Composto	Estrutura	IC ₅₀ ^{3D7} (μ M)	CC ₅₀ ^{HepG2} (μ M)	IS	cLogP
<i>hit-1</i>		2,0 $\pm$ 0,7	> 100	> 50	3,51
7a		30,0 $\pm$ 4,0	> 100	> 3	2,83
7b		4,0 $\pm$ 1,0	> 100	> 27	2,80
7c		21,0 $\pm$ 10,0	N.T.	N.D.	2,76
7d		15,0 $\pm$ 2,0	N.T.	N.D.	2,32
7e		5,0 $\pm$ 2,0	> 100	> 20	2,32
7f		> 50,0	> 100	> 2	2,25
7g		41,0 $\pm$ 7,0	> 25	> 0,6	3,27

7h		24,0 ± 11,0	> 50	> 2	1,98
7i		35,0 ± 7,0	> 100	> 3	2,16
7j		11,0 ± 4,0	> 25	> 2,2	3,42
7k		17,0 ± 6,0	N.T.	N.D.	2,67
7l		27,0 ± 11,0	N.T.	N.D.	2,73
7m		14,0 ± 3,0	N.T.	N.D.	3,85
7n		16,0 ± 6,0	> 100	> 6	2,00
Atr	-	0,011 ± 0,001	N.T.	N.D.	-

N.T. – Não Testado; N.D. – Não Determinado. IS – Índice de Seletividade (CC₅₀/IC₅₀).

Atr – Artesunato – utilizado como fármaco de referência (controle positivo) nos ensaios contra *P.falciparum*.

Fonte: os dados de cLogP foram obtidos do site swissADME

3.4.5 SAR dos derivados com modificações no fragmento arilamínico

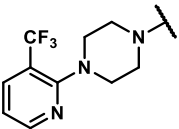
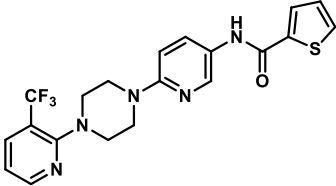
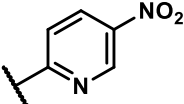
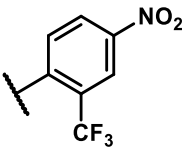
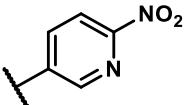
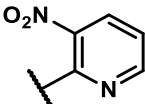
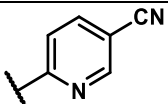
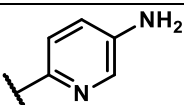
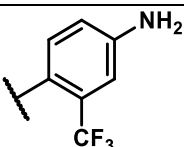
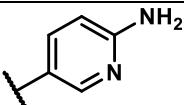
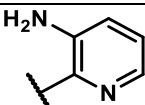
No fragmento arilamínico, a estratégia consistiu na substituição sistemática do anel piridínico por bioisósteros fenila ou diazina, em paralelo à variação do grupo terminal, visando identificar a contribuição dessa região para a atividade biológica. Na Série **5**, a remoção da cauda amídica e a inserção de substituintes fortemente retiradores de elétrons não sustentaram a potência original; o derivado **5a** apresentou uma atividade antiparasitária aproximadamente sete vezes menos ativo que o *hit-1*. A substituição por anéis aza-aromáticos resultou em um desempenho ainda inferior, conforme observado nos compostos **5d** e **5b**. No entanto, a comparação entre os isômeros **5** e **5b** revela que a simples alteração na posição do nitrogênio heteroaromático modula a potência, promovendo um ligeiro aumento na atividade, embora insuficiente para resgatar a eficácia do protótipo. Tais resultados indicam que o incremento do

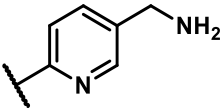
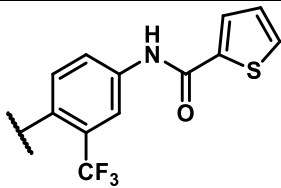
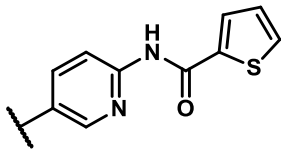
caráter eletronegativo, isoladamente, não é capaz de mimetizar as interações promovidas pela amida do protótipo. Apesar disso, esses análogos preservaram a baixa citotoxicidade, sugerindo que a redução no desempenho decorre de uma menor afinidade pelo alvo biológico e não de efeitos citotóxicos inespecíficos.

A avaliação da **Série 6** permitiu investigar o impacto do fragmento arilamínico terminal por meio do isomerismo piridínico e da substituição por núcleos benzênicos funcionalizados. Entre os isômeros de posição da aminopiridina, o derivado **6c** destacou-se como o mais potente da classe, representando um aumento de aproximadamente quatro vezes na potência em relação aos isômeros **6** e **6b**. Esses achados sugerem que a proximidade do grupo amino ao ponto de fixação no anel central, bem como sua orientação espacial relativa ao nitrogênio piridínico, são fatores críticos para o reconhecimento molecular no *P. falciparum*. Por outro lado, a substituição do anel heterocíclico por um núcleo benzênico contendo o grupo CF₃ resultou em uma manutenção da atividade em níveis comparáveis aos derivados **6** e **6b**, indicando que possivelmente o aumento da lipofilicidade (cLogP = 3,77) nesta série de amins primárias não foi suficiente para superar a eficácia do *scaffold* piridínico **6c**. Por fim, o derivado **6d**, planejado para avaliar o efeito do espaçador metilênico, encontra-se em fase de ensaios biológicos.

Na **Série 9**, o derivado **9a** exibiu potência similar ao *hit-1*, contudo, observou-se um aumento na citotoxicidade e comprometimento do perfil de segurança. Essa toxicidade relativa pode estar correlacionada à elevada lipofilicidade teórica do composto (cLogP = 5,07), valor que ultrapassa os limites estabelecidos pela "Regra de Lipinski" e distancia o derivado da faixa ideal de propriedades *drug-like*. Tais desvios podem comprometer a solubilidade ou permeabilidade, além de elevar os riscos de promiscuidade biológica (Lipinski et al., 2001; Leeson; Springthorpe, 2007). Estruturalmente, a presença simultânea de dois grupos CF₃ e a manutenção do fragmento tiofeno-amida conferem ao **9a** um caráter hidrofóbico exacerbado. Em contrapartida, o análogo revelou que a substituição bioisostérica do anel fenílico por um piridínico permitiu equilibrar a polaridade (cLogP = 3,45) e recuperar significativamente a seletividade (IS > 20), sem prejuízo à eficácia antimalárica. Ressalta-se que os dados biológicos do derivado **9d** ainda não foram obtidos. A Tabela 4 sumariza as modificações realizadas no fragmento arilamínico e os respectivos resultados biológicos para os derivados das séries **5**, **6** e **9**.

Tabela 4 – Resultados dos testes biológicos dos derivados do fragmento arilamínico.

					
Composto	Estrutura	IC ₅₀ ^{3D7} (μM)	CC ₅₀ ^{HepG2} (μM)	IS	cLogP
<i>hit-1</i>		2,0 ± 0,7	> 100	> 50	3,51
5		49,0 ± 7,0	N.T.	N.D.	2,00
5a		14,0 ± 2,0	N.T.	N.D.	3,62
5b		32,0 ± 6,0	N.T.	N.D.	2,09
5c		> 50,0	N.T.	N.D.	2,02
5d		28,0 ± 5,0	N.T.	N.D.	2,58
6		13,0 ± 0,5	N.T.	N.D.	2,19
6a		12,0 ± 2,0	N.T.	N.D.	3,77
6b		14,0 ± 4,0	N.T.	N.D.	2,24
6c		3,5 ± 0,5	> 100	> 28	2,25

6d		N.T.	N.T.	N.D.	2,17
9a		3,0 ± 1,0	> 25	> 8	5,07
9b		3,0 ± 1,0	> 50	> 20	3,45
Atr	-	0,011 ± 0,001	N.T.	N.D.	-

N.T. – Não Testado; N.D. – Não Determinado. IS – Índice de Seletividade (CC₅₀/IC₅₀).

Atr – Artesunato – utilizado como fármaco de referência (controle positivo) nos ensaios contra *P.falciparum*.

Fonte: os dados de cLogP foram obtidos do site swissADME

3.4.6 SAR para os derivados com modificações no fragmento piperazínico

Nesta etapa, buscou-se superar as limitações de potência observadas nos derivados nitrados e explorar o impacto da flexibilidade conformacional por meio das séries **12** e **13**. Os resultados biológicos para a série **11**, que mantém o grupo nitro, corroboraram a tendência desfavorável observada anteriormente para este derivado na região arilamínica. O derivado **11a**, por exemplo, mostrou-se inativo contra o parasita, reforçando a hipótese de que a deficiência eletrônica e a rigidez induzida por este grupamento são deletérias para a afinidade com o alvo biológico nesta classe de compostos.

Em contrapartida, a investigação de sistemas de cadeia aberta e anéis expandidos revelou-se a estratégia mais promissora deste trabalho. A série **12**, caracterizada por *linkers* alifáticos de etilenodiamina, apresentou resultados moderados; o composto **12a** e **12b** apresentaram uma perda de aproximadamente quatro vezes da potência em comparação com *hit-1*, mesmo que esses dados indiquem que a abertura do anel central é tolerada pelo alvo, a perda de potência observada sugere que um determinado grau de organização conformacional é necessário para uma ligação mais eficaz.

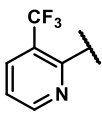
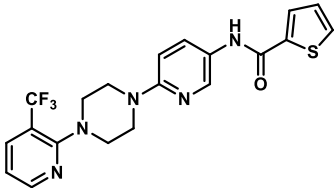
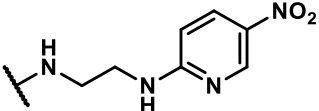
O avanço definitivo foi alcançado com a série **13**, na qual a substituição bioisostérica do anel de piperazina pelo núcleo de homopiperazina (diazepano) resultou no composto mais ativo de todo o estudo: o derivado **13b**. Este composto exibiu uma potência antimalárica otimizada,

com $IC_{50} = 0,60 \pm 0,05 \mu M$, representando um incremento de atividade de aproximadamente três vezes em relação ao *hit-1*. Além da potência superior, o **13b** destacou-se por um perfil de segurança excepcional, com $CC_{50} > 100 \mu M$ em células HepG2 e um $IS > 166$. Segundo critérios estabelecidos na literatura, candidatos com $IS > 100$ são considerados ideais para a progressão a estudos *in vivo*, pois oferecem uma ampla janela terapêutica (Katzung, 2017; Mishra et al., 2017).

A superioridade do derivado **13b** pode ser explicada por princípios de química medicinal que associam a expansão de anéis saturados ao aumento da flexibilidade conformacional. Diferentemente da piperazina, que adota predominantemente a conformação em cadeira rígida, o anel de diazepano possui maior liberdade torcional, podendo assumir múltiplas conformações de baixa energia (Wermuth, 2008). Essa plasticidade estrutural permitiria que o **13b** realizasse um "ajuste induzido" (*induced fit*) mais eficiente no sítio de ligação do parasita, maximizando interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio inacessíveis aos análogos mais rígidos ou lineares.

Dessa forma, com base no equilíbrio otimizado entre o baixo valor de IC_{50} , elevada segurança citotóxica e uma suposta lipofilicidade adequada ($cLogP = 3,77$), o derivado **13b** é determinado como *hit* otimizado encontrado no trabalho, fornecendo uma base sólida para futuras etapas de otimização farmacocinética. A Tabela 5 disponibiliza os resultados biológicos dos derivados com modificações no fragmento central, ressaltando que o derivado **11b** ainda não possui dados disponíveis para análise.

Tabela 5 – Resultados dos testes biológicos das modificações no fragmento piperazínico.

Composto	Estrutura				
		IC_{50}^{3D7} (μM)	CC_{50}^{HepG2} (μM)	IS	cLogP
<i>hit-1</i>		$2,0 \pm 0,7$	> 100	> 50	3,51
11a		$> 50,0$	N.T.	N.D.	2,17

11b		N.T.	N.D.	N.D.	2,24
11d		> 50,0	N.T.	N.D.	2,45
12a		7,5 ± 0,1	> 100	> 13	2,18
12b		8,0 ± 3,0	> 100	> 13,3	2,42
13a		16,0 ± 0,5	N.T.	N.D.	3,59
13b		0,60 ± 0,05	> 100	> 166	3,77
Atr	-	0,011 ± 0,001	N.T.	N.D.	-

N.T. – Não Testado; N.D. – Não Determinado. IS – Índice de Seletividade (CC_{50}/IC_{50}).

Atr – Artesunato – utilizado como fármaco de referência (controle positivo) nos ensaios contra *P.falciparum*.

Fonte: os dados de cLogP foram obtidos do site swissADME

Ao analisar de forma integrada as modificações realizadas nos diferentes fragmentos, observa-se uma tendência consistente no perfil de atividade antiplasmodial em função do estado de oxidação e do padrão de substituição no núcleo terminal. De modo geral, os intermediários portadores de grupo nitro apresentaram baixa potência ou inatividade frente à cepa 3D7. Uma exceção relevante foi o derivado **5a** ($IC_{50} = 14 \pm 2 \mu M$), cuja atividade intermediária pode estar relacionada ao aumento de lipofilicidade e ao forte efeito retirador de elétrons do grupo CF_3 no anel aromático, o que potencialmente influencia tanto a permeação quanto a distribuição eletrônica do sistema. Além disso, a substituição do grupo nitro pelo grupo CN no derivado **5d** resultou em discreta melhora da atividade inibitória, reforçando a impressão de que a simples introdução de grupos retiradores de elétrons — em posição orto ou, mais frequentemente, para — não é, por si só, uma estratégia eficaz para elevar a atividade antiparasitária nessa série.

Em contraste, a redução desses grupamentos aos correspondentes derivados amino levou, melhora substancial da eficácia biológica, em alguns casos sendo extremamente contrastante, como em **5c** e **6c**. Provavelmente, esse comportamento sugere que a presença de um doador de ligação de hidrogênio nessa região constitui um requisito farmacofórico importante, possivelmente por favorecer interações específicas com o alvo molecular de *P. falciparum* ou por modular de modo mais adequado as propriedades de ionização e reconhecimento molecular do conjunto.

Por fim, as amidações correspondentes revelaram um perfil de atividade mais oscilante, indicando que o ganho obtido com a formação da amida depende aspectos mais específicos, como efeitos estéricos, características individuais do bioisótero presentes neste fragmento e de propriedades físico-químicas. Ainda assim, a manutenção do fragmento tiofênico mostrou-se uma estratégia eficiente ao longo da série: embora ele não seja o único determinante da potência — como evidenciado pelo fato de o melhor composto, **13b**, incorporar a substituição da piperazina por diazepano — é clara sua contribuição para a ancoragem molecular, uma vez que os derivados que preservaram esse anel heterocíclico, em geral, permaneceram biologicamente ativos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Materiais e reagentes (Síntese)

Nos procedimentos experimentais, foram utilizados reagentes de origem comercial, sem a necessidade de purificação adicional. Quanto aos solventes, os utilizados foram: metanol (MeOH), acetato de etila (AcOEt), hexano (Hex), diclorometano (DCM), propanol e dimetil formamida (DMF). Todas as reações foram acompanhadas por cromatografia de camada fina CCD, também chamada de TLC (*Thin Layer Chromatography*) de Alugram sílica gel 60 F254, Sigma Aldrich e reveladas através de luz ultravioleta (254 nm) e atmosfera de iodo. Os compostos obtidos, quando necessário, foram purificados pelo uso de coluna cromatográfica em sílica gel Aldrich (*flash*).

4.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os compostos sintetizados foram caracterizados por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e por ^{13}C APT um equipamento da marca Bruker Ascend 400 (400 MHz para RMN de ^1H e 101 MHz para RMN de ^{13}C) da Rede de Laboratórios Multiusuários do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (Relam-IQUFU). Os deslocamentos químicos foram reportados em ppm usando como referência interna, resíduo de solvente não deuterado (CDCl_3 em 7,26 ppm, CD_3OD em 3,31 ppm, $\text{d}_6\text{-DMSO}$ em 2,50 ppm e TMS em 0,00 ppm para RMN de ^1H ; CDCl_3 em 77,16 ppm, CD_3OD em 49,0 ppm, $\text{d}_6\text{-DMSO}$ em 39,52 ppm para RMN de ^{13}C). Os valores das constantes de acoplamento foram medidos utilizando o programa MestReNova.

4.3 Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HRMS)

A espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) foi realizada em um espectrômetro Impact II de geometria Q-TOF (Bruker Daltonics Corporation, Alemanha), equipado com fonte de ionização por electrospray (ESI) e operado no modo de íons positivos. Os parâmetros foram ajustados da seguinte forma para a análise de cada amostra: voltagem do capilar: 4500 V; potencial de offset da placa terminal de 500 V; pressão do nebulizador: 0,4 bar; fluxo de gás de secagem: 4 L/min; temperatura do gás de secagem: 180 °C. Os espectros foram adquiridos com taxa de aquisição de 1,00 Hz, monitorando uma faixa de massas de 50 a 700 m/z. Uma bomba de seringa (KDS Legato 100, KD Scientific, Holliston, MA, EUA) foi

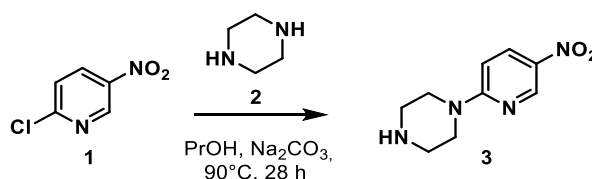
utilizada com fluxo de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ para infundir a solução de calibrante de formiato de sódio ($10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$; isopropanol:água; 1:1; v:v). As amostras foram ressuspensas em 500 mL de MeOH. Uma alíquota de 50 mL foi diluída em 1000 mL de MeOH e infundida no espectrômetro de massas.

4.4 Procedimentos experimentais

4.4.1 Procedimento Geral A: Reação de $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ para diaminas

O cloreto de arila apropriado (1 equiv.) foi solubilizado em DMF (2mL), a diamina (3 – 4 equiv.) e Na_2CO_3 (3 – 4 equiv.) foram acrescentados, e a reação foi agitada a 60 – 120 $^{\circ}\text{C}$ até ser completada. Água destilada fria (20 mL) foi adicionada. A fase aquosa foi extraída com DCM ou EtOAc (3 x 15 mL), e as fases orgânicas foram juntadas, secadas sob Na_2SO_4 anidro, filtradas, e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida para render o composto almejado.

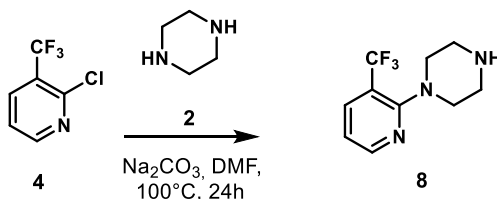
4.4.1.1 Preparação do 1-(5-nitropiridin-2-il)piperazina (3)



Em uma solução do composto **1** (3,15 mmol, 1,0 equiv.) como reagente limitante, em propanol (30 mL), foi adicionado piperazina (9,46 mmol, 3,0 equiv). A reação ficou em agitação a 90 $^{\circ}\text{C}$ A reação ficou em agitação a 100 $^{\circ}\text{C}$ e seguiu o procedimento geral A, levando a obtenção do composto **3** com 91% de rendimento após 28 horas de reação.

3: óleo amarelo, 312,3 mg, 91%. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 9,05 (d, $J = 2,9\text{ Hz}$, 1H), 8,21 (dd, $J = 9,5, 2,8\text{ Hz}$, 1H), 6,57 (d, $J = 9,5\text{ Hz}$, 1H), 3,76 (t, $J = 5,2\text{ Hz}$, 4H), 3,03 – 2,96 (m, 4H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 160,1, 146,50, 132,97, 104,45, 45,87.

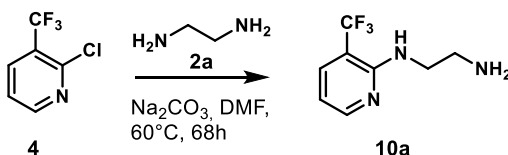
4.4.1.2 Preparação do 1-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazina (8)



Em uma solução do composto **4** (1,10 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DMF (2mL), foram adicionados o Na_2CO_3 (3,30mmol, 3,0 equiv.) e o reagente **2** (3,30 mmol, 3,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 100°C e seguiu o procedimento geral A, levando a obtenção do produto **8** com 97% de rendimento após 24 horas de reação.

8: óleo amarelo, 322,3 mg, 97%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ 8,44 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 7,87 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 6,99 (dd, $J = 7,7, 4,8$ Hz, 1H), 3,31 – 3,24 (m, 4H), 3,08 – 3,00 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 159,96, 151,04, 137,31, 137,26, 137,21 (q, $J = 5,05$ Hz), 137,16, 128,07 (q, $J = 32,8$ Hz), 125,36 (q, $J = 272,4$ Hz), 122,65, 119,96, 116,81, 51,93, 45,96.

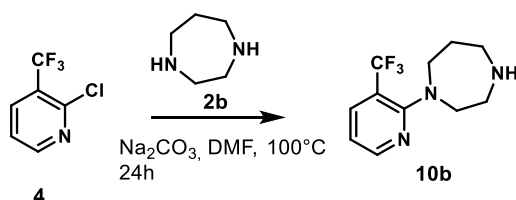
4.4.1.3 Preparação do N¹-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)etano-1,2-diamina (10a)



Em uma solução do composto **4** (0,55 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DMF (2mL), foram adicionados o Na_2CO_3 (1,65 mmol, 3,0 equiv.) e o reagente **2a** (2,2 mmol, 4,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 60°C e seguiu o procedimento geral A, levando a obtenção do produto **10a** com 100% de rendimento após 68 horas de reação.

10a: óleo amarelo, 142,5 mg, 100%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ 8,25 (d, $J = 4,9$ Hz, 1H), 7,65 (d, $J = 7,1$ Hz, 1H), 6,61 (t, 1H), 5,38 (s, 1H), 3,62 – 3,53 (m, 2H), 3,01 – 2,93 (m, 2H), 1,93 (s, 2H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 154,87, 151,60, 135,05, 135,00, 134,95 (q, $J = 5,05$ Hz), 134,90, 128,53 (q, $J = 32,8$ Hz), 125,83 (q, $J = 272,4$ Hz), 123,13, 120,44, 111,53, 61,67, 43,94, 41,17.

4.4.1.4 Preparação do 1-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)-1,4-diazepano (**10b**)



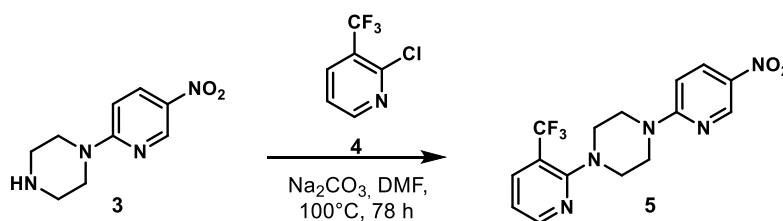
Em uma solução do composto **4** (0,69 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DMF (2mL), foram adicionados o Na_2CO_3 (2,07 mmol, 3,0 equiv.) e o reagente **2b** (2,07 mmol, 3,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 100°C e seguiu o procedimento geral A, levando a obtenção do produto **10b** com 84% de rendimento após 24 horas de reação.

10b: óleo amarelo, 141,5 mg, 84%. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,33 (dd, $J = 4,7, 2,1$ Hz, 1H), 7,82 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 6,83 (dd, $J = 8,1, 4,5$ Hz, 1H), 3,67 – 3,59 (m, 6H), 3,16 – 3,08 (m, 2H), 3,07 – 2,95 (m, 2H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 150,42, 137,57, 137,52, 137,46 (q, $J = 5,39$ Hz), 137,41, 128,38 (q, $J = 32,8$ Hz), 125,63 (q, $J = 272,4$ Hz), 122,92, 120,16, 114,35, 54,31, 51,56, 49,06, 48,10, 30,42.

4.4.2 Procedimento Geral B: Reação de $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ para monoaminas

O cloreto de arila apropriado (1 eq) foi solubilizado em DMF (0,2 – 3 M), a monoamina (1,2 – 2 equiv.) e Na_2CO_3 (3 – 4 equiv.) foram acrescentados, e a reação foi agitada a 80 – 120 $^\circ\text{C}$ até ser completada. Água destilada fria (20 mL) foi adicionada. A fase aquosa foi extraída com DCM ou EtOAc (3 x 15 mL), e as fases orgânicas foram juntadas, secadas sob Na_2SO_4 anidro, filtradas, e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida para render o composto almejado.

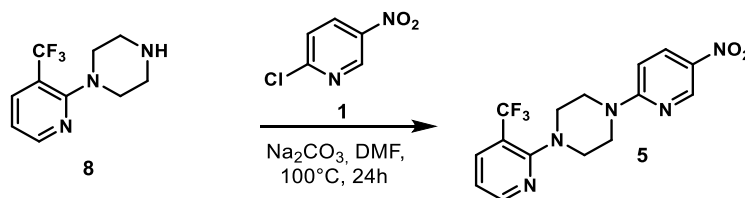
4.4.2.1 Preparação do 1-(5-nitropiridin-2-il)-4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazina (5) (Rota A)



Em uma solução do composto **3** (2,90 mmol, 1,5 equiv.) como reagente em excesso, em DMF (2mL), foram adicionados o Na_2CO_3 (5,80 mmol, 3,0 equiv.) e o reagente **4** (1,93 mmol, 1,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 100°C e seguiu o procedimento geral B, levando a obtenção do produto **5** com 85% de rendimento após 78 horas de reação.

5: sólido amarelo, 873,9mg, 85%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ 9,07 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 8,48 (dd, $J = 5,0, 1,6$ Hz, 1H), 8,25 (dd, $J = 9,5, 2,8$ Hz, 1H), 7,93 (dd, $J = 7,8, 1,9$ Hz, 1H), 7,08 (dd, $J = 7,4, 5,2$ Hz, 1H), 6,63 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 3,97 – 3,90 (m, 4H), 3,46 – 3,39 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** 160,59, 159,46, 151,21, 146,42, 137,34, 137,29, 137,24, 137,19 (q, $J = 4,6$ Hz), 135,26, 133,04, 127,92, 125,21, 122,50 (q, $J = 271,2$ Hz), 119,80, 118,03, 117,81, 117,41, 117,09 (q, $J = 31,0$ Hz), 104,62, 77,32, 77,01, 76,69, 50,30, 50,28, 44,94. **HRMS (ESI +)**: calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_2^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 354.1172$ m/z , encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 354.1162$ m/z , erro = 2.82 ppm.

4.4.2.2 Preparação do 1-(5-nitropiridin-2-il)-4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazina (5) (Rota B)

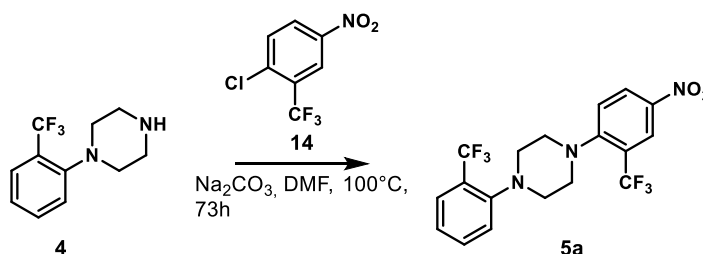


Em uma solução do composto **1** (0,70 mmol, 1,0 equiv.), como limitante, em DMF (2mL), foram adicionados o Na_2CO_3 (2,11 mmol, 3,0 equiv.) e o reagente **8** (0,83 mmol, 1,2 equiv.). A reação ficou em agitação a 100°C e seguiu o procedimento geral B, levando a obtenção do produto **5** com 92% de rendimento após 24 horas de reação.

5: sólido amarelo, 327,7mg, 92%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ 9,07 (d, $J = 2,8$ Hz,

1H), 8,48 (dd, $J = 5,0, 1,6$ Hz, 1H), 8,25 (dd, $J = 9,5, 2,8$ Hz, 1H), 7,93 (dd, $J = 7,8, 1,9$ Hz, 1H), 7,08 (dd, $J = 7,4, 5,2$ Hz, 1H), 6,63 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 3,97 – 3,90 (m, 4H), 3,46 – 3,39 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 160,59, 159,46, 151,22, 146,42, 137,29, 135,26, 133,07, 127,92 (q, $J = 33,6$ Hz), 125,21 (q, $J = 271,2$ Hz), 122,50, 119,80, 118,03, 117,41 (q, $J = 4,6$ Hz), 117,09, 104,61, 50,30, 44,94. **HRMS (ESI +):** calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_2^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 354.1172$ m/z , encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 354.1162$ m/z , erro = 2.82 ppm.

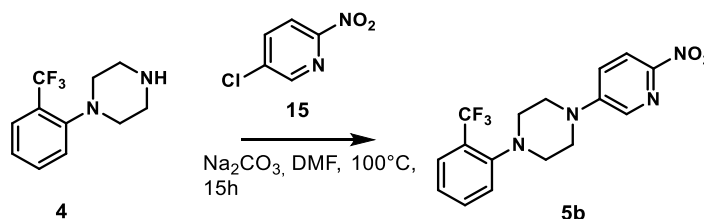
4.4.2.3 Preparação do 1-(4-nitro-2-(trifluorometil)fenil)-4-(2-(trifluorometil)fenil)piperazina (5a)



Em uma solução do composto **4** (0,19 mmol, 1,2 equiv.), como reagente em excesso, em DMF (2mL), foram adicionados o Na_2CO_3 (0,39 mmol, 3,0 equiv.) e o reagente **14** (0,13 mmol, 1,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 100°C e seguiu o procedimento geral B, levando a obtenção do produto **5a** com 78% de rendimento após 73 horas de reação.

5a: sólido amarelo, 42,3mg, 78%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ 8,55 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 8,49 (dd, $J = 4,8, 1,6$ Hz, 1H), 8,36 (dd, $J = 9,0, 2,8$ Hz, 1H), 7,92 (dd, $J = 7,8, 1,9$ Hz, 1H), 7,37 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,07 (dd, $J = 7,8, 4,8$ Hz, 1H), 3,53 – 3,44 (m, 4H), 3,38 – 3,27 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 159,68, 157,05, 151,19, 142,39, 137,29, 127,84 (q, $J = 33,0$ Hz), 125,27 (q, $J = 272,2$ Hz), 124,91, 124,74, 124,68, 124,62 (q, $J = 6,06$ Hz), 124,56, 124,51, 124,49, 124,10, 122,54, 121,77, 119,85, 117,65, 52,87, 50,71. **HRMS (ESI +):** calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{F}_6\text{N}_4\text{O}_2^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 421.1094$ m/z , encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 421.1081$ m/z , erro = 3.09 ppm.

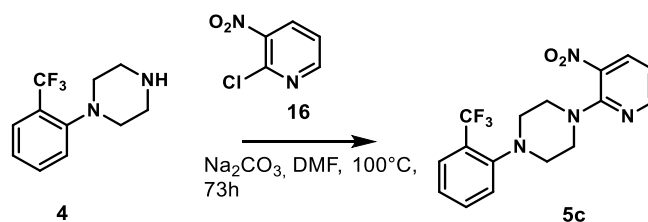
4.4.2.4 Preparação do 1-(6-nitropiridin-3-il)-4-(2-(trifluorometil)fenil)piperazina (5b)



Em uma solução do composto **4** (1,51 mmol, 1,2 equiv.), como reagente em excesso, em DMF (2mL), foram adicionados o Na_2CO_3 (3,78 mmol, 3,0 equiv.) e o reagente **15** (1,26 mmol, 1,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 100°C e seguiu o procedimento geral B, levando a obtenção do produto **5b** com 97% de rendimento após 15 horas de reação.

5b: sólido amarelo, 432,3mg, 97%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ 9,08 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 8,48 (dd, $J = 4,8, 1,8$ Hz, 1H), 8,25 (dd, $J = 9,5, 2,8$ Hz, 1H), 7,93 (dd, $J = 7,8, 1,9$ Hz, 1H), 7,08 (dd, $J = 7,7, 4,8$ Hz, 1H), 6,63 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 3,99 – 3,90 (m, 4H), 3,46 – 3,39 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 160,59, 159,46, 151,21, 146,42, 137,34, 137,29, 137,24 (q, $J = 5,05$ Hz), 137,19, 133,04, 127,93 (q, $J = 33,5$ Hz), 125,21 (q, $J = 271,3$ Hz), 122,50, 119,80, 117,81, 104,62, 50,29, 45,51.

4.4.2.5 Preparação do 1-(6-nitropiridin-3-il)-4-(2-(trifluorometil)fenil)piperazina (5c)

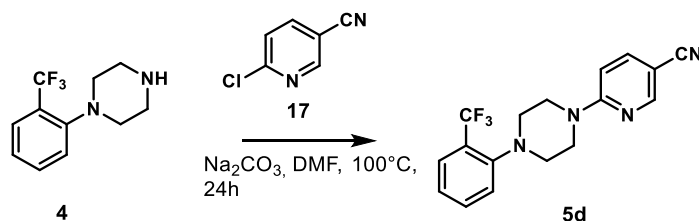


Em uma solução do composto **4** (0,19 mmol, 1,2 equiv.), como reagente em excesso, em DMF (2mL), foram adicionados o Na_2CO_3 (0,39 mmol, 3,0 equiv.) e o reagente **16** (0,13 mmol, 1,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 100°C e seguiu o procedimento geral B, levando a obtenção do produto **5c** com 91% de rendimento após 73 horas de reação.

5c: sólido amarelo, 41,2mg, 91%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ 8,45 (dd, $J = 4,7, 1,4$ Hz, 1H), 8,36 (dd, $J = 4,5, 1,7$ Hz, 1H), 8,16 (dd, $J = 8,0, 1,7$ Hz, 1H), 7,90 (dd, $J = 7,8, 1,9$ Hz, 1H), 7,03 (dd, $J = 7,5, 5,2$ Hz, 1H), 6,78 (dd, $J = 8,0, 4,6$ Hz, 1H), 3,67 – 3,60 (m, 4H), 3,48 – 3,40 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 159,45, 152,88, 151,76, 151,10, 137,32, 137,27, 137,22 (q, $J = 5,05$ Hz), 137,17, 135,62, 133,07, 127,99 (q, $J = 33,4$ Hz),

125,28 (q, $J = 271,8$ Hz), 122,57, 119,86, 117,52, 117,26 (q, $J = 4,2$ Hz), 117,21, 116,90, 116,58, 113,47, 50,24, 48,01. **HRMS (ESI +)**: calculado para $C_{15}H_{14}F_3N_5O_2^+$ $[M+H]^+ = 354.1172$ m/z , encontrado $[M+H]^+ = 354.1169$ m/z , erro = 0.85 ppm.

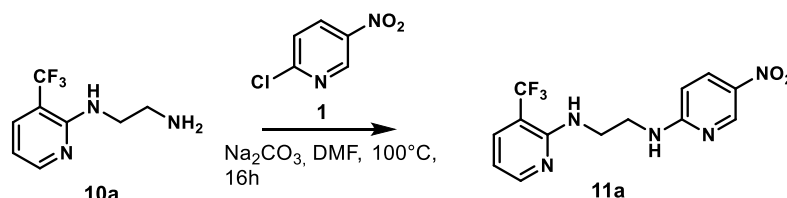
4.4.2.6 Preparação do 6-(4-(2-(trifluorometil)fenil)piperazin-1-il)nicotinonitrila (5d)



Em uma solução do composto **4** (0,26 mmol, 1,2 equiv.), como reagente em excesso, em DMF (2mL), foram adicionados o Na_2CO_3 (0,66 mmol, 3,0 equiv.) e o reagente **17** (0,22 mmol, 1,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 100 °C e seguiu o procedimento geral B, levando a obtenção do produto **5d** com 45% de rendimento após 24 horas de reação.

5d: sólido amarelo, 32,1mg, 45%. **RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$)** δ 8,47 (dd, $J = 4,8$, 1,2 Hz, 1H), 8,44 (dd, $J = 2,3$, 0,8 Hz, 1H), 7,92 (dd, $J = 7,8$, 1,9 Hz, 1H), 7,65 (dd, $J = 9,0$, 2,3 Hz, 1H), 7,07 (ddd, $J = 7,8$, 4,9, 0,9 Hz, 1H), 6,66 (dd, $J = 9,0$, 0,7 Hz, 1H), 3,99 – 3,80 (m, 4H), 3,49 – 3,37 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, $CDCl_3$)** δ 159,55, 152,67, 151,18, 139,85, 137,35, 137,29, 137,24 (q, $J = 5,39$ Hz), 137,19, 128,03 (q, $J = 33,2$ Hz), 125,22 (q, $J = 271,4$ Hz), 122,52, 120,00, 118,56, 117,68, 105,81, 96,66, 50,44, 44,61. **HRMS (ESI +)**: calculado para $C_{16}H_{14}F_3N_5^+$ $[M+H]^+ = 334.1274$ m/z , encontrado $[M+H]^+ = 334.1265$ m/z , erro = 2.69 ppm.

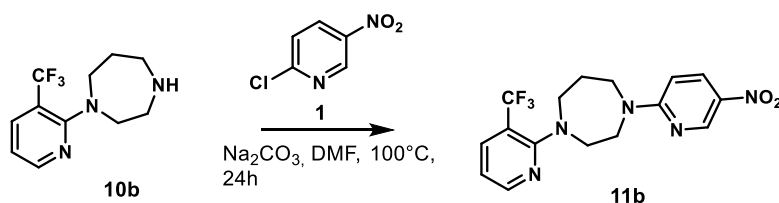
4.4.2.7 Preparação do N¹-(5-nitropiridin-2-il)-N²-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)etano-1,2-diamina (11a)



Em uma solução do composto **10a** (0,15 mmol, 1,2 equiv.), como reagente em excesso, em DMF (2mL), foram adicionados o Na_2CO_3 (0,38 mmol, 3,0 equiv.) e o reagente **1** (0,13 mmol, 1,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 100 °C e seguiu o procedimento geral B, levando a obtenção do produto **11a** com 65% de rendimento após 16 horas de reação.

11a: sólido amarelo, 32,3mg, 65%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ 9,03 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 8,31 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 8,15 (dd, $J = 9,3, 2,7$ Hz, 1H), 7,70 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 6,71 (dd, $J = 7,2, 5,2$ Hz, 1H), 6,48 (s, 1H), 6,38 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 5,48 (s, 1H), 3,87 – 3,79 (m, 2H), 3,76 – 3,71 (m, 2H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 151,30, 147,00, 135,52, 135,47, 135,42, 135,37 (q, $J = 5,05$ Hz), 132,69, 129,23, 127,85, 125,56, 123,57 (q, $J = 271,8$ Hz), 112,17, 43,15, 41,49.

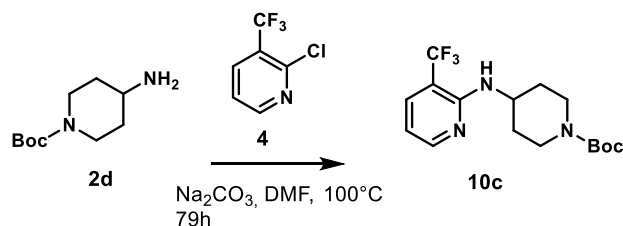
4.4.2.8 Preparação do 1-(5-nitropiridin-2-il)-4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)-1,4-diazepano (**11b**)



Em uma solução do composto **10b** (0,19 mmol, 2 equiv.), como reagente em excesso, em DMF (2mL), foram adicionados o Na_2CO_3 (0,3 mmol, 3,0 equiv.) e o reagente **1** (0,10 mmol, 1,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 100°C e seguiu o procedimento geral B, levando a obtenção do produto **11b** com 85% de rendimento após 24 horas de reação.

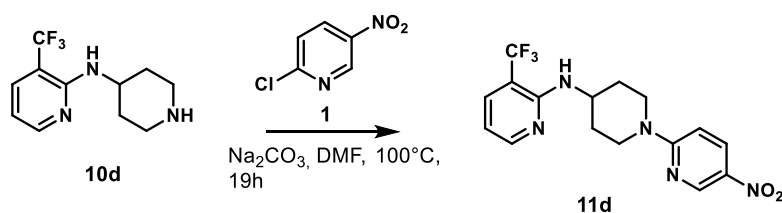
11b: sólido amarelo, 61,7 mg, 85%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ 9,04 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 8,36 (ddd, $J = 4,7, 1,9, 0,6$ Hz, 1H), 8,20 (dd, $J = 9,4, 2,8$ Hz, 1H), 7,86 (dd, $J = 7,8, 1,9$ Hz, 1H), 6,92 (dd, $J = 7,0, 4,7$ Hz, 1H), 6,52 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 4,07 (s, 2H), 3,83 (s, 2H), 3,71 – 3,60 (m, 2H), 3,56 – 3,44 (m, 2H), 2,10 (dq, $J = 7,2, 6,0$ Hz, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 160,02, 159,15, 150,83, 146,81, 137,40, 137,35, 137,29 (q, $J = 5,39$ Hz), 137,24, 134,78, 133,42, 132,90, 132,64, 128,06 (q, $J \approx 33,0$ Hz), 125,35 (q, $J \approx 271,7$ Hz), 122,65, 119,95, 116,02, 104,13, 69,56, 64,89, 52,89, 51,98, 49,22, 47,35.

4.4.2.9 Preparação do tert-butil 4-((3-(trifluorometil)piridin-2-il)amino)piperidina-1-carboxilato (**10c**)



Em uma solução do composto **2d** (0,83 mmol, 3,0 equiv.), como reagente em excesso, em DMF (2mL), foram adicionados o Na_2CO_3 (0,83 mmol, 3,0 equiv.) e o reagente **4** (0,27 mmol, 1,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 100°C e seguiu o procedimento geral B, levando a obtenção do produto **10c** com 76% de rendimento após 79 horas de reação. **10c**: sólido branco, 215,5 mg, 76%. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,26 (d, $J = 4,3$ Hz, 1H), 7,66 (dd, $J = 7,7, 1,6$ Hz, 1H), 6,63 (dd, $J = 7,6, 5,0$ Hz, 1H), 4,72 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 4,23 (ddt, $J = 14,8, 10,9, 5,4$ Hz, 1H), 4,06 (d, $J = 9,6$ Hz, 2H), 3,00 (t, $J = 11,6$ Hz, 2H), 2,07 (dd, $J = 12,7, 3,3$ Hz, 2H) 1,82 – 1,62 (m, 2H).

4.4.2.10 Preparação do N-[1-(5-nitropiridin-2-il)piperidin-4-il]-3-(trifluorometil)piridin-2-amina (**11d**)

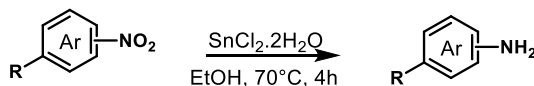


Em uma solução do composto **10d** (0,49 mmol, 1,2 equiv.), como reagente em excesso, em DMF (2mL), foram adicionados o Na_2CO_3 (1,23 mmol, 3,0 equiv.) e o reagente **1** (0,41 mmol, 1,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 100°C e seguiu o procedimento geral B, levando a obtenção do produto **11d** com 78% de rendimento após 24 horas de reação.

11d: sólido amarelo, 217,2 mg, 78%. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 9,06 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H), 8,29 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 8,22 (dd, $J = 9,7, 2,9$ Hz, 1H), 7,68 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 6,69 – 6,65 (m, 1H), 6,63 (d, $J = 9,8$ Hz, 1H), 4,75 – 4,71 (m, 1H), 4,53 – 4,45 (m, 4H), 3,37 – 3,22 (m, 2H), 2,29 – 2,22 (m, 2H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 160,34, 160,07, 151,10, 147,08, 137,27, 137,21, 137,17, 137,12, 135,91 (q, $J = 5,05$ Hz), 132,91 (q, $J = 33,3$

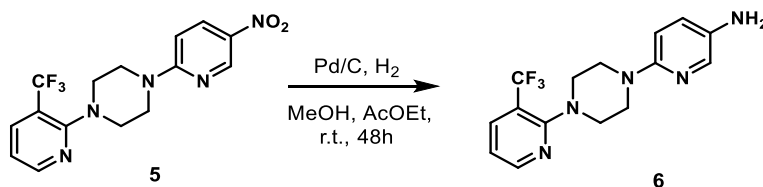
Hz), 128,00, 125,29, 122,58, 119,86 (q, J (q, $J \approx 272,0$ Hz) 272,0 Hz), 117,37, 114,05, 49,75, 48,84, 32,18.

4.4.3 Procedimento Geral C: Reação de redução dos grupos nitro ($-\text{NO}_2$)



Em uma solução do composto nitro em EtOH (0,5M), adiciona-se o $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (4-5 equiv), em seguida, a reação é aquecida a temperatura de 70°C por durante 4h. Em seguida o EtOH foi evaporado sob pressão reduzida, e uma solução de NaOH a 2M era adicionada até o pH 8~12. A fase aquosa foi extraída com DCM ou EtOAc (3 x 15 mL), e as fases orgânicas foram juntadas, secadas sob Na_2SO_4 anidro, filtradas, e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida para render o composto almejado.

4.4.3.1 Preparação do 6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-amina (6)

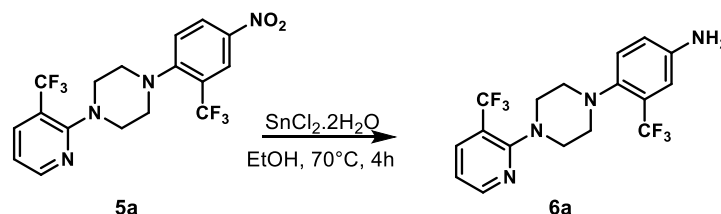


Em uma solução do composto **5** (0,3mmol, 1,0 equiv.) em uma mistura de solventes MeOH1:1AcOEt (10mL), juntamente com Pd/C (10mol%, 0,1 equiv.), e a adição constante de hidrogênio com o uso de bexigas. A reação ficou em agitação à temperatura ambiente e foi monitorada por TLC com eluente (AcOEt4:6Hex). Após 48h, prosseguiu-se para retirada do Pd:C em celite, com adição de MeOH. A solução resultante foi levada ao rotaevaporador e à bomba de vácuo, resultando na formação do produto **6**, de aspecto rosa, correspondendo a um rendimento de 76%.

6: sólido viscoso rosa, 128,4mg, 76%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ 8,46 (dd, $J = 4,8, 2,6$ Hz, 1H), 7,89 (dd, $J = 7,8, 1,9$ Hz, 1H), 7,83 (dd, $J = 3,0, 0,8$ Hz, 1H), 7,06 – 6,97 (m, 2H), 6,64 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 3,56 – 3,49 (m, 4H), 3,45 (dd, $J = 6,5, 3,3$ Hz, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 159,74, 154,62, 151,01, 137,32, 137,27, 137,21, 137,16 (q, $J = 5,05$

Hz), 135,37, 134,73, 128,56, 125,38, 122,67 (q, $J = 271,9$ Hz), 119,99, 117,06, 116,90, 116,85, 116,74, 116,57 (q, $J = 21,2$ Hz), 108,56, 50,53, 46,88. **HRMS (ESI +)**: calculado para $C_{15}H_{16}F_3N_5^+$ $[M+H]^+ = 324.1431$ m/z , encontrado $[M+H]^+ = 324.1423$ m/z , erro = 2.47 ppm.

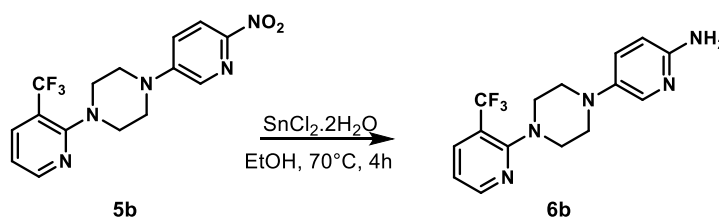
4.4.3.2 Preparação do 3-(trifluorometil)-4-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)anilina (6a)



Em uma solução do composto **5a** (0,09 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em EtOH (20mL), foi adicionado $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ (0,36 mmol, 4,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 70 °C e seguiu o procedimento geral C, levando a obtenção do produto **6a** com 61% de rendimento após 4 horas de reação.

6a: sólido amarelo, 20,3mg, 61%. **RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$)**: δ 8,46 (dd, $J = 4,8, 1,3$ Hz, 1H), 7,88 (dd, $J = 7,7, 2,0$ Hz, 1H), 7,31 – 7,24 (m, 1H), 7,00 (dd, $J = 7,7, 4,8$ Hz, 1H), 6,94 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 6,83 (dd, $J = 8,6, 2,7$ Hz, 1H), 3,48 – 3,39 (m, 4H), 3,02 – 2,95 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, $CDCl_3$)** δ 159,97, 151,01, 143,70, 137,32, 137,27, 137,21, 137,16 (q, $J = 5,39$ Hz), 128,21, 127,95, 125,61, 125,35, 125,22, 122,74, 122,51 (q, $J = 274,7$ Hz), 119,79, 119,33, 118,56, 116,62 (q, $J = 33,3$ Hz), 113,12, 113,07, 113,01, 112,96, 53,72, 51,19. **HRMS (ESI +)**: calculado para $C_{17}H_{16}F_6N_4^+$ $[M+H]^+ = 391.1352$ m/z , encontrado $[M+H]^+ = 391.1337$ m/z , erro = 3.83 ppm.

4.4.3.3 Preparação do 5-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-2-amina (6b)

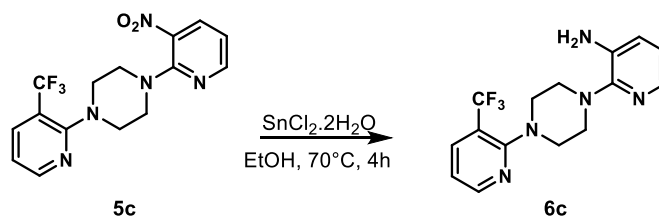


Em uma solução do composto **5b** (0,44 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante,

em EtOH (20mL), foram adicionados o $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (2,21 mmol, 5,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 70 °C e seguiu o procedimento geral C, levando a obtenção do produto **6b** com 82% de rendimento após 4 horas de reação.

6b: sólido viscoso marrom, 117,5mg, 82%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)**: δ 8,46 (dd, $J = 4,8, 1,3$ Hz, 1H), 7,89 (dd, $J = 7,8, 1,9$ Hz, 1H), 7,83 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H), 7,23 (dd, $J = 8,8, 2,9$ Hz, 1H), 6,51 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 3,51 – 3,42 (m, 4H), 3,21 – 3,15 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 159,60, 151,06, 137,33, 137,28, 137,23, 137,18 (q, $J = 5,05$ Hz), 135,36, 134,75, 129,07, 128,08, 126,11, 125,35, 122,64, 120,34 (q, $J \approx 272,0$ Hz), 116,89, 109,23, 50,85, 46,88.

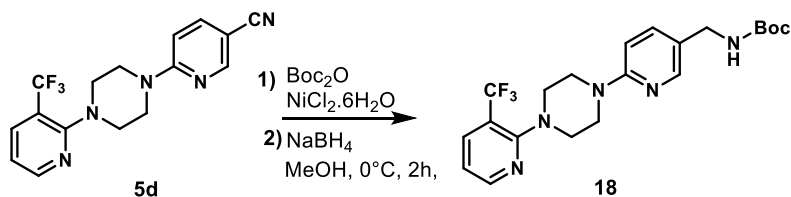
4.4.3.4 Preparação do 2-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-amina (**6c**)



Em uma solução do composto **5c** (0,06 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em EtOH (20mL), foi adicionado $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,24 mmol, 4,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 70 °C e seguiu o procedimento geral C, levando a obtenção do produto **6c** com 84% de rendimento após 4 horas de reação.

6d: sólido viscoso roxo, 15,3mg, 84%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)**: δ 8,46 (dd, $J = 4,8, 1,8$ Hz, 1H), 7,89 (dd, $J = 7,7, 1,9$ Hz, 1H), 7,83 (dd, $J = 4,8, 1,6$ Hz, 1H), 7,02 (dd, $J = 7,7, 4,6$ Hz, 1H), 6,98 (dd, $J = 7,7, 1,7$ Hz, 1H), 6,87 (dd, $J = 7,7, 4,9$ Hz, 1H), 3,84 (s, 1H), 3,50 – 3,43 (m, 4H), 3,32 – 3,25 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 159,96, 151,03, 137,72, 137,34, 137,29, 137,24, 137,19 (q, $J = 5,05$ Hz), 135,53, 128,02, 125,27, 122,59, 119,89 (q, $J \approx 272,0$ Hz), 94,31, 69,62, 64,79, 51,15, 48,75. **HRMS (ESI +)**: calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_5^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 324.1431$ m/z , encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 324.1422$ m/z , erro = 2.78 ppm.

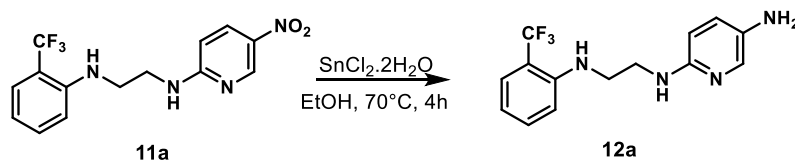
4.4.3.5 tert-butil ((6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)metil)carbamato (**18**)



Em uma solução do composto **5d** (0,12 mmol, 1,0 equiv.) em MeOH anidro (15mL), foram adicionados (Boc)₂O (0,24 mmol, 2,0 equiv.), NiCl₂.6H₂O (0,02mmol, 0,2 equiv.). A reação ficou em agitação a 0 °C e em seguida foi adicionado o NaBH₄ (0,84mmol, 7,0 equiv.) em pequenas porções em torno de 30 minutos. Após 1h de reação, adicionou-se a etilenodiamina (0,24mmol, 2,0 equiv.) por 30 minutos. Com a solução em coloração rosa, o solvente da reação foi evaporado sob pressão reduzida. Foram adicionados 15mL de NaHCO₃ e a fase aquosa foi extraída com EtOAc (2 x 15 mL), e as fases orgânicas foram juntadas, secadas sob Na₂SO₄ anidro, filtradas, e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida para render o composto almejado **18**, com rendimento de 79%.

18: sólido branco, 41,3mg, 79%. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)**: δ 8,46 (dd, *J* = 4,8, 1,3 Hz, 1H), 8,15 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 7,90 (dd, *J* = 7,7, 1,6 Hz, 1H), 7,52 (dd, *J* = 8,7, 2,5 Hz, 1H), 7,02 (ddd, *J* = 7,7, 4,8, 0,8 Hz, 1H), 6,71 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 3,79 (s, 2H), 3,71 – 3,65 (m, 4H), 3,48 – 3,39 (m, 4H), 1,84 (s, 9H). **RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃)** δ 159,27, 158,98, 148,03, 147,71, 147,20, 146,87 (q, *J* = 39,1 Hz), 139,78, 137,96, 137,43, 137,18, 137,12 (q, *J* ≈ 5,1 Hz), 127,37, 126,47, 125,62, 124,43, 107,13, 107,02, 106,98, 105,71, 105,61, 62,64, 54,79, 49,63, 46,07, 45,28.

4.4.3.6 Preparação do N²-(2-((2-(trifluorometil)fenil)amino)etil)piridina-2,5-diamina (**12a**)



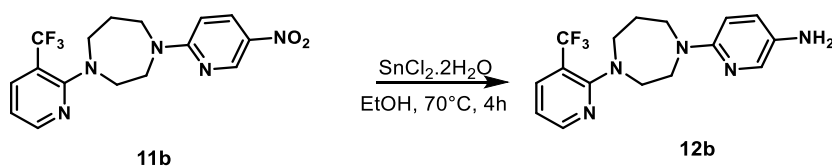
Em uma solução do composto **11a** (0,09 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em EtOH (20mL), foi adicionado SnCl₂.2H₂O (0,37 mmol, 4,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 70 °C e seguiu o procedimento geral C, levando a obtenção do produto **12a** com 82% de rendimento após 4 horas de reação.

12a: sólido marrom, 22,3 mg, 82%. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)**: δ 8,27 (d, *J* = 4,5 Hz, 2H), 7,73 – 7,61 (m, 1H), 6,96 (dd, *J* = 8,7, 2,9 Hz, 1H), 6,73 – 6,65 (m, 1H), 6,61 (ddd, *J* =

7,5, 4,9, 0,8 Hz, 1H), 6,37 (dd, $J = 8,7, 0,8$ Hz, 1H), 3,81 – 3,64 (m, 2H), 3,62 – 3,56 (m, 2H).

RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 161,89, 151,04, 137,77, 137,35, 137,29, 137,22 (q, $J = 6,06$ Hz), 137,17, 129,46, 126,96, 124,1, 121,64 (q, $J \approx 272,0$ Hz), 121,38, 119,67, 117,02, 116,16, 51,16, 48,76.

4.4.3.7 Preparação do 6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)-1,4-diazepan-1-il)piridin-3-amina (**12b**)



Em uma solução do composto **11b** (0,18 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em EtOH (20mL), foi adicionado $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,37 mmol, 5,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 70°C e seguiu o procedimento geral C, levando a obtenção do produto **12b** com 76% de rendimento após 4 horas de reação.

12b: sólido roxo, 48,2mg, 76%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)**: δ 8,33 (dd, $J = 4,7, 1,3$ Hz, 1H), 7,81 (dd, $J = 7,8, 1,8$ Hz, 1H), 7,76 (d, $J = 2,9$ Hz, 1H), 6,98 (dd, $J = 8,8, 3,0$ Hz, 1H), 6,83 (dd, $J = 7,6, 4,8$ Hz, 1H), 6,45 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 3,92 – 3,85 (m, 2H), 3,70 – 3,58 (m, 4H), 3,55 – 3,43 (m, 2H), 2,13 – 2,02 (m, 2H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 160,02, 159,15, 150,83, 146,81, 137,40, 137,35, 137,29, 137,24 (q, $J = 5,39$ Hz), 134,78, 133,42, 132,90, 132,64, 128,06, 125,35, 122,65, 119,95 (q, $J \approx 272,0$ Hz), 116,02, 115,26, 114,95, 114,64, 114,33 (q, $J = 31,3$ Hz), 104,13, 77,35, 77,03, 76,72, 69,56, 64,89, 52,89, 51,98, 49,22, 47,35.

4.4.4 Procedimento Geral D: Reação de desproteção do grupo Boc

A amina protegida com o grupo Boc apropriado (1 equiv.) foi solubilizado em DCM/AcOEt (10 mL), uma solução de AcOEt/HCl a 2M (10equiv.) foi adicionada a 0°C , e a reação foi agitada e posteriormente mantida a temperatura ambiente até a formação do sal de cloridrato correspondente. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e depois se acrescenta uma solução saturada da NaHCO_3 (20mL) até o pH 7~8. A fase aquosa foi extraída com AcOEt (3 x 10 mL). As fases orgânicas foram juntadas, secadas com Na_2SO_4 anidro,

filtradas, e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida.

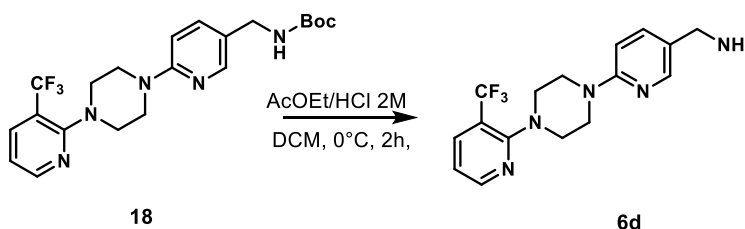
4.4.4.1 Preparação do N-(piperidin-4-il)-3-(trifluorometil)piridin-2-amina (10d)



Em uma solução do composto **10c** (0,48 mmol, 1,0 equiv.), em DCM (10mL), foram adicionados AcOEt/HCl a 2M (4,87 mmol, 10,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 0 °C e seguiu o procedimento geral D, levando a obtenção do produto **1d** com 93% de rendimento após 24 horas de reação.

10d: sólido branco, 98,2mg, 93%. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 8,25 (d, $J = 4,2$ Hz, 1H), 7,66 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 6,64 (dd, $J = 7,3, 5,3$ Hz, 1H), 4,83 (s, 1H), 3,80 – 3,69 (m, 4H), 3,13 (q, $J = 7,3$ Hz, 4H),

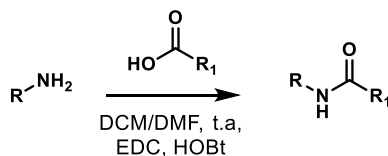
4.4.4.2 Preparação do (6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)metanamina (6d)



Em uma solução do composto **18** (0,09 mmol, 1,0 equiv.), em DCM (10mL), foram adicionados AcOEt/HCl a 2M (0,94 mmol, 10,0 equiv.). A reação ficou em agitação a 0 °C e seguiu o procedimento geral D, levando a obtenção do produto **6d** com 96% de rendimento após 2h horas de reação.

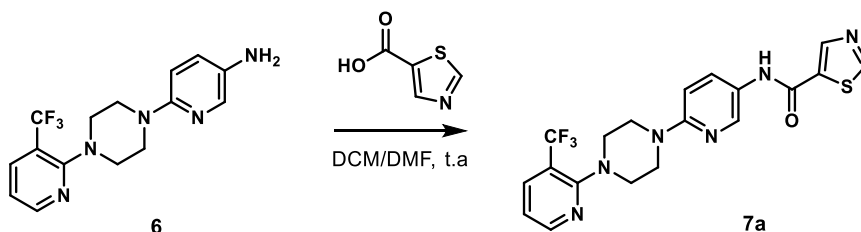
6d: sólido amarelo, 29,3mg, 93%. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 8,44 (dd, $J = 4,9, 1,9$ Hz, 1H), 8,13 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 7,88 (dd, $J = 7,8, 1,9$ Hz, 1H), 7,51 (dd, $J = 8,6, 2,5$ Hz, 1H), 6,69 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 3,82 – 3,72 (m, 1H), 3,69 – 3,63 (m, 4H), 3,48 – 3,35 (m, 4H), 2,07 (s, 3H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 160,27, 159,72, 159,09, 151,05, 146,87, 137,31, 137,25, 137,21, 137,16, 137,12 (q, $J = 5,05$ Hz), 127,63, 125,34, 124,37, 123,75, 122,63, 121,91 (q, J (q, $J \approx 272,0$ Hz) 272,0 Hz), 117,06, 107,21, 50,44, 45,61, 45,48, 44,98, 43,35.

4.4.6 Procedimento geral E: reações de amidação via EDC e HOBT



Em uma solução contendo a arilamina em DCM/DMF (2 mL), adiciona-se o ácido carboxílico (1,2 – 2,5 equiv), o HOBT (0,1 – 0,2 equiv) e o EDC (1,2 – 2,5 equiv.) em temperatura ambiente. Ao término da reação, adicionou-se NaOH a 2M (10mL) e a fase aquosa foi extraída com EtOAc/DCM (3 x 15 mL), e as fases orgânicas foram juntadas, secadas sob Na₂SO₄ anidro, filtradas, e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica, usando eluente (AcOEt:Hex)/(DCM:MeOH) para render o composto almejado.

4.4.6.1 Preparação do N-(6-(4-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)piperazin-1-yl)pyridin-3-yl)thiazole-2-carboxamide (7a)

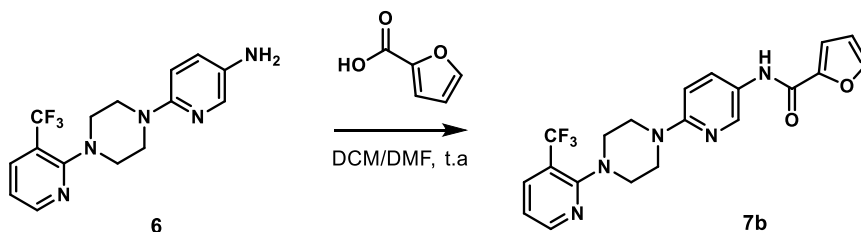


Em uma solução do composto **6** (0,06 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DCM (2mL), foram adicionados o ácido carboxílico correspondente (0,09 mmol, 1,5 equiv.), EDC (0,09 mmol, 1,5 equiv.) e o HOBT (0,006 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional era mantida sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **7a** com 84% de rendimento após 4 horas de reação.

7a: sólido branco, 19,3 mg, 84%. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ 8,96 (s, 1H), 8,47 (dd, 1H), 8,40 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 8,10 (dd, *J* = 9,1, 2,8 Hz, 1H), 7,97 – 7,87 (m, 2H), 7,65 (d, *J* = 3,1 Hz, 1H), 7,04 (dd, 1H), 6,76 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 3,74 – 3,66 (m, 4H), 3,54 – 3,41 (m, 4H). **RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃)** δ 163,85, 159,73, 157,23, 157,15, 151,07, 143,51,

139,98, 137,32, 137,27, 137,22, 137,17 (q, $J = 5,05$ Hz), 130,45, 127,27, 125,34, 125,12, 125,03, 122,63, 120,18 (q, J (q, $J \approx 272,0$ Hz) 272,0 Hz), 117,58, 117,27, 117,12, 116,96, 116,64 (q, $J = 31,3$ Hz), 107,07, 50,43, 45,69. **HRMS (ESI +)**: calculado para $C_{19}H_{17}F_3N_6OS^+$ $[M+H]^+ = 435.1209$ m/z , encontrado $[M+H]^+ = 435.1198$ m/z , erro = 2.53 ppm.

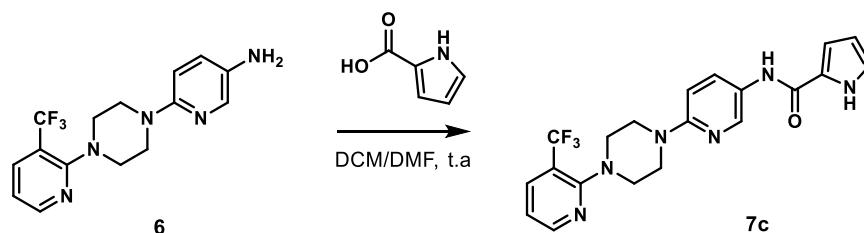
4.4.6.2 Preparação do N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)furan-2-carboxamida (7b)



Em uma solução do composto **6** (0,06 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DCM (2mL), foram adicionados o ácido carboxílico correspondente (0,09 mmol, 1,5 equiv.), EDC (0,09 mmol, 1,5 equiv.) e o HOBt (0,006 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional foi mantida sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **7b** com 42% de rendimento após 24 horas de reação.

7b: sólido branco, 10,8 mg, 42%. **RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$)** δ 8,47 (dd, $J = 5,1, 1,7$ Hz, 1H), 8,31 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 8,04 (dd, $J = 9,1, 2,8$ Hz, 1H), 7,97 – 7,88 (m, 2H), 7,55 – 7,51 (m, 1H), 7,24 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H), 7,03 (dd, $J = 7,7, 5,0$ Hz, 1H), 6,75 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 6,61 – 6,54 (m, 1H), 3,70 – 3,66 (m, 4H), 3,47 – 3,42 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, $CDCl_3$)** δ 159,73, 157,14, 156,25, 151,07, 147,77, 144,15, 140,17, 137,32, 137,27, 137,22, 137,16 (q, $J = 5,05$ Hz), 131,05, 125,34, 125,15, 122,64, 117,25, 117,09, 116,93 (t, $J = 32,3$ Hz), 115,13, 112,58, 107,10, 50,43, 45,74. **HRMS (ESI +)**: calculado para $C_{20}H_{18}F_3N_5O_2^+$ $[M+H]^+ = 418.1485$ m/z , encontrado $[M+H]^+ = 418.1483$ m/z , erro = 0.48 ppm.

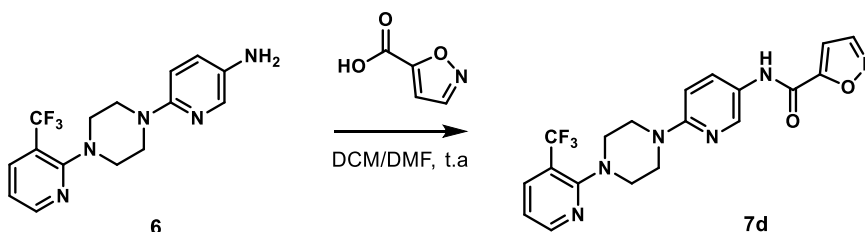
4.4.6.3 Preparação do N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)-1H-pirrol-2-carboxamida (7c)



Em uma solução do composto **6** (0,05 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DCM (2mL), foram adicionados o ácido carboxílico correspondente (0,08 mmol, 1,5 equiv.), EDC (0,05 mmol, 1,5 equiv.) e o HOBt (0,008 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional foi mantida sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **7c** com 46% de rendimento após 24 horas de reação.

7c: sólido vermelho, 10,8 mg, 46%. **RMN de ^1H (400 MHz, MeOD)** δ 8,43 (d, $J = 4,7$ Hz, 1H), 8,30 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 7,94 (dt, $J = 9,1, 2,4$ Hz, 2H), 7,09 (dd, $J = 7,9, 4,8$ Hz, 1H), 6,99 – 6,94 (m, 2H), 6,79 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 6,26 – 6,20 (m, 1H), 4,07 (s, 2H), 3,64 – 3,58 (m, 4H), 3,41 – 3,37 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, MeOD)** δ 160,59, 159,85, 156,78, 150,99, 140,46, 137,50, 137,45, 137,40, 137,35 (q, $J = 5,05$ Hz), 132,13, 127,89, 126,53, 125,52, 123,55, 122,35, 121,41 (q, $J \approx 272,0$ Hz), 117,67, 111,52, 109,59, 107,70, 50,47, 45,98. **HRMS (ESI +)**: calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_6\text{O}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 417.1645$ m/z , encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 417.1626$ m/z , erro = 4.55 ppm.

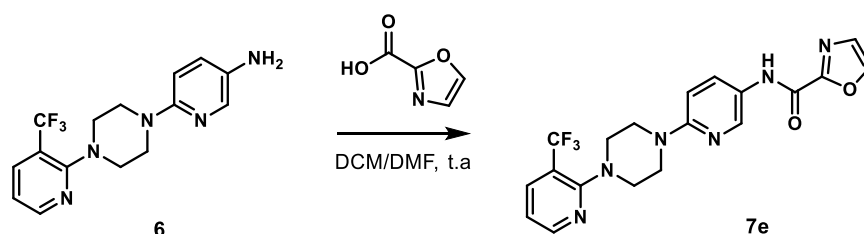
4.4.6.4 Preparação do N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)isoxazol-5-carboxamida (**7d**)



Em uma solução do composto **6** (0,06 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DCM (2mL), foram adicionados o ácido carboxílico correspondente (0,09 mmol, 1,5 equiv.), EDC (0,09 mmol, 1,5 equiv.) e o HOBt (0,006 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional foi mantida sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **7d** com 65% de rendimento após 24 horas de reação.

7d: sólido roxo, 16,2 mg, 65%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)**: δ 8,47 (dd, $J = 4,9, 1,8$ Hz, 1H), 8,39 (dd, $J = 9,8, 2,3$ Hz, 2H), 8,18 (s, 1H), 7,98 (dd, $J = 9,1, 2,8$ Hz, 1H), 7,91 (dd, $J = 7,7, 1,9$ Hz, 1H), 7,03 (dd, 2H), 6,75 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 3,74 – 3,67 (m, 4H), 3,48 – 3,41 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 157,48, 151,29, 151,09, 140,58, 137,31, 137,26, 137,21, 137,15 (q, $J = 5,39$ Hz), 131,06, 127,43, 125,33, 124,07, 123,16, 121,17 (q, $J \approx 210,0$ Hz), 117,18, 107,00, 106,93, 50,42, 45,56. **HRMS (ESI +)**: calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{N}_6\text{O}_2^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 419.1439$ m/z , encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 419.1422$ m/z , erro = 3.82 ppm.

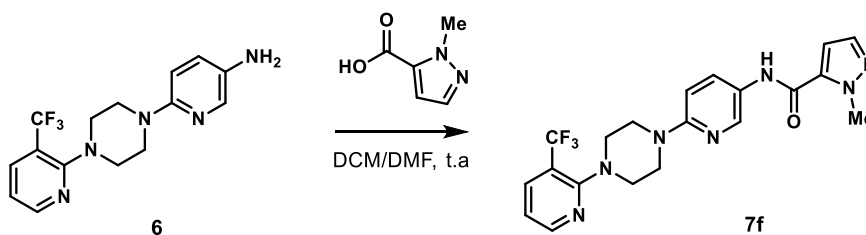
4.4.6.5 Preparação do N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)oxazol-5-carboxamida (7e)



Em uma solução do composto **6** (0,06 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DCM (2mL), foram adicionados o ácido carboxílico correspondente (0,09 mmol, 1,5 equiv.), EDC (0,09 mmol, 1,5 equiv.) e o HOBt (0,006 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional foi mantida sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **7e** com 44% de rendimento após 24 horas de reação.

7e: sólido branco, 11,3 mg, 44%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ 8,56 (s, 1H), 8,46 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 8,35 (dd, $J = 13,4, 1,9$ Hz, 2H), 8,05 (dd, $J = 9,1, 2,8$ Hz, 1H), 7,96 – 7,87 (m, 2H), 7,07 – 6,99 (m, 1H), 6,75 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 3,72 – 3,65 (m, 4H), 3,48 – 3,41 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 159,74, 158,13, 157,13, 151,07, 150,51, 141,81, 140,10, 137,31, 137,26, 137,21 (q, $J = 5,05$ Hz), 137,16, 136,06, 130,70, 128,05, 125,34 (q, $J \approx 272,0$ Hz), 125,16, 122,64, 119,94, 117,56, 117,25, 117,09, 116,93 (q, $J = 31,3$ Hz), 116,62, 107,03, 50,43, 45,73. **HRMS (ESI +)**: calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{N}_6\text{O}_2^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 419.1438$ m/z , encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 419.1423$ m/z , erro = 3.58 ppm.

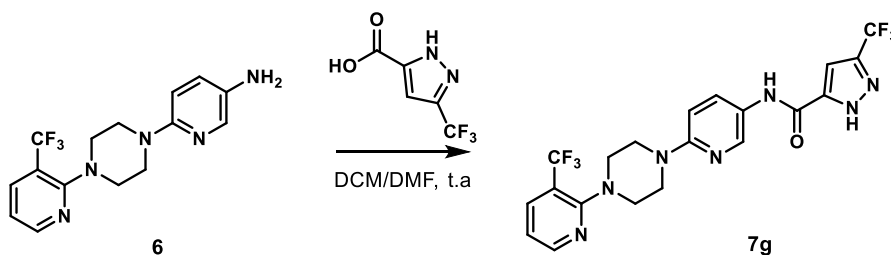
4.4.6.7 Preparação do 1-metil-N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)-1H-pirazol-5-carboxamida (7f)



Em uma solução do composto **6** (0,06 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DCM (1mL), foram adicionados o ácido carboxílico correspondente (0,09 mmol, 1,5 equiv.), EDC (0,09 mmol, 1,5 equiv.) e o HOBt (0,006 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional foi mantida sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **7f** com 37% de rendimento após 24 horas de reação.

7f: sólido branco, 9,5 mg, 37%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)**: δ 8,47 (d, $J = 4,7$ Hz, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,93 (t, 2H), 7,52 (d, $J = 6,5$ Hz, 2H), 7,08 – 7,00 (m, 1H), 6,75 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 6,67 (s, 1H), 4,23 (s, 3H), 3,73 – 3,62 (m, 4H), 3,48 – 3,41 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 160,31, 151,09, 137,73 (q, $J \approx 5,05$ Hz), 129,19, 127,15, 125,01 (q, $J \approx 272,0$ Hz), 122,84, 117,16 (d, $J \approx 32,3$ Hz), 106,99, 60,36, 50,41, 45,67, 14,18. **HRMS (ESI +)**: calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{F}_3\text{N}_7\text{O}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 432.1754$ m/z , encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 432.1740$ m/z , erro = 3.24 ppm.

4.4.6.8 Preparação do 3-(trifluorometil)-N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)-1H-pirazol-5-carboxamida (7g)

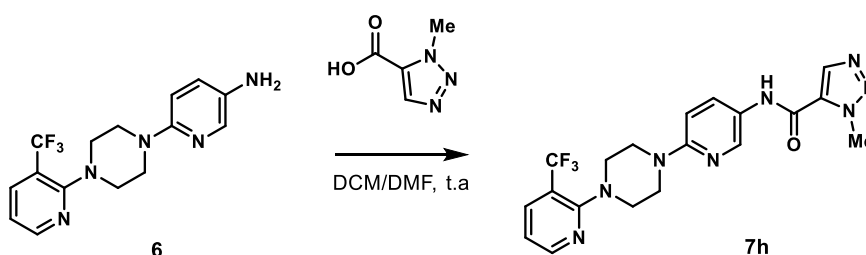


Em uma solução do composto **6** (0,04 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DCM (2mL), foram adicionados o ácido carboxílico correspondente (0,06 mmol, 1,5 equiv.), EDC (0,06 mmol, 1,5 equiv.) e o HOBt (0,004 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional foi mantida sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **7g** com 22% de rendimento após 24 horas de reação.

7g: sólido branco, 4,0 mg, 22%. **RMN de ^1H (400 MHz, MeOD)**: δ 8,51 (dd, $J = 5,1, 1,7$ Hz, 1H), 8,46 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 8,05 (dd, $J = 7,9, 1,9$ Hz, 1H), 7,96 (dd, $J = 9,2, 2,7$ Hz, 1H),

7,30 (s, 1H), 7,20 (dd, $J = 7,9, 4,9$ Hz, 1H), 6,95 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 3,70 – 3,64 (m, 4H), 3,40 – 3,36 (m, 4H), 3,34 – 3,30 (m, 3H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, MeOD)** δ 160,07, 156,98, 151,19, 140,13, 137,32, 137,27, 137,22 (q, $J = 5,05$ Hz), 137,17, 131,84, 128,07, 125,67, 125,36 (q, $J \approx 272,0$ Hz), 122,66, 119,94, 117,97 (d, $J \approx 32,3$ Hz), 107,52, 103,07, 50,50, 46,96, 45,62. **HRMS (ESI +):** calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{F}_6\text{N}_7\text{O}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 486.1472$ m/z , encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 486.1455$ m/z , erro = 3.50 ppm.

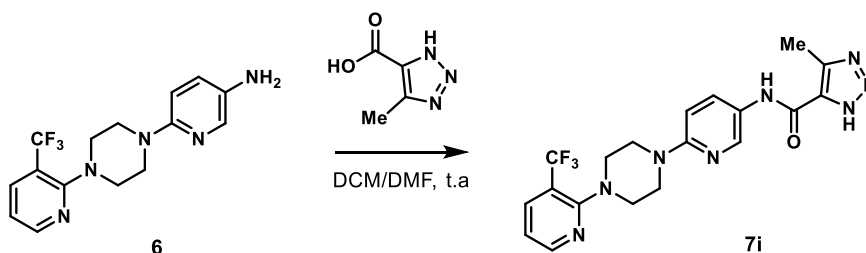
4.4.6.9 Preparação do 1-metil-N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)-1H-1,2,3-triazol-5-carboxamida (7h)



Em uma solução do composto **6** (0,06 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DCM (1mL), foram adicionados o ácido carboxílico correspondente (0,09 mmol, 1,5 equiv.), EDC (0,09 mmol, 1,5 equiv.) e o HOBt (0,006 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional foi mantida sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **7h** com 17% de rendimento após 24 horas de reação.

7h: sólido rosa, 4,0 mg, 17%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ 8,47 (s, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,91 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,71 (s, 1H), 7,08 – 7,01 (m, 1H), 6,75 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 4,39 (s, 3H), 3,75 – 3,67 (m, 4H), 3,47 – 3,41 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 151,10, 141,09, 137,32, 137,27, 137,22 (q, $J = 5,39$ Hz), 137,16, 133,20, 131,75, 127,21, 125,33 (q, $J \approx 272,0$ Hz), 123,85, 121,73, 117,24 (q, $J \approx 32,0$ Hz), 106,91, 50,40, 45,55, 37,44. **HRMS (ESI +):** calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 433.1707$ m/z , encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 433.1696$ m/z , erro = 2.54 ppm.

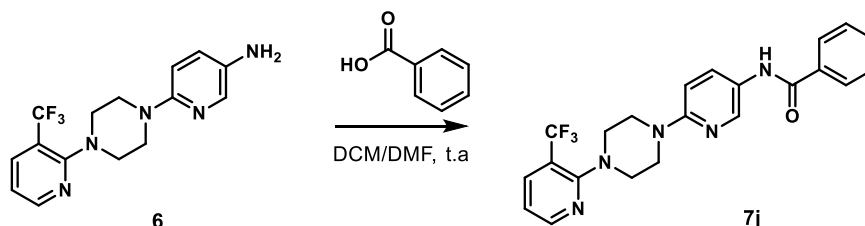
4.4.6.10 Preparação do 4-metil-N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)-1H-1,2,3-triazol-5-carboxamida (7i)



Em uma solução do composto **6** (0,06 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DCM (1mL), foram adicionados o ácido carboxílico correspondente (0,09 mmol, 1,5 equiv.), EDC (0,09 mmol, 1,5 equiv.) e o HOBt (0,006 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional foi mantida sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **7i** com 24% de rendimento após 24 horas de reação.

7i: sólido rosa, 6,3 mg, 24%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)**: δ 8,74 (s, 1H), 8,47 (d, 1H), 8,36 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H), 8,06 (dd, $J = 9,7$ Hz, 1H), 7,91 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,03 (t, 1H), 6,75 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 3,72 – 3,65 (m, 4H), 3,48 – 3,41 (m, 4H), 2,69 (s, 3H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 159,26, 157,08, 151,19, 151,06, 140,14, 137,33 (q, $J = 4,71$ Hz), 137,29, 137,24, 137,19, 130,90, 130,82, 125,40 (q, $J \approx 272,0$ Hz), 117,74 (d, $J \approx 33,0$ Hz), 117,09, 107,12, 50,43, 45,81. **HRMS (ESI +)**: calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 433.1707$ m/z , encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 433.1699$ m/z , erro = 1.85 ppm.

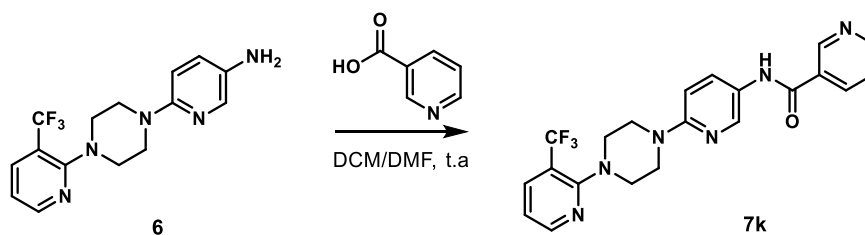
4.4.6.11 Preparação do N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)benzamida (**7j**)



Em uma solução do composto **6** (0,06 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DMF (2mL), foram adicionados o ácido carboxílico correspondente (0,09 mmol, 1,5 equiv.), EDC (0,09 mmol, 1,5 equiv.) e o HOBt (0,006 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional foi mantida sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **7j** com 81% de rendimento após 24 horas de reação.

7j: sólido rosa, 14 mg, 81%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)**: δ 8,47 (dd, $J = 4,9, 1,9$ Hz, 1H), 8,28 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 8,05 (dd, $J = 9,3, 2,8$ Hz, 1H), 7,93 – 7,85 (m, 3H), 7,60 – 7,47 (m, 3H), 7,03 (dd, 1H), 6,75 (s, 1H), 3,73 – 3,63 (m, 4H), 3,49 – 3,41 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 165,85, 159,74, 157,22, 151,07, 140,51, 137,31, 137,27, 137,22 (q, $J = 4,71$ Hz), 137,17, 134,63, 131,86, 131,55, 128,79, 128,05, 127,03, 125,71, 125,35 (q, $J \approx 272,0$ Hz), 122,64, 119,94, 117,09, 107,11, 50,44, 45,77. **HRMS (ESI +)**: calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 428.1693$ m/z , encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 428.1686$ m/z , erro = 1.63 ppm.

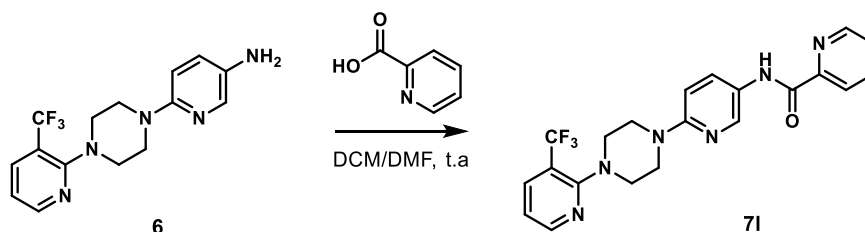
4.4.6.12 Preparação do N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)nicotinamida (7k)



Em uma solução do composto **6** (0,06 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DCM (2mL), foram adicionados o ácido carboxílico correspondente (0,09 mmol, 1,5 equiv.), EDC (0,09 mmol, 1,5 equiv.) e o HOBt (0,006 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional foi mantida sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **7k** com 90% de rendimento após 22 horas de reação.

7k: sólido roxo, 19,4 mg, 90%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)**: δ 9,12 (s, 1H), 8,75 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H), 8,46 (dd, $J = 4,9, 1,9$ Hz, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,24 (s, 2H), 8,00 (d, 1H), 7,90 (dd, $J = 7,8, 1,9$ Hz, 1H), 7,43 (dd, $J = 7,9, 4,8$ Hz, 1H), 7,03 (dd, $J = 7,8, 4,8$ Hz, 1H), 6,74 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 3,90 – 3,54 (m, 4H), 3,52 – 3,28 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 164,05, 159,72, 157,31, 152,36, 151,30, 151,08, 150,82, 147,93, 140,85, 137,33 (q, $J = 5,05$ Hz), 137,28, 137,23, 137,18, 135,50, 135,47, 135,09, 131,75, 130,49, 128,04, 125,33 (q, $J \approx 274,7$ Hz), 122,62, 119,91, 117,17, 125,27, 123,67, 123,59, 123,54, 118,28, 117,62 (d, $J = 31,3$ Hz), 117,31, 116,99, 107,38, 107,04, 50,42, 45,68. **HRMS (ESI +)**: calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_6\text{O}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 429.1645$ m/z , encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 429.1636$ m/z , erro = 2.10 ppm.

4.4.6.13 Preparação do N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)picolinamida (7l)

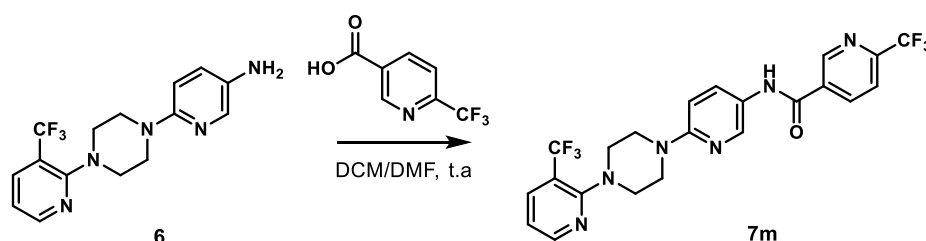


Em uma solução do composto **6** (0,06 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DCM (1mL), foram adicionados o ácido carboxílico correspondente (0,09 mmol, 1,5 equiv.), EDC (0,09 mmol, 1,5 equiv.) e o HOBt (0,006 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional foi mantida

sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **7l** com 81% de rendimento após 24 horas de reação.

7l: sólido roxo, 22,5 mg, 81%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)**: δ 9,87 (s, 1H), 8,64 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 8,46 (dd, $J = 7,7, 3,8$ Hz, 2H), 8,30 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 8,20 (dd, $J = 9,0, 2,8$ Hz, 1H), 7,97 – 7,88 (m, 2H), 7,54 – 7,46 (m, 1H), 7,07 – 6,99 (m, 1H), 6,78 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 3,69 (t, $J = 5,2$ Hz, 4H), 3,46 (t, $J = 5,2$ Hz, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 162,07, 156,97, 151,06, 148,00, 139,83, 137,66, 137,32, 137,27, 137,22 (q, $J = 5,05$ Hz), 137,17, 130,26, 128,56, 126,39, 125,89 (q, $J \approx 272,0$ Hz), 123,94, 122,34, 120,64, 117,04 (d, $J \approx 31,3$ Hz), 107,13, 50,46, 45,83. **HRMS (ESI +)**: calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_6\text{O}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 429.1645$ m/z , encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 429.1633$ m/z , erro = 2.80 ppm.

4.4.6.14 Preparação do 6-(trifluorometil)-N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)nicotinamida (**7m**)

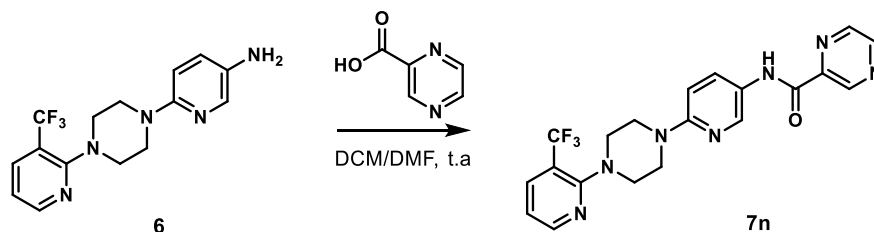


Em uma solução do composto **6** (0,06 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DMF (1mL), foram adicionados o ácido carboxílico correspondente (0,09 mmol, 1,5 equiv.), EDC (0,09 mmol, 1,5 equiv.) e o HOBt (0,006 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional foi mantida sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **7m** com 92% de rendimento após 24 horas de reação.

7m: sólido roxo, 29,5 mg, 92%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)**: δ 8,47 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H), 8,26 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 7,98 (dd, $J = 9,1, 2,8$ Hz, 1H), 7,90 (dd, $J = 7,8, 1,9$ Hz, 1H), 7,64 (t, 2H), 7,56 (d, $J = 1,1$ Hz, 1H), 7,14 (t, $J = 3,7$ Hz, 1H), 7,03 (dd, $J = 7,8, 4,8$ Hz, 1H), 6,74 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 3,72 – 3,65 (m, 4H), 3,48 – 3,41 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 160,18, 159,73, 157,23, 151,07, 140,64, 137,32, 137,27, 137,22 (q, $J = 5,05$ Hz), 137,17, 131,70, 130,63, 128,57, 128,05, 127,81, 125,34 (q, $J \approx 272,0$ Hz), 125,29, 122,63, 120,51, 117,57 (d, $J = 31,3$ Hz), 117,26, 117,11, 116,94 (d, $J = 31,3$ Hz), 116,63, 107,09, 50,43, 45,73.

HRMS (ESI +): calculado para $C_{22}H_{18}F_6N_6O^+$ $[M+H]^+ = 497.1519$ m/z , encontrado $[M+H]^+ = 497.1519$ m/z , erro = 0.00 ppm.

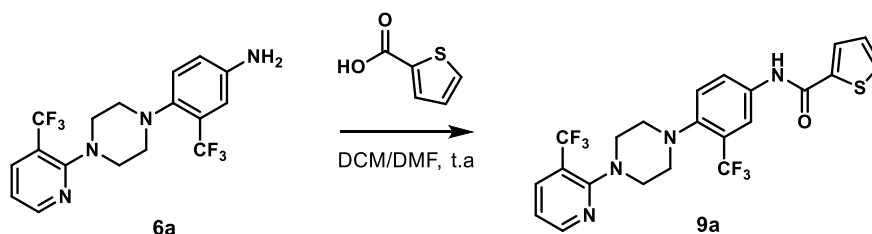
4.4.6.15 Preparação do N-(6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)piridin-3-il)pirazina-2-carboxamida (7n)



Em uma solução do composto **6** (0,06 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DCM (2mL), foram adicionados o ácido carboxílico correspondente (0,09 mmol, 1,5 equiv.), EDC (0,09 mmol, 1,5 equiv.) e o HOBt (0,006 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional foi mantida sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **7n** com 47% de rendimento após 24 horas de reação.

7n: sólido marrom, 12,5 mg, 47%. **RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$)** δ 9,52 (s, 2H), 8,83 (s, 1H), 8,61 (s, 1H), 8,45 (d, $J = 17,4$ Hz, 2H), 8,17 (d, 1H), 7,91 (d, 1H), 7,06 – 7,02 (m, 1H), 6,78 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 3,72 – 3,68 (m, 4H), 3,47 – 3,43 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, $CDCl_3$)** δ 160,70, 157,17, 151,08, 147,49, 144,61, 144,36, 142,37, 139,98, 137,27 (q, $J = 5,05$ Hz), 137,22, 130,43, 125,21 (q, $J \approx 272,0$ Hz), 117,13 (d, $J \approx 31,3$ Hz), 107,07, 50,44, 45,71. **HRMS (ESI +):** calculado para $C_{20}H_{18}F_3N_7O^+$ $[M+H]^+ = 430.1598$ m/z , encontrado $[M+H]^+ = 430.1591$ m/z , erro = 1.63 ppm.

4.4.6.16 Preparação do N-[3-(trifluorometil)-4-(4-[3-(trifluorometil)piridin-2-il]piperazin-1-il)fenil]tiofeno-2-carboxamida (9a)

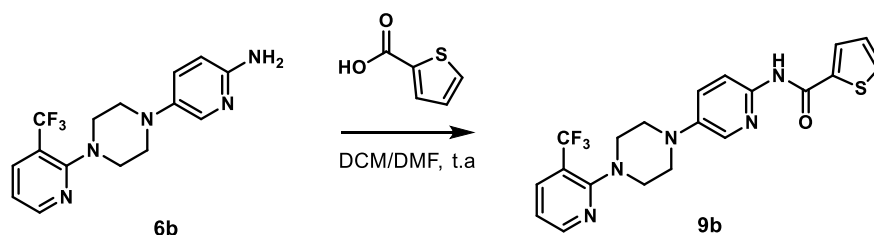


Em uma solução do composto **6a** (0,08 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DCM (2mL), foram adicionados o ácido **7** (0,12 mmol, 1,5 equiv.), EDC (0,12 mmol, 1,5 equiv.) e o

HOBt (0,008 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional foi mantida sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **9a** com 21% de rendimento após 24 horas de reação.

9a: sólido branco, 8,0 mg, 21%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)**: δ 8,47 (dd, $J = 4,7, 1,6$ Hz, 1H), 7,96 – 7,85 (m, 2H), 7,81 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,66 (dd, $J = 3,8, 1,2$ Hz, 1H), 7,59 (dd, $J = 5,0, 1,2$ Hz, 1H), 7,46 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,17 (dd, $J = 5,0, 3,7$ Hz, 1H), 7,02 (dd, $J = 7,7, 4,6$ Hz, 1H), 3,53 – 3,42 (m, 4H), 3,10 – 3,03 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 159,91, 151,05, 148,82, 138,64, 137,32 (q, $J = 5,05$ Hz), 137,27, 137,22, 137,17, 134,46, 131,13, 128,75, 127,94, 125,41, 125,14, 124,95, 124,47, 122,70, 122,23, 119,18 (q, $J \approx 272,0$ Hz), 119,13, 119,07, 119,02, 116,89, 53,59, 51,09. **HRMS (ESI +)**: calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{F}_6\text{N}_4\text{O}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 501.1178$ m/z , encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 501.1160$ m/z , erro = 3.59 ppm.

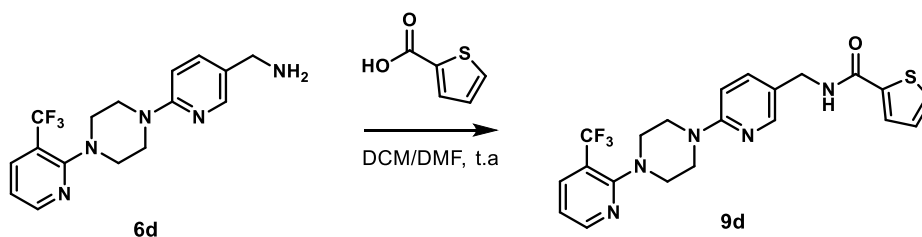
4.4.6.17 Preparação do N-(5-(4-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)piperazin-1-yl)pyridin-2-yl)thiophene-2-carboxamide (**9b**)



Em uma solução do composto **6b** (0,06 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DCM (2mL), foram adicionados o ácido carboxílico **7** (0,09 mmol, 1,5 equiv.), EDC (0,09 mmol, 1,5 equiv.) e o HOBt (0,006 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional foi mantida sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **9b** com 37% de rendimento após 24 horas de reação.

9b: sólido branco, 10,2 mg, 37%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)**: δ 8,48 (dd, $J = 11,7, 1,3$ Hz, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,25 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 8,02 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H), 7,91 (ddd, $J = 7,8, 3,7, 1,9$ Hz, 1H), 7,70 – 7,63 (m, 2H), 7,58 (dd, $J = 5,0, 1,1$ Hz, 1H), 7,39 (dd, $J = 9,1, 3,0$ Hz, 1H), 7,18 – 7,11 (m, 1H), 7,10 – 7,00 (m, 1H), 6,75 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 3,72 – 3,65 (m, 2H), 3,55 – 3,46 (m, 2H), 3,46 – 3,41 (m, 2H), 3,38 – 3,30 (m, 2H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 159,51, 157,24, 151,13, 144,56, 144,18, 139,20, 137,32 (q, $J = 4,38$ Hz), 137,28, 137,23, 137,19, 135,95, 131,66, 131,10, 130,61, 128,54, 127,90, 126,06, 125,30 (q, $J \approx 272,0$ Hz), 117,35 (d, $J \approx 31,3$ Hz), 114,44, 107,08, 50,51, 50,43, 49,30, 45,73.

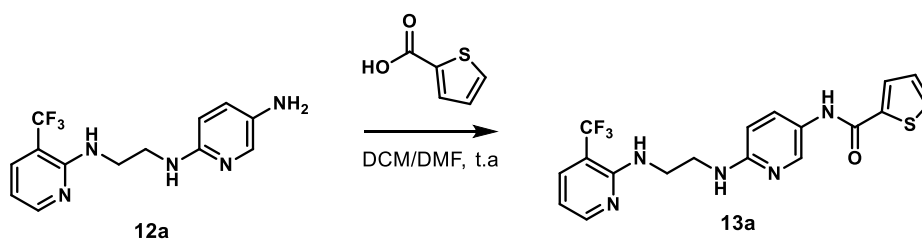
4.4.6.18 Preparação do N-[(6-(4-[3-(trifluorometil)piridin-2-il]piperazin-1-il)piridin-3-il)metil]tiofeno-2-carboxamida (9d)



Em uma solução do composto **6d** (0,06 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DCM (2mL), foram adicionados o ácido carboxílico **7** (0,13 mmol, 2,0 equiv.), EDC (0,13 mmol, 2,0 equiv.) e o HOBt (0,006 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional foi mantida sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **9d** com 46% de rendimento após 24 horas de reação.

9d: sólido branco, 13,7 mg, 46%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)**: δ 8,46 (dd, $J = 4,6, 1,4$ Hz, 1H), 8,19 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H), 7,90 (dd, $J = 7,7, 1,8$ Hz, 1H), 7,56 (dd, $J = 8,7, 2,6$ Hz, 1H), 7,51 – 7,44 (m, 2H), 7,07 (dd, $J = 5,0, 3,7$ Hz, 1H), 7,03 (dd, $J = 7,8, 4,8$ Hz, 1H), 6,69 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,26 (s, 1H), 4,51 (d, $J = 5,6$ Hz, 2H), 3,75 – 3,65 (m, 4H), 3,45 – 3,38 (m, 4H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 161,75, 159,73, 159,26, 151,08, 147,60, 138,01, 137,32 (q, $J = 5,39$ Hz), 137,27, 137,21, 137,16, 129,98, 128,14, 127,62, 125,33 (q, $J \approx 272,0$ Hz), 122,79, 122,62, 117,61, 117,30 (d, $J = 32,3$ Hz), 117,16, 116,98, 116,67, 107,18, 50,43, 45,40, 41,17.

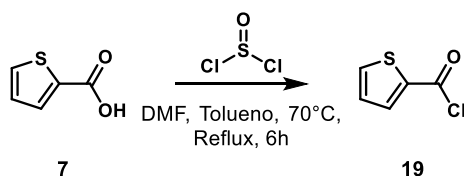
4.4.6.19 Preparação do N-[6-({2-[(3-(trifluorometil)piridin-2-il)amino]etil}amino)piridin-3-il]tiofeno-2-carboxamida (13a)



Em uma solução do composto **12a** (0,07 mmol, 1,0 equiv.), como reagente limitante, em DCM (2mL), foram adicionados o ácido carboxílico **7** (0,10 mmol, 1,5 equiv.), EDC (0,10 mmol, 1,5 equiv.) e o HOBt (0,007 mmol, 0,1 equiv.). A mistura reacional foi mantida sob agitação em temperatura ambiente e seguiu o procedimento geral E, levando a obtenção do produto **13a** com 45% de rendimento após 24 horas de reação.

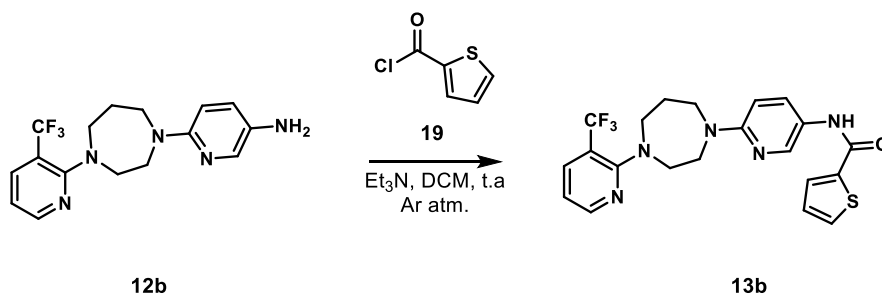
13a: sólido branco, 12,3 mg, 45%. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)**: δ 8,28 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 8,12 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 7,86 (dd, $J = 8,5, 1,6$ Hz, 1H), 7,72 – 7,62 (m, 3H), 7,54 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H), 7,13 (dd, $J = 4,7, 3,8$ Hz, 1H), 6,63 (dd, $J = 7,6, 5,0$ Hz, 1H), 6,48 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 5,82 (s, 1H), 5,36 (s, 1H), 3,80 – 3,71 (m, 2H), 3,65 – 3,58 (m, 2H). **RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 156,28, 154,70, 151,51, 140,25, 138,80, 135,07 (q, $J = 5,1$ Hz), 132,68, 130,61, 127,81, 127,60, 124,74, 124,31 (q, $J = 277,5$ Hz), 121,68, 111,39, 108,77 (q, $J = 30,6$ Hz), 107,52, 42,23. **HRMS (ESI +)**: calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_5\text{OS}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 408.1100$ m/z , encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 408.1088$ m/z , erro = 2.94 ppm.

4.4.6.20 Preparação do cloreto de tiofeno-2-carboxila (19)



Em um balão, o ácido carboxílico **7** (0,23mmol, 1 equiv.), como reagente limitante, em tolueno anidro (5mL), adicionou-se o SOCl_2 (1,15 mmol, 5equiv.) e três gotas de DMF anidro. A reação ficou em agitação sob refluxo a 70°C com armadilha de umidade (CaCl_2), por 6 horas, e foi finalizada evaporando e secando o solvente juntamente com SOCl_2 residual, partindo para a próxima etapa da reação.

4.4.6.21 Preparação do N-[6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)-1,4-diazepan-1-il)piridin-3-il]tiofeno-2-carboxamida (13b)

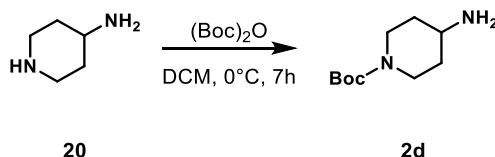


Em uma solução do cloreto de acila **19** (0,23mmol, 1,0 equiv.) como reagente limitante, em DCM anidro (5mL), foi adicionado a anilina **12b** (0,34 mmol, 2,0 equiv.), Et_3N (0,46 mmol, 2,0 equiv.). A reação ficou em agitação a temperatura ambiente com atmosfera de argônio e foi

acompanhada por CCD. A reação foi finalizada adicionando 25 mL de água destilada e adição de uma solução básica saturada de NaHCO₃ (25 mL), a mistura foi transferida para um funil de extração, onde foi feita uma extração com AcOEt (3x15 mL). A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada, concentrada e seca. O produto foi então purificado por coluna cromatográfica utilizando sílica flash utilizando como eleuente uma mistura de Hex7:3AcOEt, levando a obtenção do produto **13b** com 31% de rendimento após 6 horas de reação.

13b: sólido branco, 8,3 mg, 31%. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)**: δ 8,35 (dd, *J* = 4,6, 2,0 Hz, 1H), 8,16 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 7,90 – 7,79 (m, 2H), 7,64 (d, *J* = 4,6 Hz, 2H), 7,54 (d, *J* = 4,9 Hz, 1H), 7,16 – 7,09 (m, 1H), 6,94 – 6,79 (m, 1H), 6,55 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 3,99 – 3,92 (m, 2H), 3,73 – 3,63 (m, 4H), 3,52 – 3,43 (m, 2H), 2,14 – 2,03 (m, 2H). **RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃)** δ 160,20, 158,91, 155,56, 150,67, 141,22, 137,28 (q, *J* = 5,7 Hz), 130,44, 128,23, 127,77, 125,53 (q, *J* = 272,7 Hz), 123,40, 122,83, 120,12, 115,07, 113,91 (d, *J* = 31,3 Hz), 105,32, 53,15, 51,63, 48,59, 46,63.

4.4.7 Preparação do N-[6-(4-(3-(trifluorometil)piridin-2-il)-1,4-diazepan-1-il)piridin-3-il]tiofeno-2-carboxamida (**2d**)



Em uma solução do composto **20** (3,32 mmol, 3,0 equiv.), como reagente em excesso, em DCM (10mL), adicionou-se lentamente o (Boc)₂O (1,10 mmol, 1,0 equiv.). A mistura reacional foi mantida sob agitação em banho de gelo a 0°C durante 7 horas e foi acompanhada por CCD, usando como agente revelador a niniridina. A reação foi finalizada adicionando 25 mL de água destilada e adição de uma solução básica saturada de NaHCO₃ (25 mL), a mistura foi transferida para um funil de extração, onde foi feita uma extração com DCM (3x15 mL). A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada, concentrada e seca, levando a obtenção do produto **2d** com 97% de rendimento após 7 horas de reação.

2d: sólido branco, 215,3 mg, 97%. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)**: δ 4,04 (s, 2H), 2,86 – 2,72 (m, 3H), 1,83 – 1,73 (m, 2H), 1,46 (s, 10H), 1,30 – 1,16 (m, 2H). **RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃)** δ 154,84, 76,71, 48,82, 35,61, 29,57.

4.5 Procedimento Experimental (Biológico)

4.5.1 Preparação dos Compostos

Os compostos foram inicialmente diluídos a uma concentração de 20 mM em dimetilsulfóxido (DMSO). As soluções estoque foram então armazenadas a -20 °C para garantir a estabilidade e integridade deles até o momento da utilização nos ensaios. As concentrações de DMSO nos ensaios finais foram mantidas abaixo de 0,1%, a fim de evitar qualquer efeito citotóxico ou interferência na atividade biológica devido ao solvente.

4.5.2 Cultivo in vitro do *P. falciparum*

A cepa 3D7 de *P. falciparum*, foi mantida em cultura contínua em condições controladas de laboratório. O cultivo foi realizado de acordo com a metodologia estabelecida por Trager e Jensen (1976). As condições de incubação incluíam uma atmosfera controlada composta por 5% de dióxido de carbono (CO₂), 5% de oxigênio (O₂) e 90% de nitrogênio (N₂), mantida a uma temperatura constante de 37°C. O meio de cultura utilizado foi o RPMI 1640, que foi suplementado com 25 mM de Hepes (pH 7,4), 24 mM de bicarbonato de sódio (NaHCO₃), 11 mM de glicose, 3,67 mM de hipoxantina e 0,05 g/L de gentamicina. Adicionalmente, o meio foi suplementado com 0,5% de Albumax II. A parasitemia, que representa a porcentagem de hemácias infectadas, foi acompanhada diariamente por meio da preparação de esfregaços sanguíneos, que eram subsequentemente corados pelo método panóptico rápido para visualização e contagem sob microscopia.

4.5.3 Ensaio de SYBR Green para Avaliação da Atividade Inibitória contra *P. falciparum*

Para avaliar a atividade inibitória dos compostos contra *P. falciparum*, foi empregado o ensaio de SYBR Green I, uma metodologia amplamente utilizada para quantificar o crescimento parasitário. Inicialmente, os parasitas foram sincronizados na fase de anel, um estágio específico do ciclo de vida do parasita, por meio de tratamento com 5% de sorbitol (peso/volume), conforme descrito por Lambros e Vanderberg(1979).

Após a sincronização, uma cultura de *P. falciparum* com 0,5% de parasitemia e 2,5% de hematócrito (volume de hemácias no sangue) foi adicionada a placas de 96 poços. Os compostos foram então incubados com os parasitas em concentrações seriadas, variando de 50 a 0,48 µM ou de 10 a 0,009 µM, obtidas por meio de 10 diluições seriadas de fator 2. Em cada

placa, foram incluídos poços de controle negativo (hemácias parasitadas sem adição de composto) e poços de controle positivo de inibição (hemácias não parasitadas), para validação dos resultados. As placas foram incubadas por 72 horas a 37 °C em estufa umidificada com atmosfera de 5% CO₂, 5% O₂, 90% N₂.

Após o período de incubação, o meio de cultura foi removido, e as hemácias foram ressuspensas em 100 µL de tampão PBS (116 mM NaCl, 10 mM Na₂HPO₄, 3 mM KH₂PO₄). Em seguida, foram lisadas com 100 µL de tampão de lise (20 mM Tris-Base, 5 mM EDTA, 0,0008% Triton X-100 (v/v), 0,008% saponina (m/v), pH 8,0) contendo 0,002% de SYBR Green I (v/v). As placas foram incubadas à temperatura ambiente por 30 minutos. A fluorescência, que é diretamente proporcional à densidade de parasitas, foi determinada em um leitor de placas SpectraMAX Gemini EM (excitação a 485 nm e emissão a 535 nm). A concentração inibitória 50% (IC₅₀^{3D7}), que representa a concentração do composto capaz de inibir 50% do crescimento parasitário, foi determinada por análise de regressão não-linear da curva concentração-resposta, utilizando o programa GraphPad Prism 8.

4.5.4 Citotoxicidade em Células HepG2

Células HepG2 foram cultivadas em meio RPMI 1640 suplementado com 10% de soro bovino fetal (v/v), 24 mmol.L⁻¹ de bicarbonato de sódio, 40 mg/mL de gentamicina e 10 mmol.L⁻¹ de HEPES, com pH 7,4. Para o ensaio de citotoxicidade, 1x10⁴ células/mL foram plaqueadas por poço em microplacas de 96 poços. Após 24 horas de adesão, as células foram incubadas com os compostos em 7 diluições seriadas de fator 2, durante 72 horas, a 37 °C, sob atmosfera de 5% de CO₂. Células não tratadas foram mantidas como controle nas mesmas condições.

Ao final da incubação, foi realizada uma avaliação microscópica para identificar concentrações onde o composto se mostrava insolúvel ou precipitava, sendo estas concentrações excluídas da análise. A citotoxicidade foi avaliada por meio do ensaio colorimétrico com resazurina. Este ensaio quantifica a atividade metabólica das células HepG2, que consiste na redução da resazurina (azul) em resorufina (vermelho fluorescente) por mitocôndrias vivas. Para isso, 40 µL de solução de resazurina foram adicionados a cada poço, e as placas foram incubadas por 6 horas a 37 °C e 5% CO₂. A atividade metabólica foi medida pela fluorescência dos poços utilizando o leitor de placas SpectraMAX Gemini EM (Molecular Devices Corp., Sunnyvale, CA) com $\lambda_{\text{excitação}} = 560 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{emissão}} = 590 \text{ nm}$. A concentração citotóxica 50% (CC₅₀^{HepG2}), que indica a concentração do composto que causa 50% de inibição

do crescimento celular, foi determinada por análise de regressão não-linear da curva concentração-resposta, gerada pelo software GraphPad Prism.

5. CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi realizada com êxito a síntese, purificação e caracterização de uma série de derivados de di(2-piridil)piperazinas planejados como potenciais agentes antimaláricos. O estudo contemplou a obtenção do *hit-1* e de novos análogos com modificações estruturais estratégicas nos fragmentos heteroaromático, arilamínico e no núcleo central. As metodologias sintéticas empregadas, que incluíram reações de S_NAr , redução de grupos nitro e reações de amidações, permitiram a obtenção dos compostos finais com rendimentos satisfatórios. Notadamente, a utilização de reagentes de acoplamento EDC e HOBt demonstrou ser a condição mais robusta para a funcionalização da porção amídica, garantindo a pureza necessária para os ensaios biológicos. A avaliação da atividade biológica contra a cepa 3D7 de *P. falciparum* confirmou a relevância do *hit-1* como protótipo para o planejamento molecular. A análise de SAR revelou que a natureza dos substituintes impacta diretamente a eficácia e a seletividade. No fragmento tiofênico, a substituição bioisostérica do anel heteroaromático por núcleos furânicos (**7b**) e oxazólicos (**7e**) mostrou-se a estratégia mais adequada, indicando que a presença de átomos de oxigênio em anéis de cinco membros preserva a afinidade pelo alvo biológico. Em contraste, a introdução de sistemas multinitrogenados polares ou anéis de seis membros sem substituintes específicos resultou, de modo geral, em perdas de potência. No fragmento arilamínico, as séries **6** e **9** forneceram resultados contrastantes. O derivado **9a** apresentou atividade comparável ao protótipo ($IC_{50} = 3,0 \pm 1,0 \mu M$), porém, a sua elevada lipofilicidade teórica ($cLogP = 5,07$) correlacionou-se a uma citotoxicidade acentuada em células HepG2, resultando em baixo índice de seletividade. Por outro lado, o composto **6c** consolidou-se como um intermediário, conciliando uma potência adequada e com um perfil de segurança robusto, demonstrando que provavelmente o equilíbrio lipofílico nesta região é crucial para dissociar a atividade antiparasitária da toxicidade inespecífica. Contudo, o avanço mais significativo deste trabalho residiu na exploração do núcleo central. A flexibilização através da abertura do anel piperazínico provou ser tolerada, mas foi a expansão para o sistema de homopiperazina de sete membros que determinou o sucesso do projeto. Diferentemente das expectativas iniciais, a série **13** revelou o derivado **13b** como o composto mais promissor, apresentando uma boa potência ($IC_{50} = 0,6 \pm 0,05 \mu M$) e o maior índice de seletividade do estudo ($IS > 166$). Este resultado comprova que a maior flexibilidade conformacional do anel de diazepano favorece interações mais eficazes com o alvo biológico, superando as limitações do anel piperazínico original. Em suma, o trabalho mapeou com precisão os requisitos

estruturais para a otimização desta classe química, promovendo a evolução de um do *hit-1* para o derivado otimizado **13b**, estabelecendo continuidade da pesquisa, que deve agora evoluir para ensaios com cepas mais resistentes e estudos *in vivo* em modelos, além da elucidação do perfil farmacocinético (ADME) desse composto, para avaliar sua estabilidade metabólica e biodisponibilidade oral e a confirmação de sua lipofilicidade calculada (cLogP = 3,77). Posteriormente, a elucidação do mecanismo de ação e a síntese de uma segunda geração de análogos com otimizações no *linker* central são etapas fundamentais para validar o potencial do **13b** como um candidato clínico promissor no combate à malária.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA EUROPEIA DE MEDICAMENTOS (EMA). **Autorização de comercialização**. [s.d.]. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory-overview/marketing-authorisation>. Acesso em: 16 jan. 2026.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Manual para submissão de processos de pesquisa clínica (DDCM/DEEC)**. 2025. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/ptbr/assuntos/medicamentos/pesquisaclinica/arquivos/manual_para_submissao_de_ddcm_e_deec_24-02-25.pdf. Acesso em: 13 jan. 2026.

ANTONOVA-KOCH, Y. et al. **Open-source discovery of chemical leads for next-generation chemoprotective antimalarials**. *Science*, v. 362, n. 6419, eaat9446, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aat9446>.

ASHLEY, E. A. et al. **Spread of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria**. *New England Journal of Medicine*, v. 371, n. 5, p. 411-423, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1314981>.

BAKER, D. A. **Malaria gametocytogenesis**. *Molecular and Biochemical Parasitology*, v. 172, n. 2, p. 57-65, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2010.03.019>.

CADDICK, S. et al. **A generic approach for the catalytic reduction of nitriles**. *Tetrahedron*, v. 59, n. 29, p. 5417–5423, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(03\)00858-5](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(03)00858-5).

CASA DAS CIÊNCIAS. **Como criar um novo fármaco**. [s.d.]. Disponível em: <https://rce.casadasciencias.org/rceapp/art/2020/020/>. Acesso em: 14 jan. 2026.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **DPDx: Malaria**. 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/malaria/index.html>. Acesso em: 15 jan. 2026.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S. **Organic chemistry**. 2. ed. Oxford: Oxford University Press, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1093/hesc/9780199270293.001.0001>.

CURSAU EDUCAÇÃO. **Ciclo biológico da malária**. 2023. Disponível em: cursaueducacao.com.br/blog/ciclobiologicodamalaria/#:~:text=Em%20suma%2C%20o%20ciclo%20biol%C3%B3gico,e%20a%20fase%20de%20transmiss%C3%A3o. Acesso em: 16 jan. 2026.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. **SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules**. *Scientific Reports*, v. 7, art. 42717, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep42717>.

DONDORP, A. M. et al. **Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria**. *New England Journal of Medicine*, v. 361, n. 5, p. 455-467, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0808859>.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Step 3: Clinical research. 2018. Disponível em: <https://www.fda.gov/patients/drug-development-process/step-3-clinical-research>. Acesso em: 17 jan. 2026.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). New Drug Application (NDA). 2022. Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/types-applications/new-drug-application-nda>. Acesso em: 17 jan. 2026.

FRANÇA, T. C. C. et al. **Malária: aspectos históricos e quimioterapia**. *Química Nova*, v. 31, n. 5, p. 1271–1278, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000500060>.

GUIDO, Rafael V. C. et al. **Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas**. *Estudos Avançados*, São Paulo, v. 24, n. 70, p. 81-98, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-40142010000300006>.

GUIDO, Rafael V. C.; ANDRICOPULO, Adriano D. **Modelagem Molecular de Fármacos**. *Revista Processos Químicos*, São Paulo, v. 2, n. 4, p. 24-36, 1 jul. 2008. *Revistas Processos Químicos*. DOI: <https://doi.org/10.19142/rpq.v2i4.66>.

HUDLICKY, M. **Reductions in organic chemistry**. Chichester: Ellis Horwood, 1984.

HUGHES, J. P. et al. **Principles of early drug discovery**. *British Journal of Pharmacology*, v. 162, n. 6, p. 1239–1249, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.01127.x>.

INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION (ICH). **M3(R2): Nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals**. 2010. Disponível em: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/m3r2-nonclinical-safety-studies-conduct-human-clinical-trials-and-marketing-authorization>. Acesso em: 18 jan. 2026.

INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION (ICH). **E6(R2): Good Clinical Practice (Integrated addendum)**. 2016. Disponível em: https://database.ich.org/sites/default/files/E6_R2_Addendum.pdf. Acesso em: 18 jan. 2026.

KATZUNG, Bertram G.; TREVOR, Anthony J. (org.). **Farmacologia básica e clínica**. 15. ed. Porto Alegre: Artmed, 2021.

KESERÜ, G. M.; MAKARA, G. M. **The influence of lead discovery strategies on the properties of drug candidates**. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 5, n. 3, p. 203–212, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrd2796>.

KINFU, G. et al. **Therapeutic efficacy of artemether–lumefantrine for the treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in North-West Ethiopia**. *Malaria Research and Treatment*, v. 2012, art. 548710, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/548710>.

LALLOO, D. G. et al. **UK malaria treatment guidelines 2016**. *Journal of Infection*, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2016.02.001>.

LAMBRÓS, C.; VANDERBERG, J. P. **Synchronization of *Plasmodium falciparum* erythrocytic stages in culture**. *The Journal of Parasitology*, v. 65, n. 3, p. 418–420, 1979. DOI: <https://doi.org/10.2307/3280287>.

LEESON, Paul D.; SPRINGTHORPE, Brian. **The influence of drug-like concepts on decision-making in medicinal chemistry**. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 6, n. 11, p. 881–890, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrd2445>.

LIPINSKI, Christopher A. Lipinski et al. **Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 46, n. 1-3, p. 3-26, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0).

LOMBARDINO, J. G.; LOWE, J. A. III. **The role of the medicinal chemist in drug discovery—then and now.** *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 3, n. 10, p. 853–862, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrd1523>.

MISHRA, Mitali; MISHRA, Vikash K.; KASHAW, Varsha; IYER, Arun K.; KASHAW, Sushil K. **Comprehensive review on various strategies for antimalarial drug discovery.** *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 125, p. 1300-1320, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.11.025>.

NJOROGE, M. et al. **Antimalarial drug discovery (Chemical Reviews).** *Chemical Reviews*, 2014.

OLIVEIRA, Ana. **Como criar um novo fármaco.** *Revista de Ciência Elementar*, v. 8, n. 2, 2020. DOI: <https://doi.org/10.24927/rce2020.020>.

PARISE, Eldi Vendrame. **Malária.** Divisão de Vigilância em Saúde de Palmas (DVS). Disponível em: <https://dvspalmas.wordpress.com/doencas-transmissiveis/doencas-transmissiveis-2/malaria/>. Acesso em: 26 jan. 2026.

RIDLEY, R. G. **Medical need, scientific opportunity and the drive for antimalarial drugs.** *Nature*, v. 415, p. 686–693, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1038/415686a>.

SHANKS, G. D. **Historical review: problematic malaria prophylaxis with quinine.** *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 95, n. 2, p. 269-272, 2016. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0138>.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric identification of organic compounds.** 8. ed. Hoboken: Wiley, 2014.

TAYLOR, S. M. et al. **Rethinking drug design for malaria.** *Nature Reviews Microbiology*, v. 12, n. 1, p. 29–37, 2014.

TEIXEIRA, C. et al. **Recycling classical drugs for malaria.** *Chemical Reviews*, v. 114, n. 21, p. 11164–11220, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr500123g>.

TRAGER, W.; JENSEN, J. B. **Human malaria parasites in continuous culture.** *Science*, v. 193, n. 4254, p. 673–675, 1976. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.781840>.

TUN, K. M. et al. **Spread of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* in Myanmar: a cross-sectional survey of the K13 molecular marker.** *The Lancet Infectious Diseases*, 2015. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)70032-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)70032-0).

WELLS, J. A.; KUMRU, K. **Extracellular targeted protein degradation: an emerging modality for drug discovery.** *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 23, n. 2, p. 126-140, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41573-023-00833-z>.

WHITE, N. J. ***Plasmodium falciparum* malaria.** *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 93, n. 1, 1999.

WOODROW, C. J.; WHITE, N. J. **The clinical impact of artemisinin resistance in Southeast Asia and the potential for malaria elimination.** *The Lancet Infectious Diseases*, v. 17, n. 2, p. e2–e11, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **World malaria report 2022.** Geneva: WHO, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2022>. Acesso em: 20 jan. 2026.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **World malaria report 2023.** Geneva: WHO, 2023. Disponível em: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2023>. Acesso em: 27 jan. 2026.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Malaria**. Geneva: WHO, 2025. Disponível em: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2025>. Acesso em: 27 jan. 2026.

ANEXO I - Espectros de RMN (^1H e ^{13}C) e HRMS

Figura A1 – Espectro de RMN de ^1H de **3** (400 MHz, CDCl_3)

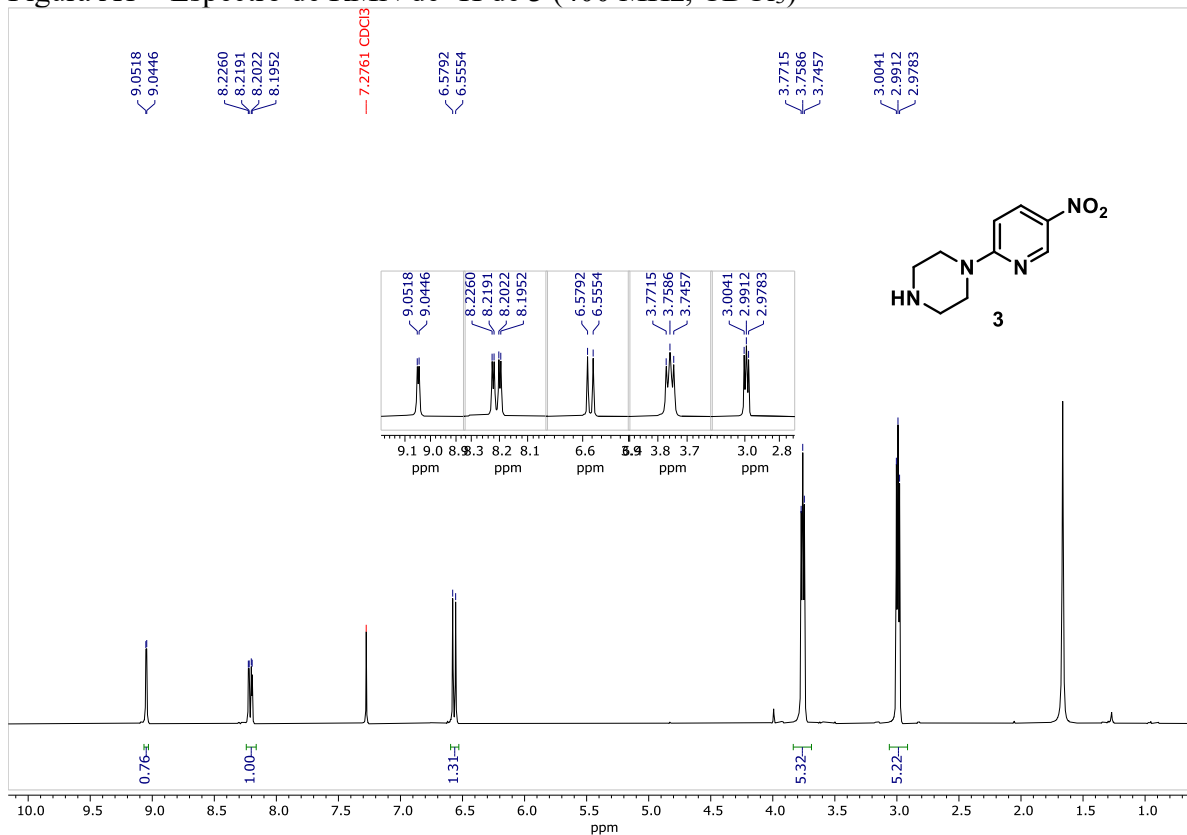


Figura A2 – Espectro de RMN de ^{13}C de **3** (101 MHz, CDCl_3)

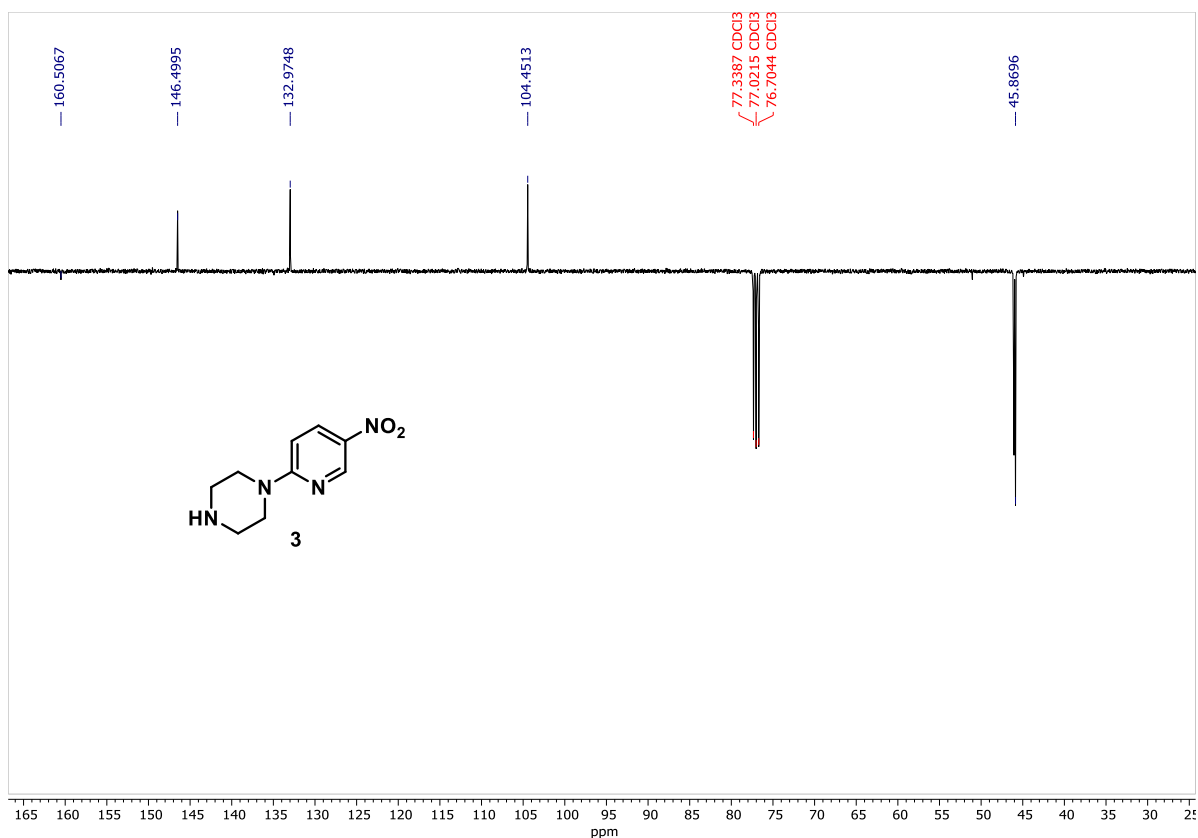


Figura A3– Espectro de RMN de ^1H de **8** (400 MHz, CDCl_3)

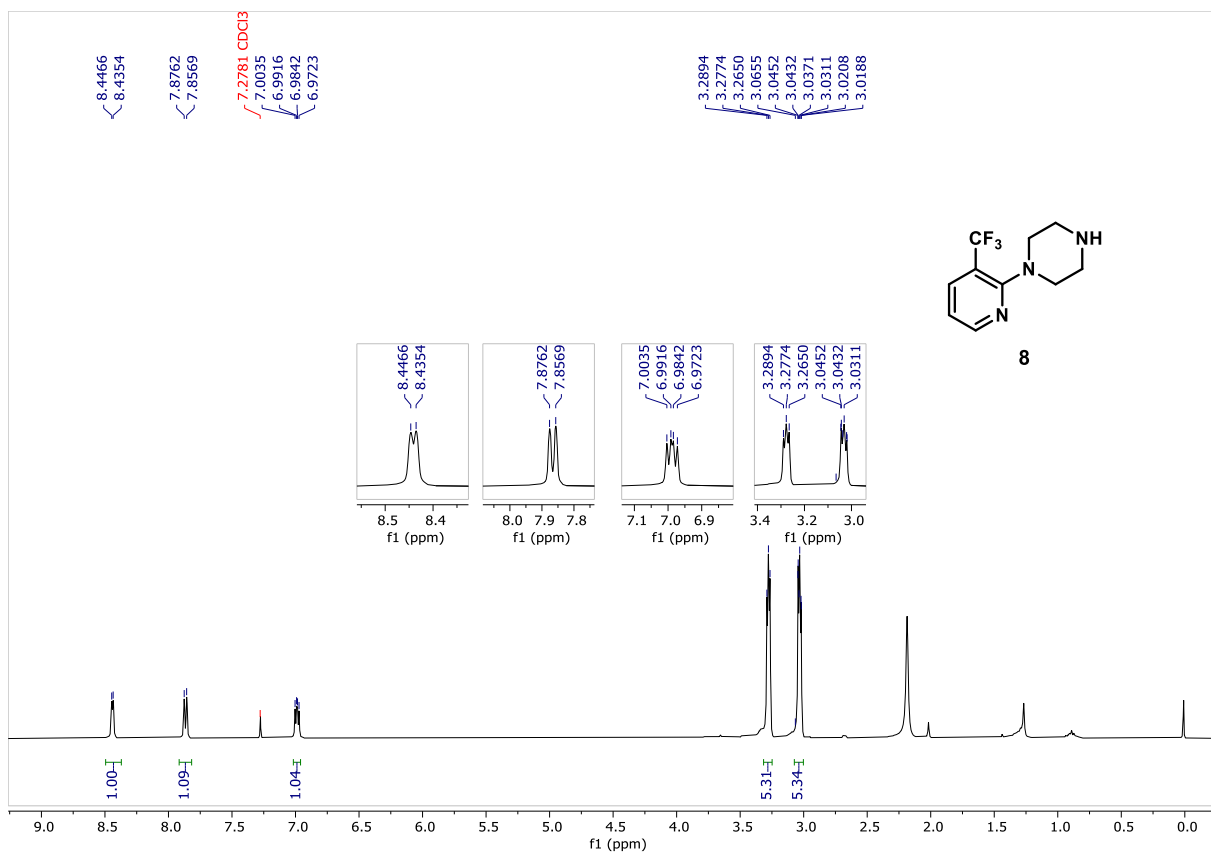


Figura A4 – Espectro de RMN de ^{13}C de **8** (101 MHz, CDCl_3)

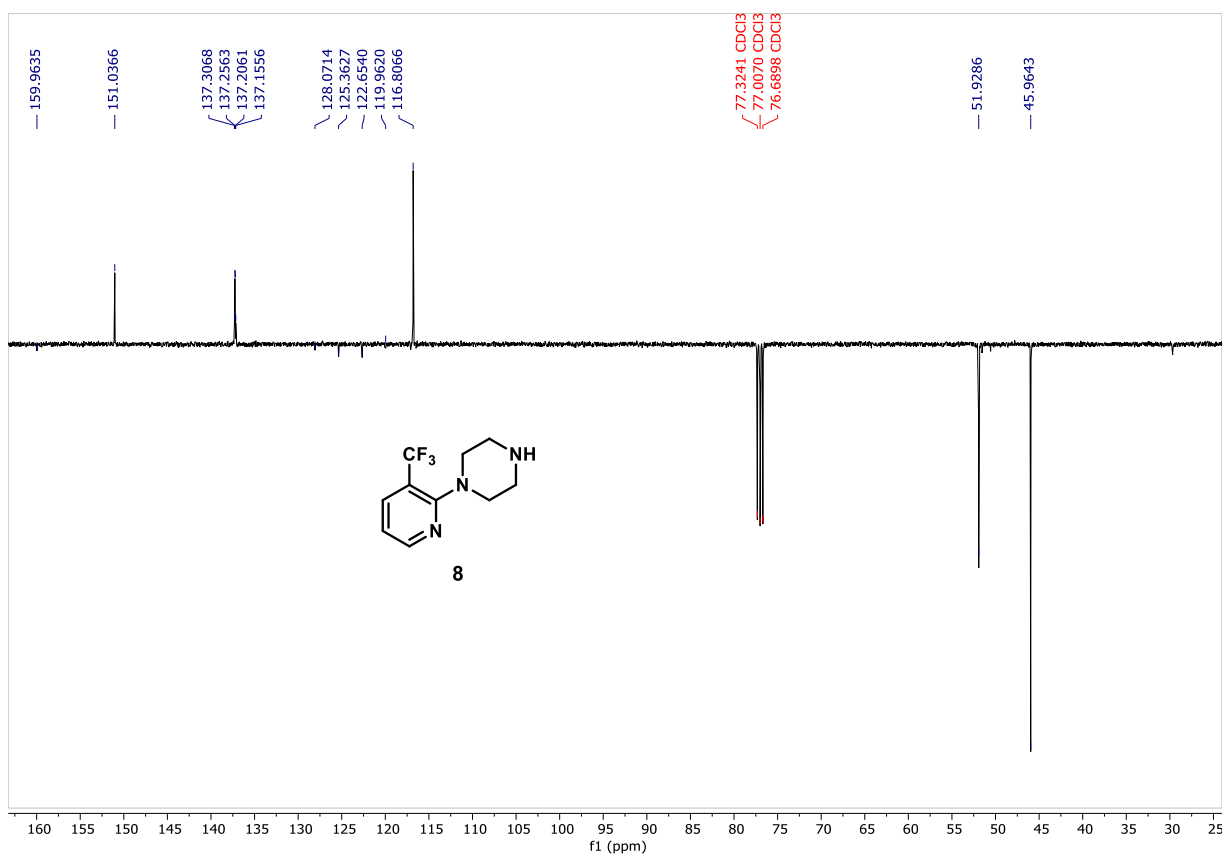


Figura A5– Espectro de RMN de ^1H de **10a** (400 MHz, CDCl_3)

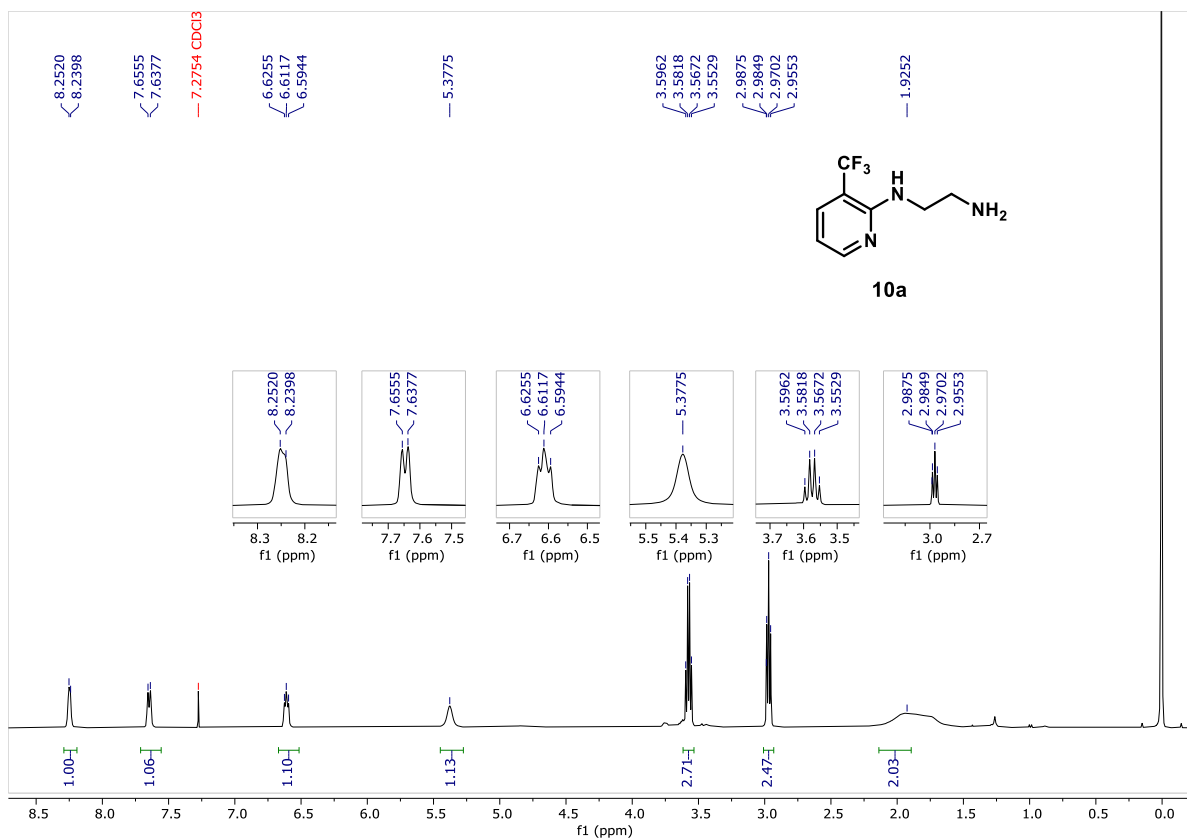


Figura A6 – Espectro de RMN de ^{13}C de **10a** (101 MHz, CDCl_3)

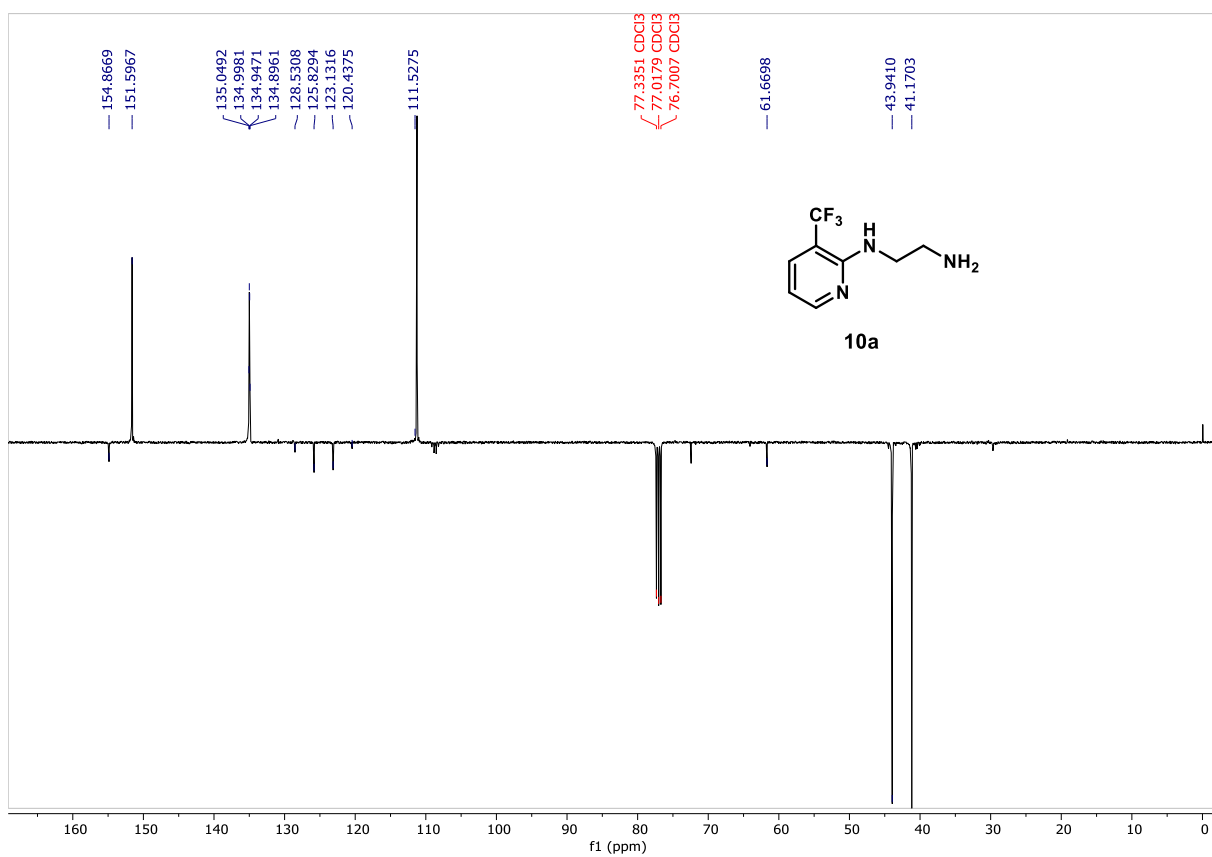


Figura A7 – Espectro de RMN de ^1H de **10b** (400 MHz, CDCl_3)

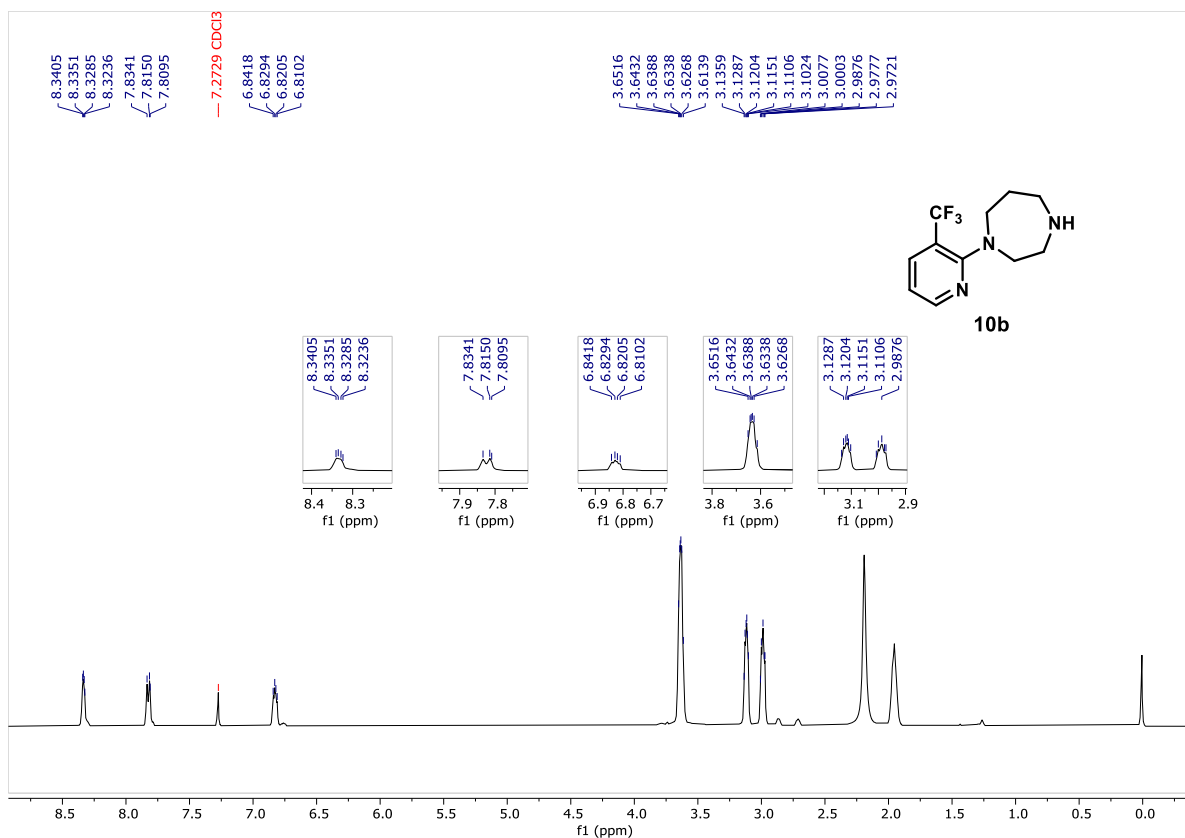


Figura A8 – Espectro de RMN de ^{13}C de **10b** (101 MHz, CDCl_3)

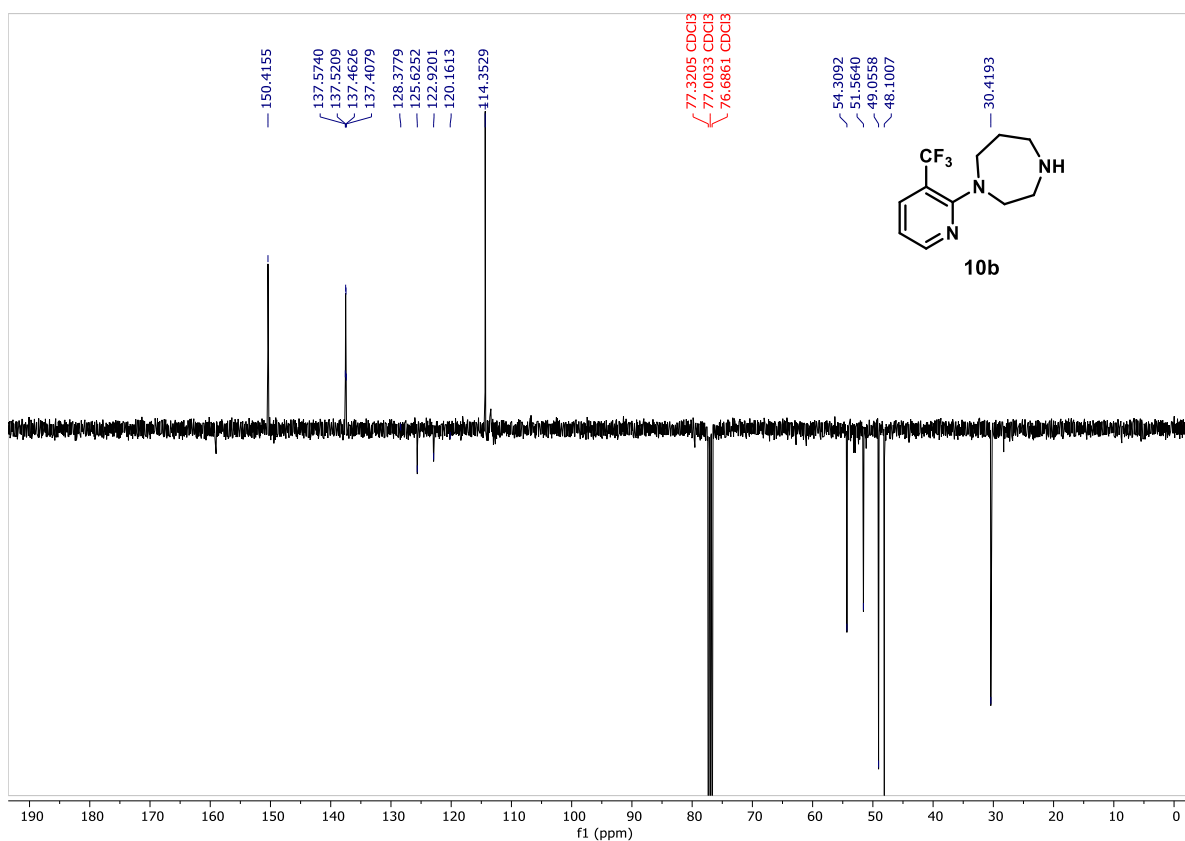


Figura A9 – Espectro de RMN de ^1H de **5** (400 MHz, CDCl_3)

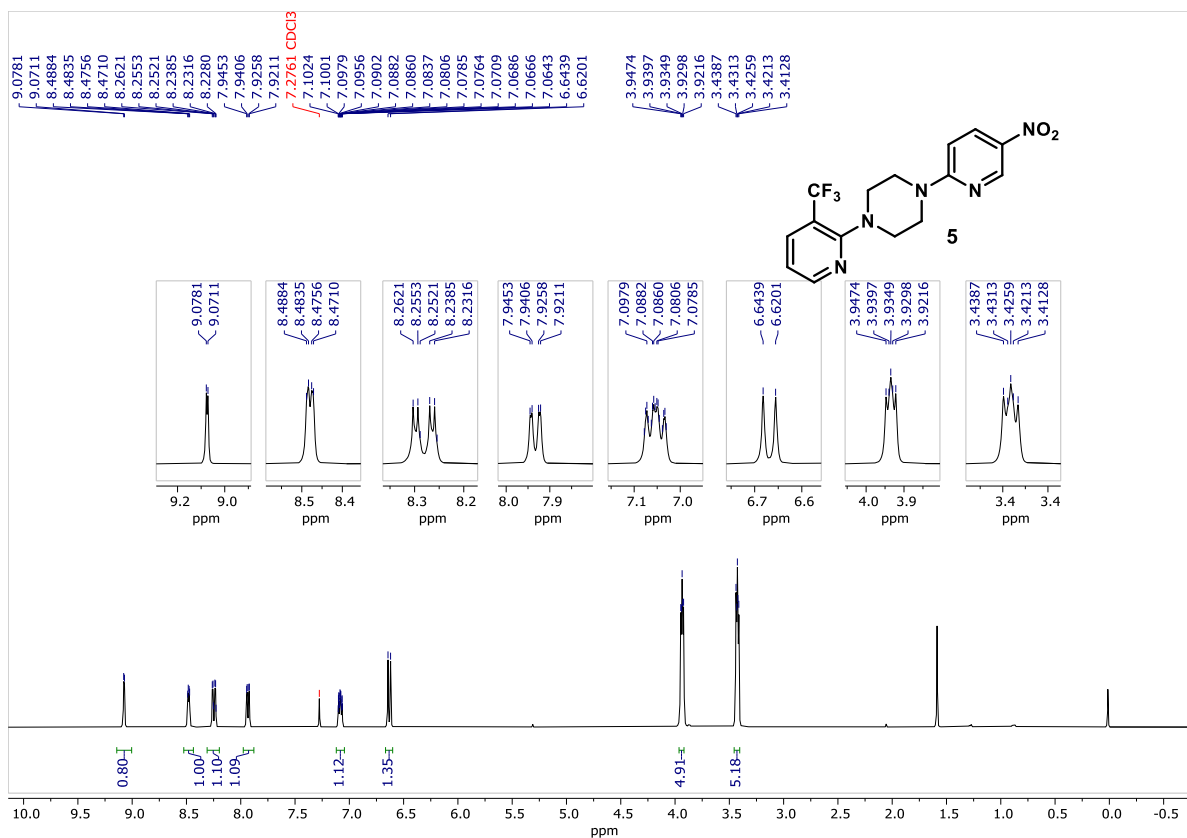


Figura A10 – Espectro de RMN de ^{13}C de **5** (101 MHz, CDCl_3)

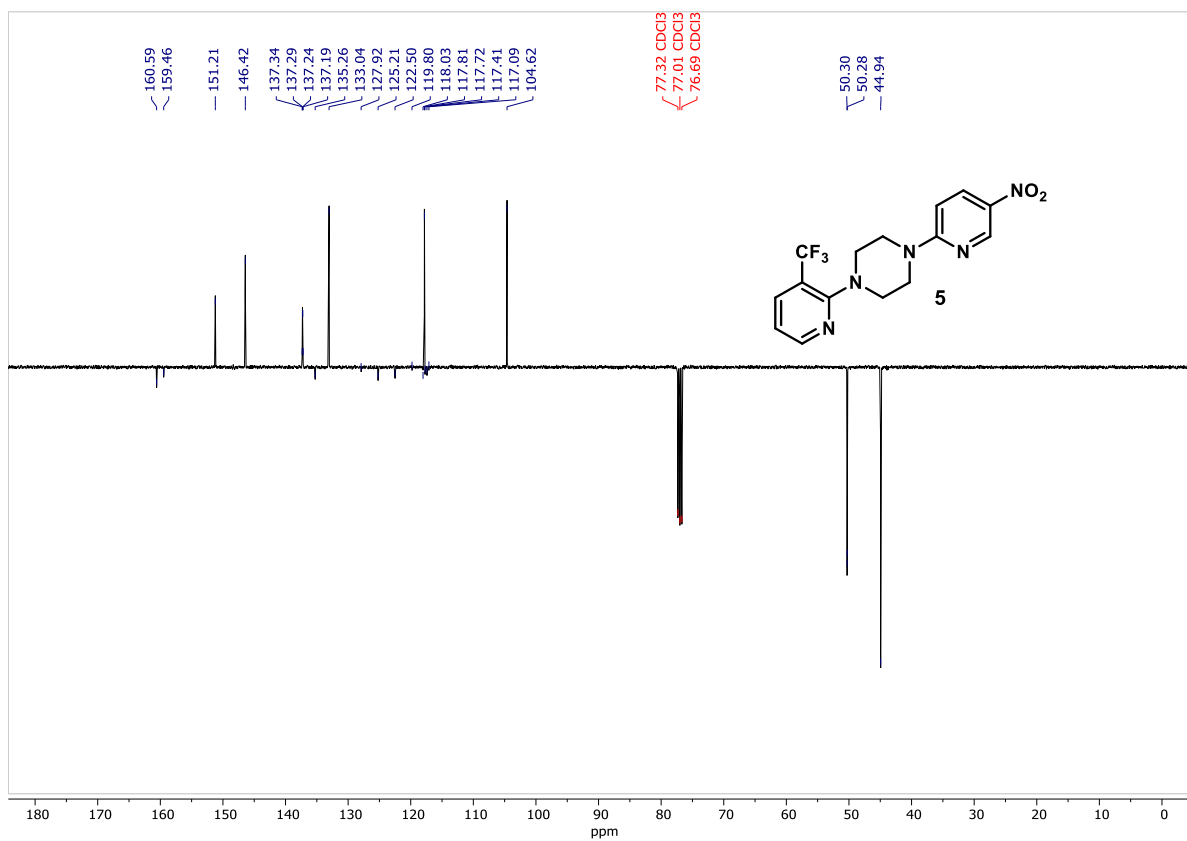


Figura A11 – Espectro de HRMS (ESI +) de **5**

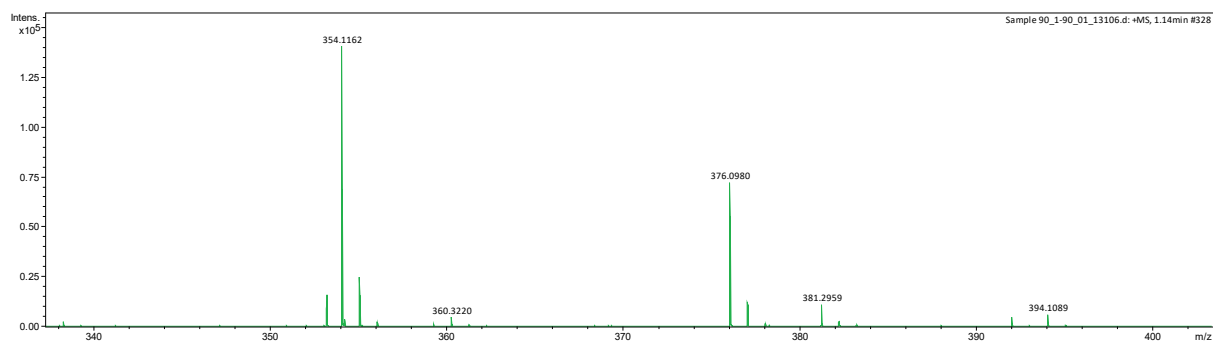


Figura A12 – Espectro de RMN de ^1H de **5a** (400 MHz, CDCl_3)

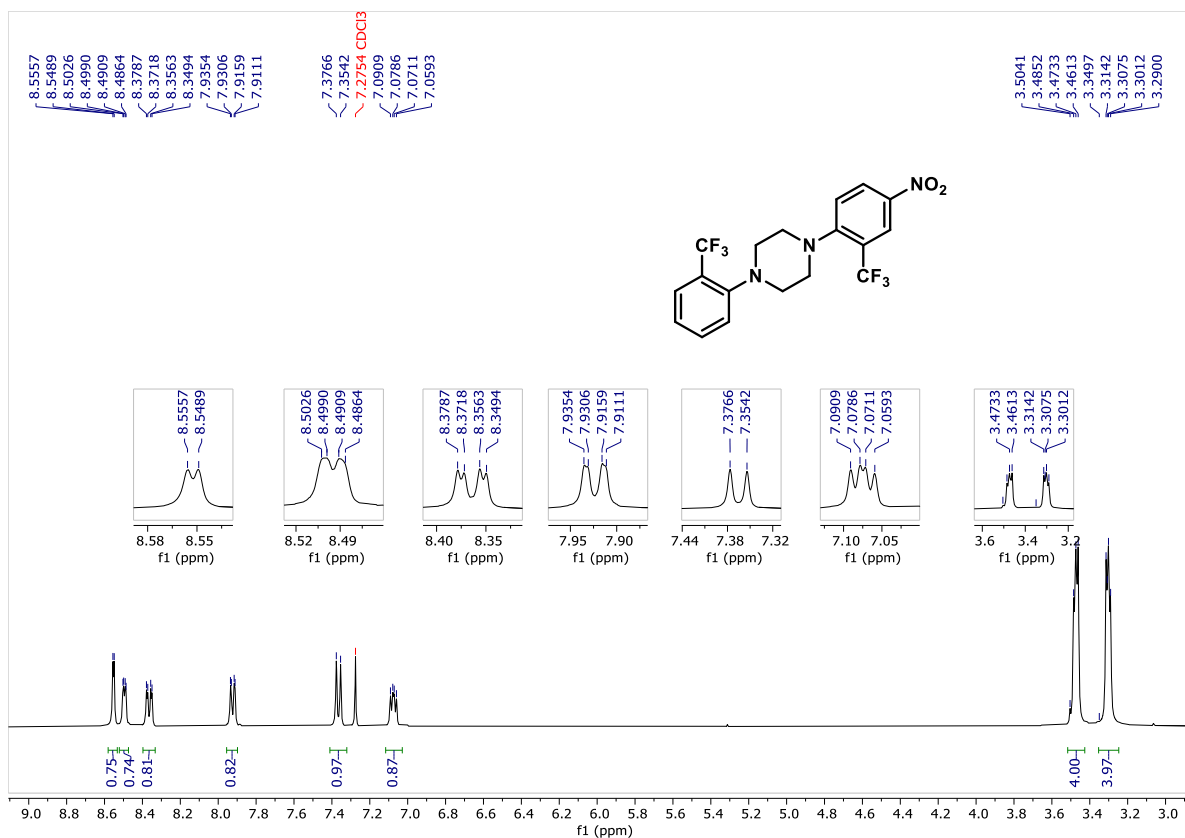


Figura A13 – Espectro de RMN de ^{13}C de **5a** (101 MHz, CDCl_3)

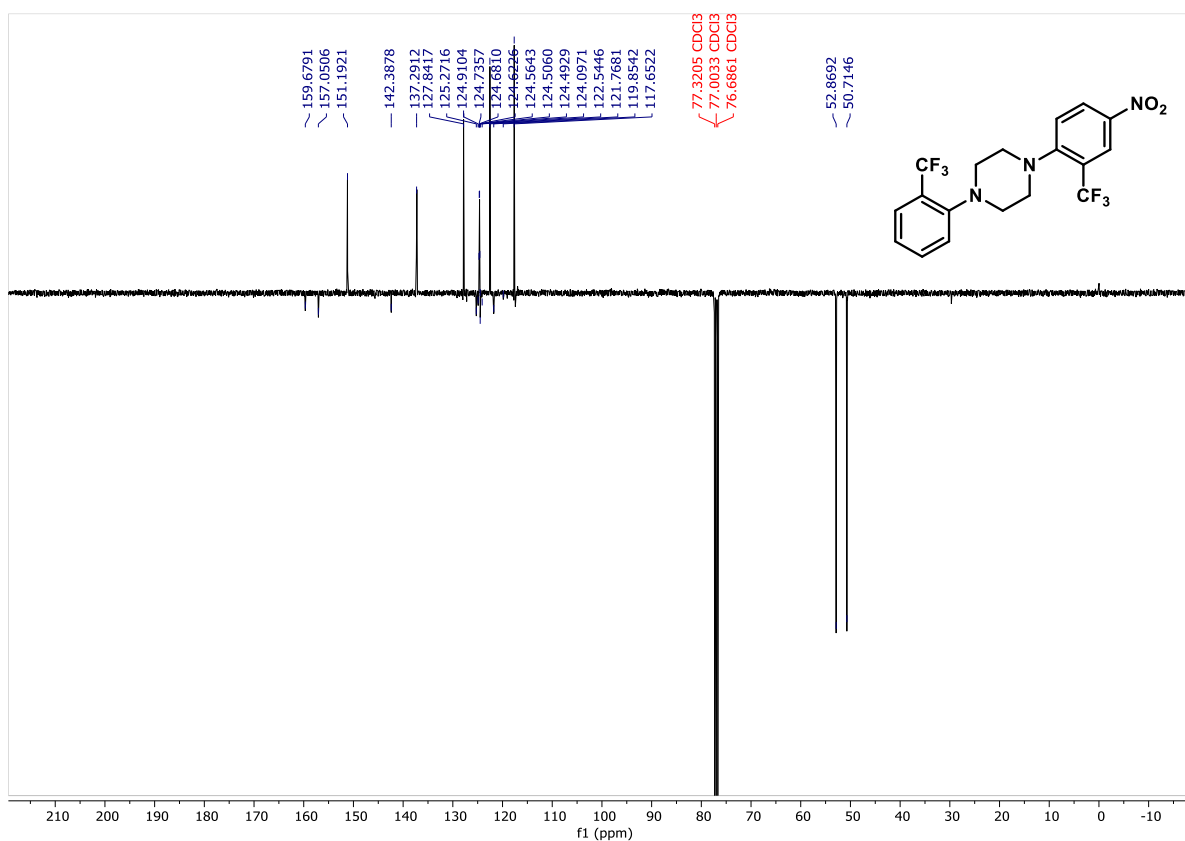


Figura A14 – Espectro de HRMS (ESI +) de **5a**

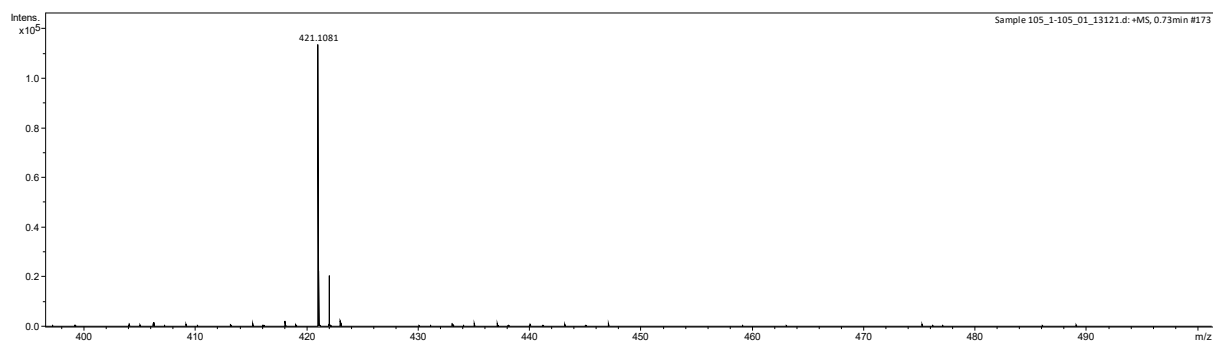


Figura A15 – Espectro de RMN de ^1H de **5b** (400 MHz, CDCl_3)

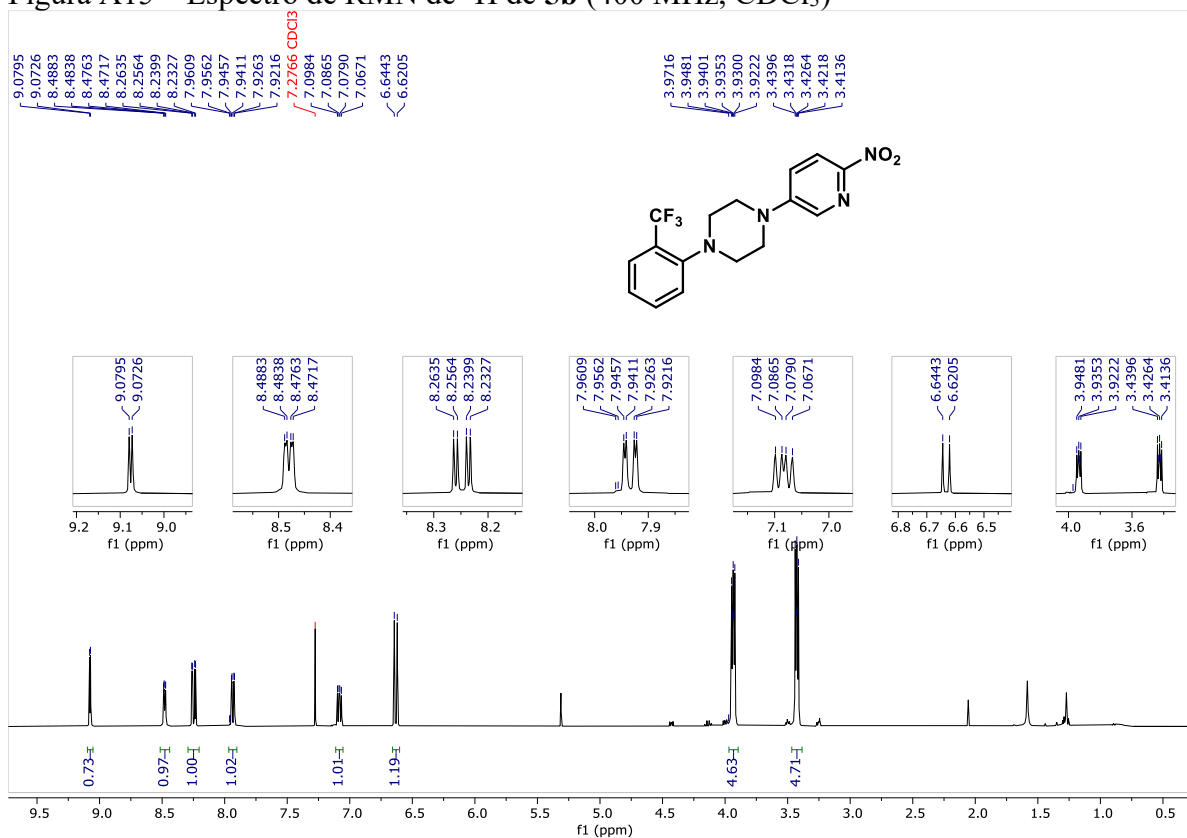


Figura A16 – Espectro de RMN de ^{13}C de **5b** (101 MHz, CDCl_3)

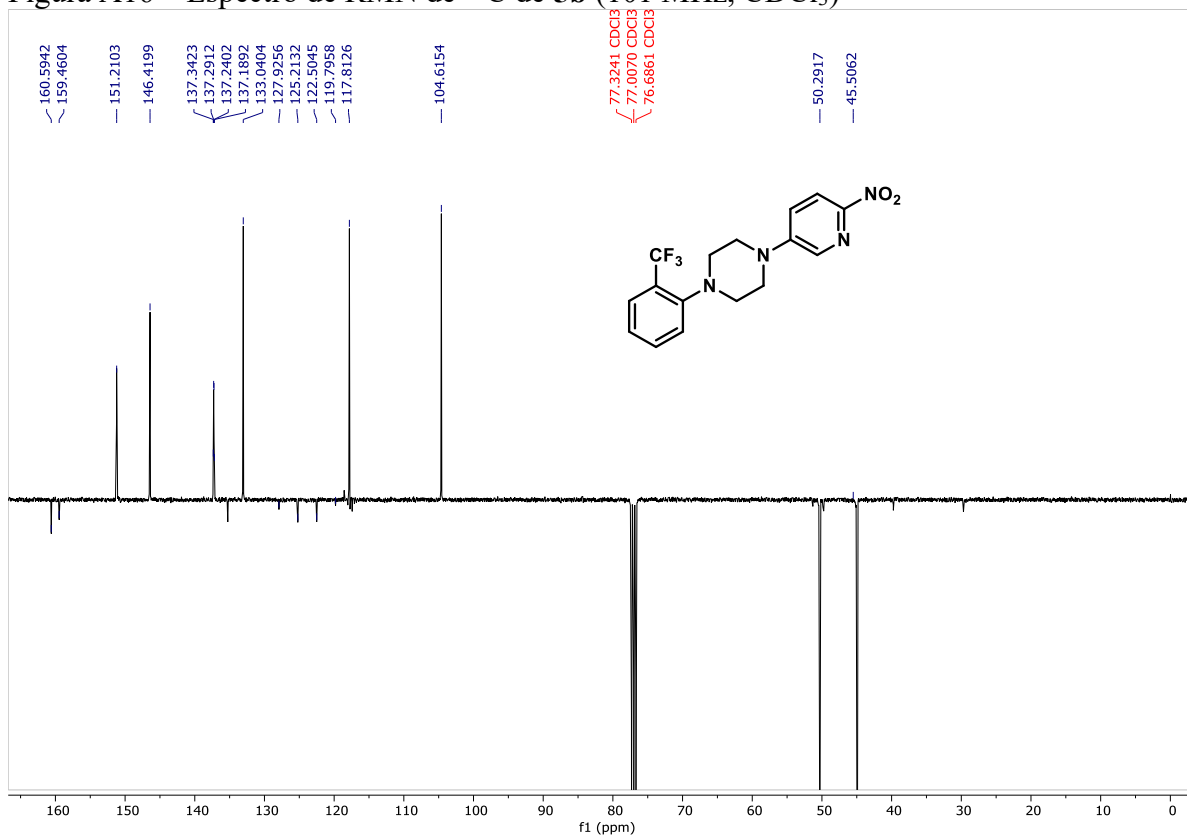


Figura A17 – Espectro de RMN de ^1H de **5c** (400 MHz, CDCl_3)

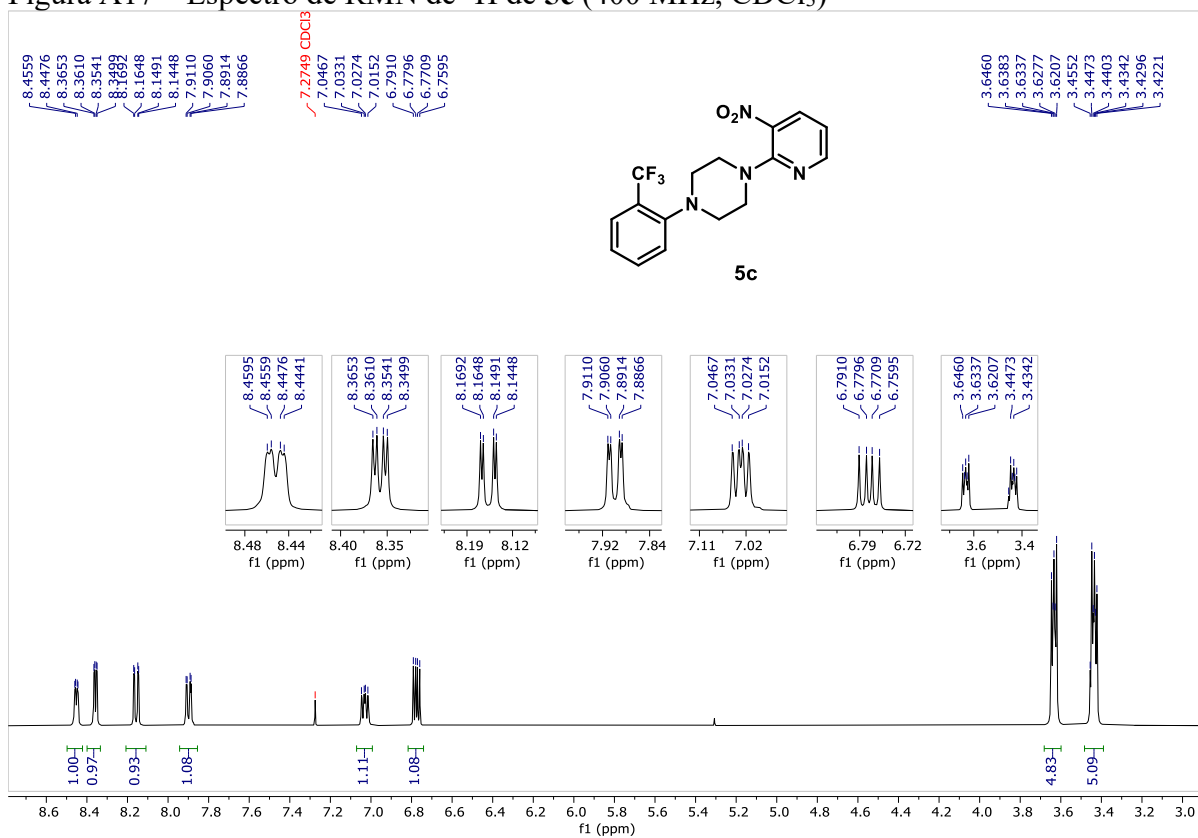


Figura A18 – Espectro de RMN de ^{13}C de **5c** (101 MHz, CDCl_3)

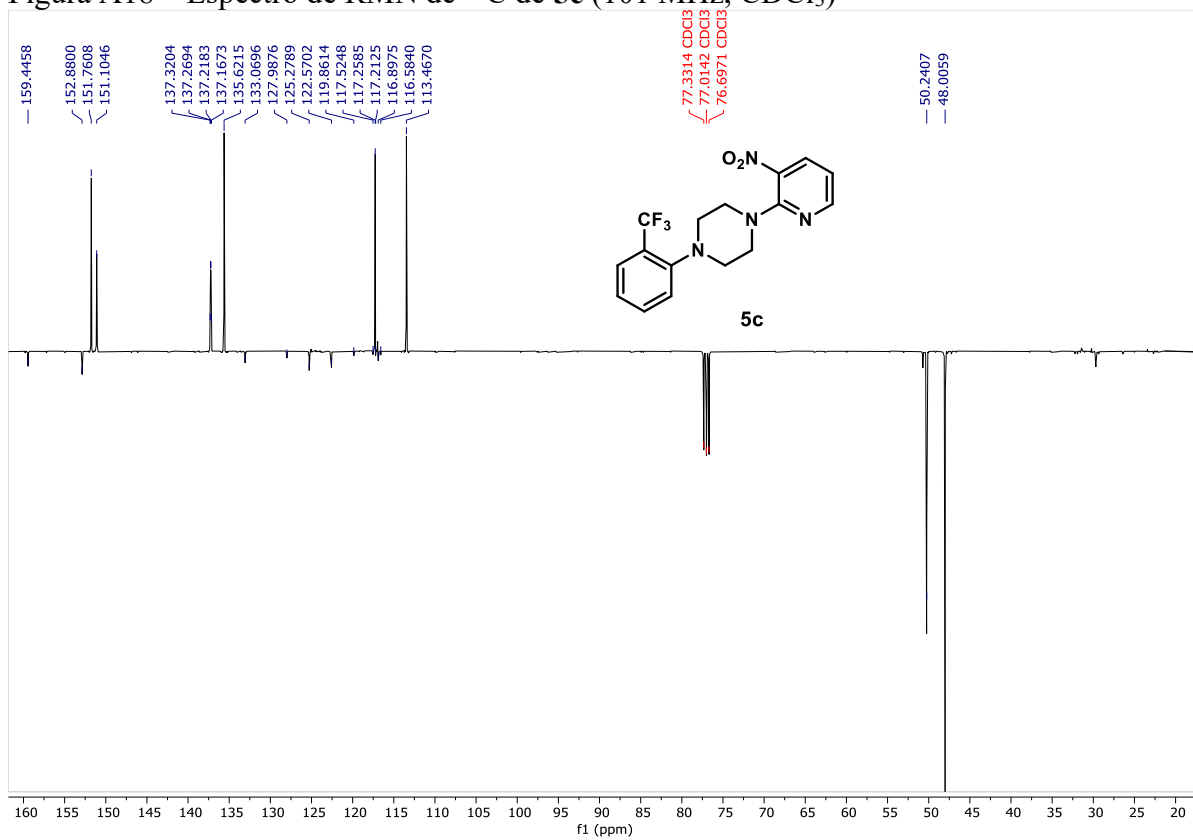


Figura A19 – Espectro de HRMS (ESI +) de **5c**

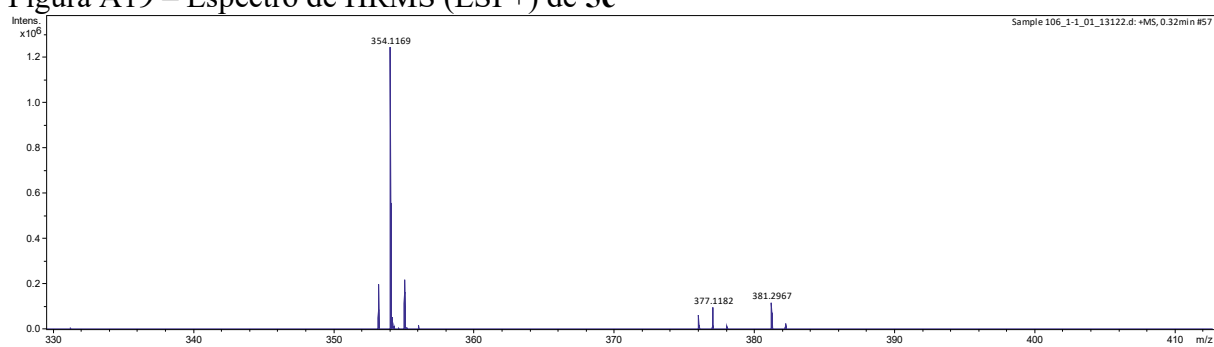


Figura A20 – Espectro de RMN de ^1H de **5d** (400 MHz, CDCl_3)

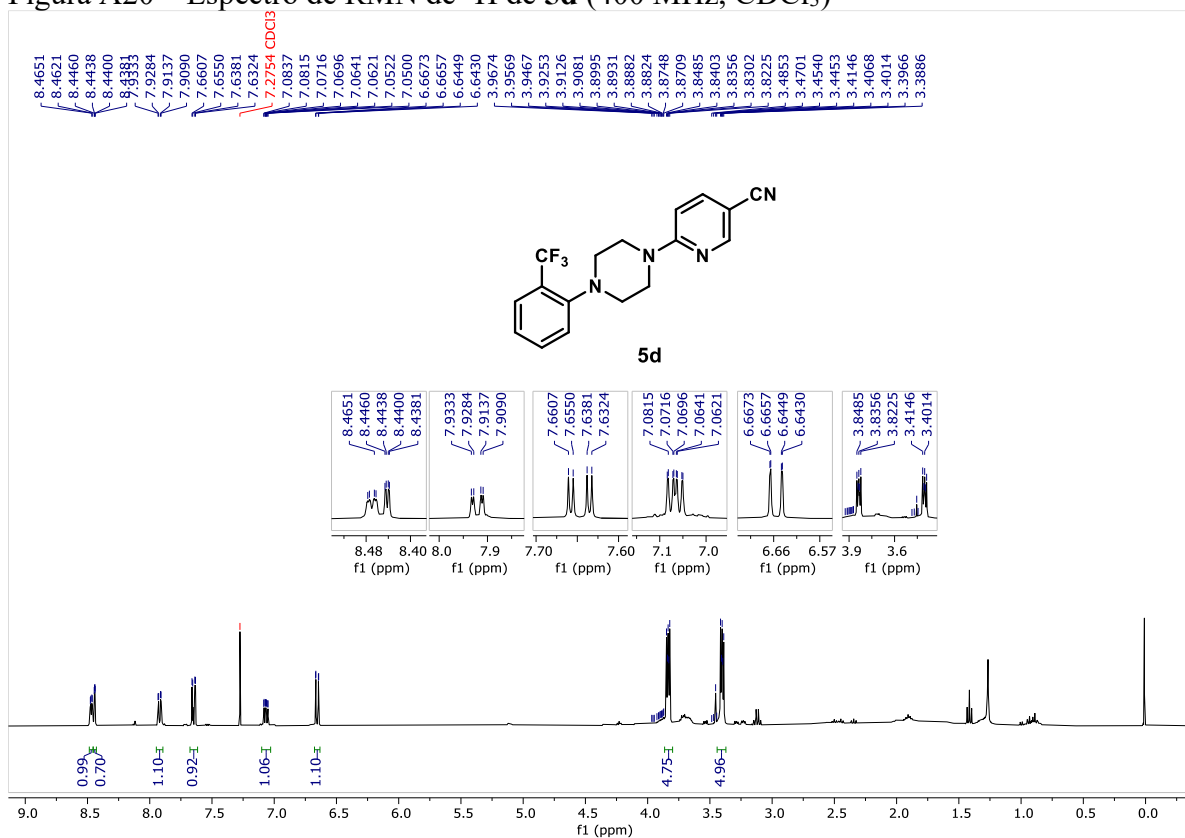


Figura A21 – Espectro de RMN de ^{13}C de **5d** (101 MHz, CDCl_3)

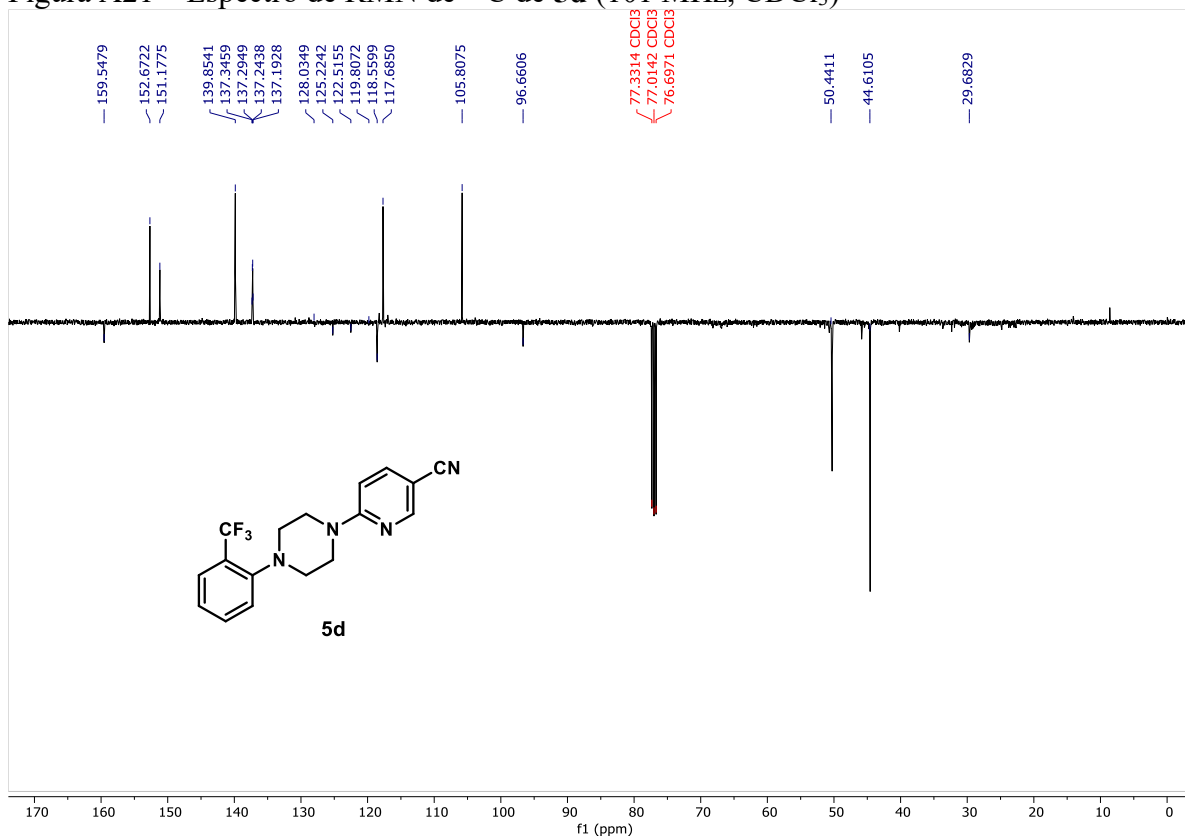


Figura A22 – Espectro de HRMS (ESI +) de **5d**

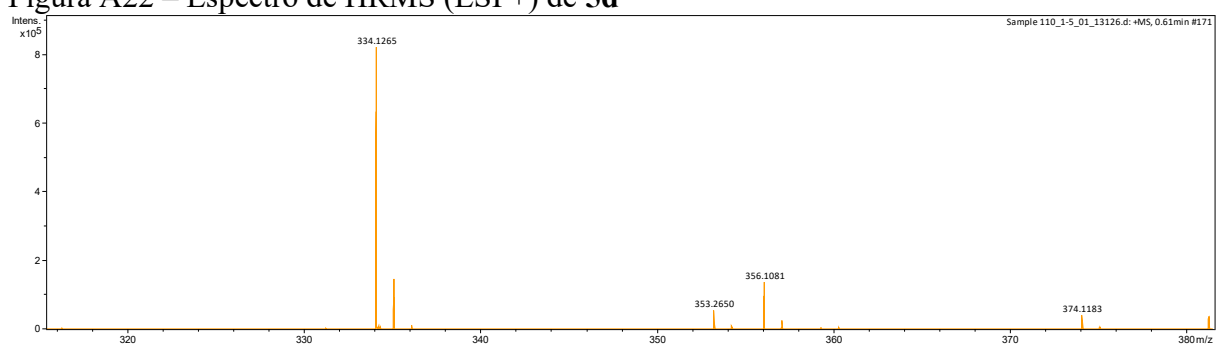


Figura A23 – Espectro de RMN de ^1H de **11a** (400 MHz, CDCl_3)

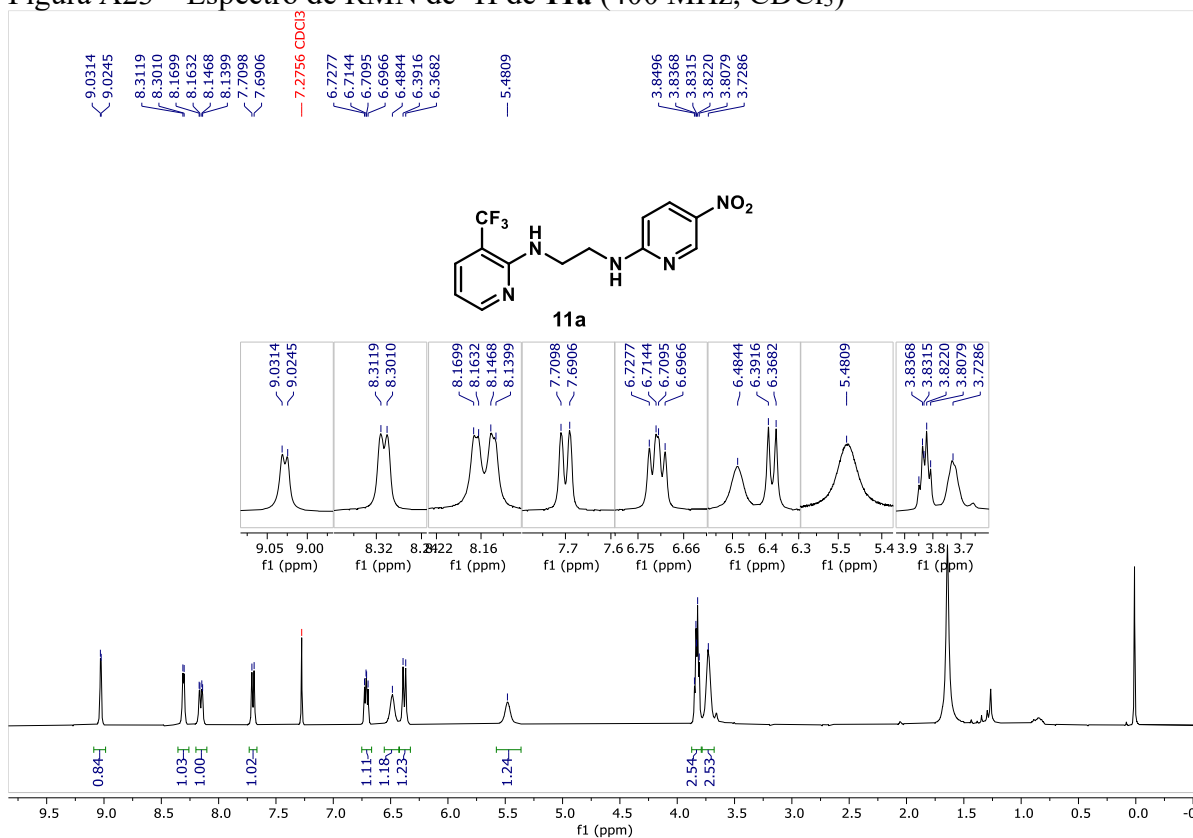


Figura A24 – Espectro de RMN de ^{13}C de **11a** (101 MHz, CDCl_3)

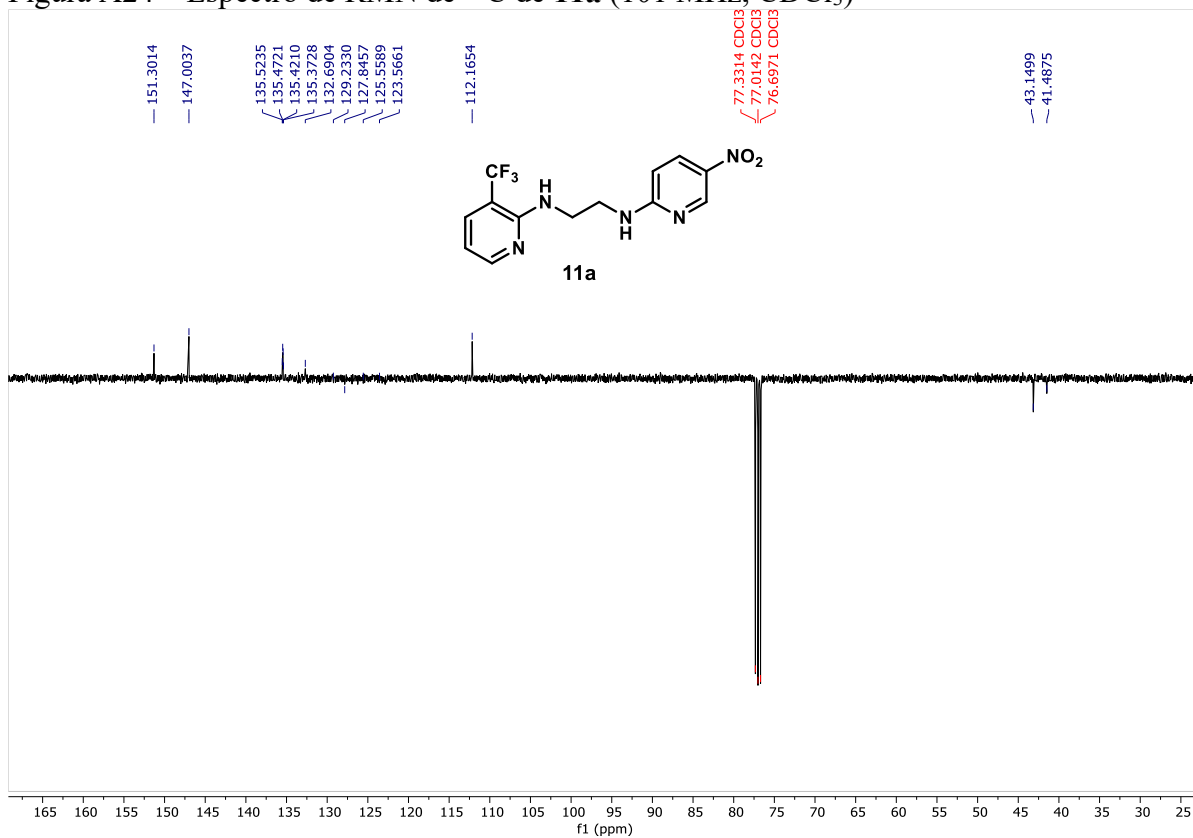


Figura A25 – Espectro de HRMS (ESI +) de **11a**

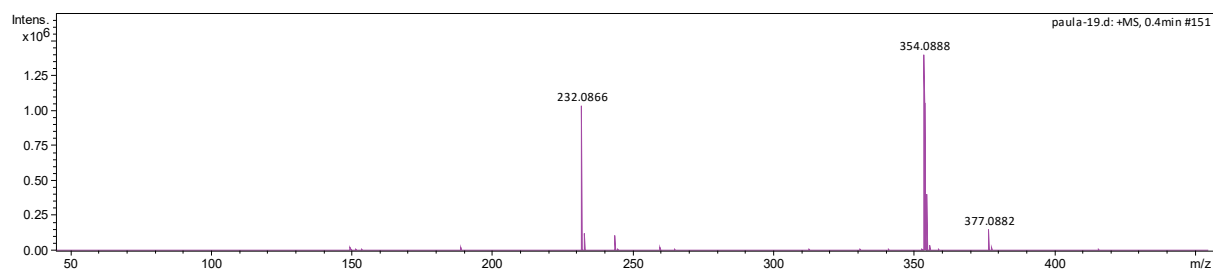


Figura A26 – Espectro de RMN de ^1H de **11b** (400 MHz, CDCl_3)

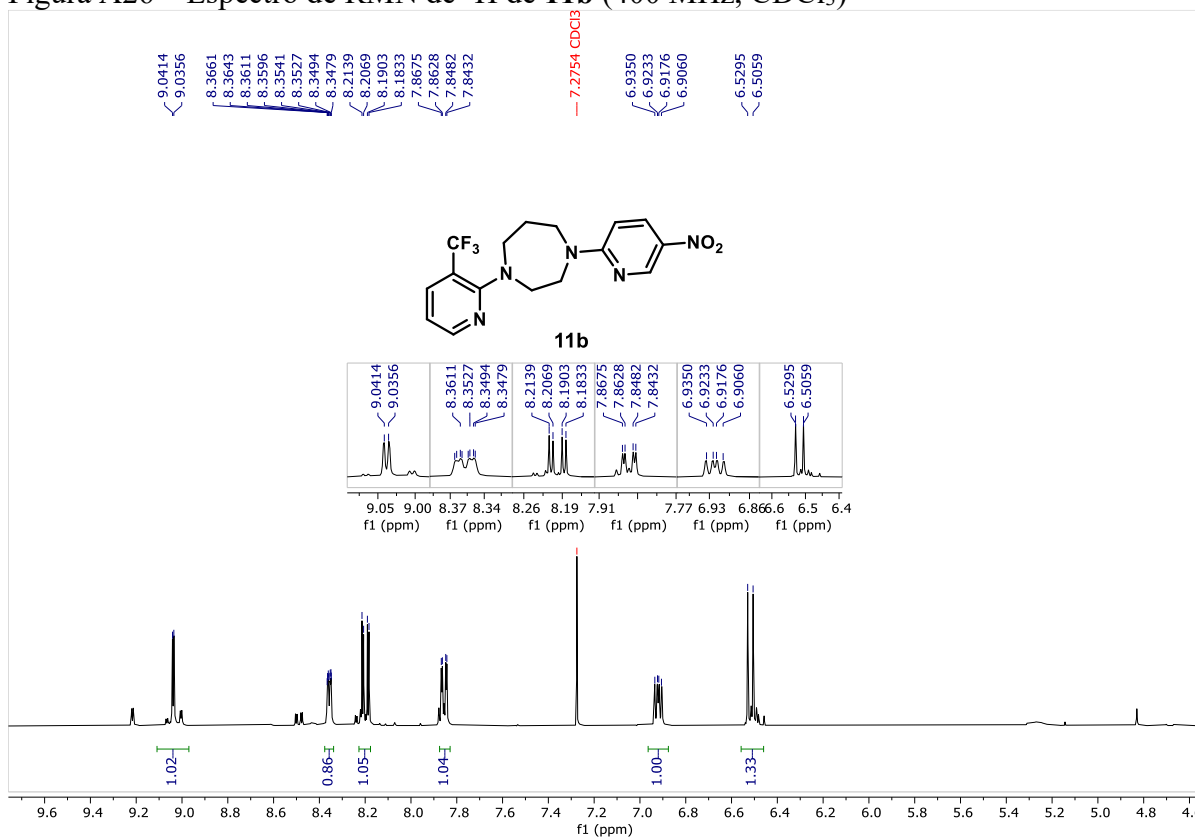


Figura A27 – Espectro de RMN de ^{13}C de **11b** (101 MHz, CDCl_3)

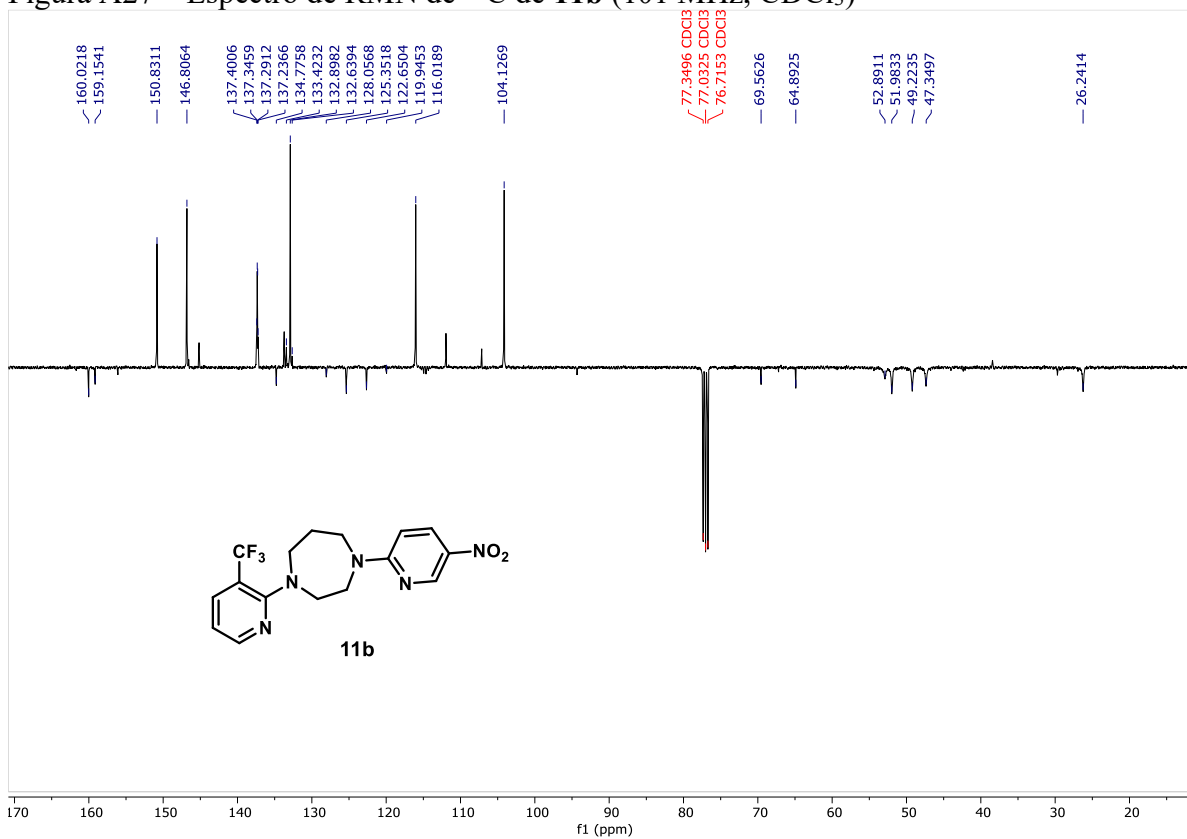


Figura A28 – Espectro de RMN de ^1H de **10c** (400 MHz, CDCl_3)

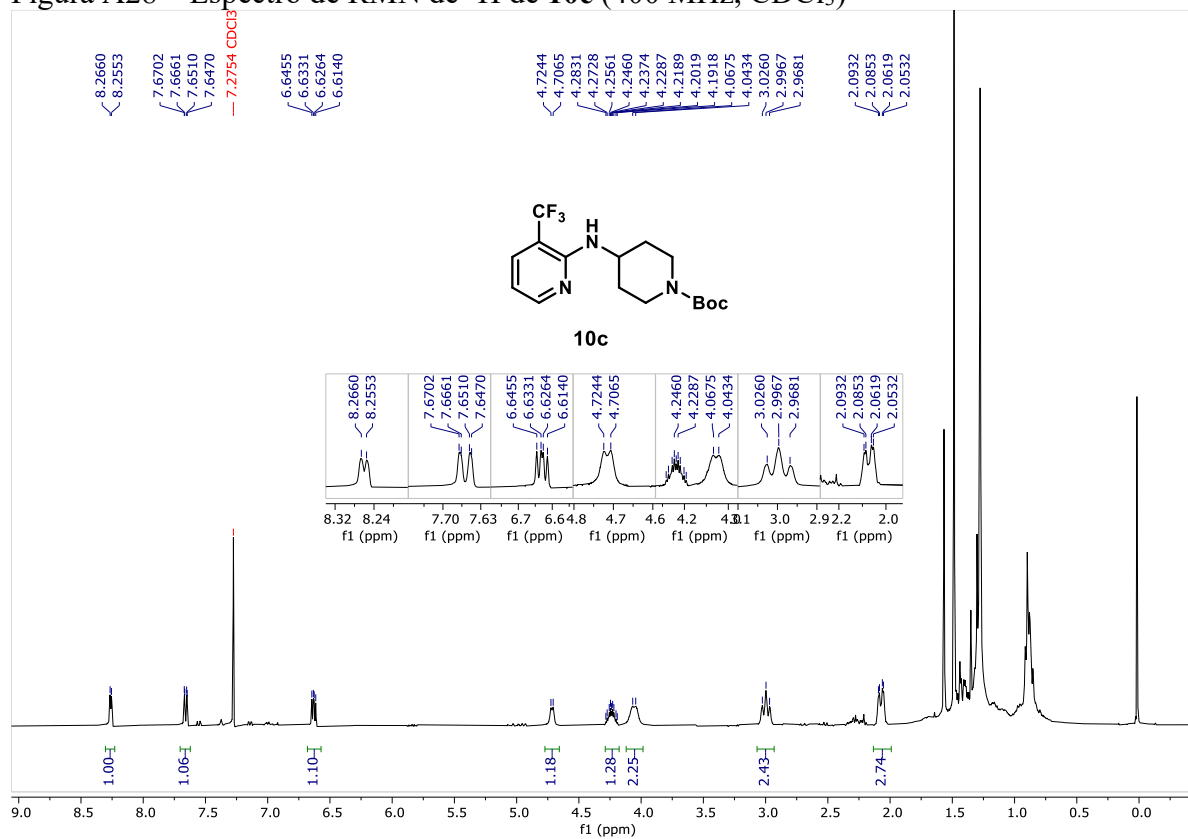


Figura A29 – Espectro de RMN de ^1H de **11d** (400 MHz, CDCl_3)

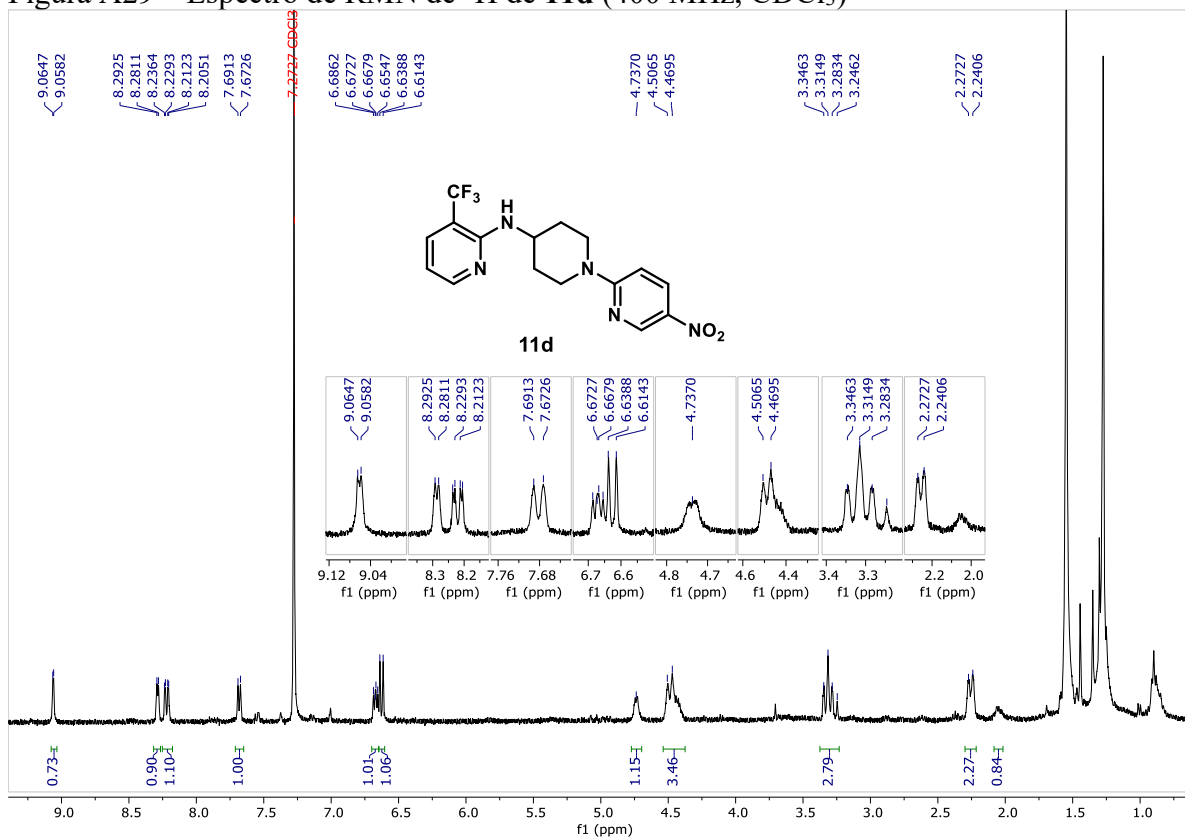


Figura A30 – Espectro de RMN de ^{13}C de **11d** (101 MHz, CDCl_3)

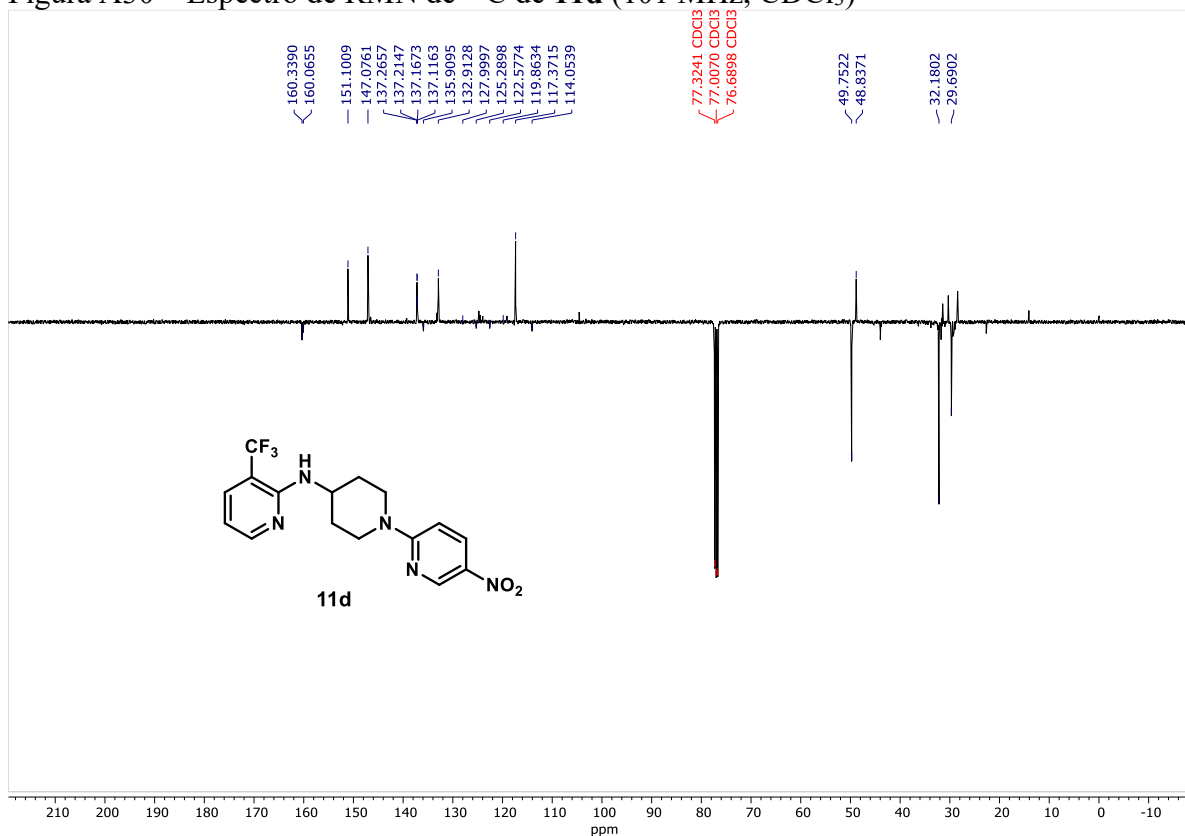


Figura A31 – Espectro de RMN de ^1H de **6** (400 MHz, CDCl_3)

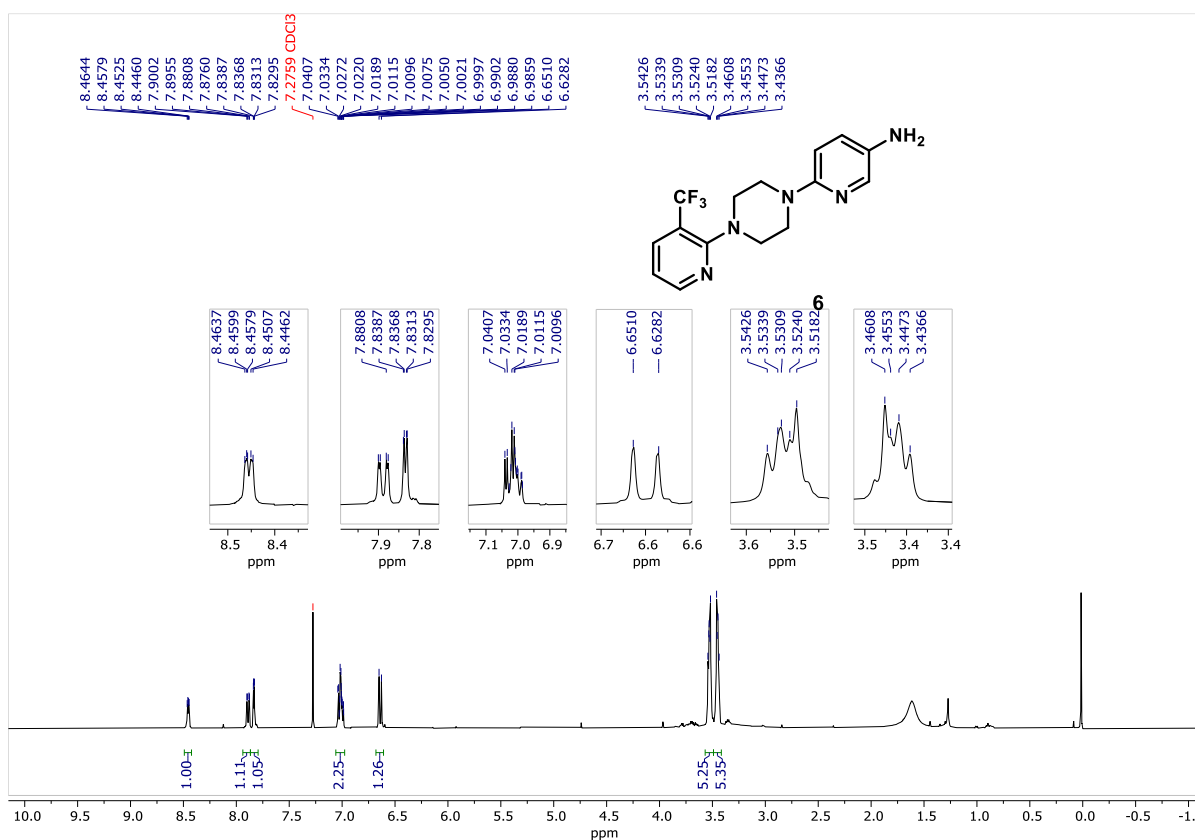


Figura A32 – Espectro de RMN de ^{13}C de **6** (101 MHz, CDCl_3)

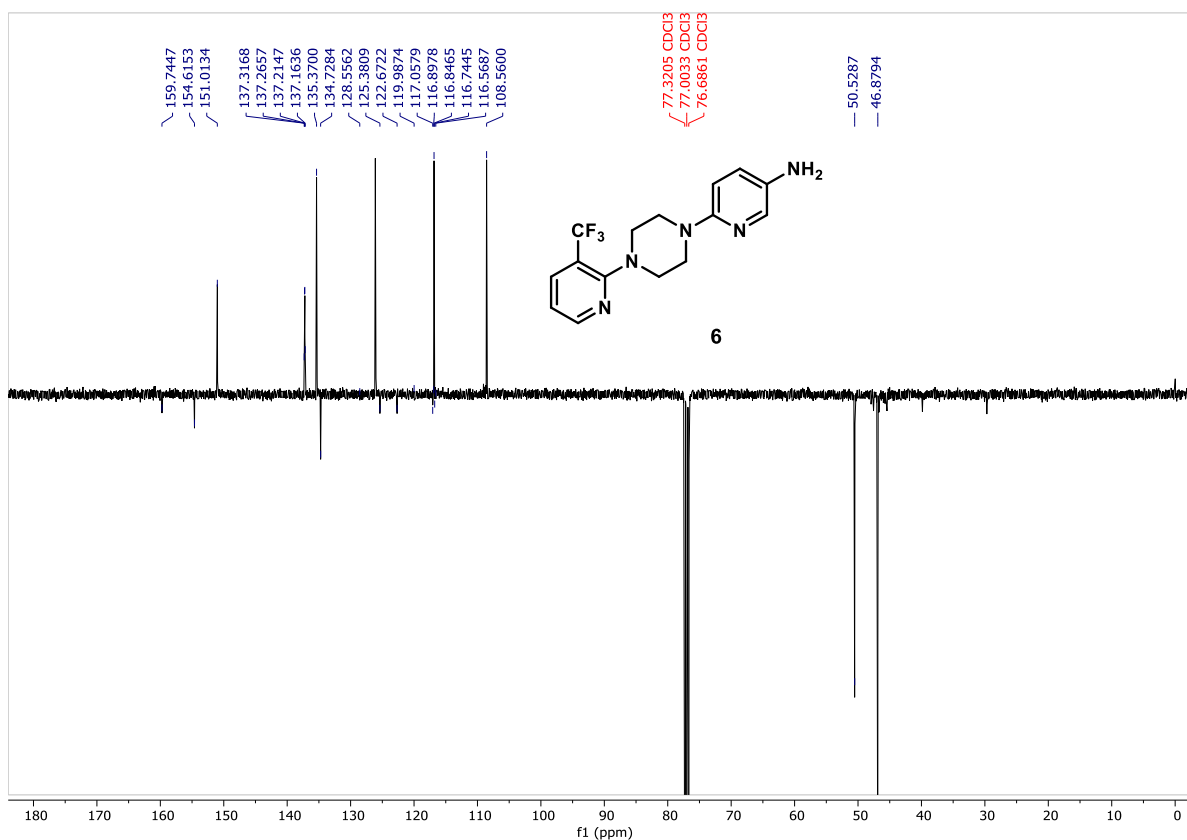


Figura A33 – Espectro de HRMS (ESI +) de **6**

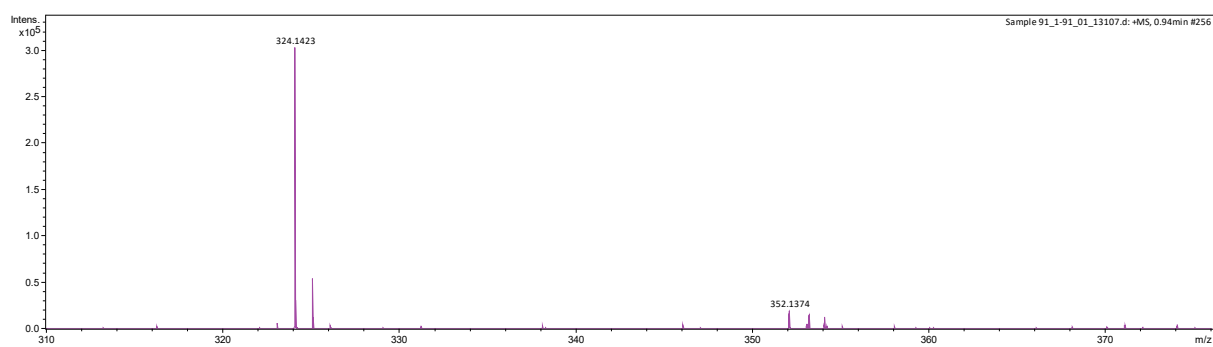


Figura A34 – Espectro de RMN de ^1H de **6a** (400 MHz, CDCl_3)

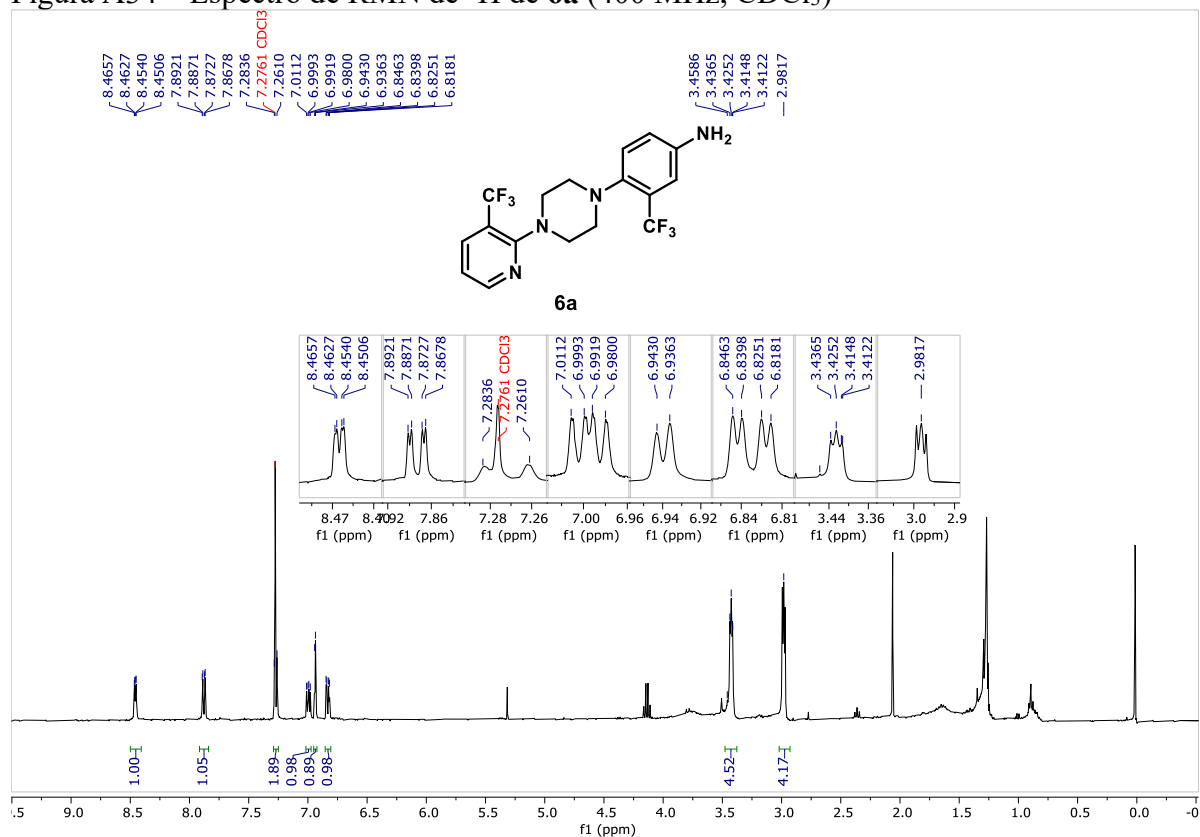


Figura A35 – Espectro de RMN de ^{13}C de **6a** (101 MHz, CDCl_3)

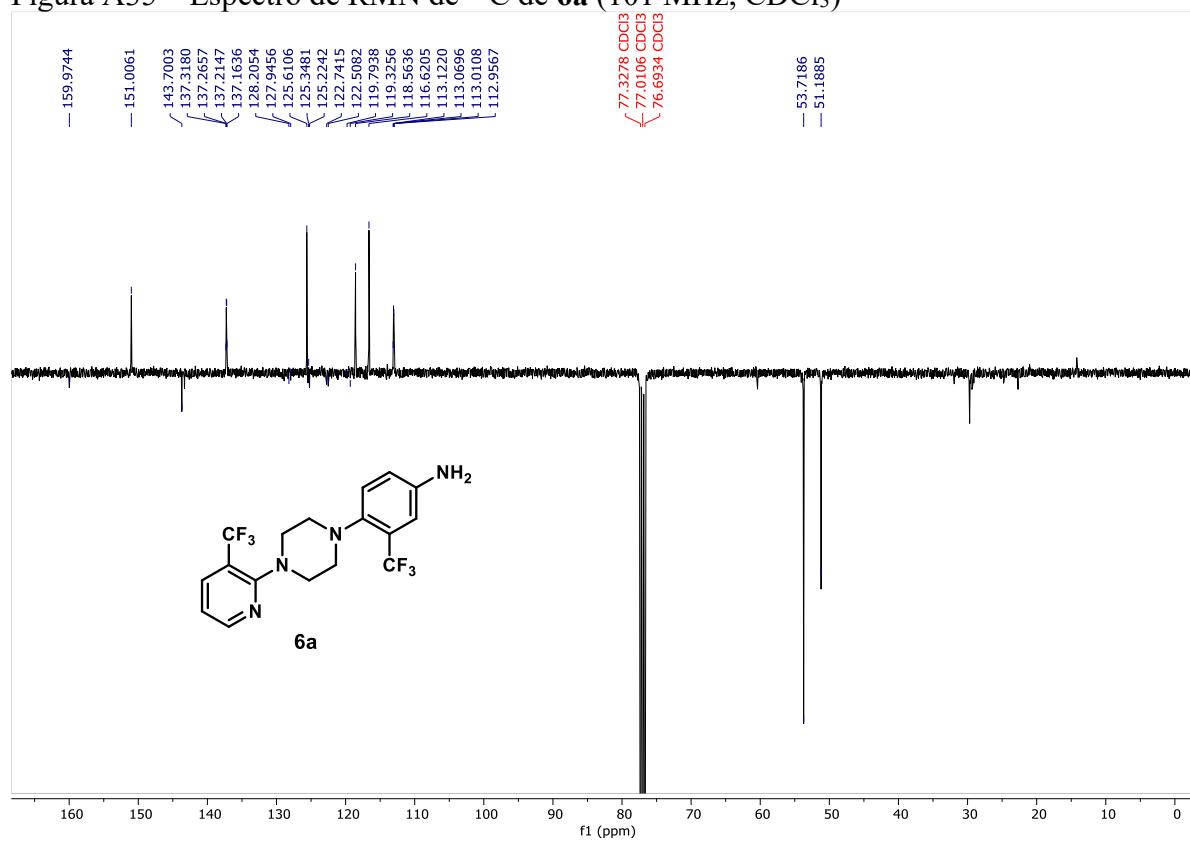


Figura A36 – Espectro de HRMS (ESI +) de **6a**

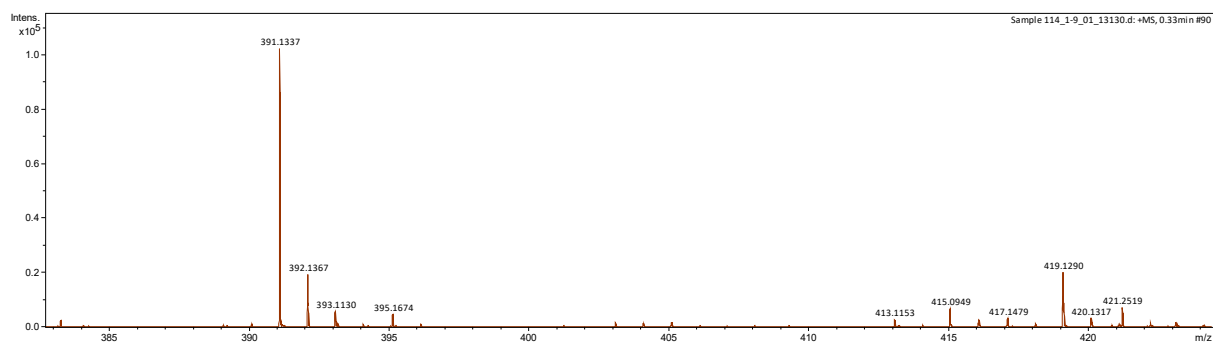


Figura A37 – Espectro de RMN de ^1H de **6b** (400 MHz, CDCl_3)

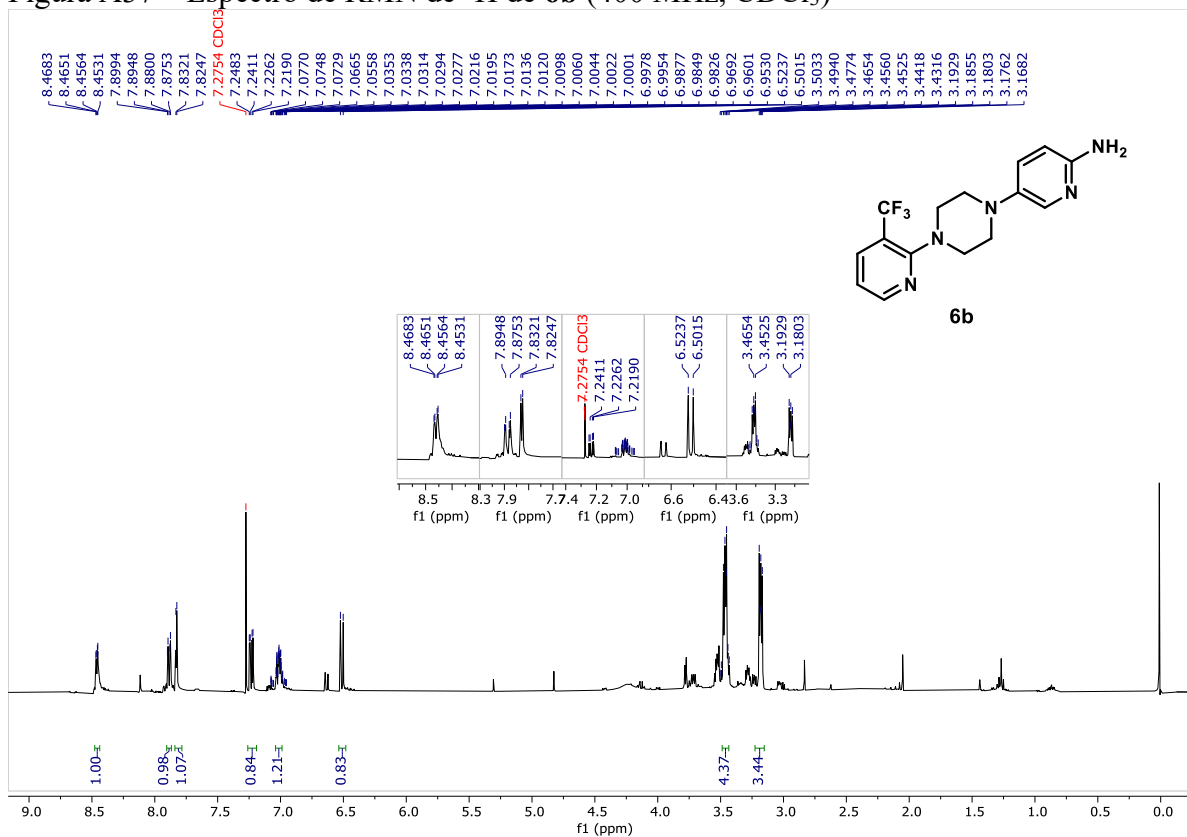


Figura A38 – Espectro de RMN de ^{13}C de **6b** (101 MHz, CDCl_3)

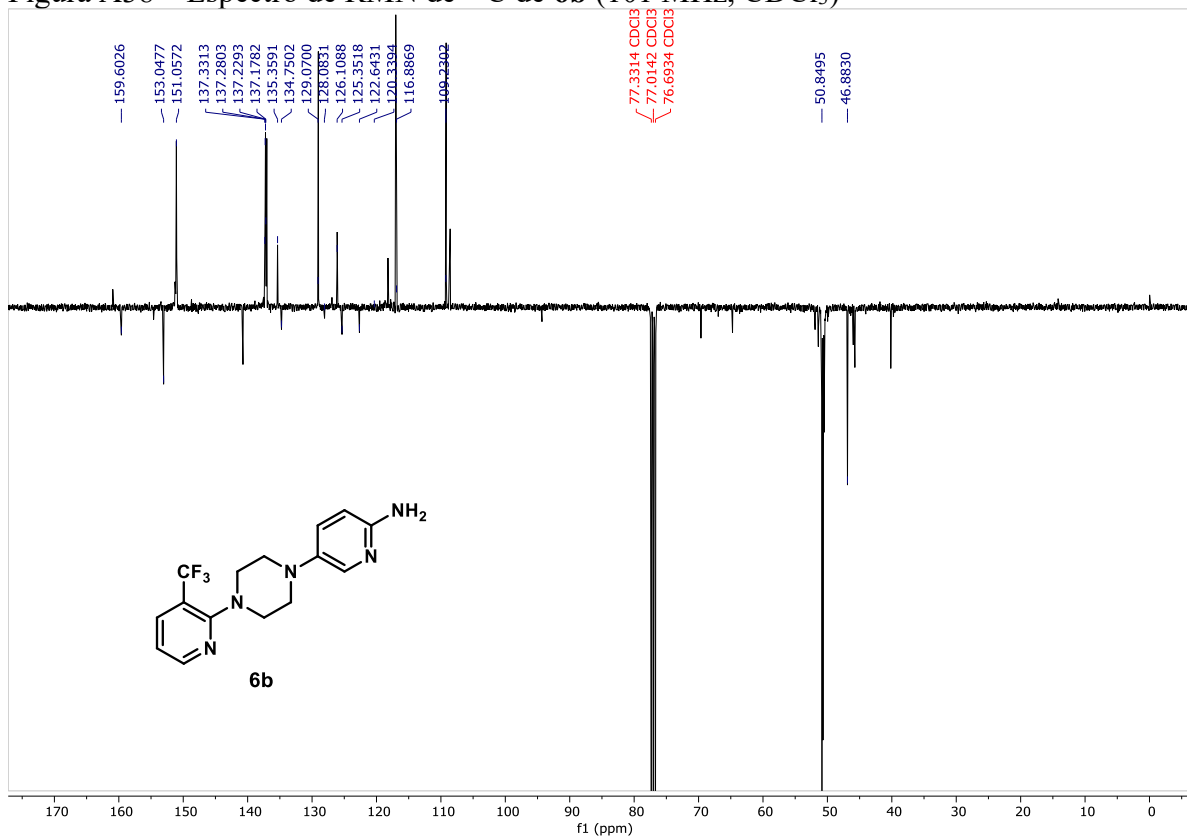


Figura A39 – Espectro de RMN de ^1H de **6c** (400 MHz, CDCl_3)

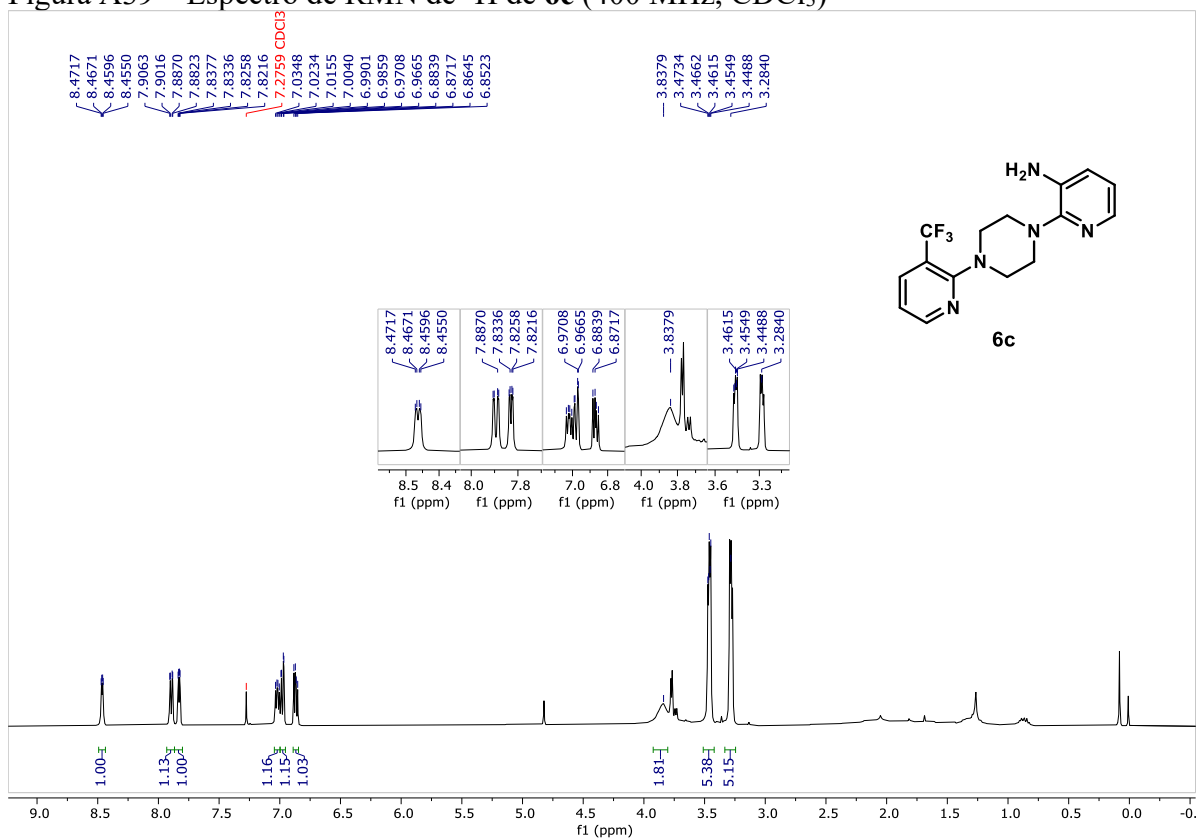


Figura A40 – Espectro de RMN de ^{13}C de **6c** (101 MHz, CDCl_3)

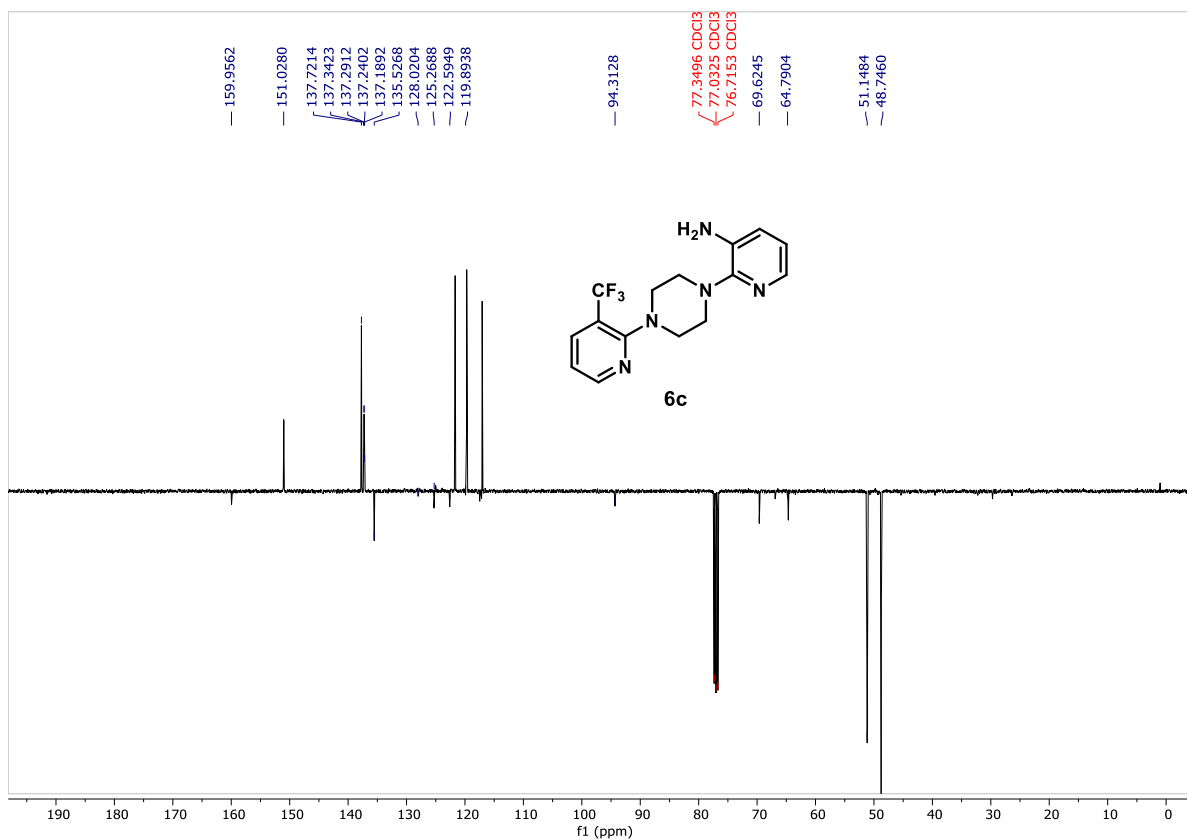


Figura A41 – Espectro de HRMS (ESI +) de **6c**

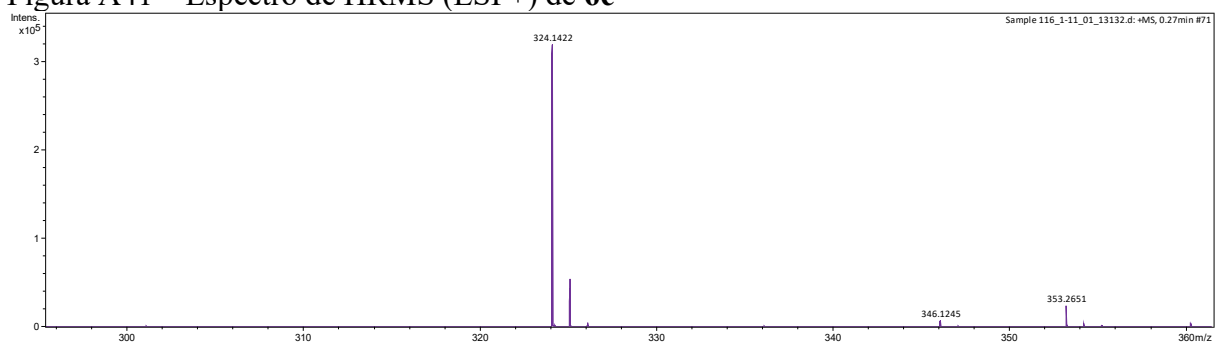


Figura A42 – Espectro de RMN de ^1H de **18** (400 MHz, CDCl_3)

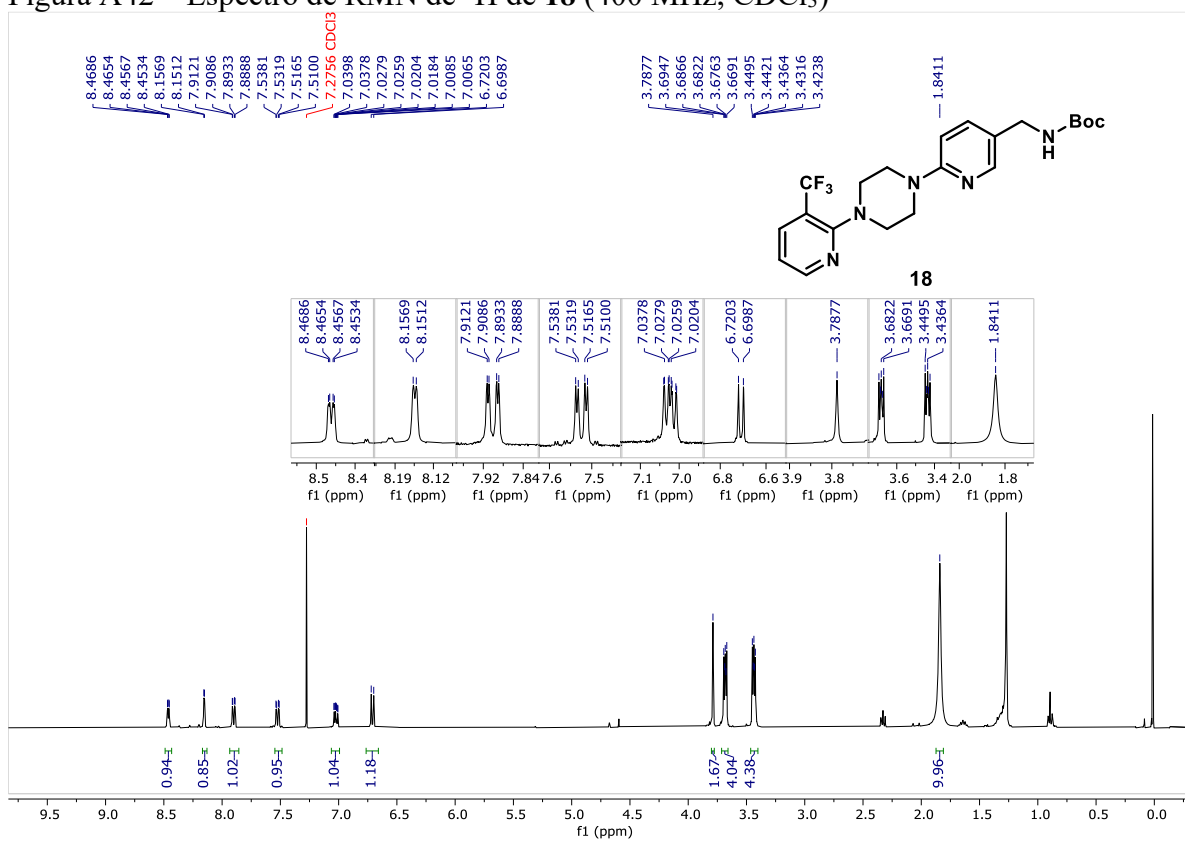


Figura A43 – Espectro de RMN de ^{13}C de **18** (101 MHz, CDCl_3)

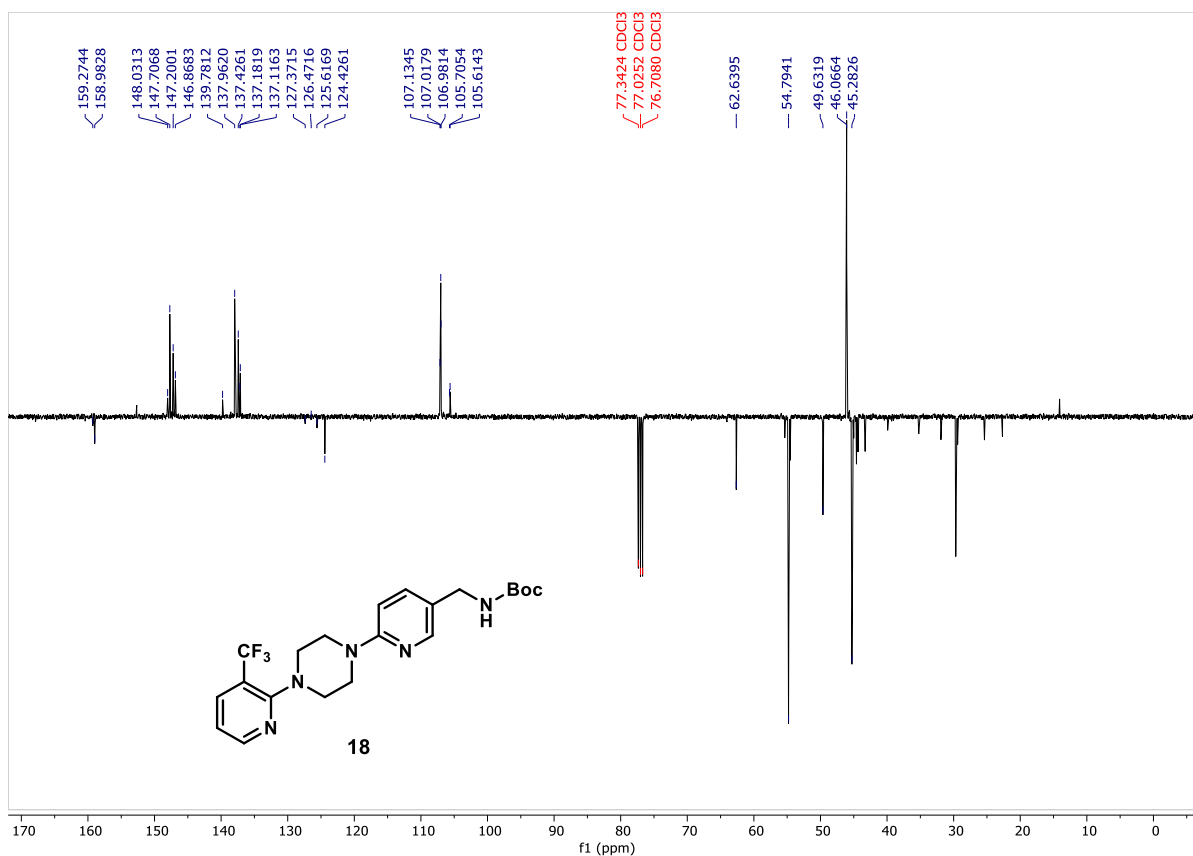


Figura A44 – Espectro de RMN de ¹H de **12a** (400 MHz, CDCl₃)

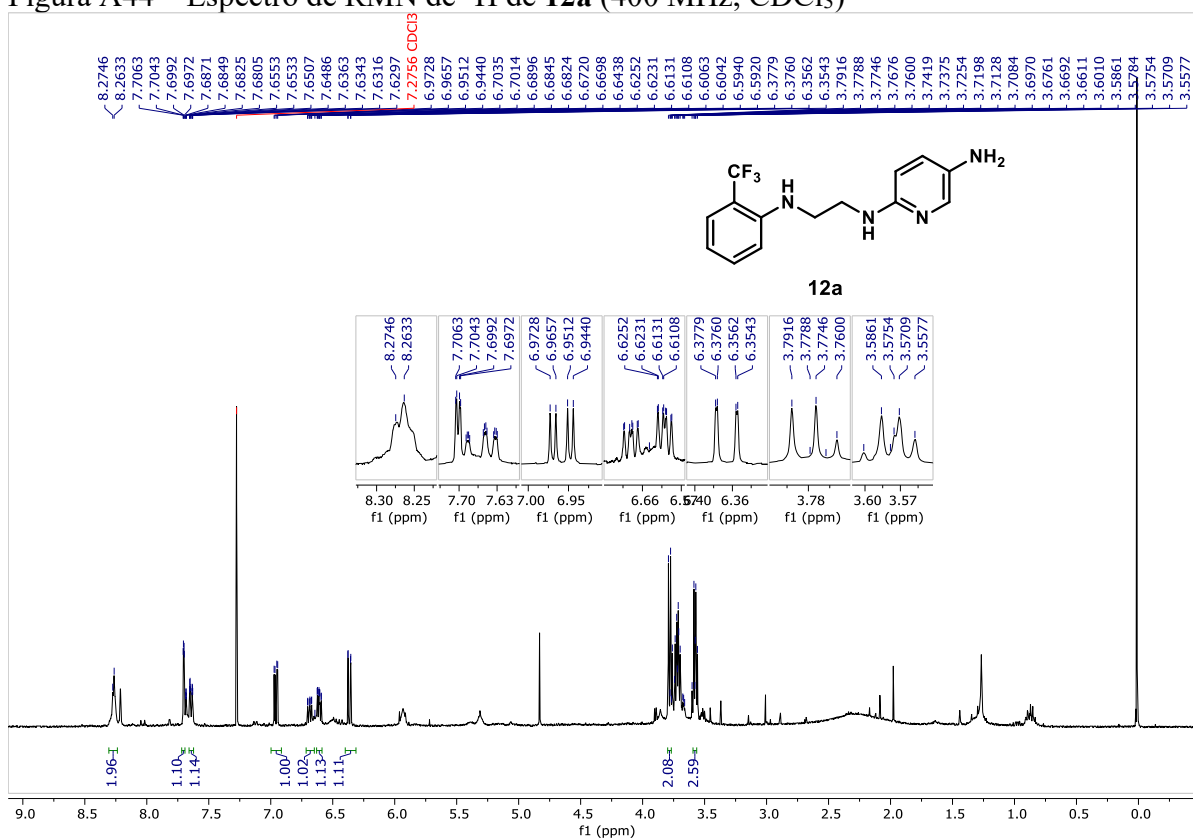


Figura A45 – Espectro de RMN de ^{13}C de **12a** (101 MHz, CDCl_3)

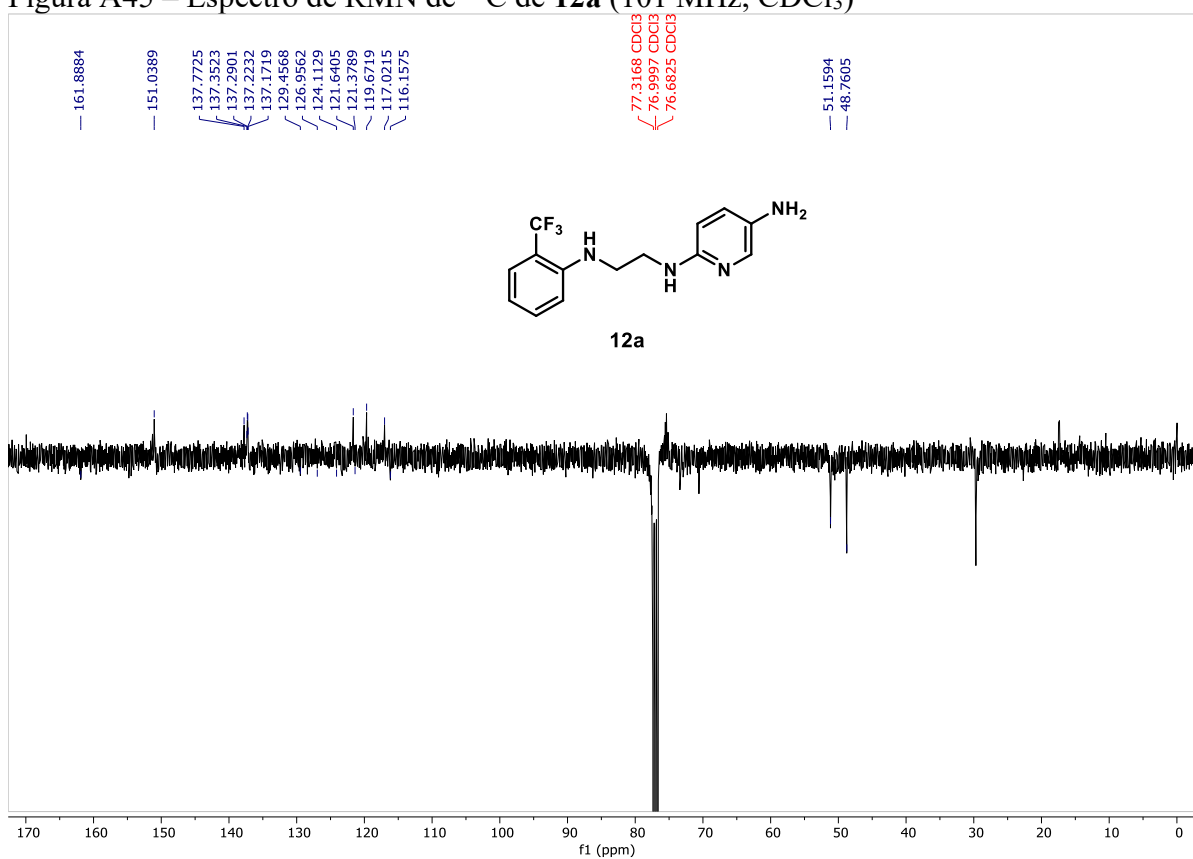


Figura A46 – Espectro de HRMS (ESI +) de **12a**

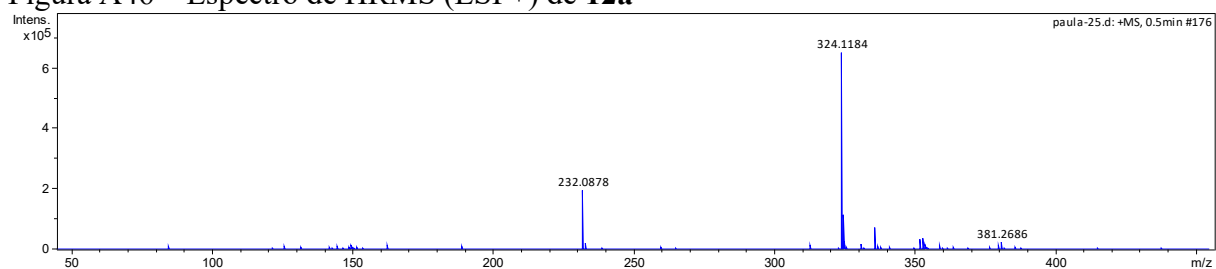


Figura A47 – Espectro de RMN de ^1H de **12b** (400 MHz, CDCl_3)

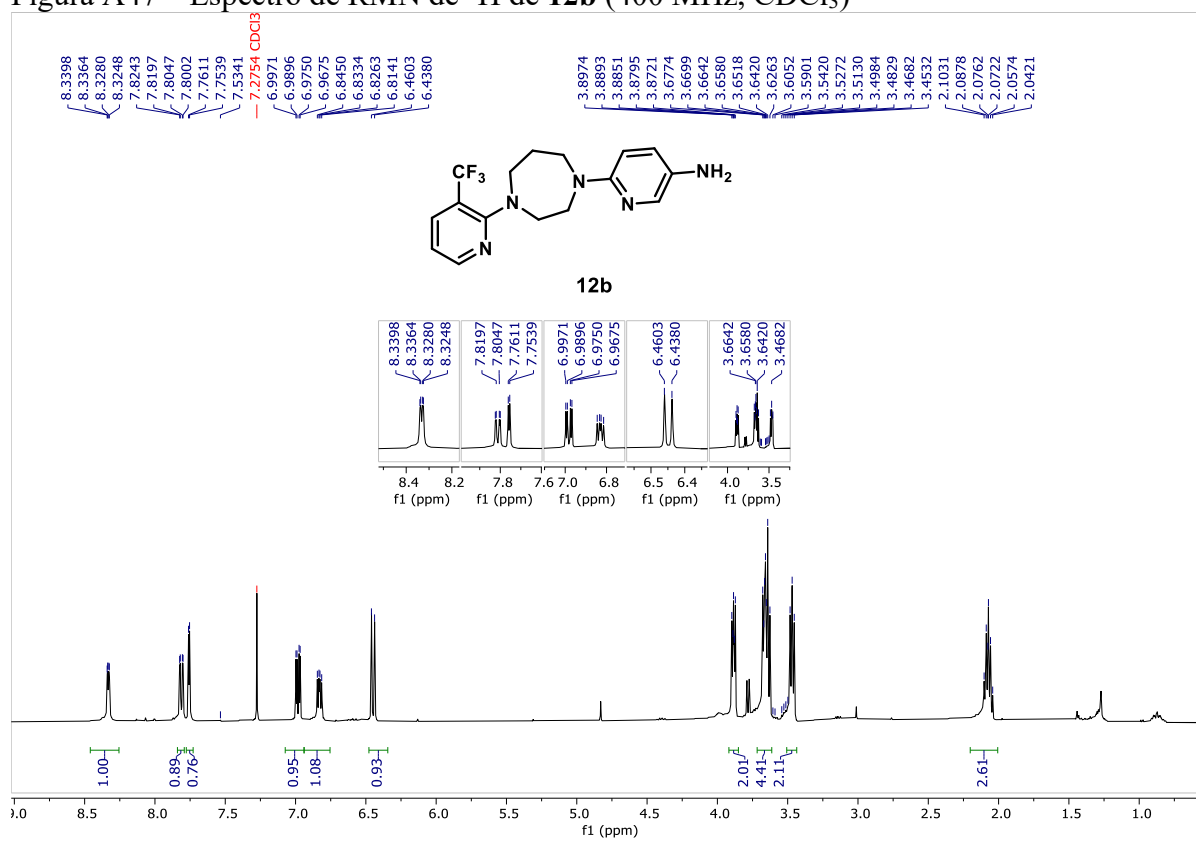


Figura A48 – Espectro de RMN de ^{13}C de **12b** (101 MHz, CDCl_3)

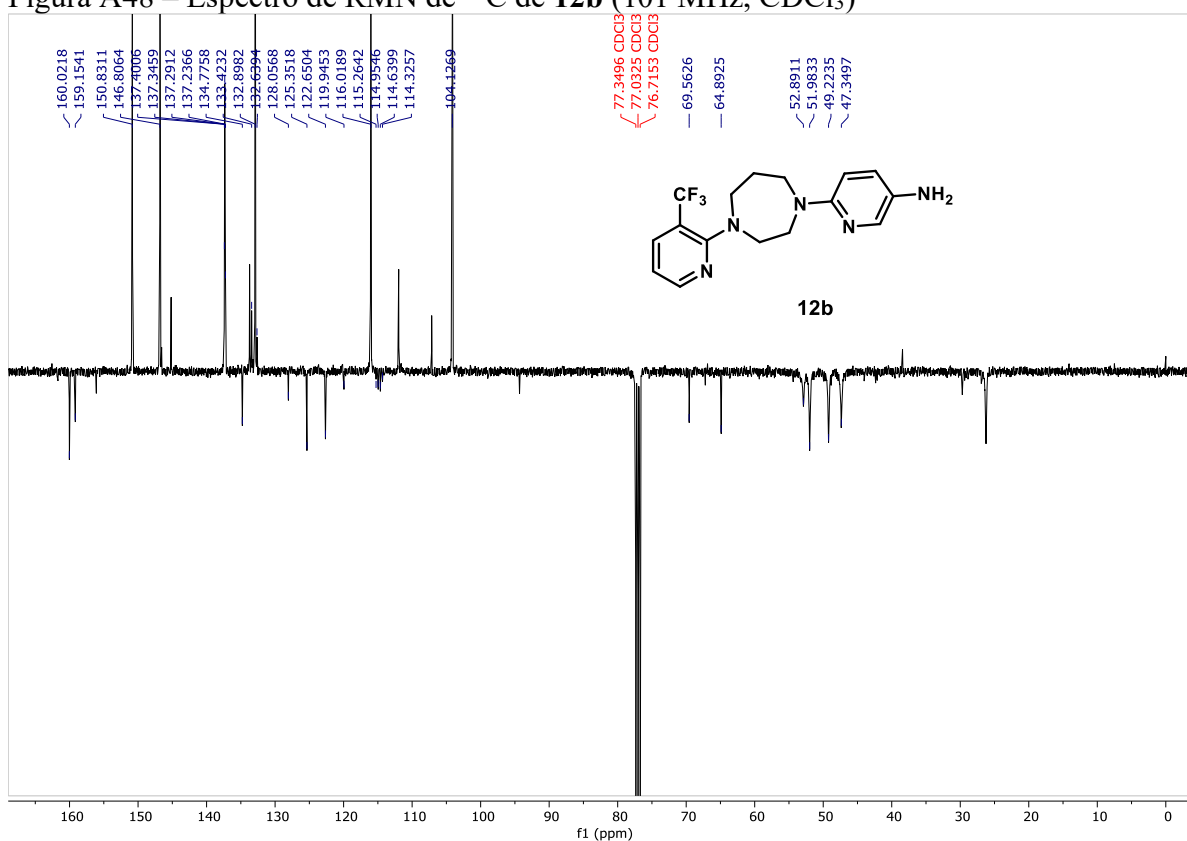


Figura A49 – Espectro de RMN de ^1H de **10d** (400 MHz, CDCl_3)

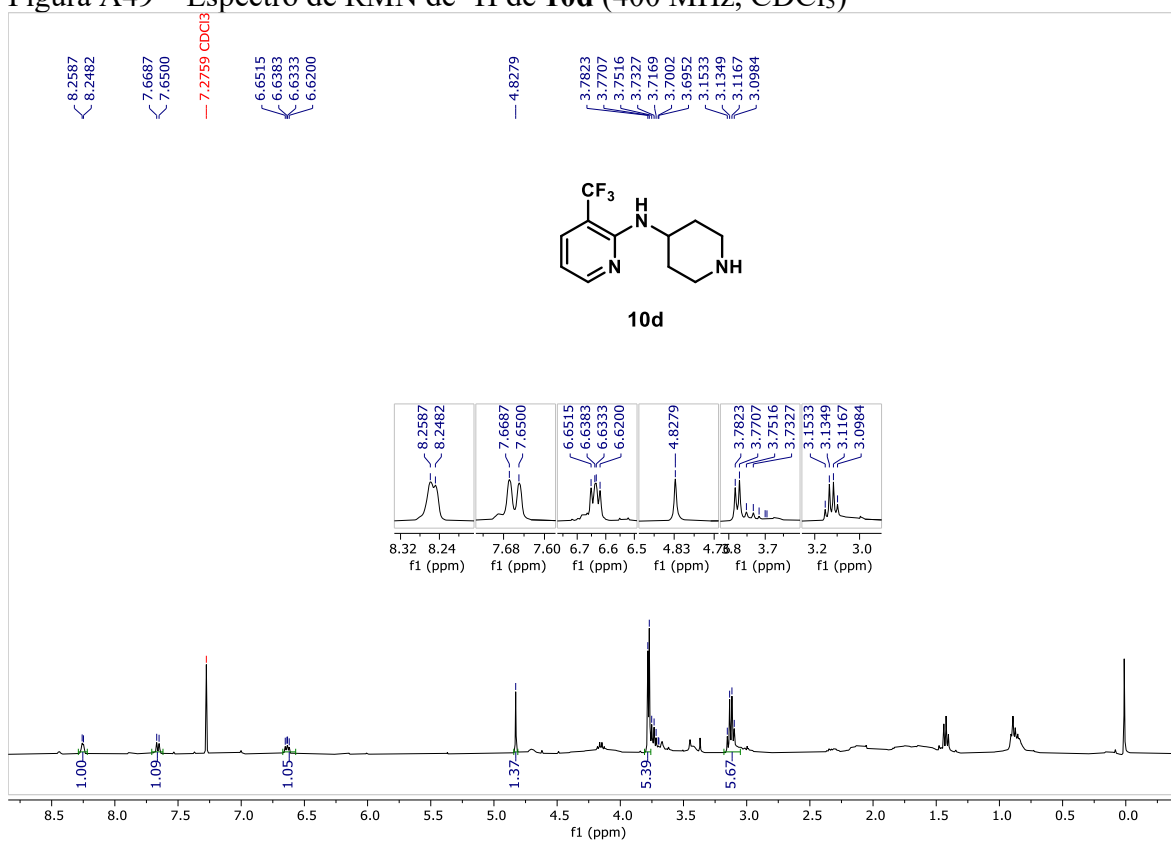


Figura A50 – Espectro de RMN de ^1H de **6d** (400 MHz, CDCl_3)

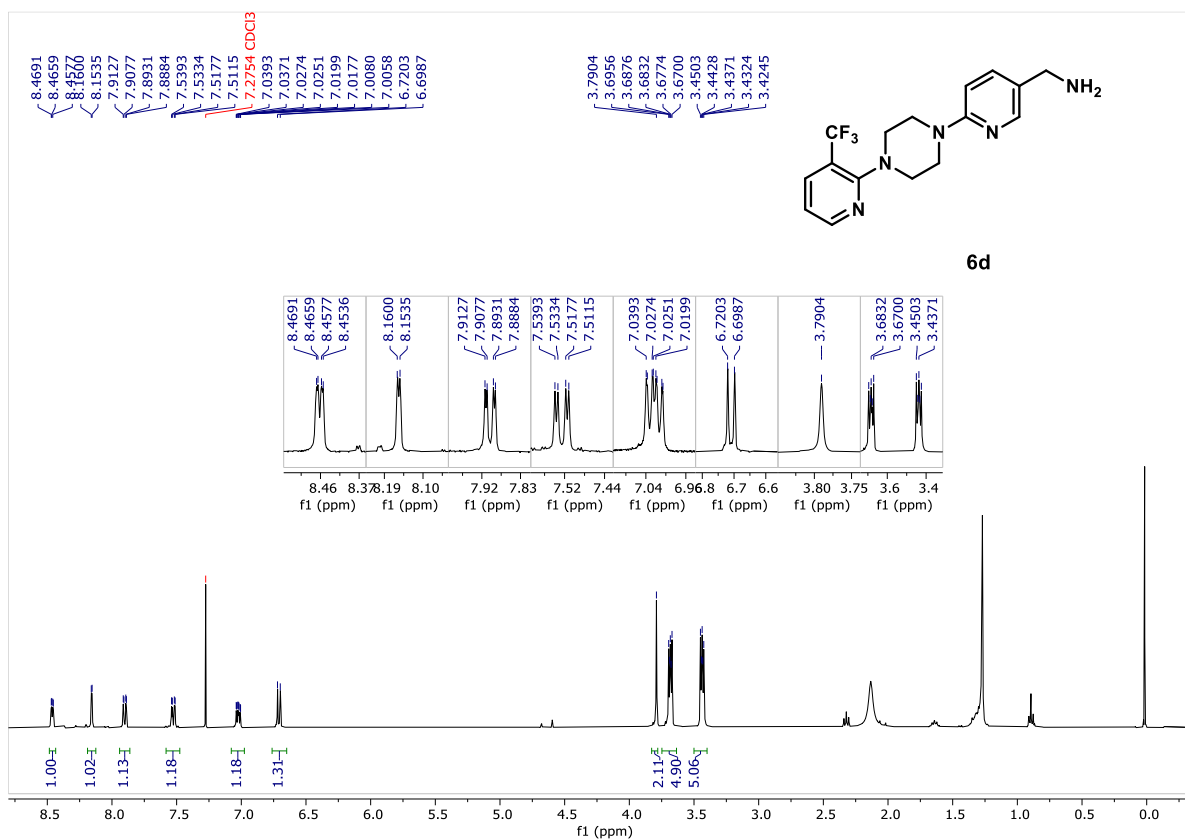


Figura A51 – Espectro de RMN de ¹³C de **6d** (101 MHz, CDCl₃)

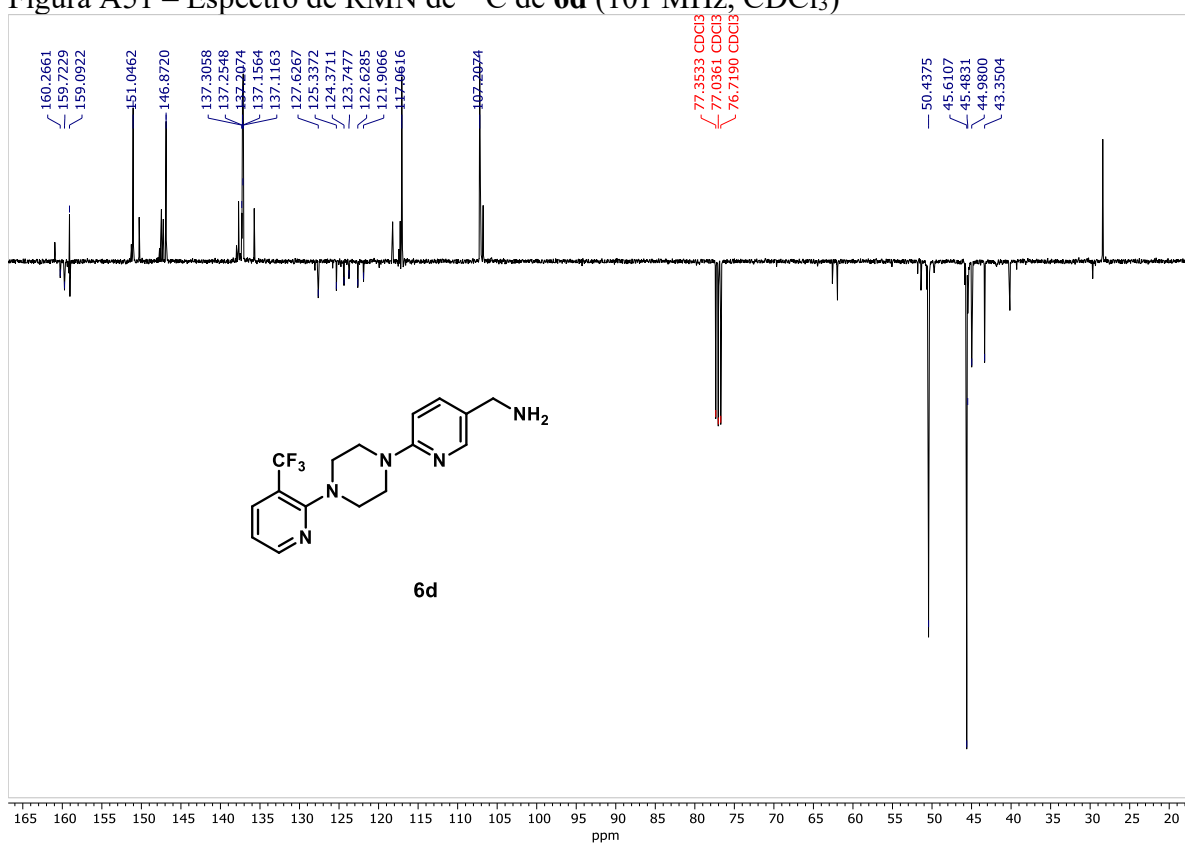


Figura A52 – Espectro de RMN de ^1H de **7a** (400 MHz, CDCl_3)

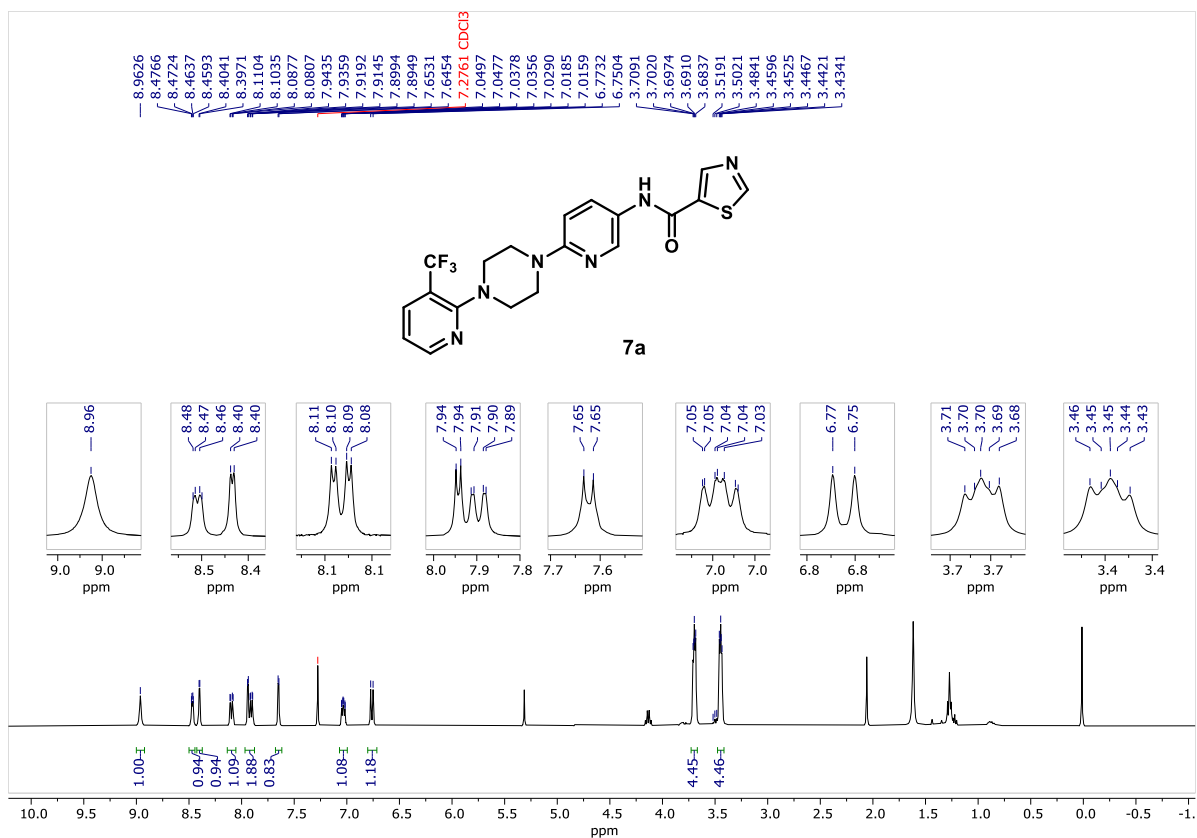


Figura A53 – Espectro de RMN de ^{13}C de **7a** (101 MHz, CDCl_3)

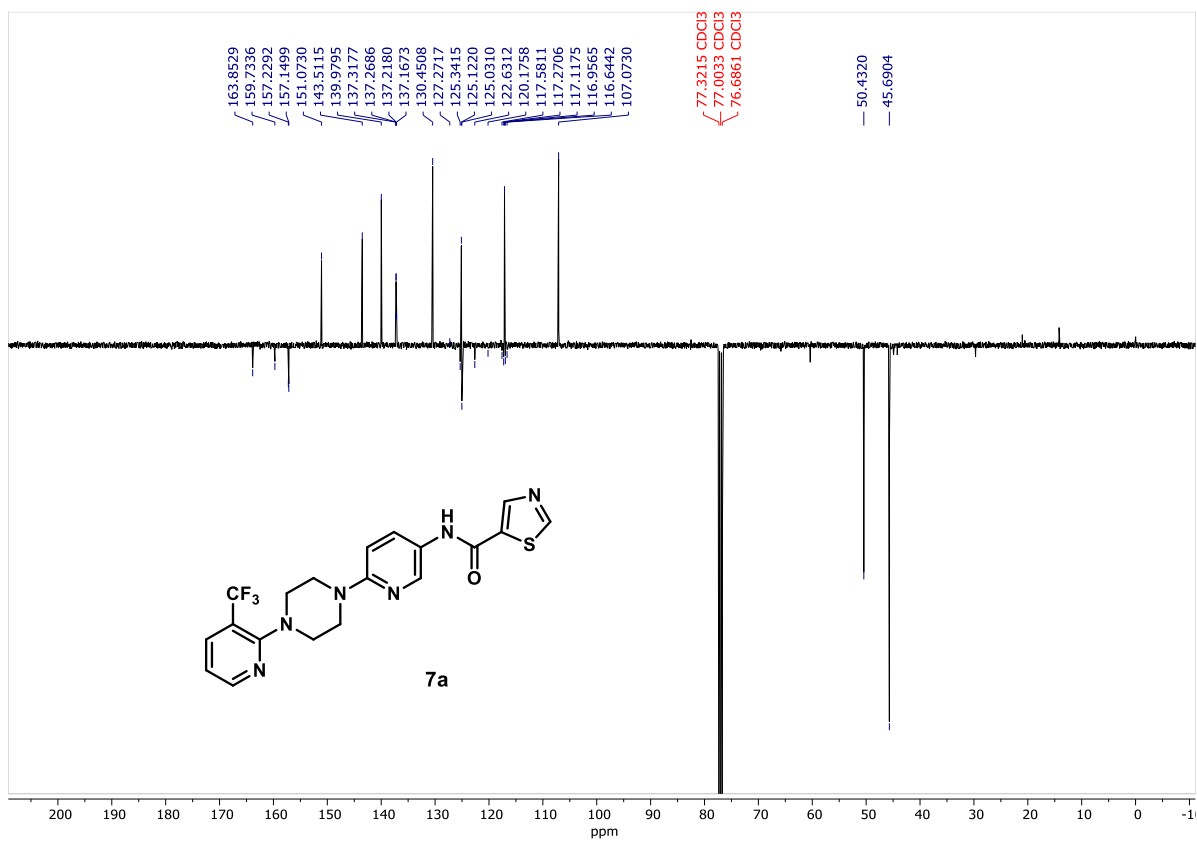


Figura A54 – Espectro de HRMS (ESI +) de **7a**

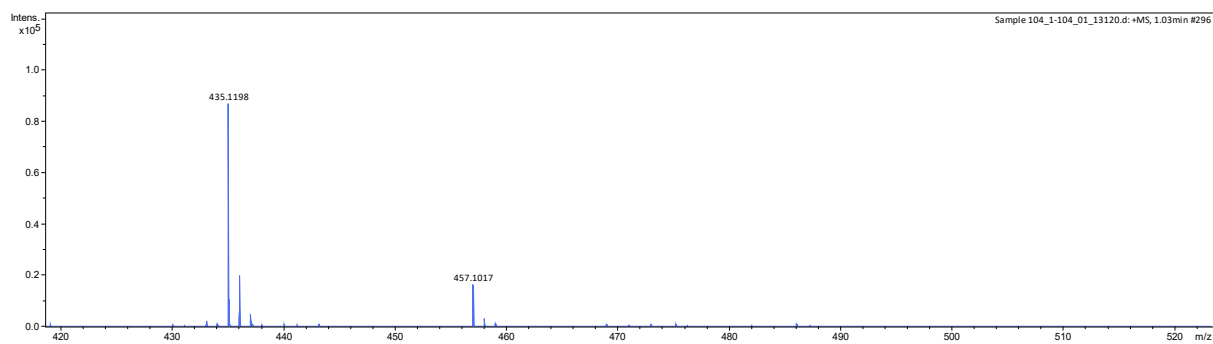


Figura A55 – Espectro de RMN de ^1H de **7b** (400 MHz, CDCl_3)

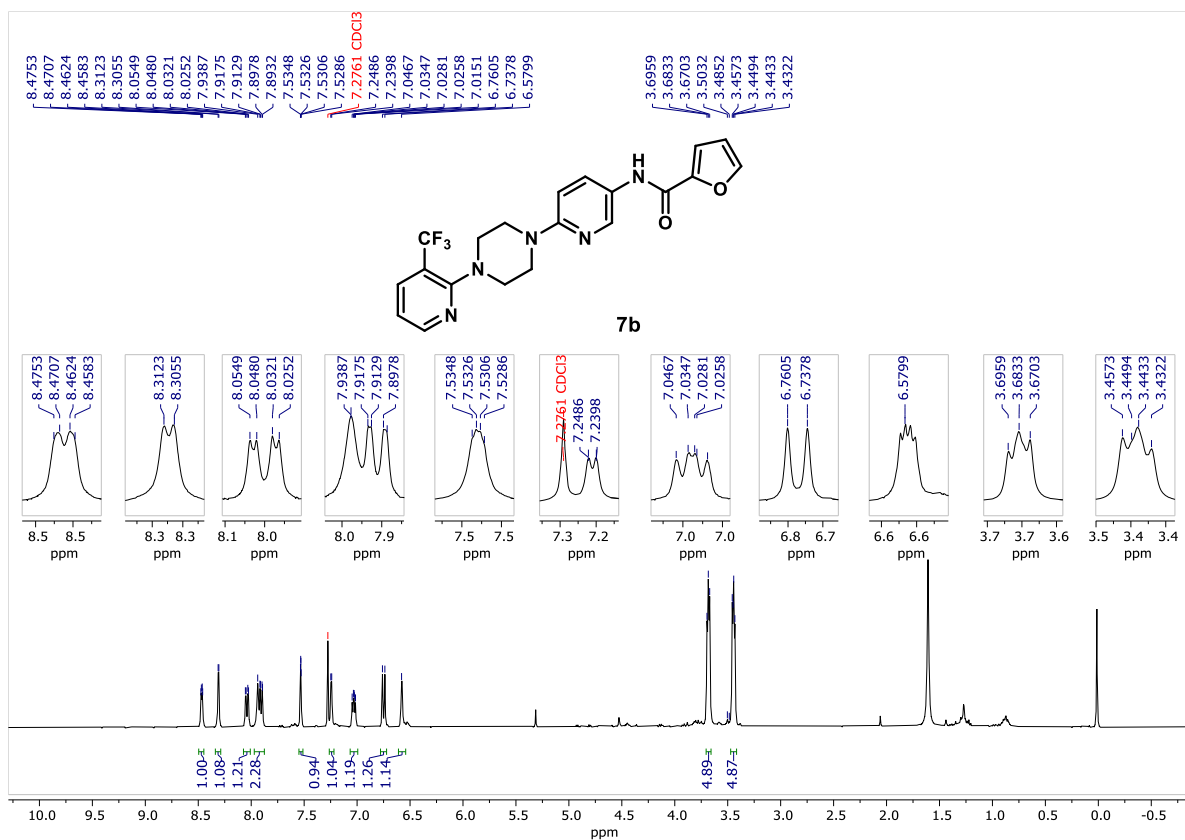


Figura A56 – Espectro de RMN de ^{13}C de **7b** (101 MHz, CDCl_3)

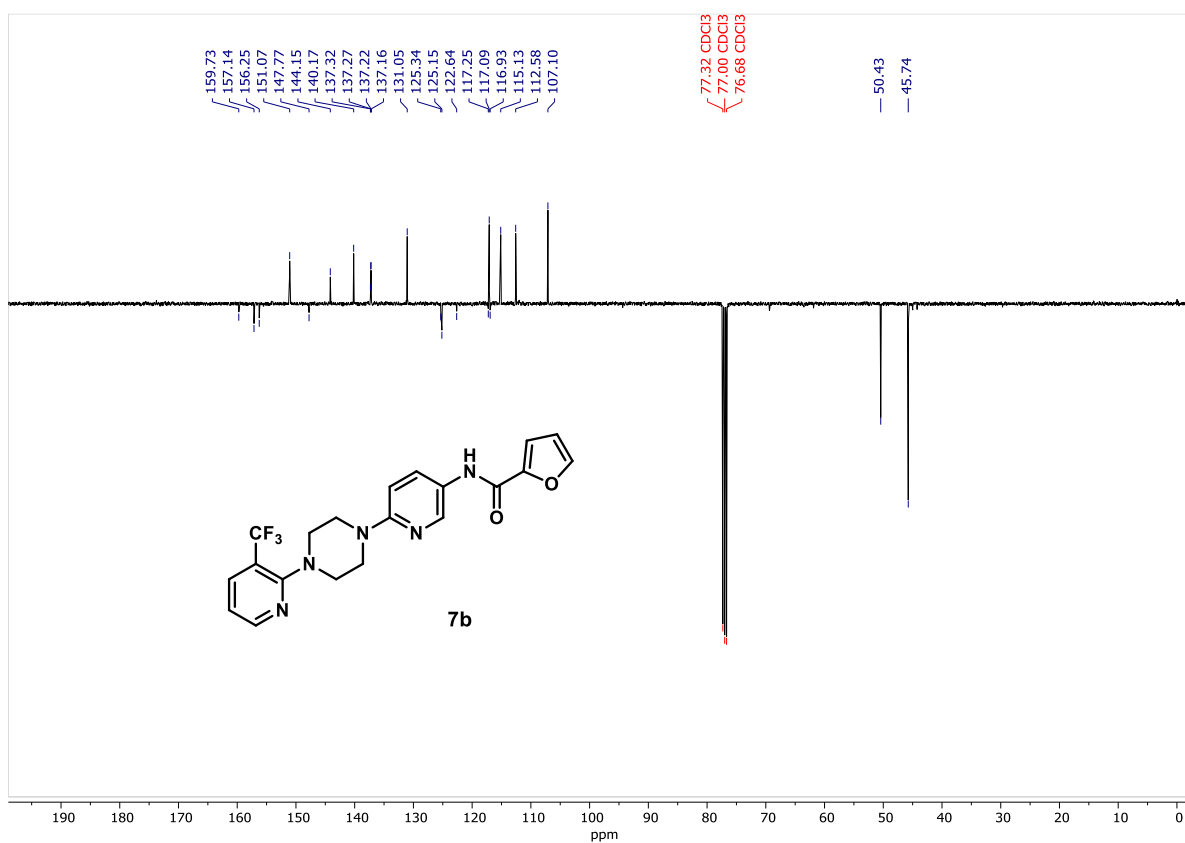


Figura A57 – Espectro de HRMS (ESI +) de **7b**

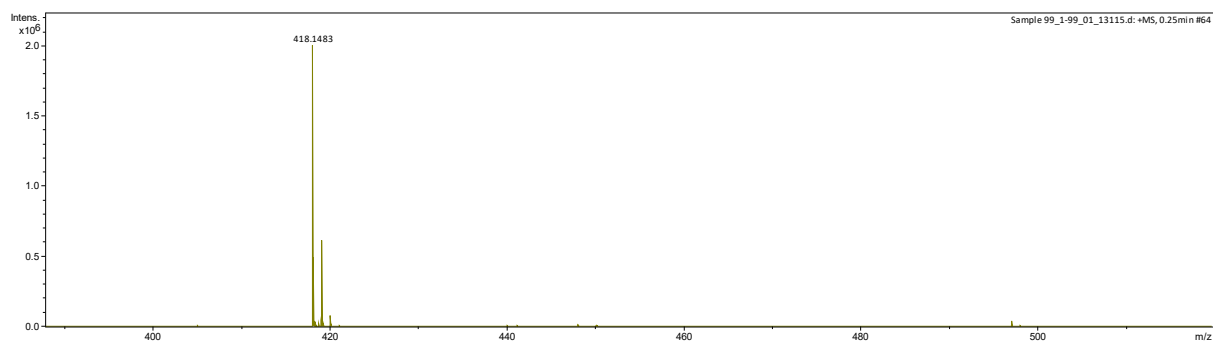


Figura A58 – Espectro de RMN de ^1H de **7c** (400 MHz, MeOD)

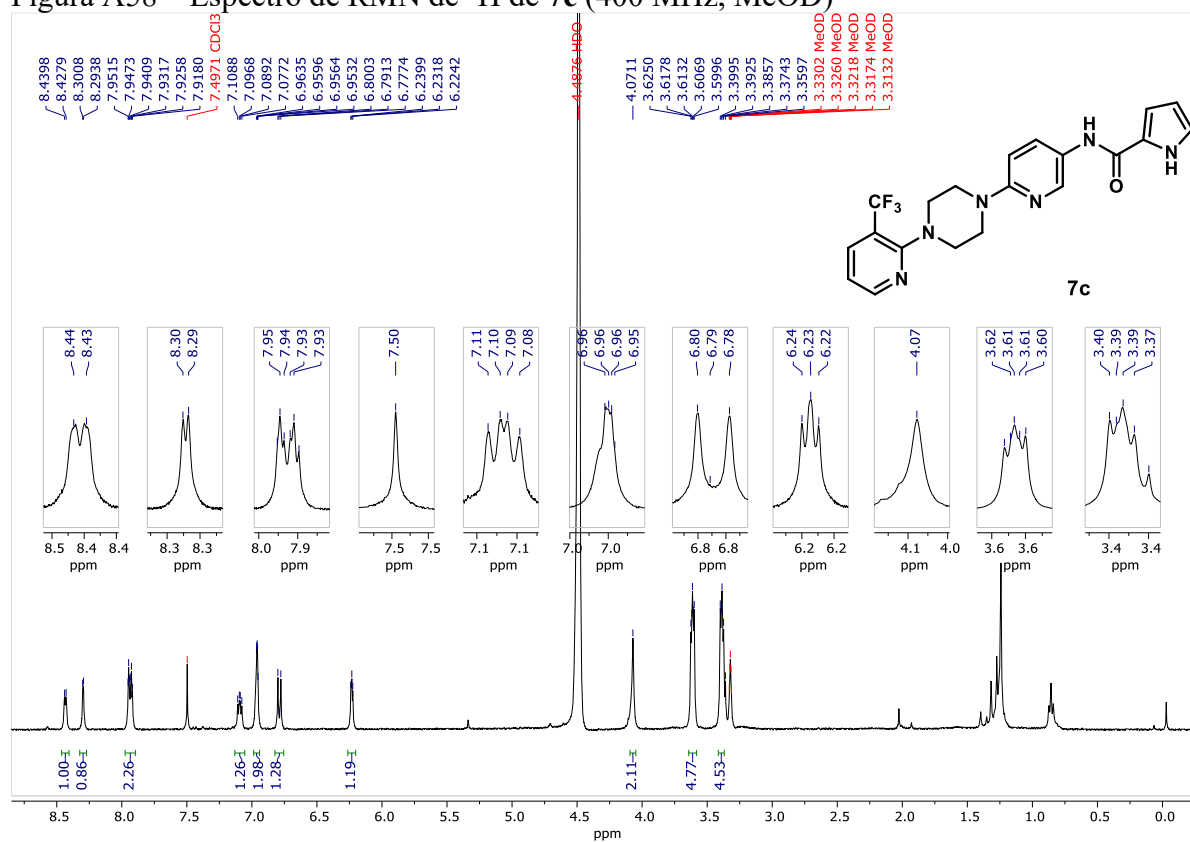


Figura A59 – Espectro de RMN de ^{13}C de **7c** (101 MHz, MeOD)

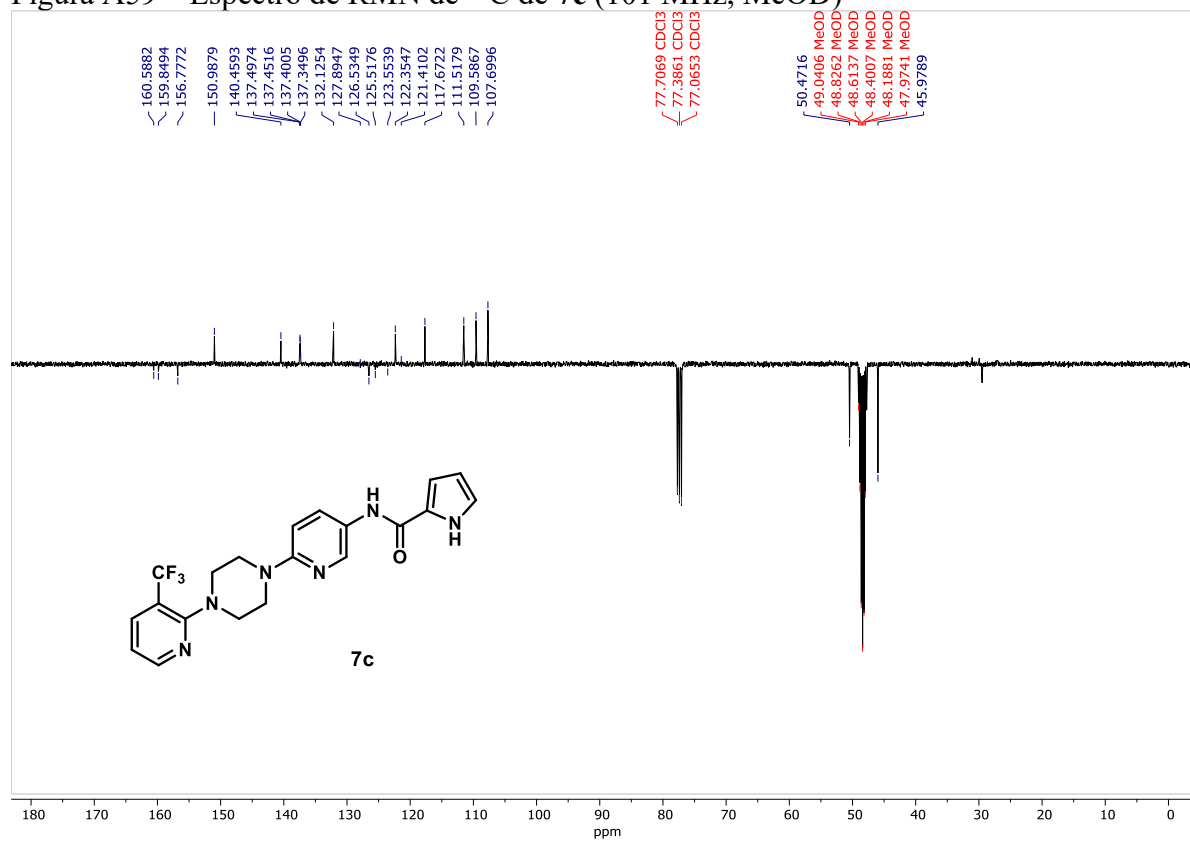


Figura A60 – Espectro de HRMS (ESI +) de **7c**

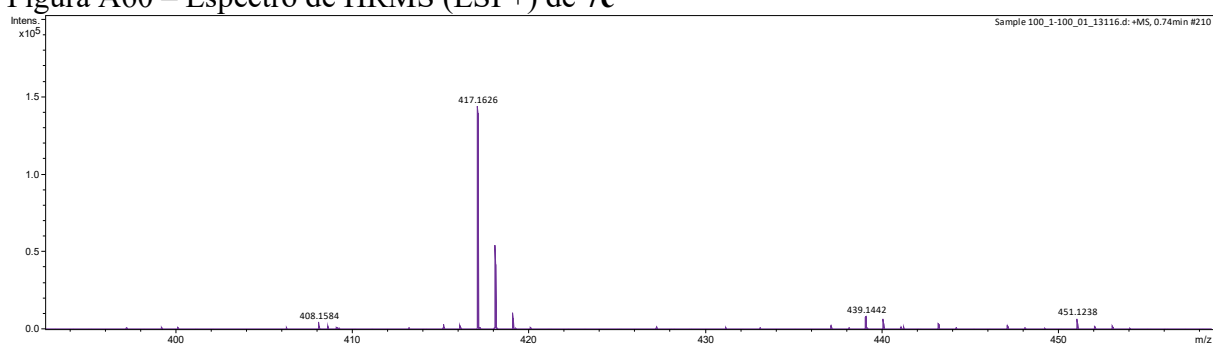


Figura A61 – Espectro de RMN de ^1H de **7d** (400 MHz, CDCl_3)

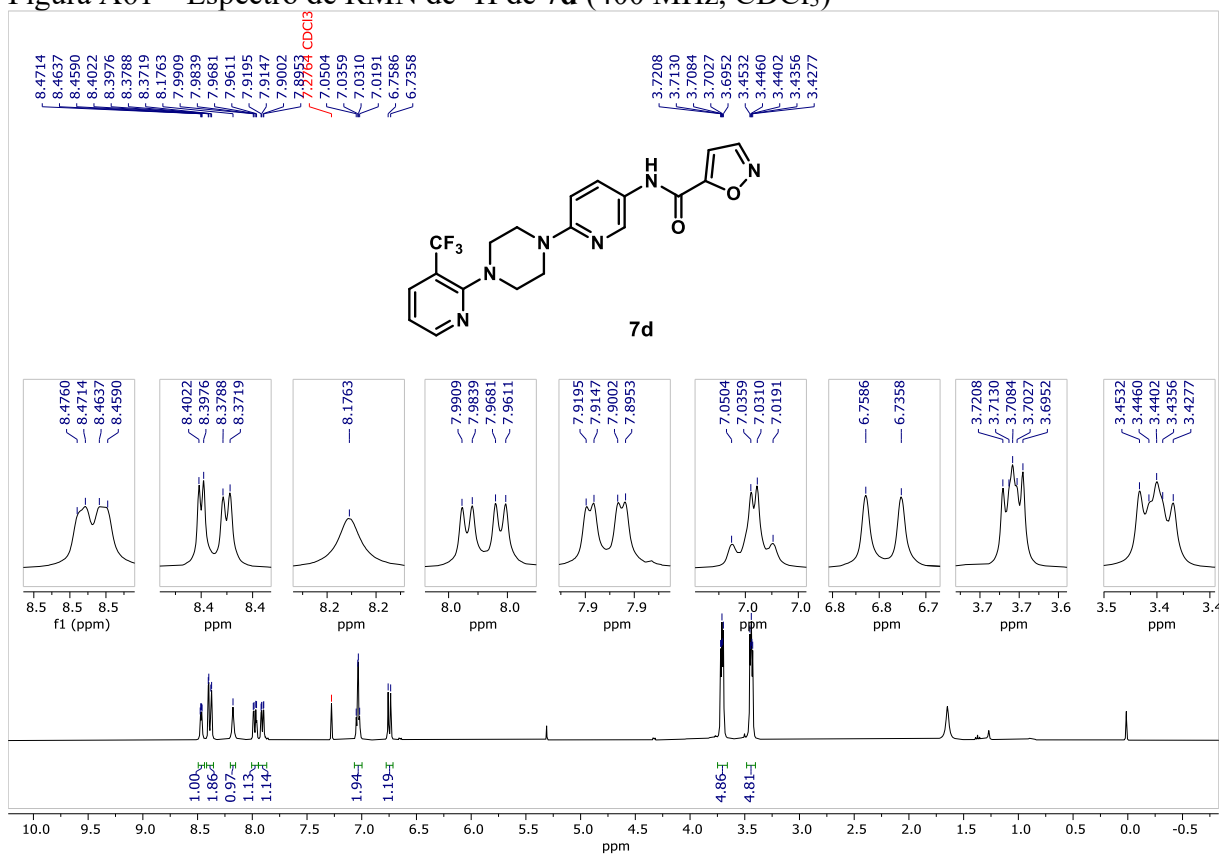


Figura A62 – Espectro de RMN de ^{13}C de **7d** (101 MHz, CDCl_3)

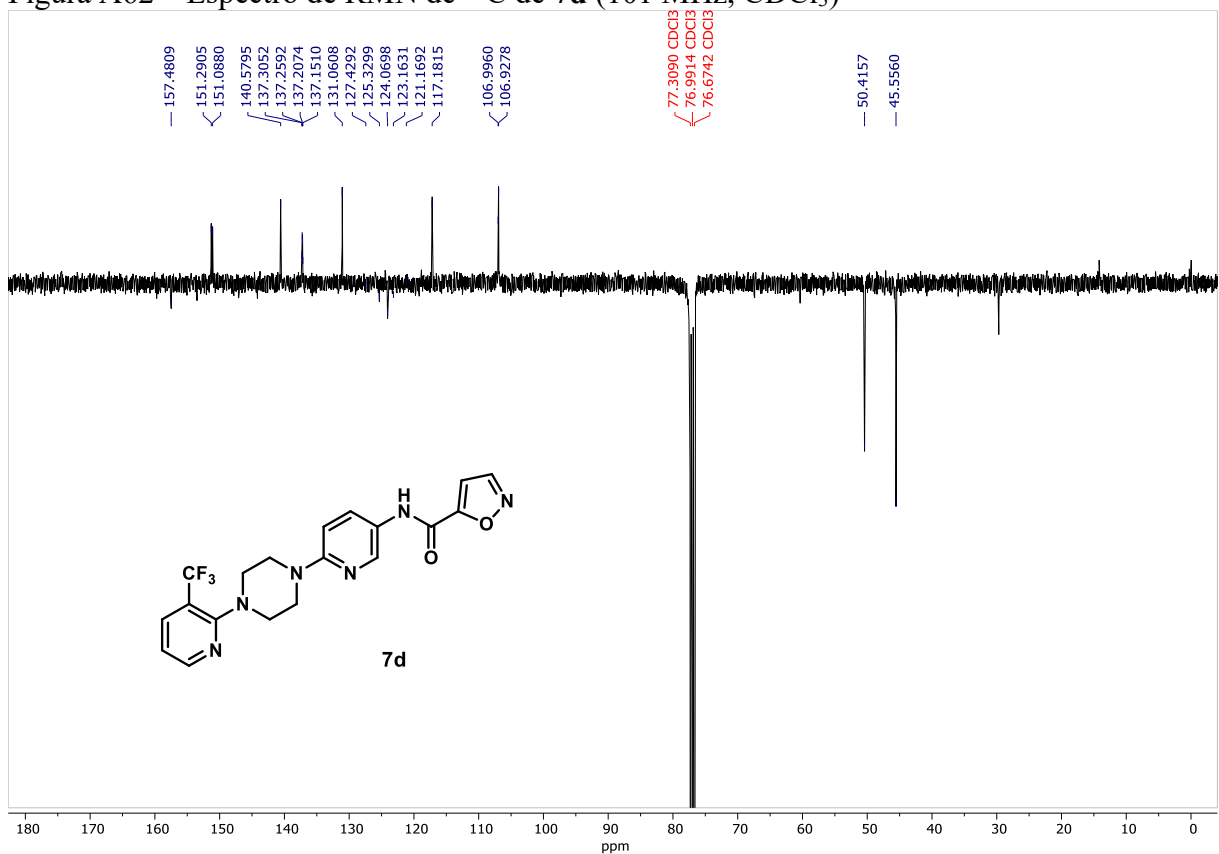


Figura A63 – Espectro de HRMS (ESI +) de **7d**

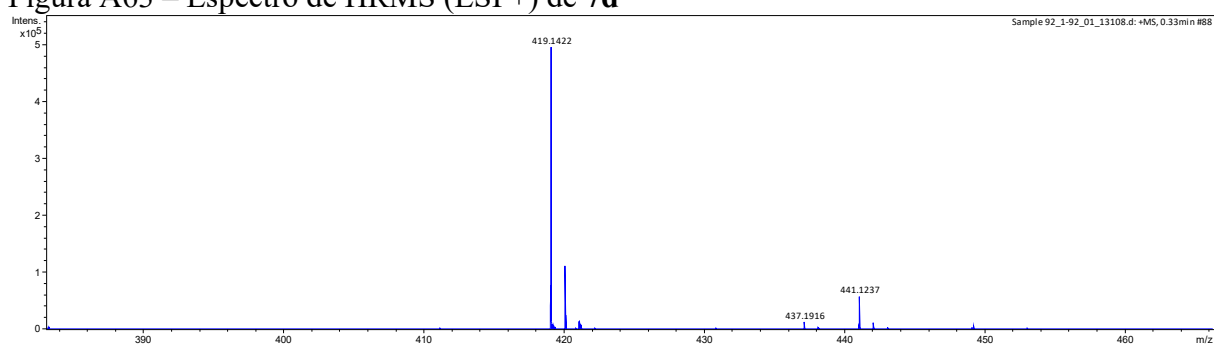


Figura A64 – Espectro de RMN de ^1H de **7e** (400 MHz, CDCl_3)

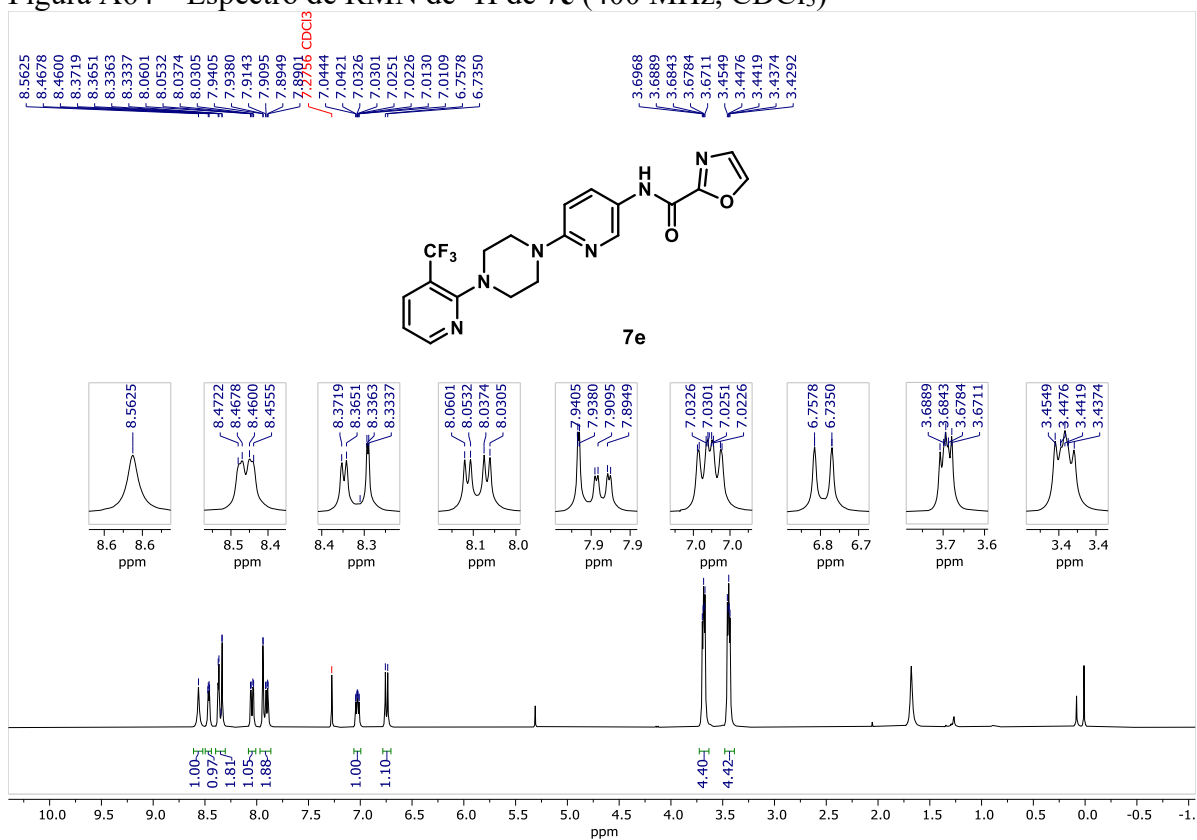


Figura A65 – Espectro de RMN de ^{13}C de **7e** (101 MHz, CDCl_3)

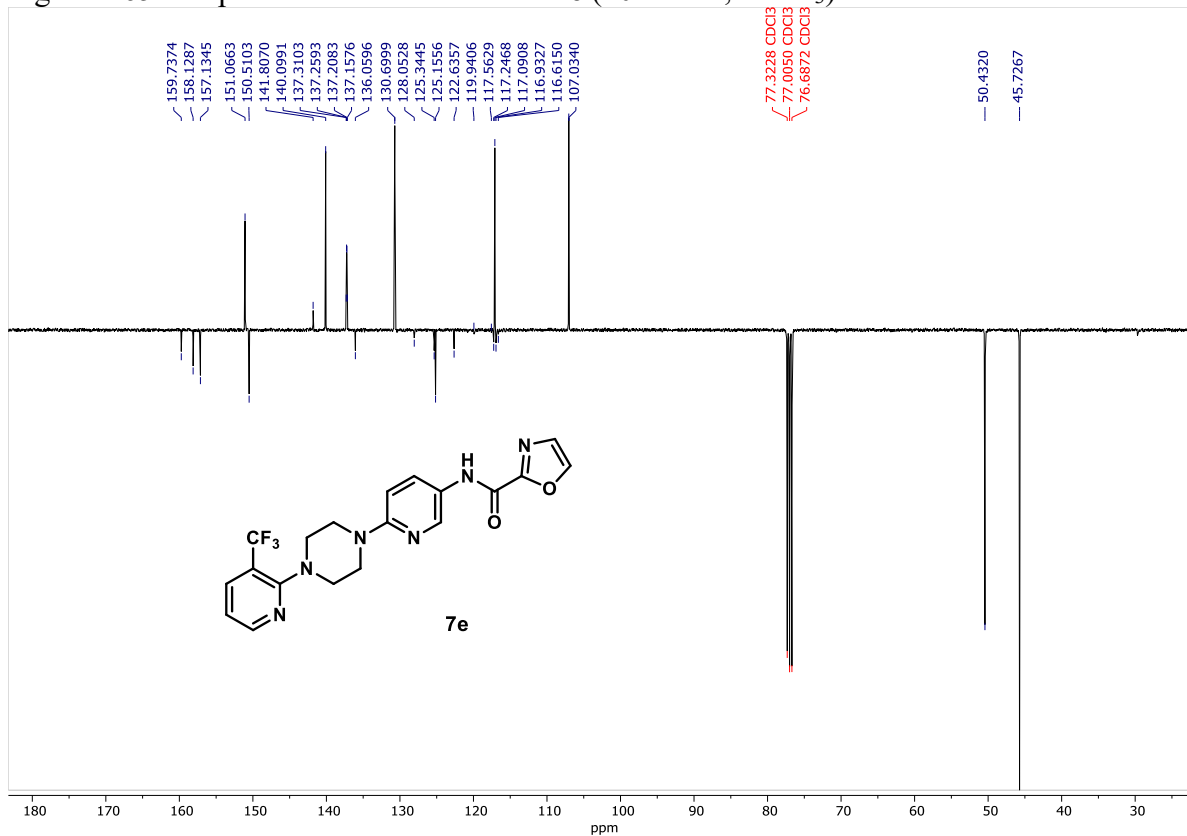


Figura A66 – Espectro de HRMS (ESI +) de **7e**

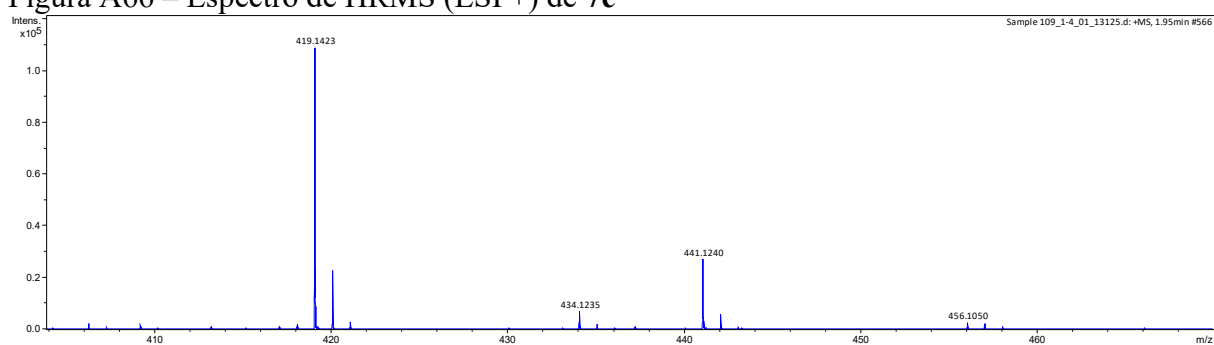


Figura A67 – Espectro de RMN de ^1H de **7f** (400 MHz, CDCl_3)

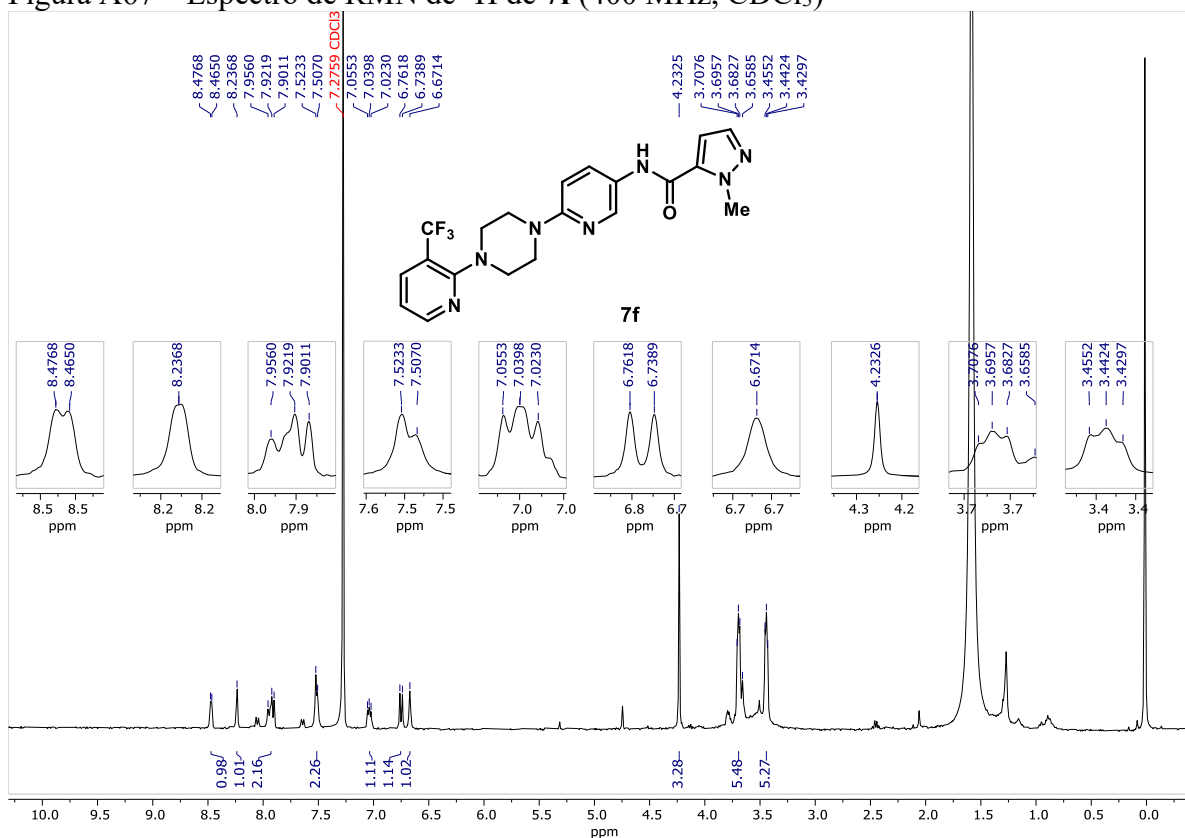


Figura A68 – Espectro de RMN de ^{13}C de **7f** (101 MHz, CDCl_3)

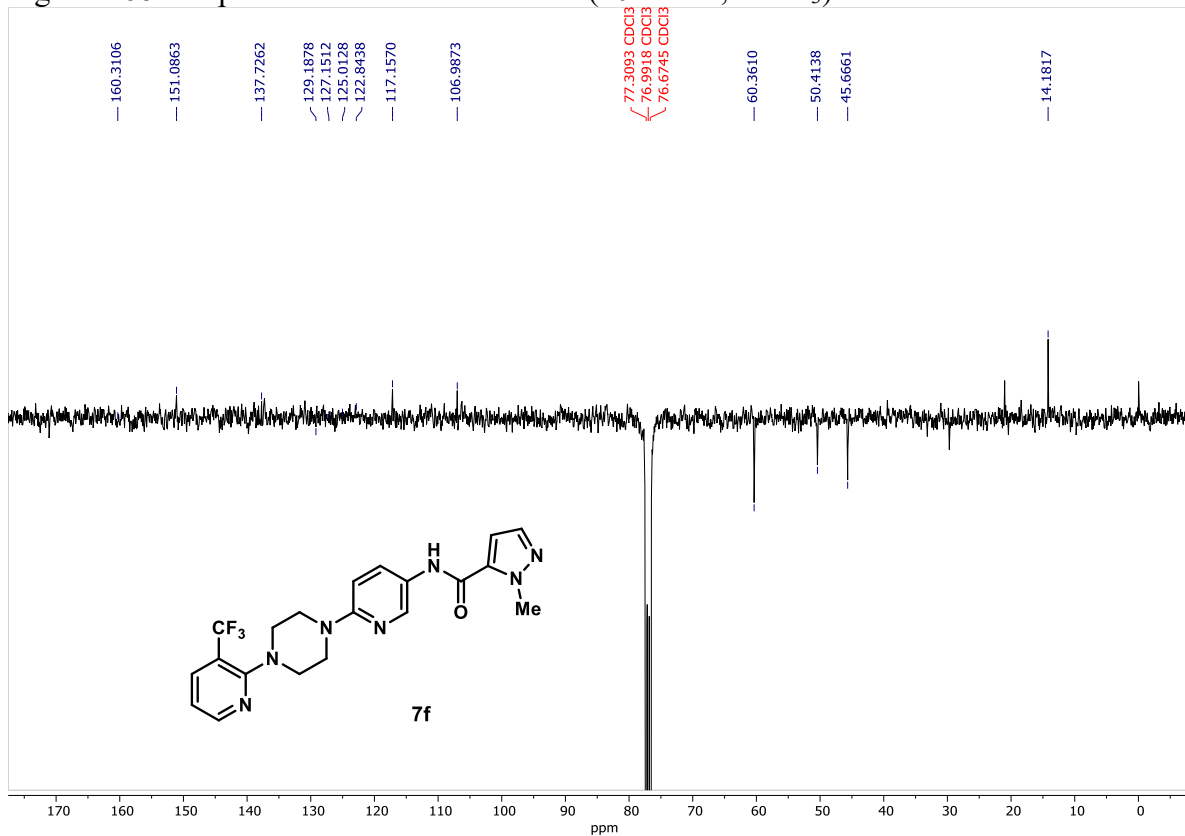


Figura A69 – Espectro de HRMS (ESI +) de **7f**

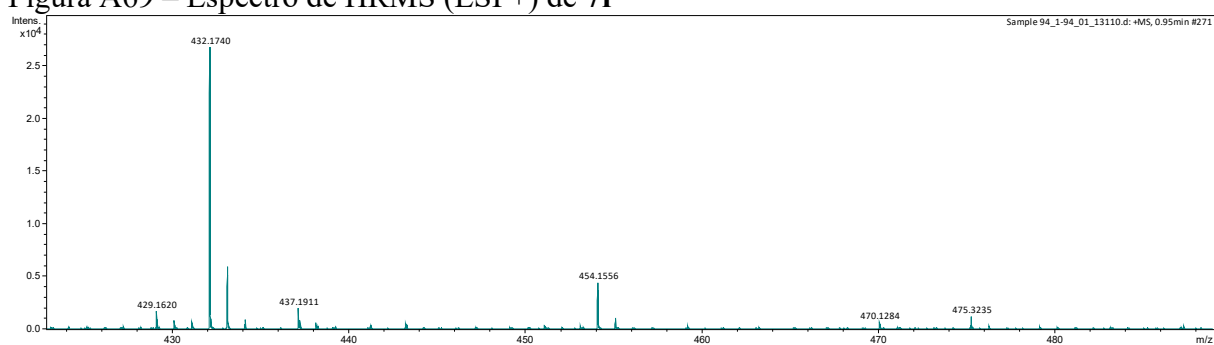


Figura A70 – Espectro de RMN de ^1H de **7g** (400 MHz, MeOD)

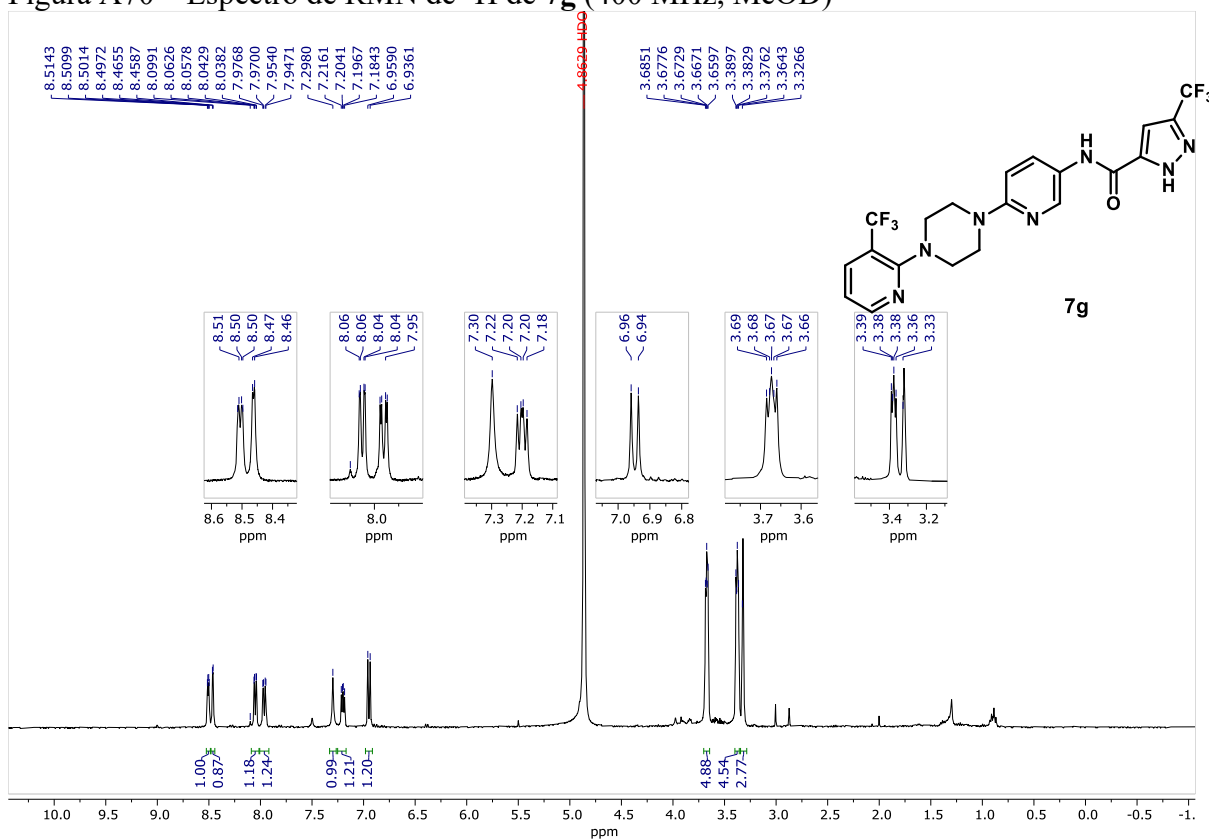


Figura A71 – Espectro de RMN de ^{13}C de **7g** (101 MHz, MeOD)

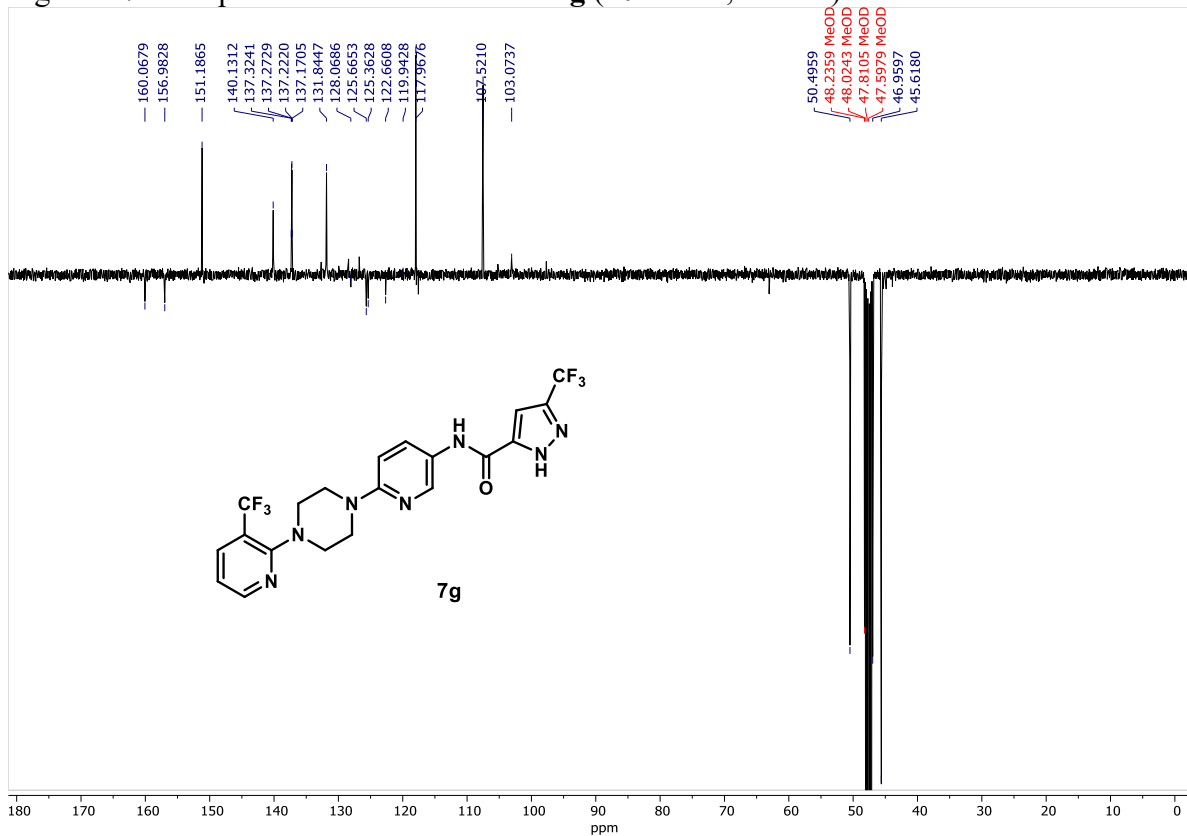


Figura A72 – Espectro de HRMS (ESI +) de **7g**

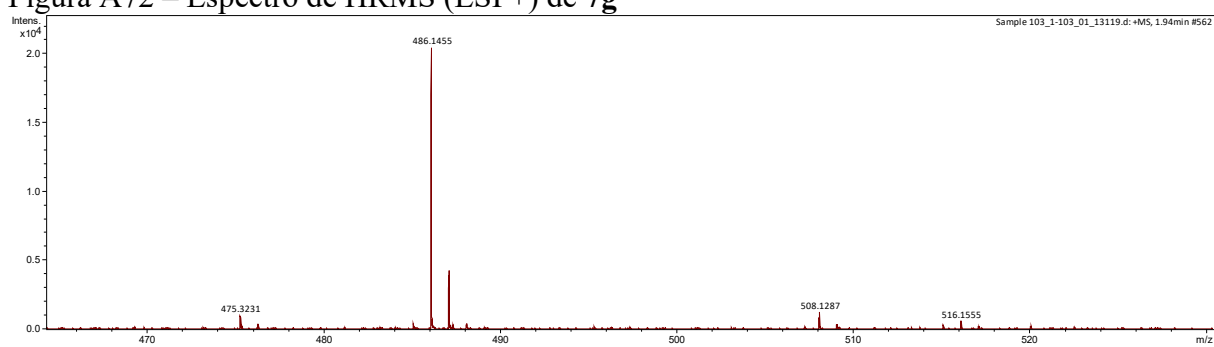


Figura A73 – Espectro de RMN de ^1H de **7h** (400 MHz, CDCl_3)

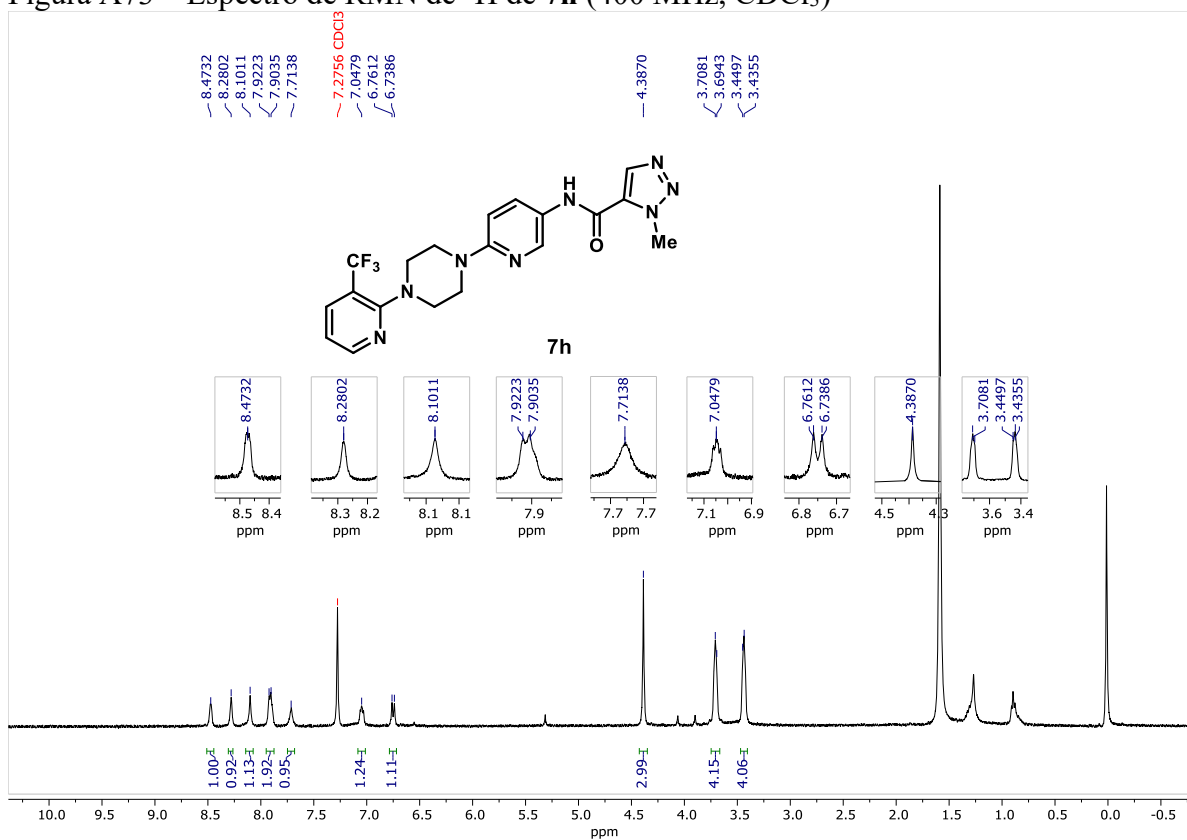


Figura A74 – Espectro de RMN de ^{13}C de **7h** (101 MHz, CDCl_3)



Figura A75 – Espectro de HRMS (ESI +) de **7h**

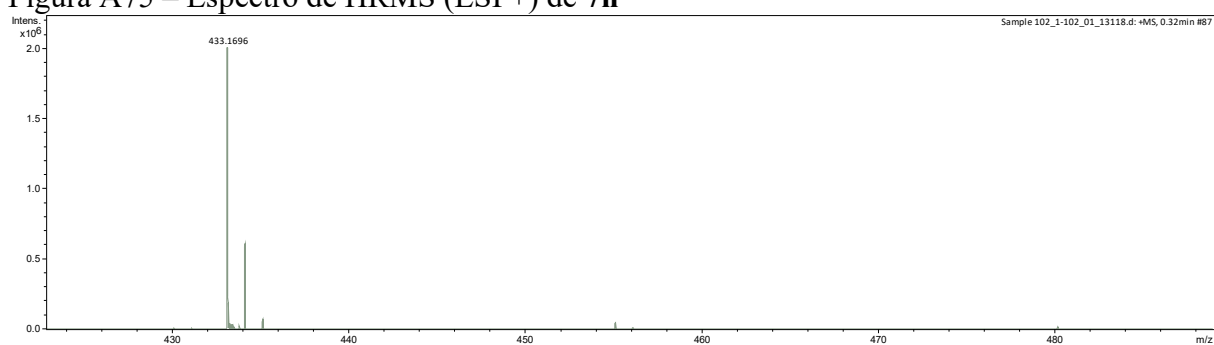


Figura A76 – Espectro de RMN de ^1H de **7i** (400 MHz, CDCl_3)

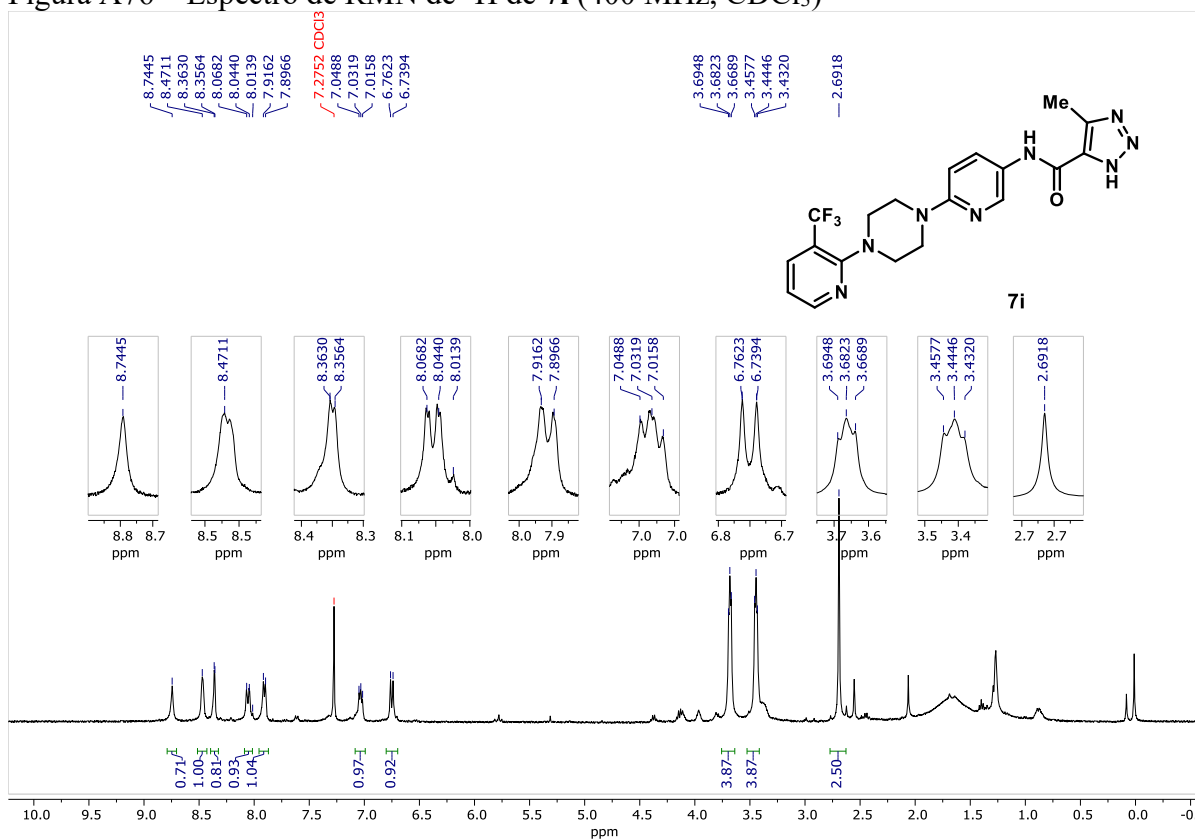


Figura A77 – Espectro de RMN de ^{13}C de **7i** (101 MHz, CDCl_3)

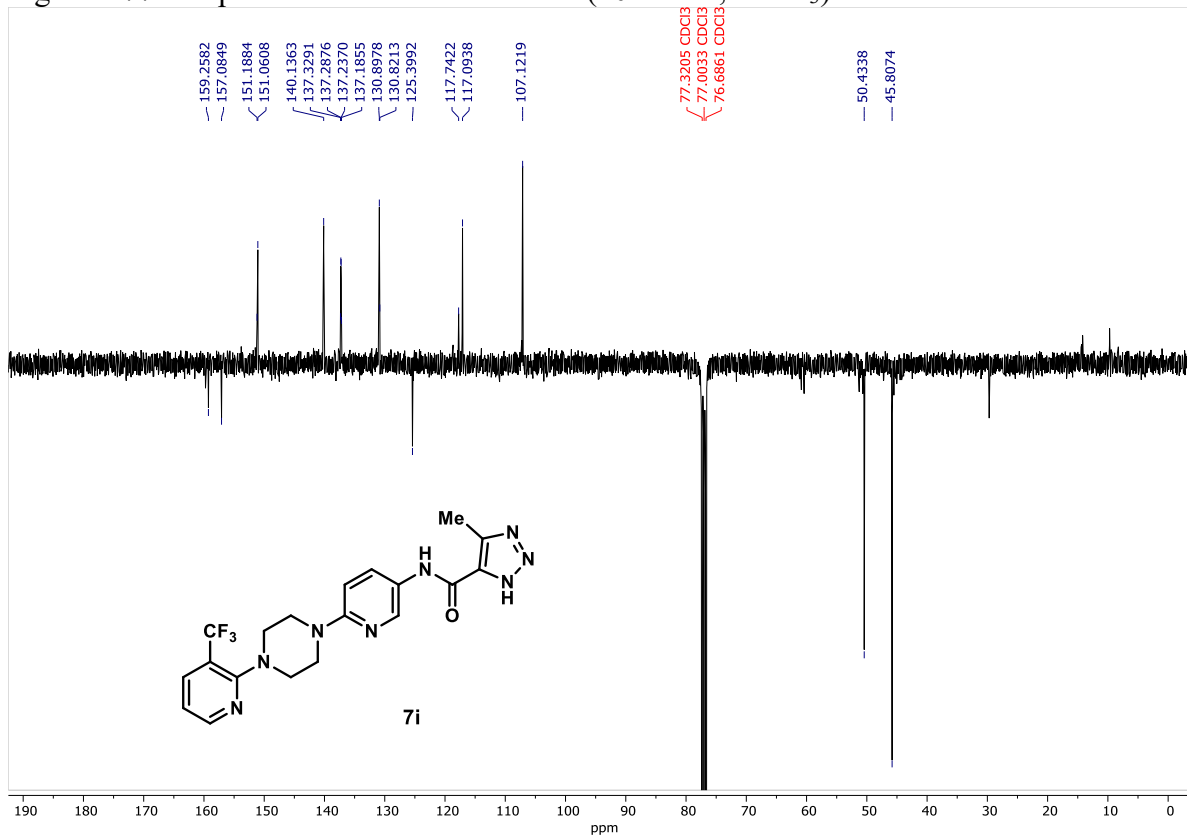


Figura A78 – Espectro de HRMS (ESI +) de **7i**

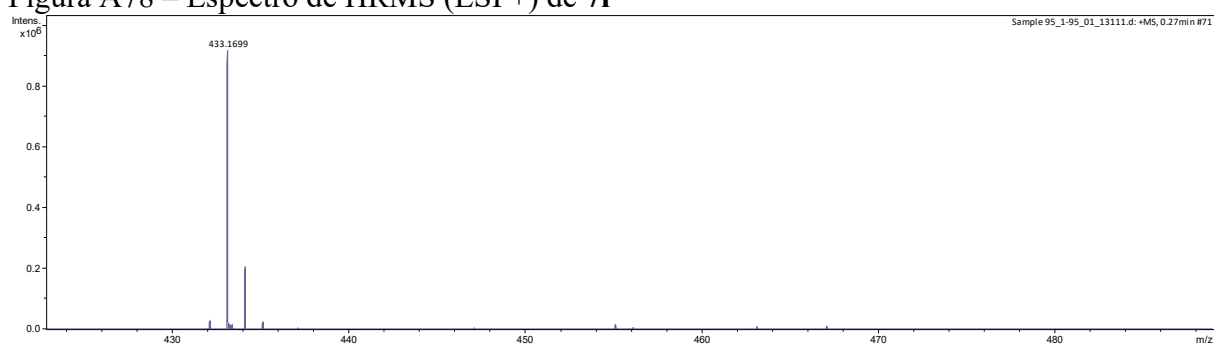


Figura A79 – Espectro de RMN de ^1H de **7j** (400 MHz, CDCl_3)

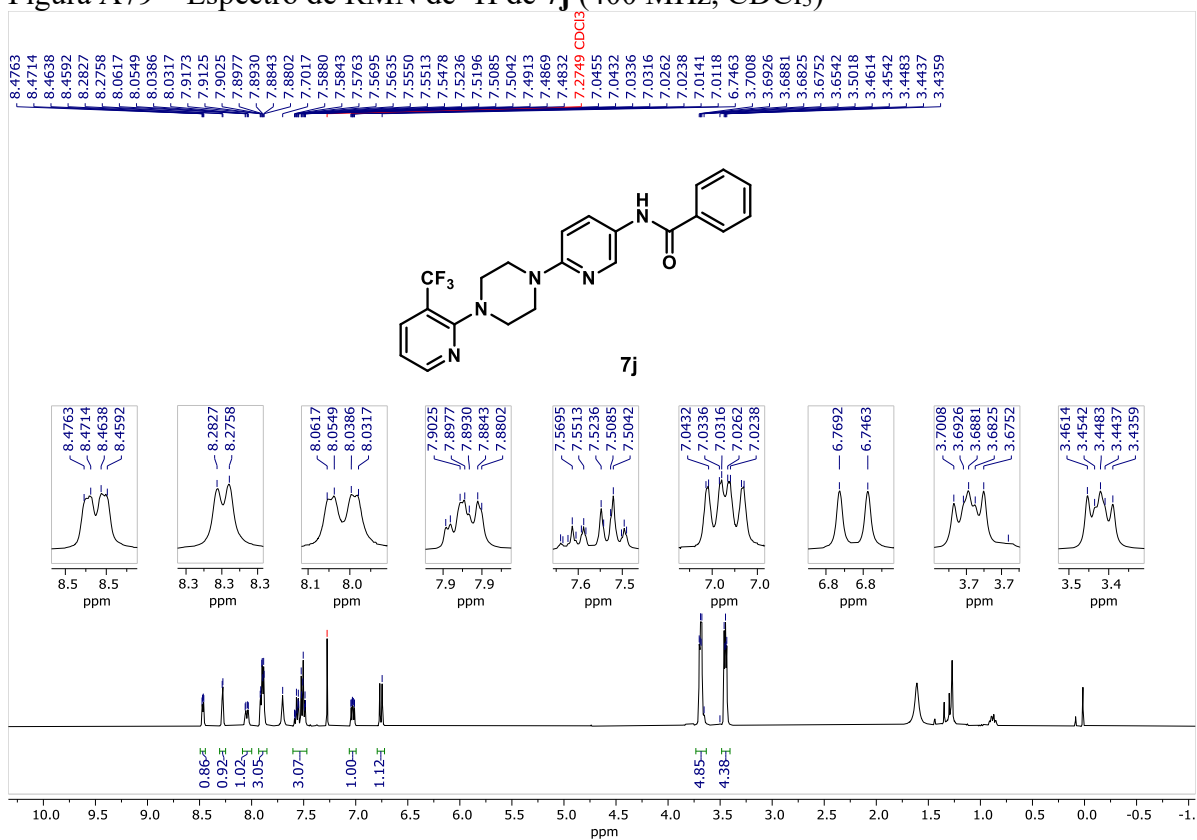


Figura A80 – Espectro de RMN de ^{13}C de **7j** (101 MHz, CDCl_3)

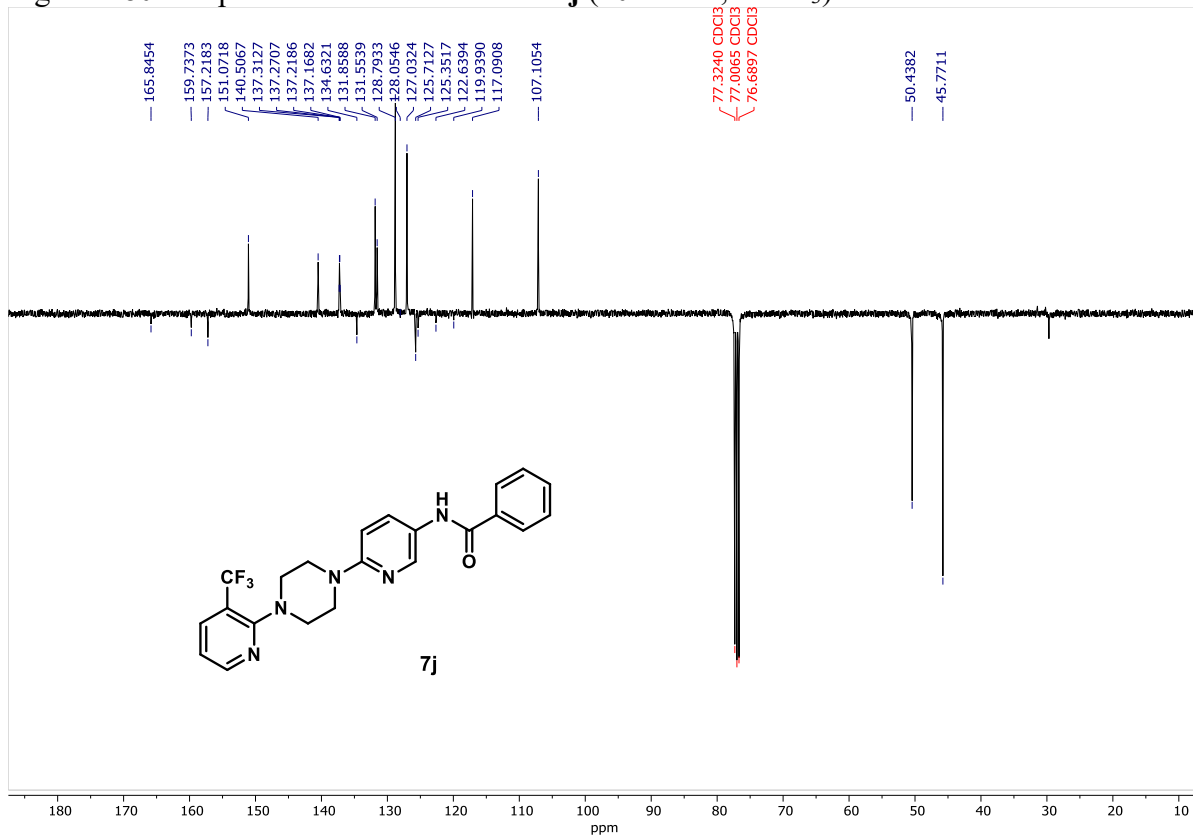


Figura A81 – Espectro de HRMS (ESI +) de **7j**

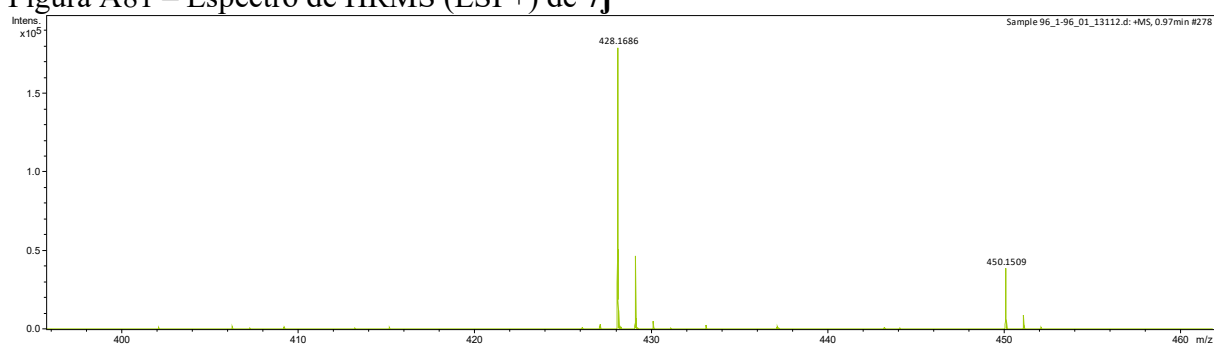


Figura A82 – Espectro de RMN de ^1H de **7k** (400 MHz, CDCl_3)

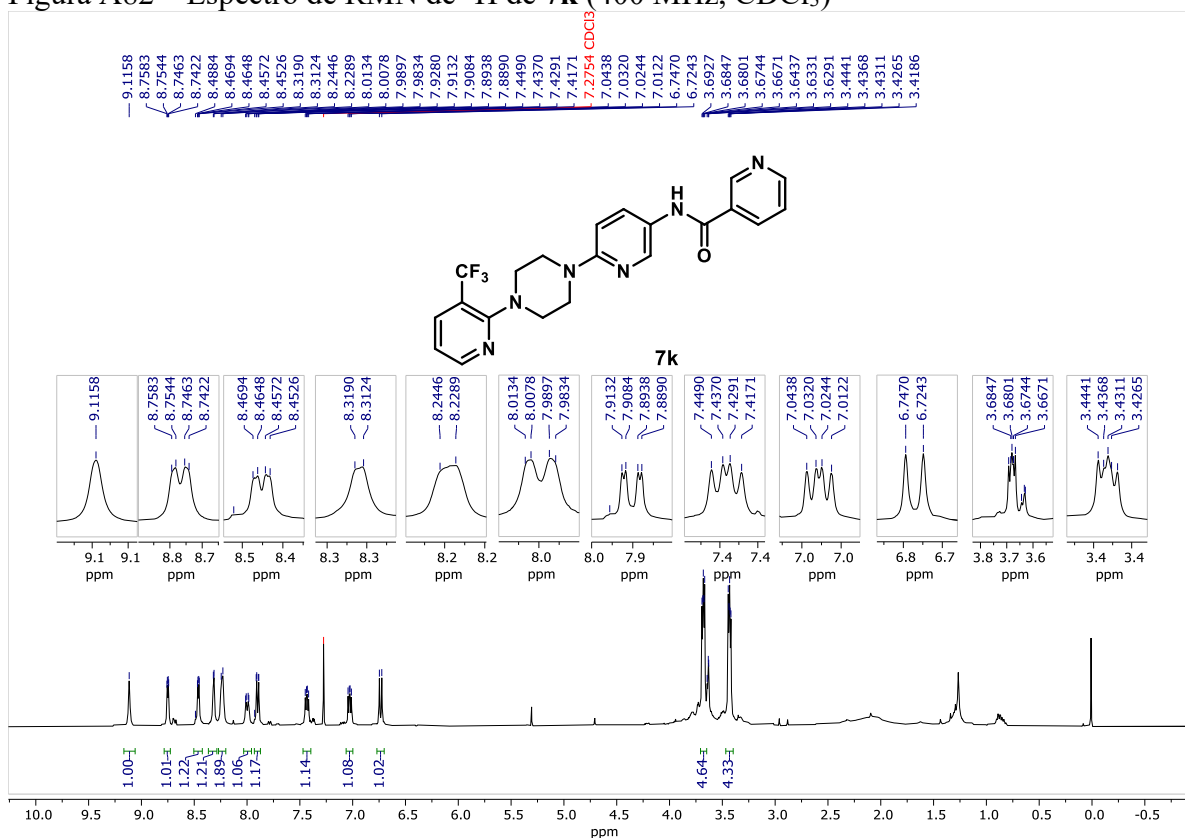


Figura A83 – Espectro de RMN de ^{13}C de **7k** (101 MHz, CDCl_3)

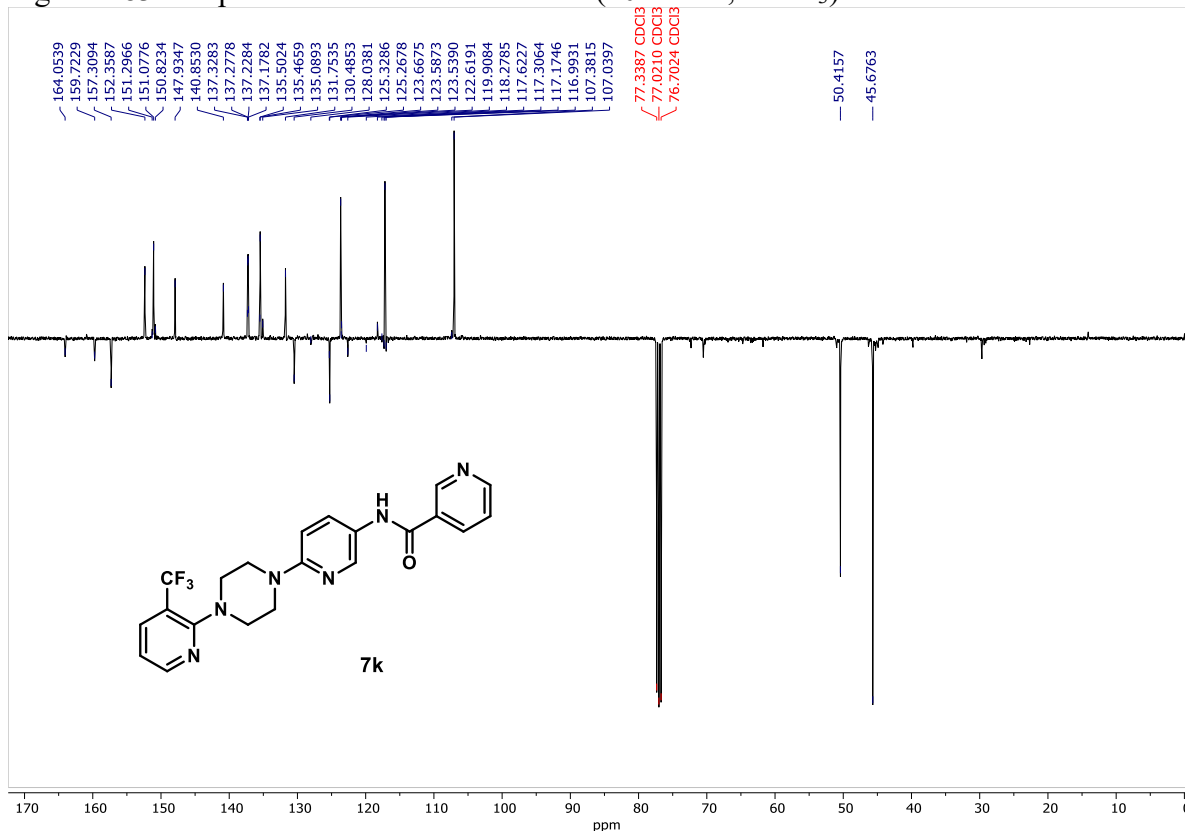


Figura A84 – Espectro de HRMS (ESI +) de **7k**

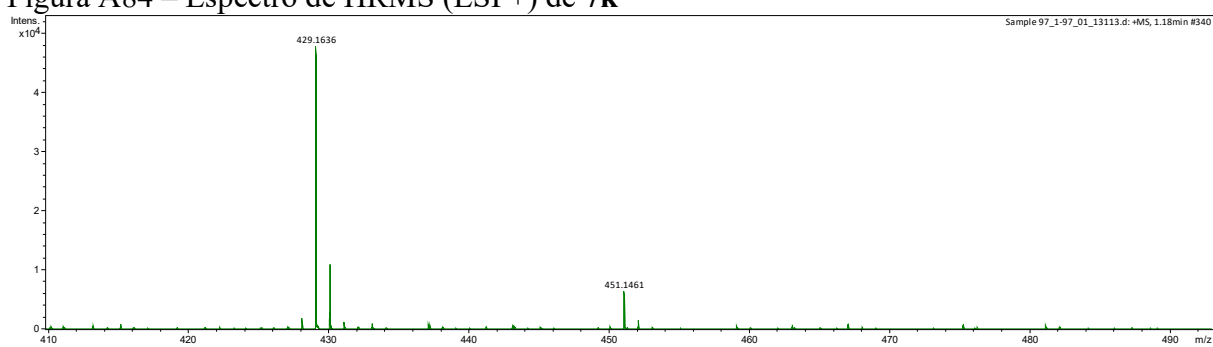


Figura A85 – Espectro de RMN de ^1H de **7l** (400 MHz, CDCl_3)

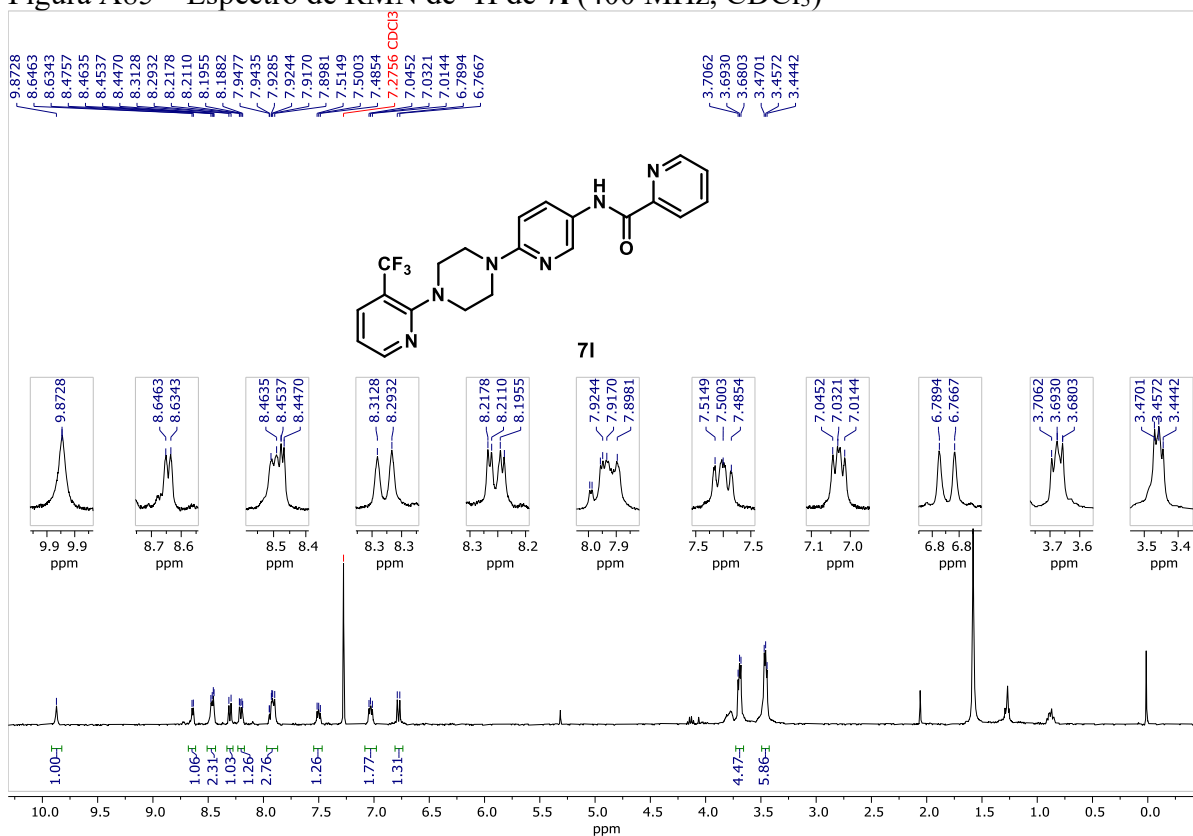


Figura A86 – Espectro de RMN de ^{13}C de **7l** (101 MHz, CDCl_3)

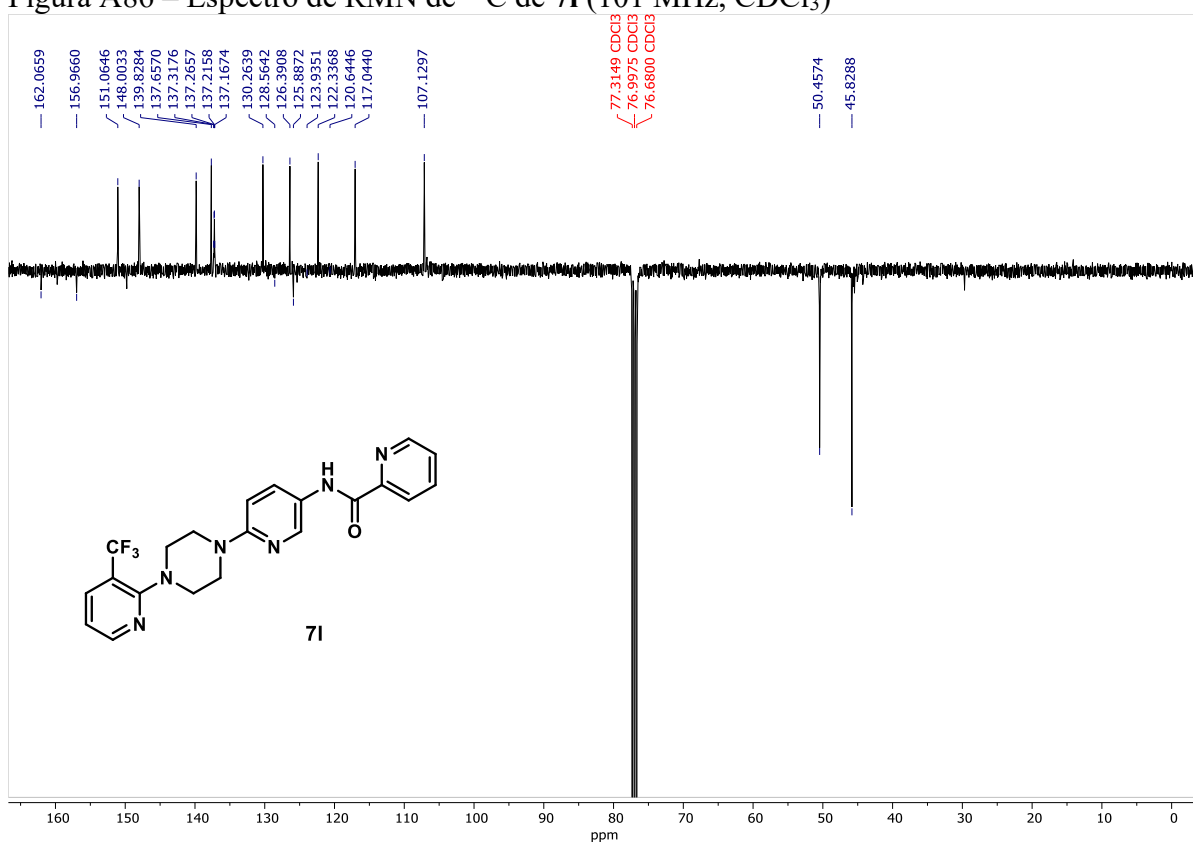


Figura A87 – Espectro de HRMS (ESI +) de **71**

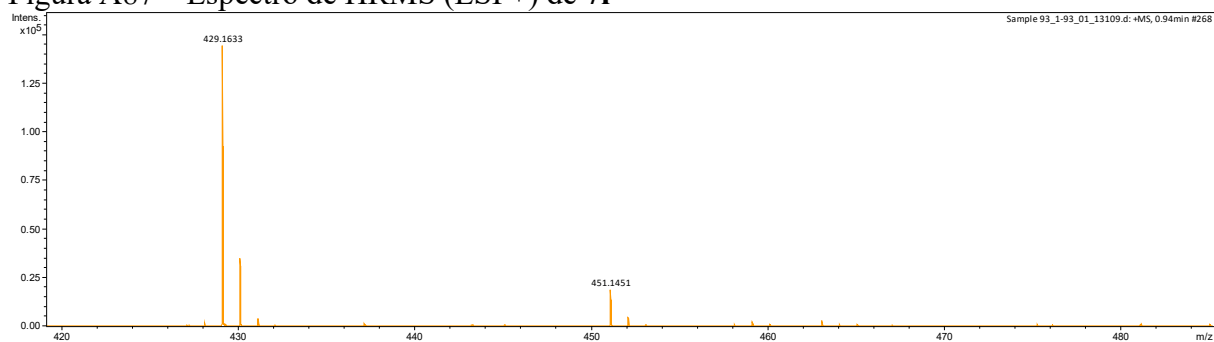


Figura A88 – Espectro de RMN de ^1H de **7m** (400 MHz, CDCl_3)

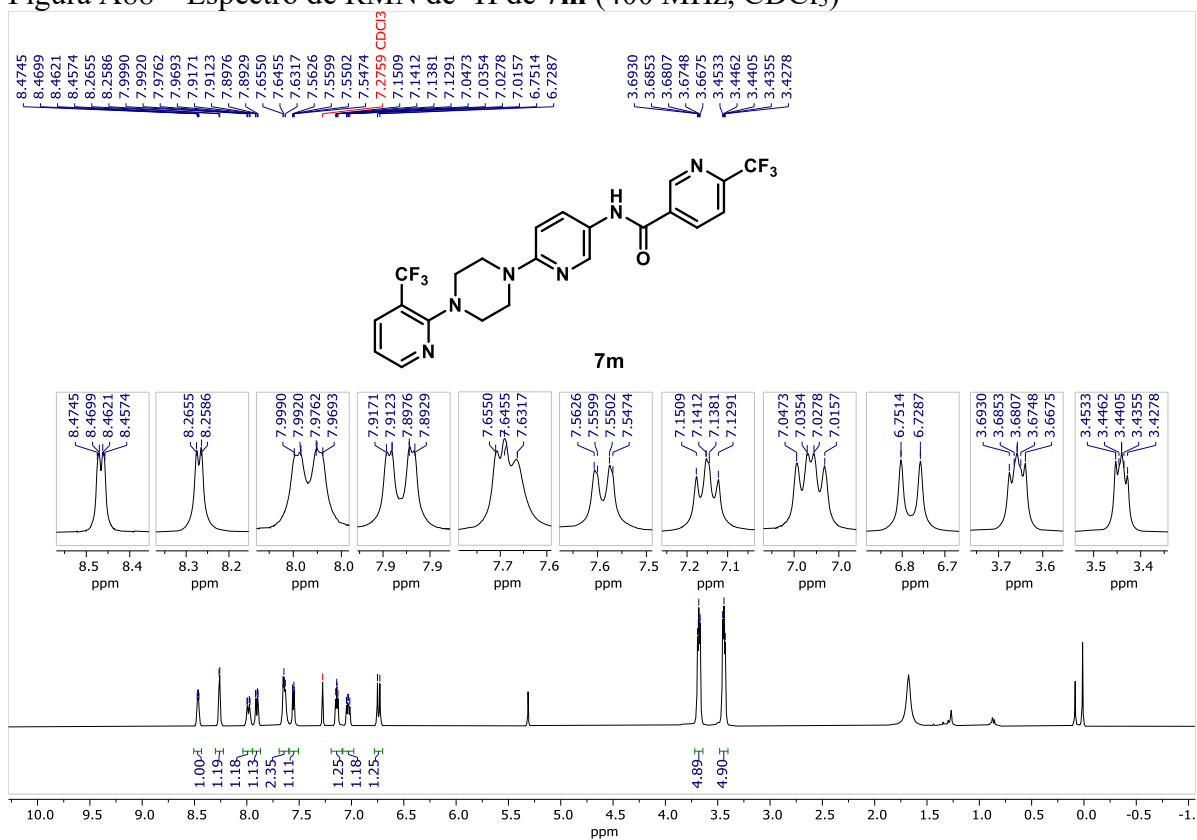


Figura A89 – Espectro de RMN de ^{13}C de **7m** (101 MHz, CDCl_3)

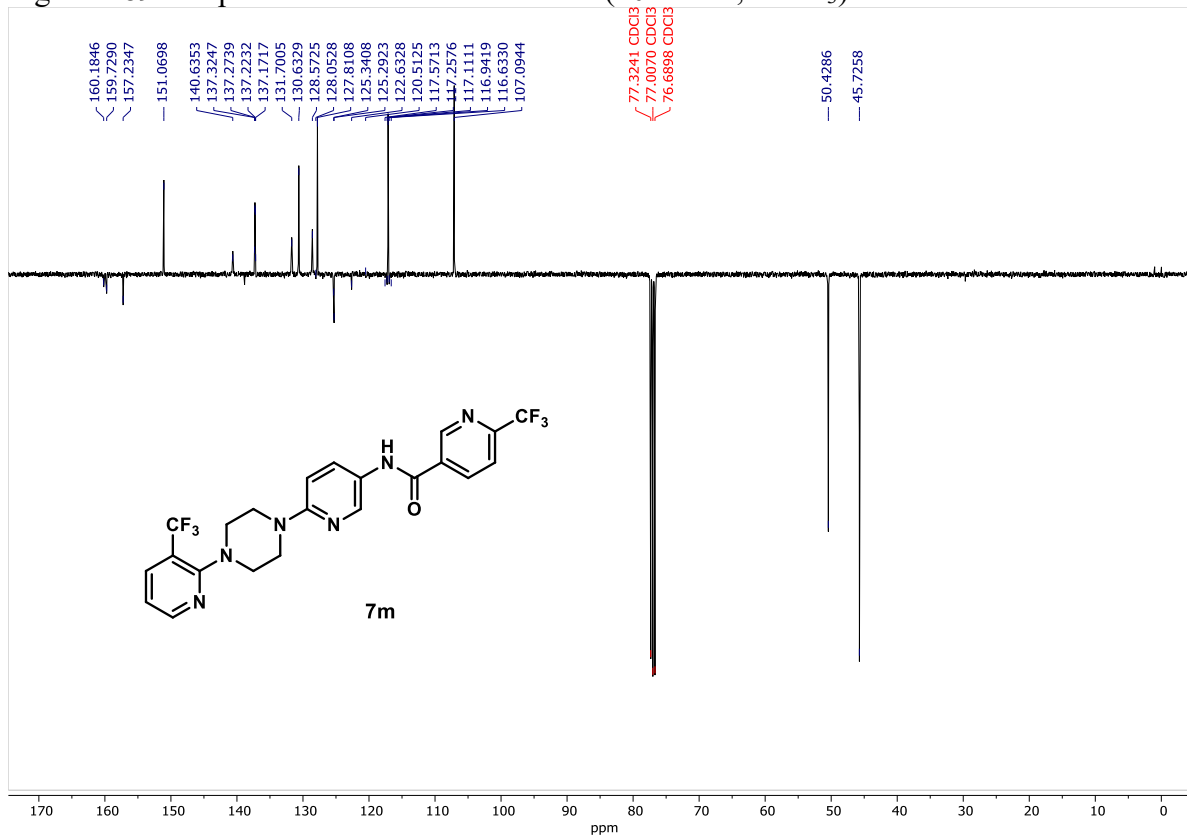


Figura A90 – Espectro de HRMS (ESI +) de **7m**

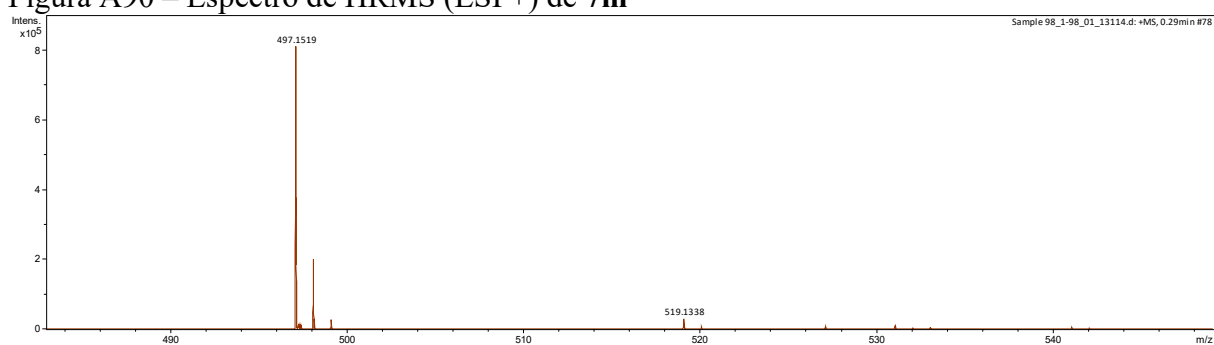


Figura A91 – Espectro de RMN de ^1H de **7n** (400 MHz, CDCl_3)

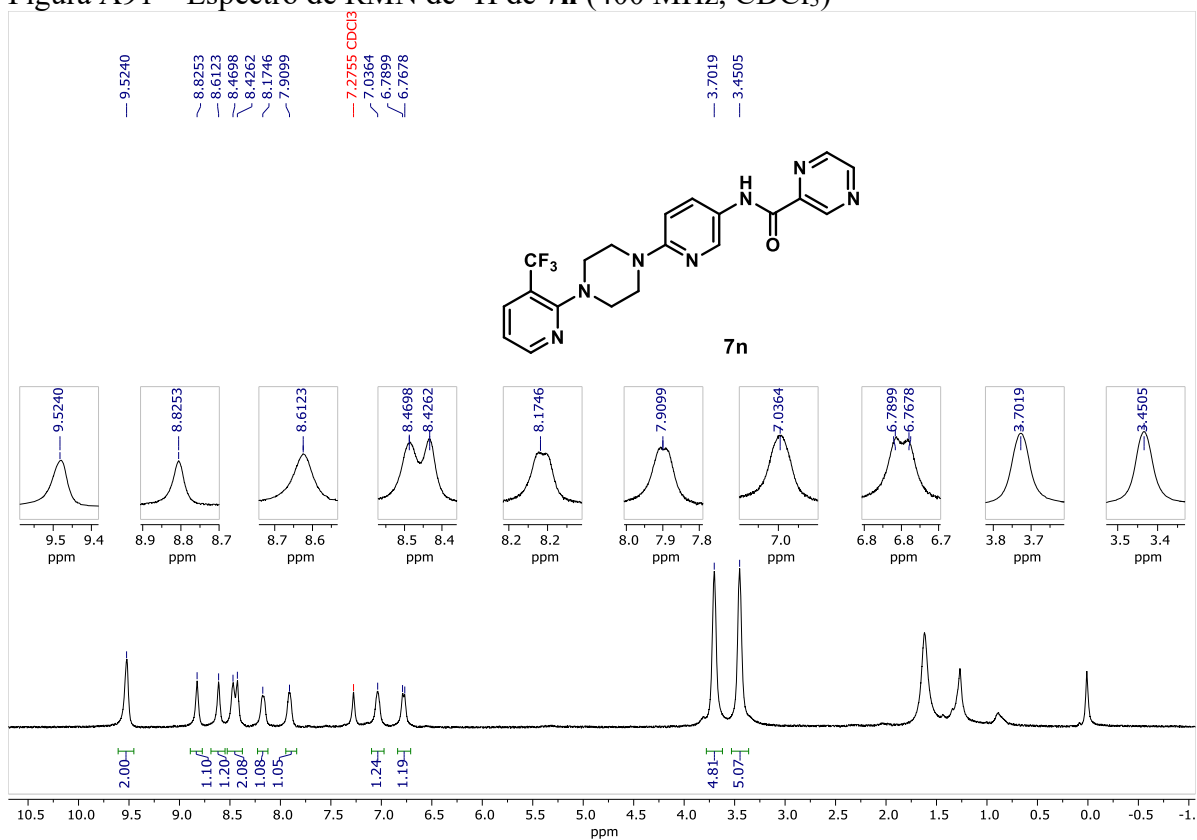


Figura A92 – Espectro de RMN de ^{13}C de **7n** (101 MHz, CDCl_3)

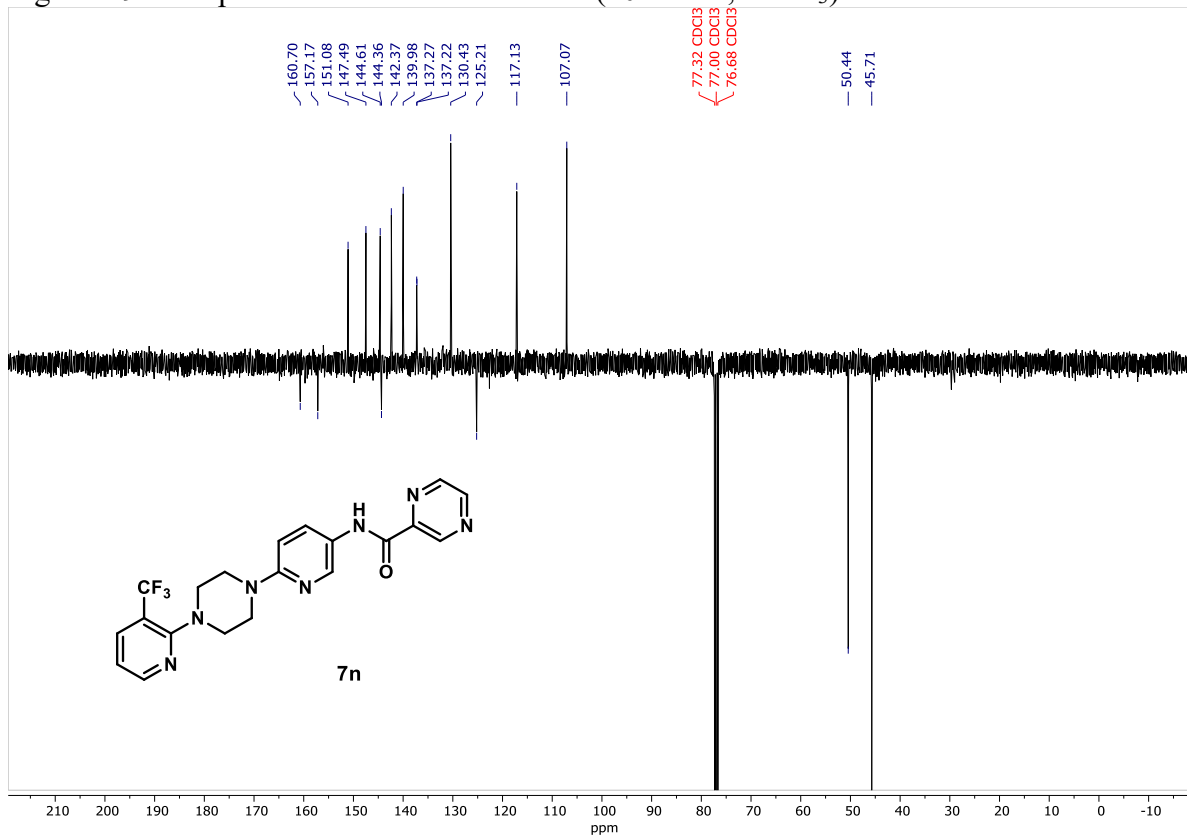


Figura A93 – Espectro de HRMS (ESI +) de **7n**

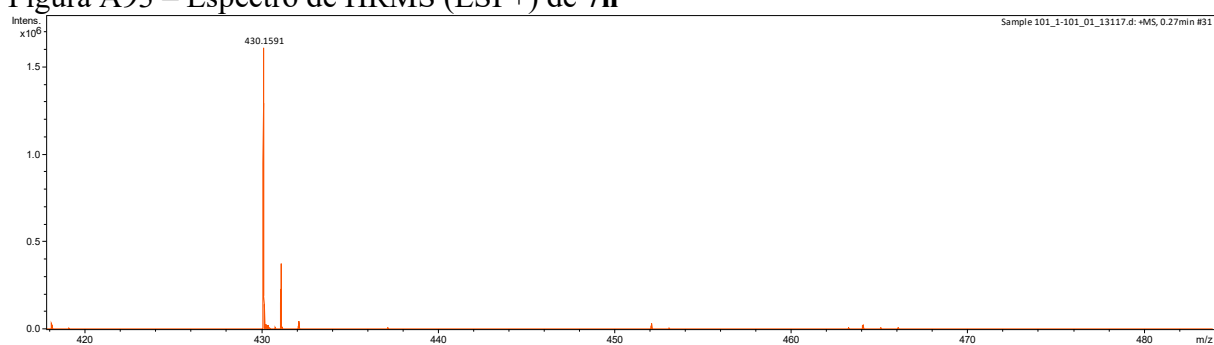


Figura A94 – Espectro de RMN de ^1H de **9a** (400 MHz, CDCl_3)

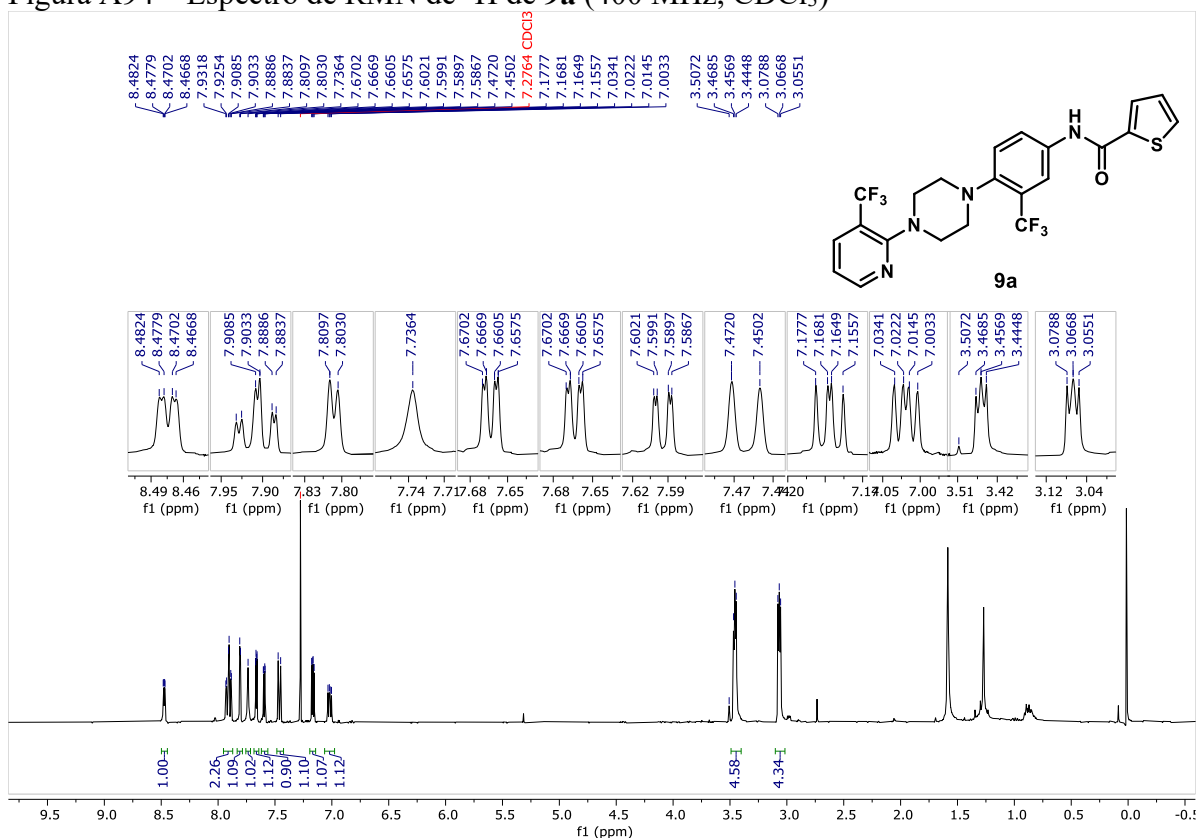


Figura A95 – Espectro de RMN de ^{13}C de **9a** (101 MHz, CDCl_3)

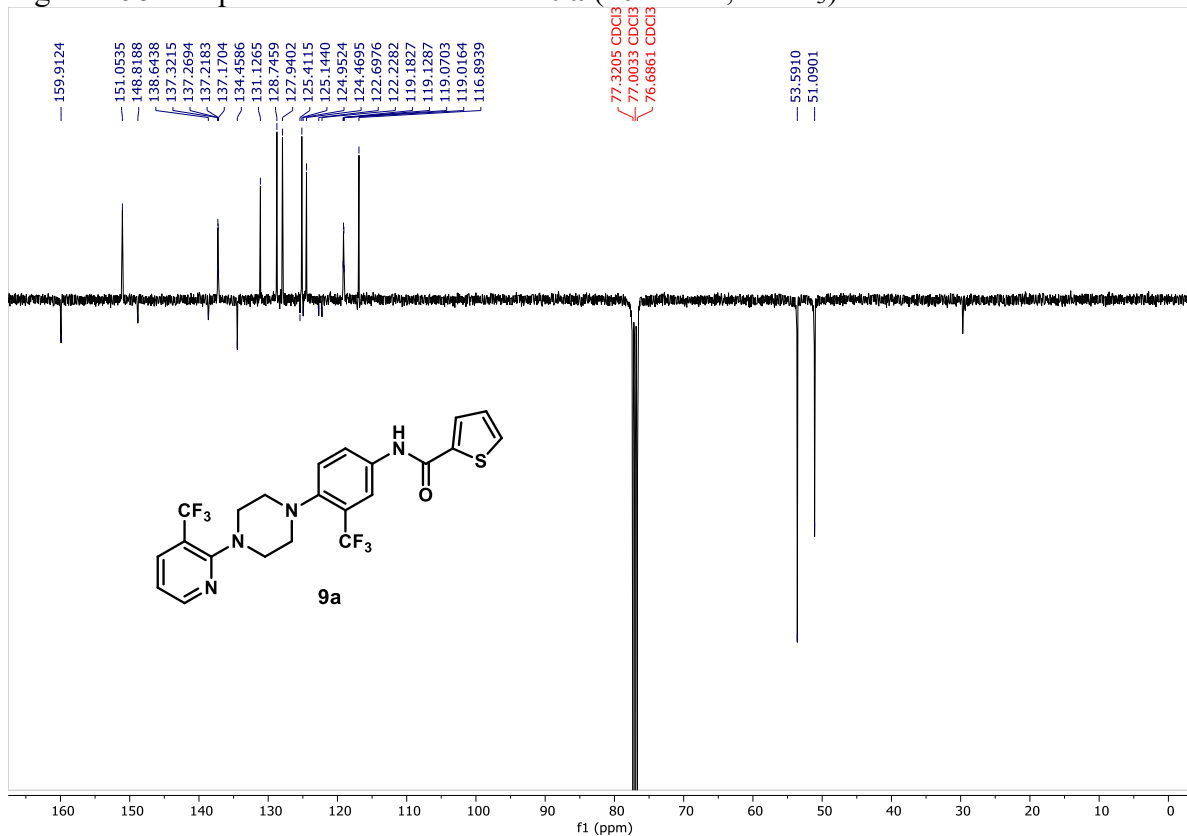


Figura A96 – Espectro de HRMS (ESI +) de **9a**

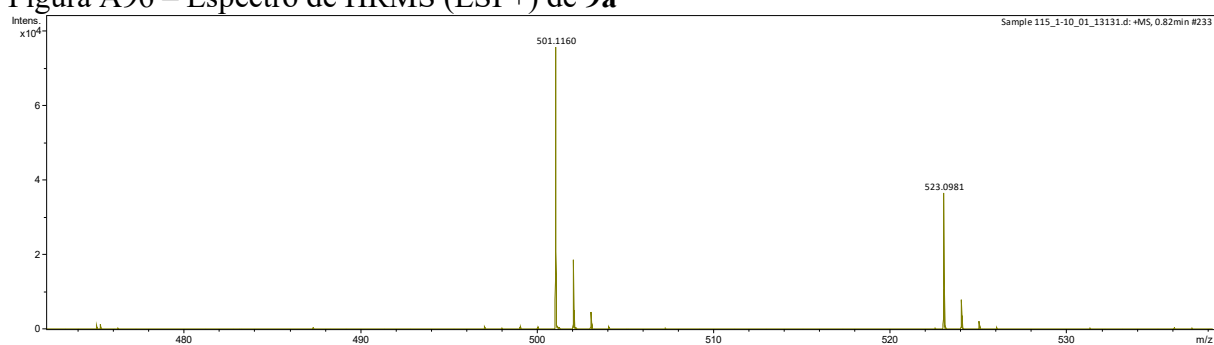


Figura A97 – Espectro de RMN de ^1H de **9b** (400 MHz, CDCl_3)

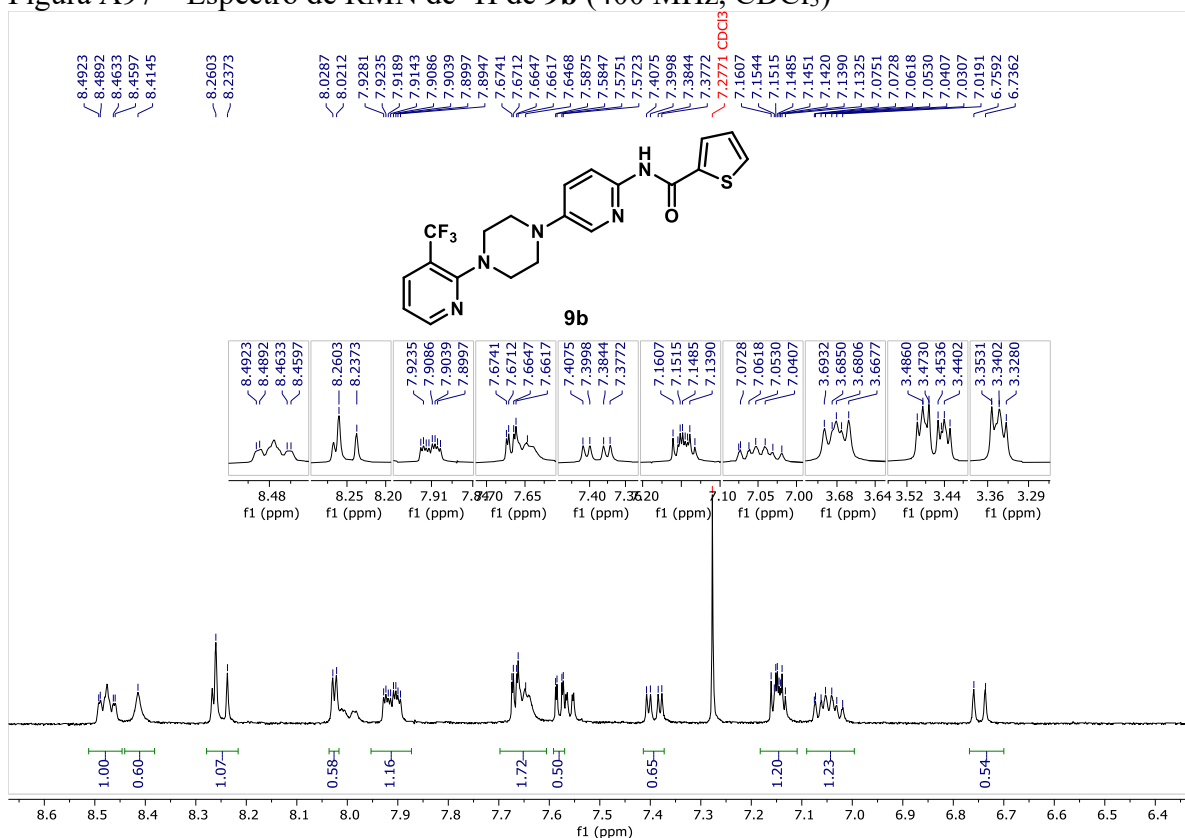


Figura A98 – Espectro de RMN de ^{13}C de **9b** (101 MHz, CDCl_3)

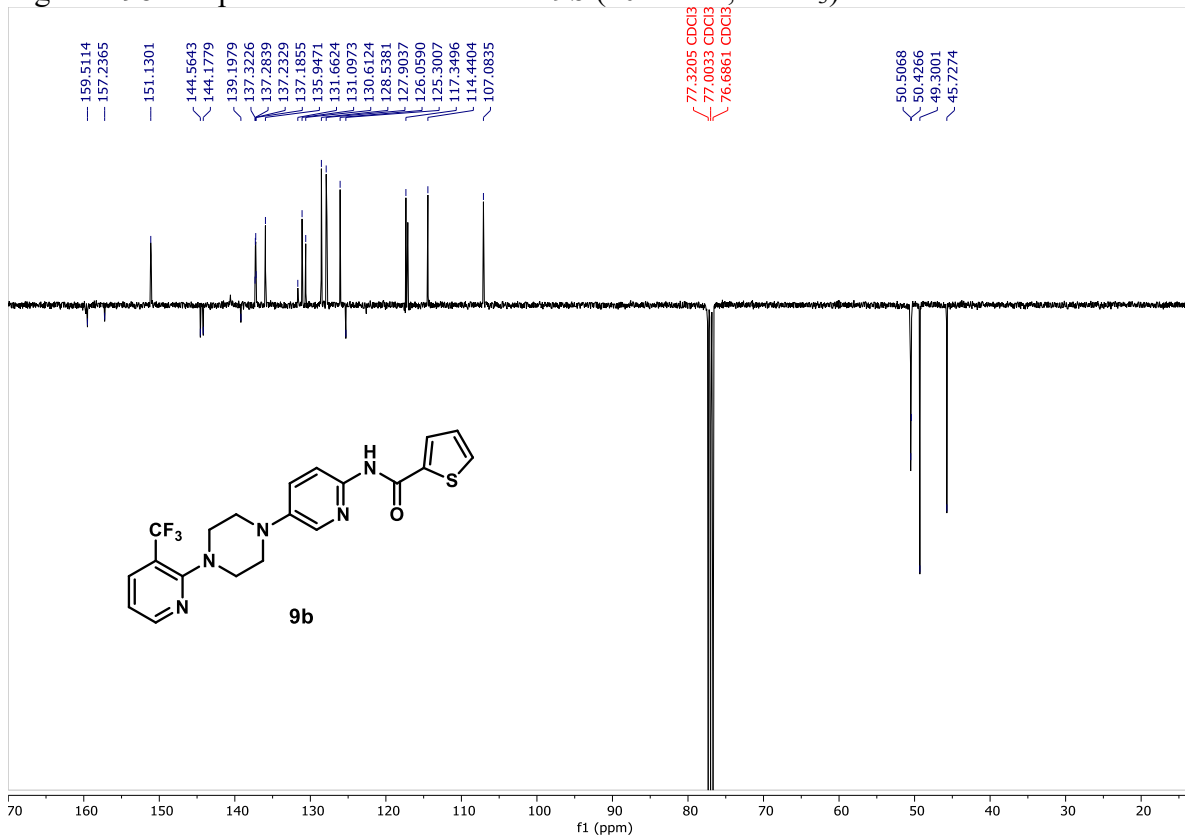


Figura A99 – Espectro de RMN de ^1H de **9d** (400 MHz, CDCl_3)

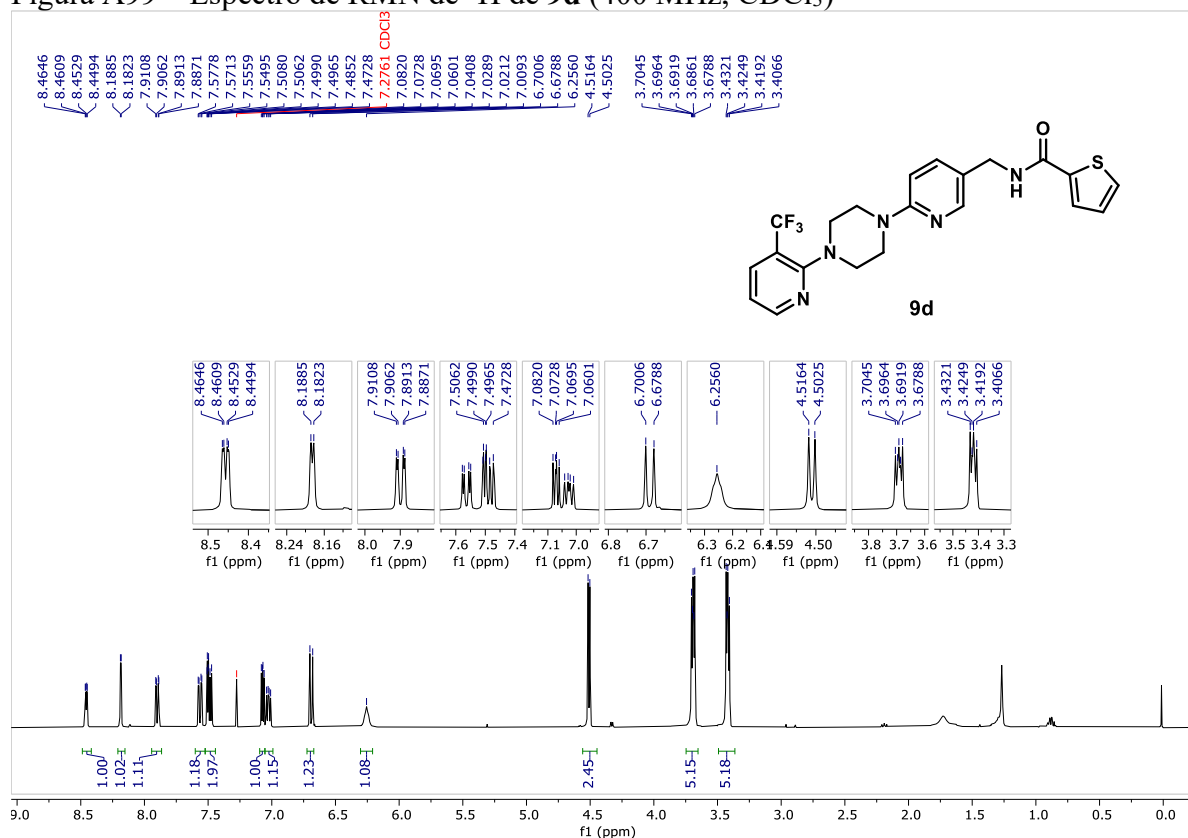


Figura A100 – Espectro de RMN de ^{13}C de **9d** (101 MHz, CDCl_3)

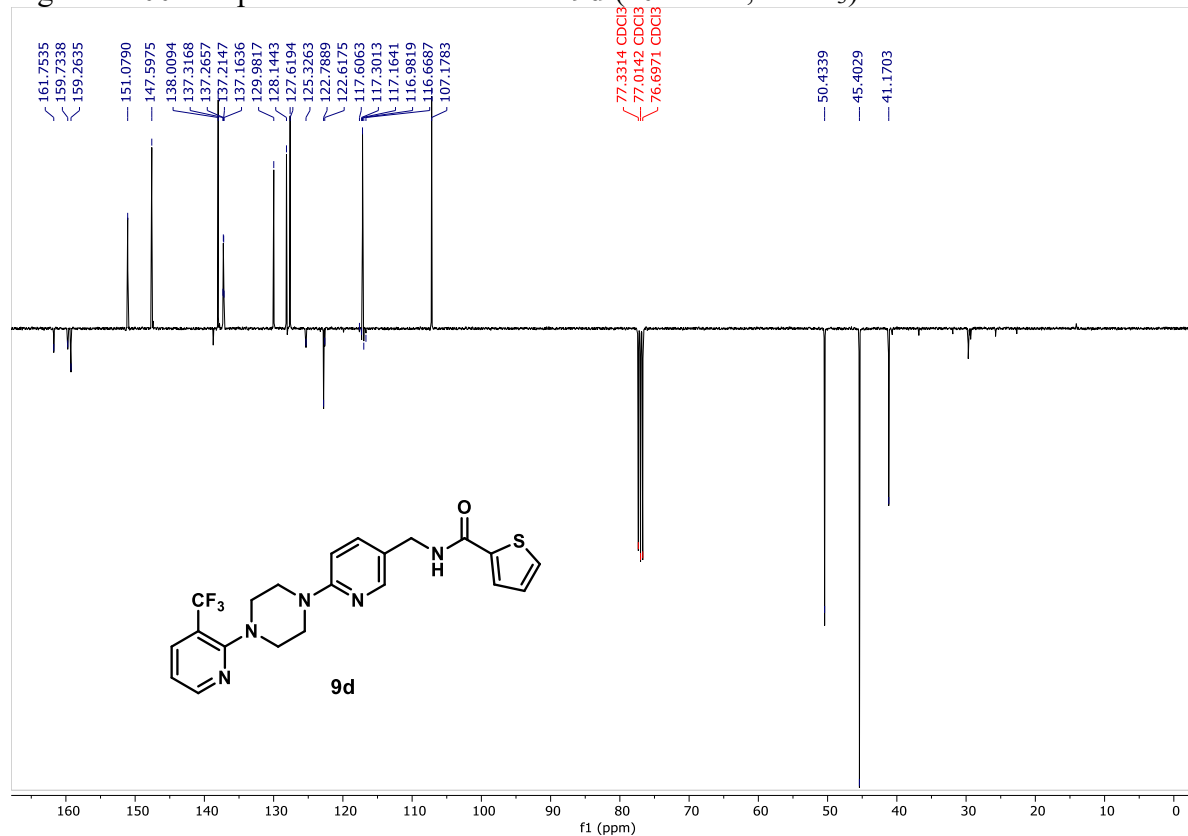


Figura A101 – Espectro de RMN de ^1H de **13a** (400 MHz, CDCl_3)

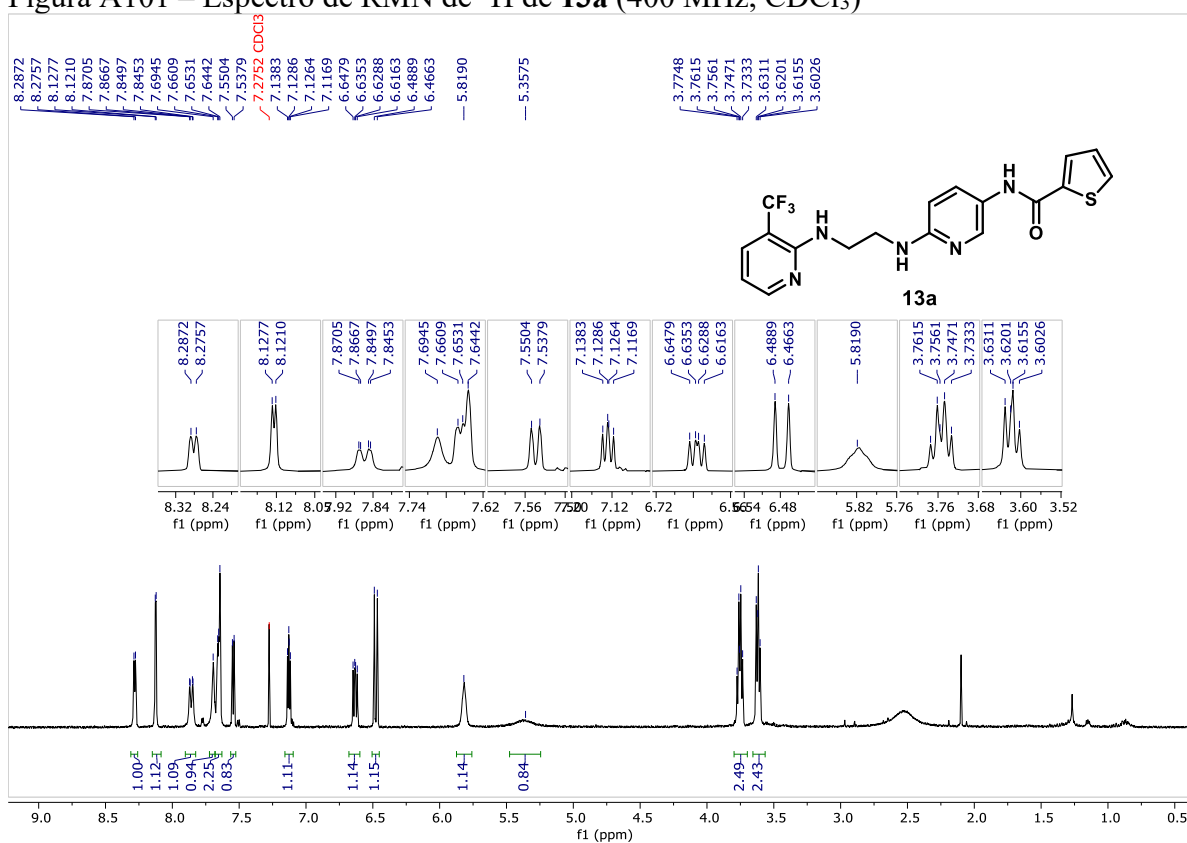


Figura A102 – Espectro de RMN de ^{13}C de **13a** (101 MHz, CDCl_3)

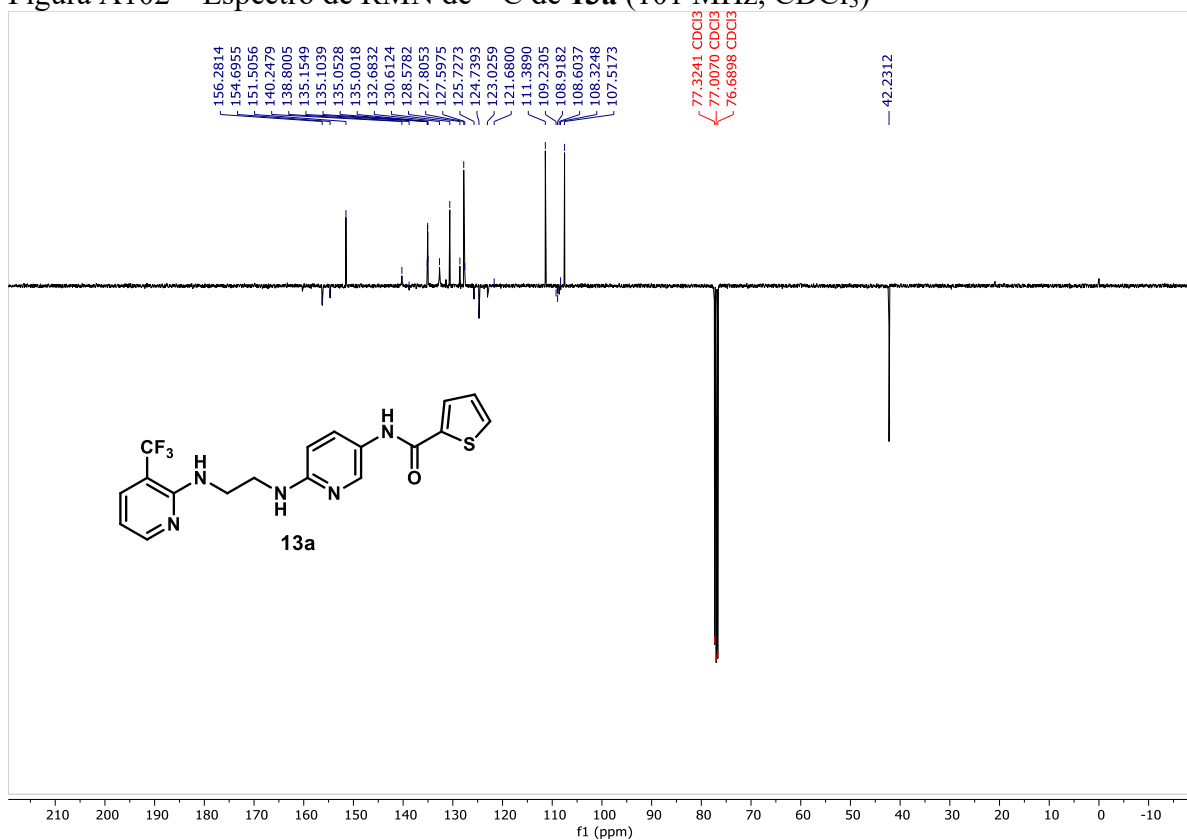


Figura A103 – Espectro de HRMS (ESI +) de **13a**

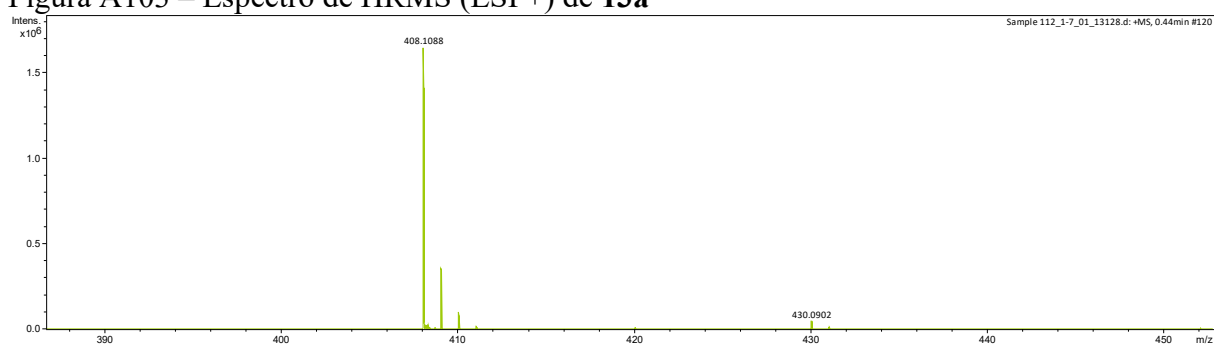


Figura A104 – Espectro de RMN de ^1H de **13b** (400 MHz, CDCl_3)

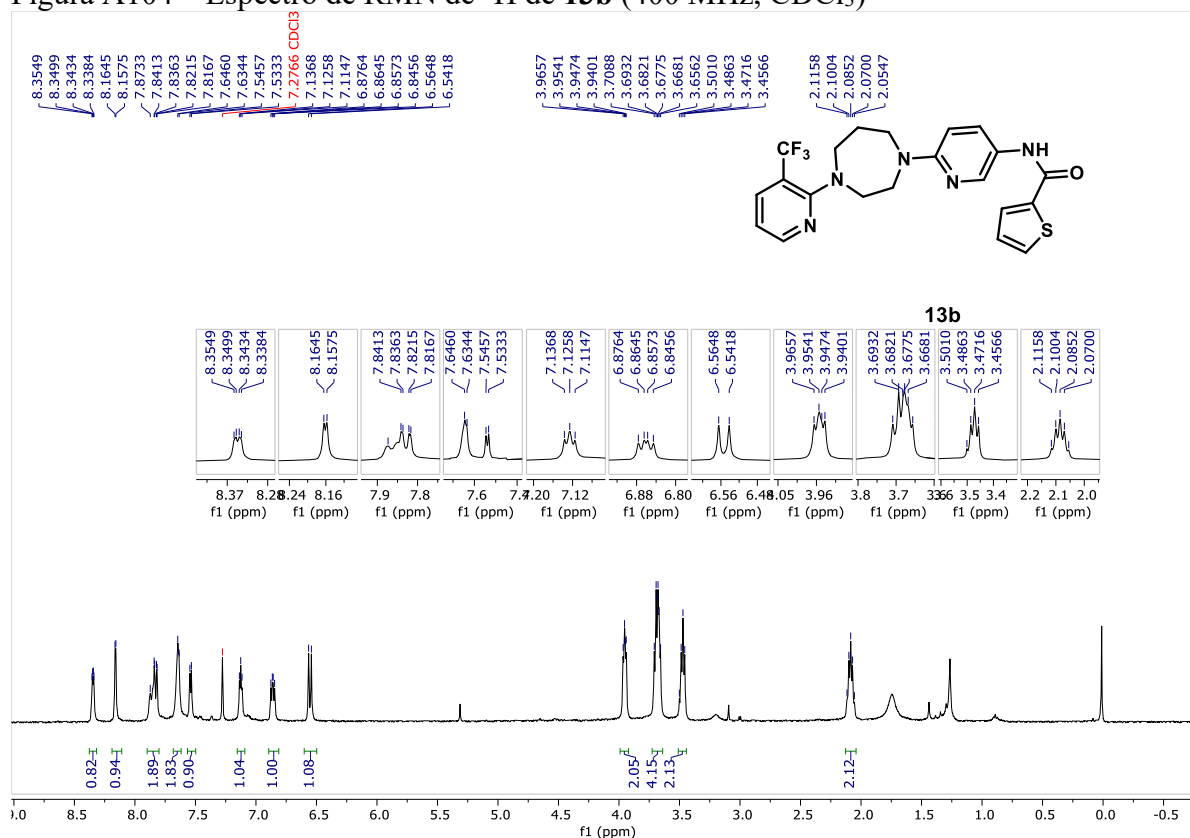


Figura A105 – Espectro de RMN de ^{13}C de **13b** (101 MHz, CDCl_3)

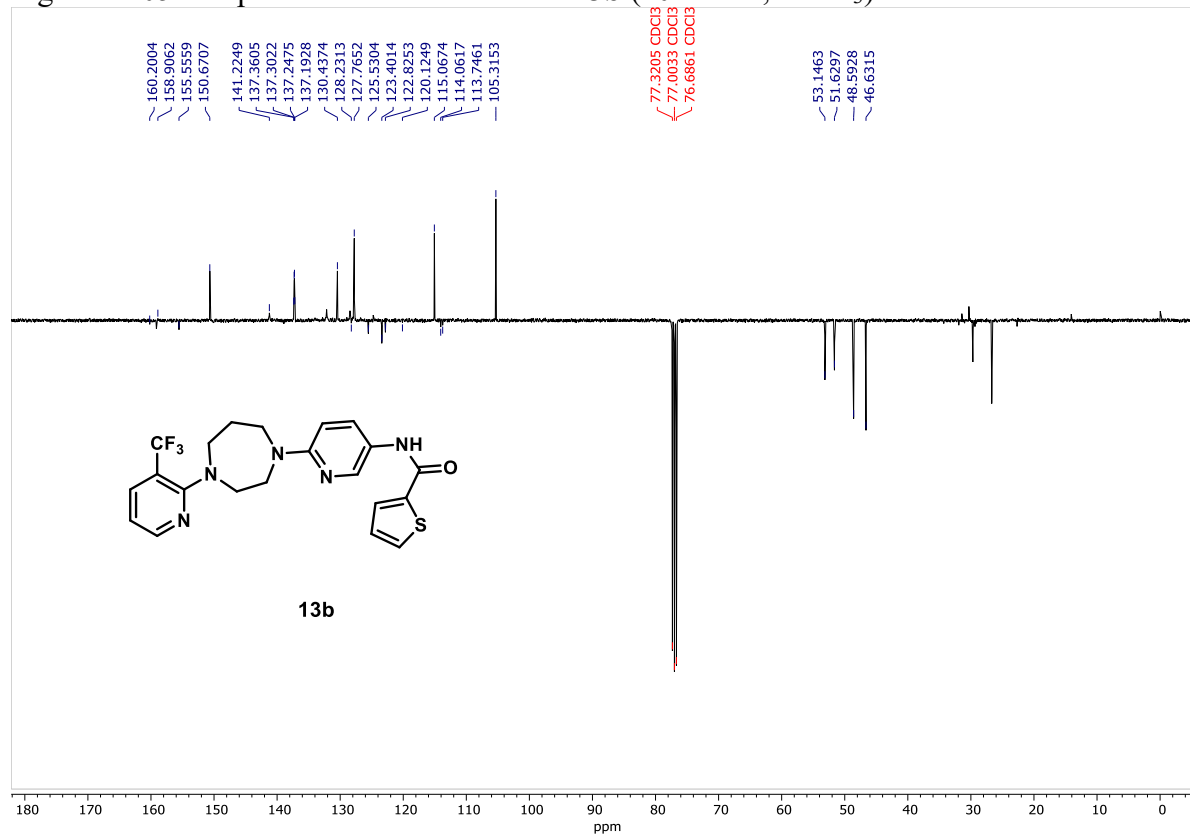


Figura A106 – Espectro de RMN de ^1H de **2d** (400 MHz, CDCl_3)

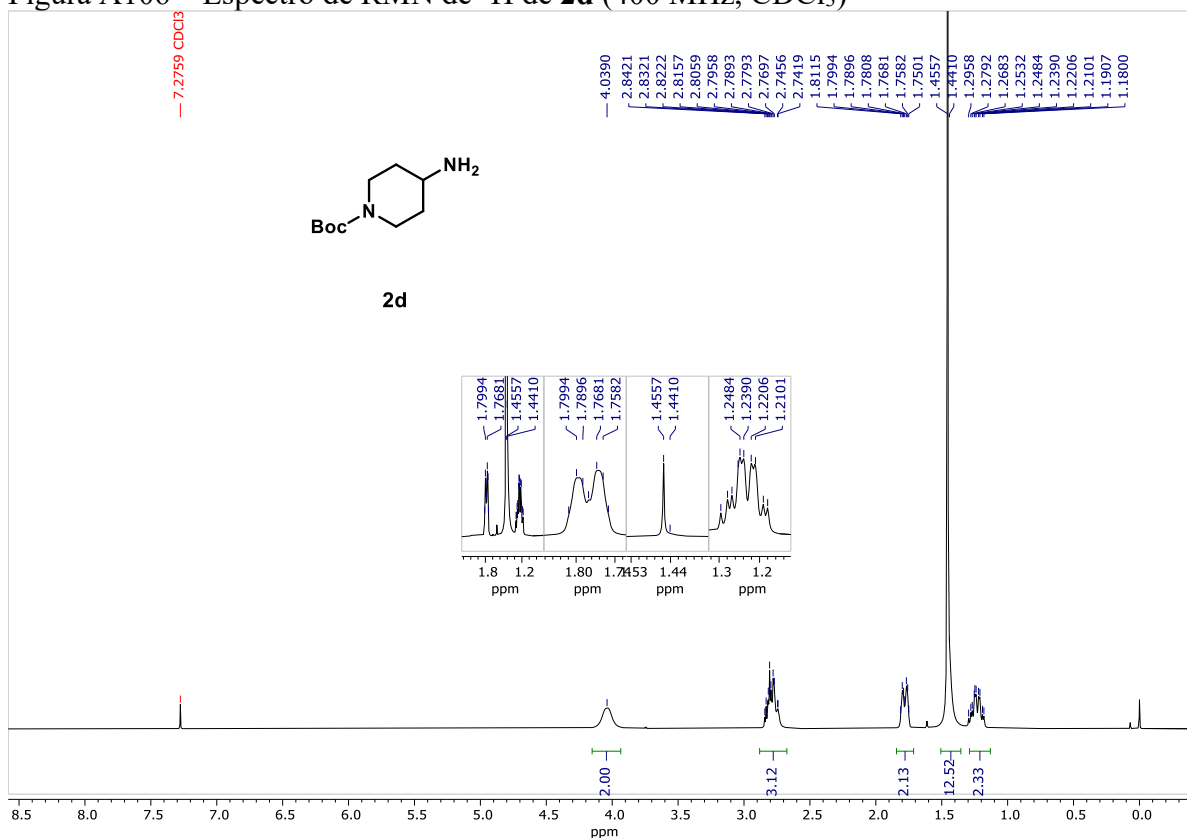


Figura A107 – Espectro de RMN de ^{13}C de **2d** (101 MHz, CDCl_3)

