UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

**SEMICARBAZONAS DE ALDEÍDOS
AROMÁTICOS HETEROCÍCLICOS**
PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO, MECANISMO DA
FORMAÇÃO E ENSAIOS DE ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA

VENI MARIA FELLI NAKASONE
Tese de Doutorado

Prof. Dr. LUCIANO DO AMARAL
Orientador

SÃO PAULO
1988

Ao Prof. Dr. LUCIANO DO AMARAL
minha profunda gratidão pe-
la orientação segura, estí-
mulo e dedicação constantes,
bem como pela maneira gentil
e atenciosa com que me rece-
beu em seu laboratório.

Ao meu marido

MITSUO

*companheiro dedicado e amigo,
pelo amor, carinho e compreen-
são e ao meu filho*

LUCIANO

*razão e alegria de nossas
vidas*

AGRADECIMENTOS

À LUZIA EMIKO SADO NARIMATSU, do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, pela realização das análises elementares.

A JOSÉ ROBERTO STELLA e LUIS CARLOS ROQUE, técnicos da Central Analítica, pela realização dos espectros de RMN-¹³C.

À Prof^a. Dr^a. NÍDIA ROQUE, pelo auxílio na interpretação dos espectros de RMN-¹³C.

À Prof^a. Dr^a. ANTÔNIA SÔNIA STACHISSINI, pelo auxílio nos trabalhos de cinética química.

Ao Prof. MICHAEL SIMON NOTHENBERG, pela realização dos cálculos de orbital molecular, gráficos e regressões no microcomputador.

À Prof^a. TAKAKO SAITO, pela orientação e à Acadêmica DOMINIQUE FISHER, pelo auxílio na realização dos ensaios de atividade antimicrobiana.

À Prof^a. Dr^a. ASTRÉA GIESBRECHT e MARIA CLÁUDIA MARX YUNG pelo auxílio na realização dos ensaios microbiológicos pelo método da bioautografia.

Ao Prof. Dr. ANDREJUS KOROLKOVAS, pelas valiosas sugestões.

À Prof^a. Dr^a. ELIZABETH IGNE FERREIRA e à Prof^a. Dr^a. MARIA AMÉLIA BARATA DA SILVEIRA, pela leitura criteriosa e sugestões valiosas a este trabalho.

À CELI RABELO DE JESUS, pelo esmerado e paciente serviço dactilográfico.

Ao Sr. RAIMUNDO GOMES DA SILVA, pela encadernação do presente trabalho.

A todos os que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

OBJETIVOS DO TRABALHO	XI
-----------------------------	----

CAPÍTULO I

1 - INTRODUÇÃO	1
1.1 - PREPARAÇÃO DE IMINAS	1
1.1.1 - Preparação de iminas pela reação de aminas com aldeídos ou cetonas	1
1.1.1.1 - Preparação de oximas	6
1.1.1.2 - Preparação de hidrazonas	7
1.1.1.3 - Preparação de tiossemicarbazonas	8
1.1.1.4 - Preparação de semicarbazonas	10
1.1.2 - Preparação de iminas por outras reações	13
1.2 - MECANISMO DA REAÇÃO DE FORMAÇÃO DE IMINAS A PARTIR DE COMPOSTOS CAR BONÍLICOS E NUCLEÓFILOS NITROGENADOS	15
1.2.1 - Mecanismos de reação	15
1.2.2 - Mecanismo da reação de compostos carbonílicos com reagentes nu- cleofílicos nitrogenados	16
1.2.3 - Catálise ácido-básica geral na formação de iminas.....	24
1.3 - ATIVIDADE BIOLÓGICA DE IMINAS	32
1.3.1 - Atividade antibacteriana	32
1.3.2 - Atividade antifúngica	35
1.3.3 - Atividade tuberculostática	37
1.3.4 - Atividade tripanomicida	38
1.3.5 - Atividade tricomonicida	39
1.3.6 - Atividade antimalárica	39
1.3.7 - Atividade antiviral	40
1.3.8 - Atividade antineoplásica	41
1.3.9 - Atividades diversas	42
1.4 - OUTRAS APLICAÇÕES DE IMINAS	42

2.4.2 - Estudo cinético da reação entre semicarbazida e 2-tiofenocarboxaldeído	65
2.4.2.1 - Determinação da ordem parcial da reação em relação ao 2-tiofenocarboxaldeído	65
2.4.2.2 - Determinação da ordem parcial da reação em relação à semicarbazida	67
2.4.2.3 - Determinação da constante de equilíbrio na formação da semicarbazona	69
2.4.2.4 - Determinação da catálise ácida efetuada pelo íon hidrônio	70
2.4.2.5 - Determinação da catálise ácida geral efetuada por alguns tampões ácidos carboxílico/carboxilato na formação da carbinolamina	70
2.4.2.6 - Determinação da catálise do íon semicarbazínio na formação da carbinolamina	83
2.4.2.7 - Construção do perfil de velocidade de reação em função do pH ..	84
2.4.3 - Estudo cinético da reação entre semicarbazida e 2-pirrolcarboxaldeído	90
2.4.3.1 - Determinação da ordem parcial da reação em relação ao 2-pirrolcarboxaldeído	94
2.4.3.2 - Determinação da ordem parcial da reação em relação à semicarbazida	95
2.4.3.3 - Determinação da constante de equilíbrio na formação da semicarbazona	97
2.4.3.4 - Determinação da catálise ácida efetuada pelo íon hidrônio	97
2.4.3.5 - Determinação da catálise ácida geral efetuada por alguns tampões ácido carboxílico/carboxilato na formação da carbinolamina	99
2.4.3.6 - Determinação da catálise do íon semicarbazínio na formação da carbinolamina	101
2.4.3.7 - Construção do perfil de velocidade de reação em função de pH...	103
2.4.4 - Estudo cinético da reação entre semicarbazida e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído	103
2.4.4.1 - Determinação da ordem parcial da reação em relação ao N-metil-2-pirrolcarboxaldeído	105
2.4.4.2 - Determinação da ordem parcial da reação em relação à semicarbazida	106
2.4.4.3 - Determinação da constante de equilíbrio na formação da semicarbazona	108
2.4.4.4 - Determinação da catálise ácida efetuada pelo íon hidrônio	108

2.4.4.5 - Determinação da catálise ácida geral efetuada por alguns tampões ácido carboxílico/carboxilato na formação da carbinolamina	109
2.4.4.6 - Determinação da catálise do íon semicarbazínio na formação da carbinolamina	109
2.4.4.7 - Construção do perfil de velocidade de reação em função do pH...	111
2.4.5 - Determinação de parâmetros eletrônicos para as moléculas das semicarbazonas aromáticas heterocíclicas	112
2.4.6 - Estudo da atividade antimicrobiana das semicarbazonas	117
2.4.6.1 - Método da diluição seriada em meio líquido	117
2.4.6.1.1 - Padronização da suspensão microbiana	117
2.4.6.1.2 - Determinação da concentração inibitória mínima dos solventes	118
2.4.6.1.3 - Determinação da concentração inibitória mínima das semicarbazonas, variando a concentração do solvente	119
2.4.6.1.4 - Determinação da concentração inibitória mínima das semicarbazonas, mantendo constante a concentração do solvente ...	120
2.4.6.2 - Método da difusão em meio sólido	121
2.4.6.3 - Método da bioautografia	124

CAPÍTULO III

3 - RESULTADO E DISCUSSÃO

3.1 - PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS SEMICARBAZONAS	125
3.2 - ESTUDO CINÉTICO	155
3.2.1 - Ordem parcial da reação em relação ao composto carbonílico e em relação ao nucleófilo	155
3.2.2 - Constante de equilíbrio da reação de formação das semicarbazonas.....	155
3.2.3 - Perfil de velocidade de reação em função do pH	156
3.2.4 - Catálise ácida efetuada pelo íon hidrônio na formação da semicarbazona	165
3.2.5 - Catálise ácida geral na formação da carbinolamina da semicarbazida com aldeídos aromáticos heterocíclicos	166
3.2.6 - Relações de Brønsted na catálise ácida geral da reação de formação da carbinolamina da semicarbazida com aldeídos aromáticos heterocíclicos	168

3.2.7 - Mecanismo de formação da carbinolamina com catálise ácida geral .	172
3.2.8 - Desidratação da carbinolamina	175
3.3 - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	176
3.3.1 - Concentração inibitória mínima frente a bactérias, fungos e leveduras	176
3.3.2 - Atividade antifúngica pelo método da bioautografia	178
3.4 - CORRELAÇÃO ATIVIDADE BIOLÓGICA-REATIVIDADE NA REAÇÃO DE FORMAÇÃO DAS SEMICARBAZONAS DE ALDEÍDOS AROMÁTICOS HETEROCÍCLICOS	180
3.5 - CORRELAÇÃO ATIVIDADE BIOLÓGICA-PARÂMETROS ELETRÔNICOS NAS SEMI-CARBAZONAS DE ALDEÍDOS AROMÁTICOS HETEROCÍCLICOS	181

CAPÍTULO IV

4 - CONCLUSÕES	183
RESUMO	185
SUMMARY	187
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	188

OBJETIVOS DO TRABALHO

Sabe-se que diversas bases de Schiff apresentam atividade farmacológica, tais como tuberculostática, antileprotica, antibacteriana, antiviral, antiinflamatória, tripanomicida e antineoplásica.

É conhecido que a atividade antibacteriana da 5-nitro-2-furanocarboxaldeidossemicarbazona, composto mais ativo da série, está relacionada com a presença do grupo nitro na molécula. Ainda não se esclareceu, perfeitamente, o papel do anel furânico e da porção semicarbazida na atividade.

Dada a importância destes compostos e o fato de que as semicarbazonas de aldeídos aromáticos heterocíclicos, com potencial atividade antimicrobiana, não terem sido ainda suficientemente estudadas em alguns aspectos, há necessidade de desenvolver estudos neste sentido. O presente trabalho visa, então, a preparação, de semicarbazonas de aldeídos aromáticos heterocíclicos, sua caracterização, estudo cinético de sua formação, ensaios de atividade antimicrobiana e relações entre estrutura e atividade biológica.

A preparação, caracterização e os ensaios de atividade biológica compreenderão os compostos relacionados a seguir:

5-nitro-2-furanocarboxaldei_
dossemicarbazona

2-furanocarboxaldeidosse_
micarbazona

5-metil-2-tiofenocarboxaldei_
dossemicarbazona

2-tiofenocarboxaldeidosse_
micarbazona

2-pirrolcarboxaldeidosse_
micarbazona

N-metil-2-pirrolcarboxaldei_
dossemicarbazona

4-quinolinocarboxaldeidos_
semicarbazona

3-quinolinocarboxaldeidos_
semicarbazona

3-indolcarboxaldeidossemicarbazona

O estudo cinético permitirá avaliar o mecanismo de formação das semi-carbazonas e consistirá em: (a) construção do perfil de velocidade de reação em função do pH; (b) determinação das inflexões observadas no perfil; (c) determinação das constantes cinéticas e (d) verificação da existência ou não de catálise ácido-básica específica ou geral.

É de nosso interesse ainda relacionar dados obtidos no estudo cinético e dados obtidos em cálculos de orbital molecular com a atividade antimicrobiana dos compostos, para tentar esclarecer o papel do anel heterocíclico e da porção semicarbazida na referida atividade.

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

1.1 - PREPARAÇÃO DE IMINAS

As iminas são compostos que contêm em sua estrutura uma dupla ligação carbono nitrogênio.

O método mais comum de obter iminas é através da reação de aldeídos e cetonas com aminas. Esta reação foi descoberta por Schiff em 1864 e, por isso, as iminas são frequentemente chamadas de bases de Schiff (Layer, 1963).

1.1.1 - Preparação de iminas pela reação de aminas com aldeídos ou cetonas

As primeiras referências da condensação de amina com aldeído ou cetona apareceram no século passado e literatura extensa existe atualmente neste campo. Este tipo de reação é importante principalmente para a caracterização e identificação de aldeídos e cetonas (Sah & Daniels, 1950; Wilson *et al.*, 1974).

Na maioria dos casos, o primeiro passo reconhecível da reação é a adi

ção da amina ao grupo carbonílico do aldeído ou cetona, como segue:

Em geral, a carbinolamina resultante não é isolada. Ela pode, por exemplo, perder água e dar a imina.

Alternativamente, a carbinolamina pode reagir com um ou com outro dos reagentes ou com ela própria. A imina pode também ser envolvida em várias reações subsequentes que levam geralmente à formação de produtos complexos. A natureza do aldeído e da amina é o fator determinante para a reação posterior, mais frequentemente do que as condições experimentais (Sprung, 1940).

As aminas primárias reagem facilmente com aldeído através da adição nucleofílica para dar a imina correspondente.

Aminas secundárias também reagem com compostos carbonílicos para dar o produto intermediário análogo. Mas não se forma uma imina por não haver hidrogênio ligado ao nitrogênio. Pode ocorrer desidratação, formando-se dupla ligação carbono-carbono e produzindo uma enamina.

As aminas terciárias, por não apresentarem hidrogênio ligado ao nitrogênio, não reagem com aldeídos.

Aldeídos alifáticos quando reagem com amônia ou com aminas alifáticas primárias formam compostos relativamente instáveis que, em contacto com o ar ou sob tratamento com ácido diluído, facilmente retornam a seus constituintes. Em repouso prolongado, os intermediários transformam em materiais amorfos, presumivelmente por desidratação e polimerização. Entretanto, permanência sobre ácido sulfúrico concentrado ou aquecimento, sob pressão reduzida, faz com que eles percam água e forneçam iminas, usualmente como trímeros (Sprung, 1940).

A formação de produtos poliméricos ocorre porque a imina inicialmente formada sofre subsequentes condensações.

Aminas contendo um grupo alquila terciário fornecem iminas, ao reagir com aldeídos contendo carbono α primário, possivelmente devido a impedimento estérico que dificulta as subsequentes condensações (Layer, 1963).

Aldeídos alifáticos contendo carbono α secundário formam iminas na reação com aminas. O fato de que estes aldeídos têm somente um hidrogênio α torna as iminas incapazes de sofrerem polimerização (Layer, 1963).

Aldeídos alifáticos contendo carbono α terciário e aldeídos aromáticos reagem facilmente e quase quantitativamente com aminas para dar as iminas, correspondentes, mesmo à temperatura ambiente. Aldeídos aromáticos são bem reativos e as iminas formam-se quantitativamente mesmo sem a remoção da água, formada durante a reação (Layer, 1963).

Aldeídos aromáticos reagem tanto com aminas alifáticas quanto com aminas aromáticas para dar comumente uma imina.

Cetonas, geralmente reagem com aminas mais lentamente que aldeídos. A diferença na reatividade é consistente com o estado de transição envolvido e parece ser devido à combinação de fatores eletrônicos e estéricos. A cetona contém um segundo grupo alquila ou arila, que é maior que o átomo de hidrogênio do aldeído, afetando, desta maneira, a formação do estado de transição. Grupo alquila fornece elétrons, desestabilizando o estado de transição pela intensificação da carga negativa que se desenvolve no oxigênio (Morrison & Boyd, 1987).

Assim, na reação de cetonas alifáticas com aminas é necessário usar reações a temperaturas mais altas e por períodos mais longos que para aldeídos. Catalisadores ácidos são úteis e a remoção de água da mistura é necessária. Rendimentos de 80 a 95% podem ser assim obtidos (Layer, 1963).

Grupo arila estabiliza o reagente, pela ressonância, e desta maneira causa desativação, dificultando a formação da imina (Morrison & Boyd, 1987).

Por isso, cetonas aromáticas reagem mais lentamente que cetonas alifáticas com aminas. Catalisadores, como ácidos de Lewis e próton, muitas vezes, são requeridos. Acetofenona e benzofenona reagem com anilina a refluxo e em presença de cloridrato de anilina ou sal de cloreto de zinco-anilina para dar imina (Layer, 1963).

Cetonas estericamente impedidas também reagem mais lentamente que as não impedidas (Layer, 1963).

Reddelien, em 1910, preparou iminas a partir de cetonas aromáticas e aminas utilizando cloreto de zinco como catalisador, aquecimento por vinte a trinta minutos e uso de "trap" para retirar água da reação.

Em 1913, Reddelien preparou iminas a partir de cetonas aromáticas e anilina, em presença do cloridrato de anilina.

Billman & Tai, em 1958, partindo de cetonas aromáticas, aminas aromáticas e cloreto de zinco ou ácido bromídrico, como catalisadores, e aquecimento de 2 a 10 horas prepararam várias bases de Schiff. Estes autores, modificando o método de Reddelien, no tempo de aquecimento e no uso do "trap" para retirar água da reação, conseguiram rendimentos de 25 a 81%, dependendo do composto. Estes rendimentos foram 10 a 20% maiores que os obtidos por aquele autor. Ácido bromídrico levou à formação de produtos mais fáceis de recrystalizar do que os obtidos sob a ação de cloreto de zinco e rendimentos levemente maiores.

Bonnett & Emerson, em 1965, usando androsterona e n-butilamina em presença de peneira molecular, obtiveram a respectiva imina com rendimento de 78%.

Mais tarde, em 1971, Taguchi & Westheimer, usaram peneira molecular na reação de uma cetona com amina, em casos nos quais o uso de cloreto de zinco, cloreto de titânio e cloreto de alumínio provocam reações colaterais.

Até então muitas iminas eram preparadas por destilação azeotrópica de uma mistura de amina, acetona e benzeno ou tolueno. O uso de peneira molecular seria especialmente indicado na reação de cetonas estericamente impedidas. Exemplos são as reações de ciclohexanona com dietilamina, anilina ou m-toluidina. Por este método, a mistura de cetona, amina e peneira molecular é agitada de uma a 30 horas à temperatura ambiente, até comprovada a ausência de cetona; posteriormente, a mistura é filtrada, lavada, evaporada e o produto destilado ou cristalizado.

Texier-Boullet, em 1985, ~~empregaram~~ cetonas e aminas em presença de alumina por 1:30 a 7 horas, com temperatura variando de 20 °C a 120 °C. A alumina serve como base para catalisar muitas reações orgânicas sob condições suaves. O método consiste em dispersar os reagentes separadamente, em alumina, e então misturar os dois. Cetonas requerem tempo longo de reação por serem menos reativas que os aldeídos. A reação pode ser acelerada por aquecimento moderado. As iminas ~~formam-se~~ quantitativamente e são facilmente isoladas pela eluição com diclorometano e evaporação deste sob pressão reduzida. Usando aldeídos alquílicos e arilalquílicos e aminas primárias alquílicas e arílicas os autores obtiveram rendimentos de 51 a 99%.

Gayral *et al.*, em 1981, usando 5-nitro-2-furfuraldeído e 5-nitro-2-tiofenocarboxaldeído e respectivas aminas alifáticas e arílicas, obtiveram iminas com 65 a 95% de rendimento.

Reihsig & Krause, em 1960, obtiveram oximas e outras iminas do 2- e 8-quinolinocarboxaldeído, na reação destes aldeídos com as respectivas aminas, em etanol, à quente e sob agitação por 15 minutos.

Gaset *et al.*, em 1982, partindo do 5-nitro-2-furfuraldeído e 5-nitro-2-tiofenocarboxaldeído e benzilamina, em presença de dimetoxietano, obtiveram as respectivas iminas.

Saikachi & Shimamura, em 1960, usaram furfural e derivados 5-substituídos deste na reação com anilina e seus derivados o, m, p-substituídos, em etanol e aquecimento em banho-maria. Verificaram que esta reação não ocorria com aminas alifáticas e seus cloridratos.

1.1.1.1 - Preparação de oximas

Hubball & Pyman, em 1928, prepararam a oxima do glicoxal usando o aldeído e cloridrato de hidroxilamina em presença de carbonato de sódio em solução aquosa.

Dann & M^oller, em 1949, obtiveram oximas usando benzaldeído, furfuraldeído, tiofenocarboxaldeído e cloridrato de hidroxilamina, em presença de acetato de sódio.

Ginsburg & Wilson, em 1957, prepararam as oximas do 2-, 3- e 4-piridinocarboxaldeído e do N-metil-2-, 3- e 4-piridinocarboxaldeído utilizando-se de vários métodos. No primeiro método, usaram cloridrato de hidroxilamina neutralizada e o derivado aldeídico/cetônico da piridina, em banho-maria, por 10 a 20 minutos, para obter a oxima após resfriamento. No segundo método, usaram solução aquosa de 50% de excesso de cloridrato de hidroxilamina, neutralizada com hidróxido de sódio a pH 6 a 7, e iodeto de N-metil-piridinocarboxaldeído, em banho-maria, por quinze minutos; evaporaram a água, sob pressão reduzida, extraíram o resíduo com etanol absoluto, para eliminar resíduos de sais minerais, e, após resfriamento, obtiveram a oxima. No terceiro método, utilizaram 30% de excesso de cloridrato de hidroxilamina, dissolvida em quantidade mínima de metanol e neutralizada com hidróxido de potássio em solução metanólica, filtraram o cloreto de potássio formado e resfriaram a -5 °C usando mistura de gelo e sal; adicionaram, então, em pequenas porções, sob agitação vigorosa e resfriamento, iodeto de N-metil-piridinocarboxaldeído, deixaram a solução por 20 minutos a -10 a -12 °C e, então, filtraram e lavaram a oxima com éter absoluto gelado.

Wenkert *et al.*, em 1959, partindo do 3-indolcarboxaldeído e hidroxilamina, com aquecimento por 10 minutos, obtiveram a respectiva oxima.

Cordes & Jencks, em 1962, prepararam a oxima do p-clorobenzaldeído efetuando a reação em etanol a 50%. Estudaram esta reação cineticamente.

Brocklehurst & Griffiths, em 1968, reagiram 4- e 5-imidazolcarboxaldeído com cloridrato de hidroxilamina, em presença de carbonato de sódio, para obter a respectiva oxima.

Crépeaux & Lehn, em 1975, prepararam a indol-3-aldoxima, a pirrol-2-aldoxima, a tiofeno-2-aldoxima, a furfuraldoxima, a piridino-2-aldoxima, a piridino-3-aldoxima, a piridino-4-aldoxima, o iodeto de N-metilpiridínio-2-aldoxima, o iodeto de N-metilpiridínio-3-aldoxima, o iodeto de N-metilpiridínio-4-aldoxima e aldoxima do piridoxal e do fosfato de piridoxal. Aqueceram o cloridrato de hidroxilamina, dissolvido em solução aquosa de carbonato de potássio, a 50-80 °C, adicionaram o aldeído respectivo, dissolvido em água ou álcool, e mantiveram a temperatura a 80 °C por 30 minutos a 1 hora. Obtiveram a respectiva oxima após extração com éter, pentano ou clorofórmio e secagem em peneira molecular (3 Å) por 10 a 24 horas.

1.1.1.2 - Preparação de hidrazonas

Roberts, em 1937, preparou hidrazonas empregando hidrazina e aldeídos aromáticos e alifáticos, etanol como solvente e pequena quantidade de ácido sulfúrico concentrado.

Miyatake, em 1952, usaram solução etanólica de benzaldeídos o, m, e p-substituídos, 5-nitro-2-furanocarboxaldeído ou 4-piridinocarboxaldeídos e solução aquosa de hidrazina, em presença de acetato de sódio a 50%, em banho-maria, por 15 minutos, obtendo as referidas hidrazonas. Uma variação é o método usado por Kananova, em 1955, onde é usado acetato de potássio e banho-maria por 2 a 3 horas para obter a hidrazona do 2-furfuralaldeído e do 5-nitro-2-furalaldeído.

Shiro & Kanai, em 1952, aqueceram cloridrato de hidrazina e 5-nitro-2-furalaldeído ou p-substituídos, a 50 °C, em etanol, e adicionaram, a seguir, carbonato de potássio a 5%, obtendo as referidas hidrazonas.

Shiro & Takahashi, em 1955, aquecendo em banho-maria por 2 a 3 minutos o benzaldeído, o furfuralaldeído, o 5-nitro-2-furfuralaldeído e hidrazina, obtiveram as respectivas hidrazonas.

Hamada, em 1959, obteve hidrazonas após duas a três horas de reação entre a hidrazina e 5-nitro-2-furfuralaldeído ou benzaldeídos o, m e p-substituídos.

Wiley & Irick, em 1959, prepararam metil e dimetilidrazonas pela reação entre as respectivas hidrazinas e aldeídos alifáticos, benzaldeídos, 3-indolcarboxaldeído, 2-tiofenocarboxaldeído, 2-furanocarboxaldeído, por resfriamento ou por aquecimento durante 1 hora, dependendo do composto.

Bredereck & Fritzche, em 1937, obtiveram di e trinitrofenilidrazonas de derivados do furfuraldeído, tiofenocarboxaldeído e pirrolcarboxaldeído, usando etanol absoluto como solvente.

Bowen & Wilkinson, em 1950, obtiveram 2,4-dinitrofenilidrazonas de benzaldeídos substituídos em presença de ácido clorídrico ou sulfúrico diluídos.

Fujikawa *et al.*, em 1962, obtiveram a fenilidrazona do 2-tiofenocarboxaldeído refluxando os reagentes em etanol por 1:30 horas. Este mesmo composto foi também obtido por Biedermann, em 1888, em presença de hidróxido de sódio.

Jensen & Jensen, em 1952, obtiveram tioidrazonas partindo de tioidrazidas e 2- e 8-quinolinocarboxaldeído, 2-furfuraldeído ou benzaldeídos substituídos.

1.1.1.3 - Preparação de tiossemicarbazonas

Hoggart & Taubman, em 1949, refluxaram por 24 horas tiossemicarbazida e diacetato de 5-nitro-2-furfuraldeído, em etanol, obtendo a tiossemicarbazona.

Anderson *et al.*, em 1951, obtiveram a tiossemicarbazona de derivados do furano, do tiofeno, do pirrol e da piridina, refluxando os respectivos aldeídos e a tiossemicarbazida, em solução aquosa, por 6 a 8 horas e, a seguir, resfriando lentamente.

Bernstein *et al.*, em 1951, usaram tiossemicarbazida, em água quente, e benzaldeídos p-substituídos, 2-furfuraldeído, 2-tiofenocarboxaldeído, naftaldeído e 4-, 6- e 7-quinolinocarboxaldeído, em etanol obtendo as respectivas semicarbazonas.

Nishimura, em 1952, obteve a tiossemicarbazona do p-nitrocinamaldeído aquecendo os reagentes em etanol por 30 minutos.

Kawamura & Yamamoto, em 1952, refluxaram, por 1:30, diacetato do 5-nitro-2-furfuralaldeído com tiossemicarbazida, em metanol e ácido sulfúrico a 10-20%.

Libermann *et al.*, em 1953, partindo do 4-tiazolcarboxaldeído e benzaldeídos p- e m-substituídos, tiossemicarbazida, ácido acético e aquecimento a 50-60 °C por 20 minutos prepararam a respectiva tiossemicarbazona.

Geigy, em 1953, obteve a tiossemicarbazona do 2-pirrolcarboxaldeído usando o aldeído e tiocianato de amônio.

Weller *et al.*, em 1954, obtiveram a tiossemicarbazona do 3-indolcarboxaldeído refluxando mistura do referido aldeído, em metanol, e solução de tiossemicarbazida, em ácido acético a 30%, por 2 horas.

Doyle *et al.*, em 1956, usaram o 2- e 3-indolcarboxaldeído e tiossemicarbazida, em solução hidroalcoólica, para obter a tiossemicarbazona.

Behnisch *et al.*, em 1956, aqueceram em banho-maria, por 1 hora, 6-quinolinocarboxaldeído e 3-indolcarboxaldeído em etanol, tiossemicarbazida em água e gotas de ácido acético, para obter as respectivas tiossemicarbazonas.

Clemence & Eichel, em 1956, obtiveram as tiossemicarbazonas do 2-tiofenocarboxaldeído, 5-metil-2-tiofenocarboxaldeído e 5-nitro-2-tiofenocarboxaldeído refluxando os reagentes, em etanol, por 7 horas e, a seguir, resfriando por 12 horas.

Raffauf, em 1957, obteve a tiossemicarbazona do 5-nitro-2-fufuralaldeído partindo do diacetato do aldeído e tiossemicarbazida em meio hidroalcoólico, em presença de ácido sulfúrico, ácido clorídrico ou ácido fosfórico (para manter pH<4) e aquecimento com agitação a 85 °C.

Fujikawa *et al.*, em 1962 e em 1967, refluxaram 2-pirrolcarboxaldeído e benzaldeídos p-substituídos com tiossemicarbazida e benzoilidrazinonicotinilidrazina e 2-tiofenocarboxaldeído com tiossemicarbazida, em etanol, por 1 a 1:30, obtendo as respectivas tiossemicarbazonas.

French & Blanz, em 1966, refluxaram tiossemicarbazida e aldeídos heterocíclicos, tal como 2-piridinocarboxaldeído, por 40 minutos e resfriaram por uma noite, obtendo as tiossemicarbazonas respectivas.

1.1.1.4 - Preparação de semicarbazonas

Algumas preparações de semicarbazonas usam a semicarbazida e o aldeído, outras usam o diacetato do aldeído em solução ácida. O ácido usado varia de autor para autor. O mais empregado é o ácido sulfúrico, mas também usam-se o ácido nítrico, o ácido clorídrico e o ácido fosfórico.

A semicarbazida é usada como tal ou na forma de seu cloridrato e o tempo e a temperatura de aquecimento também variam de autor para autor.

Takami & Ueno, em 1948, usaram a semicarbazida e diacetato do 5-nitro-2-furfuraldeído em solução ácida para obter a semicarbazona.

Hoggart & Taubman, em 1949, refluxaram o diacetato do 5-nitro-2-furfuraldeído em etanol e cloridrato de semicarbazida, por algumas horas, para obter a semicarbazona.

Sadatake *et al.*, em 1949, obtiveram a mesma semicarbazona refluxando a semicarbazida e diacetato do 5-nitro-2-furfuraldeído em presença do ácido sulfúrico e cloreto estanoso.

Já Kobayash *et al.*, em 1950, usaram, para obter a semicarbazona, o cloridrato de semicarbazida e diacetato do 5-nitro-2-furfuraldeído em solução aquosa ou etanólica e em presença de um sal alcalino orgânico ou inorgânico.

Mima, em 1956, usou acetato de sódio ou de potássio na reação de cloridrato de semicarbazida com diacetato do 5-nitro-2-furufuraldeído.

Argyle *et al.*, em 1958, observaram que o pH ótimo para a obtenção da semicarbazona do 5-nitro-2-furfuraldeído estava entre 3,5 e 4,0.

Raffauf, em 1951, usou semicarbazida e diacetato do 5-nitro-2-furfuraldeído em presença de ácido mineral forte, tal como ácido nítrico, ácido clorídrico, ácido fosfórico ou ácido sulfúrico e aquecimento a 85 °C por 1 hora.

Buczowsky & Lange, em 1958, modificaram a temperatura de aquecimento. Refluxaram o cloridrato de semicarbazida e o diacetato do 5-nitro-2-furfuraldeído, em solução hidroalcoólica a 90 °C, por 1 hora, na presença de ácido sulfúrico concentrado.

Yankov, em 1963, mudou o tempo de aquecimento. Efetuou a reação da semicarbazida e diacetato do 5-nitro-2-furfuraldeído, em solução aquosa, na presença de ácido sulfúrico concentrado e aquecimento a 90 °C por 100 minutos.

Liu & Chen, em 1960, diminuíram a temperatura de aquecimento. Usaram o cloridrato de semicarbazida e diacetato do 5-nitro-2-furfuraldeído, em solução hidroalcoólica, na presença de ácido sulfúrico concentrado e aquecido a 68-70 °C por 1 hora.

Kline & French Laboratories Ltd., em 1960, empregaram também a semicarbazida e do diacetato de 5-nitro-2-furfuraldeído, em presença de ácido sulfúrico concentrado e aquecimento a 85 °C por 2 horas.

Tono & Ueno, em 1949, usaram inicialmente o diacetato de 5-nitro-2-furfuraldeído com sulfato de hidrazina e, em seguida, o sulfato de semicarbazida, em etanol, ácido acético, 3 a 4 horas de refluxo e ajuste do pH a 3-4 com carbonato de sódio.

Kawabe *et al.*, em 1960, também usaram o sulfato de 4-alkilsemicarbazida e diacetato do 5-nitro-2-furfuraldeído, em etanol e aquecimento a 70-80 °C por 30 minutos.

Stillman & Scott, em 1947, obtiveram não só a semicarbazona, mas também a 4-metilsemicarbazona a tiossemicarbazona e a semioxamazona do 5-nitro-2-furfuraldeído, utilizando o aldeído cloridrato da amina respectiva, acetato de sódio e agitação por 1 hora.

Kochergin & Karpov, em 1967, usaram o nitrato do 5-nitro-furfuraldeído para obter o aldeído respectivo que, em contato com o cloridrato de semicarbazida, resultou na semicarbazona. Os autores recrystalizaram a semicarbazona de dois solventes diferentes, obtendo cristais com faixas de fusão diferentes. A recrystalização de ácido acético forneceu produto com faixa de fusão 232-233 °C e a recrystalização de etanol, produto com faixa de fusão 238-239 °C.

Dann & Möller, em 1949, empregaram derivados do benzaldeído, furano ou tiofeno, cloridrato de semicarbazida e acetato de sódio, para obter as respectivas semicarbazonas.

Nardi *et al.*, em 1967, obtiveram a semicarbazona, tiosemicarbazona e outras iminas do 5-nitro-2-furfuraldeído, usando o cloridrato da amina respectiva e aldeído em etanol, acetato de sódio e refluxo por 1 hora.

Yoshina, em 1976, obteve semicarbazona, tiosemicarbazona, hidrazona, oxima e outras iminas do difenilfuro[3,2-c]pirazol, partindo do aldeído, do cloridrato da amina respectiva, acetato de sódio e refluxo por 3 horas.

Oka *et al.*, em 1953, condensaram, por fusão, diacetato de 5-nitro-2-furfuraldeído e acetato de semicarbazida, obtendo a respectiva semicarbazona.

Ueno *et al.*, em 1954, usaram a 2-hidroxietilsemicarbazida em água e 5-nitro-2-furfuraldeído em etanol, para obter a semicarbazona respectiva.

Gever & Ward, em 1955, obtiveram uma semicarbazona usando o 4-(3-morfolinopropilsemicarbazida) e 5-nitro-2-furfuraldeído, em solução aquosa e aquecimento em banho-maria por 10 a 15 minutos.

A semicarbazona, a tiosemicarbazona, a fenilidrazona e a oxima do 5-nitro-(N-metil-2-pirrolcarboxaldeído), do 5-nitro-2-tiofenocarboxaldeído e do 5-nitro-pirrolcarboxaldeído também foram obtidas, empregando-se o aldeído e amina respectiva (Fournari, 1963; Fournari & Chane, 1963; Fournari & Tirouflet, 1963).

González & Brzezicki, em 1950, prepararam a semicarbazona do 2-pirrolcarboxaldeído e oxima do p-clorobenzaldeído, partindo do respectivo aldeído e amina em solução etanólica.

Outras semicarbazonas também foram obtidas da reação de aldeído e amina em solução alcoólica. Exemplos são as semicarbazonas do 2- e do 4-quinolincarboxaldeído, preparadas por Kaplan & Lindwall, em 1943, as semicarbazonas dos 5-, 6-, 7- e 8-quinolinocarboxaldeídos preparadas por Rodionov, em 1945, e as semicarbazonas do 6- e 7-cloro-4-quinolinocarboxaldeído, preparadas por Campbell *et al.*, em 1946.

Semicarbazonas de aldeídos piridínicos também foram preparadas por Alan & Alan, em 1961, refluxando o aldeído respectivo e semicarbazida, em etanol absoluto, por 30 minutos.

Várias semicarbazonas foram preparadas com a finalidade de caracterizar o aldeído. Exemplos são a semicarbazona do 5-metil-2-tiofenocarboxaldeído, preparada por King & Nord, em 1948, e por Hartouch & Dickert, em 1949, e a semicarbazona do N-metil-2-pirrolcarboxaldeído, preparada por Ryskiewicz & Silverstein, em 1954, e por Reichstein, em 1930. Nestes casos, os autores apenas citam a preparação, sem se referir ao método utilizado.

A semicarbazona do 2-pirrolcarboxaldeído também foi preparada por NITTA *et al.*, em 1962, para caracterizar o respectivo aldeído, que foi obtido através de degradação da glucoronamida.

A preparação da semicarbazona do 2-tiofenocarboxaldeído, para caracterizar o aldeído, foi efetuada por vários autores, sendo que cada um deles obteve o produto com pontos de fusão diferentes. Assim, Grishkevich-Trokhimovskii & Matzurevich, em 1912, obtiveram escamas prateadas com ponto de fusão em 213 °C, com decomposição; Hartouch, em 1947, obteve a semicarbazona com faixa de fusão entre 218-219 °C; Sugasawa & Mizukam, em 1955, com faixa de fusão entre 222-224 °C, e Reichstein, em 1930, com faixa de fusão 227-228 °C.

O mesmo aconteceu com a semicarbazona do 3-indolcarboxaldeído. Bulatova & Suvorov, em 1970, obtiveram o produto com faixa de fusão entre 225 - 226 °C, enquanto Alemany *et al.*, em 1967, com faixa de fusão de 250-252 °C e Order & Lindwal, em 1945, com faixa de fusão 265-270 °C, todos com análise elementar confirmando a obtenção.

1.1.2 - Preparação de iminas por outras reações

A adição de um aril ou alquil Grignard a um cianeto de arila fornece, após cuidadosa hidrólise a -15 °C, tratamento com ácido clorídrico e, finalmente com amônia, a cetimina com 70% de rendimento (Layer, 1963).

A reação de um cianeto alifático com um Grignard alifático resulta na imina correspondente com altos rendimentos. O complexo cianeto-Grignard é mais lentamente decomposto com metanol anidro do que com amônia anidra ou decomposição aquosa (Layer, 1963).

Desidrogenação de aminas também fornece iminas (Layer, 1963).

Fenóis e éteres fenólicos reagem com cianetos de alquila ou de arila em éter, quando catalisados por ácido clorídrico e/ou cloreto de zinco, para dar cetiminas com bons rendimentos. A reação pode ocorrer pela dissolução do fenol e nitrila em éter e adição de ácido clorídrico. No caso de fenóis menos reativos, coloca-se também cloridrato de zinco (Layer, 1963).

Nitrilas, quando hidrogenadas sob níquel ou platina, como catalisadores, podem dar iminas, mas, geralmente, os rendimentos são baixos devido à posterior redução à amina e a condensações. (Layer, 1963).

A reação de um composto nitroso com compostos contendo hidrogênio ativo pode também resultar em iminas (Layer, 1963).

Neste caso, a formação da imina é favorecida quando são usados catalisadores fortemente básicos, tais como NaOH, e reação a altas temperaturas (Layer, 1963).

Amidetos alcalinos ou de cálcio, derivados de aminas primárias, reagem com cetonas aromáticas para dar iminas (Layer, 1963).

1.2 - MECANISMO DA REAÇÃO DE FORMAÇÃO DE IMINAS A PARTIR DE COMPOSTOS CARBONÍLICOS E NUCLEÓFILOS NITROGENADOS

1.2.1 - Mecanismos de reação

O conceito de mecanismo de reação, desenvolvido principalmente por químicos orgânicos, inclui o conhecimento de todas as etapas da reação e também detalhada feição estereoquímica de cada etapa que ocorre. Isto implica em conhecimento da composição do complexo ativado em termos das moléculas dos reagentes, bem como da geometria deste em termos das distâncias e ângulos entre os átomos.

O mecanismo proposto para a reação química deve explicar também a velocidade da reação e as mudanças causadas por alteração no meio, na temperatura ou por adição de catalisadores.

O conhecimento do mecanismo de uma reação química é muito útil e entre outros auxilia na escolha das melhores condições de obtenção desta ou de outra reação correlata com bom rendimento.

O método cinético, que estuda a velocidade da reação e os fatores que a influenciam, como concentração dos reagentes e catalisadores, pressão, temperatura, entre outros, é um dos métodos mais usados para estudar o mecanismo pelo qual as reações ocorrem (Zuman, 1984).

1.2.2 - Mecanismo de reação de compostos carbonílicos com reagentes nucleofílicos nitrogenados

Existem vários estudos cinéticos a respeito da reação entre compostos carbonílicos e reagentes nucleofílicos nitrogenados. Estes têm sido estudados extensivamente desde o final do século passado, tanto em relação à influência da basicidade do reagente nucleofílico quanto em relação à reatividade de compostos carbonílicos no mecanismo da reação.

Em 1959, Jencks propôs um mecanismo para a reação. Admitiu ele que a reação se realizasse em duas etapas: (1) o ataque nucleofílico ao composto carbonílico e (2) a desidratação deste, dando origem aos produtos da reação.

A imina formada é instável se os substituintes no carbono ou no nitrogênio forem todos hidrogênio ou grupos alquilas. É estabilizada se um ou mais grupos arilas estiverem ligados ao carbono ou nitrogênio. Estes compostos são facilmente isolados e são chamados bases de Schiff. A estabilização também é atingida se um grupo hidroxila ou um segundo átomo de nitrogênio estiverem ligados ao nitrogênio (Cordes, 1963; Cox, 1978). As estruturas mais comuns são as oximas, as semicarbazonas e as hidrazonas (Amaral *et al.*, 1966; Cordes, 1962; Jencks, 1959).

Mais recentemente, em 1983, Shokhen *et al.*, estudaram a reação de formação de carbinolamina através de cálculos de orbital molecular, como o MINDO/3. Verificaram que na reação de formaldeído com amônia, metilamina, dimetilamina, hidróxido de amônio ou hidrazina formava-se um intermediário energeticamente desfavorável, cuja estabilidade dependia do substituinte no átomo de nitrogênio. Em um segundo passo, ocorria isomerização, com transferência de próton intramolecular, formando a carbinolamina, reação esta que era energeticamente favorável.

Jencks, em 1959, admitiu que a ~~fase~~ lenta da reação, em meio ácido, era a formação da carbinolamina e, em meio neutro e alcalino, sua desidratação.

Estudo da reação de semicarbazida com benzaldeídos m/p-substituídos mostrou que a formação da carbinolamina é a fase lenta da reação em pH menores do que 5 e que a reação de desidratação da carbinolamina é a fase lenta da reação em pH maiores do que 5 (Anderson & Jencks, 1960; Jencks, 1959).

O mesmo comportamento foi observado na reação de fenilidrazina com benzaldeídos p-substituídos e com aldeídos aromáticos heterocíclicos derivados do furano, do tiofeno e do pirrol (Amaral & Bastos, 1971; Amaral, 1972; Moscovici *et al.*, 1976; Hirata & Amaral, 1982).

Em 1974, Sayer *et al.*, estudando a reação de benzaldeídos com reagentes nucleofílicos nitrogenados, propuseram que a formação da carbinolamina pudesse ser efetuada por dois caminhos concorrentes, I e II, conforme se mostra na Figura I.

No caminho I, denominado "caminho concomitante", a formação da ligação nitrogênio-carbono se dá simultaneamente com a protonização do oxigênio carbonílico. Forma-se, pois, um intermediário catiônico (T^+), com velocidade de reação igual a $k_1 a_{H^+}$. Este intermediário transforma-se na carbinolamina (T^0) mediante eliminação de um próton.

Figura I - Mecanismo de formação da carbinolamina, através de dois caminhos concorrentes:

- I - Caminho concomitante
- II - Caminho por etapas

No caminho II, denominado "caminho por etapas", o nucleófilo reage com o composto carbonílico, formando um intermediário dipolar ($T^\pm$), com velocidade de reação igual a k_2 . O intermediário dipolar pode ser protonizado com velocidade de reação igual a $k_3 a_{H^+}$, transformando-se no intermediário catiônico (T^+), o qual, eliminando um próton, transforma-se, com velocidade igual a k_6 , na carbinolamina (T^0). O intermediário $T^\pm$ pode, ainda, por um processo de transferência de próton, converter-se diretamente na carbinolamina (T^0).

A carbinolamina formada pelo caminho I ou pelo caminho II desidrata-se, com velocidade de reação igual a $k_5 a_{H^+}$, dando origem aos produtos da reação.

Sayer definiu, ainda, duas constantes de equilíbrio

$$K_n = \frac{T^\pm}{[RCHO] [R'NH_2]} \quad (3)$$

$$K_{ad} = \frac{T^0}{[RCHO] [R'NH_2]} \quad (4)$$

em que K_n é a constante de equilíbrio para a formação do intermediário $T^\pm$ e K_{ad} é a constante de equilíbrio para a formação da carbinolamina, T^0 (Sayer *et al.*., 1974).

A importância do caminho por etapas em relação ao caminho concomitante, para uma série de reagentes, é determinada pela estabilidade do intermediário $T^\pm$, que depende, por sua vez, da basicidade do reagente nucleofílico e da reatividade do composto carbonílico (Jencks, 1981). A estabilidade de $T^\pm$ é então aumentada pelo aumento de pK_a da amina ou da constante de equilíbrio K_{ad} da reação. Assim, aminas fracamente básicas ou compostos carbonílicos pouco reativos reagem principalmente pelo caminho concomitante. Aumentando-se a basicidade da amina ou o valor de K_{ad} , aumenta-se a estabilidade de $T^\pm$ e a contribuição do caminho por etapas.

Usando como nucleófilo a semicarbazida ($pK_a = 3,65$), a formação da carbinolamina na reação com p-metoxibenzaldeído efetua-se pelo caminho concomitante, ao passo que a formação da carbinolamina na reação com p-nitrobenzaldeído, mais reativo, ocorre pelo caminho por etapas (Cordes & Jencks, 1962).

No caso da tiosemicarbazida, nucleófilo fraco ($pK_a = 1,88$), a formação da carbinolamina na reação com p-clorobenzaldeído efetua-se pelo caminho concomitante (Sayer & Jencks, 1969). Empregando-se hidroxilamina, nucleófilo forte ($pK_a = 6,15$), a formação da carbinolamina com o mesmo aldeído ocorre pelo caminho por etapas (Sayer *et al.*, 1974).

Iodetos de formil-1-metilpiridínios, por terem uma unidade de carga positiva, são extremamente reativos ao reagirem com nucleófilos nitrogenados, a tal ponto que a desidratação da carbinolamina intermediária é a fase lenta da reação em toda faixa de pH estudada (pH = 1 a 6), não permitindo, consequentemente, estudar-se a formação da carbinolamina (Sojo *et al.*, 1976).

A reação entre piridinóido-4-carboxaldeído reagindo e fenilidrazina ($pK_a = 5,26$) procede por um caminho por etapas devido à grande nucleofilicidade da amina e à grande reatividade do aldeído (Moscovici *et al.*, 1982). Quando este aldeído reage com tiosemicarbazida ($pK_a = 1,88$), apesar da pequena basicidade da amina, a estabilidade do intermediário $T^\pm$ é suficiente para que se observe sua formação, permitindo a ocorrência do caminho por etapas (Amaral *et al.*, 1981).

Amaral e colaboradores estudaram a reação de fenilidrazina com benzaldeídos m/p-substituídos, 2-furfural-5-substituídos, 2-tiofenocarboxaldeído, 2-pirrolcarboxaldeído e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído (Moscovici *et al.*, 1976; Amaral & Bastos, 1971; Amaral, 1971; Hirata & Amaral, 1972). Estes pesquisadores verificaram que os dados obtidos estão de acordo com a proposta de outros autores.

Mais recentemente, aventou-se a hipótese de um terceiro caminho para a formação da carbinolamina. Este, denominado "caminho pré-associação", envolve associação prévia do catalisador, nucleófilo e composto carbonílico, em um complexo de encontro. A seguir, ocorre formação de intermediário "zwiteriônico" ($T^\pm$) no complexo de encontro, transferência de próton e dissociação do complexo formado, dando origem ao intermediário T^+H . Este se transforma, rapidamente, por expulsão de próton, na carbinolamina neutra (T^0) e esta, no produto (Sayer & Edman, 1979).

O caminho por "pré-associação" ocorrerá quando a velocidade de quebra do intermediário de adição $\text{T}^\ddagger$ é maior do que a velocidade de separação do complexo intermediário-catalisador (Jencks, 1981).

Os referidos autores observaram, também, que a velocidade de formação da carbinolamina para reações entre um mesmo reagente nucleofílico nitrogenado e diversos benzaldeídos m, p-substituídos, pelo caminho "concomitante", deve ser pouco influenciada pelos efeitos dos substituintes no anel benzênico. Isto ocorre porque os substituintes que diminuem a densidade eletrônica do anel facilitam a formação da ligação nitrogênio-carbono e, ao mesmo tempo, dificultam a protonização do oxigênio carbonílico. Por outro lado, substituintes que aumentam a densidade eletrônica do anel benzênico dificultam

tam a formação da ligação carbono-nitrogênio e, ao mesmo tempo, facilitam a protonização do oxigênio carbonílico (Rosenberg *et al.*, 1974).

Estes autores observaram, ainda, que a velocidade de formação da carbinolamina para reações entre um mesmo reagente nucleofílico nitrogenado e diversos benzaldeídos *m/p*-substituídos, pelo mecanismo "por etapas", deve sofrer grande influência dos efeitos dos substituintes que diminuem a densidade eletrônica do anel benzênico.

Os substituintes que diminuem a densidade eletrônica do anel benzênico facilitam a formação da ligação nitrogênio-carbono e substituintes que aumentam a densidade eletrônica dificultam a formação da ligação nitrogênio-carbono.

A desidratação da carbinolamina pode ocorrer com catálise ácida, sem catálise, em que a transferência do próton é mediada pelo solvente, ou ainda com catálise básica (Sayer & Jencks, 1969; Rosenberg *et al.*, 1974; Jencks & Gilbert, 1977; Sayer *et al.*, 1982).

Perfis de velocidade de reação em função do pH para reações entre compostos carbonílicos e reagentes nucleofílicos nitrogenados apresentam inflexões correspondentes à etapa lenta da reação ou a mudanças da estrutura do substrato. A análise de tais perfis fornece informações substanciais sobre o mecanismo de reação envolvido (Sayer *et al.*, 1974).

A Figura II ilustra as formas que podem assumir os perfis de velocidade de reação para a formação de oximas, hidrazonas, semicarbazonas e outros derivados de compostos carbonílicos, de acordo com as importâncias relativas dos caminhos "concomitante" e "por etapas".

O perfil do tipo A é esperado em reações onde o nucleófilo é fracamente básico e/ou o aldeído é pouco reativo, como 4-clorobenzaldeído com acetidrazida (Sayer & Edman, 1979) e com tiossemicarbazida (Sayer & Jencks, 1969; Sayer *et al.*, 1974) e *p*-metoxibenzaldeído com semicarbazida (Sayer *et al.*, 1974). Este perfil apresenta apenas uma inflexão, em pH próximo à neutralidade. Esta corresponde à mudança na etapa determinante da velocidade de reação da formação não catalisada da carbinolamina para a desidratação da carbinolamina catalisada pelo íon hidrônio, quando se aumenta o pH.

Figura II - Formas que podem assumir os perfis de reação para formação de oximas, hidrazonas, semicarbazonas e outros derivados de compostos carbonílicos, de acordo com as importâncias relativas dos caminhos concomitante (I) e por etapas (II)

O perfil do tipo B é esperado em reações onde o nucleófilo é menos básico ou o aldeído é menos reativo, como semicarbazida e 4-nitrobenzaldeído (Cordes & Jencks, 1962; Sayer *et al.*, 1974; Stachissini, 1984) metoxiamina e benzaldeídos p-substituídos (NO_2 , Cl e OCH_3) (Rosenberg *et al.*, 1974), fenilidrazina e 2-, 3- e 4-piridino-N-óxido-carboxaldeídos (Okano *et al.*, 1980) e fenilidrazina e o-hidroxibenzaldeído (Bastos *et al.*, 1981). Este perfil apresenta duas inflexões e cinco regiões correspondentes a cinco constantes de velocidade cineticamente significativas (Figura III). A inflexão em valor baixo de pH reflete mudança na etapa determinante da velocidade da reação de formação não catalisada do intermediário ($\text{T}^\pm$) para uma transferência de próton catalisada pelo íon hidrogênio, com o aumento do pH. A transferência do próton do $\text{T}^\pm$, catalisada por ácido, torna-se lenta em relação à reação reversa, ou seja, a conversão aos reagentes. A inflexão em valor de pH maior novamente reflete mudança de etapa lenta da transferência de próton, mediada pelo solvente, para a desidratação da carbinolamina catalisada pelo íon hidrônio, com o aumento de pH. O intermediário $\text{T}^\pm$ da adição tem tempo de duração suficiente para que sua conversão a T° ocorra por mecanismo de catálise ácida geral, com transferência de próton controlada por difusão. Em valor muito baixo de pH, o mecanismo predominante passa a ser o concomitante (Rosenberg *et al.*, 1974).

O perfil de tipo C, esperado em reações com nucleófilos nitrogenados fortemente básicos, tais como hidroxilamina (Lowry & Richardson, 1976; Rossi & Amaral, 1984), apresenta apenas uma inflexão em valor baixo de pH. Esta inflexão reflete mudança da etapa determinante da velocidade de reação da formação não catalisada do intermediário zwitteriônico ($\text{T}^\pm$) para a desidratação do intermediário carbinolamina (T°), catalisada pelo íon hidrônio, com o aumento do pH. Assim, em quase toda extensão de pH a etapa determinante da velocidade de reação é a desidratação da carbinolamina. Isto ocorre porque o intermediário inicialmente formado ($\text{T}^\pm$), provavelmente, tenha estabilidade suficiente para que a reação reversa, que o converte a reagentes, seja mais lenta que a transferência de próton que o converte a T° .

1.2.3 - Catálise ácido-básica geral na formação de iminas

A reação de formação da carbinolamina é, geralmente, suscetível à catálise ácida específica pelo íon hidrônio e à catálise ácida geral por ácidos de Brønsted (Jencks, 1976; Jencks & Gilbert, 1977; Palmer & Jencks, 1980). Em alguns casos, pode ser sensível à catálise básica específica e geral.

Figura III - Diagrama ilustrando as contribuições das constantes de velocidade cineticamente significativas ao perfil de velocidade de reação em função do pH.

A reação de desidratação da carbinolamina ocorre, geralmente, com catálise pelo hidrônio e, muito raramente, com catálise ácida ou básica geral.

A força propulsora para a catálise ácida ou básica geral das reações de adição à carbonila e reações análogas resulta, em última instância, da grande variação do pK dos grupos reagentes. Esta variação, por sua vez, é decorrente de mudança nas ligações, o que ocorre, por exemplo, na adição de uma amina a um grupo carbonila. Ocorre, então, aumento na acidez da amina da ordem de 22 unidades de pH e aumento na basicidade do átomo de oxigênio da carbonila da ordem de 13 unidades de pH.

Essas grandes variações de pK dão origem, normalmente, a intermediários e estados de transição instáveis. A catálise acelera a reação por aprisionar tais intermediários ou por estabilizar os estados de transição que conduzem à sua formação (Jencks, 1976).

Catálise ácida-básica geral deste tipo de reação, geralmente, representa reações nas quais o catalisador doa um próton ao reagente eletrofílico em uma direção e o remove na direção reversa ou reações nas quais o catalisador facilita a transferência de próton do reagente nucleofílico ou para este.

Sayer *et al.*, em 1974, construíram um gráfico em que colocaram os logaritmos das constantes catalíticas do íon hidrônio, para a formação da carbinolamina, na reação de p-clorobenzaldeído com diversos reagentes nucleofílicos nitrogenados contra o valor de $0,8 \text{ pK}_a + \log K_{ad}$. Obtiveram-se duas retas: uma para as reações que ocorrem pelo caminho "concomitante" e outra para as reações que ocorrem pelo caminho "por etapas", como mostra a Figura IV. Observa-se que a semicarbazida encontra-se em posição intermediária entre os dois caminhos.

Jencks, em 1972, publicou uma revisão na qual utiliza os diagramas de contorno de coordenadas de reação para explicar o mecanismo de catálise ácida-básica geral de reações complexas. Entendendo por reações complexas

Figura IV - Dependência do logaritmo das constantes de velocidade da formação da carbinolamina catalisada pelo íon hidrônio do 4-clo-ro-benzaldeído com hidroxilaminas e hidrazinas substituídas com pK'_a e $\text{log } K_{ad}$ dos nucleófilos. O símbolo (●) foi assinalado inequivocamente para o caminho por "etapas" ($K_n k_3$) e o símbolo (○) para "concomitante" (k_1). A inclinação das retas correspondentes a k_1 e $K_n k_3$ são 0,33 e 1,0, respectivamente. A linha sólida representa a soma dos dois caminhos.

aquelas em que uma ou mais transferências de prótons acompanham outro processo frequentemente mais difícil, tal como formação ou ruptura de ligação nitrogênio-carbono.

Os diagramas de contorno de coordenadas de reação são construídos com eixos separados de formação e ruptura da ligação do átomo de carbono central e do processo de transferência de próton. Representação esquemática resumida pode ser observada à Figura V.

Assim, um mecanismo de reação "por etapas" refere-se à reação que segue o caminho ao longo das bordas do diagrama e envolve um intermediário e dois estados de transição distintos. No mecanismo de reação "concomitante" o estado de transição da etapa determinante ocorre na região central do diagrama com movimentos significantes ao longo de ambas as coordenadas.

Em revisão mais recente, em 1981, Jencks propõe que para a maioria das reações a escolha do mecanismo é ditada pelo tempo de duração do intermediário que pode ser formado na reação, o qual permite distinção qualitativa completamente definida entre mecanismos. O caráter do estado de transição ou grau de assistência na reação fornece somente descrição quantitativa sem limite definido.

Se o tempo de duração de um intermediário for mais longo que a frequência de vibração da ordem de 10^{13} - 10^{14} s⁻¹, diz-se que ele existe, aparecendo, pois, uma linha limite entre mecanismo "concomitante" e "por etapas".

Quando um nucleófilo forte ataca um composto carbonílico reativo é provável que o intermediário inicialmente formado tenha estabilidade suficiente para ser "apanhado" por uma transferência de próton envolvendo o solvente antes que ele reverta aos reagentes, tal que a catálise pelos tampões torna-se desnecessária. Exemplo é a reação entre trimetilamina e formaldeído (Cordes & Jencks, 1962).

Figura V - Representação esquemática de um diagrama de contorno de coordenada de reação onde o movimento do próton é mostrado no eixo horizontal e a formação ou ruptura da ligação C-N é mostrado no eixo vertical.

Por outro lado, se um intermediário menos estável retorna aos reagentes mais rapidamente do que é capturado por uma transferência de próton mediada pelo solvente, deve existir catálise pelos tampões. O intermediário deve ser capturado por moléculas do tampão, ocorrendo catálise ácida geral, num mecanismo de transferência de próton controlada por difusão, tal que tampões moderadamente ácidos aumentam a constante de velocidade observada. Exemplo desse mecanismo é a reação entre metoxiamina e 4-clorobenzaldeído (Jencks, 1981).

Quando o intermediário tem tempo de duração curto mas significativo, é provável que a reação siga através de um mecanismo "pré-associação", no qual todas as moléculas do reagente e catalisador estão reunidas num complexo de encontro, antes que aconteça primeira mudança covalente. Se a volta aos reagentes, pelo complexo intermediário, ocorre mais rapidamente do que a sua liberação do catalisador, a reação segue o mecanismo "pré-associação", caso contrário, segue o mecanismo por etapas (Jencks, 1981).

Quando o intermediário torna-se progressivamente mais estável, a catálise ácida torna-se igualmente mais importante.

Se o tempo de duração de um intermediário torna-se curto, o intermediário não se forma e a reação deve proceder através de um mecanismo concomitante.

Brønsted e Pedersen, em 1924, estudando a reação de decomposição da nitramida, catalisada por base, evidenciaram a existência de correlação entre as constantes de velocidade da reação catalisada e as constantes de dissociação do ácido ou da base. A correlação encontrada por eles pode ser representada pelas equações:

$$\log K_A = \log C_A - \alpha pK_a \quad \text{catálise ácida geral}$$

ou

$$\log K_B = \log C_B - \beta pK_a \quad \text{catálise básica geral}$$

A maneira comum de verificar a catálise ácida geral é medir a velocidade da reação em várias concentrações do catalisador, mas com concentração do íon hidrônio constante, isto é, em uma solução tampão. Se existir catálise geral significa que a transferência de prótons deve estar envolvida na etapa determinante da velocidade da reação (Lowry & Richardson, 1976).

O valor de α pode ser considerado como uma medida da posição do próton no estado de transição: α próximo a zero (HA = ácido muito forte) indica estado de transição formando-se antes, com pequena transferência do próton; α próximo a 1,0, indica que o estado de transição está se formando com o próton quase completamente transferido. (Swain & Worosz, 1965).

Se a catálise ácido-básica geral se processa numa reação complexa, por exemplo, num processo que envolva transferência de próton e ataque nucleofílico, α mede somente o grau de transferência do próton no estado de transição e não o grau de ligação do nucleófilo (Lowry & Richardson, 1976).

Valores de 0,22 e 0,15 foram obtidos para o α de Brønsted na reação de p-clorobenzaldeído com nucleófilos fracamente básicos, como 2-metiltiossemicarbazida (Sayer & Jencks, 1973) e tiossemicarbazida (Sayer & Jencks, 1969), respectivamente.

Okano *et al.*, em 1980, e Amaral & Okano, em 1981, estudando a reação de aldeídos piridínicos com nucleófilos nitrogenados como a fenilidrazina e tiossemicarbazida obtiveram valor de 0,21 para o α da equação de Brønsted, o qual é pequeno, indicando que a reação é pouco sensível à força do ácido empregado como catalisador.

As reações de fenilidrazina com benzaldeídos p-substituídos (Amaral & Bastos, 1971), furfural (Amaral, 1967), 2-tiofenocarboxaldeído e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído (Moscovici *et al.*, 1976) obtiveram valor de $0,35 \pm 0,02$ para o α da equação de Brønsted. Exceção é feita à reação de fenilidrazina com 2-pirrolcarboxaldeído em que se obteve $\alpha = 0,90$ e para a qual se aventou a hipótese da catálise bifuncional por parte dos ácidos carboxílicos, uma vez que a reatividade desse aldeído é semelhante à do N-metil-2-pirrolcarboxaldeído. Essa hipótese foi confirmada posteriormente pelo uso de catalisadores monofuncionais (Hirata & Amaral, 1982).

Stachissini, em 1984, também obteve valores na faixa de 0,18 - 0,30 para o α da equação de Brønsted, quando estudou a reação do reagente Girard T com benzaldeídos p-substituídos.

1.3 - ATIVIDADE BIOLÓGICA DE IMINAS

Diversas iminas ou bases de Schiff, particularmente as que contêm em sua estrutura anéis aromáticos ou heteroaromáticos, apresentam atividade antibacteriana, antifúngica, tuberculostática, antileprótica, antiviral, antineoplásica, tripanomicida, tricomonicida, antimalárica e outras (Wilson *et al.*, 1974).

1.3.1 - Atividade antibacteriana

Entre as iminas que apresentam atividade antibacteriana, citam-se particularmente as semicarbazonas. Dodd & Stillman, em 1944, e Dann & Möller, em 1949, foram os primeiros a relatar a atividade antibacteriana de semicarbazonas derivadas de nitrofuranos. Desde então, vários compostos têm sido testados, entre eles semicarbazonas e tiosemicarbazonas N-substituídas, principalmente as derivadas do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído, que foram as mais ativas. Estas apresentam atividade frente ao *Micrococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* e *Proteus vulgaris* (Cramer & Dodd, em 1947; Main, 1947; Wolinsky *et al.*, 1949; Schoog, 1956; Koschucharov & Harisanova, 1960; Skagius *et al.*, em 1961; Nardi *et al.*, 1967; Bender & Paul, 1951; Kalla & Ausborn, 1971; Hoyle *et al.*, 1973; Hamilton-Miller & Brumfitt, 1978).

Dreizen *et al.*, em 1949, relataram que semicarbazonas, oximas, metil-semicarbazonas, acetilidrazonas e 2-hidroxi-etil-semioxamazonas do nitrofurano podem ser usadas no controle de cárie dental em razão da pronunciada ação antibacteriana em baixa concentração na saliva *in vitro*. Aparentemente, estes compostos não são rapidamente absorvidos ou destruídos na cavidade oral.

Oximas e hidrazonas alquílicas e arílicas de derivados nitrofuranos são também citadas na literatura como tendo atividade antibacteriana. Por outro lado, oximas e semicarbazonas de nitrotiofenos também apresentam atividade antibacteriana contra *S. aureus*, embora menor do que a dos nitrofuranos (Umezawa *et al.*, 1963).

Gialdi & Ponci, em 1951, testaram a atividade antibacteriana frente a *E. coli* e *S. aureus* de 6-, 7- e 8-quinolinocarboxaldeidotiossemicarbazonas. Verificaram que a 8-quinolinocarboxaldeidotiossemicarbazona era bem ativa e o 6- e 7-derivados eram fracamente ativos.

Taniyama & Tanaka, em 1965, citam, ainda, tiossemicarbazonas do salicilaldeído e da 2-hidroxiacetofenona e Degen *et al.*, em 1967, tiossemicarbazonas da piperidina, morfolina e metilpiperazina como compostos com atividade antimicrobiana.

Em 1948, Ward & Dodd prepararam derivados nitratos e não nitratos do tiofeno pirrol e os resultados da atividade bacteriostática *in vitro* foram comparados com os derivados furanos correspondentes. Verificaram que certos derivados furano contendo substituinte na posição 2, como grupo aldeído ou cetona, e nitrado na posição 5 são totalmente eficientes como agentes bacteriostáticos e que derivados do tiofeno semelhantes, nitrados, mostraram, em parte, a tendência observada naqueles. Pareceu aos autores que um grupo nitro pode conferir ação bacteriostática nos compostos derivados do tiofeno, mas é provável que estes compostos não sejam tão eficazes como os nitrofuranos.

Na série dos derivados do pirrol não nitrados, a 2-acetilpirrolsemicarbazona apresentou ação bacteriostática, em dois dos seis organismos testados, em contraste com os resultados obtidos para a série do furano e do tiofeno. Este composto mostrou atividade contra *S. hemolyticus* e *E. typhosa*, a 40 mg%, em 24 e 96 horas de incubação. A presença do grupo nitro na posição 5 não somente falhou em manter a atividade observada nos compostos, mas também conferiu somente leve atividade em outros derivados ensaiados (Ward & Dodd, 1948).

Dodd *et al.*, em 1950, verificaram que substituição do oxigênio por enxôfre ou nitrogênio, no anel heterocíclico, diminui a atividade antibacteriana dos compostos *in vitro*. Assim, derivados com anel furânico são os mais ativos e derivados do pirrol, bem menos ativos.

A ordem da atividade bacteriostática *in vitro*, conferida a uma série de derivados do furano, tiofeno e pirrol, com a introdução de um grupo nitro, é a seguinte: furano > tiofeno > pirrol, com este último praticamente desprovido de atividade (Ward & Dodd, 1948).

Os compostos com grupo nitro na posição 5 são ativos e um segundo grupo nitro, na posição 3 ou 4, diminui ou anula a atividade. Compostos com substituintes na posição 2 foram ~~ensaiados~~ e verificou-se que aqueles que continham a porção imina eram bem ativos (Dodd *et al.*, 1950).

Sob o ponto de vista químico não há explicação para a atividade, pois não existe correlação desta com a estrutura dos compostos ou dos parâmetros físico-químicos da molécula. As constantes físicas da série não têm relação com a atividade e o potencial de ~~oxi-redução~~ dos compostos falha em explicar todos os derivados (Dodd *et al.*, 1950).

Muitos autores afirmam que a atividade antibacteriana está relacionada com a redução do grupo nitro *in vivo* (Cramer & Dodd, 1947 ; Bender & Paul , 1971; Asnis, 1957; Beckett & Robinson, 1957; Theus & Tiedt, 1968; McCalla *et al.*, 1970; Powers & Mertes, 1979; Kalla & Ausborn, 1971; Hoyle *et al.*, 1973; Ekstrom *et al.*, 1975). Outros autores, entretanto, discordam desta afirmação, pois dizem que a redução do grupo nitro não é limitada à série das semicarbazonas e não pode ser considerada a chave das propriedades funcionais. A correlação do grupo nitro intacto com a ação máxima parece ir também contra o papel da redução na atividade biológica (Dodd *et al.*, 1950).

A cadeia lateral semicarbazona parece ter papel importante na manifestação da atividade antibacteriana *in vivo*, embora não se tenha definido, ainda, qual seja este papel (Dodd *et al.*, 1950).

O derivado 5-nitro-2-furanocarboxaldeidossemicarbazona age exclusivamente na fase lenta de crescimento, ao contrário de outros derivados (Dodd *et al.*, 1950; Theus & Tiedt, 1968).

A ação antibacteriana deste composto, *in vivo*, ocorreria devido à presença do grupo nitro, que funcionaria como grupo aceptor de elétrons, interferindo em processos enzimáticos do metabolismo das bactérias. Talvez ele antagonize um aminoácido essencial ou fator de crescimento ou a redução do grupo nitro utiliza, preferencialmente, esse substrato essencial, removendo-o do acesso à bactéria. A porção semicarbazida na posição 2 mediará esta ação (Dodd *et al.*, 1950).

Observações indicam que de algum modo as moléculas eficazes bloqueiam temporariamente transferência de energia necessária que precede a divisão celular (Hirano *et al.*, 1967).

Yoneda & Nitta observaram que o grupo $-\text{CH} = \text{CH}-$ ou $-\text{CH} = \text{N}-$ entre o 5-nitrofúril e o grupo final na cadeia lateral serve como grupo suplementar para aumentar a atividade antibacteriana (Yoneda & Nitta, 1964). Relacionaram, ainda, a atividade antibacteriana com a superdeslocabilidade nucleofílica na posição 2, índice que mede a reatividade nesta posição. Verificaram que havia correlação e afirmaram também que em adição à reatividade química, outros fatores, tais como permeabilidade, difusibilidade e solubilidade das substâncias nos tecidos e células podem influenciar a atividade antibacteriana. Através de cálculos de orbital molecular, verificaram que os compostos, que podiam ser, reduzidos mais facilmente não apresentavam a ação antibacteriana mais forte. Concluíram que não havia relação significativa entre a natureza do grupo nitro e a atividade antibacteriana.

1.3.2 - Atividade antifúngica

Algumas iminas apresentam atividade antifúngica. Entre elas, as oximas, hidrazonas, semicarbazonas e tiosemicarbazonas do 5-nitro-2-furfuraldeído e fenilidrazonas do benzaldeído, salicilaldeído, furfuraldeído e quinolinaldeído.

Assim, Ward *et al.*, em 1948, verificaram que a oxima do 5-nitro-2-furfuraldeído apresentava atividade antifúngica frente a vários microrganismos, tais como *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton purpurium*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton inguinale*, *Microsporum lanosum* e *Epidermophyton albicans*.

Koschucharov & Harisanova, em 1960 e em 1962, observaram atividade contra *C. albicans* e *Dermatophyton* em derivados alquílicos e arílicos da hidrazona e outras iminas do 5-nitro-2-furfuraldeído.

Kawabe *et al.*, em 1960, também relataram atividade antifúngica em derivados 4-alquil-substituídos e em hidantoínas, semicarbazonas e tiossemicarbazonas de 5-nitro-2-furfuraldeído. Os microrganismos testados foram *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton asteroides* e *Microsporum gypseum*.

Tartler *et al.*, em 1963, encontraram atividade antifúngica contra *Trichosporum cutaneum* em derivados 1-aminoidantoína, semicarbazona, hidrazona e na 3-aminoxazolidona do 5-nitro-2-furfuraldeído.

Nardi *et al.*, em 1967, por sua vez testaram a tiossemicarbazona do 5-nitro-2-furfuraldeído frente ao *Trichophyton mentagrophytes* e *Candida albicans*, não encontrando atividade antifúngica. Outros derivados N₄-substituídos, entretanto, foram ativos.

Tiossemicarbazonas de 5-nitro-2-furfuraldeído N-substituídas foram ativas contra *Trichophyton* e *Candida*, ao passo que as semicarbazonas correspondentes foram biologicamente ineficazes (Degen *et al.*, 1967).

Fenilidrazinas de benzaldeído, salicilaldeído, furfuraldeído e quinolinocarboxaldeído apresentaram atividade antifúngica frente ao *Penicillium simplicissimum*, *Aspergillus niger*, *Trichothecium roseum* e *Trichophyton gypseum* (Zsolnai, 1962).

Semicarbazonas, tiossemicarbazonas, oximas e outras iminas do 6-, 7- e 8-quinolinocarboxaldeído foram testadas em *Candida albicans*, e *Trichophyton mentagrophytes*, verificando-se que são inativas, ou pouco ativas, como antifúngicos (Gialdi & Ponci, 1957).

Verificou-se que, entre os derivados de nitrofuranos, a atividade antifúngica não está correlacionada com a atividade antibacteriana e que um grupo nitro na posição 5 facilita a atividade antifúngica, que desaparece com um segundo grupo nitro na posição 3 ou 4 (Novikov *et al.*, 1966).

1.3.3 - Atividade tuberculostática

A atividade tuberculostática presente nas iminas se manifesta, principalmente, nas tiossemicarbazonas e, entre os compostos carbonílicos que as originam, citam-se derivados do benzaldeído, do 2-tiofenocarboxaldeído, do 2-furanocarboxaldeído, do 2- e 3-indolcarboxaldeído, do 2-pirrolcarboxaldeído, do 2- e 4-quinolinocarboxaldeído, do 3-piridinocarboxaldeído 4-substituído e do nicotinaldeído (Wagner & Winkelmann, 1972).

Hoggart *et al.*, em 1949, encontraram atividade tuberculostática na 5-nitro-2-furanocarboxaldeidotiossemicarbazona e nas 2- e 4-quinolinocarboxaldeidotiossemicarbazonas. Anderson *et al.*, em 1960, observaram atividade tuberculostática, principalmente em duas cepas, H₃₇R_V e B₁, na 5-nitro-2-furanocarboxaldeidotiossemicarbazona, 2-tiofenocarboxaldeidotiossemicarbazona e 2-pirrolcarboxaldeidotiossemicarbazona.

Donovick *et al.*, em 1950, observaram que entre os benzaldeídos, o 4-amino, 4-metoxi e 4-acetamidoderivados são bem ativos *in vitro* (Geigy, 1953; Wagner *et al.*, 1972).

Hamre *et al.*, em 1950, encontraram atividade tuberculostática tanto em tiossemicarbazonas de derivados de benzaldeídos p-substituídos quanto em tiossemicarbazonas do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído, do furanocarboxaldeído e do tiofenocarboxaldeído.

Hagenbach & Gysin, em 1952, afirmaram que nas tiossemicarbazonas do furano, tiofeno, tiazol, pirrol, 4-metilpirrol e imidazol ocorria perda completa da atividade tuberculostática, relação à 3-piridinocarboxaldeidotiossemicarbazona.

Weller *et al.*, em 1954, verificaram que a 3-indolcarboxaldeidotiossemicarbazona tinha alta atividade tuberculostática *in vitro* frente às cepas H₃₇R_V e, H₃₇R_a e T_S 1760 do *Mycobacterium tuberculosis*, quando testadas em camundongos. Doyle *et al.*, 1956, também encontraram atividade na 2- e 3-indolcarboxaldeidotiossemicarbazona frente à cepa H₃₇R_V do *M. tuberculosis*.

Caldwell & Nobles, em 1956, verificaram que a 2-tiofenocarboxaldeidotiossemicarbazona inibia totalmente a cepa H₃₇R_V do *M. tuberculosis* em concentrações inferiores a 0,2 mg%.

Allan & Allan, em 1961, observaram atividade tuberculostática em tiosemicarbazonas e hidrazonas de aldeídos piridínicos; Wolinsky *et al.*, (1949); Bender & Paul (1951); Kawabe *et al.*, (1960) e Skagius *et al.*, (1961) em derivados de semicarbazonas do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído e Hamada (1959) em hidrazonas de benzaldeídos.

Fujikawa *et al.*, em 1962 e em 1967, observaram atividade tuberculostática em tiossemicarbazonas 4-substituídas do pirrolcarboxaldeído, sendo que a concentração inibitória mínima dos compostos variou de 3,13 a 12,5 µg/ml, enquanto que para tiossemicarbazonas 4-substituídas do tiofenocarboxaldeído, a concentração inibitória mínima variou de 1,25 a 12,50 µg/ml e para benzaldeídos foi 25 µg/ml, frente à cepa H₃₇R_V e 50 µg/ml frente à cepa H₃₇R_VR do *M. tuberculosis*.

1.3.4 - Atividade tripanomicida

Atividade tripanomicida foi verificada principalmente nas semicarbazonas e tiossemicarbazonas derivadas do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído.

Giarman, em 1951, ensaiou a atividade tripanomicida em camundongos, verificando que a semicarbazona e semicarbazonas hidroxietil-N-substituídas do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído curavam 80 a 100% dos animais infectados.

Packhnian, em 1957, verificou que semicarbazona, 2-metilsemicarbazona, fenilhidrazona, 2-(2-hidroxietilsemicarbazona) e semioxamazona do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído, em altas concentrações, imobilizaram completamente os tripanossomas após 24 horas de exposição. A 5-nitro-2-furanocarboxaldeído semicarbazona apresentou efeitos curativos em camundongos infectados com *Trypanosoma gambiense* e *Trypanosoma rhodesiense*.

Nardi *et al.*, em 1967, verificaram que algumas semicarbazonas e tiossemicarbazonas N-substituídas do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído apresentavam ação *in vivo* contra *Trypanosoma congolense*, sendo algumas curativas e outras supressivas. Alguns compostos apresentaram também atividade contra o *Trypanosoma brucei*.

Andrade & Brener, em 1969, ensaiaram *in vivo* a 5-nitro-2-furanocarboxaldeído semicarbazona na doença de Chagas, verificando que ela destruía formas leishmanias intracelulares do *T. cruzi*, provocando desintegração do parasito.

Casero *et al.*, em 1980, encontraram atividade contra *Trypanosoma rhodesiense* em testes *in vitro* nas 2-acetilpiridinotiossemicarbazonas.

Pesquisas recentes mostram o aumento da sobrevivência de camundongos infectados com *T. cruzi*, embora não se tenha observada a cura radical, mediante o emprego de tiossemicarbazonas, como a 2-cloro-4-dimetilanina e a 4-dimetilaminobenzilidenotiossemicarbazona. A relação estrutura-atividade em testes *in vitro* pareceu ser semelhante àquela para a ação tuberculostática: (a) o átomo de enxofre na porção tiossemicarbazida não pode ser substituído pelo átomo de oxigênio; (b) substituição nas posições 3 ou 4 da semicarbazona elimina a atividade e (c) tiossemicarbazonas alifáticas são inativas (Wilson *et al.*, 1974).

A atividade tripanomicida parece ser devida à inibição da síntese de proteínas, analogamente ao que acontece com a atividade antiviral (Wilson *et al.*, em 1974).

1.3.5 - Atividade tricomonicida

Vários pesquisadores entre eles Savier *et al.*, em 1970, relataram atividade tricomonicida para as iminas, verificando que hidrazonas arílicas do furano, tiofeno, nitrotiofeno e nitrofurano e outras iminas, apresentavam atividade em *Trichomonas vaginalis*.

Roffey & Verge, em 1973, relataram a mesma atividade para isotiossemicarbazonas de 5-nitrotiofenos em *T. vaginalis*. Gayral *et al.*, em 1981, observaram a atividade tricomonicida para iminas alquílicas, arílicas e alquilarílicas do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído e do 5-nitro-2-tiofenocarboxaldeído.

1.3.6 - Atividade antimalárica

Gayral *et al.*, em 1981, verificaram que iminas alquílicas, arílicas e alquilarílicas do 5-nitrotiofeno apresentavam forte atividade antimalárica contra esquizontes eritrocíticos, reduzindo a parasitemia em 95%.

Klayman *et al.*, em 1984, acharam atividade antimalárica moderada em tiossemicarbazonas N_4 -substituídas da 2-acetilquinolina. Muitas delas promoram cura de camundongos infectados com *Plasmodium berghei* com dose de 320 mg/Kg. Verificaram que estes compostos retinham a estrutura eletrônica essencial para a atividade, sendo porém um pouco menos ativos que as tiossemicarbazonas das 2-acetilpiridinas (Klayman *et al.*, 1979), foram ativas contra cepas de *Plasmodium falciparum* resistente a vários fármacos, *in vi*tro, e em camundongos infectados com *Plasmodium berghei*. Os compostos dissubstituídos em N_4 mostraram-se ativos, enquanto os monossubstituídos foram inativos.

Em outro trabalho, em 1986, Klayman *et al.*, acharam atividade antimalárica em tiossemicarbazonas N_4 -substituídas da 3-acetilisoquinolina. A atividade foi testada em camundongos infectados com *Plasmodium berghei*, sendo que o composto mais ativo da série curou com dose de 40 mg/Kg.

1.3.7 - Atividade antiviral

Eaton *et al.*, em 1949, observaram, na semioxamazona e semicarbazonas do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído, atividade inibitória contra o vírus da meningopneumonia, linfogranuloma venéreo e pneumonia de gatos e ratos *in vivo*.

Em outro trabalho, Eaton *et al.*, em 1951, mostraram marcada supressão de lesão pulmonar, em ratos com pneumonia atípica primária, quando eram administrados compostos tais como 5-nitro-2-furanocarboxaldeidossemicarbazona, p-nitrobenzaldeidossemicarbazona e p-acetilaminobenzaldeidotiossemicarbazona.

Oddo & Eaton, em 1952, observaram que a 5-nitro-2-furanocarboxaldeído-4-dietilaminopropilsemicarbazona agia como inibidor reversível e limitado do grupo sulfidril no vírus da meningopneumonia.

Jones *et al.*, em 1969, relataram a atividade antiviral de tiossemicarbazonas da 3- e 4-formilpiridina, do 4-quinolinocarboxaldeído, do 8-nitro-4-quinolinocarboxaldeído e do 3-isoquinolinocarboxaldeído em camundongos infectados intracerebralmente com neurovacínia. Verificaram que estes compostos eram ativos na administração oral e que esta dependência da via de administração ocorria devido à formação de um metabólito durante a absorção. Este metabólito poderia ser um aminotiazol ou um mercaptotriazol.

Sadler publicou, em 1965, trabalho sobre a ação antiviral da 3-indolcarboxaldeidotiossemicarbazona e seus derivados. O pesquisador concluiu que estes compostos interferiam com o processo de maturação normal do pox-vírus, sendo o grupo tiossemicarbazônico sugerido como essencial.

Wilson *et al.*, em 1974, encontraram atividade nas tiossemicarbazonas, principalmente contra o vírus da vacínia, herpesvírus e citomegalovírus.

Levinson *et al.*, em 1973, mostraram que a N-metil-3-indoltiossemicarbazona inibia a enzima RNA polimerase RNA-dependente do vírus do sarcoma de Rous e atribuíram a atividade à sua capacidade quelante de íons metálicos, como cobre e mercúrio.

Outra atividade antiviral observada foi aquela apresentada por diversas tiossemicarbazonas contra o vírus do mosaico do fumo (Hirai *et al.*, 1958).

1.3.8 - Atividade antineoplásica

Wiley & Irick, em 1959, relataram retardo no crescimento de tumores com administração de metil e dimetilidrazonas do 3-piridinocarboxaldeído, 3-indolcarboxaldeído e benzaldeídos substituídos.

Posteriormente, observou-se a atividade antineoplásica em tiossemicarbazonas de 2-, 3- e 4-piridinocarboxaldeído, 2-pirrolcarboxaldeído, 2-tiofenocarboxaldeído, 2-furanocarboxaldeído, 5-metil-2-furanocarboxaldeído, 2- e 3-indolcarboxaldeído, 2- e 8-quinolinocarboxaldeído, 1-isoquinolinicarboxaldeído e 3-hidroxi-2-piridinocarboxaldeído. O requisito mínimo para a atividade era o

grupo formila ligado ao C_α do anel e a atividade era devida à quelação de metais. A atividade antineoplásica foi observada em leucemia L 1210, sarcoma 180, carcinoma pulmonar de Lewis e adenocarcinoma 755 (Blanz *et al.*, 1970; French & Blanz, 1966; French *et al.*, 1965; French *et al.*, 1970).

Agrawal & Sartorelli, em 1969, propuseram mecanismo de ação para a atividade antineoplásica de tiossemicarbazonas do 1-isoquinolinocarboxaldeído. Afirmaram que ocorria interação entre este composto e o íon ferro da enzima ribonucleosídeo difosforredutase, com consequente inibição desta.

1.3.9 - Atividades diversas

Atividades molusquicida, amebicida, esquistossomocida, acaricida e em coccidiose são ainda observadas várias iminas, principalmente as derivadas de benzaldeídos e de aldeídos heterocíclicos (Farbenfabriken Bayer, 1964; Roffey & Verge, 1973; Gayral *et al.*, 1981).

Omar *et al.*, em 1978, verificaram aumento da atividade androgênica do derivado tiossemicarbazona em relação à própria testosterona.

Mignot *et al.*, em 1980, estudaram benzilidenotiossemicarbazonas substituídas, quanto à atividade antiinflamatória, que foi medida em porcentagem de redução do volume do edema causado em roedores. As respectivas DE₅₀ e DL₅₀ foram medidas, sendo o composto mais ativo da série, a 2-metoxibenzilidenotiossemicarbazona.

1.4 - OUTRAS APLICAÇÕES DAS IMINAS

Os primeiros relatos de aplicação das iminas são aquelas que se referem ao uso destas para isolar compostos carbonílicos puros de misturas. É o caso de hidrazonas, semicarbazonas e tiossemicarbazonas, que servem para caracterizar e identificar aldeídos, cetonas e quinonas (Sah & Daniels, 1950; Wilson *et al.*, 1974). Exemplo é a 2,4-dinitrofenilidrazina, que reage favoravelmente com a maioria dos aldeídos que contêm de 1 a 10 átomos de carbono para formar compostos cristalinos, de fácil obtenção e com pontos de fusão definidos (Dunbar & Aaland, 1958).

Várias semicarbazonas e tiosemicarbazonas derivadas de benzaldeídos substituídos, piridinas, furanos, tiofenos, entre outros, têm sido usadas como reagentes-analíticos (Bailescu *et al.*, 1960; Bendito & Perez, 1976; Singh *et al.*, 1978; Hens & Valcarcel, 1984). A maioria destes compostos forma complexos coloridos com metais em condições de moderada acidez à moderada alcalinidade. Poucos deles são utilizados para determinar íons metálicos em meio altamente ácido.

O grupo ativo para quelação é o mostrado na estrutura

em que: X = O ou S e

R_1 e R_2 = grupo alifático, aromático ou heteroaromático.

A quelação ocorre através do átomo de oxigênio ou enxôfre e o átomo de nitrogênio hidrazínico, marcado com asterisco na estrutura. Em alguns casos, os compostos podem se comportar como ligantes unidentados pela ligação somente através do átomo de enxôfre ou de oxigênio. Dependendo do tipo de aldeído ou cetona usada para a condensação, tiosemicarbazonas e semicarbazonas podem agir como agentes quelantes unidentados, bidentados ou multidentados, produzindo complexos altamente coloridos. Estes podem ser, então, usados em determinação seletiva e sensível de íons metálicos (Singh *et al.*, 1978).

Observa-se que semicarbazonas contendo grupos hidroxila em orto em relação ao grupo aldeído geralmente fornecem boas reações de coloração. Tiosemicarbazonas são mais sensíveis e seletivas para cobre.

A reação de formação destes complexos apresenta várias aplicações na determinação de metais. A aplicação mais comum é a titulação direta do metal com solução de EDTA, usando tiosemicarbazonas e semicarbazonas como indicadores. Cita-se como exemplo o uso da semicarbazona do 5-nitro-furfuraldeído como indicador na titulação direta de Hg^{2+} com EDTA (Singh *et al.*, 1978).

Algumas semicarbazonas e tiosemicarbazonas podem ser usadas em determinações gravimétricas de íons metálicos. A 2-furfuraldeidosemicarbazona foi usada por Pavon e Pino, em 1973, como reagente gravimétrico na determinação de paládio em pH de 2,0 a 6,0.

Salicilaldeidosemicarbazona, 2-hidroxi-1-naftilaldeidotiosemicarbazona e 2,4-diidroxibenzaldeidosemicarbazona são usadas para determinação fluorimétrica de vários íons metálicos (Singh *et al.*, 1978).

Vários destes complexos, metal-semicarbazida ou metal-tiosemicarbazida, podem ser separados por cromatografia em camada delgada, em alumina e usando acetato de etila como solvente (Singh *et al.*, 1978).

Estudos potenciométricos também são efetuados para determinar a estabilidade do próton ligante, nos complexos formados (Singh *et al.*, 1978).

Outras aplicações ainda são citadas para as iminas. Como exemplo, tem-se o uso de iminas derivadas do furano como inibidores da corrosão ácida (Putilova *et al.*, 1959) e a atividade inseticida atribuída a semicarbazonas 4-substituídas de aldeídos piridínicos (Singh *et al.*, 1978).

CAPÍTULO II

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - MATERIAIS UTILIZADOS

As substâncias orgânicas utilizadas, tais como: cloridrato de semicarbazida (Carlo Erba), 5-nitro-2-furanocarboxaldeído (preparado de acordo com Gilman & Wright, 1930), 2-furanocarboxaldeído (Aldrich), 5-metil-2-furanocarboxaldeído (Aldrich), 2-tiofenocarboxaldeído (Inlab), N-metil-2-pirrolcarboxaldeído (Aldrich), 2-pirrolcarboxaldeído (Aldrich), 4-quinolinocarboxaldeído (Aldrich), 3-quinolinocarboxaldeído (Aldrich), 3-indolcarboxaldeído (Merck) e ácidos carboxílicos (Merck) utilizados como catalisadores, obtidos comercialmente com grau de pureza P.A., foram destilados ou recristalizados até que sua pureza fosse verificada através da constatação de suas constantes físicas.

Soluções padrões de reagentes inorgânicos, tais como as de ácido clorídrico e de hidróxido de sódio, foram preparadas por diluição de ampolas de Tritisol (Merck). O cloreto de potássio e o sal dissódico do ácido etileno-tretacético (EDTA) foram obtidos comercialmente (Merck) com grau de pureza P. A. e utilizados sem purificação prévia.

O etanol, usado como solvente, foi tratado segundo indicações da literatura (Vogel, 1978). Após esse tratamento foi refluxado com boroidreto de sódio (2 a 3 g/l de etanol) por 10 a 12 horas para retirar impurezas de aldeídos e/ou cetonas e, a seguir, destilado.

Os meios de cultura, utilizados nos testes de atividade antimicrobiana, como Caldo tripsina-soja (Interlab), Agar caseína-soja (Difco), Meio para dosagem de antibióticos nº 1 (Difco) e Agar Sabouraud dextrosado (Biobrás), foram adequadamente preparados e esterilizados imediatamente antes do uso.

Os microorganismos utilizados nos testes de atividade antimicrobiana foram *Escherichia coli* UC 677 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (representando o grupo das bactérias Gram-negativas), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P (representando o grupo das bactérias Gram-positivas), *Candida albicans* ATCC 10231 (representando o grupo das leveduras) e *Aspergillus niger* ATCC 16404 (representando o grupo dos bolores). Para o teste da bioautografia utilizou-se o *Cladosporium sphaerospermum*, como fungo a ser testado, solução aquosa de glicose a 30% e solução de sais minerais, como meio nutriente para o fungo, e placa de sílica-gel de alumínio da Merck (Homans & Fucus, 1970).

2.2 - APARELHOS EMPREGADOS

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos empregando-se espectrofotômetro Perkin-Elmer 710A, equipado com grade de difração, e calibrados com a banda característica em 1601 cm^{-1} de um filme de poliestireno.

Os espectros de ressonância protônica foram obtidos empregando-se espectrômetro Varian, modelo EM-360, com varredura de 10 ppm, operando a 60 MHz e usando-se como referência interna tetrametilsilano (TMS).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^{13}C foram obtidos empregando-se espectrômetro Bruker AC 80.

Os espectros na região do ultravioleta foram obtidos em espectrofotômetro DU 70, da Beckman, acoplado à impressora e ao controlador de temperatura.

As determinações de ponto de fusão foram feitas empregando-se aparelho de ponto de fusão Buchi, modelo SMP-20, e não foram corrigidas.

A análise elementar de C, H e N foi obtida no Elemental Analyzer da Perkin Elmer, modelo 240.

As medidas cinéticas foram efetuadas em espectrofotômetro Zeiss PMQ II acoplado a monocromador M4Q III e com compartimento de células termostatizado.

Para obtenção de temperatura constante, empregou-se um termostato de imersão B. Braun Melsungen, modelo Thermomix Universal, sendo as temperaturas verificadas pelo uso de termômetro digital Mettler, modelo TM 15, com sonda térmica TM 107.

As medidas de pH foram feitas utilizando-se pHmetro Micronal, modelo B275, equipado com eletrodo de vidro separado com eletrodo de referência prata/cloreto de prata.

As pesagens foram efetuadas com auxílio de balança Mettler, modelo H54AR.

Os cálculos de constantes de velocidade foram efetuadas em computador Burroughs, modelo 6900B. Os gráficos e regressões lineares foram executados em microcomputador Microtex XT 2002 (programa Lotus 123, versão 2,00 - LOTUS Development Corporation).

2.3 - MÉTODOS DE TRABALHO

2.3.1 - Preparação e caracterização das semicarbazonas

As preparações das semicarbazonas dos aldeídos aromáticos heterocíclicos consistiram em adicionar aldeído à solução do reagente nucleofílico nitrogenado e acetato de sódio, ocorrendo precipitação do produto (Vogel, 1978). O produto foi então isolado por filtração e purificado por recristalização de etanol e/ou água. A seguir, este foi identificado por ponto de fusão, espectroscopia de infravermelho, de ultravioleta e de ressonância magnética nuclear e, no caso de compostos novos, pela análise elementar.

Os espectros de absorção no infravermelho foram obtidos utilizando-se pastilhas de brometo de potássio (KBr).

Os espectros de ressonância magnética protônica foram obtidos utilizando-se dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d_6), como solvente. Para identificar as bandas referentes aos prótons $-\text{NH}$ e $-\text{NH}_2$ juntaram-se algumas gotas de água deuterada (D_2O). O tetrametilsilano (TMS) foi usado como referência interna.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^{13}C foram obtidos utilizando-se dimetilsulfóxido (DMSO-d_6) como solvente e foram efetuados na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo.

Os espectros de absorção no ultravioleta foram obtidos a partir de soluções das referidas semicarbazonas em etanol.

As análises elementares foram realizadas no Laboratório de Microanálise do Instituto de Química da Universidade de São Paulo.

Todos os aldeídos utilizados nas preparações das semicarbazonas foram obtidos comercialmente, com exceção do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído, que foi preparado a partir da hidrólise do diacetato do referido aldeído em ácido sulfúrico 50% (Gilman & Wright, 1930).

2.3.2 - Estudo cinético

As determinações cinéticas foram efetuadas de acordo com indicações da literatura (Jencks, 1959; Anderson *et al.*, 1969; Amaral *et al.*, 1966), em água, a 25,0 °C, com força iônica 0,50 mol. dm^{-3} , mantida constante pelo uso de volumes calculados de solução de KCl, e na presença de EDTA em concentração $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol. dm^{-3} , para complexar cátions metálicos eventualmente presentes.

As reações foram efetuadas em condições de pseudo-primeira ordem, empregando-se grande excesso de nucleófilo. Soluções aquosas deste eram preparadas diariamente.

As soluções dos compostos carbonílicos foram preparadas, no momento do uso, em etanol absoluto tratado.

As soluções de reagentes, contendo semicarbazida, tampão e com força iônica constante, foram preparadas em tubos de reação e estes mantidos em banho termostatzado até que se estabelecesse o equilíbrio térmico. Em seguida, efetuavam-se as medidas de pH das soluções reagentes. Este, por sua vez, era determinado padronizando o aparelho com soluções 0,01 e 0,001 mol. dm^{-3} de HCl, pH = 2,00 e 3,00, respectivamente, nas mesmas condições citadas acima.

Pipetavam-se, a seguir, 2,00 ml de cada solução em cubetas do espectrofotômetro (quartzo e 1,0 cm de caminho óptico), que eram então colocadas em suporte termostatzado por tempo suficiente para que o equilíbrio térmico fosse atingido.

Transcorrido esse tempo, injetavam-se, nas soluções, volumes adequados de solução do composto carbonílico, ao mesmo tempo em que se marcava, em cronômetro, o tempo inicial da reação.

A reação era acompanhada pela leitura da absorvância no comprimento de onda de absorção máxima do produto da reação.

As leituras das absorvâncias nos tempos t (A_t) foram efetuadas num tempo total correspondente a pelo menos cinco meias-vidas ($t_{1/2}$) da reação ou até que a reação atingisse o equilíbrio (A_∞) e o número de leituras foi de trinta, no mínimo.

As constantes de velocidade de reação de pseudo-primeira ordem foram calculadas a partir da equação:

$$\ln(A_\infty - A_t) = \ln(A_\infty - A_0) - k_{\text{obs}} \cdot t \quad (1)$$

em que: A_∞ , A_t e A_0 são as absorvâncias no tempo infinito, no tempo t e no tempo zero, e k_{obs} , a constante de velocidade da reação de pseudo-primeira ordem.

Os cálculos das constantes foram feitos através de programa de computador.

As unidades foram expressas segundo o Sistema Internacional de Unidades, SI. Assim, as constantes de velocidade de reação de primeira ordem (k_{obs}), segunda ordem (k_2) e de terceira ordem, tais como constantes catalíticas do íon (k_{H}) e constantes catalíticas dos ácidos carboxílicos (k_{AH}), foram expressas, respectivamente, em s^{-1} , $\text{mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ e $\text{mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$.

2.3.2.1 - Determinação da ordem parcial da reação em relação ao composto carbonílico

A ordem parcial da reação em relação ao composto carbonílico foi determinada trabalhando-se com excesso de nucleófilo em relação ao composto car-

carbônico, isto é, em condições de pseudo-primeira ordem.

A reação foi acompanhada pela formação do produto, anotando-se as leituras de absorvância a determinados intervalos de tempo e em comprimento de onda adequado, ou seja, a 310 nm.

Construiu-se um gráfico onde se colocaram os logaritmos das diferenças de absorvância no tempo infinito e no tempo t ($A_{\infty} - A_t$), em ordenada, em função dos tempos (t), em abscissa. Como os pontos experimentais situaram-se sobre uma reta, concluiu-se que a reação é de primeira ordem em relação ao composto carbonílico.

À reação de primeira ordem aplica-se a equação:

$$\ln x = -kt + \ln x_0 \quad (2)$$

Como utilizou-se o método espectrofotométrico para acompanhar a reação, a equação pode ser escrita em termos de absorvância, conforme a Equação (1).

A constante de velocidade observada para a reação de pseudo-primeira ordem corresponde ao coeficiente angular da reta e foi determinada através de programa de computador, que forneceu também o coeficiente de correlação respectivo.

2.3.2.2 - Determinação da ordem parcial da reação em relação ao nucleófilo

A ordem parcial da reação em relação ao nucleófilo foi determinada empregando-se soluções com concentrações crescentes desse reagente, em pH constante.

Construiu-se um gráfico contendo em abscissa os valores das concentrações do nucleófilo, sob a forma de base livre, e em ordenada os valores das constantes de velocidade observadas (k_{obs}) correspondentes. Pelos pontos experimentais obtidos pode-se traçar uma reta ascendente. A reação é, pois, de primeira ordem em relação ao nucleófilo. A reta pode ser representada pela equação:

$$k_{obs} = k_2 [RNH_2] \quad (3)$$

em que: k_2 representa a constante de velocidade de pseudo-segunda ordem e $[RNH_2]$ a concentração do nucleófilo como base livre, que pode ser determinada pela equação de Henderson-Hasselbalch (4), conhecendo-se previamente o pH do meio, o pK_a do nucleófilo e a concentração total do nucleófilo empregado.

$$pH = pK_a + \log \frac{[RNH_2]}{[RNH_3]} \quad (4)$$

A constante de velocidade de reação de pseudo-segunda ordem (k_2) foi calculada através da razão entre o valor da constante de velocidade observada (k_{obs}) e a concentração do nucleófilo sob forma de base livre, conforme Equação (3).

2.3.2.3 - Determinação da constante de equilíbrio da reação de formação da semicarbazona

A constante de equilíbrio da reação entre semicarbazida e aldeídos aromáticos heterocíclicos foi determinada espectrofotometricamente a 310 nm, em pH constante, mantido pelo emprego de tampões adequados e nas condições padrão de reação citadas no item 2.3.2.

As soluções foram preparadas em tubos de reação empregando-se concentrações crescentes de semicarbazida. Os tubos eram então colocados em banho termostatzado e, após atingir o equilíbrio térmico, media-se o pH de cada tubo, o qual podia ter uma variação máxima de 0,04.

A seguir, eram transferidos 2,00 ml de cada solução para as cubetas do espectrofotômetro, em triplicata, e após atingir o tempo necessário para a termostatização eram feitas as leituras de absorvâncias iniciais (A_0). Injetava-se 25 μ l da solução do aldeído em concentração adequada, esperava-se tempo suficiente para atingir o equilíbrio e faziam-se as leituras das absorvâncias no tempo infinito (A_∞).

A diferença entre absorvância no tempo infinito e absorvância no tempo zero ($A_\infty - A_0$) forneceu o valor da absorvância do produto (A_T) para cada concentração de semicarbazida.

Para as soluções de elevadas concentrações de nucleófilo, o valor de ($A_\infty - A_0$) manteve-se constante e foi designado como A_p .

A equação utilizada para calcular a constante de equilíbrio foi:

$$(A_P - A_T) [\text{RNH}_2] = \frac{1}{K_C} A_T - \frac{A_A}{K_C} \quad (5)$$

na qual K_C é a constante de equilíbrio em termos de concentração, $[\text{RNH}_2]$ é a concentração de semicarbazida como base livre e A_A é a absorvância do aldeído.

Construindo-se um gráfico no qual os valores de $(A_P - A_T) [\text{RNH}_2]$ foram colocados em ordenada e A_T em abscissa foi possível traçar uma reta. A través de regressão linear, pode-se determinar o valor da constante de equilíbrio pela inclinação da reta ($1/K_C$).

Esse método para determinar a constante de equilíbrio foi usado na reação de formação da semicarbazona do 2-pirrolcarboxaldeído e do N-metil-2-pirrolcarboxaldeído, em que se observou equilíbrio em regiões de $\text{pH} > 2$, trabalhando-se com tampões ácido carbonílico/ carboxilato.

Na reação de formação da semicarbazona do 2-tiofenocarboxaldeído a constante de equilíbrio pode ser estimada usando-se média dos valores encontrados ao se determinar a ordem da reação, uma vez que se observou equilíbrio apenas em regiões de $\text{pH} < 2$. Nestas experiências o valor da constante de equilíbrio foi obtido a partir da intersecção da reta com o eixo das abscissas, e através da equação.

$$k_2 = \frac{k_{\text{obs}}}{[\text{RNH}_2] + \frac{1}{K_C}} \quad (6)$$

2.3.2.4 - Determinação da catálise ácida efetuada pelo íon hidrônio

Construiu-se um gráfico de perfil de velocidade de reação em função do pH. Observou-se correlação direta entre a concentração hidrogeniônica e o valor da constante de pseudo-segunda ordem. Determinou-se, então, a constante catalítica do hidrônio, de acordo com a equação :

$$k_H = \frac{k_2}{[\text{H}_3\text{O}^+]} \quad (7)$$

Na determinação da constante de velocidade de pseudo-segunda ordem (k_2) utilizou-se como catalisador ácido clorídrico em concentração adequada para cada região de H_0 e pH.

Em $pH < 1,6$ os valores das absorvâncias no tempo infinito (A_∞) diminuíam, sugerindo diferentes posições de equilíbrio. Utilizaram-se, então, várias concentrações de semicarbazida para cada região de H_0 ou de pH, na determinação da constante de velocidade de pseudo-segunda ordem (k_2). Em $pH > 1,6$, entretanto, este fato não foi observado e utilizou-se apenas uma concentração de semicarbazida para cada região de pH.

2.3.2.5 - Determinação da catálise ácida geral efetuada por alguns tampões ácido carboxílico/carboxilato, na formação da carbinolamina

Os ácidos carboxílicos utilizados nos tampões foram ácido cianoacético, ácido cloroacético, ácido fórmico e ácido acético, cujos pK_a situam-se na região de pH estudada, ou seja, 2,0 a 5,5.

Para cada ácido carboxílico estudado realizaram-se experiências em três proporções diferentes, isto é, 80%, 50% e 20% da forma ácida do respectivo tampão. E para cada uma destas prepararam-se soluções em cinco concentrações de semicarbazida, adequadas a cada experimento.

Com os resultados obtidos foram feitas correlações de constante de velocidade observada da reação de pseudo-segunda ordem com as concentrações de ácido carboxílico e do ânion carboxilato.

Verificou-se a necessidade de corrigir as constantes de velocidade observadas da reação de pseudo-segunda ordem sob condições em que a etapa determinante da velocidade de reação é a formação da carbinolamina (Sayer & Jencks, 1969; Sayer *et al.*, 1974; Rosenberg *et al.*, 1974). Essa necessidade decorre do fato que, em concentrações elevadas do tampão, a etapa da desidratação torna-se parcialmente determinante da velocidade e esta não é significativamente catalisada pelos tampões.

A correção na constante de velocidade observada da reação de pseudo-segunda ordem (k_2) da contribuição da etapa de desidratação conduz à constante de velocidade da reação de pseudo-segunda ordem para a etapa de formação da carbinolamina (k_{2ad}) como segue:

$$k_{2ad} = \frac{k_2}{1 - \frac{k_2}{k_{ad}k_5 \cdot a_{H^+}}} \quad (8)$$

em que: $k_{ad}k_5$ é a constante de velocidade da reação de desidratação catalisada pelo íon hidrônio e

a_{H^+} é a atividade do íon hidrônio.

As constantes catalíticas das reações foram determinadas pelo coeficiente angular da reta do gráfico de k_{2ad} em função da concentração do ácido carboxílico. A intersecção com o eixo das ordenadas reflete o valor da constante de velocidade da reação de pseudo-segunda ordem da formação da carbinolamina catalisada pelo íon hidrônio e em concentração zero do tampão (k_{2ad}^0).

Para converter esse valor para a constante de velocidade da reação total em concentração zero do tampão (k_2^0) foi utilizada a equação (9) (Sayer & Jencks, 1969).

$$k_2^0 = \frac{k_{2ad}^0}{1 + \frac{k_{2ad}^0}{k_{ad}k_5 \cdot a_{H^+}}} \quad (9)$$

2.3.2.6 - Determinação da catálise do nucleófilo na formação da carbinolamina

A constante catalítica do ácido conjugado ao nucleófilo, ou seja, do íon semicarbazínio, na reação de formação da carbinolamina, foi obtida através da correlação entre constante de velocidade de pseudo-segunda ordem e concentração correspondente da semicarbazida na forma ácida. Efetuaram-se experiências em diferentes regiões de pH, com a finalidade de detectar a catálise.

Através dos pontos experimentais obtidos traçaram-se retas cujos coeficientes angulares forneceram o valor da constante catalítica do íon semicarbazínio.

O valor final da constante catalítica do nucleófilo (k_{SCH^+}) foi aquele obtido a partir da média entre os valores das diversas regiões de pH estudadas.

2.3.2.7 - Construção do perfil de velocidade de reação em função do pH

Com o objetivo de estudar o perfil de velocidade de reação em função do pH, construiu-se um gráfico em que os valores de pH foram colocados em abscissa e os logaritmos das constantes de velocidade observadas da reação de pseudo-segunda ordem (k_2), em ordenada.

Os valores das constantes de velocidade da reação de pseudo-segunda ordem foram obtidas nas seguintes condições:

a) Região de pH inferior a 2,0

Foram utilizadas soluções de ácido clorídrico em concentrações diferentes e a constante de velocidade da reação de pseudo-segunda ordem determinada pela Equação (6), citada no item 2.3.2.3.

b) Região de pH compreendida entre 2,0 e 5,0

Para trabalhar nessa região em condições de pH constantes utilizaram-se tampões de ácido carboxílico/carboxilato. Para cada região de pH prepararam-se cinco tubos de reação com concentrações crescentes de tampão e concentração fixa de nucleófilo. Os valores das constantes de velocidade da reação de pseudo-segunda ordem foram obtidos por meio da Equação (3), citada no item 2.3.2.2.

As concentrações da forma ácida e básica do tampão empregadas nos cálculos foram obtidas utilizando-se a equação de Henderson-Hasselbalch.

Construiu-se um gráfico colocando k_2 em função da concentração molar do ácido tampão. O coeficiente linear da reta obtida permitiu a determinação do valor de k_2 para a concentração de tampão igual a zero.

c) Região de pH compreendida entre 5,0 e 8,0

Nessa região o pH foi mantido constante com soluções do tampão diidrogenofosfato/monoidrogenofosfato de potássio (KH_2PO_4/K_2HPO_4) e as constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem foram obtidas por meio da Equação (3), citada no item 2.3.2.2.

2.3.3 - Determinação de parâmetros eletrônicos

Os cálculos de orbital molecular foram efetuados utilizando a técnica Ômega, descrita em publicações especializadas (Kier, 1971; Streitwieser, 1961) e em vários trabalhos (Korolkovas, 1970; Korolkovas & Tamashiro, 1973; Korolkovas & Tamashiro, 1976; Korolkovas & Tamashiro, 1981).

O programa desta técnica foi descrito em linguagem Fortran IV e processado em microcomputador Microtec, modelo XT 2002, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Por esta técnica, as moléculas são tratadas primeiramente pelo Método do Orbital Molecular Aproximado de Hückel (HMO) comum, obtendo-se a distribuição de carga nos átomos respectivos, considerando apenas os elétrons deslocados. Após sucessivos reprocessamentos utilizando os parâmetros obtidos por HMO, o sistema se torna auto-consistente, ou seja, a distribuição de carga não mais se altera e obtêm-se os resultados definitivos.

2.3.4 - Estudo da atividade antimicrobiana

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram inicialmente efetuados u tilizando-se o método da diluição seriada em tubo (Kavanagh, 1963).

Este método consistiu em testar várias concentrações da amostra, que foram dissolvidas em concentração final fixa de dimetilsulfóxido, frente a *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, representando o grupo das bactérias Gram-negativas; *Staphylococcus aureus*, representando o grupo das bactérias Gram-positivas; *Candida albicans*, representando o grupo das leveduras e *Aspergillus niger*, representando o grupo dos bolores.

A concentração inibitória mínima (MIC) foi determinada pela menor con centração do composto em que houve inibição completa do crescimento de microrganismo.

Inicialmente, fêz-se o ensaio com vários solventes com a finalidade de identificar aquele que, além de solubilizar a amostra, mostrasse menor interferência nos testes. Posteriormente, foram feitos os ensaios com as amostras. Utilizou-se soro fisiológico como controle positivo de crescimento dos microrganismos e 5-nitro-2-furanocarboxaldeidosemicarbazona (5NFSC) como padrão para a atividade.

Tentou-se, alternativamente, utilizar o método da difusão em agar, que consiste em depositar discos impregnados com várias concentrações da amostra sobre placas de agar previamente inoculadas e solidificadas e, após incubação, observar o halo de inibição ao redor dos discos (Kavanagh, 1963). Este método, entretanto, apresentou baixa sensibilidade nos testes feitos.

Posteriormente, utilizou-se o método da bioautografia (Homans & Fucus, 1970), que consistiu em testar a atividade antifúngica das semicarbazonas em estudo, frente ao *Cladosporium sphaerospermum*, em placa de sílica-gel e usando CHCl_3 -MeOH (95:5) como solvente. A substância foi considerada ativa quando o fungo não cresceu sobre a mancha na placa cromatográfica, aparecen do zonas claras de inibição sobre fundo escuro representado pelo crescimento do fungo sobre a placa.

2.4 - PARTE EXPERIMENTAL

2.4.1 - Preparação e caracterização das semicarbazonas

2.4.1.1 - Semicarbazona do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído (5NFSC)

Dissolveram-se 0,8 g de acetato de sódio em 10 ml de água destilada e, a seguir, adicionaram-se 1,0 g de cloridrato de semicarbazida e 0,5 g de 5-nitro-2-furanocarboxaldeído. Agitou-se até a solução ficar límpida e deixou-se a mistura em repouso cerca de 1 hora. Ocorreu a formação de cristais amarelos que foram filtrados e lavados com água. Após recristalização de álcool etílico absoluto, obtiveram-se 0,68 g (80,95%) de cristais amarelo-brilhantes com faixa de fusão 241-243 °C, com decomposição. $P.F._{lit} = 238-239\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Kochergin & Karpov, 1967).

Ultravioleta (ETOH)

$\lambda_{\text{máx.}} = 200,5\text{ nm}$, $\log \epsilon = 4,00$

$\lambda_{\text{máx.}} = 261,5\text{ nm}$, $\log \epsilon = 3,99$

$\lambda_{\text{máx.}} = 365,0\text{ nm}$, $\log \epsilon = 4,08$

Infravermelho (KBr):

$\nu\text{ (cm}^{-1}\text{)}: 3530, 3410, 3145, 1705, 1685, 1570, 1505, 1355, 1425$

RMN - ^1H (DMSO- d_6):

$\delta\text{ (ppm)}: 10,90\text{ (s, 1H, NH)}; 7,85\text{ (s, 1H, CH = N)}; 7,75\text{ (d, 1H, Ar-H)};$
 $7,24\text{ (d, 1H, Ar-H)}; 6,63\text{ (s, 2H, NH}_2\text{)}$

RMN - ^{13}C (DMSO- d_6):

$\delta\text{ (ppm)}: 155,9\text{ (C=O)}; 153,0\text{ (C}_2\text{)}; 151,2\text{ (C}_5\text{)}; 127,4\text{ (C=N)}; 115,0\text{ (C}_3\text{)};$
 $112,1\text{ (C}_4\text{)}.$

2.4.1.2 - Semicarbazona do 2-furanocarboxaldeído (FSC)

Partindo-se do 2-furanocarboxaldeído procedeu-se analogamente à preparação da semicarbazona do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído, obtendo-se cristais brancos que, recristalizados de água quente, renderam 0,57 g (83,20) de agulhas brancas com faixa de fusão 191-192 °C. $P.F._{lit} = 190-192\text{ }^{\circ}\text{C}$. (Clarke, 1986).

Ultravioleta (EtOH):

λ máx. = 202,5 nm, $\log \epsilon = 4,06$

λ máx. = 293,5 nm, $\log \epsilon = 4,47$

Infravermelho (KBr):

$\nu(\text{cm}^{-1})$: 3465, 3300, 3210, 3100, 1705, 1650, 1600, 1440

RMN ^1H (DMSO- d_6):

δ (ppm): 10,32 (s, 1H, NH); 7,75 (s, 2H, CH=N e Ar-H); 6,80 (d, 1H, Ar-H); 6,55 (m, 1H, Ar-H); 6,33 (s, 2H, NH_2)

RMN ^{13}C (DMSO- d_6):

δ (ppm): 156,8 (C=O); 149,9 (C_2); 144,0 (C_5); 130,5 (C=N); 112,0 e 111,1 (C_3 e C_4)

2.4.1.3 - Semicarbazona do 5-metil-2-tiofenocarboxaldeído (5MTSC)

Partindo-se do 5-metil-2-tiofenocarboxaldeído procedeu-se analogamente à preparação da semicarbazona do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído. Obteve-se precipitado amarelo-claro, que foi filtrado e lavado com água. Após recristalização de etanol, obtiveram-se 0,50 g (60,26%) de cristais amarelo-acastanhado brilhantes com faixa de fusão 193-195 °C, com decomposição. P. F. lit = 207-208 °C (King & Nord, 1948).

Análise Elementar:

	%C	%H	%N
Valores calculados:	45,84	4,95	22,93
Valores encontrados:	45,97	5,04	22,77

Ultravioleta (EtOH):

λ máx. = 202,5 nm, $\log \epsilon = 3,94$

λ máx. = 262,0 nm, $\log \epsilon = 3,67$

λ máx. = 311,5 nm, $\log \epsilon = 4,17$

Infravermelho (KBr):

ν (cm^{-1}): 3475, 3300, 3175, 2950, 1690, 1640, 1600, 1440

RMN - ^1H (DMSO-d_6):

δ (ppm): 10,12 (s, 1H, NH); 7,90 (s, 1H, CH=N); 7,05 (d, 1H, Ar-H);
6,72 (m, 1H, Ar-H); 6,17 (s, 2H, NH_2); 2,42 (s, 3H, CH_3)

RMN - ^{13}C (DMSO-d_6):

δ (ppm): 156,7 (C=O); 141,4 (C_2); 137,2 (C_5); 135,5 (C=N); 129,2 (C_4); 126,1 (C_3); 15,3 (CH_3)

2.4.1.4 - Semicarbazona do 2-tiofenocarboxaldeído (TSC)

Partindo do 2-tiofenocarboxaldeído procedeu-se de maneira análoga à preparação do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído. Obteve-se precipitado amarelo, que foi filtrado e lavado com água. Após recristalização de etanol, obtiveram-se 0,63 g (90,46%) de cristais brancos em forma de agulha com faixa de fusão 220-222 °C P.F. _{lit} = 222-224 °C, com decomposição (Sugasawa & Mizukam, 1955).

Ultravioleta (EtOH):

$\lambda_{\text{máx.}}$ = 210,0 nm, $\log \epsilon$ = 3,72

$\lambda_{\text{máx.}}$ = 262,0 nm, $\log \epsilon$ = 3,63

$\lambda_{\text{máx.}}$ = 305,5 nm, $\log \epsilon$ = 4,08

Infravermelho (KBr):

ν (cm^{-1}): 3445, 3295, 3170, 1690, 1640, 1600, 1430

RMN - ^1H (DMSO-d_6):

δ (ppm): 10,40 (s, 1H, NH); 8,12 (s, 1H, CH=N); 7,67-7,03 (m, 3H, Ar-H);
6,34 (s, 2H, NH_2)

RMN - ^{13}C (DMSO-d_6):

δ (ppm): 156,5 (C=O); 139,4 (C_2); 135,2 (CH=H); 128,7 (C_3); 127,6 (C_4); 127,4 (C_5)

2.4.1.5 - Semicarbazona do N-metil-2-pirrolcarboxaldeído (MPSC)

Partindo-se do N-metil-2-pirrolcarboxaldeído procedeu-se de maneira análoga à preparação do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído. Obtiveram-se cristais róseo-brilhantes que, recristalizados de etanol a quente, renderam 0,44 g (80,00%) de cristais róseo-claro brilhantes com faixa de fusão 203-205 °C com decomposição. P.F._{lit} = 207-208 °C (Reichstein, 1930).

Ultravioleta (EtOH):

$\lambda_{\text{máx.}}$ = 207,0 nm, $\log \epsilon$ = 3,67

$\lambda_{\text{máx.}}$ = 303,5 nm, $\log \epsilon$ = 4,19

Infravermelho (KBr):

ν (cm^{-1}): 3490, 3310, 3220, 2920, 1690, 1650, 1600, 1435

RMN - ^1H (DMSO-d_6):

δ (ppm): 10,02 (s, 1H, NH); 7,88 (s, 1H, CH=N); 6,90 (m, 1H, Ar-H); 6,50-6,00 (m, 4H, Ar-H e NH_2); 3,84 (s, 3H, CH_3)

RMN - ^{13}C (DMSO-d_6):

δ (ppm): 156,7 (C=O); 133,5 (C=N); 127,3 (C_2); 126,7 (C_5); 112,9 (C_3); 107,6 (C_4); 35,9 (CH_3)

2.4.1.6 - Semicarbazona do 2-pirrolcarboxaldeído (PSC)

Partindo-se do 2-pirrolcarboxaldeído procedeu-se analogamente à preparação do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído. Obtiveram-se cristais brancos que, recristalizados de água, renderam 0,49 g (84,50%) de cristais branco-esverdeados com faixa de fusão 182-183 °C. P.F._{lit} = 182-184 °C (Nitta *et al.*, 1962).

Ultravioleta (EtOH):

$\lambda_{\text{máx.}} = 205,0 \text{ nm}$, $\log \epsilon = 3,93$

$\lambda_{\text{máx.}} = 303,5 \text{ nm}$, $\log \epsilon = 4,32$

Infravermelho (KBr):

$\nu (\text{cm}^{-1})$: 3585, 3460, 3340, 3235, 1675, 1640, 1600, 1410

RMN - ^1H (DMSO-d_6):

$\delta(\text{ppm})$: 11,30 (s, 1H, NH); 10,03 (s, 1H, NH); 7,70 (s, 1H, CH=N);
6,94 (m, 1H, Ar-H); 6,53 (s, 2H, NH_2); 6,30 (m, 1H, Ar-H);
6,10 (m, 1H, Ar-H)

RMN - ^{13}C (DMSO-d_6):

$\delta(\text{ppm})$: 157,4 (C=O); 131,9 (C=N); 128,1 (C_2); 120,7 (C_5); 111,0
(C_3); 108,8 (C_4)

2.4.1.7 - Semicarbazona do 4-quinolinocarboxaldeído (4-QSC)

Partindo-se do 4-quinolinocarboxaldeído procedeu-se analogamente à preparação do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído. Obteve-se precipitado alaranjado-claro que, após recristalização de etanol, rendeu 0,27 g (79,00%) de cristais alaranjado-claro brilhante com faixa de fusão 244-245 °C com decomposição. P. F._{lit} = 244-245 °C (Kaplan & Lindwall, 1943).

Ultravioleta (EtOH):

$\lambda_{\text{máx.}} = 202,0 \text{ nm}$, $\log \epsilon = 4,01$

$\lambda_{\text{máx.}} = 233,5 \text{ nm}$, $\log \epsilon = 3,89$

$\lambda_{\text{máx.}} = 327,5 \text{ nm}$, $\log \epsilon = 3,76$

Infravermelho (KBr):

$\nu (\text{cm}^{-1})$: 3490, 3230, 3115, 1710, 1605, 1575, 1435

RMN - ^1H (DMSO-d_6):

δ (ppm): 10,60 (s, 1H, NH); 8,88 (d, 1H, Ar-H); 8,60 (s, 1H, CH=N);
8,46-7,55 (m, 5H, Ar-H); 6,65 (s, 2H, NH_2)

RMN - ^{13}C (DMSO-d_6):

δ (ppm): 156,2 (C=O); 150,0 (C_2); 149,3 (C_{10}); 137,8 (C_4); 135,1 (C=N);
129,7 (C_3); 129,3 (C_9); 127,1 (C_5); 124,7 (C_8); 123,2 (C_6);
117,7 (C_7).

2.4.1.8 - Semicarbazona do 3-quinolinocarboxaldeído (3-QSC)

Partindo-se do 3-quinolinocarboxaldeído procedeu-se analogamente à preparação do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído. Obteve-se precipitado branco-amarelado que, após recristalização de etanol, rendeu 0,56 g (82,70) de precipitado branco-amarelado com ponto de faixa 248-250 °C, com decomposição.

Análise elementar

	%C	%H	%N
Valores calculados:	61,67	4,71	26,15
Valores encontrados:	61,14	4,71	25,86

Ultravioleta (EtOH):

λ máx. = 202,5 nm, $\log \epsilon$ = 3,89
 λ máx. = 234,5 nm, $\log \epsilon$ = 3,80
 λ máx. = 277,0 nm, $\log \epsilon$ = 3,89
 λ máx. = 298,0 nm, $\log \epsilon$ = 3,84
 λ máx. = 311,0 nm, $\log \epsilon$ = 3,86

Infravermelho (KBr):

$\nu(\text{cm}^{-1})$: 3425, 3300, 3160, 3060, 1700, 1610, 1580, 1460

RMN - ^1H (DMSO-d_6):

δ (ppm): 10,45 (s, 1H, NH); 9,40 (d, 1H, Ar-H); 8,46 (m, 1H, Ar-H);
8,20-7,48 (m, 5H, Ar-H e CH=N); 6,65 (s, 2H, NH_2)

RMN - ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$):

δ (ppm): 156,7 ($\text{C}=\text{O}$); 149,5 (C_2); 147,3 (C_{10}); 136,8 (C_4); 133,4 ($\text{C}=\text{N}$); 129,7 (C_9); 128,7 (C_8); 128,2 (C_5); 128,0 (C_6); 127,4 (C_7); 127,0 (C_3).

2.4.1.9 - Semicarbazona do 3-indolcarboxaldeído (3-ISC)

Partindo-se do 3-indolcarboxaldeído, dissolvido em etanol à quente, procedeu-se de maneira análoga à preparação do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído. Obteve-se precipitado amarelo-claro que, após duas recristalizações de etanol/água, rendeu 0,70 g (48,6%) de cristais amarelo-claro com faixa de fusão 266-270 °C, com decomposição. P. E_{lit} = 265-270 °C com decomposição (Order & Lindwall, 1945).

Análise elementar

	%C	%H	%N
Valores calculados	59,40	4,98	27,71
Valores encontrados	60,12	4,91	25,61

Ultravioleta (EtOH):

λ máx. = 201,0 nm, $\log \epsilon$ = 4,44

λ máx. = 221,0 nm, $\log \epsilon$ = 4,43

λ máx. = 271,0 nm, $\log \epsilon$ = 4,32

λ máx. = 300,5 nm, $\log \epsilon$ = 4,45

Infravermelho (KBr):

ν (cm^{-1}): 3450, 3350, 3150, 1640, 1620, 1570, 1400

RMN - ^1H ($\text{DMSO}-d_6$):

δ (ppm): 11,50 (s, 1H, NH); 9,95 (s, 1H, NH); 8,30-8,00 (m, 2H, CH=N, Ar-H); 7,70 (d, 1H, Ar-H); 7,52-7,05 (m, 3H, Ar-H); 6,27 (s, 2H, NH_2)

RMN - ^{13}C (DMSO- d_6):

δ (ppm): 158,0 (C=O); 138,6 (C=N); 137,4 (C_9); 129,4 (C_2); 124,5 (C_4); 122,6 (C_6); 122,2 (C_5); 120,8 (C_7); 112,1 (C_8 e C_3).

2.4.2 - Estudo da reação entre semicarbazida e 2-tiofenocarboxaldeído

A reação entre semicarbazida e 2-tiofenocarboxaldeído foi acompanhada, espectrofotometricamente, observando-se a formação da semicarbazona correspondente a 310 nm, da maneira descrita em Métodos de trabalho, item 2.3.2.

A concentração do 2-tiofenocarboxaldeído utilizada nas experiências foi de $6,29 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e de cloridrato de semicarbazida foi de $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, no mínimo. Portanto, trabalhou-se sempre com grande excesso de nucleófilo em relação ao composto carbonílico.

2.4.2.1 Determinação da ordem parcial da reação em relação ao 2-tiofenocarboxaldeído

Prepararam-se cinco tubos de reação, conforme Tabela I. Trabalhou-se em pH = 4,74, mantido com solução tampão de ácido acético/acetato de sódio.

Tabela I - Soluções para determinação da ordem parcial de reação entre semicarbazida e 2-tiofenocarboxaldeído, em água, a 25,0 °C, força iônica $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e pH = 4,74.

Tubo	$\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COO}^-$ $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	EDTA $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	KCl $2,0 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	SC.HCl $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	H_2O
1	1,0	0,2	2,35	0,5	5,95
2	1,0	0,2	2,35	1,0	5,45
3	1,0	0,2	2,35	1,5	4,95
4	1,0	0,2	2,35	2,0	4,45
5	1,0	0,2	2,35	3,5	2,95

NOTA: os valores da Tabela são volumes, medidos em dm^3 e SC.HCl = cloridrato de semicarbazida.

Para verificar a ordem parcial da reação em relação ao 2-tiofenocarboxaldeído construiu-se, então, um gráfico, para cada concentração de semicarbazida, colocando-se os logaritmos das diferenças de absorvância, $\log (A_{\infty} - A_t)$, em função do tempo (Fig. VI, por exemplo). Obtiveram-se retas, o que mostra que a reação é de primeira ordem em relação ao aldeído. Os coeficientes angulares dessas retas, determinados através de programa de computador, forneceram os valores das constantes de velocidade observadas para a reação de pseudo-primeira ordem.

Figura VI - Determinação da constante de velocidade de pseudo-primeira ordem (k_{obs}) e da ordem parcial da reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, em pH = 4,74 em água, a 25,0 °C e força iônica igual a 0,50 mol. dm⁻³, em relação ao composto carbonílico (Tubo 2).

2.4.2.2 - Determinação da ordem parcial da reação em relação à semicarbazida

Para determinar a ordem parcial da reação em relação à semicarbazida utilizaram-se dados obtidos na experiência em que se determinou a ordem parcial da reação em relação ao 2-tiofenocarboxaldeído (item 2.4.2.1), empregando-se as soluções constantes da Tabela I.

Com os dados obtidos expressos na Tabela II, construiu-se um gráfico em que os valores das constantes de velocidade observadas (k_{obs}) da reação foram colocadas em ordenada e os valores das concentrações molares correspondentes de semicarbazida como base livre, em abscissa (Figura VII).

Verificou-se existir uma correlação linear, tratando-se, portanto, de uma reação de primeira ordem em relação ao nucleófilo. O coeficiente angular da reta assim obtida forneceu o valor da constante de velocidade da reação de pseudo-segunda ordem (k_2) que foi de $1,77 \cdot 10^{-1} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$.

Tabela II - Constantes de velocidade observadas da reação de pseudo-primeira ordem (k_{obs}) para a reação entre semicarbazida e 2-tiofenocarboxaldeído, em água, a 25 °C, força iônica igual a $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e $\text{pH} = 4,74$.

Tubo	$[\text{SC}] / 10^{-3} \cdot \text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	$k_{\text{obs}} / 10^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$
1	4,62	0,85
2	9,25	1,71
3	13,87	2,57
4	18,49	3,30
5	32,37	6,30

Figura VII - Valores das constantes de velocidade de pseudo-primeira ordem da reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida em função da concentração de semicarbazida na forma de base livre, em água, a 25,0 °C e força iônica igual a 0,50 mol.dm⁻³.

2.4.2.3 - Determinação da constante de equilíbrio na formação da semicarbazona do 2-tiofenocarboxaldeído

Fizeram-se experiências de determinação da ordem da reação nas seguintes condições: $H_0 = -0,20, -0,03, 0,20$ e $0,55$ e $pH = 1,0, 1,2, 1,4$ e $1,6$.

Para cada uma dessas regiões prepararam-se seis tubos de reação com concentrações crescentes de semicarbazida. Exemplo é encontrado na Tabela III.

Correlacionaram-se, então, os valores assim obtidos das constantes de velocidade de pseudo-primeira ordem e concentração de semicarbazida na forma de base livre obtendo-se para cada uma dessas regiões uma reta que não interceptou a origem (Figuras VIII e IX, por exemplo). Através do ponto de ordenada nula, $(-1/K_c)$ destas retas, estimou-se o valor da constante de equilíbrio (K_c). Considerou-se o valor médio destas medidas, que foi de $1,48 \cdot 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3$, como sendo o valor da constante de equilíbrio.

Tabela III - Soluções para determinação da constante de velocidade e estimação da constante de equilíbrio para a reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, em água, a $25,0^\circ \text{C}$, força iônica $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e $H_0 = 0,20$.

Tubo	HCl $2,063 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	EDTA $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	SC.HCl $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	H_2O
1	4,85	0,2	1,0	3,95
2	4,85	0,2	1,2	3,75
3	4,85	0,2	1,4	3,55
4	4,85	0,2	1,6	3,35
5	4,85	0,2	2,0	2,95
6	4,85	0,2	2,4	2,55

NOTA: Os valores constantes na Tabela são volumes, medidos em dm^3 .

2.4.2.4 - Determinação da catálise ácida efetuada pelo íon hidrônio

Para determinar a constante catalítica do hidrônio utilizaram-se as mesmas soluções em que se estimou a constante de equilíbrio, item 2.4.2.3., utilizando-se ácido clorídrico como catalisador.

As constantes de velocidade de pseudo-primeira ordem (k_{obs}) obtidos a partir destas soluções (Tabela IV) foram correlacionadas com as respectivas concentrações de semicarbazida na forma de base livre. Obteve-se, para cada região de H_0 ou pH, uma reta (Figuras VIII e IX, por exemplo), cuja inclinação forneceu o valor da constante de velocidade de pseudo-segunda ordem (k_2).

Correlacionaram-se, a seguir, os logaritmos dos valores das constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem (k_2) com os respectivos valores de H_0 ou pH, obtendo-se uma reta com inclinação igual a unidade. A constante catalítica do íon hidrônio para a formação e desidratação da carbinolamina foi então determinada a partir dos pontos correspondentes à faixa de pH onde a etapa determinante da velocidade era a formação ou a desidratação da carbinolamina, respectivamente, e de acordo com a Equação (7).

Os valores obtidos para as constantes catalíticas do íon hidrônio foram $3,0 \cdot 10^2 \text{ mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$, para a formação da carbinolamina e $1,6 \cdot 10^4 \text{ mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$, para a desidratação da carbinolamina.

2.4.2.5 - Determinação da catálise ácida geral efetuada pelos tampões ácidos carboxílicos/carboxilatos

Na determinação da catálise ácida geral utilizaram-se ácido cianoacético (CNCH_2COOH), ácido cloroacético (ClCH_2COOH), ácido fórmico (HCOOH) e ácido acético (CH_3COOH), como catalisadores.

Ao se trabalhar com ácido cianoacético, prepararam-se, para cada pH estudado, cinco tubos de reação com concentrações crescentes de tampão e concentração fixa de semicarbazida, conforme Tabela V.

Tabela IV - Constantes de velocidade observadas da reação de pseudo-primeira ordem entre semicarbazida e 2-tiofenocarboxaldeído, a 25,0 °C e força iônica 0,50 mol.dm⁻³.

H ₂ O	[SC]/10 ⁻⁴ mol.dm ⁻³	k _{obs} /10 ⁻³ .s ⁻¹	P _H	[SC]/10 ⁻⁴ mol.dm ⁻³	K _{obs} /10 ⁻³ .s ⁻¹
-0,20	0,0142	2,2850	1,0	0,224	0,8295
	0,0167	2,4400		0,270	0,9748
	0,0191	2,5833		0,314	1,0593
	0,0286	2,7033		0,358	1,1372
	0,0343	2,8633		0,448	1,3295
				0,538	1,5710
-0,03	0,0209	1,8617	1,2	0,356	0,7342
	0,0251	2,0117		0,427	0,8553
	0,0292	1,9950		0,490	0,9652
	0,0334	2,1383		0,570	1,1040
	0,0418	2,3050		0,712	1,4282
	0,0500	2,4833		0,855	1,6267
0,20	0,0355	1,4330	1,4	0,560	0,7218
	0,0426	1,5298		0,670	0,8652
	0,0496	1,6228		0,745	0,9652
	0,0567	1,7050		0,900	1,1040
	0,0709	1,9250		1,120	1,4282
	0,0851	2,0551		1,350	1,6267
0,55	0,0793	1,0435	1,6	0,888	0,7208
	0,0952	1,1817		1,065	0,8435
	0,1111	1,2717		1,242	0,9885
	0,1269	1,2717		1,420	1,1270
	0,1587	1,5358		1,775	1,3825
	0,1904	1,7500		2,130	1,6733

NOTA: [SC] = concentração de semicarbazida na forma de base livre

Figura VIII - Valores das constantes de velocidade de pseudo-primeira ordem da reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida em função da concentração de semicarbazida na forma de base livre, na região de H_O .

Figura IX - Valores das constantes de velocidade de pseudo-primeira ordem da reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida em função da concentração de semicarbazida na forma de base livre, na região de pH compreendida entre 1,0 e 1,6.

Tabela V - Soluções para determinação da catálise ácida geral efetuada pelo tampão $\text{CNCH}_2\text{COOH}/\text{CNCH}_2\text{COO}^-$, na reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C e força iônica $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

pH	$\text{CNCH}_2\text{COOH}/\text{CNCH}_2\text{COO}^-$ $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	HCl $2,0 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	EDTA $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	SC.HCl $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	H_2O
2,04	0,50	2,40	0,20	1,30	5,60
	1,00	2,40	0,20	1,30	5,10
	1,50	2,35	0,20	1,30	4,65
	2,00	2,35	0,20	1,30	4,15
	2,50	2,35	0,20	1,30	3,70
2,34	0,50	2,40	0,20	1,30	5,60
	1,00	2,30	0,20	1,30	5,20
	1,50	2,25	0,20	1,30	4,75
	2,00	2,20	0,20	1,30	4,30
	2,50	2,15	0,20	1,30	3,85
2,93	0,50	2,35	0,20	1,30	5,65
	1,00	2,25	0,20	1,30	5,25
	1,50	2,15	0,20	1,30	4,85
	2,00	2,00	0,20	1,30	4,50
	2,50	1,95	0,20	1,30	4,05

NOTA: Os valores constantes da Tabela são volumes, medidos em dm^3 .

Figura X - Determinação da constante catalítica (k_{AH}) e da velocidade de pseudo-segunda ordem para a formação da carbinolamina, extrapolada para concentração zero do tampão (k_2^{ad}), para a reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C, força iônica 0,50 mol.d m^3 e em presença de diferentes proporções da forma ácida do tampão $\text{CNCH}_2\text{-COOH}/\text{CNCH}_2\text{COO}^-$.

Tabela VI - Soluções para determinação da catálise ácida geral efetuada pelo tampão $\text{ClCH}_2\text{COOH}/\text{ClCH}_2\text{COO}^-$, na reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C e força iônica igual a $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

pH	$\text{ClCH}_2\text{COOH}/\text{ClCH}_2\text{COO}^-$ $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	KCl $2,0 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	EDTA $0,01 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	SC $0,10 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	H_2O
2,13	0,50	2,40	0,20	1,30	5,60
	1,00	2,40	0,20	1,30	5,10
	1,50	2,35	0,20	1,30	4,65
	2,00	2,35	0,20	1,30	4,15
	2,50	2,30	0,20	1,30	3,70
2,61	0,50	2,40	0,20	1,30	5,60
	1,00	2,30	0,20	1,30	5,20
	1,50	2,25	0,20	1,30	4,75
	2,00	2,20	0,20	1,30	4,30
	2,50	2,15	0,20	1,30	3,85
3,20	0,50	2,35	0,20	1,30	5,65
	1,00	2,25	0,20	1,30	5,25
	1,50	2,15	0,20	1,30	4,85
	2,00	2,00	0,20	1,30	4,50
	2,50	1,95	0,20	1,30	4,05

NOTA: Os valores constantes da Tabela são volumes, medidos em dm^3 .

Figura XI - Determinação da constante catalítica (k_{AH}) e da velocidade de pseudo-segunda ordem para a formação da carbinolamina, extrapolada para concentração zero do tampão (k_{2ad}), para a reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C, força iônica 0,50 $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e em presença de diferentes proporções da forma ácida do tampão $\text{ClCH}_2\text{COOH}/\text{ClCH}_2\text{COO}^-$.

Tabela VII - Soluções para determinação da catálise ácida geral efetuada pelo tampão $\text{HCOOH}/\text{HCOO}^-$, na reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C e força iônica igual a 0,50 mol. dm^{-3} .

pH	$\text{HCOOH}/\text{HCOO}^-$ 0,50 mol. dm^{-3}	KCl 2,0 mol. dm^{-3}	EDTA 0,01 mol. dm^{-3}	SC 0,10 mol. dm^{-3}	H_2O
2,90	0,50	2,40	0,20	1,30	5,60
	1,00	2,40	0,20	1,30	5,10
	1,50	2,35	0,20	1,30	4,65
	2,00	2,35	0,20	1,30	4,15
	2,50	2,30	0,20	1,30	3,70
3,50	0,50	2,40	0,20	1,30	5,60
	1,00	2,35	0,20	1,30	5,15
	1,50	2,30	0,20	1,30	4,70
	2,00	2,20	0,20	1,30	4,30
	2,50	2,15	0,20	1,30	3,85
4,10	0,50	2,40	0,20	1,30	5,60
	1,00	2,30	0,20	1,30	5,20
	1,50	2,20	0,20	1,30	4,80
	2,50	2,00	0,20	1,30	4,00

NOTA: Os valores constantes da Tabela são volumes, medidos em dm^3 .

Figura XII - Determinação da constante catalítica (k_{AH}) e da velocidade de pseudo-segunda ordem para a formação da carbinolamina, extrapolada para concentração zero do tampão (k_2^{ad}), para a reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C, força iônica 0,50 mol. $\cdot\text{dm}^{-3}$ e em presença de diferentes proporções da forma ácida do tampão $HCOOH/HCOO^-$.

Tabela VIII - Soluções para determinação da catálise ácida geral efetuada pelo tampão $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COO}^-$, na relação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C e força iônica $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

pH	$\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COO}^-$ $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	KCl $2,00 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	EDTA $0,01 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	SC $0,05 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	H_2O
3,92	0,50	2,45	0,20	1,20	5,65
	1,00	2,45	0,20	1,20	5,15
	1,50	2,40	0,20	1,20	4,70
	2,00	2,40	0,20	1,20	4,20
	2,50	2,35	0,20	1,20	3,75
4,51	0,50	2,45	0,20	1,20	5,65
	1,00	2,40	0,20	1,20	5,20
	1,50	2,30	0,20	1,20	4,80
	2,00	2,25	0,20	1,20	4,35
	2,50	2,20	0,20	1,20	3,90
5,13	0,50	2,40	0,20	1,20	5,70
	1,00	2,30	0,20	1,20	5,30
	1,50	2,20	0,20	1,20	4,90
	2,00	2,10	0,20	1,20	4,50
	2,50	2,00	0,20	1,20	4,10

NOTA: Os valores constantes da Tabela são volumes, medidos em dm^3 .

Figura XIII - Determinação da constante catalítica (k_{AH}) e da velocidade de pseudo-segunda ordem para a formação da carbinolamina, extrapolada para concentração zero do tampão (k_{cat}^0), para a reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C, força iônica 0,50 $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e em presença de diferentes proporções da forma ácida do tampão $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COO}^-$.

Tabela IX - Constantes de velocidade e constantes catalíticas da reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C, em força iônica 0,50 mol.dm⁻³, em presença de tampão ácido carboxílico/carboxilato.

pH	Tampão [AH/A ⁻]	% ácido	$k_2/\text{mol}^{-1}.\text{dm}^3.\text{s}^{-1}$	$k_{2ad}/\text{mol}^{-1}.\text{dm}^3.\text{s}^{-1}$	$k_{AH}/\text{mol}^{-2}.\text{dm}^6.\text{s}^{-1}$
2,04	CNCH ₂ COOH	80	2,98	3,00	25,00
2,34	CNCH ₂ COOH	50	1,67	1,68	24,49
2,93	CNCH ₂ COOH	20	0,59	0,63	24,72
2,13	ClCH ₂ COOH	80	2,43	2,53	23,81
2,61	ClCH ₂ COOH	50	1,06	1,09	23,21
3,20	ClCH ₂ COOH	20	0,35	0,44	21,23
2,90	HCOOH	80	0,66	0,65	17,33
3,50	HCOOH	50	0,31	0,31	16,92
4,10	HCOOH	20	0,19	0,16	17,50
3,92	CH ₃ COOH	80	0,18	0,12	16,47
4,51	CH ₃ COOH	50	0,11	0,03	21,28
5,13	CH ₃ COOH	20	0,06	-	32,32

Para cada uma destas soluções calculou-se a constante de velocidade de pseudo-primeira ordem observada conforme equação (1) e constante de pseudo-segunda ordem (k_2), conforme equação (3), citadas em Métodos de trabalho, ítem 2.3.2.

A constante de velocidade de pseudo-segunda ordem (k_2) foi corrigida na etapa de desidratação, em que não ocorre catálise pelos ácidos carboxílicos. Isto foi feito através da equação:

$$k_{2ad} = \frac{k_2}{1 - \frac{k_2}{K_{ad} k_5 \cdot a_{H^+}}} \quad (8)$$

em que: k_{2ad} é a velocidade da reação de pseudo-segunda ordem para a etapa de formação da carbinolamina,

$K_{ad} k_5$ é a constante de velocidade de desidratação catalisada pelo íon hidrônio e

a_{H^+} é a atividade do íon hidrônio.

Com os ácidos cloroacético, ácido fórmico e ácido acético procedeu-se de maneira semelhante ao ácido cianoacético, realizando-se experiências com 20%, 50% e 80% da forma ácida de cada tampão (Tabelas VI, VII, VIII).

Para cada um desses tampões construíram-se gráficos em que se correlacionaram as constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem corrigida da etapa de desidratação (k_{2ad}) com as respectivas concentrações molares do ácido catalisador (Figuras X, XI, XII e XIII). O coeficiente angular das retas obtidas forneceu os valores da constante catalítica do ácido respectivo, expressos na Tabela XL.

2.4.2.6 - Determinação da catálise do íon semicarbazínio na formação da carbinolamina

Para a determinação da catálise do íon semicarbazínio construíram-se gráficos, em três regiões adequadas de pH, colocando em ordenada a constante de velocidade de pseudo-segunda ordem corrigida da etapa de desidratação e em abscissa as respectivas concentrações molares do íon semicarbazínio.

O cálculo da forma ácida da semicarbazida foi feito através da equação de Henderson-Hasselbalch:

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{SC}]}{[\text{SCH}^+]} \quad (11)$$

em que: $\text{pK}_a = 3,65$ para o semicarbazínio, a $25,0^\circ\text{C}$ e força iônica $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$;

$[\text{SC}]$ é a concentração de semicarbazida na forma básica e

$[\text{SCH}^+]$ é a concentração do íon semicarbazínio.

Prepararam-se soluções com concentrações crescentes de semicarbazida em $\text{pH} = 2,04, 2,80$ e $3,00$ (Tabelas X e XI). As constantes de velocidade de pseudo-primeira ordem (k_{obs}) foram transformadas em constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem (k_2) através das Equações (2) e (6) e descontadas da etapa de desidratação conforme Equação (8), passando as constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem para a reação de formação da carbinolamina.

As constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem para a reação de formação da carbinolamina ($k_{2\text{ad}}$) foram correlacionadas, então, com as respectivas concentrações do íon semicarbazínio (Figura XIV). O coeficiente angular de cada reta obtida forneceu o valor da constante catalítica do íon semicarbazínio para a respectiva região de pH . A média desses valores foi considerada como sendo a constante catalítica do íon semicarbazínio (k_{SCH^+}) e foi igual a $1,89 \cdot 10^{-1} \text{ mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$.

2.4.2.7 - Construção do perfil de velocidade de reação em função do pH

Construiu-se um gráfico onde os valores de pH foram colocados em abscissa e os valores dos logaritmos das constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem, em ordenada.

Em $\text{pH} < 2,0$, os valores das constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem (k_2) utilizados no perfil foram aqueles obtidos nas experiências em que se determinou a catálise do íon hidrônio (item 2.4.3.4), isto é, a partir do gráfico em que se correlacionou constante de velocidade de pseudo-primeira ordem (k_{obs}) e concentração de semicarbazida na forma de base livre.

Tabela X - Soluções para determinação da constante catalítica do íon semicarbazínio, na reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C, força iônica $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e $\text{pH} = 2,04$.

HCl $1,0 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	KCl $2,0 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	EDTA $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	SC.HCl $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	H ₂ O
0,10	2,43	0,20	0,45	6,82
0,10	2,42	0,20	0,68	6,60
0,10	2,41	0,20	0,90	6,39
0,10	2,40	0,20	1,13	6,17
0,10	2,38	0,20	1,35	5,97
0,10	2,37	0,20	1,58	5,75
0,10	2,36	0,20	1,80	5,54
0,10	2,35	0,20	2,03	5,32
0,10	2,34	0,20	2,25	5,11
0,10	2,33	0,20	2,47	4,90

NOTA: Os valores constantes da Tabela são volumes, medidos em dm^3

Tabela XI - Soluções para determinação da constante catalítica do íon semicarbazínio, na reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C, força iônica 0,50 mol.dm⁻³ e em presença de tampão ClCH₂COOH/ClCH₂COO⁻.

pH	Tampão 0,5 mol.dm ⁻³	KCl 2,0 mol.dm ⁻³	EDTA 1,10 ⁻² mol.dm ⁻³	SC.HCl 0,1 mol.dm ⁻³	H ₂ O
2,80	1,50	2,25	0,20	0,30	5,75
	1,50	2,25	0,20	0,50	5,55
	1,50	2,25	0,20	0,70	5,35
	1,50	2,20	0,20	0,90	5,20
	1,50	2,20	0,20	1,10	5,00
	1,50	2,20	0,20	1,20	4,90
3,00	1,50	2,25	0,20	0,50	5,55
	1,50	2,25	0,20	0,60	5,45
	1,50	2,25	0,20	0,70	5,35
	1,50	2,20	0,20	0,80	5,30
	1,50	2,20	0,20	0,90	5,20
	1,50	2,20	0,20	1,00	5,10

NOTA: Os valores constantes da Tabela são volumes, medidos em dm³.

Figura XIV - Determinação da constante catalítica do íon semicarbazínio na reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25 °C e força iônica $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Em pH compreendido entre 2,0 e 5,0, os valores das constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem (k_2) utilizados foram os obtidos nas experiências em que se determinou a catálise ácida geral pelos ácidos carboxílicos (ítem 2.4.3.5). Nestas experiências, os valores de k_2 obtidos a partir da equação foram corrigidos da etapa de desidratação pela Equação (8) e colocados no gráfico em que se correlacionou constante de velocidade de pseudo-segunda ordem para a formação da carbinolamina (k_{ad}) e concentração do ácido carboxílico correspondente. A intersecção da reta obtida com o eixo das ordenadas forneceu a constante de velocidade de pseudo-segunda ordem extrapolada para a concentração zero do tampão (k_2^0). Esta constante foi, então, transformada em constante de velocidade de pseudo-segunda ordem da reação total (k_2^0) através da Equação (9).

Na faixa de pH compreendida entre 2,0 e 5,0 foi descontada, ainda, do valor da constante de velocidade de pseudo-segunda ordem a contribuição da catálise do nucleófilo, através da equação:

$$k_2^0 f = k_2^0 - k_{SCH^+} [SCH^+] \quad (10)$$

em que: $k_2^0 f$ é o valor da constante de velocidade de pseudo-segunda ordem da reação total, descontada a contribuição da catálise do nucleófilo;

k_2^0 é o valor da constante de velocidade de pseudo-segunda ordem da reação total;

k_{SCH^+} é a constante catalítica do nucleófilo e

$[SCH^+]$ é a concentração do nucleófilo na forma ácida.

Na região de pH compreendida entre 5,5 e 7,8 trabalhou-se com tampão dihidrogenofosfato/monohidrogenofosfato de potássio (KH_2PO_4/K_2HPO_4) nas proporções de 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10% do dihidrogenofosfato. Em cada uma destas experiências utilizaram-se três concentrações do tampão e concentração fixa de semicarbazida. O valor da constante de velocidade de pseudo-segunda ordem (k_2) foi obtido a partir das Equações (1) e (2). O valor de k_2 foi então correlacionado com a respectiva concentração do tampão, obtendo-se um gráfico linear cuja intersecção com o eixo das ordenadas forneceu o valor de k_2 extrapolado para a concentração zero de tampão (Tabela XII).

A partir do gráfico de perfil de velocidade de reação, construído com os dados obtidos da maneira citada acima, obteve-se o valor da constante da

Tabela XII - Constantes de velocidade para a reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, na presença de tampão fosfato, em diferentes pH, a 25,0 °C e força iônica igual a 0,50 mol.dm⁻³.

pH	Tampão (AH/A ⁻)	% ácido	k ₂ /mol ⁻¹ .dm ³ .s ⁻¹
5,57	NaH ₂ PO ₄	90	4,17 X 10 ⁻²
5,85	NaH ₂ PO ₄	80	2,02 X 10 ⁻²
6,08	NaH ₂ PO ₄	70	1,03 x 10 ⁻²
6,26	NaH ₂ PO ₄	60	7,38 X 10 ⁻³
6,45	NaH ₂ PO ₄	50	4,41 X 10 ⁻³
6,74	NaH ₂ PO ₄	40	1,32 X 10 ⁻³
7,00	NaH ₂ PO ₄	30	7,15 X 10 ⁻⁴
7,29	NaH ₂ PO ₄	20	2,81 X 10 ⁻⁴
7,80	NaH ₂ PO ₄	10	9,98 X 10 ⁻⁵

reação de formação catalisada da carbinolamina (k_1), formação não catalisada ($K_n k_4$) e desidratação da carbinolamina catalisada pelo hidrônio ($K_{ad} k_5$).

O valor de $K_n k_4$ foi obtido diretamente do gráfico, sendo $1,2 \cdot 10^{-1} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ e o valor de k_1 e de $K_{ad} k_5$, através da Equação (7), sendo $3,0 \cdot 10^2 \text{ mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$ e $1,6 \cdot 10^4 \text{ mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente. Para auxiliar na determinação do valor de $K_{ad} k_5$ foi adicionado ao gráfico de perfil de velocidade de reação um ponto extra (Rosenberg *et al.*, 1974), determinado a partir de experiência em que se utilizou concentração alta de tampão $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COO}^-$, conforme Tabela XIII. O cálculo do seu valor foi efetuado através do gráfico da dupla recíproca, onde se colocou em abscissa o inverso da concentração do tampão e em ordenada o inverso da diferença entre o valor da constante de pseudo-segunda ordem e a constante de pseudo-segunda ordem para a concentração zero do tampão (Figura XVI). O coeficiente linear da reta assim obtido forneceu o valor da constante de velocidade de pseudo-segunda ordem não mais afetada pela concentração do tampão (k_α), que foi de $1,26 \cdot 10^{-1} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$.

O k_α pode também ser obtido diretamente do gráfico onde se colocam os valores das constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem (k_2) em ordenada e os valores da concentração do tampão correspondente em abscissa (Figura XV). O valor da constante de velocidade de pseudo-segunda ordem que não é mais alterada em altas concentrações do tampão, formando um patamar no gráfico, correspondente ao k_α (Rosenberg *et al.*, 1974), que foi de $1,25 \cdot 10^{-1} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$.

2.4.3 - Estudo cinético da reação entre semicarbazida e 2-pirrolcarboxaldeído

A reação entre semicarbazida e 2-pirrolcarboxaldeído foi acompanhada, espectrofotometricamente, observando-se a formação da semicarbazona correspondente a 310 nm, da maneira descrita em Métodos de trabalho, item 2.3.2.

A concentração do 2-pirrolcarboxaldeído utilizada nas experiências foi de $5,94 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e de semicarbazida, na forma de cloridrato, foi de $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, no mínimo. Portanto, trabalhou-se sempre com grande excesso de nucleófilo.

Tabela XIII - Soluções para determinação da constante de pseudo-segunda ordem, na reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida em água, a 25,0 °C e força iônica igual a 0,50 mol.dm⁻³, em presença de tampão CH₃COOH/CH₃COO⁻ em concentração alta.

pH	Tampão	KCl	EDTA	SC.HCl	H ₂ O
	0,76 mol.dm ⁻³	2,0 mol.dm ⁻³	1,10 ⁻² mol.dm ⁻³	0,05 mol.dm ⁻³	
5,13	0,92	2,13	0,2	1,2	5,55
	1,97	1,71	0,2	1,2	4,92
	2,63	1,45	0,2	1,2	4,52
	3,29	1,18	0,2	1,2	4,13
	3,95	0,92	0,2	1,2	3,73
	4,60	0,66	0,2	1,2	3,34

NOTA: Os valores constantes da Tabela são volumes, medidos em dm³.

Figura XV - Determinação do valor de k_α , para a reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C, força iônica 0,50 mol.d^m³ e em presença de alta concentração do tampão CH₃COOH/CH₃COO⁻.

Figura XVI - Determinação do valor de k_α para a reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C, força iônica 0,50 $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e em presença de alta concentração do tampão $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COO}^-$.

2.4.3.1 - Determinação da ordem parcial da reação em relação ao 2-pirrolcarboxaldeído

Prepararam-se os tubos de reação constantes da Tabela XIV e procedeu-se analogamente ao descrito no item 2.4.2.1, para a determinação da ordem parcial da reação em relação ao 2-tiofenocarboxaldeído.

Observou-se que a reação é de primeira ordem em relação ao 2-pirrolcarboxaldeído, pois se obteve uma reta quando se construiu um gráfico colocando os logaritmos das absorvâncias ($A_{\infty} - A_t$) em função do tempo (t).

Tabela XIV - Soluções para determinação da ordem parcial da reação entre 2-pirrolcarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C, força iônica $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e pH = 4,74.

Tubo	$\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COO}^-$ $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	EDTA $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	KCl $2,0 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	SC.HCl $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	H_2O
1	1,00	0,20	2,35	0,50	5,95
2	1,00	0,20	2,35	1,00	5,45
3	1,00	0,20	2,35	2,00	4,45
4	1,00	0,20	2,35	3,00	3,45
5	1,00	0,20	2,35	4,00	2,45
6	1,00	0,20	2,35	5,50	0,95

NOTA: Os valores constantes da Tabela são volumes, medidos em dm^3 .

2.4.3.2 - Determinação da ordem parcial da reação em relação à semicarbazida

Procedeu-se de maneira análoga à descrita no item 2.4.2.2, em que se determinou a ordem parcial da reação entre semicarbazida e 2-tiofenocarboxaldeído. Empregaram-se as soluções constantes da Tabela XIV.

Os resultados obtidos estão expressos na Tabela XV.

Com esses dados construiu-se o gráfico da Figura XVII. verificando-se que a reação é de primeira ordem em relação à semicarbazida. O coeficiente angular da reta obtida forneceu o valor da constante de velocidade da reação de pseudo-segunda ordem, cujo valor, em pH = 4,74, é de $2,068 \cdot 10^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$.

Tabela XV - Constantes de velocidade de pseudo-primeira ordem observadas (k_{obs}) para a reação entre 2-pirrolcarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C, força iônica $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e pH = 4,74.

Tubo	$[\text{SC}] / 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	$k_{\text{obs}} / 10^{-4} \text{ s}^{-1}$
1	4,62	0,705
2	9,25	1,426
3	18,49	3,050
4	17,74	4,530
5	36,99	6,640
6	50,86	9,090

NOTA: $[\text{SC}]$ = concentração de semicarbazida na forma de base livre.

Figura XVII - Valores das constantes de velocidade de pseudo-primeira ordem da reação entre 2-pirrolcarboxaldeído e semicarbazida, em função da concentração de semicarbazida na forma de base livre, em água, a 25,0 °C, força iônica $0,50 mol.dm^{-3}$ e pH = 4,74.

2.4.3.3 - Determinação da constante de equilíbrio na formação da semicarbazona do 2-pirrolcarboxaldeído

A constante de equilíbrio da reação entre semicarbazida e 2-pirrolcarboxaldeído foi determinada da maneira descrita em Métodos de trabalho, ítem 2.3.2.3, sendo feitas três experiências.

Na primeira experiência, prepararam-se sete tubos de reação com concentrações de semicarbazida variando de $1,0 \cdot 10^{-3}$ a $4,5 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e em $\text{pH} = 1,97$. O valor obtido para a constante de equilíbrio foi de $1,43 \cdot 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3$. (Figura XVIII)

Na segunda experiência, prepararam-se 16 tubos de reação com concentrações de semicarbazida de $8,0 \cdot 10^{-5}$ a $2,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e em $\text{pH} = 1,95$. O valor obtido para a constante de equilíbrio foi de $1,21 \cdot 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3$.

Na terceira experiência, prepararam-se 9 tubos de reação com concentrações de semicarbazida de $1,0 \cdot 10^{-4}$ a $6,6 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e $\text{pH} = 1,80$. O valor obtido para a constante de equilíbrio foi de $1,14 \cdot 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3$. (Figura XVIII)

O valor calculado para a constante de equilíbrio (K_c) consistiu na média dos valores encontrados nas três determinações e foi de $1,25 \cdot 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3$.

2.4.3.4 - Determinação da catálise ácida efetuada pelo íon hidrônio

Para determinar a constante catalítica do íon hidrônio fizeram-se experiências em região de pH compreendida entre 1,0 e 2,0, empregando-se como catalisador soluções de ácido clorídrico em concentrações que variaram de $1 \cdot 10^{-1}$ a $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

As constantes de velocidade de pseudo-primeira ordem (k_{obs}) obtidas a partir destas soluções (Tabela XVI) foram transformadas em constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem (k_2) através da Equação (6).

Os logaritmos das constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem foram então correlacionados com os respectivos valores de pH , obtendo-se uma reta com inclinação igual a unidade.

Figura XVIII - Determinação da constante de equilíbrio na reação entre 2-pirrol carboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25 °C e força iônica $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

A constante catalítica do íon hidrônio para a formação da carbinolamina foi determinada de acordo com a Equação (7) e foi de $3,5 \cdot 10^2 \text{ mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$.

Tabela XVI - Constantes de velocidade de pseudo-primeira ordem observadas e pseudo-segunda ordem corrigidas da contribuição da constante de equilíbrio, para a reação entre 2-pirrolcarboxaldeído e semicarbazida, a 25,0 °C e força iônica $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

pH	$[\text{SC}]/10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	$k_{\text{obs}}/10^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	$k_2/10^1 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$
1,01	2,12	3,03	3,05
1,20	3,19	2,10	1,86
1,41	5,21	1,70	1,29
1,62	8,42	1,22	0,74
1,85	13,95	1,05	0,48
2,03	20,90	0,91	0,32

2.4.3.5 - Determinação da catálise ácida geral efetuada pelos ácidos carboxílicos/carboxilatos

Procedeu-se de acordo com o Método de trabalho, item 2.3.2.5 e de maneira semelhante à determinação feita para a reação de semicarbazida e 2-tiofenocarboxaldeído, item 2.4.2.5.

Os resultados obtidos estão expressos na Tabela XVII.

Tabela XVII - Constantes de velocidade e constantes catalíticas da reação entre 2-pirrolcarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25 °C, em força iônica $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, em presença de tampão ácido carboxílico/carboxilato.

pH	Tampão (AH/A ⁻)	% ácido	$k_2/10^{-1} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$	$k_{2ad}/10^{-1} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$	$k_{AH}/\text{mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$
2,31	CNCH ₂ COOH	60	18,20	19,53	1,27
2,48	CNCH ₂ COOH	50	9,40	9,96	1,95
2,15	ClCH ₂ COOH	80	18,80	19,47	0,54
2,63	ClCH ₂ COOH	50	7,50	7,96	1,71
3,37	ClCH ₂ COOH	20	1,60	1,99	5,10
3,34	HCOOH	60	1,56	1,66	0,75
3,75	HCOOH	40	0,79	0,71	0,67
3,97	CH ₃ COOH	80	0,39	0,43	0,49
4,54	CH ₃ COOH	50	0,14	0,15	0,46
4,82	CH ₃ COOH	20	0,072	0,080	0,45

2.4.3.6 - Determinação da catálise do íon semicarbazínio na formação da carbinolamina

A determinação da catálise do íon semicarbazínio na reação entre 2-pirro-carboxaldeído e semicarbazida foi feita de maneira semelhante à executada na reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida (ítem 2.4.2.6). As determinações foram feitas em pH 2,0, 3,00 e 4,00, utilizando-se HCl, tampão $\text{ClCH}_2\text{COOH}/\text{ClCH}_2\text{COO}^-$ e tampão $\text{HCOOH}/\text{HCOO}^-$, respectivamente, para manter o pH constante. As concentrações do nucleófilo variaram de $9,0 \cdot 10^{-3}$ a $3,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, nas experiências.

As constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem para a reação de formação da carbinolamina foram correlacionadas com as respectivas concentrações do íon semicarbazínio (Figura XIX). Em pH = 2,0 não houve catálise por parte do nucleófilo. Em pH = 3,0 e 4,0, entretanto, obtiveram-se retas cujos coeficientes angulares forneceram o valor da constante catalítica do íon semicarbazínio (k_{SCH^+}), que foram, respectivamente, 3,62 e 5,94 $\text{mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$.

Figura XIX - Determinação da constante catalítica do íon semicarbazínio na reação entre 2-pirrolcarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C e força iônica 0,50 mol.dm⁻³.

2.4.3.7 - Construção do perfil de velocidade de reação em função do pH

Construiu-se um gráfico em que os valores de pH foram colocados em abscissa e os valores dos logaritmos das constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem em ordenada.

Em $\text{pH} < 2,0$, os valores das constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem, utilizados no perfil, foram aqueles obtidos nas experiências em que se determinou a catálise do íon hidrônio (item 2.4.3.4).

Em pH compreendido entre 2,0 e 5,0, os valores das constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem utilizados foram aqueles obtidos nas experiências em que se determinou a catálise ácida geral pelos ácidos carboxílicos (item 2.4.3.5) e transformados em constante de velocidade de pseudo-segunda ordem da reação total (k_2^0) através da Equação (9).

Na região de pH compreendida entre 5,0 e 7,0 trabalhou-se com tampão diidrogenofosfato de sódio/monoidrogenofosfato de sódio ($\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$) 90%, 80%, 70%, 50% e 30% da forma ácida. Em cada uma destas experiências utilizaram-se de três a cinco concentrações do tampão. O valor da constante de velocidade de pseudo-segunda ordem (k_2), constante da Tabela XVIII, foi obtido utilizando-se as Equações (1) e (3).

A partir do gráfico do perfil de velocidade de reação em função do pH, obteve-se o valor da constante da reação de formação catalisada da carbinolamina (k_1), formação não catalisada ($K_n k_4$) e desidratação da carbinolamina catalisada pelo íon hidrônio ($K_{ad} k_5$). O valor de $K_n k_4$, obtido diretamente do gráfico, foi de $3,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ e os valores de k_1 e $K_{ad} k_5$, obtidos através da Equação (7), foram de $3,5 \cdot 10^2 \text{ mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$ e $5,8 \cdot 10^3 \text{ mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente.

2.4.4 - Estudo cinético da reação entre semicarbazida e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído

A reação entre semicarbazida e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído foi acompanhada espectrofotometricamente a 310 nm, observando-se a formação da semicarbazona correspondente.

A concentração do N-metil-2-pirrolcarboxaldeído utilizada nas experiências foi de $6,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e a de semicarbazida, na forma de cloridrato,

foi de $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, no mínimo. Portanto, trabalhou-se sempre com gran de excesso de nucleófilo.

Tabela XVIII - Constantes de velocidade para a reação entre 2-pirrolcarboxaldeído e semicarbazida, na presença de tampão fosfato, em diferentes regiões de pH, a 25,0 °C e força iônica 0,50 mol.
 dm^{-3} .

pH	tampão (AH/A ⁻)	% ácido	$k_2/\text{mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$
5,97	NaH ₂ PO ₄	90	2,18 X 10 ⁻³
6,31	NaH ₂ PO ₄	80	2,26 X 10 ⁻³
6,71	NaH ₂ PO ₄	70	1,23 X 10 ⁻³
6,93	NaH ₂ PO ₄	50	5,86 X 10 ⁻⁴
7,17	NaH ₂ PO ₄	30	4,22 X 10 ⁻⁴

2.4.4.1 - Deteminação da ordem parcial da reação em relação ao N-metil-2-pirrolcarboxaldeído

Prepararam-se os tubos de reação constantes da Tabela XIX e procedeu-se analogamente ao descrito no ítem 2.4.2.1, para a determinação da ordem parcial da reação em relação ao 2-tiofenocarboxaldeído.

Observou-se que a reação é de primeira ordem em relação ao N-metil-2-pirrolcarboxaldeído, pois se obteve uma reta quando se construiu um gráfico colocando os logaritmos das absorvâncias ($A_{\infty} - A_t$) em função do tempo.

Tabela XIX - Soluções para determinação da ordem parcial da reação entre N-metil-2-pirrolcarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C, força iônica $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e pH = 4,74.

Tubo	$\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COO}^-$ $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	EDTA $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	KCl $2,0 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	SC.HCl $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	H_2O
1	1,00	0,20	2,35	0,50	5,95
2	1,00	0,20	2,35	1,00	5,45
3	1,00	0,20	2,35	1,50	4,95
4	1,00	0,20	2,35	3,00	3,45
5	1,00	0,20	2,35	4,00	2,45
6	1,00	0,20	2,35	5,50	0,95

NOTA: Os valores constantes da Tabela são volumes, medidos em dm^3 .

2.4.4.2 - Determinação da ordem parcial da reação à semicarbazida

Procedeu-se de maneira análoga à descrita no item 2.4.2.2, em que se determinou a ordem parcial da reação entre semicarbazida e 2-tiofenocarboxaldeído. Empregaram-se as soluções constantes da Tabela XIX.

Os resultados estão expressos na Tabela XX.

Com esses dados construiu-se o gráfico da Figura XX, verificando-se que a reação é de primeira ordem em relação à semicarbazida. O coeficiente angular da reta obtida forneceu o valor da constante de velocidade da reação de pseudo—segunda ordem, cujo valor em $\text{pH} = 4,74$, é de $1,01 \cdot 10^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$.

Tabela XX - Constantes de velocidade de pseudo-primeira ordem observadas (k_{obs}) para a reação entre N-metil-2-pirrolcarboxaldeído e semicarbazida, em água, a $25,0^\circ\text{C}$, força iônica $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e $\text{pH} = 4,74$.

Tubo	$[\text{SC}]/10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	$k_{\text{obs}}/10^{-5} \text{ s}^{-1}$
1	4,62	6,94
2	9,25	13,13
3	13,87	12,00
4	27,74	39,70
5	36,99	59,38
6	50,86	76,90

NOTA: $[\text{SC}] =$ concentração de semicarbazida na forma de base livre

Figura XX - Valores das constantes de velocidade de pseudo-primeira ordem (k_{obs}) da reação entre semicarbazida e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído em função da concentração de semicarbazida na forma de base livre, em $\text{pH} = 4,74$.

2.4.4.3 - Determinação da constante de equilíbrio na formação da semicarbazona do N-metil-2-pirrolcarboxaldeído

A constante de equilíbrio da reação entre semicarbazida e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído foi determinada da maneira descrita em Métodos de Trabalho (ítem 2.3.2.3), sendo feitas duas determinações.

Na primeira determinação prepararam-se 9 tubos de reação com concentrações de semicarbazida variando de $2,00 \cdot 10^{-3}$ a $7,65 \cdot 10^{-2}$ mol.dm⁻³ e pH = 1,77. O valor obtido para a constante de equilíbrio foi de $5,60 \cdot 10^{-3}$ mol⁻¹.dm³.

Na segunda determinação prepararam-se 9 tubos de reação com concentrações de semicarbazida variando de $8,0 \cdot 10^{-5}$ a $2,4 \cdot 10^{-3}$ mol.dm⁻³ e pH = 1,96. O valor obtido para a constante de equilíbrio foi de $6,83 \cdot 10^3$ mol⁻¹.dm³.

Na terceira determinação prepararam-se 6 tubos de reação com concentrações de semicarbazida variando de $9,0 \cdot 10^{-3}$ a $2,4 \cdot 10^{-2}$ mol.dm⁻³ e pH = 2,00. O valor obtido para a constante de equilíbrio foi de $5,56 \cdot 10^3$ mol⁻¹.dm³.

O valor calculado para a constante de equilíbrio (K_c) consistiu na média dos valores encontrados nas determinações e foi de $5,99 \cdot 10^3$ mol⁻¹.dm³.

2.4.4.4 - Determinação da catálise ácida efetuada pelo íon hidrônio

Procedeu-se de maneira semelhante à determinação feita para a reação de semicarbazida e 2-pirrolcarboxaldeído, ítem 2.4.3.4.

As constantes de velocidade de pseudo-primeira ordem (k_{obs}) e pseudo-segunda ordem (k_2) obtidas estão expressas na Tabela XXI.

O valor obtido para a constante catalítica foi de $3,50 \cdot 10^2$ mol⁻².dm⁶.s⁻¹ para a formação da carbinolamina.

Tabela XXI - Constantes de velocidade de pseudo-primeira ordem e observada de pseudo-segunda ordem corrigida da constante de equilíbrio, para a reação entre semicarbazida e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído, a 25,0 °C e força iônica 0,50 mol.dm⁻³.

pH	[SC]/10 ⁻⁵ mol.dm ⁻³	k _{obs} /10 ⁻³ .s ⁻¹	k ₂ /10 ¹ mol ⁻¹ dm ³ .s ⁻¹
1,02	2,12	4,20	2,22
1,20	3,19	3,54	1,77
1,41	5,21	2,67	1,21
1,61	8,42	2,07	0,82
1,85	13,95	1,67	0,53
2,03	20,90	1,32	0,35

2.4.4.5 - Determinação da catálise ácida geral efetuada pelos tampões ácido carboxílico/carboxilato

Procedeu-se de acordo com o Método de Trabalho, item 2.3.2.5, e de maneira semelhante a determinação feita para a reação entre semicarbazida e 2-tiofenocarboxaldeído, item 2.4.2.5.

Os resultados obtidos estão na Tabela XXII.

2.4.4.6 - Determinação da catálise do íon semicarbazínio na formação da carbinolamina

A determinação da catálise do íon semicarbazínio na reação entre semicarbazida e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído foi feita de maneira semelhante à executada na reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida (item 2.4.2.6). As determinações foram feitas em pH 2,00, 3,00 e 4,00, utilizando-se ácido clorídrico, tampão ácido cloroacético/cloroacetato de sódio e tampão ácido fórmico/formiato de sódio, respectivamente, para manter o pH constante. As concentrações de nucleófilo variaram de 9,0.10⁻³ a 10⁻² mol.dm⁻³, nas experiências.

As constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem para a reação de formação da carbinolamina assim obtidas foram correlacionadas com as respectivas concentrações do íon semicarbazínio, verificando-se que não houve catálise do nucleófilo em nenhuma dessas regiões de pH.

Tabela XXII - Constantes de velocidade e constantes catalíticas da reação entre semicarbazida e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído, em água, a 25,0 °C, em força iônica 0,50 mol.dm⁻³, em presença de tampão ácido carboxílico/carboxilato.

pH	Tampão (AH/A ⁻)	% ácido	$k_2/\text{mol}^{-1}.\text{dm}^3.\text{s}^{-1}$	$k_{2ad}/\text{mol}^{-1}.\text{dm}^3.\text{s}^{-1}$	$k_{AH}/\text{mol}^{-2}.\text{dm}^6.\text{s}^{-1}$
2,35	CNCH ₂ COOH	60	$1,49.10^0$	$1,58.10^0$	$4,14.10^0$
2,47	CNCH ₂ COOH	50	$1,15.10^0$	$1,22.10^0$	$3,12.10^0$
2,18	ClCH ₂ COOH	80	$2,29.10^0$	$2,42.10^0$	$6,65.10^{-1}$
2,67	ClCH ₂ COOH	50	$6,50.10^0$	$6,90.10^{-1}$	$3,51.10^0$
3,41	ClCH ₂ COOH	20	$1,10.10^{-1}$	$1,20.10^{-1}$	$3,26.10^0$
3,47	HCOOH	60	$1,20.10^{-1}$	$1,30.10^{-1}$	$5,12.10^{-1}$
3,78	HCOOH	40	$6,60.10^{-2}$	$6,90.10^{-2}$	$5,21.10^{-1}$
3,80	CH ₃ COOH	80	$5,43.10^{-2}$	$6,93.10^{-2}$	$2,29.10^0$
4,27	CH ₃ COOH	69	$2,26.10^{-2}$	$2,34.10^{-2}$	$3,15.10^{-1}$
4,56	CH ₃ COOH	50	$1,36.10^{-2}$	$1,41.10^{-2}$	$4,15.10^{-1}$
4,75	CH ₃ COOH	42	$1,07.10^{-2}$	$1,12.10^{-2}$	$2,49.10^{-1}$
5,12	CH ₃ COOH	20	$6,53.10^{-3}$	$5,49.10^{-3}$	$1,36.10^{-1}$
5,55	CH ₃ COOH	12	$2,92.10^{-3}$	$3,33.10^{-3}$	$5,33.10^{-2}$

2.4.4.7 - Construção do perfil de velocidade de reação em função do pH

Construiu-se um gráfico em que os valores de pH foram colocados em abscissa e os valores dos logaritmos das constantes de pseudo-segunda ordem, em ordenada.

Em $\text{pH} < 2,0$, os valores das constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem, utilizados no perfil, foram aqueles obtidos nas experiências em que se determinou a catálise do íon hidrônio (item 2.4.4.4).

Em pH compreendido entre 2,0 e 5,0, os valores das constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem utilizados foram aqueles obtidos nas experiências em que se determinou a catálise ácida geral pelos ácidos carboxílicos (item 2.4.4.5) e transformados em constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem da reação total (k_2^0) através da Equação (9).

Na região de pH compreendida entre 5,0 e 8,0 trabalhou-se com tampão diidrogenofosfato/monoidrogenofosfato de sódio ($\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$) nas proporções de 90%, 80%, 70%, 50%, 40%, 30% e 20% da forma ácida. Em cada uma destas experiências trabalhou-se com três a cinco concentrações diferentes do tampão.

Os valores da constante de velocidade de pseudo-segunda ordem (k_2), constantes da Tabela XXIII), foram obtidas a partir das Equações (1) e (3).

A partir do gráfico do perfil de velocidade de reação em função do pH, obteve-se o valor da constante de reação de formação catalisada da carbinolamina (k_1), formação não catalisada ($K_n k_4$) e desidratação da carbinolamina catalisada pelo íon hidrônio ($K_{ad} k_5$). O valor de $K_n k_4$, obtido diretamente do gráfico, foi de $1,5 \cdot 10^{-1} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ e os valores de k_1 e $K_{ad} k_5$, obtidos através da Equação (7), foram de $3,5 \cdot 10^2 \text{ mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$ e $6,0 \cdot 10^3 \text{ mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente.

Tabela XXIII - Constantes de velocidade para a reação entre N-metil-2-pirrolcarboxaldeído e semicarbazida, na presença de tampão fosfato, em diferentes regiões de pH, a 25,0 °C e força iônica igual a 0,50 mol.dm⁻³.

pH	Tampão (AH/A ⁻)	% ácido	k ₂ /mol ⁻¹ .dm ³ .s ⁻¹
6,01	NaH ₂ PO ₄	90	1,51 X 10 ⁻³
6,37	NaH ₂ PO ₄	80	9,60 X 10 ⁻⁴
6,53	NaH ₂ PO ₄	70	9,70 X 10 ⁻⁴
7,01	NaH ₂ PO ₄	50	5,25 X 10 ⁻⁴
7,26	NaH ₂ PO ₄	40	2,99 X 10 ⁻⁴
7,54	NaH ₂ PO ₄	30	1,60 X 10 ⁻⁴
7,64	NaH ₂ PO ₄	20	1,12 X 10 ⁻⁴

2.4.5 - Determinação de parâmetros eletrônicos para as moléculas das semicarbazonas aromáticas heterocíclicas

No presente trabalho, os parâmetros eletrônicos foram determinados em pregando-se a técnica ômega de cálculo de orbital molecular, a densidade de carga nos diversos átomos das moléculas das semicarbazonas estudadas, bem como seus valores de HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) e LEMO (Lowest Empty Molecular Orbital). Os resultados obtidos encontra-se nas Tabelas XXIV, XXV, XXVI, XXVII.

Tabela XXIV - Valores de densidade de carga livre para algumas semicarbazonas de aldeídos aromáticos heterocíclicos nitrados.

Composto	Átomo											
	X	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11 e 12
5NFSC	O	1,895	0,754	1,458	1,796	1,021	0,986	0,937	1,928	0,963	1,286	1,520
5NTSC	S	1,896	0,757	1,463	1,806	1,062	0,996	0,997	1,609	1,010	1,271	1,531
5NPSC	NH	1,895	0,755	1,460	1,799	1,033	0,990	0,948	1,841	0,971	1,269	1,521
5NMPSC	NH ₃	1,895	0,755	1,460	1,800	1,033	0,990	0,949	1,926	0,972	1,269	1,522

Tabela XXV - Valores de densidade de carga livre para algumas semicarbazonas de aldeídos aromáticos heterocíclicos.

Composto	X	Átomo								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
FSC	O	1,897	0,759	1,466	1,810	1,080	1,004	1,006	1,926	1,000
TSC	S	1,897	0,763	1,470	1,816	1,114	1,010	1,065	1,632	1,061
PSC	NH	1,897	0,760	1,467	1,812	1,091	1,007	1,019	1,939	1,010
5MTSC	S	1,898	0,763	1,471	1,816	1,116	1,011	1,066	1,637	1,056
MPSC	NCH ₃	1,897	0,760	1,467	1,812	1,091	1,007	1,020	1,825	1,011

Tabela XXVI - Valores de densidade de carga livre para algumas semicarbazonas de aldeídos heterocíclicos aromáticos.

Átomo										
Composto	X	1	2	3	4	5	6	7	8	9
3-QSC	N	1,896	0,756	1,463	1,811	1,066	1,000	0,961	1,100	0,996
4-QSC	N	1,896	0,756	1,462	1,808	1,054	0,997	0,966	1,108	0,997
3-ISC	NH	1,898	0,760	1,468	1,818	1,104	1,006	1,149	1,765	0,968

Tabela XXVII - Níveis energéticos do HOMO e do LUMO para algumas semicarbazonas de aldeídos aromáticos heterocíclicos.

Composto	$E_{HOMO} (\beta)$	$E_{LUMO} (\beta)$
5NFSC	0,500	- 0,099
5NTSC	0,434	- 0,199
5NPSC	0,485	- 0,135
5NMPSC	0,484	- 0,135
FSC	0,387	- 0,461
TSC	0,316	- 0,533
MTSC	0,296	- 0,533
MPSC	0,368	- 0,498
PSC	0,368	- 0,498
4-QSC	0,505	- 0,394
3-QSC	0,523	- 0,448
3-ISC	0,107	- 0,489

2.4.6 - Estudo da atividade antimicrobiana das semicarbazonas

Estudou-se a atividade antimicrobiana dos seguintes compostos: 5-nitro-2-furanocarboxaldeidossemicarbazona (5NFSC), 2-furanocarboxaldeidossemicarbazona (FSC), 5-metil-2-tiofenocarboxaldeidossemicarbazona (MTSC), 2-tiofenocarboxaldeidossemicarbazona (5TSC), N-metil-2-pirrolcarboxaldeidossemicarbazona (MPSC), 2-pirrolcarboxaldeidossemicarbazona (PSC), 4-quinolinocarboxaldeidossemicarbazona (4-QSC), 3-quinolinocarboxaldeidossemicarbazona (3-QSC) e 3-indolcarboxaldeidossemicarbazona (3-ISC). O primeiro já tem sua atividade conhecida na literatura e foi utilizado como padrão por apresentar estrutura semelhante à das demais.

2.4.6.1 - Método da diluição seriada em meio líquido

2.4.6.1.1 - Padronização da suspensão microbiana

Os microrganismos utilizados nos testes foram *Escherichia coli* UC677 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, representando o grupo das bactérias Gram negativas; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, representando as bactérias Gram positivas; *Candida albicans* ATCC 10231, representando o grupo das leveduras e *Aspergillus niger* ATCC 16404, representando o grupo dos bolores.

A partir de culturas estoques desses microrganismo, mantidas em refrigerador, fez-se repique em estrias, com auxílio da alça de platina, na superfície do meio inclinado de agar caseína soja (TSA), no caso das bactérias, ou agar Sabouraud dextrosado (SDA), no caso dos fungos. Incubaram-se as bactérias a 37 °C por 24 horas e os fungos a 25 °C por 48 a 72 horas.

Após esse tempo, ~~transferiu-se~~ o crescimento microbiano da superfície do meio para um frasco de vidro com tampa de borracha, com auxílio de 9 ml de solução fisiológica esterilizada. No caso da coleta de esporos de bolor, adicionou-se ao soro fisiológico polissorbato 80 a 2% (p/v). Estas suspensões foram mantidas em refrigerador e usadas durante 14 dias. Após esse tempo eram renovadas.

Para fazer a contagem das células viáveis nas suspensões microbianas fizeram-se diluições seriadas decimais das respectivas suspensões, usando solução fisiológica como diluente. A diluição foi feita em frascos contendo 9 ml de solução fisiológica esterilizada, de forma que, quando 1 ml da suspensão fosse semeada, em profundidade, em cerca de 20 ml de meio de cultura sólido.

(TSA ou SDA), a 45 °C, em placa de Petri com 10 cm de diâmetro, o número de colônias estivesse entre 30 a 500.

Periodicamente, as placas eram submetidas à contagem das colônias e a média deste número, correspondente a uma determinada diluição, servia para determinar a carga de células viáveis na suspensão original do germe.

2.4.6.1.2 - Determinação da concentração inibitória mínima (MIC) dos solventes

Nos testes prévios de solubilidade das semicarbazonas, verificou-se que dimetilformamida e dimetilsulfóxido foram os solventes mais adequados e mais compatíveis com os ensaios microbiológicos. Determinou-se, então, a concentração inibitória mínima (MIC) destes e de outros solventes, seguindo a mesma técnica descrita no item 2.4.6.1.3, variando-se a concentração dos mesmos de 1 a 20% (v/v), em solução fisiológica.

Os resultados obtidos encontram-se na Tabela XXVIII.

Tabela XXVIII- Concentração inibitória mínima (MIC), para alguns solventes , pelo método da diluição seriada em meio líquido.

Solvente	MIC em % (v/v)				
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
Acetona	7,5	<5	<5	-	-
Etanol	<5	<5	<5	-	-
Dimetilformamida	5	1,25	≤1,8	-	-
Dimetilsulfóxido	>10	>10	10	10	10
Propilenoglicol	10	10	10	10	10
Dimetilsulfóxido/ propilenoglicol	10	10	10	10	10

2.4.6.1.3 - Determinação da concentração inibitória mínima (MIC) das semicarbazonas variando a concentração do solvente

Dissolveram-se 10 ou 20 mg da semicarbazona em 2 a 4 ml de dimetilsulfóxido, dependendo da solubilidade da substância, e o volume foi completado para 10 ml com solução fisiológica. A partir destas soluções efetuaram-se diluições seriadas em dobro, empregando-se solução fisiológica estéril como diluente, de modo que as concentrações finais dos compostos situaram-se entre 125 e 500 µg/ml e as concentrações finais de dimetilsulfóxido foram 10%, 5% e 2,5%.

Paralelamente, prepararam-se os inóculos de acordo com a carga microbiana viável da suspensão concentrada de cada espécie de microrganismo determinada previamente (ítem 2.4.6.1.1) e efetuaram-se diluições em soro fisiológico até ajustar o número de colônias para aproximadamente $0,5 \cdot 10^5$ colônias/ml.

Inoculou-se a suspensão diluída de microrganismo na razão de 1% (v/v) em meio de cultura líquido, caldo para dosagem de antibióticos nº 3 (AM₃), no caso das bactérias, e caldo caseína-soja (TSB), no caso das leveduras e bolores, previamente preparados e esterilizados.

Transferiu-se alíquota de 2 ml de cada uma das diluições das amostras para quantidade suficiente de tubos de ensaio, previamente esterilizados por calor seco. Adicionaram-se 2 ml do meio de cultura inoculado, homogenizou-se e incubou-se a 37 °C por 24 horas, para as bactérias e a 25°C por 48 horas, para os fungos.

Após esse tempo, agitaram-se os tubos e observou-se microscopicamente o crescimento ou inibição de crescimento de microrganismos nos tubos. Considerou-se como concentração inibitória mínima (MIC) a menor concentração do composto capaz de impedir completamente o crescimento de microrganismos.

Os resultados encontram-se na Tabela XXIX

Tabela XXIX - Concentração inibitória mínima (MIC), para algumas semicarbazonas de aldeídos aromáticos heterocíclicos, pelo método da diluição seriada em meio líquido.

Composto	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	(a)	(a)	(b)	(b)	(b)
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
5NFSC	5,0	1,25	100	100	400
FSC	> 500	> 500	> 250	> 500	> 500
5MTSC	> 500	> 500	> 250	> 250	250
TSC	500	500	250	> 125	> 250
MPSC	452	452	226	> 250	> 250
PSC	452	452	226	> 125	> 250
4-QSC	> 250	> 250	125	> 125	> 250
3-QSC	> 250	> 250	> 125	> 125	> 250
3-ISC	> 500	500	250	> 500	> 500

(a) Teste efetuado com dimetilsulfóxido a 10%;

(b) Teste efetuado com dimetilsulfóxido a 5%.

2.4.6.1.4 - Determinação da concentração inibitória mínima das semicarbazonas mantendo constante a concentração do solvente

Para cada semicarbazona estudada prepararam-se, separadamente, soluções de concentrações diferentes, solubilizando em 2 ml de dimetilsulfóxido e completando o volume para 10 ml com soro fisiológico.

O procedimento deste teste foi semelhante ao anterior (ítem 2.4.6.1.3), no que diz respeito à concentração final da amostra, inóculo, meio de cultura, incubação e leitura. A diferença residiu apenas na concentração final de dimetilsulfóxido, que foi constante para todos os tubos de um mesmo microrganismo. No teste com *E. coli* e *S. aureus*, a concentração final de dimetilsulfóxido foi de 10%, ao passo que nos testes com *C. albicans*, foi de 5%, em virtude da maior sensibilidade deste microrganismo.

Os resultados foram iguais aos do teste anterior e estão expressos na Tabela XXIX.

2.4.6.2 - Método da difusão em meio sólido

Prepararam-se soluções com concentrações crescentes de semicarbazona, variando de 1.000 a 10.000 µg/ml, usando dimetilsulfóxido puro ou em mistura 1:1 com etanol.

Embeberam-se discos de papel de filtro, usados para dosagem de antibióticos por difusão (A.A. Whatman ϕ :13 mm), nas diferentes soluções preparadas, no solvente e no diluente. Posteriormente, eles foram secos em estufa a 37 °C, durante 6 horas.

Esterilizou-se o meio sólido para dosagem de antibióticos nº 1 (AM₁), no caso de *E. coli* e *S. aureus*, e agar Sabouraud dextrosado (SDA), no caso de *C. albicans*. Resfriou-se a cerca de 45 °C e inoculou-se na razão de 10⁷ colônias/ml.

Após solidificação de 20 ml do meio de cultura em cada placa de Petri depositaram-se os discos evaporados contendo quantidades diferentes de substâncias, com auxílio de pinça. Alternativamente, fizeram-se testes com discos úmidos contendo 0,05 a 0,10 ml de cada solução teste ou dimetilsulfóxido.

As placas foram, então, incubadas a 37 °C por 24 horas, no caso das bactérias e a 25 °C por 48 horas, no caso da *C. albicans*.

Mediu-se o diâmetro do halo de inibição de crescimento em volta de cada disco, considerando-se como MIC a menor concentração capaz de acusar zona de inibição de crescimento.

Os resultados obtidos para os solventes e para as semicarbazonas estão na Tabela XXX e XXXI.

Tabela XXX - Inibição de crescimento por alguns solventes, pelo método da difusão em meio sólido

Solvente	Disco	Microorganismos		
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
DMSO	seco	-	-	-
DMSO	úmido	-	+	+
DMSO/EtOH	seco	-	-	-
DMF	úmido	-	*	*
soro fisiológico	úmido	-	-	-
disco	seco	-	-	-

NOTA: DMSO = dimetilsulfóxido;

DMF = dimetilformamida;

EtOH = etanol

+ = inibiu;

- = não inibiu

+ = inibiu um pouco

* = não foi feito o teste.

Tabela XXXI - Concentração inibitória mínima, para algumas semicarbazonas de aldeídos aromáticos heterocíclicos, pelo método da difusão em meio sólido

Composto	Solvente	Disco	MIC (µg/ml)		
			<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
5NFSC (padrão)	DMSO	úmido	100	100	> 100
	DMSO/EtOH	seco	125	125	> 2.000
FSC	DMSO	úmido	> 1.000	> 1.000	> 1.000
4-QSC	DMSO	úmido	> 10.000	> 10.000	> 10.000
	DMSO/EtOH	seco	> 2.000	> 2.000	> 2.000
3-QSC	DMSO	úmido	> 1.000	> 1.000	> 1.000

NOTA: DMSO = dimetilsulfóxido;

EtOH = etanol

2.4.6.3 - Método da bioautografia

Para cada semicarbazona estudada, preparou-se solução com 2 mg de amostra e 1 ml de metanol. Aplicaram-se 25 µl desta solução em placa cromatográfica de sílica-gel (50 mg/mancha) e desenvolveu-se o cromatograma em mistura de cloroformio-metanol (95:5) por cerca de quarenta minutos. Após evaporação dos solventes, localizaram-se no ultravioleta as manchas correspondentes aos compostos testados.

O *Cladosporium sphaerospermum* foi retirado de um meio de repique, com cerca de duas semanas, com auxílio de solução aquosa de Tween 20 a 0,05%. A suspensão foi então filtrada em gaze, para que contivesse apenas os esporos do fungo, e adicionada à mistura de 10 ml de solução aquosa de glicose a 30% e 60 ml de solução de sais minerais, preparada a partir de 7 g de KH_2PO_4 , 3 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 4 g de KNO_3 , 1 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ e 1 g de NaCl em 1 litro de água.

A suspensão de esporos do fungo foi uniformemente borrifada na placa cromatográfica anteriormente preparada e esta incubada em atmosfera úmida a 25 °C por 2 a 3 dias.

Após este tempo, observaram-se as placas. As zonas de inibição de crescimento do fungo ao redor das manchas dos compostos indicaram a presença de produtos fungitóxicos. Os resultados encontram-se na Tabela XXXII.

Tabela XXXII - Atividade antifúngica apresentada por algumas semicarbazonas frente ao *Cladosporium sphaerospermum*, pelo método da bioautografia.

Composto	Atividade
5NFSC	-
FSC	+
5MTSC	+
TSC	+
MPSC	+
PSC	+
4-QSC	-
3-QSC	-
3-ISC	+

NOTA: (+) = inibição de crescimento;

(-) = crescimento do fungo ao redor da mancha do composto.

CAPÍTULO III

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 - PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS SEMICARBAZONAS

Prepararam-se nove semicarbazonas derivadas de aldeídos aromáticos heterocíclicos, sendo oito já citadas na literatura (5NFSC, FSC, TSC, 5MTSC, PSC, 4-QSC e 3-ISC) e uma ainda não citada (3-QSC), conforme Tabela XXXIII.

Para a semicarbazona do 2-tiofenocarboxaldeído são citados quatro pontos de fusão diferentes. Assim, Grishkevich-Trokhimovskii & Matzurevich, em 1912, obtiveram produto que fundia em 213 °C, com decomposição, enquanto Hartouch, em 1947, encontrou faixa de fusão 218-219 °C, Sugasawa & Mizukam, em 1955, encontraram 222-224 °C e Reichstein, em 1930, 227-228 °C. O nosso produto fundiu a 220-222 °C.

Igualmente para a semicarbazona do 3-indolcarboxaldeído três faixas de fusão são citados. Enquanto para Bulatova & Suvorov, em 1970, a semicarbazona fundiu entre 225-226 °C, para Alemany *et al.*, em 1967, fundiu entre 250-252 °C e para Order & Lindwal, em 1945, fundiu entre 265-270 °C. Em todos os casos, a análise elementar confirmou a obtenção do produto. A semicarbazona preparada por nós fundiu a 266-270 °C, com decomposição.

Para a semicarbazona do 5-metil-2-tiofenocarboxaldeído, King & Nord, em 1948, e Hartouch & Dickert Jr., em 1949, encontraram faixa de fusão 207-208

$^{\circ}\text{C}$, com análise elementar confirmando a obtenção do produto. A semicarbazona preparada por nós fundiu entre 193-195 $^{\circ}\text{C}$ e análise elementar também confirmou a obtenção do produto.

Nas nossas preparações utilizamos a técnica descrita por Vogel, em 1978, em que se trabalha a frio, evitando decomposição dos reagentes e produtos que são sensíveis ao aquecimento e à luz. Os produtos assim obtidos apresentaram bom grau de pureza e bom rendimento.

A caracterização dos compostos foi feita através de ponto de fusão, análise espectroscópica e análise elementar, no caso de compostos novos.

Os espectros de absorção na região do infravermelho estão expressos nas Figuras XXIa a XXIXa; os espectros de absorção na região do ultravioleta, nas Figuras XXIb a XXIXb; os espectros de ressonância magnética protônica, nas Figuras XXIc a XXIXc e XXId a XXIXd e os espectros de ressonância magnética nuclear de ^{13}C , nas Figuras XXIf a XXIXf.

Os espectros foram interpretados de acordo com literatura adequada (Bellaamy, 1975; Clerk *et al.*, 1975; Nakanish, 1962; Pretsch *et al.*, 1985; Silverstein, 1981). Observou-se que os compostos apresentaram as bandas características referentes a sua estrutura.

O resultado da análise elementar de C, H e N, para os compostos novos, está de acordo com o esperado, conforme mostrado na parte experimental. Os valores encontrados na análise elementar para a semicarbazona do 3-indolcarboxaldeído divergiram daqueles calculados, mesmo após exaustiva recristalização dos reagentes e posteriormente do produto. Observação do espectro de ^{13}C deste composto aponta um pico extra em 185,4 ppm, que indica a presença de pequena quantidade do 3-indolcarboxaldeído, que, segundo Burton, em 1986, indica absorção do carbono do grupo aldeído nesta região.

Tabela XXXIII - Semicarbazonas derivadas de aldeídos aromáticos heterocíclicos preparados neste trabalho.

Composto	R	Rendimento %	Faixa de fusão (°C)	Solvente de purificação
5NFSC		80,95	236-240	EtOH
FSC		83,20	191-192	H ₂ O
5MTSC		69,26	193-195	EtOH
TSC		90,46	220-222	EtOH
MPSC		80,00	203-205	EtOH
PSC		84,50	182-183	H ₂ O
4-QSC		79,00	244-245	EtOH
3-QSC		82,70	248-250	EtOH
3-ISC		48,60	266-270	EtOH

Figura XXIa - Espectro na região do infravermelho da 5-nitro-2-furanocarboxaldeidossemicarbazona (em KBr).

Figura XXIb - Espectro na região do ultravioleta da 5-nitro-2-furanocarboxaldeidossemicarbazona (em EtOH).

Figura XXId - Espectro de ressonância magnética protônica da 5-nitro-2-furano-carboxaldeidossemicarbazona (60 MHz, DMSO-d₆).

Figura XXId - Espectro de ressonância magnética protônica da 5-nitro-2-furano-carboxaldeidossemicarbazona após adição de D₂O na solução em DMSO-d₆ (60 MHz).

Figura XXIIe - Espectro de ressonância magnética nuclear de ^{13}C da 5-nitro-2-furanocarboxaldeído semicarbazona
(em DMSO-d_6)

Figura XXIIa - Espectro na região do infravermelho da 2-furanocarboxaldeidossemi carbazona (em KBr).

Figura XXIIb - Espectro na região do ultravioleta do 2-furanocarboxaldeidossemicarbazona (em EtOH).

Figura XXIIc - Espectro de ressonância magnética protônica do 2-furanocarboxal-deidossemicarbazona (60 MHz, DMSO- d_6).

Figura XXIIId - Espectro de ressonância magnética protônica do 2-furanocarboxal-deidossemicarbazona após adição de D₂O na solução em DMSO- d_6 (60 MHz).

Figura XXIIe - Espectro de ressonância magnética nuclear de ^{13}C da 2-furanocarboxaldeído semicarbazona
(em DMSO-d_6)

Figura XXIIIa - Espectro na região do infravermelho da 5-metil-2-tiofenocarboxaldehydossemicarbazona (em KBr).

Figura XXIIIb - Espectro na região do ultravioleta da 5-metil-2-tiofenocarboxaldehydossemicarbazona (em EtOH).

Figura XXIIIc - Espectro de ressonância magnética protônica da 5-metil-2-tiofenocarboxaldeidosemicarbazona (60 MHz, DMSO- d_6).

Figura XXIIIId - Espectro de ressonância magnética protônica da 5-metil-2-tiofenocarboxaldeidosemicarbazona após adição de D₂O na solução em DMSO- d_6 (60 MHz).

Figura XXIIIe - Espectro de ressonância magnética nuclear de ^{13}C da 5-metil-2-tiofenocarboxaldeído semicarbazona (em DMSO-d_6)

Figura XXIVa - Espectro na região do infravermelho da 2-tiofenocarboxaldeidosse micarbazona (em KBr).

Figura XXIVb - Espectro na região do ultravioleta da 2-tiofenocarboxaldeidosse micarbazona (em EtOH).

Figura XXIVc - Espectro de ressonância magnética protônica da 2-tiofenocarboxaldeidosemicarbazona (60 MHz, DMSO- d_6).

Figura XXIVd - Espectro de ressonância magnética protônica da 2-tiofenocarboxaldeidosemicarbazona após adição de D_2O na solução em DMSO- d_6 (60 MHz).

Figura XXVa - Espectro na região do infravermelho do N-metil-2-pirrolcarboxal-deidossemicarbazona (em KBr).

Figura XXVb - Espectro na região do ultravioleta do N-metil-2-pirrolcarboxal-deidossemicarbazona (60 MHz, DMSO-d₆).

Figura XXVc - Espectro de ressonância magnética protônica da N-metil-2-pirrolcarboxaldeidosemicarbazona (60 MHz, DMSO-d₆).

Figura XXVd - Espectro de ressonância magnética protônica do N-metil-2-pirrolcarboxaldeidosemicarbazona após adição de D₂O na solução em DMSO-d₆ (60 MHz).

Figura XXVe - Espectro de ressonância magnética nuclear de ^{13}C da N-metil-2-pirrolcarboxaldeído em DMSO- d_6
(em DMSO- d_6)

Figura XXVIa - Espectro na região do infravermelho da 2-pirrolcarboxaldeidossemicarbazona (em KBr).

Figura XXVIb - Espectro na região do ultravioleta da 2-pirrolcarboxaldeidossemicarbazona (em EtOH).

Figura XXVIc - Espectro de ressonância magnética protônica da 2-pirrolcarboxaldeidosemicarbazona (60 MHz, DMSO-d₆).

Figura XXVIId - Espectro de ressonância magnética protônica da 2-pirrolcarboxaldeidosemicarbazona após adição de D₂O na solução em DMSO-d₆ (60 MHz).

Figura XXVIIe - Espectro de ressonância magnética nuclear de ^{13}C da 2-pirrolcarboxaldeidossenicarbazona
(em DMSO-d_6)

Figura XXVIIa - Espectro na região do infravermelho do 4-quinolinocarboxaldei-
dossemicarbazona (em KBr).

Figura XXVIIb - Espectro na região do ultravioleta do 4-quinolinocarboxaldei-
dossemicarbazona (em EtOH).

Figura XXVIIc - Espectro de ressonância magnética protônica da 4-quinolinocarboxaldeidosemicarbazona (60 MHz, DMSO-d₆).

Figura XXVIIe - Espectro de ressonância magnética nuclear de ^{13}C da 4-quinolinocarboxaldeído semi-carbazona
(em DMSO-d_6)

Figura XXVIIIa - Espectro na região do infravermelho da 3-quinolinocarboxaldeidosemicarbazona (em KBr).

Figura XXVIIIb - Espectro na região do ultravioleta da 3-quinolinocarboxaldeidosemicarbazona (em EtOH).

Figura XXVIIIc - Espectro de ressonância magnética protônica da 3-quinolinocarboxaldeidosemicarbazona (60 MHz, DMSO-d_6).

Figura XXVIIIId - Espectro de ressonância magnética protônica da 3-quinolinocarboxaldeidosemicarbazona após adição de D_2O na solução em DMSO-d_6 (60 MHz).

Figura XXVIIIe - Espectro de ressonância magnética nuclear de ^{13}C da 3-quinolinocarboxaldeído semicarbazona
(em DMSO-d_6)

Figura XXIXa - Espectro na região do infravermelho da 3-indolcarboxaldeidossemicarbazona (em KBr).

Figura XXIXb - Espectro na região do ultravioleta da 3-indolcarboxaldeidossemicarbazona (em EtOH).

Figura XXIXc - Espectro de ressonância magnética protônica da 3-indolcarboxaldeidossemicarbazona (60 MHz, DMSO-d₆).

Figura XXIXd - Espectro de ressonância magnética protônica da 3-indolcarboxaldeidossemicarbazona após adição de D₂O na solução em DMSO-d₆ (60MHz).

Figura XXIXe - Espectro de ressonância magnética nuclear de ^{13}C da 3-indolcarboxaldeído semicarbazona
(em DMSO-d_6)

3.2 - ESTUDO CINÉTICO

A reação de nucleófilos nitrogenados como semicarbazida, fenilidrazina e hidroxilamina com compostos carbonílicos foi muito estudada nos últimos anos, como já foi comentado na introdução.

No presente trabalho, retomou-se o estudo da cinética e mecanismo de formação de algumas semicarbazonas derivadas de aldeídos aromáticos heterocíclicos. Os aldeídos escolhidos para estudo cinético foram o 2-tiofenocarboxaldeído, 2-pirrolcarboxaldeído e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído.

As experiências foram feitas nas condições já descritas na literatura, isto é, solução aquosa, 25,0 °C, força iônica $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e em presença de $2 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ de EDTA, com o objetivo de posterior estudo comparativo.

3.2.1 - Ordem parcial da reação em relação ao composto carbonílico e em relação ao nucleófilo

Nas reações de semicarbazida com 2-tiofenocarboxaldeído, 2-pirrolcarboxaldeído e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído, quando se colocaram os logaritmos das diferenças de absorvância $\log (A_{\infty} - A_t)$ em função do tempo, obtiveram-se retas decrescentes (Figura VI), mostrando que as reações são de primeira ordem em relação a estes aldeídos.

Os valores das constantes de velocidade observadas, ~~calculados~~ a partir do coeficiente angular da reta obtida pela procedência citada acima, foram correlacionados com as respectivas concentrações de semicarbazida e obtiveram-se retas ascendentes, mostrando que as reações são de primeira ordem em relação à semicarbazida (Figuras VII, XVII e XIX).

3.2.2 - Constante de equilíbrio da reação de formação das semicarbazonas

Na determinação da ordem parcial da reação em relação à semicarbazida, verificou-se que as absorvâncias nos tempos infinitos (A_{∞}) aumentavam em função da concentração deste reagente nucleofílico. Essa observação sugeria que a reação não se completava nas condições experimentais empregadas, atingindo um equilíbrio químico. Essa observação foi confirmada pelo fato de o gráfico de k_{obs} em função de semicarbazida como base livre não interceptar a origem.

Determinou-se, então, experimentalmente o valor da constante de equilíbrio para a reação de formação da semicarbazona.

Na reação entre semicarbazida e 2-tiofenocarboxaldeído observou-se equilíbrio em $\text{pH} < 1,6$. A constante de equilíbrio foi, então, estimada a partir do ponto de ordenada nula nos gráficos em que se correlacionava constante de velocidade observada com semicarbazida na forma de base livre, construídos para várias regiões de $\text{pH} > 1,6$. (Tabela XXXIV).

Na reação entre semicarbazida e 2-pirrolcarboxaldeído e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído observou-se equilíbrio também em regiões de $\text{pH} > 2,0$, quando se trabalhou com tampões ácido carboxílico/carboxilato. A constante de equilíbrio dessas reações foi determinada da maneira descrita nos itens 2.4.3.3 e 2.4.4.3 da parte experimental. Para cada um dos aldeídos fizeram-se várias experiências em diferentes regiões de pH. (Tabela XXXIV)

Os valores das constantes de equilíbrio na formação da carbinolamina nas regiões estudadas (Tabela XXXIV) são compatíveis com a reatividade dos compostos carbonílicos, estando na seguinte ordem: 2-tiofenocarboxaldeído $>$ 2-pirrolcarboxaldeído $>$ N-metil-2-pirrolcarboxaldeído. Quanto maior o valor da constante de equilíbrio mais estável é a semicarbazona formada.

3.2.3 - Perfil de velocidade de reação em função do pH

O perfil de velocidade de reação em função do pH, para a reação de semicarbazida e 2-tiofenocarboxaldeído, foi traçado numa faixa de pH entre 0,20 e 8,0, enquanto que para a reação de semicarbazida e 2-pirrolcarboxaldeído e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído foram traçados numa faixa de pH entre 1,0 e 8,0. Os gráficos para estes últimos aldeídos não foram estendidos para a região de H_0 , pois a reação atingiu rapidamente o equilíbrio e não se obtiveram dados suficientes e confiáveis para o cálculo da constante de velocidade de pseudo-segunda ordem.

Os valores das constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem estão nas Tabelas XXXV, XXXVI e XXXVII e os gráficos, nas Figuras XXX, XXXI e XXXII.

Os gráficos de perfil de velocidade de reação em função do pH apresentaram apenas uma inflexão em pH próximo a 5,0. Em pH próximo a 1,0, não se observou inflexão, como já era esperado.

Tabela XXXIV- Constantes de equilíbrio para a formação da carbinolamina (K_c) a partir de semicarbazida e alguns aldeídos heterocíclicos aromáticos, em água, a 25,0 °C e força iônica 0,50 mol.dn⁻³.

Composto carbonílico	pH	$K_c/\text{mol}^{-1}.\text{dn}^3$	$K_{c\text{ médio}}/\text{mol}^{-1}.\text{dn}^3$
2-tiofenocarboxal- deído	-0,20	$1,49.10^5$	$1,49.10^5$
	-0,03	$1,46.10^5$	
	0,20	$1,39.10^5$	
	0,55	$1,59.10^5$	
	1,20	$1,18.10^5$	
	1,40	$1,54.10^5$	
	1,60	$2,00.10^5$	
2-pirrolcarboxal- deído	1,80	$1,14.10^4$	$1,25.10^4$
	1,95	$1,21.10^4$	
	1,97	$1,43.10^4$	
N-metilpirrolcarbo- xaldeído	1,77	$5,60.10^3$	$5,94.10^3$
	1,96	$6,83.10^3$	
	2,00	$5,56.10^3$	

Tabela XXXV - Constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem corrigidas, para a reação entre 2-tiofenocarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C e força iônica 0,50 mol.dm⁻³.

pH	$k_2^0/\text{mol}^{-1}.\text{dm}^3.\text{s}^{-1}$
0,20 (a)	$1,37.10^2$
0,55 (a)	$7,17.10^2$
1,00 (a)	$3,06.10^1$
1,20	$2,06.10^1$
1,40	$1,19.10^1$
1,60	$7,56.10^0$
1,81	$4,77.10^0$
1,97	$3,42.10^0$
2,04	$2,70.10^0$
2,13	$2,24.10^0$
2,34	$1,41.10^0$
2,61	$8,37.10^{-1}$
2,90	$4,23.10^{-1}$
2,93	$4,09.10^{-1}$
3,20	$2,46.10^{-1}$
3,50	$1,76.10^{-1}$
3,92	$1,40.10^{-1}$
4,10	$1,19.10^{-1}$
4,51	$9,62.10^{-2}$
5,13	$7,14.10^{-2}$
5,57	$4,17.10^{-2}$
5,85	$2,25.10^{-2}$
6,08	$1,15.10^{-2}$
6,26	$9,00.10^{-3}$
6,45	$5,60.10^{-3}$
6,74	$2,70.10^{-3}$
7,00	$1,60.10^{-3}$
7,29	$8,00.10^{-4}$
7,80	$2,65.10^{-4}$

(a) = Valores correspondentes a H_0 (Paul & Long, 1957)

Figura XXX - Logaritmo das constantes de velocidade de reação de pseudo-segunda ordem em função do pH, para a reação entre semicarbazida e 2-tiofenocarboxaldeído, a 25,0 °C e força iônica 0,5 mol.d^m-³.

Tabela XXXVI - Constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem corrigidas ,
para a reação entre 2-pirrolcarboxaldeído e semicarbazida, em
água, a 25,0 °C e força iônica 0,50 mol.dm⁻³.

pH	$k_2^0/\text{mol}^{-1}.\text{dm}^3.\text{s}^{-1}$
1,01	$3,05.10^1$
1,02	$2,75.10^1$
1,18	$1,93.10^1$
1,20	$1,86.10^1$
1,39	$1,48.10^1$
1,41	$1,29.10^1$
1,60	$9,20.10^0$
1,62	$7,44.10^0$
1,81	$5,46.10^0$
1,85	$4,78.10^0$
1,98	$4,00.10^0$
2,02	$3,16.10^0$
2,15	$1,87.10^0$
2,31	$1,82.10^0$
2,48	$9,47.10^{-1}$
2,63	$7,52.10^{-1}$
3,00	$3,15.10^{-1}$
3,34	$1,56.10^{-1}$
3,37	$1,84.10^{-1}$
3,75	$6,60.10^{-2}$
3,97	$4,04.10^{-2}$
4,54	$1,43.10^{-2}$
4,82	$7,31.10^{-3}$
5,00	$5,12.10^{-3}$
5,07	$4,12.10^{-3}$
5,52	$2,45.10^{-3}$
5,97	$2,40.10^{-3}$
6,31	$2,26.10^{-3}$
6,71	$1,23.10^{-3}$
6,93	$5,80.10^{-4}$
7,17	$4,22.10^{-4}$

Figura XXXI - Logaritmo das constantes de velocidade de reação de pseudo-segunda ordem em função do pH, para a reação entre semicarbazida e 2-pirrolcarboxaldeído, a 25,0 °C e força iônica 0,5 mol.dm⁻³.

Tabela XXXVII - Constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem corrigidas, para a reação entre N-metil-2-pirrolcarboxaldeído e semicarbazida, em água, a 25,0 °C e força iônica 0,50 mol.dm⁻³.

pH	$k_2^0/\text{mol}^{-1}.\text{dm}^3.\text{s}^{-1}$
1,02	$2,22.10^1$
1,19	$2,15.10^1$
1,20	$1,77.10^1$
1,41	$1,21.10^1$
1,62	$8,19.10^0$
1,85	$5,32.10^0$
2,00	$4,56.10^0$
2,03	$3,50.10^0$
2,18	$2,28.10^0$
2,35	$1,49.10^0$
2,47	$1,15.10^0$
2,67	$6,54.10^{-1}$
3,00	$3,52.10^{-1}$
3,41	$1,12.10^{-1}$
3,47	$1,20.10^{-1}$
3,78	$6,48.10^{-2}$
3,80	$6,46.10^{-2}$
4,00	$4,85.10^{-2}$
4,27	$2,25.10^{-2}$
4,56	$1,30.10^{-2}$
4,75	$1,01.10^{-2}$
5,12	$4,91.10^{-3}$
5,55	$2,78.10^{-3}$
6,10	$1,51.10^{-3}$
6,37	$1,12.10^{-3}$
6,53	$9,70.10^{-4}$
6,60	$9,70.10^{-4}$
7,01	$5,25.10^{-4}$
7,26	$2,99.10^{-4}$
7,54	$1,60.10^{-4}$
7,64	$1,12.10^{-4}$

Figura XXXII - Logaritmo das constantes de velocidade de reação de pseudo-segunda ordem em função do pH, para a reação entre semicarbazida e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído, a 25,0 °C e força iônica 0,5 mol.dm⁻³.

Tem-se, então, que a formação das semicarbazonas estudadas se processa em duas etapas: a formação da carbinolamina intermediária e a desidratação desta para dar o produto.

Em meio reacional ácido, a etapa determinante da velocidade de reação é a formação da carbinolamina, que apresenta catálise ácida pelo íon hidrônio e pelos ácidos carboxílicos utilizados nos tampões.

Em pH levemente ácido, neutro e básico a etapa determinante da velocidade de reação passa a ser etapa de desidratação da carbinolamina, que é catalisada pelo íon hidrônio, mas não de modo significativo pelos tampões.

A inflexão observada em pH próximo a 5,0 é também observada por outros pesquisadores nas reações de formação de semicarbazona (Cordes & Jencks, 1962), fenilidrazona (Amaral & Bastos, 1971 ; Amaral *et al.*, 1966; Okano *et al.*, 1980), tiosemicarbazona (Sayer & Jencks, 1969) e outras iminas. Reflete mudança de etapa determinante da velocidade da reação, passando da formação não catalisada da carbinolamina para a etapa de desidratação, catalisada pelo íon hidrônio, à medida que se aumenta o pH.

A mudança da etapa determinante da velocidade de reação também foi observada, na reação entre semicarbazida e 2-tiofenocarboxaldeído, quando se trabalhou com altas concentrações de tampão e verificou-se que os valores das constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem não mais se alteravam, tendendo a um valor limite. Essa observação é comprovação de que em altas concentrações do catalisador a reação se processa por uma etapa que não é mais catalisada pelos ácidos carboxílicos do tampão. A constante de velocidade limite assim determinada, em pH = 5,13, foi de $1,25 \cdot 10^{-1} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ e está bem ajustada ao valor calculado pela etapa de desidratação, a partir das constantes de velocidade observadas em pH maiores.

A ausência de inflexão em pH próximo a 1,0 sugere ausência de um intermediário $T^\ddagger$ estável e que o mecanismo preferido seja o "concomitante", em que o ataque do nucleófilo ao composto carbonílico e a transferência do próton ocorrem ao mesmo tempo.

As reações entre semicarbazida e aldeídos aromáticos heterocíclicos seguem, portanto, o mecanismo "concomitante", proposto por Sayer para aminas de basicidade intermediária e aldeídos pouco reativos. A semicarbazida apresenta pH = 3,65, em força iônica $0,50 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, e os aldeídos estudados não apresentam substituintes que os tornem extremamente reativos.

As constantes cinéticas obtidas a partir dos gráficos de perfil de velocidade de reação do pH, para a reação de formação catalisada (k_1), formação não catalisada ($K_n k_4$) e desidratação da carbinolamina ($K_{ad} k_5$), estão expressas na Tabela XXXVIII.

Tabela XXXVIII - Constantes cinéticas obtidas na reação entre semicarbazida e alguns aldeídos aromático heterocíclicos, a 25,0 °C e força iônica 0,50 mol.dm⁻³.

	2-tiofenocarbo xaldeído	2-pirrolcarbo xaldeído	N-metil-2- pirrolcar- boxaldeído
$k_1, \text{mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$	$3,0 \cdot 10^2$	$3,5 \cdot 10^2$	$3,5 \cdot 10^2$
$K_n k_4, \text{mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$	$1,2 \cdot 10^{-1}$	$3,6 \cdot 10^{-3}$	$1,5 \cdot 10^{-3}$
$K_{ad} k_5, \text{mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$	$1,6 \cdot 10^4$	$5,8 \cdot 10^3$	$6,0 \cdot 10^3$

3.2.4 - Catálise ácida efetuada pelo íon hidrônio na formação das semicarba- zonas

Através dos perfis de velocidade de reação em função do pH foram determinadas as constantes catalíticas do íon hidrônio (k_H), conforme descrito na parte experimental (ítems 2.4.2.4, 2.4.3.4 e 2.4.4.4). Os valores obtidos encontram-se na Tabela XXXIX. A proximidade dos valores para os três aldeídos estudados sugere que a reatividade destes em relação à semicarbazida é muito semelhante e que a etapa predominante da velocidade de reação até pH próximo a 3,0 é a formação da carbinolamina, suscetível à catálise ácida pelo íon hidrônio.

Tabela XXXIX - Constantes catalíticas do íon hidrônio nas reações de semicarbazida com alguns aldeídos aromáticos heterocíclicos, em água, a 25,0 °C e força iônica 0,50 mol.d^m-3.

Aldeído	$k_H/\text{mol}^{-2}.\text{dm}^6.\text{s}^{-1}$
2-tiofenocarboxaldeído	$3,00.10^2$
2-pirrolcarboxaldeído	$3,50.10^2$
N-metil-2-pirrolcarboxaldeído	$3,50.10^2$

3.2.5 - Catálise ácida geral na formação da carbinolamina da semicarbazida com aldeídos aromáticos heterocíclicos

No estudo da etapa de formação da carbinolamina derivada de semicarbazida e aldeídos aromáticos heterocíclicos, empregaram-se tampões ácido carboxílico/carboxilato como catalisadores, com o intuito de verificar a existência de catálise ácida geral e a sensibilidade da reação a este tipo de catálise.

Verificou-se que os valores das constantes da reação de pseudo-segunda ordem (k_2) aumentaram em proporção direta às concentrações dos ácidos carboxílicos (Figuras X, XI, XII e XIII).

Os valores médios das constantes catalíticas da reação de formação da carbinolamina catalisada pelos ácidos carboxílicos, bem como seus valores de pK_a' , encontram-se na Tabela XL. Os valores de pK_a' , utilizados para cálculo das concentrações da forma ácida do tampão, foram corrigidos segundo Perrin. A correção foi feita de acordo com a equação $pK_a' = pK_a - \text{correção}$, em que a correção é 0,159 para força iônica 0,50 mol.d^m-3 (Perrin, 1974).

Em regiões de pH em que a etapa de formação da carbinolamina predomina como etapa determinante de velocidade de reação, verificou-se catálise ácida geral pelos ácidos carboxílicos utilizados nos tampões. Entretanto, em regiões em que a etapa determinante da velocidade é a desidratação, a constante de velocidade observada independe da concentração do tampão. Tal observação foi feita, também, por outros pesquisadores.

Sayer e Jencks, em 1969, mostraram a necessidade de corrigir os valores das constantes de velocidade de pseudo-segunda ordem da influência da reação de desidratação da carbinolamina, na região de pH em que a etapa determinante da velocidade da reação é a formação da carbinolamina.

Em concentrações elevadas de muitos tampões usados, a velocidade da reação de formação da carbinolamina torna-se mais rápida, de tal modo que a desidratação também contribui com a constante de velocidade observada. Como a etapa de desidratação é catalisada somente pelo íon hidrônio, é necessário corrigir sua influência, calculando somente o valor da constante de velocidade para a reação de formação da carbinolamina. Esta correção foi feita de acordo com a Equação (8), citada em Método de Trabalho.

A importância dessa correção depende principalmente do valor da razão entre $K_{ad}k_5$ e k_H , constantes de velocidade da reação de terceira ordem para as reações de desidratação e de formação da carbinolamina, respectivamente, sob catálise do íon hidrônio. Quanto maior for a razão entre essas duas constantes menos importante torna-se essa correção.

Tabela XL - Catálise ácida geral da formação da carbinolamina da semicarbazida e 2-tiofenocarboxaldeído, 2-pirrolcarboxaldeído e N-2-pirrolcarboxaldeído, em água, a 25,0 °C e força iônica 0,50 mol.dm⁻³.

Catalisador	pK _a ' (a)	k _{cat} /mol ⁻² .dm ⁶ .s ⁻¹		
		2-tiofenocarboxaldeído	2-pirrolcarboxaldeído	<u>N</u> -metil-2-pirrolcarboxaldeído
H ₃ O ⁺	-1,74	3,00.10 ²	3,50.10 ²	3,50.10 ²
CNCH ₂ COOH	2,29	2,47.10 ¹	2,18	3,63
ClCH ₂ COOH	2,72	2,27.10 ¹	0,98	2,09
HCOOH	3,59	1,73.10 ¹	0,12	0,52
CH ₃ COOH	4,60	1,65.10 ¹	0,033	0,23

NOTA: (a) pK_a' = pK_a - 0,159 (Perrin, 1974).

3.2.6 - Relações de Brønsted na catálise ácida geral da reação de formação da carbinolamina da semicarbazida com aldeídos aromáticos heterocíclicos

Correlacionando-se os logaritmos das constantes catalíticas da reação de formação da carbinolamina catalisada pelos ácidos carboxílicos com os respectivos valores de pK_a' (Tabela XL), por meio da equação de Brønsted, determinou-se o valor de α. Este valor fornece informações sobre o grau de transferência do próton no estado de transição ou, da mesma forma, o grau de estiramento da ligação X-H que está sofrendo ruptura quando a transferência do próton segue a formação de outra ligação covalente. Reflete, pois, a eficiência da catálise.

Os valores de α encontrados foram 0,080, 0,53 e 0,81, respectivamente, para a reação entre semicarbazida e 2-tiofenocarboxaldeído, N-metil-2-pirrolcarboxaldeído e 2-pirrolcarboxaldeído (Figuras XXXIII, XXXIV e XXXV).

Figura XXXIII - Gráfico de Brønsted para a catálise ácida geral na reação de formação da carbinolamina da semicarbazida com 2-tiofenocarboxaldeído. Os valores das variáveis estão na Tabela XL.

Figura XXXIV - Gráfico de Brønsted para a catálise ácida geral na reação de formação da carbinolamina da semicarbazida com 2-pirrolcarboxaldeído. Os valores das variáveis estão na Tabela XL.

Figura XXXV - Gráfico de Brønsted para a catálise ácida geral na reação de formação da carbinolamina da semicarbazida com N-metil-2-pirrolcarboxaldeído. Os valores das variáveis estão na Tabela XL.

A grande variação nos valores de α não foi, ainda, esclarecida uma vez que a reatividade dos aldeídos é bastante semelhante. Acredita-se apenas que um valor alto para 2-pirrolcarboxaldeído se deve a uma catálise bifuncional exercida pelos ácidos carboxílicos, como mostrado abaixo.

O oxigênio carbonílico do ácido carboxílico atuaria como catalisador, atraindo um próton do substrato, e o grupo hidroxila, como catalisador ácido, protonando parcialmente o oxigênio carbonílico do substrato e estabilizando a carga negativa que se desenvolve durante a reação (Sayer & Colon, 1980).

Hirata, em 1980, também obteve dados semelhantes na reação entre fenilidrazina e 2-pirrolcarboxaldeído e tentou elucidar este ponto estudando a catálise ácida geral efetuada por ácidos que não pudessem atuar como catalisadores bifuncionais, como NH_3 , $\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2^+\text{-CH}_3$ e $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{-OH}$. Verificou que para estes ácidos, que têm pK_a aproximados aos do ácido acético, os valores das constantes catalíticas são maiores que do ácido acético, confirmando a hipótese da catálise bifuncional para o 2-pirrolcarboxaldeído.

3.2.7 - Mecanismo de formação da carbinolamina com catálise ácida geral

Jencks, em 1959, propôs que a reação de reagentes nucleofílicos nitrogenados e compostos carbonílicos se realizasse em duas etapas: a formação de uma carbinolamina intermediária, fase lenta da reação em meio ácido, e a desidratação dessa carbinolamina, fase lenta da reação em meio alcalino ou neutro.

A mudança da fase da reação, da formação para a desidratação da carbinolamina, acarreta inflexão no perfil de velocidade de reação em função do pH. Essa inflexão foi observada em pH próximo a 5,0 nas reações estudadas, isto é, semicarbazida com 2-tiofenocarboxaldeído, 2-pirrolcarboxaldeído e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído.

Trabalhos de Jencks e diversos outros pesquisadores mostraram que a reação de formação da carbinolamina intermediária é suscetível à catálise ácida específica e geral e que a desidratação da carbinolamina pode ocorrer por reação catalisada pelo hidrônio e sem catálise ácida geral (Jencks, 1964; Jencks, 1980; Jencks & Gilbert, 1977). As reações estudadas neste trabalho estão de acordo com esta proposta.

Mais recentemente, em 1974, Sayer *et al.*, propuseram que a formação da carbinolamina pudesse ser efetuada por dois mecanismos diferentes. Num deles, denominado "concomitante", a formação da ligação carbono-nitrogênio e protonização do oxigênio carbonílico ocorrem simultaneamente. No outro mecanismo, denominado "por etapas", o reagente nucleofílico reage com o composto carbonílico sem auxílio de catalisador ácido, dando origem a um intermediário "Zwitteriônico" ($T^\ddagger$) que, posteriormente, por transferência de prótons, se transforma na carbinolamina, como é mostrado na Figura XXXVI.

Na reação de semicarbazida com os aldeídos heterocíclicos estudados têm-se diversas comprovações de que a carbinolamina intermediária se forma pelo mecanismo concomitante.

Sabe-se que o mecanismo concomitante é tanto mais favorecido quanto menor a nucleofilicidade do reagente nucleofílico e menor a reatividade do composto carbonílico. Estes parâmetros podem ser avaliados pelo pK_a do reagente nucleofílico e pela constante de equilíbrio da reação e dos quais depende o tempo de duração do intermediário $T^\ddagger$.

Aminas que apresentam basicidade intermediária, como a semicarbazida ($pK_a' = 3,65$), seguiram caminho concomitante quando reagiram com p-metoxiben~~z~~aldeído, por exemplo.

Por outro lado, observou-se em trabalhos anteriores que aldeídos heterocíclicos mesmo reagindo com aminas mais básicas, como a hidroxilamina ($pK_a = 6,17$) e a fenilidrazina ($pK_a = 5,26$), também seguiram o caminho concomitante.

A reação de semicarbazida com 2-tiofenocarboxaldeído, 2-pirrolcarboxaldeído e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído deveria, pois, ocorrer pelo mecanismo concomitante.

Figura XXXVI - Mecanismo de formação da carbinolamina, através de dois caminhos concorrentes:

I - Caminho concomitante

II - Caminho por etapas

Propôs-se que reações que seguem o mecanismo concomitante são pouco influenciadas pelos efeitos dos substituintes no aldeído, uma vez que esses têm efeitos contrários na formação da ligação carbono-nitrogênio e na protonização do oxigênio carbonílico, anulando-se. Assim, substituintes que diminuem a densidade eletrônica do anel aromático facilitam a formação da ligação carbono-nitrogênio e dificultam a protonização do oxigênio carbonílico, que ocorre ao mesmo tempo. Analogamente, substituintes que aumentam a densidade eletrônica do anel aromático dificultam a formação da ligação carbono-nitrogênio e facilitam a protonização do oxigênio carbonílico (Sayer & Jencks, 1972).

No presente trabalho, observou-se que os valores das constantes catalíticas do hidrônio foram $3,00 \cdot 10^2 \text{ mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$, $3,50 \cdot 10^2 \text{ mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$ e $3,50 \cdot 10^2 \text{ mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$ para a reação de semicarbazida e 2-tiofenocarboxaldeído, 2-pirrolcarboxaldeído e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído, respectivamente. Esta insensibilidade do valor da constante catalítica do hidrônio sugere também o mecanismo concomitante.

Outro fato que leva a propor o mecanismo concomitante para a reação de semicarbazida com os aldeídos heterocíclicos estudados é o fato de os gráficos de perfil de velocidade de reação em função do pH não apresentarem inflexão em pH próximo a 1,0. Outra comprovação da formação do intermediário T[±] livre como etapa determinante da velocidade da reação.

3.2.8 - Desidratação da carbinolamina

A etapa de desidratação da carbinolamina tem sido extensivamente estudada (Anderson & Jencks, 1960; Sayer & Jencks, 1969; Amaral & Bastos, 1971; Funderburk & Jencks, 1978; Palmer & Jencks, 1980). Ela é a etapa determinante da velocidade da reação em pH básico e próximo da neutralidade e é catalisada apenas pelo íon hidrônio, não tendo sido observada catálise ácida geral.

Os valores encontrados para a constante de desidratação ($K_{ad} k_5$) foram $1,6 \cdot 10^4 \text{ mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$, $6,0 \cdot 10^3 \text{ mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$ e $5,8 \cdot 10^3 \text{ mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente, para 2-tiofenocarboxaldeído, N-metil-2-pirrolcarboxaldeído e 2-pirrolcarboxaldeído, observando-se que a reatividade das carbinolaminas quanto à reação de desidratação é bastante semelhante.

O mecanismo proposto para a etapa de desidratação da carbinolamina catalisada pelo íon hidrônio é apresentada a seguir:

A etapa determinante da velocidade da reação do processo de desidratação provavelmente a etapa (b), na qual ocorre saída da molécula de água e mudança na hibridização do carbono ligado diretamente ao anel aromático.

3.3 - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

3.3.1 - Concentração inibitória mínima frente a bactérias, leveduras e fungos

Nos testes prévios de solubilidade, dimetilsulfóxido e dimetilformamida mostraram ser os solventes que melhor solubilizaram as semicarbazonas estudadas. A escolha definitiva, entretanto, só pode ser feita após a determinação da concentração inibitória mínima dos solventes (Tabela XXVIII) quando dimetilsulfóxido mostrou ser o menos tóxico para os microrganismos testados.

Durante os testes com as amostras, a concentração inibitória mínima do dimetilsulfóxido mostrou alguma variação, o que poderia talvez ser explicado pela variação não desejada no tamanho do inóculo empregado ou devido à variação na sensibilidade das cepas de microrganismos.

Testaram-se dois métodos para a determinação da concentração inibitória mínima das semicarbazonas, isto é, método da difusão em meio sólido e método da diluição seriada em meio líquido.

No método da difusão em meio sólido, no qual se tentou medir o halo de inibição de crescimento de microrganismo, apenas o composto padrão apresentou difusão visível do disco para o meio de cultura e, conseqüentemente, halo de inibição de crescimento na concentração de 100 µg/ml, com valores de halo de inibição da ordem de 14 a 19 mm, respectivamente, para *S. aureus* e *E. coli*. Nas outras semicarbazonas não se observaram difusão e halo de inibição de crescimento na concentração máxima obtida nos solventes utilizados. Com FSC e 3-QSC testaram-se concentrações de até 1000 µg/ml sem que houvesse formação de halos de inibição. Observou-se também que o disco com dimetilsulfóxido não apresentou halo de inibição de crescimento nos testes com *S. aureus* e *E. coli*. Ocorreu exceção no teste com *C. albicans*, em que o disco com dimetilsulfóxido não evaporado apresentou halo de inibição de crescimento, mostrando maior sensibilidade deste microrganismo ou maior difusão do solvente neste meio de cultura.

No método da diluição seriada trabalhou-se, inicialmente, fazendo diluições da amostra e solvente juntos, de maneira que, no final, havia variação da concentração da amostra e do solvente. A seguir, passou-se a trabalhar com concentrações finais fixas de dimetilsulfóxido, variando-se apenas a concentração das amostras, com o objetivo de obter maior reprodutividade das condições de teste. Verificou-se, entretanto, que nos dois casos a concentração inibitória mínima (MIC) era a mesma. Os valores encontrados para os vários compostos frente aos diferentes microrganismos estão na Tabela XXIX.

Comparando-se os dois métodos utilizados para verificar a atividade antimicrobiana dos compostos observam-se vantagens e desvantagens. No método da difusão em meio sólido, utilizado como método alternativo cuja finalidade era a de eliminar a interferência da toxicidade do solvente, observou-se a baixa difusibilidade das semicarbazonas no gel de agar, devido à baixa hidrossolubilidade destas. A vantagem constatada foi que se pode usar dimetilsulfóxido em concentração bem superior àquela usada nos ensaios em meio líquido, como se observou nos discos controles. Nas condições e concentrações testadas (10 a 100%) não houve inibição de crescimento microbiano por parte deste solvente. Os resultados também mostraram que a evaporação ou não do solvente dos discos de papel em nada alterou os resultados negativos de inibição de crescimento dos microrganismos no caso das amostras.

O método da diluição seriada em meio líquido permitiu maior contato do inóculo de microrganismos com as semicarbazonas testadas, sem depender da difusão do composto. Além disso, este método emprega inóculo muito menor que o método da difusão em meio sólido e, conseqüentemente, melhor valor de concentração inibitória mínima (MIC), aumentando a sensibilidade do teste. Um inóculo menor no teste em meio sólido iria reproduzir crescimento falho, com colônias esparsas, dificultando a leitura do halo de inibição.

Outro aspecto a ser analisado é o uso de dimetilsulfóxido como solvente, uma vez que ele próprio poderia produzir inibição de crescimento. Existem também relatos de que ele pode ocasionar furos na membrana do microrganismo e facilitar a entrada do composto, potencializando, desta maneira, a ação deste e fornecendo um valor de MIC falso.

Nos testes realizados, tentou-se contornar este problema utilizando concentração de dimetilsulfóxido inferior a do seu MIC, um tubo controle com este solvente e um composto padrão que havia sido testado por método em que não se utilizava este solvente. Verificou-se que o tubo controle ensaiado em condições idênticas às amostras não apresentou inibição de crescimento quando comparado com outro tubo de controle positivo com soro fisiológico. O composto padrão, por sua vez, apresentou MIC idêntico ao encontrado por outros autores que utilizaram técnicas diferentes, em que não era usado dimetilsulfóxido como solvente. Observou-se, ainda, que nos testes com *P. aeruginosa*, *C. albicans* e *A. niger* não houve correlação do MIC encontrado com a concentração menor de dimetilsulfóxido utilizada.

Outra maneira de testar a ação antimicrobiana das semicarbazonas, tentando solucionar o problema de solubilidade, seria incorporá-las em lipossomos e então efetuar os ensaios de atividade antimicrobiana. Isso será feito em trabalhos futuros.

3.3.2 - Atividade antifúngica pelo método da bioautografia

O método da bioautografia, utilizado para testar a atividade antifúngica dos compostos, apresenta inúmeras vantagens em relação a outros métodos. Entre as vantagens apresentadas está a eliminação da interferência do solvente, empregado para dissolver o composto, sobre o crescimento dos microrganismos; a separação cromatográfica de contaminantes da amostra; a alta sensibilidade do método e a possibilidade de manter os resultados na placa cromatográfica por tempo considerável. Entre as vantagens citam-se o tempo

de desenvolvimento da cromatografia que, dependendo do solvente utilizado, pode ser longo e o uso apenas de microrganismos que cresçam em meio de glicose e sais minerais sobre a placa cromatográfica.

Vários fungos foram utilizados para testar a atividade de feniltiossemicarbazidas, entre eles o *Cladosporium cucumerinum*, *Apergillus niger*, *Asco*chyta pisi, *Botrytis cinerea*, *Collettrichum lindemuthianum*, *Fusarium culmo*rum e *Penicillium expansum* (Homans & Fucus, 1970).

No nosso trabalho utilizamos o *Cladosporium sphaerospermum* e verificamos que, dos nove compostos testados, seis foram ativos e três inativos, como podemos verificar no item referente a resultados. A semicarbazona do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído não apresentou atividade frente a este fungo, apesar da alta atividade manifestada contra vários outros microrganismos. Entretanto, outras semicarbazonas derivadas do 5-metil-2-tiofenocarboxaldeído, 2-tiofenocarboxaldeído, N-metil-2-pirrolcarboxaldeído e 2-pirrolcarboxaldeído e 3-indolcarboxaldeído, que foram fracamente ativas frente às bactérias testadas, mostraram-se ativas frente ao *Cladosporium*.

3.4 - CORRELAÇÃO ATIVIDADE-REATIVIDADE NA REAÇÃO DE FORMAÇÃO DAS SEMICARBAZONAS DE ALDEÍDOS AROMÁTICOS HETEROCÍCLICOS

Os valores da concentração inibitória mínima (MIC), obtidos nos ensaios de atividade antimicrobiana, foram comparados com os valores indicativos da reatividade dos compostos, obtidos nos estudos cinéticos (Tabela XLI). Observou-se uma certa relação. A 5-nitro-2-furanocarboxaldeidossemicarbazona é 100 vezes mais ativa frente a *Escherichia coli* e 20 vezes mais reativa quando comparada com 2-furanocarboxaldeidossemicarbazona, 2-tiofenocarboxaldeidossemicarbazona, 2-pirrolcarboxaldeidossemicarbazona e N-metil-2-pirrolcarboxaldeidossemicarbazona.

Tabela XLI - Valores da concentração inibitória mínima (MIC) frente à *E. coli* e os valores das constantes catalíticas do hidrônio (k_H) para algumas semicarbazonas de aldeídos aromáticos heterocíclicos.

Composto	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	k_H ($\text{mol}^{-2} \cdot \text{dm}^6 \cdot \text{s}^{-1}$)
NFSC	5,0	$6,3 \times 10^3$ (a)
FSC	>500	$2,4 \times 10^2$ (b)
TSC	500	$3,0 \times 10^2$
PSC	452	$3,5 \times 10^2$
MPSC	452	$3,5 \times 10^2$

(a) AMARAL & BASTOS, 1970;

(b) STACCHISSINI, Comunicação particular

3.5 - CORRELAÇÃO ENTRE PARÂMETROS ELETRÔNICOS E A ATIVIDADE BIOLÓGICA NAS SEMICARBAZONAS DE ALDEÍDOS AROMÁTICOS HETEROCÍCLICOS

Cálculos de orbital molecular encontram aplicação em Farmacologia molecular para vários fins especialmente para: (a) determinar distâncias interatômicas e densidade eletrônica em moléculas de interesse biológico; (b) estudar a estereoquímica de macromoléculas e a conformação preferida de moléculas biologicamente ativas; (c) fornecer explicação racional para as atividades de certos compostos e formular hipóteses para o mecanismo de ação aos níveis molecular e eletrônico de vários grupos de fármacos; (d) propor topografia para receptores hipotéticos; (e) planejar novos fármacos em bases racionais, que sejam mais específicos e mais potentes (Korolkovas, 1974).

Neste trabalho, efetuaram-se cálculos de orbital molecular, utilizando a técnica ω , visando encontrar ~~alguma~~ relação entre atividade biológica e estrutura química nas semicarbazonas estudadas. Por esta técnica, obtivemos os valores de densidade de carga em cada átomo da molécula e os valores de HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) e os valores de LEMO (Lowest Empty Molecular Orbital) para as moléculas.

Os cálculos foram feitos para as nove semicarbazonas preparadas neste trabalho e, adicionalmente, para a 5-nitro-2-tiofenocarboxaldeidosemicarbazona, 5-nitro-2-pirrolcarboxaldeidosemicarbazona e 5-nitro(N-metil-2-pirrolcarboxaldeidosemicarbazona), para fins comparativos.

Considerando os valores de densidade de carga livre nos átomos das diferentes moléculas de semicarbazona, expressos nas Tabelas XXIV, XXV e XXVI, na parte experimental, observa-se que não existe variação pronunciada entre os valores para os diversos compostos que justifique a maior atividade antibacteriana da 5-nitro-2-furanocarboxaldeidosemicarbazona. Nos compostos em que existe variação nos valores em relação aos demais, esta não está correlacionada com a atividade biológica.

Segundo a maioria dos autores, a atividade antibacteriana da 5-nitro-2-furanocarboxaldeidosemicarbazona se deve à presença do grupo nitro na molécula, uma vez que o composto sem o grupo nitro é praticamente inativo. O grupo nitro presente na molécula funcionaria como grupo aceptor de elétrons, interferindo em processos enzimáticos do metabolismo das bactérias.

Não se consegue, entretanto, explicar adequadamente a diferença de atividade na 5-nitro-2-furanocarboxaldeidossemicarbazona, 5-nitro-2-tiofenocarboxaldeidossemicarbazona e 5-nitro-2-pirrolcarboxaldeidossemicarbazona.

Analisando os valores de HOMO e LUMO, expressos na Tabela XVII, na parte experimental, verifica-se que as semicarbazonas que apresentam o grupo nitro no anel heterocíclico são aceptoras de elétrons ao passo que aquelas sem o grupo nitro não apresentam esta característica. A 5-nitro-2-furanocarboxaldeidossemicarbazona é a que apresenta valor de LUMO mais próximo de zero, sendo a molécula mais aceptora de elétrons e a mais ativa. Para os outros compostos a ordem dos valores de LUMO obtidos não se situa na mesma ordem de atividade dos compostos.

CAPÍTULO IV

4 - CONCLUSÕES

- 4.1 - As semicarbazonas dos aldeídos aromáticos heterocíclicos foram efetivamente obtidas, nas condições empregadas.
- 4.2 - As reações de formação de semicarbazonas a partir de aldeídos aromáticos heterocíclicos são de primeira ordem em relação ao aldeído e de primeira ordem em relação à semicarbazida.
- 4.3 - Estudo cinético mostrou que as reações não se completaram nas condições empregadas, atingindo um equilíbrio.
- 4.4 - As reações de formação das semicarbazonas do 2-tiofenocarboxaldeído, 2-pirrolcarboxaldeído e N-metil-2-pirrolcarboxaldeído processam-se em duas etapas. A etapa determinante da velocidade de reação em $\text{pH} < 5$ é a formação da carbinolamina e em $\text{pH} > 5$ é a desidratação da mesma.
- 4.5 - A etapa de formação e a etapa de desidratação da carbinolamina são suscetíveis à catálise pelo hidrônio, enquanto apenas a formação da carbinolamina é suscetível à catálise pelos ácidos carboxílicos.

- 4.6 - A constante catalítica do íon hidrônio é semelhante para os três aldeídos estudados, sugerindo que a reatividade destes em relação à semicarbazida é a mesma.
- 4.7 - O mecanismo proposto para a etapa de formação da carbinolamina com catálise ácida geral é o mecanismo "concomitante", em que a formação da ligação carbono-nitrogênio ocorre simultaneamente com a protonização do oxigênio carbonílico. Isto pode ser comprovado pelos perfis de velocidade de reação que apresentam apenas uma inflexão em pH próximo a 5.
- 4.8 - A atividade antimicrobiana das semicarbazonas estudadas frente a *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* e *A. niger* foi muito baixa quando comparada com o composto padrão de estrutura semelhante.
- 4.9 - Das nove semicarbazonas testadas, seis inibiram o crescimento do *Cladosporium sphaerospermum*.

RESUMO

No presente trabalho prepararam-se semicarbazonas de aldeídos aromáticos heterocíclicos. Estas foram caracterizadas, tiveram sua formação estudada cineticamente e foram empregadas em ensaios de atividade antimicrobiana. As semicarbazonas foram preparadas a partir da reação entre os aldeídos heterocíclicos e cloridrato de semicarbazida e caracterizados através de seus pontos de fusão e espectros no infravermelho, ultravioleta e de ressonância magnética nuclear de ^1H e de ^{13}C . O estudo cinético foi acompanhado espectrofotometricamente a 310 nm observando-se a reação de formação das semicarbazonas em solução aquosa. No gráfico de perfil de velocidade de reação em função do pH, obtido a partir dos dados cinéticos, observou-se apenas uma inflexão em pH próximo a 5, inflexão esta que reflete mudança na etapa determinante da velocidade de reação, de maneira que, em $\text{pH} < 5$ a etapa determinante da velocidade de reação era a formação da carbinolamina e em $\text{pH} > 5$ a desidratação desta. As constantes de velocidade da reação de formação da carbinolamina catalisada pelo íon hidrônio mostraram ser insensíveis ao tipo de heteroátomo presente no aldeído, enquanto que as constantes de velocidade de reação catalisada pelos ácidos carboxílicos apresentaram efeito significativo resultante da mudança do heteroátomo. Os valores de α de Brønsted obtidos na catálise ácida geral são 0,080, 0,53 e 0,80, respectivamente, para 2-tiofenocarboxaldeído, N-metil-2-pirrolcarboxaldeído e 2-pirrolcarboxaldeído. A reação de formação da carbinolamina com catálise ácida geral deve proceder por um mecanismo "concomitante" que envolve a transferência de próton do íon hidrônio para o oxigênio carbonílico e a formação da ligação carbono-nitrogênio de maneira simultânea. No estado de transição do mecanismo "concomitante" o efeito favorável do heteroátomo, captando elétrons, sobre a formação da ligação carbono-nitrogênio deve ser parcial ou completamente compensado pelo efeito desfavorável sobre a protonação do oxigênio carbonílico. Efetuaram-se cálculos de orbital molecular pela técnica ômega, obtendo-se os valores de densidade de carga em cada átomo e os valores de HOMO e LUMO das moléculas. Tentou-se correlacionar estes valores com a atividade antimicrobiana. O estudo da atividade antimicrobiana das semicarbazonas foi efetuado inicialmente através de dois métodos diferentes: Método da difusão em meio sólido e Método da diluição seriada em meio líquido. O segundo método mostrou ser o mais indicado por permitir maior contato das amostras com o microrganismo e uso de carga microbiana menor. Utiliza-

ram-se *Staphylococcus aureus*, *Escherichia Coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Can**dida albicans* e *Aspergillus niger* como microrganismos teste e dimetilsulfóxi do a 10% e a 5% como diluente das amostras. Verificou-se que a atividade an timicrobiana das semicarbazonas estudadas foi muito baixa quando comparada com a semicarbazona do 5-nitro-2-furanocarboxaldeído. Pela método da bioau tografia verificou-se que, das nove semicarbazonas testadas, seis inibiram o crescimento do *Cladosporium sphaerospermum*.

SUMMARY

In this work nine semicarbazones of heterocyclic aromatic aldehydes were prepared. The semicarbazones were identified through the melting points, I. R. spectra, U. V. spectra, ^1H -NMR and ^{13}C -NMR spectra, and elementary analysis. The formation of 2-thiophenecarboxaldehyde, N-methyl-2-pyrrolecaboxaldehyde, and 2-pyrrolecaboxaldehyde semicarbazones were studied spectrophotometrically in aqueous solution, at 25,0 °C and ionic strength 0,50. The pH-rate profiles show one break at $\text{pH} \approx 5$, reflecting a change in the rate-determining step. Below pH 5 the rate-determining step is the formation of the carbinolamine intermediate, and above pH 5 is the dehydration of the carbinolamine. This behavior suggests that the reaction occurs by a concerted mechanism. The reactions are subject to general acid catalysis by carboxylic acids. The α Brønsted exponent for the formation of the semicarbazone of 2-thiophenecarboxaldehyde, N-methyl-2-pyrrolecaboxaldehyde, and 2-pyrrolecaboxaldehyde are, respectively, 0,080, 0,53 and 0,80. The semicarbazones were evaluated semi-quantitatively against various microorganisms by two methods. Both methods show that the activity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, and *Aspergillus niger* is very low when compared with the activity of 5-nitro-2-furancarboxaldehyde semicarbazone. In the other hand six from nine prepared semicarbazone inhibit the grow of *Cladosporium Sphaerospermum*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRAWAL, K. C. & SARTORELLI, A. C. - Potential antitumor agents. II. Effects of modifications in the side chain of 1-formylisoquinoline thiosemicarbazone. *J. Med. Chem.*, Washington, 12:771-4, 1969.
- ALEMANY, A.; BERNABÉ, M.; FERNÁNDEZ ALBARES, E.; LORA-TAMAYO, M.; NIETO, M. O. - Psychotropes potentials. II. Synthèse de acyl-1(indolyl-méthylène)-2-hydrazines et mesure in vitro de leur activité inhibitrice de la monoamine oxydase. *Bull Soc. Chim. Fr.*, Paris, 780-6, 1967).
- ALLAN, F. J. & ALLAN, G. G. - 4-(p-Phenylazophenyl)semicarbazones of some pyridine carbonyl derivatives. *Rec. Trav. Chim.*, The Hague, 80:1254-6, 1961.
- AMARAL, L. do - Estudo cinético da reação de 2-furfural e fenil-hidrazina. *An. Assoc. Bras. Quim.*, Rio de Janeiro. 26:63-64, 1967.
- AMARAL, L. do - Mechanism and catalysis for furfural phenylhydrazone formation. *J. Org. Chem.*, Washington, 37:1433-36, 1972.
- AMARAL, L. do & BASTOS, M. P. - Mecanismo e catálise da formação de nitrofurazona. *Rev. Bras. Tecnol.*, São Paulo, 1:23-26, 1970.
- AMARAL, L. do & BASTOS, M. P. - Kinetics and mechanism for benzaldehyde phenylhydrazone formation. *J. Org. Chem.*, Washington, 36:3412:17, 1971.
- AMARAL, L. do; OKANO, V.; BASTOS, M. P. - Mecanismo da reação de tiossemicarbazida com piridinóximo-4-carboxaldeído. *Ann. Acad. Bras. Cienc.*, Rio de Janeiro, 53:461-69, 1981.
- AMARAL, L. do; SANDSTROM, W. A.; CORDES, E. H. - Some aspects of mechanism and catalysis for carbonyl addition reactions. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 88:2225-33, 1966.
- ANDERSON, F. E.; DUCA, C. J.; SCUDI, J. V. - Some heterocyclic thiosemicarbazones. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 73:4967-8, 1951.

- ANDERSON, B. M. & JENCKS, W. P. - The effects of structure on reactivity in semicarbazone formation. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 82:1773-7, 1960.
- ANDRADE, Z. A. & BRENER, A. - Effect of nitrofurazone on the intracellular forms of *Trypanosoma cruzi* in experimental Chagas disease. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, São Paulo, 11(3):222-8, 1969.
- ARGYLE, C. S.; REED, R. A.; VERO, E. - Semicarbazones. *Brit.* 790.066, 5 de fevereiro de 1958. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 53:P296d, 1959.
- ASNIS, R. E. - Reduction of Furacin by cell-free extracts of Furacin-resistant and parent-susceptible strains of *Escherichia coli*. *Arch. Biochem. Biophys*, New York, 66:208-16, 1957.
- BAILESCU, G.; LAZAR, C.; CRITESCU, C. - Organic reagents for osmium. *J. Anal. Chem. USSR*, (Engl. Trans.), New York, 15:579-81, 1960.
- BASTOS, M. P.; ALVES, K. B.; OLIVEIRA NETO, G.; AMARAL, L. do - Kinetics and mechanism for o-hydroxybenzaldehyde phenylhydrazone formation. *J. Org. Chem.*, Washington, 46:3342-46, 1981.
- BECKETT, A. H. & ROBINSON, A. E. - Site of reduction of nitrofurazone by bacteria. *Nature*, London, 180:1206-7, 1957.
- BECKETT, A. H. & ROBINSON, A. E. - Bactericidal and chemical e reduction of nitrofurazone, *Chem. Ind.*, London, 523-4, 1957.
- BEHNISCH, R.; MIETZSCH, F.; SCHMIDT, H. - Thiosemicarbazones of aldehydes and ketones of the heterocyclic series. U. S. 2.775.593, 25 de dezembro de 1956. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 51:P8804c, 1957.
- BELLAMY, L. J. - *The infra-red spectra of complex molecules*, 3rd ed., Chapman and Hall, London, 1975.
- BENDER, R. C. & PAUL, H. E. - Metabolism of the nitrofurans. II. Incubation of furacin with mammalian tissues. *J. Biol. Chem.*, 191:217-22, 1951.
- BENDITO, D. P. & PEREZ, F. P. - Simultaneous spectrophotometric determination of molybdenum and iron with salicylaldehyde thiosemicarbazone and application to the analysis of Stell. *Mikrochim. Acta.*, Wien, I:613-22, 1976.

BERNSTEIN, J.; YALE, H. L.; LOSEE, K.; HOLSING, J.; MARTINS, J.; LOTT, W. A.
- The chemotherapy of experimental tuberculosis. III. The synthesis of
thiosemicarbazones and related compounds. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington,
73:906-12, 1951.

BIEDERMANN, A. - Über Thiophenalddehyd und die dem Benzyl Alkohol entsprechende
Verbindung der Thiophenreihe. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, Berlin, 19:636:40, 1888.

BILLMAN, J. H. & TAI, K. M. - Reduction of Schiff bases. II. Benzhydrylami-
nes and structurally related compounds. *J. Org. Chem.*, Washington, 23:
535-39, 1958.

BLANZ, E. J., Jr.; FRENCH, F. A.; AMARAL, J. R. do; FRENCH, D. A. - Carcinos-
tatic activity of thiosemicarbazones of formyl heteroaromatic compounds.
VII. 2-formylpyridine derivatives bearing additional ring substituents,
J. Med. Chem., Washington, 13:1124-30, 1970.

BONNETT, T. & EMERSON, T. R. - Optical rotatory dispersion. Part XXII. Ste-
roidal azomethines. *J. Chem. Soc.*, London, 4508-11, 1965.

BOWEN, J. B. & WILKINSON, E. M. - Certain substituted benzaldehydes and subs-
tituted benzaldehyde dinitrophenylhydrazones. *J. Chem. Soc.*, London, 750-1,
1950.

BREDERECK, H. & FRITZCHE, E. - Über isomeric Di- und trinitrophenyl-hydrazone.
Ber. Dtsch. Chem. Ges., Berlin, 70:802-9, 1937.

BROCKLEHURST, K. & GRIFFITHS, J. R. - Kinetics and mechanism of the reaction
of 4(5)-formylimidazole with hydroxylamine. *Tetrahedron*, Oxford, 24:2407-
17, 1968.

BRONSTED, J. N. & PEDERSEN, K. - The catalytic decomposition of nitramide and
its physico-chemical applications. *Z. Phys. Chem. Stoechiom. Verwandts-
chafts*, Leipzig, 108:185-235, 1924.

BUCZKOWSKI, Z. & LANGE, J. - Pharmaceuticals from furfural. I. 5-nitrofurfu-
ral. *Przemysł. Chem.*, Warsaw, 11:98-9, 1955. Apud: *Chem. Abstr.*, Colum-
bus, 52:11.351i, 1958.

- BULATOVA, N. N. & SUVOROV, N. N. - Indole derivatives. XXXVI. Reaction of 3-p-nitrovinylindoles with nucleophilic reagents. *Khim. Geterotsike. Soedin.*, Riga , ., 5:813-7, 1969. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 72:111.212b, 1970.
- BURTON, G.; GHINI, A. A.; GROS, E. G. - ¹³NMR spectra of substituted indoles. *Magn. Reson. Chem.*, London, 24:829-31, 1986.
- CALDWELL, H. C. & NOBLES, W. L. - Some amithiozone (Tiblione) analogs. *J. Am. Pharm. Assoc.*, Washington, 45:729-32, 1956.
- CAMPBELL, K. N.; SOMMERS, A. H.; KERWIN, J. F.; CAMPBELL, B. K. - Quinoline series. VI. Preparation of some substituted lepdylamines. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 68:1851-2, 1946.
- CASERO, R. A., Jr.; KLAYMAN, D. L.; CHILDS, G. E.; SCOVILL, J. P.; DESJARDINS, R. E. - Activity of 2-acetylpyridine thiosemicarbazones against *Trypanosoma rhodesiense* in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.*, Ann Arbor, 18: 317-22, 1980.
- CAVIER, R.; CENAC, J.; ROYER, R.; RENEL, L. - Nitrated derivatives of biological interest. II. Comparison of the parasiticide activities of furan and thiophene derivatives and of their nitrated derivatives. *Eur. J. Med. Chem. - Chim. Ther.*, Paris, 5:270-3, 1970.
- CLARKE'S *isolation and identification of drugs*, 2nd ed., London, Pharmaceutical Press, 1986.
- CLEMENCE, Le R. W. & EICHEL, H. J. - Thiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone and its derivatives. *U. S. 2.746.972*, 22 de maio de 1956. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 51:P2871b, 1957.
- CLERC, J. T.; PRETSCH, E.; STERNHELL, S. - ¹³C-Kern resonanzspektroskopie in *Methoden Der Analyse in der Chemie.*, Akademische Verlagsgesellschaft Frankfurt, 1973, p. 103 e 106.
- CORDES, E. H. & JENCKS, W. P. - Nucleophilic catalysis of semicarbazone formation by anilines. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 84:826-31, 1962.
- CORDES, E. H. & JENCKS, W. P. - General catalysis of semicarbazone formation. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 84:4319-28, 1962.

- CORDES, E. H. & JENCKS, W. P. - The mechanism of hydrolysis of Schiff bases derived from aliphatic amines. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 85:2843-8, 1963.
- COX, M. M. & JENCKS, W. P. - General acid catalysis of aminolysis of phenyl acetate by a preassociation mechanism. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 100: 5956-7, 1978.
- CRAMER, D. L. & DODD, M. C. - The mode of nitrofuran compounds, I. Action versus *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.*, Baltimore, 51:293-303, 1947.
- CRÉPAUX, D. & LEHN, J. - M. - Application des mesures de complages ¹⁵N-H à la détermination de configurations d'oximes. *Org. Magn. Reson.*, London, 7:524-26, 1975.
- DANN, O. & MÖLLER, E. F. - The growth arresting properties of nitrocompounds. *Chem. Ber.*, Frankfurt, 82:76-92, 1949.
- DEGEN, L.; MASSARAN, E.; NARDI, D. - Comparative studies on the activity of 5-nitro-2-furfuraldehyde thiosemicarbazones and semicarbazones. *Int. Congr. Chemother., Proc.*, 5th, Viena, 1(1):241-7, 1967.
- DODD, M. C.; CRAMER, D. L.; WARD, W. C. - The relationship of structure and antibacterial activity in the nitrofurans. *J. Am. Pharm. Assoc.*, Washington, 39:313-18, 1950.
- DODD, M. C. & STILLMAN, W. B. - The *in vitro* bacteriostatic action of some simple furan derivatives. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, Baltimore, 82:11-18, 1944.
- DONOVICK, R.; PANSY, F.; STRYKER, G.; BERNSTEIN, J. - The chemotherapy of experimental tuberculosis. I. The *in vitro* activity of thiosemicarbazides, thiosemicarbazones, and related compounds. *J. Bacteriol.*, Baltimore, 59: 667-74, 1950.
- DOYLE, F. P.; FERRIER, W.; HOLLAND, D. O.; MEHTA, M. D.; NAYLER, J. H. C. - Potential antituberculosis agents of the indol series. *J. Chem. Soc.*, Washington, 2853-7, 1956.

- DREIZEN, S.; GREENE, H. I.; SPIES, T. D. - *In vitro* studies of the dental caries-inhibiting properties of some selected nitrofurans compounds. *J. Dent. Res.*, Washington, 28:288-94, 1949. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 43:6735g, 1949.
- DUNBAR, R. E. & AALAND, A. E. - Organic chemical microscopy. III. Semicarbazones as qualitative organic derivatives of aldehydes and ketones. *Microchem. J.*, New York, 2:113-27, 1958.
- EATON, M. D.; HUANG, CHI-TO; LEVENSON, C. G. - Effect of nitro compounds on viruses of the psittacosis-lymphogranuloma group. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, New York, 71:501-7, 1949.
- EATON, M. D.; PERRY, M. E.; GÖCKE, I. M. - Effect of nitro compounds and aldehyde semicarbazones on virus of primary atypical pneumonia. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, New York, 77:422-5, 1951.
- EKSTROM, B.; OVESSON, M.; PRING, B. G. - Synthesis and antibacterial properties of methylsulfinyl and methyl sulfonyl analogs of some nitrofurans. *J. Med. Chem.*, Washington, 18:1166-8, 1975.
- FARBENFABRIKEN BAYER H. - G.-Phenylhydrazones acaricides. (to Ewald Urbschat and Guenter Unterstenhoefer). *Belg.* 644.082, 20 de agosto de 1964. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 63:P8985C, 1965.
- FOURNARI, P. - Heterocyclic series. VI. Synthesis of the nitroderivatives of N-methylpyrrole. Application of polarographic analysis to the separation of the nitro isomers. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, Paris, 488-91, 1963.
- FOURNARI, P. & CHANE, J. P. - Heterocyclic series, IV. Synthesis of disubstituted thiophenes and application of polarographic analysis to the separation of the nitrated isomers. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, Paris, 479-84, 1963.
- FOURNARI, P. & TIROUFLET, J. - Heterocyclic series. V. Synthesis of substituted nitropyrroles. Application of polarographic analysis to the separation of the isomers and to the structure determination. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, Paris, 484-7, 1963.
- FRENCH, F. A. & BLANZ, E. I., Jr. - The carcinostatic activity of thiosemicarbazones of formyl heteroaromatic compounds. III. Primary correlation. *J. Med. Chem.*, Washington, 9:585-9, 1966.

FRENCH, F. A.; BLANZ, E. J., Jr. ; AMARAL, J. R. do; FRENCH, D. A. - Carcinostatic activity of thiosemicarbazones of formyl heteroaromatic compounds VI. 1-formyl isoquinoline derivatives bearing additional ring substituents, with notes on mechanism of action. *J. Med. Chem.*, Washington, 13: 1117-1124, 1970.

FRENCH, F. A.; LEWIS, A. E.; SHEENA, A. H.; BLANZ, E. J., Jr. - Pyrazine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone (PCT), and iron elimination agent with antitumor activity. *Fed. Proc., Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, Washington, 24: 402, 1965.

FUJIKAWA, F.; HIRAI, K.; SAWADA, O.; TOYOSHIMA, H.; TAMURA, S.; NAITO, M. & TSUKUMA, S. - Studies on chemotherapeutics for *Mycobacterium tuberculosis*. XIV. Synthesis and antibacterial activity on *Mycobacterium tuberculosis* of 2-thiophenecarboxaldehyde derivatives. *Yakugaku zasshi*, Tokyo, 82: 1681-4, 1962.

FUJIKAWA, F.; HIRAO, R.; SHIOTA, T.; NAITO, M.; TSUKUMA, S. - Studies on chemotherapeutics for *Mycobacterium tuberculosis*. XIX. Synthesis and antibacterial activity on *Mycobacterium tuberculosis* of 2-pyrrolicarboxaldehyde, 2,4-dihydroxy-5-ethylbenzaldehyde, and 2,4-dihydroxy-5-isoamylbenzaldehyde derivatives. *Yakugaku Zasshi*, Tokyo, 87:1493-500, 1967.

FUNDERBURK, L. H. & JENCKS, W. P. - Structure reactivity coefficients for general acid catalysis of semicarbazone formation, *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 100:6708-14, 1978.

GAYRAL, P.; RIGOTHIER, M. C.; COUMES, R. C.; GORRICHON, J. P.; GASET, A. - Comparison of the parasitocidal activities of two series of 5-nitrofuran and 5-nitrothiophene aldimines. *Eur. J. Med. Chem. - Chim. Ther.*, Paris, 16:151-5, 1981.

GEIGY, A. G. J. R. - Thiosemicarbazones of heterocyclic aldehydes. *Swiss 293.019*, 1 de agosto de 1953. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 49:P2522h, 1955.

GEIGY, A. G. J. R. - 2-pyrrole aldehyde thiosemicarbazone. *Swiss 293.023*, 1 de dezembro de 1953. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 49:P4029h, 1955.

- GEVER, G. & WARD, W. C. - Nitrofurán derivatives. (to Norwich Pharmacal Co.)
U. S. 2.726.241, 6 de dezembro de 1955. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 50:
P16869, 1956.
- GIALDI, F. & PONCI, R. - Antibacterial activity of quinoline derivatives. V.
Preparation and antibacterial action *in vitro* of 6,6'-diquinolyl sulfone
and some thiosemicarbazones of quinoline aldehydes. *Farm. Sci. Tec.*, Pa-
via, 6: 332-6, 1951.
- GIALDI, F. & PONCI, R. - Antifungal activity of quinoline derivatives. *Farmaco*,
Ed. Sci., Pavia, 12:413-27, 1957.
- GIARMAN, N. J. - Antibiotic lactones and synthetic analogs. III. Efficacy in
experimental trypanosomiasis. *J. Pharmacol. Expt. Ther.*, Baltimore, 102:
185-95, 1951.
- GILMAN, H. & WRIGHT, G. F. - Nitrofurfural and nitrofurfurylacrylic acid. *J.*
Am. Chem. Soc., Washington, 52:2550-54, 1930.
- GINSBURG, S. & WILSON, I. B. - Oximes of the pyridine series. *J. Am. Chem.*
Soc., Washington, 79:481-85, 1957.
- GONZÁLEZ, F. G. & BRZEZICKI, R. C. - Synthesis of pyrrole derivatives. *An. R.*
Soc. Esp. Fis. Quim., Ser. B, Madrid, 46B:68-72, 1950.
- GRISHKEVICH-TROKHIMOVSKII, E. & MATZUREVICH, J. - Transformations of α -thio
phenaldehyde. *J. Russ. Phys. Chem. Soc.*, St. Petersburg, 44:570-81, 1912.
- HAGENBACH, R. E. & GYSIN, H. - Some heterocyclic thiosemicarbazones. *Experi-*
entia, Basel, 8:184-5, 1952.
- HAMADA, Y. - Quinoline derivatives. *Yakugaku Zasshi*, Tokyo, 79:908-13, 1959.
- HAMILTON-MILLER, J. M. T. & BRUMFITT, W. - Comparative *in vitro* activity fo
fine nitrofurans. *Chemotherapy*, Basel, 24:161-5, 1978.
- HAMRE, D.; BERNSTEIN, J.; DCNOVICK, R. - The chemotherapy of experimental tu
berculosis. II. Thiosemicarbazones and analogs in experimental tuberculo-
sis in the mouse. *J. Bacteriol.* Baltimore, 59:675-80, 1950.

- HARTOUGH, H. D. - The reaction of thiophene with formaldehyde and salts of hydroxylamine. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 69:1355-58, 1947.
- HARTOUGH, H. D. & DICKERT, J. J. - Aminomethylation of thiophene. IV. Preparation of 2-thiophenalddehydes from the N-(2-thenyl)-formaldimines. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 71: 3922-5, 1949.
- HENS, A. G. & VALCARCEL, M. - Fluorimetric behavior monothiosemicarbazones. *Microchem. J.*, New York, 29:253-9, 1984.
- HIRAI, T.; SHIMOMURA, T.; NISAIKAWA, Y. - Effect of thiosemicarbazones on the multiplication of Tobacco Mosaic virus. *Nature*, London, 181:352-3, 1958.
- HIRANO, K.; YOSHINA, S.; OKAMURA, K.; SUZUKA, I. - Electronic aspect of the antibacterial activity of nitrofuran derivatives. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, Tokyo, 40:2229-33, 1967.
- HIRATA, R. - *Mecanismo e catálise na reação de reagentes nucleofílicos nitrogenados com pirrol-2-carboxaldeído e N-metilpirrol-2-carboxaldeído*, São Paulo, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, 1980 (Dissertação de Mestrado).
- HIRATA, R. & AMARAL, L. do - Mecanismo e catálise na reação de reagentes nitrogenados com pirrol-2-carboxaldeído e com N-metil-pirrol-2-carboxaldeído - *Ann. Acad. Bras. Cienc.*, Rio de Janeiro, 54:77-86, 1982.
- HOGGART, E.; MARTIN, A. R.; STOREY, N. E.; YOUNG, E. H. P. - Studies in the chemotherapy of tuberculosis. V. Thiosemicarbazones and related compounds. *Brit. J. Pharmacol. Chemother.*, London, 4:248-53, 1949.
- HOGGARTH, E.; TAUBMAN, N. E. and Imperial Chemical Industries Ltd. - 5-Nitro-furfural semicarbazone and thiosemicarbazone. *Brit. 620.888*, 31 de março de 1949. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 44:5548C, 1950.
- HOMANS, A. L. & FUCUS, A. - Direct bioautography on thin-layer chromatograms as a method for detecting fungitoxic substances. *J. Chromatogr.*, Amsterdam, 51:327-29, 1970.
- HOYLE, W.; ROBERTS, G. P.; METH-COHN, O. - Potential antimicrobial furans. *J. Med. Chem.*, Washington, 16:709-10, 1973.

- HUBBALL, W. & PYMAN, F. L. - Glyoxaline-4(5)-formaldehyde. *J. Chem. Soc.*, Washington, 21-32, 1928.
- JENCKS, W. P. - Studies on the mechanism of oxime and semicarbazone formation. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 81:475-81, 1959.
- JENCKS, W. P. - Mechanism and catalysis of simple carbonyl group reactions. *Prog. Phys. Org. Chem.*, New York, 2:63-128, 1964.
- JENCKS, W. P. - General acid-base catalysis of complex reactions in water. *Chem. Rev.*, Washington, 72:705-18, 1972.
- JENCKS, W. P. - Enforced general acid-base catalysis of complex reactions and its limitations. *Acc. Chem. Res.*, Washington, 9:425-32, 1976.
- JENCKS, W. P. - How does a reaction choose its mechanism? *Chem. Soc. Rev.*, London, 10:345-75, 1981.
- JENCKS, W. P. & GILBERT, H. F. - General acid-base catalysis of carbonyl and acyl group reactions. *Pure Appl. Chem.*, London, 49:1021-27, 1977.
- JENSEN, K. A. & JENSEN, C. L. - Thiohydrazides and thiohydrazones: a new class of antibacterial substances. *Acta Chem. Scand.*, Copenhagen, 6:957-8, 1952.
- JONES, D. H.; SLACK, R.; SQUIRES, S.; WOOLDRIDGE, K. R. H. - Antiviral chemotherapy. I. The activity of pyridine and quinoline derivatives against neurovaccinia in mice. *J. Med. Chem.*, Washington, 8:676-80, 1965.
- KALLA, H. & AUSBORN, D. - Therapeutically useful 5-nitrofurfural derivative. Literature survey. I. *Pharmazie*, Berlin, 26:121-35, 1971.
- KAPLAN, H. & LINDWALL, H. G. - Condensation reactions of cinchoninaldehyde and quinaldehyde, *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 65:927-8, 1943.
- KAVANAGH, F. , Ed. - *Analytical microbiology*, New York, Academic Press, 1963, p. 125-40.
- KAWABE, K.; SUZUI, T.; IGUCHI, M. - Studies on alkylated furan derivatives. V. Synthesis and antimicrobial activity of 5-nitro-2-furaldehyde 4-alkyl semicarbazone and 4-alkylthiosemicarbazone. *Yakugaku Zasshi*, Tokyo, 80:65-68, 1960.

KAWAMURA, Y. & YAMAMOTO, H. 5-nitrofurfural thiosemicarbazone (to Nippon Chemical Drug Co.). *Japan* 1415, 22 de abril de 1952. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 48:2116d, 1954.

KIER, L. B. - *Molecular orbital theory in drug design*, New York, Academic Press, 1971.

KING, W. J. & NORD, F. F. - Preparation of 2-thiophenealdehyde and some substituted thiophenealdehydes. *J. Org. Chem.*, Washington, 13:635-40, 1948.

KLAYMAN, D. L.; ACTON, N. & SCOVILL, J. P. 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones. *Arzneim. Forsch.*, Aulendorf, 36:10-13, 1986.

KLAYMAN, D. L.; BARTOSEVICH, J. F.; GRIFEIN, T. S.; MASON, S. J.; SCOVILL, J. P. 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones. 1. A new class of potential antimalarial agents. *J. Med. Chem.*, Washington, 22:855-62, 1979.

KLAYMAN, D. L.; SCOVILL, L. P.; BARTOSEVICH, J. F.; BRUCE, I.; MASSIE, S. P.; grant, S. D.; GONZALEZ, A. 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones. 7. Derivatives of 2-acetylquinoline as potential antimalarial agents. *Eur. J. Med. Chem. - Chim. Ther.*, Paris, 19:49-53, 1984.

KLINE, S. & FRENCH LABORATORIES LTD. (by Denis E. Greensmith). 5-nitrofurfuraldehyde semicarbazone. *Brit.* 847.645, 14 de setembro de 1960. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 55:P7433h, 1961.

KOBAYASHI, R.; AZUMA, N. & SAIKACHI, H. *Japan* 181.351, 16 de janeiro de 1950. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 46:4029d, 1952.

KOCHERGIN, P. M. & KARPOV, G. A. - Synthesis of organic compounds and semi-products based on nitro esters. X. New Synthesis of 5-nitrofurfural and its semicarbazone (Furacilin) from furfuryl alcohol. *Khim. Farm. Zh.*, Moscow, 1:9-11, 1967. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 67:64.130h, 1969.

KOROLKOVAS, A. - Cálculos de orbital molecular. I. Distribuição de carga em derivados do estilbeno e dos ácidos acrílico e cinâmico pelo método aproximado de Huckel e pela técnica ômega. *Rev. Farm. Bioquim. Univ. São Paulo*, São Paulo, 8:261-71, 1970.

- KOROLKOVAS, A. - *Fundamentos de Farmacologia Molecular: Base para planejamento de fármacos*, São Paulo, EDART, Ed. da Universidade de São Paulo, 1974.
- KOROLKOVAS, A. & TAMASHIRO, K. - Cálculos de orbital molecular. II. Distribuição de carga no ácido p-aminobenzóico e na sulfanilâmica pela técnica ômega. *Rev. Farm. Bioquím. Univ. São Paulo*, São Paulo,, 11:15-30, 1973.
- KOROLKOVAS, A. & TAMASHIRO, K. - Cálculo de distribuição de carga no indol e na triptofana pela técnica ômega. *Cienc. Cult.*, São Paulo, 28:454-56, 1976.
- KOROLKOVAS, A. & TAMASHIRO, K. - Cálculo da densidade eletrônica no ácido nalidíxico e seus análogos pela técnica ômega. *Rev. Farm. Bioquím. Univ. São Paulo*, São Paulo, 17:1-12, 1981.
- KOSCHUCHAROV, P. & HARISANOVA, T. - Antibacterial activity of nitrofuran derivatives. *Pharmazie*, Berlin, 15:492-7, 1960.
- KOSCHUCHAROV, P. & HARISANOVA, T. - Analysis of the antimycotic effect of 50 nitrofuran derivatives. *Pharmazie*, Berlin, 17:134-7, 1962.
- LAYER, R. W. - The chemistry of imines. *Chem. Rev.*, Washington, 63:489-510, 1963.
- LEVINSON, W.; FARAS, A.; WOODSON, B.; JACKSON, J.; BISHOP, J. M. - Inhibition of RNA-dependent DNA polymerase of Rous Sarcoma virus by thiosemicarbazones and several cations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, Washington, 70:1648, 1973.
- LIBERMANN, D.; MOYEUX, M.; ROVAIX, A; MAILLARDI, J.; HENGL, L.; HIMBERT, J. - Antitubercular chemotherapy. I. Thiosemicarbazones. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, Paris, 957-62, 1953.
- LIU, W. - C. & CHÊN, M. - C. - The synthesis of furacin and 5-nitrofurfural diacetate. *Chem. World*, Shanghai, 13:55-8, 1958. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 54:24.628e, 1960.
- LOWRY, H. T. & RICHARDSON, K. S. - *Mechanism and theory in organic chemistry*, New York, Harper & Row, 1976, p. 141 e 405-16.
- MAIN, R. J. - Nitrofurans - A new type of antibacterial agent. *J. Am. Pharm. Assoc.*, Washington, 36:317-20, 1947.

- McCALLA, D. R.; REUVERS, A.; KAISER, C. - Mode of action of nitrofurazone. *J. Bacteriol.*, Baltimore, 104:1126-34, 1970.
- MIGNOT, A.; MIOCQUE, M.; BINET, P.; RAPIN, J. - P.; RINJARD, P.; ROUX, M.; CALS, M. - I.; EKINDJIAN, J. - C. - Thiosemicarbazones d'aldehydes aromatiques antiinflammatoires: pharmacologie, etude pharmacocinétique préliminaire, action sur le fibroblaste en culture. *Eur. J. Med. Chem. - Chim. Ther.*, Paris, 15:33-40, 1980.
- MIMA, R. - Furfural derivatives. *Japan 1533*, 17 de maio de 1950, Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 48:9407b, 1954.
- MIYATAKE, K. - Azine compounds. III. Synthesis of aldazines an thiosemicarbazones. *Yakugaku Zasshi*, Tokyo, 72:1162-4, 1952.
- MORRISON, R. T. & BOYD, R. N. - *Organic chemistry*, 5th ed., New York, Allyn and Bacon, 1987, p. 772.
- MOSCOVICI, R.; FERRAZ, J. P.; NEVES, E.; TOGNOLI, J. O.; EL SEOUD, M. I. & AMARAL, L. do - mechanism and catalysis for phenylhydrazone formation from aromatic heterocyclic aldehydes. *J. Org. Chem.*, Washington, 41:4093-93, 1976.
- MOSCOVICI, R.; OKANO, V.; AMARAL, A. T. do & AMARAL, L. do - kinetics and mechanism for pyridinecarboxaldehyde phenylhydrazone formation. *J. Org. Chem.*, Washington, 47:5157-60, 1982.
- NAKANISH, K. - *Infrared absorption spectroscopy*, 5th ed., San Francisco, Hal-den-Day, 1962.
- NARDI, D.; MASSARAN, E.; TAJANA, A.; DEGEN, L.; MAOISTRETTI, M. J. - Anti-bacterial nitrofuran derivatives. I. 5-nitro-2-furaldehyde semicarbazones and thiosemicarbazones. *J. Med. Chem.*, Washington, 10:530-3, 1967.
- NITTA, Y.; IDE, J.; OGIKUBO, N. - Degradation product of glucuronamide. *Yakugaku Zasshi*, Tokyo, 82:1057-9, 1962.
- NISHIMURA, Y. - Antituberculous compounds. I. Synthesis of p-acetamidocinnaldehydethiosemicarbazone. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, Tokyo, 25:54-56, 1952.

- NOVIKOV, S. S.; SOLO'EV, V. N.; OVCHEROV, K. E.; KHMEL'NITSKII, L. I.; NOVIKOVA, T. S.; KONYAEV, G. A.; BORISOVA, N. N. - Physiological activity of simple nitrofuran derivatives. *Nitro Compds., Proc. Intern. Symp*, Warsaw, 519-31, 1963. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 64:8869b, 1966.
- ODDO, F. G. & EATON, M. D. - *In vivo* reversal by cysteine of the virustatic effect of a nitrofuran. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, New York, 81:197-200, 1952.
- OKA, K. *et al* - 5-Nitrofurfural semicarbazone. *Japan 1813*, 21 de junho de 1950. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 47:P1744h,i, 1953.
- OKANO, V.; BASTOS, M. P.; AMARAL, L. do - Mecanismo da reação de semicarbazida com piridinóxido-4-carboxaldeído. *An. Farm. Quím. de São Paulo*, São Paulo, 20:157-71, 1980.
- OKANO, V.; BASTOS, M. P.; AMARAL, L. - Kinetics and mechanism for pyridine N-oxidecarboxaldehyde phenylhydrazine formation. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 102:4155-59, 1980.
- OMAR, A. M. M. E.; KHAWASS, S. M. El - ; MAKAK, A. B.; BAKRY, N. M.; DAABEES, T. T. - Steroidal derivatives. *Pharmazie*, Berlin, 33:577-80, 1978.
- ORDER, R. B. & LINDWALL, H. G. 3-Indolealdehyde and certain of its condensation products. *J. Org. Chem.*, Washington, 10:128-33, 1945.
- PACKHANIAN, A. - Chemotherapy of experimental ~~Craig's~~ disease with nitrofuran compounds. *Antibiot. Chemother.*, Washington, 7:13-23, 1957.
- PALMER, J. L. & JENCKS, W. P. - Nonenforced concerted general acid catalysis of the dehydration step in formaldehyde thiosemicarbazone formation. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 102:6466-72, 1980.
- PAUL, M. A. & LONG, F. A. - H_0 and related indicator acidity functions. *Chem. Rev.*, Washington, 57:1-45, 1957.
- PAVON, J. M. & PINO, F. - The use of furfural thiosemicarbazone for the gravimetric determination of palladium. *Talanta*, London, 20:339-42, 1973.
- PERRIN, D. D. - *Buffers for pH and metal ion control*, London, Chapman and Hall, 1974.

- POWERS, L. J. & MERTES, M. P. - Antibacterial activity of nitrobenzofurans. *J. Med. Chem.*, Washington, 13:1102-5, 1970.
- PRETCH, E.; CLERC, T.; SEIBL, J.; SIMON, W. - *Tablas para la elucidacion estructural de compuestos organicos por metodos espectroscopicos*, Madrid, Alhambra, 1885.
- PUTILOVA, I. N.; BALEZIN, S. A.; ARUNOV, R. I.; BARANNIK, V. P. - Inhibitors of acid corrosion. *U. S. S. R. 123.385*, 23 de outubro de 1959. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 54:P7520c, 1960.
- RAFFAUF, R. F. - (to Eaton Laboratories, Inc.) 5-Nitro-2-furfuraldehyde semicarbazone. *U. S. 2.548.173*, 14 de outubro de 1950. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 45:P8559e, 1951.
- RAFFAUF, R. F. - (to Eaton Laboratories, Inc.) 5-Nitrofurfuraldehyde thiosemicarbazone, *Brit. 698.271*, 14 de outubro de 1951. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 49:1815c, 1955.
- REDDELIEN, G. - Die Katalytische Wirkungsweise des Zinkchlorids bei der Kondensation aromatischer Ketone mit Aminen. *Ber.*, Berlin, 43:2476-80, 1910.
- REDDELIEN, G. - Über die katalytische Wirkung von Halogenwassertoffsäuren bei Kondensationen. I. Darstellung von Keton-anilen. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* Berlin, 46:2718-23, 1913.
- REICHSTEIN, T. - Aldehydsynthesen: Vergleich der drei einfachsten 5-Gliedrigen Heterocyclen. *Helv. Chim. Acta*, Basel, 13:349-56, 1930.
- REIHSIG, J. & KRAUSE, H. W. - Organic catalysts. LXXIV. Chelate catalysis. *J. Prakt. Chem.*, Leipzig, 31:167-78, 1960.
- ROBERTS, J. L. - Action of hydrazine and methylhydrazine on 1,3-dichloro-4,6-dinitrobenzene and derivatives of the compounds so obtained. *Rec. Trav. Chim.*, The Hague, 56:413-36, 1937.
- RODIONOV, V. M. - Synthesis of bz-quinolinealdehydes. *J. Gen. Chem. U S S R (Engl. Transl.)*, New York, 14:330-6, 1944. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 39:4077 ^{1,2}, 1945.

- ROFFEY, P. & VERGE, J. P. - (to Lilly Industries Ltda). Heterocyclic isothio semicarbazones. *Brit. 1.306.933*, 14 de fevereiro de 1973. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 78:P147.782a, 1973.
- ROSENBERG, S.; SILVER, S. M.; SAYER, J. M.; JENCKS, W. P. - Evidence for two concurrent mechanisms and a kinetically significant proton transfer process in acid-catalyzed O-methyloxime formation. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 96: 7986-97, 1974.
- ROSSI, M. H. & AMARAL, L. do - Cinética e mecanismo de reação entre m-bromo-benzaldeído e hidroxilamina. *Cienc. Cult.*, São Paulo, 35:(7^ª supl.):482, 1984 (Resumo).
- RYSKIEWICZ, E. E. & SILVERSTEIN, R. M. - N-methyl-2-pyrrolealdehyde and N-methyl-2-hydroxymethylpyrrole. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 76:5802-3, 1954.
- SADATAKE, K.; SEKIZAWA, T.; OSE, S.; MATSUMOTO, I.; KAWAM, T. (to Dai Nippon Drug Manufg. Co.) *Japan 180.022*, 13 de setembro de 1949. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 46:P4029a, 1952.
- SADLER, P. W. - Antiviral chemotherapy with isatin- β -thiosemicarbazones and its derivatives. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, New York, 130:71-9, 1965.
- SAH, P. P. T. & DANIELS, T. C. - Thiosemicarbazide as a reagent for the identification of aldehydes, Ketones and quinones. *Rec. Trav. Chim.*, The Hague, 69:1545-56, 1950.
- SAIKACHI, H.; ARAMAKI, Z.; AOKI, T. - Synthesis of furan derivatives. XIV. Condensation of 5-nitrofuranocrolein and 5-nitrofurfural with hydrazides. *Pharm. Bull*, Tokyo, 3:194-9, 1955.
- SAYER, J. M. & COLON, P. - The timing of the proton transfer process in carbonyl additions and related reactions. General acid-catalyzed hydrolysis of imines and N-acylimines of benzophenone. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 102: 3592-3600, 1980.
- SAYER, J. M. & EDMAN, C. - The timing of the proton transfer process in acid catalysed carbonyl addition. Evidence for a preassociation mechanism for catalysis of carbinolamine formation from acetylhydrazide and p-chlorobenzaldehyde. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 101:3010-16, 1979.

- SAYER, J. M. & JENCKS, W. P. - General base catalysis of thiosemicarbazone formation. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 91:6353-61, 1969.
- SAYER, J. M. & JENCKS, W. P. - A second change in rate-determining step and a non linear Brønsted relationship for general base catalysis of 2-methyl thiosemicarbazone formation. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 94:3262-63, 1972.
- SAYER, J. M. & JENCKS, W. P. - Mechanism and catalysis of 2-methyl-3-thiosemicarbazone formation. A second change in rate-determining step and evidence for a stepwise mechanism for proton transfer in a simple carbonyl addition reaction. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 95:5637-49, 1973
- SAYER, J. M. & JENCKS, W. P. - Imine-forming elimination reactions. I. General base and acid catalysis and influence of the nitrogen substituent on rates and equilibria for carbinolamine dehydration. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 95:4277-87, 1982.
- SAYER, J. M.; PINSKY, B.; SCHONBRUNN, A.; WASESTHEIN, W. - Mechanism of carbinolamine formation. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 96:7998-8009, 1974.
- SCHOOG, M. - Studies on the action of nitrofuran derivatives. *Arznein. Forsch.*, Aulendorf, 6:450-4, 1956.
- SHIHO, O. & KANAI, T. - Synthesis of hydrazine derivatives of pyrimidine. *Nippon Kagaku Kaishi*, Tokyo, 73:862-5, 1952.
- SHIHO, D. & TAKAHAYASHI, N. - Synthesis of pyridazine derivatives. I. Synthesis. I. Synthesis of hydrazino derivatives of pyridazine. *Yakugaku Zasshi*, Tokyo, 75:776-8, 1955.
- SHOKHEN, M. A.; TIKHOMIROV, D. A.; YEREMEYEV, - Semi-empirical MO study of reaction mechanism of carbinolamines formation by MINDO/3 method. *Tetrahedron*, Oxford, 39:2975-79, 1983.
- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, R. M.; MORRILL, J. C. - *Spectrometric identification of organic compounds*, 4 th ed., New York, Wiley, 1981.
- SINGH, R. B.; GARG, B. S. ; SINGH, R. P. - Analytical applications of thiosemicarbazones anal semicarbazones: a review. *Talanta*, London, 25:619-32, 1978.

- SKAGIUS, K. - Potential chemotherapeutics. III. Antibacterial activity of some compounds structurally related to 1-benzothiocarbo-2-salicylidene hidrazine. *Antibiot. Chemother.*, Washington, 11:31-36, 1961.
- SOJO, P.; VILORIA, F.; MALAVE, L.; POSSAMAI, R.; CALZADILLA, M.; BAUM RUCKER, J.; MALPICA, A.; MOSCOVICI, R.; AMARAL, L. do - Kinetics and mechanism for addition of amines to formyl-1-methylpyridinium ions. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 98:4519-25, 1976.
- SPRUNG, M. M. - A summary of the reactions of aldehydes with amines. *Chem. Rev.*, Washington, 26:297-338, 1940.
- STACHISSINI, A. S. - *Mecanismo e catálise da formação das hidrazonas do reagente de Girard T.* São Paulo, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, 1984 (Tese de Doutorado).
- STACHISSINI, A. S. & AMARAL, L. do - Efeito da substituição para o benzaldeído sobre a formação de hidrazonas do reagente Girard T. *Atual. Fis. Quim. Org.*, Rio de Janeiro, 1984, p. 117-135.
- STILLMAN, W. P. & SCOTT, A. B. - (to Eaton Laboratories Inc.). Substituted iminenitrofurans. *U. S. 2.416.2.33*, 18 de fevereiro de 1947. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 41:P3488f, 1947.
- STREITWIESER, A., Jr. - *Molecular orbital theory for organic chemists*, New York, Wiley, 1961.
- SUGASAWA, S. & MIZUKAM, K. - Application of Ball reaction to aromatic alcohols. II. *Pharm. Bull.*, Tokyo, 3:393, 1955.
- SWAIN, C. G. & WOROSZ, J. C. - Mechanism of general acid catalysis of addition of amines to carbonyl groups. *Tetrahedron Lett.*, Oxford, 36:3199-202, 1965.
- TAGUCHI, K. & WESTHEIMER, F. H. - Catalysis by molecular sieves in the preparation of Ketimines and enamines. *J. Org. Chem.*, Washington, 36:1570-70, 1971.
- TAKAMI, T. & UENO, M. - Furfural derivative *Japan. 180.146*. 6 de setembro de 1948. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 48:9407b, 1954.

- TANIYAMA, H. & TANAKA, Y. - Antimicrobial activity of thiosemicarbazone and related compounds. *Yakugaku Kenkyu*, Osaka, 36:319-28, 1965.
- TARTLER, G.; WEVFFEN, W.; HERMANN, B. - Fungistatic properties of some 5-nitrofuraldehyde derivatives. *Pharmazie*, Berlin, 18:495-6, 1963.
- TEXIER-BOULLET, F. - A simple, conuent and mild synthesis of imines on a alumina surface without solvent. *Synthesis*, New York, 679-81, 1985.
- THEUS, P. M. & TIEDT, H. - Nitrothiophene and nitrofuran derivatives. V. Degradation of some 5-nitrothiophene and 5-nitrofuran derivatives by *Esche richia coli* in synthetic nutrient medium. *Arch. Pharm.*, Weinheim, 301: 424-31, 1968.
- TONO, S. & UENO, M. - Furfural derivative *Japan 180.357*, 21 de setembro de 1949. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 48:9407b, 1954.
- UENO, R. - 5-nitro-2-furfural-4-(2-hydroxylthylsemicarbazone. *Japan 5283*, 12 de dezembro de 1954. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 48:9407b, 1954.
- UMEZAWA, O.; KOBAYASHI, F.; KAMETAN, T. - Antimicrobial effect of 2-substituted-5-nitrothiophene derivatives. *Yakugaku kenkyu*, Osaka, 35:265-63, 1963.
- VOGEL, A. I. - *Text-book of practical organic chemistry*, 4th ed., London, Longmans, 1978, p. 1112.
- WAGNER, W. H. & WINKELMANN, E. - Untersuchungen über die tuberkulostatische wirksamkeit neuartiger Benzaldehyd und Thiophenaldehyd - thiosemicarbazone *in vitro* und *in vivo*. *Arzneim. Forsch.*, Aulendorf, 22:1713-16, 1972.
- WARD, W. C. & DODD, M. C. - A comparative study of the *in vitro* bacteriostatic action of some simple derivatives of furan, thiophene and pyrrole. *J. Bacteriol.*, Baltimore, 56:649-52, 1948.
- WARD, W. C.; PRYNITHERCH, J. P.; CRAMER, D. L. - *In vitro* fungistatic action of some nitrofuran derivatives. *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, Washington, 37: 317-19, 1948.
- WELLER, L. E.; SELL, H. M.; GOTTSALL, R. Y. - 3-Indolecarboxaldehyde thiosemi carbazone, a new antituberculous compounds. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 76:1959, 1954.

- WENKERT, E.; UDELHOFEN, J. H.; BHATTACHARYA, N. K. - 3-hydroxymethyleneoxindole and its derivatives. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, 81:3763-8, 1959.
- WILEY, R. H. & IRICK, G. - Methyl and dimethylhydrazones. *J. Org. Chem.*, Washington, 24:1925-8, 1959.
- WILSON, H. R.; REVANKAR, G. R.; TOLMAN, R. L. - *In vitro* and *in vivo* activity of certain thiosemicarbazones against *Trypanosoma cruzi*. *J. Med. Chem.* Washington, 17:760-61, 1974.
- WOLINSKY, E.; WETZEL, V.; STEENKENJR, W. - Tuberculostatic effect of Furacin *in vitro* and *in vivo*. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, New York, 70:483-7, 1949.
- YANKOV, L. - Preparation of 5-nitro-furaldehyde semicarbazone (furacilin). *Farmatsiya*, Sofia, 13:27-30, 1963.
- YONEDA, F. & NITTA, Y. - Electronic structure and antibacterial activity of nitrofurans derivatives, *Chem. Pharm. Bull.*, Tokyo, 12:1264-1268, 1964.
- YOSHINA, S. - Diphenylfuro [3,2-c]pyrazoles. *Japan Kokai* 76.125.396, 1 de novembro de 1976. Apud: *Chem. Abstr.*, Columbus, 87:P53.275w, 1977.
- ZSOLNAI, T. - New fungistatic compounds. VI. Hydrazine derivatives and organic bases or their salts. *Biochem. Pharmacol.*, Oxford, 11:995-1016, 1962.
- ZUMAN, P. & PATEL, R. C. - *Techniques in organic reaction kinetics*, New York, Wiley, 1984.