

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO
RIO DE JANEIRO**

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

Dissertação de Mestrado

**Novas dialquilfosforilidrazonas: Síntese,
Caracterização e Avaliação da Atividade Biológica**

Vinícius Tomaz Gonçalves

2009



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

**Novas dialquilfosforilidrazonas: Síntese,
Caracterização e Avaliação da Atividade Biológica**

Vinícius Tomaz Gonçalves

Sob a Orientação do Professor Dr.

João Batista Neves da Costa

e Co-Orientação da Professora Dr.

Sônia Regina de Souza

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Síntese Orgânica.

Seropédica, RJ
Agosto de 2009

547.2

G635n

T

Gonçalves, Vinícius Tomaz, 1980-

Novas dialquifosforilidrazonas: síntese, caracterização e avaliação da atividade biológica / Vinícius Tomaz Gonçalves - 2009.

210 f. : Il.

Orientador: João Batista Neves da Costa.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Química.

Bibliografia: f. 104-111.

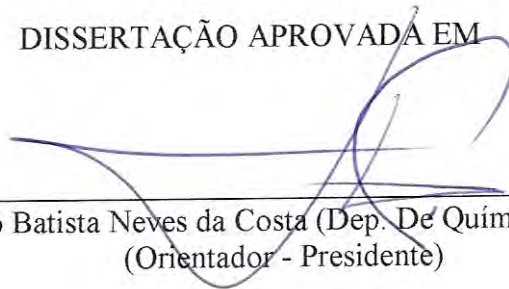
1. Síntese orgânica - Teses. 2. Compostos organofosforados - Teses. 3. Fungos fitopatogênicos - Teses. I. Costa, João Batista Neves da, 1956-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

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

Vinícius Tomaz Gonçalves

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Síntese Orgânica.

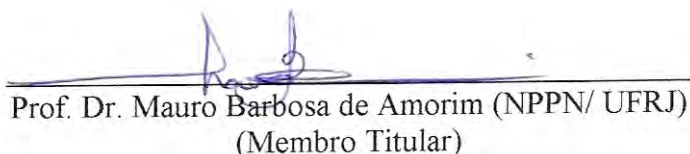
DISSERTAÇÃO APROVADA EM



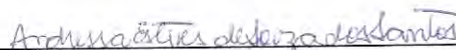
Prof. Dr. João Batista Neves da Costa (Dep. De Química/ ICE/ UFRRJ)
(Orientador - Presidente)



Prof. Dr. Marcio Contrucci Saraiva de Mattos (Inst. De Química/ UFRJ)
(Membro Titular)



Prof. Dr. Mauro Barbosa de Amorim (NPPN/ UFRJ)
(Membro Titular)



Prof.ª Dr.ª Andressa Esteves de Souza dos Santos (Dep. De Química/ ICE/ UFRRJ)
(Membro Suplente)

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo seu amor e a sua infinita sabedoria, luz de todos os meus momentos, guia inigualável na arte da vida.

Aos meus pais Iderval e Teresinha, meus maiores amigos, pela educação fornecida, pelo carinho, afeto, compreensão, confiança e amor incondicional.

Aos meus irmãos Jefferson e Romeu, pelo carinho, companheirismo e união.

Aos meus familiares pelo suporte e carinho em todos estes anos de caminhada.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela oportunidade oferecida para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu orientador e amigo, professor João Batista Neves da Costa, pela compreensão, credibilidade, paciência, e atenção em todos os cinco anos de convívio.

Ao Dr. Marcos André Vannier dos Santos, a Dr. Adriana Lanfredi Rangel e Daniele, aluna da Fundação Oswaldo Cruz (Salvador - BA), pela execução dos ensaios biológicos em protozoários.

A minha co-orientadora professora Sônia Regina de Souza, ao aluno de doutorado do PPGQ-Agrobioquímica Marcos André, e à estagiária Marcela pelo o auxílio com os ensaios sobre germinação de sementes e fungos.

Aos professores Rosane Nora Castro, Marco Edilson Freire de Lima, Carlos Maurício Rabello de Sant'Anna, Victor Marcos Rumjanek e Aurélio Baird pela educação fornecida e importante contribuição nesta caminhada.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica desta Universidade, pelo conhecimento transmitido e pelas aulas ministradas.

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

Aos meus colegas de graduação e pós-graduação em Química da UFRRJ: Daniel, Rodney, Verônica, Breno, Bete, Aline, Ana Paula, Alessandra, Rose, Bauer, Claudio, Kenia, Camila, Carlos Eduardo, Wellison, Catarina, Anivaldo, Geraldo, Cleber, Vitor, Nailton e Regina, pelos anos de agradável convivência e ajuda fornecida.

Aos colegas de laboratório Andréa Janaína, Letícia, Jorge Fábio, Henriqueta, Janaína e Taís pela eficiente colaboração, companheirismo, e momentos de agradável convivência.

À CAPES pelo auxílio financeiro concedido neste trabalho.

Dedico este trabalho aos meus pais pela contribuição à minha formação e pelo apoio incondicional em todos os momentos, e aos meus irmãos Jefferson e Romeu pela torcida e companheirismo ao longo desta jornada.

Sumário

1. Introdução.....	1
1.1. Revisão da Literatura.....	1
1.1.1. Compostos Organofosforados	1
1.1.1.1. Fosforamidatos	8
1.1.2. Hidrazonas	12
1.2. Estudos Biológicos	16
1.2.1. Doenças fúngicas.....	16
1.2.2. Ensaio sobre sementes de alface.....	18
1.2.3. Parasitoses	19
1.2.3.1. Doenças tropicais.....	21
2. Objetivos.....	35
3. Materiais e Métodos	35
3.1. Considerações Gerais	35
3.2. Síntese dos fosfonatos de dialquila simétricos.....	35
3.2.1. Síntese do fosfonato de di(n-butila) (62).....	36
3.2.2. Síntese do fosfonato de di-isopropila (63).....	37
3.2.3. Síntese do fosfonato de di-isobutila (64).....	38
3.2.4. Síntese do fosfonato de dissecbutila (65).....	38
3.2.5. Síntese do fosfonato de di-isopentila (66).....	39
3.3. Síntese das dialquifosforilidrazinas.....	40
3.3.1. Síntese da dibutilfosforilidrazina (67).....	40
3.3.2. Síntese da di-isopropilfosforilidrazina (68).....	41
3.3.3. Síntese da di-isobutilfosforilidrazina (69).....	42
3.3.4. Síntese da dissecbutilfosforilidrazina (70).....	43
3.3.5. Síntese da di-isopentilfosforilidrazina (71).....	44
3.4. Síntese das dialquifosforilidrazonas.....	45
3.4.1. Síntese da di-isopropilfosforilidrazona da etilmetilcetona (1).....	46
3.4.2. Síntese da di-isopropilfosforilidrazona da acetona (2).....	47
3.4.3. Síntese da di-isopropilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona (3).....	47
3.4.4. Síntese da di-isopropilfosforilidrazona da cicloexanona (4).....	48
3.4.5. Síntese da dibutilfosforilidrazona da etilmetilcetona (5).....	49
3.4.6. Síntese da dibutilfosforilidrazona da acetona (6).....	50
3.4.7. Síntese da dibutilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona (7).....	51
3.4.8. Síntese da dibutilfosforilidrazona da cicloexanona (8).....	52
3.4.9. Síntese do éster di-isobutílico do ácido, <i>N'</i> [(6 <i>Z</i>)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2H-naftol [1,2- <i>b</i>] piran- 6 (5H)-], fosforoidrazídico (9).....	53
3.4.10. Síntese do éster dibutílico do ácido, <i>N'</i> [(6 <i>Z</i>)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2H-naftol [1,2- <i>b</i>] piran- 6 (5H)- ilideno]-, fosforoidrazídico (10).....	54
3.4.11. Síntese do éster dissecbutílico do ácido, <i>N'</i> [(6 <i>Z</i>)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2H-naftol [1,2- <i>b</i>] piran- 6 (5H)- ilideno]-, fosforoidrazídico (11).....	55
3.4.12. Síntese do éster di-isopentílico do ácido, <i>N'</i> [(6 <i>Z</i>)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2H-naftol [1,2- <i>b</i>] piran- 6 (5H)- ilideno]-, fosforoidrazídico (12).....	56
3.5. Avaliação da atividade biológica dos compostos sintetizados.....	57
3.5.1. Atividade sobre o desenvolvimento sobre o fungo <i>Rhizoctonia solani</i>	57
3.5.2. Atividade sobre a germinação de sementes.....	58
3.5.3. Ensaio de letalidade sobre <i>Leishmania (L.) amazonensis</i> e <i>Trypanosoma cruzi</i>	58
3.5.3.1. Medidas de proliferação celular	58
4. Resultados e Discussão.....	59

4.1. Considerações Gerais	59
4.1.1. Síntese dos fosfonatos de dialquila.....	59
4.1.2. Determinação estrutural dos fosfonatos de dialquila.....	61
4.1.2.1. Análise por espectrometria de infravermelho.....	62
4.1.2.2. Análise por espectrometria de RMN de ^1H	62
4.1.3. Síntese das dialquifosforilidrazinas	65
4.1.4. Determinação estrutural das dialquifosforilidrazinas.....	66
4.1.4.1. Análise por espectrometria de infravermelho.....	67
4.1.4.2. Análise por espectrometria de RMN de ^1H	68
4.1.4.3. Análise por espectrometria de RMN de ^{13}C	68
4.1.4.4. Análise por espectrometria de massas.....	71
4.1.5. Síntese das dialquifosforilidrazonas	73
4.1.6. Determinação estrutural das dialquifosforilidrazonas.....	76
4.1.6.1. Análise por espectrometria de infravermelho.....	76
4.1.6.2. Análise por espectrometria de RMN- ^1H	77
4.1.6.3. Análise por espectrometria de RMN de ^{13}C	85
4.1.6.4. Análise por espectrometria de RMN de ^{31}P	90
4.1.6.5. Análise por espectrometria de massas.....	91
4.2. Avaliação da atividade biológica.....	94
4.2.1. Ensaio com fungo fitopatogênico.....	94
4.2.2. Avaliação da germinação de sementes.....	96
4.2.3. Ensaios com protozoários.....	99
4.2.3.1. Ensaios em <i>T. cruzi</i>	99
4.2.3.2. Ensaios em <i>Leishmania L. amazonensis</i>	101
5. Conclusão	103
6. Bibliografia.....	104

Índice de Figuras

Figura 1: Hidrazonas organofosforadas sintetizadas.....	XIII
Figura 2. Compostos organofosforados com atividade pesticida.....	1
Figura 3. Compostos fosforados tri, tetra, penta e hexacoordenados.....	2
Figura 4. Estrutura química básica de inseticidas organofosforados.....	5
Figura 5. Exemplos de organofosforados com atividade farmacológica.....	5
Figura 6. Organofosforado recomendado como analgésico e antipirético.....	6
Figura 7. Organofosforados familiares do Indometacina e Voltarem.....	6
Figura 8. Compostos com amplo espectro de atividade fisiológica.....	7
Figura 9. Organofosforados utilizados em artrite reumatóide e inflamações cutâneas.....	7
Figura 10. Organofosforado com atividade antiartrite.....	8
Figura 11. Bisfosfonatos que apresentam ação inibitória promissora frente à forma amastigota do protozoário <i>Trypanosoma cruzi</i>	8
Figura 12. Fosforoamidatos com atividade inseticida.....	11
Figura 13. Organofosforados com atividade anticancerígena.....	12
Figura 14. Fragmento triatômico que caracteriza as hidrazonas.....	12
Figura 15. Complexos de hidrazonas com atividade fisiológica.....	13
Figura 16. Hidrazonas com atividade em células leucêmicas e carcinogênicas.....	14
Figura 17. Hidrazonas com atividade analgésica, antineoplásica e anti-microbiana.....	15
Figura 18. Arilidrazona que atua como agente de clivagem do DNA.....	15
Figura 19. Alguns sintomas causados pelo fungo <i>Rhizoctonia Solani</i>	17
Figura 20. Organofosforados com atividade herbicida.....	19
Figura 21. Visão geral do processo de pesquisa e desenvolvimento de um novo fármaco.....	21
Figura 22. Imagem do barbeiro.....	23
Figura 23. Formas parasitárias do <i>T. cruzi</i>	24
Figura 24. Ciclo de vida do <i>T. cruzi</i> . As diferentes formas do <i>T. cruzi</i> ao longo de seu ciclo.....	25
Figura 25. Fármacos de utilidade clínica reconhecida.....	27
Figura 26. Insetos vetores pertencentes aos gêneros <i>Phlebotomus</i> e <i>Lutzomya</i>	27
Figura 27. Manifestações clínicas das leishmanioses.....	28
Figura 28. Casos notificados de leishmaniose tegumentar americana, Brasil- 1980 a 2005.....	29
Figura 29. Formas principais da <i>leishmania</i>	29
Figura 30. Ciclo de vida da LTA.....	31
Figura 31. Fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose.....	33
Figura 32. fosfonato de di(<i>n</i> -butila).....	37
Figura 33. fosfonato de di-isopropila.....	37
Figura 34. fosfonato de di-isobutila.....	38
Figura 35. fosfonato de dissecbutila.....	39
Figura 36. Fosfonato de di-isopentila.....	39
Figura 37. dibutilfosforilidrazina.....	41
Figura 38. di-isopropilfosforilidrazina.....	42
Figura 39. di-isobutilfosforilidrazina.....	43
Figura 40. dissecbutilfosforilidrazina.....	44
Figura 41. di-isopentilfosforilidrazina.....	45
Figura 42. di-isopropilfosforilidrazona da etilmetilcetona.....	46
Figura 43. di-isopropilfosforilidrazona da acetona.....	47
Figura 44. di-isopropilfosforilidrazona da isobutimetilcetona.....	48

Figura 45. di-isopropilfosforilidrazona da cicloexanona.....	49
Figura 46. dibutilfosforilidrazona da etilmetilcetona.	50
Figura 47. dibutilfosforilidrazona da acetona.....	51
Figura 48. dibutilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.	52
Figura 49. dibutilfosforilidrazona da cicloexanona.....	53
Figura 50. éster di-isobutílico do ácido, <i>N'</i> [(6 <i>Z</i>)- 3,4-diidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2H- naftol [1,2- <i>b</i>] piran- 6 (5H)- ilideno] fosforidrazídico.....	54
Figura 51. éster dibutílico do ácido, <i>N'</i> [(6 <i>Z</i>)- 3,4-diidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2H- naftol [1,2- <i>b</i>] piran- 6 (5H)- ilideno] fosforidrazídico.....	55
Figura 52. éster dissecbutílico do ácido, <i>N'</i> [(6 <i>Z</i>)- 3,4-diidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2H- naftol [1,2- <i>b</i>] piran- 6 (5H)- ilideno] fosforidrazídico.....	56
Figura 53. éster di-isopentílico do ácido, <i>N'</i> [(6 <i>Z</i>)- 3,4-diidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2H- naftol [1,2- <i>b</i>] piran- 6 (5H)- ilideno] fosforidrazídico.....	57
Figura 54. Configuração dos possíveis estereoisômeros (9, 10, 11, 12).	74
Figura 55. Hidrogênios alvos do estudo por NOE.	83
Figura 56: Espectro de NOE do composto 3.	84
Figura 57. Imagens do fungo <i>Rhizoctonia solani</i> em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo as dialquilfosforilidrazonas em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,5 mL.50mL ⁻¹) na concentração de 0,5 g.L ⁻¹ . Imagem capturada do efeito fungistático no final do ensaio das placas contendo o controle positivo, controle negativo e os compostos 3, 7 e 8.	95
Figura 58 imagens capturadas após 7 dias na câmara de germinação.....	98
Figura 59. Ensaio sobre <i>T. cruzi</i> das dialquilfosforilidrazonas em concentrações de (50 µM e 200 µM).	100
Figura 60. Promastigotas de <i>Leishmania</i> tratados com derivados de isatina a 50µM. Protozoários avaliados após 72 horas de incubação a 26 °C (± 1 °C) em meio warren suplementado com 10% de soro fetal bovino.....	101
Figura 61 : Espectro de IV do fosfonato de dibutila.....	113
Figura 62: Espectro de RMN de ¹ H do fosfonato de dibutila.....	114
Figura 63: Espectro de massas do fosfonato de dibutila.	115
Figura 64: Espectro de IV do fosfonato de di-isopropila.	116
Figura 65: Espectro de RMN de ¹ H do fosfonato de di-isopropila.	117
Figura 66: Espectro de IV do fosfonato de di-isobutila.....	118
Figura 67: Espectro de RMN de ¹ H do fosfonato de di-isobutila.....	119
Figura 68: Espectro de massas do fosfonato de di-isobutila.	120
Figura 69: Espectro de IV do fosfonato de dissecbutila.....	121
Figura 70: Espectro de RMN de ¹ H do fosfonato de dissecbutila.	122
Figura 71: Espectro de massas do fosfonato de dissecbutila.....	123
Figura 72: Espectro de IV do fosfonato de di-isopentila.....	124
Figura 73: Espectro de RMN de ¹ H do fosfonato de di-isopentila.....	125
Figura 74: Espectro de massas do fosfonato de di-isopentila.....	126
Figura 75: Espectro de IV da dibutilfosforilidrazina.....	127
Figura 76: Espectro de RMN de ¹ H da dibutilfosforilidrazina.....	128
Figura 77: Espectro de RMN de ¹³ C da dibutilfosforilidrazina.....	129
Figura 78: Espectro de massas da dibutilfosforilidrazina.....	130
Figura 79: Espectro de IV da di-isopropilfosforilidrazina.....	131
Figura 80: Espectro de RMN de ¹ H da di-isopropilfosforilidrazina.....	132
Figura 81: Espectro de RMN de ¹³ C da di-isopropilfosforilidrazina.....	133
Figura 82: Espectro de massas da di-isopropilfosforilidrazina.	134
Figura 83: Espectro de IV da di-isobutilfosforilidrazina.....	135

Figura 84: Espectro de RMN de ^1H da di-isobutilfosforilidrazina.....	136
Figura 85: Espectro de RMN de ^{13}C da di-isobutilfosforilidrazina.....	137
Figura 86: Espectro de massas da di-isobutilfosforilidrazina.....	139
Figura 87: Espectro de IV da dissecbutilfosforilidrazina.....	140
Figura 88: Espectro de RMN de ^1H da dissecbutilfosforilidrazina.....	141
Figura 89: Espectro de RMN de ^{13}C da dissecbutilfosforilidrazina.....	142
Figura 90: Espectro de massas da dissecbutilfosforilidrazina.....	143
Figura 91: Espectro de IV da di-isopentilfosforilidrazina.....	144
Figura 92: Espectro de RMN de ^1H da di-isopentilfosforilidrazina.....	146
Figura 93: Espectro de RMN de ^{13}C da di-isopentilfosforilidrazina.....	147
Figura 94: Espectro de massas da di-isopentilfosforilidrazina.....	148
Figura 95: Espectro de IV da di-isopropilfosforilidrazona da etilmetilcetona.....	149
Figura 96: Espectro de RMN de ^1H da di-isopropilfosforilidrazona da etilmetilcetona.....	150
Figura 97: Espectro de RMN de ^{13}C da di-isopropilfosforilidrazona da etilmetilcetona.....	151
Figura 98: Espectro de massas da di-isopropilfosforilidrazona da etilmetilcetona.....	152
Figura 99: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado da di-isopropilfosforilidrazona da etilmetilcetona.....	153
Figura 100: Espectro do NOE da di-isopropilfosforilidrazona da etilmetilcetona.....	154
Figura 101: Espectro de IV da di-isopropilfosforilidrazona da acetona.....	156
Figura 102: Espectro de RMN de ^1H da di-isopropilfosforilidrazona da acetona.....	157
Figura 103: Espectro de RMN de ^{13}C da di-isopropilfosforilidrazona da acetona.....	158
Figura 104: Espectro de massas da di-isopropilfosforilidrazona da acetona.....	159
Figura 105: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado da di-isopropilfosforilidrazona da acetona.....	160
Figura 106: Espectro de IV da di-isopropilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.....	161
Figura 107: Espectro de RMN de ^1H da di-isopropilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.....	162
Figura 108: Espectro de RMN de ^{13}C da di-isopropilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.....	163
Figura 109: Espectro de massas da di-isopropilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.....	164
Figura 110: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado da di-isopropilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.....	165
Figura 111: Espectro de IV da di-isopropilfosforilidrazona da cicloexanona.....	166
Figura 112: Espectro de RMN ^1H da di-isopropilfosforilidrazona da cicloexanona.....	167
Figura 113: Espectro de RMN de ^{13}C da di-isopropilfosforilidrazona da cicloexanona.....	168
Figura 114: Espectro de massas da di-isopropilfosforilidrazona da cicloexanona.....	169
Figura 115: Espectro de RMN ^{31}P totalmente desacoplado da di-isopropilfosforilidrazona da cicloexanona.....	170
Figura 116: Espectro de IV da dibutilfosforilidrazona da etilmetilcetona.....	171
Figura 117: Espectro de RMN ^1H da dibutilfosforilidrazona da etilmetilcetona.....	172
Figura 118: Espectro de RMN ^{13}C da dibutilfosforilidrazona da etilmetilcetona.....	173
Figura 119: Espectro de massas da dibutilfosforilidrazona da etilmetilcetona.....	174
Figura 120: Espectro de RMN ^{31}P totalmente desacoplado da dibutilfosforilidrazona da etilmetilcetona.....	175
Figura 121: Espectro de IV da dibutilfosforilidrazona da acetona.....	176
Figura 122: Espectro de RMN ^1H da dibutilfosforilidrazona da acetona.....	177
Figura 122: Espectro de RMN ^1H da dibutilfosforilidrazona da acetona.....	177
Figura 123: Espectro de RMN ^{13}C da dibutilfosforilidrazona da acetona.....	178
Figura 124: Espectro de massas da dibutilfosforilidrazona da acetona.....	179

Figura 125: Espectro de RMN ^{31}P totalmente desacoplado da dibutilfosforilidrazona da acetona.	180
Figura 126: Espectro de IV da dibutilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.	181
Figura 127: Espectro de RMN ^1H da dibutilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.	182
Figura 128: Espectro de RMN ^{13}C da dibutilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.	183
Figura 129: Espectro de massas da dibutilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.	184
Figura 130: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado da dibutilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.	185
Figura 131: Espectro de IV da dibutilfosforilidrazona da cicloexanona.	186
Figura 132: Espectro de RMN ^1H da dibutilfosforilidrazona da cicloexanona.	187
Figura 133: Espectro de RMN ^{13}C da dibutilfosforilidrazona da cicloexanona.	188
Figura 134: Espectro de massas da dibutilfosforilidrazona da cicloexanona.	189
Figura 135: Espectro de RMN ^{31}P totalmente descoplado da dibutilfosforilidrazona da cicloexanona.	190
Figura 136: Espectro de IV do éster di-isobutílico do ácido $N'[(6Z)-3,4\text{-diidro-}2,2\text{-dimetil-}5\text{-oxo-}2H\text{-naftol [1,2-b] piran-}6(5H)\text{-ilideno}]$, fosforoidrazídico.	190
Figura 137: Espectro de RMN ^1H do éster di-isobutílico do ácido $N'[(6Z)-3,4\text{-diidro-}2,2\text{-dimetil-}5\text{-oxo-}2H\text{-naftol [1,2-b] piran-}6(5H)\text{-ilideno}]$, fosforoidrazídico.	190
Figura 138: Espectro de RMN ^{13}C do éster di-isobutílico do ácido $N'[(6Z)-3,4\text{-diidro-}2,2\text{-dimetil-}5\text{-oxo-}2H\text{-naftol [1,2-b] piran-}6(5H)\text{-ilideno}]$, fosforoidrazídico.	190
Figura 139: Espectro de massas do éster di-isobutílico do ácido $N'[(6Z)-3,4\text{-diidro-}2,2\text{-dimetil-}5\text{-oxo-}2H\text{-naftol [1,2-b] piran-}6(5H)\text{-ilideno}]$, fosforoidrazídico.	190
Figura 140: Espectro de RMN ^{31}P totalmente desacoplado do éster diisobutílico do ácido $N'[(6Z)-3,4\text{-diidro-}2,2\text{-dimetil-}5\text{-oxo-}2H\text{-naftol [1,2-b] piran-}6(5H)\text{-ilideno}]$, fosforoidrazídico.	190
Figura 141: Espectro de IV do éster dibutílico do ácido $N'[(6Z)-3,4\text{-diidro-}2,2\text{-dimetil-}5\text{-oxo-}2H\text{-naftol [1,2-b] piran-}6(5H)\text{-ilideno}]$, fosforoidrazídico.	190
Figura 142: Espectro de RMN ^1H do éster dibutílico do ácido $N'[(6Z)-3,4\text{-diidro-}2,2\text{-dimetil-}5\text{-oxo-}2H\text{-naftol [1,2-b] piran-}6(5H)\text{-ilideno}]$, fosforoidrazídico.	190
Figura 143: Espectro de RMN ^{13}C do éster dibutílico do ácido $N'[(6Z)-3,4\text{-diidro-}2,2\text{-dimetil-}5\text{-oxo-}2H\text{-naftol [1,2-b] piran-}6(5H)\text{-ilideno}]$, fosforoidrazídico.	190
Figura 144: Espectro de massas do éster dibutílico do ácido $N'[(6Z)-3,4\text{-diidro-}2,2\text{-dimetil-}5\text{-oxo-}2H\text{-naftol [1,2-b] piran-}6(5H)\text{-ilideno}]$, fosforoidrazídico.	190
Figura 145: Espectro de RMN ^{31}P totalmente desacoplado do éster dibutílico do ácido $N'[(6Z)-3,4\text{-diidro-}2,2\text{-dimetil-}5\text{-oxo-}2H\text{-naftol [1,2-b] piran-}6(5H)\text{-ilideno}]$, fosforoidrazídico.	190
Figura 146: Espectro de IV do éster dissecbutílico do ácido $N'[(6Z)-3,4\text{-diidro-}2,2\text{-dimetil-}5\text{-oxo-}2H\text{-naftol [1,2-b] piran-}6(5H)\text{-ilideno}]$, fosforoidrazídico.	190
Figura 147: Espectro de RMN ^1H do éster dissecbutílico do ácido $N'[(6Z)-3,4\text{-diidro-}2,2\text{-dimetil-}5\text{-oxo-}2H\text{-naftol [1,2-b] piran-}6(5H)\text{-ilideno}]$, fosforoidrazídico.	190
Figura 148: Espectro de RMN ^{13}C do éster dissecbutílico do ácido $N'[(6Z)-3,4\text{-diidro-}2,2\text{-dimetil-}5\text{-oxo-}2H\text{-naftol [1,2-b] piran-}6(5H)\text{-ilideno}]$, fosforoidrazídico.	190
Figura 149: Espectro de massas do éster dissecbutílico do ácido $N'[(6Z)-3,4\text{-diidro-}2,2\text{-dimetil-}5\text{-oxo-}2H\text{-naftol [1,2-b] piran-}6(5H)\text{-ilideno}]$, fosforoidrazídico.	190
Figura 150: Espectro de RMN ^{31}P totalmente desacoplado do éster dissecbutílico do ácido $N'[(6Z)-3,4\text{-diidro-}2,2\text{-dimetil-}5\text{-oxo-}2H\text{-naftol [1,2-b] piran-}6(5H)\text{-ilideno}]$, fosforoidrazídico.	190
Figura 151: Espectro de RMN ^1H do éster di-isopentílico do ácido $N'[(6Z)-3,4\text{-diidro-}2,2\text{-dimetil-}5\text{-oxo-}2H\text{-naftol [1,2-b] piran-}6(5H)\text{-ilideno}]$, fosforoidrazídico.	190

Figura 152: Espectro de RMN ¹ H do éster di-isopentílico do ácido <i>N'</i> [(6 <i>Z</i>)- 3,4-diidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2 <i>H</i> - naftol [1,2- <i>b</i>] piran- 6 (5 <i>H</i>)- ilideno], fosforidrazídico.....	190
Figura 153: Espectro de RMN ¹³ C do éster di-isopentílico do ácido <i>N'</i> [(6 <i>Z</i>)- 3,4-diidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2 <i>H</i> - naftol [1,2- <i>b</i>] piran- 6 (5 <i>H</i>)- ilideno], fosforidrazídico	190
Figura 154: Espectro de massas do éster di-isopentílico do ácido <i>N'</i> [(6 <i>Z</i>)- 3,4-diidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2 <i>H</i> - naftol [1,2- <i>b</i>] piran- 6 (5 <i>H</i>)- ilideno], fosforidrazídico.....	190
Figura 155: Espectro de RMN ³¹ P totalmente desacoplado do éster di-isopentílico do ácido <i>N'</i> [(6 <i>Z</i>)- 3,4-diidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2 <i>H</i> - naftol [1,2- <i>b</i>] piran- 6 (5 <i>H</i>)- ilideno], fosforidrazídico.....	190

Índice de Esquemas

Esquema 1: Reação do fosfito de trialquila com um halogeneto de alquila.....	3
Esquema 2: Obtenção do fosfonato, fosfinato e óxido de fosfina.....	3
Esquema 3: Reação de Michaelis-Becker.....	4
Esquema 4: Reação de cloretos de fósforo com aminas.....	8
Esquema 5: Preparação do inseticida crufomato.....	9
Esquema 6: Síntese do tabun a partir de fosforamidocloridato e dimetilamina.....	9
Esquema 7: Síntese de fosforamidas a partir de fosfonatos de dialquila.....	10
Esquema 8: Reação de fosfonatos de dialquila com aminas.....	10
Esquema 9. Síntese de 1,2,3-triazóis a partir de <i>bis</i> -fenil-hidrazona.....	14
Esquema 10. Síntese dos fosfonatos de dialquila.....	36
Esquema 11: Síntese das dialquifosforilidrazinas.....	40
Esquema 12: Síntese das dialquifosforilidrazonas.....	45
Esquema 13. Esquema de reação dos fosfonatos de dialquila.....	59
Esquema 14. Mecanismo de obtenção dos fosfonatos de dialquila.....	60
Esquema 15. Reação de obtenção das dialquifosforilidrazinas.....	65
Esquema 16. Mecanismo de síntese das dialquifosforilidrazinas.....	66
Esquema 17. Proposta de fragmentação dos principais picos do composto 7.....	72
Esquema 18. Proposta de fragmentação dos principais picos do composto 8.....	72
Esquema 20. Mecanismos prováveis da síntese das dialquifosforilidrazonas.....	75
Esquema 21. Possível efeito anisotrópico de blindagem sobre a metila.....	77
Esquema 22: Estruturas em equilíbrio nos compostos derivados da β -lapachona.....	91
Esquema 23. Proposta de fragmentação para as dialquifosforilidrazonas derivadas de cetonas alifáticas e alicíclicas.....	92
Esquema 24. Proposta de fragmentação para as dialquifosforilidrazonas derivadas da β -lapachona.....	93

Índice de Tabelas

Tabela 1. Fármacos que entraram no mercado entre 1975 e 1999 destinado as doenças tropicais.	22
Tabela 2. Fármacos para doenças tropicais introduzidos no mercado através de parcerias público-privadas.	23
Tabela 3. Rendimentos dos fosfonatos de dialquila.	61
Tabela 4. Estiramentos das principais bandas de absorção dos fosfonatos de dialquila sintetizados.	62
Tabela 5. Dados de RMN ¹ H dos fosfonatos de dialquila sintetizados	62
Tabela 6. Rendimentos obtidos na síntese dos fosfonatos de dialquila.	66
Tabela 7. Principais bandas de absorção das dialquifosforilidrazinas sintetizadas.	67
Tabela 8. Dados de RMN de ¹ H das dialquifosforilidrazinas	69
Tabela 9. Dados de RMN de ¹³ C das dialquifosforilidrazinas	70
Tabela 10. Relação dos principais picos das dialquifosforilidrazinas e suas respectivas abundâncias.	71
Tabela 11. Compostos sintetizados e seus respectivos rendimentos.	73
Tabela 12. Principais absorções das dialquifosforilidrazonas no IV.	76
Tabela 13. Dados de RMN de ¹ H das di-isopropilfosforilidrazonas.	79
Tabela 14. Dados de RMN de ¹ H das dibutilfosforilidrazonas.	80
Tabela 15. Dados de RMN de ¹ H da dialquifosforilidrazona (9) derivada da β-lapachona ...	81
Tabela 16. Dados de RMN de ¹ H da dialquifosforilidrazona (10) derivada da β-lapachona ..	81
Tabela 17. Dados de RMN de ¹ H da dialquifosforilidrazona (11) derivada da β-lapachona..	82
Tabela 18. Dados de RMN de ¹ H da dialquifosforilidrazona (12) derivada da β-lapachona..	82
Tabela 19. Dados de RMN de ¹³ C das di-isopropilfosforilidrazonas.	86
Tabela 20. Dados de RMN de ¹³ C das dibutilfosforilidrazonas.	87
Tabela 21. Dados de RMN de ¹³ C da dialquifosforilidrazona (9) derivada da β-lapachona...	88
Tabela 22. Dados de RMN de ¹³ C da dialquifosforilidrazona (10) derivada da β-lapachona..	88
Tabela 23. Dados de RMN de ¹³ C da dialquifosforilidrazona (11) derivada da β-lapachona..	89
Tabela 24. Dados de RMN de ¹³ C da dialquifosforilidrazona (12) derivada da β-lapachona..	89
Tabela 25. Dados de RMN de ³¹ P das dialquifosforilidrazonas.	90
Tabela 26. Crescimento miscelial do fungo <i>Rhizoctonia Solani</i> em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo as dialquifosforilidrazonas derivadas de diferentes cetonas em solução com dimetilsulfóxido (DMSO- 0,5 mL.50 mL ⁻¹) na concentração de 0,5 g.L ⁻¹	94
Tabela 27. Percentual de germinação de sementes de alface comercial submetidas ao tratamento com dialquifosforilidrazonas derivadas de diferentes cetonas diluídas em diclorometano na concentração de 0,2 g.L ⁻¹	96
Tabela 28. Percentual de germinação de sementes de alface comercial submetidas ao tratamento com dialquifosforilidrazonas derivadas de diferentes cetonas diluídas em diclorometano na concentração de 0,4 g.L ⁻¹	97
Tabela 29. Atividade inibitória percentual das dialquifosforilidrazonas à 50 μM.....	100
Tabela 30. Porcentagem de inibição dos compostos testados.	101

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

BDA	batata-dextrose-ágar
°C	Graus Celsius
d	duplete
dd	duploduplete
dt	duplo triplete
dq	duplo quarteto
h	hepteto
hd	hepteto de duplete
IC ₅₀	Concentração mínima inibitória de 50% do crescimento
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
LTA	Leishmaniose tegumentar americana
LC	Leishmaniose cutânea
LCD	Leishmaniose cutânea difusa
LV	Leishmaniose visceral
M	Molar
m	multipleto
m/z	relação massa/carga
NSAIDs	drogas anti-inflamatórias não esteroidais
ppm	partes por milhão
q	quarteto
quin	quinteto
RMN- ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN- ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN- ³¹ P	Ressonância Magnética Nuclear de Fósforo 31
s	simpleto
sex	sexteto
st	estiramento
T	Temperatura
t	triplete
δ	Na espectrometria de IV: vibração de deformação Na espectrometria de RMN: deslocamento químico
Δ	Aquecimento
t.a.	temperatura ambiente

RESUMO

GONÇALVES, Vinícius Tomaz. **Síntese, caracterização e estudos biológicos de novas dialquilfosforilidrazonas derivadas de cetonas**. Dissertação de mestrado, Mestre em Ciências, Química Orgânica. Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

Uma série de doze compostos organofosforados inéditos, as dialquilfosforilidrazonas derivadas de cetonas foram sintetizadas em três etapas de reação: a primeira etapa consiste da síntese de diferentes fosfonatos de dialquila que são obtidos através da reação do tricloreto de fósforo (PCl_3) com três mols do correspondente álcool. Na segunda etapa, a reação dos fosfonatos de dialquila com a hidrazina, em um sistema bifásico, leva à formação das dialquilfosforilidrazinas e a última etapa é a condensação destas dialquilfosforilidrazinas com diferentes cetonas.

A análise dos espectros RMN de ^1H e RMN de ^{31}P permitiu evidenciar uma mistura dos dois possíveis diastereoisômeros (*E/Z*) para os compostos derivados de cetonas não simétricas.

Todos os compostos obtidos foram caracterizados por RMN de ^1H , RMN de ^{13}C e RMN de ^{31}P , IV e massas.

Os efeitos das dialquilfosforilidrazonas foram observados na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa*), no desenvolvimento do fungo isolado *Rhizoctonia Solani* e também tiveram suas atividades antiprotozoárias avaliadas sobre tripanossomatídeos.

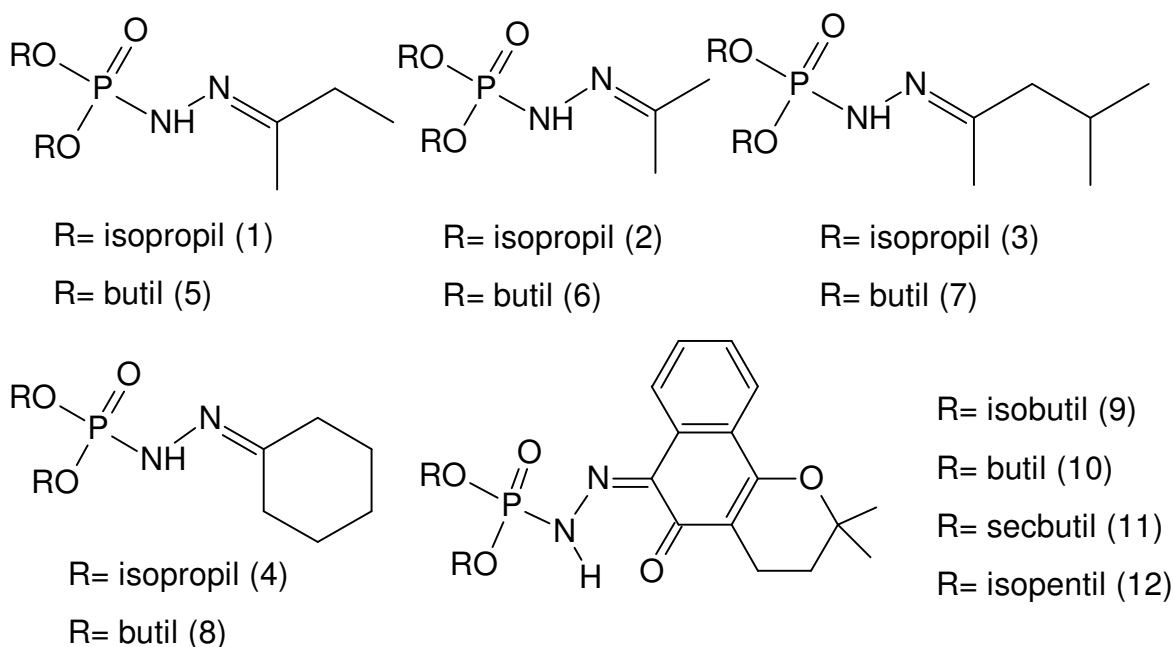


Figura 1: Hidrazonas organofosforadas sintetizadas.

Palavras chave: hidrazonas organofosforadas, dialquilfosforilidrazonas, atividade biológica.

Abstract

Gonçalves, Vinícius Tomaz. New Dialkylphosphorylhydrazones: Synthesis, Characterization and Evaluation of Biological Activity. Seropédica, UFRRJ, 2007. (Master thesis, Master in Science, Organic Chemistry), Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

A series of twelve novel organophosphorus compounds, derived from dialkylphosphorylhydrazone ketones were synthesized in three steps of reaction: the first step is the synthesis of various dialkyl phosphonates which are obtained by reaction of phosphorus trichloride (PCl_3) with three Mols the corresponding alcohols. In the second step, the reaction of the dialkyl phosphonates with hydrazine in a biphasic system leads to the formation of dialkylphosphorylhydrazines and the last step is the condensation of ketones with different dialkylphosphorylhydrazines.

The analysis of NMR spectra of ^1H and ^{31}P NMR allowed to show a mixture of two possible diastereoisomers (E / Z) for the compounds derived from non-symmetrical ketones.

All compounds were characterized by the ^1H NMR, and ^{13}C NMR of the ^{31}P NMR, IR and mass.

The effects of dialkylphosphorylhydrazones in the germination of lettuce (*Lactuca sativa*) and on the development of the isolated fungus *Rhizoctonia solani* were observed and their activities were evaluated on antiprotozoária trypanosomatids.

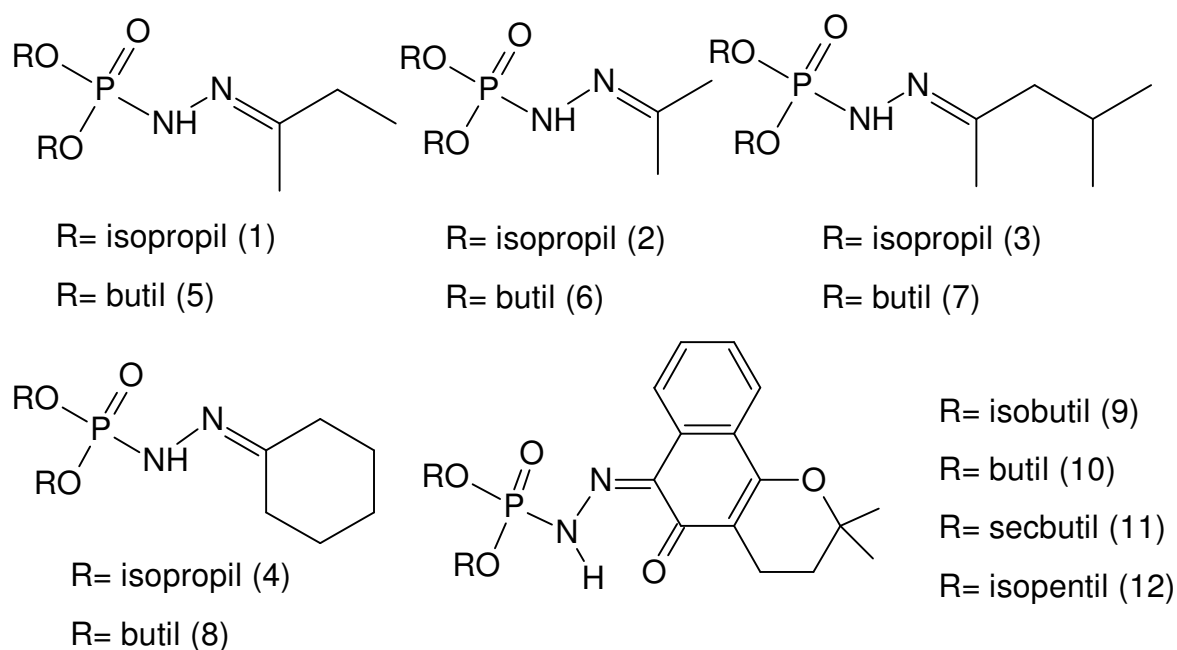


Figure 1: Organophosphorus hydrazones synthesized.

Key words: organophosphorus hydrazones, dialkylphosphorylhydrazones, biological activity.

1. Introdução

1.1. Revisão da Literatura

1.1.1. Compostos Organofosforados

O fósforo é um elemento vital na composição da matéria viva e não se conhece um organismo vivo que não contenha este elemento. 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 nucleicos, coenzimas nucleotídeos, intermediários metabólicos e fosfatídeos. Muitos compostos organofosforados são produzidos artificialmente para usos práticos como lubrificantes, retardadores de chama, óleo aditivos, plastificantes, atividades de enriquecimento de urânio e tório e extração seletiva de háfnio em minérios que contém zircônio, estabilizantes, antioxidantes e fertilizantes, pesticidas entre outras (ETO, 1974, WALSH *et al.*, 1992; TOY, 1976, KIRK-OTHMER, 1951).

Atuando como pesticidas, os organofosforados não incluem somente inseticidas, mas também fungicidas, herbicidas, nematocidas, acaricidas e moluscicidas (**Figura 2**). Esta gama de atribuições refletidas pela atuação desses compostos permitem destacar a enorme influência de suas estruturas, onde o átomo de fósforo, através de sua distribuição eletrônica com orbitais d acessíveis e também por ser um átomo polarizável e eletropositivo desempenha um papel fundamental (CADOGAN & HODGSON, 1987).

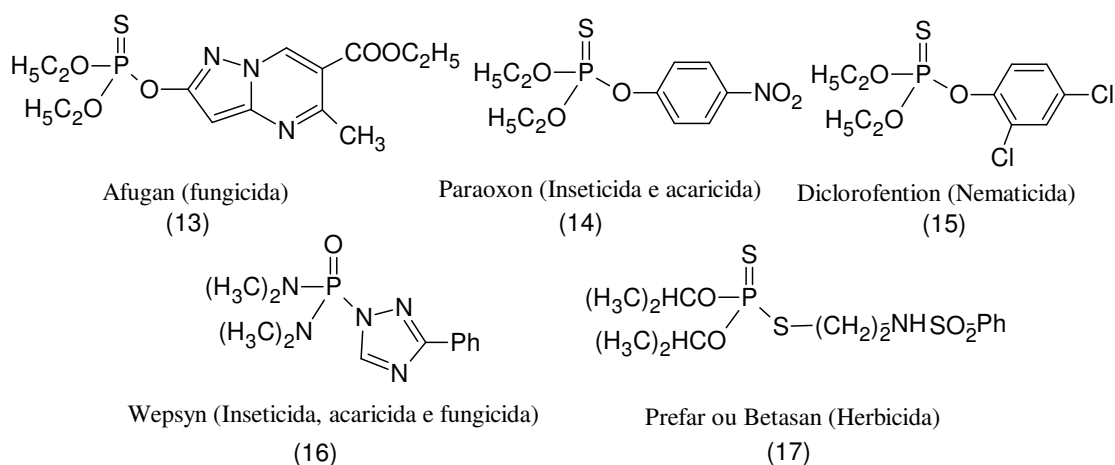


Figura 2. Compostos organofosforados com atividade pesticida.

Uma outra característica do elemento fósforo reside em sua capacidade de realizar inúmeras coordenações [P(III) → P(IV) → P(V) → P(VI)] (**Figura 3**), devido a alguns fatores, tais como a alta nucleofilicidade dos compostos de fósforo trivalente, alquilfosfitos e arilfosfinas, à forte ligação formada entre o átomo de fósforo e heteroátomos como O, S, N e halogênios, à capacidade do átomo de fósforo em estabilizar ânions adjacentes, o que possibilita a formação de vários íldeos de fósforo, e também à sua capacidade de atuar como eletrófilo, o que confere elevada versatilidade aos compostos de fósforo, em especial aos organofosforados (CADOGAN, 1979).

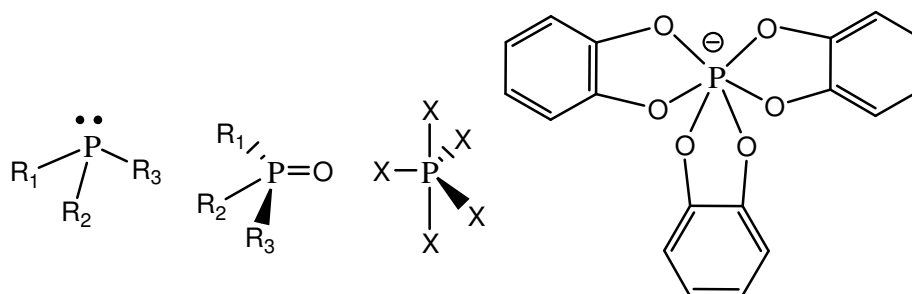
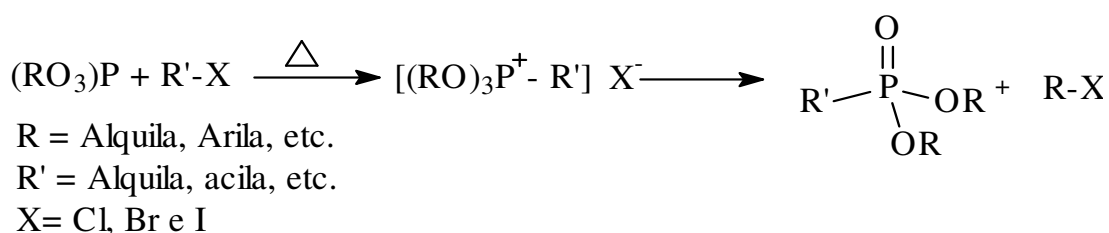


Figura 3. Compostos fosforados tri, tetra, penta e hexacoordenados.

Este vasto conhecimento pelas propriedades e características do fósforo no campo da química ocorreu, primeiramente, pelos estudos de Lassaigne em 1820, na preparação de ésteres fosfatos (ETO, 1974). A química dos compostos organofosforados foi desenvolvida por Michaelis, conhecido como o fundador da química dos compostos organofosforados, que no final do século passado explorou a nucleofilicidade do fósforo (MICHAELIS & KAEHNE, 1898) que foi estudada em detalhes por ARBUZOV (1906) e vários outros cientistas subsequentes (HARVEY & DESOMBRE, 1964). Michaelis executou muitos trabalhos para a química de compostos contendo a ligação P-N (ETO, 1974). Sobrepondo os últimos estágios de Michaelis, um químico Russo, A. E. Arbuzov, conduziu extensivamente a pesquisa, especialmente na química de compostos trivalentes, incluindo a famosa reação Michaelis-Arbuzov para formar a ligação P-C (ARBUZOV, 1906). Este trabalho foi continuado por seu irmão B. A. Arbuzov.

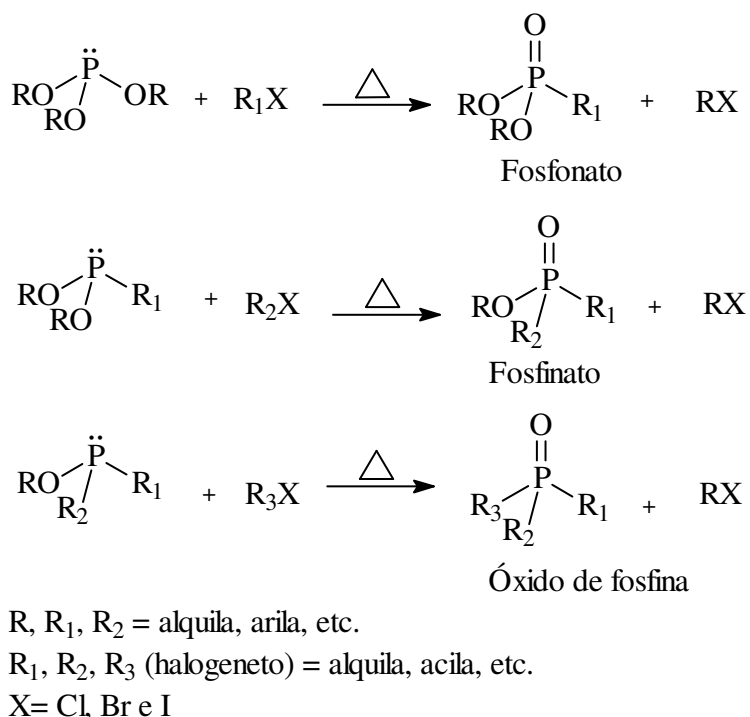
O rearranjo de Michaelis-Arbuzov, também conhecido como rearranjo de Arbuzov, é um dos caminhos mais versáteis para a formação da ligação carbono-fósforo que envolve a reação de um fosfito de trialquila com um halogeneto de alquila (FORD-MOORE & PERRY, 1963; CADOGAN, 1979), **Esquema 1**.



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 *et al.*, 1981).

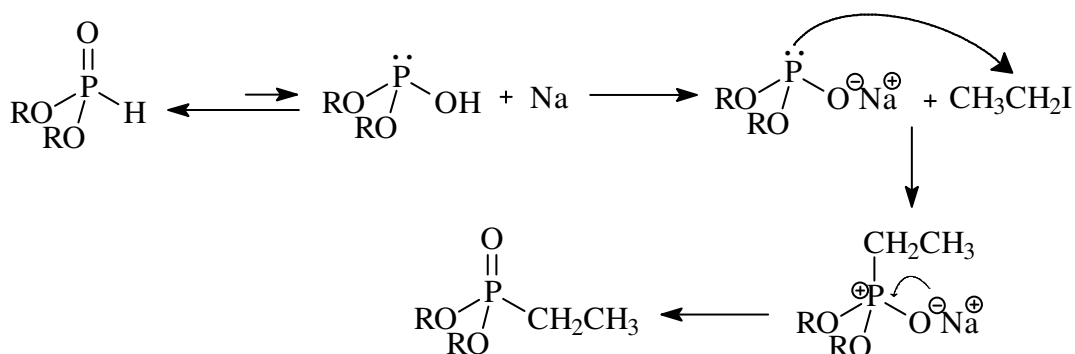
Durante a transformação, o fósforo trivalente (P^{III}) é convertido em fósforo pentavalente (P^{V}). Em geral, o grupo alquila do halogeneto liga-se ao fósforo e um grupo alquila do fósforo é combinado com o halogênio para formar um novo halogeneto de alquila, conforme é mostrado no **Esquema 2**.



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

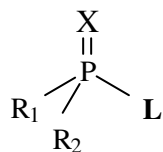
A literatura registra que a conversão de P-O-C para P(=O)-C ($\text{P}^{\text{III}} \rightarrow \text{P}^{\text{V}}$) envolve uma quantidade de energia em torno de 32-65 Kcal/mol na estabilização total da ligação e, portanto, age como força diretora do rearranjo (MARK, 1969).

Uma outra variação, conhecida como reação de Michaelis-Becker (MICHAELIS & BECKER, 1897) envolve a síntese de fosfonato 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 alquila, conforme mostrado no **Esquema 3**.



Esquema 3: Reação de Michaelis-Becker.

A estrutura básica dos compostos organofosforados está mostrada na **Figura 4**. Usualmente, R_1 e R_2 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, R_1 está diretamente ligado ao átomo de fósforo, e R_2 está ligado por um átomo de oxigênio ou de enxofre (formando fosfonatos ou tiofosfonatos). Em fosforamidatos, no mínimo um destes grupos é o NH_2 . O grupo amino dos fosforamidatos podem ser não substituído, mono ou disubstituído. O átomo formando ligação dupla com o fósforo pode ser oxigênio ou enxofre. Finalmente, o grupo L pode pertencer a uma variedade de grupos halogênicos, alifáticos, aromáticos ou heterocíclicos. O grupo -L, ligado através de um oxigênio ou átomo de enxofre e os mesmos ligando-se ao átomo de fósforo, é chamado de grupo de saída, porque este é liberado a partir do átomo de fósforo quando o mesmo é hidrolizado pela fosfotriesterase (PTE), ou sobre interação com o sítio da proteína. (SOGORB & VILANOVA, 2002).



X = O, S e Se

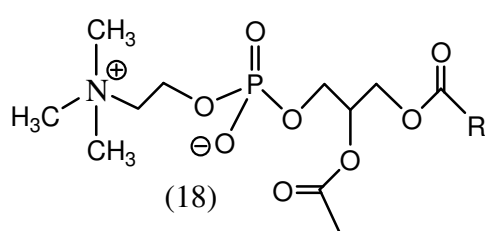
R₁; R₂ = alquil, SR', OR' ou NHR'

L = halogênio; alquil ou heterocíclico

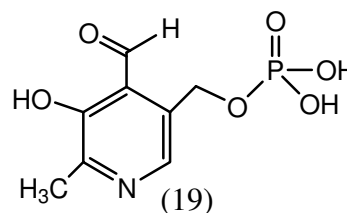
Figura 4. Estrutura química básica de inseticidas organofosforados.

Nos últimos anos as ações destes compostos no estudo de atividades farmacológicas tem despertado um grande interesse, onde destacam-se atividades como: anticolinesterásica, antiglaucoma, antiblastoma, anti-helmíntica, antiviral, antiarteroesclerose, antibacteriana, antiartrite, anti-hipoglicêmica e compostos de fósforo que são classificados como vitaminas (YUDELEVICH *et al.*, 1986; LANÇAS *et al.*, 2005; DOS SANTOS *et al.*, 2007).

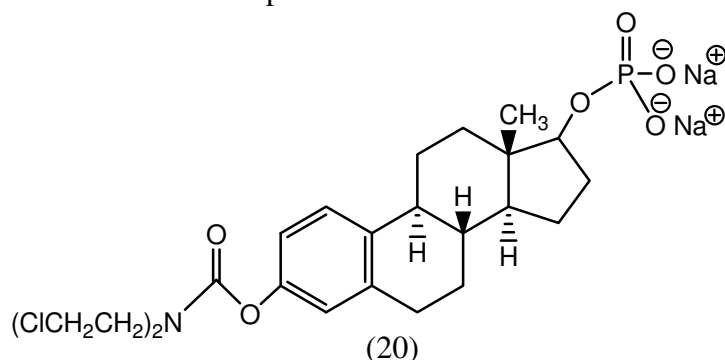
A **figura 5** apresenta alguns exemplos de compostos organofosforados com atividade farmacológica.



R= resíduos presentes em ácidos graxos
atividade neurotrópica



Forma ativa da vitamina B6



Atividade antifúngica e contra dermatite alérgica

Figura 5. Exemplos de organofosforados com atividade farmacológica.

Um método amplamente utilizado para a criação de novos NSAIDs (drogas anti-inflamatórias não esteroidais), é a introdução de fragmentos contendo fósforo dentro da molécula de um conhecido anti-inflamatório. Em todos os casos, isto leva a manutenção ou reforço da atividade dos compostos em uma diminuição de sua ação ulcerativa e em uma série de outros efeitos colaterais.

Drogas anti-inflamatórias (esteroidais e não esteroidais) são utilizadas no tratamento de várias condições inflamatórias. O uso de esteróides em práticas clínicas está sujeito a um grande número de restrições devido aos seus efeitos e complicações (VOGRALIK, 1974; SIGIDIN *et al.*, 1988). Como resultado NSAIDs tornaram-se mais amplamente utilizadas, causando menos efeitos colaterais (MASHKOVSKII, 1980).

Derivados do paracetamol (**Figura 6**) são recomendados como analgésico e antipirético na forma de sais solúveis em água de lisina, glicina e adenosina (WEST GERMAN PATENT 2949669, 1980).

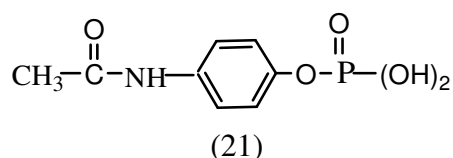


Figura 6. Organofosforado recomendado como analgésico e antipirético.

Os compostos **Figura 7**, são familiares das drogas Indometacina e Voltarem, contendo o grupo β-amino etilfosfato.

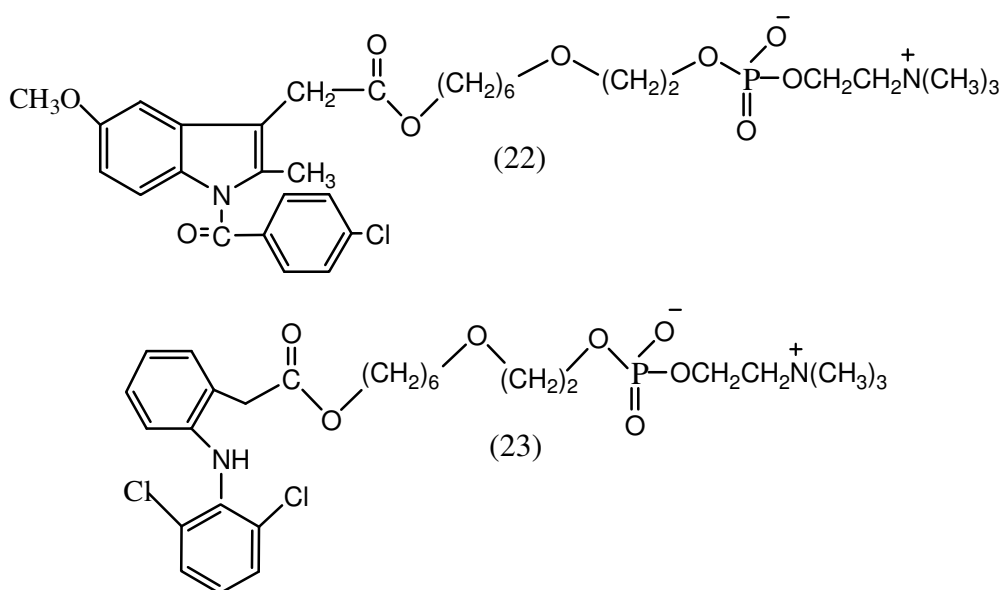
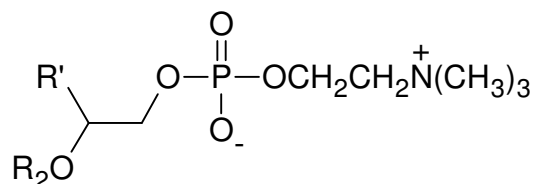


Figura 7. Organofosforados familiares do Indometacina e Voltarem.

Outros compostos, também com a estrutura da betaína (**Figura 8**), derivados da fosforilcolina, são caracterizados por amplo espectro de atividade fisiológica, incluindo ação anti-inflamatória (EUROPEAN PATENT 210804, 1987; JAPANESE PATENT 6168494, 1986).

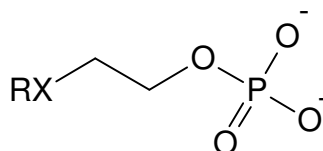


$R' = [\text{aquil (C}_{10}\text{-C}_{24})]; R_2 = \text{Me (24).}$

$R' = [\text{aquil (C}_{10}\text{-C}_{24})]; R_2 = \text{Et. (25)}$

Figura 8. Compostos com amplo espectro de atividade fisiológica.

Um número de fosfatos substituídos tem sido sintetizados em investigações para atividade anti-inflamatória. Alguns deles têm sido recomendado para tratamento de artrite reumatóide e inflamações cutâneas (**Figura 9**).



$R = \text{C}_{11}\text{H}_{23}, X = \text{-NHC(O)NH- (26); } \text{C}_{16}\text{H}_{33}, X = \text{-NHC(O)NH- (27);}$

$R = \text{C}_{11}\text{H}_{23}, X = \text{-NHC(O)O- (28); } \text{C}_{16}\text{H}_{33}, X = \text{-NHC(O)O- (29)}$

Figura 9. Organofosforados utilizados em artrite reumatóide e inflamações cutâneas.

Compostos que possuem complexos de fósforo trivalente com sais de ouro (fosfinas e fosfatos), como os tiolatos, exibem atividade antiartrite. Um exemplo é o derivado da tioglucose (auranofin) (BERNERS-PRICE & SADLER, 1987; CROOKE *et al.*, 1986) (**Figura 10**).

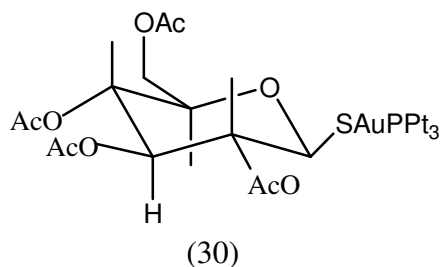


Figura 10. Organofosforado com atividade antiartrite.

Os bisfosfonatos mostrados na **(Figura 11)** apresentaram ação inibitória sobre o crescimento do protozoário *Trypanosoma cruzi*, *in vivo* e *in vitro*. Esta ação é devida à inibição da enzima farnesil pirofosfato sintase, envolvida na rota sintética de esteróis essenciais à vida do protozoário, dentre eles o ergosterol (RODRIGUEZ *et al.*, 2001; LANÇAS *et al.*, 2005).

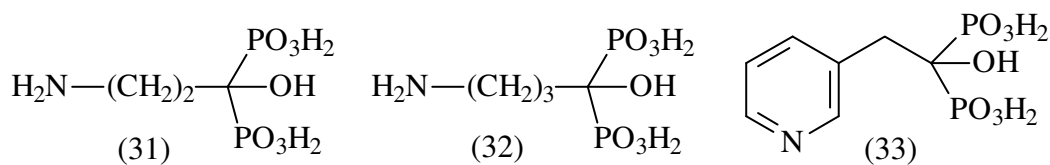
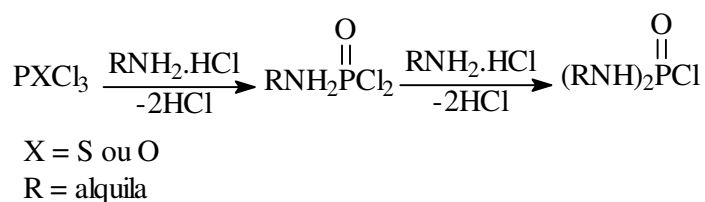


Figura 11. Bisfosfonatos que apresentam ação inibitória promissora frente à forma amastigota do protozoário *Trypanosoma cruzi*.

Dentre as classes dos organofosforados encontram-se os fosfoacetatos, fosforotioatos, fosforocloridratos, fosfonatos, fosforomidatos entre outros. Esta última classe tem sido alvo de pesquisa do nosso grupo.

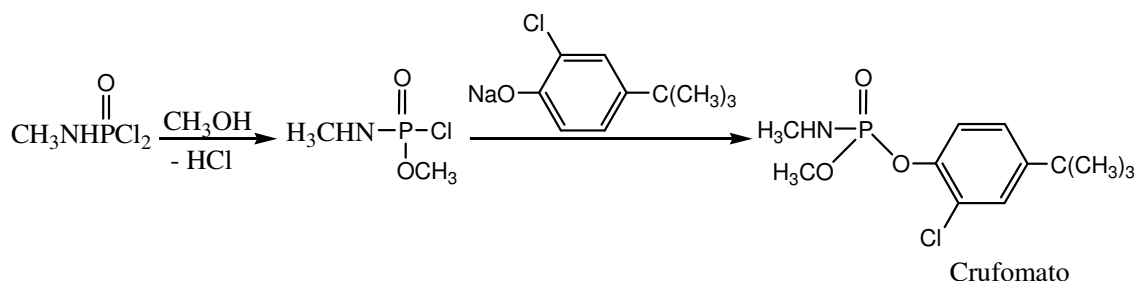
1.1.1.1. Fosforamidatos

A ligação P-N, que caracteriza as fosforamidas, é geralmente formada por reações de cloretos de fósforo (PCl_3), cloreto de fosforila ou compostos trivalentes de fósforo com diferentes aminas ou amônia (TOY, 1976; FISHER & VAN WAZER, 1961). **Esquema 4.**



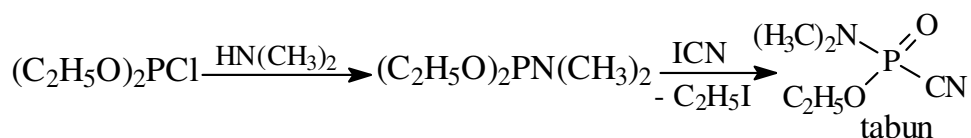
Esquema 4: Reação de cloretos de fósforo com aminas.

A partir de cloretos fosforamídicos, uma variedade de pesticidas do tipo fósforo-alcoxi e fósforo-amido-ésteres podem ser produzidas, como por exemplo, a preparação do crufomato (RAJSKI & WILLIAMS, 1998), **Esquema 5**.



Esquema 5: Preparação do inseticida crufomato.

Os fosforamidocloridatos de dialquila reagem com aminas para preparação dos correspondentes amidetos, como na preparação do tabun, conhecido como gás do nervo, utilizado na II Guerra Mundial, por agir no sistema nervoso interagindo com a acetilcolinesterase de vertebrados e invetebrados, como é mostrado no **Esquema 6** (SAUNDERS, 1957).

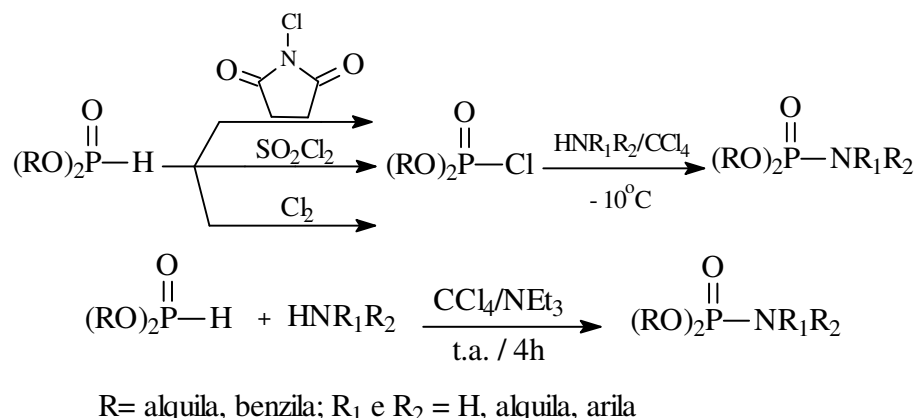


Esquema 6: Síntese do tabun a partir de fosforamidocloridrato e dimetilamina.

Os métodos de síntese de fosforamidas foram descritos a partir de 1945 com uma série de trabalhos realizados por Atherton *et al.* (ATHERTON & OPENSHAW, 1945).

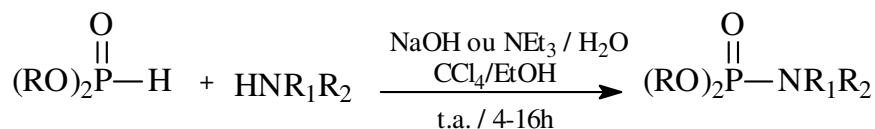
Nos trabalhos iniciais, fosforilcloridatos de dialquila formados como intermediário de reação eram usados como agentes de fosforilação, em meio anidro, conforme mostrado no **Esquema 7**.

Posteriormente, foi descoberto que fosfonatos de dialquila reagem diretamente com aminas e tetracloreto de carbono em meio básico, de modo mais brando e com resultados igualmente satisfatórios. Os fosfonatos de dialquila reagem suavemente com aminas primárias, secundárias ou amônia em tetracloreto de carbono para fornecer fosforamidatos de dialquila em excelentes rendimentos, **Esquema 7** (ATHERTON & OPENSHAW, 1945).



Esquema 7: Síntese de fosforamidas a partir de fosfonatos de dialquila.

Com pequenas modificações dos métodos de Atherton, Zhao *et al.* (ZHAO *et al.*, 1984 e 1988) desenvolveram uma nova reação de fosforilação de aminas, que utiliza meio aquoso em reação bifásica com fosfito de diisopropila e tetracloreto de carbono, **Esquema 8**. Estas modificações melhoram, principalmente, os rendimentos das reações com aminoácidos e com aminas insolúveis em tetracloreto de carbono.



Esquema 8: Reação de fosfonatos de dialquila com aminas.

Desde que o grupo amida apresentou atividade pesticida, vários compostos desta classe são úteis como inseticidas. Os fosforamidatos derivados a partir de aminas secundárias e terciárias são, geralmente, menos ativos como inseticidas, do que destes derivados a partir de aminas primárias e amônia. Alguns exemplos de inseticidas do tipo fosforamidatos são mostrados na **Figura 12**.

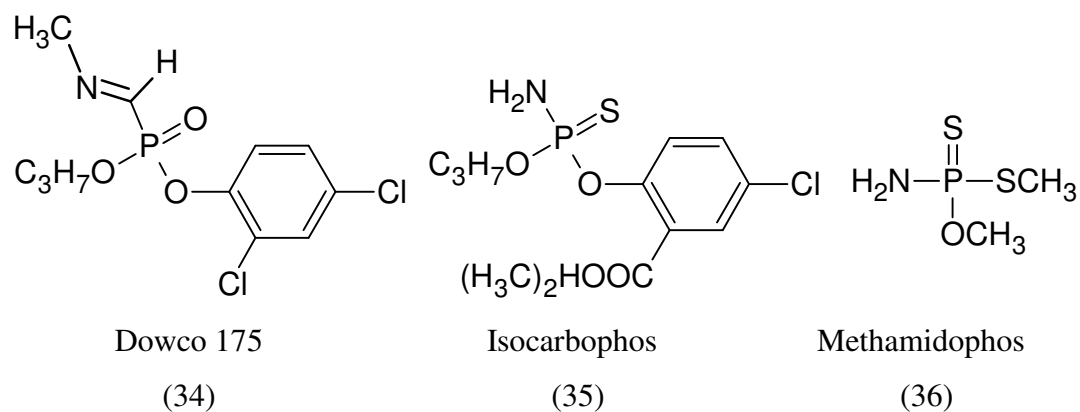


Figura 12. Fosforoamidatos com atividade inseticida.

Os fosforamidatos estão sendo empregados em uma nova estratégia denominada fosforamidato pró-nucleotídeo (“Phosphoramidate ProTide” no inglês). Esta estratégia consiste na modificação química de análogos de nucleosídeos através da introdução de um grupamento fosforamidato na estrutura destes compostos. Os análogos de nucleosídeos são, atualmente, os compostos de maior importância nos tratamentos antivirais, além de estarem proporcionando significativos avanços no tratamento quimioterápico do câncer. No entanto, para que os análogos de nucleosídeos, que são considerados pró-fármacos, apresentem atividade antiviral e antitumoral, há a necessidade de que estes compostos sofram fosforilação *in vivo*, através de trifosfatos, convertendo-os na sua forma ativa, denominada nucleotídeos. A conversão dos análogos de nucleosídeos em nucleotídeos ocorre através da interação com quinases. A ineficácia no processo de fosforilação acarreta na menor atividade dos análogos de nucleosídeos e se constitui numa limitação do uso de muitos destes compostos como pró-fármacos. Sendo assim, a introdução de um grupamento fosforamidato na estrutura de análogos de nucleosídeos, confere um maior caráter fosforilado à molécula, contribuindo para o processo total de conversão dos nucleosídeos em nucleotídeos, uma vez que elimina etapas iniciais do processo de fosforilação (GILBERT *et al.*, 2000; McGUIGAN *et al.*, p. 452, 2006; McGUIGAN *et al.*, p. 7215, 2006).

Os fosforamidatos pró-nucleotídeos apresentados na **Figura 13** apresentam atividade anticancerígena, quimioterápica de largo espectro e anti-helmíntica (McGUIGAN *et al.*, p. 452, 2006).

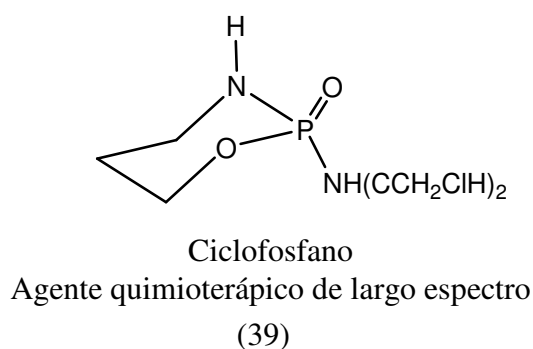
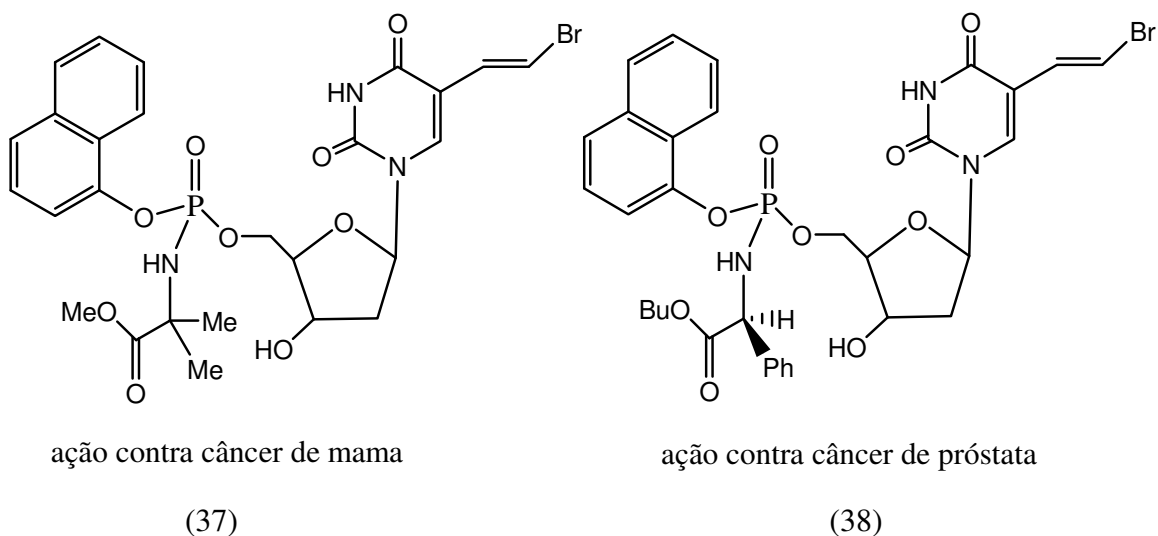


Figura 13. Organofosforados com atividade anticancerígena.

1.1.2. Hidrazonas

Na literatura química, as hidrazonas não são usualmente reconhecidas como formadoras de uma classe diferenciada de compostos orgânicos, sendo frequentemente consideradas como substâncias derivadas de compostos carbonílicos. São consideradas hidrazonas, todos os compostos cujas moléculas possuem em sua estrutura uma porção triatômica conforme a apresentada na **figura 14**, considerando que esta não pertença a um heterociclo (KITAIEV & BUZYKIN, 1972).

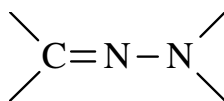


Figura 14. Fragmento triatômico que caracteriza as hidrazonas.

a 14 μM respectivamente. As maiores atividades destas hidrazonas foram frente à leucemia (COLLA *et al.*, 2006).

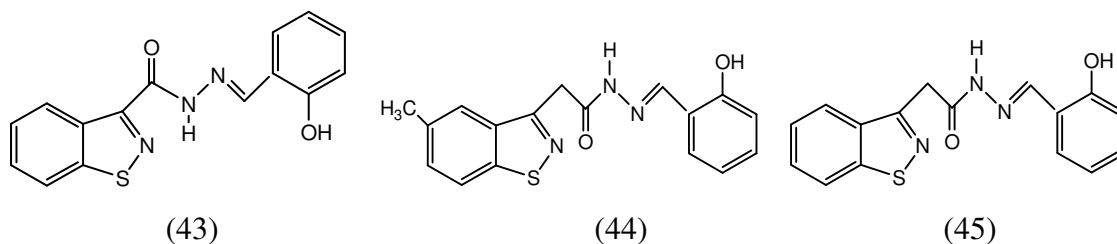
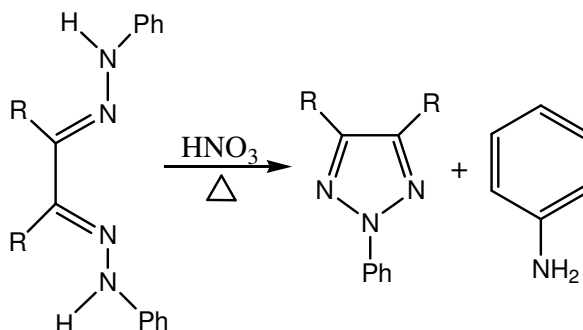


Figura 16. Hidrazonas com atividade em células leucêmicas e carcinogênicas.

Hidrazonas são muito utilizadas na formação de compostos heterocíclicos aromáticos azóicos, onde se destacam os nitrogenados de cinco membros como o 1,2,3-triazol, que tem despertado muito interesse pelo fato de possuírem um vasto campo de aplicações, que vão desde usos como explosivos, agroquímicos e fármacos. A síntese pioneira de 1,2,3-triazóis foi a preparação de 2-aryl-1,2,3-*H*-triazóis desenvolvida por Pechmann, em 1888, que tratou a *bis*-fenil-hidrazona derivadas de compostos 1,2-dicarbonílicos com ácido nítrico (PECHMANN *et al.*, 1988) (**Esquema 9**).



Esquema 9. Síntese de 1,2,3-triazóis a partir de *bis*-fenil-hidrazona.

As sulfonil-hidrazonas apresentam grande versatilidade farmacológica que vão desde atividades analgésicas, atividade antineoplásica e atividade anti-microbiana (LIMA *et al.*, 1999) (**Figura 17**).

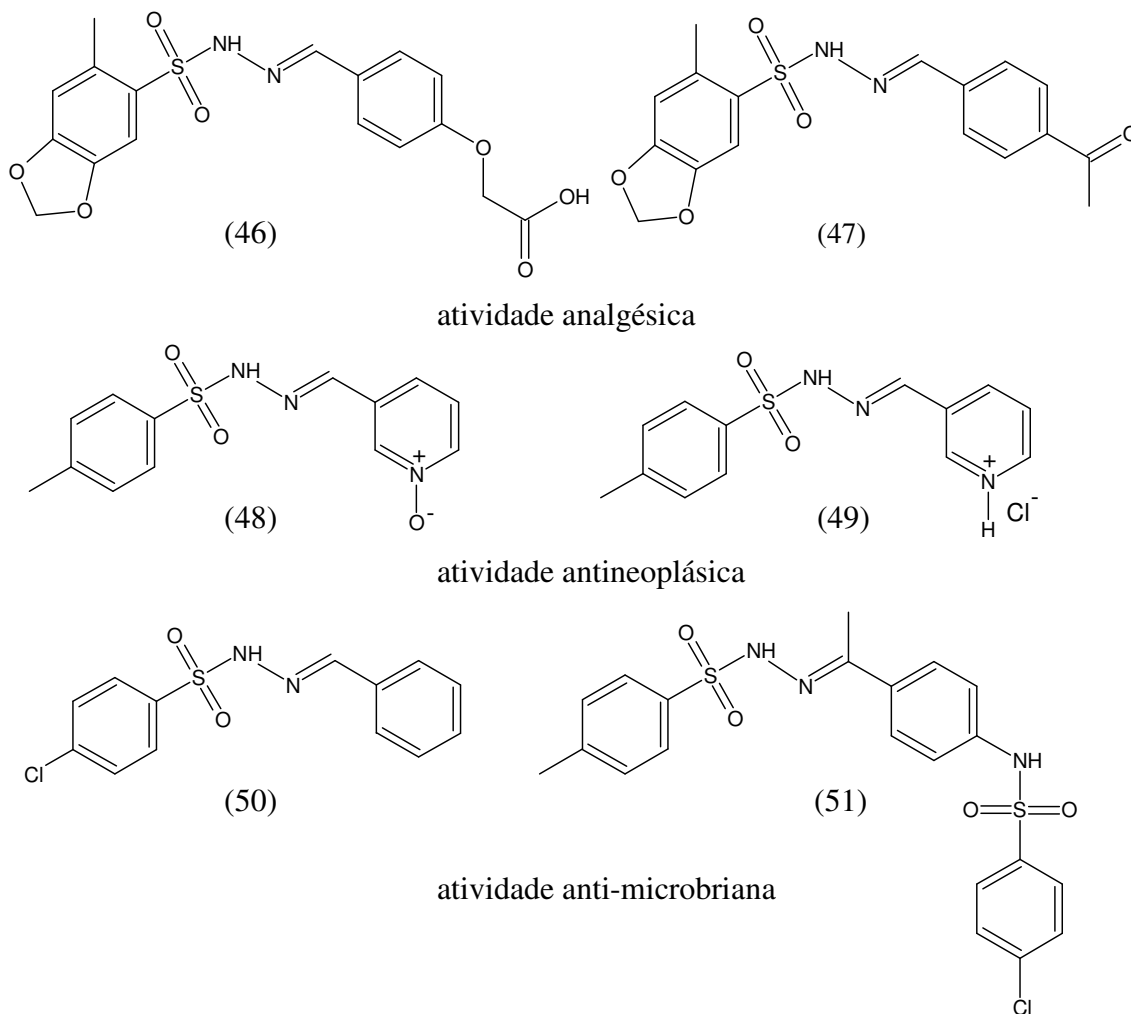


Figura 17. Hidrazonas com atividade analgésica, antineoplásica e anti-microbiana.

Uma série de arilidrazonas substituídas foram sintetizadas e avaliadas quanto ao potencial de clivagem do DNA. O tamanho e a forma destas arilidrazonas em relação ao encaixe no DNA, aliados à estabilidade e ao tempo de meia vida dos radicais intermediários gerados fotoquimicamente, são essenciais para a capacidade de clivagem. Dentre as arilidrazonas testadas, o composto abaixo (**Figura 18**) apresentou a maior atividade de clivagem do DNA (HWU *et al.*, 2004).

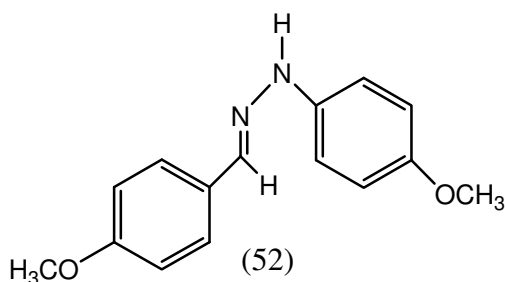


Figura 18. Arilidrazona que atua como agente de clivagem do DNA.

1.2. Estudos Biológicos

1.2.1. Doenças fúngicas

Doenças de plantas são definidas como uma série de respostas visíveis e invisíveis de células e tecidos da planta à presença de um agente patogênico ou a fatores ambientais que resultam em alterações adversas na forma, função ou integridade da planta que podem resultar em dano potencial, morte da planta ou de partes dela (KIMATI, 1995; AGRIOS, 1997).

No passado, as doenças fúngicas foram responsáveis por grandes tragédias as quais resultaram na perda de milhões de vidas humanas, falência de bancos e produtores, mudança de hábitos alimentares, etc. (KIMATI, 1995; AGRIOS, 1997). Apesar das doenças fúngicas não mais causarem grandes catástrofes humanitárias, elas provocam prejuízos importantes, não só para os produtores, mas também para as comunidades rurais, para os consumidores que são obrigados a gastar mais para obter o mesmo produto, ou até mesmo mudar de produto e para os governos que têm de investir em novas pesquisas e programas de controle.

A palavra fungicida significa tudo aquilo que é capaz de matar fungos. Dessa forma, calor, ácidos, luz ultravioleta e outros agentes físicos podem ser considerados fungicidas. Entretanto, devido ao interesse prático de seu uso no controle de doenças de plantas, o termo fungicida é utilizado de forma restrita a compostos químicos capazes de prevenir ou atenuar infecções de tecidos de plantas vivas por fungos fitopatogênicos. Dentro deste conceito, substâncias que, sem serem letais, inibem a germinação de esporos e o crescimento miceliano (fungistáticas) e aquelas que, permitindo o crescimento miceliano, inibem a reprodução por esporulação (anti-esporulantes), são consideradas fungicidas (AZEVEDO, 2003).

Dentre os fitopatógenos se destacam os dos gêneros *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Verticillium*, *Sclerotium* e *Sclerotinia* que são muito importantes por serem encontrados em vários tipos de solo e afetarem diversas culturas de importância econômica, incluindo hortaliças, fruteiras, gramíneas e leguminosas, entre outras.

Os sintomas visíveis causados por esses fungos, na parte aérea das plantas, são tombamento, murcha, seca dos ponteiros, escurecimento ou podridão de tecidos, que refletem os danos causados às plantas, embora, na maioria dos casos, não seja possível identificar qual(is) o(s) patógeno(s) responsável(is) pela doença.

Os sintomas de tombamento de plântulas e podridão de raiz, por exemplo, são observados em várias culturas (**Figura 19**), podendo ser causados por *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* ou *Fusarium*, de forma individual ou pela combinação de um ou mais patógenos.

Portanto, devido à similaridade dos sintomas causados por esses organismos, torna-se necessária a identificação correta do(s) agente(s) causal(is) para que sejam tomadas as medidas apropriadas para o controle eficiente da doença.

Segundo GOULART (2001), *Rhizoctonia solani* é o principal causador do tombamento do algodoeiro no Brasil (**Figura 19**), pela frequência com que ocorre (mais de 95% dos casos são causados por este fungo) e pelos danos que causa na fase inicial de estabelecimento da lavoura.

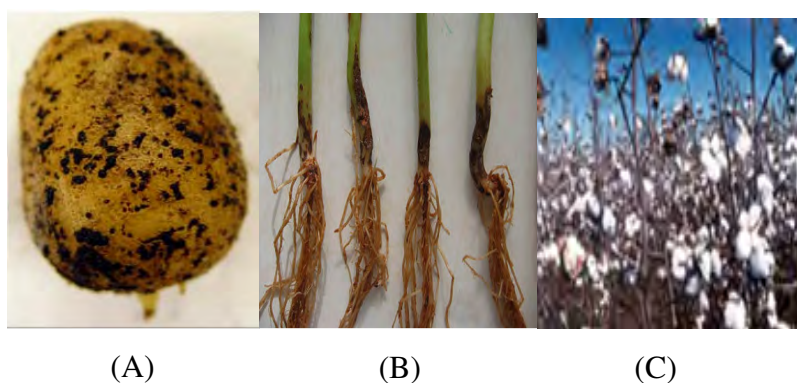


Figura 19. Alguns sintomas causados pelo fungo *Rhizoctonia Solani*: sarna da batata (A)(www.potatodiseases.org/rhizoctonia.html); podridão radicular (B) e tombamento do algodoeiro (C) (sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHT).

O fungo *Rhizoctonia solani* merece destaque por ser um parasita necrotrófico (coloniza tecidos vivos e também consegue retirar nutrientes de células mortas, para o seu desenvolvimento). Aliado a isso, esse fungo é habitante do solo e tem a capacidade de desenvolver estruturas de resistência denominadas microescleródios que permitem a sua sobrevivência em condições desfavoráveis por um longo período. COOK (1977), relata que os restos de cultivo deixados na superfície, ou parcialmente enterrados, podem permitir a sobrevivência dos patógenos, durante períodos adversos até a implantação de um novo cultivo.

Medidas de controle para *R. solani* limitam-se apenas ao uso de práticas culturais que desfavoreçam o seu desenvolvimento como por exemplo, uso de um espaçamento adequado, semeadura rasa visando permitir uma rápida germinação e, principalmente, rotação de cultura, pois esse gênero pode sobreviver facilmente em restos de cultura. O deslincamento químico associado ao tratameto de sementes é uma prática recomendável principalmente para os

patógenos causadores de tombamento que são veiculados externa ou internamente às sementes e os fungicidas mais recomendados são benomyl, captan, thiabendazol e a mistura de benomyl + thiram (CIA & SALGADO, 1997).

O emprego de fungicidas em larga escala na agricultura com o objetivo de controlar fitopatógenos começou com a descoberta de forma acidental por Millardet em 1882 e consistia em uma mistura de sulfato de cobre neutralizado com hidróxido de cálcio que foi utilizada sobre vinhedos mostrando-se efetiva contra o míldio da videira, causado pelo oomiceto *Plasmopora viticola* (DEKKER & GEORGOPOULOS, 1982; KIMATI, 1995). A partir de então, diversos grupos de substâncias com ação fungicida foram sendo descobertos, desenvolvidos e utilizados comercialmente pelos agricultores. Os mercúrios por volta de 1914, os ditiocarbamatos na década 30, heterocíclicos nitrogenados em 1949, ftalonitrilas e os primeiros fungicidas sistêmicos (carboxin e benomyl) nos anos 60, os triazóis na década de 70 (DEKKER & GEORGOPOULOS, 1982; KIMATI, 1995) e as estrobilurinas no final dos anos 90 (AZEVEDO, 2003).

Pesquisas de novas substâncias ativas tem se mostrado cada vez mais um processo, lento e caro para as empresas. Baseado no princípio da aleatoriedade, a quantidade de compostos orgânicos sintetizados em relação à de compostos introduzidos no mercado vem diminuindo enquanto que o tempo desse processo vem crescendo sensivelmente ano após ano. Nos anos 60, era necessário sintetizar 4.000 compostos para que um chegasse ao mercado, num prazo de avaliação de 4 a 5 anos. No início da década de 90, esta proporção era de um produto comercial para 20.000 sintetizados para um período de 8 a 10 anos de pesquisa. Isto significa que o retorno do capital investido pelas empresas é cada vez mais demorado do que foi no passado (AZEVEDO, 2003).

1.2.2. Ensaios sobre sementes de alfaca.

Alguns compostos organofosforados descritos na literatura são utilizados como herbicida, como por exemplo, o glifosato, comercialmente conhecido como Roundup e o Prefar (**Figura 20**). Neste trabalho foi avaliado o efeito inibitório de germinação de sementes de alfaca, pelo fato de algumas moléculas sintetizadas apresentarem alguma similaridade com esses compostos.

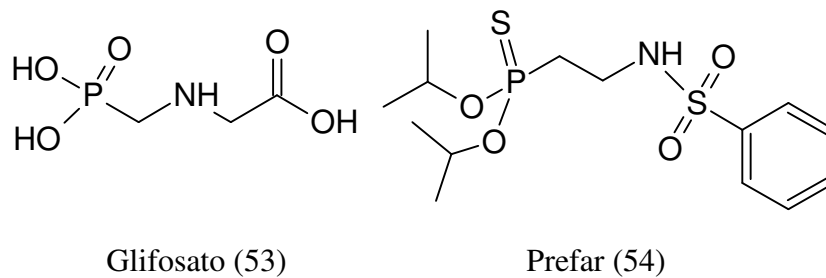


Figura 20. Organofosforados com atividade herbicida.

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 pequenas quantidades de material e baseiam-se na premissa de que a letalidade num organismo simples pode ser usada para monitoramento de atividades direcionando futuros estudos (NASCIMENTO *et al.*, 2001).

Sementes de alface, 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.

1.2.3. Parasitoses

Certas parasitoses estão entre as mais prevalentes doenças do mundo, atingindo milhões de pessoas. A prevenção destas doenças depende de medidas ecológicas, sanitárias, assim como emprego de fármacos antiparasitários eficazes e seguros (FRAYHA *et al.*, 1997).

Chama-se parasitismo a associação entre duas espécies onde uma, o parasito, vive às custas da outra, o hospedeiro, prejudicando a sua vida. Os parasitos que vivem sobre o corpo do hospedeiro como, por exemplo, piolho e pulga, são os ectoparasitas e os que vivem internamente, tais como, lombrigas, vírus, bactérias e protozoários, são endoparasitas.

Alguns parasitos conhecidos que vivem às custas do homem são:

Protozoários, organismos unicelulares que causam no homem a amebíase, a doença de Chagas, a leishmaniose e a malária, entre outras doenças.

Helminhos responsáveis pelas verminoses em geral (lombrigoses, teníases, etc.).

Bactérias, organismos unicelulares primitivos, simples e flexíveis, que crescem e se reproduzem muito rapidamente, responsáveis por inúmeras doenças tais como a coqueluche, a difteria, o tétano, a meningite, a sífilis, a febre tifóide, a tuberculose e a hanseníase, entre outras.

Os vírus são simplesmente um ácido nucléico, DNA ou RNA, com uma capa de proteína, são causadores de caxumba, de hepatite, de poliomielite, de raiva, de rubéola, de sarampo, de varíola, de febre amarela, de dengue, da AIDS e de febre hemorrágica do Ebola, entre outras graves doenças.

Rickéttsias são transmitidas ao ser humano pela mordida do carrapato, causando febres importantes, às vezes mortíferas.

A eficácia dos fármacos depende do conhecimento detalhado do ciclo de vida, metabolismo e biologia em geral dos parasitos. Os avanços dos conhecimentos anatômicos, bioquímicos e estudos fisiológicos, e o entendimento de quase todos os ciclos de vida dos parasitas no homem, permitem atualmente que se realize o processo de planejamento de fármacos de maneira mais racional, com ênfase no mecanismo de ação (FRAYHA *et al.*, 1997), visando atingir diretamente os alvos específicos e essenciais dos parasitas.

O setor de pesquisa e desenvolvimento de fármacos é extremamente competitivo e se caracteriza por elevados níveis de investimentos, que estão associados a riscos de proporcional magnitude. Com isso, a capacidade da indústria em destinar recursos a favor de determinada pesquisa está diretamente relacionada à sua competência e à geração de lucros através da venda de um conjunto atrativos de fármacos (AGNEW, 2000; COHEN, 2005; COUZIN, 2005).

O desenvolvimento de um projeto até a introdução de um único fármaco no mercado farmacêutico requer uma média de 12 a 15 anos com custos estimados entre US\$ 500-880 milhões, podendo em alguns casos alcançar cifras superiores a US\$ 1 bilhão (LOMBARDINO & LOWE, 2004; DIMASI *et al.*, 2003; DICKSON & GAGNON, 2004) (**Figura 21**).

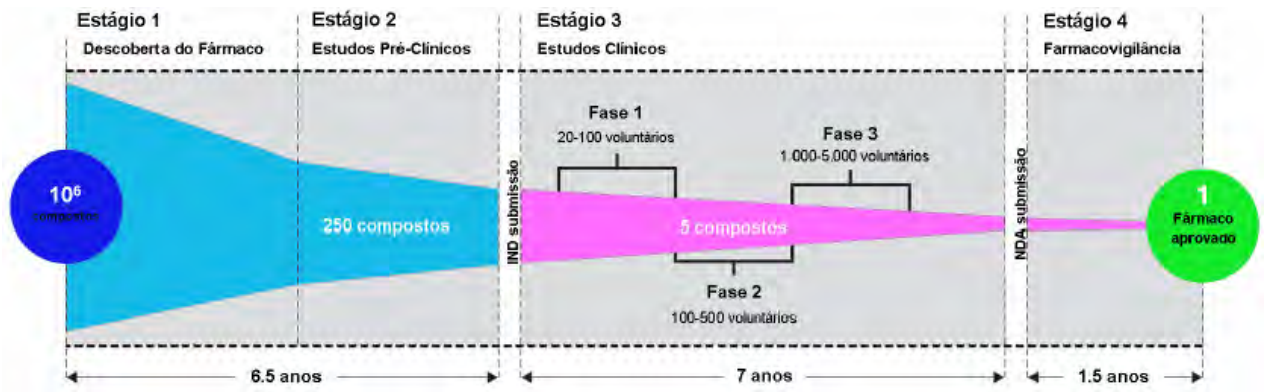


Figura 21. Visão geral do processo de pesquisa e desenvolvimento de um novo fármaco. (UNITED STATES GOVERNMENT ACCOUNTABILITY OFFICE, 2006).

1.2.3.1. Doenças tropicais

As doenças endêmicas tropicais são consequências marcantes do subdesenvolvimento social, retratando com minúcia a situação de prevalência dos países pobres. Neste grupo encontram-se a doença de Chagas, leishmaniose, esquistossomose, malária, tuberculose, lepra, dengue, entre outras.

As doenças tropicais afetam milhares de indivíduos em todo o mundo causando altos índices de mortalidade, os tratamentos disponíveis são limitados e ineficazes, e o quadro é constantemente agravado pela emergência de cepas resistentes. O aumento considerável nos custos de desenvolvimento de novos fármacos, combinado com as perspectivas de retorno financeiro inadequado, tem como resultado a quase inexistência de investimentos em pesquisa e desenvolvimento (P&D) por parte de companhias farmacêuticas (NWAKA, 2003).

No período entre 1975 e 1999, foram produzidas 1393 drogas, porém apenas 13 (0,9%) destinam-se as doenças tropicais (**Tabela 1**) e destas nenhuma para doenças de chagas (TROUILLER *et al.*, 2002).

Tabela 1: Fármacos que entraram no mercado entre 1975 e 1999 destinado as doenças “tropicais.”

Áreas terapêuticas	Novos fármacos aprovados (1975-1999)
Sistema nervoso central	211 (15,1%)
Cardiovascular	179 (12,8%)
Neoplasmas	111 (8,0%)
Respiratórias (não infecciosas)	89 (6,4%)
Antiinfectivas / antiparasitoses	224 (16,1%)
HIV	26 (1,9%)
Tuberculose	3 (0,2%)
Doenças tropicais	13 (0,9%)
Malária	4 (0,3%)
Outras categorias terapêuticas	579 (41,6%)
Total	1393 (100%)

Visando reverter esse panorama, vêm sendo estabelecidas iniciativas envolvendo parcerias efetivas na tríade governo-universidade-empresa. (NWAKA, 2003).

O Programa Especial para Pesquisa e Treinamento em Doenças Tropicais (do inglês, *Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases*) (WHO, 2008) da Organização Mundial da Saúde (OMS), o Programa de Medicamentos para Malária (MMV, do inglês, *Medicines for Malaria Venture*) (MMV, 2008), e a Iniciativa de Medicamentos para Doenças Negligenciadas (DNDi, do inglês, *Drugs for Neglected Diseases initiative*) (DNDi, 2008), são exemplos de parcerias público-privadas que tem como objetivo criar, estimular e investir em P&D de fármacos contra uma variedade de doenças tropicais. Alguns exemplos de fármacos introduzidos no mercado através de esforços de parcerias público-privadas estão apresentados na **Tabela 2**.

Tabela 2: Fármacos para doenças tropicais introduzidos no mercado através de parcerias público-privadas (WHO, 2008; MMV, 2008; DNDi, 2008).

Fármaco	Ano de Registro	Indicação Clínica	Parceiro
Praziquantel	1980	Esquistossomose	Bayer
Mefloquina	1984	Malária	Hoffman La Roche, WRAIR
Ivermectina	1987	Oncocercose	Merck
Halofantrina	1988	Malária	Smith Kline Beecham, WRAIR
Eflornitina	1991	Doença do Sono	Marion Merrel Dow
Anfotericina B Liposomal	1994	Leishmaniose	NeXstar
Artemisinina	1997	Malária	Rhone Poulenc Rorer, Kunming
Artemisinina-lumefantrina	1999	Malária	Novartis
Artemotila	2000	Malária	Artecef, WRAIR
Miltefosina	2002	Leishmaniose	Zentaris, Indian CMR
Clorproguanil-dapsona	2003	Malária	GSK, DFID

Doença de Chagas

A doença de Chagas é causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*, parasita da ordem Kinetoplastida, Trypanosomatidae, o qual é transmitido para o hospedeiro humano pelas fezes do inseto vetor hematófago, sendo o principal triatomíneo, o *Triatoma infestans*, conhecido popularmente como “barbeiro”(Figura 22).



Figura 22. Imagem do barbeiro. (<http://www.paho.org/english/ad/dpc/cd/chagas.htm>)

Estima-se que aproximadamente 14 milhões de pessoas estejam infectadas na América Latina e que 60 milhões estejam em risco de infecção sendo que no Brasil, de 1,8 a 2,4 milhões de indivíduos devem estar na fase crônica da doença (AKHAVAN, 2000).

O *Trypanosoma cruzi* apresenta-se sob três formas ao longo do seu ciclo de vida (**Figura 23**): a forma infectiva tripomastigota e as formas proliferativas amastigota e epimastigota.

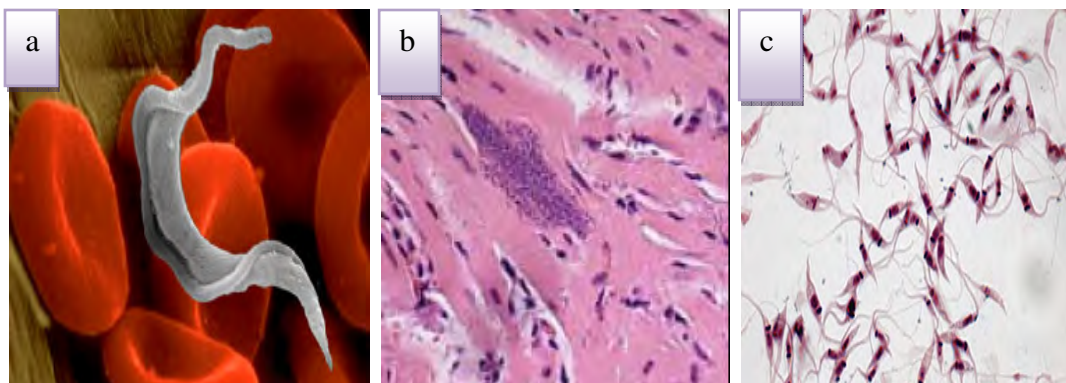


Figura 23. Formas parasitárias do *T. cruzi*.

- a) Forma tripomastigota na corrente sanguínea (imagem: Rubem Figueiredo).
- b) Formas amastigotas em tecido celular (WWW.uga.edu/cellbio/tarleton.html).
- c) Formas epimastigotas no tubo digestivo do inseto vetor (www.fiocruz.br).

Seu ciclo de vida (**Figura 24**) e transmissão compreende os hospedeiros vertebrados e os insetos vetores, hematófagos obrigatórios, os quais constituem os hospedeiros invertebrados. Quando um inseto se alimenta do sangue de um animal contaminado, as formas tripomastigotas circulantes na corrente sanguínea passam para o interior do inseto e na porção inferior do intestino deste se transformam na forma epimastigota.

Ainda no interior do inseto, as formas epimastigotas sofrem sucessivas divisões e ao ocuparem a porção interior do intestino do hospedeiro invertebrado se transformam em tripomastigotas metacíclicas. O inseto possui o hábito de defecar ao se alimentar. Quando da ocorrência de uma posterior alimentação do inseto, as formas tripomastigotas metacíclicas invadem a corrente sanguínea de um segundo indivíduo humano, ou pelo próprio local da picada ou por mucosas. Ao penetrarem em um macrófago, os tripomastigotas sofrem uma segunda divisão e adquirem a forma proliferativa no hospedeiro mamífero – forma amastigota. Quando da incidência de um grande número de amastigotas intracelularmente, estes novamente se transformam em tripomastigotas e rompem a célula podendo atingir células vizinhas ou, via corrente sanguínea, atingir células distantes. O ciclo se fecha quando um segundo inseto vetor

se alimenta de sangue infectado, contraindo o parasita, tornando-se apto para continuar a disseminação do inseto.

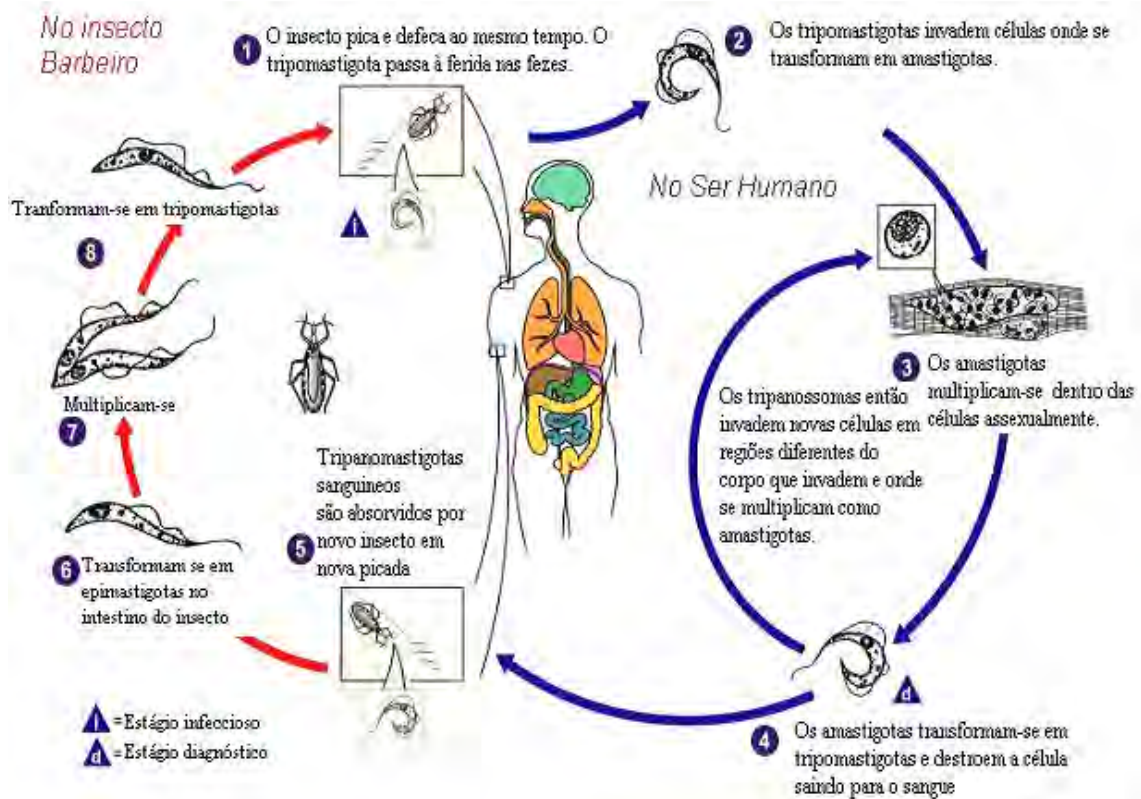


Figura 24. Ciclo de vida do *T. cruzi*. As diferentes formas do *T. cruzi* ao longo de seu ciclo evolutivo no hospedeiro vertebrado e invertebrado. Figura adaptada de WHO, 2000.

Após a infecção e um curto período de incubação, o indivíduo contaminado adquire a chamada forma aguda da doença. Nesta fase, que também pode ser assintomática, observa-se uma doença suave que pode envolver febre, mal estar, edema da face e de extremidades inferiores e linfadenopatia generalizada. O parasita pode invadir vários órgãos, inclusive o sistema nervoso central causando meningoencefalias (KIRCHHOFF, 1993). A mortalidade nesta fase é de 2 a 8% com a maioria das mortes ocorrendo entre crianças (DE CASTRO, 1993).

A Doença de Chagas aguda desaparece espontaneamente em 4 ou 8 semanas e os pacientes então adentram na chamada fase indeterminada da doença. Nesta fase, os pacientes são assintomáticos, apresentam parasitemia de longa duração e possuem anticorpos para a maioria dos antígenos de *T. cruzi*. Anos ou mesmo décadas após infecção com *T. cruzi* ter sido adquirida, estimasse que 10 a 30% das pessoas desenvolvem sintomas cardíacos ou gastrointestinais da fase crônica da doença. O coração é o órgão mais frequentemente afetado

desenvolvendo arritmias, eventos trombolíticos, insuficiência cardíaca ou crescimento anormal (casos mega). Podem também apresentar um crescimento anormal do esôfago e do cólon (magaesôfago e megacólon) os quais são associados a complicações como regurgitação e mau nutrição causando severos incômodos ao paciente. Podem ocorrer também acometimentos cardíacos e digestivos simultaneamente (TANOWITZ *et al.*, 1992, KIRCHHOFF, 1993).

A transmissão da doença ocorre principalmente por três mecanismos: através das picadas do barbeiro, por transfusão de sangue contaminado e por transmissão congênita. Outras formas de transmissão de menor importância epidemiológica são: transplante de órgãos, transmissão oral- através da ingestão acidental de fezes de animais contaminados e insetos, transmissão sexual e acidentes de laboratório. Atualmente, a transmissão congênita e a transfusão sanguínea são as principais causas de transmissão da doença. A transmissão congênita é a mais preocupante devido aos efeitos colaterais causados nas mães e bebês pelos medicamentos disponíveis (TEIXEIRA, 1987; SALLES *et al.*, 1996).

Tratamento

Infelizmente, ainda não existem tratamentos quimioterápicos eficientes para indivíduos com doença de Chagas. Algumas drogas como o Nifurtimox, comercializado como Lampit (Bayer), e o Benzonidazol, comercializado como Radamil ou Rochagan (Roche) (**Figura 25**), apresentam baixa eficiência para a fase crônica da doença e são altamente tóxicas para os pacientes, causando muitos efeitos colaterais, como, hipersensibilidade, alterações hematológicas e polineuropatia periférica. (FILARDI & BRENNER, 1987; URBINA E DOCAMPO, 2003).

Atualmente, apenas o benzonidazol é utilizado para o tratamento da doença de Chagas, o que torna extremamente necessário, a procura de novas abordagens terapêuticas devido à grande prevalência e mortalidade da doença (WHO, 2002).

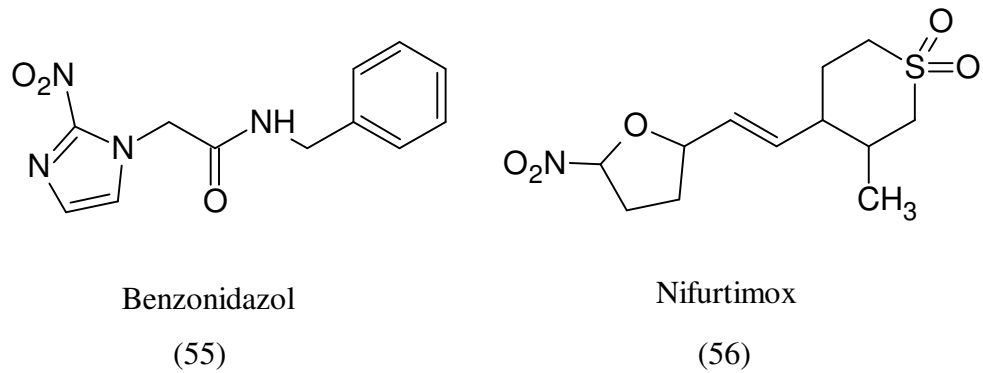


Figura 25. Fármacos de utilidade clínica reconhecida.

Leishmaniose

As leishmanioses formam um conjunto de doenças causadas por pelo menos 24 espécies de protozoários do gênero *Leishmania*, sendo transmitidas por cerca de 30 espécies de insetos vetores pertencentes aos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia*, também chamados de mosquito palha ou birigui (HERWALDT, 1999; DESJEUX, 2001 e 2004; MURRAY, 2005; YAMEY *et al.*, 2002; MAGILL, 1993; ALVAR *et al.*, 1997; DAVIDSON *et al.*, 2002; DAVIES, 2002; CROFT, 2007; CROFT *et al.*, 2003) (**Figura 26**).



Figura 26. Insetos vetores pertencentes aos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia*.

- a) Inseto vetor *phlebotomus* SP. (WWW.fiocruz.br)
- b) Inseto vetor *Lutzomyia longipalpis*. (Centre for Applied Entomology and Parasitology, 2005; National Institute of Infectious Diseases, NIAID, 2004).

A Leishmaniose pode ser classificada em quatro formas principais (MURRAY, 2005; YAMEY *et al.*, 2002; MAGILL, 1993; ALVAR *et al.*, 1997; DAVIDSON *et al.*, 2002): (i) leishmaniose cutânea (LC) causada por *L. major*, que é a forma mais comum da doença e caracteriza-se por lesões ulcerativas da derme com feridas comumente na face, braços e pernas.

(ii) leishmaniose cutânea difusa (LCD) causada por *L. mexicana* e *L. amazonensis*, que é muito semelhante a LC, exceto pelo fato de que as lesões são encontradas espalhadas por todo o corpo. (iii) leishmaniose muco-cutânea (LMC) causada por *L. braziliensis* e *L. peruviana*, que é caracterizada pela disseminação dos parasitas via corrente sanguínea ou linfática causando ulcerações nos tecidos cartilagosos, principalmente na boca e nariz, produzindo lesões mutilantes. Essas três manifestações são agrupadas no continente americano em uma doença denominada leishmaniose tegumentar americana (LTA) (HERWALDT, 1999; DAVIES, 2002). (iv) leishmaniose visceral (LV), também conhecida como calazar, é a forma mais letal da doença, sendo causada por *L. donovani*. Esta forma acomete o sistema retículo-endotelial, causando perda de peso, anemia e inchaço do baço e do fígado podendo levar a morte num período de dois a três anos (HERWALDT, 1999; MURRAY, 2005; DAVIES, 2002) (**Figura 27**).



Figura 27. Manifestações clínicas das leishmanioses: (WHO, 2002)

- a) leishmaniose cutânea; c) leishmaniose cutânea-difusa;
b) leishmaniose muco-cutânea; d) leishmaniose visceral.

No Brasil, seis espécies de *Leishmania* são conhecidas como agentes da Leishmaniose Cutânea enquanto que na Ásia, esta forma clínica é causada principalmente por *L. major*. No norte e nordeste do Brasil a *L. amazonensis* tem sido descrita também como causadora das formas muco-cutânea, cutânea difusa e visceral (BARRAL *et al.*, 1991; LEON *et al.*, 1992; SHERLOCK, 1996; ALMEIDA *et al.*, 1996). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) se estima que 90% dos casos de Leishmaniose muco-cutânea estão no Brasil. Outras espécies de *Leishmania*, como *L. chagasi* causadora da Leishmaniose visceral ocorre principalmente no norte e nordeste brasileiro (DANTAS-TORRES, 2006), e *L. braziliensis* responsável pela leishmaniose cutânea com prevalência em todo o território brasileiro, também são de extrema importância epidemiológica (BASANO & CAMARO, 2004).

A partir da década de 80, verificou-se um aumento no número de casos registrados, variando de 3.000 (1980) a 37.710 (2001). Observam-se picos de transmissão a cada cinco anos, apresentando tendência de aumento do número de casos, a partir do ano de 1985, quando se solidifica a implantação das ações de vigilância e controle da (LTA) no país (**Figura 28**). No período de 1985 a 2005, foi constatado uma média anual de 28.568 casos autóctones registrados e coeficiente de detecção médio de 18,5 casos/100.000 habitantes, verificando-se coeficientes mais elevados nos anos de 1994 e 1995, quando atingiram níveis de 22,83 e 22,94 casos por 100.000 habitantes, respectivamente.

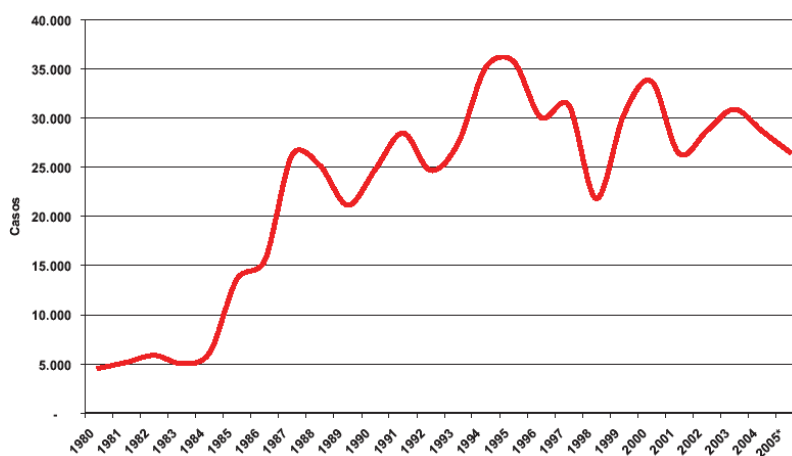


Figura 28. Casos notificados de leishmaniose tegumentar americana, Brasil- 1980 a 2005. (Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana, 2007).

A *Leishmania* possui duas formas principais: uma flagelada ou promastigota, encontrada no tubo digestivo do inseto vetor, e outra aflagelada ou amastigota, observada nos tecidos dos hospedeiros vertebrados (**Figuras 29**).

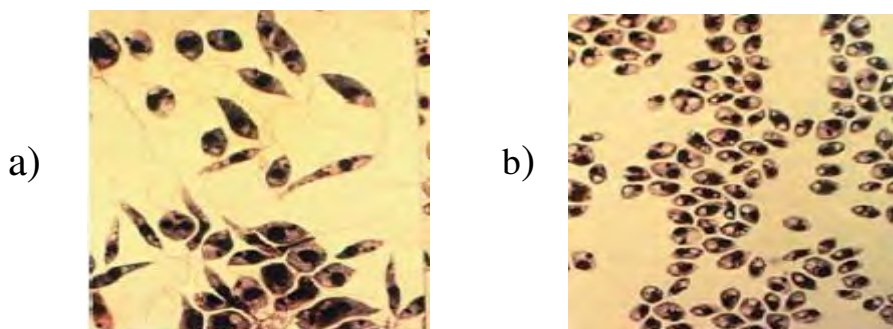


Figura 29. Formas principais da *leishmania*.

- a) Formas promastigotas ou flageladas (ohsu.org/microbiology/landfear.html)
- b) Formas amastigotas ou aflageladas (ohsu.org/microbiology/landfear.html)

Infecções por *leishmanias* que causam LTA foram descritas em várias espécies de animais silvestres, sinantrópicos e domésticos (canídeos, felídeos e eqüídeos). Com relação a este último, seu papel na manutenção do parasito no meio ambiente ainda não foi definitivamente esclarecido.

Ciclo de vida

A abordagem da fisiopatologia da LTA tem como ponto central o mecanismo da relação parasito-hospedeiro que estimula a resposta imune específica. No intestino dos insetos vetores, as formas promastigotas passam por um processo denominado metaciclogênese, que é o processo pelo qual estas formas deixam de se reproduzir e tornam-se infectantes (promastigotas metacíclicas). As formas reprodutivas, não infectantes (procíclicas), prendem-se à parede do tubo digestivo do inseto vetor. Durante a metaciclogênese, as promastigotas sofrem modificações bioquímicas em sua superfície, perdendo assim sua capacidade de adesão ao epitélio do intestino médio do flebótomo. Como resultado, as promastigotas metacíclicas destacam-se, migrando para a faringe e cavidade bucal, de onde elas são transmitidas ao hospedeiro vertebrado, durante o próximo repasto sangüíneo, onde são libertados no sangue pela picada de dois géneros atípicos de mosquitos: *Lutzomyia* e *Phlebotomus*. As leishmanias na forma de promastigotas ligam-se por receptores específicos aos macrófagos, pelos quais são fagocitadas. Elas são imunes aos ácidos e enzimas dos lisossomas com que os macrófagos tentam digeri-las, e transformam-se nas formas amastigotas após algumas horas (cerca de 12h) até que começam a multiplicar-se por divisão binária, saindo para o sangue ou linfa por exocitose e por fim conduzem à destruição da célula, invadindo mais macrófagos ou sendo ingeridos através de suas formas parasitadas ou amastigotas livres do sangue ou mesmo em tecidos em uma nova picada do inseto, que ao atingirem o seu intestino médio, se transformam em promastigotas onde é reiniciado um novo ciclo (SERENO *et al.*, 2007). (**Figura 30**).

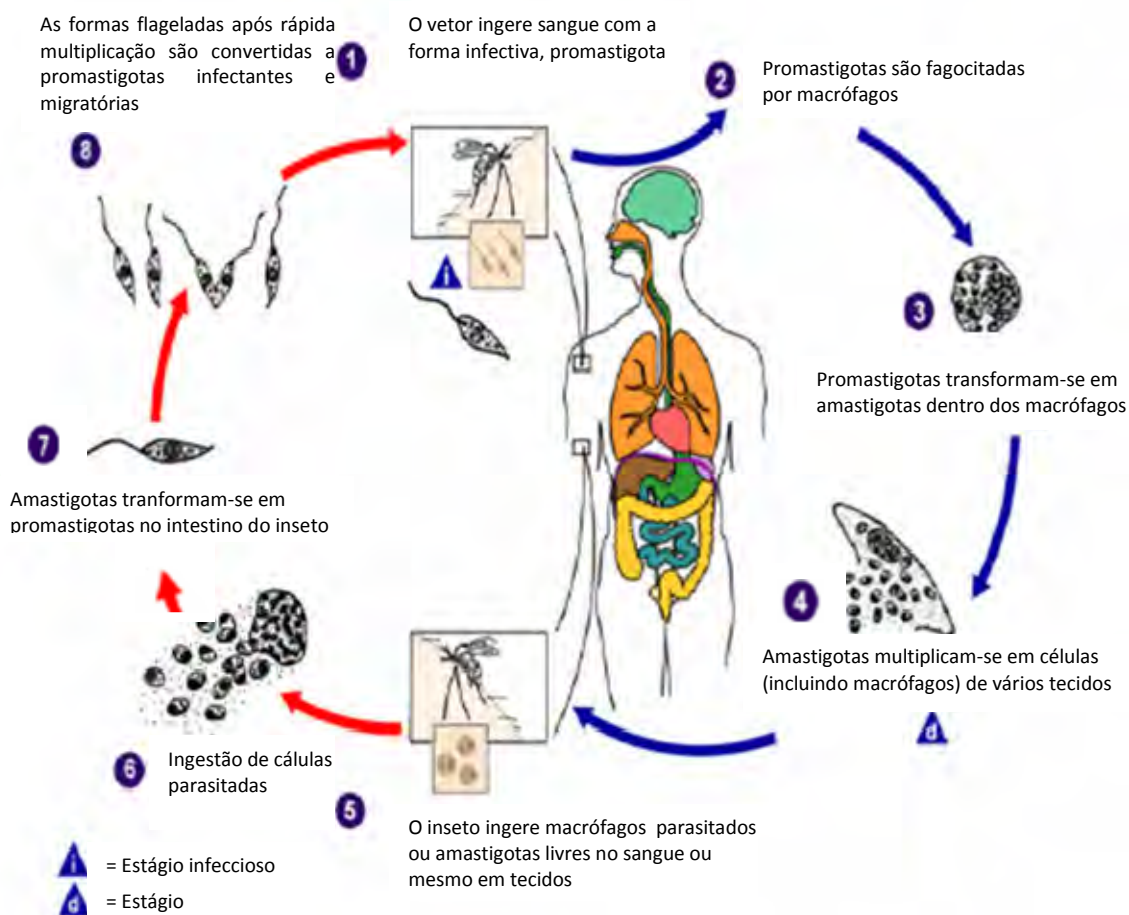


Figura 30. Ciclo de vida da LTA.

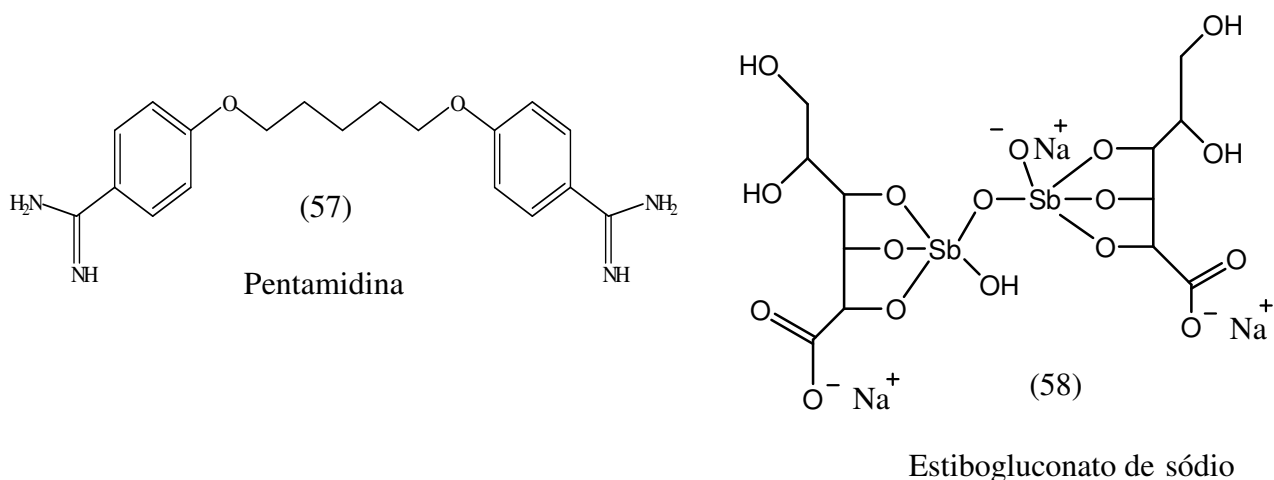
Tratamento

O tratamento da Leishmaniose, desde a década de 40, baseia-se no uso de antimoniais pentavalentes (CROFT *et al.*, 2005; CROFT, 2007). Duas formulações de antimoniais pentavalentes são disponíveis atualmente, o estibogluconato de sódio (Pentostan®, GlaxoSmithKline) e o antimoniato-N-metil glucamina (Glucantime®, Aventis) (**Figura 31**), sendo este último distribuído gratuitamente no Brasil pelo ministério da saúde. Em virtude do tempo de meia-vida pequeno dos antimoniais na corrente sanguínea (cerca de 2 horas), doses diárias altas são requeridas por longos períodos de tempo (20 a 40 dias) (CROFT, 2001). Além disso, doses maiores dos antimoniais acabam sendo empregadas devido ao aparecimento de resistência. Embora o mecanismo de ação não seja completamente elucidado, evidências demonstraram que estes fármacos atuam nas formas amastigotas do parasita, inibindo sua atividade glicolítica e a via oxidativa de ácidos graxos. Efeitos colaterais severos como

trombose, toxidez hepática, hipersensibilidade e choque anafilático são associados ao tratamento quimioterápico (GEARY *et al.*, 1999).

A pentamidina (Pentacarinat®, Rhodia Farma) (**Figura 31**), tem sido utilizada desde a década de 50 como fármaco de segunda escolha contra a leishmaniose devido ao longo período de tratamento e aos graves efeitos colaterais, tais como: hipoglicemia, diabetes, taquicardia, entre outros (CROFT & COOMBS, 2003).

A anfotericina B (Fungisone®, Bristol Meyers Squibb) (**Figura 31**) é o agente antileishmaniose mais eficaz, atuando nas formas promastigotas e amastigotas do parasita através da ligação aos ésteres (ergosterol ou episterol) presentes na membrana plasmática do parasita. A administração do medicamento é feita por via intravenosa por períodos de até 4 horas. Entretanto, o custo elevado limita o uso sistemático destes fármacos no serviço de saúde pública (CROFT & COOMBS, 2003; CROFT *et al.*, 2005). A miltefosina (Impavido®, Zentaris), recentemente introduzida ao mercado farmacêutico, foi o primeiro fármaco administrado por via oral para o tratamento da LV e LC (SINDERMANN *et al.*, 2004). Devido a sua indicação para o tratamento tópico de lesões ulcerativas, a miltefosina foi testada contra a LC. Testes clínicos com administração por via oral demonstraram a alta eficácia do fármaco para o tratamento da LV e LC (SINDERMANN *et al.*, 2004; SINDERMANN & ENGEL, 2006). O mecanismo de ação da miltefosina ainda é desconhecido, contudo, acredita-se que o fármaco possa estar envolvido em um ou mais dos seguintes mecanismos: (i) inibição do metabolismo de fosfolipídeos; (ii) interferência na transdução de sinais através da membrana do parasita; e (iii) interferência na biossíntese de glicosilfosfatidilinositol.



2.Objetivos

- Sintetizar e caracterizar novas dialquilfosforilidrazonas derivadas de diferentes cetonas.
- Avaliar a atividade biológica dos compostos sintetizados através de seus efeitos sobre a germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa*) e crescimento do fungo patogênico (*Rhizoctoni solani*).
- Avaliar a atividade antiprotozoose frente à *Leishmania amazonensis* e *Trypanosoma Cruzi*.

3. Materiais e Métodos

3.1. Considerações Gerais

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

A técnica de cromatografia em camada fina foi realizada utilizando-se placas de alumínio Kiessel Gel 60 F 254, com 0,2 mm de espessura, sendo reveladas em lâmpada ultravioleta com comprimento de onda em 254 nm.

Na técnica de cromatografia em coluna aberta utilizou-se como adsorvente gel sílica 60, Merck, com partículas de 35-70 mesh.

A remoção dos solventes foi feita em evaporador rotatório Fisatom modelo 820.

Os aparelhos utilizados para a caracterização dos compostos foram; (a) espectrômetro de infravermelho Perkin-Elmer modelo 1600 FT, e os espectros foram obtidos utilizando-se um filme sobre células de NaCl, nas amostras líquidas e pastilhas de KBr nas amostras sólidas. As absorções foram medidas em centímetros recíprocos (cm^{-1}); (b) cromatógrafo de fase gasosa acoplado a espectrômetro de massas, modelo Saturn 2000-Varian. As condições de análise foram: coluna VF-5ms (30 cm x 0,25 mm x 0,25 μm); temperatura 150-180°C/1'-10°C/min – 290°C/10'; injetor 270°C; EM trap 220°C, manifold 60°C trxline 250°C ionização EI (70 eV); (c) espectrômetro de ressonância magnética nuclear de ^1H (400MHz e 200MHz), ^{13}C (100MHz) e ^{31}P (162MHz) Bruker modelo AC-200 e Avance, e os espectros foram obtidos utilizando-se tetrametilsilano (TMS), ou o próprio solvente como referência para os núcleos de ^1H e ^{13}C . Para o núcleo de ^{31}P , foi utilizado o ácido fosfórico 85% como referência externa. Os solventes deuterados são especificados em cada caso, sendo os deslocamentos químicos medidos em ppm e as constantes de acoplamento em Hertz (Hz).

3.2. Síntese dos fosfonatos de dialquila simétricos.

Procedimento Geral

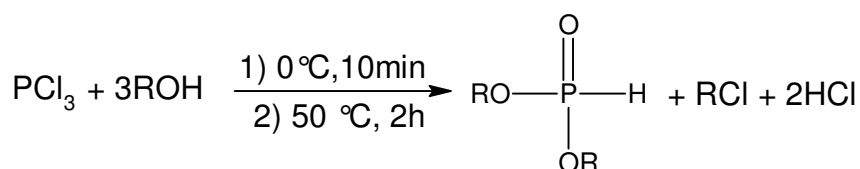
Em um balão bitubulado de 200 mL, equipado com um funil de adição contínua, condensador de refluxo e munido de um borbulhador, capaz de impedir a entrada de umidade e ao mesmo tempo permitir a saída do ácido clorídrico (HCl) liberado na reação, adiciona-se o álcool correspondente (**Esquema 10**). Em seguida, através de funil de adição, goteja-se

cuidadosamente o tricloreto de fósforo (PCl₃) recém destilado, sob agitação magnética, mantendo-se a mistura reacional a uma temperatura em torno de 0°C. Quando cerca da metade do PCl₃ tiver sido adicionado, observa-se forte despreendimento de HCl.

Ao término da adição, submete-se o conteúdo do balão a um aquecimento (50°C) por aproximadamente 1 hora.

Finalmente, coloca-se a mistura reacional sob vácuo a fim de que seja retirado todo o HCl residual.

O manuseio de PCl₃ deve ser extremamente cuidadoso, pois o mesmo é instável por ser facilmente hidrolisado, através de uma reação altamente exotérmica. Isto é devido ao poder eletrofílico do átomo de fósforo, que está ligado a três átomos de cloro (COTTON, 1988).



R= isopropil, isobutil, secbutil, isopentil e butil

Esquema 10. Síntese dos fosfonatos de dialquila.

3.2.1. Síntese do fosfonato de di(*n*-butila) (62).

Utilizou-se 31,3 ml (25,4 g – 343 mmol) de *n*-butanol e 10 ml (15,7 g – 114 mmol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se, após evaporação a pressão reduzida, 17,5 g do produto com pureza satisfatória para as sínteses subseqüentes. O rendimento do fosfonato de di *n*-butila foi de 78% (**Figura 32**).

Caracterização:

Aspecto: líquido incolor.

IV (NaCl): 3356 (νOH); 2961, 2935 (νCH₂ e CH₃); 2428 (νP-H); 1460 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1381(δ_{sim}.CH₃); 1225 (νP=O); 994 (νP-O-C); 909 (δ_{as}.P-H).

RMN ¹H (CDCl₃): 6,76 [d, (P-H), *J*_{HP} = 698 Hz, 1H]; 4,03 [dt, (CH₂OP), *J*_{HH} = 6 Hz, *J*_{HP} = 8 Hz, 4H]; 1,63 [quin, (CH₂CH₂OP), *J*_{HH} = 6 Hz, 4H]; 1,38 [sex, (CH₂(CH₂)₂OP), *J*_{HH} = 6 Hz, 4H]; 0,91 [t, (CH₃(CH₂)₃OP), *J*_{HH} = 6 Hz, 6H].

m/Z (%): 195 (50%), 139 (12%), 123 (5%), 109 (10%), 97 (5%), 83 (100%), 65 (12%), 57 (7,5%), 47 (5%).

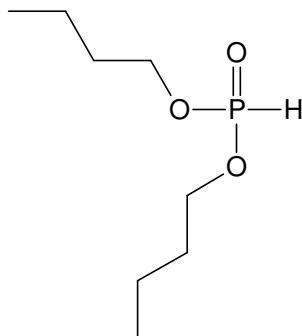


Figura 32. fosfonato de di(*n*-butila).

3.2.2. Síntese do fosfonato de di-isopropila (63).

Utilizou-se 54 mL (42,1 g – 702 mmol) de álcool isopropílico e 20,5 mL (32,2 g – 234 mmol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se 36,6 g do produto, correspondendo ao rendimento de 94 % (**Figura 33**).

Caracterização:

Aspecto: líquido incolor

IV (Célula de NaCl): 2433,6 (v P-H); 1222,6 (v P=O); 988.2 (v P-O-C).

RMN ¹H (CDCl₃): 6,54 [d, (P-H), $J_{HP} = 695$ Hz, 1H]; 4,68 [hd, (CHOP), $J_{HH} = 6$ Hz, $J_{HP} = 8$ Hz, 2H]; 1,30 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6$ Hz, 12H].

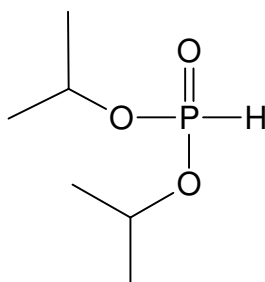


Figura 33. fosfonato de di-isopropila.

3.2.3. Síntese do fosfonato de di-isobutila (64).

Utilizou-se 127 mL (101,7 g – 1374 mmol) de álcool isobutílico e (62,9 g – 458 mmol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se 30,2 g do produto, correspondendo ao rendimento de 79 % (**Figura 34**).

Caracterização:

Aspecto: líquido incolor.

IV (NaCl): 2431,7 (v P-H); 1245,2 (v P=O); 985,3 (v P-O-C).

RMN ¹H (CDCl₃): 6,79 [d, (P-H), $J_{HP} = 697$ Hz, 1H]; 3,81 [m, (CH₂OP), 2H]; 3,38 [dd, (CH₂OP), $J_{HH} = 6$ Hz, $J_{HP} = 8$ Hz, 2H]; 1,94 [h, (CHCH₂OP), $J_{HH} = 6,7$ Hz, 1H]; 1,76 [h, (CHCH₂OP), $J_{HH} = 6,7$ Hz, 1H]; 0,98 [m, (CH₃)₂CHCH₂OP, 6H]; 0,89 [m, (CH₃)₂CHCH₂OP, 6H].

m/Z (%): 195 (51%), 139 (12%), 123 (5%), 109 (11%), 97 (5%), 83 (100%), 65 (12%), 57 (8%), 47 (5%).

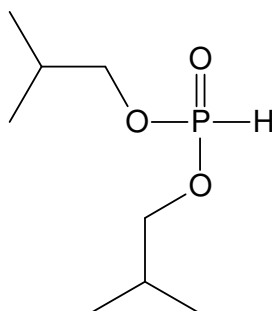


Figura 34. fosfonato de di-isobutila.

3.2.4. Síntese do fosfonato de dissecbutila (65).

Utilizou-se (23,8 g – 122,7 mmol) de álcool secbutílico e (5,6 g – 41 mmol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se 17,2 g do produto, correspondendo ao rendimento de 83 % (**Figura 35**).

Caracterização:

Aspecto: líquido incolor.

IV (NaCl): 2433,76 (v P-H); 1216,88 (v P=O); 989,32 (v P-O-C).

RMN ^1H (CDCl_3): 6,75 [d, (P-H), $J_{\text{HP}} = 694$ Hz, 1H]; 4,39 [m, (CHOP), 2H]; 1,55 [m, (CH_2CHOP), 4H]; 1,28 [d, (CH_3CHOP), $J_{\text{HH}} = 6,13$ Hz, 3H]; 1,15 [d, (CH_3CHOP), $J_{\text{HH}} = 6,13$ Hz, 3H]; 0,88 [t, ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHOP}$), $J_{\text{HH}} = 7,48$ Hz, 3H]; 0,86 [t, ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHOP}$), $J_{\text{HH}} = 7,48$ Hz, 3H].

m/Z (%): 195 (51%), 139 (12%), 123 (5%), 109 (11%), 97 (5%), 83 (100%), 65 (12%), 57 (8%), 47 (5%).

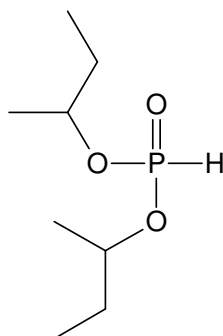


Figura 35. fosfonato de dissecbutila.

3.2.5. Síntese do fosfonato de di-isopentila (66).

Utilizou-se (23,9 g – 107,6 mmol) de álcool isopentílico e (4,9 g – 35,8 mmol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se 17,2 g do produto, correspondendo ao rendimento de 83 % (**Figura 36**).

Aspecto: líquido incolor.

IV (NaCl): 2431,84 (v P-H); 1205,31 (v P=O); 1012,46 (v P-O-C).

RMN ^1H (CDCl_3): 6,77 [d, (P-H), $J_{\text{HP}} = 695$ Hz, 1H]; 4,03 [m, (CH_2OP), 4H]; 1,54 [q, ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7,13$ Hz, 4H]; 1,17 [m, ($\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OP}$), 2H]; 0,89 [d, ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 6,57$ Hz, 12H].

m/Z (%): 223 (100%), 153 (45%), 109 (10%), 83 (30%), 71 (15%), 53 (7,5%), 43 (27,5%).

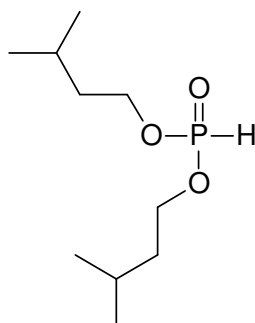


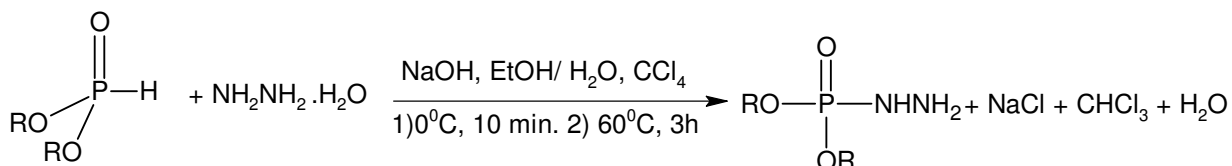
Figura 36. Fosfonato de di-isopentila.

3.3. Síntese das dialquifosforilidrazinas.

Procedimento Geral

Em um balão bitubulado de 125 mL, equipado com um funil de adição contínua, condensador de refluxo munido de um borbulhador, adicionou-se a hidrazina monohidratada comercial e uma solução de hidróxido de sódio dissolvido em uma mistura etanol:água destilada na proporção 1:1 em volume. Em seguida, estando a solução do balão sob agitação magnética, gotejou-se, através do funil de adição, uma solução formada pelo fosfonato de dialquila e o tetracloreto de carbono, estando o tetracloreto em excesso de 40 %. A mistura reacional foi mantida durante a adição do conteúdo do funil a uma temperatura em torno de 0 °C. Após a adição se completar, a mistura reacional foi mantida sob refluxo por 3h (**Esquema 11**).

Ao término da reação, a solução resultante foi filtrada, e a fase líquida foi extraída com 5x15 mL de diclorometano, sendo seca com sulfato de magnésio anidro. Após a secagem, o solvente foi evaporado em evaporador rotatório, obtendo-se um óleo viscoso.



R= isopropil, isobutil, isopentil, secbutil e butil.

Esquema 11: Síntese das dialquifosforilidrazinas.

3.3.1 Síntese da dibutilfosforilidrazina (67).

Utilizou-se 20,0 g (103,1 mmol) do fosfonato de di (*n*-butila), 22,2 g (144,1 mmol) de tetracloreto de carbono, 3,3 g (103,0 mmol) de hidrazina monoidratada, 4,1 g (103,1 mmol) de hidróxido de sódio, 10,0 mL (10 g – 556 mmol) de água destilada e 10,0 mL (8,2 g – 177 mmol) de etanol. Obteve-se, após evaporação a pressão reduzida, 10,6 g do produto puro. O rendimento da dibutilfosforilidrazina foi de 46% (**Figura 37**).

Caracterização:

Aspecto: Líquido viscoso incolor.

IV (NaCl): 3344,02 (vNH); 2960,24 e 2873,46 (vCH₂ e CH₃); 1461,8 (δas CH₂ e CH₃); 1380,08 (δsim.CH₃), 1226,52 (vP=O); 1064,53 (vP-N); 1027,89 (vP-O-C).

RMN ¹H (CDCl₃): 5,23 [s, (NHNH₂), 3H]; 3,90 [m, (CH₃CH₂CH₂CH₂OP), 4H]; 1,52 [m, (CH₃CH₂CH₂CH₂OP), 4H]; 1,28 [m, (CH₃CH₂CH₂CH₂OP), 4H]; 0,81 [t (CH₃CH₂CH₂CH₂OP), J_{HH} = 3,28 Hz, 6H].

RMN ¹³C(CDCl₃): 66,18 [d, (CH₃CH₂CH₂CH₂OP), J_{CP} = 6,0 Hz, 1C]; 65,03 [d, (CH₃CH₂CH₂CH₂OP), J_{CP} = 6,0 Hz, 1C]; 32,23 [d, (CH₃CH₂CH₂CH₂OP), J_{CP} = 5 Hz, 1C]; 31,81 [m, (CH₃CH₂CH₂CH₂OP), J_{CP} = 5, Hz, 1C]; 18,47 [s, (CH₃CH₂CH₂CH₂OP), , 2C]; 13,17 [s, (CH₃CH₂CH₂CH₂OP), 2C].

m/Z (%): 225 (100%), 211 (2%), 195 (1%), 183 (1%), 169 (7,5%), 155 (2%), 139 (2,5%), 125 (2%), 112 (60%), 99 (12%), 82 (5%), 65 (4%), 57 (2%), 47 (1%).

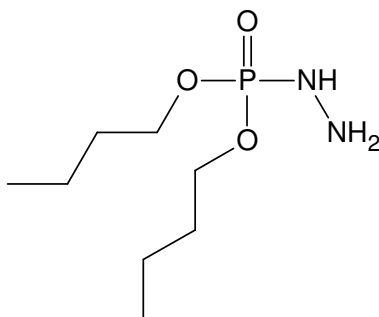


Figura 37. dibutilfosforilidrazina.

3.3.2 Síntese da di-isopropilfosforilidrazina (68).

Utilizou-se 20,0 g (120 mmol) do fosfonato de di-isopropila, 25,9 g (168,6 mmol) de tetra cloreto de carbono, 3,84 g (120 mmol) de hidrazina monoidratada, 4,8 g (120 mmol) de hidróxido de sódio, 10,0 mL (10 g – 556 mmol) de água destilada e 10,0 mL (8,2 g – 177 mmol) de etanol. Obteve-se, após evaporação a pressão reduzida, 10,9 g do produto puro. O rendimento da di-isopropilfosforilidrazina foi de 46% (**Figura 38**).

Caracterização:

Aspecto: Líquido viscoso incolor.

IV (NaCl): 3347,8 (vNH); 2979,5 e 2880,0 (vCH₂ e CH₃); 1633,6 (δ□NH); 1467 (δas.CH₂ e CH₃); 1386(δsim.CH₃), 1236,2 (vP=O); 1108 (vP-N); 993,2 (vP-O-C).

RMN ¹H (CDCl₃): 4,61 [hd, (CHOP), $J_{HH} = 6$ Hz, $J_{HP} = 8$ Hz, 2H]; 3,67 [s, (NHNH₂), 3H]; 1,30 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6$ Hz, 12H].

RMN de ¹³C (CDCl₃): 71,18 [d, (CHOP), $J_{CP} = 6$ Hz, 2C]; 23,41 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{CP} = 5$ Hz, 4C].

m/Z (%): 111 (100%), 195 (60%), 152 (60%), 81 (57,5%), 135 (25%), 72 (22,5%), 179 (12,5%), 122 (10%), 43 (7,5%), 98 (7,5%), 56 (7,5%).

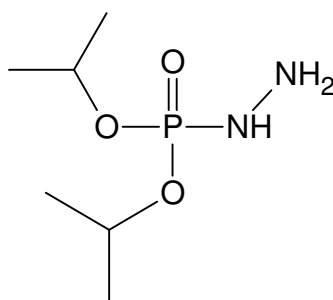


Figura 38. Di-isopropilfosforilidrazina.

3.3.3 Síntese da di-isobutilfosforilidrazina (69).

Utilizou-se 20,0 g (103,1 mmol) do fosfonato de di-isobutila, 22,2 g (144,1 mmol) de tetracloreto de carbono, 3,29 g (103,0 mmol) de hidrazina monoidratada, 4,1 g (103,1 mmol) de hidróxido de sódio, 10,0 mL (10 g – 556 mmol) de água destilada e 10,0 mL (8,2 g – 177 mmol) de etanol. Obteve-se, após evaporação a pressão reduzida, 10,2 g do produto puro. O rendimento da di-isobutilfosforilidrazina foi de 44% (**Figura 39**).

Caracterização:

Aspecto: Líquido viscoso incolor.

IV (NaCl): 3351,8 (vNH); 2961,1 e 2878,3 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1468 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1395,4 (δ_{sim}.CH₃); 1230 (vP=O); 1166,7 (vP-N); 1023,6 (vP-O-C).

RMN ¹H (CDCl₃): 4,82 [s, (NHNH₂), 1H]; 3,98 [s, (NHNH₂), 2H]; 3,75 [m, ((CH₃)₂CHCH₂OP), 4H]; 1,89 [m, ((CH₃)₂CHCH₂OP), $J_{HP} = 2,62$ Hz, 2H]; 0,90 [dd, ((CH₃)₂CHCH₂OP), $J_{HH} = 2,02$ Hz, 12H].

RMN ¹³C (CDCl₃): 72,21 [d, ((CH₃)₂CHCH₂OP), $J_{CP} = 5,87$ Hz, 2C]; 26,52 [d, ((CH₃)₂CHCH₂OP), $J_{CP} = 6,23$ Hz, 2C]; 18,49 [s, ((CH₃)₂CHCH₂OP), 4C].

m/Z : 225 (60%), 193 (1%), 169 (17%), 153 (3%), 139 (2,5%), 125 (2,5%), 112 (100%), 98 (2,5%), 82 (5%), 73 (2,5%), 65 (5%), 57 (5%), 47 (2,5%).

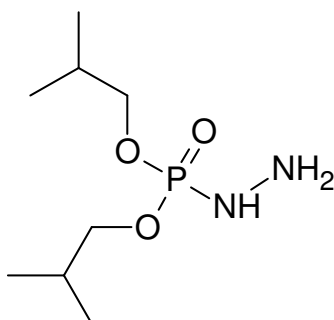


Figura 39. Di-isobutilfosforilidrazina.

3.3.4. Síntese da dissecbutilfosforilidrazina (70).

Utilizou-se 18,0 g (92,7 mmol) do fosfonato de dissecbutila, 20,0 g (130,1 mmol) de tetracloreto de carbono, 2,97 g (92,7 mmol) de hidrazina monoidratada, 3,7 g (92,7 mmol) de hidróxido de sódio, 10,0 mL (10 g – 556 mmol) de água destilada e 10,0 mL (8,2 g – 177 mmol) de etanol. Obteve-se, após evaporação a pressão reduzida, 8,7 g do produto com pureza adequada à sua utilização posterior. O rendimento da dissecbutilfosforilidrazina foi de 42% (**Figura 40**).

Caracterização:

Aspecto: Líquido viscoso amarelo.

IV (NaCl): 3347,87 (vNH); 2973,74 e 2881,18 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1459,87 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1380,8 (δ_{sim}.CH₃); 1230,38 (vP=O); 1174,46 (vP-N); 995,1 (vP-O-C).

RMN ¹H (CDCl₃): 4,37 [m, (CHOP), 2H]; 3,05 [s, (NHNH₂), 3H]; 1,55 [m, (CH₂CHOP), 4H]; 1,26 [d, (CH₃CHOP), J_{HH} = 6 Hz, 6H]; 0,89 [t, (CH₃CH₂CHOP), J_{HH} = 7,50 Hz, 6H].

RMN ¹³C (CDCl₃): 76,00 [d, (CHOP), J_{CP} = 6,02 Hz, 1C]; 75,95 [d, (CHOP), J_{CP} = 6,02 Hz, 1C]; 30,33 [d, (CH₂CHOP), J_{CP} = 5,93 Hz, 2C]; 20,97 [d, (CH₃CHOP), J_{CP} = 3,38 Hz, 2C]; 9,45 [s, (CH₃CH₂CHOP), 2C].

m/Z : 245 (1%), 225 (30%), 193 (1%), 169 (20%), 139 (12,5%), 121 (2,5%), 112 (100%), 82 (7,5%), 73 (2,5%), 65 (7,5%), 57 (7%), 47 (52,5%).

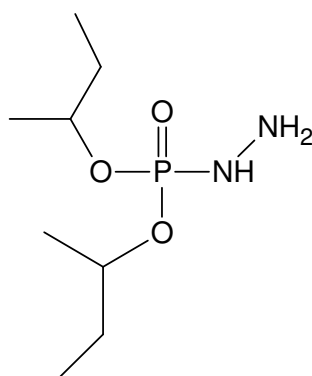


Figura 40. dissecbutilfosforilidrazina.

3.3.5. Síntese da di-isopentilfosforilidrazina (71).

Utilizou-se 20,2 g (90,7 mmol) do fosfonato de di-isopentila, 19,5 g (127,0 mmol) de tetracloreto de carbono, 2,90 g (90,8 mmol) de hidrazina monoidratada, 3,6 g (90,7 mmol) de hidróxido de sódio, 10,0 mL (10,0 g – 556 mmol) de água destilada e 10,0 mL (8,2 g – 177 mmol) de etanol. Obteve-se, após evaporação a pressão reduzida, 10,3 g do produto com pureza adequada à sua utilização posterior. O rendimento da di-sopentilfosforilidrazina foi de 45% (**Figura 41**).

Caracterização:

Aspecto: Líquido viscoso amarelo.

IV (NaCl): 3349,8 (νNH); 2958,32 e 2873,46 (ν_{as} CH₃ e CH₂); 1465,66 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1386,59 (δ_{sim}.CH₃); 1224,6 (νP=O); 1062,6 (νP-N); 1008,6 (νP-O-C).

RMN ¹H (CDCl₃): 4,55 [d, (NHNH₂), J_{HP}= 28,20 Hz, 3H]; 4,03 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,71 [m, (CHCH₂CH₂OP), 2H]; 1,56 [q, (CHCH₂CH₂OP), J_{HH}= 6,39 Hz, 2H]; 1,16 [m, (CHCH₂CH₂OP), 2H]; 0,89 [d, ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OP), J_{HH} = 7,50 Hz, 12H].

RMN ¹³C (CDCl₃): 65,32 [d, (CH₂OP), J_{CP} = 5,97 Hz, 2C]; 39,00 [d, (CH₂CH₂OP), J_{CP} = 6,42 Hz, 2C]; 24,55 [s, (CHCH₂CH₂OP), 2C]; 22,34 [s, (CH₃CHCH₂CH₂OP), 2C].

m/Z : 253 (40%), 223 (1%), 209 (1%), 183 (10%), 167 (2,5%), 153 (2%), 139 (2,5%), 125 (2%), 112 (100%), 98 (2%), 82 (4%), 65 (5%), 43 (55%).

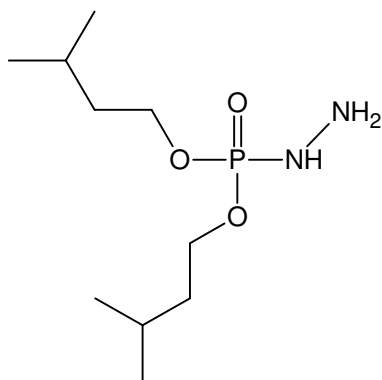
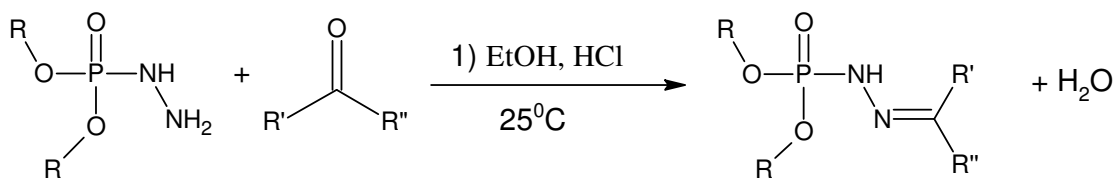


Figura 41. di-isopentilfosforilidrazina.

3.4. Síntese das dialquilfosforilidrazonas.

Procedimento Geral

Em um balão monotubulado de 50 mL adiciona-se dialquilfosforilidrazina, etanol, cetona e três gotas de ácido clorídrico 37%, catalisador da reação. A mistura reacional foi mantida sob agitação, a temperatura ambiente ($\cong 25\text{ }^{\circ}\text{C}$), por um tempo médio de 3h. Ao término da reação, adicionou-se dez (10) gotas de bicarbonato de sódio a 10% para neutralizar o meio. A solução resultante foi transferida para uma ampola de separação, onde, por partição, obteve-se a separação entre as fases orgânica e aquosa. Após a separação, adicionou-se sulfato de magnésio anidro para a completa remoção da água residual. A seguir, foi feita uma filtração simples, para a remoção do agente dessecante, e em seguida foi realizada filtração a vácuo, onde, obteve-se para todas as reações, um produto líquido viscoso (**Esquema 12**).



Esquema 12: Síntese das dialquilfosforilidrazonas.

3.4.1. Síntese da di-isopropilfosforilidrazona da etilmetilcetona (1).

Utilizou-se 0,36 g (5,0 mmol) de metiletilcetona e 1,0 g (5,1 mmol) de di-isopropilfosforilidrazina, 10 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 3 h. Obteve-se 0,80 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 63 % (**Figura 42**).

Caracterização:

Aspecto: óleo incolor.

IV (KBr): 3448 e 3182 (vNH); 2977,6 e 2935,17 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1637,29 (vC=N), 1240,02 (vP=O); 1110,81 (vP-N); 998,06 (vP-O-C).

RMN ¹H (CDCl₃): 6,44 [s, (HN-P=O), 1H]; 4,66 [m, ((CH₃)₂CHOP), 2H]; 2,24 [q, (CH₃CH₂CNCH₃), J_{HH}= 7,25 Hz, 2H]; 2,15 [q, (CH₃CH₂CNCH₃), J_{HH}= 7,25 Hz, 2H]; 1,74 [s, (CH₃CH₂CNCH₃), 3H]; 1,91 [s, (CH₃CH₂CNCH₃), 3H]; 1,35 [d, ((CH₃)₂CHOP), J_{HH}= 6 Hz, 6 H]; 1,30 [d, ((CH₃)₂CHOP), J_{HH}= 6 Hz, 6 H]; 1,03 [t, (CH₃CH₂CNCH₃), 3H].

RMN de ¹³C (CDCl₃): 153,26 [d, (N=C), J_{CP} = 17,89 Hz, 1C]; 71,89 [d, (CHOP), J_{CP} = 5,43 Hz, 2C]; 31,87 [s, (CH₃CH₂C=N), 1C]; 23,83 [d, ((CH₃)₂CHOP), J_{CP} = 4,92 Hz, 2C]; 23,56 [d, ((CH₃)₂CHOP), J_{CP} = 4,92 Hz, 2C]; 14,0 [s, (CH₃C=N), 1C]; 10,93 [s, (CH₃CH₂C=N), 1C].

RMN de ³¹P (CDCl₃): 1,63 (s); 1,30 (s). Espectro desacoplado.

m/Z (%): 251 (100%), 209 (15,0%), 193 (10%), 166 (22,5%), 149 (10%), 111 (15%), 81 (12,5%), 70 (75%).

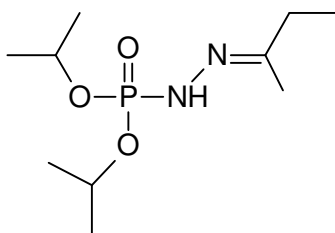


Figura 42. di-isopropilfosforilidrazona da etilmetilcetona.

3.4.2. Síntese da di-isopropilfosforilidrazona da acetona (2).

Utilizou-se 0,3 g (5,1 mmol) de acetona e 1,0 g (5,1 mmol) de di-isopropilfosforilidrazina. 10 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 3 h. Obteve-se 0,82 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 68% (Figura 43).

Caracterização:

Aspecto: óleo incolor.

IV (KBr): 3457 e 3180 (vNH); 2979,53 e 2935,17 (v_{as}CH₃ e CH₂); 1650,79 (vC=N), 1240,02 (vP=O); 1108,89 (vP-N); 998,96 (vP-O-C).

RMN ¹H (CDCl₃): 6,25 [d, (HN-P=O), *J*_{HP} = 28 Hz, 1H]; 4,65 [hd, (CHOP), *J*_{HH} = 6 Hz, *J*_{HP} = 8 Hz, 1H]; 1,95 [s, (CH₃C=N), 3H]; 1,76 [s, (CH₃C=N), 3H]; 1,35 [d, ((CH₃)₂CHOP), *J*_{HH} = 6 Hz, 6H]; 1,30 [d, ((CH₃)₂CHOP), *J*_{HH} = 6 Hz, 6H].

RMN de ¹³C (CDCl₃): 149,41[d, (N=C), *J*_{CP} = 18,04 Hz, 1C]; 71,90 [d, (CHOP), *J*_{CP} = 5,69 Hz, 2C]; 25,04 [s, (CH₃C=N), 1C]; 23,79 [d, ((CH₃)₂CHOP), *J*_{CP} = 4,08 Hz, 2C]; 23,53 [d, ((CH₃)₂CHOP), *J*_{CP} = 4,08 Hz, 2C]; 15,46 [s, (CH₃C=N), 1C].

RMN de ³¹P (CDCl₃): 1,45 (s). Espectro desacoplado.

m/Z (%): 237 (32,5%), 194 (15%), 179 (15%), 152 (77,5%), 135 (32,5%), 122 (10%), 81 (47,5%), 72 (15%), 43 (5%).

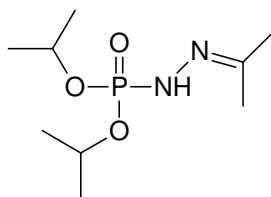


Figura 43. di-isopropilfosforilidrazona da acetona.

3.4.3. Síntese da di-isopropilfosforilidrazona da isobutimetilcetona (3).

Utilizou-se 0,5 g (5,1 mmol) de isobutimetilcetona e 1,0 g (5,1 mmol) de di-isopropilfosforilidrazina. 10 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 3 h. Obteve-se 0,98g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 69% (Figura 44).

Caracterização:

Aspecto: óleo incolor

IV (KBr): 3444 e 3178 (vNH); 2977,6 e 2871,53 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1633,44 (vC=N), 1241,95 (vP=O); 1110,71 (vP-N); 1000,89 (vP-O-C);

RMN ¹H (CDCl₃): 6,37 [d, (HN-P=O), *J*_{HP} = 27 Hz, 1H]; 4,64 [hd, (CHOP), *J*_{HH} = 5,95 Hz, *J*_{HP} = 7,9 Hz, 2H]; 2,09 [d, ((CH₃)₂CHCH₂C=N), *J*_{HH} = 7,3 Hz, 2H]; 1,93 [s, (CH₃C=N), 3H]; 1,85 [m, ((CH₃)₂CHCH₂C=N), 1H]; 1,71 [s, (CH₃C=N), 3H]; 1,33 [d, ((CH₃)₂CHOP), *J*_{HH} = 5,90 Hz, 6H]; 1,27 [d, ((CH₃)₂CHOP), *J*_{HH} = 5,90 Hz, 6H]; 0,86 [d, ((CH₃)₂CHCH₂C=N), *J*_{HH} = 6,10 Hz, 6H];

RMN de ¹³C (CDCl₃): 151,75 [d, (N=C), *J*_{CP} = 16,41 Hz, 1C]; 71,82 [d, (CHOP), *J*_{CP} = 4,47 Hz, 2C]; 47,67 [s, ((CH₃)₂CHCH₂C=N), 1C]; 26,08 [s, ((CH₃)₂CHCH₂C=N), 1C]; 23,86 [d, ((CH₃)₂CHOP), *J*_{CP} = 4,91 Hz, 2C]; 23,56 [d, ((CH₃)₂CHOP), *J*_{CP} = 4,91 Hz, 2C]; 22,32 [s, (CH₃C=N), 1C]; 14,15 [s, ((CH₃)₂CHCH₂C=N), 6C].

RMN de ³¹P (CDCl₃): 1,49 (s); 1,10 (s). Espectro desacoplado.

m/Z (%): 279 (100%), 237 (10%), 221 (5%), 194 (5%), 179 (7,5%), 152 (20%), 135 (2,5%)
111 (17,5%), 98 (17,5%), 81 (7,5%), 57 (2,5%), 43 (2,5%).

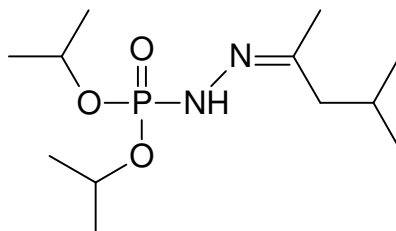


Figura 44. di-isopropilfosforilidrazona da isobutimetilcetona.

3.4.4. Síntese da di-isopropilfosforilidrazona da ciclohexanona (4).

Utilizou-se 0,50g (5,1 mmol) de ciclo hexanona e 1,0 g (5,1 mmol) de di-isopropilfosforilidrazina. 10 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 3 h. Obteve-se 0,80 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 57% (Figura 45).

Caracterização:

Aspecto: óleo amarelo.

IV (KBr): 3440 e 3183 (vNH); 2977 e 2933 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1645,01(vC=N); 1240,02 (vP=O); 1110,81 (vP-N); 997,03 (vP-O-C).

RMN ¹H (CDCl₃): 6,54 [d, (HN-P=O), *J*_{HP} = 28 Hz, 1H]; 4,66 [hd, (CHOP), *J*_{HH} = 6 Hz, *J*_{HP} = 8 Hz, 1H]; 4,54 [hd, (CHOP), *J*_{HH} = 6 Hz, *J*_{HP} = 8 Hz, 1H]; 2,25 [t, (H2), *J*_{HH} = 5,8 Hz, 2H]; 2,19 [t, (H6), *J*_{HH} = 5,7 Hz, 2H]; 1,60 [m, (H3, H4, H5), 6H]; 1,28 [d, ((CH₃)₂CHOP), *J*_{HH} = 6 Hz, 6H]; 1,26 [d, ((CH₃)₂CHOP), *J*_{HH} = 6 Hz, 6H].

RMN de ¹³C (CDCl₃): 155,67 [d, (N=C), *J*_{CP} = 16,93 Hz, 1C]; 71,80 [d, (CHOP), *J*_{CP} = 6,39 Hz, 2C]; 35,24 [s, (C6), 1C]; 27,05 [s, (C5), 1C]; 25,78 [s, (C4), 1C]; 25,69 [s, (C2), 1C]; 25,23 [s, (C3), 1C]; 23,66 [d, ((CH₃)₂CHOP), *J*_{CP} = 5,13 Hz, 2C]; 23,52 [d, ((CH₃)₂CHOP), *J*_{CP} = 5,13 Hz, 2C].

RMN de ³¹P (CDCl₃): 2,30 (s). Espectro desacoplado.

m/Z (%): 277 (100%), 234 (7,5%), 192 (30%), 175 (5%), 111 (7,5%), 96 (37,5%), 81 (7%), 67 (5%).

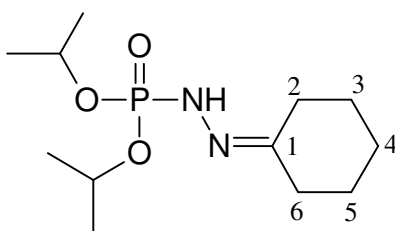


Figura 45. di-isopropilfosforilidrazona da cicloexanona.

3.4.5. Síntese da dibutilfosforilidrazona da etilmetilcetona (5).

Utilizou-se 0,32g (4,4 mmol) de etilmetilcetona e 1,0 g (4,4 mmol) de dibutilfosforilidrazina. 10 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 3 h. Obteve-se 0,65 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 52% (**Figura 46**).

Aspecto: óleo incolor.

IV (KBr): 3459 e 3180 (vNH); 2960,24 e 2935,17 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1637,29 (vC=N), 1247,74 (vP=O); 1116,6 (vP-N); 1029,82 (vP-O-C).

RMN ¹H (CDCl₃): 6,39 [d, (HN-P=O), *J*_{HH} = 26,31 Hz, 1H]; 4,07 [dt, (CH₂OP), *J*_{HH} = 7,18 Hz, *J*_{HP} = 8,63 Hz, 2H]; 3,99 [dt, (CH₂OP), *J*_{HH} = 7,18 Hz, *J*_{HP} = 8,63 Hz, 2H]; 2,24 [q, (CH₃CH₂CNCH₃), *J*_{HH} = 7,60 Hz, 2H]; 2,17 [q, (CH₃CH₂CNCH₃), *J*_{HH} = 7,60 Hz, 2H]; 1,94 [s, (CH₃CH₂CNCH₃), 3H]; 1,76 [s, (CH₃CH₂CNCH₃), 3H]; 1,68 [m, (CH₂CH₂OP), 4 H]; 1,42 [sex, (CH₂(CH₂)₂OP), *J*_{HH} = 7,14 Hz, 4H]. 1,06 [t, (CH₃CH₂CNCH₃), *J*_{HH} = 7,33 Hz, 3H]; 0,92 [t, (CH₃(CH₂)₃OP), *J*_{HH} = 7,28 Hz, 6H].

RMN de ^{13}C (CDCl_3): 153,63 [d, ($\text{N}=\underline{\text{C}}$), $J_{\text{CP}} = 16,39$ Hz, 1C]; 66,87 [d, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 5,74$ Hz, 2C]; 32,28 [d, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 6,42$ Hz, 2C]; 31,88 [s, ($\text{CH}_3\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}=\text{N}$), 1C]; 18,85 [s, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2(\text{CH}_2)_2\text{OP}$), 2C]; 13,89 [s, ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{C}=\text{N}$), 1C]; 13,56 [s, ($\underline{\text{C}}\text{H}_3(\text{CH}_2)_3\text{OP}$), 2C]; 10,89 [s, ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{CH}_2\text{C}=\text{N}$), 1C].

RMN de ^{31}P (CDCl_3): 3,51 (s); 3,18 (s). Espectro desacoplado.

m/Z (%): 279 (100%), 249 (2,5%), 223 (5%), 193 (3%), 167 (15%), 149 (9%), 137 (5%), 125 (2,5%), 111 (2,5%), 98 (12,5%), 81 (5%), 70 (50%), 57 (5%).

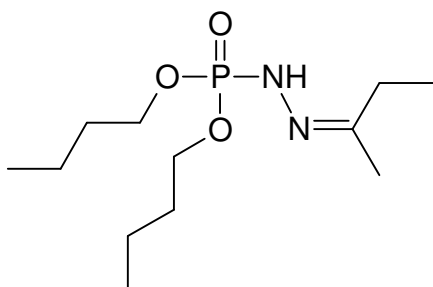


Figura 46. dibutilfosforilidrazona da etilmetilcetona.

3.4.6. Síntese da dibutilfosforilidrazona da acetona (6).

Utilizou-se 0,26g (4,4 mmol) de acetona e 1,0 g (4,4 mmol) de dibutilfosforilidrazina. 10 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 3 h. Obteve-se 0,64 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 54% (**Figura 47**).

Aspecto: óleo incolor.

IV (KBr): 3459 e 3183 (vNH); 2960,24 e 2873,46 (vas CH_3 e CH_2); 1650,79 (vC=N), 1243,38 (vP=O); 1151,31 (vP-N); 1025,96 (vP-O-C);

RMN ^1H (CDCl_3): 6,36 [d, ($\underline{\text{H}}\text{N}-\text{P}=\text{O}$), $J_{\text{HP}} = 24,79$ Hz, 1H]; 4,0 [dt, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 6,81$ Hz, $J_{\text{HP}} = 8,45$ Hz, 4H]; 1,94 [s, ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{C}=\text{N}$), 3H]; 1,76 [s, ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{C}=\text{N}$), 3H]; 1,66 [m, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{OP}$), 4 H]; 1,40 [sex, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2(\text{CH}_2)_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7,55$ Hz, 4H]; 0,90 [t, ($\underline{\text{C}}\text{H}_3(\text{CH}_2)_3\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7,55$ Hz, 6H].

RMN de ^{13}C (CDCl_3): 150,07 [d, ($\text{N}=\underline{\text{C}}$), $J_{\text{CP}} = 17,63$ Hz, 1C]; 66,93 [d, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 5,79$ Hz, 2C]; 32,28 [d, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 6,57$ Hz, 2C]; 25,08 [s, ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{C}=\text{N}$), 1C]; 18,65 [s, ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{C}=\text{N}$), 1C]; 15,46 [s, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2(\text{CH}_2)_2\text{OP}$), 2C]; 13,57 [s, ($\underline{\text{C}}\text{H}_3(\text{CH}_2)_3\text{OP}$), 2C].

RMN de ^{31}P (CDCl_3): 3,44 (s). Espectro desacoplado.

m/Z (%): 265 (100%), 209 (10%), 179 (2,5%), 153 (37,5%), 135(15%), 111 (25%), 81 (12,5%), 56 (5%).

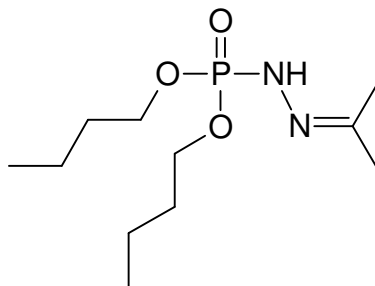


Figura 47. dibutilfosforilidrazona da acetona.

3.4.7. Síntese da dibutilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona (7).

Utilizou-se 0,45g (4,4 mmol) de isobutilmetilcetona e 1,0 g (4,4 mmol) de dibutilfosforilidrazina. 10 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 3 h. Obteve-se 0,75 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 55% (**Figura 48**).

Aspecto: óleo incolor.

IV (KBr): 3494 e 3180 (vNH); 2958,32 e 2873,46 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1633,44 (vC=N), 1247,74 (vP=O); 1128,17 (vP-N); 1029,82 (vP-O-C);

RMN ¹H (CDCl₃): 6,72 [d, (HN-P=O), *J*_{HP} = 23,40 Hz, 1H]; 4,0 [dt, (CH₂OP), *J*_{HH} = 6,90 Hz, *J*_{HP} = 9,35 Hz, 4H]; 2,05 [d, ((CH₃)₂CHCH₂C=N), *J*_{HH} = 8,14 Hz, 2H]; 1,88 [s, (CH₃C=N), 3H]; 1,85 [m, ((CH₃)₂CHCH₂C=N), 1H]; 1,73 [s, (CH₃C=N), 3H]; 1,62 [m, (CH₂CH₂OP), 4 H]; 1,34 [sex, (CH₂(CH₂)₂OP), *J*_{HH} = 7,56 Hz, 4H]; 0,89 [dd, ((CH₃)₂CHCH₂C=N), *J*_{HH} = 6,39 Hz, 6H]; 0,86 [t, (CH₃(CH₂)₃OP), *J*_{HH} = 6,85 Hz, 6H].

RMN de ¹³C (CDCl₃): 152,18 [d, (N=C), *J*_{CP} = 17,72 Hz, 1C]; 66,84 [d, (CH₂OP), *J*_{CP} = 5,74 Hz, 2C]; 47,64 [s, ((CH₃)₂CHCH₂C=N), 1C]; 32,28 [d, (CH₂CH₂OP), *J*_{CP} = 6,39 Hz, 2C]; 26,04 [s, ((CH₃)₂CHCH₂C=N), 1C]; 24,10 [s, (CH₃C=N), 1C]; 22,28 [s, (CH₂(CH₂)₂OP), 2C]; 18,67 [s, ((CH₃)₂CHCH₂C=N), 2C]; 13,57 [s, (CH₃(CH₂)₃OP), 2C].

RMN de ³¹P (CDCl₃): 3,50 (s); 3,22 (s). Espectro desacoplado.

m/Z (%): 307 (100%), 292 (3,5%), 235 (5%), 209 (7%), 179 (7%), 153 (17,5%), 135 (4%), 111 (11%), 98 (20%), 81 (5%), 42 (5%).

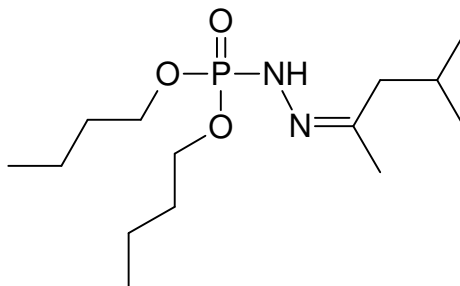


Figura 48. dibutilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.

3.4.8. Síntese da dibutilfosforilidrazona da cicloexanona (8).

Utilizou-se 0,44 g (4,4 mmol) de cicloexanona e 1,0 g (4,4 mmol) de dibutilfosforilidrazina. 10 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 3 h. Obteve-se 0,66 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 49% (**Figura 49**).

Aspecto: óleo amarelo.

IV (KBr): 3444 e 3182 (vNH); 2958,32 e 2873,46 (vCH₃ e CH₂); 1646,94 (vC=N); 1241,95 (vP=O); 1110,89 (vP-N); 1029,82 (vP-O-C).

RMN ¹H (CDCl₃): 6,53 [d, (HN-P=O), $J_{HP} = 23,30$ Hz, 1H]; 4,66 [m, (CH₂OP), 4H]; 2,25 [t, (H₂), $J_{HH} = 6,40$ Hz, 2H]; 2,18 [t, (H₆), $J_{HH} = 6,40$ Hz, 2H]; 1,64 [m, (H₃, H₄, H₅), 6H]; 1,64 [m, (CH₂CH₂OP), 4H]; 1,38 [sex, (CH₂(CH₂)₂OP), $J_{HH} = 7,56$ Hz, 4H]; 0,89 [t, (CH₃(CH₂)₃OP), $J_{HH} = 7,49$ Hz, 6H].

RMN de ¹³C (CDCl₃): 155,86 [d, (N=C), $J_{CP} = 16,99$ Hz, 1C]; 66,84 [d, (CH₂OP), $J_{CP} = 5,93$ Hz, 2C]; 35,23 [s, (C₆), 1C]; 32,22 [d, (CH₂CH₂OP), $J_{CP} = 6,46$ Hz, 2C]; 29,01 [s, (C₅), 1C]; 26,91 [s, (C₄), 1C]; 25,65 [s, (C₂), 1C]; 25,12 [s, (C₃), 1C]; 18,68 [s, (CH₂(CH₂)₂OP), 2C]; 13,59 [s, (CH₃(CH₂)₃OP), 2C].

RMN de ³¹P (CDCl₃): 4,26 (s). Espectro desacoplado.

m/Z (%): 304 (25%), 248 (15%), 192 (25%), 175 (17,5%), 124 (7,5%), 111 (12,5%), 96 (100%), 79 (10%), 67 (7,5%), 55 (7%), 44 (5%).

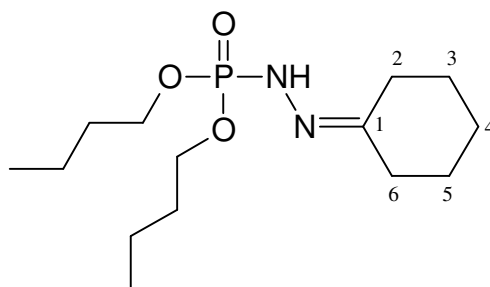


Figura 49. dibutilfosforilidrazona da cicloexanona.

3.4.9. Síntese do Éster di-isobutílico do ácido, *N'*[(6*Z*)- 3,4-diidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2H-naftol [1,2-*b*] piran- 6 (5H)- ilideno] fosforoidrazídico (9).

Utilizou-se 0,24 g (1,0 mmol) de β -lapachona e 0,22 g (1,0 mmol) de diisobutilfosforilidrazina. 10 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 3 h. O produto formado foi purificado em cromatografia em coluna com hexano e acetato de etila 5:1, obtendo-se 0,36g, equivalente a um rendimento de 85% (**Figura 50**).

IV (KBr): 3448,15 (ν_{NH}); 2964,1 e 2875,39 (ν_{CH_3} e CH_2); 1618,01 ($\nu_{\text{C=N}}$); 1598,72 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1562,08 (C=C aromático), 1249,67 ($\nu_{\text{P=O}}$); 1120,46 ($\nu_{\text{P-N}}$); 1016,32 ($\nu_{\text{P-O-C}}$), 889,04 (C-H aromático).

RMN ^1H (CDCl_3): 13,94 [d, (HN-P=O), $J_{\text{HP}} = 37,12$ Hz, 1H]; 8,15 [dd, (H_5), $J_o = 1,82$ Hz, $J_m = 2,20$ Hz, 1H]; 7,89 [dd, (H_8), $J_o = 7,05$, $J_m = 2,20$ Hz, 1H]; 7,44 [td, (H_6), $J_o = 7,25$ Hz, $J_m = 1,96$ Hz, 1H]; 7,41 [td, (H_7), $J_o = 7,25$ Hz, $J_m = 1,85$ Hz, 1H]; 3,92 [dd, (CH_2OP), $J_{\text{HH}} = 6,13$ Hz, $J_{\text{HP}} = 6,68$ Hz, 4H]; 2,58 [t, (H_{11}), $J_{\text{HH}} = 6,43$ Hz, 2H]; 2,0 [m, (CHCH_2OP), 2H]; 1,85 [t, (H_{12}), $J_{\text{HH}} = 6,82$ Hz, 2H]; 1,44 [s, (H_{14} , H_{15}), 6H]; 0,94 [d, ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 6,78$ Hz, 12H].

RMN de ^{13}C (CDCl_3): 181,27 [s, (C_3), 1C]; 161,64 [s, (C_1), 1C]; 133,89 [d, (C_4), $J_{\text{CP}} = 14,75$ Hz, 1C]; 132,05 [s, (C_5), 1C]; 129,77 [s, (C_{10}), 1C]; 127,92 [s, (C_6), 1C]; 126,08 [s, (C_9), 1C]; 122,95 [s, (C_7), 1C]; 122,88 [s, (C_8), 1C]; 111,22 [s, (C_2), 1C]; 78,19 [s, (C_{13}), 1C]; 73,72 [d, (CH_2OP), $J_{\text{CP}} = 6,60$ Hz, 2C]; 31,73 [s, (C_{12}), 1C]; 29,10 [d, (CHCH_2OP), $J_{\text{CP}} = 6,68$ Hz, 2C]; 26,74 [s, (C_{14} e C_{15}), 2C]; 18,69 [s, (C_{11}), 1C]; 15,99 [s, ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$), 4C].

RMN de ^{31}P (CDCl_3): - 2,60 (s). Espectro desacoplado.

m/Z (%): 448 (7,5%), 404 (3%), 365 (55%), 309 (65%), 253 (100%), 210 (12,5%), 173 (6%), 155 (7,5%), 116 (6%), 89 (2,5%), 57 (3%).

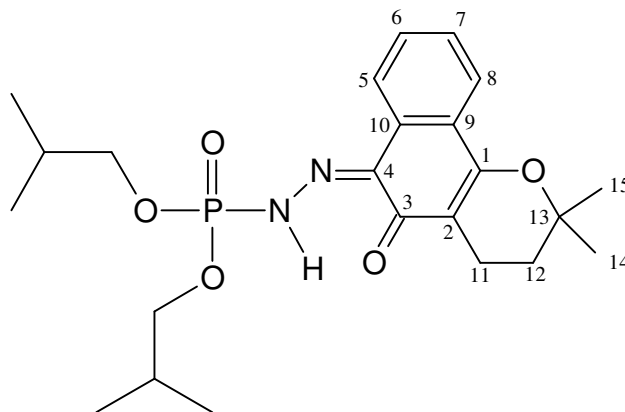


Figura 50. Éster di-isobutílico do ácido, *N'*[(6*Z*)- 3,4-diidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2H- naftol [1,2-*b*] piran- 6 (5H)- ilideno] fosforoidrazídico.

3.4.10. Síntese do éster dibutílico do ácido, *N'*[(6*Z*)- 3,4-diidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2H- naftol [1,2-*b*] piran- 6 (5H)- ilideno] fosforoidrazídico (10).

Utilizou-se 0,24 g (1,0 mmol) de β -lapachona e 0,22 g (1,0 mmol) de dibutillfosforilidrazina. 10 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 3 h. O produto formado foi purificado em cromatografia em coluna com hexano e acetato de etila 5:1, obtendo-se 0,30 equivalente a um rendimento de 70% (**Figura 51**).

IV (KBr): 3452,73 (ν NH); 2962,17 e 2873,46 (ν CH₃ e CH₂); 1618,01 (ν C=N); 1596,8 (ν C=O), 1562,08 (C=C aromático), 1249,67 (ν P=O); 1120,46 (ν P-N); 1031,75 (ν P-O-C), 890,97 (C-H aromático).

RMN ¹H (CDCl₃): 13,91 [d, (HN-P=O), J_{HP} = 35,82 Hz, 1H]; 8,13 [dd, (H5), J_o = 7,44 Hz, J_m = 2,18 Hz, 1H]; 7,87 [dd, (H8), J_o = 6,72 Hz, J_m = 2,18 Hz, 1H]; 7,44 [m, (H6), 1H]; 7,44 [m, (H7), 1H]; 4,15 [m, (CH₂OP), 4H]; 2,56 [t, (H11), J_{HH} = 7,05 Hz, 2H]; 1,85 [t, (H12), J_{HH} = 6,27 Hz, 2H]; 1,71 [quin, (CH₂CH₂OP), 4H]; 1,43 [s, (H14, H15), 6H]; 1,43 [s, (CH₂(CH₂)₂OP), 4H]; 0,88 [t, (CH₃(CH₂)₃OP), J_{HH} = 7,02 Hz, 6H].

RMN de ¹³C (CDCl₃): 181,26 [s, (C3), 1C]; 161,69 [s, (C1), 1C]; 133,98 [d, (C4), J_{CP} = 14,39 Hz, 1C]; 132,0 [s, (C5), 1C]; 129,76 [s, (C10), 1C]; 127,96 [s, (C6), 1C]; 126,08 [s, (C9), 1C]; 122,95 [s, (C7), 1C]; 122,92 [s, (C8), 1C]; 111,21 [s, (C2), 1C]; 78,21 [s, (C13), 1C]; 67,70 [s, (CH₂OP), J_{CP} = 5,83 Hz, 2C]; 32,28 [d, (CH₂CH₂OP), J_{CP} = 5,91 Hz, 2C]; 31,72 [s, (C12), 1C]; 26,73 [s, (C14 e C15), 2C]; 18,65 [s, (C11), 1C]; 15,95 [s, (CH₂(CH₂)₂OP), 2C], 13,54 [s, (CH₃(CH₂)₃OP), 2C].

RMN de ³¹P (CDCl₃): - 0,73 (s). Espectro desacoplado.

m/Z (%): 449 (65%), 420 (100%), 403 (1%), 364 (35%), 308 (12,5%), 289 (2,5%), 252 (90%), 209 (5%), 188 (5%), 172 (2,5%), 155 (2,5%), 115 (2,5%), 89 (1%), 57 (1%).

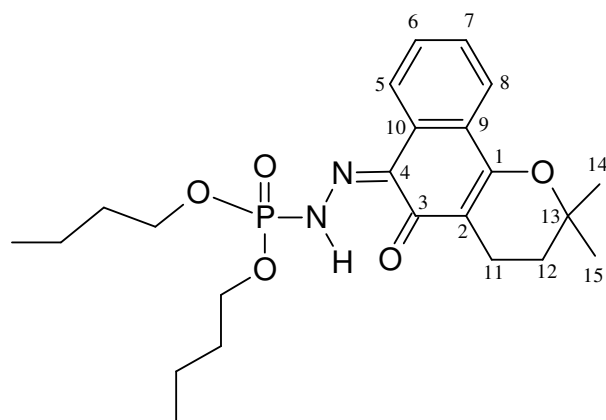


Figura 51. Éster dibutílico do ácido, *N'*[(6*Z*)- 3,4-diidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2H- naftol [1,2- b] piran- 6 (5H)- ilideno] fosforoidrazídico.

3.4.11. Síntese do éster dissecbutílico do ácido, *N'*[(6*Z*)- 3,4-diidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2H- naftol [1,2- b] piran- 6 (5H)- ilideno] fosforoidrazídico (11).

Utilizou-se 0,24 g (1,0 mmol) de β -lapachona e 0,22 g (1,0 mmol) de dissecbutillfosforilidrazina. 10 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 3 h. O produto formado foi purificado em cromatografia em coluna com hexano e acetato de etila 5:1, obtendo-se 0,28g, equivalente a um rendimento de 66% (**Figura 52**).

IV (KBr): 3459,73 (vNH); 2957,67 e 2877,32 (vCH₃ e CH₂); 1616,08 (vC=N); 1596,8 (vC=O), 1560,15 (C=C aromático), 1247,74 (vP=O); 1116,6 (vP-N); 998,96 (vP-O-C), 887,11 (C-H aromático).

RMN ¹H (CDCl₃): 13,93 [d, (HN-P=O), J_{HP} = 31,69 Hz, 1H]; 8,16 [dd, (H5), J_o = 6,22 Hz, J_m = 1,56 Hz, 1H]; 7,88 [dd, (H8), J_o = 7,26 Hz, J_m = 1,55 Hz, 1H]; 7,41 [m, (H6), 1H]; 7,41 [m, (H7), 1H]; 4,60 [m, (CH₂OP), 2H]; 2,57 [t, (H11), J_{HH} = 6,57 Hz, 2H]; 1,87 [t, (H12), J_{HH} = 6,29 Hz, 2H]; 1,63 [m, (CH₂CHOP), 4H]; 1,43 [s, (H14, H15), 6H]; 1,40 [d, (CH₃CHOP), J_{HH} = 6,26 Hz, 3H]; 1,33 [d, (CH₃CHOP), J_{HH} = 6,26 Hz, 3H]; 0,96 [t, (CH₃CH₂CHOP), J_{HH} = 7,04 Hz, 6H]; 0,91 [t, (CH₃CH₂CHOP), J_{HH} = 7,04 Hz, 6H].

RMN de ¹³C (CDCl₃): 181,20 [s, (C3), 1C]; 161,50 [s, (C1), 1C]; 133,50 [d, (C4), J_{CP} = 14,11 Hz, 1C]; 132,16 [s, (C5), 1C]; 129,71[s, (C10), 1C]; 127,75 [s, (C6),1C]; 125,99 [s, (C9), 1C]; 122,89 [s, (C7), 1C]; 122,82 [s, (C8), 1C]; 111,23 [s, (C2), 1C]; 78,08 [s, (C13), 1C]; 71,84 [d, (CHOP), J_{CP} = 6,54 Hz, 2C]; 31,74 [s, (C12), 1C]; 30,43 [d, (CH2CHOP), J_{CP} = 5,86 Hz, 1C]; 30,25 [d, (CH₂CHOP), J_{CP} = 5,86 Hz, 1C]; 26,75 [s, (C14 e C15), 2C]; 21,33 [d, (CH₃CHOP), J_{CP} = 3,72 Hz, 1C]; 21,07 [d, (CH₃CHOP), J_{CP} = 3,72 Hz, 1C]; 16,0 [s, (C11), 1C]; 9,54 [s, (CH₃CH₂CHOP), 1C]; 9,47 [s, (CH₃CH₂CHOP), 1C].

RMN de ³¹P (CDCl₃): -2,60 (s). Espectro desacoplado.

m/Z (%): 449 (50%), 420 (1%), 386 (5%), 342 (5%), 308 (2,5%), 287 (2,5%), 257 (85%), 228 (100%), 201 (12,5%), 172 (47,5%), 144 (25%), 115 (20%), 50 (7,5%).

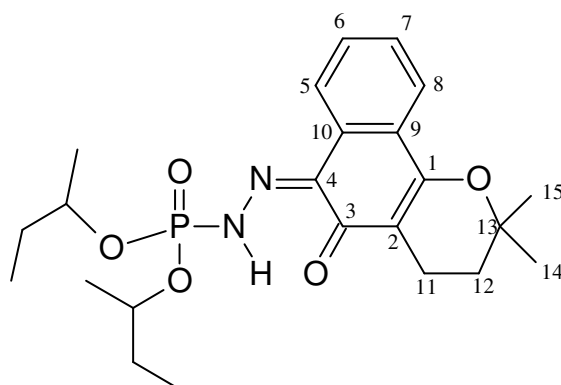


Figura 52. Éster dissecbútílico do ácido, *N'*[(6*Z*)- 3,4-diídrido- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2H- naftol [1,2-*b*] piran- 6 (5H)- ilideno] fosforoidrazídico.

3.4.12. Síntese do éster di-isopentílico do ácido, *N'*[(6*Z*)- 3,4-diídrido- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2H- naftol [1,2-*b*] piran- 6 (5H)- ilideno] fosforoidrazídico (12).

Utilizou-se 0,24 g (1,0 mmol) de β -lapachona e 0,25 g (1,0 mmol) de di-isopentilfosforilidrazina. 10 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 3 h. O produto formado foi purificado em cromatografia em coluna com hexano e acetato de etila 5:1, obtendo-se 0,35g, equivalente a um rendimento de 69% (**Figura 53**).

IV (KBr): 3471,3 (vNH); 2958,32 e 2873,46 (vCH₃ e CH₂); 1644,6 (vC=N); 1596,8 (vC=O), 1564,1 (C=C aromático), 1297,88 (vP=O); 1116,6 (vP-N); 1039,46 (vP-O-C), 887,11 (C-H aromático).

RMN ¹H (CDCl₃): 13,96 [d, (HN-P=O), $J_{HP} = 31,52$ Hz, 1H]; 8,14 [dd, (H5), $J_o = 7,22$ Hz, 1H]; 7,85 [dd, (H8), $J_o = 7,56$ Hz, $J_m = 1,52$ Hz, 1H]; 7,44 [td, (H6, H7), $J_o = 7,51$ Hz, $J_m = 1,51$ Hz, 1H]; 4,17 [m, (CH₂OP), 4H]; 2,57 [t, (H11), $J_{HH} = 6,62$ Hz, 2H]; 1,84 [t, (H12), $J_{HH} = 6,62$ Hz, 2H]; 1,77 [m, (CH₂CH₂OP), 4H]; 1,58 [m, (CHCH₂CH₂OP), 2H]; 1,43 [s, (H14, H15), 6H]; 0,88 [dd, ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OP), 12H].

RMN de ¹³C (CDCl₃): 181,28 [s, (C3), 1C]; 161,69 [s, (C1), 1C]; 132,09 [d, (C4), $J_{CP} = 13,69$ Hz, 1C]; 131,99 [s, (C5), 1C]; 129,74[s, (C10), 1C]; 127,98 [s, (C6),1C]; 126,10 [s, (C9), 1C]; 122,95 [s, (C7), 1C]; 122,65 [s, (C8), 1C]; 111,23 [s, (C2), 1C]; 78,21[s, (C13), 1C]; 66,45 [d, (CH₂OP), $J_{CP} = 6,11$ Hz, 2C]; 38,90 [d, (CH₂CH₂OP), $J_{CP} = 5,85$ Hz, 2C]; 31,74 [s, (C12), 1C]; 26,75 [s, (C14 e C15), 2C]; 25,47 [s, (C11), 1C]; 24,43 [s, (CH(CH)₂OP), 2C]; 22,34 [s, ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OP), 2C]; 22,29 [s, ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OP), 2C];

RMN de ³¹P (CDCl₃): - 0,73 (s). Espectro desacoplado.

m/Z (%): 477, (47,5%), 449 (100%), 379 (25%), 308 (17,5%), 256 (30%), 209 (5%), 188 (2,5%), 155 (2,5%), 117 (2%), 89 (1%), 43 (2,5%).

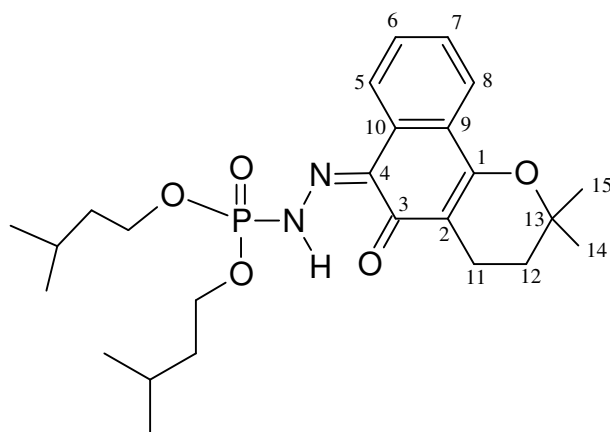


Figura 53. Éster di-isopentílico do ácido, *N'*[(6*Z*)- 3,4-diidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2*H*- naftol [1,2-*b*] piran- 6 (5*H*)- ilideno] fosforoidrazídico.

3.5. Avaliação da atividade biológica dos compostos sintetizados

3.5.1. Atividade sobre o desenvolvimento sobre o fungo *Rhizoctonia solani*

Foi testado o desenvolvimento em meio nutritivo batata-dextrose-ágar (BDA) do fungo isolado *Rhizoctonia Solani*.

A cultura pura do fungo foi obtida no setor de fitopatologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

As substâncias puras utilizadas nos ensaios foram adquiridas com os representantes da Sigma-Aldrich no Brasil.

As substâncias puras foram misturadas ao meio de cultura BDA (preparado em pH 7), na relação de 0,025g do composto puro em 50ml de BDA e vertidos em placa de Petri, mantendo-se em concentração de 0,5g.L⁻¹.

Para que os compostos pudessem ser diluídos no meio BDA, foi utilizado (DMSO). Desse modo, os controles foram preparados de modo que os meios de cultura submetidos apenas ao tratamento com DMSO formassem o controle negativo e os meios de cultura sem nenhum tratamento formassem o controle positivo.

Aos meios de culturas foi adicionado antibiótico de largo espectro, gentamicina. Após a solidificação do meio, foram repicados nos centros das placas discos de 6 mm de diâmetro, retirados de placas que continham a cultura pura do fungo. Após os tratamentos, o material em estudo foi inserido em uma câmara termostática, à temperatura constante de 24°C (± 1°C).

As propriedades fúngicas das soluções teste foram monitoradas através da avaliação do desenvolvimento ou não do miscélio fúngico. O crescimento miscelial dos fungos (média do

diâmetro das colônias nos dois sentidos ortogonais) nos vários tratamentos foi avaliado antes que o halo de crescimento alcançasse o diâmetro total das placas.

3.5.2 Atividade sobre a germinação de sementes

O experimento foi conduzido no Laboratório de Bioquímica de Plantas do Departamento de Química-UFRuralRJ. Os ensaios com germinação de sementes foram feitos em alface comercial (*Lactuca sativa L.*) e realizados com duas concentrações (200 ppm e 400 ppm) em cinco repetições, cada qual, contendo 50 sementes.

Os experimentos constituíram-se nos tratamentos com os compostos puros solubilizados em diclorometano, seguido após evaporação, de adição de água, controle negativo (com tratamento de diclorometano e água destilada) e controle positivo (apenas com água destilada).

Inicialmente, as sementes selecionadas foram postas na porção central da placa de Petri coberta por papel de filtro, em seguida foram adicionados as soluções preparadas. Após a evaporação do solvente adicionou-se 3,0 mL de água destilada e, por fim, as placas foram lacradas com filme plástico e acondicionadas no germinador com foto período de 12 horas sob a luz do dia e com temperatura de 23°C ($\pm 1^\circ\text{C}$). No sétimo dia do experimento foram feitas as contagens, os dados foram submetidos a análise de variância e as médias verificadas por teste de médias.

3.5.3. Ensaios de letalidade sobre *Leishmania (L.) amazonensis* e *Trypanosoma cruzi*.

3.5.3.1. Medidas de proliferação celular

Promastigotas da cepa Josefa (MHOM/Br/75/Josefa) de *Leishmania (L.) amazonensis* foram mantidos em meio Warren e as formas epimastigotas da cepa Y de *T. cruzi* foram cultivadas em meio LIT “Liver Infusion Tryptose”, ambos os meios suplementados com 10% soro fetal bovino e mantidos a 26°C.

Foram utilizados inóculos de 5×10^5 parasitos/mL. Os parasitos foram centrifugados e lavados duas vezes em salina tamponada com fosfato (PBS) estéril. Após a última lavagem, o sobrenadante foi desprezado, as células foram ressuspensas em 1 mL do mesmo tampão e contadas em câmara de Neubauer. Os parasitos foram incubados, a 27°C, em presença ou

ausência dos fármacos e o crescimento verificado após 72 horas (*Leishmanis*) e 120 hs (*T. cruzi*). Os dados apresentados são representativos de experimentos independentes realizados em triplicata.

4 Resultados e Discussão

4.1. Considerações Gerais

Este capítulo está estruturado em quatro tópicos. O primeiro tópico descreve todas as etapas necessárias para a síntese das dialquilfosforilidrazonas, apresentando a determinação estrutural de todos os compostos sintetizados.

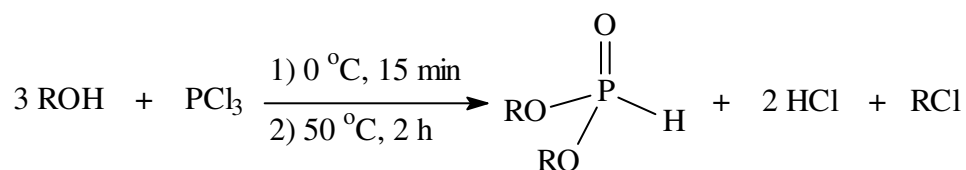
O segundo tópico relata o potencial fungicida das dialquilfosforilidrazonas sobre o fungo *Rhizoctonia Solani*.

O terceiro tópico consiste na análise do efeito das dialquilfosforilidrazinonas na germinação e no desenvolvimento de sementes de alface.

O quarto tópico apresenta os estudos de avaliação da atividade antiprotozoose, realizados através de colaboração do nosso grupo com a Fundação Oswaldo Cruz de Salvador, das dialquilfosforilidrazonas sobre *Leishmania L. amazonensis* e *T. cruzi*.

4.1.1. Síntese dos fosfonatos de dialquila

A matéria prima principal para esta síntese é o tricloreto de fósforo, que reage com três mols do álcool correspondente, para formar o fosfonato com a liberação de dois mols de ácido clorídrico e um mol do cloreto de alquila, o qual é eliminado através de evaporação a pressão reduzida em evaporador rotatório. O **Esquema 13** mostra a reação de obtenção dos fosfonatos de dialquila.

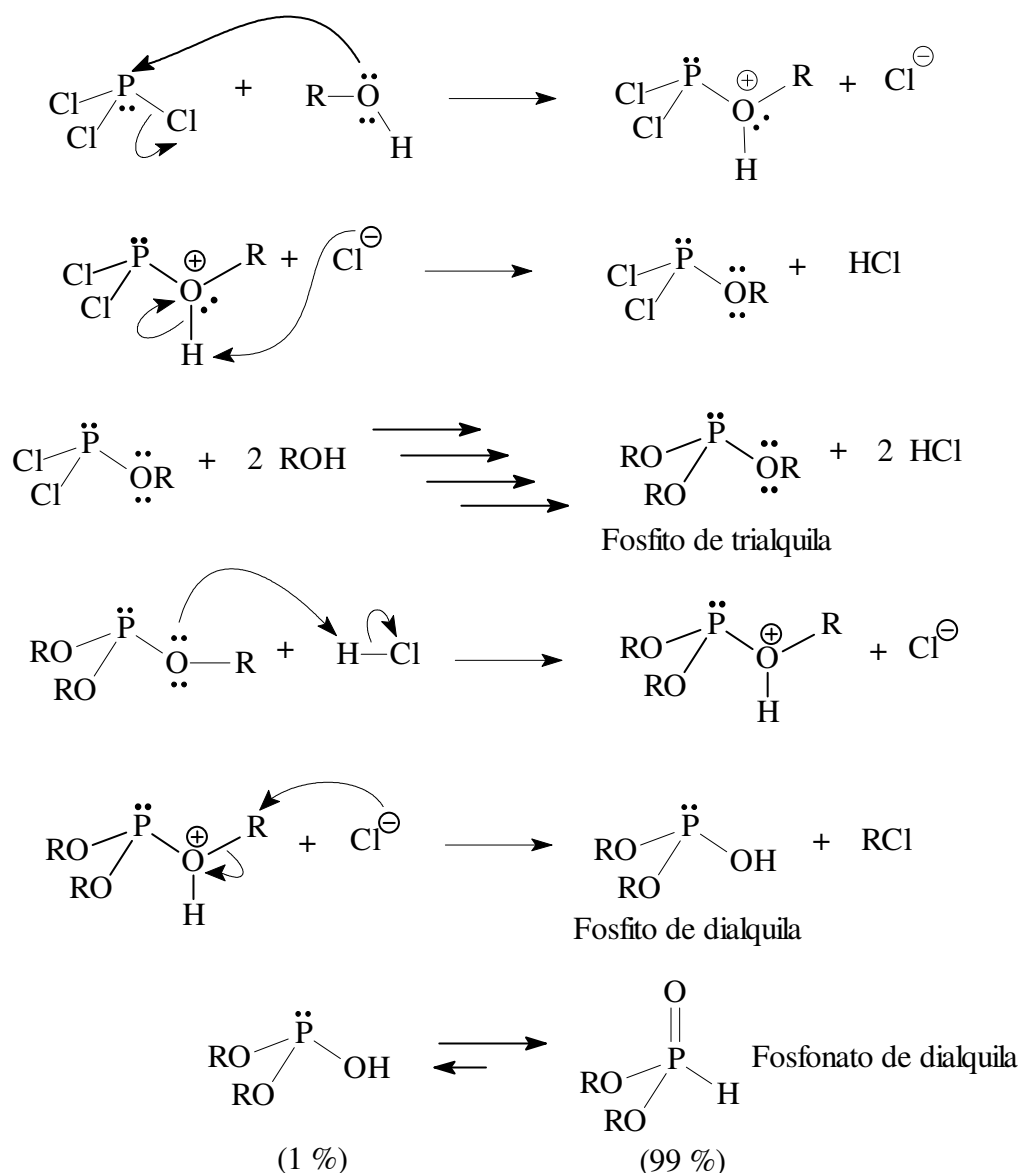


(77) R = butil (78); R = isopropil; (79) R = isobutil; (80) R = secbutil e (81) R = isopentil.

Esquema 13. Esquema de reação dos fosfonatos de dialquila.

A formação dos fosfonatos de dialquila envolve um sistema de reações do tipo S_N2 (KOSALOPOFF & MAIER, 1973), conforme é mostrado no **Esquema 14**.

Nesta reação, o ataque do álcool ao tricloreto de fósforo gera o fosfito de trialquila; estando ácido o meio reacional, ocorre a protonação do fosfito de trialquila, através dos pares de elétrons do oxigênio, formando um cátion trivalente, que é então atacado pelo cloreto no carbono do grupo alquila, formando o fosfonato de dialquila e o cloreto de alquila correspondente.



Esquema 14. Mecanismo de obtenção dos fosfonatos de dialquila.

Conforme também é mostrado no **Esquema 14**, os fosfonatos de dialquila apresentam-se em duas formas em equilíbrio, sendo que a forma na qual o átomo de fósforo está no estado tetracoordenado é a preferencial (CARBRIDGE, 1974).

A **Tabela 3** apresenta os rendimentos obtidos na síntese dos fosfonatos de dialquila.

Tabela 3. Rendimentos dos fosfonatos de dialquila.

(RO)₂P(O)H	
R	Rendimento (%)
(62) butil	78
(63) isopropil	94
(64) isobutil	79
(65) secbutil	83
(66) isopentil	83

Normalmente, os fosfonatos de dialquila são purificados através de destilação a pressão reduzida, com o objetivo de se remover todo o cloreto de alquila e o cloreto de hidrogênio remanescente, subprodutos da reação. Durante este processo, deve-se ter o cuidado de não superaquecer o meio reacional, pois o superaquecimento leva à provável formação de polifosfatos, a qual é verificada pelo aumento contínuo da viscosidade do conteúdo do balão, ocasionando a redução do rendimento da reação. Após este tratamento, os fosfonatos de dialquila apresentam grau de pureza adequado para serem utilizados.

Os fosfonatos de diisopropila e de dibutila sintetizados foram utilizados para a obtenção das dialquilfosforilidrazonas derivadas de cetonas alifáticas e da cicloexanona. O fosfonato de dibutila também foi utilizado, juntamente com os fosfonatos de, diisobutila, disecbutila e diisopentila para a obtenção das dialquilfosforilidrazonas derivadas da β -lapachona.

O critério para a utilização de diferentes álcoois foi avaliar suas diferentes lipofilicidades nos sítios enzimáticos de cada ensaio biológico realizado.

4.1.2. Determinação estrutural dos fosfonatos de dialquila

Os espectros de IV e RMN de ¹H dos fosfonatos de dialquila estão no anexo.

4.1.2.1. Análise por espectrometria de infravermelho

A principal banda de absorção que caracteriza os fosfonatos de dialquila é referente ao estiramento da ligação P-H. Esta banda ocorre na faixa de frequência de 2222 a 2505 cm^{-1} , que é uma região onde geralmente não há bandas de absorção de outros grupos funcionais, o que permite a fácil identificação dos fosfonatos de dialquila por infravermelho (THOMAS, p. 73, 1974). Outras bandas de absorção características dos fosfonatos de dialquila são referentes ao estiramento das ligações P=O e P-O-C (alifático), que ocorrem, respectivamente, na faixa de 1210 a 1261 cm^{-1} e 950 a 1018 cm^{-1} (THOMAS, 1974).

A **Tabela 4** apresenta as principais bandas de absorção dos fosfonatos de dialquila sintetizados.

(RO)₂P(O)H			
R	P-H	P=O	P-O-C
(62) butil	2428,0 (st)	1225,0 (st)	994,0 (st)
(63) isopropil	2433,6 (st)	1222,6 (st)	988,2 (st)
(64) isobutil	2431,7 (st)	1245,2 (st)	985,3 (st)
(65) secbutil	2433,7 (st)	1216,9 (st)	989,3 (st)
(66) isopentil	2431,8 (st)	1205,3 (st)	1012,5 (st)

As absorções estão expressas em cm^{-1} .

Tabela 5. Principais bandas de absorção dos fosfonatos de dialquila sintetizados.

4.1.2.2. Análise por espectrometria de RMN de ¹H

Nos espectros de RMN de ¹H dos fosfonatos de dialquila sintetizados, os sinais característicos, que comprovam a obtenção destes compostos, é um duplete referente ao hidrogênio ligado diretamente ao átomo de fósforo, em uma faixa de 6,54 e 6,79 ppm, com constante de acoplamento P-H elevada, em torno de 697 Hz e um sinal em torno de 4,0 ppm, correspondente aos hidrogênios do carbono ligado aos oxigênios do grupo fosforila. Em geral, nos fosfonatos de dialquila, a constante de acoplamento entre o átomo de fósforo e o átomo de hidrogênio na ligação P-H varia de 660 a 750 Hz (THOMAS, p. 79, 1974).

A **Tabela 6** mostra os valores dos deslocamentos químicos (δ) e as multiplicidades para todos os hidrogênios presentes nos fosfonatos de dialquila, assim como os valores para as constantes do acoplamento P-H e dos acoplamentos H-H.

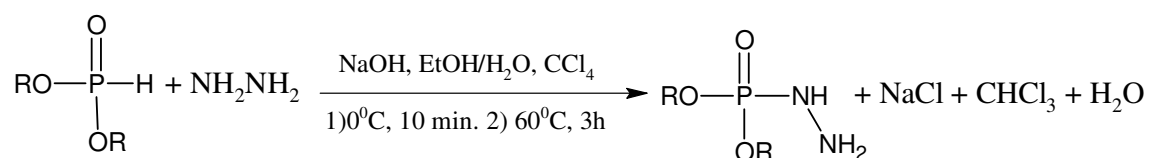
Como pode ser visto em alguns dos dados da **Tabela 5**, os hidrogênios da cadeia alquílica dos fosfonatos de dialquila acoplam vicinalmente entre si e com o fósforo. O acoplamento vicinal é descrito na literatura com valor de aproximadamente 6,0 Hz (CAMPS & CASTELLS, 1980).

Tabela 5. Dados de RMN de ^1H dos fosfonatos de dialquila sintetizados.

δ em ppm (multiplicidade)*								
Comp.	P-H	CH_nOP	$\text{CH}_n\text{CH}_{n1}\text{OP}$	$\text{CH}_n(\text{CH})_{n1}\text{OP}$	$(\text{CH}_3)_2\text{CHOP}$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OP}$	$(\text{CH}_x)_n\text{CH}_{n1}\text{CH}_{n2}\text{OP}$	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OP}$
62	6,76 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 6,98$	n = 2 4,03 (dt)/4H $J_{\text{HH}} = 6,0$ $J_{\text{HP}} = 8,0$	n1=2, n = 2 1,63 (quin)/4H $J_{\text{HH}} = 6,0$	n1 = 2, n=2 1,38 (sex)/4H $J_{\text{HH}} = 6,0$	-	0,91 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 6,0$	-	-
63	6,54(d)/1H $J_{\text{HP}} = 6,95$	n = 1 4,68 (hd)/2H $J_{\text{HH}} = 6,0$ $J_{\text{HP}} = 8,0$	-	-	1,30 (d)/12H $J_{\text{HH}} = 6,0$	-	-	-
64	6,79 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 6,97$	n = 2 3,81 (m)/2H	n1=2, n = 1 1,94 (h)/1H $J_{\text{HH}} = 6,7$	-	-	-	n2 =2, n1 =1, n=2, x=3 0,98 (m)/6H 0,89 (m)/6H	-
	-	n=2 3,38(dd)/2H $J_{\text{HH}} = 6,0$ $J_{\text{HP}} = 8,0$	n1=2, n = 1 1,76 (h)/1H $J_{\text{HH}} = 6,7$					
65	6,75 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 6,94$	n = 1 4,39 (m)/2H	n1=1, n = 2 1,55 (m)/4H	-	-	-	n2 =1, n1 =1, n=1, x=3 0,88 (d)/3H; 0,86 (d)/3H $J_{\text{HH}} = 7,48$	-
			n1=1, n = 3 1,28 (d)/3H; 1,15 (d)/3H $J_{\text{HH}} = 6,13$					
66	6,77 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 6,95$	n = 2 3,83 (m)/4H	n1=2, n = 2 1,49 (m)/4H $J_{\text{HH}} = 7,13$	-	-	-	n2 =2, n1 =2, n=1, x=1 1,15 (m)/2H	0,89 (d)/12H $J_{\text{HH}} = 6,57$

4.1.3. Síntese das dialquifosforilidrazinas

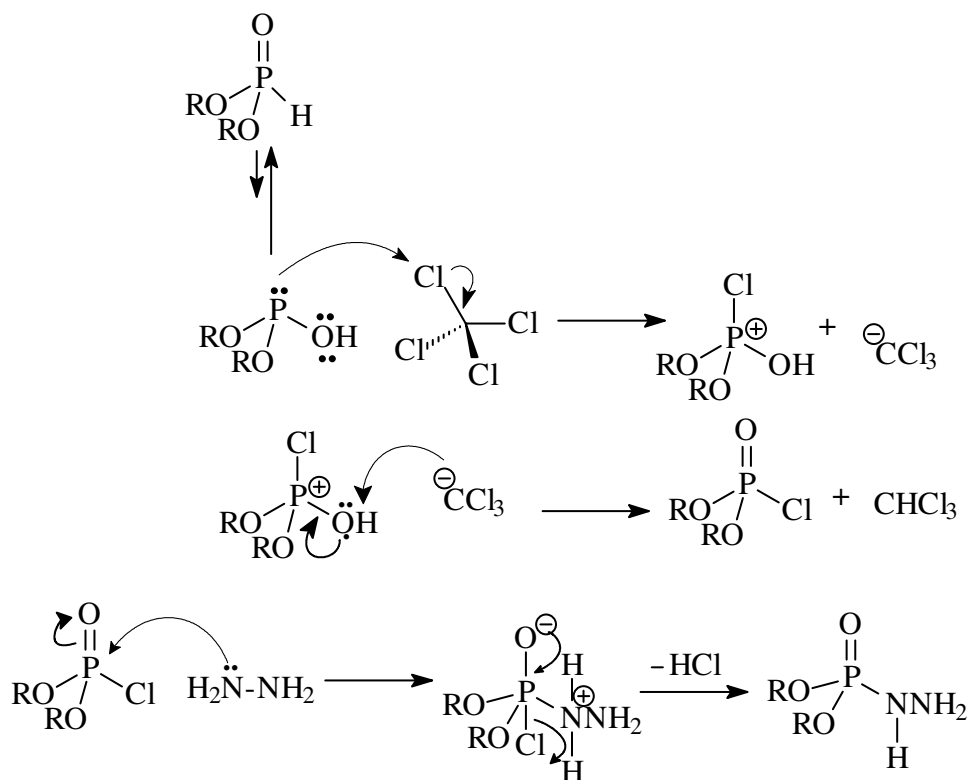
A síntese das dialquifosforilidrazinas, também denominadas ácido fosforoidrazídico éster de dialquila, ocorreu segundo a reação de Todd-Atherton modificada (TODD & ATHERTON, 1945; TODD & ATHERTON, 1947; TODD & ATHERTON, 1948; ZHAO *et al.*, 1984; ZHAO *et al.*, 1988), a qual envolve um sistema bifásico composto por tetracloreto de carbono, solução aquosa de hidróxido de sódio e ainda etanol, que atua como solvente na reação, conforme apresenta o **Esquema 15**.



R= isopropil, isobutil, isopentil, secbutil e butil.

Esquema 15. Reação de obtenção das dialquifosforilidrazinas.

O mecanismo desta reação, apresentado no **Esquema 16**, tem início a partir de um ataque nucleofílico pelo par de elétrons presente na forma trivalente do fosfonato de dialquila sobre o tetracloreto de carbono que, neste sistema, é um reagente que age como eletrófilo, gerando um cátion tetravalente de fósforo, que por sua vez, através da abstração de um átomo de hidrogênio, é convertido num fosforocloridato de dialquila, o qual é atacado pela hidrazina formando, após a ação básica do hidróxido de sódio, a dialquifosforilidrazina. Esta reação é, atualmente, a forma usual de síntese de fosforamidatos a partir de fosfonatos de dialquila.



Esquema 16. Mecanismo de síntese das dialquilfosforilidrazinas.

A **Tabela 7** apresenta os rendimentos obtidos na síntese dos fosfonatos de dialquila.

(RO)₂P(O)NHNH₂	
R	Rendimento (%)
(67) butil	46
(68) isopropil	46
(69) isobutil	44
(70) secbutil	42
(71) isopentil	45

4.1.4. Determinação estrutural das dialquilfosforilidrazinas

Os espectros de IV, RMN de ¹H, RMN de ¹³C e massas das dialquilfosforilidrazinas estão no anexo.

4.1.4.1. Análise por espectrometria de infravermelho

A formação da ligação P-N é a evidência da reação entre os fosfonatos de dialquila e a hidrazina. No entanto, conforme afirma THOMAS, L. C. (THOMAS, p. 65, 1974), há uma grande dificuldade em se assinalar a frequência de vibração da ligação P-N que muitas vezes não é observada devido à sobreposição da frequência característica da ligação P-O-C. Em geral, a vibração P-N é caracterizada por uma banda de intensidade de média a forte na região entre 789 e 1102 cm^{-1} . Uma outra característica desses compostos, é a presença, geralmente, de uma única banda em torno de 3350 cm^{-1} , referente ao estiramento axial da ligação N-H que promove o mesmo efeito de sobreposição na frequência de vibração da ligação H-N-H encontrada entre 3400 e 3500 cm^{-1} . Os estiramentos das ligações P-O-C e P=O foram discutidos com maiores detalhes no tópico 4.1.2.1.

A **Tabela 8** apresenta as principais bandas de absorção das dialquifosforilidrazinas sintetizadas.

(RO)₂P(O)N(H)NH₂				
Composto	P=O	P-O-C	P-N	N-H
67	1225 (st)	1027 (st)	1067 (st)	3344 (st) 1629,6 (δ)
68	1226,5 (st)	1027,9 (st)	1064,5 (st)	3344 (st) 1633,4 (δ)
69	1230 (st)	1023,6 (st)	1166,7 (st)	3351,8 (st) 1632,9 (δ)
70	1230,9 (st)	995 (st)	1174,5 (st)	3347,9 (st) 1629,6 (δ)
71	1224,6 (st)	1008,6 (st)	1062,6 (st)	3349,8 (st) 1629,6 (δ)

As absorções estão expressas em cm^{-1} .

Nos espectros de IV dos compostos (67, 68, 69, 70 e 71), não foi verificada a presença de bandas de absorção na região de 2425 cm^{-1} , o que evidencia a ausência de ligação P-H, característica dos fosfonatos de dialquila.

4.1.4.2. Análise por espectrometria de RMN de ^1H

O sinal característico, observado na espectrometria de RMN de ^1H , da obtenção dos compostos 67, 68 e 70 é um simpleto largo em aproximadamente 5,2, 3,6 e 3,05 ppm respectivamente, com integração para três hidrogênios referentes as ligações $-\text{NHNH}_2$. No composto 69 é visualizado dois simpletos largos em aproximadamente 4,0 e 4,8 ppm, referentes também aos hidrogênios hidrazínicos. No composto 71, é um duplete em 4,55 ppm referente aos três hidrogênios com uma constante de acoplamento H-P em torno de 28 Hz.

Compostos contendo hidrogênio ligado a nitrogênio às vezes, devido à troca dos hidrogênios com o solvente, são totalmente ou parcialmente desacoplados, logo, não se observa o acoplamento desses com hidrogênios adjacentes, assim o sinal é um simpleto. O simpleto estreito e alto indica que a velocidade da troca é rápida, o largo indica que a troca é moderada e o bem relaxado indica troca lenta, no caso das dialquifosforilidrazonas temos os dois últimos casos.

A evidência de que todo o fosfonato de dialquila reagiu, é o desaparecimento do duplete centrado em aproximadamente 6,70 ppm.

A **Tabela 8** apresenta os deslocamentos químicos (δ) e as multiplicidades de todos os hidrogênios presentes nas dialquifosforilidrazinas sintetizadas.

4.1.4.3. Análise por espectrometria de RMN de ^{13}C

Os carbonos da cadeia alcóxida nas dialquifosforilidrazinas acoplam com o átomo de fósforo até três ligações, apresentando constantes de acoplamento que variam de 5,0 s 6,3 Hz.

A **Tabela 9** apresenta as constantes de acoplamento, os deslocamentos químicos (δ) e as multiplicidades dos carbonos presentes nos compostos (67, 68, 69, 70 e 71).

Tabela 9. Dados de RMN de ^1H das dialquilfosforilidrazinas

Comp.	δ em ppm (multiplicidade)*							
	P-NHNH ₂	CH _n OP	CH _n CH _{n1} OP	CH _n (CH ₂) _{n1} OP	(CH ₃) _{n1} CH _n OP	CH ₃ (CH ₂) ₃ OP	(CH _x) _n CH _{n1} CH _{n2} OP	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ CH ₂ OP
67	5,23(s)/3H	n=2 3,90(m)/4H	n1=2, n=2 1,52(m)/4H	n1=2, n=2 1,28(m)/4H	-	0,81(t)/6H $J_{HH} = 3,28$	-	-
68	3,67(s)/3H	n=1 4,61(hd)/2H $J_{HH} = 6,0$ $J_{HP} = 8,0$	-	-	n=1, n1=2 1,30 (d)/12H $J_{HH} = 6,0$	-	-	-
69	4,82(s)/1H 3,98(s)/2H	n=2 3,75(m)/4H $J_{HP} = 2,2$	n1=2, n=1 1,89(m)/2H $J_{HP} = 2,62$	-	-	-	n2= 2, n1= 1, n=2, x= 3 0,90(t)/12H $J_{HH} = 2,02$	-
70	3,05(s)/3H	n=1 4,37(m)/2H	n1=1, n=2 1,55(m)/4H	-	n=1, n1=1 1,26 (d)/4H $J_{HH} = 6$	-	n2= 1, n1= 2, n=1, x= 3 0,89(t)/6H $J_{HH} = 7,50$	-
71	4,55(d)/3H $J_{HP} = 28,20$	n=2 4,03(m)/4H	n=2 1,71(m)/2H 1,56 (q)/2H $J_{HH} = 6,39$	-	-	-	n2= 2, n1= 2, n=1, x= 1 1,16 (m)/2H	0,89 (d)/12H $J_{HH} = 7,50$

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz

Tabela 10. Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazinas

δ em ppm (multiplicidade)*							
Comp.	$\underline{\text{C}}\text{H}_n\text{OP}$	$\underline{\text{C}}\text{H}_n\text{CH}_2\text{OP}$	$\underline{\text{C}}\text{H}_n(\text{CH}_2)_{n1}\text{OI}$	$(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2\text{CHOP}$	$\underline{\text{C}}\text{H}_3(\text{CH}_2)_3\text{OP}$	$(\underline{\text{C}}\text{H}_x)_n\text{CH}_{n1}\text{CH}_{n2}\text{OI}$	$(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OP}$
67	n=2 66,18(d)/1C 65,03(d)/1C $J_{\text{CP}} = 6\text{Hz}$	n=2 32,23(d)/1C 31,81(d)/1C $J_{\text{CP}} = 5\text{Hz}$	n1=2, n=2 18,47(s)/2C	-	13,17(s)/2C	-	-
68	n=1 71,12(d)/2C $J_{\text{CP}} = 6,0$	-	-	23,46(d)/4C $J_{\text{CP}} = 5,0$	-	-	-
69	n=2 72,21(d)/2C $J_{\text{CP}} = 5,87$	n=1 26,52(d)/2C $J_{\text{CP}} = 6,23$	-	-	-	n2=2, n1=1, n=2, x=3 18,49(s)/4C	-
70	n=1 76,0(d)/1C; 75,95(d)/1C $J_{\text{CP}} = 6,02$	n=2 30,33(d)/2C $J_{\text{CP}} = 5,93$ n=2 20,97 (d)/2C $J_{\text{CP}} = 3,38$	-	-	-	n2=1, n1=2, n=1, x=3 9,45(s)/2C	-
71	n=2 65,32(d)/2C; $J_{\text{CP}} = 5,97$	n=2 39,0(d)/2C; $J_{\text{CP}} = 6,42$	-	-	-	n2=2, n1=2, n=1, x=1 24,55(s)/2C	22,34(s)/2C

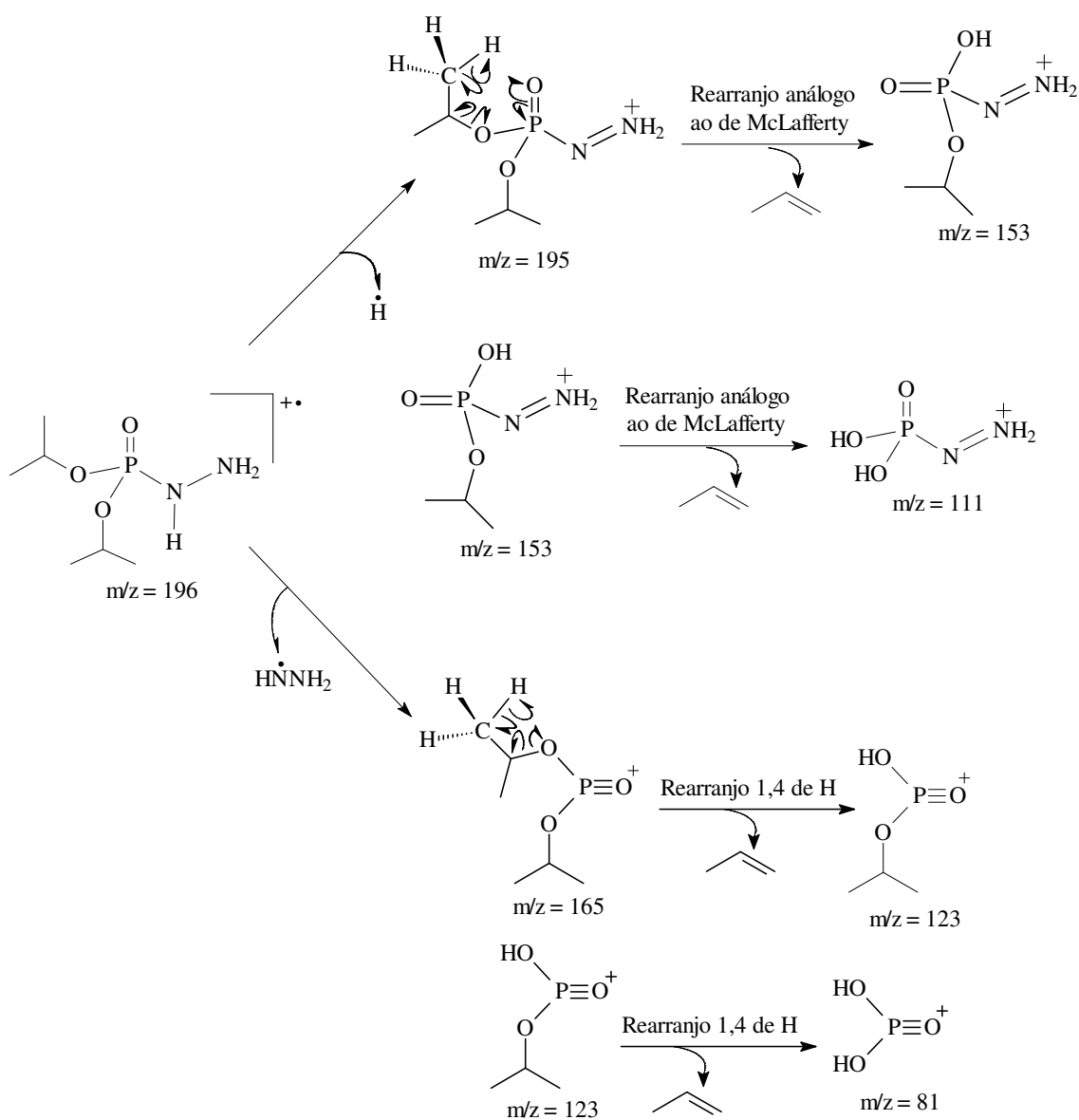
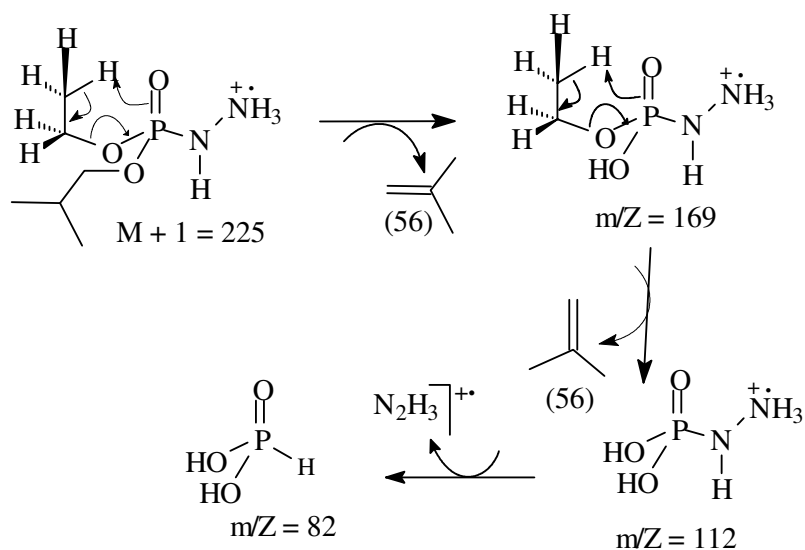
* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

4.1.4.4. Análise por espectrometria de massas

Na análise por espectrometria de massas, os principais picos correspondentes as dialquifosforilidrazinas são o íon molecular ($M + 1$) e os fragmentos originados pelo rearranjo análogo ao de McLafferty. A **Tabela 11** relaciona os principais picos e suas respectivas abundâncias.

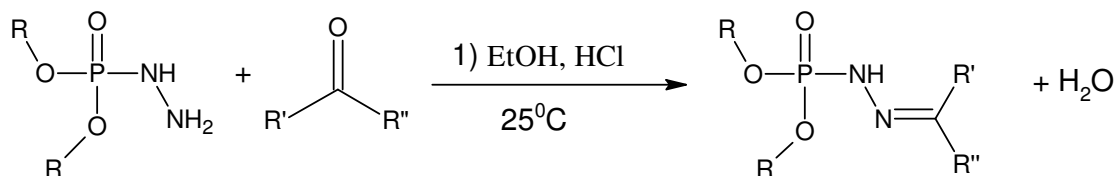
Compostos	massa molar	m/Z	abundância(%)
67	224	225	100
		112	60
		99	12
		169	7,5
68	196	111	100
		195	60
		81	57,5
		152	60
69	224	112	100
		225	60
		169	17
		82	5
70	224	112	100
		47	52,5
		225	30
		169	20
71	252	112	100
		43	55
		253	40
		183	10

O **Esquema 17 e 18** apresentam as propostas de fragmentação para os compostos 69 e 68 respectivamente.



4.1.5. Síntese das dialquilfosforilidrazonas

Através da obtenção das dialquilfosforilidrazinas, último intermediário da síntese proposta, partiu-se para a última etapa da síntese das dialquilfosforilidrazonas, através da reação de condensação, catalisada por meio ácido, entre a dialquilfosforilidrazina e as respectivas cetonas, à temperatura ambiente, conforme apresenta o **Esquema 19**.



Esquema 19. Reação de obtenção das dialquilfosforilidrazonas.

Na **Tabela 12** estão os compostos sintetizados e seus respectivos rendimentos.

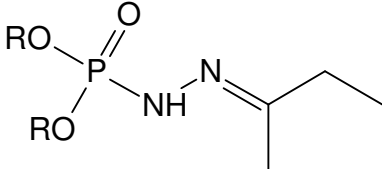
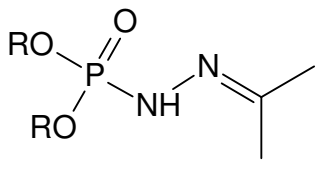
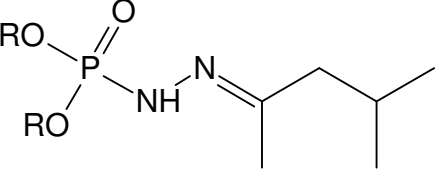
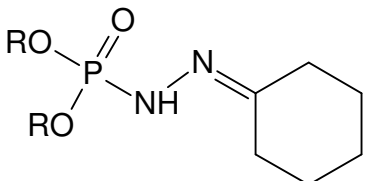
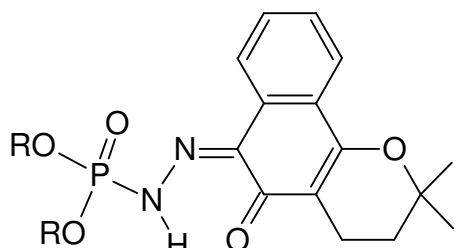
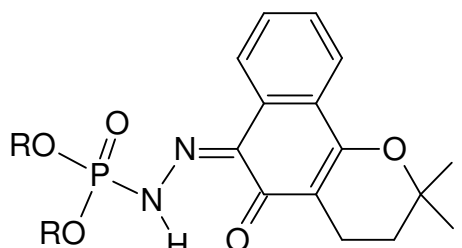
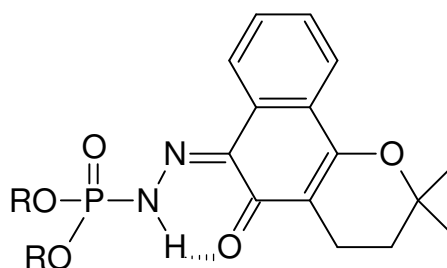
Moléculas sintetizadas	R	Rend.(%)	R	Rend. (%)
	(1) isopropil	63	(5) butil	52
	(2) isopropil	69	(6) butil	55
	(3) isopropil	68	(7) butil	54
	(4) isopropil	57	(8) butil	59
	(9) isobutil	85	(11) secbutil	66
	(10) butil	70	(12) isopentil	69

Tabela 11. Compostos sintetizados e seus respectivos rendimentos.

A análise dos espectros de RMN das dialquilfosforilidrazonas mostram a coexistência dos dois diastereoisômeros *E* e *Z*, para os compostos (1, 3, 5 e 7), derivados da etilmetilcetona e isobutilmetilcetona. Os compostos (2, 6, 4 e 8) derivados da acetona e ciclohexanona, não apresentaram formas diastereoisoméricas devido à simetria encontrada na ligação hidrazônica. Os compostos (9, 10, 11 e 12), derivados da β -lapachona, apresentaram apenas um dos diastereoisômeros, motivados por apresentarem uma ligação hidrogênio intramolecular entre o hidrogênio imínico e a carbonila, da β -lapachona, favorecendo a configuração *Z*, como pode ser observar na **Figura 54**, sendo confirmado no espectro de RMN- ^1H , pelo sinal de deslocamento químico do hidrogênio imínico em torno de 14 a 15 ppm, característico de hidrogênio em ponte, diferenciando-se dos demais que possuem este sinal em torno de 6 a 7 ppm.

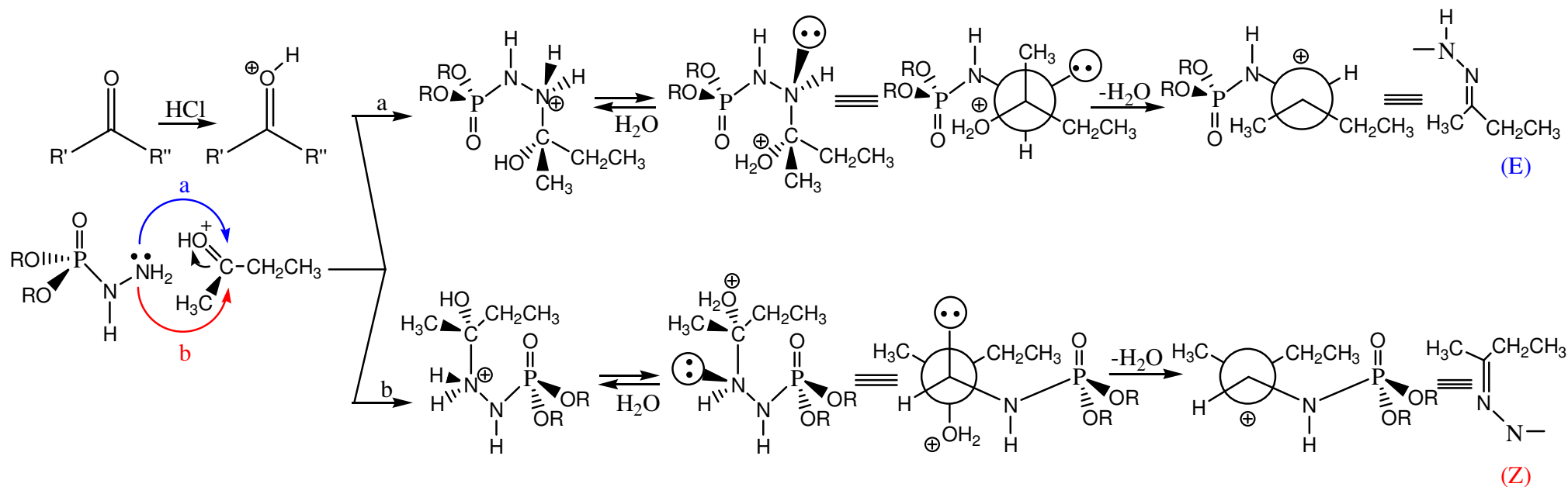
A confirmação da configuração dos diastereoisômeros foi obtida a partir das análises dos espectros de RMN de ^1H , NOESY e RMN de ^{31}P . A contribuição de cada análise espectrométrica para a confirmação da diastereoseletividade da reação será discutida nas páginas posteriores.

A proposta do mecanismo reacional envolvido na síntese destas dialquilfosforilidrazonas é mostrado no **Esquema 20** (COSTA *et al.*, 2003). Inicialmente ocorre a protonação da respectiva cetona, levando a formação do íon oxônio correspondente. A segunda etapa é a formação dos intermediários gerado através do ataque nucleofílico por parte da dialquilfosforilidrazina a uma das faces da carbonila cetônica. Esta etapa é um processo bimolecular, entropicamente desfavorável ($\Delta S^\circ < 0$), e que entalpicamente também não favorece a formação espontânea dos produtos. Conseqüentemente, a reação inversa (retroadição nucleofílica) ocorre em velocidade competitiva com a adição nucleofílica, pois nesta etapa uma molécula neutra (no caso a própria dialquilfosforilidrazina) funciona como grupo abandonador. Contudo, a transferência rápida de um próton do nitrogênio para o oxigênio, chamada de prototropismo, embora termodinamicamente desfavorável, pois o nitrogênio é mais básico, permite a eliminação subsequente de uma molécula de água, deslocando o equilíbrio na direção da formação das dialquilfosforilidrazonas.



R= isobutil, butil, secbutil e isopentil.

Figura 54. Configuração dos possíveis estereoisômeros (9, 10, 11, 12).



Esquema 20. Mecanismos prováveis da síntese das dialquilfosforilidrazonas.

4.1.6. Determinação estrutural das dialquilfosforilidrazonas.

Os espectros de IV, RMN de ^1H , RMN de ^{13}C , RMN de ^{31}P e massas das dialquilfosforilidrazonas, compostos 1 a 12, estão no anexo.

4.1.6.1. Análise por espectrometria de infravermelho

As absorções características das dialquilfosforilidrazonas sintetizadas (1 a 12) corresponde às frequências de estiramento das ligações P-O-C, P-N, P=O, C=N e N-H. A ligação C=N ratifica a reação entre as dialquilfosforilidrazinas e as cetonas correspondentes, gerando as dialquilfosforilidrazonas.

A **tabela 12** apresenta as principais bandas de absorção presentes nos espectros de IV dos compostos 11 a 22, incluindo as absorções das ligações C=C e C=O nos derivados da β -lapachona.

Tabela 13. Principais absorções das dialquilfosforilidrazonas no IV.

Composto	P-N	P-O-C	C=N	P=O	C=C	C=O	N-H
1	1010,81	998,06	1637,29	1240,02	–	–	3448,15
2	1108,89	998,96	1650,79	1240,02	–	–	3457,80
3	1110,71	1000,89	1633,44	1241,95	–	–	3444,30
3	1110,81	997,03	1645,01	1240,02	–	–	3440,44
5	1116,60	1029,82	1637,29	1247,74	–	–	3459,73
6	1151,31	1025,96	1650,79	1243,38	–	–	3459,73
7	1128,17	1029,82	1633,44	1247,74	–	–	3494,44
8	1110,89	1029,82	1646,94	1241,95	–	–	3444,30
9	1120,46	1016,32	1618,01	1249,67	1562,08	1598,72	3448,15
10	1120,46	1031,75	1618,01	1249,67	1562,08	1596,80	3452,73
11	1116,60	998,96	1616,08	1247,74	1560,15	1596,80	3459,73
12	1116,60	1039,46	1644,60	1297,88	1564,10	1596,80	3471,30

Absorções expressas em cm^{-1}

4.1.6.2. Análise por espectrometria de RMN-¹H.

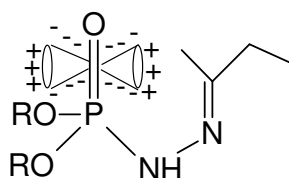
O composto 1, não apresentou um duplete referente ao acoplamento entre o hidrogênio fosforamídico e o fósforo devido, provavelmente, a um maior tempo de relaxação. Os outros compostos derivados de cetonas alifáticas e alicíclicas (2 à 8), apresentaram um duplete com deslocamento químico centrado em 6,25 à 6,87 ppm com constante de acoplamento (H-P) de 19,80 à 26,98 Hz.

Os compostos derivados de quinonas (9 a 12) apresentaram o hidrogênio fosforamídico em ligação hidrogênio com a carbonila em posição α a ligação hidrazônica onde pode ser observado a desblindagem e conseqüentemente, um deslocamento químico em campo mais baixo, na faixa de 13,94 ppm e constante de acoplamento entre 31,50 e 37,10 Hz.

As dialquilfosforilidrazonas com cadeia isopropílica apresentaram um sinal referente ao hidrogênio metínico ((CH₃)₂CHOP) em acoplamento com o átomo de fósforo e os hidrogênios metílicos com constante de acoplamento na faixa de 6,0 Hz para o acoplamento J_{HH} e de 8,0 Hz para o acoplamento J_{HP} . No composto 1 não pode ser observado as constantes de acoplamento J_{HH} e J_{HP} devido ao sinal deste hidrogênio metínico aparecer como um múltiplo.

As dialquilfosforilidrazonas com cadeia butílica também apresentaram um sinal referente ao hidrogênio metilênico (CH₂CH₂OP) em acoplamento com átomo de fósforo e os hidrogênios metilênicos no carbono vicinal com constante de acoplamento na faixa de 5,19 e 7,18 Hz para o acoplamento J_{HH} e de 7,22 a 9,35 Hz para o acoplamento J_{HP} . No composto 20 não foi observado as constantes de acoplamento J_{HH} e J_{HP} devido o sinal deste hidrogênio metilênico aparecer como um múltiplo.

Pode-se observar nos compostos 2, 4, 6 e 8, que as metilas aparecem com deslocamentos químicos diferentes, isto ocorre, provavelmente, em função do efeito anisotrópico com a fosforila blindando as zonas cônicas lateralmente, como pode ser visto no **Esquema 21** (SKOOG *et al.*, 2002).



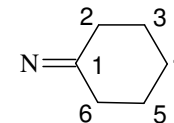
Esquema 19. Possível efeito anisotrópico de blindagem sobre a metila.

Das quatro dialquilfosforilidrazonas derivadas da β -lapachona, somente no composto 9, que possui o radical isobutílica pode ser observado o acoplamento dos hidrogênios metilênicos com o átomo de fósforo e o hidrogênio metínico no carbono vicinal com constante de acoplamento J_{HH} igual a 6,13 Hz e J_{HP} igual a 6,88 Hz.

Nas **Tabelas 13 e 14** estão apresentados os dados referentes aos deslocamentos químicos, as multiplicidades e as constantes de acoplamento das dialquilfosforilidrazonas derivadas de cetonas alifáticas e alicíclicas com radicais isopropil e butil respectivamente, enquanto que nas **Tabelas 15, 16, 17 e 18**, encontram-se os dados das dialquilfosforilidrazonas derivadas da β -lapachona.

Tabela 14. Dados de RMN de ^1H das di-isopropilfosforilidrazonas.

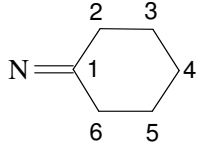
RMN de ^1H						
Composto	CH_3CHOP	CHOP	NH	$\text{N}=\text{CCH}_n$	$\text{N}=\text{CCH}_{n_1}\text{CH}_{n_2}$	$\text{N}=\text{CCH}_2\text{CHCH}_3$
1	1,30 (d)/6H 1,35 (d)/6H $J_{\text{HH}}= 6,08$	4,66 (m)/2H	6,44 (s)/ 1H	n=2; 2,24 (q)/2H (80%) n=2; 2,15 (q)/2H (20%) $J_{\text{HH}}= 7,25$	n1=2, n2=3 1,03 (t)/3H	
2	1,35 (d)/6H 1,30 (d)/6H $J_{\text{HH}}= 6$	4,65 (hd)/2H $J_{\text{HH}}= 6$ $J_{\text{Hp}}= 8$	6,25 (d)/1H $J_{\text{HP}}=28$	n=3; 1,95 (s)/3H n=3; 1,76 (s)/3H		
3	1,33 (d)/6H 1,27 (d)/6H $J_{\text{HH}}= 5,9$	4,64 (hd)/2H $J_{\text{HH}}= 5,95$ $J_{\text{Hp}}= 7,9$	6,87 (d)/ 1H $J_{\text{HP}}=27$	n=2; 2,09 (d)/2H $J_{\text{HH}}= 7,3$	n1=2, n2=1 1,85 (m)/1H	0,86 (d)/6H $J_{\text{HH}}= 6,1$
4	1,28 (d)/6H 1,26 (d)/6H $J_{\text{HH}}= 6$	4,54 (hd)/1H 4,66 (hd)/1H $J_{\text{HH}}= 6$ $J_{\text{Hp}}= 8$	6,54 (d)/1H $J_{\text{HP}}=28$			H2= 2,25 (t)/2H $J_{\text{HH}}= 5,8$ H3,H4,H5= 1,60 (m)/6H H6= 2,19 (t)/2H $J_{\text{HH}}= 5,7$



Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

Os valores entre parênteses representam proporções diastereoisoméricas.

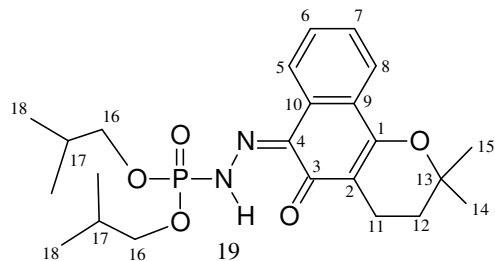
Tabela 15. Dados de RMN de ^1H das dibutilfosforilidrazonas.

RMN de ^1H									
Composto	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OP}$	$\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{OP}$	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}$	CH_2OP	NH	$\text{N}=\text{CCH}_n$	$\text{N}=\text{CCH}_{n_1}\text{CH}_{n_2}$	$\text{N}=\text{CCH}_2\text{CHCH}_3$	
5	0,92 (t)/6H $J_{\text{HH}}= 7,28$	1,42 (sex)/4H $J_{\text{HH}}= 7,14$	1,68(m)/4H	4,07(dt)/4H $J_{\text{HH}}= 7,18$ $J_{\text{HP}}= 8,63$	6,39(d)/1H $J_{\text{HP}}= 26,31$	n=2; 2,24 (q)/2H,[80%] n=2; 2,17 (q)/2H,[20%] $J_{\text{HH}}= 7,60$	n1=2; n2=3 1,06(t)/3H $J_{\text{HH}}= 7,33$		
						n=3; 1,94 (s)/3H,[20%] n=3; 1,76 (s)/3H,[80%]			
6	0,90 (t)/6H $J_{\text{HH}}= 7,65$	1,40 (sex)/4H $J_{\text{HH}}= 7,55$	1,66(m)/4H	4,0 (dt)/4H $J_{\text{HH}}= 6,81$ $J_{\text{HP}}= 8,45$	6,36(d)/1H $J_{\text{HP}}= 24,79$	n=3; 1,94 (s)/3H n=3; 1,76 (s)/3H			
7	0,86 (t)/6H $J_{\text{HH}}= 6,85$	1,34 (sex)/4H $J_{\text{HH}}= 7,56$	1,62(m)/4H	4,0 (dt)/4H $J_{\text{HH}}= 6,90$ $J_{\text{HP}}= 9,35$	6,72(d)/1H $J_{\text{HP}}= 23,40$	n=2; 2,05 (d)/2H,[80%] $J_{\text{HH}}= 8,14$ n=3; 1,88 (s)/3H,[20%] n=3; 1,73 (s)/3H,[80%]	n1=2; n2=1 1,85(m)/1H	0,89 (d)/6H $J_{\text{HH}}= 6,39$	
8	0,89 (t)/6H $J_{\text{HH}}= 7,49$	1,38 (sex)/4H $J_{\text{HH}}= 7,56$	1,64(m)/4H	4,66(m)/4H	6,53(d)/1H $J_{\text{HP}}= 23,30$				H2= 2,25 (t)/2H $J_{\text{HH}}= 6,40$ H3,H4,H5= 1,64 (m)/6H H6= 2,18 (t)/2H $J_{\text{HH}}= 6,40$

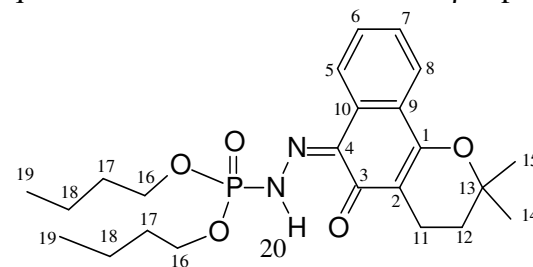
Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

Os valores entre parênteses representam proporções diastereoisoméricas

Tabela 16 e Tabela 17. Dados de RMN de ^1H das dialquilfosforilidrazonas derivadas da β -lapachona.

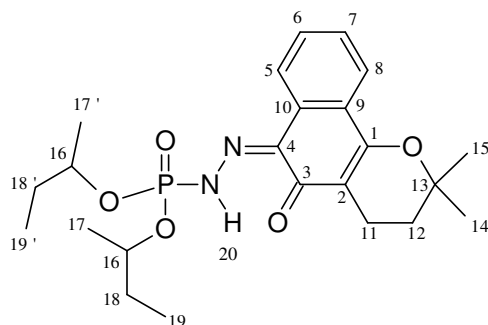


RMN de ^1H	
Composto (9)	δ em ppm (multiplicidade)*
1	-
2	-
3	-
4	-
5	8,15 (dd)/1H; $J_o= 7,05$, $J_m= 2,20$
6	7,44 (td)/1H; $J_o= 7,25$, $J_m= 1,96$
7	7,41 (td)/1H; $J_o= 7,25$, $J_m= 1,85$
8	7,89 (dd)/1H; $J_o= 7,05$, $J_m= 2,20$
9	-
10	-
11	2,58 (t)/2H; $J_{\text{HH}}= 6,43$
12	1,85 (t)/2H; $J_{\text{HH}}= 6,82$
13	-
14 e 15	1,44 (S)/6H
16	3,92 (dd)/ 4H; $J_{\text{HH}}= 6,13$, $J_{\text{HP}}= 6,68$
17	2,0 (m)/2H
18	0,94 (d)/12H; $J_{\text{HH}}= 6,78$
19	13,94 (d)/1H; $J_{\text{HP}}= 37,12$

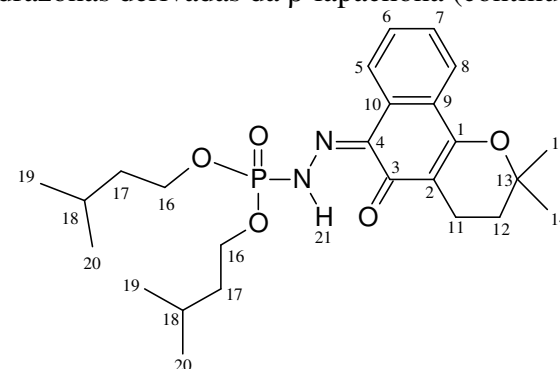


RMN de ^1H	
Composto (10)	δ em ppm (multiplicidade)*
1	-
2	-
3	-
4	-
5	8,13 (dd)/1H; $J_o= 7,44$, $J_m= 2,18$
6	7,44 (m)/1H
7	7,44 (m)/1H
8	7,87 (dd)/1H; $J_o= 6,72$, $J_m= 2,55$
9	-
10	-
11	2,56 (t)/2H; $J_{\text{HH}}= 6,25$
12	1,85 (t)/2H; $J_{\text{HH}}= 6,26$
13	-
14 e 15	1,43 (S)/6H
16	4,15 (m)/ 4H
17	2,0 (quin)/4H
18	1,43 (m)/4H
19	0,88 (t)/6H; $J_{\text{HH}}= 7,02$
20	13,91 (d)/1H; $J_{\text{HP}}= 35,82$

Tabela 18 e 19. Dados de RMN de ^1H das dialquilfosforilidrazonas derivadas da β -lapachona (continuação).



RMN de ^1H	
Composto (11)	δ em ppm (multiplicidade)*
1	-
2	-
3	-
4	-
5	8,16 (dd)/1H; $J_o=6,22$, $J_m=1,56$
6	7,44 (m)/1H
7	7,44 (m)/1H
8	7,88 (dd)/1H; $J_o=7,26$, $J_m=1,55$
9	-
10	-
11	2,57 (t)/2H; $J_{\text{HH}}=6,57$
12	1,87 (t)/2H; $J_{\text{HH}}=6,29$
13	-
14 e 15	1,43 (S)/6H
16	4,60 (m)/ 2H
17	1,40 (d)/3H; 1,33 (d)/3H; $J_{\text{HH}}=6,26$
18	1,63 (m)/4H
19	0,96 (t)/3H; 0,91 (t)/3H; $J_{\text{HH}}=7,39$
20	13,93 (d)/1H; $J_{\text{HP}}=31,69$



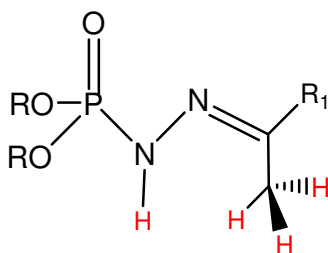
RMN de ^1H	
Composto (12)	δ em ppm (multiplicidade)*
1	-
2	-
3	-
4	-
5	8,14 (dd)/1H; $J_o=7,22$
6	7,44 (td)/1H; $J_o=7,51$, $J_m=1,51$
7	7,44 (td)/1H; $J_o=7,51$, $J_m=1,51$
8	7,85 (dd)/1H; $J_o=7,56$, $J_m=1,62$
9	-
10	-
11	2,57 (t)/2H; $J_{\text{HH}}=6,62$
12	1,84 (t)/2H; $J_{\text{HH}}=6,62$
13	-
14 e 15	1,43 (S)/6H
16	4,17 (m)/ 4H
17	1,77 (m)/4H
18	1,58 (m)/2H
19 e 20	0,88 (dd)/12H; $J_{\text{HH}}=6,51$
21	13,96 (d)/1H; $J_{\text{HP}}=31,52$

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

Conforme relatado no tópico 4.1.5, foi observado a formação dos diastereoisômero *E* e *Z*, para os compostos 1, 3, 5 e 7 em uma proporção de 80% e 20%, visualizados nos espectros de RMN de ^1H mediante a integração dos dois simpletos referentes aos hidrogênios da metila ligada ao carbono imínico e os sinais referentes as análises de RMN de ^{31}P .

Os compostos diastereoisoméricos são oriundos dos possíveis efeitos estéricos ocasionados pelos diferentes radicais ligados ao grupo carbonílico enantiotópico, através de reações assimétricas. A seletividade preferencial dos diastereoisômeros é decorrente da aproximação do nucleófilo, fosforamidato, em uma das faces da carbonila cetônica, de modo que a sua disposição em relação ao maior radical ligado a ela desempenhe o menor impedimento estérico, favorecendo a conformação anti-periplanar entre os pares de elétrons do átomo de nitrogênio e a molécula de água, grupo de saída, como é verificado na formação do diastereoisômero *E*. Já na formação do diastereoisômero *Z*, a conformação anti-periplanar é dificultada pelos impedimentos estéricos ocasionados pela proximidade dos grupos volumosos.

Para se determinar qual configuração está presente em maior proporção nos compostos diastereoisoméricos sintetizados, foi realizado um estudo através da técnica de NOE (NEUHAUS & WILLIAMSON, 1989), **Figura 55**, com o objetivo de correlacionar o hidrogênio fosforamídico, como os hidrogênios da metila ligada ao carbono imínico. A **Figura 56** apresenta os hidrogênios alvos do estudo por NOE.



R= isopropil e butil.

R₁= etil e isobutil.

Figura 55. Hidrogênios alvos do estudo por NOE.

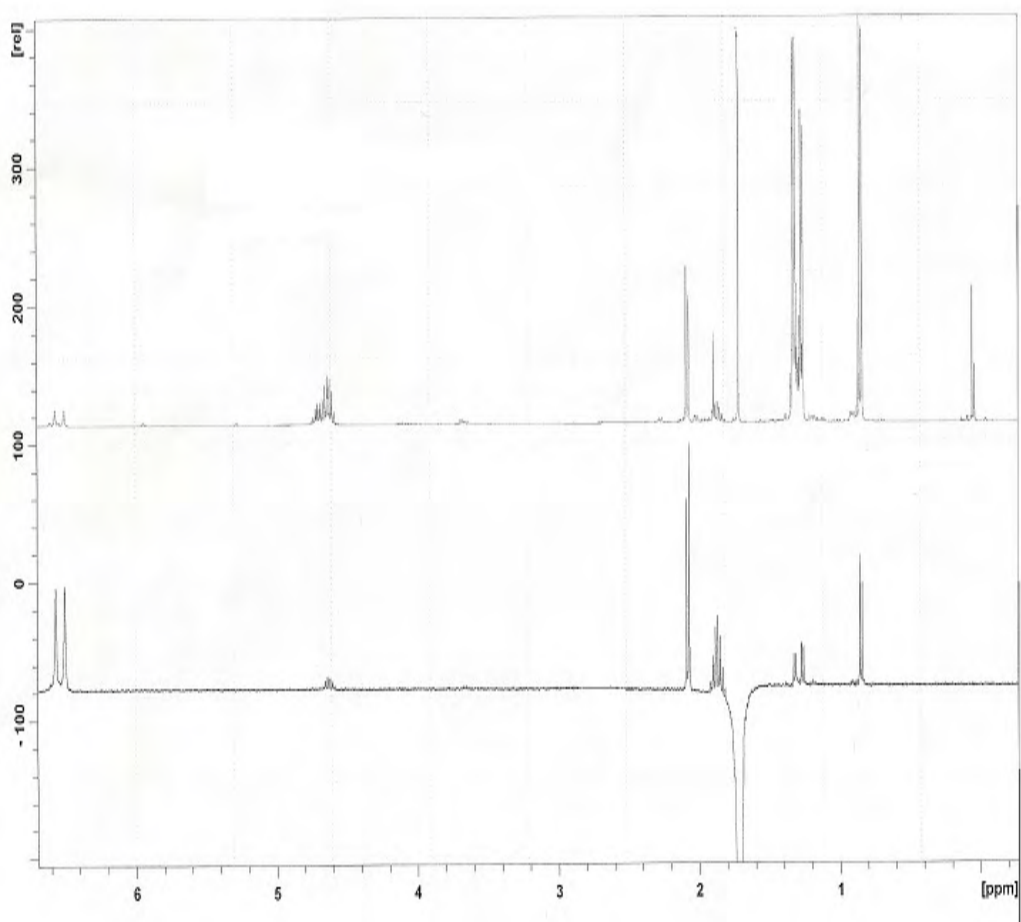


Figura 56: Espectro de NOE do composto 3.

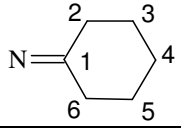
O composto estudado (composto 3, onde R = propil e R₁= isobutil) foi irradiado nos hidrogênios da metila de maior proporção ligada ao carbono imínico, gerando NOE no hidrogênio fosforamídico. O padrão de resposta obtida através da técnica de NOE só é possível para as dialquilfosforilidrazonas com a configuração diastereoisomérica *E*, confirmando-se, portanto, como a de maior proporção na mistura presente na obtenção das dialquilfosforilidrazonas sintetizadas com essas características.

4.1.6.3. Análise por espectrometria de RMN de ^{13}C

No espectro de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazonas, o sinal característico da obtenção destes compostos é referente ao carbono imínico, que possui deslocamento químico na faixa de 133 a 156 ppm e se apresenta na forma de duplete, uma vez que acopla com o átomo de fósforo a três ligações com constante de acoplamento na faixa de 14 a 18 Hz. A mesma característica é visível na cadeia alcóxida a duas e três ligações.

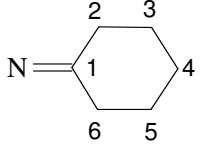
A **Tabela 19** apresenta os deslocamentos químicos (δ), as multiplicidades e as constantes de acoplamento referentes às diisopropilfosforilidrazonas, a **Tabela 20** apresenta as mesmas informações para as dibutilfosforilidrazonas e as **tabelas 21, 22, 23 e 24** para as dialquilfosforilidrazonas derivadas da β -lapachona. Nestas tabelas também são descritos os acoplamentos, a duas e três ligações, entre os carbonos da cadeia alquílica do alcóxido e o átomo de fósforo.

Tabela 20. Dados de RMN de ^{13}C das di-isopropilfosforilidrazonas.

Composto	RMN de ^{13}C						
	$\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{CHOP}$	$\underline{\text{C}}\text{HOP}$	$\text{N}=\underline{\text{C}}$	$\text{N}=\text{C}\underline{\text{C}}\text{H}_n$	$\text{N}=\text{CCH}n_1\underline{\text{C}}\text{H}n_2$	$\text{N}=\text{CCH}_2\text{CH}\underline{\text{C}}\text{H}_3$	
1	23,83 (d)/ 2C $J_{\text{CP}}= 4,92$ 23,56 (d)/ 2C $J_{\text{CP}}= 4,92$	71,89 (d)/ 2C $J_{\text{CP}}= 5,43$	153,26 (d)/ 1C $J_{\text{CP}}= 17,89$	n=2; 31,87 (s)/1C n=3; 14,0 (s)/1C	n1=2, n2=3 10,93 (s)/1C		
2	23,79 (d)/ 2C $J_{\text{CP}}= 4,08$ 23,53 (d)/ 2C $J_{\text{CP}}= 4,08$	71,90 (d)/ 2C $J_{\text{CP}}= 5,69$	149,41 (d)/ 1C $J_{\text{CP}}= 18,04$	n=3; 25,04 (s)/1C n=3; 15,46 (s)/1C			
3	23,86 (d)/ 2C $J_{\text{CP}}= 4,91$ 23,56 (d)/ 2C $J_{\text{CP}}= 4,91$	71,82 (d)/ 2C $J_{\text{CP}}= 4,47$	151,75(d)/ 1C $J_{\text{CP}}= 16,41$	n=2; 47,67 (s)/1C n=3; 22,32 (s)/1C	n1=2, n2=1 26,08 (s)/1C	14,15 (s)/1C	
4	23,66 (d)/ 2C $J_{\text{CP}}= 5,13$ 23,52 (d)/ 2C $J_{\text{CP}}= 5,13$	71,80 (d)/ 2C $J_{\text{CP}}= 6,39$	155,67(d)/ 1C $J_{\text{CP}}= 16,93$			C2= 25,69 (s)/1C C3= 25,23 (s)/1C C4= 25,78 (s)/1C C5= 27,05 (s)/1C C6= 35,24 (s)/1C	

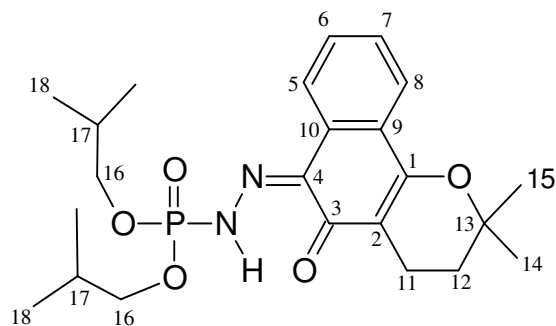
* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

Tabela 21. Dados de RMN de ^{13}C das dibutilfosforilidrazonas.

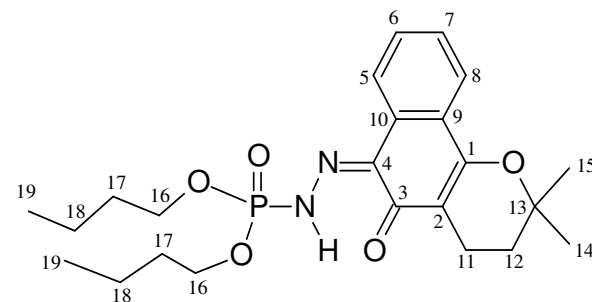
RMN de ^{13}C								
Composto	$\underline{\text{C}}\text{H}_3(\text{CH}_2)_3\text{OP}$	$\underline{\text{C}}\text{H}_2(\text{CH}_2)_2\text{OP}$	$\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{OP}$	$\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OP}$	$\text{N}=\underline{\text{C}}$	$\text{N}=\text{C}\underline{\text{C}}\text{H}_n$	$\text{N}=\text{CCH}_{n_1}\underline{\text{C}}\text{H}_{n_2}$	$\text{N}=\text{CCH}_2\text{CH}\underline{\text{C}}\text{H}_3$
								
5	13,56 (s)/2C	18,85 (s)/2C	32,28 (d)/2C $J_{\text{CP}}= 6,42$	66,87 (d)/2C $J_{\text{CP}}= 5,74$	153,63(d)/1C $J_{\text{CP}}= 16,39$	n=2; 31,88 (s)/2C n=3; 13,89 (s)/1C	n1=2; n2=3 10,89 (s)/1C	
6	13,57 (s)/2C	15,46 (s)/2C	32,28 (d)/2C $J_{\text{CP}}= 6,57$	66,93 (d)/2C $J_{\text{CP}}= 5,79$	150,07(d)/1C $J_{\text{CP}}= 17,63$	n=3; 13,57 (s)/2C		
7	13,57 (s)/2C	22,28 (s)/2C	32,28 (d)/2C $J_{\text{CP}}= 6,39$	66,84(d)/2C $J_{\text{CP}}= 5,74$	152,18(d)/1C $J_{\text{CP}}= 17,72$	n=2; 47,64 (s)/1C n=3; 24,10 (s)/1C	n1=2; n2=1 26,04 (s)/1C	18,67 (s)/1C
8	13,59 (s)/2C	18,68 (s)/2C	32,22 (d)/2C $J_{\text{CP}}= 6,46$	66,84(d)/2C $J_{\text{CP}}= 5,93$	155,86 (d)/1C $J_{\text{CP}}= 16,99$			C2= 25,65 (s)/1C C3= 25,12 (s)/1C C4= 26,91 (s)/1C C5= 29,01 (s)/1C C6= 35,23 (s)/1C

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

Tabela 22 e Tabela 23. Dados de RMN de ^{13}C das dibutilfosforilidrazonas derivadas da β -lapachona.



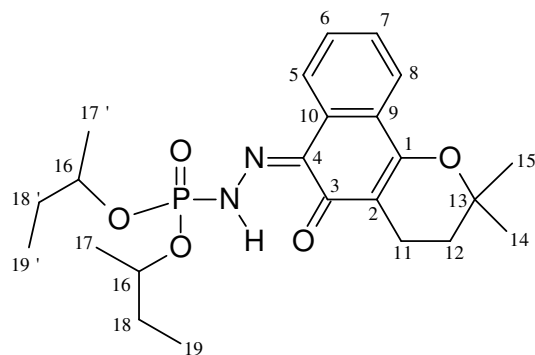
RMN de ^{13}C	
Composto (9)	δ em ppm (multiplicidade)*
1	161,64 (s)/1C
2	111,22 (s)/1C
3	181,27 (s)/1C
4	133,89 (d)/1C, $J_{\text{CP}} = 14,75$
5	132,05 (s)/1C
6	127,92 (s)/1C
7	122,95 (s)/1C
8	122,88 (s)/1C
9	126,08 (s)/1C
10	129,77 (s)/1C
11	18,69 (s)/1C
12	31,73 (s)/1C
13	78,19 (s)/1C
14 e 15	26,74 (s)/2C
16	73,72 (d)/2C, $J_{\text{CP}} = 6,60$
17	29,10 (d)/2C, $J_{\text{CP}} = 6,68$
18	15,99 (s)/2C



RMN de ^{13}C	
Composto (10)	δ em ppm (multiplicidade)*
1	161,69 (s)/1C
2	111,21 (s)/1C
3	181,26 (s)/1C
4	133,98 (d)/1C, $J_{\text{CP}} = 14,39$
5	132,0 (s)/1C
6	127,96 (s)/1C
7	122,95 (s)/1C
8	122,92 (s)/1C
9	126,08 (s)/1C
10	129,76 (s)/1C
11	18,65 (s)/1C
12	31,72 (s)/1C
13	78,21 (s)/1C
14 e 15	26,73 (s)/2C
16	67,70 (d)/2C, $J_{\text{CP}} = 5,83$
17	32,28 (d)/2C, $J_{\text{CP}} = 5,91$
18	15,95 (s)/2C
19	13,54 (s)/2C

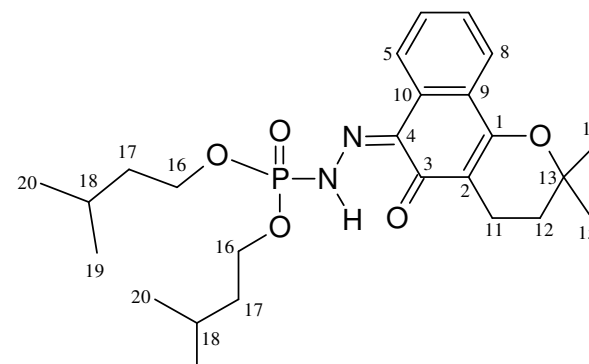
* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

Tabela 24 e Tabela 25. Dados de RMN de ^{13}C das dibutilfosforilidrazonas derivadas da β -lapachona.



RMN de ^{13}C

Composto (11)	δ em ppm (multiplicidade)*
1	161,50 (s)/1C
2	111,23 (s)/1C
3	181,20 (s)/1C
4	133,50 (d)/1C, $J_{\text{CP}} = 14,11$
5	132,16 (s)/1C
6	127,75 (s)/1C
7	122,89 (s)/1C
8	122,82 (s)/1C
9	125,99 (s)/1C
10	129,71 (s)/1C
11	16,0 (s)/1C
12	31,74 (s)/1C
13	78,08 (s)/1C
14 e 15	26,75 (s)/2C
16	71,84 (d)/2C, $J_{\text{CP}} = 6,54$
17	30,25 (d)/1C, $J_{\text{CP}} = 5,86$
17'	30,43 (d)/1C, $J_{\text{CP}} = 5,86$
18	9,54 (s)/1C
18'	9,47 (s)/1C
19	21,33 (d)/1C, $J_{\text{CP}} = 3,72$
19'	21,07 (d)/1C, $J_{\text{CP}} = 3,72$



RMN de ^{13}C

Composto (12)	δ em ppm (multiplicidade)*
1	161,69 (s)/1C
2	111,23 (s)/1C
3	181,28 (s)/1C
4	132,09 (d)/1C, $J_{\text{CP}} = 13,69$
5	131,99 (s)/1C
6	127,98 (s)/1C
7	122,95 (s)/1C
8	122,65 (s)/1C
9	126,10 (s)/1C
10	129,75 (s)/1C
11	15,99 (s)/1C
12	31,74 (s)/1C
13	78,21 (s)/1C
14 e 15	26,75 (s)/2C
16	66,45 (d)/2C, $J_{\text{CP}} = 6,11$
17	9,90 (d)/1C, $J_{\text{CP}} = 5,85$
18	24,43 (s)/2C
19	22,34 (s)/2C
20	22,29 (s)/2C

4.1.6.4. Análise por espectrometria de RMN de ^{31}P

Os espectros de RMN de ^{31}P desacoplados dos compostos 1 a 12 foram analisados e como esperado, apresentaram um único sinal para os compostos derivados de cetonas simétricas e derivados da β -lapachona, o que indica a presença de somente um composto fosforado, confirmando que há somente uma forma diastereoisomérica. Já para os espectros dos compostos 1, 3, 5 e 7 foram obtidos dois sinais com um excesso diastereoisomérico para o composto mais estável em torno de 60% em uma proporção de 1:4.

A **Tabela 25** apresenta os deslocamentos químicos (δ) obtidos na análise de RMN de ^{31}P .

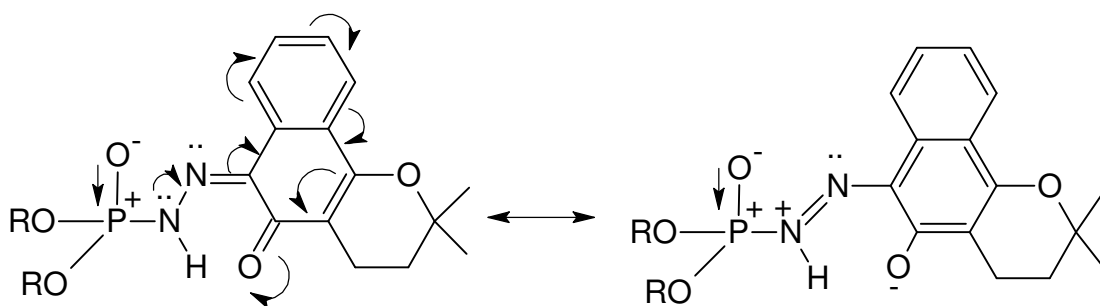
Tabela 26: Dados de RMN de ^{31}P

Composto	δ em ppm
1	1,63 (s), 20%/ 1,30 (s), 80%
2	1,46 (s)
3	1,49 (s), 20%/ 1,10 (s), 80%
4	2,30 (s)
5	3,51 (s), 20%/ 3,18 (s), 80%
6	3,44 (s)
7	3,50(s), 20%/ 3,22 (s), 80%
8	4,26 (s)
9	-2,60 (s)
10	-0,73 (s)
11	-2,60 (s)
12	-0,73 (s)

Com base nos dados da **Tabela 26**, observa-se que o grupamento isopropil exerce um efeito de blindagem sobre o átomo de fósforo se comparado ao grupamento butil. Este efeito pode ser atribuído ao volume maior do grupamento isopropil em relação ao grupo butil, o que ocasiona uma proteção estérica sobre o átomo de fósforo.

Um outro fator observado é a maior blindagem do elemento fósforo nas dialquilfosforilidrazonas derivadas da β -lapachona devido ao efeito retirador de elétrons da quinona. Essa característica pode ser explicada pelo deslocamento de elétrons através do hidrogênio fosforamídico ao longo da cadeia no sentido do grupo retirador de elétrons de forma

que o nitrogênio fosforamídico fica com uma densidade eletrônica menor. Com o objetivo de compensar a deficiência eletrônica de sua vizinhança, o átomo de fósforo, que possui, quando na forma pentavalente e tetracoordenado como nas dialquilforilidrazonas, caráter eletropositivo, “puxa” elétrons do átomo de oxigênio, que tem pares de elétrons livres, ficando desta forma blindado conforme mostra o **Esquema 22**. DA SILVA e colaboradores estudaram a capacidade do átomo de fósforo pentacoordenado “puxar” elétrons de heteroátomos ligados a si quando da presença de grupos retiradores de elétrons (DA SILVA *et al.*, 1997).

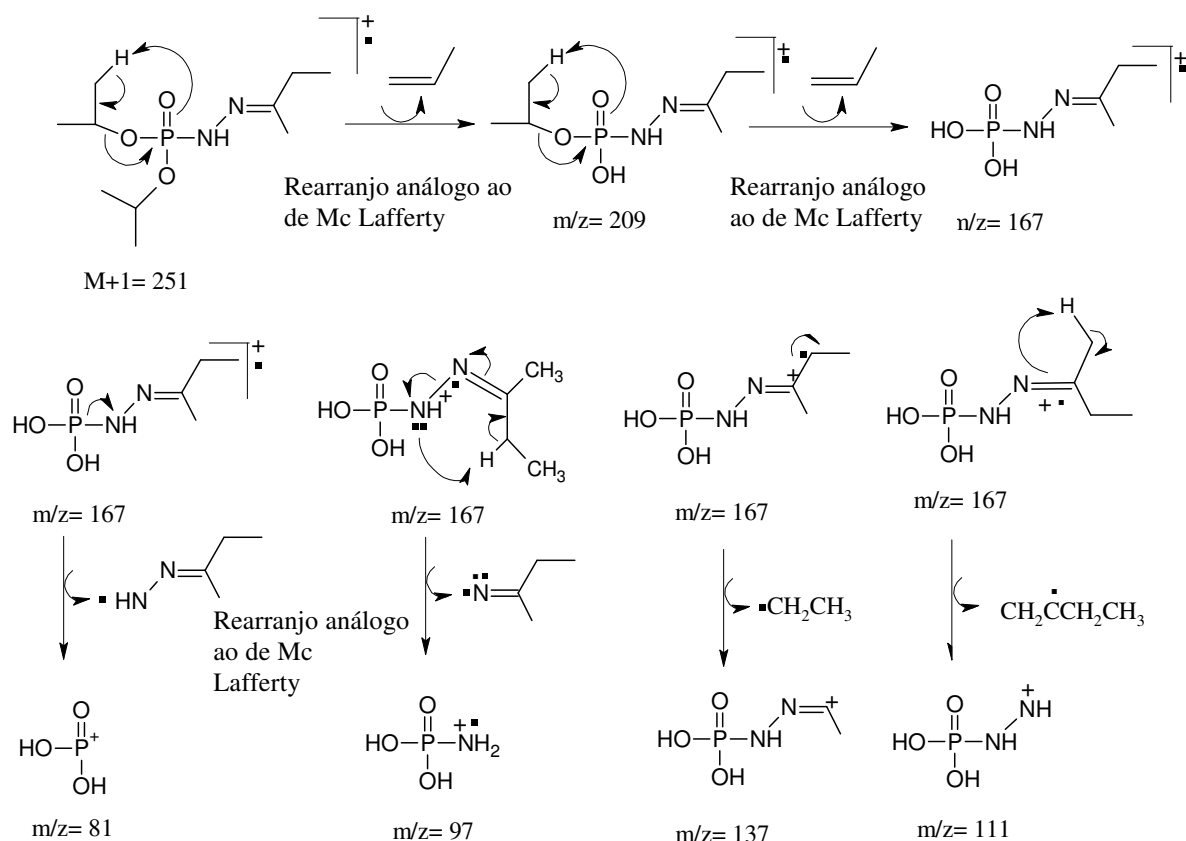


R= isobutil, butil, secbutil e isopentil.

Esquema 20: Estruturas em equilíbrio nos compostos derivados da β -lapachona.

4.1.6.5. Análise por espectrometria de massas

No espectro de massas das dialquilforilidrazonas derivadas de cetonas alifáticas e alicíclicas, em quase todos os casos o pico base corresponde ao fragmento $M + 1$. Os fragmentos m/z 81, m/z 98, m/z 111 e m/z 137 são comuns em todos os compostos e provem de rearranjos análogos ao rearranjo de McLafferty, envolvendo os hidrogênios das duas cadeias alquílicas do alcóxido, onde, através de subseqüentes fragmentações origina os fragmentos citados anteriormente conforme mostra o **esquema 23**.

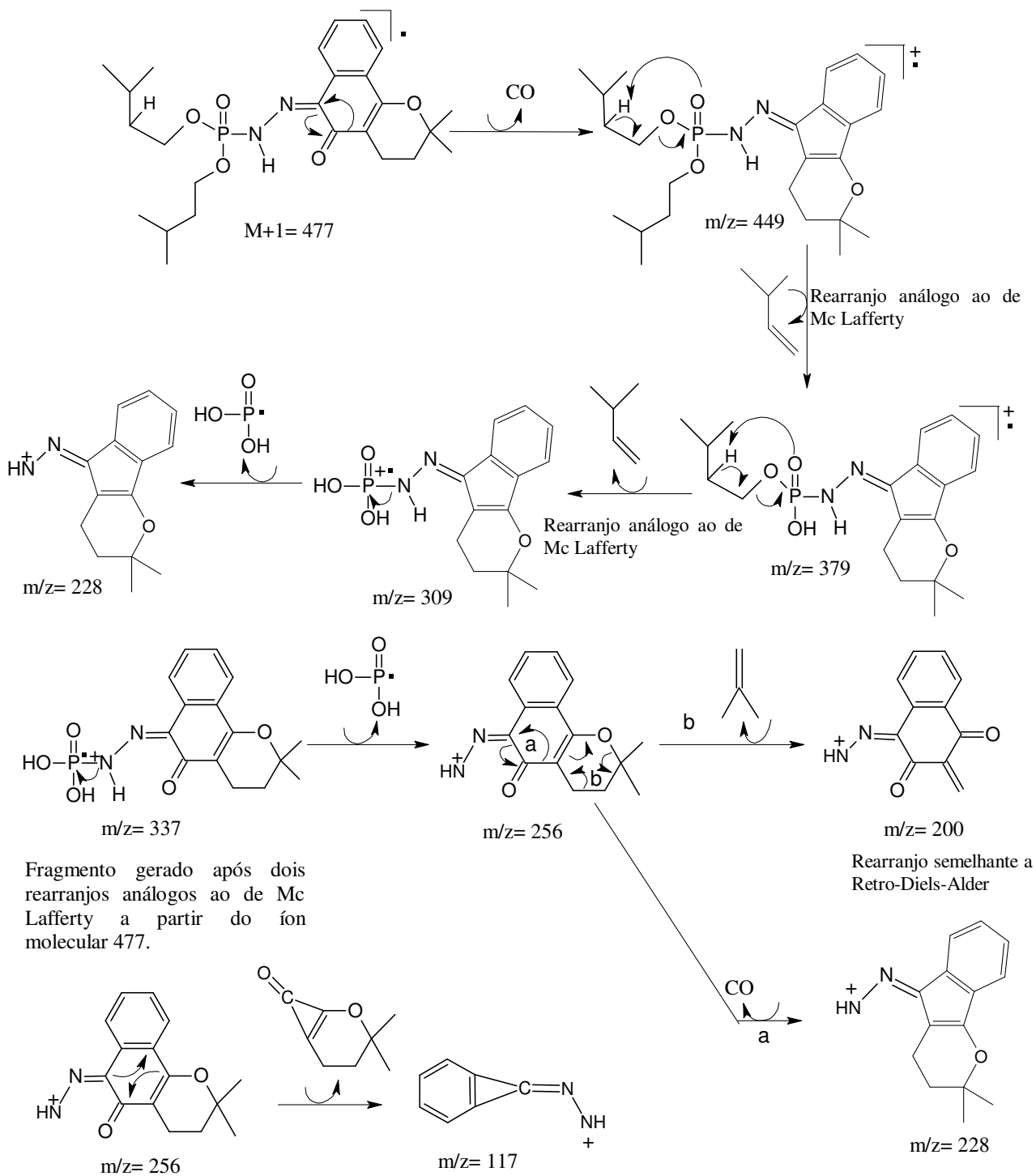


Esquema 21. Proposta de fragmentação para as dialquifosforilidrazonas derivadas de cetonas alifáticas e alicíclicas.

A proposta de fragmentação apresentada no **Esquema 23**, origina o fragmento $m/z = 97$, decorrente de três rearranjos análogos ao de McLafferty, porém o que se observa nos espectros de massas das dialquifosforilidrazonas sintetizadas é o fragmento $m/z = 98$, com a exceção dos compostos 4 e 8 derivados da ciclohexanona que possuem o $m/z = 96$ devido a distância dos hidrogênios em posição γ . Acredita-se, que o fragmento $m/z = 98$ ocorra devido aos espectros de massas terem sido realizados num espectrômetro de massas do tipo “íon trap”, onde os íons gerados pela fragmentação ficam acumulando no trap (“armadilha”), local onde ocorrem várias colisões entre as moléculas presentes (WATSON, 1997). Sendo assim, foi observado que para o fragmento $m/z = 97$, ocorreu a transferência de um próton (H^+), que gerou o fragmento $m/z = 98$.

As dialquifosforilidrazonas derivadas da β -lapachona, com exceção do composto 11, apresentaram uma uniformidade quanto ao pico base, gerado através do íon molecular após perda de (CO). Em todos os casos o íon molecular recebeu a transferência de um próton correspondendo ao fragmento $M + 1$. Os fragmentos $m/z = 117$, $m/z = 256$ e $m/z = (308 \text{ ou } 309)$ são comuns em todos os

compostos e provem de rearranjos análogos ao rearranjo de McLafferty como pode ser verificado no **Esquema 24**.



Esquema 22. Proposta de fragmentação para as dialquilfosforilidrazonas derivadas da β -lapachona.

4.2. Avaliação da atividade biológica.

4.2.1. Ensaio com fungo fitopatogênico.

Na **Tabela 26** podemos observar que o fungo *Rhizoctonia solani* teve seu crescimento inibido pela presença das dialquilfosforilidrazonas testadas. Os compostos (3), (7) e (8) apresentaram os resultados mais significativos, com 36 %, 40,6% e 52,3% de inibição do halo de crescimento (**Figura 57**). Como pode ser verificado, parte do efeito inibidor foi provocado pela presença do DMSO, utilizado para diluir as substâncias no meio de cultura. Contudo, isto não invalida o efeito causado pelos compostos testados, já que, os mesmos tiveram como padrão de comparação, o controle negativo.

Tabela 27: Crescimento miscelial do fungo *Rhizoctonia Solani* em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo as dialquilfosforilidrazonas derivadas de diferentes cetonas em solução com dimetilsulfóxido (DMSO- 0,5 mL.50 mL⁻¹) na concentração de 0,5 g.L⁻¹.

----- Tratamento -----		
Compostos Químicos (0,5g.L ⁻¹)	Diâmetro da colônia (cm)	%inibição
1	4,00	7,0
2	4,05	5,8
3	2,75	36,0
4	3,90	9,3
5	4,05	5,8
6	3,80	11,6
7	2,55	40,6
8	2,05	52,3
9	4,20	2,3
10	4,25	1,2
11	4,15	3,5
12	4,10	4,6
Controle positivo	6,05	-
Controle negativo	4,30	-

(controle negativo)- meios de cultura submetidos apenas ao tratamento com DMSO.
(controle positivo)- meios de cultura sem nenhum tratamento.

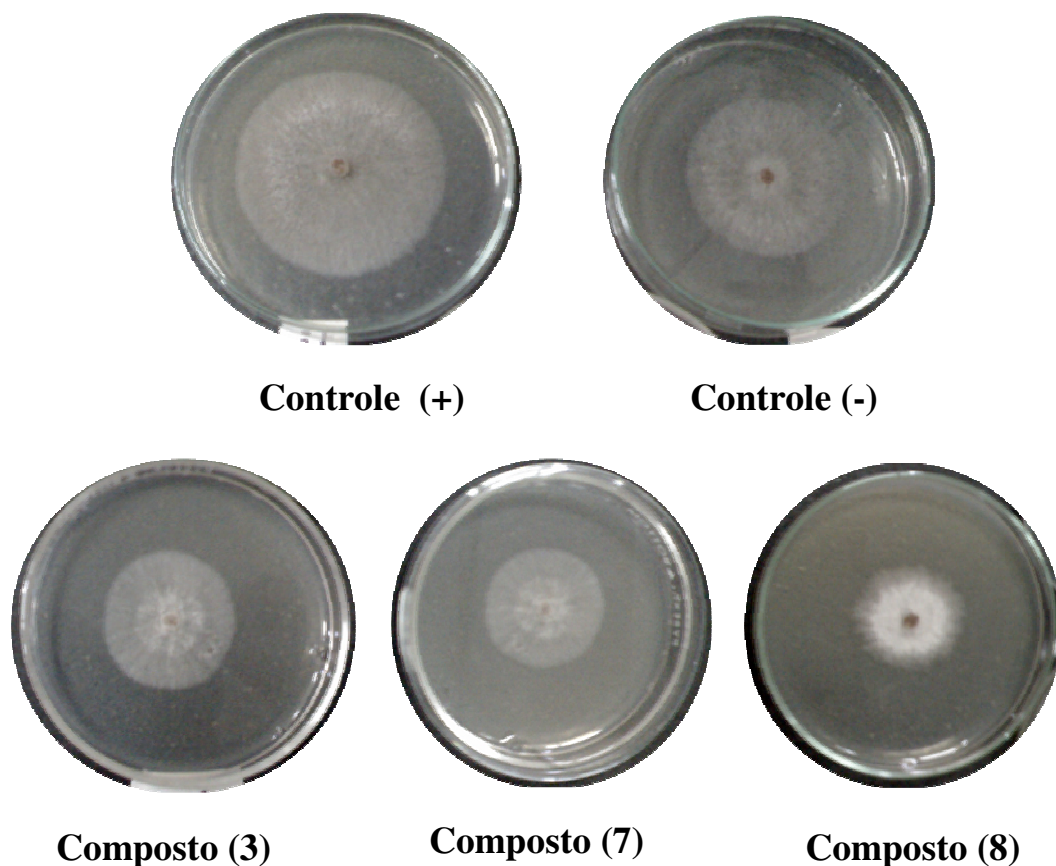


Figura 57. Imagens do fungo *Rhizoctonia solani* em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo as dialquilfosforilidrazonas em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,5 mL.50mL⁻¹) na concentração de 0,5 g.L⁻¹. Imagem capturada do efeito fungistático no final do ensaio das placas contendo o controle positivo, controle negativo e os compostos 3, 7 e 8.

Os mecanismos de atuação desses compostos químicos não foram testados. Entretanto, segundo STANGARLIN *et al.* (1999) estas substâncias agem nos mecanismos internos do fungo que se reflete na má formação de estruturas importantes para a penetração e o desenvolvimento do microrganismo no ambiente ou no interior da planta. O modo de ação dessas substâncias sobre fungos inclui granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas. Esses efeitos refletem-se na redução ou inibição do crescimento micelial.

4.2.2. Avaliação da germinação de sementes.

Todos os compostos sintetizados foram testados para se avaliar a germinação de sementes de alface, em atenção especial para os compostos 3, 7 e 8 que obtiveram resultados apreciáveis contra o fungo *Rhizoctonia solani*, logo, bons candidatos para futuros estudos e uma possível aplicação em uma cultura agrícola.

Nas **Tabelas 27 e 28** encontram-se os resultados referentes às soluções com concentrações de 200 mg.L⁻¹ e 400 mg.L⁻¹, respectivamente, das dialquilfosforilidrazonas derivadas de diferentes cetonas. A germinação foi avaliada no 7º dia após o início dos ensaios e somente as sementes que apresentaram a radícula e as primeiras duas folhas visíveis e soltas foram aceitas como germinadas.

Tabela 28: Percentual de germinação de sementes de alface comercial (50 sementes por placa) submetidas ao tratamento com dialquilfosforilidrazonas derivadas de diferentes cetonas diluídas em diclorometano na concentração de 0,2 g.L⁻¹.

Composto	Água (mL)	¹ CH ₂ Cl ₂ (mL)	² Concentração (g .L ⁻¹)	³ Germinação de alface (%)
Controle positivo	3	–	–	100
Controle negativo	3	2	–	97,6
1	3	2	0,2	95,2
2	3	2	0,2	96,0
3	3	2	0,2	90,8
4	3	2	0,2	91,3
5	3	2	0,2	92,8
6	3	2	0,2	92,2
7	3	2	0,2	90,3
8	3	2	0,2	90,2
9	3	2	0,2	97,1
10	3	2	0,2	93,2
11	3	2	0,2	89,9
12	3	2	0,2	91,4

¹Diclorometano. ²Concentração grama do composto químico por litro de diclorometano.

Tabela 29: Percentual de germinação de sementes de alface comercial (50 sementes por placa) submetidas ao tratamento com dialquilfosforilidrazonas derivadas de diferentes cetonas diluídas em diclorometano na concentração de 0,4 g.L⁻¹.

Composto	Água (mL)	¹ CH ₂ Cl ₂ (mL)	² Concentração (g .L ⁻¹)	³ Germinação de alface (%)
Controle positivo	3	–	–	100
Controle negativo	3	2	–	97,6
1	3	2	0,4	93,2
2	3	2	0,4	92,8
3	3	2	0,4	86,8
4	3	2	0,4	96,5
5	3	2	0,4	88,3
6	3	2	0,4	90,0
7	3	2	0,4	87,6
8	3	2	0,4	87,5
9	3	2	0,4	95,1
10	3	2	0,4	91,4
11	3	2	0,4	85,3
12	3	2	0,4	89,1

¹Diclorometano. ²Concentração grama do composto químico por litro de diclorometano.

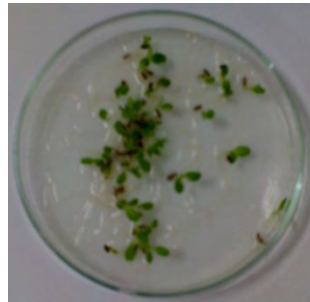
Na **Figura 58** estão as imagens capturadas após 7 dias na câmara de germinação.



Controle (+)



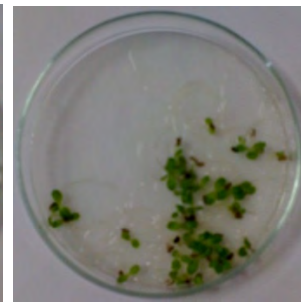
Controle (-)



1



2



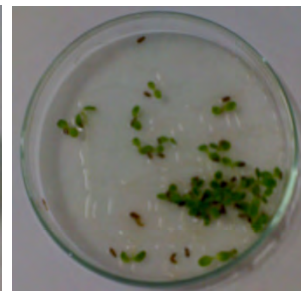
3



4



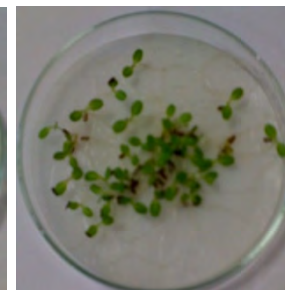
5



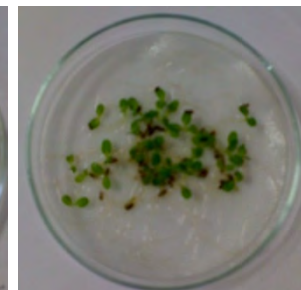
6



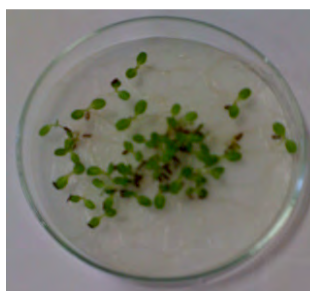
7



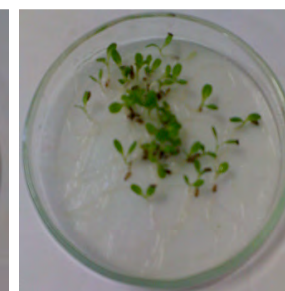
8



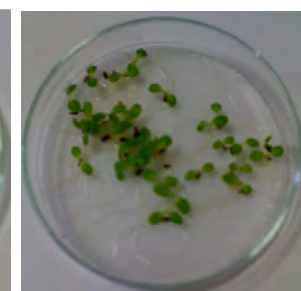
9



10



11



12

Os compostos testados afetaram pouco a germinação das sementes, destacando-se os compostos 1, 2, 4, 6, 9 e 10 que apresentaram as taxas de germinação superior a 90%.

Os compostos 3, 7 e 8 que apresentaram os melhores efeitos fungistáticos, tiveram os percentuais de germinação acima de 86%, caracterizando-os como bons alvos de estudo para possíveis aplicações na agricultura.

Neste trabalho observou-se que a utilização das sementes de alface, como parâmetro para avaliar o efeito dos compostos químicos na germinação, tem mostrado ser um bom método (SOUZA *et al*, 2002), principalmente, em relação a alguns fatores. Primeiro, quanto ao tempo, pois as sementes germinam em poucos dias em condições ideais, entre 4 e 6 dias, proporcionando resultados rápidos. Segundo, quanto ao espaço, pois os testes podem ser realizados em placas de Petri e facilmente manipulados em câmara de germinação e por último, ao baixo custo de execução. Contudo, torna-se importante a realização destes testes com outras sementes, tanto de plantas cultivadas quanto de plantas invasoras, uma vez que os resultados obtidos não podem ser extrapolados para todos os tipos de sementes.

4.2.3. Ensaio com protozoários.

Através da colaboração com a Fundação Oswaldo Cruz de Salvador (BA), todas as substâncias sintetizadas, com exceção dos compostos 9, 10, 11 e 12 foram analisadas, preliminarmente, diante dos protozoários *T. cruzi* e *Leishmania L. amazonensis* a fim de se avaliar o potencial antiparasitário desses compostos..

4.2.3.1. Ensaio em *T. cruzi*.

Os ensaios foram realizados em duas concentrações (50 μM e 200 μM) conforme a (Figura 59), por 72 horas cada ensaio, período que as células chegam a sua fase estacionária. Pode-se observar que os compostos mais ativos, foram as dibutilfosforilidrazonas (5, 7 e 8), sendo o composto 8, o de maior atividade. Os compostos 5 e 7 apresentaram os IC_{50} de 20 μM e 24,8 μM , respectivamente. O composto 8 ainda não teve o seu cálculo de IC_{50} efetuado.

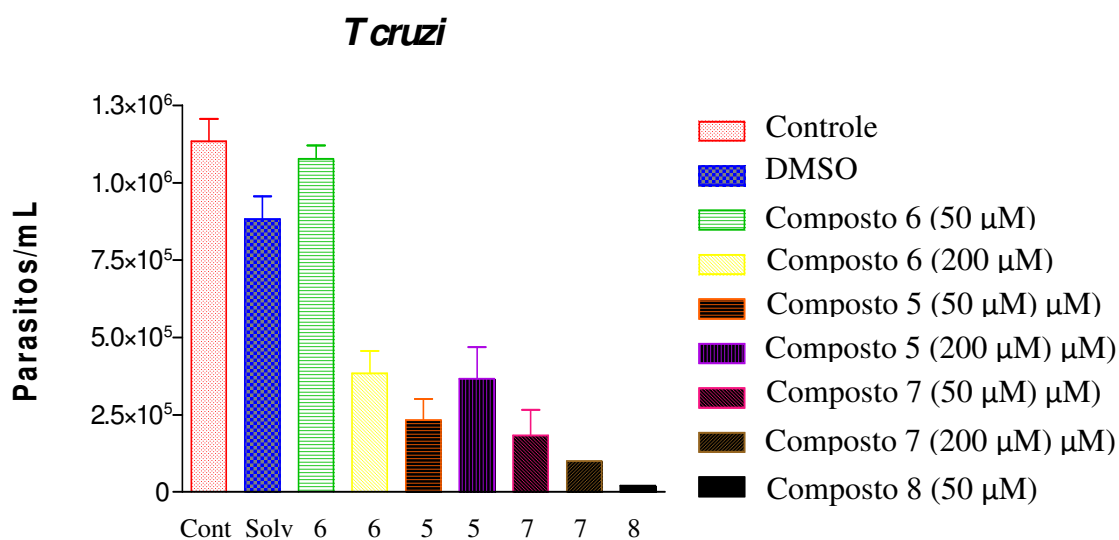
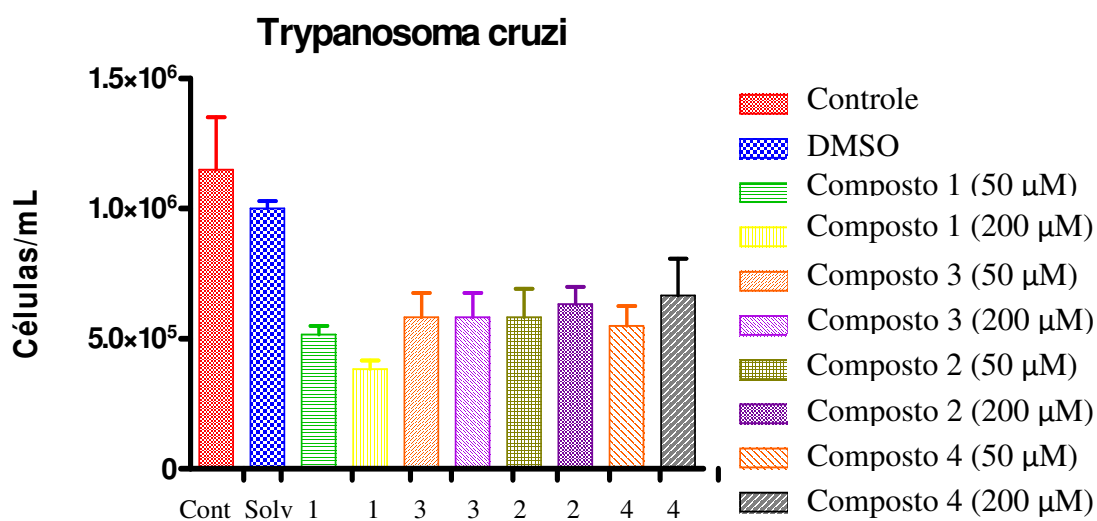


Figura 59. Ensaios sobre *T. cruzi* das dialquilfosforilidrazonas em concentrações de (50 μM e 200 μM).

Tabela 30: Atividade inibitória percentual das dialquilfosforilidrazonas à 50 μM.

Composto	1	2	3	4	5	6	7	8
% de inibição	50,8	44,4	44,4	47,6	73,5	-21,8	79,2	97,7

Os ensaios foram realizados sobre formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi*, cepa Y, cultivados em meio LIT a 27 °C. A atividade dos compostos foi analisada por determinação do

número de parasitos viáveis em câmara de Neubauer após 120 h de incubação na presença das dialquilfosforilidrazonas à 50 μ M e 200 μ M.

A avaliação da citotoxicidade dos compostos 5 e 7 e 8 estão sendo conduzidos em macrófagos de ratos, assim como, a análise de microscopia eletrônica de transmissão, utilizada para caracterizar os alvos de ação destas substâncias na célula para avaliações terapêuticas posteriores.

4.2.3.2. Ensaios em *Leishmania L. amazonensis*.

O ensaio foi realizado na concentração de 50 μ M (**Figura 60**), em protozoários avaliados após 72 horas, período que as células chegam a sua fase estacionária.

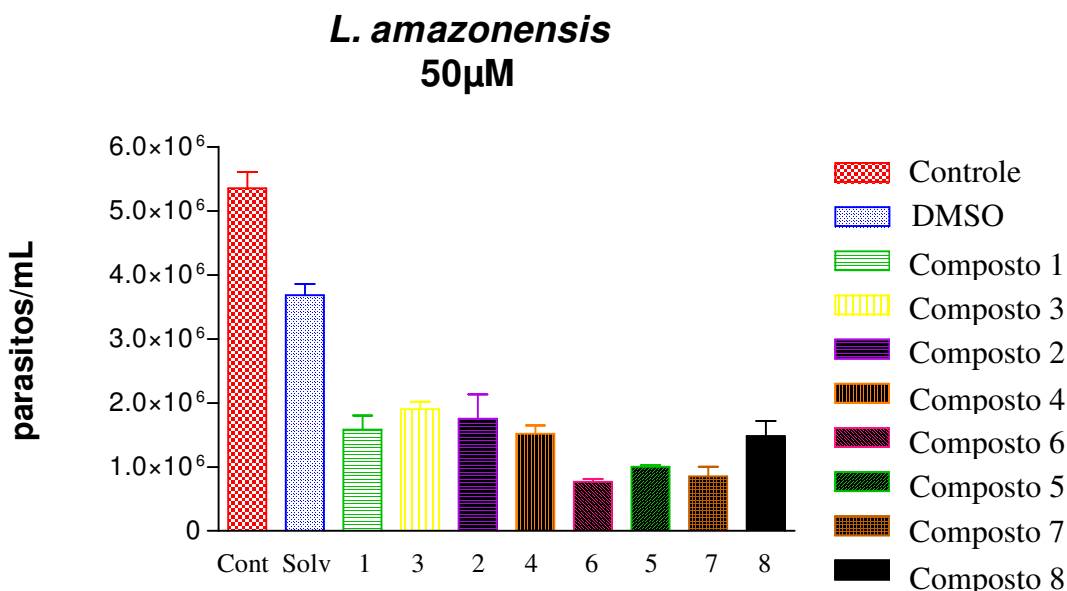


Figura 60. Promastigotas de *Leishmania* tratados com derivados de isatina a 50 μ M. Protozoários avaliados após 72 horas de incubação a 26 °C (\pm 1 °C) em meio warren suplementado com 10% de soro fetal bovino.

Tabela 31: Porcentagem de inibição dos compostos testados.

Composto	1	2	3	4	5	6	7	8
% de inibição	57,0	52,5	48,4	58,8	72,9	79,2	76,9	59,7

Pode-se observar que as novas dialquilfosforilidrazonas 5, 6 e 7 testadas, apresentaram inibição da proliferação celular acima de 70% na concentração de 50 μ M, assim, estão sendo feitos novos ensaios em diferentes concentrações, a fim de se calcular o IC₅₀ e conseqüentemente, prováveis testes de citotoxicidade.

5. Conclusão

As dialquifosforilidrazonas derivadas de diferentes cetonas foram obtidas com bons rendimentos, numa faixa que variou de 52 a 85 % na condição ótima de reação. É importante ressaltar que, nesta condição, mais da metade dos compostos sintetizados apresentaram um rendimento superior a 63%.

Todas as dialquifosforilidrazonas sintetizadas são inéditas.

Através do experimento do NOE pode-se observar a maior proporção do diastereoisômero *E* em relação ao *Z*, em uma proporção em torno de 80% para 20% para as dialquifosforilidrazonas derivadas da etilmetilcetona e metilisobutilcetona obtidas como mistura de diastereoisômeros.

O resultado da avaliação da atividade fungicida sobre o fungo *Rhizoctonia solani* apresentou um efeito fungistático regular para os compostos (3), (7), e (8) em torno de 40% e os mesmos apresentaram uma inibição da germinação de sementes inferior a 14%, sendo assim, compostos promissores para a continuação do desenvolvimento de novos estudos.

Os resultados obtidos sobre a potencial atividade dessas dialquifosforilidrazonas para o tratamento da doença de Chagas apresentaram uma inibição acima de 73% para os compostos (5) com IC₅₀ de 20 µM, (7) com IC₅₀ de 24,8 µM e (8) que ainda não teve o cálculo de IC₅₀ efetuado.

Os experimentos para a Leishmaniose com os compostos (5), (6) e (7) nas concentrações de 50 µM foram os mais ativos, com taxas de inibição acima de 70%, porém os ensaios biológicos ainda estão sendo concluídos a fim de se calcular o IC₅₀.

Os compostos (9, 10, 11 e 12) ainda serão avaliados quanto suas possíveis atividades biológicas sobre esses protozoários.

Estudos *in vivo* sobre a toxicidade dos produtos finais em esplenócitos encontram-se em andamento no laboratório.

6. Bibliografia

AGNEW, B. When Pharma merges, R & D is the dowry. *Science*, v. 287, p. 1952-1953, 2000.

AGRIOS, G. N. Plant Pathology. 4th ed. San Diego: Academic Press. 635p, 1997.

AKHAVAN D. Análise de custo-efetividade do programa de controle de doença de chagas no Brasil. Relatório final. Organização Pan-Americana de Saúde, Brasília p. 271, 2000.

ALMEIDA, R. P.; BARRAL-NETTO, M.; DE JESUS, A. M.; DE FREITAS, L. A.; CARVALHO, E. M.; BARRAL, A. Biological behavior of *Leishmania (L.) Amazonensis* isolated from humans with cutaneous, mucosal, or visceral leishmaniasis in BALB/c mice. *Am J. Trop. Med. Hyg.* v. 54, p. 178-84, 1996.

ALVAR, J. Leishmania and human immunodeficiency vírus coinfection: the first 10 years, *Clin. Microbiol. Rev.*, v. 10, p. 298-319, 1997.

ARBUZOV, A. E.; *Phys. Chem. Soc.* v. 38, p. 687, 1906.

AZEVEDO, L. A. S. Fungicidas Protetores: fundamentos para o uso racional. EMOPI Editora e Gráfica. Campinas. 2003. 320p.

BARRAL, A.; PEDRAL-SAMPAIO, D.; GRIMALDI, Jr. G.; MOMEM, H., McMAHON-PRATT, D.; RIBEIRO DE JESUS, A. Leishmaniasis in Bahia, Brazil. Evidence that *Leishmania (L.) amazonensis* produces a wide spectrum of clinical disease. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 44: 535-546, 1991.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C.A.M.; MIRANDA, A.L.P.; RODRIGUES, C.R. A Química Medicinal de N-Acildrazonas: Novos Compostos-Protótipos de Fármacos Analgésicos, Anti-inflamatórios e Anti-Trombóticos. *Química Nova.* v. 25, n. 1, p. 129-148, 2002.

BASANO, S. A.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose Tegumentar Americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controles. *Rev Bras Epidemiol*, 07:3, 2004.

BATTACHARYA, L. K. & THYAGARAJAN, G. *Chem. Rev.*v. 81, p. 415, 1981.

BERGER, A. J.; FAIRLAMB, A. H. Interactions between immunity and chemotherapy in the treatment of the trypanosomiasis and leishmaniasis. *Parasitology.* 105 Suppl: S7 1-8. Review, 1992.

BERNERS-PRICE, S. J.; SADLER, P. J. *Chem. Britain*, nº 6, 541-544, 1987.

CADOGAN, J. I. G., Organophosphorus Reagents in Organic Synthesis. *Academic Press Inc. (London) LTD.* 1st Ed., 1979.

CADOGAN, J.I.G.; HODGSON, P.K.G. Organophosphorus Chemistry Today. *Phosphorus and Sulfur.* v. 30, p. 3-88, 1987.

CAMPS, F.; CASTELLS, J. Tablas para la Elucidacion Estructural de Compuestos Organicos por Metodos Espectroscopicos. *Alhambra S. A.* 1^a Ed. Versão Espanhola. 1980.

CARBRIDGE, P.E.C. The Structural Chemistry of Phosphorus. *Elsevier Scientific Publishing, N.Y.* 203, 1974.

CIA, E.; SALGADO, C. L. Doenças do algodoeiro. In: KIMATI, H. Coord. Manual de Fitopatologia. Doenças das plantas cultivadas. v.2, p. 33-48, 1997.

COHEN, F. J. Macro trends in pharmaceutical innovation. *Nat. Rev. Drug Discov.*, v. 4, p. 78-84, 2005.

COLLA, P.La; VICINI, P.; INCERTI, M.; DOYTCHINOVA, I.A.; BUSONERA, B.; LODDO, R. Synthesis and Antiproliferative Activity of Benzo[d]isothiazole Hydrazones. *European Journal of Medicinal Chemistry*. v. 41, p. 624-632, 2006.

COOK, R. J. Management of the associated microbiota. *Plant Disease*. v.1, p. 145-166, 1977.

COSTA, P.; PILLI, R.; PINHEIRO, S.; VASCONCELLOS. Substâncias Carbonilados e Derivados. *Artmed Editora S A Subdivisão Bookman Companhia Editora*. Série Química Orgânica. 2003.

COTTON, F. A. 1988. Advanced Inorganic Chemistry. In: USA. 5th Ed. JohnWiley and Sons.

COUZIN, J. Brains behind blockbuster. *Science*, v. 309, p. 728-730, 2005.

CROFT, S. L. Monitoring drug resistance in leishmaniasis. *Trop. Med. Int. Health*, v. 6, p. 899-905, 2001.

CROFT, S. L. Neglected diseases: progress in drug development. *Curr. Opin. Investig. Drugs.*, v. 8, p. 103-104, 2007.

CROFT, S. L.; BARRET, M. P.; URBINA, J. A. Chemoterapy of trypanosomiasis and leishmaniasis. *Trends Parasitol.*, v. 21, p. 508-512, 2005.

CROFT, S. L.; COOMBS, G. H. Leishmaniasis-current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. *Trends Parasitol.*, v. 19, p. 502-508, 2003.

CROOKE, S. T.; SNYDER, R. M.; BUTT, T. R. *Biochem. Pharmacol.*, 35, n° 20, 3423-3431, 1986.

DANTAS-TORRES, F. Final comments on a interesting taxonomic dilemma: *Leishmania infantum* versus *Leishmania infantum chagasi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006. 101(8): 929-930.

DA SILVA, J.F.C.; PEDROSA, M.S.; NAKAYAMA, H.T.; NETO, C.C. Electronic Structure and P-31 NMR Chemical Shift of Substituted

Triaryl, Diaryl Methyl and Dimethyl Aryl Phosphates - A Semi-Empirical Molecular Orbital Approach. *Phosphorus Sulfur and Silicon and the Related Elements*. v. 131, p. 97-105, 199

DAVIDSON, R. N. AIDS and leishmaniasis. *Genitourin. Med.* V. 73, p. 237-239, 199787.
CROFT, S. L.; YARDLEY, V. Chemotherapy of leishmaniasis. *Curr. Pharm. Des.*, v. 8, p. 319-342, 2002.

DAVIES, C. R. Leishmaniasis: new approaches to disease control. *BMJ.*, v. 8, p. 319-342, 2002.

DE CASTRO S. L. *Acta Tropica*, 53, 83, 1993.

DEKKER, J. & GEORGOPOULOS, S. G. Fungicide resistance in crop protection. Center for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, 1982.

DESJEUX, P. Leishmaniasis. *Nat. Ver. Microbiol.*, v. 2, p. 692-693, 2004.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, v. 27, p. 305-318, 2004.

DESJEUX, P. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 95, p. 239-243, 2001.

DICKSON, M.; GAGNON, J. P. Key factors in the rising cost of new drug Discovery and development. *Nat. Ver. Drug. Discov.*, v. 5, p. 417-429, 2004.

DIMASI, J. A.; HANSEN, R. W.; GRABOWSKI, H. G. The price of innovation: new estimates of drug development cost. *J. Health Econom.*, v. 22, p. 151-185, 2003.

DOS SANTOS, V.M.R.; SANT'ANNA, C.M.R.; BORJA, G.E.M.; CHAABAN, A.; CORTES, W.S.; DACOSTA, J.B.N.. New Bisphosphorothioates and Bisphosphoroamidates: Synthesis, Molecular Modeling and Determination of Insecticide and Toxicological Profile. *Bioorganic Chemistry*. v. 35, n.1, p. 68-81, 2007.

ETO, M. In: *Organophosphorus Pesticides: Organic and Biological Chemistry*. 1^a ed., CRC Press. Fukuoka, Japan, 1974.

EUROPEAN PATENT 210804, 1987; *Chem. Abstr.*, 106, n° 169044k, 1987.

FILARDI, L. S. and BRENNER, Z. Susceptibility and natural resistance of *T. cruzi* strains to drugs used clinically in Chagas disease. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 81: 755-759, 1987.

FISHER, E. B. & VAN WAZER, J. R. Uses of organic phosphorus compounds, in *Phosphorus and Its Compounds*. Vol. II. Ed. Interscience, New York, 1961.

FORD MOORE, A. H.; PERRY, B. J.; *Org. Syn. Coll.* v. 4, p. 955, 1963.

FRAYHA, G. L.; SMYTH, J. D.; GOBERT, J. G.; SAVEL, J.; The mechanisms of action of antiprotozoal and anthelmintic drugs in man. *Gen. Pharmacol.*, v. 28, n.2, p. 273-299, 1997.

GEARY, T. G.; EDGAR, A. E.; JENSEN, J. B. Leishmaniasis- current treatment. In: CAMPBELL, W. C.; REW. R. S. *Chemotherapy of Parasitic Diseases*. New York; Plenum Press, 1989, p. 209-238.

GILBERT, I.H.; KNAGGS, M.H.; McGUIGAN, C.; HARRIS, S.A.; HESHMATI, P.; CAHARD, D.; BALZARINI, J. A QSAR Study Investigating the Effect of L-Alanine Ester Variation on the Anti-HIV Activity of Some Phosphoramidate Derivatives of d4T. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. v. 10, p. 2075-2078, 2000.

GOULART, A. C. P. Doenças associadas às sementes. *Correio Agrícola*, janeiro-junho, p. 12-15, 2001.

HARVEY, R. G. & DESOMBRE, E. R. 1964. *Topics in Phosphorus Chemistry*. Interscience. Vol. 1. 57.

HERNANDEZ, D.; RODRIGUEZ, N.; MARTINEZ, C.; GARCIA, L.; CONVIT, J. *Leishmania braziliensis* causing visceral leishmaniasis in a patient with human immunodeficiency virus infection, identified with the aid of the polymerase chain reaction. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1993. 87:627-8.

HERWALDT, B. L. Leishmaniasis. *Lancet*, v. 354, p. 1191-1199, 1999.

HWU, J.R.; LIN, C.C.; CHUANG, S.H.; KING, K.Y.; SU, Tzu-Rong; TSAY, Shwu-Chen. Aminyl and Iminyl Radicals from Arylhydrazones in the Photo-Induced DNA Cleavage. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. v. 12, p. 2509-2515, 2004.

JAPANESE PATENT 6168494, 1986. *Chem. Abstr.*, 105, n° 134194a, 1986.

KELSEY, R. G. & LOCKEN, L. 1982. *Journal of Chemical Ecology*. 13: 19-33.

KIMATI, H; BERGAMIN FILHO, A. Princípios gerais de controle. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. *Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos* v1. São Paulo: Ed. Ceres, 1995. P. 692-709.

KIRCHHOFF L. V. (1993), *Infectious Disease Clinics of North America*, 7, 487.

KIRK-OTHMER. *Encyclopedia of Chemical Technology*. J. Wiley and Sons. Inc 7, 507, 1951.

KITAEV, Yu.P.; BUZYKIN, B.I. The Reactions of Hydrazones. *Russian Chemical Reviews*. v. 41, n. 6, p. 495-515, 1972.

KOSALPOFF, G.M.; MAIER, L. *Organic Phosphorus Compounds*. Wiley – Interscience, N.Y. v. 5, 1973.

LANÇAS, F.M.; LEITE, R.S.; FERNANDES, C. Bisfosfonatos: Síntese, Análises Químicas e Aplicações Farmacológicas. *Química Nova*. v. 28, n. 2, p. 274-280, 2005.

LEON, L. L.; MACHADO, G. M.; BARRAL, A.; de CARVALHO-PAES, L. E.; GRIMALDI JUNIOR, G. Antigenic differences among *Leishmania* (L.) amazonensis isolates and their relationship with distinct clinical forms of the disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 1992 Apr-Jun; 87(2): 229-34.

LIMA, L. M. *Syntheses and Antinociceptive Profile of Novel Acidic Sulphonilhydrazone Derivates from Natural Safrole.* *Pharm. Pharmacol. Commun.*, 1999, v.5, p. 673-678.

LOMBARDINO, J. G.; LOWE, J. A. 3rd. The role of the medicinal chemist in drug Discovery- then and now. *Nat. Rev. Drug Discov.*, v. 3, p. 853-862, 2004.

MACHADO, E. S.; BRAGA, M. P.; Da CRUZ, A. M.; COUTINHO S. G.; VIEIRA, A. R.; RUTOWITSCH, M. S., et al. Disseminated American muco-cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis* in a patient with SIDA: a case report. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 87: 487-92, 1992.

MAGILL, A. J. visceral infection caused by *Leishmania tropica* in veterans of Operation Desert Storm. *N. Engl. J. Med.*, v. 328, p. 1383-1387, 1993.

MANUAL DE VIGILÂNCIA DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA, 2007.

MARK, V. *Mech. Mol. Migr.* 2: 319, 1969.

MASHKOVSKII, M. D. Modern analgesics and endogenic mechanisms for pain and anesthetization, *Vestn. Akad. Medits. Nauk sssr*, nº 9, 52-57 (1980).

McGUIGAN, C.; HASSAN-ABDALLAH, A; SRINIVASAN, S.; WANG, Y.; SIDDIQUI, A.; DALUGE, S.M.; GUDMUNDSSON K.S.; ZHOU, H.; McLEAN, E.W.; PECKHAM, J.P.; BURNETTE, T.C.; MARR, H.; HAZEN, R.; CONDREAY, L.D.; JOHNSON, L.; BALZARINI, J. Application of Phosphoramidate ProTide Technology Significantly Improves Antiviral Potency of Carbocyclic Adenosine Derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry.* v. 49, p. 7215-7226, 2006.

McGUIGAN, C.; CONGIATU, C.; BRANCALE, A.; MASON, M.D.; JIANG, W.G. Novel Potential Anticancer Naphthyl Phosphoramidates of BVdU: Separation of Diastereoisomers and Assignment of the Absolute Configuration of the Phosphorus Center. *Journal of Medicinal Chemistry.* v. 49, p. 452-455, 2006.

MICHAELIS, A E.; KAEHNE, R. *Chem. Ber. Stsch. Ges.*, 31, 1048, 1898.

MICHAELIS, A.; BECKER, T. *Ber. Stsch. Chem. Ges.* 30: 1003, 1897.

MURRAY, H. W. et al. Advances in leishmaniasis. *Lancet*, v. 366, p. 1561-1577, 2005.

NASCIMENTO, W. N.; TORRES, A. C.; PAIVA, S. A. V.; TAYLOR, M.; CANTLIFFE, D. J. Bio-assay for detection of glyphosate tolerance in lettuce transgenic seeds. In: INTERNATIONAL SEED TESTING CONGRESS, 26 Angers, 2001.

NEUHAUS, D.; WILLIAMSON, M.P. The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis. *VHC Publishers*. New York. 1989.

NWAKA, S.; RIDLEY, R. G. Virtual Drug Discovery and development for neglected diseases through public-private partnerships. *Nat. Ver. Drug Discov.*, v. 2, p. 919-928, 2003.

OLIVEIRA, A. W. S.; SISTEROLI, G. C.; ALBERNAZ, V. G. P.; MARINHO, F.E. *Triatoma infestans* no Estado de Goiás. *Rev. Soc. Bras. Med.* 36: 395-396, 2003.

PECHMANN, H. V.; WESHARG, K.; BER.1988, 21, 2992.

RAJSKI, R. S.; WILLIAMS, R. M.; *DNA Cross-Linking Agents as Antitumor drugs*. *Chem. Rev.* 98, 2733, 1998.

RODRIGUEZ, J.B.; SZAJNMAN, S.H.; BAILEY, B.N.; DOCAMPO, R. Bisphosphonates Derived from Fatty Acids are Potent Growth Inhibitors of *Trypanosoma cruzi*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. v. 11, p. 789-792, 2001.

SALLES N. A., SABINO., SABINO E. C., CLIQUET M. G., ELUF-NETO J., MAYER A., ALMEIDA-NETO C., MENDONÇA M. C., DORLIACH-LIACER P., CHAMONE D. F., SAÉZ-ALQUÉZAR A. *Transfusion*, 36, 969, 1996.

SAUNDERS, B. Some Aspects of The Chemistry and Toxic Action of Organic Compounds Containig Phosphorus and fluorine, Cambridge University Press. London, 1957.

SERENO, D.; CORDEIRO DA SILVA, A.; MATHIEU-DAUDE, F.; QUAISSI, A. Advances and perspectives in Leishmania cell based drug-screening procedures. *Parasitol Int.* 56(1): 3-7, 2007.

SHERLOCK IA. Ecological interactions of visceral leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 91(6): 671-83, 1996.

SIGIDIN, Ya. A.; SHVARTS, G. Ya.; ARZAMASTSEV, S. S.; LIBERMAN, S. S. *Drug Therapy for Inflammation*. Moscow, 1988.

SINDERMANN, H. et al. Miltefosine (Impavido): the first oral treatment against leishmaniasis. *Med. Microbiol. Immunol.*, v. 193, 173-180, 2004.

SINDERMANN, H.; ENGEL, J. Development of miltefosine as na oral treatment for leishmaniasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 100, p. S17-S20, 2006.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. *Princípios de Análise Instrumental*, Bookman. 5ª Edição, 2002.

SOGORB, M. A. & VILANOVA, E. *Toxicology Letters* 128: 215-228, 2002.

SOUZA, M. A. A. *et al.* Efeito de extratos aquosos, metanólicos e etanólicos de plantas medicinais sobre a germinação de sementes de alface e sobre o desenvolvimento miscelial de fungos fitopatogênicos de interesse agrícola. *Revista Universidade Rural, Série Ciências da Vida, Seropédica*. V. 22, n. 2, p. 181-185, Suplemento. 2002.

STANGARLIN, J. R. *et al.* Plantas Mais: Plantas Medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. *Biotecnologia- Ciência e Desenvolvimento*. N. 11, p. 16-21, nov. 1999.

TANOWITZ H. B., KIRCHHOFF L. V., SIMON D., MORRIS S. A., WEISS L. M., WITTNER M. (1992), *Clinical Microbiology Reviews*, (5)4, 400.

TEIXEIRA A. doença de Chagas e outras por tripanossomos, Editora Universidade de Brasília, 13, 1987.

THOMAS, L.C. Interpretation of the Infrared Spectra of Organophosphorus Compounds. *Heyden & Son, Ltd. London*. 1974.

THOMAS, L.C. The Identification of Functional Groups in Organophosphorus Compounds. *Academic Press Inc. (London) LTD*. 1st Ed., p. 79, 1974.

TODD, A.R.; ATHERTON, F.R.; OPENSHAW, H.T. *Journal of the Chemical Society*. 660, 1945.

TODD, A.R.; ATHERTON, F.R. *Journal of the Chemical Society*. 674, 1947.

TODD, A.R.; ATHERTON, F.R.; HOWARD, H.T. *Journal of the Chemical Society*. 1106, 1948.

TOY, A. D. F., 1976. Phosphorus Chemistry in Everyday Living, 2nd Ed. Am. Chem. Soc. UB.

TOY, A.D.F., Phosphorus Chemistry in Everyday Living. *Am. Chem. Soc. USA*. 2nd Ed., p.154-155, 1977.

TROUILLER, P.; OLLIARO, P.; TORREELE, E.; ORBINSKI, J.; LAING, R.; FORD N., *The Lancet/ Vol 359 / June 22, 2002/ www.thelancet.com*

UNITED STATES GOVERNMENT ACCOUNTABILITY OFFICE (2006). New drug development. Science, business, regulatory, and intellectual property issue cited as hampering drug development efforts. Disponível em: [HTTP://www.gao.gov/new.items/d0749.pdf](http://www.gao.gov/new.items/d0749.pdf).

URBINA, J. A. and DOCAMPO, R. (2003). Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. *Trends Parasitol*. 11: 495-501.

VOGEL, A.I., 1981. *Análise Orgânica Qualitativa*, Ao Livro Técnico S.A., RJ.

VOGRALIK, V. G. Hormones and Hormonal Drugs in Clinical Practice for Internal diseases. Moscow, 1974.

WALSH, N.E.; GRIFFITH, E.J.; PARRY, R.W.; QUIN, L.D. Phosphorus Chemistry. *American Chemical Society*. Washington DC. 1992.

WATSON, J.T. Introduction to Mass Spectrometry. *Lippincott-Raven*. New York. 3^aEdição. 1997.

WEST GERMAN PATENT 2949669, 1980; Chem. Abstr., 94, n° 15410y, 1980.

WHO. The World Health Report, 2000 & 2002 (World Health Organization, Geneva, 2002).

WHO/TDR – World Health Organization – Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases, 2008. Disponível em <<http://www.who.int/tdr/index.html>>. Acessado em 16. Jan 2008.

WWW.uga.edu / Celbio / Tarleton. html.WWW.fiocruz.br

YAMEY, G.; TORREELE, E. the world's most neglected diseases. *BMJ*. v. 325, p. 176-177, 2002.

YUDELEVICH, V.I.; KOMAROV, E.V.; IONIN, B.I. Organophosphorus Drugs. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. v. 19, n. 6, p. 382-397, 1986.

ZELLENIN, K.N.; KHORSEVA, L.A.; ALEKSEEV, V.V. Physiologically Active Complexes of Hidrazones (Review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*. v. 26, n. 5, p. 395-405, 1992.

ZHAO, Y.F.; XI, S.K.; SONG, A.T.; JI, G.J. Phosphoryl as a Novel Amines Protecting Group for Friedel-Crafts Acylation of N-[2-(3,4-dialkoxy phenyl)]. *Journal of Organic Chemistry*. v. 49, p. 4549, 1984.

ZHAO, Y.F.; XUE, C.B.; ZENG, J.N.; JI, G.J. Synthesis of N-(diisopropoxyphosphoryl) Amino Acids and Peptides. *Synthesis*. v. 6, p. 444, 1988.

Apêndice

Espectros de Infravermelho, RMN-¹H, RMN-¹³C, NOE e ³¹P e massas.

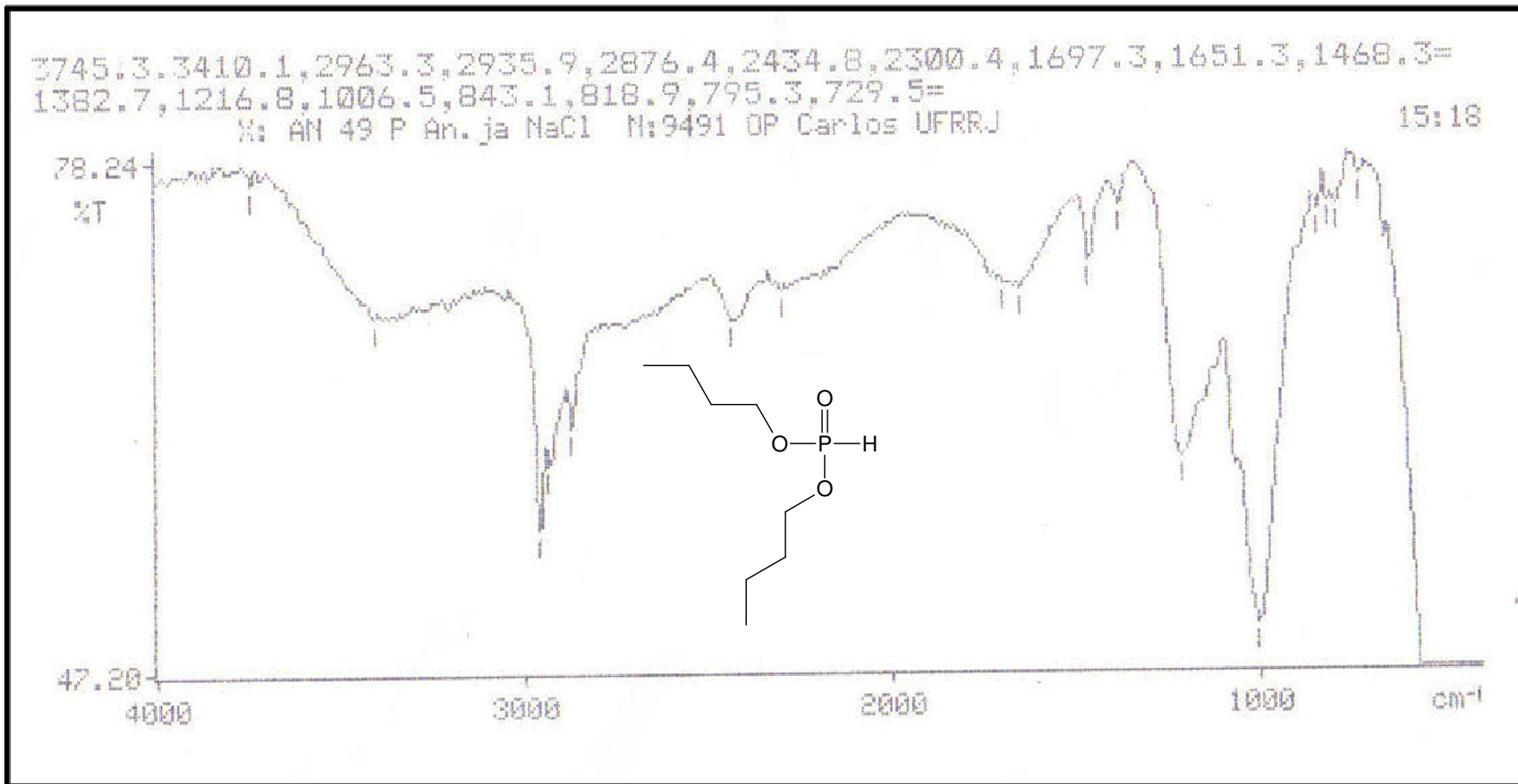


Figura 61 : Espectro de IV do fosfonato de dibutila.

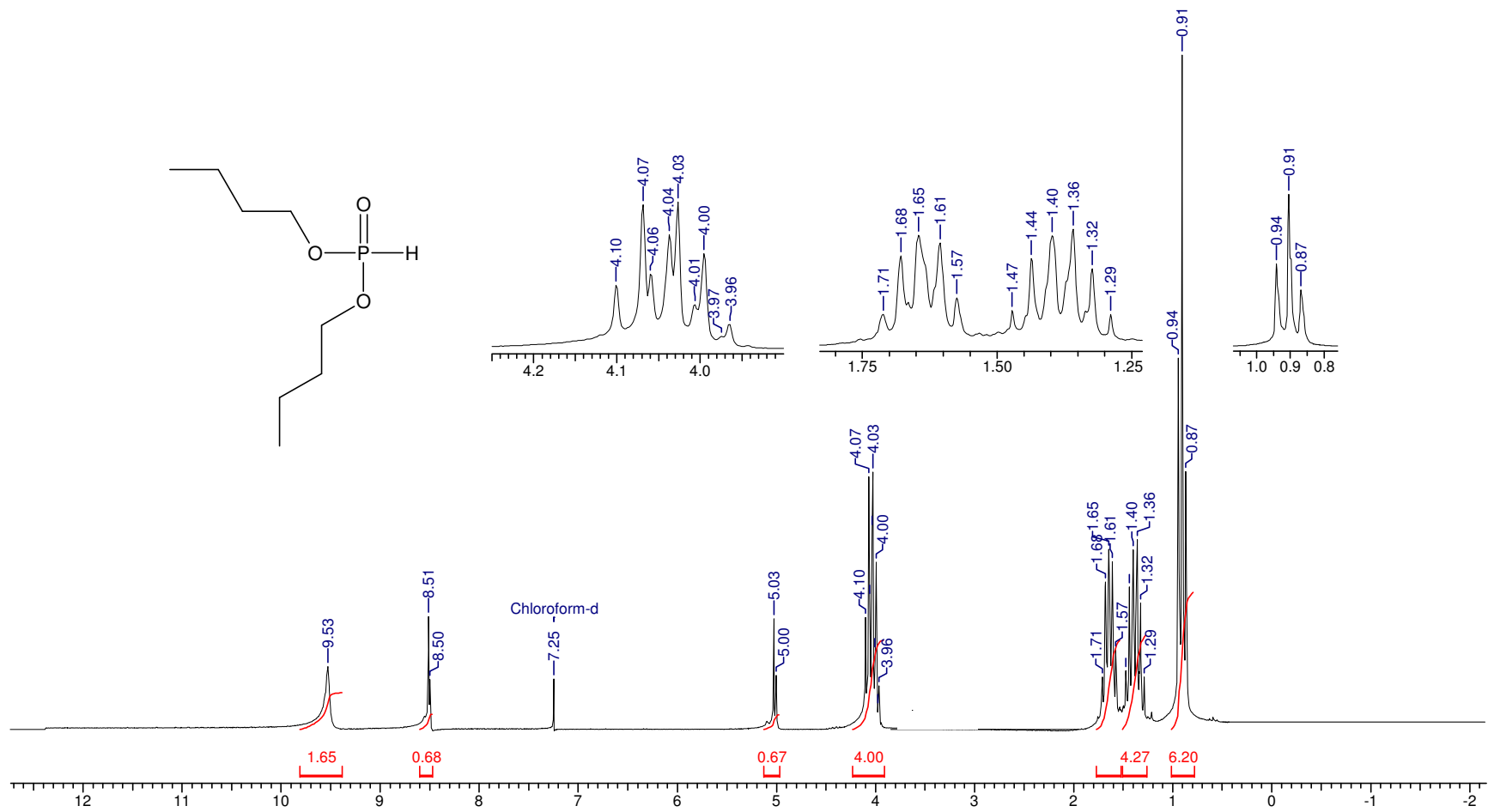


Figura 62: Espectro de RMN de ^1H do fosfonato de dibutila.

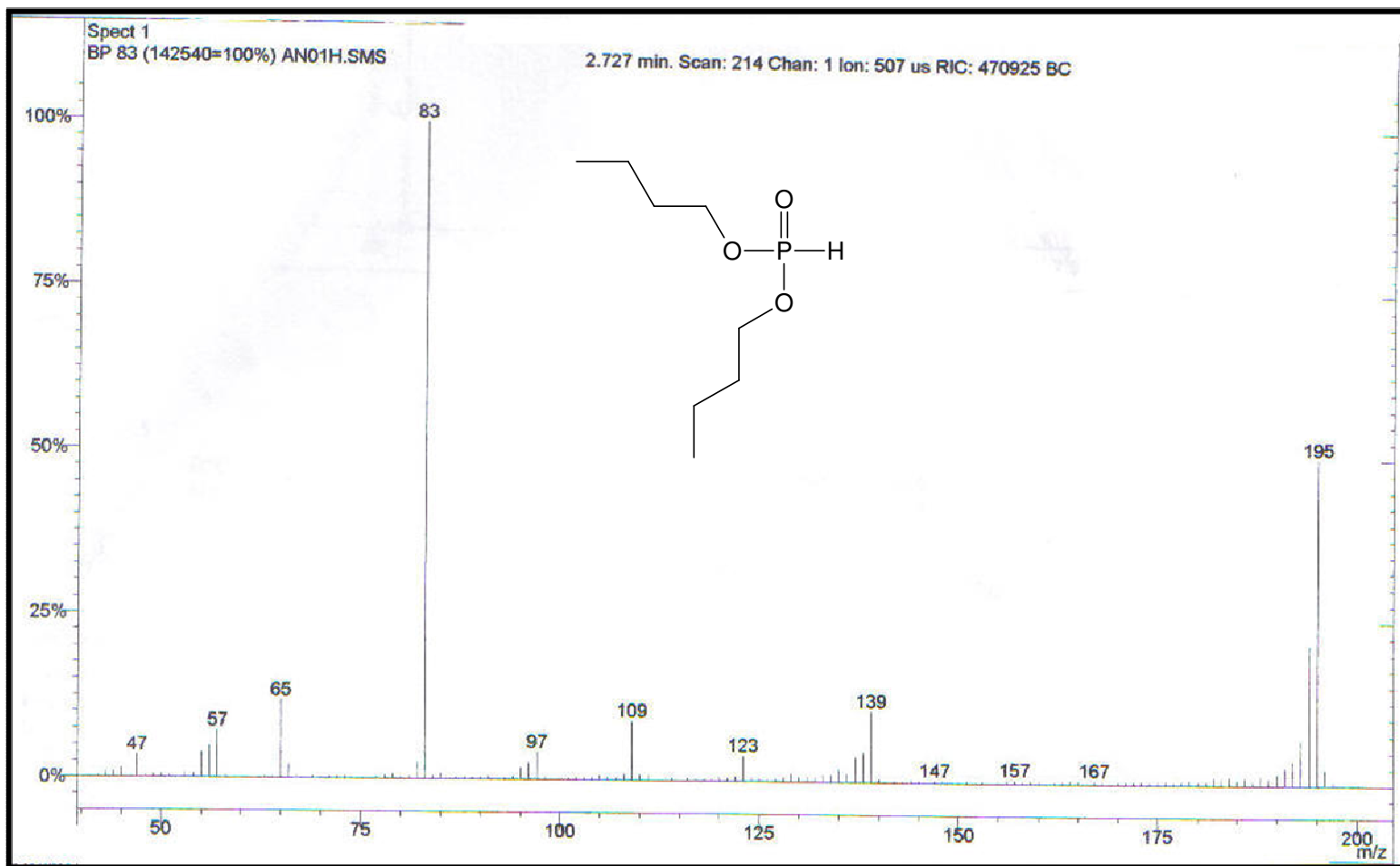


Figura 63: Espectro de massas do fosfonato de dibutila.

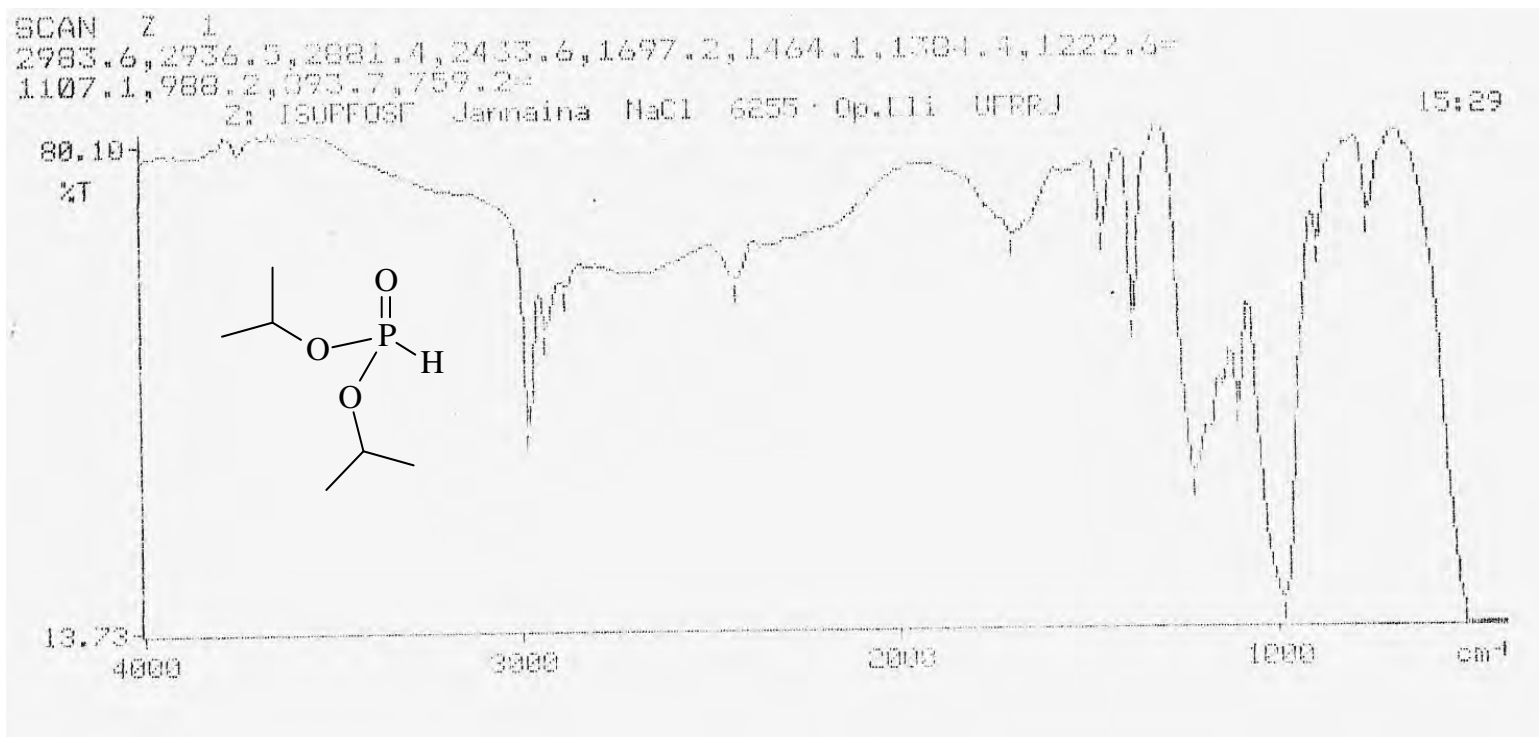


Figura 64: Espectro de IV do fosfonato de di-isopropila.

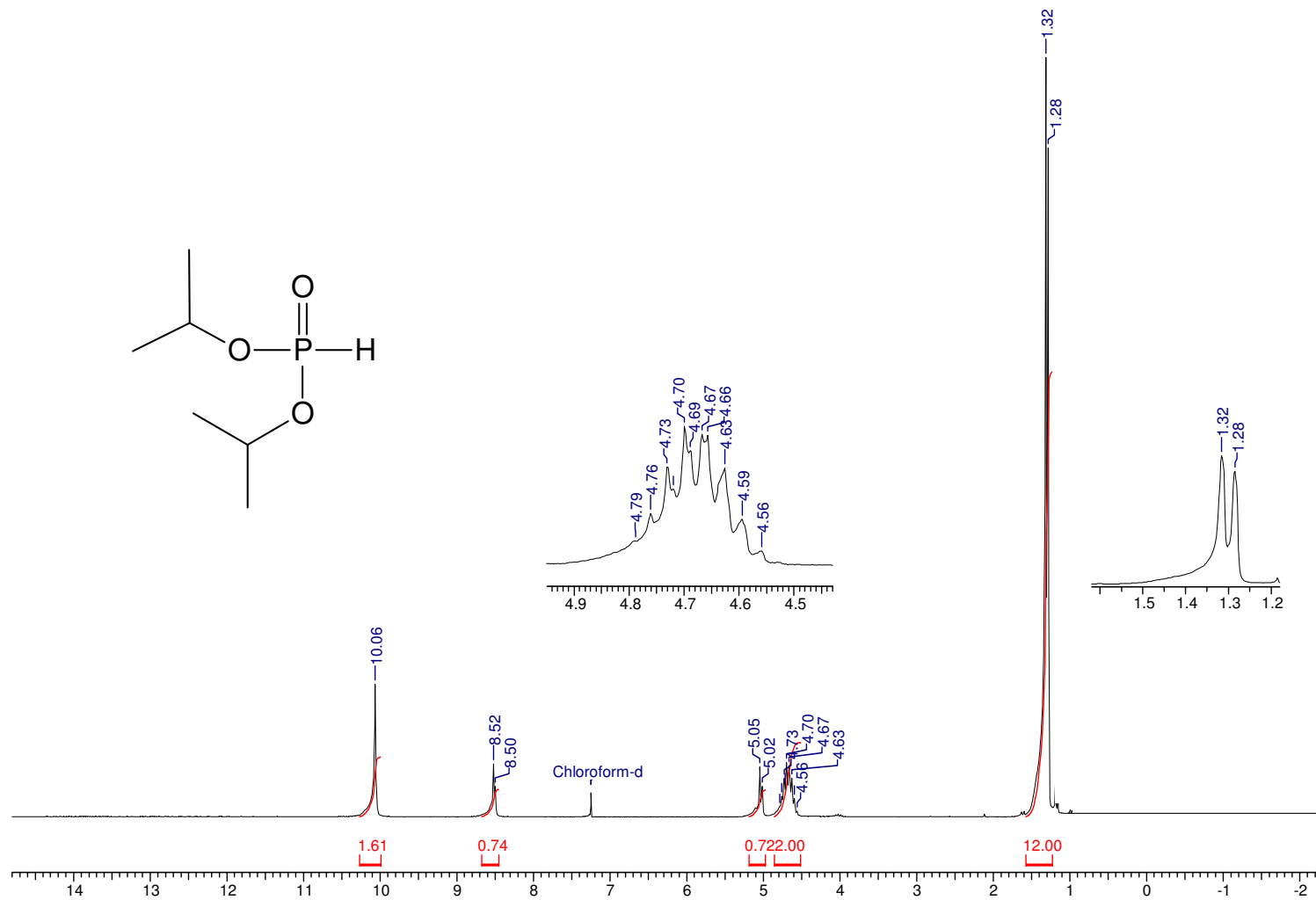


Figura 65: Espectro de RMN de ¹H do fosfonato de di-isopropila.

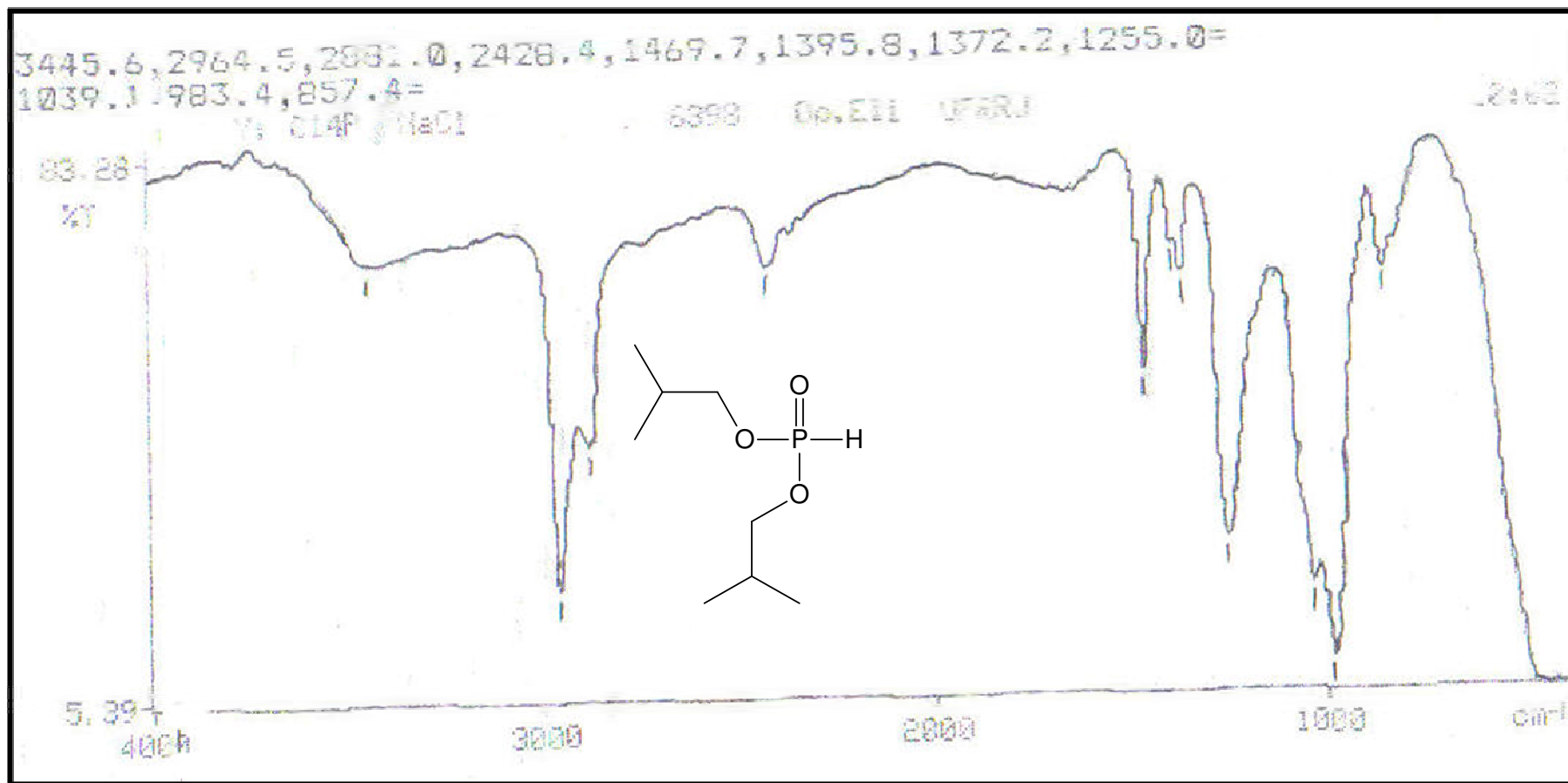


Figura 66: Espectro de IV do fosfonato de di-isobutila.

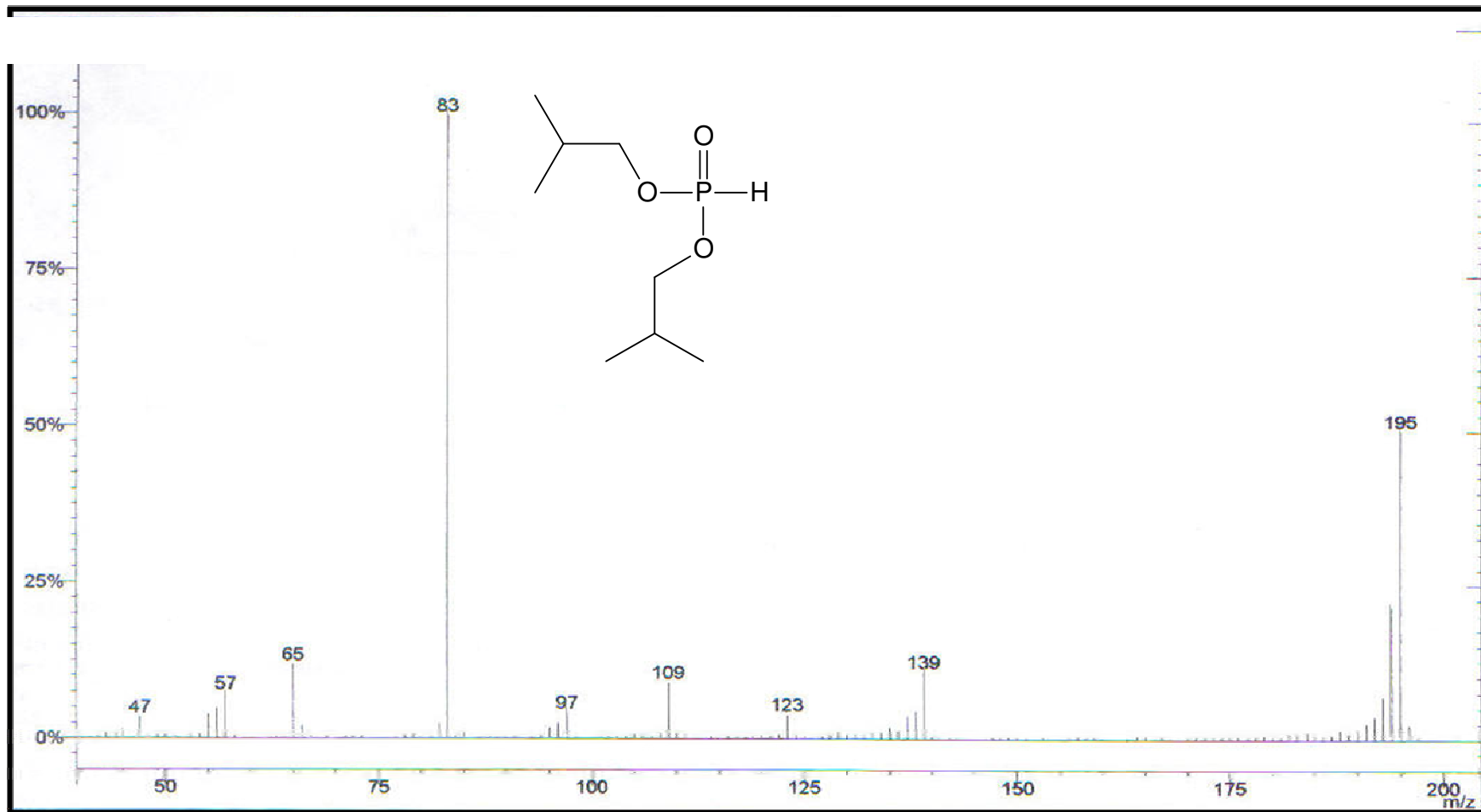


Figura 68: Espectro de massas do fosfonato de di-isobutila.

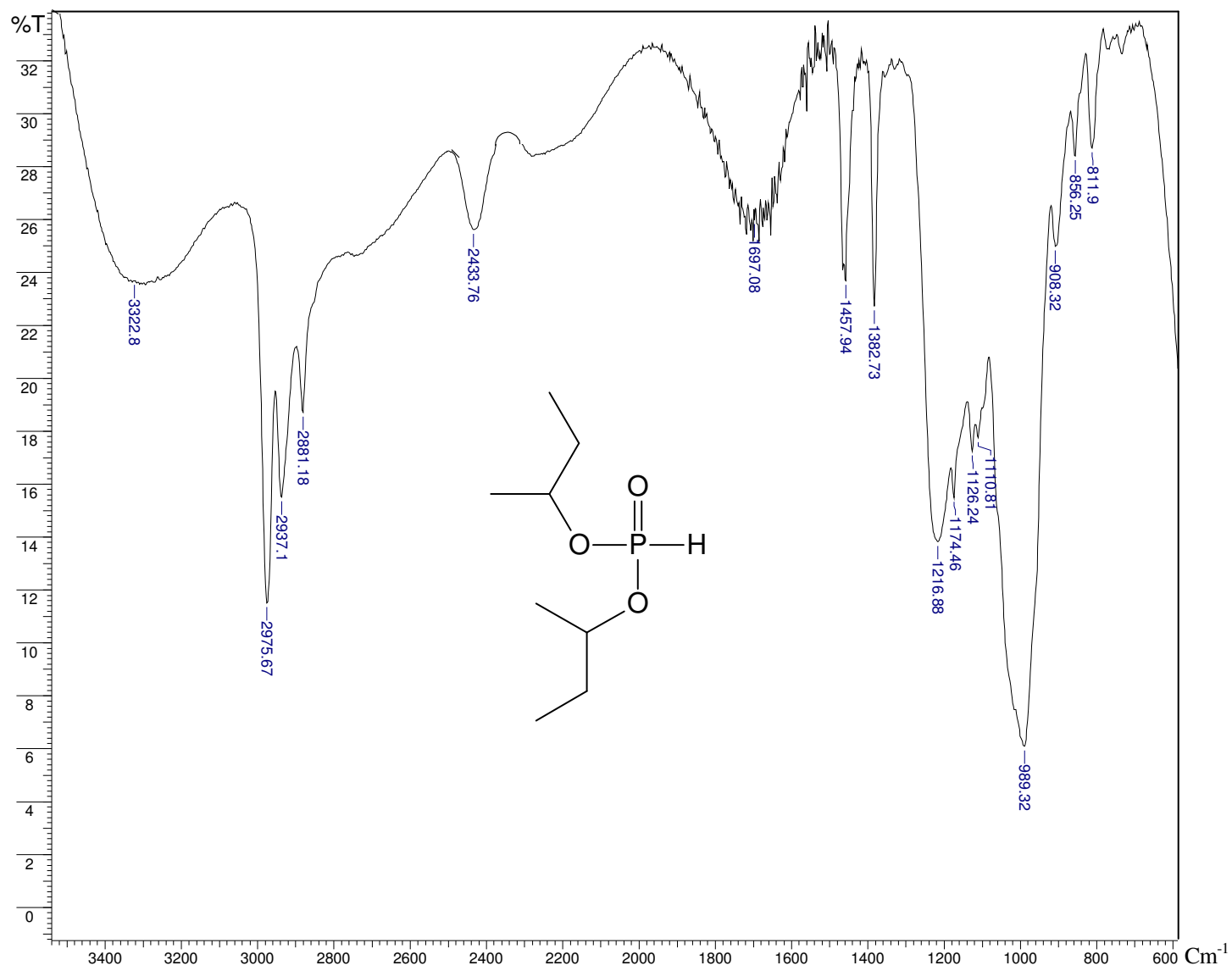


Figura 69: Espectro de IV do fosfonato de dissebutila.

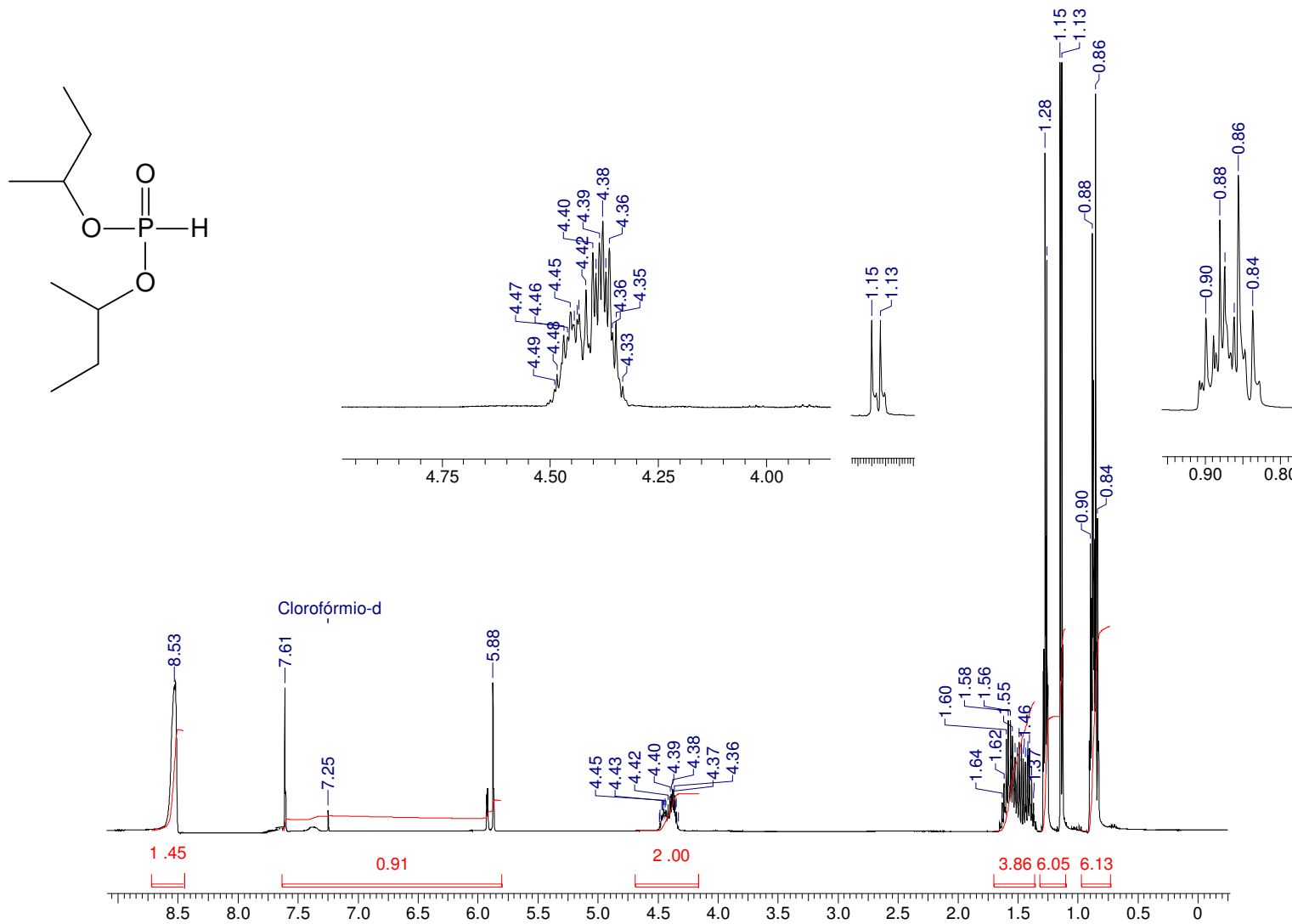


Figura 70: Espectro de RMN de ¹H do fosfonato de dissecbutila.

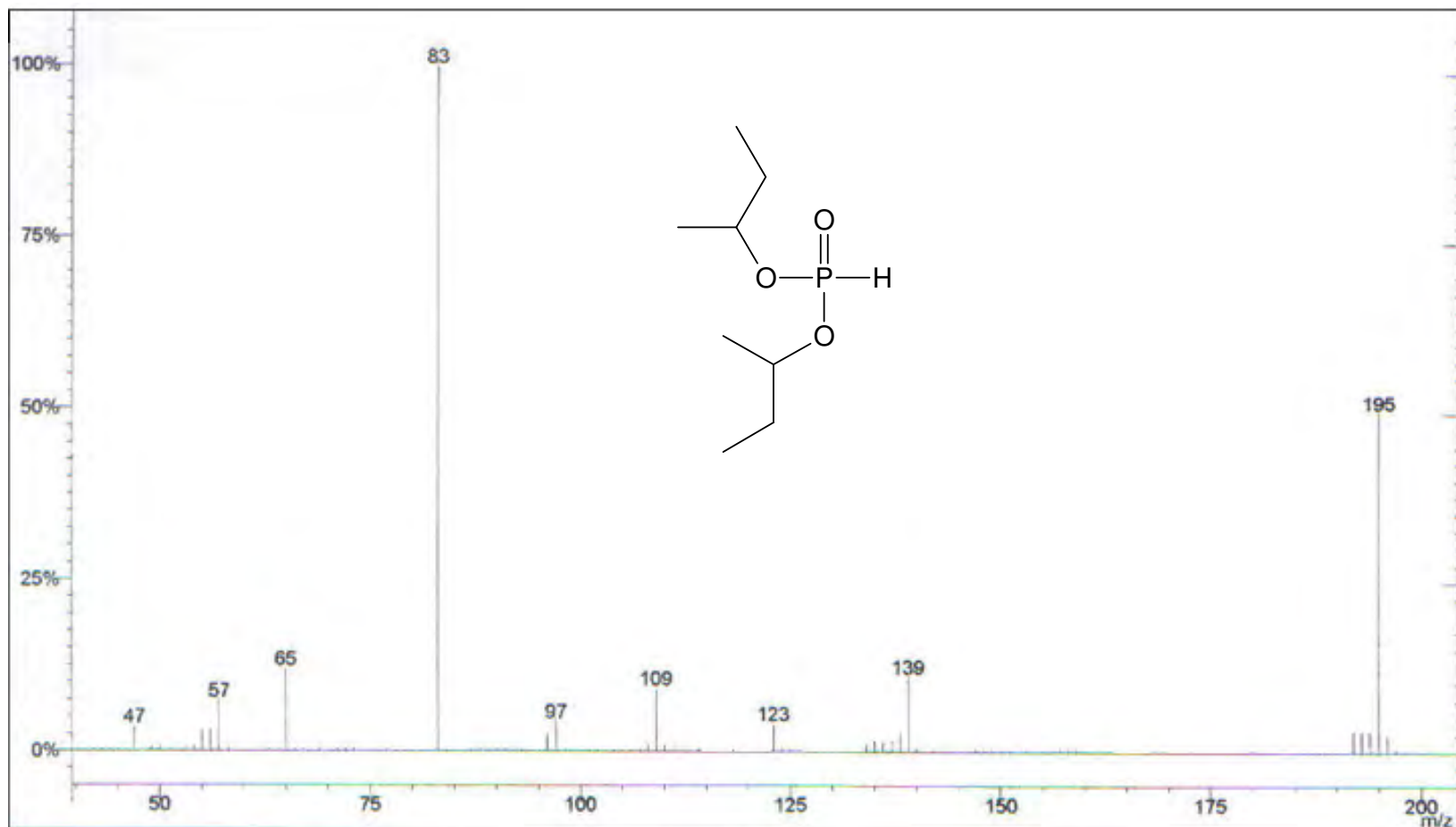


Figura 71: Espectro de massas do fosfonato de dissecbutila.

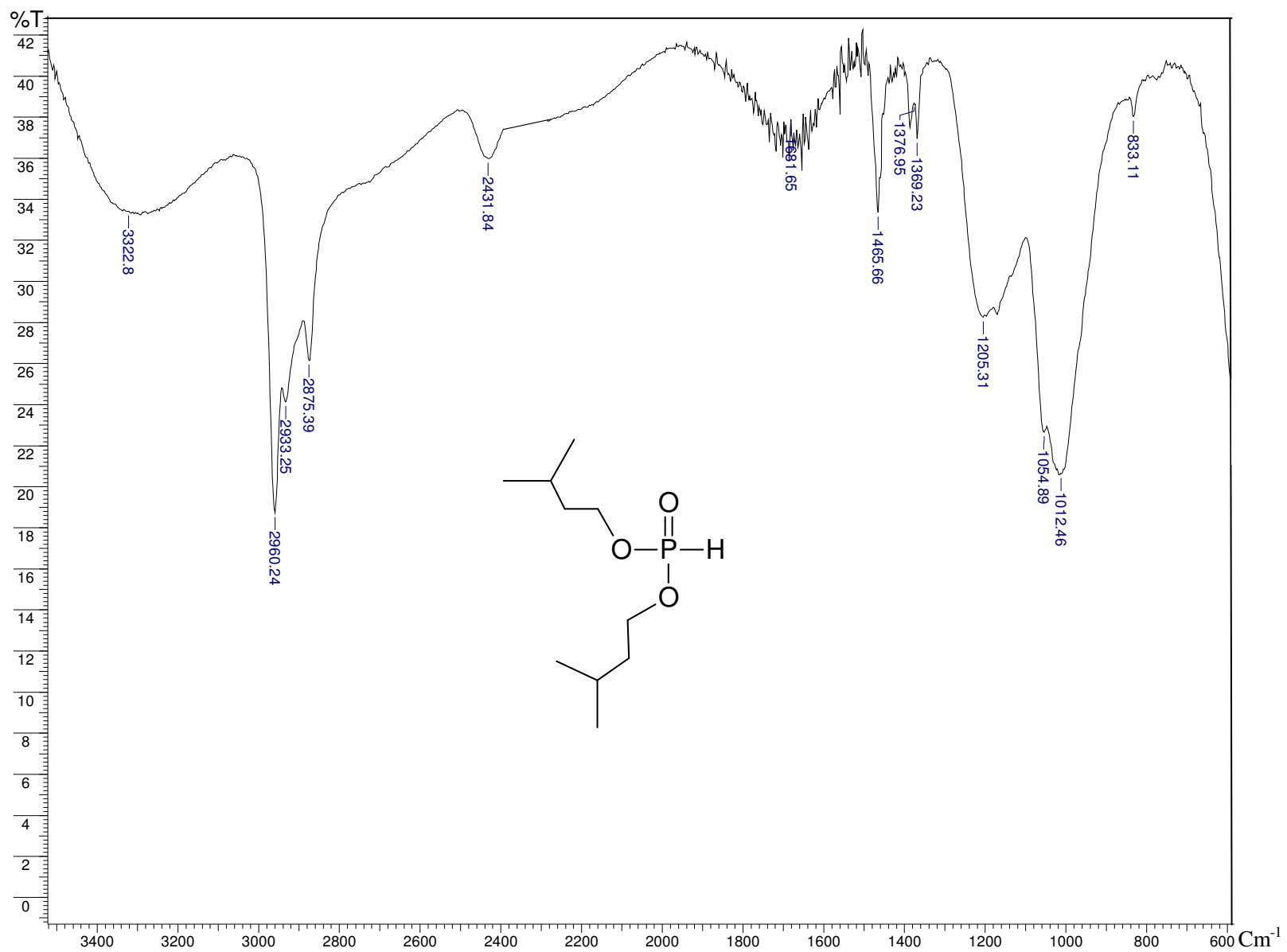


Figura 72: Espectro de IV do fosfonato de di-isopentila.

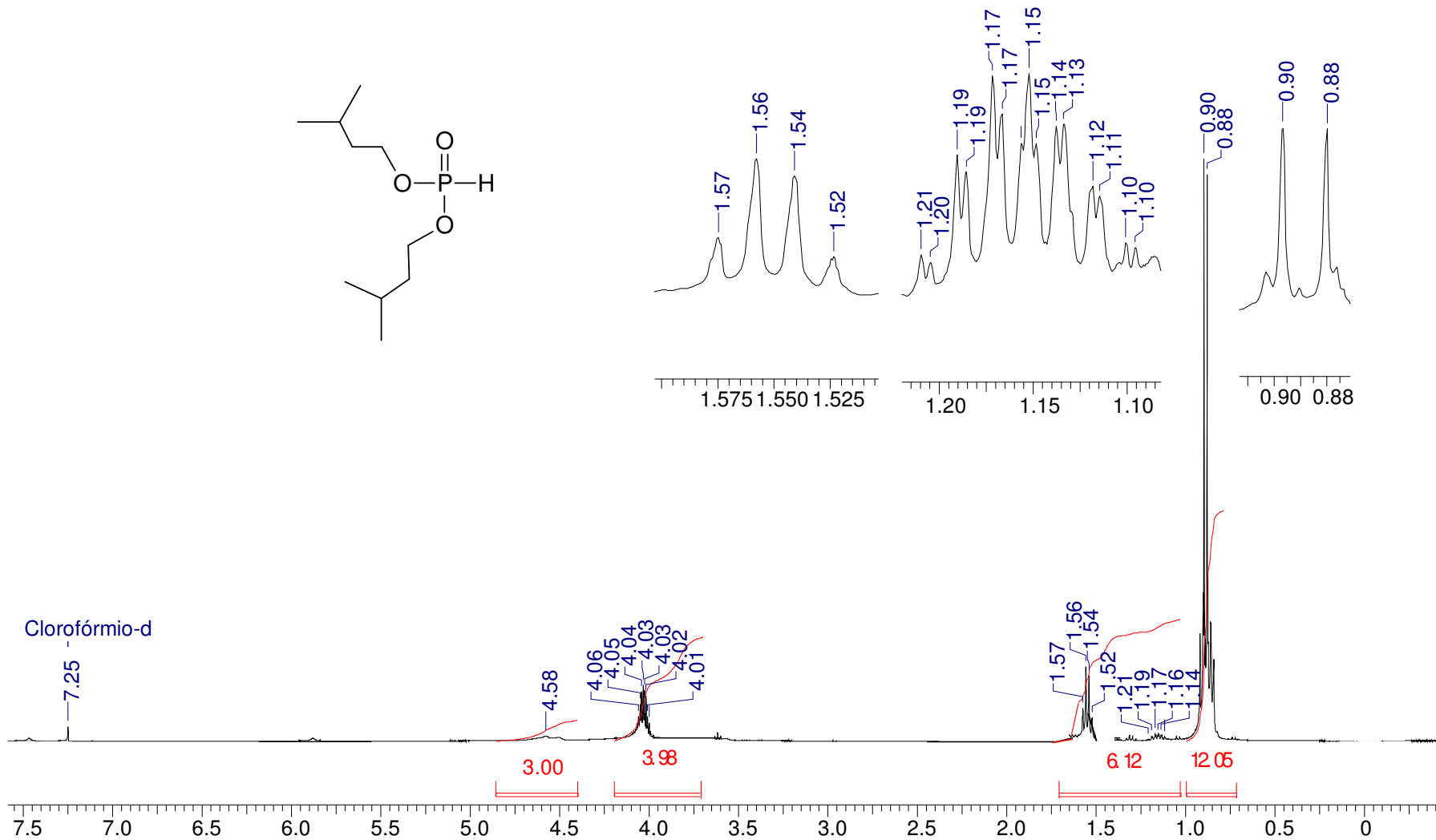


Figura 73: Espectro de RMN de ^1H do fosfonato de di-isopentila.

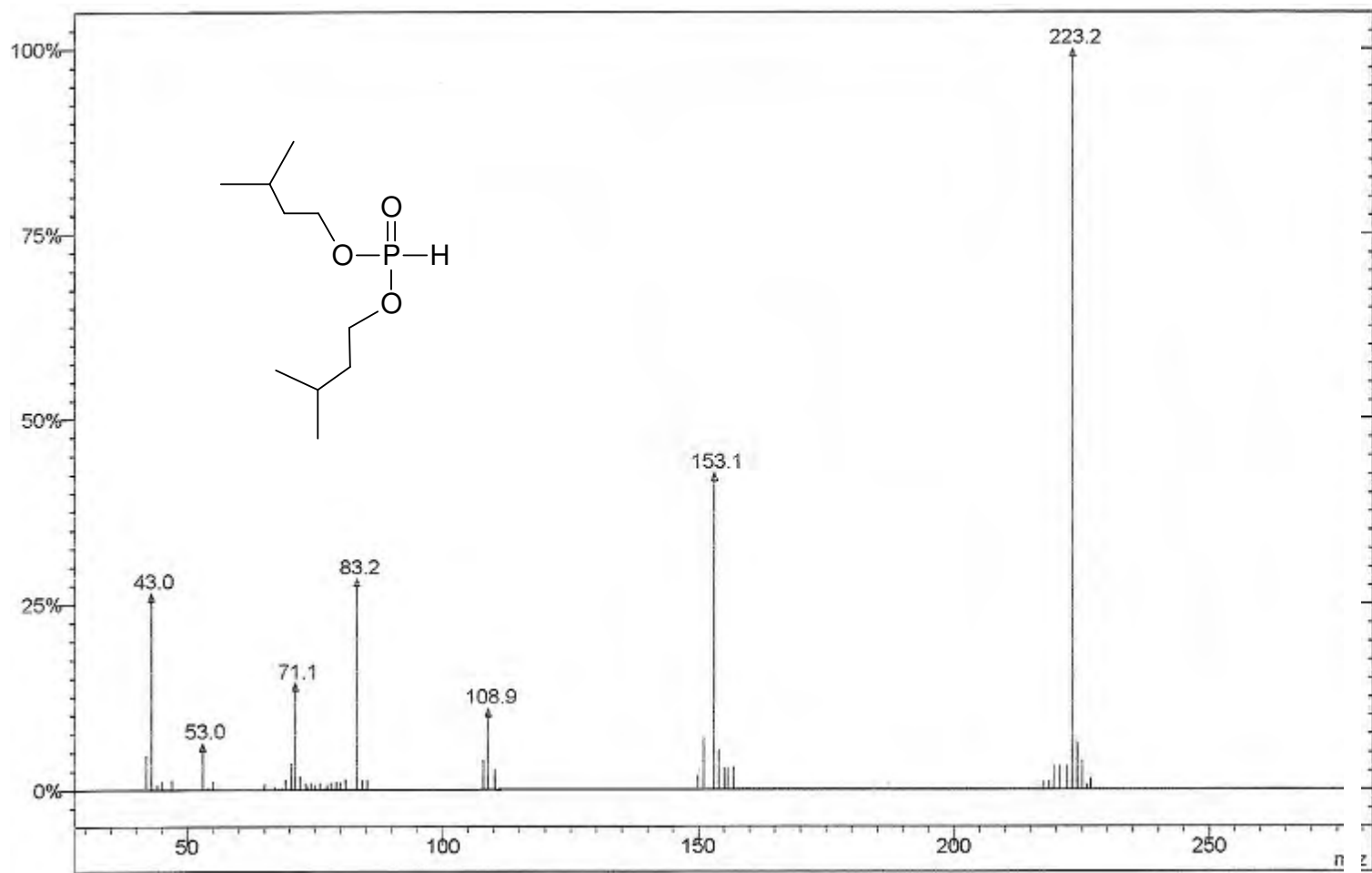


Figura 74: Espectro de massas do fosfonato de di-isopentila.

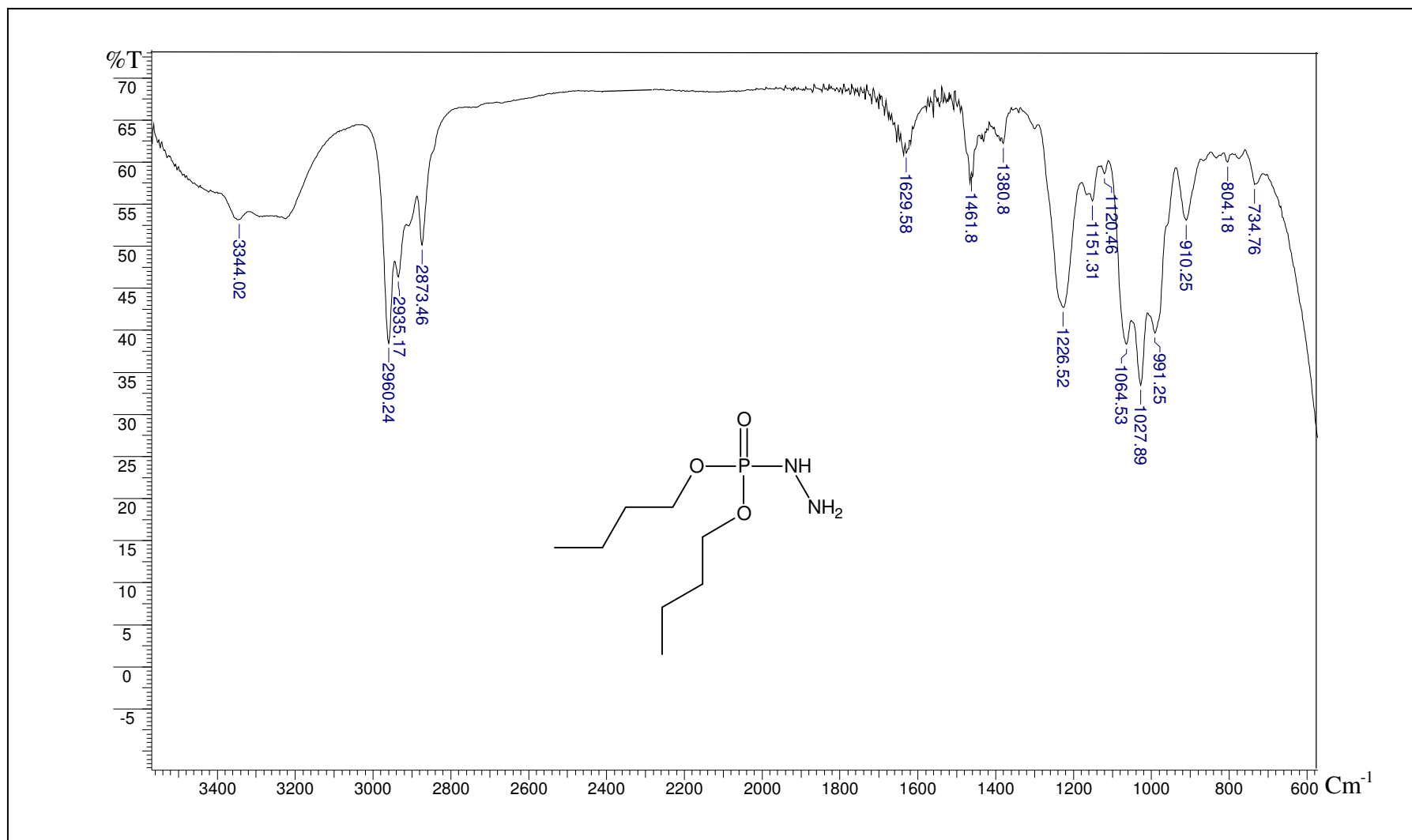


Figura 75: Espectro de IV da dibutilfosforilidrazina.

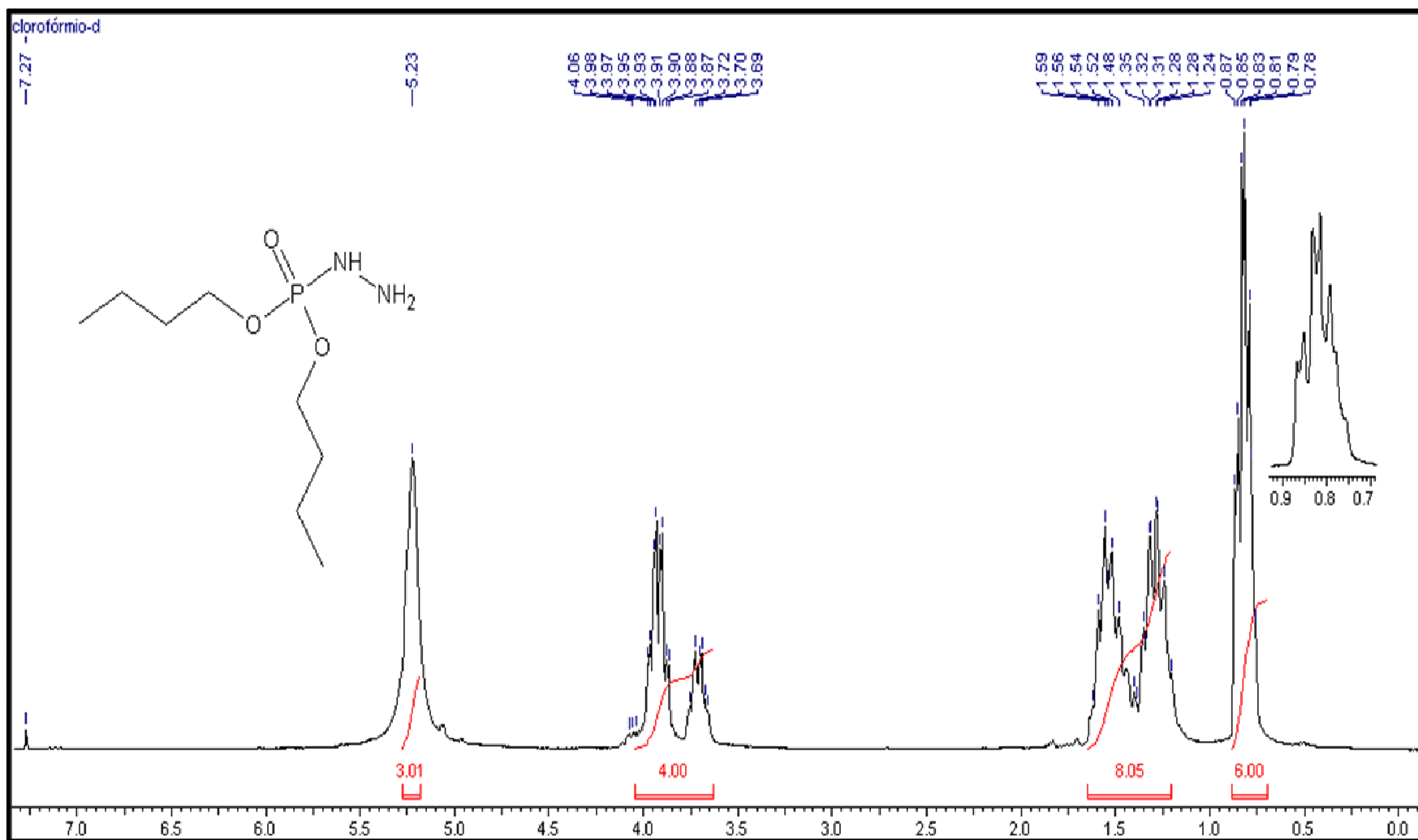


Figura 76: Espectro de RMN de ^1H da dibutilfosforilidrazina.

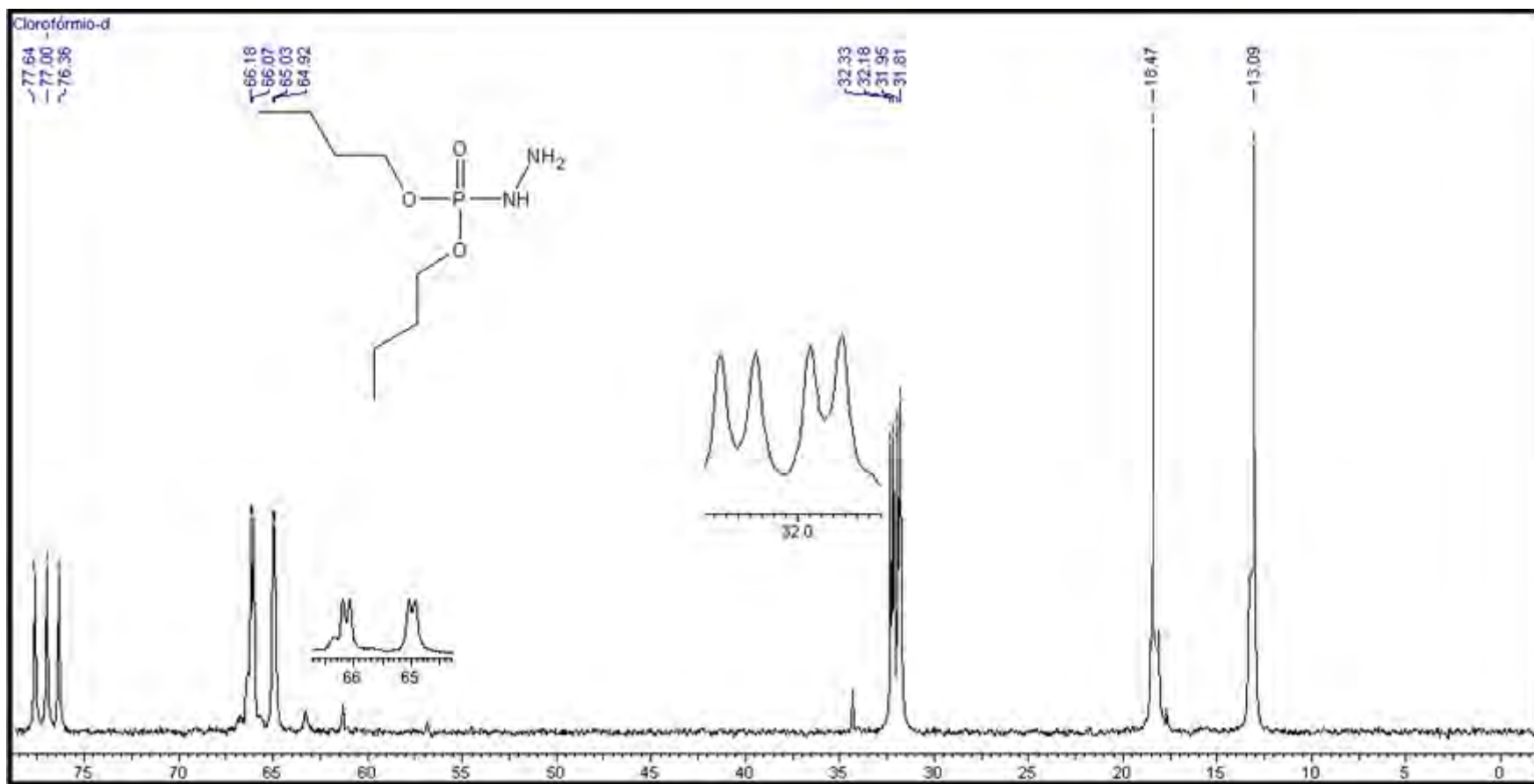


Figura 77: Espectro de RMN de ^{13}C da dibutilfosforilidrazina.

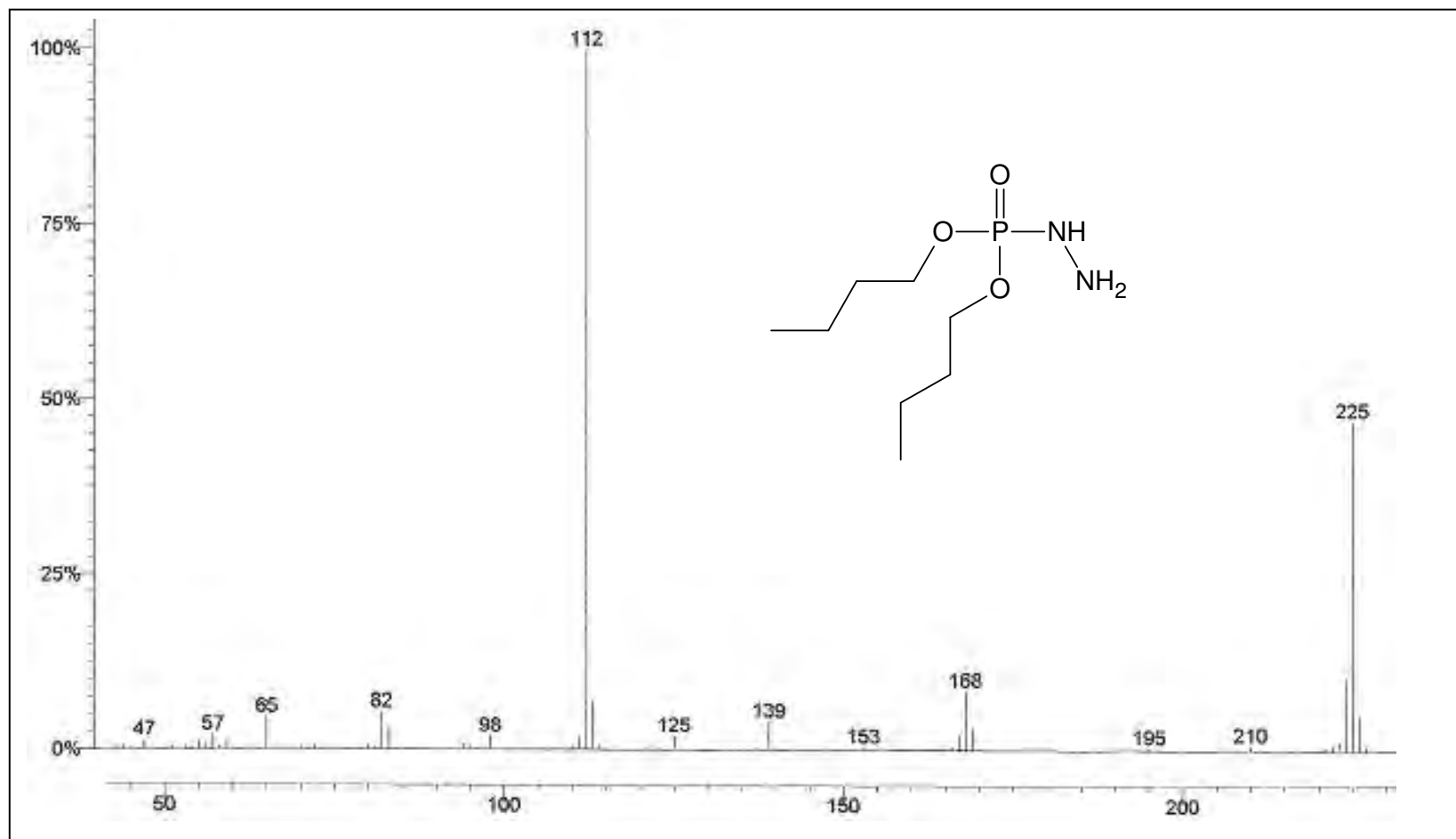


Figura 78: Espectro de massas da dibutilfosforilidrazina.

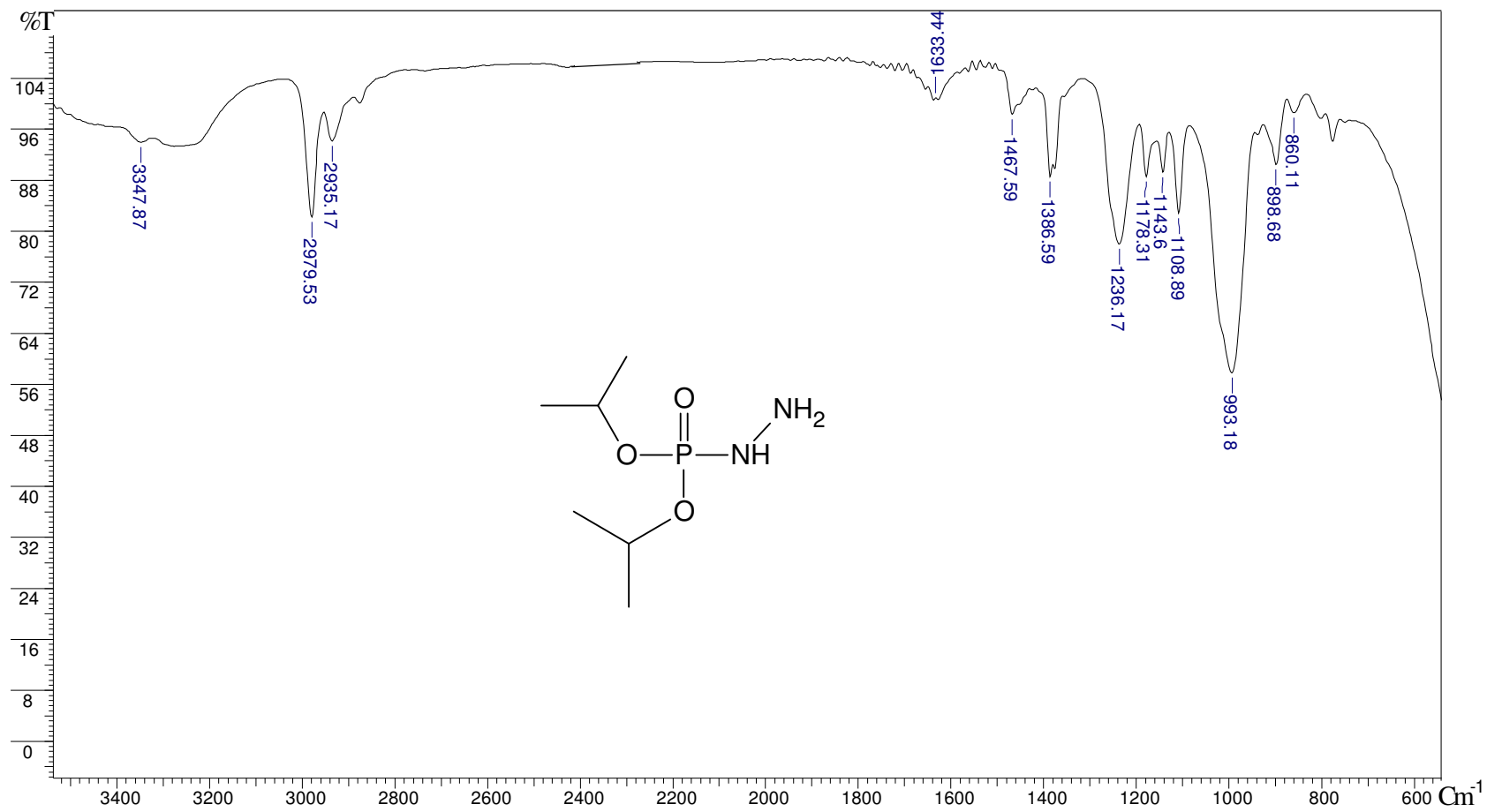


Figura 79: Espectro de IV da di-isopropilfosforilidrazina.

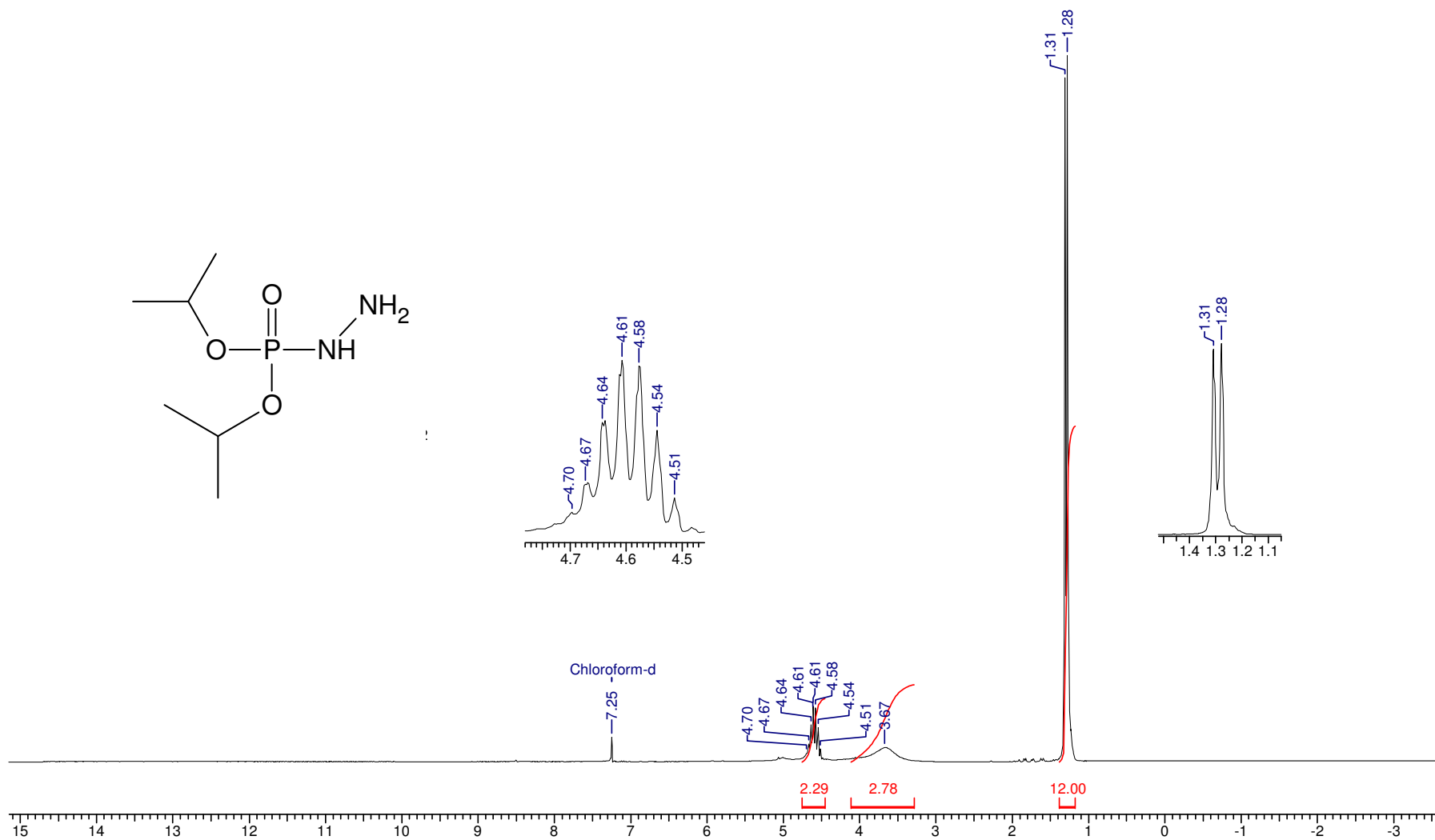


Figura 80: Espectro de RMN de ^1H da di-isopropilfosforilidrazina

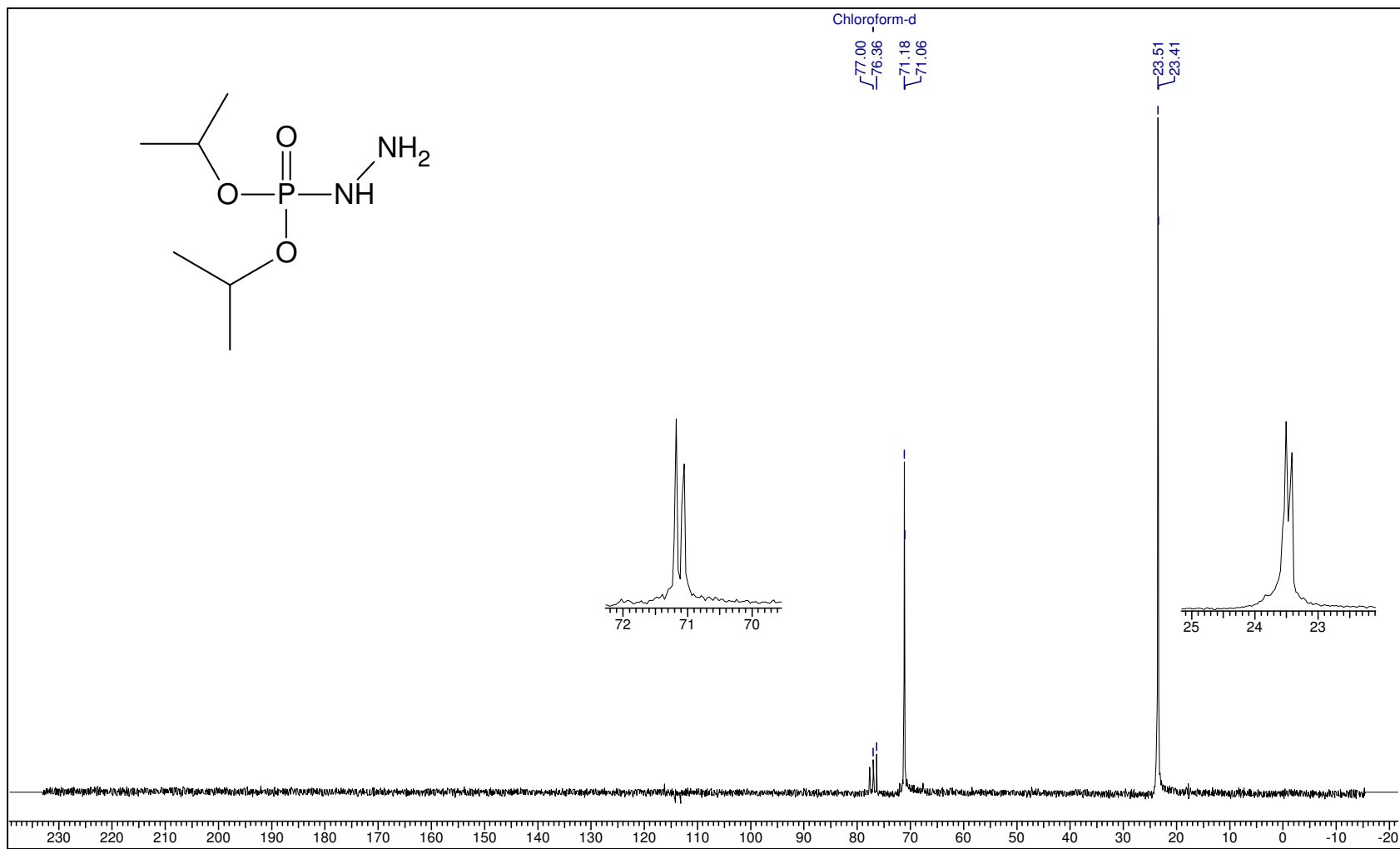


Figura 81: Espectro de RMN de ^{13}C da di-isopropilfosforilidrazina.

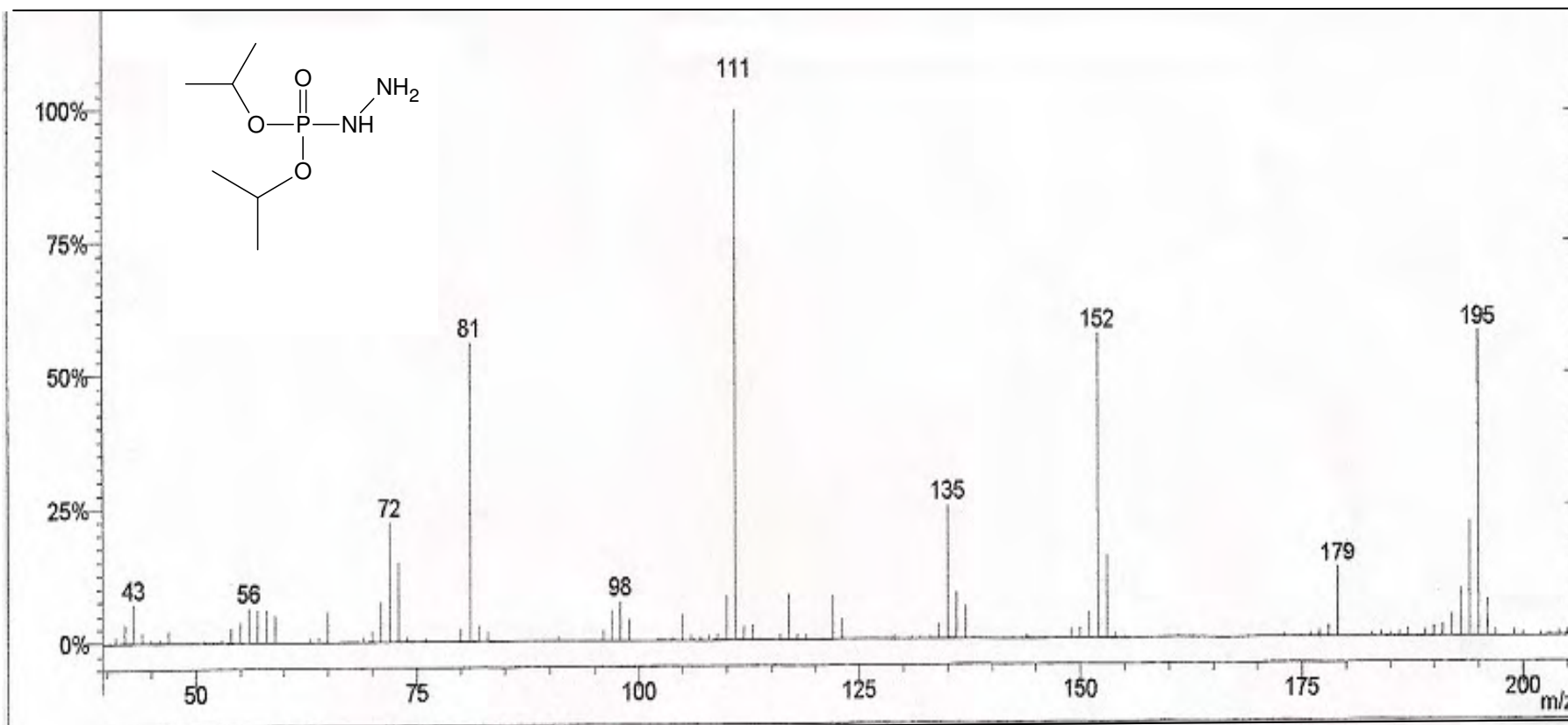


Figura 82: Espectro de massas da di-isopropilfosforilidrazina.

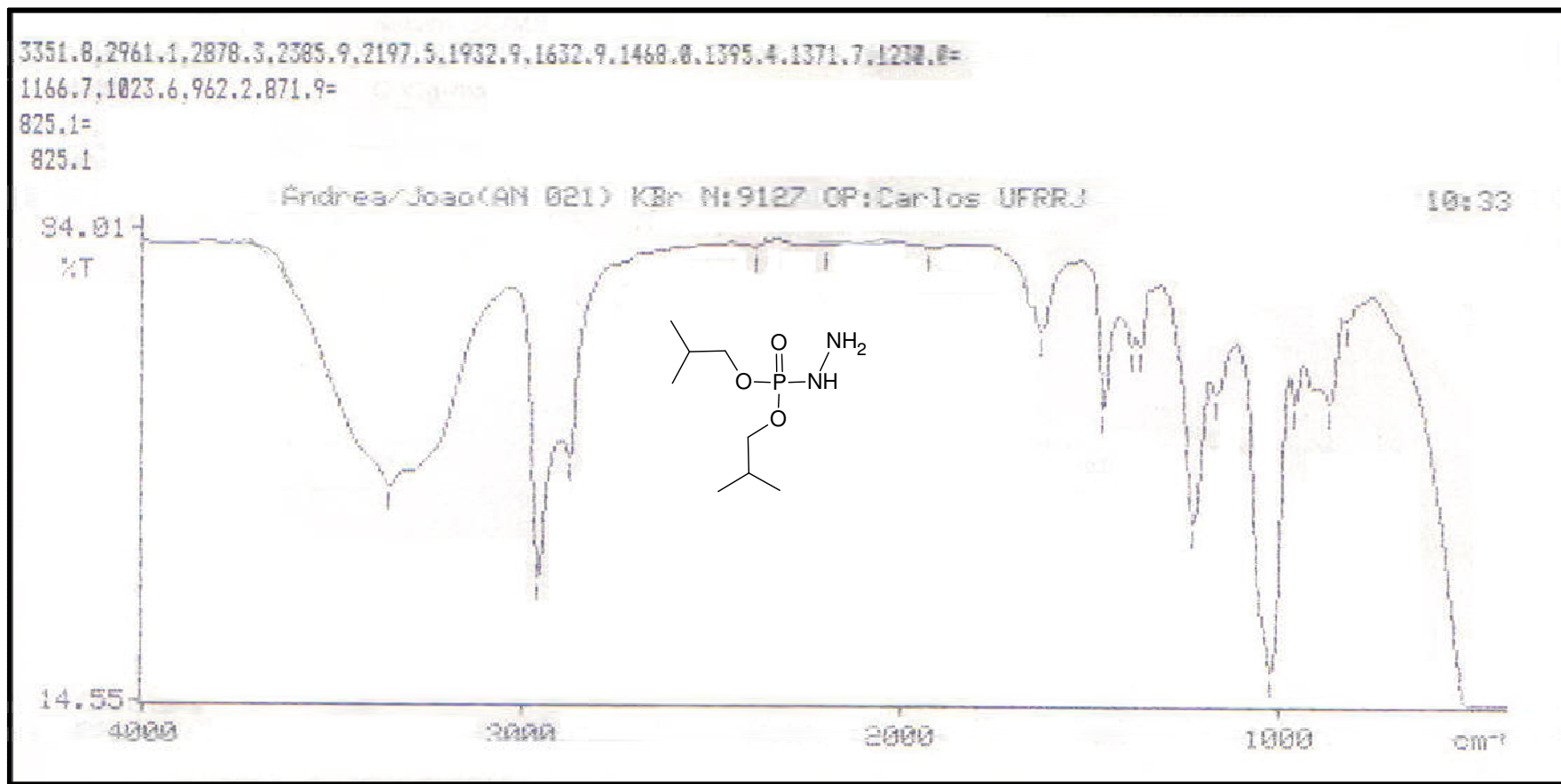


Figura 83: Espectro de IV da di-isobutilfosforilidrazina.

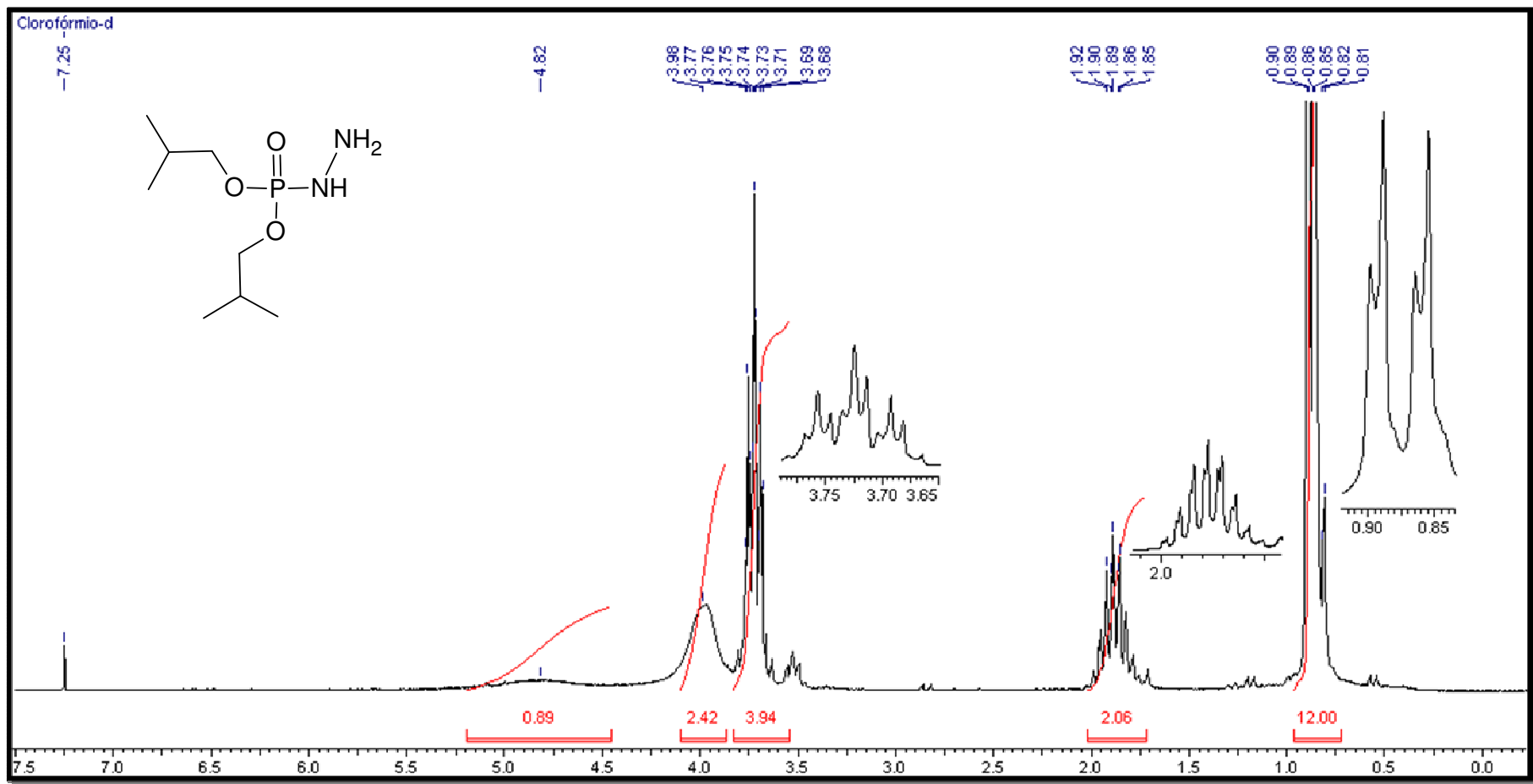


Figura 84: Espectro de RMN de ^1H da di-isobutilfosforilidrazina.

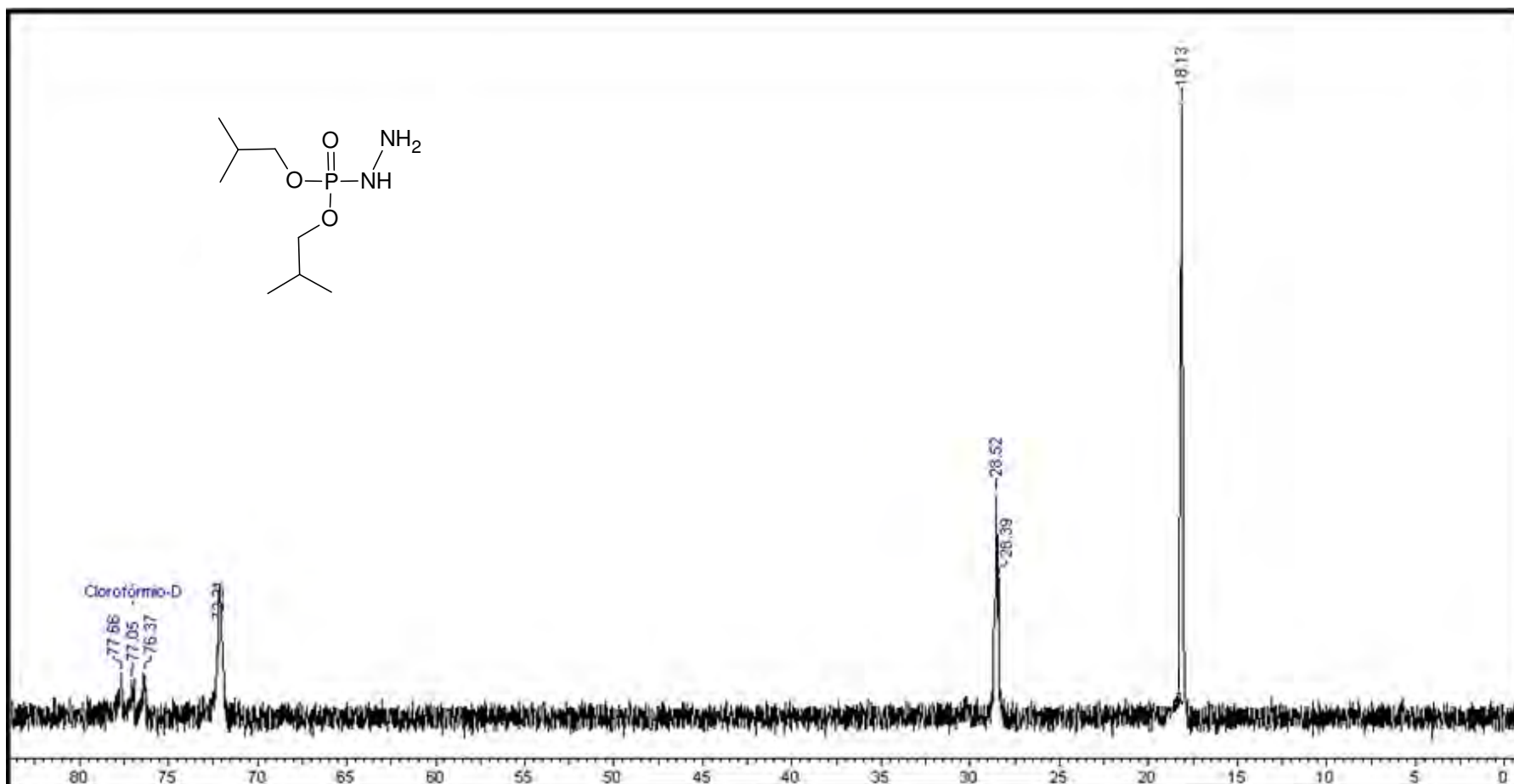


Figura 85: Espectro de RMN de ^{13}C da di-isobutilfosforilidrazina.

Spect 1
BP 112 (407299=100%) an024.sms

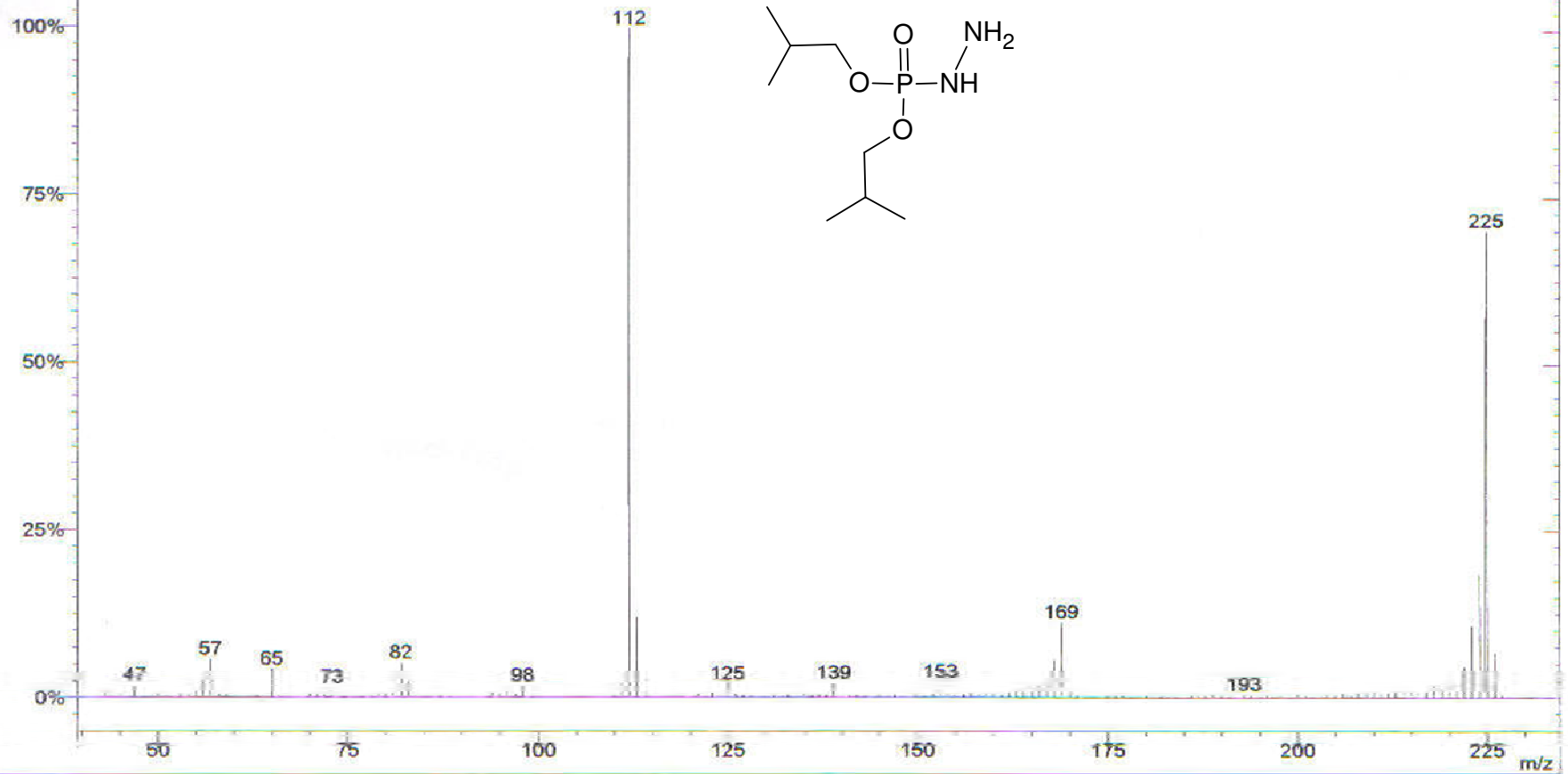


Figura 86: Espectro de massas da di-isobutilfosforilidrazina.

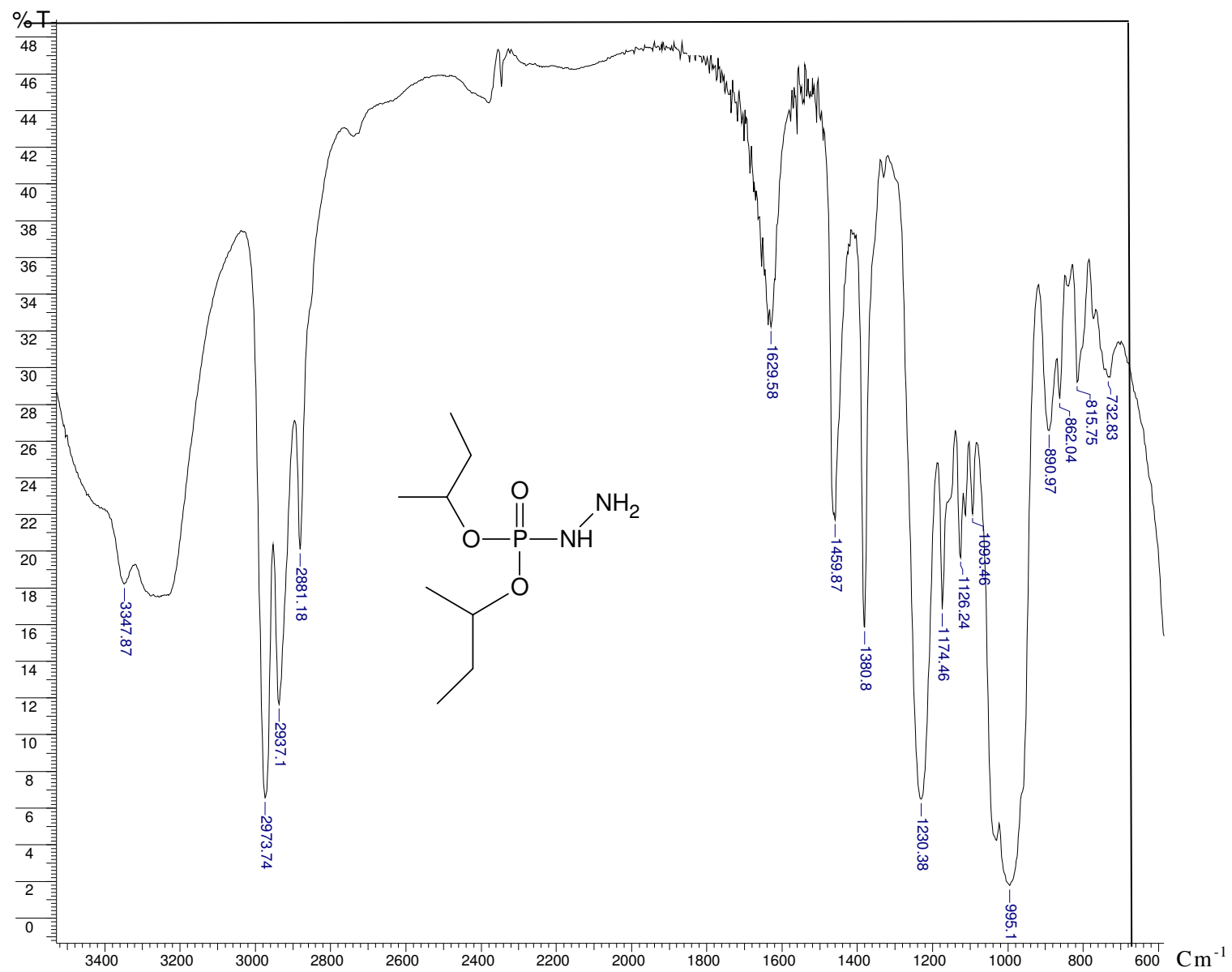


Figura 87: Espectro de IV da dissecbutilfosforilidrazina.

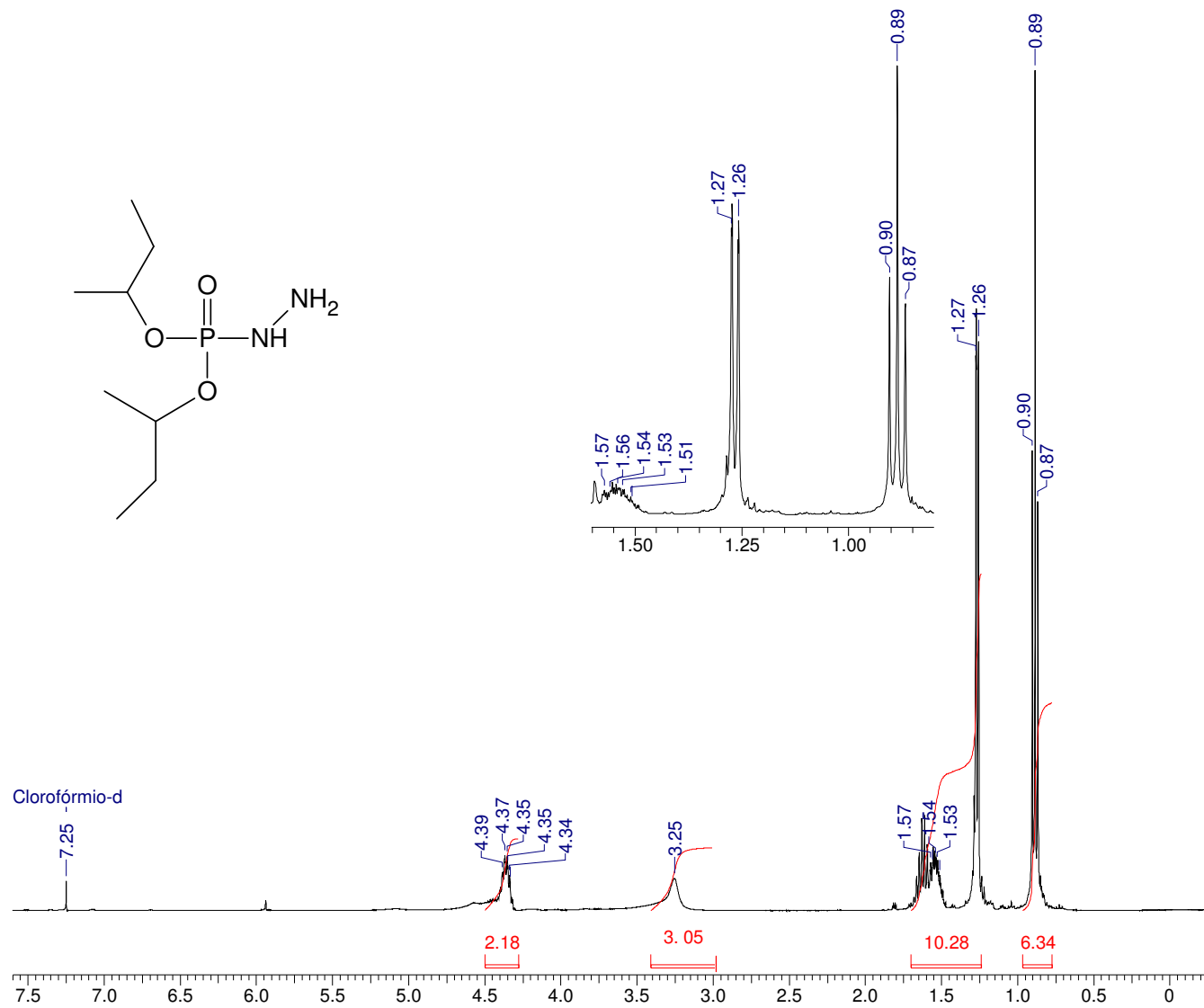


Figura 88: Espectro de RMN de ^1H da dissebutilfosforilidrazina.

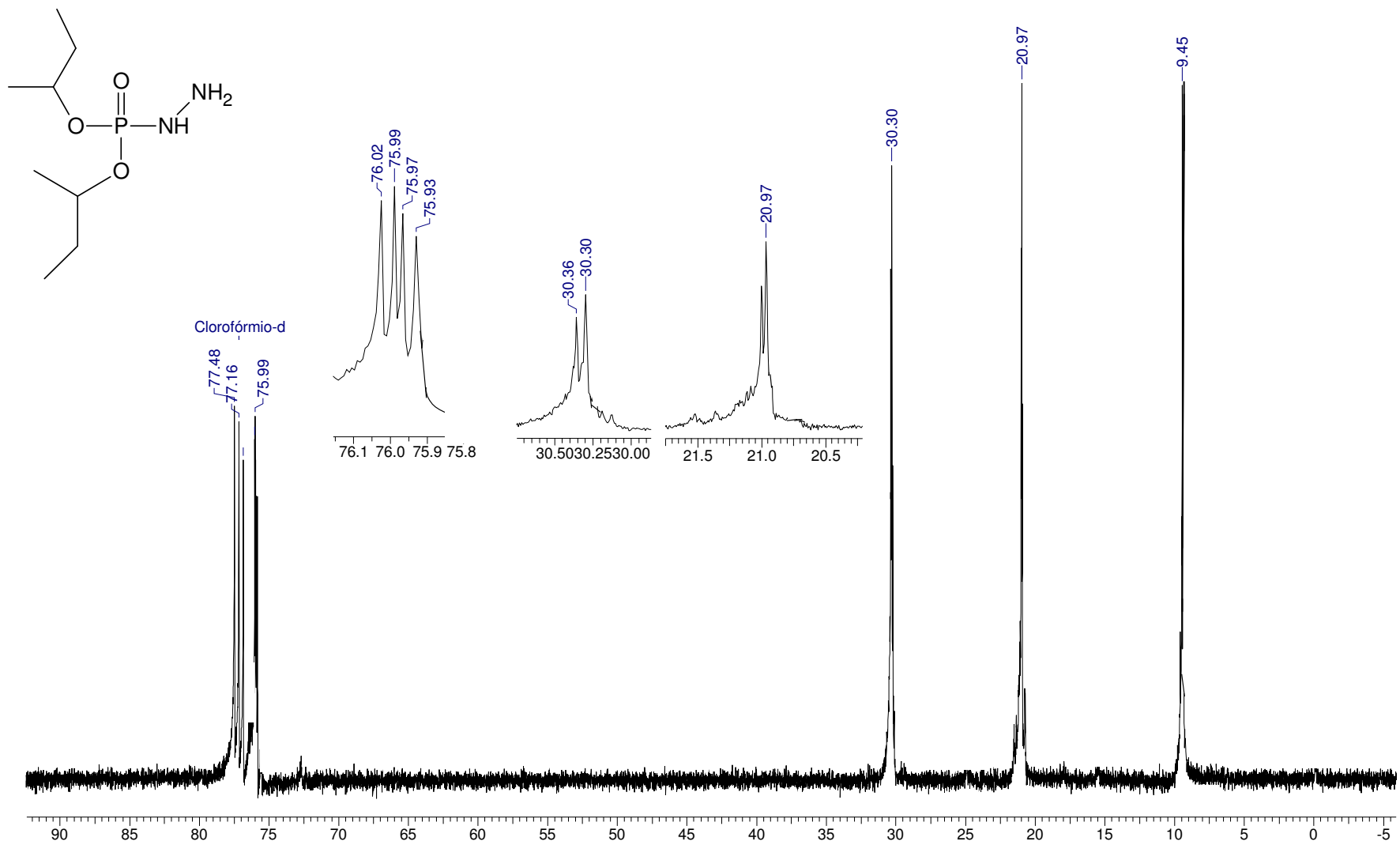


Figura 89: Espectro de RMN de ¹³C da dissebutilfosforilidrazina.

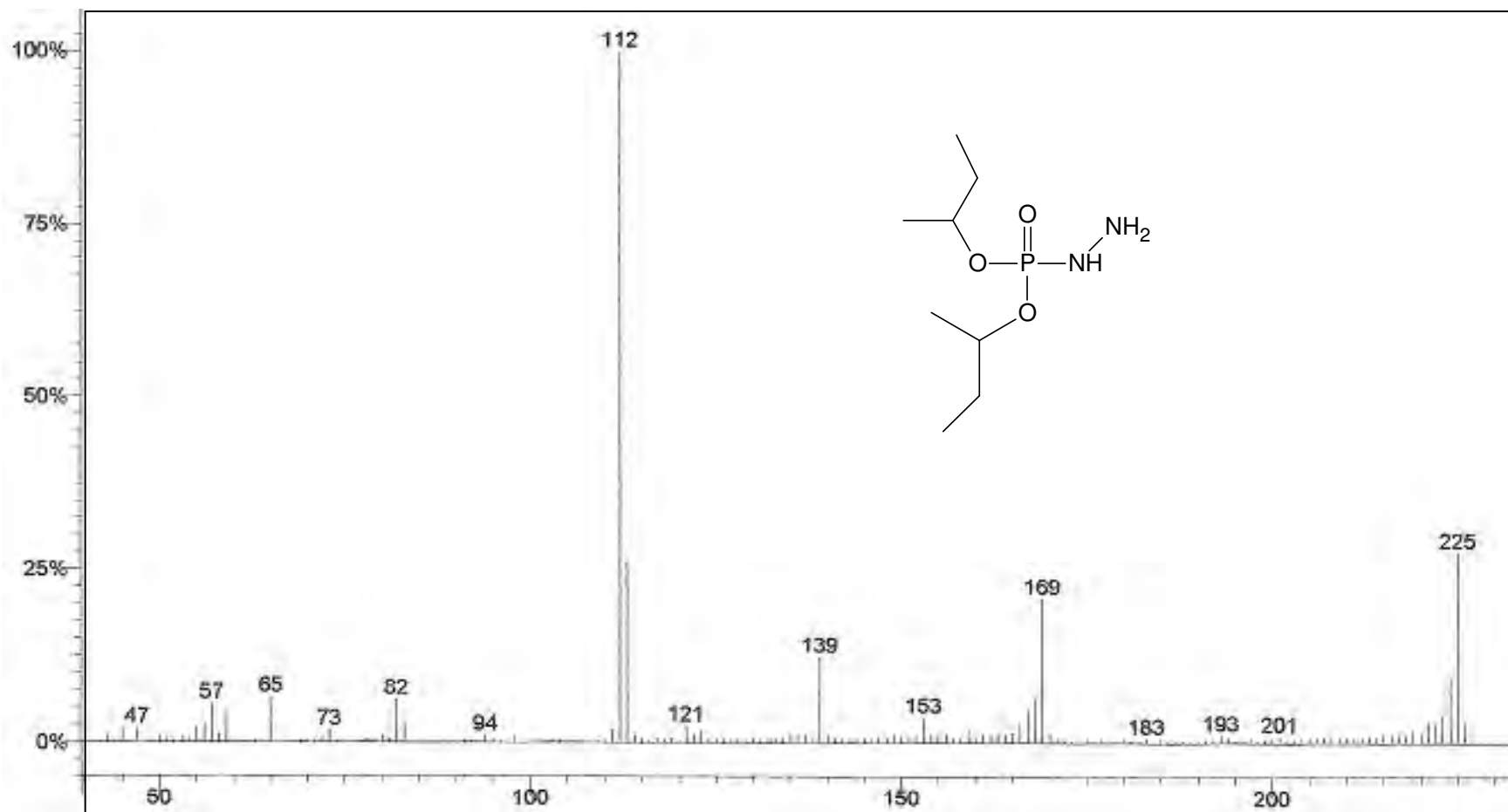


Figura 90: Espectro de massas da dissecbutilfosforilidrazina.

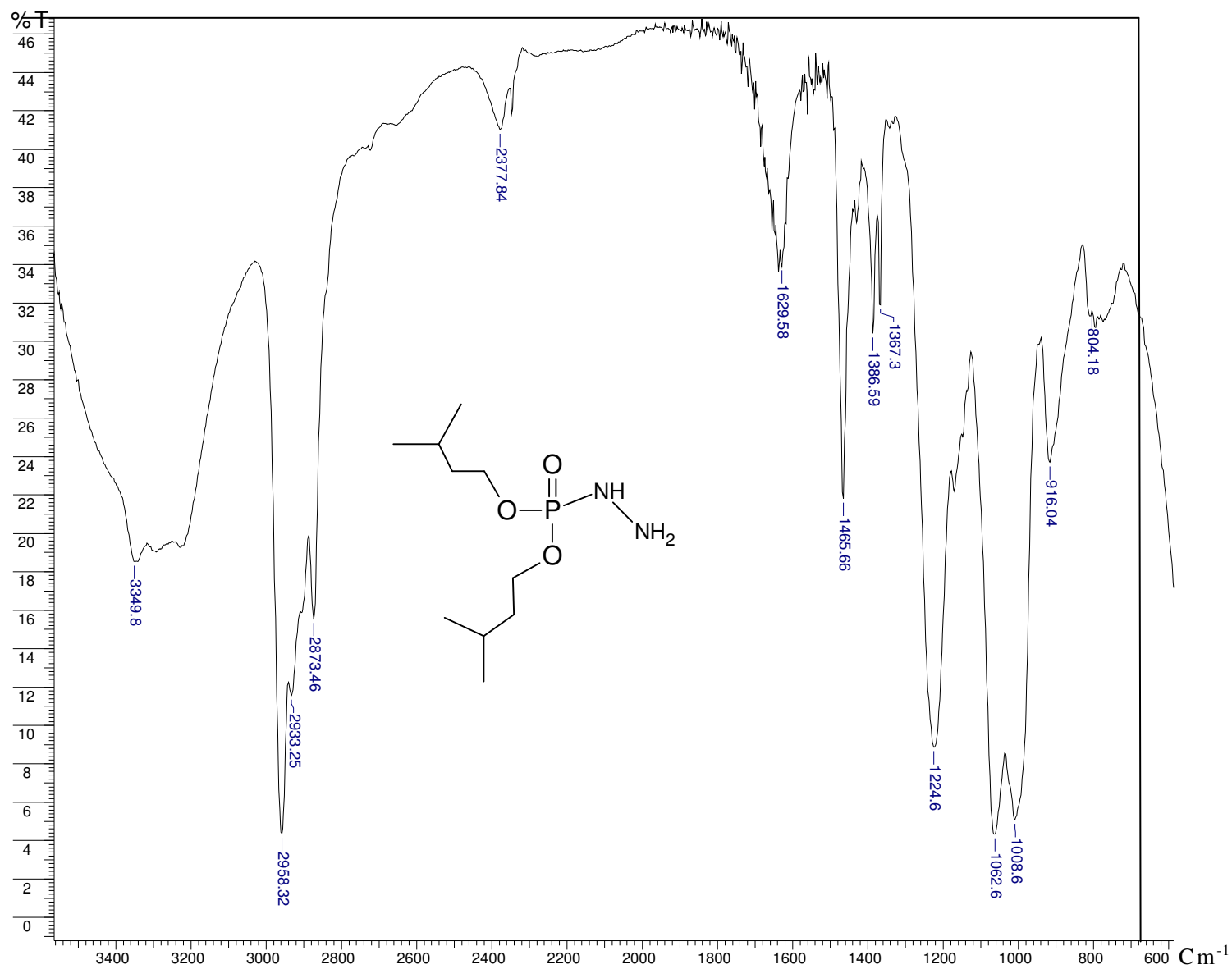


Figura 91: Espectro de IV da di-isopentilfosforilidrazina.

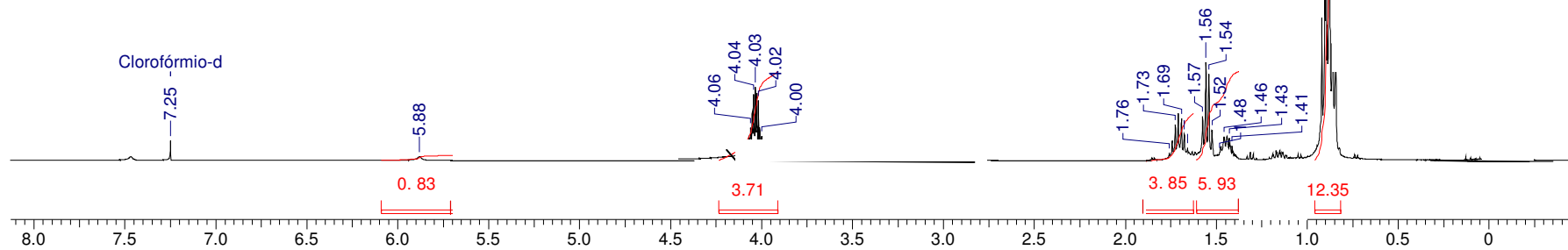
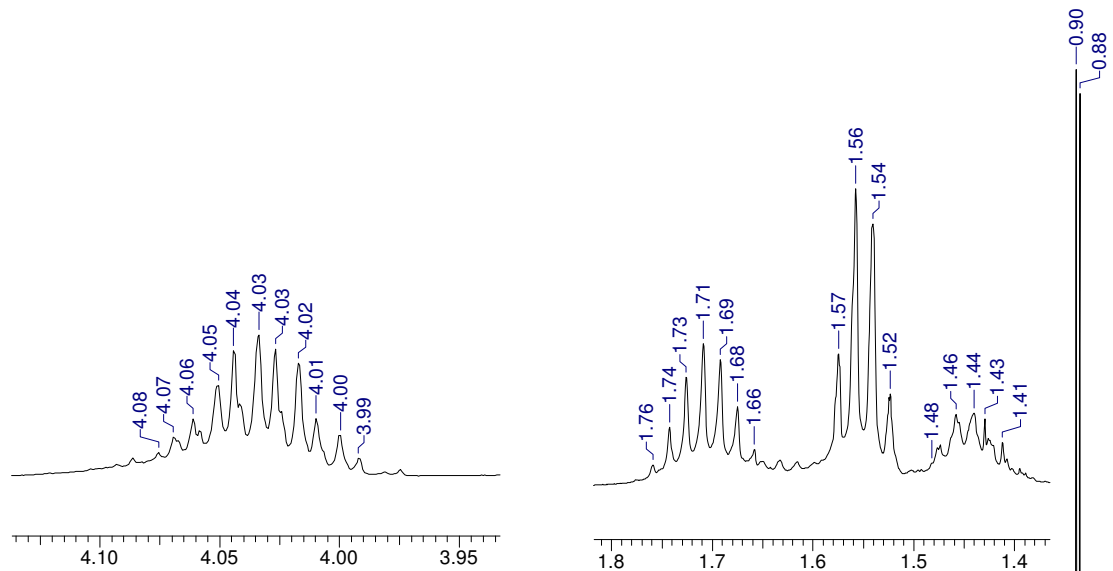
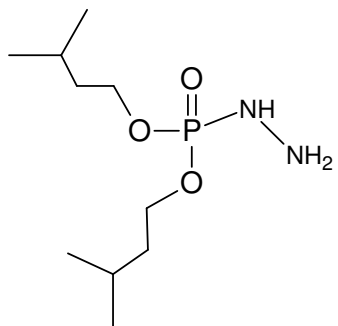


Figura 92: Espectro de RMN de ^1H da di-isopentilfosforilidrazina.

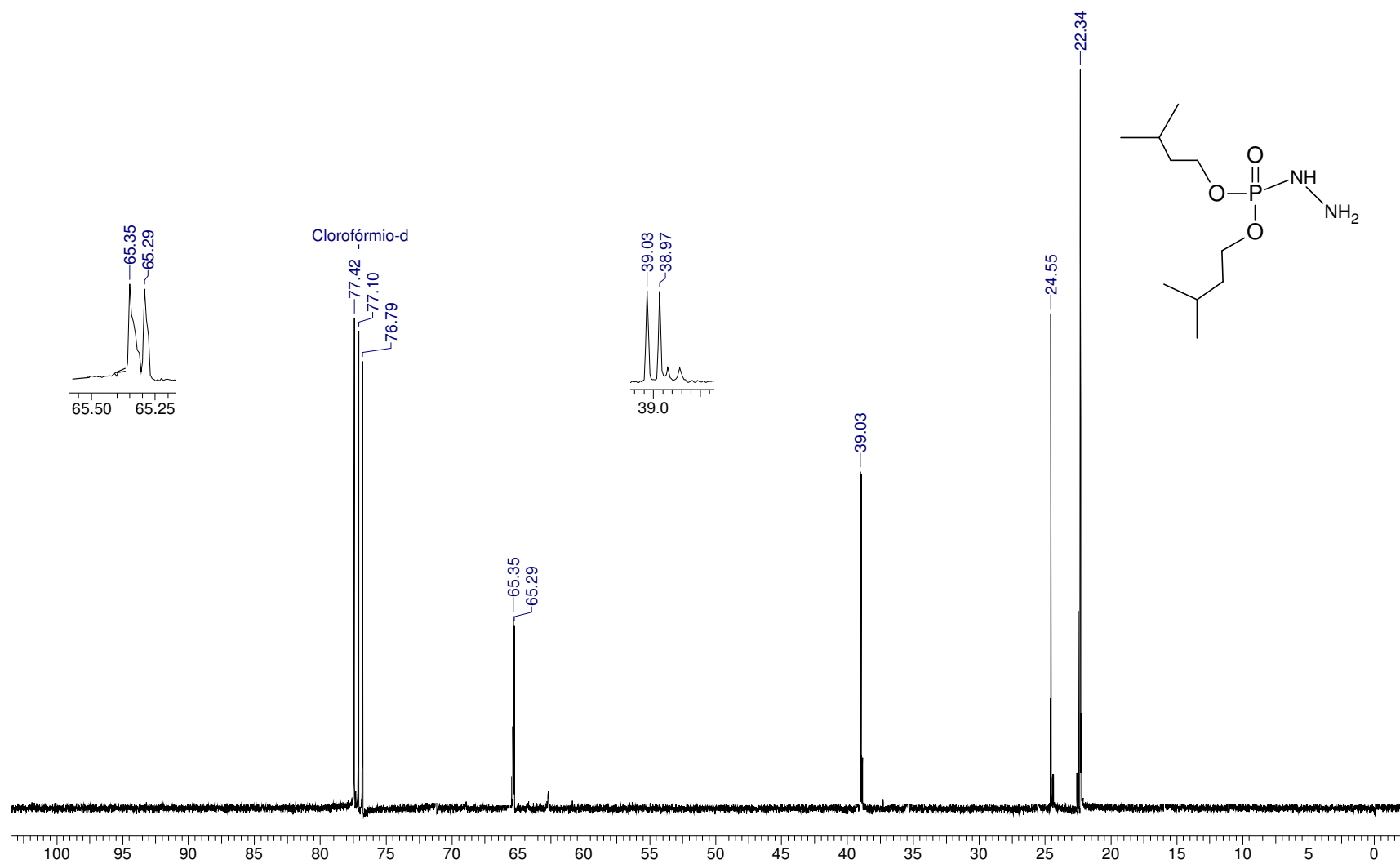


Figura 93: Espectro de RMN de ^{13}C da di-isopentilfosforilidrazina.

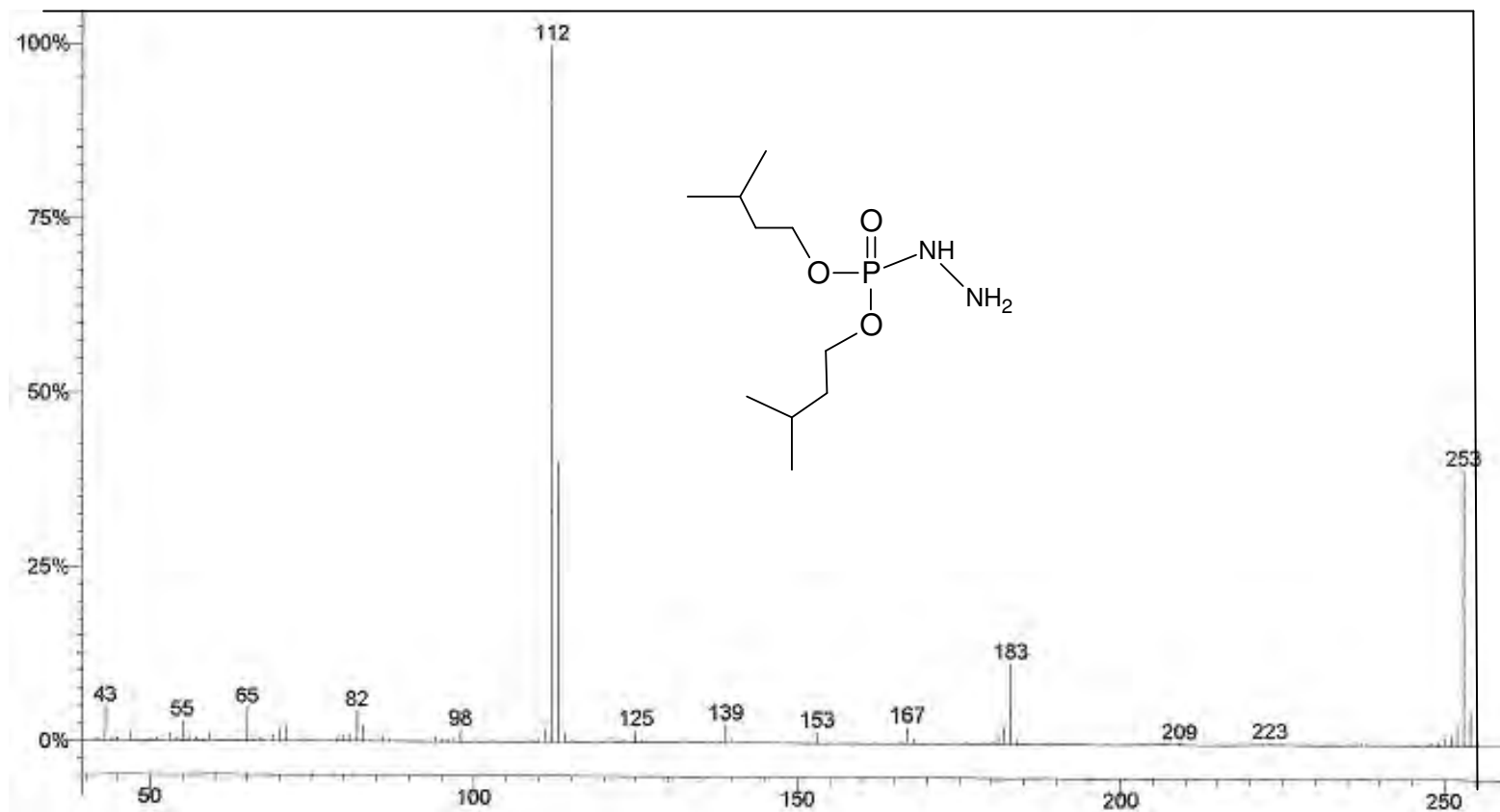


Figura 94: Espectro de massas da di-isopentilfosforilidrazina.

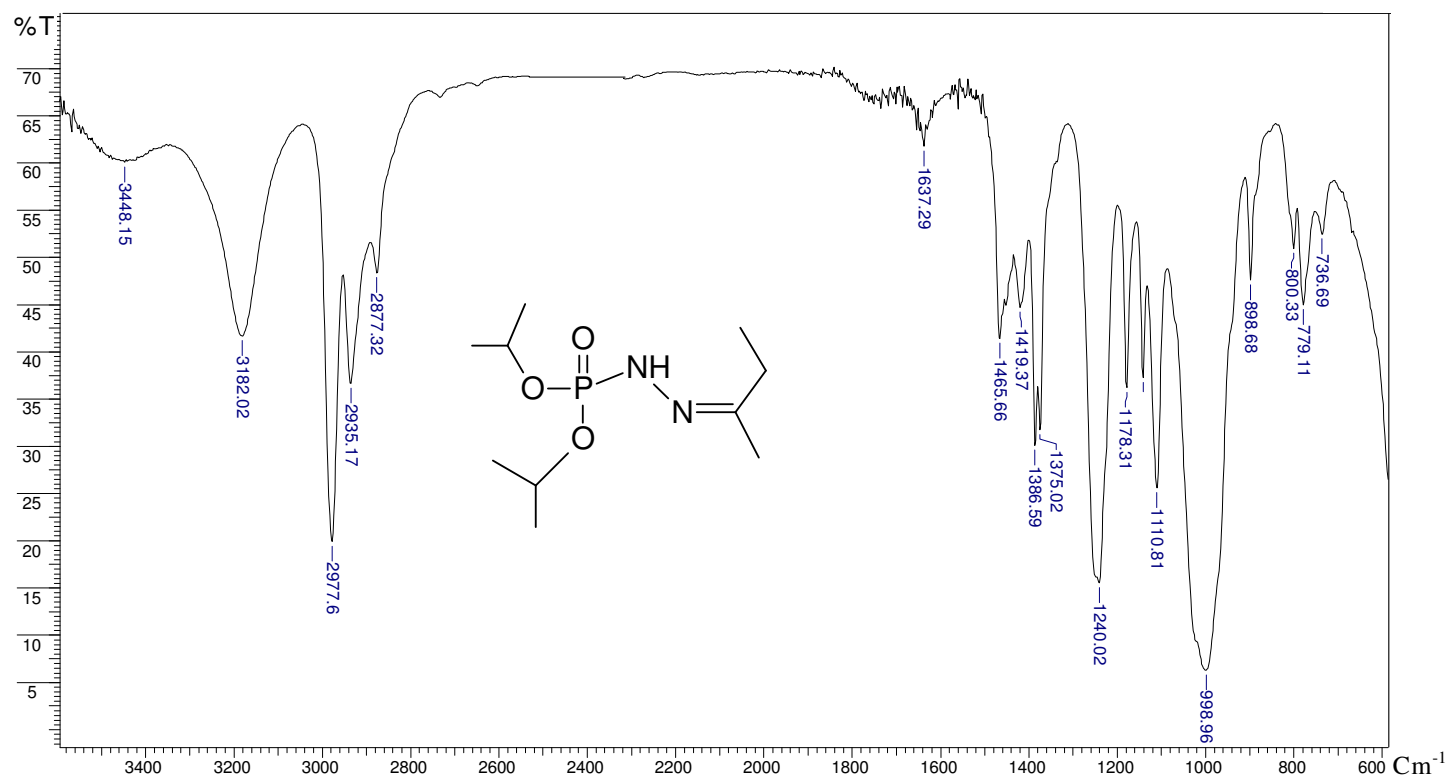


Figura 95: Espectro de IV da di-isopropilfosforilidrazona da etilmetilcetona.

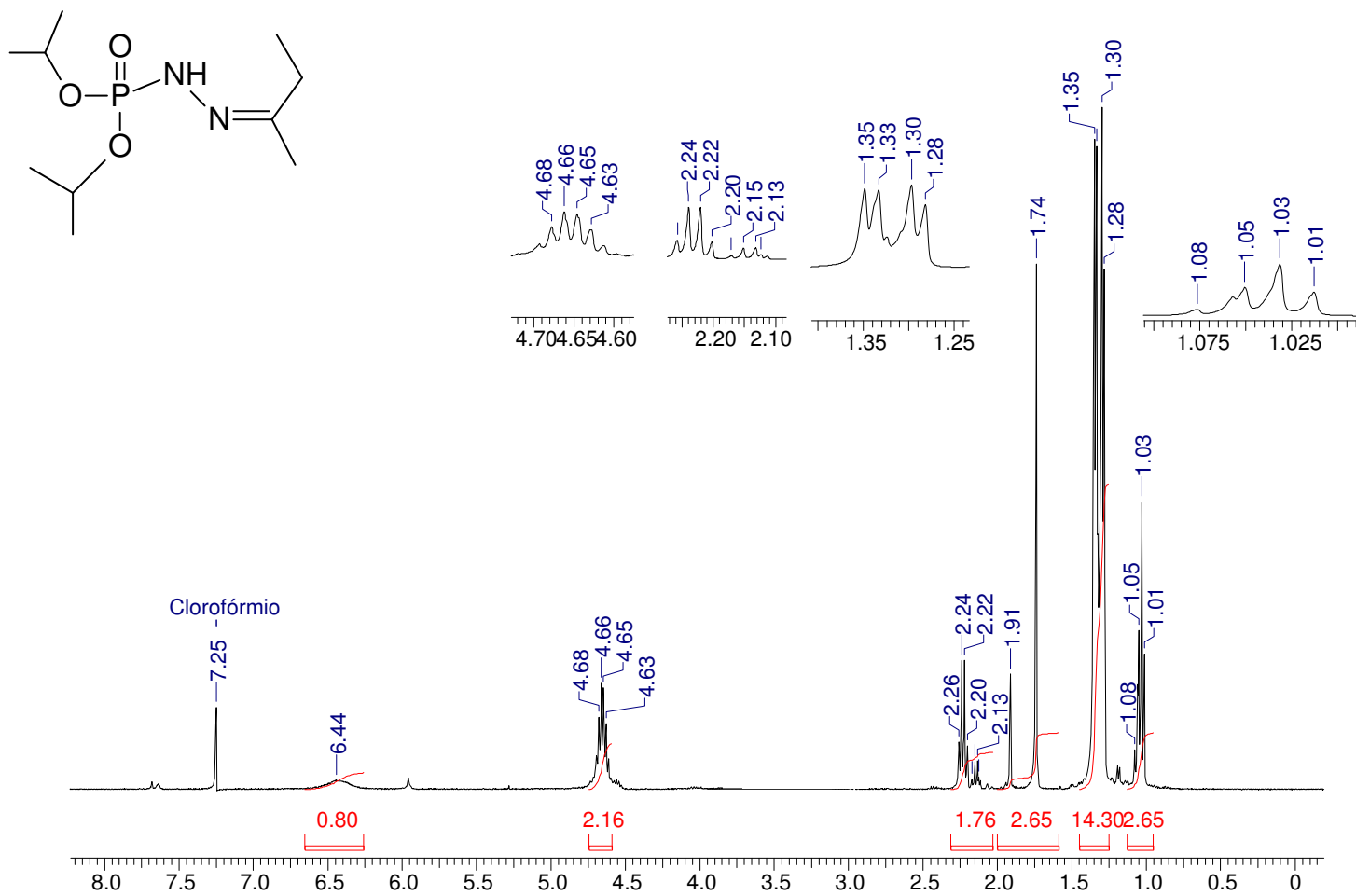


Figura 96: Espectro de RMN de ¹H da di-isopropilfosforilidrazona da etilmetilcetona.

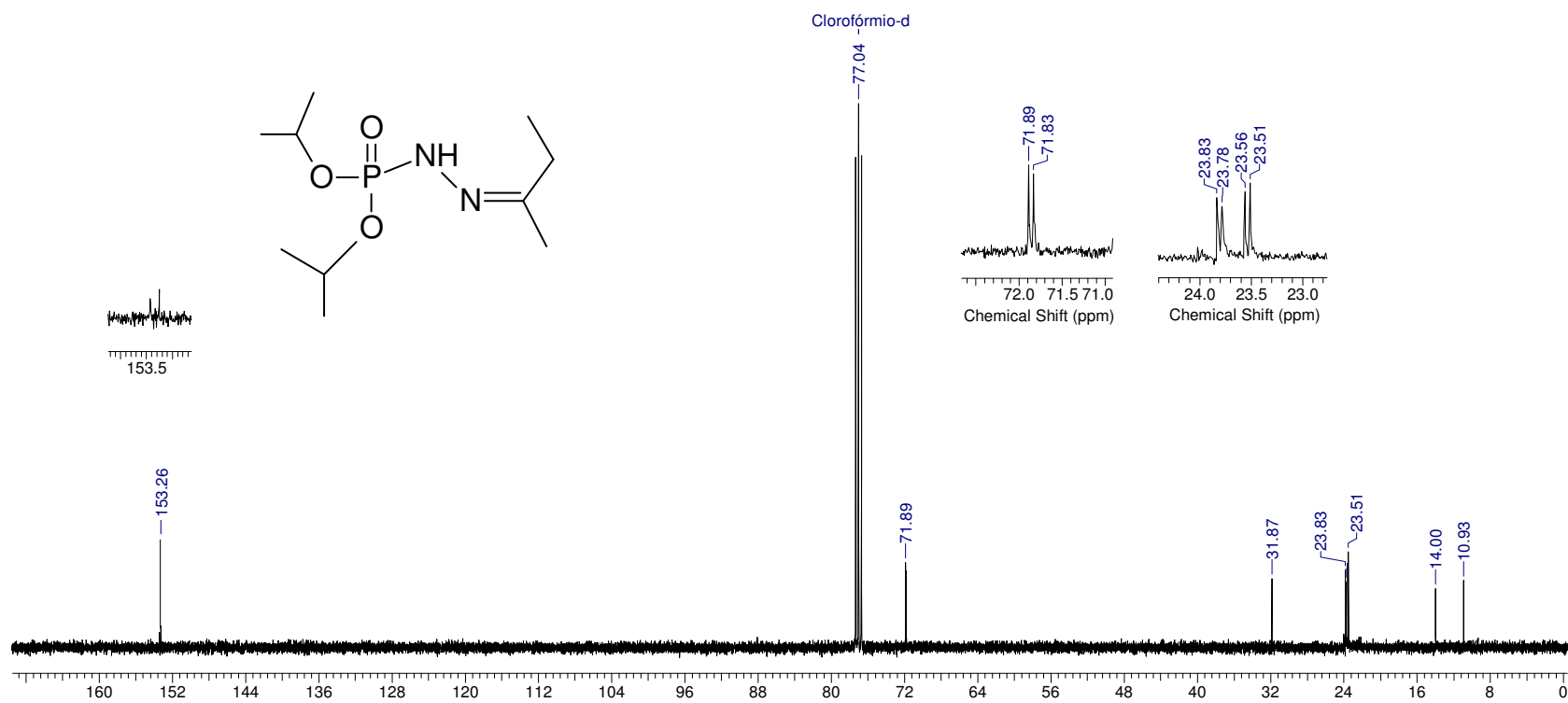


Figura 97: Espectro de RMN de ^{13}C da di-isopropilfosforilidrazona da etilmetilcetona.

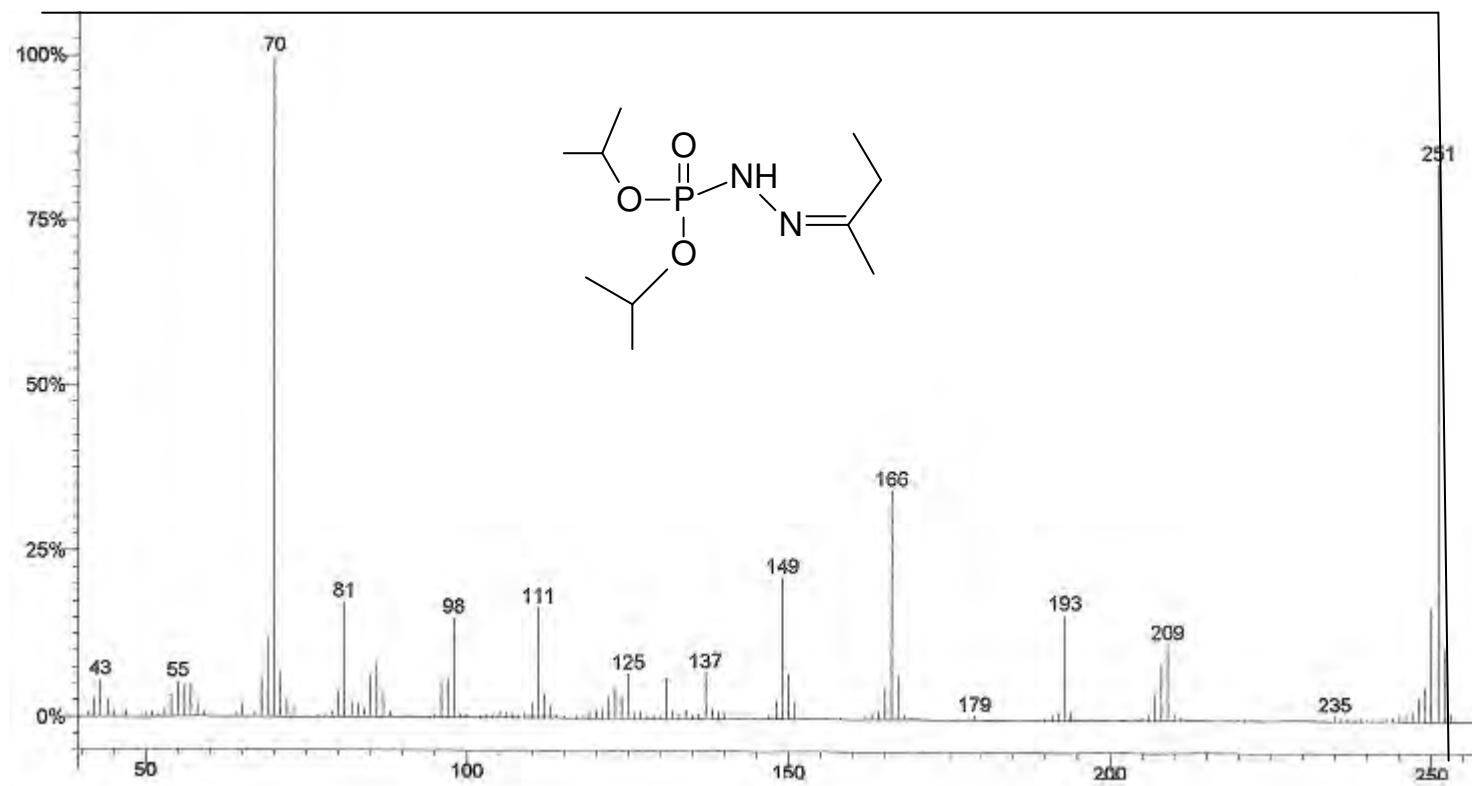


Figura 98: Espectro de massas da di-isopropilfosforilidrazona da etilmetilcetona.

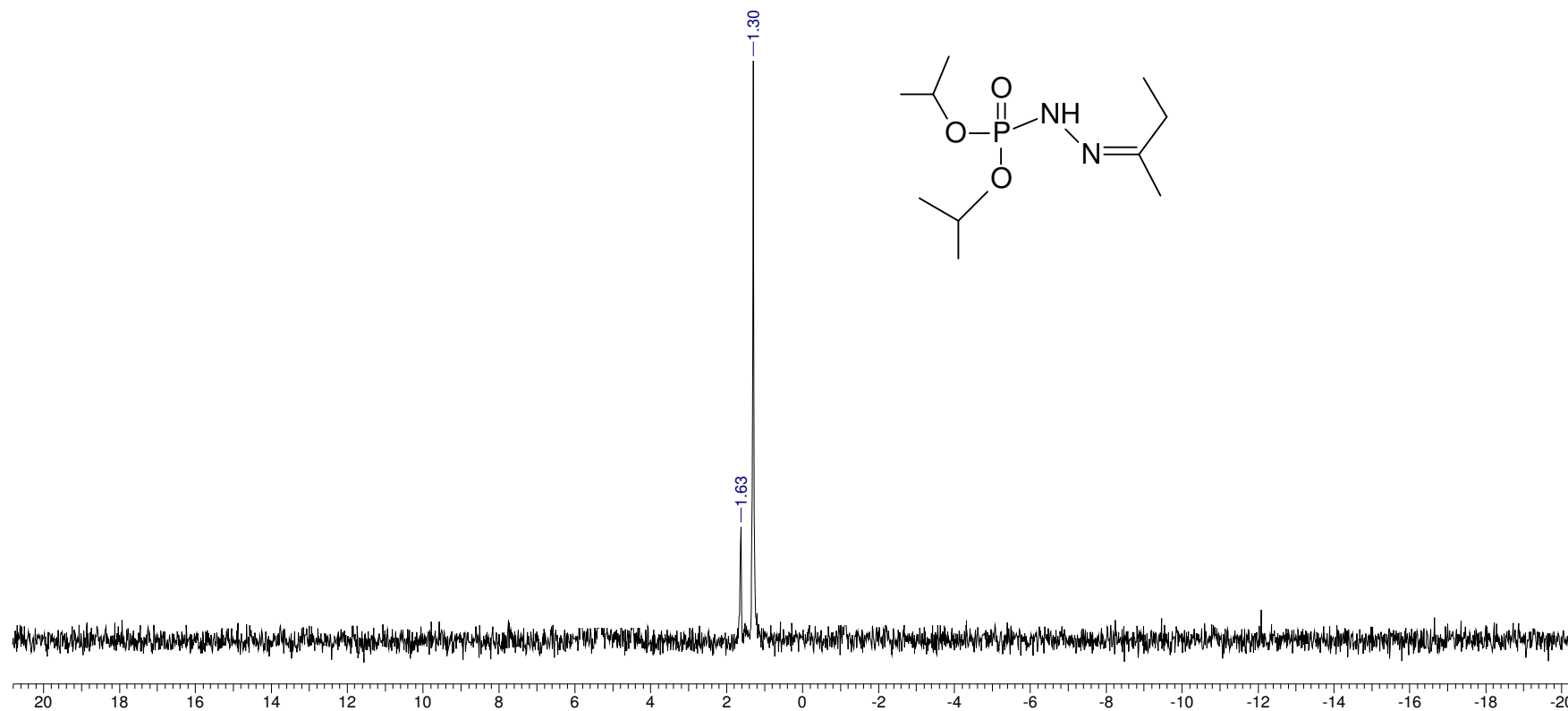


Figura 99: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado da di-isopropilfosforilidrazona da etilmetilcetona.

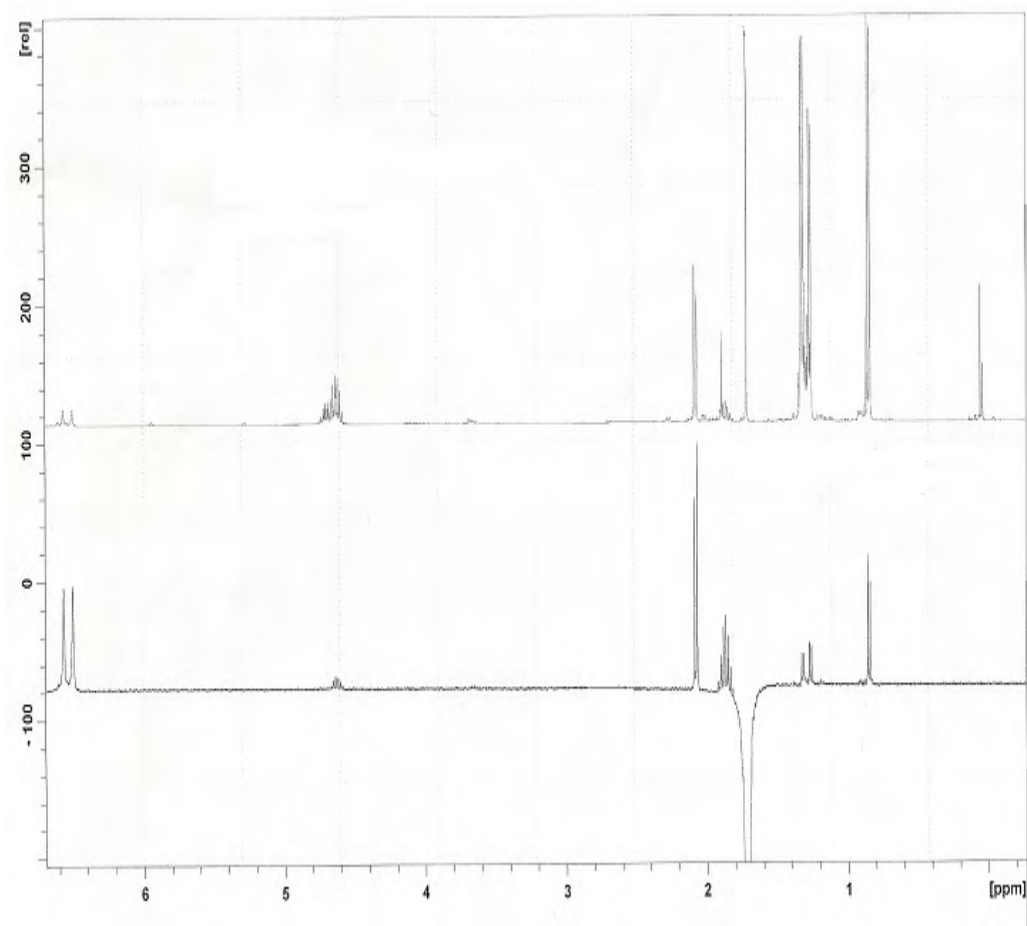


Figura 100: Espectro do NOE da di-isopropilfosforilidrazona da etilmetilcetona.

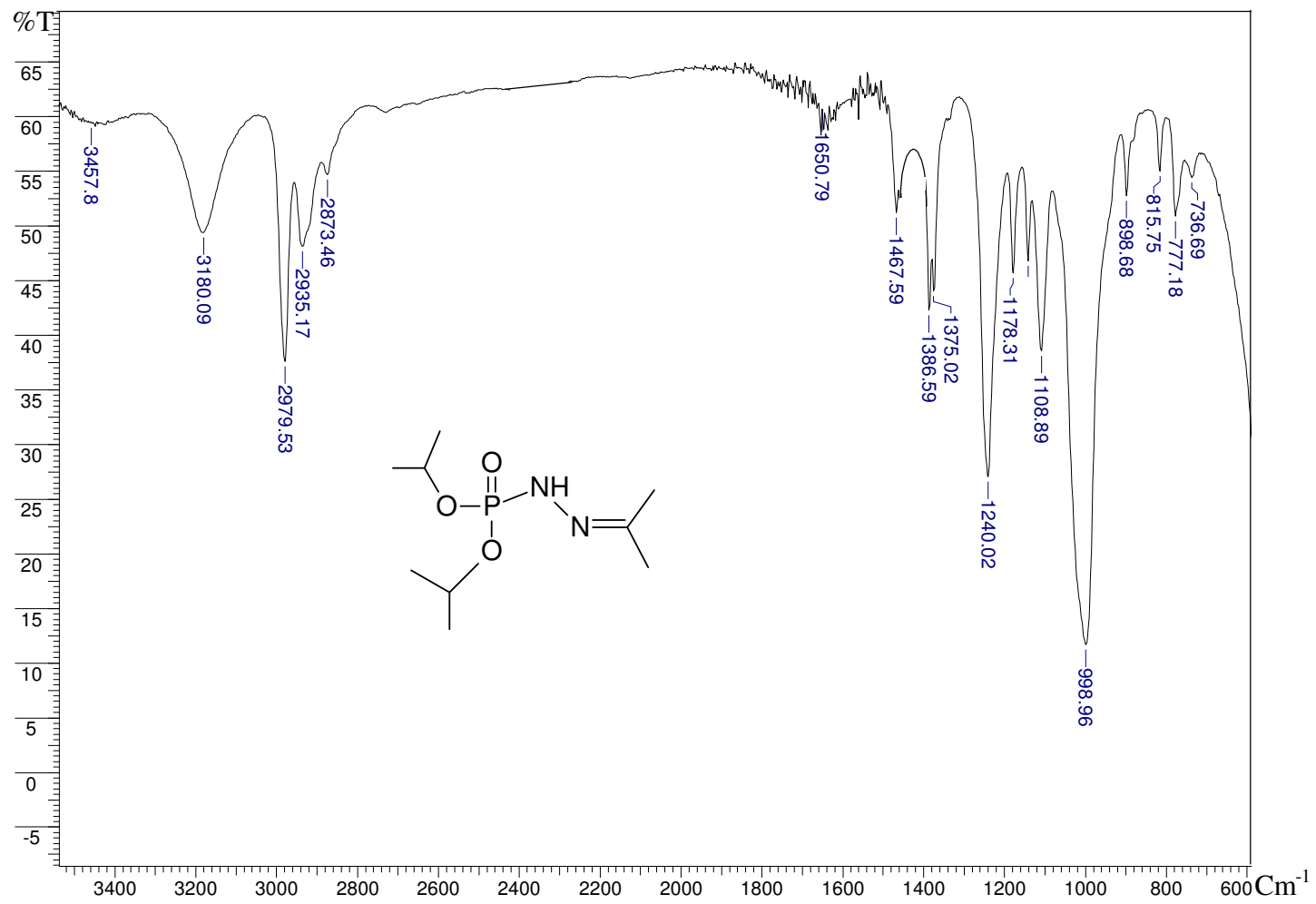


Figura 101: Espectro de IV da di-isopropilfosforilidrazona da acetona.

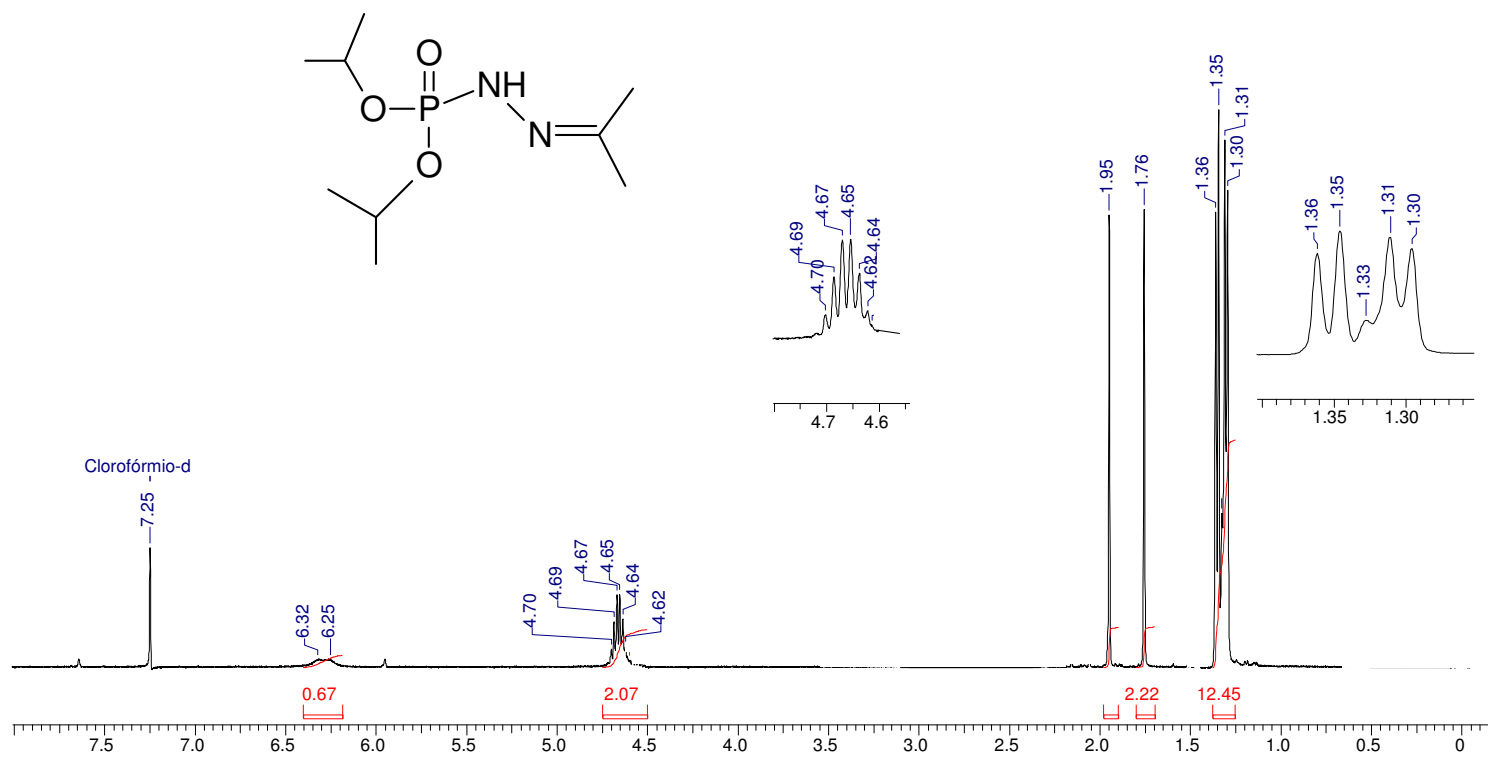
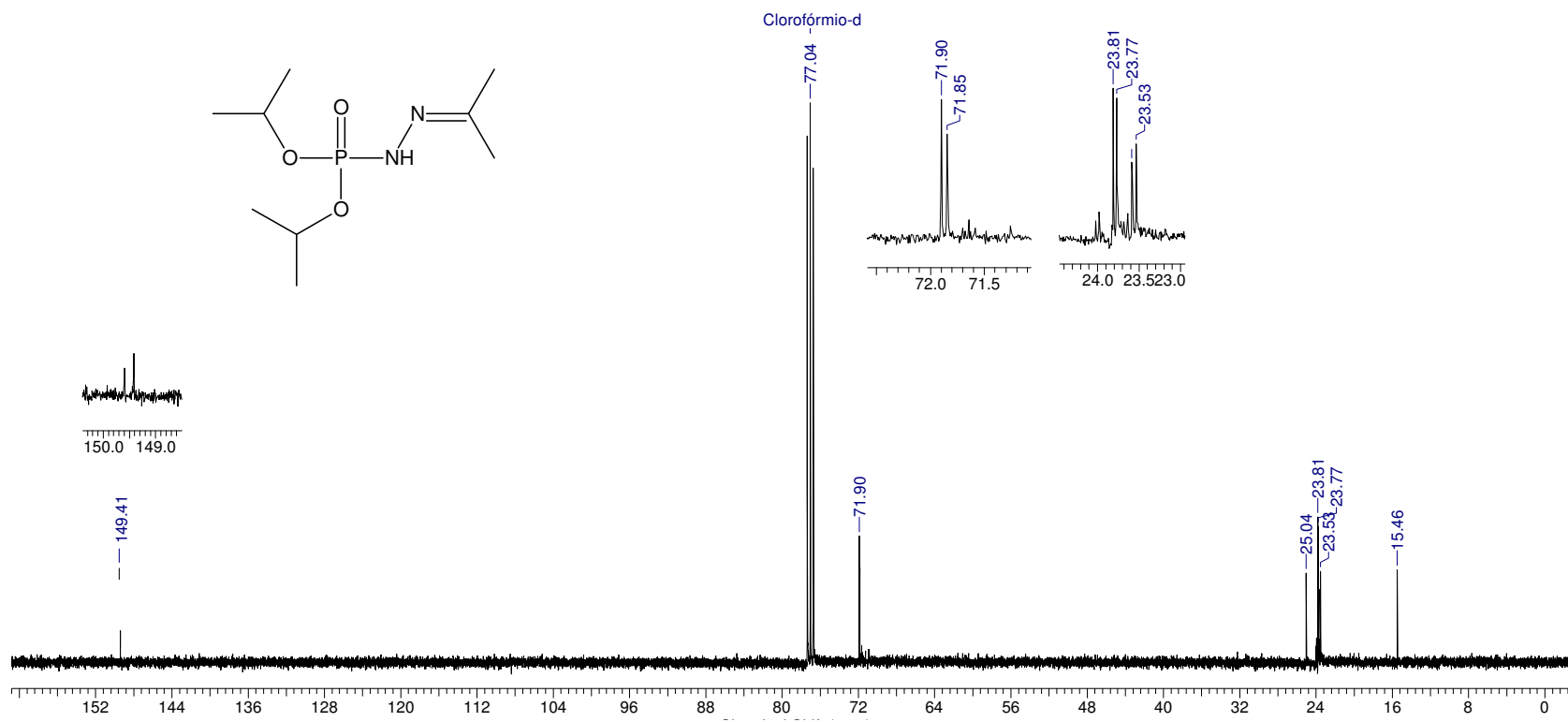


Figura 102: Espectro de RMN de ^1H da di-isopropilfosforilidrazona da acetona.



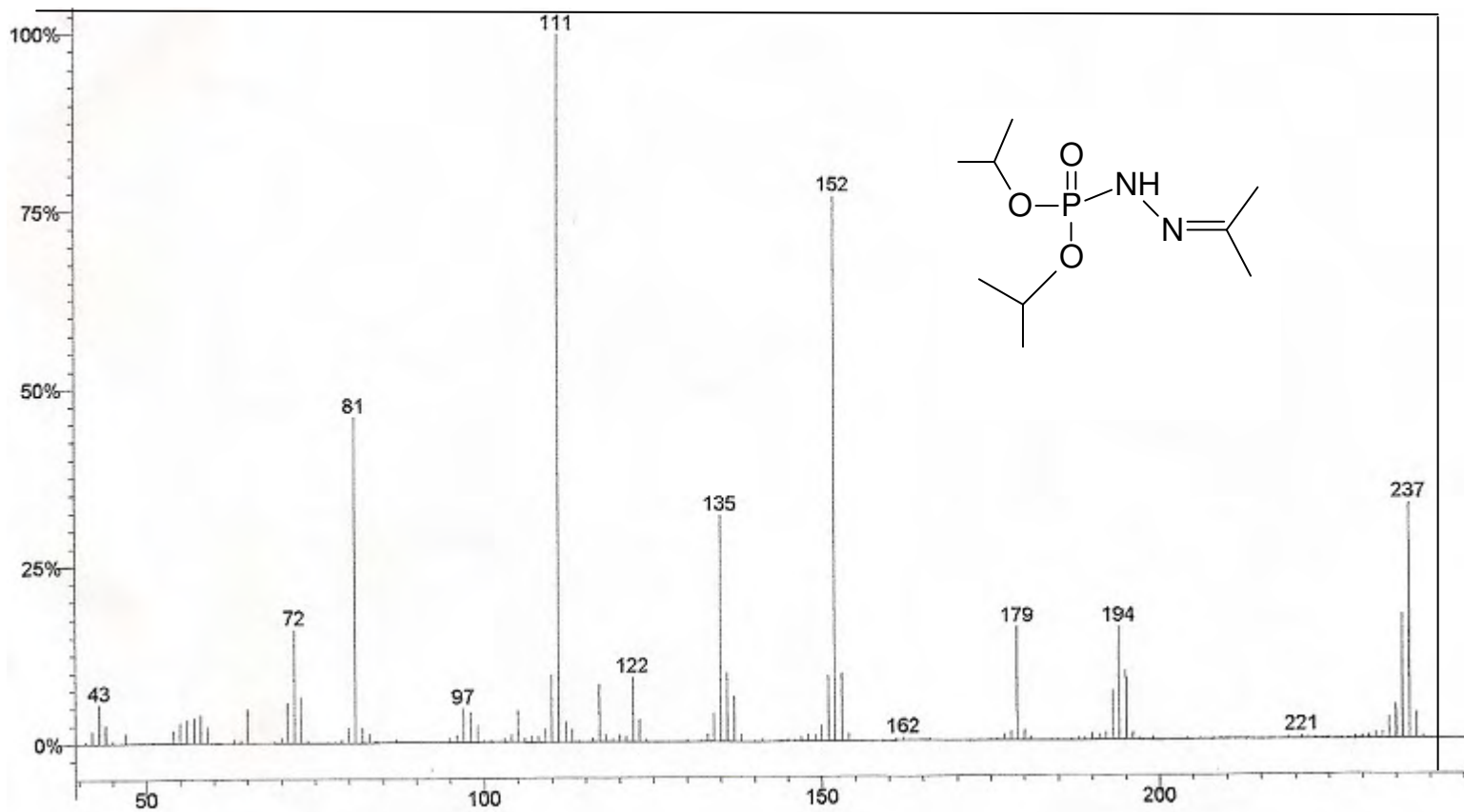


Figura 104: Espectro de massas da di-isopropilfosforilidrazona da acetona.

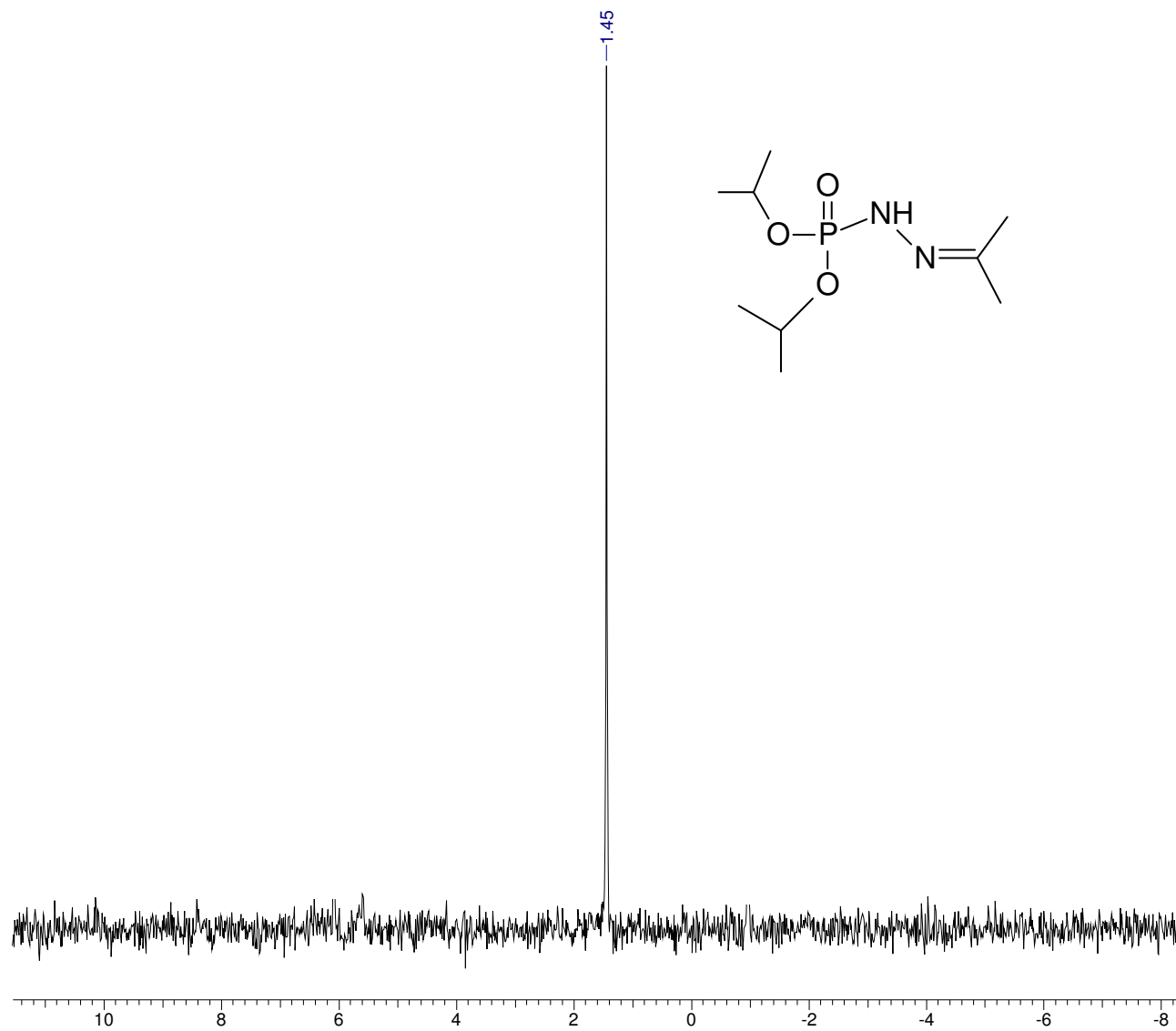


Figura 105: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado da di-isopropilfosforilidrazona da acetona.

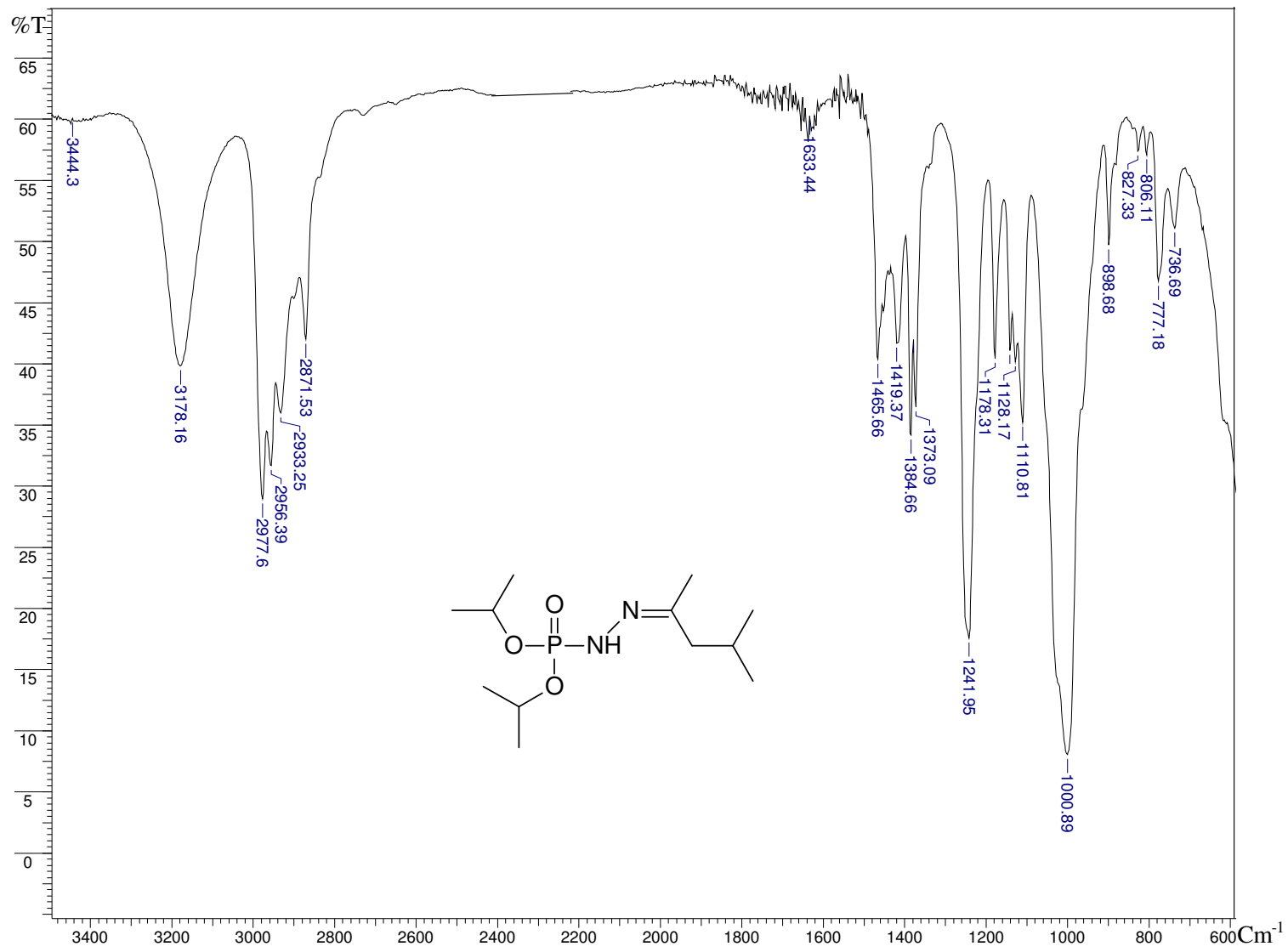


Figura 106: Espectro de IV da di-isopropilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.

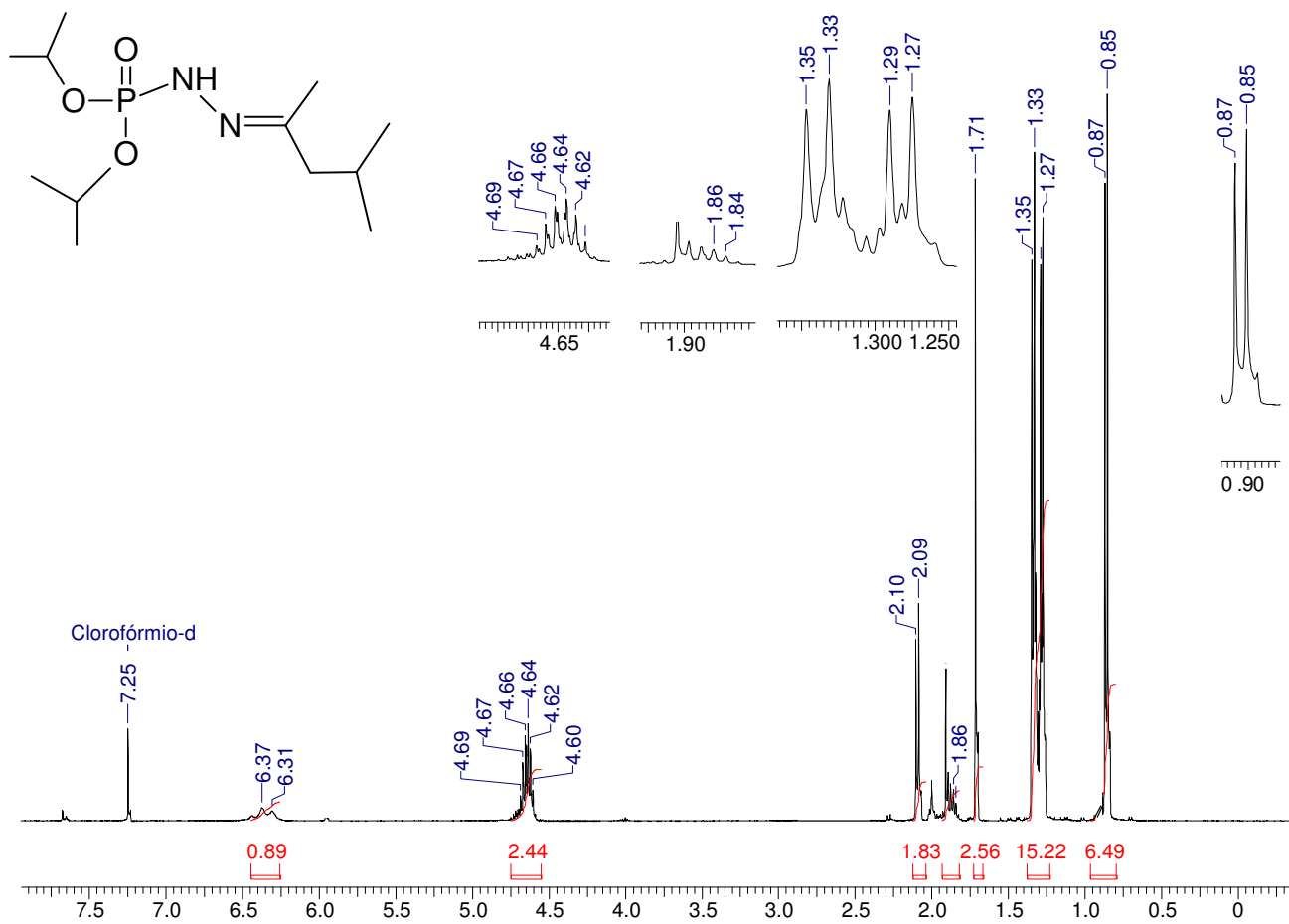


Figura 107: Espectro de RMN de ^1H da di-isopropilfosforilidrazona da isobutylmetilcetona.

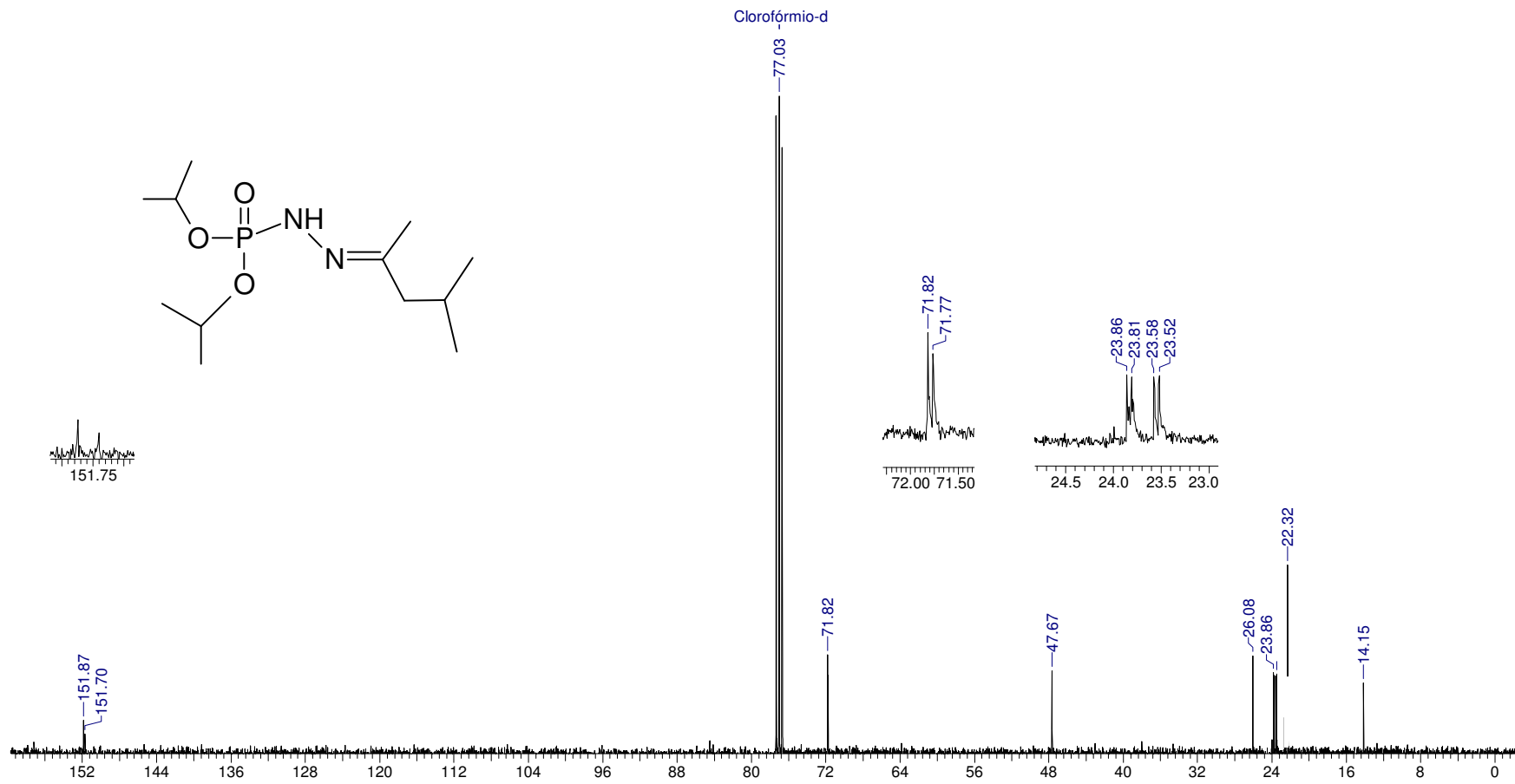


Figura 108: Espectro de RMN de ¹³C da di-isopropilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.

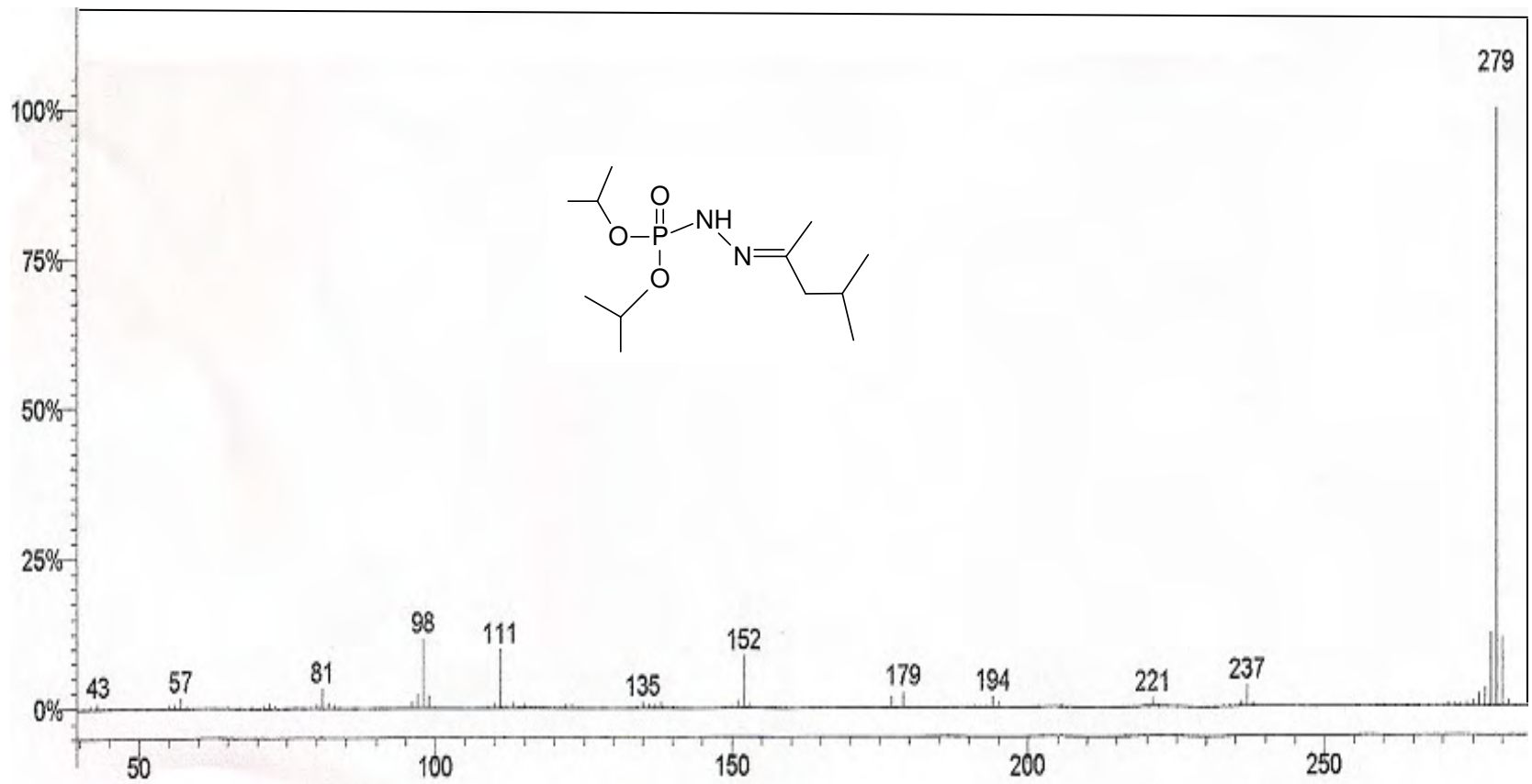


Figura 109: Espectro de massas da di-isopropilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.

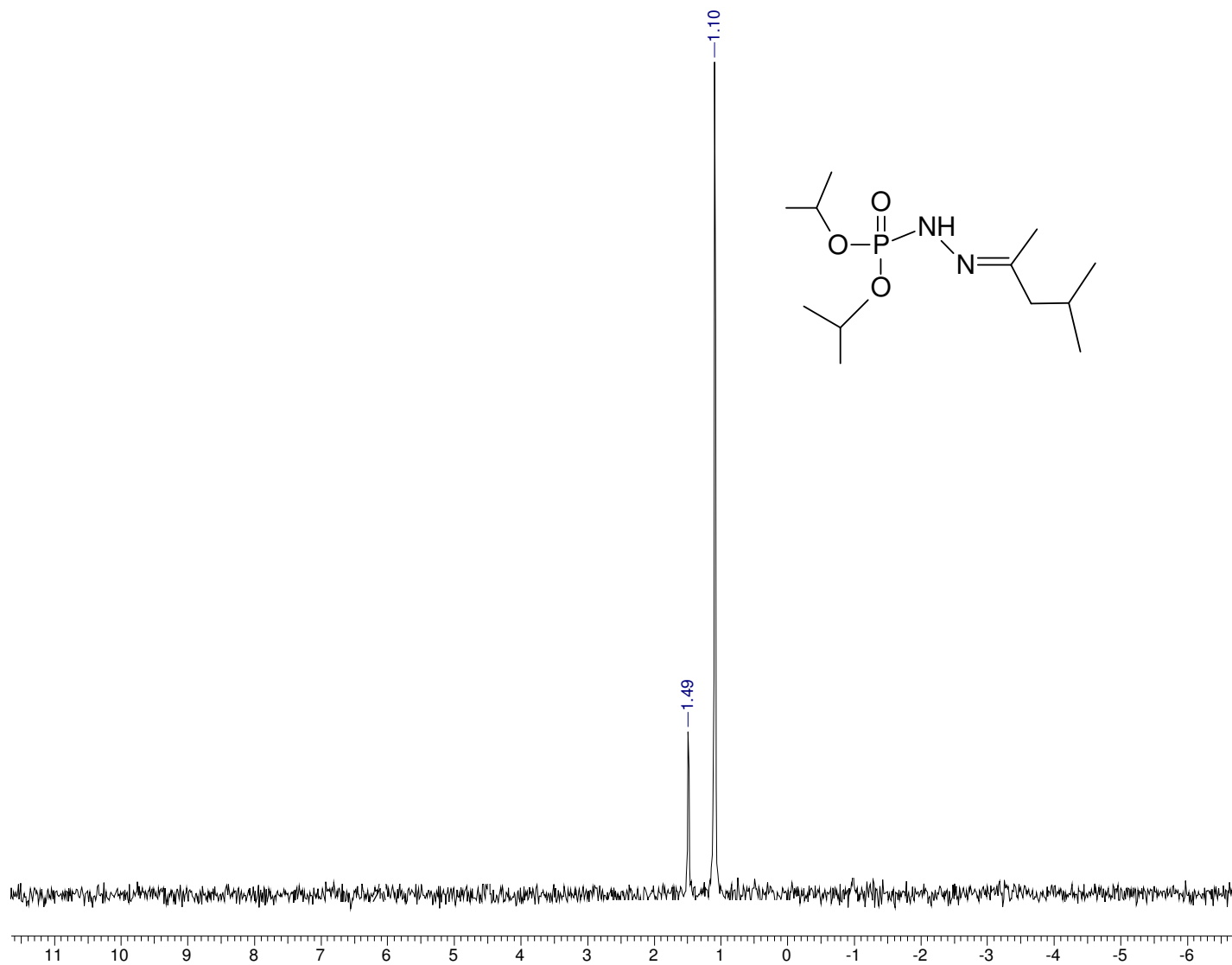


Figura 110: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado da di-isopropilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.

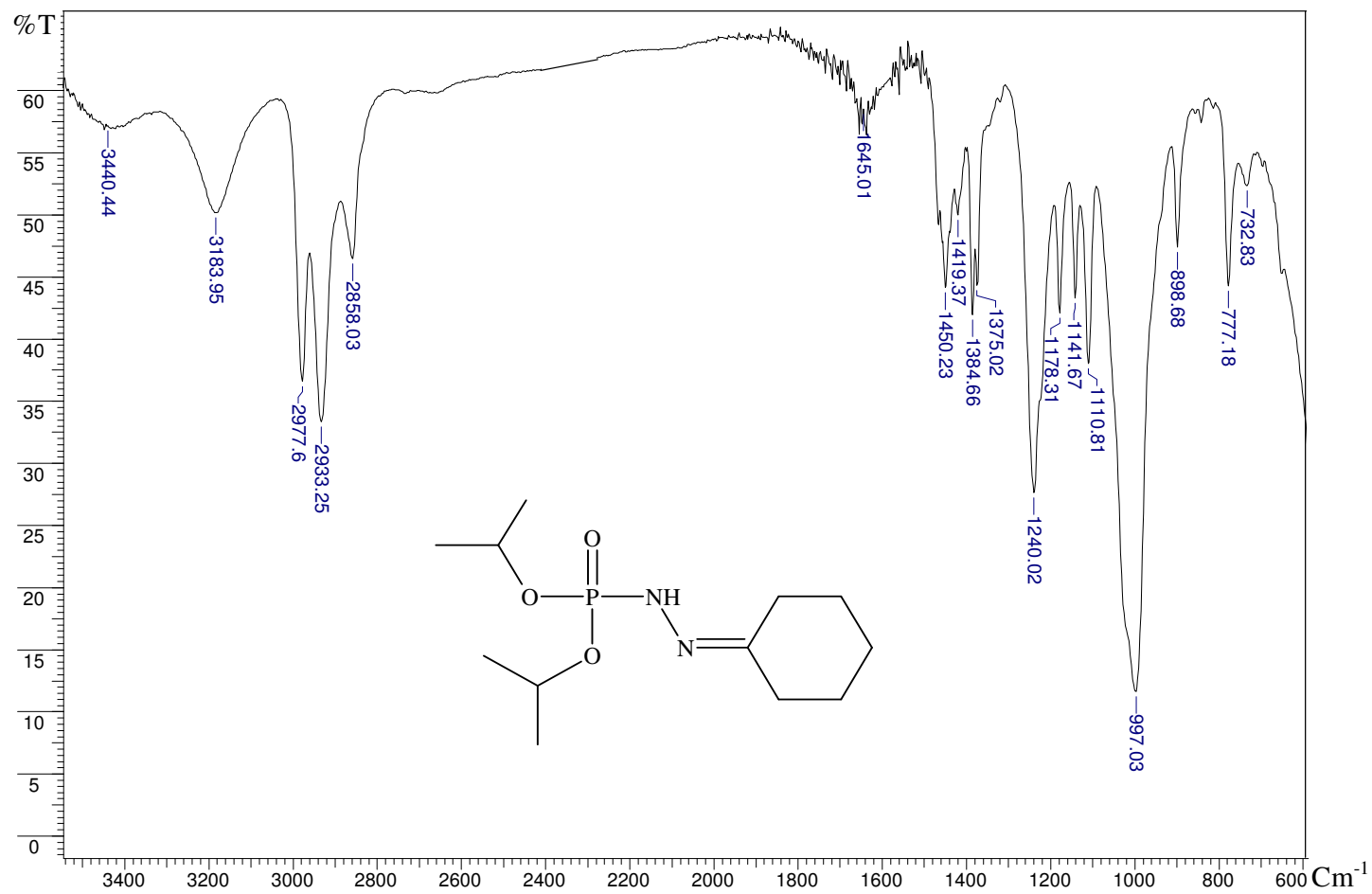


Figura 111: Espectro de IV da di-isopropilfosforilidrazona da ciclohexanona.

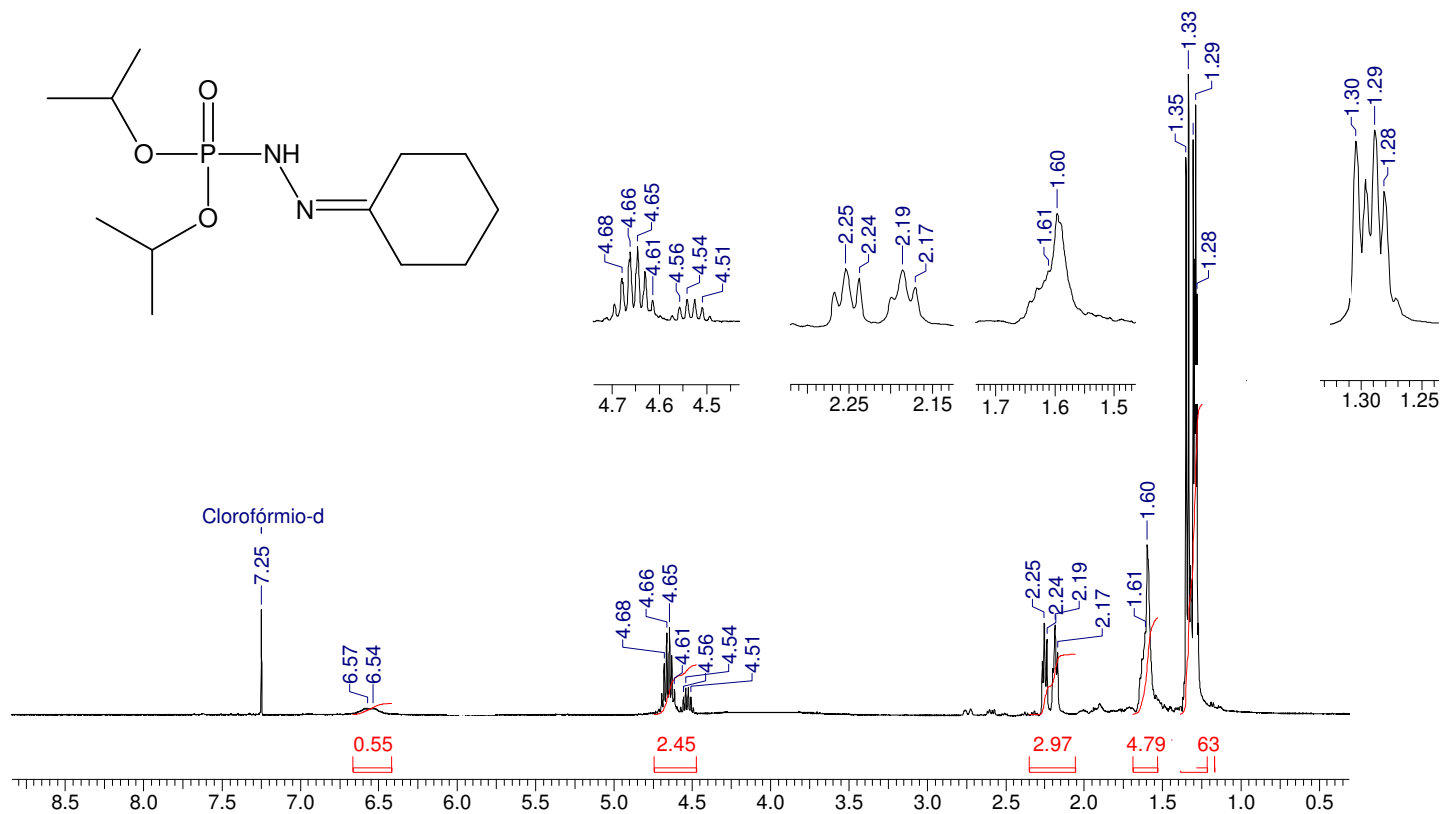


Figura 112: Espectro de RMN ^1H da di-isopropilfosforilidrazona da ciclohexona.

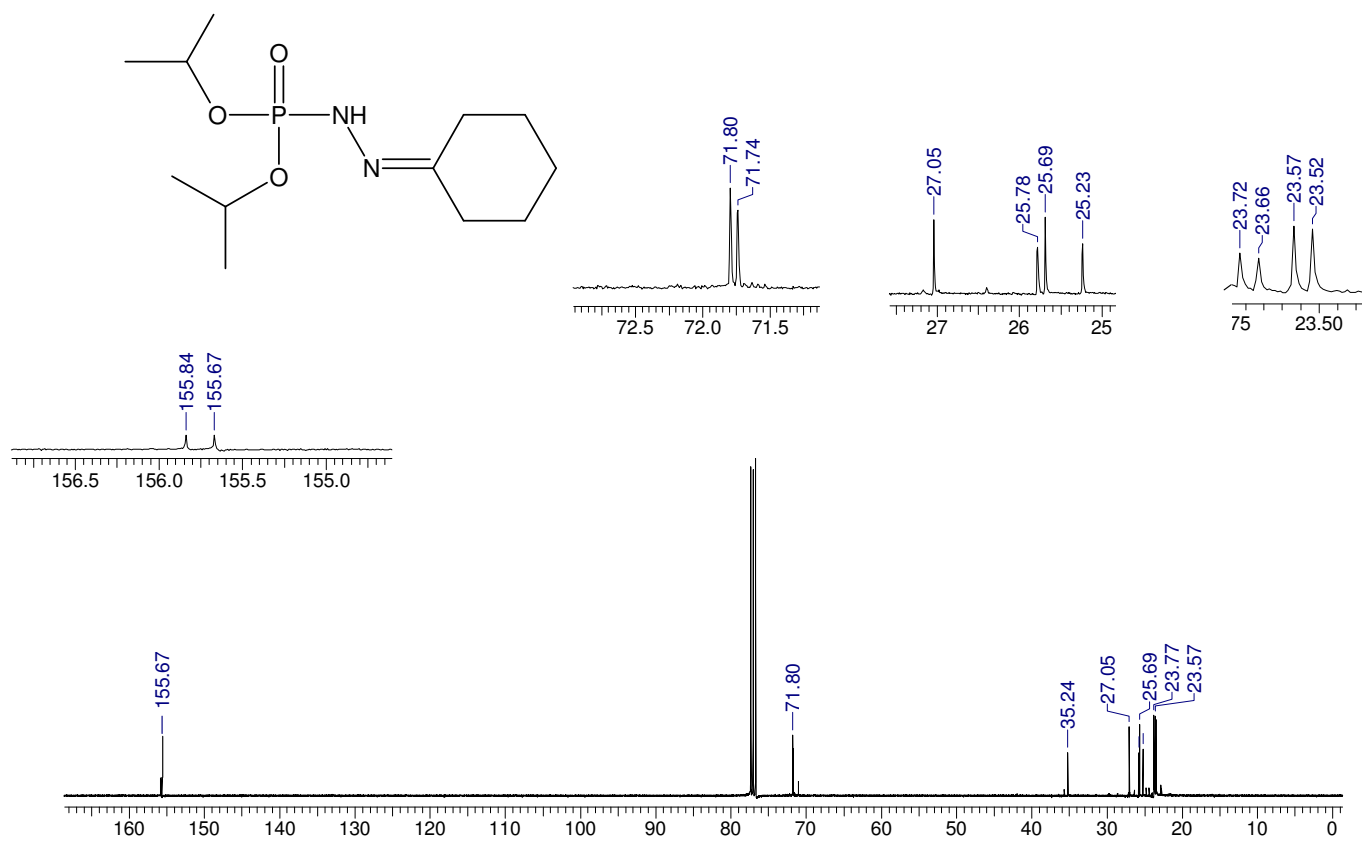


Figura 113: Espectro de RMN de ^{13}C da di-isopropilfosforilidrazona da ciclohexanona.

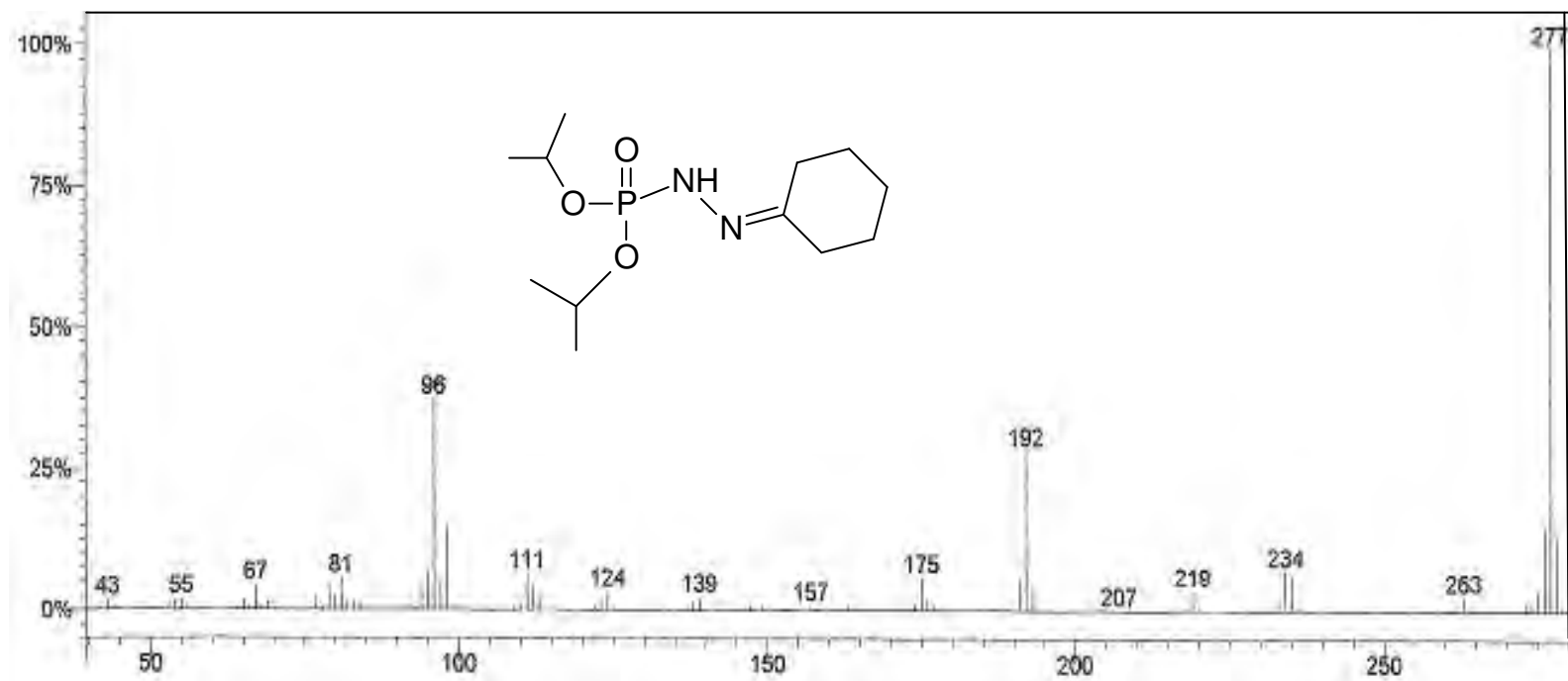


Figura 114: Espectro de massas da di-isopropilfosforilidrazona da ciclohexanona.

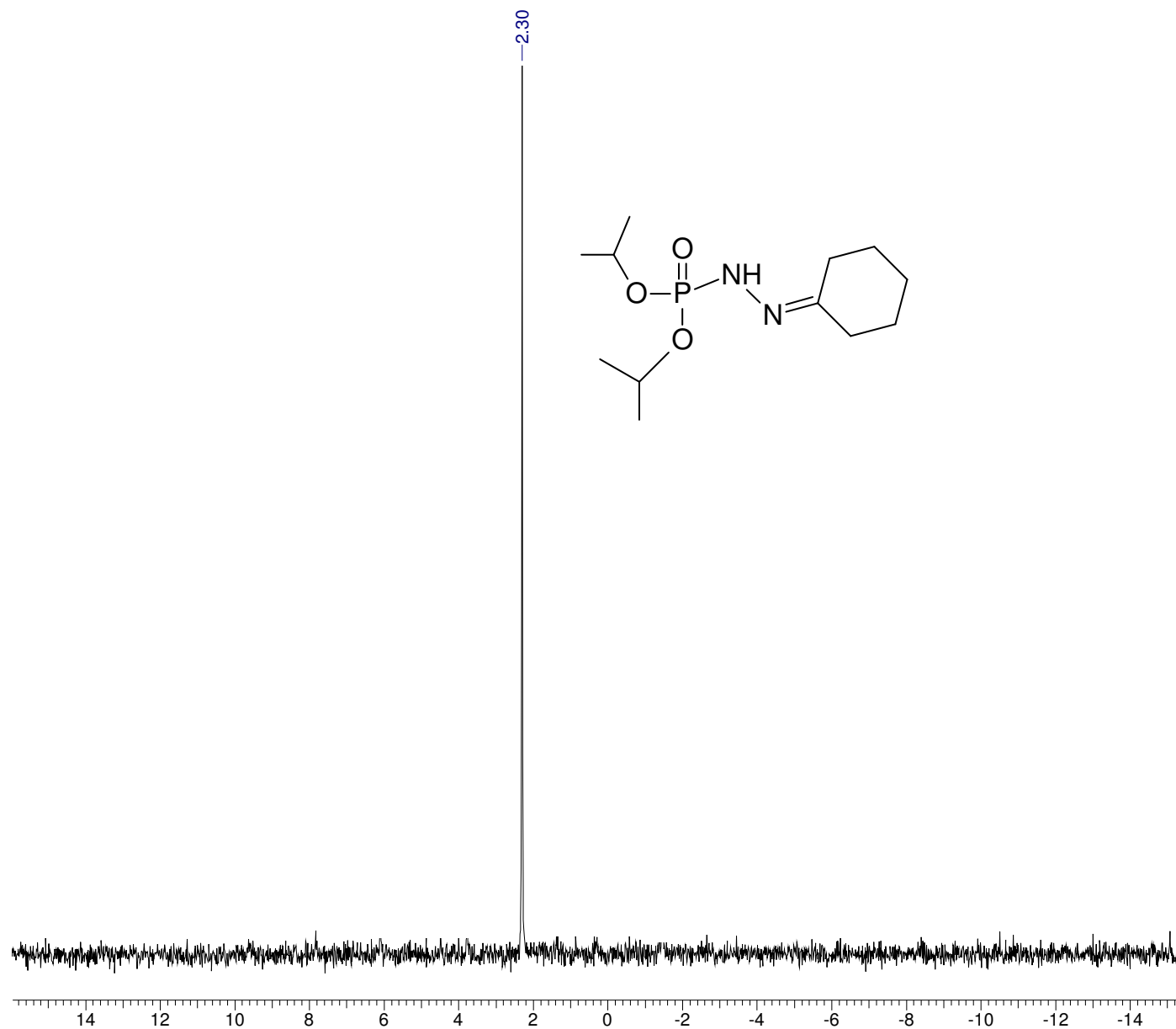


Figura 115: Espectro de RMN ^{31}P totalmente desacoplado da di-isopropilfosforilidrazona da cicloexanona.

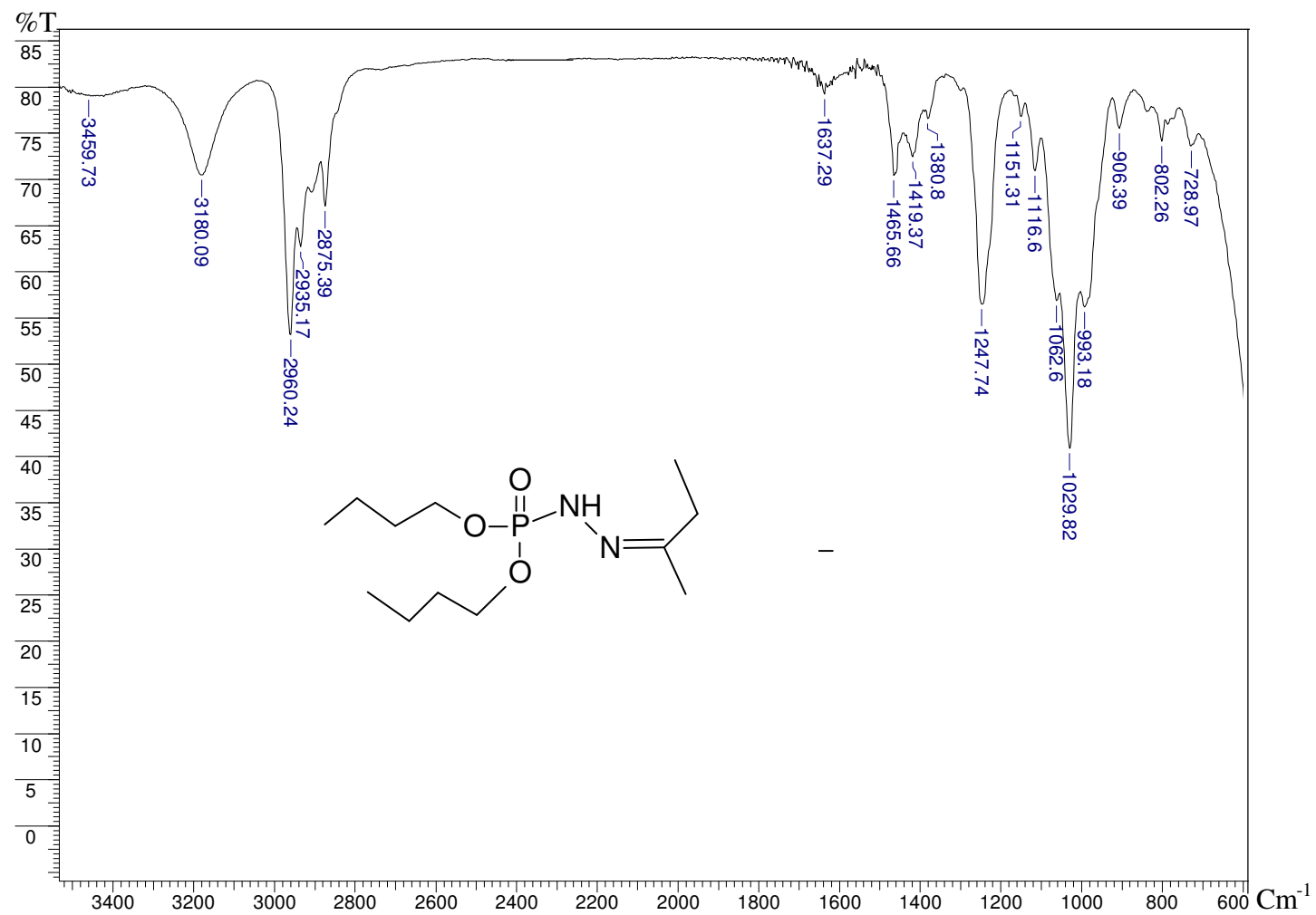


Figura 116: Espectro de IV da dibutilfosforilidrazona da etilmetilcetona.

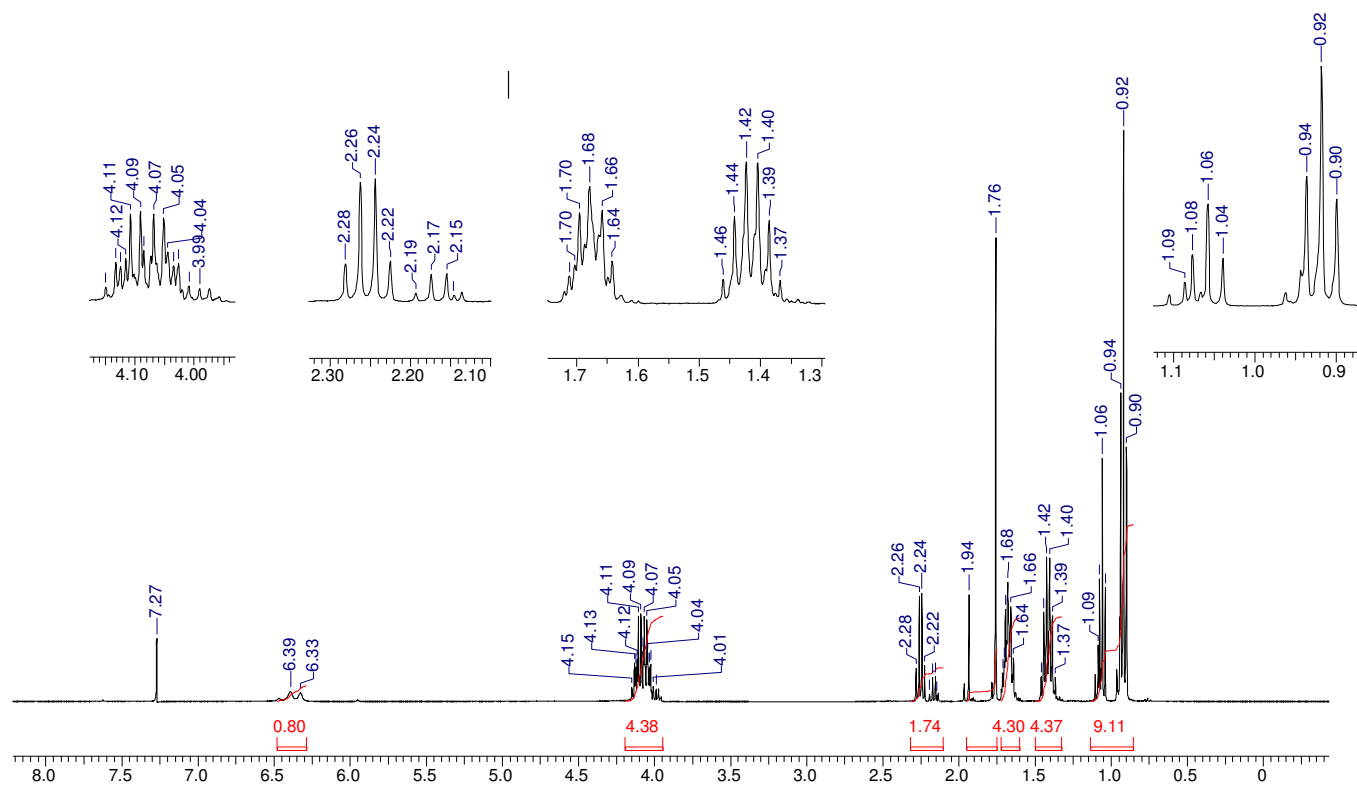
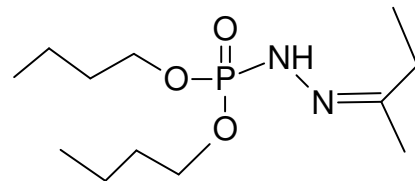


Figura 117: Espectro de RMN ^1H da dibutilfosforilidrazona da etilmetilcetona.

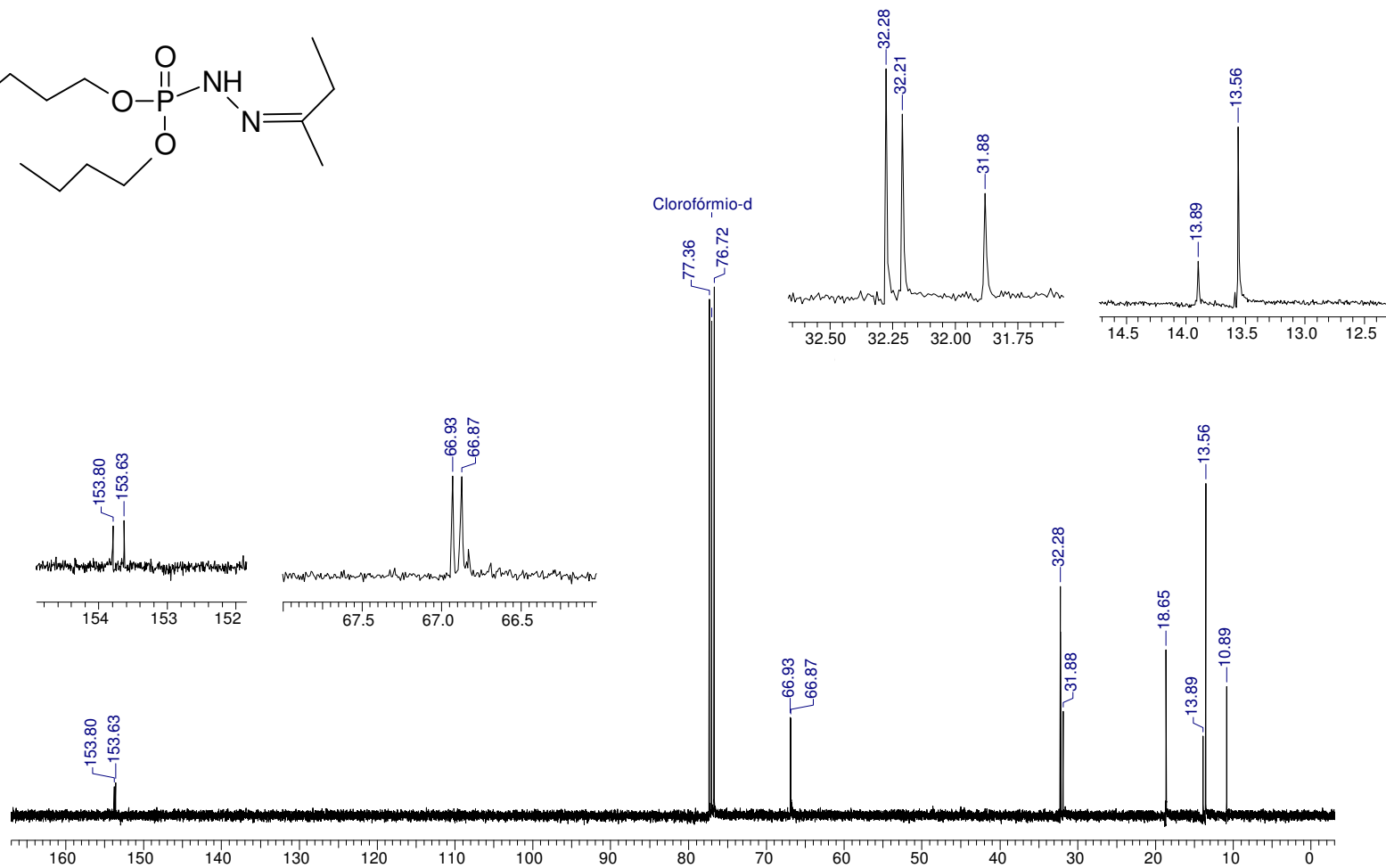
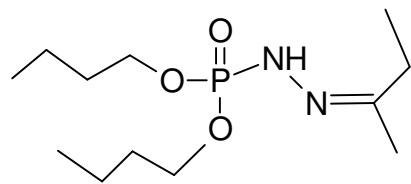


Figura 118: Espectro de RMN ^{13}C da dibutilfosforilidrazona da etilmetilcetona.

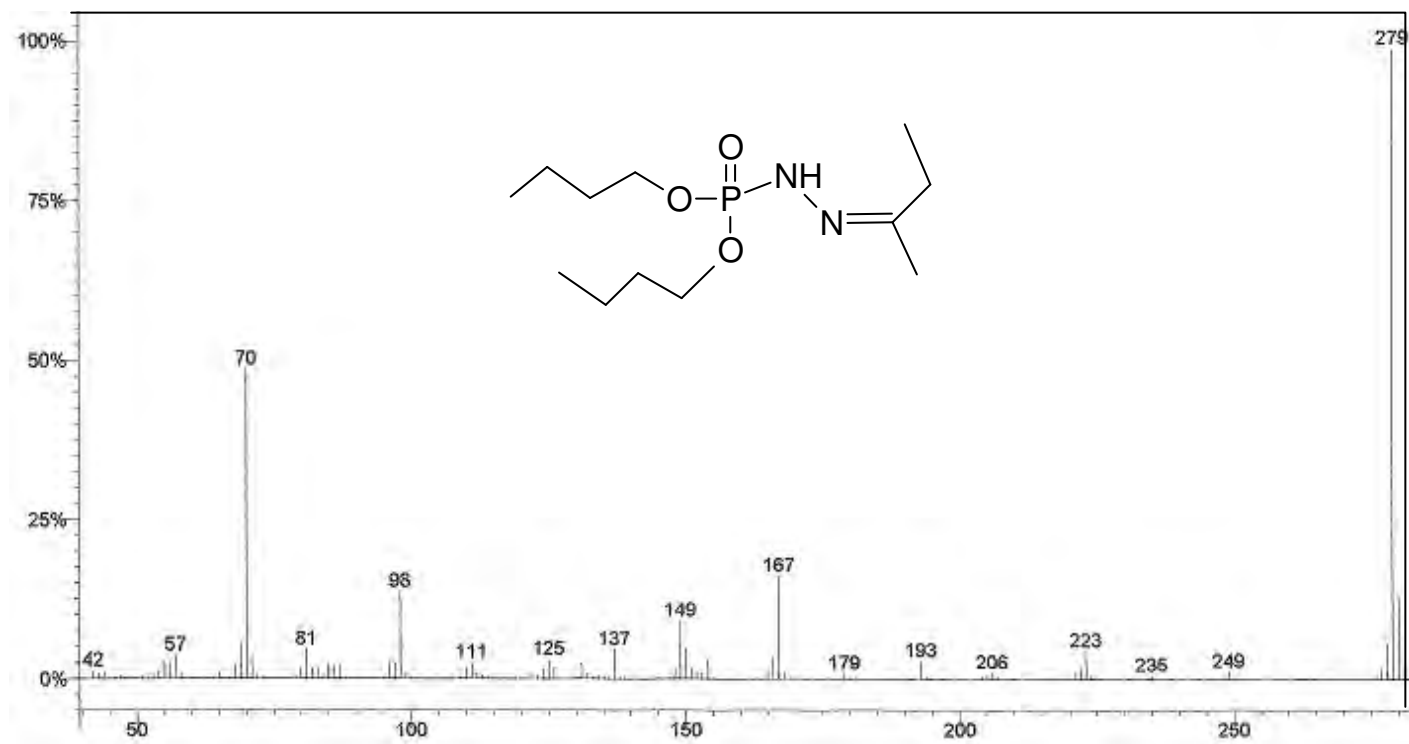


Figura 119: Espectro de massas da dibutilfosforilidrazona da etilmetilcetona.

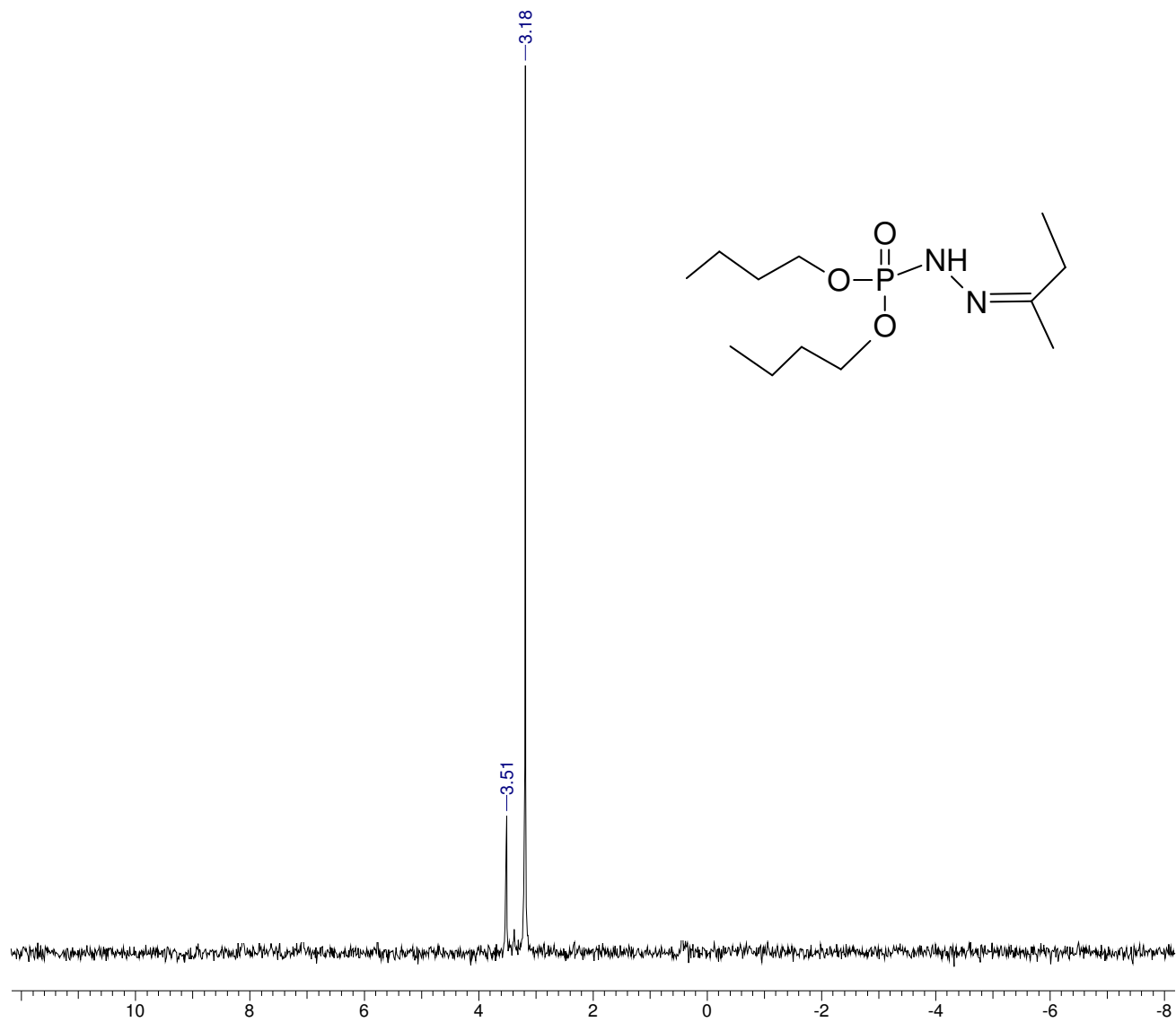


Figura 120: Espectro de RMN ^{31}P totalmente desacoplado da dibutilfosforilidrazona da etilmetilcetona.

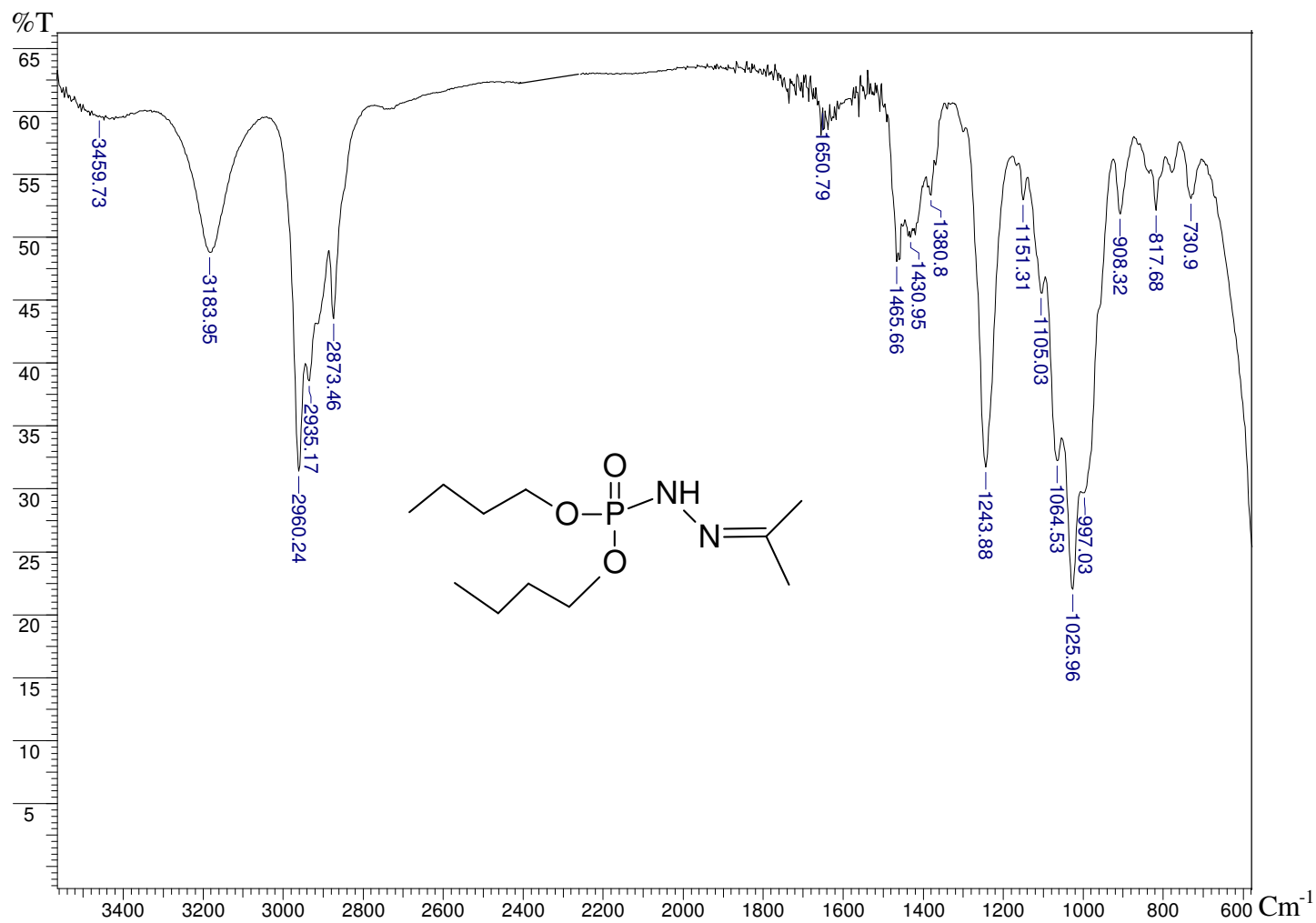


Figura 121: Espectro de IV da dibutilfosforilidrazona da acetona.

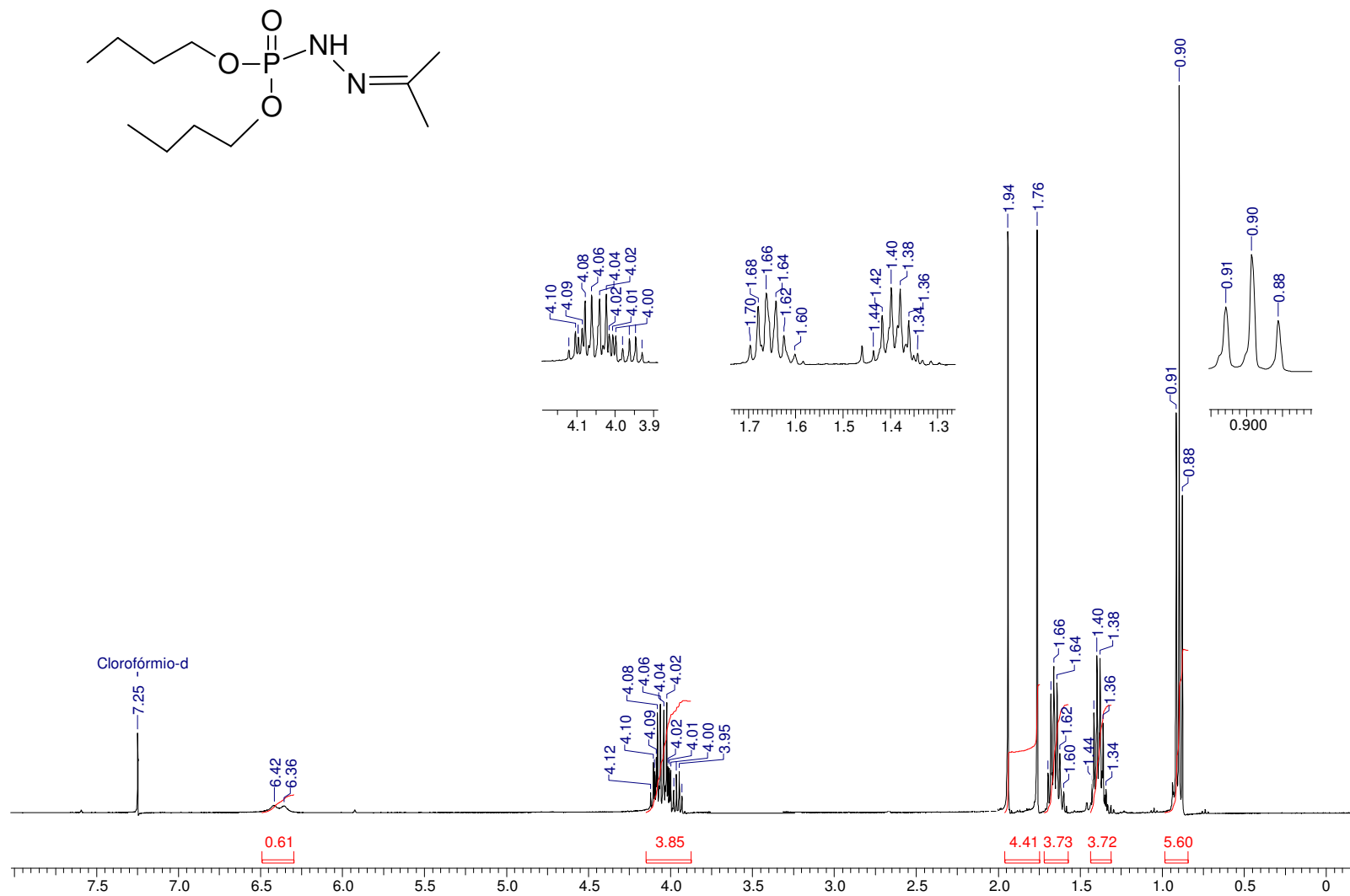


Figura 122: Espectro de RMN ¹H da dibutilfosforilidrazona da acetona.

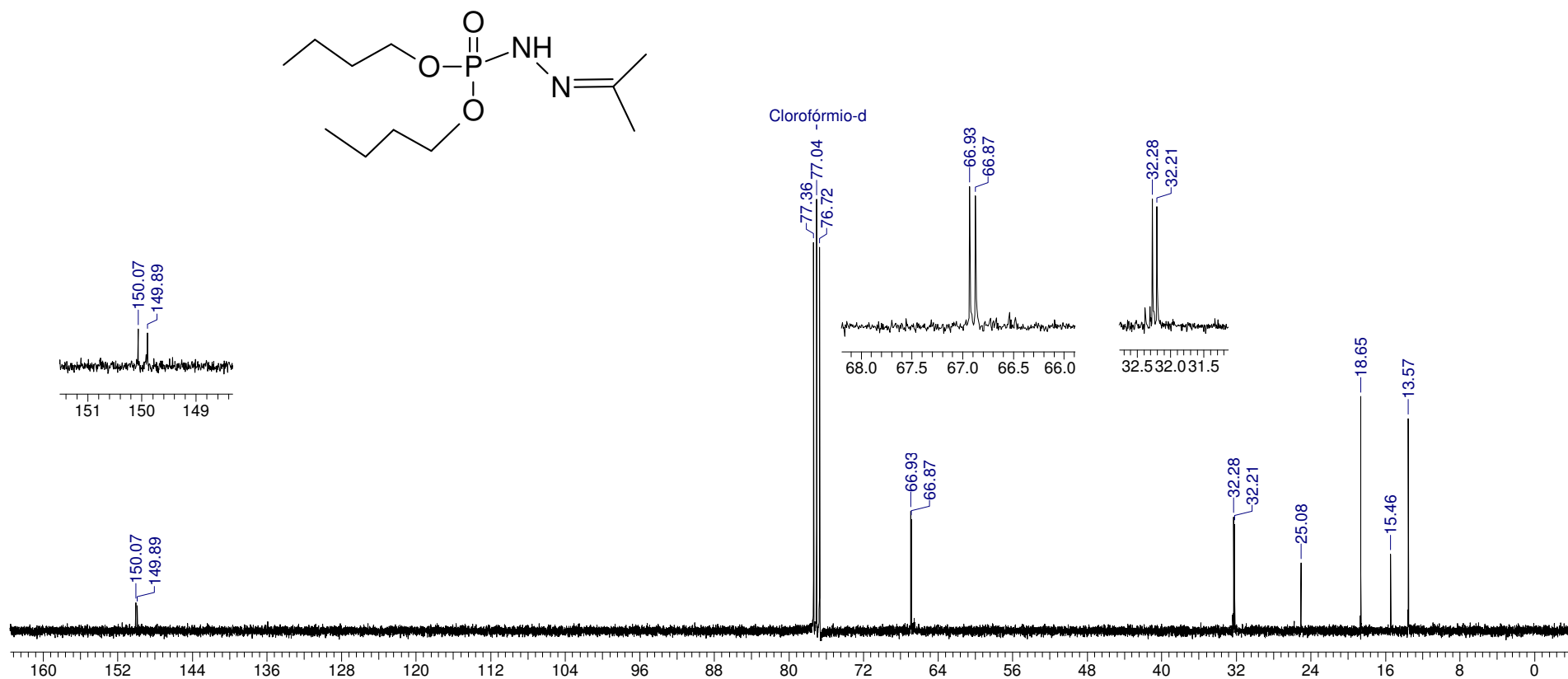


Figura 124: Espectro de RMN ^{13}C da dibutilfosforilidrazona da acetona.

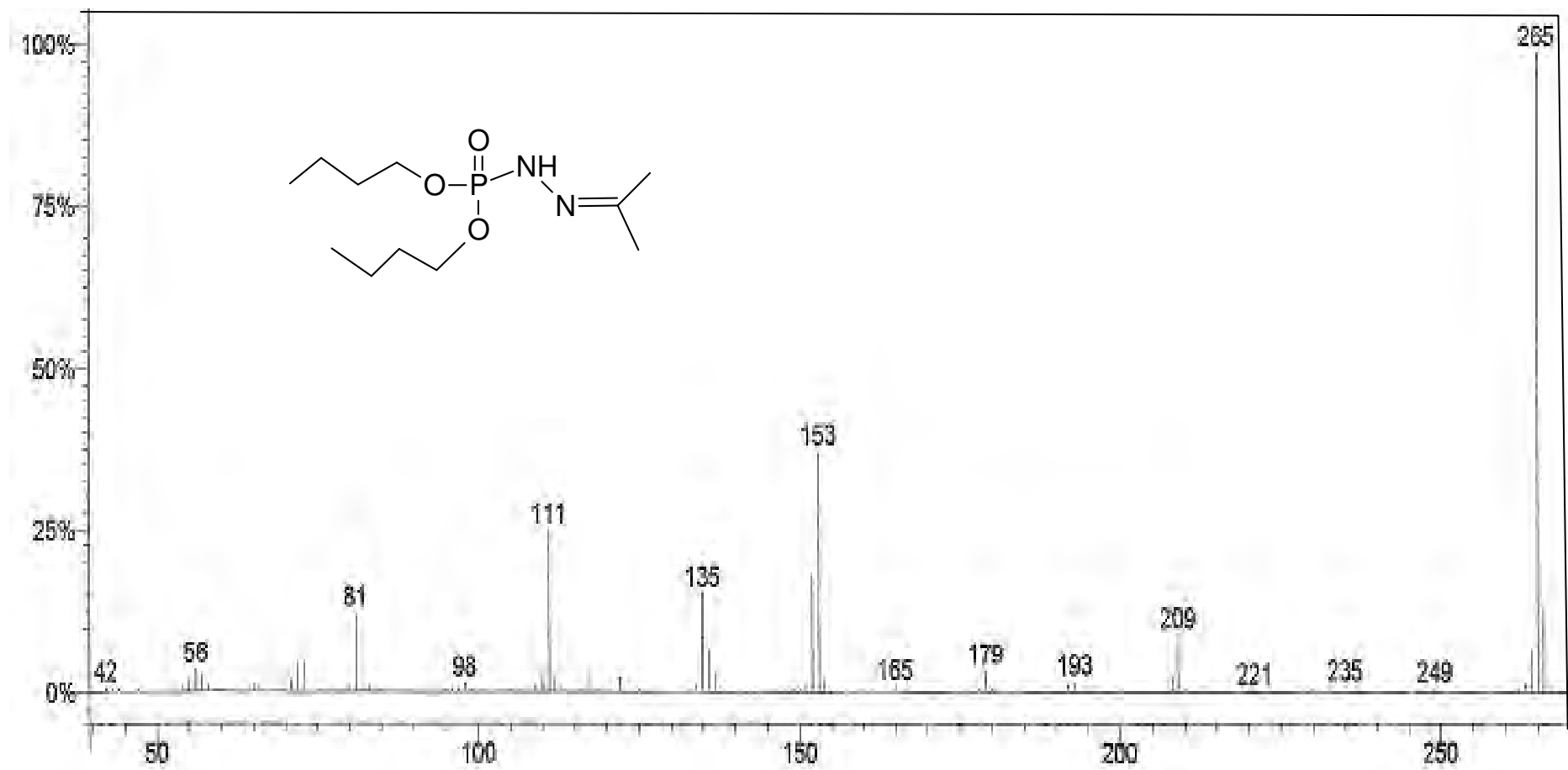


Figura 125: Espectro de massas da dibutilfosforilidrazona da acetona.

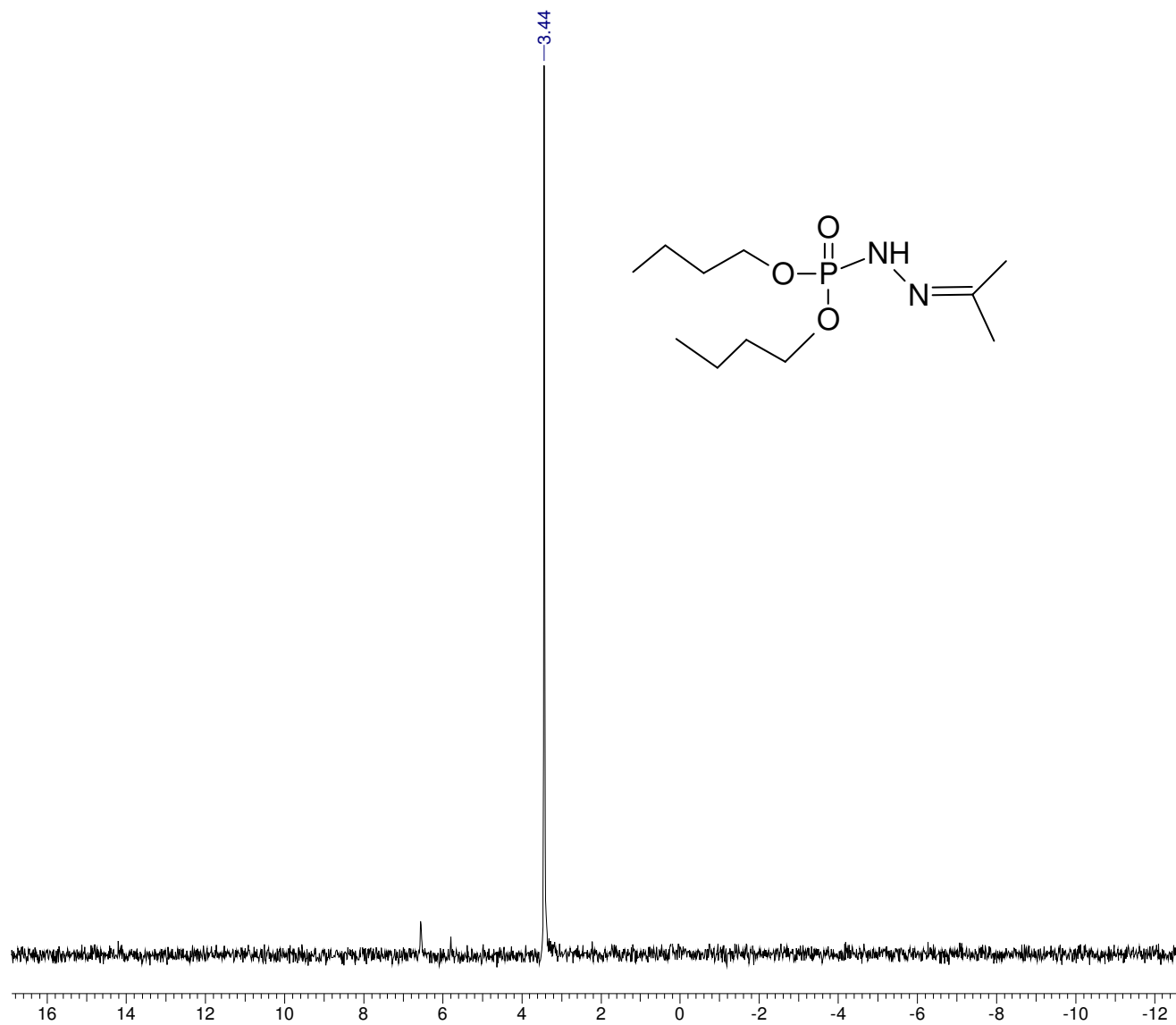


Figura 126: Espectro de RMN ^{31}P totalmente desacoplado da dibutilfosforilidrazona da acetona.

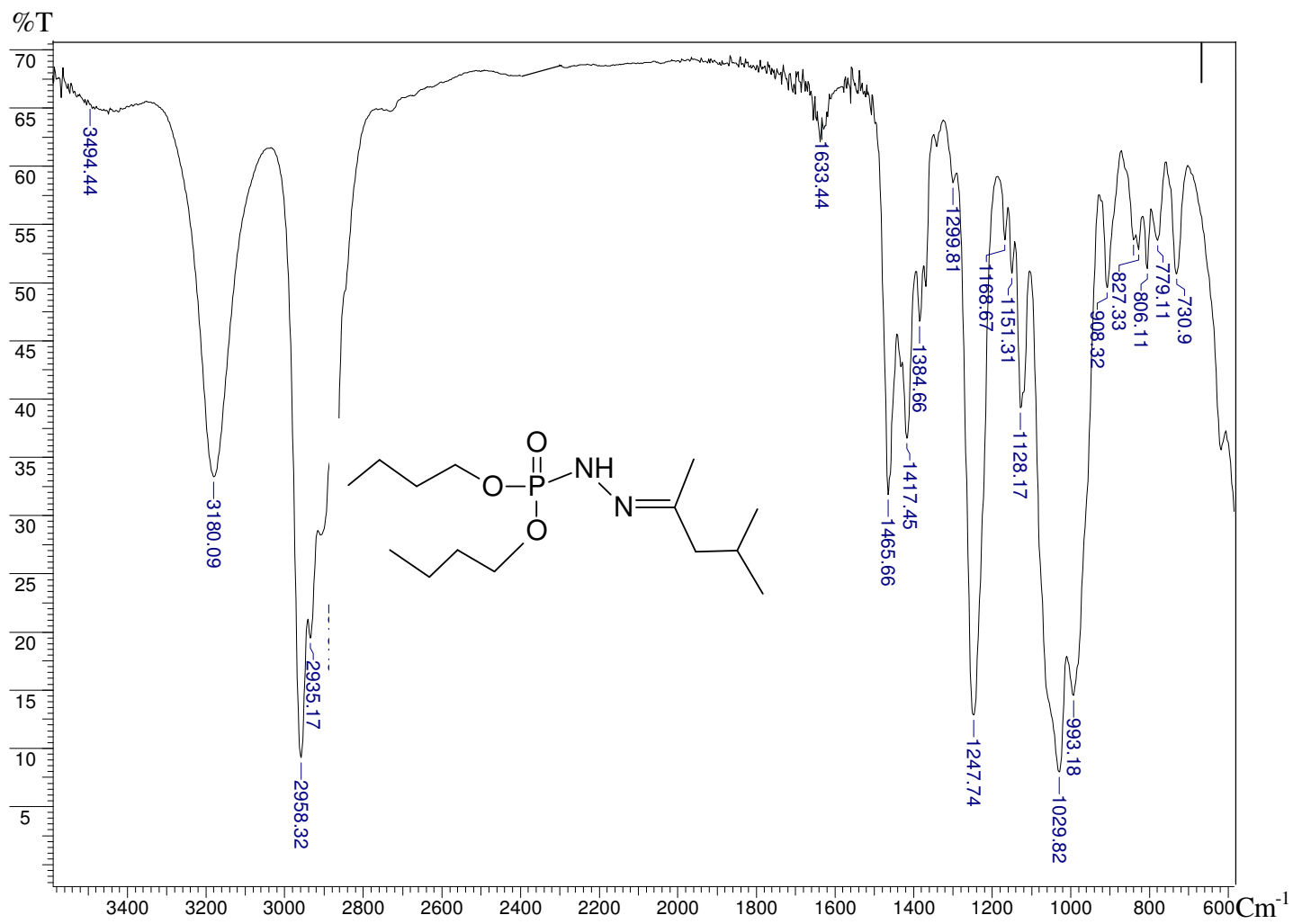


Figura 127: Espectro de IV da dibutilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.

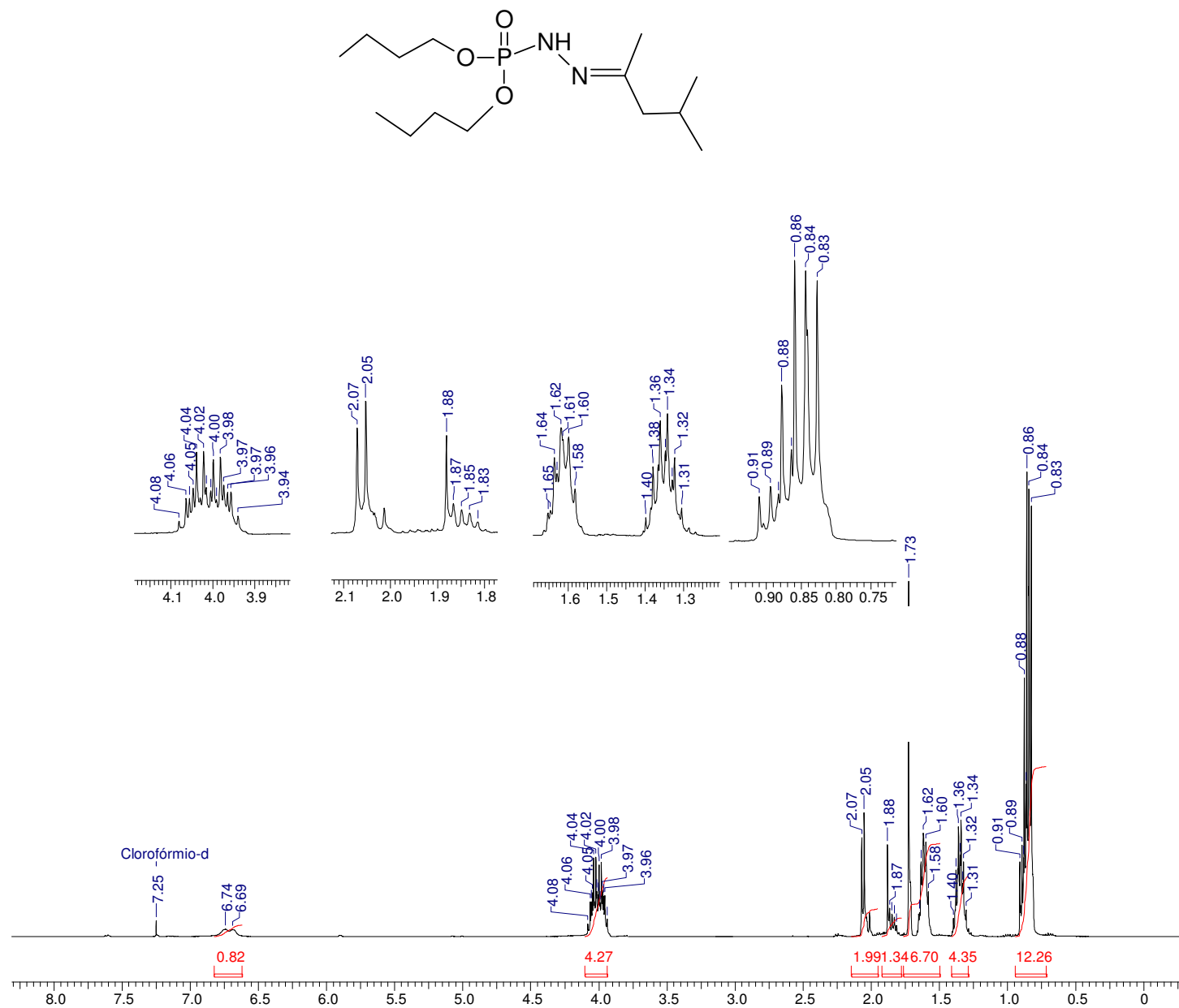


Figura 128: Espectro de RMN ^1H da dibutilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.

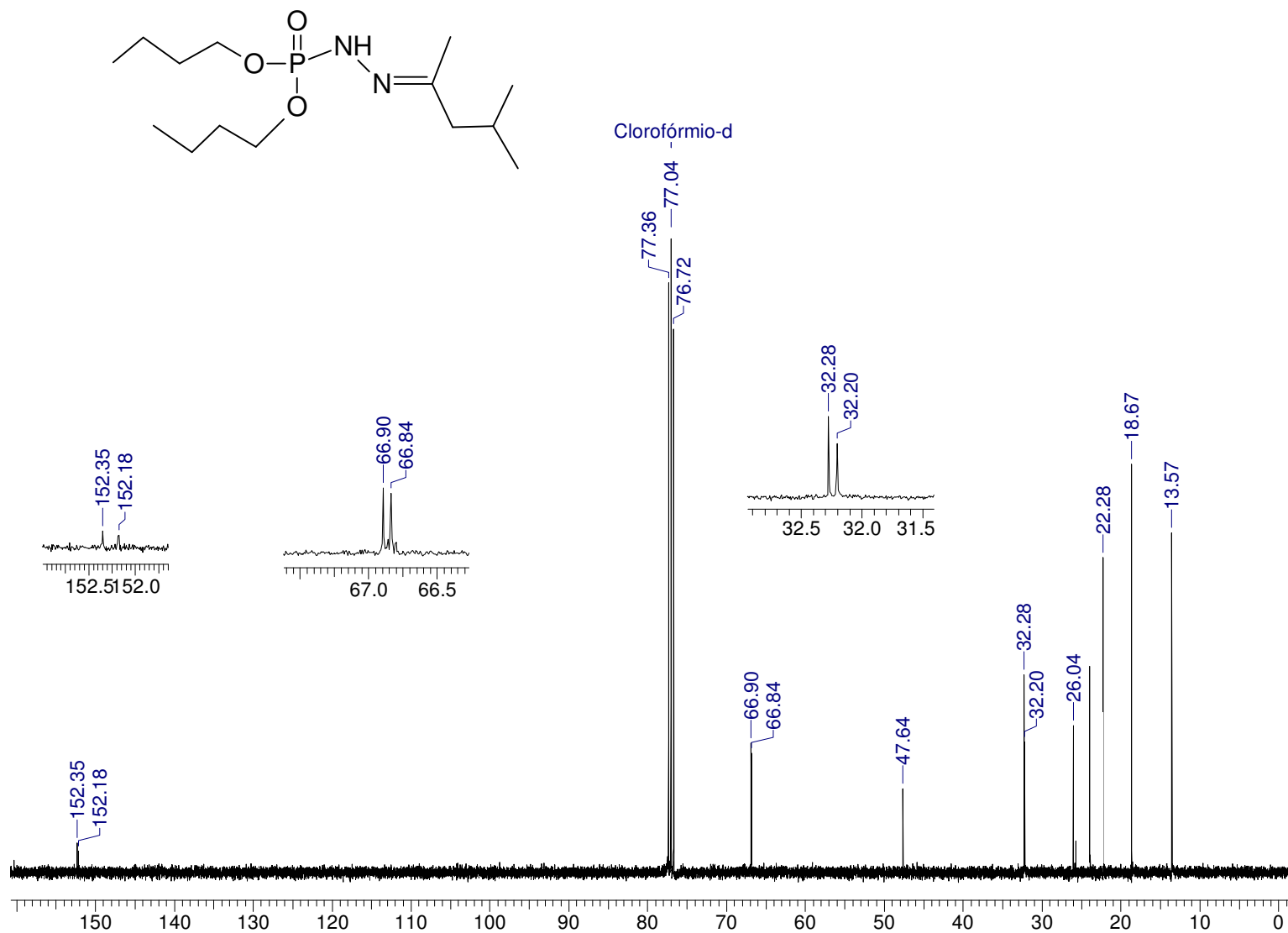


Figura 129: Espectro de RMN ^{13}C da dibutilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.

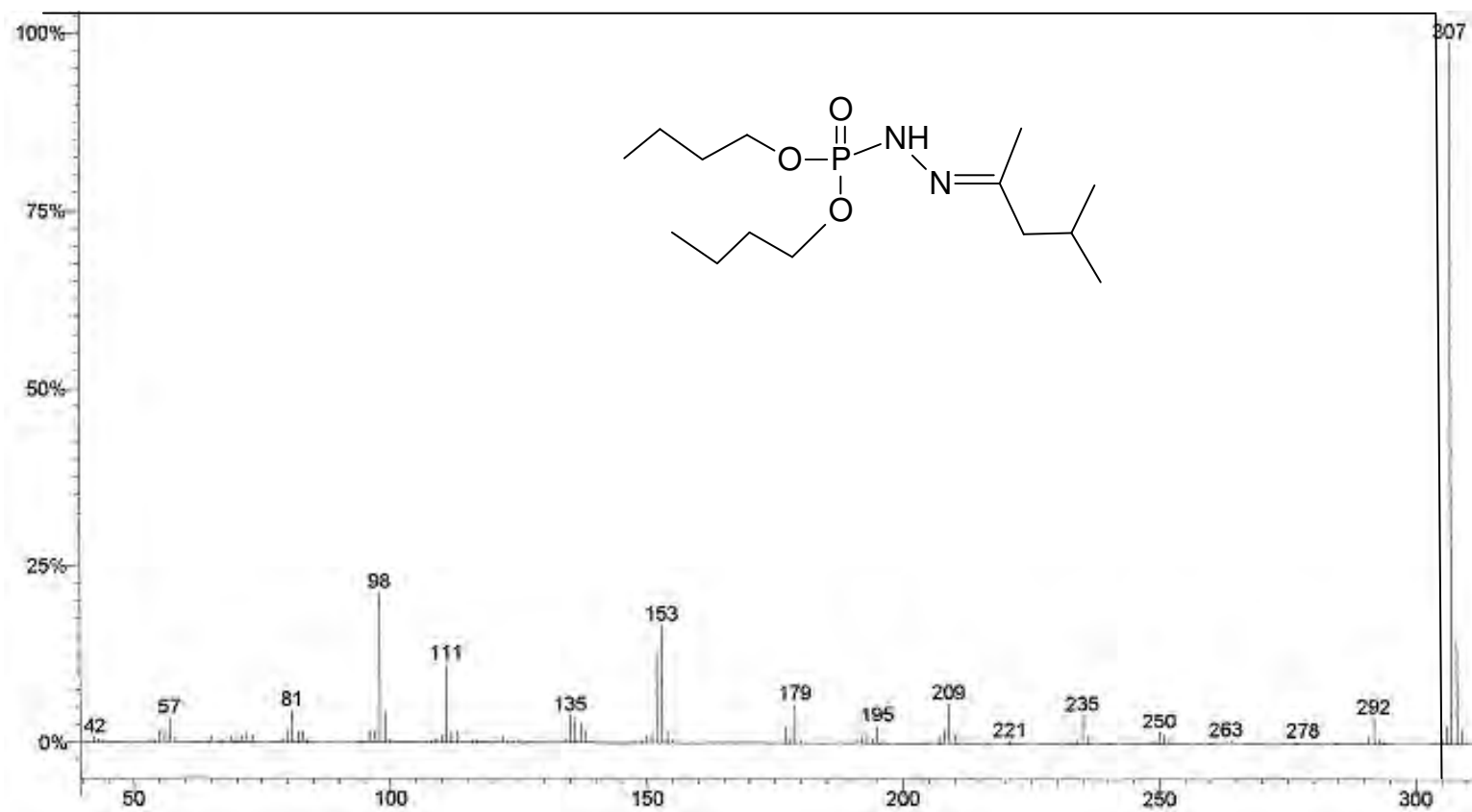


Figura 130: Espectro de massas da dibutilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.

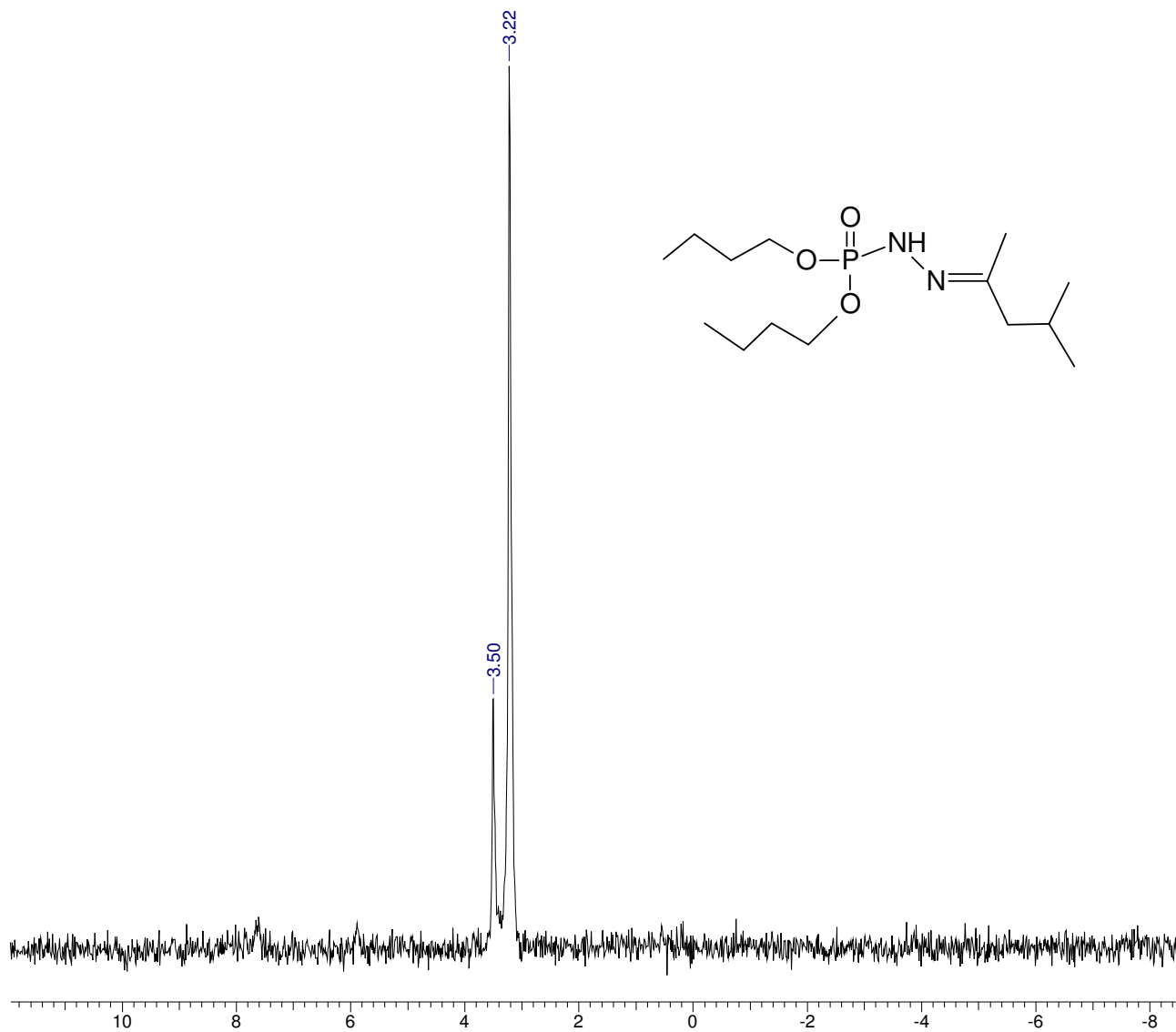


Figura 131: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado da dibutilfosforilidrazona da isobutilmetilcetona.

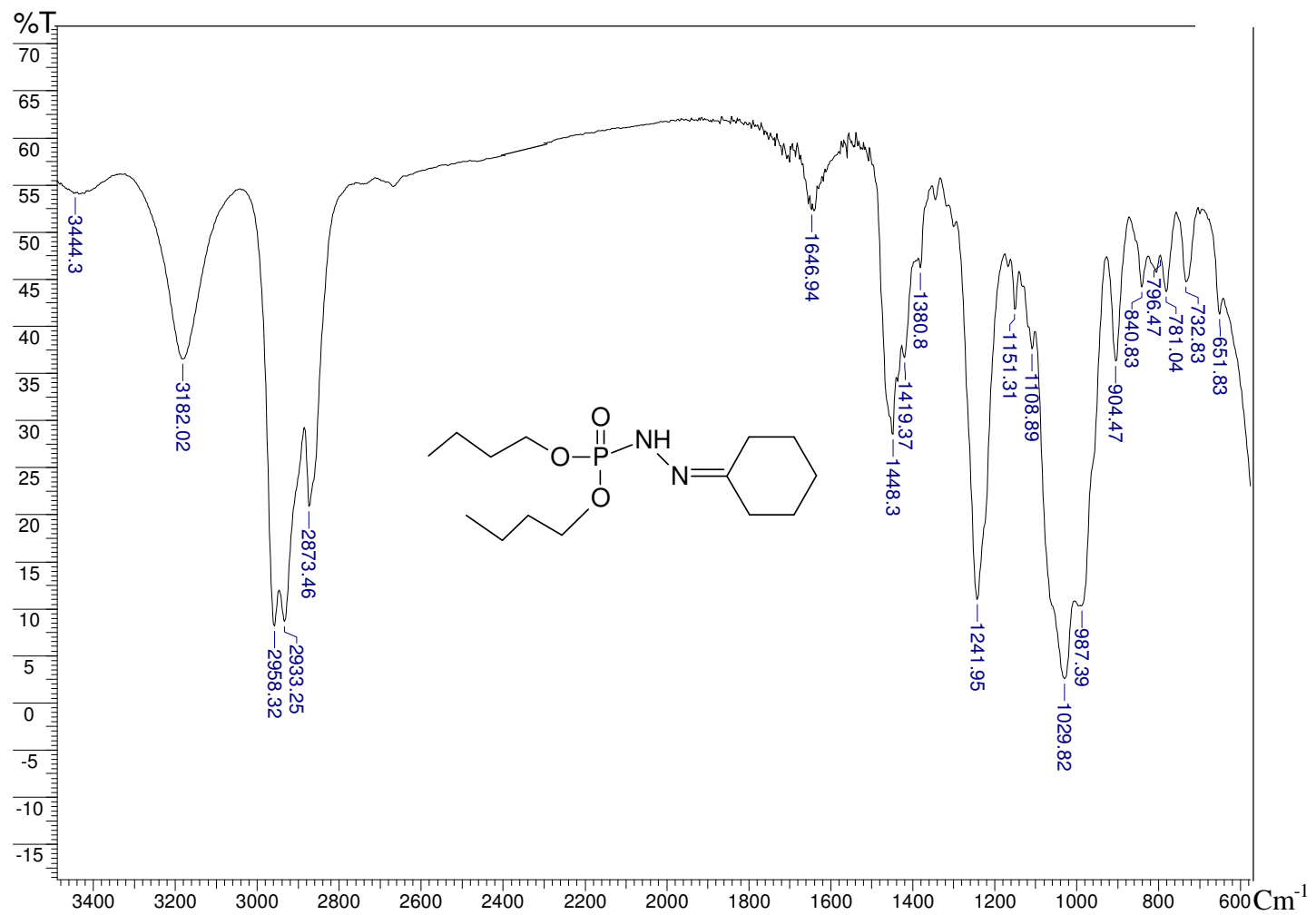


Figura 132: Espectro de IV da dibutilfosforilidrazona da ciclohexanona.

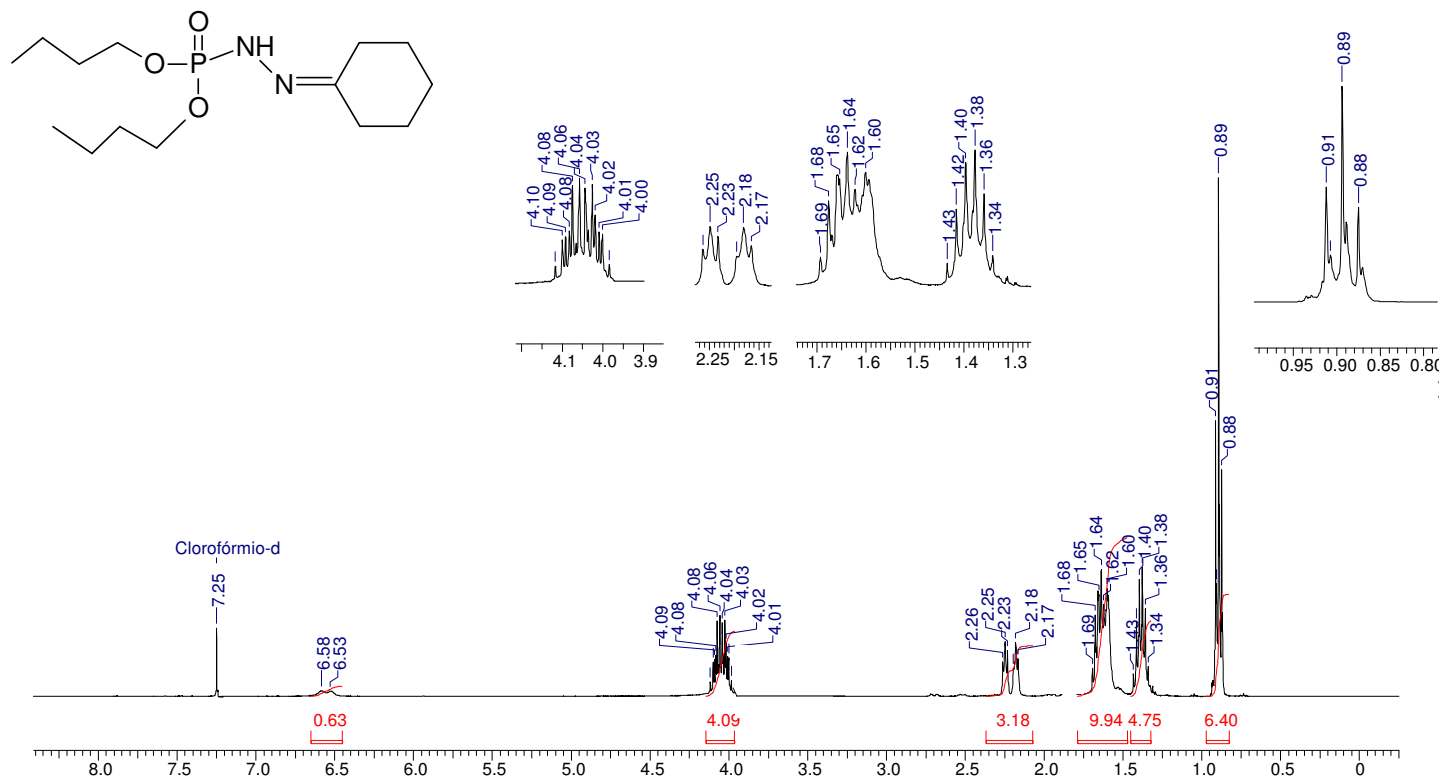


Figura 133: Espectro de RMN ^1H da dibutilfosforilidrazona da ciclohexanona.

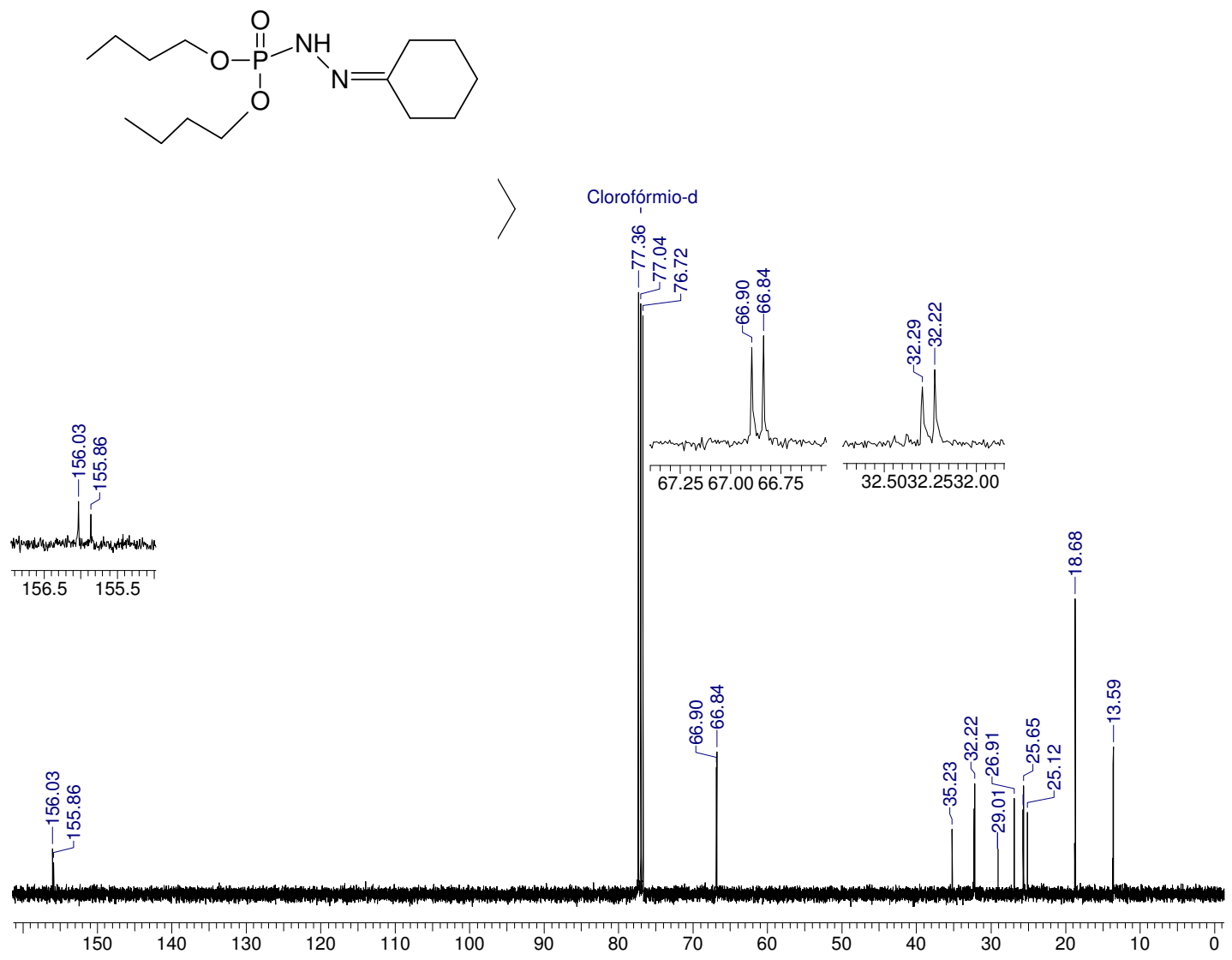


Figura 134: Espectro de RMN ¹³C da dibutilfosforilidrazona da ciclohexanona.

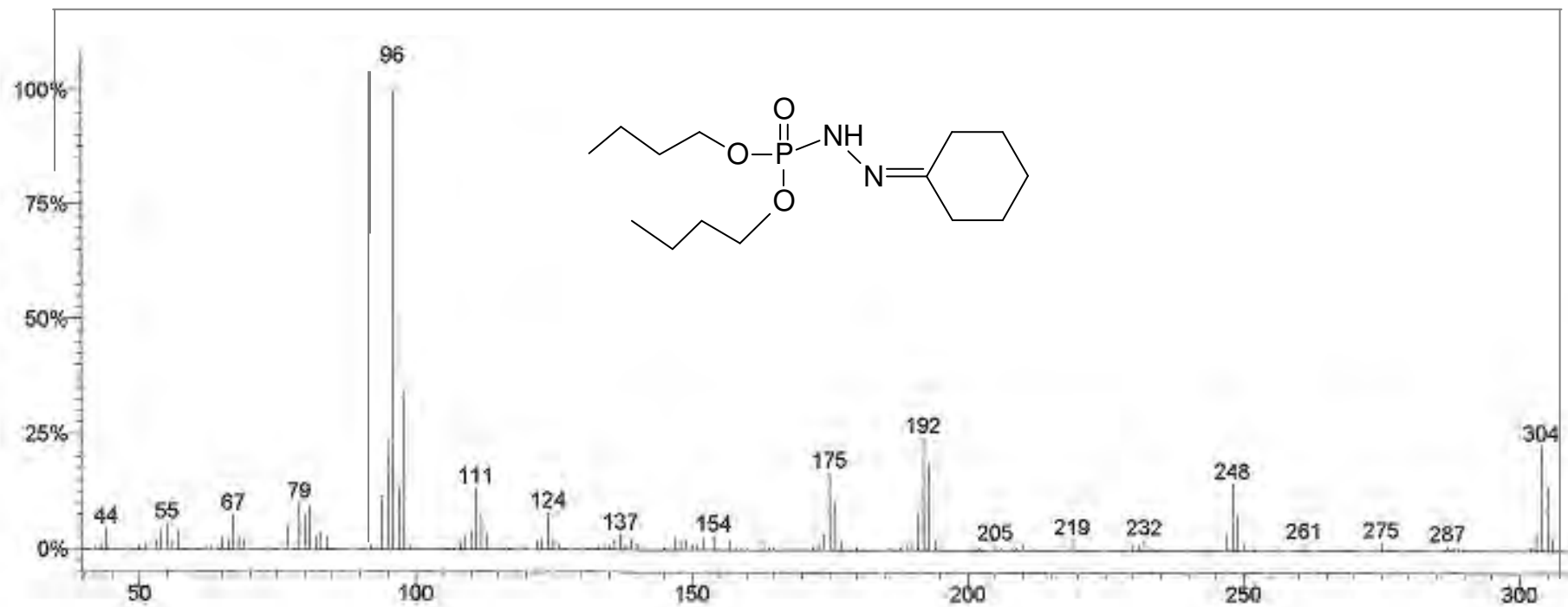


Figura 135: Espectro de massas da dibutilfosforilidrazona da ciclohexanona.

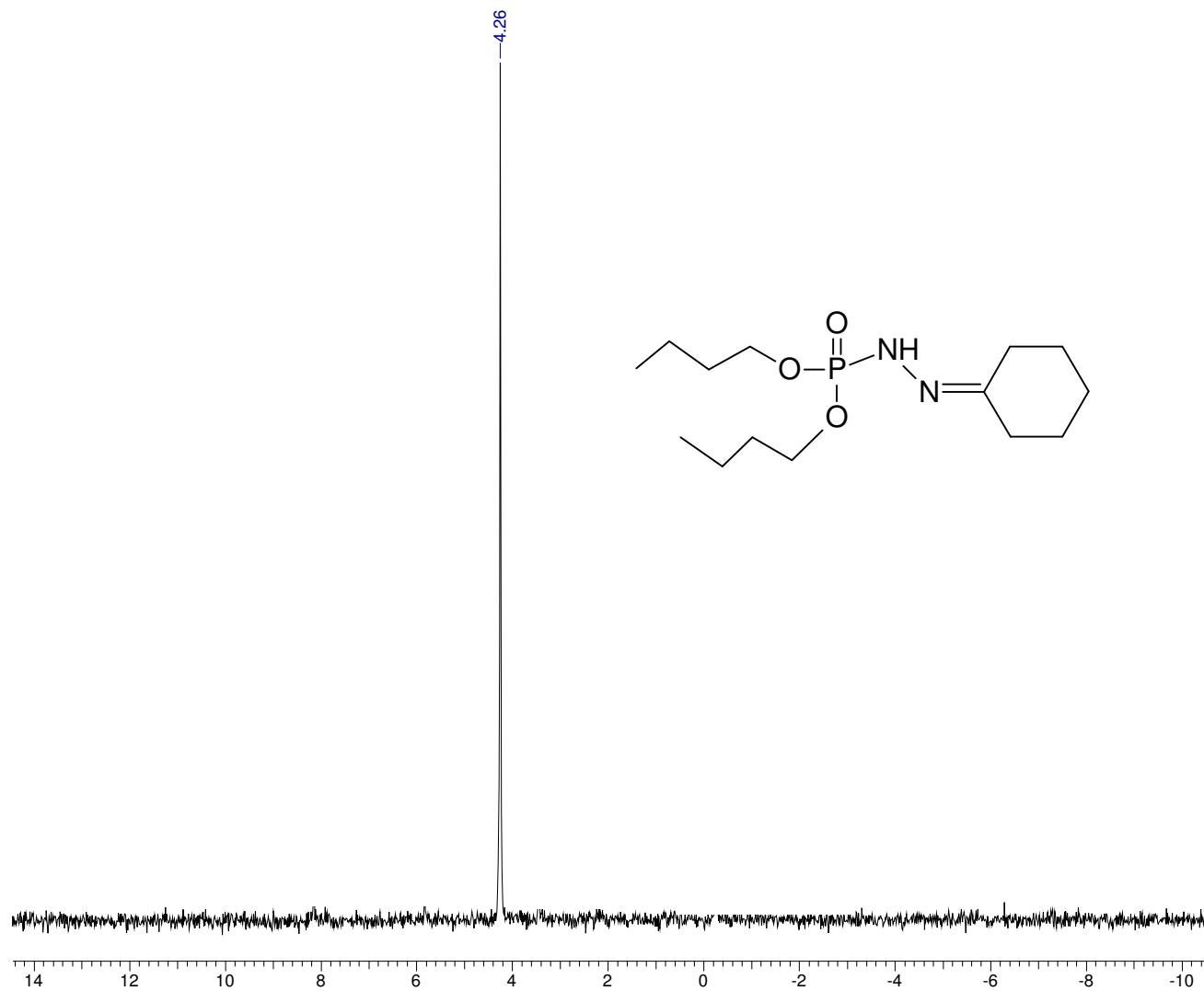


Figura 136: Espectro de RMN ^{31}P totalmente descoplado da dibutilfosforilidrazona da cicloexanona.

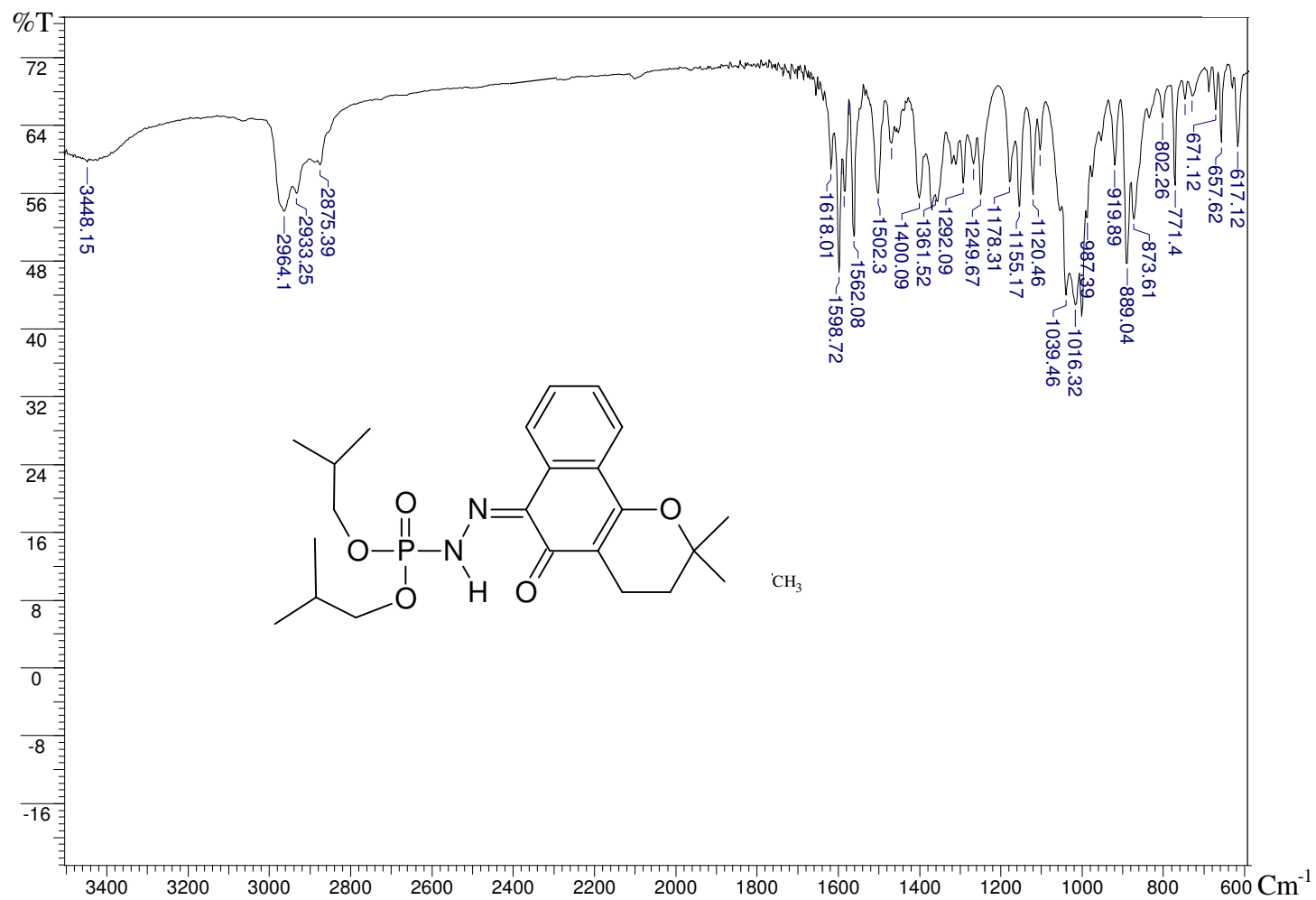


Figura 137: Espectro de IV do éster di-isobutílico do ácido *N'*[(6*Z*)-3,4-di-hidro-2,2-dimetil-5-oxo-2*H*-naftol [1,2-*b*]piran-6(5*H*)-ilideno], fosforoidrazídico.

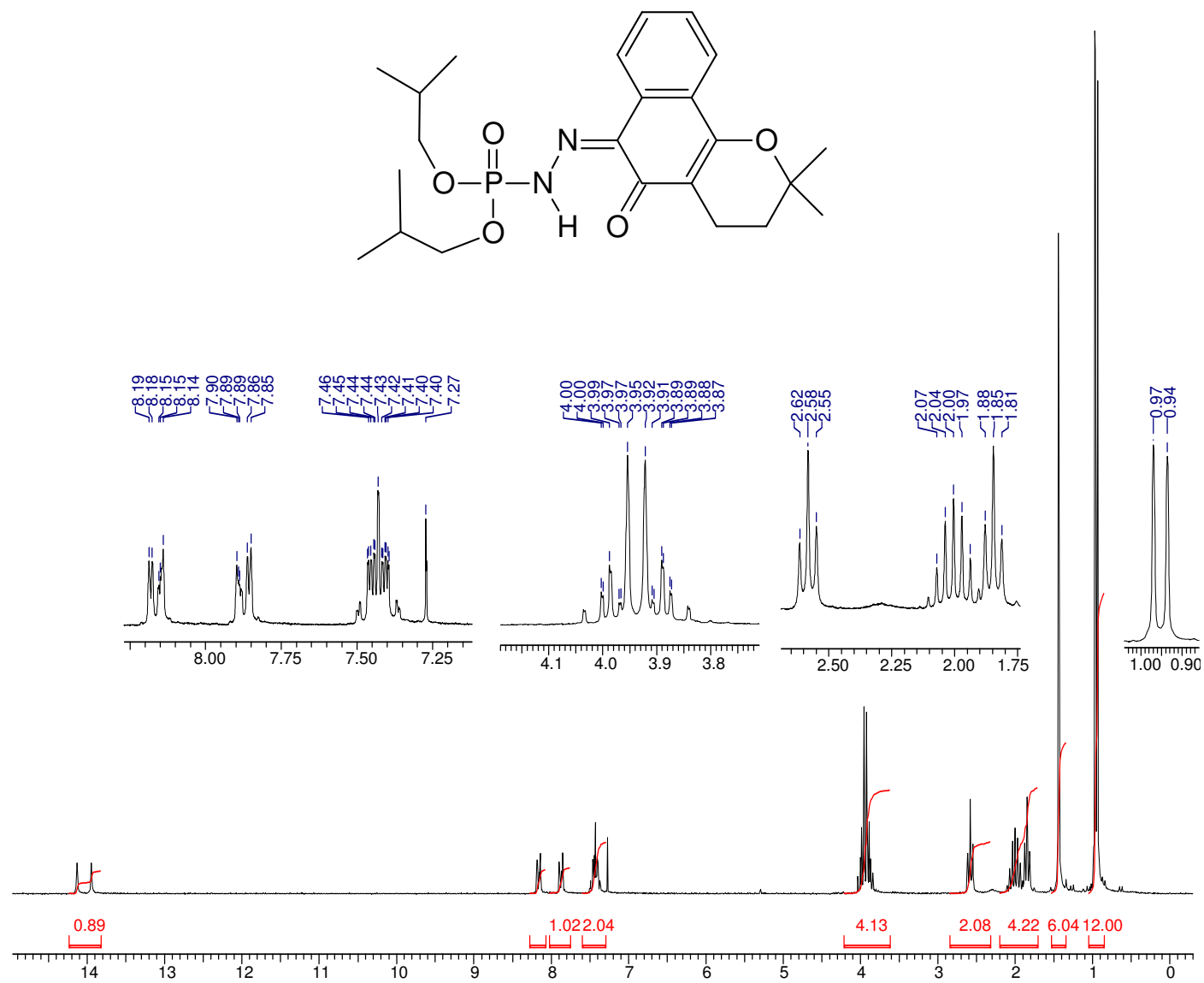


Figura 138: Espectro de RMN ¹H do éster di-isobutílico do ácido *N'*[(6*Z*)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2*H*- naftol [1,2-*b*] piran- 6 (5*H*)- ilideno], fosforidrazídico.

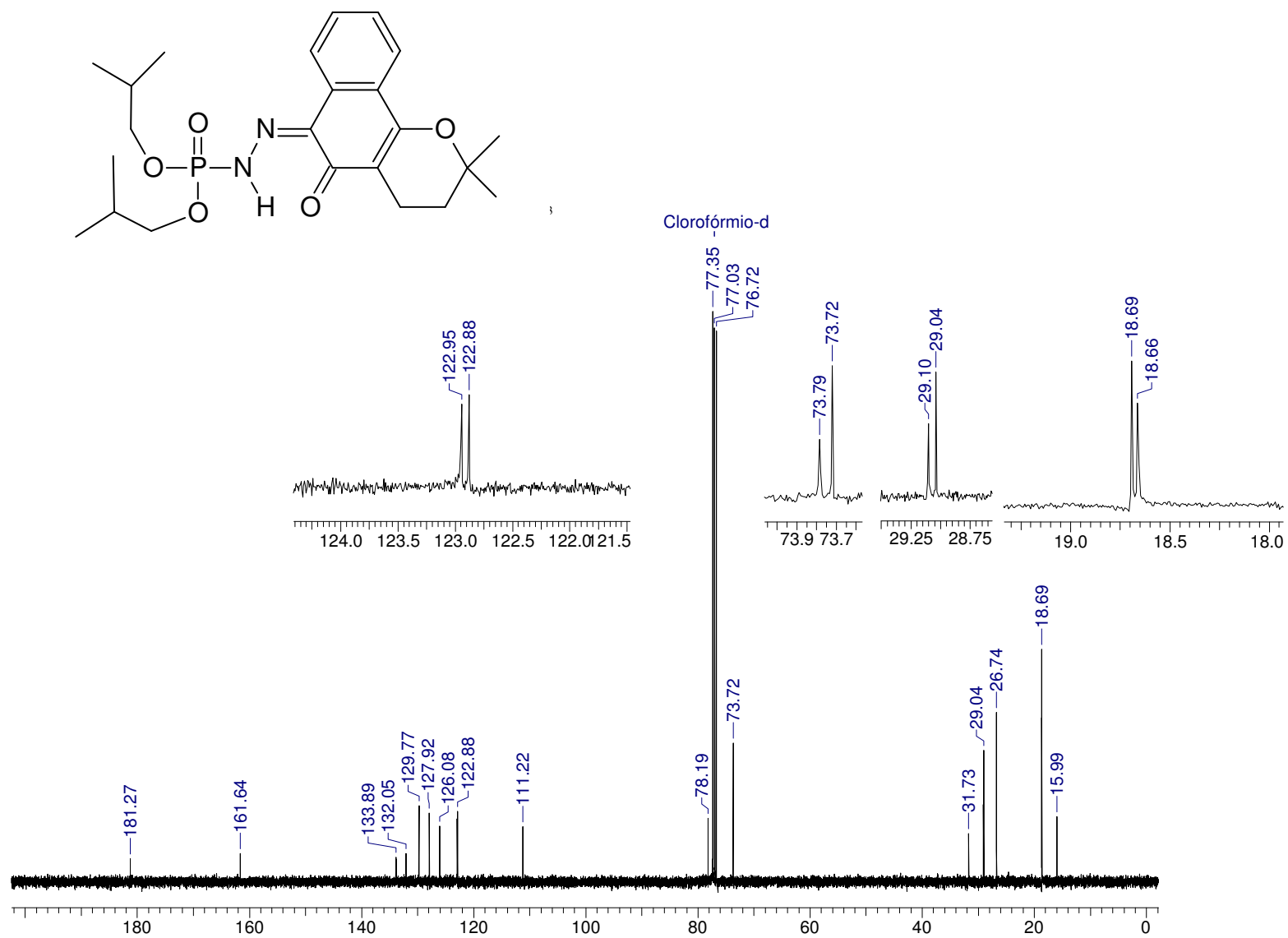


Figura 139: Espectro de RMN ^{13}C do éster di-isobutílico do ácido *N'*[(6*Z*)-3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2*H*- naftol [1,2-*b*]piran- 6 (5*H*)- ilideno], fosforoidrazídico.

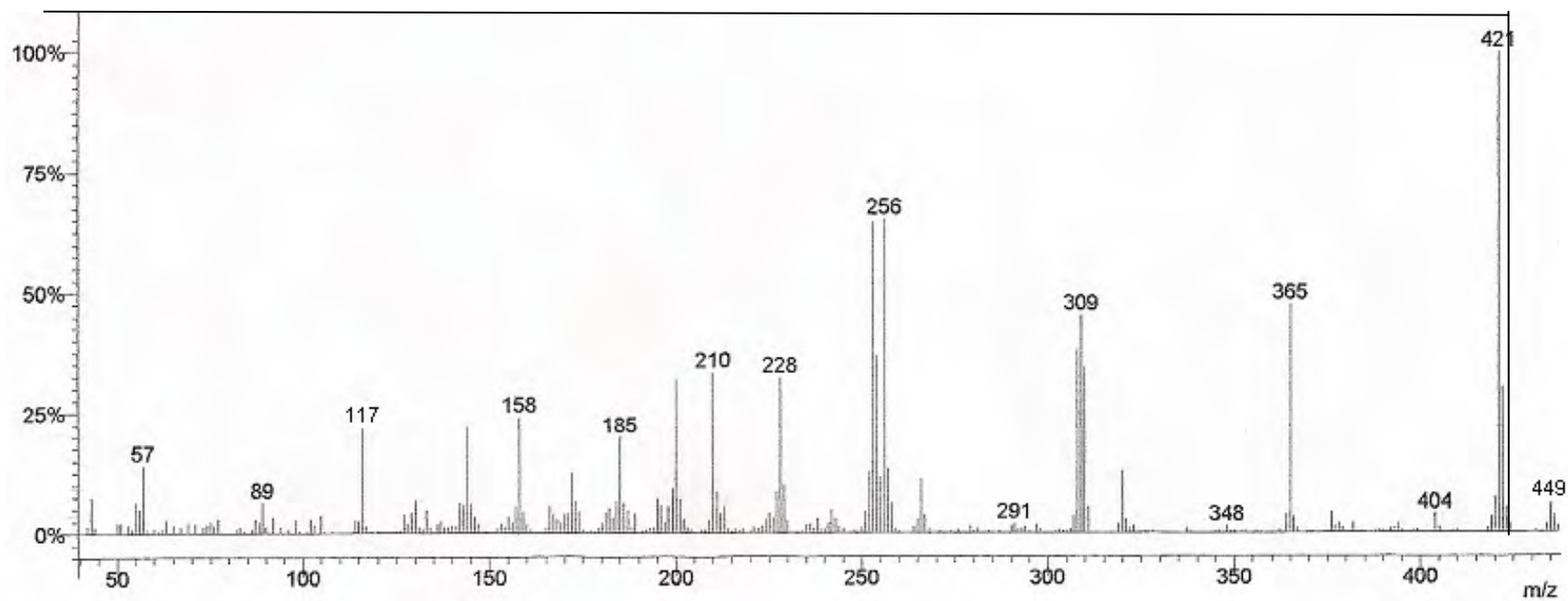
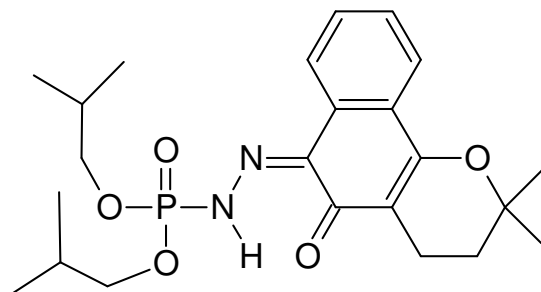


Figura 140: Espectro de massas do éster di-isobutílico do ácido *N'*[(6*Z*)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2*H*- naftol [1,2-*b*]piran- 6 (5*H*)- ilideno], fosforoidrazídico.

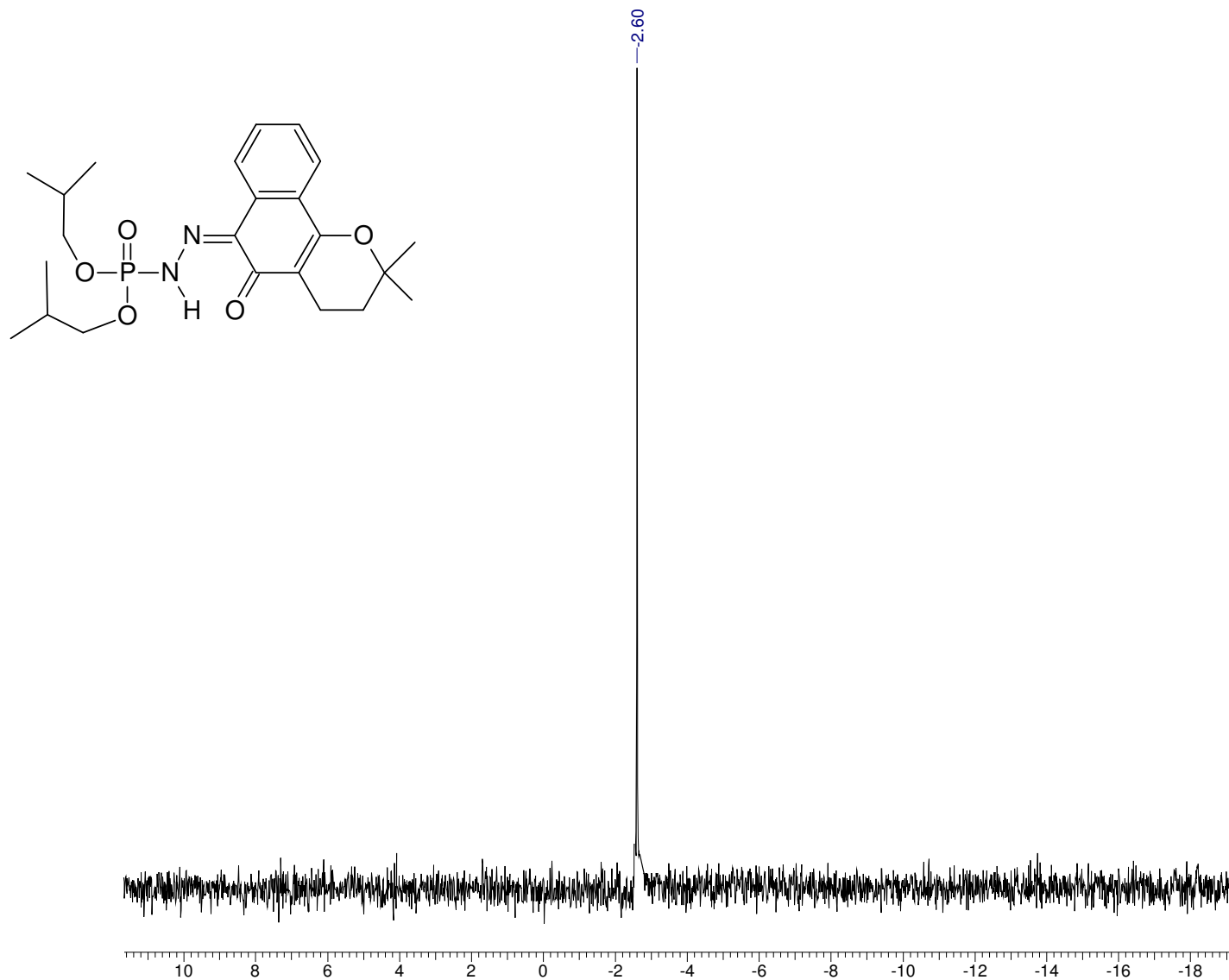


Figura 141: Espectro de RMN ^{31}P totalmente desacoplado do éster diisobutílico do ácido *N'*[(6*Z*)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2*H*- naftol ¹⁹⁵ [1,2-*b*] piran- 6 (5*H*)- ilideno], fosforodiazídico.

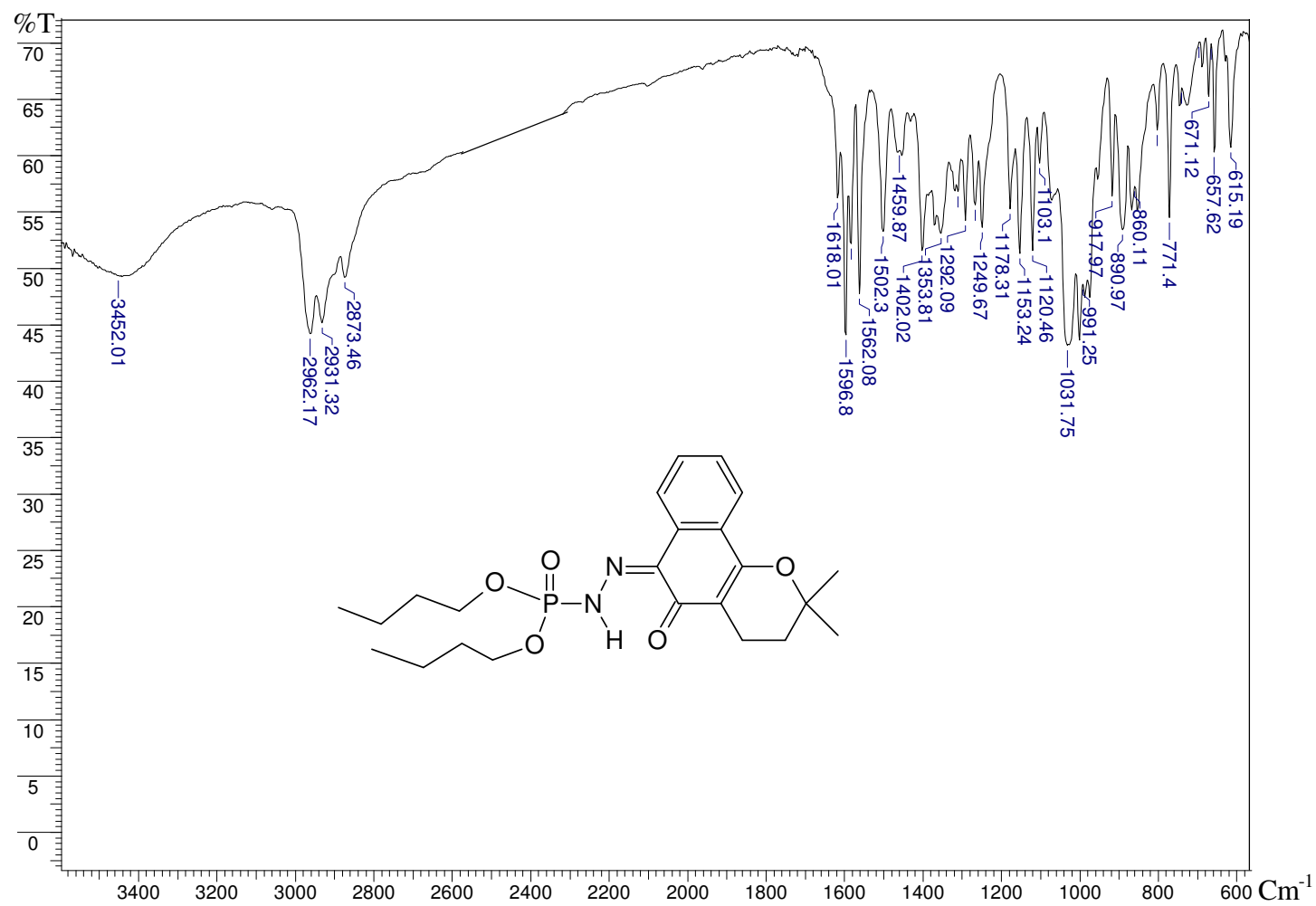


Figura 142: Espectro de IV do éster dibutílico do ácido *N'*[(6*Z*)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2*H*- naftol [1,2-*b*] piran- 6 (5*H*)- ilideno], fosforoidrazídico.

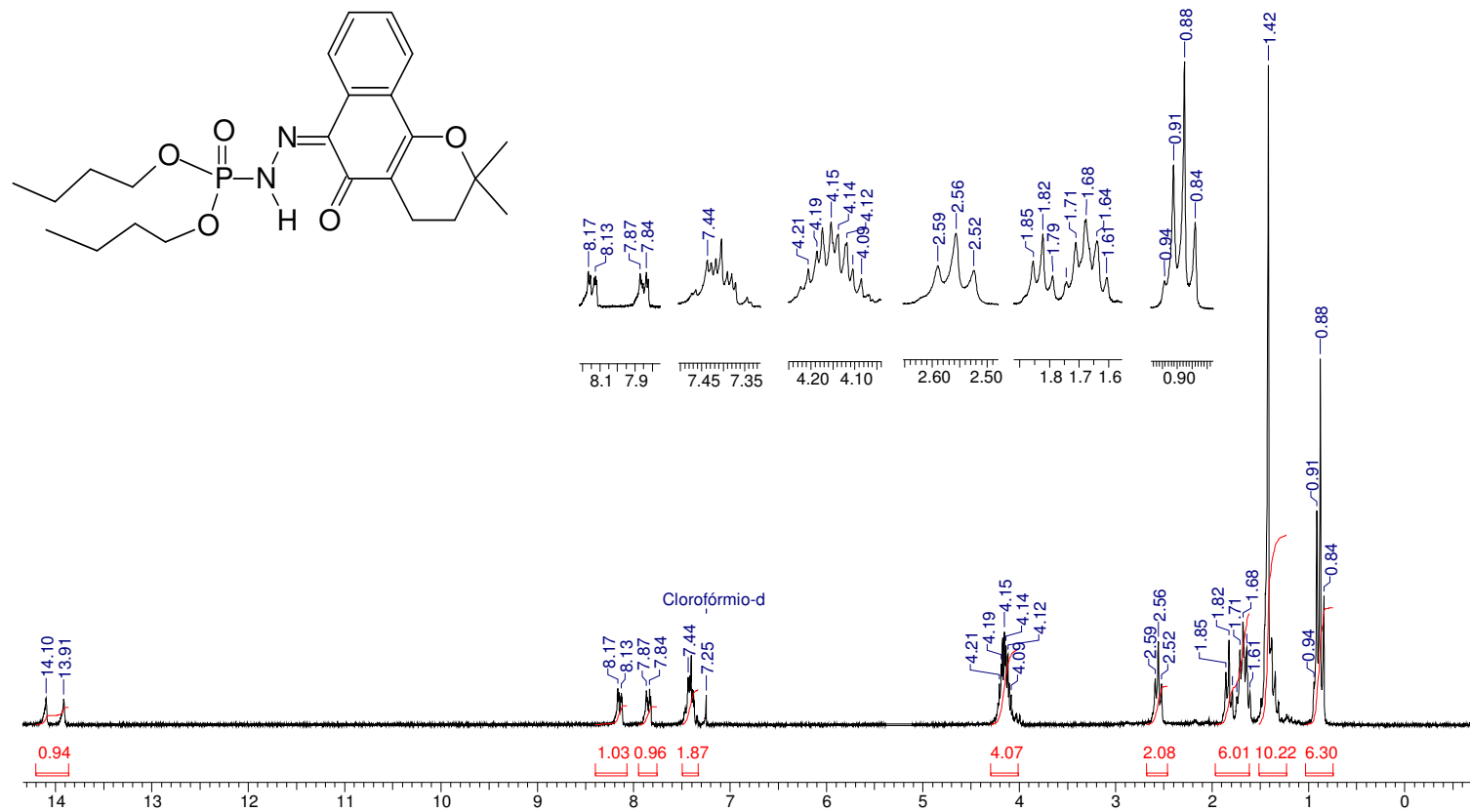


Figura 143: Espectro de RMN ^1H do éster dibutílico do ácido N' [(6Z)-3,4-di-hidro-2,2-dimetil-5-oxo-2H-naftol [1,2-b]piran-6(5H)-ilideno], fosforoidrazídico.

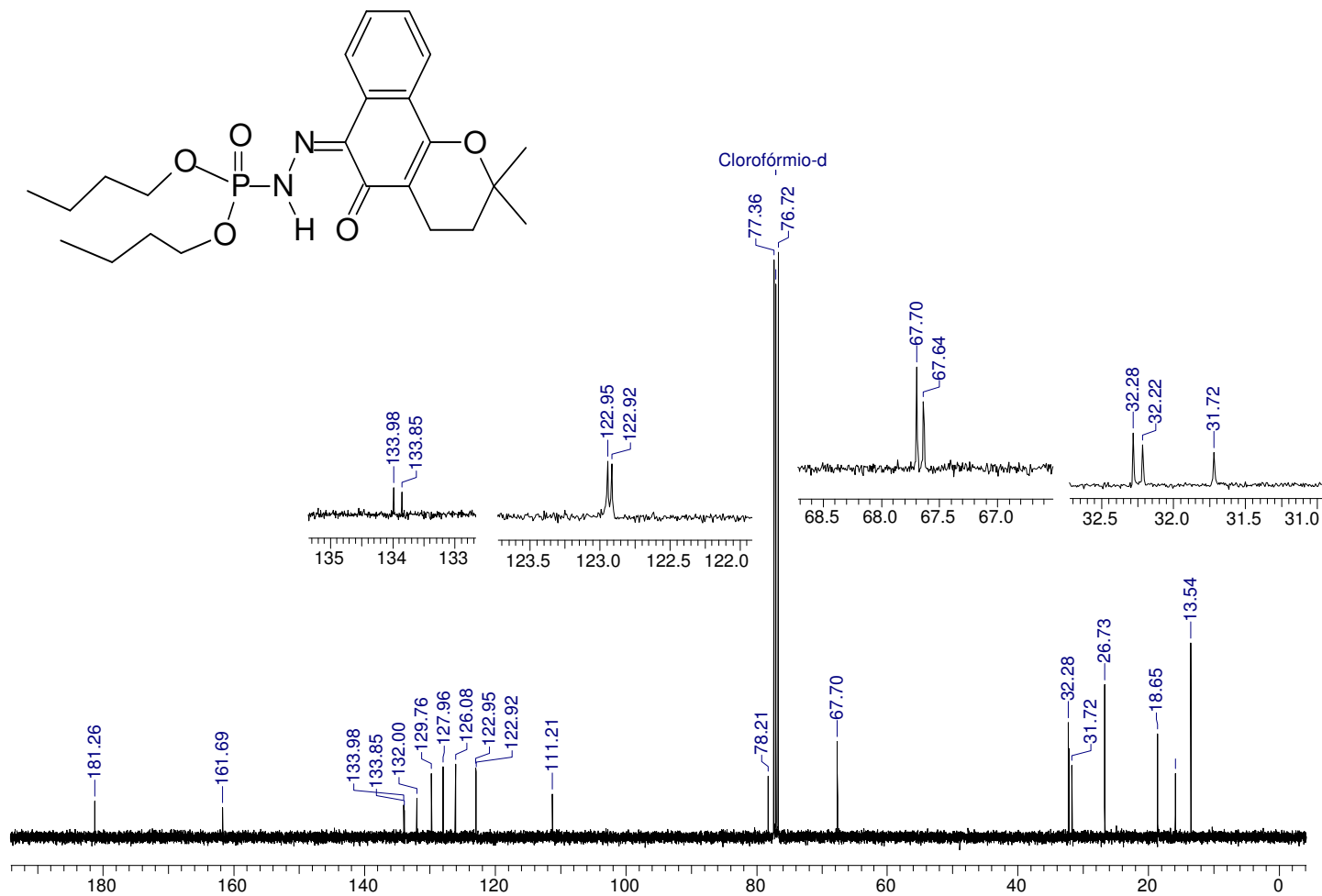


Figura 144: Espectro de RMN ¹³C do éster dibutílico do ácido *N'*[(6*Z*)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2*H*- naftol [1,2-*b*] piran- 6 (5*H*)- ilideno], fosforoidrazídico.

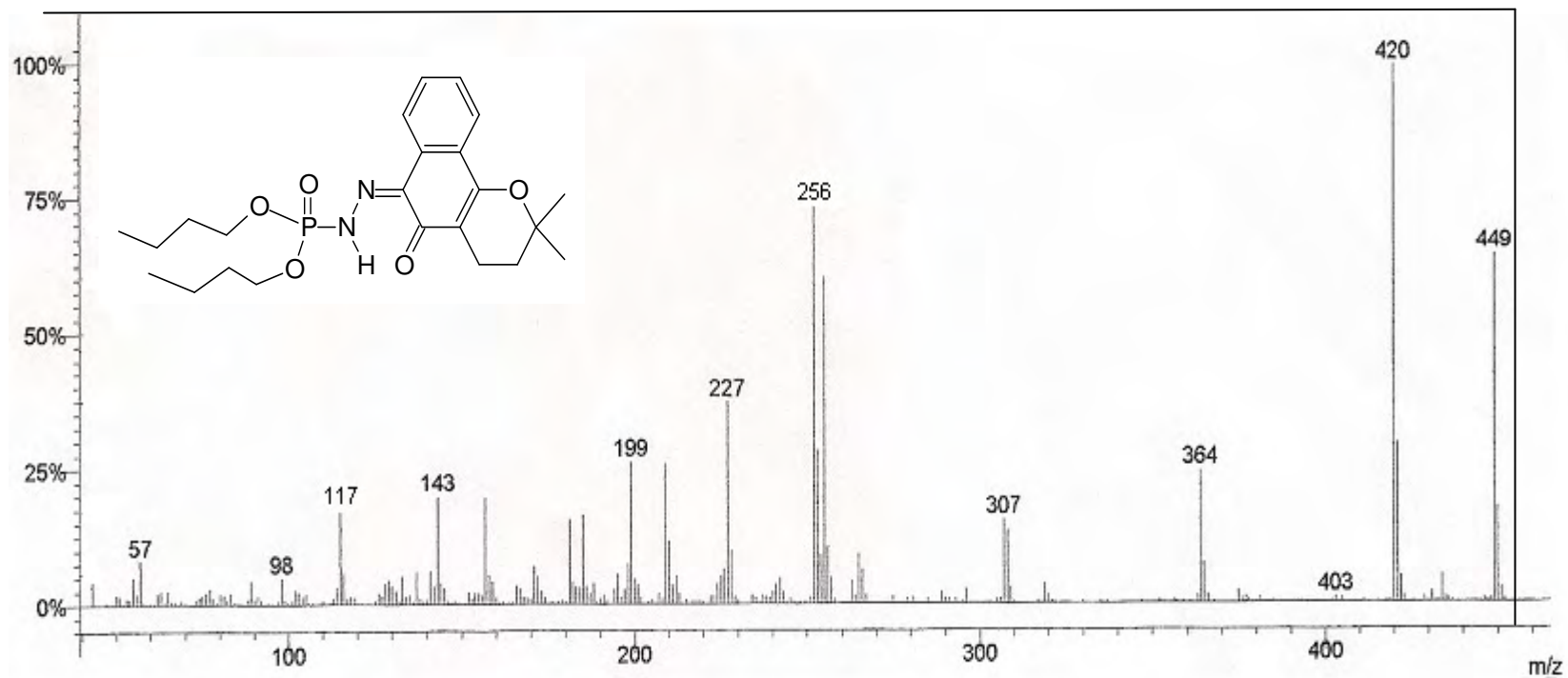


Figura 145: Espectro de massas do éster dibutílico do ácido *N'*[(6*Z*)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2*H*- naftol [1,2-*b*] piran- 6 (5*H*)- ilideno], fosforidrazídico.

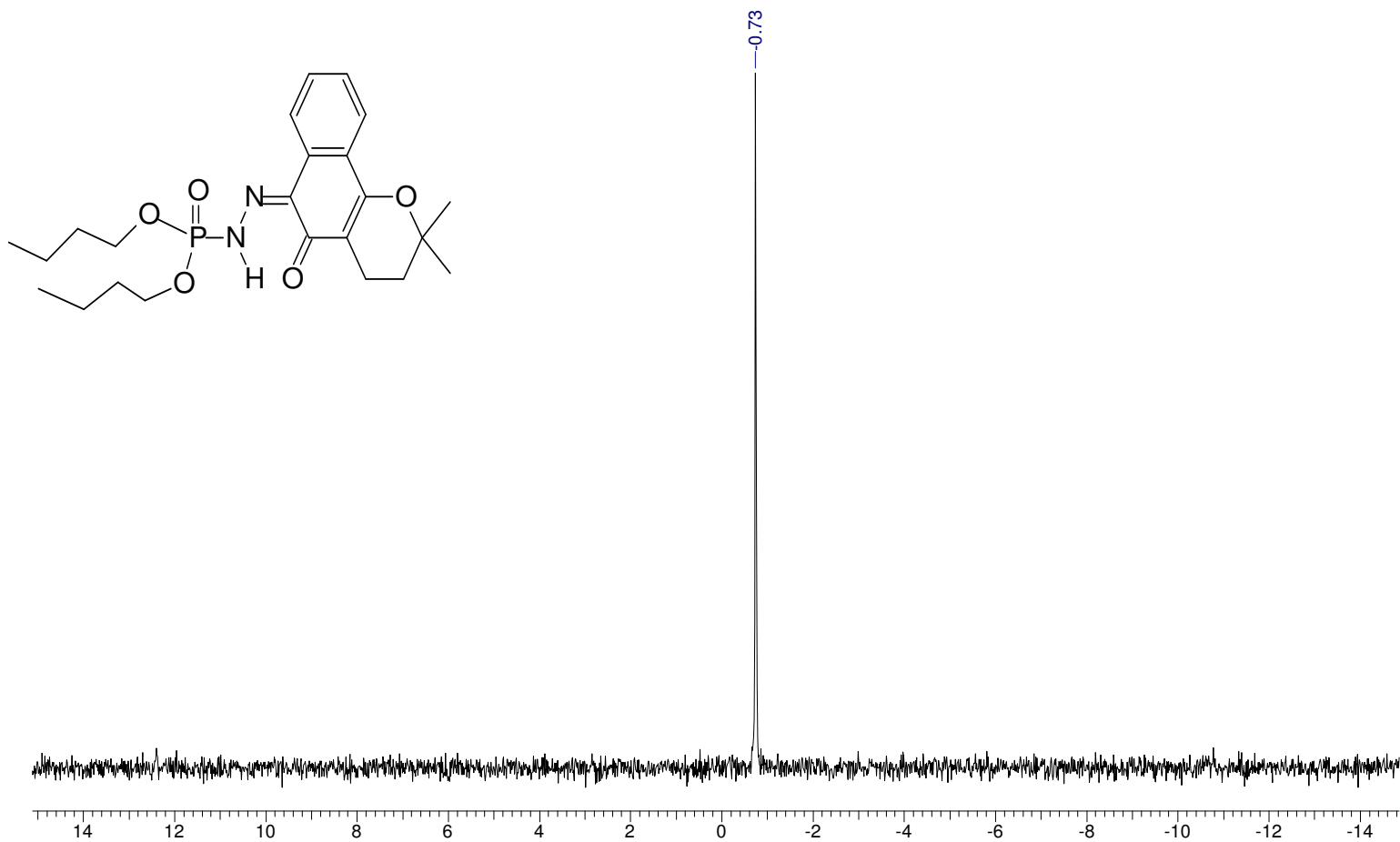


Figura 146: Espectro de RMN ^{31}P totalmente desacoplado do éster dibutílico do ácido *N'*[(6*Z*)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2*H*- naftol [1,2-*b*] piran- 6 (5*H*)- ilideno], fosforoidrazídico.

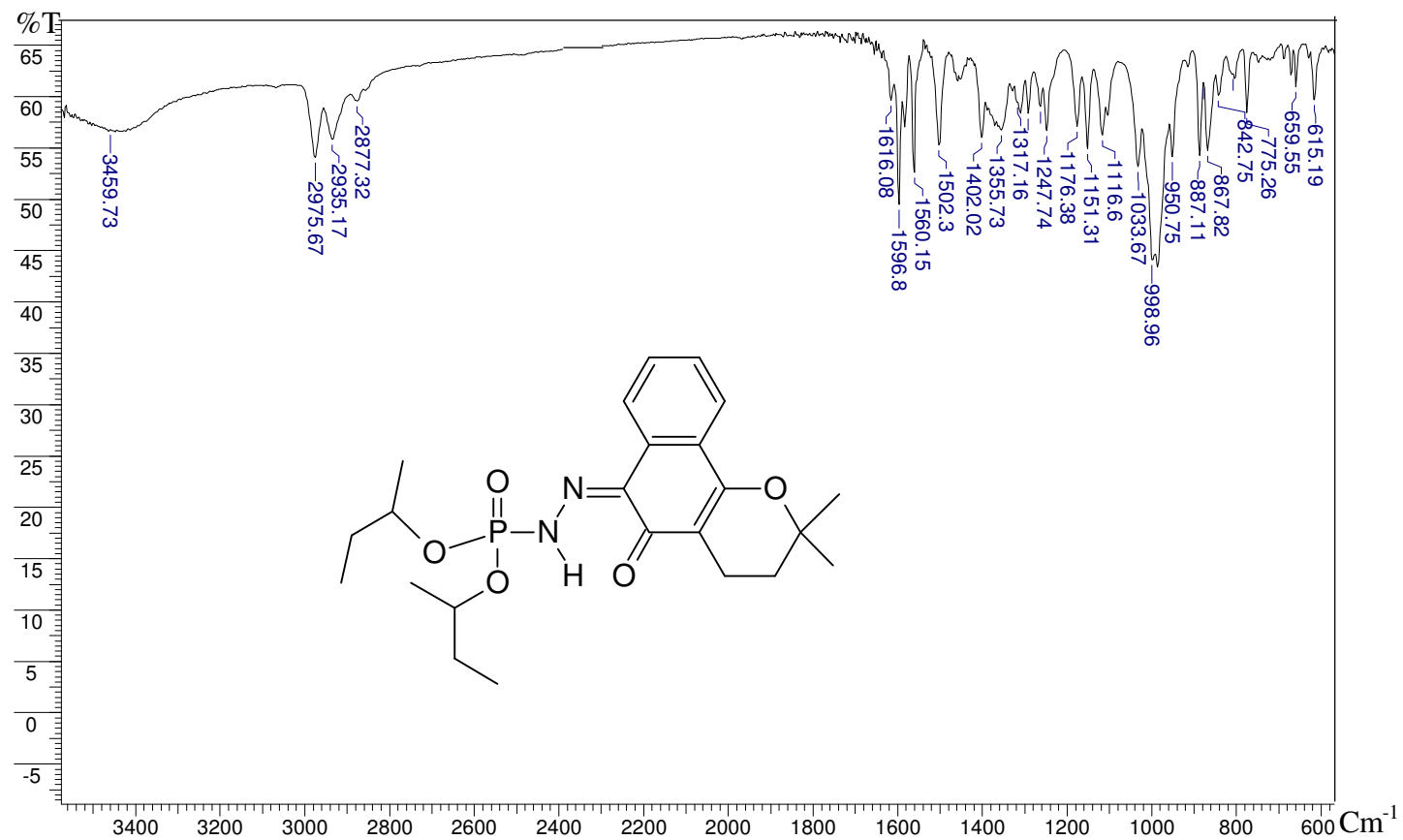


Figura 147: Espectro de IV do éster dissecbutílico do ácido *N'*[(6*Z*)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2*H*- naftol [1,2-*b*] piran- 6 (5*H*)- ilideno], fosforoidrazídico.

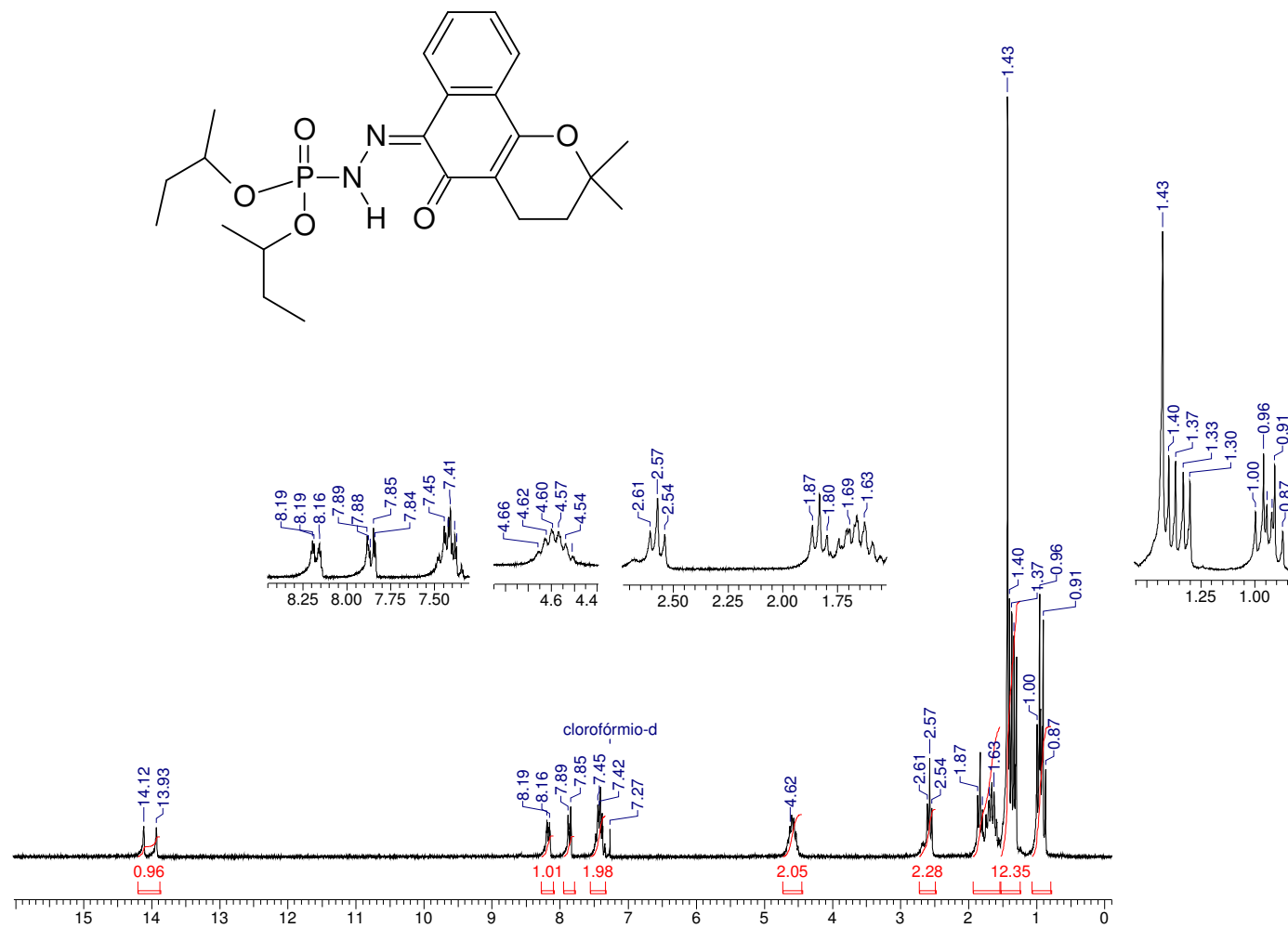


Figura 148: Espectro de RMN ¹H do éster dissecbutílico do ácido *N'*[(6*Z*)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2*H*- naftol [1,2-*b*] piran- 6 (5*H*)- ilideno],²⁰² fosforoidrazídico.

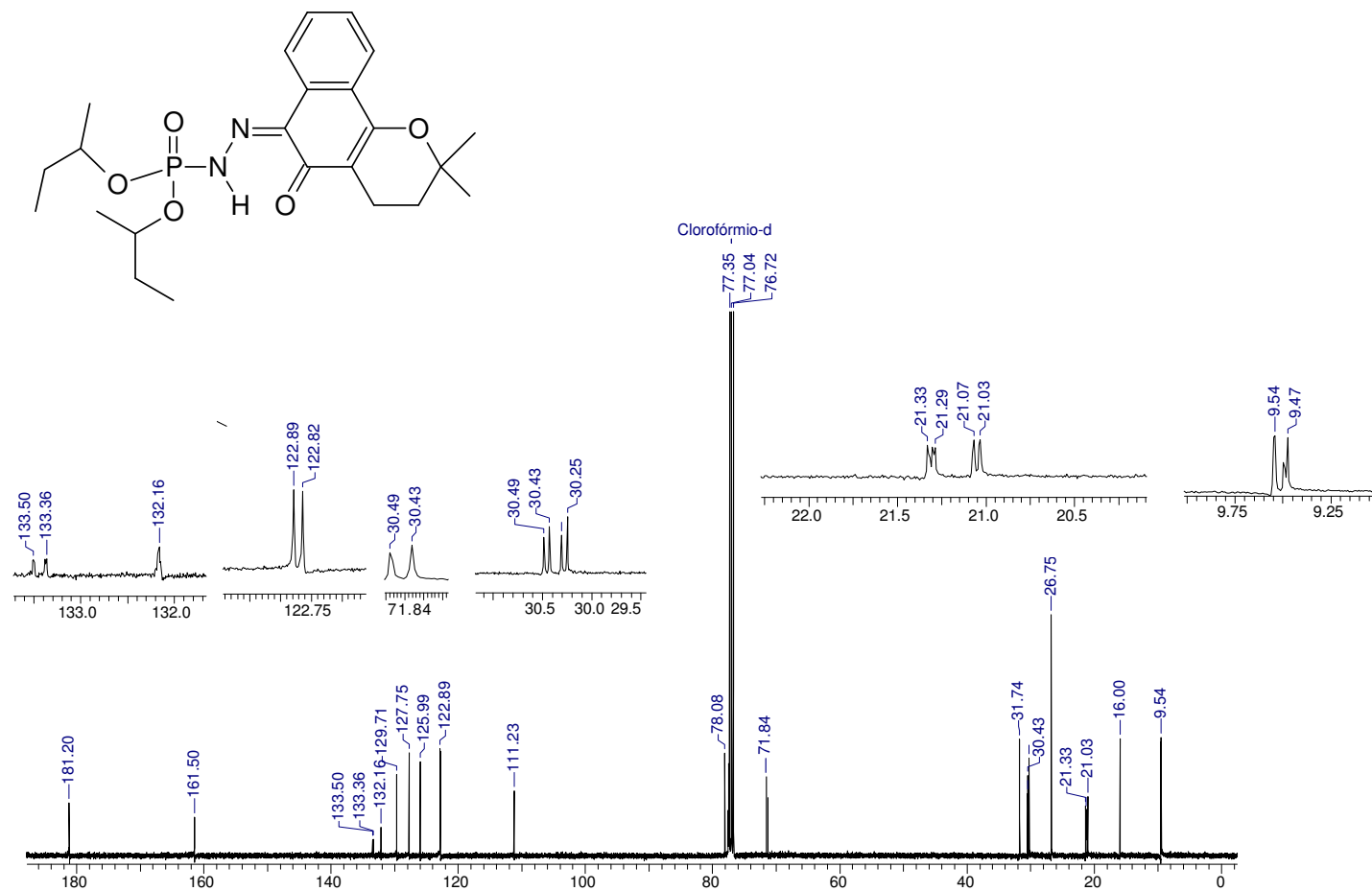


Figura 149: Espectro de RMN ^{13}C do éster dissecebutilico do ácido N' [(6Z)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2H- naftol [1,2-b] piran- 6 (5H)- ilideno], fosforoidrazídico.

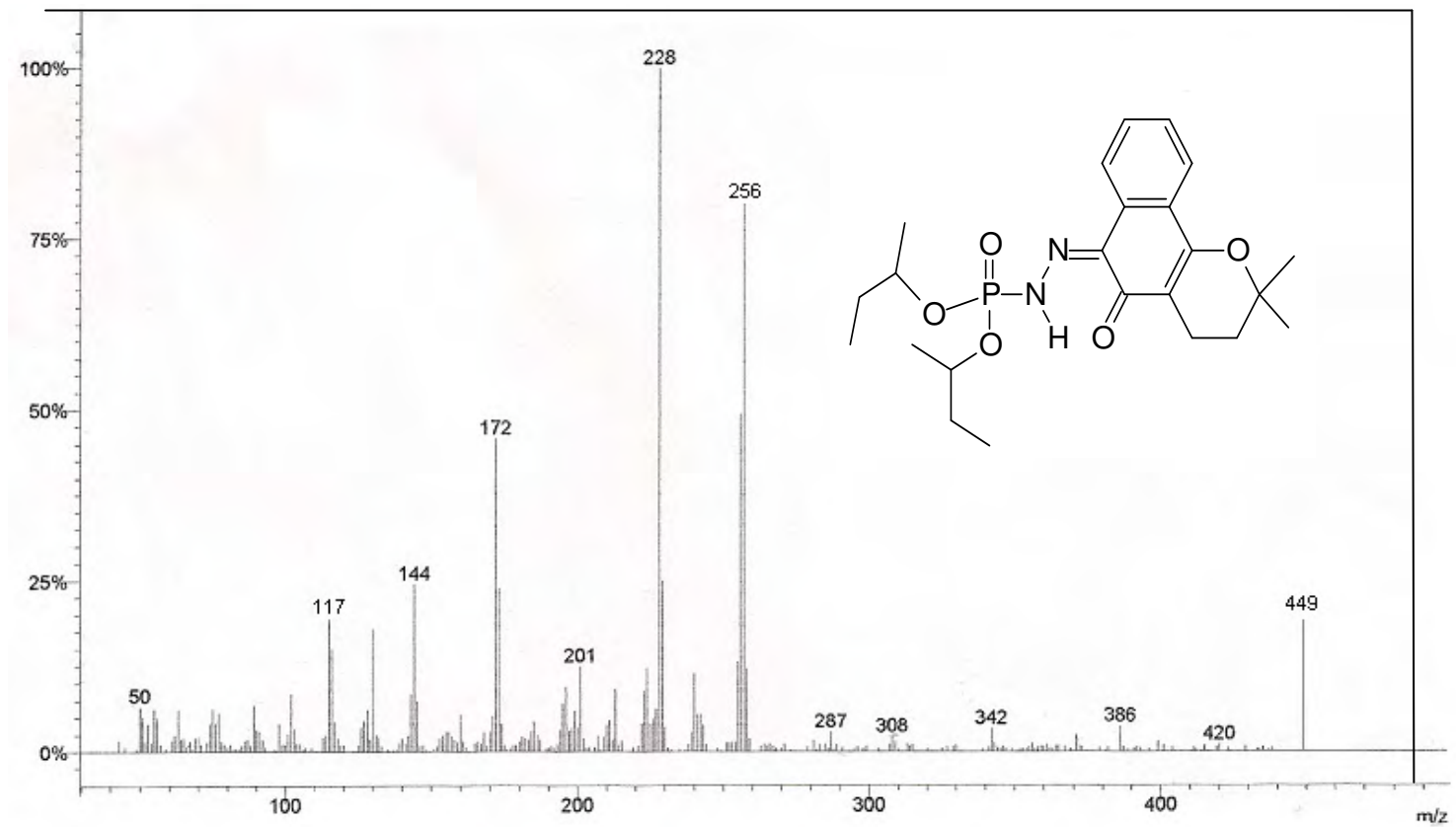


Figura 150: Espectro de massas do éster dissecbutílico do ácido *N'*[(6*Z*)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2*H*- naftol [1,2-*b*] piran- 6 (5*H*)- ilideno], fosforoidrazídico.

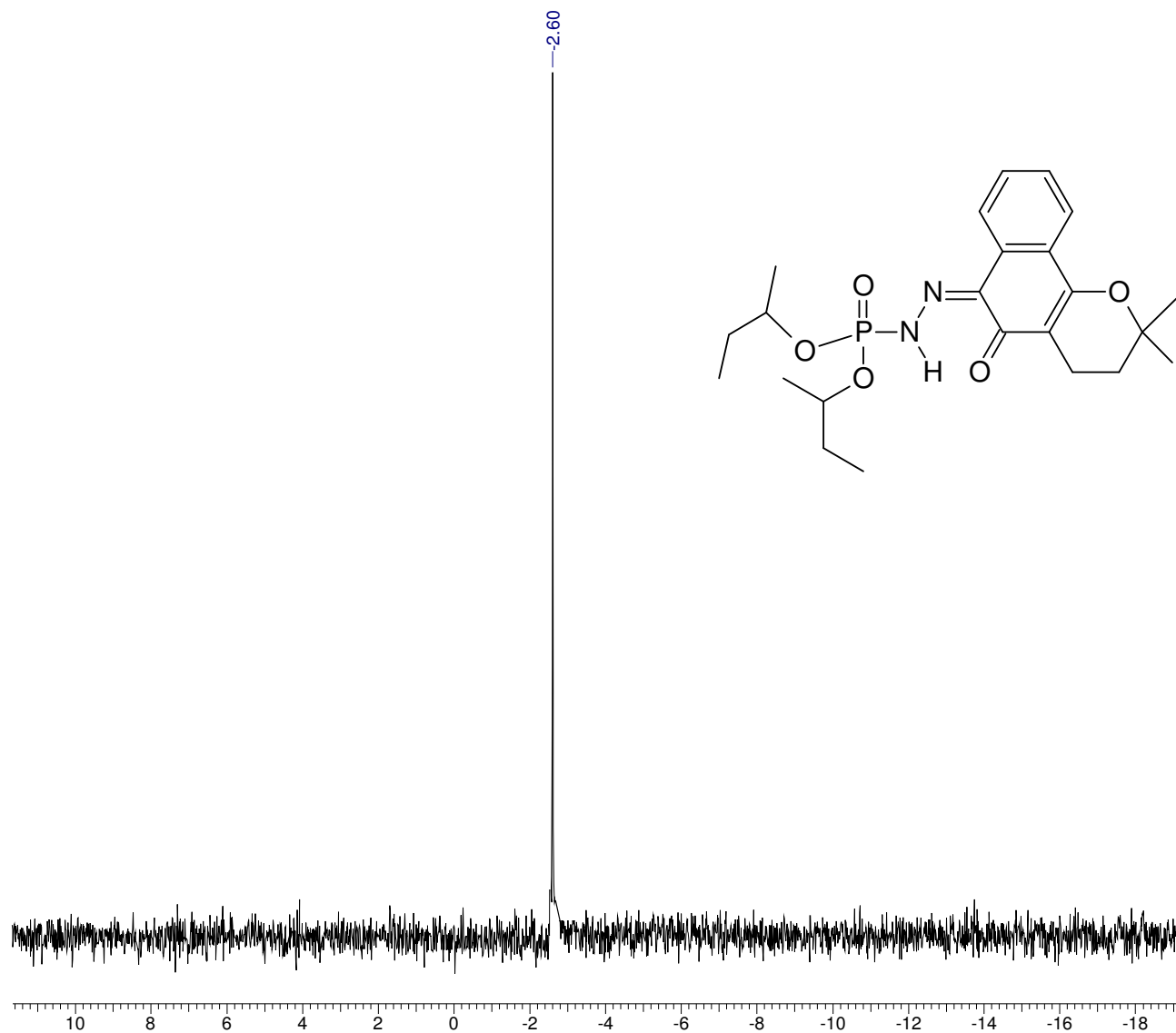


Figura 151: Espectro de RMN ^{31}P totalmente desacoplado do éster dissecbutílico do ácido N' [(6Z)-3,4-di-hidro-2,2-dimetil-5-oxo-2H-nafto[1,2-b]piran-6(5H)-ilideno], fosforoidrazídico.

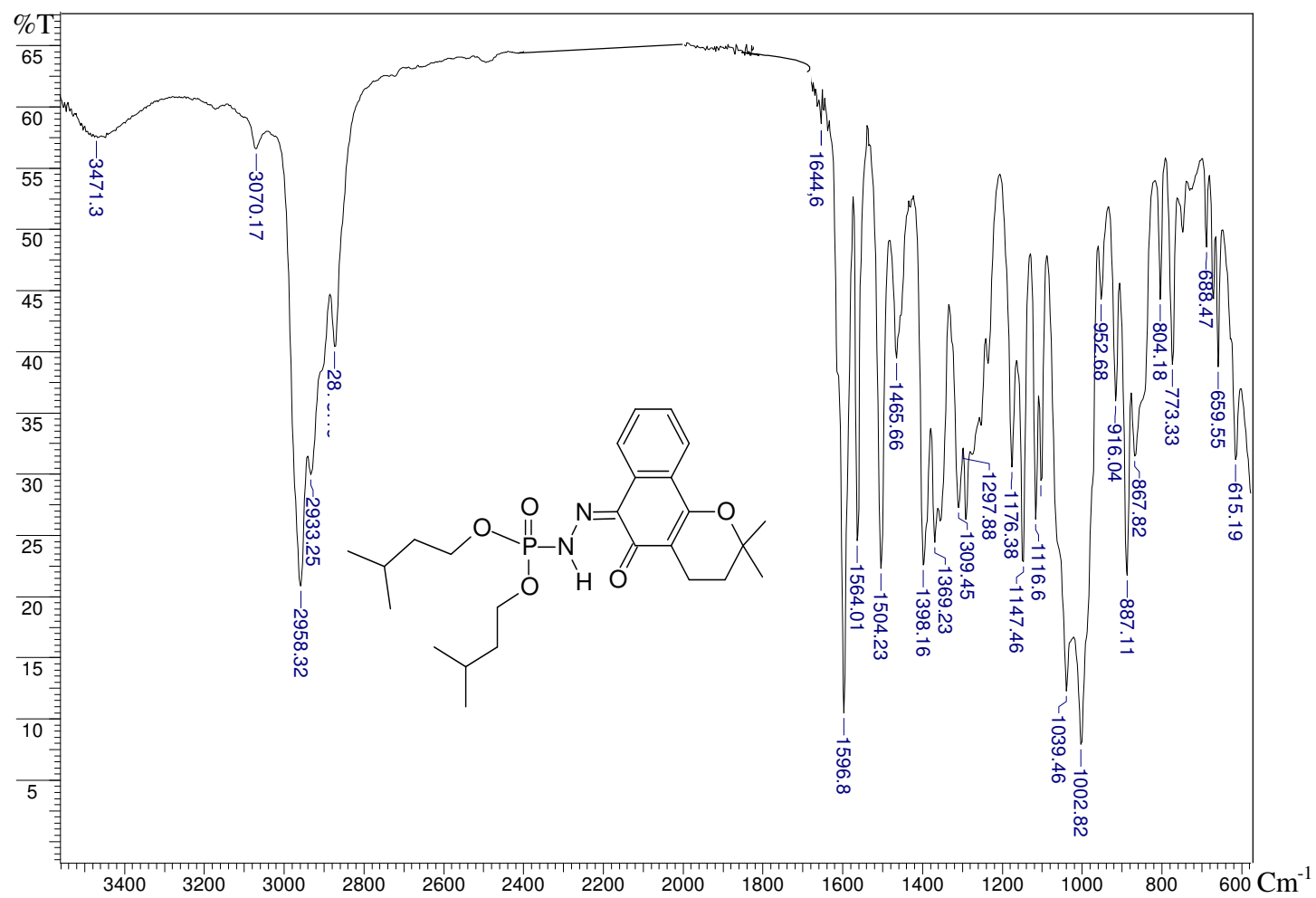


Figura 152: Espectro de RMN ^1H do éster di-isopentílico do ácido N' [(6Z)-3,4-di-hidro-2,2-dimetil-5-oxo-2H-naftol [1,2-b]piran-6(5H)-ilideno]-, fosforoidrazídico.

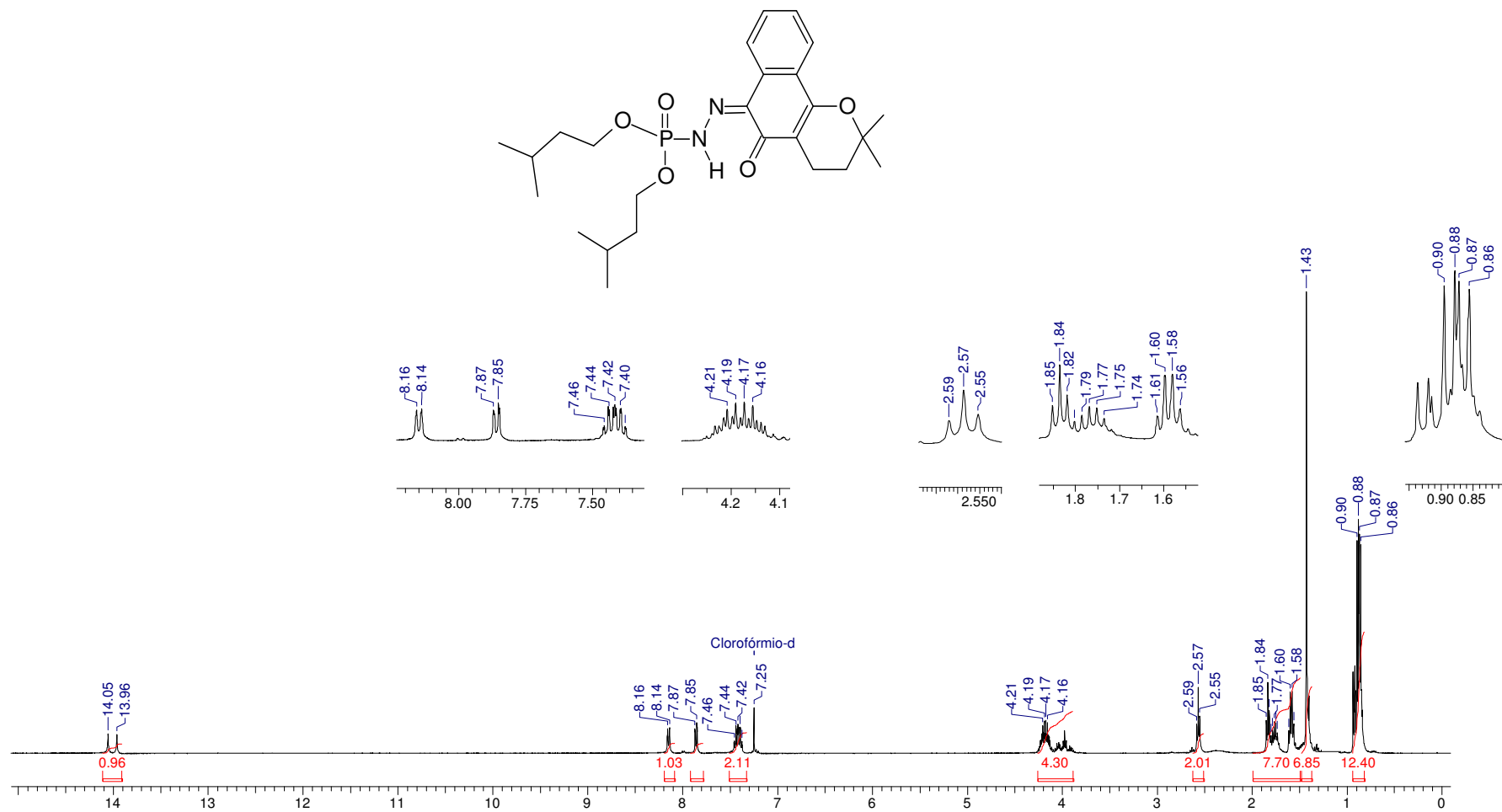


Figura 153: Espectro de RMN ¹H do éster di-isopentílico do ácido *N'*[(6*Z*)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2*H*- naftol [1,2-*b*] piran- 6 (5*H*)- ilideno], fosforodrazídico.

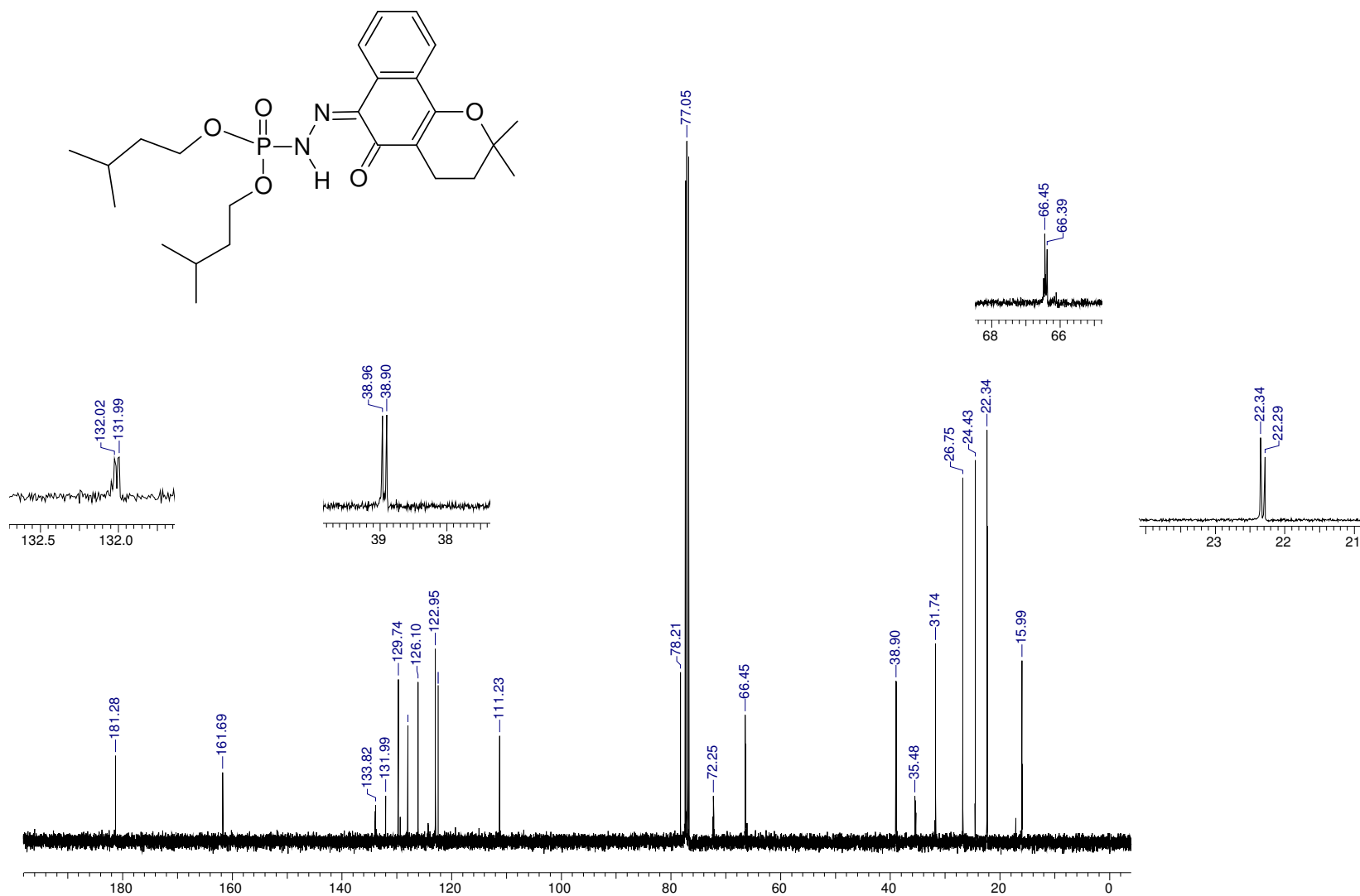


Figura 154: Espectro de RMN ¹³C do éster di-isopentílico do ácido *N'*[(6*Z*)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2*H*- naftol [1,2-*b*] piran- 6 (5*H*)- ilideno], fosforoidrazídico .

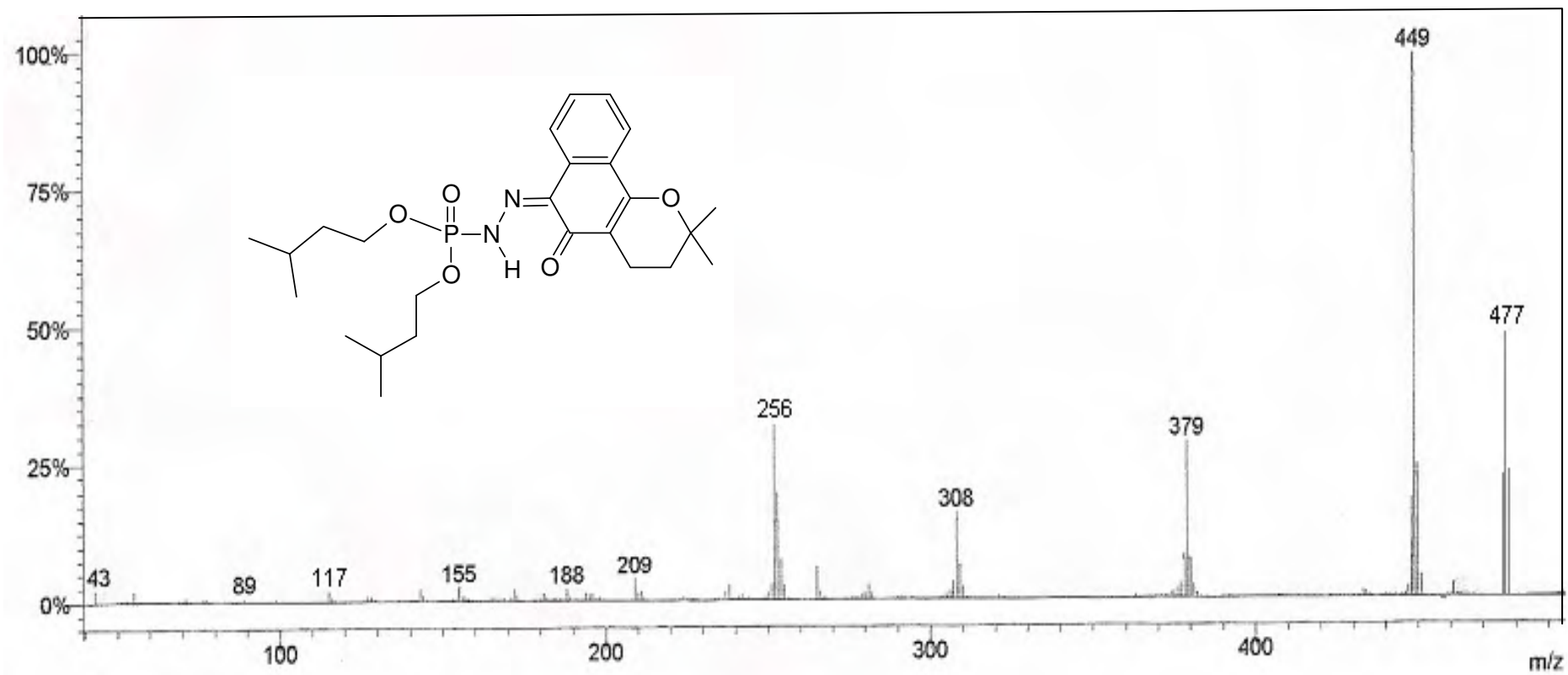


Figura 155: Espectro de massas do éster di-isopentílico do ácido *N'*[(6*Z*)- 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil- 5- oxo- 2*H*- naftol [1,2-*b*] piran- 6 (5*H*)- ilideno], fosforidrazídico.

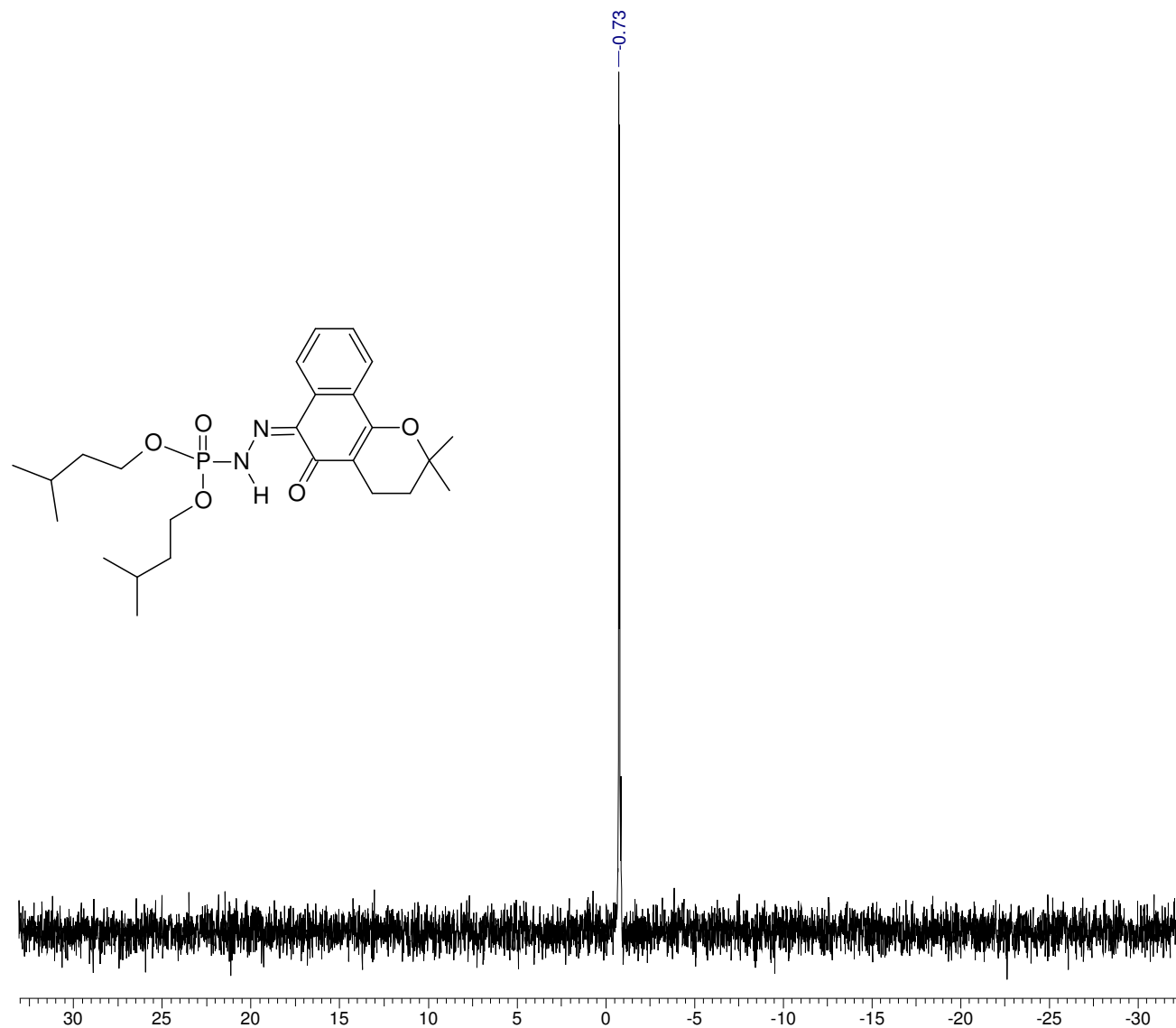


Figura 156: Espectro de RMN ^{31}P totalmente desacoplado do éster di-isopentílico do ácido *N'*[(6*Z*)-3,4-di-hidro-2,2-dimetil-5-oxo-2*H*-naftol [1,2-*b*]piran-6(5*H*)-ilideno], fosforidrazídico.

