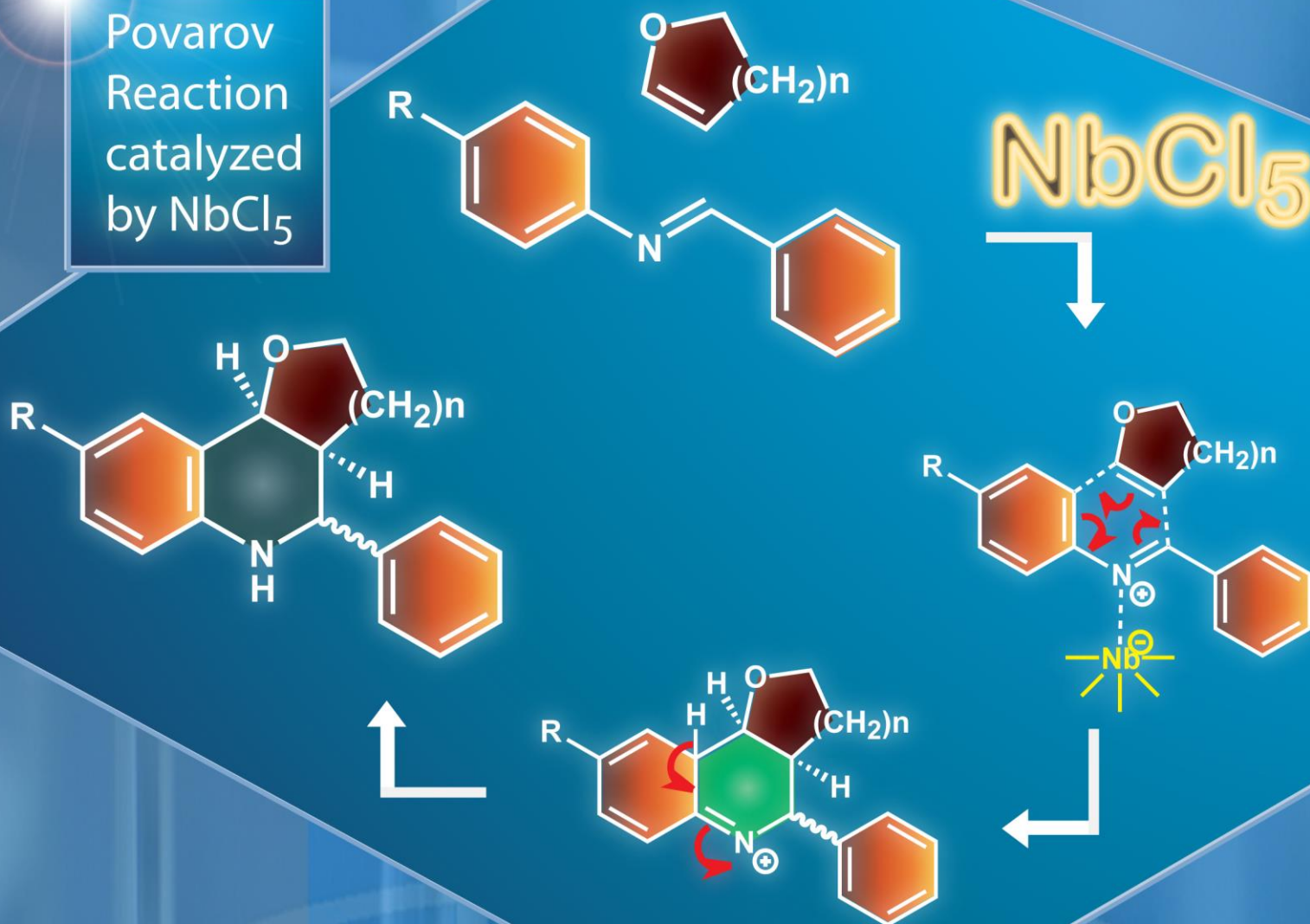


JANUARY-MARCH  
2011  
VOLUME 3  
NUMBER 1

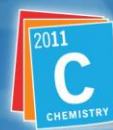
# Orbital

The Electronic Journal of Chemistry

Povarov  
Reaction  
catalyzed  
by  $\text{NbCl}_5$



Published by the  
Department of Chemistry of the Federal  
University of Mato Grosso do Sul.  
Campo Grande, BRAZIL



International Year of  
**CHEMISTRY**  
2011

**UFMS**

# Orbital - Vol. 3 No. 1 - January-March 2011

## Table of Contents

### FULL PAPERS

|   |       |
|---|-------|
| <u>Estudos sobre o uso do NbCl<sub>5</sub> como ácido de Lewis em reações de Povarov</u>  |       |
| <i>Luiz Carlos Silva-Filho, Mayara Frenhe</i>   | 1-14  |
| <u>Assessing the binding affinity of a selected class of DPP4 inhibitors using chemical descriptor-based multiple linear regression</u> |       |
| <i>Jose Isagani Janairo, Gerardo Janairo, Frumencio Co, Derrick Ethelbherth Yu</i>  | 15-23 |
| <u>Derivative spectrophotometric determination of uranium (VI) using diacetyl monoxime isonicotinoyl hydrazone (DMIH)</u>               |       |
| <i>ChandraSekhar Reddy Gadikota, N. Devanna, K. B. Chandrasekhar</i>  | 24-31 |
| <u>Synthesis of some new series of Mannich base derivatives and their antimicrobial activity</u>  |       |
| <i>Radha Krishnan Surendra Kumar, Akbar Idhayadhulla, Jamal Abdul Nasser</i>  | 32-38 |

### PAPERS ON EDUCATION

|   |       |
|---|-------|
| <u>História da Ciência como princípio da aplicação e análise de uma proposta de ensino para o conteúdo conservação de massa</u> |       |
| <i>Marilyn A. Errobidarte de Matos</i>  | 39-52 |

### SHORT COMMUNICATIONS

|  |       |
|--|-------|
| <u>Synthesis And characterization of 1-[(N-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)thioamido]-5-substituted-2-imino-4-thiobiuret</u> |       |
| <i>Rahul Ashokrao Bhagwatkar, Dipak Tukaram Tayade</i>   | 53-56 |



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 3.0 License](https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/).

## Estudos sobre o uso do $\text{NbCl}_5$ como ácido de Lewis em reações de Povarov

Luiz Carlos da Silva Filho\* e Mayara Frenhe

Departamento de Química, Faculdade de Ciências, Universidade Estadual Paulista, Av. Eng. Luiz Edmundo Carrijo Coube, 14-01, 17033-360, Bauru, SP, Brasil

Received: 02 November 2010; revised: 23 December 2010; accepted: 02 February 2011.  
Available online: 26 August 2011.

**ABSTRACT:** The aim of this work was to investigate the use of  $\text{NbCl}_5$  as Lewis acid in cycloaddition reactions [Reaction Aza-Diels-Alder (Povarov)] between Schiff bases and enol ethers. Comparison of reaction yields, obtained products as well as reaction time with  $\text{NbCl}_5$  were also a key point on this work. In the aza-Diels-Alder reactions between Schiff bases and enol ethers (dihydropyran or dihydrofuran), the  $\text{NbCl}_5$  was an excellent catalyst for the synthesis of pyrano- and furanoquinoline derivatives. These derivatives are an important class of natural products that exhibit wide range of biological activity. The reactions were carried out at low concentration of niobium and in relatively short times, resulting in yields varying from 78 to 95%.

**Keywords:** niobium pentachloride; Povarov reactions; tetrahydroquinoline derivatives; aza-Diels-Alder reactions

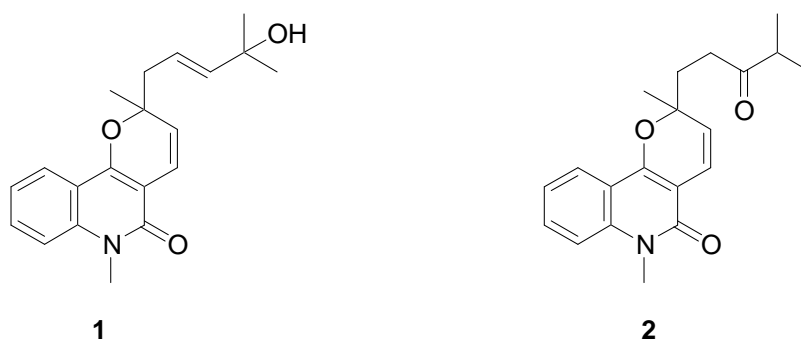
### Introdução

Derivados de tetraidroquinolinas constituem uma importante classe de produtos naturais apresentando diferentes atividades biológicas [1]: psicotrópico [2], antialérgico [3], antiinflamatório[4] e atividade estrogênica [5]. Os derivados de piranoquinolinas alvos de nossos estudos também apresentam potencial farmacológico [6]. Entre os compostos conhecidos e de atividade comprovada podemos citar o simulenolino (**1**) e o huajiasimulino (**2**) [7] (Figura 1), extraídos da *Zanthoxylum simulans*, um arbusto encontrado na China e em Taiwan, sendo estes potentes inibidores plaquetários.

Estudos recentes na literatura [8] mostram que derivados de tetraidroquinolinas

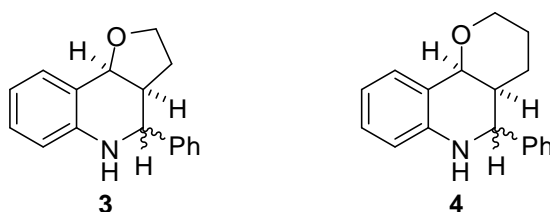
\* Corresponding author. E-mail: [lcsilva@fc.unesp.br](mailto:lcsilva@fc.unesp.br)

obtidas através de reações de Povarov tem grande aplicabilidade como agentes anti-câncer, através da inibição das cinesinas mitóticas, enzimas responsáveis pela divisão celular, também apresentam atividades no tratamento do mal de Alzheimer, através da inibição da enzima acetilcolinesterase, um mediador químico necessário para transmissão do impulso nervoso e responsável pela degradação da acetilcolina, um importante neurotransmissor.



**Figura 1:** estrutura simulenolono (**1**) e o huajiaosimulino (**2**).

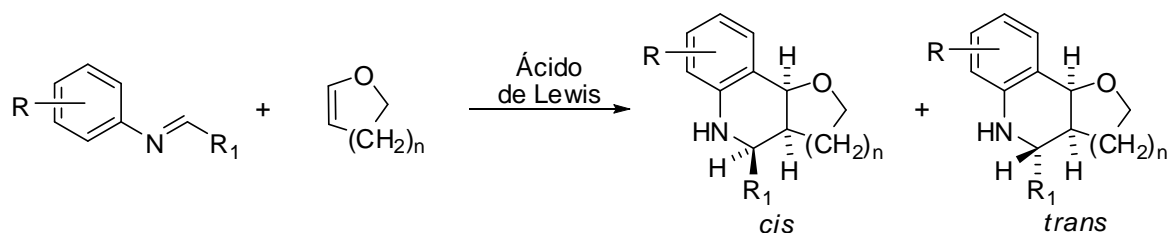
A reação [4+2] de cicloadição de *N*-aril iminas (bases de Schiff) com olefinas nucleofílicas é um dos métodos mais convenientes de preparação de derivados de tetraidroquinolinas, que geralmente é catalisada por ácidos de Lewis. Éteres enólicos como 2,3-diidrofurano e 3,4-diidropirano são os dienófilos mais usados em reações de aza-Diels-Alder desde os trabalhos pioneiros de Povarov [9-13]. A utilização desses éteres enólicos no processo de cicloadição permite preparar diversos derivados de furano-[3,2-*c*]-quinolinas (**3**) e pirano-[3,2-*c*]-quinolinas (**4**) que apresentam estereoquímica *cis*, entre os hidrogênios, na junção dos anéis (Figura 2).



**Figura 2:** Estereoquímica dos derivados de tetraidroquinolinas

Este tipo de reação de cicloadição [4+2] pode ser encontrado na literatura com diversos nomes, como por exemplo: hetero Diels-Alder, aza-Diels-Alder ou imino-Diels-Alder [14]. Vários ácidos de Lewis são normalmente utilizados para catalisar tais reações, como:  $\text{InCl}_3$ ,  $\text{LiBF}_4$ , e  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  [15], onde são formados geralmente isômeros com estereoquímica *cis* e *trans* entre os hidrogênios (Esquema 1), apresentando diferentes proporções entre os isômeros formados dependendo das condições utilizadas, os

produtos formados podem ser separados facilmente em coluna cromatográfica de sílica-gel.



**Esquema 1.** Reação de Povarov entre bases de Schiff e éteres enólicos catalisados por ácidos de Lewis.

Devido à aplicabilidade de diversos ácidos de Lewis neste tipo de reação, neste trabalho relatamos nossos estudos sobre o uso do pentacloreto de nióbio (NbCl<sub>5</sub>) como catalisador em reações de Povarov. O pentacloreto de nióbio é um reagente oxofílico, e tem mostrado ser um poderoso agente ativante em várias reações orgânicas [16], entre suas aplicações podemos citar reações do tipo: alilação de aldeídos e iminas, adições nucleofílicas a íons *N*-acil-imínio, reações aldólicas e aza-aldólicas, reação de Sakurai, síntese de  $\gamma$ -ceto-ésteres, reações de acoplamento cruzado, reações de acoplamento de compostos carbonílicos, reações de redução, entre outras [16, 17].

Em nossos estudos foram realizadas as reações de Povarov entre bases de Schiff e éteres enólicos, para a síntese de derivados de tetraidroquinolinas, na presença de NbCl<sub>5</sub>, sendo utilizadas diferentes tipos de anilina substituídas na preparação das bases de Schiff.

## Material e Métodos

Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz) e de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz) foram obtidos em um espectrômetro Bruker DPX-300 utilizando CDCl<sub>3</sub> como solvente, os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) estão relatados em parte por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano (TMS), utilizado como padrão interno, e colocando-se entre parênteses a multiplicidade (s= singleto, sl= singleto largo, d= dubleto, t= tripleto, dd= duplo dubleto, ddd= duplo duplo dubleto, dddd= duplo duplo duplo dubleto, dt= duplo tripleto, ddt= duplo duplo tripleto, dtd= duplo triplo dubleto, tt= triplo tripleto, m= multipleto), a constante de acoplamento (*J*) em Hertz (Hz) e o número de hidrogênios deduzidos da integral relativa.

As análises por cromatografia em camada delgada (ccd) foram feitas com placas de sílica gel 60 da Merck®. Purificações por cromatografia em coluna foram realizadas utilizando sílica gel 60 (70-230 mesh) da Merck®.

Os solventes e reagentes comerciais foram convenientemente purificados conforme métodos usuais [18].

**Procedimento geral para a preparação das Bases de Schiff**

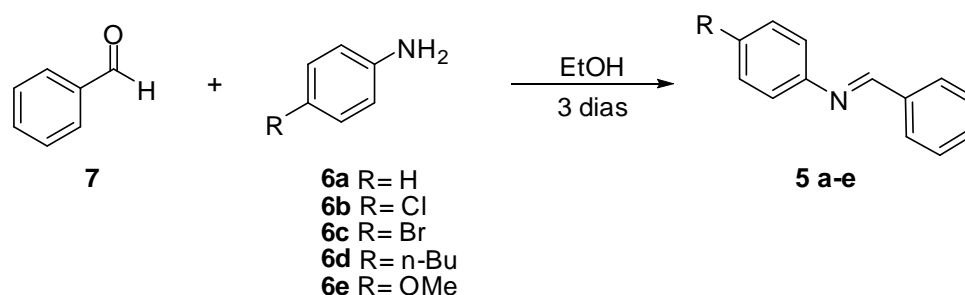
Em um balão de uma boca de 100 mL, contendo 20 mmols da anilina de interesse e 30,0 mL de EtOH foram adicionados 20 mmols de benzaldeído. A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética por um período de 3 dias, dependendo do substrato utilizado. Em seguida evaporou-se o solvente a pressão reduzida, obtendo-se apenas o produto de interesse.

**Procedimento geral para as reações de aza-Diels-Alder entre as bases de Schiff e 2,3-di-hidrofurano e 3,4-di-hidropirano na presença  $NbCl_5$** 

Para uma solução de  $NbCl_5$  (0,5 eq.) em 1,0 mL de solvente anidro ( $CH_3CN$ ) foi adicionada uma solução da base de Schiff (1 mmol) junto com o éter enólico (3,4-dihidropirano ou 2,3-di-hidrofurano) (2 mmol) em 1,0 mL de solvente anidro ( $CH_3CN$ ). A adição foi feita à temperatura ambiente. O tempo de reação variou de 1 a 5 minutos. Em seguida adicionou-se solução aquosa de  $NaHCO_3$  concentrado (2,0 mL). As fases foram separadas e a fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de  $NaHCO_3$  (3 x 20,0 mL) e com solução aquosa saturada de  $NaCl$  (2 x 20,0 mL), secou-se sob  $MgSO_4$  anidro, e em seguida evaporou-se o solvente a pressão reduzida. Os produtos formados na reação foram separados por cromatografia de coluna em sílica gel, eluindo-se com hexano:acetato de etila, 9,5:0,5, ou 9,0:1,0 dependendo do produto obtido.

**Resultados e Discussão**

Primeiramente, foi realizada a preparação das bases de Schiff **5a-e** utilizadas em nossos estudos. Neste trabalho realizamos a variação nos substituintes da anilina utilizada na preparação da base de Schiff, para isso utilizamos os derivados de anilina **6a-e**. As bases de Schiff **5a-e** foram preparadas através da reação entre derivados de anilina **6a-e** e benzaldeído (**7**), como descrito na literatura [19], dissolvendo-se os reagentes em etanol, em quantidades equimolares e deixando-se reagir por 3 dias, à temperatura ambiente, sob agitação (Esquema 2). Os resultados obtidos para cada base de Schiff preparada [20-24] estão mostrados na Tabela 1.



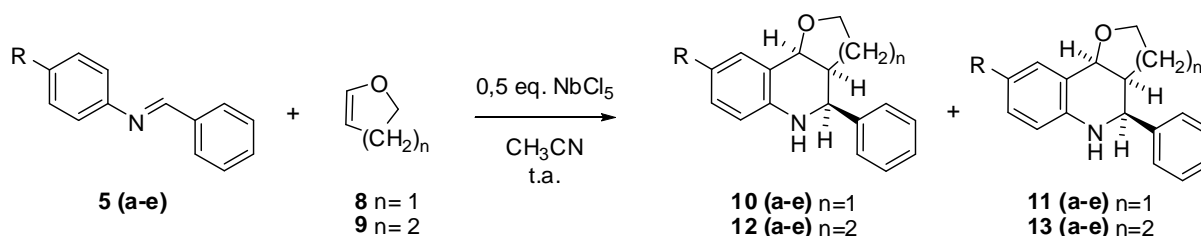
**Esquema 2.** Preparação das bases de Schiff.

**Tabela 1.** Preparação das bases de Schiff **5a-e**

| Anilina   | Tempo (h) | Rendimento (%) | Base de Schiff |
|-----------|-----------|----------------|----------------|
| <b>6a</b> | 120       | 97,5           | <b>5a</b>      |
| <b>6b</b> | 120       | 98             | <b>5b</b>      |
| <b>6c</b> | 120       | 99             | <b>5c</b>      |
| <b>6d</b> | 120       | 99             | <b>5d</b>      |
| <b>6e</b> | 120       | 98             | <b>5e</b>      |

Após a preparação das bases de Schiff, as reações Povarov foram realizadas na presença de 0,5 equivalentes de  $\text{NbCl}_5$ , utilizando os éteres enólicos cíclicos: 2,3-diidrofurano (**8**) e 3,4-diidropirano (**9**). As reações foram realizadas sob atmosfera de  $\text{N}_2$ , à temperatura ambiente, utilizando  $\text{CH}_3\text{CN}$  anidra como solvente, e para o acompanhamento das reações foram realizadas cromatografias em camada delgada, retirando-se alíquotas minuto a minuto da mistura reacional, verificando-se o consumo da base de Schiff utilizada. Os produtos obtidos foram isolados e caracterizados através de métodos espectroscópicos e espectrométricos [25-43], e as proporções dos produtos formados foram obtidas através dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  da amostra reacional bruta.

Os resultados obtidos estão listados no Esquema 3 e na Tabela 2.

**Tabela 2:** Dados obtidos para a reação de Povarov entre as bases de Schiff **5a-e** com 2,3-di-hidrofurano (**8**) e 3,4-di-hidropirano (**9**) na presença de 0,5 eq. de  $\text{NbCl}_5$ 

| Base de Schiff | Éter enólico | Tempo (min) | Rendimento (%) | Proporção dos produtos              |
|----------------|--------------|-------------|----------------|-------------------------------------|
| <b>5a</b>      | <b>8</b>     | 3           | 87             | 45 : 55 ( <b>10a</b> : <b>11a</b> ) |
| <b>5a</b>      | <b>9</b>     | 1           | 92             | 44 : 56 ( <b>12a</b> : <b>13a</b> ) |
| <b>5b</b>      | <b>8</b>     | 1           | 95             | 44 : 56 ( <b>10b</b> : <b>11b</b> ) |
| <b>5b</b>      | <b>9</b>     | 1           | 93             | 40 : 60 ( <b>12b</b> : <b>13b</b> ) |
| <b>5c</b>      | <b>8</b>     | 3           | 80             | 38 : 62 ( <b>10c</b> : <b>11c</b> ) |
| <b>5c</b>      | <b>9</b>     | 3           | 93             | 39 : 61 ( <b>12c</b> : <b>13c</b> ) |
| <b>5d</b>      | <b>8</b>     | 3           | 78             | 59 : 41 ( <b>10d</b> : <b>11d</b> ) |
| <b>5d</b>      | <b>9</b>     | 3           | 95             | 48 : 52 ( <b>12d</b> : <b>13d</b> ) |
| <b>5e</b>      | <b>8</b>     | 1           | 88             | 50 : 50 ( <b>10e</b> : <b>11e</b> ) |
| <b>5e</b>      | <b>9</b>     | 5           | 80             | 44 : 56 ( <b>12e</b> : <b>13e</b> ) |

Como observado na Tabela 2, o  $\text{NbCl}_5$  é um ótimo ácido de Lewis para reações entre bases de Schiff e éteres enólicos, para síntese de derivados de tetraidroquinolinas. Nota-se que mesmo variando o tipo do substituinte do mesmo na estrutura da base de Schiff **5a-e** as reações se processam rapidamente se comparado com outros ácidos de Lewis descritos na literatura [15]. A comparação dos resultados com  $\text{NbCl}_5$  e outros ácidos de Lewis é mostrado nas tabelas 3 e 4.

**Tabela 3.** Comparação entre os dados da literatura e os obtidos com  $\text{NbCl}_5$ , para a reação entre as Bases de Schiff **5a**, **5b**, **5c** e **5e** com 3,4-di-hidropirano (**9**).

| Base de Schiff | Ácido de Lewis                     | Tempo (min) | Proporção dos produtos<br>12 (a-e) / 13 (a-e) | Rendimento (%) |
|----------------|------------------------------------|-------------|---|----------------|
| <b>5a</b>      | $\text{NbCl}_5$                    | 1           | 44 / 56                                       | 92             |
| <b>5a</b>      | $\text{LiBF}_4$                    | 120         | 15 / 85                                       | 88             |
| <b>5a</b>      | $\text{InCl}_3$                    | 30          | 41 / 59                                       | 80             |
| <b>5a</b>      | $\text{K10/Fe}^{3+}$               | 1020        | 42 / 58                                       | 86             |
| <b>5a</b>      | $\text{ZrCl}_4$                    | 180         | 30 / 70                                       | 82             |
| <b>5a</b>      | $\text{PPh}_3 \cdot \text{HClO}_4$ | 30          | 73 / 27                                       | 91             |
| <b>5a</b>      | $\text{BiCl}_3$                    | 15          | 30 / 70                                       | 95             |
| <b>5a</b>      | $\text{InCl}_3$                    | 30          | 41 / 59                                       | 80             |
| <b>5a</b>      | Nitrato de Uréia                   | 10          | 33 / 67                                       | 74             |
| <b>5b</b>      | $\text{NbCl}_5$                    | 1           | 40 / 60                                       | 93             |
| <b>5b</b>      | $\text{InCl}_3$                    | 30          | 34 / 66                                       | 50             |
| <b>5b</b>      | $\text{PPh}_3 \cdot \text{HClO}_4$ | 25          | 45 / 55                                       | 93             |
| <b>5b</b>      | Nitrato de Uréia                   | 10          | 32 / 68                                       | 78             |
| <b>5c</b>      | $\text{NbCl}_5$                    | 1           | 39 / 61                                       | 93             |
| <b>5c</b>      | $\text{ZrCl}_4$                    | 180         | 33 / 67                                       | 76             |
| <b>5c</b>      | $\text{BiCl}_3$                    | 25          | 15 / 85                                       | 91             |
| <b>5e</b>      | $\text{NbCl}_5$                    | 5           | 44 / 56                                       | 80             |
| <b>5e</b>      | $\text{ZrCl}_4$                    | 180         | 28 / 72                                       | 75             |
| <b>5e</b>      | $\text{InCl}_3$                    | 240         | 58 / 42                                       | 70             |
| <b>5e</b>      | $\text{PPh}_3 \cdot \text{HClO}_4$ | 30          | 51 / 49                                       | 95             |

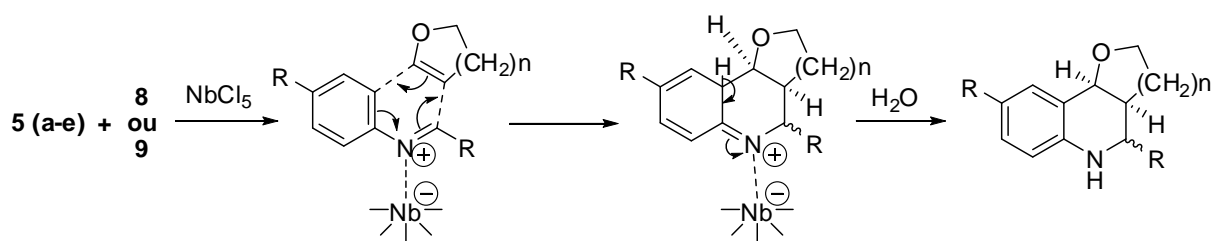
**Tabela 4.** Comparação entre os dados da literatura e os obtidos com  $\text{NbCl}_5$ , para a reação entre a Base de Schiff **5a** e **5b** com 2,3-di-hidrofurano (**8**).

| Base de Schiff | Ácido de Lewis   | Tempo (min) | Proporção dos produtos<br>10a-b/11a-b | Rendimento (%) |
|----------------|------------------|-------------|---------------------------------------|----------------|
| <b>5a</b>      | $\text{NbCl}_5$  | 3           | 45/55                                 | 87             |
| <b>5a</b>      | $\text{ZrCl}_4$  | 90          | 70/30                                 | 95             |
| <b>5a</b>      | Nitrato de Uréia | 10          | 33/67                                 | 77             |
| <b>5b</b>      | $\text{NbCl}_5$  | 1           | 44/56                                 | 95             |
| <b>5b</b>      | $\text{ZrCl}_4$  | 60          | 77/33                                 | 97             |



Ao se analisar os dados das tabelas 3 e 4 e compararmos os resultados com os demais ácidos de Lewis, podemos notar que o  $\text{NbCl}_5$  é mais ativo para as reações de Povarov, favorecendo a ocorrência das reações em tempos reacionais bastante curtos e com ótimos rendimentos, entretanto, este se mostrou pouco seletivo quanto a proporção dos produtos formados, em comparação aos demais ácidos de Lewis.

A Reação de Povarov, por se tratar de uma reação de aza-Diels-Alder, um provável mecanismo para esta reação é do tipo concertado, confirmado pelo fato de obtermos apenas os produtos de junção *cis* entre o anel quinolínico e o éter cíclico dos derivados de furano- e pirano-quinolinas, como mostrado no Esquema 4.



**Esquema 4:** Mecanismo da reação de Povarov.

## Conclusão

O  $\text{NbCl}_5$  se mostrou um ótimo catalisador para as reações de aza-Diels-Alder (Povarov) entre bases de Schiff e éteres enólicos (diidropirano e diidrofurano) para as sínteses de derivados de tetraidroquinolinas. As reações foram conduzidas com baixas concentrações de nióbio e em tempos relativamente curtos, obtendo-se rendimentos que variaram de 78 a 95%. No geral, os estudos realizados neste trabalho, mostraram que o pentacloreto de nióbio se comporta como um bom catalisador para a maioria das reações estudadas, demonstrando uma boa aplicabilidade do  $\text{NbCl}_5$  como uma nova ferramenta em síntese orgânica.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro. Também agradecemos a CBMM - Companhia Brasileira de Mineralogia e Mineração pelo  $\text{NbCl}_5$  fornecido.

## Referências e Notas

- [1] a) Johnson, J. V.; *et. al. J. Med. Chem.* **1989**, 32, 1942. b) Carling, R. W.; *et. al. J. Med. Chem.* **1992**, 35, 1942. c) Lesson, P. D.; *et. al. J. Med. Chem.* **1992**, 35, 1954. d) Carling, R. W.; *et. al. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, 3, 56. e) Ramesh, M.; *et. al. Tetrahedron* **1984**, 40, 4041.
- [2] Nesterova, I. N.; Alekseeva, L. M.; Golovira, S. M.; Granik, V. G. *Khim-Fram. Zh.*

- 1995**, 29, 31 (Russ).
- [3] Yamada, N.; Kadowaki, S.; Takahashi.; Umezu, K. *Biochem. Pharmacol.* **1992**, 44, 1211.
- [4] Faber, K.; Stueckler, H.; Kappe, T. *Heterocycl. Chem.* **1984**, 21, 1177.
- [5] Akhmed Khodzhaeva, K. S.; Bessonova, I. A. *Dokl. Akad. Nauk. Uzh. SSR.* **1982**, 34 (Russ).
- [6] Mohanmed, E. A. *Chem. Pap.* **1994**, 48, 261.
- [7] McLaughlin, M. J.; Hsung, R. P. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 1049-1053.
- [8] (a) Shi, J.; Orth, J. D.; Mitchison, T. *Cancer Res.* **2008**, 68, 3269; (b) Tsui, M.; Xie, T.; Orth, J. D.; Carpenter, A. E.; Rudnicki, S.; kim, S.; Shamu, C. E.; Mitchison, T. J. *PLoS One* **2009**, 4, e7339; (c) Camps, P.; Formosa, X.; Galdeano, C.; Muñoz-Torrero, D.; Ramirez, I.; Gómez, E.; Isambert, N.; Lavilla, R.; Badia, A.; Clos, m. V.; Bartolini, M.; Mancini, F.; Andrisano, V.; Arce, M. P.; Rodríguez-Franco, M. I.; Huertas, Ó.; Dafni, T.; Luque, F. J. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 5365; (d) Schiemann, K.; Finsinger, D.; Zenke, F.; Amendt, C.; Knöchel, T.; Bruge, D.; Buchtaller, H. P.; Emde, U.; Stähle, W.; Anzali, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, 20, 1491; (e) Gore, V. K.; Ma, V. V.; Yin, R.; Ligutti, J.; Immke, D.; Doherty, E. m.; Norman, M. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, 20, 3573.
- [9] Povarov, L. S.; Mikhailov, B. M. *Izv. Akad. Nauk SSR, Ser. Khim.* **1963**, 953-956.
- [10] Povarov, L. S.; Grigos, V. I.; Mikhailov, B. M. *Izv. Akad. Nauk SSR, Ser. Khim.* **1963**, 2039-2041.
- [11] Povarov, L. S.; Grigos, V. I.; Karakhanov, R. A.; Mikhailov, B. M. *Izv. Akad. Nauk SSR, Ser. Khim.* **1964**, 179-186.
- [12] Grigos, V. I.; Povarov, L. S.; Mikhailov, B. M. *Izv. Akad. Nauk SSR, Ser. Khim.* **1965**, 2163-2171.
- [13] Povarov, L. S.; Mikhailov, B. M. *Izv. Akad. Nauk SSR, Ser. Khim.* **1964**, 2221-2222.
- [14] a) Smith, M. B. *Organic Synthesis* McGRAW-HILL: New York, 1994, pg. 1149-1156. b) Boger, D. L.; Weinreb, S. M. *Hetero Diels-Alder Methodology in Organic Sythesis*, Academic: San Diego, 1987. c) Fringuelli, F.; Taticchi, A. *Dienes in the Diels Alder Reactions*, Wiley: New York, 1990.
- [15] (a) Kobayashi, S. *Pure Appl. Chem.* **1998**, 1019-1026; (b) Yamamoto, H. *Lewis Acids in Organic Synthesis*; Wiley-VHC: New York, NY, 2000; (c) Kobayashi, S.; Sugiura, M.; Kitagawa, H.; Lam, W. W.-L. *Chem. Rev.* **2002**, 102, 2227-2302. d) Cabral, J.; Laslo, P.; Montaufier, M. T. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 547. e) Gilchrist, T. L.; Stannard, A. M. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 3585. f) Cabral, J.; Laslo, P.; *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 7237. g) Makioka, Y.; Shindo, T.; Tanaguchi, Y. Takaki, K.; Fujiwara, Y. *Synthesis* **1995**, 801. h) Babu, G.; Perumal, P. T. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 3225. i) Babu, G.; Nagarajan, R.; Natarajan, R.; Perumal, P. T. *Synthesis* **2000**, 661. j) Yadav, J. S.; Reddy, B. V. S.; Madhuri, C. R.; Sabitha, G. *Synthesis* **2001**, 1065. k) Anniyappan, M.; Nagarajan, R.; Perumal, P. T. *Synth. Commun.* **2002**, 32, 99. l) Reddy, B. V. S.; Srinivas, R.; Yadav, J. S.; Ramalingam, T.; *Synth. Commun.* **2001**, 31, 1075. m) Nagarajan, R.; Chitra, S.;

- Perumal, P. T.; *Tetrahedron Lett.* **2001**, *57*, 3419. n) Mahesh, M.; Reddy, C. V.; Reddy, K. S.; Raju, P. V. K.; Reddy, V. V. N.; *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 4089.
- [16] (a) Azevedo, N. R.; Andrade, C. K. Z. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 6473; (b) Andrade, C. K. Z.; Oliveira, G.; Azevedo, N. R. *Synthesis* **2002**, 928; (c) Kobayashi, S.; Busujima, T.; Nagayama, S. *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 3491; (d) Andrade, C. K. Z.; Rocha, R. O.; Magalhães, L. A.; Panisset, C. M. A. *Lett. Org. Chem.* **2004**, *1*, 109; (e) Yamamoto, M.; Nakazawa, M.; Kishikawa, K.; Kohmoto, S. *Chem. Comm.* **1996**, *20*, 2353; (f) Roskamp, E. J.; Pedersen, S. F. *J. A. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 6551; (g) Roskamp, E. J.; Pedersen, S. F.; Dragovich, P. S.; Hartung, J. B. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4736; (h) Hartung, J. B.; Pedersen, S. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5468; (i) Furstner, A.; Hupperts, A.; Ptock, A.; Janssen, E. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5215; (j) Szymoniak, J.; Besançon, J.; Moise, C. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 3867; (k) Szymoniak, J.; Besançon, J.; Moise, C. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 2841; (l) Sato, M.; Oshima, K. *Chem. Lett.* **1992**, *5*, 157; (m) Kauffmann, T.; Kallweit, H. *Chem. Ber.* **1992**, *125*, 149; (n) Kataoka, Y.; Takai, K.; Oshima, K.; Utimoto, K. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 365; (o) Andrade, C. K. Z.; Matos, R. A. F. *Synlett* **2003**, *8*, 1189; (p) Maeta, H.; Nagasawa, T.; Handa, Y.; Takei, T. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 899; (q) Howarth, J.; Gillespie, K. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 6011; (r) Howarth, J.; Gillespie, K. *Molecules* **2000**, *5*, 993; (s) Hashimoto, T.; Maeta, H.; Matsumoto, T.; Morooka, M.; Ohba, S.; Suzuki, K. *Synlett.*, **1992**, *4*, 340.
- [17] a) da Silva-Filho, L. C.; Constantino, M. G.; Lacerda Jr.; V., da Silva, G. V. J. *Lett. Org. Chem.* **2004**, *1*, 360. b) da Silva-Filho, L. C.; Constantino, M. G.; Cunha Neto, A.; Heleno, V. C. G.; da Silva, G. V. J.; Lopes, J. L. C. *Spectrochimica Acta Part A* **2004**, *61*, 171. c) da Silva-Filho, L. C.; Constantino, M. G.; Lacerda Jr.; V., da Silva, G. V. J.; Invernize, P. R. *Beil. J. Org. Chem.* **2005**, *1*, 14. d) da Silva-Filho, L. C.; Constantino, M. G.; Lacerda Jr.; V., da Silva, G. V. J.; Invernize, P. R. *Synth. Comm.* **2007**, *37*, 3529. e) da Silva-Filho, L. C.; Constantino, M. G.; Lacerda Jr.; V., da Silva, G. V. J. *Synthesis* **2008**, *16*, 2527. f) da Silva-Filho, L. C.; Constantino, M. G.; Polo, E. C.; da Silva, G. V. J. *Quim. Nova* **2008**, *31*, 763.
- [18] Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F.; Perrin, D. R.; *Purification of Laboratory Chemicals*, 2ª edição, Pergamon Press Ltd: Oxford, 1980.
- [19] a) Neuvonen, K.; Fülöp, F.; Neuvonen, H.; Koch, A.; Kleinpeter, E.; Pihlaja, K. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 2151. b) outros métodos de síntese das bases de Schiff: Katagiri, N.; Miura, Y.; Niwa, R.; Kato, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, *31*, 538. c) Putten, A. V.; Pavlik, J. W. *Tetrahedron* **1971**, *27*, 3007.
- [20] **N-(fenilmetileno)-anilina(5a)**: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,44 (s, 1H); 7,87 – 7,93 (m, 2H); 7,44 – 7,49 (m, 3H); 7,36 – 7,42 (m, 2H); 7,19 – 7,20 (m, 3H); RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 160,4 (CH); 151,9 (C); 136,1 (C); 131,4 (CH); 129,1 (2 CH); 128,8 (2 CH); 128,7 (2 CH); 125,9 (CH); 120,9 (2 CH).
- [21] **N-(fenilmetileno)-4-cloroanilina (5b)**: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,41 (s, 1H); 7,87 – 7,90 (m, 2H); 7,43 – 7,50 (m, 3H); 7,34 (m, 2H); 7,14 (m, 2H); RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 161,2 (CH); 150,9 (C); 136,3 (C); 132,1 (CH); 130,2 (C);

- 129,6 (2 CH); 129,3 (2 CH); 129,2 (2 CH); 122,6 (2 CH).
- [22] **N-(fenilmetileno)-4-bromoanilina (5c)**: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,44 (s, 1H); 7,87 – 7,93 (m, 2H); 7,46 – 7,54 (m, 5H); 7,10 (m, 2H); RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 160,8 (CH); 151,0 (C); 135,9 (C); 132,2 (CH); 131,7 (CH); 129,0 (2 CH); 128,8 (2 CH); 122,6 (3 CH); 119,3 (C).
- [23] **N-(fenilmetileno)-4-n-butylanilina (5d)**: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,49 (s, 1H); 7,88 – 7,93 (m, 2H); 7,45 – 7,51 (m, 5H); 7,18 (m, 2H); 2,64 (t, 2H, *J*=7,8 Hz); 1,59 – 1,66 (m, 2H); 1,34 – 1,42 (m, 2H), 0,95 (t, 3H, *J*= 7,3Hz) RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 159,6 (CH); 149,6 (C); 140,9 (C); 136,4 (C); 131,1 (CH); 129,1 (2 CH); 128,8 (2 CH); 128,7 (CH); 120,8 (2 CH); 115,2 (CH); 35,2 (CH<sub>2</sub>); 33,7 (CH<sub>2</sub>); 22,4 (CH<sub>2</sub>); 14,0 (CH<sub>3</sub>).
- [24] **N-(fenilmetileno)-4-metoxianilina (5e)**: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,47 (s, 1H); 7,89 (m, 2H); 7,46 (m, 3H); 7,24 (m, 2H); 6,93 (m, 2H); 3,82 (s, 3H); RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 158,5 (CH); 158,3 (C); 144,8 (C); 136,4 (C); 131,1 (CH); 128,7 (2 CH); 128,6 (2 CH); 122,2 (2 CH); 114,4 (2 CH); 55,5 (CH<sub>3</sub>).
- [25] **(3aS,4S,9bS)-4-fenil-2,3,3a,4,5,9b-hexa-hidrofurano[3,2-c]quinolina (10a)**: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,47 (d, 1H, *J*<sub>1</sub>= 7,6 Hz); 7,30 – 7,43 (m, 5H); 7,10 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub>= 8,0 e *J*<sub>2</sub>=7,0 Hz); 6,82 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub>= 7,6 e *J*<sub>2</sub>=7,0 Hz); 6,61 (d, 1H, *J*= 8,0 Hz); 5,29 (d, 1H, *J*= 7,9 Hz); 4,71 (d, 1H, *J*= 2,4 Hz); 3,70 – 3,88 (m, 2H); 2,80 (m, 1H); 2,21 (m, 1H); 1,55 (m, 1H); RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 143,9 (C); 141,2 (C); 129,1 (CH); 127,6 (2 CH); 127,3 (CH); 126,6 (CH); 125,5 (2 CH); 121,7 (C); 118,2 (CH); 113,9 (CH); 74,9 (CH); 65,8 (CH<sub>2</sub>); 56,5 (CH); 44,8 (CH); 23,7 (CH<sub>2</sub>).
- [26] **(3aS,4R,9bS)-4-fenil-2,3,3a,4,5,9b-hexa-hidrofurano[3,2-c]quinolina (11a)**: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,37 (d, 1H, *J*= 7,0 Hz); 7,27 – 7,35 (m, 5H); 7,06 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub>= 8,3 e *J*<sub>2</sub>=7,0 Hz); 6,73 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub>= 8,3 e *J*<sub>2</sub>=7,7 Hz); 6,56 (d, 1H, *J*= 7,7 Hz); 4,54 (d, 1H, *J*= 4,9 Hz); 3,96 (m, 1H); 3,77 (m, 1H); 3,74 (d, 1H, *J*= 11,2 Hz); 2,40 (m, 1H); 1,95 (m, 1H); 1,65 (m, 1H); RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 145,8 (C); 142,1 (C); 131,6 (CH); 129,6 (CH); 129,1 (CH); 128,7 (CH); 128,6 (CH); 120,5 (CH); 118,8 (C); 115,1 (CH); 76,63 (CH); 65,6 (CH<sub>2</sub>); 58,2 (CH); 43,8 (CH); 29,3 (CH<sub>2</sub>).
- [27] **(4aS,5S,10bS)-5-fenil-3,4,4a,5,6,10b-hexa-hidro-2H-pirano[3,2-c]quinolina (12a)**: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,35 – 7,44 (m, 5H); 7,30 (m, 1H); 7,09 (dt, 1H, *J*<sub>1</sub>= 7,7 e *J*<sub>2</sub>=0,8 Hz); 6,79 (dt, 1H, *J*<sub>1</sub>= 7,7 e *J*<sub>2</sub>=1,0 Hz); 6,60 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub>= 7,7 e *J*<sub>2</sub>= 0,8 Hz); 5,33 (d, 1H, *J*= 5,6 Hz); 4,69 (d, 1H, *J*= 2,3 Hz); 3,85 (NH, 1H); 3,58 (m, 1H); 3,43 (dt, 1H, *J*<sub>1</sub>= 11,6 e *J*<sub>2</sub>=2,5 Hz); 2,16 (m, 1H); 1,47-1,58 (m, 2H); 1,43 (m, 1H); 1,31 (m, 1H); RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 145,6 (C); 141,5 (C); 129,2 (CH); 128,8 (CH); 128,7 (CH); 128,5 (CH); 128,0 (CH); 127,9 (CH); 127,2 (CH); 120,3 (C); 118,7 (CH); 114,8 (CH); 73,2 (CH); 61,0 (CH<sub>2</sub>); 59,7 (CH); 39,3 (CH); 25,8 (CH<sub>2</sub>); 18,4 (CH<sub>2</sub>).
- [28] **(4aS,5R,10bS)-5-fenil-3,4,4a,5,6,10b-hexa-hidro-2H-pirano[3,2-c]quinolina (13a)**: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,30 – 7,44 (m, 5H); 7,22 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub>= 7,7 e *J*<sub>2</sub>= 1,3 Hz); 7,09 (dt, 1H, *J*<sub>1</sub>= 7,7 e *J*<sub>2</sub>=1,3 Hz); 6,71 (dt, 1H, *J*<sub>1</sub>= 7,3

- e  $J_2 = 0,7$  Hz); 6,53 (dd, 1H,  $J_1 = 7,7$  e  $J_2 = 0,7$  Hz); 4,72 (d, 1H,  $J = 10,9$  Hz); 4,39 (d, 1H,  $J = 2,8$  Hz); 4,10 (dt, 1H,  $J_1 = 11,4$  e  $J_2 = 2,3$  Hz); 3,72 (dt, 1H,  $J_1 = 11,4$  e  $J_2 = 2,5$  Hz); 2,11 (m, 1H); 1,84 (tdt, 1H,  $J_1 = 13,4$ ;  $J_2 = 12,4$  e  $J_3 = 4,5$  Hz); 1,65 (tt, 1H,  $J_1 = 13,4$  e  $J_2 = 4,5$  Hz); 1,47 (m, 1H); 1,33 (m, 1H); RMN- $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  145,1 (C); 142,7 (C); 131,3 (CH); 129,8 (CH); 129,0 (2 CH); 128,3 (2 CH); 128,2 (CH); 121,0 (C); 117,9 (CH); 114,5 (CH); 74,9 (CH); 69,0 ( $\text{CH}_2$ ); 55,2 (CH); 39,3 (CH); 24,5 ( $\text{CH}_2$ ); 22,4 ( $\text{CH}_2$ ).
- [29] **(3aS,4S,9bS)-8-cloro-4-fenil-2,3,3a,4,5,9b-hexa-hidrofurano[3,2-c]quinolina (10b)**: RMN- $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,30 – 7,47 (m, 6H); 7,03 (dd, 1H,  $J_1 = 8,6$  e  $J_2 = 2,3$  Hz); 6,53 (d, 1H,  $J = 8,6$  Hz); 5,22 (d, 1H,  $J = 7,8$  Hz); 4,69 (d, 1H,  $J = 3,0$  Hz); 3,83 (dt, 1H,  $J_1 = 8,6$  e  $J_2 = 3,0$  Hz); 3,73 (m, 1H); 2,77 (m, 1H); 2,17 (m, 1H); RMN- $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  143,3 (C); 141,7 (C); 129,7 (CH); 128,8 (C); 128,7 (2 CH); 128,7 (C); 128,3 (CH); 127,8 (CH); 126,5 (2 CH); 116,1 (CH); 75,5 (CH); 66,9 ( $\text{CH}_2$ ); 57,3 (CH); 45,4 (CH); 24,5 ( $\text{CH}_2$ ).
- [30] **(3aS,4R,9bS)-8-cloro-4-fenil-2,3,3a,4,5,9b-hexa-hidrofurano[3,2-c]quinolina (11b)**: RMN- $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,35 – 7,44 (m, 6H); 7,07 (dd, 1H,  $J_1 = 8,6$  e  $J_2 = 2,5$  Hz); 6,56 (d, 1H,  $J = 8,6$  Hz); 4,54 (d, 1H,  $J = 5,0$  Hz); 4,02 (ddd, 1H,  $J_1 = 9,1$ ;  $J_2 = 8,1$  e  $J_3 = 6,0$  Hz); 3,83 (dt, 1H,  $J_1 = 9,1$  e  $J_2 = 6,0$  Hz); 3,76 (d, 1H,  $J = 11,6$  Hz); 2,45 (m, 1H); 2,00 (dddd, 1H,  $J_1 = 13,3$ ;  $J_2 = 9,1$ ;  $J_3 = 8,1$  e  $J_4 = 6,0$  Hz); 1,72 (dddd, 1H,  $J_1 = 13,3$ ;  $J_2 = 8,1$ ;  $J_3 = 6,0$  e  $J_4 = 2,0$  Hz); RMN- $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  143,9 (C); 141,3 (C); 130,7 (CH); 128,9 (CH); 128,7 (CH); 128,3 (2 CH); 128,2 (2 CH); 122,8 (C); 121,5 (C); 115,9 (CH); 75,7 (CH); 65,3 ( $\text{CH}_2$ ); 57,8 (CH); 43,2 (CH); 28,7 ( $\text{CH}_2$ ).
- [31] **(4aS,5S,10bS)-9-cloro-5-fenil-3,4,4a,5,6,10b-hexa-hidro-2H-pirano[3,2-c]quinolina (12b)**: RMN- $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,30 – 7,41 (m, 6H); 7,03 (dd, 1H,  $J_1 = 8,3$  e  $J_2 = 2,5$  Hz); 6,52 (d, 1H,  $J = 8,3$  Hz); 5,27 (d, 1H,  $J = 5,6$  Hz); 4,67 (d, 1H,  $J = 2,5$  Hz); 3,61 (m, 1H); 3,42 (dt, 1H,  $J_1 = 11,1$  e  $J_2 = 2,3$  Hz); 2,16 (m, 1H); 1,88 (m, 1H); 1,43 – 1,53 (m, 2H); 1,32 (m, 1H); RMN- $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  143,7 (C); 140,6 (C); 128,4 (2 CH); 128,0 (CH); 127,7 (CH); 127,3 (CH); 126,8 (2 CH); 123,1 (C); 121,6 (C); 115,6 (CH); 72,4 (CH); 60,8 ( $\text{CH}_2$ ); 59,3 (CH); 38,6 (CH); 25,3 ( $\text{CH}_2$ ); 18,0 ( $\text{CH}_2$ ).
- [32] **(4aS,5R,10bS)-9-cloro-5-fenil-3,4,4a,5,6,10b-hexa-hidro-2H-pirano[3,2-c]quinolina (13b)**: RMN- $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,29 – 7,41 (m, 5H); 7,20 (d, 1H,  $J = 2,5$  Hz); 7,02 (dd, 1H,  $J_1 = 8,6$  e  $J_2 = 2,5$  Hz); 6,44 (d, 1H,  $J = 8,6$  Hz); 4,66 (d, 1H,  $J = 10,6$  Hz); 4,34 (d, 1H,  $J = 2,8$  Hz); 4,07 (d, 1H,  $J = 11,6$  Hz); 3,70 (dt, 1H,  $J_1 = 11,6$  e  $J_2 = 2,5$  Hz); 2,05 (m, 1H); 1,82 (tdt, 1H,  $J_1 = 12,9$ ;  $J_2 = 11,6$  e  $J_3 = 4,3$  Hz); 1,64 (ddt, 1H,  $J_1 = 13,9$ ;  $J_2 = 12,9$  e  $J_3 = 4,5$  Hz); 1,47 (m, 1H); 1,35 (m, 1H); RMN- $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  143,3 (C); 141,9 (C); 130,4 (CH); 129,2 (CH); 128,7 (2 CH); 128,0 (CH); 127,7 (2 CH); 121,8 (C); 121,7 (C); 115,3 (CH); 73,9 (CH); 68,5 ( $\text{CH}_2$ ); 54,9 (CH); 38,6 (CH); 23,9 ( $\text{CH}_2$ ); 22,0 ( $\text{CH}_2$ ).
- [33] **(3aS,4S,9bS)-8-Bromo-4-fenil-2,3,3a,4,5,9b-hexa-hidrofurano[3,2-c]quinolina (10c)**: RMN- $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,30 – 7,49 (m, 6H); 7,15 (dd, 1H,  $J_1 = 8,7$  e  $J_2 = 2,4$  Hz); 6,48 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz); 5,21 (d, 1H,  $J = 7,8$  Hz); 4,66

- (d, 1H,  $J=3,0$  Hz); 3,90 (sl, 1H); 3,82 (td, 1H,  $J_1=8,7$  e  $J_2=3,1$  Hz); 3,70 (m, 1H); 2,71 - 2,82 (m, 1H); 2,12 - 2,20 (m, 1H); 1,48 - 1,58 (m, 1H); RMN- $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  143,7 (C); 141,7 (C); 132,6 (CH); 131,1 (CH); 128,7 (2 CH); 127,8 (CH); 126,4 (2 CH); 124,6 (C); 116,5 (CH); 110,7 (C); 75,4 (CH); 66,9 ( $\text{CH}_2$ ); 57,1 (CH); 45,3 (CH); 24,4 ( $\text{CH}_2$ ).
- [34] **(3aS,4R,9bS)-8-Bromo-4-fenil-2,3,3a,4,5,9b-hexa-hidrofurano[3,2-c]quinolina (11c)**: RMN- $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,51 (d, 1H,  $J=2,4$  Hz); 7,33 - 7,46 (m, 5H); 7,20 (dd, 1H,  $J_1=8,7$  e  $J_2=1,8$  Hz); 6,51 (d, 1H,  $J=8,7$  Hz); 4,54 (d, 1H,  $J=5,1$  Hz); 4,18 (sl, 1H); 4,02 (m, 1H); 3,83 (m, 1H); 3,75 (d, 1H,  $J=10,5$  Hz); 2,39 - 2,48 (m, 1H); 1,95 - 2,06 (m, 1H); 1,66 - 1,76 (m, 1H); RMN- $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  144,4 (C); 141,1 (C); 133,6 (CH); 131,6 (CH); 128,7 (2 CH); 128,3 (2CH); 128,2 (CH); 122,0 (C); 116,2 (CH); 109,8 (C); 75,6 (CH); 65,2 ( $\text{CH}_2$ ); 57,6 (CH); 43,1 (CH); 28,7 ( $\text{CH}_2$ ).
- [35] **(4aS,5S,10bS)-9-Bromo-5-fenil-3,4,4a,5,6,10b-hexa-hidro-2H-pirano[3,2-c]quinolina (12c)**: RMN- $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,54 (d, 1H,  $J=2,3$  Hz); 7,27 - 7,48 (m, 5H); 7,17 (dd, 1H,  $J_1=8,5$  e  $J_2=2,3$  Hz); 6,48 (d, 1H,  $J=8,5$  Hz); 5,26 (d, 1H,  $J=5,5$  Hz); 4,64 (d, 1H,  $J=2,4$  Hz); 3,97 (s, 1H); 3,32 - 3,72 (m, 2H); 2,02 - 2,26 (m, 1H); 1,19 - 1,62 (m, 4H); RMN- $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  144,1 (C); 140,5 (C); 130,7 (CH); 128,4 (2 CH); 127,6 (2 CH); 126,7 (CH); 121,9 (C); 115,9 (C); 110,0 (CH); 72,2 (CH); 60,7 ( $\text{CH}_2$ ); 59,1 (CH); 38,4 (CH); 25,2 ( $\text{CH}_2$ ); 17,9 ( $\text{CH}_2$ ).
- [36] **(4aS,5R,10bS)-9-Bromo-5-fenil-3,4,4a,5,6,10b-hexa-hidro-2H-pirano[3,2-c]quinolina (13c)**: RMN- $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,32 - 7,44 (m, 6H); 7,17 (dd, 1H,  $J_1=8,6$  e  $J_2=2,5$  Hz); 6,42 (d, 1H,  $J=8,6$  Hz); 4,68 (d, 1H,  $J=10,8$  Hz); 4,36 (d, 1H,  $J=8,6$  Hz); 4,05 - 4,15 (m, 2H); 3,72 (dt, 1H,  $J_1=11,5$  e  $J_2=2,7$  Hz); 2,07 (m, 1H); 1,85 (m, 1H); 1,67 (m, 1H); 1,48 (m, 1H); 1,37 (m, 1H); RMN- $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 143,8 (C); 141,9 (C); 133,3 (CH); 132,0 (CH); 128,3 (2 CH); 128,1 (CH); 127,7 (2 CH); 122,4 (C); 115,7 (C); 108,7 (CH); 73,9 (CH); 68,5 ( $\text{CH}_2$ ); 54,9 (CH); 38,6 (CH); 24,0 ( $\text{CH}_2$ ); 22,0 ( $\text{CH}_2$ ).
- [37] **(3aS,4R,9bS)-8-n-butyl-4-fenil-2,3,3a,4,5,9b-hexa-hidrofurano[3,2-c]quinolina (11d)**: RMN- $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,37-7,49 (m, 5H); 7,24 (s, 1H); 6,96 (d, 1H,  $J=6,1$  Hz); 6,58 (d, 1H,  $J=8,1$  Hz); 4,61 (d, 1H,  $J=5,2$  Hz); 4,04 (m, 1H); 3,84 (m, 1H); 3,78 (d, 1H,  $J=11,1$  Hz); 2,40-2,59 (m, 3H); 2,01 (m, 1H); 1,72 (m, 1H); 1,52-1,63 (m, 2H); 1,29-1,42 (m, 2H); 0,92 (t, 3H,  $J_1=7,3$  Hz); RMN- $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 143,3 (C); 141,8 (C); 132,9 (C); 130,8 (CH); 129,1 (CH); 128,6 (2 CH); 128,3 (2 CH); 128,1 (CH); 119,9 (C); 114,7 (CH); 76,4 (CH); 65,3 ( $\text{CH}_2$ ); 58,1 (CH); 43,5 (CH); 34,8 ( $\text{CH}_2$ ); 33,9 ( $\text{CH}_2$ ); 28,9 ( $\text{CH}_2$ ); 22,4 ( $\text{CH}_2$ ); 14,0 ( $\text{CH}_3$ ).
- [38] **(4aS,5S,10bS)-9-n-butyl-5-fenil-3,4,4a,5,6,10b-hexa-hidro-2H-pirano[3,2-c]quinolina (12d)**: RMN- $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,52 (d, 1H,  $J=7,5$  Hz); 7,30 - 7,43 (m, 5H); 6,94 (d, 1H,  $J=7,8$  Hz); 6,57 (d, 1H,  $J=8,1$  Hz); 5,35 (d, 1H,  $J=5,5$  Hz); 2,35 (m, 2H); 4,68 (s, 1H); 3,61 (m, 1H); 3,46 (m, 1H); 2,18 (m, 1H); 1,30 - 1,65 (m, 8H); 0,95 (t, 3H,  $J=7,3$  Hz); RMN- $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  143,4

- (C); 141,8 (C); 133,3 (C); 128,7 (2 CH); 128,5 (CH); 127,8 (CH); 127,6 (CH); 127,2 (2 CH); 120,2 (C); 114,8 (CH); 73,3 (CH); 61,1 (CH<sub>2</sub>); 59,9 (CH); 39,6 (CH); 35,4 (CH<sub>2</sub>); 34,5 (CH<sub>2</sub>); 25,9 (CH<sub>2</sub>); 22,8 (CH<sub>2</sub>); 18,4 (CH<sub>2</sub>); 14,4 (CH<sub>3</sub>).
- [39] **(4aS,5R,10bS)-9-*n*-butil-5-fenil-3,4,4a,5,6,10b-hexa-hidro-2H-pirano[3,2-c]quinolina (13d)**: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,37 – 7,51 (m, 5H); 7,12 (s, 1H); 6,69 (dd, 2H, *J*<sub>1</sub> = 8,3 e *J*<sub>2</sub> = 1,8 Hz); 6,55 (d, 1H, *J* = 8,3 Hz); 4,77 (d, 1H, *J* = 10,9 Hz); 4,44 (d, 1H, *J* = 2,6 Hz); 4,18 (m, 1H); 3,79 (dt, 1H, *J*<sub>1</sub> = 11,7 e *J*<sub>2</sub> = 2,3 Hz); 2,54 – 2,60 (m, 1H); 2,17 (m, 1H); 1,92 (m, 1H); 1,70 (m, 1H); 1,63 (m, 1H); 1,55 (m, 1H); 1,43 (m, 1H); 1,39 (m, 1H); 0,98 (t, 3H, *J*<sub>1</sub> = 7,3 Hz). RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 143,1 (C); 142,9 (C); 132,4 (C); 130,9 (CH); 129,9 (CH); 129,0 (2 CH); 128,26 (2 CH); 121,0 (C); 114,6 (CH); 75,1 (CH); 69,1 (CH<sub>2</sub>); 55,4 (CH); 39,5 (CH); 35,1 (CH<sub>2</sub>); 34,3 (CH<sub>2</sub>); 24,6 (CH<sub>2</sub>); 22,8 (CH<sub>2</sub>); 22,5 (CH<sub>2</sub>); 14,4 (CH<sub>3</sub>).
- [40] **(3aS,4S,9bS)-8-metóxi-4-fenil-2,3,3a,4,5,9b-hexa-hidrofurano[3,2-c]quinolina (10e)**: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,42 – 7,46 (m, 2H); 7,31 – 7,40 (m, 3H); 6,98 (d, 1H, *J* = 2,8 Hz); 6,76 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 8,8 e *J*<sub>2</sub> = 2,8 Hz); 6,58 (d, 1H, *J* = 8,8 Hz); 4,59 (d, 1H, *J* = 5,3 Hz); 4,03 (ddd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 8,8; *J*<sub>2</sub> = 8,3 e *J*<sub>3</sub> = 6,1 Hz); 3,82 (dt, 1H, *J*<sub>1</sub> = 8,8 e *J*<sub>2</sub> = 6,1 Hz); 3,77 (s, 3H); 3,74 (d, 1H, *J* = 11,0 Hz); 2,49 (dddd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 11,0; *J*<sub>2</sub> = 8,1; *J*<sub>3</sub> = 5,3 e *J*<sub>4</sub> = 2,3 Hz); 2,01 (dddd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 13,2; *J*<sub>2</sub> = 8,8; *J*<sub>3</sub> = 8,1 e *J*<sub>4</sub> = 6,1 Hz); 1,71 (dddd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 13,2; *J*<sub>2</sub> = 8,3; *J*<sub>3</sub> = 6,1 e *J*<sub>4</sub> = 2,3 Hz); RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 152,6 (C); 141,8 (C); 139,6 (C); 128,6 (2 CH); 128,3 (2 CH); 128,1 (CH); 121,0 (C); 116,6 (CH); 116,0 (CH); 114,7 (CH); 76,4 (CH); 65,9 (CH<sub>2</sub>); 58,5 (CH<sub>3</sub>); 55,9 (CH); 43,7 (CH); 28,9 (CH<sub>2</sub>).
- [41] **(3aS,4R,9bS)-8-metóxi-4-fenil-2,3,3a,4,5,9b-hexa-hidrofurano[3,2-c]quinolina (11e)**: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,44 – 7,48 (m, 2H); 7,35 – 7,40 (m, 2H); 7,30 (m, 1H); 6,92 (d, 1H, *J* = 2,8 Hz); 6,71 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 8,6 e *J*<sub>2</sub> = 2,8 Hz); 6,55 (d, 1H, *J* = 8,6 Hz); 5,24 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz); 4,62 (d, 1H, *J* = 3,0 Hz); 3,77 (s, 3H); 3,82 (dt, 1H, *J*<sub>1</sub> = 8,6 e *J*<sub>2</sub> = 3,5 Hz); 3,71 (dt, 1H, *J*<sub>1</sub> = 8,6 e *J*<sub>2</sub> = 6,8 Hz); 2,72 (dddd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 11,6; *J*<sub>2</sub> = 8,6; *J*<sub>3</sub> = 8,1 e *J*<sub>4</sub> = 2,9 Hz); 2,21 (ddt, 1H, *J*<sub>1</sub> = 12,0; *J*<sub>2</sub> = 11,6 e *J*<sub>3</sub> = 8,6 Hz); 1,51 (dddd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 12,0; *J*<sub>2</sub> = 8,6; *J*<sub>3</sub> = 6,8 e *J*<sub>4</sub> = 3,5 Hz); RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 153,1 (C); 142,4 (C); 139,0 (C); 128,6 (2 CH); 127,6 (CH); 126,5 (2 CH); 123,4 (C); 116,2 (CH); 115,8 (CH); 113,8 (CH); 76,3 (CH); 66,9 (CH<sub>2</sub>); 57,9 (CH<sub>3</sub>); 55,7 (CH); 45,9 (CH); 24,5 (CH<sub>2</sub>).
- [42] **(4aS,5S,10bS)-9-metóxi-5-fenil-3,4,4a,5,6,10b-hexa-hidro-2H-pirano[3,2-c]quinolina (12e)**: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,34 – 7,43 (m, 4H); 7,29 (m, 1H); 7,03 (d, 1H, *J* = 2,8 Hz); 6,71 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 8,6 e *J*<sub>2</sub> = 2,8 Hz); 6,56 (d, 1H, *J* = 8,6 Hz); 5,30 (d, 1H, *J* = 5,6 Hz); 4,60 (d, 1H, *J* = 2,3 Hz); 3,77 (s, 3H); 3,59 (m, 1H); 3,42 (dt, 1H, *J*<sub>1</sub> = 11,4 e *J*<sub>2</sub> = 2,5 Hz); 2,05 (m, 1H); 1,41-1,61 (m, 3H); 1,31 (m, 1H); RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 152,8 (C); 141,3 (C); 139,1 (C); 128,3 (2 CH); 127,4 (CH); 126,8 (2 CH); 121,1 (C); 115,7 (CH); 115,0 (CH); 111,8 (CH); 72,9 (CH); 60,8 (CH<sub>2</sub>); 59,5 (CH<sub>3</sub>); 55,8 (CH); 39,0 (CH); 25,3 (CH<sub>2</sub>); 17,9 (CH<sub>2</sub>).
- [43] **(4aS,5R,10bS)-9-metóxi-5-fenil-3,4,4a,5,6,10b-hexa-hidro-2H-pirano[3,2-c]quinolina (13e)**: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,40 – 7,44 (m, 2H); 7,34 – 7,39

(m, 2H); 7,31 (m, 1H); 6,82 (d, 1H,  $J = 3,0$  Hz); 6,74 (dd, 1H,  $J_1 = 8,8$  e  $J_2 = 3,0$  Hz); 6,50 (d, 1H,  $J = 8,8$  Hz); 4,66 (d, 1H,  $J = 10,6$  Hz); 4,37 (d, 1H,  $J = 3,0$  Hz); 4,09 (s, 3H); 3,71 (dt, 1H,  $J_1 = 11,6$  e  $J_2 = 2,5$  Hz); 2,09 (m, 1H); 1,82 (m, 1H); 1,64 (tt, 1H,  $J_1 = 12,9$  e  $J_2 = 4,8$  Hz); 1,47 (m, 1H); 1,33 (m, 1H); RMN- $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  152,0 (C); 142,4 (C); 139,1 (C); 128,6 (2 CH); 127,8 (2 CH); 127,8 (CH); 121,3 (C); 116,9 (CH); 115,5 (CH); 114,8 (CH); 74,6 (CH); 68,5 (CH<sub>2</sub>); 55,9 (CH<sub>3</sub>); 55,2 (CH); 39,0 (CH); 24,2 (CH<sub>2</sub>); 22,1 (CH<sub>2</sub>).



## Assessing the binding affinity of a selected class of DPP4 inhibitors using chemical descriptor-based multiple linear regression

Jose Isagani B. Janairo<sup>\*a,d</sup>, Gerardo C. Janairo<sup>b,d</sup>, Frumencio F. Co<sup>c</sup> and Derrick Ethelbherth C. Yu<sup>\*b,d</sup>

<sup>a</sup>Physics Department, De La Salle University, 2401 Taft Avenue, Manila, Philippines

<sup>b</sup>Chemistry Department, De La Salle University, 2401 Taft Avenue, Manila, Philippines

<sup>c</sup>Mathematics Department, De La Salle University, 2401 Taft Avenue, Manila, Philippines

<sup>d</sup>Materials Science and Nanotechnology Unit, Center for Natural Sciences and Environmental Research (CENSER), De La Salle University, 2401 Taft Avenue, Manila, Philippines

Received: 02 November 2010; revised: 14 December 2010; accepted: 28 December 2010. Available online: 26 August 2011.

**ABSTRACT:** The activity of a selected class of DPP4 inhibitors was preliminarily assessed using chemical descriptors derived AM1 optimized geometries. Using multiple linear regression model, it was found that  $\Delta E^0$ , LUMO energy, area, molecular weight and  $\Delta H^0$  are the significant descriptors that can adequately assess the binding affinity of the compounds. The derived multiple linear regression (MLR) model was validated using rigorous statistical analysis. The preliminary model suggests that bulky and electrophilic inhibitors are desired.

**Keywords:** DPP4 inhibitors; AM1; chemical descriptors; multiple linear regression

### Introduction

The inhibition of dipeptidyl peptidase 4 (DPP4, EC 3.4.14.5) is a novel approach towards glycaemic control in type 2 diabetics [1] since this results into a normalized blood glucose level due to the prevention of degradation of its substrate, glucagon-like peptide 1 (GLP-1) [2]. GLP-1 is a gut hormone responsible for the stimulation of insulin secretion and biosynthesis, suppresses glucagon release and delays gastric emptying; therefore an increased half-life of GLP-1 in the system will positively contribute to an improved glucose metabolism [3]. The discovery of this viable target has prompted more

\* Corresponding authors: [jose.isagani.janairo@dlsu.edu.ph](mailto:jose.isagani.janairo@dlsu.edu.ph) and [derrick.yu@dlsu.edu.ph](mailto:derrick.yu@dlsu.edu.ph)

research on the development and design of DPP4 inhibitors [4]. One of the approaches of drug design is structure-activity relationship (SAR) studies which can be done through synthetic means [5-6], theoretical studies [7-8], or a combination of both [9-10]. The first method is usually conducted by synthesizing a library of compounds and thereafter measuring its activity. Theoretical investigation of activity on the other hand, is commonly called as quantitative structure-activity relationship (QSAR) study wherein a set of molecular descriptors are used to assess and predict the activity of the compounds through the derivation of an equation that relates all the selected parameters together [11].

The approval of sitagliptin as an add-on therapy to type 2 diabetes management by the Food and Drugs Administration (FDA) and the European Commission (EC) has opened a new frontier in diabetes pharmaceuticals. This has led to the development and testing of inhibitors possessing diverse motifs and functional groups such as pyrrolidine-constrained phenethylamines [12], bicyclic cyanothiazolidines [13], diprolyl nitriles [14] etc. Recently, a novel class of azolopyrimidine-based DPP 4 inhibitors with high selectivity and efficacy was developed through SAR studies [15]. This paper herein describes the semi-empirical optimization of the reported azolopyrimidine derivatives and the subsequent calculation of their properties which shall be used as chemical descriptors in order to derive a multiple linear regression (MLR) model which aims to relate and predict the binding affinity of the DPP 4 inhibitors with the significant chemical descriptors. The model will be validated through rigorous statistical analyses in lieu of the popular yet inadequate leave-one-out-cross-validated  $R^2$  procedure [16]. The results that will be obtained are expected to be important in future development of DPP 4 inhibitors since simple and readily available chemical descriptors will be used to assess the binding affinity which is of utmost importance for inhibitor design.

## Material and Methods

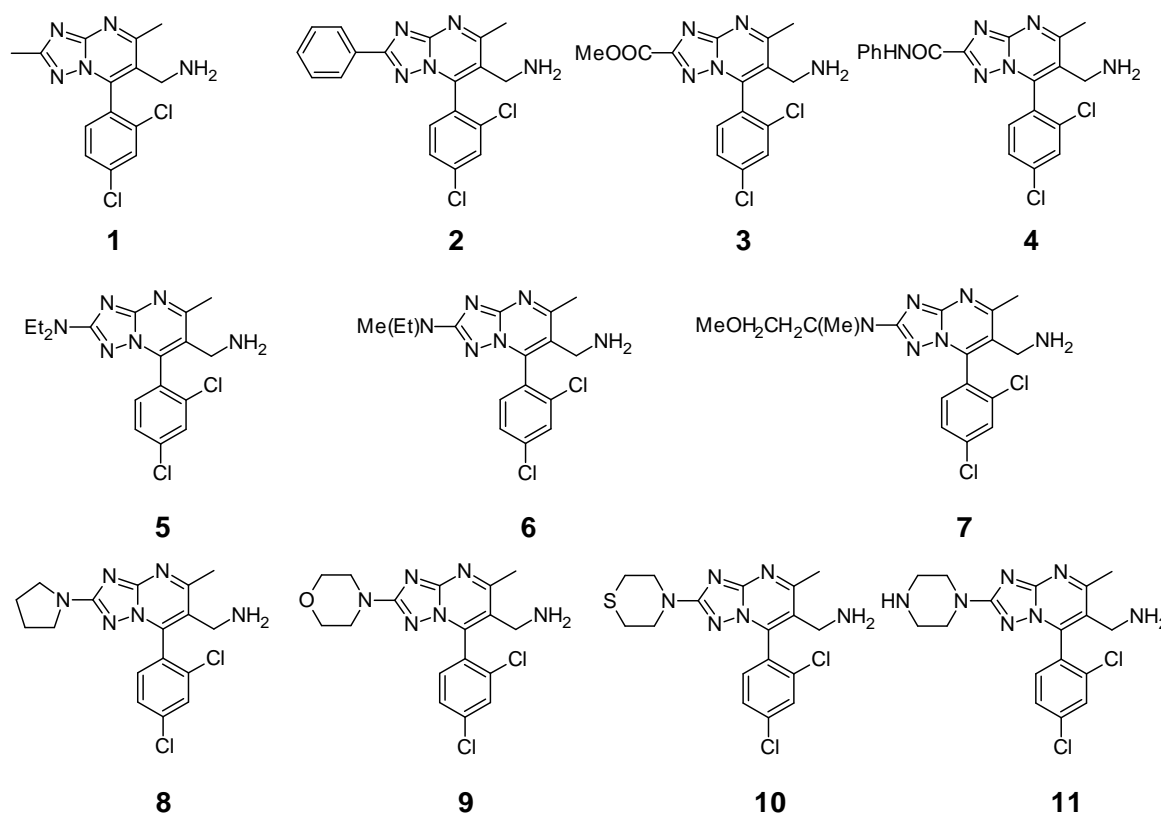
The 11 azolopyrimidine derivatives were chosen as a preliminary testing set and were subjected to geometry optimization calculations employing AM1 semi-empirical method using Spartan 08 V.1.2.0 [17]. The resulting electronic and physical properties of the optimized structures were then utilized as parameters for the multiple linear regression model using Statistica V.9 [18] and SAS/STAT® [19]. The reported binding affinity (BA) of the compounds with DPP 4 was used as the dependent variable and the calculated molecular descriptors served as the independent variables.

The initial model was further refined by backward elimination in order to obtain significant descriptors which were then analyzed for descriptor interaction and multicollinearity. The refined full model was then validated for model assumptions using the Durbin-Watson test, identification of normal distribution and outliers. The linear equation

assessing the binding affinity was thereafter derived from the refined regression model. The predictive capability of the model was assessed by constructing an observed vs. predicted binding affinity scatter plot. All statistical analyses used a significance level of 0.05.

**Table 1.** Reported binding affinity of the DPP4 inhibitors [15]

| Compound  | Binding Affinity (nM) |
|-----------|-----------------------|
| <b>1</b>  | 64                    |
| <b>2</b>  | 67                    |
| <b>3</b>  | 137                   |
| <b>4</b>  | 93                    |
| <b>5</b>  | 73                    |
| <b>6</b>  | 50                    |
| <b>7</b>  | 18                    |
| <b>8</b>  | 50                    |
| <b>9</b>  | 31                    |
| <b>10</b> | 29                    |
| <b>11</b> | 106                   |



**Figure 1.** Structures of azolopyrimidine derivatives [15].

## Results and Discussion

The geometry optimization and descriptor calculations were executed using the AM1 semi-empirical method since several studies of the same nature have exclusively used the AM1 hamiltonian in optimizing the geometries of the compounds within their respective sets as well in calculating the corresponding descriptor values [20-22]. The descriptors that were calculated included both quantum-chemical and physical descriptors in order to achieve a holistic depiction of the compounds. The quantum-chemical descriptors were limited to readily available parameters that did not require further calculations in order to highlight that simple descriptors are adequate to assess and predict the activity of the compounds. These quantum-chemical descriptors include energy ( $\Delta E^0$ ) & orbital energies ( $E_{\text{HOMO}}$  &  $E_{\text{LUMO}}$ ), dipole and enthalpy ( $\Delta H^0$ ). On the other hand, the physical descriptors comprise of the molecular weight (MW), polar surface area (PSA) and area & volume of the molecule.

**Table 2.** Summary of calculated descriptors for the 11 DPP4 inhibitors

|           | $\Delta E^0$<br>(kJ /<br>mol) | HOMO<br>(eV) | LUMO<br>(eV) | Dipole<br>(debye) | Area<br>( $\text{\AA}^2$ ) | Volume<br>( $\text{\AA}^3$ ) | PSA<br>( $\text{\AA}^2$ ) | Mol.<br>Weight | $\Delta H^0$<br>(kJ/mol) |
|-----------|-------------------------------|--------------|--------------|-------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------------|----------------|--------------------------|
| <b>1</b>  | 242.27                        | -10.03       | -1.22        | 3.54              | 328.9                      | 309.75                       | 50.26                     | 351.193        | 984.24                   |
| <b>2</b>  | 363.02                        | -9.26        | -1.29        | 3.69              | 394.63                     | 375.92                       | 46.83                     | 413.26         | 1259.04                  |
| <b>3</b>  | 256.43                        | -10.12       | -1.32        | 6.41              | 343.6                      | 320.4                        | 73.1                      | 366.21         | 1050.67                  |
| <b>4</b>  | 274.88                        | -8.91        | -1.54        | 2.14              | 427.96                     | 408.96                       | 73.52                     | 456.29         | 1252.8                   |
| <b>5</b>  | 264.66                        | -8.93        | -1.02        | 3.65              | 401.37                     | 379.11                       | 50.54                     | 408.29         | 1289.66                  |
| <b>6</b>  | 288.02                        | -9.02        | -1.06        | 3.39              | 383.44                     | 360.56                       | 50.97                     | 394.26         | 1233.67                  |
| <b>7</b>  | 114.41                        | -9.05        | -1.13        | 3.04              | 414.65                     | 388.54                       | 58.43                     | 424.29         | 1156.58                  |
| <b>8</b>  | 292.53                        | -8.93        | -1.03        | 3.67              | 386.66                     | 367.55                       | 51.3                      | 406.27         | 1261.3                   |
| <b>9</b>  | 140.67                        | -9.14        | -1.14        | 3.45              | 394.34                     | 375.53                       | 58.99                     | 422.72         | 1126.88                  |
| <b>10</b> | 331.1                         | -8.74        | -1.16        | 3.56              | 401.87                     | 384.18                       | 50.73                     | 438.34         | 1304.53                  |
| <b>11</b> | 328.78                        | -9.05        | -1.1         | 4.6               | 398.11                     | 378.58                       | 63.63                     | 421.29         | 1347.36                  |

From the obtained data, a full multiple linear regression model was set-up which has  $R^2$  -adjusted = 99.98973% ( $p < 0.0236$ ), which indicates that the selected descriptors possess a linear relationship with the binding affinity. Despite exhibiting linearity, the number of descriptors was reduced in order to identify which among them were significant. The backward elimination procedure was carried out on the basis of removing descriptors having a p-value greater than the significance level. Thus, the refined model consisted of energy, LUMO eigenvalue, dipole, area, volume, molecular weight and enthalpy. The refinement is justified since  $R^2$ -adjusted = 98.8467% ( $p < 0.0010$ ) which means that linearity is still maintained despite the removal of descriptors which were

deemed to be insignificant in assessing and predicting the activity.

**Table 3.** Molecular descriptors and their corresponding p-values obtained from the regression model

| Descriptor   | P - value |
|--------------|-----------|
| $\Delta E^0$ | 0.0524    |
| HOMO         | 0.110     |
| LUMO         | 0.0479    |
| Dipole       | 0.0527    |
| Area         | 0.0344    |
| Volume       | 0.0607    |
| PSA          | 0.147     |
| MW           | 0.0278    |
| $\Delta H^0$ | 0.0453    |

The refined full model was then validated using a series of statistical analyses which included multi-collinearity diagnosis. This is conducted in order to determine if there are descriptors which overlap in predicting the value of the dependent variable, thereby rendering them redundant. This is carried out by tabulating the p-values of the paired significant descriptors, wherein a p-value lower than the significance level indicates that the paired descriptor interacts extensively. The interaction matrix suggests that strong interaction exists among Volume, MW and  $\Delta H^0$  descriptors.

**Table 4.** Descriptor interaction matrix

|                  | Binding Affinity | $\Delta E^0$ | LUMO   | Dipole | Area    | Volume  | MW      | $\Delta H^0$ |
|------------------|------------------|--------------|--------|--------|---------|---------|---------|--------------|
| Binding Affinity | 1                | 0.2351       | 0.1750 | 0.0391 | 0.3291  | 0.3310  | 0.3804  | 0.8364       |
| $\Delta E^0$     | 0.2351           | 1            | 0.7737 | 0.6220 | 0.9361  | 0.9535  | 0.9118  | 0.0826       |
| LUMO             | 0.1750           | 0.7737       | 1      | 0.7635 | 0.8719  | 0.8287  | 0.5852  | 0.4980       |
| Dipole           | 0.0391           | 0.6220       | 0.7635 | 1      | 0.0490  | 0.0426  | 0.0660  | 0.4451       |
| Area             | 0.3291           | 0.9361       | 0.8719 | 0.0490 | 1       | <0.0001 | <0.0001 | 0.0093       |
| Volume           | 0.3310           | 0.9535       | 0.8287 | 0.0426 | <0.0001 | 1       | <0.0001 | 0.0070       |
| MW               | 0.3804           | 0.9118       | 0.5852 | 0.0660 | <0.0001 | <0.0001 | 1       | 0.0149       |
| $\Delta H^0$     | 0.8364           | 0.0826       | 0.4890 | 0.4451 | 0.0093  | 0.0070  | 0.0149  | 1            |

In order to decrease the extent of descriptor interaction, several descriptors must be removed from the model while monitoring the condition index obtained from running a collinearity diagnosis. A condition index value that is below 1000 is indicative of a tolerable descriptor interaction. The choice of descriptors to be removed is suggested by practicality and should be permitted by statistical values. Although MW and  $\Delta H^0$  are among the descriptor with high multi-collinearity, eliminating them from the model would

be more disadvantageous since MW is a parameter that is very easy to identify and  $\Delta H^0$  provides thermodynamic and binding insights about the compounds. Therefore it is permissible to select descriptors outside of the aforementioned 3 descriptors provided that the resulting condition index is improved.

**Table 5.** Model adjustment

| Removed Descriptor(s)      | Resulting R <sup>2</sup> value | Resulting Maximum Condition Index Value | Resulting Durbin-Watson Coefficient |
|----------------------------|--------------------------------|---|-------------------------------------|
| <b>Area</b>                | 87.14 %                        | 439.24927                               | 2.200                               |
| <b>Volume</b>              | 95.22%                         | 397.14936                               | 2.172                               |
| <b>Dipole &amp; Volume</b> | 94.34%                         | 270.67352                               | 2.268                               |

It is evident from the results of the model adjustment that eliminating Dipole and Volume descriptors results into an improved model since the maximum condition index value was reduced to 271. Furthermore, such an adjustment gave a Durbin-Watson coefficient value of 2.268 which is close to the upper limit value of 3.004. The result of the Durbin-Watson test suggests that there is no residual autocorrelation existing among the descriptors. The presence of outliers within the data set was also identified and using the two-sigma criterion, no outliers were detected. Moreover, the presence of influential outliers was not identified as well since none of the Cook's distance values of the 11 compounds exceeded 1 which is the accepted cut-off value. Normal distribution within the data set was also observed since the normal probability plot of residuals yielded a linear relationship.

The linear equation is thus derived from the refined and validated regression model which is mathematically expressed as:

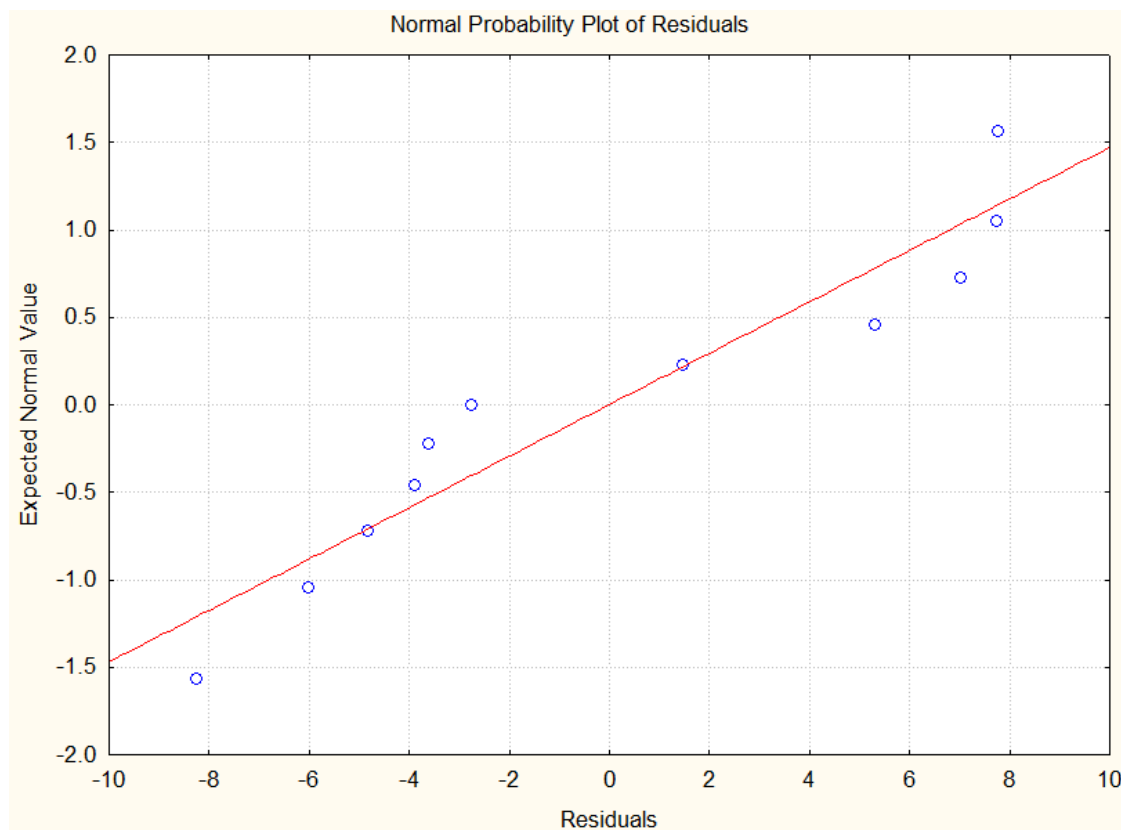
$$\widehat{BA} = -81.465 - 1.158(\Delta E^0) - 516.432(LUMO) - 3.357(Area) - 1.682(MW) + 1.521(\Delta H^0)$$

In a qualitative sense, the derived equation coincides with the expected ideal value of binding affinity which is small.

According to the established MLR model, the LUMO energy, enthalpy and energy are the most important descriptors since they are the ones who possess the lowest p-values. Since  $\Delta E^0$  is related to the structure of the molecule since it is based on the individual atomic interactions, it can be assumed that a bulky compound is desired since such a molecule possesses a high positive value for  $\Delta E^0$ . Such an assumption is logical since the lock-and-key model is invoked therefore a bulky inhibitor can effectively occupy the active site thus preventing the natural substrate from occupying it. The relatively smaller magnitude of the LUMO energy suggests that the compounds exhibit more electron accepting properties or they are more electrophilic than nucleophilic [23]. The large value of the slope of the LUMO term indicates that a smaller value of the LUMO energy is needed. The enthalpy on the other hand, requires a small magnitude or a

negative value. Enthalpy is usually associated in docking calculations wherein, ideally a large positive value is needed since enthalpy-based docking calculations are mathematically expressed as:

$$\Delta H_{\text{Bind}} = \Delta H_{\text{system}} - (\Delta H_{\text{ligand}} + \Delta H_{\text{receptor}})$$

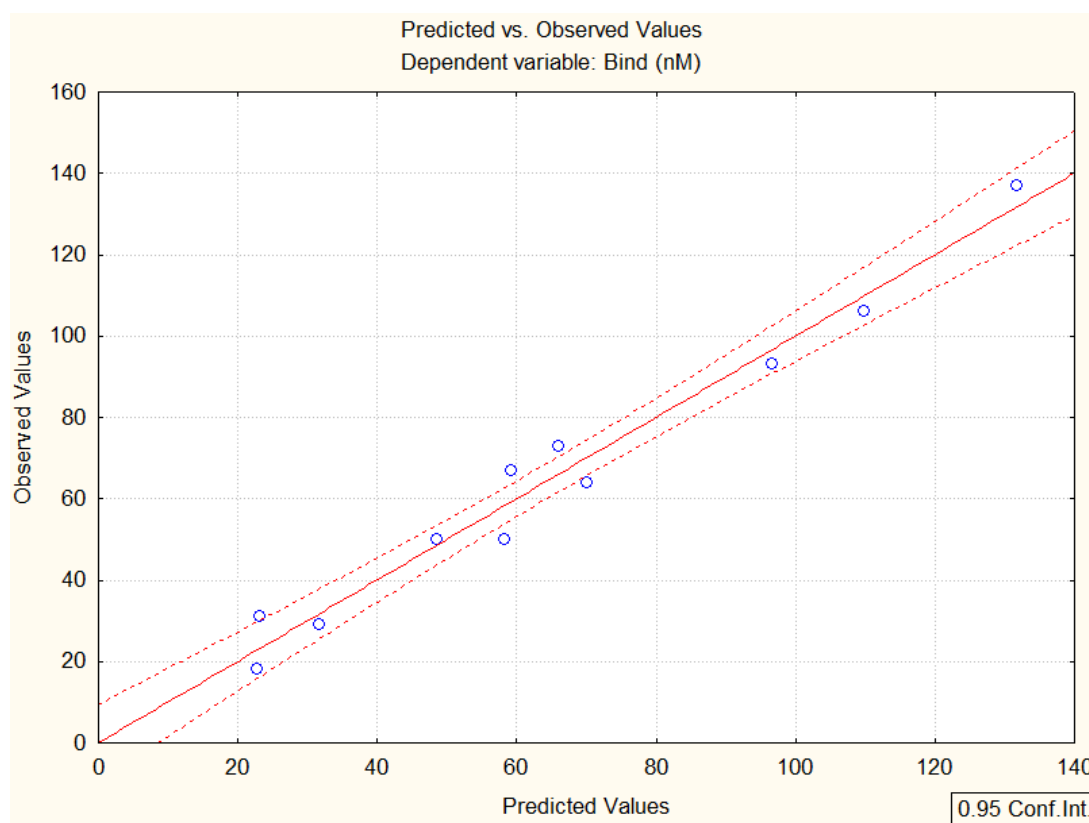


**Figure 2.** Normal probability plot of residuals.

**Table 6.** Refined multiple linear regression model

| Descriptor   | P- value | Slope<br>(Intercept = -81.465) |
|--------------|----------|--------------------------------|
| $\Delta E^0$ | 0.000568 | -1.158                         |
| LUMO         | 0.000103 | -516.432                       |
| Area         | 0.001859 | -3.357                         |
| MW           | 0.004924 | -1.682                         |
| $\Delta H^0$ | 0.000248 | 1.521                          |

Despite this contradiction, it must be recalled that the descriptors exhibit additive interaction. Therefore any non-ideal value that will be obtained can be off-set by the other parameters. The predictive capability of the derived equation was assessed by plotting the observed values of the binding affinity against the predicted values at a 95% confidence interval. The observed linearity implies that the derived MLR model exhibits satisfactory predictive capabilities.



**Figure 3.** Predicted vs. observed scatterplot.

## Conclusion

A preliminary equation assessing the binding affinity of a selected class of DPP 4 inhibitors has been derived using a multiple linear regression model. The MLR model consists of significant quantum-chemical and physical descriptors and was validated through rigorous statistical analyses instead of the conventional LOQ method. It was determined that linearity has not been compromised despite the removal of other descriptors. The significant descriptors were found to be  $\Delta E$ ,  $E_{LUMO}$ , area, molecular weight and  $\Delta H$ . The derived equation implies that favourable inhibitors should be bulky by virtue of their high energy and enthalpy; and the inhibitors should be electrophilic. Moreover, it has been demonstrated that simple descriptors can adequately assess and predict the activity of the selected class of DPP4 inhibitors. Results obtained are useful for DPP4 inhibitor design since the binding affinity can be predicted and thereafter improved provided that the test molecules exhibit favourable chemical descriptors in accordance with the MLR model.

## References and Notes

- [1] Gadsby, R. *Primary Care Diabetes I*. **2007**. 209.
- [2] Havale, H.; Pal, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**. *17*, 1783.



- [3] Buteau, J. *Diabetes and Metabolism* **2008**, *34*, 73.
- [4] Pratlley, R.; Salsali, A. *Curr. Med. Res. Opinion* **2007**, *23*, 919.
- [5] Iera, J.; Jenkins, L.; Kajiyama, H.; Kopp, J.; Appella, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 6500.
- [6] Lee, J.; Im, I.; Webb, T.; McGrath, D.; Song, M.; Kim, Y. *Bioorg. Chem.* **2009**, *37*, 90.
- [7] Durrant, J.; McCammon, J. *Comput. Biol. Chem.* **2010**, *34*, 97.
- [8] Da Silva, P. C., Da Silva, V. B.; Resende, J.; Rodriguez, P.; Bononi, F.; Benevenuto, C.; Taft, C. J. *Mol. Graphics Modell.* **2010**, *28*, 513.
- [9] Katritzky, A.; Girgis, A.; Slavov, S.; Tala, S.; Stoyanova-Slavov, I. **2010**. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 5183.
- [10] Khalafi-Nezhad, A.; Soltani Rad, M.; Mohabatkar, H.; Asrari, Z.; Hemmateenejad, B. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 1931.
- [11] Young, D. *Computational Drug Design*. New Jersey: John Wiley & Sons, 2009.
- [12] Backes, B.; Longenecker, K.; Hamilton, G.; Stewart, K.; Lai, C.; Kopecka, H.; von Geldren, T.; Madar, D.; Pei, Z.; Lubben, T.; Zinker, B.; Tian, Z.; Ballaraon, M.; Stashko, M.; Mika, A.; Beno, D.; Kempf-Grote, A.; Black-Schaefer, C.; Sham, H.; Trevillyan, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2005.
- [13] Betancort, J.; Winn, D.; Liu, R.; Xu, Q.; Liu, J.; Liao, W.; Chen, S.; Carney, D.; Hanway, D.; Schmeits, J.; Li, X.; Gordon, E.; Campbell, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 4437.
- [14] Zhao, G.; Taunk, P.; Magnin, D.; Simpkins, L.; Robl, J.; Wang, A.; Robertson, J.; Marcinkeviciene, J.; Sitkoff, D.; Parker, R.; Kirby, M.; Hamann, L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3992.
- [15] Brigance, R.; Meng, W.; Fura, A.; Harrity, T.; Wang, A.; Zahler, R.; Kirby, M.; Hamann, L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 4395.
- [16] Golbraikh, A.; Tropsha, A. *J. Mol. Graphics Modell.* **2002**, *20*, 269.
- [17] Wavefun, Inc., Spartan '08 for Windows, Macintosh and Linux Tutorial and User's Guide, CA, USA: Wavefun, Inc., 2006-2009.
- [18] StatSoft: STATISTICA for Windows [Computer program manual] SAS Institute Inc.
- [19] SAS 9.1.3 Help and Documentation, Cary, NC: SAS Institute Inc., 2002-2004.
- [20] Long, W.; Liu, P.; Li, X.; Xu, Y.; Yu, J. Ma, S.; Yu, L.; Zou, Z. *J. Chemom.* **2009**, *23*, 304.
- [21] De, K.; Sengupta, C.; Roy, K. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 3323.
- [22] Borges, E.; Takahata, Y. *J. Mol. Struct. (Theochem)* **2001**, *539*, 245.
- [23] Bhattacharjee, A.; Gupta, R.; Ma, D.; Karle, J. *J. Mol. Recognit.* **2000**, *13*, 213.

## Derivative spectrophotometric determination of uranium (VI) using diacetyl monoxime isonicotinoyl hydrazone (DMIH)

Gadikota ChandraSekhar Reddy\*, N. Devanna and K. B. Chandrasekhar\*

Govt. Polytechnic, Anantapur (A.P) and Research Scholar, Department of Chemistry, JNTU, Anantapur, India

Received: 10 November 2010; revised: 16 January 2011; accepted: 18 January 2011.  
Available online: 26 August 2011.

**ABSTRACT:** Uranium (VI) forms a yellow coloured water soluble complex with diacetyl monoxime isonicotinoyl hydrazone (DMIH) reagent in acidic buffer of pH 3.25 with  $\lambda_{max}$  at 364 nm. The molar absorptivity and sandell's sensitivity are  $1.63 \times 10^4 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$  and  $0.00307692 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , respectively. The Beer's law validity range is 1.19–14.28  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Uranium (VI) forms (M:L) 1:1 complex with DMIH and stability constant of the complex is  $4.928 \times 10^6$ . The derivative spectrophotometric determination of U (VI) was carried out by measuring peak height method. The developed derivative spectrophotometric method was employed for the determination of uranium (VI) in rock and synthetic samples. The effect of various diverse ions was also studied.

**Keywords:** diacetyl monoxime isonicotinoyl hydrazone (DMIH); derivative spectrophotometry; Uranium (VI)

### Introduction

Uranium is a silvery-gray metallic element. It is malleable, ductile and slightly paramagnetic. It has very high density. It occurs naturally in low concentration in soil, rock and is commercially extracted from uranium bearing mineral like uranite. Uranium decays slowly by emitting an alpha particle. The half-life period of uranium-238 isotope is 4.47 billion years and Uranium-235 isotope is 704 years, making them useful in dating the age of the Earth. Uranium is a very good fuel in nuclear power generation. Apart from radioactive, uranium is a toxic metal and cause damage to the kidneys.

It was noticed from the survey of literature that only a few hydrazones were used

\* Corresponding authors: [gadikotachandra@gmail.com](mailto:gadikotachandra@gmail.com), [chandrashakar\\_kb@yahoo.co.in](mailto:chandrashakar_kb@yahoo.co.in)

as spectrophotometric reagents for the determination of uranium (VI). Therefore the author has employed the hydrazone derivative for the spectrophotometric determination of uranium (VI). Hydrazones are important organic and analytical reagents for the determination of metal ions in microgram quantities. They react with many metal ions forming colour complexes and act as chelating agents. The solvent extraction technique has been widely used in spectrophotometric determination of metal ions. However, organic solvents like benzene and chloroform are often carcinogenic, toxic and cause environmental pollution. It is, therefore necessary to develop a method, which does not involve solvent extraction. A micellar solution has the ability to enhance the stability of metal complex and can be utilized as a medium by spectrophotometric determination of the metal chelate.

The potential application of hydrazone derivatives for the spectrophotometric determination of metal ions had reviewed by Singh et al [1]. The spectrophotometric determination of Uranium was reviewed by Marzenco [2] and Snell [3]. The spectrophotometric determination of uranium by using hydrazones is not used much [4]. Few hydrazone reagents [5-12] were used for the spectrophotometric determination of uranium (VI) which are given in the Table 6. In the light of good analytical characteristics of hydrazones, herein we report zero and first order derivative spectrophotometric determination of uranium (VI) in aqueous medium. The present paper describes a new, very simple, rapid and sensitive derivative spectrophotometric determination of uranium (VI) in aqueous medium.

## Material and Methods

Spectrophotometric measurements were made in a Shimadzu 160 A microcomputer based on UV – Visible spectrophotometer equipped with 1.0 cm quartz cells, an ELICO LI- 120 digital pHmeter were used in the present work. All reagents used were of AR grade unless otherwise stated. All solutions were prepared with distilled water. The standard stock solution 0.01 M was prepared by dissolving 0.516 grams of uranyl acetate ( $\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  - Hopkin and Williams Ltd) in doubly distilled water in a 100 mL standard flask.

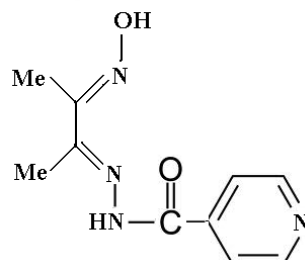
The reagent DMIH was prepared by simple condensation of diacetyl monoxime and isonicotinic hydrazide in 1:1 mole ratio and its structure is given in Fig. 1.

The reagent solution (0.01 M) was prepared by dissolving 0.22 grams of DMIH in 100 mL of dimethylformamide. The reagent is stable for 48 hours. Buffer solutions were prepared by mixing 1 M hydrochloric acid 0.2 M sodium dihydrogen phosphate.

### **Reaction with metal ions**

The reactions of some important metal ions were tested at different pH values.

The samples were prepared in 10 mL volumetric flasks by adding 3 mL of buffer (pH 1.0–11.0), 0.5 mL of metal ion ( $1 \times 10^{-3}$  M) and 0.5 mL of DMIH ( $1 \times 10^{-2}$  M) solutions. The solution mixture was diluted up to the mark with distilled water. The absorbance was measured in 300–600 nm range against reagent blank. The results are summarized in Table 1.



**Figure 1.** Structure of DMIH

**Table 1.** Analytical characteristics of DMIH

| Sl No | Metal Ion | pH   | $\lambda_{\max}$ (nm) | Molar absorptivity<br>( $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) $\times 10^4$ |
|-------|-----------|------|-----------------------|--|
| 1     | Ru (III)  | 4.5  | 346                   | 1.4  |
| 2     | Hg (II)   | 5.5  | 351                   | 2.23   |
| 3     | U (VI)    | 3.25 | 364                   | 1.63   |
| 4     | Th(IV)    | 5.0  | 352                   | 2.265  |
| 5     | Au (III)  | 4.5  | 361                   | 1.5  |
| 6     | Mo (VI)   | 5    | 346                   | 1.93   |

### Recommended Procedure

#### *Determination of U (VI) (Zero order spectrophotometry)*

An aliquot of the solution containing 1.19–14.28  $\mu\text{g}/\text{mL}$  of U (VI), 3 mL of buffer solution of pH 3.25 and 0.5 mL of 0.01 M DMIH reagent were taken in a 10 mL volumetric flask and the solution was diluted up to the mark with distilled water. The absorbance of the solution was recorded at 364 nm in a 1.0 cm cell against reagent blank prepared in the same way but without U (VI) metal solution. The measured absorbance was used to compute the amount of U (VI) from the calibration plot.

#### *Determination of U (VI) by first order derivative spectrophotometry*

The first order derivative spectrum was recorded for the above solution of U (VI)–DMIH with a scan speed having degrees of freedom 9 in a wavelength range 300–600 nm. The derivative spectrum was measured by peak height (h) method at 407 nm. The peak height (h) at 407 nm is proportional to the concentration of U (VI). Therefore the peak heights were measured at this wavelength for the construction of calibration plots.

## Results and Discussion

Diacetyl monoxime isonicotinoyl hydrazone (DMIH) reagent can be easily prepared

like any other Schiff base reagent. This new chromogenic reagent DMIH was not used for spectrophotometric determination of U (VI) so far.

The reactions of some important metal ions with DMIH are summarized in Table 1. The colour reactions are mainly due to the complex formation of DMIH with divalent, trivalent, tetravalent and hexavalent metal ions like Hg (II), Ru (III), As (III), Au (III), Th (IV) and U (VI) in acidic buffer medium to give intense coloured complexes.

### **Determination of U (VI) using DMIH**

U (VI) reacts with DMIH in acidic medium to give yellow coloured water soluble complex. The colour reaction between U (VI) and DMIH are instantaneous even at room temperature in the pH range 1.0-7.0. The absorbance of the yellowish coloured species remains constant for more than two hours. The maximum colour intensity is observed at pH 3.25.

A 5 fold molar excess of reagent is adequate for full colour development. The order of addition of buffer solution, metal ion and reagent has no adverse effect on the absorbance. The complex formation reaction between U(VI) and DMIH has been studied in detail based on the composition of the complex as determined by using Job's and molar ratio methods. Some of the important physicochemical and analytic characteristics of U (VI) and DMIH are summarized in Table 2.

**Table 2.** Some of physicochemical and analytical characteristics of U (VI)–DMIH Complex

| Characteristics  | Results             |
|--|---------------------|
| $\lambda_{\max}$ (nm)  | 364                 |
| pH Range (Optimum)   | 1.0-7.0             |
| Mole of reagent required per mole of metal ion for full colour development | 5 folds             |
| Molar absorptivity ( $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ )                    | $1.63 \times 10^4$  |
| Sandell's sensitivity ( $\mu g / cm^2$ )                                   | 0.00307692          |
| Beer's law validity range ( $\mu g / mL$ )                                 | 1.19 – 14.28        |
| Composition of complex (M: L) obtained in job's and mole ratio method      | 1:1                 |
| Stability Constant of the complex  | $4.982 \times 10^6$ |

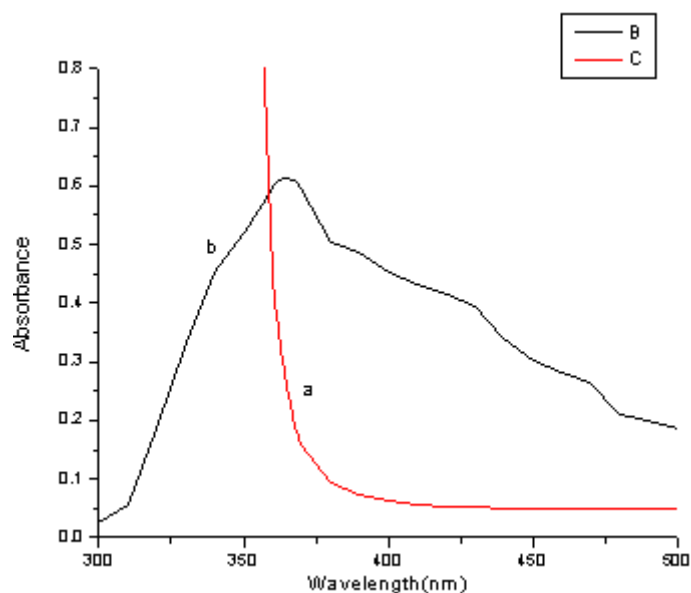
Derivative spectrophotometry is an important useful technique as it decreases the interference i.e. increase the tolerance limit value of the foreign ions. Therefore it may be useful for the determination of metal ions having overlapped spectra. The recommended procedure has been used for the determination of U (VI).

The zero order and first order derivative spectra of U (VI) complex of DMIH are given in figures 2 and 3, respectively.

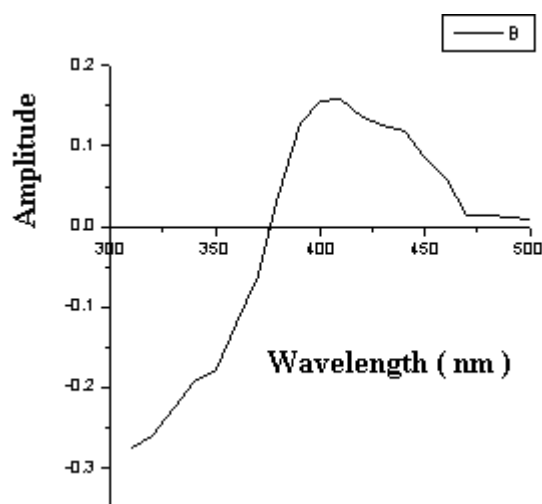
### **Effect of diverse ions**

The effect of various diverse ions in the determination of U (VI) was studied to find out the tolerance limit of foreign ions in the present method. The tolerance limit of

foreign ions was taken as the amount of foreign ion required to cause an error of  $\pm 2\%$  in the absorbance or amplitude. The results are given in Table 3. The data obtained in the derivative method is also incorporated.



**Figure 2.** Zero order absorption spectra of (a) reagent DMIH  $1 \times 10^{-2}$  M vs water blank at pH 3.25. (b) U (VI)-DMIH complex vs. reagent blank at pH 3.25, U (VI) =  $1 \times 10^{-3}$  M; DMIH =  $1 \times 10^{-2}$  M.



**Figure 3.** First order derivative spectrum of U (VI)-DMIH complex vs reagent blank at pH 3.25. (b) U (VI)-DMIH complex vs reagent blank at pH 3.25, U (VI) =  $1 \times 10^{-3}$  M; DMIH =  $1 \times 10^{-2}$  M.

### Applications

The proposed method was applied for determination of U (VI) in rock and Pitchblende ore samples.

### Preparation and analysis of synthetic sample of Pitchblende ore sample

A synthetic mixture of Pitchblende ore was prepared by mixing in the same ratio,

as the components would be present in Pitchblende ore. The resultant mixture was dissolved in conc. HCl and evaporated to dryness. The residue was redissolved in distilled water and made up to the mark in a 50 mL volumetric flask. U (VI) in this mixture was determined by the recommended procedure from the pre determined calibration plot.

### Recommended Procedure

3 mL of buffer solution (pH 3.25) was taken in a 10 mL volumetric flask, known aliquot quantities of sample solution and 0.5 mL of  $1 \times 10^{-2}$  M reagent solution were added. The solution was diluted to volume with distilled water and absorbance was measured at 364 nm against reagent blank. The results are presented in the given below (Table 4).

**Table 3.** Tolerance limit of foreign ions in the determination of 5.9  $\mu\text{g/mL}$  of U (VI)

| Ion Added        | Tolerance Limit ( $\mu\text{g/mL}$ ) |                  | Ion Added        | Tolerance Limit ( $\mu\text{g/mL}$ ) |                  |
|------------------|--------------------------------------|------------------|------------------|--------------------------------------|------------------|
|                  | Zero Order                           | First Derivative |                  | Zero Order                           | First Derivative |
| Urea             | 90.1                                 | 90.1             | $\text{Sn}^{+2}$ | 118.7                                | 118.7            |
| Sulphate         | 96                                   | 96               | $\text{Bi}^{+3}$ | 104.5                                | 104.5            |
| Phosphate        | 95                                   | 95               | $\text{Ba}^{+2}$ | 137.3                                | 137.3            |
| Nitrate          | 62                                   | 62               | $\text{Zn}^{+2}$ | 98.1                                 | 98.1             |
| Acetate          | 59                                   | 59               | $\text{Zr}^{+4}$ | 91.2                                 | 91.2             |
| Oxalate          | 67                                   | 67               | $\text{Cu}^{+2}$ | 63.5                                 | 63.5             |
| Thio Urea        | 76                                   | 76               | $\text{W}^{+6}$  | 91.9                                 | 91.9             |
| Tartarate        | 141                                  | 141              | $\text{Al}^{+3}$ | 40.47                                | 40.47            |
| Ascorbic Acid    | 88                                   | 88               | Ag +             | 107.9                                | 107.9            |
| Fluoride         | 28.5                                 | 28.5             | $\text{Ca}^{+2}$ | 60                                   | 60               |
| Iodide           | 126.9                                | 126.9            | $\text{Ni}^{+2}$ | 88.5                                 | 88.5             |
| Bromide          | 79.9                                 | 79.9             | $\text{Pd}^{+2}$ | 106.4                                | 106.4            |
| Chloride         | 53.25                                | 53.25            | $\text{V}^{+5}$  | 76.35                                | 76.35            |
| $\text{Mo}^{+6}$ | 95.9                                 | 95.9             | $\text{Sr}^{+2}$ | 87.6                                 | 87.6             |
| $\text{Mn}^{+2}$ | 54.9                                 | 54.9             | $\text{Sb}^{+3}$ | 121.8                                | 121.8            |

**Table 4.** Estimation of uranium (VI) ( $\mu\text{g/mL}$ ) in pitchblende ore sample

| Sample                       | Amount of U (VI) PPM |         |           |
|------------------------------|----------------------|---------|-----------|
|                              | Taken                | Found * | Error (%) |
| Pitchblende Ore <sup>c</sup> | 20                   | 19.95   | +0.25     |
|                              | 14.20                | 14.31   | -0.77     |
|                              | 26.40                | 26.14   | +0.98     |

Composition C =  $\text{UO}_3$  -81.63;  $\text{PbO}$  -6.39;  $\text{As}_2\text{O}_3$  -2.34;  $\text{CaO}$ -1.0;  $\text{H}_2\text{O}$ -3.17%

\*Average of best three determinations among five determinations

### Preparation and analysis of rock sample

2 grams of rock sample (IAEA SY-3) was digested in HF and  $\text{KNO}_3$  for several hours. Uranium present in the sample was separated as the soluble carbonate and the solution was made up to the mark in a 100 mL standard flask. Uranium present in this solution is determined by the recommended procedure from a predetermined calibration

plot and the obtained results are compared with Arsenazo (III) method (Table 5).

**Table 5.** Determination of U (VI) in rock sample

| Sample   | Amount of U (VI)      |                           |           |
|----------|-----------------------|---------------------------|-----------|
|          | Arsenazo (III) method | Found * in present method | Error (%) |
| IAEASY-3 | 10.55                 | 10.46                     | +0.85     |
|          | 15.48                 | 15.26                     | +1.42     |
|          | 21.69                 | 21.76                     | -0.32     |

\* Average of best three determinations among five determinations

## Conclusion

The present method using DMIH as a spectrophotometric reagent for the determination of Uranium (VI) in aqueous medium is sensitive and simple. Most of the spectrophotometric methods involve both extraction and heating of the reaction mixture or only extraction. The determination of U (VI) using DMIH is not laborious and time consuming process. Further it is easy to synthesis the reagent using available chemicals. Moreover the present method is simple, rapid, sensitive and selective for the determination of U (VI).

## Acknowledgments

The authors are thankful to the Jawaharlal Nehru Technological University, Anantapur for providing research facilities to carry out the present work.

## References and Notes

- [1] Singh R. B.; Jain, P.; Singh, R. P. *Talanta* **1982**, 29, 77.
- [2] Marceznko, Z. Spectrophotometric determination of elements. New York: John Wiley and Sons, 1976.
- [3] Snell, F. D. Photometric and Fluorimetric methods of analysis, part-II. New York: John Wiley-Interscience publications, John Wiley and sons, 1978.
- [4] Ramachandraiah, C.; Vijayakumari, D.; Lakshminarayana, K. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **1973**, 175, 185.
- [5] Cui, K. Y.; Zeng, F. *Fenxi Shiyanshi* **2000**, 19, 34.
- [6] Lin, F.; Xu, Z. *Xiangtan Kuangye Xueyuan Xuebao* **1999**, 14, 55.
- [7] Chandravansi, B. S.; Temam, J. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **1996**, 210, 171.
- [8] Li, Y.; Ying, M.; Long, X. *Lithua Jianyam, Huoxue Fence* **1996**, 32, 145.
- [9] Saran, R.; Baishya, N. K. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **1995**, 196, 363.
- [10] Agarwal, Y. K.; Shrivastav, P.; Menon, S. K. *Sep. Purify. Technol.* **2000**, 20, 177.
- [11] Vijayakumari, D.; Lakshminarayana, K. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **1993**, 175, 1.
- [12] RameshwaraRao, M.; Chandrasekhar, K. B. *Asian J. Chem.* **2008**, 20, 1402.



**Table 6.** Comparison of spectrophotometric methods for the determination of U (VI)

| Reagent  | $\lambda_{\max}$ (nm) | pH          | Molar Absorptivity ( $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ ) | Extraction/ Heating               | Beer's law Range                            | Ref.                  |
|--|-----------------------|-------------|---|-----------------------------------|---|-----------------------|
| o-chloro phenyl fluorone                                   | 560                   | 7.5         | $1.42 \times 10^4$                                      | Heated at 95 °C                   | 0-10 mg/5mL                                 | 5                     |
| 4,5-Dibromo-2-nitrophenyl fluorone                         | 600                   | 9.0         | 0.00077   | Extracted by TBP                  | 0-15 mg/25mL                                | 6                     |
| N-Phenyl cinnamohydroxamic acid                            | 400                   | 5.5-8.5     | 6500  | EtOAc Extraction                  | 2-40 mg/mL                                  | 7                     |
| 5-(p-carboxyphenylazo)-8-hydroxyquinoline                  | 470                   | 4 - 6       | $4.39 \times 10^4$                                      | TBP Extraction                    | 0-55 mg/25mL                                | 8                     |
| 5-(2-carboxyphenylazo)-8-quinolinol                        | 524                   | 5.2 - 6.1   | $1.035 \times 10^4$                                     | Isobutyl methyl ketone extraction | 1.4 -7.1 g/mL                               | 9                     |
| NHDTAHA  | 390                   | -           | $1.0 \times 10^4$                                       | Chloroform Extraction             | 2-3 mg/25mL                                 | 10                    |
| 2-Hydroxy-1-napthaldehyde isonicotinoyl hydrazone (OHPINH) | 430                   | 3.0         | $9.6 \times 10^4$                                       | ----                              | 0.2-33 mg/25mL                              | 11                    |
| 2-Hydroxy-3-benzaldehyde isonicotinoyl hydrazone           | 374                   | 4.0         | $1.0 \times 10^4$                                       | ----                              | 1.19-11.9 ( $\mu g / mL$ )                  | 12                    |
| <b>Diacetyl Monoxime Isonicotinoylhydrazone (DMIH)</b>     | <b>364</b>            | <b>3.25</b> | <b><math>1.63 \times 10^4</math></b>                    | ---                               | <b>1.19-14.28 (<math>\mu g / mL</math>)</b> | <b>Present method</b> |

## Synthesis of some new series of Mannich base derivatives and their antimicrobial activity

Radha Krishnan Surendra Kumar, Akbar Idhayadhulla, and Abdul Jamal Abdul Nasser\*

P. G. & Research Dept. of chemistry, Jamal Mohamed College, Tiruchirappalli-620020, Tamil Nadu, India

Received: 27 November 2010; revised: 10 January 2011; accepted: 28 January 2011.  
Available online: 27 August 2011.

**ABSTRACT:** A series of 1-[(4-substituted phenyl)(hydrazinyl)methyl]-1H-imidazole (**1-6**) were synthesized by Mannich reaction. Synthesized compounds **1-6** were confirmed by IR, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, Mass and elemental analysis. Synthesized compounds **1-6** were screened for antimicrobial activity.

**Keywords:** imidazole; Mannich condensation; antibacterial; antifungal activity

### Introduction

In recent years series attention has been directed towards the discovery and development of new antifungal drugs. Mostly caused by *Candida albicans*, these infections are often spread through the use of broad-spectrum antibiotics agents, anticancer, and anti-AIDS drugs. The main problem in the treatment of fungal infection is the increasing of drug resistance subjected to antimycotic therapy such as persons infected with HIV [1]. Azoles (imidazole and triazole) are presented in many effective antifungal drugs. They are widely used for the treatment of topical or inner mycoses; in particular AIDS-related mycotic pathologies [2]. Their main effect is to block fungal ergosterol biosynthesis by preventing the access of natural substrate lanosterol to the active site of the cytochrome P-450-dependent enzyme 14 $\alpha$ -lanosterol demethylase [3]. A number of antifungal imidazole agents have been studied and now are used in clinical practice such as miconazole, bifonazole [4]. Imidazole and its derivatives are an important class of heterocyclic and many naturally occurring imidazoles are known to

\* Corresponding authors: [jamal\\_abdulchem@ymail.com](mailto:jamal_abdulchem@ymail.com)

possess biological activity [5]. The imidazole nucleus is also a major component of a variety of drugs such as angiotensin II receptor antagonists, oral anti-inflammatory agents, protein kinase inhibitors and fungicides [6]. Compounds with an imidazole ring system have many pharmacological properties and play important roles in biochemical processes [7]. Many of the substituted imidazoles are known as inhibitors of fungicides and herbicides, plant growth regulators and therapeutic agents [8]. Imidazole is frequently found as part of a large number of biologically and medicinally significant substances [9, 10]. Imidazole derivatives possess a broad spectrum of pharmacological activities such as anticonvulsant [11], anti-Parkinson [12] and monoamineoxidase (MAO) inhibitory [13] activity. The amino alkylation of aromatic substrates by the Mannich reaction is of considerable importance for the synthesis and modification of biologically active compounds [14, 15]. Mannich bases have several biological activities such as antimicrobial [16-20], cytotoxic [21, 22] anticancer [23, 24]. In the present study, a new series of imidazole derivatives have been synthesized and screening the effect of antimicrobial activity.

## Material and Methods

### General

Melting points were recorded in open capillary tubes and were uncorrected. The IR spectra (KBr) were recorded on a Shimadzu 8201pc (4000-400  $\text{cm}^{-1}$ ). The  $^1\text{H}$ NMR and  $^{13}\text{C}$ NMR were recorded on a Bruker DRX-400 MHz. Mass spectra (EI) were recorded on a Jeol JMS D-300 spectrometer operating at 70eV. The Elemental analysis (C, H, N and S) were recorded using an Elementer analyzer model (Varian EL III). The purity of the compounds was checked by thin layer chromatography (TLC).

### Chemistry

#### General procedure for synthesis of compounds **1-6**

*Synthesis of 1-[hydrazinyl(phenyl)methyl]-1H-imidazole (1):* A mixture of imidazole (0.1mol), Hydrazine hydrate (0.1mol) and 4-substituted benzaldehyde (0.1 mol) in ethanol, the reaction mixture was refluxed for 5h. It was cooled and poured in to ice-cold water. The precipitate was obtained in a few mints, collected by filtration. The precipitate was dried and recrystallised by absolute ethoanol. IR (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ): 3280 ( $\text{NH}_2$ ), 2921 (NH), 3010 (Ar-CH).  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $\text{d}_6$ , 400MHz):  $\delta$  7.96 (1H, s, imidazole ring), 6.86 (1H, d, imidazole ring), 7.26 (1H, s, imidazole ring), 6.11 (1H, s, CH), 2.43 (1H, d, NH), 2.01 (1H, t,  $\text{NH}_2$ ), 7.23-7.26 (5H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $\text{d}_6$ , 400MHz):  $\delta$  76.6 (CH), 137.8, 128.1, 120.6 (imidazole ring), 128.5 (Phenyl ring). M/Z (relative intensity %): 188.28 [ $\text{M}^+$ , 38%], 173.21 [24%], 158.10[100%], 82.10[43%].

Using above procedure was followed by all the remaining compounds (**2-6**).

*1-[(4-Chlorophenyl)(hydrazinyl)methyl]-1H-imidazole (2)*: IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3288 ( $\text{NH}_2$ ), 2929(NH), 3025 (Ar-CH), 837(CI-C).  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $\text{d}_6$ , 400MHz):  $\delta$  7.90 (1H, s, imidazole ring), 6.89 (1H, d, imidazole ring), 7.27 (1H, s, imidazole ring), 6.34 (1H, s, CH), 2.48 (1H, d, NH), 2.29 (1H, t,  $\text{NH}_2$ ), 7.30-7.41 (4H, m, Ph-Cl).  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $\text{d}_6$ , 400MHz):  $\delta$  76.0 (CH), 137.1, 128.9, 120.8 (imidazole ring), 131.3(C-Cl), 127.5 (Phenyl ring). m/z (relative intensity %): 222.67 [ $\text{M}^+$ , 30%], 207.65[34%], 192.64[24%], 158.23[100%], 82.90[10%], 68.07[17%].

*4-[Hydrazinyl(1H-imidazol-1-yl)methyl]phenol (3)*: IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3277( $\text{NH}_2$ ), 2927 (NH), 3018 (Ar-CH), 1447 (C-OH).  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $\text{d}_6$ , 400MHz):  $\delta$  9.41(1H, s, OH), 7.88 (1H, s, imidazole ring), 6.80 (1H, d, imidazole ring), 7.21 (1H, s, imidazole ring), 6.27 (1H, s, CH), 2.38 (1H, d, NH), 2.11 (1H, t,  $\text{NH}_2$ ), 7.31-7.48 (5H, m, Ph-OH).  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $\text{d}_6$ , 400MHz):  $\delta$  155.1(C-OH), 137.1, 127.2, 122.1 (imidazole ring), 127.9 (Phenyl ring), 76.8(CH). M/Z (relative intensity %): 204.22 [ $\text{M}^+$ , 20%], 189.21[34%], 174.19 [41%], 158.76 [100%], 82.32 [52%], 68.27[18%].

*1-[Hydrazinyl(4-nitrophenyl)methyl]-1H-imidazole (4)*: IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) : 3271 ( $\text{NH}_2$ ), 2928 (NH), 3027 (Ar-CH), 1536 (C- $\text{NO}_2$ ).  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $\text{d}_6$ , 400MHz):  $\delta$  7.82 (1H, s, Imidazole ring), 6.89 (1H, d, imidazole ring), 7.26 (1H, s, imidazole ring), 6.17 (1H, s, CH), 2.49 (1H, d, NH), 2.07 (1H, t,  $\text{NH}_2$ ), 7.38-7.44 (4H, m, Ph- $\text{NO}_2$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $\text{d}_6$ , 400MHz):  $\delta$  144.3 (C- $\text{NO}_2$ ), 136.3, 127.9, 120.1 (imidazole ring), 128.1 (Phenyl ring), 75.80 (CH). M/Z (relative intensity %): 233.98 [ $\text{M}^+$ , 27%], 218 [76%], 203.27[34%], 158.65[100%], 82.57[37%], 68.35[%].

*1-[Hydrazinyl(4-methoxyphenyl)methyl]-1H-imidazole (5)*: IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) : 3261 ( $\text{NH}_2$ ), 2928 (NH), 3025 (Ar-CH).  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $\text{d}_6$ , 400MHz):  $\delta$  7.96 (1H, s, imidazole ring), 6.81 (1H, d, imidazole ring), 7.24 (1H, s, imidazole ring), 6.17 (1H, d, CH), 3.84 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 2.49 (1H, d, NH), 2.07 (1H, t,  $\text{NH}_2$ ), 7.38 -7.44 (4H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $\text{d}_6$ , 400MHz):  $\delta$  157.8(C-OCH<sub>3</sub>), 137.2, 127.8, 119.5 (imidazole ring), 128.7 (Phenyl ring), 76.3 (CH), 55.3(C-OCH<sub>3</sub>). M/Z (relative intensity %): 218.71 [ $\text{M}^+$ , 21%], 203.49 [65%], 188.20 [54%], 158.54 [100%], 82.23 [23%], 68.90 [17%].

*4-[Hydrazinyl(1H-imidazol-1-yl)methyl]-N,N-dimethylaniline (6)*: IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) : 3291 ( $\text{NH}_2$ ), 2918 (NH), 3011 (Ar-CH).  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $\text{d}_6$ , 400MHz):  $\delta$  7.96 (1H, s, imidazole ring), 6.86 (1H, d, imidazole ring), 7.26 (1H, s, imidazole ring), 6.11 (1H, s, CH), 3.12 (s, 6H, -N(CH<sub>3</sub>)), 2.48 (1H, d, NH), 2.01 (1H, t,  $\text{NH}_2$ ), 7.23-7.26 (4H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $\text{d}_6$ , 400MHz):  $\delta$  147.8 (C-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 137.1, 127.8, 120.8 (imidazole ring), 128.0 (Phenyl ring), 76.9 (CH), 40.5(-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). M/Z (relative intensity %): 231.56 [ $\text{M}^+$ , 42%], 216.34 [48%], 201.23[43%], 158.88 [100%], 82.48 [42%], 68.10 [23%].

## Biology

### *In vitro* antibacterial screening

The compounds **1-6** were evaluated for their antibacterial activity *in vitro* against *Escherichia coli* (MTCC-739), *Proteus mirabilis*, non hemolytic streptococcus, *Pseudomonas aeruginosa* (MTCC-2435), *Micrococcus luteus* (MTCC-106), *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus epidermidis*, *Bacillus spp*, *Klebsiella pneumonia* (recultured), and *Staphylococcus aureus* (MTCC- 96). The antibacterial screening was performed with ten bacterial species in Mueller–Hinton agar (Hi-Media) medium by disc diffusion method [25, 26]. Each compound was tested at a concentration of 100 µg/mL in DMSO. Ciprofloxacin was used as the standard. The zone of inhibition was measured after 24 h incubation at 37 °C (Table 2).

### *In vitro* antifungal screening

The compounds **1-6** were evaluated for their antifungal activity *in vitro* against *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Microsporium audouinii* and *Cryptococcus neoformans* (recultured) using disc diffusion method [27-29] with sabouraud's dextrose agar (Hi-Media). Each compound was tested at a concentration of 100 µg/mL in DMSO. Clotrimazole was used as the standard. The zone of inhibition was measured incubated at 37 °C for 24h (Table 3).

## Results and Discussion

### **Spectral discussion**

Herein we have described the synthesis, characterization and biological evaluation of novel 1-[hydrazinyl(4-substituted phenyl)methyl]-1H-imidazole (**1-6**) (Scheme 1). The physical data of these compounds are given in Table 1. The formation of all the compounds was confirmed by recording the IR, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, mass and elemental analysis. The IR spectrum of compounds **1-6** showed absorption bands at 3277-3291, 3031-3005, and 2918-2938 corresponding to the NH<sub>2</sub>, NH and Ar-CH groups, respectively. The <sup>1</sup>H NMR spectra of the compounds showed broad signal observed at δ 6.34-6.10 and 2.29 – 2.01 ppm corresponding to  $-\underline{\text{C}}\text{H}-\text{NH}$  and  $-\text{NH}-\text{NH}_2$  protons.

<sup>13</sup>C NMR spectrum of the compound **1** and **2** showed peak at δ 75.8-76.9 corresponding to  $-\underline{\text{C}}\text{H}-\text{NH}$  carbon respectively. Mass spectra (EI) of the compound **1-6** showed that molecular ion peak at M<sup>+</sup>, which is confirmed that the total molecular mass of the compounds.

### **Biological screening**

#### *Antibacterial activity*

Compounds **1-6** were evaluated for their antibacterial activity *in vitro* against ten bacterial species using disc diffusion method. Inhibition zones were measured at mm.

The compound **6** is highly active against *Klebsiella pneumonia* compared with standard at concentration 100 µg/mL, other compounds are less active compared with standard. The bacterial zones of inhibition values are given in Table 2.

#### Antifungal activity

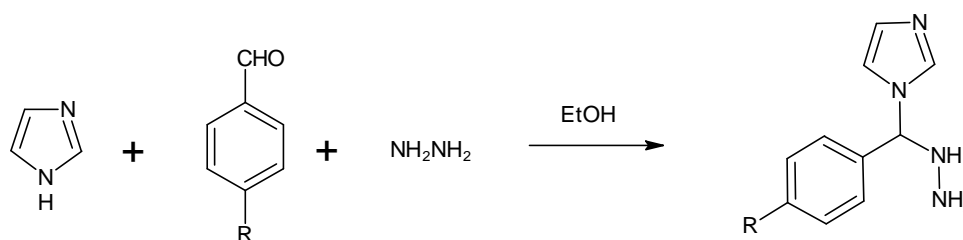
Compounds **1-6** were evaluated for their antifungal activity against *in vitro* *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Microsporium audouinii* and *Cryptococcus neoformans* (recultured) using disc diffusion method. The compounds **2** and **3** are equipotent activity against *Aspergillus niger* and *C. albicans* compared with standard at concentration 100 µg/mL, other compounds are less active compared with standard. Values are summarized in Table 3.

**Table 1.** Physicochemical characterization of the compounds **1-6**

| Compds. no | R                                | M.P (°C) | M.W    | Yield (%) | M.F   | Elemental Analysis Calculated (Found) % |            |                     |
|------------|----------------------------------|----------|--------|-----------|---|---|------------|---------------------|
|            |                                  |          |        |           |   | C                                       | H          | N                   |
| <b>1</b>   | H                                | 175      | 188.19 | 85        | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub>                | 63.81(63.85)                            | 6.43(6.47) | <b>29.77(29.80)</b> |
| <b>2</b>   | Cl                               | 213      | 222.67 | 87        | C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>4</sub>              | 53.49(53.51)                            | 4.98(4.90) | <b>25.16(25.20)</b> |
| <b>3</b>   | OH                               | 263      | 204.22 | 91        | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O              | 58.81(58.90)                            | 5.92(5.88) | <b>27.43(27.48)</b> |
| <b>4</b>   | NO <sub>2</sub>                  | 210      | 233.22 | 96        | C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub> | 51.50(51.45)                            | 4.75(4.80) | <b>30.03(30.07)</b> |
| <b>5</b>   | OCH <sub>3</sub>                 | 227      | 218.25 | 88        | C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O              | 60.53(60.60)                            | 6.47(6.45) | <b>25.67(25.70)</b> |
| <b>6</b>   | N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> | 257      | 231.29 | 85        | C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> N <sub>5</sub>                | 62.31(62.37)                            | 4.41(4.48) | <b>30.28(30.31)</b> |

**Table 2** Antibacterial activity of the compounds (**1-6**), zone of inhibition (mm)

| Test organisms       | Compd. 1 | Compd. 2 | Compd. 3 | Compd. 4 | Compd. 5 | Compd. 6 | Standard |
|----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| <i>E. coli</i>       | -        | -        | 14       | 5        | 7        | -        | 18       |
| <i>P. mirabilis</i>  | -        | 6        | -        | -        | -        | -        | 14       |
| <i>P. aeruginosa</i> | -        | 7        | 7        | 10       | -        | -        | 16       |
| <i>M. luteus</i>     | 14       | 13       | -        | -        | 8        | -        | 27       |
| <i>E. faecalis</i>   | 15       | -        | -        | 12       | 12       | -        | 20       |
| <i>S.</i>            | -        | -        | 13       | -        | -        | 10       | 29       |
| <i>epidermidis</i>   | 12       | -        | 12       | -        | -        | 24       | 20       |
| <i>K.</i>            | 13       | 12       | -        | 6        | -        | -        | 15       |
| <i>pneumoniae</i>    | -        | 15       | 6        | 14       | 17       | 20       | 16       |

*Bacillus spp**S. aureus***Scheme 1.** Synthetic route of compounds **1-6**.**Table 3.** Antifungal activity of the compounds(**1-6**), zone of inhibition (mm)

| Test organisms       | Compd. 1 | Compd. 2 | Compd. 3 | Compd. 4 | Compd. 5 | Compd. 6 | Standard |
|----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| <i>A. niger</i>      | -        | 19       | -        | 10       | 5        | -        | 21       |
| <i>C. albicans</i>   | -        | 6        | 15       | 5        | -        | 6        | 18       |
| <i>C. neoformans</i> | 5        | -        | 6        | -        | 7        | 8        | 16       |
| <i>M. audouinii</i>  | -        | 7        | -        | 12       | -        | 14       | 20       |

## Conclusion

New series of imidazole derivatives were prepared from Mannich base method. The synthesized compounds **1-6** were screened for antimicrobial activity. Among these compounds (**6**) has a highly antibacterial activity against *Klebsiella pneumonia* at concentration 100 µg/mL compared with standard Ciprofloxacin.

## Acknowledgments

We wish to thank for Dr. J. Selvin, Department of Microbiology Bharathidasan University, for their help in microbial activities. We sincerely thank Principal and management of Jamal Mohamed College, for providing Laboratory facilities and financial supported.

## References and Notes

- [1] Wildfeuer, A.; Seidl, H. P.; Haberreiter, A. *Mycoses* **1998**, *41*, 306.
- [2] Koltin, Y. *Annu. Rep. Med. Chem.* **1990**, *25*, 141.
- [3] Odds, F. C.; Brown, A. J.; GOW, N. A. *Trends Microbiol.* **2003**, *11*, 272.
- [4] Fromtling, R. A. *Clin. Microbial Rev.* **1988**, *1*, 187.
- [5] Grimmett, M. R. *Advances in Heterocyclic Chemistry* **1970**, *27*, 241.

- [6] Jouneau, S.; Bazureau, J. P. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 8097.
- [7] Lambardino, J. G.; Wiseman, E. H. *J. Med. Chem.* **1974**, *17*, 1182.
- [8] Maier, T.; Schmierer, R.; Bauer, K.; Bieringer, H.; Buerstell, H.; Sachse, B. *Chem. Abstr.* **1989**, 19494.
- [9] De Luca, L. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 1.
- [10] Boiani, M.; González, M. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2005**, *5*, 409.
- [11] Verma, M.; Chaturvedi, A. K.; Parmar, S. S. *J. Pharm. Sci.* **1974**, *63*, 1740.
- [12] Naithani, P. K.; Srivatsava, V. K.; Barthwal, J. P.; A. K. Saxena, A. K.; Gupta, T. K.; Shanker, K. *Indian J. Chem.* **1989**, *28*, 299.
- [13] Harfenist, M.; Saroka, E. F.; Meckenzie, G. M. *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 405.
- [14] Tramontini, M. *Synthesis* **1973**, 703.
- [15] Tramontini, M.; Angliolini, L. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 1791.
- [16] Edic-Saric, M.; Maysinger, D.; Movrin, M.; Dvorzak, I. *Chemotherapy* **1980**, *26*, 263.
- [17] Gul, H. I.; Gul, M.; Erciyas, E. *Arzneim. Forsch Drug Res.* **2002**, *52*, 628.
- [18] Gul, H. I.; Vepsalainen, J.; Gul, M.; Erciyas, E.; Hanninen, O. *Pharm. Acta Helv.* **2000**, *74*, 393.
- [19] El-Merzabani, M. M.; Kamel, M. M.; Nabih, I.; Nasr, M.; Zayed, A. *Pharmazie* **1976**, *31*, 485.
- [20] Siatra-Papastaikoudi, T.; Tsotinis, A.; Chinou, I.; Roussakis, C. *Farmaco* **1994**, *49*, 221.
- [21] Atwal, M. S.; Bauer, L.; Dixit, S. N.; Gearien, J. E.; Megahy, M.; Morris, R.; Pokorny, C. *J. Med. Chem.* **1969**, *12*, 994.
- [22] Oechel, D. A.; Rankin, G. O. *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 764.
- [23] Lee, C. M.; Plattner, J. J.; Ours, C. W.; Horrom, B. W.; Smital, J. R.; Pernet, A. G.; Bunnell, P. R.; El-Masry, S. E.; Dodge, P. W. *J. Med. Chem.* **1984**, *27*, 1579.
- [24] Borenstein, M. R.; Doukas, P. H. *J. Pharm. Sci.* **1987**, *76*, 300.
- [25] Bauer, A. W.; Kirby, W. M.; Sherris, J. C.; Turck, J. C. M. *Am. Clin. Pathol.* **1966**, *39*, 493.
- [26] Petersdorf, R. F.; Sherris, J. C. *Am. J. Med.* **1965**, *39*, 766.
- [27] Collins, A. H. *Microbiological Methods* (second ed.). London: Butter worth, 1976.
- [28] Gillespie, S. H. *Medical Microbiology-Illustrated* Butterworth Heinemann. London. 1994, 234.
- [29] In: Varma, R.S. Editor *Antifungal Agents Past Present and Future prospects* National Academy of Chemistry & Biology Lucknow India, 1998.



## História da Ciência como princípio da aplicação e análise de uma proposta de ensino para o conteúdo conservação de massa

Marilyn A. Errobidarte de Matos

SEMED – Secretaria Municipal de Educação, Rua Onicieto Severo Monteiro, 460 - Vila Margarida, CEP: 79023-200 - Campo Grande – MS, Brasil

Received: 18 January 2011; revised: 21 February 2011; accepted: 25 February 2011.  
Available online: 27 August 2011.

**ABSTRACT:** *In this paper we consider primarily the application and analysis of a constructivist teaching strategy with strong references in the History of Science, developed the content for the Law of Conservation of mass for students 9<sup>th</sup> grade of elementary school. To achieve an interpretative focus of the data obtained was used in qualitative research.*

**Keywords:** *Law Lavoisier; history of science; mass conservation; elementary school; science education*

### Introdução

Muitos educadores afirmam que a abordagem histórica dos conteúdos é fator de educação científica, uma vez que assim procedendo, o professor estaria aproximando o conhecimento científico do universo cognitivo do aluno, no entanto, não poderia ser uma abordagem superficial, como a apresentação de biografias e imensos textos informativos [1].

Acredita-se que a História da Ciência (H.C.) quando introduzida no ensino, pode contribuir antecipando algumas concepções dos alunos e facilitando a evolução conceitual. Este é um dos argumentos favoráveis, mas não o único.

Mathews (1994) refere-se aos seguintes: (1) a H.C. promove

\* Corresponding author. E-mail: [marilyn\\_matos@hotmail.com](mailto:marilyn_matos@hotmail.com)

uma melhor compreensão dos conceitos científicos e dos métodos da ciência; (2) as abordagens históricas interligam o desenvolvimento do pensamento individual com o desenvolvimento das ideias científicas; (3) a H.C. é válida por si mesma e necessária à compreensão da natureza da ciência; (4) a H.C. combate o cientismo e o dogmatismo, que é frequente nos textos científicos e nas aulas de ciências; (5) a H.C., ao examinar a vida e o tempo em que viveram os cientistas individualmente, humaniza o tratamento dos assuntos científicos, tornando-os menos abstractos e mais atraentes para os estudantes; (6) a H.C. permite estabelecer ligações entre as várias disciplinas científicas, assim como com outras disciplinas académicas; ela permite integrar e mostrar a interdependência das realizações da humanidade [2]

No entanto, há também alguns pontos negativos e controversos na utilização da H.C. no ensino, por exemplo:

Sequeira e Leite, 1988; Kauffman, 1991 e Mathews, 1994, citam: (1) extensão dos programas; (2) escassez de material de apoio adequado; (3) a H.C., na maioria das vezes, é usada como estratégia e distorcida de modo a que as descobertas e/ou investigações científicas apareçam encadeadas cronologicamente, como se tratasse de uma evolução, o que pode deixar nos alunos a ideia errada que o estabelecimento e aceitação de leis e princípios científicos é um processo óbvio e isento de controvérsia; (4) a H.C. poderá retirar às aulas de ciência tempo valioso para a ciência propriamente dita; (5) os conhecimentos do passado poderão diminuir excessivamente a convicção dos estudantes sobre o conhecimento actual [3].

A utilização pelos professores da H.C. na sala de aula deve, portanto, ter em conta os potenciais problemas apontados no sentido de evitá-los ou pelo menos de minimizá-los; além disso, o uso da abordagem histórica na educação vai depender da concepção de ensino do professor. Assim, os objetivos do plano de aula é que determinarão o uso da abordagem histórica, bem como a metodologia de trabalho com enfoque histórico.

Para O. Pessoa Junior (1996) [4], se o docente pretende que os alunos consigam resolver equações da Física (ou de outra área), então não faz sentido o trabalho educacional via História da Ciência. Mas, caso a intenção seja delinear as diferentes

transições teórico-metodológicas que a Ciência sofreu ao longo dos anos, podemos notar a importância desse enfoque de ensino, devendo-se atentar a algumas particularidades, tais como: i) qual o conteúdo científico a ser trabalhado; ii) o nível escolar em consideração; iii) o grau de ênfase a trabalhar com História da Ciência; iv) e o *tipo* de abordagem histórica [4].

Segundo Trindade (2008) [5], "A História da Ciência mostra como o pensamento científico se modifica com o tempo, evidenciando que as teorias científicas não são definitivas e irrevogáveis; desmistifica o método científico, fornecendo ao estudante os subsídios necessários para que ele tenha uma melhor compreensão do fazer ciência".

Apesar da H.C. ser referida em vários artigos científicos como estratégia facilitadora de conceitos, modelos e teorias, abordagem histórica dos conteúdos das disciplinas científicas ou ainda como conteúdo em si, pouco a vemos contemplada em salas de aula.

Martins (2007) [6] investigou as principais dificuldades e experiências de professores e futuros professores, acerca do uso da História e da Filosofia da Ciência para fins didáticos, concluindo que: "há um abismo entre o valor atribuído à H.F.C. e a sua utilização, com qualidade, como conteúdo e estratégia didática nas salas de aula do nível médio".

O Ensino de Ciências passa por diversos problemas, um deles é a maneira com que é concebido pelas escolas, com a memorização de um conjunto desconexo de fatos, fórmulas e nomenclaturas e, segundo Zancan [7], "*os membros da comunidade científica brasileira tem hoje mais uma tarefa: lutar para mudar o ensino de informativo para transformador e criativo*".

Há muito se discute, no Ensino de Ciências/Química, o quê ensinar, como ensinar e por que ensinar. Em se tratando dos conteúdos da Química no Ensino Fundamental, essas questões são mais problemáticas, pois o ensino tradicional do nono ano divide as Ciências Naturais em Química e Física e em semestres distintos, além de trabalhar os conceitos de ambas sem integrá-los.

Os Parâmetros Curriculares Nacionais (PCN), documento oficial que norteia os currículos, representam a materialização de um consenso relativo às políticas públicas da educação nacional e de parte da comunidade científica [8]. Traz critérios de seleção de conteúdos, além de sugerir a abordagem através de temas de trabalho e problemas de investigação que facilitem "o tratamento interdisciplinar das Ciências Naturais" [9].

Em Campo Grande, MS, o ensino da rede municipal é regido por um referencial curricular próprio, o qual é elaborado por uma equipe da Coordenadoria Geral de Políticas Educacionais - CGPE, da Secretaria Municipal de Educação (SEMED), com o objetivo de

sistematizar a proposta curricular apresentada pelos professores atuantes nas escolas da Rede Municipal de Ensino (REME).

Assim, o currículo de Ciências para o nono ano inicia o primeiro bimestre com: "A História da Química da Pré-história à Idade Contemporânea", tendo como habilidades a serem desenvolvidas "analisar e interpretar sobre a história e a evolução da química".

Segundo o Referencial Curricular da REME [10], os conteúdos devem possibilitar ao aluno conhecer a Química como uma construção humana, compreendendo os aspectos históricos de sua produção e suas relações com o contexto cultural, socioeconômico e político.

A literatura nos mostra que a H.C. quando abordada pelos livros didáticos é feita descontextualizada e segmentada, como tópicos isolados do conteúdo desenvolvido naquele capítulo e algumas vezes como "curiosidades".

Desde o ano de 2005, novas propostas metodológicas de ensino vêm sendo desenvolvidas e aplicadas em turmas de nonos anos de escolas municipais no município de Campo Grande MS, procurando minimizar os problemas apontados anteriormente acerca da utilização da História da Química na série final do Ensino Fundamental. As sequências didáticas adotadas para o desenvolvimento dos conceitos químicos, com aspectos históricos, em sala de aula, encontram-se descritas em trabalhos anteriores [11, 12 e 13].

Aqui trataremos de dar continuidade aos trabalhos citados acima, abordando a Lei de Lavoisier ou Lei da Conservação de Massa. Segundo Paixão [14], a conservação de massa é um tema de relevância indiscutível, pré-requisito para a progressão na totalidade dos estudos subsequentes em Química, bem como, o conhecimento da teoria geral das reações químicas, imprescindíveis para a compreensão de toda a estrutura da Química, como ciência das propriedades e transformações das substâncias.

Segundo essa mesma autora [14a], os professores de Química usam frequentemente uma aproximação tradicional quando ensinam o tópico conservação de massa. A ênfase está na aprendizagem de conceitos e de processos isolados da ciência. O tópico é utilizado exclusivamente como conteúdo para resolver os exercícios que tratam de balancear equações químicas e de problemas estequiométricos. O fato é que mesmo quando os estudantes podem resolver os problemas, este não corresponde necessariamente a uma compreensão dos conteúdos.

Assim, definiu-se o seguinte problema de pesquisa: *"Uma abordagem metodológica construtivista com fortes referências na História da Ciência, será facilitadora da aprendizagem da Lei de Conservação de Massa, tornando-a significativa para os alunos?"*

Neste artigo, trataremos fundamentalmente da aplicação e análise de uma proposta metodológica de ensino referenciada em pressupostos teóricos construtivistas, desenvolvidas para o conteúdo Lei da Conservação de Massa.

## Material e Métodos

Nesta pesquisa utilizou-se de uma abordagem experimental e analítica. Para se alcançar um enfoque interpretativo dos dados obtidos utilizou-se da pesquisa qualitativa, que, segundo Ludke e André [15], “tem o ambiente natural, como sua fonte direta de dados e o pesquisador como seu principal instrumento”.

A população foi constituída por 40 alunos de nono ano de uma escola municipal de Campo Grande/MS. As estratégias mais frequentes na metodologia qualitativa são a observação direta, a entrevista, questionário, a fotografia e variados tipos de documentos registrados na forma de textos. Aqui as estratégias adotadas foram: a observação, filmagem, atividades experimentais, relatórios individuais e em grupos, discussão oral, apresentação em *PowerPoint* e teste com questões dissertativas.

A partir de reflexões teóricas, relatos na literatura e da prática pedagógica do pesquisador envolvido, foi desenvolvida uma estratégia construtivista de ensino com fortes referências na História da Ciência, no qual a experimentação foi condutora do conhecimento teórico.

Procedeu-se conforme as etapas abaixo para o desenvolvimento da proposta metodológica de ensino:

- a) Leitura individual do texto “Leis da Química”, retirado do livro didático adotado pela escola, de autoria de Carlos Barros, Ciências: Física e Química – 8ª Série, 2007;
- b) Responder individualmente aos seguintes enunciados: 1. Enuncie a Lei de Lavoisier; 2. Crie uma experiência para comprová-la;
- c) Em duplas: Comente com seu colega como poderiam explicar a lei de Lavoisier para a sala; Leitura do texto: A teoria do flogisto (<http://www.ufpa.br/eduquim/consideracoes.htm>);
- d) Em grupos de quatro alunos, desenvolveu-se um procedimento prático com queima de palha de aço, papel e uma balança de dois pratos. A experiência fora gravada em DVD;
- e) Relatório do procedimento prático;
- f) Socialização da experiência: os respectivos filmes de todos os grupos foram assistidos pelos alunos;

- g) Comentários sobre as conclusões dos grupos, após assistirem cada filme;
- h) Novo relatório, corrigindo seus próprios erros;
- i) Apresentação em PowerPoint na sala de informática;
- j) Exercícios em sala de aula;
- k) Correção dos exercícios no quadro negro;
- l) Prova (em duplas) com questões objetivas e dissertativas.

## Resultados e Discussão

O texto "Leis da Química" foi utilizado como organizador prévio, nesse texto o autor comenta rapidamente, a experiência de Lavoisier com a combustão, uma breve biografia e análise de duas reações químicas. Nesse momento, os alunos leram o texto, individualmente. Os organizadores prévios são materiais introdutórios apresentados antes do material de aprendizagem em si, em nível de abstração e generalidade e inclusividade. Na seqüência metodológica, pretendeu-se estabelecer uma ligação entre o que o aluno já sabia e os novos conceitos a serem aprendidos.

Após a leitura do texto foi então sugerido aos alunos que enunciassem a Lei de Lavoisier. A maioria copiou o enunciado do texto, sem nenhum questionamento, foi então solicitado que criassem uma experiência para comprová-la. Nessa ocasião observamos discussão entre os pares, pesquisa no livro, além do interesse em perguntar ao professor se estava correto ou não. Nesse momento os alunos compararam o que tinham escrito e, na tentativa da melhor explicação para a sala, a maioria das duplas criou nova experiência.

Neste estágio esses alunos não conhecem ainda os conceitos de ligações químicas, observamos, mesmo assim, uma tentativa de entender como seriam os produtos das reações químicas inventadas por eles. Apesar de não terem pré-requisitos didáticos para isso, vários duplas utilizaram a tabela periódica para efetuar ligações químicas.

Quando se solicitou que o indivíduo comprovasse o que leu, ocorreu uma relação entre proposições e conceitos, muitas vezes causando um desequilíbrio, pois nem sempre o aluno atinge o estágio de acomodação. Ficou evidente durante essa estratégia a diferença de tempo para que ocorresse a acomodação.

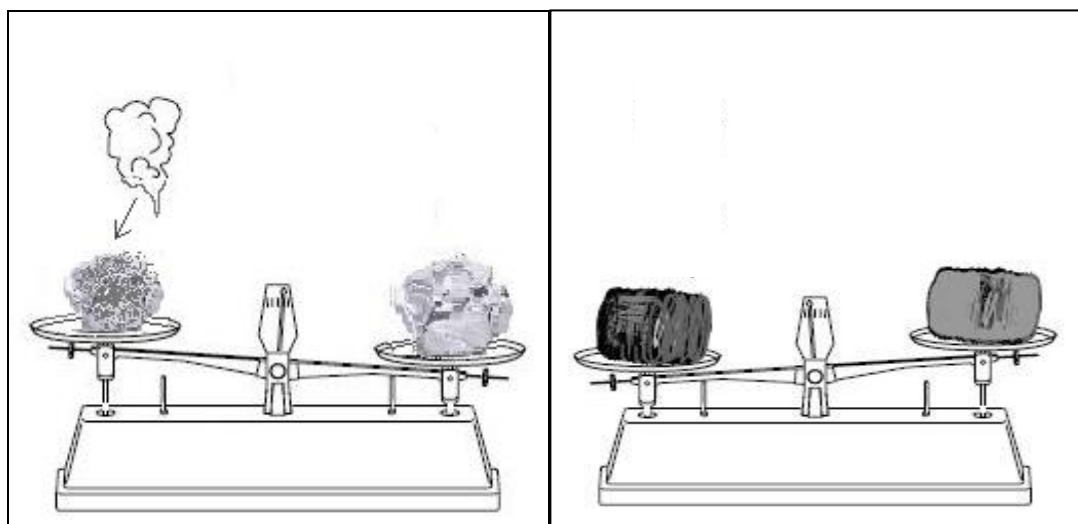
Por acomodação entende-se a modificação de um esquema ou de uma estrutura em função das particularidades do objeto a ser assimilado. A acomodação, segundo Wadsworth (1983) [16], pode ser de duas formas, visto que se pode ter duas alternativas: i) criar um novo esquema no qual se possa encaixar o novo estímulo, ou ii)

modificar um já existente de modo que o estímulo possa ser incluído nele.

Para que a teoria do flogisto e a Lei de Lavoisier fossem comparadas utilizamos o texto "A teoria do flogisto". Os alunos em grupos discutiram o texto e nesse momento ouvimos comentários: "Onde está o erro da teoria?", "Eles estavam errados?", o que demonstrou a atenção do aluno para identificar o porquê da substituição dessa teoria pela Lei de Lavoisier.

Diante da discussão gerada, utilizamos como estratégia colocar os alunos frente a situações que ponham em cheque suas concepções a respeito da realidade física, na esperança que se provoque um processo de desequilíbrio na estrutura cognitiva que contribua para a superação da contradição entre as velhas e as novas idéias [17], no entanto, sabemos que os conflitos cognitivos não são, por si só, geradores de mudanças conceituais.

No intuito de provocar desequilíbrio cognitivo e verificar as hipóteses dos alunos sobre a conservação da massa, cada grupo realizou um experimento que envolveu a queima de papel (Fig.1) e palha de aço (Fig.2). Apesar de todo o conteúdo anteriormente discutido, alguns alunos mantinham a idéia que qualquer queima acarretaria diminuição da massa.



<sup>1</sup>Fig. 1- Queima de papel

Fig. 2- Queima de palha de aço

Todos os grupos iniciaram o experimento com a balança zerada, equilibrada com papel nos dois pratos, depois houve a queima deste em um dos lados, observação, discussão e anotação (Fig. 3). Após desenvolverem o mesmo procedimento com a palha de aço (Fig. 4). O mais interessante foi comprovar que mesmo quando a balança mostrava um aumento de massa, no caso da queima da palha de aço, alguns alunos ainda afirmavam que havia perda de massa. Desta forma, podemos verificar a

<sup>1</sup> Figura adaptada de [http://www.ciencia.iao.usp.br/dados/t2k/\\_quimica\\_qui29.arquivo.pdf](http://www.ciencia.iao.usp.br/dados/t2k/_quimica_qui29.arquivo.pdf)

dificuldade em abandonar um conceito que para o indivíduo é verdadeiro, apesar de o experimento demonstrar o contrário.



**Fig. 3.** Observação da queima do papel aço



**Fig. 4.** Observação da queima da palha de aço

Outro fato interessante observado foi a associação que os alunos fizeram entre suas idéias e a teoria do flogisto, como exemplo, reproduziu-se abaixo a fala de uma aluna referindo-se a questão de pensar que haveria perda de massa na palha de aço.

*"Acho que estamos pensando igual ao pessoal do flogisto, (risos). E se a história mostrou que eles estavam errados..."*

Nesta etapa da experiência o professor não respondia as questões, os alunos discutiam entre eles, concluíam e relatavam por escrito. É importante que se valorize a fala do aluno, principalmente porque é nessa fase de dialogicidade que se obtém a construção do novo conhecimento, ou mesmo, a não construção, pois há de se investigar também o senso comum que perdura nas discussões em grupo.

Cada grupo entregou, por escrito, o que observaram e concluíram com o experimento. Os dados estão compilados na Tabela 1.

Apesar de todos os grupos terem concluído que após a combustão do papel houve uma diminuição de massa, as explicações para esse fato foram variadas:

*"Apesar de o papel ter ficado mais leve, ele não perdeu nada, houve uma transformação";*

*"Perdeu massa por causa da evaporação da água que havia no papel";*

*"O papel perdeu sua estrutura";*

*"O papel ficou mais leve porque perdeu alguma substância";*

*"Ocorreu uma transformação na composição inicial do papel e ele se*



*transformou ficando mais leve”;*

**Tabela 1.** Conclusão dos grupos após o experimento

| Grupos   | Papel               |                  | Palha de aço        |                  |             |
|----------|---------------------|------------------|---------------------|------------------|-------------|
|          | Diminuição da massa | Aumento da massa | Diminuição da massa | Aumento da massa | Mesma massa |
| Grupo 1  | X                   |                  | X                   |                  |             |
| Grupo 2  | X                   |                  |                     | X                |             |
| Grupo 3  | X                   |                  | X                   |                  |             |
| Grupo 4  | X                   |                  | X                   |                  |             |
| Grupo 5  | X                   |                  |                     |                  | X           |
| Grupo 6  | X                   |                  |                     | X                |             |
| Grupo 7  | X                   |                  |                     | X                |             |
| Grupo 8  | X                   |                  |                     | X                |             |
| Grupo 9  | X                   |                  |                     |                  | X           |
| Grupo 10 | X                   |                  |                     | X                |             |

Os relatórios dos grupos nos mostraram que 30% acreditaram que após a combustão a palha de aço ficou mais leve.

*“A palha de aço também ficou mais leve, deveria ser ao contrário”;*

*“A palha de aço perdeu alguma substância, apesar de não termos visto, como vimos no papel”;*

*“A palha de aço perdeu massa, porque quando queimamos qualquer coisa gases são liberados”;*

A metade dos grupos, ou seja, 50% disseram ter verificado aumento de massa da palha de aço após a combustão.

*“Chegamos a conclusão que a palha de aço ficou mais pesada, porque vimos na balança, mas não sabemos explicar”;*

*“Quando a palha de aço pegou fogo ela puxou algo do ar que a fez ficar mais pesada”;*

*“Quando a palha de aço é queimada ocorre uma transformação, por isso fica mais pesado e continua com o mesmo aspecto”;*

Apenas 20% disseram que a palha de aço após a combustão continuou com a mesma massa.

Ao compararmos as respostas entre os grupos, verificamos que 50% (grupos 2,6,7,8 e 10) afirmaram que houve diminuição de massa para o papel e aumento de massa para a palha de aço, esses dados comprovam o que supostamente aconteceria segundo Mortimer e Miranda (1995): “O teste da conservação da massa na ‘queima’ da lã de aço refuta a idéia de que qualquer queima acarreta diminuição da massa do sistema que está sendo ‘queimado’ [18], no entanto, para 30% (grupos 1, 3 e 4),

permanece a idéia de que houve perda de massa da palha de aço.

Quando comparamos as falas dos alunos com o que escreveram nos relatórios, percebemos que ao se reunirem para escreverem o relatório, prevaleceram as idéias dos alunos que normalmente tem as melhores notas. Em busca de uma reconciliação integrativa [19], para chamar atenção para diferenças e similaridades relevantes, e reconciliar inconsistências reais e também explorar relações entre conceitos, usou-se o filme com as experiências dos grupos.

Nesta etapa, procurou-se socializar as hipóteses dos grupos e também verificar a participação dos integrantes de cada grupo.

Segundo Mortimer e Miranda (1995) [18]:

é através da discussão dos resultados obtidos nos testes e das hipóteses sobre conservação da massa que os alunos poderão, com o auxílio do professor, perceber o que de fato ocorre, explicando a verificação experimental de que a massa do sistema reagente varia de maneira diferente em cada caso.

Assim, após assistirem ao filme, discutiram-se cada conclusão, nesta fase o professor então intervém, explicitando o papel do oxigênio nas reações, inclusive voltando aos textos que iniciaram o estudo, pois apesar de todos terem lido os textos iniciais, poucos utilizaram aquelas informações para explicarem a verificação experimental. Neste momento, o professor comenta a teoria do flogisto, e a lei de Lavoisier, comparando-as, e o novo conceito é reforçado dentro do contexto proposto, criando assim uma plausibilidade.

As condições em que os experimentos foram realizados também foram discutidas, ou seja, o ambiente aberto onde a massa não poderia ser medida. As discussões em grupo auxiliam a troca de idéias, demonstrando claramente que as concepções alternativas são difíceis de serem abandonadas, somente nesta etapa, através do diálogo, percebeu-se o "abandono" da idéia de que qualquer queima acarreta diminuição da massa.

A discussão do limite dos modelos apresentados pelos alunos, bem como a comparação com modelos apresentados por filósofos e cientistas em épocas passadas, mostrando inclusive que suas respostas possuem correlações com outras explicações, que fizeram sentido em outras épocas, portanto, não podem ser consideradas, pelos professores, como equívocos ou erros banais [20].

Após o processo acima, os grupos se reuniram e reescreveram suas conclusões. No processo de reescrita os mesmos discutem e verificam os próprios equívocos; nesse momento, o erro é uma importante fonte de aprendizagem; pois o aluno questiona-se e,

às vezes, é questionado por outros e então, a partir dos seus erros ou acertos reconstrói seus conceitos.

Na sala de informática foram apresentadas para os alunos as duas reações químicas envolvidas no processo, para que houvesse uma aproximação com a linguagem química e a representação científica. No entanto, o objetivo principal foi representar a transformação química, por uma equação química, a nível representacional e microscópico. Para que isso ocorresse, a representação dos átomos combinados dos reagentes e produtos foi em forma de esferas, neste caso, o modelo de Dalton. Quando os alunos contavam a quantidade de "bolinhas" que havia nos reagentes e produtos, verificavam que eram iguais, portanto relacionavam-na com a *Lei de Lavoisier*.

Como qualquer outro recurso, o auxílio que a informática educativa nos oferece é de grande valia, mas devem ser sempre atrelados a uma situação de verificação de aprendizagem. Portanto, ao retornar à sala de aula, as espécies químicas descritas nas equações foram novamente representadas com "bolinhas de papel crepom".

É importante mencionar aqui, que há dificuldades compreensíveis quanto à necessidade de interligar os aspectos macroscópicos, microscópicos e representacional, quando os alunos não atingiram o estágio de operações formais. Com a apresentação de modelos concretos como as bolinhas de papel crepom, exigimos inicialmente o nível operacional concreto e através da interação com as outras dimensões cognitivas mediadas pela linguagem podemos contribuir para que o estudante evolua para um nível cognitivo superior [21].

A estratégia metodológica descrita acima proporcionou aos alunos partirem de um estágio que se encontravam, para gradativamente usar operações mentais mais complexas.

Rosa e Schnetzler (1998)[22], em pesquisa sobre a importância do conceito de transformação química, citam os autores Hesse e Anderson (1992) que concluíram:

a conservação da matéria nas transformações químicas é para os alunos muito mais difícil de entender do que normalmente o professor supõe. Além do mais, se o aluno não consegue entendê-la, torna-se praticamente impossível para ele aceitar e compreender modelos microscópicos que a expliquem. Essa dificuldade de aceitar a conservação da matéria aparece principalmente quando se trata de reações de combustão, onde os alunos costumam pensar que as substâncias se tornam mais leves depois de queimadas, e que parte do material envolvido é perdida em forma de fumaça.

A intervenção do professor é necessária e fundamental, pois através das correções, busca-se minimizar dúvidas e ainda através de exercícios propostos pelo professor, pode-se direcionar para os tópicos que se percebeu que os alunos tiveram mais dificuldade de aprendizado, pois como toda a estratégia aqui proposta centraliza a participação do aluno no processo, também facilita a intervenção do professor que sempre está presente.

Partindo do pressuposto da cooperação entre os alunos, trabalhando na maior parte do processo em duplas ou grupos, optou-se por uma avaliação também em duplas, mas nessa etapa, as duplas foram sorteadas. Pretenderam-se avaliar o aprendizado referente ao enunciado da *Lei de Lavoisier*, os fatos históricos envolvidos, o reconhecimento dessa lei em reações químicas e a representação das transformações químicas por equações químicas. Constatou-se que 77% dos alunos enunciaram a lei corretamente, 89% reconheceram a aplicação da lei em equações e 67% representaram corretamente as equações químicas.

## Considerações

Com o presente artigo, relatamos a aplicação e a análise de uma proposta metodológica de ensino referenciada em pressupostos teóricos construtivistas e na História da Ciência, como facilitadora da aprendizagem da Lei de Conservação da Massa.

As estratégias de ensino desenvolvidas mostraram-se eficientes em relação a abordagem histórica abrangendo a lei de Lavoisier, inclusive perpassando primeiramente pela teoria do flogisto, propiciando aos alunos a compreensão de que as teorias também sofrem mudanças, assim o que hoje é verdade para a Ciência, amanhã poderá não ser.

No entanto, a mudança de conceitos não ocorreu facilmente, mesmo quando as concepções alternativas foram colocadas em cheque, alguns alunos sustentavam a idéia de que em toda combustão há perda de massa. Assim, na presente proposta metodológica, o vídeo com os experimentos e a discussão das conclusões dos grupos, constituíram importante fase para solidificar os novos conhecimentos.

Como já relatado por Rosa e Schnetzler (1998)[22], um dos problemas apresentados quando investiga-se sobre o ensino de transformações químicas, são as explicações dos alunos que concentram-se apenas a nível macroscópico, nesta proposta os alunos representaram uma reação química, por uma equação química, a nível representacional e microscópico, utilizando o computador com o programa PowerPoint e também com "bolinhas de papel crepom".

Os resultados obtidos com esta atividade podem ser considerados positivos do ponto de vista de aprendizagem, pois o desempenho dos alunos em resolução de problemas foi satisfatório, e a interpretação correta das equações químicas, como

representada nas esferas no PowerPoint e nas esferas de papel crepom, é indicativa de uma aprendizagem significativa dos conceitos envolvidos, sendo que estes foram utilizados pelos alunos em questões e problemas novos.

No entanto, percebeu-se que para desenvolver toda a sequência didática proposta, necessitou-se de muito mais horas/aula que um ensino tradicional, livresco, despenderia. Esse fato deve ser considerado, pois as aulas de Ciências no Ensino Fundamental devem ser geminadas, ou seja 2 horas/aula sequenciais, para que estratégias diferenciadas possam ser desenvolvidas.

As considerações feitas durante este trabalho podem constituir uma proposta metodológica para o ensino da Lei de Lavoisier ou mesmo ser aplicada para outros conteúdos da Química, onde a História da Ciência quando introduzida no ensino, possa contribuir mostrando como o pensamento científico se modifica com o tempo, evidenciando que as teorias científicas não são definitivas e irrevogáveis.

## Agradecimentos

Aos árbitros anônimos pelas relevantes considerações.

## Referências e Notas

- [1] Machado, J. R. C. Considerações sobre ensino de química, UFPa, 1998. Disponível em: <http://www.ufpa.br/eduquim/consideracoes.htm>
- [2] Cardoso, M. L. L. A História da Química em Manuais Escolares de Química do 9<sup>a</sup> Ano de Escolaridade. 2000. Universidade do Minho.
- [3] Matthews, M. R. *Caderno Catarinense de Ensino de Física* **1995**, 12, 164.
- [4] Pessoa-Jr, O. *Ciência & Ensino* **1996**, 1, 4.
- [5] Trindade, D. F. *Revista Iberoamericana de Educación* **2008**, 47, 1.
- [6] Martins, A. F. P. *Cad. Bras. Ens. Fís.* **2007**, 24, 112.
- [7] Zancan, G. T. *São Paulo em Perspectiva* **2000**, 14.
- [8] Macedo, E. F. As ciências no ensino fundamental: Perspectivas atuais. Resumo (abstract) do III Encontro Nacional de Pesquisa em Educação em Ciências – III ENPEC, 2001, Atibaia – SP. Atas do III ENPEC: Atibaia 2001.
- [9] Brasil, Ministério da Educação e do Desporto/Secretaria de Educação Fundamental. *Parâmetros Curriculares Nacionais*. Ensino Médio. Ciências naturais. Parecer CNE/97. Brasília: MEC/ SEF, 1997.
- [10] Prefeitura Municipal de Campo Grande, SEMED, Referencial Curricular da Rede Municipal de Ensino, 3<sup>o</sup> ao 9<sup>o</sup> ano do Ensino Fundamental, Vol. IV, 2008.
- [11] Matos, M. A. E. A História da Química: Uma Proposta Metodológica para o Ensino Fundamental. Resumo (abstract) da 30<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia. 30<sup>a</sup> RASBQ, 2007. Disponível em <https://sec.s bq.org.br/cdrom/30ra/resumos/T1871-1.pdf>
- [12] Matos, M. A. E.; SILVA, E. W. F. M.; SIQUEIRA, O. S. WebQuest para o Ensino de

- Química para o Nono Ano do Ens. Fundamental. Resumo (abstract) do ENEQ - Encontro Nacional de Ensino de Química, 2008, Curitiba. Conhecimento Químico. Curitiba: UFPR, 2008.
- [13] Matos, M. A. E.; Bertalli, J. Movie Maker: A História da Química por alunos de 9º ano do Ensino Fundamental. Resumo (abstract) do XVI ECODEQ, 2009, Itumbiara. Conquistas, Necessidades e Perspectivas para o Ensino de Química no Centro-Oeste, 2009.
- [14] Paixão, M. F.; História da Química em Manuais da Escolaridade Obrigatória: Lavoisier e a Conservação da Massa. Disponível em: <http://webs.uvigo.es/educacion.editora/volumenes/Libro%201/C13.%20Paixao.pdf>
- [14a] Paixão, M. F.; Cachapuz, A. *Chemistry Education: Research and Practice in Europe* **2000**, 1, 201.
- [15] Ludke, M.; André, M. E. D. A. Pesquisa em educação: abordagens qualitativas. São Paulo: EPU, 1986. (Temas básicos de educação e ensino).
- [16] Wadsworth, B. J. Inteligência e Afetividade da Criança. São Paulo: Editora Pioneira, 1993.
- [17] Rosa, P. R. S. A Epistemologia Genética de Piaget e o Construtivismo. Instrumentação para o Ensino de Ciências – Capítulo 3. UFMS. Disponível em: [http://www.dfi.ccet.ufms.br/prrosa/Pedagogia/Capitulo\\_3.pdf](http://www.dfi.ccet.ufms.br/prrosa/Pedagogia/Capitulo_3.pdf)
- [18] Mortimer, E. F.; Miranda, L. C. *Química Nova na Escola* **1995**, 2, 23.
- [19] Moreira, M. A. Aprendizagem Significativa. Brasília: Editora Universidade de Brasília, 1999
- [20] Silva, B. V. C. *Experiências em Ensino de Ciências* **2010**, 5, 71.
- [21] Wartha, E. J.; Alves, L. C.; Sá, P. L.; Sanjuan, M. E. C.; Dos Santos, C. V. *Experiências em Ensino de Ciências* **2010**, 5, 7.
- [22] Rosa, M. I. P.; Schnetzler, R. P. *Química Nova na Escola* **1998**, 8, 31.

## Synthesis and characterization of 1-[(N-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)thioamido]-5-substituted-2-imino-4-thiobiuret

Rahul A. Bhagwatkar\* and Dipak T. Tayade

Department of Chemistry, S. R. R. L. Sc. College, Morshi-444 905, M. S., India

Received: 5 October 2010; accepted: 18 January 2011. Available online: 24 August 2011.

**ABSTRACT:** A novel synthesis of 1-[(N-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)thioamido]-5-substituted-2-imino-4-thiobiurets (**3**) was carried out by the reaction of tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosylisothiocyanate (**1**) with 1-substituted-3-formamidino-thiocarbamides (**2**) in acetone-ethanol (1:1) medium. The prepared compounds have been purified and their structures were established on the basis of their gasometric analysis, chemical characteristics, elemental analysis,  $^1\text{H}$ -spectra, as well as by their IR and MS spectra.

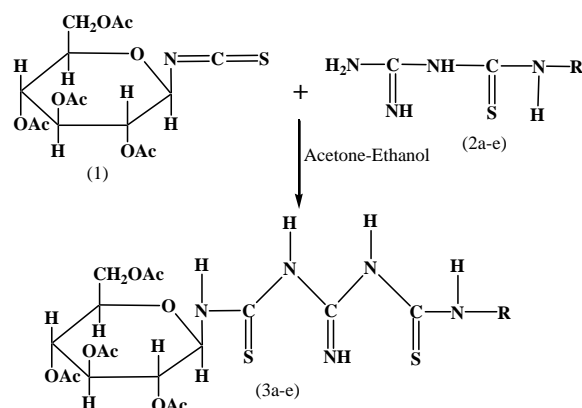
**Keywords:** N-glucosylated; thiobiuret; thiocarbamides

N-Glucosylatedthiocarbamides show significant role in pharmaceutical, agricultural, medicinal, and biochemical industries [1-3]. These compounds are invaluable intermediates in the synthesis of valuable heterocyclic compounds like thiadiazoles, triazoles, thiadiazines and triazines [4-12]. Literature survey also reveals that N-glucosylated heteroacycles and heterocycles possess industrial, agricultural, pharmaceutical and medicinal significance [13-16]. Hence, it was thought an interesting to react tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosylisothiocyanate [17, 18] (**1**) with previously synthesized 1-substituted-3-formamidinothiocarbamide [19, 20] (**2**) in acetone-ethanol medium to synthesize yet a novel series of 1-[(N-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)thioamido]-5-substituted-2-imino-4-thiobiurets (**3**). With the above aim and objectives, the reaction of tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosylisothiocyanate with

\* Corresponding author. E-mail: [bhagwatkar83@gmail.com](mailto:bhagwatkar83@gmail.com)

1-substituted-3- formamidinothiocarbamide was undertaken.

### Scheme 1



R = -phenyl, -*t*-butyl, *p*-chlorophenyl, *p*-tolyl, and -ethyl.

Literature survey revealed that the reactions of amino compounds with thiocarbamides were performed in acetone, 2-butanol and 2-propanol only and time required for the completion of reactions was in between 8 to 12 hours. Hence, taking all these factors in to consideration it was thought interesting to perform these reactions in various solvents viz. ethanol, 2-propanol, acetone, benzene, carbontetrachloride, dioxane with various compositions and various ratios. The main objective is to synthesize a novel series of 2-imino-4-thiobiurets and also to investigate solvent and reaction condition to reduce the time span of reactions and increases the yield by maintaining purity of the products. It was observed during the study, that the acetone-ethanol solvent combination was the best solvent which curtails the time span and maintains green chemistry parameters.

**Table 1.** Solvent and reaction condition to prepare compounds **3a**

| Solvent             | Times span in hours | Yield (%) |
|---------------------|---------------------|-----------|
| Ethanol             | 12                  | 57        |
| 2-Propanol          | 10                  | 64        |
| Acetone             | 8                   | 50        |
| Benzene             | 8                   | 38        |
| Carbontetrachloride | 6                   | 61        |
| Dioxane             | 6                   | 44        |
| Acetone-Ethanol     | 6                   | 72        |

*Synthesis of 1-[(N-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)thioamido]-5-phenyl-2-imino-4-thiobiuret (3a):* This compound was synthesized by refluxing a mixture of tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosylisothiocyanate with 1-phenyl-3-formamidinothiocarbamide in acetone-ethanol (1:1) medium for 6 hours on water bath, when the reaction mixture



turned brown in colour. It was filtered in hot condition and the filtrate concentrated by distillation of solvent when brown crystals separated out on cooling, which were collected by filtration, washed several times with ether and dried. Yield 72 %, m.p. 107 °C.

**Table 2.** CHNS-O analysis of synthesized compounds in (%)

|           | <b>3a</b> |           | <b>3b</b> |           | <b>3c</b> |           | <b>3d</b> |           | <b>3e</b> |           |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|           | Calc. (%) | Found (%) | Calc. (%) | Found (%) | Calc. (%) | Found (%) | Calc. (%) | Found (%) | Calc. (%) | Found (%) |
| <b>C</b>  | 46.23     | 46.08     | 43.55     | 42.97     | 43.63     | 43.51     | 47.18     | 47.21     | 41.30     | 40.64     |
| <b>H</b>  | 5.08      | 4.66      | 5.98      | 5.64      | 4.62      | 4.83      | 5.29      | 5.31      | 5.54      | 5.49      |
| <b>N</b>  | 12.25     | 11.98     | 12.70     | 12.37     | 11.57     | 11.21     | 11.96     | 11.84     | 13.38     | 12.44     |
| <b>S</b>  | 11.20     | 9.57      | 11.61     | 11.80     | 10.57     | 10.33     | 10.94     | 10.64     | 12.23     | 12.84     |
| <b>Cl</b> | ----      | ----      | ----      | ----      | 5.78      | 5.43      | ----      | ----      | ----      | ----      |

**Table 3.** IR spectra of synthesized compounds in (cm<sup>-1</sup>)

| <b>Compound</b> | <b><math>\nu</math> (N-H)</b> | <b><math>\nu</math> Ar-C-H</b> | <b><math>\nu</math> (&gt;C=NH)</b> | <b><math>\nu</math> (&gt;C=S)</b> | <b><math>\nu</math> (&gt;C-N)</b> | <b><math>\nu</math> Ph-Cl</b> |
|-----------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| <b>(3a)</b>     | 3268.6                        | 3057.3                         | 1653.6                             | 1422.4                            | 1322.4                            | ---                           |
| <b>(3b)</b>     | 3274.2                        | 3100.9                         | 1629.6                             | 1385.7                            | 1275.7                            | 842.6                         |
| <b>(3c)</b>     | 3304.9                        | 3049.2                         | 1642.5                             | 1365.8                            | 1265.8                            | ---                           |
| <b>(3d)</b>     | 3195.5                        | 3082.1                         | 1680.1                             | 1390.2                            | 1290.2                            | ---                           |
| <b>(3e)</b>     | 3233.1                        | 3076.2                         | 1672.4                             | 1433.4                            | 1333.4                            | ---                           |

**Table 4.** NMR spectra of synthesized compounds in (ppm)

| <b>Compound</b> | <b>Ar-NH</b>     | <b>Ar-H</b>      | <b>N-H</b>       | <b>O-CH<sub>3</sub></b> | <b>CO-CH<sub>3</sub></b> | <b>C-H</b>       |
|-----------------|------------------|------------------|------------------|-------------------------|--------------------------|------------------|
| <b>(3a)</b>     | $\delta$ 7.5-8.2 | $\delta$ 6.5-7.1 | $\delta$ 4.5-4.2 | $\delta$ 3.9-4.5        | $\delta$ 2.5-3.0         | ---              |
| <b>(3b)</b>     | ---              | ---              | $\delta$ 5.2-4.3 | $\delta$ 3.2-3.8        | $\delta$ 2.1-2.2         | $\delta$ 1.0-1.4 |
| <b>(3c)</b>     | $\delta$ 7.9-8.1 | $\delta$ 7.0-7.4 | $\delta$ 5.3-4.7 | $\delta$ 4.0-4.3        | $\delta$ 2.4-2.6         | ---              |
| <b>(3d)</b>     | $\delta$ 8.1-8.6 | $\delta$ 6.9-7.5 | $\delta$ 5.6-5.0 | $\delta$ 3.2-3.8        | $\delta$ 2.3-2.7         | ---              |
| <b>(3e)</b>     | ---              | ---              | $\delta$ 5.3-4.8 | $\delta$ 3.2-3.8        | $\delta$ 2.0-2.4         | $\delta$ 1.0-1.4 |

## References and Notes

- [1] Deshmukh, S. P.; Berad, B. N.; Paranjpe, M. G. *J. Indian Chem. Soc.* **1986**, *63*, 315.
- [2] Umar, Ali; Meshram, H. M.; Paranjpe, M. G. *J. Indian Chem. Soc.* **1985**, *62*, 666.
- [3] Deshmukh, S. P.; Paranjpe, M. G. Annual Convention of Chemists, Madras, 1981, Paper No. ORG(P)-65.
- [4] Richard N.; Butler, I. A.; Martin O. C.; John, A.; McMahona, M.; Burke, L. A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1999**, *1*, 1709.
- [5] Vedejs, E.; Larsen, S.; West, F. G. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2170.
- [6] Huisgen, R.; Mlostten, G; Polborn, K. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6570.
- [7] Mousaad, A.; Abdel, H.; El Nemr, A.; El Ashry, E. S. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1992**, *65*, 546.

- [8] Mukaiyama, T.; Sato, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1963**, 36, 99.
- [9] Quirke, J. M. E., 1,3,5-Triazines In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry I*, 1984, Vol. 3.
- [10] Katritzky, A. R.; Rees, C. W., Eds., Pergamon Oxford, 1984, Part B, 457–530.
- [11] Bartholomew, D, 1,3,5-Triazines In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*, 1996, Vol. 6.
- [12] Katritzky, A. R.; Rees, C. W.; Scriven, E. F. V., Eds.; Pergamon: Oxford, 1996, Chap. 6.12, 575–636.
- [13] Gulevskaya, A. V.; Maes, U. W. Meyers, C. *Synlett* **2007**, 1, 71.
- [14] Sharma, R.; Bahel, S. *J. Indian Chem. Soc.* **1984**, 61, 713.
- [15] Tantay, A.; Alexandria, J. *Pharm. Sci.* **1989**, 3, 94.
- [16] Ram, J.; Dobe, V.; Perer, A.; Vlitinau, A. *J. Heterocycl. Chem.* **1989**, 26, 26.
- [17] Lemieux, R. U. *Methods Carbohydr. Chem.* **1963**, 2, 221.
- [18] Deshmukh, S. P.; Paranjape, M. G. Annual Convention of Chemists Madras, 1981, Paper No. ORG (P) 65.
- [19] Tayade, D. T.; Bhagwatkar, R. A.; Panpalia, R. C. *Int. J. Chem.* **2010**, 2, 40.
- [20] Panpalia, R. C.; Bhagwatkar, R. A.; Tayade, D. T. *Int. J. Chem. Sci.* **2010**, 8, 676.