

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA**

TESE DE DOUTORADO

**Síntese, Caracterização, Modelagem Molecular e Estudo da
Atividade Biológica de Novos Bisfosforamidatos e
Bisfosforoditioatos**

Viviane Martins Rebello dos Santos

2003

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, MODELAGEM MOLECULAR E ESTUDO DA
ATIVIDADE BIOLÓGICA DE NOVOS BISFOSFORAMIDATOS E
BISFOSFORODITIOATOS**

VIVIANE MARTINS REBELLO DOS SANTOS, 1976 -

Sob a Orientação do Professor

Dr. João Batista Neves da Costa

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências, a área de concentração em Química Orgânica.

Seropédica, RJ

2003

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA**

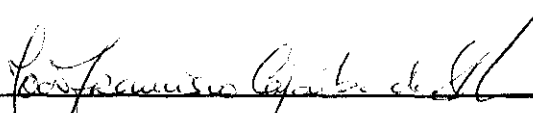
Autor

VIVIANE MARTINS REBELLO DOS SANTOS

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica, área de concentração em Química Orgânica, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências.



Prof. Dr. João Batista Neves da Costa – DEQUIM - UFRRJ (Presidente)



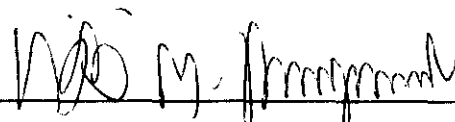
Prof. Dr. João Francisco Cajaíba da Silva – IQ - UFRJ



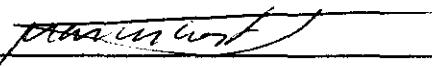
Prof. Dr. Gonzalo Efraim Moya Borja – IV - UFRRJ



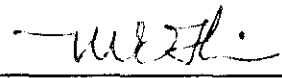
Prof. Dr. Carlos Mauricio Rabello Sant'Anna –DEQUIM - UFRRJ



Prof. Dr. Victor Marcos Runjaneck – DEQUIM - UFRRJ



Prof. Dr. Marcos Costa de Souza - IQ - UFF (Suplente)



Prof. Dr. Marco Edilson Freire de Lima - DEQUIM -UFRRJ (Suplente)

Dedico este trabalho de tese aos meus pais Antonio José e Wilma, pelo amor, apoio, estímulos constantes, dedicação e compreensão nos momentos difíceis, e ao meu irmão Jorge Antonio, cunhada Michele de Fátima e sobrinhas Ana Clara e Beatriz, pelo amor e carinho sempre presente.

*Se algo de grande queres conquistar,
concentra toda as tuas forças sobre um
único objetivo e não cuides do que
possam os outros dizer.*

Goethe

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela oportunidade oferecida para o desenvolvimento deste trabalho e a CAPES pelo apoio financeiro.

Ao professor João Batista Neves da Costa, pela orientação, amizade, carinho e confiança, durante toda sua orientação precisa e dedicada em todos os momentos deste trabalho, que com sua competência científica auxiliou no enriquecimento deste trabalho, meus sinceros e profundos agradecimentos.

Ao professor Gonzalo Efrain Moya Borja, pela utilização do seu laboratório nos testes com *Musca domestica* e *Stomoxys calcitrans*, incentivo, amizade e valiosa contribuição científica neste trabalho de tese.

Aos professores Carlos Mauricio Rabello Sant'Anna e Marco Edílson Freire de Lima pela amizade e sugestões durante este trabalho tese.

À professora Rosane Nora Castro pela execução dos espectros de massa, pelas aulas ministradas e pela amizade.

A todos professores do Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica desta Universidade, em especial aos professores Victor Marcos Rumjanek, Áurea Echevarria, Mário Geraldo de Carvalho, Aurélio Baird Buarque, Anselmo Alpande e Francisco de Assis, pelas aulas ministradas e pelo conhecimento transmitido.

Aos membros da banca examinadora da tese, pelas considerações e sugestões para o enriquecimento e aprimoramento deste trabalho.

Ao professor Jan Schripsema, do Instituto de Química da Universidade Estadual Norte Fluminense, pela análise por ressonância magnética nuclear de ^{31}P das substâncias sintetizadas neste trabalho.

Ao professor Wellington da Silva Cortês, do Departamento de Ciências Fisiológicas pela colaboração para a realização dos ensaios em camundongos.

À aluna de doutorado Janaína Marques Rodrigues pela amizade, pela ajuda e o agradável convívio no laboratório.

À aluna de mestrado Aline Almeida Vallois pela amizade, companheirismo, cooperação e pela agradável convivência durante todo esse tempo de curso.

À Andreza pela sincera amizade e agradável convivência durante o período de graduação, principalmente na licenciatura e a pós-graduação.

Aos companheiros do laboratório de entomologia veterinária pelo agradável convívio e colaboração nos ensaios biológicos com moscas, em especial Leandra, Letícia, Luciana, Amanda, Wellington, Eduardo, Carlos e Rubens.

Ao Prof. Jorge Jacob, ao aluno de mestrado José Milton e ao aluno de iniciação científica João Alves pela realização dos ensaios de germinação.

À Dra. Marcia Cristina pelo auxílio nos testes de *Artemia salina* Leach.

À aluna de doutorado Cristina pela amizade e pela ajuda na busca de sangue para as *Stomoxys calcitrans* em Volta Redonda.

Aos meus amigos e colegas, que conquistei e tornaram o meu período na pós-graduação bastante agradável, durante as disciplinas e a ajuda na época de laboratório: Cássia, Ari, Bauer, Ildomar, Andressa, Myrtes, Mário Sergio, Didi, Juliana, Patrícia, Marli, Cleonice, Ricardo, Janaína, Virgínia, Luciano, Luis Roberto, Tatiana, Rose, Grazielle, Cláudio, Adriana, Sheila, Pierre, Miguel e Cleber.

À funcionária Arlete pela amizade conquistada durante meu período na pós-graduação, principalmente, na época de laboratório, pelos valiosos conselhos e os momentos agradáveis de convivência.

Aos funcionários do curso de Pós-graduação e da graduação: Áurea, Eli, Carlão, Osmar, Fábio, Francês, Maurício, Rui, Conceição e Pedro.

À minha família pelo incentivo e demonstração de carinho, principalmente, nos momentos difíceis.

A Deus.

BIOGRAFIA

Viviane Martins Rebello dos Santos nasceu em 15 de junho de 1976 na cidade de Duque de Caxias, RJ, filha de Antonio José Rebello dos Santos Júnior e Wilma Martins dos Santos.

Ingressou na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro através do curso de Química Industrial em março de 1995 e graduou-se em maio de 1999, em agosto deste mesmo ano ingressou no curso de licenciatura em Química e graduou-se em novembro de 2002.

Foi bolsista de iniciação científica pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) durante os anos de 1997 e 1998.

Em 1999 ingressou no curso de Pós-graduação em Química Orgânica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no nível de mestrado, como bolsista da CAPES, em março de 2001 foi aprovada direto para o doutorado pelo colegiado do Programa de Pós-graduação em Química Orgânica.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	vi
BIOGRAFIA	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	xxiii
ÍNDICE DE TABELAS.....	xxv
ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xxx
RESUMO.....	xxxI
ABSTRACT.....	xxxii
CAPÍTULO I.....	33
1. INTRODUÇÃO.....	33
2. REVISÃO DE LITERATURA	36
2.1 Compostos Organofosforados	36
2.2 Inseticidas.....	45
2.3 Inseticidas Organofosforados.....	45
2.4 Estudos Biológicos	57
2.4.1 Pragas.....	57
2.4.1.1 <i>Musca domestica</i>	60
2.3.1.2 <i>Stomoxys calcitrans</i>	61
2.4.2 <i>Artemia salina</i> Leach.....	64
2.4.3 Efeito dos compostos organofosforados na germinação e no desenvolvimento de plântulas de alface (<i>Lactuca sativa</i>)	65
2.4.4 Ensaio de letalidade sobre camundongos	64
2.5 Modelagem Molecular	66
CAPÍTULO II	66

3. OBJETIVOS	67
CAPÍTULO III.....	68
4. MATERIAIS E MÉTODOS	68
4.1 Considerações Gerais	68
4.2 Síntese dos fosfitos de dialquila simétricos.....	69
4.2.1 Síntese do fosfito de dietila (83)	70
4.2.2 Síntese do fosfito de di n-propila (84).....	70
4.2.3 Síntese do fosfito de di n-butila (85)	71
4.2.4 Síntese do fosfito de diisopropila (86).....	71
4.2.5 Síntese do fosfito de diisobutila (87)	72
4.3 Síntese das N,N'-Bis(dialquilfosforil)diaminas	72
4.3.1 Síntese da N,N'-bis(dietilfosforil)etilenodiamina (3).....	73
4.3.2 Síntese da N,N'-bis(dipropilfosforil)etilenodiamina (4)	74
4.3.3 Síntese da N,N'-bis(dibutilfosforil)etilenodiamina (5).....	74
4.3.4 Síntese da N,N'-bis(diisopropilfosforil)etilenodiamina (6).....	75
4.3.5 Síntese da N,N'-bis(diisobutilfosforil)etilenodiamina (7)	76
4.3.6 Síntese da N,N'-bis(dietilfosforil)piperazina (8).....	76
4.3.7 Síntese da N,N'-bis(dipropilfosforil)piperazina (9).....	77
4.3.8 Síntese da N,N'-bis(dibutilfosforil)piperazina (10).....	78
4.3.9 Síntese da N,N'-bis(diisopropilfosforil)piperazina (11).....	78
4.3.10 Síntese da N,N'-bis(diisobutilfosforil)piperazina (12)	79
4.3.11 Síntese da N,N'-bis(dietilfosforil)1,3-propilenodiamina (13).....	80
4.3.12 Síntese da N,N'-bis(dipropilfosforil)1,3-propilenodiamina (14).....	80
4.3.13 Síntese da N,N'-bis(dibutilfosforil)1,3-propilenodiamina (15)	81
4.3.14 Síntese da N,N'-bis(diisopropilfosforil)1,3-propilenodiamina (16)	82

4.3.15 Síntese da N,N'-bis(diisobutilfosforil)1,3-propilenodiamina (17).....	82
4.3.16 Síntese da N,N'-bis(diethylfosforil)1,4-butilenodiamina (18).....	83
4.3.17 Síntese da N,N'-bis(dipropilfosforil)1,4-butilenodiamina (19)	84
4.3.18 Síntese da N,N'-bis(dibutilfosforil)1,4-butilenodiamina (20).....	84
4.3.19 Síntese da N,N'-bis(diisopropilfosforil)1,4-butilenodiamina (21).....	85
4.3.20 Síntese das N,N'-bis(diisobutilfosforil)1,4-butilenodiamina (22).....	86
4.4 Síntese das S,S'-Bis(dialquilfosforil)ditiol	87
4.4.1 Síntese da S,S'-bis(dibutilfosforil)-1,3-propanoditiol (23).....	87
4.4.2 Síntese da S,S'-bis(diisobutilfosforil)-1,3-propanoditiol (24).....	88
4.4.3 Tentativa de síntese de S,S'-bis(diethylfosforil)-1,3-propanoditiol	89
4.4.4 Tentativa de síntese de S,S'-bis(dipropilfosforil)-1,3-propanoditiol	89
4.4.5 Tentativa de síntese dos compostos S,S'-bis(diisopropilfosforil)-1,3- propanoditiol	89
4.4.6 Tentativa de síntese de S,S'-bis(diethylfosforil)-1,2-etanoditiol	90
4.4.7 Tentativa de síntese de S,S'-bis(dipropilfosforil)-1,2-etanoditiol	90
4.4.8 Tentativa da síntese de S,S'-bis(dibutilfosforil)-1,2-etanoditiol.....	90
4.4.9 Tentativa de síntese de S,S'-bis(diisopropilfosforil)-1,2-etanoditiol.....	90
4.4.10 Tentativa da síntese de S,S'-bis(diisobutilfosforil)-1,3-etanoditiol.....	91
4.5 Ensaio de letalidade sobre larvas de <i>Artemia Salina Leach</i>	91
4.6 Ensaio de letalidade sobre <i>Musca domestica e Stomoxys Calcitrans</i>	92
4.6.1 Criação de <i>Musca domestica</i>	92
4.6.2 Criação de <i>Stomoxys calcitrans</i>	93
4.6.3 Aplicação tópica dos compostos.....	94
4.7 Ensaio de germinação e desenvolvimento de sementes de alface.....	95
4.8 Ensaio de letalidade sobre camundongos (<i>Mus musculus</i>)	97

4.9 Estudo de modelagem molecular	98
CAPÍTULO IV.....	99
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	99
5.1 Considerações Gerais.....	99
5.2 Síntese dos fosfitos de dialquila.....	100
5.3 Determinação estrutural dos fosfitos de dialquila obtidos	102
5.3.1 Análise por espectrometria de infravermelho	102
5.3.2 Análise por espectrometria de RMN- ¹ H	102
5.3.3 Análise por espectrometria de RMN- ¹³ C	104
5.4 Síntese das N,N'-Bis(dialquilfosforil)diaminas e das S,S'- Bis(dialquilfosforil)ditióis.	104
5.4.1 Condições Gerais.....	104
5.5 Síntese das N,N'-bis(dialquilfosforil)diaminas	108
5.6 Determinação estrutural das N,N'-(dialquilfosforil)diaminas	108
5.6.1 Análise por espectrometria de infravermelho	108
5.6.2 Análise por espectrometria de RMN- ¹ H	109
5.6.3 Análise por espectrometria de RMN- ¹³ C	110
5.6.4 Análise por espectrometria de RMN- ³¹ P	110
5.6.5 Análise por espectrometria de massas	115
5.7 Síntese dos S,S'-bis(dialquilfosforil) ditióis	118
5.8 Determinação estrutural das S,S'-(dialquilfosforil) 1,3-propanoditióis.....	119
5.8.1 Análise por espectrometria de IV	119
5.8.2 Análise por espectrometria de RMN ¹ H	120
5.8.3 Análise por espectrometria de RMN ¹³ C	121
5.8.4 Análise por espectrometria de Massa.....	121

5.9 Teste biológico.....	119
5.9.1 Ensaio de Letalidade sobre larvas de <i>Artemia Salina</i> Leach.....	123
5.9.2 Ensaio de Letalidade com adultos de <i>Musca domestica</i> e <i>Stomoxys calcitrans</i>	125
5.9.3 Ensaio de germinação e desenvolvimento de sementes de alface.....	130
5.9.4 Ensaio de letalidade sobre camundongos(<i>Mus musculus</i>).....	143
5.10 Estudo de modelagem molecular.....	144
CAPÍTULO V	147
6. CONCLUSÕES.....	147
APÊNDICE A.....	149
APÊNDICE B.....	257
APÊNDICE C.....	272
APÊNDICE D.....	284
7. REFERÊNCIAS.....	292

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Compostos inseticidas Metamidophos e Ethion.....	34
Figura 2. Bisfosforoamidatos e Bisfosforoditioatos.sintetizados.....	34
Figura 3. Evolução de vendas das classes de pesticidas.....	45
Figura 4. Consumo mundial de defensivos agrícolas.....	45
Figura 5. Inseticidas orgânicos de origem vegetal.....	47
Figura 6. Primeiros inseticidas sintéticos.....	48
Figura 7. Regiões de atuação dos inseticidas	48
Figura 8. Estrutura química básica de inseticidas organofosforados.....	50
Figura 9. Os primeiros inseticidas organofosforados sintetizados.....	51
Figura 10. Inseticidas organofosforados responsáveis pelo grande avanço de pesticidas na agricultura.....	51
Figura 11. Inseticidas organofosforados com baixa toxidez.	52
Figura 12. Fórmula geral de alguns inseticidas organofosforados da classe fosforamidatos.....	52
Figura 13. Alguns inseticidas fosforamidatos.....	53
Figura 14. Pesticidas fracos inibidores da acetilcolinesterase para mamíferos.....	53
Figura 15. Compostos inseticidas tiofosforados.....	54
Figura 16. <i>Musca domestica</i> (adulto).....	60
Figura 17. Ciclo de vida da <i>Musca domestica</i>.....	60
Figura 18. <i>Stomoxys calcitrans</i> (adulto).....	62
Figura 19. <i>Stomoxys calcitrans</i> e <i>Musca domestica</i>.....	62
Figura 20. Estrutura do inseticida organofosforado Dichlorvos e o natural Permethrin.....	62

Figura 21. Estrutura dos inseticidas organofosforado Coumaphos, Diazinon e Dimethoate.....	63
Figura 22. Coleta com auxílio de um aspirador.....	95
Figura 23. Sistema de anestesia.....	95
Figura 24. Moscas tratadas são alimentadas.....	95
Figura 25. Aplicação das substâncias.....	95
Figura 26. Local de experimento para o estudo de germinação em sementes de alface.	96
Figura 27. Germinação de plântulas de alface em caixas Gerbox.....	96
Figura 28. Estruturas dos compostos sintetizados.....	107
Figura 29. Comparação dos valores das DL₅₀ (ppm) obtidos no bioensaio de letalidade contra <i>Artemia salina</i> Leach para os compostos sintetizados.....	125
Figura 30. Comparação dos valores das DL₅₀ obtidos no bioensaio de letalidade contra <i>Musca domestica</i> para os compostos sintetizados.....	128
Figura 31. Comparação dos valores das DL₅₀ obtidos no bioensaio de letalidade contra <i>Stomoxys calcitrans</i> para os compostos sintetizados.....	128
Figura 32. Efeito do herbicida “Podium” na germinação de plântulas de alface.....	131
Figura 33. Efeito na germinação pelo herbicida podium.....	132
Figura 34. Efeito no comprimento radicular e na parte aérea pelo podium.....	132
Figura 35. Comparação dos compostos 3 e 6-20 no desenvolvimento de plântulas de alface.....	136
Figura 36. Comparação dos compostos 3 e 6-20 no crescimento radicular.....	137
Figura 37. Comparação dos compostos 3 e 6-20 no crescimento da parte aérea.....	138
Figura 38. Comparação dos compostos 5 e 22 no desenvolvimento de plântulas de alface.....	139
Figura 39. Comparação dos compostos 5 e 22 no crescimento radicular.....	140

Figura 40. Comparação dos compostos 5 e 22 no crescimento da parte aérea.....	141
Figura 41. Comparação dos compostos 4 e 21 no desenvolvimento de plântulas de alface.....	142
Figura 42. Comparação dos compostos 4 e 21 no crescimento radicular.....	143
Figura 43. Comparação dos compostos 4 e 21 no crescimento da parte aérea.....	143
Figura 44. Estrutura calculada (método PM3) para o aduto formado entre 8 e o modelo do sítio ativo da AchE de <i>Drosophila Melanogaster</i>	146
Figura 45. Espectro de IV do fosfito de dietila (83) - 200 MHz – CDCl ₃	150
Figura 46. Espectro de RMN- ¹ H fosfito de dietila (83) - 200 MHz – CDCl ₃	151
Figura 47. Espectro de IV do composto 3 (Pastilha KBr).....	152
Figura 48. Espectro de RMN- ¹ H do composto 3 - 200 MHz – DMSO-d ₆	153
Figura 49. Espectro de RMN- ¹³ C do composto 3 – 50 MHz – DMSO-d ₆	154
Figura 50. Espectro de massa do composto 3 – 70eV.....	155
Figura 51. Espectro de IV do composto 8 (Pastilha de NaCl).....	156
Figura 52. Espectro de RMN- ¹ H do composto 8 – 200MHz – CDCl ₃	157
Figura 53. Espectro de RMN- ¹³ C do composto 8 – 50MHz – CDCl ₃	158
Figura 54. Espectro de massa do composto 8 – 70 eV.....	159
Figura 55. Espectro de IV do composto 13 (Pastilha KBr).....	160
Figura 56. Espectro de RMN- ¹ H do composto 13 – 200MHz – CDCl ₃	161
Figura 57. Espectro de RMN- ¹³ C do composto 13 – 50MHz – CDCl ₃	162
Figura 58. Espectro de RMN- ³¹ P desacoplado do composto 13 – 162MHz – H ₃ PO ₄	163
Figura 59. Espectro de massa do composto 13 – 70 eV.....	164
Figura 60. Espectro de IV do composto 18 – (Pastilha de NaCl).....	165
Figura 61. Espectro de RMN- ¹ H do composto 18 – 200MHz - CDCl ₃	166

Figura 62. Espectro de RMN- ¹³ C do composto 18 – 50MHz - CDCl ₃	167
Figura 63. Espectro de massa do composto 18 – 70 Ev.....	168
Figura 64. Espectro de IV do fosfito de dipropila (Pastilha KBr).....	169
Figura 65. Espectro de RMN- ¹ H do fosfito de dipropila (84) – 200 MHz – CDCl ₃	170
Figura 66. Espectro de IV do composto 4 (Pastilha KBr).....	171
Figura 67. Espectro de RMN- ¹ H do composto 4 – 200 MHz – CDCl ₃	172
Figura 68. Espectro de RMN- ¹³ C do composto 4 – 50 MHz – CDCl ₃	173
Figura 69. Espectro de massa do composto 4 – 70 eV.....	174
Figura 70. Espectro de IV do composto 9 (Pastilha de NaCl).....	175
Figura 71. Espectro de RMN ¹ H do composto 9 – 200 MHz - (CDCl ₃).....	176
Figura 72. Espectro de RMN ¹³ C do composto 9 – 50 MHz - (DMSO).....	177
Figura 73. Espectro de massa do composto 9 – 70 eV.....	178
Figura 74. Espectro de IV do composto 14 (Pastilha de NaCl).....	179
Figura 75. Espectro de RMN ¹ H do composto 14 – 200 MHz – DMSO.....	180
Figura 76. Espectro de RMN ¹³ C do composto 14 – 50 MHz – CDCl ₃	181
Figura 77. Espectro de massa do composto 14 – 70 eV.....	182
Figura 78. Espectro de IV do composto 19 (Pastilha de NaCl).....	183
Figura 79. Espectro de RMN ¹ H do composto 19 – 200MHz – CDCl ₃	184
Figura 80. Espectro de RMN- ¹³ C do composto 19 – 50 MHz – CDCl ₃	185
Figura 81. Espectro de IV do Fosfito de dibutila (85) (Pastilha de NaCl).....	186
Figura 82. Espectro de RMN- ¹ H do Fosfito de dibutila (85).....	187
Figura 83. Espectro de RMN- ¹³ C do Fosfito de dibutila – 50 MHz – CDCl ₃	188
Figura 84. Espectro de IV do composto 5 (Pastilha de NaCl).....	189
Figura 85. Espectro de RMN- ¹ H do composto 5 – 200 MHz – CDCl ₃	190
Figura 86. Espectro de RMN- ¹³ C do composto 5 – 50 MHz – CDCl ₃	191
Figura 87. Espectro de massa do composto 5 – 200 MHz – CDCl ₃	192

Figura 88. Espectro de IV do composto 10 (Pastilha de NaCl).....	193
Figura 89. Espectro de RMN ¹ H do composto 10 – 200 MHz – CDCl ₃	194
Figura 90. Espectro de RMN ¹³ C do composto 10 – 50 MHz – CDCl ₃	195
Figura 91. Espectro de massa do composto 10 – 70 eV.....	196
Figura 92. Espectro de IV do composto 15 (Pastilha de NaCl).....	197
Figura 93. Espectro de RMN ¹ H do composto 15 – 200 MHz – CDCl ₃	198
Figura 94. Espectro de RMN ¹³ C do composto 15 – 50 MHz – CDCl ₃	199
Figura 95. Espectro de RMN- ³¹ P desacoplado do composto 15 – 162 MHz – H ₃ PO ₄	200
Figura 96. Espectro de massa do composto 15 – 70 eV.....	201
Figura 97. Espectro de IV do composto 20 – (célula de NaCl).....	202
Figura 98. Espectro de RMN- ¹ H do composto 20 – 200 MHz – CDCl ₃	203
Figura 99. Espectro de RMN- ¹³ C do composto 20 – 50 MHz – CDCl ₃	204
Figura 100. Espectro de massa do composto 20 – 70 eV.....	205
Figura 101. Espectro de IV do composto 23 (célula de NaCl).....	206
Figura 102. Espectro de RMN- ¹ H do composto 23 – 200 MHz - CDCl ₃	207
Figura 103. Espectro de RMN- ¹³ C do composto 23 – 50 MHz -CDCl ₃	208
Figura 104. Espectro de massa do composto 23 – 70 eV.....	209
Figura 105. Espectro de IV do Fosfito de isopropila (86) (célula de NaCl).....	210
Figura 106. Espectro de RMN- ¹ H do Fosfito de isopropila – 200 MHz – CDCl ₃	211
Figura 107. Espectro de RMN- ¹³ C do Fosfito de isopropila – 50 MHz – CDCl ₃	212
Figura 108. Espectro de IV do composto 6 (Pastilha de KBr).....	213
Figura 109. Espectro de RMN- ¹ H do composto 6 – 200 MHz – DMSO.....	214
Figura 110. Espectro de RMN- ¹³ C do composto 6 – 50 MHz – DMSO.....	215
Figura 111. Espectro de RMN- ³¹ P desacoplado do composto 6 – 162 MHz – H ₃ PO ₄	216
Figura 112. Espectro de massa do composto 7 – 70 eV.....	217
Figura 113. Espectro de IV do composto 11 (Pastilha KBr).....	218

Figura 114. Espectro de RMN- ¹ H do composto 11 – 200MHz - (CDCl ₃).....	219
Figura 115. Espectro de RMN- ¹³ C do composto 11 – 50MHz – DMSO-d ₆	220
Figura 116. Espectro de RMN- ³¹ P desacoplado do composto 6 – 162 MHz – H ₃ PO ₄ ..	221
Figura 117. Espectro de massa do composto 11 – 70 eV.....	222
Figura 118. Espectro de IV do composto 16 (célula de NaCl).....	223
Figura 119. Espectro de RMN- ¹ H do composto 16 – 200MHz – CDCl ₃	224
Figura 120. Espectro de RMN- ¹³ C do composto 16 – 50MHz – CDCl ₃	225
Figura 121. Espectro de massa do composto 16 – 70 eV.....	226
Figura 122. Espectro de IV do composto 21 – (Pastilha de KBr).....	227
Figura 123. Espectro de RMN- ¹ H do composto 21 – 200MHz – CDCl ₃	228
Figura 124. Espectro de RMN- ¹³ C do composto 21 – 50MHz – CDCl ₃	229
Figura 125. Espectro de RMN- ³¹ P desacoplado do composto 21 – 162 MHz – H ₃ PO ₄ ..	230
Figura 126. Espectro de massa do composto 21 – 70 eV.....	231
Figura 127. Espectro de IV do Fosfito de diisobutila (célula de NaCl).....	232
Figura 128. Espectro de RMN- ¹ H do Fosfito de diisobutila (87) – 200MHz – CDCl ₃ ..	233
Figura 129. Espectro de RMN- ¹³ C do Fosfito de diisobutila (87) – 50MHz – CDCl ₃ ..	234
Figura 130. Espectro de IV do composto 7 (Pastilha de NaCl).....	235
Figura 131. Espectro de RMN- ¹ H do composto 7 – 200MHz – DMSO.....	236
Figura 132. Espectro de RMN- ¹³ C do composto 7 – 50MHz – DMSO.....	237
Figura 133. Espectro de RMN- ³¹ P desacoplado do composto 7 – 162 MHz – H ₃ PO ₄ ..	238
Figura 134. Espectro de massa do composto 7 – 70 eV.....	239
Figura 135. Espectro de IV do composto 12 (célula de NaCl).....	240
Figura 136. Espectro de RMN- ¹ H do composto 12 – 200MHz – CDCl ₃	241
Figura 137. Espectro de RMN- ¹³ C do composto 12 – 50MHz – CDCl ₃	242
Figura 138. Espectro de RMN- ³¹ P desacoplado do composto 12 – 162 MHz – H ₃ PO ₄ ..	243
Figura 139. Espectro de massa do composto 12 – 70 eV.....	244

Figura 140. Espectro de IV do composto 17 (célula de NaCl).....	245
Figura 141. Espectro de RMN-¹H do composto 17 – 200MHz – CDCl₃.....	246
Figura 142. Espectro de RMN-¹³C do composto 17 – 50MHz – CDCl₃.....	247
Figura 143. Espectro de massa do composto 17 – 70 eV.....	248
Figura 144. Espectro de IV do composto 22 (célula de NaCl).....	249
Figura 145. Espectro de RMN-¹H do composto 22 – 200MHz – CDCl₃.....	250
Figura 146. Espectro de RMN-¹³C do composto 22 – 50MHz – CDCl₃.....	251
Figura 147. Espectro de massa do composto 22 – 70 eV.....	252
Figura 148. Espectro de IV do composto 24 (Pastilha de KBr).....	253
Figura 149. Espectro de RMN-¹H do composto 24 – 200MHz – CDCl₃.....	254
Figura 150. Espectro de RMN-¹³C do composto 24 – 50MHz – CDCl₃.....	255
Figura 151. Espectro de massa do composto 24 – 70 eV.....	256
Figura 152. Diagrama resultante do bioensaio do inseticida “cruformato” sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....	258
Figura 153. Diagrama resultante do bioensaio do composto 5 sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....	259
Figura 154. Diagrama resultante do bioensaio do composto 6 sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....	260
Figura 155. Diagrama resultante do bioensaio do composto 7 sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....	261
Figura 156. Diagrama resultante do bioensaio do composto 10 sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....	262
Figura 157. Diagrama resultante do bioensaio do composto 11 sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....	263
Figura 158. Diagrama resultante do bioensaio do composto 12 sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....	264
Figura 159. Diagrama resultante do bioensaio do composto 15 sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....	265

Figura 160. Diagrama resultante do bioensaio do composto 16 sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....	266
Figura 161. Diagrama resultante do bioensaio do composto 17 sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....	267
Figura 162. Diagrama resultante do bioensaio do composto 20 sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....	268
Figura 163. Diagrama resultante do bioensaio do composto 22 sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....	269
Figura 164. Diagrama resultante do bioensaio do composto 23 sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....	270
Figura 165. Diagrama resultante do bioensaio do composto 24 sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....	271
Figura 166. Efeito do composto 3 na germinação de sementes de alfaca.....	285
Figura 167. Efeito do composto 6 na germinação de sementes de alfaca.....	285
Figura 168. Efeito do composto 7 na germinação de sementes de alfaca.....	285
Figura 169. Efeito do composto 8 na germinação de sementes de alfaca.....	285
Figura 170. Efeito do composto 9 na germinação de sementes de alfaca.....	286
Figura 171. Efeito do composto 10 na germinação de sementes de alfaca.....	286
Figura 172. Efeito do composto 11 na germinação de sementes de alfaca.....	286
Figura 173. Efeito do composto 12 na germinação de sementes de alfaca.....	287
Figura 174. Efeito do composto 13 na germinação de sementes de alfaca.....	287

Figura 175. Efeito do composto 14 na germinação de sementes de alface.....	287
Figura 176. Efeito do composto 15 na germinação de sementes de alface.....	288
Figura 177. Efeito do composto 16 na germinação de sementes de alface.....	288
Figura 178. Efeito do composto 17 na germinação de sementes de alface.....	288
Figura 179. Efeito do composto 18 na germinação de sementes de alface.....	289
Figura 180. Efeito do composto 19 na germinação de sementes de alface.....	289
Figura 181. Efeito do composto 20 na germinação de sementes de alface.....	289
Figura 182. Efeito do composto 5 na germinação de sementes de alface.....	290
Figura 183. Efeito do composto 22 na germinação de sementes de alface.....	290
Figura 184. Efeito do composto 4 na germinação de sementes de alface.....	290
Figura 185. Efeito do composto 21 na germinação de sementes de alface.....	291

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Reação do fosfito de trialquila com um halogeneto de alquila.....	37
Esquema 2. Obtenção do fosfonato, fosfinato e óxido de fosfina.....	37
Esquema 3. Formação do produto de Perkow.....	38
Esquema 4. Reação de Michaelis-Becker.....	39
Esquema 5. Diferentes aplicações sintéticas do PCl_3.....	40
Esquema 6. Reação de fosfito de trialquila com compostos de enxofre.....	40
Esquema 7. Reação de cloridrato de dialquil com mercaptans.....	41
Esquema 8. Preparação de fosforotioato de O,O,S-trialquil dialquil S-aril.....	41
Esquema 9. Obtenção de olefinas através da reação de Wittig.....	42
Esquema 10. Obtenção de olefinas através da reação de Horner-Emmons.....	42
Esquema 11. Reação de cloretos de fósforo com aminas.....	42
Esquema 12. Preparação do inseticida do inseticida crufomato.....	43
Esquema 13. Reação de fosforilcloridretos de dialquila com compostos de nitrogênio.....	43
Esquema 14. Síntese de fosforoamidas a partir de fosfito de dialquila.....	43
Esquema 15. Reações de fosfitos de dialquila com aminas.....	44
Esquema 16. Fosforilação de aminas em sistemas bifásicos com fosfito de diisopropila e tetracloreto de carbono.....	44
Esquema 17. Reação de hidrólise da acetilcolina.....	55
Esquema 18. Mecanismo de hidrólise da acetilcolina.....	56
Esquema 19. Mecanismo clássico de Inibição da acetilcolinesterase por inseticidas organofosforados.....	57
Esquema 20. Síntese dos fosfitos de dialquila.....	69
Esquema 21. Síntese das $\text{N}_2\text{N}'$ bis(dialquilfosforil)diaminas.....	72
Esquema 22. Síntese das $\text{S}_2\text{S}'$ bis(dialquilfosforil)ditióis.....	87
Esquema 23. Experimento com <i>Artemia salina</i>.....	92

Esquema 24. Mecanismo de obtenção dos Fosfitos de dialquila.....	101
Esquema 25. Mecanismo provável para obtenção de N,N'-bis(dialquilfosforil)diaminas e S,S'-bis(dialquilfosforil)ditióis.....	106
Esquema 26. A formação de acetaldeído é a fragmentação mais comum das N,N'-bis(dialquilfosforil)diaminas.....	116
Esquema 27. Fragmentações das N,N'-bis(dialquilfosforil)diaminas com maiores abundâncias.....	117
Esquema 28. Fragmentações das N,N'-bis(dialquilfosforil)diaminas com maiores abundâncias.....	118
Esquema 29. Fragmentações referentes ao pico base de 23.....	122
Esquema 30. Fragmentações referentes ao pico base de 24.....	122

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Rendimentos dos fosfitos de dialquilas obtidos.....	101
Tabela 2. Dados de IV das principais bandas de absorção dos fosfitos de dialquilas..	102
Tabela 3. Dados de RMN ¹ H das principais absorções dos fosfitos de dialquila simétricos.....	103
Tabela 4. Dados de RMN ¹³ C das principais absorções dos fosfitos de dialquila simétricos.....	105
Tabela 5. Dados de Rendimentos e IV das principais bandas de absorções das N,N'-bis-(dialquil fosforil)diaminas.....	111
Tabela 6. Dados de RMN ¹ H para as N,N'-bis-(dialquil fosforil)diaminas sintetizadas.....	112
Tabela 7. Dados de RMN ¹ H das N,N'-bis-(dialquil fosforil)diaminas sintetizadas.....	113
Tabela 8. Dados de RMN ¹³ C das N,N'-bis-(dialquil fosforil)diaminas sintetizadas.....	114
Tabela 9. Deslocamentos químicos para ³¹ P.....	110
Tabela 10. Rendimentos e aspecto das S,S'-bis(dialquifosforil)-1,3- propanoditiol....	119
Tabela 11. Absorções no IV dos compostos S,S'-bis(dialquifosforil)-1,3- propanoditiol.....	120
Tabela 12. Dados de RMN- ¹ H dos compostos S,S'-bis(dialquifosforil)-1,3- propanoditiol.....	120
Tabela 13. Dados de Dados de RMN- ¹³ C dos compostos S,S'-bis(dialquifosforil)-1,3- propanoditiol.....	121
Tabela 14. Valores de DL ₅₀ obtidos no bioensaio de letalidade contra <i>Artemia salina</i> Leach para os composto sintetizados.....	124
Tabela 15. Valores de DL ₅₀ obtidos no ensaio contra <i>Musca domestica</i> para os compostos sintetizados.....	127

Tabela 16. Valores de DL_{50} obtidos no ensaio contra <i>Stomoxys calcitrans</i> para os compostos sintetizados.....	127
Tabela 17. Valores de DL_{50} de inseticidas comerciais obtidos da literatura.....	130
Tabela 18. Dados médios de 4 repetições do comprimento (cm) da raiz primária (CR), da parte aérea (CPA), percentagem (%) de plântulas normais (PN), plântulas deformadas (PD) e sem germinar (SG) de plântulas de alface, após a aplicação do herbicida.....	131
Tabela 19. Dados médios de 4 repetições do comprimento (cm) da raiz primária (CR), da parte aérea (CPA), percentagem (%) de plântulas normais (PN), plântulas deformadas (PD) e sem germinar (SG) de plântulas de alface, após a aplicação dos compostos 3, 6, 7, 8, 9, 10 e 11.....	134
Tabela 20 . Dados médios de 4 repetições do comprimento (cm) da raiz primária (CR), da parte aérea (CPA), percentagem (%) de plântulas normais (PN), plântulas deformadas (PD) e sem germinar (SG) de plântulas de alface, após a aplicação dos compostos 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20.....	135
Tabela 21. Dados médios de 4 repetições do comprimento (cm) da raiz primária (CR), da parte aérea (CPA), percentagem (%) de plântulas normais (PN), plântulas deformadas (PD) e sem germinar (SG) de plântulas de alface, após a aplicação dos compostos 5 e 22.....	139
Tabela 22. Dados médios de 4 repetições do comprimento (cm) da raiz primária (CR), da parte aérea (CPA), percentagem (%) de plântulas normais (PN), plântulas deformadas (PD) e sem germinar (SG) de plântulas de alface, após a aplicação dos compostos 4 e 21.....	141
Tabela 23. Dados de valores de DL_{50} em ratos de inseticidas tóxicos para mamíferos.....	144
Tabela 24 . Dados de ΔH_f calculados (método PM3) para as estruturas envolvidas na inibição proposta da AchE de <i>D. Melanogaster</i> pelo bisfosforamidatos, 5.....	145
Tabela 25. Dados do bioensaio sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach para o Crufomato comercial.....	258
Tabela 26. Dados do bioensaio sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach para o composto 5.....	259

Tabela 27. Dados do bioensaio sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach para o composto 6.....	260
Tabela 28. Dados do bioensaio sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach para o composto 7.....	261
Tabela 29. Dados do bioensaio sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach para o composto 10.....	262
Tabela 30. Dados do bioensaio sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach para o composto 11.....	263
Tabela 31. Dados do bioensaio sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach para o composto 12.....	264
Tabela 32. Dados do bioensaio sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach para o composto 13.....	265
Tabela 33. Dados do bioensaio sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach para o composto 16.....	266
Tabela 34. Dados do bioensaio sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach para o composto 17.....	267
Tabela 35. Dados do bioensaio sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach para o composto 20.....	268
Tabela 36. Dados do bioensaio sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach para o composto 22.....	269
Tabela 37. Dados do bioensaio sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach para o composto 23.....	270
Tabela 38. Dados do bioensaio sobre larvas de <i>Artemia salina</i> Leach para o composto 24.....	271
Tabela 39. Dados do bioensaio em adultos de <i>Musca domestica</i> para o inseticida crufomato.....	273
Tabela 40. Dados do bioensaio em adultos de <i>Musca domestica</i> para os compostos 3 e 4.....	273
Tabela 41. Dados do bioensaio em adultos de <i>Musca domestica</i> para os compostos 5, 6 e 7.....	274

Tabela 42. Dados do bioensaio em adultos de <i>Musca domestica</i> para os compostos 8 e 9.....	274
Tabela 43. Dados do bioensaio em adultos de <i>Musca domestica</i> para os compostos 10, 11 e 12.....	275
Tabela 44. Dados do bioensaio em adultos de <i>Musca domestica</i> para os compostos 13 e 14.....	275
Tabela 45. Dados do bioensaio em adultos de <i>Musca domestica</i> para os compostos 15, 16 e 17.....	276
Tabela 46. Dados do bioensaio em adultos de <i>Musca domestica</i> para os compostos 18 e 19.....	276
Tabela 47. Dados do bioensaio em adultos de <i>Musca domestica</i> para os compostos 20, 21 e 22.....	277
Tabela 48. Dados do bioensaio em adultos de <i>Musca domestica</i> para os compostos 23.....	277
Tabela 49. Dados do bioensaio em adultos de <i>Musca domestica</i> para os compostos 24.....	278
Tabela 50. Dados do bioensaio em adultos de <i>Stomoxys calcitrans</i> para o inseticida crufomato.....	278
Tabela 51. Dados do bioensaio em adultos de <i>Stomoxys calcitrans</i> para os composto 3 e 4.....	279
Tabela 52. Dados do bioensaio em adultos de <i>Stomoxys calcitrans</i> para os composto 5, 6 e 7.....	279
Tabela 53. Dados do bioensaio em adultos de <i>Stomoxys calcitrans</i> para os composto 8 e 9.....	280
Tabela 54. Dados do bioensaio em adultos de <i>Stomoxys calcitrans</i> para os composto 10, 11 e 12.....	280
Tabela 55. Dados do bioensaio em adultos de <i>Stomoxys calcitrans</i> para os composto 13 e 14.....	281
Tabela 56. Dados do bioensaio em adultos de <i>Stomoxys calcitrans</i> para os composto 15, 16 e 17.....	281

Tabela 57. Dados do bioensaio em adultos de <i>Stomoxys calcitrans</i> para os composto 18 e 19.....	282
Tabela 58. Dados do bioensaio em adultos de <i>Stomoxys calcitrans</i> para os composto 20, 21 e 22.....	282
Tabela 59. Dados do bioensaio em adultos de <i>Stomoxys calcitrans</i> para os composto 23.....	283
Tabela 60. Dados do bioensaio em adultos de <i>Stomoxys calcitrans</i> para os composto 24.....	283

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

°C	Graus Celsius
d	dubleto
DL ₅₀	Dose letal a 50%
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
M	Molar
m	multipleteo
ppm	partes por milhão
dq	duplo quarteto
RMN- ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN- ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
s	singleto
T	Temperatura
dt	duplo tripleto
δ	Deslocamento químico (na análise pela espectrometria de RMN)
Δ	Aquecimento
K/d	quilograma/dia
TAS	Teste de <i>Artemia salina</i> Leach

RESUMO

DOS SANTOS, Viviane Martins Rebello. Síntese, caracterização, modelagem molecular e estudo da atividade biológica de novos bisfosforoamidatos e bisfosforoditioatos. Seropédica, UFRRJ, 2003. (Tese de doutorado, *Doutor* em Ciências, Química Orgânica).

Uma série de novos N,N'-bis(dialquilfosforil)diaminas e S,S'-bis(dialquilfosforil)-1,3-propanoditiol foram sintetizados pela reação de Todd-Atherton modificada, onde fosfitos de dialquila reagem com diaminas simétricas ou com 1,3-propanoditiol num sistema bifásico. Os compostos foram caracterizados por espectrometria de IV, RMN-¹H, RMN-¹³C, RMN-³¹P e massa. Os compostos com os grupos butóxido, isobutóxido e isopropóxido, ligados ao átomo de fósforo, apresentam menores valores de DL₅₀, quando testados contra *Artemia salina*, *Musca domestica* e *Stomoxys calcitrans*. Todos os outros compostos apresentam valores muito maiores e foram considerados não tóxicos. Avaliou-se o efeito farmacológico e toxicológico de N,N'-bis(disobutilfosforil)-1,3-propilendiamina e S,S'-bis(diisobutilfosforil)-1,3-propanoditiol em camundongos, e estes não apresentam atividade tóxica até a concentração de 200 mg/Kg. Os resultados de modelagem molecular sugerem que as atividades biológicas dos compostos podem estar relacionadas com a inibição da acetilcolinesterase, já que os inseticidas organofosforados atuam como inibidores clássicos da ACHE. As estruturas sintetizadas neste trabalho não apresentam um bom grupo de saída ligado ao átomo P, sugerindo uma atuação apenas como inibidores reversíveis da enzima. Foram observados os efeitos de inibição da germinação e do crescimento das sementes de alface (*Lactuca sativa*) nos ensaios com bisfosforoamidatos

ABSTRACT

DOS SANTOS, Viviane Martins Rebello. Synthesis, characterization, molecular modeling and study of new bisphosphoramidates and bisphosphorodithiolates. Seropédica, UFRRJ, 2003. (Tese de doutorado, *Doctor in Science*, Organic Chemistry).

A series of new compounds, N, N'-bis(dialkylphosphoryl)diamines and S, S'-bis(dialkylphosphoryl)1,3-propanedithiols were prepared by a Todd-Atherton reaction of dialkylphosphites with symmetrical diamines or 1,3-propanedithiols in a biphasic system. They were characterized by IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, $^{31}\text{P-NMR}$ and mass spectrometry. Compounds with butoxy, isobutoxy and isopropoxy groups on the phosphorus atom showed the lowest LD_{50} values when tested against *Artemia salina*, *Musca domestica* and *Stomoxys calcitrans*. All the other compounds which showed high LD_{50} values were considered non toxic. The pharmacological and toxicological evaluation of N,N'-bis(diisobutylphosphoril)-1,3-propylenediamine and S,S'-bis(diisobutylphosphoril)-1,3-propanedithiol showed them be inactive against mice in a concentration of 200 mg/Kg. The effect on the germination and on the growth of lettuce seeds were observed in an assay with bisphosphoroamidates. The results of a molecular modeling study suggest that the biological activity of the compounds may be related to AChE inhibition. Contrary to classical organophosphorus AChE inhibitors, the compounds synthesized in this study do not possess a good leaving group, which suggests that they may act only as reversible inhibitors.

Key words: Bisphosphoramidates, Bisphosphorodithiolates, biological activity

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

Os compostos de fósforo são uns dos precursores necessários à vida e assim estão presentes na natureza há muito tempo. No entanto, o estudo de sua química é relativamente recente.

Alguns compostos organofosforados foram preparados por alquimistas na idade média, mas o estudo sistemático teve início no século XIX por Lassaigne em 1820, com a esterificação de ácido fosfórico. Vinte cinco anos mais tarde uma série de derivados de fosfinas foi preparada por Thénard e colaboradores e a partir destes trabalhos o progresso da investigação dos compostos de fósforo foi rápido. O seu desenvolvimento, a partir da segunda metade do século XIX, foi dominado por Michaelis, sendo sucedido por A. E. Arbuzov e mais tarde pelo seu filho B. A. Arbuzov, além de pesquisadores britânicos e alemães (TOY, 1976).

Entre as diversas aplicações industriais pode ser citado o seu uso como reagente de flotação, matéria prima na síntese de plásticos não inflamáveis, antioxidantes, plastificantes, aditivo para óleos lubrificantes e combustíveis hidrocarbônicos, solventes aplicados em extrações seletivas e principalmente como inseticidas.

A aplicação dos compostos de fósforo na agricultura e o seu uso comercial iniciou-se com o trabalho descrito por Scharader em 1942 e 1943. Em 1944, o parathion foi introduzido como o primeiro produto comercial deste grupo de novos inseticidas revolucionários e, desde então, novos compostos tem sido utilizados com esta finalidade.

A principal razão para o sucesso dos compostos organofosforados como inseticidas é a sua forte atividade acoplada com a sua relativa instabilidade na biosfera e que se traduz em uma meia-vida em plantas da ordem de dois até dez dias.

Durante os últimos 30 anos, inseticidas organofosforados têm sido amplamente usados como alternativa para substituir compostos organoclorados, no controle de insetos. Os organoclorados estão nos primeiros lugares em várias listas de poluentes na Europa, devido à sua grande persistência no meio ambiente e fácil acumulação (LAURINI, 1979; SAKKAS *et al.*, 2002).

Os compostos organofosforados fazem parte de uma classe importante de inseticidas comerciais e sua descoberta foi um exemplo excelente de aplicação da química para a

investigação da dependência da atividade biológica sobre a estrutura (NATH & KUMAR, 1999).

Dando continuidade aos trabalhos que vêm sendo realizados na área de síntese de compostos organofosforados (LIN *et al*, 1995; RODRIGUES *et al*, 2002) com potencial atividade inseticida, decidiu-se sintetizar e investigar a atividade biológica de análogos dos inseticidas comerciais, metamidophos e ethion, **Figura 1**, que agem como poderosos agentes inseticidas.

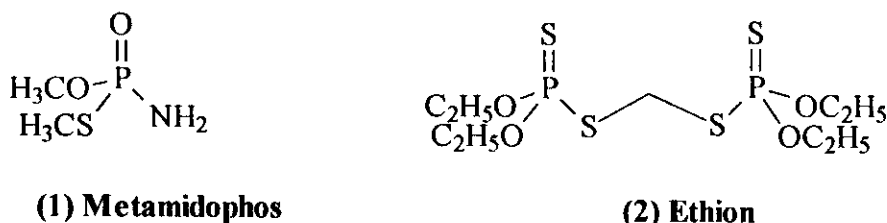


Figura 1: Compostos inseticidas Metamidophos e Ethion.

Assim, um total de 22 compostos, sendo 20 inéditos e 2 registrados na literatura (3 e 8), **Figura 2**, foram preparados através da reação de Todd Atherton modificada (XUE *et al*, 1988).

- (3) R=Et, R'=H, n=2
 (4) R=Pr, R'=H, n=2
 (5) R=Bu, R'=H, n=2
 (6) R=i-Pr, R'=H, n=2
 (7) R=i-Bu, R'=H, n=2

- (13) R=Et, R'=H, n=3
 (14) R=Pr, R'=H, n=3
 (15) R=Bu, R'=H, n=3
 (16) R=i-Pr, R'=H, n=3
 (17) R=i-Bu, R'=H, n=3

- (8) R=Et, R'=-CH₂; n=2
 (9) R=Pr, R'=-CH₂; n=2
 (10) R=Bu, R'=-CH₂; n=2
 (11) R=i-Pr, R'=-CH₂; n=2
 (12) R=i-Bu, R'=-CH₂; n=2

- (18) R=Et, R'=H, n=4
 (19) R=Pr, R'=H, n=4
 (20) R=Bu, R'=H, n=4
 (21) R=i-Pr, R'=H, n=4
 (22) R=i-Bu, R'=H, n=4

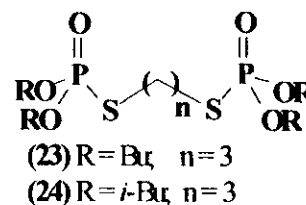
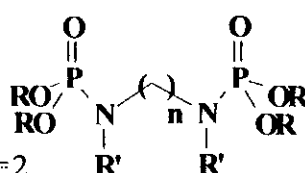


Figura 2: Bisfosforoamidatos e bisfosforoditioatos sintetizados.

Além de terem sido caracterizados pelas técnicas usuais de espectroscopia, estes compostos organofosforados foram testados quanto à sua atividade contra *Artemia salina*, *Musca domestica*, *Stomoxys calcitrans* e *Mus musculus*. Foi também realizado um estudo da influência destes compostos sobre a germinação de plântulas de alface (*Lactuca sativa*).

Finalmente, foi realizado um estudo de modelagem molecular em busca de um melhor entendimento do mecanismo de inibição da enzima AChE pelos compostos sintetizados.

2. REVISÃO DE LITERATURA

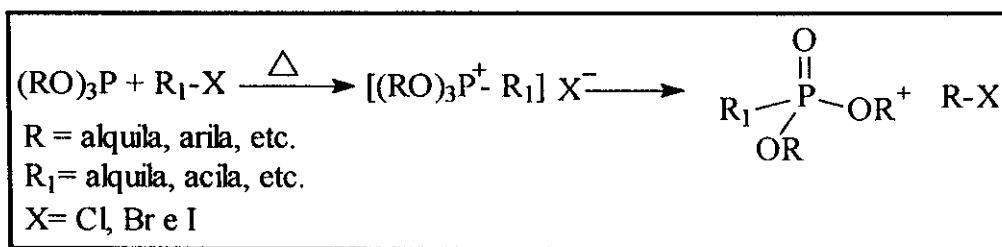
2.1. Compostos Organofosforados

Os compostos orgânicos de fósforo são os constituintes essenciais do protoplasma e possuem um papel importante para a manutenção da vida, por exemplo, como ácidos nucléicos, coenzimas nucleotídeos, intermediários metabólicos e fosfatídeos. Muitos compostos organofosforados são produzidos artificialmente para usos práticos como lubrificantes, óleos aditivos, plastificantes, e pesticidas (FISHER, 1897). Os pesticidas organofosforados não incluem somente inseticidas, mas também fungicidas, herbicidas, e outros. As diferentes atividades dos compostos organofosforados estão relacionadas, evidentemente, com características estruturais, tais como o tipo de heteroátomo ou grupo funcional ligado ao átomo de fósforo e seu estado de oxidação. Destacam-se os substituintes oxigenados e os estados de oxidação mais comuns deste elemento, P^v e P^{III}.

O grande avanço da química do fósforo está na variedade de compostos que este pode formar (CADOGAN *et al.*, 1979), principalmente no que diz respeito aos compostos orgânicos, que têm sido alvo de muita pesquisa básica e de aplicação industrial. Isto deve-se às características industriais e reacionais conferidas a estes compostos, devido à presença do átomo de fósforo, que possui uma estrutura eletrônica com orbitais d acessíveis, além de ser um átomo polarizável e eletropositivo.

O fundador da química dos compostos organofosforados foi A. Michaelis, que no final do século passado explorou a nucleofilicidade do fósforo (MICHAELIS & KAEHNE, 1898), que foi estudada em detalhes por Arbuzov (ARBUZOV, 1906) e vários outros cientistas subseqüentes (HARVEY & DESOMBRE, 1964).

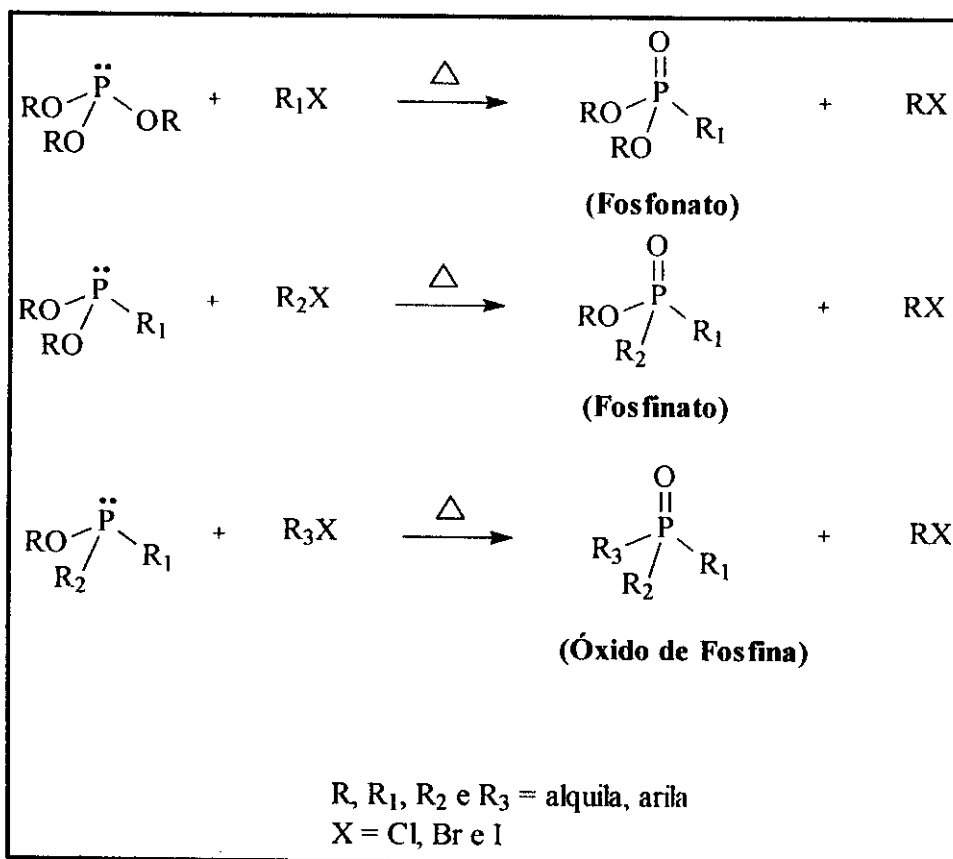
Uma das mais valiosas contribuições de Arbuzov e Michaelis para o estudo de compostos organofosforados é a reação de Michaelis-Arbuzov, comumente conhecida como transformação de Arbuzov ou rearranjo de Arbuzov. É um dos caminhos mais versáteis para a formação da ligação carbono-fósforo, que envolve a reação de um fosfito de triálquila com um halogeneto de alquila, conforme mostra o **Esquema 1** (FORD-MOORE & PERRY, 1963; CADOGAN, 1979).



Esquema 1: Reação do fosfito de trialquila com um halogeneto de alquila.

Esse rearranjo é um dos mais investigados dentre as reações de compostos organofosforados e é amplamente empregado para a síntese de fosfonatos, fosfinatos e óxidos de fosfinas (BATTACHARYA & THYAGARAJAN, 1981).

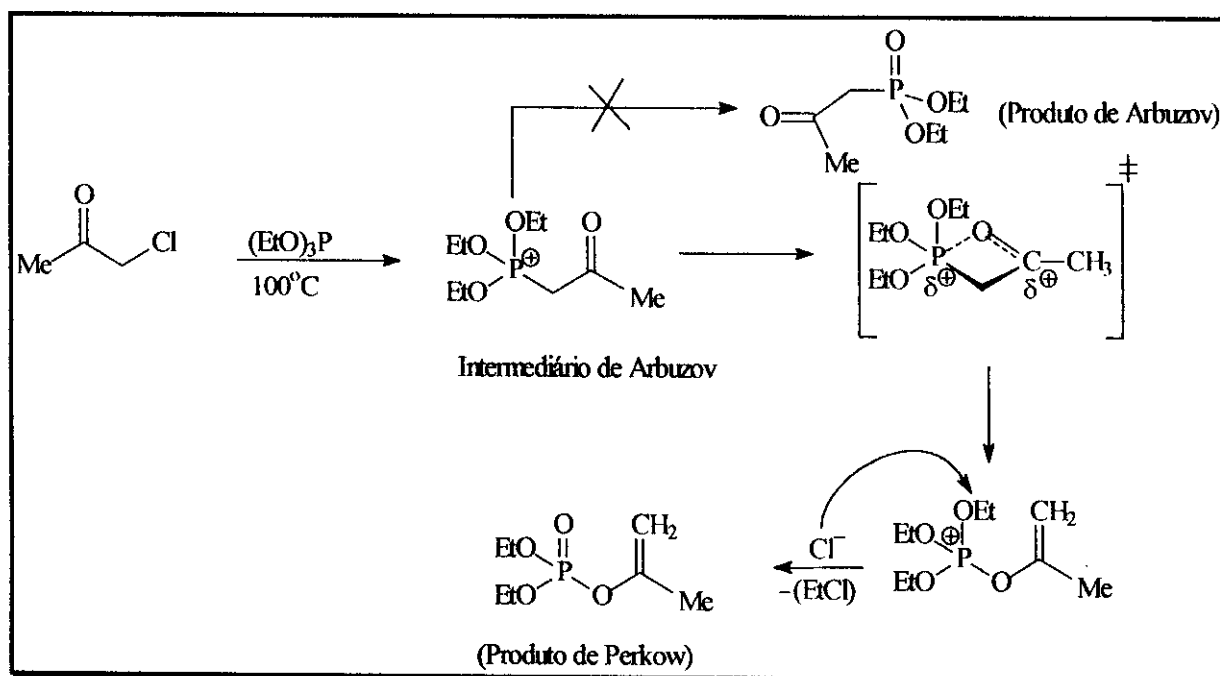
Durante a transformação, o fósforo trivalente (P^{III}) é convertido em fósforo pentavalente (P^{V}). Em geral, o grupo alquila do halogeneto liga-se ao fósforo e um grupo alquila do fósforo é combinado com o halogênio para formar um novo halogeneto de alquila, conforme é mostrado no **Esquema 2**.



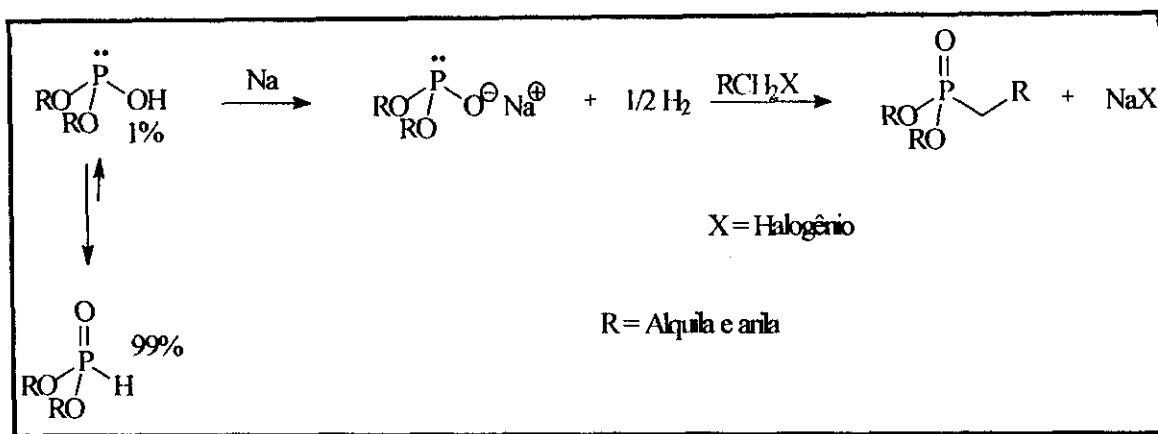
Esquema 2: Obtenção do fosfonato, fosfinato e óxido de fosfina.

A literatura registra que a conversão de P-O-C para P(=O)-C ($P^{III} \rightarrow P^V$) envolve um ganho líquido de energia em torno de 32-65 kcal/mol na estabilização total da ligação e, portanto, age como força diretora do rearranjo (MARK, 1969).

A reação de Michaelis-Arbuzov não é empregada com sucesso na síntese de β -cetofosfonatos provenientes de compostos carbonilados, aldeídos e cetonas, α -halogenados. Neste caso, o que ocorre é a reação de Perkow (PERKOW *et al.*, 1952), obtendo-se como produto da reação o fosfato de dialquilvernila, pois a ligação P-O é formada em detrimento à ligação P-C (PERKOW, 1954; RAMIREZ *et al.*, 1966; BOROWITZ *et al.*, 1971), como pode ser observado no **Esquema 3**.



Outra reação comumente utilizada na química de compostos organofosforados é a reação de Michaelis-Becker (MICHAELIS & BECKER, 1897), a qual envolve a síntese de fosfonatos de dialquila, através do deslocamento nucleofílico entre o ânion formado pela reação de fosfito de dialquila em presença de base forte com um halogeneto de dialquila, como pode ser visto no **Esquema 4**.

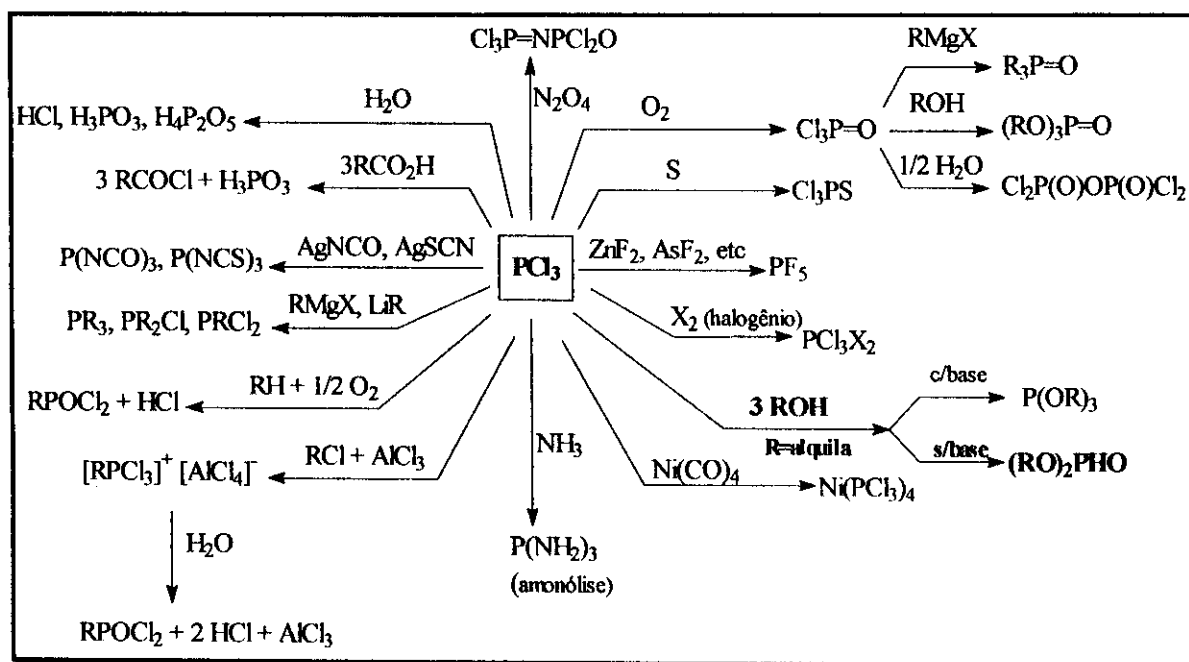


Esquema 4: Reação de Michaelis-Becker.

Os reagentes de P (III) podem ser usados para a síntese de uma grande variedade de compostos. Estes reagentes possuem fórmula geral (PR_3) , onde R pode ser o grupamento alquil, aril, alcoxil, ariloxil, halogeneto, tioalquil, amino, alquilamino, ou arilamino. Nestes compostos o átomo de fósforo possui um par de elétrons livres, o qual confere caráter básico e nucleofílico às respectivas moléculas. Quando R é o grupamento alquil ou aril têm-se as fosfinas, que se comparadas às aminas, são bases mais fracas, porém são nucleófilos mais fortes (CADOGAN, 1979).

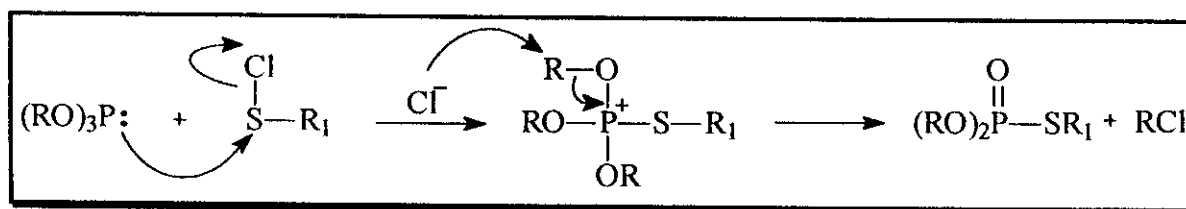
Dentre os compostos de fósforo, o tricloreto de fósforo, PCl_3 , utilizado como o reagente principal neste trabalho de tese é o reagente mais utilizado na síntese de compostos organofosforados e demais compostos, por ser extremamente reativo, possuindo diversas aplicações sintéticas, que são mostradas no **Esquema 5**.

O manuseio de PCl_3 deve ser extremamente cuidadoso, pois o mesmo é instável, uma vez que é facilmente hidrolisado. Isto é devido ao poder eletrofílico do átomo de fósforo, que está ligado a três átomos de cloro (COTTON, 1988).



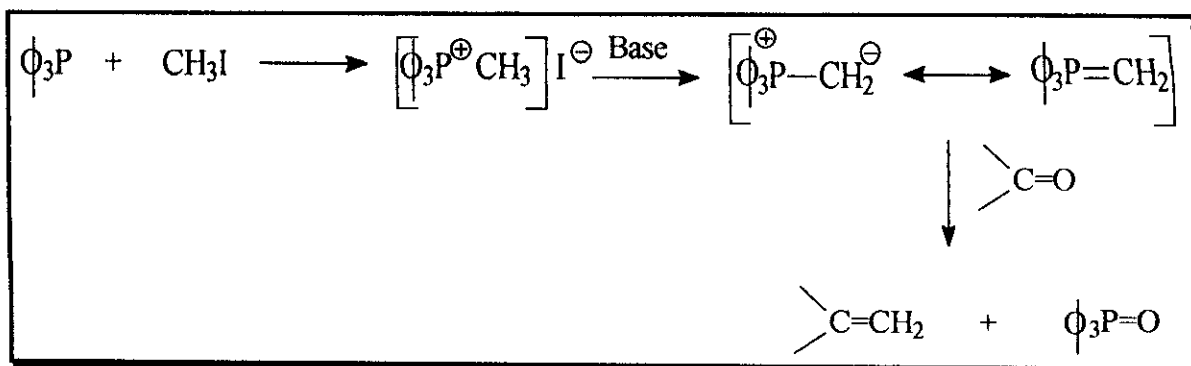
Esquema 5: Diferentes aplicações sintéticas do PCl_3 .

Os fosfitos de trialquila são agentes nucleofílicos ativos e realizam substituição em átomo de enxofre bivalente ligado a um bom grupo de saída. Os fosfitos de dialquila são muito menos ativos, devido às suas características como fosfonatos pentavalentes. Contudo, seus sais comportam-se como compostos de fósforo trivalente e são bastante ativos para reagir com certos compostos de enxofre. Os fosfitos de trialquila reagem com cloretos de alquila ou sulfenil arila para fornecer os correspondentes fosforotioatos com bons rendimentos (MORRISON, 1955), provavelmente, através de um mecanismo análogo ao de Michaelis-Arbuzov, conforme mostra o Esquema 6.



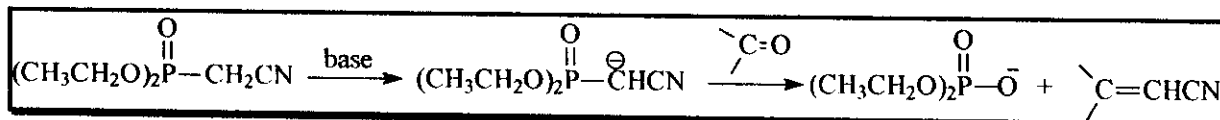
Esquema 6: Reação de fosfito de trialquila com compostos de enxofre.

A reação de fosforocloridatos com mercaptans, conforme mostrado o Esquema 7, é raramente aplicada à preparação direta de fosforotioatos, pois a fosforilação direta por compostos tíois, não é adequada uma vez que a base (ion mercaptan) prefere atacar o átomo de carbono do grupo alquil éster em vez do átomo de fósforo (ETO, 1974).



Esquema 9: Obtenção de olefinas através da reação de Wittig.

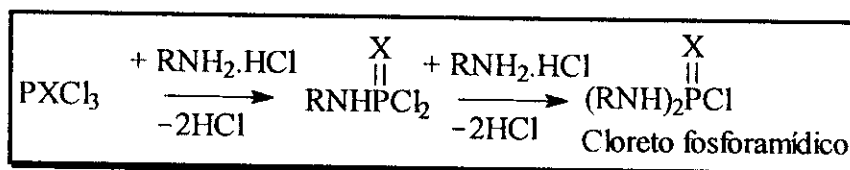
Uma modificação da reação de Wittig é a reação de Horner-Emmons, **Esquema 10**, onde um ílideo é preparado a partir de um fosfonato, o qual deve possuir um grupo retirador de elétrons ligado ao carbono metilênico. (HORNER *et al.*, 1958; 1959; EMMONS & WADSWORTH, 1961). Esta reação se torna interessante por possibilitar a síntese de olefinas importantes em reações que envolvem adições de Michael.



Esquema 10: Obtenção de olefinas através da reação de Horner-Emmons.

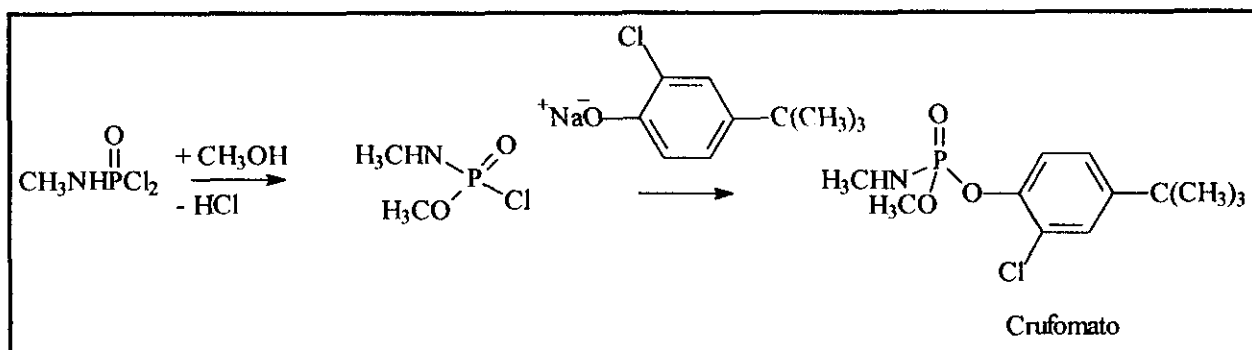
A ligação P-N é geralmente formada por reações de cloretos de fósforo (PCl_3) ou compostos trivalentes de fósforo com diferentes aminas. As amidas de ácido de fósforo são preparadas, muitas vezes, pela reação de cloretos de fósforo com aminas ou amônia (MICHAELIS, 1903), conforme o **Esquema 11**.

4



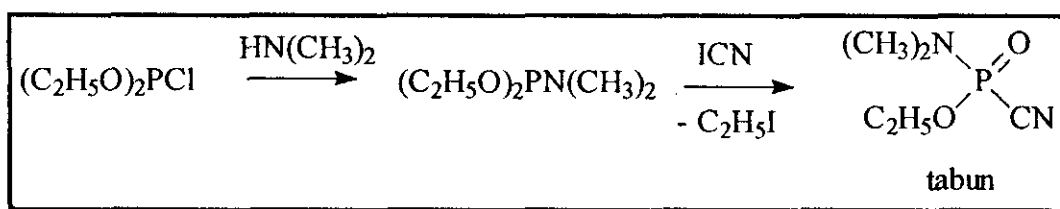
Esquema 11: Reação de cloretos de fósforo com aminas.

A partir de cloretos fosforamídicos, uma variedade de pesticidas ésteres amido pode ser produzida, como por exemplo, a preparação do pesticida crufomato, mostrado no **Esquema 12**.



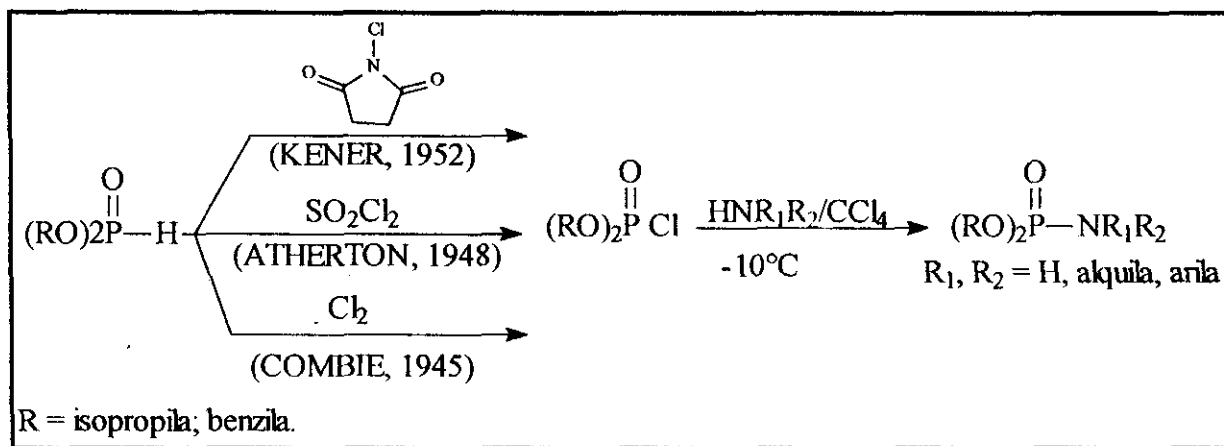
Esquema 12: Preparação do inseticida crufomato.

Os fosforilcloridretos de dialquila reagem com aminas a fim de se preparar os correspondentes amidetos, conforme é mostrado no **esquema 13**, na preparação do gás de nervo, tabun, que foi sintetizado por SAUNDERS (1957).



Esquema 13: Reação do fosforilcloridretos de dialquila com compostos de nitrogênio.

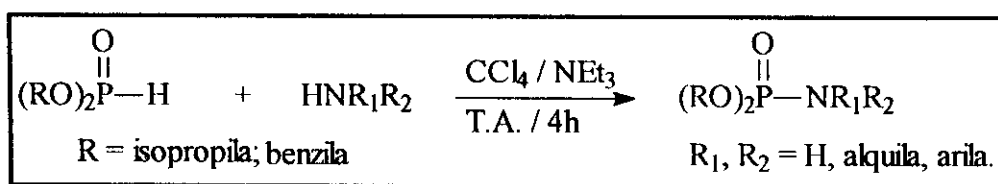
Os métodos de síntese de fosforamidas foram descritos a partir de 1945 com uma série de trabalhos realizados por ATHERTON *et al.* (1945). Nas publicações iniciais eram usados fosforilcloridatos de dialquila como agentes de fosforilação, em meio anidro, conforme mostra o **Esquema 14**.



Esquema 14: Síntese de fosforoamidas a partir de fosfito de dialquila.

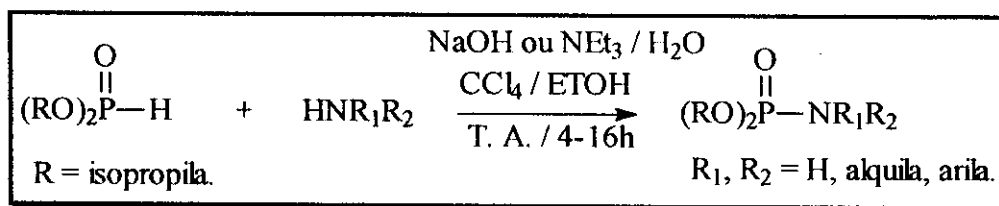
Posteriormente, descobriram que fosfitos de dialquila reagem diretamente com aminas e tetracloreto de carbono em meio básico, de modo mais brando e com resultados igualmente satisfatórios (ATHERTON, *et al.*, 1945), conforme mostra o **Esquema 15**.

Os fosfitos de dialquila reagem suavemente com aminas primárias, secundárias ou amônia em tetracloreto de carbono para fornecer fosforoamidatos de dialquila em excelentes rendimentos (ATHERTON *et al.*, 1945)



Esquema 15: Reações de fosfitos de dialquila com aminas.

Com pequenas modificações dos métodos de ATHERTON *et al.* (1945) e ZHAO *et al.* (1984; 1988) foi desenvolvida uma nova reação de fosforilação de aminas, que utiliza meio aquoso em reação bifásica com fosfito de diisopropila e tetracloreto de carbono (ZHAO, 1984; 1988), **Esquema 16**. Estas modificações melhoram principalmente os rendimentos das reações com aminoácidos e com aminas insolúveis em tetracloreto de carbono.



Esquema 16: Fosforilação de aminas em sistemas bifásicos com fosfito de diisopropila e tetracloreto de carbono.

Nos sistemas biológicos destaca-se a importância dos fosfatos, que apresentam variadas funções, desde o fornecimento de energia, como nos pirofosfatos, e no caso do ATP (trifosfato de adenosina) onde é o carreador móvel de energia metabolicamente disponível mais importante nas células vivas, até a composição do material genético do ácido desoxirribonucléico (DNA), onde realizam a conexão entre os nucleosídeos (MICHELSON, 1963).

2.2. Inseticidas

O mercado de produtos químicos para defesa agrícola é avaliado em US\$ 2,5 bilhões no Brasil, segundo levantamento do Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG). Os segmentos-líderes são os herbicidas, com 52% das vendas, e os inseticidas, com 27,5%, conforme a **Figura 3**.

EVOLUÇÃO DAS VENDAS DO SETOR (EM US\$ MIL)					
	1996	1997	1998	1999	2000
TOTAL	1.792.671	2.180.791	2.557.849	2.329.067	2.499.958
HERBICIDAS	1.005.112	1.214.818	1.368.723	1.175.933	1.300.515
FUNGICIDAS	276.331	356.304	436.235	422.476	380.418
INSETICIDAS	375.548	464.796	581.693	596.051	689.953
ACARICIDAS	92.237	86.714	105.619	78.726	65.560
OUTROS (*)	43.443	58.159	65.579	55.881	63.512

(*) antifibrantes, reguladores de crescimento, fitohormônios e espalhantes adesivos. Fonte: Sindag

Figura 3: Evolução de vendas das classes de pesticidas.

Apesar dos números expressivos, que colocam o Brasil como terceiro mercado do mundo para defensivos, ao lado do Japão e atrás dos Estados Unidos e da comunidade Européia, eles encobrem um potencial ainda maior em 2000. Em termos de aplicação de produtos por hectare cultivado, o Brasil está na décima posição, com 3,2 kg/ha, uma vez que a produção anual de 100 milhões de toneladas de grãos é irrisória para o potencial das terras brasileiras.



Figura 4: Consumo mundial de defensivos agrícolas em 2000.

A descoberta, isolamento, síntese, avaliação toxicológica e de impacto ambiental um vasto tópico de pesquisas no mundo inteiro e que tem se desenvolvido bastante nas últimas décadas (ADDOR, 1994; CORBETT *et al*, 1984; KLOCKER *et al*, 1991; HARBORNE, 1996; LARINI, 1979; MARICONI, 1963; MARICONI,1981; VIEIRA *et al.*, 1999).

A toxidez de uma substância química em inseto não a qualifica necessariamente como um inseticida. Diversas propriedades devem estar associadas à atividade, tais como; eficácia mesmo em baixas concentrações, ausência de toxidez frente a mamíferos e animais superiores, ausência de fitotoxicidade, fácil obtenção, manipulação e aplicação, viabilidade econômica e não ser cumulativo no tecido adiposo de seres humanos e de animais domésticos. Fica evidente que as características citadas referem-se àquele inseticida tido como ideal o que raramente será o caso. Dentro da classificação de inseticidas são incluídas, também, substâncias que repelem e que atraem insetos (MARICONI, 1963; MARICONI,1981; CORBETT *et al*, 1984; ADDOR, 1994).

O uso de inseticidas consome mundialmente, valores da ordem de bilhões de dólares. Os produtos naturais inseticidas foram muitos utilizados até a década de 40, quando os produtos sintéticos passaram a ganhar espaço a partir da II Guerra Mundial, devido às pesquisas em produtos biocidas. Estes mostraram-se muito mais potentes e menos específicos que os naturais, até então utilizados no controle de pragas agrícolas, e foram quase totalmente substituídos pelos inseticidas sintéticos.

A utilização de inseticidas pode ser vista de forma bastante genérica no século XX. Durante os primeiros 50 anos predominaram os produtos naturais de origem orgânica e inorgânica.

Os inseticidas inorgânicos mais utilizados foram os arseniatos de cálcio e chumbo (verde Paris), cupratos (calda bordalesa), enxofre em pó, vários sulfatos, cal, fluorsilicato, de bário, aminosselenossulfito de potássio (criolite) e óleos minerais. Entre estes, os arseniatos mostravam-se extremamente tóxicos ao homem, animais superiores e ao meio ambiente como um todo.

Dentre os inseticidas orgânicos de origem natural os alcalóides foram muito utilizados, como a nicotina (25), nor-nicotina (26) e anabasina (27), os piretróides como a piretrina (28) e aletrina (29), os rotenóides como a rotenona (30) e em menor escala alguns quassinóides como a quassina (31), mostrados na **Figura 5**. Um inseticida conhecido desde o primeiro século da era cristã, era o piretro, extraído das folhas do *Chrysanthemum cinerariaefolium*. Até a II Guerra Mundial, o piretro, a rotenona (28), e a nicotina (29) eram os principais produtos orgânicos de origem vegetal mais utilizados no controle de insetos.

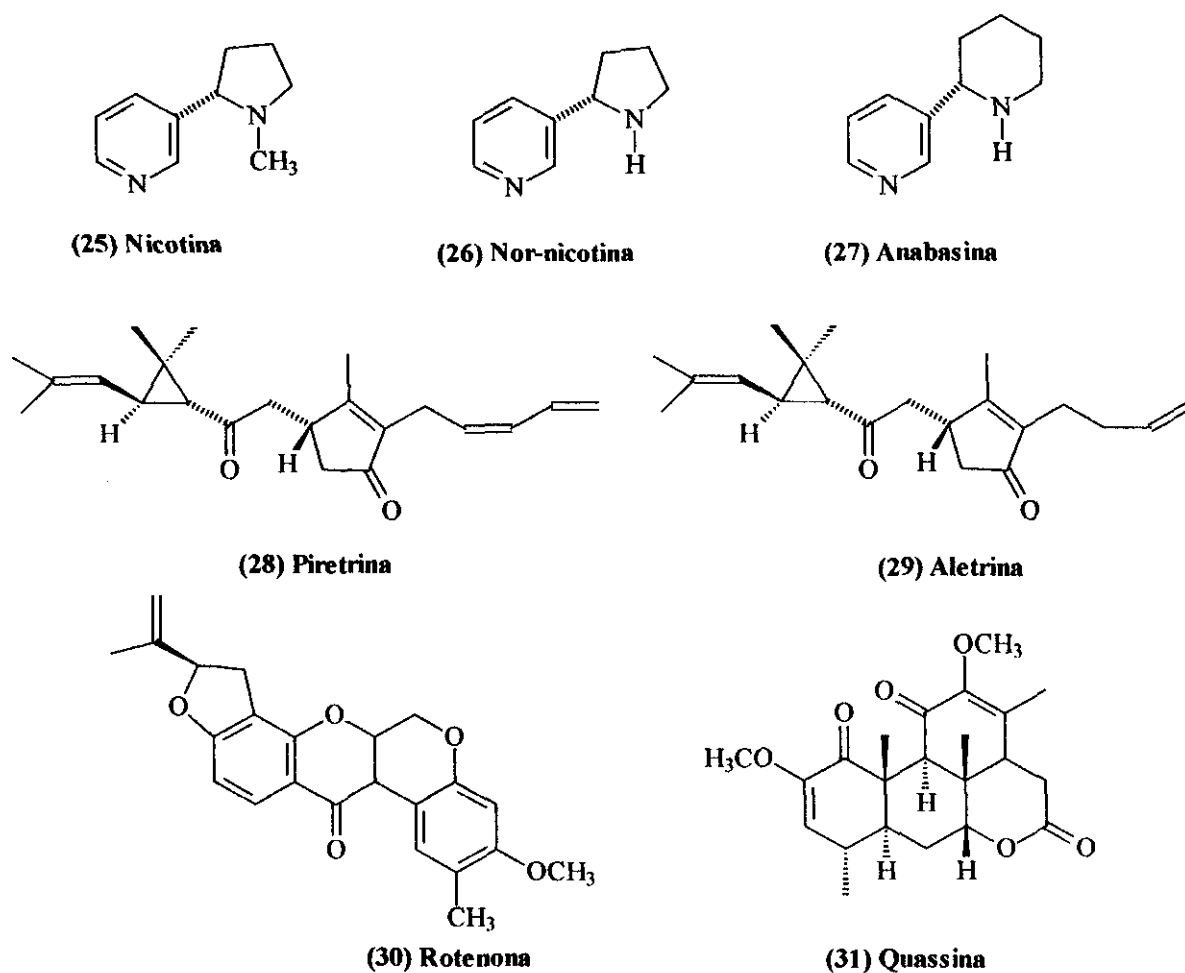


Figura 5: Inseticidas orgânicos de origem vegetal.

Nas décadas de 50 a 70, ocorreu uma explosão no desenvolvimento da síntese orgânica, inclusive de produtos com atividade inseticida. Passaram a ser utilizados o DDT ([1,1-bis-(4- clorofenil)-2,2,2- tricloroetano]) (32), HCH (hexacloroetano, 33), aldrin (34), dieldrin (35) e clordano (36), **Figura 6**. As descobertas do inseticida DDT em 1939, (WEST *et al*, 1949) e do herbicida 2,4-D (ácido 2,4 diclorofenoxiacético) (37) em 1942, (ZIMMERMAN & HITCHOCK, 1942) mostrados na **Figura 6**, causaram uma revolução na agricultura, exemplificando para o homem a possibilidade de se sintetizar compostos para o controle de pragas. Realmente, menos de uma década após essas descobertas, um notável desenvolvimento no campo dos pesticidas sintéticos permitiu a substituição dos inseticidas naturais.

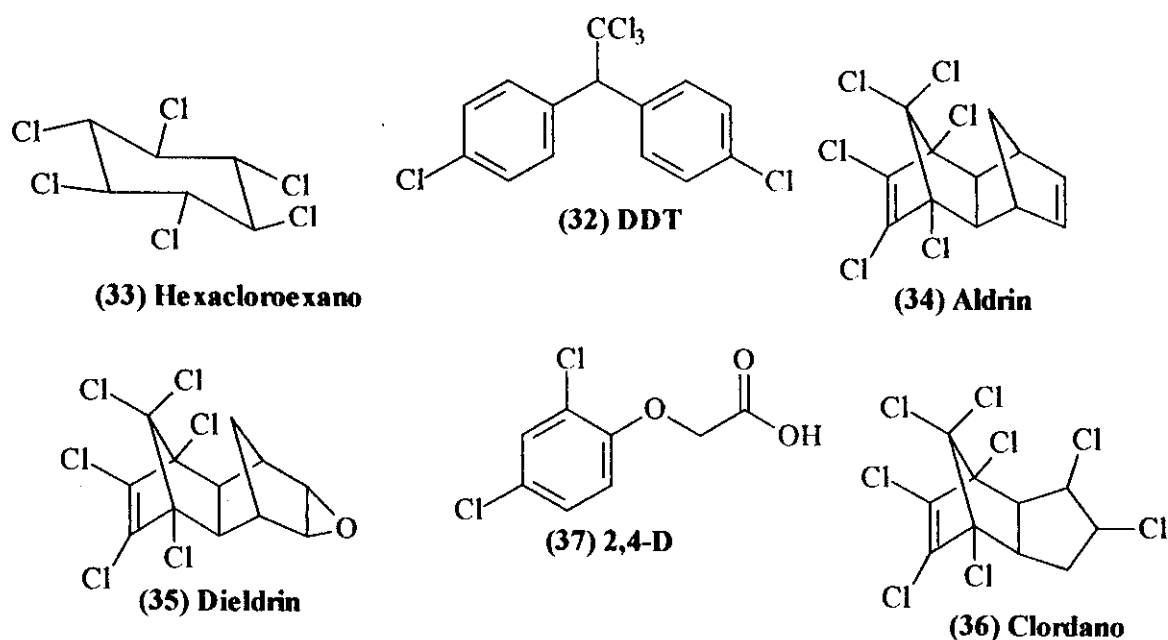


Figura 6: Primeiros inseticidas sintéticos.

2.3. Inseticidas Organofosforados

As principais classes de substâncias químicas usadas no controle de pragas têm sido os organofosforados, os organoclorados, os ciclodienos e os piretróides. Todas estas classes químicas apresentam como alvo em comum o sistema nervoso dos insetos: os organofosforados e os carbamatos atuam como inibidores da acetilcolinesterase AChE; os ciclodienos têm como alvo os canais de cloreto dependentes do ácido γ -aminobutírico (GABA); e os piretróides e os organoclorados têm como alvo os canais de sódio dependentes de voltagem (HOLLINWORTH, 1976; CHAMBERS & CARR, 1995), Figura 7.

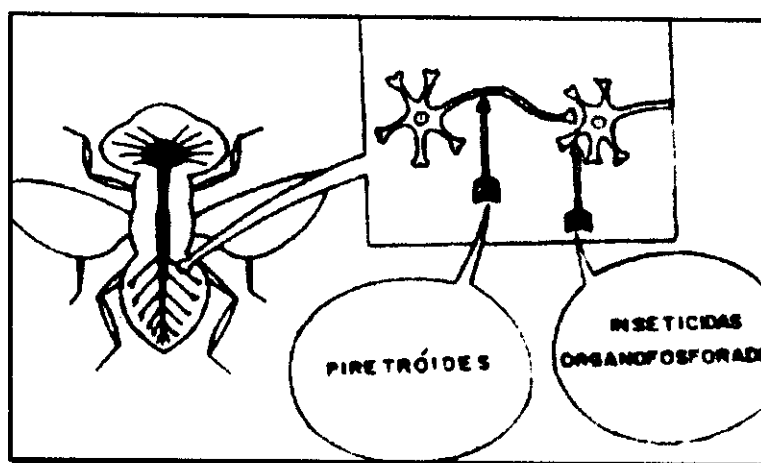


Figura 7: Regiões de atuação dos inseticidas.

Atualmente, os inseticidas mais desenvolvidos são os compostos organofosforados, carbamatos e piretróides. Essas classes de compostos são biodegradáveis. O baixo risco que estes inseticidas causam para os mamíferos é baseado, principalmente, em sua biodegradação. Compostos destas três famílias são espontaneamente hidrolisados, especialmente em pH alto e sofrem degradação por hidrolases. As enzimas com capacidade para hidrolisar estes compostos não são bem caracterizadas, e ainda não está claro se as enzimas que degradam os inseticidas destas três famílias estão interrelacionadas (SOGORB, 2002).

A aplicação intensiva de inseticidas de largo espectro no controle de insetos-praga tem causado impacto negativo nos agroecossistemas (KAY & COLLINS, 1987; DANIEL, 2001), além do crescente aumento de casos de resistência a pesticidas (BRATTSTEN *et al.*, 1986; GEORGHIOU, 1986; GUEDES, 1999). Estudos de impactos ou efeitos de inseticidas sobre inimigos naturais de pragas são de grande importância econômica e ambiental. O uso de inseticidas seletivos é um fator preponderante dentro do manejo integrado de praga.

Após o uso intensivo de inseticidas no controle de pragas, muitas espécies de insetos têm se desenvolvido resistência a inseticidas através de uma variedade de mecanismos (CLAUDIANOS *et al.*, 1999). Espécies de insetos utilizam diferentes mecanismos de resistência para se adaptarem à pressão seletiva imposta pelo mesmo inseticida (CHEN *et al.*, 2001). Um dos mecanismos de resistência desenvolvidos por insetos é a modificação da proteína alvo do inseticida (MORTON, 1993; FOURNIER & MUTERO, 1994).

Novas substâncias são necessárias, para o efetivo controle de pragas, oferecendo maior segurança, seletividade, biodegradabilidade, viabilidade econômica e aplicabilidade em programas integrados de controle de insetos e baixo impacto ambiental.

Os pesticidas organofosforados surgiram na década de 30, mas os principais representantes desta classe foram introduzidos na década de 60. Novos representantes desta classe surgiram na década de 80, e mesmo com a implantação de outras classes de pesticidas e de novas metodologias de controle de pragas, 40% do mercado mundial de pesticidas em 1999 era representado por organofosforados.

A continuidade do interesse por esta classe se deve à facilidade de síntese de novos derivados, à possibilidade de síntese de pró-inseticidas, que sofrem ativação preferencial em insetos e não em mamíferos e à maior biodegradabilidade em comparação com os organoclorados. Os organofosforados apresentam baixa ação residual, com pouca estabilidade no meio ambiente e acumulação limitada em organismos vivos, sendo que 80 a

90% dos compostos são eliminados após 48 horas do contato. Os inseticidas organofosforados são importantes não somente pela proteção agrícola que oferecem, mas, também, pelos seus propósitos industriais, domiciliares e ambientais

Os inseticidas organofosforados são a classe de maior interesse comercial e toxicológico. São ésteres ou tióis derivados de ácidos fosfóricos, fosfônico, fosfinico ou fosforamídico. A estrutura básica dos OFs está mostrada na **Figura 8**. Usualmente, R₁ e R₂ são grupos arilas ou alquilas que são ligados diretamente ao átomo de fósforo, formando fosfinatos, ou através de um átomo de oxigênio ou de enxofre, formando fosfatos e fosforotioatos. Em outros casos, R₁ está diretamente ligado ao átomo de fósforo, e R₂ está ligado por um átomo de oxigênio ou de enxofre, formando fosfonatos ou tiofosfonatos. Os fosforamidatos apresentam no mínimo um grupo -NH₂ na molécula. O grupo amino dos fosforamidatos podem ser não substituído, mono ou disubstituído. Os átomos que podem formar ligação dupla com o fósforo pode ser oxigênio, enxofre ou selênio. Finalmente, o grupo L pode pertencer a uma variedade de grupos tais como: halogênios, alquil, aril ou heterocíclicos. O grupo -L, ligado através de um oxigênio ou átomo de enxofre ligados ao átomo de fósforo é chamado de grupo de saída, que é liberado pelo átomo de fósforo quando o mesmo é hidrolisado pela fosfotriesterase (PTE), ou pela interação com o sítio da proteína (AChE). (JOKANOVIC, 2001; SOGORB & VILANOVA, 2002).

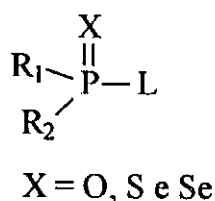
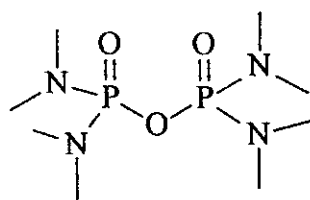
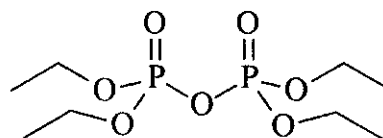


Figura 8: Estrutura química básica de inseticidas organofosforados.

SCHRADER *et al*, descobriram em 1941, o inseticida octametilpirofosforamida (38), **Figura 9**, que foi chamado de Schradan. Depois de sua descoberta um grande número de inseticidas ésteres organofosforados também foram descobertos, incluindo o primeiro com práticas inseticidas chamado de Bladan, que continha tetraetilpirofosfato (39), mostrado na **Figura 9**, que foi preparado na Alemanha em 1944. A síntese do tetraetilpirofosfato foi realizada pela primeira vez por MOSCHINE, e então por DE CLEMONT (1854) e foi repetida por vários autores, incluindo NYLÉN (1930).



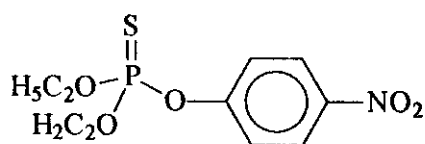
(38) Scharadan



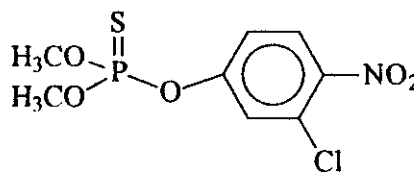
(39) Tetraetilpirofosfato (TEEP)

Figura 9: Os primeiros inseticidas organofosforados sintetizados.

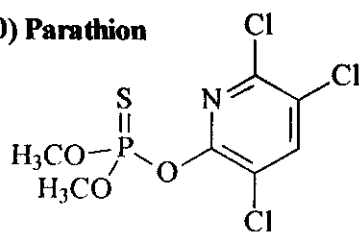
O grande avanço dos inseticidas organofosforados na agricultura e de seu conhecimento científico na relação estrutura-atividade deu-se pela descoberta do composto parathion (40) por SCHRADER em 1944. Embora o parathion seja extremamente tóxico para mamíferos, bem como para insetos, muitos inseticidas menos tóxicos tinham sido desenvolvidos com poucas modificações estruturais; por exemplo, fenthion (41), clorlthion (42) e fenitrothion (43) (NISHIZAWA, 1960), que são mostrados na **Figura 10**.



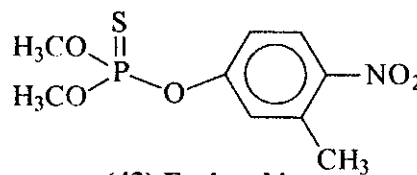
(40) Parathion



(42) Chlorthion



(41) Fenthion



(43) Fenitrothion

Figura 10: Inseticidas organofosforados responsáveis pelo grande avanço de pesticidas na agricultura.

Foram desenvolvidos outros compostos importantes com baixa toxidez como é o caso do malation (44), que tem o grupo éster carboxílico e o demeton-S (45), conforme mostra a **Figura 11**. Estes dois compostos, por possuírem um grupo tioéter, apresentam alta atividade inseticida.

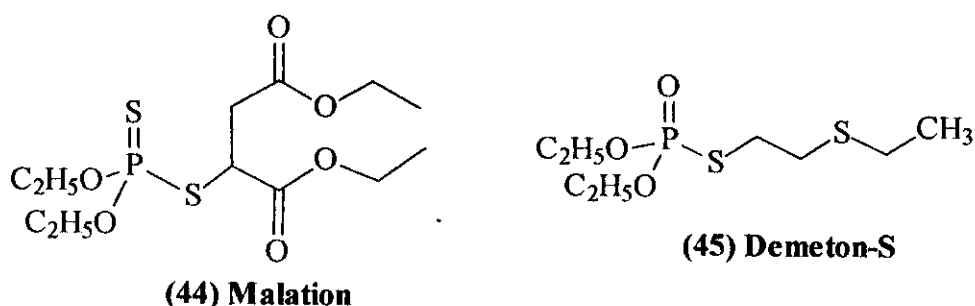


Figura 11: Inseticidas organofosforados com baixa toxidez.

SCHRADER e seus colaboradores observaram em 1937, atividade inseticida em alguns organofosforados da classe fosforamidato da fórmula geral mostrada na **Figura 12**.

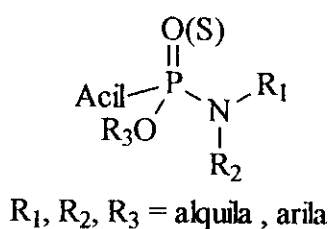


Figura 12: Fórmula geral de alguns inseticidas organofosforados da classe fosforamidatos.

Embora os derivados de ácido fosforoamídico terem sido ativamente investigados desde o início do desenvolvimento da química dos compostos organofosforados inclusive como pesticidas, somente um pequeno número de compostos desta classe foi desenvolvido com práticas inseticidas, provavelmente devido à dificuldade na síntese desses compostos e pela sua forte toxidez para mamíferos. Pesquisas, no entanto têm superado alguns destes problemas e revelado uma grande possibilidade de utilização dos fosforamidatos para o uso como pesticidas (ETO, 1974). Os fosforamidatos derivados de aminas secundárias e terciárias são geralmente menos ativos como inseticidas do que os derivados a partir de aminas primárias e amônia, alguns exemplos de inseticidas do tipo fosforoamidatos estão mostrados na **Figura 13**.

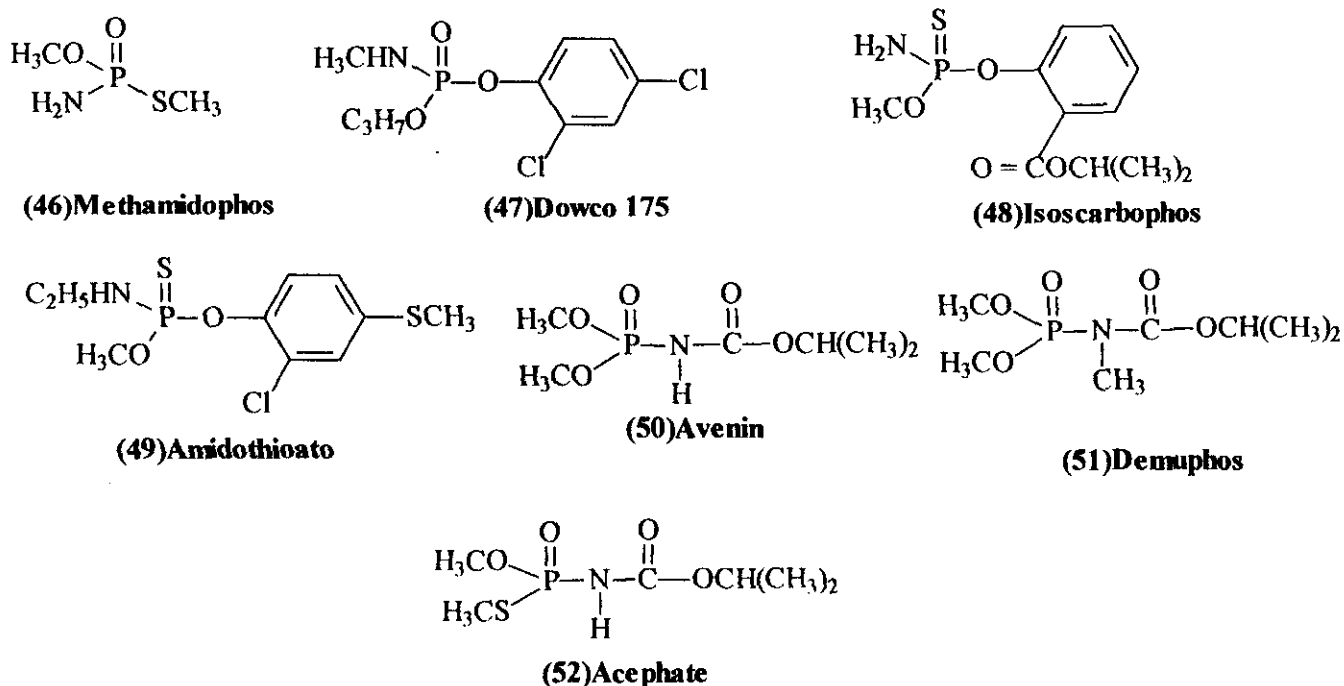


Figura 13: Alguns inseticidas fosforamidatos.

Visando uma melhora da qualidade de vida, é crescente o número de pesquisas buscando a obtenção de novos agentes pesticidas, que sejam cada vez mais fracos inibidores da acetilcolinesterase (AChE) para mamíferos, como é o caso de fosforamidatos sintetizados por HUDSON *et al.*, (1995), que são mostrados na **Figura 14**.

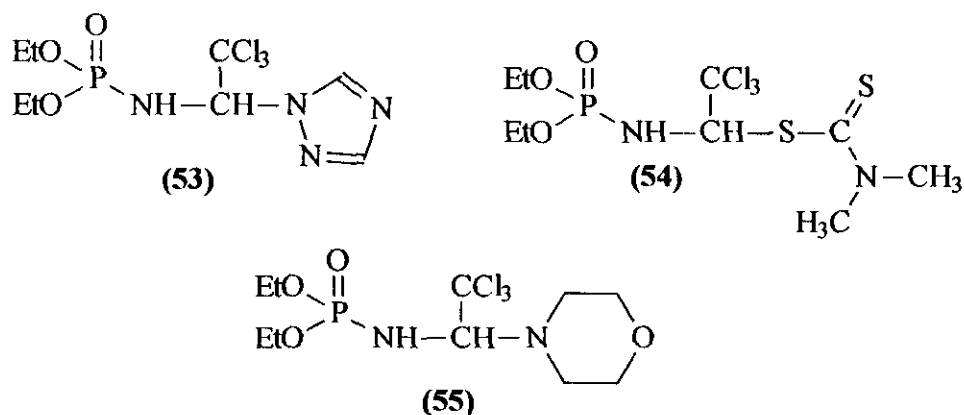


Figura 14: Pesticidas fracos inibidores da acetilcolinesterase para mamíferos.

Os organofosforotioatos são os compostos mais usados dentro da classe de inseticidas organofosforados para o controle de pragas presentes em produção agrícola, higiene municipal e no controle de vetores de doenças (CLOTHIER *et al.*, 1981; KAIHUA

et al., 1995; LAIL *et al.*, 1995). Muitos destes inseticidas são fósforo tioésteres, com limitada solubilidade aquosa, em que o grupo de saída está preso ao átomo de fósforo através de um átomo de enxofre. Alguns exemplos de organofosforotioatos são mostrados na **Figura 15**.

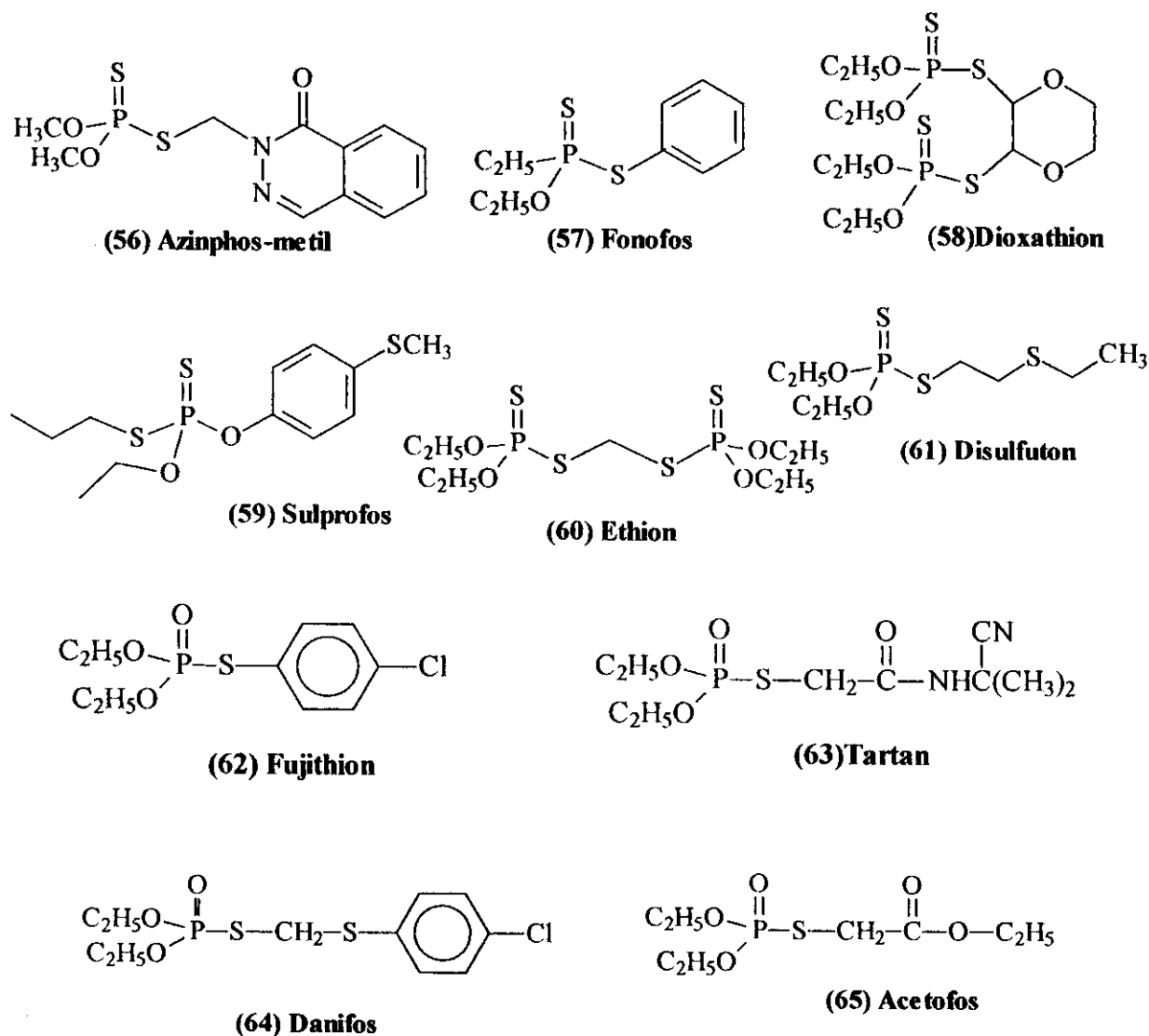
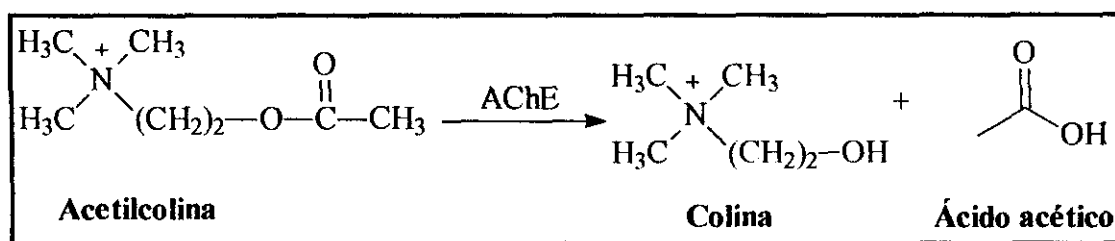


Figura 15: Compostos inseticidas tiofosforados.

Os inseticidas fosforotioatos geralmente são potentes agentes fosforilantes e inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChE) por bioativação oxidativa. Estudos com perácidos oxidantes sugerem que os fosforotioatos sulfóxidos podem ser a espécie reativa (SEGALL & CASIDA, 1982; YOFFI & CASIDA, 1982; WIJU *et al.*, 1991). Em geral, os ésteres fosforotioatos são mais ativos quimicamente e bioquimicamente do que seus correspondentes ésteres de fosfato.

Os organofosforados, como os carbamatos, são largamente usados como inseticidas inibindo a enzima acetilcolinesterase nos sistemas nervosos de vertebrados e de invertebrados (HOLMSTED *et al.*, 1963; SMITH, 1997; WARE, 1989; MUTERO *et al.*, 1994; EYER, 1995; STEELAND, 1996; ASPELIN, 1999).

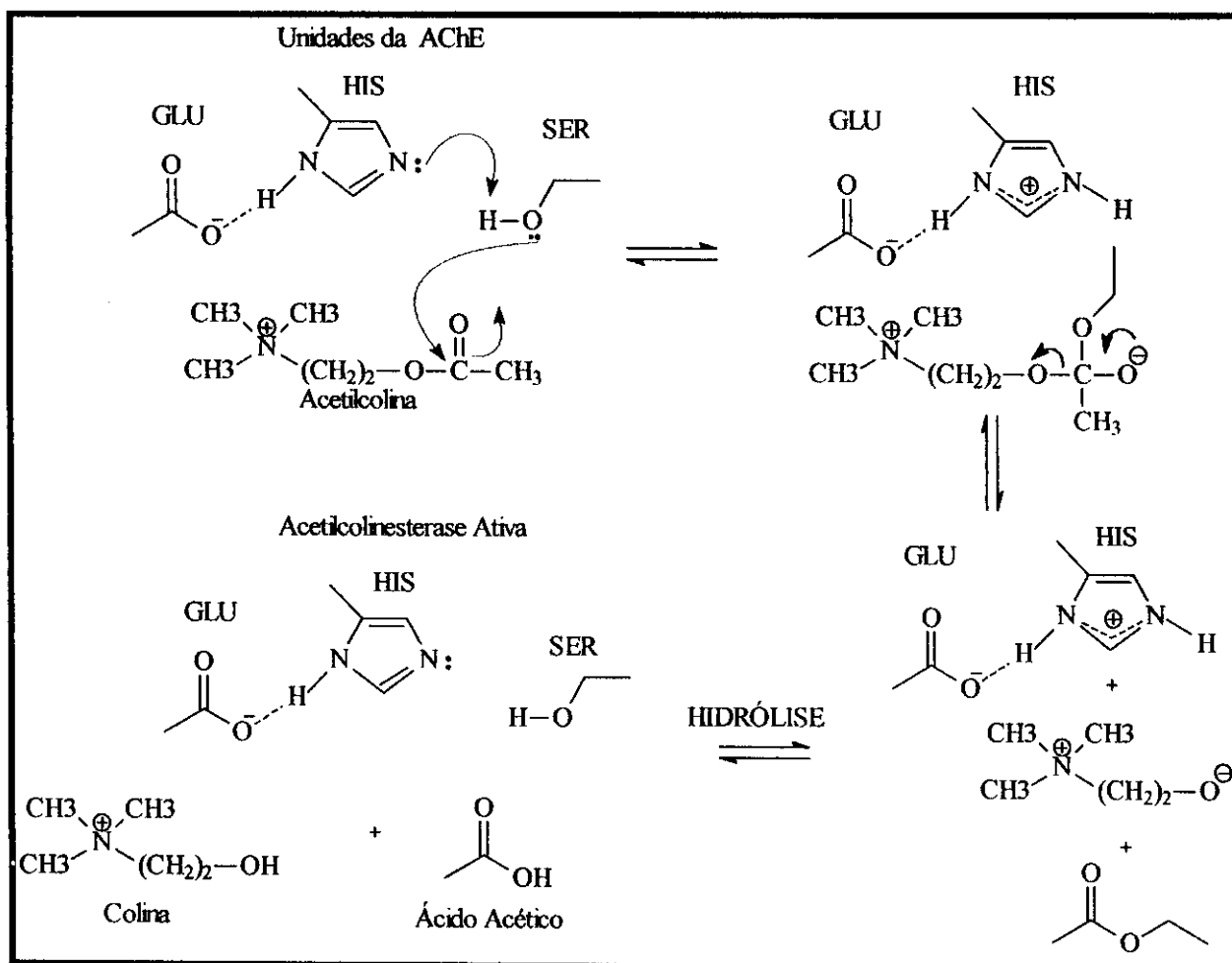
O principal sítio de ação dos inseticidas organofosforados (MURDOCK & HOPINKINS, 1968; SILVER, 1974; GALLO & LAWRYK, 1991; CHAMBERS & CHAMBERS, 1989; FORSYTH & CHAMBERS, 1989; MARRS, 1993) é o sistema nervoso na junção neuromuscular, interagindo com a acetilcolinesterase, cuja função é catalisar a hidrólise da acetilcolina (ACh) em ácido acético e colina, **Esquema 17**, interrompendo a transmissão dos impulsos nervosos nas sinapses dos neurônios colinérgicos dos sistemas nervosos central e periférico (ALDRIDGE & REINER, 1972; O'BRIEN, 1961; PADILHA *et al.*, 1994; KARCZMAR, 1997; MILESON *et al.*, 1998, LIU *et al.*, 1999). A acetilcolina é um mediador químico necessário para a transmissão dos impulsos nervosos presente nos mamíferos e insetos e quando a AChE é inibida, acontece paralisia e morte dos insetos. (ROSENBERRY, 1975; QUIAN & KOVACH, 1993; FOURNIER & MUTEREO, 1994).



Esquema 17: Reação de hidrólise da acetilcolina.

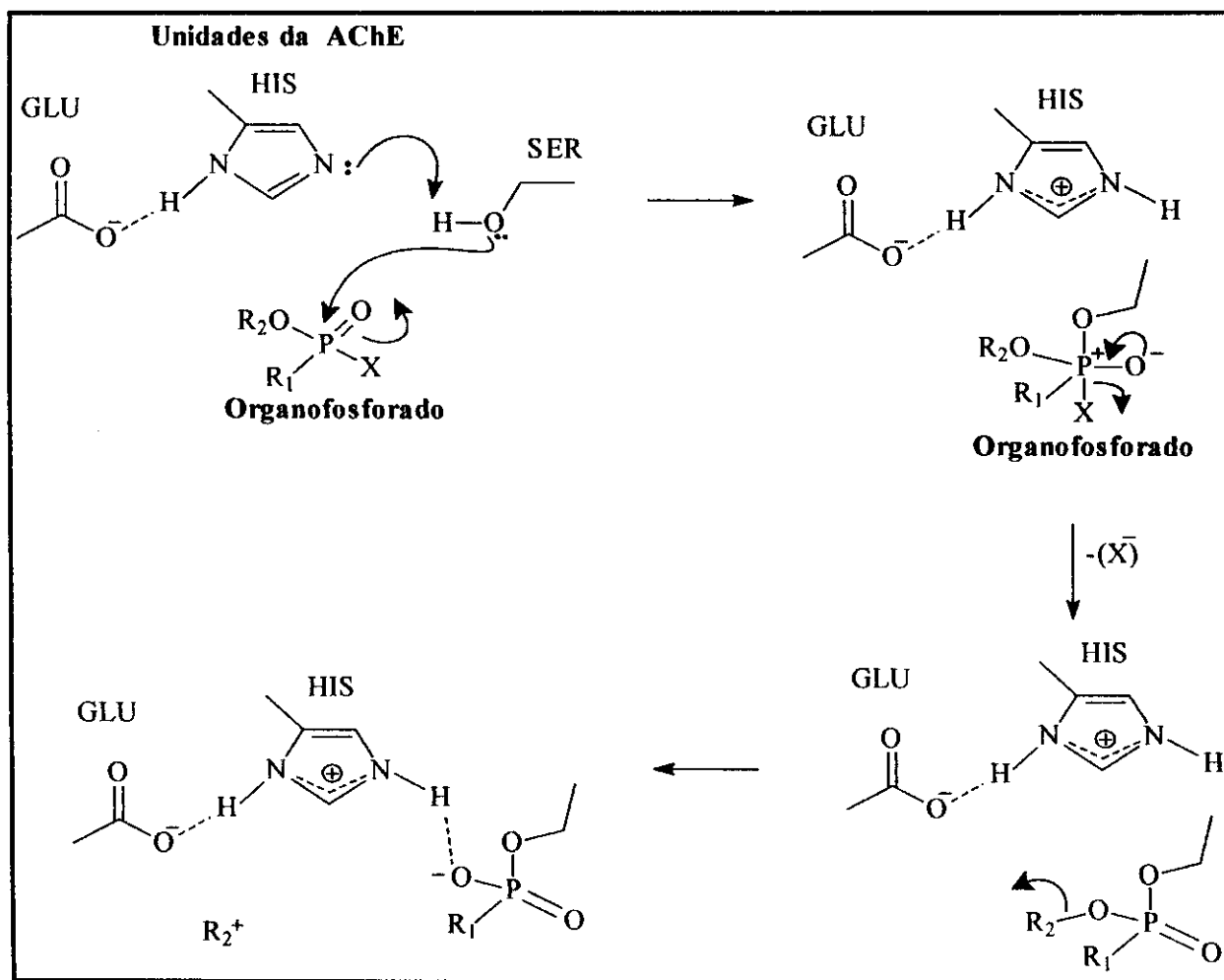
O mecanismo de hidrólise catalisado pela AChE depende da adição de um resíduo de serina à carbonila do substrato ACh, **Esquema 18**. Na presença de organofosforados, este resíduo é prontamente fosforilado (QUIAN & KOVACH, 1993), **Esquema 19**. Ao contrário da enzima acetilada, a enzima fosforilada reage lentamente com água, o que permite a desalquilação do substituinte alcóxila ligado ao átomo de P (processo conhecido como “envelhecimento”). Os compostos organofosforados inativam a acetilcolinesterase pela fosforilação no sítio ativo da enzima (SULTATOS, 1994). O resultado é o surgimento de uma forte ligação entre um resíduo da histidina protonada do sítio catalítico e o átomo de oxigênio negativamente carregado do inibidor. A histidina protonada não pode funcionar como um catalisador básico geral para a hidrólise da enzima fosforilada, necessária para a

reativação da AChE. Evidências experimentais para a inserção da ligação P-O⁻ no sítio ativo de adutos “envelhecidos” entre AChE e organofosforados foram obtidos por espectroscopia de RMN³¹P (SEGALL *et al.*, 1983).



Esquema 18: Mecanismo de hidrólise da Acetilcolina

O processo de inibição da AChE depende muito da estrutura química do organofosforado inibidor (LOTTI, 1992; ECOBICHON, 1996). A interação entre a acetilcolinesterase e seu inibidor organofosforado parece envolver somente o sítio esterásico, formando um complexo bastante estável, sendo esta estabilidade relacionada fundamentalmente, com a estrutura química do inibidor. A inibição da acetilcolinesterase é irreversível, desta forma a acetilcolina é impedida de reagir com o sítio esterásico, ocorrendo um acúmulo da mesma onde é normalmente liberada, resultando em consequência, toda a sintomatologia da intoxicação por acetilcolina ocasionada por compostos organofosforados (SENANAYAKE & KARALIEDDE, 1987; SAVAGE *et al.*, 1988; ROSENSTOCK *et al.*, 1991; STORM, 2000; JAMAL, 2002; KEY, 2002).



Esquema 19: Mecanismo clássico de inibição da acetilcolinesterase por inseticidas organofosforados.

2.4. Estudos Biológicos

2.4.1. Pragas

Desde os primórdios da civilização os insetos têm-se constituído em um dos mais sérios problemas para o homem. O controle químico para combater os agentes biológicos prejudiciais à agropecuária e saúde pública foi um dos primeiros a ser utilizado e continua até os dias de hoje (HIRATA, 1995).

Um país como o Brasil, com uma pluralidade climática e geográfica, abriga uma diversidade enorme de insetos e plantas. Durante muitas décadas o Brasil teve sua economia baseada no setor primário de produção e, ainda hoje, ocupa uma posição de destaque no

abastecimento mundial de cereais, frutas e outros produtos de origem vegetal sendo, portanto, o controle de pragas nativas ou exóticas um desafio que persiste e tem se agravado ano após ano (VIEGAS, 2003).

Antes do descobrimento do Brasil, os insetos endêmicos desse território limitavam-se a se alimentar de plantas silvestres, situação que se modificou com o processo de colonização, quando parte dos insetos nativos passou a tirar alimento das novas plantas e como estas normalmente apresentavam-se concentradas, houve multiplicação rápida e desequilibrada de insetos. O desmatamento e a caça indiscriminada de pássaros insetívoros colaboraram para um desequilíbrio ainda maior que, aliado ao crescimento populacional rápido e contínuo, tem aumentado em muito a competição homem inseto pelo mesmo tipo de alimentação e território, dificultando o controle de infecções hospitalares e doenças que têm nos insetos os vetores de transmissão. Todos estes fatores têm levado à busca contínua por novos agentes inseticidas eficientes, que representem maior segurança para o homem e para o meio ambiente (LARINI, 1979; MARICONI, 1963, MARICONI, 1981; ADDOR, 1994; VIEIRA *et al.*, 1999).

A identificação de um organismo biológico denominado como praga está intimamente ligada a um conceito construído. O termo *praga* não encontra variedade biológica e não se refere a qualquer linha taxonômica.

As pragas podem ser simplesmente definidas como qualquer organismo que surge em algum ambiente onde não é bem vindo. Tal denominação se dá a partir da constatação de algum tipo de ação direta ou indireta desse organismo que passa a interferir na atividade humana, em geral competindo por alimentos ou disseminando doenças (ALVES, 2002).

Os insetos são considerados pragas somente quando infestam e se alimentam das culturas ou de seu hospedeiro de forma intensa. E é nesse ponto que os agricultores são colocados diante do desafio de preservar sua produção com aplicação de produtos de proteção. Este desajeito exige conhecimento extensivo sobre as pragas, com a finalidade de evitar prejuízos, bem como entender o modo de ação e da aplicação destes produtos.

Fatores diversos e complexos influenciam a distribuição e a freqüência do aparecimento de tais pragas e doenças. Variações nas condições ecológicas, agroclimáticas e socioeconômicas de determinada área de cultivo podem definir o quadro de ocorrência das populações de pragas e de agentes fitopatogênicos.

O aparecimento de pragas na natureza pode ser explicado por fatores econômicos, históricos e ambientais. Os fatores econômicos estão ligados ao desenvolvimento de atividades agrícolas e florestais, principalmente baseadas em sistemas de monoculturas, onde

o processo de simplificação a que são submetidos esses agroecossistemas leva a uma situação de instabilidade do equilíbrio ecológico, o que faz com que algumas espécies venham a assumir a categoria de pragas. Os fatores históricos estão relacionados à atividade humana na prática da agricultura dando origem a situações que propiciam o surgimento de pragas tais como: introdução de espécies exóticas em locais mais favoráveis aos seus desenvolvimentos, devido à ausência de inimigos naturais; plantas exóticas favorecendo o aumento populacional de espécies nativas que se tornam pragas quando essas plantas são economicamente exploradas; técnicas de melhoramento genético para aumento da produção que trazem como consequência a maior sensibilidade ao ataque de espécies que se convertem em pragas; práticas culturais e de armazenamento inadequadas, favorecendo o crescimento populacional de alguma espécie. As mudanças climáticas constituem fatores ambientais relacionados ao surgimento das pragas. Tais mudanças podem criar condições favoráveis a determinadas espécies, quer pelo aumento da quantidade de alimento disponível ou pela dispersão das espécies, ou ainda pela ausência de competidores, predadores, parasitas e patógenos.

Os inseticidas são inicialmente desenvolvidos para controlar o maior espectro possível de insetos-pragas. As pragas são as maiores causadoras de perdas físicas, além de serem responsáveis pela perda na qualidade dos grãos e dos subprodutos numa produção agrícola, no momento em que são destinados à comercialização e ao consumo.

Os agrotóxicos e o manejo químico dos problemas fitossanitários constituem técnicas adotadas de forma mais presente nos padrões de agricultura praticados nos principais centros mundiais de produção de alimentos, nos últimos 40 anos. Alguns pesquisadores sustentam que as perdas globais decorrentes dos ataques de pragas e doenças nas culturas poderiam sofrer insustentáveis elevações de seu nível estimado em 42% atingindo cerca de 70% de perdas na ausência das práticas de controle químico (ALVES, 2002).

Outras avaliações dão conta ainda dos aspectos lucrativos decorrentes do uso de agrotóxicos. Uma destas estimativas sugere que no EUA, no ano de 1997, para cada dólar investido em agrotóxicos os retornos auferidos foram da ordem de quatro dólares, desta forma os US\$ 6,5 bilhões destinados ao uso de agrotóxicos podem ter representado uma economia cerca de US\$ 26 bilhões em perdas culturais.

Os inseticidas modernos estão sendo concebidos para prevenir a infestação excessiva de pragas e, conseqüentemente, elevar o rendimento da produção agrícola ou pecuária e a qualidade das colheitas. Os produtos modernos são menos tóxicos e em doses menores têm efeito mais seletivo sobre certas pragas.

As pragas conhecidas como *Musca domestica* e *Stomoxys calcitrans* (ambas Díptera Muscidae), trazem grandes prejuízos para a agropecuária e a saúde pública, pois também são consideradas transmissores de diversas doenças.

2.4.1.1. *Musca domestica*

A mosca doméstica (*Musca domestica*), **Figuras 16 e 17**, é o inseto mais comum e o mais familiar do mundo, estando em associação muito estreita com o homem e seu alimento, bebidas e lixo. Pelo seu hábito de regurgitar e depositar suas fezes no alimento, ela é a responsável pela transmissão de uma variedade de doenças (GEDEN *et al*, 1990; IWASA *et al*, 1999).



Figura 16: *Musca domestica* (adulto) Figura 17: Ciclo de vida da *Musca domestica*

Musca domestica é uma mosca abundante, cosmopolita e não hematófoga, que vive habitualmente no domicílio e peridomicílio humanos (ADEYEMI & DIPEOLU, 1984).

O principal problema causado pelas moscas é a veiculação de agentes causadores de doenças, como os vírus, as bactérias, os protozoários e os ovos destes parasitas (JACKSON, 1989). As moscas podem carregar os agentes causadores das feridas purulentas, das diarreias (como a diarreia dos leitões, da cólera humana e de outras disenterias bacterianas e as causadas por protozoários) e também, os causadores das viroses (como o vírus da doença de Aujeszky), verminoses e transportam ovos da mosca do berne. Ainda entre os microorganismos, as moscas transmitem o vírus causador da meningite estreptocócica dos suínos (*Streptococcus suis*) que também pode infectar humanos (KHIN, 1989). Estes agentes são transportados nos corpos das moscas, grudados nos pêlos do corpo, nas patas, nas fezes, nas peças bucais e, principalmente, no regurgitar da mosca (MARICONI *et al*, 1998).

As moscas caseiras só conseguem se alimentar de líquidos, por isso precisam regurgitar sobre o alimento para dissolvê-lo e poder sugá-lo. O líquido regurgitado contém restos da última comida e com isso, se a mosca come esterco, deixará um pouco deste esterco ao tentar comer outro alimento contaminando o alimento no qual ela se encontra. Esta é a maior fonte de transmissão de doenças pelas moscas, pois elas se alimentam de todo tipo de restos como esterco, vômitos, escarros, lixo, mas também de doces e salgados (SCHULLER, 2000). Ao se entrar num ambiente, já se pode ver nas paredes, vidros e lâmpadas, se há ou não moscas. Estes insetos sujam com as fezes e vômitos os lugares onde pousam, o que pode até diminuir a vida útil de equipamentos de metal que enferrujam mais facilmente (SCOTT, 1989).

Estes fatores negativos justificam a adoção de medidas de controle destes insetos (WEELOCK & SCOTT, 1990). O controle integrado de moscas compreende o uso de todas as formas de combate a este inseto, que causa prejuízos e se torna tão incômodo para qualquer criação de animais. Fazem parte do controle integrado medidas de controle permanente, como o controle mecânico, e as formas de controle temporário, como o controle químico e o biológico.

Neste trabalho é ressaltado o controle químico, que se refere ao uso de inseticidas, principalmente inseticidas organofosforados. Este tipo de controle é feito através de aplicação de substâncias químicas, com efeito mortal para moscas adultas e jovens (NAKANO *et al.*, 1977; KOSAKI *et al.*, 2001; SHI *et al.*, 2001).

2.4.1.2. *Stomoxys calcitrans*

A mosca do estábulo, *Stomoxys calcitrans*, **Figuras 18 e 19**, é uma das mais importantes pragas de inseto que atacam o gado dos Estados Unidos, Europa e alguns países da América do Sul, dentre esses o Brasil. É um parasita que se alimenta de animais de sangue quente, podendo atacar, diariamente, bovinos, eqüinos, caprinos, suínos, caninos e até mesmo o homem (BRUCE & DECKER 1958; BERRY *et al.*, 1983; CAMPBELL *et al.*, 1987; MARÇON, *et al.*, 1997).



Figura 18: *Stomoxys calcitrans* **Figura 19: *Stomoxys calcitrans* e *Musca domestica***

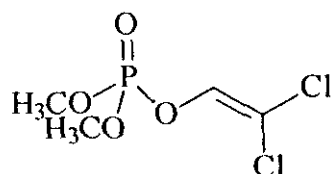
É certamente um dos dípteros que causam sérios prejuízos para a pecuária nacional pelo seu papel como transmissor de graves enfermidades ao gado. A picada dolorosa destas moscas interfere no comportamento alimentar de uma criação, principalmente de bovinos, seu principal hospedeiro. Geralmente, têm sido consideradas as responsáveis pela diminuição na eficiência alimentar e decréscimo de peso ganho do gado (CILECK & GREENE, 1994). Quando atacam em grande quantidade, especialmente no verão, perturbam os animais a tal ponto que estes permanecem em contínua atividade, movendo violentamente a cabeça, patas e sacudindo a cauda sem cessar. Como consequência dessa atividade, os animais se cansam, diminuem a ingestão de alimentos e emagrecem consideravelmente, havendo uma queda da resistência imunológica, o que os tornam predispostos às doenças. As vacas diminuem a produção de leite e chegam a se ferir durante os movimentos de defesa (STEELMAN, 1976; GUIMARÃES, 1984).

CAMPBELL *et al.*, (1987) relataram que a presença de 50 moscas dos estábulos por animal resultou em redução do peso na ordem de 0,09 Kg/d de bezerros em crescimento, ao passo que 100 moscas por animal resultaram em redução de peso na ordem de 0,22 Kg/d em bezerros.

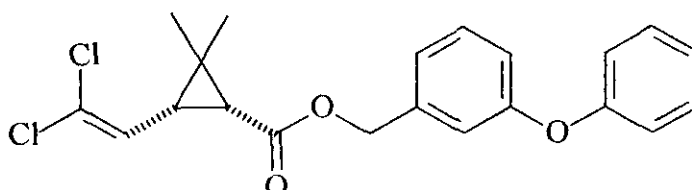
Historicamente, o controle de mosca dos estábulos tem sido direcionado para a população adulta e que depende, principalmente, do uso de inseticidas. No entanto, pouca informação é avaliada a respeito da susceptibilidade de população de mosca dos estábulos por inseticidas no campo, quando comparado com *Musca domestica* e outras espécies de artrópodes.

A resistência em mosca dos estábulos foi relatada para os inseticidas DDT (32, Figura 6, pág. 48), HCH (33, Figura 6, pág. 48) e chlordane (36, Figura 6, pág. 48), dieldrin (35, Figura 6, pág. 48) (MCDUFFIE, 1960; DRUMMOND, 1977). MOUNT *et al* (1965) nos Estados Unidos e HARRIS *et al* (1972) detectaram resistência de populações de mosca dos estábulos da África do Sul para HCH (33, Figura 6, pág. 48). Mais recentemente,

CLIECK & GREENE (1994) encontraram resistência para dichlorvos (66) (Figura 20) e permethrin (67) (Figura 20) em populações de mosca dos estábulos do sudoeste de Kansas.



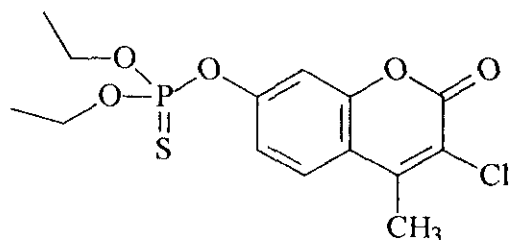
(66) Dichlorvos



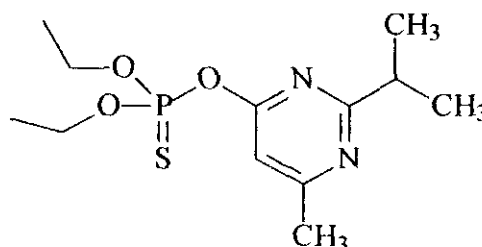
(67) Permethrin

Figura 20: Estrutura do inseticida organofosforado dichlorvos e o natural permethrin.

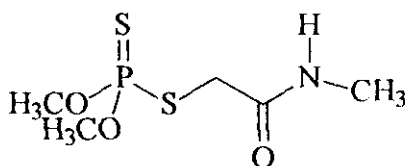
HARRIS (1964), realizou teste de atividade com diversos inseticidas em moscas dos estábulos, onde estas apresentaram susceptibilidade para os inseticidas organofosforados coumaphos (68), diazinon (69) e dimethoate (70), mostrados na Figura 21. Elas apresentaram, também, resistência para os inseticidas organoclorados HCH (33, Figura 6, pág. 48), DDT (32, Figura 6, pág. 48) e carbamatos. O inseticida malathion (49) não provocou efeito significativo.



(68) Coumaphos



(69) Diazinon



(70) Dimethoate

Figura 21: Estrutura dos inseticidas organofosforados coumaphos, diazinon e dimethoate.

O maior problema enfrentado por especialistas no combate a *Stomoxys calcitrans*, assim como outros insetos considerados “pragas”, tem sido a resistência que estes organismos desenvolvem aos inseticidas empregados. As moscas possuem a capacidade de se tornarem resistentes aos inseticidas de longo efeito residual, obrigando assim os pesquisadores a uma busca incessante por novos inseticidas, que sejam de curto efeito residual, tóxicos para pragas e não tóxicos para mamíferos e peixes (SRIVASTAVA, 1988; CLIECK & GREENE (1994).

2.4.2. *Artemia salina* Leach

A avaliação da bioatividade de compostos orgânicos sejam eles naturais ou sintéticos, tem sido pouco viável em laboratórios tradicionais de química. Geralmente, a não ser que existam programas de colaboração com biólogos ou farmacólogos, os laboratórios de química não estão adequadamente equipados para a realização de bioensaios de rotina utilizando animais ou tecidos e órgãos isolados. A necessidade de realizar ensaios com procedimentos simples e rápidos levaram à busca de novos testes (MEYER, *et al.*, 1982; CAVALCANTE *et al.*, 2000).

O estudo de letalidade de organismos simples tem sido utilizado para um rápido e relativamente simples monitoramento da resposta biológica, onde existe apenas um parâmetro envolvido: sobrevivência. Os resultados podem ser facilmente tratados estatisticamente. O ensaio de letalidade permite a avaliação da toxidez geral e, portanto, é considerado essencial como bioensaio preliminar no estudo de compostos com potencial atividade biológica. Dentre esses ensaios, encontra-se a toxicidade sobre *Artemia salina* Leach, que se caracteriza por ser de baixo custo, rápido e não exigir técnicas assépticas (SOLIS, *et al.*, 1992; SIQUEIRA, *et al.*, 1998).

Artemia salina é um microscutáceo de água salgada que é utilizado como alimento vivo para peixes, sendo seus ovos facilmente encontrados em lojas de aquaristas. A simplicidade do bioensaio TAS (teste de *Artemia salina*) favorece sua utilização rotineira, podendo ser desenvolvido no próprio laboratório (FONTENELLE, 1982).

O bioensaio com larvas de *Artemia salina* Leach tem sido empregado com sucesso na descoberta de novos agentes pesticidas, o que motivou como um ensaio preliminar na análise da toxidez dos novos compostos bisfosforoamidatos e bisfosforoditioatos sintetizados neste trabalho.

2.4.3. Efeito dos compostos organofosforados na germinação e no desenvolvimento de plântulas de alface (*Lactuca sativa*)

Uma vez que os compostos sintetizados se apresentam como potenciais inseticidas, resolveu-se estudar o efeito tóxico na germinação e no desenvolvimento de plântulas de alface, pois é desejável, a princípio, que esses compostos não apresente qualquer tipo de atividade que seja prejudicial ao desenvolvimento da planta.

Diversos ensaios são citados na literatura visando à avaliação de substâncias químicas na germinação de sementes, na elongação de raízes e no crescimento de plântulas e avaliação da biomassa da parte aérea (KELSEY & LOCKEN, 1982).

Estes bioensaios são muito práticos, de baixo custo, além de utilizar em pequenas quantidades de material e baseiam-se na premissa de que a letalidade num organismo simples pode ser usado para monitoramento de atividades direcionando futuros estudos (NASCIMENTO *et al.*, 2001).

Sementes de alface (*Lactuca sativa*), disponíveis comercialmente, vêm sendo utilizadas para avaliação de germinação frente a substâncias ativas. O teste é simples e não necessita de muitos aparatos especiais para realização.

2.4.4. Ensaio de letalidade sobre camundongos (*Mus musculus*)

Este ensaio avalia a toxidez aguda em camundongo, que serve como uma avaliação e preliminar das propriedades tóxicas de uma substância química com potencial atividade pesticida, fornecendo informações acerca dos riscos para a saúde humana (LEHMAN, 1988).

A toxidez aguda é o efeito nefasto que se produz dentro de um curto período de tempo e que resulta da administração de uma dose única ou de várias doses de uma substância em um período de 24 horas. Neste bioensaio é possível obter informações iniciais a respeito do modo de ação tóxica da substância ativa (LITCHFIELD & WILCOXON, 1949). Como neste trabalho sintetizou-se compostos com ação inseticida, é interessante através deste teste avaliar a toxidez aguda destes compostos em mamíferos.

2.5. Modelagem Molecular

Um dos paradigmas envolvidos no uso de modelagem molecular no planejamento de fármacos é a compreensão das interações envolvidas nos complexos entre o ligante bioativo e a biomacromolécula. Para tanto, são necessários programas sofisticados que avaliam as mudanças estruturais e as energias de interação que resultam do encaixe entre o ligante e a biomacromolécula e equipamentos de alto desempenho que possam operar estes programas.

Nos últimos anos, tem se buscado técnicas que permitem a construção de modelos de interação mais simples, que não necessitem levar em consideração todos os átomos do sistema e que podem ser operadas em equipamentos de menor custo (VEDANI *et al.*, 1995, SANT'ANNA *et al.*, 1997; 1998; 1999). Uma dessas técnicas, chamada modelagem de pseudo-receptores, baseia-se no conceito de que apenas uma região relativamente pequena da biomacromolécula é responsável pela interação efetiva com o ligante, o sítio ativo (VEDANI *et al.*, 1995)

Neste trabalho foi utilizado o método semi-empírico e a principal característica deste método é basear-se em aproximações e uso de alguns parâmetros empíricos (MURREL & HARGET, 1972). A base comum entre estas aproximações está no fato de que somente os elétrons das camadas de valência são considerados no cálculo de energia, enquanto que os elétrons das camadas internas são tratados por meio de um potencial efetivo não polarizado. Os elétrons de valência são representados por uma base mínima (CLARCK, 1985), muitas integrais são desprezadas durante os cálculos de energia e alguns dos termos dos hamiltonianos são parametrizados a partir de dados experimentais.

Os principais métodos semi-empíricos disponíveis vêm sendo modificados ao longo do tempo, fazendo com que aumente cada vez mais o seu campo de aplicação.

CAPÍTULO II

3. OBJETIVOS

- ▶ Sintetizar e caracterizar novos bisfosforamidatos e bisfosforoditioatos, visando à descoberta de novos inseticidas.

- ▶ Avaliar a atividade biológica dos compostos sintetizados frente a *Artemia salina*, *Musca domestica*, *Stomoxys Calcitrans* e *Mus musculus* (camundongos).

- ▶ Verificar o efeito dos bisfosforamidatos na germinação e no desenvolvimento de sementes de alface (*Lactuca sativa*).

- ▶ Avaliar por métodos teóricos a interação entre o composto mais ativo e um modelo do sítio ativo enzimático (AChE).

CAPÍTULO III

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Considerações Gerais

Todos os solventes utilizados nas reações e nos métodos de purificação foram previamente destilados e, quando necessário, tratados e secados de acordo com os métodos usuais descritos na literatura (VOGEL, 1981).

Os pontos de fusão, não corrigidos, foram determinados em aparelho Buchi 510.

A técnica de cromatografia em camada fina foi feita utilizando-se placas de alumínio Kiesel Gel F 254 com 0,2 mm de espessura, sendo visualizadas sob lâmpada ultravioleta com comprimento de onda de 254 nm.

Para cromatografia em coluna utilizou-se como adsorvente sílica gel 60, Merck, com tamanho de partícula de 35-70 mesh.

Os aparelhos utilizados para a caracterização dos compostos foram:

- ▶ Espectrômetro de infravermelho Perkin-Elmer modelo 1600 FT.
- ▶ Espectrômetro de massas acoplado a cromatógrafo de fase gasosa CGAR-EM modelo HP-5890, quadrupolo, 70 eV.
- ▶ Espectrômetro de ressonância magnética nuclear de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) Bruker, modelo AC-200.
- ▶ Espectrômetro de ressonância magnética nuclear de ^{31}P (162 MHz) – Jeol.

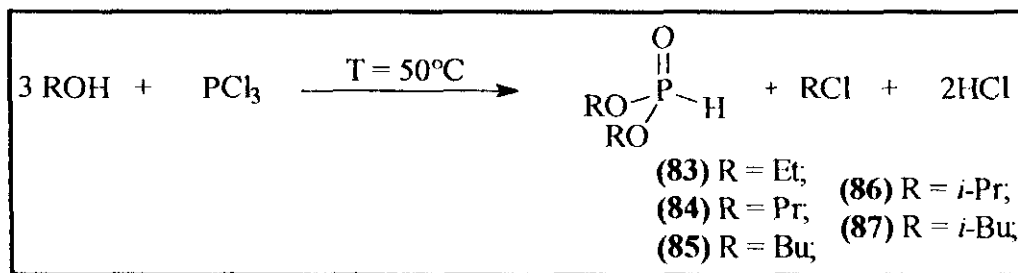
Os espectros de infravermelho para as amostras líquidas foram obtidos usando-se um filme sobre célula de NaCl. Para as amostras sólidas utilizou-se pastilhas de KBr e as absorções foram medidas em cm recíprocos (cm^{-1}).

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos utilizando-se tetrametilsilano (TMS), ou o próprio solvente como referência para os núcleos de ^1H e ^{13}C e ácido fosfórico 85% como referência para os espectros de ^{31}P . Os solventes deuterados são especificados em cada caso, sendo os deslocamentos químicos medidos em ppm e as constantes de acoplamento em Hertz (Hz).

Para o estudo de modelagem molecular, utilizou-se um computador Pentium 200MHz com 32MB de memória RAM. O pacote utilizado para os cálculos foi o MOPAC, de domínio público, fazendo-se uso do hamiltoniano PM3.

4.2. Síntese dos fosfitos de dialquila simétricos

A síntese foi realizada de acordo com o **Esquema 20**.



Esquema 20: Síntese dos fosfitos de dialquila.

► Procedimento geral

Em um balão bitubulado de 250 mL, equipado com um funil de adição contínua de 50mL, condensador de refluxo munido de um borbulhador (capaz de impedir a entrada de umidade e ao mesmo tempo permitir a saída de ácido clorídrico, liberado na reação), foi adicionado o álcool destilado correspondente e em seguida, através do funil da adição, foi adicionado, cuidadosamente, sob agitação magnética o tricloreto de fósforo recém destilado, mantendo-se a mistura reacional a uma temperatura em torno de 0°C. À medida que o tricloreto de fósforo é adicionado observa-se desprendimento de ácido clorídrico. Ao término da adição, submeteu-se o conteúdo do balão a um ligeiro aquecimento (50 °C) por aproximadamente 2 horas. Passado este tempo, a mistura reacional foi transferida para um balão simples e posta sob vácuo através de um evaporador rotatório por aproximadamente 4 horas a 50°C, a fim de retirar, todo o ácido clorídrico e cloreto de alquila.

4.2.1. Síntese do fosfito de dietila (83)

Foram utilizados 27,0 mL (21,5 g – $4,7 \times 10^{-1}$ mol) de álcool etílico e 13,5 mL (21,3 g – $1,6 \times 10^{-1}$ mol) de tricloreto de fósforo. Após a retirada dos subprodutos, 15,0 g do produto puro foram obtidos, correspondendo a um rendimento de 65%.

Caracterização:

- ▶ Aspecto: líquido incolor
- ▶ IV (Célula de NaCl): 3459 (νOH); 2987, 2937, 2913 (νCH₂CH₃); 2431 (νP-H); 1480 (νC-O); 1395 (δasCH₃); 1252 (νP=O); 1046 (νP-O); 982 (δasP-H).
- ▶ RMN ¹H (CDCl₃): 6,8 [d(P-H, J_{PH} = 692 Hz, 1H)]; 4,2 [d/q(CH₃CH₂O-, J_{HH} = 7,6 Hz, J_{HP} = 7,6 Hz, 4H)]; 1,4 [t(CH₃CH₂O-, J_{HH} = 7,1 Hz, 6H)].
- ▶ RMN ¹³C (CDCl₃): 60,2 [d(CH₃CH₂O-, J_{PC} = 6,1Hz, 2C)]; 14,8 [d(CH₃CH₂O-, J_{PC} = 6,1Hz, 2C)].

4.2.2. Síntese do fosfito de di n-propila (84)

Foram utilizados 34,8 mL (27,9 g – $4,7 \times 10^{-1}$ mol) de álcool propílico e 13,5 mL (21,3 g – $1,6 \times 10^{-1}$ mol) de tricloreto de fósforo. Após a retirada dos subprodutos, 20,4 g do produto puro foram obtidos, correspondendo a um rendimento de 80%.

Caracterização:

- ▶ Aspecto: líquido incolor
- ▶ IV (Célula de NaCl): 3486 (νOH); 2970, 2886 (ν CH₂,CH₃); 2426 (νP-H); 1465 (νC-O); 1390 (δasCH₃); 1260 (νP=O); 1068 (νP-O); 976 (δasP-H).
- ▶ RMN ¹H (CDCl₃): 6,8 [d(P-H, J_{PH} = 694 Hz, 1H)]; 4,1 [d/t(CH₃CH₂CH₂O-, J_{HH} = 6,9 Hz, J_{HP} = 6,9Hz, 4H)]; 1,6 [m(CH₃CH₂CH₂O-, J_{HH} = 6,9 Hz, 4H)]; 1,2 [t(CH₃CH₂CH₂O-, J_{HH} = 6,9 Hz, 6H)].
- ▶ RMN ¹³C (CDCl₃): 60,5 [d(CH₃CH₂CH₂O-, J_{PC} = 4,9Hz, 2C)]; 18,2 [d(CH₃CH₂CH₂O-, J_{PC} = 6,1Hz, 2C)]; 15,2 [d(CH₃CH₂CH₂O-, 2C)].

4.2.3. Síntese do fosfito de di *n*-butila (85)

Foram utilizados 42,6 mL (34,5 g – $4,7 \times 10^{-1}$ mol) de álcool butílico e 13,5 mL (21,3 g – $1,6 \times 10^{-1}$ mol) de tricloreto de fósforo. Após a retirada dos subprodutos, 29,9 g do produto puro, foram obtidos correspondendo a um rendimento de 97%.

Caracterização:

► Aspecto: líquido incolor

► IV (Célula de NaCl): 3419 (νOH); 2961, 2875 (ν CH₂,CH₃); 2423 (νP-H); 1465 (νC-O); 1385 (δasCH₃); 1261 (νP=O); 1072 (νP-O); 981 (δasP-H).

► RMN ¹H (CDCl₃): 6,7 [d(P-H, J_{PH} = 697 Hz, 1H)]; 4,0 [d/t(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{HH} = 6,6 Hz, J_{HP} = 7,9Hz, 4H)]; 1,6 [m(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{HH} = 6,0 Hz; 8H)]; 1,4 [m(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{HH} = 7,2 Hz; 8H)]; 0,9 [t(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{HH} = 6,6 Hz, 6H)]

► RMN ¹³C (CDCl₃): 64,1 [d(CH₃CH₂CH₂O-, J_{PC} = 4,6 Hz, 2C)]; 31,8 [d(CH₂CH₂CH₂CH₂O-, J_{PC} = 6,1Hz, 2C)]; 18,7 [d(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{PC} = 6,1Hz, 2C)]; 12,2 [d(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{PC} = 6,1Hz; 2C)]

4.2.4. Síntese do fosfito de diisopropila (86)

Foram utilizados 35,6 mL (27,9 g – $4,7 \times 10^{-1}$ mol) de álcool isopropílico e 13,6 mL (21,3g – $1,6 \times 10^{-1}$ mol) de tricloreto de fósforo. Após a retirada dos subprodutos, 18,6 g do produto puro, foram obtidos correspondendo a um rendimento de 72%.

Caracterização:

► Aspecto: líquido incolor

► IV (Célula de NaCl): 3486 (νOH); 2892, 2936 (ν CH₂,CH₃); 2427 (νP-H); 1463 (νC-O); 1383 (δasCH₃); 1253 (νP=O); 1110 (νP-O); 975 (δasP-H).

► RMN ¹H (CDCl₃): 6,7 [d(P-H, J_{PH} = 693 Hz, 1H)]; 4,6 [d/h(CH₃)₂CHO-, J_{PH} = 6,1 Hz, J_{HH} = 6,1 Hz, 2H)]; 1,2 [d(CH₃)₂CHO-, J_{HH} = 5,7 Hz, 12H)].

► RMN ¹³C (CDCl₃): 70,6 [d((CH₃)₂CHO-, J_{PC} = 6,1Hz, 2C)]; 23,4 [d((CH₃)₂CHO-, J_{PC} = 6,1Hz, 4C)].

4.2.5. Síntese do fosfito de diisobutila (87)

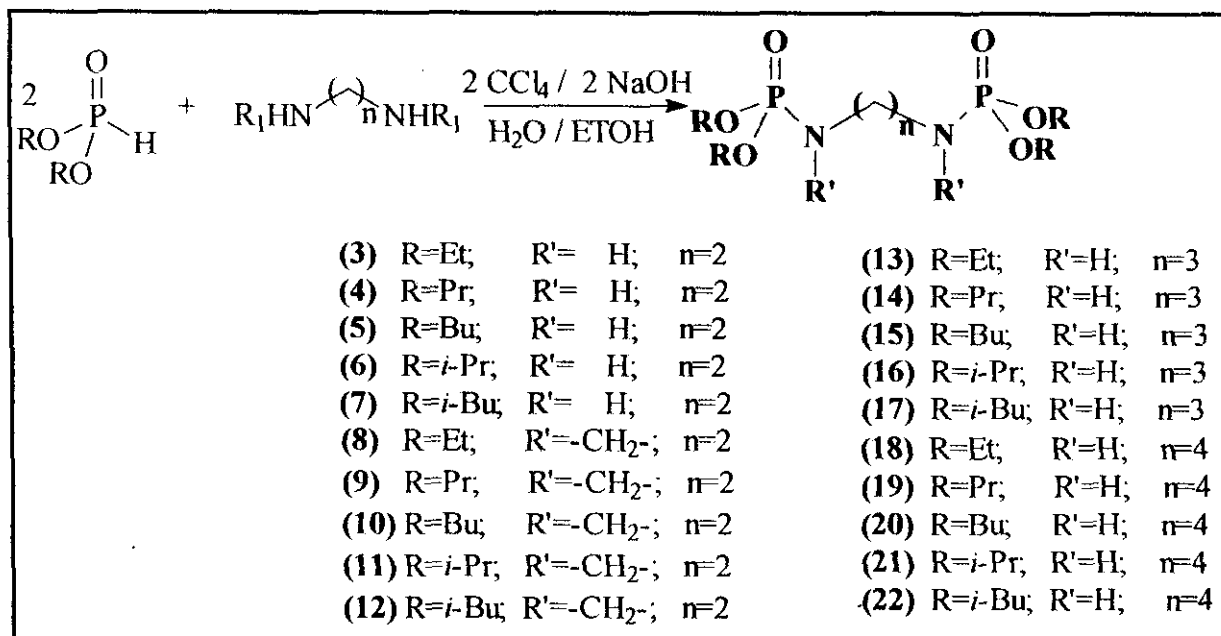
Foram utilizados 47,6 mL (38,2 g – $5,2 \times 10^{-1}$ mol) de álcool isobutilíco e 15,0 mL (23,6 g – $1,7 \times 10^{-1}$ mol) de tricloreto de fósforo. Após a retirada dos subprodutos, 30,2g do produto puro, foram obtidos correspondendo a um rendimento de 90%.

Caracterização:

- ▶ Aspecto: líquido incolor
- ▶ IV (Célula de NaCl): 3446 (ν OH); 2964, 2881 (ν CH₂,CH₃); 2428 (ν P-H); 1470 (ν C-O); 1396 (δ asCH₃); 1255 (ν P=O); 1039 (ν P-O); 983 (δ asP-H).
- ▶ RMN ¹H (CDCl₃): 7,2 [d(P-H, J_{PH} = 695 Hz, 1H)]; 4,2 [d/d(CH₃)₂CHCH₂O-, J_{HH} = 6,6Hz, J_{HP} = 7,4Hz, 4H)]; 2,4 [m(CH₃)₂CHCH₂O-, J_{HH} = 6,8 Hz, 2H)]; 1,3 [m(CH₃)₂CHCH₂O-, J_{HH} = 6,5 Hz, 12H)];
- ▶ RMN ¹³C (CDCl₃): 69,7 [d(CH₃)₂CHCH₂O-, J_{PC} = 4,6 Hz, 2C)]; 28,6 [d(CH₃)₂CHCH₂O-, J_{PC} = 6,1Hz, 2C)]; 17,8 [d(CH₃)₂CHCH₂O-, J_{PC} = 6,1 Hz 4C)].

4.3. Síntese das N,N'-Bis(dialquilfosforil)diaminas

A síntese foi realizada de acordo com o Esquema 21.



Esquema 21: Síntese das N,N' bis(dialquilfosforil)diaminas.

► Procedimento geral

Em um balão de 200 mL, equipado com um funil de adição, foram adicionados quantidades estequiometricamente calculadas das diaminas: etilenodiamina, piperazina, 1,3-propilenodiamina ou 1,4-butilenodiamina, e hidróxido de sódio (NaOH) dissolvido em iguais volumes de água destilada e álcool etílico destilado. A quantidade de NaOH utilizada para a reação com as diaminas é na proporção de 1:2.

No funil de adição foram adicionados o respectivo fosfito de dialquila e o tetracloreto de carbono, com excesso de 20%, para garantir a completa cloração do fosfito de dialquila. Com o balão imerso em banho de gelo e sob agitação magnética, foi adicionado gota a gota todo o conteúdo do funil. Ao final da adição, a mistura reacional ficou sob agitação magnética em temperatura ambiente por 5 horas.

Ao término da reação, todo o conteúdo do balão foi transferido para um funil de separação. A fase orgânica foi separada da fase aquosa e lavada três vezes com CH_2Cl_2 . Finalmente, a fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio (MgSO_4) anidro, filtrada e o solvente removido, através de um rotavapor.

4.3.1. Síntese da N,N'-bis(dietilfosforil)etilenodiamina (3)

Ao balão foram adicionados 0,6 mL ($0,5 \text{ g} - 9 \times 10^{-3} \text{ mol}$) de etilenodiamina e uma solução contendo 0,7g ($1,8 \times 10^{-2} \text{ mol}$) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 2,3 mL ($2,5 \text{ g} - 1,8 \times 10^{-2} \text{ mol}$) de fosfito de dietila e 1,9 mL de CCl_4 . Ao término da reação foram isolados 2,5g de um sólido branco, que recristalizado em hexano forneceu 2,0 g do produto puro, correspondendo a um rendimento de 72%.

Caracterização:

► **Aspecto:** sólido branco

► **P.F.:** 35 - 37°C.

► **IV (Pastilha de KBr):** 3187 (νNH); 2985, 2907 ($\nu \text{CH}_2, \text{CH}_3$); 1474 ($\nu\text{C-O}$); 1397 ($\delta_{\text{as}}\text{CH}_3$); 1243 ($\nu\text{P=O}$); 1123 ($\nu\text{C-N}$); 1037 ($\nu\text{P-O}$); 971 ($\nu\text{P-N}$).

► **RMN ^1H (DMSO):** 4,9 [s(N-H, 2H)]; 3,9 [d/q($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O-}$, $J_{\text{HH}} = 7,0 \text{ Hz}$, $J_{\text{PH}} = 7,0 \text{ Hz}$, 8H)]; 1,2 [t($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O-}$, $J_{\text{HH}} = 7,0 \text{ Hz}$, $J_{\text{PH}} = 0,9 \text{ Hz}$, 12H)]; 2,8 [m($-\text{CH}_2\text{NH-}$, 4H)].

- ▶ RMN ^{13}C (CDCl_3): 61,5 [d($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ -, $J_{\text{PC}} = 4,6\text{Hz}$, 4C)]; 16,3 [d($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ -, $J_{\text{PC}} = 6,1\text{Hz}$, 4C)]; 42,4 [m($-\text{CH}_2\text{NH}$ -, 2C)].
- ▶ m/e (%): 44 (10); 58 (10); 81 (5) 110 (85); 123 (20); 138 (100); 166 (83); 179 (50); 203 (13); 231 (6); 259 (8); 290 (11); 333 (12).

4.3.2. Síntese da N,N'-bis(dipropilfosforil)etilenodiamina (4)

Ao balão foram adicionados 0,5 mL (0,5 g – $7,6 \times 10^{-3}$ mol) de etilenodiamina e uma solução contendo 0,6 g ($1,6 \times 10^{-2}$ mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 2,5 mL (2,6g – $1,5 \times 10^{-2}$ mol) de fosfito de dipropila e 1,8 mL de CCl_4 . Ao término da reação foram isolados 2,0 g de sólido branco pastoso, correspondendo a um rendimento de 67%.

Caracterização:

- ▶ Aspecto: sólido branco pastoso
- ▶ IV (Pastilha de KBr): 3191 (vNH); 2968, 2889 (v CH_2, CH_3); 1471 (vC-O); 1391 (δ_{asCH_3}); 1240 (vP=O); 1127 (vC-N); 1064 (vP-O); 1003 (vP-N).
- ▶ RMN ^1H (CDCl_3): 3,5 [s(N-H, 2H)]; 3,9 [d/t($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -, $J_{\text{HH}} = 6,8$ Hz, $J_{\text{PH}} = 6,7\text{Hz}$, 8H)]; 1,7 [m($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -, $J_{\text{HH}} = 7,1$ Hz, 8H)]; 0,9 [t($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -, $J_{\text{HH}} = 7,4$ Hz, 12H)]; 3,0 [m($-\text{CH}_2\text{NH}$ -, 4H)].
- ▶ RMN ^{13}C (CDCl_3): 66,9 [d($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ -, $J_{\text{PC}} = 6,1\text{Hz}$, 4C)]; 23,0 [d($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -, $J_{\text{PC}} = 6,7\text{Hz}$, 4C)]; 9,4 [s($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -, 4C)]; 42,1 [d($-\text{CH}_2\text{NH}$ -, 2C)].
- ▶ m/e (%): 44 (8); 81 (5); 110 (18); 124 (23); 138 (13); 152 (25); 180 (74); 193 (8); 217 (5); 245 (3); 273 (2); 301 (5) 347 (100).

4.3.3. Síntese da N,N'-bis(dibutilfosforil)etilenodiamina (5)

Ao balão foram adicionados 0,6 mL (0,5 g – 9×10^{-3} mol) de etilenodiamina e uma solução contendo 0,7 g ($1,8 \times 10^{-2}$ mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 3,5 mL (3,5 g – $1,8 \times 10^{-2}$ mol) de fosfito de dibutila e 2,0 mL de CCl_4 . Ao término da reação foram isolados 1,7 g de um óleo incolor, correspondendo a um rendimento de 43%.

Caracterização:

- ▶ Aspecto: óleo incolor
- ▶ IV (Célula de NaCl): 3243 (ν NH); 2959, 2874 (ν CH₂,CH₃); 1461 (ν C-O); 1385 (δ asCH₃); 1234 (ν P=O); 1066 (ν C-N); 1028 (ν P-O); 984 (ν P-N).
- ▶ RMN 1H (CDCl₃): 4,1 [s(N-H, 2H)]; 3,8 [d/t(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{HH} = 6,9 Hz, J_{PH} = 6,4 Hz)]; 1,5 [m(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{HH} = 7,7 Hz, 8H)]; 1,3 [m(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{HH} = 7,3 Hz, 8H)]; 0,8 [t(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{HH} = 7,0 Hz, 12H)]; 2,8 [m(-CH₂NH-, 4H)].
- ▶ RMN 13C (CDCl₃): 65,4 [d(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{PC} = 4,9Hz, 4C)]; 31,9 [d(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{PC} = 7,6Hz, 4C)]; 18,4 [s(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, 4C)]; 13,2 [s(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, 4C)]; 42,3 [d(-CH₂NH-, 2C)].
- ▶ m/e (%): 56 (18); 110 (100); 180 (60); 203 (30); 222 (28); 253 (8); 290 (5); 315 (8); 333 (8); 371 (5); 389 (15); 428 (3); 445 (10)..

4.3.4. Síntese da N,N'-bis(diisopropilfosforil)etilenodiamina (6)

Ao balão foram adicionados 0,3 mL (0,3 g – $5,2 \times 10^{-3}$ mol) de etilenodiamina e uma solução contendo 0,4g ($1,0 \times 10^{-2}$ mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 1,7 g ($1,0 \times 10^{-2}$ mol) de fosfito de diisopropila e 2,0 mL de CCl₄. Ao término da reação foram isolados 1,6 g de um sólido branco, correspondendo a um rendimento de 79%.

Caracterização:

- ▶ Aspecto: sólido branco
- ▶ P.F.: 53 - 55°C
- ▶ IV (Pastilha de KBr): 3242 (ν NH); 2981, 2934 (ν CH₂,CH₃); 1466 (ν C-O); 1383 (δ asCH₃); 1236 (ν P=O); 1196 (ν C-N); 1110 (ν P-O); 991 (ν P-N).
- ▶ RMN 1H (DMSO): 4,8 [s(N-H, 2H)]; 4,4 [d/h((CH₃)₂CHO-, J_{HH} = 6,3Hz, J_{PH} = 7,5 Hz, 4H)]; 1,2 [d((CH₃)₂CHO-, J_{HH} = 6,2 Hz, 24H)]; 2,8 [d(-CH₂NH-, 4H)].
- ▶ RMN 13C (CDCl₃): 70,9 [d((CH₃)₂CHO-, J_{PC} = 4,6Hz, 4C)]; 23,4 [d((CH₃)₂CHO-, J_{PC} = 3,0 Hz, 8C)]; 42,2 [d(-CH₂NH-, 2C)].
- ▶ RMN 31P (CDCl₃): 8,06 (desacoplado)

► m/e (%): 44 (5); 65 (3); 82 (3); 110 (100); 138 (2); 152 (5); 166 (6); 185 (5); 203 (40); 221 (2); 251 (2); 287 (2); 305 (1); 331 (1); 347 (2); 373 (1); 389 (38).

4.3.5. Síntese da N,N'-bis(diisobutilfosforil)etilenodiamina (7)

Ao balão foram adicionados 0,2 mL ($0,3 \text{ g} - 4,5 \times 10^{-3} \text{ mol}$) de etilenodiamina e uma solução contendo 0,2 g ($4,6 \times 10^{-3} \text{ mol}$) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 0,91 g ($4,7 \times 10^{-3} \text{ mol}$) de fosfito de diisobutila e 0,5 mL de CCl_4 . Ao término da reação foram isolados 0,88g de um óleo incolor, correspondendo a um rendimento de 85%.

Caracterização:

- Aspecto: óleo incolor
- IV (Pastilha de NaCl): 3408 (vNH); 2961, 2881 (v CH_2, CH_3); 1467 (vC-O); 1396 (δasCH_3); 1238 (vP=O); 1119 (vC-N); 1020(vP-O); 870 (vP-N).
- RMN ^1H (DMSO): 4,9 [s(N-H, 2H)]; 3,6 [d/d($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{O}-$, $J_{\text{HH}} = 6,3 \text{ Hz}$, $J_{\text{PH}} = 6,3\text{Hz}$, 8H)]; 1,8 [m($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{O}-$, $J_{\text{HH}} = 6,5 \text{ Hz}$, 4H)]; 0,9 [d($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{O}-$, $J_{\text{HH}} = 6,7 \text{ Hz}$, 24H)]; 2,8 [d(- $\text{CH}_2\text{NH}-$, 4H)].
- RMN ^{13}C (CDCl_3): 71,3 [d($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{O}$, $J_{\text{PC}} = 6,1\text{Hz}$, 4C)]; 28,2 [d($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{O}-$, $J_{\text{PC}} = 7,5\text{Hz}$, 8H)]; 17,9 [s($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{O}-$, 4C)]; 41,9 [d(- $\text{CH}_2\text{NH}-$, 2C)].
- RMN ^{31}P (CDCl_3): 9,94 (desacoplado)
- m/e (%): 44 (5); 110 (100); 180 (45); 203 (35); 259 (3); 277 (15); 315 (3); 333 (18); 389(30); 445 (23).

4.3.6. Síntese da N,N'-bis(diethylfosforil)piperazina (8)

Ao balão foram adicionados 0,7g ($8,4 \times 10^{-3} \text{ mol}$) de piperazina e uma solução contendo 0,7g ($1,7 \times 10^{-2} \text{ mol}$) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 2,2 mL ($2,3 \text{ g} - 1,7 \times 10^{-2} \text{ mol}$) de fosfito de dietila e 1,9 mL de CCl_4 . Ao término da reação, foram isolados 2,4g de um óleo amarelo, correspondendo a um rendimento de 82%.

Caracterização:

- ▶ Aspecto: óleo amarelo
- ▶ IV (Pastilha de NaCl): 2983, 2911 (ν CH₂,CH₃); 1448 (ν C-O); 1375 (δ asCH₃); 1248 (ν P=O); 1160 (ν C-N); 1031 (ν P-O); 974 (ν P-N).
- ▶ RMN 1H (CDCl₃): 4,0 [d/q(CH₃CH₂O-, J_{IHH} = 6,9 Hz, J_{PH} = 7,2Hz, 8H)]; 1,3 [t(CH₃CH₂O-, J_{IHH} = 6,9 Hz, 12H)]; 3,8 [m(-CH₂NH-, 8H)].
- ▶ RMN 13C (CDCl₃): 61,4 [d(CH₃CH₂O-, J_{PC} = 6,1Hz, 4C)]; 15,1 [d(CH₃CH₂O-, J_{PC} = 6,1Hz, 4C)]; 43,6 [m(-CH₂NH-, 4C)].
- ▶ m/e (%): 56 (8); 85 (10); 110 (10);138 (13); 178 (30); 205 (8);229 (5); 257 (2); 290 (6); 316 (1); 343 (1); 359 (100).

4.3.7. Síntese da N,N'-bis(dipropilfosforil)piperazina (9)

Ao balão foram adicionados 0,4 g ($4,8 \times 10^{-3}$ mol) de piperazina e uma solução contendo 0,4g ($9,8 \times 10^{-3}$ mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 1,6 mL (1,60 g – $9,6 \times 10^{-3}$ mol) de fosfito de dipropila e 1,1 mL de CCl₄. Ao término da reação foram isolados 1,0 g de um óleo amarelo, correspondendo a um rendimento de 50%.

Caracterização:

- ▶ Aspecto: óleo amarelo
- ▶ IV (Pastilha de NaCl): 2969, 2890 (ν CH₂,CH₃); 1459 (ν C-O); 1380 (δ asCH₃); 1250 (ν P=O); 1114 (ν C-N); 1062 (ν P-O); 989 (ν P-N).
- ▶ RMN 1H (CDCl₃): 3,8 [d/t(CH₃CH₂CH₂O-, J_{IHH} = 6,8 Hz, J_{PH} = 6,8Hz, 8H)]; 1,6 [m(CH₃CH₂CH₂O-, J_{IHH} = 6,8 Hz, 8H)]; 0,9 [t(CH₃CH₂CH₂O-, J_{IHH} = 6,8 Hz, 12H)]; 3,0 [m(-CH₂NH-, 8H)].
- ▶ RMN 13C (CDCl₃): 66,9 [d(CH₃CH₂CH₂O-, J_{PC} = 6,1Hz, 4C)]; 22,6 [d(CH₃CH₂CH₂O-, J_{PC} = 6,1Hz, 4C)]; 9,0 [s(CH₃CH₂CH₂O-, 4C)]; 43,6 [d(-CH₂NH-, 4C)].
- ▶ m/e (%):56 (25); 85 (35); 110 (45);124 (25); 166 (25); 192 (100);208 (25); 229 (20); 249 (5); 272(2); 313 (2); 414 (5).

4.3.8. Síntese da N,N'-bis(dibutilfosforil)piperazina (10)

Ao balão foram adicionados 0,5 g ($6,3 \times 10^{-3}$ mol) de piperazina e uma solução contendo 0,5g ($1,3 \times 10^{-2}$ mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 2,5 ml ($2,5\text{g} - 1,3 \times 10^{-3}$ mol) de fosfito de dibutila e 1,5 mL de CCl_4 . Ao término da reação foram isolados 1,2 g de um óleo incolor correspondendo a um rendimento de 40%.

Caracterização:

- ▶ Aspecto: óleo incolor
- ▶ IV (Célula de NaCl): 2960, 2872 (ν CH_2, CH_3); 1461 (ν C-O); 1379 ($\delta_{\text{as}} \text{CH}_3$); 1249 (ν P=O); 1120 (ν C-N); 1026 (ν P-O); 978 (ν P-N).
- ▶ RMN ^1H (CDCl_3): 3,9 [d/t($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, $J_{\text{HH}} = 7,2$ Hz, $J_{\text{PH}} = 7,2$ Hz, 8H)]; 1,6 [m($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, $J_{\text{HH}} = 7,2$ Hz, 8H)]; 1,3 [m($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, $J_{\text{HH}} = 7,2$ Hz, 8H)]; 0,9 [t($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, $J_{\text{HH}} = 7,2$ Hz, 12H)]; 3,0 [m($-\text{CH}_2\text{NH}-$, 8H)].
- ▶ RMN ^{13}C (CDCl_3): 65,5 [d($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, $J_{\text{PC}} = 6,1$ Hz, 4C)]; 32,1 [d($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, $J_{\text{PC}} = 6,1$ Hz, 4C)]; 18,6 [s($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, 4C)]; 13,5 [s($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, 12C)]; 45,1 [d($-\text{CH}_2\text{NH}-$, 4C)].
- ▶ m/e (%): 56 (3); 85 (5); 124 (5); 180 (3); 206 (10); 229 (3); 247 (5); 278 (1); 403 (1); 472 (100).

4.3.9. Síntese da N,N'-bis(diisopropilfosforil)piperazina (11)

Ao balão foram adicionados 0,4 g ($4,9 \times 10^{-3}$ mol) de piperazina e uma solução contendo 0,4g ($1,3 \times 10^{-2}$ mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 1,60g ($9,6 \times 10^{-3}$ mol) de fosfito de diisopropila e 1,2 mL de CCl_4 . Ao término da reação foram isolados 1,6 g de um sólido branco pastoso, correspondendo a um rendimento de 78%.

Caracterização:

- ▶ Aspecto: sólido branco pastoso

- ▶ IV (Pastilha de KBr): 2979, 2931 (ν CH₂,CH₃); 1453 (ν C-O); 1382 (δ asCH₃); 1250 (ν P=O); 1137 (ν C-N); 1106 (ν P-O); 977 (ν P-N).
- ▶ RMN 1H (CDCl₃): 4,5 [d/h((CH₃)₂CHO-, J_{HH} = 6,3 Hz, J_{PH} = 7,1 Hz, 4H)]; 1,2 [d((CH₃)₂CHO-, J_{HH} = 6,2 Hz, 24H)]; 3,0 [d(-CH₂NH-, 8H)].
- ▶ RMN 13C (CDCl₃): 70,6 [d((CH₃)₂CHO-, J_{PC} = 6,1Hz, 4C)]; 24,1 [d((CH₃)₂CHO-, J_{PC} = 4,6 Hz, 8C)]; 44,8 [d(-CH₂NH-, 8C)].
- ▶ m/e (%): 56 (10); 85 (20); 110 (20); 149 (25); 164 (10); 191 (15); 207 (5); 229 (20); 273 (1); 287 (1); 315 (1); 332 (1); 357 (2); 373 (2); 399 (5); 415 (100).

4.3.10. Síntese da N,N'-bis(diisobutilfosforil)piperazina (12)

Ao balão foram adicionados 0,9 g ($1,1 \times 10^{-2}$ mol) de piperazina e uma solução contendo 0,8g ($2,1 \times 10^{-2}$ mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 4,1g ($2,1 \times 10^{-2}$ mol) de fosfito de diisobutila e 2,5 mL de CCl₄. Ao término da reação foram isolados 2,9 g de um sólido branco, correspondendo a um rendimento de 58,5%.

Caracterização:

- ▶ Aspecto: sólido branco
- ▶ P.F.: 43 - 45°C
- ▶ IV (Pastilha de KBr): 3244 (ν NH); 2964, 2881 (ν CH₂,CH₃); 1631 (τ NH) 1470 (ν C-O); 1376 (δ asCH₃); 1252 (ν P=O); 1130 (ν C-N); 1052(ν P-O); 980 (ν P-N).
- ▶ RMN 1H (CDCl₃): 3,7 [d/d((CH₃)₂CHCH₂O-, J_{HH} = 6,3 Hz, J_{PH} = 6,3Hz, 8H)]; 1,9 [m((CH₃)₂CHCH₂O-, J_{HH} = 6,8 Hz, 4H)]; 0,9 [d((CH₃)₂CHCH₂O-, J_{HH} = 6,8 Hz, 24H)]; 3,1(-CH₂NH-, 8)].
- ▶ RMN 13C (CDCl₃): 72,0 [((CH₃)₂CHCH₂O, J_{PC} = 4,6Hz, 4C)]; 29,2 d((CH₃)₂CHCH₂O-, J_{PC} = 6,1Hz, 8H)]; 19,1 [s((CH₃)₂CHCH₂O-, 4C)]; 44,8 [d (-CH₂NH-, 4C)].
- ▶ RMN 31P (CDCl₃): 8,70 (desacoplado)
- ▶ m/e (%): 56 (12); 85 (20); 150 (70); 180 (15); 206 (100); 229 (30); 261 (5); 279 (15); 359(3); 415 (15); 471 (35).

4.3.11. Síntese da N,N'-bis(dietilfosforil)1,3-propilenodiamina (13)

Ao balão foram adicionados 1,4 mL (1,3 g – $1,7 \times 10^{-3}$ mol) de 1,3-propilenodiamina e uma solução contendo 1,4 g ($3,5 \times 10^{-2}$ mol) de NaOH em 5,0 ml de álcool etílico e 5,0ml de água. No funil de adição, utilizou-se 4,5mL (4,8 g – $3,5 \times 10^{-2}$ mol) de fosfito de dietila e 4,0 mL de CCl₄. Ao término da reação foram isolados 2,2 g de um óleo amarelo, correspondendo a um rendimento de 36%.

Caracterização:

- ▶ Aspecto: óleo amarelo
- ▶ IV (Pastilha de NaCl): 3240 (νNH); 2982, 2937 (ν CH₂,CH₃); 1446 (νC-O); 1394 (δasCH₃); 1232 (νP=O); 1164 (νC-N); 1033 (νP-O); 966 (νP-N).
- ▶ RMN 1H (CDCl₃): 3,3 [s(N-H, 2H)] 4,0 [d/q(CH₃CH₂O-, J_{HH} = 6,3 Hz, J_{PH} = 6,3Hz, 8H)]; 1,3 [t(CH₃CH₂O-, J_{HH} = 6,3 Hz, J_{PH} = 6,3Hz, 12H)]; 2,9 [m(-CH₂CH₂NH-, 4H)]; 1,6 [m (-CH₂CH₂NH-, 2H)].
- ▶ RMN 13C (CDCl₃): 61,9 [d(CH₃CH₂O-, J_{PC} = 4,5 Hz, 4C)]; 15,8 [d(CH₃CH₂O-, J_{PC} = 6,1Hz, 4C)]; 37,6 [d(-CH₂CH₂NH-, 2C)]; 32,5 [d (-CH₂CH₂NH-, 1C)].
- ▶ RMN 31P (CDCl₃): 10,28 (desacoplado)
- ▶ m/e (%): 44 (8); 81 (5); 110 (15); 124 (23);138 (13); 152 (25); 180 (75); 193 (10) 217 (8);245 (3); 273 (3); 301 (4); 347 (100).

4.3.12. Síntese da N,N'-bis(dipropilfosforil)1,3-propilenodiamina (14)

Ao balão foram adicionados 0,6mL (0,6g – $7,4 \times 10^{-3}$ mol) de 1,3-propilenodiamina e uma solução contendo 0,6g ($1,5 \times 10^{-2}$ mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 2,4mL (2,5 g – $1,5 \times 10^{-2}$ mol) de fosfito de dipropila e 1,7 mL de CCl₄. Ao término da reação foram isolados 1,8 g de um óleo incolor, correspondendo a um rendimento de 60%.

Caracterização:

- ▶ Aspecto: óleo incolor

- ▶ IV (Pastilha de NaCl): 3239 (vNH); 2979, 2877 (v CH₂,CH₃); 1459 (vC-O); 1381 (δasCH₃); 1234 (vP=O); 1180 (vC-N); 1108(vP-O); 990 (vP-N).
- ▶ RMN 1H (DMSO): 4,8 [s(N-H, 2H)]; 3,8 [d/t(CH₃CH₂CH₂O-, J_{HH} = 6,8 Hz, J_{PH} = 6,8 Hz, 8H)]; 1,6 [m(CH₃CH₂CH₂O-, J_{HH} = 6,8 Hz, 4H)]; 0,9 [d(CH₃CHCH₂O-, J_{HH} = 7,2 Hz, 12H)]; 2,8 [d(-CH₂NH-, 4H)]; 1,6 [d(-CH₂CH₂NH-, 2H)].
- ▶ RMN 13C (CDCl₃): 66,5 [d(CH₃CHCH₂O-, J_{PC} = 4,6Hz, 4C)]; 23,2 [d(CH₃CHCH₂O-, J_{PC} = 6,1Hz, 4C)]; 9,9 [s(CH₃CHCH₂O-, 4C)]; 38,1 [d (-CH₂CH₂NH-, 2C)]; 33,2 [d (-CH₂CH₂NH-, 1C)].
- ▶ m/e (%): 44 (10); 110 (50); 124 (100); 166 (65); 208 (95); 239 (8); 259 (1); 302 (1); 320 (2); 402 (15).

4.3.13. Síntese da N,N'-bis(dibutilfosforil)1,3-propilenodiamina (15)

Ao balão foram adicionados 0,6 mL (0,5 g – 6,5x10⁻³ mol) de 1,3-propilenodiamina e uma solução contendo 0,5 g (1,3 x 10⁻²mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 2,6ml (2,5 g – 1,3 x 10⁻² mol) de fosfito de dibutila e 1,5 mL de CCl₄. Ao término da reação foram isolados 0,9 g de um óleo puro, correspondendo a um rendimento de 30%.

Caracterização:

- ▶ Aspecto: óleo incolor
- ▶ IV (Célula de NaCl): 3243 (vNH); 2959, 2875 (v CH₂,CH₃); 1462 (vC-O); 1386 (δasCH₃); 1233 (vP=O); 1067 (vC-N); 1028 (vP-O); 985 (vP-N).
- ▶ RMN 1H (CDCl₃): 3,5 [s(N-H, 2H)]; 3,8 [d/t(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{HH} = 7,2 Hz, J_{PH} = 6,6 Hz, 8H)]; 1,4 [m(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{HH} = 7,2 Hz, 8H)]; 1,3 [m(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{HH} = 7,2 Hz, 8H)]; 0,8 [t(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{HH} = 7,2 Hz, 12H)]; 2,9 [m(-CH₂CH₂NH-, 4H)]; 1,5 [m(-CH₂CH₂NH-, 2H)].
- ▶ RMN 13C (CDCl₃): 65,7 [d(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{PC} = 4,6 Hz, 4C)]; 18,5 [d(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{PC} = 6,1 Hz, 4C)]; 18,5 [s(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, 4C)]; 12,7 [s(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, 12C)]; 37,7 [d(-CH₂NH-, 2C)]; 32,1 [m(-CH₂CH₂NH-, 1C)].
- ▶ RMN 31P (CDCl₃): 10,24 (desacoplado)

► m/e (%): 56 (10); 124 (60); 180 (32); 217 (30); 236 (100); 267 (8); 291 (8); 329 (4); 347 (18); 385 (2); 403 (35); 429 (2); 459 (50).

4.3.14. Síntese da N,N'-bis(diisopropilfosforil)1,3-propilenodiamina (16)

Ao balão foram adicionados 0,6 mL ($0,6 \text{ g} - 7,4 \times 10^{-3} \text{ mol}$) de 1,3-propilenodiamina e uma solução contendo 0,6 g ($1,5 \times 10^{-2} \text{ mols}$) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 2,4 mL ($2,5 \text{ g} - 1,5 \times 10^{-2} \text{ mol}$) de fosfito de diisopropila e 1,7 mL de CCl_4 . Ao término da reação foram isolados 2,6 g de um óleo que purificado através de uma coluna de sílica-gel como eluente hexano, forneceu 2,0 g do óleo incolor, correspondendo a um rendimento de 70%.

Caracterização:

► Aspecto: óleo incolor

► IV (Pastilha de NaCl): 3238 (νNH); 2966, 2886 ($\nu \text{CH}_2, \text{CH}_3$); 1652 (τNH); 1460 ($\nu\text{C-O}$); 1391 ($\delta_{\text{as}}\text{CH}_3$); 1233 ($\nu\text{P=O}$); 1122 ($\nu\text{C-N}$); 1064 ($\nu\text{P-O}$); 1000 ($\nu\text{P-N}$).

► RMN ^1H (CDCl_3): 3,2 [s(N-H, 2H)]; 4,5 [h/d($(\text{CH}_3)_2\text{CHO-}$, $J_{\text{HH}} = 6,2 \text{ Hz}$, $J_{\text{PH}} = 6,2 \text{ Hz}$, 4H)]; 1,3 [d($(\text{CH}_3)_2\text{CHO-}$, $J_{\text{HH}} = 6,2 \text{ Hz}$, 24H)]; 3,0 [m($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH-}$, 4H)]; 1,6 [m($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH-}$, 2H)].

► RMN ^{13}C (CDCl_3): 70,5 [d($(\text{CH}_3)_2\text{CHO-}$, $J_{\text{PC}} = 6,1 \text{ Hz}$, 4C)]; 23,7 [d($(\text{CH}_3)_2\text{CHO-}$, $J_{\text{PC}} = 6,1 \text{ Hz}$, 8C)]; 38,0 [d($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH-}$, 2C)]; 32,6 [d($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH-}$, 1C)].

► m/e (%): 56 (10); 75 (3); 124 (98); 180 (45); 217 (35); 236 (55); 268 (5); 291 (8); 332 (2); 348 (45); 388 (5); 404 (100).

4.3.15. Síntese da N,N'-bis(diisobutilfosforil)1,3-propilenodiamina (17)

Ao balão foram adicionados 0,9 mL ($0,8 \text{ g} - 1,1 \times 10^{-2} \text{ mol}$) de 1,3-propilenodiamina e uma solução contendo 0,9 g ($2,2 \times 10^{-2} \text{ mol}$) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 4,6 mL ($4,2 \text{ g} - 2,2 \times 10^{-2} \text{ mol}$) de fosfato de diisobutila e 2,5 mL (20% de excesso) de CCl_4 . Ao término da reação foram isolados 4,7 g de um óleo, correspondendo um rendimento de 87%.

Caracterização:

► Aspecto: óleo incolor

► IV (Pastilha de NaCl): 3237 (νNH); 2960, 2880 (ν CH₂,CH₃); 1467 (νC-O); 1396 (δasCH₃); 1235 (νP=O); 1124 (νC-N); 1019(νP-O); 960 (νP-N).

► RMN 1H (DMSO): 4,8 [s(N-H, 2H)]; 3,6 [d/d((CH₃)₂CHCH₂O-, J_{HH} = 6,2 Hz, J_{PH} = 6,2Hz, 8H)]; 1,8 [m((CH₃)₂CHCH₂O-, J_{HH} = 6,6 Hz, 4H)]; 0,9 [d((CH₃)₂CHCH₂O-, J_{HH} = 6,6 Hz, 24H)]; 2,8 [d(-CH₂CH₂NH-, 4H)]; 1,5 [d(-CH₂CH₂NH-, 2H)].

► RMN 13C (CDCl₃): 72,0 [d((CH₃)₂CHCH₂O, J_{PC} = 4,6 Hz, 4C)]; 28,9 [t/d((CH₃)₂CHCH₂O-, J_{PC} = 7,6 Hz, 8C)]; 18,6 [d((CH₃)₂CHCH₂O-, J_{PC} = 6,8 Hz, 4C)]; 37,8 [d(-CH₂CH₂NH-, 2C)]; 32,8 [d(-CH₂CH₂NH-, 1C)].

► m/e (%): 56 (5);124 (95); 180 (45); 236 (50); 267 (5); 291 (25); 347 (45); 403 (95); 459 (100).

4.3.16. Síntese da N,N'-bis(diethylfosforil)1,4-butilenodiamina (18)

Ao balão foram adicionados 0,4 mL (0,3 g – 3,9 x 10⁻³ mol) de 1,4-butilenodiamina e uma solução contendo 0,3g (7,8 x 10⁻³ mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 1,0 mL (1,0g – 7,8 x 10⁻³ mol) de fosfito de dietila e 0,9 mL de CCl₄. Ao término da reação foram isolados 0,4 g de um óleo amarelo, correspondendo a um rendimento de 28%.

Caracterização:

► Aspecto: óleo amarelo

► IV (Pastilha de NaCl): 3260 (νNH); 2982, 2920 (ν CH₂,CH₃); 1442 (νC-O); 1394 (δasCH₃); 1228 (νP=O); 1166 (νC-N); 1033 (νP-O); 967 (νP-N).

► RMN 1H (CDCl₃): 3,2 [s(N-H, 2H)] 4,0 [d/q(CH₃CH₂O-, J_{HH} = 7,3 Hz, J_{PH} = 7,0Hz, 8H)]; 1,2 [t(CH₃CH₂O-, J_{HH} = 7,3 Hz, J_{PH} = 7,3 Hz, 12H)]; 2,8 [m(-CH₂CH₂NH-, 4H)]; 1,4 [m (-CH₂CH₂NH-, 4H)] .

► RMN 13C (CDCl₃): 61,6 [d(CH₃CH₂O-, J_{PC} = 6,1Hz, 4C)]; 15,6 [d(CH₃CH₂O-, J_{PC} = 6,1Hz, 4C)]; 40,4 [d(-CH₂NH-, 2C)]; 28,1 [d (-CH₂CH₂NH-, 2C)] .

► m/e (%): 44 (65); 81 (20); 98 (25); 110 (100); 126 (40); 138 (75); 150 (70); 166 (60); 180 (100); 206 (90); 259 (20); 287 (20); 361 (80).

4.3.17. Síntese da N,N'-bis(dipropilfosforil)1,4-butilenodiamina (19)

Ao balão foram adicionados 0,4 mL (0,4 g – $4,7 \times 10^{-3}$ mol) de 1,4-butilenodiamina e uma solução contendo 0,4 g ($9,5 \times 10^{-3}$ mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 1,6 mL (1,6 g – $9,5 \times 10^{-3}$ mol) de fosfito de dipropila e 1,1 mL de CCl₄. Ao término da reação foram isolados 0,5 g de um óleo amarelo, correspondendo a um rendimento de 25,5%.

Caracterização:

► Aspecto: óleo amarelo

► IV (Pastilha de NaCl): 3447 (νNH); 2982, 2954 (ν CH₂,CH₃); 1442 (νC-O); 1394 (δasCH₃); 1245 (νP=O); 1115 (νC-N); 1061 (νP-O); 982 (νP-N).

► RMN 1H (CDCl₃): 3,3 [s(N-H, 2H)] 3,9 [d/t (CH₂CH₂O-, J_{HH} = 6,6 Hz, J_{PH} = 6,9 Hz, 8H)]; 1,7 [m(CH₂CH₂O-, J_{HH} = 6,6 Hz, J_{PH} = 6,6 Hz, 12H)]; 0,9 [m(CH₃CH₂CH₂O-, J_{HH} = 6,6 Hz, 12H)]; 2,9 [m(-CH₂CH₂NH-, 4H)]; 1,5 [m (-CH₂CH₂NH-, 4H)] .

► RMN 13C (CDCl₃): 67,0 [d(CH₂CH₂O-, J_{PC} = 4,6Hz, 4C)]; 23,1 [d(CH₂CH₂O-, J_{PC} = 6,1Hz, 4C)]; 9,6 [d(CH₃CH₂CH₂O-, 4C)]; 40,4 [d(-CH₂CH₂NH-, 2C)]; 28,1 [d (-CH₂CH₂NH-, 2C)] .

► m/e (%): 44 (30); 110 (100); 126 (75); 150 (45); 168 (40); 182 (10); 235 (30); 294 (30); 416 (60).

4.3.18. Síntese da N,N'-bis(dibutilfosforil)1,4-butilenodiamina (20)

Ao balão foram adicionados 0,9 mL (0,8 g – $8,5 \times 10^{-3}$ mol) de 1,4-butilenodiamina e uma solução contendo 0,7 g ($1,7 \times 10^{-2}$ mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 3,3 mL (3,3 g – $1,7 \times 10^{-2}$ mol) de fosfito de dibutila e 2,0 mL de CCl₄. Ao término da reação foram isolados 3,2 g de um óleo incolor, correspondendo a um rendimento de 57%.

Caracterização:

- ▶ Aspecto: óleo incolor
- ▶ IV (Célula de NaCl): 3242 (ν NH); 2959, 2874 (ν CH₂,CH₃); 1461 (ν C-O); 1386 (δ asCH₃); 1232 (ν P=O); 1068 (ν C-N); 1028 (ν P-O); 984 (ν P-N).
- ▶ RMN 1H (CDCl₃): 3,2 [s(N-H, 2H)]; 3,9 [d/t(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{HH} = 6,7 Hz, J_{PH} = 6,7 Hz, 8H)]; 1,5 [m(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{HH} = 6,4 Hz, 8H)]; 1,3 [m(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{HH} = 7,6 Hz, 8H)]; 0,9 [t(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{HH} = 7,5 Hz, 12H)]; 2,8 [m(-CH₂CH₂NH-, 4H)]; 1,4 [m(-CH₂CH₂NH-, 4H)].
- ▶ RMN 13C (CDCl₃): 65,3 [d(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{PC} = 4,6 Hz, 4C)]; 28,2 [d(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, J_{PC} = 6,1 Hz, 4C)]; 18,4 [d(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, 4C)]; 13,2 [s(CH₃CH₂CH₂CH₂O-, 12C)]; 40,5 [m(-CH₂CH₂NH-, 2C)]; 32,0 [m(-CH₂CH₂NH-, 2C)].
- ▶ m/e (%): 56 (10); 124 (60); 180 (32); 217 (30); 236 (100); 267 (8); 291 (8); 329 (4); 347 (18); 385 (2); 403 (35); 429 (2); 459 (50).

4.3.19. Síntese da N,N'-bis(diisopropilfosforil)1,4-butilenodiamina (21)

Ao balão foram adicionados 1,0 mL (0,9 g – $9,6 \times 10^{-3}$ mol) de 1,4-butilenodiamina e uma solução contendo 0,8 g ($1,9 \times 10^{-2}$ mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 2 g ($1,9 \times 10^{-2}$ mol) de fosfito de diisopropila e 2,2 mL de CCl₄. Ao término da reação foram isolados 3,6 g de um sólido branco, correspondendo a um rendimento de 90%.

Caracterização:

- ▶ Aspecto: sólido branco
- ▶ PF: 55 - 57°C
- ▶ IV (Pastilha de KBr): 3227 (ν NH); 2979, 2932 (ν CH₂,CH₃); 1637 (τ NH); 1453 (ν C-O); 1386 (δ asCH₃); 1234 (ν P=O); 1126 (ν C-N); 1107 (ν P-O); 1007 (ν P-N).
- ▶ RMN 1H (CDCl₃): 2,5 [s(N-H, 2H)]; 4,6 [d/h((CH₃)₂CHO-, J_{HH} = 6,2 Hz, J_{PH} = 6,2 Hz, 4H)]; 1,3 [d((CH₃)₂CHO-, J_{HH} = 6,2 Hz, 24H)]; 2,9 [d(-CH₂CH₂NH-, 4H)]; 1,5 [d(-CH₂CH₂NH-, 4H)].

► RMN ¹³C (CDCl₃): 70,2 [d((CH₃)₂CHO-, J_{PC} = 6,1 Hz, 4C)]; 23,6 [d((CH₃)₂CHO-, J_{PC} = 4,5 Hz, 8C)]; 40,8 [m(-CH₂NH-, 2C)]; 28,4 [m(-CH₂CH₂NH-, 2C)].

► RMN ³¹P (CDCl₃): 7,92 (desacoplado)

► m/e (%): 44 (5); 70 (8); 110 (58); 150 (78); 192 (25); 208 (20); 231 (43); 273 (5); 290 (8); 332 (10); 374 (10); 417 (100).

4.3.20. Síntese das N,N'-bis(diisobutilfosforil)1,4-butilenodiamina (22)

Ao balão foram adicionados 1,1mL (0,9 g – 1,1 x 10⁻² mol) de 1,4-butilenodiamina e uma solução contendo 0,9 g (2,1 x 10⁻² mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 4,1 g (2,1 x 10⁻² mol) de fosfito de diisobutila e 2,5 mL de CCl₄. Ao término da reação foram isolados 2,9 g de um óleo amarelo, correspondendo a um rendimento de 58%.

Caracterização:

► Aspecto: óleo amarelo

► IV (Pastilha de NaCl): 3428 (νNH); 2960, 2873 (ν CH₂,CH₃); 1453 (νC-O); 1385 (δasCH₃); 1249 (νP=O); 1118 (νC-N); 1028 (νP-O); 979 (νP-N).

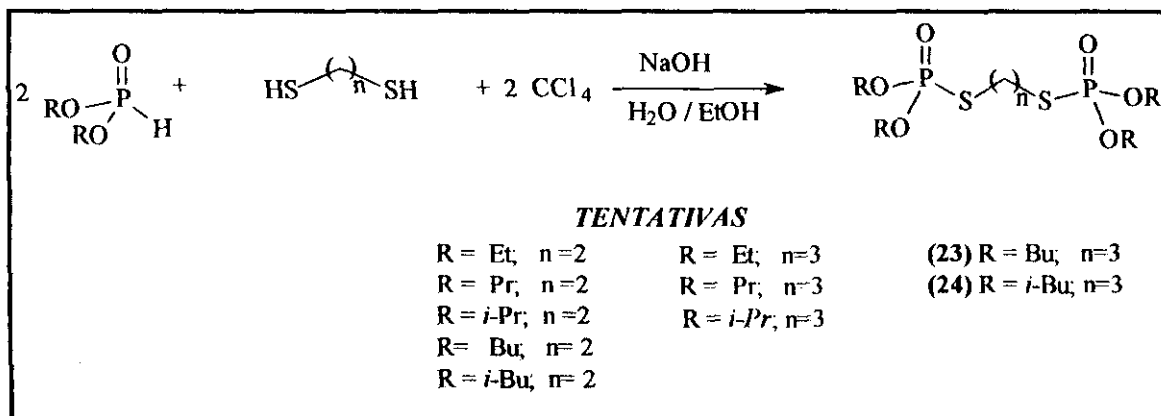
► RMN ¹H (DMSO): 4,8 [s(N-H, 2H)]; 3,6 [d/d((CH₃)₂CHCH₂O-, J_{HH} = 6,0 Hz, J_{PH} = 6,4Hz, 8H)]; 1,8 [m((CH₃)₂CHCH₂O-, J_{HH} = 6,5 Hz, 4H)]; 0,9 [d((CH₃)₂CHCH₂O-, J_{HH} = 6,5 Hz, 24H)]; 2,7 [d (-CH₂CH₂NH-, 4H)]; 1,4 [m(-CH₂CH₂NH-, 4H)].

► RMN ¹³C (CDCl₃): 71,2 [d((CH₃)₂CHCH₂O, J_{PC} = 4,6 Hz, 4C)]; 28,9 [d((CH₃)₂CHCH₂O-, J_{PC} = 6,1 Hz, 4C)]; 19,2 [d((CH₃)₂CHCH₂O-, 8C)]; 41,1 [d(-CH₂CH₂NH-, 2C)]; 29,2 [d(-CH₂CH₂NH-, 2C)].

► m/e (%): 56 (10); 110 (50); 126 (65); 150 (48); 180 (13); 206 (23); 231 (40); 249 (45); 279 (8); 305 (45); 345 (5); 361 (70); 389 (5); 417 (100); 457 (10); 473 (20).

4.4. Síntese das *S,S'*-Bis(dialquilfosforil)ditiol

As sínteses foram realizadas de acordo com o Esquema 22.



Esquema 22: Síntese das *S,S'* bis(dialquilfosforil)ditióis.

► Procedimento geral

Em um balão de 200 mL, equipado com um funil de adição, foram adicionadas quantidades estequiométricas de 1,2 etanoditiol ou 1,3-propanoditiol e hidróxido de sódio (NaOH) dissolvido em igual volume de água destilada e álcool etílico destilado. No funil de adição coloca-se o respectivo fosfito de dialquila e o tetracloreto de carbono em excesso de 20% para garantir a completa cloração do fosfito de dialquila. Com o balão imerso em banho de gelo e sob agitação magnética, o conteúdo do funil foi adicionado gota a gota. Ao final da adição, deixou-se a mistura reacional sob agitação magnética a temperatura ambiente por 12 horas. Ao término da reação foram adicionados iguais volumes de CH_2Cl_2 e água. O conteúdo do balão foi transferido para um funil de separação e a fase orgânica separada da fase aquosa. Este procedimento de extração com CH_2Cl_2 foi repetido por mais três vezes. Finalmente, foi adicionado sulfato de magnésio (MgSO_4) anidro, foi adicionado e a fase orgânica filtrada e o solvente foi removido sob pressão reduzida.

4.4.1. Síntese da *S,S'*-bis(dibutilfosforil)-1,3-propanoditiol (23)

Ao balão foram adicionados 0,6 mL ($0,6 \text{ g} - 6,3 \times 10^{-3} \text{ mol}$) de 1,3-propanoditiol e uma solução contendo 0,5g ($1,3 \times 10^{-2} \text{ mol}$) de NaOH em 5.0 mL de álcool etílico e 5.0 mL

de água. No funil de adição, utilizou-se 2,5 mL de fosfito de dibutila ($2,4 \text{ g} - 1,2 \times 10^{-2} \text{ mol}$) e 1,5 mL de CCl_4 . Ao término da reação foram isolados 1,8 g de um sólido branco pastoso, correspondendo a um rendimento de 80%.

Caracterização:

- ▶ Aspecto: sólido branco pastoso
- ▶ IV (Célula de NaCl): ; 2961, 2874 ($\nu \text{ CH}_2, \text{CH}_3$); 1464 ($\nu \text{C-O}$); 1392 ($\nu \text{C-S}$); 1266 ($\nu \text{P=O}$); 1031 ($\nu \text{P-O}$); 813 ($\nu \text{P-S}$).
- ▶ RMN ^1H (CDCl_3): 4,0 [d/($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O-}$, $J_{\text{HH}} = 6,5 \text{ Hz}$, $J_{\text{PH}} = 6,5 \text{ Hz}$, 8H)]; 1,5 [m($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O-}$, $J_{\text{HH}} = 6,2$, 8H)]; 1,3 [m($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O-}$, $J_{\text{HH}} = 6,2 \text{ Hz}$, 8H)]; 0,9 [t($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O-}$, $J_{\text{HH}} = 6,2 \text{ Hz}$, 12H)]; 4,1 [m($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S-}$, 4H)]; 1,3 [m ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S-}$, 2H)].
- ▶ RMN ^{13}C (CDCl_3): 66,6 [d($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S-}$, $J_{\text{PC}} = 6,1$, 4C)]; 17,9 [d($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S-}$, $J_{\text{PC}} = 6,1 \text{ Hz}$, 4C)]; 15,4 [d($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S-}$, 4C)]; 12,8 [s($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S-}$, 12C)] 62,9 [d ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S-}$, 2C)]; 31,5 [m($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S-}$, 1C)].
- ▶ m/e (%): 55 (1); 81 (1); 99 (20); 127 (20); 183 (5); 239 (100).

4.4.2. Síntese da S,S'-bis(diisobutilfosforil)-1,3-propanoditiol (24)

Ao balão foram adicionados 0,8 mL ($0,9 \text{ g} - 8,5 \times 10^{-3} \text{ mol}$) de 1,3-propanoditiol e uma solução contendo 0,7 ($1,8 \times 10^{-2} \text{ mol}$) g de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 3,2 g ($1,6 \times 10^{-2} \text{ mol}$) de fosfito de diisobutila e 1,8 mL de CCl_4 . Ao término da reação foram isolados 3,6 g de sólido branco pastoso, correspondendo a um rendimento de 90% .

Caracterização:

- ▶ Aspecto: sólido branco pastoso
- ▶ IV (Pastilha de NaCl): 2962, 2880 ($\nu \text{ CH}_2, \text{CH}_3$); 1470 ($\nu \text{C-O}$); 1396 ($\nu \text{C-S}$); 1242 ($\nu \text{P=O}$); 1031($\nu \text{P-O}$); 874 ($\nu \text{P-S}$).

- ▶ RMN ¹H (DMSO): 3,7 [d/d((CH₃)₂CHCH₂S-, J_{HH} = 6,3 Hz, J_{PH} = 6,3, 8H)]; 1,9 [m((CH₃)₂CHCH₂S-, J_{HH} = 6,3, 4H)]; 0,9 [d((CH₃)₂CHCH₂S-, 24H)]; 3,8 [t(-CH₂CH₂S-, 4H)]; 1,4 [m(-CH₂CH₂S-, 2H)].
- ▶ RMN ¹³C (CDCl₃): 72,5 [d((CH₃)₂CHCH₂S, J_{PC} = 6,1 Hz, 4C)]; 28,7 [t/d((CH₃)₂CHCH₂S-, J_{HH} = 6,1 Hz, J_{PC} = ? Hz, 8H)]; 18,5 [d((CH₃)₂CHCH₂S, 4C)]; 73,6 [d(-CH₂CH₂S-, 2C)]; 28,9 [d(-CH₂CH₂S-, 1C)].
- ▶ m/e (%): 57 (10); 82 (10); 99 (60); 127 (100); 183 (15); 239 (30).

4.4.3. Tentativa de síntese de S,S'-bis(dietilfosforil)-1,3-propanoditiol

Ao balão foram adicionados 0,4 mL (0,5 g – 4,2 x 10⁻³ mol) de 1,3-propanoditiol e uma solução contendo 0,31g (0,9 g – 7,8 x 10⁻³ mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição foram utilizados 1,0 mL (1,1g – 7,8 x 10⁻³ mol) de fosfito de dietila e 1,5 mL de CCl₄. Ao término da reação, foram isolados 0,1 g de uma mistura de 1,3-propanoditiol e do fosfito de dietila, confirmado por RMN-¹H e cromatografia de camada fina.

4.4.4. Tentativa de síntese de S,S'-bis(dipropilfosforil)-1,3-propanoditiol

Ao balão foram adicionados 0,9 mL (1,0 g – 9,2 x 10⁻³ mol) de 1,3-propanoditiol e uma solução contendo 0,73 g (1,8 x 10⁻² mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, foram utilizados 3,0 mL (3,0 g – 1,8 x 10⁻² mol) de fosfito de dipropila e 2,0 mL de CCl₄. Ao término da reação foram isolados 0,1 g de uma mistura de 1,3-propanoditiol, do fosfito de dipropila e álcool propílico verificado por cromatografia em camada fina.

4.4.5. Tentativa de síntese dos compostos S,S'-bis(diisopropilfosforil)-1,3-propanoditiol

Ao balão foram adicionados 0,6 mL (0,7g – 6,5 x 10⁻³ mol) de 1,3-propanoditiol e uma solução contendo 0,5g (1,3 x 10⁻² mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 2,0 g (1,2 x 10⁻² mol) de fosfito de diisopropila e 1,3 mL de CCl₄. Ao término da reação foram isolados 0,3 g de um sólido branco insolúvel em água e nos solventes orgânicos com ponto de fusão igual a 55°C, correspondendo a um rendimento de 30%.

4.4.6. Tentativa de síntese de S,S'-bis(diethylfosforil)-1,2-etanoditiol

Ao balão foram adicionados 0,7 mL (0,8 g – $8,2 \times 10^{-3}$ mol) de 1,2-etanoditiol e uma solução contendo 0,7 g ($1,6 \times 10^{-2}$ mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 2,1 mL (2,3 g ($0,9 \text{ g} - 1,1 \times 10^{-2}$ mol)) de fosfito de dietila e 1,6 mL de CCl₄. Ao término da reação foram isolados 0,1g de uma mistura contendo 1,2-etanoditiol e fosfito de dietila verificado por cromatografia em camada fina.

4.4.7. Tentativa de síntese de S,S'-bis(dipropilfosforil)-1,2-etanoditiol

Ao balão foram adicionados 0,4 mL (0,5 g – $4,8 \times 10^{-3}$ mol) de 1,2- etanoditiol e uma solução contendo 0,38 g ($9,5 \times 10^{-3}$ mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 1,5 mL (1,6g – $1,7 \times 10^{-2}$ mol)) de fosfito de dipropila e 1,2 mL de CCl₄. Ao término da reação foram isolados 0,1 g de um óleo amarelo contendo a presença do reagente 1,3-propanoditiol, do fosfito de dipropila e álcool propílico confirmado por RMN-¹H e cromatografia em camada fina.

4.4.8 Tentativa da síntese de S,S'-bis(dibutilfosforil)-1,2-etanoditiol

Ao balão foram adicionados 0,5 mL (0,6 g – $6,3 \times 10^{-3}$ mol) de 1,2-etanoditiol e uma solução contendo 0,5 g ($1,3 \times 10^{-2}$ mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 2,5 mL (2,4 g – $1,2 \times 10^{-2}$ mol) de fosfito de dibutila e 1,5 mL de CCl₄. Ao término da reação foram isolados 0,5 g de um óleo amarelo contendo a presença do reagente 1,2-etanoditiol e do fosfito de dibutila verificado por cromatografia em camada fina.

4.4.9 Tentativa de síntese de S,S'-bis(diisopropilfosforil)-1,2-etanoditiol

Ao balão foram adicionados 0,6 mL (0,7 g – $7,3 \times 10^{-3}$ mol) de 1,2-etanoditiol e uma solução contendo 0,6 g ($1,5 \times 10^{-2}$ mol) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 2,3 g ($1,4 \times 10^{-2}$ mol) de fosfito de diisopropila e 1,5 mL de CCl₄. Ao término da reação, foram isolados 0,15 g de um óleo amarelo contendo o

reagente 1,2-etanoditiol e o fosfito de diisopropila verificado por cromatografia em camada fina.

4.4.10 Tentativa da síntese de S,S'-bis(diisobutilfosforil)-1,3-etanoditiol

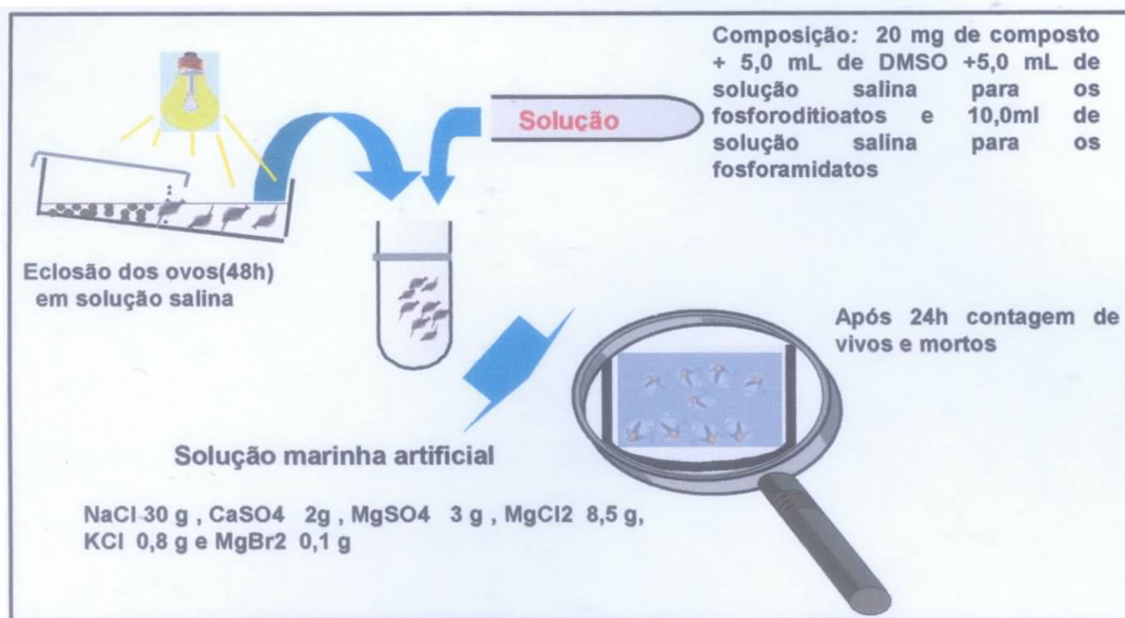
Ao balão foram adicionados 0,7 mL ($0,7 \text{ g} - 7,7 \times 10^{-3} \text{ mol}$) de 1,2-etanoditiol e uma solução contendo 0,6 g ($1,6 \times 10^{-2} \text{ mol}$) de NaOH em 5,0 mL de álcool etílico e 5,0 mL de água. No funil de adição, utilizou-se 3,0g ($1,5 \times 10^{-2} \text{ mol}$) de fosfito de diisobutila e 1.8 mL (2,5g) de CCl_4 . Ao término da reação foram isolados 0,8 g de um óleo amarelo contendo reagente 1,2-etanoditiol e o fosfito de diisobutila verificado por cromatografia em camada fina.

4.5. Ensaio de letalidade sobre larvas de *Artemia Salina* Leach

Procedimento geral:

As ovas de *Artemia salina* foram deixadas por 48 horas para eclodirem em água do mar artificial, que se constitui de uma solução salina (48,0 g de NaCl, 3,0 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,2 g de KBr, 1,4 g de KCl, 8,0 g de Na_2SO_4 , 0,4 g de NaHCO_3 e 22,0 g de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). As larvas foram coletadas com uma pipeta Pasteur e, assim, em torno de 10 larvas foram colocadas em cada tubo de teste contendo 5 mL de solução salina. As soluções estoques foram preparadas a partir de 20 mg para as N,N'-bis(dialquilfosforil)diaminas e 10 mg para os S,S'-bis(dialquilfosforil)ditióis e foram dissolvidas em 2 mL de DMSO e o volume foi completado para 10 mL com água destilada. Cada ensaio foi realizado em quadruplicata pela adição de volumes de 50, 100, 200, 300 e 500 μL da solução estoque das N,N'-bis(dialquilfosforil)diaminas e S,S'-bis(dialquilfosforil)1,3-propanoditiol, para os tubos testes.

Os ensaios em branco foram realizados, somente com solução salina e 10 larvas para os bisfosforoamidatos e solução salina com DMSO e 10 larvas para os bisfosforoditiatoos. Os tubos foram deixados sob luz e a contagem de organismos vivos e mortos foi realizada após 24h. O **Esquema 23** mostra como é realizado o teste.



Utilizando o programa Origin 6.0, os valores das DL_{50} dos diferentes bisfosforoamidatos e bisfosforoditioatos foram determinadas com o auxílio do gráfico de percentual de animais vivos contra o log da dose.

A DL_{50} dos compostos com os grupos butil, isopropil e isobutil encontram-se na faixa de concentração de 11-160 ppm, enquanto que os demais mostraram valores de DL_{50} são maiores do que 360 ppm. Um novo ensaio com os compostos mais ativos foi realizado com volumes da solução estoque (10, 20, 50, 100, e 200 μ L), para calcular os valores de DL_{50} mais precisamente. Compostos com valores de DL_{50} igual ou acima de 360 ppm foram considerados não tóxicos para *Artemia salina*.

4.6. Ensaio de letalidade sobre *Musca domestica* e *Stomoxys calcitrans*

4.6.1. Criação de *Musca domestica*

Os espécimens de *Musca domestica* foram criados no laboratório de entomologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRuralRJ). Para o estabelecimento da colônia de moscas, os adultos foram capturados no *Campus* da Universidade, com o auxílio de rede entomológica. Estes dípteros foram acondicionados em gaiolas de madeiras (30x30x30cm) revestidas por tela de náilon e seu interior forrado com

papel toalha. A alimentação foi realizada diariamente, com leite em pó e açúcar na proporção de 1:1 colocado numa placa de Petri (5 cm de diâmetro) e algodão embebido em água, que foram colocados no interior da gaiola. Utilizou-se como substrato de oviposição e desenvolvimento larval, uma mistura de farinha de carne e farelo de trigo umedecidas com água na proporção de 1:1, colocada em uma placa de Petri e introduzido no interior da gaiola. Os ovos contidos neste meio foram introduzidos em recipientes de vidro (12 cm de altura x 7 cm de diâmetro) contendo o mesmo substrato utilizado para oviposição, que serviu de dieta básica na proporção de 2g de substrato por larva, para o desenvolvimento larval. Após o desenvolvimento larval, as pupas foram retiradas com auxílio de uma pinça entomológica e introduzidas em gaiolas de madeira telada, como citadas anteriormente, para aguardar-se a emergência dos adultos.

4.6.2. Criação de *Stomoxys calcitrans*

As moscas foram criadas no laboratório de entomologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Para o estabelecimento da colônia de *S. calcitrans* em laboratórios, os adultos foram capturados na estação para pesquisas Parasitológicas, no *Campus* da UFRuralRJ com o auxílio de rede entomológica, utilizando-se bovinos e eqüinos como iscas. Os dípteros foram acondicionados em gaiolas de madeira (30x30x30cm) revestidas por tela de náilon e levados ao laboratório. A alimentação dos adultos foi realizada diariamente, através de gaze embebida com sangue bovino citrado levemente aquecido, colocado na parte superior da gaiola e coberta com placa de Petri. A oviposição foi realizada nas gases, que eram utilizadas na alimentação. Os ovos eram retirados das gazes através do método de decantação e colocados posteriormente em recipiente de vidro (12 cm de altura x 7 cm de diâmetro) contendo dieta básica para o desenvolvimento larval, que consistia de bagaço de cana-de-açúcar moída (330 g), farelo de trigo (125 g), farinha de carne (40 g), bicarbonato de sódio (5 g) e água destilada (125 mL), dieta larval proposta por CHRISTMAS (1970) na proporção de 2g de dieta para cada larva. Após o desenvolvimento larval, as pupas foram retiradas com auxílio de uma pinça entomológica, colocadas em uma placa de Petri e introduzidas em gaiolas de madeira teladas, para aguardou-se a emergência dos adultos.

4.6.3. Aplicação tópica dos compostos

A “solução mãe” foi preparada numa faixa de 130 a 160 mg dos bisfosforamidatos com os grupos butil, isopropil e isobutil, 170 a 200 mg para os demais bisfosforamidatos e 30 mg para os bisfosforoditoatos, para o teste com *Musca domestica*, e 54 a 65mg dos bisfosforamidatos com os grupos butil, isopropil e isobutil, 160 a 200 mg para os demais bisfosforamidatos e 2 a 8 mg para os bisfosforoditoatos com *Stomoxys calcitrans*. Os respectivos compostos foram dissolvidos em 5,0 mL de uma solução de 70% de etanol e 30% de água. Uma vez preparada a “solução mãe”, foram feitas as devidas diluições, obtendo-se 7 concentrações distintas para cada composto. As moscas foram tratadas com 1µL das soluções preparadas, utilizando-se quatro repetições por dose com 20 moscas por repetições. Foram utilizados machos e fêmeas, com 3 a 6 dias de idade para *Musca domestica* pertencentes à terceira geração (F3) e 3 a 10 dias para as *Stomoxys calcitrans* da quarta e quinta gerações (F4 e F5). As moscas utilizadas nos testes foram retiradas das gaiolas de criação, **Figura 22**, através de um aspirador de pó do tipo industrial da marca New Japan, no qual foi colocado na mangueira de sucção um tecido tule, onde as moscas ficavam retidas até serem colocadas nos copos do sistema de imobilização por CO₂, **Figura 23**, onde foi realizada a aplicação e contagem. A imobilização das moscas era conseguida usando-se o CO₂ pelo tempo máximo de 50 minutos. A manipulação dos insetos e a aplicação tópica de 1µL das diluições sobre o dorso do tórax foram realizadas utilizando-se uma pinça fina e microseringa do tipo Hamilton, **Figura 24**. A seguir, as moscas foram colocadas em frascos de vidro de boca larga (6,5 x 5,0 cm) e alimentadas com solução de mel e água para (*Musca domestica*) e sangue citrado (*Stomoxys calcitrans*) **Figura 25**.

Em todos os testes foram usados como controle, grupos de moscas em que foram aplicados somente o diluente.

A observação da mortalidade dos insetos foi feita 24 horas após a aplicação do produto.

As doses letais (DL₅₀) foram calculadas pelo método de regressão-probita, utilizando-se o programa computacional Pólo-PC.



Figura 22: Coleta com auxílio de um aspirador

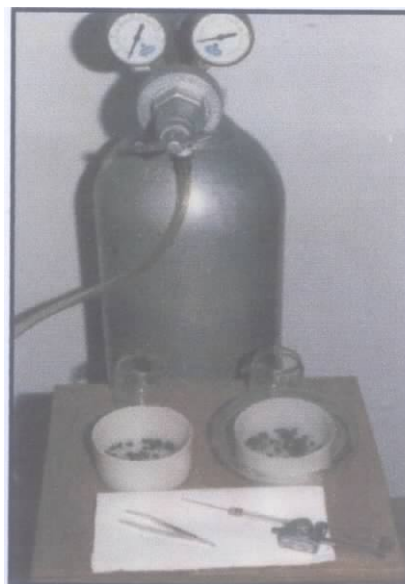


Figura 23: Sistema de anestesia

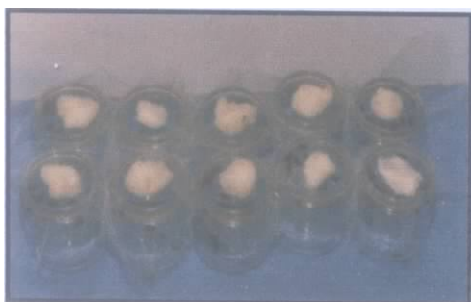


Figura 24: Moscas tratadas são alimentadas



Figura 25: Aplicação das substâncias

4.7. Ensaio de germinação e desenvolvimento de sementes de alface

O experimento foi conduzido no Laboratório de Química da Rizosfera do Departamento de Fitotecnia-UFRuralRJ, em sala climatizada a temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e com 8 horas diárias, de luz artificial (lâmpadas fluorescente), **Figura 26**, sendo testados 30mg de cada composto dissolvido em água.

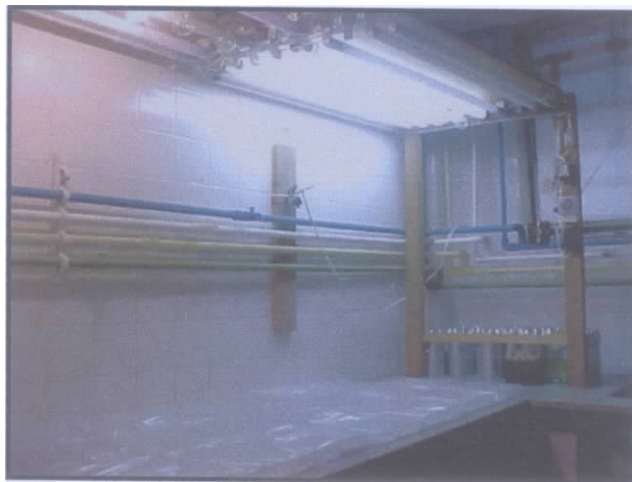


Figura 26: Local de experimento para o estudo de germinação em sementes de alface

O experimento foi realizado com cinco concentrações (0, 100, 200, 400 e 800 ppm) e quatro repetições com 25 sementes. Foram adicionados 6 mL das soluções sobre papel de filtro, no interior da caixa de plástico, tipo gerbox, onde posteriormente, foram distribuídas as 25 sementes de alface do cultivar Regina 7.1, **Figura 27**. As caixas foram mantidas em sacos plásticos fechados, com o objetivo de evitar a perda de água para o meio e deixadas em presença de luz diária, como citado anteriormente.



Figura 27: Germinação de plântulas de alface em caixas Gerbox

A avaliação foi realizada após setes dias, computando-se a porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 1992), assim como o comprimento da raiz primária e da parte aérea. Foram consideradas como normais, as plântulas que apresentaram todas as estruturas essenciais bem desenvolvidas e proporcionais, apresentando comprimento de raiz primária acima de 3,0 cm e, da parte aérea, acima de 1,5 cm.

4.8. Ensaio de letalidade sobre camundongos (*Mus musculus*)

Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) SW-55 adultos, machos e fêmeas pesando entre 20 e 30 gramas. Os animais que receberam tratamento por via oral estiveram em jejum de no mínimo 8 horas antes dos experimentos, que foram realizados nos horários de 8:00 às 12:00 horas e, após o término, foram sacrificados por anestesia inalatória com éter etílico. Todos os experimentos foram realizados seguindo normas éticas para uso em testes envolvendo dor (ZIMMERMANN, 1983; 1986; PORTER, 1992). As drogas e reagentes utilizados foram: salina fisiológica (NaCl 0,9%), DMSO 2% (veículo da droga), N,N'-bis-(diisobutil fosforil)-1,3-propilenodiamina, S,S'-bis-(diisobutil fosforil)-1,3-propanoditiol.

A DL₅₀ aguda foi obtida através do "screening" da toxicidade aguda segundo YAMANAKA & COLS (1990). Este método utiliza apenas três camundongos de cada sexo para cada dosagem de substância. Os animais, em jejum de 12 horas, foram tratados com uma dose de 200 mg/Kg, logo após são observados atentamente para seus possíveis efeitos, como morbidade e mortalidade. Se nenhum dos animais morrerem nesta dosagem os testes são suspensos, podendo se considerar a substância em estudo com DL₅₀ acima de 200 mg/Kg. Foram usados camundongos com peso entre 25 e 35 gramas, em jejum de 12 horas e seringas de insulina com cânulas de gavagem para acessar a via oral sendo testados doses de 200 mg/Kg.

Os testes de atividade farmacológica geral foram realizados simultaneamente com os mesmos animais usados para estimar a DL₅₀. Esses testes consistem na observação de possíveis ações no sistema nervoso central (SNC), além de outros sistemas, através da avaliação de alguns parâmetros como os descritos abaixo. Foram feitas observações em diferentes tempos, aos 0, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos, às 4, 8, 24 e 48 horas, e 4 e 7 dias. Os parâmetros avaliados são descritos a seguir:

- a) Ação estimulante do SNC: aumento de motilidade, taquipnéia, piloereção, exoftalmia, movimentos estereolipados, lambe as patas, coçar focinho, morder a cauda, convulsão crônica, convulsão tóxica, tremores finos, tremores grosseiros, sialorréia, fasciculações, midríase, ereção da cauda e tremor da cauda.
- b) Ação depressora: diminuição da motilidade, bradicardia, catatonía, ptose pálpebra, analgesia, anestesia, perda de reflexo corneano, ataxia, dispnéia, alienação ao ambiente, exoftalmia, paralisia de trem posterior, sedação e miose.
- c) Ação no sistema circulatório (observação da orelha): palidez, cianose e hiperemia.
- d) Ação no sistema urinário (observação da micção): aumentada, diminuída e coloração.

e) Outras Ações: diarreia, contorção, reação de fuga, passividade, agressividade e ganidos.

4.9. Estudo de modelagem molecular do composto mais ativo N,N'-bis(dibutilfosforil)etilenodiamina

O modelo usado neste estudo (DmAChE) foi construído selecionando-se 16 resíduos de amino ácidos, além de 5 moléculas de água, do sítio ativo da única estrutura cristalina da AChE de um artrópode, *Drosophila melanogaster*, disponível na Protein Data Bank (PDB) (STEWART, 1989; 1992). Os átomos de H e todos os átomos das cadeias laterais foram mantidos livres durante as otimizações estruturais, enquanto que os átomos das ligações peptídicas foram fixados no espaço para evitar flutuações dos resíduos durante o processo de otimização. Supomos que apenas um dos grupos bisfosforamidatos de N,N'-bis(dibutilfosforil)etilenodiamina poderia reagir com a serina do sítio ativo, Ser238 (correspondente a Ser200 na AChE de *Torpedo californica*), enquanto que o outro permaneceria inalterado. Deste modo, os substituintes butila associados com este segundo grupo foram substituídos por metilas para simplificação do sistema calculado. Todos os cálculos foram feitos com o Hamiltoniano PM3 do programa Mopac 6.0 em computadores Pentium II 333MHz e Pentium III 1,1 GHz.

CAPÍTULO IV

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Considerações Gerais

Este capítulo está dividido em cinco tópicos; o primeiro tópico refere-se à síntese de novos bisfosforamidatos e bisfosforoditioatos e suas caracterizações através dos métodos espectroscópicos de infravermelho, massas e ressonância magnética de ^1H , ^{13}C e ^{31}P .

O segundo tópico descreve a análise da toxidez dos bisfosforamidatos e bisfosforoditioatos simétricos sobre larvas de *Artemia salina* Leach, bioensaio preliminar considerado essencial no estudo de compostos com potencial atividade biológica.

O terceiro tópico diz respeito aos estudos de atividade inseticida realizados com o objetivo de se verificar a possível ação inseticida destes compostos sobre *Musca domestica*, *Stomoxys calcitrans* e *Mus musculus*.

O quarto tópico consiste na análise do efeito tóxico destes compostos na germinação e no desenvolvimento de sementes de alface (*Lactuca sativa*).

Por último, o quinto tópico descreve o uso da modelagem molecular de modo a avaliar a possibilidade do composto mais ativo da classe bisfosforamidatos e da classe bisfosforoditioatos estarem atuando como inibidores da enzima AchE.

5.2. Síntese dos fosfitos de dialquila

Um dos principais reagentes para a síntese das N,N'-bis(alquilfosforil)diaminas e os S,S'-bis(dialquilfosforil)ditióis é o fosfito de dialquila.

A matéria prima principal para esta síntese é o tricloreto de fósforo (PCl₃), o qual reage com três mols do álcool correspondente, para formar o fosfito de trialquila com a liberação de dois mols de ácido clorídrico e um mol de cloreto de alquila, que é eliminado através de destilação a pressão reduzida ou em evaporador rotatório. Como o meio reacional é ácido ocorre a protonação do fosfito de trialquila, através dos pares de elétrons do oxigênio, formando-se um cátion trivalente que em seguida é atacado pelo íon cloreto no carbono do grupo alquila, formando 1 mol do fosfito de dialquila e 1 mol do cloreto de alquila correspondente. A formação dos fosfitos de dialquila envolve um sistema de reações do tipo SN₂ (TODD-ATHERTON *et al.*, 1945; 1948), como é mostrado no **Esquema 24**.

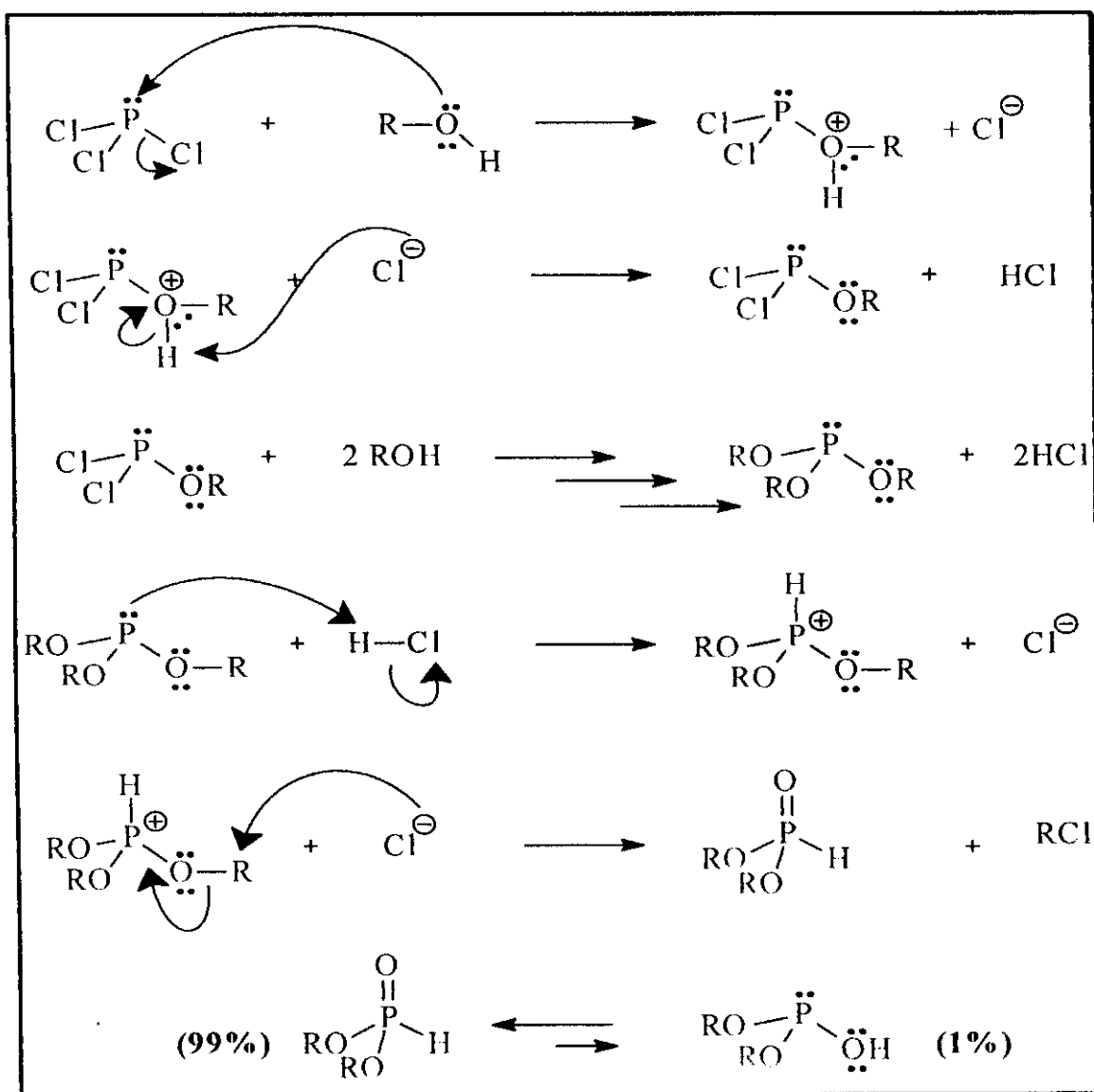
Os fosfitos de dialquila foram utilizados sem a necessidade de destilação, pois apresentaram grau de pureza satisfatório para seu uso subsequente. A destilação desses fosfitos só é necessária quando a cadeia alquímica lateral é maior que 3 átomos de carbono, pois o respectivo cloreto de alquila formado não é facilmente retirado por evaporação a pressão reduzida. Neste caso a destilação a pressão reduzida deve ser conduzida com cuidado de forma a se evitar a formação de polifosfatos que é observado pelo aumento gradativo da viscosidade do conteúdo do balão levando à redução do rendimento da reação.

Conforme é mostrado no **Esquema 24**, os fosfitos de dialquila apresentam-se sob duas formas em equilíbrio, sendo que a forma na qual o átomo de fósforo está no estado tetracoordenado é a preferencial (COOK *et al.*, 1949; KOSALOPOFF & MAIER, 1973).

A **Tabela 1** mostra os rendimentos dos fosfitos de dialquila simétricos após 4 horas no evaporador rotatório.

Tabela 1: Rendimentos dos fosfitos de dialquila obtidos

$3 \text{ ROH} + \text{PCl}_3 \xrightarrow{\text{T} = 50^\circ\text{C}} \text{RO}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{RO}}{\text{P}}}-\text{H} + \text{RCl} + 2\text{HCl}$		
Compostos N°	R	Rendimento (%)
83	-CH ₂ CH ₃	65
84	-CH ₂ CH ₂ CH ₃	80
85	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	97
86	-CH(CH ₃) ₂	72
87	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	90



Esquema 24: Mecanismo de obtenção dos fosfitos de dialquila.

5.3. Determinação estrutural dos fosfitos de dialquila obtidos

Os espectros de IV, RMN¹H e RMN¹³C dos fosfitos de dialquila se encontram no apêndice A.

5.3.1. Análise por espectrometria de infravermelho

Os fosfitos de dialquila apresentam bandas de absorções características nas seguintes faixas 2423-2431 cm⁻¹, 1252-1261 cm⁻¹ e 1039-1110 cm⁻¹, que são, respectivamente, vibrações de deformações axiais das ligações P-H, P=O e P-O (THOMAS, 1974). É também possível observar uma banda de absorção fraca em torno de 3400 cm⁻¹, que é atribuída à hidroxila, evidenciando o equilíbrio entre as duas formas de equilíbrio dos fosfitos, já mostrado no Esquema 24.

A Tabela 2 mostra as principais bandas de absorção dos fosfitos de dialquila sintetizados.

Tabela 2: Dados de IV das principais bandas de absorção dos fosfitos de dialquílias.

Comp. Nº	Absorções expressas em cm ⁻¹				
	v (OH)	v (P-H)	v (C-O)	v (P=O)	v (P-O)
83	3459	2431	1480	1252	1046
84	3486	2426	1465	1260	1068
85	3419	2423	1465	1261	1072
86	3486	2427	1463	1253	1110
87	3446	2428	1470	1255	1039

5.3.2. Análise por espectrometria de RMN-¹H

Nos espectros de RMN-¹H dos fosfitos de dialquila, observa-se sempre sinais em duas regiões bem características, uma em torno de 4,0 ppm, que corresponde aos hidrogênios do carbono ligado aos oxigênios do grupo fosforila e a outra, um dubleto referente ao H ligado diretamente ao átomo de fósforo centrado em, aproximadamente, 7,0 ppm com uma constante de acoplamento P-H elevada, em torno de 690 Hz. Pode-se também encontrar acoplamento de fósforo-hidrogênio a uma distância de até 4 ligações. A Tabela 3 mostra os valores dos deslocamentos químicos e as multiplicidades para todos os hidrogênios presentes nos fosfitos de dialquila, assim como os valores para das constantes de acoplamento P-H.

Tabela 3: Dados de RMN ^1H dos fosfitos de dialquila simétricos.

Comp. N°	RMN- ^1H					
	P-H	CH_2OP	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}$	$\text{CH}_2(\text{CH}_2)_x\text{OP}$	$(\text{CH}_2)_2\text{CHOP}$	$(\text{CH}_2)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$
			δ_{ppm} (multiplicidade)			
83	6,08(d)/1H $J_{\text{P-H}} = 692\text{Hz}$	4,2(d/q)/4H $n=2$	1,4(t)/6H $n=3; x=1$	-	-	-
84	6,83(d)/1H $J_{\text{P-H}} = 694\text{Hz}$	4,1(d/t)/4H $n=2$	1,7(m)/4H $n=2; x=1$	0,98(t)/6H $n=3; x=2$	-	-
85	6,73(d)/1H $J_{\text{P-H}} = 697\text{Hz}$	4,0(d/t)/4H $n=2$	1,4(m); 1,8(m)/8H $n=2; x=2$	0,9(t)/6H $n=3; x=3$	-	-
86	6,67(d)/1H $J_{\text{P-H}} = 693\text{Hz}$	4,6(d/h)/2H $n=1$	-	-	1,2(d)/12H	-
87	7,2(d)/1H $J_{\text{P-H}} = 695\text{Hz}$	4,2(d/d)/4H $n=2$	2,4(m)/2H $n=1; x=1$	-	-	1,34(d)/12H

Todos os espectros foram obtidos em CDCl_3

5.3.3. Análise por espectrometria de RMN-¹³C

Os valores de deslocamentos químicos de ¹³C e as respectivas multiplicidades, estão apresentados na **Tabela 4 pag. 105**, podendo ser observado o acoplamento dos carbonos com o fósforo a até 3 ligações estando estes acoplamentos mais acentuados para os carbonos POCH_n e POCHCH_n .

Apesar dos carbonos POCHCH_n estarem mais distantes do átomo de fósforo em relação ao carbono POCH_n , pode-se observar que, em alguns casos, as constantes de acoplamento desses carbonos com o fósforo podem ser maiores e este comportamento é comum em diferentes tipos de compostos (KALINOWSKI *et al.*, 1988)

5.4. Síntese das *N,N'*-bis(dialquilfosforil)diaminas e dos *S,S'*-bis(dialquilfosforil)ditióis.

5.4.1. Condições gerais

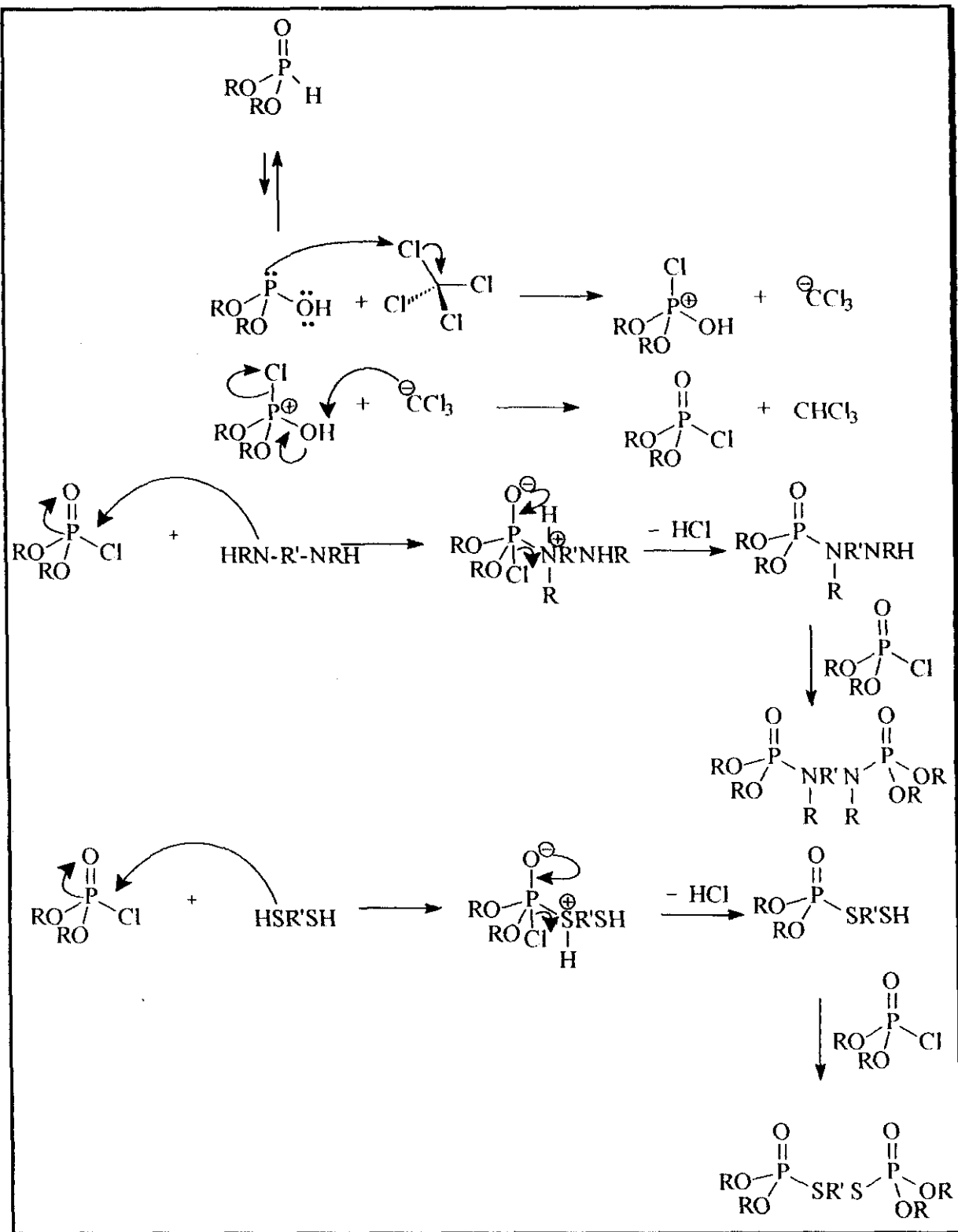
As sínteses destes compostos, **Figura 28 pág.107**, envolvem um sistema bifásico onde são utilizados tetracloreto de carbono, água e etanol em meio alcalino segundo a reação de Todd-Atherton modificada, conforme os **Esquemas 21 e 22**, mostrados nas **págs. 72 e 87**. A água e o etanol funcionam como solventes, já que as diaminas e os ditióis são solúveis nestes solventes e o tetracloreto de carbono é o reagente eletrofílico.

Apesar do equilíbrio, mostrado no **Esquema 24 pag. 101**, estar somente um por cento deslocado para a forma trivalente do fosfito de dialquila, o par de elétrons do fósforo ataca o átomo de cloro da molécula de CCl_4 levando ao correspondente cátion tetravalente de fósforo, que por sua vez, é atacado ou pela diamina, ou pelo ditiol, com a perda de uma molécula de HCl, que é neutralizado pela base presente no meio reacional. O mecanismo provável é mostrado no **Esquema 25 pag. 106**.

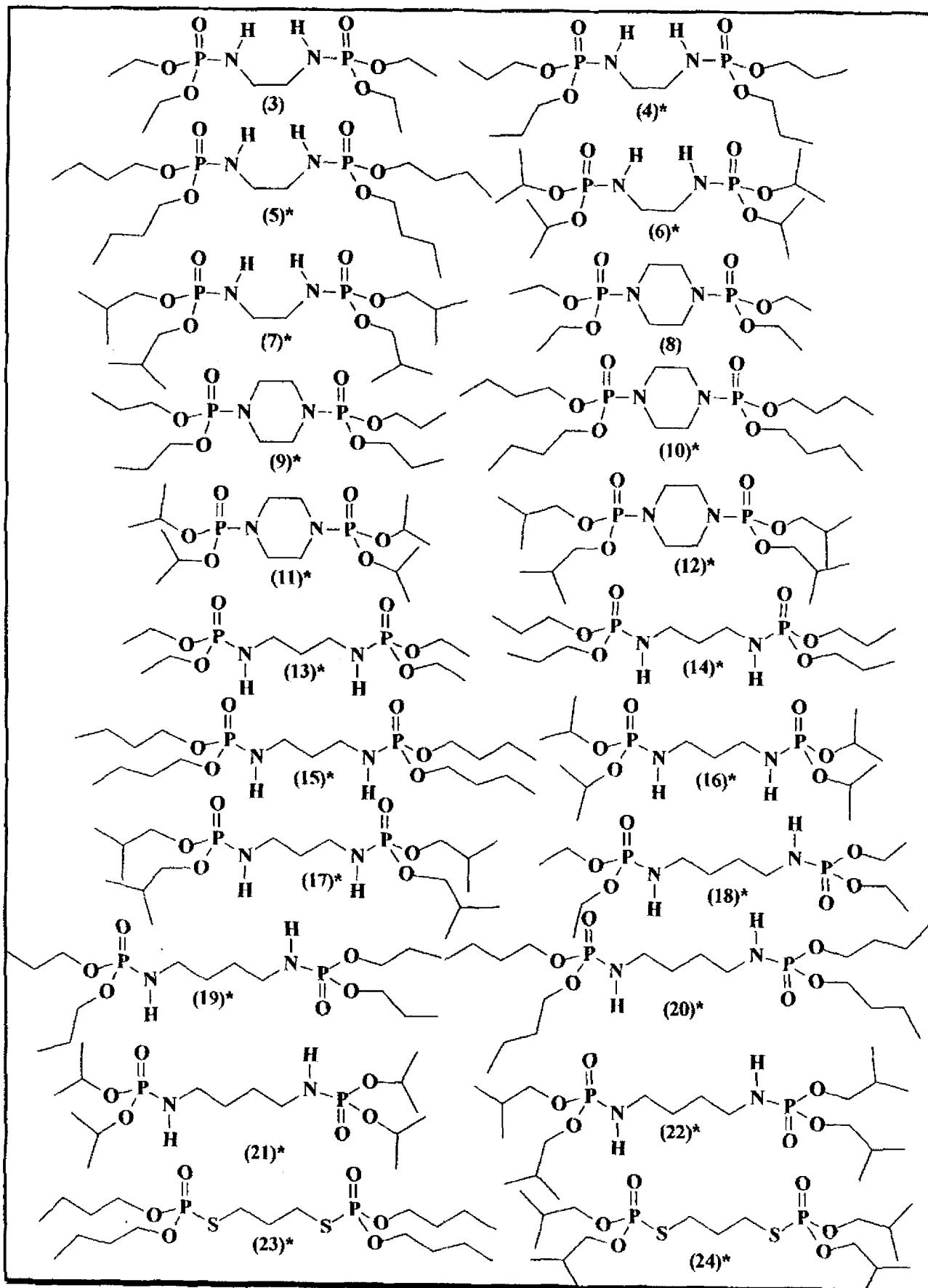
Tabela 4: Dados de RMN ^{13}C das principais absorções dos fosfitos de dialquila simétricos.

Comp.	RMN- ^{13}C				
	δ_{ppm} (multiplicidade)				
Nº	CH_nOP	$(\text{CH}_n)_x\text{CH}_2\text{OP}$	$\text{CH}_n(\text{CH}_2)_x\text{OP}$	$(\text{CH}_3)_2\text{CHOP}$	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$
83	60,2(d)/2C $n=2/J_{\text{CP}} = 6,1$	14,9(d)/2C $n=3; x=1/J_{\text{CP}}=6,1$	-	-	-
84	65,9(d)/2C $n=2/J_{\text{CP}} = 4,9$	22,7(d)/2C $n=2; x=1/J_{\text{CP}}=6,3$	8,85(d)/2C $n=3; x=2$	-	-
85	64,1(d)/2C $n=2/J_{\text{CP}} = 6,1$	31,8/18,7(d)/4C $n=2; x=2/J_{\text{CP}} = 6,1$	12,2 (d)/2C $n=3; x=3$	-	-
86	70,6(d)/2C $n=1/J_{\text{CP}} = 6,1$	-	-	23,4(d)/4C $J_{\text{CP}} = 6,1$	-
87	69,7(d)/2C $n=2/J_{\text{CP}} = 4,6$	28,6(d)/2C $n=1; x=1/J_{\text{CP}} = 6,1$	-	-	17,8 (d)/4C

* Todos os espectros foram obtidos em CDCl_3



Esquema 25: Mecanismo provável para obtenção de N,N'-bis(dialquilfosforil)diaminas e S,S'-bis(dialquilfosforil)ditióis.



***COMPOSTOS INÉDITOS**

Figura 28 . Estruturas dos compostos sintetizados

5.5. Síntese das N,N'-bis(dialquilfosforil)diaminas

As sínteses das diferentes N,N'-bis(dialquilfosforil)diaminas, forneceram produtos com rendimentos razoáveis, **Tabela 5 pag. 110**, provavelmente devido ao fato do produto ser solúvel em água, pois na etapa de separação da fase orgânica da aquosa, parte deste é perdido, mesmo repetindo-se a extração com diclorometano por diversas vezes. Na obtenção das N,N'-bis(diethylfosforil)diaminas e N,N'-bis(dipropilfosforil)diaminas encontrou-se maiores dificuldades no isolamento destes produtos com melhores rendimentos, em virtude dos mesmos serem mais facilmente solúveis em água do que os demais compostos sintetizados.

As N,N'-bis(diisobutilfosforil)diaminas e as N,N'-bis(diisopropilfosforil)diaminas foram obtidas com 2 horas de reação, enquanto que os demais compostos foram obtidos somente após 5h ou mais de reação. O tempo de reação é determinado através do monitoramento por cromatografia em camada fina com clorofórmio e gotas de metanol.

A N,N'-bis(dialquilfosforil)piperazina, necessitou de um tempo maior de reação com os fosfitos de dialquila e foi obtida em menor rendimento, em virtude, talvez, do ataque nucleofílico do nitrogênio piperazínico ao átomo de fósforo ser impedido estericamente.

As reações foram realizadas, inicialmente, em banho de gelo. Em alguns casos, não houve a necessidade de purificação dos produtos, já que não se observou a presença de impurezas, verificadas por cromatografia de camada fina e pelas técnicas espectrométricas de IV, RMN¹H e RMN¹³C.

5.6. Determinação estrutural das N,N'-(dialquilfosforil)diaminas

Todos os compostos foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho, massas e ressonância magnética nuclear de hidrogênio, carbono-13 e fósforo-31 e os espectros referentes às substâncias sintetizadas se encontram no apêndice A.

5.6.1. Análise por espectrometria de infravermelho

Os espectros de infravermelho das N,N'-(dialquilfosforil)diaminas confirmam a presença do grupo N-H com absorções na faixa de 3187-3400 cm⁻¹ somente para os compostos N,N'-(dialquilfosforil)etilenodiamina, N,N'-(dialquilfosforil)-1,3-

propilenodiamina e N',N'-(dialquilfosforil)1,4-butilenodiamina. O grupo P=O também está presente com absorção característica na faixa de 1232-1250 cm^{-1} . As absorções dos grupos P-O (alquila) também são observadas, em frequências que variam entre 1019-1110 cm^{-1} . A **Tabela 5** na **pág. 111** mostra algumas das absorções características das N',N'-(dialquilfosforil)diaminas e as demais estão descritas na parte experimental da tese.

5.6.2. Análise por espectrometria de RMN-¹H

Os espectros de RMN-¹H destas substâncias apresentam sinais característicos de hidrogênios dos grupos alcóxidos ligados diretamente ao átomo de fósforo numa região bem característica com deslocamentos químicos em torno de 4ppm e com constantes de acoplamento hidrogênio-hidrogênio ($J_{\text{H-H}}$) vicinais e hidrogênio-fósforo ($J_{\text{H-P}}$), que são correspondentes aos hidrogênios metilênicos e metínicos ligados ao átomo de oxigênio. Os padrões de multiplicidade desses hidrogênios apresentam-se de diferentes maneiras, dependendo da cadeia carbônica, já que estes acoplam com os hidrogênios vizinhos e com o átomo de fósforo. Os espectros no **Apêndice A** mostram, claramente, o acoplamento H-P.

Os hidrogênios do grupamento alquila, da cadeia alcoídica, acoplam vicinalmente entre si e com o fósforo, com valores de aproximadamente 7,0 Hz. A literatura registra acoplamento em uma ampla faixa que vai de 3,0 a 32 Hz para o acoplamento RCHCH₂OP e (CH₃)₂CHOP a quatro ligações, a faixa vai de 0,5 a 2,0 Hz. DA COSTA (1996), em sistema similar, encontrou valores em torno de 7,0Hz (acoplamento RCHCH₂OP, (CH₃)₂CHOP) e 0,9 Hz (para acoplamento RCHCH₂OP e (CH₃)₂CHOP). A multiplicidade do sinal para os acoplamentos: CH₃CH₂OP é de duplo quarteto, enquanto que para CH₂CH₂CH₂CH₂OP é de duplo tripleto, e (CH₂)₂CHCH₂OP são de duplo dubleto.

Os valores dos deslocamentos químicos, das constantes de acoplamento e as multiplicidades de todos os sinais referentes aos compostos sintetizados estão nas **Tabelas 6** e **7**.

Os sinais dos hidrogênios do grupo RNH sofrem influência da mudança de solvente. Assim, nos espectros feitos com CDCl₃ os hidrogênios do grupo amino aparecem em torno de 3,0 ppm e nos espectros obtidos com DMSO, aparecem em campo mais baixo na faixa de 5,0 ppm, devido, principalmente, às ligações intermoleculares entre os hidrogênios do grupo NH e os oxigênios do solvente (DMSO). Os hidrogênios metilênicos ligados ao átomo de

nitrogênio dos compostos sintetizados apresentam-se com deslocamentos químicos em torno de 3,0 ppm.

5.6.3. Análise por espectrometria de RMN-¹³C

Os espectros de ¹³C mostram acoplamento dos carbonos com o átomo de fósforo até 3 ligações. Duas regiões do espectro são bem características: a primeira em torno de 60 ppm, referente aos carbonos metilênicos e metínicos ligados aos oxigênios dos grupos alcóxidos e a segunda em torno de 40 ppm dos carbonos ligados aos átomos de nitrogênio.

Os dados referentes às constantes de acoplamento e aos deslocamentos químicos dos carbonos presentes nos bisfosforamidatos sintetizados estão na **Tabela 8**.

5.6.4. Análise por espectrometria de RMN-³¹P

Nos espectros de RMN-³¹P dos compostos sintetizados neste trabalho, verificou-se que somente um sinal é registrado para cada composto, com deslocamento químico na faixa de 7-10 ppm, indicando que ambos os átomos de fósforo presentes em cada composto estão num mesmo ambiente químico, evidenciando assim a simetria do composto.

Foram feitos, somente, os espectros de RMN-³¹P totalmente desacoplado para os compostos **6, 7, 12, 13, 15 e 21**.

Na **Tabela 9** estão apresentados os valores de deslocamento químico dos átomos de fósforo para o espectro totalmente desacoplado dos compostos **6, 7, 12, 13, 15 e 21**.

Tabela 9: Deslocamentos químicos para ³¹P.

RMN- ³¹ P	
Nº do composto	δ (ppm)
6	8,06
7	9,94
12	8,70
13	10,28
15	10,24
21	7,92

Tabela 5: Dados de rendimentos e IV das principais bandas de absorções das N,N'-bis-(dialquil fosforil)diaminas

Comp. N°	R	R ₁	R ₂	Rend. (%)	$\nu(\text{NH})$	$\nu(\text{P=O})$	$\nu(\text{P-O})$	$\nu(\text{P-N})$
3	Et	-CH ₂ CH ₂ -	H	72	3187	1243	1037	971
4	<i>n</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ -	H	67	3191	1240	1064	903
5	<i>n</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ -	H	43	3243	1234	1028	984
6	<i>i</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ -	H	79	3242	1236	1110	991
7	<i>i</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ -	H	85	3237	1232	1020	961
8	Et	-CH ₂ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	82	-	1244	1029	973
9	<i>n</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	50	-	1250	1062	989
10	<i>n</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	40	-	1249	1026	978
11	<i>i</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	78	-	1250	1106	977
12	<i>i</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	59	-	1252	1052	980
13	Et	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	36	3240	1232	1033	966
14	<i>n</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	60	3239	1234	1108	990
15	<i>n</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	30	3400	1233	1028	985
16	<i>i</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	70	3238	1233	1064	1000
17	<i>i</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	87	3237	1235	1019	960
18	Et	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	28	3260	1228	1033	967
19	<i>n</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	26	3425	1245	1061	982
20	<i>n</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	57	3392	1232	1028	984
22	<i>i</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	90	3227	1234	1107	1007
23	<i>i</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	58	3428	1249	1027	979

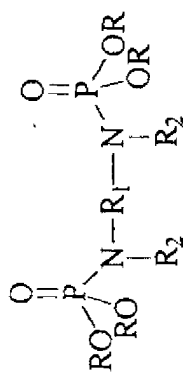
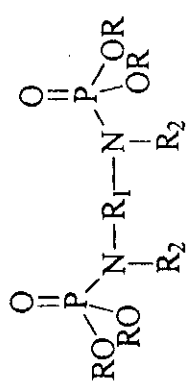
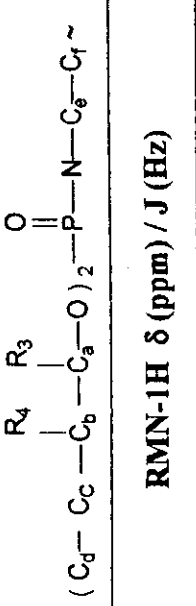
IV(CM⁻¹)

Tabela 6: Dados de RMN¹H para as N,N'-bis-(dialquil fosforil)diaminas sintetizadas

N ^o			RMN-1H δ (ppm) / J (Hz)											
	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	NH	Ha	Hb	Hc	Hd	He	Hf	H ₃	H ₄
3	Et	-CH ₂ CH ₂ -	H	H	H	4,9 ^a	3,9q/d J _{HP} =7,0	1,2t ^c J _{HH} =7,0	-	-	3,0m	-	-	-
4	<i>n</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ -	H	H	H	3,5 ^b	3,9t/d	1,7m	0,9t	-	3,0m	-	-	-
5	<i>n</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ -	H	H	H	4,1 ^b	J _{HP} =6,8 3,8t/d	J _{HH} =7,0 1,5q	J _{HH} =7,4 1,3t	0,8t	2,8m	-	-	-
6	<i>i</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ -	H	CH ₃	H	4,7 ^a	J _{HP} =6,9 4,4m	J _{HH} =7,0 1,2d	J _{HH} =7,7	J _{HH} =7,3	2,7m	-	1,29d	-
7	<i>i</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ -	H	H	CH ₃	4,9 ^a	J _{HP} =6,4 3,6d/d	J _{HH} =7,0 1,8m	0,9d	-	2,8m	-	-	0,88d
8	Et	-CH ₂ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	H	H	-	J _{HP} =6,3 4,0q/d	J _{HH} =6,5 1,3t	J _{HH} =6,7	-	3,0m	-	-	-
9	<i>n</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	H	H	-	J _{HP} =7,2 3,9t/d	J _{HH} =6,9 1,6m	0,9d	-	3,0m	-	-	-
10	<i>n</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	H	H	-	J _{HP} =6,8 3,9t/d	J _{HH} =6,8 1,6m	J _{HH} =6,8	0,9t	3,0m	-	-	-
11	<i>n</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂	-CH ₂ CH ₂	CH ₃	H	-	J _{HP} =6,6 4,5m	J _{HH} =7,2 1,2m	J _{HH} =6,8	J _{HH} =6,8	3,0m	-	1,2m	-
12	<i>i</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	H	CH ₃	-	J _{HP} =7,1 3,7d/d	J _{HH} =6,2 1,9m	0,9d	-	3,1m	-	-	0,9d
							J _{HP} =6,4	J _{HH} =6,8	J _{HH} =6,8					

Solvente: ^aDMSO, ^bCDCl₃; mul4tiplicidade: s-singlete; t-triplete; m-multiplete; d-dublete

Tabela 7: Dados de RMN¹H das N,N'-bis-(dialquil fosforil)diaminas sintetizadas

														
RMN-1H δ (ppm) / J (Hz)														
Nº	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	NH	Ha	Hb	Hc	Hd	He	Hf	H ₃	H ₄
13	Et	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	H	H	3,3 ^b	4,0q/d J _{HP} =6,3	1,3t J _{HH} =6,3	-	-	2,9m	1,6m	-	-
14	<i>n</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	H	H	4,8 ^a	3,8t/d J _{HP} =6,8	1,6m J _{HH} =6,8	0,9t J _{HH} =7,2	-	2,8m	1,6m	-	-
15	<i>n</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	H	H	3,5 ^b	3,8t/d J _{HP} =6,6	1,4m J _{HH} =7,2	1,3m J _{HH} =7,2	0,8m J _{HH} =7,2	2,9m	1,5m	-	-
16	<i>i</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	CH ₃	H	3,2 ^b	4,5m J _{HP} =6,2	1,3m J _{HH} =6,2	-	-	3,0m	1,6m	1,3m	-
17	<i>i</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	H	CH ₃	4,8 ^a	3,6m J _{HP} =6,2	1,8m J=6,6	0,9d J=6,6	-	2,8m	1,5m	-	0,9d
18	Et	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	H	H	3,2 ^b	4,0q/d J _{HP} =7,0	1,2t J _{HH} =7,3	-	-	2,8m	1,4m	-	-
19	<i>n</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	H	H	3,3 ^b	3,9t/d J _{HP} =6,9	1,7m J _{HH} =6,6	0,9t J _{HH} =6,6	-	2,9m	1,5m	-	-
20	<i>n</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	H	H	3,2 ^b	3,9t/d J _{HP} =6,7	1,5m J _{HH} =6,4	1,3m J _{HH} =7,6	0,9m J _{HH} =7,5	2,8m	1,4m	-	-
21	<i>i</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	CH ₃	H	2,5 ^b	4,6m J _{HP} =6,2	1,3d J _{HH} =6,2	-	-	2,9m	1,5m	1,3d	-
22	<i>i</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	H	CH ₃	4,8 ^a	3,6d/d J _{HP} =6,0	1,8m J _{HH} =6,5	0,9d J=6,5	-	2,7m	1,4m	-	0,92d

Solvente: ^aDMSO; ^bCDCl₃; multiplicidade: s-singleteo; t-tripleteo; m-multiplateo; d-dubleteo.

Tabela 8: Dados de RMN¹³C das N,N'-bis-(dialquil fosforil)diaminas sintetizadas

No	R	R ₁	R ₂	R ₄	R ₅	Ca	Cb	Cc	Cd	Ce	Cf	C ₄	C ₅
3	Et	-CH ₂ CH ₂ -	H	H	H	61,5d	16,3d	-	-	42,4d	-	-	-
4	<i>n</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ -	H	H	H	66,9d	23,0d	9,4s	-	42,1d	-	-	-
5	<i>n</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ -	H	H	H	65,4d	31,9d	18,4s	13,2s	42,3d	-	-	-
6	<i>i</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ -	H	CH ₃	H	70,9d	23,4d	-	-	42,2d	-	23,4d	-
7	<i>i</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ -	H	H	CH ₃	71,3d	28,2d	17,9s	-	41,9d	-	-	17,9s
8	Et	-CH ₂ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	H	H	61,4d	15,1d	-	-	43,6d	-	-	-
9	<i>n</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	H	H	66,9d	22,6d	9,0s	-	43,6d	-	-	-
10	<i>n</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	H	H	65,5d	32,1d	18,6s	13,5s	45,1d	-	-	-
11	<i>i</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	CH ₃	H	70,6d	24,1d	-	-	44,8d	-	24,1d	-
12	<i>i</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	H	CH ₃	72,0d	30,6d	15,8s	-	44,8d	-	-	15,8s
13	Et	-CH ₂ CH ₂ -CH ₂ -	H	H	H	61,9d	15,8d	-	-	37,6d	32,5d	-	-
14	<i>n</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ -CH ₂ -	H	H	H	66,5d	23,2d	9,9s	-	38,1d	33,2d	-	-
15	<i>n</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ -CH ₂ -	H	H	H	65,7d	18,8d	18,5s	13,4s	37,7d	32,1d	-	-
16	<i>i</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ -CH ₂ -	H	CH ₃	H	70,5d	23,7d	-	-	38,0d	32,6d	23,7d	-
17	<i>i</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ -CH ₂ -	H	H	CH ₃	71,0d	28,8d	18,6s	-	37,8d	32,8d	-	18,6s
18	Et	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	H	H	61,6d	15,6d	-	-	40,4d	28,1d	-	-
19	<i>n</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	H	H	67,0d	23,1d	20,9s	-	40,4d	28,1d	-	-
20	<i>n</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	H	H	65,3d	28,2d	18,4s	13,2s	40,5d	32,0d	-	-
21	<i>i</i> -Pr	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	CH ₃	H	72,0d	23,6d	-	-	40,8d	28,4d	23,6d	-
22	<i>i</i> -Bu	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H	H	CH ₃	71,2d	29,2d	19,2d	-	41,1d	29,2d	-	19,2d

Solvente:^aDMSO,^bCDCl₃

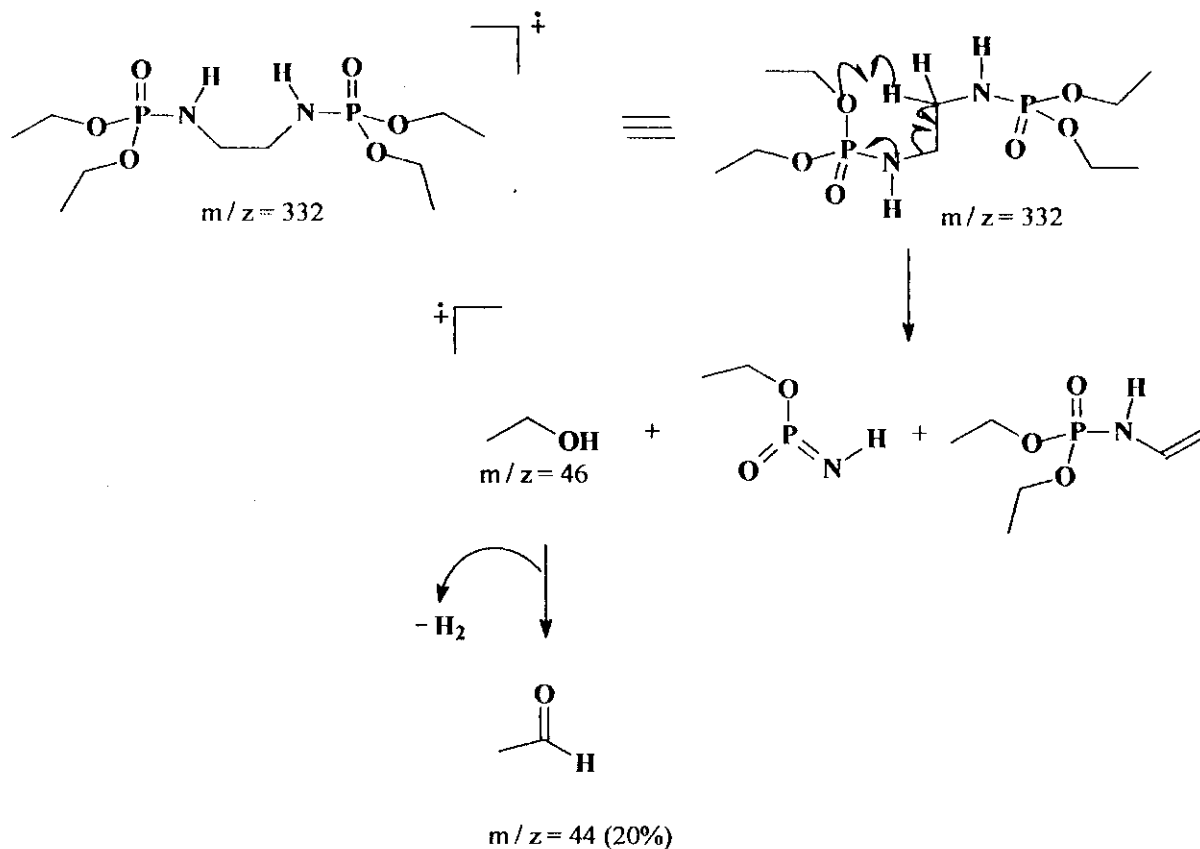
5.6.5. Análise por espectrometria de massas

São discutidos os picos principais do derivado obtido N',N'-(dietilfosforil)etilenodiamina, uma vez que estes podem também, representar todos os outros compostos, pois as fragmentações principais podem ser extendidas para os diferentes grupos alcóxidos.

Em todos os espectros, o pico do íon molecular não foi detectado. Na maioria dos casos o pico base representa a metade da molécula, onde o fragmento formado pode ser referente à cisão da ligação C-N.

Os espectros de massa dos compostos sintetizados apresentam alguns picos característicos, como os referentes à perda de C₂H₄ e CH₃OH que ocorre em quase todas as etapas de fragmentação. Para que isto ocorra é necessário que a molécula apresente conformação adequada a estas clivagens e, em quase todos os casos, observou-se ruptura homolítica, através de uma quebra do tipo MacLafferty, gerando o correspondente cátion-radical conforme mostra o **Esquema 26** para o composto N',N'-(dietilfosforil)etilenodiamina.

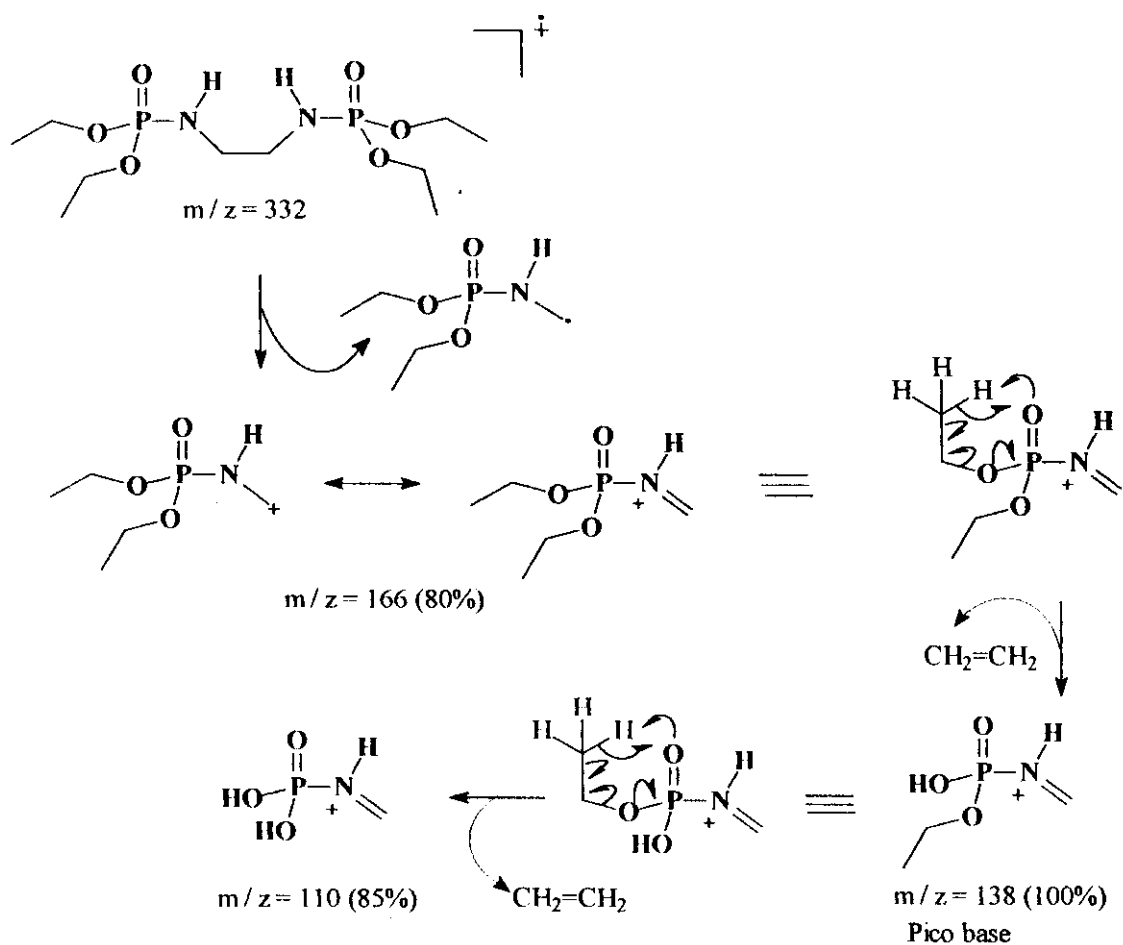
Todos os compostos com o grupo etóxido apresentam um pico em $m/z = 44$, que pode ser atribuído ao fragmento acetaldeído formado pela perda de etanol seguido de perda de uma molécula de H₂, durante as fragmentações da molécula.



Esquema 26: A formação de acetaldéido é a fragmentação mais comum das N,N' -bis(dialquilfosforil)diaminas.

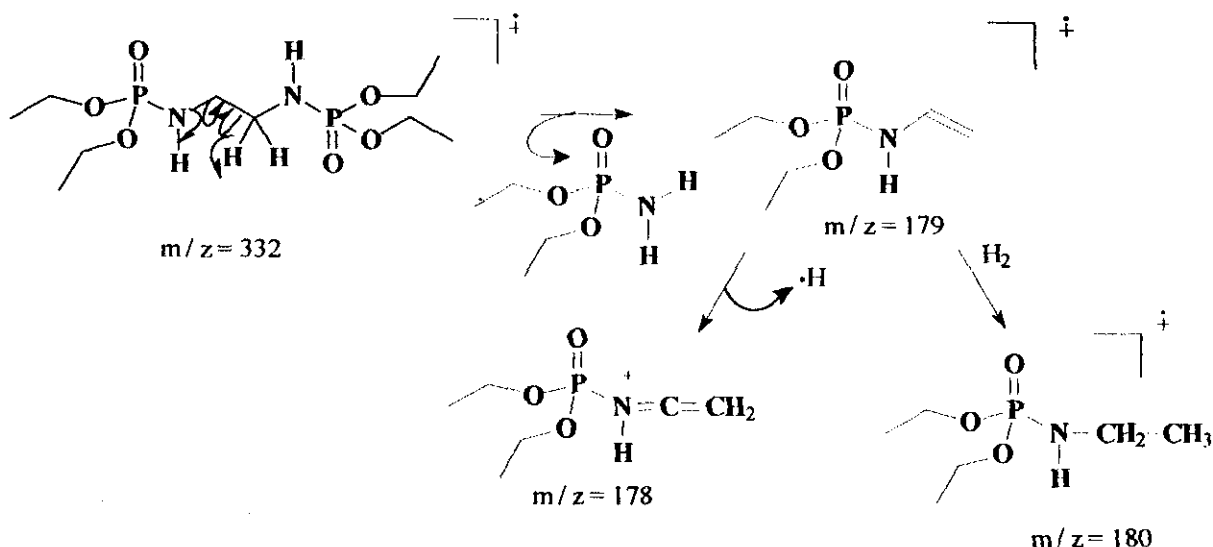
A maioria das substâncias apresenta um pico atribuído ao fragmento que se refere à metade da molécula, como é o caso da N',N' -(dietilfosforil) etilenodiamina em que o pico de $m/z = 166$ representa a metade da molécula, devido à cisão da ligação C-N que divide a molécula em dois lados iguais. O pico base, em quase todos os compostos, apresenta a relação $m/z = 138$ e é obtido através da ruptura homolítica entre o oxigênio de um dos grupos alcóxidos e o carbono da cadeia alquílica, proveniente do rearranjo McLafferty gerando o cátion correspondente e a liberação de uma molécula neutra (C_2H_4).

Nos espectros de quase todos os derivados, ocorre a formação de um pico com $m/z = 110$, que é resultante da cisão da ligação C-O do outro grupo alcóxido, presente no fragmento com $m/z = 138$, gerado a partir do pico com $m/z = 166$. As obtenções destes fragmentos estão apresentadas no **Esquema 27**.



Esquema 27: Fragmentações dos picos com maiores abundâncias das N,N'-bis(dialquilfosforil)diaminas.

Os derivados das séries N,N'-bis(dialquilfosforil) diaminas, apresentam um pico de quase mesma intensidade que o pico base com relação $m/z = 180, 179$ ou 178 , e para alguns ele é o próprio pico base e pode ser obtido através do rearranjo 1,4 de um dos hidrogênios da porção diamina, como mostra o **Esquema 28**.



Esquema 28: Fragmentações dos picos com maiores abundâncias das N,N'-bis(dialquilfosforil)diaminas.

5.7. Síntese dos S,S'-bis(dialquilfosforil) ditióis

Todos os S,S'-bis(dialquilfosforil)-1,3-propanoditióis e S,S'-bis(dialquilfosforil)-1,2-etanoditióis foram sintetizados através da reação de 2,0 mols dos fosfitos de dialquila com 1,0 mol de 1,3-propanoditiol ou 1,0 mol de 1,2-etanoditiol. A reação se processa através de uma substituição nucleofílica ao átomo de fósforo, que é extremamente reativo.

Foram obtidos somente S,S'-bis(dibutilfosforil)-1,3-propanoditiol e S,S'-bis(diisobutilfosforil)-1,3-propanoditiol, que são sólidos brancos com ponto de fusão baixo, e com rendimentos de 80 e 90%, respectivamente, conforme mostrado na **Tabela 10**. Não houve a necessidade de purificação dos produtos obtidos, já que não se observou a presença de impurezas, através de cromatografia de camada fina e de técnicas espectrométricas de IV, RMN¹H e RMN¹³C.

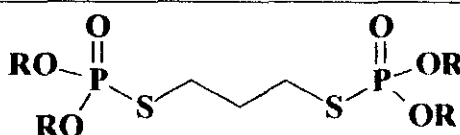
Os demais compostos foram obtidos com rendimentos baixos, na faixa de 8%, porém em todos os casos ou os reagentes de partida foram isolados, ou obteve-se uns poucos miligramas de um óleo amarelo que correspondia à mistura do reagente 1,3-propanoditiol ou 1,2-etanoditiol e o produto desejado. Em alguns casos, obteve-se um sólido branco com ponto de fusão na faixa de 51 a 55°C, insolúvel em vários solventes orgânicos a frio e a quente, apresentando pouca solubilidade em piridina a quente. Através de espectrometria de

RMN¹H e utilizando a piridina deuterada como solvente foi possível obter um espectro de RMN¹H, que apresentou apenas o sinal do solvente e pequenos sinais do produto desejado.

A preparação de fosforotioatos a partir de compostos tióis com fosfitos de dietila e dipropila, não é favorecida, provavelmente em virtude de que o átomo de enxofre prefere atacar o carbono do grupo alquil éster, em vez do átomo de fósforo, no caso do fosfito de dibutila e diisobutila esse ataque é desfavorecido, devido o impedimento estérico, o que favorece é uma direta fosforilação no átomo de fósforo.

Tabela 10: Rendimentos e aspecto das S,S'-bis(dialquilfosforil)-1,3- propanoditiol.

Comp. N°	R	Rendimento (%)	Aspecto
23	-CH ₂ (CH ₂) ₂ CH ₃	80	Sólido pastoso
24	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	90	Sólido pastoso



5.8. Determinação Estrutural dos S,S'-(dialquilfosforil)-1,3-propanoditióis

Os espectros referentes a todos os compostos se encontram no apêndice B

5.8.1. Análise por espectrometria de IV

Segundo a literatura, as bandas de absorção referentes aos compostos organofosforados são bem características. Para os fosforoditiatoos, as bandas mais intensas são na faixa de 1260- 1240 cm⁻¹, que diz respeito ao estiramento da ligação P=O, e na faixa de 1050-950 cm⁻¹, que é referente ao estiramento assimétrico da ligação P-O, e ambas são relatadas como de grande intensidade. Observa-se também, duas bandas de absorção em 1392-1396 e 813-874 cm⁻¹ que são relativa ao estiramento da ligação C-S e P-S, respectivamente.

Nos espectros de IV dos compostos sintetizados, as bandas de absorção referentes ao grupamento fosforoditioato e o grupamento tiol estão claramente visíveis e os seus valores estão na **Tabela 11**.

Tabela 11: Absorções no IV dos compostos S,S'-bis(dialquilfosforil)-1,3- propanoditiol.

Comp. N°	Absorções expressas em cm ⁻¹			
	ν (P=O)	ν (P-O)	ν (C-S)	ν (P-S)
23	1266	1030	1392	813
24	1242	1030	1396	874

5.8.2. Análise por espectrometria de RMN¹H

Nos espectros de RMN-¹H destes compostos é possível observar o acoplamento dos hidrogênios com o fósforo até três ligações, sendo este referente ao acoplamento PO-CH₂.

Os hidrogênios de carbonos metilênicos ligados aos átomos de enxofre aprecem com mesmo deslocamento químico que a dos hidrogênios dos carbonos ligados ao oxigênio do grupo alcóxido.

Na **tabela 12** estão os valores dos deslocamentos químicos dos compostos **23** e **24**, assim como as constantes de acoplamento e as sua multiplicidades.

Tabela 12: Dados de RMN-¹H dos compostos S,S'-bis(dialquilfosforil)-1,3-propanoditiol

Comp. N°	RMN- ¹ H					
	δ_{ppm} (multiplicidade) / J (Hz)					
	S-CH ₂	SCH ₂ CH ₂	CH _n OP	CH _n CH ₂ OP	CH ₃ (CH ₂) ₃ OP	CH ₂ C ₂ H ₃ OP
23	4,1(m) 4H	1,3(m) 2H	4,0 (d/t) 8H/J _{PH} =6,5 J _{HH} =6,5	1,5 / 1,3 (m) n=2; 16H/ J _{HH} =6,2	0,9 (t) 12H J _{HH} =6,2	-
24	3,8(m) 4H	1,4(m) 2H	3,7 (d/t) 8H/J _{PH} =6,3 J _{HH} =6,3	1,9 (m) n=1; 4H J _{HH} =6,3	-	0,9 (d) 24H J _{HH} =6,3

Espectros em CDCl₃

5.8.3. Análise por espectrometria de RMN¹³C

Nos espectros de ¹³C, o sinal mais característico, que confirma a obtenção do composto, é o dubleto centrado em 60 ppm, referente aos carbonos metilênicos do grupo alcóxido ligado ao fósforo e outro ligado ao enxofre.

Os valores de deslocamentos químicos, assim como as constantes de acoplamento com o fósforo estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13: Dados de Dados de RMN-¹³C dos compostos S,S'-bis(dialquilfosforil)-1,3-propanoditiol

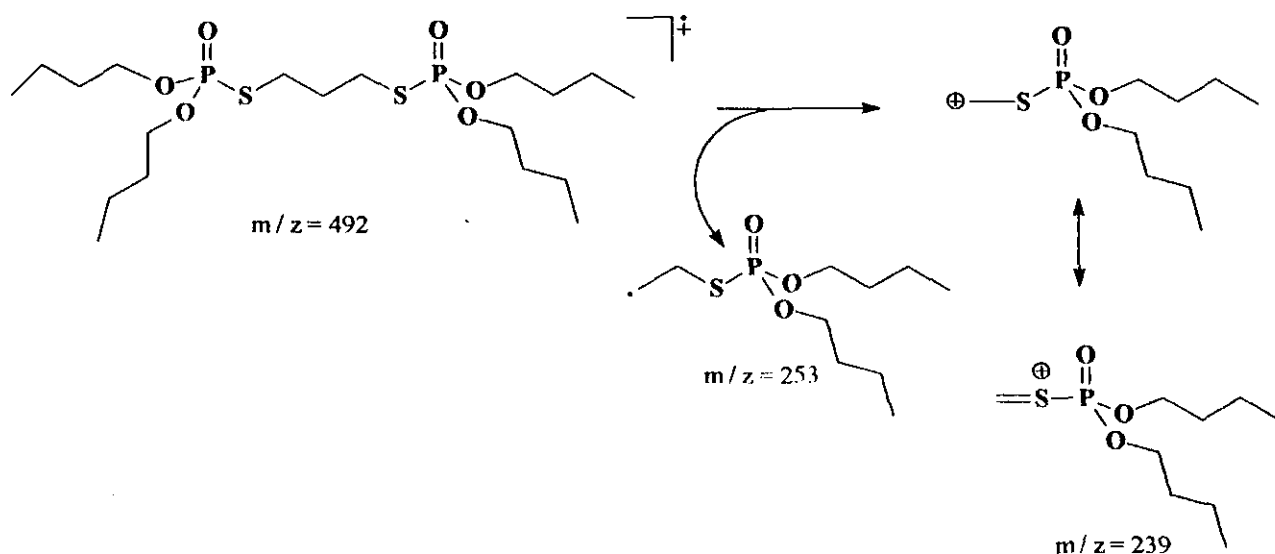
Comp. Nº	RMN- ¹³ C					
	δ_{ppm} (multiplicidade) / J (Hz)					
	S-CH ₂	SCH ₂ CH ₂	CH _n OP	CH _n CH ₂ OP	CH ₃ (CH ₂) ₃ OP	CH ₃ C ₂ H ₃ OP
23	62,9(d) 2C	31,5(d) 1C	66,6 (d) 4C/J _{PC} =6,1	17,9 (d) n=2; 8C/J _{PC} =6,1	12,8 (t) 12H/J _{PC} =6,1	-
24	73,6(d) 2C	28,9(d) 1C	72,5 (d) 4C/J _{PC} =6,1	28,7 (d) n=1; 4C/J _{PC} =6,1	-	18,5 (d) 4C/J _{PC} =6,1

Espectros em CDCl₃

5.8.4. Análise por espectrometria de Massa

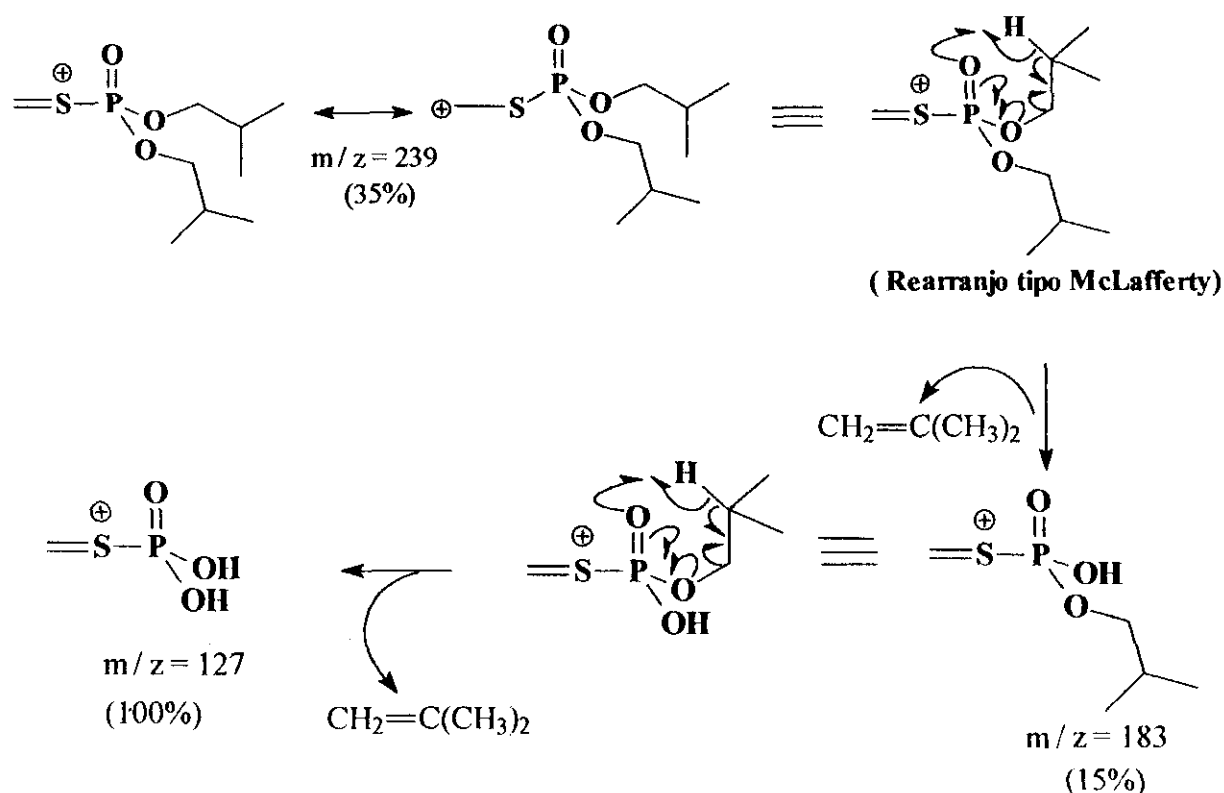
Na análise por espectrometria de massas dos compostos **23** e **24** não foi possível detectar o pico do íon molecular, o que é provavelmente devido a pouca estabilidade desses compostos nas condições empregadas.

Para o composto **23**, o pico base apresenta uma relação (m / z) igual a 239 e este pico também aparece em menor abundância no espectro do composto **24**, podendo o fragmento ser obtido através da ruptura homolítica entre o átomo de enxofre e o carbono metilênico, obtendo-se um fragmento que pode ser estabilizado por ressonância, como pode ser observado no Esquema 29.



Esquema 29: Fragmentação referente ao pico base do composto 23.

O espectro do composto 24 apresenta um pico base com uma relação (m/z) igual a 127, e este pico se apresenta, em menor abundância, no espectro do composto 23, que pode ser gerado através de uma quebra tipo McLafferty do fragmento com $m/z = 183$, o qual é resultante de um outro rearranjo do mesmo tipo do íon cátion com $m/z = 239$, conforme mostra o Esquema 30.



Esquema 30: Fragmentações referentes ao pico base do composto 24.

5.9. Testes Biológicos

5.9.1. Ensaio de letalidade sobre larvas de *Artemia Salina* Leach

Os compostos sintetizados foram testados quanto à toxidez geral utilizando o bioensaio de letalidade frente a *Artemia salina*.

A toxidez em *Artemia salina* foi determinada através da dose letal de 50% (DL₅₀) para os microcrustáceos. No ensaio de letalidade de *Artemia salina*, foram observadas diferenças significativas entre as substâncias testadas. Os bisfosforoamidatos que apresentam os grupos butóxido, isopropóxido e isobutóxido, e principalmente, os bisfosforoditioatos com os grupos butóxido e isobutóxido apresentam a dose letal de 50%(DL₅₀) dentro da faixa de concentração estudada, porém os demais apresentam DL₅₀ iguais ou superior a 363 ppm e acima da concentração máxima analisada para cada composto. Os valores de DL₅₀ foram determinados a partir das equações das retas obtidas por regressão linear do gráfico de percentual de animais vivos versus o logaritmo das concentrações utilizadas, conforme as **Tabelas** e as **Figuras** mostradas no **Apêndice B**.

As equações das retas para os compostos bisfosforoamidatos e bisfosforoditioatos são representadas pela equação $y = ax + b$, que são obtidas a partir dos pontos obtidos, fornecendo os respectivos coeficientes de correlação linear (b) e angular (a), onde: y = % de animais vivos e x = log ([composto]). Desta forma quando o valor do percentual de animais vivos for igual a 50%, e substituindo este valor na equação para os respectivos compostos, tem-se o valor do logaritmo da concentração desejada em 50% de animais vivos. O anti-logaritmo destes valores são correspondentes às concentrações dos compostos, assim, determina-se os valores das DL₅₀, para cada composto, conforme mostra a **Tabela 14**.

Foi realizado, também, o bioensaio com o inseticida Crufomato, mostrado no **Esquema 12** **pág. 43**, disponível no laboratório, como padrão de comparação da toxidez geral com os novos compostos sintéticos.

Tabela 14: Valores de DL₅₀ obtidos no bioensaio de letalidade contra *Artemia salina* Leach para os compostos sintetizados.

Compostos	^a DL ₅₀	Compostos	^a DL ₅₀
3	>363	14	>363
4	>363	15	79,7
5	37,6	16	112,6
6	107,8	17	100,0
7	55,3	18	>363
8	>363	19	>363
9	>363	20	130,8
10	49,7	21	>363
11	110,6	22	159,6
12	85,0	23	35,9
13	>363	24	11,6

^aDL₅₀ em ppm;

Inseticida "Cruformato" DL₅₀ igual a 18,4 ppm.

Comparando-se os valores de DL₅₀, **figura 29**, podemos observar uma maior toxidez, ou seja, um menor valor de DL₅₀ para os compostos com os grupos butóxido (**5**, **11**, **15**, **20** e **23**), isobutóxido (**7**, **12**, **17**, **22** e **24**) e isopropóxido (**6**, **11**, **16**). Os compostos com DL₅₀ igual ou superior a este valor são considerados não tóxicos. Os bisfosforoditioatos (**23** e **24**) são mais ativos contra *Artemia salina* do que os bisfosforoamidatos e o composto **24** é o que apresenta uma maior toxidez, apresentando um valor de DL₅₀ menor do que o obtido com o inseticida cruformato. Essa maior atividade tóxica pode ser atribuída a uma maior lipofilicidade deste composto se comparado aos demais, o que lhe permite uma interação melhor com o organismo estudado.

O maior potencial lipofílico é devido, principalmente, as cadeias butílicas, isopropílica e isobutílicas nas extremidades dos compostos, que favorece uma melhor penetração da substância no organismo da espécie estudada. Já os demais possuem cadeias etílicas e propílicas que conferem menor lipofilicidade.

Dentre os bisfosforoamidatos testados, os provenientes da série 1,4-butilenodiamina foram os menos tóxicos, em virtude talvez do tamanho da molécula que pode dificultar a interação com o sítio ativo, enquanto que os das séries etilenodiamina e piperazina, que são relativamente mais ativos, esta interação se torna mais facilitada.

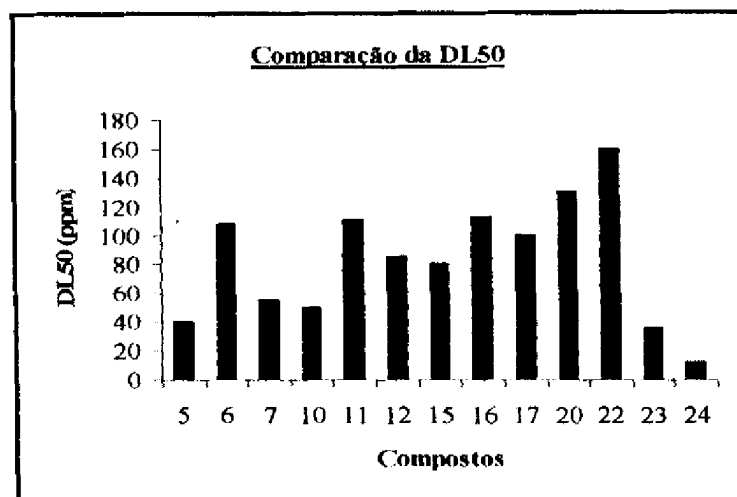


Figura 29: Comparação dos valores das DL₅₀ (ppm) dos compostos sintetizados com *Artemia salina*.

5.9.2. Ensaio de letalidade com adultos de *Musca domestica* e *Stomoxys calcitrans*

Os bisfosforoamidatos e os bisfosforoditioatos foram testados em adultos de *Musca domestica* e *Stomoxys calcitrans* em 5 concentrações diferentes, expressas em molaridade (M).

No bioensaio com *Musca domestica* os bisfosforamidatos contendo o grupo etóxido e propóxido (3, 4, 8, 9, 13, 14, 18 e 19) apresentaram atividade inseticida nas seguintes concentrações: $1,0 \times 10^{-1}M$; $5,6 \times 10^{-2}M$; $3,2 \times 10^{-2}M$; $1,8 \times 10^{-2}M$ e $1,0 \times 10^{-2}M$ e os com o grupo butóxido, isopropóxido e isobutóxido foram ativos em concentrações de $2,1 \times 10^{-2}M$; $6,8 \times 10^{-3}M$; $2,1 \times 10^{-3}M$; $6,8 \times 10^{-4}M$ e $3,8 \times 10^{-4}M$ (5, 6, 7, 10, 11 e 12) e para os compostos 15, 16, 17, 20, 21 e 22 as concentrações foram $6,8 \times 10^{-2}M$; $2,1 \times 10^{-2}M$; $2,1 \times 10^{-3}M$; $6,8 \times 10^{-4}M$ e $3,8 \times 10^{-4}M$. Os bisfosforoditioatos foram mais ativos como inseticidas do que os bisfosforamidatos sendo que o composto 23 foi ativo nas concentrações de $1,2 \times 10^{-2}M$; $4,5 \times 10^{-3}M$; $1,7 \times 10^{-3}M$; $6,0 \times 10^{-4}M$ e $2,0 \times 10^{-4}M$ e o composto 24 foi o mais ativo de todos os compostos testados, que apresentou atividade inseticida nas concentrações de $1,0 \times 10^{-3}M$; $3,7 \times 10^{-3}M$; $1,4 \times 10^{-4}M$; $5,1 \times 10^{-5}M$ e $2,7 \times 10^{-6}M$.

A *Stomoxys calcitrans* é mais susceptível aos compostos testados do que *Musca domestica*, pois as concentrações utilizadas no ensaio com as *Stomoxys calcitrans* foram menores. As concentrações dos bisfosforoamidatos aplicadas neste bioensaio foram $6,0 \times 10^{-2}M$; $1,9 \times 10^{-2}M$; $6,0 \times 10^{-3}M$; $1,9 \times 10^{-3}M$ e $6,0 \times 10^{-4}M$ para os compostos 3, 4, 8,

9, 13, 14, 18 e 19, $1,2 \times 10^{-2}M$; $3,8 \times 10^{-2}M$; $1,2 \times 10^{-3}M$; $3,8 \times 10^{-3}M$ e $1,2 \times 10^{-4}M$ para os compostos 5, 6, 7, 10, 11 e 12 e os compostos 15, 16, 17, 20, 21 e 22 apresentaram as seguintes concentrações: $3,0 \times 10^{-2}M$; $9,5 \times 10^{-3}M$; $3,0 \times 10^{-3}M$; $9,5 \times 10^{-4}M$ e $3,0 \times 10^{-4}M$. Pode-se observar que os compostos 3, 4, 8, 9, 13, 14, 18 e 19 foram os menos ativos como inseticidas, apresentando atividade inseticida em concentrações mais altas e os 5, 6, 7, 10, 11 e 12 foram mais tóxicos dos bisfosforoamidatos testados, estes resultados são semelhantes aos obtidos com as *musca domestica*, pois o mais ativo em *Stomoxys calcitrans* foi também o mais ativo para *musca domestica* e *Artemia salina*.

As concentrações utilizadas dos bisfosforoditioatos foram às mesmas utilizadas no bioensaio com *Musca domestica*, sendo que as duas espécies apresentaram comportamentos diferentes, pois as *Stomoxys calcitrans* apresentam índice de mortalidade relativamente maior.

Neste bioensaio foi utilizado como padrão o inseticida crufomato nas concentrações de $1,2 \times 10^{-2}M$; $4,5 \times 10^{-3}M$; $1,7 \times 10^{-3}M$, $6,0 \times 10^{-4}M$ e $2,0 \times 10^{-4}M$ para *Musca domestica* e $2,0 \times 10^{-3}M$; $1,5 \times 10^{-3}M$; $4,1 \times 10^{-3}M$; $4,0 \times 10^{-5}M$ e $2,0 \times 10^{-5}M$.

As concentrações testadas, o número de mortalidade, o número de testemunhas para as espécies testadas estão apresentados nas Tabelas mostradas no APÊNDICE C.

Os valores de DL_{50} foram calculados através de análises de regressão-probita (DL_{50}) utilizando o programa POLO-PC, que executou os cálculos de DL_{50} a partir das concentrações aplicadas, das médias de moscas mortas e médias de testemunhas. As DL_{50} dos vinte e dois compostos sintetizados sobre adultos de *Musca domestica* estão apresentados Tabelas 15 e 16, com valores expressos em molaridade(M).

Os valores de DL_{50} obtidos com *Stomoxys calcitrans* foram menores do que com as *musca domestica*, podendo assim ressaltar uma maior susceptibilidade de *Stomoxys calcitrans* para os compostos aplicados. Em ambas as espécies, os compostos 5, 23 e 24 foram bastante tóxicos com valores de DL_{50} baixos, inclusive o composto 24 foi o mais ativo como inseticida, pois apresentou uma maior atividade inseticida do que o crufomato (inseticida comercial). Isto é um indicativo possível de um novo composto com potencial atividade inseticida despertando, assim, o interesse para outros testes da referida amostra. Os compostos 3, 4, 8, 9, 13, 14, 18 e 19 foram os menos tóxicos, apresentando valores de DL_{50} na ordem de 10^{-2} para *Musca domestica* e 10^{-3} para *Stomoxys calcitrans*.

Tabela 15: Valores de DL₅₀ obtidos no ensaio contra *Musca domestica*

Nº	DL ₅₀ (x10 ⁻² M)	Nº	DL ₅₀ (x10 ⁻² M)
3	2,62	14	3,50
4	2,24	15	0,40
5	0,25	16	0,80
6	0,38	17	0,47
7	0,29	18	4,70
8	3,56	19	3,97
9	2,84	20	0,95
10	0,31	21	1,62
11	0,49	22	1,22
12	0,32	23	0,19
13	4,16	24	0,07

Inseticida "Cruformato" DL₅₀ igual a 0,216x10⁻²M

Tabela 16: Valores de DL₅₀ obtidos no ensaio contra *Stomoxys calcitrans*.

Nº	DL ₅₀ (x10 ⁻² M)	Nº	DL ₅₀ (x10 ⁻² M)
3	0,80	14	0,76
4	0,63	15	0,27
5	0,08	16	0,49
6	0,20	17	0,29
7	0,14	18	0,15
8	0,84	19	0,12
9	0,71	20	0,52
10	0,17	21	0,70
11	0,26	22	0,61
12	0,19	23	0,07
13	0,90	24	0,02

Inseticida "Cruformato" DL₅₀ igual a 0,10x10⁻²M

Comparando-se os valores de DL₅₀, conforme é mostrado na **Figura 30** para *Musca domestica* e a **Figura 31** para *Stomoxys calcitrans*, os compostos **3, 4, 8, 9, 13, 14, 18, 19** não são ativos como inseticidas contra as espécies testadas, quando comparados com o inseticida cruformato e com os demais compostos. Não houve diferença significativa de atividade inseticida entre os compostos com o grupo etóxido e propóxido para *Musca domestica* e *Stomoxys calcitrans*, todos os compostos com esses grupos apresentam valores de DL₅₀ relativamente altos e próximos. Houve, no entanto, diferença de susceptibilidade entre as espécies, sendo que as moscas das espécies *Stomoxys calcitrans* é mais sensível a todos os compostos testados. Dentre os bisfosforoamidatos, testados os com o grupo butóxido. (**5, 10, 15 e 20**) foram os mais tóxicos em ambas as espécies com valores de DL₅₀ mais próximos ao valor de DL₅₀ do inseticida cruformato, seguido dos isobutóxidos (**7, 12, 17 e 22**) e isopropóxidos (**6, 11, 16 e 21**).

Observou-se que os bisfosforoditioatos (23 e 24) testados em *Stomoxys calcitrans* e em *Musca domestica* são bem mais ativos que os bisfosforoamidatos e apresentam valores significativos de DL_{50} , na ordem de 10^{-3} (23) e 10^{-4} (24) para *Musca domestica* e 10^{-4} para *Stomoxys calcitrans*.

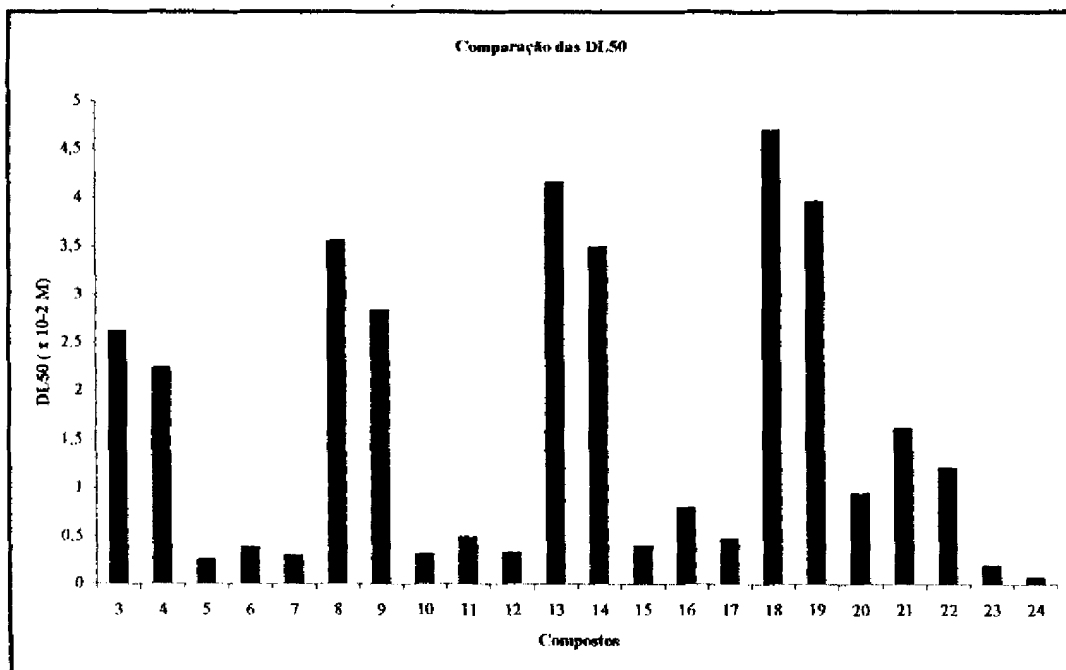


Figura 30: Comparação dos valores das DL_{50} obtidos no bioensaio de letalidade contra *Musca domestica* para os compostos sintetizados.

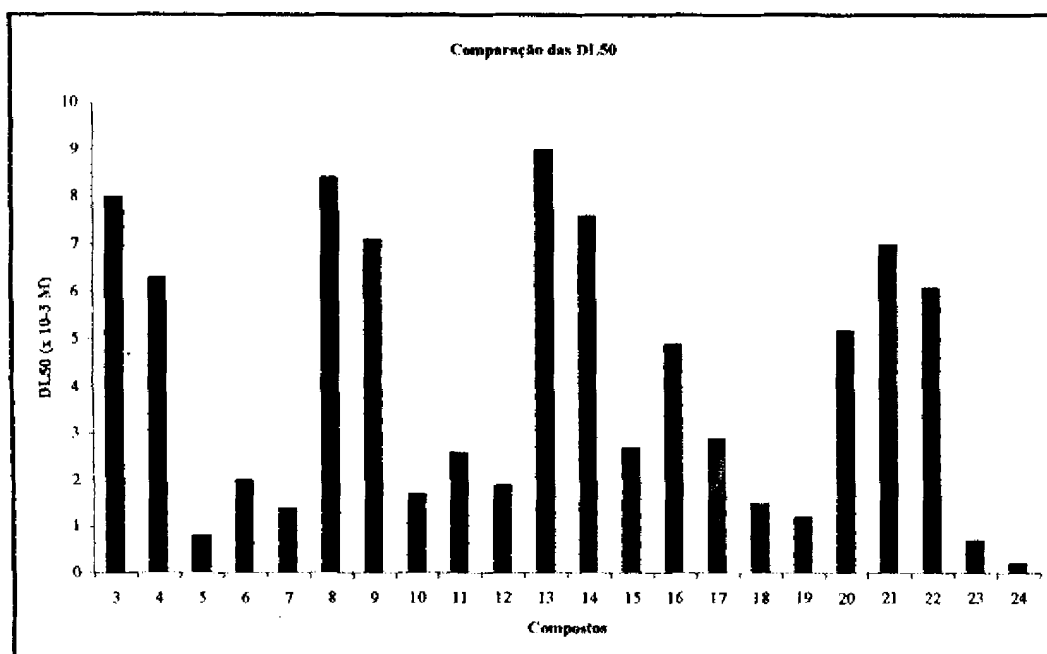


Figura 31: Comparação dos valores das DL_{50} obtidos no bioensaio de letalidade contra *Stomoxys calcitrans* para os compostos sintetizados.

Observa-se através das **Figuras 30 e 31**, que as espécies apresentaram susceptibilidade ao mesmos compostos, o mais ativo contra *Musca* foi o mais ativo contra *Stomoxys calcitrans*, sendo a série 1,3-propanoditiol a mais ativa como inseticida do que a série 1,4-butilenodiamina. As espécies testadas são mais susceptíveis aos bisfosforoditioatos do que os bisfosforoamidatos, e o composto **24** é o mais ativo de todos os compostos testados.

A maior atividade inseticida do composto **24** pode estar relacionada com a inibição da enzima acetilcolinesterase, uma vez que os inseticidas organofosforados são inibidores clássicos da enzima AChE.

Baseando-se no mecanismo de inibição da AChE, mostrado no **Esquema 19** pág. 57, os bisfosforoditioatos apresentam um bom grupo de saída, que por sua vez são necessários para favorecer a fosforilação do sítio enzimático da AChE e conseqüentemente a inibição da enzima.

Os bisfosforoamidatos não apresentam bom grupo de saída na molécula, o que dificulta assim a interação do composto com as unidades enzimáticas da AChE, pois a primeira etapa de interação do composto com as unidades ativas enzimáticas é a adição do resíduo serina na molécula, seguido da quebra da ligação entre o átomo de fósforo e o grupo de saída.

Dentre os bisfosforoditioatos, testados o composto **24** foi mais ativo que o composto **23**, em virtude, talvez, de possuir em suas extremidades cadeias isobutilícas, o que favorece a cisão da ligação C-O do grupo isobutóxido, resultando na formação de um carbocátion estável por migração de hidrogênio do carbono metínico, que reage com a água presente no sítio enzimático formando um álcool correspondente. O oxigênio carregado negativamente se liga, irreversivelmente, ao sítio ativo da enzima, causando o envelhecimento da acetilcolinesterase, que não irá catalisar a reação de hidrólise da acetilcolina e o acúmulo de acetilcolina no sistema nervoso do inseto, causa a sua morte. Este processo ocorre na última etapa de desativação da enzima e compostos que não formam carbocátions estáveis, terão esta etapa dificultada e se ainda não possuir um bom grupo de saída ligado ao átomo de P, não irá interferir na inibição da enzima.

Comparando-se os valores obtidos de DL_{50} dos bisfosforoamidatos e bisfosforoditioatos contra *Musca domestica* e *Stomoxys calcitrans* com os valores obtidos da literatura de DL_{50} dos inseticidas comerciais, mostrados na **Tabela 17**, o composto **24** é o que mais se identifica como inseticida, apresentando valores de DL_{50} próximos a alguns inseticidas comerciais.

Tabela 17. Valores de DL₅₀ de inseticidas comerciais obtidos da literatura.

Inseticidas	DL ₅₀ (Mx10 ⁻³) <i>Musca</i>	Inseticidas	DL ₅₀ (Mx10 ⁻³) <i>Stomoxys</i>
Deltametrina	1,87	Ronel	0,023
Permetrina	0,097	Fanfur	0,034
Ronel	1,25	Crufomato	1,64
Malaoxon	0,60	Triclorfon	4,75
Composto 23	1,90	Composto 23	0,70
Composto 24	0,70	Composto 24	0,20

5.9.3 Ensaio de germinação e desenvolvimento de sementes de alface

A germinação das sementes usando os bisfosforoamidatos, o controle (testemunha: água + sementes) e o herbicida “Podium” foi pouco afetada, a partir das concentrações estudadas, uma vez que em alguns casos houve somente 5% de sementes sem germinar. Tanto os bisfosforoamidatos como o controle e o herbicida apresentam poucos efeitos significativos na inibição da germinação das sementes de alface, porém os bisfosforoamidatos apresentam-se estatisticamente diferentes do controle, do herbicida e diferentes entre si em relação ao desenvolvimento de plântulas normais, ao crescimento radicular (crescimento da raiz) e ao crescimento da parte aérea (desenvolvimento das folhas). A maioria dos bisfosforoamidatos apresenta estes efeitos nas concentrações de 75, 150, 300 e 600 ppm, para os compostos 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20. Estes compostos apresentam os menores valores de concentração para os bisfosforoamidatos testados neste bioensaio de germinação de sementes de alface, enquanto que os compostos 5, e 22 apresentam influência no crescimento e no desenvolvimento das plântulas somente nas concentrações de 100, 200, 400 e 800 ppm. Os compostos 4 e 21 foram os menos ativos apresentando somente atividade inibitória em concentrações muito elevadas, que correspondem a 375, 750, 1500 e 3000 ppm.

Esses ensaios não foram realizados com os bisfosforoditioatos, devido à baixa solubilidade em água que esses compostos apresentam e solventes orgânicos inibem a germinação.

É interessante ter como resultado a baixa interferência dos bisfosforoamidatos em sementes de alface, já que o objetivo é a síntese de compostos que apresentem somente atividade inseticida, sendo seletivos para insetos e que não afetem o meio ambiente.

A inibição da germinação e do desenvolvimento das plântulas pelo herbicida Podium são mostradas nas **Figuras 32**.

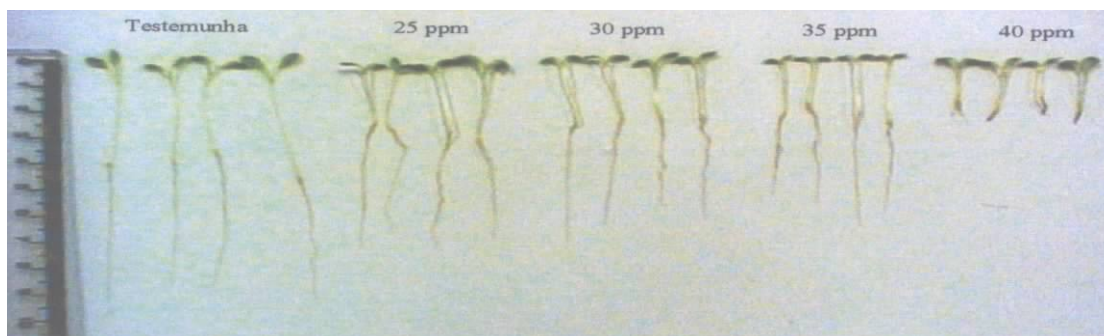


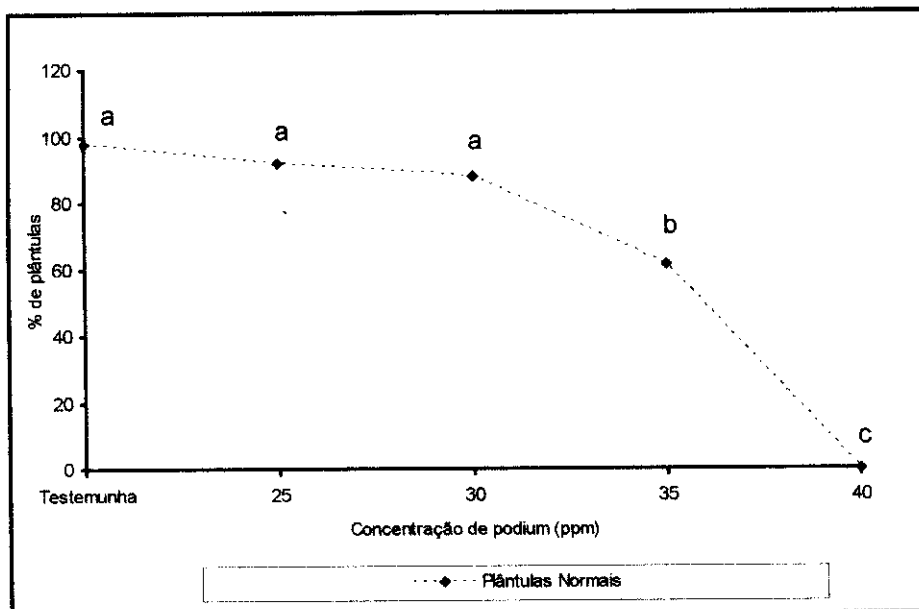
Figura 32: Efeito do herbicida “Podium” na germinação de plântulas de alface.

Como pode ser observado, o herbicida influenciou, significativamente, o desenvolvimento de plântulas normais, o crescimento radicular (crescimento da raiz) e o crescimento da parte aérea, que são responsáveis pelo processo de fotossíntese da planta. Foi observado, que em todas as concentrações estudadas, houve redução no desenvolvimento da parte aérea em comparação com o controle, mas em relação ao crescimento radicular podemos dizer que somente na concentração de 40 ppm houve um efeito inibitório significativo do crescimento radicular. Neste bioensaio utilizando o herbicida, 99% das sementes que germinaram geraram plantas deformadas, seja na parte aérea ou no crescimento radicular. Os dados obtidos podem ser observados na **Tabela 18** e na **Figura 32**.

Tabela 18: Dados médios de 4 repetições do comprimento (cm) da raiz primária (CR), da parte aérea (CPA), percentagem (%) de plântulas normais (PN), plântulas deformadas (PD) e sem germinar (SG) de plântulas de alface, após a aplicação do herbicida.

Concentração (ppm)	Herbicida “ <i>PODIUM</i> ”				
	PN (%)	PD (%)	SG (%)	CR (cm)	CPA (cm)
<i>Testemunha</i>	98	1	1	5,96	2,94
25	92	8	0	4,56	2,71
30	88	13	0	4,46	2,63
35	61	39	1	4,31	2,04
40	0	99	1	0,75	1,32

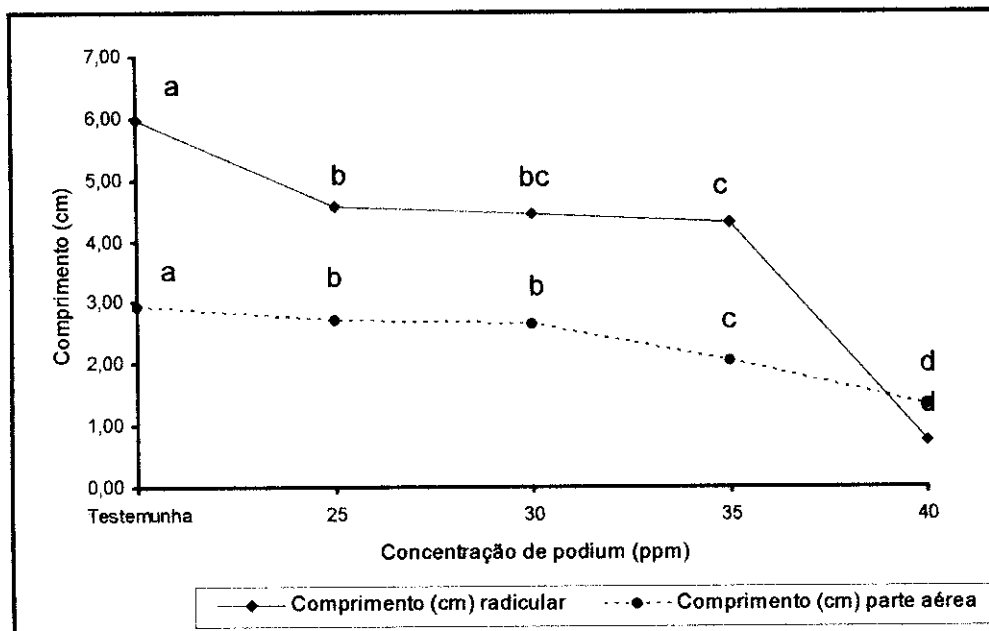
Uma vez obtidos esses dados de plântulas normais, crescimento radicular e parte aérea foram elaborados os gráficos mostrados nas **Figuras 33e 34**.



Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Figura 33: Efeito na germinação pelo herbicida podium.

Podemos observar, claramente, através do gráfico apresentado na **Figura 34** uma diminuição significativa na porcentagem de plântulas normais em 40 ppm.



Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Figura 34: Efeito no comprimento radicular e na parte aérea pelo herbicida podium

O gráfico mostrado na **Figura 34** informa que o comprimento radicular foi significativamente influenciado pela variação de concentração. À medida que se aumentava a concentração do herbicida, o crescimento da raiz reduzia-se em comparação com o

controle. Em todas as concentrações o desenvolvimento da parte aérea permaneceu basicamente constante, diferenciando-se somente do controle.

Com os compostos 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20 foram utilizados os mesmos valores de concentrações, mas mesmo estes apresentaram resultados diferentes para o desenvolvimento das plântulas, para o crescimento radicular e para a parte aérea, podendo ser observado nas **Figuras** mostradas no **apêndice D**. Os compostos não inibiram a germinação das sementes, onde 96% das sementes testadas germinaram.

Analisando as **Figuras** mostradas no **apêndice D**, os valores encontrados nas **Tabelas 19 e 20**, pode-se perceber que estes bisfóforoamidatos apresentam comportamentos diferentes neste bioensaio. Os compostos 3, 6, 7, 9, 12 e 19 interferem significativamente na porcentagem de plântulas normais, no crescimento radicular e o da parte aérea na concentração de 600 ppm. Nesta mesma concentração, o composto 18 apresenta 94% de plântulas normais e, sendo mais seletivo, inibi somente o crescimento da parte aérea. Os compostos 8, 11, 14, 15, 16, 17 e 20 são bem mais ativos que os compostos citados acima, pois numa menor concentração, 300 ppm, interferem no desenvolvimento de plântulas normais, no crescimento radicular e no da parte aérea, porém os compostos 11, 17 e 20 impediram o crescimento da parte aérea mais significativamente, numa concentração mais baixa, 150 ppm. O composto 13, na concentração de 150 ppm, inibi o desenvolvimento de plântulas normais, gerando 100% de plântulas deformadas. Dentre os compostos testados nas concentrações de 75, 150, 300 e 600 ppm, observou-se que o composto 10 é o mais ativo, pois obteve-se 0% de plântulas normais em 75 ppm, no qual todas as plântulas que se desenvolveram apresentaram-se 100% deformadas. Seus resultados de atividade tóxica foram o que mais se aproxima com os obtidos do herbicida “Podium”, que reduz gradativamente a obtenção de plântulas normais em 40 ppm e o composto 10 em 75 ppm.

Tabela 19: Dados médios de 4 repetições do comprimento (cm) da raiz primária (CR), da parte aérea (CPA), percentagem (%) de plântulas normais (PN), plântulas deformadas (PD) e sem germinar (SG) de plântulas de alface, após a aplicação dos compostos 3, 6, 7, 8, 9, 10 e 11.

Compostos	Concentração(ppm)	PN (%)	PD (%)	SG(%)	CR (cm)	CPA (cm)
3	75	96,00	3,00	1,00	5,50	2,82
6		92,00	8,00	0,00	6,45	2,98
7		87,00	13,00	0,00	5,41	2,63
8		90,00	5,00	5,00	5,48	2,52
9		92,00	2,00	6,00	5,00	2,26
10		0,00	99,00	1,00	4,56	1,41
11		96,00	4,00	0,00	7,00	2,93
3	150	90,00	9,00	1,00	5,46	2,69
6		92,00	8,00	0,00	6,26	2,97
7		72,00	28,00	0,00	5,05	2,11
8		72,00	24,00	4,00	5,17	2,05
9		80,00	16,00	4,00	4,49	1,90
10		0,00	98,00	2,00	2,58	1,19
11		58,00	42,00	0,00	6,59	1,86
3	300	80,00	17,00	3,00	4,50	2,59
6		76,00	23,00	1,00	6,04	2,54
7		50,00	49,00	1,00	4,85	2,02
8		21,00	76,00	3,00	1,39	1,96
9		42,00	54,00	4,00	4,09	1,21
10		0,00	99,00	1,00	0,69	0,90
11		7,00	93,00	0,00	5,92	1,63
3	600	50,00	47,00	3,00	3,33	2,11
6		56,00	42,00	2,00	5,34	2,34
7		0,00	95,00	5,00	4,61	1,21
8		0,00	94,00	6,00	0,54	1,03
9		14,00	79,00	7,00	3,74	0,31
10		0,00	100,00	0,00	0,35	0,73
11		2,00	97,00	1,00	1,31	0,95

Tabela 20: Dados médios de 4 repetições do comprimento (cm) da raiz primária (CR), da parte aérea (CPA), percentagem (%) de plântulas normais (PN), plântulas deformadas (PD) e sem germinar (SG) de plântulas de alface, após a aplicação dos compostos 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20.

Compostos	Concentração(ppm)	PN (%)	PD (%)	SG(%)	CR (cm)	CPA (cm)
12	75	96,00	2,00	2,00	4,98	2,65
13		80,00	19,00	1,00	5,05	2,51
14		93,00	5,00	2,00	5,10	2,86
15		86,00	13,00	1,00	5,60	2,24
16		96,00	3,00	1,00	5,14	2,69
17		93,00	2,00	5,00	4,97	2,53
18		96,00	0,00	3,00	5,04	2,82
19		93,00	3,00	4,00	5,06	2,76
20		83,00	15,00	2,00	5,48	2,52
12		150	86,00	13,00	1,00	4,97
13	0,00		93,00	7,00	3,18	0,43
14	89,00		10,00	1,00	4,15	2,53
15	34,00		65,00	1,00	5,24	2,06
16	97,00		3,00	0,00	5,18	2,30
17	18,00		75,00	7,00	3,22	1,73
18	97,00		0,00	4,00	5,02	2,82
19	88,00		10,00	2,00	4,25	2,73
20	73,00		23,00	4,00	5,04	1,88
12	300		73,00	26,00	1,00	4,34
13		0,00	90,00	10,00	3,18	0,43
14		84,00	15,00	1,00	2,56	2,53
15		2,00	96,00	2,00	4,78	1,95
16		5,00	94,00	1,00	2,49	1,76
17		0,00	96,00	4,00	1,64	1,58
18		95,00	2,00	3,00	5,03	2,81
19		61,00	35,00	4,00	2,81	2,58
20		19,00	77,00	4,00	1,58	1,52
12		600	39,00	59,00	2,00	3,00
13	0,00		22,00	22,00	2,77	0,38
14	54,00		44,00	2,00	2,27	2,01
15	0,00		99,00	1,00	1,43	1,53
16	0,00		99,00	1,00	2,06	1,36
17	0,00		94,00	6,00	1,29	1,30
18	94,00		3,00	3,00	5,02	2,82
19	41,00		55,00	4,00	2,12	2,55
20	3,00		92,00	5,00	0,57	0,93

De acordo com os dados obtidos das médias de 4 repetições de percentagem de plântulas normais, crescimento da parte aérea e da raiz, construiu-se os gráficos dos compostos mostrados nas Figuras 35 - 37.

Comparando-se a interferência dos composto 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20 no desenvolvimento de plântulas normais, como pode-se observar pela

Figura 35, o composto **10** é o mais ativo de todos os compostos testados em sementes de alface, pois na concentração de 75 ppm todas as plântulas estavam deformadas, como podemos observar pelo gráfico, mostrado na **Figura 35**. Este composto é o que mais se aproximou dos dados obtidos pelos testes com o herbicida comercial para o desenvolvimento de plântulas normais. O composto **13** é o segundo mais ativo, seguido do composto **10** nestas concentrações, uma vez que na concentração de 150 ppm apresenta 100% de plântulas deformadas. Os compostos **15**, **16** e **17** na concentração de 300 ppm apresentam, praticamente, 0% de plântulas normais e os demais passaram a interferir no desenvolvimento das plântulas a partir de 600 ppm. O composto **18** foi o menos ativo, pois apresenta resultados semelhantes ao do controle (0 ppm), onde não inibi e nem estimula o desenvolvimento da plântula de alface. O composto **18** apresenta os mesmos resultados nas diferentes concentrações, ou seja, as sementes de alface não sofrem interferência com o composto **18**.

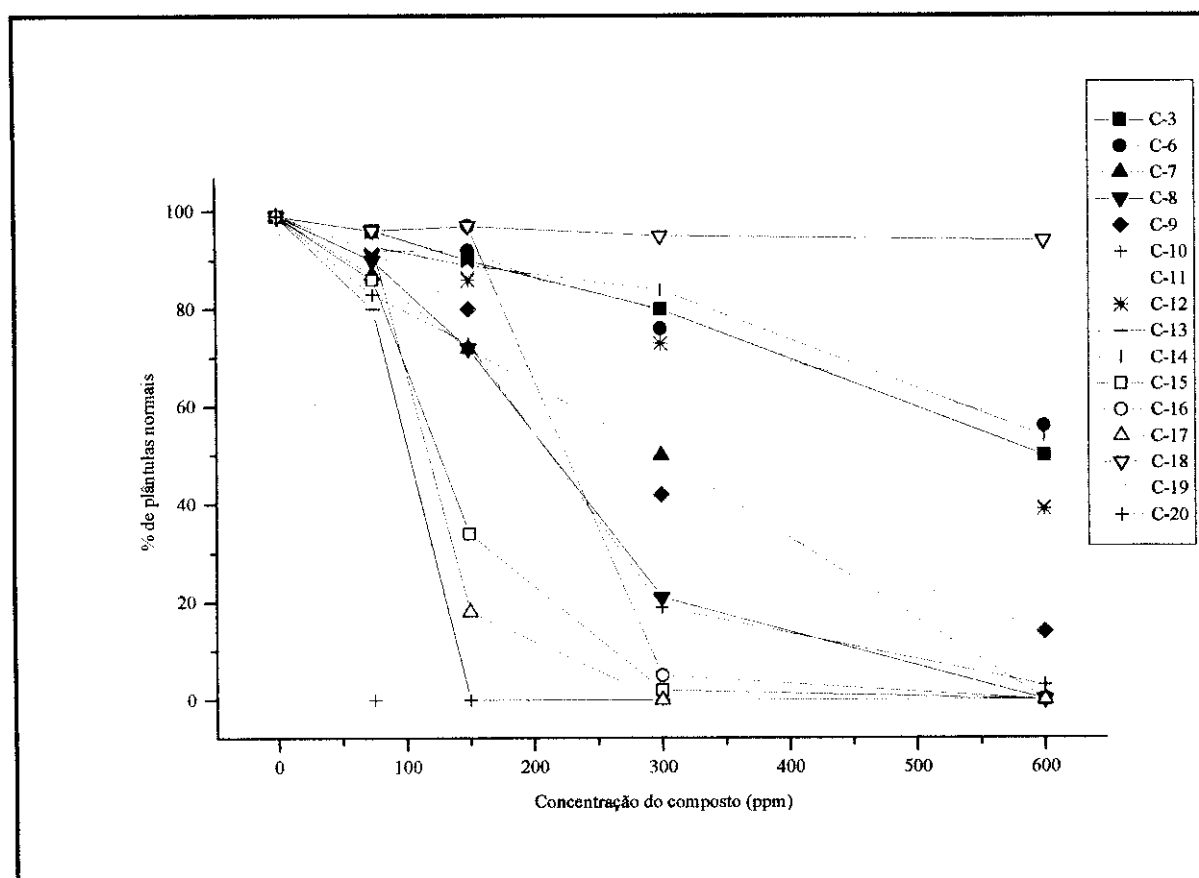


Figura 35: Comparação do efeito dos compostos 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20 no desenvolvimento das plântulas de alface.

De acordo com o gráfico das Figuras 36 e 37, o composto 10 foi também o mais ativo, pois inibiu gradativamente o crescimento da parte aérea e radicular a partir de 75 ppm,

podendo-se observar que na concentração de 300 ppm o crescimento da parte aérea era de 0,69, enquanto do controle era de 6,0 cm e o radicular 0,90 cm e o do controle de 3,0 cm.

O composto 16 e 18 foram os menos ativos, pois interferiram muito pouco no crescimento radicular. Os resultados obtidos com as diferentes concentrações foram praticamente os mesmos. Os demais compostos passaram a inibir o crescimento radicular a partir de 150 ppm e, na concentração de 600 ppm, o crescimento estava bem mais reduzido em relação ao controle, como pode ser visto, claramente, pelos resultados obtidos dos compostos 8 e 13.

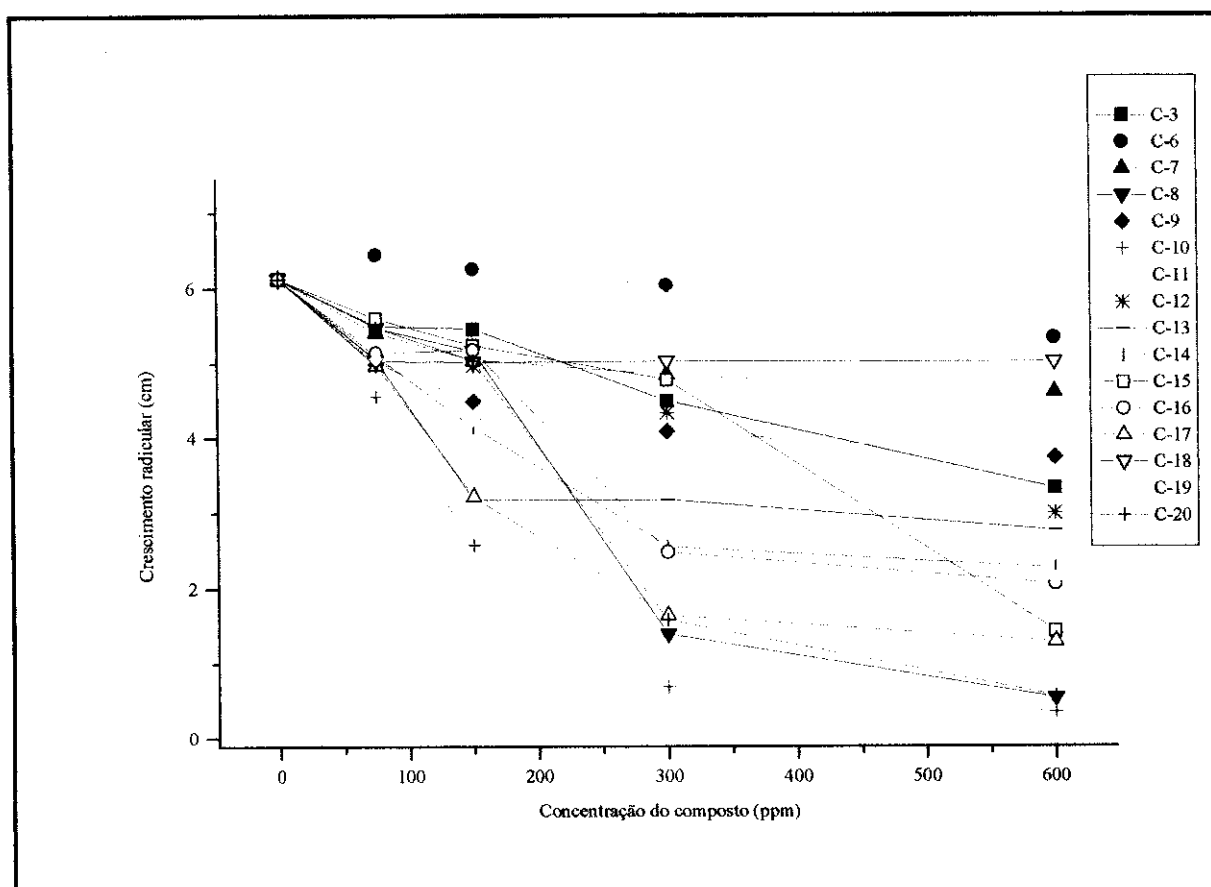


Figura 36: Comparação do efeito dos compostos 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20 no crescimento radicular.

O composto 13 foi o mais ativo e mais seletivo dos compostos testados nestas concentrações; pois inibiu gradativamente somente o crescimento da parte aérea, como pode ser visto pelo gráfico na Figura 37, a partir de 150 ppm. O composto 10 foi o mais ativo reduzindo, praticamente, o crescimento radicular e o desenvolvimento das plântulas, mas em relação ao crescimento da parte aérea foi menos ativo que o composto 13. A maioria dos compostos passaram a reduzir o crescimento da parte aérea a partir de 150 ppm.

O composto 18 é o menos ativo nos três parâmetros analisados, as sementes não sofreram influências na presença deste composto nas concentrações avaliadas.

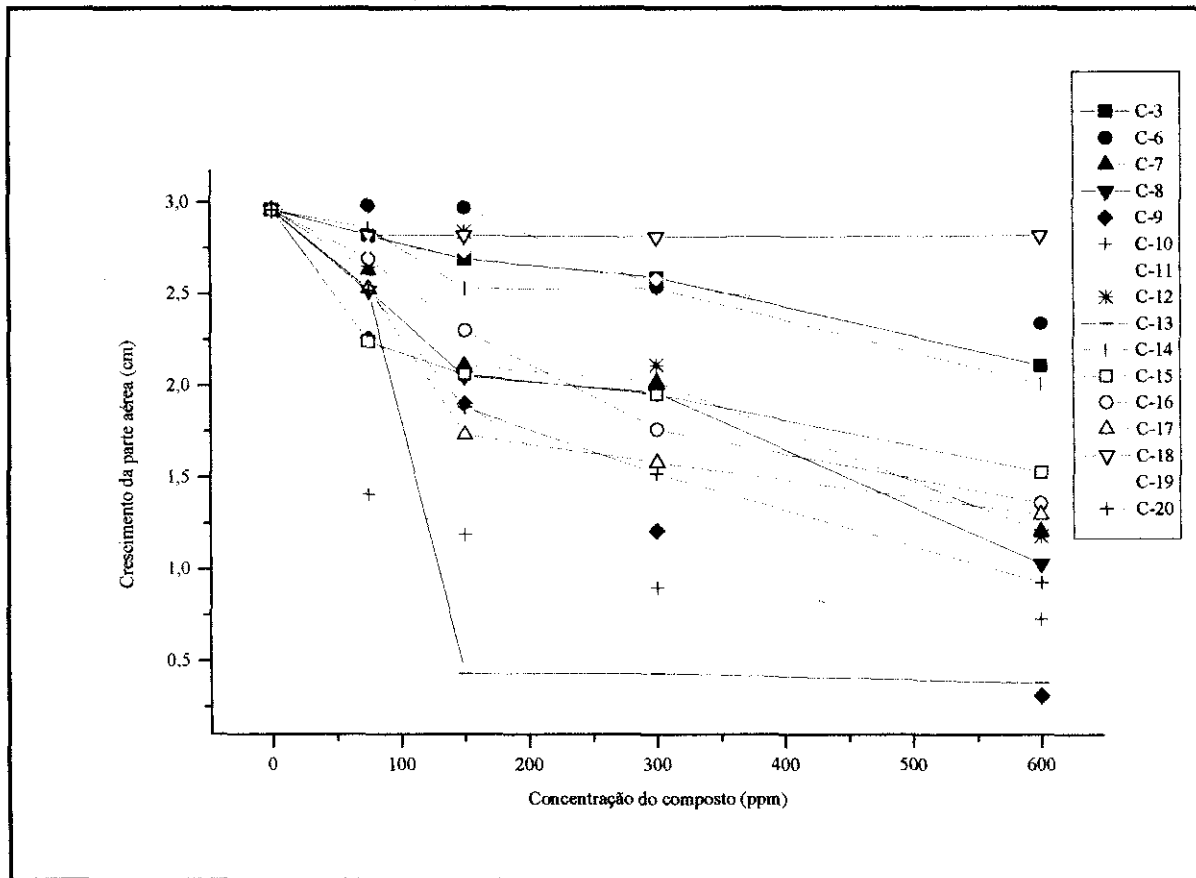


Figura 37: Comparação do efeito dos compostos 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20 no crescimento da parte aérea.

Os compostos 5 e 22 interferem no desenvolvimento de plântulas de alface e no crescimento da parte aérea e radicular nas concentrações correspondentes a 100, 200, 400 e 800 ppm, como mostra a Tabela 21 e as Figuras no Apêndice D. Os compostos apresentam comportamentos diferentes nestas concentrações estudadas.

Tabela 21: Dados médios de 4 repetições do comprimento (cm) da raiz primária (CR), da parte aérea (CPA), percentagem (%) de plântulas normais (PN), plântulas deformadas (PD) e sem germinar (SG) de plântulas de alface, após a aplicação dos compostos 5 e 22.

Compostos	Concentração(ppm)	PN (%)	PD (%)	SG(%)	CR (cm)	CPA (cm)
	Testemuha	77,00	17,00	5,00	3,59	2,42
5	100	70,00	24,00	4,00	3,46	1,71
22		46,00	40,00	12,00	2,36	1,60
5	200	66,00	26,00	4,00	3,28	1,56
22		1,00	93,00	1,00	1,85	1,39
5	400	29,00	69,00	1,00	3,16	1,38
22		0,00	90,00	5,00	1,06	1,01
5	800	0,00	95,00	4,00	1,32	0,93
22		0,00	51,00	2,00	0,18	0,92

Conforme o gráfico na **Figura 38**, o composto 5 é menos ativo que o composto 22 e tem somente ação inibitória a partir de 400 ppm, obtendo 29% de plântulas normais e 81% de deformadas e em 800 ppm apresenta 100% de plântulas deformadas, porém o composto 22 é mais ativo reduzindo o desenvolvimento de plântulas normais à 0% em 200 ppm.

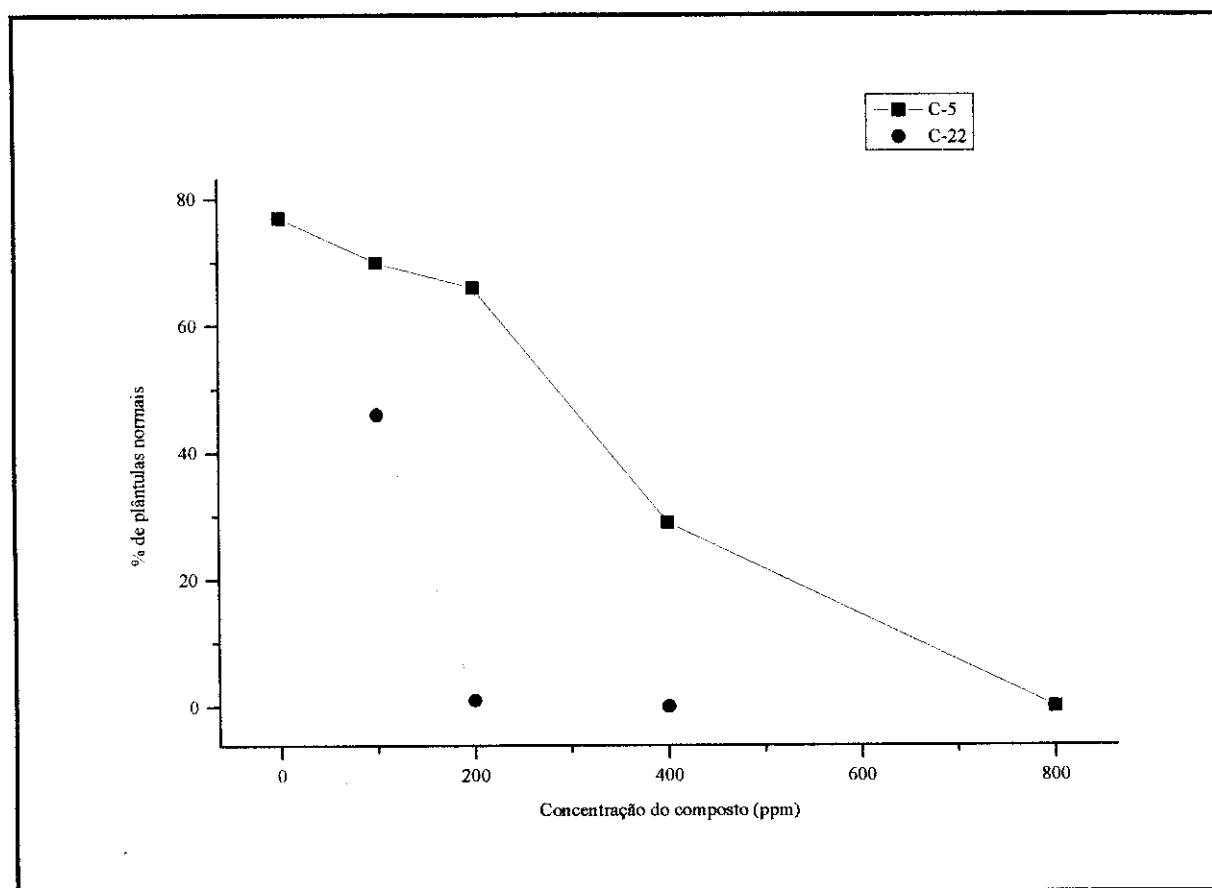


Figura 38: Comparação do efeito dos compostos 5 e 22 no desenvolvimento das plântulas de alface.

De acordo com o gráfico na **Figura 39**, os compostos **5** e **22** pouco influenciam no crescimento radicular. O composto **22** na concentração de 800 ppm reduz significativamente o crescimento radicular.

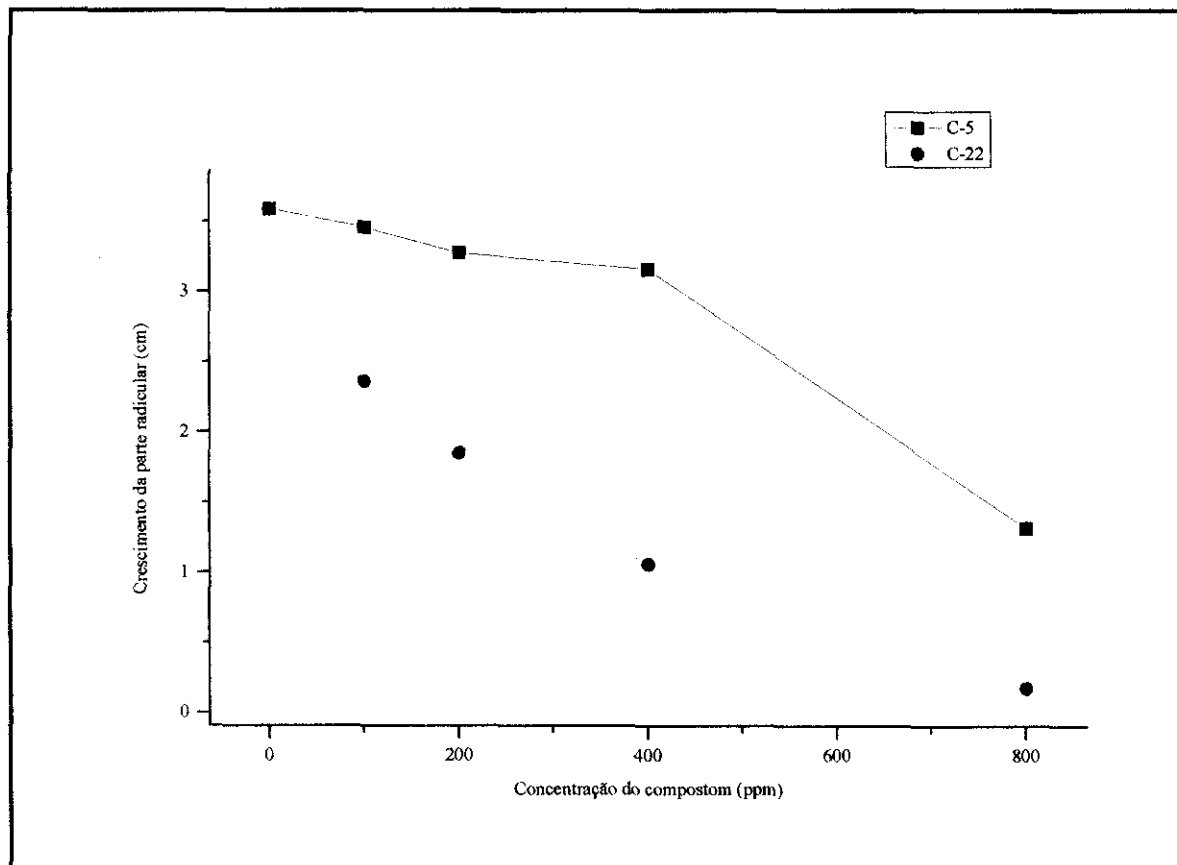


Figura 39: Comparação do efeito dos compostos 5 e 22 no crescimento radicular

Ambos os compostos passam a reduzir o crescimento da parte aérea a partir de 100 ppm e na concentração de 800 ppm não há crescimento da parte aérea, pois o controle apresenta um crescimento de 2,42 cm e os compostos **5** e **22** apresentam 0,93 e 0,92 cm, respectivamente.

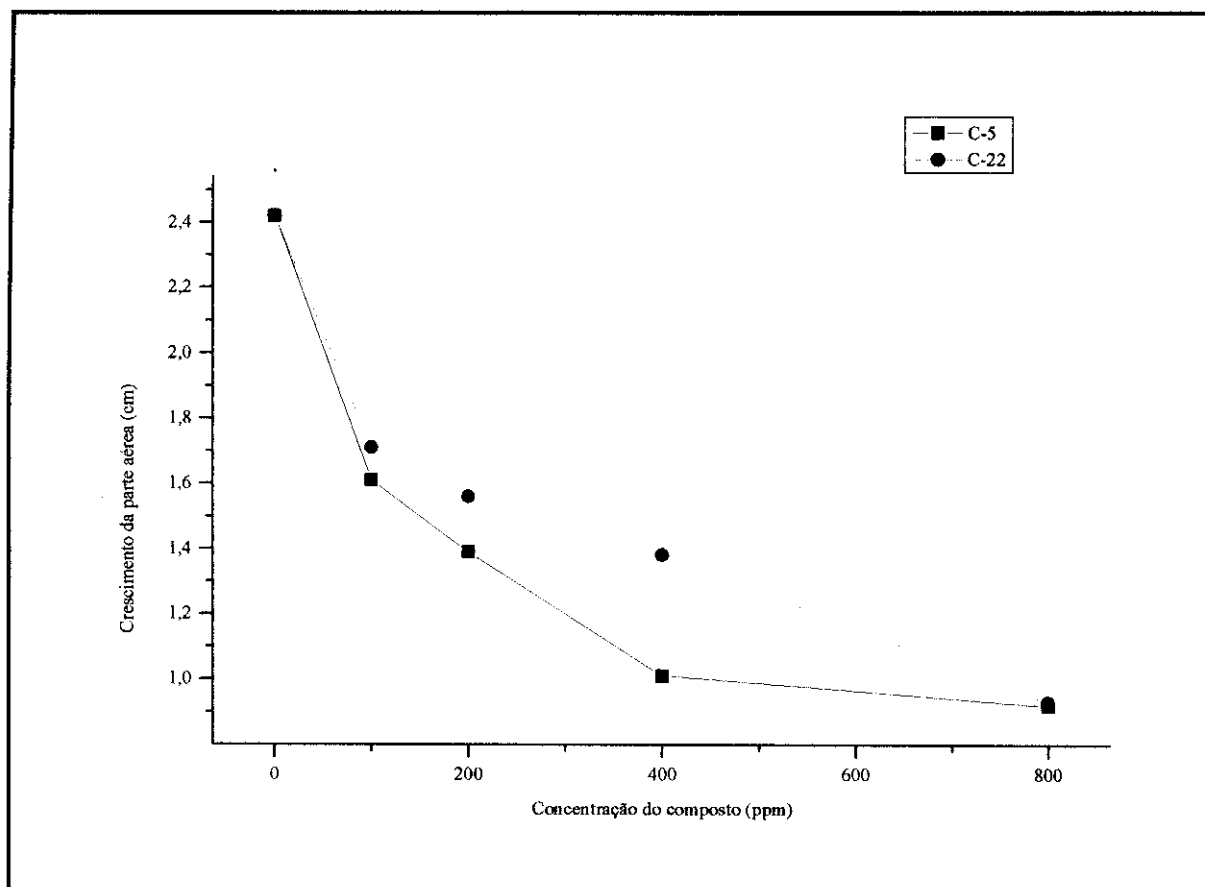


Figura 40. Comparação do efeito dos compostos 5 e 22 no crescimento da parte aérea.

Os compostos 4 e 21 são os que pouco influenciam no crescimento da parte radicular e aérea, em 1500 ppm e 3000 ppm, porém em 375 ppm reduzem significativamente, na germinação de plântulas normais, como mostra as Figuras 41-43 e a Tabela 22.

Tabela 22: Dados médios de 4 repetições do comprimento (cm) da raiz primária (CR), da parte aérea (CPA), percentagem (%) de plântulas normais (PN), plântulas deformadas (PD) e sem germinar (SG) de plântulas de alface, após a aplicação dos compostos 4 e 21.

Compostos	Concentração(ppm)	PN (%)	PD (%)	SG(%)	CR (cm)	CPA (cm)
	Testemuha	78,00	20,00	2,00	4,07	2,98
4	375	21,00	70,00	4,00	4,35	1,87
21		15,00	80,00	1,00	4,45	1,58
4	750	4,00	95,00	1,00	4,27	1,60
21		0,00	97,00	0,00	3,77	1,21
4	1500	0,00	93,00	3,00	2,82	0,99
21		0,00	91,00	4,00	2,80	0,96
4	3000	0,00	94,00	3,00	1,24	0,81
21		0,00	88,00	1,00	1,38	0,83

De acordo com a **Figura 41**, os compostos **4** e **21** apresentam resultados semelhantes nas concentrações estudadas, ambos reduzem o desenvolvimento das plântulas a partir de 375 ppm e em 1500 ppm apresentaram 0% de plântulas normais, todas se desenvolvem deformadas nesta concentração.

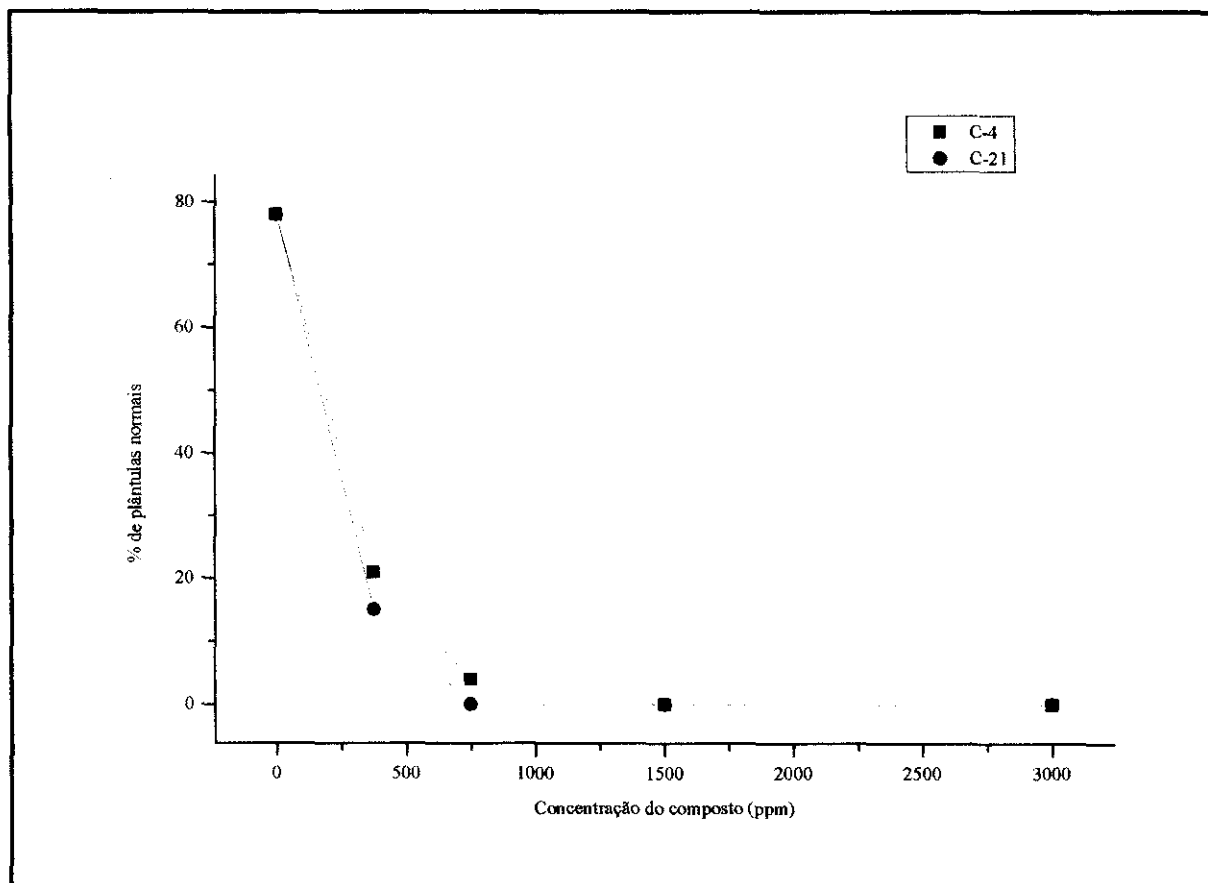


Figura 41: Comparação do efeito dos compostos 4 e 21 no desenvolvimento das plântulas de alface.

Conforme os gráficos das Figuras 42 e 43, os compostos 4 e 21 apresentam ação inibitória no crescimento da parte radicular, somente a partir de 1500 ppm e em 3000 ppm, concentração relativamente alta é que há uma redução significativa no crescimento radicular. Estes compostos também influenciaram no crescimento da parte aérea a partir da concentração de 1500 ppm e em 3000 ppm não há crescimento da parte aérea, quando comparado com o crescimento obtido no tratamento com o controle.

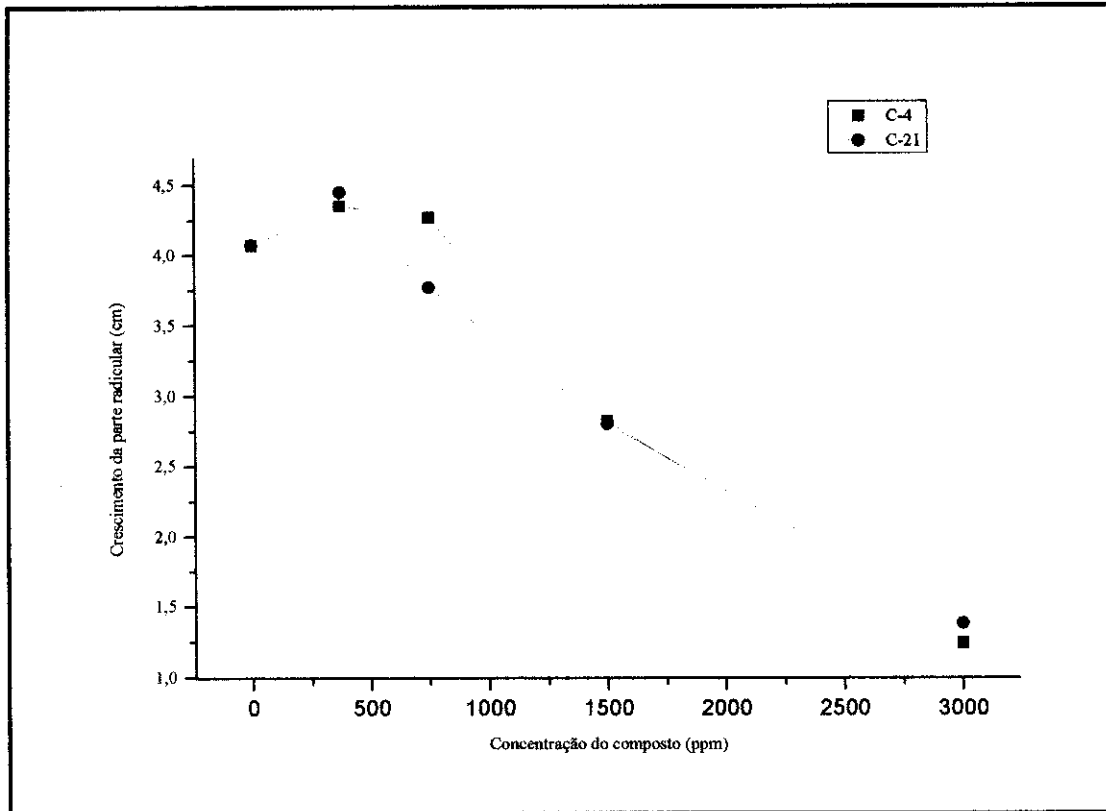


Figura 42: Comparação do efeito dos compostos 4 e 21 no crescimento radicular.

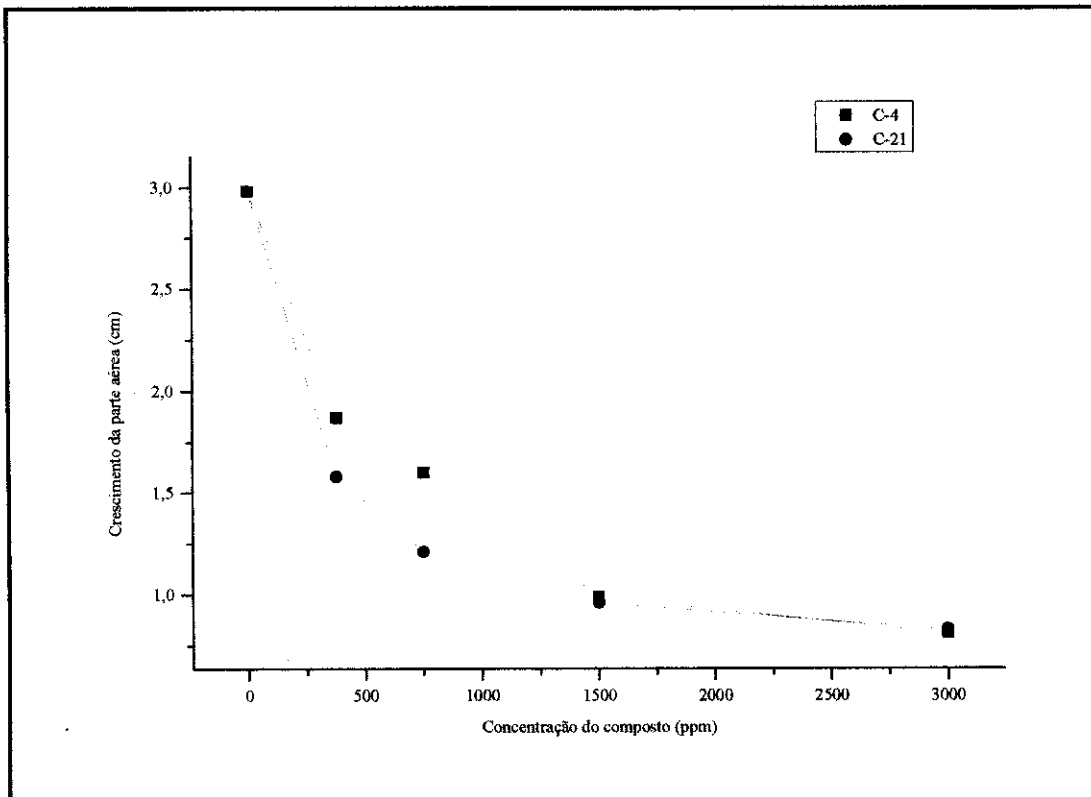


Figura 43: Comparação do efeito dos compostos 4 e 21 no crescimento da parte aérea.

O mecanismo de inibição por herbicidas organofosforados ou reguladores de crescimento de plantas não é muito conhecido, porém os herbicidas de um modo geral agem em regiões distintas no sistema celular de uma planta. Eles podem inibir diversas enzimas importantes. Existem os inibidores da enzima ACCase, ALS, EPSP, auxinas sintéticas, inibidores do FSI, FS2, inibidores de Protox, de caroteno, de parte aérea e de mitose. Os bisfosforoamidatos testados influenciaram no desenvolvimento das plântulas de alface, principalmente no crescimento da parte aérea e radicular nas concentrações estudadas. das dessas enzimas citadas acima. Talvez estes compostos sintetizados possam agir somente no crescimento da parte aérea, pois eles apresentaram valores significativos de inibição da parte aérea, mas eles não podem ser considerados tóxicos para as plantas, pois eles apresentaram atividade somente em concentração muito alta.

5.9.4. Ensaio de letalidade sobre camundongos (*Mus musculus*)

Os compostos N,N"-bis-(diisobutilfosforil)-1,3propilenodiamina (17) e N,N"-bis-(diisobutilfosforil)-1,3propilenoditiol (24) foram testados contra camundongos com intuito de avaliar a toxidez aguda desses compostos frente a mamíferos, uma vez que o composto 24 é bastante ativo contra *Musca domestica*, *Artemia salina* e *Stomoxys calcitrans*, apresentando valores de DL₅₀ menores que os obtidos com o inseticida crufomato.

No bioensaio com camundongos os dois compostos testados foram considerados não tóxicos, pois até uma dose de 200 mg/Kg não houve mortalidade dos camundongos e nenhum efeito colateral (pág. 97) foi observado, pela ação dos compostos. Este resultado é muito satisfatório, pois é interessante que os compostos sintetizados apresentem somente atividade tóxica para pragas e não para mamíferos, já que muitos inseticidas comerciais são relativamente tóxicos para mamíferos com valores de DL₅₀ em ratos muito baixos, conforme mostra a Tabela 23.

Tabela 23: Dados de valores de DL₅₀ em ratos de inseticidas tóxicos para mamíferos.

Inseticidas	Parathion	Ethion	Metamidophos	Dichlorvos
DL ₅₀ (mg/Kg)	3,6	27 ^a e 65 ^b	25 ^a e 27 ^b	56 ^a e 80 ^b

^a fêmea e ^b macho

5.10. Estudo de modelagem molecular no Composto mais ativo da série Bisfosforoamidatos *N, N'*-bis(dibutilfosforil)etilenodiamina

De modo a se avaliar a possibilidade dos bisfosforamidatos sintetizados estarem atuando como inibidores da enzima AChE, já que os inseticidas organofosforados atuam como inidores clássicos da enzima AChE, determinamos por meio de métodos teóricos a entalpia de interação entre o mais ativo dos compostos avaliados, e um modelo do sítio ativo enzimático. A aproximação escolhida foi a modelagem molecular com o modelo semi-empírico do aduto formado entre a substância e o modelo do sítio ativo (STEWART, 1989; QIAN & KOVACH, 1993). A escolha deste método está relacionada com o fato de permitir a avaliação de sistemas formados por um número elevado de átomos, da ordem de algumas centenas, dentro da aproximação quântica.

Através da modelagem molecular podemos compreender melhor a maior toxidez atribuída ao composto **5** da série bisfosforoamidatos. De acordo com o mecanismo proposto na literatura (QIAN & KOVACH, 1993) consideramos que o hidrogênio da hidroxila de Ser238 é transferido para um dos átomos de N da cadeia lateral de His480 (correspondente a His440 na AChE de *T.californica*), de modo a aumentar a nucleofilicidade da serina. A geometria inicial do aduto foi construída colocando-se o átomo de P do grupo fosforamidato com os substituintes butilas nas proximidades do átomo de O negativamente carregado de Ser238. Após a otimização, a estrutura do aduto apresentou-se 20,03 kcal/mol mais estável em relação às estruturas de **5** e do sítio ativo separadas e também otimizadas, **Tabela 24**, mostrando que, do ponto de vista da entalpia, esse bisfosforamidato pode efetivamente ligar-se ao sítio ativo enzimático.

Tabela 24: . Dados de ΔH_f calculados (método PM3) para as estruturas envolvidas na inibição proposta da AChE de *D. Melanogaster* pelo bisfosforamidatos, **5**

<i>Estrutura</i>	ΔH_f^a
5	-401,96
DmAChE	-961,06
Aduto DmAChE/ 5	-1383,05

^aEm kcal / mol

A avaliação da estrutura do aduto otimizado mostrou que o átomo de O de Ser238 ficou bastante próximo ao átomo de P (1,79 Å), com este átomo assumido geometria aproximadamente bipiramidal trigonal, **Figura 44**. Ao mesmo tempo, a distância da ligação entre o átomo de P e o átomo de O da fosforila aumentou de 1,45 Å no sítio ativo para

1,55 Å no aduto. Este átomo de O encontra-se a 1,73, 1,88 e 2,61 Å de distância dos átomos de H das ligações peptídicas de Gly150, Gly151 e Ala239, respectivamente. Estes resíduos correspondem a Gly118, Gly119 e Ala201 na AChE de *T. californica*, sugerindo a participação dos resíduos da chamada cavidade do oxiânion na estabilização da carga negativa deslocada para átomo de O da fosforila, após a formação do aduto. Em contrapartida, o átomo N do grupo NH de Gly150 também forma uma ligação hidrogênio (2,80 Å) com o grupamento NH ligado ao átomo de P de **5**. Além disso, os grupamentos butilas de **5** estão próximos de cadeias laterais de amino ácidos hidrofóbicos, possivelmente auxiliando na estabilidade do aduto por meio do estabelecimento de forças de dispersão entre eles.

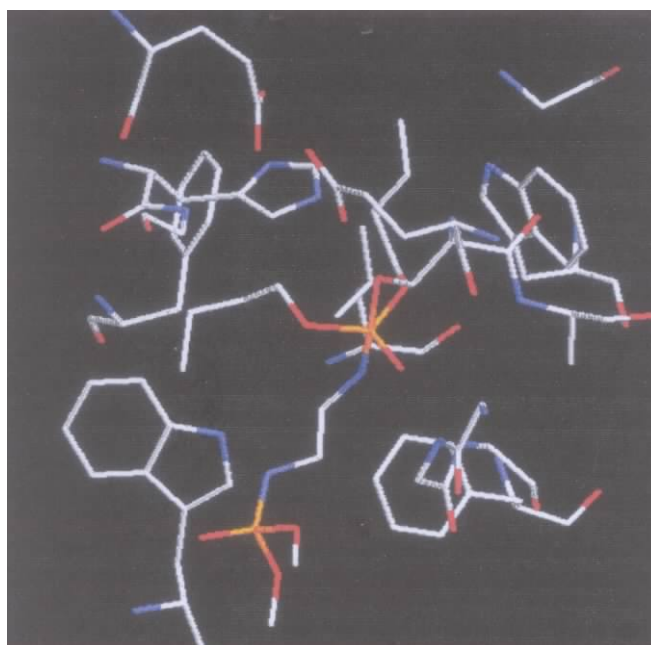


Figura 44: Estrutura calculada (método PM3) para o aduto formado entre 5 e o modelo do sítio ativo da AchE de *Drosophila Melanogaster*.

CAPÍTULO V

6. CONCLUSÕES

A obtenção dos fosfitos de dialquila é relativamente simples até quatro átomos de carbonos nos grupos alquilas. A partir daí, sempre encontra-se dificuldades na separação dos produtos porque com o aumento na temperatura na destilação ou no evaporador rotatório, ocorre provavelmente a formação de polifosfatos.

A reação do fosfito de dialquila com a diamina e ditiol ocorre através de uma metodologia eficiente, não complexa, num sistema bifásico, à temperatura ambiente e com rendimentos razoáveis.

Os valores de DL_{50} obtidos dos bioensaios com *Artemia salina*, *Musca domestica* e *Stomoxys calcitrans* mostraram que os bisfosforoditioatos são mais ativos, principalmente o composto bis(diisobutilfosforil)-1,3-propanoditiol apresentando inclusive valores de DL_{50} mais baixos do que os valores obtidos com o inseticida comercial crufomato. Em geral, os resultados são interessantes para os compostos ensaiados, remetendo-nos a posteriores testes, principalmente para os compostos com menores DL_{50} . Os compostos testados não apresentaram toxidez frente a mamíferos, quando testados contra camundongos até uma dose de 2000mg / Kg,

No bioensaio de inibição da germinação e desenvolvimento das sementes de alface os compostos testados inibiram o crescimento, a germinação e o desenvolvimento das plântulas de alface, somente em concentrações relativamente altas, enquanto que o herbicida comercial "Podium", foi bem mais ativo em concentrações baixas. Este resultado é muito interessante uma vez que o nosso interesse é a síntese de novos inseticidas organofosforados com baixa toxidez para plantas e animais.

Os resultados obtidos por modelagem molecular sugerem a possibilidade da toxidez do composto 5, o mais ativo da série bisfosforoamidatos, estar relacionada à inibição da AChE. Ao contrário dos organofosforados que atuam como inibidores clássicos da AChE, contudo, as estruturas avaliadas neste trabalho não apresentam um bom grupo de saída associado ao átomo P, indicando que possam atuar apenas como inibidores reversíveis da enzima.

A DL_{50} observada para 5 contra *Artemia salina*, *Musca domestica* e *Stomoxys calcitrans*, sugere, entretanto, que este derivado possa permanecer ligado ao sítio ativo

enzimático por mais tempo, atuando como um inibidor que se dissocia lentamente da AChE, ainda que reversivelmente. Além da participação esperada dos resíduos da cavidade do oxianion, devem contribuir para este perfil as interações hidrofóbicas no interior do sítio ativo da enzima com os grupos butilas do derivado 5, e a ligação hidrogênio que se estabelece entre o átomo de N de Gly150, da cavidade do oxianion, e o NH do grupo fosforamidato que sofre adição da Ser238 da tríade catalítica,. Os resultados obtidos por modelagem molecular sugerem a possibilidade da toxidez dos compostos ativos estarem relacionadas com a inibição da AChE.

APÊNDICE A

Espectros de infravermelho, RMN-¹H, RMN-¹³C, RMN³¹P e massas

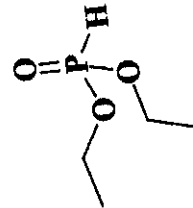
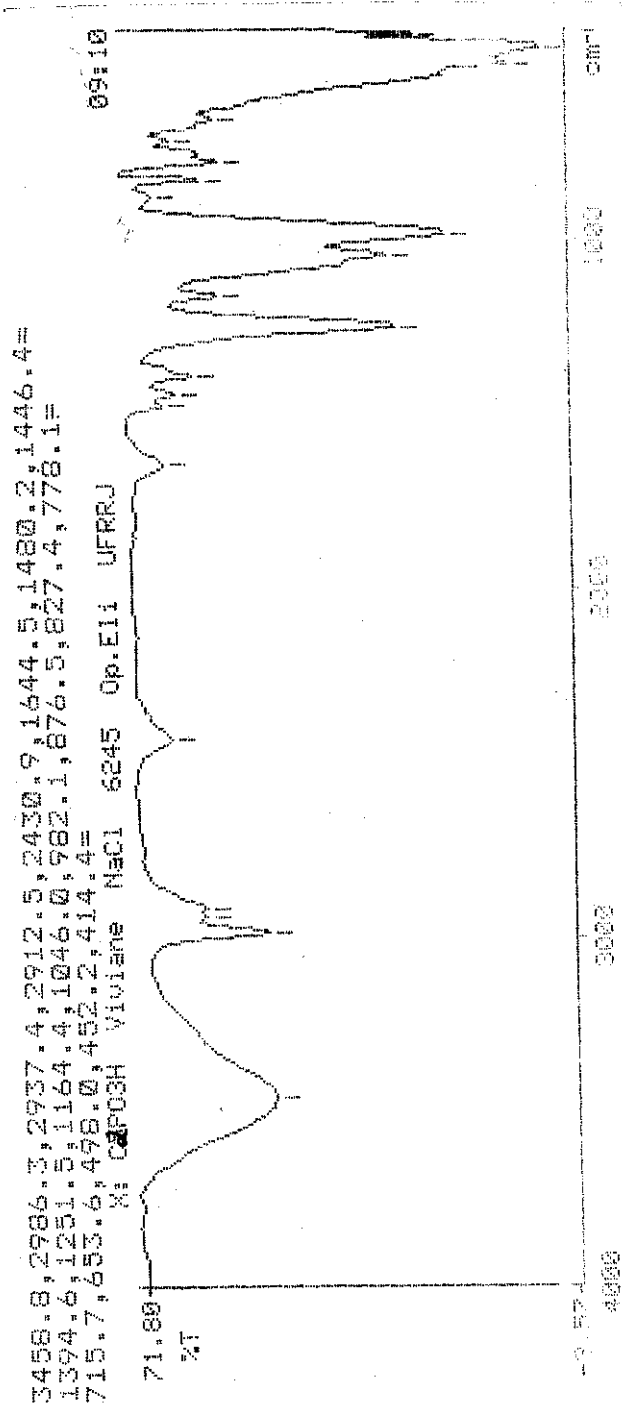


Figura 45: Espectro de IV do fosfito de dietila (83).

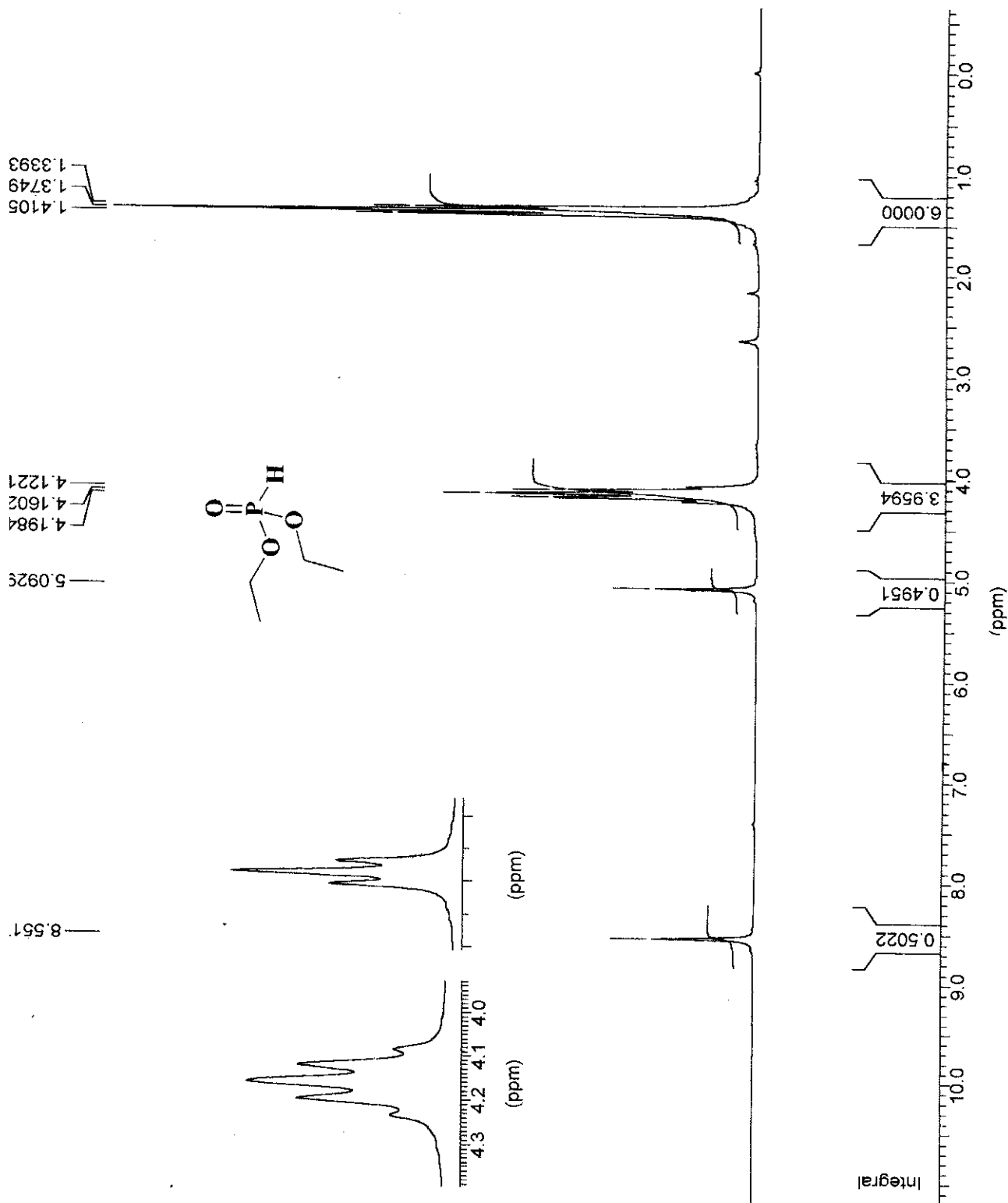


Figura 46: Espectro de RMN-¹H fosfito de dietila (83) - 200 MHz - CDCl₃.

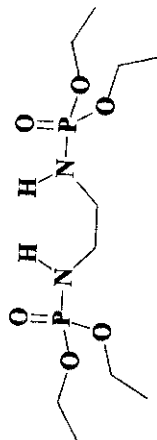
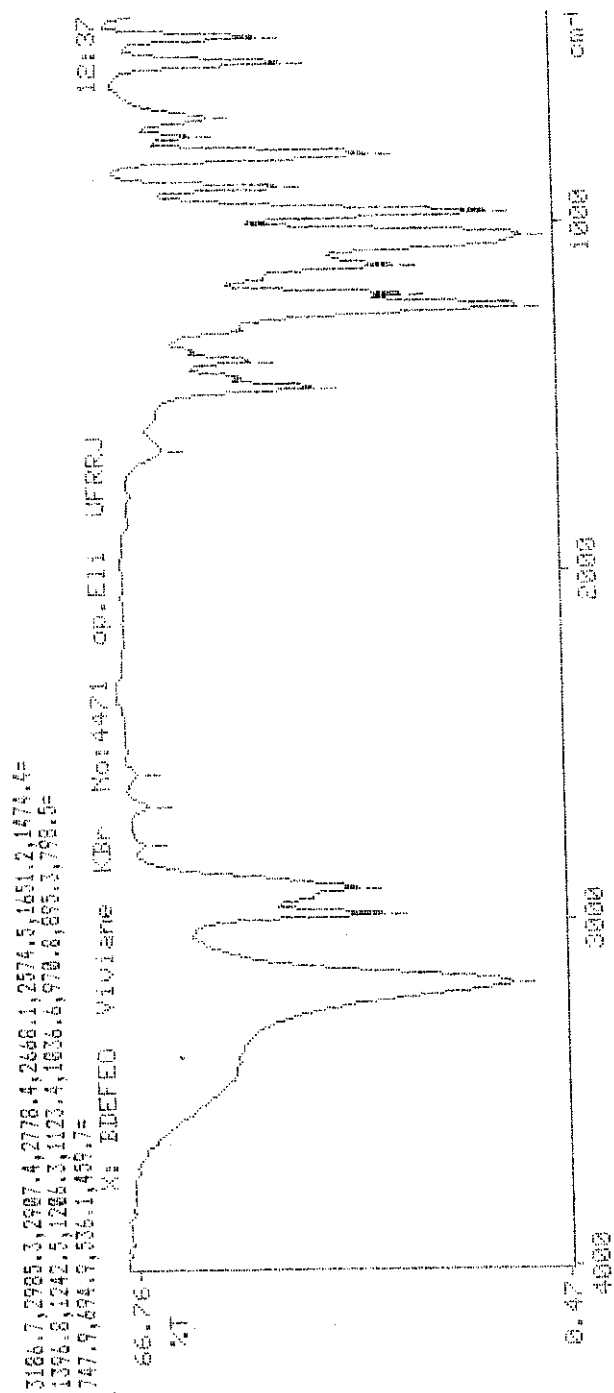


Figura 47: Espectro de IV do composto 3 (Pastilha KBr)

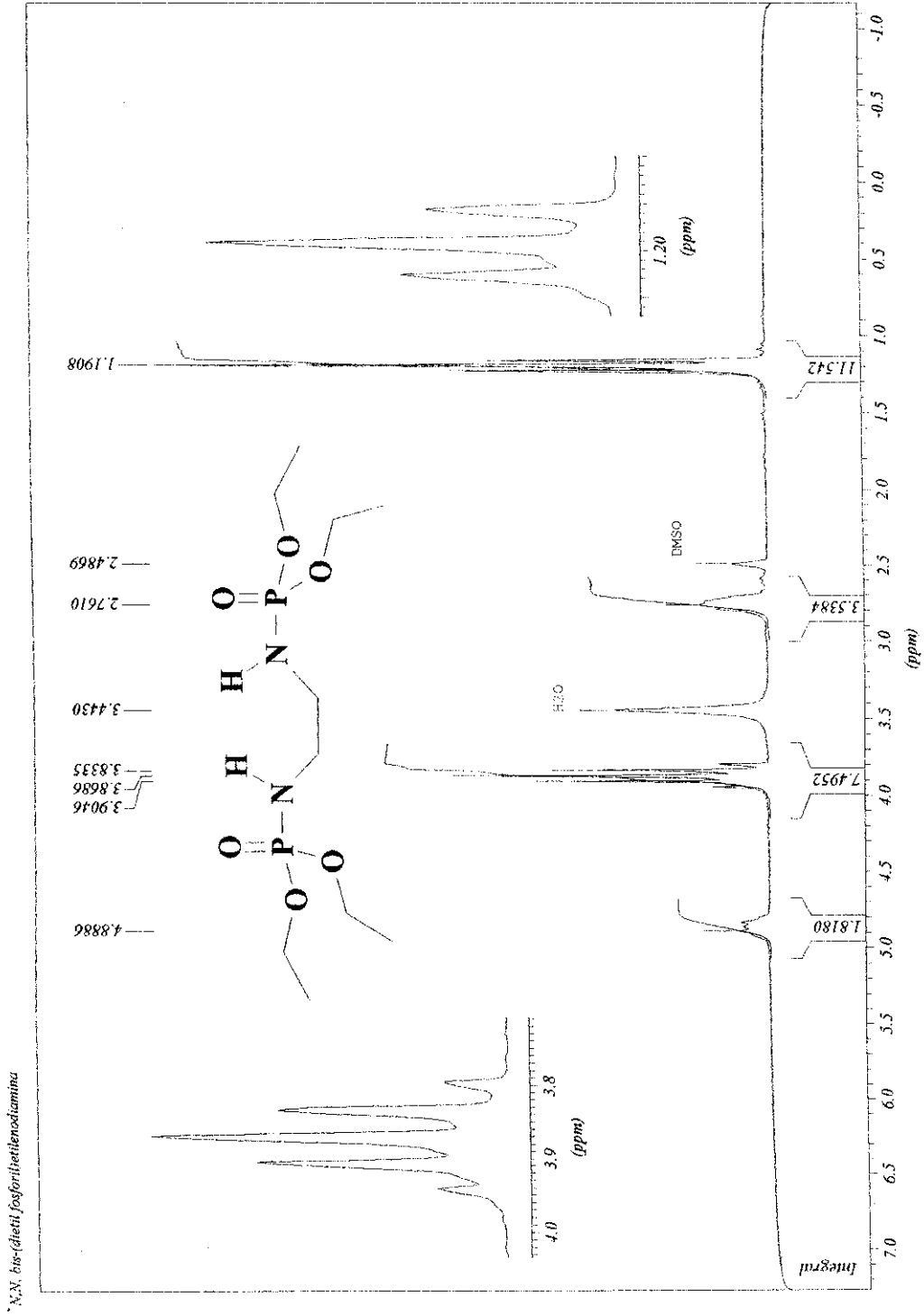


Figura 48: Espectro de RMN-¹H do composto 3 - 200 MHz - DMSO-d₆.

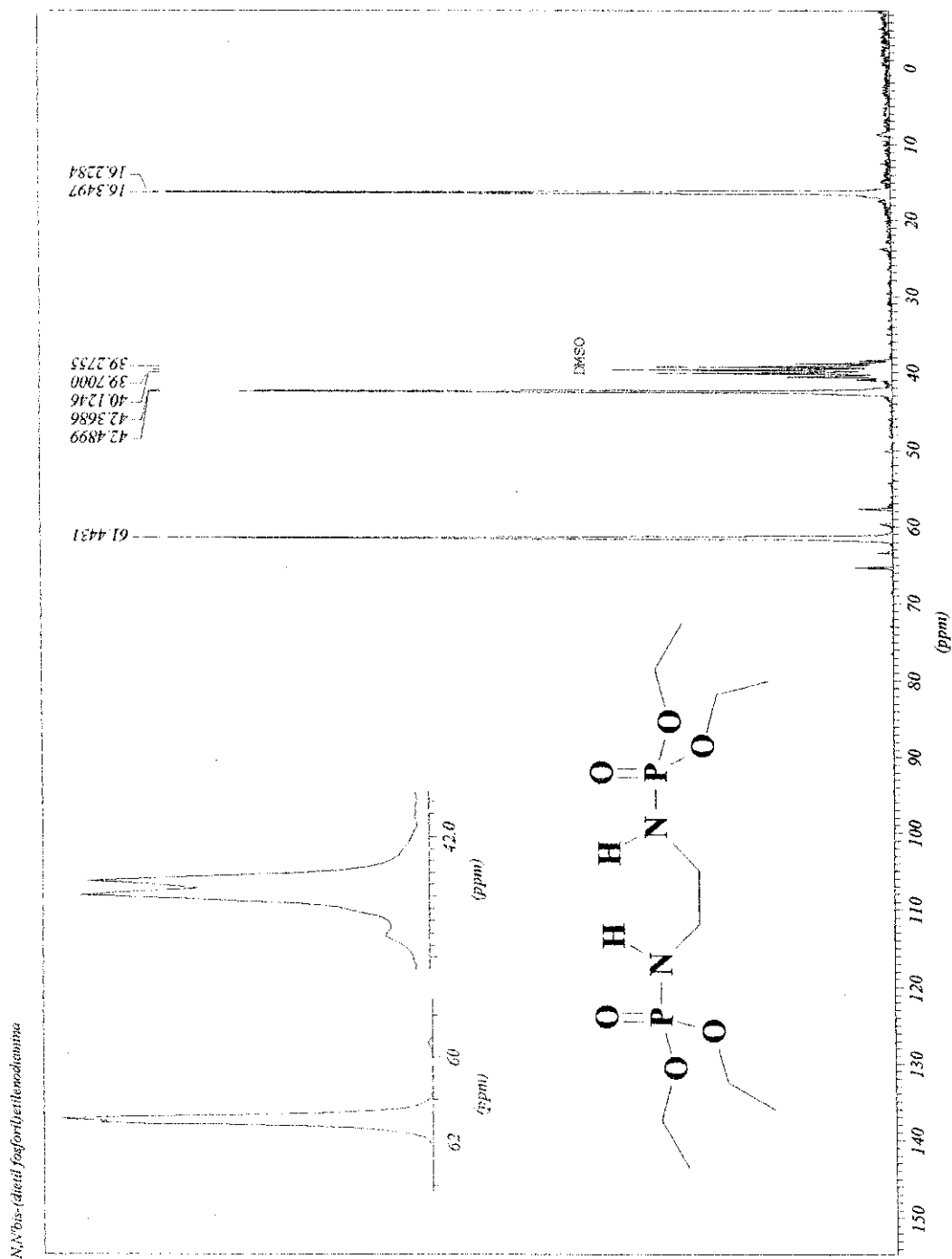


Figura 49: Espectro de RMN-¹³C do composto 3 – 50 MHz – DMSO-d₆.

Operator:
 Last Calibration:
 Data File:
 Method:

C2PN2C2(+)
 Saturn GC/MS
 9/26/01 11:00 AM
 9/26/01 11:20 AM

Sample ID:
 Instrument ID:
 Acquisition Date:
 Sample Notes:

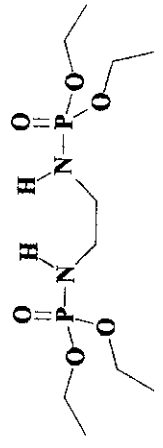
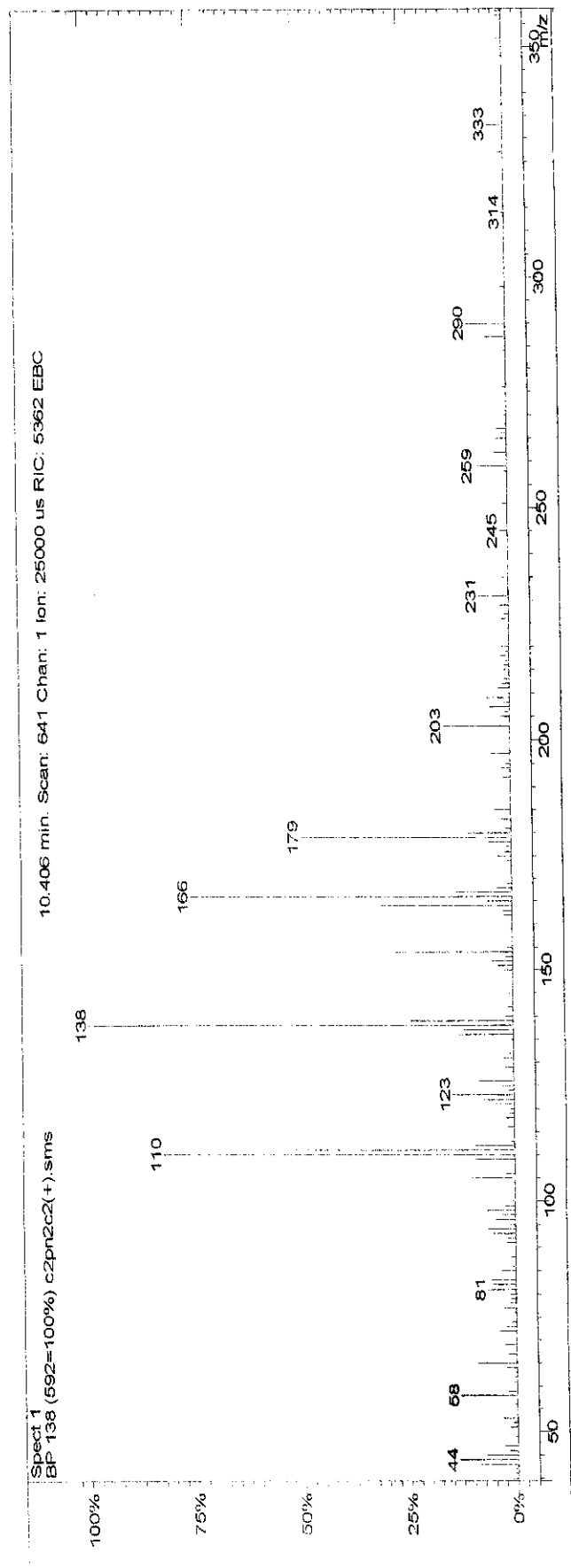
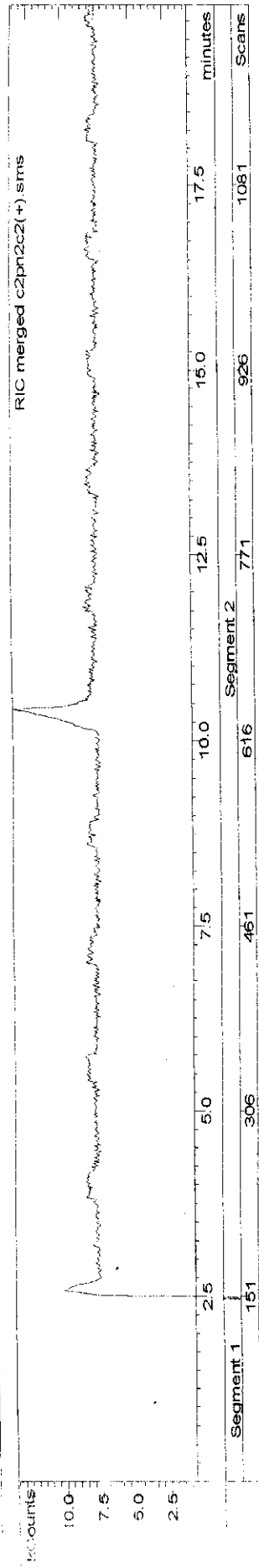


Figura 50: Espectro de massa do composto 3 - eV.

Injection Sample Notes

Injection Method Notes
 Solicitante: Viviane/UFRRJ
 Amostra: C2PN2C2
 Solvente: Diclorometano
 Condições de Análise:
 Coluna: CP-SIL8 (30mX0.25x0.25mm)
 Temperatura 200C - 25min
 Injetor: 250C
 EM: Trap: 180C
 Manifold: 60C
 Trxline: 200C
 Ionizacao: EI (70eV)

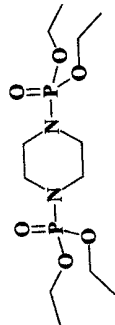
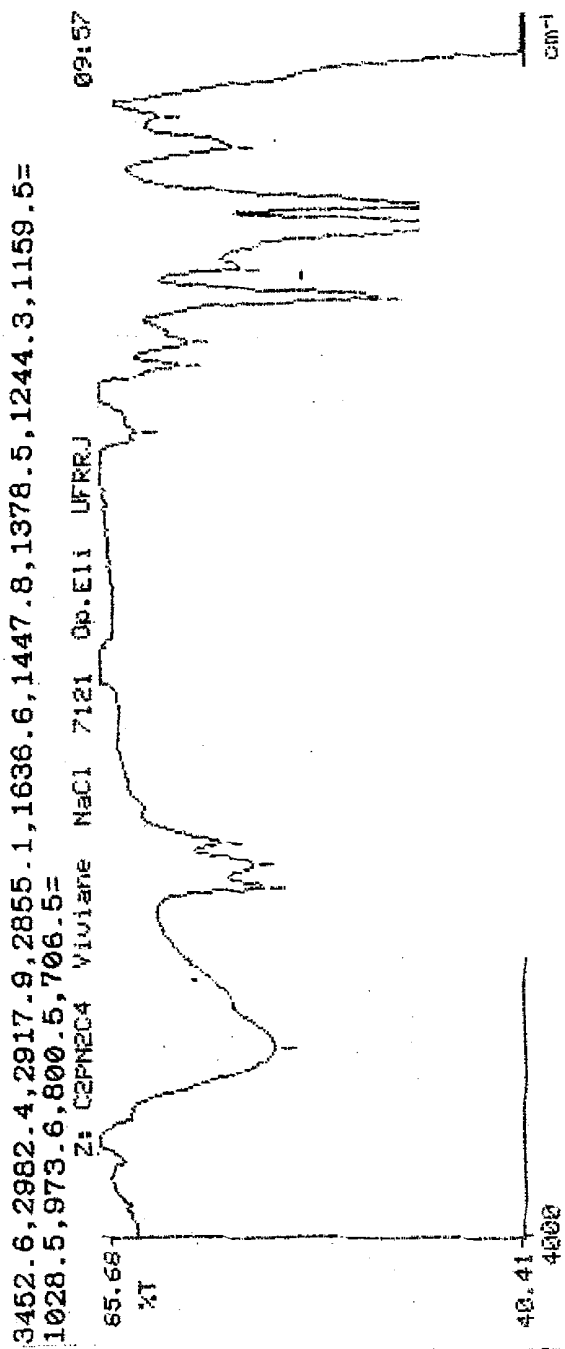


Figura 51: Esper. .v do composto 8 (Pastilha de NaCl).

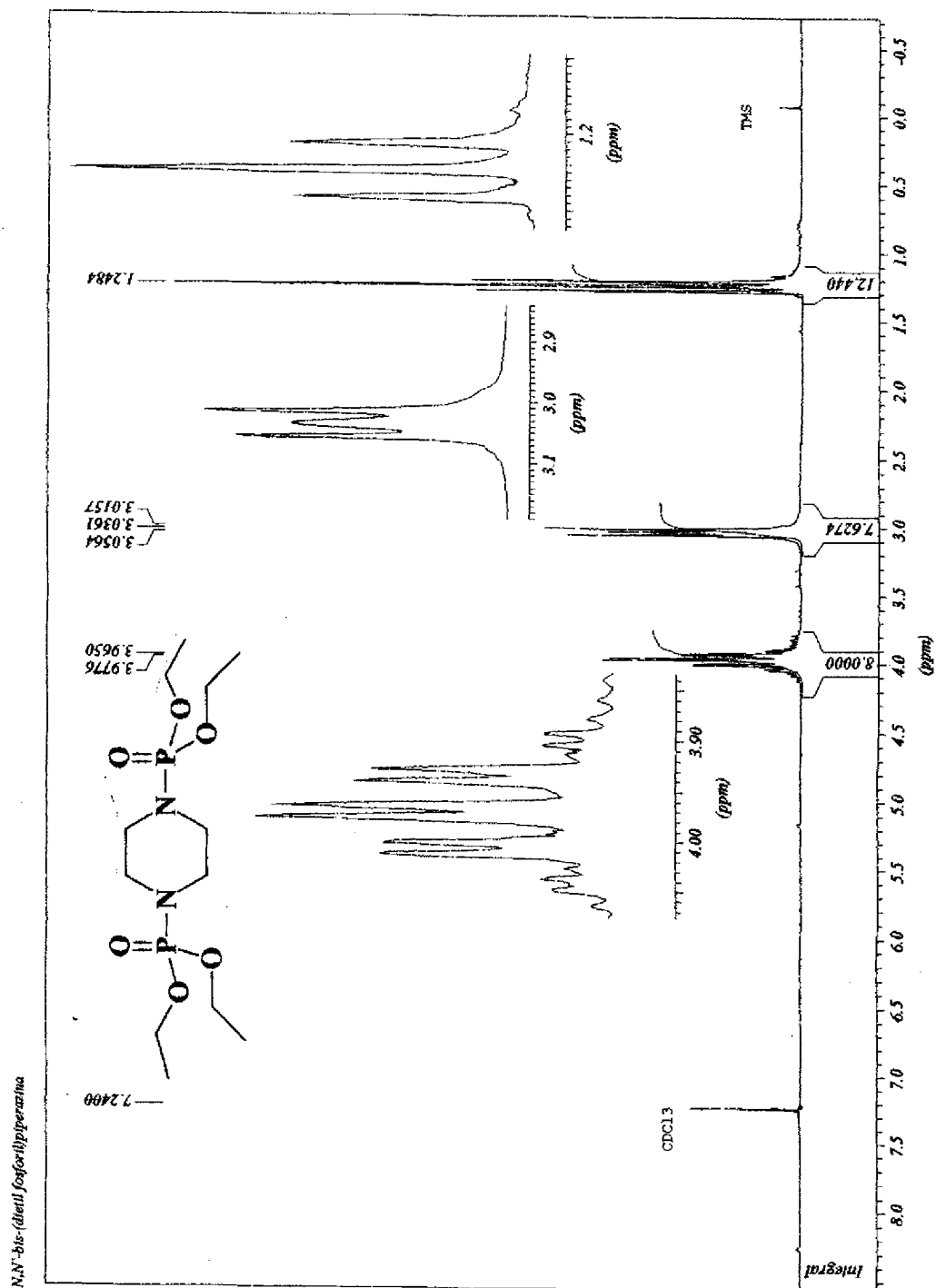


Figura 52: Espectro de RMN-¹H do composto 8 – 200MHz – CDCl₃.

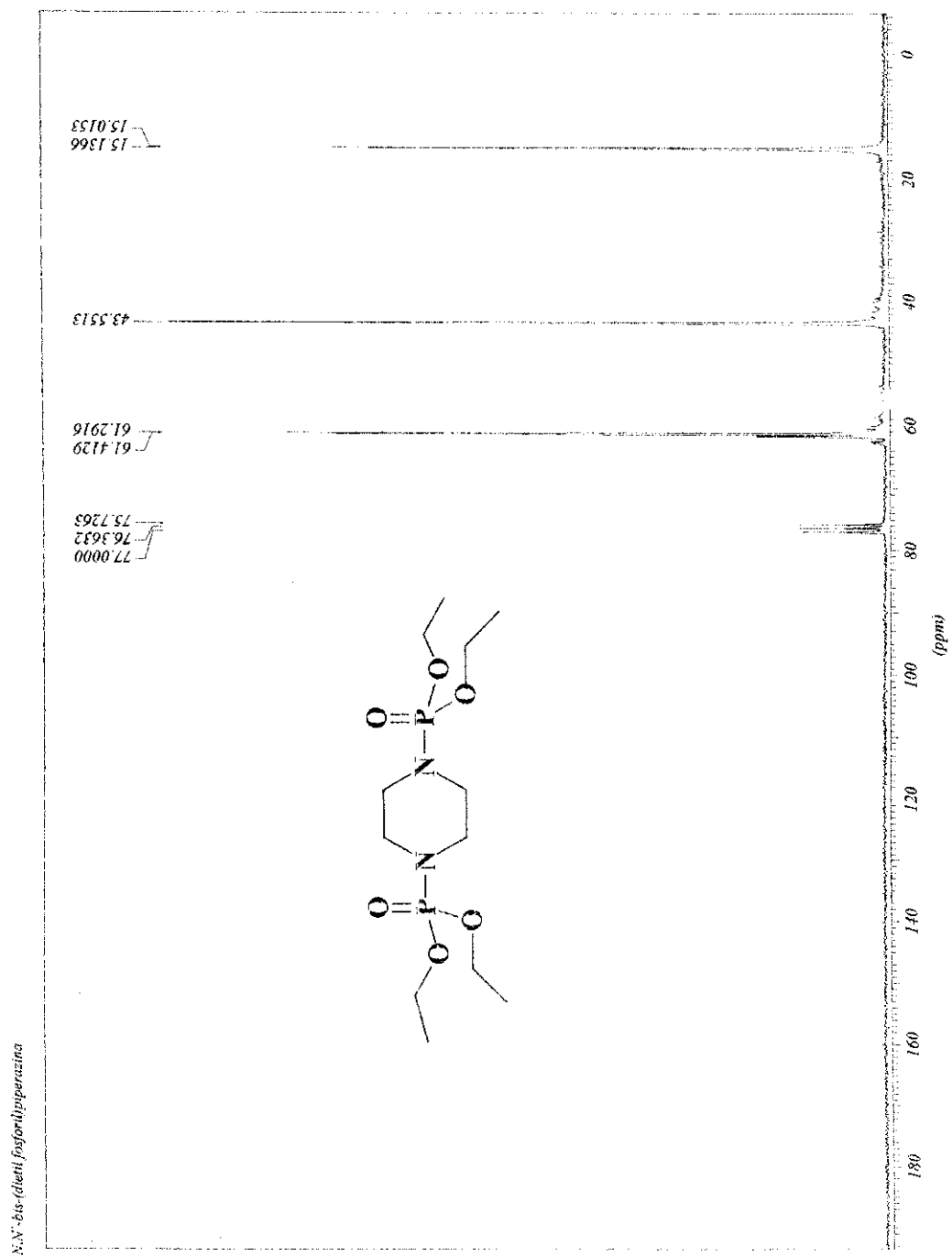


Figura 53: Espectro de RMN- ^{13}C do composto 8 – 50MHz – CDCl_3 .

Sample ID: C2PN2C4
 Instrument ID: Saturn GC/MS #1
 Acquisition Date: 4/4/02 8:43 AM
 Calculation Date: 4/4/02 9:18 AM
 Inj. Sample Notes:

Operator: France
 Last Calibration: None
 Data File: c:\... \c2pn2c4.sms
 Method: c:\... \joao.mth

Run Documentation

Injection Sample Notes

Recalc Sample Notes

Injection Method Notes

c:\saturn\sw\metodos\joao.mth
 Solicitante: Viviane
 Amostra: C2PN2C4
 PM: 358
 Solvente: Diclorometano
 Condições da Análise:
 Coluna: SE30 (30mX0.25x0.25mm)
 Temperatura: 150C/1min - 5C/min - 280C/10Min
 Injetor: 270C
 EM: Trap: 220C
 Manifold: 60C
 Xferilne: 250C
 Ionizacao: EI (70eV)
 SPLIT:1:100

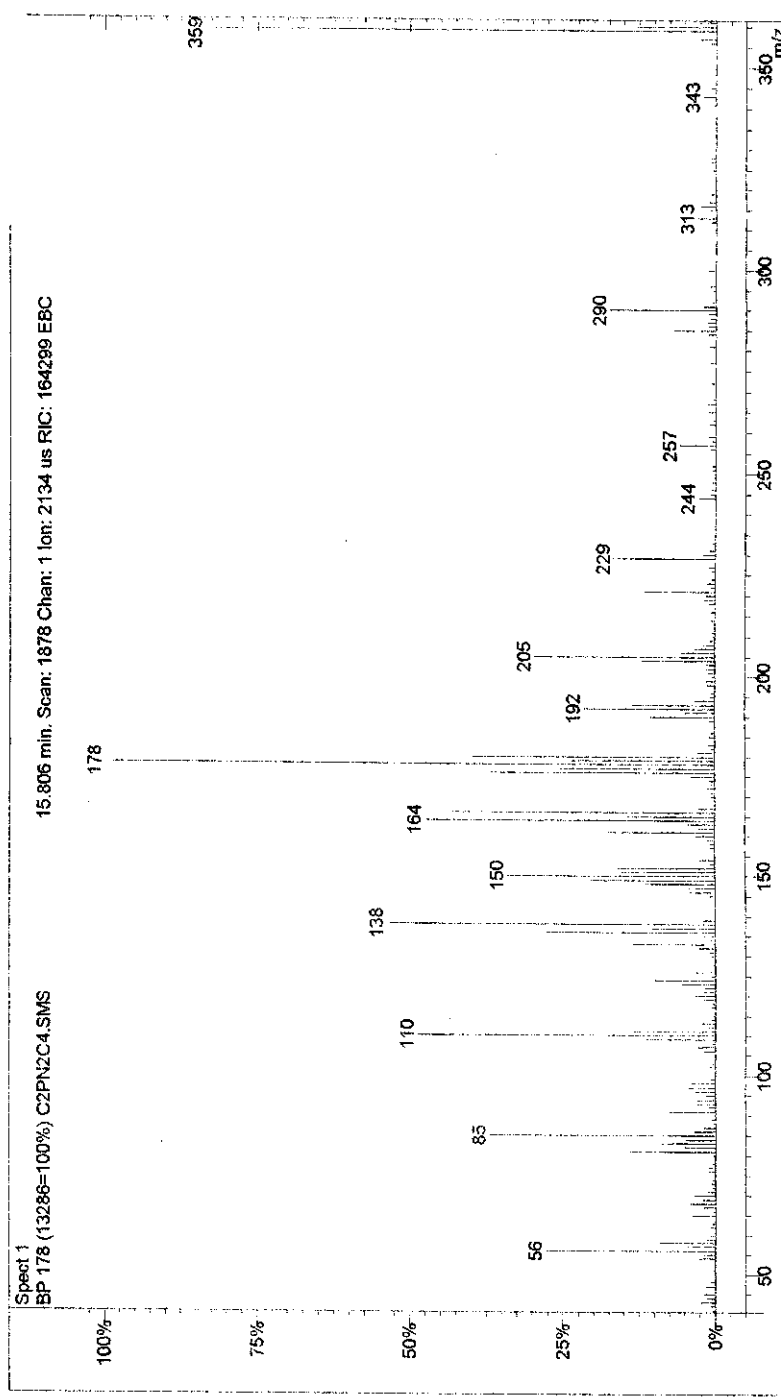
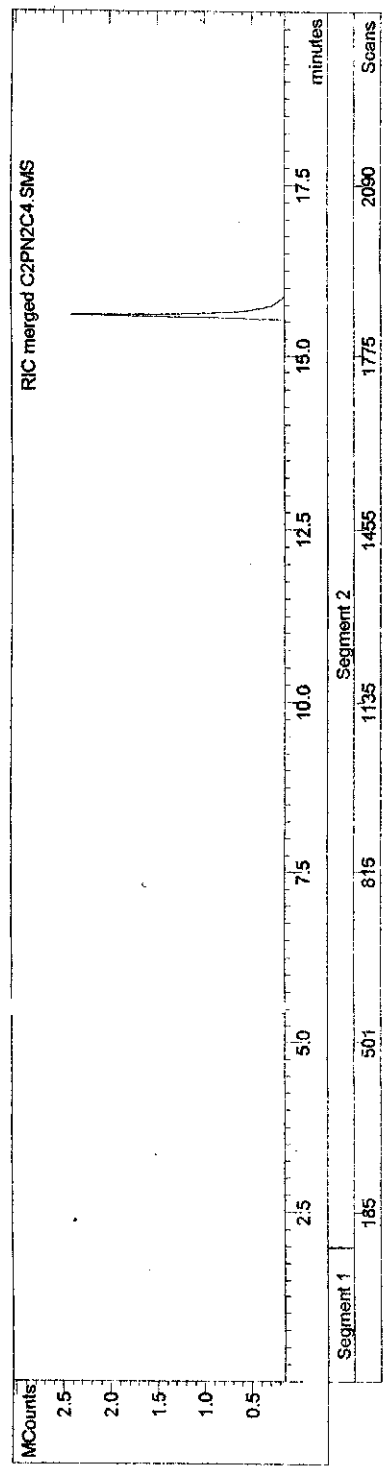
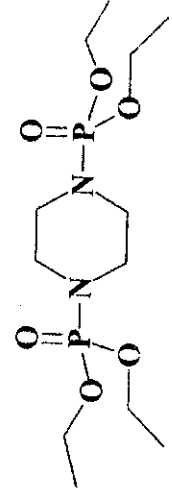


Figura 54: Espectro de massa do composto 8 - 70 eV.

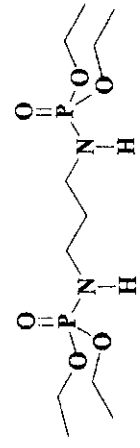
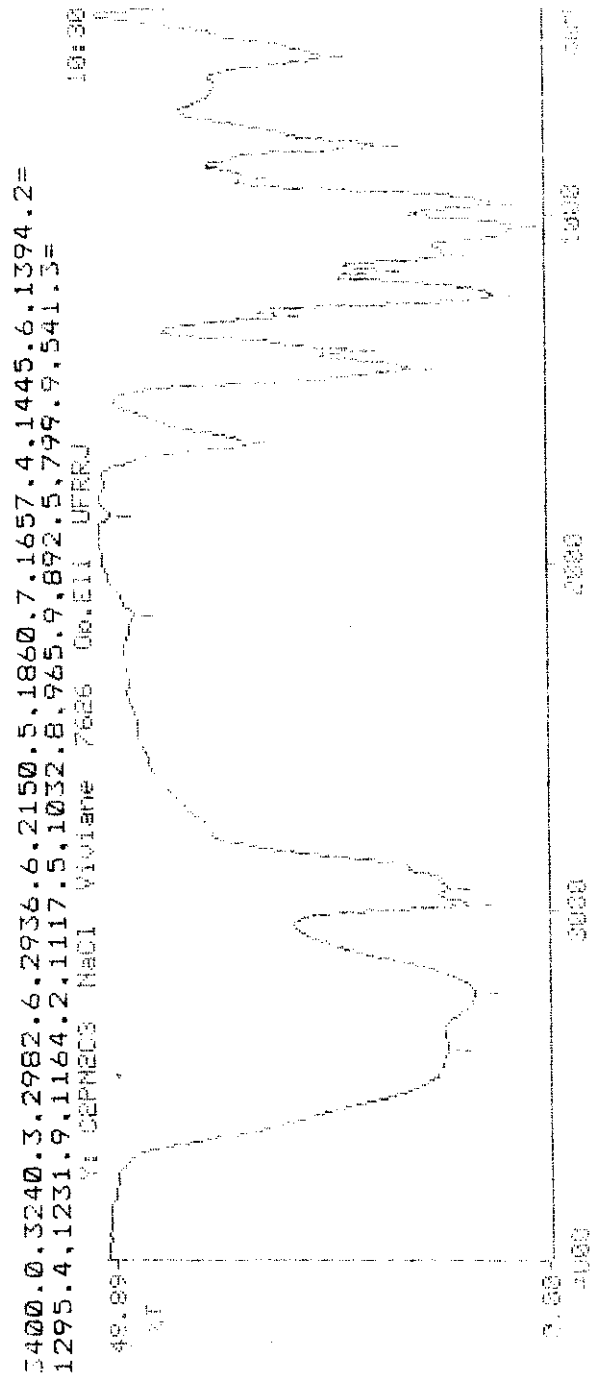


Figura 55. Espectro de IV do composto 13 (Pastilha KBr).

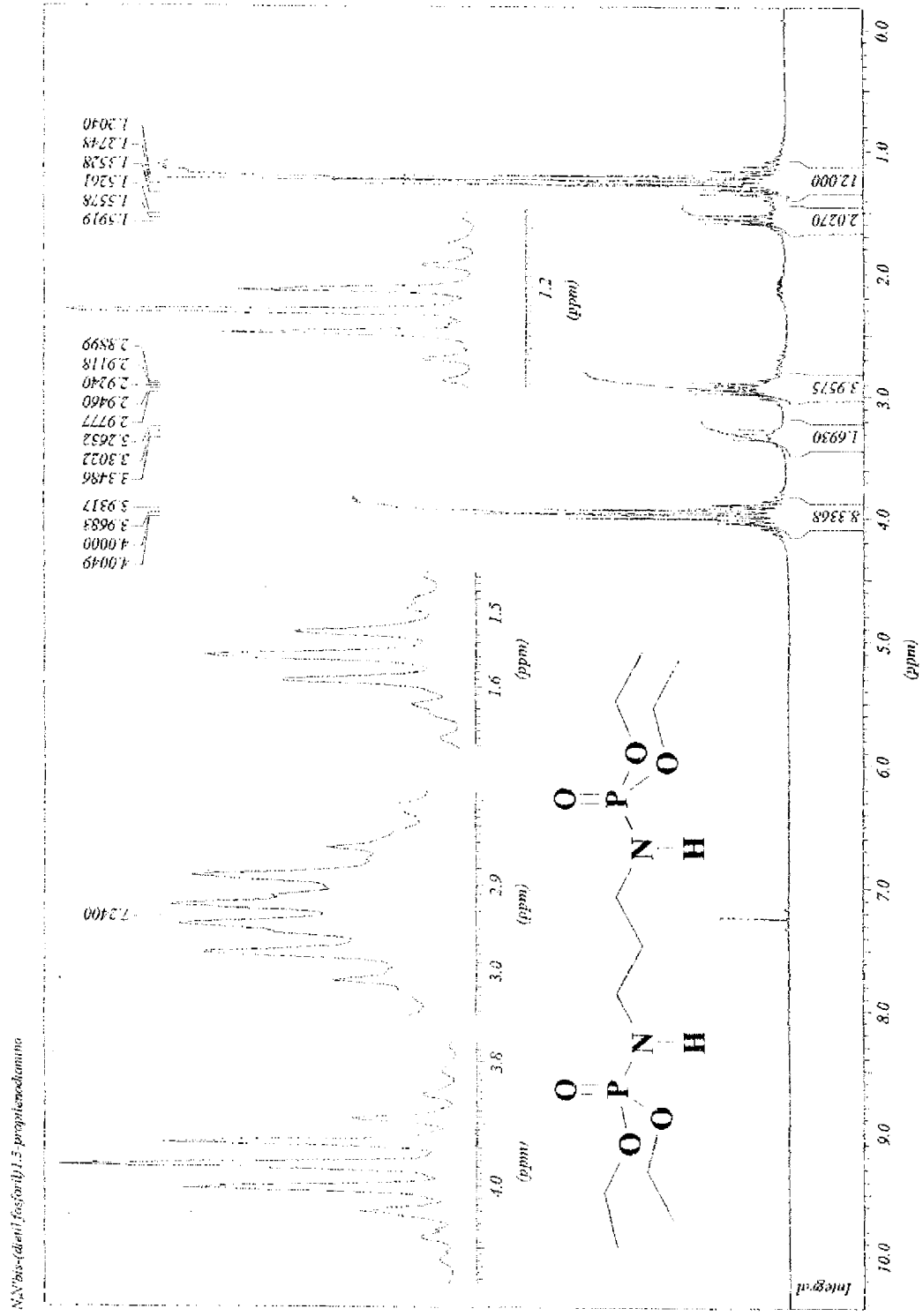


Figura 56: Espectro de RMN-¹H do composto 13 – 200MHz – CDCl₃

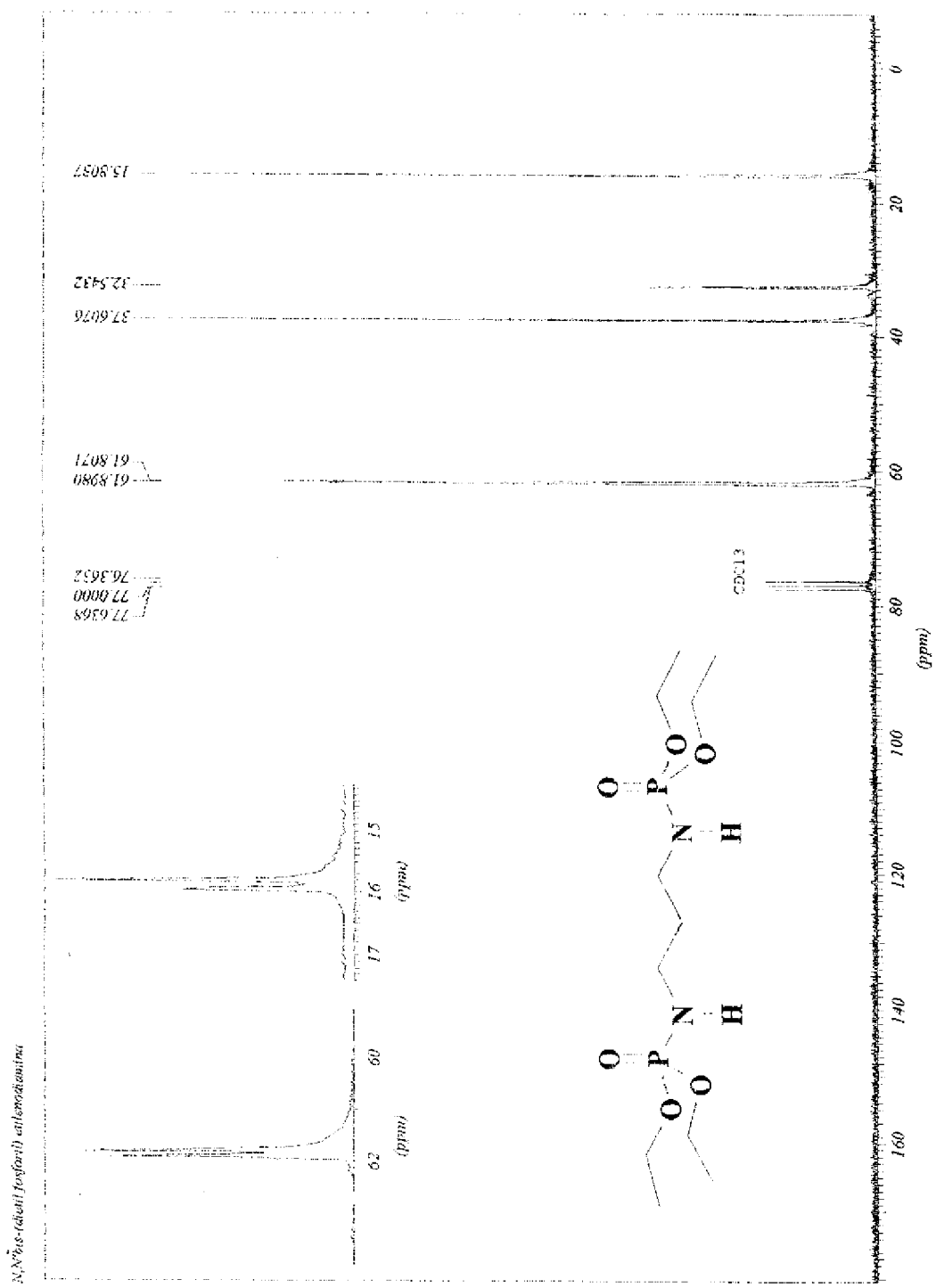


Figura 57: Espectro de RMN-¹³C do composto 13 – 50MHz – CDCl₃



```

---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name      = C2PNZC3 1d_spectrum.5
Author        = Jan Schripsema
Sample ID     = C2PNZC3
Content       = Single Pulse Experiment
Creation Date  = 16-JUL-2003 16:04:57

Revision Date  = 16-JUL-2003 16:05:28
Spec Site     = Eclipse+ 400

Spec Type     = DELTA_NMR
Data Format    = ID_COMPLEX
Dimensions    = X
Dim Title     = 31P
Dim Size      = 16384
Dim Units     = 1ppm]
Acq_delay     = 19.1[us]
Charger_sample = 0
Experiment    = single_pulse.exp
Field_strength = 9.389766[T]
Irr90        = 14.7[us]
Irr90_hi     = 23.5[us]
Irr90_lo     = 60[us]
Irr_width    = 60[us]
Lock_status   = IDLE
Recvr_gain    = 15
Relaxation_delay= 4[s]
Scans         = 16
Solvent       = CHLOROFORM-D
Spin_get      = 15[Hz]
Spin_lock_90  = 90[us]
Spin_lock_attn = 12.5[dB]
Spin_set      = 15[Hz]
Spin_status   = SPIN ON
Temp_get      = 25[degC]
Temp_set      = 25[degC]
Temp_status   = TEMP ON
X90           = 10.3[us]
X90_hi        = 1[us]
X90_lo        = 1[us]
X_acq_duration = 0.1441792[s]
X_domain      = 31P
X_freq        = 161.83469309[MHz]
X_offset      = 0[ppm]
X_points      = 16384
X_prescans    = 0
X_pulse       = 5.15[us]
X_resolution  = 6.93581321[Hz]
X_sweep       = 113.63636364[kHz]

```

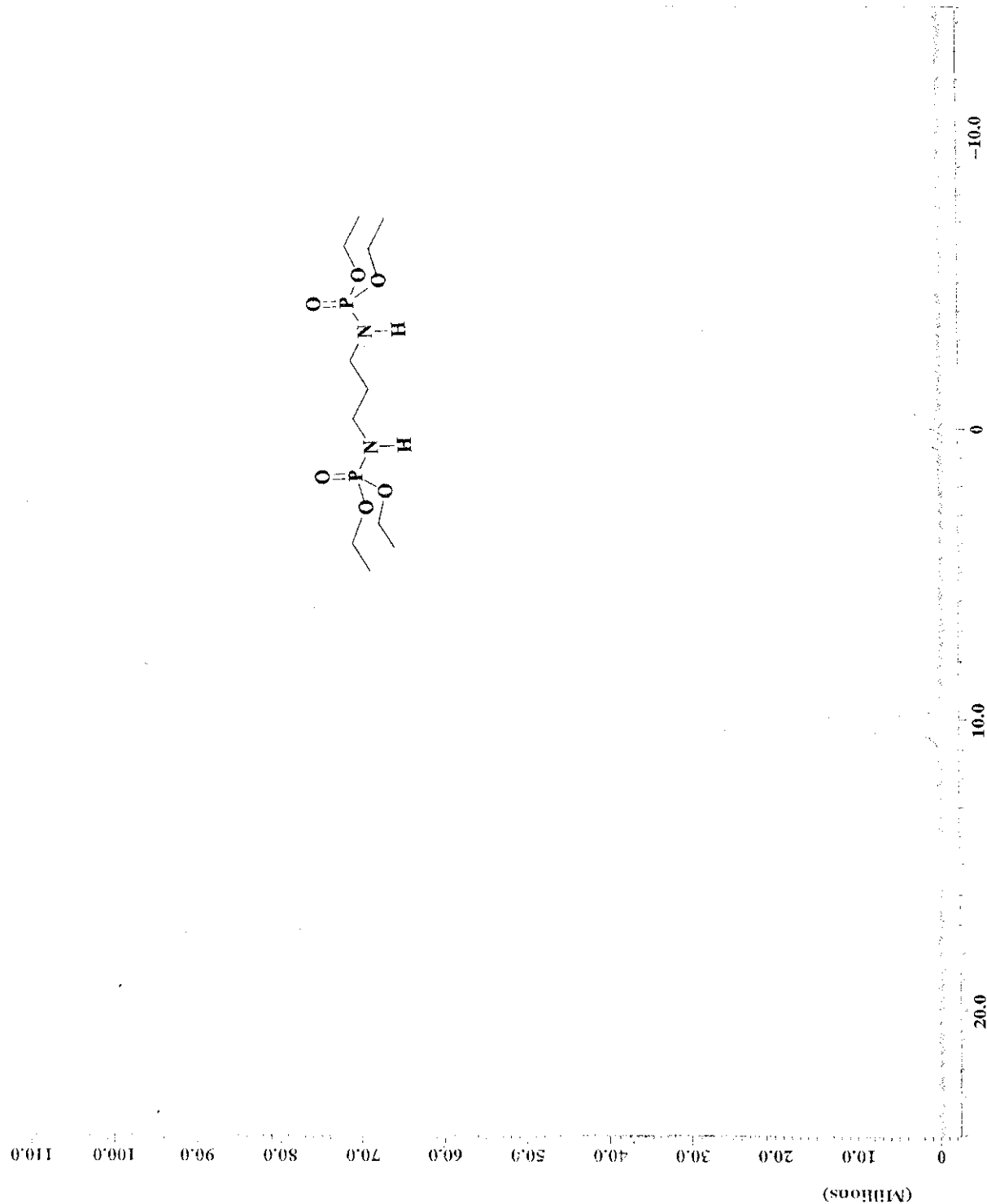
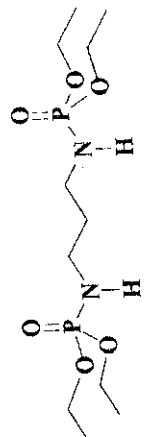


Figura 58: Espectro de RMN-³¹P desacoplado do composto 13 – 162MHz – H₃PO₄

Sample ID: C2PN2C3
 Instrument ID: Saturn GC/MS
 Acquisition Date: 9/27/01 8:42 AM
 Calculation Date: 9/27/01 9:02 AM
 Inj. Sample Notes:

Operator: Frances
 Last Calibration: None
 Data File: c:\...lc2pn2c3.sms
 Method: c:\...ljoao.mth

Run Documentation

Injection Sample Notes

Recalc Sample Notes

Injection Method Notes

c:\saturn\sw\metodos\ljoao.mth
 Solicitante: Viviane/JFRRJ -
 Amostra: C2PN2C3
 PM: 346
 Solvente: Diclorometano
 Condições de Análise:
 Coluna: CP-SIL8 (30mX0.25x0.25mm)
 Temperatura 200C - 25min
 Injetor: 250C
 EM: Trap: 180C
 Manifold: 60C
 Trxline: 200C
 Ionização: EI (70eV)

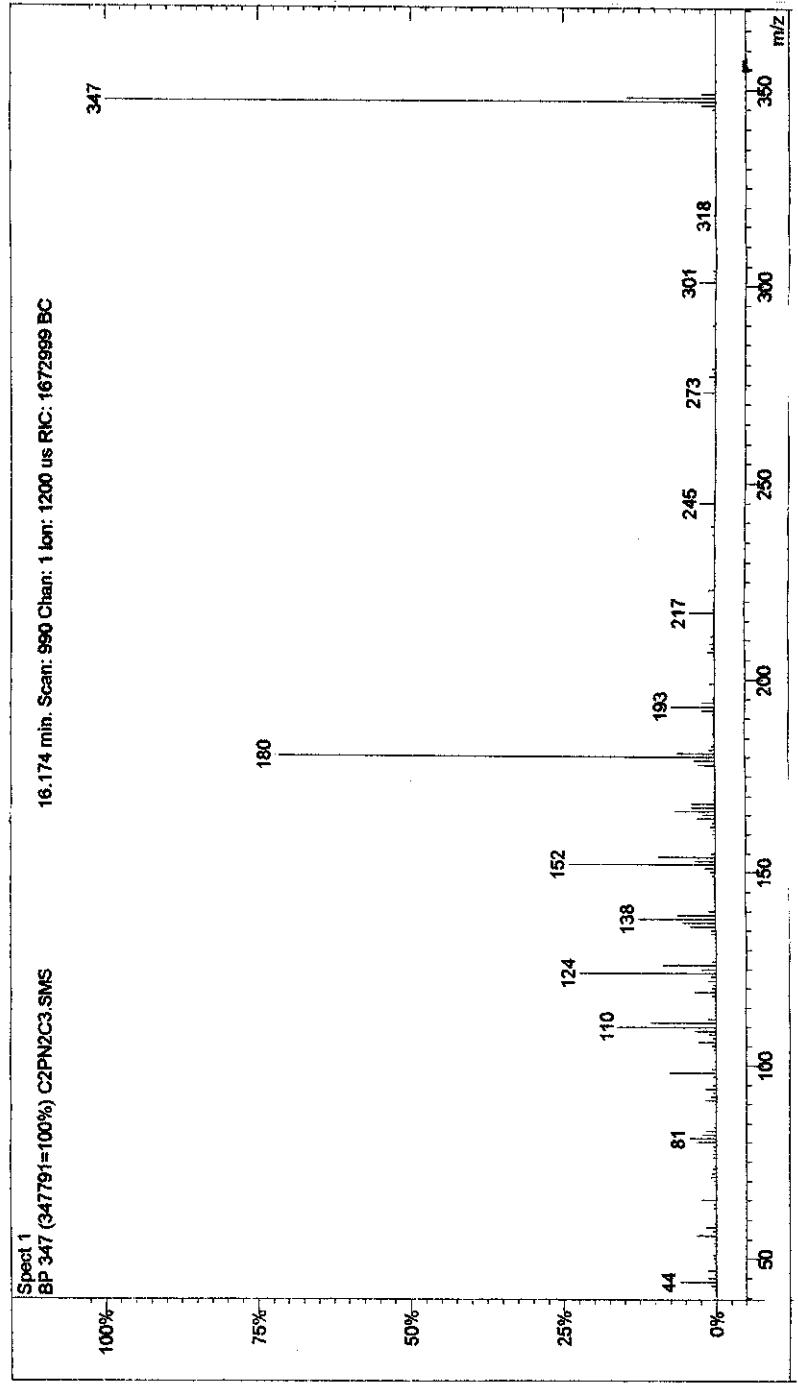
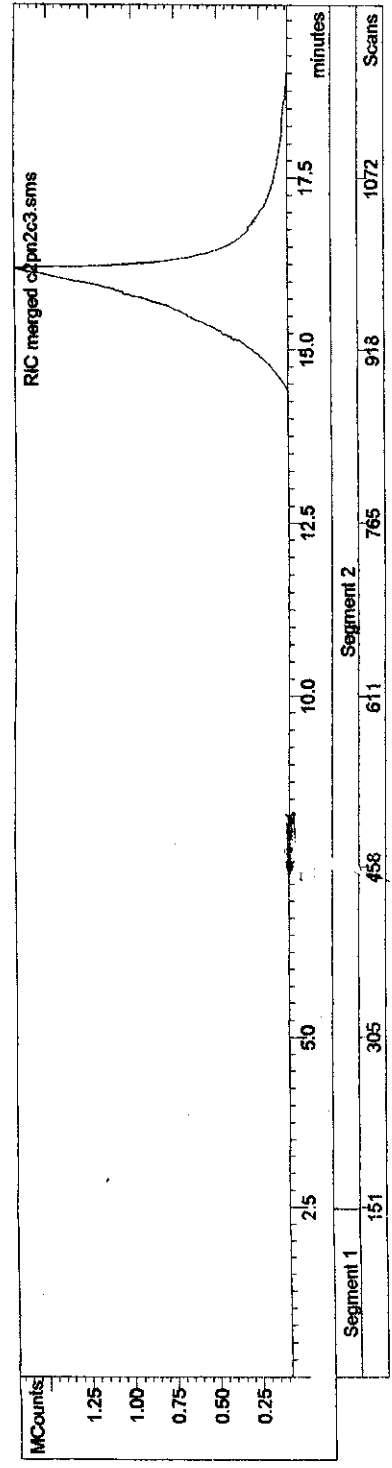
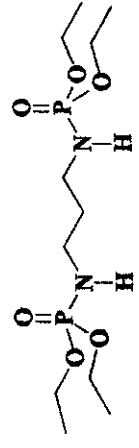


Figura 59: Espectro de massa do composto 13 - 70 eV.

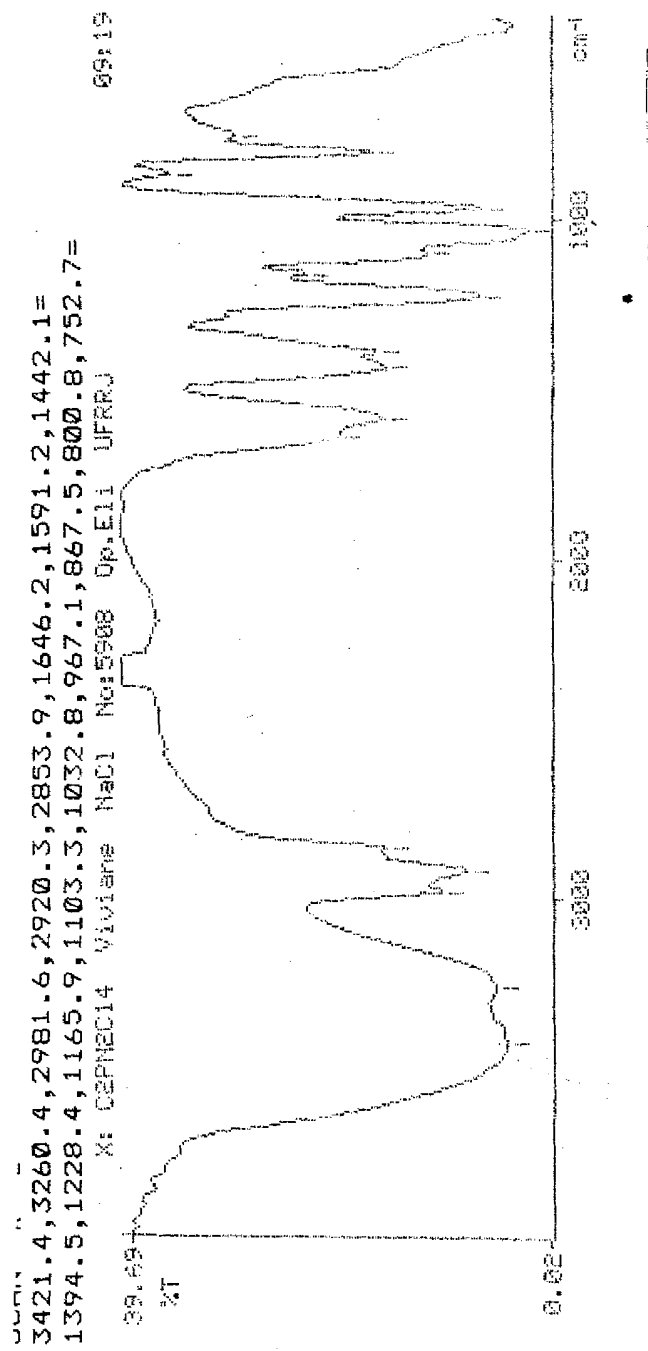


Figura 60: Espectro de IV do composto 18 - (Pastilha de NaCl).

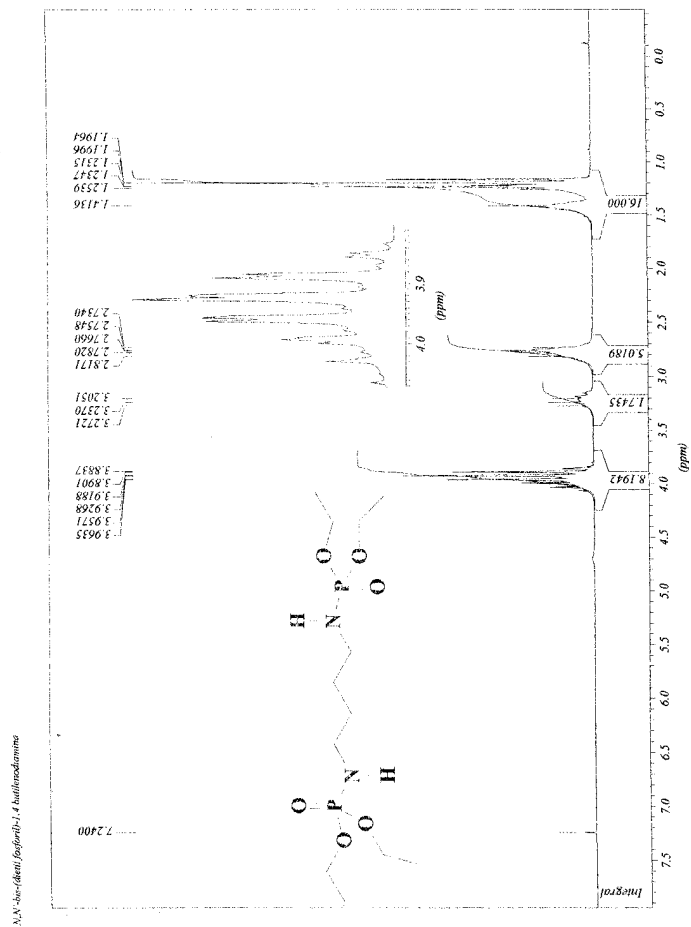


Figura 61: Espectro de RMN-¹H do composto 18 – 200MHz - CDCl₃.

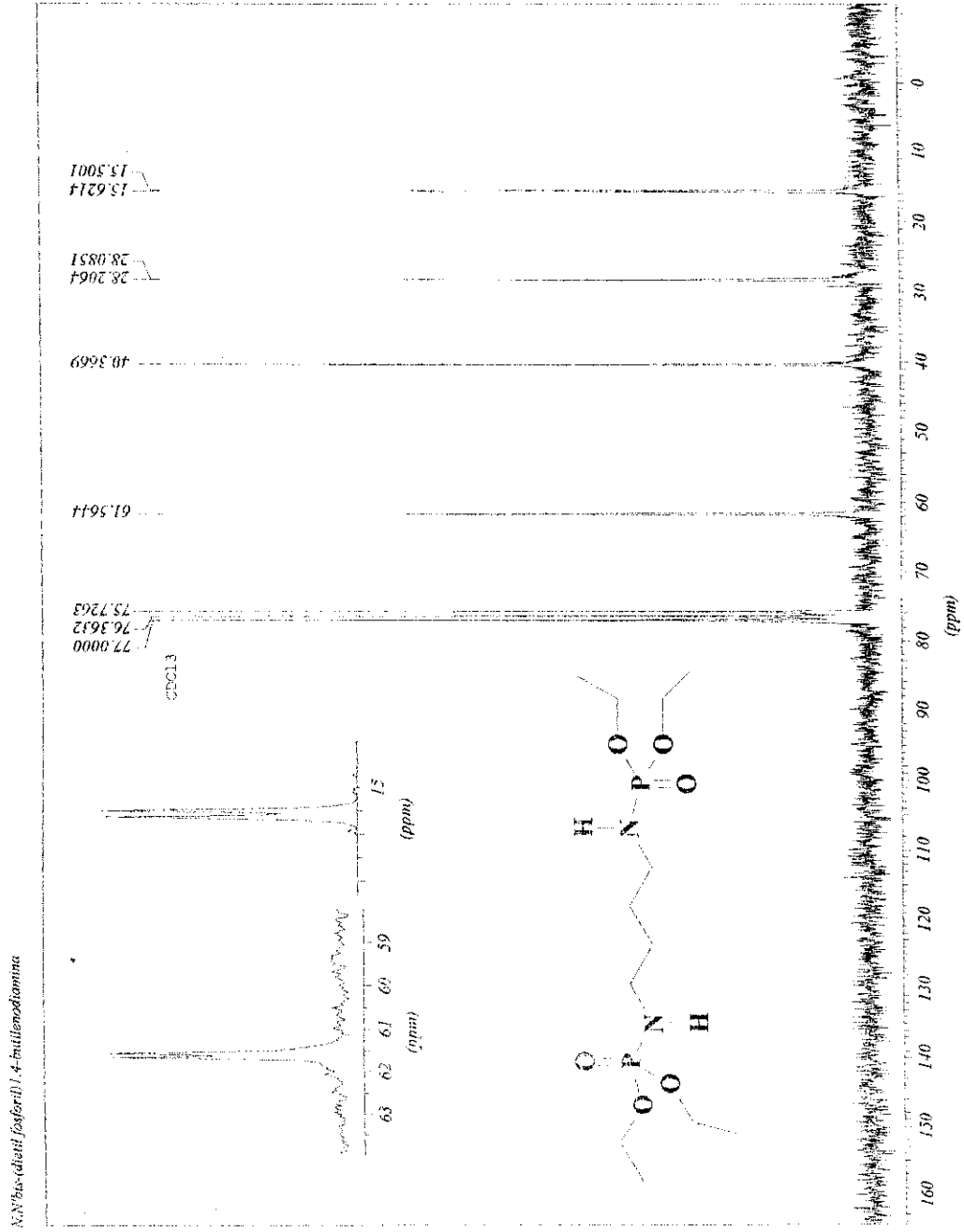


Figura 62: Espectro de RMN-¹³C do composto 18 – 50MHz - CDCl₃.

Sample ID: C2PN2C14
 Instrument ID: Saturn GC/MS
 Data File: c:\...c2pn2c14.sms
 Method: C:\SaturnWS\Metodos\Joao.mth
 Operator: nces
 Acquisition Date: 8/14/03 7:58 AM
 Calculation Date: 8/14/03 8:26 AM
 168

Run Documentation

Injection Method Notes

c:\saturnws\metodos\joao.mth
 Solicitante: Viviane
 Amostra: C2PN2C14
 PM: 359,8
 Solvente: cloroformio
 Condições da Análise:
 Coluna: CP SIL 8CB (30mX0.25x0.25mm)
 Temperatura: 180C/1'- 5C/min - 290C/5'
 Injetor: 270C
 EM: Trap: 220C
 Manifold: 60C
 Xferline: 250C
 Ionização: EI (70eV)
 SPLIT: 1:30

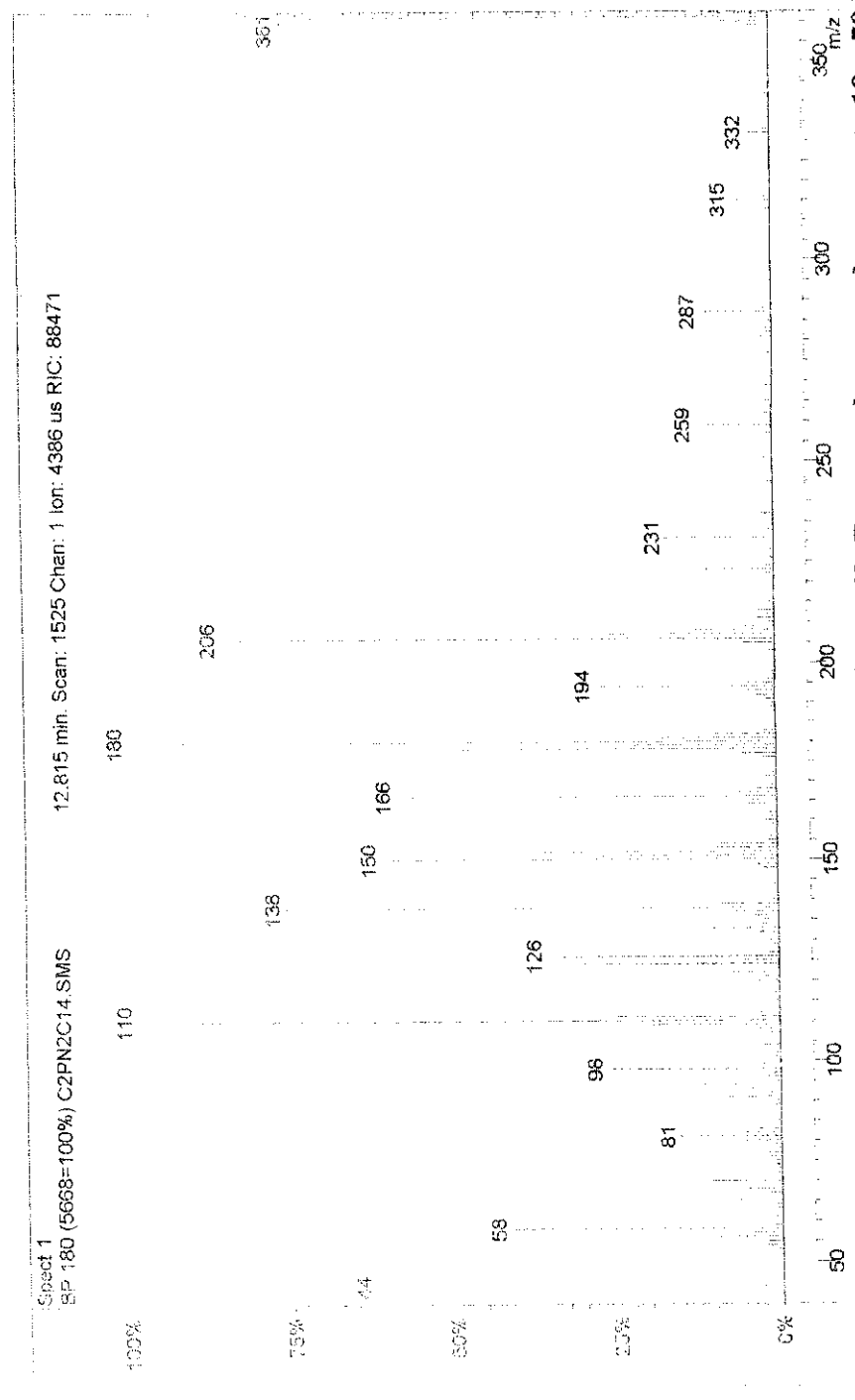
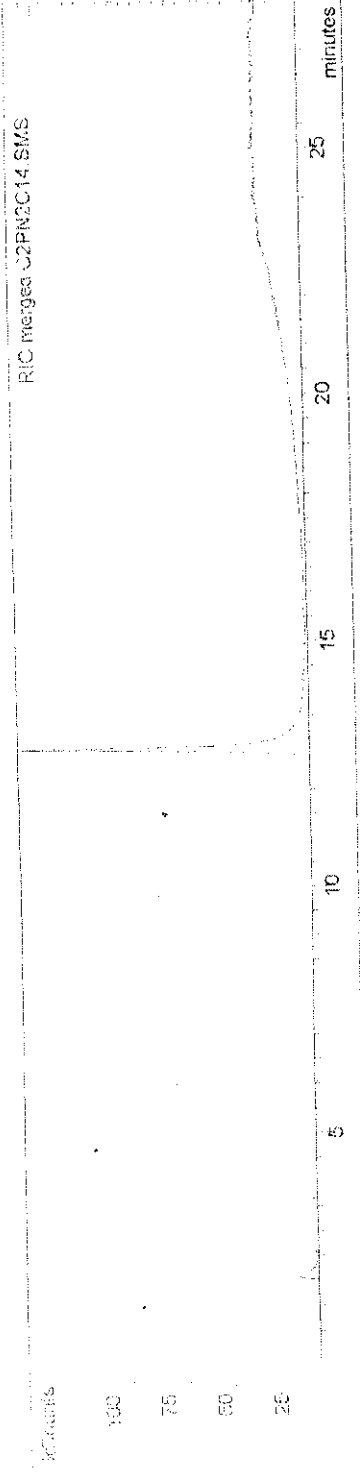
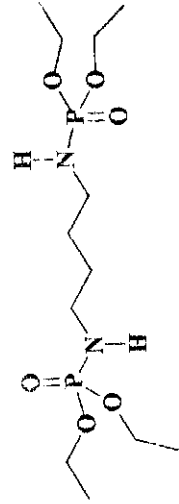


Figura 63: Espectro de massa do composto 18 -- 70 Ev.

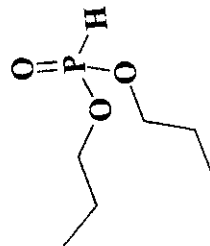
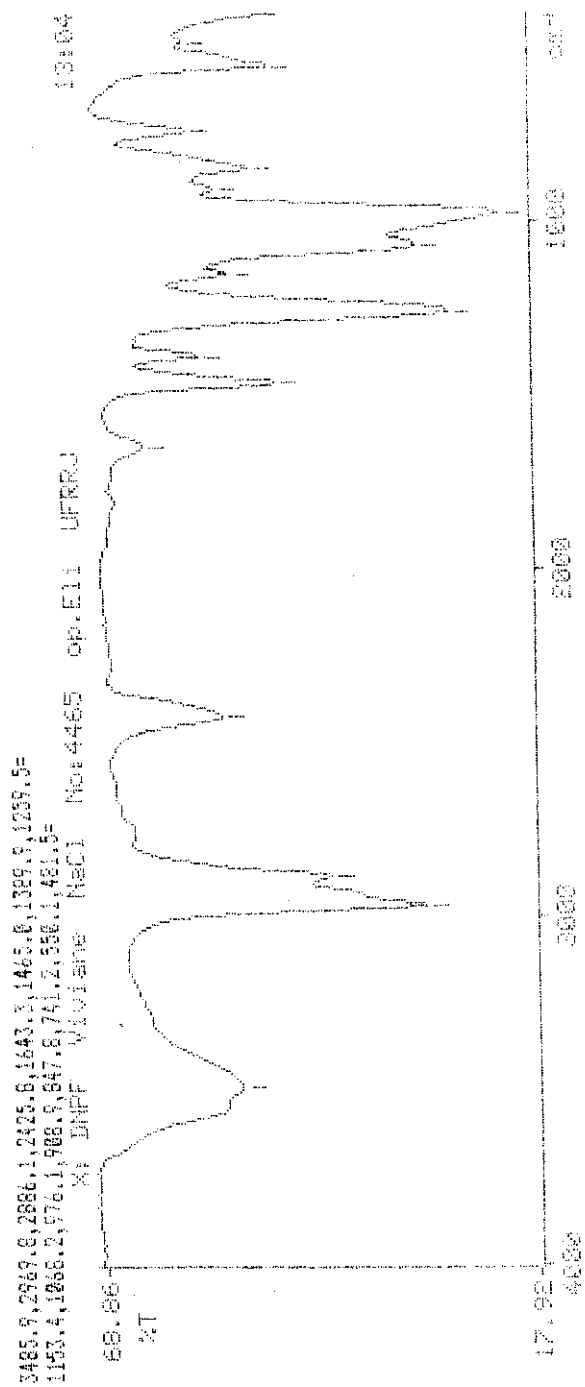


Figura 64. Espectro de IV do Fosfito de dipropila (Pastilha KBr).

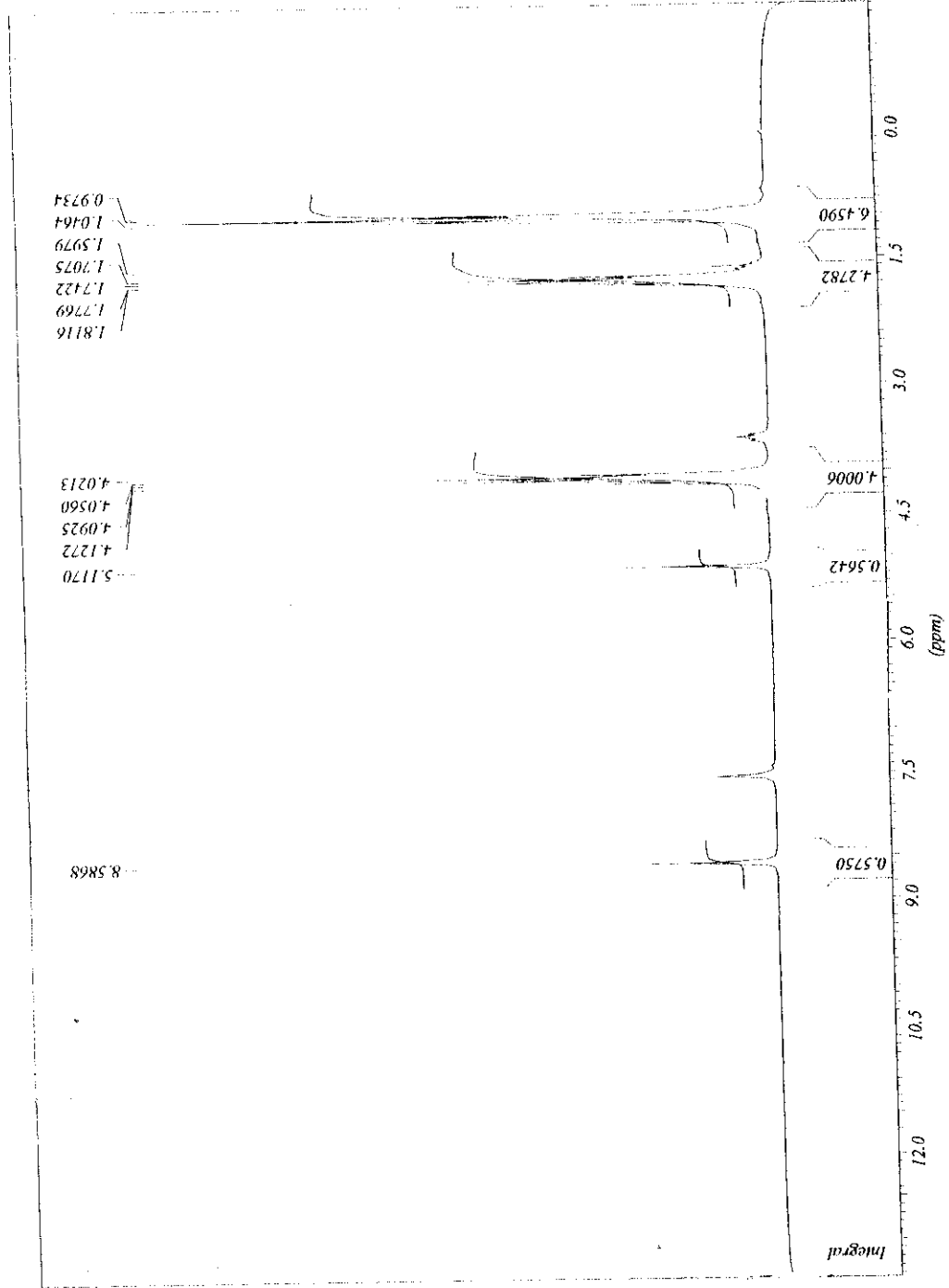


Figura 65: Espectro de RMN-¹H do Fosfito de dipropila (84) – 200 MHz – CDCl₃.

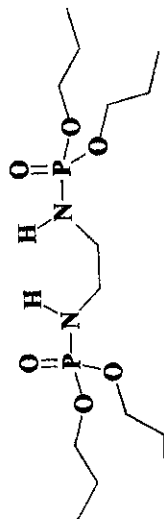
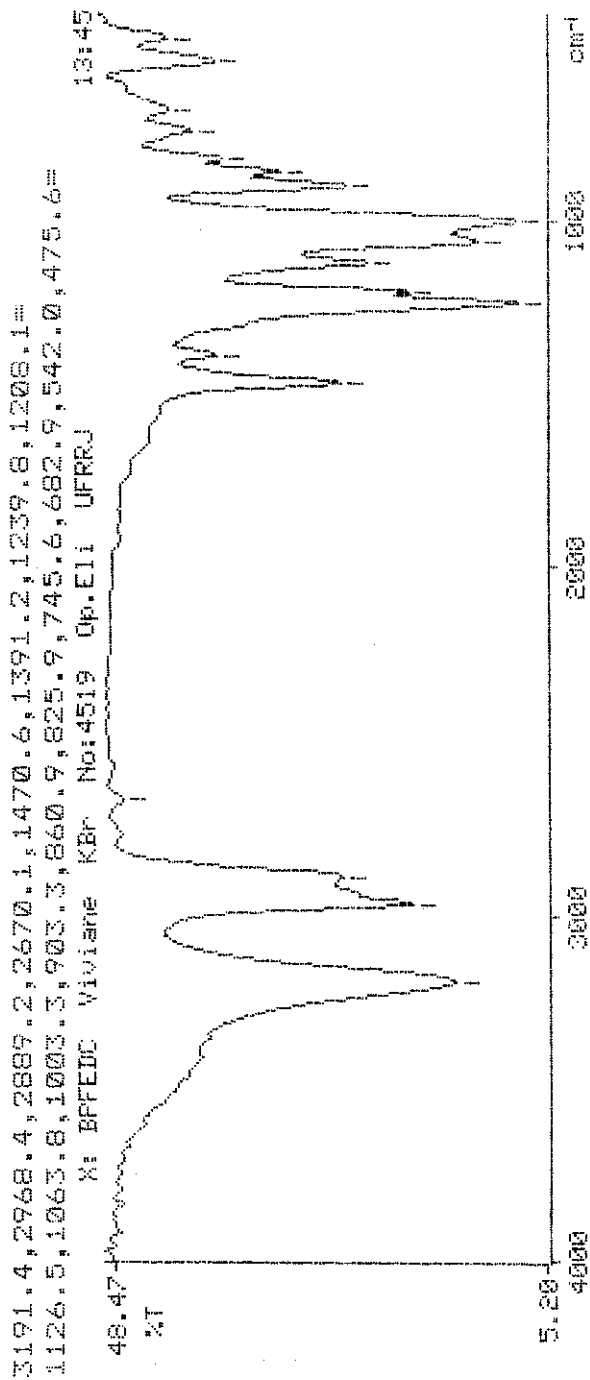


Figura 66. Espectro de IV do composto 4 (Pastilha KBr).

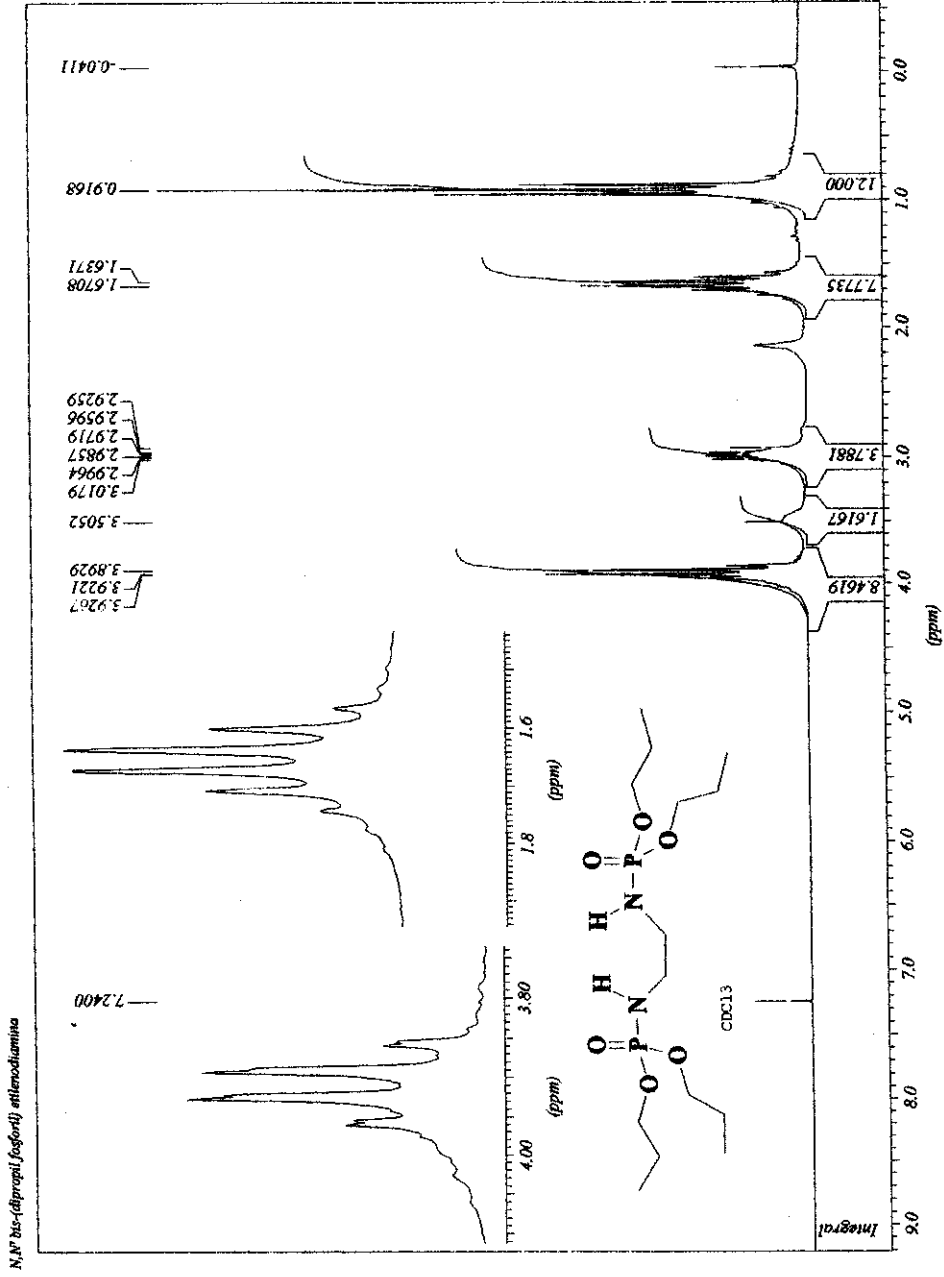


Figura 67: Espectro de RMN-¹H do composto 4 – 200 MHz – CDCl₃.

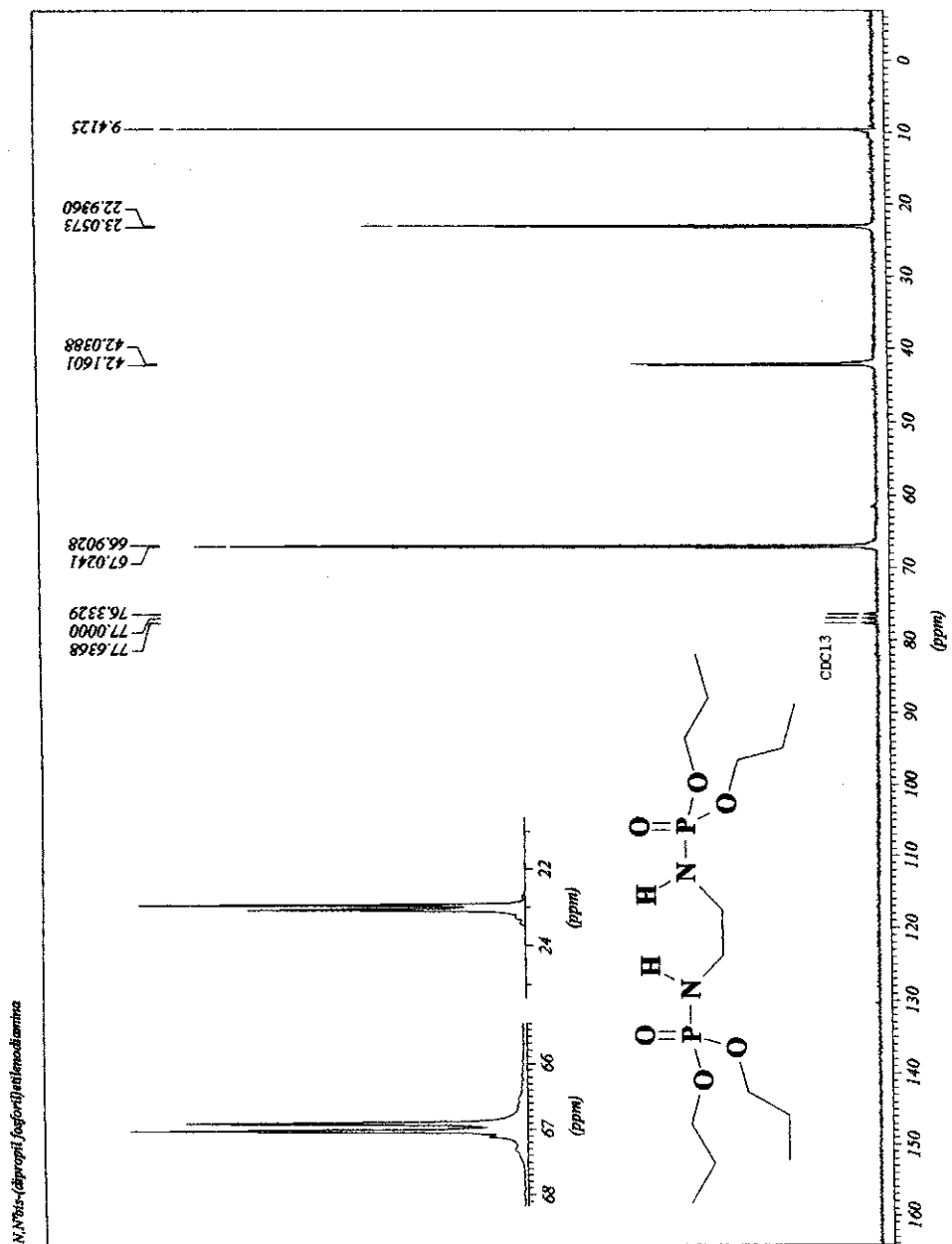


Figura 68: Espectro de RMN-¹³C do composto 4 – 50 MHz – CDCl₃.

Sample ID: C3PN2C2
 Instrument ID: Saturn GC/MS
 Acquisition Date: 10/2/01 9:46 AM
 Calculation Date: 10/2/01 10:30 AM
 Inj. Sample Notes:

Operator: Fran/
 Last Calibration: None
 Data File: c:\...lc3pn2c2.sms
 Method: c:\...jaoa.mth

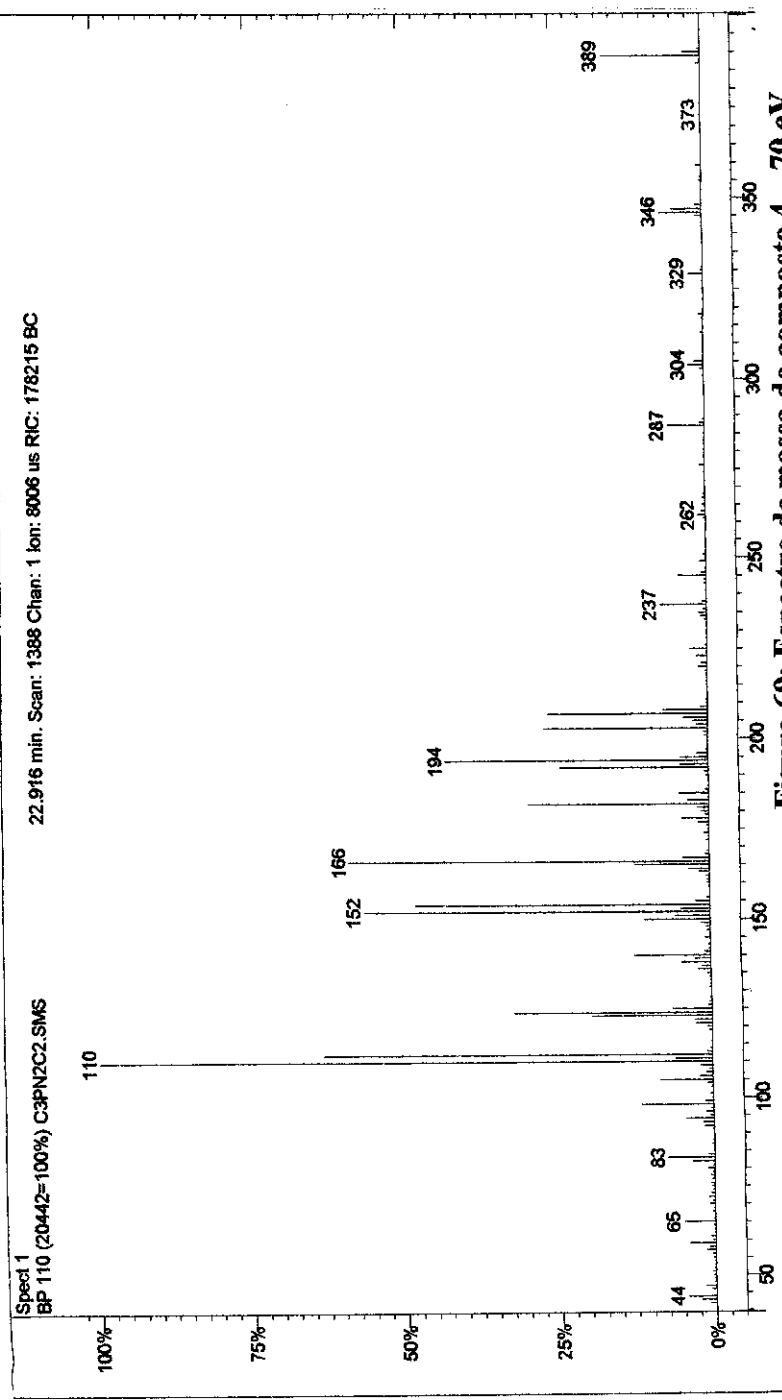
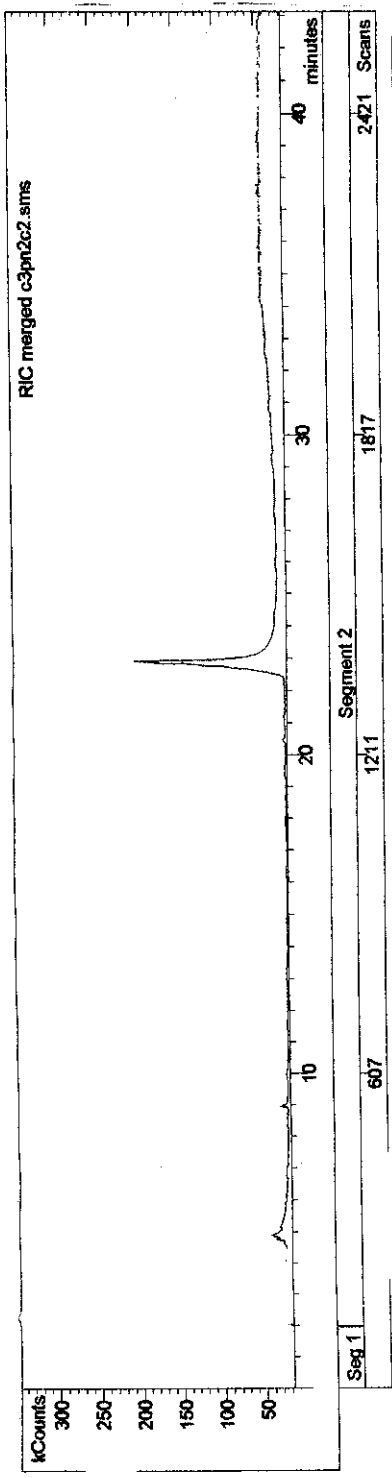


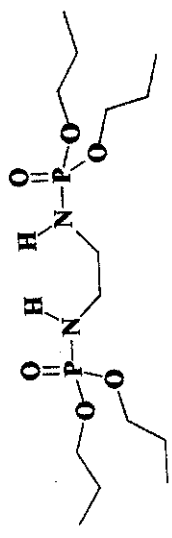
Figura 69: Espectro de massa do composto 4 – 70 eV.

Run Documentation
Injection Sample Notes

Recalc Sample Notes

Injection Method Notes

c:\saturnw\metodos\jaoa.mth
 Solicitante: Viviane/UFRRJ -
 Amostra: C3PN2C2
 PM: 388
 Solvente: Diclorometano
 Condições de Análise:
 Coluna: CP-SIL8 (30mX0.25x0.25mm)
 Temperatura 170C/1min - 3C/min - 270C/ 20min
 Injetor: 250C
 EM: Trap: 180C
 Manifold: 60C
 Trxline: 200C
 Ionizacao: EI (70eV)



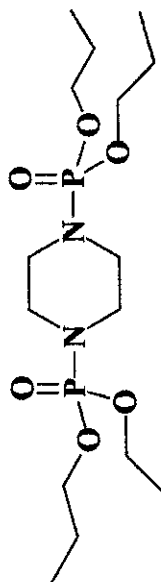
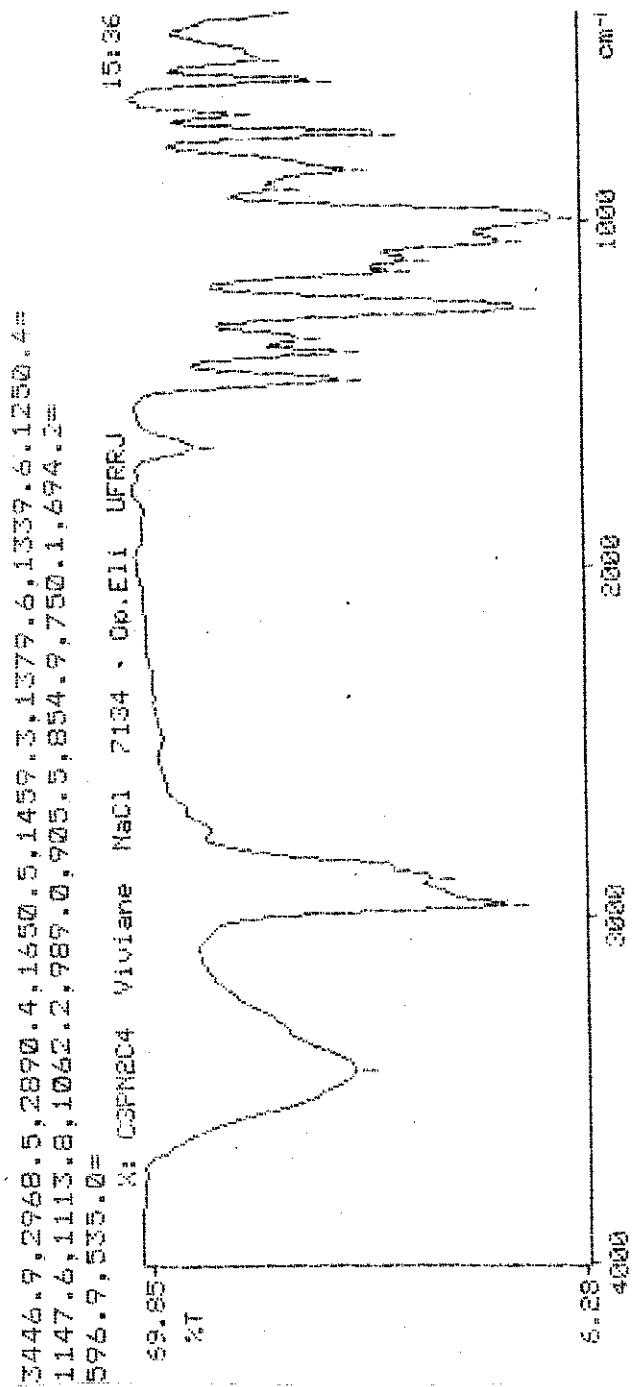


Figura 70. Espectro de IV do composto 9 (Pastilha de NaCl).

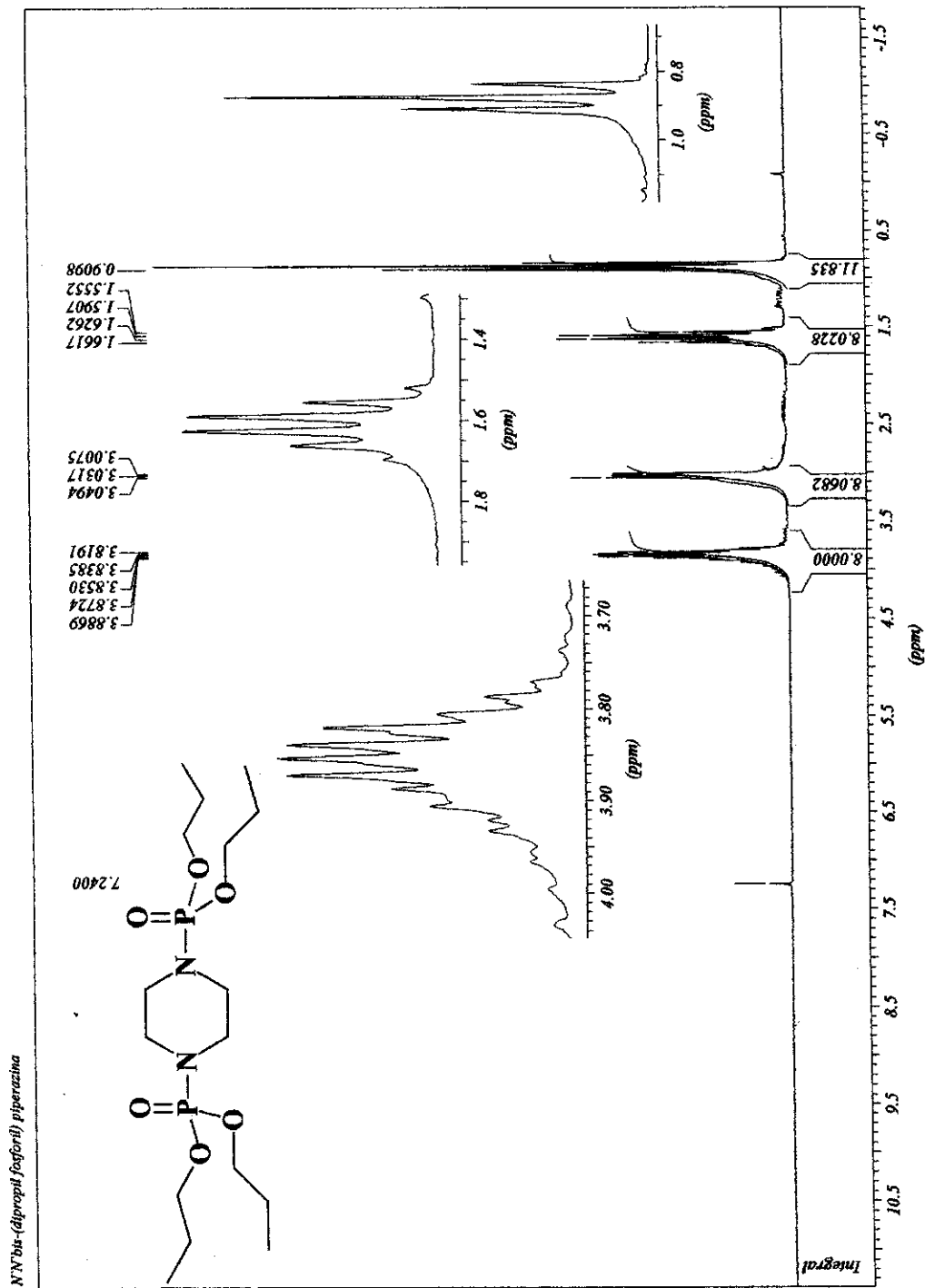


Figura 71: Espectro de RMN¹H do composto 9 – 200 MHz - CDCl₃.

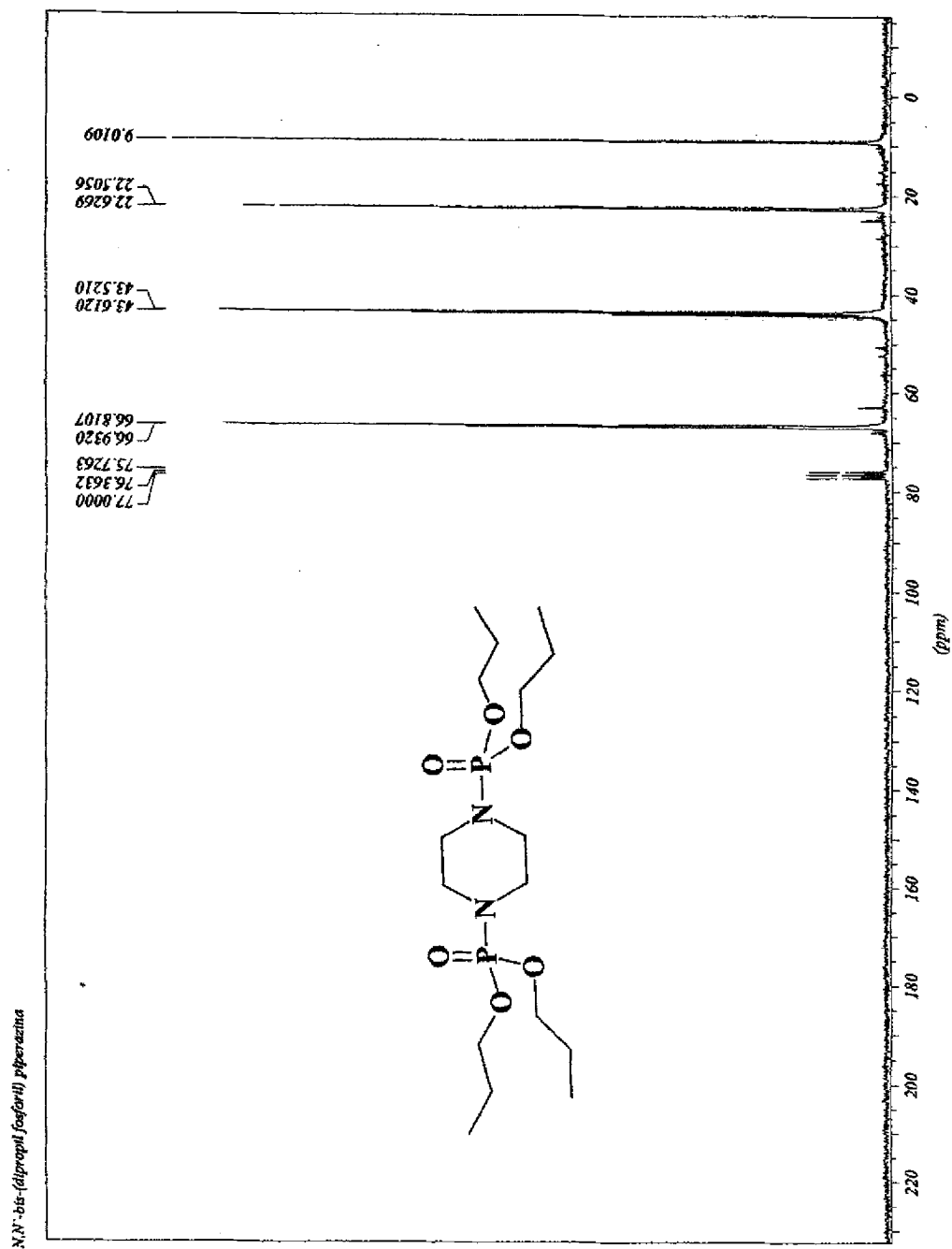


Figura 72: Espectro de RMN¹³C do composto 9 – 50 MHz - (DMSO).

Sample ID: C3PN2C4
 Instrument ID: Saturn GC/MS #1
 Acquisition Date: 4/10/02 8:48 AM
 Calculation Date: 4/10/02 9:21 AM
 Inj. Sample Notes:

Operator: France
 Last Calibration: None
 Data File: c:\...lc3pn2c4.sms
 Method: c:\...ljoao.mth

Run Documentation

Injection Sample Notes

Recalc Sample Notes

Injection Method Notes

c:\satur\sws\metodos\joao.mth
 Solucao: Viviane
 Amostra: C3PN2C4
 PM: 414
 Solvente: Diclorometano
 Condiçoes da Analise:
 Coluna: CP SIL 8CB (30mX0.25x0.25mm)
 Temperatura: 150C/1min - 5C/min - 280C/10Min
 Injetor: 270C
 EM: Trap: 220C
 Manifold: 60C
 Xferline: 250C
 Ionizacao: EI (70eV)
 SPLIT:1:100

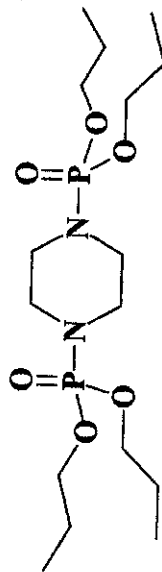
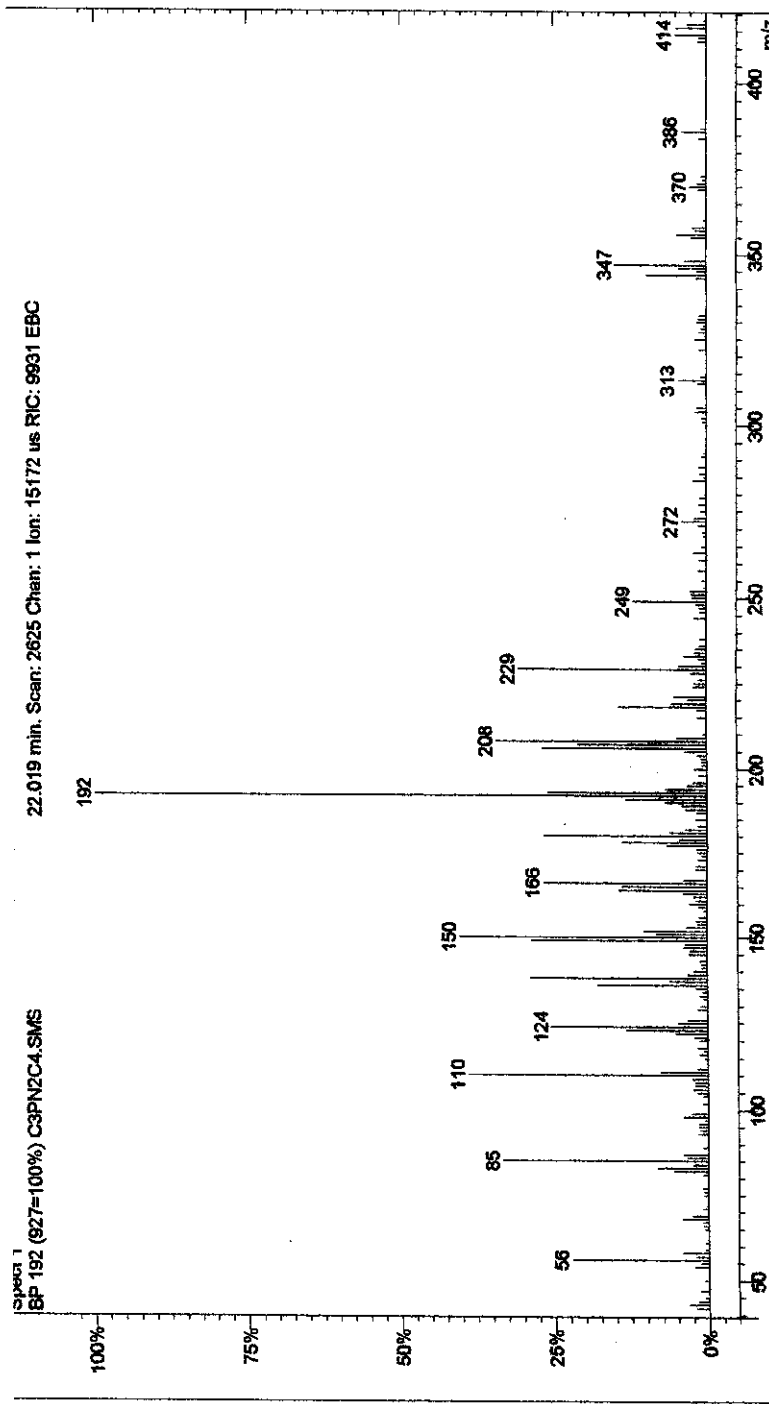
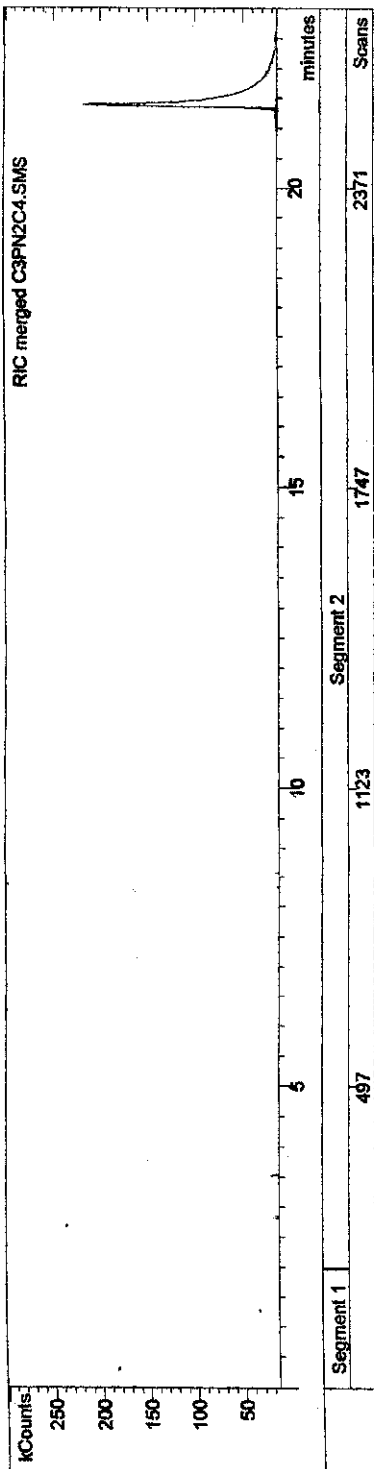


Figura 73. Espectro de massa do composto 9 - eV.

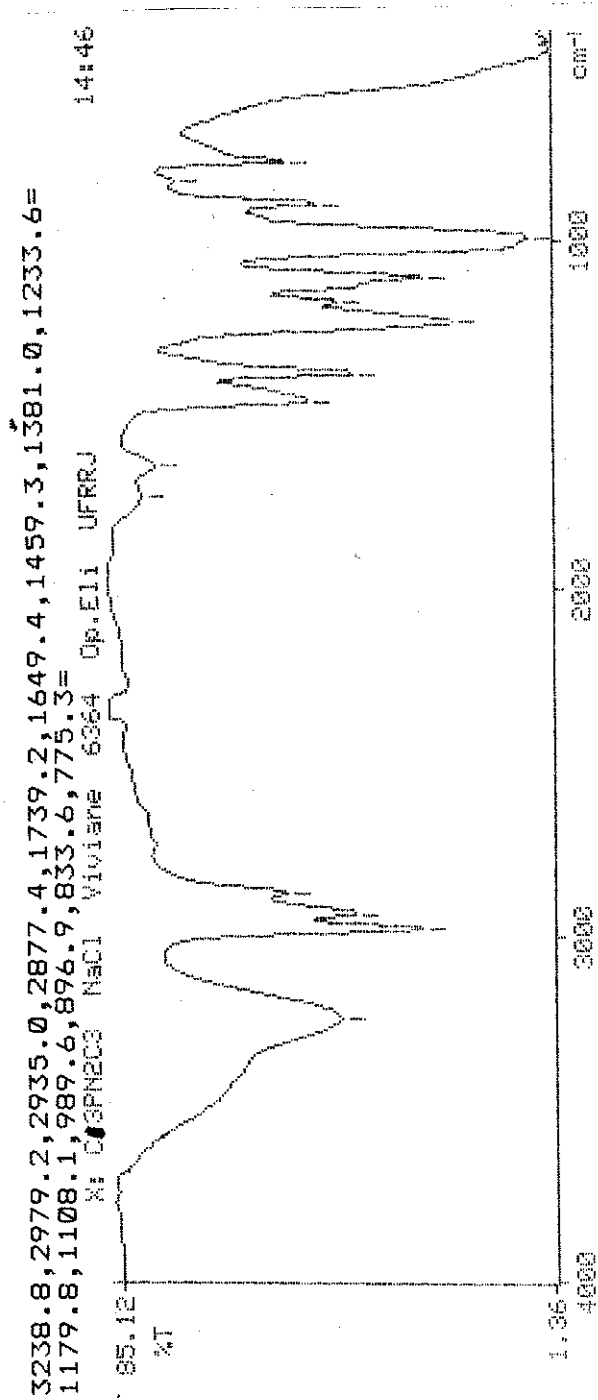


Figura 74: Espectro de IV do composto 14 (Pastilha de NaCl).

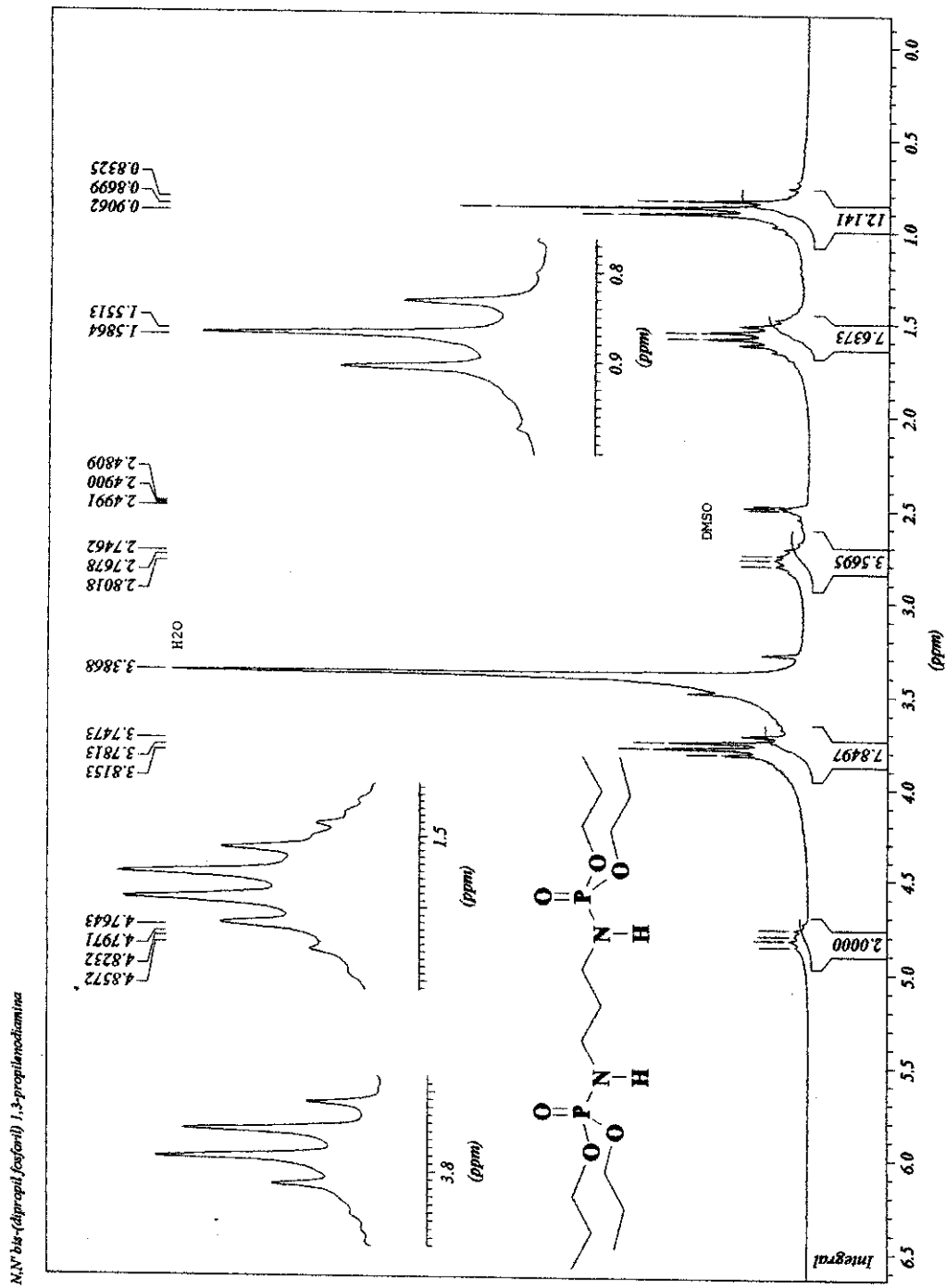


Figura 75: Espectro de RMN¹H do composto 14 – 200 MHz – DMSO.

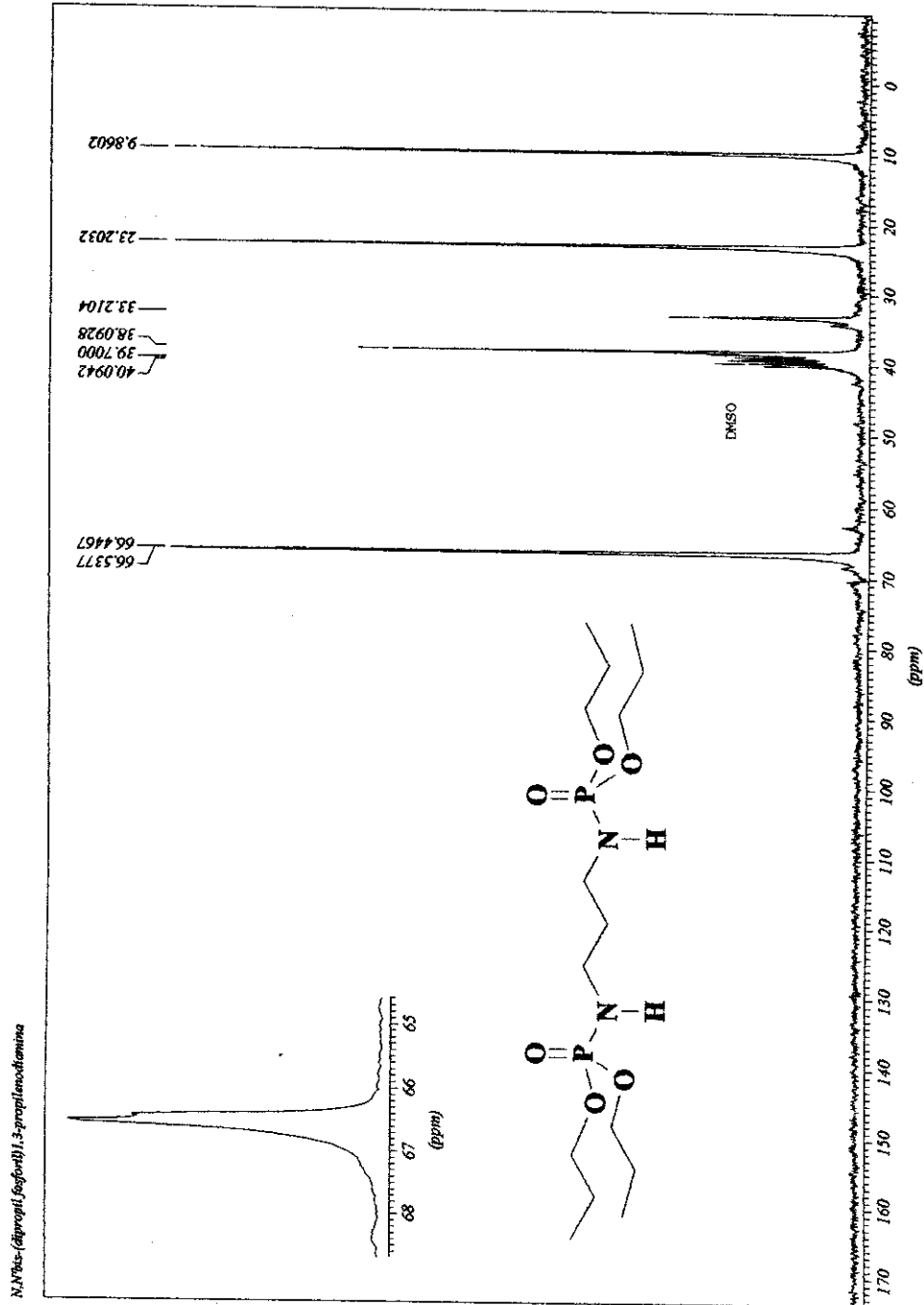
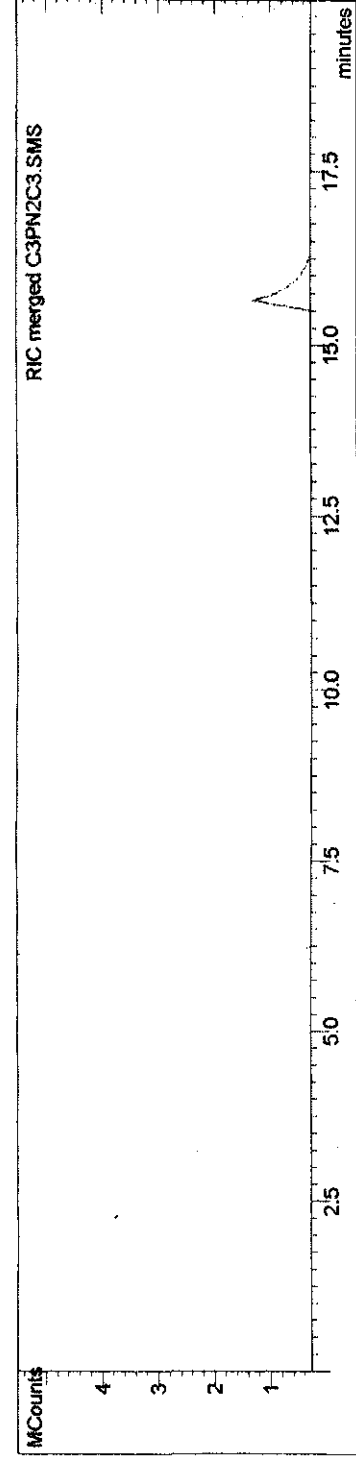


Figura 76: Espectro de RMN¹³C do composto 14 – 50 MHz – CDCl₃.

Sample ID: C3PN2C3
Instrument ID: Saturn GC/MS
Data File: c:\...lc3pn2c3.sms
Method: C:\Saturn\WS\Metodos\Joao.mth

Operator: Franc.
Acquisition Date: 8/14/03 12:29 PM
Calculation Date: 8/14/03 12:49 PM



Run Documentation

Injection Method Notes

c:\saturn\ws\metodos\joao.mth
Solicitante: Viviane
Amostra: C3PN2C3
PM: 401,8
Solvente: cloroformio
Condições da Análise:
Coluna: CP SIL 8CB (30mX0.25x0.25mm)
Temperatura: 180C/1' - 5C/min - 290C/5'
Injetor: 270C
EM: Trap: 220C
Manifold: 60C
Xferline: 250C
Ionizacão: EI (70eV)
SPLIT:1:30

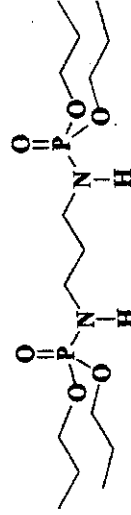
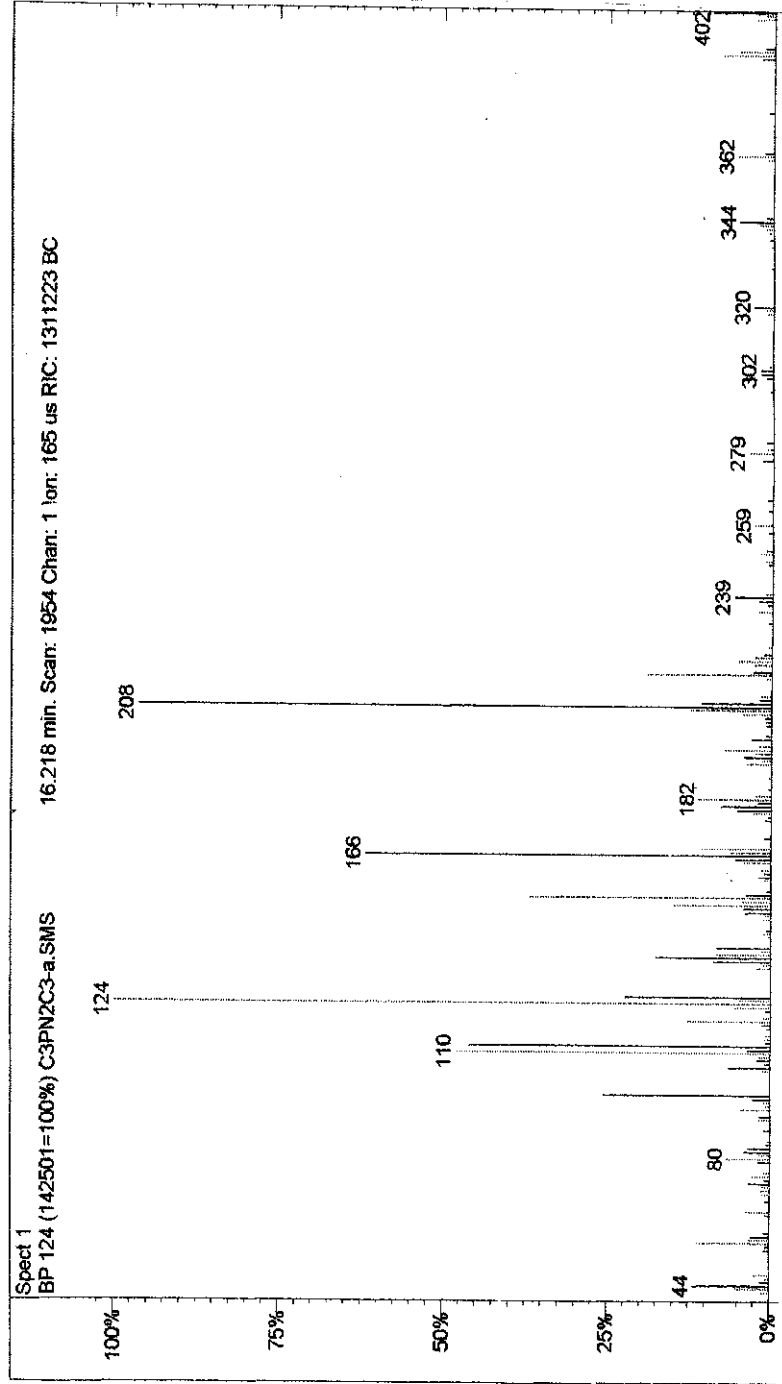


Figura 77: Espectro de massa do composto 14 - 70 eV.

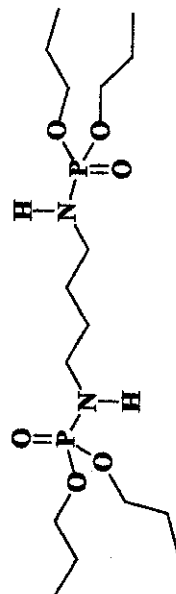
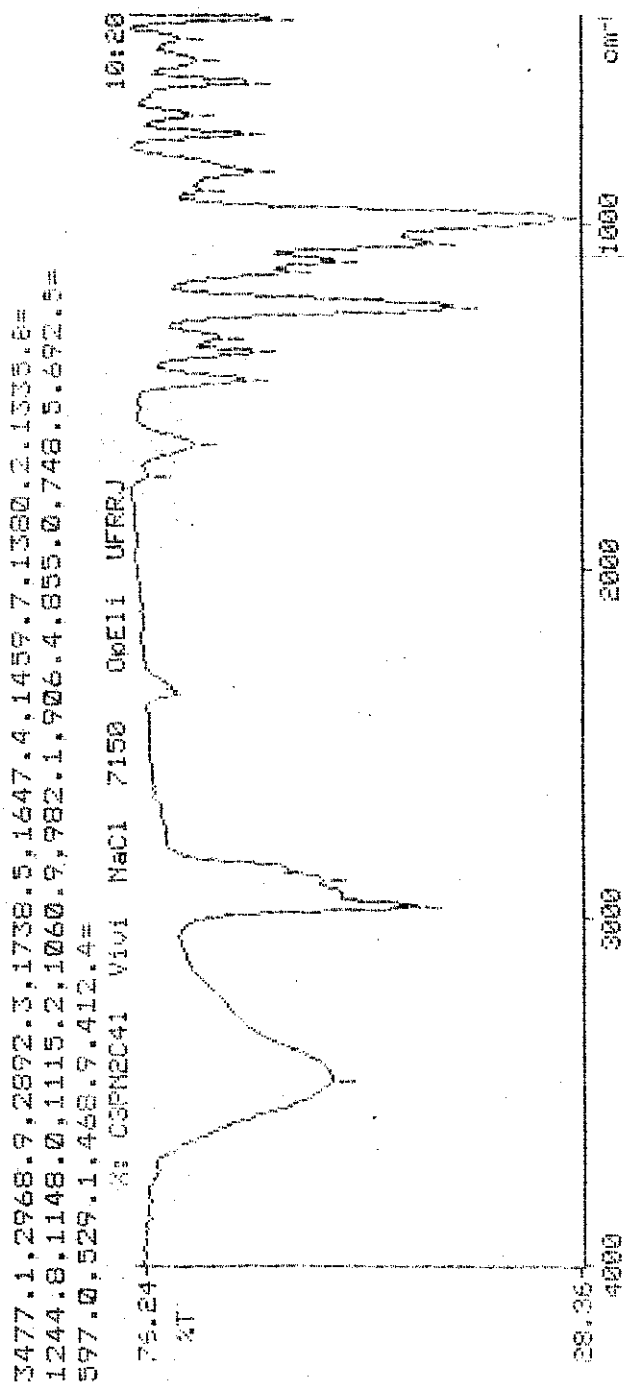


Figura 78: Espectro de IV do composto 19 (Pastilha de NaCl).

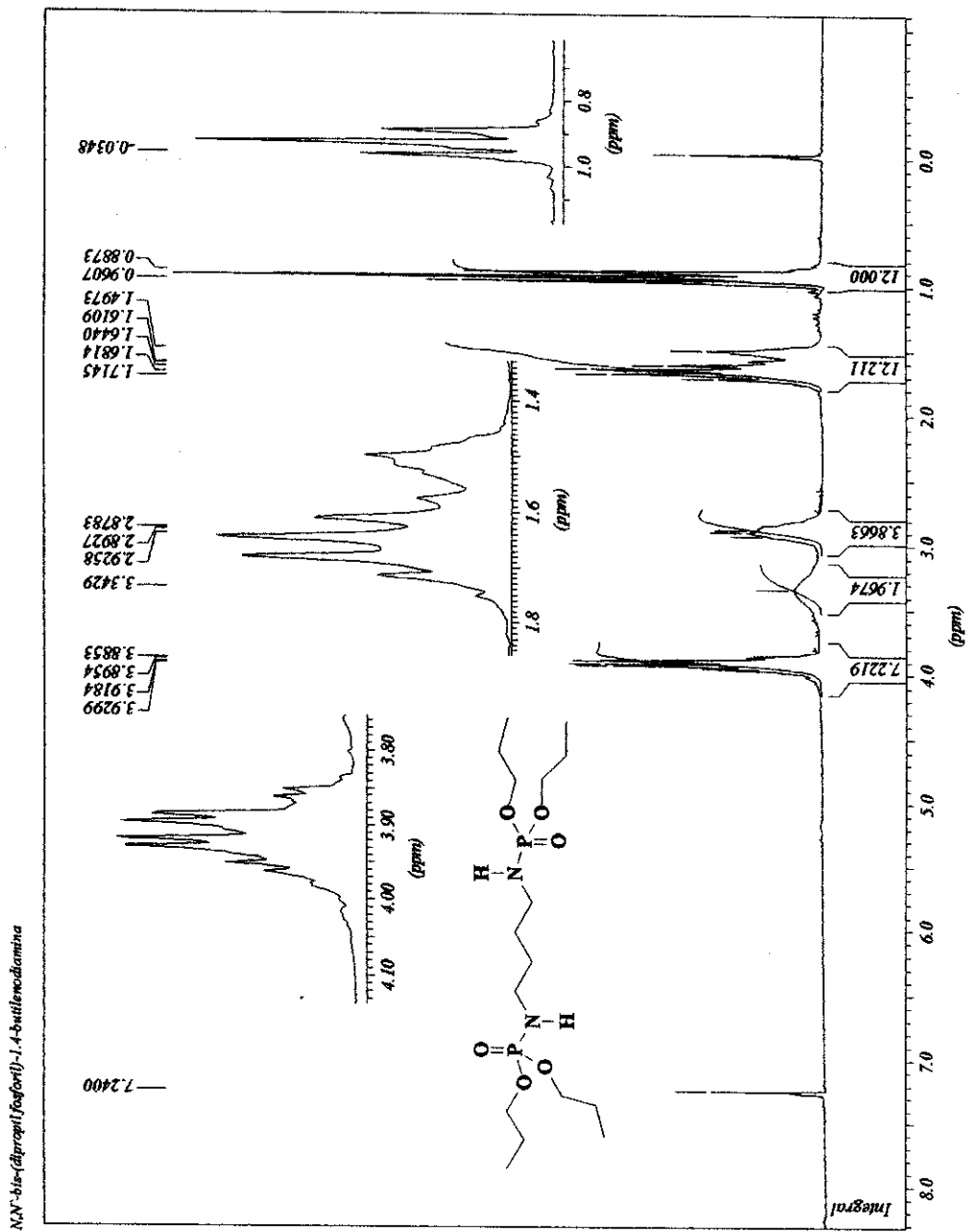


Figura 79: Espectro de RMN¹H do composto 19 – 200MHz – CDCl₃.

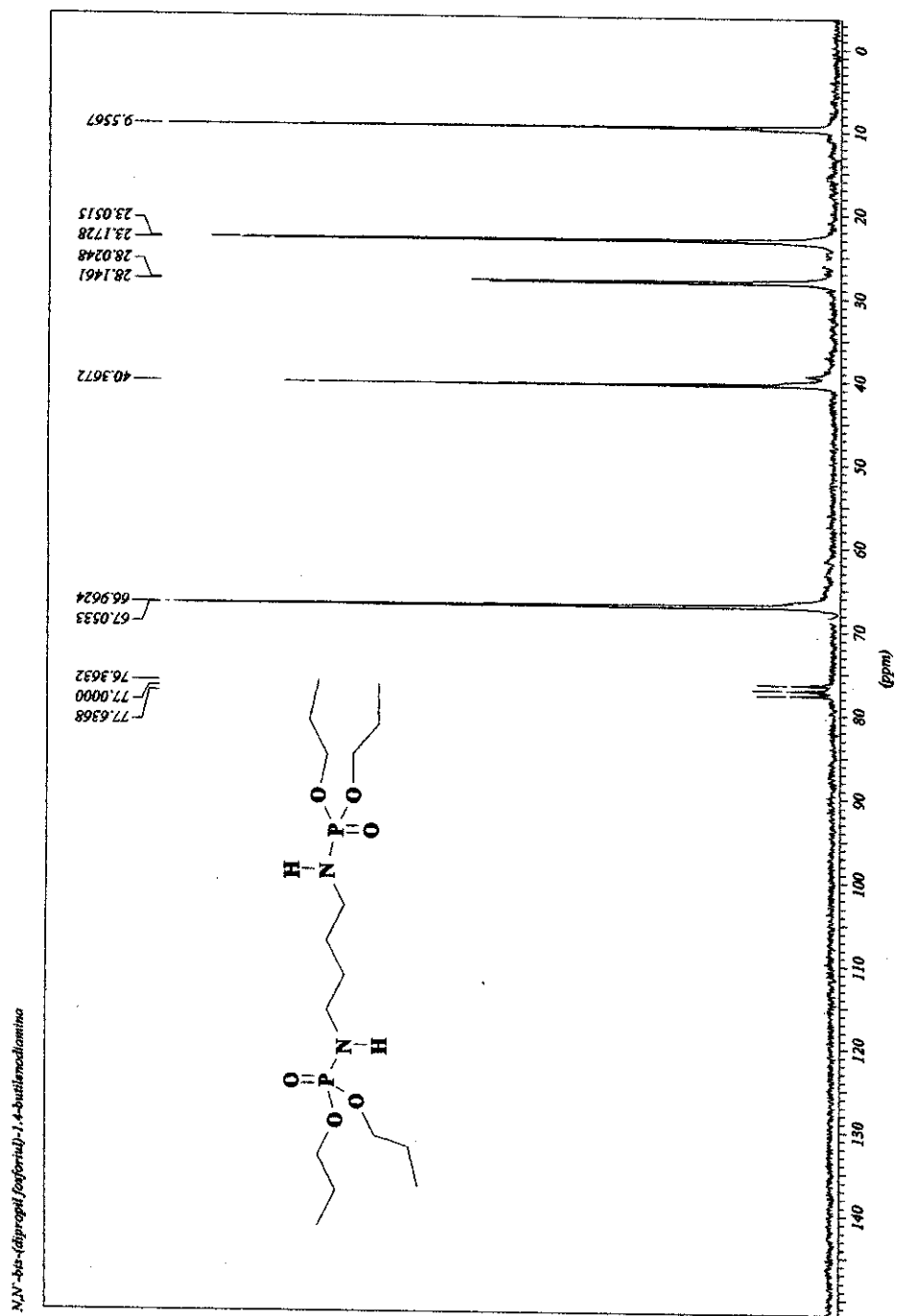


Figura 80: Espectro de RMN- ^{13}C do composto 19 – 50 MHz – CDCl_3 .

Sample ID: C3PN2C14
Instrument ID: Saturn GC/MS
Data File: c:\...lc3pn2c14.sms
Method: C:\Saturn\WS\Metodos\Joao.mth

Operator:
Acquisition Date: 8/14/03 9:06 AM
Calculation Date: 8/14/03 9:04 AM

Run Documentation
Injection Method Notes
c:\saturn\ws\metodos\joao.mth 186
Solicitante: Viviane
Amostra: C3PN2C14
PM: 415.8
Solvente: cloroformio
Condições da Análise:
Coluna: CP SIL 8CB (30mX0.25x0.25mm)
Temperatura: 180C/1- 5C/min - 290C/5'
Injetor: 270C
EM: Trap: 220C
Manifold: 60C
Xferline: 250C
Ionização: EI (70eV)
SPLIT: 1:30

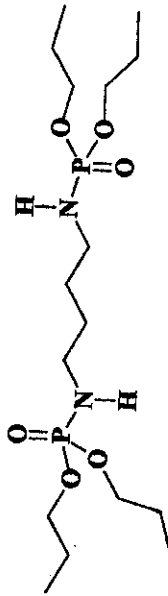
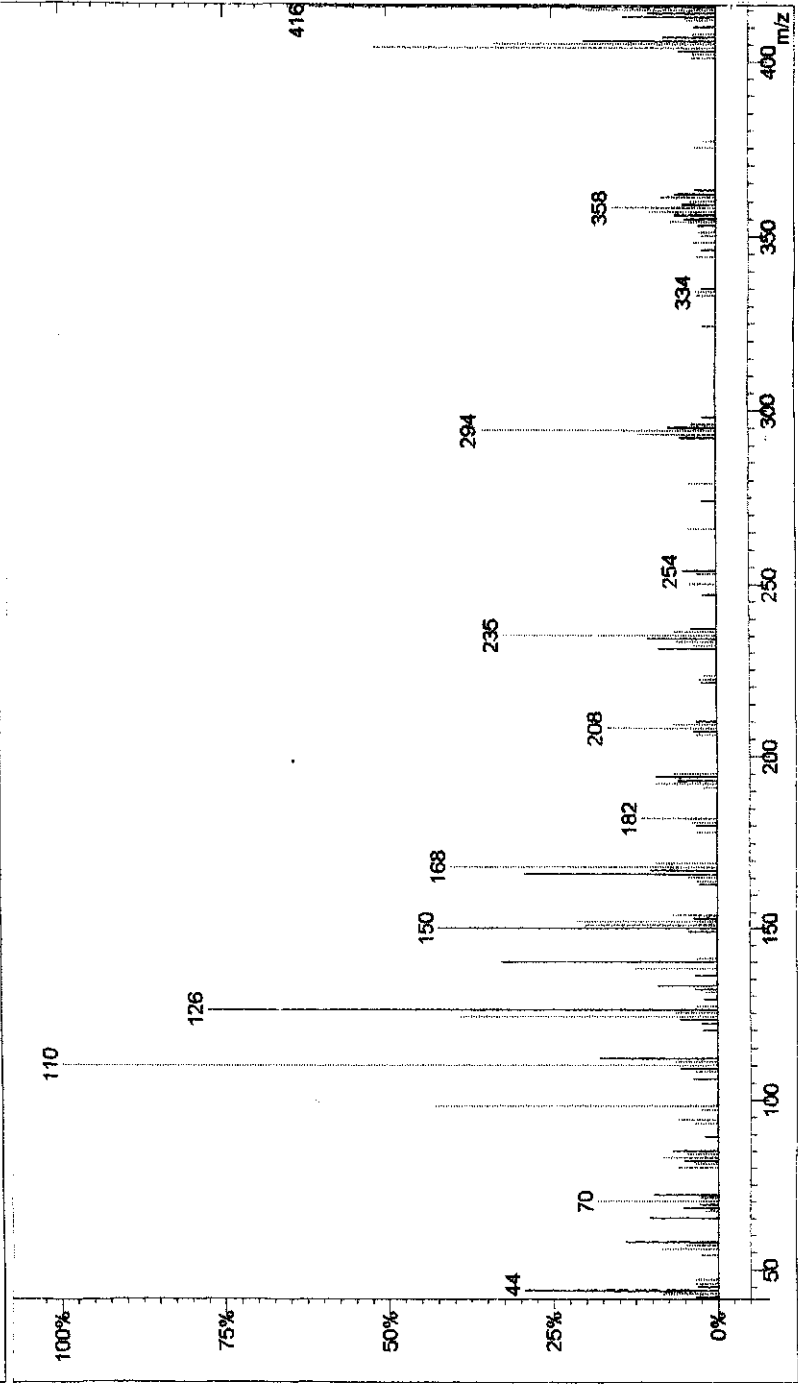
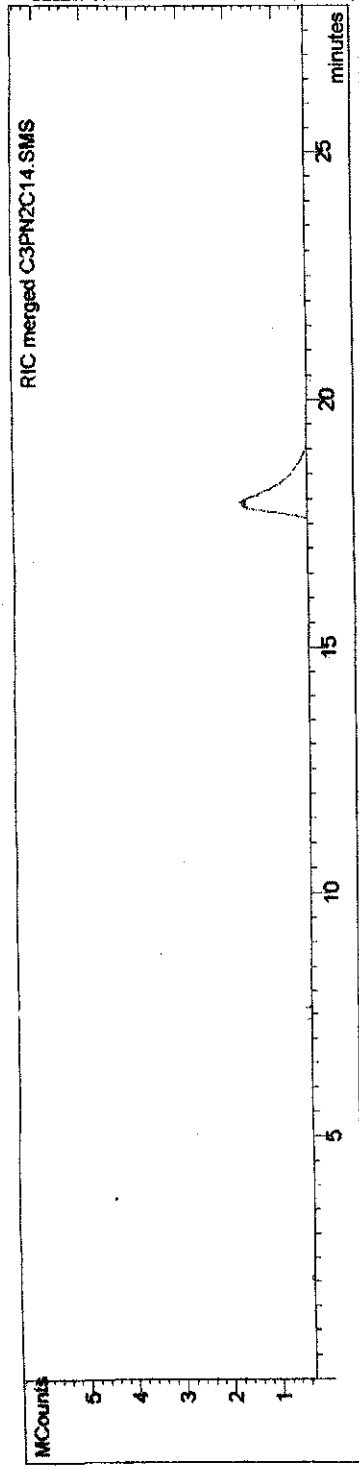


Figura 81: Espectro de massa do composto 19 - 70 eV.

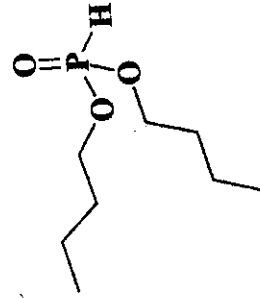
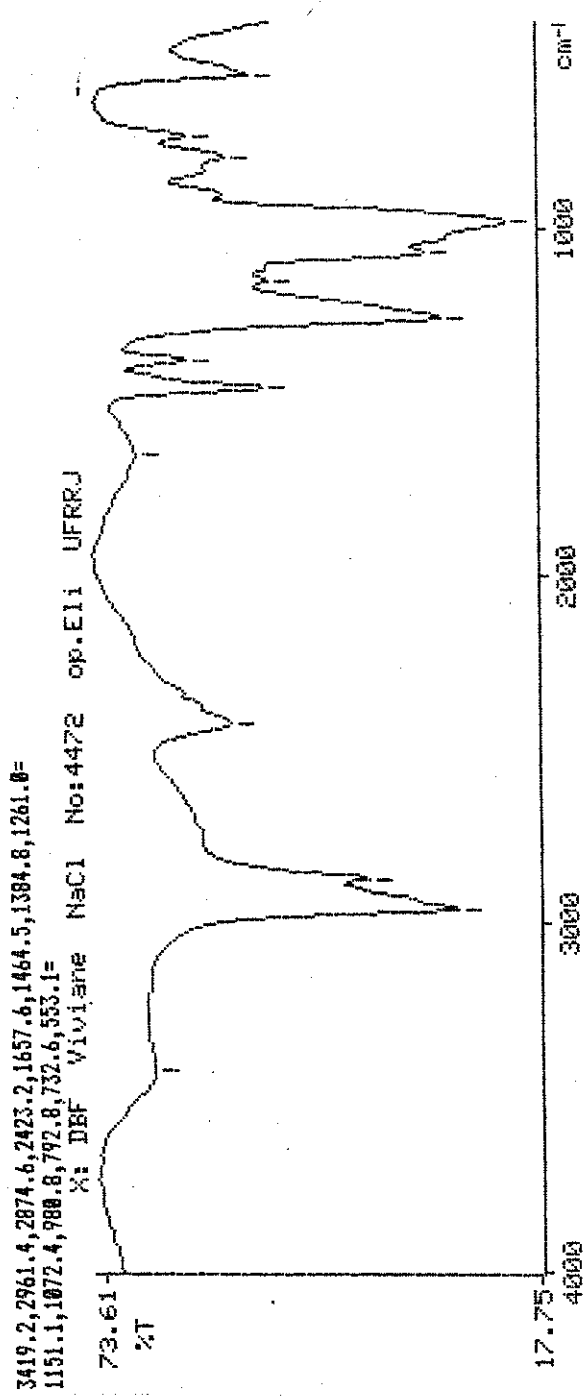


Figura 82. Espectro de IV do Fosfito de dibutila (85) (Pastilha de NaCl).

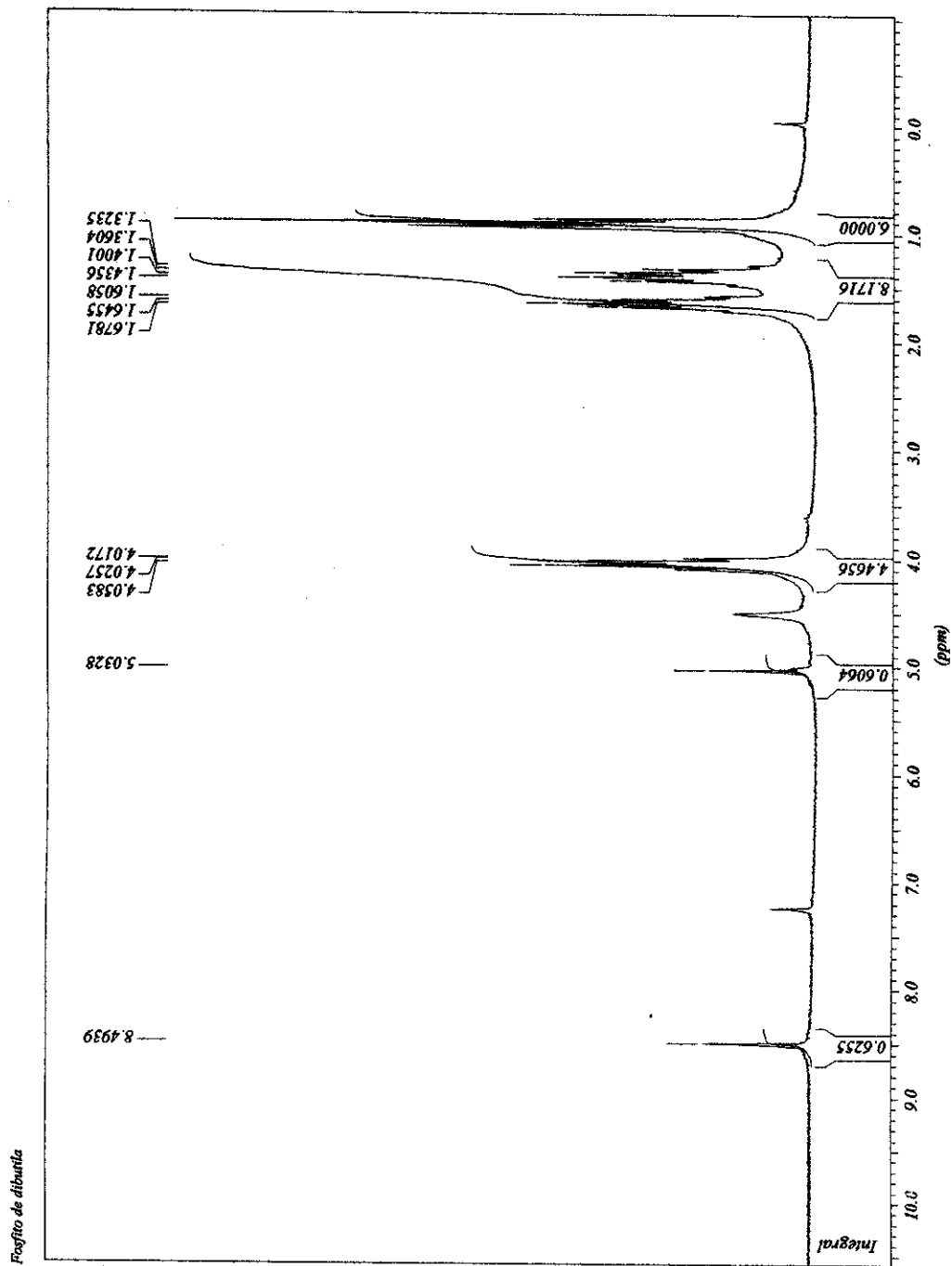


Figura 83: Espectro de RMN-¹H do Fosfito de dibutilita (85).

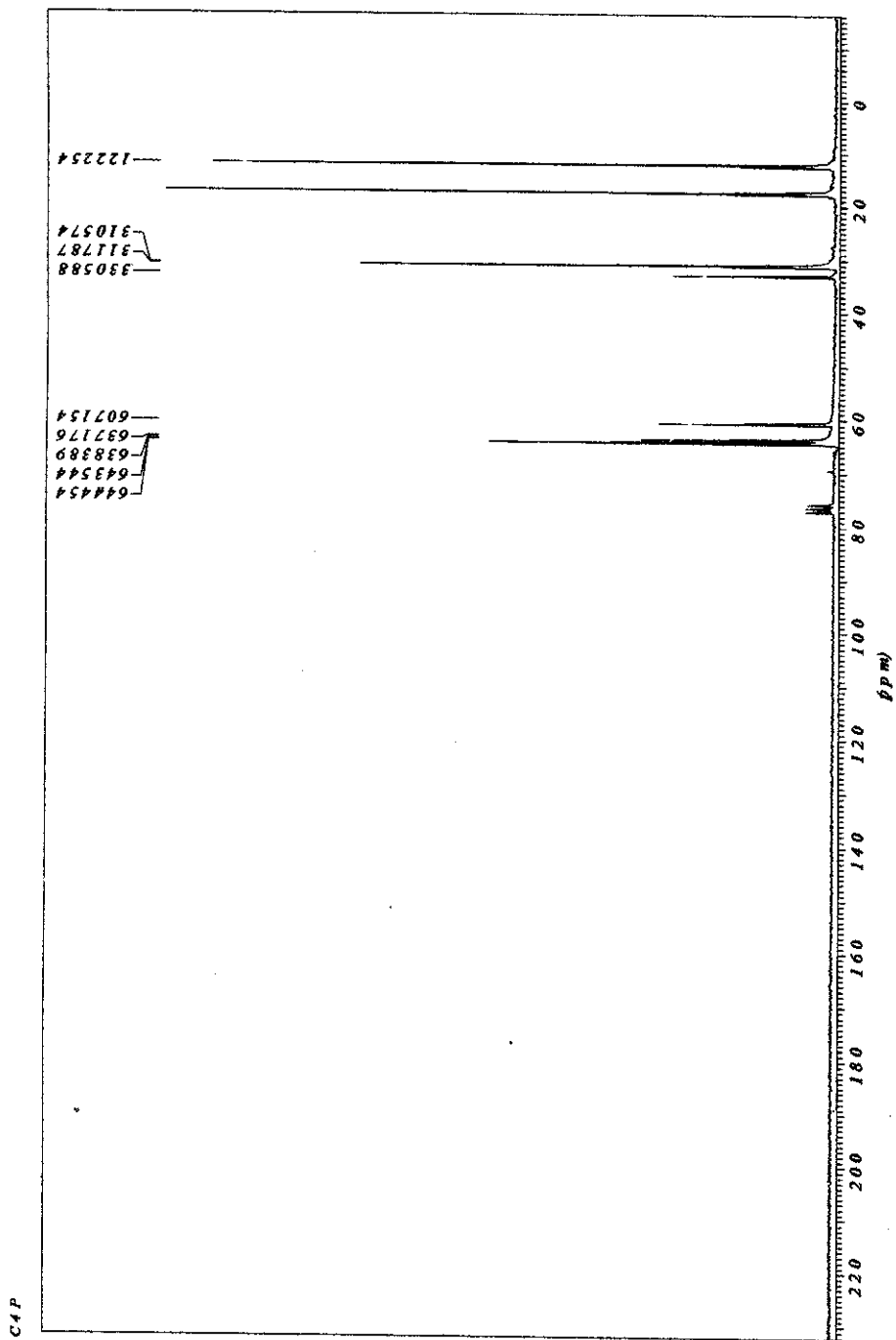


Figura 84: Espectro de RMN-¹³C do Fosfito de dibutila – 50 MHz – CDCl₃.

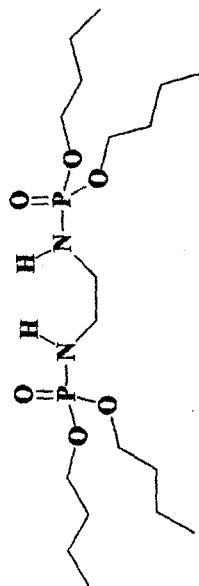
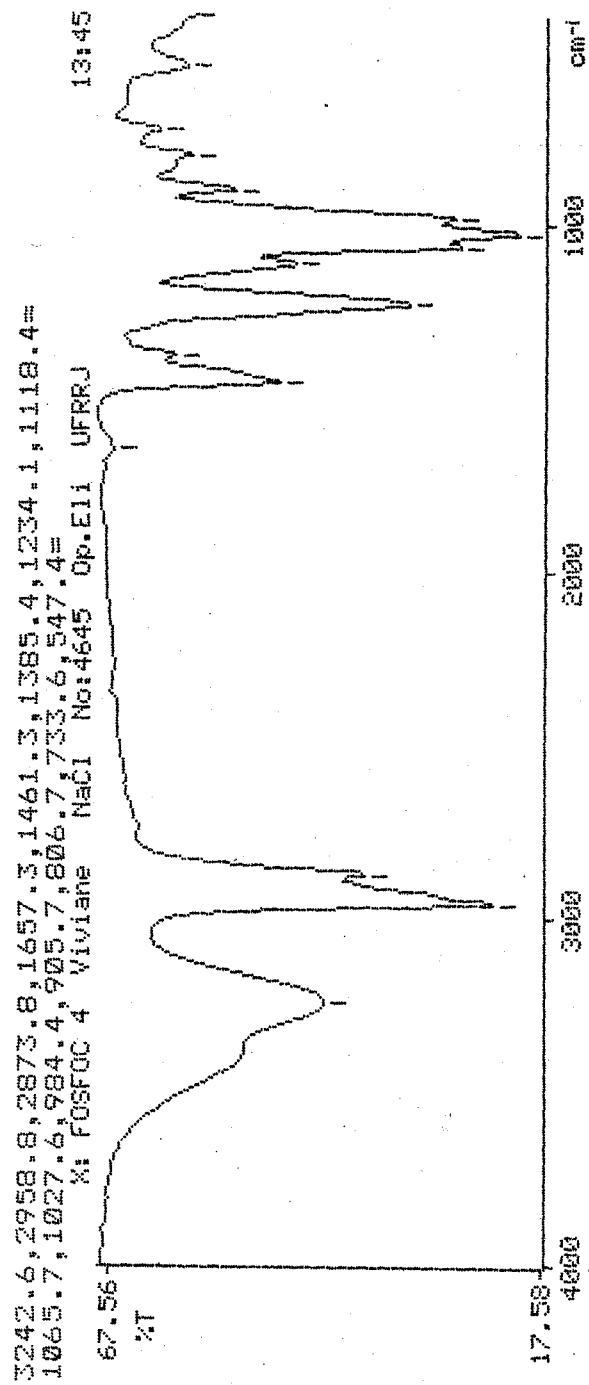


Figura 85: Espectro de IV do composto 5 (Pastilha de NaCl).

*N,N'*bis-(dibutilfosforil)etilendiamina

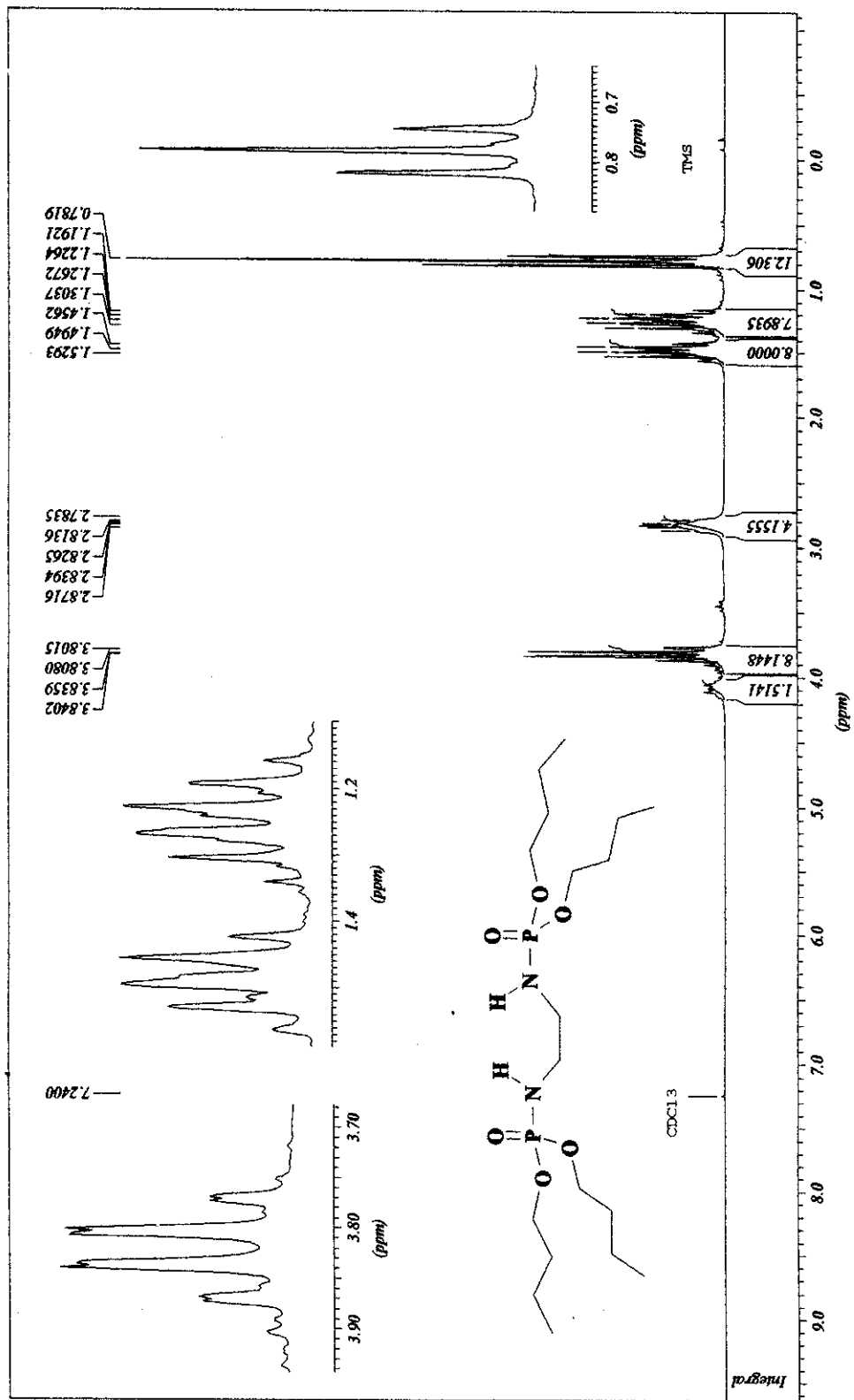
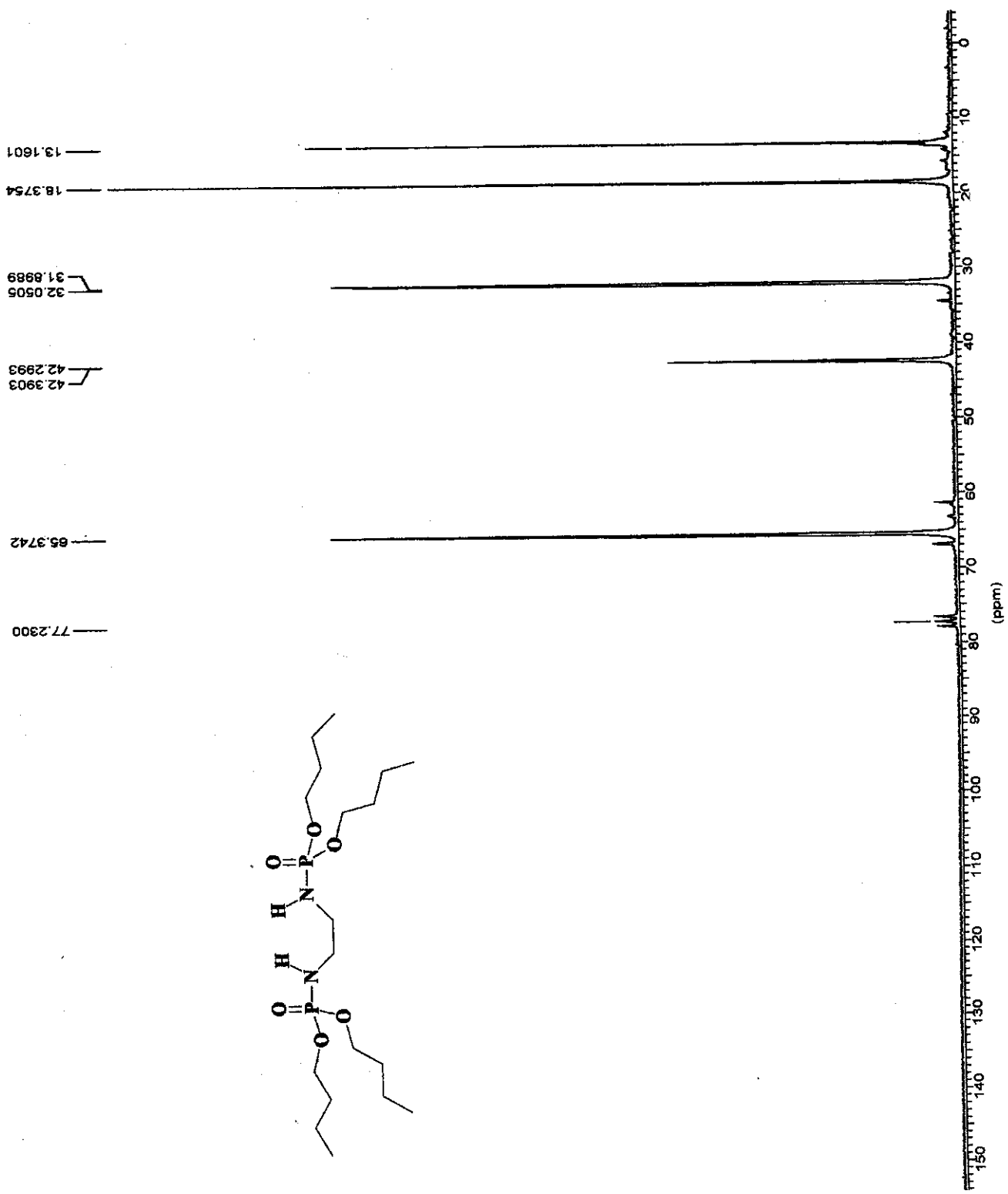


Figura 86: Espectro de RMN-¹H do composto 5 – 200 MHz – CDCl₃.

Figura 87: Espectro de RMN-¹³C do composto 5 – 50 MHz – CDCl₃.

Run Documentation
 Injection Sample Notes

Recalc Sample Notes

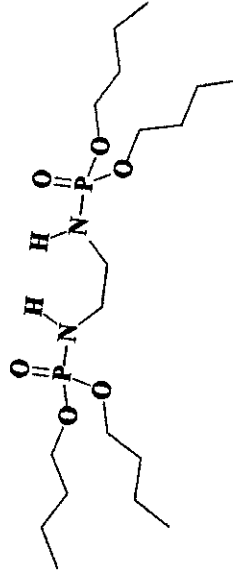
Injection Method Notes
 c:\saturmws\metodos\joao.mth

Solicitante: Viviane
 Amostra: 1C4PN2C2
 PM: 444

Solvente: Diclorometano
 Condições de Análise:

Coluna: SE30 (30mX0.25x0.25mm)
 Temperatura: 150C/1MIN - 5C/MIN - 290C/10MI
 Injetor: 270C

EM: Trap: 220C
 Manifold: 60C
 Xferline: 250C
 Ionizacao: EI (70eV)
 SPLIT:1:100



Chromatogram Plot

File: c:\saturmws\data\viviane\1c4pn2c2.sms

Sample: 1C4PN2C2

Scan Range: 1 - 4213 Time Range: 0.00 - 34.99 min.

Operator: Frances

Date: 3/21/02 10:32 AM

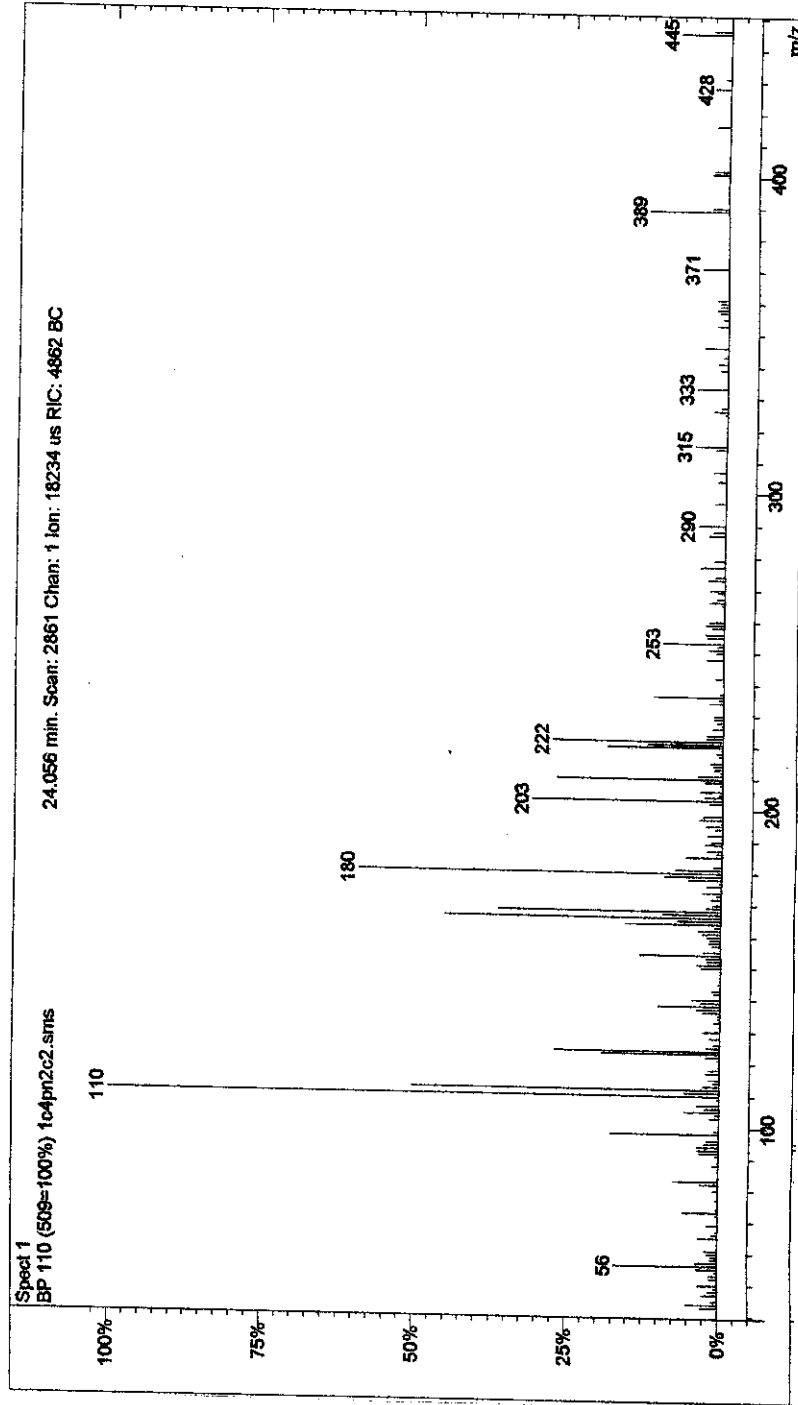


Figura 88: Espectro de massa do composto 5 - 200 MHz - CDCl₃.

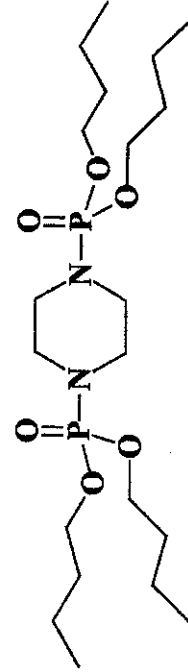
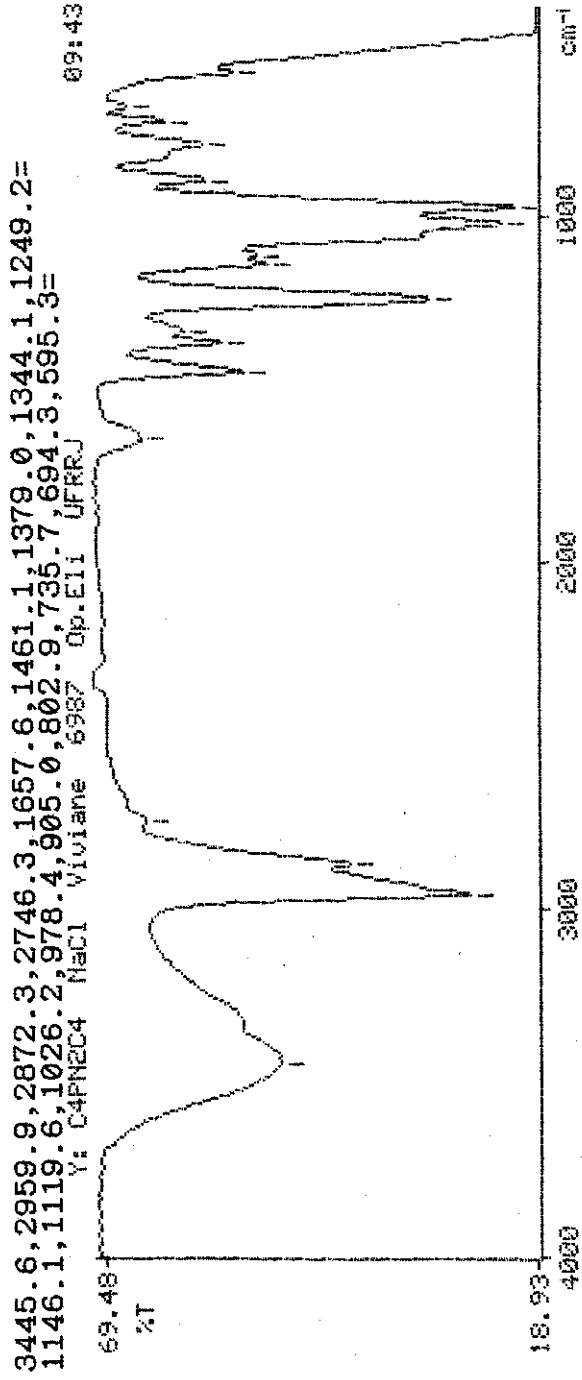


Figura 89: Espectro de IV do composto 10 (Pastilha de NaCl).

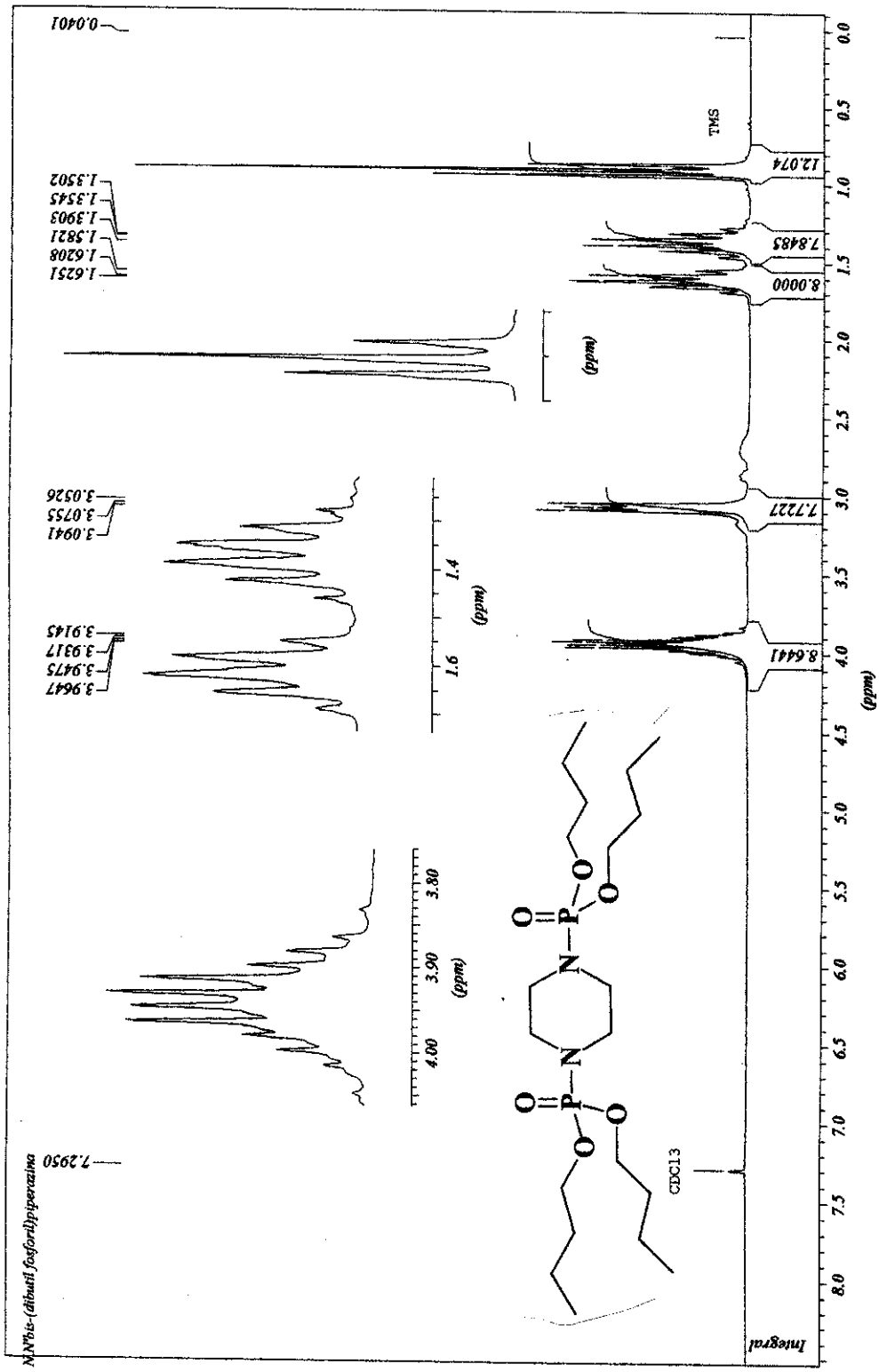
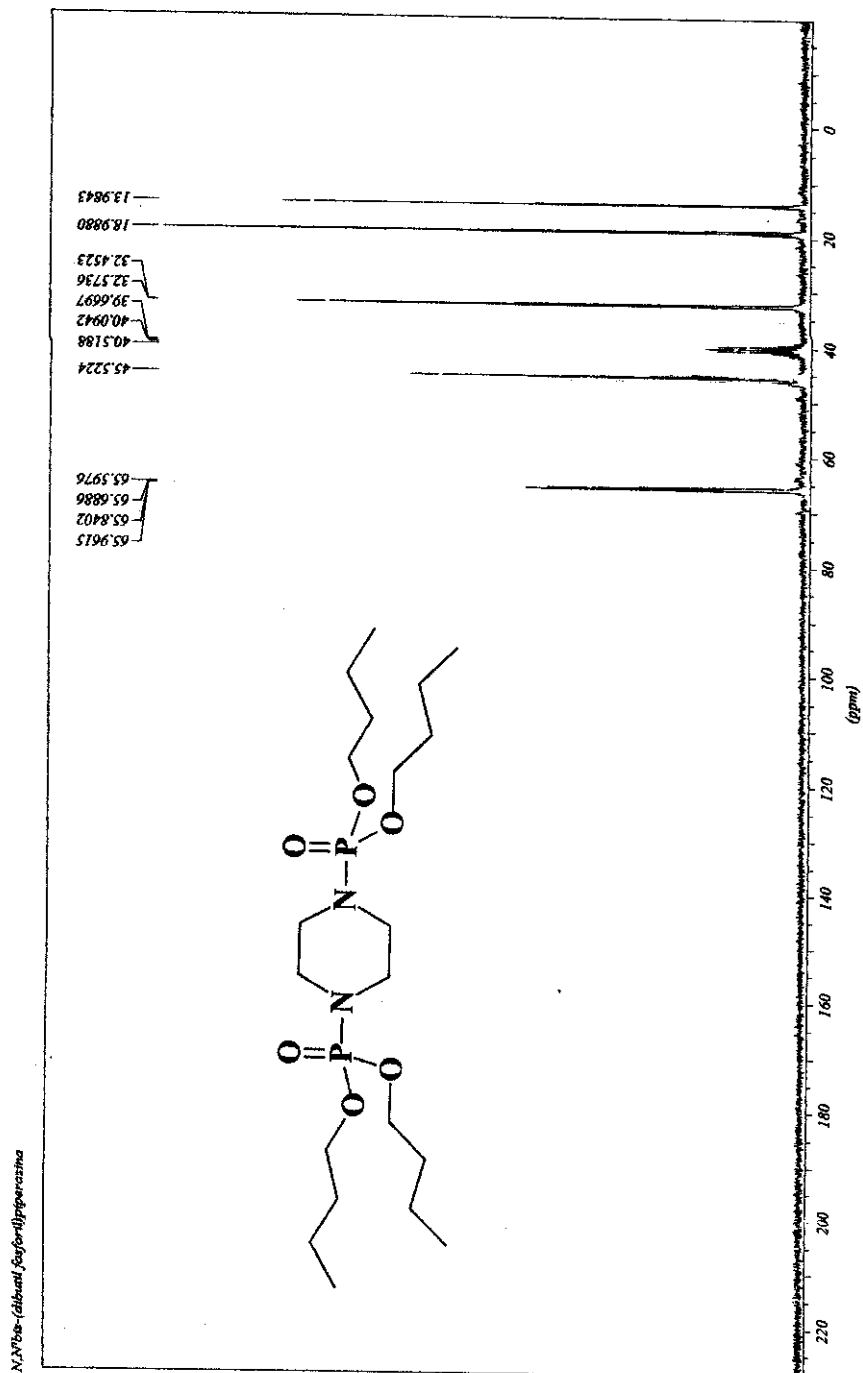


Figura 90: Espectro de RMN¹H do composto 10 – 200 MHz – CDCl₃.

Figura 91: Espectro de RMN¹³C do composto 10 – 50 MHz – CDCl₃.

Run Documentation
197

Injection Sample Notes

Recalc Sample Notes

Injection Method Notes

c:\saturn\sw\metodos\joao.mth
Solicitante: Viviane
Amostra: C4C4
PM: 470
Solvente: diclorometano
Condições da Análise:
Coluna: CP SIL 8CB (30mX0.25x0.25mm)
Temperatura: 150C/1' - 5C/min - 290C/5'
Injetor: 270C
EM: Trap: 220C
Manifold: 60C
Xterline: 250C
Ionização: EI (70eV)
SPLIT:1:100

Operator: Frances
Last Calibration: None
Data File: c:\...lc4c4.sms
Method: c:\...joao.mth

Sample ID: C4C4
Instrument ID: Saturn GC/MS #1
Acquisition Date: 11/4/02 7:29 AM
Calculation Date: 11/4/02 8:03 AM
Inj. Sample Notes:

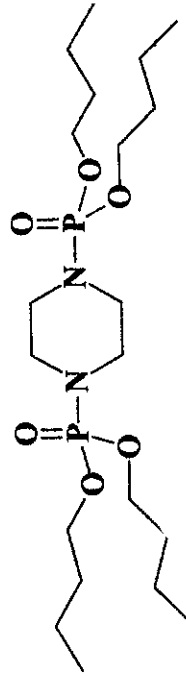
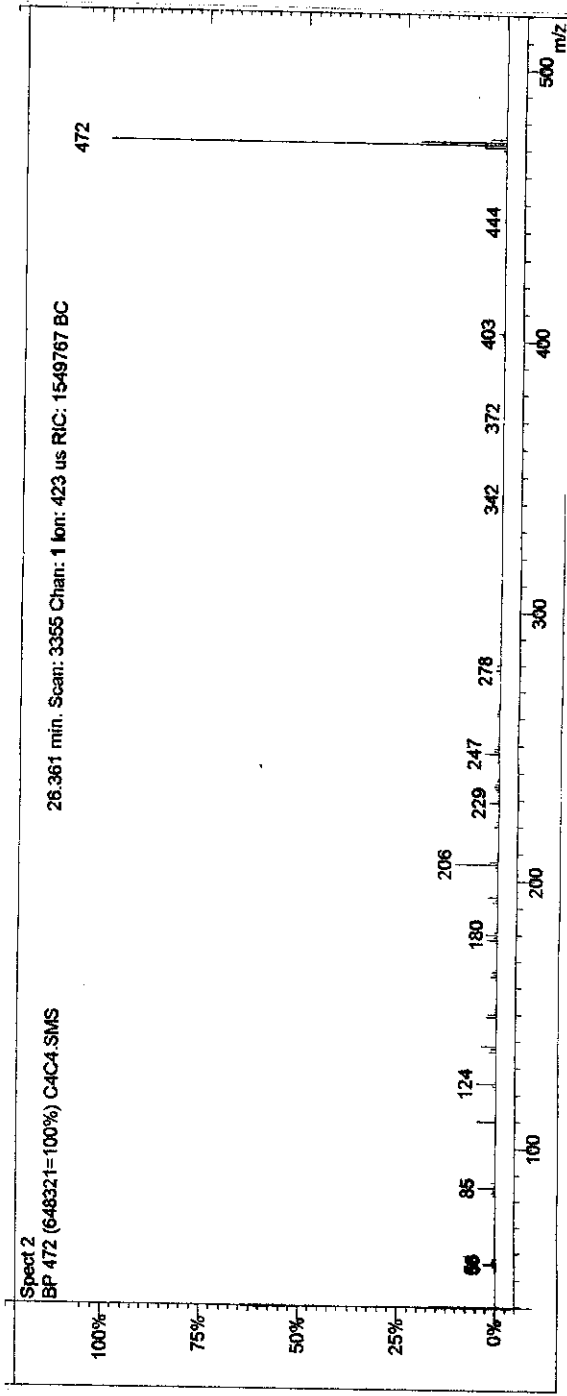
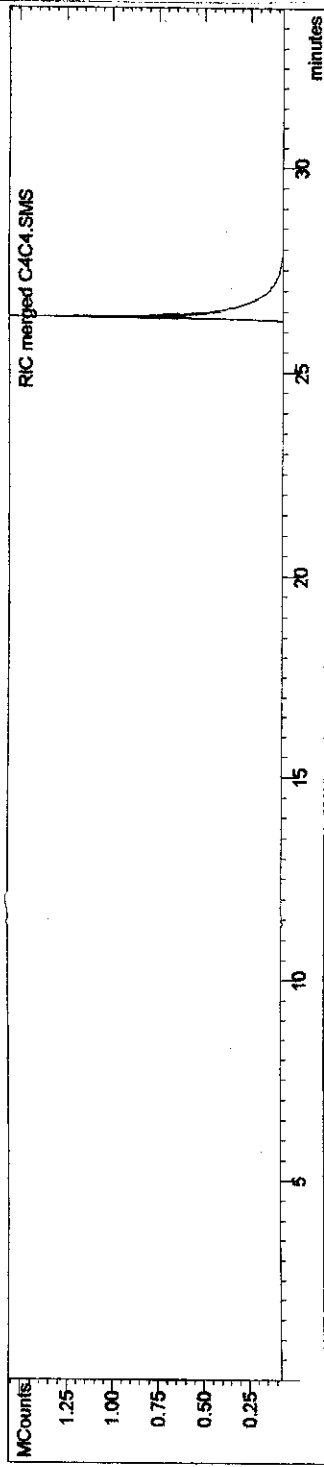


Figura 92: Espectro de massa do composto 10 - 70 eV.

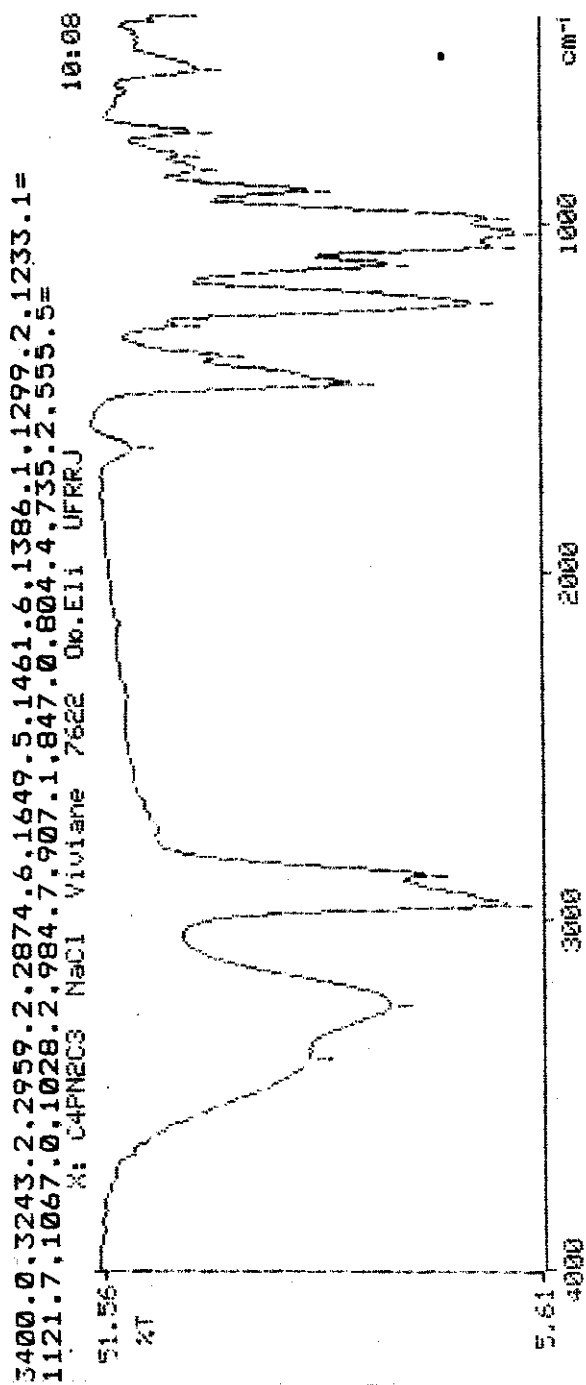


Figura 93: Espectro de IV do composto 15 (Pastilha de NaCl).

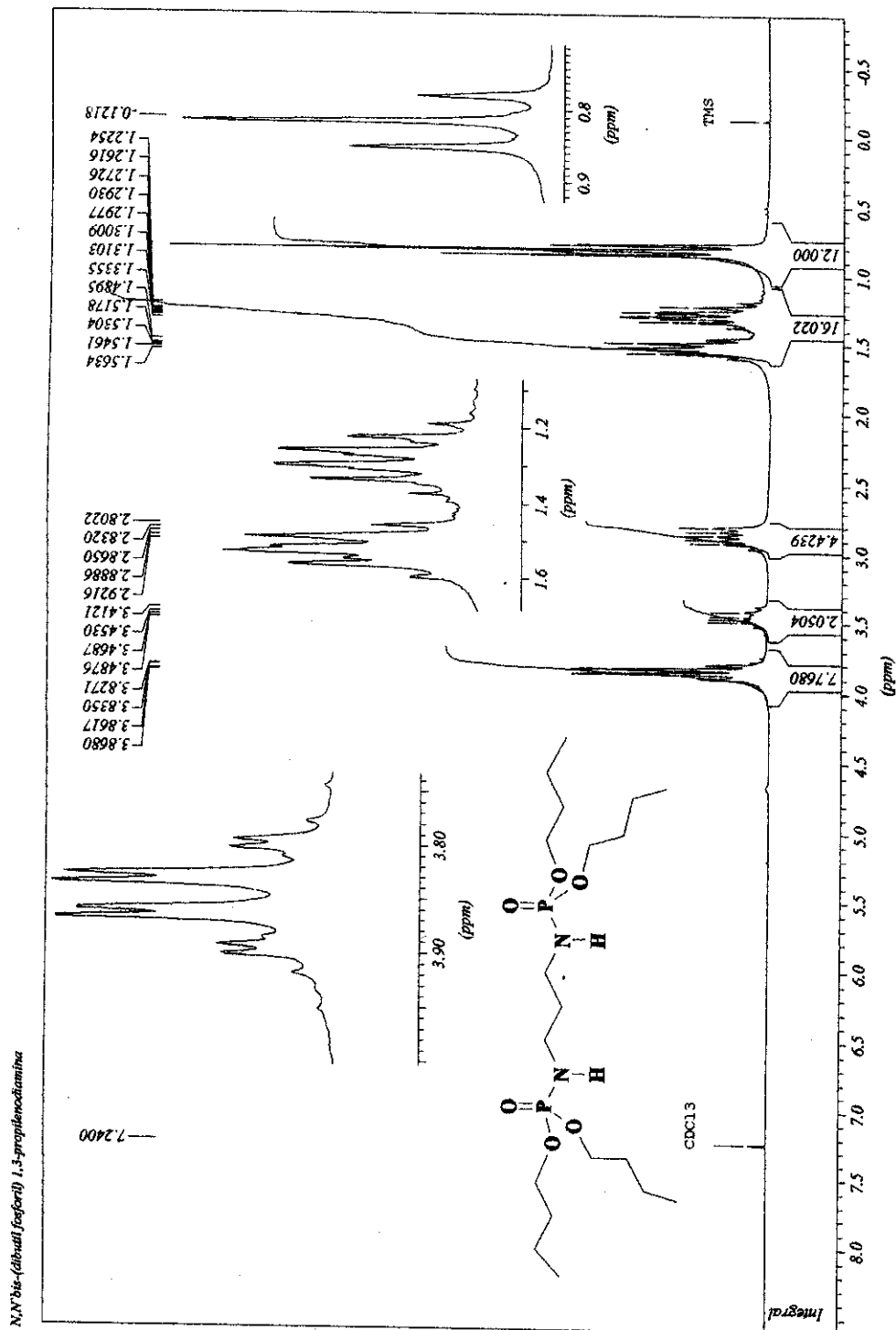


Figura 94: Espectro de RMN^1H do composto 15 – 200 MHz – CDCl_3 .

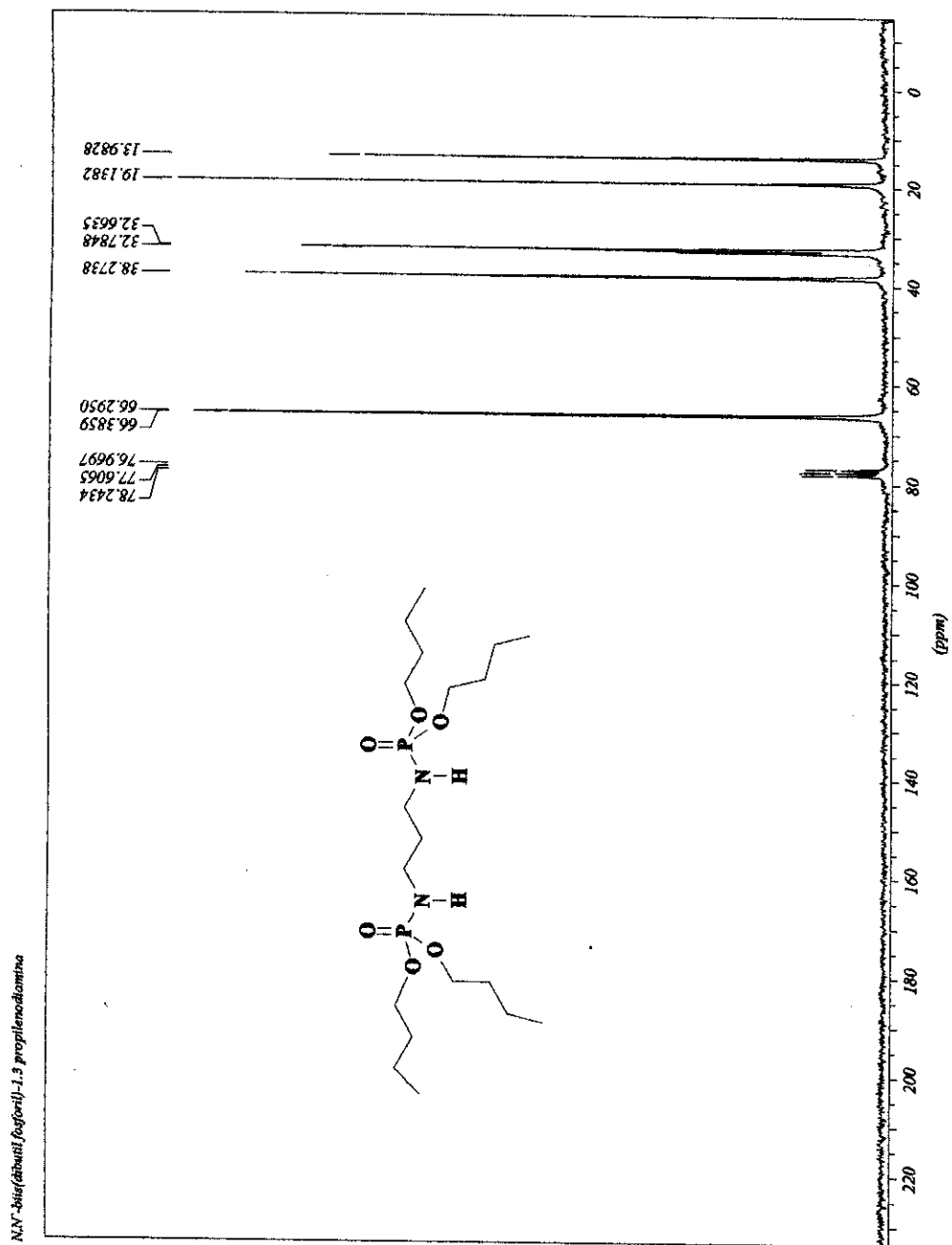
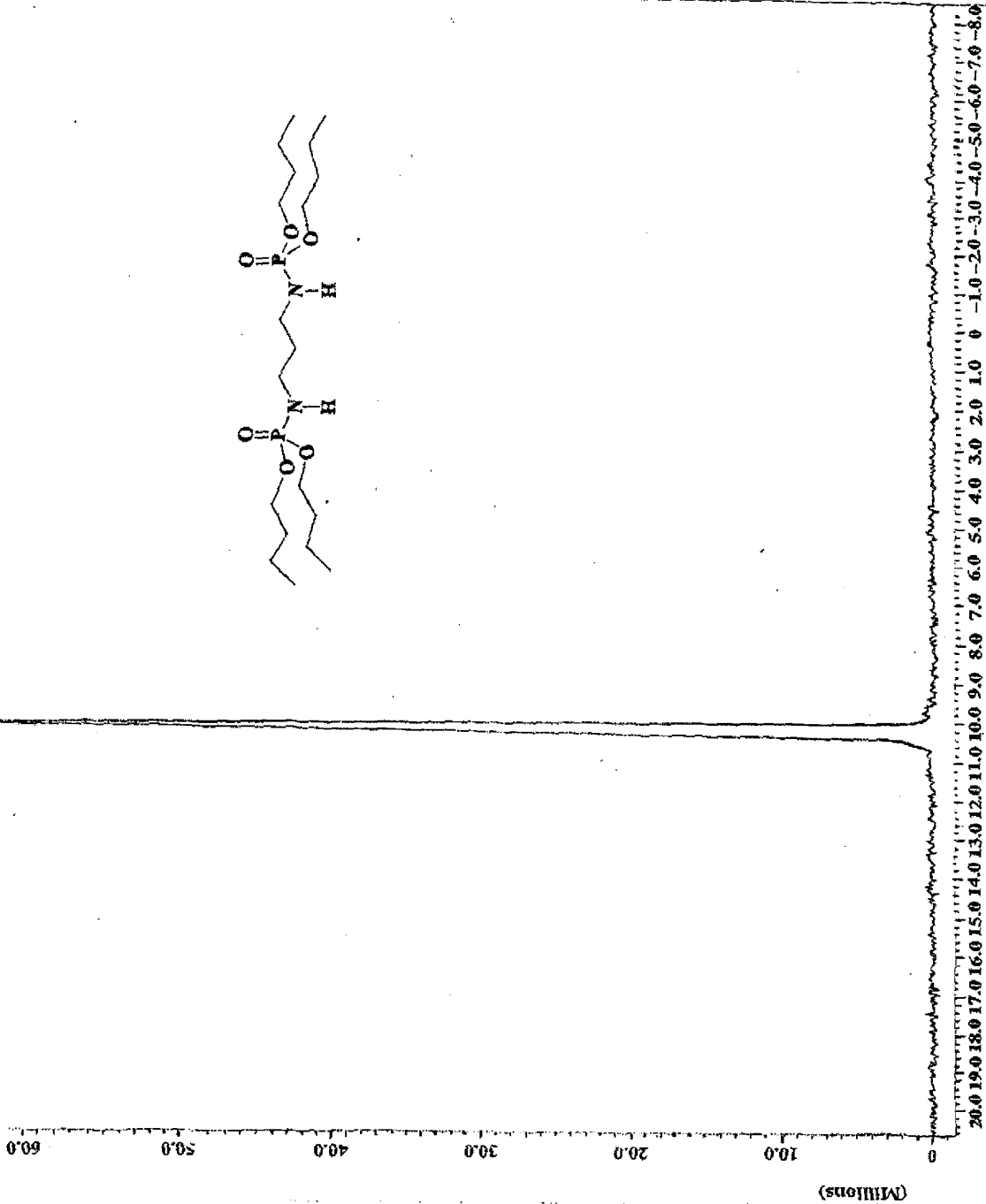


Figura 95: Espectro de RMN¹³C do composto 15 – 50 MHz – CDCl₃.

JEOL



```

----- ACQUISITION PARAMETERS -----
File Name      = C4PM2C3_ld_spectrum.5
Author         = Jan Schripsema
Sample ID      = C4PM2C3
Content        = Single Pulse Experiment
Creation Date   = 18-JUL-2003 18:13:52
Revision Date  = 16-JUL-2003 18:22:24
Spec Site      = Eclipse 400

Spec Type      = MTEBA_MBR
Data Format     = 1D COMPLEX
Dimensions     = X
Dim Title      = 31P
Dim Size       = 16384
Dim Units      = fppm
Acq_Delay      = 19.1[us]
Charger_Sample = 0
Experiment     = single_pulse.exp
Field_strength = 9.369766[T]
Irr90_hl       = 14.7[us]
Irr90_lo       = 23.5[us]
Irr_Width      = 60[us]
Lock_Status    = YDLX
Recvr_Gain     = 15
Relaxation_Delay = 4[s]
Scans          = 16
Solvent        = CHLOROFORM-D
Spin_Get       = 15[Hz]
Spin_Lock_90   = 90[us]
Spin_Lock_Attn = 12.5[dB]
Spin_Set       = 15[Hz]
Spin_State     = SPIN ON
Spin_Status    = SPIN ON
Temp_Get       = 25[DC]
Temp_Set       = 25[DC]
Temp_State     = TEMP ON
Temp_Status    = TEMP ON
X90            = 10.3[us]
X90_hl        = 1[us]
X90_lo        = 1[us]
X_Acq_Duration = 0.144172[s]
X_Domain       = 31P
X_Freq         = 161.83469309[MHz]
X_Offset       = 0[ppm]
X_Points       = 16384
X_Precisn     = 0
X_Pulse        = 5.15[us]
X_Resolution   = 6.93561321[Hz]
X_Sweep        = 113.63636364[MHz]
    
```

Figura 96: Espectro de RMN-³¹P desacoplado do composto 15 – 162 MHz – H₃PO₄.

Run Documentation
Injection Sample Notes
Recalc Sample Notes

Sample ID: C4C3(2003)
Instrument ID: Saturn GC/MS #1
Data File: c:\...lc4c3(2003).sms
Method: C:\Saturn\W\SIM\Metodos\Joao.mth

Operator: Frances
Acquisition Date: 2/19/03 9:00 AM
Calculation Date: 2/19/03 9:38 AM

Injection Method Notes
c:\saturn\w\metodos\joao.mth
Solicitante: Viviane/Joao
Amostra: C4C3 (2003)
PM: 458
Solvente: diclorometano
Condições da Análise:
Coluna: CP SIL 8CB (30mX0.25x0.25mm)
Temperatura: 130C/1' - 5C/min - 290C/5'
Injetor: 270C
EM: Trap: 220C
Manifold: 60C
Xferline: 250C
Ionizacao: EI (70eV)
SPLIT: 1:100

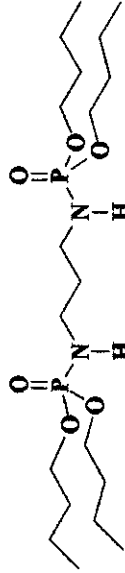
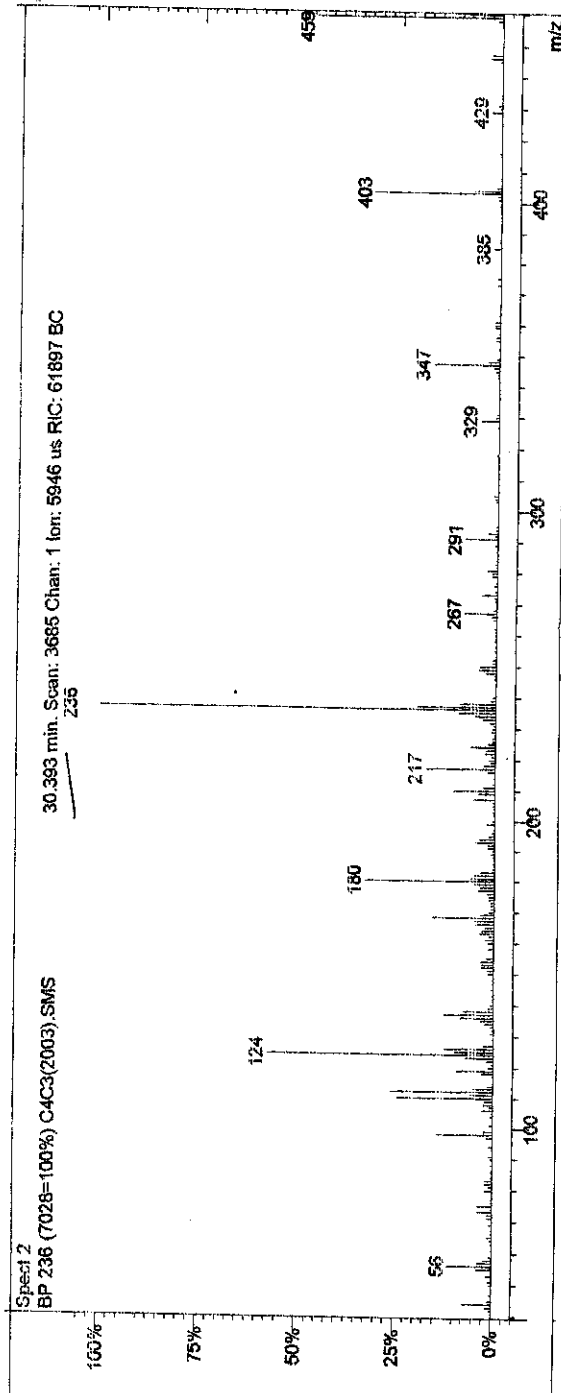
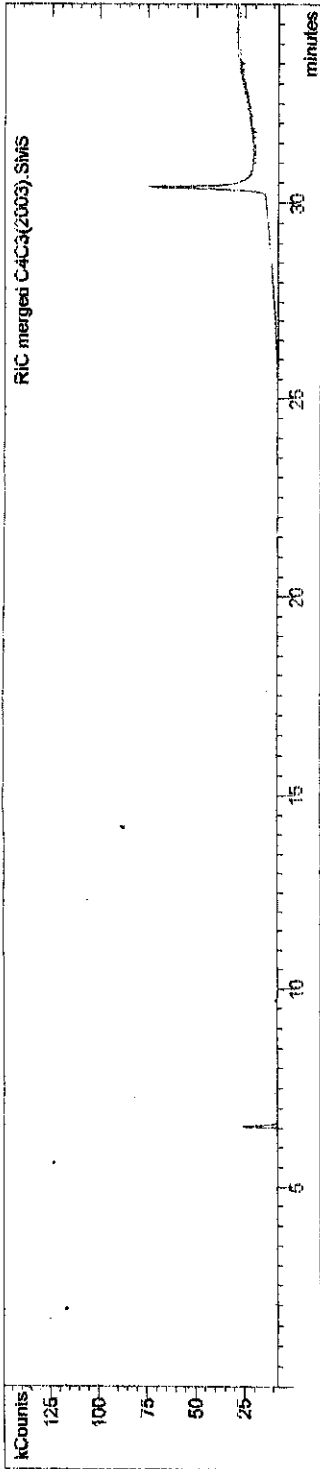


Figura 97: Espectro de massa do composto 15 – 70 eV.

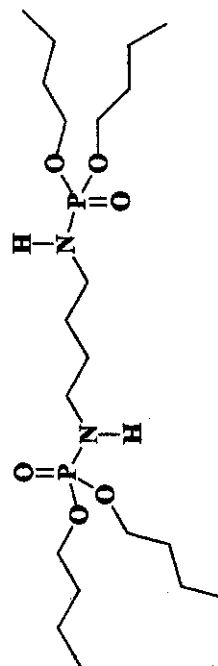
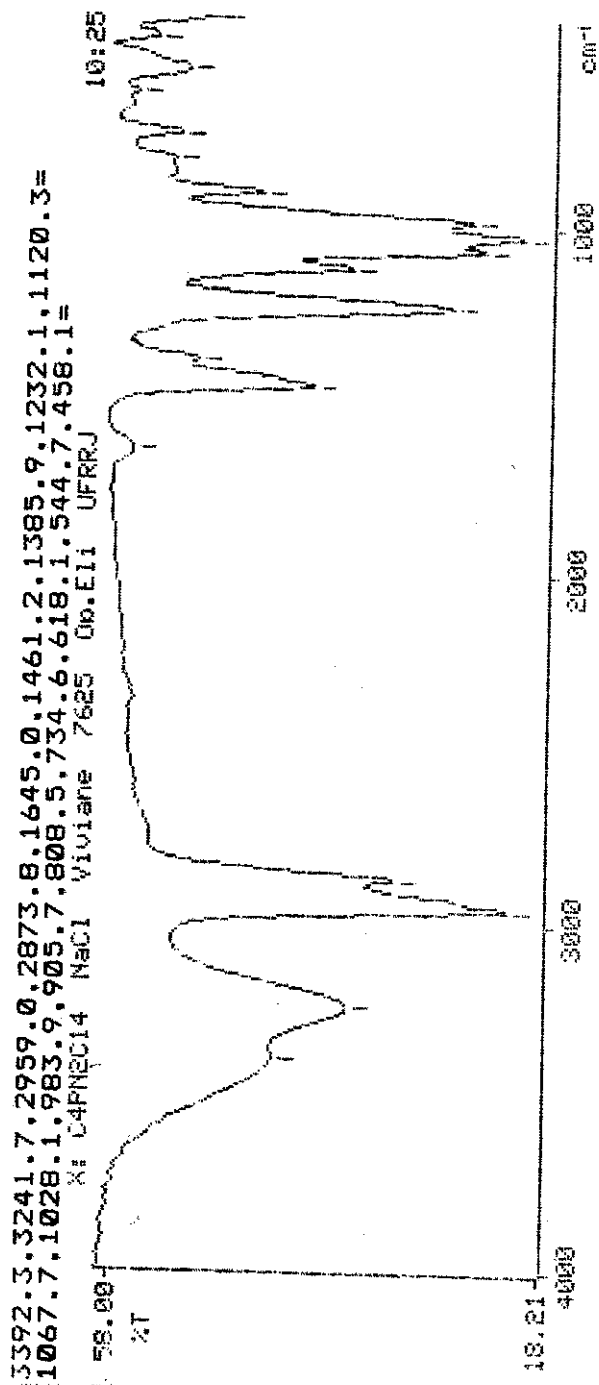


Figura 98: Espectro de IV do composto 20 – (Pastilha de NaCl).

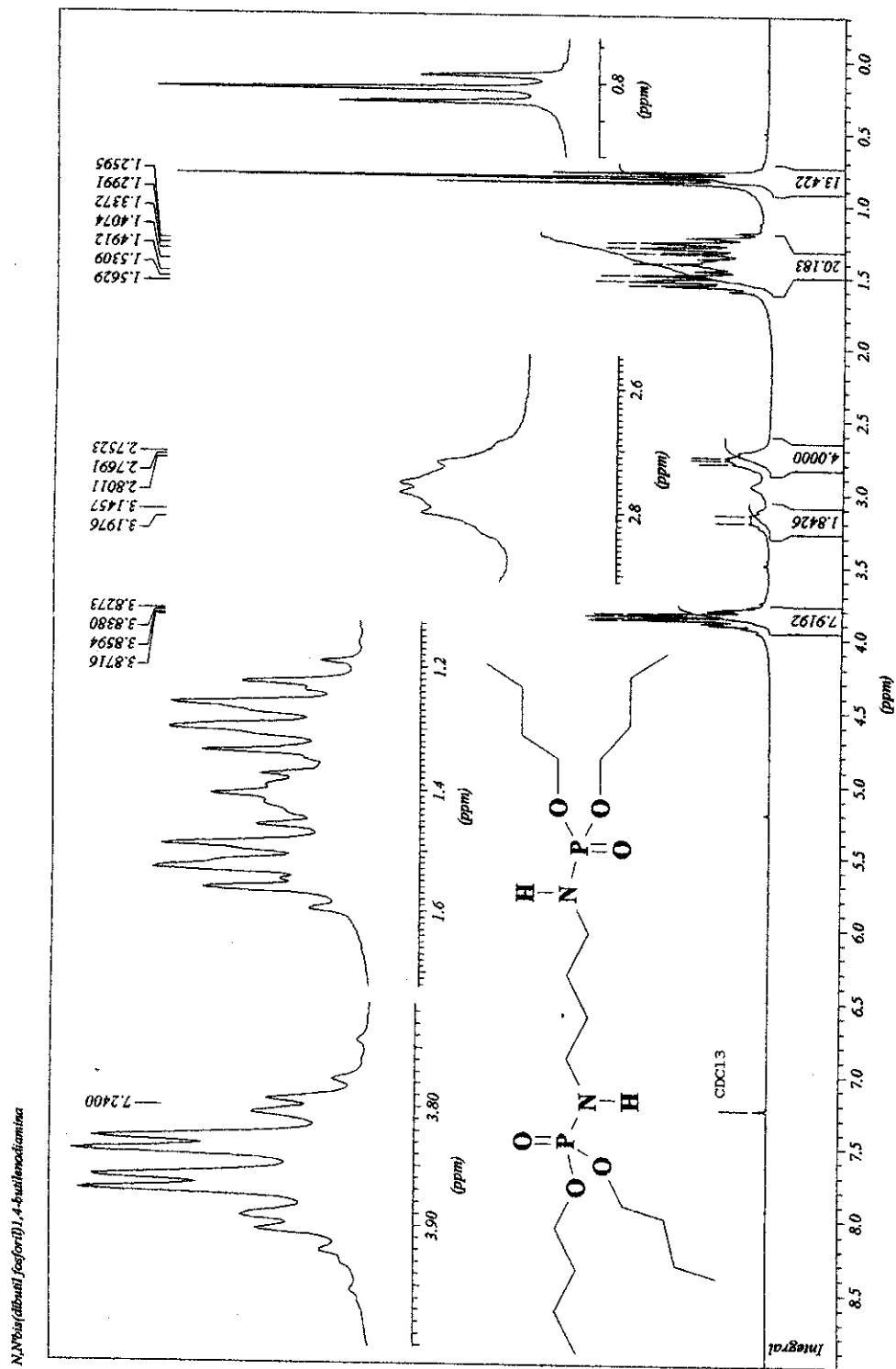


Figura 99: Espectro de RMN-¹H do composto 20 – 200 MHz – CDCl₃.

*N,N'*bis-(*n*-butil fosforil) 1,4-bisfenolammina

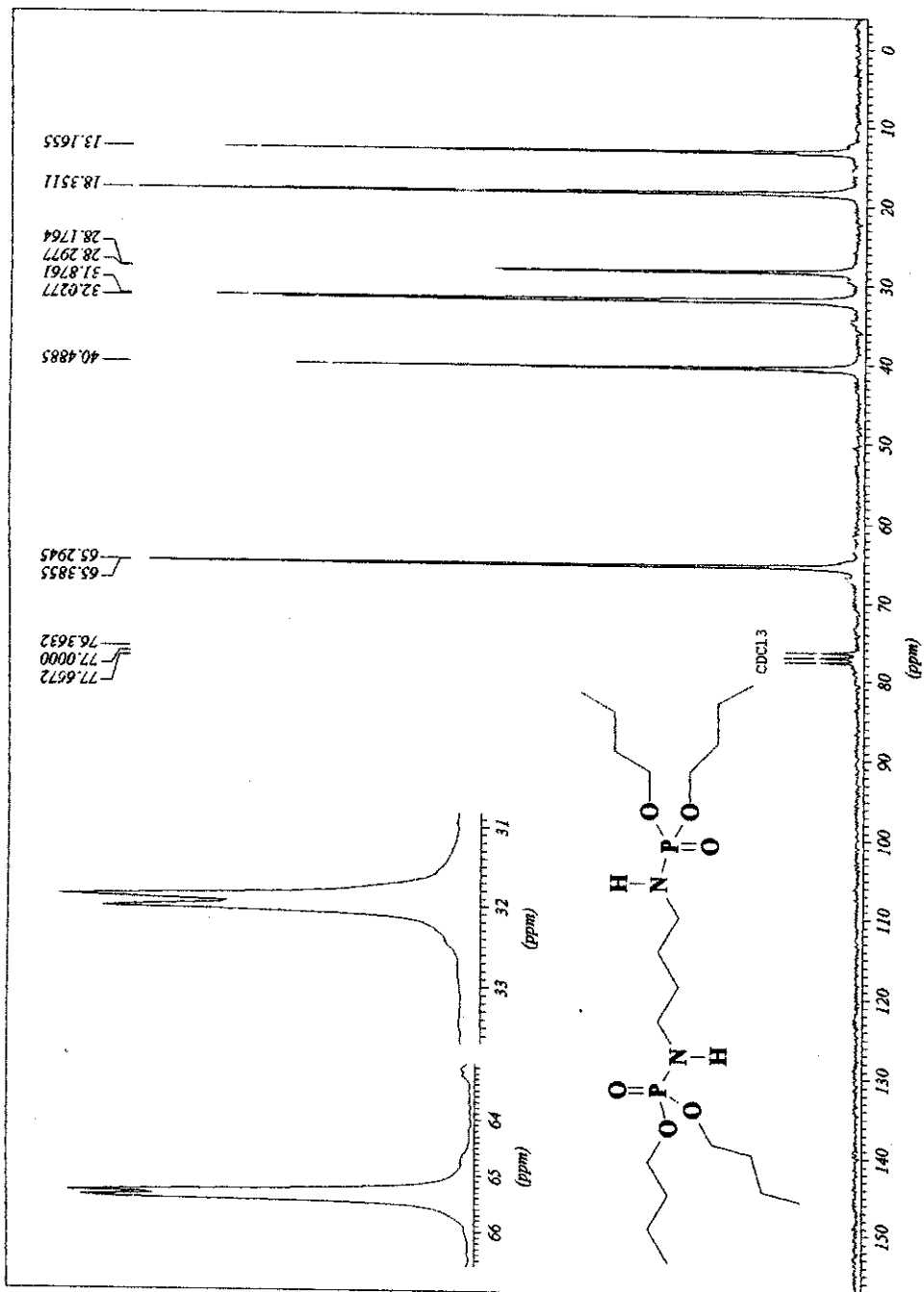


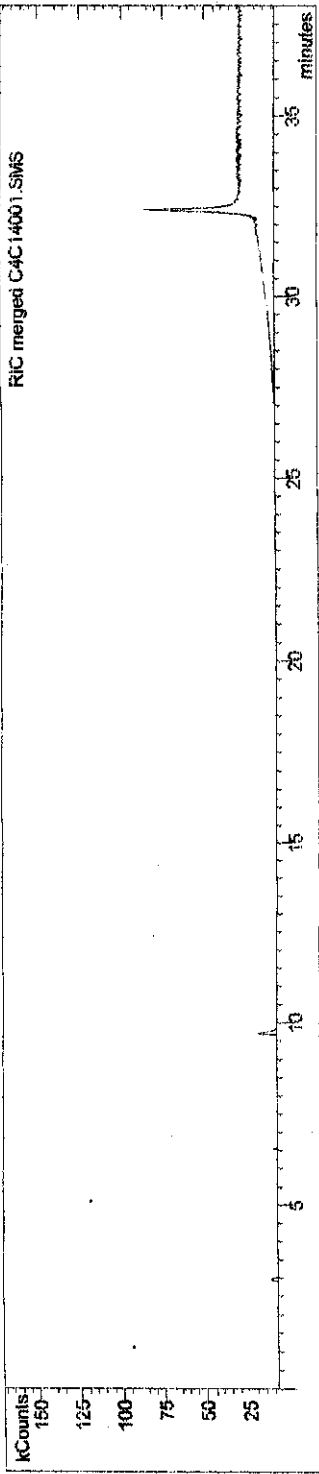
Figura 100: Espectro de RMN- ^{13}C do composto 20 – 50 MHz – CDCl₃.

Sample ID: C4C14
Instrument ID: Saturn GC/MS #1
Data File: c:\... \c4c14001.sims
Method: C:\Saturn\WS\Metodos\Joao.mth

Operator: Frances
Acquisition Date: 2/19/03 8:13 AM
Calculation Date: 2/19/03 8:51 AM

Run Documentation
Injection Sample Notes
Reacale Sample Notes

206



Injection Method Notes
c:\saturn\ws\metodos\joao.mth
Solicitante: Viviane/Joao
Amostra: C4C14
PM: 472
Solvente: diclorometilano
Condições da Análise:
Coluna: CP SIL 8CB (30mX0.25x0.25mm)
Temperatura: 130C/1' - 5C/min - 290C/5'
Injetor: 270C
E.M. Trap: 220C
Manifold: 60C
Xferline: 250C
Ionizacao: EI (70eV)
SRJT: 1:100

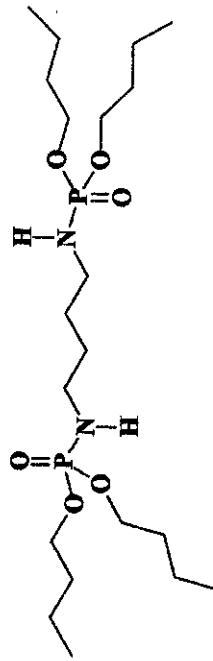
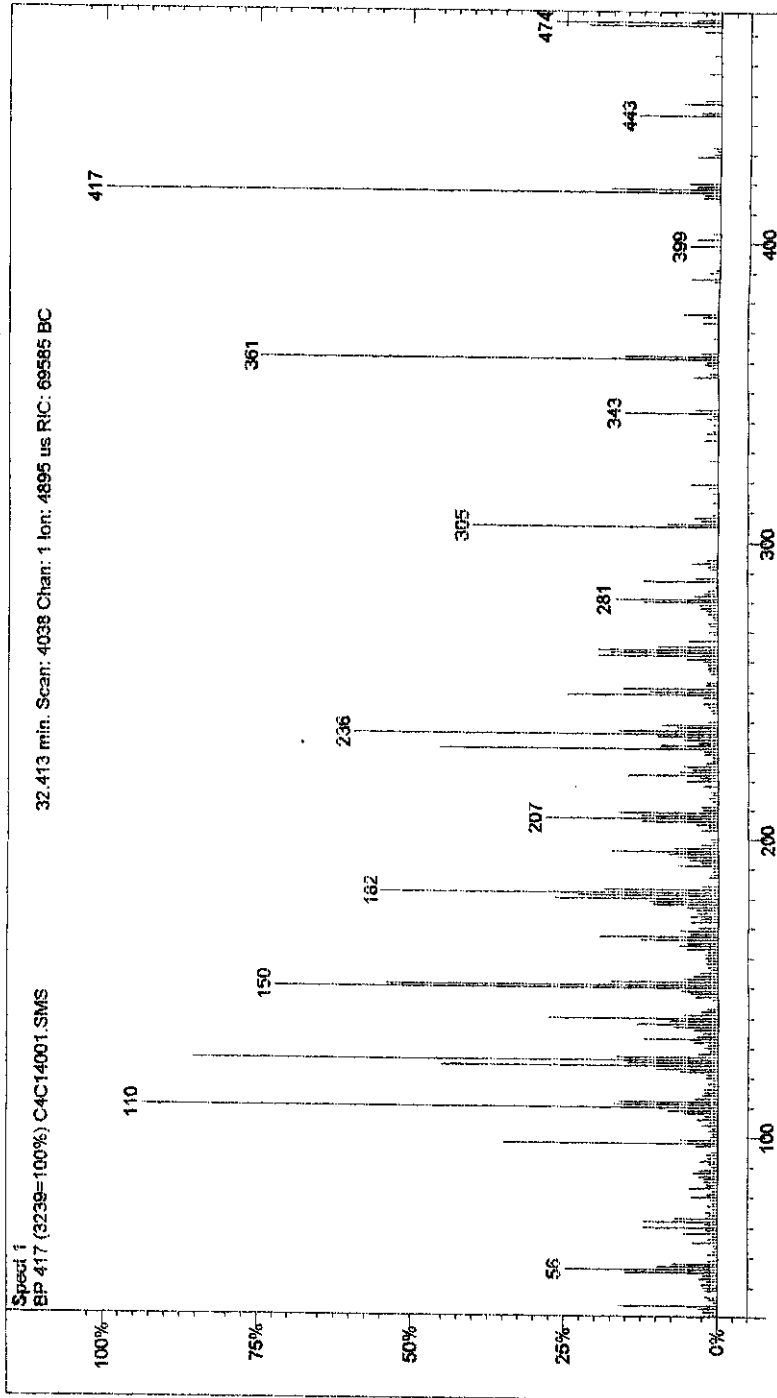


Figura 101. Espectro de massa do composto 20 - 70 eV.

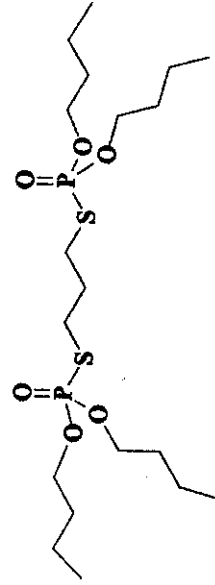
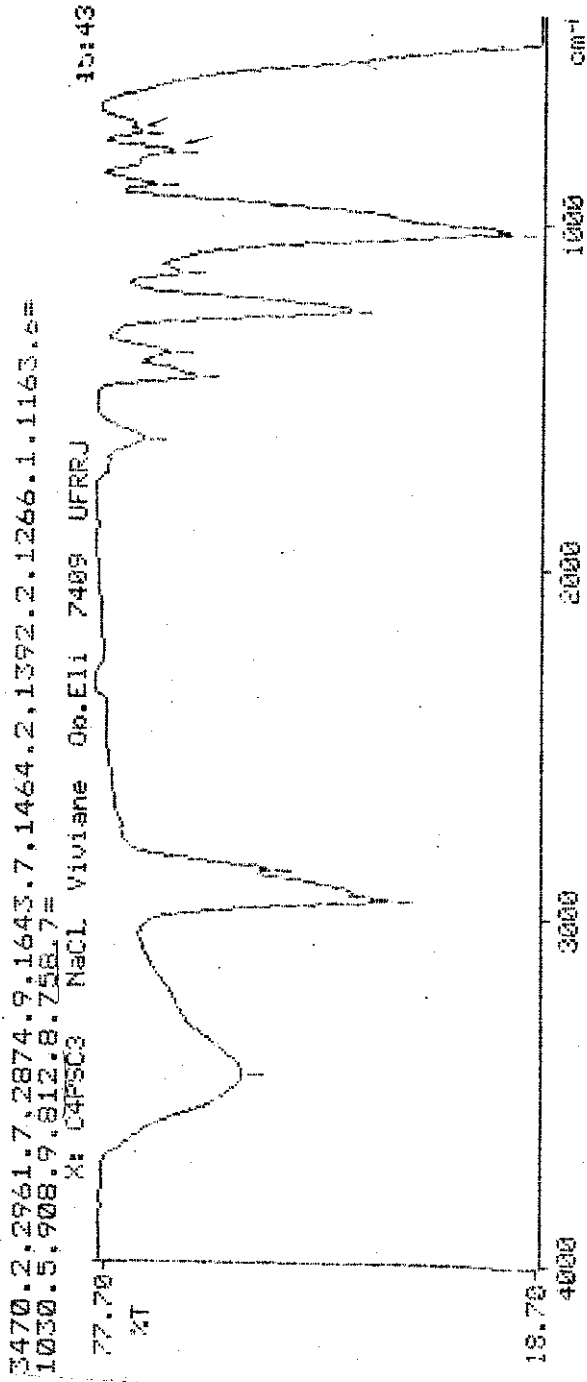


Figura 102. Espectro de IV do composto 23 (Pastilha de NaCl).

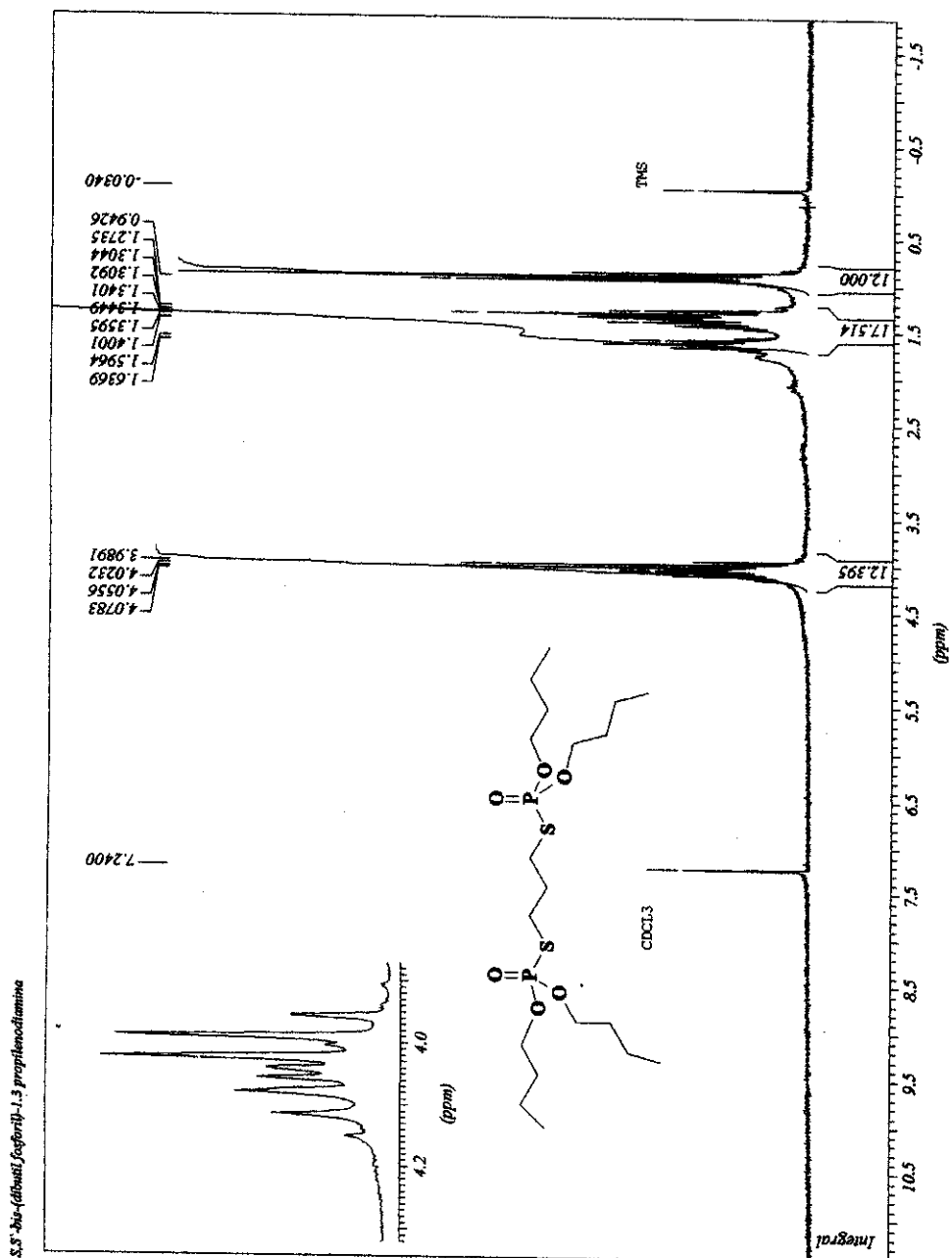


Figura 103: Espectro de RMN-¹H do composto 23 – 200 MHz - CDCl₃.

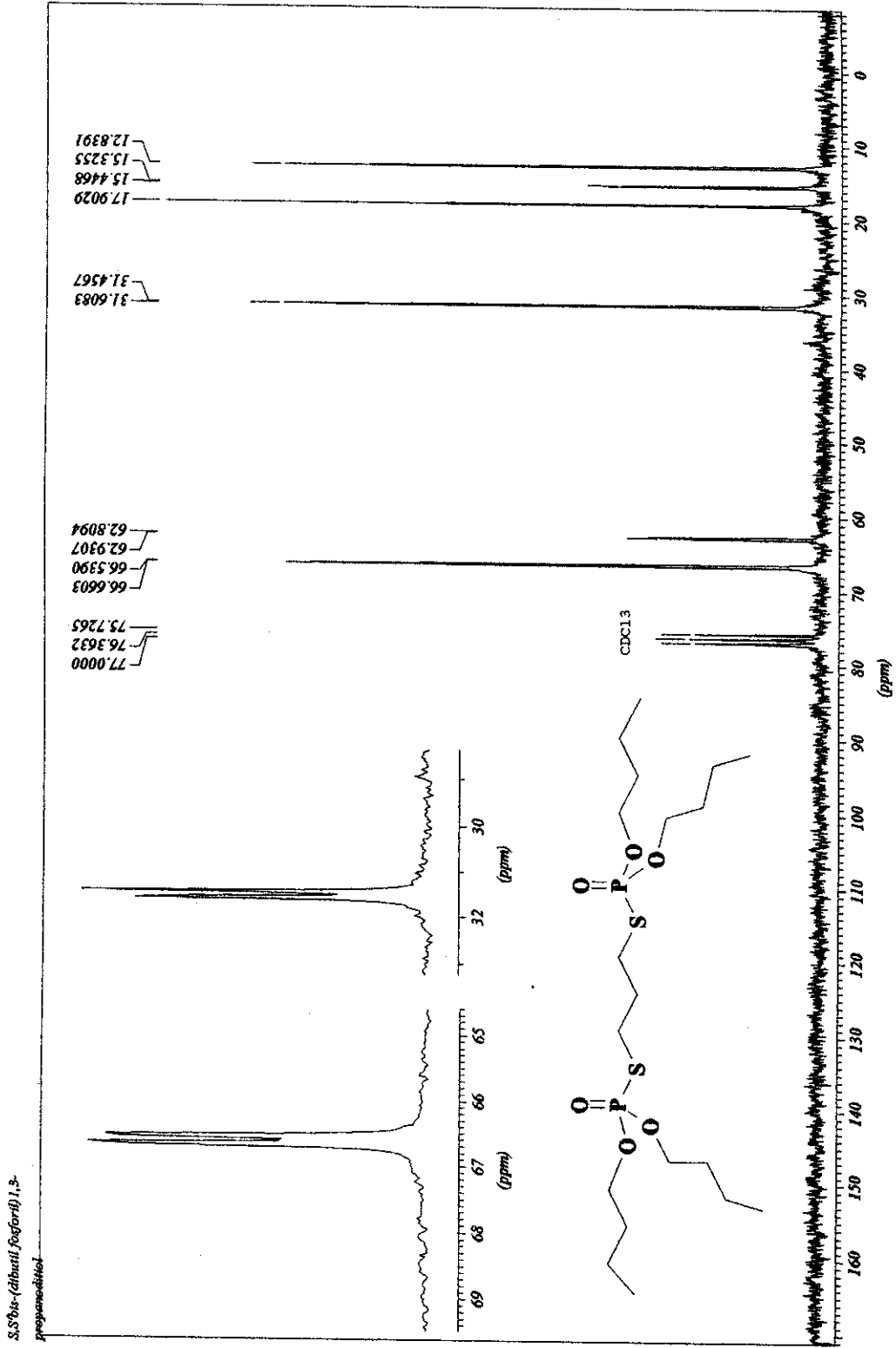


Figura 104: Espectro de RMN-¹³C do composto 23 – 50 MHz -CDCl₃.

Run Documentation
 Injection Sample Note
 Recalc Sample Notes

Operator: Francisco
 Last Calibration: None
 Data File: c:\...lc4psc3.sms
 Method: c:\...ljoao.mth

Sample ID: C4PSC3
 Instrument ID: Saturn GC/MS #1
 Acquisition Date: 9/24/02 2:25 PM
 Calculation Date: 9/24/02 2:56 PM
 Inj. Sample Notes:

Injection Method Notes
 c:\saturn\sw\metodos\joao.mth
 Solicificante: V/Viane
 Amostra: C4PSC3
 PM: 492
 Solvente: Diclorometano
 Condiçoes da Analise:
 Coluna: CP SIL 8CB (30mX0.25x0.25mm)
 Temperatura: 130C/1' - 5C/min - 290C/5'
 Injetor: 270C
 EM: Trap: 220C
 Manifold: 60C
 Xferfine: 250C
 Ionizacao: EI (70eV)
 SPLIT:1:100

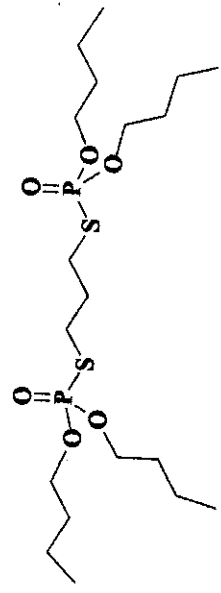
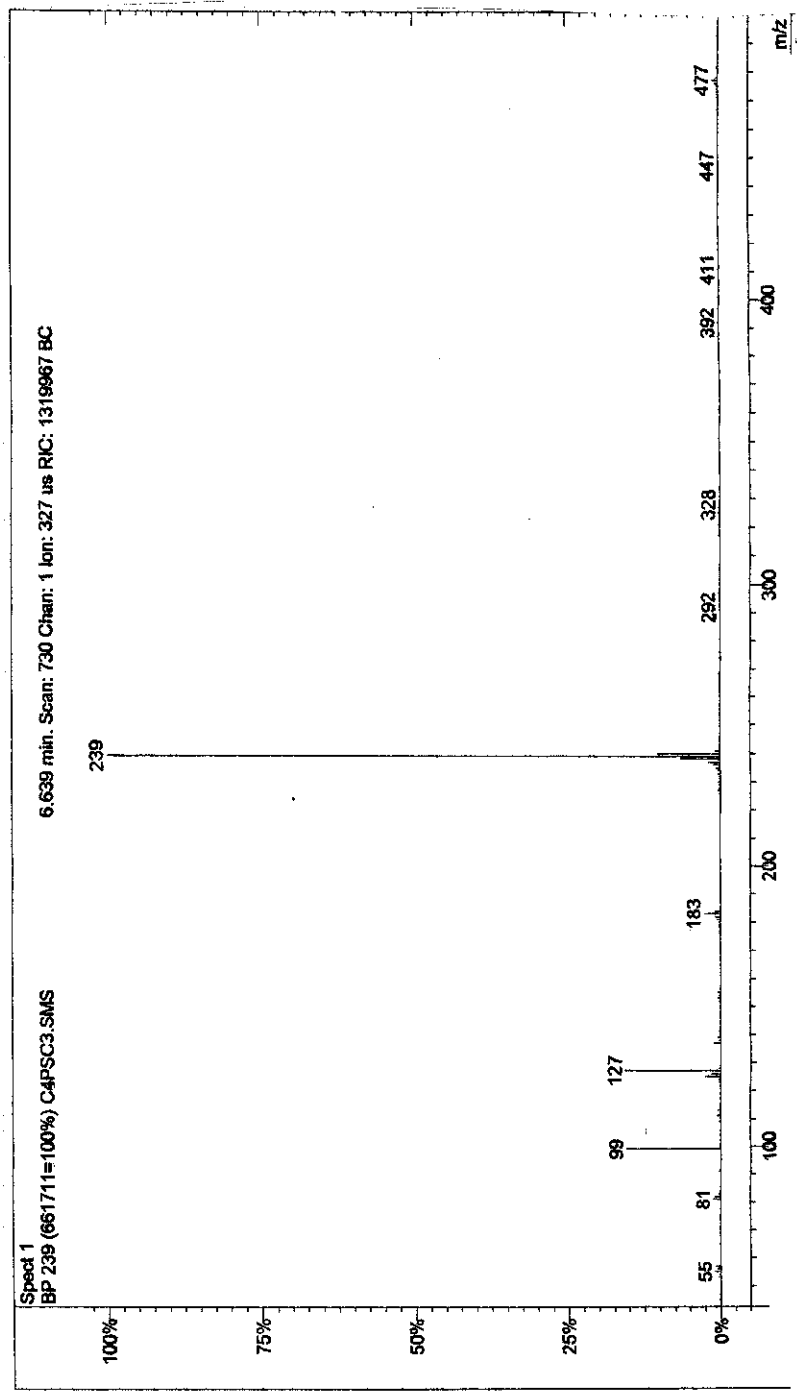
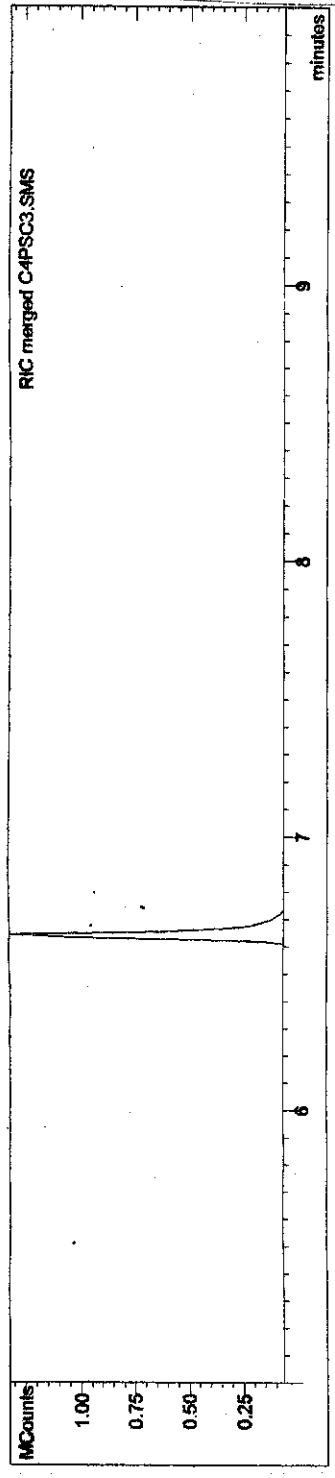


Figura 105: Espectro de massa do composto 23 -- 70 eV.

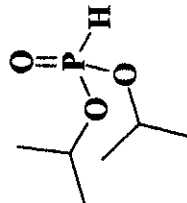
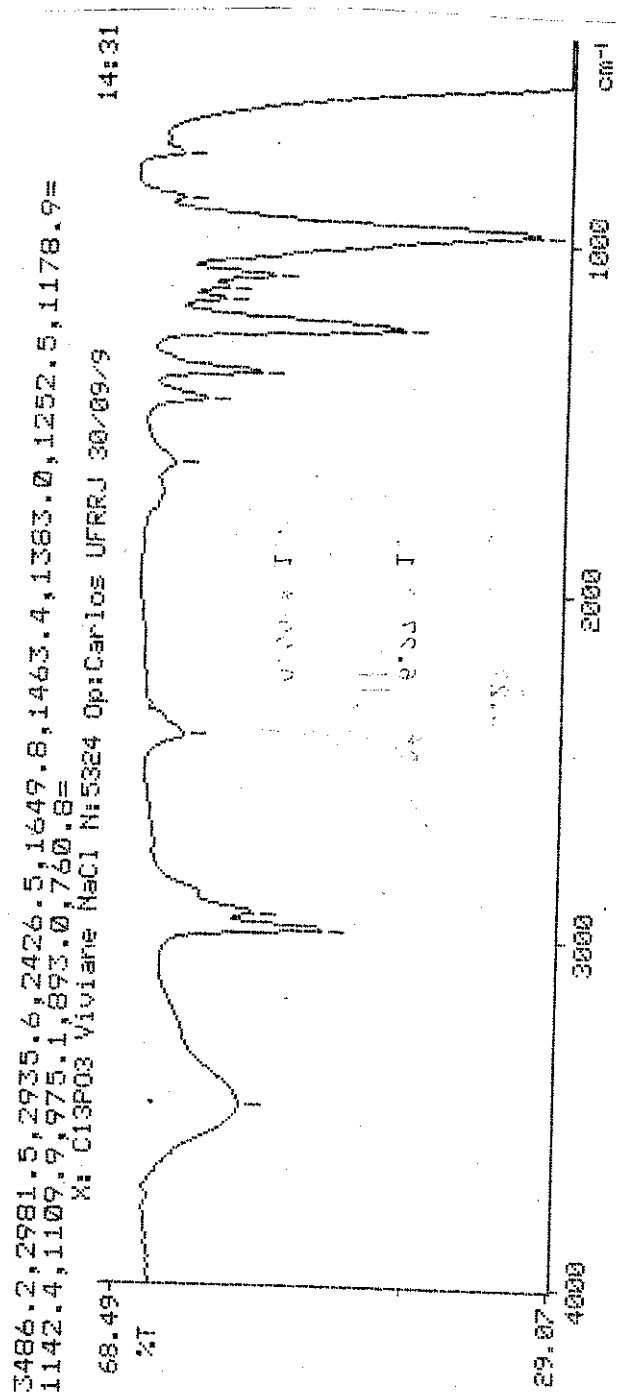


Figura 106: Espectro de IV do Fosfito de isopropila (86) (Pastilha de NaCl).

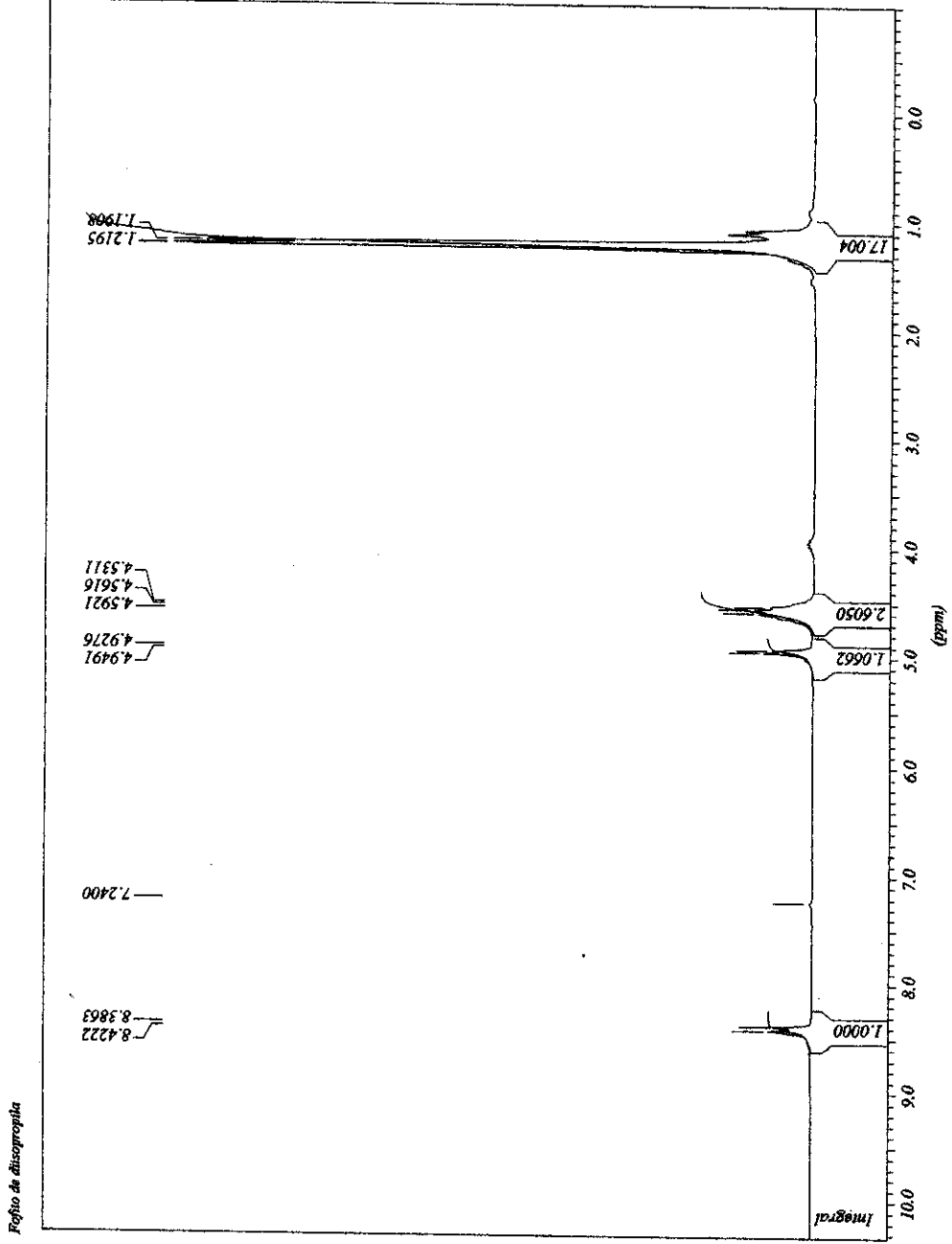


Figura 107: Espectro de RMN-¹H do Fosfito de diisopropila – 200 MHz – CDCl₃.

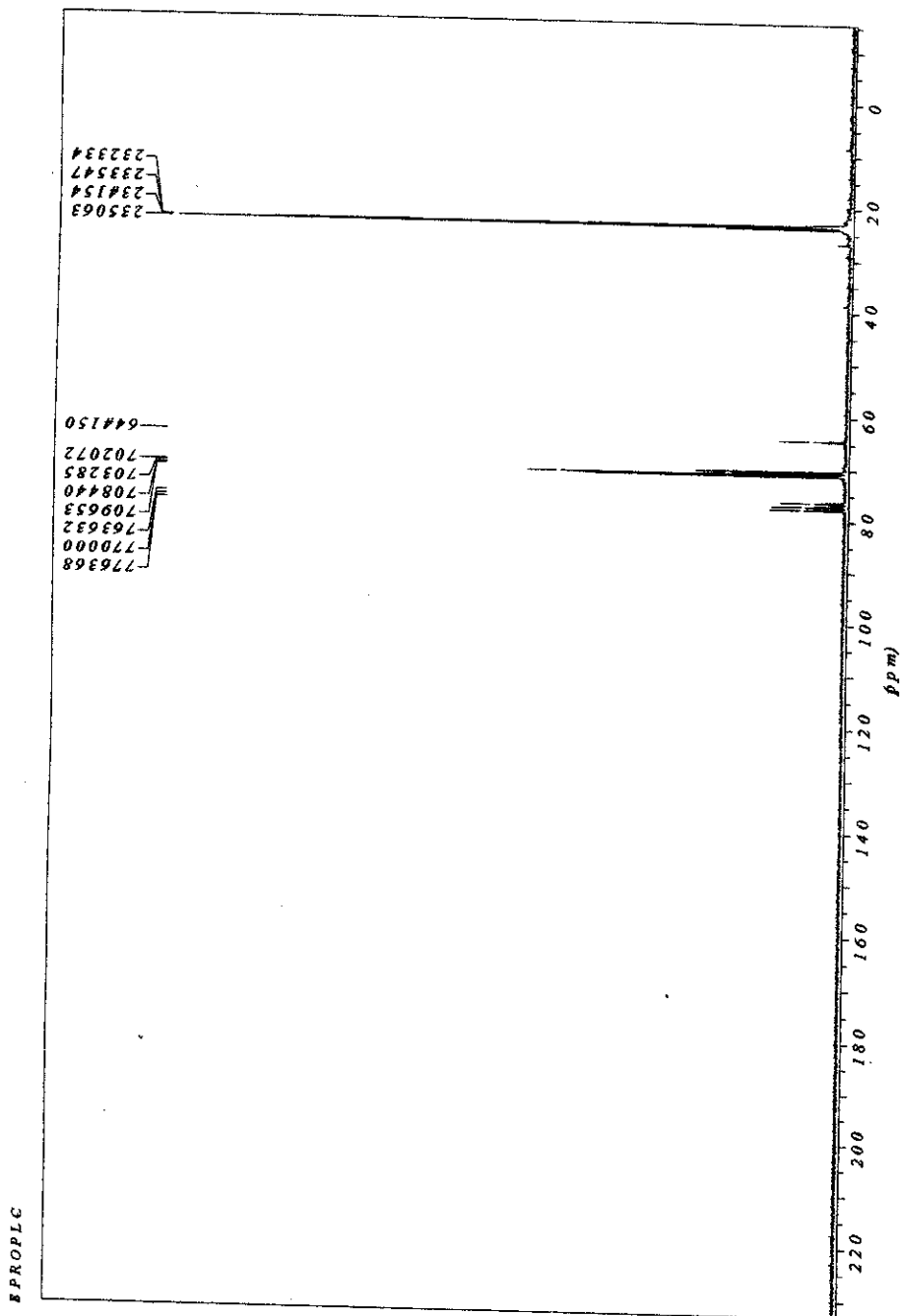


Figura 108: Espectro de RMN-¹³C do Fosfito de disopropila – 50 MHz – CDCl₃.

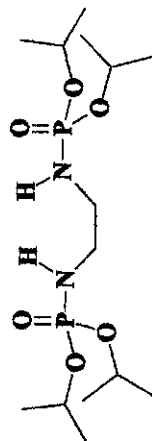
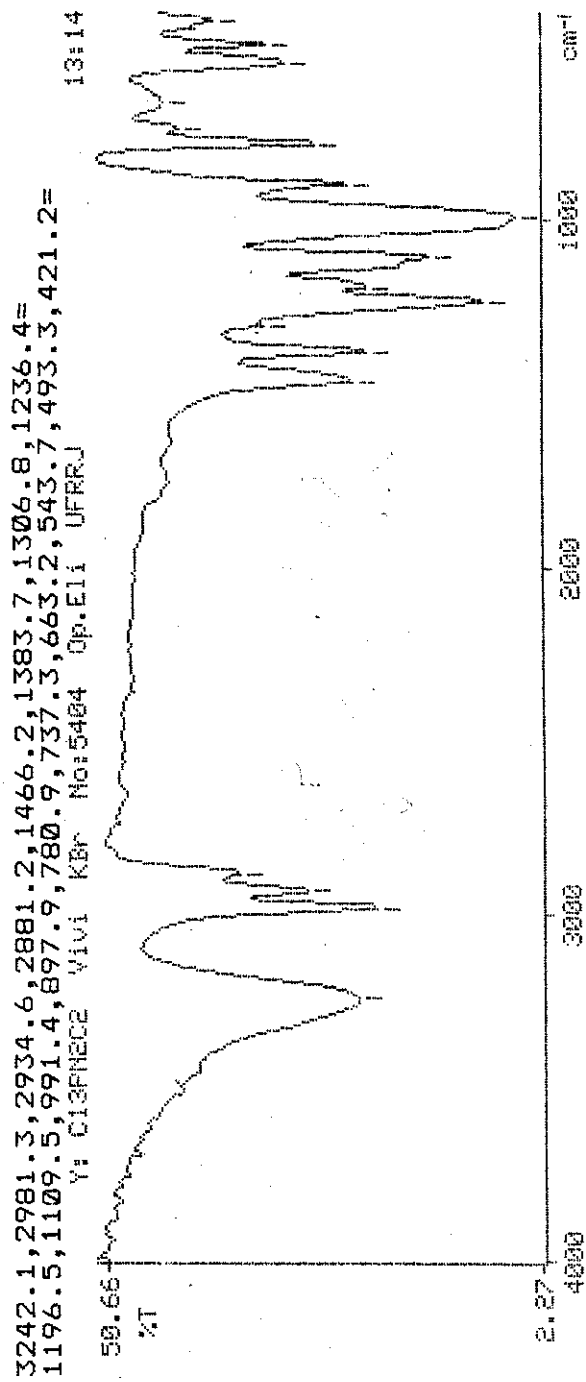


Figura 109: Espectro de IV do composto 6 (Pastilha de KBr).

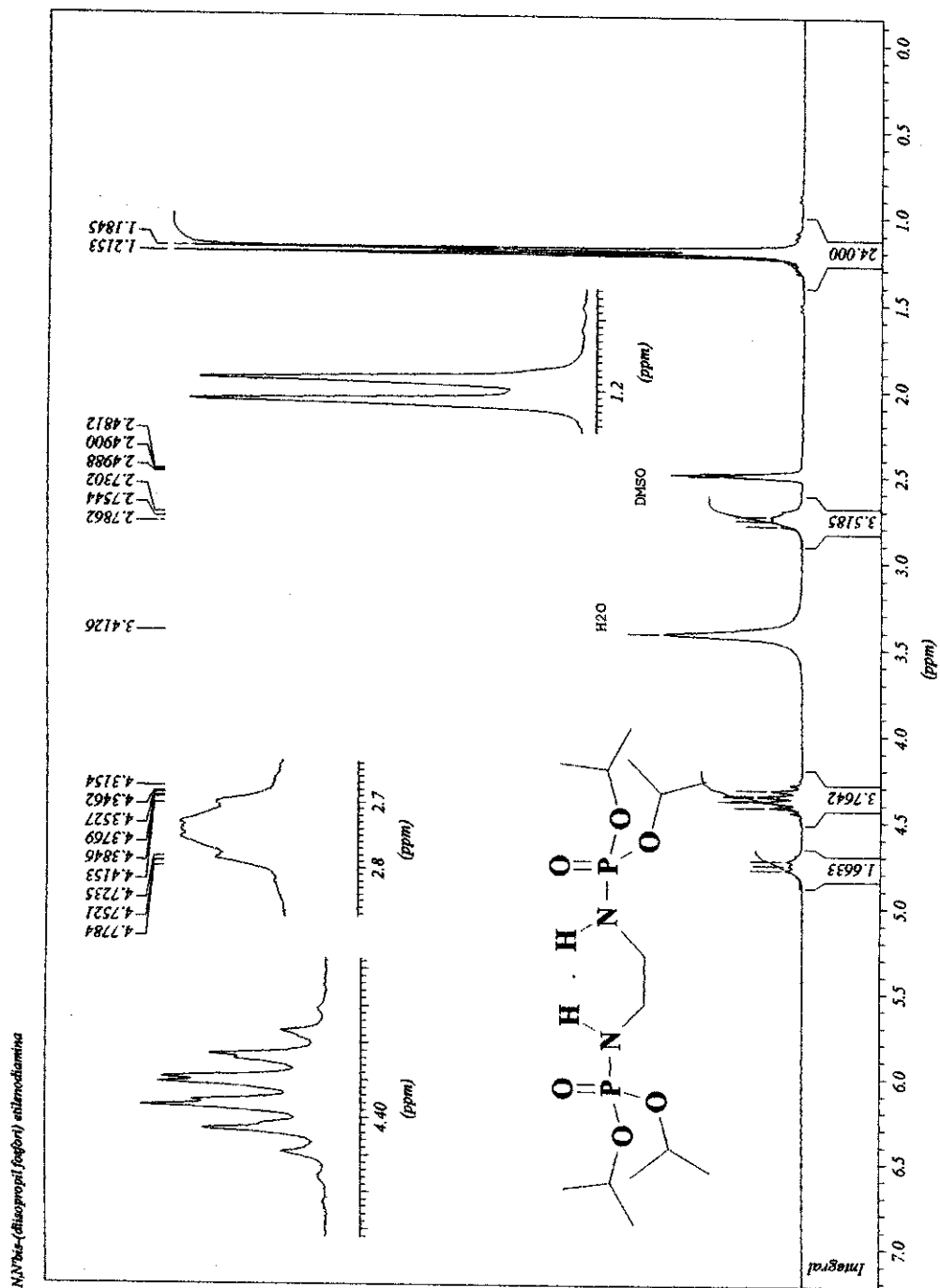


Figura 110: Espectro de RMN-¹H do composto 6 – 200 MHz – DMSO.

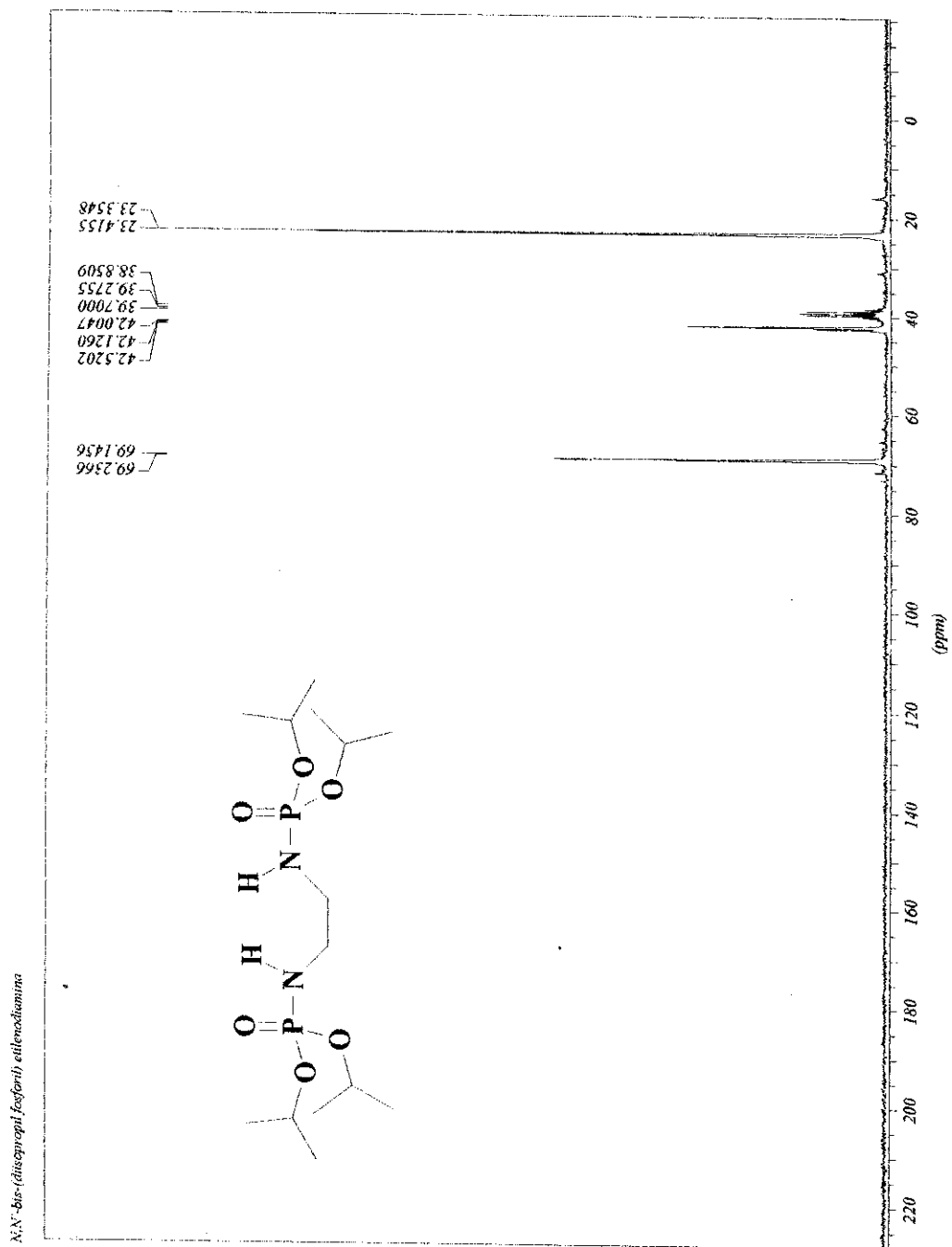


Figura 111: Espectro de RMN-¹³C do composto 6 – 50 MHz – DMSO.


```

---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name      = C13PN2C2_ld_spectrum.5
Author         = Jan Schripsema
Sample ID      = C13PN2C2
Content        = Single Pulse Experiment
Creation Date   = 16-JUL-2003 15:00:06

Revision Date  = 16-JUL-2003 15:12:07
Spec Site      = Eclipse+ 400

Spec Type      = DELTA_NMR
Data Format     = 1D COMPLEX
Dimensions     = X
Dim Title      = 31P
Dim Size       = 16384
Dim Units      = [ppm]
Acq_delay      = 19.1[us]
Changer_sample = 0
Experiment     = single_pulse.exp
Field_strength = 9.389766[T]
Irr90          = 14.7[us]
Irr90_hi      = 23.5[us]
Irr90_lo      = 60[us]
Irr_pwidth    = 60[us]
Lock_status    = IDLE
Recvr_gain     = 15
Relaxation_delay = 4[s]
Scans          = 8
Solvent        = CHLOROFORM-D
Spin_get       = 16[Hz]
Spin_lock_90   = 90[us]
Spin_lock_attn = 12.5[dB]
Spin_set       = 15[Hz]
Spin_status    = SPIN ON
Spin_status    = SPIN ON
Temp_get       = 25[degC]
Temp_set       = 25[degC]
Temp_status    = TEMP ON
Temp_status    = TEMP ON
X90            = 10.3[us]
X90_hi        = 1[us]
X90_lo        = 1[us]
X_acq_duration = 0.1441792[s]
X_domain       = 31P
X_freq         = 161.83469309[MHz]
X_offset       = 0[ppm]
X_points       = 16384
X_prescans     = 0
X_pulse        = 5.15[us]
X_resolution   = 6.9581321[Hz]
X_sweep        = 113.63636364[MHz]
    
```

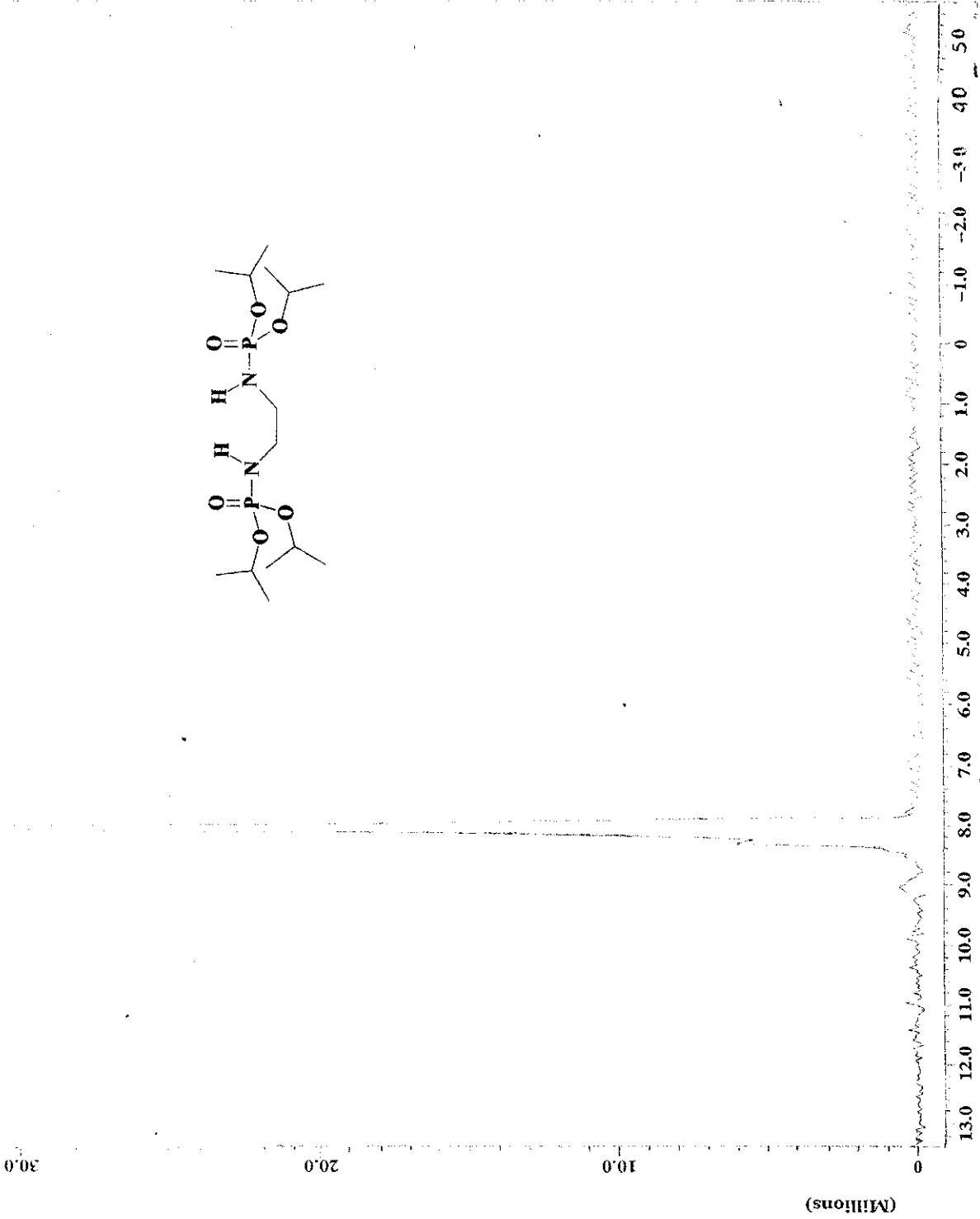
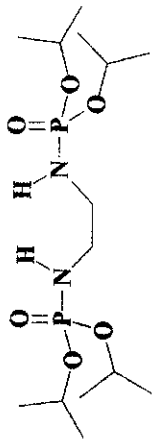


Figura 112.: Espectro de RMN-³¹P desacoplado do composto 6 – 162 MHz – H₃PO₄.

Sample ID: C13C2(1)
Instrument ID: Saturn GC/MS
Data File: c:\...lc13c2(1).sms
Method: C:\SaturnWS\Metodos\Joao.mth

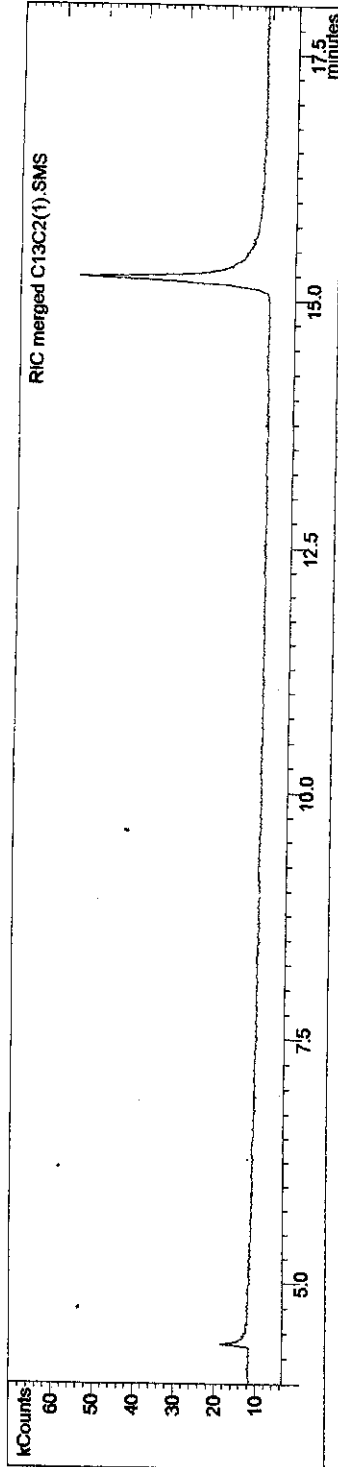
Operator: Frances
Acquisition Date: 3/12/03 10:10 AM
Calculation Date: 3/12/03 10:33 AM

Run Documentation

Injection Sample Notes

218

Recalc Sample Notes



Injection Method Notes
c:\saturnws\metodos\joao.mth
Solicitante: Viviane
Amostra: C13C2 (1)
PM: 388
Solvente: diclorometano
Condições da Análise:
Coluna: CP SIL 8CB (30mX0.25x0.25mm)
Temperatura: 150C/1' - 5C/min - 290C/5'
Injetor: 270C
EM: Trap: 220C
Manifold: 60C
Xferline: 250C
Ionizacao: EI (70eV)
SPLIT:1:100

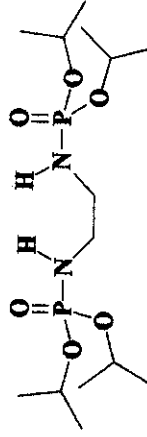
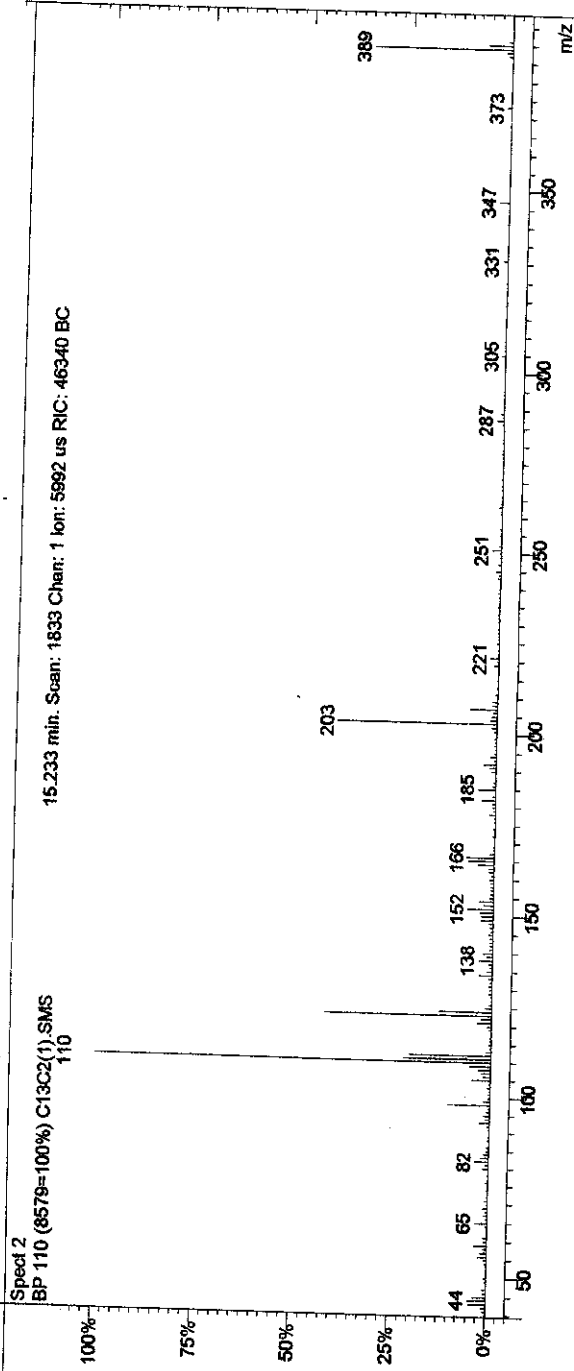


Figura 113: Espectro de massa do composto 7 - eV.

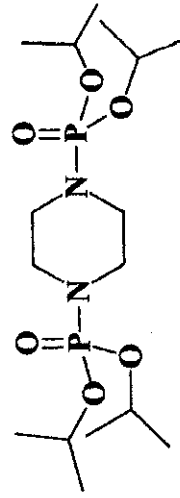
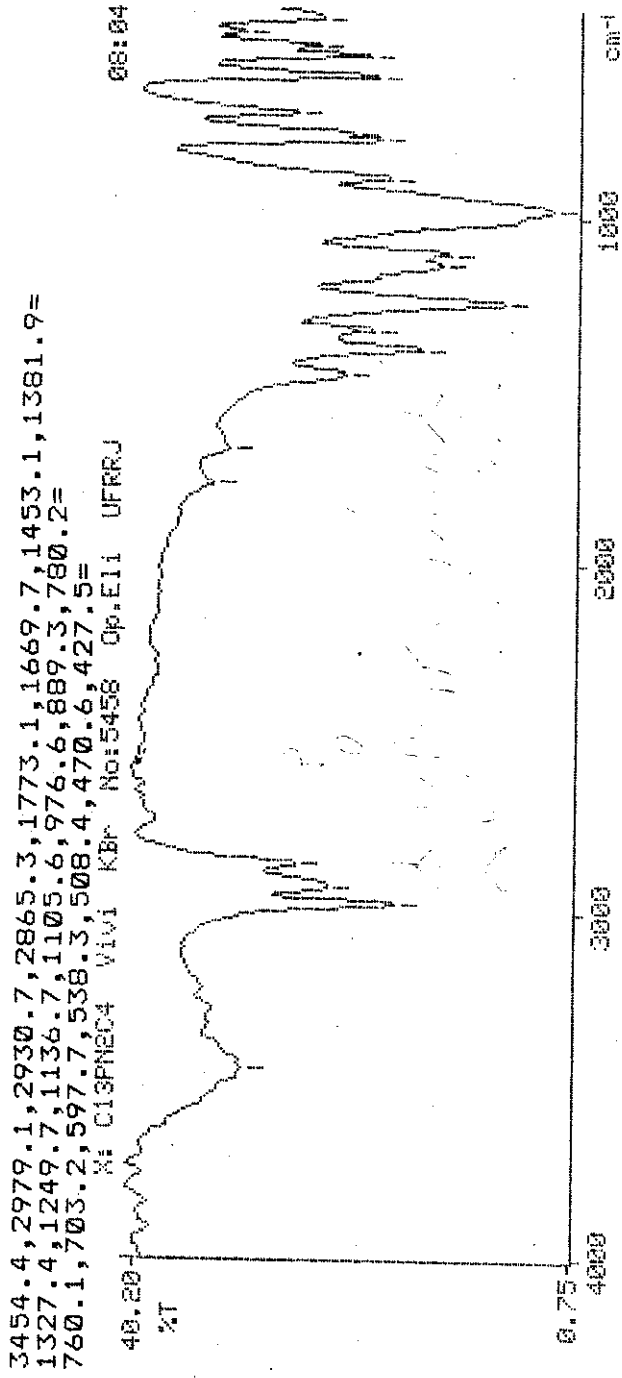


Figura 114: Espectro de IV do composto 11 (Pastilha KBr)



VIVIANE1.380
DATE 26-10-99

SF 200.126
SY 80.1300000
O1 3300.000
SI 16384
TD 8192
SW 2631.579
HZ/PT 321

PW 2.0
RD 1.000
AQ 1.556
RG 4
NS 128
TE 297

FW 3300
O2 1570.000
DP 63L P0

LB 0.0
GB 0.0
CX 22.00
CY 0.0
F1 7.920P
F2 -.400P
HZ/CM 75.681
PPM/CM .378
SR 2344.29

-.06506

1.11850
1.13533
1.14881
1.16625
1.22109
1.23618
1.25181
1.26886
1.53438
1.55247
1.56593
1.58320

2.26744

2.74800
2.77050
2.79587
2.99828
3.01908
3.03742

4.57494
4.54375
4.51243
4.48079
4.47593
4.44513
4.41406

7.24300
7.24114

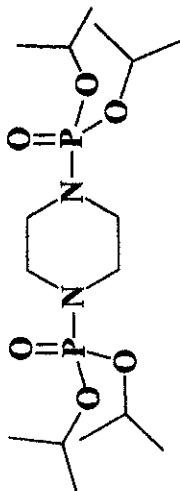
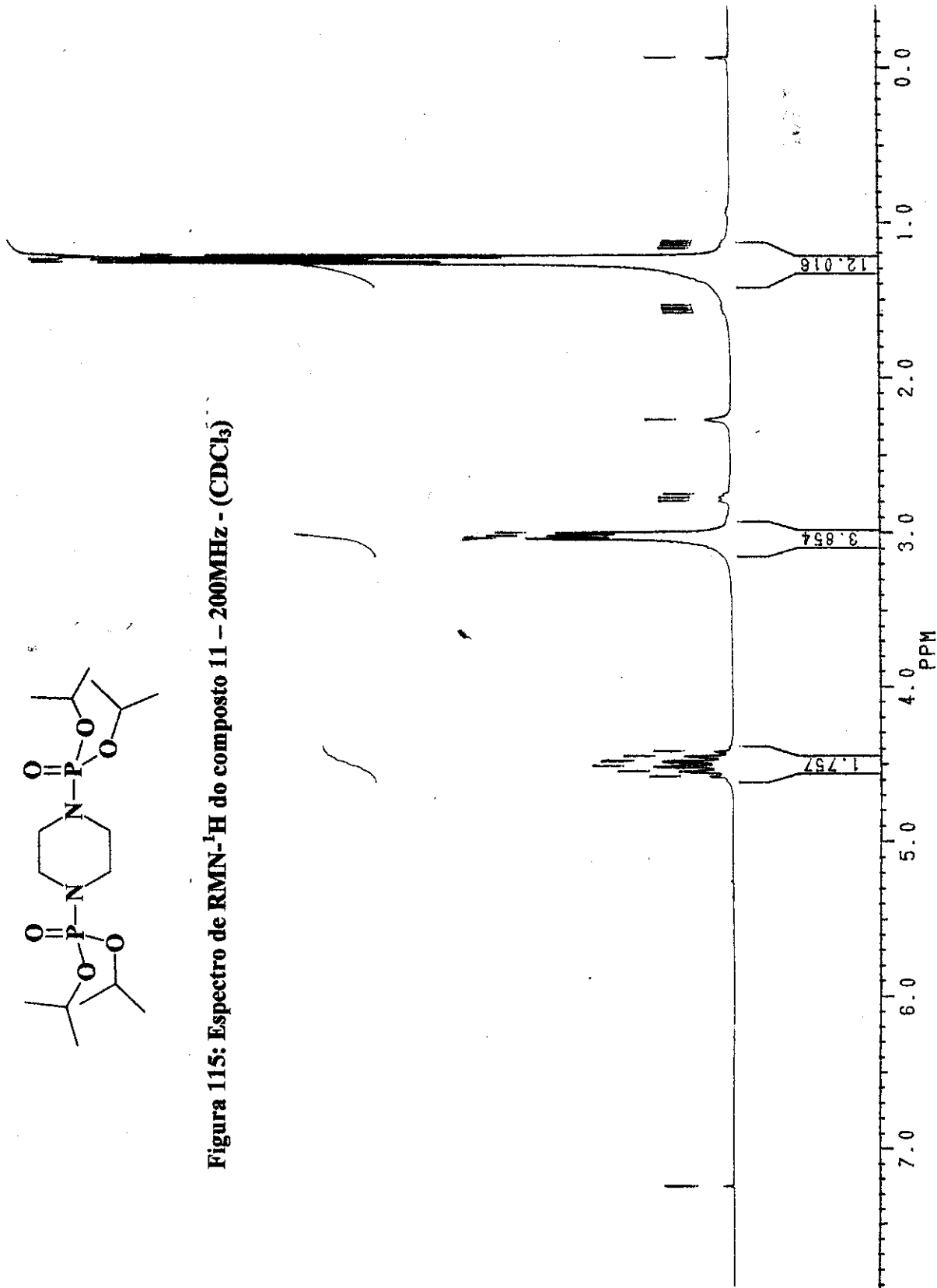
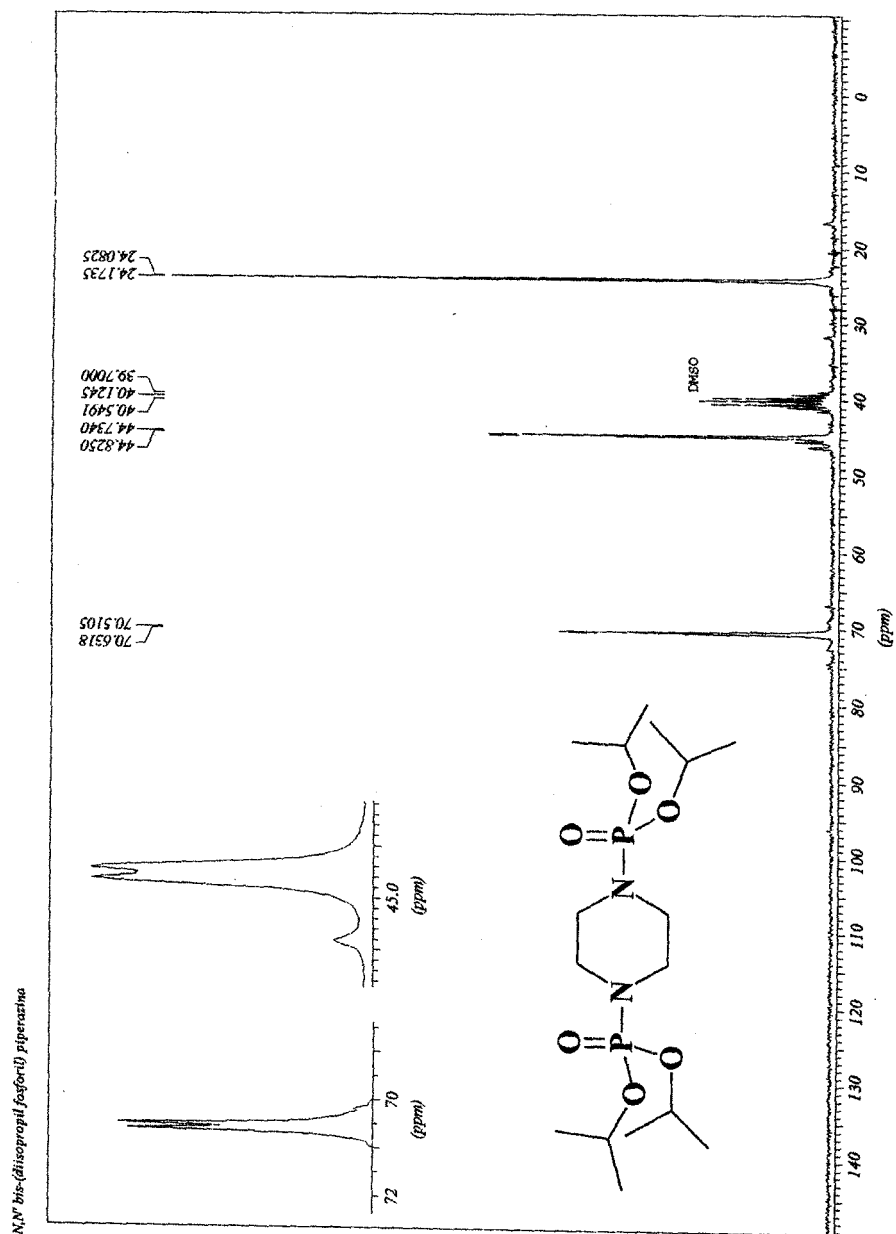


Figura 115: Espectro de RMN-1H do composto 11 - 200MHz - (CDCl3)



Figura 116. Espectro de RMN-¹³C do composto 11 – 50MHz – DMSO-d₆

Sample ID: ● C13PN2C4 Operator: Frances ●
 Instrument ID: Saturn GC/MS #1 Last Calibration: None
 Acquisition Date: 3/20/02 1:43 PM Data File: c:\...lc13pn2c4.sms
 Calculation Date: 3/20/02 2:09 PM Method: c:\...joao.mth
 Inj. Sample Notes:

Run Documentation
Injection Sample Notes

Recalc Sample Notes

Injection Method Notes

c:\saturnwsmethods\joao.mth
 Solicitante: Viviane/JFRRJ -
 Amostra: C13PN2C4
 PM: 413,8
 Solvente: Dicotometano
 Condiçoes da Analise:
 Coluna: SE30 (30mX0.25x0.25mm)
 Temperatura 150C/1min - 5C/min - 280C/10min
 Injetor: 270C
 EM: Trap: 220C
 Manifold: 60C
 Xferline: 250C
 Ionizacao: EI (70eV)
 SPLIT: 1:100

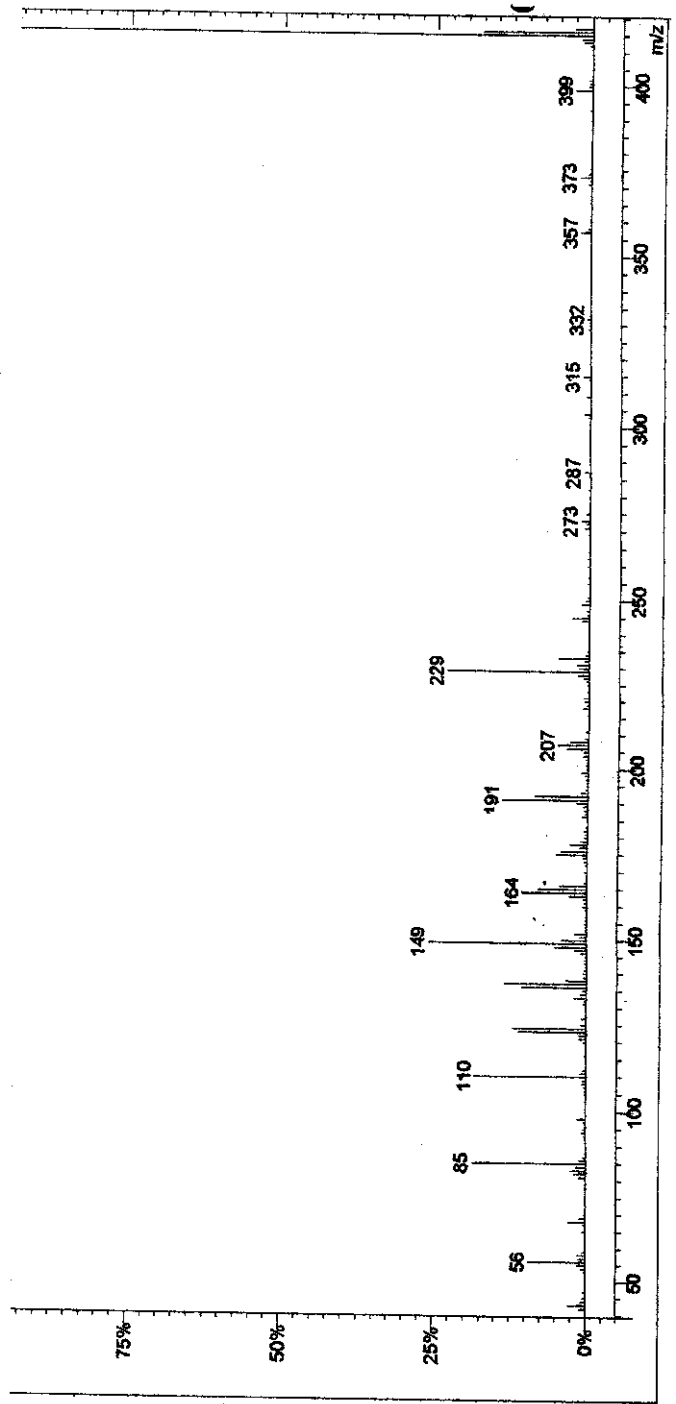
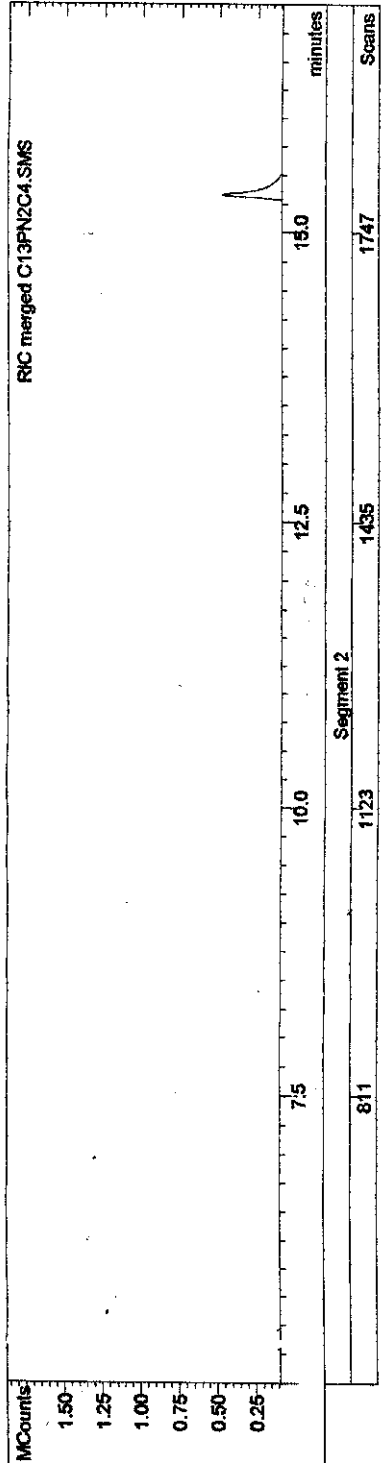
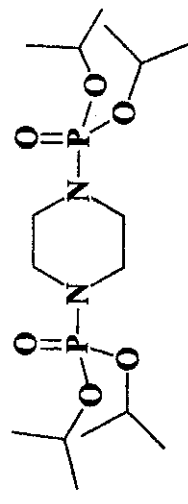


Figura 117. Espectro de massa do composto 11 - 70 eV.

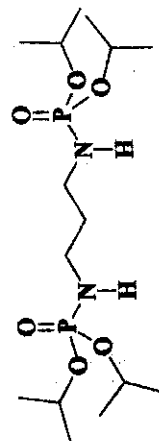
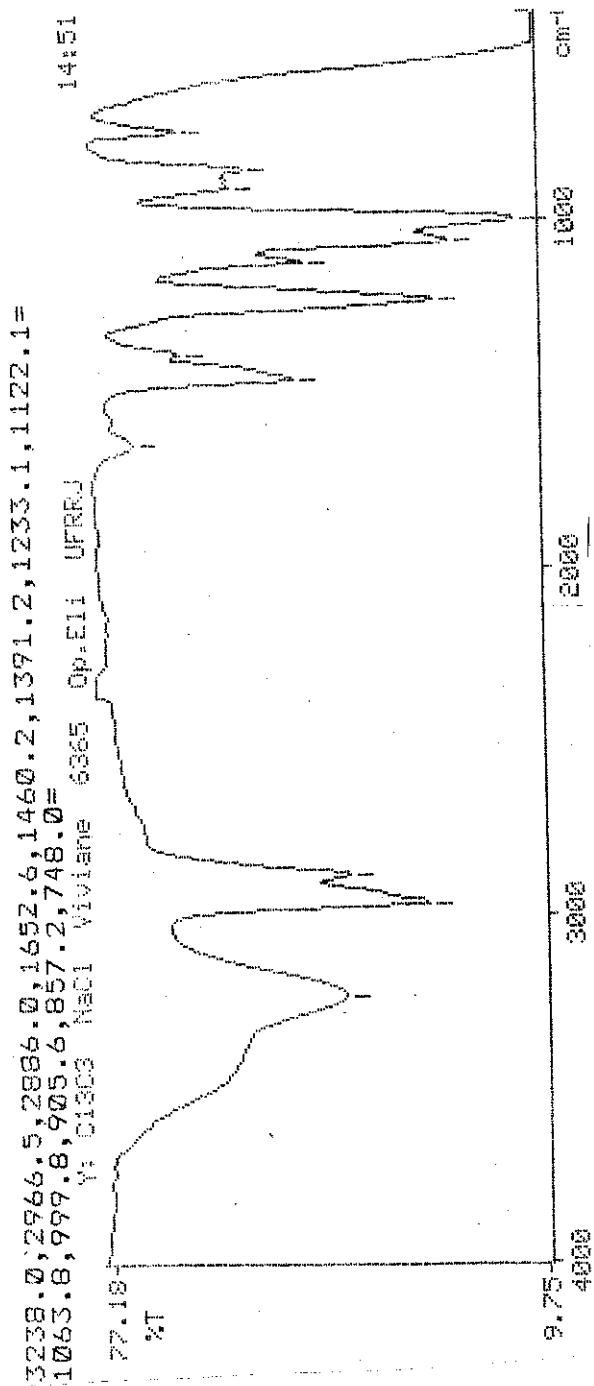


Figura 118. Espectro de IV do composto 16 (Pastilha de NaCl).

N,N-bis-(diisopropil fosforil) 1,3-propilenediamina

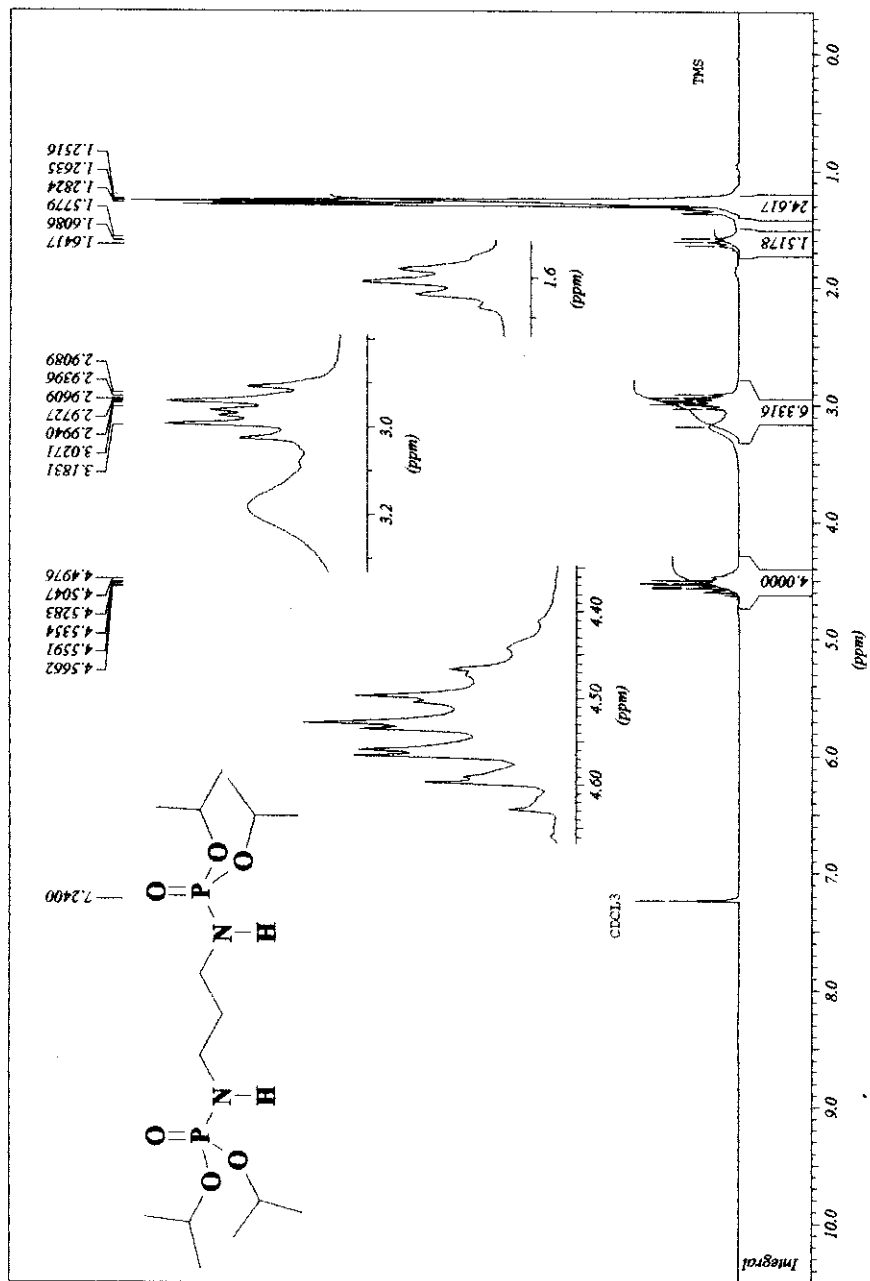


Figura 119: Espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$ do composto 16 – 200MHz – CDCl_3 .

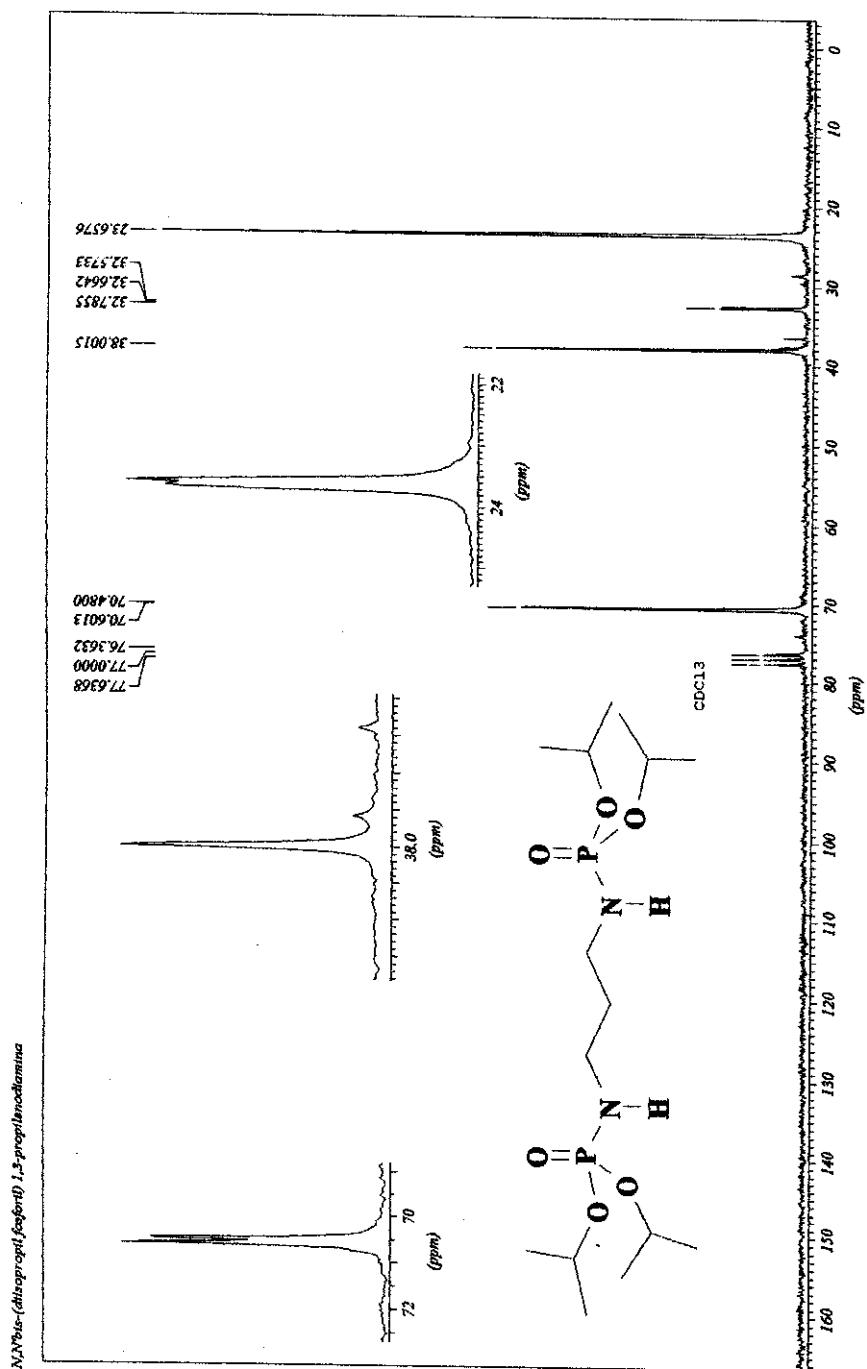


Figura 120: Espectro de RMN- ^{13}C do composto 16 – 50MHz – CDCl_3 .

Solicitante: Viviane/UFRRJ

Amostra: C13PN2C3

PM: 401,8

Solvente: Diclorometano

Condições da Análise:

Coluna: CP-SIL8 (30m x 0,25 x 0,25mm)

Temperatura: 170C/1min - 30C/min - 270C/ 20min

Injetor: 250C

EM: Trap: 180C

Manifold: 60C

Triliner: 200C

Ionização: EI (70eV)

Chromatogram Plot

File: c:\saturmws\data\viviane\c13pn2c3.sms

Sample: C13PN2C3

Scan Range: 1 - 2789 Time Range: 0.00 - 44.97 min.

Operator: Frances

Date: 10/2/01 10:37 AM

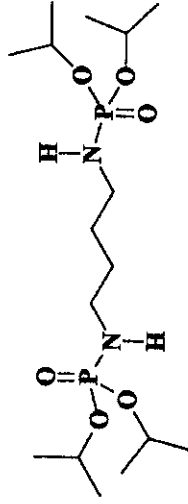
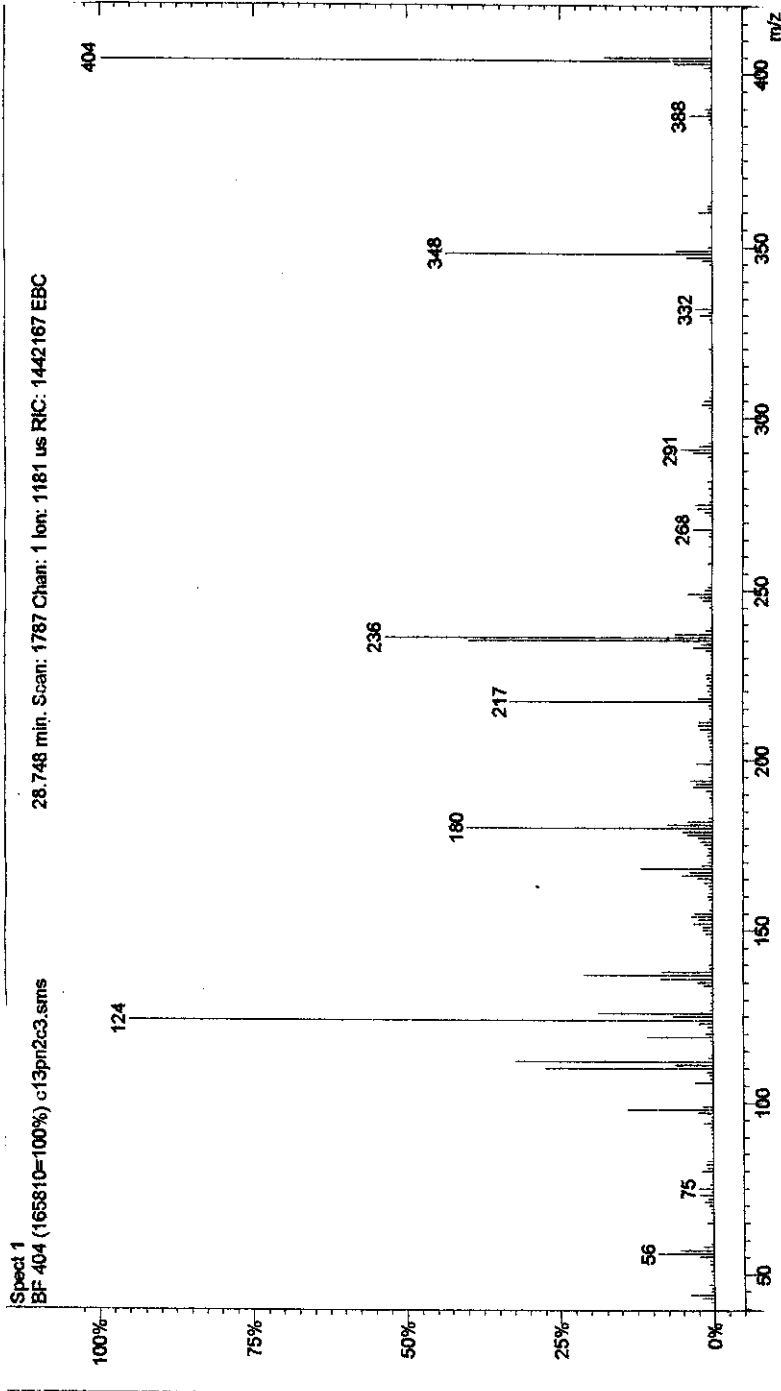


Figura 121: Espectro de massa do composto 16 - 70 eV.

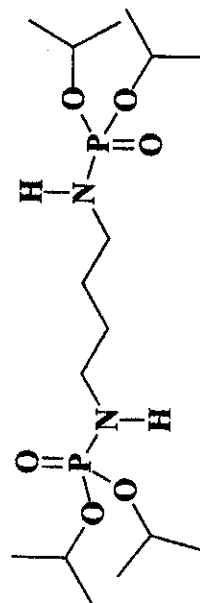
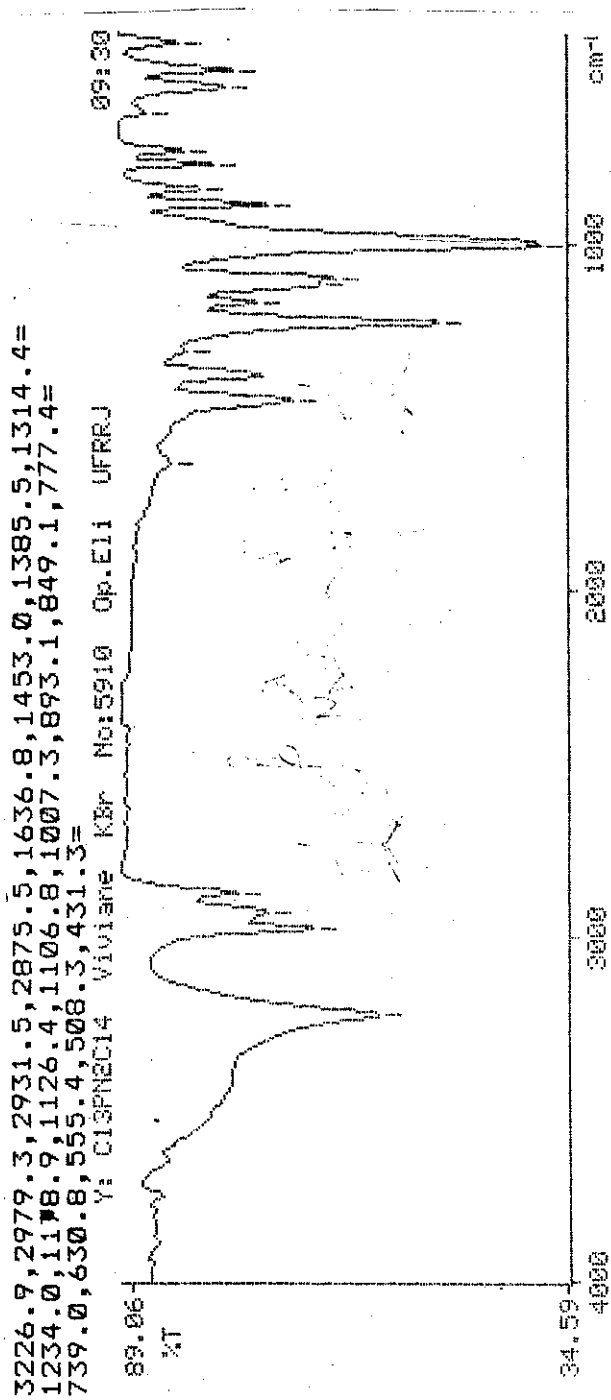


Figura 122: Espectro de IV do composto 21 – (Pastilha de KBr)

Cl3PNCCT

4.80082
 4.56981
 4.56302
 4.55880
 4.53230
 4.50102

2.87427
 2.86101
 2.82726

1.50237
 1.48678
 1.47071

1.30180
 1.28997
 1.27094
 1.25909

228

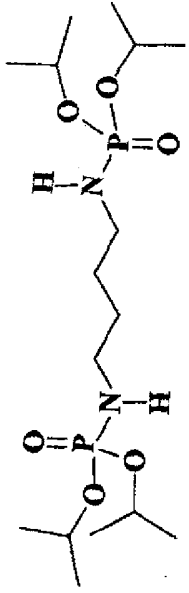
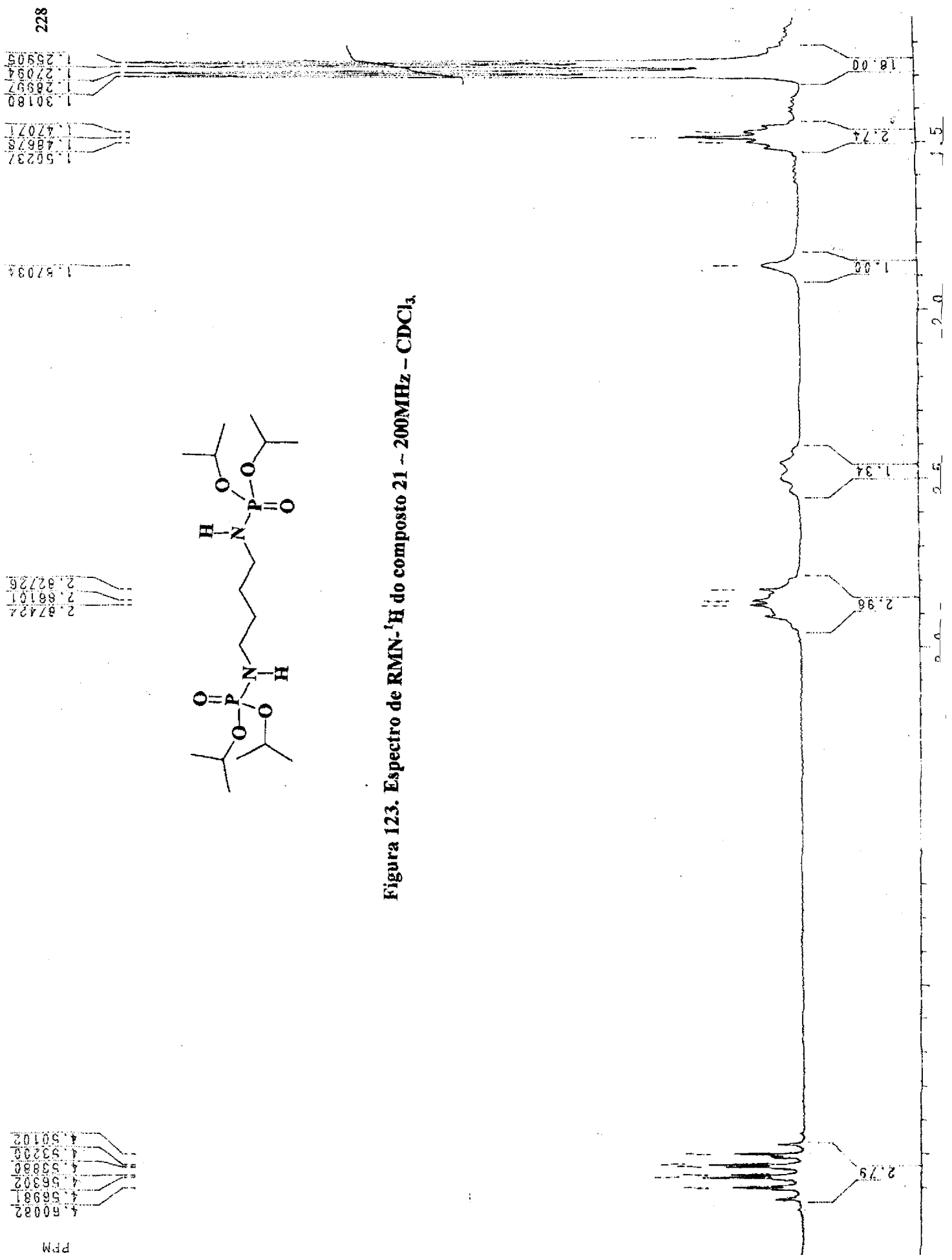


Figura 123. Espectro de RMN-¹H do composto 21 - 200MHz - CDCl₃.



N,N'-bis-(diisopropil fosforil), 4-butilendianina

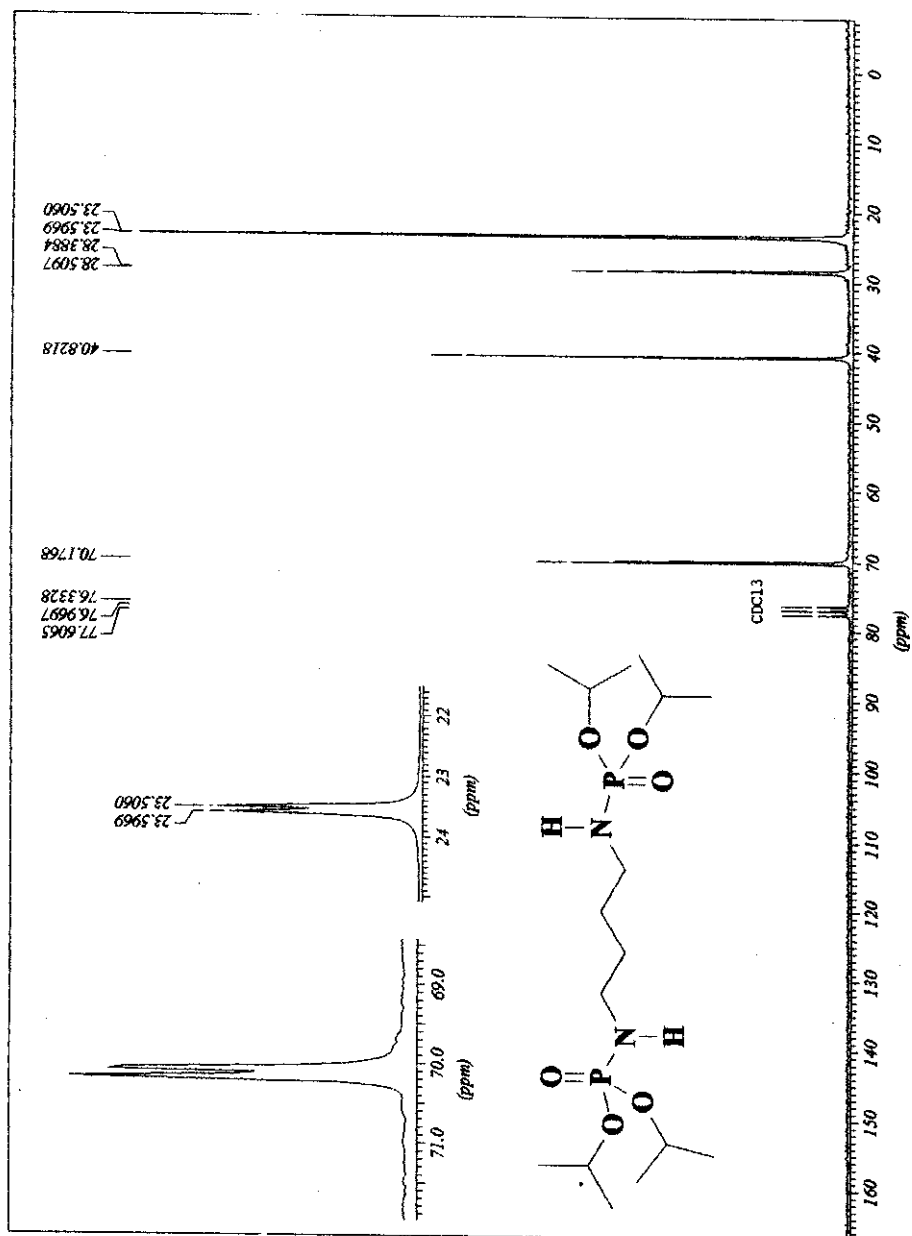


Figura 124: Espectro de RMN- ^{13}C do composto 21 – 50MHz – CDCl_3 .

```

----- ACQUISITION PARAMETERS -----
File Name      = C13PWZC14_1d_spectrum.
Author         = Jan Schripsema
Sample ID      = C13PWZC14
Content        = Single Pulse Experiment
Creation Date   = 16-JUL-2003 15:55:53
Revision Date  = 16-JUL-2003 16:00:49
Spec Site      = Eclipset 400

Spec Type      = DELTA_NMR
Data Format     = ID_COMPLEX
Dimensions     = X
Dim Title      = 31P
Dim Size       = 16384
Dim Units      = [ppm]
Acq_delay      = 19.1[us]
Changer_sample = 0
Experiment     = single_pulse.exp
Field_strength = 9.389766[T]
Irr90_hi       = 14.7[us]
Irr90_lo       = 23.5[us]
Irr90_pw       = 60[us]
Lock_status    = IDLE
Recvr_gain     = 15
Relaxation_delay = 4[s]
Scans          = 16
Solvent        = CHLOROFORM-D
Spin_get       = 16[Hz]
Spin_lock_90   = 90[us]
Spin_lock_attn = 12.5[db]
Spin_set       = 15[Hz]
Spin_status    = SPIN ON
Temp_get       = 25[dc]
Temp_set       = 25[dc]
Temp_status    = TEMP ON
Temp_status    = TEMP ON
X90            = 10.3[us]
X90_hi         = 1[us]
X90_lo         = 1[us]
X_acq_duration = 0.1441792[s]
X_domain       = 31P
X_freq         = 161.83469309 [MHz]
X_offset       = 0[ppm]
X_points       = 16384
X_prescans     = 0
X_pulse        = 5.15[us]
X_resolution   = 6.93581321 [Hz]
X_sweep        = 113.63636364 [kHz]

```

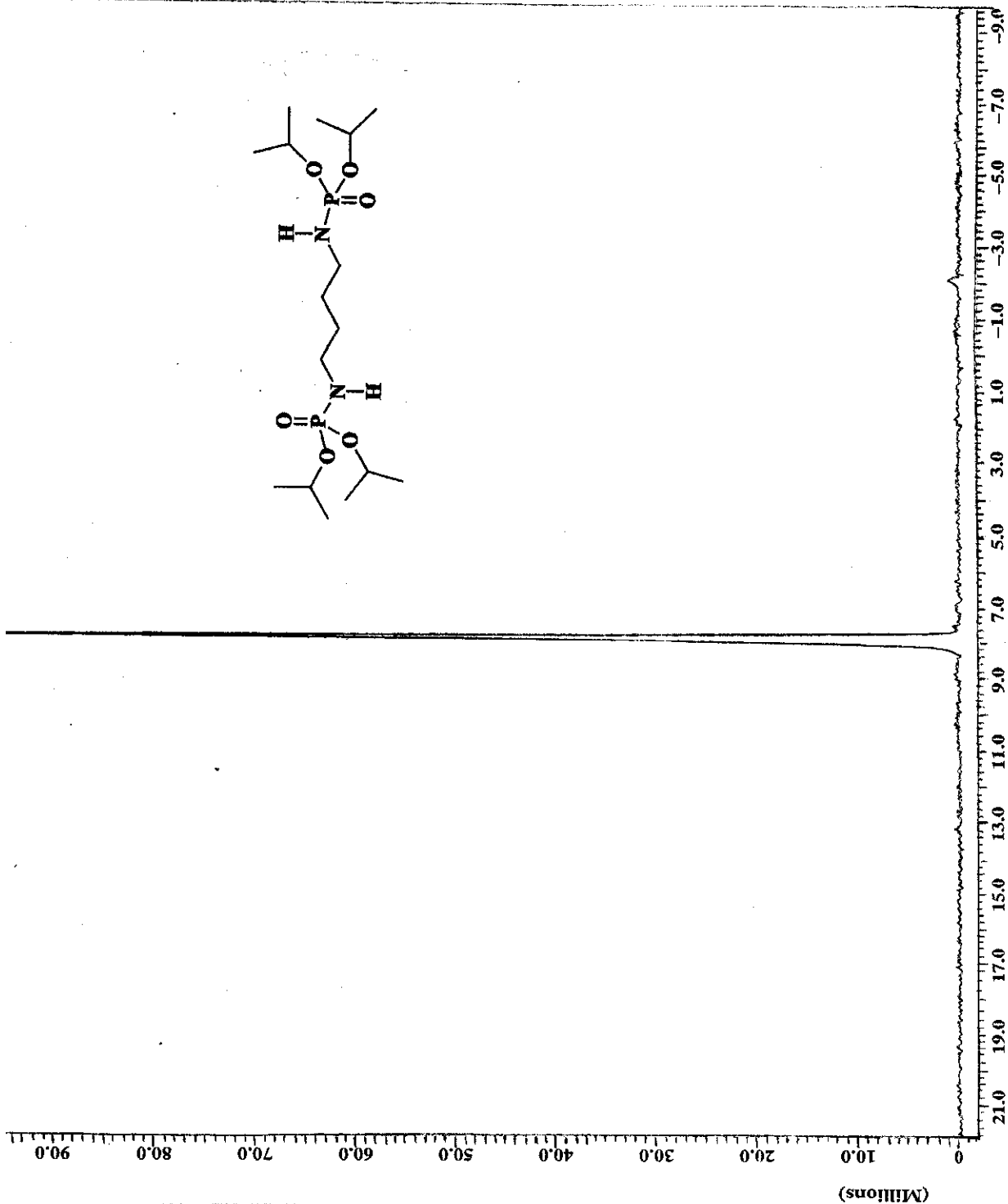
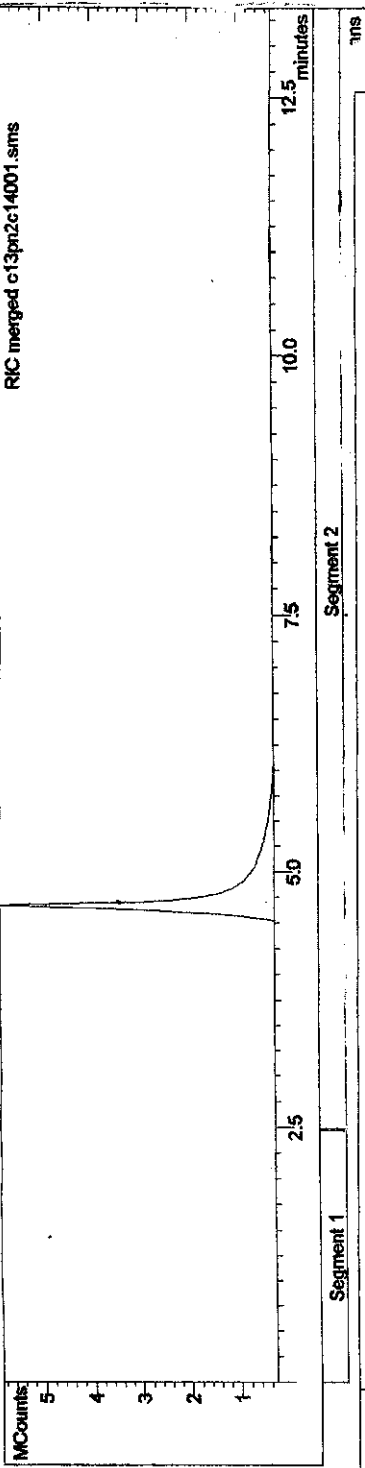


Figura 125: Espectro de RMN- ^{31}P desacoplado do composto 21 - 162 MHz - H_3PO_4 .

Sample ID: C13PN2C14
Instrument ID: Saturn GC/MS
Acquisition Date: 9/27/01 11:45 AM
Calculation Date: 9/27/01 11:58 AM
Inj. Sample Notes:

Operator: Frances
Last Calibration: None
Data File: c:\...c13pn2c14001.sm
Method: c:\...joao.mth

Run Documentation
Injection Sample Notes



Recalc Sample Notes

Injection Method Notes

c:\saturnw\metodos\joao.mth
Solicitante: Viviane/JFRJ -
Amostra: C13PN2C14
PM: 413,8
Solvente: Diclorometano
Condições da Análise:
Coluna: CP-SIL8 (30mX0.25x0.25mm)
Temperatura 200C - 25min
Injetor: 250C
EM: Trap: 180C
Manifold: 60C
Tráfide: 200C
Ionização: EI (70eV)

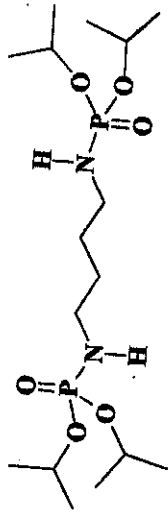
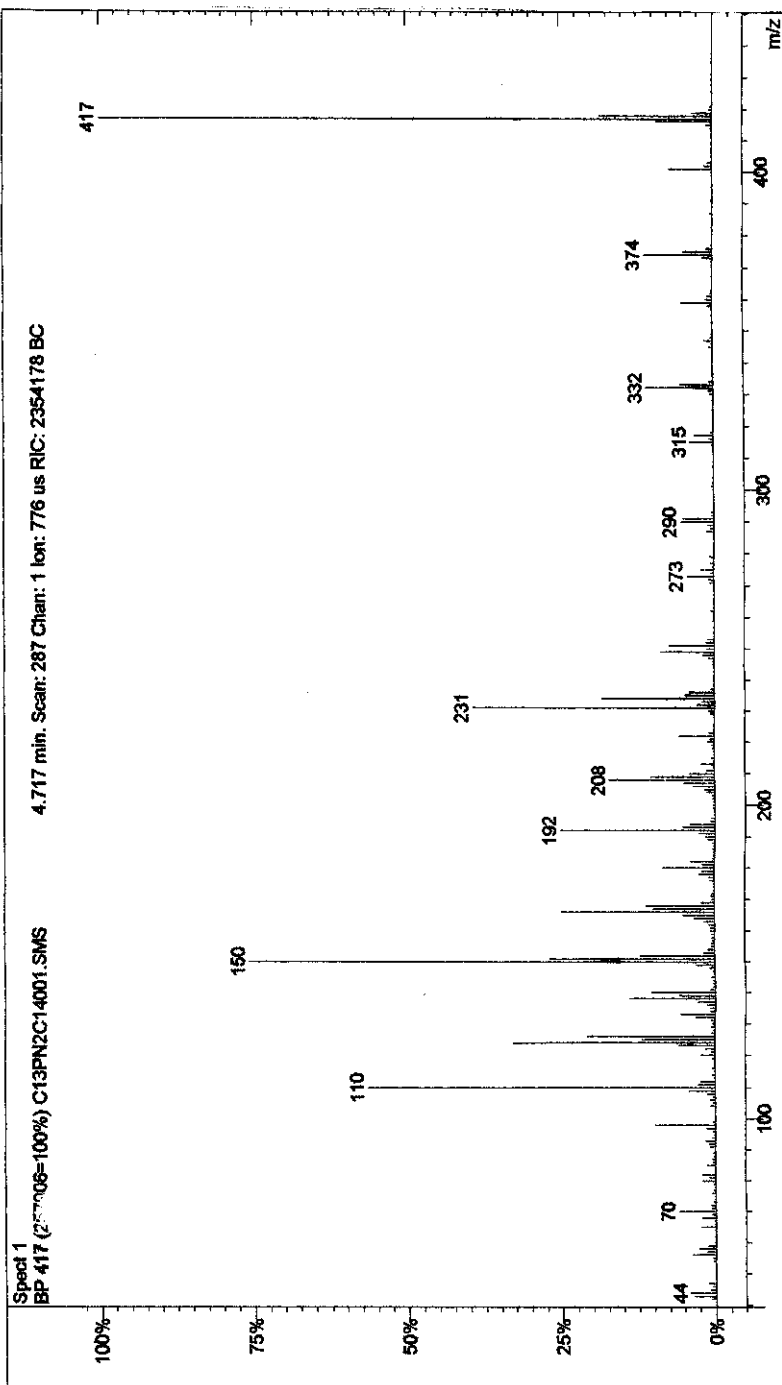


Figura 126: Espectro de massa do composto 21 – 70 eV.

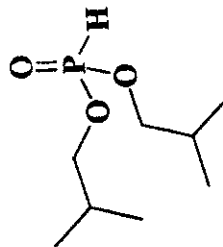
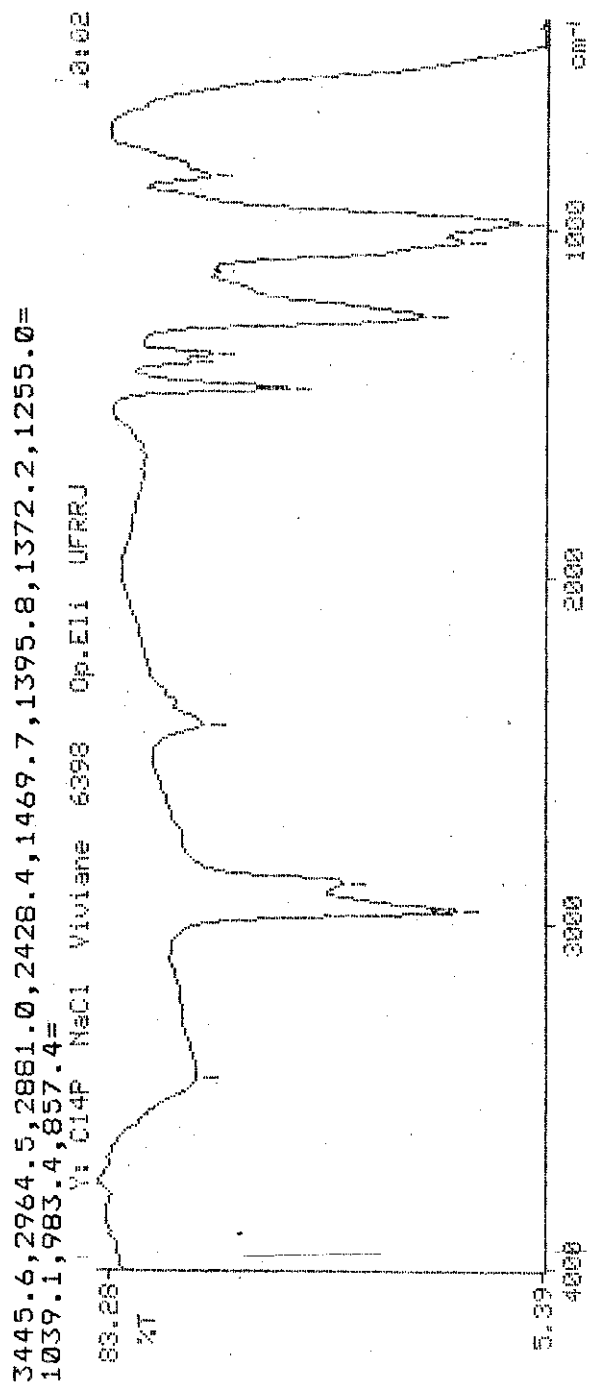


Figura 127: Espectro de IV do Fosfito de diisobutila (Pastilha de NaCl).

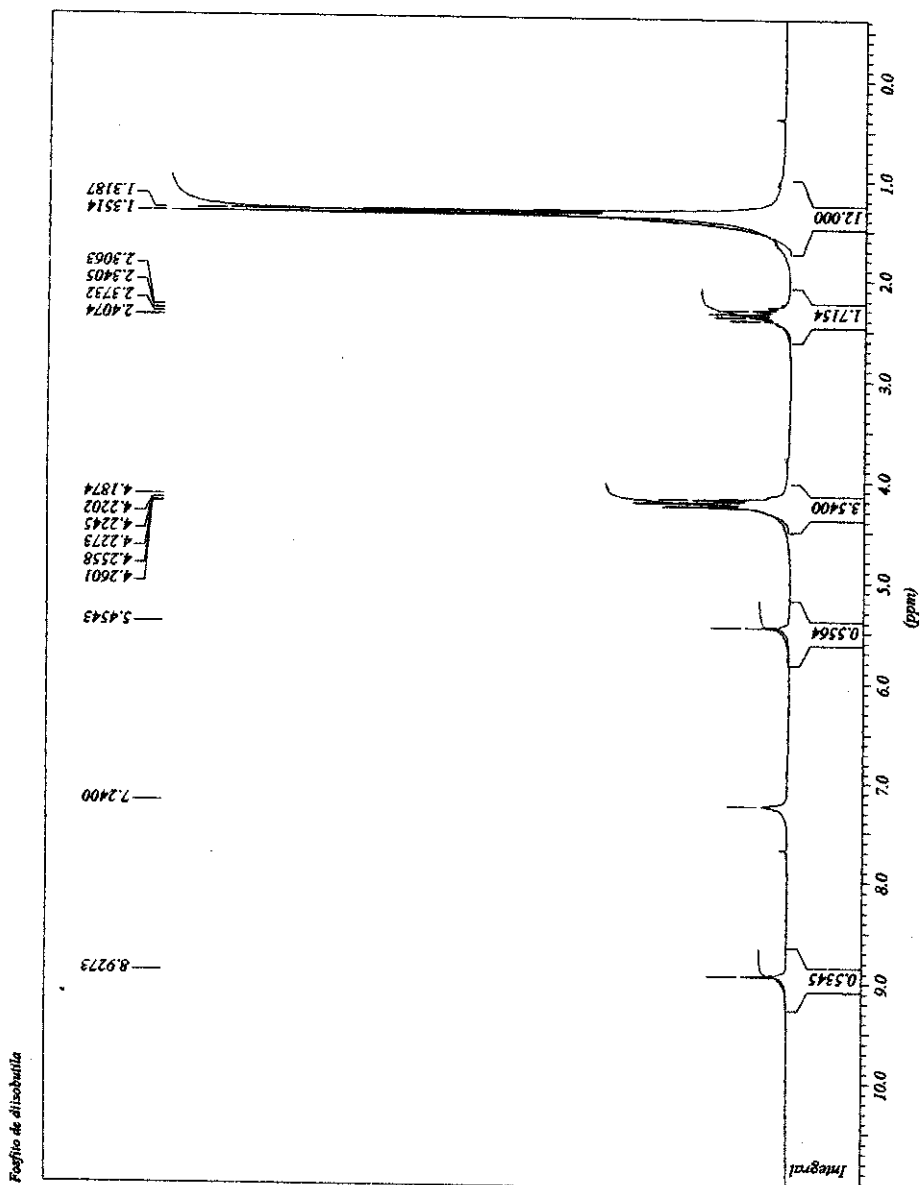


Figura 128: Espectro de RMN-¹H do Fosfito de diisobutila (87) – 200MHz – CDCl₃.

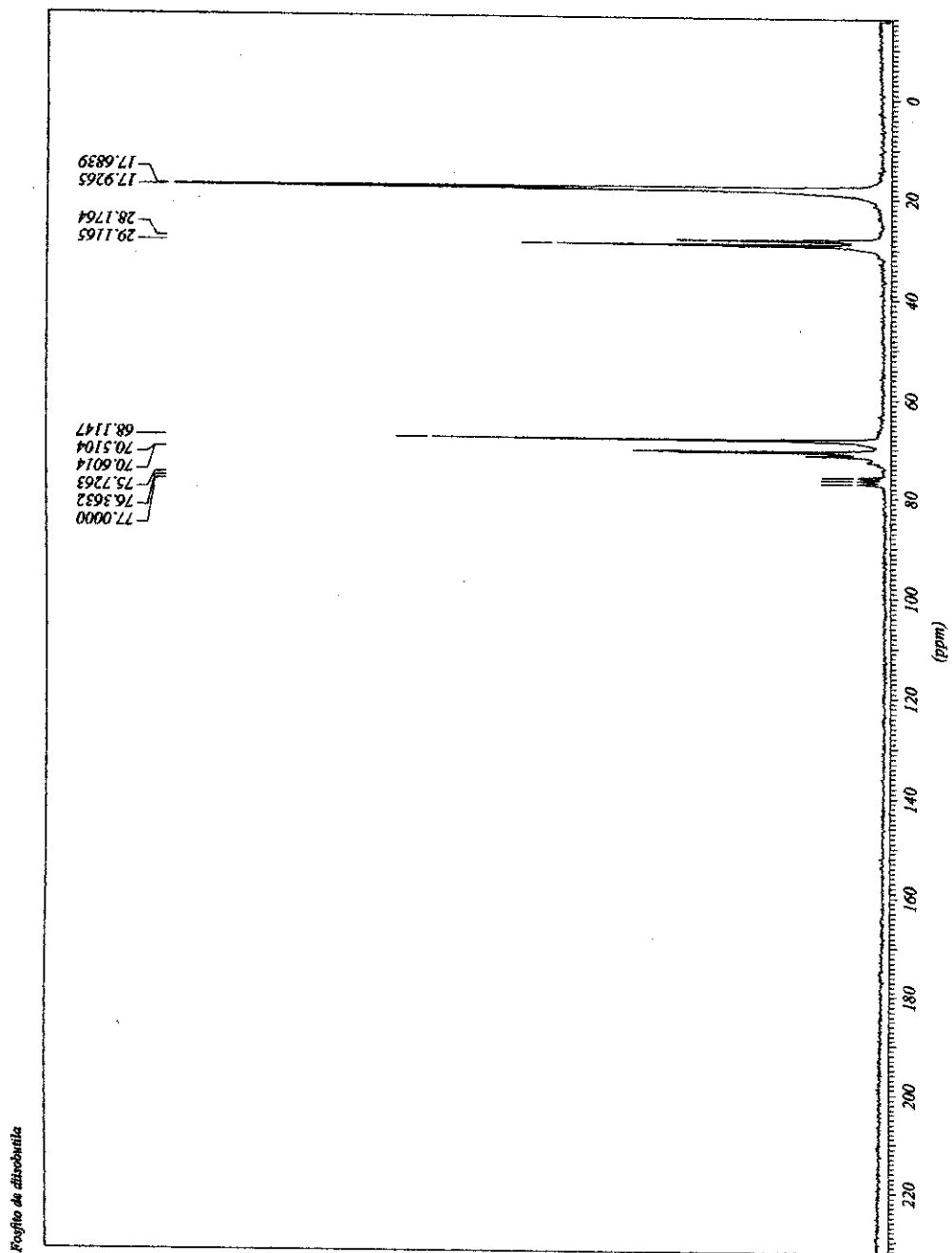


Figura 129: Espectro de RMN-¹³C do Fosfito de diisobutila (87) – 50MHz – CDCl₃

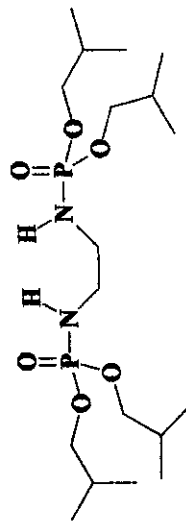
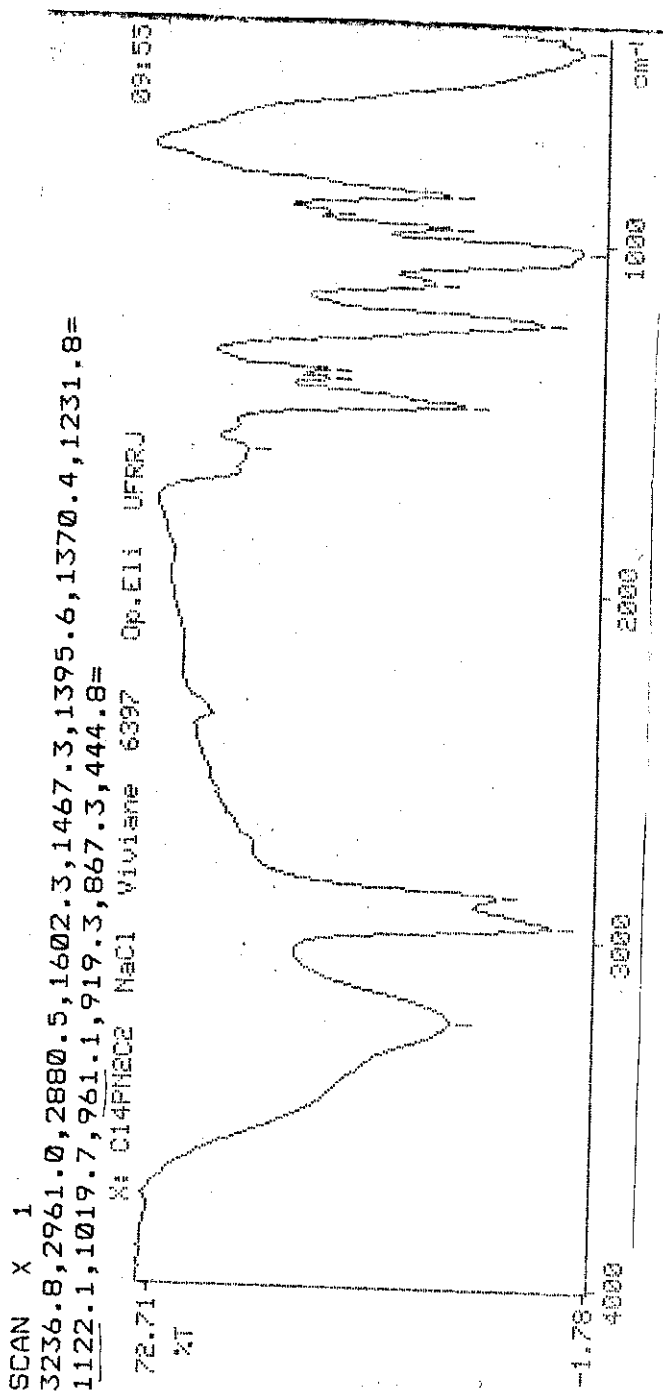


Figura 130: Espectro de IV do composto 7 (Pastilha de NaCl).

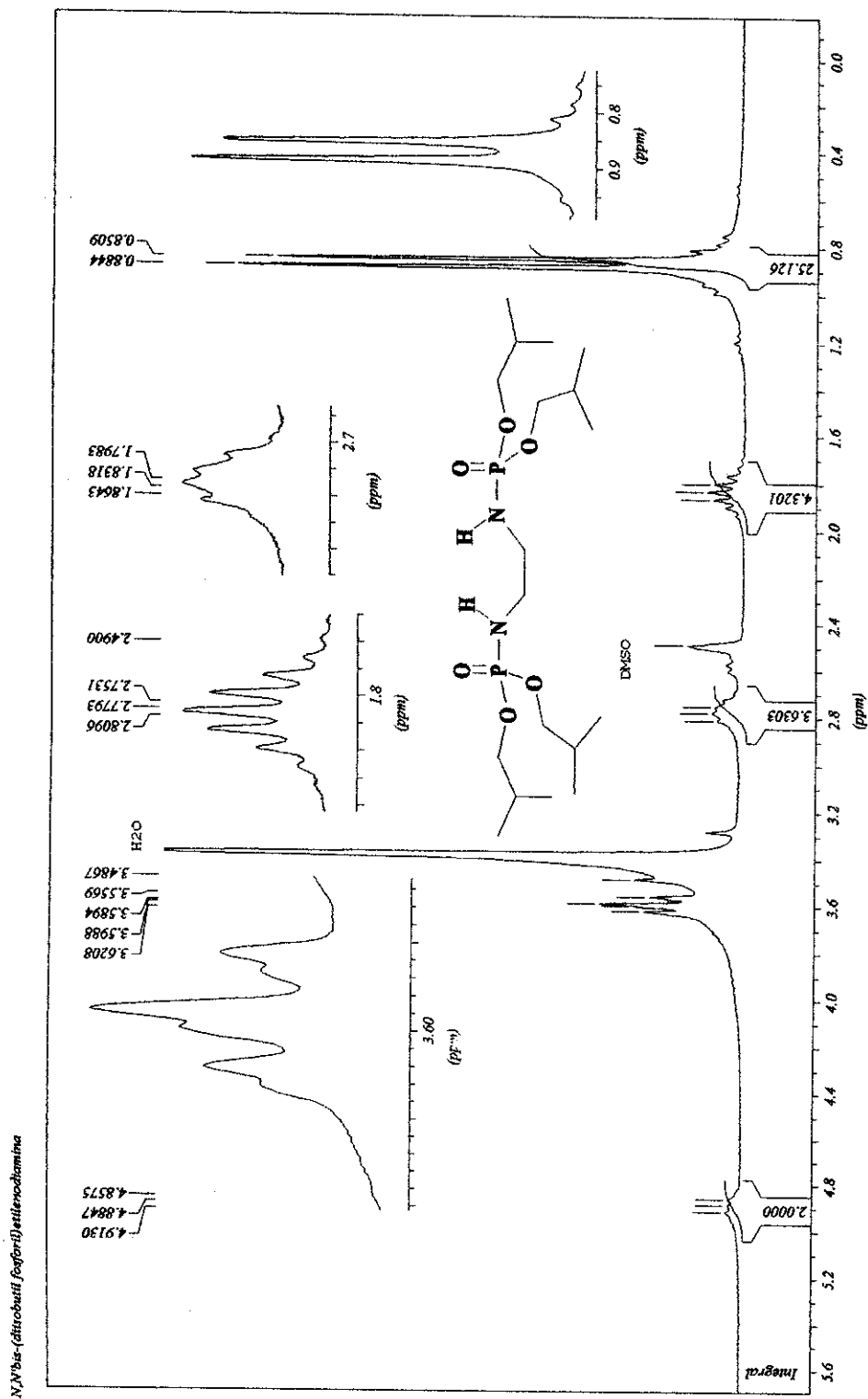


Figura 131: Espectro de RMN-¹H do composto 7 – 200MHz – DMSO.

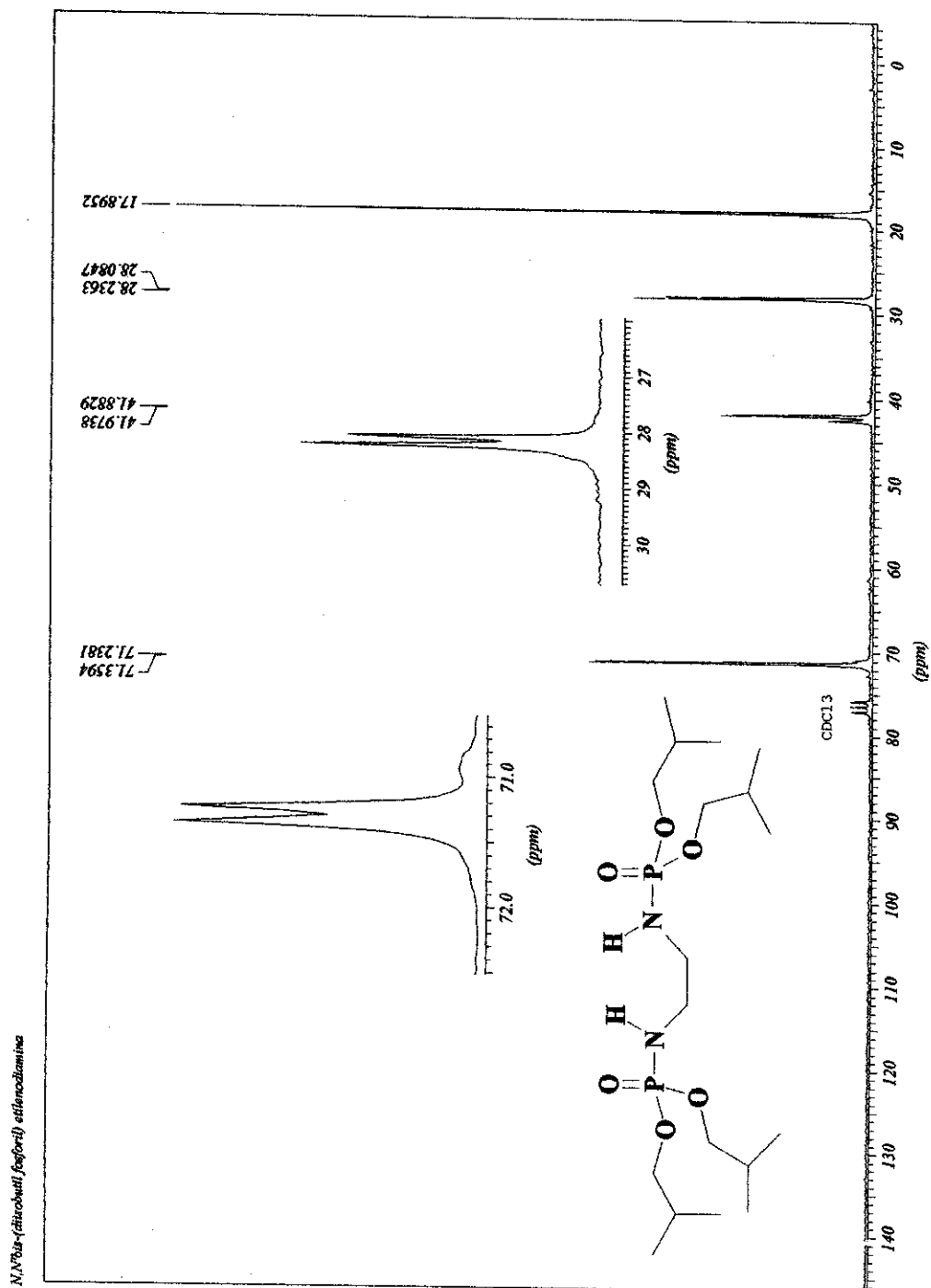


Figura 132: Espectro de RMN-¹³C do composto 7 – 50MHz – DMSO.

JEOL

```

----- ACQUISITION PARAMETERS -----
File Name      = C14PN2C2_1d_spectrum.
Author         = Jan Schripsema
Sample ID      = C14PN2C2
Content        = Single Pulse Experiment
Creation Date  = 16-JUL-2003 15:46:57

Revision Date  = 16-JUL-2003 15:51:36
Spec Site      = Eclipse+ 400

Spec Type      = DELTA NMR
Data Format     = 1D COMPLEX
Dimensions     = X
Dim Title      = 31P
Dim Size       = 16384
Dim Units      = [ppm]
Acq_delay      = 19.1[us]
Changer_sample = 0
Experiment     = single_pulse.exp
Field_strength = 9.389766[T]
Irr90_hi      = 14.7[us]
Irr90_lo      = 23.5[us]
Irr_width     = 60[us]
Lock_status    = 60[us]
Lock_gain      = IDLE
Recvr_gain     = 15
Relaxation_delay = 4[s]
Scans          = 16
Solvent        = CHLOROFORM-D
Spin_get       = 15[Hz]
Spin_lock_90   = 90[us]
Spin_lock_attn = 12.5[dB]
Spin_set       = 15[Hz]
Spin_status    = SPIN ON
Spin_status    = SPIN ON
Temp_get       = 25[degC]
Temp_set       = 25[degC]
Temp_status    = TEMP ON
Temp_status    = TEMP ON
X90            = 10.3[us]
X90_hi        = 1[us]
X90_lo        = 1[us]
X_acq_duration = 0.1441792[s]
X_domain       = 31P
X_freq         = 161.83469309[MHz]
X_offset       = 0[ppm]
X_points       = 16384
X_prescans     = 0
X_pulse        = 5.15[us]
X_resolution   = 6.93581321[Hz]
X_sweep        = 113.63636364[MHz]

```

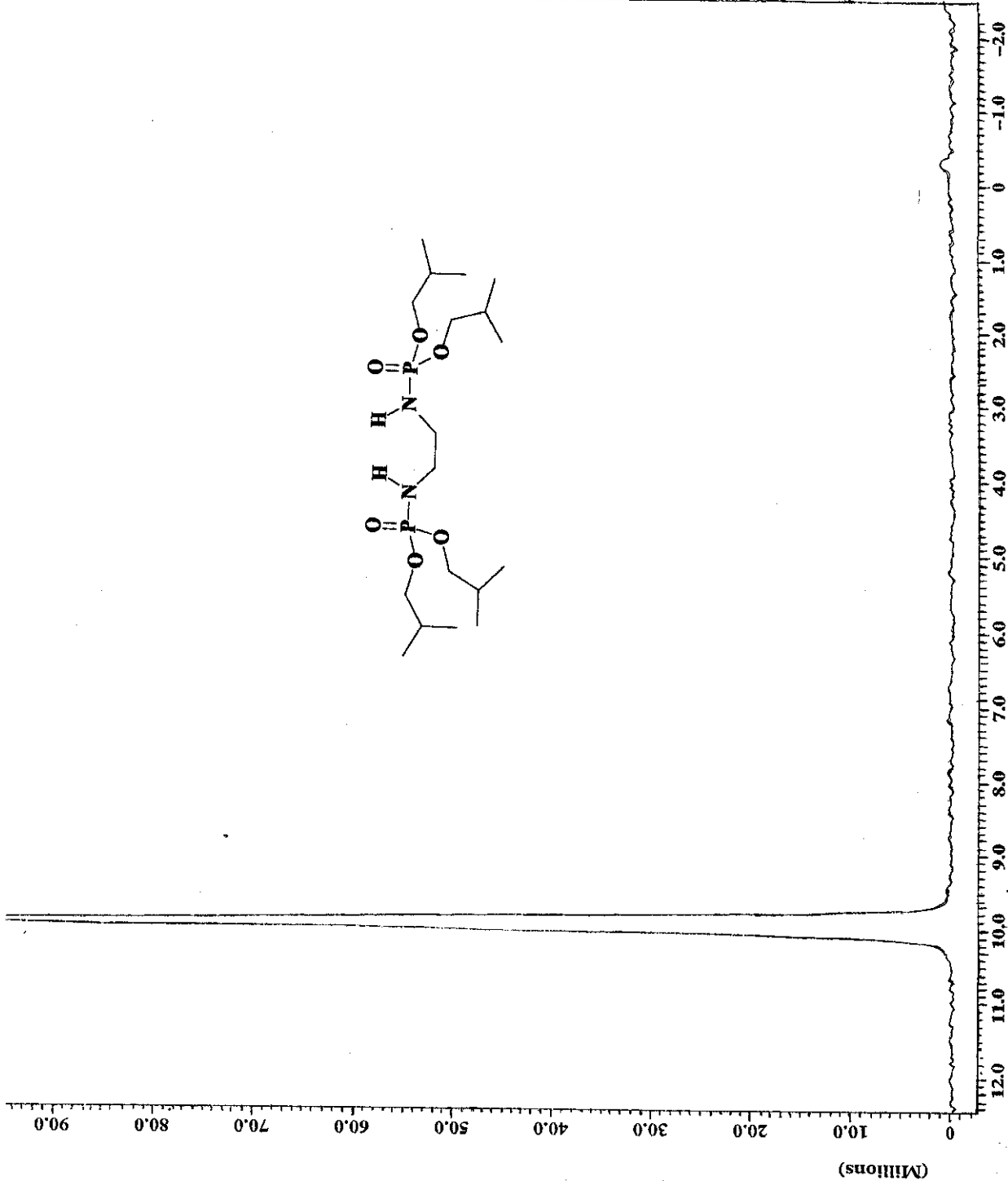


Figura 133: Espectro de RMN- ^{31}P desacoplado do composto 7 – 162 MHz – H_3PO_4 .

Run Documentation**Injection Sample Notes****Recalc Sample Notes****Injection Method Notes**

c:\saturwstmetodos\yoao.mth

Solicitante: Viviane/JFRRJ -

Amostra: C14PN2C2

PM: 444

Solvente: Diclorometano

Condições da Análise:

Coluna: CP-SIL8 (30mX0,25x0,25mm)

Temperatura 250C - 25min

Injetor: 250C

EM: Trap; 180C

Manifold: 60C

Trxline: 200C

Ionização: EI (70eV)

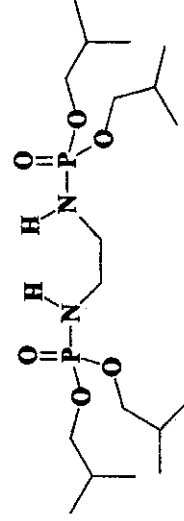
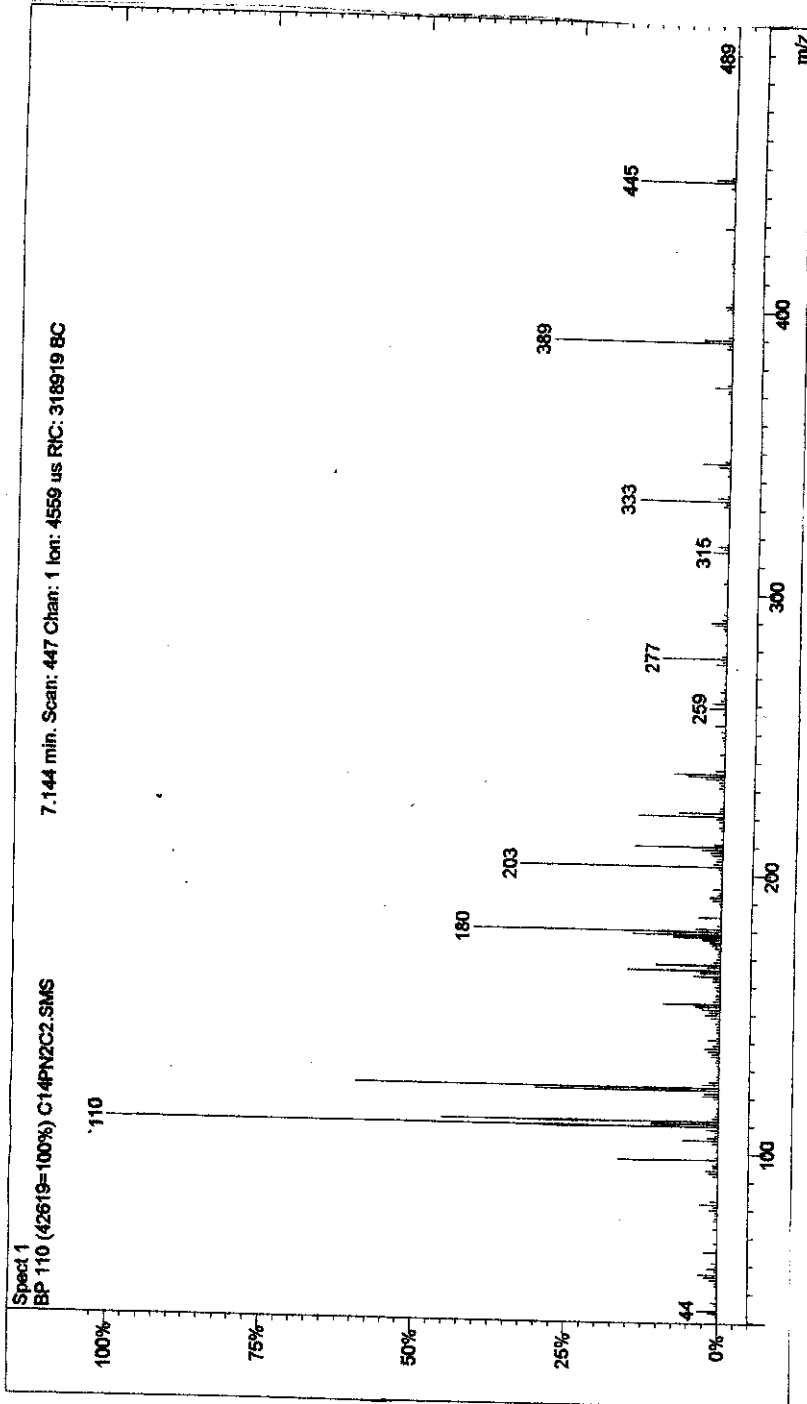


Figura 134: Espectro de massa do composto 7 – 70 eV.

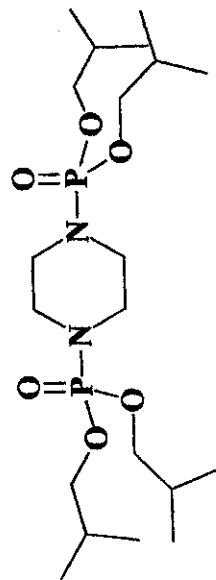
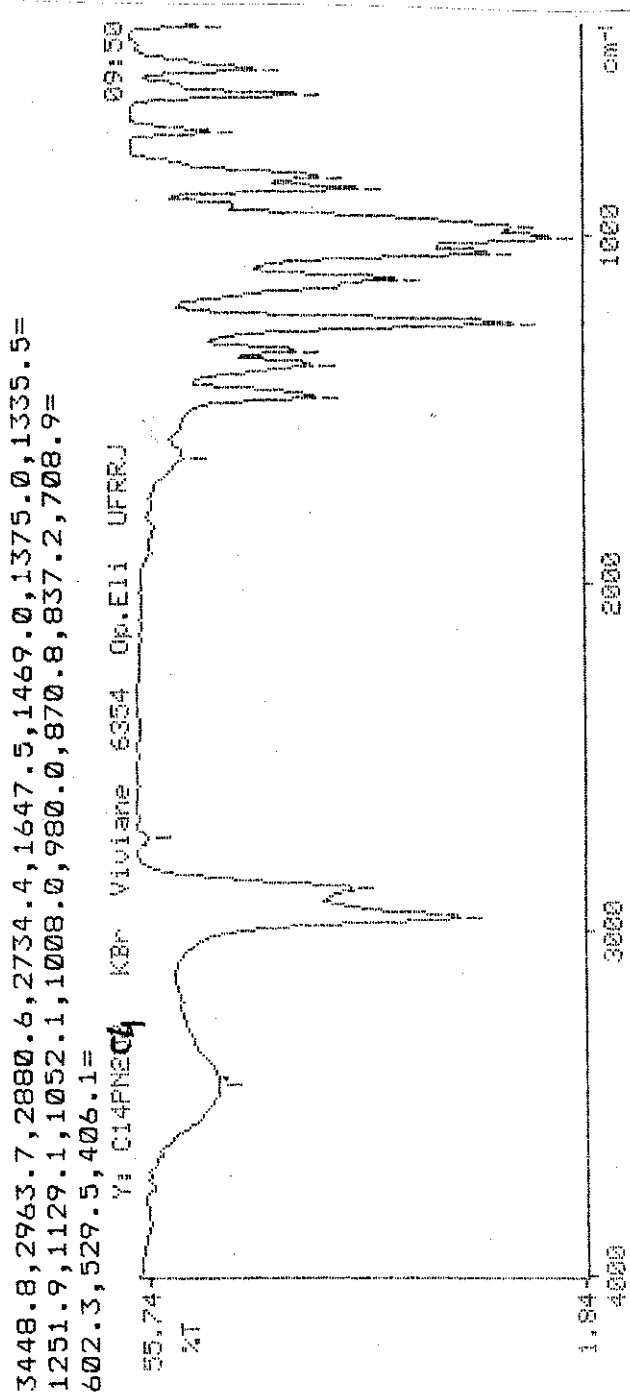


Figura 135: Espectro de IV do composto 12 (Pastilha de NaCl).

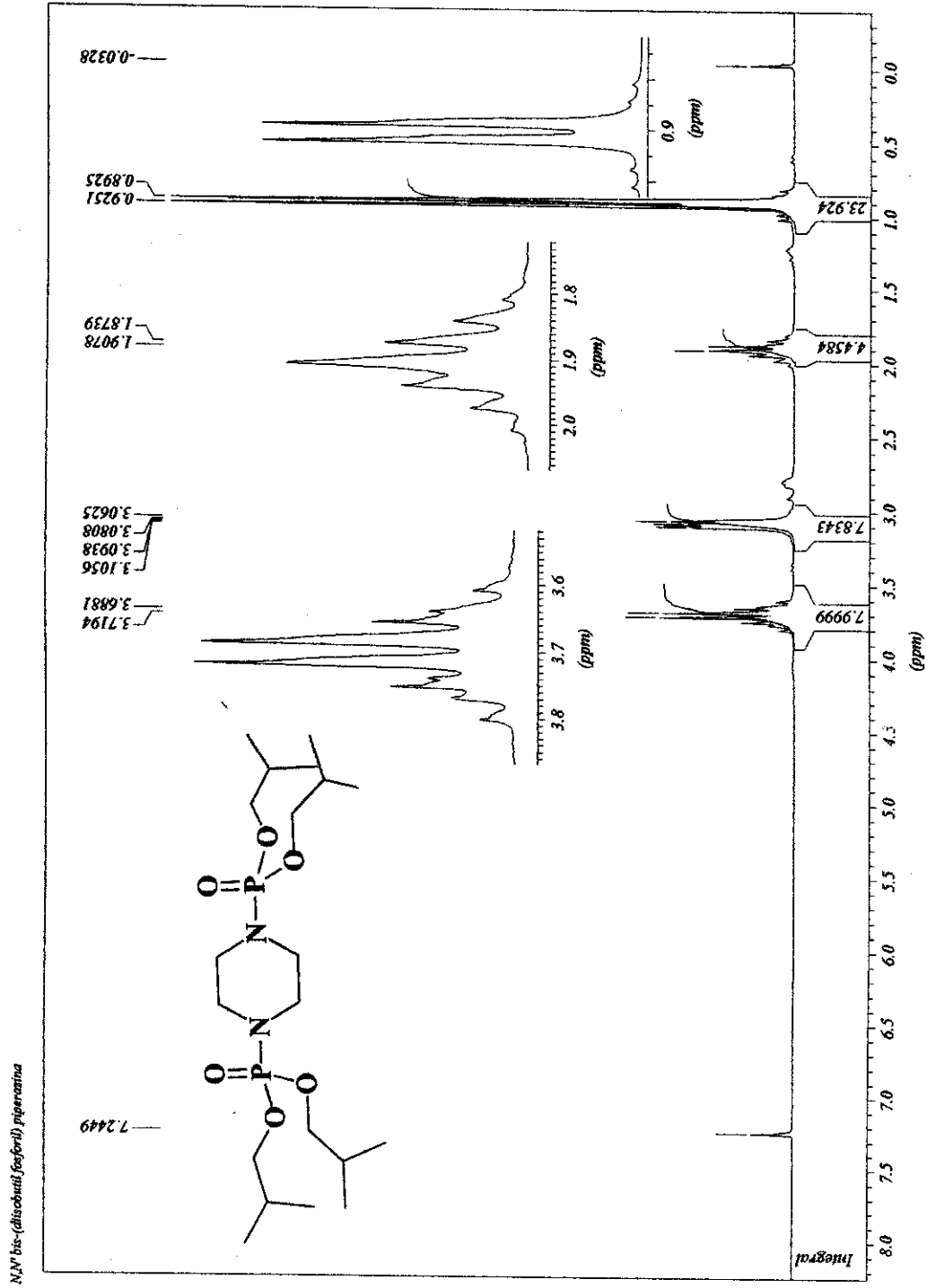


Figura 136: Espectro de RMN-¹H do composto 12 – 200MHz – CDCl₃.

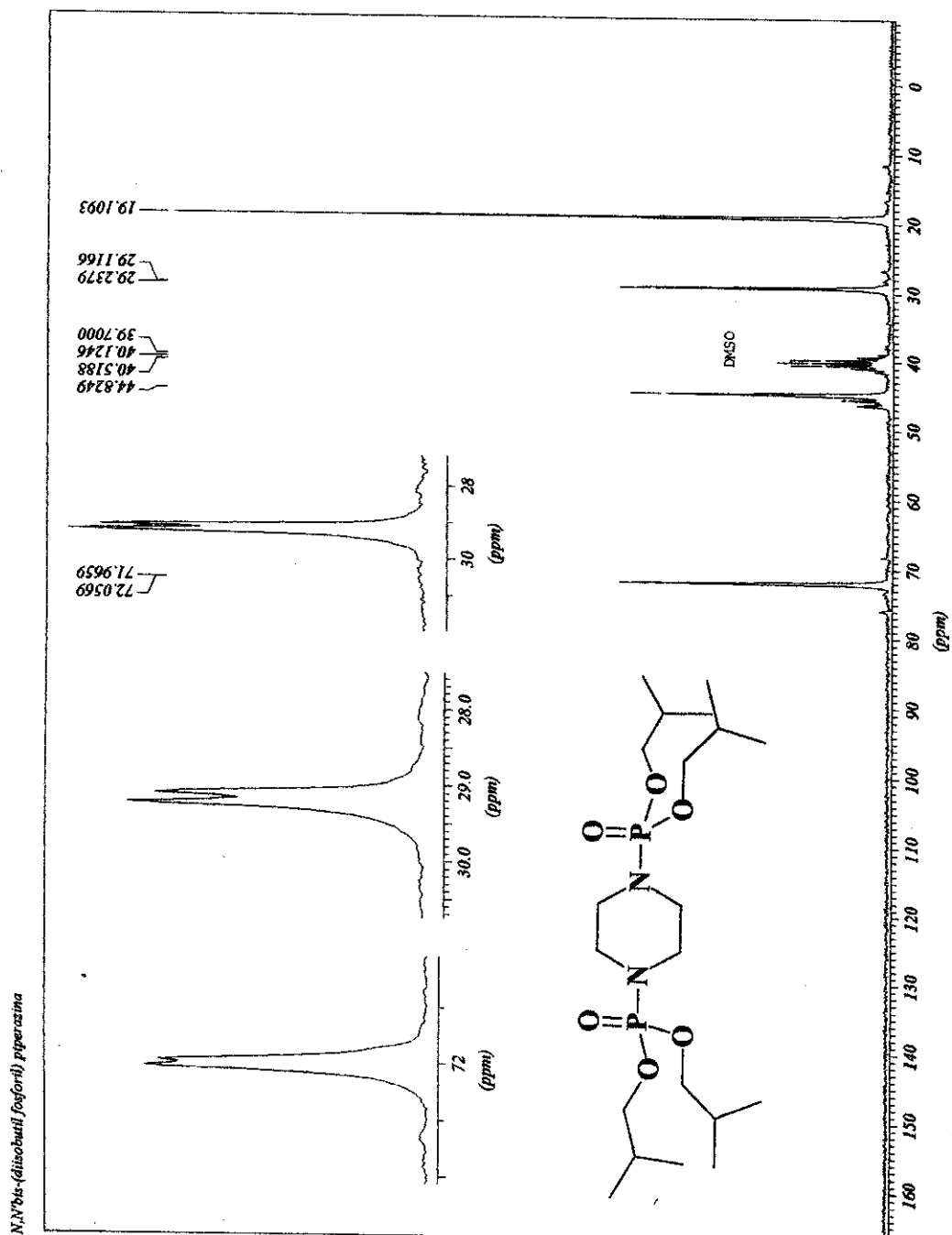


Figura 137: Espectro de RMN-¹³C do composto 12 – 50MHz – CDCl₃.

```

--- ACQUISITION PARAMETERS ---
File Name      = C:\PN2C4_id_spectrum
Author        = Jan Schrippsema
Sample ID     = C:\PN2C4
Content       = Single Pulse Experiment
Creation Date = 16-JUL-2003 15:14:20

Revision Date = 16-JUL-2003 15:22:26
Spec Site     = Eclipse+ 400

Spec Type     = DELTA NMR
Data Format    = 1D COMPLEX
Dimensions    = X
Dim Title     = 31P
Dim Size      = 16384
Dim Units     = [ppm]
Acq_delay     = 19.1[us]
Charger_sample = 0
Experiment    = single_pulse.exp
Field_strength = 9.389766[T]
Irr90_hi     = 14.7[us]
Irr90_lo     = 23.5[us]
Irr_width    = 60[us]
Lock_status  = YDLR
Recvr_gain   = 15
Relaxation_delay = 4[S]
Scans        = 16
Solvent      = CHLOROFORM-D
Spin_get     = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 90[us]
Spin_lock_attn = 12.5[DB]
Spin_set     = 15[Hz]
Spin_status = SPIN ON
Temp_get     = 25[DC]
Temp_set     = 25[DC]
Temp_status = TEMP ON
X90_hi      = 10.3[us]
X90_lo      = 1[us]
X_acq_duration = 0.1441792[s]
X_domain    = 31P
X_freq      = 161.83469309[MHz]
X_offset    = 0[ppm]
X_points    = 16384
X_prescans  = 0
X_pulse     = 5.15[us]
X_resolution = 6.93581321[Hz]
X_sweep     = 113.63636364[MHz]

```

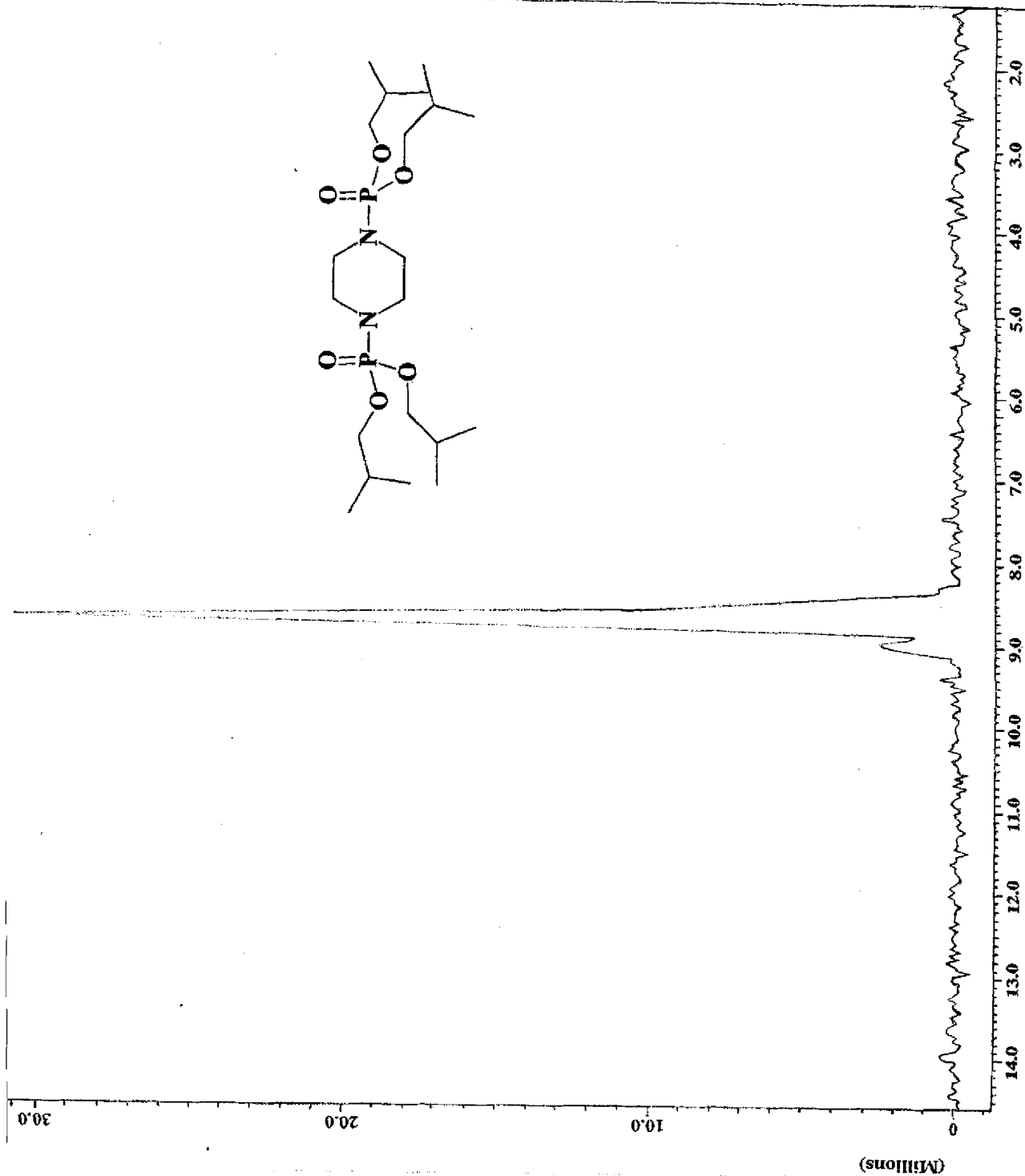
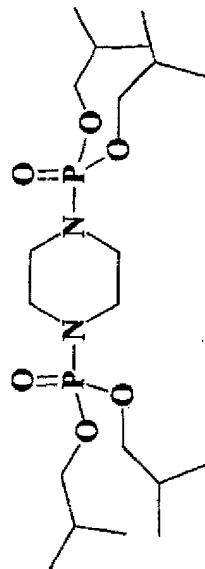


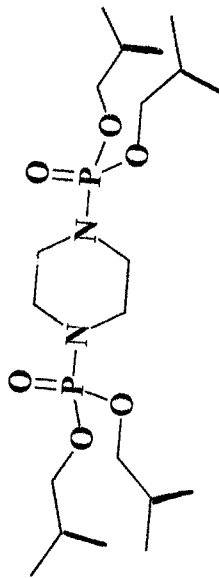
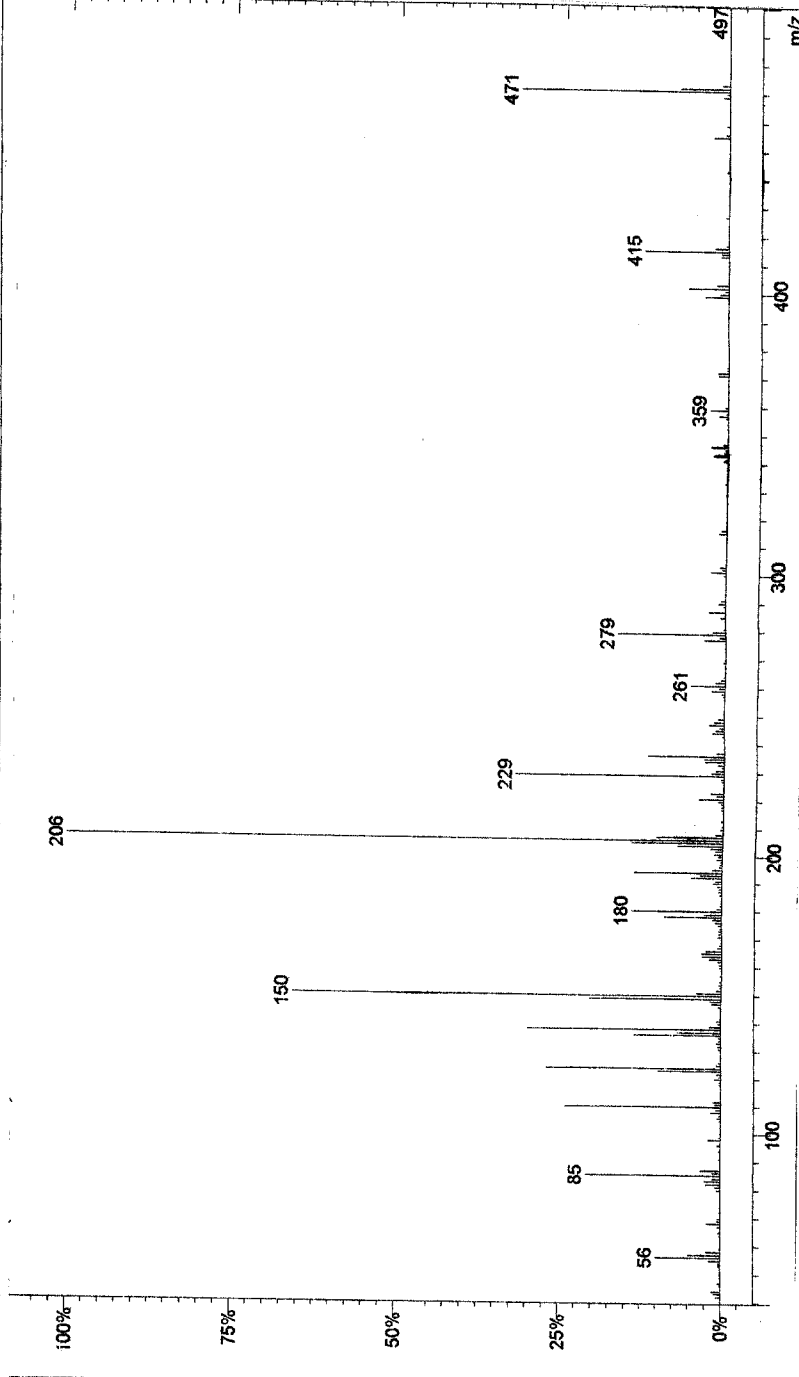
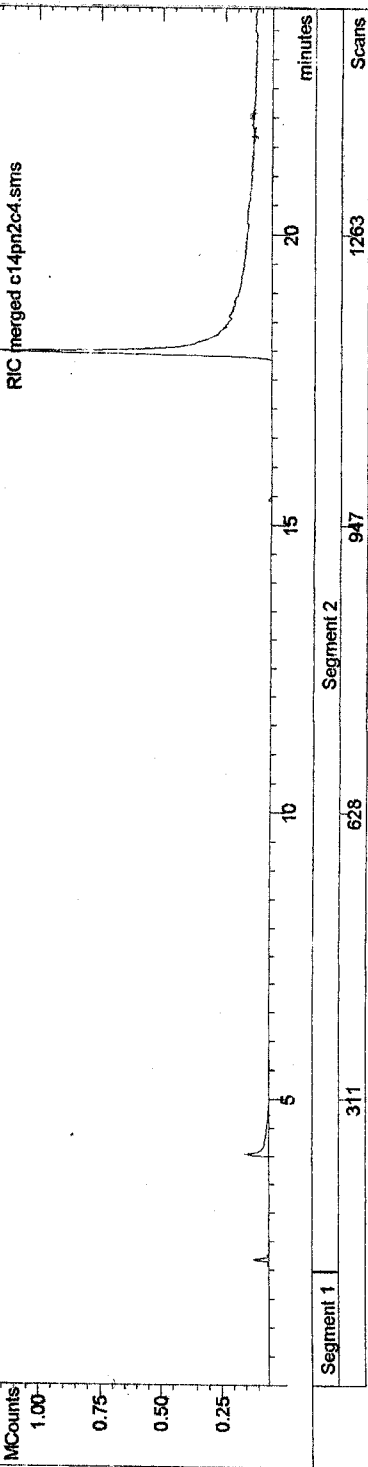
Figura 138: Espectro de RMN-³¹P desacoplado do composto 12 - 163 MHz - H₃PO₄.

Sample ID: C14PN2C4
Instrument ID: Saturn GC/MS
Acquisition Date: 9/27/01 3:16 PM
Calculation Date: 9/27/01 3:40 PM
Inj. Sample Notes:

Operator: Frances
Last Calibration: None
Data File: c:\...c14pn2c4.sms
Method: c:\...joao.mth

Run Documentation
Injection Sample Notes
Recalc Sample Notes

244



Injection Method Notes
c:\saturnwsl\metodos\joao.mth
Solicitante: Viviane/UFRRJ -
Amostra: C14PN2C4
PM: 470
Solvente: Diclorometano
Condições de Análise:
Coluna: CP-SIL8 (30mX0.25x0.25mm)
Temperatura 200C/1min - 3C/min 270C/20min

Figura 139: Espectro de massa do composto 12 - 70 eV.

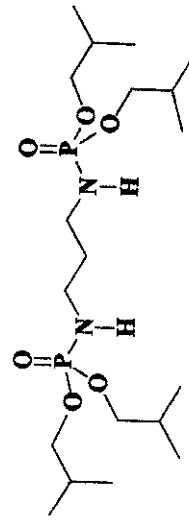
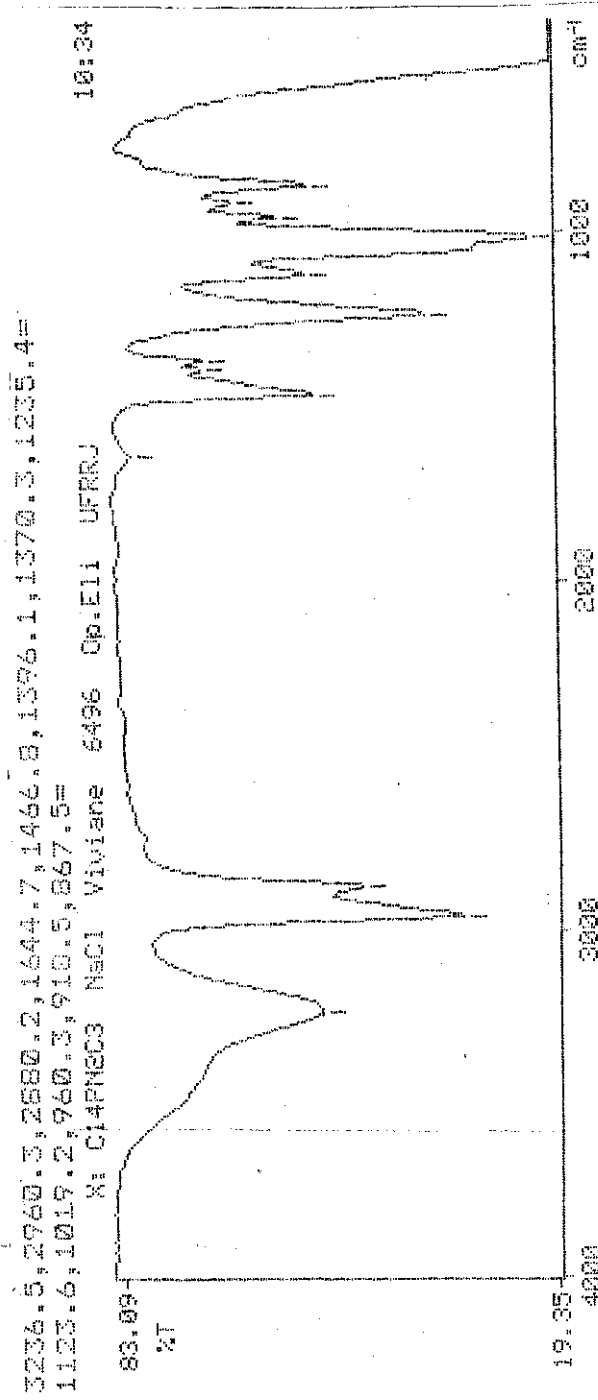


Figura 140: Espectro de IV do composto 17 (Pastilha de NaCl).

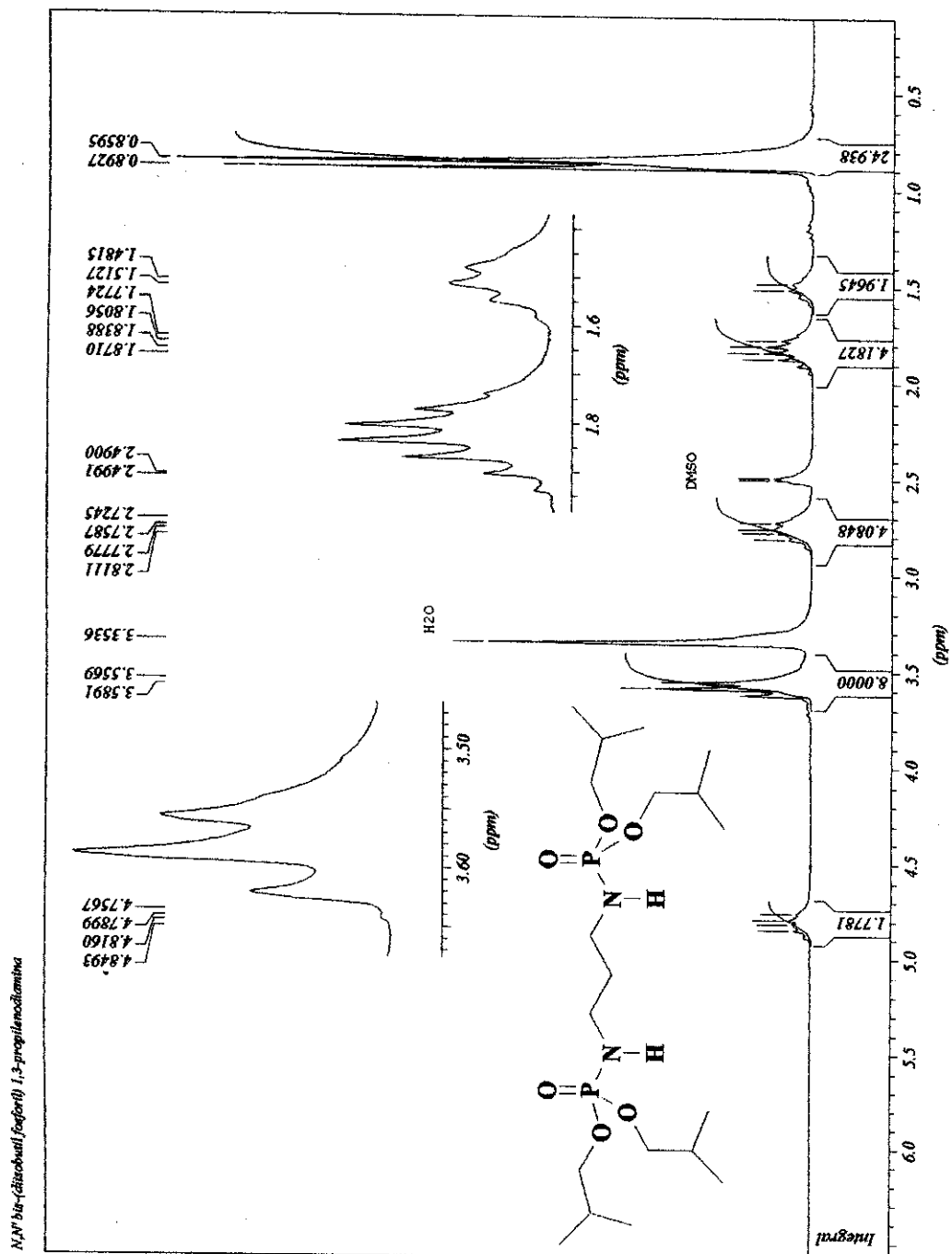


Figura 141: Espectro de RMN-¹H do composto 17 – 200MHz – CDCl₃.

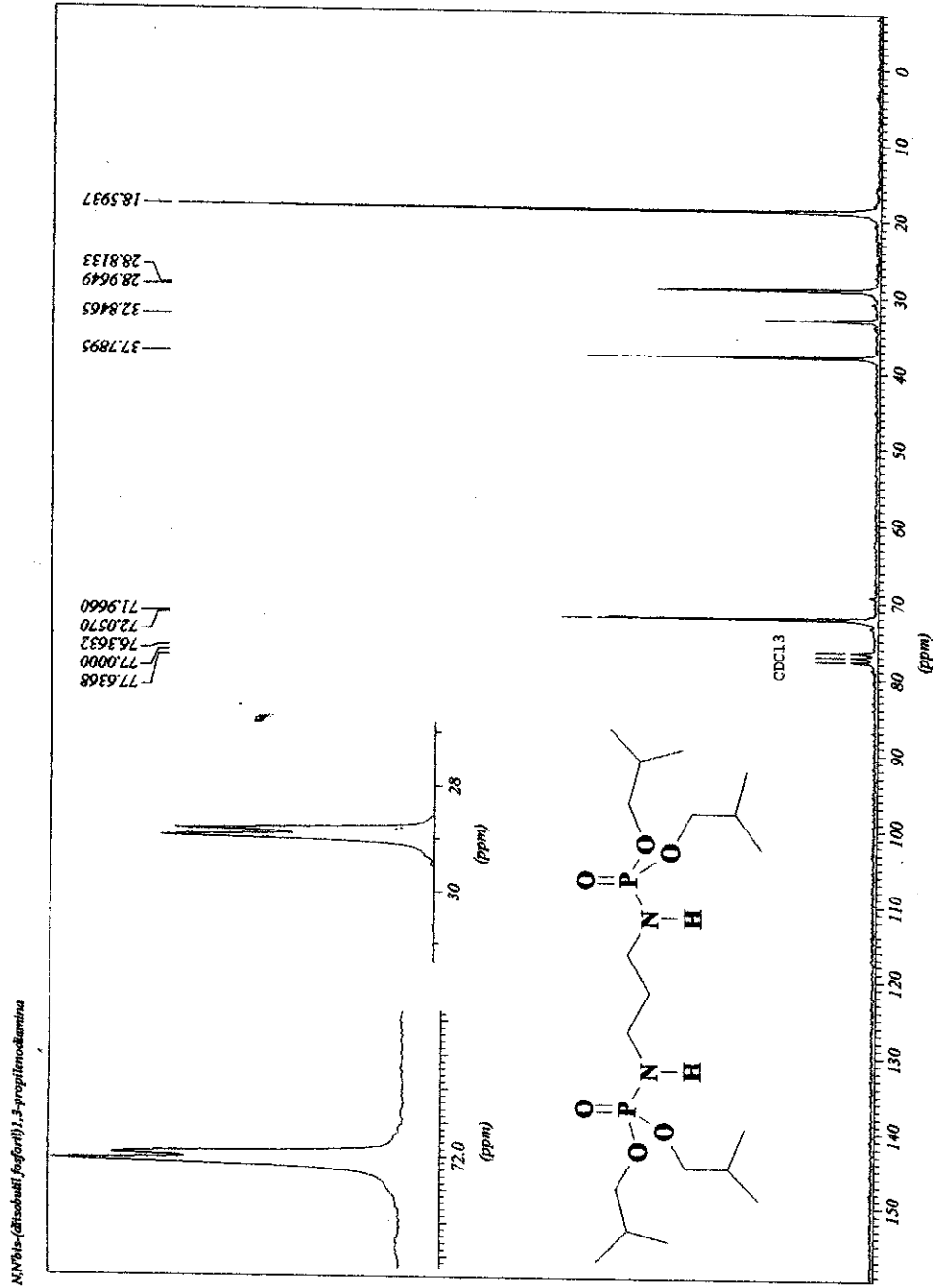


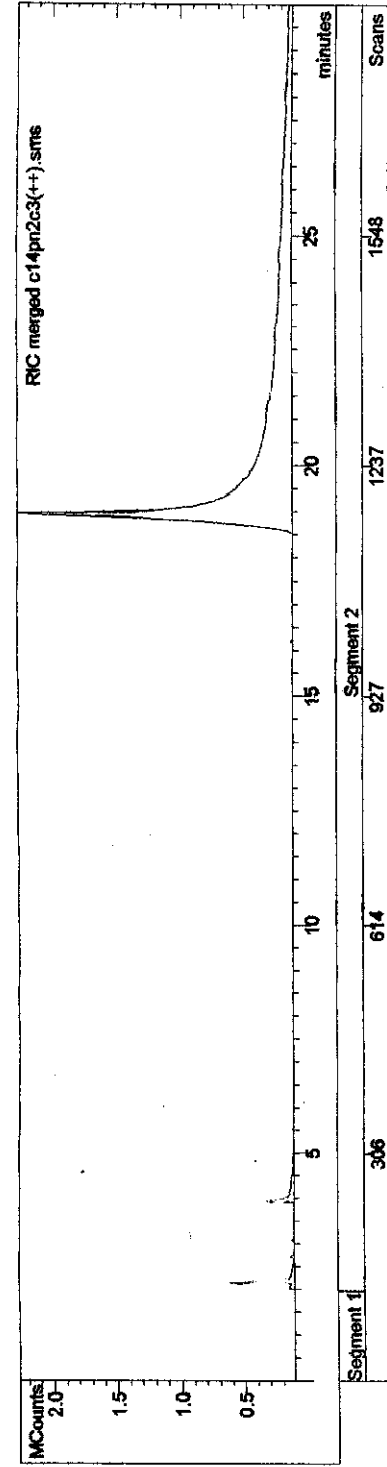
Figura 142. Espectro de RMN-¹³C do composto 17 – 50MHz – CDCl₃.

Sample ID: C14PN2C3(++)
 Instrument ID: Saturn GC/MS
 Acquisition Date: 9/27/01 2:23 PM
 Calculation Date: 9/27/01 2:53 PM
 Inj. Sample Notes:

Operator: Frances
 Last Calibration: None
 Data File: c:\...c14pn2c3(++).sm
 Method: c:\...yoao.mth

Run Documentation
 Injection Sample Notes
 Recalc Sample Notes

248



Injection Method Notes
 c:\saturn\sw\metodos\yoao.mth
 Solicitante: Viviane/UFRRJ -
 Amostra: C14PN2C3
 PM: 458
 Solvente: Diclometano
 Condições da Análise:
 Coluna: CP-SIL8 (30mX0.25X0.25mm)
 Temperatura 200C/1min - 3C/min 270C/20min
 Injetor: 250C
 EM: Trap: 180C
 Manifold: 60C
 Trxline: 200C
 Ionização: EI (70eV)

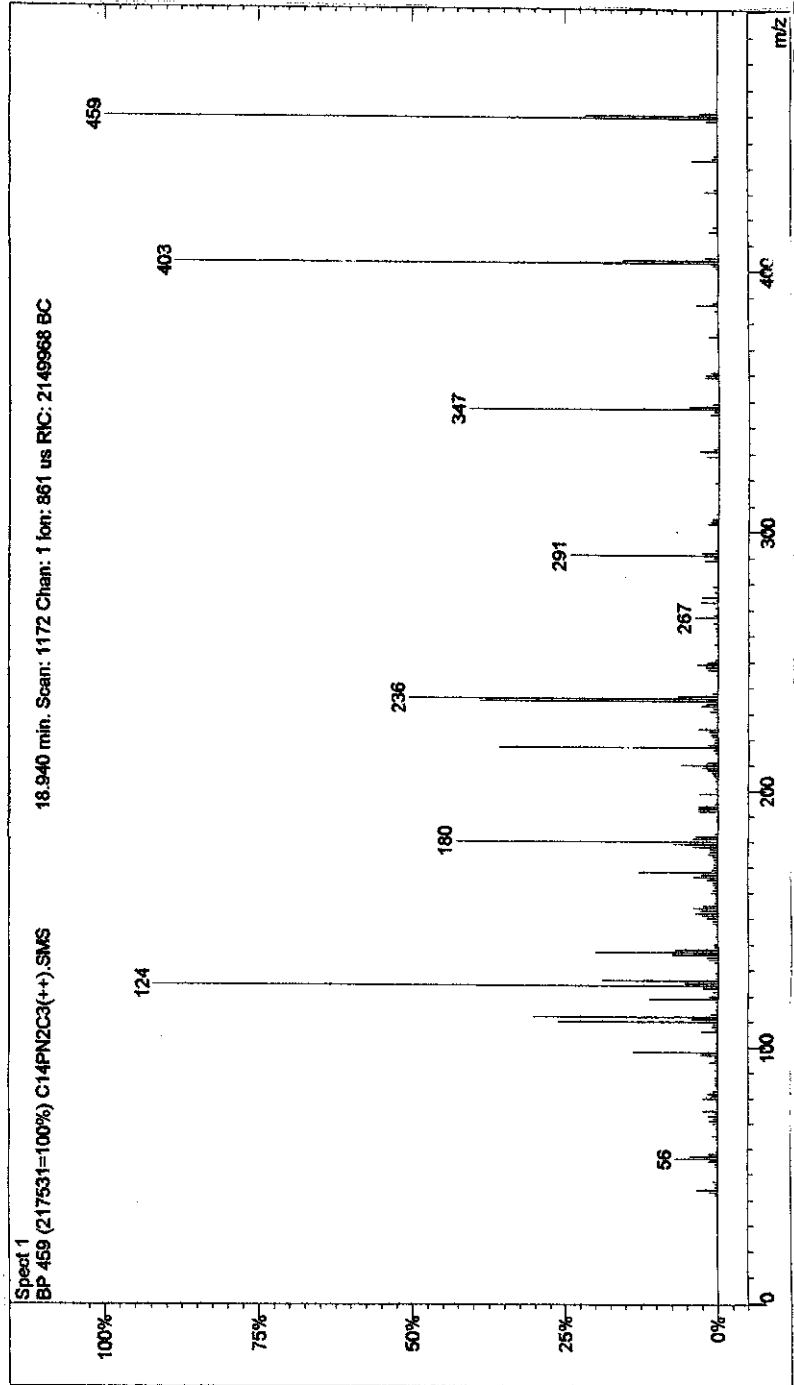
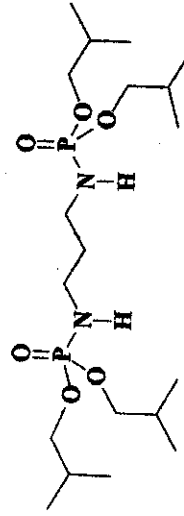


Figura 143. Espectro de massa do composto 17 - 70 eV.



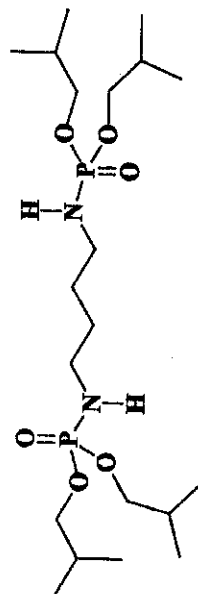
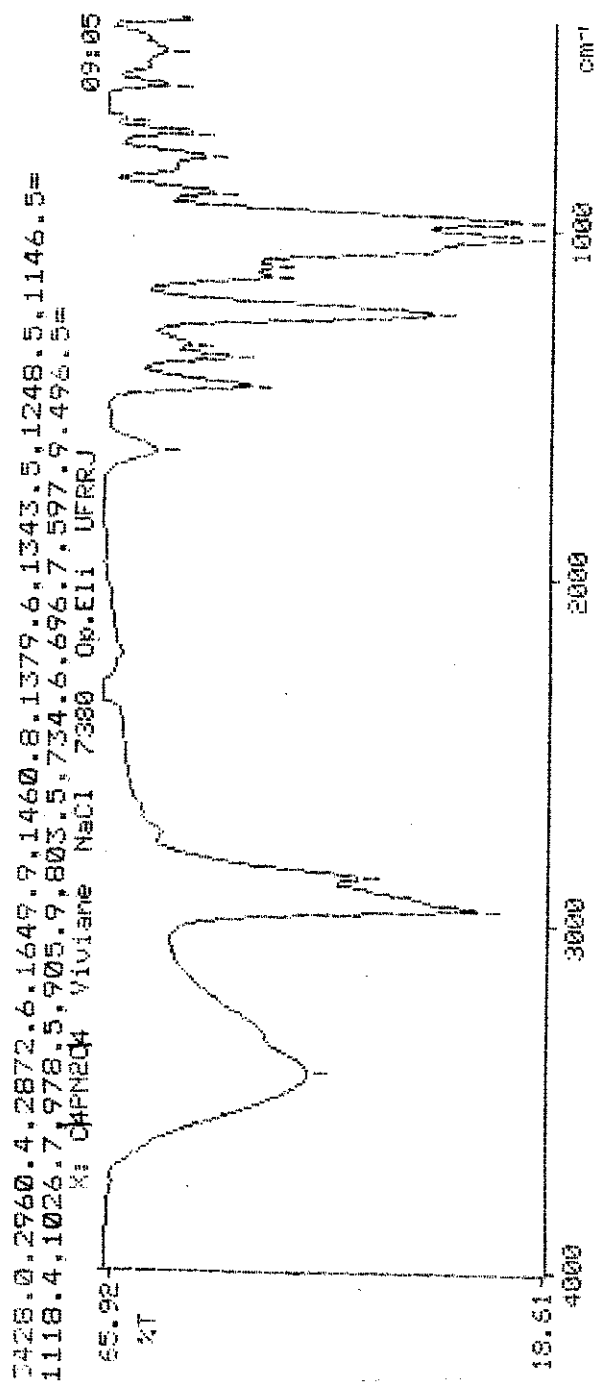


Figura 144: Espectro de IV do composto 22 (Pastilha de NaCl).

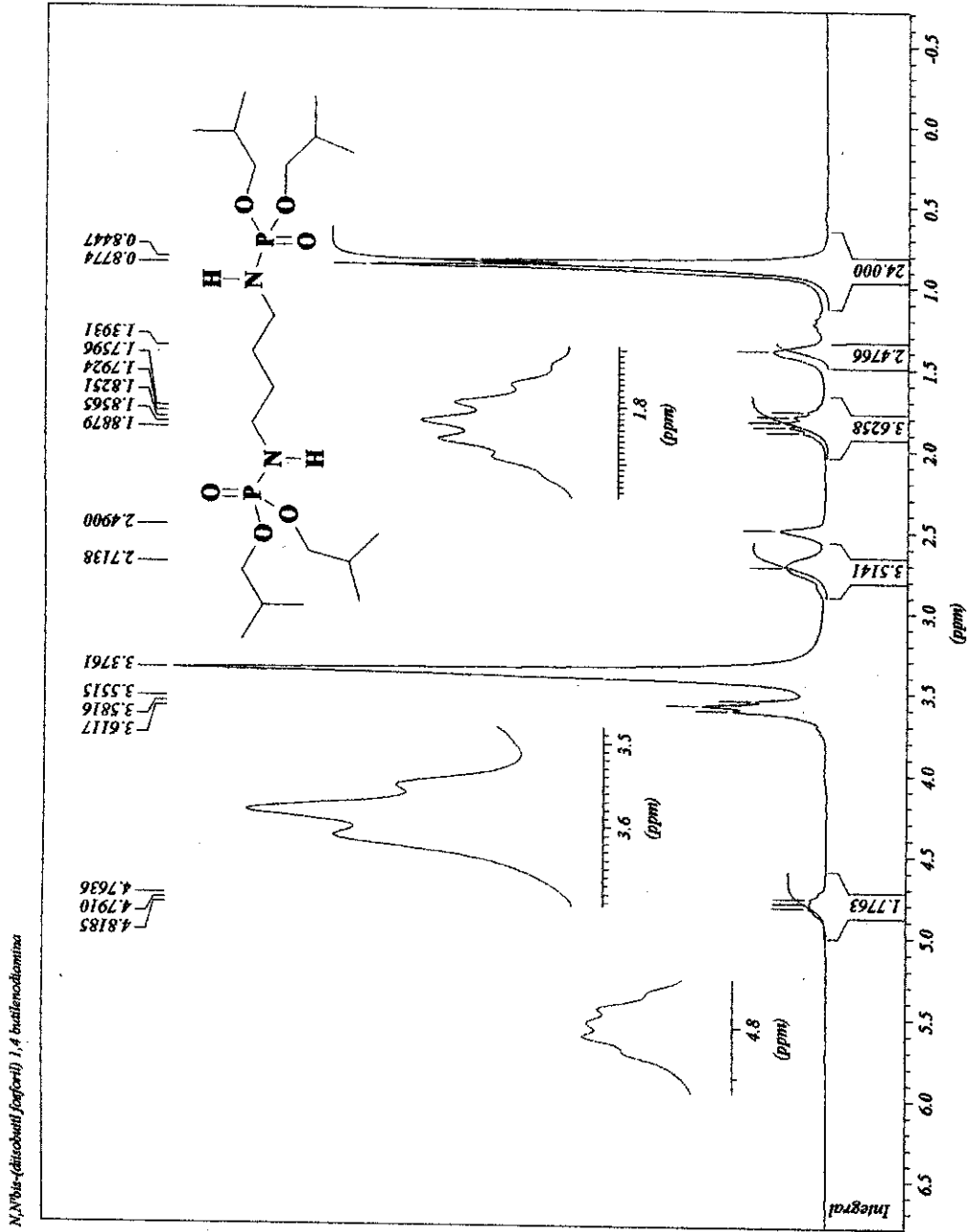


Figura 145: Espectro de RMN-¹H do composto 22 – 200MHz – CDCl₃.

*N,N'*bis-(dibutyl fosforil) 1,4 butilenediamina

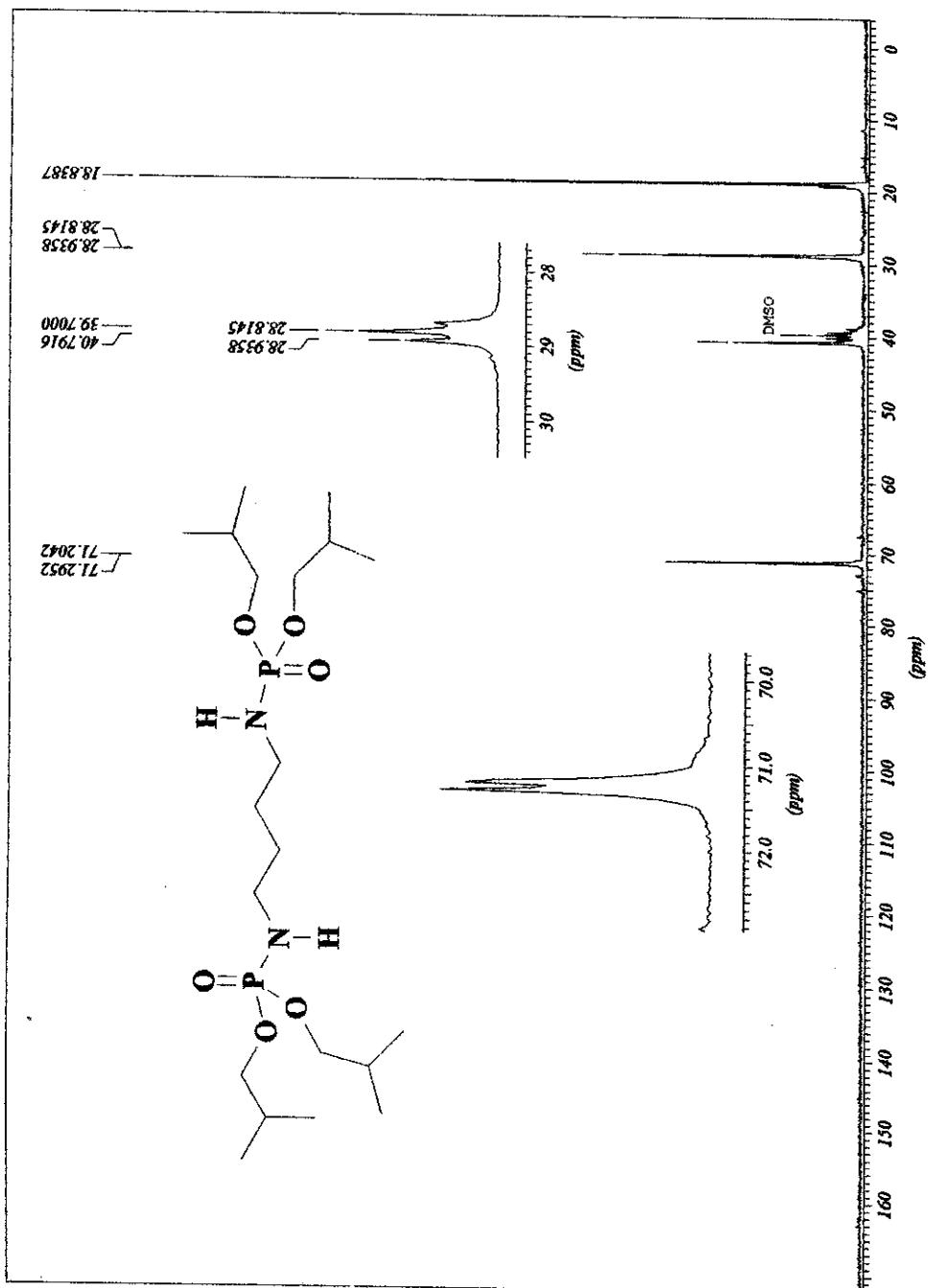


Figura 146: Espectro de RMN- ^{13}C do composto 22 – 50MHz – CDCl_3 .

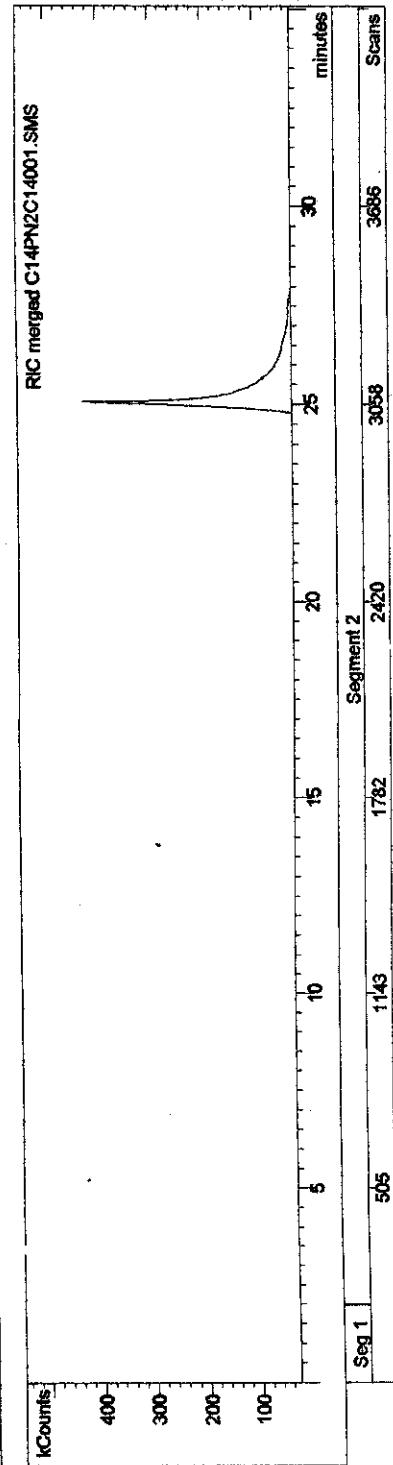
Sample ID: C14PN2C14
Instrument ID: Saturn GC/MS #1
Acquisition Date: 3/26/02 2:14 PM
Calculation Date: 3/26/02 2:49 PM
Inj. Sample Notes:

Operator:
Last Calibration:
Data File:
Method:

Flames:
None
c:\.. c14pn2c14001.sm
c:\.. yoaao.mth

Run Documentation
Injection Sample Notes
Recalc Sample Notes

252



Injection Method Notes
c:\saturnws\metodos\yoao.mth
Solificante: Viviane
Amostra: C14PN2C14
PM: 472
Solvente: Diclorometano
Condições da Análise:
Coluna: SE30 (30mX0.25x0.25mm)
Temperatura: 150C/1min - 5C/min - 280C/10Min
Injetor: 270C
EM: Trap: 220C
Manifold: 60C
Xferline: 250C
Ionizacao: EI (70eV)
SPLIT: 1:100

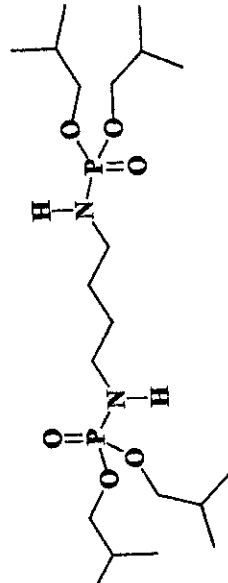
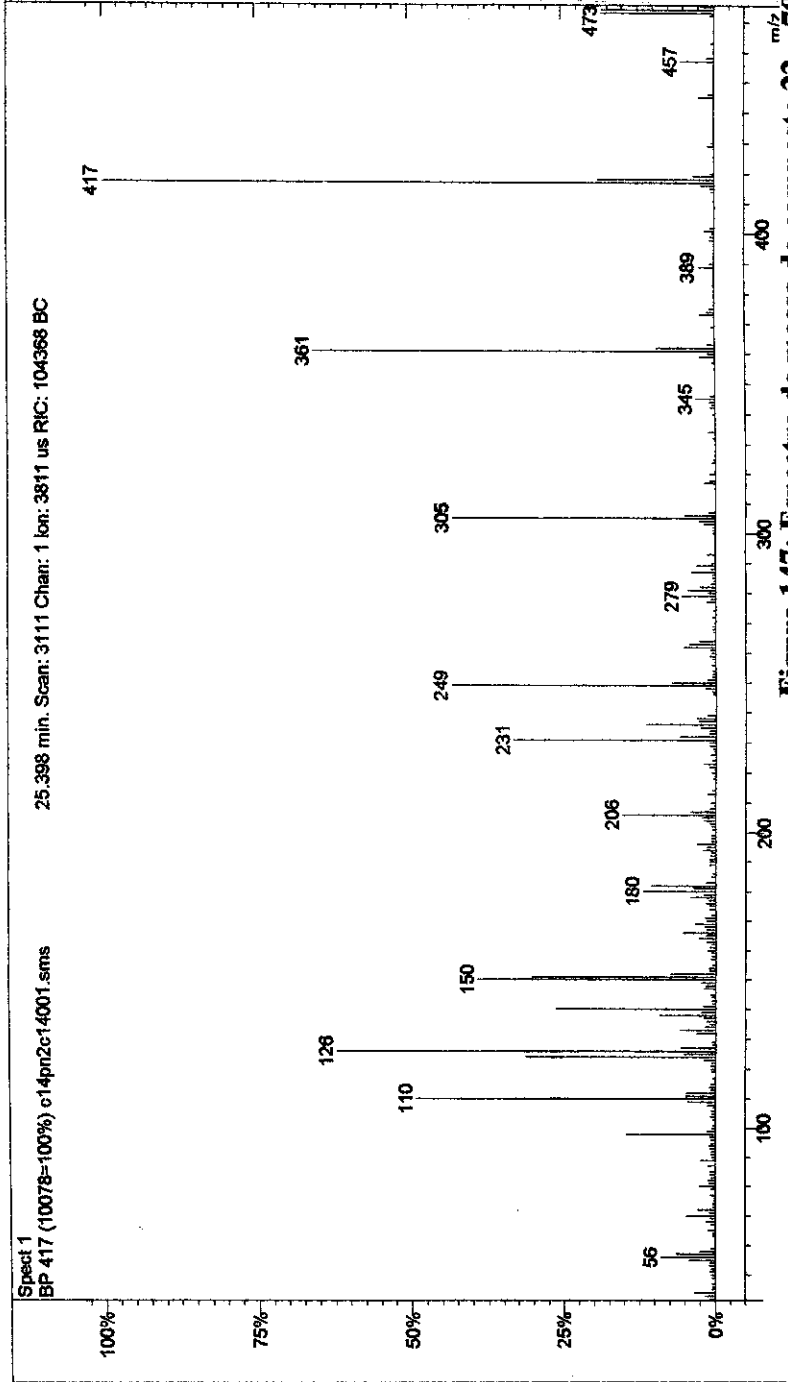


Figura 147: Espectro de massa do composto 22 - 70 eV.

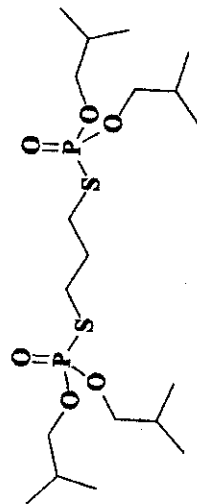
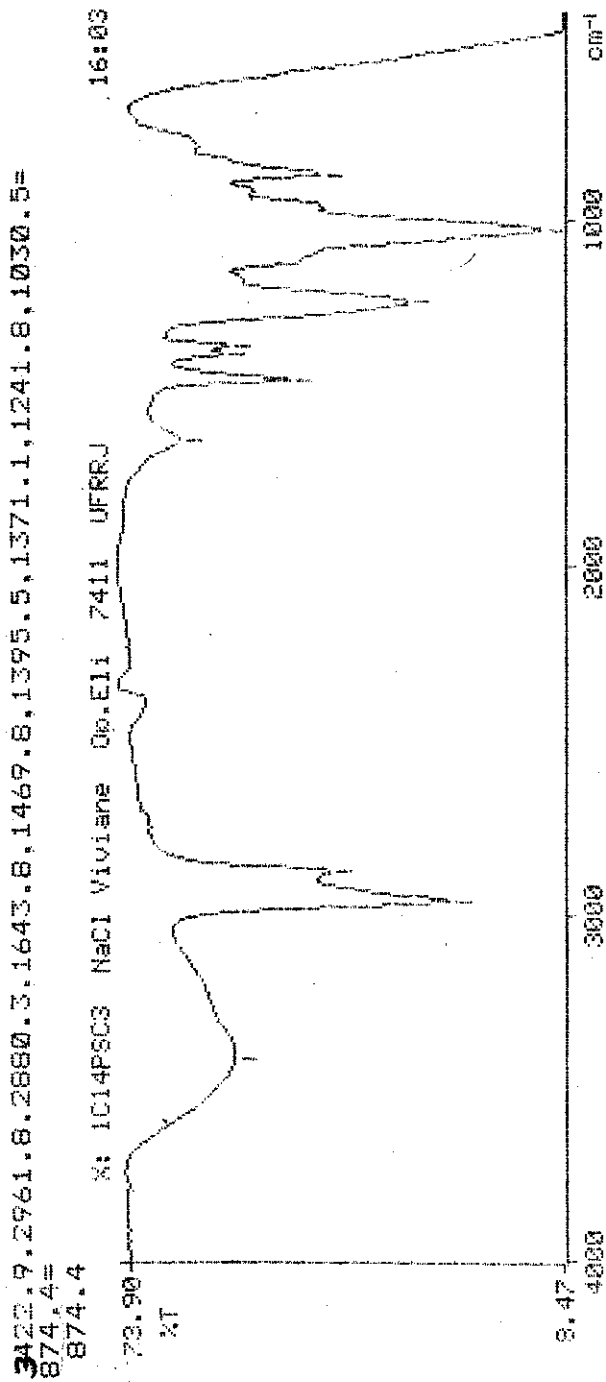


Figura 148: Espectro de IV do composto 24 (Pastilha de KBr).

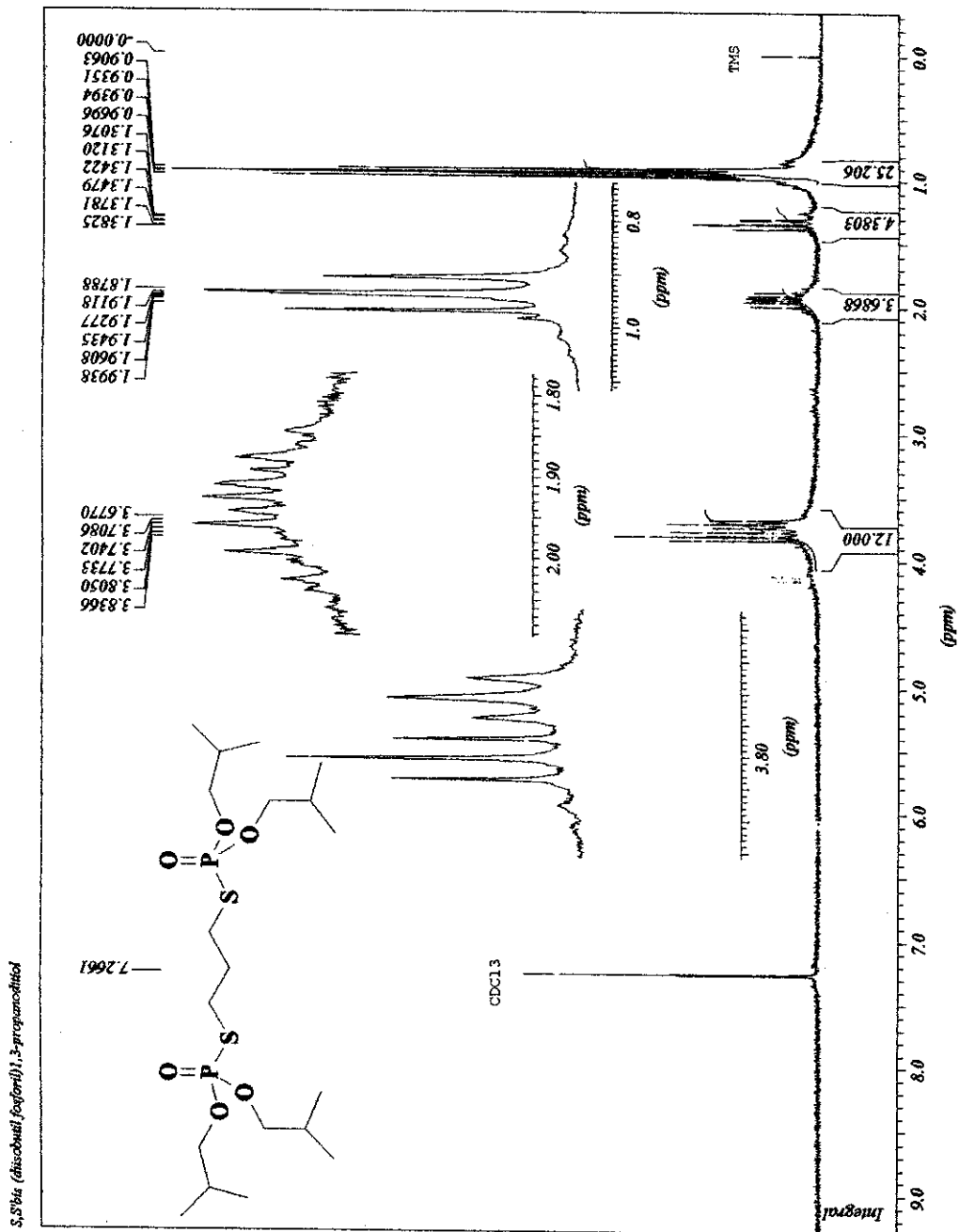


Figura 149: Espectro de RMN-¹H do composto 24 – 200MHz – CDCl₃.

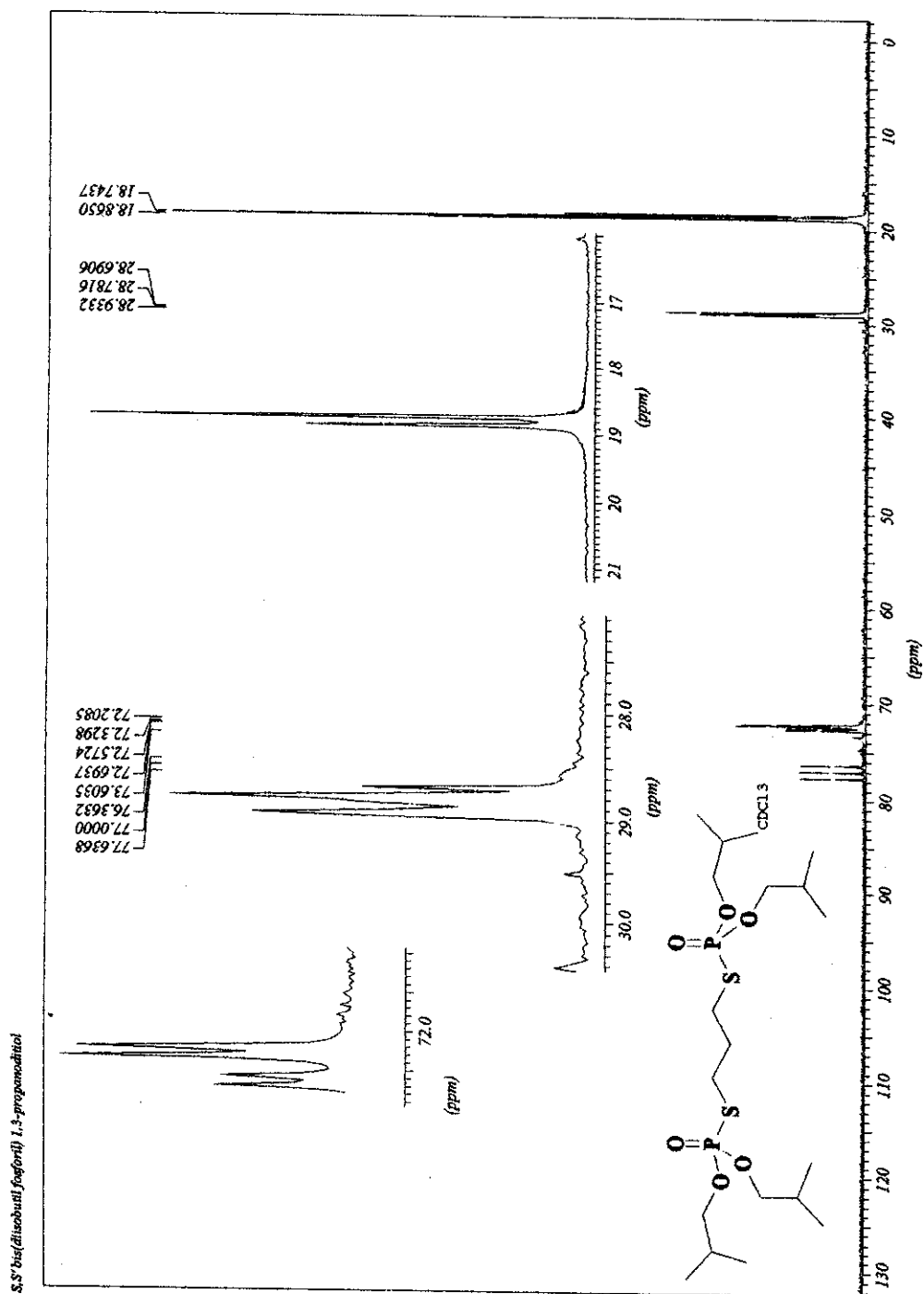


Figura 150: Espectro de RMN-¹³C do composto 24 – 50MHz – CDCl₃.

Run Documentation

Injection Sample Notes

Recalc Sample Notes 256

Injection Method Notes

c:\saturn\sw\metodos\joao.mth
Solicitante: Viviane
Amostra: 1C14PSC3
PM: 492
Solvente: Diclorometano
Condições de Análise:
Coluna: CP SIL 8CB (30mX0.25x0.25mm)
Temperatura: 130C/1' - 5C/min - 290C/5'
Injetor: 270C
EM: Trap: 220C
Manifold: 60C
Xferline: 250C
Ionização: EI (70eV)
SPLIT:1:100

Operator: Frances

Last Calibration: None

Data File: c:\... 11- c14psc3.sms

Method: c:\... joao.mth

Sample ID: 1- C14PSC3

Instrument ID: Saturn GC/MS #1

Acquisition Date: 9/24/02 3:00 PM

Calculation Date: 9/24/02 3:26 PM

nj. Sample Notes:

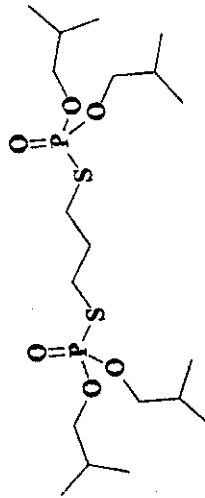
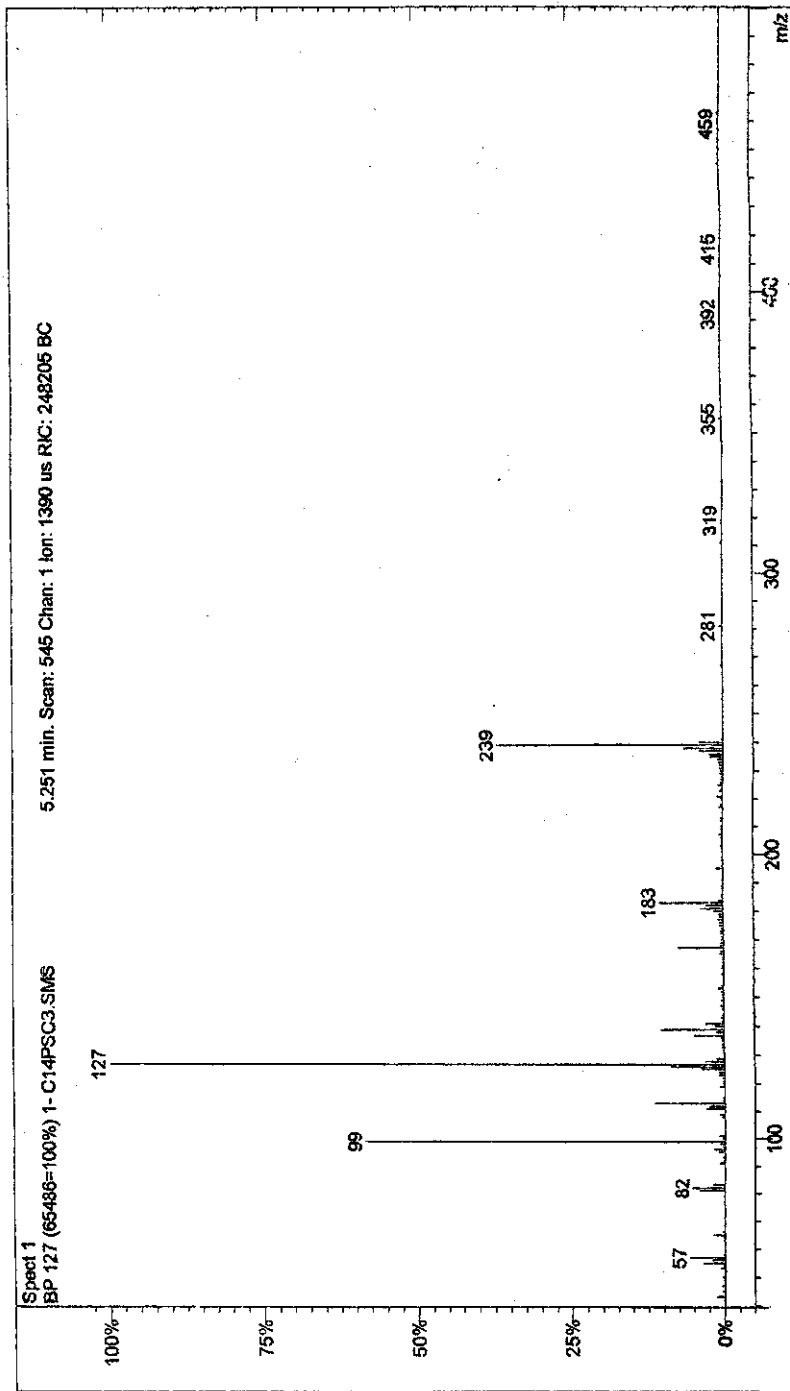
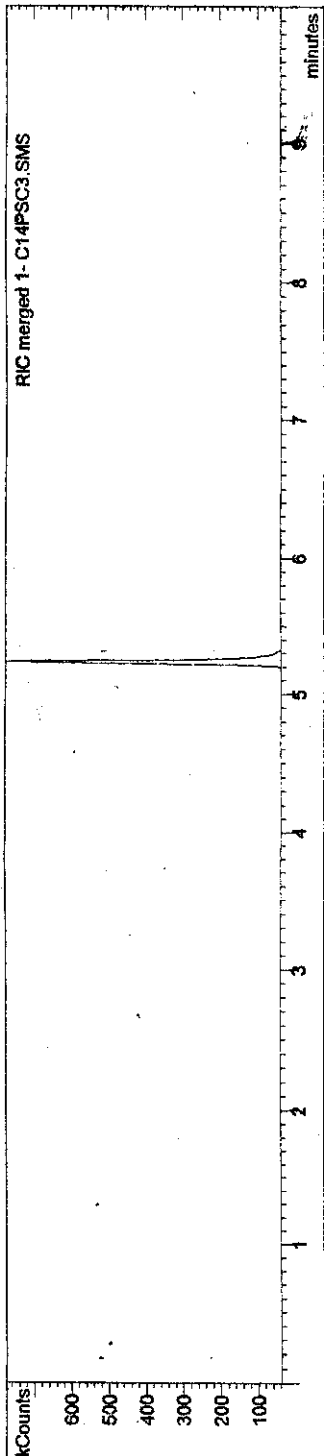


Figura 151: Espectro de massa do composto 24 - 70 eV.

APÊNDICE B

Tabelas com dados e Gráficos de *Artemia salina*

Tabela 25: Dados do bioensaio sobre larvas de *Artemia salina* Leach para o Crufomato comercial.

% de animais vivos	Concentração (ppm)	log da ([Crufomato])
100,00	9,90	1,00
72,00	14,78	1,17
35,00	19,61	1,29
10,00	29,13	1,46
0,97	38,46	1,59

DL₅₀ = 18,43 ppm

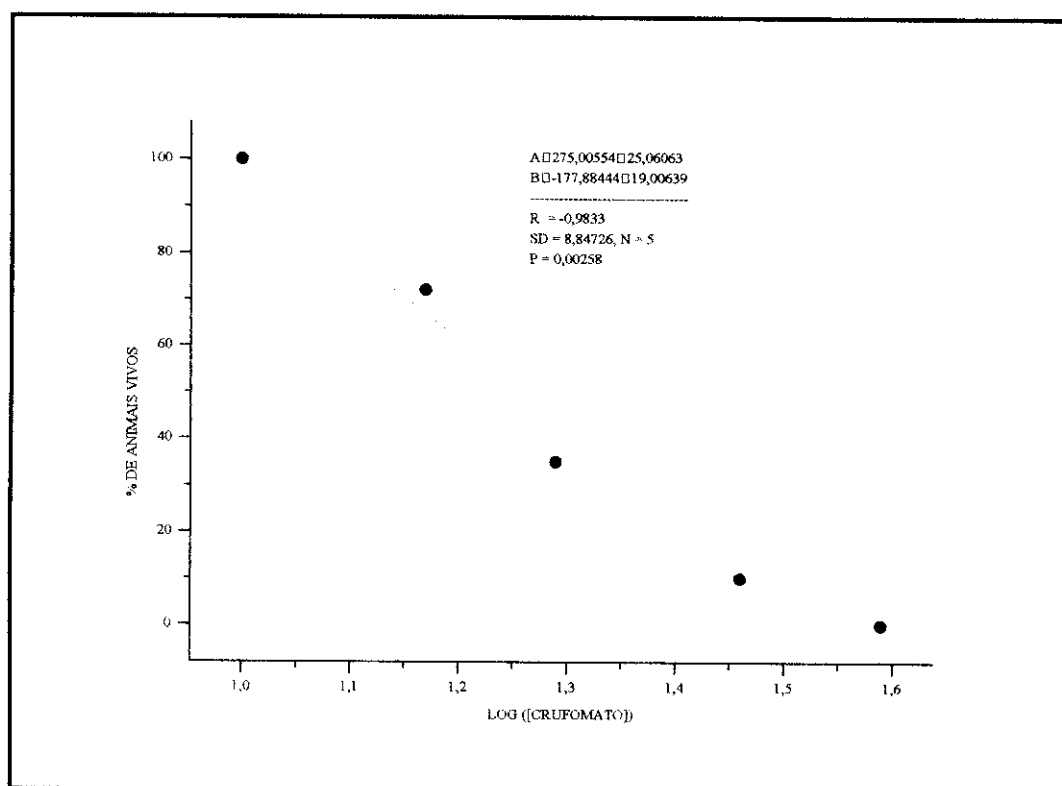


Figura 152: Diagrama resultante do bioensaio do inseticida “crufomato” sobre larvas de *Artemia salina* Leach.

Tabela 26: Dados do bioensaio sobre larvas de *Artemia salina* Leach para o composto 5

% de animais vivos	Concentração (ppm)	log de [5]
95,21	19,80	1,30
75,84	29,56	1,47
47,80	39,22	1,59
13,25	58,25	1,77
2,50	76,92	1,89

DL₅₀ = 37,6 ppm

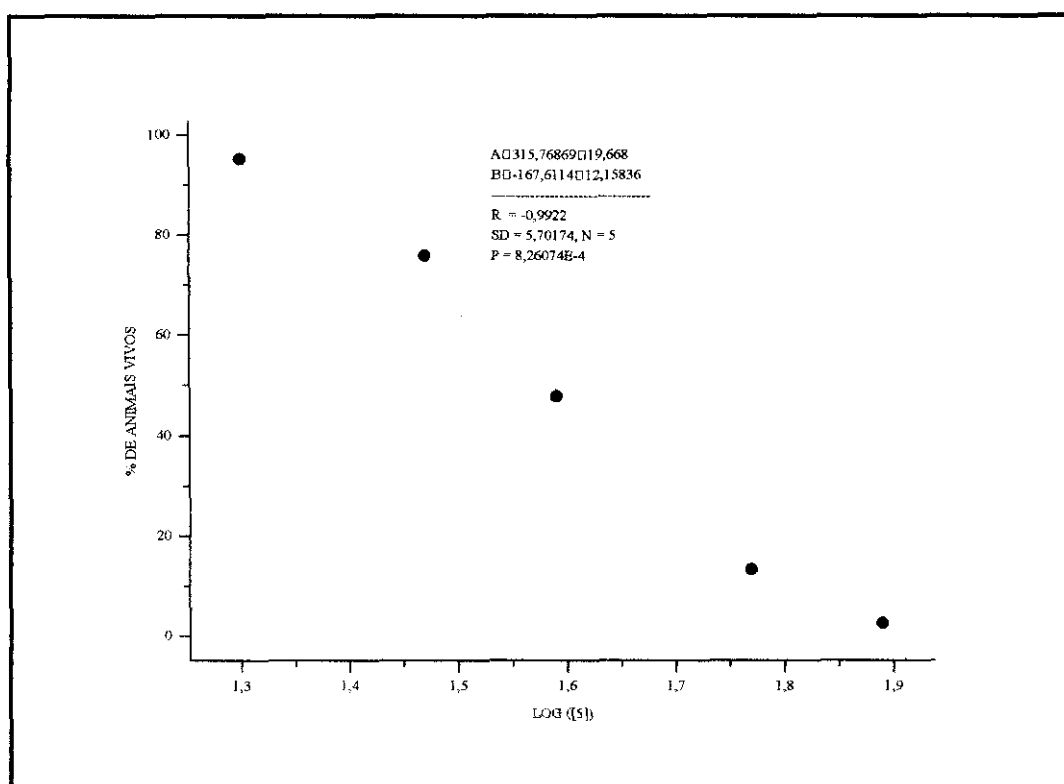
Figura 153: Diagrama resultante do bioensaio do composto 5 sobre larvas de *Artemia salina* Leach.

Tabela 27: Dados do bioensaio sobre larvas de *Artemia salina* Leach para o composto 6.

% de animais vivos	Concentração (ppm)	log da ([6])
100,00	15,68	1,19
96,75	31,87	1,50
80,50	79,20	1,89
31,95	156,86	2,19
9,00	307,68	2,48

DL₅₀ = 107,8 ppm

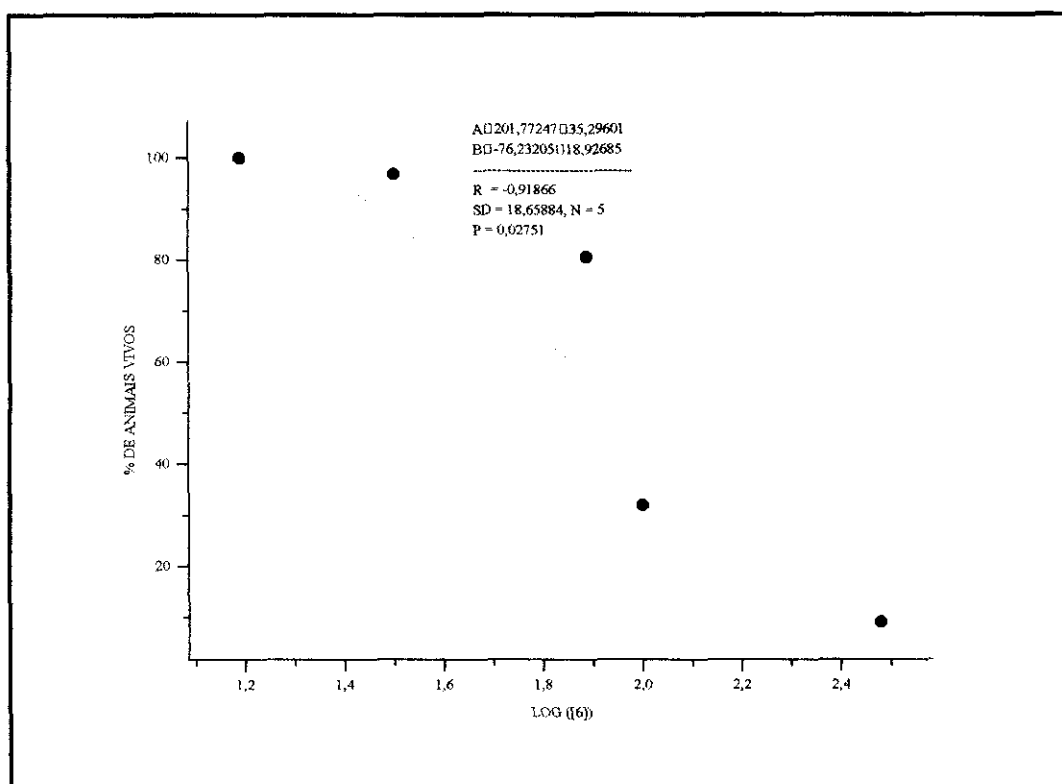
Figura 154: Diagrama resultante do bioensaio do composto 6 sobre larvas de *Artemia salina* Leach.

Tabela 28: Dados do bioensaio sobre larvas de *Artemia salina* Leach para o composto 7.

% de animais vivos	Concentração (ppm)	log da ([7])
100,00	19,80	1,30
99,95	29,56	1,47
80,50	39,22	1,59
48,40	58,25	1,77
19,80	76,92	1,89

DL₅₀ = 55,3 ppm

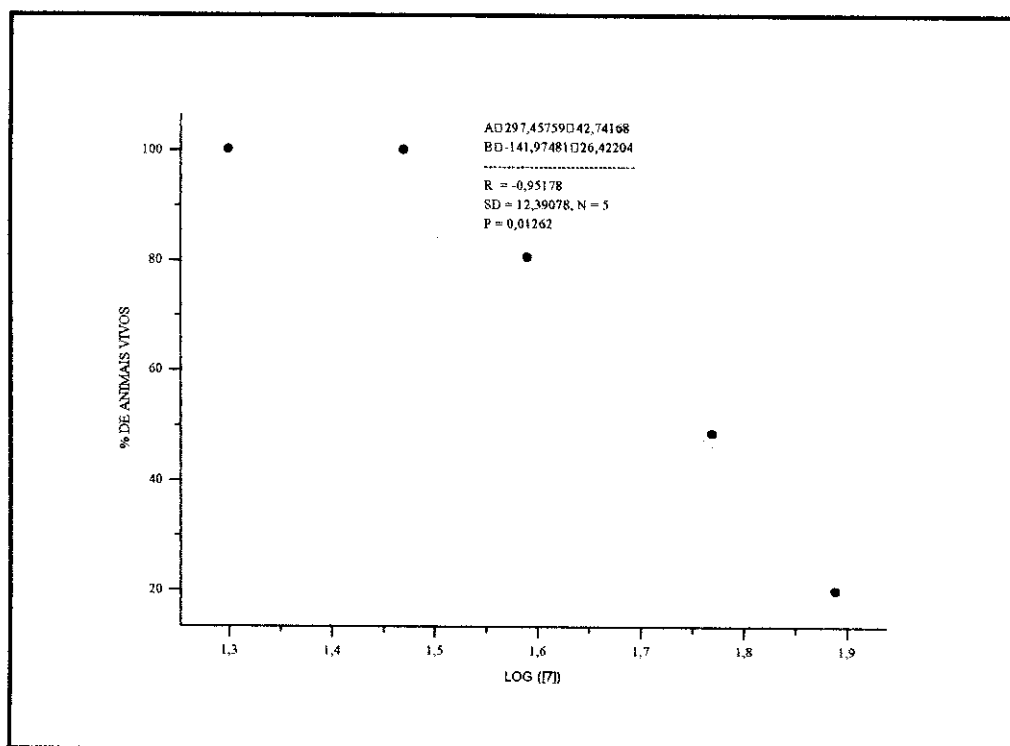


Figura 155: Diagrama resultante do bioensaio do composto 7 sobre larvas de *Artemia salina* Leach.

Tabela 29: Dados do bioensaio sobre larvas de *Artemia salina* Leach para o composto 10.

% de animais vivos	Concentração (ppm)	log da ([10])
100,00	19,80	1,30
96,90	29,56	1,47
70,30	39,22	1,59
40,20	58,25	1,77
13,55	76,92	1,89

DL₅₀ = 49,7 ppm

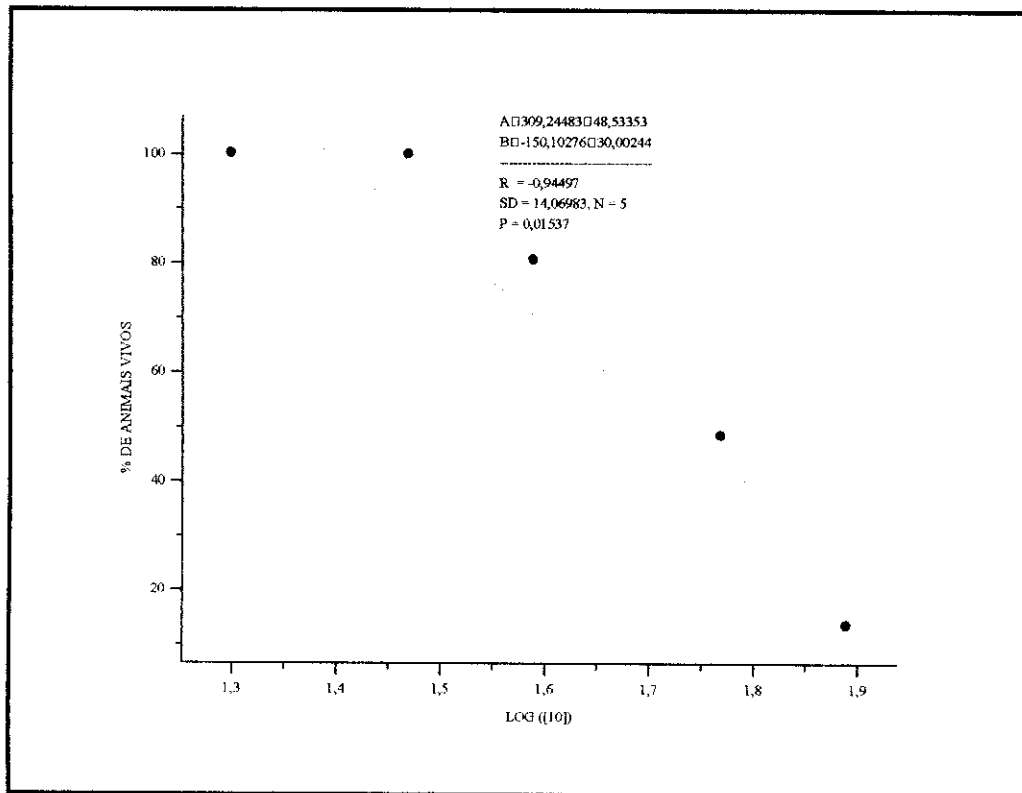


Figura 156: Diagrama resultante do bioensaio do composto 10 sobre larvas de *Artemia salina* Leach.

Tabela 30: Dados do bioensaio sobre larvas de *Artemia salina* Leach para o composto 11.

% de animais vivos	Concentração (ppm)	log da ([11])
86,10	39,92	1,60
64,35	78,43	1,89
38,50	153,85	2,18
21,70	226,42	2,35
9,80	363,64	2,56

DL₅₀ = 110,6 ppm

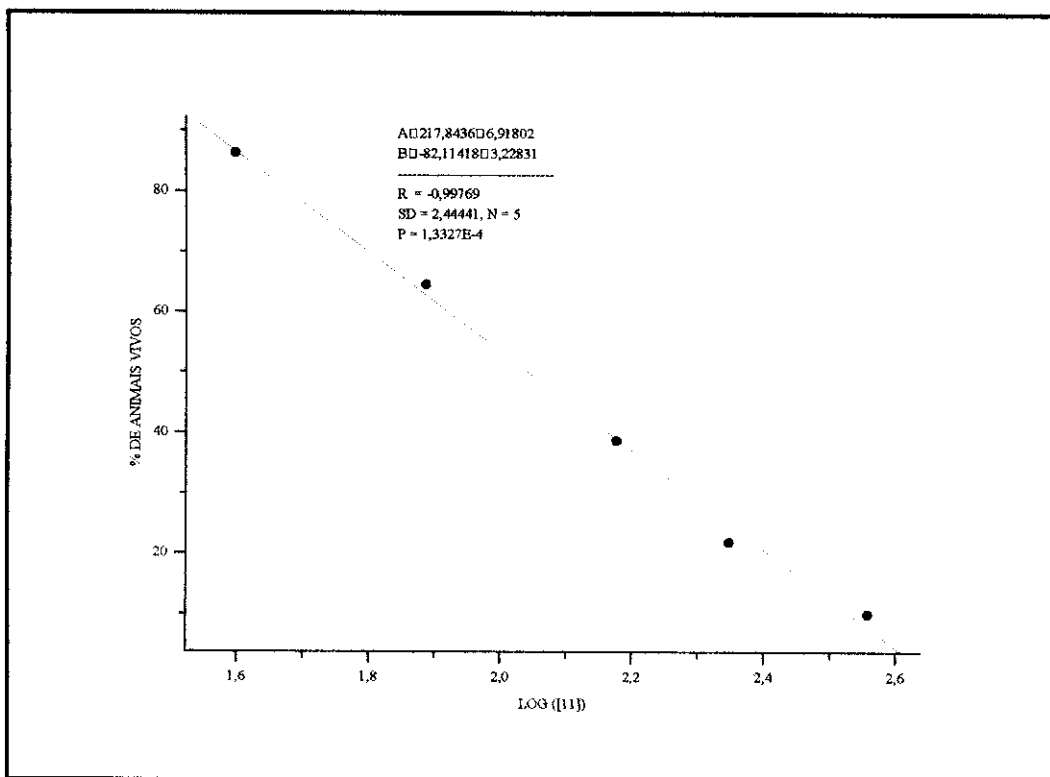


Figura 157: Diagrama resultante do bioensaio do composto 11 sobre larvas de *Artemia salina* Leach.

Tabela 31. Dados do bioensaio sobre larvas de *Artemia salina* Leach para o composto 12.

% de animais vivos	Concentração (ppm)	-log da ([12])
100,00	15,68	1,19
94,21	31,87	1,50
66,22	79,20	1,89
22,74	156,86	2,19
1,20	307,69	2,48

DL₅₀ = 85,0 ppm

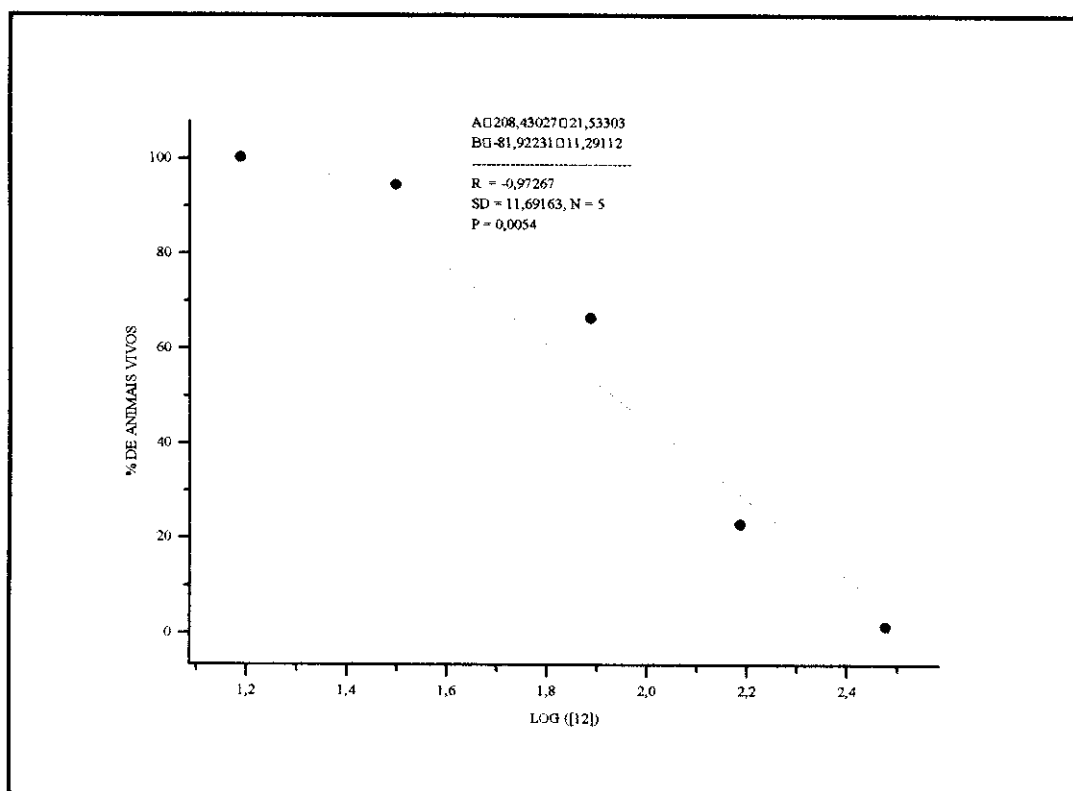


Figura 158: Diagrama resultante do bioensaio do composto 12 sobre larvas de *Artemia salina* Leach.

Tabela 32: Dados do bioensaio sobre larvas de *Artemia salina* Leach para o composto 15.

% de animais vivos	Concentração (ppm)	log da ([15])
100,00	15,68	1,19
90,00	31,87	1,50
62,80	79,20	1,89
18,50	156,86	2,19
0,00	307,69	2,48

DL₅₀ = 79,7 ppm

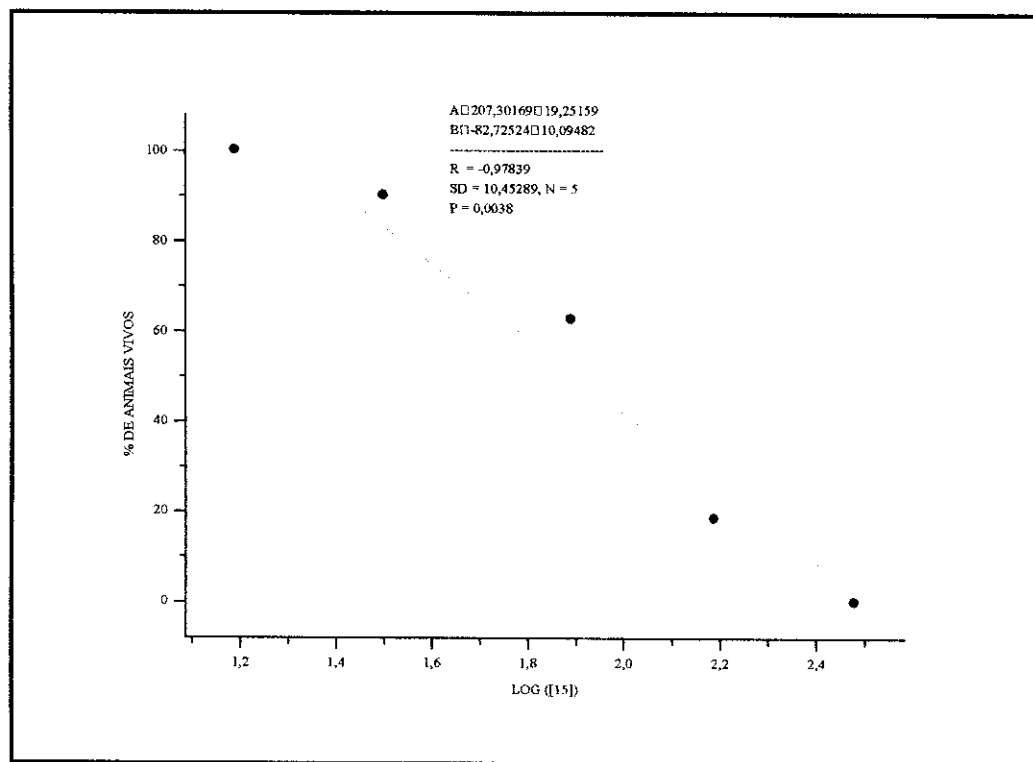


Figura 159: Diagrama resultante do bioensaio do composto 15 sobre larvas de *Artemia salina* Leach.

Tabela 33: Dados do bioensaio sobre larvas de *Artemia salina* Leach para o composto 16.

% de animais vivos	Concentração (ppm)	log da ([16])
8,05	39,92	1,60
24,35	78,43	1,89
37,90	153,85	2,18
66,66	226,42	2,35
87,00	363,64	2,56

DL₅₀ = 112,6 ppm

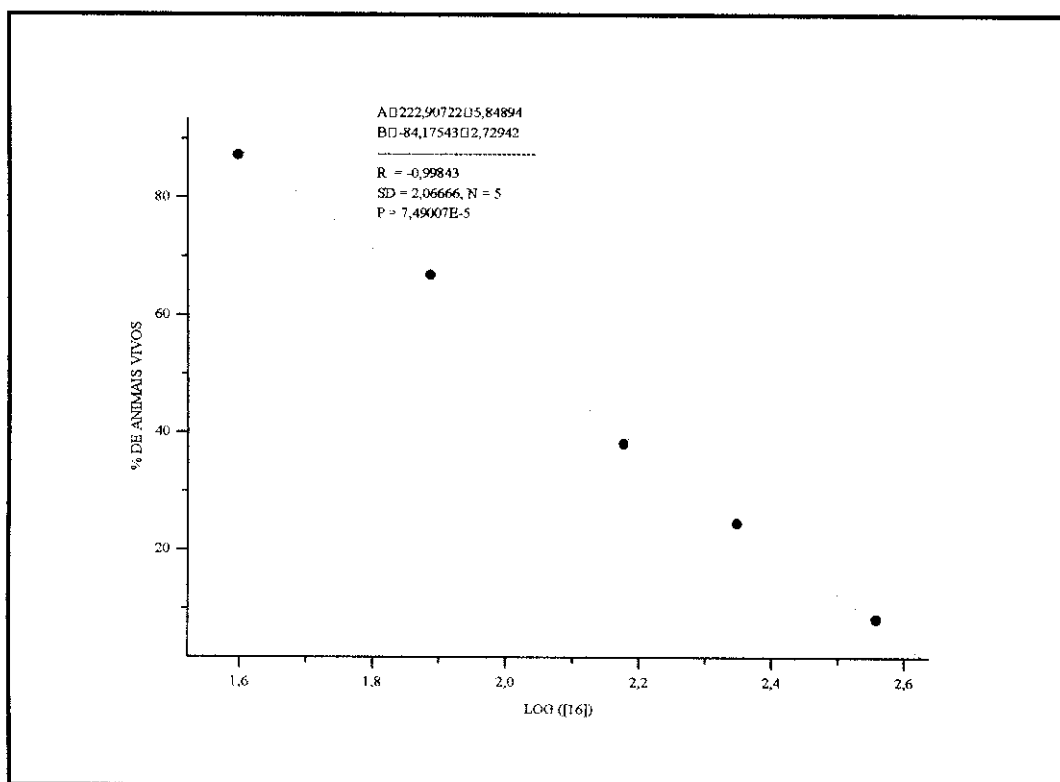


Figura 160: Diagrama resultante do bioensaio do composto 16 sobre larvas de *Artemia salina* Leach.

Tabela 34. Dados do bioensaio sobre larvas de *Artemia salina* Leach para o composto 17.

% de animais vivos	Concentração (ppm)	log da ([17])
100,00	15,68	1,19
92,85	31,87	1,50
77,85	79,20	1,89
28,65	156,86	2,19
7,26	307,69	2,48

DL₅₀ = 100,0 ppm

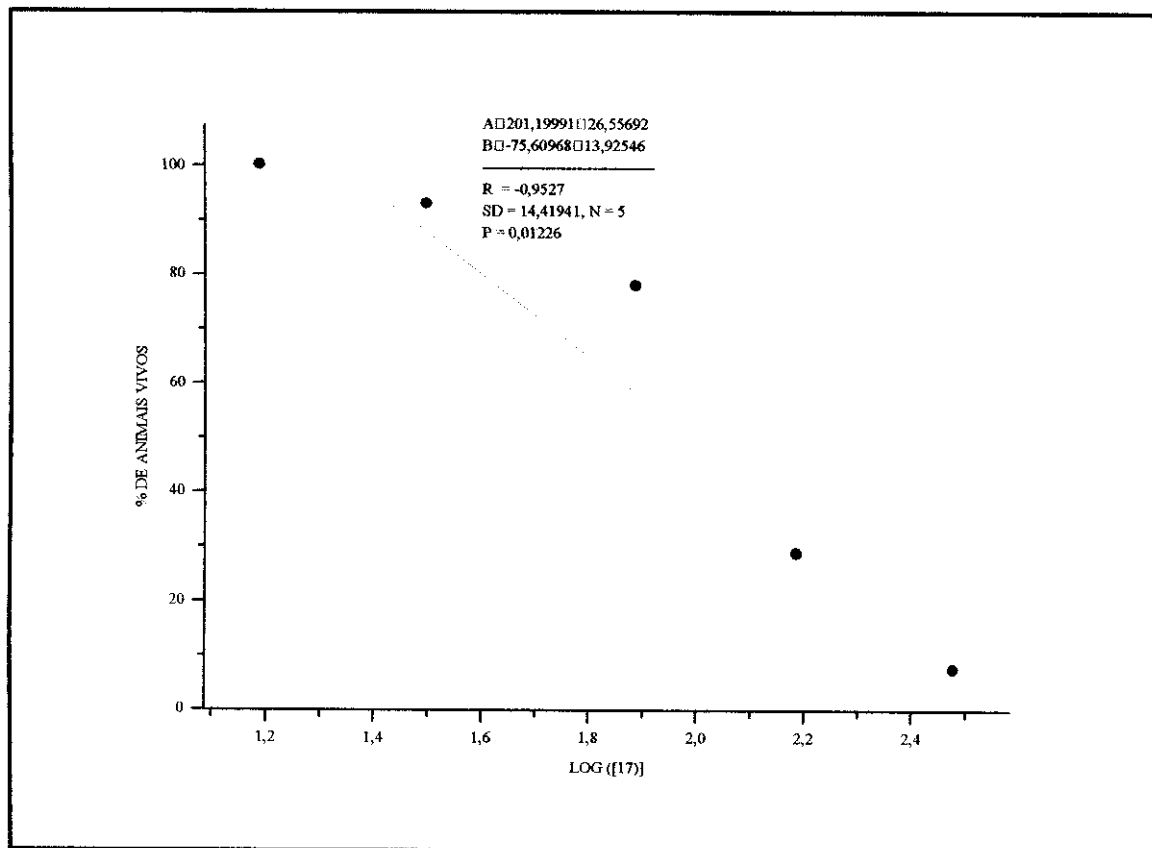


Figura 161: Diagrama resultante do bioensaio do composto 17 sobre larvas de *Artemia salina* Leach.

Tabela 35: Dados do bioensaio sobre larvas de *Artemia salina* Leach para o composto 20.

% de animais vivos	Concentração (ppm)	log da ([20])
0	39,92	1,60
15,00	78,43	1,89
49,00	153,85	2,18
87,97	226,42	2,35
98,30	363,64	2,56

DL₅₀ = 153,8 ppm

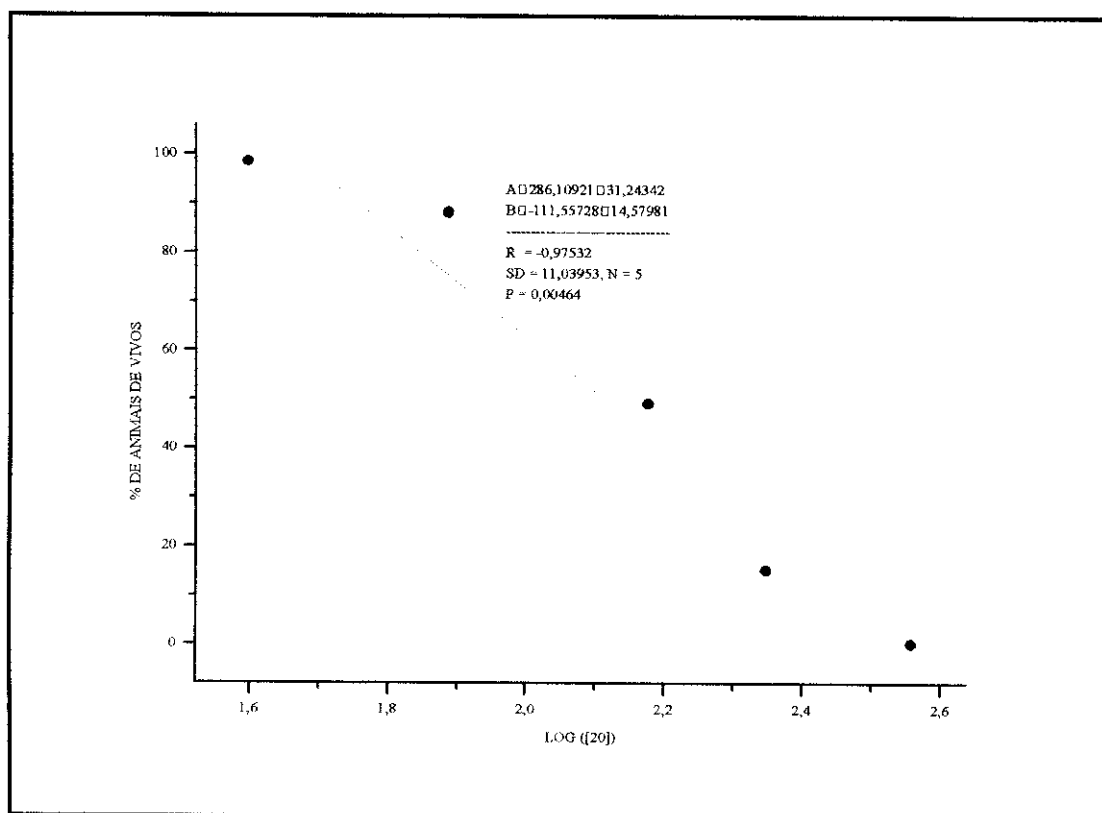


Figura 162: Diagrama resultante do bioensaio do composto 20 sobre larvas de *Artemia salina* Leach.

Tabela 36: Dados do bioensaio sobre larvas de *Artemia salina* Leach para o composto 22.

% de animais vivos	Concentração (ppm)	log da ([25])
100,00	42,26	1,62
96,35	82,13	1,91
73,10	156,89	2,20
17,65	235,26	2,37
1,56	375,00	2,57

DL₅₀ = 159,6 ppm

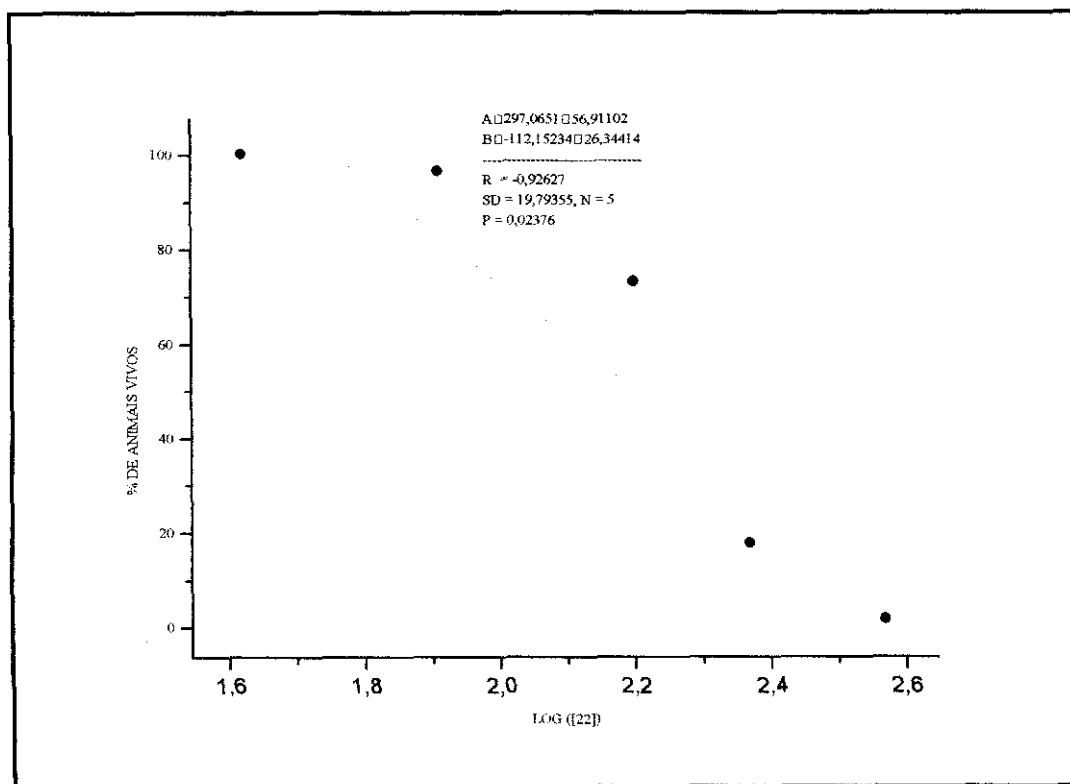


Figura 163: Diagrama resultante do bioensaio do composto 22 sobre larvas de *Artemia salina* Leach

Tabela 37: Dados do bioensaio sobre larvas de *Artemia salina* Leach para o composto 23.

% de animais vivos	Concentração (ppm)	log da ([28])
92,22	19,80	1,30
66,67	29,56	1,47
39,00	39,22	1,59
12,50	58,25	1,77
0	76,92	1,89

DL₅₀ = 35,9 ppm

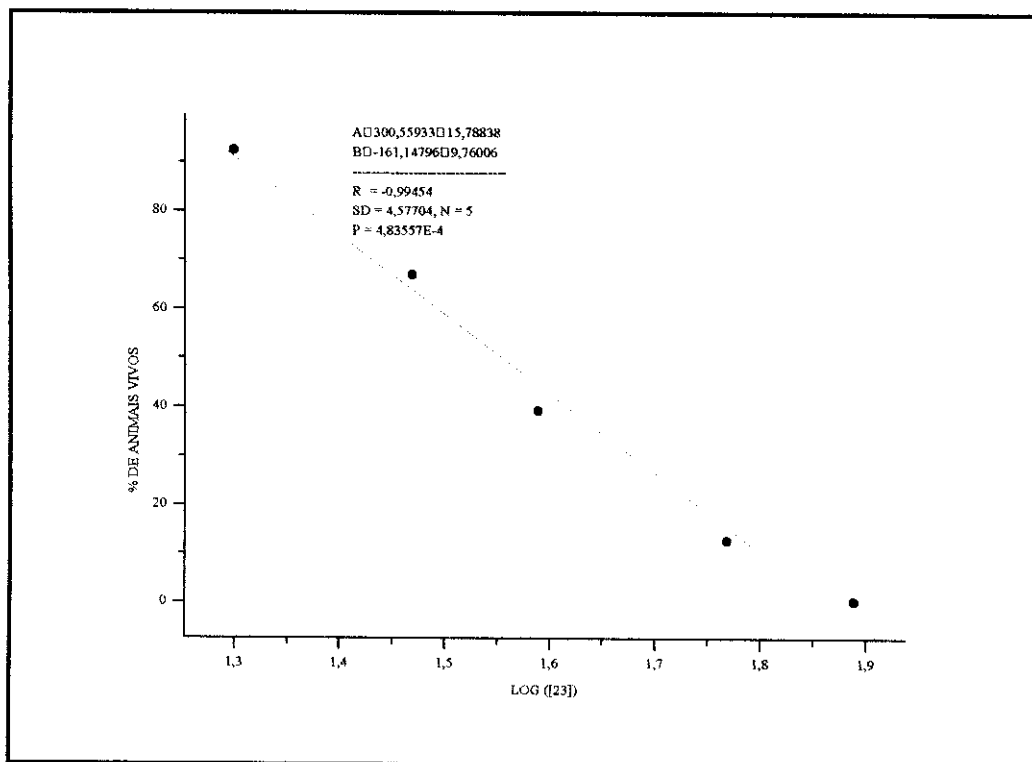


Figura 164: Diagrama resultante do bioensaio do composto 23 sobre larvas de *Artemia salina* Leach

Tabela 38. Dados do bioensaio sobre larvas de *Artemia salina* Leach para o composto 24.

% de animais vivos	Concentração (ppm)	log da ([30])
80,22	5,48	0,78
54,67	9,95	1,00
25,84	19,80	1,30
2,50	29,56	1,47
0,00	39,22	1,59

DL₅₀ = 11,6 ppm

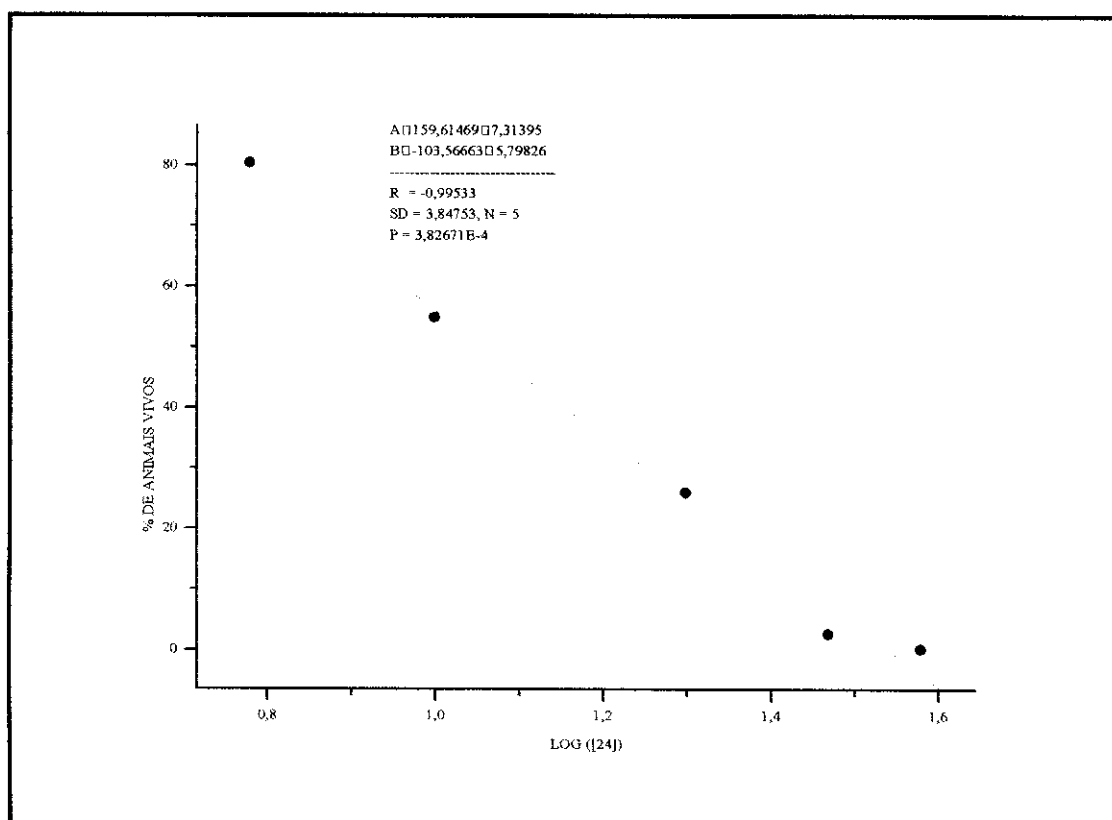


Figura 165. Diagrama resultante do bioensaio do composto 24 sobre larvas de *Artemia salina* Leach

APÊNDICE C

Tabelas com dados do experimento com *Musca domestica* e *Stomoxys calcitrans*

Tabela 39: Dados do bioensaio em adultos de *Musca domestica* para o inseticida crufomato.

Concentração ($\times 10^{-2}$ M)	Nº de testemunhos		Nº de moscas mortas	
	Composto		Composto	
	Crufomato		Crufomato	
0,02	20		0	
0,06	20		7	
0,17	20		15	
0,45	20		18	
1,20	20		20	
(24) $DL_{50} = 1,0 \times 10^{-3}$ M ou 36,70 $\mu\text{g/g}$ de mosca				

Tabela 40: Dados do bioensaio em adultos de *Musca domestica* para os compostos 3 e 4.

Concentração ($\times 10^{-1}$ M)	Nº de testemunhos		Nº de moscas mortas	
	Compostos		Compostos	
	3	4	3	4
0,10	20	20	2	1
0,18	20	20	7	8
0,32	20	20	12	15
0,56	20	20	15	18
1,00	20	20	20	20
(3) $DL_{50} = 2,62 \times 10^{-2}$ M ou 689,11 $\mu\text{g/g}$ de mosca				
(4) $DL_{50} = 2,24 \times 10^{-2}$ M ou 688,55 $\mu\text{g/g}$ de mosca				

Tabela 41. Dados do bioensaio em adultos de *Musca domestica* para os composto 5, 6 e 7.

Concentração (x 10 ⁻² M)	Nº de testemunhos			Nº de moscas mortas		
	Compostos			Compostos		
	5	6	7	5	6	7
0,038	20	20	20	0	0	0
0,068	20	20	20	4	4	4
0,21	20	20	20	9	7	8
0,68	20	20	20	15	12	13
2,14	20	20	20	20	18	20

(5) DL₅₀ = 2,48 X 10⁻³ M ou 87,23 µg/g de mosca
 (6) DL₅₀ = 3,83 X 10⁻³ M ou 117,72 µg/g de mosca
 (7) DL₅₀ = 2,93 X 10⁻³ M ou 103,06 µg/g de mosca

Tabela 42: Dados do bioensaio em adultos de *Musca domestica* para os composto 8 e 9.

Concentração (x 10 ⁻¹ M)	Nº de testemunhos		Nº de moscas mortas	
	Compostos		Compostos	
	8	9	8	9
0,10	20	20	1	0
0,18	20	20	5	6
0,32	20	20	7	13
0,56	20	20	15	15
1,00	20	20	18	20

(8) DL₅₀ = 3,56 X 10⁻² M ou 1009,6 µg/g de mosca
 (9) DL₅₀ = 2,84 X 10⁻² M ou 931,48 µg/g de mosca

Tabela 43: Dados do bioensaio em adultos de *Musca domestica* para os composto 10, 11 e 12.

Concentração (x 10 ⁻² M)	Nº de testemunhos			Nº de moscas mortas		
	Compostos			Compostos		
	10	11	12	10	11	12
0,038	20	20	20	1	0	0
0,068	20	20	20	3	1	5
0,21	20	20	20	7	5	7
0,68	20	20	20	14	12	14
2,14	20	20	20	19	18	18
(10) DL ₅₀ = 3,14 X 10 ⁻³ M ou 116,91 µg/g de mosca						
(11) DL ₅₀ = 4,92 X 10 ⁻³ M ou 161,37 µg/g de mosca						
(12) DL ₅₀ = 3,24 X 10 ⁻³ M ou 120,64 µg/g de mosca						

Tabela 44: Dados do bioensaio em adultos de *Musca domestica* para os composto 13 e 14.

Concentração (x 10 ⁻¹ M)	Nº de testemunhos		Nº de moscas mortas	
	Compostos		Compostos	
	13	14	13	14
0,10	20	20	0	1
0,18	20	20	1	3
0,32	20	20	8	8
0,56	20	20	14	14
1,00	20	20	18	20
(13) DL ₅₀ = 4,16 X 10 ⁻² M ou 1140,0 µg/g de mosca				
(14) DL ₅₀ = 3,50 X 10 ⁻² M ou 1114,7 µg/g de mosca				

Tabela 45: Dados do bioensaio em adultos de *Musca domestica* para os composto 15, 16 e 17.

Concentração (x 10 ⁻² M)	Nº de testemunhos			Nº de moscas mortas		
	Compostos			Compostos		
	15	16	17	15	16	17
0,038	20	20	20	0	1	0
0,068	20	20	20	4	5	3
0,21	20	20	20	7	8	7
2,14	20	20	20	16	14	15
6,76	20	20	20	20	19	20
(15) DL₅₀ = 4,00 X 10⁻³ M ou 145,39 µg/g de mosca						
(16) DL₅₀ = 8,03 X 10⁻³ M ou 255,74 µg/g de mosca						
(17) DL₅₀ = 4,70 X 10⁻³ M ou 170,84 µg/g de mosca						

Tabela 46: Dados do bioensaio em adultos de *Musca domestica* para os composto 18 e 19.

Concentração (x 10 ⁻¹ M)	Nº de testemunhos		Nº de moscas mortas	
	Compostos		Compostos	
	18	19	18	19
0,10	20	20	0	0
0,18	20	20	2	3
0,32	20	20	6	6
0,56	20	20	12	14
1,00	20	20	17	19
(18) DL₅₀ = 4,69 X 10⁻² M ou 1336,7 µg/g de mosca				
(19) DL₅₀ = 3,97 X 10⁻² M ou 1308,0 µg/g de mosca				

Tabela 47: Dados do bioensaio em adultos de *Musca domestica* para os composto 20, 21 e 22.

Concentração ($\times 10^{-2}$ M)	N° de testemunhos			N° de moscas mortas		
	Compostos			Compostos		
	20	21	22	20	21	22
0,038	20	20	20	1	0	0
0,068	20	20	20	2	1	3
0,21	20	20	20	7	4	6
2,14	20	20	20	15	12	13
6,76	20	20	20	19	18	18
(20) $DL_{50} = 9,50 \times 10^{-3}$ M ou 353,74 μ g/g de mosca						
(21) $DL_{50} = 1,62 \times 10^{-2}$ M ou 533,90 μ g/g de mosca						
(22) $DL_{50} = 1,22 \times 10^{-2}$ M ou 456,20 μ g/g de mosca						

Tabela 48: Dados do bioensaio em adultos de *Musca domestica* para os composto 23.

Concentração ($\times 10^{-2}$ M)	N° de testemunhos		N° de moscas mortas	
	Composto		Composto	
	23		28	
0,023	20		0	
0,062	20		4	
0,17	20		8	
0,45	20		15	
1,20	20		20	
(23) $DL_{50} = 1,90 \times 10^{-3}$ M ou 75,22 μ g/g de mosca				

Tabela 49: Dados do bioensaio em adultos de *Musca domestica* para os composto 24.

Concentração (x 10 ⁻³ M)	Nº de testemunhos		Nº de moscas mortas	
	Composto		Composto	
	24		24	
0,0027	20		0	
0,051	20		2	
0,140	20		7	
0,374	20		13	
1,00	20		19	
(24) DL ₅₀ = 2,0 X 10 ⁻⁴ M ou 12,41 µg/g de mosca				

Tabela 50: Dados do bioensaio em adultos de *Stomoxys calcitrans* para o inseticida crufomato.

Concentração (x 10 ⁻³)	Nº de testemunhos		Nº de moscas mortas	
	Composto		Composto	
	Crufomato		Crufomato	
0,02	20		0	
0,04	20		5	
0,41	20		7	
1,49	20		14	
2,01	20		19	
DL ₅₀ = 2,16 X 10 ⁻³ M ou 52,35 µg/g de mosca				

Tabela 51: Dados do bioensaio em adultos de *Stomoxys calcitrans* para os composto 3 e 4.

Concentração ($\times 10^{-2}$ M)	Nº de testemunhos		Nº de moscas mortas	
	Compostos		Compostos	
	3	4	3	4
0,06	20	20	0	1
0,19	20	20	4	5
0,60	20	20	7	8
1,89	20	20	15	16
6,00	20	20	19	19
(3) $DL_{50} = 8,02 \times 10^{-3}$ M ou 320,02 $\mu\text{g/g}$ de mosca				
(4) $DL_{50} = 6,30 \times 10^{-3}$ M ou 293,80 $\mu\text{g/g}$ de mosca				

Tabela 52: Dados do bioensaio em adultos de *Stomoxys calcitrans* para os composto 5, 6 e 7.

Concentração ($\times 10^{-2}$ M)	Nº de testemunhos			Nº de moscas mortas		
	Compostos			Compostos		
	5	6	7	5	6	7
0,012	20	20	20	1	0	1
0,038	20	20	20	8	5	6
0,12	20	20	20	12	7	8
0,38	20	20	20	15	12	13
1,2	20	20	20	20	18	19
(5) $DL_{50} = 8,40 \times 10^{-4}$ M ou 44,83 $\mu\text{g/g}$ de mosca						
(6) $DL_{50} = 2,00 \times 10^{-3}$ M ou 91,40 $\mu\text{g/g}$ de mosca						
(7) $DL_{50} = 1,40 \times 10^{-3}$ M ou 76,31 $\mu\text{g/g}$ de mosca						

Tabela 53: Dados do bioensaio em adultos de *Stomoxys calcitrans* para os composto 8 e 9.

Concentração (x 10 ⁻² M)	Nº de testemunhos		Nº de moscas mortas	
	Compostos		Compostos	
	8	9	8	9
0,06	20	20	0	0
0,19	20	20	2	5
0,60	20	20	8	9
1,89	20	20	14	13
6,00	20	20	20	20
(8) DL ₅₀ = 8,39 X 10 ⁻³ M ou 361,01 µg/g de mosca				
(9) DL ₅₀ = 7,10 X 10 ⁻³ M ou 353,29 µg/g de mosca				

Tabela 54: Dados do bioensaio em adultos de *Stomoxys calcitrans* para os composto 10, 11 e 12.

Concentração (x 10 ⁻² M)	Nº de testemunhos			Nº de moscas mortas		
	Compostos			Compostos		
	10	11	12	10	11	12
0,012	20	20	20	0	0	0
0,038	20	20	20	3	2	3
0,12	20	20	20	8	5	6
0,38	20	20	20	13	12	14
1,2	20	20	20	20	18	19
(10) DL ₅₀ = 1,68 X 10 ⁻⁴ M ou 94,90 µg/g de mosca						
(11) DL ₅₀ = 2,57 X 10 ⁻³ M ou 127,88 µg/g de mosca						
(12) DL ₅₀ = 1,90 X 10 ⁻³ M ou 107,33 µg/g de mosca						

Tabela 55: Dados do bioensaio em adultos de *Stomoxys calcitrans* para os composto 13 e 14.

Concentração (x 10 ⁻² M)	Nº de testemunhos		Nº de moscas mortas	
	Compostos		Compostos	
	13	14	13	14
0,06	20	20	0	0
0,19	20	20	2	5
0,60	20	20	6	8
1,89	20	20	15	14
6,00	20	20	20	19
(13) DL ₅₀ = 9,00 X 10 ⁻³ M ou 374,28 µg/g de mosca				
(14) DL ₅₀ = 7,61 X 10 ⁻³ M ou 367,69 µg/g de mosca				

Tabela 56: Dados do bioensaio em adultos de *Stomoxys calcitrans* para os composto 15, 16 e 17.

Concentração (x 10 ⁻² M)	Nº de testemunhos			Nº de moscas mortas		
	Compostos			Compostos		
	15	16	17	15	16	17
0,030	20	20	20	0	0	0
0,095	20	20	20	3	2	4
0,30	20	20	20	12	8	7
0,95	20	20	20	16	14	15
3,0	20	20	20	20	18	20
(15) DL ₅₀ = 2,70 X 10 ⁻³ M ou 150,83 µg/g de mosca						
(16) DL ₅₀ = 4,89 X 10 ⁻³ M ou 236,27 µg/g de mosca						
(17) DL ₅₀ = 2,90 X 10 ⁻³ M ou 158,54 µg/g de mosca						

Tabela 57: Dados do bioensaio em adultos de *Stomoxys calcitrans* para os composto 18 e 19.

Concentração (x 10 ⁻² M)	Nº de testemunhos		Nº de moscas mortas	
	Compostos		Compostos	
	18	19	18	19
0,06	20	20	0	0
0,19	20	20	1	2
0,60	20	20	5	6
1,89	20	20	12	13
6,00	20	20	17	18
(18) DL ₅₀ = 1,47 X 10 ⁻³ M ou 636,06 µg/g de mosca				
(19) DL ₅₀ = 1,15 X 10 ⁻³ M ou 575,00 µg/g de mosca				

Tabela 58: Dados do bioensaio em adultos de *Stomoxys calcitrans* para os composto 20, 21 e 22

Concentração (x 10 ⁻² M)	Nº de testemunhos			Nº de moscas mortas		
	Compostos			Compostos		
	20	21	22	20	21	22
0,030	20	20	20	0	0	0
0,095	20	20	20	5	2	3
0,30	20	20	20	7	6	5
0,95	20	20	20	11	12	11
3,0	20	20	20	18	18	17
(20) DL ₅₀ = 5,20 X 10 ⁻³ M ou 296,00 µg/g de mosca						
(21) DL ₅₀ = 7,10 X 10 ⁻³ M ou 353,00 µg/g de mosca						
(22) DL ₅₀ = 6,11 X 10 ⁻³ M ou 345,16 µg/g de mosca						

Tabela 59: Dados do bioensaio em adultos de *Stomoxys calcitrans* para os composto 23.

Concentração (x 10 ⁻² M)	Nº de testemunhos		Nº de moscas mortas	
	Composto		Composto	
	23		23	
0,02	20		3	
0,06	20		9	
0,17	20		15	
0,45	20		19	
1,2	20		20	
(23) DL ₅₀ = 7,0 X 10 ⁻⁴ M ou 43,76 µg/g de mosca				

Tabela 60: Dados do bioensaio em adultos de *Stomoxys calcitrans* para os composto 24.

Concentração (x 10 ⁻³ M)	Nº de testemunhos		Nº de moscas mortas	
	Composto		Composto	
	24		24	
0,003	20		1	
0,051	20		7	
0,14	20		15	
0,37	20		19	
1,00	20		20	
(24) DL ₅₀ = 7,0 X 10 ⁻⁴ M ou 26,89 µg/g de mosca				

APÊNDICE D

Fotos dos efeitos dos bisfosforamidatos na germinação e no desenvolvimento de sementes de alface

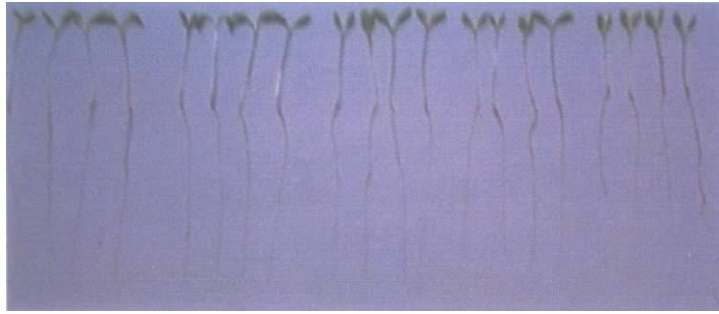


Figura 166: Efeito do composto 3 na germinação de plântulas de alface

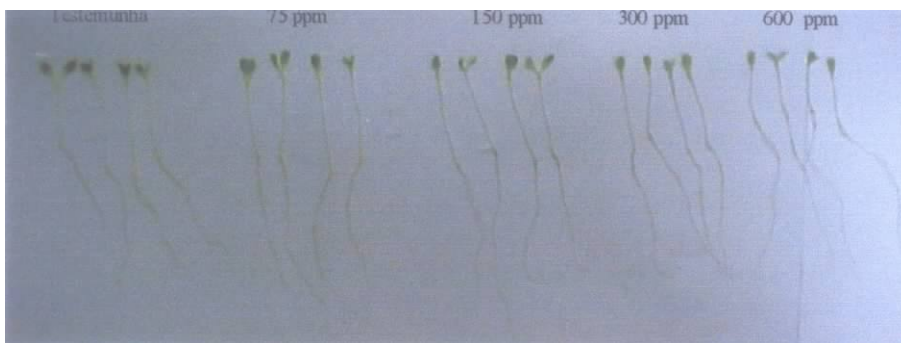


Figura 167: Efeito do composto 6 na germinação de plântulas de alface

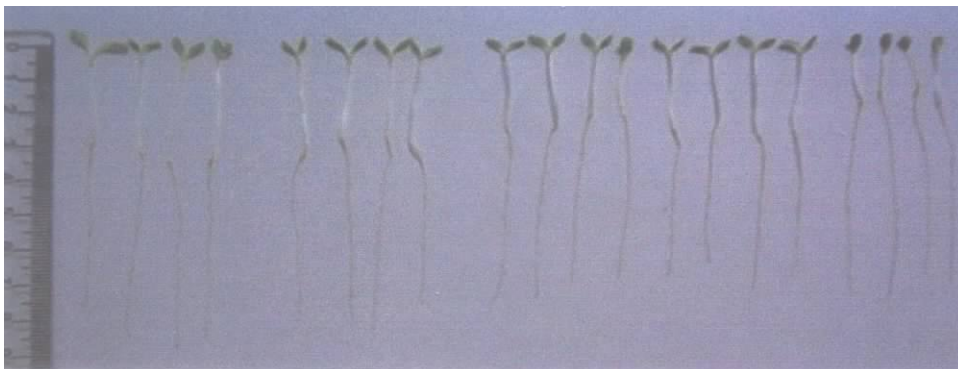


Figura 168: Efeito do composto 7 na germinação de plântulas de alface

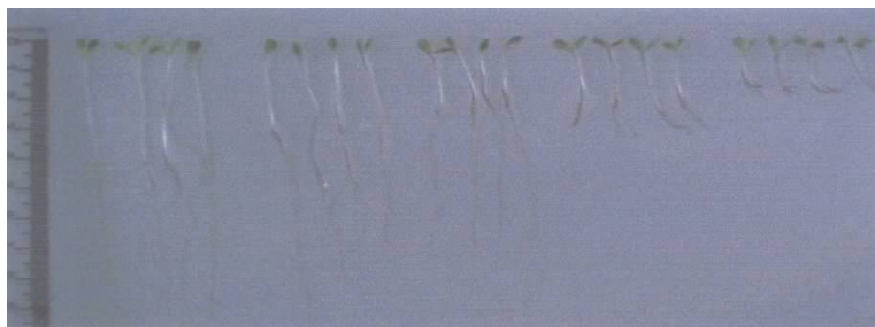


Figura 169: Efeito do composto 8 na germinação de plântulas de alface



Figura 170: Efeito do composto 9 na germinação de plântulas de alface

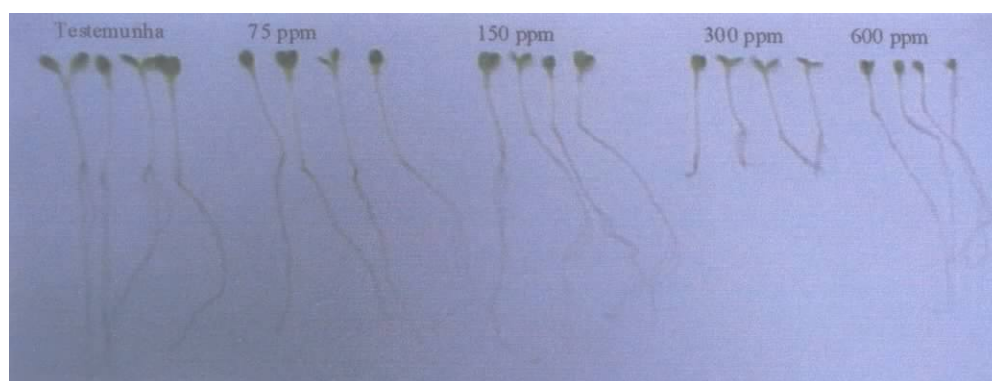


Figura 171: Efeito do composto 11 na germinação de plântulas de alface

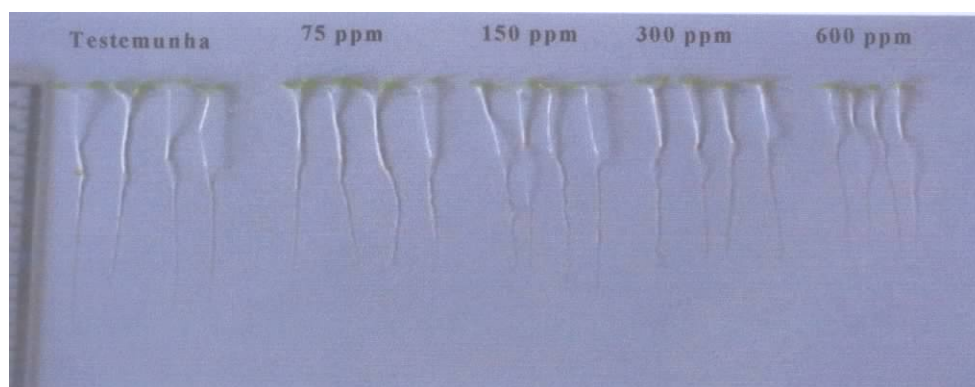


Figura 172: Efeito do composto 12 na germinação de plântulas de alface

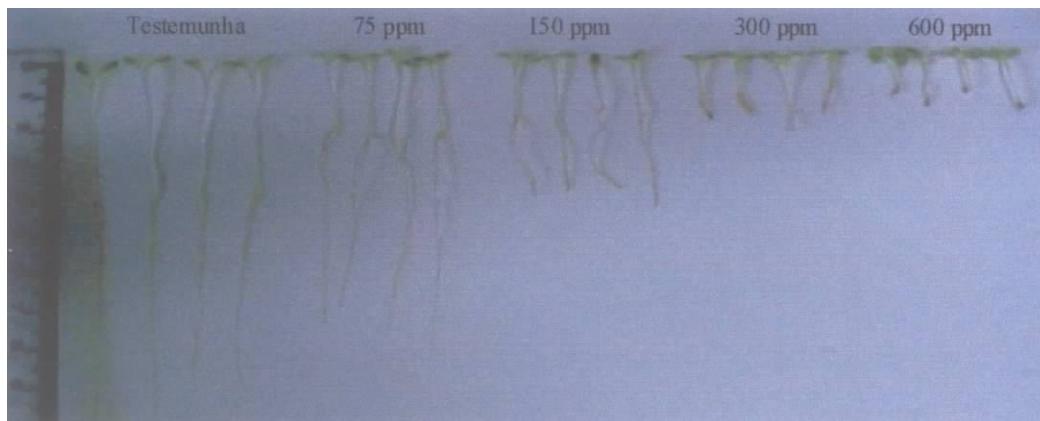


Figura 173: Efeito do composto 10 na germinação de plântulas de alface

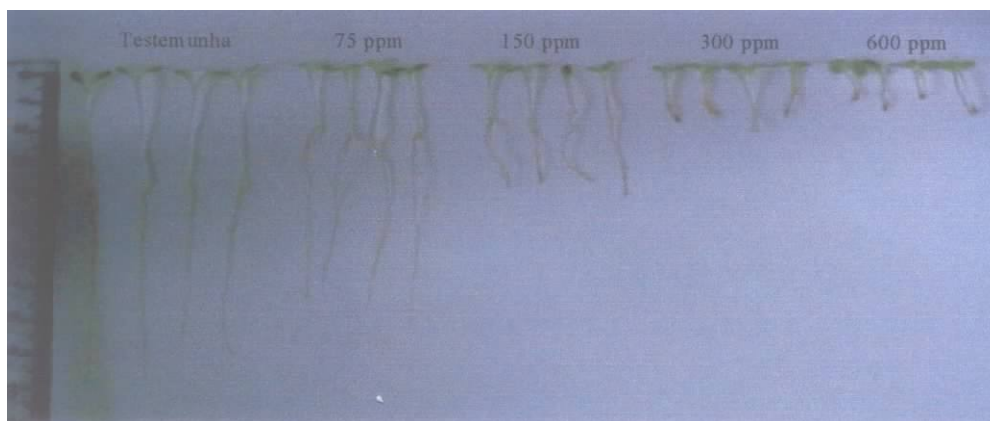


Figura 174: Efeito do composto 14 na germinação de plântulas de alface

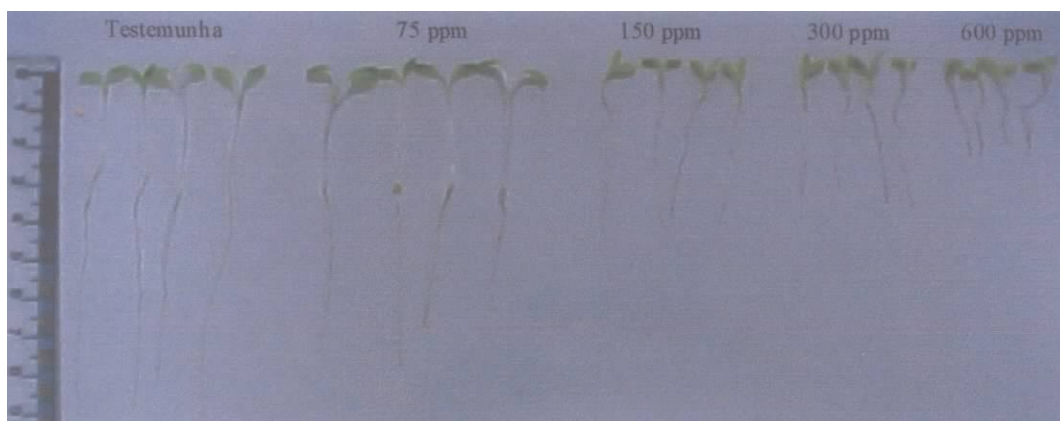


Figura 175: Efeito do composto 15 na germinação de plântulas de alface

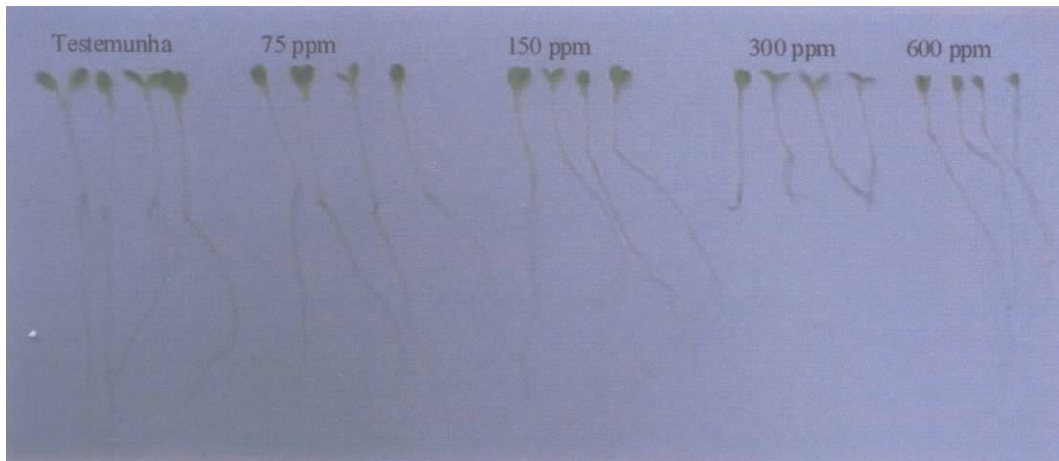


Figura 176: Efeito do composto 16 na germinação de plântulas de alface

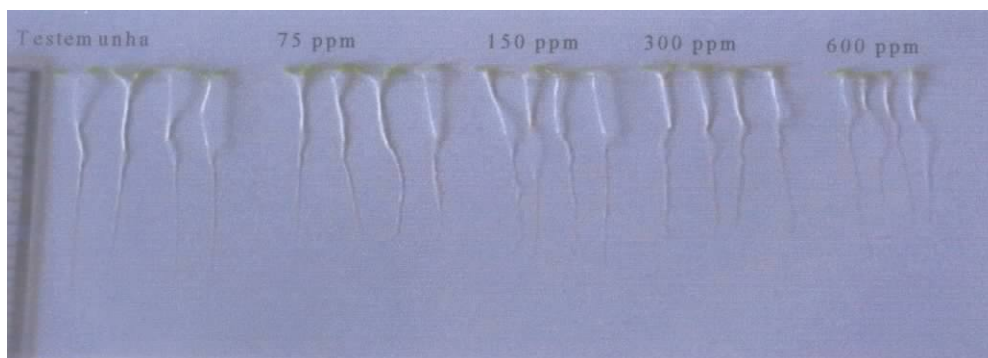


Figura 177: Efeito do composto 17 na germinação de plântulas de alface

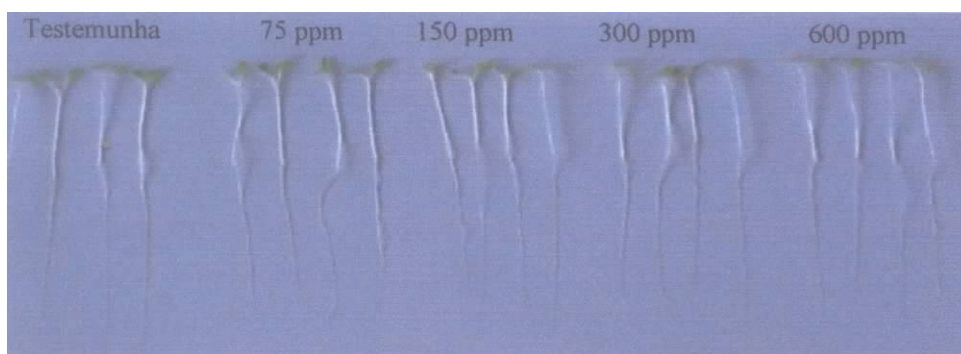


Figura 178: Efeito do composto 18 na germinação de plântulas de alface

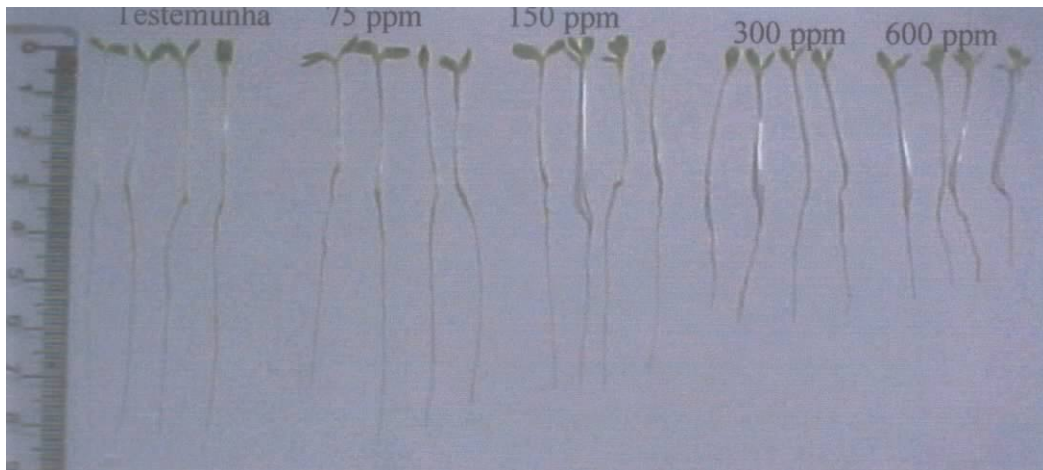


Figura 179: Efeito do composto 19 na germinação de plântulas de alface

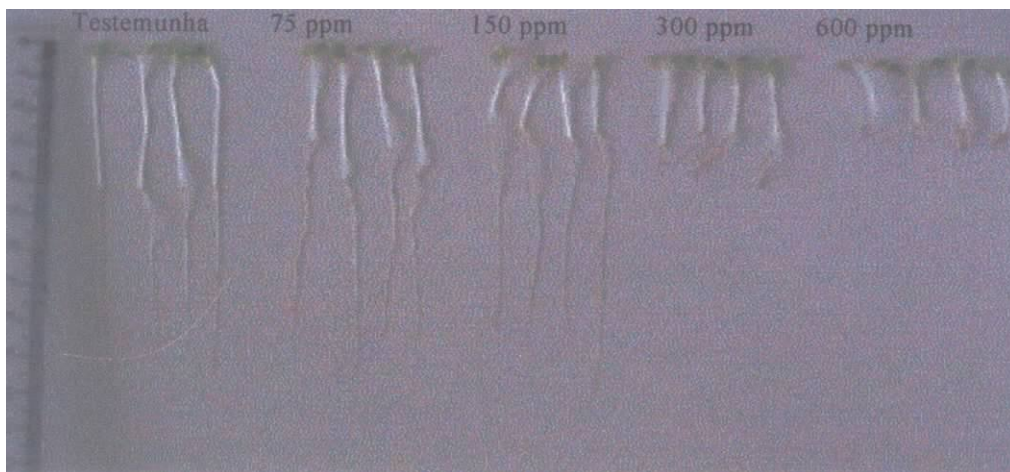


Figura 180: Efeito do composto 20 na germinação de plântulas de alface

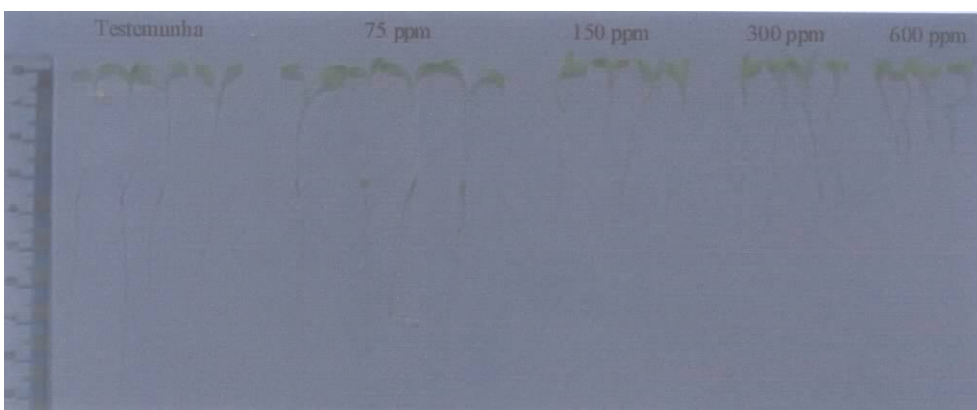


Figura 181: Efeito do composto 13 na germinação de plântulas de alface

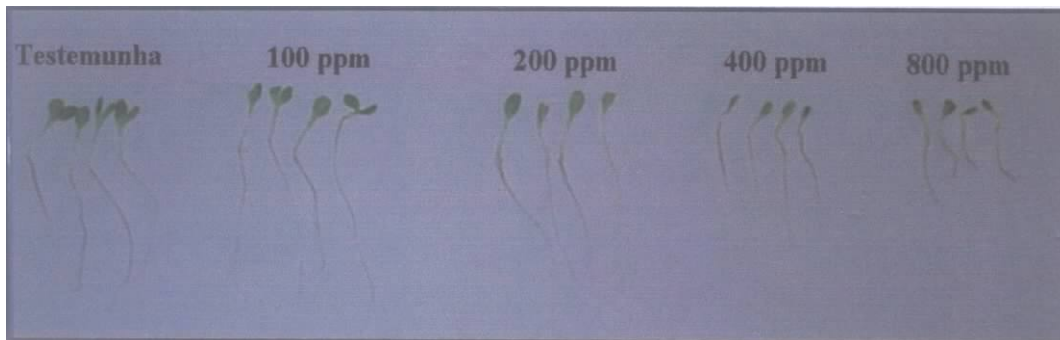


Figura 182: Efeito do composto 5 na germinação de plântulas de alface

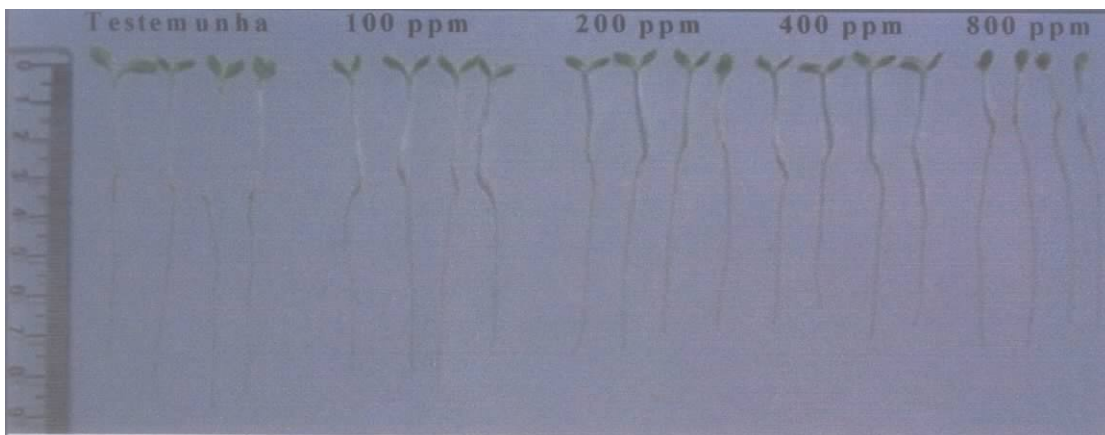


Figura 183: Efeito do composto 22 na germinação de plântulas de alface

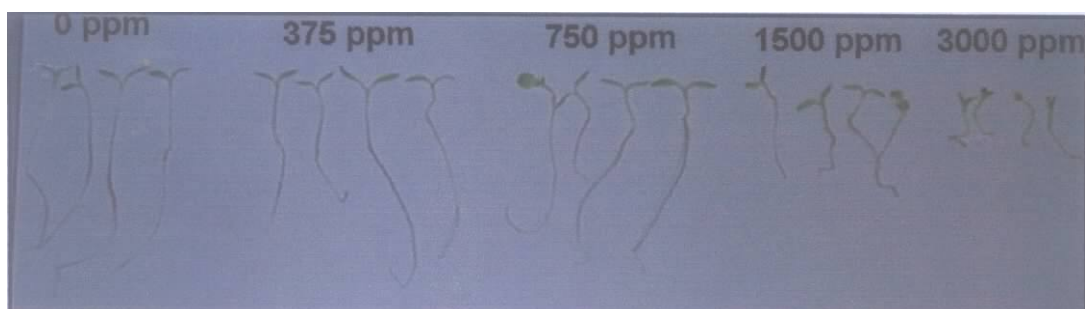


Figura 184: Efeito do composto 4 na germinação de plântulas de alface

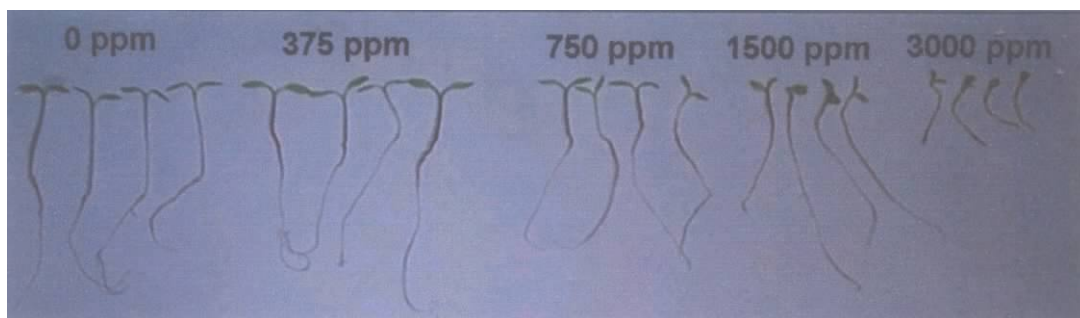


Figura 185: Efeito do composto 21 na germinação de plântulas de alface

7. REFERÊNCIAS

- ADDOR, R.W.** 1994. Agroquímical from Natural Products, GODFREY, C. R. A. ed. Marcel Dekker Inc.: New York.
- ADEYEMI, O. & DIPEOLU, O. O.** 1984. The numbers and varieties of bacteria carried by filth flies in sanitary and unsanitary city aerea. *Int. J. Zoonoses*. 11 (2): 195-203.
- AKGUR, S. A.; OZTURK, P.; SOLAK, A. R.; MORAL, R. A. & EGE, B.** 2003. Human serum paraoxone (PONI) activity in acute organophosphorus insecticide poisoning. *Forensic Science International* 133: 136-140.
- ALDRIDGE, W. N. & REINER, E.** 1972. Enzyme inhibitors as substrates. Interation of esterases with esters of organophosphorus and carbamic acids. In *Fronteries of biology* (A Neuberger and E. L. Tatum, Eds), vol. 26. North-Holland, Amsterdam.
- ALVES, J. P. F.** 2002. Uso de agrotóxicos no Brasil: Controle social e interesses corporativos. São Paulo: Annablume. Fapesp.
- ANAYA, A. L.; RAMOS, L.; CRUZ, R.; HERNANDEZ, J. G. & NAVA, V.** 1987. Perspectives on Allelopaty in Mexican tropical agroecosystems: A case study in Tlaxcala. *Journal of Chemical Ecology*. 13: 2083-2101.
- ARBUZOV, A. E.** 1906. *Phys. Chem. Soc.* 38: 687.
- ARBUZOV, A. E.** 1910. Isomerization process of some compounds phosphorus compounds. *J. Russ. Phys. Chem. Soc.* 42: 395.
- ASPELIN, A. L.** 1997. Pesticides Industry sales and Usage, 1994 and 1995 market estimates, US Environmental Protection. Agency, Washington, DC.
- ATHERTOON, F. R. HOWARD, H. T. & TODD, A. R.** 1948. Studies on phophorylation. 4. Further studies on the use of dibenzyl chlorophosfonate and the examination of certain alternative. *J. Chem. Soc.* 1106.
- ATHERTOON, F. R. OPENSHAW, H. T. & TODD, A. R.** 1945. Studies on phophorylation 1. Dibenzyl chlorophosfonate as a phophorylating agent. *J. Chem. Soc.* 660.
- ATKINSON, R. E. CADOGAN, J. I. G. & SHARP, J. T.** 1969. *J. Chem. Soc. (B)*. 138
- ATKINSON, J. I. G.; CADOGAN, J. I. & SHARP, J. T.** 1969. Reactivity of organophosphorus compounds . 23. Reactions of triethyl phosphites with carbon tetrachloride and bromotrochloromethane in presence and absence of butane-1-thiol. *J. Chem. Soc. (B)*.

- BACHMANN, T. T.; LECA, B.; VILATTE, F.; MARTY, J. L.; FOURNIER, D. & SCHMIDT, R. D. 2000.** Improved multianalyse detection of organophosphates and carbamates with disposable mutielectrode biosensors using recombinant mutants of *Drosophila* acetylcholinesterase and artificial neural networks. *Biosensors & Bioelectronics*. 15: 193-201.
- BELLET, E. M. & CASIDA, J. E. 1974.** Products of peracid oxidation of organophosphorus. *J. Agricult. Food Chem.* 22: 207.
- BERRY, I. L.; STAGE, D. A. & CAMPBELL, J. B. 1983** Population and economic impact of stable flies on cattle. *Trans. ASAE (Am. Soc. Agri. Eng.)*. 26: 873-877.
- BHATTACHARYA, A. K. & THYAGARAJAN, G. 1981.** The Michaelis-Arbuzov Rearrangement. *Chem. Review*. 81: 415.
- BIELAWSKI, J. & CASIDA, J. E. 1988.** Phosphorylating intermediates in the peracid oxidation of phosphorothionates, phosphorothiolates and phosphorodithioates. *J. Agricult. Food Chem.* 36: 610.
- BLASIAK, J.; JALOSZYNSKI, P.; TRZECIAK, A. & SZYFFER, K. 1999.** In vitro studies on the genotoxicity of the organophosphorus insecticides malathion and its two analogues. *Mutation Research* 445: 275-283.
- BOROWITZ, I. T.; ANSCHEL, M. & READIO, P. D. 1971.** Organophosphorus Chemistry. 12 Reactions of fluorenones and tetraphenylcyclopentadienones with tricovalent phosphines and phosphites. *Journal Organic Chemistry*, 39: 553.
- BRATTSTEN, L. B.; HOLYOKE, C. W. Jr.; LEE PER, J. R. & RAFFA, K. F. 1986.** Insecticide resistance: challenge to pest management and basic reseach. *Science*. 231: 1255-1260.
- BRUCE, W. N. & DECKER, G. G. 1958** Relationship of stable fly abundance to milk production in dairy cattle. *J. Econ. Entomol.* 51 (3): 269-274.
- BUNGAN, P. J. & CADOGAN, J. I. G. 1962.** Reactivity of organophosphorus compounds. 13. Radical-Chain transfer reactions of triethyl phosphite. A new compounds phosphorothiolates synthesis. *J. Chem Soc.* 2953.
- BUNYAN, P. J. & CADOGAN, J. I. G. 1962.** *J. Chem. Soc.* 2953.
- CADOGAN, J. I. & FOSTER, W. R. 1961.** *J. Chem. Soc.* 3071.
- CADOGAN, J. I. G. 1967.** *Adv. Free-Radical Chem.* 2: 203.
- CADOGAN, J. I. G. 1979.** *Organophosphorus Reagents in Organic Synthesis*. 1st Ed. Academic Press Inc. London.

- CAMPBELL, J. B.; BERRY, I. L.; BOXLER, D. J.; DAVIS, R. L.; CLANTON, D. C. & DEUTSCHER, G. H. 1987.** Effects of stable flies (díptera: Muscidae) on weight gain and feed efficiency on feedlot cattle. *J. Econ. Entomol.* 80: 117-119.
- CAMPBELL, J. B.; WHITE, R. G.; WRIGTH, J. E.; CROOKSHANK, P. & CLANTON, D. C. 1977.** Effects of stable flies on weight gain and feed efficiency of calves on growing or finishing rations. *J. Econ. Entomol.* 70 (5): 592-594.
- CAVALCANTE, M. F.; DE OLIVEIRA, M. C. C.; VELANDIA, J. R. & SIEVARRIA, A. 2000.** Síntese de 1,3,5 triazinas substituídas e avaliação da toxicidade frente a *Artemia salina*. *Química Nova.* 23 (1): 20-22.
- CHAMBERS, J. E. & CARR, R. L. 1995.** Biochemical mechanisms contributing to species differences in insecticidal toxicity. *Toxicology* 105: 291-304.
- CHAMBERS, J. E. & CHAMBERS, H. W. 1989.** Oxidative desulfuration of chlorpyrifos-methyl and leptophos by rat brain and liver. *J. Biochem. Toxicol.* 4: 201-203.
- CHEN, Z.; NEWCOMB, R.; FORBES, E.; MCKENZIE, J. & BATTERHAM, P. 2001.** The acetylcholinesterase gene and organophosphorus resistance in the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. *Insect Biochemistry and Molecular.* 31: 805-816.
- CLARCK, T. 1985.** A handbook of Computat Chemistry. A practical Guide to Chemical Structure and Energy Calculation. Wiley-Interscience. NY.
- CLAUDIANOS, C.; RUSSEL, R. J. & OAKESHOTT, J. G. 1999** The same amino acid substitution in orthologous esterases confers organophosphate resistance on the housefly and a blowfly. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 26: 675-686.
- CLIECK, J. E. & GREENE, G. L. 1994.** Stable fly (díptera: Muscidae) insecticide resistance in Kansas feedlot on cattle. *J. Econ. Entomol.* 87: 275-279.
- CLOTHIER, B.; JOHNSON, M. K. & REINER, E. 1981.** Interaction Of Some Trialkyl Phosphorothiolates With Acetylcholinesterase Characterization Of Inhibition, Aging And Reactivation. *Biochimica et Biophysica Acta.* 660: 306-316.
- CORBETT, J. R.; WRIGHT, K. & BAILLE, A. C. 1984.** The Biochemical Mode of Action of Pesticides, 2nd ed., Academic Press: New York.
- COTTON, F. A. 1988.** Advanced Inorganic Chemistry. In: USA. 5th Ed. John Wiley and Sons.
- DACOSTA, J. B. N. 1996.** Obtenção e Caracterização de fosforilúreas visando a formação de complexos com metais e transição. Tese de doutorado.
- DE CLEMONT, Ph. 1854.** Note sur la preparation de quelques ethers. *Comptes Rend.* 39: 338-340.

- DRUMMOND, R. O. 1977.** Resistance in ticks and insects of veterinary important . In : Pesticides management and insecticide resistance . (D. L. Watson and A. A. W. Brown). Academic Washington , DC. Pp. 303-319.
- ECOBICHON, D. J. 1996.** Toxic effects of pesticides. In Casarett and Doull's Toxicology. 5th ed., (C. D. Klaussen, Ed.). pp 643-698. NY.
- ETO, M. 1974.** In: Organophosphorus Pesticides: Organic and Biological Chemistry. 1^a ed., CRC Press. Fukuoka, Japan.
- ETO, M.; OKABE, S.; OZOE, Y. & MAEKAWA, K. 1977.** Pest Biochem. Phys. 7: 367.
- EYER, P. 1995.** Neuropsychopathological changes by organophosphorus compounds-A review. Human Exp. Toxicol. 14:857-864.
- FISHER, E. B.; & VAN WAZER, J. R. 1897.** Uses of organic in phosphorus compounds and its compounds. Vol .II, Ed. Interscience, New York. 1961.
- FONTENELE, A. F.; CARVALHO, U.; MELO, V. M. M.; BRAGA, L. M.; AGUIAR, A. & MATOS, J. B. F. 1988.** Avaliação da Toxicidade de extratos de plantas medicinais através de bioensaio com *Artemia salina* Leach. Ciência e Cultura 40 (11): 1109-1111.
- FORD-MOORE, A. H. & PERRY, B. J. 1963.** Org. Syn. Coll. 4: 955.
- FORSYTH, C. S. & CHAMBERS, J. E. 1989.** Activation and degeneration of phosphotionate insecticide parathion and EPN by rat brain. Biochem. Pharmacol. 38: 1597-1603.
- FOUNIER, D. & MUTERO, A. 1994.** Modification of acetilcolinesterase as a mechanism of resistance to insecticides. Comp. Biochem. Physiol. 108C: 19-31.
- FOURNIER , D. & MUTERO, A. 1994.** Modification of Acetylcholinesterase as a mechanism of resistance to insecticides. Comp. Biochem. Physiol. 108C: 19-31.
- GALLO, M. A. & LAWRYK, N. J. 1990.** In: The Handbook of Pesticide Toxicology. HAYVES, W. J. Jr. & LAWS, E. R. Jr. Eds. pp. 920-925. Academic Press, San Diego, CA.
- GEDEN, C. J.; STEINKARAUS, D. C.; LONG, S. J.; RUTZ, D. A. & SHOOP, W. L. 1990.** Susceptibility of insecticide – susceptible and wild house flies (Diptera Muscidae) to abamectin on whitewashed and unpaint wood. J. Econ. Entomol. 83: 1935-1939.
- GEORGHIOU, G. P. 1986.** The magnitude of the resistance problem. P. 14-43. In: National Research Council. Pesticide resistance: strategies and tactics for management. Washington, National Academy, 352p.
- GODFREY, C. R. A. 1994.** Agrochemical from Natural Products. Marcel Dekker Inc., New York.

- GUEDES, R. N. C. & FRAGOSO, D. B. 1999.** Resistência a inseticidas: Bases Gerais, situação e reflexões sobre o fenômeno em inseto-pragas do cafeeiro, p.99-120. In: L. Zambolim (ed.), I Encontro sobre produção de café com qualidade. Viçosa-MG, UFV, 259p.
- GUIMARÃES, J. H. 1984.** Mosca dos Estábulos. Uma importante praga do gado. *Agroquímica Ciba Geigy*. 23: 10-14.
- HAARKNESS, M. R.; McDERMOTT, J. B.; ABRAMOWICZ, D. A.; SALVO, J. J.; FLANAGAN, W. P.; STEPHENS, M. L. & MONDELLO, F. J. 1993.** Insitic stimulation of aerobic PCB biodegration in Hudson River sediments. *Science* 259: 503-507.
- HARBORNE, J. B. 1997.** Recent advances in chemical ecology. *Nat. Prod. Rep.* 14 (2): 83-98.
- HARRIS, R. L.; GRAHAM, O. H. & FRAZAR, E. D. 1972.** Susceptibility of five strains of stable flies to certain insecticides. *J. Econ. Entomol.* 65: 915-916.
- HARVEY, R. G. & DESOMBRE, E. R. 1964.** Topics in Phosphorus Chemistry. *Interscience*. Vol.1. 57.
- HIRATA, R. 1995.** Piretróides: Estrutura Química – Atividade Biológica. *Química Nova*. 18 (4): 368-374.
- HOLLINGWORTH, R. M. 1976.** The biochemical and physiological basis of selective toxicity. In: *Insecticides biochemistry and physiology*. (Wilkinson, C. F. Ed.). New York: Plenum, p.431-506.
- HOLMSTEDT, B. 1963** Structure Activity relationships of the organophosphorus anticholinesterase agents, in *Cholinesterases and Anticholinesterases Agents*. (Koelle, G. B., Ed.). Springer-Verlag. 428.
- HORNER, L.; HOFFMAN, H. & WIPPEL, H. G. 1958.** Phosphororganische verbindungen. 12. phosphinoxyde als olefinierungsreagenzien. *Chem. Ber. Stch. Ges.* 91: 61.
- HORNER, L.; HOFFMAN, H. & WIPPEL, H. G. 1959.** Phosphororganische verbindungen. 20. phosphinoxyde als olefinierungsreagenzien. *Chem. Ber. Stch. Ges.* 92: 2499.
- HUDSON, H. R.; MAVROMATIS, C. N. & PIANKA, M. 1995.** Organophosphorus compounds as potential fungicides. Part V . The preparation and properties of some novel N, N, N', N' – Tetramethyl-N''- (1-Substituted-2,2,2,-Trichloroethyl) Phosphoric Triamides. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon*. 108: 141-153.

- IWASA, M.; MAKINO, S.; ASAKORA, H.; KOBORI, H. & MORIMOTO, Y. 1999.** Detection of *Scherichia coli* O157:H7 from *Musca domestica* (Diptera Muscidae) at a cattle farm in Japan. *J. Med. Entomol.* 36 (1): 108-112.
- JACKSON, H. 1989.** Ivermectin as a Systemic insecticide. *Parasitol. Today.* 5: 146-155.
- JAMAL, A. G.; HANSEN, S. & JULU, P. O. O. 2002.** Low level to organophosphorus esters may cause neurotoxicity. *Toxicology*, 23-33: 181-182.
- JOKANOVIC, M.; 2001.** Biotransformation of organophosphorus compounds . *Toxicology* .166: 139-160.
- KAIHUA, L.; STOLOWICH, N. J. & WILD, J. R. 1995.** Characterization of P-S Bond Hydrolysis in Organophosphorothioate Pesticides by Organophosphorus Hydrolase. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 318: 59-64.
- KARCZMAR, A. 1998.** Invited Review: Anticholinesterases: dramatic aspects of their use and misuse. *Neurochem. Int.* 32: 401-411.
- KAY, I. R. & COLLINS, P. J. 1987.** The problem of resistance to insecticides in tropical insect pests. *Insect. Sci. Applic.* 8: 715-721.
- KELSEY, R. G. & LOCKEN, L. 1982.** Phytotoxic properties of cnici, a Sesquiterpene lactone from *Centaurea maculosa* (Spotted Knapweed). *Journal of Chemical Ecology.* 13: 19-33.
- KENNER, G. W.; TODD, A. R. & WEY MOUTH, F. J. 1952.** Nucleotides. 16. Ribonucleosides-5' phosphites- A new method for the preparation on mixed secondary phosphites. *J. Chem. Soc.* 3669.
- KEY, B. P. & FUTON, H. M. 2002.** Characterization of Cholinesterase activity in tissues of the grass shrimp (*Palaemonetes pugio*). *Pesticides. Biochemistry. Physiology.* 72: 186-192.
- KHIN, N. O. O.; SEBASTIAN, A. A.; & AYE, T. J. 1989.** Carriage of enteric bacterial pathogens by house flies in Yangon, Myanmar. *Diarrhoeal Dis.Res.* 7 (3-4): 81-84.
- KIRK-OTHMER. 1951.** Encyclopedia of Chemical Tecnology. J. Wiley and Sons. In. 7, 507.
- KLOCHER, J. A.; HU, M. Y. CHIU, S. F. & KUBO, I. 1991.** Grayanoid diterpene insect antifeedants and insecticides from rododendron-rolle. *Phytochemistry.* 30 (6): 1800.
- KOVACH. I. M. G. & QUIAN, N. F. R. 1993.** Key active site residue in the inhibition of acetylcholinesterase by soman. 1993. *FEBS Letters.* 336 (2) : 263.

- KOZAKI, T.; SHONO, T.; TAZASHI, T. & KONO, Y. 2001.** Fenitroxon insensitive acetylcholinesterase of the housefly, *Musca domestica* associated with point mutations. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 31: 991-997.
- LAIL, K.; NEAL, J.; STOLOWICH & JAMES, R. W. 1995.** Characterization of P-S bond hydrolysis in Organophosphorothioate Pesticides by Organophosphorus Hydrolase. 318 (1): 59-64.
- LANGE, W. & KRUEGER, B. 1932.** Uber ester der Monofluorphosphorsaure. *Chem. Ber.* 65: 1598
- LARINI, L. 1979.** Toxicologia dos Inseticidas. Ed. Sarvier: São Paulo.
- LEHMAN, A. J. 1988.** Principles and procedures for evaluating toxicity of Chemicals. In: Steere, N. V., ed. Handbook, of laboratory safety. 2 ed. Florida, Boca Raton, CRC Press. 279.
- LIN, W. O.; SOUZA, M. C. DA & COSTA, J. B. N. DA. 1995.** Química de Organofosforados. X: Síntese de N-dialquilfosforil-guanidinas, uréias e tiouréias. *Química Nova*. 18: 5.
- LITCHFIELD, J. T. & WILCOXON, F. 1949.** Simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharm. Exper. Therap.* 95: 99.
- LIU, J.; OLIVIER, K. & POPE, N. C. 1999.** Comparative Neurochemical Effects of Repeated Methyl Parathion or Chlorpyrifos Exposures in Neonatal and Adults Rats. *Toxicology and Applied Pharmacology* 158: 186-196.
- LOTTI, M., 1992.** The pathogenesis of organophosphates polineuropathy. *Crit. Review toxicol.* 21: 465-487.
- MARÇON, P. C. R. G.; THOMAS, G. D.; SIEGRFIELD, B. D. & CAMPBELL, J. B. 1997.** Susceptibility of Stable Flies (Diptera Muscidae) from Southeastern Nebraska Beef Cattle Feedlots to Selected Insecticides and Comparison of 3 Bioassay Techniques. *J. Econ. Entomol.* 90 (2): 293-298.
- MARICONI, F. A. 1963.** Inseticidas e seu Emprego no Combate às Pragas, 2ª. Ed., Agron. Ceres Ltda.: São Paulo.
- MARICONI, F. A. M. 1981.** Inseticidas e seu Emprego no Combate às Pragas, 5ª. Ed., Nobel.: São Paulo. Vol 1.
- MARICONI, F. A. M.; GUIMARÃES, J. H. & FILHO, E. B. 1998.** As moscas domésticas e algumas outras nocivas. Piracicaba: ESALQ.
- MARK, V. 1969.** *Mech. Mol. Migr.* 2:319.
- MARRS, T. C.; 1993.** Organophosphate poisoning. *Pharmacol. Ther.* 58: 51-56.

- MC COMBIE, II; SAUNDERS, B. C. & SHLEY, G. J. 1945.** Esters containing phosphorus.1. J. Am. Chem. Soc. 380.
- MCDUFFIE, W. C. 1960.** Current status of insecticides resistance in livestock pests. Entomol. Soc. Am. Misc. Publ. 2: 49-54.
- MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E. & MCLAUGHILIN, J. L. 1982.** Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. Journal of Medicinal Planta Research, *Planta Medica*. 45: 31-34.
- MICHAELIS, A. E. & KAEHNE, R. 1898.** Ber. Stsch. Chem. Ges. 31: 1048.
- MICHAELIS, A.; & BECKER, T. 1897.** Ber. Stsch. Chem. Ges. 30: 1003.
- MICHAELIS, C. A. A. 1903.** Über die organischen Verbindungen des Phosphorus mit Sticksstoff, Liebs. Ann. Chem. 326: 129.
- MICHELSON, A. M. 1963.** The chemistry of nucleosides and nucleotides. Academic Press.
- MILESON, B. E.; CHAMBERS, J. E.; CHEN, W. L.; EHRICH, M.; ELDEFRAWI, A. L.; GAYLOR, D. W.; HARMENICK, K.; HODGSON, E.; KARCZMAR, A. G.; PADILHA, S.; POPE, C. N.; RICHARDSON, R. J.; SAUNDERS, D. R.; SHEETS, L. P.; SULTATOS, L. G. & WALLACE, K. B. 1998.** Comom mechanism of toxicity: a case study of organophosphorus pesticides. *Toxicolo. Sci.* 41: 8-20.
- MORRISON, D. C. 1955.** The reation of sulfenyl chlorides with trialkyl phosphites. J. Am. Chem. Soc. 77: 181.
- MORTON, R. A. 1993.** Evolution of *Drosophila Melanogaster* insecticide resistance. *Genome*. 36: 1-7.
- MOUNT, G. A.; GAHAN, J. A. & LOFGREN, C. S. 1965** Evaluation of insecticide in the laboratory against adult and larvae stable flies. *J. Econ. Entomol.* 58 (4): 685-687.
- MURDOCK, L. L. & HOPIKINS, T. L. 1968.** Insecticidal, anticholinesterase, and hydrolitic properties of O,O,-dialqil S-aril phophorpthiolates in relation to structure, *J. Agric. Food, Chem.* 16: 954.
- MURREL, J. N. & HARGET, A. J. 1972.** J. Semi-empirical self Consistent Field Molecular Orbital Theory of Molecules. Wiley-Interscience, London.
- NAKANO, O.; NETO, S. S. DE BATISTA, H. C. YOKOYAMA, M.; DEGÁSPARI, N. & MIRCHINI, L. C. 1977.** Manual de inseticidas.
- NASCIMENTO, M. C.; A. F.; SILVA, T. M. S.; MORAIS, A. A.; & BRAZ-FILHO, R. 2001.** Estudo da toxicidade de uma espécie de *Annonaceae* pelo bioensaio com o crustáceo

Artemia salina Leach. In: Simpósio Brasileiro de farmacognosia. 3. Curitiba. Anais... v.1. p. AB-25.

NATH, B. S. & KUMAR, R. P. S. 1999. Toxic Impact of Organophosphorus Insecticides on Acetylcholinesterase Activity in the Silkworm, *Bombyx mori* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 42: 157-162.

NISHIZAWA, Y. 1960. New low toxic organophosphorus insecticide. *Bull. Agric. Chem. Soc. Jap.* 24: 744.

O'BRIEN, R. D. 1960. Toxic phosphorus esters. New York : Academica, 434 p.

PADILHA, S.; WILSON, V. Z. & BUSHNELL, P. J. 1994. Studies on the correlation between blood cholinesterase inhibition and 'target tissue' in pesticide-treated rats. *Toxicology*. 92: 11-25.

PERKOW, W. 1954. Umsetzung mit alkyl phosphiten. I. Umlagerung bei der reaktion mit chloral und bromal. *Chem. Ber.* 87: 755.

PERKOW, W.; ULLERICH, K. & MEYER F. 1952. *Naturwiss.* 39: 353.

PORTER, D. G. 1992. Ethical scores for animal-experiments. 356:101.

QIAN, N. & KOVACH, I. M. 1993. Key active residues in the inhibition of acetylcholinesterase by soman. *FEBS Let.* 336: 263-266.

RAMIREZ, F. MADAN, O. P. & SMITH, C. P. 1966. *Tetrahedron*, 22: 567.

RIVZI, S. J. H. & RIVZI, V. 1992. Exploitation allelochemicals in improving crop productivity. In: RIVZI, S. J. H. & RIVZI, V. (Eds). *Allelopathy: Basic and Applied Aspects*. London, Chapman & Hall. 443-472.

RODRIGUES, C. R.; SANT'ANNA, C. M. R.; BARREIRO, E. J.; BARREIRO, E. J.; ALBUQUERQUE, M. G.; ANNA, C. M. R. S.; ALENCASTRO, R. B. & MOTTA NETO, J. D. 1997. On the modelling of some antiinflammatory and antithrombotic drugs by AM 1. *Molecular Engineering*. 7: 473-490.

RODRIGUES, J. M & DA COSTA, J. B. N. 2002. Synthesis and Characterization of new symmetrical Bisphosphonates. *Phosphorus Sulfur and Silicon*. 177: 137- 149.

ROSEN, O. M. & KREBS, F. G. 1981. *Protein Phosphorylation*, cold spring Harbor Laboratory, N. Y.

ROSENBERRY, T. L. 1995. For reviews of acetylcholinesterase. *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* 43: 103.

ROSENSTOCK, L.; KEIFER, M.; DANIELL, W. E.; McCONNEL, R.; & CLAYPOOLE, K. 1991. Chronic central nervous system effects of acute

organophosphates pesticide intoxication, the pesticide health effects study group. *Lancet* 338: 223-227.

SAKKAS, V. A.; LAMBROPOULOU, D. A.; SAKELLARIDES, T. M. & ALBANIS, T. A. 2002. Application of solid – phase microextraction for monitoring the photocatalytic decomposition of fenothion in aqueous TiO₂ suspensions. *Analytic Chimica*. 467: 233-243.

SANT'ANNA, C. M. R.; ALENCASTRO, R. B. & BARREIRO, E. J. 1998. Toward, a platelet-activating factor pseudoreceptor: Semi empirical Modeling of cation -Pi and hydrogen bond interactions in agonist binding. *Journal of Molecular Structure* . 429: 217.

SANT'ANNA, C. M. R.; BARREIRO, E. J. & ALENCASTRO, R. B. 1999. Toward, a platelet-activating factor pseudoreceptor:2. Three-dimensional semiempirical Models for agonist and antagonist. *Journal of Molecular Structure* . 490: 167.

SAUNDERS, B. 1957. Some Aspects of The Chemistry and Toxic Action of Organic Compounds Containig Phosphorus and fluorine, Cambridge University Press. London.

SAVAGE , E. P.; KEEF, T. J.; MOUNCE, L. M.; HEATON, R. K.; LEWIS, J. A.; BURCAR, P. J. 1988. Chronic neurological sequelal of acute organophosphate pesticide poisoning. *Arch. Environ. Health*. 43: 38-45.

SCHULLER, L. 2000. As moscas domésticas e sua importância na transmissão de intoxicação e infecções alimentares. *Higiene Alimentar*. 11 (73): 28-38.

SCOTT, J. G. 1989. Cross – Resistance to the biological insecticide abamectina in Pyrethroid resistant strains of house flies. *Pestic. Biochem.Physiol*. 34: 27-31.

SEGALL, Y. & CASIDA, J. E.1982. Oxidative conversion of phosphorotiolates to phophinyloxy-sulfonates probably via phosphorothiolates – oxide. *Tetrahedron Letters*. 23: 139.

SEGALL, Y. & CASIDA, J. E.1983. Reaction of proposed phosphorothiolates-oxide intermediates with alchols. *Phosphorus Sulfur*. 18: 209.

SENANAYAKE, N. W.; KARALLIEDE, L. 1987. Neurotoxic effects of organophosphorus insecticides an intermediate syndrome. *N. England. J. Med*. 316: 761-763.

SHI, A.M.; YUAN, J. Z.; WU, J.; ZHUANG, P. J.; WU, X. F. & TANG, Z. H. 2001. Kinetic Analysis of Acetilcholinesterase in a Propxur-Resistance Strain of Housefly (*Musca domestica*) from Shangahai, China. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 72: 72-80.

SHULZER, H.; VORVOLÁ, S.; VILLATE, F.; BACHMANN, T. T. & SCHMID, R. D. 2003. Design of Acetylcholinesterase for Biosensor applicattions. 18: 201-209.

SILVER, A. 1974. The biology of cholinesterase . Elsevier, Amsterdam, Oxford.

- SIQUEIRA, J. M.; BOMM, M. D.; & NÚBIA, F. G. P. 1998.** Estudo Fitoquímico de *Unopsis Lindmanii*- *Amonnaceae*. Biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina*. Química Nova. 21 (5): 557-559.
- SMITH, G. J. 1987.** In: Pesticide Use and Toxicology in Relation to Wildlife: Organophosphorus and Carbamate Compounds. pp. 1-10. U.S. Department of Interior, Fish and Wildlife Service, Washington, DC.
- SOGORB, M. A. & VILANOVA, E. 2002.** Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis. Toxicology Letters 128: 215-228.
- SOLIS, P. N.; WRIGHT, C. W.; ANDERSON, M. M.; GUPTA, M. P. & PHILIPSON, J. D. 1993.** A microwell cytotoxicity assay using *Artemia salina* (Brine Shrimp). Planta Méd. 59.
- SRIVASTAVA, S. C. 1988.** Susceptibility Tests with certain insecticides against stable flies *Stomoxys calcitrans*, L. (Diptera Muscidae). The Indian Veterinary. 65 (9): 838-839.
- STEENLAND, K. 1996.** Chronic neurological effects of organophosphates pesticides. Br. Medical J. 312: 1312-1313.
- STEWART, J. J. P. 1989.** Optimization of Parameters for semi empirical methods. 1. Applications. J. Comp. Chem. 10: 221-264.
- STEWART, J. J. P. 1989.** Optimization of Parameters for semi empirical methods. 1. Applications. J. Comp. Chem. 10: 221-264.
- STEWART, T. J.P. 1989.** J. Comp. Chem.. 10:209.
- STEWART, T. J.P. 1992.** Q.C.P.E. Iridiana University, Bloomington, EUA. 455.
- STORM, J. E.; ROZMAN, K. K. & DOULL, J. 2000.** Occupational exposure limits for 30 organophosphate pesticides based on inhibition of red blood cell acetylcholinesterase. Toxicology, 150: 1-29.
- SULTATOS, L. G. 1994.** Mammalian toxicology of organophosphorus pesticides. Journal of Toxicology and Environmental Health. 43: 271-289.
- TOY, D. F. 1976.** Phosphorus Chemistry in Everyday Living. American Chemical Society. Washington, D. C.
- VEDANI, Z.; BINDEN, P. & SNYDER, J. P. 1969.** Pseudoreceptor modeling – The construction of 3-dimensional receptor surrogates. J. Am. Chem. 117 (17): 4987.
- VIEGAS, C. JR. 2003.** Terpenos com Atividade Inseticida: Uma Alternativa para o Controle Químico de Insetos. Química Nova. 26 (3): 390-400.

- VIEIRA, P. C. & FERNANDES, J. B. 1999.** Em Farmacognosia: da planta ao Medicamento; SIMÕES, C. M. O.; (Schenckel, E. P.; Gosman, G.; De mello, J. C. P.; Mentz, L. A. & Petrovick, P. R., eds.).1ª.ed., Ed. UFSC e UFRGS, Florianópolis/Porto Alegre.
- WADSWORTH, W. S & EMMONS, W. D. 1961.** Utility of phosphonates carbanions in olefin synthesis. J. Am. Chem. Soc. 83: 1733.
- WALSH, N. E.; GRIFFITH, E. J.; PARRY, R. W. & QUIN, L.; D. 1992.** Phosphorus Chemistry American Chemical Society, DC.
- WARE, G. 1989.** In: The pesticide Book, Thomson Publications, Fresno, CA, p.340.
- WEELock, G. D. & SCOTT, J. G. 1990.** Immunological detection of cytochrome P450 from insecticide resistant and susceptibilidade house fly (*Musca domestica*) Pesticid. Biochem. Physiol. 38: 130-139.
- WEST, T. F.; CAMPBELL, G. A. 1946.** A DDT – The Synthetic Insecticide. Chapman & Hall; London, p.1.
- WHU, S. Y.; TOIA, R. F. & CASIDA, J. E. 1991.** Mechanism of Phosphinyloxysulfonates formation on peracid oxidation N, N, N', N' – Tetrasubstituted Phosphorodiamidothiolates Tetrahedron Letters. 35: 4427-4430.
- WITTIG, G. & GEISLER, G. 1953.** *Zur Reaktions des pentaphenyl phosphorus und einiger derivate. Liebigs Ann. Chem. 44: 580.
- YAMANAKA, S.; HASHIMOTO, M.; TOBE, M. KOBAYASHI, K.; SEKIZAWA, J. & NISHIMURA, M. 1990.** Arch. Toxicol. 64:262
- YOFFI, S. & CASIDA, J. E. 1982.** Oxidative conversion of Phosphorothiolates to Phosphinyloxysulfonates probably via phosphorothiolates S-oxides. Tetrahedron Letters. 23: 139-142.
- ZHAO, Y. F.; XI, S. K.; SONG, A. T. & JI, G. J. 1984.** Phosphoryl as a novel amines protecting group for Friedel-Crafts acylation of N-[2-(3,4-dialkoxy phenyl)]. J. Org. Chem. 49: 4549.
- ZHAO, Y. F.; XI, S. K.; SONG, A. T. & TIAN, Y. F. 1983.** Intramolecular condensation of " N- homopyperonyl-dialkyl phosphoryl glycine underr catalysis of lewis acid Tetrahedron Letters. 24: 1617.
- ZHAO, Y. F.; XUE, C. B.; ZENG, J. N. & JI, G. J. 1988.** Synthesis of N-(diisopropoxyphosphoryl) amino acid and peptides. Synthesis-Stuttgart. 6: 444.
- ZIMMERMANN, M. 1983.** Pain, 16:109.
- ZIMMERMANN, M. 1986.** Acta Physiol. Scand. Suppl. 554: 221.

ZIRMMERMAN, P. W. & HITCHCOCK, A. E. 1942. Contrib. Boyce Thompson Inst.
12: 321.