UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

GRECIA LILIBETH SOLÓRZANO ANDINO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO ANTIBACTERIANA DE BASES DE SCHIFF

Maceió
2021

GRECIA LILIBETH SOLÓRZANO ANDINO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO ANTIBACTERIANA DE BASES DE SCHIFF

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. João X. de Araújo Júnior.
Coorientador: Prof. Dr. Thiago M. de Aquino.

Maceió
2021

Catalogação na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S689s Solórzano Andino, Grécia Lilibeth.
Síntese e avaliação antibacteriana de bases de Schiff / Grécia Lilibeth Solórzano Andino. – 2021.
81 f. : il. color.

Orientador: João X. de Araújo Júnior.
Co-orientador: Thiago M. de Aquino.
Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas. Maceió, 2021.

Bibliografia: f. 63-71.
Apêndices: f. 73-81.

1. Farmacorresistência bacteriana. 2. Iminas. 3. Bases de Schiff. I. Título.

CDU: 615.281.9

FOLHA DE APROVAÇÃO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO ANTIBACTERIANA DE BASES DE SCHIFF

Dissertação submetida ao corpo docente do programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em 19 de julho de 2021.

gov.br Documento assinado digitalmente
Joao Xavier de Araujo Junior
Data: 19/07/2021 10:28:26-0300
Verifique em https://verificador.iti.br

Prof. Dr. João Xavier de Araújo (Orientador)

Prof. Dr. Thiago Mendonça de Aquino (Co-orientador)

Edeildo Ferreira da Silva Júnior

Prof. Dr. Edeildo Ferreira da Silva (Examinador interno)

Profa. Dra. Isis Martins Figueiredo

RESUMO

As bases de Schiff são uma classe importante de compostos orgânicos, estes apresentam o grupo azometina, o qual é responsável por uma grande variedade de aplicações biológicas, incluindo atividade antibacteriana. Assim como as bases de Schiff, heterociclos como tiazol, piridina e indol são farmacóforos presentes em vários produtos farmacêuticos, onde são relatadas também propriedades antibacterianas. Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo a síntese de compostos bases de Schiff contendo os heterociclos: tiazol, indol e piridina através da condensação de aldeídos com aminas aromáticas. Foram obtidos 6 compostos (LQM385- LQM390) com rendimentos superiores a 70%. As estruturas foram caracterizadas pelo método de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de hidrogênio (^{1}H) e carbono (^{13}C). A atividade antibacteriana foi avaliada pelo método de microdiluição em caldo contra duas cepas bacterianas gram-negativas *(Escherichia coli ATCC 25922 e Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853)* e duas cepas gram-positivas *(Staphylococcus aureus ATCC 25923 e Enterococcus faecalis ATCC 29212)*, os compostos apresentaram atividade significativa a moderada com concentrações inibitórias mínimas (CIM) de 62,5 µg/mL-500 µg/mL frente à maioria das cepas. A avaliação da atividade antibacteriana mostrou que os compostos LQM385, LQM389 e LQM390 exibiram as melhores CIM frente a cepa *S. aureus ATCC 25923*, sendo as mais baixas do estudo incluindo também a CIM do composto LQM 385 frente a *E. faecalis ATCC 29212.*

Palavras chave: Resistência antibacteriana, Iminas, Bases de Schiff.

ABSTRACT

Schiff´s bases are an important class of organic compounds, that have the azomethine group which is responsible for a wide variety of biological applications including antibacterial activity. Like Schiff's bases, heterocycles such as thiazole, pyridine and indole are pharmacophores present in several pharmaceutical products, where antibacterial properties are also reported. Thus, the present work aims at the synthesis of Schiff´s bases compounds containing the heterocycles: thiazol, indole and pyridine through the condensation of aldehydes with aromatic amines. Six compounds (LQM385-LQM390) were obtained with yields greater than 70%. The structures were characterized by the Nuclear Magnetic Resonance (NMR) method of hydrogen (^{1}H) and carbon (^{13}C). The antibacterial activity was evaluated by the broth microdilution method against two gram-negative bacterial strains (*Escherichia coli ATCC 25922* and *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853)* and two gram-positive strains (*Staphylococcus aureus ATCC 25923* and *Enterococcus faecalis ATCC 29212*), the compounds presented significant to moderate activity with minimal inhibitory concentrations (MIC) of 62.5 µg/mL-500 µg/mL against most strains. The evaluation of the antibacterial activity showed that the compounds LQM385, LQM389 and LQM390 exhibited the best MIC against the *S. aureus ATCC 25923* strain, being the lowest in the study including also the MIC of the compound LQM 385 against *E. faecalis ATCC 29212*.

Keywords: Antimicrobial resistance, Imines, Schiff´s bases.

Agradecimentos

À Deus por me acompanhar e cuidar de mim em todo momento.
Aos meus pais, Marina, Jorge e ao meu irmão Jorgito por me apoiar e ajudar em tudo.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Joao Xavier pelo recebemento no Laboratorio de química medicinal, ao Prof. Dr. Thiago Aquino pelas orientações e contribuições.

Ao Prof. Dr. Edeildo Ferreira pelos ensinamentos e orientação desde o começo do mestrado.

Agradeço a todo o pessoal do LQM, Paulo, Igor, Nathalia, Flor, Erica, Giovanni, Gabriel, Marcone, Matheus, Vanessa e Manu pelo acolhimento, ensinamentos e amizade, em especial a Kadja minha amiga e colega de mestrado pela amizade e me ajudar sempre que precisei, muito obrigada.

Agradeço as minhas amigas, Ana, María Fernanda, Marión e Tamara pelo apoio e amizade.

Ao meu amigo Rodrigo Calumby pela realização dos testes de atividade antibacteriana.

À prof. Dra. Lara Mendes pela ajuda e orientações.

À minhas amigas, Patró e Addriane por me fazer sentir parte da família e também me ajudar a conhecer Maceió e a cultura do Brasil. A Pollyana Nogueira por toda ajuda fornecida, agradeço muito.

Agradeço ao Programa Coimbra ,Organizaçao dos Estados Americanos (OEA) e a UFAL pela oportunidade de continuar meus estudos no Brasil.

¨El camino al éxito está siempre en construcción¨.

Arnold Palmer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura química de fármacos representativos de algumas classes de antibióticos de origem natural..... 19

Figura 2- Estrutura química de fármacos representativos das classes de antibióticos sintéticos..... 20

Figura 3- Estrutura química do Salvarsan. 20

Figura 4- Estrutura da Penicilina e anel β-lactâmico. 21

Figura 5- Estrutura química das iminas. 23

Figura 6- Base de Schiff com atividade antibacteriana. 24

Figura 7- Influência de efeitos eletrônicos do carbono iminico. 25

Figura 8- Isômeros *Z/E* nas iminas..... 25

Figura 9- Reação de formação de iminas..... 26

Figura 10- Adição nucleofílica por meio de catálise ácida..... 29

Figura 11- Adição nucleofilica por meio de catálise básica. 29

Figura 12- Reações das bases de Schiff com aplicações importantes..... 30

Figura 13- Estrutura de fármacos antimicrobianos contendo o grupo azometina.. 31

Figura 14- Bases de Schiff derivados 5-clorosalicilaldeido com atividade antibacteriana..... 32

Figura 15- Estrutura de composto base de Schiff derivado de piridinahidrazona.. 33

Figura 16- Estrutura de compostos *bis* imino piridina com atividade bacterióstatica 33

Figura 17- Estrutura de compostos bases de Schiff derivados de piridina e analogos..... 34

Figura 18- Estrutura do antibiótico sulfatiazol..... 34

Figura 19- Compostos bases de Schiff contendo anel azol..... 35

Figura 20- Estrutura de base de Schiff contendo anel tiazol 2,4 disustituido. .. 35

Figura 21- Estrutura de bases de Schiff contendo o núcleo tiazol e ciclobutano. 36

Figura 22- Compostos bases de Schiff derivados de tiazol e aminobenzotiazol... 37

Figura 23- Fármaco atividade antibacteriana de origen natural contendo o núcleo indol. 38

Figura 24- Estrutura de compostos bases de Schiff contendo núcleo indol. 38

Figura 25- Síntese do composto LQM 385. 44

Figura 26- Síntese de compostos LQM 386-387 e LQM 389-390. 45

Figura 27- Síntese do composto LQM 388 47

Figura 28- Aldeídos e aminas planejados. 51

Figura 29- Compostos finais obtidos. 54

Figura 30- Espectro de RMN ^{1}H do composto LQM 387 55

Figura 31- Espectro de RMN de ^{13}C do composto LQM 387..... 56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Diferentes metodologias testadas. 52

Tabela 2 - Metodologias utilizadas na síntese dos compostos obtidos. 53

Tabela 3- Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos compostos LQM 385-LQM 390 frente aos microrganismos avaliados. 57

Tabela 4- Coeficiente de partição (LogP) dos compostos LQM 385-LQM 390..59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN	Acetonitrilo
AcOH	Ácido acético
AcOEt	Acetato de etila
CCD	Cromatografía em camada delgada
CIM	Concentração inibitória mínima
CLAE	Cromatografía líquida de alta eficiência
Eq	Equivalente
EtOH	Etanol
Hex	Hexano
Hz	Hertz
LQM	Laboratório de Química Medicinal
MetOH	Metanol
OMS	Organização Mundial da Saúde
PF	Ponto de fusão
pH	Potencial de hidrogênio
Ppm	Partes por milhão
QSAR	Relaçao quantitativa estrutura atividade
RMN	Resonância magnética nuclear
TPGS-750-M	D-α tocoferol metoxipolietilenglicol succinato
µg/mL	micrograma por mililitro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 16

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA 18

2.1 Descobrimento de antibióticos e resistencia antibacteriana 18

2.2 Bases de Schiff 23

2.2.1 Aspectos químicos das Bases de Schiff 24

2.2.2 Síntese de Iminas 26

2.2.3 Mecanismo de formação de iminas. 28

2.2.4 Bases de Schiff com atividade antibacteriana derivadas de heterociclos 30

3. JUSTIFICATIVA 39

4. OBJETIVOS 40

4.1 Geral 40

4.2 Específicos 40

5. MATERIAIS E MÉTODOS 42

5.1 Cromatografias 42

5.2 Espectroscopia RMN ^{1}H e ^{13}C 42

5.3 Pontos de fusão 42

5.4 Reagentes e Solventes 43

5.5 Equipamentos 43

5.6 Procedimentos para a obtenção de iminas 44

5.6.1 Procedimento para obtenção do composto LQM 385. 44

5.6.2 Procedimento para obtenção dos compostos LQM 386-387, LQM 389-390 45

5.6.3 Procedimento para obtenção do composto LQM 388 47

5.7 Ensaios biológicos *in vitro.* 48

5.7.1 Microrganismos utilizados. 48

5.7.2 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) por meio de microdiluição em caldo. 48

RESULTADOS E DISCUSSÃO 50

6. Resultados e discussão 51

6.1 Obtenção de iminas 51

6.1.2 Caracterização por RMN ^{1}H e ^{13}C 54

6.2 Determinação da concentração inibitória mínima pelo método de microdiluição em caldo. 56

7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS 62

REFERÊNCIAS 63

APÊNDICES 73

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Os antimicrobianos são substâncias que permitem tratar e prevenir infecções causadas pelos vírus, fungos, bactérias e parasitas (WHO, 2020a). Segundo a OMS a resistência antimicrobiana é uma das 10 principais ameaças à saúde pública (WHO, 2020a), sendo esse fato relatado pouco tempo após a introdução da penicilina, o primeiro antibiótico utilizado na medicina (KEALEY *et al.*, 2017). O uso excessivo e desnecessário de antimicrobianos em humanos e animais é uma das principais causas de resistência. Alguns fatores como a melhora no diagnóstico das doenças infecciosas, a limitação do uso indevido e o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos são algumas formas de reduzir a resistência antimicrobiana (WHO, 2020a).

As iminas ou bases de Schiff são compostos orgânicos que possuem o grupo imina, também chamado azometina (C=N), o qual é reportado como um farmacóforo versátil para desenvolver compostos ativos (KAJAL *et al.*, 2013). As bases de Schiff são utilizadas como pigmentos, corantes, catalisadores e intermediários na síntese orgânica. Além de suas propriedades antimicrobianas, outras diversas atividades biológicas são referidas: anticâncer, antitumoral, anticonvulsivante, antifúngicas, antivirais, anti-helmíntica, esquistossomicida (SANDIP *et al*., 2013; HAMEED *et al.,* 2016; KAJAL *et al.,* 2013; SILVA *et al.,* 2011) e atividade antimalárica (QIN *et al.,* 2013). Isso faz com que exista um grande interesse na pesquisa desses compostos contra diversas patologias. Igualmente, outros compostos contendo os heterociclos tiazol, indol e piridina apresentam propriedades antimicrobianas e estão presentes em diversos fármacos (NAYAK; POOJARY, 2019; NARTOP *et al.,* 2019; SHANTY *et al.,* 2017).

Portanto, faz-se necessária a busca de novos antimicrobianos, com maior eficácia. Dessa forma, este trabalho aborda a síntese de 6 compostos bases de Schiff heterocíclicas contendo os núcleos tiazol, indol e piridina (LQM385-LQM390), avaliando sua atividade antibacteriana frente a duas cepas de bactérias do tipo gram-positivas e duas gram-negativas.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

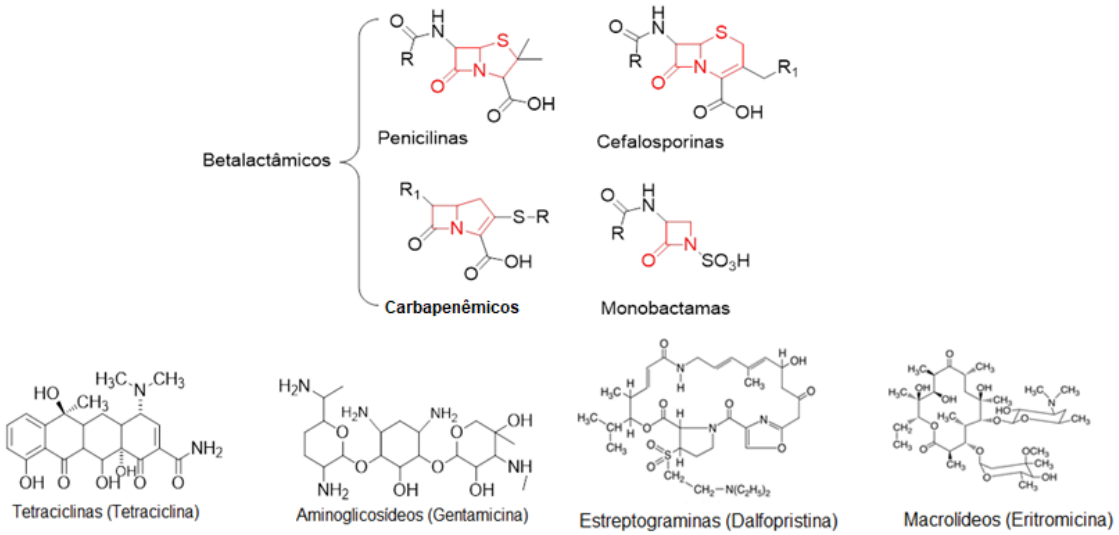
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Descobrimento de antibióticos e resistencia antibacteriana

As bactérias são organismos unicelulares com alta capacidade de adaptação. No século XIX foram identificados microrganismos causadores de algumas doenças como a tuberculose, cólera e febre tifoide (GUIMARÃES *et al*., 2010). Alguns anos mais tarde, no século XX, o descobrimento de alguns antibióticos naturais – β-lactâmicos, tetraciclinas e macrolideos – permitiu que as infecções, antes mortais, fossem tratadas rapidamente, o que levou a um grande impacto na saúde humana (KEALEY *et al.,* 2017).

Os antibióticos podem ser de origem natural ou sintética, e dividem-se em bacteriostáticos, os quais inibem o crescimento de bactérias, ou bactericidas, quando provocam a morte destas. No entanto, alguns podem atuar como bactericidas e bacteriostáticos, dependendo das concentrações e do tipo de bactéria (CALVO; MARTINEZ-MARTINEZ, 2009). A maioria dos antibióticos são de origem natural (descobertos entre os anos 1940-1960) ou semissintéticos (introduzidos entre os anos 1960-1980 e criados como análogos dos antibióticos naturais) e são classificados como: β-lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapeninas e monobactamas), tetraciclinas, aminoglicosídeos, macrolídeos, estreptograminas **(Figura 1)**, entre outros, em maior parte utilizados para tratar infecções por bactérias gram-positivas (GUIMARÃES *et al*., 2010).

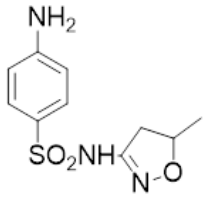
Figura 1- Estrutura química de fármacos representativos de algumas classes de antibióticos de origem natural.



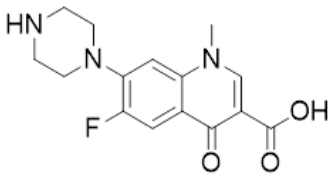
Fonte: Goodman; Gilman, 2006; Lima *et al*, 2020.

Antibióticos de origem sintética são classificados como sulfonamidas, fluoroquinolonas ou oxazolidinonas **(Figura 2)** (GUIMARÃES *et al*., 2010). Em 1910 Ehrlich desenvolveu o primeiro antibiótico sintético, o Salvarsan, utilizado contra a sífilis **(Figura 3)** (GUIMARÃES *et al.,* 2010).

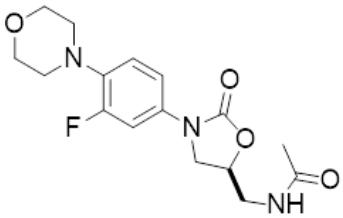
Figura 2- Estrutura química de fármacos representativos das classes de antibióticos sintéticos.



Sulfonamida (Sulfametoxazol)



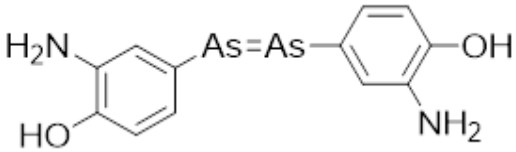
Fluoroquinolona (Norfloxacina)



Oxazolidinona (Linezolida)

Fonte: Goodman; Gilman, 2006.

Figura 3- Estrutura química do Salvarsan.



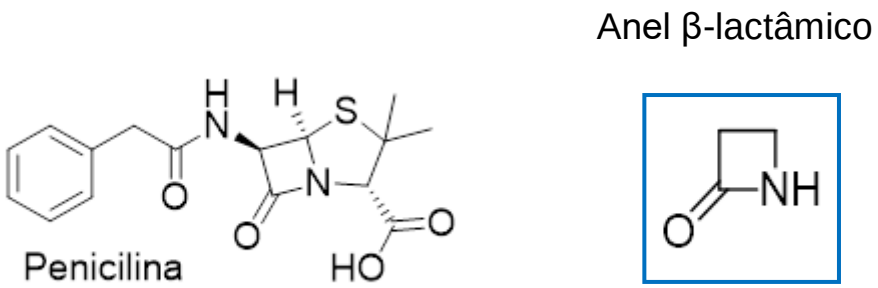
Fonte: Adaptado de Guimarães *et al.,* 2010.

Estudos mostram que alguns antibióticos apresentam atividades biológicas adicionais, como anticâncer, podendo ser ainda mais importantes do que a atividade antibiótica (DAVIES; DAVIES, 2010). Como exemplo, temos a dactinomicina, um antibiótico antitumoral isolado de *Streptomyces*, plicamicina, um antibiótico natural utilizado no tratamento de câncer; estes antibióticos-antitumorais atuam ligando-se ao DNA (ALMEIDA *et al*., 2005). Atualmente existe um número amplo de famílias de antibióticos os quais exibem diversos mecanismos de ação, tais como a inibição da síntese da parede bacteriana, bloqueio da síntese e/ou

função dos ácidos nucleicos, alteração da integridade da membrana citoplasmática e o impedimento da síntese de proteínas (CALVO; MARTINEZ-MARTINEZ, 2009).

O descobrimento da penicilina **(Figura 4)** é um dos mais importantes do século XX e da história (CALIXTO; CAVALHEIRO, 2012), porém, alguns anos após o descobrimento da penicilina, foi identificada uma enzima chamada penicilinase, a qual confere resistência ao romper o anel β-lactâmico **(Figura 4)** das penicilinas (DAVIES; DAVIES, 2010; CALIXTO; CAVALHEIRO, 2012). Na década de 1940 também foi observada resistência a um grupo de antibióticos sintéticos, as sulfonamidas (KEALEY *et al.*, 2017).

Figura 4- Estrutura da Penicilina e anel β-lactâmico.



Fonte: Adaptada de Calixto; Cavalheiro, 2012.

A resistência a antibacterianos acontece quando o medicamento antes ativo, se torna ineficaz; onde seu efeito contra bactérias diminui ou cessa, o que faz com que o tratamento seja mais complexo, as hospitalizações sejam mais longas, haja necessidade de medicamentos mais caros ou mesmo levando à morte (WHO, 2020a; WHO, 2020b). A resistência bacteriana ocorre em nível mundial, no entanto, o mau uso desses faz com que o processo seja mais rápido, justificado pela compra sem receita em alguns países ou o uso excessivo. Mesmo que nos dias atuais sejam desenvolvidos novos antibióticos, é possível que estes não sejam eficazes contra as bactérias resistentes mais perigosas (WHO, 2020b). Estima-se que nos Estados Unidos pelo menos 2,8 milhões de pessoas sejam infectadas com bactérias ou fungos resistentes à antibióticos ao ano e cerca de 35.000 pessoas morrerão (CDC, 2020) (COOPER; SHLAES, 2011). Nos últimos 40 anos apenas

quatro novas classes de antibióticos têm sido desenvolvidas (COOPER; SHLAES, 2011).

Diversas bactérias são resistentes a muitos antibióticos, estas podem levar à morte e ter uma transmissibilidade mais alta em alguns casos. Entre as bactérias multirresistentes, *Staphylococcus aureus* é uma das mais notórias, apresentando resistência à meticilina (MRSA- Methicillin Resistant *S. aureus*) e a outros antibióticos. Em 1959, a meticilina foi o primeiro antibiótico desenhado contra a resistência e dois anos depois, *S. aureus* tornou-se resistente à meticilina (DAVIES; DAVIES, 2010). Essas cepas causam principalmente infecções hospitalares, mas também têm sido relatadas na comunidade. Sua resistência frente a todos os antibióticos β-lactâmicos, tais como penicilinas e cefalosporinas, isto é devido à produção de uma proteína transpeptidase, chamada proteína de ligação à penicilina, PBP 2a ou PBP 2' (penicillin binding protein), a qual apresenta afinidade reduzida à meticilina e é codificada pelo gene mecA, que é responsável pela resistência, ausente nas cepas *S. aureus* sensível a meticilina (HIRAMATSU, K., *et al,* 2000; KATAYAMA, Y; ITO, T; HIRAMATSU, K., 2002). Os pacientes com infecções causadas por MRSA têm 64% mais probabilidade de morrer do que pacientes com infecções sensíveis a medicamentos (WHO, 2020a).

Em 2017, a OMS publicou uma lista das bactérias para as quais é urgente o desenvolvimento de novos antibióticos; a lista “patógenos prioritários” foi feita para promover a pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos (WHO, 2017c). Esta lista inclui *Pseudomonas*, *E. coli* e enterobactérias, as quais foram categorizadas como prioridade crítica, logo que causam infecções graves e letais apresentando resistência a antibióticos, como os carbapenêmicos e cefalosporinas de terceira geração. Outras bactérias também incluídas na lista tais como *S. aureus, Enterococcus faecium, Helicobacter pylori e Streptococcus pneumoniae* (WHO, 2017c).

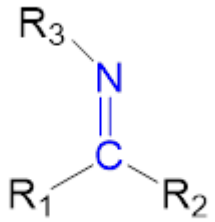
Um pequeno grupo de bactérias multirresistentes tem sido chamadas pelo acrônimo ESKAPE, fazendo referência a *Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa* e espécies de *Enterobacterias*. Estas bactérias encontradas principalmente no âmbito hospitalar causam infecções graves, onde pacientes

imunocomprometidos são os mais vulneráveis, as opções terapêuticas são limitadas e associadas à toxicidade (RICE, L. B. 2008; PENDLETON, J. N; GORMAN, S.P; GILMORE, B. F. 2013; BOUCHER, H. W et al., 2009). A colistina é um antibiótico utilizado como último recurso quando os demais antibióticos não funcionam, mas atualmente está sob ameaça (KEALEY *et al.,* 2017), em 2015, o primeiro gene de resistência foi observado (USUI *et al.,* 2021).

2.2 Bases de Schiff

As bases de Schiff **(Figura 5)** foram reportadas por Hugo Schiff em 1864, constituídas por um grupo imina, também chamado de azometina (KAJAL *et al*., 2013). Esse grupo é formado por um carbono ligado através de uma dupla ligação ao nitrogênio (C=N). A síntese desses compostos se dá a partir da condensação entre uma amina primária e uma cetona ou aldeído. As iminas formadas a partir de amoníaco não são estáveis e as formadas a partir de aminas são mais estáveis, especialmente quando o átomo de nitrogênio tem um anel aromático como substituinte (MOLDOVEANU, 2010).

Figura 5- Estrutura química das iminas.



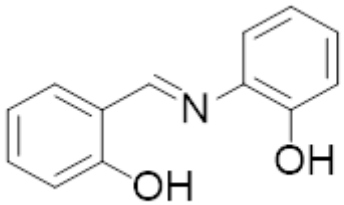
R_1, R_2, R_3= hidrogênio, grupo alquilo ou arilo

Fonte: ChEBI, 2019.

As iminas são compostos orgânicos amplamente utilizados como pigmentos, corantes, catalisadores, intermediários na síntese orgânica e como estabilizadores de polímeros. Também apresentam diversas atividades biológicas, incluindo antifúngica, antibacteriana, antimalárica, antiinflamatória, antiviral e antipirética, mantendo o interesse no grupo (HAMEED *et al.,* 2016; KAJAL *et al.,* 2013; SILVA *et al.,* 2011). O grupo imina ou azometina está presente em vários

compostos de ocorrência natural e sintética, onde desempenham papel essencial para suas atividades biológicas (SILVA *et al*, 2011). Alguns estudos demonstraram que a presença do par de elétrons solitários no orbital híbrido sp^2 do átomo de nitrogênio do grupo imina é de importância biológica e química (MUHAMMAD *et al.*, 2011; SANDIP *et al.,* 2013). Adicionalmente, o átomo de nitrogênio das iminas pode participar na formação de ligações de hidrogênio com os centros ativos dos constituintes celulares e interferir nos processos celulares normais (SHANTY *et al.,* 2017; KAJAL *et al.,* 2013). O grupo imina representa um farmacóforo versátil para o desenvolvimento de compostos ativos (KAJAL *et al.,* 2013) e sua estrutura permite a introdução de grupos que aumentam sua bioatividade (AVILA *et al.,* 2020). Na **figura 6** é mostrada a estrutura de uma base de Schiff com atividade antibacteriana.

Figura 6- Base de Schiff com atividade antibacteriana.



Fonte: Souza, 2007.

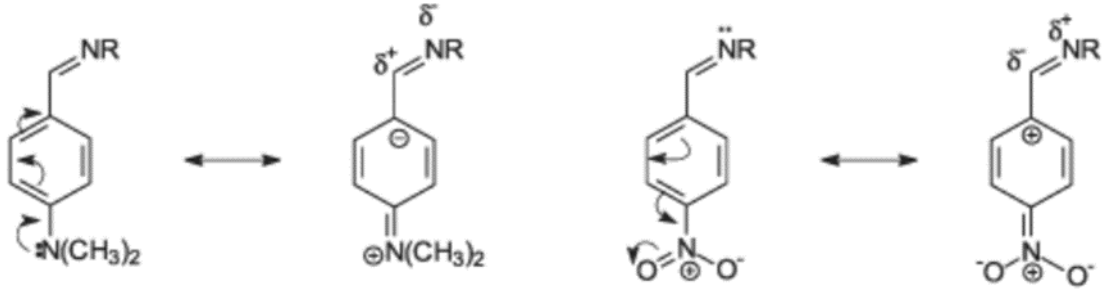
2.2.1 Aspectos químicos das Bases de Schiff

As iminas podem ser chamadas de cetiminas ou aldiminas se forem derivadas de cetonas ou aldeídos respectivamente (ABDEL-MAGID, 2014). A reação de formação de iminas a partir de cetona é mais lenta do que com um aldeído (SMITH; TATCHELL, 1969) e as cetonas aromáticas reagem de maneira mais lentamente quando comparadas com as cetonas alifáticas (QIN, *et al.,* 2013).

Existem diferenças eletrônicas entre nitrogênio e oxigênio, o que torna os níveis de reatividade diferentes entre compostos carbonílicos e iminas (ESTEVES-SOUZA *et al*., 2004; CAREY; SUNDBERG, 2007). O grupo azometina (-C=N-) funciona como uma ponte que transmite os efeitos eletrônicos **(Figura 7)** entre

anéis aromáticos, conferindo propriedades mesogênicas e planaridade ao sistema (ESTEVES-SOUZA *et al*., 2004).

Figura 7- Influência de efeitos eletrônicos do carbono iminico.

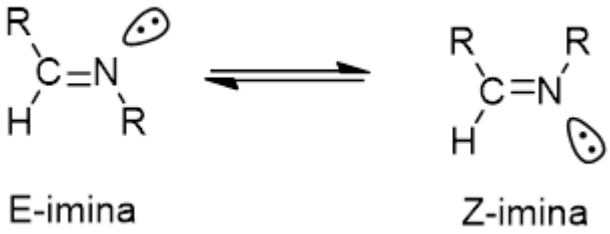


Fonte: Esteves-Souza *et al.,* 2004.

As iminas são amplamente utilizadas no campo da química de coordenação, a ligação dupla carbono-nitrogênio assim como à ligação dupla carbono-oxigênio podem ser rapidamente reduzidas por complexos de hidretos de metal, além disso são intermediários em reações enzimáticas (MEENACHI; CHITRA, 2019).

O grupo imino pode unir-se a múltiplos nucleófilos e eletrófilos, inibindo assim enzimas e a replicação do DNA, visto que o carbono atua como um eletrófilo e o nitrogênio como um nucleófilo (MERMER *et al.,* 2019). Estes compostos apresentam isomería *E/Z* **(Figura 8)** sendo o isómero E mais estável (BELOWICH, *et al.,* 2012).

Figura 8- Isômeros *Z/E* nas iminas.



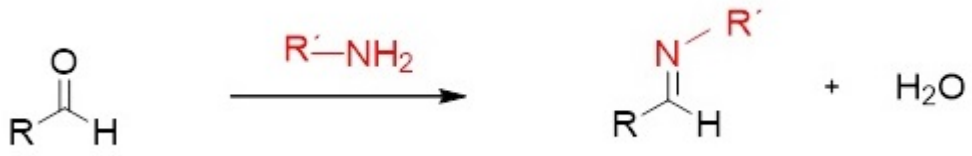
Fonte: Padwa, 1977.

2.2.2 Síntese de Iminas

A reação química para formação de iminas **(Figura 9)** resulta na perda de moléculas de água. Quando uma amina primária e um composto com um grupo carbonila reagem, eles formam uma ligação C=N intra ou intermolecularmente (BELOWICH, 2012). As condições em que tal reação é realizada geralmente incluem refluxo do solvente contendo os materiais de partida sob condições azeotrópicas, quantidades catalíticas de ácido para protonar o oxigênio da carbonila tornando assim o ataque nucleofilico da amina mais rápido (ABDEL-MAGID, 2014). As aminas secundárias não podem formar iminas e a desidratação prossegue para dar uma ligação dupla carbono-carbono contendo um substituinte amino, estes compostos são chamados enaminas (CAREY; SUNDBERG, 2007).

A formação de imina é uma condensação reversível, visto que a adição de água provoca a sua hidrólise, fornecendo os reagentes de partida. Alguns dos fatores que determinam o equilíbrio da reação podem incluir o solvente, concentração, pH e temperatura, bem como fatores estéricos e eletrônicos. Uma maneira de direcionar o equilíbrio para frente é eliminando a água que se forma, o que pode ser alcançado usando o aparelho Dean-Stark ou adicionando agentes de secagem, como peneiras moleculares, sulfato de sódio e sulfato de magnésio (ABDEL-MAGID, 2014).

Figura 9- Reação de formação de iminas



Fonte: Autora, 2021.

Chakraborti *et al* mostraram que a eficácia dos métodos para a síntese de bases de Schiff depende do uso de compostos carbonílicos altamente eletrofílicos e aminas nucleofílicas. Substâncias como $ZnCl_2$, $TiCl_4$, $CuSO_4$, HCl, $MgSO_4$ podem atuar como ácidos de Lewis, catalisando o ataque nucleofílico das aminas ao grupo

carbonila, ajudando ainda na eliminação da água formada no sistema como etapa final (CHAKRABORTI *et al*.,2004).

Nos últimos anos, além do uso de solvente junto com um agente de secagem, vários métodos têm sido descritos na síntese de iminas, incluindo irradiação por micro-ondas, suspensão em meio aquoso, livre de solvente, irradiação por ultrassom (MEENACHI; CHITRA, 2015; KAMARIA; KAWATHEKAR; CHATURVEDI, 2011; SIMION *et al*., 2001). Na literatura são citadas diferentes metodologias para obtenção de bases de Schiff. Castillo *et al* reportaram a síntese de 12 N-ariliminas em condições livres de solvente e aquecimento superior a 100 °C, sem uso de catalisador (CASTILLO *et al,* 2018). A reação em meio aquoso é vista como desvantagem para alguns, embora outros autores mencionem a síntese efetiva e com bons rendimentos em meio aquoso, sem catalisador e temperatura ambiente (SIMION *et al*, 2001), com ácido fórmico aquoso a temperatura ambiente (GHAFURI; ROSHANI, 2014), ou mesmo em uma suspensão em água sem catalisador e a temperatura ambiente (TANAKA; SHIRAISHI, 2000). Sandip *et al*., avaliaram duas metodologias: uma metodologia convencional utilizando etanol anidro como solvente, 2 gotas de HCl e refluxo por 1 h, e uma metodologia utilizando micro-ondas, etanol como solvente e sem catalisador; com essa última, os rendimentos foram maiores comparados a metodologia convencional (SANDIP *et al*, 2013).

A obtenção de bases de Schiff em alguns solventes como etanol a temperatura ambiente e sem catalisador é reportada (LIU *et al.,* 2017), etanol a temperatura ambiente e após banho de gelo (WONG*, et al*., 2016), tolueno durante 4 dias junto com peneira molecular e temperatura de 110 ° C em aparelho Dean Stark (CORNEC, *et al.,* 2017), etanol, AcOH e refluxo (CHANDER *et al*., 2017), metanol e refluxo por 4 h sem catalisador (SEFEROĞLU; SAHIN, 2015).

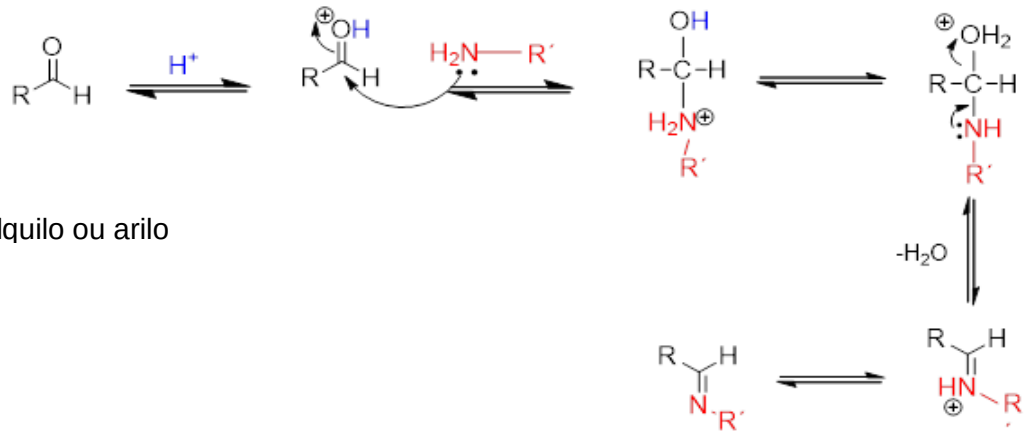
2.2.3 Mecanismo de formação de iminas.

O mecanismo utilizando catálise ácida **(Figura 10)** inicia através da protonação da carbonila, aumentando o caráter eletrofílico do carbono, o que favorece o ataque nucleofílico da amina primária à carbonila, formándo-se um composto intermédio hemiaminal, finalmente a protonação do grupo hidroxila formado é necessária para transformá-lo em um bom grupo abandonador, com perda de água e formação da imina (CAREY; SUNDBERG, 2007; FERNANDEZ, 2020). Catálise básica pode ser utilizada **(Figura 11)**, a adição nucleofílica ocorre pela desprotonação do nucleófilo gerando um anion o qual é mais reativo, posteriormente o hemiaminal é formado, perda de água por expulsão do íon hidróxido e finalmente a formação da imina (CAREY; SUNDBERG, 2007).

A adição nucleofílica permite a formação de hemiaminal ou carbinolamina como intermediário, que é lábil e geralmente não é isolado ou detectado. (CIACCIA; DI ESTEFANO, 2015).

. A velocidade desta reação depende do pH da solução, a basicidade da amina e reatividade do aldeído. Em pH muito baixo a velocidade diminui devido a protonação da amina o que pode dificultar o ataque nucleofilico, em pH muito alto a protonação da carbonila não é favorecida, no entanto aminas altamente básicas e aldeídos muito reativos podem reagir mais facilmente sem necessidade de catalisador. (CAREY; SUNDBERG, 2007; FERNANDEZ, 2020).

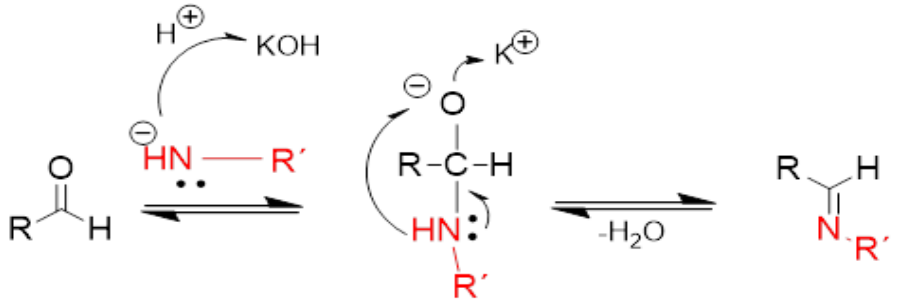
Figura 10- Adição nucleofílica por meio de catálise ácida.



R= alquilo ou arilo

Fonte: Fernandez, G., 2020

Figura 11- Adição nucleofilica por meio de catálise básica.

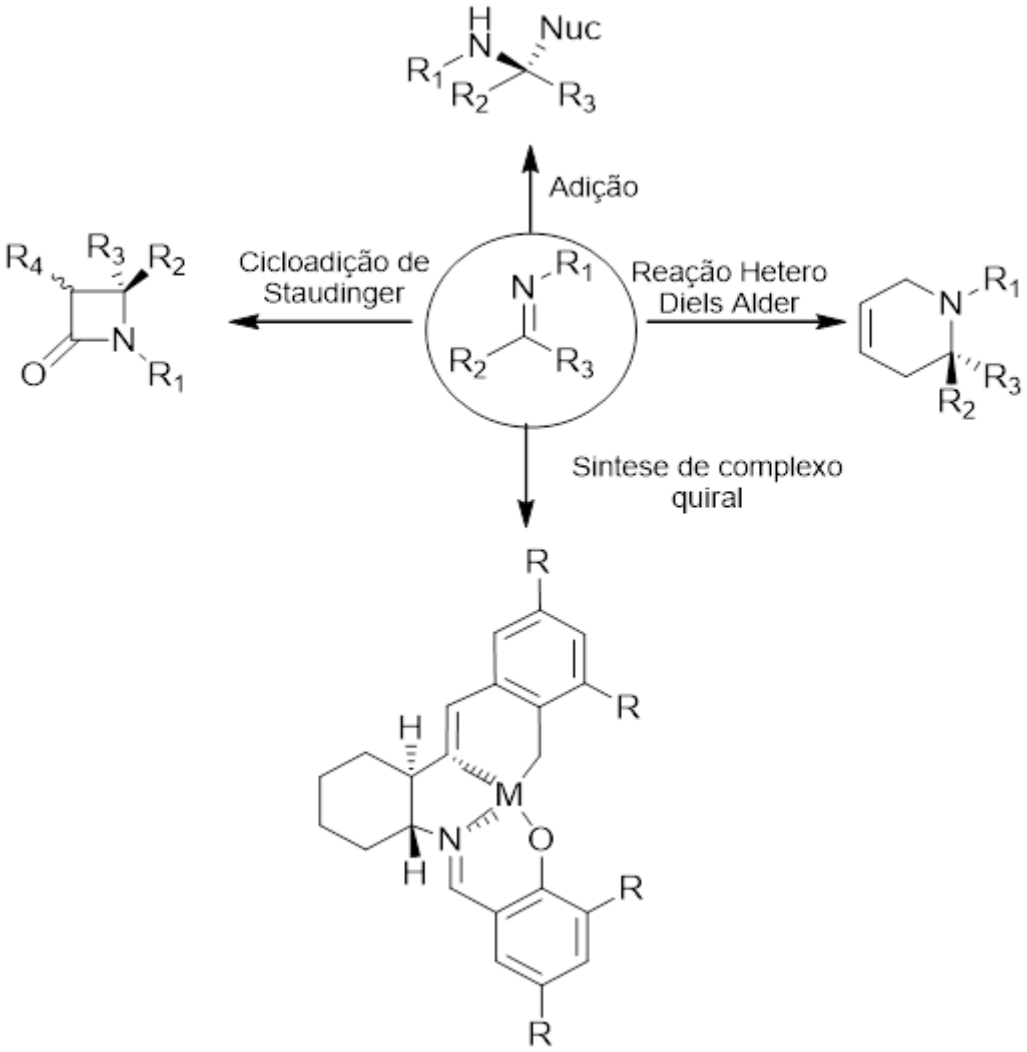


R= alquilo ou arilo

Fonte: Adaptado de Carey; Sundberg, 2007

Existem quatro reações das bases de schiff com aplicações importantes **(Figura 12)**: a) adição de reagentes organometálicos ou hidreto à ligação C=N, b) reação Hetero Diels Alder; c) formação de complexos metálicos quirais; d) cicloadição de Staudinger com cetena para produzir um anel β-lactâmico, com importancia na síntese de antibióticos β-lactâmicos. As iminas funcionam como intermediárias em bioprocessos como a reação de transaminação, glicação da albumina que conduzem à formação de importantes biomarcadores preditivos da diabetes tipo II (QIN, 2013). Além disso, o grupo imina é importante na elucidação dos mecanismos das reações de trasaminação e racemização nos sistemas biológicos (KAMARIA; KAWATHEKAR; CHATURVEDI, 2011).

Figura 12- Reações das bases de Schiff com aplicações importantes



Fonte: Qin, 2013.

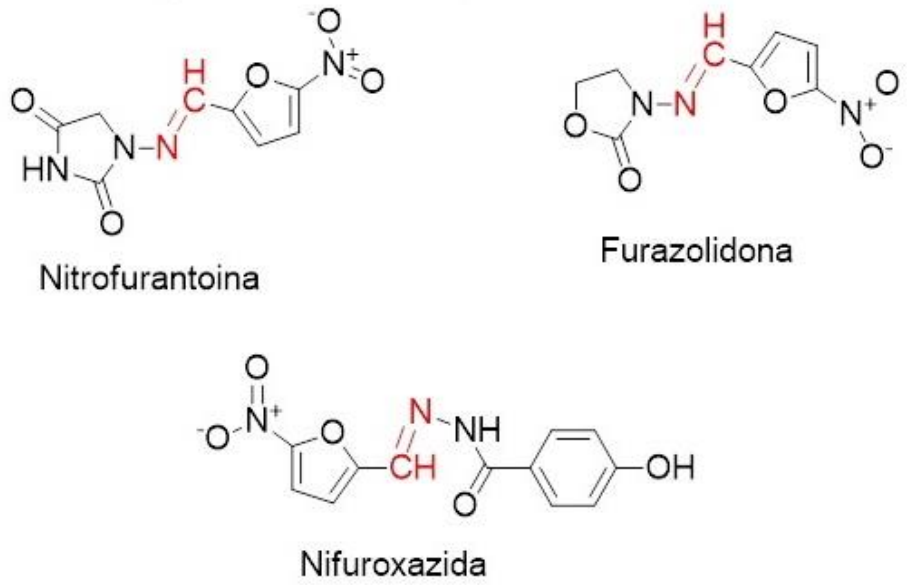
2.2.4 Bases de Schiff com atividade antibacteriana derivadas de heterociclos.

O aumento da taxa de mortalidade associada à doenças infecciosas está diretamente relacionado às bactérias com resistência múltipla aos antibióticos (SILVA *et al*, 2011). As bases de Schiff tem sido apontadas como agentes antibacterianos promissores (SILVA *et al*, 2011).

As bases de Schiff heterocíclicas constituem uma ampla variedade de compostos farmacologicamente ativos (SHANTY *et al.,* 2017), com ações tais como

antimicrobianas, antitumorais e antioxidantes (MESBAH *et al.,* 2018). Este farmacóforo está presente em diversos agentes antimicrobianos atualmente disponíveis, como a nitrofurantoina, furazolidona, nifuroxazida, furoxona **(Figura 13)** e alguns anti-helmínticos (AMNERKAR; BHONGADE; BHUSARI, 2015).

Figura 13- Estrutura de fármacos antimicrobianos contendo o grupo azometina.

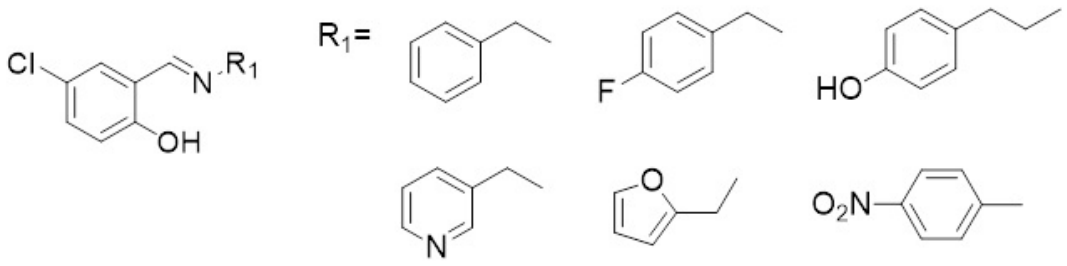


Fonte: Autora, 2021.

Mesbah e colaboradores sintetizaram três bases de Schiff a partir de 2-pirrolcarboxaldeido, 2-tiofenocarboxaldeido e 2-furancarboxaldeido, os três compostos apresentaram atividade contra *E. coli* (MESBAH *et al*., 2018).

Shi *et al* sintetizaram uma série de compostos derivados do 5-clorosalicilaldeído **(Figura 14)** e observaram que derivados contendo heteroátomos com oxigênio e nitrogênio favoreceram a atividade antibacteriana dos compostos, além disso, os compostos com anéis aromáticos foram muito mais ativos em relação aos alifáticos. O estudo da relação estrutura-atividade indicou que a aromaticidade e a hidrofilicidade também foram de grande importância para a atividade antimicrobiana (SHI *et al.,* 2007).

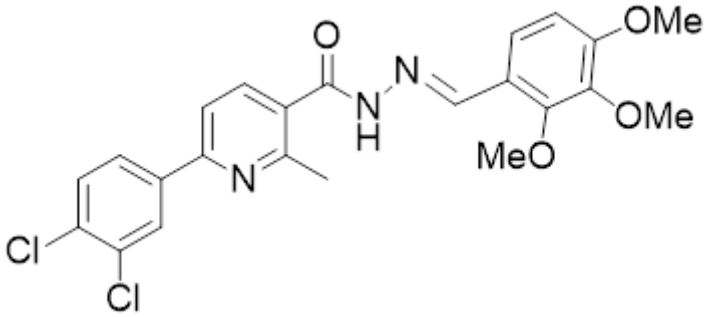
Figura 14- Bases de Schiff derivados 5-clorosalicilaldeido com atividade antibacteriana.



Fonte: Shi *et al.,* 2007.

Entre os heterociclos contendo nitrogênio, a piridina e seus derivados são compostos considerados muito interessantes e importantes para aplicações biológicas como antimicrobiana, anticonvulsivantes e antitumoral (BHATIA *et al.,* 2009; NAYAK; POOJARY, 2019; MILOŠEVIĆ *et al*., 2020; SEDAGHAT *et al.,* 2012). Como exemplo, o grupo de Nayak & Poojary decidiu combinar dois farmacóforos ativos, a piridinahidrazona e azometina, afim de verificar sua atividade antimicrobiana. Foi avaliada a atividade antimicrobiana de uma variedade de derivados de arilpiridina junto com o grupo azometino com diversas substituições aromáticas **(Figura 15)**. A CIM (1,56 a 12,5 µg/mL) revelou que a maioria dos compostos mostraram uma boa atividade antibacteriana contra cepas gram-positivas de *S. aureus* e *E. faecalis*, e gram-negativas de *E .coli* e *P. aeruginosa* (NAYAK; POOJARY, 2019).

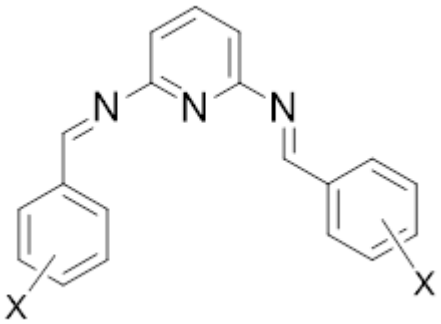
Figura 15- Estrutura de composto base de Schiff derivado de piridinahidrazona.



Fonte: Nayak; Poojary, 2019.

Em um estudo realizado por Milošević e colaboradores foram sintetizadas 16 *bis*-imino piridinas obtidas a partir de 2,6-diaminopiridina, contendo os substituintes cloro, bromo, flúor, nitro, hidrogênio, metila e metoxila **(Figura 16)**. Os compostos mostraram atividade bacteriostática moderada contra todas as bacterias estudadas; *E. coli, E. faecalis, S. aureus* e *P. aeruginosa* (MILOŠEVIĆ *et al*., 2020).

Figura 16- Estrutura de compostos *bis* imino piridina com atividade bacterióstatica



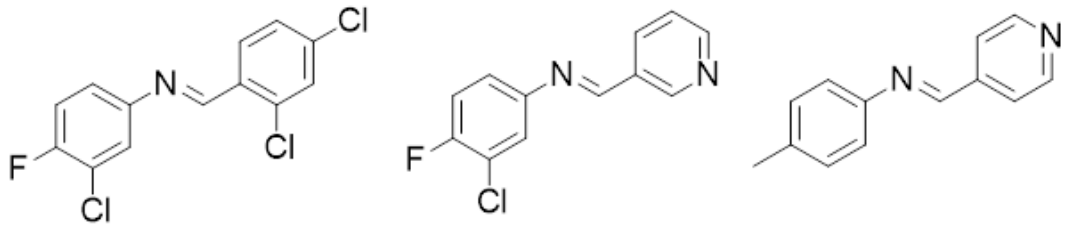
Composto	X
1	H
2	naftil
3	4-CH_3
4	4-OCH_3
5	3,4,5-tri-OCH_3
6	2-OH
7	3-OH
8	4-OH

Fonte: Milošević *et al*., 2020.

Em outro trabalho, foi descrita a síntese de 18 compostos derivados contendo o anel piridina e seus análogos **(Figura 17)**, os quais foram testados contra *S. aureus, E. faecalis, E. coli, P. aeruginosa, K. pneumoniae, Acinetobacter*

haemolyticus. Nesse estudo, todos os compostos apresentaram atividade antimicrobiana com CIMs < 32 µg/mL (MERMER *et al.,* 2019).

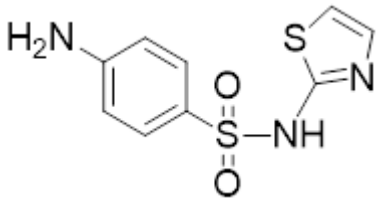
Figura 17- Estrutura de compostos bases de Schiff derivados de piridina e analogos.



Fonte: Mermer et al., 2019.

O núcleo tiazol e seus derivados também são de grande importância biológica, com destaque para atividade antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória e antitumoral (BHARTI *et al*., 2010; CUKUROVALI *et al.,* 2006). Alguns medicamentos disponíveis apresentam na sua estrutura o núcleo tiazol, como a penicilina, a bleomicina e tiazofurina, o que torna o núcleo tiazol interessante no desenvolvimento de compostos farmacologicamente ativos (BHARTI *et al*., 2010). O fármaco antimicrobiano sulfatiazol apresenta em sua estrutura esse heterociclo **(Figura 18)** (BHARTI *et al*., 2010), composto ainda por um anel 2-aminotiazol (CUKUROVALI *et al.*, 2006).

Figura 18- Estrutura do antibiótico sulfatiazol.

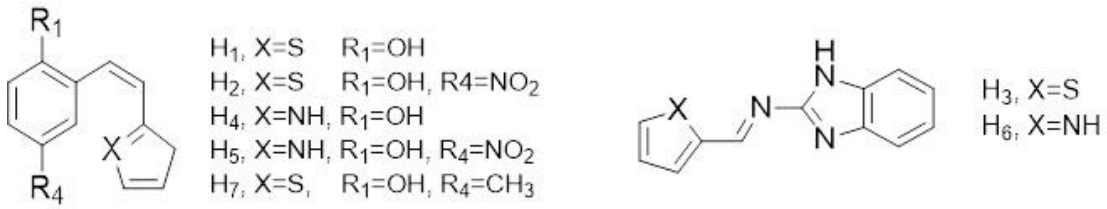


Fonte: Autora, 2021.

Heterociclos contendo um anel azol e os derivados fenólicos tem apresentado variadas atividades biológicas, como antibacteriana e antitumoral (SHANTY *et al.,* 2017). Baseado nisso, Shanty e colaboradores sintetizaram 7

bases de Schiff heterocíclicas biologicamente ativas partindo dos aldeídos 2-pirrolcarboxaldeido e 2-tiofenocarboxaldeido junto com aminas heterocíclicas **(Figura 19)**. A maioria dos compostos apresentou atividade antibacteriana contra as diferentes cepas testadas, *Salmonella typhi, Bacillus coagulans, Bacillus pumills, E. coli, Bacillus circulans, Pseudomonas, Clostridium e Klebsilla pneumoniae*, com CIMs <100µg/mL (SHANTY *et al*., 2017).

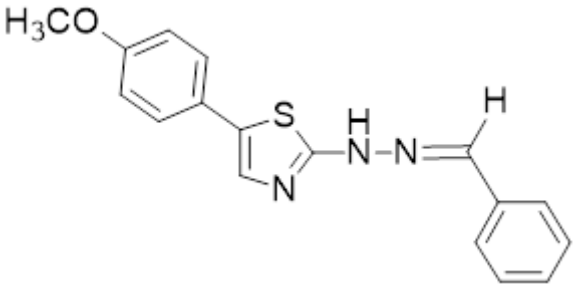
Figura 19- Compostos bases de Schiff contendo anel azol.



Fonte: Shanty *et al.,* 2017.

Bharti e colaboradores sintetizaram uma serie de 30 novas bases de Schiff com o anel tiazol 2,4 dissustituido por meio da ciclização de tiossemicarbazona com brometo de fenacilo substituído **(Figura 20)**. A atividade antimicrobiana dos compostos foi avaliada e alguns dos compostos mostraram atividade de boa a moderada com CIMs <50 µg/mL. Foi observado que os compostos com substituintes aceptores de elétrons no anel fenilo (bromo, flúor, nitro) não aumentaram a atividade antibacteriana (BHARTI *et al.,* 2010).

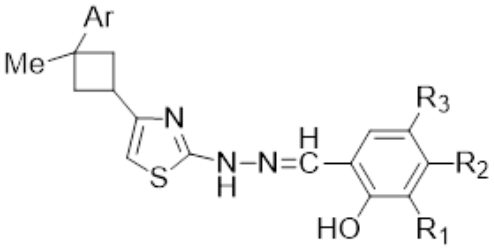
Figura 20- Estrutura de base de Schiff contendo anel tiazol 2,4 disustituido.



Fonte: Bharti *et al.,* 2010.

Cukurovali *et al* sintetizaram 18 novas iminas, contendo os grupos ciclobutano e tiazol junto a diversos substituintes **(Figura 21)**. Estes compostos foram estudados como potenciais agentes antibacterianos e antifúngicos, as CIMs estiveram entre 16 e 512 µg/mL. Foi notado que embora apresentassem semelhança estrutural, a atividade antimicrobiana foi significativamente diferente entre os compostos da série.

Figura 21- Estrutura de bases de Schiff contendo o núcleo tiazol e ciclobutano.

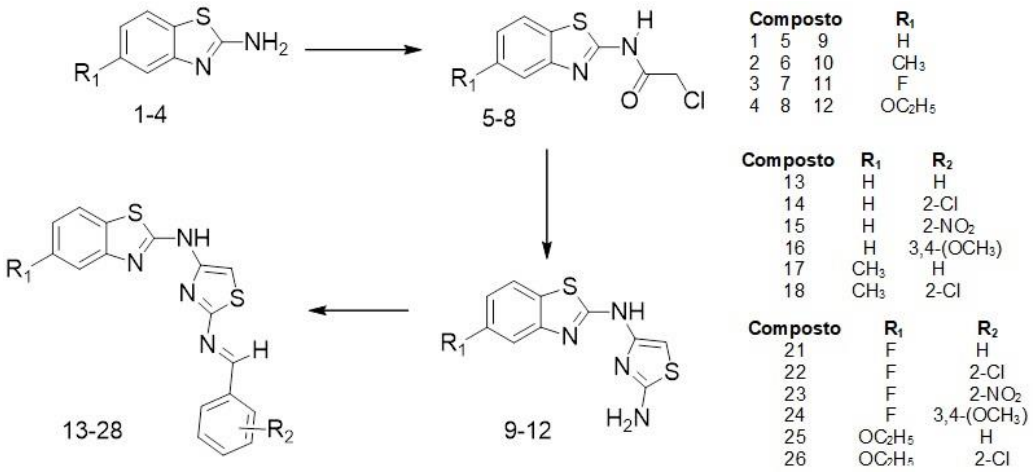


Composto	Ar	R_1	R_2	R_3
1	Fenilo	H	H	H
2	Fenilo	H	OH	H
3	Fenilo	H	H	Br
4	Fenilo	H	OCH_3	H
5	p-xileno	H	H	H
6	p-xileno	H	OH	H
7	p-xileno	OCH_3	H	H
8	Mesitileno	H	H	H

Fonte: Cukurovali *et al*., 2006.

Amnerkar *et al* sintetizaram 28 bases de Schiff a partir de derivados de 2-aminobenzotiazol e tiazol, com diversos substituintes **(Figura 22)**, baseando-se na importância quimioterapêutica deles, foram testados como possíveis agentes antimicrobianos, a maior parte destes compostos mostraram além de atividade antifúngica e anti-helmíntica, atividade antimicrobiana de excelente a moderada contra duas cepas de bactérias gram-negativas (*E coli , P. aeruginosa*), duas bactérias gram-positivas (*S. aureus , Bacillus subtilis*) (AMNERKAR *et al.,* 2015).

Figura 22- Compostos bases de Schiff derivados de tiazol e aminobenzotiazol.

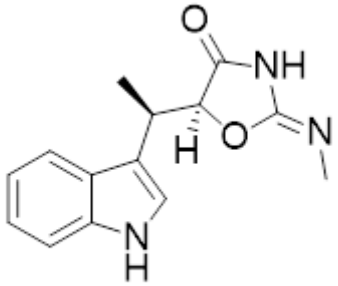


Fonte: Amnerkar *et al.,* 2015.

Finalmente, o heterociclo indol representa uma classe de compostos orgânicos de grande importância, sendo estudado quanto a suas propriedades antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, antiviral, anticâncer e anticonvulsivante (NARTOP *et al*., 2019; KAMARIA; KAWATHEKAR; CHATURVEDI, 2011; THANIKACHALAM *et al*., 2019; TIWARI *et al.,* 2020). O indol é um composto abundante em muitos produtos farmacêuticos e naturais, atualmente são muitos os fármacos que contém o núcleo indol na sua estrutura, tais como a indometacina, ondansetrona e fluvastatina, e alguns alcalóides como a vincristina e triptamina (MAHENDRA *et al*., 2017; AVAN; GUVEN; GUVEN, 2013; GOMHA *et al.,* 2011).

CIULLA *e* colaboradores mencionam que as moléculas baseadas em indol têm sido eficazes como inibidores da bomba de efluxo NorA, um sistema relacionado a multirresistencia antimicrobiana, usado pelas bactérias para remover um agente antibacteriano das células, reduzindo assim as concentrações eficazes do antibiotico. A resistência aos antibióticos pela bactéria *S. aureus* deve-se a bomba NorA (CIULLA *et al.*, 2018).

Figura 23- Fármaco atividade antibacteriana de origen natural contendo o núcleo indol.

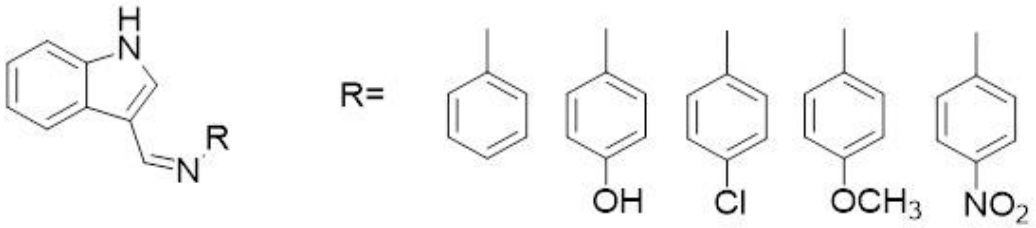


Indolmicina

Fonte: TIWARI *et al.,* 2020.

Kamaria *et al* descreveu a síntese de 14 compostos contendo o núcleo indol na estrutura **(Figura 24)**. A concentração inibitória mínima foi determinada e todos os compostos apresentaram uma atividade antibacteriana significativa contra 11 cepas de bacterias gram-positivas e gram-negativas com CIMs na faixa 6,25-100 µg/mL (KAMARIA; KAWATHEKAR; CHATURVEDI, 2011).

Figura 24- Estrutura de compostos bases de Schiff contendo núcleo indol.



Fonte: Kamaria *et al.,* 2011.

3. JUSTIFICATIVA

Devido ao rápido avanço da resistência bacteriana às múltiplas drogas e este ser um sério problema de saúde em todo o mundo, entende-se que é necessária a descoberta e o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos mais eficazes.

As bases de Schiff são compostos orgânicos nitrogenados com diversas funções biológicas, em especial antimicrobianas, os quais permitem a integração de diversos grupos funcionais. Por outro lado, compostos heterocíclicos contendo enxofre, nitrogênio e oxigênio, tais como indol, tiazol e piridina, também apresentam ampla gama de propriedades biológicas, incluindo excelente atividade antibacteriana. Dessa forma, a união dos dois farmacóforos mencionados, tem apresentado resultados promissores em diversos estudos. Diante do exposto, esse trabalho propõe a síntese, caracterização estrutural e realização de ensaios de concentração inibitória mínima de novos derivados imina contendo os heterociclos indol, tiazol e piridina como potenciais agentes antimicrobianos.

4. OBJETIVOS

4.1 Geral

Síntese e avaliação de atividade antibacteriana de novos compostos bases de Schiff contendo os núcleos indol, tiazol e piridina.

4.2 Específicos

1. Síntetizar bases de Schiff a partir de aminas e aldeídos aromáticos.
2. Caracterizar estruturalmente os compostos utilizando a técnica de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^{1}H e ^{13}C.
3. Determinar a concentração inibitória mínima das bases de Schiff frente a bactérias gram-positivas e gram-negativas utilizando o método de microdiluição em caldo.

MATERIAIS E MÉTODOS

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Cromatografias

As cromatografias em camada delgada (CCD) foram realizadas em placas de sílica gel 60 F254 MERCK® de 0,25mm de espessura e as leituras foram realizadas através de luz Ultravioleta (UV).

A determinação do grau de pureza foi realizada utilizando Cromatografia líquida de alta eficiência acoplado ao detector ultravioleta no comprimento de onda (λ) de 254 nm (CLAE/HPLC-UV), fase reversa, utilizando o equipamento Shimadzu®, modelo SIL20AHT, coluna C-18 Supelco Discovery®, 25 cm 4.6 mm, 5 µM. A fase móvel utilizada foi metanol 100%. Com um fluxo de 1 ml/min e volume de injeção de 5 µL.

5.2 Espectroscopia RMN ^{1}H e ^{13}C

Os espectros de RMN ^{1}H e ^{13}C foram obtidos em equipamento Brüker®, modelo avance DRX 600 MHz – UltraShield®, utilizando como solvente analítico $CDCl_3$. Os deslocamentos químicos (δ) foram computados em partes por milhão (ppm) e constantes de acoplamento (J) foram computadas em Hertz. As multiplicidades dos sinais foram indicadas da seguinte maneira: simpleto (s), dubleto (d), duplo dubleto (dd), tripleto (t), e multipleto (m).

5.3 Pontos de fusão

Os pontos de fusão foram determinados utilizando o equipamento MSTecnopon® , modelo PFMII Digital, em tubos capilares.

5.4 Reagentes e Solventes

Reagentes	Solventes
Feniletilamina	Ácido clorídrico
Benzilamina	Ácido fórmico
2- (4 metilpiperazin-1-il) etanamina	Ácido clorídrico
3-Piridinacarboxaldeido	Etanol
3-Indolcarboxaldeido	Agua destilada
2-Tiazolcarboxaldeido	Acetato de etila
2-Quinolinacarboxaldeido	Ácido acético
4-Quinolinacarboxaldeido	Diclorometano
Benzaldeido	Hexano
TPGS-750-M 5%	Clorofórmio Deuterado ($CDCl_3$)
Hidróxido de potássio	Metanol grau HPLC
Peneira molecular 4Å	Metanol absoluto
1-piperidina etanamina	
1-benzilpiperidin-4-amina	

5.5 Equipamentos

Balança analítica (4 decimais) IKA®

Estufa Nova ética®

Bomba de alto vácuo IKA®

Evaporador rotativo IKA®

Vidrarias

Ultrassom

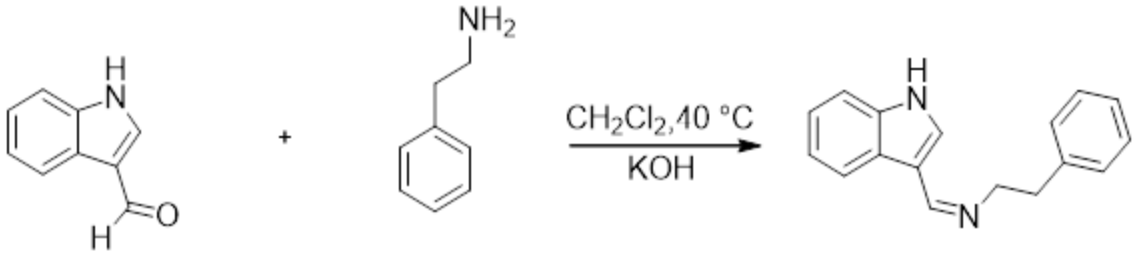
Freezer

5.6 Procedimentos para a obtenção de iminas

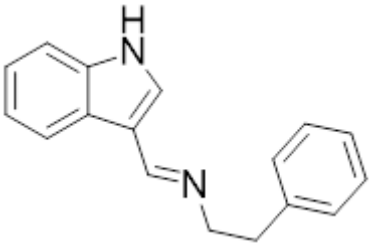
5.6.1 Procedimento para obtenção do composto LQM 385.

Em um balão foram adicionados 1 eq. de 3-indolcarboxaldeido (150 mg), 15 mL de diclorometano, 1.1 eq. de feniletilamina e 1 eq. de KOH em DCM. A mistura foi mantida sob agitação constante a 40 °C durante 48 h. A reação foi acompanhada por CCD usando como fase móvel Hex: AcOEt 1:1. Após o término da reação constatado por CCD, foi realizada uma extração liquido-liquido em AcOEt, e utilizando água como solvente extractor (3x15 mL), a solução orgânica foi seca sob pressão reduzida e o produto foi obtido como um óleo vermelho.

Figura 25- Síntese do composto LQM 385.



- **Dados e caracterização de (E)-*N-(1H-indol-3-il)-metileno-2-feniletanamina* (LQM 385).**



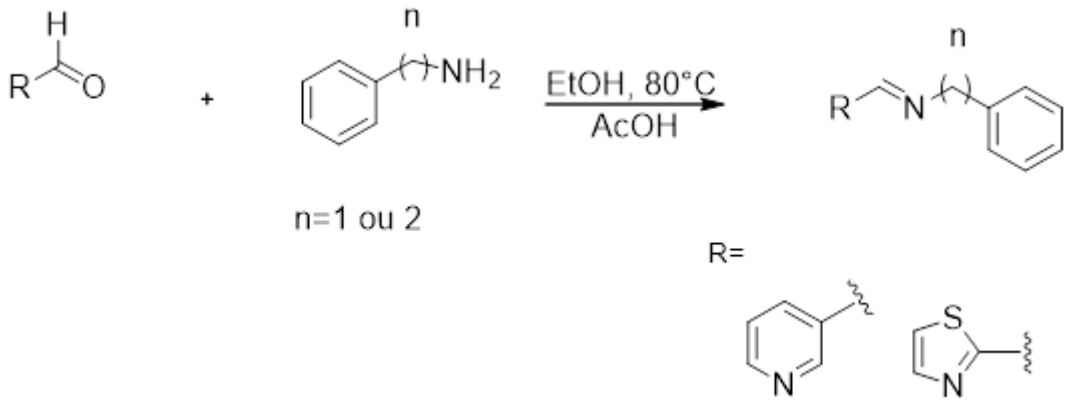
Óleo vermelho; fórmula molecular: $C_{17}H_{16}N_2$; massa molar: 248,13 g/mol, Rendimento: 98%, Fator de retenção: 0,42, Hex/AcOEt 1:1.

- RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 3,11 (*t*, 2H, *J*=7,5 Hz, CH_2); 3,93 (*t*, 2H, *J*=7,5 Hz, CH_2); 7,26-7,27 (*m*, 3H, H-Ar); 7,33-7,36 (*m*, 5H, H-Ar); 7,4 (*s*, 1H-indol); 8,3-8,32 (*m*, 1H-indol); 8,41 (*s*, 1H, HC=N).
- RMN ^{13}C (150 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 38,1; 63,2; 111,7; 114,8; 121,1; 121,3; 123,2; 125,6; 126,1; 128,4; 129,0; 129,2; 136,9; 140,2; 156,3 (Apêndice A).

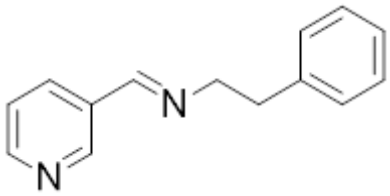
5.6.2 Procedimento para obtenção dos compostos LQM 386-387, LQM 389-390

Em 20 mL de etanol foram adicionadas quantidades equimolares das aminas (feniletilamina e benzilamina) com os correspondentes aldeídos: 3-piridinacarboxaldeido, e 2-tiazolcarboxaldeido (100 mg), foram adicionados 3.5 eq. de peneira molecular 4Å e 2 gotas de ácido acético. A mistura foi mantida sob agitação por 24 h a 80 °C. Após o término da reação, foi realizada uma extração liquido-liquido utilizando AcOEt e como solvente extractor, água (3x15 mL), a solução orgânica foi seca utilizando Na_2SO_4.

Figura 26- Síntese de compostos LQM 386-387 e LQM 389-390.



- **Dados e caracterização de *(E)-(2-fenil-N-piridin-3-il)-metileno-etanamina* (LQM 386).**

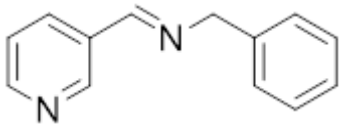


Sólido café; fórmula molecular: $C_{14}H_{14}N_2$; massa molar: 210,27 g/mol; Rendimento: 84%, Fator de retenção: 0,40, Hex/AcOEt 1:1, PF: 51-52 °C.

- RMN ^{1}H (600MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 3,04 (*t*, 2H, *J*=7,4 Hz); 3,91 (*t*, 2H, *J*=7,4 Hz); 7,21-7,24 (*m*, 3H); 7,28-7,32 (*m*, 2H); 7,35-7,37 (*m*, 1H); 8,1 (*dt*, 1H, *J*=1,9 e 7,9) 8,66 (*dd*, 1H, *J*=1,7 e 4,8); 8,19 (*s*, 1H); 8,83 (*d*, 1 H, *J*=1,9 Hz).

- RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl3) δ (ppm): 37,3; 63,3; 123,7; 126,2; 128,4; 129,0; 131,7; 134,4; 139,6; 150,1; 151,3; 158,5 (Apêndice B).

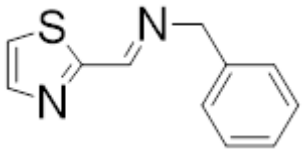
- **Dados e caracterização de *(E)-1-fenil-N-(piridin-3-il-metilen) metanamina* (LQM 387).**



Óleo amarelo; fórmula molecular: $C_{13}H_{12}N_2$; massa molar: 196,25 g/mol; rendimento: 94 %, Fator de retenção: 0,45, Hex/AcOEt 7:3.

- RMN ^{1}H (600MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 4,86 (*s*, 2H); 7,28-7,31 (*m*, 1H); 7,34-7,39 (*m,* 5H); 8,18 (*d*, 1H, *J*=8,0 Hz); 8,43(*s*,1H); 8,66 (*d*, 1H, *J*=4,4 Hz); 8,91 (*s*, 1H).
- RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl3) δ (ppm): 65,2; 123,7; 127,2; 128,0; 128,6; 131,7; 134,6; 138,7; 150,3; 151,5; 159,0 (Apêndice C).

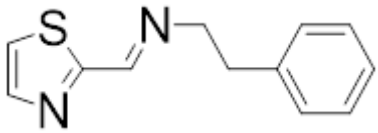
- **Dados e caracterização de *(E)-fenil-N-((tiazol-2-il) metileno) metanamina* (LQM 389)**



Óleo preto; fórmula molecular: $C_{11}H_{10}N_2S$; massa molar: 202,27 g/mol; rendimento: 82 %, Fator de retenção: 0,54, Hex/AcOEt 7:3.

- RMN ^{1}H (600MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 4,90 (*s*, 2H); 7,28-7,34 (*m,* 3H) ;7,37-7,39 (*m*, 2H); 7,43-7,44 (*m*, 1H); 7,94-7,95 (*m,* 1H); 8,55 (*s*, 1H).
- RMN ^{13}C (150 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 64,3; 121,6; 127,3; 128,2; 128,6; 138,0; 144,0; 155,8; 167,1. (Apêndice E).

- **Dados e caracterização de (E)-*2-fenil-N-((tiazol-2-il) metileno) etanamina* (LQM 390)**



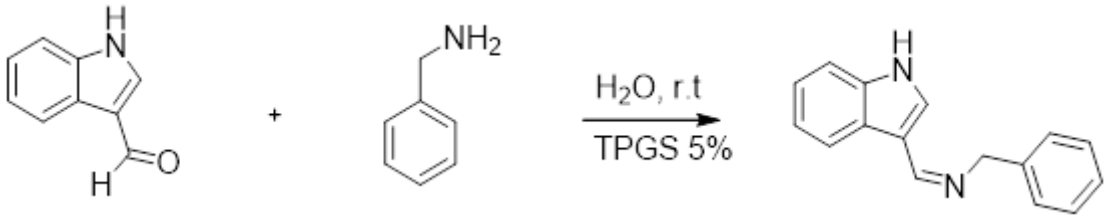
Óleo preto; fórmula molecular: $C_{12}H_{12}N_2S$; massa molar: 216,30 g/mol; rendimento: 72 %, Fator de retenção: 0,71, Hex/AcOEt 7:3.

- RMN ^{1}H (600MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 3,06 (*t*, 2H, *J*=7,5 Hz); 3,93 (*t*, 2H, *J*=7,5 Hz); 7,21-7,24 (*m,* 3H); 7,28-7,32 (*m,* 2H); 7,42 (*d,* 1H, *J*=3,1 Hz); 7,92 (*d*, 1H, *J*=3,1 Hz); 8,35 (*s*, 1H)
- RMN ^{13}C (150 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 37,0; 62,5; 121,4; 126,3; 128,4; 128,9; 139,3; 143,9; 155,4; 167,1. (Apêndice F)

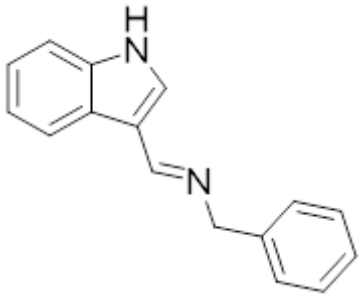
5.6.3 Procedimento para obtenção do composto LQM 388

Em 15 mL de água foram adicionadas quantidades equimolares de 3-indolcarboxaldeido (100 mg) e benzilamina junto a 1 mL de TPGS-750-M 5%. A reação foi mantida sob agitação constante a temperatura ambiente durante 24 h. O término da reação foi verificado por CCD usando como fase móvel Hex/AcOEt 1:1. Foi realizada uma extração liquido-liquido AcOEt/H_2O, onde a fase orgânica foi coletada e seca, para posteriormente ser realizada uma recristalização EtOH/H_2O, onde foi obtido um sólido laranja.

Figura 27- Síntese do composto LQM 388



- **Dados e caracterização de *(E)-N-(1H-indol-3-il) metileno) fenilmetanamina)* (LQM 388)**



Solido laranja; formula molecular: $C_{16}H_{14}N_2$; massa molar: 234 g/mol; rendimento: 86 %, Fator de retenção: 0,35, Hex/AcOEt 1:1, PF: 118-120 °C.

- RMN ^{1}H (600MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 4,84 (*s*, 2H); 7,21-7,26 (*m*, 2H); 7,28 (*d*, 1H, *J*=7,3 Hz); 7,35-7,39 (*m*, 3H); 7,42 (*d*, 2H, *J*=7,6 Hz); 7,66 (*s*, 1H); 8,31 (*d*, 1 H, *J*=7,5 Hz); 8,56 (*s*, 1H)
- RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl3) δ (ppm): 64,4; 111,5; 114,9; 121,4; 121,7; 123,5; 125,5; 126,9; 127,9; 128,5; 129,6; 136,8; 139,7; 156,4 (Apêndice D).

5.7 Ensaios biológicos *in vitro.*

5.7.1 Microrganismos utilizados.

Os testes de atividade antibacteriana foram realizados com as seguintes cepas padrão, bacterias gram-positivas: *S. aureus (ATCC 25923), E. faecalis (ATCC 29212),* e bactérias gram-negativas: *P. aeruginosa (ATCC 27853)* e *E. coli (ATCC 25922),* escolhidos por serem microrganismos que apresentam resistência contra antibióticos atualmente disponíveis.

5.7.2 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) por meio de microdiluição em caldo.

Para avaliar a atividade antibacteriana foi realizado o ensaio de microdiluição em caldo Mueller Hinton baseado no documento do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018). O experimento foi realizado em triplicata. Para o controle da viabilidade microbiana utilizou-se o caldo de cultivo Mueller Hinton e o inóculo bacteriano. O controle negativo foi realizado com solução salina (0,9%),

enquanto que o controle de esterilidade foi feito com o caldo Mueller Hinton e ciprofloxacino foi usado como controle positivo.

Foi utilizado o revelador Trifenil Tetrazólio Brometo 2,3,5 (TTB) 1%, como indicador do crescimento microbiano. A ausência de cor nos poços foi interpretada como microrganismo sensível ao composto testado (ausência de crescimento). De modo contrário, os poços que apresentaram coloração azulada foram interpretados como microrganismo resistente, presença de crescimento. A CIM foi definida como a menor concentração em µg/mL capaz de inibir o crescimento bacteriano.

O grau de atividade antimicrobiana foi determinado segundo os critérios estabelecidos por Ayres *et al.* CIM de até 100 µg/mL (ativa), CIM de 100- 500 µg/mL (atividade inibitória moderada), CIM de 500-1000 µg/mL (atividade fraca) e CIM maiores que 1000 µg/mL (inativos) (AYRES *et al.,* 2008).

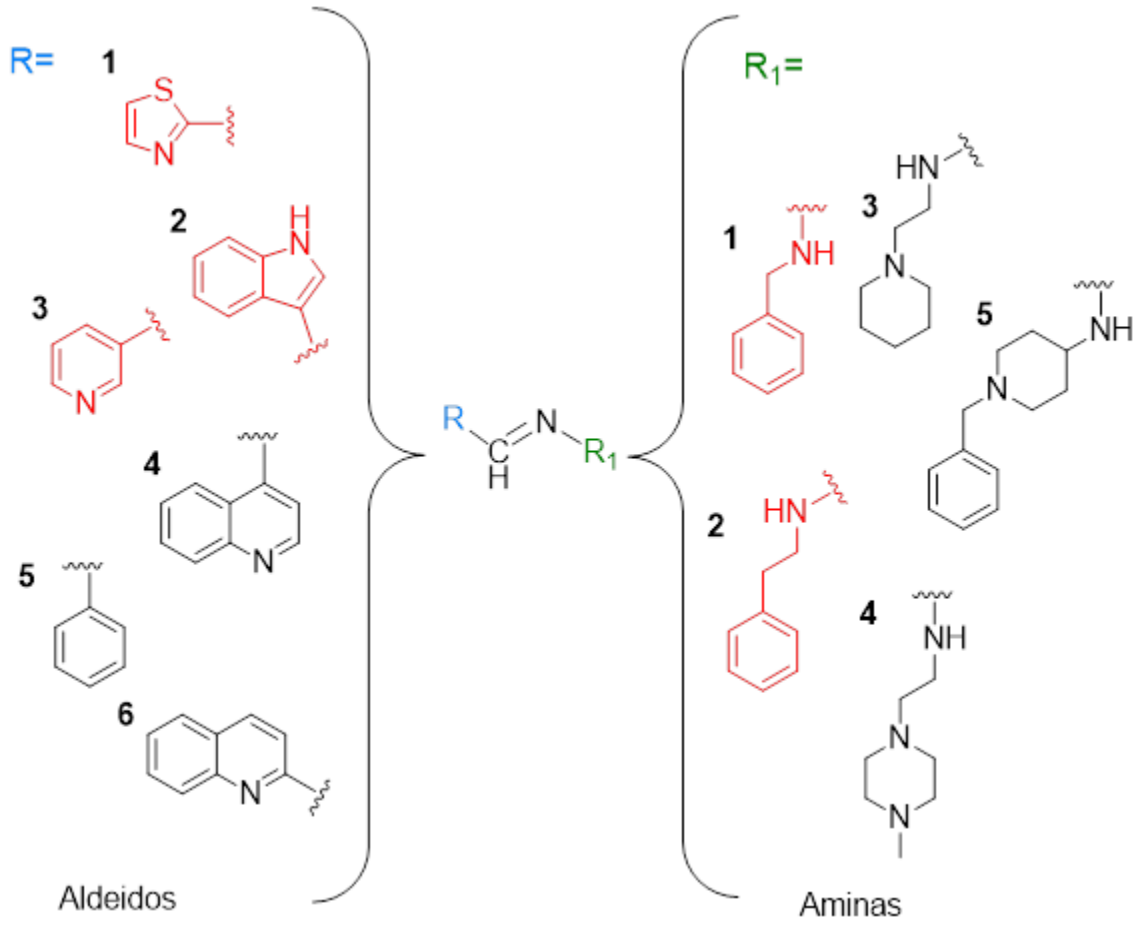
RESULTADOS E DISCUSSÃO

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Obtenção de iminas

Inicialmente, diversos aldeídos e aminas aromáticas foram planejados **(Figura 28)**, no entanto, problemas de reatividade não permitiram que todas as iminas planejadas fossem sintetizadas. Embora diversas alterações na metodologia **(Tabela 1)** tenham sido realizadas, apenas as iminas (LQM 385-390) contendo os núcleos marcados em vermelho foram sintetizadas com bons rendimentos.

Figura 28- Aldeídos e aminas planejados.



Fonte: Autora, 2021.

Tabela 1– Diferentes metodologias testadas.

Solvente	Temperatura	Tempo	Catalisador	Referencias
DCM	40 °C	48 h	Na_2SO_4	Adaptada de Barbarotto *et al.*, 2009
EtOH	80 °C	24 h	Com e sem AcOH	Chander *et al.*, 2017
--	100 °C	96 h	--	Castillo *et al.,* 2018
Tolueno	110 °C	72 h	AcOH, Na_2SO_4	Cornec *et al.,* 2017
MetOH	Amb. e refluxo	72 h	Na_2SO_4	Seferoğlu; Sahin, 2015
EtOH	80 °C	48 h	HCl	Sandip *et al.,* 2013
Éter	Amb.; Peneira Molecular	72 h	--	Cornec *et al.,* 2017
MetOH	Amb./64 °C	120 h	Ácido fórmico	Ghafuri; Roshani, 2014
ACN	100 °C	48 h	--	Adaptada de Castillo *et al.,* 2018
Água	Ambiente	24 h	--	Tanaka; Shiraishi, 2000
EtOH	MW: 200 W, 85 °C	1 h	Com e sem AcOH	Sandip *et al.,* 2013

Fonte: Autora, 2021. * Amb: ambiente; MW: microondas; W; watts.

As iminas foram obtidas a partir da condensação entre aldeídos e aminas primarias aromáticas, mediante reações de adição nucleofilica. Empregando três metodologias simples **(Tabela 2)** foram obtidas 6 iminas derivadas de indol, tiazol e piridina com rendimentos superiores a 70% **(Figura 29-página 53)**.

Tabela 2 - Metodologias utilizadas na síntese dos compostos obtidos.

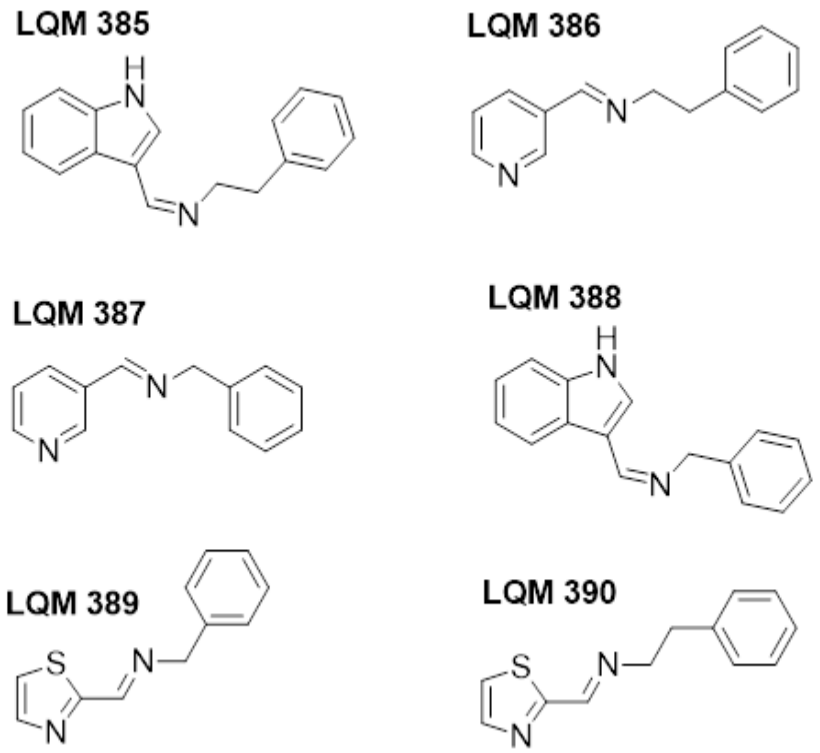
Solvente	Temperatura	Tempo	Catalisador	Referências
EtOH	80 °C	24 h	AcOH, peneira molecular	Chander *et al*., 2017
DCM	40 °C	48 h	KOH	Adaptada de Barbarotto *et al.*, 2009
Água	Ambiente	24 h	TPGS-750-M 5%	Adaptada de Tanaka; Shiraishi, 2000

Fonte: Autora, 2021

Na maioria dos casos foi necessário o uso de ácido acético como catalisador, KOH utilizou-se na síntese de um composto, ambos os catalisadores fazem com que os reagentes sejam mais reativos, o catalisador ácido no caso dos aldeídos e o básico para as aminas nucleófilas. Etanol, água e diclorometano foram utilizados como solventes, peneiras moleculares foram empregadas como agente secante quando o solvente utilizado foi etanol já que não era anidro, mas isto principalmente para evitar a hidrólise dos compostos obtidos a qual acontece mais fácilmente em solução aquosa ácida, pela formação de água na reação de síntese de iminas. Compostos derivados de indol precisaram de metodologias diferentes enquanto os derivados de tiazol e piridina foram sintetizados utilizando a mesma metodologia.

Os compostos **LQM 386**, **LQM 387**, **LQM 389** e **LQM 390** foram obtidos a partir da metodologia reportada por CHANDER *et al.,* onde quantidades equivalentes de aldeídos e aminas foram dissolvidos em etanol, adicionando ácido acético e peneira molecular sob refluxo (CHANDER *et al*., 2017). O composto **LQM 385** foi o primeiro a ser sintetizado mediante uma metodologia baseada na literatura com pequenas modificações, onde foi dissolvido o aldeído e a amina em diclorometano, KOH foi adicionado e a reação foi colocada sob refluxo (BARBAROTTO *et al.*, 2009). Por fim, o composto **LQM 388** foi sintetizado utilizando a metodologia de TANAKA; SHIRAISHI, utilizando-se quantidades equivalentes da amina e o aldeído, em água e sob agitação a temperatura ambiente (TANAKA; SHIRAISHI, 2000), colocando TPGS-750-M 5%.

Figura 29- Compostos finais obtidos.



Fonte: Autora, 2021.

6.1.2 Caracterização por RMN ^{1}H e ^{13}C.

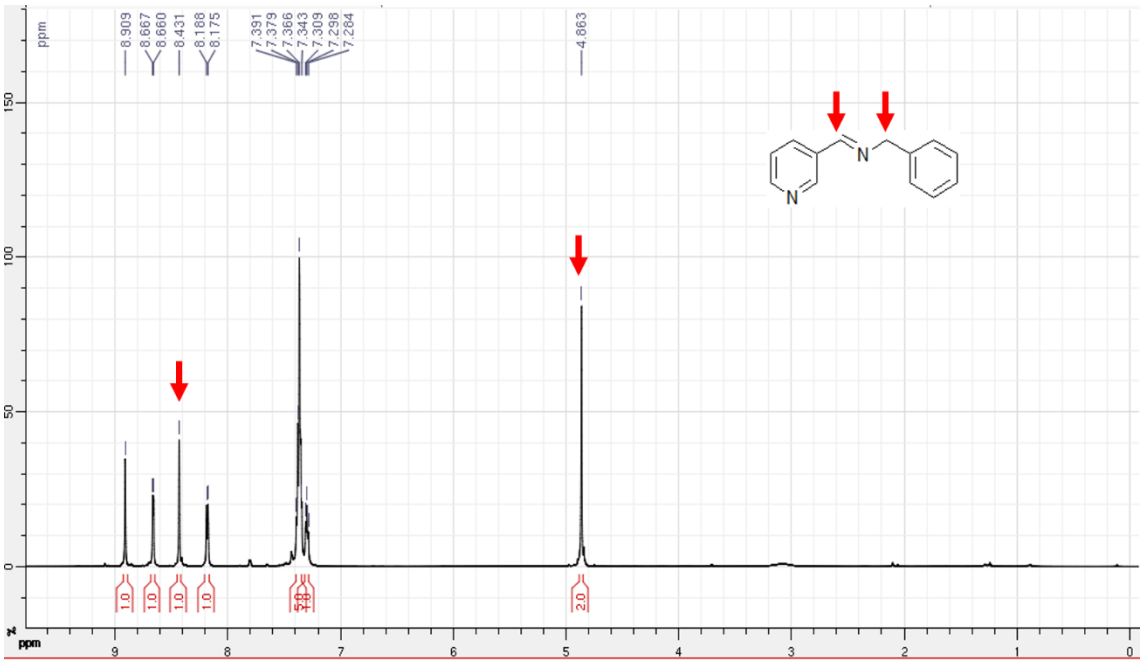
No espectro de hidrogênio, os simpletos referentes ao grupo imina (o qual está diretamente ligado a um heterociclo o que faz esses hidrogênios mais desblindados, se comparados com hidrogênios de iminas alifáticas por exemplo, onde os deslocamentos químicos poderiam ser em campo mais alto embora a diferença não seria grande) aparecem entre 8,37 e 8,56 ppm. Outro deslocamento importante é o dos hidrogênios alifáticos, os quais foram observados entre 3,04-4,90 ppm como tripletos (LQM 385, LQM 386 e LQM 390), devido a que estes compostos são derivados de feniletilamina apresentam um total de 4 hidrogênios alifáticos (CH_2-CH_2), um tripleto por cada 2 hidrogênios (multiplicidade da sinal n+1, n=2 vizinhos: tripleto), simpletos foram observados em os compostos derivados de benzilamina (LQM 387-389), pois apresentam dois hidrogênios alifáticos os quais não tem hidrogênios vizinhos (multiplicidade da sinal n+1, n=0 vizinhos: simpleto).

Foram observados deslocamentos entre 7,21-8,91 ppm correspondentes aos hidrogênios aromáticos.

No espectro de RMN ^{13}C foram observados sinais em torno de 155 ppm correspondentes ao carbono imínico, assim como sinais entre 37-65,26 ppm dos carbonos alifáticos, indicando a formação dos produtos.

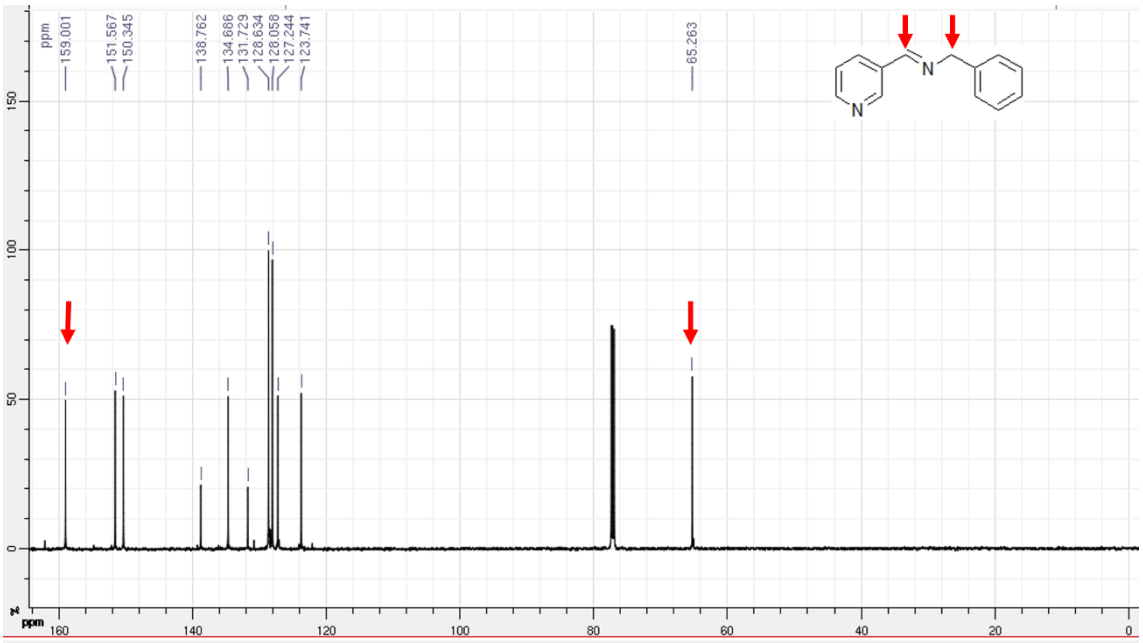
Como exemplo, no espectro de RMN ^{1}H do composto LQM 387 observa-se os sinais em 4,8 ppm e 8,43 ppm, dois simpletos correspondentes ao hidrogênio alifático e o hidrogênio da função imina (**Figura 30**). No espectro de RMN ^{13}C do mesmo composto, observa-se um sinal em 159 ppm correspondente ao carbono da função imina, e um sinal em 65,2 ppm do carbono alifático **(Figura 31)**.

Figura 30- Espectro de RMN ^{1}H do composto LQM 387



Fonte: Autora, 2021.

Figura 31- Espectro de RMN de ^{13}C do composto LQM 387



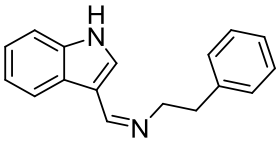
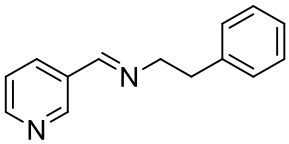
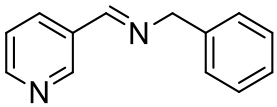
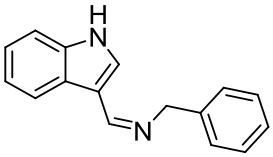
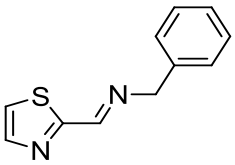
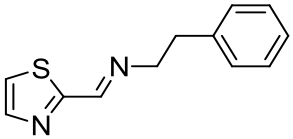
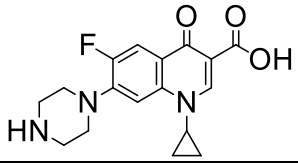
Fonte: Autora, 2021.

6.2 Determinação da concentração inibitória mínima pelo método de microdiluição em caldo.

A concentração inibitória mínima (CIM) é a concentração mais baixa de um composto que inibe o crescimento de uma cepa bacteriana determinada. O cultivo em caldo ou ágar podem ser utilizados para realizar os testes de CIM, mas a microdiluição em caldo é o método mais utilizado (PAHO, 2005).

O ensaio para determinar a CIM foi realizado utilizando duas cepas de bactérias gram-negativas e duas cepas gram-positivas. Na **tabela 3** estão sumarizados todos os valores de CIM dos compostos **LQM 385-390** sobre os microrganismos avaliados.

Tabela 3- Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos compostos LQM 385-LQM 390 frente aos microrganismos avaliados.

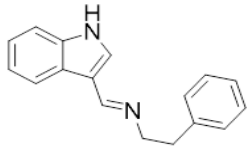
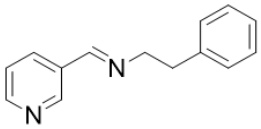
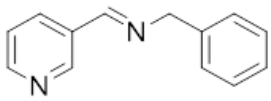
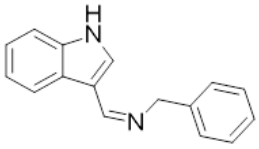
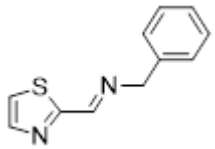
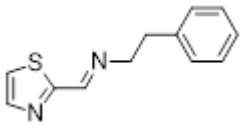
Cód.	Estrutura	Concentração Inibitória (µg/mL)			
		Gram-positivas		Gram-negativas	
		S. aureus	*E. faecalis*	*E. coli*	*P. aeruginosa*
385		125	62,5	250	250
386		500	250	500	500
387		500	250	500	250
388		500	500	500	500
389		125	n.d	n.d	500
390		62,5	500	500	250
Cipro.		0,15	0,31	0,31	0,31

Fonte: Autora, 2021. **Nota: n.d = Não houve inibição; [µg/mL] concentração em microgramas por mililitro, cipro= ciprofloxacino.**

Os compostos apresentaram valores de CIM entre 62,5 e 500 µg/mL. A melhor atividade antibacteriana foi observada para o composto **LQM 385,** um derivado indol que apresentou valores de CIM de 62,5 µg/mL para *E. faecalis ATCC 29212* (ativo), atividade moderada para *S. aureus ATCC 25923* (125 µg/mL), para *E. coli ATCC 25922* e *P. aeruginosa ATCC 27853* (250 µg/mL). Frente a *S. aureus ATCC 25923,* os compostos derivados do tiazol; **LQM 390** foi ativo (62,5 µg/mL) ,

e o **LQM 389** apresentou atividade moderada (125 µg/mL), a maior atividade do LQM 390 em relação ao LQM 389 pode-se relacionar com a maior lipofilia do LQM390 devida a adição de um metileno permitindo uma melhor penetração a través de membranas. A adição de metilenos aumenta a lipofilicidade de compostos, mas entre maior é o numero de metilenos, a formação de micelas pode acontecer (Thomas, G., 2003). Utilizando o programa SwissADME foi obtido LogP (Coeficiente de partição) de cada composto **(Tabela 4)**. Em estudos QSAR, LogP é um dos parâmetros mais utilizados para expressar a hidrofobicidade e se define como a relação de concentração de uma substancia na fase orgânica e na fase aquosa sob condições de equilíbrio termodinâmico. Em compostos bioativos os valores são entre -5 a 5 (LIPINSKI *et al*., 1997).

Tabela 4- Coeficiente de partição (LogP) dos compostos LQM 385-LQM 390.

Código	Composto	LogP
385		3,33
386		2,72
387		2,44
388		3,32
389		2,55
390		2,82

Fonte: Autora, 2021.

Valores positivos de LogP refletem maior afinidade pela fase orgânica e os valores negativos maior afinidade pela fase aquosa, assim compostos muito hidrofóbicos tem valores LogP>3 e tendem a permanecer nas membranas biológicas enquanto os compostos pouco hidrofóbicos LogP<0 permanecem no compartimento aquoso não sendo capazes de atravessar as membranas no processo de transporte, pelo que para uma melhor permeabilidade e solubilidade os valores de LogP devem ser moderados (entre 0 e 3) (HANSCH & FUJITA, 1964; HANSCH & CLAYTON, 1973). Compostos LQM 385-LQM 390 apresentaram LogP entre 2,44-3,33, compostos com um metileno a mais resultaram ser mais hidrofóbicos e em alguns casos com melhores atividades.

Os compostos **LQM 386** e **LQM 389** demonstraram inibição moderada nas concentrações entre 125 e 500 µg/mL. O composto **LQM 389** foi o único que não apresentou atividade contra as duas cepas: *E. faecalis ATCC 29212* e *E. coli ATCC 25922*. Para a cepa *P. aeruginosa ATCC 27853*, os compostos **LQM 385, LQM387** e **LQM 390** apresentaram atividade moderada com uma CIM de 250 µg/mL, derivados de indol, piridina e tiazol respectivamente.

Finalmente, de forma geral, os compostos testados exibiram melhores resultados frente a bactérias gram-positivas, o que poderia ser justificado pela diferença no envoltório bacteriano; as gram-negativas possuem uma membrana externa complexa que contém várias substâncias, como as porinas (responsáveis pelo acesso das substâncias para dentro das bactérias). Esta membrana pode por vezes dificultar a entrada de algumas substâncias, servindo assim como barreira, e não está presente em bactérias gram-positivas onde o peptidoglicano é exposto na superfície e muitas vezes torna-se um ponto de ataque para alguns antibióticos, evitando a formação da parede celular bacteriana em qualquer uma das fases do seu desenvolvimento (CALVO; MARTINEZ-MARTINEZ, 2009).

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Esta pesquisa permitiu a síntese de 6 bases de Schiff derivadas do indol, piridina e tiazol, bem como a realização de testes *in vitro* para determinar seu potencial antibacteriano. Os compostos apresentaram bons rendimentos de síntese, entre 72-98%. As bases de Schiff foram caracterizadas por RMN ^{1}H e ^{13}C onde foram identificados os sinais característicos.

Os compostos sintetizados exibiram vários graus de efeitos inibitórios sobre o crescimento de cepas bacterianas, principalmente moderados e com melhores resultados contra bactérias gram-positivas. **LQM 385** foi o composto com melhor atividade antibacteriana contra as quatro cepas, sendo ativo frente a cepa *E. faecalis ATCC 29212* e exibindo atividades boas a moderadas (125-250 µg/ml) contra as outras três cepas. O composto **LQM 390** foi ativo contra a bactéria *S. aureus ATCC 25923*, da mesma forma os compostos **LQM 385** e **LQM 389** apresentaram boa atividade contra esta mesma bactéria.

Como perspectivas, outros testes *in vitro* como citotoxicidade serão realizados. Sugere-se ainda a possibilidade de modificações estruturais, através da introdução de substituintes doadores e aceptores de elétrons, a fim de melhorar a atividade antimicrobiana, assim como avaliar a atividade antimicrobiana dos compostos frente a outras bactérias e fungos.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ABDEL-MAGID, A. F. Reduction of CN to CH–NH by Metal Hydrides. **Comprehensive Organic Synthesis II**, v. 8, p. 85-150, 2014. DOI: https://doi.org/10.1016/b978-0-08-097742-3.00802-8

ALMEIDA, V. L *et al.* Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Quim. Nova**, v. 28, n. 1, p. 118-129, 2005.

AMNERKAR, N. D.; BHONGADE, B. A.; BHUSARI, K. P. Synthesis and biological evaluation of some 4-(6-substituted-1,3-benzothiazol-2-yl)amino-1,3-thiazole-2-amines and their Schiff bases. **Arabian Journal of Chemistry,** v. 8, n. 4, p. 545–552, 2015. DOI: https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.034

AVAN, I; GUVEN, A; GUVEN, K. Synthesis and antimicrobial investigation of some 5H -pyridazino[4,5-b]índoles. **Turkish Journal of Chemistry.** p. 271 – 291, 2013 doi:10.3906/kim-1210-22 37.

AVILA-SORROSA, A. *et al*. Synthesis, characterization and preliminary in vitro trypanocidal activity of N-arylfluorinated hydroxylated-Schiff bases. **Journal of Molecular Structure**, v. 1218, 128520, 2020. DOI: https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128520

BARBAROTTO, *et al*. SmI2-coupling reaction of chiral non-racemic α-bromo-α′-sulfinyl ketones with imines: synthesis of enantiomerically pure 2-methyl-3-amino-1-ol moieties. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 20, n. 24, p. 2780–2787, 2009. DOI: https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2009.11.020

BELOWICH, M. E.; STODDART, J. F. Dynamic imine chemistry. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 6, p. 2003, 2012. DOI: https://doi.org/10.1039/c2cs15305j

BOUCHER, H. W., *et al.* Bad Bugs, No Drugs: No ESKAPE! An Update from the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 48 n. 1, p. 1–12, 2009. DOI:10.1086/595011

AYRES, M. C. C., *et al*. Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de Copernicia prunifera. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 18, n. 1, p. 1981–2000, 2008. https://doi.org/10.1590/s0102-695x2008000100017

BHARTI, S. K.; NATH, G.; TILAK, R.; SINGH, S. K. Synthesis, anti-bacterial and anti-fungal activities of some novel Schiff bases containing 2,4-disubstituted thiazole ring. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45 n. 2, p. 651–660, 2010. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.11.008

BHATIA, M.S. *et al.* Synthesis and QSAR analysis of 5 substituted(arylmethylene) pyridin-2-amine derivatives as potential antibacterials. **Int. J. Drug Discov***.* 2009. DOI:10.9735/0975-4423.1.1.1-9

CALIXTO, F. C. M; CAVALHEIRO, G. E.T. Penicilina: Efeito do Acaso e Momento Histórico no Desenvolvimento Científico **Química e Sociedade,** v. 34, n. 3, p. 118-123, 2012

CALVO, J.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 27, n. 1, p. 44–52, 2009. DOI: https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.11.001

CAREY, F.A.; SUNDBERG, R.J. Advanced organic chemistry: part A: structure and mechanisms. **Springer Science & Business Media**, 2007. ISBN 0387448993.

CASTILLO, J.-C. *et al.* Application of a catalyst-free Domino Mannich/Friedel-Crafts alkylation reaction for the synthesis of novel tetrahydroquinolines of potential antitumor activity. **Tetrahedron**, v. 74, n. 9, p. 932-947, 2018. DOI: https://doi.org/10.1016/j.tet.2017.12.049

CDC. What Exactly is Antibiotic Resistance?. Centers for Disease Control and Prevention. 2020. Disponível em https://www.cdc.gov/drugresistance/about.html acesso em 5 de março 2021

CHAKRABORTI, A. K.; BHAGAT, S.; RUDRAWAR, S. Magnesium perchlorate as an efficient catalyst for the synthesis of imines and phenylhydrazones. **Tetrahedron Letters,** v. 45, n. 41, p. 7641–7644, 2004. DOI:10.1016/j.tetlet.2004.08.097

CHANDER, S *et al*. Design, synthesis and anti-HIV-1 RT evaluation of 2-(benzyl(4-chlorophenyl)amino)-1-(piperazin-1-yl)ethanone derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27 n. 1, p. 61-65, 2017. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.11.030

ChEBI. CHEBI (24783) - Imine, 2019. Disponível em https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=24783 acesso em 15 dez 2020

CIACCIA, M.; DI STEFANO, S. Mechanisms of imine exchange reactions in organic solvents. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 13, n. 3, p. 646-654, 2015. DOI: https://doi.org/10.1039/c4ob02110j

CIULLA, M. G.; KUMAR, K. The natural and synthetic indole weaponry against bactéria. **Tetrahedron Letters**, v. 59, n. 34, p. 3223–3233, 2018. DOI: https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2018.07.045

CLSI. **Methods for dilution antimicrobial Susceptibility tests for Bacteria That Grow Aerobically**; 11th ed. CLSI document M07. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standars Institute, 2018

COOPER, M.; SHLAES, D. Fix the antibiotics pipeline. **Nature** v. 472, p. 32, 2011. DOI: https://doi.org/10.1038/472032a

CORNEC, A. S. *et al*. Multitargeted Imidazoles: Potential Therapeutic Leads for Alzheimer's and Other Neurodegenerative Diseases. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 60 n. 12, p. 5120-5145, 2017. DOI: https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00475

CUKUROVALI, A. *et al*. Synthesis, antibacterial and antifungal activity of some new thiazolylhydrazone derivatives containing 3-substituted cyclobutane ring. **European Journal of Medicinal Chemistry,** v. 41, n. 2, p. 201–207, 2006. DOI: 10.1016/j.ejmech.2005.01.013

DAVIES, J.; DAVIES, D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. **Microbiology and Molecular Biology Reviews,** v. 74, n. 3, p. 417-433, 2010. DOI: https://doi.org/10.1128/mmbr.00016-10

ESTEVES-SOUZA, A. *et al*. Estudo experimental e teórico da redução de bases de Schiff derivadas da 3,3-difenilpropilamina**. Química Nova**, v. 27, p. 72-75, 2004. ISSN 0100-4042.

FERNÁNDEZ, G. Formación de Iminas. **Química orgánica**. Disponível em https://www.quimicaorganica.org/aldehidos-y-cetonas/230-formacion-de-iminas.html#:%7E:text=La%20reacci%C3%B3n%20de%20aldeh%C3%ADdos%20o,para%20favorecer%20el%20ataque%20nucle%C3%B3filo. Acesso em 20 dez 2020

GHAFURI, H.; ROSHANI, M. Aqueous formic acid: an efficient, inexpensive and environmentally friendly organocatalyst for three-component Strecker synthesis of α-aminonitriles and imines with excellent yields. **RSC Adv**., v. 4, n. 102, p. 58280-58286, 2014. DOI: https://doi.org/10.1039/c4ra11957f

Thomas, G. **Fundamentals of Medicinal Chemistry** (1.a ed.), 2003. Wiley-Blackwell.

GOMHA S. M.; RIYADH S. M. Synthesis under microwave irradiation of [1,2,4] triazolo [3,4-b] [1,3,4] thiadiazoles and other diazoles bearing indole moieties and their antimicrobial evaluation. **Molecules**, v. 16 , p. 8244-8256, 2011, DOI: 10.3390/molecules16108244

GUIMARÃES, D. O. *et al.* Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010. DOI: https://doi.org/10.1590/s0100-40422010000300035

GOODMAN, L. S., BRUNTON, L. L., & GILMAN, G. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. McGraw-Hill Education, 2006.

HAMEED, A. *et al*. Schiff bases in medicinal chemistry: a patent review (2010-2015). **Expert Opinion on Therapeutic Patents**. v.27, n. 1, p. 63–79, 2016. DOI:10.1080/13543776.2017.1252752

HANSCH, C.; CLAYTON, J.M. Lipophilic character and biological activity of drugs, Parabolica case. J. Pharm Sci, v. 62, p. 1-21, 1973

HANSCH, C.; FUJITA, T. A method for the correlation of biological activity and chemical structure. **J. Am. Chem. Soc.,** Washington, v. 86, p. 1616-1626, 1964

HIRAMATSU, K., *et al*. Molecular genetics of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 292, n. 2, p. 67–74, 2000. DOI: https://doi.org/10.1078/1438-4221-00192

KAJAL, A. *et al.* Schiff Bases: A Versatile Pharmacophore, **Journal of Catalysts**, v. 2013, 2013. DOI: https://doi.org/10.1155/2013/893512

KAMARIA, P.; KAWATHEKAR, N.; CHATURVEDI, P. Microwave Assisted Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Schiff Bases of Indole-3-aldehyde. **E-Journal of Chemistry**, v. 8(1), p. 305–311, 2011. DOI:10.1155/2011/265329

KATAYAMA, Y; ITO, T; HIRAMATSU, K. A New Class of Genetic Element, Staphylococcus Cassette Chromosome mec, Encodes Methicillin Resistance in Staphylococcus aureus. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy,** v. 44 n. 6, p. 1549–1555, 2000. DOI: https://doi.org/10.1128/aac.44.6.1549-1555.2000

KEALEY, C. *et al.* New approaches to antibiotic discovery. **Biotechnol Lett** v. 39, p. 805–817, 2017. DOI: https://doi.org/10.1007/s10529-017-2311-8

LIU, M., WANG, J., YUAN, X., JIANG, R., & FU, N. One-pot synthesis of trans-β-lactams from ferrocenylketene generated by thermal Wolff rearrangement. **Synthetic Communications**, v. 47, n. 24, p. 2369-2377, 2017. DOI: https://doi.org/10.1080/00397911.2017.1378358

LIMA, L. M., *et al.* β-lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 208, p.112829, 2020 DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112829

MAHENDRA R. K.; MRUTHYUNJAYASWAMY, B. H. M. Synthesis, spectroscopic characterization, electrochemistry and biological activity evaluation of some metal (II) complexes with ONO donor ligands containing indole and coumarin moieties. **Journal of Saudi Chemical Society**. v. 21, p. S202-S218, 2017. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jscs.2014.01.001

MEENACHI, S.; CHITRA, S. A review of chemistry and biological importance of Schiff base. **ChemInform,** v. 46, n. 13, 2015. ISSN 1522-2667.

MERMER, Arif. *et al*. Synthesis of novel Schiff bases using green chemistry techniques; antimicrobial, antioxidant, antiurease activity screening and molecular docking studies. **Journal of Molecular Structure**, v. 1181, p. 412-422, 2019. DOI: https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.12.114

MESBAH, M. *et al*. Synthesis, characterization, spectroscopic studies and antimicrobial activity of three new Schiff bases derived from Heterocyclic moiety. **Journal of Molecular Structure**, v. 1151, p. 41-48, 2018. DOI: https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.08.098

MILOŠEVIĆ, M. D. *et al.* Synthesis, characterization and SAR studies of bis(imino)pyridines as antioxidants, acetylcholinesterase inhibitors and antimicrobial agents. **Bioorganic Chemistry**, v. 102, 104073, 2020. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104073

MOLDOVEANU, S. C. **Pyrolysis of Amines and Imines. Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry**, 2010 cap. 13, p. 349–364. DOI:10.1016/s0167-9244(09)02813-3

MUHAMMAD A., KARAMAT M., ABDUL W. **Synthesis, Characterization and Biological Activity of Schiff Bases.** International Proceedings of Chemical, Biological and Environmental Engineering Department of Chemistry, Faculty of Science, The Islamia University of Bahawalpur, Pakistan, 2011. Disponível em

file:///C:/Users/U/Downloads/Synthesis_Characterization_and_Biological_Activity.pdf acesso em 17 dez 2020

NARTOP, D. *et al*. Synthesis, antimicrobial and antimutagenic effects of novel polymeric-Schiff bases including indol. **Journal of Molecular Structure,** v. *1195*, p.877–882, 2019. DOI: https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.06.042

NAYAK, S. G.; POOJARY, B. Synthesis of novel Schiff bases containing arylpyrimidines as promising antibacterial agents. **Heliyon,** v. 5, n. 8, e02318, 2019. DOI: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02318

PADWA, A. Photochemistry of the carbon-nitrogen double bond. **Chemical Reviews**, v. 77 n. 1, p. 37–68, 1977. DOI:10.1021/cr60305a004

PAHO. **Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana**. Pan American Health Orrganization (2005) . Disponível em https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf acesso em 21 mar. 2021

PENDLETON, J. N; GORMAN, S. P; GILMORE, B. F. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 11, n. 3, p. 297–308, 2013. DOI:10.1586/eri.13.12

QIN, W. *et al*. Schiff Bases: A Short Survey on an Evergreen Chemistry Tool. **Molecules,** v. 18, n. 10, p. 12264–12289, 2013. DOI:10.3390/molecules181012264

RICE, L. B. Federal Funding for the Study of Antimicrobial Resistance in Nosocomial Pathogens: No ESKAPE. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 197 n. 8, p. 1079–1081, 2008. DOI:10.1086/533452

SANDIP SEN, N. A. *et al.* Physicochemical and biological evaluation of some schiff base by conventional and microwave assisted method. Der Pharma Chemica, v. 5, n. 3, 128-13, 2013. **IIMT College of Medical Sciences**, Disponivel em www.derpharmachemica.com acesso em 16 dez.2020

SEDAGHAT, T. *et al.* Synthesis, structural characterization and antibacterial activity of diorganotin (IV) complexes with ONO tridentate Schiff bases containing

pyridine ring. **Chinese Chemical Letters,** v. 23, n. 12, p. 1355–1358, 2012. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cclet.2012.10.010

SEFEROĞLU, Z.; IHMELS, H.; ŞAHIN, E. Synthesis and photophysical properties of fluorescent arylstyrylimidazo[1,2-a]pyridine-based donor-acceptor chromophores. **Dyes and Pigments,** v. 113, p. 465-473, 2015b. DOI: https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2014.09.016

SHANTY, A. A, *et al*. Synthesis, characterization and biological studies of Schiff bases derived from heterocyclic moiety. **Bioorganic Chemistry**, v. 70, p. 67-73, 2017. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2016.11.009

SHI, L. *et al.* Synthesis and antimicrobial activities of Schiff bases derived from 5-chloro-salicylaldehyde. **European Journal of Medicinal Chemistry,** v. 42, n. 4, p. 558–564, 2007. DOI:10.1016/j.ejmech.2006.11.010

SHIRAISHI Y, *et al.* One-pot synthesis of imines from alcohols and amines with TiO_2 loading Pt nanoparticles under UV irradiation**. Chem Commun (Camb).** v. 47, n. 16: 4811-3, 2011

SILVA, C. D. *et al.* Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities. **Journal of Advanced Research**, v. 2, n. 1, p. 1–8, 2011

SIMION, A. *et al.* Synthesis of imines, diimines and macrocyclic diimines as possible ligands, in aqueous solution. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions** v. 1, n. 17, p. 2071-2078, 2001. DOI: https://doi.org/10.1039/b102749m

SMITH, P. W. G.; TATCHELL, A. R. AROMATIC AMINES. **Aromatic Chemistry**, p.105-143, 1969. DOI: https://doi.org/10.1016/b978-0-08-012948-8.50009-7

Souza, A. O. De., *et al.* Antimycobacterial and cytotoxicity activity of synthetic and natural compounds. **Química Nova,** v. 30 n. 7, 2007. DOI:10.1590/s0100-40422007000700012

TANAKA, K.; SHIRAISHI, R. Clean and efficient condensation reactions of aldehydes and amines in a water suspension médium. **Green Chemistry**, v. 2, n. 6, p. 272-273, 2000b. DOI: https://doi.org/10.1039/b006424f

THANIKACHALAM, P. *et al*. An insight into the medicinal perspective of synthetic analogs of indole: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry,** v. 180, p. 562–612, 2019. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.07.019

TIWARI, S. *et al.* Synthesis of N-substituted indole derivatives as potential antimicrobial and antileishmanial agents. **Bioorganic Chemistry**, v. 99, 103787, 2020. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103787

USUI, M. *et al.* Decreased colistin resistance and mcr-1 prevalence in pig-derived Escherichia coli in Japan after banning colistin as a feed additive**. Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 24, p. 383-386, 2021. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.01.016

WHO. **Antibiotic resistance**. World Health Organization 2020b. Disponível em https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance acesso em 07 mar 2021

WHO**. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos**. World Health Organization. 2017c Disponível em https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed acesso em 07 marco 2021

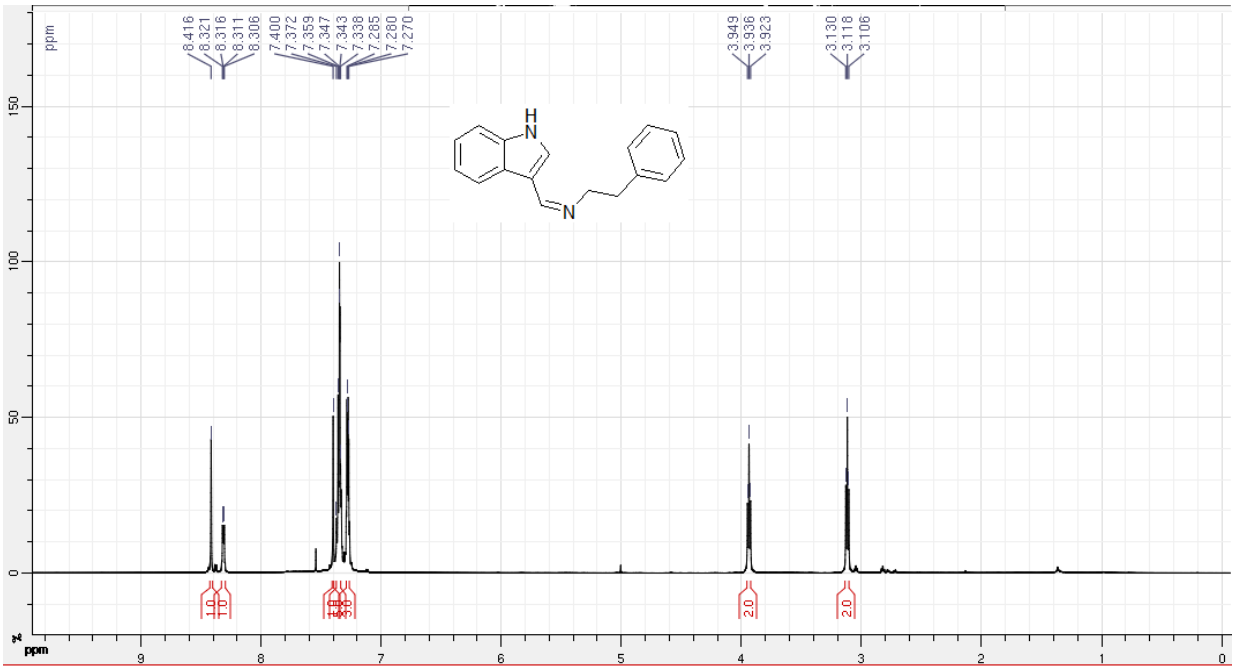
WHO. **Resistencia a los antimicrobianos.** World Health Organization, 2020a. Disponível em: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance. Acesso em: 05 mar. 2021.

WONG, V.; WAENGDONGBUNG, W.; THERAMONGKOL, P. N,N-Dimethylbenzimidazolium iodide as a green catalyst for cross-coupling of aromatic aldehydeswith unactivated imines. **Oriental Journal of Chemistry**, v. 32, n. 1, p. 219-225, 2016. DOI: https://doi.org/10.13005/ojc/320123

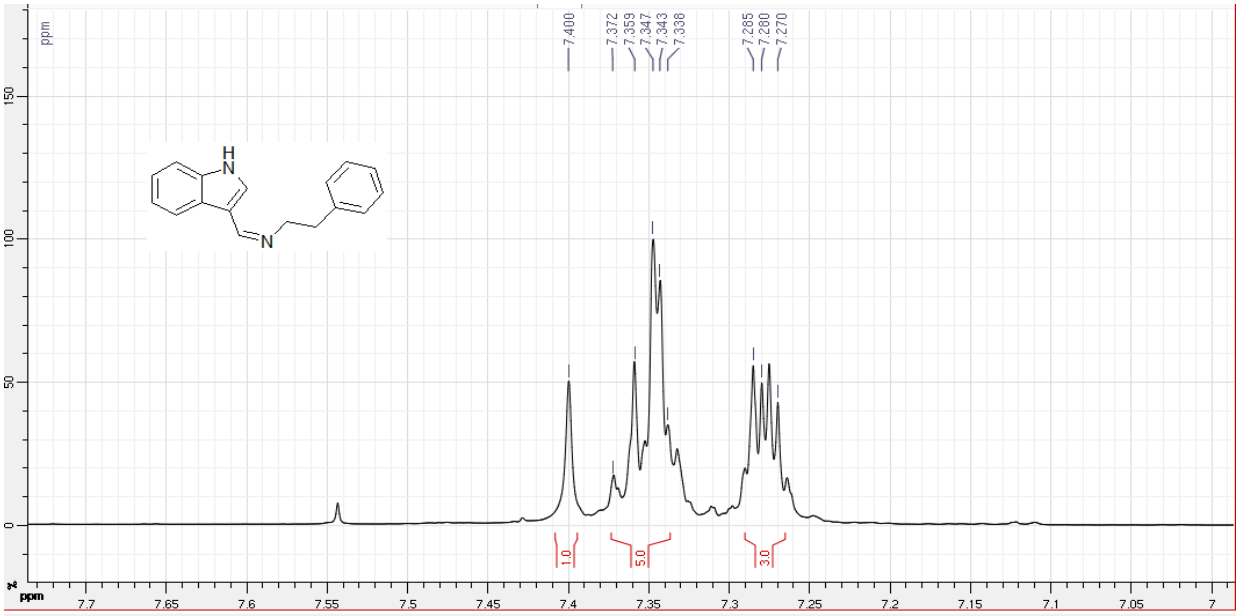
APÊNDICES

Apêndice A

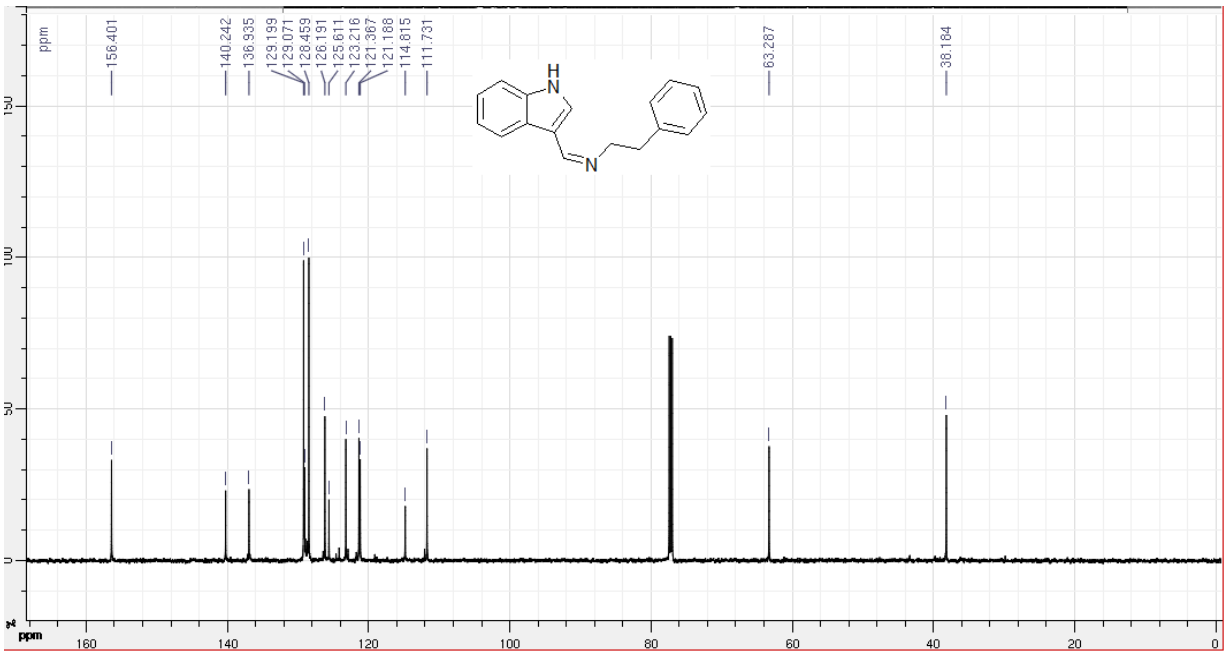
Espectro de RMN ^{1}H do composto LQM 385 ($CDCl_3$ 600 MHz)



Ampliação do Espectro de RMN ^{1}H do composto LQM 385 na região 7 – 7,7 ppm ($CDCl_3$ 600 MHz)

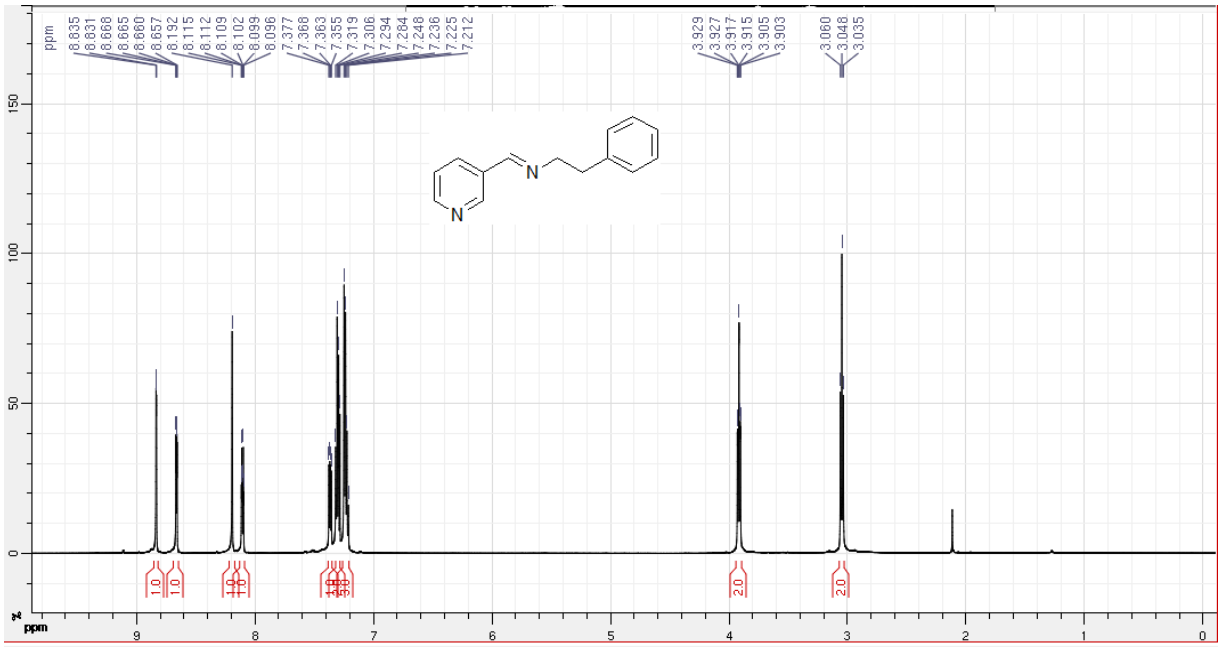


Espectro de RMN ^{13}C do composto LQM 385 ($CDCl_3$ 150 MHz)

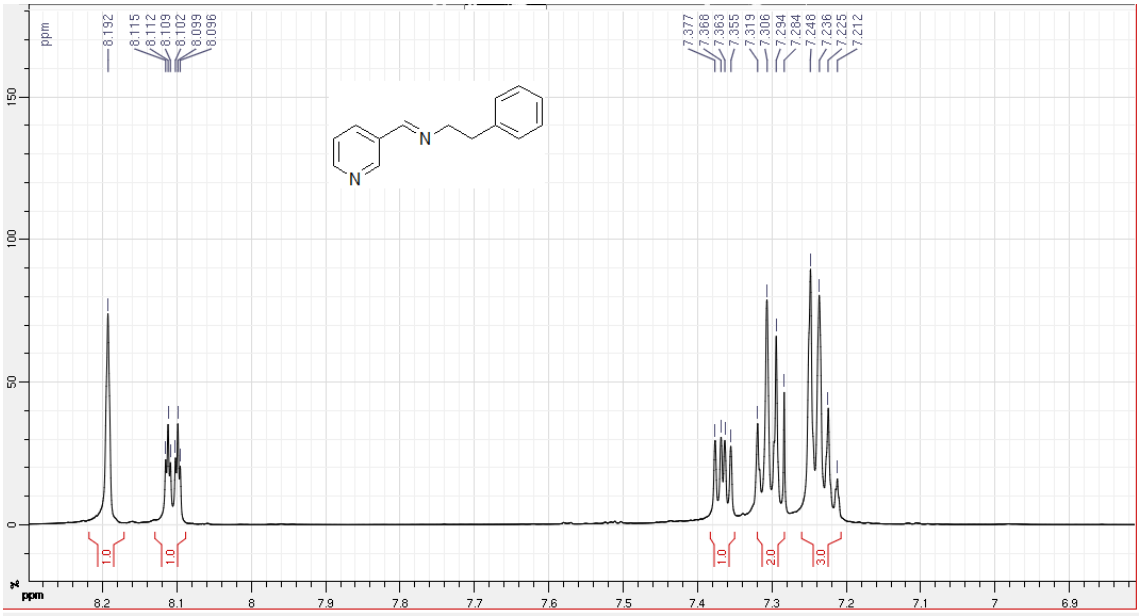


Apêndice B

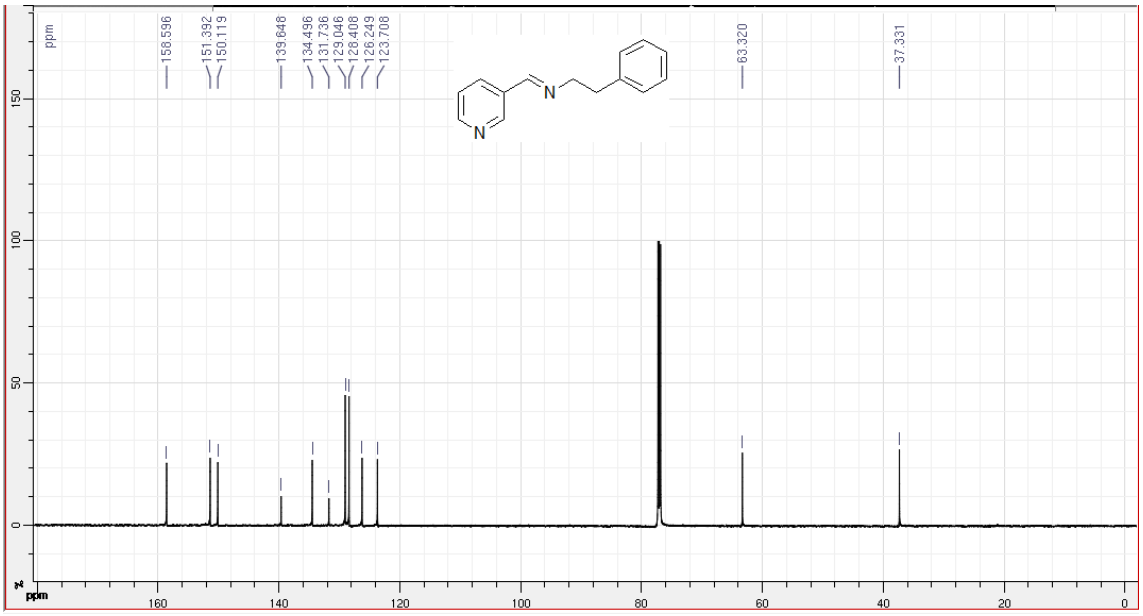
Espectro de RMN ^{1}H do composto LQM 386 ($CDCl_3$ 600 MHz)



Ampliação do Espectro de RMN ^{1}H do composto LQM 386 na região 6,9 – 8,2 ppm ($CDCl_3$ 600 MHz)

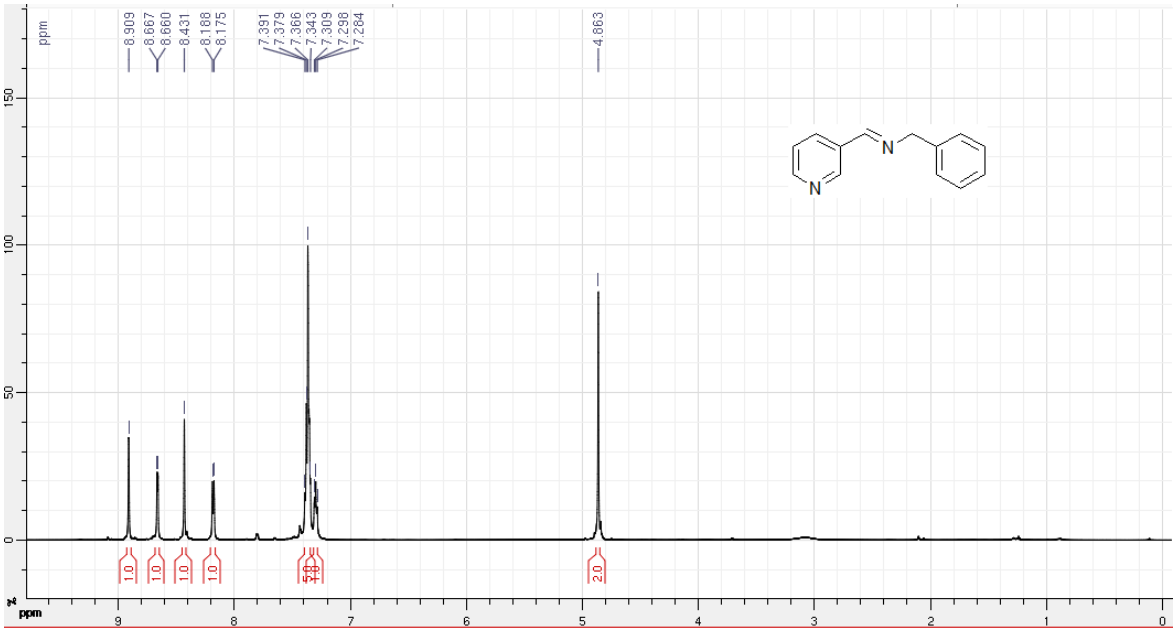


Espectro de RMN ^{13}C do composto LQM 386 ($CDCl_3$ 150 MHz)

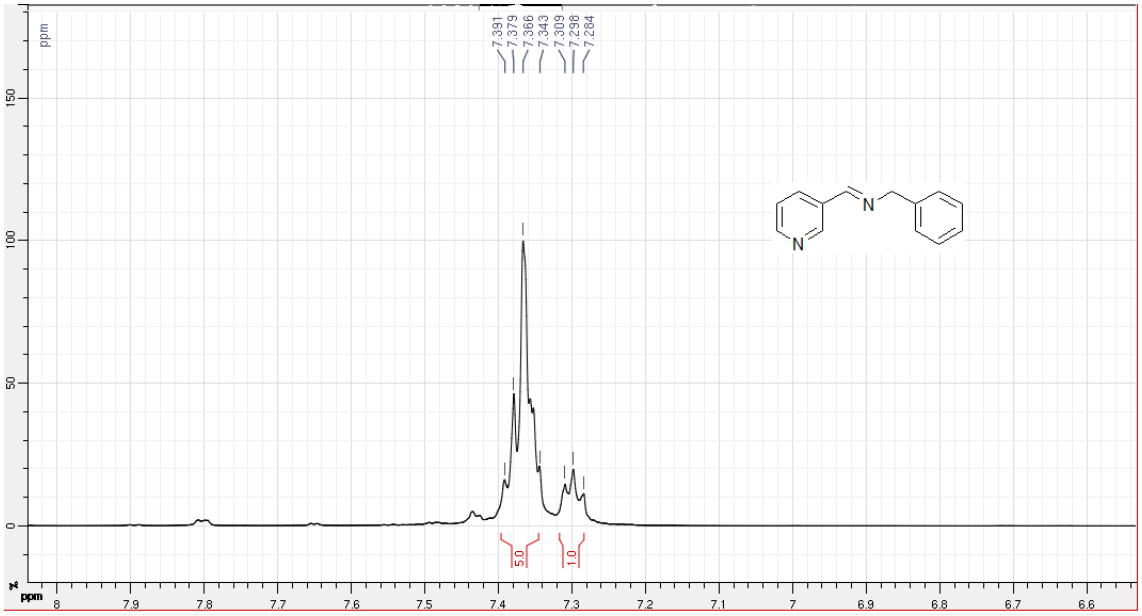


Apêndice C

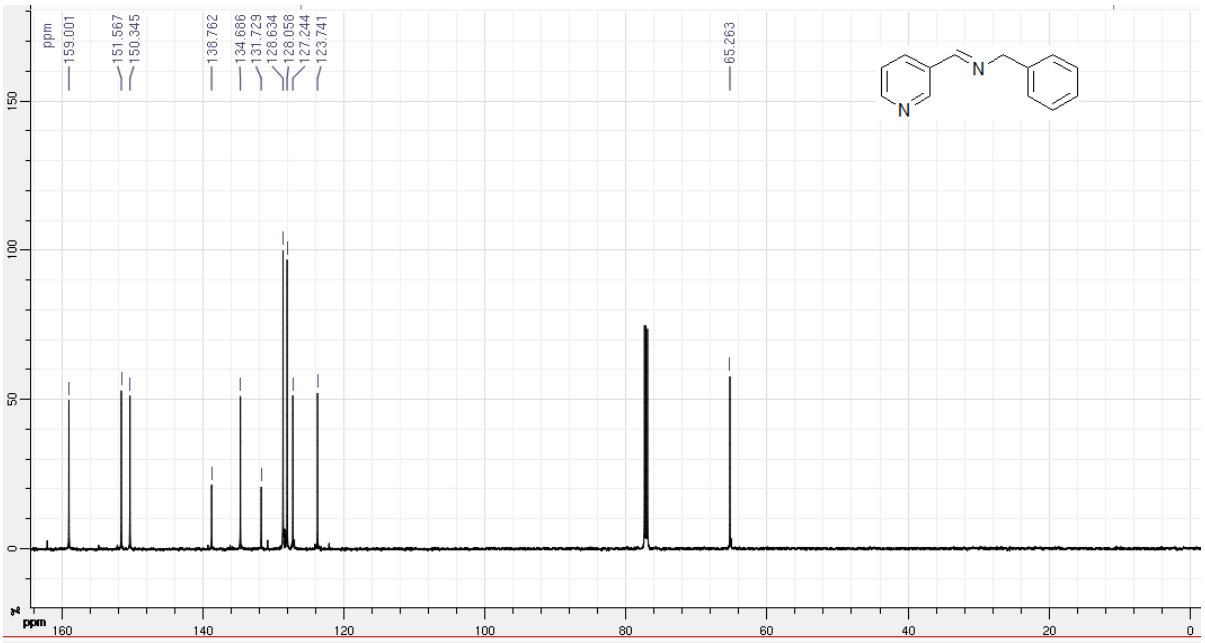
Espectro de RMN ^{1}H do composto LQM 387 ($CDCl_3$ 600 MHz)



Ampliação do espectro de RMN 1H do composto LQM 387 na regiao 6,6-8,0 ppm ($CDCl_3$, 600 MHz)

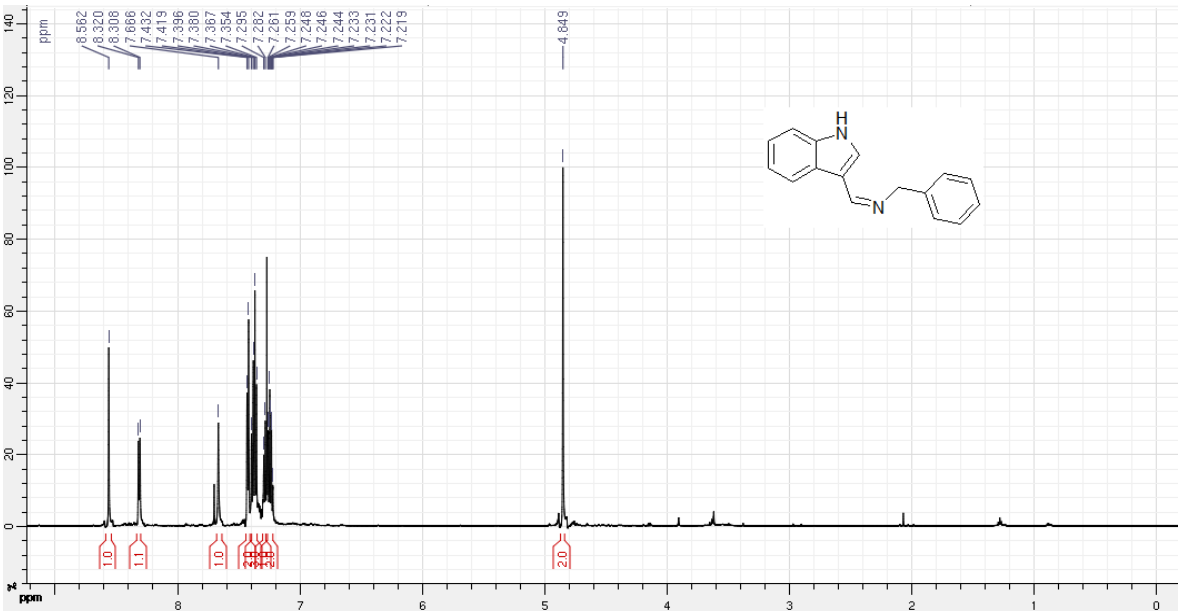


Espectro de RMN ^{13}C do composto LQM 387 ($CDCl_3$ 150 MHz)

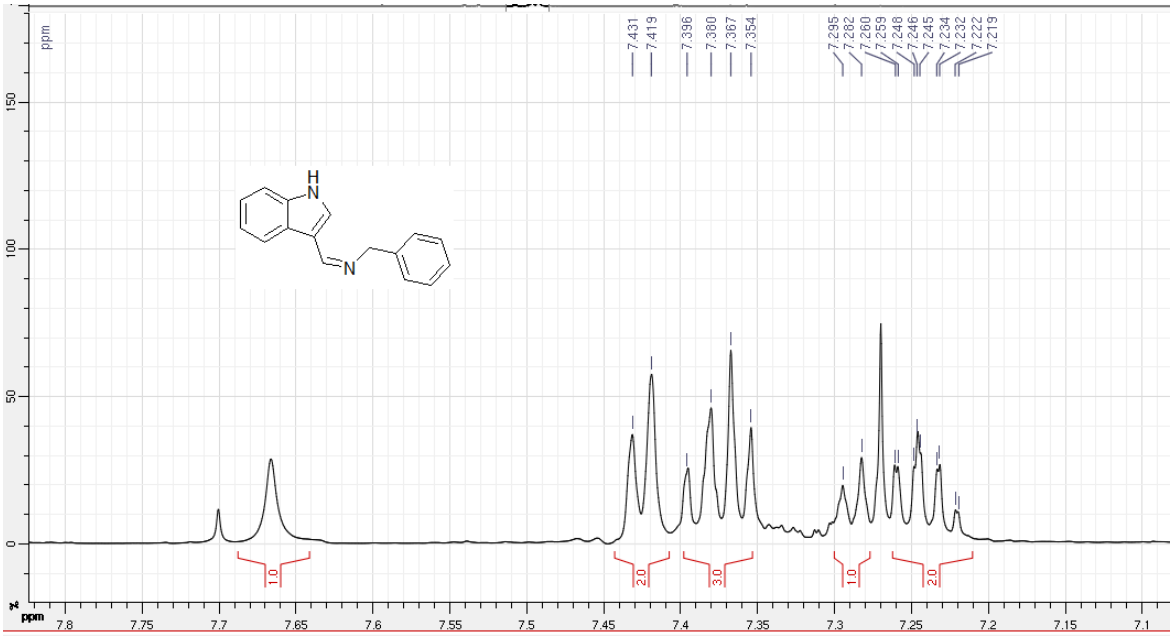


Apêndice D

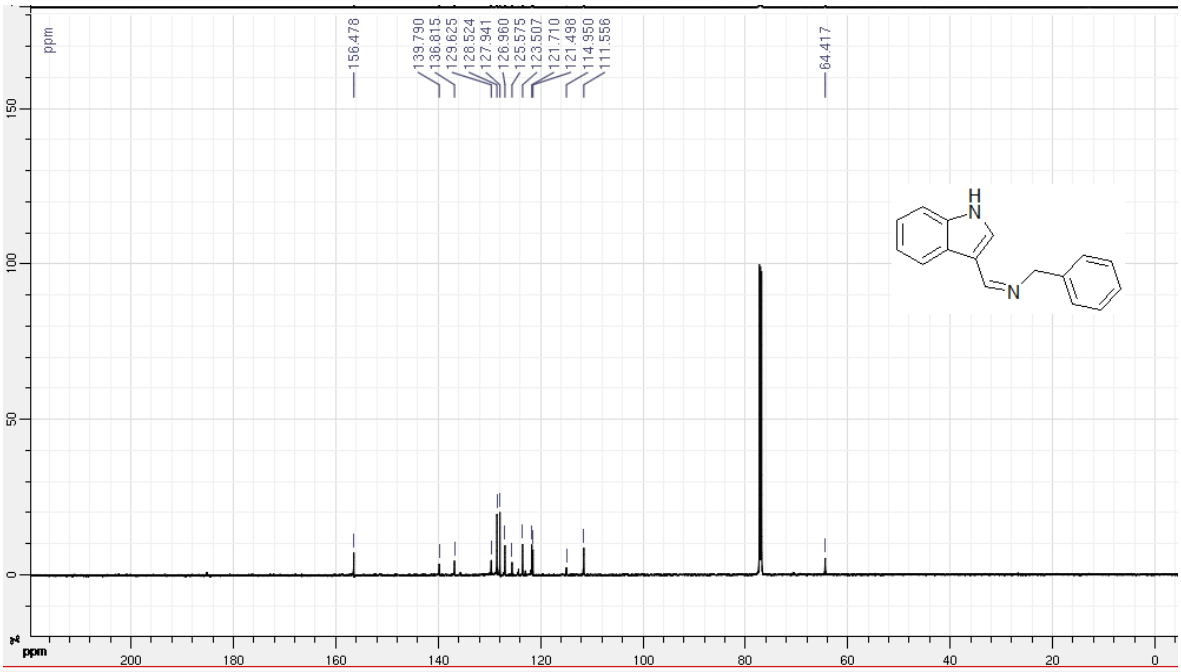
Espectro de RMN ^{1}H do composto LQM 388 ($CDCl_3$ 600 MHz)



Ampliação do Espectro de RMN ^{1}H do composto LQM 388 na região 7,1-7,8 ppm ($CDCl_3$ 600 MHz)

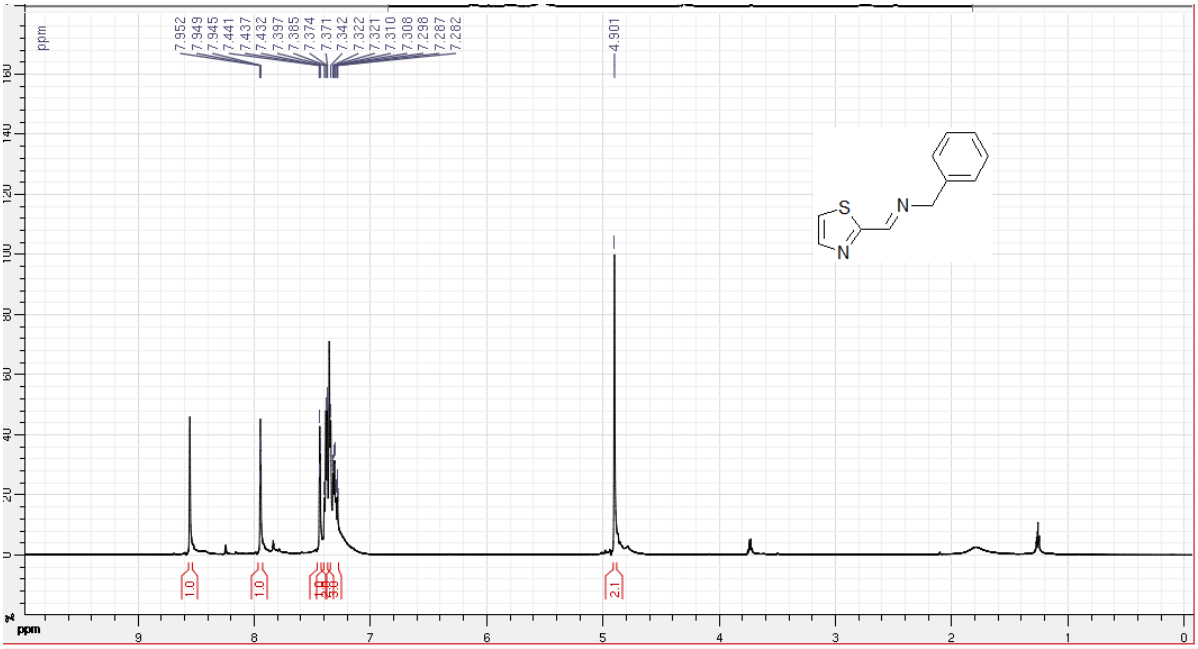


Espectro de RMN ^{13}C do composto LQM 388 ($CDCl_3$ 150 MHz)

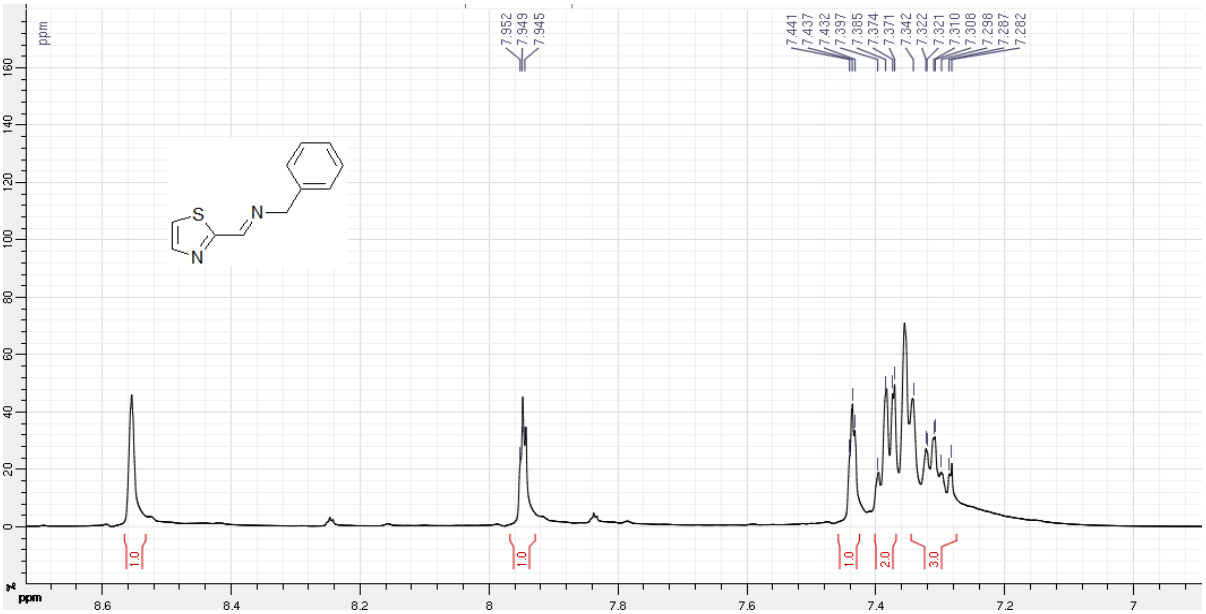


Apêndice E

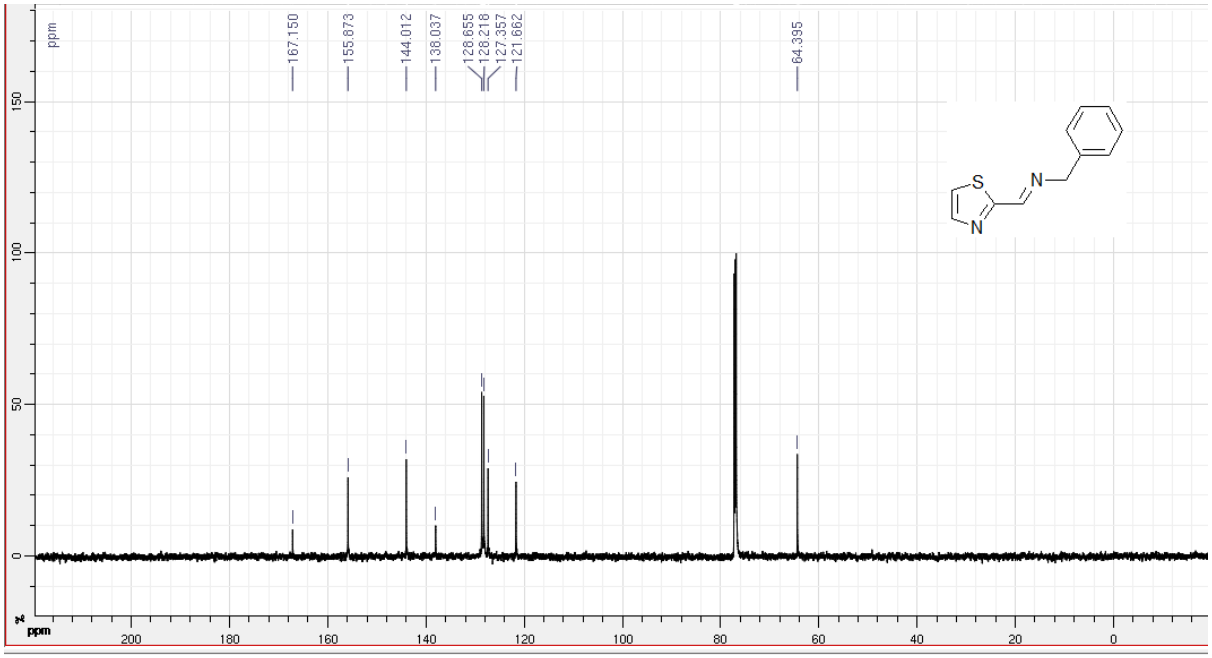
Espectro de RMN ^{1}H do composto LQM 389 ($CDCl_3$ 600 MHz)



Ampliação do Espectro de RMN ^{1}H do composto LQM 389 na região 7,0-8,6 ppm ($CDCl_3$ 600 MHz)

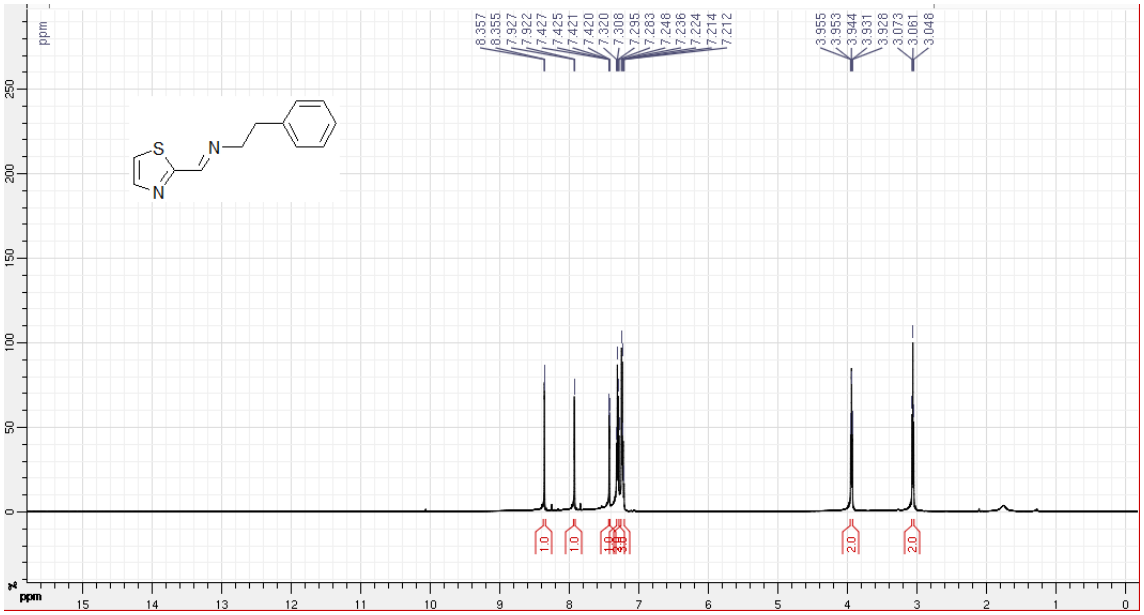


Espectro de RMN ^{13}C do composto LQM 389 ($CDCl_3$ 150 MHz)

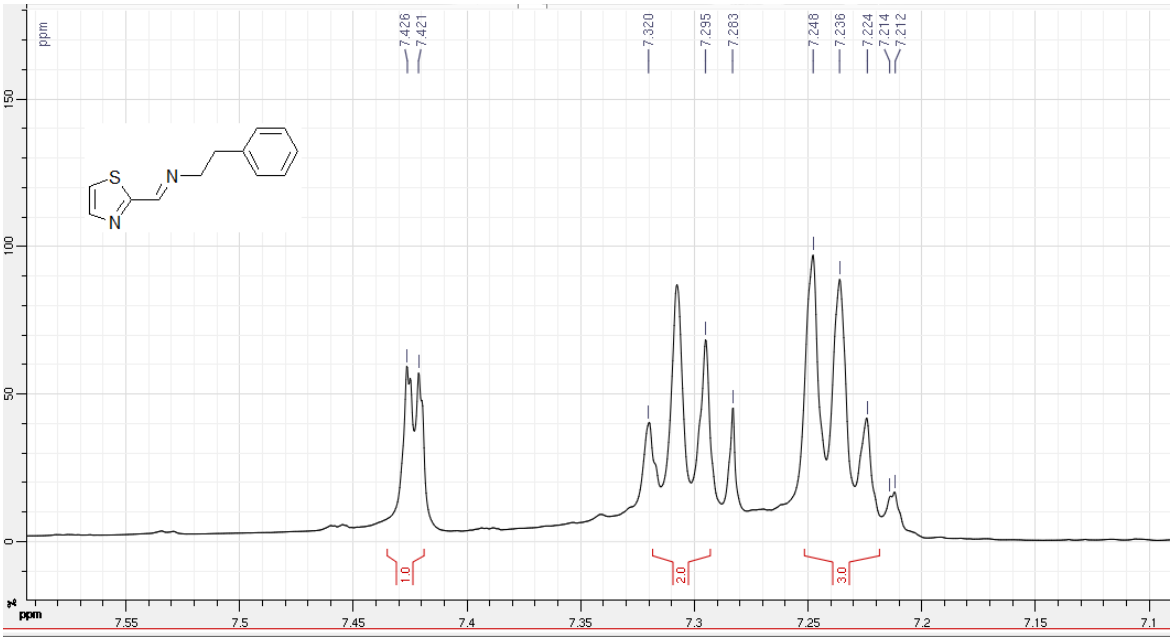
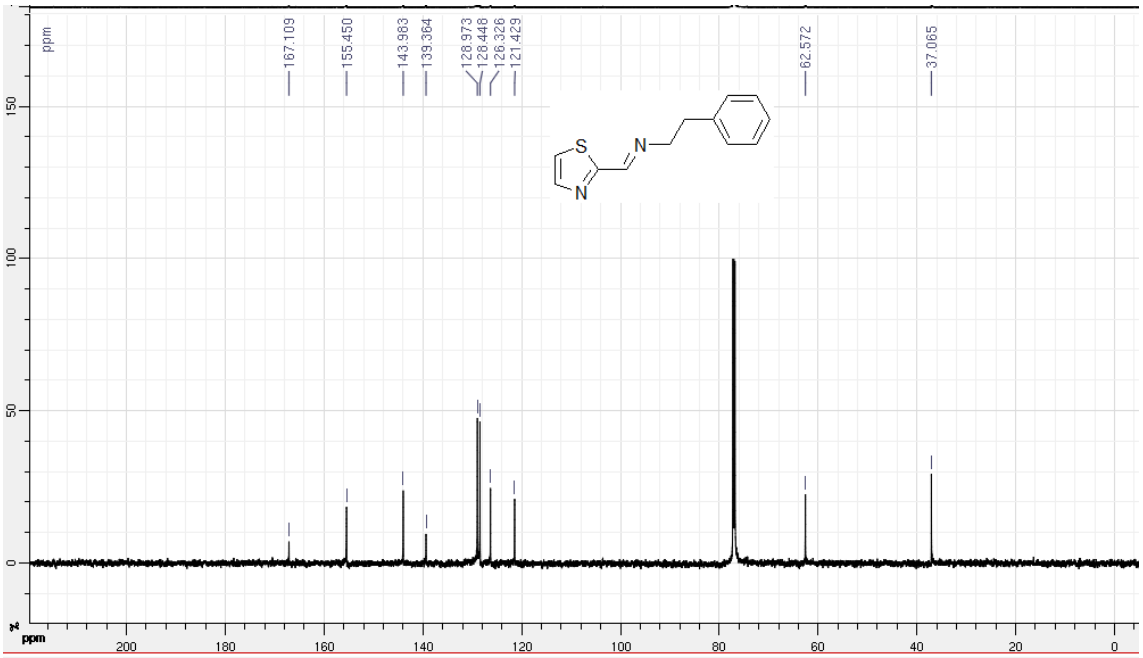


Apêndice F

Espectro de RMN ^{1}H do composto LQM 390 ($CDCl_3$ 600 MHz)



Ampliação do Espectro de RMN ^{1}H do composto LQM 390 na região 7,1-7,55 ppm ($CDCl_3$ 600 MHz)



Espectro de RMN ^{13}C do composto LQM 390 ($CDCl_3$ 150 MHz)