



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**SÍNTESE DE β -FENILTIOSSEMICARBAZONAS DERIVADAS DE ISATINA E
ESTUDO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

EVERTON DA PAZ SILVA

João Pessoa – PB, Brasil

Março, 2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

SÍNTESE DE β -FENILTIOSSEMICARBAZONAS DERIVADAS DE ISATINA E ESTUDO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Everton da Paz Silva*

Dissertação de Mestrado apresentada
como um dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Química (área de
concentração: Química Orgânica) pela
Universidade Federal da Paraíba.

Orientador: Claudio Gabriel Lima Junior

*Bolsista (CAPES)

João Pessoa – PB, Brasil

Março, 2020

S586s Silva, Everton da Paz.

Síntese de B-feniltiossemicarbazonas derivadas de
isatina e estudo in vitro da atividade antibacteriana /
Everton da Paz Silva. - João Pessoa, 2020.
109 f. : il.

Orientação: Claudio Gabriel Lima Junior.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Química. 2. Tiossemicarbazonas. 3.
B-feniltiossemicarbazonas. 4. atividade antibacteriana.
5. Derivados de isatina. 6. síntese em micro-ondas. I.
Lima Junior, Claudio Gabriel. II. Título.

UFPB/BC

Síntese de β -feniltiossemicarbazonas derivadas de isatina e estudo in-vitro da atividade antibacteriana.

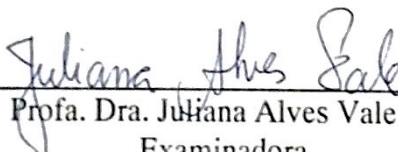
Dissertação de Mestrado apresentada pelo aluno Everton da Paz Silva e aprovada pela banca examinadora em 09 de março de 2020.



Prof. Dr. Claudio Gabriel Lima Junior
Orientador/Presidente



Profa. Dra. Gabriela Fehn Fiss
Examinadora



Profa. Dra. Juliana Alves Vale
Examinadora

Dedico este trabalho a minha mãe Eliane e
a minha irmã Edilene por todo amor,
compreensão e apoio.

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Eliane, minha primeira professora, pelo seu amor, carinho e incentivo a nunca desacreditar de mim, nem desistir diante das adversidades, e por me ensinar que o mais importante na vida é a alegria e a satisfação de estar em paz consigo.

A minha irmã Edilene por todo respeito, carinho e apoio durante toda essa jornada.

Ao meu orientador Claudio Gabriel Lima Junior por toda disponibilidade e paciência na condução deste trabalho e por todos os ensinamentos passados desde os tempos de IC, além do incentivo a seguir no curso de química e a integrar o LASOM (foi um grande diferencial).

Ao professor Mário Vaconcellos por me acolher no LASOM e pelos vários ensinamentos passados, químicos e de vida, desde que entrei no grupo de pesquisa.

Aos amigos de laboratório: Alef, Anderson, Daniel, Jayne, João Paulo, Julyanna, Maísa, Pedro, Rhuan, Sandro e Tayná. Além dos ex-integrantes e amigos que tive a oportunidade de conhecer: Fábio, Ramon, Suervy, Wagner, Chico, Guilherme, Edílson, Sara, Thiago, Saulo, Rodrigo (o irmão) e Renan.

A professora Edeltrudes de Oliveira Lima e a sua equipe, pela parceria e colaboração no estudo da avaliação da atividade antibacteriana.

A todos os professores que tive a honra de ter durante a graduação e pós-graduação, cujo os ensinamentos contribuíram para construção do meu pensamento científico.

Aos amigos que ganhei nessa caminhada: Isabel, Yasmin, Daiane, Ana Paula, Claudionor, Maria, Elizonda e Erinaldo.

A UFPB e a CAPES pela bolsa concedida.

“A maior recompensa para o trabalho do homem não é o que ele ganha com isso, mas o que ele se torna com isso”.

(John Ruskin)

RESUMO

O núcleo indol, contido na isatina, está presente em várias moléculas bioativas e isso faz da isatina um excelente bloco sintético para o desenvolvimento de novos compostos potencialmente ativos. Derivados de isatina são comumente reportados na literatura com diferentes atividades biológicas e as tiossemicarbazonas se destacam pela simplicidade sintética e o alto potencial biológico. Desta forma, este trabalho teve como objetivo a síntese de uma série análoga de quinze β -feniltiossemicarbazonas derivadas de isatina via irradiação de micro-ondas e a investigação da atividade antibacteriana. Entre estes compostos, oito são inéditos. Experimentos preliminares foram realizados variando-se parâmetros de catálise, temperatura e tempo reacional, com a finalidade de definir um método geral de síntese para obtenção dos compostos. Derivados de isatina foram previamente preparados e utilizados como intermediários na síntese das tiossemicarbazonas. A série de β -tiofenilsemicarbazonas foi obtida por meio de reações assistidas por radiação de micro-ondas, com duração de 10 min na presença ácido acético como catalizador. Os rendimentos obtidos variaram de 50-94% e foram comparados com os apresentados na literatura. Todos os compostos foram caracterizados por espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C . O método desenvolvido para síntese desses compostos em reator de micro-ondas se mostrou útil e eficiente para obtenção dos produtos em um curto tempo de reação. O estudo *in silico* foi realizado e indicou que os compostos estão em conformidade com a regra de Lipinski e ADME, apresentando uma satisfatória biodisponibilidade oral. Os compostos foram avaliados quanto à atividade antibacteriana para as cepas de *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*. A tiossemicarbazona derivada da 5-cloro-1-metil-isatina (**64**) foi o único composto capaz de inibir o crescimento dos microrganismos com CIM de 562,5 $\mu\text{g/mL}$, indicando forte atividade inibitória.

Palavras-chave: tiossemicarbazonas; β -tiofenilsemicarbazonas; atividade antibacteriana; derivados de isatina; síntese em micro-ondas.

ABSTRACT

The indole nucleus, contained in isatin, is present in several bioactive molecules and this makes isatin an excellent synthetic block for the development of new potentially active compounds. Isatin derivatives are commonly reported in the literature with different biological activities and thiosemicarbazones stand out for their synthetic simplicity and high biological potential. Thus, this work aimed of analogous series synthesis of β -phenyl thiosemicarbazones derived from isatin by irradiation of microwave and investigation of antibacterial activity. Among these compounds, eight are unpublished. Preliminary experiments were carried out by varying the parameters of catalysis, temperature and reaction time in order to define a general method of synthesis to obtain the compounds. Isatin derivatives were prepared and used as intermediates in the synthesis of thiosemicarbazones. The series of β -thiophenylsemicarbazones was obtained in reactions assisted by microwave radiation, lasting 10 min in the presence of acetic acid as a catalyst. The yields obtained varied from 50-94% and were compared with those presented in the literature. All compounds were characterized by ^{13}C and ^1H NMR spectroscopy. The method developed for the synthesis of these compounds in microwave reactor proved to be a useful and efficient to obtain the products in a short reaction time. The *in silico* study was carried out and indicated that the compounds are in compliance with the rule of Lipinski and ADME, presenting a satisfactory oral bioavailability. The compounds were evaluated for antibacterial activity in the strains of *S. aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosa* and thiosemicarbazone derived from 5-chloro-1-methyl-isatin (**64**) was the only one capable of inhibiting the growth of microorganisms with MIC of 562.5 $\mu\text{g} / \text{mL}$, indicating strong inhibitory activity.

Keywords: thiosemicarbazones; β -phenylthiosemicarbazones; antibacterial activity; isatin derivatives; microwave synthesis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Patógenos prioritários estabelecidos pela OMS	21
Figura 2 - Patogênese microbiana.....	22
Figura 3 - Fármacos representantes de importantes classes de antibióticos.....	23
Figura 4 - Antibióticos recém introduzidos no mercado farmacêutico e em estudo clínico	24
Figura 5 - Antibióticos obtidos através de ferramentas genômicas	25
Figura 6 - Estrutura da isatina	26
Figura 7 - Versatilidade sintética da isatina	27
Figura 8 - Derivados de isatina farmacologicamente ativos	29
Figura 9 - Tiossemicarbazonas com atividade antibacteriana	30
Figura 10 – Estruturas proposta.....	38
Figura 11 - Deslocalização da carga positiva no complexo- σ	42
Figura 12 - Placa de CCD das reações com isatina e 4-feniltiossemicarbazida.....	50
Figura 13 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do composto 66	53
Figura 14 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do composto 67	54
Figura 15 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do composto 68	55
Figura 16 – Espectro de ^{13}C (DMSO, 126 MHz) do composto 66	56
Figura 17 – Espectro de ^{13}C (126 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do composto 67	57
Figura 18 – Espectro de ^{13}C (101 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do composto 68	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 3 - Rendimentos da reação de cloração via ATIC	43
Tabela 4 - Rendimentos obtidos nas reações de alquilação	46
Tabela 5 - Variação das condições de reação entre isatina e 4-feniltiosemicarbazida	48
Tabela 6 - Resultados das reações de formação dos compostos 49d , 49g e 56-68	51
Tabela 7 - Predições farmacocinéticas dos compostos 49d , 49g e 56-68	59
Tabela 8 - Predição das propriedades físico-químicas dos compostos 49d , 49g e 56-68 ...	62
Tabela 9 - Resultados da avaliação da CIM ($\mu\text{g/mL}$) em cepas bacterianas	64

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Síntese de 3-indolilação da isatina promovida por ultrassom	27
Esquema 2 - Síntese total de alcalóides Amaryllidaceae	28
Esquema 3 – Síntese de ácidos antranílicos.....	28
Esquema 4 – Síntese de espiro-(indol-(1,3,4-tiadiazol))	29
Esquema 5 – Métodos utilizados para obtenção de isatina- β -tiossemicarbazonas	32
Esquema 6 – Aplicações de isatina- β -tiossemicarbazonas em síntese.....	33
Esquema 7 – Etapas reacionais de obtenção dos compostos.....	37
Esquema 8 - Reação de nitração da isatina	41
Esquema 9 - Mecanismo de formação da 5-nitro-isatina 26b	42
Esquema 10 - Reação de cloração da isatina	43
Esquema 11 - Mecanismo de formação da 5-cloro-isatina e da 5, 7-dicloroisatina.....	44
Esquema 12 - Protocolo geral de reação de alquilação dos derivados de isatina 26-26d ...	45
Esquema 13 - Mecanismo de formação dos derivados alquilados 26e-n	47
Esquema 14 - Mecanismo de formação das β -feniltiossemicarbazonas 49d, 49g, 56-68 ...	52

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinocarbotoamida	94
Espectro 2: RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) do (Z)-2-(2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinocarbotoamida	94
Espectro 3: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(1-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoamida.....	95
Espectro 4: RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) do (Z)-2-(1-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoamida.....	95
Espectro 5: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(1-alil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoamida.....	96
Espectro 6: RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) do (Z)-2-(1-alil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoamida.....	96
Espectro 7: RMN ^1H (DMSO, 500 MHz) do (Z)-2-(5-bromo-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoamida	97
Espectro 8: RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) do (Z)-2-(5-bromo-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoamida	97
Espectro 9: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(5-bromo-1-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinocarbotoamida.....	98
Espectro 10: RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) do (Z)-2-(5-bromo-1-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinocarbotoamida.....	98
Espectro 11: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(1-alil-5-bromo-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoamida	99
Espectro 12: RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) do (Z)-2-(1-alil-5-bromo-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoamida.....	99
Espectro 13: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(5-nitro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoamida.....	100
Espectro 14: RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) do (Z)-2-(5-nitro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoamida	100

Espectro 15: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(1-metil-5-nitro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinocarbotioamida.....	101
Espectro 16: RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) do (Z)-2-(1-metil-5-nitro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinocarbotioamida.....	101
Espectro 17: RMN ^1H (DMSO, 500 MHz) do (Z)-2-(1-alil-5-nitro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotioamida	102
Espectro 18: RMN ^{13}C (DMSO, 126 MHz) do (Z)-2-(1-alil-5-nitro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotioamida	102
Espectro 19: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(5-cloro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotioamida.....	103
Espectro 20: RMN ^{13}C (DMSO, 101 MHz) do (Z)-2-(5-cloro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotioamida	103
Espectro 21: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(5-cloro-1-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinocarbotioamida.....	104
Espectro 22: RMN ^{13}C (DMSO, 101 MHz) do (Z)-2-(5-cloro-1-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinocarbotioamida.....	104
Espectro 23: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(1-alil-5-cloro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotioamida	105
Espectro 24: RMN ^{13}C (DMSO, 101 MHz) do (Z)-2-(1-alil-5-cloro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotioamida	105
Espectro 25: RMN ^1H (DMSO, 500 MHz) do (Z)-2-(5,7-dicloro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotioamida	106
Espectro 26: RMN ^{13}C (DMSO, 126 MHz) do (Z)-2-(5,7-dicloro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotioamida	106
Espectro 27: RMN ^1H (DMSO, 500 MHz) do (Z)-2-(5,7-dicloro-1-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotioamida.....	107
Espectro 28: RMN ^{13}C (DMSO, 126 MHz) do (Z)-2-(5,7-dicloro-1-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotioamida.....	107
Espectro 29: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(1-alil-5,7-dicloro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotioamida.....	108
Espectro 30: RMN ^{13}C (DMSO, 101 MHz) do (Z)-2-(1-alil-5,7-dicloro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotioamida.....	108

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ADMETox – absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade

ATIC – ácido tricloro-isocianúrico

CCD – cromatografia de camada delgada

CIM – concentração inibitória mínima

CYP – citocromo P450

DCM – diclorometano

DMF – dimetilformamida

FDA – *Food and Drug Administration*

IACG – *UN Interagency Coordination Group* (Grupo de Coordenação Interagências sobre Resistência Antimicrobiana)

MDCK – *Madin-Darby canine kidney*

OMS – Organização Mundial da Saúde

P&D – Pesquisa e desenvolvimento

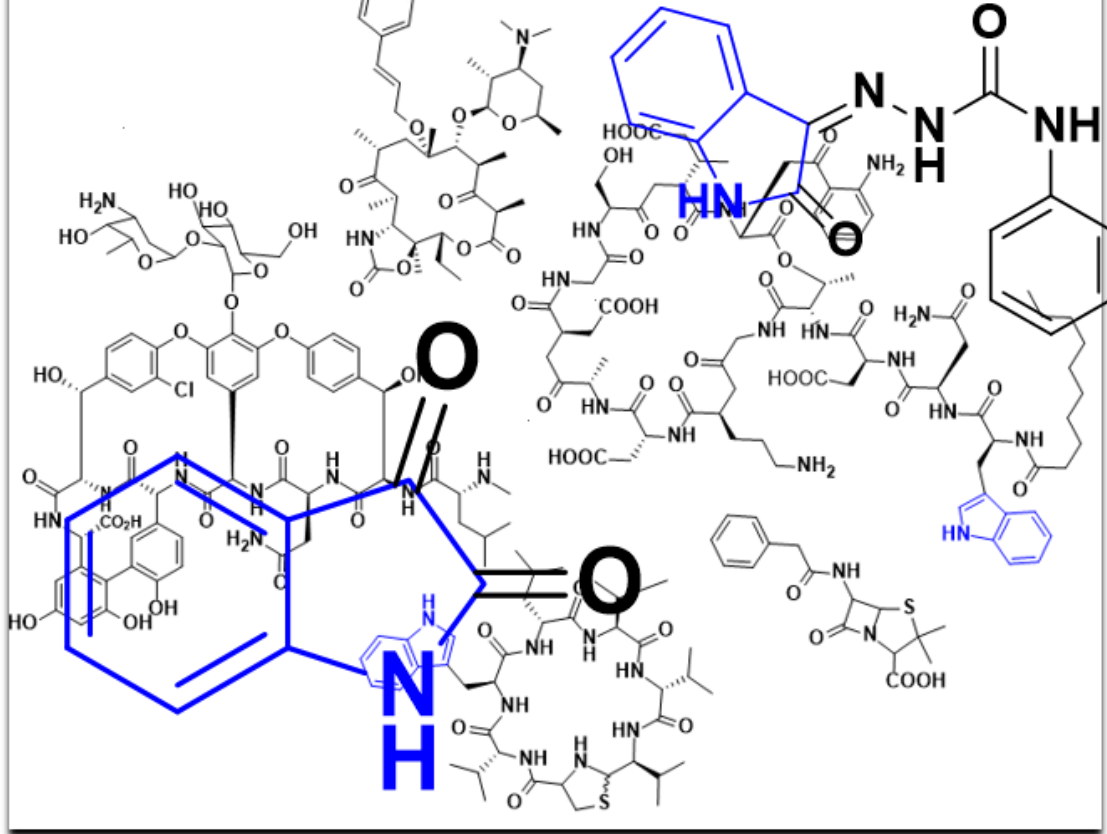
SAR – *Structure-Activity Relationship*

THF – tetraidrofurano

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	21
2.1	Infecções bacterianas	22
2.2	Quimioterapia: agentes antimicrobianos e antibióticos.....	23
2.3	Isatina: versatilidade sintética e atividade biológica	26
2.3.1	Tiossemicarbazonas derivadas da isatina	30
2.3.1.1	<i>Síntese de isatina-β-tiossemicarbazonas e aplicações</i>	<i>31</i>
3	OBJETIVOS.....	35
3.1	Objetivo geral.....	35
3.2	Objetivos específicos	35
4	ESTRATÉGIA.....	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1	Preparação dos intermediários derivados de isatina 26b-n	41
5.2	Síntese das β-feniltiossemicarbazonas derivadas da isatina 49d, 49g e 56-68.....	48
5.3	Caracterização das β-feniltiossemicarbazonas	53
5.4	Estudo <i>in silico</i> das β-feniltiossemicarbazonas 49d, 49g e 56-68	58
5.5	Avaliação da atividade antibacteriana das β-feniltiossemicarbazonas 49d, 49g e 56-68.....	63
6	CONCLUSÃO	67
7	PARTE EXPERIMENTAL.....	69
7.1	Materiais e métodos.....	69
7.2	Procedimento para nitração da isatina.....	70
7.3	Procedimentos para cloração da isatina.....	70
7.3.1	Procedimento para monocloração da isatina.....	71

7.3.2 Procedimento para dicloração da isatina	71
7.4 Procedimento para síntese dos derivados de isatina metilados	71
7.5 Procedimento para síntese dos derivados de isatina alilados	72
7.6 Procedimento geral para síntese das β-feniltiossemicarbazonas	72
7.7 Deslocamentos químicos dos Compostos	73
REFERÊNCIAS.....	83
ESPECTROS	94



Capítulo 1: Introdução

1 INTRODUÇÃO

A isatina tem ganhado bastante destaque em trabalhos de síntese devido à sua versatilidade sintética. Diferentes modificações em sua estrutura vêm sendo apresentadas no decorrer dos últimos anos, gerando novos compostos derivados que apresentam um amplo perfil farmacológico. A isatina caracteriza-se pela presença do núcleo indol em sua estrutura. Este núcleo integra diversas estruturas bioativas de origem natural, configurando uma subunidade importante no desenvolvimento de novas drogas potencialmente ativas (NEWMAN, 2008; PAKRAVAN et. al., 2013).

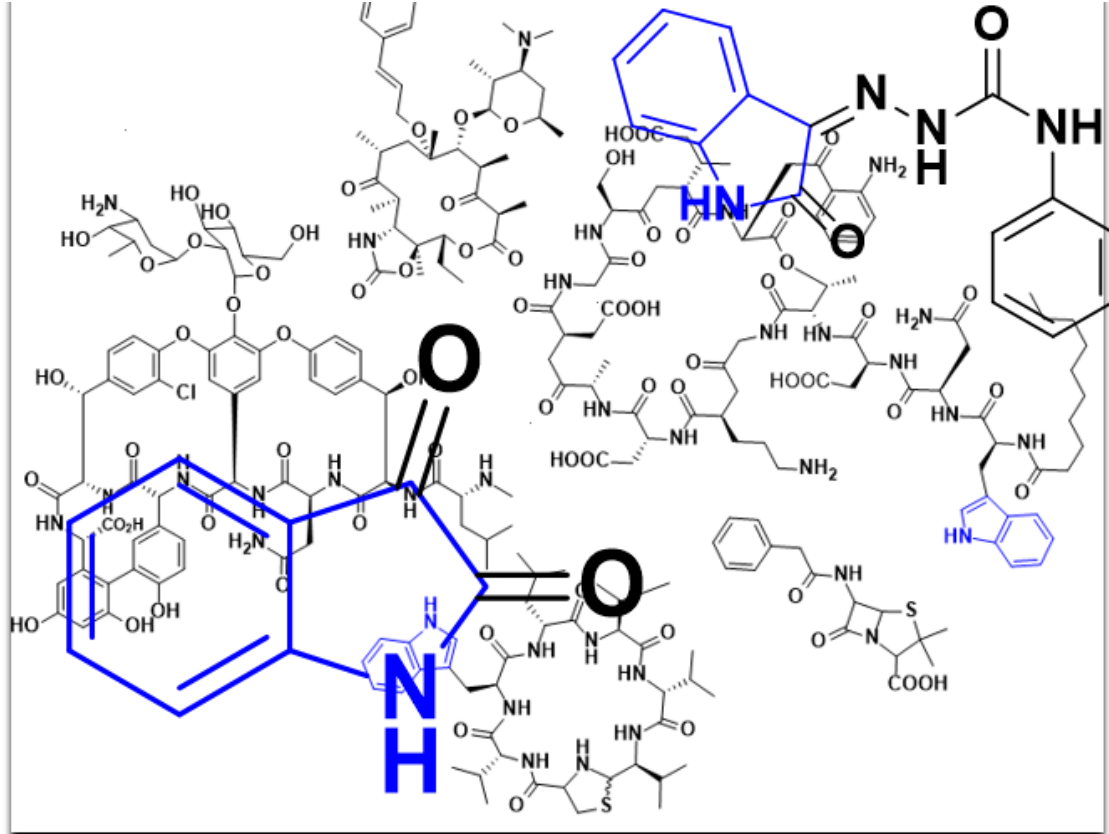
Os derivados de isatina são apresentados na literatura com diferentes atividades farmacológicas, tais como anticâncer, leishmanicida, anticonvulsivante, antifúngica, antiviral e antibacteriana (PANDEYA et. al., 2005; BHRIGU et. al., 2010; PAKRAVAN et. al., 2013). Dentre os compostos derivados de isatina, destacam-se as tiossemicarbazonas por ampliarem ainda mais a versatilidade sintética e farmacológica da isatina, uma vez que estes compostos são frequentemente utilizados na síntese de novas estruturas potencialmente ativas (GUO, 2019).

Conhecidas pelas diversas aplicações farmacológicas, as tiossemicarbazonas configuram uma importante classe de compostos bastante estudada dentro da química medicinal. Esses compostos podem atuar como inibidores de enzimas através de complexação de metais endógenos ou ainda em reações do tipo redox, além de atuarem como intercaladores de DNA (BERALDO, 2004).

A síntese de isatina- β -tiossemicarbazonas é comumente apresentada em sistema de refluxo, com tempos reacionais que variam de 1-5 horas, ou ainda no modo *overnight*. O fato desta classe de compostos ser utilizada como intermediária na síntese de outros compostos faz necessária a busca por uma síntese mais eficiente e com tempos reacionais mais curtos. Alguns estudos vêm apresentando métodos alternativos para a síntese de isatina- β -tiossemicarbazonas, com aplicação de diferentes tipos de catalisadores, buscando uma diminuição no período de tempo destas reações (PAKRAVAN et. al., 2013).

A radiação de micro-ondas também é apresentada como alternativa sintética ao sistema de refluxo, e vêm mostrando avanços significativos na otimização dessas reações, em tempos que variam de 5-10 min (DEVI et. al., 2017). A utilização do reator de micro-ondas apresenta vantagens frente ao aquecimento convencional por apresentar taxas de aquecimento superiores e com transferência de calor direto para os reagentes, tornando a síntese mais segura e reprodutível (SANSEVERINO, 2002).

Diante disso, este trabalho busca a investigação da síntese de uma série análoga de isatina- β -tiossemicarbazonas em reator de micro-ondas e a avaliação *in vitro* da atividade inibitória dos compostos em cepas bacterianas de *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*.



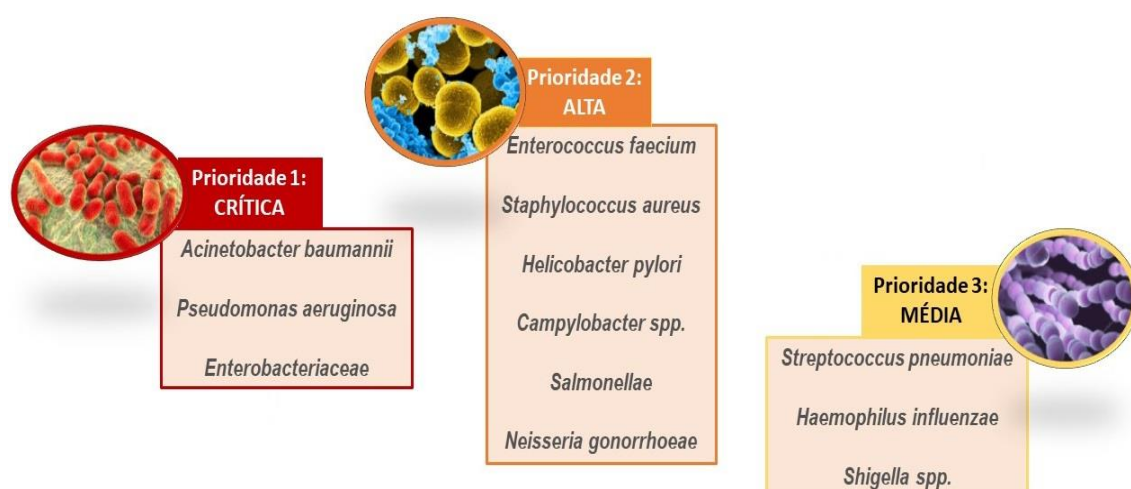
Capítulo 2: Fundamentação Teórica

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

As doenças infecciosas são uma das maiores causas de mortalidade no mundo e o aumento da resistência microbiana, principalmente a nível hospitalar, tem fomentado a busca por novos agentes antimicrobianos. Esta necessidade é refletida no recorrente apelo feito pela Organização Mundial da Saúde (OMS), nos últimos anos, para que seja feita uma busca intensiva por novos antimicrobianos, assim como uma conscientização do uso indiscriminado e irresponsável de antibióticos.

Uma lista com doze famílias de bactérias, distribuídas entre três níveis de prioridade, foi divulgada pela OMS. Os patógenos listados (Figura 1) vêm apresentando resistência às principais classes de antibióticos em uso clínico e, por isso, devem ser vistos como prioridades de nível global na pesquisa e desenvolvimento (P&D) de novos antibióticos. As micobactérias, especialmente a *Mycobacterium tuberculosis* que é percussora da tuberculose, e responsável por milhares de mortes anuais, também são patógenos muito importantes e que não foram incluídos na lista, pois configuram uma prioridade estabelecida pela OMS e que possuem programas e campanhas à parte para fortalecer o combate a estes microrganismos. Entre as *Enterobacteriaceae* incluídas na lista, estão *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Proteus spp.*, *Providencia spp.* e *Morganella spp.* (OMS, 2017).

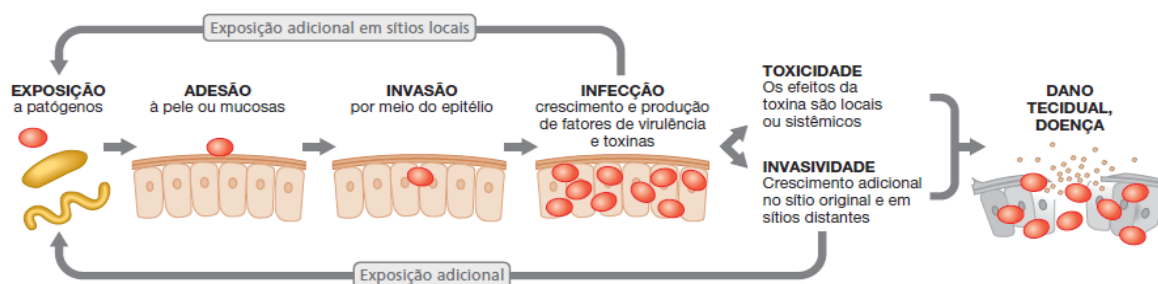
Figura 1 - Patógenos prioritários estabelecidos pela OMS



2.1 Infecções bacterianas

A infecção é caracterizada pelo crescimento desordenado de microrganismo que normalmente não estão presentes dentro do hospedeiro, independente se o mesmo encontra-se prejudicado. A infecção não é sinônimo de doença, mas pode levar ao desenvolvimento da doença, que é o dano ou lesão tecidual que prejudica as funções do hospedeiro (Figura 2). Cada patógeno possui propriedades únicas que contribui para a sua patogenicidade (capacidade de um organismo causar doença). Vale ressaltar que até mesmo a microbiota normal pode causar infecção e doença, caso os mecanismos de defesa do hospedeiro estejam comprometidos, sendo assim caracterizados como patógenos oportunistas (MADIGAN, 2016).

Figura 2 - Patogênese microbiana



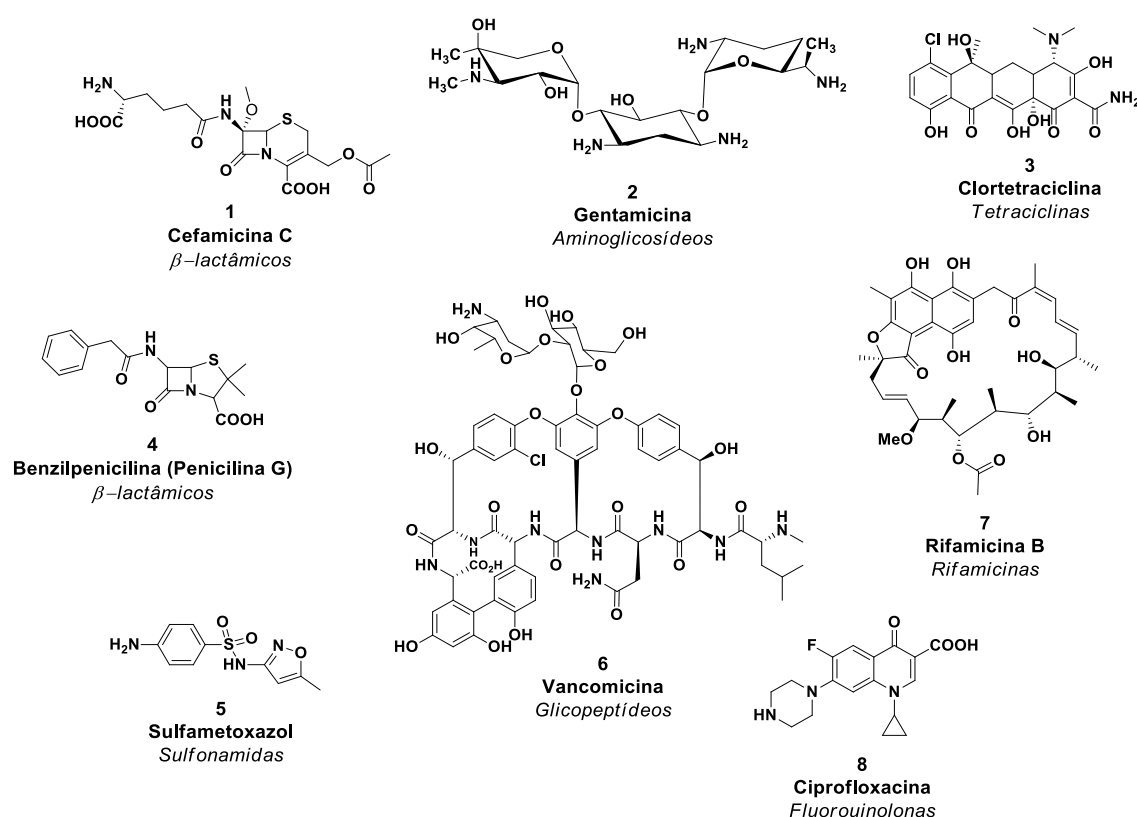
Fonte: MADIGAN et. al., 2016, pág 714.

As infecções associadas aos cuidados de saúde, também conhecidas como infecções nosocomiais ou hospitalares, configuram uma preocupação relacionada à resistência bacteriana, pois pacientes hospitalares e portadores de doenças não infecciosas (ex., câncer e doenças cardíacas) acabam adquirindo infecções microbianas mais rápido por se tratarem de hospedeiros comprometidos, cujos mecanismos de defesa estão inativos. Nesse contexto, microrganismos que compõem a microbiota normal podem insurgir na condição de patógeno oportunista, causando sérios problemas de saúde. O impacto do aumento descontrolado da resistência microbiana se deve à inutilização da maioria das drogas antibacterianas, comprometendo as vias de tratamento para essas infecções.

2.2 Quimioterapia: agentes antimicrobianos e antibióticos

Os quimioterápicos utilizados no combate às infecções bacterianas são divididos em dois grandes grupos: os fármacos antimicrobianos sintéticos e os antibióticos, que são agentes antimicrobianos de ocorrência natural. Os antibióticos ainda podem ser semissintéticos, quando passam por pequenas modificações em sua estrutura a fim de aumentar seus efeitos antimicrobianos. Considerando suas funcionalidades, os antibióticos classificam-se em: bacteriostáticos, quando inibem o crescimento; ou bactericidas, quando causam a morte de microrganismos (MOLINARO, 2009; GUIMARÃES et. al., 2010; MADIGAN, 2016). A Figura 3 mostra os principais antibióticos em uso clínico e suas classes pertencentes.

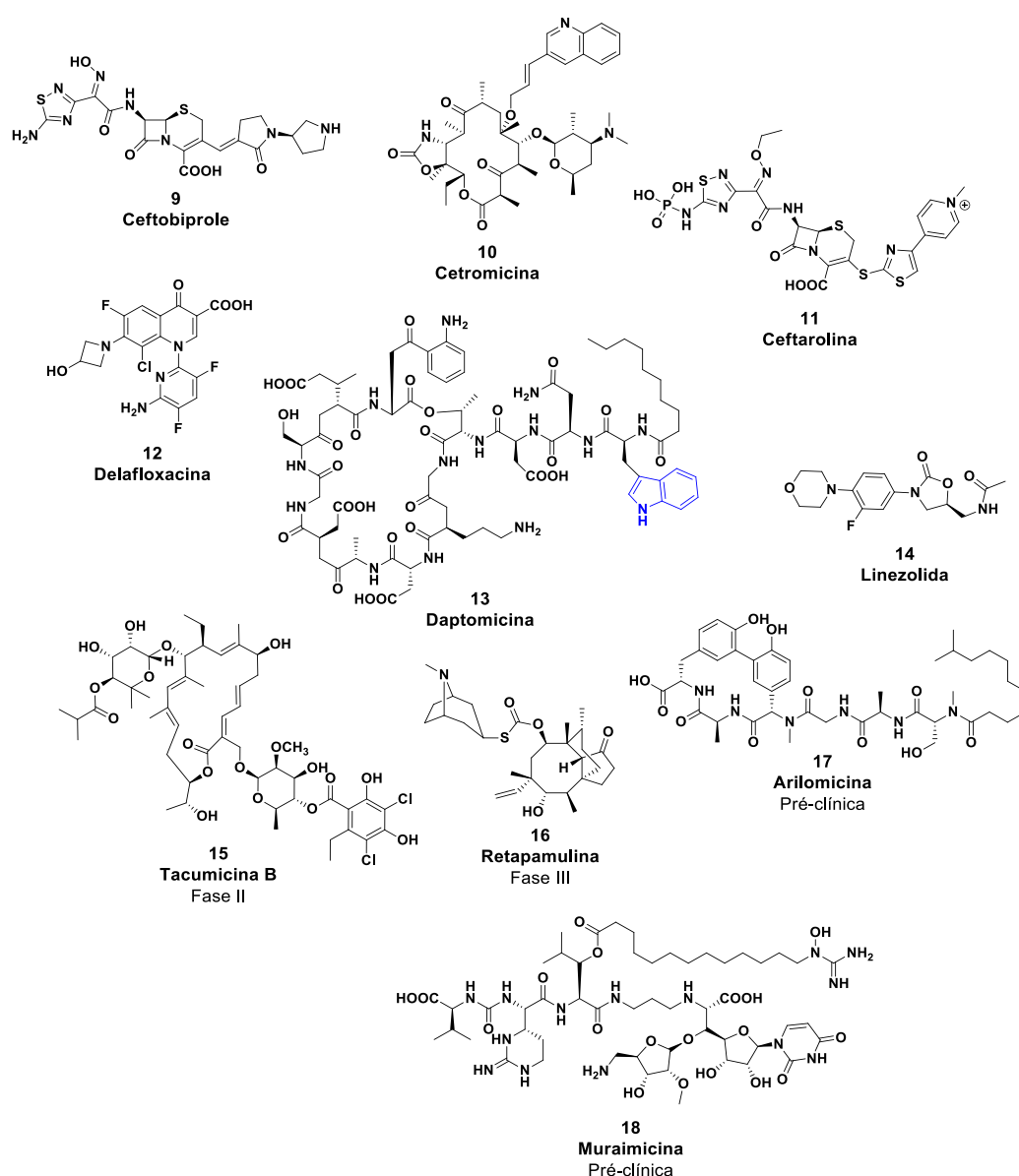
Figura 3 - Fármacos representantes de importantes classes de antibióticos



Além da resistência apresentada por patógenos, outra preocupação acerca dos antibióticos se dá ao baixo número de novos agentes antimicrobianos aprovados pelo

Food and Drug Administration (FDA), que tem sido cada vez menor no decorrer dos anos. Apesar da descoberta de novos antibióticos, muitos dos que se mostram promissores acabam se tornando ineficazes ao longo do processo. Antibióticos como o ceftobiprole (9), ceftarolina (11), daptomicina (13) e linezolida (14) tiveram aprovação para uso clínico em 2009, porém até os dias atuais poucos avanços foram observados. A Figura 4 mostra alguns dos agentes antimicrobianos introduzidos no mercado farmacêutico e aprovados para estudos clínicos nos últimos anos (GUIMARÃES et. al., 2010; SILVA & AQUINO, 2018; ROCHA et. al., 2019).

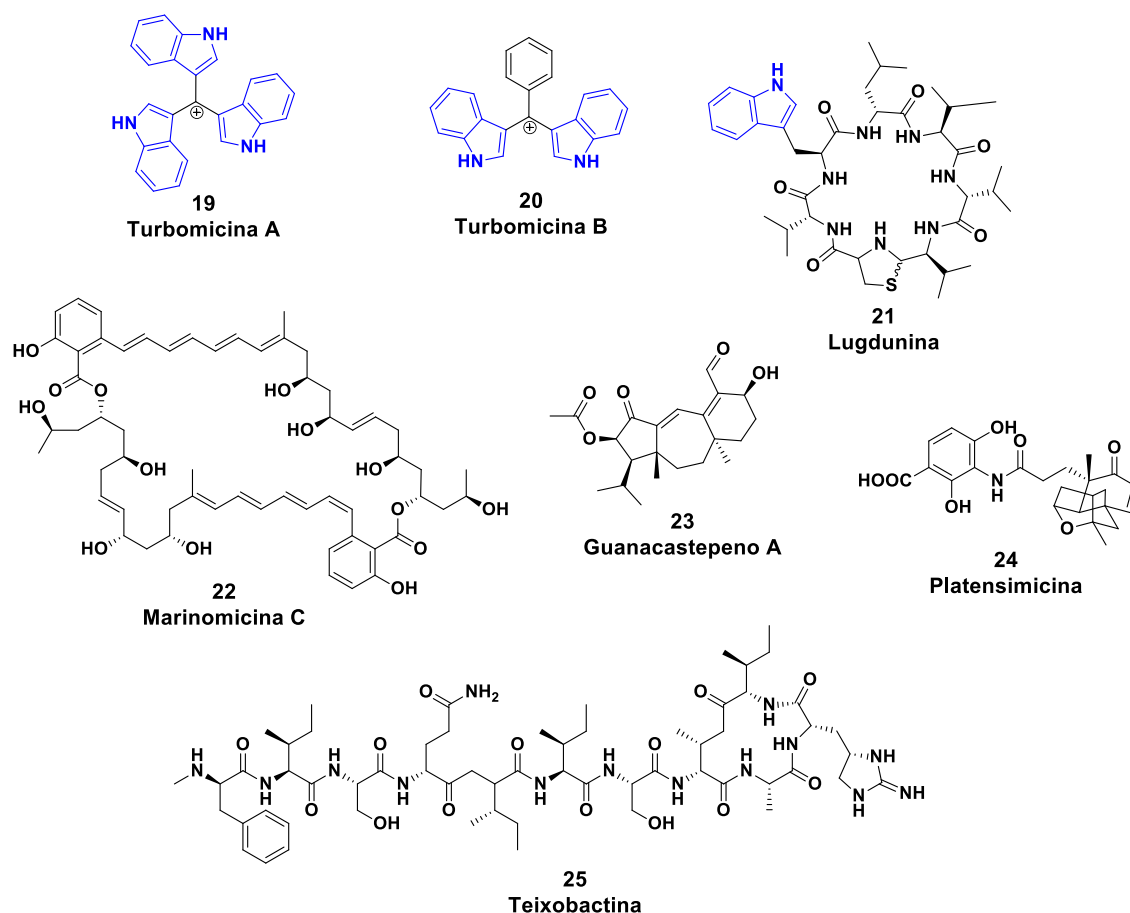
Figura 4 - Antibióticos recém introduzidos no mercado farmacêutico e em estudo clínico



Fonte: Adaptado de GUIMARÃES et. al., 2010.

A busca por novos antibióticos tem se refletido nas diferentes estratégias de pesquisas desenvolvidas acerca desta temática. O uso de técnicas de metagenoma, biossíntese combinatória e exploração genômica, tem lançado boas perspectivas de cultivo de vários microrganismos que antes não podiam ser cultivados, possibilitando a descoberta de novas substâncias com atividade antibiótica. Novas fontes de produtos naturais ainda pouco exploradas têm se tornado alvo de pesquisadores, pois os antibióticos advindos dessas fontes possuem estruturas químicas complexas e com grande importância devido às interações específicas com os patógenos. A Figura 5 mostra alguns antibióticos recém descobertos através dessas técnicas (SILVA & AQUINO, 2018; ROCHA et. al., 2019).

Figura 5 - Antibióticos obtidos através de ferramentas genômicas



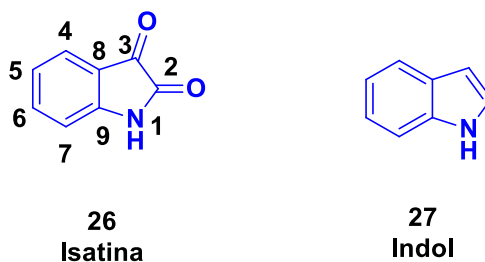
Fonte: Adaptado de GUIMARÃES et. al., 2010.

A busca por outras classes de compostos com atividade antibacteriana também tem sido o alvo de químicos sintéticos. Na literatura, uma classe de compostos derivados de isatina tem ganhado cada vez mais destaque devido à versatilidade sintética dessa estrutura frente ao alto potencial farmacológico apresentado pelos seus derivados (PAKRAVAN et. al., 2013; GUO, 2019).

2.3 Isatina: versatilidade sintética e atividade biológica

A isatina (**26**) é um composto heterociclo que tem como principal característica o núcleo indol (**27**) (Figura 6). Este núcleo é presente em várias moléculas bioativas, tais como a daptomicina (**13**), turbomicina A e B (**19** e **20**) e lugdunina (**21**). A isatina possui atividade ansiogênica, sedativa, anticonvulsivante, inibidora da enzima fosfatase alcalina e antidepressiva, sendo o efeito inibidor da enzima mono amina-oxidase a ação *in vitro* mais potente já registrada para esta estrutura (PANDEYA et. al., 2005; BHRIGU et. al., 2010; PAKRAVAN et. al., 2013).

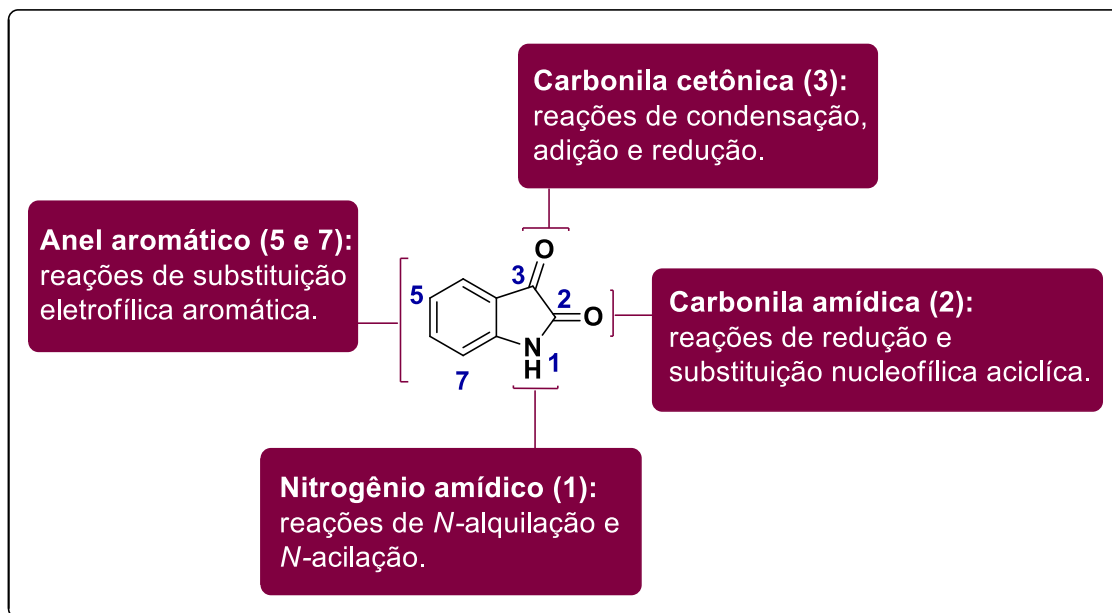
Figura 6 - Estrutura da isatina



Comumente, a isatina é utilizada em trabalhos de síntese como bloco sintético para o desenvolvimento de novos compostos que apresentam as mais variadas atividades farmacológicas, tais como antimicrobiana, anticâncer, antiviral, anticonvulsivante, anti-inflamatória e analgésica (PANDEYA et. al., 2005; BHRIGU et. al., 2010; PAKRAVAN et. al., 2013; GUO, 2019). O uso da isatina como precursora de novas moléculas potencialmente ativas passa pela sua versatilidade sintética, como mostra a

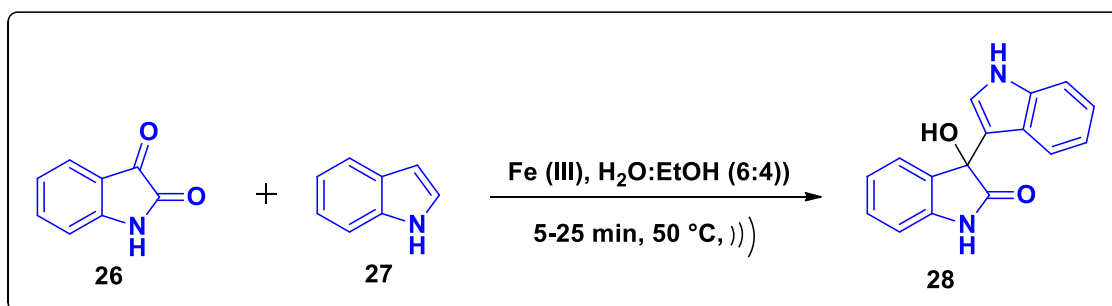
Figura 7, permitindo diferentes modificações em sua estrutura e ampliando o escopo de estruturas derivadas.

Figura 7 - Versatilidade sintética da isatina



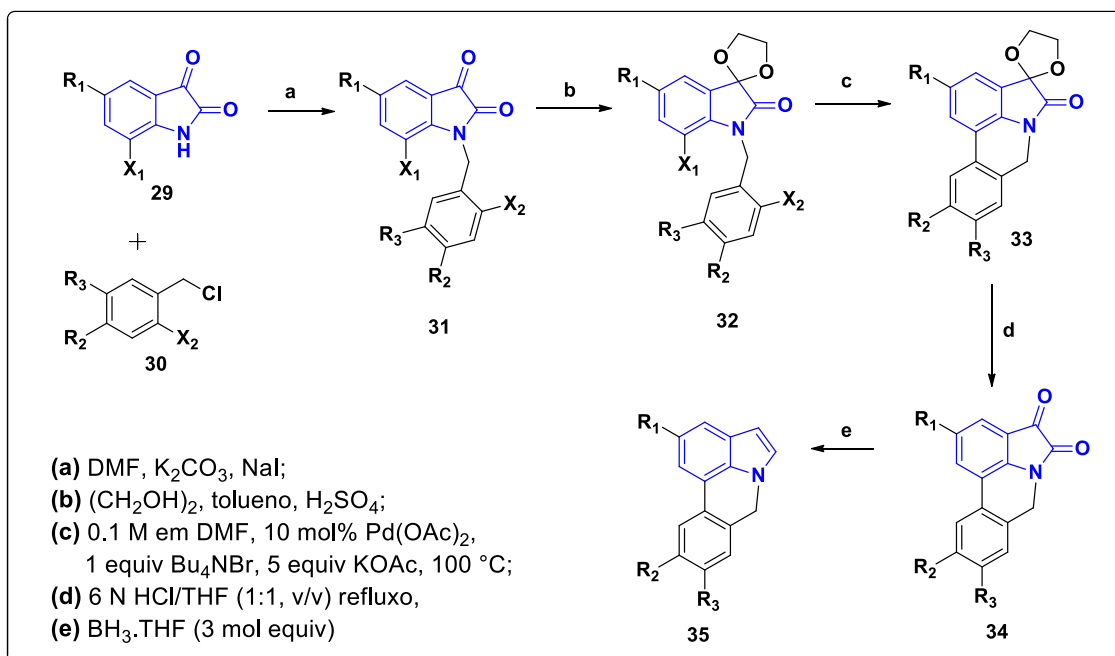
A versatilidade da isatina vai além das reações de substituição eletrofílica aromática, adição e redução de carbonila e *N*-alquilações ou acilações. A utilização dos seus derivados como intermediários de novos compostos aumenta as possibilidades sintéticas a partir da isatina. Isso pode ser visto na reação de 3-indolilação (Esquema 1) catalisada por Fe (III) através de radiação de ultrassom, apresentada por Khorshidi e Tabatabaeian (2011).

Esquema 1 – Síntese de 3-indolilação da isatina promovida por ultrassom



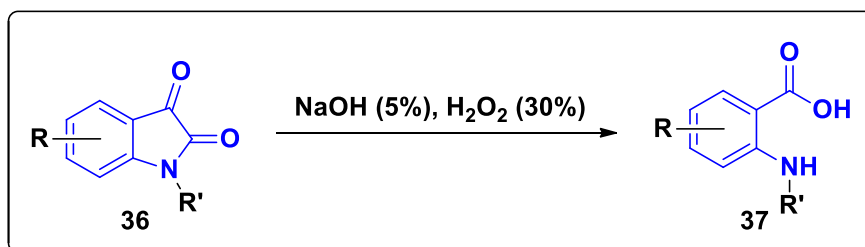
As reações de ciclização catalisadas por paládio (**33**), seguida da conversão em alcaloides (**34** e **35**), apresentadas por Torres e colaboradores (2004) são um exemplo das várias possibilidades de manipulação da estrutura da isatina (Esquema 1).

Esquema 2 - Síntese total de alcalóides Amaryllidaceae



A abertura do anel da isatina para gerar ácidos antranílicos (**37**), relatada por Rio e colaboradores (2015), é um outro exemplo de transformação sintética da isatina que conduz a compostos bioativos (Esquema 3).

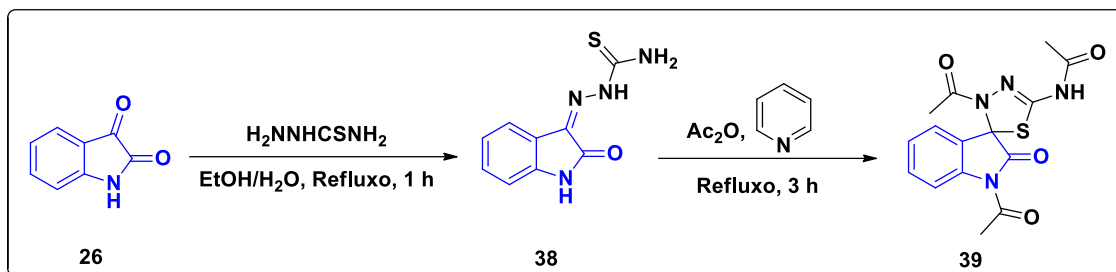
Esquema 3 – Síntese de ácidos antranílicos



A ciclização de tiossemicarbazonas derivadas da isatina para formar compostos do tipo espiro é uma outra estratégia sintética que conduz a estruturas com um alto potencial de atividade farmacológica. Como relata Olomola e colaboradores (2010), a

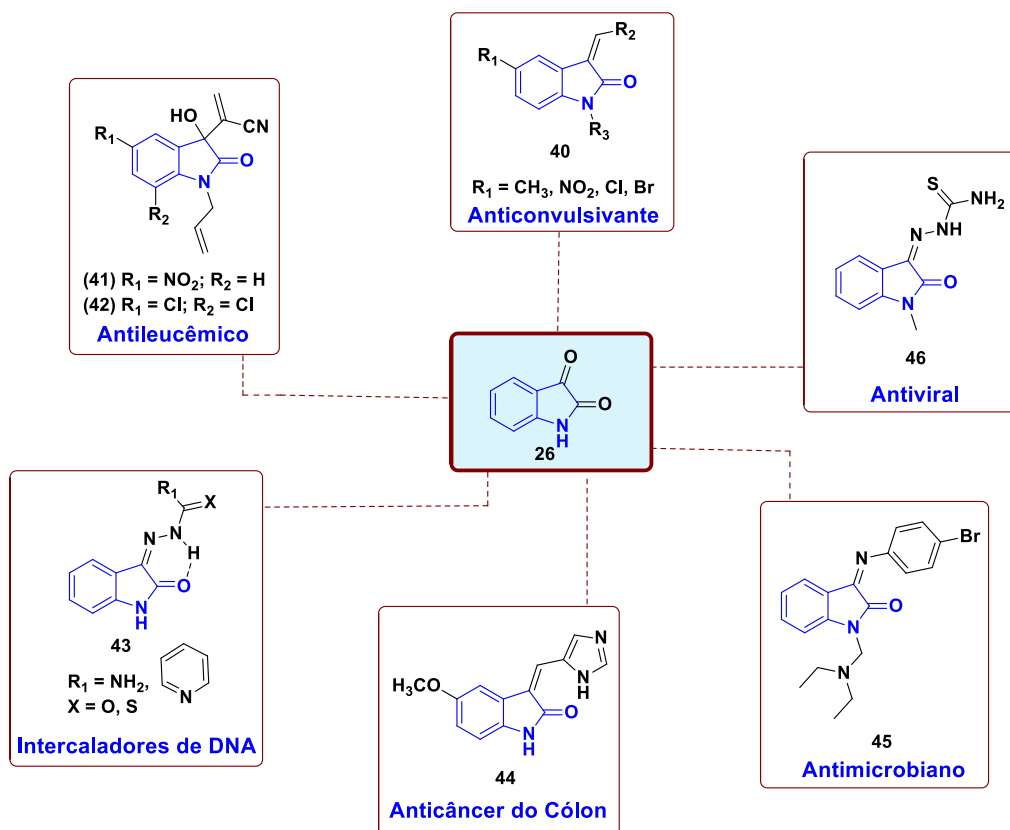
tiossemicarbazona (**38**) e o espiro-(indol-(1,3,4-tiadiazol)) (**39**) mostraram-se ativos contra cepas bacterianas (Esquema 4).

Esquema 4 – Síntese de espiro-(indol-(1,3,4-tiadiazol))



Os derivados de isatina são reportados na literatura com as mais variadas atividades farmacológicas (Figura 8), tais como anticonvulsivante, anticâncer, intercaladores de DNA, antifúngica, antibacteriana e antiviral, entre outras (PAKRAVAN et. al., 2013).

Figura 8 - Derivados de isatina farmacologicamente ativos

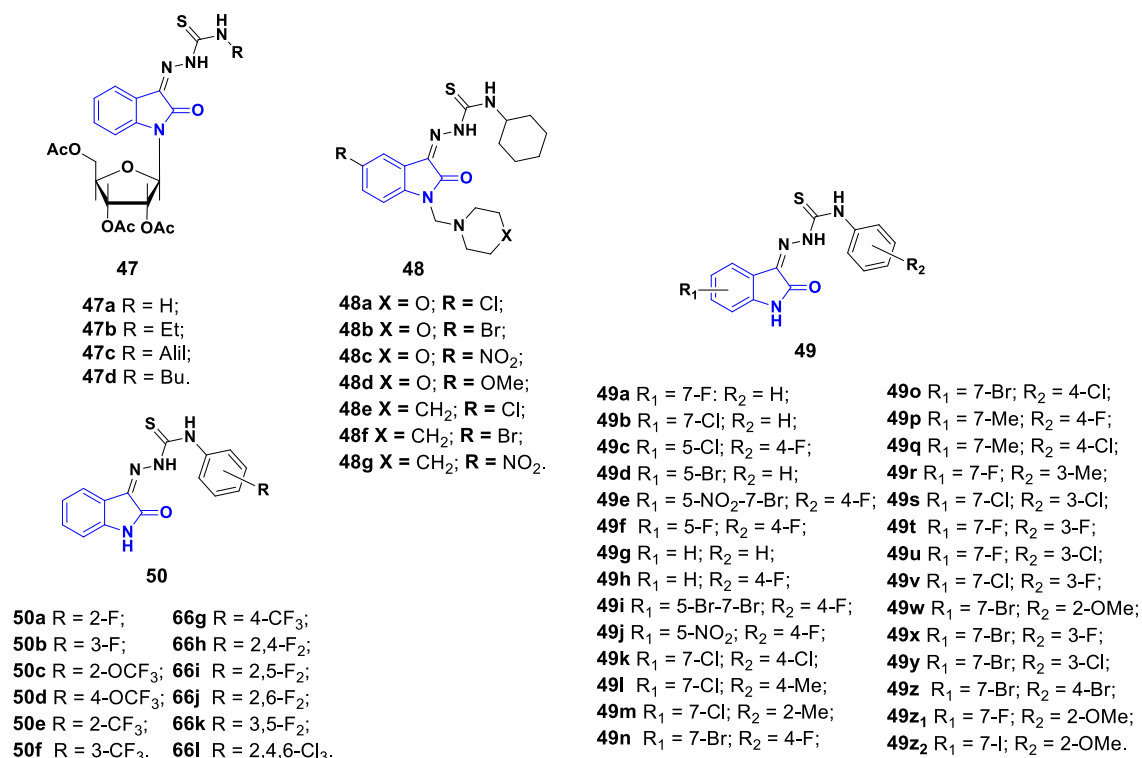


Entre os derivados de isatina, destacam-se as semicarbazonas e as tiossemicarbazonas, que chamam a atenção pela simplicidade sintética frente ao alto potencial farmacológico apresentado.

2.3.1 Tiossemicarbazonas derivadas da isatina

O interesse nesta classe de compostos tornou-se crescente diante das variadas atividades apresentadas. Além do mais, o conhecimento do fármaco metisazona (**46**), pertencente a essa classe, levou à busca por novos alvos, a fim de ampliar o espectro de atividade desses compostos (PANDEYA et. al., 2005; PAKRAVAN et. al., 2013; GUO, 2019). Apesar destas estruturas apresentarem diferentes tipos de atividades, destaca-se a atividade antiviral e antibacteriana (Figura 9).

Figura 9 - Tiossemicarbazonas com atividade antibacteriana



Fonte: Adaptado de GUO, 2019.

Um estudo de relação estrutura-atividade (REA) revelou que a inserção do grupo tiossemicarbazona na posição C-3 da isatina melhora a atividade antibacteriana dos compostos quando comparados com os análogos cetônicos. Além do mais, a introdução de halogênios na posição C-5 do anel isatínico contribuíram para a atividade com o grupo -Cl, mostrando-se mais ativo do que o grupo -Br e o grupo -H (PANDEYA, et. al., 2000; GUO et. al., 2019). Outros autores também relatam melhora na atividade biológica dos compostos com a adição de halogênios ao anel aromático, além da diminuição na toxicidade (HARVISON et. al., 1986; ZHANG et. al., 2015; BORGES et. al., 2018).

Um outro estudo de REA indicou que a introdução do grupo -NO₂ na posição C-5 da isatina tornou os compostos nitrados mais ativos do que os análogos não substituídos (GUO, et. al., 2019). O grupo nitro está presente em vários compostos bioativos e, como relatado por Paula e colaboradores (2009), essa atividade farmacológica é dependente do -NO₂ que é facilmente reduzido devido ao seu caráter aceptor de elétrons. Como relatado pelos autores, a maioria dos nitrocompostos que possuem atividade antineoplásica, antiparasitária e antibacteriana tem o processo de biorredução enzimática do grupo como provável mecanismo de ação, e isso faz com que o grupo nitro seja indispensável para essa atividade farmacológica. Por outro lado, a redução *in vivo* dos compostos com grupos nitros, ligados a anéis aromáticos, pode estar relacionada com os efeitos tóxicos dessas moléculas (TOCHER, 1997). Deve-se considerar que a toxicidade de compostos nitrogenados depende de outros fatores, como a estrutura química, dose utilizada e tempo de exposição, e, em condições controladas, a aplicação terapêutica desses compostos pode ser possível (PAULA et. al., 2009).

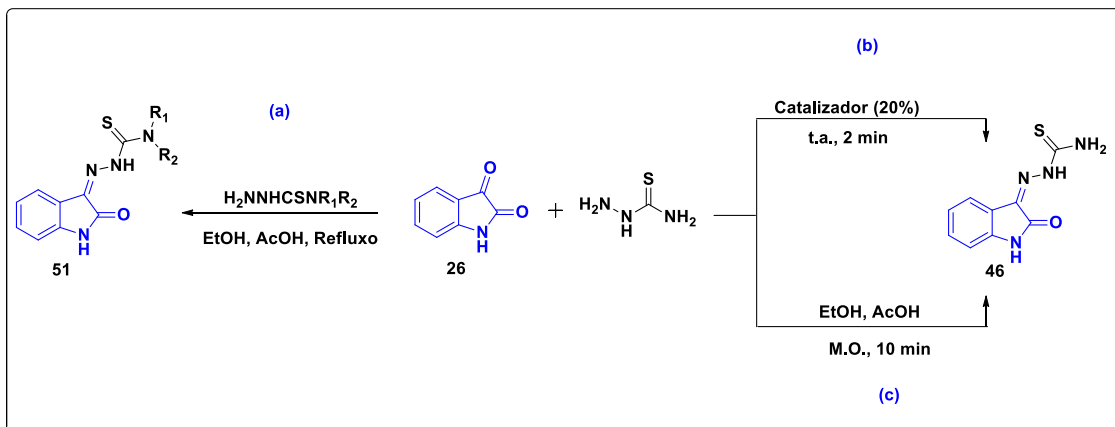
2.3.1.1 Síntese de isatina- β -tiossemicarbazonas e aplicações

A síntese direta de isatina- β -tiossemicarbazonas é conhecida desde a década de 60 e até hoje possui grande utilidade sintética devido à simplicidade de obtenção dos produtos alinhada ao alto potencial de atividade farmacológica apresentada por esta

classe de compostos (**46-50**), além da possibilidade de utilização das tiossemicarbazonas como percussoras de novas moléculas bioativas (**39**).

Isatina- β -tiossemicarbazonas são comumente obtidas em reações de condensação entre a isatina e uma tiossemicarbazida (Esquema 5a), em sistema de refluxo que varia de 1-5 horas, utilizando etanol, ou metanol, como solvente e ácido acético como catalisador (KANG et. al., 2011; ZHANG et. al., 2015). Porém, há relatos de métodos alternativos, tais como descritos por Chavan e colaboradores (2016) que obtêm a metisazona (**46**) fazendo uso de extrato de frutos de acácia como catalisador (Esquema 5b), tornando possível à reação a temperatura ambiente e em um curto período de tempo.

Esquema 5 – Métodos utilizados para obtenção de isatina- β -tiossemicarbazonas

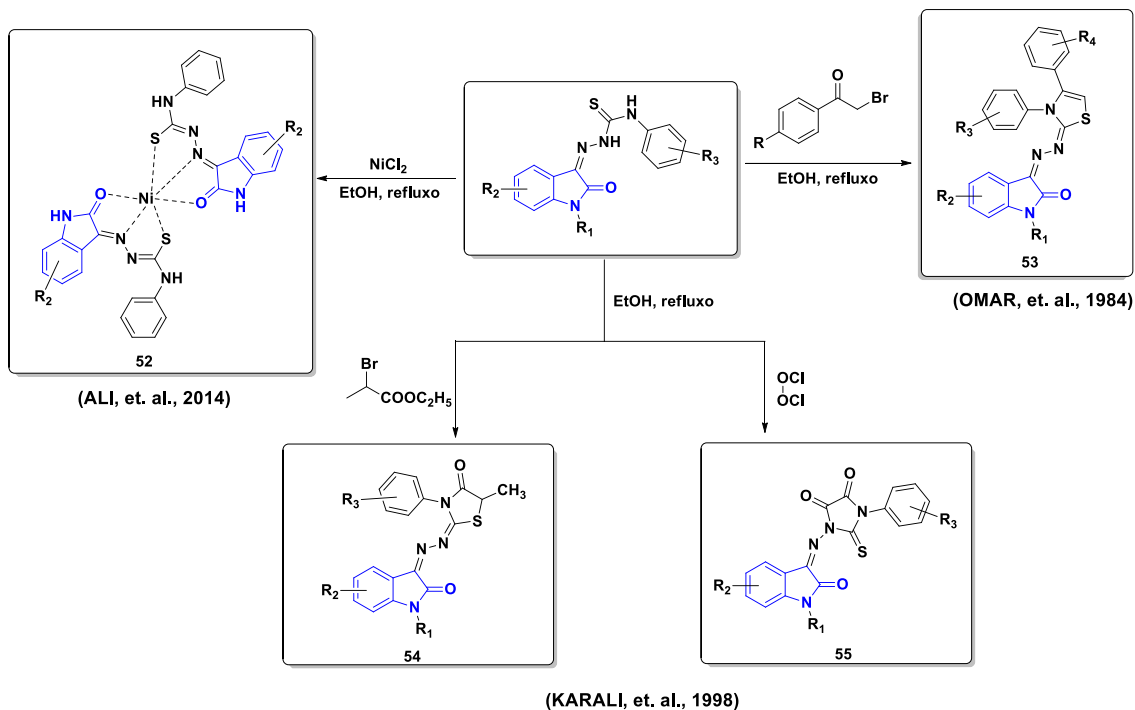


A reação para obtenção do mesmo produto (**46**), e outros análogos, é apresentada por Devi e colaboradores (2017) através da radiação de micro-ondas por 10 minutos (Esquema 5c), mostrando que o uso do reator de micro-ondas torna a síntese mais rápida quando comparada com o sistema em refluxo.

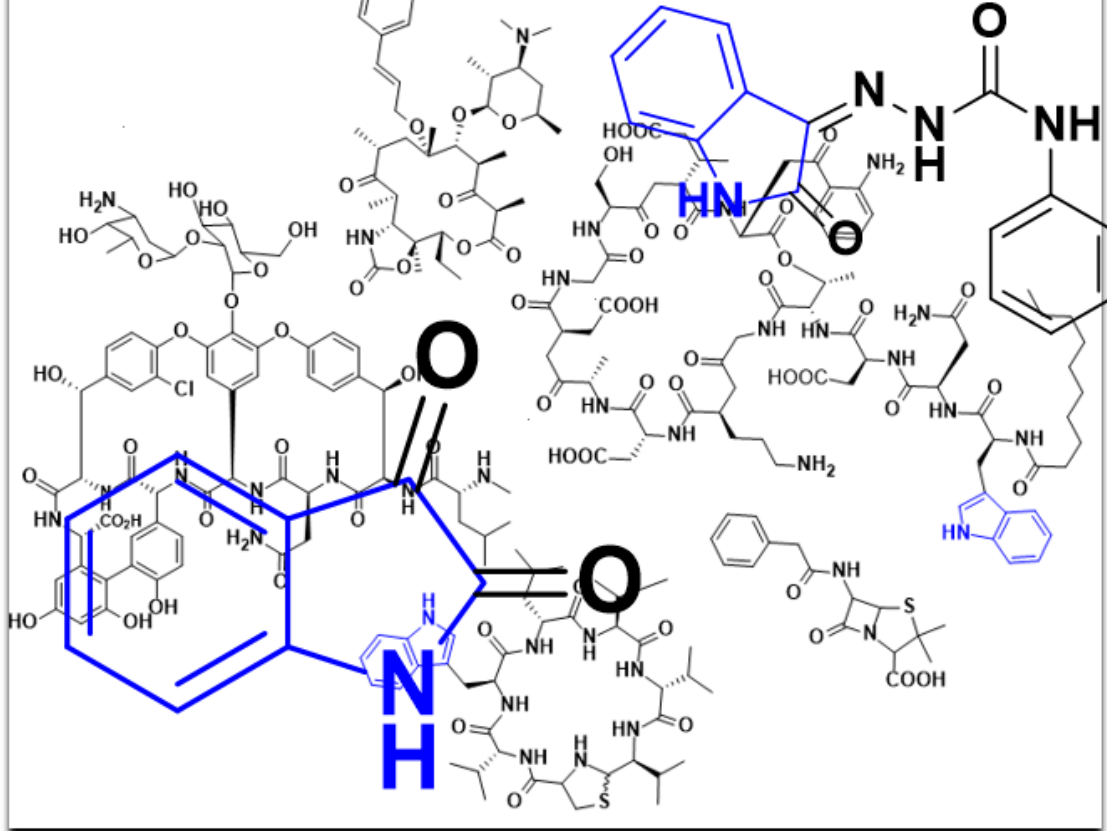
A utilização do reator de micro-ondas possui vantagens sobre o aquecimento convencional, com taxas de aquecimento muito maiores. Isso porque a energia é transferida diretamente para a amostra, sem contato físico com a fonte de aquecimento. Na literatura, o aquecimento em micro-ondas é apontado por influenciar no aumento dos rendimentos, maior seletividade e diminuição na decomposição térmica em reações orgânicas (SANSEVERINO, 2002; KAPPE & DALLINGER, 2006).

As isatina- β -tiossemicarbazonas também são importantes intermediários sintéticos para o desenvolvimento de novas drogas. Na literatura, estes compostos são utilizados como ligantes em síntese de complexos metálicos e como precursores de diferentes espiros tiazóis (OMAR, et. al., 1984; KARALI, et. al., 1998; ALI, et. al., 2014).

Esquema 6 – Aplicações de isatina- β -tiossemicarbazonas em síntese



Tudo isso mostra a diversidade sintética dos derivados de isatina e ajuda a entender o porquê deste núcleo ser frequentemente utilizado como bloco sintético para a construção de novos compostos potencialmente ativos. Adicionado ao alto potencial biológico da classe tiossemicarbazona, que apresenta um amplo perfil farmacológico, a isatina torna-se ainda mais versátil no que diz respeito às suas possibilidades sintéticas e aplicações farmacológicas.



Capítulo 3: Objetivos

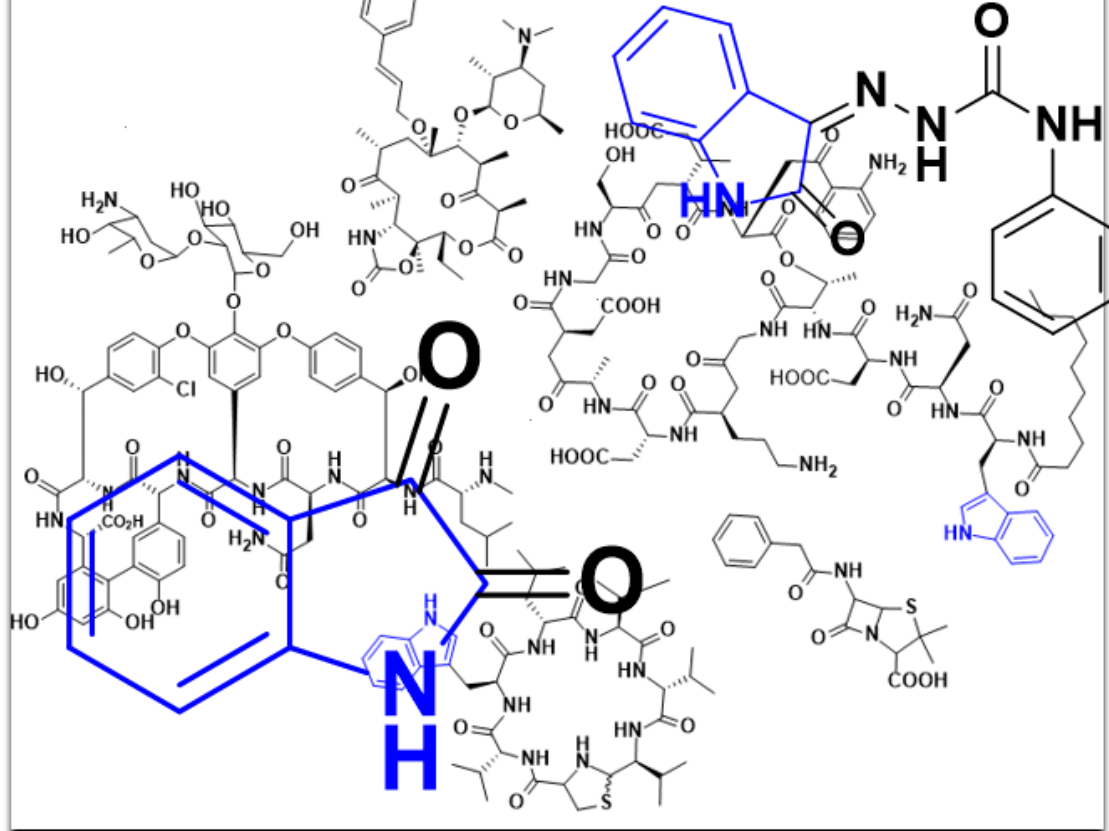
3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Realizar a síntese de uma série análoga de quinze β -feniltiossemicarbazonas através dos derivados de isatina em reator de micro-ondas, seguida da avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana e análise qualitativa das relações entre estrutura e atividade (REA).

3.2 Objetivos específicos

- ☒ Sintetizar derivados de isatina nitrados e clorados;
- ☒ Sintetizar derivados de isatina N-alquilados, com a inserção do grupo metila e alila;
- ☒ Utilizar o reator de micro-ondas na síntese das β -feniltiossemicarbazonas utilizando os derivados de isatina;
- ☒ Avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* das β -feniltiossemicarbazonas em cepas de *S. aureus* (ATCC-13150), *E. coli* (ATCC -18739) e *P. aeruginosa* (ATCC – 9027).
- ☒ Discutir as relações estrutura-atividade (REA) dos compostos.



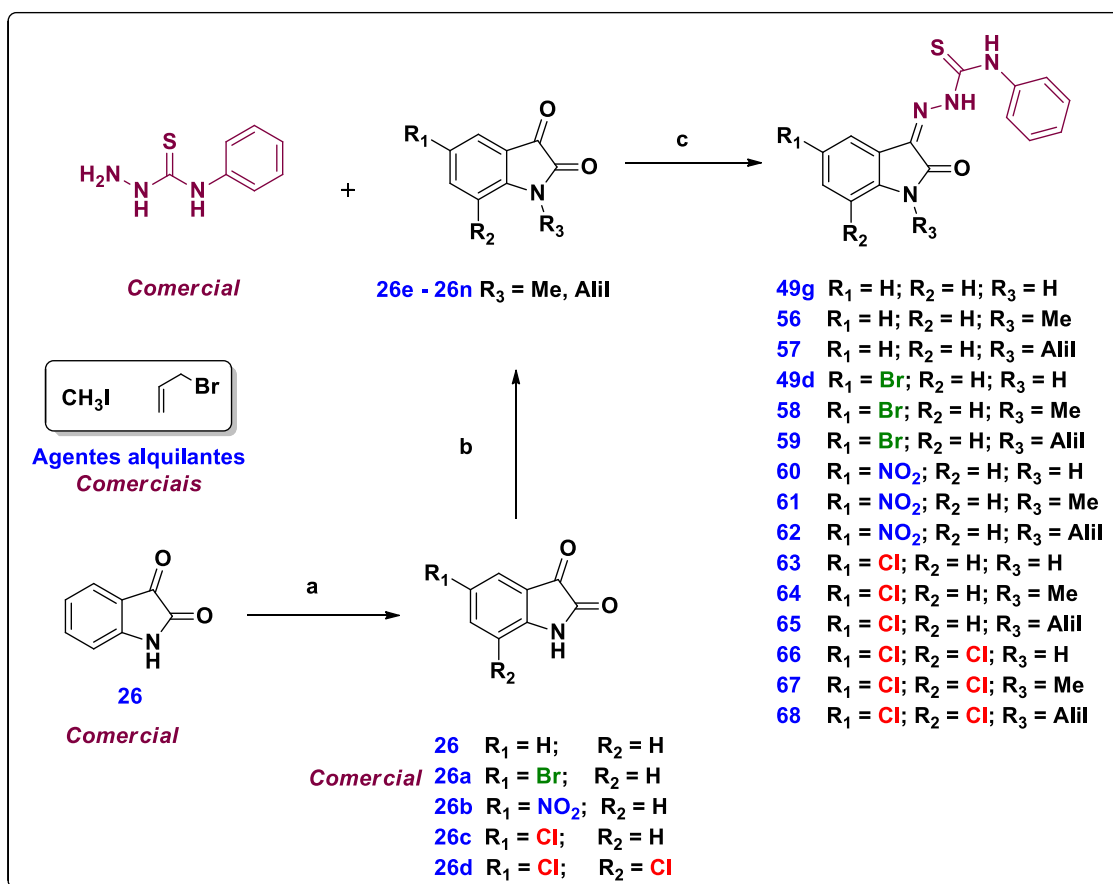
Capítulo 4: Estratégias

4 ESTRATÉGIA

Com a finalidade de explorar ainda mais a versatilidade do núcleo indol, idealizamos a síntese de 15 hidrazinas derivadas da isatina. Essa classe de compostos também é conhecida como tiossemicarbazonas ou, mais especificamente, β -feniltiossemiarbazonas, e vem sendo apresentada na literatura com variadas atividades farmacológicas, das quais destaca-se a atividade antimicrobiana (BHRIGU et. al., 2010; PAKRAVAN et. al., 2013; GUO, 2019).

A nossa estratégia sintética para obtenção desses compostos tem como base a obtenção dos intermediários, derivados de isatina, e está ilustrada no Esquema 7 a seguir.

Esquema 7 – Etapas reacionais de obtenção dos compostos

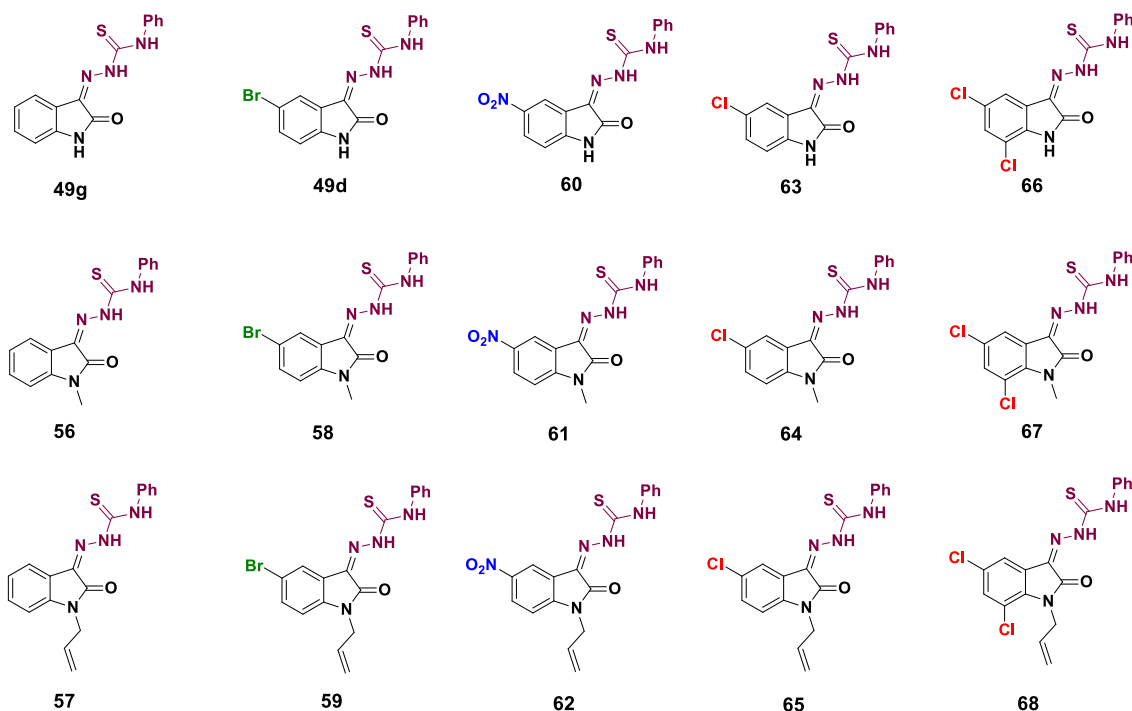


Como descrito no Esquema 7, a primeira parte do trabalho consiste em realizar substituições no anel aromático da isatina com a inserção dos grupos cloro e nitro (que,

de acordo com a literatura, favorecem a atividade antibacteriana desses compostos). Na sequência, a isatina e a 5-bromo-isatina, ambos reagentes comerciais, juntos com os derivados clorados e nitrados são submetidos a reações de *N*-alquilação (com a finalidade de aumentar a lipofilicidade dos compostos). Os produtos *N*-metilados são obtidos a partir do iodeto de metila, e os produtos *N*-alilados, a partir do brometo de alila. Os agentes alquilantes também são de origem comercial. Por fim, todos os derivados de isatina são submetidos a reações em micro-ondas com o regente comercial 4-feniltiossemicarbazida para dar origem aos compostos propostos.

Todos as β -feniltiossemicarbazonas propostas nesse trabalho estão representadas na Figura 10.

Figura 10 – Estruturas proposta



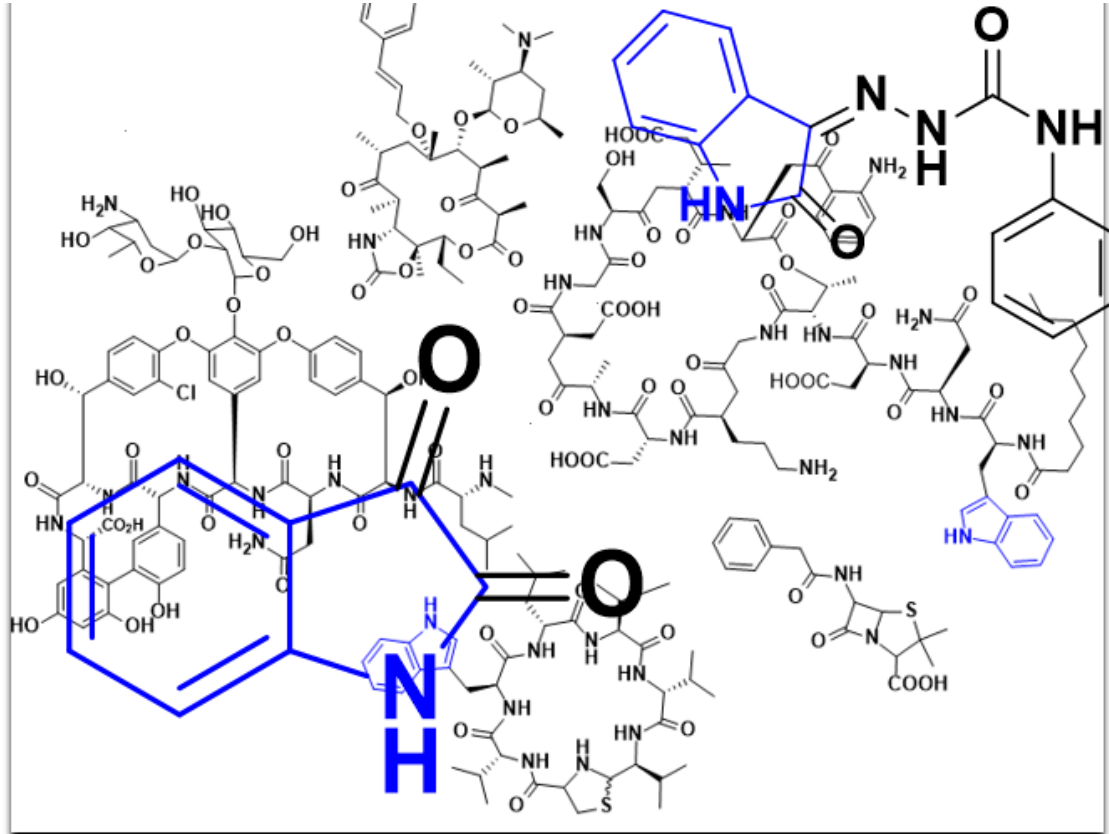
Entre as tiossemicarbazonas apresentadas neste plano de trabalho, sete já são reportadas na literatura e destacam-se frente à atividade antibacteriana e antiviral (BAUER et. al., 1960; OMAR et. al., 1984; TERZIOGLU et. al., 2006; KANG et. al., 2011; PERVERZ et. al., 2013; ZHANG et al., 2015; BALACHANDRAN et. al., 2018). As demais tiossemicarbazonas que compõem esse plano de trabalho são inéditas na literatura. No que diz respeito à obtenção desses compostos, eles são comumente obtidos em síntese

via aquecimento em refluxo, com tempos reacionais que variam de 2-5 horas. Diante disso, optamos pelo uso do reator de micro-ondas para tentar diminuir o tempo de reação e, consecutivamente, aumentar os rendimentos, buscando uma síntese mais eficiente para essa classe de compostos.

O estudo *in silico* das semicarbazonas será realizado e utilizado para prever importantes propriedades farmacocinéticas e físico-químicas desses compostos. O conhecimento dessas propriedades, tais como absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMETox), são indispensáveis no processo de desenvolvimento de novas drogas e ajudam a prever a biodisponibilidade oral de novos candidatos a fármacos (LIPINSK et. al., 1997).

O programa SwissADME, disponível online (<http://www.swissadme.ch>), será utilizado para prever as propriedades físico-químicas (Log P, número de aceptores e doadores de ligação de hidrogênio, entre outras). O software PreADMET, disponível online (<http://preadmet.bmdrc.org>), será utilizado para prever importantes interações inerentes às etapas de ADMETox (absorção intestinal humana, permeabilidade celular *in vitro* para células Caco-2 e MDCK, permeabilidade cutânea, ligação às proteínas plasmáticas, penetração da barreira hematoencefálica, além das possíveis interações com as enzimas do citocromo P450). Esses programas vêm sendo utilizados em estudos recentes e têm se mostrado uma base segura para os cálculos dessas propriedades (DAINA et. al., 2017; KUMAR et. al., 2017; DOLABELA et. al., 2018).

A avaliação da atividade antibacteriana será realizada no Laboratório de Micologia, no Departamento de Ciências Farmacêuticas (CCS/UFPB), coordenado pela professora Edeltrudes de Oliveira Lima. Os compostos serão avaliados quanto à sua atividade antibacteriana para as cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC-13150), *Escherichia coli* (ATCC -18739) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC – 9027), que são apontadas pela OMS como um dos principais patógenos com alto nível de resistência aos antibióticos, representando um grande risco à saúde pública mundial.



Capítulo 5: Resultados e discussão

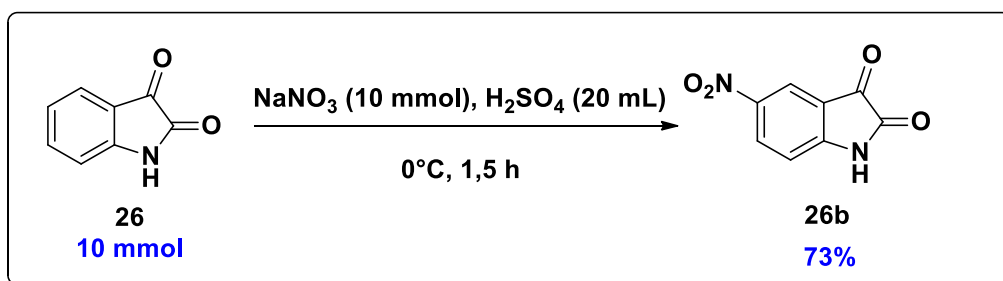
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Preparação dos intermediários derivados de isatina 26b-n

A primeira parte do trabalho consistiu na síntese dos intermediários derivados de isatina, onde foram promovidas reações de substituição eletrolítica aromática (SE_{Ar}) para introduzir os grupos -Cl e -NO₂ no anel da isatina, além de reações de *N*-alquilações para inserir os grupos metil e alil.

A reação de nitração da isatina (Esquema 8) foi realizada com base em procedimento já descrito na literatura por Da Silva e colaboradores (2010). A metodologia foi escolhida levando em consideração a praticidade, além do baixo custo e da baixa toxicidade. A reação gerou 73% de um produto sólido amarelo que foi caracterizado por RMN ¹H e ¹³C. Os deslocamentos químicos foram comparados com os da literatura, confirmando a formação da 5-nitro-isatina, e estão descritos na seção de métodos experimentais desse trabalho.

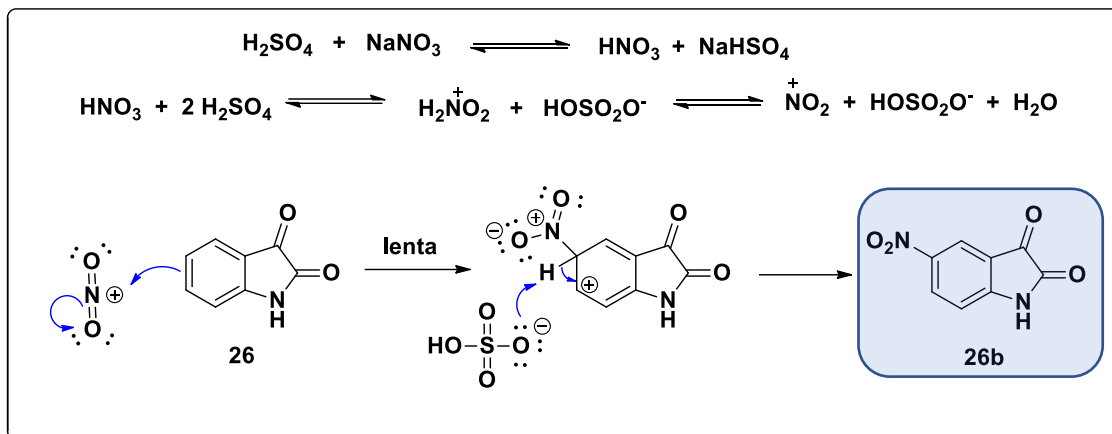
Esquema 8 - Reação de nitração da isatina



A formação do produto nitrado pode ser entendida através do mecanismo de substituição eletrofílica aromática descrito no Esquema 9. Inicialmente, temos a reação entre o ácido sulfúrico e o nitrato de sódio gerando íon nitrônio, íon hidrogenossulfato e o íon hidrônio. Além de solubilizar o meio, o ácido sulfúrico tem a finalidade de aumentar a concentração do íon nitrônio e acidificar o meio reacional, garantindo uma maior velocidade na reação. Dessa forma, na primeira etapa da reação ocorre o ataque dos elétrons do sistema π do anel aromático da isatina ao íon nitrônio, seguida da

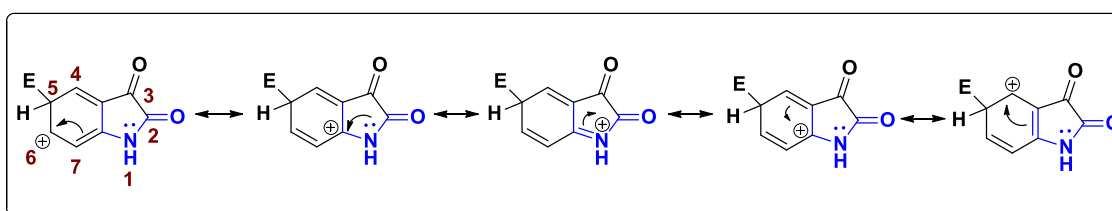
formação do complexo- σ . Na sequência, ocorre a restauração da aromaticidade após a captura de próton pelo íon hidrogenossulfato.

Esquema 9 - Mecanismo de formação da 5-nitro-isatina **26b**



Na estrutura da isatina temos o grupo cetona que atua como desativante do anel aromático, porém o grupo amida, também presente, tem efeito ativante e supera o efeito desativante. O grupo amida é *orto* e *para*-dirigente, e isso explica por que o grupo nitro substitui na posição 5 do anel da isatina, posição *para* em relação ao grupo amida (Figura 11).

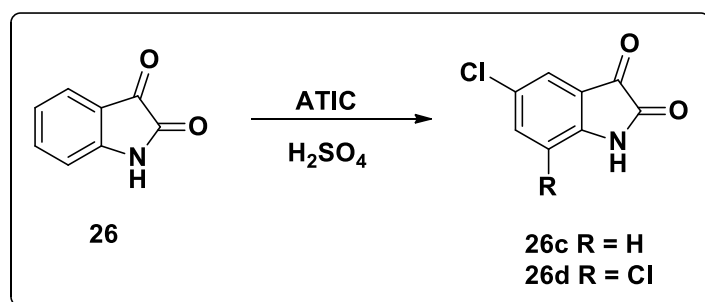
Figura 11 - Deslocalização da carga positiva no complexo- σ



Observando as formas canônicas para o complexo- σ (Figura 11), percebemos que a carga positiva é mais dispersada através do átomo de nitrogênio que doa o seu par de elétrons para estabilizar o carbocátion ligado a ele, contribuindo de forma significativa para sua estabilidade. A substituição pelo grupo nitro, forte desativante, não favorece uma segunda nitração na posição 7 do anel da isatina devido à diminuição de sua reatividade.

A cloração da isatina foi feita com base na metodologia proposta por Ribeiro e colaboradores (2009), utilizando ácido tricloroisocianúrico (ATIC) e ácido sulfúrico (Esquema 10). A utilização do ATIC provém da ideia da utilização de um reagente de fácil manipulação e baixo custo (CUNHA et. al., 2006).

Esquema 10 - Reação de cloração da isatina



Os resultados obtidos nas reações de cloração (Tabela 1) foram similares aos descritos na literatura, comprovando a eficácia do método escolhido (RIBEIRO et. al., 2009). As proporções utilizadas para cada reagente estão descritas a seguir.

Tabela 1 - Rendimentos da reação de cloração via ATIC

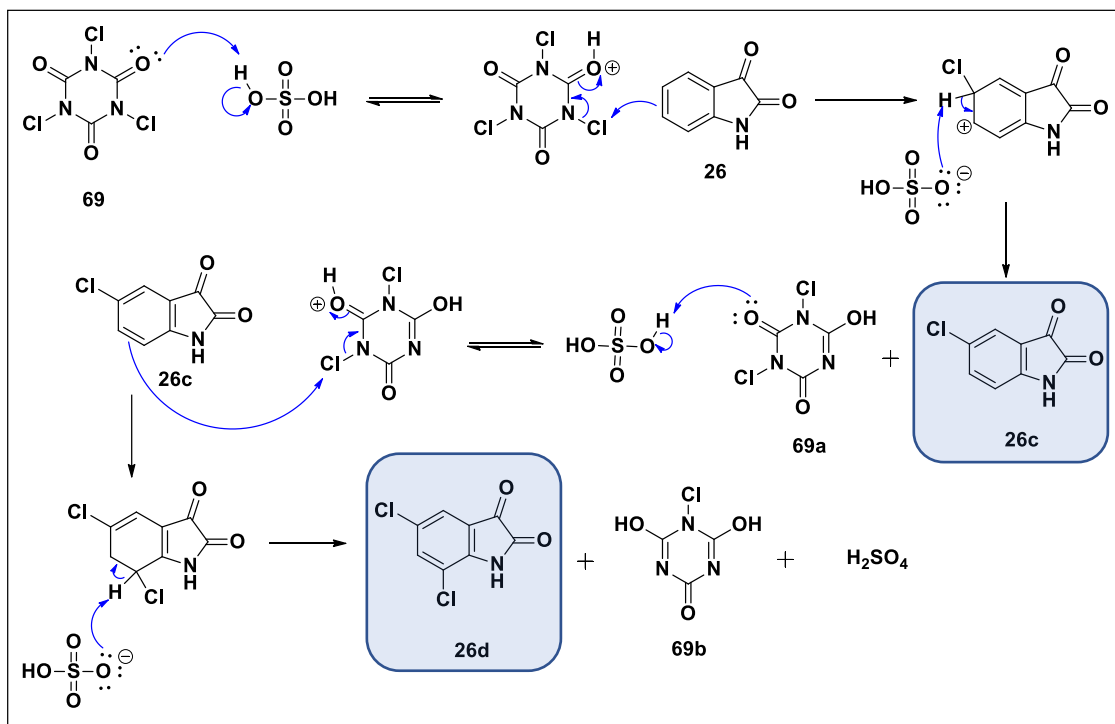
Entrada	Isatina (mmol)	ATIC (mmol)	Produto	Tempo (min)	Rendimento (%)
1	10	4,5	26c	15	95
2	10	10	26d	30	92

O produto monoclorado foi obtido na proporção molar de 1:0,45 (isatina/ATIC) com 95% de rendimento, enquanto o diclorado foi obtido na proporção de 1:1 com 92% de rendimento. Devido à reação ser exotérmica, faz-se necessário uma adição lenta da solução de isatina (isatina/ H_2SO_4) em banho de gelo. Observou-se que a manutenção do banho de gelo contribuiu para a formação apenas do produto monoclorado. O controle da temperatura foi fundamental para obtenção da isatina monoclorada como único produto, tendo em vista que em trabalhos anteriores do nosso grupo havia

difículdade em obter esse derivado sem gerar a isatina diclorada (na condição de coproduto da reação). Ambos derivados foram caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C e os deslocamentos químicos foram comparados com a literatura, comprovando a formação dos produtos (DA SILVA et. al., 2010). Todos os deslocamentos químicos podem ser conferidos na seção de métodos experimentais desse trabalho.

O mecanismo proposto para esta reação (Esquema 11) foi adaptado de Cunha e colaboradores (2018) e tem como primeira etapa a protonação do ATIC e formação do íon HSO_4^- . Em seguida, o cloro aceita um par de elétrons do sistema π do anel aromático da isatina, dando origem ao íon arênio (complexo- σ). Na sequência, ocorre abstração de um próton pelo íon hidrogenossulfato, restaurando a aromaticidade e dando origem ao produto monoclorado. Na reação de dicloração ocorre uma nova protonação do ATIC devido à restituição do catalisador ácido e a presença de cloro reativo no ATIC. Sendo assim, as etapas do mecanismo de reação procedem como descritas anteriormente.

Esquema 11 - Mecanismo de formação da 5-cloro-isatina e da 5, 7-dicloroisatina



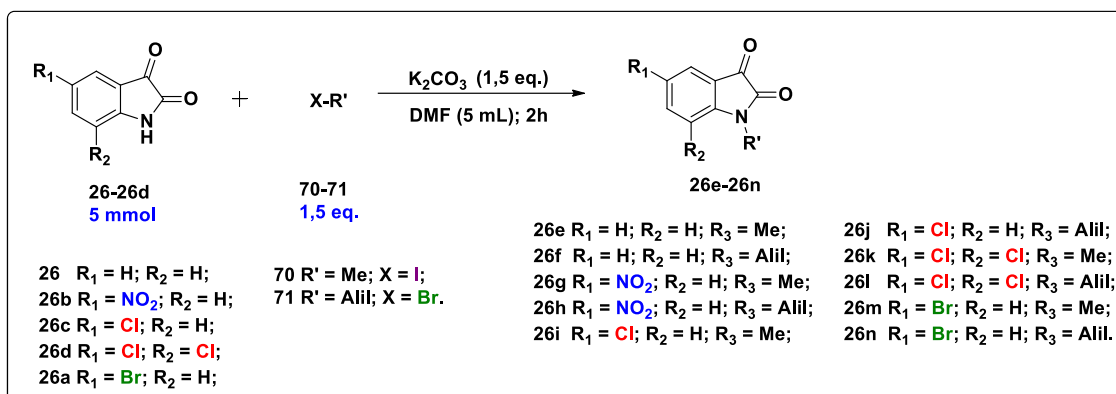
Fonte: Adaptado de Cunha et. al., 2018.

O grupo amida, presente na isatina, tem efeito ativante e é *orto* e *para*-dirigente. Dessa forma, o primeiro cloro substitui a posição 5 do anel da isatina, posição *para* em relação ao grupo amida. O segundo cloro substitui na posição 7, que pode ser considerada *orto* em relação ao grupo amida. Em forma similar à nitração (Figura 11), o nitrogênio do grupo amida dispersa a carga positiva contribuindo para a estabilidade do complexo- σ , favorecendo a substituição do primeiro cloro na posição 5 do anel da isatina.

Vasconcellos e Lima Junior (2009) elaboraram, com base em cálculos teóricos, uma explicação sobre os aspectos mecanísticos da substituição eletrofílica aromática promovida pelo ATIC em meio neutro. Isso nos ajuda a compreender o fato da primeira cloração ocorrer na posição *para* frente a um grupo doador de elétrons. A explicação consiste na comparação das energias dos reagentes e os complexos- σ das posições *orto*, *meta* e *para*. Eles observaram que a menor energia entre o reagente e o complexo- σ do ataque na posição *para* é favorecido em relação a posição *orto*. Esse favorecimento também pode estar associado ao volume do eletrófilo ATIC, indicando um sinergismo de efeitos.

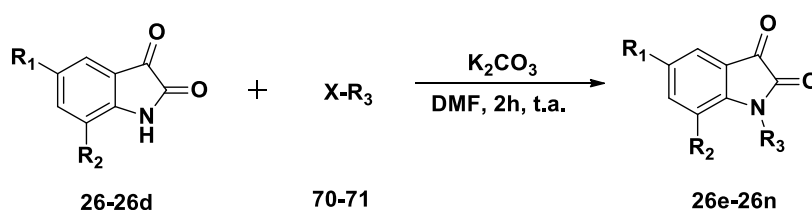
As reações de alquilação (Esquema 12) também foram realizadas com base em método já descrito na literatura que demonstra que a utilização de DMF e K_2CO_3 contribuem com menor tempo de reação e maior rendimento para esses tipos de reações (GANG et. al., 2011).

Esquema 12 - Protocolo geral de reação de alquilação dos derivados de isatina 26-26d



Os derivados metilados foram obtidos a partir da reação utilizando os derivados sintetizados anteriormente e o iodeto de metila, enquanto os derivados alilados foram preparados a partir do reagente brometo de alila. Os rendimentos obtidos estão descritos na Tabela 2, onde podemos verificar que o sistema K_2CO_3 -DMF se mostrou eficiente para esse tipo de reação, conduzindo a bons rendimentos, como relatado por Gang e colaboradores (2011).

Tabela 2 - Rendimentos obtidos nas reações de alquilação



Entrada	Composto	R ₁	R ₂	R ₃	Rend. (%)
1	26e	H	H	Me	93
2	26f	H	H	Alil	88
3	26g	NO ₂	H	Me	62
4	26h	NO ₂	H	Alil	87
5	26i	Cl	H	Me	70
6	26j	Cl	H	Alil	75
7	26k	Cl	Cl	Me	81
8	26l	Cl	Cl	Alil	77
9	26m	Br	H	Me	87
10	26n	Br	H	Alil	85

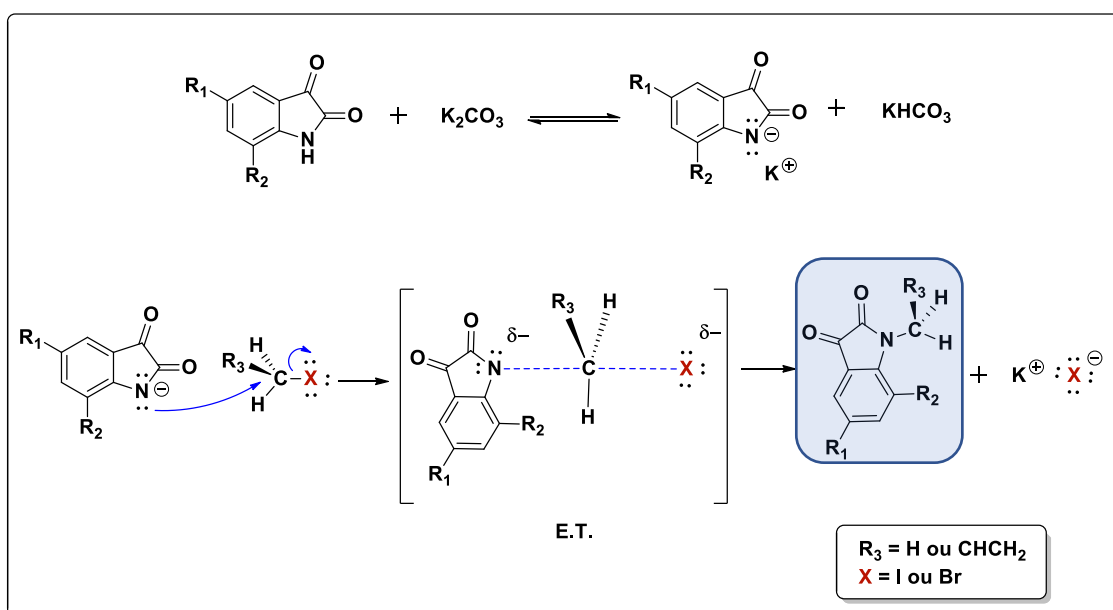
Reação acompanhada por CCD; Isolamento: separação líquido-líquido por acetato de etila.

Os maiores rendimentos foram obtidos com a isatina livre de substituintes no anel aromático, 93% para o derivado metilado (**26e**) e 88% para o derivado alilado (**26f**).

Os derivados que apresentaram menor rendimento foram os clorados, entre 70-81%, e o 5-nitroisatina metilado (**26g**) com 62%. Esses compostos não apresentaram conversão completa, além de que perdas consideráveis podem ter ocorrido durante o isolamento devido à polaridade dos compostos e sua grande afinidade pela água.

Os compostos alquilados foram obtidos através de reações de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2), como demonstra o Esquema 13. Inicialmente, ocorre a formação do sal de isatina, tornando o nitrogênio mais nucleofílico. Em seguida, o nucleófilo ataca o carbono metílico em lado oposto à ligação C-halogênio. No estado de transição (E.T.), o carbono está parcialmente ligado ao ânion isatínico e ao brometo. O arranjo das ligações passa por uma inversão tetraédrica à medida que a reação progride e dá origem ao derivado alquilado e ao sal formado entre o íon potássio e o íon haleto.

Esquema 13 - Mecanismo de formação dos derivados alquilados **26e-n**

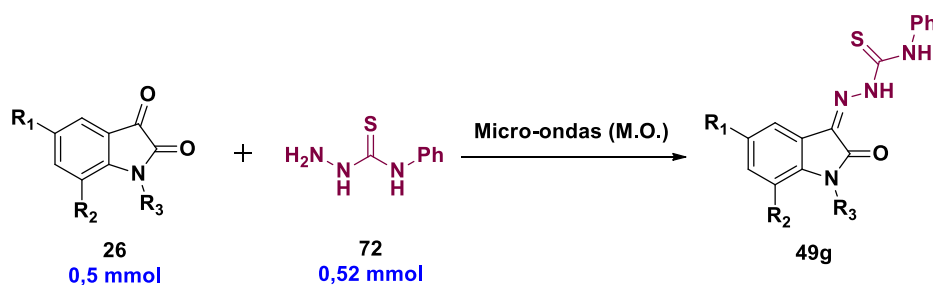


Todos os derivados alquilados da isatina foram caracterizados por RMN de 1H e ^{13}C e os deslocamentos químicos apresentados estão coerentes com a literatura (OMAR et. al., 1984; GARDEN et. al., 1998; GANG et. al., 2011; MARTINEZ & FERREIRA, 2017). Todos os deslocamentos químicos estão descritos na seção de métodos experimentais desse trabalho.

5.2 Síntese das β -feniltiossemicarbazonas derivadas da isatina 49d, 49g e 56-68

Com o intuito de encontrar o protocolo mais adequado ao nosso sistema de reação, realizamos experimentos entre a isatina e a 4-feniltiossemicarbazida, analisando as variáveis de solvente, catálise, tempo e temperatura. Os resultados obtidos nessa sequência de experimentos estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Variação das condições de reação entre isatina e 4-feniltiossemicarbazida



Entrada	Solvente	Catálise	Temper. (°C)	Tempo (min)	R (%)
1	Ác. Acético	Ác. Acético	120	5	0
2	Ác. Acético	Ác. Acético	120	10	55
3	MeOH	-----	120	10	12
4	MeOH	Ác. Acético	120	10	58
5	MeOH	Ác. Acético	100	10	72
6	MeOH	Ác. Acético	140	10	13
7	MeOH	Ác. Acético	100	20	64
8	MeOH	Ác. Acético	100	40	37
9	MeOH	Ác. Acético	80	10	52

Proporções utilizadas nas reações: 5 mL de Metanol e 4 gotas de ácido acético.

O primeiro experimento foi adaptado da metodologia proposta por Mamum e colaboradores (2010), a qual promoveu reações de semicarbazidas e tiossemicarbazidas

utilizando um forno de micro-ondas doméstico adaptado para síntese como fonte de energia e ácido acético como solvente. Para a investigação inicial do protocolo, realizou-se uma reação à temperatura de 120 °C na qual foi observado que após 5 minutos de radiação não ocorreu formação de produto (**Entrada 1**).

Dessa forma, o tempo de reação foi dobrado para 10 minutos (**Entrada 2**) e foi verificada a formação de precipitado marron com 55% de rendimento. Este produto foi caracterizado por RMN de ^1H e ^{13}C , confirmando a formação do produto esperado. Foi realizado outro experimento mudando o solvente para metanol (**Entrada 3**), e foi verificado que a mudança no solvente não favoreceu a reação de isatina e 4-feniltiosemicarbazida, gerando o produto com rendimento de 12%. Um novo experimento foi realizado (**Entrada 4**), combinando o metanol como solvente e o ácido acético como catalisador e mantendo fixos a temperatura de 120 °C e o tempo de 10 minutos. Com esse experimento foi obtida uma melhora no rendimento do precipitado que foi para 58%.

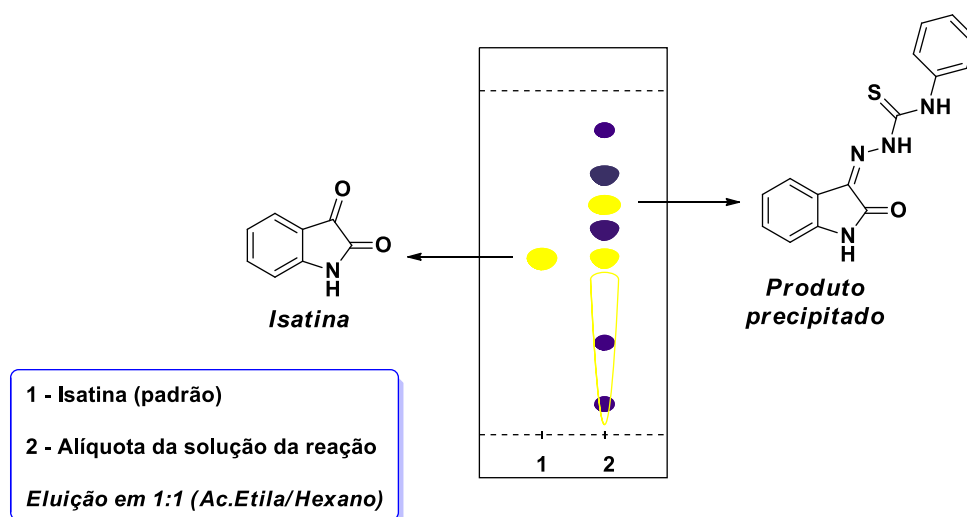
Com a finalidade de verificar a influência da temperatura na reação, foi realizado um novo experimento (**Entrada 5**) diminuindo a temperatura de reação para 100 °C. Foram mantidos o metanol como solvente, o ácido acético como catalisador e o tempo de 10 minutos. Foi observado um aumento no rendimento chegando à obtenção de 72% de produto. Um outro experimento (**Entrada 6**) foi realizado, aumentando a temperatura para 140 °C e mantendo fixa as outras condições como anteriormente apresentadas. O aumento da temperatura levou a uma diminuição significativa no rendimento que caiu para 13%, dado que além da sobra de matéria-prima, houve formação de subprodutos que não foram caracterizados por serem de difícil isolamento. Os coprodutos podem ter sido originados a partir de uma possível degradação. Diante disso, a temperatura de 100 °C foi adotada para as reações posteriores.

Outros dois experimentos (**Entradas 7 e 8**) foram realizados dobrando o tempo de reação para verificar se havia alguma influência nos resultados obtidos até então. Foi verificado que o aumento do tempo para 20 minutos fez cair o rendimento para 64%, e o aumento para 40 minutos fez cair para 37%. Observou-se que o aumento do tempo resultou em uma diminuição do rendimento, sem consumo total da matéria-prima e com formação de coproduto. Diante disso, acreditamos que o aumento do tempo

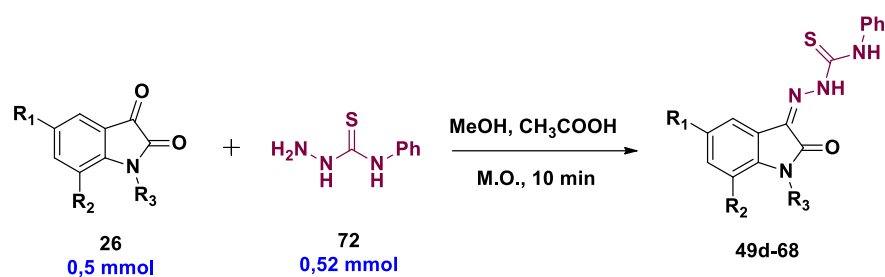
favoreceu a reversibilidade da reação, assim como uma possível degradação. Um outro experimento foi realizado (**Entrada 9**) à temperatura de 80 °C, a fim de verificar a linearidade dos resultados apresentados, e foi constatado uma queda no rendimento para 52%, com formação de coprodutos e isatina remanescente.

Diante dos resultados obtidos, foi adotado o metanol como solvente, o ácido acético como catalisador, a temperatura de 100 °C e o tempo de 10 minutos como protocolo geral de obtenção das β -feniltiossemicarbazonas. Calculamos o rendimento a partir da quantidade de produto precipitado recolhido devido à proximidade de polaridades do produto, coprodutos e a isatina remanescente (Figura 17) presente, no meio reacional, os quais geraram uma certa dificuldade de separação em coluna cromatográfica.

Figura 12 - Placa de CCD das reações com isatina e 4-feniltiossemicarbazida



Fizemos a escolha de criar um método rápido e geral para obtenção dos compostos, mesmo sabendo que nem todos os derivados de isatina poderiam se comportar de forma similar nessas condições de reação. Dessa forma, todas as β -feniltiossemicarbazonas foram obtidas nas condições descritas anteriormente (**Entrada 5**), utilizando um reator de micro-ondas com radiação na temperatura de 100 °C (leitura monitorada por sensor de infravermelho) com tempo de rampa (“Run Time”) de 5 minutos e tempo de reação (“Hold Time”) de 10 minutos em condições de vaso fechado (“Closed Vessel”). Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Resultados das reações de formação dos compostos **49d**, **49g** e **56-68**

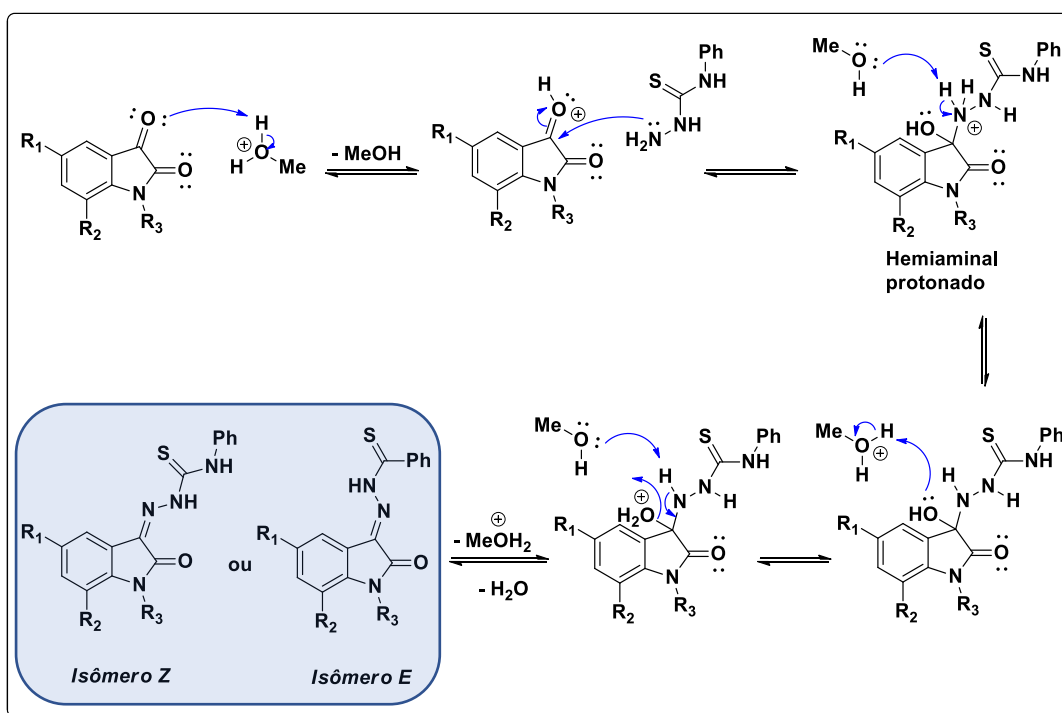
Entrada	Composto	R ₁	R ₂	R ₃	R (%)	Literatura
1	49g	H	H	H	72	80% em refluxo, 2-5 h
2	56	H	H	Me	68	70% em refluxo, 4 h
3	57	H	H	Alil	60	80% em refluxo, 4 h
4	49d	Br	H	H	53	58% em refluxo, 2 h
5	58	Br	H	Me	94	96% em refluxo, 4 h
6	59	Br	H	Alil	61	Inédita
7	60	NO ₂	H	H	77	69% em refluxo, 2 h
8	61	NO ₂	H	Me	54	Inédita
9	62	NO ₂	H	Alil	76	Inédita
10	63	Cl	H	H	78	Refluxo, 5 h ^a
11	64	Cl	H	Me	53	Inédita
12	65	Cl	H	Alil	62	Inédita
13	66	Cl	Cl	H	85	Inédita
14	67	Cl	Cl	Me	50	Inédita
15	68	Cl	Cl	Alil	61	Inédita

^a - O rendimento não é informado no artigo, apenas as condições de síntese.

Na Tabela 4 temos a comparação dos resultados obtidos com os que já são reportados na literatura (BALACHANDRAN et. al., 2018; BAUER et. al., 1960; OMAR et. al., 1984; TERZIOGLU et. al., 2006; PERVERZ et. al., 2010; KANG et. al., 2011; PERVERZ et. al., 2013; ZHANG et. al. 2015). Observamos que, os rendimentos das reações de formação das feniltiossemicarbazidas em micro-ondas foram obtidos em percentuais muito próximos dos descritos na literatura, só que em um tempo reacional menor. Os compostos inéditos apresentaram rendimentos na mesma faixa dos compostos já conhecidos e isso torna a nossa metodologia promissora, tendo em vista que, na literatura, essas reações são apresentadas em refluxo com duração de 2-5 horas.

No Esquema 14 é apresentado o mecanismo de formação das β -feniltiosemicarbazonas.

Esquema 14 - Mecanismo de formação das β -feniltiossemicarbazonas **49d**, **49g**, **56-68**



Fonte: Adaptado de Tenório & Góes et. al., 2005.

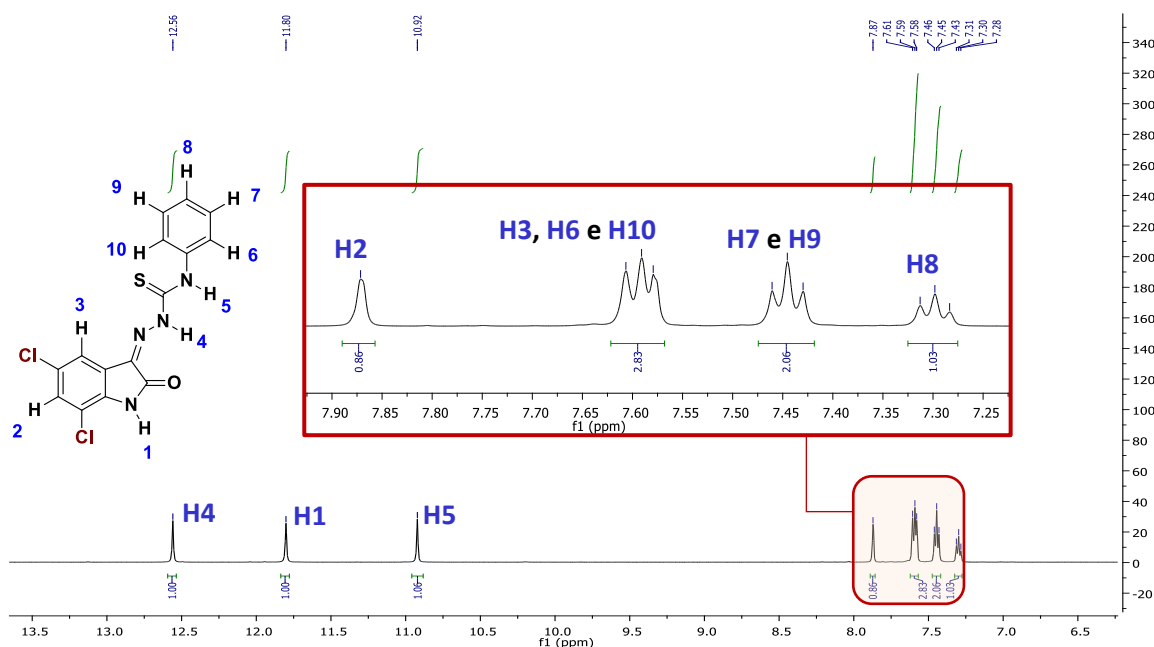
O mecanismo de formação das β -feniltiosemicarbazonas (Esquema 8) tem início com a transferência de próton do íon metil oxônio para o oxigênio cetônico da isatina. Em seguida, ocorre o ataque nucleofílico do nitrogênio da tiossemicarbazida, gerando

um intermediário hemiaminal protonado. Na sequência, o metanol abstrai um hidrogênio ligado ao nitrogênio protonado, gerando o intermediário hemiaminal neutro. Após, ocorre a transferência de próton do íon metil oxônio para o oxigênio alcóolico e na sequência, o metanol captura o hidrogênio ligado ao nitrogênio e uma molécula de água é liberada na formação da ligação dupla C=N.

5.3 Caracterização das β -feniltiosemicarbazonas

Todas as β -feniltiosemicarbazonas foram caracterizadas a partir da Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C . Devido à semelhança apresentada nos espectros, vamos apresentar nesta seção a discussão sobre os RMNs de ^1H e ^{13}C dos compostos **66**, **67** e **68**, os quais fazem parte das moléculas inéditas. Na Figura 13 temos o espectro de RMN de ^1H do composto **66**, onde foi possível observar todos os deslocamentos referentes aos dez hidrogênios presentes na estrutura.

Figura 13 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) do composto **66**

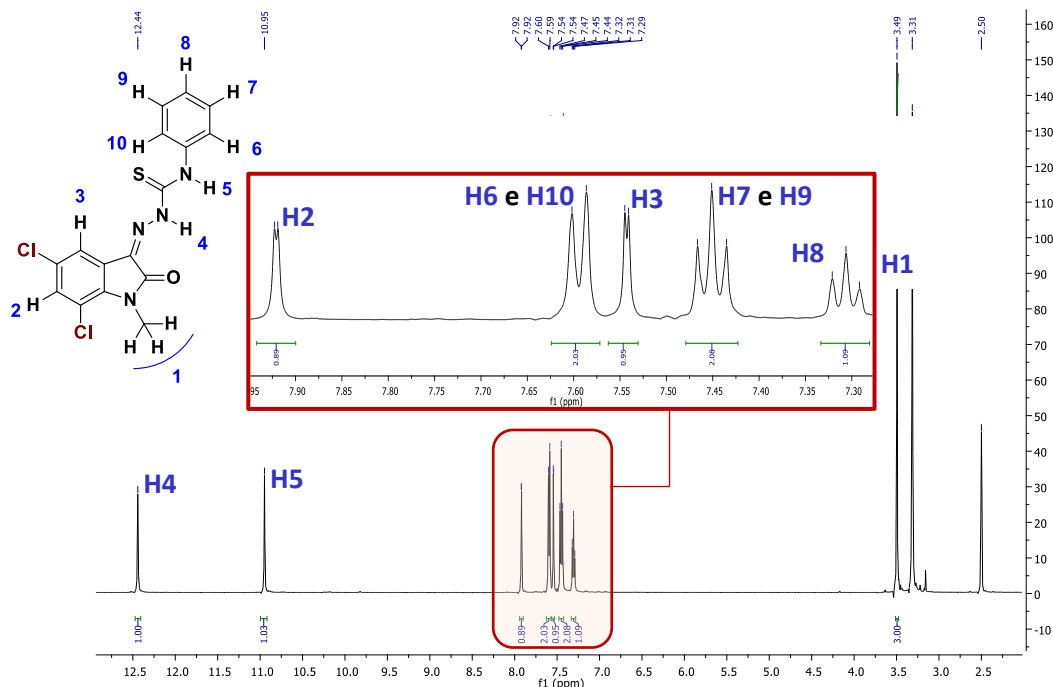


O **H4** apresentou o maior deslocamento, aparecendo na região de 11.56 ppm. O **H1** apresentou deslocamento de 11.80 ppm e o **H5** apresentou deslocamento de 10.92

ppm. Estes hidrogênios apareceram na forma de singlete, e o fato de estarem ligados a nitrogênios faz com seus núcleos sejam mais desblindados, resultando nesse maior deslocamento químico. Na estrutura, temos duas regiões de aromáticos pertencentes ao anel da isatina e ao grupo fenil, na porção semicarbazona. Os hidrogênios desses anéis podem facilmente ser diferenciados, pois apresentam deslocamentos característicos devido às substituições promovidas no anel aromático da isatina. Nesse sistema aromático, o **H2** é o mais desblindado e apresentou um singlete com deslocamento de 7.87 ppm devido à presença dos substituintes cloro nas posições **C5** e **C7**. O **H3** apareceu em uma faixa muito próxima ao **H6** e **H10** na forma multipletos com deslocamentos de 7.61, a 7.58 ppm. Os hidrogênios **H7** e **H9** são quimicamente equivalentes e apresentaram um triplete referente a dois hidrogênios 7.45 ppm. O **H8** apresentou um triplete, esse referente a um hidrogênio, com deslocamento de 7,3 ppm.

No espectro de RMN ^1H do composto **67** (Figura 14) foi possível observar todos os sinais referentes aos hidrogênios da molécula.

Figura 14 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) do composto **67**

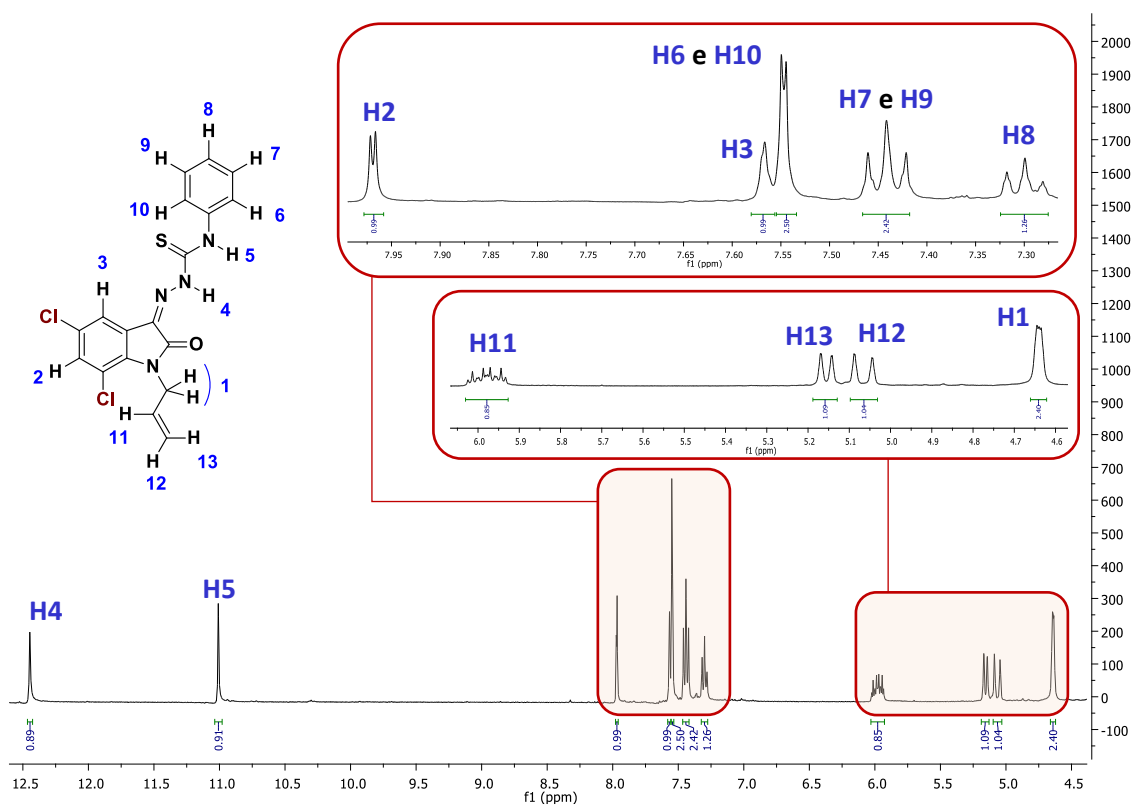


A principal característica do espectro do composto **67** é o surgimento do singlete na região de 3.49 ppm referente aos três hidrogênios do grupo metil (**H1**) e,

consequentemente, o desaparecimento do hidrogênio amídico em decorrência da *N*-alquilação. No espectro do composto **67**, também se destaca o acoplamento meta entre os hidrogênios **H2** e **H3**, sendo que o **H2** aparece na região de 7.92 ppm na forma de duplete e o **H3** aparece na região de 7.54 ppm, também em duplete. Os hidrogênios **H6** e **H10** aparecem na região de 7.59 ppm. Os demais hidrogênios (**H4**, **H5**, **H7**, **H8** e **H9**) apresentaram deslocamentos químicos semelhantes aos do espectro do composto **66**.

No espectro do composto **68** (Figura 15), destacam-se os sinais referentes ao grupo alila. Os hidrogênios **H12** e **H13** aparecem na região de 5,16-5.07 ppm na forma de duplo duplete devido ao acoplamento existente entre eles e com **H11**.

Figura 15 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto **68**

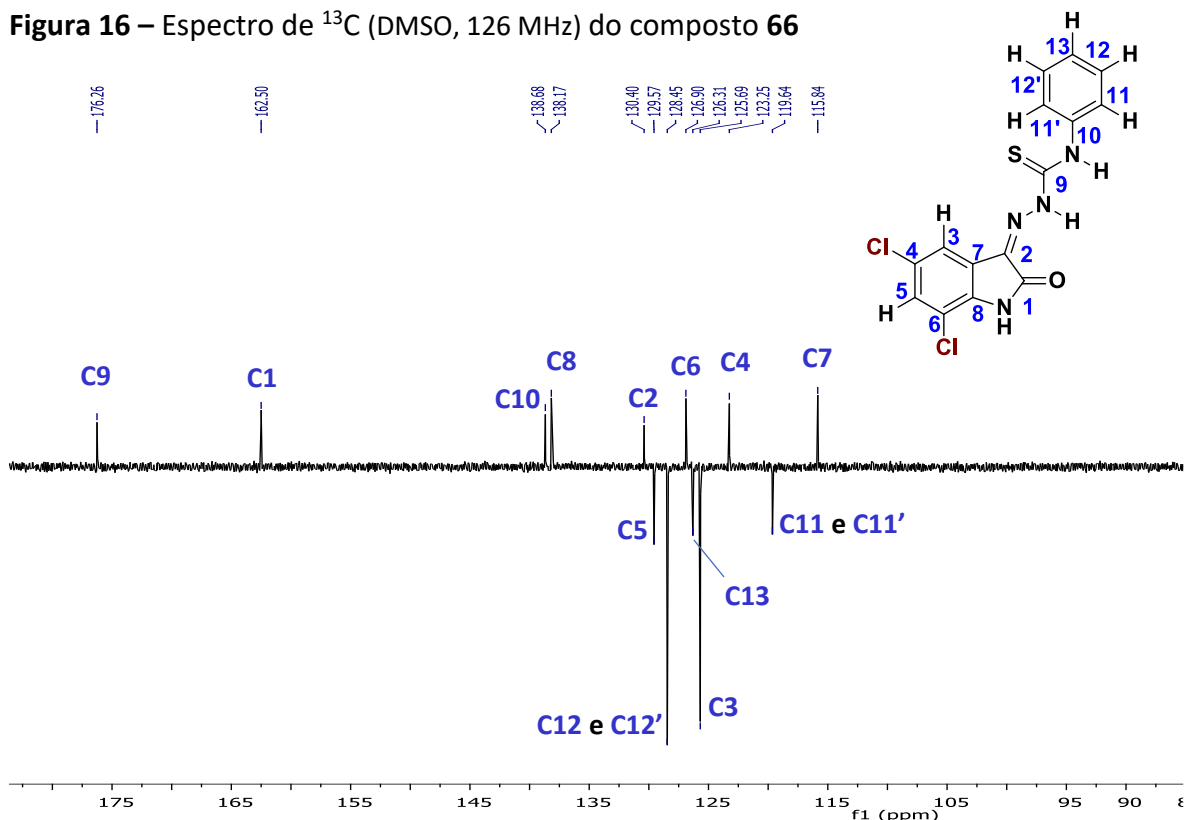


O **H11** aparece um pouco mais desblindado, na região de 6.03-5.93 ppm, na forma de multiplete devido aos acoplamentos com os hidrogênios **H1**, **H12** e **H13**. Os hidrogênios **H1** são os menos desblindados e aparecem na forma de dublete na região de 4.66-4.62 ppm. Os demais hidrogênios (**H2-H10**) apresentaram deslocamentos químicos semelhantes aos espectros anteriores descritos nesta seção.

Os espectros de RMN de ^{13}C foram feitos seguindo a técnica de APT (*Attached Proton Test*), a qual divide os sinais dos carbonos em fases de acordo com o número de hidrogenação de cada carbono. Os carbonos metilênicos (CH_2) e quaternários (C) estão dispostos para cima, enquanto que os carbonos metínicos (CH) e metílicos (CH_3) estão dispostos para baixo.

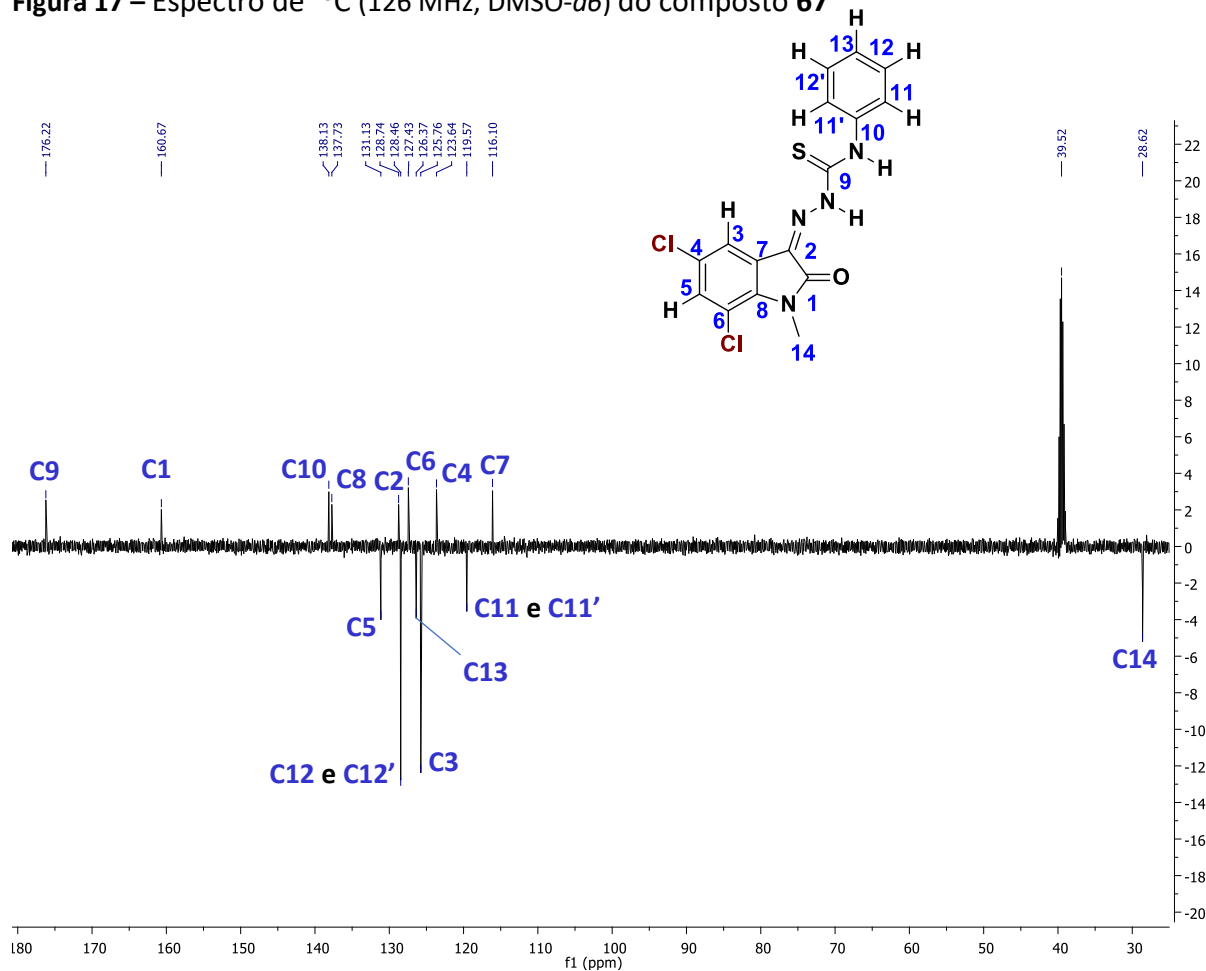
No espectro do composto **66** (Figura 16), observa-se a presença de todos os sinais referentes ao composto. Os sinais mais desblindados são referentes aos carbonos **C9** (em 176.26 ppm) e **C1** (em 162.50 ppm), seguidos de **C10** (138.68 ppm) e **C8** (em 138.17 ppm). Na região de aromáticos, aparece o **C2** em 130.40 ppm e **C5** em 129.57 ppm. O **C12** e **C12'** aparecem em um único sinal na região de 128.45 ppm, devido a simetria do grupo fenil. O **C6** aparece na região de 126.90 ppm, próximo ao **C13** que aparece em 126.31 ppm. O **C3** apareceu na região de 125.69 ppm, próximo ao **C4** que apareceu na região de 123.25 ppm. O **C11** e **C11'** aparecem em um único sinal na região de 119.64 ppm e o **C7** é menos desblindado, aparecendo na região de 115.84 ppm.

Figura 16 – Espectro de ^{13}C (DMSO, 126 MHz) do composto **66**



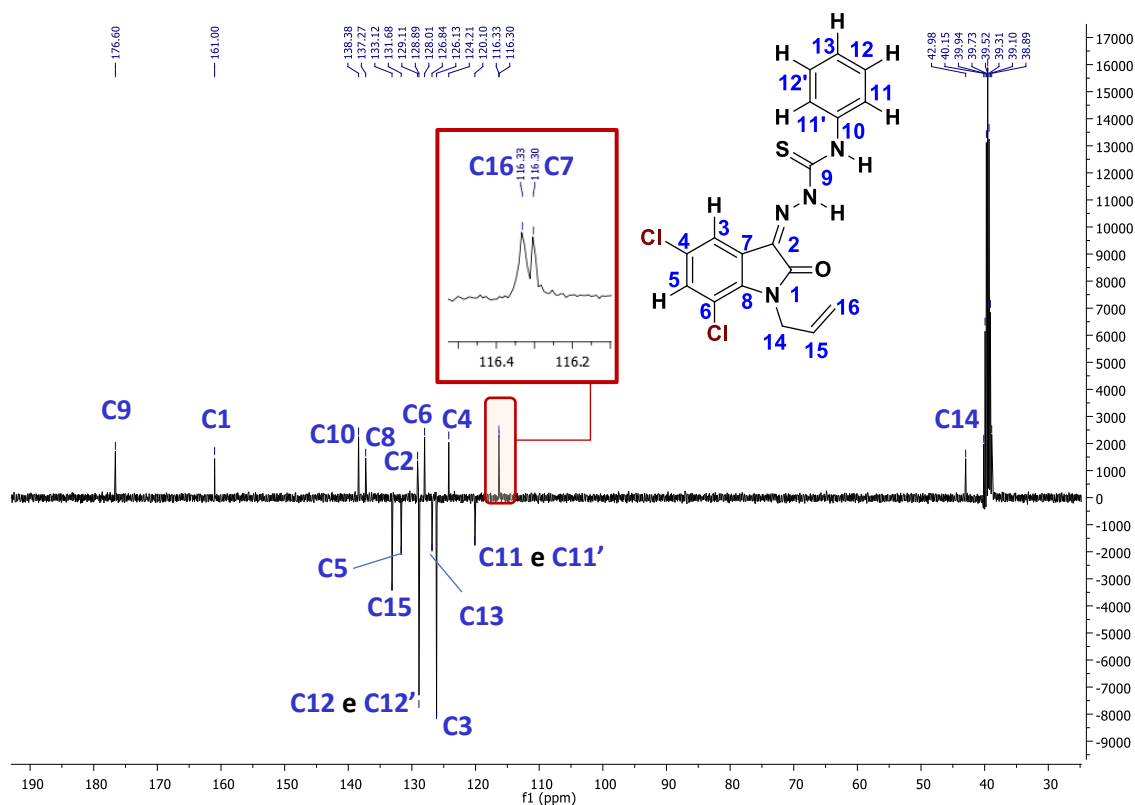
O espectro de RMN ^{13}C do composto **67** (Figura 17) tem como principal característica a presença do grupo metila (**C14**), o que aparece na região de 28.62 ppm. Os demais carbonos apresentaram sinais semelhantes ao espectro anterior.

Figura 17 – Espectro de ^{13}C (126 MHz, DMSO- d_6) do composto **67**



O espectro de RMN ^{13}C do composto **68** (Figura 18) diferencia-se pela presença dos sinais referentes aos carbonos do grupo alila. O **C14** é o menos desblindado e aparece na região de 42.98 ppm. O **C16** aparece na região de 116.33 ppm e pode ser melhor observado na expansão, devido à sua proximidade com o **C7**. O sinal do **C15** aparece na região de 133,12 ppm. Todos os outros sinais de carbono são semelhantes aos descritos nos espectros anteriores.

Figura 18 – Espectro de ^{13}C (101 MHz, DMSO- d_6) do composto 68



Todos os compostos de β -feniltiossemicarbazonas apresentaram sinais de deslocamentos químicos semelhantes aos descritos aqui e podem ser conferidos nos anexos desse trabalho.

5.4 Estudo *in silico* das β -feniltiossemicarbazonas 49d, 49g e 56-68

As propriedades farmacocinéticas dos compostos foram previstas *in silico* através do programa *PreADMET*, disponível online. Foram obtidos os valores de absorção intestinal humana (HIA), permeabilidade celular *in vitro* para células do tipo Caco-2 e MDCK, permeabilidade cutânea, ligação às proteínas plasmáticas (PP) e penetração da barreira hematoencefálica (BHE), além das possíveis interações com as enzimas do citocromo P450, como mostra a Tabela 5.

Tabela 5 - Predições farmacocinéticas dos compostos 49d, 49g e 56-68

	COMPOSTOS			ABSORÇÃO				DISTRIBUIÇÃO		METABOLISMO		INIBIÇÃO
	R ₁	R ₂	R ₃	HIA (%)	Caco2 (nm/seg)	MDCK (nm/seg)	P. cutânea (log Kp, cm/h)	PP (%)	BHE	CYP3A4	CYP2D6	CYP (Inibidor)
49G	H	H	H	93.66	20.91	215.96	-4.08	97.97	0.57	Substrato	Não	Não
56	H	H	Me	95.27	21.81	128.20	-3.28	100.00	0.13	Fracamente	Não	Não
57	H	H	Alil	95.74	22.75	117.92	-2.74	99.56	0.33	Fracamente	Não	Não
49D	Br	H	H	95.19	21.70	0.28	-3.91	99.09	0.96	Substrato	Não	Não
58	Br	H	Me	96.33	25.01	0.06	-3.18	100.00	0.36	Fracamente	Não	Não
59	Br	H	Alil	96.65	28.50	0.10	-2.64	98.68	0.87	Fracamente	Não	Não
60	NO ₂	H	H	95.57	19.75	0.89	-4.3	90.21	0.01	Fracamente	Não	CYP3A4
61	NO ₂	H	Me	95.66	19.75	0.26	-3.36	96.21	0.02	Fracamente	Não	Não
62	NO ₂	H	Alil	96.11	18.62	0.20	-2.82	98.46	0.02	Fracamente	Não	CYP2C9
63	Cl	H	H	94.63	21.58	72.39	-4.02	99.01	0.88	Substrato	Não	Não
64	Cl	H	Me	95.94	24.06	24.27	-3.31	100.00	0.32	Fracamente	Não	Não
65	Cl	H	Alil	96.33	26.91	45.98	-2.76	99.11	0.78	Fracamente	Não	Não
66	Cl	Cl	H	95.41	22.24	10.06	-3.79	99.99	1.43	Substrato	Não	Não
67	Cl	Cl	Me	96.48	26.0	1.68	-3.21	100.00	0.78	Fracamente	Não	Não
68	Cl	Cl	Alil	96.77	31.08	11.62	-2.67	98.97	1.65	Fracamente	Não	Não

Absorção intestinal – Alta absorção: 70-100%, Absorção moderada: 20-70%, Mal absorvida: 0-20%; **Permeabilidade em células Caco2 e MDCK** – Alta permeabilidade: >70 nm/seg, Média permeabilidade: 4-70 nm/seg, Baixa permeabilidade <4 nm/seg; **Permeabilidade cutânea** – Alta permeabilidade: <0,1, Baixa permeabilidade: > 0,1; **Ligação às proteínas plasmáticas** – Fortemente >90%, Fracamente <90%; **Distribuição na barreira hematoencefálica** – Alta distribuição > 2,0, Média distribuição 2,0-0,1, Baixa distribuição >1,0.

Todos os compostos apresentaram um elevado percentual de absorção intestinal (HIA), com valores acima de 70%, e apresentaram média permeabilidade em células Caco2¹ (valores entre 4-70). Em células MDCK², os compostos **49g**, **56** e **57** apresentaram alta permeabilidade (valores > 70); os compostos **63-66** e **68** apresentaram média permeabilidade (valores entre 4-70); os compostos **49d** e **58-62** e **67** apresentaram baixa permeabilidade (valores < 4). As células Caco2 e MDCK se correlacionam e são apontadas como modelos de confiança para predizer a absorção oral de um candidato a fármaco em seres humanos. Todos os compostos também apresentaram alta permeabilidade cutânea com valores abaixo de 0,1 (YEE et. al., 1997; YAZDANIAN et. al., 1998; YAMASHITA et. al., 2000; UNGELL, 2004; DOLABELA et. al., 2018).

Os compostos ligam-se fortemente às proteínas plasmáticas, como indicam os valores obtidos acima de 90%. Essas proteínas desempenham papel importante na etapa de distribuição. Após entrar na corrente sanguínea, o fármaco se encontra dividido em duas frações em equilíbrio dinâmico: uma fração livre, dissolvida no sangue, e uma fração ligada às proteínas plasmáticas. A fração livre é a responsável pelo efeito do fármaco e também é a fração disponível para ser metabolizada e excretada. A ligação às proteínas, presentes no sangue, pode influenciar no tempo de meia-vida do fármaco no corpo, onde a fração ligada pode ser liberada lentamente à medida que a fração livre é metabolizada. Assim, recupera-se o equilíbrio entre as fases ligadas e não-ligadas, garantindo um efeito mais prolongado (SILVA, et. al., 2006).

Esses compostos também apresentaram moderada permeabilidade da barreira hematoencefálica (valores entre 2,0-0,1), indicando que os compostos são menos propensos a causar neurotoxicidade (AJAY et. al., 1999; DOLABELA et. al., 2018).

Todos os compostos apresentaram metabolismo de fase 1 e por uma única enzima do citocromo P450 (SANTIAGO, 2003; CHENG et. al., 2009). Na Tabela 5, observa-se que a maioria dos compostos sem substituintes *N*-alquila atuam como substratos de

¹ **Células Caco2** são oriundas de adenocarcinoma de cólon humano (intestino grosso) e possuem a capacidade de diferenciar-se em enterócitos.

² **Células MDCK** (*Madin-Darby canine kidney*) são oriundas de rim canino e sofrem diferenciação em células epiteliais colunares com membranas semipermeáveis quando cultivadas.

CYP3A4, enquanto os compostos não alquilados e todos os análogos nitrados indicaram fraca atuação de substrato.

Os compostos nitrados **60** e **62** apresentaram inibição do CYP3A4 e CYP2C9 respectivamente. Segundo Cheng et. al. (2009), a inibição ocorre como resultado da ligação competitiva no local de ligação da enzima, impedindo a atividade das enzimas CYP450 de metabolizar outros agentes. Dolabela et. al. (2018) afirmam que substâncias que inibem especialmente CYP3A4 e CYP2C9 podem elevar a sua toxicidade devido à interferência na atividade metabólica dessas enzimas. Os compostos que não apresentaram inibição são considerados ideais e promissores, pois os resultados indicam que não há interferência no processo metabólico. No caso dos análogos nitrados, a inserção do grupo metila, composto **61**, resultou na ausência de inibição de enzimas CYP450.

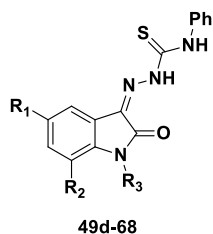
Segundo Dolabela et. al. (2018), compostos com caráter mais lipofílico tendem a permanecer no organismo por mais tempo e, devido ao processo de biotransformação, são convertidos em metabólitos com características mais hidrofílicas. Para entender melhor esse tipo de comportamento nas tiossemicarbazonas, foi feita a predição das propriedades físico-químicas dos compostos.

As propriedades físico-químicas foram previstas através do programa SwissADME, também disponível online, através do qual foram obtidos os valores de massa molar, número de aceptores e doadores de hidrogênio e Log P. Os dados obtidos estão sumarizados na Tabela 6.

Os compostos investigados apresentaram parâmetros em acordo com a regra de Lipinski. Essa regra propõe que a absorção ou permeabilidade da molécula é prejudicada quando a estrutura apresenta massa molar (M em g.mol^{-1}) maior que 500, número de aceptores de ligação de hidrogênio (n_{ALH}) maior que 10, número de doadores de hidrogênio (n_{DLH}) maior que 5 e a lipossolubilidade ($\log P$) maior que 5. Essas propriedades físico-químicas são necessárias para que as drogas apresentem boa solubilidade em água e permeabilidade intestinal, características importantes para a biodisponibilidade oral. Os compostos sintetizados não apresentaram nenhuma

violação dos parâmetros de Lipinski, características que são essenciais para estruturas candidatas a fármacos (LIPINSK et. al., 1997).

Tabela 6 - Predição das propriedades físico-químicas dos compostos **49d**, **49g** e **56-68**



Compostos	R ₁	R ₂	R ₃	M	nALH	nDLH	Log P	R.M.	nVL
49g	H	H	H	296,35	2	3	2,41	89,65	0
56	H	H	Me	310,37	2	2	2,91	94,55	0
57	H	H	Alil	336,41	2	2	3,02	103,69	0
49d	Br	H	H	375,24	2	3	2,69	97,35	0
58	Br	H	Me	389,27	2	2	3,21	102,25	0
59	Br	H	Alil	415,31	2	2	3,32	111,39	0
60	NO ₂	H	H	341,34	4	3	1,87	98,47	0
61	NO ₂	H	Me	355,37	4	2	2,41	103,37	0
62	NO ₂	H	Alil	381,41	4	2	2,50	112,51	0
63	Cl	H	H	330,79	2	3	2,59	94,66	0
64	Cl	H	Me	344,82	2	2	3,10	99,56	0
65	Cl	H	Alil	370,86	2	2	3,22	108,70	0
66	Cl	Cl	H	365,24	2	3	2,75	99,67	0
67	Cl	Cl	Me	379,26	2	2	3,18	104,57	0
68	Cl	Cl	Alil	405,30	2	2	3,03	113,71	0

M = Massa Molar (g.mol⁻¹); **nALH** = número de Aceptores de Ligação de Hidrogênio; **nDLH** = número de Doadores de Ligação de Hidrogênio; **RM** = Refratividade Molar; **nVL** = número de Violações de Lipinski.

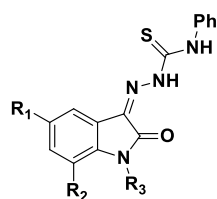
Todos os compostos apresentam, no mínimo, dois grupos aceptores e doadores de hidrogênio que funcionam como sítios de interações que podem reagir com outras moléculas (ex: resíduos de aminoácidos) através de ligações de hidrogênio. Com base nos valores de Log P, podemos inferir que os compostos não possuem um alto caráter lipofílico, mas a inserção de grupos *N*-alquila favoreceu o aumento do Log P dos compostos. Os resultados destas análises indicam que todos os compostos mostram conformidade com a regra de Lipinski e ADME, propriedades essenciais que são utilizadas com filtros para o *druglikeness*³ e têm a finalidade de aumentar a eficiência da descoberta de novas drogas (LIPINSK et. al., 1997; LIPINSK, 2004; DOLABELA et. al., 2018;).

5.5 Avaliação da atividade antibacteriana das β -feniltiossemicarbazonas **49d**, **49g** e **56-68**

Os compostos foram avaliados quanto à sua atividade antibacteriana para as seguintes cepas de bactérias: *Staphylococcus aureus* (ATCC-13150), *Escherichia coli* (ATCC -18739) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC – 9027). Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados conforme os protocolos de Cleeland e Squires (1991), Eloff (1998) e CLSI (2008). A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) das amostras sobre cepas bacterianas foi realizada através da técnica de microdiluição em caldo, com placa para cultura de células (TPP/ SWITZERLAND/EUROPA) contendo 96 poços com fundo em “U”.

Os resultados da avaliação da atividade antibacteriana estão descritos na Tabela 7. Entre as moléculas investigadas, somente o composto **64** foi capaz de inibir o crescimento dos microrganismos com concentração inibitória mínima (CIM) de 562,5 $\mu\text{g/mL}$ para *Staphylococcus aureus* (ATCC – 13150), *Escherichia coli* (ATCC -18739) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC – 9027).

³ **Druglikeness** é um conceito utilizado no *design* de drogas para determinar o quão “semelhante a uma droga” é uma substância em relação a fatores como a biodisponibilidade.

Tabela 7 - Resultados da avaliação da CIM ($\mu\text{g/mL}$) em cepas bacterianas

Compostos	R ₁	R ₂	R ₃	<i>S. aureus</i> (ATCC-13150)	<i>E. coli</i> (ATCC -18739)	<i>P. aeruginosa</i> (ATCC – 9027)
49g	H	H	H	+	+	+
56	H	H	Me	+	+	+
57	H	H	Alil	+	+	+
49d	Br	H	H	+	+	+
58	Br	H	Me	+	+	+
59	Br	H	Alil	+	+	+
60	NO ₂	H	H	+	+	+
61	NO ₂	H	Me	+	+	+
62	NO ₂	H	Alil	+	+	+
63	Cl	H	H	+	+	+
64	Cl	H	Me	562,5	562,5	562,5
65	Cl	H	Alil	+	+	+
66	Cl	Cl	H	+	+	+
67	Cl	Cl	Me	+	+	+
68	Cl	Cl	Alil	+	+	+
Controle: Meio de cultura				-	-	-
Controle: Micro-organismo				+	+	+
Controle: Gentamicina				-	-	-

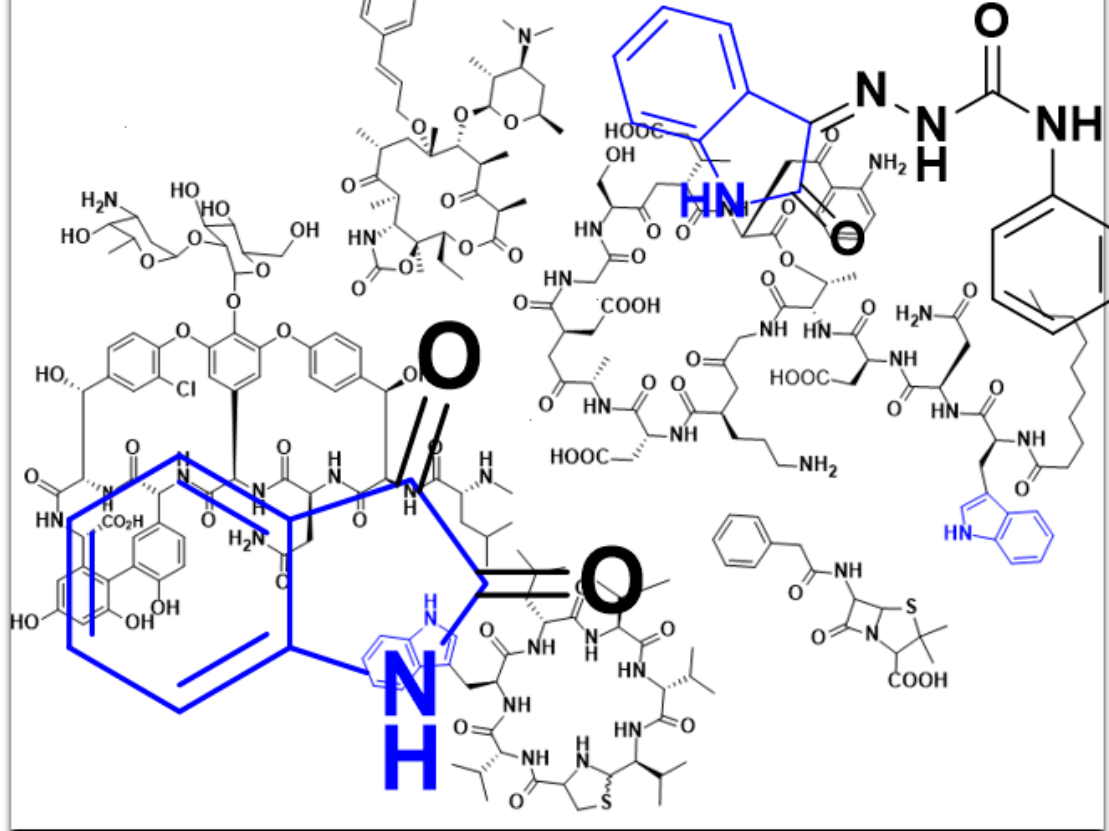
(+): Crescimento do micro-organismo (-): Não houve crescimento microbiano.

O produto foi considerado ativo quando inibiu, pelo menos, 50% dos micro-organismos utilizados nos ensaios de atividade antibacteriana (CLEELAND E SQUIRES, 1991; HAFIDH et al., 2011). A atividade antibacteriana dos produtos foi interpretada e considerada como ativa ou inativa, conforme os seguintes critérios: até 600 µg/mL= forte atividade; 600-1500 µg/mL= moderada atividade; acima de 1500 µg/mL= fraca atividade ou produto inativo (HOLETZ et al., 2002; SARTORATTO et al., 2004; HOUGHTON et al., 2007).

A tiossemicarbazona derivada da 5-cloro-1-metil-isatina (**64**) se mostrou promissora por ser a única capaz de inibir o crescimento visível dos micro-organismos investigados, conforme os critérios de Holetz et al. (2002), Sartoratto et al. (2004) e Houghton et al. (2007), apresentando forte atividade. Apesar dos demais compostos não apresentarem nenhuma atividade inibitória, o composto **64** mostrou-se ativo, indicando conformidade com a literatura que aponta vários análogos de β-feniltiossemicarbazonas com atividade antibacteriana (ZHANG et al., 2015).

Vale ressaltar que, de acordo com o estudo *in silico* realizado, o composto **64** possui uma alta absorção intestinal, junto à média permeabilidade de células Caco2 e MDCK, que indicam que **64** possui média absorção em células do intestino grosso e média permeabilidade de células renais, configurando uma boa biodisponibilidade oral.

O estudo *in silico* também apontou a alta capacidade de **64** se ligar às proteínas plasmáticas e moderada permeabilidade da barreira hematoencefálica, o que indica baixa capacidade de gerar neurotoxicidade. Além do mais, o estudo revelou que a enzima CYP3A4 é a via metabólica do composto que, por sua vez, não apresentou nenhuma ação inibitória de enzimas do citocromo CYP450. Os resultados de ADME são corroborados pelo estudo físico-químico que mostrou que **64** está em conformidade com a regra de Lipinski. Estes resultados preliminares indicam que esse composto pode vir a tornar-se um agente de combate antibacteriano.



Capítulo 6: Conclusão

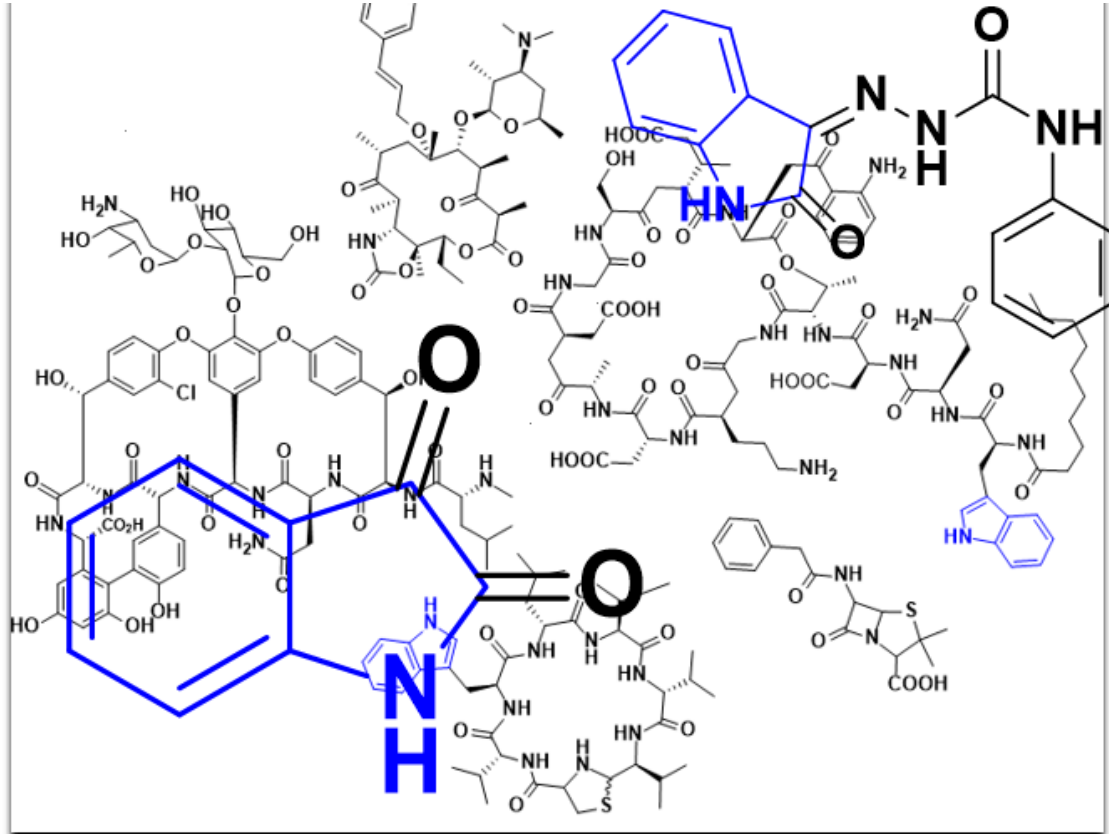
6 CONCLUSÃO

O presente trabalho leva a concluirmos que todas as metodologias empregadas foram eficientes para a obtenção dos compostos propostos. Todos os intermediários derivados de isatina foram obtidos com rendimentos similares aos descritos na literatura (62-93%). Em especial, o controle de temperatura na reação de cloração da isatina foi indispensável para obtenção do produto monoclorado com um elevado rendimento (95%), tendo em vista que, em trabalhos anteriores do nosso grupo, a isatina monoclorada era obtida com baixos rendimentos, devido à formação da isatina diclorada que tinha sua formação favorecida pela condução da reação à temperatura ambiente.

O reator de micro-ondas mostrou-se eficiente para obtenção das β -feniltiossemicarbazonas que apresentaram rendimentos semelhantes aos descritos na literatura (50-94%) em tempos reacionais de 10 minutos. Consideramos que o emprego do reator de microondas foi indispensável para diminuir o tempo de reação desses compostos, tornando esse tipo de síntese mais rápida e eficiente.

O estudo *in silico* indicou que os compostos da série apresentam conformidade com a regra de Lipinski e ADME, propriedades essenciais que são utilizadas como filtros para aumentar a eficiência da descoberta de novas drogas.

O estudo da atividade antibacteriana mostrou que entre todos os compostos, apenas a tiossemicarbazona derivada da 5-cloro-1-metil-isatina (**64**) foi capaz de inibir o crescimento das cepas de *S. aureus* (ATCC-13150), *E. coli* (ATCC -18739) e *P. aeruginosa* (ATCC – 9027) com CIM de 562,5 $\mu\text{g/mL}$, indicando forte atividade inibitória.



Capítulo 7: Parte experimental

7 PARTE EXPERIMENTAL

7.1 Materiais e métodos

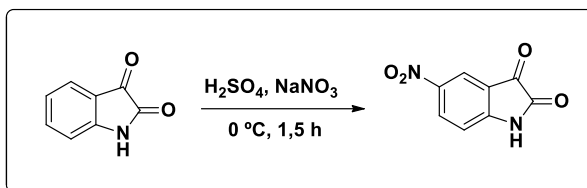
Neste trabalho foram utilizados os reagentes adquiridos através da Aldrich e solventes adquiridos da Vetec, ambos com alto grau de pureza. O DMF utilizado na preparação dos derivados alquilados da isatina foi seco, utilizando peneira molecular de 3Å e mantido sob atmosfera de Argônio. Os produtos formados foram acompanhados pela técnica de cromatografia de camada delgada analítica (CCDA), utilizando cromatofolhas de alumínio da marca Silicycle, suportadas em gel de sílica 60 (fase estacionária), contendo indicador de fluorescência a 254nm. A fase móvel utilizada foi uma mistura de Acetato de Etila/Hexano (1:1 e 3:7). As placas contendo amostras foram analisadas em câmara de ultravioleta com comprimento de onda de 254nm. A purificação dos compostos obtidos foi feita através de separação líquido-líquido, utilizando Acetato de Etila como solvente extrator, e filtração a vácuo, utilizando água destilada gelada para lavagem dos precipitados. Os solventes foram evaporados sob pressão reduzida e temperatura controlada em evaporador rotatório da marca Fisaton.

As reações que ocorreram sob irradiação de micro-ondas foram realizadas em um reator micro-ondas CEM, modelo Discover-System benchmate, equipado com um sistema de irradiação contínua de μ W com potência programável 0-300 W, com temperatura monitorada via sensor de infravermelho. Foram utilizados frascos de vidro Pyrex de 10mL com parede espessa, específicos do equipamento, e selados com septos modo “closed vessel”. Utilizou-se resfriamento da cavidade de micro-ondas durante o aquecimento, para manter a temperatura controlada durante a reação no valor pré-selecionado.

Todos os compostos sintetizados neste trabalho foram caracterizados mediante a análise espectroscópica de RMN ^1H e ^{13}C , utilizando um espectrômetro Varian Mercury 500, operando a 400 MHz para RMN ^1H e 100 MHz para RMN ^{13}C , disponível na Central Analítica da Universidade Federal da Paraíba. Os deslocamentos químicos foram relatados em relação ao padrão interno Tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0$), usando DMSO- d_6

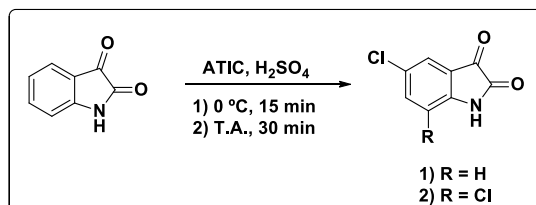
como solvente. A técnica de ATP foi utilizada para observar a multiplicidade dos espectros de carbono, onde os sinais são colocados em fase “para cima” para os carbonos quaternários e metilênicos e em fase “para baixo” para os carbonos do tipo metiínico e metílicos.

7.2 Procedimento para nitração da isatina



Em um Erlenmeyer foi adicionado 850 mg (10 mmol) de NaNO_3 e 10 mL de H_2SO_4 e colocado em agitação a 0 °C. Em seguida foi adicionado, em outro Erlenmeyer, uma mistura contendo 1,470 g (10 mmol) de isatina e 10 mL de H_2SO_4 concentrado que foi mantida em agitação por 5 min a 0 °C para a solubilizar a isatina. Na sequência, a solução nitrante foi adicionada ao Erlenmeyer contendo isatina e a mistura foi mantida em agitação sobre banho de gelo a 0 °C por aproximadamente 1 hora e 30 minutos. A reação foi acompanhada por CCD. No fim da reação, a mistura foi vertida em outro Erlenmeyer contendo gelo picado e observou-se a formação de um precipitado amarelo que foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada gelada. O produto precipitado foi obtido com 73% de rendimento.

7.3 Procedimentos para cloração da isatina



A monocloração e a dicloração da isatina seguem procedimentos bastante parecidos diferindo apenas no tempo total de reação e a manipulação da temperatura no decorrer da reação. Os dois métodos são descritos a seguir.

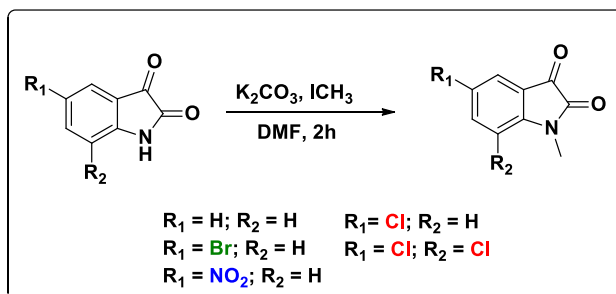
7.3.1 Procedimento para monocloração da isatina

Em um Erlenmeyer foi adicionado 1,045 g (4,5 mmol) ATIC e 6 mL de H_2SO_4 que foi mantido em agitação sobre banho de gelo. Em seguida foi adicionado 1,470 g (10 mmol) de isatina e 6 mL de H_2SO_4 (adição gota a gota). A mistura foi mantida em agitação magnética por 15 min sobre banho de gelo a 0°C . O acompanhamento da reação foi feito por CCD. No fim da reação, a mistura foi vertida sob gelo picado e foi observado a formação de um precipitado alaranjado que foi lavado com água fria em filtração a vácuo. O produto precipitado foi obtido com 95% de rendimento.

7.3.2 Procedimento para dicloração da isatina

Em um Erlenmeyer foi adicionado 2,320 g (10 mmol) ATIC e 6 mL de H_2SO_4 que foi mantido em agitação sobre banho de gelo. Em seguida foi adicionado 1,470 g (10 mmol) de isatina e 6 mL de H_2SO_4 (adição gota a gota). O banho de gelo foi removido e a mistura foi mantida em agitação magnética por 30 min em temperatura ambiente. O acompanhamento da reação foi feito por CCD. No fim da reação, a mistura foi vertida sob gelo picado e foi observado a formação de um precipitado alaranjado que foi lavado com água fria em filtração a vácuo. O produto precipitado foi obtido com 92% de rendimento.

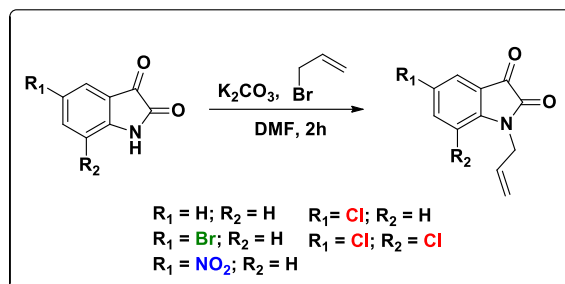
7.4 Procedimento para síntese dos derivados de isatina metilados



Em um balão de 100mL foram adicionados 5mL de DMF previamente seco, 5 mmol da isatina (ou seus derivados) e K_2CO_3 (1.5 equivalentes) mantendo a mistura sob agitação magnética e temperatura ambiente. Em seguida, foi adicionado 0,35 mL de

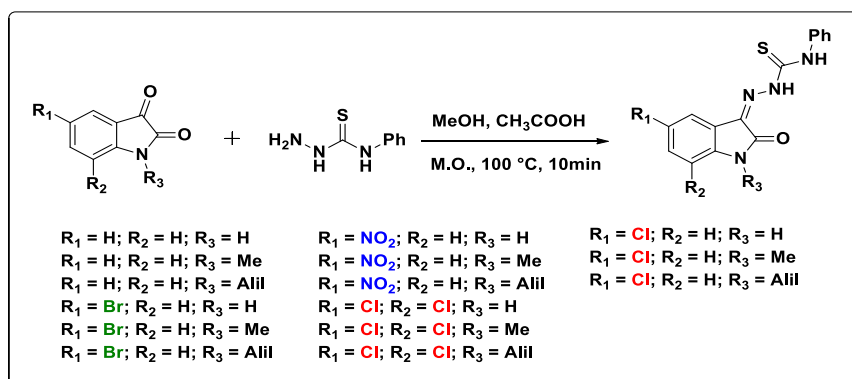
iodeto de metila (1,2 equivalente). A reação foi acompanhada via CCD. Após 2 horas de reação, foi realizada extração líquido-líquido com acetato de etila e água destilada. A fase orgânica foi tratada com NaSO₄, filtrada e evaporada a pressão reduzida, obtendo-se um sólido avermelhado, com rendimentos variando de 62 a 93%.

7.5 Procedimento para síntese dos derivados de isatina alilados



Em um balão de 100 mL foram adicionados 5 mL de DMF previamente seco, 5 mmol da isatina e K₂CO₃ (1.5 equivalentes), mantendo a mistura sob agitação magnética em temperatura ambiente. Em seguida, foi adicionado 0,5 mL de brometo de alila (1,2 equivalente). A reação foi acompanhada via CCD. Após 2 horas de reação, foi realizada extração líquido-líquido com acetato de etila e água destilada. Em seguida, após ser submetido a tratamento com NaSO₄, a fase orgânica foi filtrada e evaporada sob pressão reduzida obtendo um sólido avermelhado, com rendimentos variando de 75 a 88%.

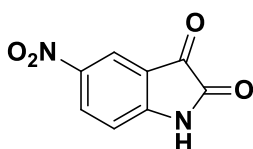
7.6 Procedimento geral para síntese das β-feniltiossemicarbazonas



Em um tubo de vidro específico para reator de micro-ondas, foi adicionado 0,5 mmol da isatina (ou derivados) e 3mL de MeOH, juntamente com um agitador

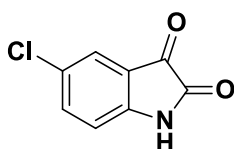
magnético. A mistura foi mantida em agitação por 2 min para solubilização. Em seguida, foi adicionado ao tubo 0,5 mmol da N-feniltiosemicarbazida, 2 mL de MeOH e 4 gotas de ácido acético glacial. O tubo foi colocado em um reator de micro-ondas a 100 °C (leitura monitorada por sensor de infravermelho) com tempo de rampa (“Run Time”) de 5 minutos e tempo de reação (“Hold Time”) de 10 minutos em condições de vaso fechado (“Closed Vessel”).

7.7 Deslocamentos químicos dos Compostos



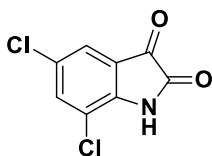
RMN ^1H (200 MHz, DMSO- d_6): δ 7.09 (d, 1H, Ar-H), 8.21 (d, 1H, Ar-H), 8.45 (m, 1H, Ar-H) 11.7 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): δ 116.8, 122.5, 123.9, 137.4, 146.9, 159.5, 164.2 186.7.



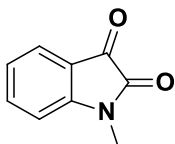
NMR ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 6,86 (d, J = 8,2 Hz, 1H, H7); 7,39 (s, 1H, H4); 7.46 (d, J = 8,2 Hz, 1H, H6); 11,1 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (CDCl $_3$ -DMSO- d_6 , 50 MHz): δ 112,7; 117,2; 123,1; 126,6; 136,3; 148,1; 157,7; 182,3.



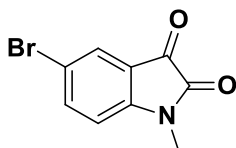
RMN ^1H (200 MHz, DMSO- d_6): δ 7.56 (d, 1H, Ar-H), 7.84 (d, 1H, Ar-H), 11.6 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): δ 177.1, 120.8, 122.9, 127.1, 135.9, 146.6, 159.5, 182.4.



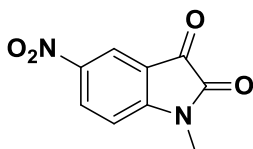
RMN ^1H (200 MHz, DMSO- d_6): δ 3.13 (s, 3H, CH₃), 7.11 (m, 2H, Ar-H), 7.60 (m, 2H, Ar-H).

RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): δ 26.1, 38.7, 39.1, 39.5, 39.9, 40.3, 110.5, 117.4, 123.2, 124.3, 138.3, 151.4.



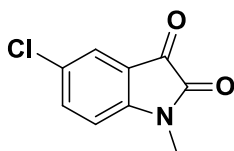
NMR ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7.83 (dd, 1H, $J = 2.0, 8.8$ Hz, H-6), 7.68 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz, H-6), 7.11 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz, H-7), 3.12 (s, 3H, CH₃).

NMR ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 184.99, 169.32, 159.99, 146.44, 134.87, 129.46, 117.99, 115.86, 112.90, 24.07.



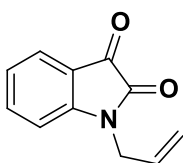
RMN ^1H (200 MHz, DMSO- d_6): δ 3.21 (s, 3H, CH₃), 7.34 (d, 1H, Ar-H), 8.20 (s, 1H, Ar-H), 8.53 (dd, 1H, Ar-H).

RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): δ 111.0, 119.0, 131.2, 142.9, 148.3, 155.7, 158.9, 181.3.



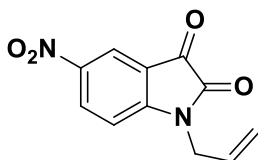
RMN ^1H (200 MHz, DMSO- d_6): 3,16 (3H; s); 6,89 (1H; d; J 8,0 Hz); 7,43 (1H; s); 7,52 (1H; d; J 8,0 Hz); 11,43 (1H; s; NH).

RMN ^{13}C 50 MHz (DMSO- d_6): 25,4 (CH₃); 116,6 (CH); 123,1 (q); 129,5 (CH); 134,0 (q); 142,6 (CH); 154,6 (q); 162,6 (q); 187.



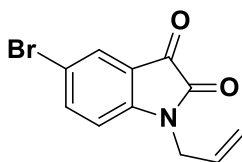
RMN ^1H (200 MHz, DMSO- d_6): δ 4.31 (d, 2H, CH₂), 5.27 (m, 2H, =CH₂), 5.85 (m, 1H, =CH), 7.09 (m, 1H, Ar-H), 7.60 (m, 1H, Ar-H).

RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): δ 41.7, 111.1, 117.6, 123.2, 124.4, 131.3, 138.0, 150.5, 157.9, 183.2.



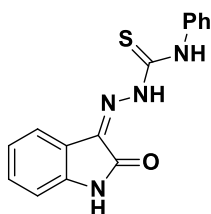
RMN ^1H (200 MHz, DMSO- d_6): δ 4.40 (d, 2H, CH₂), 5.30 (dd, 2H, =CH₂), 5.85 (m, 1H, =CH), 7.26 (d, 1H, Ar-H), 8.26 (d, 1H, Ar-H), 8.51 (dd, 1H, Ar-H).

RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): δ 42.1, 111.4, 117.7, 118.2, 119.1, 130.8, 132.8, 143.0, 154.8, 158.7, 181.0.



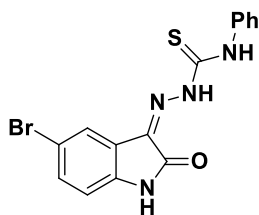
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7.74-7.60 (m, 2H), 6.80 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 5.80 (dddd, J = 17.1, 10.6, 5.3, 3.0 Hz, 1H), 5.35-5.24 (m, 2H), 4.34 (dd, J = 3.6, 1.7 Hz, 2H).

RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3): δ 182.03, 157.14, 149.47, 140.50, 129.93, 128.14, 118.94, 118.71, 116.67, 112.59, 42.61.



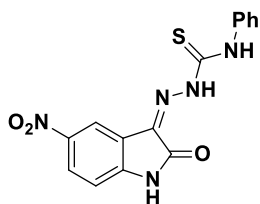
RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 12.74 (s, 1H), 11.19 (s, 1H), 10.75 (s, 1H), 7.71 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.36 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 7.31 (td, J = 7.8, 1.0 Hz, 1H), 7.21 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.04 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 7.8 Hz, 1H).

RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO): δ 176.41, 162.75, 142.53, 138.50, 132.35, 131.49, 128.45, 126.16, 125.71, 122.43, 121.45, 119.95, 111.15.



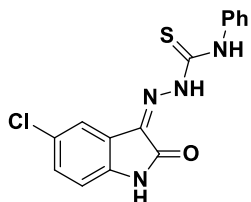
RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 12.61 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 10.87 (s, 1H), 7.99 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.50 (dd, J = 8.3, 2.1 Hz, 1H), 7.43 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 7.28 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 8.3 Hz, 1H).

RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO): δ 176.32, 162.33, 141.49, 138.29, 133.38, 130.90, 128.46, 126.27, 125.75, 123.79, 122.21, 117.40, 114.23, 113.02.



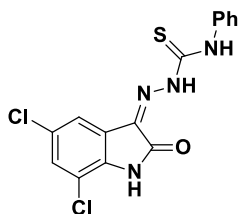
RMN ^1H (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.54 (s, 1H), 11.85 (s, 1H), 11.09 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.27 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.45 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 7.31 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 7.12 (d, J = 8.5 Hz, 1H).

RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO): δ 176.47, 163.05, 147.54, 142.78, 138.30, 130.31, 128.53, 127.10, 126.46, 126.08, 120.94, 116.77, 111.26.



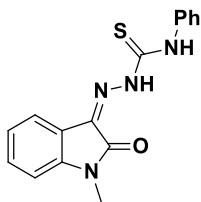
RMN ^1H (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.61 (s, 1H), 11.35 (s, 1H), 10.89 (s, 1H), 7.86 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.43 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 7.38 (dd, J = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 7.28 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.95 (d, J = 8.4 Hz, 1H).

RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO): δ 176.45, 162.62, 141.24, 138.40, 131.22, 130.80, 128.63, 126.76, 126.44, 125.88, 121.93, 121.16, 112.74.



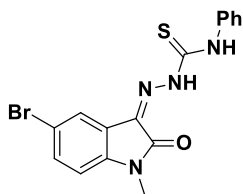
RMN ^1H (500 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.56 (s, 1H), 11.80 (s, 1H), 10.92 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.59 (d, J = 5.8 Hz, 2H), 7.45 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 7.30 (t, J = 7.4 Hz, 1H).

RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO): δ 176.26, 162.50, 138.68, 138.17, 130.40, 129.57, 128.45, 126.90, 126.31, 125.69, 123.25, 119.64, 115.84.



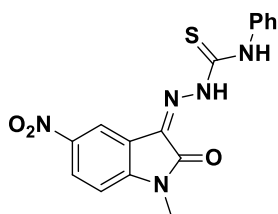
RMN ^1H (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.72 (s, 1H), 10.84 (s, 1H), 7.81 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.49 – 7.40 (m, 3H), 7.31 – 7.25 (m, 1H), 7.20 – 7.13 (m, 2H), 3.23 (s, 3H).

RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO): δ 176.35, 160.85, 143.72, 138.44, 131.46, 131.33, 128.41, 126.13, 125.67, 122.88, 121.03, 119.20, 109.87, 25.75



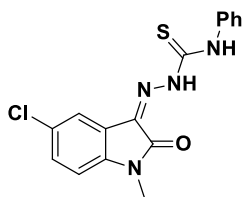
RMN ^1H (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.52 (s, 1H), 10.90 (s, 1H), 8.01 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.64 – 7.57 (m, 3H), 7.47 – 7.41 (m, 2H), 7.32 – 7.27 (m, 1H), 7.19 – 7.08 (m, 1H), 3.22 (d, J = 6.6 Hz, 3H).

RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO): δ 176.29, 160.46, 142.71, 138.27, 133.21, 129.98, 128.47, 126.30, 125.77, 123.42, 121.39, 114.85, 111.83, 25.88.



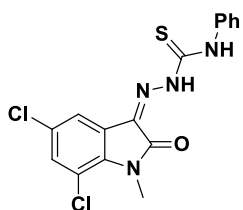
RMN ^1H (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.45 (s, 1H), 11.10 (s, 1H), 8.68 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 8.35 (dd, J = 8.7, 2.3 Hz, 1H), 7.59 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.46 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 7.39 – 7.35 (m, 1H), 7.31 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 3.30 (s, 3H).

RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO): δ 176.45, 161.33, 148.39, 143.12, 138.27, 129.33, 128.55, 126.97, 126.51, 126.10, 120.18, 116.26, 111.78, 26.28.



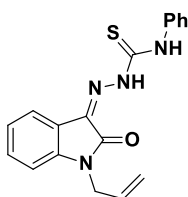
RMN ^1H (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.52 (s, 1H), 10.90 (s, 1H), 7.88 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.49 – 7.41 (m, 3H), 7.29 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.16 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 3.22 (s, 3H).

RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO): δ 176.27, 160.61, 142.36, 138.28, 130.45, 130.15, 128.49, 127.19, 126.32, 125.77, 121.06, 120.69, 111.41, 25.92.



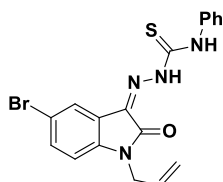
RMN ^1H (500 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.44 (s, 1H), 10.95 (s, 1H), 7.92 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.59 (d, J = 7.7 Hz, 2H), 7.54 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.45 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 7.31 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 3.49 (s, 3H).

RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO): δ 176.22, 160.67, 138.13, 137.73, 131.13, 128.74, 128.46, 127.43, 126.37, 125.76, 123.64, 119.57, 116.10, 28.62.



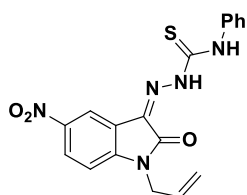
RMN ^1H (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.70 (s, 2H), 10.86 (s, 2H), 7.84 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.62 (d, J = 8.5 Hz, 5H), 7.49 – 7.40 (m, 7H), 7.28 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 7.23 – 7.15 (m, 3H), 7.10 (dd, J = 7.9, 4.0 Hz, 3H), 5.90 (ddt, J = 20.5, 10.2, 5.1 Hz, 3H), 5.31 – 5.19 (m, 6H), 4.41 (d, J = 5.0 Hz, 5H).

RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO): δ 176.35, 160.57, 142.79, 138.44, 131.45, 131.27, 131.24, 128.42, 126.15, 125.67, 123.31, 122.92, 121.20, 119.33, 117.45, 110.37, 99.53, 41.47, 41.38, 40.15, 39.94, 39.73, 39.52, 39.31, 39.10, 38.89.



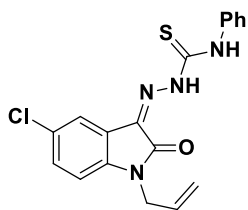
RMN ^1H (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.52 (s, 1H), 10.93 (s, 1H), 8.06 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.67 – 7.56 (m, 3H), 7.44 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 7.30 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.04 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.87 (ddd, J = 22.1, 10.1, 4.9 Hz, 1H), 5.22 (t, J = 13.1 Hz, 2H), 4.40 (d, J = 4.6 Hz, 2H).

RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO): δ 176.29 (s), 160.18 (s), 141.78 (s), 138.26 (s), 129.82 (s), 121.59 (s), 117.53 (s), 114.94 (s), 41.46 (s).



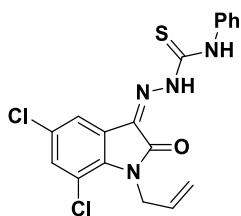
RMN ^1H (500 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.46 (s, 1H), 11.12 (s, 1H), 8.74 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.33 (dd, J = 8.7, 2.3 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.54 – 7.42 (m, 2H), 7.31 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 5.99 – 5.85 (m, 1H), 5.25 (dd, J = 25.0, 13.8 Hz, 2H), 4.50 (s, 2H).

RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO): δ 176.40, 160.93, 147.39, 143.17, 138.20, 130.91, 129.16, 128.47, 126.78, 126.42, 125.95, 120.35, 117.69, 116.39, 110.51, 41.74.



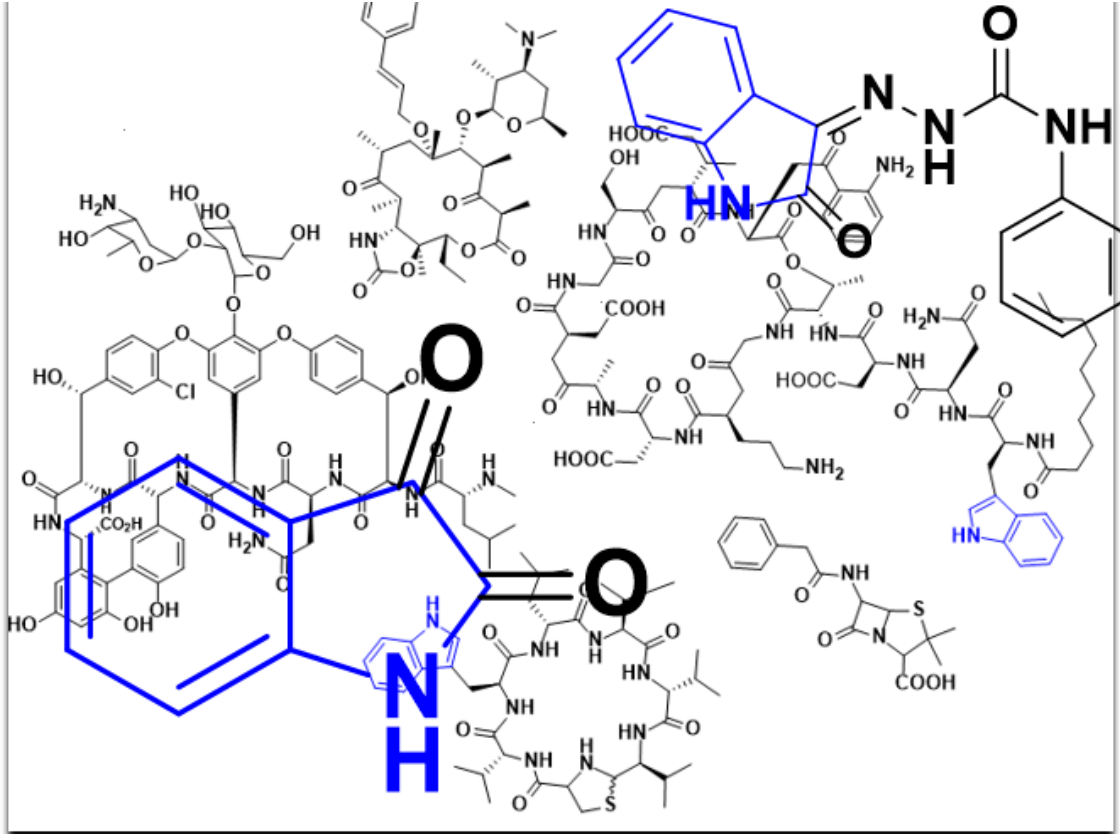
RMN ^1H (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.53 (s, 1H), 12.53 (s, 1H), 10.93 (s, 1H), 10.93 (s, 1H), 7.95 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.63 – 7.59 (m, 2H), 7.50 – 7.41 (m, 3H), 7.33 – 7.27 (m, 1H), 7.12 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 5.94 – 5.82 (m, 1H), 5.27 – 5.18 (m, 2H), 4.41 (dd, J = 3.5, 1.5 Hz, 2H).

RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO): δ 176.31, 160.35, 141.44, 138.25, 131.24, 130.40, 130.02, 128.48, 127.24, 126.31, 125.72, 121.25, 120.84, 117.51, 111.92, 41.46.



RMN ^1H (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.45 (s, 1H), 11.01 (s, 1H), 7.97 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.55 (d, J = 1.9 Hz, 2H), 7.44 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 7.30 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.03 – 5.93 (m, 1H), 5.16 (dd, J = 10.6, 0.9 Hz, 1H), 5.07 (dd, J = 17.3, 0.9 Hz, 1H), 4.66 – 4.62 (m, 2H).

RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO): δ 176.60, 161.00, 138.38, 137.27, 133.12, 131.68, 129.11, 128.89, 128.01, 126.84, 126.13, 124.21, 120.10, 116.33, 116.30, 42.98.



Referências

REFERÊNCIAS

AJAY, G. W. B.; MARK, A. M. **Designing Libraries with CNS Activity.** *J. Med. Chem.*, 42, 4942-4951, 1999.

ALI, A. Q.; TEOH, S. G.; ELTAYEB, N. E.; AHAMED, M. B. K.; MAJID, A. A. **Synthesis of nickel(II) complexes of isatin thiosemicarbazone derivatives: in vitro anti-cancer, DNA binding, and cleavage activities.** *Journal of Coordination Chemistry*, 67, 20, 3380–3400, 2014.

BALACHANDRAN, C.; HARIBABU, J.; JEYALAKSHMI, K.; BHUVANESH, N. S. P.; KARVEMBU, R.; EMI, N.; AWALE, S. **Nickel(II) bis(isatin thiosemicarbazone) complexes induced apoptosis through mitochondrial signaling pathway and G0/G1 cell cycle arrest in IM-9 cells.** *Journal of Inorganic Biochemistry*, 182, 208–221, 2018.

BAUER, D. J.; SADLER, P. W. **THE STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS OF THE ANTIVIRAL CHEMOTHERAPEUTIC ACTIVITY OF ISATIN β -THIOSEMICARBAZONE.** *Brit. J. Pharmacol.*, 15, 101, 1960.

BERALDO, H. **Semicarbazonas e tiossemicarbazonas: o amplo perfil farmacológico e usos clínicos.** *Quim. Nova*, Vol. 27, No. 3, 461-471, 2004.

BHRIGU, B.; PATHAK, D.; SIDDIQUI, N.; ALAM, M. S.; AHSAN, W. **Search for Biological Active Isatins: A Short Review.** *Int J Pharm Sci Drug Res*, 2, 229–235, 2010.

BORGES, R. S.; JESUS, A. C. S. P. S.; CARDOSO, L. F.; NERI, C. L.; MORAIS, R. B.; BARROS, V. B.; DA SILVA, A. B. F. **Avanços químicos no planejamento e desenvolvimento de derivados do paracetamol.** *Quim. Nova*, Vol. 41, No. 10, 1167-1177, 2018.

CHAVAN, H. V.; SIRSA, D. M.; MULE, Y. B. **An environmentally benign synthesis of arylhydrazones with aqueous extract of *Acacia* pods as a natural surfactant type catalyst.** *Iran. Chem. Commun.*, 4, 373-388, 2016.

CHENG, J. W. M.; FRISHMAN, W. H.; ARONOW, W. S. **Updates on Cytochrome P450-Mediated Cardiovascular Drug Interactions.** *American Journal of Therapeutics*, 16, 155-163, 2009.

CLEELAND, R.; SQUIRES, E. **Evaluation of new antimicrobials “in vitro” and in experimental animal infections.** In: LORIAN, V. M. D. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Williams & Wilkins, p. 739-788, 1991.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE^a. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts.** *Approved standard M27-A3*. Pennsylvania, United States of America: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.

CUNHA, A. C.; PAIXÃO, F. M.; SOUZA, M. C. B. V.; FEIRREIRA, V. F. **CLORETO ISOCIANÚRICO E CLORETO CIANÚRICO: ASPECTOS GERAIS E APLICAÇÕES EM SÍNTESE ORGÂNICA.** *Quim. Nova*, Vol. 29, No. 3, 520-527, 2006.

CUNHA S.; FONTES, T.; ARAÚJO, D. M.; RIATTO, V. B. **Cloração mecanoquímica da acetanilida.** *Quim. Nova*, Vol. 41, No. 1, 116-119, 2018.

DA SILVA, B. N. M.; BASTOS, R. S.; SILVA, B. V.; PINTO, A. C. **Síntese de 5-nitroisatina e 5-cloro-isatina a partir da isonitrosoacetanilida.** *Quim. Nova*, Vol. 33, No. 10, 2279-2282, 2010.

DAINA, A.; MICHELIN, O.; ZOETE, V. **SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, druglikeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules.** *Sci. Rep.*, 7, 42717, 1-13, 2017.

DEVI, K. R.; PATNAIK, K. S. K. R.; ASHOK, D.; BAKSHI, V.; BATHULA, R.; RANI, S. S. **Microwave irradiation synthesis and antioxidant activity of isatin-oxadiazole derivatives.** *Int. J. Adv. Res.*, 5(6), 2329-2336, 2017.

DOLABELA, M. F.; DA SILVA, A. R. P.; OHASHI, L. H.; BASTOS, M. L. C.; DA SILVA, M. C. M.; VALE, V. V. **Estudo in silico das atividades de triterpenos e iridoides isolados de Himatanthus articulatus (Vahl) Woodson.** *Revista Fitos*, Rio de Janeiro, 12(3), 227-242, 2018.

ELOFF, J. N. A sensitive and quick microplatemethod to determine the Minimal Inhibitory Concentration of plant extracts for bacteria. **Planta Medica**, v. 64, n. 8, p. 711-713, 1998.

GANG, C.; YE, W.; XIAOJIANG, H.; SHUZHEN, M.; QIANYUN, S. **Simple isatin derivatives as free radical scavengers: Synthesis, biological evaluation and structure-activity relationship.** *Chemistry Central Journal*, 5:37, 2011.

GARDEN, S. J.; TORRES, J. C.; DA SILVA, L. E.; PINTO, A. C. **A convenient methodology for the N-Alkylation of isatin compounds.** *Synthetic Communications*, 28(9), 1679-1689 (1998).

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. **Antibióticos: importância terapêutica e perspectiva para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes.** *Quim. Nova*, 33, 3, 667-679, 2010.

GUO, H. **Isatin derivatives and their anti-bacterial activities.** *European Journal of Medicinal Chemistry*. 164, 678-688, 2019.

HAFIDH, R. R., ABDULAMIR, A. S., VERN, L. S., BAKAR, F. A., ABAS, F., JAHANSHIRI, F. AND SEKAWI, Z. Inhibition of growth of highly resistant bacterial and fungal pathogens by a natural product. **The Open Microbiology Journal**, v. 5, p. 98-106, 2011.

HARVISON, P. J.; FORTE, A. J.; NELSON, S. D. **Comparative Toxicities and Analgesic Activities of Three Monomethylated Analogues of Acetaminophen.** *J. Med. Chem.*, 29, 1737-1743, 1986.

HOLETZ, F.B.; HOMES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. **Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases.** *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. **Journal of Ethnopharmacology**, v.110, p.391-400, 2007.

KANG, I.; WANG, L.; HSU, T.; YUEH, A.; LEE, C.; LEE, Y.; LEE, C.; CHAO, Y.; SHIH, S.; CHERN, J. **Isatin- β -thiosemicarbazones as potent herpes simplex virus inhibitors.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21, 1948–1952, 2011.

KAPPE, C. O.; DALLINGER, D. **The impact of microwave synthesis on drug discovery.** *Nature Reviews Drug Discovery*, 5, 51-63, 2006.

KARALI, N.; GÜRSOY, A.; TERZIOGLU, N.; ÖSKIRIMLI, S.; HÜLYA, O.; EKINCI, A. C. **Synthesis and Preliminary CNS Depressant Activity Evaluation of New 3-[(3-Substituted-5-methyl-4-thiazolidinon-2-ylidene)hydrazono]-1H-2-indolinones and 3-[(2-Thioxo-3-substituted-4,5-imidazolidine-dion-1-yl)imino]-1H-2-indolinones.** *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, 331, 254-258, 1998.

KHORSHIDI, A.; TABATABAEIAN, K. **An ultrasound-promoted green approach for the synthesis of 3-(indol-3-yl)-3--hydroxyindolin-2-ones catalyzed by Fe(III).** *J Serb Chem Soc*, 76, 1347–1353, 2011.

KUMAR, V.; SINGH, A.; NISHA, N.; BAINS, T.; HAHN, H. J.; LIU, N.; TAM, C.; CHENG, L.; KIM, J. H.; DEBNATH, A.; LAND, K. **Design, Synthesis and Preliminary Antimicrobial Evaluation of *N*-Alkyl Chain Tethered C-5 Functionalized Bis-Isatins.** *Med. Chem. Commun.*, 1-12, 2017.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. **Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, 23, 3-25, 1997.

LIPINSKI, C. A. **Lead-and drug-like compounds: the rule of five revolution.** *Drug Discov Today Technol*, 1(4), 337-341, 2004.

MADIGAN, M. T. [et. al.]; Tradução: VERSANI, A. F. [et. al.]. **Microbiologia de Brock.** 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MAMUN, H. M.; FOYSAL, M. A., MAHABUB, M.; AL-AMIN. **Microwave-assisted Efficient Synthesis of Isatins and spiro-Thiadiazolines under Green Chemistry Protocol.** *J. Sci. Res.* 2 (2), 322-329 (2010).

MARTINEZ, S. T.; FERREIRA, V. F. **As Isatinas do Professor Angelo.** *Rev. Virtual Química.* 9 (3), 2017.

MOLINARO, E. M. **Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde (Capítulo 3: Bacteriologia).** Vol. 4/Organização: Etelcia Moraes Molinaro, Luzia Fátima Gonçalves Caputo e Maria Regina Reis Amendoeira. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2009.

NEWMAN, D. J. **Natural Products as Leads to Potential Drugs: An Old Process or the New Hope for Drug Discovery?** *J. Med. Chem.*, 51, 2589–2599, 2008.

OLOMOLA, T. O.; BADA, D. A.; OBAFEMI, C. A. **Synthesis and antibacterial activity of two spiro [indole] thiadiazole derivatives.** *Toxicological & Environmental Chemistry*, 91, 5, 941–946, 2009.

OMAR, A. M. E.; ESHBA, N. H.; SALAMA, H. M. **Syntheses of Some Substituted Isatin- β -thiosemicarbazones and Isatin- β -hydrazonothiazoline Derivatives as Potential Antiviral and Antimicrobial Agents.** *Arch. Pharm. (Weinheim)*, 317, 701-709, 1984.

PAKRAVAN, P.; KASHANIAN, S.; KHODAEI, M. M., HARDING, F. **Biochemical and pharmacological characterization of isatin and its derivatives: from structure to activity.** *Pharmacological Reports*, 65, 313-335, 2013.

PANDEYA, S. N.; SRIRAM, D.; NATH, G.; DE CLERC, E. **Synthesis, antibacterial, antifungal and anti-HIV activities of norfloxacin Mannich bases.** *Eur. J. Med. Chem.*, 35, 249-255, (2000).

PANDEYA, S. N.; SMITHA, S.; JYOTI, M.; SRIDHAR, S. K. **Biological activities of isatin and its derivatives.** *Acta Pharm*, 55, 27-46, 2005.

PAULA, F. R.; SERRANO, S. H. P.; TAVARES, L. C. **Aspectos mecanísticos da bioatividade e toxicidade de nitrocompostos.** *Quim. Nova*, Vol. 32, No. 4, 1013-1020, 2009.

PERVERZ, H.; MANZOOR, N.; YAQUB, M.; KHAN, A.; KHAN, K. M.; NASIM, F.; CHOUDHARY, I. **Synthesis and Urease Inhibitory Properties of Some New N4-Substituted 5-Nitroisatin-3-Thiosemicarbazones.** *Letters in Drug Design & Discovery*, 7, 102-108, 2010.

PERVERZ, H.; MANZOOR, N.; YAQUB, M.; KHAN, K. M. **5-Nitroisatin-derived thiosemicarbazones: potential antileishmanial agentes.** *J. Enzyme Inhib Med Chem*, 2014; 29(5): 628-632, 2013.

PREADMET. **ADME Prediction**. [<http://preadmet.bmdrc.org>]. Acesso em: 30 nov 2019.

RIBEIRO, N. M.; DA SILVA, B. V.; VIOLANTE, F. A.; REZENDE, C. M.; PINTO, A. C. **5-CHLORO- AND 5,7-DICHLOROISATIN BY CHLORINATION OF ISATIN WITH TRICHLOROISOCYANURIC ACID**. *Organic preparations and Procedures Int.*, 37 (3), 265-303 (2005). Publicado online: 06 de fev 2009.

RIO, G. F.; SILVA, B. V.; MARTINEZ, S. T.; PINTO, A. C. **Anthranilic acids from isatin: an efficient, versatile and environmentally friendly method**. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 87, 1525, 2015.

ROCHA, M. A.; PRADO, R.; TAKETANI, N. F. **Malacidinas: uma nova classe de antibióticos e seu potencial terapêutico**. *ensaios USF*, v. 3, n. 2, 14-22, 2019.

SANSEVERINO, A. M. **Microondas em síntese orgânica**. *Quim. Nova*, Vol. 25, No. 4, 660-667, 2002.

SANTIAGO, L. M. **A metabolização no sistema do citocromo P450 e a sua importância em Clínica Geral**. *Rev Port Clin Geral*, 19, 121-129, 2003.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. **Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil**. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 35, p. 275-280, 2004.

SILVA, M. O.; AQUINO, S. **Resistência aos antimicrobianos: uma revisão dos desafios na busca por novas alternativas de tratamento**. *Rev. Epidemiol. Controle Infecç.* Santa Cruz do Sul, 8(4):472-482, 2018.

SILVA, F. F. S.; CUNHA, L. C.; REZENDE, K. R. **Métodos de avaliação da fração de fármaco ligado (% B) a proteínas de fluídos biológicos.** *Revista Eletrônica de Farmácia*, 3, 2, 99-108, 2006.

SWISSADME. **Swiss Institute of Bioinformatics.** [<http://www.swissadme.ch>]. Acesso em: 09 mar 2019.

TENÓRIO, R. P.; GÓES, A. J. S. **Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica.** *Quim. Nova*, Vol. 28, No. 6, 1030-1037, 2005.

TERZIOGLU, N.; KARALI, N.; GÜRSOY, A.; PANNECOUQUE, C.; LEYSEN, P.; PAESHUYSE, J.; NEYTS, J.; DE CLERCQ, E. **Synthesis and primary antiviral activity evaluation of 3-hydrazono-5-nitro-2-indolinone derivatives.** *ARKIVOC*, (i) 109-118, 2006.

TOCHER, J. H. **Reductive Activation of Nitroheterocyclic Compounds.** *Gen. Pharmac.* Vol. 28, No. 4, p. 485--487, 1997.

TORRES, J. C.; PINTO, A. C.; GARDEN, S. J. **Application of a catalytic palladium biaryl synthesis reaction, via C-H functionalization, to the total synthesis of Amaryllidaceae alkaloids.** *Tetrahedron*, 60, 9889, 2004.

UNGELL, A. B. **Caco-2 replace or refine?** *Drug Discovery Today: Technologies*, Vol. 1, No. 4, 423-430, 2004.

VASCONCELLOS, M. L. A. A.; LIMA JUMIOR, C. G. **Cloração do anisol, tolueno e nitrobenzeno com ácido tricloroisocianúrico (ATCI): aspectos computacionais sobre a reatividade e regiosseletividade.** *Quim. Nova*, Vol. 32, No. 1, 244-249, 2009.

VENKATESHAN, N.; RAJAPANDI, R.; KANIGA, P. **Synthesis, antibacterial evaluation and docking studies of some novel isatin derivates.** *Indian Drugs*, 55, 03, 7-12, 2018.

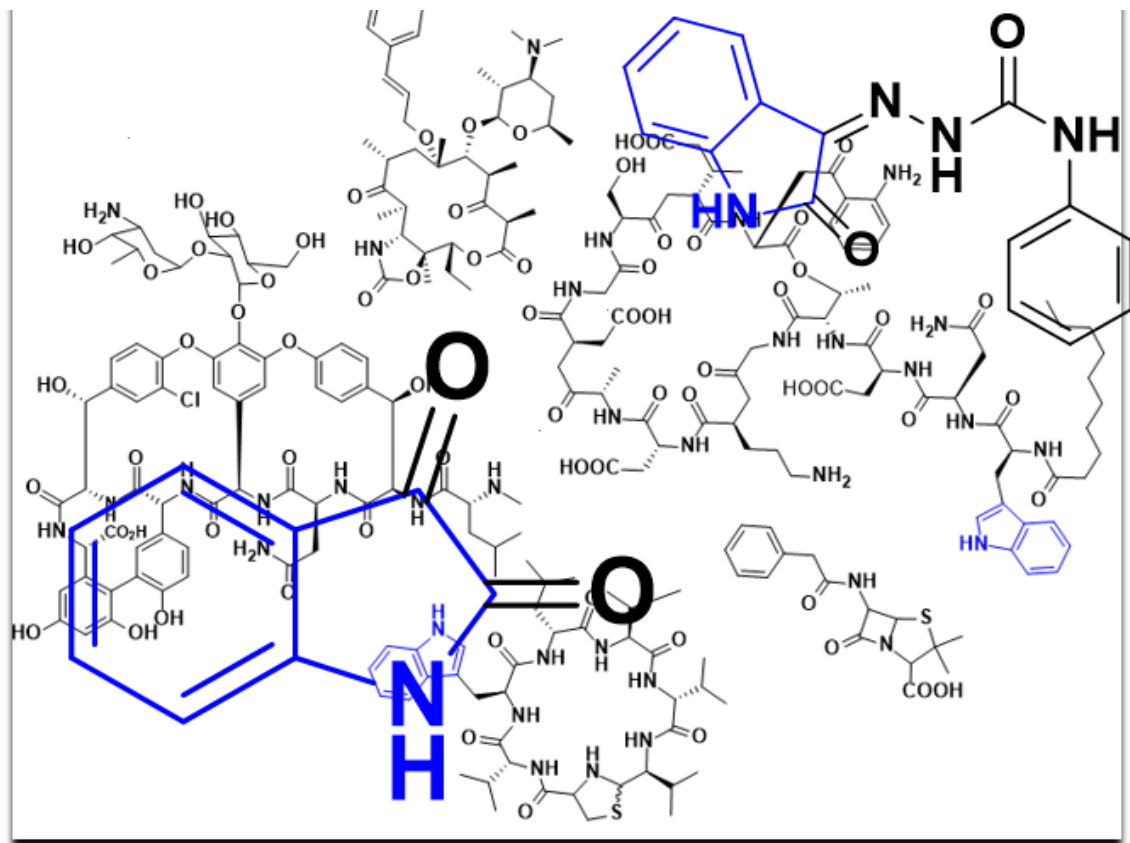
WHO. **Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics.** *World Health Organization*, Relatório, 1-7, fev, 2017.

YAMASHITA, S.; FURUBAYASHI, T.; KATAOKA, M.; SAKANE, T.; SEZAKI, H.; TOKUDA, H. **Optimized conditions for prediction of intestinal drug permeability using Caco-2 cells.** *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10, 195–204, 2000.

YAZDANIAN, M.; GLYNN, S. L.; WRIGHT, J. L.; HAWI, A. **Correlating partitioning and Caco-2 cell permeability of structurally diverse small molecular weight compounds.** *Pharm Res.*, 15(9), 1490-1494, 1998.

YEE, S. **In vitro permeability across Caco-2 cells (colonic) can predict in vivo (small intestinal) absorption in man—fact or myth.** *Pharm Res.*, 14 (6), 763-766, 1997.

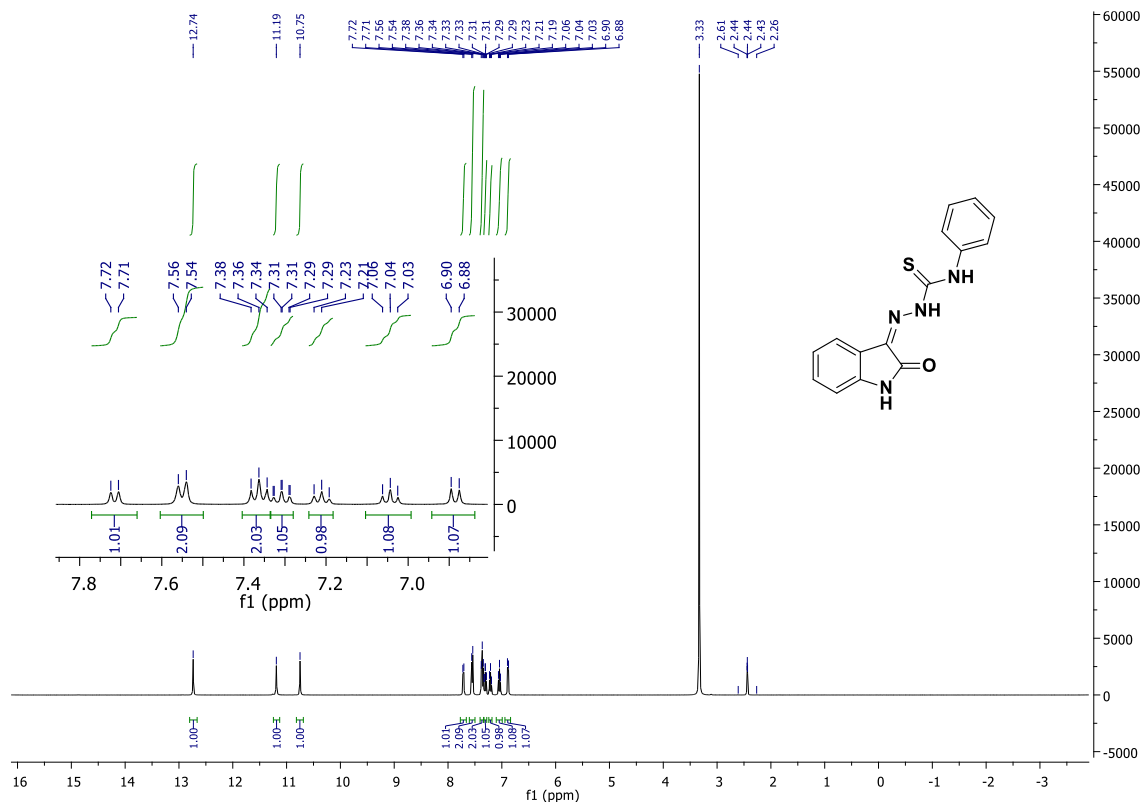
ZHANG, X.; GUO, H.; LI, Z.; SONG, F.; WANG, W.; DAI, H.; ZHANG, L.; WANG, J. **Synthesis and evaluation of isatin-b-thiosemicarbazones as novel agents against antibiotic-resistant Gram-positive bacterial species.** *Eur. J. Med. Chem.* 101, 419 e 430, 2015.



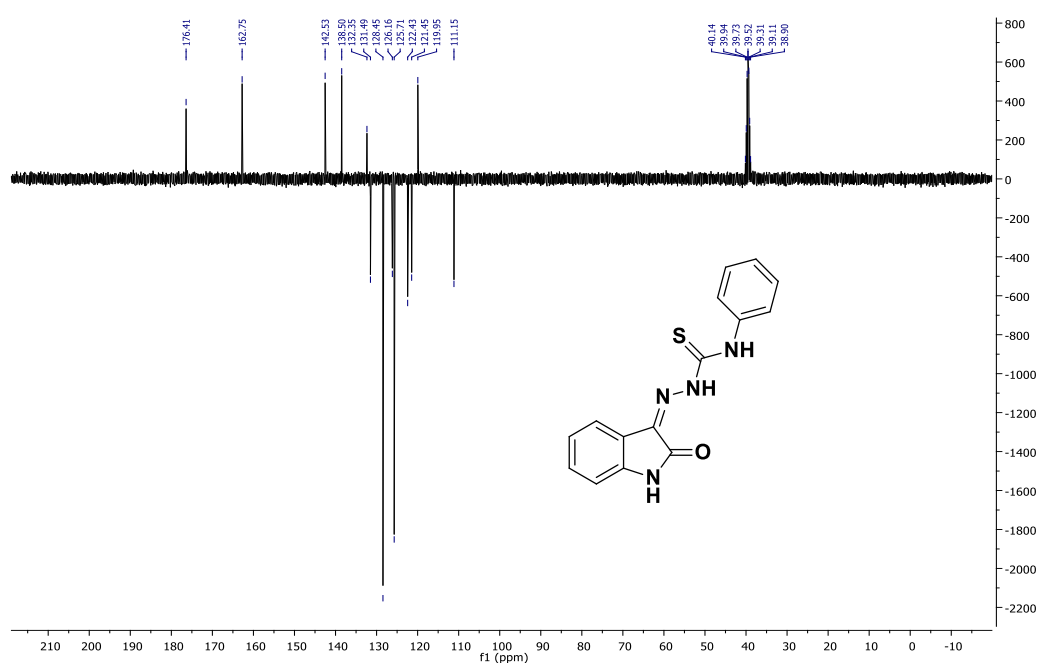
Espectros

ESPECTROS

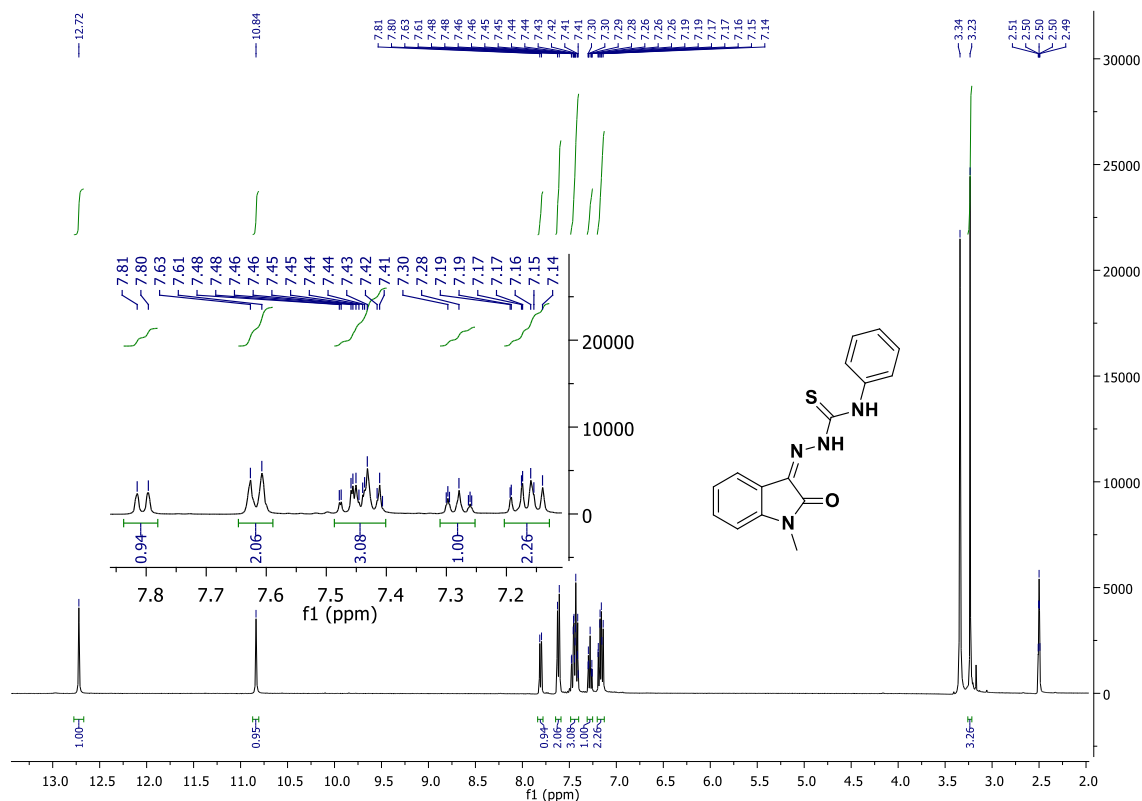
Espectro 1: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinocarbotioamida



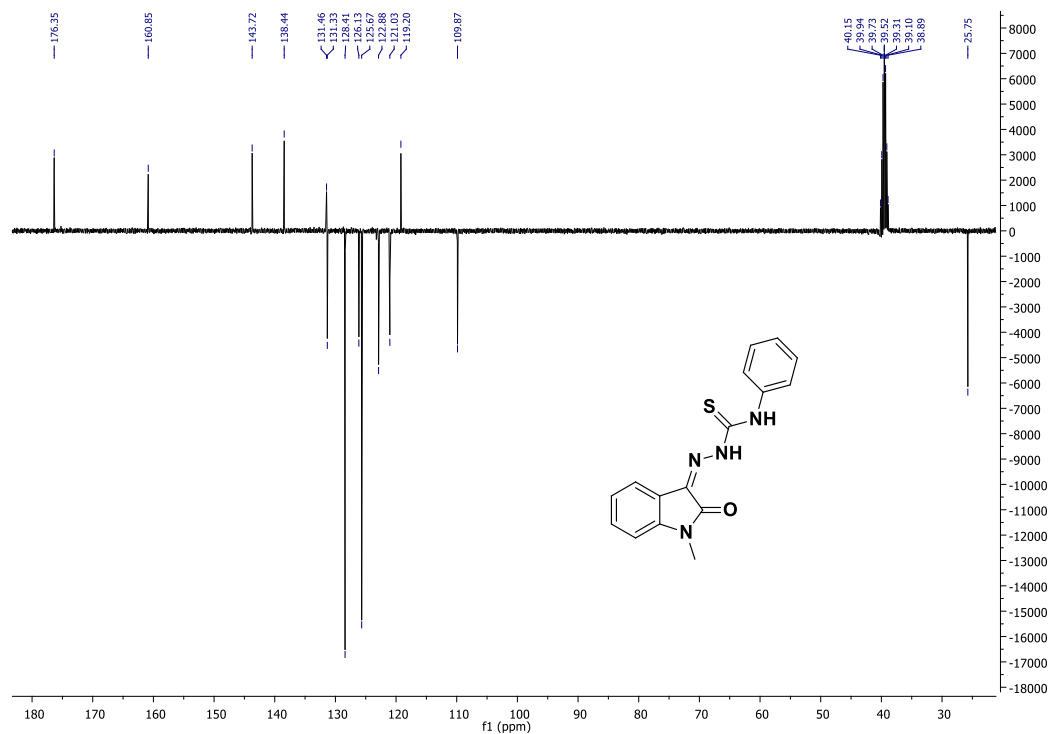
Espectro 2: RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) do (Z)-2-(2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinocarbotioamida



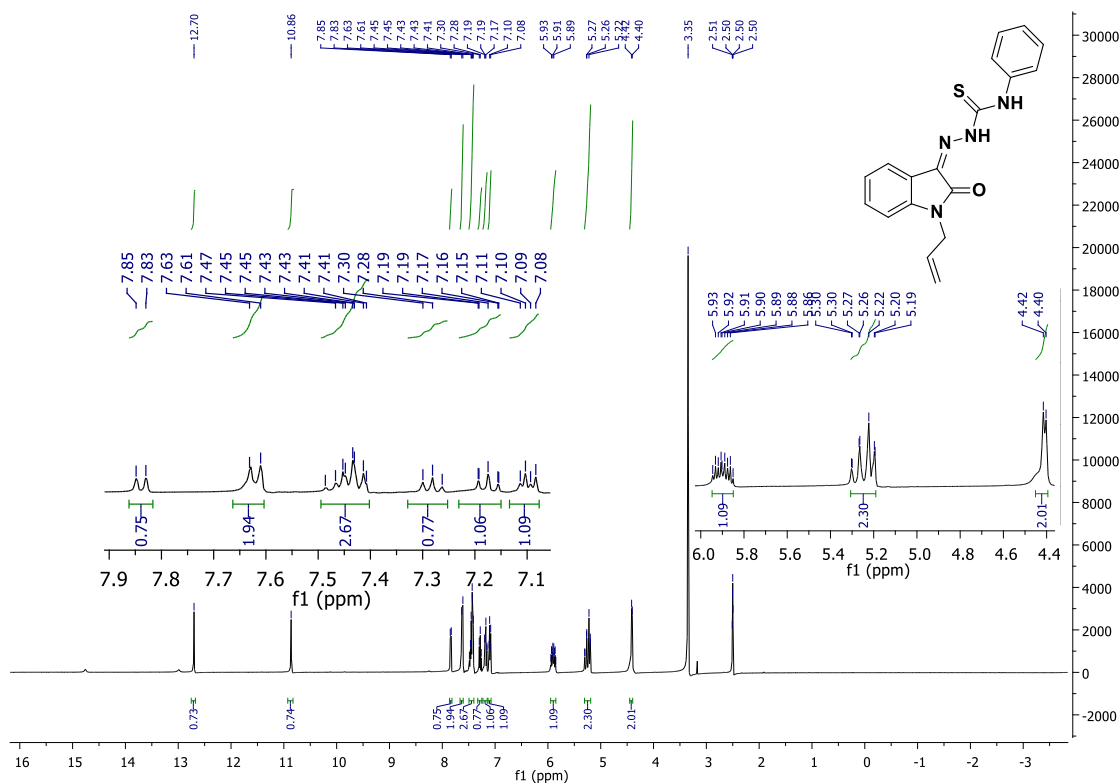
Espectro 3: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(1-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoamida



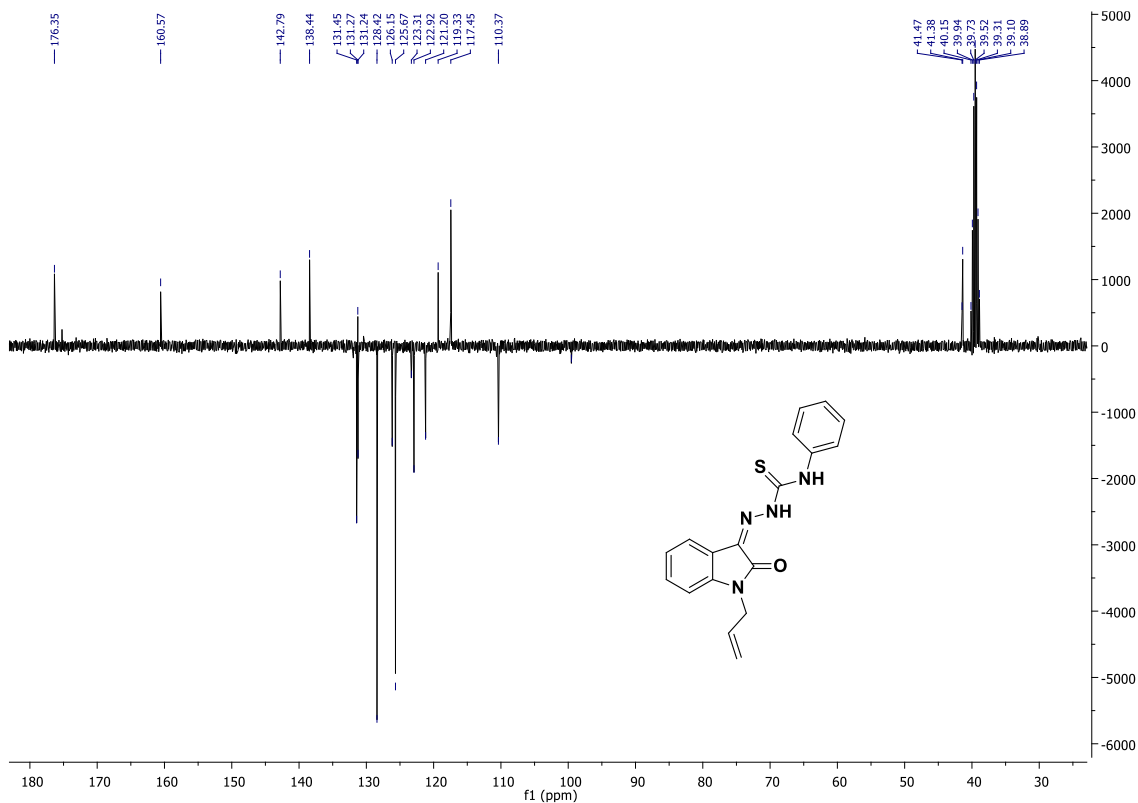
Espectro 4: RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) do (Z)-2-(1-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoamida



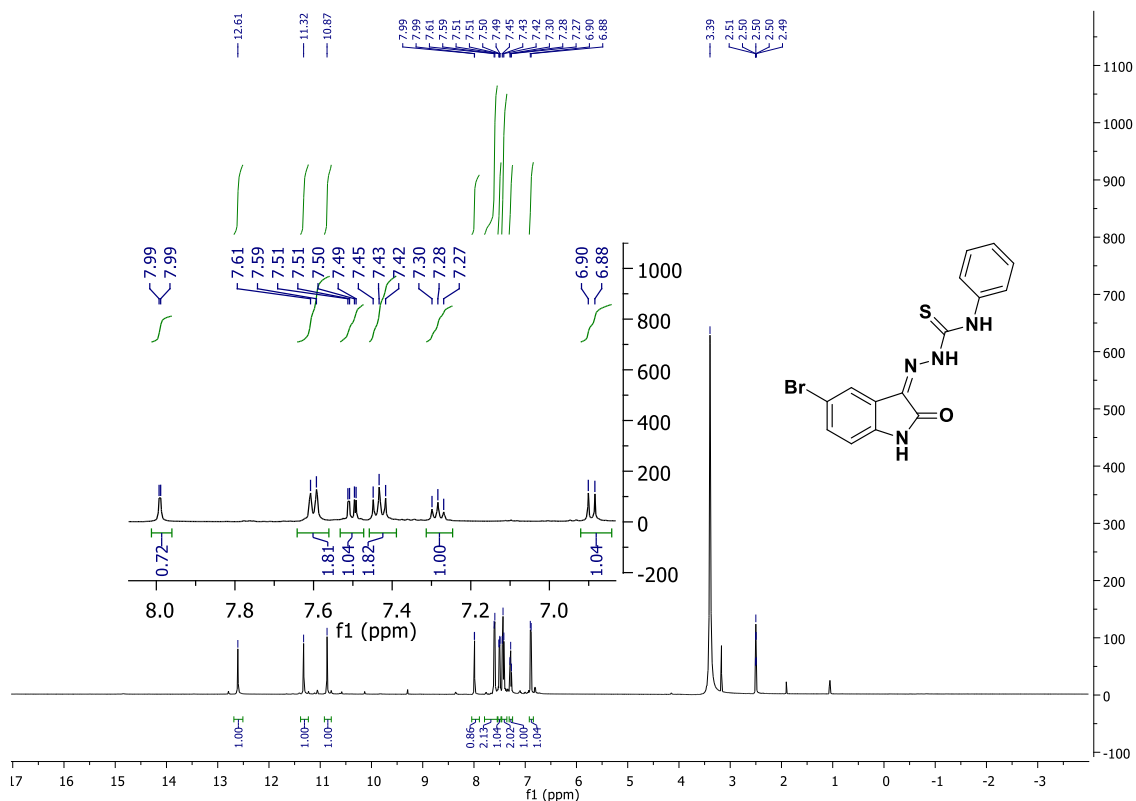
Espectro 5: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(1-alil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoiameda



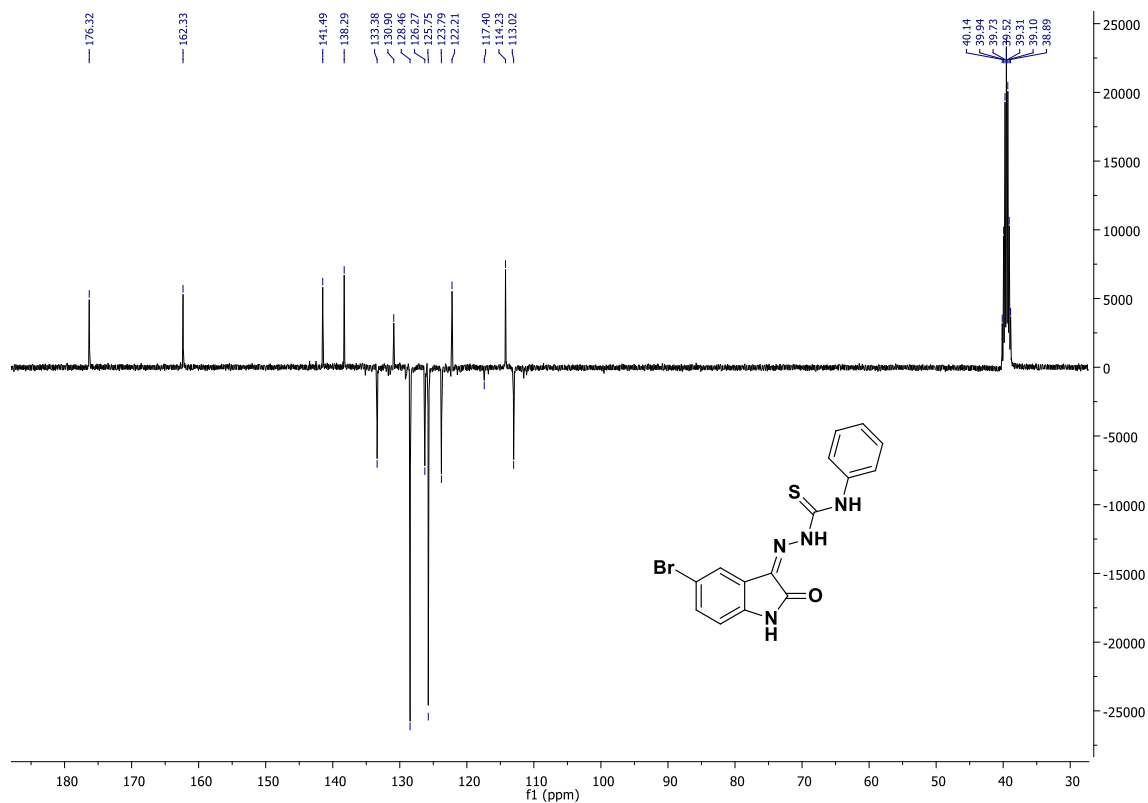
Espectro 6: RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) do (Z)-2-(1-alil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoiameda



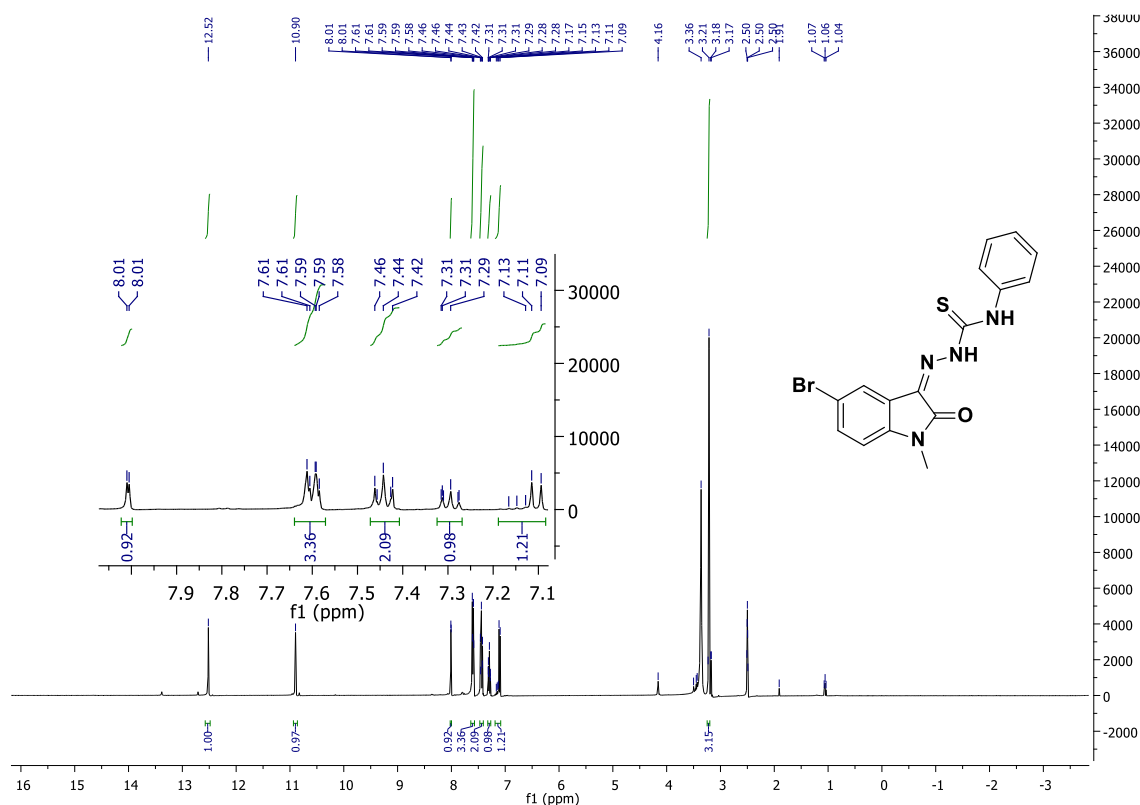
Espectro 7: RMN ^1H (DMSO, 500 MHz) do (Z)-2-(5-bromo-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoiáida



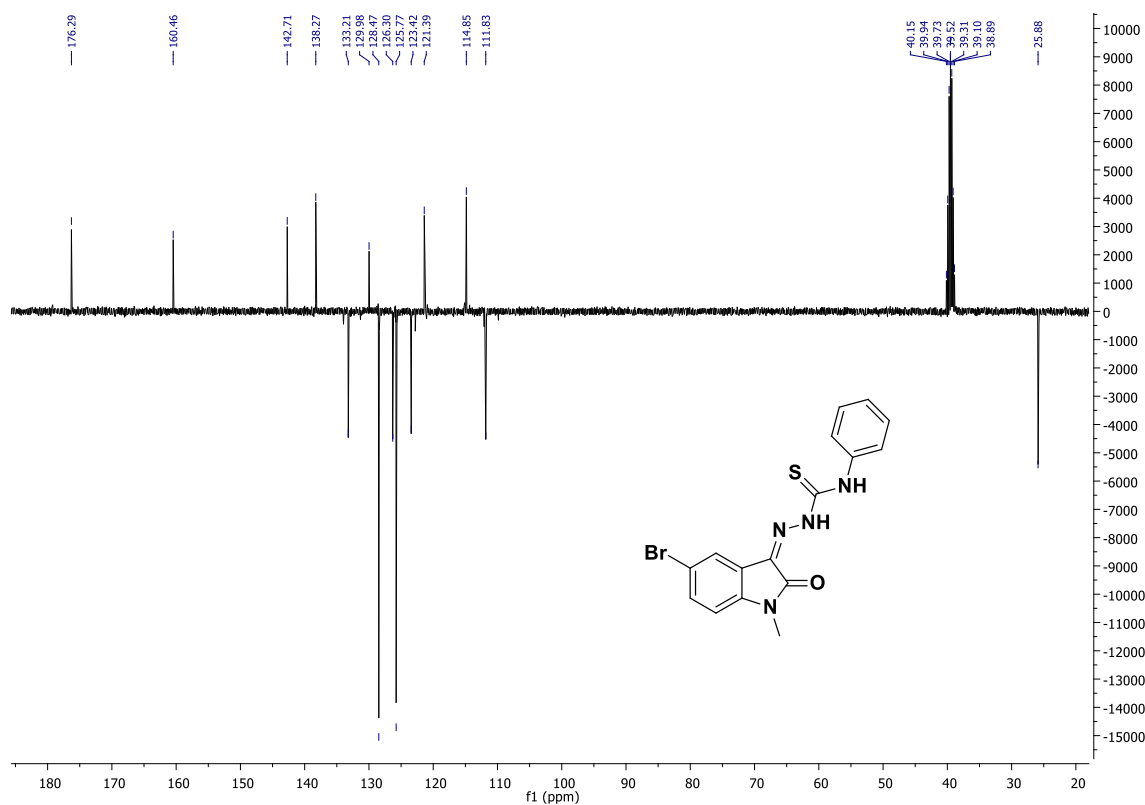
Espectro 8: RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) do (Z)-2-(5-bromo-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoiáida



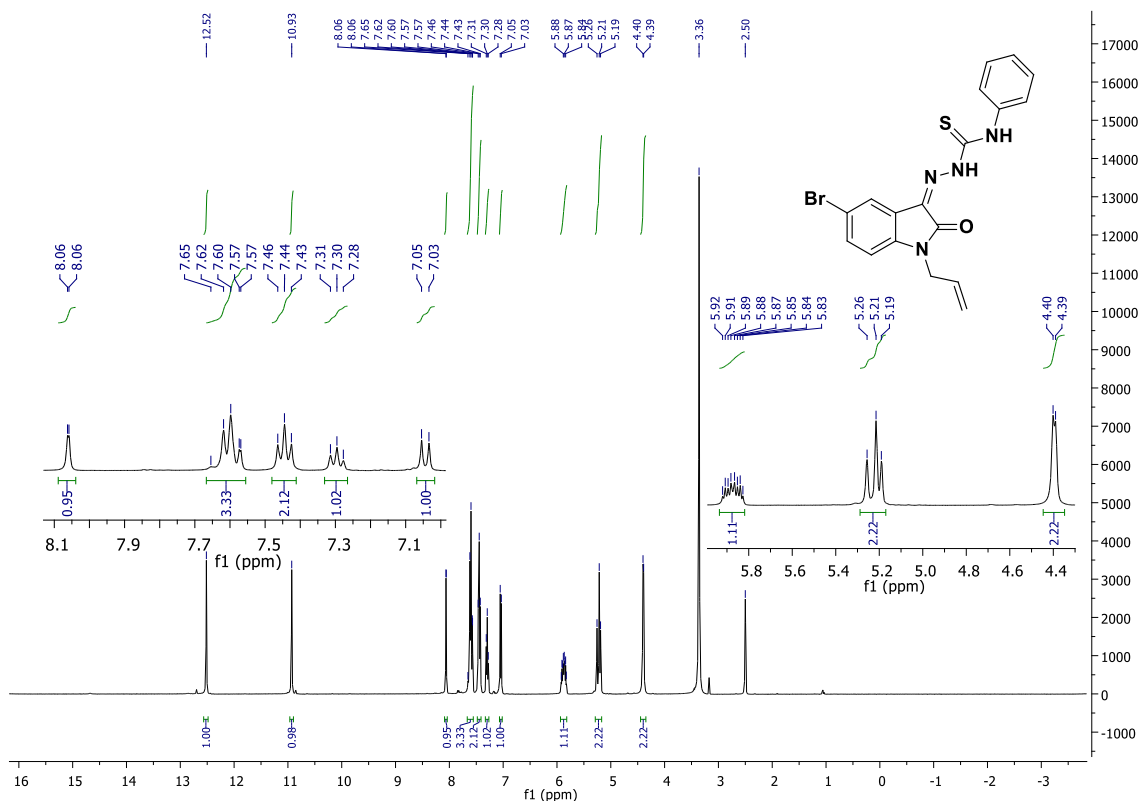
Espectro 9: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(5-bromo-1-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinocarbotioamida



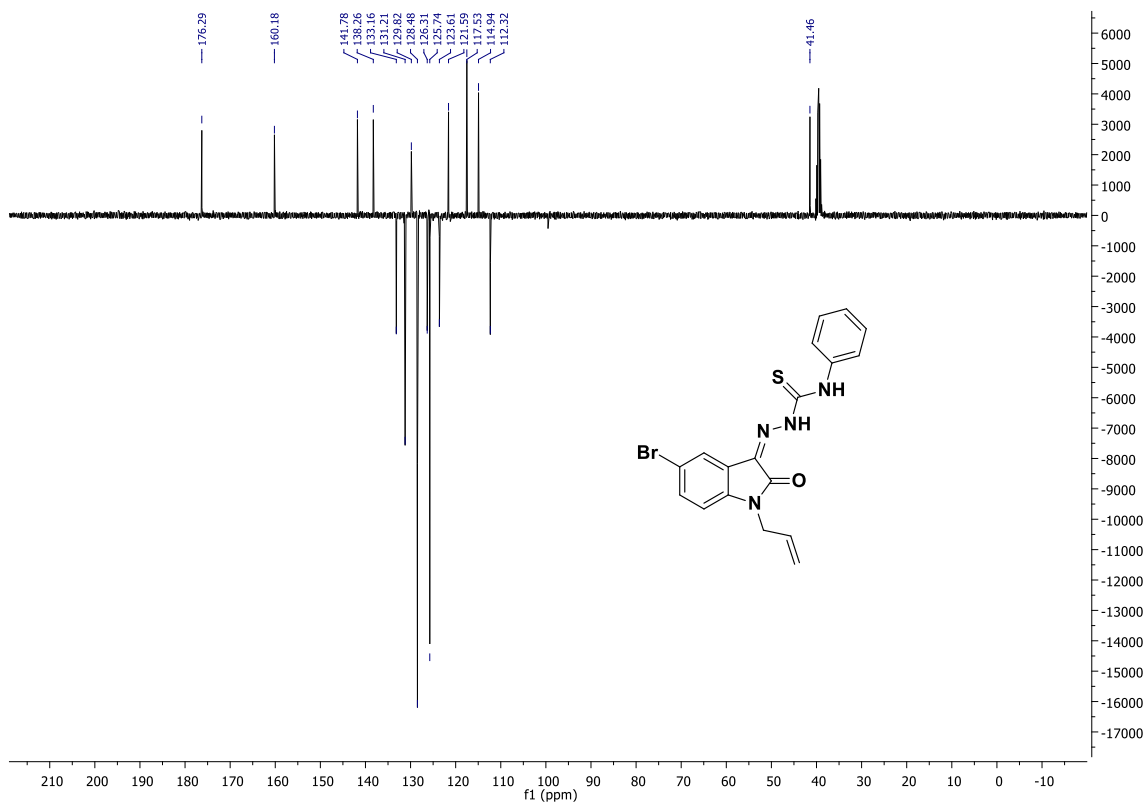
Espectro 10: RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) do (Z)-2-(5-bromo-1-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinocarbotioamida



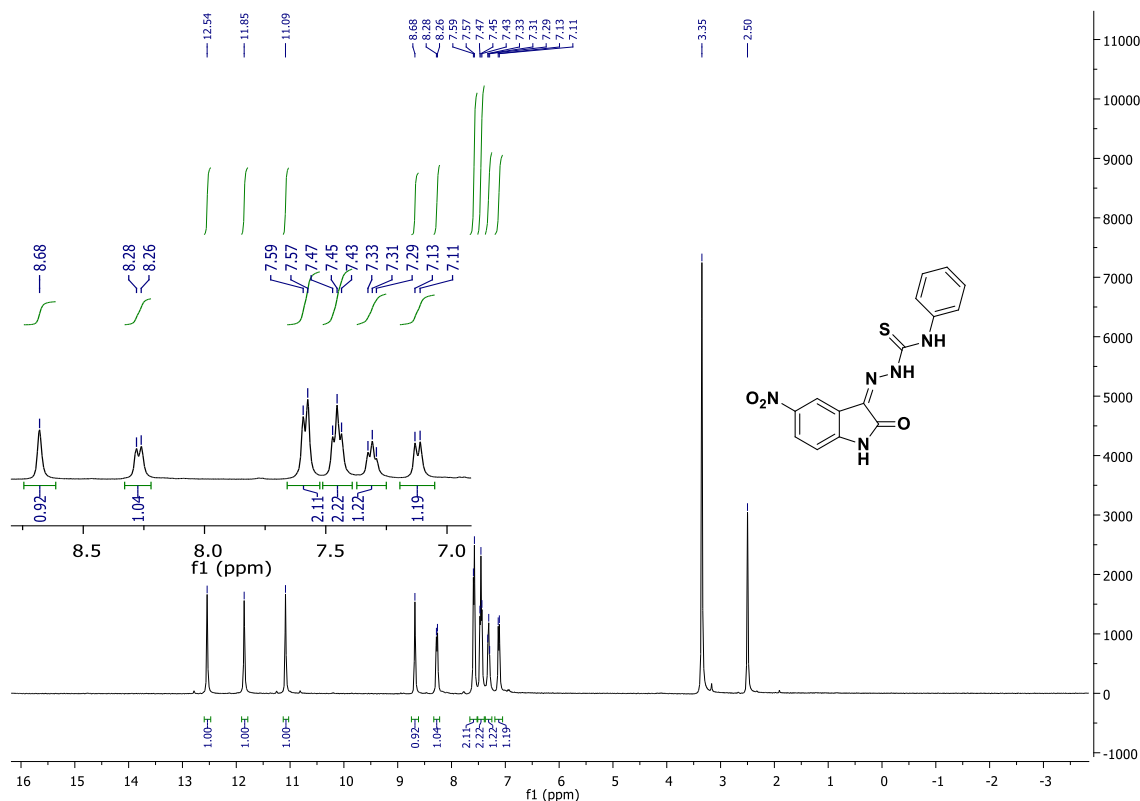
Espectro 11: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(1-*alil*-5-bromo-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoioamida



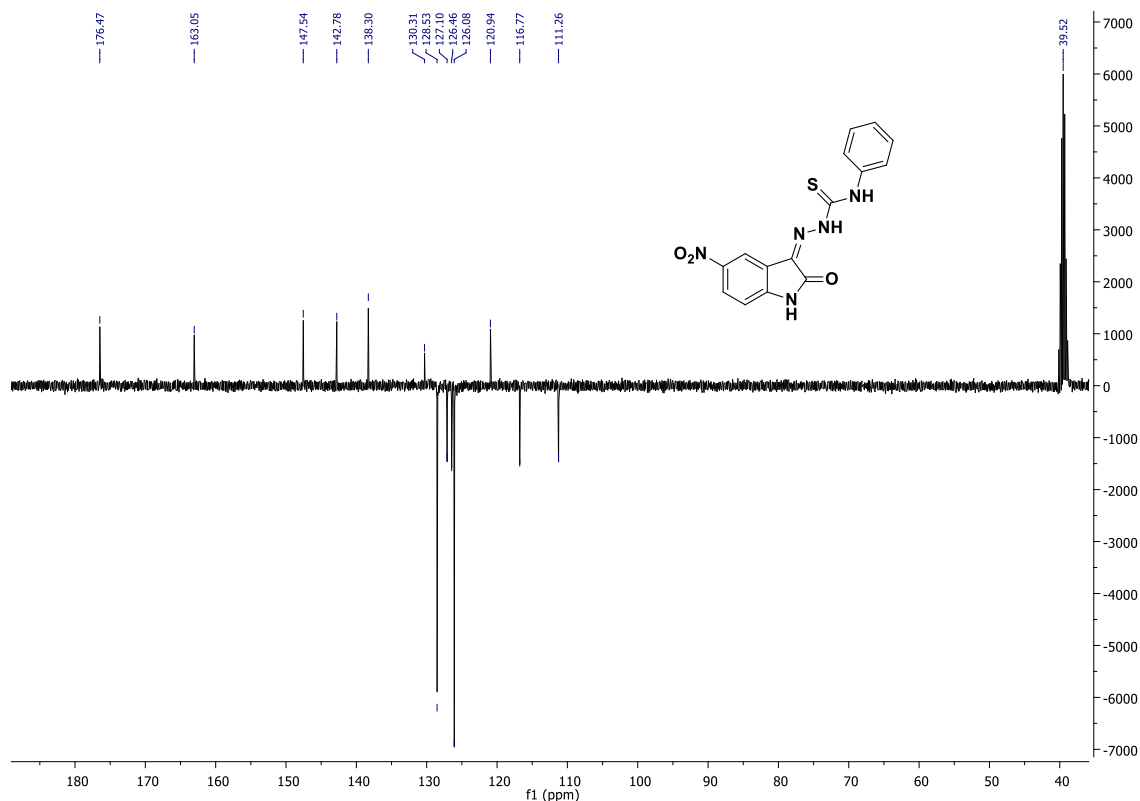
Espectro 12: RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) do (Z)-2-(1-*alil*-5-bromo-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoioamida



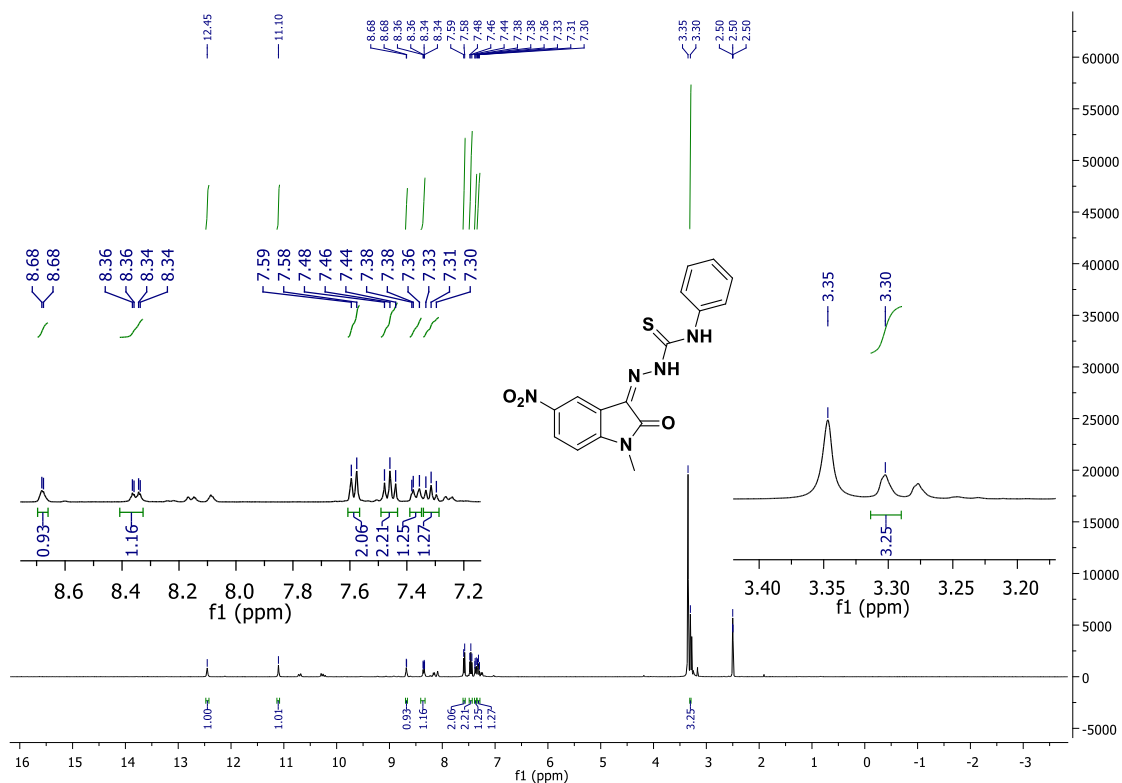
Espectro 13: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(5-nitro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoioamida



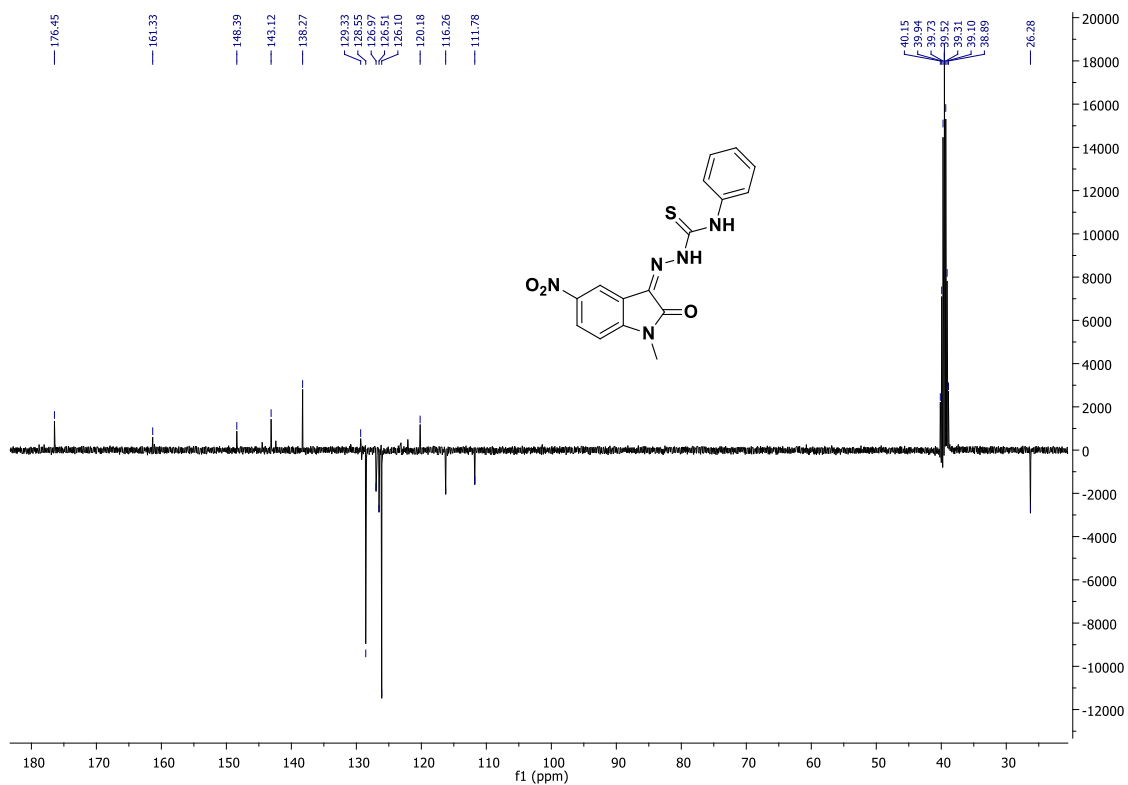
Espectro 14: RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) do (Z)-2-(5-nitro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoioamida



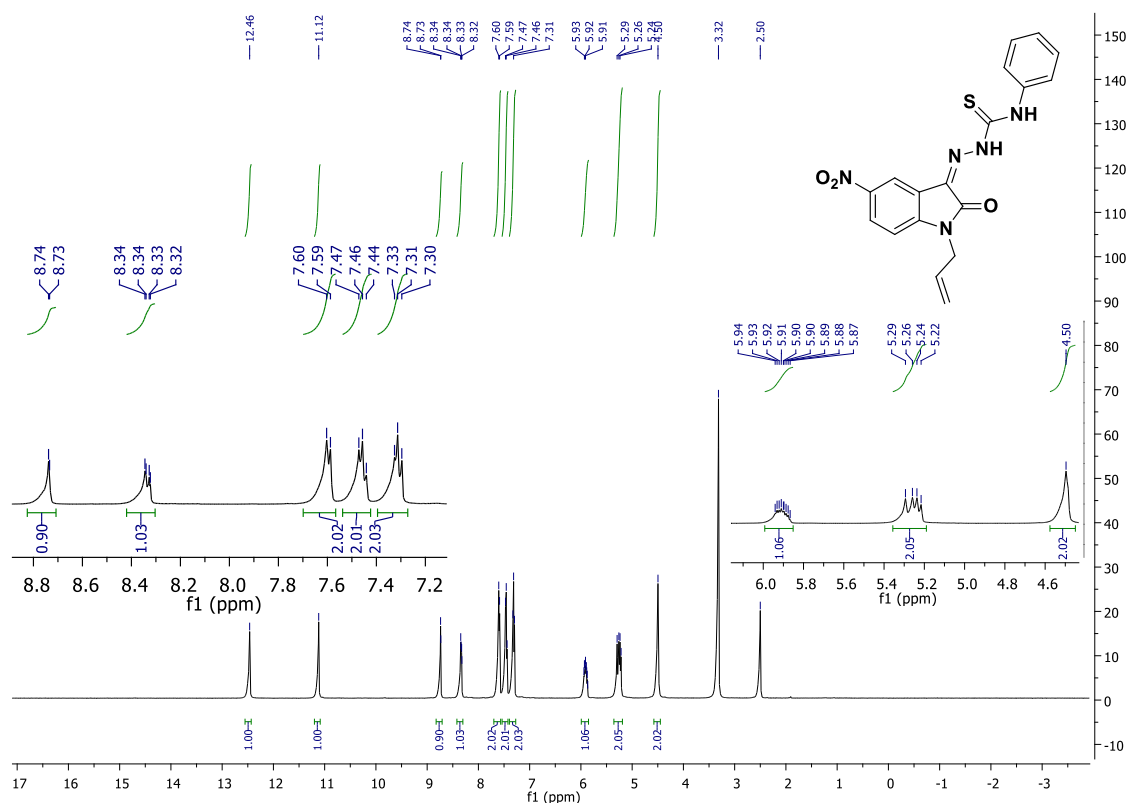
Espectro 15: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(1-metil-5-nitro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinocarbotoamida



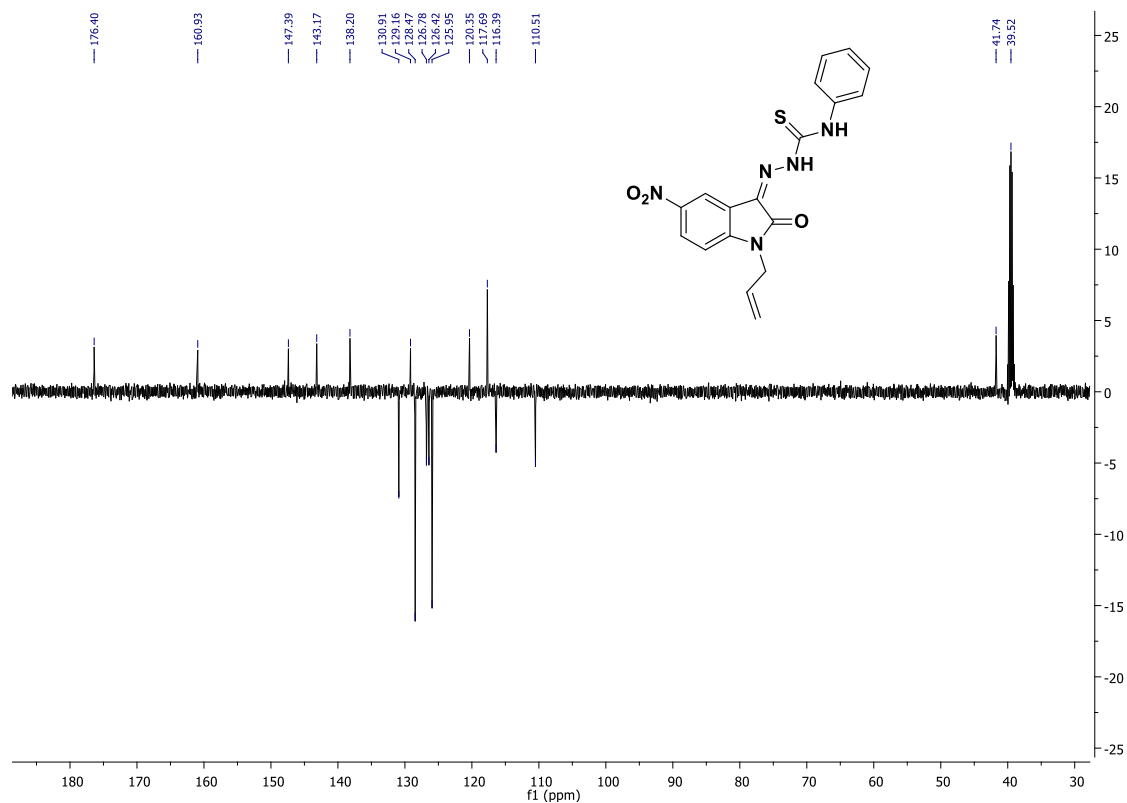
Espectro 16: RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) do (Z)-2-(1-metil-5-nitro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinocarbotoamida



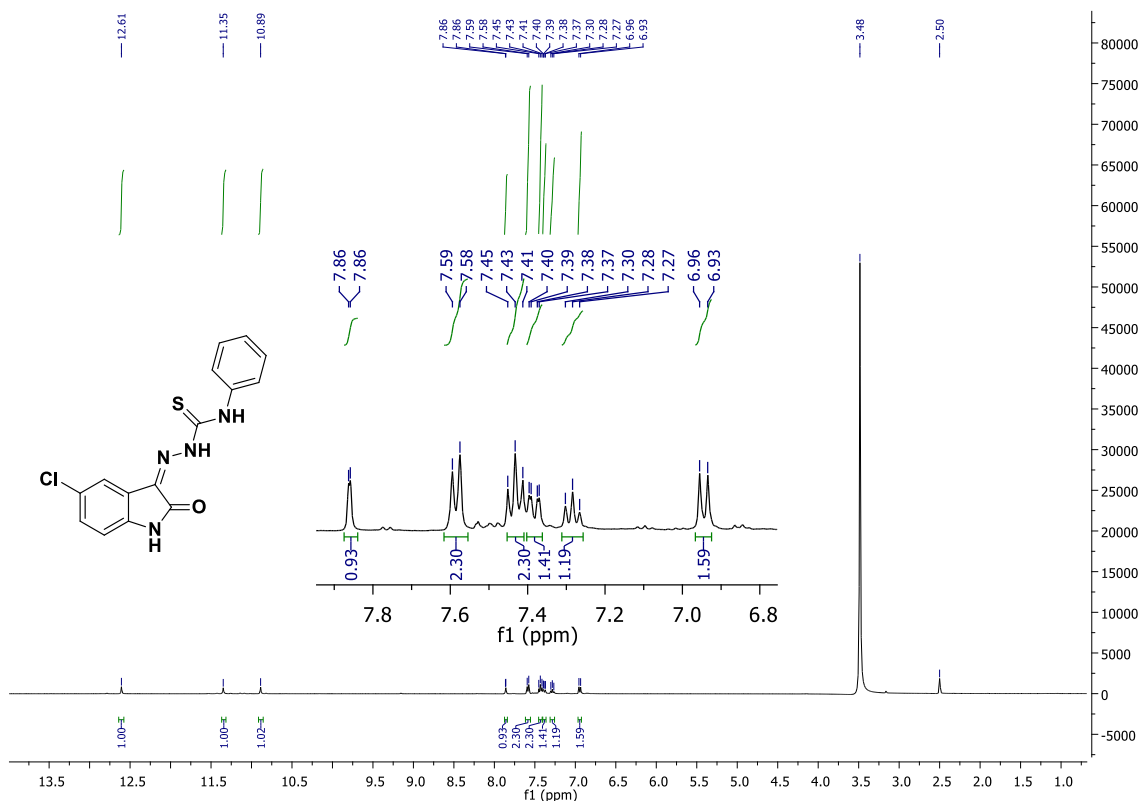
Espectro 17: RMN ^1H (DMSO, 500 MHz) do (Z)-2-(1-alil-5-nitro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenilhidrazinacarbotoamida



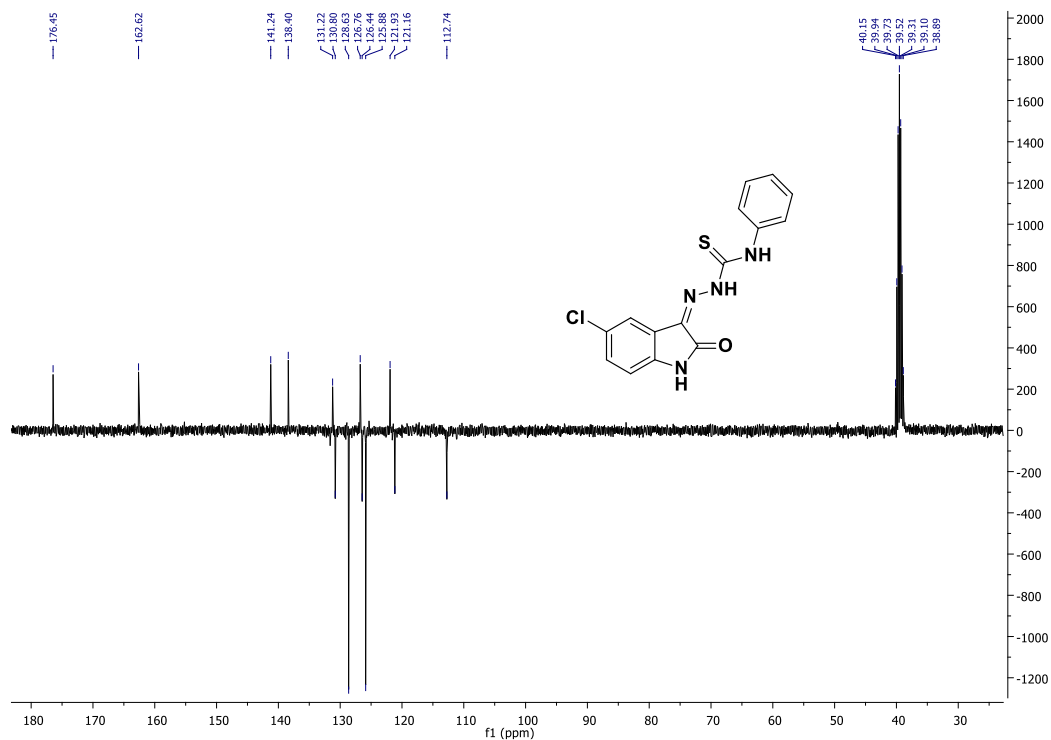
Espectro 18: RMN ¹³C (DMSO, 126 MHz) do (Z)-2-(1-alil-5-nitro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenilhidrazinacarbotoamida



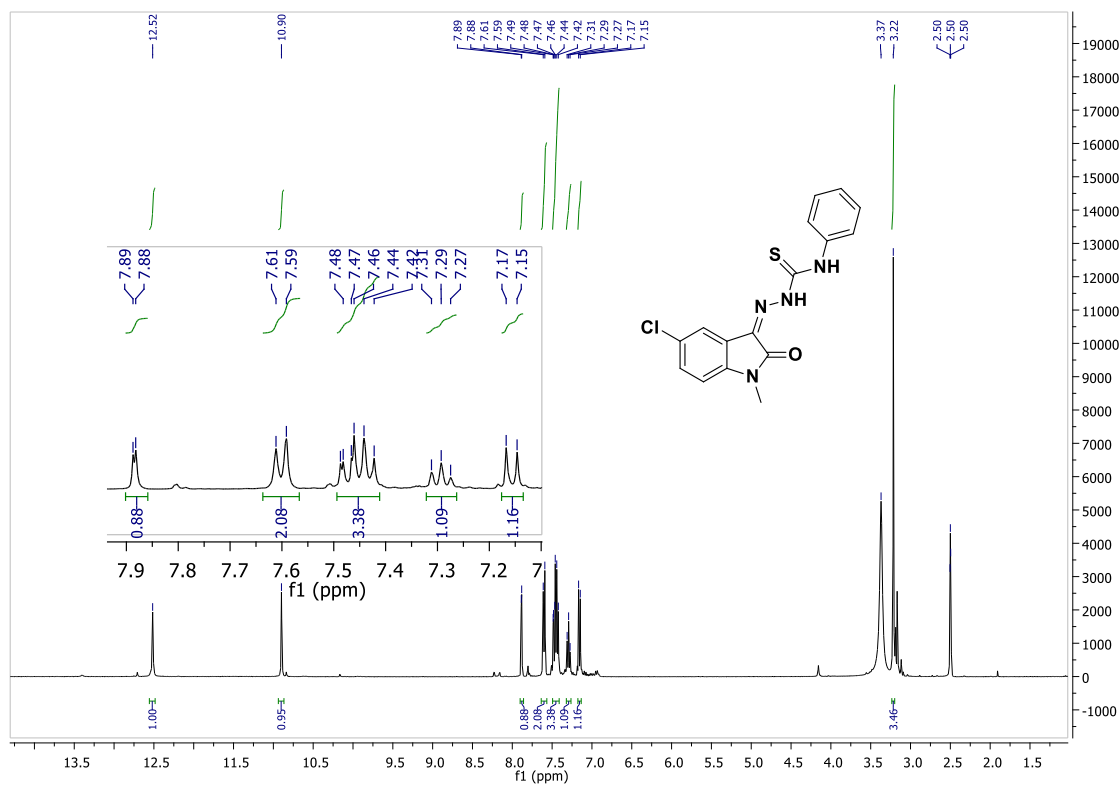
Espectro 19: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(5-cloro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoioamida



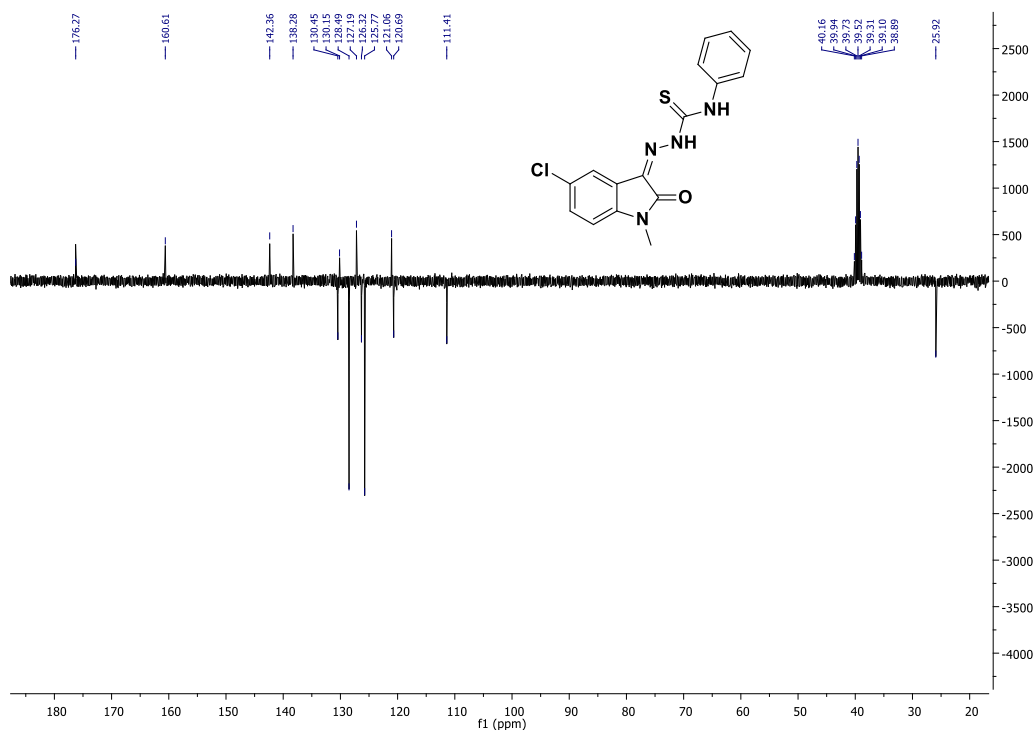
Espectro 20: RMN ^{13}C (DMSO, 101 MHz) do (Z)-2-(5-cloro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoioamida



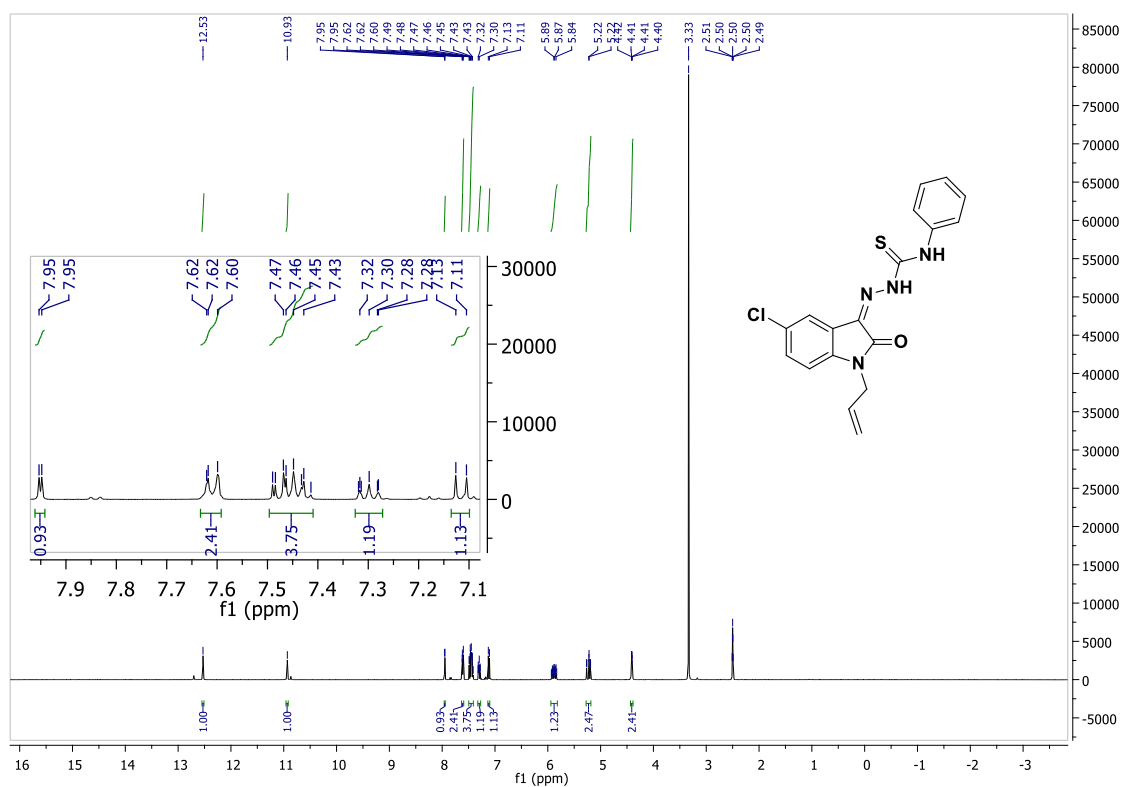
Espectro 21: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(5-cloro-1-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinocarbotioamida



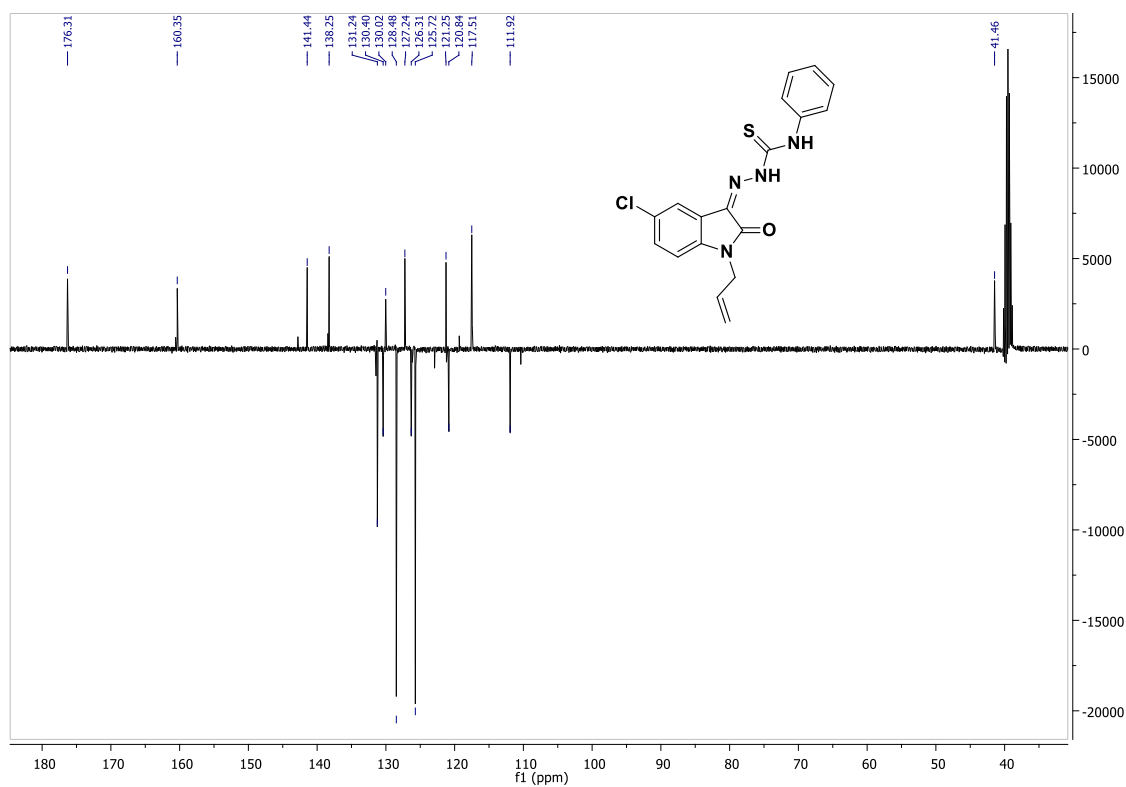
Espectro 22: RMN ^{13}C (DMSO, 101 MHz) do (Z)-2-(5-cloro-1-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinocarbotioamida



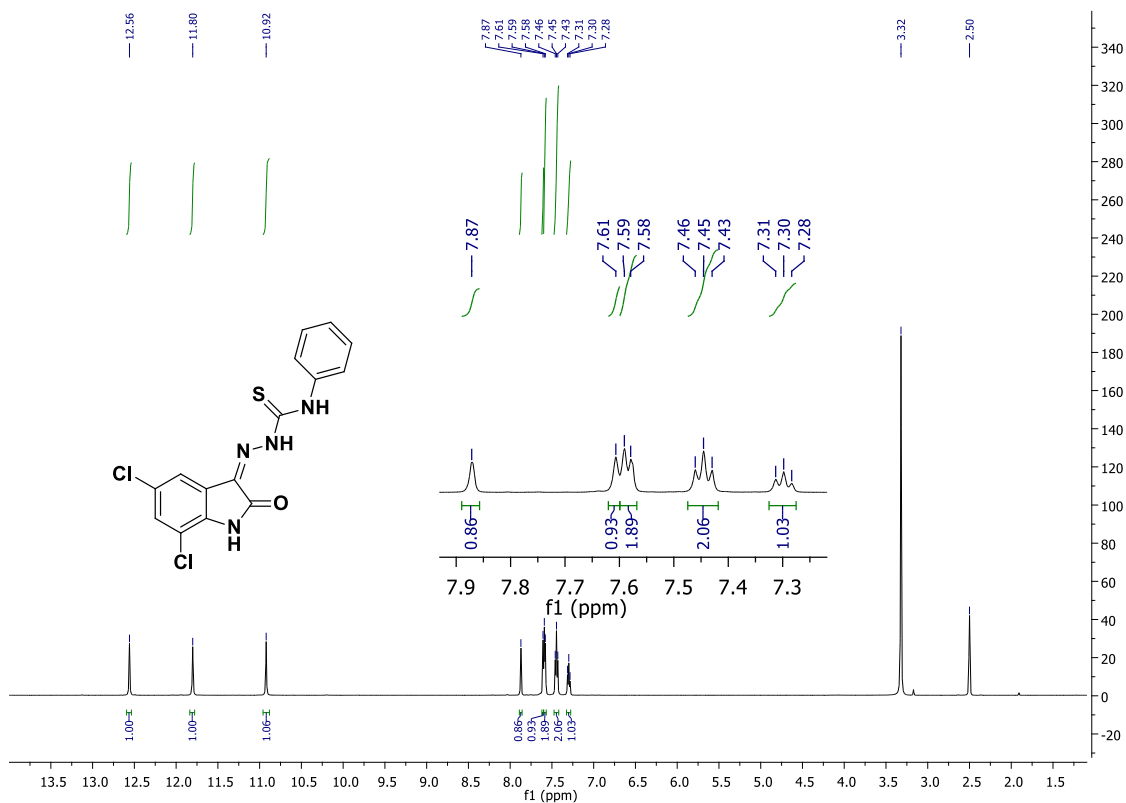
Espectro 23: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(1-alil-5-cloro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenilhidrazinacarbotoamida



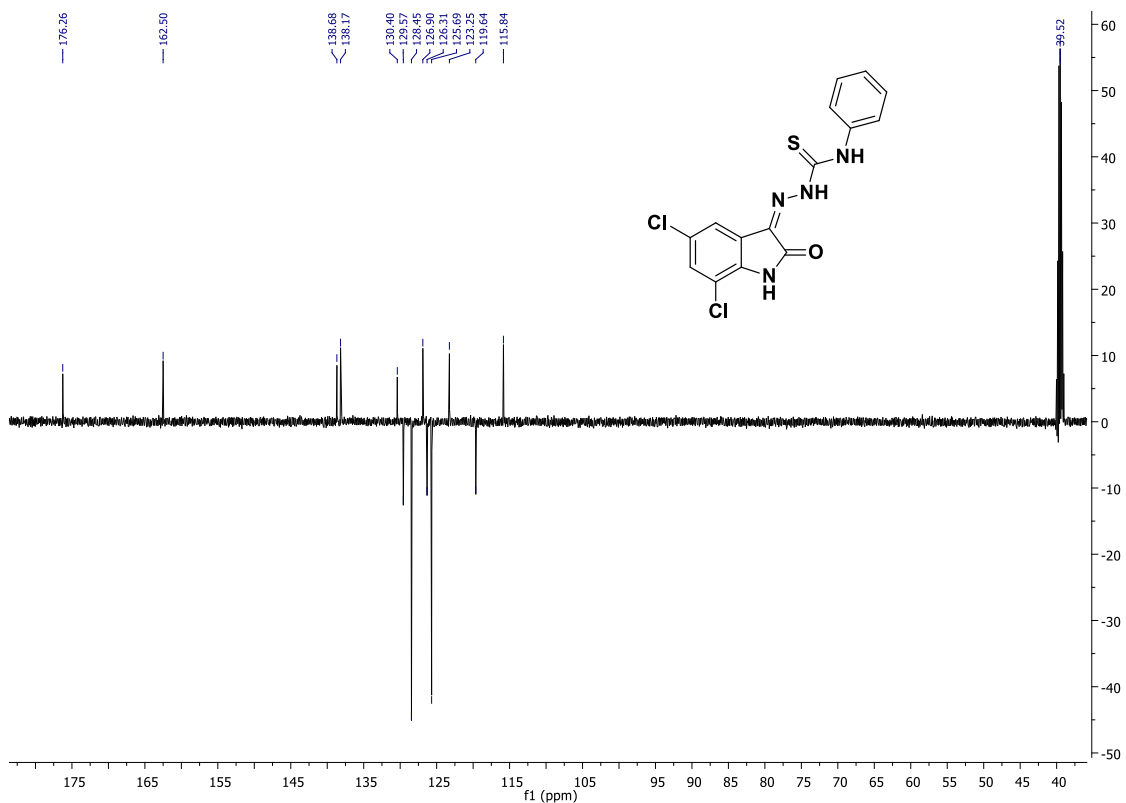
Espectro 24: RMN ¹³C (DMSO, 101 MHz) do (Z)-2-(1-alil-5-cloro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenilhidrazinacarbotoamida



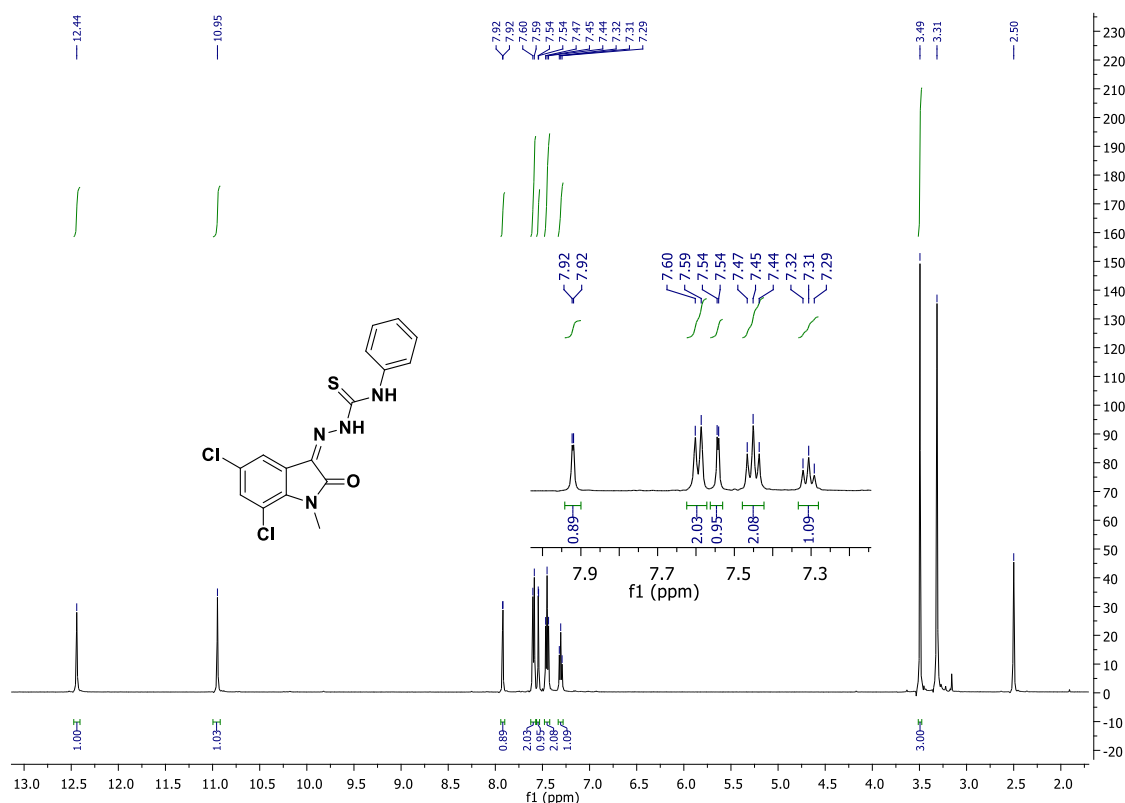
Espectro 25: RMN ^1H (DMSO, 500 MHz) do (Z)-2-(5,7-dicloro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenilhidrazinacarbotoamida



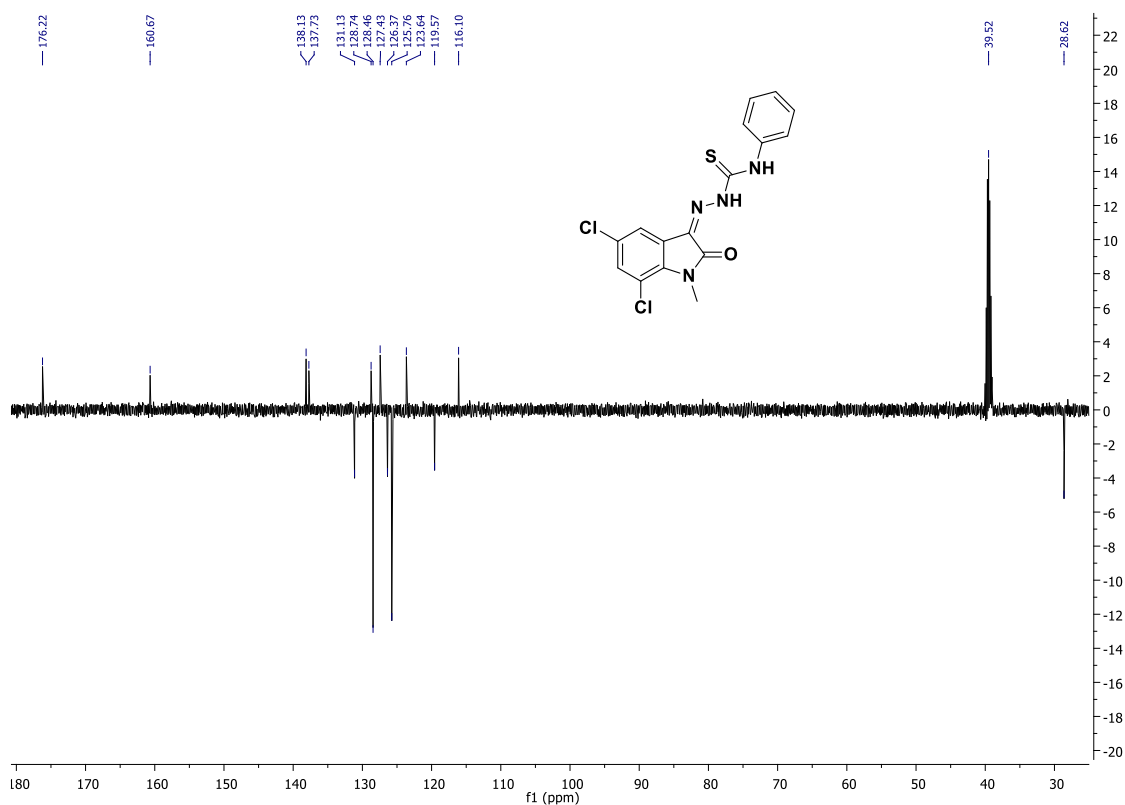
Espectro 26: RMN ^{13}C (DMSO, 126 MHz) do (Z)-2-(5,7-dicloro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenilhidrazinacarbotoamida



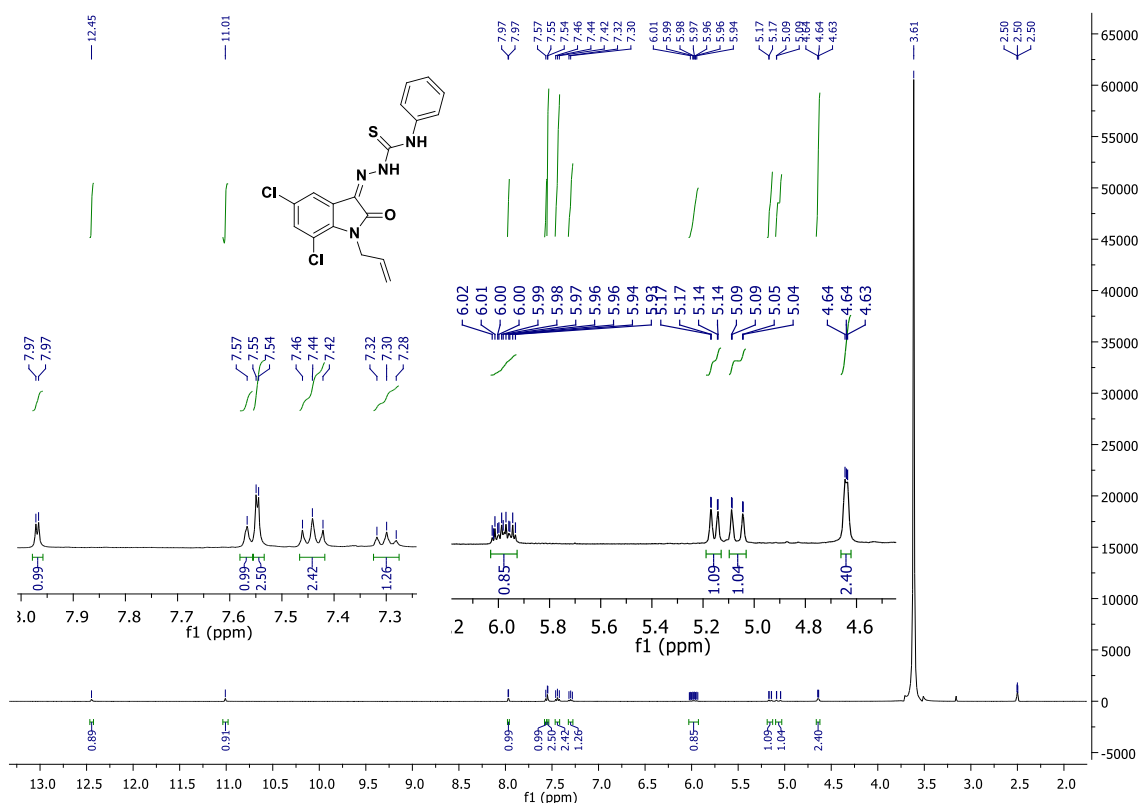
Espectro 27: RMN ^1H (DMSO, 500 MHz) do (Z)-2-(5,7-dicloro-1-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoiameda



Espectro 28: RMN ^{13}C (DMSO, 126 MHz) do (Z)-2-(5,7-dicloro-1-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoiameda



Espectro 29: RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) do (Z)-2-(1-alil-5,7-dicloro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoioamida



Espectro 30: RMN ^{13}C (DMSO, 101 MHz) do (Z)-2-(1-alil-5,7-dicloro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenil-hidrazinacarbotoioamida

