

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

TESE DE DOUTORADO

DIALQUILFOSFORILIDRAZONAS E *N,N'*-
BIS(DIISOBUTILFOSFORILTIOAMIDA)DIAMINAS: SÍNTESE,
CARACTERIZAÇÃO, MODELAGEM MOLECULAR E ESTUDO DA
ATIVIDADE BIOLÓGICA

Janaína Marques Rodrigues Caixeiro

2007



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

**DIALQUILFOSFORILIDRAZONAS E *N,N'*-
BIS(DIISOBUTILFOSFORILTIOAMIDA)DIAMINAS: SÍNTESE,
CARACTERIZAÇÃO, MODELAGEM MOLECULAR E ESTUDO
DA ATIVIDADE BIOLÓGICA**

JANAÍNA MARQUES RODRIGUES CAIXEIRO

Sob a Orientação do Professor Dr.
João Batista Neves da Costa

e Co-orientação do Professor Dr.
Carlos Maurício Rabello de Sant'Anna

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

Seropédica, RJ
Dezembro de 2007

547.07
C138d
T

Caixeiro, Janaína Marques Rodrigues, 1976-
Dialquilfosforilidrazonas e *N,N'*-
Bis(Diisobutilfosforiltioamida)diaminas:
síntese, caracterização, modelagem
molecular e estudo da atividade biológica
/ Janaína Marques Rodrigues Caixeiro. -
2007.
320f : il.

Orientador: João Batista Neves da
Costa.

Tese (doutorado) - Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Instituto de
Ciências Exatas.

Bibliografia: f. 119-126.

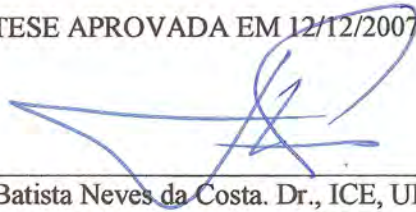
1. Compostos organofosforados - Teses.
2. Síntese orgânica - Teses. 3.
Inseticidas - Teses. I. Costa, João
Batista Neves da. II. Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. Instituto de
Ciências Exatas. III. Título.

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

JANAÍNA MARQUES RODRIGUES CAIXEIRO

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

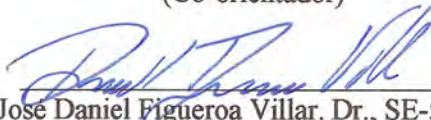
TESE APROVADA EM 12/12/2007



João Batista Neves da Costa. Dr., ICE, UFRRJ
(Orientador - Presidente)



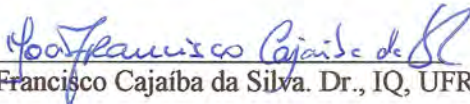
Carlos Maurício Rabello de Sant'Anna. Dr., ICE, UFRRJ
(Co-orientador)



José Daniel Figueroa Villar. Dr., SE-5, IME



Sérgio Pinheiro. Dr., IQ, UFF



João Francisco Cajaíba da Silva. Dr., IQ, UFRJ



Marco Edilson Freire de Lima. Dr., ICE, UFRRJ

Dedico este trabalho ao meu
marido André Manoel pelo
incondicional apoio e total
incentivo, à minha mãe Tereza pela
dedicação e estímulo, ao meu pai
Manuel por toda a contribuição à
minha formação, ao meu irmão
Robson e a minha cunhada Verônica
pela torcida e ao meu sobrinho e
afilhado Paulo Vitor, que há 1 ano e
5 meses tem alegrado ainda mais os
meus dias.

AGRADECIMENTOS

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

Ao professor João Batista Neves da Costa, pela orientação, compreensão, confiança, paciência, por acreditar na conclusão deste trabalho e, principalmente, pela amizade ao longo destes onze anos de convívio.

Ao professor Carlos Maurício Rabello de Sant'Anna pela co-orientação, pela valiosa e imprescindível contribuição, pelo incentivo e por muitas vezes ser o ponto de equilíbrio no decorrer do desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores Rosane Nora Castro, Marco Edilson Freire de Lima e Victor Marcos Rumjanek pela atenção dispensada e importante contribuição.

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.

Ao Prof. Dr. José Daniel Figueroa Villar, do Instituto Militar de Engenharia, pela realização da maioria dos espectros de RMN de ^{31}P .

À Profa. Dra. Márcia Cristina Campos de Oliveira, do Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica desta Universidade, pela colaboração nos testes de ação sobre a enzima tirosinase.

Ao Prof. Dr. Wellington da Silva Cortês, do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFRRJ, pela realização dos ensaios em camundongos.

Ao Prof. Dr. Gonzalo Efrain Moya Borja, do Departamento de Parasitologia do Instituto de Veterinária da UFRRJ e seus alunos de pós-graduação, Amanda Chaaban e Élio Barbieri, pela colaboração nos ensaios de avaliação da atividade inseticida.

Aos colegas que já passaram e àqueles que ainda estão no Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica da UFRRJ: Aline, Andressa, Ari, Bauer, Cláudio, Cleonice, Cristian, Cristina, Daniel, Ildomar, Juliana, Kenia, Luciano, Luis Roberto, Mário Sérgio, Marli, Miguel, Regina, Rodney, Rose, Virgínia, Viviane e Wellison, pelos anos de agradável convivência e toda a ajuda.

Aos colegas de laboratório Andréa Janaína e Vinícius, pela eficiente colaboração, companheirismo, e momentos de agradável convivência.

À CAPES pelo auxílio financeiro concedido no início deste trabalho.

À chefe da Divisão de Metrologia Química do Inmetro, Dra. Vanderléa de Souza, por todo o apoio e por possibilitar o desenvolvimento e conclusão deste trabalho de tese.

Aos amigos da Divisão de Metrologia Química do Inmetro, Isabel Cristina, Francisco Júnior, Tânia Maria, Marcus Henrique e Valnei, pelo estímulo, pelo ombro amigo e pelas palavras decisivas.

A todos os integrantes da Divisão de Metrologia Química do Inmetro, em especial do Laboratório de Análise Orgânica, pelo incentivo, pela torcida, pela compreensão e colaboração em todos os momentos, principalmente naqueles de ausência.

Ao Marcus Vinícius, por tão eficientemente ter sido meu mensageiro.

Aos meus sogros Maria Alcina e Manuel, e minha cunhada Andréa, pela torcida e apoio.

Aos meus pais Manuel e Tereza, por tudo o que me foi transmitido e por toda a dedicação à minha formação.

À minha mãe Tereza, pela presença constante e por ser a minha grande amiga.

Ao meu marido André Manoel, pela companhia, inclusive nos finais de semana no laboratório, pela compreensão, paciência e por todo o carinho.

A Deus por permitir minha existência e a Quem eu tenho sempre muito a agradecer.

BIOGRAFIA

Janaína Marques Rodrigues Caixeiro nasceu em 25 de agosto de 1976 na cidade do Rio de Janeiro, RJ, filha de Manuel dos Santos Rodrigues e Tereza Marques Rodrigues. Em 1993 ingressou na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) no curso de Engenharia Química, onde se graduou em 1997. No período de 1994 a 1997 foi bolsista de iniciação científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), sempre atuando na área de síntese orgânica. Em 1998 foi admitida ao curso de Pós-Graduação em Química Orgânica da UFRRJ no nível mestrado (bolsista do CNPq), obtendo o grau de mestre em abril de 2000. Neste mesmo ano ingressou no referido curso de Pós-Graduação no nível doutorado (bolsista CAPES). Em 2002, através de concurso público, foi admitida no Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), onde atua como responsável pelo Laboratório de Análise Orgânica da Divisão de Metrologia Química.

RESUMO

CAIXEIRO, Janaína Marques Rodrigues. **Dialquilfosforilidrazonas e *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas: Síntese, Caracterização, Modelagem Molecular e Estudo da Atividade Biológica.** 2007. Tese (Doutorado em Química Orgânica, Síntese Orgânica). Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

Uma série de 22 dialquilfosforilidrazonas (ácido fosforoidrazídico, *N'*-[(1*E*)-(R₁fenil)metileno]-, éster de dialquila), sendo 20 inéditas, e 3 novas *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas (bis-[(ácido fosforamídico, éster de diisobutila), *N*-tioxometileno]-, diamina) foram sintetizadas e caracterizadas pelas técnicas de espectrometria de IV, RMN de ¹H, RMN de ¹³C, RMN de ³¹P e massas. As análises de RMN de ¹H, RMN de ¹³C, RMN de ³¹P e NOE confirmaram a obtenção de somente o diastereoisômero *E* na síntese das dialquilfosforilidrazonas. Os resultados do estudo de modelagem molecular realizado para avaliar o mecanismo da reação de síntese das dialquilfosforilidrazonas foram compatíveis com os resultados experimentais, uma vez que demonstraram o favorecimento da formação do diastereoisômero *E* em relação ao *Z*. Todos os compostos sintetizados foram avaliados quanto à capacidade inibitória da ação difenolase da enzima tirosinase, sendo que os compostos 5, 8 e 13 foram os que apresentaram os maiores efeitos inibitórios, sendo as IC₅₀ correspondentes a 102,58 μM, 191,44 μM e 210,81 μM, respectivamente. Estas dialquilfosforilidrazonas também tiveram a ação antinociceptiva, farmacológica geral e tóxica avaliada através de testes em camundongos, não sendo observada qualquer atividade até a concentração máxima de 100 mg/kg. Todos os compostos sintetizados também tiveram a ação inseticida avaliada frente à espécie de mosca *Musca domestica*, porém não apresentaram qualquer efeito inseticida. A inabilidade destes compostos em agirem como inseticidas foi confirmada pelos estudos de modelagem molecular, que demonstraram que a interação destes compostos com a enzima acetilcolinesterase (AChE) ocorre somente de forma reversível, não prosseguindo a reação para a etapa de envelhecimento, que é irreversível.

Palavras chave: Dialquilfosforilidrazonas, *N,N'*-bis (diisobutilfosforiltioamida)diaminas, atividade biológica.

ABSTRACT

CAIXEIRO, Janaína Marques Rodrigues. **Dialkylphosphorylhydrazones e *N,N'*-bis(diisobutylphosphorylthioamide)diamines: Synthesis, Characterization, Molecular Modeling and Biological Activity Study.** Thesis (Doctor Science in Organic Chemistry, Organic Synthesis), Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

A series of 22 dialkylphosphorylhydrazones (Dialkyl ester, *N'*-[(1*E*)-(R₁ phenyl)methylene]phosphorohydrazidic acid), 20 of them new along with 3 new *N,N'*-bis(diisobutylphosphorylthioamide)diamines (Bis-[Diisobutyl ester), *N*-thioxomethylene]-, diamine)phosphoramidic acid were prepared and characterized by IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ³¹P-NMR and mass spectrometry. The analysis of ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ³¹P-NMR and NOE spectra confirmed the obtention of the single diastereoisomer *E* in the synthesis of dialkylphosphorylhydrazones. The results of a molecular modeling study performed in order to investigate the mechanism of the synthesis of dialkylphosphorylhydrazones are in agreement with the experimental results, i.e., the favoured formation of diastereoisomer *E* over *Z*. All compounds were evaluated for their capacity to inhibit diphenolase activity of the tyrosinase enzyme. Compounds 5, 8 and 13 show major inhibitory effects, with IC₅₀ values of 102.58 μM, 191.44 μM and 210.81 μM, respectively. These dialkylphosphorylhydrazones were also evaluated for their antinociceptive, pharmacological and toxicological effects in tests with mice. None of them showed any activity up to a concentration of 100 mg/kg. All compounds were tested against *Musca domestica* and showed no activity. The molecular modeling study confirmed the inefficiency of these compounds to act as insecticides, since their interaction with AChE is reversible and does not reach the aging (irreversible) step.

Key words: Dialkylphosphorylhydrazones, *N,N'*-bis(diisobutylphosphorylthioamide)diamines, biological activity.

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1: Rota de síntese das dialquilfosforilidrazonas.	59
Esquema 2: Esquema de reação dos fosfonatos de dialquila.	60
Esquema 3: Mecanismo de obtenção dos fosfonatos de dialquila.....	60
Esquema 4: Reação de obtenção das dialquilfosforilidrazinas.....	64
Esquema 5: Mecanismo de síntese das dialquilfosforilidrazinas.	64
Esquema 6: Propostas de fragmentação do composto 118.	67
Esquema 7: Reação de obtenção das dialquilfosforilidrazonas.....	67
Esquema 8: Mecanismo convencional de obtenção das dialquilfosforilidrazonas (1 a 22)....	70
Esquema 9: Proposta mecanística de obtenção das dialquilfosforilidrazonas (1 a 22). .	71
Esquema 10: Estruturas em equilíbrio no composto diisopropilfosforil <i>p</i> -nitrofenilidrazona.....	86
Esquema 11: Proposta de fragmentação para a obtenção do fragmento $m/z = 97$	87
Esquema 12: Proposta de fragmentação para a dialquilfosforilidrazona 8.	87
Esquema 13: Rota alternativa de síntese das dialquilfosforilidrazonas.	88
Esquema 14: Rota de síntese das <i>N,N'</i> -bis(dialquilfosforiltioamida)diaminas.	89
Esquema 15: Formas distintas de obtenção de fosforocloridatos de dialquila.....	89
Esquema 16: Reação de obtenção dos fosforocloridatos de dialquila.	90
Esquema 17: Mecanismo de síntese dos fosforocloridatos de dialquila.	90
Esquema 18: Proposta de formação do fragmento $m/z = 117$	92
Esquema 19: Reação de obtenção dos fosforoisotiocianatidatos de dialquila.	93
Esquema 20: Mecanismo de síntese dos fosforoisotiocianatidatos de dialquila.	93
Esquema 21: Proposta de obtenção do fragmento $m/z = 139$ para o composto fosforoisotiocianatidato de diisobutila.	96
Esquema 22: Síntese das <i>N,N'</i> -bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas.	96
Esquema 23: Mecanismo de obtenção das <i>N,N'</i> -bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas.	97
Esquema 24: Proposta de obtenção dos fragmentos $m/z = 252$, $m/z = 196$ e $m/z = 140$ dos compostos <i>N,N'</i> -bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas.....	100
Esquema 25: Modelo utilizado no estudo de viabilidade reacional.	112
Esquema 26: Configurações tetracoordenada e pentacoordenada do átomo de fósforo nas dialquilfosforilidrazonas.	113
Esquema 27: Aspectos estereoquímicos considerados no estudo para avaliação do mecanismo de reação.	114
Esquema 28: Esquema geral de inibição da enzima acetilcolinesterase por organofosforados.	116
Esquema 29: Etapas reacionais modeladas para a avaliação da ação das dialquilfosforilidrazonas sobre a AChE.	116

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Compostos dialquilfosforilidrazônicos sintetizados neste trabalho.....	2
Figura 2: Fosforamidatos inéditos sintetizados neste trabalho.....	2
Figura 3: Compostos fosforados tri, tetra, penta e hexacoordenados, respectivamente. ...	3
Figura 4: Exemplos de organofosforados com atividade farmacológica.....	4
Figura 5: Organofosforados com atividade analgésica e antiinflamatória.....	5
Figura 6: Derivados do ácido bisfosfônico com potencial atividade antiinflamatória.	5
Figura 7: Bisfosfonatos utilizados no tratamento de doenças ósseas.	6
Figura 8: Bisfosfonatos com ação contra a artrite reumatóide.....	6
Figura 9: Bisfosfonatos que apresentam ação inibitória promissora frente à forma amastigota do protozoário <i>Trypanosoma cruzi</i>	6
Figura 10: Fosforamidatos pró-nucleotídeos com atividade antiviral.	8
Figura 11: Fosforamidatos pró-nucleotídeos com atividade anticancerígena.....	8
Figura 12: Amino fosfonatos cuja interação com a enzima tirosinase foi estudada.....	9
Figura 13: Fragmento triatômico que caracteriza as hidrazonas.	9
Figura 14: Complexos de hidrazonas com atividade fisiológica.....	10
Figura 15: Hidrazonas com atividade analgésica, antiinflamatória e antitrombótica.....	11
Figura 16: Hidrazonas com atividade antibactericida e anticonvulsiva.....	11
Figura 17: Arilidrazona que atua como agente de clivagem do DNA.....	12
Figura 18: Hidrazonas que apresentam atividade inibitória frente a uma variedade de tipos de câncer.	12
Figura 19: Benzo[d]isotiazol hidrazona com potencial atividade anticâncer.	12
Figura 20: Hidrazona com ação inibitória sobre a tirosinase e efeito hipotensivo.....	13
Figura 21: Rota da biossíntese das melaninas descrita por Raper e Mason.....	14
Figura 22: Ciclo catalítico de ação da tirosinase.	15
Figura 23: Biossíntese das catecolaminas.	16
Figura 24: Marcas de melasma em um rosto feminino.....	17
Figura 25: Mulher e filhote de leão com albinismo oculocutâneo.	17
Figura 26: Flavonóides inibidores da tirosinase.....	18
Figura 27: Atividade dos compostos 4-hexilresorcinol e 4-dodecilresorcinol sobre a tirosinase.....	19
Figura 28: Aldeídos aromáticos inibidores da tirosinase.....	20
Figura 29: Aldeídos alifáticos inibidores da tirosinase.....	21
Figura 30: Ácidos e ésteres testados quanto à atividade inibitória sobre a tirosinase. ...	22
Figura 31: Mecanismo de inibição da tirosinase pelo ácido ascórbico.....	22
Figura 32: Captropil e metimazol: compostos inibidores da tirosinase.....	23
Figura 33: Composto <i>N</i> -ciclopentil- <i>N</i> -nitrosoidroxilamina.	23
Figura 34: Mecanismo proposto de ação dos pró-fármacos.....	24
Figura 35: Compostos que são substratos da tirosinase e têm características de pró-fármacos.	24
Figura 36: Reações que ocorrem numa mistura de ácido (3,4-diidroxifenil)metil amino fosfônico e L-DOPA na presença de tirosinase.....	25
Figura 37: Reação da <i>o</i> -dopaquinona com a hidrazona de Besthorn.....	26
Figura 38: Aplicação tópica dos compostos nas moscas.	57
Figura 39: Padrão de acoplamento dos hidrogênios metínicos das diisopropilfosforilidrazonas.....	75
Figura 40: Hidrogênios alvos do estudo por NOE.....	80
Figura 41: Espectro de NOE do composto 13.	81
Figura 42: Valores de IC ₅₀ dos compostos 5, 8 e 13.....	103

Figura 43: Avaliação da variação da absorvância ao longo do tempo para o composto 5.	104
Figura 44: Variação da absorvância dos compostos em função do comprimento de onda.	105
Figura 45: Variação de absorvância em função do comprimento de onda para a dipropilfosforilidrazina.	105
Figura 46: Interação das dialquilfosforilidrazonas 17, 21 e 22 com a tirosinase.	106
Figura 47: Valor de IC ₅₀ do composto 117.	108
Figura 48: Contorções abdominais induzidas pelo ácido acético.	110
Figura 49: Espectro de IV do fosfonato de dipropila (composto 113).	129
Figura 50: Espectro de RMN de ¹ H do fosfonato de dipropila (composto 113).	130
Figura 51: Espectro de IV do fosfonato de diisopropila (composto 114).	131
Figura 52: Espectro de RMN de ¹ H do fosfonato de diisopropila (composto 114).	132
Figura 53: Espectro de IV do fosfonato de dibutila (composto 115).	133
Figura 54: Espectro de RMN de ¹ H do fosfonato de dibutila (composto 115).	134
Figura 55: Espectro de IV do fosfonato de diisobutila (composto 116).	135
Figura 56: Espectro de RMN de ¹ H do fosfonato de diisobutila (composto 116).	136
Figura 57: Espectro de IV da dipropilfosforilidrazina (composto 117).	137
Figura 58: Espectro de RMN de ¹ H da dipropilfosforilidrazina (composto 117).	138
Figura 59: Espectro de RMN de ¹³ C da dipropilfosforilidrazina (composto 117).	139
Figura 60: Espectro de massas da dipropilfosforilidrazina (composto 117).	140
Figura 61: Espectro de IV da diisopropilfosforilidrazina (composto 118).	141
Figura 62: Espectro de RMN de ¹ H da diisopropilfosforilidrazina (composto 118).	142
Figura 63: Espectro de RMN de ¹³ C da diisopropilfosforilidrazina (composto 118).	143
Figura 64: Espectro de massas da diisopropilfosforilidrazina (composto 118).	144
Figura 65: Espectro de IV do composto 1.	145
Figura 66: Espectro de RMN de ¹ H do composto 1.	146
Figura 67: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 1.	147
Figura 68: Espectro de RMN de ³¹ P totalmente desacoplado do composto 1.	148
Figura 69: Espectro de massas do composto 1.	149
Figura 70: Espectro de IV do composto 2.	150
Figura 71: Espectro de RMN de ¹ H do composto 2.	151
Figura 72: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 2.	152
Figura 73: Espectro de RMN de ³¹ P totalmente desacoplado do composto 2.	153
Figura 74: Espectro de massas do composto 2.	154
Figura 75: Espectro de IV do composto 3.	155
Figura 76: Espectro de RMN de ¹ H do composto 3.	156
Figura 77: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 3.	157
Figura 78: Espectro de RMN de ³¹ P totalmente desacoplado do composto 3.	158
Figura 79: Espectro de massas do composto 3.	159
Figura 80: Espectro de IV do composto 4.	160
Figura 81: Espectro de RMN de ¹ H do composto 4.	161
Figura 82: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 4.	162
Figura 83: Espectro de RMN de ³¹ P totalmente desacoplado do composto 4.	163
Figura 84: Espectro de massas do composto 4.	164
Figura 85: Espectro de IV do composto 5.	165
Figura 86: Espectro de RMN de ¹ H do composto 5.	166
Figura 87: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 5.	167
Figura 88: Espectro de RMN de ³¹ P totalmente desacoplado do composto 5.	168
Figura 89: Espectro de massas do composto 5.	169
Figura 90: Espectro de IV do composto 6.	170

Figura 91: Espectro de RMN de ^1H do composto 6.	171
Figura 92: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 6.	172
Figura 93: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 6.....	173
Figura 94: Espectro de massas do composto 6.....	174
Figura 95: Espectro de IV do composto 7.....	175
Figura 96: Espectro de RMN de ^1H do composto 7.	176
Figura 97: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 7.	177
Figura 98: Espectro de HETCOSY do composto 7.....	178
Figura 99: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 7.....	179
Figura 100: Espectro de massas do composto 7.....	180
Figura 101: Espectro de IV do composto 8.....	181
Figura 102: Espectro de RMN de ^1H do composto 8.	182
Figura 103: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 8.	183
Figura 104: Espectro de HETCOSY do composto 8.	184
Figura 105: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 8.....	185
Figura 106: Espectro de massas do composto 8.....	186
Figura 107: Espectro de IV do composto 9.....	187
Figura 108: Espectro de RMN de ^1H do composto 9.	188
Figura 109: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 9.	189
Figura 110: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 9.....	190
Figura 111: Espectro de massas do composto 9.....	191
Figura 112: Espectro de IV do composto 10.	192
Figura 113: Espectro de RMN de ^1H do composto 10 feito em CDCl_3	193
Figura 114: Espectro de RMN de ^1H do composto 10 feito em DMSO.....	194
Figura 115: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 10.	195
Figura 116: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 10.....	196
Figura 117: Espectro de massas do composto 10.....	197
Figura 118: Espectro de IV do composto 11.	198
Figura 119: Espectro de RMN de ^1H do composto 11 feito em DMSO.....	199
Figura 120: Espectro de RMN de ^1H do composto 11 feito em CDCl_3	200
Figura 121: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 11.	201
Figura 122: Espectro de HETCOSY do composto 11.	202
Figura 123: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 11.....	203
Figura 124: Espectro de massas do composto 11.....	204
Figura 125: Espectro de IV do composto 12.....	205
Figura 126: Espectro de RMN de ^1H do composto 12.....	206
Figura 127: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 12.	207
Figura 128: Espectro de HETCOSY do composto 12.	208
Figura 129: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 12.....	209
Figura 130: Espectro de massas do composto 12.....	210
Figura 131: Espectro de IV do composto 13.....	211
Figura 132: Espectro de RMN de ^1H do composto 13.....	212
Figura 133: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 13.	213
Figura 134: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 13.....	214
Figura 135: Espectro de massas do composto 13.....	215
Figura 136: Espectro de IV do composto 14.....	216
Figura 137: Espectro de RMN de ^1H do composto 14.....	217
Figura 138: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 14.	218
Figura 139: Espectro de HETCOSY do composto 14.....	219
Figura 140: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 14.....	220

Figura 141: Espectro de massas do composto 14.....	221
Figura 142: Espectro de IV do composto 15.....	222
Figura 143: Espectro de RMN de ^1H do composto 15.....	223
Figura 144: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 15.....	224
Figura 145: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 15.....	225
Figura 146: Espectro de massas do composto 15.....	226
Figura 147: Espectro de IV do composto 16.....	227
Figura 148: Espectro de RMN de ^1H do composto 16.....	228
Figura 149: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 16.....	229
Figura 150: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 16.....	230
Figura 151: Espectro de massas do composto 16.....	231
Figura 152: Espectro de IV do composto 17.....	232
Figura 153: Espectro de RMN de ^1H do composto 17.....	233
Figura 154: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 17.....	234
Figura 155: Espectro de HETCOSY do composto 17.....	235
Figura 156: Espectro de RMN de ^{31}P acoplado do composto 17.....	236
Figura 157: Espectro de massas do composto 17.....	237
Figura 158: Espectro de IV do composto 18.....	238
Figura 159: Espectro de RMN de ^1H do composto 18.....	239
Figura 160: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 18.....	240
Figura 161: Espectro de RMN de ^{31}P acoplado do composto 18.....	241
Figura 162: Espectro de massas do composto 18.....	242
Figura 163: Espectro de IV do composto 19.....	243
Figura 164: Espectro de RMN de ^1H do composto 19.....	244
Figura 165: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 19.....	245
Figura 166: Espectro de RMN de ^{31}P acoplado do composto 19.....	246
Figura 167: Espectro de massas do composto 19.....	247
Figura 168: Espectro de IV do composto 20.....	248
Figura 169: Espectro de RMN de ^1H do composto 20.....	249
Figura 170: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 20.....	250
Figura 171: Espectro de RMN de ^{31}P acoplado do composto 20.....	251
Figura 172: Espectro de massas do composto 20.....	252
Figura 173: Espectro de IV do composto 21.....	253
Figura 174: Espectro de RMN de ^1H do composto 21.....	254
Figura 175: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 21.....	255
Figura 176: Espectro de HETCOSY do composto 21.....	256
Figura 177: Espectro de RMN de ^{31}P acoplado do composto 21.....	257
Figura 178: Espectro de massas do composto 21.....	258
Figura 179: Espectro de IV do composto 22.....	259
Figura 180: Espectro de RMN de ^1H do composto 22.....	260
Figura 181: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 22.....	261
Figura 182: Espectro de HETCOSY do composto 22.....	262
Figura 183: Espectro de RMN de ^{31}P acoplado do composto 22.....	263
Figura 184: Espectro de massas do composto 22.....	264
Figura 185: Espectro de IV do fosforocloridato de dipropila (composto 125).....	265
Figura 186: Espectro de RMN de ^1H do fosforocloridato de dipropila (composto 125).....	266
Figura 187: Espectro de RMN de ^{13}C do fosforocloridato de dipropila (composto 125).....	267
Figura 188: Espectro de massas do fosforocloridato de dipropila (composto 125).....	268

Figura 189: Espectro de IV do fosforocloridato de diisopropila (composto 126).....	269
Figura 190: Espectro de RMN de ^1H do fosforocloridato de diisopropila (composto 126).	270
Figura 191: Espectro de massas do fosforocloridato de diisopropila (composto 126).	271
Figura 192: Espectro de IV do fosforocloridato de dibutila (composto 127).	272
Figura 193: Espectro de massas do fosforocloridato de dibutila (composto 127).....	273
Figura 194: Espectro de IV do fosforocloridato de diisobutila (composto 128).....	274
Figura 195: Espectro de RMN de ^1H do fosforocloridato de diisobutila (composto 128).	275
Figura 196: Espectro de massas do fosforocloridato de diisobutila (composto 128)...	276
Figura 197: Espectro de IV do fosforoisotiocianatidato de diisopropila (composto 129).	277
Figura 198: Espectro de RMN de ^1H do fosforoisotiocianatidato de diisopropila (composto 129).....	278
Figura 199: Espectro de massas do fosforoisotiocianatidato de diisopropila (composto 129).	279
Figura 200: Espectro de IV do fosforoisotiocianatidato de dibutila (composto 130)...	280
Figura 201: Espectro de massas do fosforoisotiocianatidato de dibutila (composto 130).	281
Figura 202: Espectro de IV do fosforoisotiocianatidato de diisobutila (composto 131).	282
Figura 203: Espectro de RMN de ^1H do fosforoisotiocianatidato de diisobutila (composto 131).....	283
Figura 204: Espectro de massas do fosforoisotiocianatidato de diisobutila (composto 131).	284
Figura 205: Espectro de IV do composto 23.....	285
Figura 206: Espectro de RMN de ^1H do composto 23.....	286
Figura 207: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 23.	287
Figura 208: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 23.....	288
Figura 209: Espectro de massas do composto 23.....	289
Figura 210: Espectro de IV do composto 24.....	290
Figura 211: Espectro de RMN de ^1H do composto 24.....	291
Figura 212: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 24.	292
Figura 213: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 24.....	293
Figura 214: Espectro de massas do composto 24.....	294
Figura 215: Espectro de IV do composto 25.....	295
Figura 216: Espectro de RMN de ^1H do composto 25.....	296
Figura 217: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 25.	297
Figura 218: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 25.....	298
Figura 219: Espectro de massas do composto 25.....	299

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Condições de reação para a obtenção da <i>N,N'</i> -bis(diisopropilfosforiltioamida)1,2-etilenodiamina.....	52
Tabela 2: Rendimentos dos fosfonatos de dialquila.....	61
Tabela 3: Dados de infravermelho das principais bandas de absorção dos fosfonatos de dialquila sintetizados.....	62
Tabela 4: Dados de RMN de ¹ H dos fosfonatos de dialquila sintetizados.....	63
Tabela 5: Principais bandas de absorção das dialquifosforilidrazinas.....	65
Tabela 6: Dados de RMN de ¹ H das Dialquifosforilidrazinas.....	66
Tabela 7: Dados de RMN de ¹³ C das dialquifosforilidrazinas.....	66
Tabela 8: Rendimentos e tempos de reação da síntese das dialquifosforilidrazonas...	68
Tabela 9: Principais bandas de absorção das dialquifosforilidrazonas sintetizadas.....	72
Tabela 10: Dados de RMN de ¹ H das dipropilfosforilidrazonas.....	76
Tabela 11: Dados de RMN de ¹ H das diisopropilfosforilidrazonas.....	77
Tabela 12: Dados de RMN de ¹³ C das dipropilfosforilidrazonas.....	83
Tabela 13: Dados de RMN de ¹³ C das diisopropilfosforilidrazonas.....	84
Tabela 14: Dados de RMN de ³¹ P.....	85
Tabela 15: Rendimento de síntese dos fosforocloridatos de dialquila.....	90
Tabela 16: Principais bandas de absorção do fosforocloridatos de dialquila.....	91
Tabela 17: Dados de RMN de ¹ H dos fosforocloridatos de dialquila sintetizados.....	91
Tabela 18: Dados de RMN de ¹³ C do fosforocloridato de dipropila.....	92
Tabela 19: Rendimento da síntese dos fosfoisotiocianatidatos de dialquila.....	94
Tabela 20: Principais bandas de absorção dos fosfoisotiocianatidatos de dialquila...	94
Tabela 21: Dados de RMN de ¹ H dos fosfoisotiocianatidatos de dialquila.....	95
Tabela 22: Principais bandas de absorção das <i>N,N'</i> -bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas.	98
Tabela 23: Dados de RMN de ¹ H das <i>N,N'</i> -bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas sintetizadas.	99
Tabela 24: Dados de RMN de ¹³ C dos compostos <i>N,N'</i> -bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas.	99
Tabela 25: Dados de RMN de ³¹ P para os compostos 23, 24 e 25.....	99
Tabela 26: Ação dos compostos sobre a atividade difenolase da enzima tirosinase...	101
Tabela 27: Percentual de inibição dos compostos 5, 8 e 13 em diferentes concentrações.....	102
Tabela 28: Percentual de inibição do composto 117 em diferentes concentrações.....	107
Tabela 29: Concentrações de teste em mg/kg e em μmol/kg.....	109
Tabela 30: Contorções abdominais induzidas pelo ácido acético.....	110
Tabela 31: Entalpia da etapa lenta da reação de formação das dialquifosforilidrazonas.....	112
Tabela 32: Dados obtidos na avaliação das conformações presentes na mistura reacional...	114
Tabela 33: Dados de entalpia de formação das reações modeladas para as dialquifosforilidrazonas estudadas.....	117
Tabela 34: Dados de absorvância para o composto 5.....	301
Tabela 35: Dados de absorvância para o composto 8.....	301
Tabela 36: Dados de absorvância para o composto 13.....	301
Tabela 37: Dados de absorvância para o composto 117.....	301

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

as	Assimétrico
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
d	duplete
dd	duplo duplete
dt	duplo tripleto
h	hepteto
Hz	Hertz
hd	hepteto de duplete
IC ₅₀	Concentração inibitória a 50%
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
m	multipleto
m/z	relação massa/carga
NOE	Nuclear Overhauser Effect
ppm	partes por milhão
q	quarteto
RMN de ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN de ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN de ³¹ P	Ressonância Magnética Nuclear de Fósforo 31
RNA	Ribonucleic acid (em português: ácido ribonucleico)
s	simpleto
sex	sexteto
si	simétrico
st	estiramento
t	tripleto
δ	Na espectrometria de IV: vibração de deformação Na espectrometria de RMN: deslocamento químico
γ	Vibração do esqueleto (IV)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Compostos organofosforados	3
2.2 Hidrazonas	9
2.3 Tirosinase	13
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
3.1 Considerações Gerais	28
3.2 Síntese dos fosfonatos de dialquila	28
3.2.1 Síntese do fosfonato de dipropila (113)	28
3.2.2 Síntese do fosfonato de diisopropila (114).....	29
3.2.3 Síntese do fosfonato de dibutila (115).....	29
3.2.4 Síntese do fosfonato de diisobutila (116).....	29
3.3 Síntese das dialquifosforilidrazinas	30
3.3.1 Síntese da dipropilfosforilidrazina (117).....	30
3.3.2 Síntese da diisopropilfosforilidrazina (118)	30
3.4 Síntese das dialquifosforilidrazonas (ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)- (R ₁ fenil)metileno]-, éster de dialquila)	31
3.4.1 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)-(o-nitrofenil)metileno]-, éster de dipropila (1).....	31
3.4.2 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)-(m-nitrofenil)metileno]-, éster de dipropila (2)	32
3.4.3 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)-(p-nitrofenil)metileno]-, éster de dipropila (3).....	32
3.4.4 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)-(p-cianofenil)metileno]-, éster de dipropila (4)	33
3.4.5 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)-(p-carboxifenil), metileno]- éster de dipropila (5).....	33
3.4.6 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)-(1,3-benzodioxol-5-ylmetileno)]-, éster de dipropila (6).....	34
3.4.7 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)-(o-nitrofenil)metileno]-, éster de diisopropila (7)	34
3.4.8 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)-(m-nitrofenil)metileno]-, éster de diisopropila (8).....	35
3.4.9 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)-(p-nitrofenil)metileno]-, éster de diisopropila (9)	35
3.4.10 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)-(p-cianofenil) metileno]-, éster de diisopropila (10).....	36
3.4.11 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)-(p-carboxifenil) metileno]-, éster de diisopropila (11).....	36
3.4.12 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)-(1,3-benzodioxol-5-ylmetileno)]-, éster de diisopropila (12).....	37
3.4.13 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)-(fenil)metileno]-, éster de diisopropila (13).....	38
3.4.14 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)-(m-metoxifenil) metileno]-, éster de diisopropila (14).....	38
3.4.15 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)-(p-metoxifenil) metileno]-, éster de diisopropila (15).....	39

3.4.16 Síntese do ácido fosforidrazídico, N' -[(1 <i>E</i>)-[4-(dimetilamino) fenil]metileno]-, éster de diisopropila (16).....	39
3.4.17 Síntese do ácido fosforidrazídico, N' -[(1 <i>E</i>)-(m-hidroxifenil) metileno]-, éster de diisopropila (17).....	40
3.4.18 Síntese do ácido fosforidrazídico, N' -[(1 <i>E</i>)-(p-hidroxifenil) metileno]-, éster de diisopropila (18).....	40
3.4.19 Síntese do ácido fosforidrazídico, N' -[(1 <i>E</i>)-(m-hidroxi-p-metoxifenil)metileno]-, éster de diisopropila (19).....	41
3.4.20 Síntese do ácido fosforidrazídico, N' -[(1 <i>E</i>)-(m-etoxi-p-hidroxifenil)metileno]-, éster de diisopropila (20).....	41
3.4.21 Síntese do ácido fosforidrazídico, N' -[(1 <i>E</i>)-(m-hidroxi-p-metoxifenil)metileno]-, éster de dipropila (21)	42
3.4.22 Síntese do ácido fosforidrazídico, N' -[(1 <i>E</i>)-(m-etoxi-p-hidroxifenil)metileno]-, éster de dipropila (22)	43
3.5 Tentativas de síntese de algumas dialquilfosforilidrazonas	43
3.5.1 Tentativa de síntese do ácido fosforidrazídico N' -[(1 <i>E</i>)-(m-metoxifenil)metileno]- éster de dipropila.....	43
3.5.2 Tentativa de síntese do ácido fosforidrazídico N' -[(1 <i>E</i>)-(p-metoxifenil)metileno]- éster de dipropila.....	44
3.5.3 Tentativa de síntese do ácido fosforidrazídico N' -[(1 <i>E</i>)-(p- <i>N,N</i> -dimetilaminofenil)metileno]- éster de dipropila.....	44
3.5.4 Tentativa de síntese do ácido fosforidrazídico N' -[(1 <i>E</i>)-(m-hidroxifenil)metileno]- éster de dipropila	45
3.5.5 Tentativa de síntese do ácido fosforidrazídico N' -[(1 <i>E</i>)-(p-hidroxifenil)metileno]- éster de dipropila.....	45
3.6 Tentativas de síntese das dialquilfosforilidrazonas via rota alternativa.....	45
3.6.1 Síntese das R_1 fenilidrazonas.....	45
3.6.2 Síntese das dialquilfosforilidrazonas (rota alternativa).....	46
3.6.2.1 Tentativa de síntese do ácido fosforidrazídico N' -[(1 <i>E</i>)-(p-nitrofenil)metileno]- éster de diisopropila (9).....	46
3.6.2.2 Tentativa de síntese do ácido fosforidrazídico N' -[(1 <i>E</i>)-(p-metoxifenil)metileno]- éster de diisopropila (15).....	47
3.7 Síntese dos fosforocloridatos de dialquila.....	47
3.7.1 Síntese do fosforocloridato de dipropila (125)	47
3.7.2 Síntese do fosforocloridato de diisopropila (126).....	47
3.7.3 Síntese do fosforocloridato de dibutila (127)	48
3.7.4 Síntese do fosforocloridato de diisobutila (128).....	48
3.8 Síntese dos fosforoisotiocianatidatos de dialquila	48
3.8.1 Síntese do fosforoisotiocianatidato de diisopropila (129).....	49
3.8.2 Síntese do fosforoisotiocianatidato de dibutila (130).....	49
3.8.3 Síntese do fosforoisotiocianatidato de diisobutila (131)	49
3.8.4 Tentativa de síntese do fosforoisotiocianatidato de dipropila	50
3.9 Síntese das N,N' -bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas (bis-[(ácido fosforamídico, éster de diisobutila), N-tioxometileno]-, diamina)	50
3.9.1 Síntese da N,N' -bis(diisobutilfosforiltioamida)1,2-etilenodiamina (23).....	50
3.9.2 Síntese da N,N' -bis(diisobutilfosforiltioamida)1,3-propilenodiamina (24)	51
3.9.3 Síntese da N,N' -bis(diisobutilfosforiltioamida)1,4-butilenodiamina (25)	51
3.10 Tentativas de síntese de algumas N,N' -bis(dialquilfosforiltioamida)diaminas.....	52
3.10.1 Tentativa de síntese da N,N' -bis(diisopropilfosforiltioamida)1,2-etilenodiamina	52

3.10.2 Tentativa de síntese da <i>N,N'</i> -bis(dibutilfosforiltioamida)1,4-butilenodiamina ...	53
3.10.3 Tentativa de síntese da <i>N,N'</i> -bis(diisobutilfosforiltioamida)piperazina.....	53
3.10.4 Tentativa de síntese da diisobutilfosforiltioamidatiosemicarbazida e da diisobutilfosforiltioamidatiouréia	53
3.10.5 Tentativa de síntese dos bisfosforoditioatos de diisobutyla derivados do fosforoisotiocianatidato de diisobutyla.....	54
3.11 Ensaio sobre a enzima tirosinase.....	55
3.12 Ensaio sobre camundongos (<i>Mus musculus</i>) para avaliação da atividade toxicológica aguda, atividade farmacológica geral e ação antinociceptiva	55
3.13 Ensaio de letalidade sobre <i>Musca domestica</i>	56
3.13.1 Criação de <i>Musca domestica</i>	56
3.13.2 Aplicação tópica dos compostos	56
3.14 Estudos de modelagem molecular.....	58
3.14.1 Modelo reacional de síntese e modelo reacional para avaliação da atividade inseticida.....	58
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
4.1 Dialquilfosforilidrazonas.....	59
4.1.1 Síntese dos fosfonatos de dialquila	59
4.1.2 Determinação estrutural dos fosfonatos de dialquila	61
4.1.3 Síntese das dialquilfosforilidrazinas	64
4.1.4 Determinação estrutural das dialquilfosforilidrazinas.....	65
4.1.5 Síntese das dialquilfosforilidrazonas.....	67
4.1.6 Determinação estrutural das dialquilfosforilidrazonas.....	72
4.1.7 Tentativa de uma rota alternativa para a síntese das dialquilfosforilidrazonas	88
4.2 <i>N,N'</i> -bis(dialquilfosforiltioamida)diaminas	89
4.2.1 Síntese dos fosforocloridatos de dialquila.....	89
4.2.2 Determinação estrutural dos fosforocloridatos de dialquila	91
4.2.3 Síntese dos fosforoisotiocianatidatos de dialquila	93
4.2.4 Determinação estrutural dos fosforoisotiocianatidatos de dialquila	94
4.2.5 Síntese das <i>N,N'</i> -bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas.....	96
4.2.6 Determinação estrutural dos compostos <i>N,N'</i> -bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas	98
4.3 Ensaio sobre a enzima tirosinase.....	101
4.4 Ensaio para avaliação da atividade toxicológica aguda, atividade farmacológica geral e ação antinociceptiva	109
4.4.1 Atividade farmacológica geral e atividade toxicológica aguda.....	109
4.4.2 Atividade antinociceptiva.....	109
4.5 Ensaio para avaliação da atividade inseticida	111
4.6 Estudos de modelagem molecular	112
4.6.1 Avaliação da viabilidade da reação e sua relação com o substituinte do anel R ₁ ..	112
4.6.2 Avaliação do mecanismo da reação	113
4.6.3 Avaliação da atividade inseticida.....	115
5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	118
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	119
ANEXOS.....	127
ANEXO A	128
ANEXO B	300

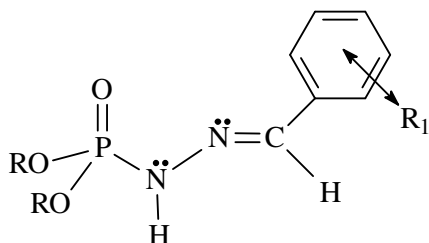
1 INTRODUÇÃO

O início da química dos compostos organofosforados e das hidrazonas remonta ao final do século XIX. O fundador da química dos organofosforados foi A. Michaelis, que explorou a nucleofilicidade do átomo de fósforo em fosfonatos de dialquila e fosfitos de trialquila, descobrindo duas importantes reações, que se constituem até os dias atuais nas rotas de síntese para a obtenção de fosfonatos de dialquila. Estas reações são, respectivamente, a reação de Michaelis-Becker, que data de 1897 e a reação de Michaelis-Arbuzov, estudada entre 1898 e 1906 (CADOGAN & HODGSON, 1987). Já as hidrazonas foram descobertas por Emil Fischer em 1883, quando este estava sintetizando um derivado indólico a partir da reação de fenil hidrazina com propanona. Inicialmente, Fischer atribui ao intermediário da reação, a hidrazona, uma estrutura cíclica, formada por um anel de três átomos envolvendo os dois átomos de nitrogênio e o átomo de carbono, porém em 1888 a estrutura correta das hidrazonas foi elucidada (COSTA *et al.*, 2003; www.rsc.org, 2005).

Desde o início da química dos organofosforados e das hidrazonas há mais de 100 anos, até os dias de hoje, uma ampla gama de compostos com diferentes substituintes, compreendendo as mais diversas estruturas, foram sintetizados. Apesar de quimicamente distintos, os organofosforados e as hidrazonas possuem um amplo e semelhante espectro de aplicações. Esta afirmativa pode ser atribuída ao fato de ambos serem utilizados em áreas variadas, compreendendo desde o ramo agrícola, como pesticidas, passando pelo setor industrial, como, por exemplo, antioxidantes, até a aplicação na medicina (TOY, 1977; KITAEV *et al.*, 1970). Na área medicinal, tanto os compostos organofosforados quanto as hidrazonas têm sido destaque nas últimas décadas, apresentando ação contra as mais variadas patologias. Como exemplo, pode-se citar os bisfosfonatos, que têm sido utilizados com sucesso no tratamento de doenças ósseas (NUGENT *et al.*, 1994; LANÇAS *et al.*, 2005), assim como alguns fosforamidatos e fosfatos, que têm apresentado ação eficaz como antiretrovirais (DE CLERCQ, 2001; UCKUN *et al.*, 2005). Já as hidrazonas têm sido relatadas como substâncias com potencial atividade analgésica, antimicrobiana, antitumoral, dentre outras (BARREIRO *et al.*, 2000; BARREIRO *et al.*, 2002). No que se refere à interação destes compostos com enzimas, em especial a enzima tirosinase, ainda há poucos trabalhos relatados na literatura, seja associados aos organofosforados ou às hidrazonas. A enzima tirosinase é essencial na rota sintética das melaninas, e problemas atribuídos à ação desta enzima têm sido relatados tanto no setor industrial, principalmente no ramo alimentício, associada à perda da qualidade de frutas; como na área medicinal, associada a casos de hiperpigmentação e até mesmo melanomas (UYAMA & KIM, 2005).

Em virtude da ampla versatilidade e aplicabilidade dos compostos organofosforados e das hidrazonas, no vasto campo ainda a ser explorado no que concerne à ação destes compostos sobre a enzima tirosinase, e em seqüência ao trabalho realizado no Laboratório de Síntese Orgânica da UFRRJ (RODRIGUES & DaCOSTA, 2002; DaCOSTA *et al.*, 2007; DOS SANTOS *et al.*, 2007), buscou-se a síntese de derivados alquilfosforilidrazônicos, que são compostos que congregam concomitantemente em sua estrutura o grupamento organofosforado e a função hidrazona, estando o átomo de fósforo e um átomo de nitrogênio da função hidrazona diretamente ligados, formando um fosforamidato. Sendo assim, através da síntese de uma série de compostos com características híbridas, objetiva-se a obtenção de substâncias com atividades biológicas potencializadas. No âmbito deste trabalho foram sintetizados 22

compostos dialquilfosforilidrazônicos, sendo que, excetuando-se os compostos 16 e 18, todos são inéditos. Os compostos sintetizados estão apresentados na Figura 1.



- | | |
|---|--|
| (1) R = propil, R ₁ = <i>o</i> -NO ₂ | (12) R = isopropil, R ₁ = OCH ₂ O |
| (2) R = propil, R ₁ = <i>m</i> -NO ₂ | (13) R = isopropil, R ₁ = H |
| (3) R = propil, R ₁ = <i>p</i> -NO ₂ | (14) R = isopropil, R ₁ = <i>m</i> -OCH ₃ |
| (4) R = propil, R ₁ = <i>p</i> -CN | (15) R = isopropil, R ₁ = <i>p</i> -OCH ₃ |
| (5) R = propil, R ₁ = <i>p</i> -COOH | (16) R = isopropil, R ₁ = <i>p</i> -N(CH ₃) ₂ |
| (6) R = propil, R ₁ = OCH ₂ O | (17) R = isopropil, R ₁ = <i>m</i> -OH |
| (7) R = isopropil, R ₁ = <i>o</i> -NO ₂ | (18) R = isopropil, R ₁ = <i>p</i> -OH |
| (8) R = isopropil, R ₁ = <i>m</i> -NO ₂ | (19) R = isopropil, R ₁ = <i>m</i> -OH e <i>p</i> -OCH ₃ |
| (9) R = isopropil, R ₁ = <i>p</i> -NO ₂ | (20) R = isopropil, R ₁ = <i>p</i> -OH e <i>m</i> -OCH ₂ CH ₃ |
| (10) R = isopropil, R ₁ = <i>p</i> -CN | (21) R = propil, R ₁ = <i>m</i> -OH e <i>p</i> -OCH ₃ |
| (11) R = isopropil, R ₁ = <i>p</i> -COOH | (22) R = propil, R ₁ = <i>p</i> -OH e <i>m</i> -OCH ₂ CH ₃ |

Figura 1: Compostos dialquilfosforilidrazônicos sintetizados neste trabalho.

Adicionalmente a esta série, como parte de um projeto anterior ao projeto central deste trabalho, três fosforamidatos inéditos com o esqueleto base *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)diamina, foram sintetizados. Estes fosforamidatos são apresentados na Figura 2.

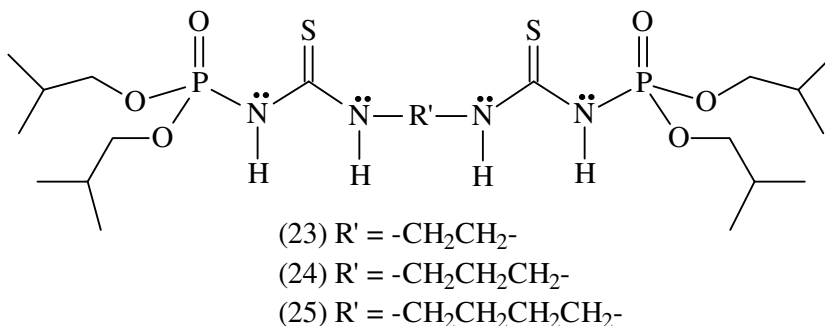


Figura 2: Fosforamidatos inéditos sintetizados neste trabalho.

Em vista da grande variedade de atividades biológicas dos compostos organofosforados e das hidrazonas, os compostos sintetizados neste trabalho foram avaliados quanto a diferentes tipos de atividade. Os compostos 1 a 25 foram avaliados quanto à ação inibidora sobre a enzima tirosinase e quanto à ação inseticida frente à espécie de mosca *Musca domestica*. Os compostos 5, 8, 13 e 16 foram também avaliados quanto à possibilidade de apresentarem ação antinociceptiva, atividade toxicológica aguda e atividade farmacológica geral.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Compostos organofosforados

O grande avanço da química do fósforo está na variedade de compostos orgânicos e inorgânicos que este pode formar, o que é devido, principalmente, à sua distribuição eletrônica com orbitais d acessíveis e também por ser um átomo polarizável e eletropositivo (CADOGAN & HODGSON, 1987).

Dentre os derivados fosforados estão compostos tri, tetra, penta e hexacoordenados, como os exemplificados na Figura 3 .

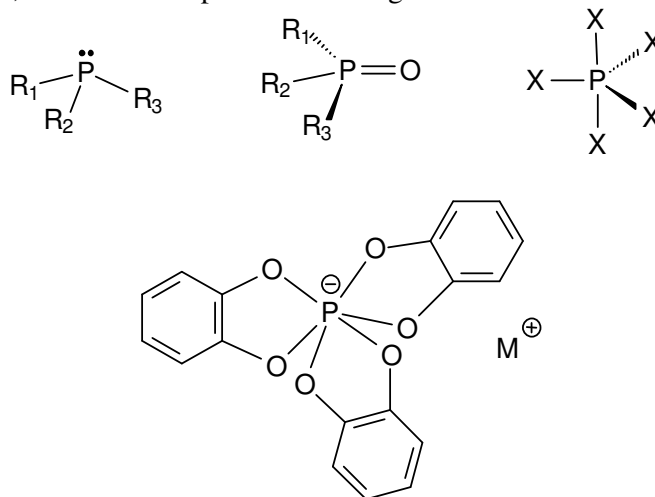


Figura 3: Compostos fosforados tri, tetra, penta e hexacoordenados, respectivamente.

Estas múltiplas coordenações do átomo de fósforo são devidas a alguns fatores, tais como, à 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).

Os compostos organofosforados possuem uma vasta gama de aplicações, dentre as quais pode ser destacada a ação como pesticidas (inseticidas, acaricidas, herbicidas, nematocidas e fungicidas), (FEST & SCHMIDT, 1973), como retardadores de chama (WALSH *et al.*, 1992), como aditivos de óleos lubrificantes e fluidos hidráulicos (WALSH *et al.*, 1992), nas atividades de enriquecimento de urânio e tório e extração seletiva de háfnio em minérios que contém zircônio (WALSH *et al.*, 1992; TOY, 1977), como agentes de flotação de minério, aditivos para combustíveis, plastificantes, estabilizantes, antioxidantes e fertilizantes, dentre outras (KIRK-OTHMER, 1951) e como constituintes do sistema biológico, como por exemplo o ATP (trifosfato de adenosina) (MICHELSON, 1963; SOLOMONS, 2000). No entanto, além deste universo de aplicações, aquela que têm despertado nos últimos anos um interesse maior na química dos compostos de fósforo é a ação farmacológica. YUDELEVICH e colaboradores classificam, dentre os compostos de fósforo, especificamente os compostos organofosforados em diferentes categorias, dentre as quais se têm os compostos com atividade anticolinesterásica; compostos com atividade antiglaucoma;

compostos para o tratamento e profilaxia de doenças cardiovasculares; compostos com atividade fungicida; compostos com atividade antiblastoma; compostos com atividade neurotrópica; compostos com atividade anti-helmíntica; compostos com atividade antiviral; compostos com atividade antiarteroesclerose; compostos com atividade antibacteriana; compostos com atividade analgésica; compostos com atividade antiartrite; compostos com atividade anti-hipoglicêmica; compostos com atividade antialérgica; compostos com ação contra anemias, e ainda há os compostos de fósforo que são classificados como vitaminas e análogos a estas (YUDELEVICH *et al.*, 1986; LANÇAS *et al.*, 2005; DOS SANTOS *et al.*, 2007). A Figura 4 apresenta alguns exemplos de compostos organofosforados com atividade farmacológica.

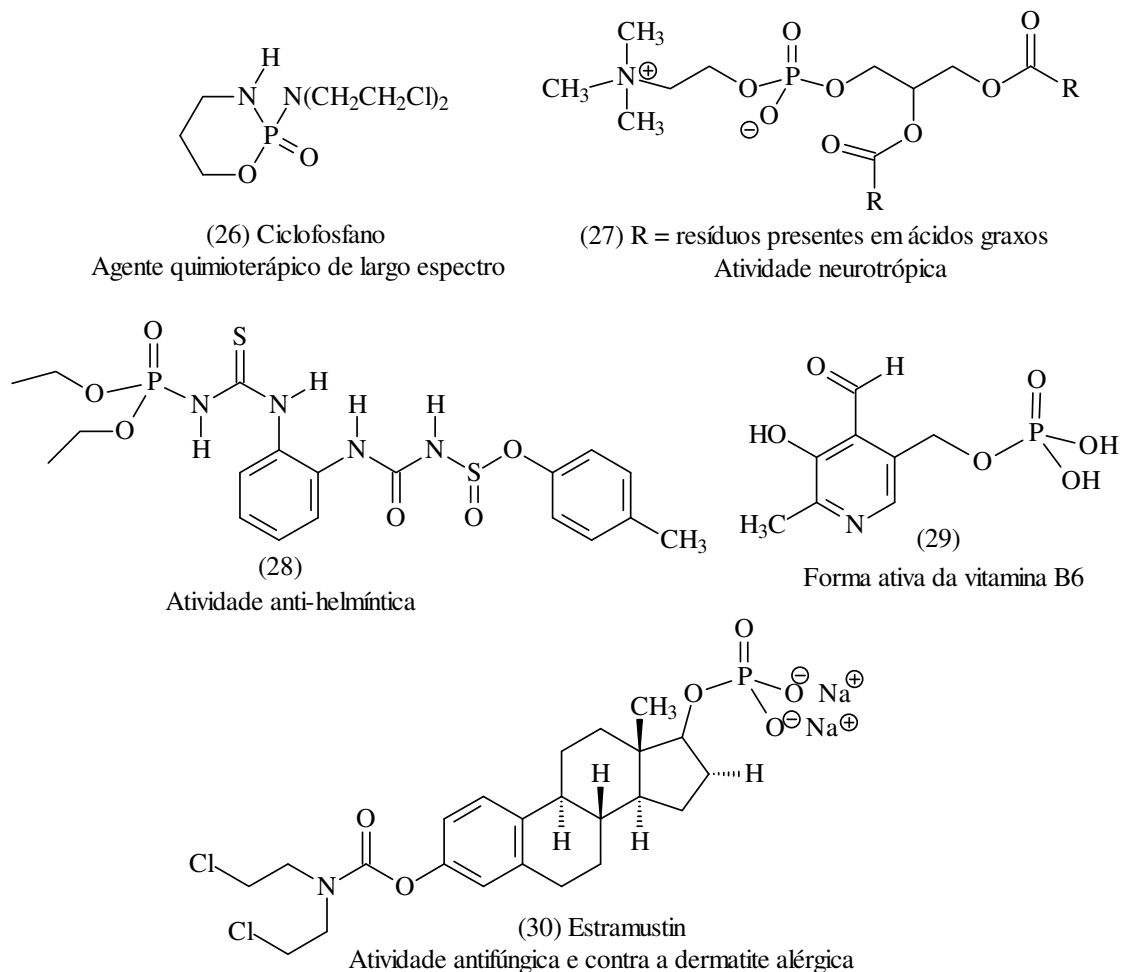


Figura 4: Exemplos de organofosforados com atividade farmacológica.

Compostos organofosforados derivados do ácido fosfórico, do ácido fosfônico, do ácido bisfosfônico, de sais orgânicos de fósforo e de óxidos de fosfina e tioóxidos são relatados como possuidores de atividade antiinflamatória e analgésica. Alguns destes compostos são apresentados na Figura 5 (TSVETKOV *et al.*, 1992).

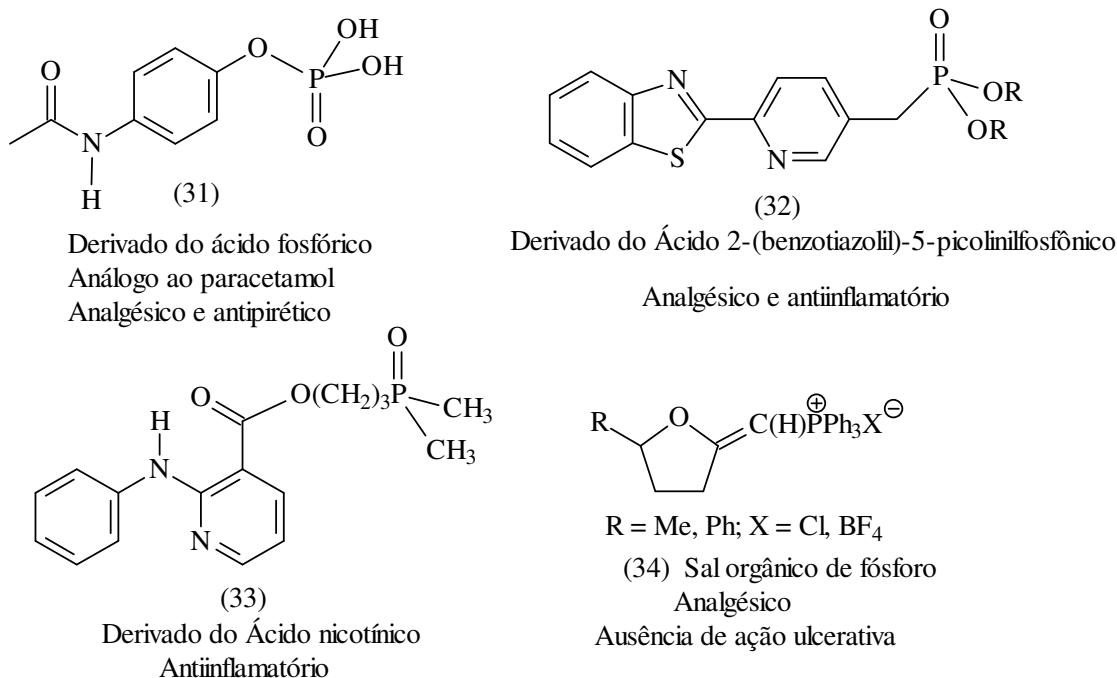


Figura 5: Organofosforados com atividade analgésica e antiinflamatória.

Os derivados do ácido bisfosfônico também exercem efeito potencializador na atividade de alguns medicamentos antiinflamatórios quando presentes na composição destes. A atividade do ácido acetilsalicílico e seus derivados é potencializada quando utilizados em combinação com o ácido(hidroximetilmetileno)bisfosfônico (35) ou com o ácido(diclorometileno)bisfosfônico (36), e seus sais (Figura 6). O mesmo efeito é observado quando os sais dissódicos dos compostos 35 e 36 são administrados em conjunto com fármacos esteroidais antiinflamatórias, como a cortisona (TSVETKOV *et al.*, 1992).

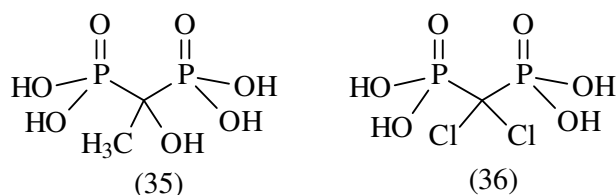


Figura 6: Derivados do ácido bisfosfônico com potencial atividade antiinflamatória.

A capacidade de complexação dos bisfosfonatos (derivados do ácido bisfosfônico) com o íon cálcio contribui acentuadamente para a sua ação farmacológica. Estes compostos possuem ação eficaz na prevenção, no diagnóstico e no tratamento de várias doenças ligadas à função reguladora de cálcio no organismo, sendo muitos empregados comercialmente, como o composto 36, conhecido como clodronate. Este composto também é aplicado no tratamento de tumores de ossos e hipercalcemia (RÄSÄNEN *et al.*, 1997).

Na literatura recente há uma variedade de artigos relatando a aplicação de compostos organofosforados, especificamente os bisfosfonatos, no tratamento de doenças ósseas, como a doença de Paget, a hipercalcemia maligna, a osteoporose,

doenças metastáticas e osteolíticas. Os organofosforados pamidronato (37), alendronato (38) e risedronato (39), Figura 7, são exemplos de bisfosfonatos com atividade contra doenças ósseas (MARSHALL *et al.*, 1993; BLAIR *et al.*, 1990; RUSSEL *et al.*, 1997; LANÇAS *et al.*, 2005).

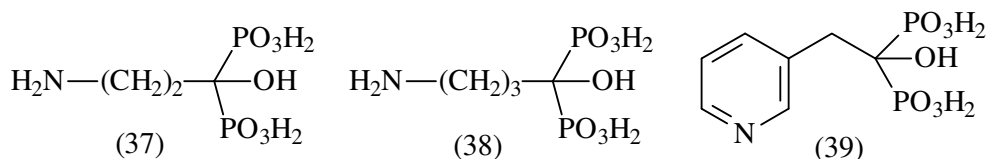


Figura 7: Bisfosfonatos utilizados no tratamento de doenças ósseas.

Os bisfosfonatos 40, 41 e 42 (Figura 8) apresentam eficácia no tratamento da artrite reumatóide, diminuindo as inflamações associadas ao granuloma cutâneo e inibindo a erosão óssea nas articulações (NUGENT *et al.*, 1993; NUGENT *et al.*, 1994; LANÇAS *et al.*, 2005).

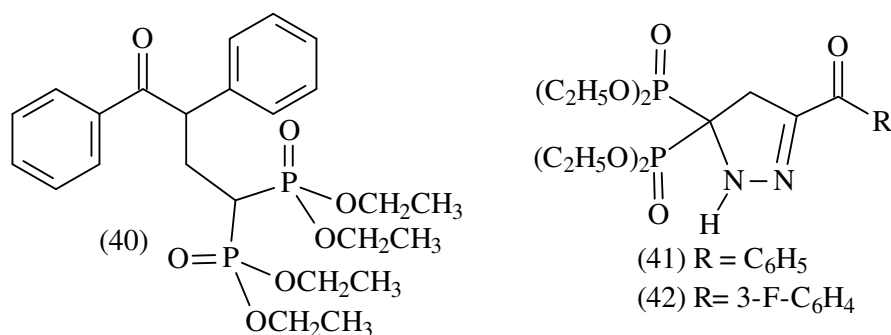


Figura 8: Bisfosfonatos com ação contra a artrite reumatóide.

Os bisfosfonatos apresentados na Figura 7 e uma série de bisfosfonatos recentemente sintetizados (Figura 9) 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).

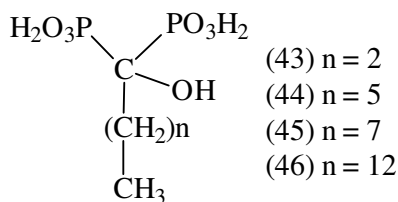


Figura 9: Bisfosfonatos que apresentam ação inibitória promissora frente à forma amastigota do protozoário *Trypanosoma cruzi*.

Compostos organofosforados da classe dos fosforamidatos também têm se destacado como compostos com elevado potencial para o tratamento e diagnóstico de

diferentes tipos de doenças, ressaltando-se principalmente aqueles que fazem parte da estrutura de oligonucleotídeos. Estes compostos, dentre outros, são frutos de uma estratégia denominada “oligonucleotídeo antisense”, que consiste na modificação química de oligonucleotídeos, obtendo-se análogos com características como hibridização, resistência à nuclease, seletividade, e ótimas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas em relação aos oligonucleotídeos originais (IRIBARREN *et al.*, 2003). Apesar do mecanismo de ação dos compostos “oligonucleotídeo antisense” não estar completamente elucidado, eles se revelam como agentes terapêuticos promissores frente a diferentes tipos de doenças, como, por exemplo, a AIDS, o câncer e processos inflamatórios em geral (HALLER *et al.*, 1998; SKORSKI *et al.*, 1997). Os fosforamidatos estão sendo cada vez mais investigados como substratos para a estratégia “oligonucleotídeo antisense” por formarem complexos estáveis com sequências específicas, tanto com o DNA quanto com o RNA (HALLER *et al.*, 1998).

Os fosforamidatos também estão sendo empregados em uma nova estratégia denominada fosforamidata pró-nucleotídeo (“Phosphoramidate ProTide” no inglês). Esta estratégia consiste na modificação química de análogos de nucleosídeos através da introdução de um grupamento fosforamidata 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 fosforamidata 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).

A Figura 10 apresenta exemplos de fosforamidatos pró-nucleotídeos. Dentre estes estão os compostos 47 (GILBERT *et al.*, 2000; DE CLERCQ, 2001) e 48 (UCKUN *et al.*, 2005) que são derivados do análogo de nucleosídeo d4T e os compostos 49 e 50 (PÉRIGAUD *et al.*, 2003) que são derivados do análogo de nucleosídeo AZT. Estes fosforamidatos pró-nucleotídeos têm apresentado atividade anti-HIV superior ao d4T e ao AZT. O composto 51 é um análogo carbocíclico de nucleosídeo que possui atividade contra os vírus HBV (vírus da hepatite B) e HIV (McGUIGAN *et al.*, p. 7215, 2006).

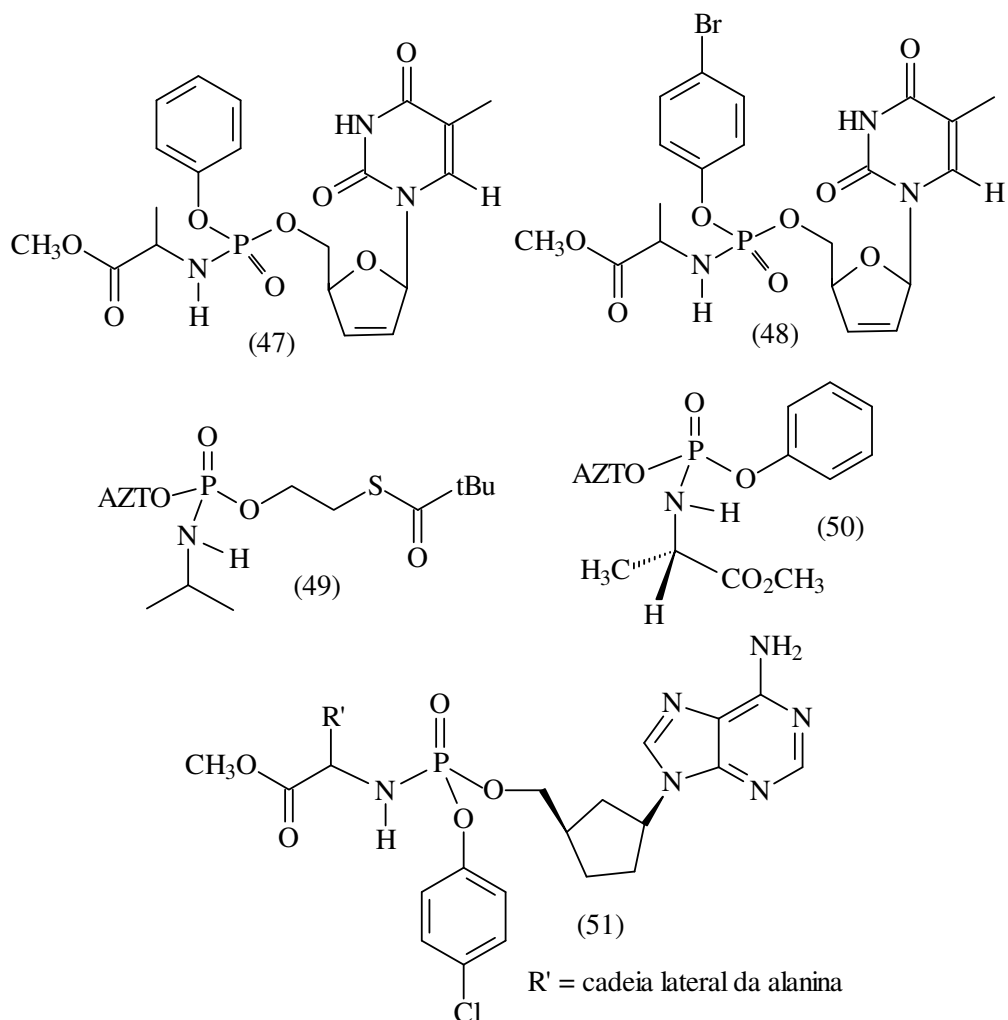


Figura 10: Fosforamidatos pró-nucleotídeos com atividade antiviral.

Os fosforamidatos pró-nucleotídeos apresentados na Figura 11 possuem atividade anticancerígena. O composto 52 apresenta ação contra o câncer de mama. Os compostos 53 e 54 têm atividade contra o câncer de próstata e o composto 55 tem ação contra o câncer de bexiga (McGUIGAN *et al.*, p. 452, 2006).

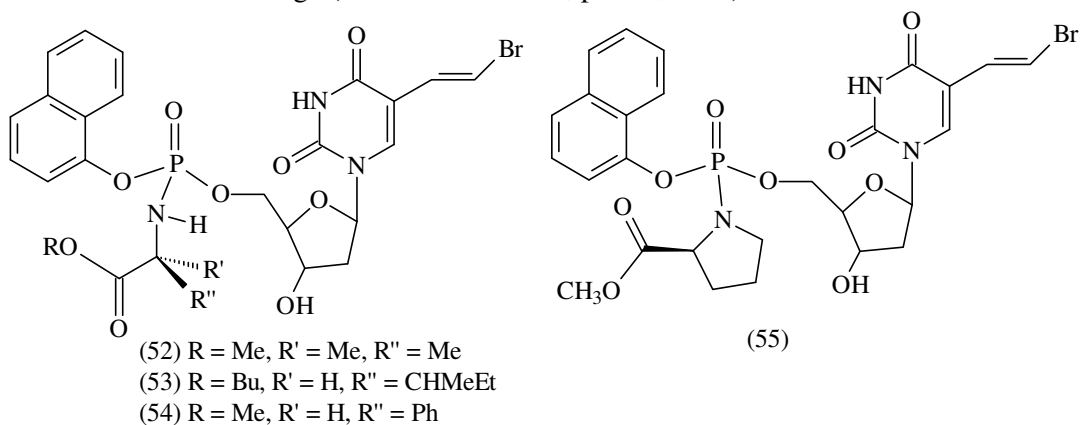


Figura 11: Fosforamidatos pró-nucleotídeos com atividade anticancerígena.

A ação dos compostos organofosforados nos sistemas biológicos está muito relacionada à interação destes compostos com enzimas. Neste campo de aplicação, entre 1970 e 1985 foram publicados mais de 70 artigos científicos relatando a interação de amino fosfonatos com enzimas, sendo que muitas destas enzimas estavam envolvidas no metabolismo de aminoácidos. Uma vez que a maioria dos amino fosfonatos estudados era análoga a aminoácidos, a interação com as enzimas era facilitada. Os compostos amino fosfonatos que apresentam ação inibitória, se diferenciam do substrato original somente por terem um grupamento ácido fosfônico ou ácido fosfínico no lugar do grupamento carboxila (KAFARSKI *et al.*, 1987). Com base neste retrospecto, a interação dos compostos amino fosfonatos 56, 57 e 58 com a enzima tirosinase foi estudada por WOJTASEK e colaboradores (WOJTASEK *et al.*, 2002). Dentre estes compostos, o que demonstrou a maior atividade, seja o substrato sendo L-tirosina ou L-dopa, foi o ácido (3,4-diidroxifenil)metil amino fosfônico (56). Os compostos 57 e 58 não apresentaram atividade inibitória sobre a enzima tirosinase. A estrutura destes amino fosfonatos está apresentada na Figura 12.

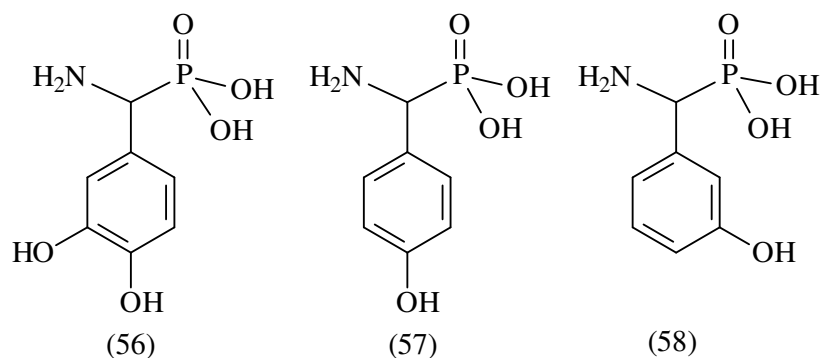


Figura 12: Amino fosfonatos cuja interação com a enzima tirosinase foi estudada.

A importância da enzima tirosinase, assim como seu mecanismo de ação, a sua participação nos organismos vivos, e a ação de diferentes compostos no que tange à sua inibição, está apresentada em detalhes no tópico 2.3.

2.2 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 13, considerando que esta não pertença a um heterociclo (KITAEV & BUZYKIN, 1972).

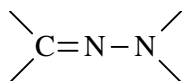


Figura 13: Fragmento triatômico que caracteriza as hidrazonas.

Apesar da limitação de que a função C=N-N não pertença a um heterociclo, um dos átomos de nitrogênio ou o átomo de carbono podem fazer parte de um anel não aromático (KITAEV & BUZYKIN, 1972).

As hidrazonas são substâncias fáceis de serem sintetizadas, sendo provenientes da reação de hidrazinas com compostos carbonílicos, em especial aldeídos ou cetonas. Aliado a este fato, soma-se a elevada reatividade, o que confere às hidrazonas uma ampla aplicabilidade na química sintética, onde são utilizadas como intermediários na síntese de compostos com estruturas diversas, tendo também aplicação na química analítica, onde são empregadas na identificação e no isolamento de compostos carbonílicos, além da detecção de vários cátions metálicos. Na indústria, as hidrazonas têm sido relatadas como agentes de plastificação, como estabilizantes de polímeros, como iniciadores de polimerização, como antioxidantes, dentre outros (KITAEV *et al.*, 1970). No entanto, dentre todas as propriedades inerentes às hidrazonas, a de maior valor é aquela correspondente à elevada atividade fisiológica. Neste sentido, as hidrazonas são relatadas como pesticidas, possuindo ação inseticida, herbicida, nematocida, dentre outras e, principalmente, são descritas como detentoras de ação farmacológica, tendo ação hipotensiva, antiinflamatória e atividade contra neoplasmas malignos, como leucemia e sarcomas (KITAEV *et al.*, 1970).

As hidrazonas também possuem propriedades quelantes, e seus complexos formados com cátions metálicos têm demonstrado relevante atividade fisiológica (AINSCOUGH *et al.*, 1998). Os compostos 59 e 60 (Figura 14) são relatados como tendo atividade antimalarial e antimicrobiana, já o composto 61 apresenta atividade contra leucemia (ZELENIN *et al.*, 1992).

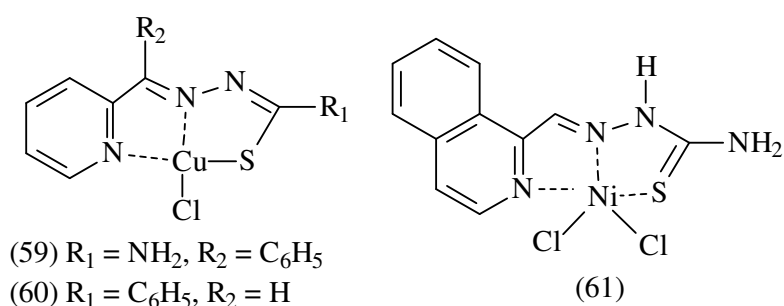


Figura 14: Complexos de hidrazonas com atividade fisiológica.

A literatura recente relata uma variedade de estudos científicos sobre a ação farmacológica diversificada das hidrazonas. Algumas hidrazonas com atividade analgésica foram sintetizadas por BARREIRO e colaboradores (BARREIRO *et al.*, 1996), destacando-se uma série de novas *N*-acilarilidrazonas derivadas do safrol (BARREIRO *et al.*, 2000). Este mesmo grupo de pesquisa sintetizou também diferentes *N*-acilidrazonas com potencial atividade analgésica, antiinflamatória e antitrombótica (BARREIRO *et al.*, 2002). Dentre estas hidrazonas estão os compostos 62, 63, 64 e 65, apresentados na Figura 15.

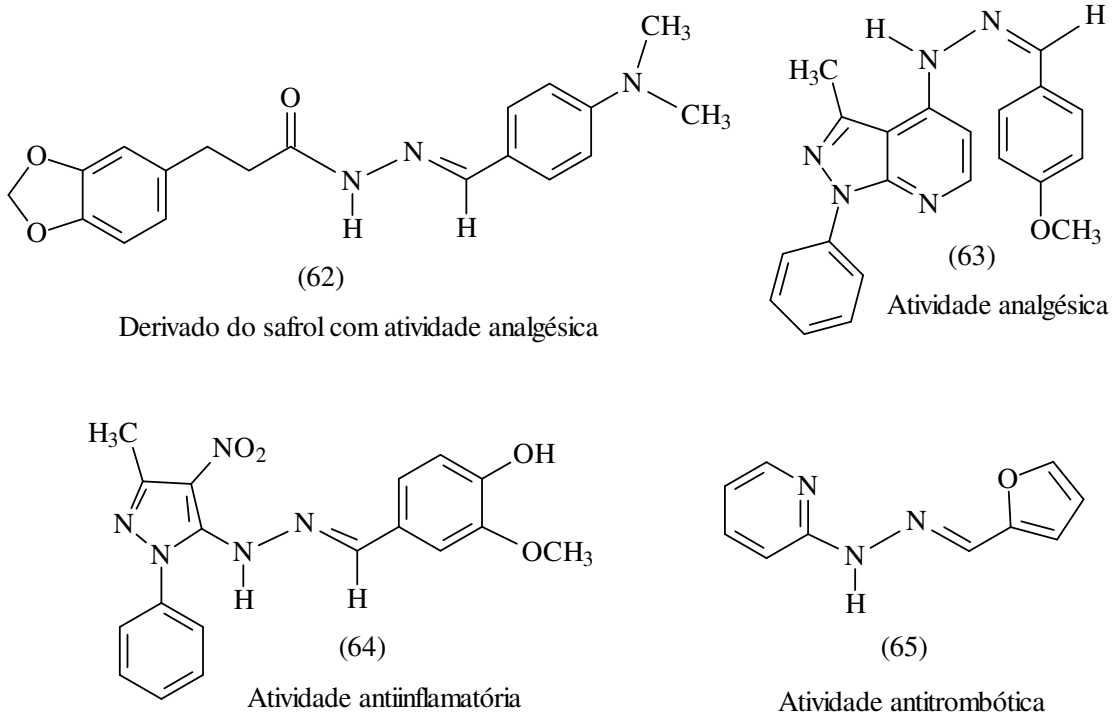


Figura 15: Hidrazonas com atividade analgésica, antiinflamatória e antitrombótica.

Hidrazonas derivadas de isatinas apresentam atividade antibacteriana. Dentre os derivados sintetizados, destacam-se os compostos 66, 67 e 68 (Figura 16). As hidrazonas 66 e 67 mostraram ter maior atividade do que o antibiótico amoxicilina contra a bactéria *Escherichia coli*. Já a hidrazona 68 também apresenta maior atividade do que a amoxicilina frente às bactérias *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* e *Salmonella typhimurium* (RAMESH *et al.*, 2001). As hidrazonas 66 e 67, assim como a hidrazona 69, também apresentam propriedades anticonvulsivas (RAMESH *et al.*, 2002).

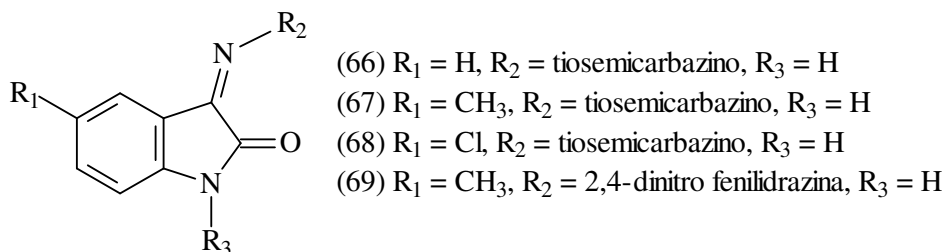


Figura 16: Hidrazonas com atividade antibactericida e anticonvulsiva.

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 70 (Figura 17) apresentou a maior atividade de clivagem do DNA (HWU *et al.*, 2004).

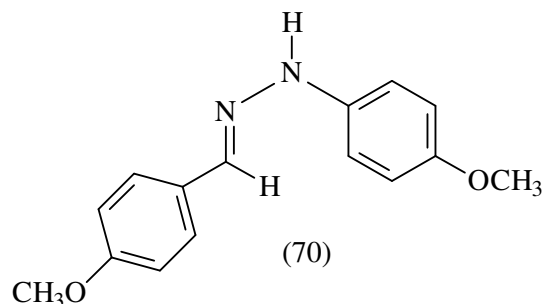


Figura 17: Arilidrazona que atua como agente de clivagem do DNA.

A atividade antitumoral de derivados hidrazônicos tem sido relatada frequentemente na literatura científica. Uma série de novos derivados hidrazinopirimidina-5-carbonitrilas foi sintetizada e testada contra diferentes linhagens celulares dos seguintes tipos de câncer: leucemia, pulmonar, melanoma, renal e ainda, câncer de próstata, de cólon, de mama, de ovário e no sistema nervoso central. Dentre os derivados testados, as hidrazonas 71, 72, 73, 74 e 75 demonstraram a atividade inibitória mais significativa, em relação a um ou mais tipos de câncer. A Figura 18 apresenta a estrutura destes derivados e o tipo de câncer que sofreu ação inibitória (ONNIS *et al.*, 2006).

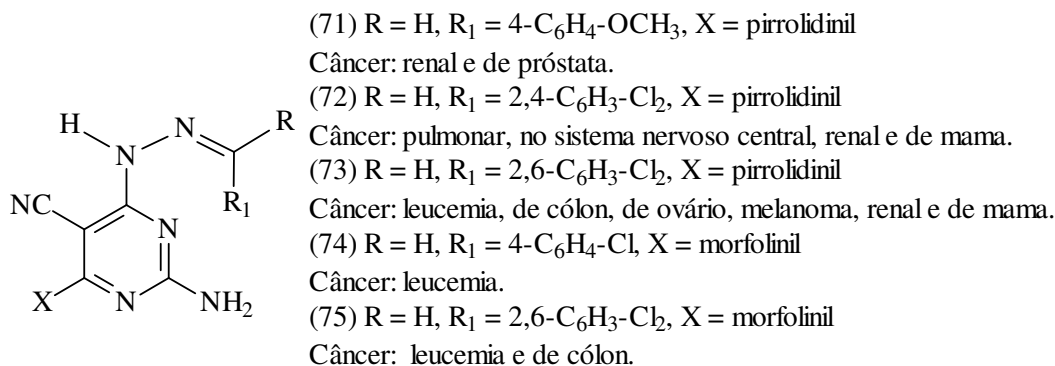


Figura 18: Hidrazonas que apresentam atividade inibitória frente a uma variedade de tipos de câncer.

O efeito antiproliferativo de novas benzo[d]isotiazóis hidrazonas foi avaliado contra diferentes linhagens de células de leucemias e de tumores sólidos de melanomas, câncer de mama, de pulmão, de próstata e carcinoma hepatocelular. Dentre todos os compostos testados, a hidrazona 76 (Figura 19) é a que possui a maior atividade frente a todos os tipos de câncer avaliados, apresentando IC₅₀ na faixa de 0,5 a 8,0 µM. A maior atividade da hidrazona 76 (IC₅₀ = 0,5µM) é frente à leucemia (COLLA *et al.*, 2006).

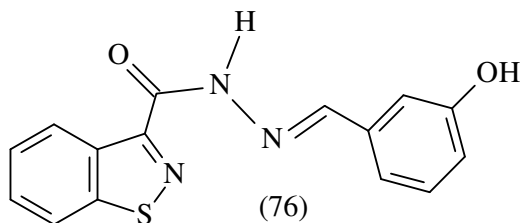
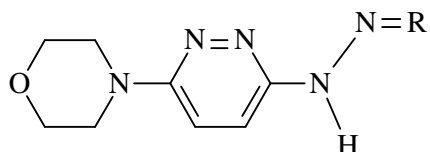


Figura 19: Benzo[d]isotiazol hidrazona com potencial atividade anticâncer.

Em relação à ação sobre a enzima tirosinase, HUSZTI e colaboradores estudaram o efeito inibidor de uma série de piridazinil hidrazonas e sua relação com os níveis de noradrenalina. A enzima tirosinase está presente, dentre outros locais, no cérebro, nos nervos noradrenérgicos periféricos e na medula adrenal. Nestes locais, a tirosinase atua na biossíntese da noradrenalina, de forma que a inibição desta enzima leva, conseqüentemente, à diminuição da síntese e dos níveis de noradrenalina, ocasionando um efeito anti-hipertensivo. Dentre as hidrazonas estudadas, o composto 77 (Figura 20) apresentou a maior ação inibitória, com concentração inibitória de 6E-05M, e elevado efeito hipotensivo (HUSZTI *et al.*, 1983).



R = (1-terciário-butoxi-carbonil)-2-propilideno

(77)

Figura 20: Hidrazona com ação inibitória sobre a tirosinase e efeito hipotensivo.

2.3 *Tirosinase*

A tirosinase (monofenol, diidroxifenilalanina:oxigênio oxireductase, EC 1.14.18.1), também denominada polifenol oxidase, é uma enzima amplamente distribuída na escala filogenética, estando presente em animais, plantas e microorganismos, sendo essencial na biossíntese das melaninas, onde atua na etapa limitante da velocidade da reação (KUBO & KINST-HORI, 1998; KONDO *et al.*, 2000; ESPÍN & WICHERS, 2001; TAKEKOSHI *et al.*, 2003). As melaninas são pigmentos vastamente distribuídos na natureza, sendo, assim como a tirosinase, encontrados em bactérias, fungos, plantas e animais. A estrutura das melaninas é composta de biopolímeros heterogêneos, formados por polifenóis, cuja coloração varia do amarelo ao negro (UYAMA & KIM, 2005). Nos mamíferos, estes biopolímeros são denominados eumelanina, feomelanina e neuromelanina, havendo ainda aqueles que são formados pela mistura dos pigmentos eumelanina e feomelanina (WORTSMAN *et al.*, 2004).

As melaninas são produzidas em células denominadas melanócitos. A distribuição dos melanócitos e o grau de pigmentação são o que determina a cor da pele e dos pêlos nos animais. Nos mamíferos há basicamente dois tipos de melaninas associadas à pigmentação da pele e dos cabelos, a eumelanina, que possui coloração marrom avermelhada, e a feomelanina, que varia do amarelo ao marrom avermelhado (GARCÍA-CARMONA *et al.*, 1995; UYAMA & KIM, 2005). Estes pigmentos são formados por uma série de reações químicas e enzimáticas, que foram primeiramente descritas por RAPER (RAPER, 1928) e confirmadas por MASON (MASON, 1965, GARCÍA-CARMONA *et al.*, 1995). A biossíntese das melaninas descrita por Raper e Mason (rota de Raper-Mason) é apresentada na Figura 21.

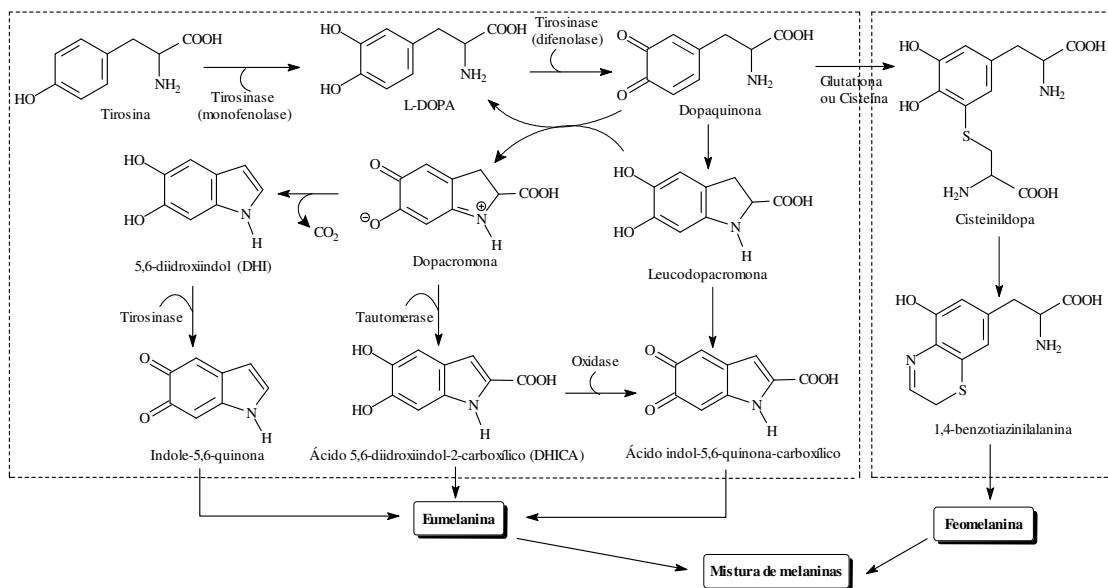


Figura 21: Rota da biossíntese das melaninas descrita por Raper e Mason.

A formação das melaninas (Figura 21) envolve uma série de reações de oxidação na presença da tirosinase. Esta enzima, pertencente à classe das oxigenases, possui um sítio ativo com dois átomos de cobre. Na formação das melaninas, três tipos de tirosinase (met, oxi e deoxitirosinase), com diferentes sítios ativos envolvendo estruturas binucleares com átomos de cobre, estão presentes. A ação da tirosinase nos organismos vivos, conforme apresenta a Figura 21, consiste na hidroxilação do aminoácido tirosina, através da ação monofenolase, formando a substância 3,4-diidroxifenilalanina (L-DOPA), seguido da oxidação desta a *o*-dopaquinona, pela ação difenolase da tirosinase. A reação de oxidação da tirosina é a etapa lenta e, portanto, a etapa limitante da ação da tirosinase (GARCÍA-CARMONA *et al.*, 1995; UYAMA & KIM, 2005). A Figura 22 apresenta o ciclo catalítico da tirosinase.

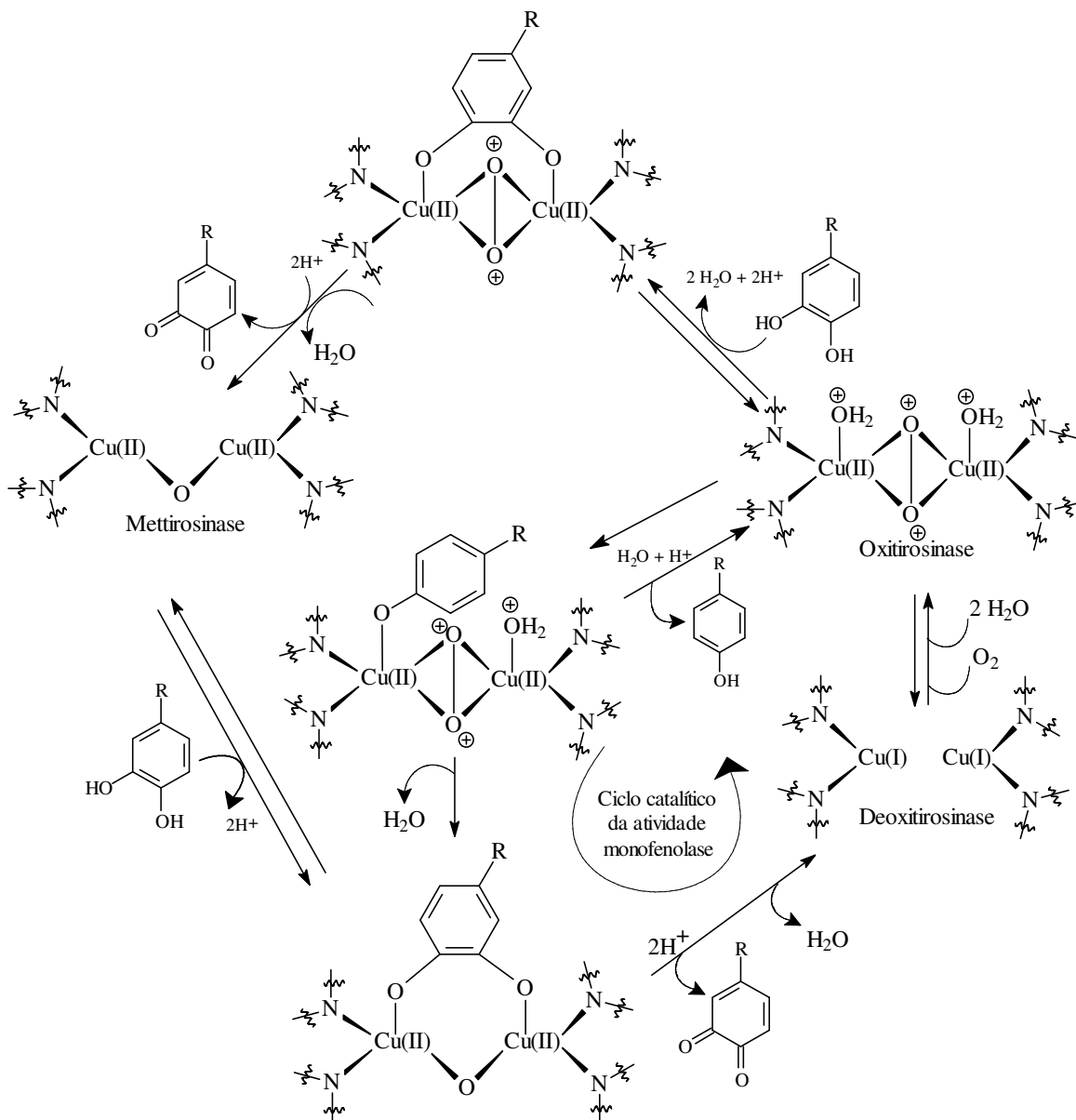


Figura 22: Ciclo catalítico de ação da tirosinase.

A tirosinase atua também, em mamíferos, na síntese das catecolaminas, dopamina, norepinefrina e epinefrina. Estas catecolaminas agem, principalmente, como neurotransmissores, possuindo também funções na regulação do sistema orgânico, incluindo àquelas associadas à pele. A biossíntese das catecolaminas ocorre, conforme é apresentado na Figura 23, a partir da conversão da tirosina em L-DOPA, catalisada pela tirosinase, seguido da descarboxilação da L-DOPA formando a dopamina, que é então hidroxilada formando a norepinefrina, que sofre metilação gerando a epinefrina. *In vitro*, todas estas catecolaminas podem ser convertidas em neuromelaninas, através de uma série de reações de oxi-redução, porém, *in vivo*, somente a dopamina pode gerar este pigmento (WORTSMAN *et al.*, 2004).

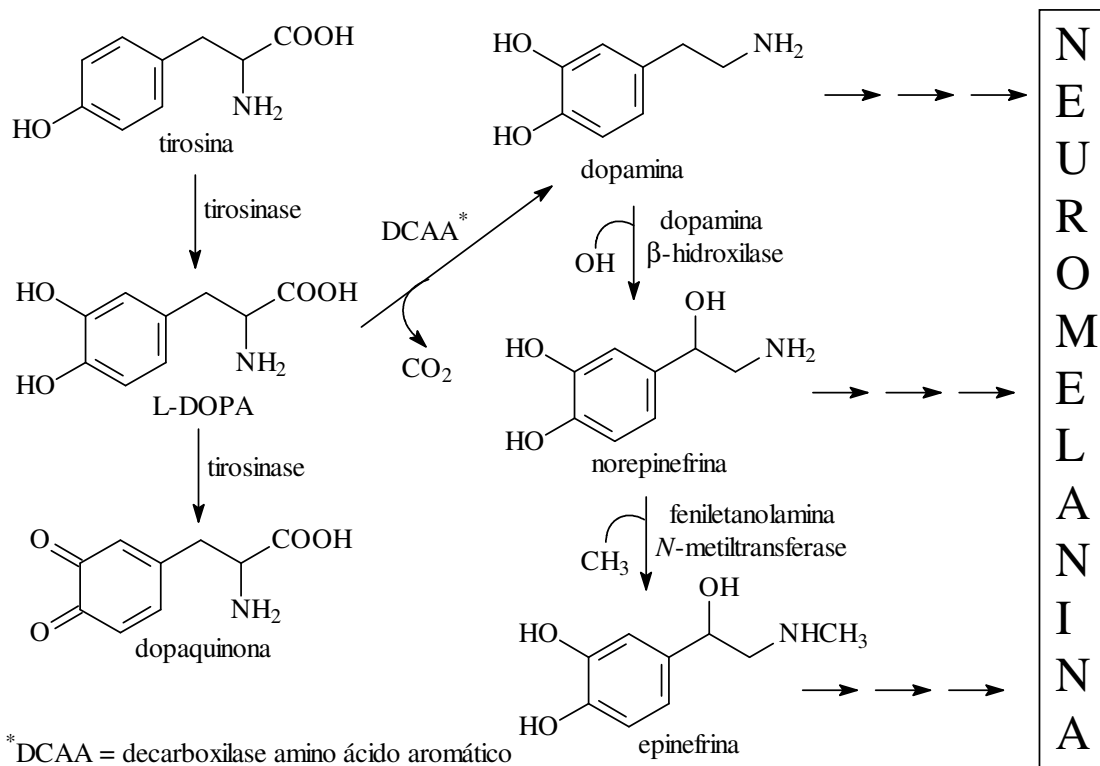


Figura 23: Biossíntese das catecolaminas.

Se inicialmente na natureza a tirosinase catalisa as etapas iniciais na formação das melaninas a partir da tirosina, nas plantas, a tirosinase atua também oxidando substratos fisiológicos, que correspondem a uma variedade de compostos fenólicos. A tirosinase oxida estes substratos num mecanismo de escurecimento observado quando os tecidos destas plantas são danificados, contudo, o propósito desta ação ainda não está claro. Uma possível proposta é a proteção da parte danificada de patógenos ou insetos (UYAMA & KIM, 2005).

Nos insetos, a tirosinase também apresenta um papel fundamental, pois atua no desenvolvimento e na função defensiva. Nestes animais a tirosinase age na melanogênese, na cicatrização, no encapsulamento de parasitas e na esclerotização (UYAMA & KIM, 2005; SUGUMARAN, 1991).

Se, por um lado, a tirosinase apresenta funções vitais no metabolismo de animais, plantas e microorganismos, por outro, algumas alterações e distúrbios são decorrentes ou estão associados à ação desta enzima. As alterações oriundas do grau e da distribuição das melaninas ocasionam uma série de distúrbios dermatológicos, dentre os quais há aqueles resultantes da acumulação excessiva de pigmentação na epiderme, como os melasmas (Figura 24), as marcas associadas à idade e os danos actínicos. Estudos estão sendo realizados para investigar a associação da biossíntese das melaninas com melanomas malignos, assim como a deficiência de pigmentação nos casos de albinismo oculocutâneo (Figura 25) é correlacionada à variedade de mutações no gene da tirosinase humana (UYAMA & KIM, 2005; ZAHED, *et al.*, 2005).



Figura 24: Marcas de melasma em um rosto feminino.



Figura 25: Mulher e filhote de leão com albinismo oculocutâneo.

O acúmulo excessivo de dopamina, a qual é produzida na etapa inicial pela ação da tirosinase (Figura 23), leva à formação de espécies reativas de oxigênio, como as *o*-quinonas, que possuem ação tóxica, provocando a morte de células (WORTSMAN *et al.*, 2004). A neurodegeneração associada à doença de Parkinson pode estar relacionada a este efeito, aliada ao número excessivo de neurônios não pigmentados, ou seja que não possuem neuromelaninas, que por sua vez deixaram de ser produzidas devido à oxidação da dopamina em espécies reativas de oxigênio (WORTSMAN *et al.*, 2004; KUBO *et al.*, 2004; VRANA *et al.*, 1997). A dopamina e os metabólitos oriundos da sua oxidação, também são associados aos distúrbios que ocasionam o vitiligo (WORTSMAN *et al.*, 2004).

Na indústria alimentícia, a ação da tirosinase tem impacto no controle da qualidade e na economia. Em frutas e vegetais, a tirosinase catalisa a oxidação de compostos fenólicos a quinonas, sendo responsável pelo escurecimento destes alimentos. Este escurecimento é facilmente observado ao se cortar uma maçã, por exemplo, e se deixar a superfície cortada exposta ao ar (GARCÍA-CARMONA *et al.*, 1995; UYAMA & KIM, 2005). Em adição à ação de escurecimento de alimentos, que ocasiona cor e sabor desagradáveis, as quinonas formadas podem reagir irreversivelmente com os grupamentos amino e sulfidríla das proteínas, reduzindo a digestibilidade destas e a biodisponibilidade de aminoácidos essenciais, como a lisina e a cisteína (UYAMA & KIM, 2005; FRIEDMAN, 1996).

Em virtude dos efeitos indesejáveis causados ou associados à ação da tirosinase, a busca de compostos que sejam inibidores desta enzima tem sido de interesse crescente por parte dos grupos de pesquisa e da indústria de medicamentos, que têm interesse em agentes eficazes nos distúrbios de pigmentação; da indústria de cosméticos, que tem por objetivo, em especial, os produtos clareadores da pele; da indústria alimentícia, que busca inibir o escurecimento dos alimentos e seus efeitos; e ainda da indústria de defensivos agrícolas, que está buscando nos compostos inibidores da tirosinase, uma alternativa para o controle das infestações por insetos (KONDO *et al.*, 2000; UYAMA & KIM, 2005).

Dentre os compostos que possuem atividade inibitória frente à tirosinase, há aqueles de origem natural e sintética. No grupo dos compostos de origem natural há os flavonóides, que por serem compostos polifenólicos, possuem grupos hidroxilas livres, apresentando em partes das moléculas similaridade com a tirosina e a L-DOPA. Alguns flavonóides contendo um α -ceto grupo apresentam acentuada inibição sobre a tirosinase. Este efeito inibidor é atribuído à similaridade entre o grupo diidroxifenil na L-DOPA e o α -ceto grupo nos flavonóides. Dentre os flavonóides, os flavonóis com a porção 3-hidroxi-4-ceto, como o caemferol (78) e o quercetim (79) apresentados na Figura 26, inibem competitivamente a atividade da tirosinase, através da habilidade que possuem de complexar os átomos de cobre presentes no sítio ativo da enzima, conduzindo à inativação irreversível da tirosinase (KUBO & KINST-HORI, p. 4121, 1999; KUBO *et al.*, p. 1749, 2000; UYAMA & KIM, 2005).

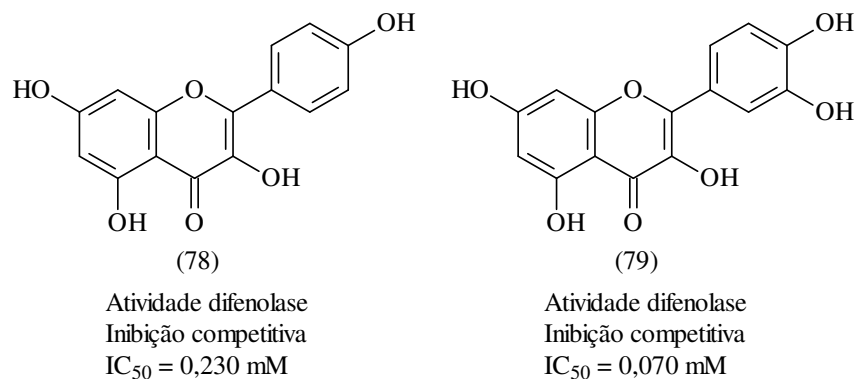


Figura 26: Flavonóides inibidores da tirosinase.

Os compostos com o esqueleto resorcinol com o substituinte na posição 4 (Figura 27), também se apresentam como inibidores da tirosinase. Para estes derivados do resorcinol, o maior potencial de inibição ocorre quanto maior for a interação hidrofóbica entre o substituinte e a enzima, de forma que os compostos 4-hexilresorcinol (80) e 4-dodecilresorcinol (81) apresentam elevada atividade inibitória, tanto sobre a atividade monofenolase, quanto sobre a atividade difenolase da tirosinase (CHEN *et al.*, p. 135, 2004; UYAMA & KIM, 2005).

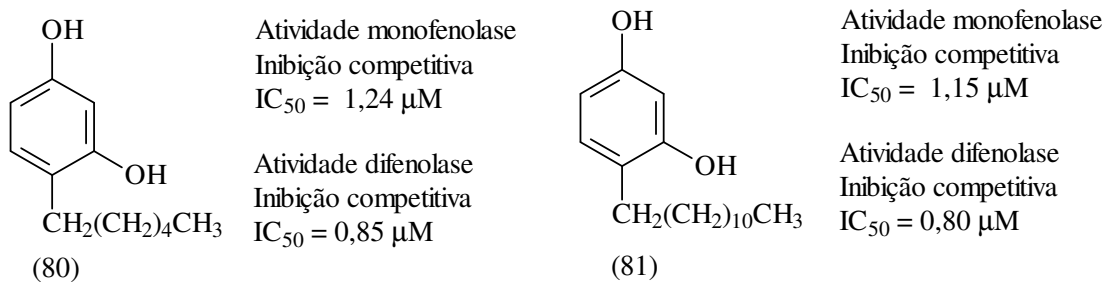
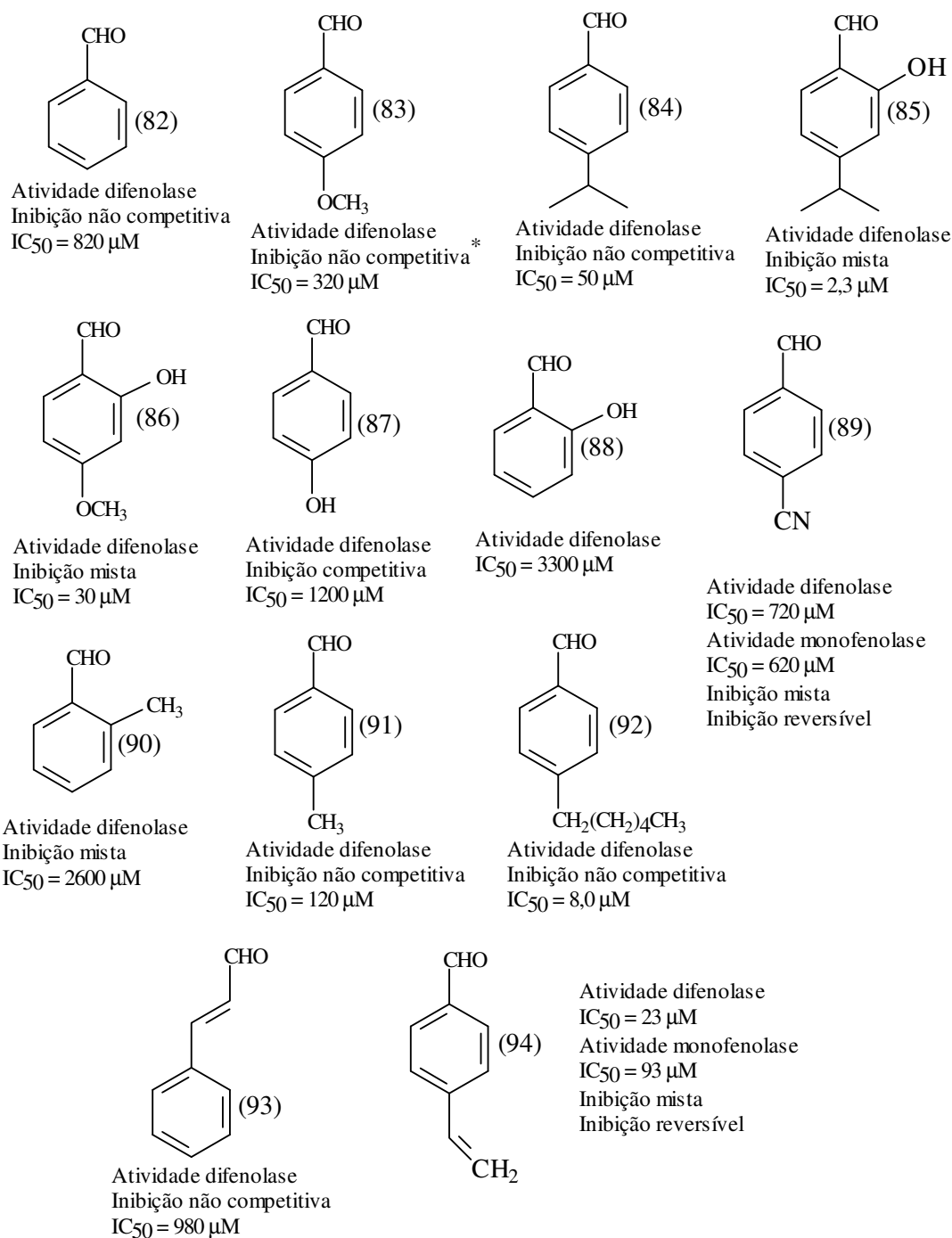


Figura 27: Atividade dos compostos 4-hexilresorcinol e 4-dodecilresorcinol sobre a tirosinase.

Compostos com a função aldeído também são relatados como inibidores da tirosinase. Esta atividade é supostamente atribuída à habilidade dos aldeídos em formar uma base de Schiff com um grupamento amino primário presente na tirosinase, o que ocasiona o rompimento de uma estrutura terciária presente na enzima. No caso do benzaldeído (82), apresentado na Figura 28, a atividade inibitória é acrescida quando grupamentos doadores de elétrons estão na posição *para* no anel aromático, o que provavelmente ocorre devido à estabilização da base de Schiff formada. Para exemplificar este fato, tem-se o anisaldeído (83) e o cuminaldeído (84), que possuem, respectivamente, atividade inibitória 2,5 e 16 vezes superior ao benzaldeído (Figura 28). No caso do cuminaldeído (4-isopropilbenzaldeído), a atividade inibitória é acrescida pelo fato do grupamento isopropil, além de contribuir para a estabilização da base de Schiff formada através do efeito indutivo, também interagir com a tirosinase através da porção hidrofóbica da enzima, estabilizando ainda mais a ligação entre o cuminaldeído e a tirosinase (KUBO & KINST-HORI, p. 5338, 1998; KUBO & KINST-HORI, p. 4574, 1999). Em relação ao anisaldeído, estudos recentes sugerem que a atividade inibitória deste aldeído não é somente atribuída à formação da base de Schiff, mas também a uma ligação hidrogênio com a enzima. Esta ligação hidrogênio também leva ao rompimento de uma estrutura terciária presente na enzima. No entanto, tanto a formação da base de Schiff, quanto a interação da ligação hidrogênio são reversíveis, de forma que a enzima recompõe a sua estrutura terciária, demonstrando que a inibição da tirosinase pelo anisaldeído é dependente do tempo de interação entre ambos (KUBO *et al.*, 2005).

Os aldeídos aromáticos 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93 e 94, que possuem variados grupos substituintes no anel e em diferentes posições, foram testados quanto à ação inibitória sobre a tirosinase. Com base na Figura 28, observa-se que o maior efeito inibidor ocorre para os aldeídos aromáticos que possuem grupamentos doadores de elétrons que possam vir a estabilizar a base de Schiff oriunda da interação com a tirosinase e, principalmente, para aqueles que possuem grupamentos hidrofóbicos que interajam com a enzima. Quando estas duas características estão reunidas num só composto, tem-se um potente inibidor da tirosinase como, por exemplo, o 2-hidroxi-4-isopropilbenzaldeído (85) que possui elevada atividade inibitória (KUBO & KINST-HORI, p. 1268, 1998; KUBO & KINST-HORI, p. 5338, 1998; KUBO & KINST-HORI, p. 4574, 1999; CHEN *et al.*, p. 491, 2003; CHEN *et al.*, p. 607, 2003; KUBO *et al.*, 2004; CHEN *et al.*, 2005).



* O anisaldeído, que é comumente descrito como inibidor não competitivo, foi citado num estudo de GARCÍA-CARMONA *et al.* como um inibidor competitivo (GARCÍA-CARMONA *et al.*, 2001).

Figura 28: Aldeídos aromáticos inibidores da tirosinase.

A forma de inibição mista sobre a tirosinase exercida pelos compostos 85, 86 e 90 é atribuída à habilidade destes compostos em interagir com a enzima através de dois mecanismos distintos, que compreendem a formação da base de Schiff e a complexação com os átomos de cobre presentes no sítio ativo da tirosinase (KUBO & KINST-HORI,

p. 4574, 1999; KUBO *et al.*, 2004; CHEN *et al.*, 2005). Já o *p*-hidroxibenzaldeído apresenta inibição competitiva, porque interage com a tirosinase ligando-se preferencialmente, através do grupamento hidroxila, aos átomos de cobre do sítio ativo, ou seja da mesma forma que o substrato L-DOPA (KUBO & KINST-HORI, p. 5338, 1998).

Similarmente aos aldeídos aromáticos, os aldeídos alifáticos também exercem efeito inibidor sobre a atividade difenolase da tirosinase. A forma de inibição é também atribuída, preferencialmente, à formação da base de Schiff e/ou à interação hidrofóbica entre o aldeído e a enzima em relação à interação binuclear com os átomos de cobre do sítio ativo. A interação hidrofóbica exerce um efeito importante sobre a atividade inibitória, uma vez que conforme aumenta a cadeia alquílica em (*2E*)-alquenais, maior é o potencial inibidor do aldeído, conforme pode ser verificado nos compostos 95 e 96 na Figura 29 (KUBO & KINST-HORI, p. 4574, 1999; UYAMA & KIM, 2005).

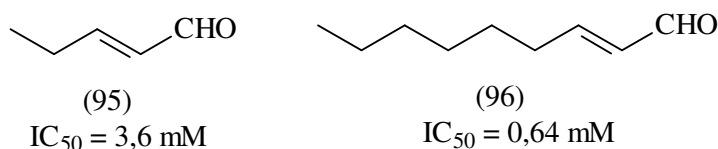


Figura 29: Aldeídos alifáticos inibidores da tirosinase.

Ácidos e ésteres também apresentam atividade inibitória sobre a tirosinase. Estes compostos inibem a tirosinase através dos mesmos mecanismos que os aldeídos, ou seja, através da formação de uma base de Schiff, de ligação hidrogênio e/ou através da interação hidrofóbica com a enzima, ou ainda através da complexação com os átomos de cobre no sítio ativo. Em geral, quando ocorre a inibição através da complexação no sítio ativo da tirosinase, a inibição enzimática é do tipo mista, pois ocorre em conjunto com pelo menos uma das outras três formas de inibição. O ácido gálico (97) e seus ésteres, como o galato de dodecila (98), o ácido 4-vinilbenzóico (99), o ácido ascórbico (100), o ácido kójico (101), ácidos derivados do ácido cinâmico, como o ácido 4-hidroxi-3-metoxicinâmico (102), o ácido 4-cianobenzóico (103), o ácido (S)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (104), derivado da vitamina E, e os ácidos 4-halobenzóicos (105), (106) e (107) são exemplos de compostos testados quanto à inibição da tirosinase, conforme apresenta a Figura 30 (KUBO *et al.*, p. 1393, 2000; LEE, 2002; KUBO *et al.*, 2003; Yu, 2003; CHEN *et al.*, p. 607, 2003; TAKEKOSHI *et al.*, 2003; CHEN *et al.*, p. 303, 2004; CHEN *et al.*, 2005).

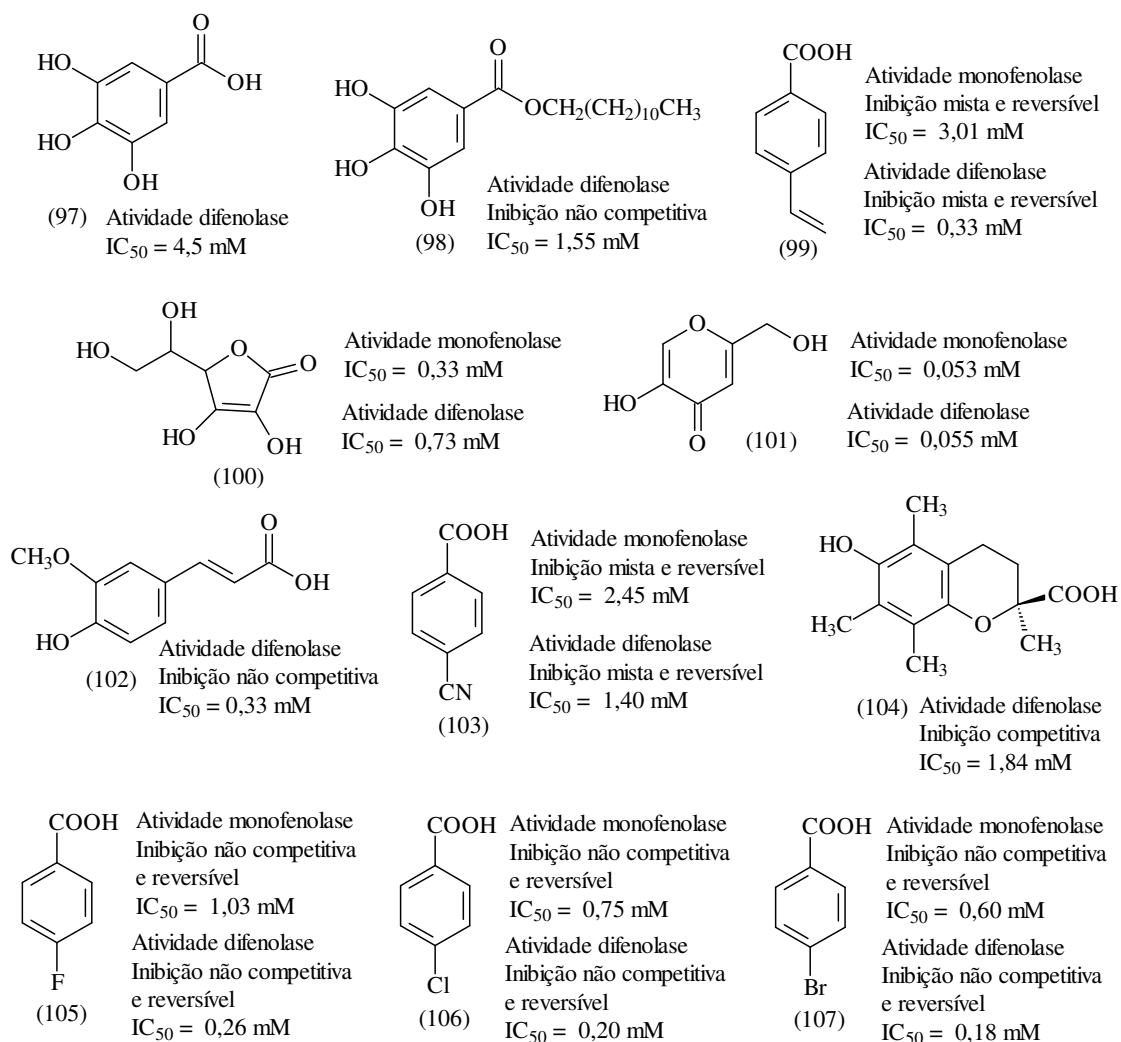


Figura 30: Ácidos e ésteres testados quanto à atividade inibitória sobre a tirosinase.

O ácido ascórbico (100) e o ácido kójico (101) também inibem a ação da tirosinase através da redução da *o*-dopaquinona formada a um *o*-difenol (L-DOPA), impedindo a formação de dopacromona. A Figura 31 ilustra esta reação para o ácido ascórbico.

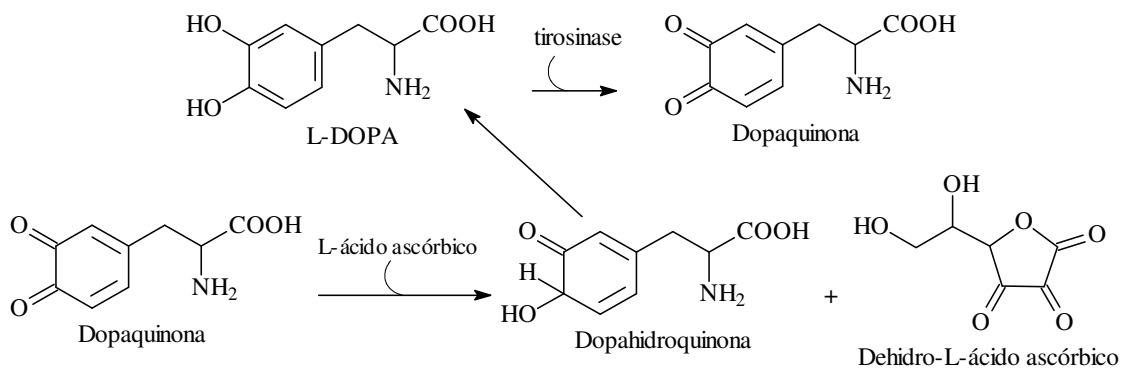


Figura 31: Mecanismo de inibição da tirosinase pelo ácido ascórbico.

Dentre as substâncias de origem sintética que possuem efeito inibidor sobre a tirosinase estão o captropil [(2S)-N-(3-mercaptopropionil)-L-prolina] (108) e o metimazol (1-metil-2-mercaptopimidazol) (109), Figura 32, os quais possuem um grupamento tiol livre e inibem a atividade da enzima tirosinase através do mesmo processo, ou seja, pela interação do grupamento tiol com a *o*-dopacromona proveniente da oxidação da L-DOPA, inibindo o processo de pigmentação. Estas substâncias também promovem a inibição da tirosinase através da complexação com os átomos de cobre presentes no sítio ativo da enzima. O captropil, utilizado no tratamento de hipertensão e doenças cardíacas, apresenta inibição irreversível e não competitiva sobre a atividade monofenolase da tirosinase, enquanto que sobre a atividade difenolase exerce inibição irreversível e competitiva. Já o metimazol, utilizado em tratamentos do hipertireoidismo, inibe as atividades monofenolase e difenolase da tirosinase com uma característica mista de inibição (ANDRAWIS & KANH, 1986; ESPÍN & WICHERS, 2001; UYAMA & KIM, 2005).

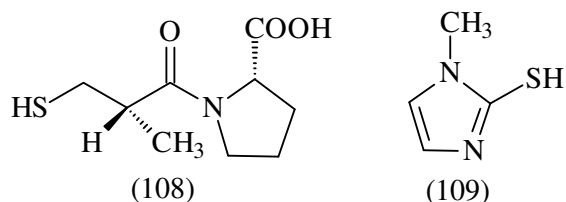


Figura 32: Captropil e metimazol: compostos inibidores da tirosinase.

Uma série de compostos com o esqueleto *N*-substituinte *N*-nitrosoidroxilamina foi testada em relação ao potencial inibitório sobre a atividade difenolase da tirosinase. Nestes compostos, o fator que afeta o potencial de inibição é o volume do substituinte ligado ao átomo de nitrogênio o qual, possivelmente, dificulta a interação do composto com os átomos de cobre presentes no sítio ativo da enzima, através de impedimento estérico. O composto *N*-ciclopentil-*N*-nitrosoidroxilamina (110), Figura 33, apresenta a maior atividade inibitória entre os derivados testados (SHIINO *et al.*, 2001; UYAMA & KIM, 2005).

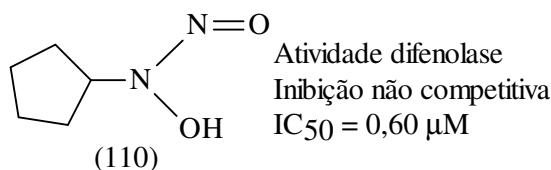


Figura 33: Composto *N*-ciclopentil-*N*-nitrosoidroxilamina.

Uma vez que a enzima tirosinase também está presente em células de melanomas, compostos que sejam substratos da tirosinase estão sendo avaliados no tratamento do melanoma maligno. O objetivo da ação destes compostos é que eles sejam pró-fármacos, ou seja, eles devem conter uma porção ativa contra o tumor que seja liberada somente no sítio do tumor. As características principais que estes compostos devem ter são a presença de um grupo catecol ou fenol e a estabilidade da porção ativa até o momento correto da sua liberação. A Figura 34 apresenta o mecanismo proposto de liberação da porção ativa dos pró-fármacos. Nesta figura, a

porção ativa está representada pela sigla PA (OSBORN *et al.*, 1999; OSBORN *et al.*, 2001; GESSON *et al.*, 2002).

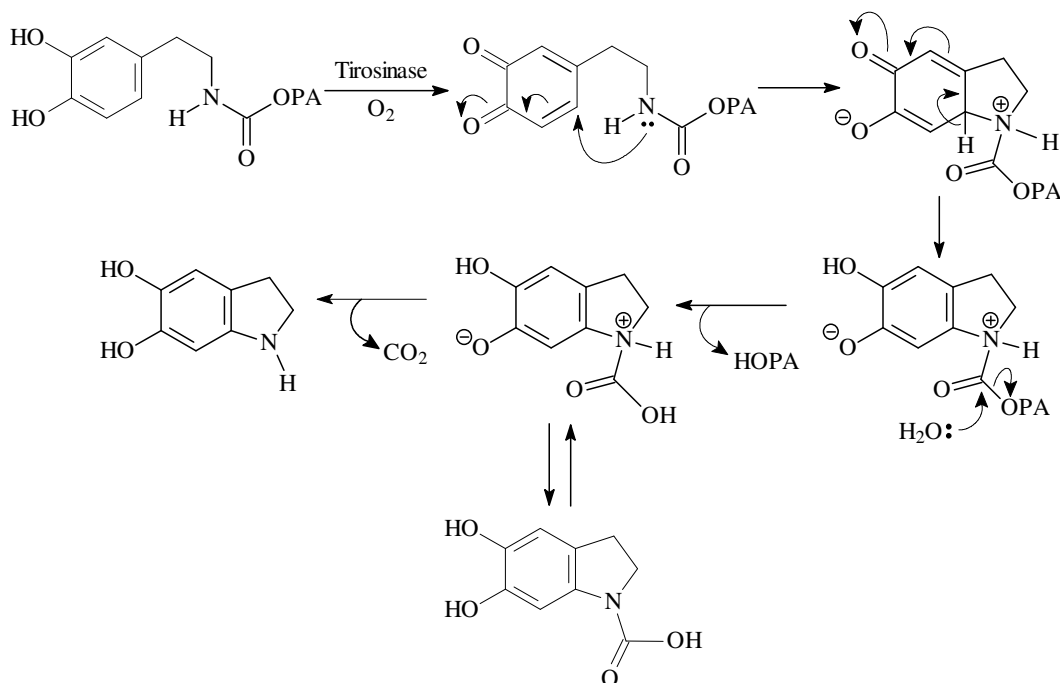


Figura 34: Mecanismo proposto de ação dos pró-fármacos.

Dentre os compostos estudados por OSBORN e colaboradores, os compostos 111 e 112 (Figura 35) são os que apresentam as melhores características para atuarem como substratos da tirosinase e, conseqüentemente, serem pró-fármacos no tratamento do melanoma maligno. É importante ressaltar que, para o caso do composto 111, o mecanismo apresentado na Figura 34 possui uma etapa anterior de hidroxilação do anel aromático, a qual é realizada através da ação da tirosinase (OSBORN *et al.*, 2001; GESSON *et al.*, 2002).

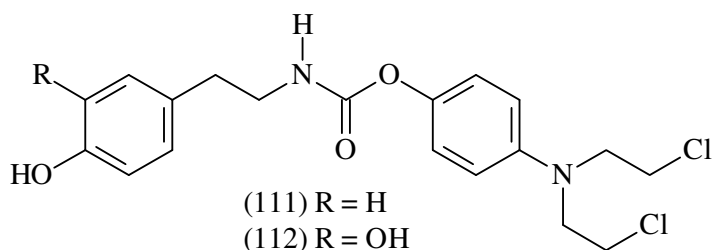


Figura 35: Compostos que são substratos da tirosinase e têm características de pró-fármacos.

Em relação à interação dos compostos organofosforados com a enzima tirosinase, há poucos resultados relatados na literatura. As investigações científicas realizadas neste sentido, apresentam estudos de inibição dos compostos do tipo amino fosfonatos, conforme foi apresentado no tópico 2.1. Dentre os bisfosfonatos estudados, o ácido (3,4-diidroxifenil)metil amino fosfônico (56), Figura 12, foi o que apresentou o maior potencial inibitório (KAFARSKI *et al.*, 1987; WOJTASEK *et al.*, 2002). O mecanismo de ação estudado *in vitro* e proposto para este composto não está na ação

direta sobre a enzima tirosinase, mas sim na sua interação com a *o*-dopaquinona, reduzindo esta a L-DOPA (Figura 36), o que diminui e retarda a formação de dopacromona e, conseqüentemente, a síntese das melaninas. A oxidação do composto 56 pela *o*-dopaquinona, leva à formação da *o*-quinona do derivado organofosforado, que se decompõem rapidamente formando o composto 3,4-diidroxibenzaldeído. A formação deste aldeído foi confirmada por análise de RMN de ^1H (WOJTASEK *et al.*, 2002).

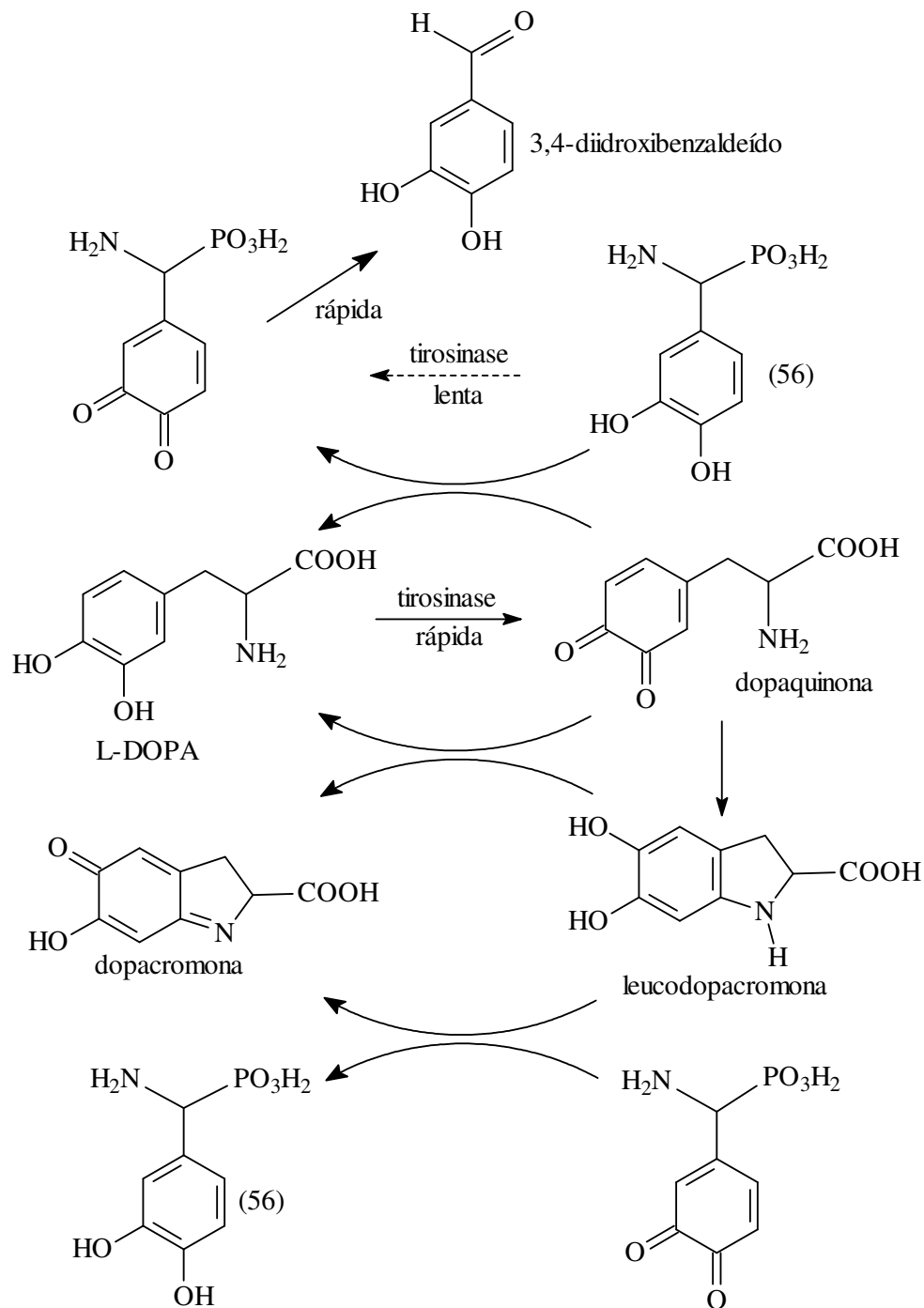


Figura 36: Reações que ocorrem numa mistura de ácido (3,4-diidroxifenil)metil amino fosfônico e L-DOPA na presença de tirosinase.

A interação das hidrazonas com a enzima tirosinase também é descrita na literatura através da substância hidrocloreto de 2-benzotiazolinoneidrazona, também conhecida como hidrazona de Besthorn, ou MBTH, a qual é utilizada em ensaios que avaliam a atividade difenolase da tirosinase. O ensaio *in vitro* mais comumente empregado na literatura para avaliar a oxidação da L-DOPA pela tirosinase é o método da dopacromona, onde a formação desta substância, que possui absorção máxima de 475 nm, é acompanhada espectrofotometricamente. No entanto, este método não mede os produtos diretos da oxidação da L-DOPA, que seriam a *o*-dopaquinona, que se oxida muito rapidamente e, seqüencialmente, a leucodopacromona que, por sua vez, assim como a *o*-dopaquinona, não absorve em 475 nm. Assim, o método da dopacromona admite que toda a *o*-dopaquinona formada é convertida em dopacromona, o que muito provavelmente não reflete a realidade, pois tanto a *o*-dopaquinona quanto a leucodopacromona são encontradas em melaninas. No método que envolve a hidrazona de Besthorn, a *o*-dopaquinona, oriunda da oxidação da L-DOPA, reage através de adição de Michael (Figura 37) com esta hidrazona, formando um produto de coloração rosa intensa. A formação deste produto é acompanhada espectrofotometricamente na absorção de 505 nm (WINDER E HARRIS, 1991).

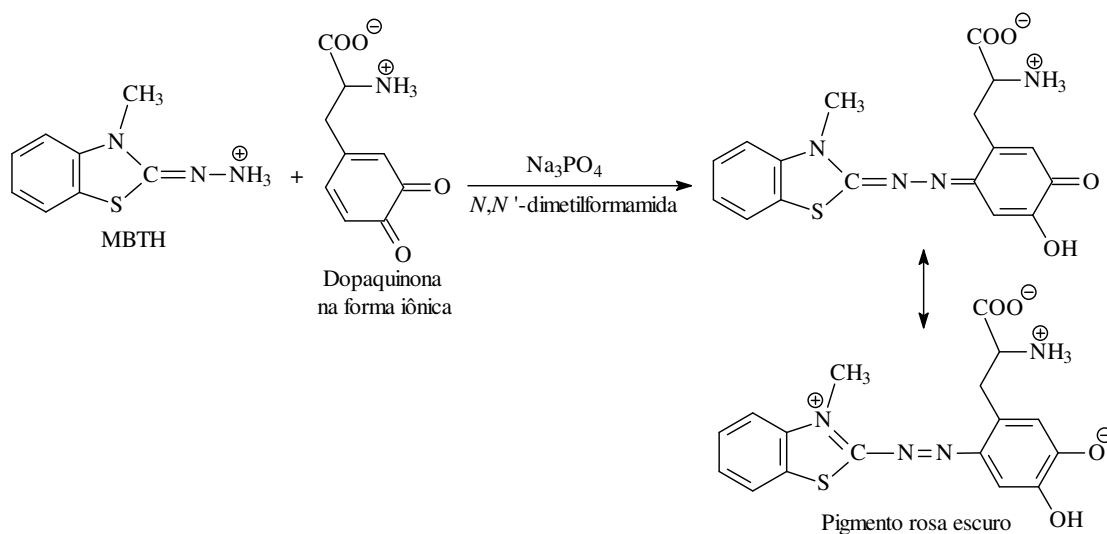


Figura 37: Reação da *o*-dopaquinona com a hidrazona de Besthorn.

Sendo assim, com base no que está relatado na literatura sobre a ampla versatilidade e aplicabilidade dos compostos organofosforados e das hidrazonas, e em seqüência ao trabalho realizado no Laboratório de Síntese Orgânica da UFRRJ (RODRIGUES & DaCOSTA, 2002; DaCOSTA *et al.*, 2007; DOS SANTOS *et al.*, 2007), este trabalho de tese teve como objetivo:

a) A síntese de derivados dialquilfosforilidrazônicos, que são compostos que congregam concomitantemente em sua estrutura o grupamento organofosforado e a função hidrazona, estando o átomo de fósforo e um átomo de nitrogênio da função hidrazona diretamente ligados, formando um fosforamidato;

b) A síntese de derivados com o esqueleto base *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)diamina;

c) A avaliação da atividade biológica dos compostos sintetizados quanto à ação inibidora sobre a enzima tirosinase, quanto à ação inseticida frente à espécie de mosca *Musca domestica* e, ainda, quanto à possibilidade destes compostos apresentarem ação antinociceptiva, atividade toxicológica aguda e atividade farmacológica geral.

d) O estudo de modelagem molecular, especificamente para a síntese das dialquilfosforilidrazonas e a avaliação de sua atividade inseticida, visando a comparação dos resultados obtidos experimentalmente com aqueles previstos nos modelos teóricos propostos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Considerações Gerais

Todos os solventes utilizados nas reações foram previamente destilados.

Os pontos de fusão, não corrigidos, foram determinados em aparelho Laboratory Devices, modelo MEL-TEMP II.

Os aparelhos utilizados para a caracterização dos compostos foram:

- ⇒ Espectrômetro de infravermelho Perkin-Elmer modelo 1600 FT.
- ⇒ Cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas Varian, íon trap, modelo Saturn 200.
- ⇒ Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (200 MHz), ^{13}C (50 MHz), ^{31}P (80 MHz) Bruker, modelo Avance II 200.
- ⇒ Espectrômetro de UV-visível Shimadzu.

Os espectros de infravermelho foram obtidos utilizando-se um filme sobre células de NaCl, no caso das amostras líquidas, e uma pastilha de KBr, sendo as amostras sólidas. As absorções foram medidas, em termos de número de onda, em cm^{-1} .

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

3.2 Síntese dos fosfonatos de dialquila (KOSALOFF & MAIER, 1973)

⇒ Procedimento geral

Em um balão bitubulado de 125 mL, equipado com um funil de adição contínua, condensador de refluxo munido de um borbulhador (capaz de impedir a entrada de umidade e ao mesmo tempo permitir a saída de cloreto de hidrogênio, liberado na reação), adicionou-se o álcool correspondente. Em seguida, através do funil de adição, gotejou-se cuidadosamente o tricloreto de fósforo recém destilado, sob agitação magnética, mantendo-se a mistura reacional a uma temperatura em torno de 0°C . Quando cerca da metade do tricloreto de fósforo foi adicionada, observou-se forte desprendimento de cloreto de hidrogênio.

Ao término da adição, submeteu-se o conteúdo do balão a um ligeiro aquecimento (50°C) por aproximadamente 2 horas. Passado este tempo, colocou-se a mistura reacional sob vácuo, a fim de que fosse retirado todo o cloreto de hidrogênio residual. A seguir, o cloreto de alquila gerado como subproduto da reação foi removido em evaporador rotatório.

3.2.1 Síntese do fosfonato de dipropila (113)

Utilizou-se 52 mL (42,12 g – 0,702 mol) de álcool propílico e 20,5 mL (32,23 g – 0,234 mol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se 35,41 g do produto, correspondendo ao rendimento de 91 %.

Caracterização:

- Aspecto: líquido incolor.
- IV (Célula de NaCl): 2424,6 (st P-H); 1234,9 (st P=O); 987,4 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 6,74 [d, (P-H), $J_{\text{HP}} = 696$ Hz, 1H]; 3,97 [dt, (CH_2OP), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, 4H]; 1,66 [sex, ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 4H]; 0,91 [t, ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 6H].

3.2.2 Síntese do fosfonato de diisopropila (114)

Utilizou-se 54 mL (42,12 g – 0,702 mol) de álcool isopropílico e 20,5 mL (32,23 g – 0,234 mol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se 36,58 g do produto, correspondendo ao rendimento de 94 %.

Caracterização:

- Aspecto: líquido incolor.
- IV (Célula de NaCl): 2433,6 (st P-H); 1222,6 (st P=O); 988,2 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 6,54 [d, (P-H), $J_{\text{HP}} = 695$ Hz, 1H]; 4,68 [hd, (CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, 2H]; 1,30 [d, ($(\text{CH}_3)_2\text{CHOP}$), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 12H].

3.2.3 Síntese do fosfonato de dibutila (115)

Utilizou-se 50 mL (40,63 g – 0,549 mol) de álcool butílico e 16 mL (25,18 g – 0,183 mol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se 30,20 g do produto, correspondendo ao rendimento de 85 %.

Caracterização:

- Aspecto: líquido incolor.
- IV (Célula de NaCl): 2428,3 (st P-H); 1228,8 (st P=O); 994,5 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 6,76 [d, (P-H), $J_{\text{HP}} = 698$ Hz, 1H]; 4,03 [dt, (CH_2OP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, 4H]; 1,64 [m, ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 4H]; 1,38 [m, ($\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 4H]; 0,91 [t, ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H].

3.2.4 Síntese do fosfonato de diisobutila (116)

Utilizou-se 127 mL (101,68 g – 1,374 mol) de álcool isobutílico e 40 mL (62,96 g – 0,458 mol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se 30,20 g do produto, correspondendo ao rendimento de 79 %. Para esta reação utilizou-se um balão de 200 mL.

Caracterização:

- Aspecto: líquido incolor.
- IV (Célula de NaCl): 2431,7 (st P-H); 1245,2 (st P=O); 985,3 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 6,79 [d, (P-H), $J_{\text{HP}} = 697$ Hz, 1H]; 3,81 [m, (CH_2OP), 2H]; 3,38 [dd, (CH_2OP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, 2H]; 1,94 [h, (CHCH_2OP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 1H]; 1,76 [h, (CHCH_2OP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 1H]; 0,98 [m, ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$), 6H]; 0,89 [m, ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$), 6H].

3.3 Síntese das dialquilfosforilidrazinas (ZHAO et al., 1988)

⇒ 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 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 3 h 30 min.

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.

3.3.1 Síntese da dipropilfosforilidrazina (117)

Utilizou-se 8,78 g (0,0529 mol) do fosfonato de dipropila, 2,56 mL (2,64 g – 0,0529 mol) da hidrazina, 2,12 g (0,0529 mol) de hidróxido de sódio, 10 mL (8,16 g – 0,177 mol) de etanol, 10 mL (10 g – 0,556 mol) de água, 7,15 mL (11,40 g – 0,0740 mol) de tetracloreto de carbono. Obteve-se 4,84 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 47 %.

Caracterização:

- Aspecto: óleo incolor.
- IV (Célula de NaCl): 3349,3 (st NH); 1633,6 (δ NH); 1215,3 (st P=O); 1062,2 (st P-N); 1004,9 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 3,96 [dt, (CH_2OP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, 4H]; 3,59 [s, (NH), 3H]; 1,68 [sex, ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 4H]; 0,92 [t, ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H].
- RMN de ^{13}C (CDCl_3): 68,12 [d, (CH_2OP), $J_{\text{CP}} = 6,5$ Hz, 2C]; 23,45 [d, ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 6,5$ Hz, 2C]; 9,8 [($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{OP}$), 2C].
- m/z (%): 81 (55 %), 111 (100 %), 123 (8 %), 135 (58 %), 152 (73 %), 153 (58 %), 165 (8 %), 195 (13 %).

3.3.2 Síntese da diisopropilfosforilidrazina (118)

Utilizou-se 11,57 g (0,0697 mol) do fosfonato de diisopropila, 3,38 mL (3,48 g – 0,0697 mol) da hidrazina, 2,80 g (0,070 mol) de hidróxido de sódio, 10 mL (8,16 g – 0,177 mol) de etanol, 10 mL (10 g – 0,556 mol) de água, 10 mL (15,94 g – 0,103 mol) de tetracloreto de carbono. Obteve-se 5,34 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 39 %.

Caracterização:

- Aspecto: óleo incolor.

- IV (Célula de NaCl): 3352,6 (st NH); 1634,8 (δ NH); 1226,5 (st P=O); 996,0 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 4,61 [hd, ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, 2H]; 3,67 [s, (NH), 3H]; 1,30 [d, ($\underline{(\text{C}}\underline{\text{H}}_3)_2\text{CHOP}$), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 12H].
- RMN de ^{13}C (CDCl_3): 71,12 [d, ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 6$ Hz, 2C]; 23,46 [d, ($\underline{(\text{C}}\underline{\text{H}}_3)_2\text{CHOP}$), $J_{\text{CP}} = 5$ Hz, 4C].
- m/z (%): 72 (33 %), 81 (70 %), 111 (100 %), 123 (3 %), 135 (18 %), 152 (35 %), 153 (20 %), 195 (98 %).

3.4 Síntese das dialquifosforilidrazonas (ácido fosforoidrazídico, N' -[(1E)-(R₁fenil)metileno]-, éster de dialquila) (BARREIRO *et al.*, 2005)

⇒ Procedimento geral

Em um balão monotubulado de 50 mL adicionou-se diretamente o aldeído, etanol, a dialquifosforilidrazina (com excesso de 5 %) e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A mistura reacional foi mantida sob agitação, a temperatura ambiente ($\cong 25$ °C), pelo tempo determinado em cada caso. Após a reação se completar foram adicionadas 10 gotas de solução de bicarbonato de sódio a 10 % (a adição de bicarbonato de sódio não ocorreu para os compostos 5 e 11). A solução resultante foi vertida em um becker com 10 mL de água destilada gelada, sendo observada a formação imediata de precipitado. Este becker foi mantido em banho de gelo por cerca de 30 min. Após este período, o meio foi filtrado e o sólido resultante foi seco em pistola por cerca de 1 h. Após este tempo obteve-se, para todas as reações, um produto sólido.

3.4.1 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N' -[(1E)-(o-nitrofenil)metileno]-, éster de dipropila (1)

Utilizou-se 0,53 g (0,00270 mol) da dipropilfosforilidrazina, 0,38 g (0,00252 mol) de *o*-nitrobenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 2 h. Obteve-se 0,69 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 82 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido amarelo.
- Ponto de fusão: 56-58 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3116,5 (st NH); 1585,6 (st C=N); 1521,4 (st as NO₂); 1345,9 (st si NO₂); 1237,7 (st P=O); 1014,9 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 8,48 [d, (NH), $J_{\text{HP}} = 28$ Hz, 1H]; 8,35 [s, (N=CH), 1H]; 8,04 [d, (H3), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,97 [d, (H6), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,59 [dd, (H5), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,46 [dd, (H4), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 4,09 [m, ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{OP}$), 4H]; 1,74 [sex, ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 4H]; 0,95 [t, ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3(\text{CH}_2)_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 6H].
- RMN de ^{13}C (CDCl_3): 147,66 (C2); 140,03 [d, (N=CH), $J_{\text{CP}} = 20$ Hz, 1C]; 133,01 (C5); 129,40 (C1); 129,28 (C4); 128,22 (C3); 124,46 (C6); 68,90 [d, ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 6$ Hz, 2C]; 23,51 [d, ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 6$ Hz, 2C]; 9,95 [($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3(\text{CH}_2)_2\text{OP}$), 2C].

- RMN de ^{31}P (CDCl_3): 2,46. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 98 (32 %), 123 (28 %), 140 (7 %), 246 (3 %), 288 (5 %), 330 (100 %).

3.4.2 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N' -[(1E)-(m-nitrofenil)metileno]-, éster de dipropila (2)

Utilizou-se 0,53 g (0,00270 mol) da dipropilfosforilidrazina, 0,38 g (0,00252 mol) de *m*-nitrobenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 2 h. Obteve-se 0,69 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 82 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido amarelo.
- Ponto de fusão: 100-102 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3117,0 (st NH); 1602,1 (st C=N); 1530,8 (st as NO_2); 1350,5 (st si NO_2); 1232,4 (st P=O); 1020,5 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 8,96 [d, (NH), $J_{\text{HP}} = 28$ Hz, 1H]; 8,42 [s, (H2), 1H]; 8,16 [d, (H4), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,92 [s, (N=CH), 1H]; 7,90 [d, (H6), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,52 [dd, (H5), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 4,09 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,74 [sex, (CH₂CH₂OP), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 4H]; 0,96 [t, (CH₃(CH₂)₂OP), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 6H].
- RMN de ^{13}C (CDCl_3): 148,54 (C3); 142,01 [d, (N=CH), $J_{\text{CP}} = 19,5$ Hz, 1C]; 136,53 (C1); 132,04 (C6); 129,49 (C5); 123,46 (C4); 121,09 (C2); 69,09 [d, (CH₂OP), $J_{\text{CP}} = 6,5$ Hz, 2C]; 23,56 [d, (CH₂CH₂OP), $J_{\text{CP}} = 7,5$ Hz, 2C]; 10,04 [(CH₃(CH₂)₂OP), 2C].
- RMN de ^{31}P (CDCl_3): 2,82. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 98 (100 %), 140 (27 %), 246 (5 %), 288 (8 %), 330 (95 %).

3.4.3 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N' -[(1E)-(p-nitrofenil)metileno]-, éster de dipropila (3)

Utilizou-se 0,53 g (0,00270 mol) da dipropilfosforilidrazina, 0,38 g (0,00252 mol) de *p*-nitrobenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 2 h. Obteve-se 0,62 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 74 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido amarelo.
- Ponto de fusão: 73-75 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3096,2 (st NH); 1578,4 (st C=N); 1518,0 (st as NO_2); 1343 (st si NO_2); 1246,8 (st P=O); 1021,5 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 9,06 [d, (NH), $J_{\text{HP}} = 28$ Hz, 1H]; 8,20 [d, (H3), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 8,20 [d, (H5), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,90 [s, (N=CH), 1H]; 7,73 [d, (H2), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,73 [d, (H6), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 4,08 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,73 [sex, (CH₂CH₂OP), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 4H]; 0,95 [t, (CH₃(CH₂)₂OP), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 6H].
- RMN de ^{13}C (CDCl_3): 147,69 (C4); 142,07 [d, (N=CH), $J_{\text{CP}} = 19,5$ Hz, 1C]; 140,77 (C1); 126,92 (C2); 126,92 (C6); 123,85 (C3); 123,85 (C5); 69,09 [d, (CH₂OP), $J_{\text{CP}} = 6,5$ Hz, 2C]; 23,51 [d, (CH₂CH₂OP), $J_{\text{CP}} = 6$ Hz, 2C]; 9,98 [(CH₃(CH₂)₂OP), 2C].

- RMN de ^{31}P (CDCl_3): 2,53. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 98 (83 %), 140 (23 %), 246 (2 %), 288 (3 %), 330 (100 %).

3.4.4 Síntese do ácido fosforoidrazídico, *N'*-[(1*E*)-(p-cianofenil)metileno]-, éster de dipropila (4)

Utilizou-se 0,53 g (0,00270 mol) da dipropilfosforilidrazina, 0,33 g (0,00252 mol) de *p*-cianobenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 2 h. Obteve-se 0,48 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 61 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido amarelo.
- Ponto de fusão: 167-169 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3137,2 (st NH); 2224,1 (st $\text{C}\equiv\text{N}$); 1596,9 (st $\text{C}=\text{N}$); 1231,4 (st $\text{P}=\text{O}$); 1013,9 (st $\text{P}-\text{O}-\text{C}$).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 9,11 [d, (NH), $J_{\text{HP}} = 30$ Hz, 1H]; 7,86 [s, (N=CH), 1H]; 7,68 [d, (H3), $J_{\text{HH}} = 10$ Hz, 1H]; 7,68 [d, (H5), $J_{\text{HH}} = 10$ Hz, 1H]; 7,61 [d, (H2), $J_{\text{HH}} = 10$ Hz, 1H]; 7,61 [d, (H6), $J_{\text{HH}} = 10$ Hz, 1H]; 4,06 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,72 [sex, (CH₂CH₂OP), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 4H]; 0,94 [t, (CH₃(CH₂)₂OP), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 6H].
- RMN de ^{13}C (CDCl_3): 142,52 [d, (N=CH), $J_{\text{CP}} = 20$ Hz, 1C]; 138,89 (C1); 132,28 (C3); 132,28 (C5); 126,79 (C2); 126,79 (C6); 118,64 ($\text{C}\equiv\text{N}$); 112,12 (C4); 69,06 [d, (CH₂OP), $J_{\text{CP}} = 6,5$ Hz, 2C]; 23,49 [d, (CH₂CH₂OP), $J_{\text{CP}} = 8$ Hz, 2C]; 9,98 [(CH₃(CH₂)₂OP), 2C].
- RMN de ^{31}P (CDCl_3): 2,59. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 98 (68 %), 140 (23 %), 226 (3 %), 268 (3 %), 310 (100 %).

3.4.5 Síntese do ácido fosforoidrazídico, *N'*-[(1*E*)-(p-carboxifenil), metileno]- éster de dipropila (5)

Utilizou-se 0,53 g (0,00270 mol) da dipropilfosforilidrazina, 0,38 g (0,00253 mol) de *p*-carboxibenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 2 h. Obteve-se 0,64 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 76 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido branco.
- Ponto de fusão: 167-169 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3423,1 (st OH); 3105,4 (st NH); 1690,5 (st $\text{C}=\text{O}$); 1600,5 (st $\text{C}=\text{N}$); 1231,0 (st $\text{P}=\text{O}$); 1022,9 (st $\text{P}-\text{O}-\text{C}$).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 8,78 [d, (NH), $J_{\text{HP}} = 28$ Hz, 1H]; 8,38 [s, (COOH), 1H]; 8,10 [d, (H3), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 8,10 [d, (H5), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,91 [s, (N=CH), 1H]; 7,70 [d, (H2), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,70 [d, (H6), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 4,12 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,75 [sex, (CH₂CH₂OP), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 4H]; 0,97 [t, (CH₃(CH₂)₂OP), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 6H].
- RMN de ^{13}C (CDCl_3): 170,16 (COOH); 143,92 [d, (N=CH), $J_{\text{CP}} = 19,5$ Hz, 1C]; 139,08 (C4); 130,31 (C1); 130,40 (C3); 130,40 (C5); 126,46 (C2); 126,46 (C6); 69,30 [d,

(CH₂OP), $J_{CP} = 6$ Hz, 2C]; 23,53 [d, (CH₂CH₂OP), $J_{CP} = 7,5$ Hz, 2C]; 10,01 [(CH₃(CH₂)₂OP), 2C].

- RMN de ³¹P (CDCl₃): 2,90. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 98 (100 %), 140 (40 %), 234 (8 %), 286 (5 %), 328 (3 %).

3.4.6 Síntese do ácido fosforoidrazídico, *N'*-[(1*E*)-(1,3-benzodioxol-5-ylmetileno)]-, éster de dipropila (6)

Utilizou-se 0,74 g (0,00378 mol) da dipropilfosforilidrazina, 0,54 g (0,00360 mol) de piperonal, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 6 h. Obteve-se 0,79 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 68 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido amarelo.
- Ponto de fusão: 85-87 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3146,8 (st NH); 1624,3 (st C=N); 1233,8 (st P=O); 1015,4 (st P-O-C); 938,4 (st O-CH₂-O).
- RMN de ¹H (CDCl₃): 8,09 [d, (NH), $J_{HP} = 26$ Hz, 1H]; 7,71 [s, (N=CH), 1H]; 7,22 [s, (H6), 1H]; 6,93 [d, (H3), $J_{HH} = 8$ Hz, 1H]; 6,76 [d, (H2), $J_{HH} = 8$ Hz, 1H]; 5,96 [s, (OCH₂O), 2H]; 4,06 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,72 [sex, (CH₂CH₂OP), $J_{HH} = 8$ Hz, 4H]; 0,94 [t, (CH₃(CH₂)₂OP), $J_{HH} = 8$ Hz, 6H].
- RMN de ¹³C (CDCl₃): 148,57 (C5); 148,02 (C4); 144,34 [d, (N=CH), $J_{CP} = 19,5$ Hz, 1C]; 129,22 (C1); 122,28 (C2); 107,96 (C6); 105,17 (C3); 101,17 (O-CH₂-O); 68,75 [d, (CH₂OP), $J_{CP} = 6$ Hz, 2C]; 23,51 [d, (CH₂CH₂OP), $J_{CP} = 6$ Hz, 2C]; 9,98 [(CH₃(CH₂)₂OP), 2C].
- RMN de ³¹P (CDCl₃): 3,40. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 98 (68 %), 140 (25 %), 329 (100 %).

3.4.7 Síntese do ácido fosforoidrazídico, *N'*-[(1*E*)-(o-nitrofenil)metileno]-, éster de diisopropila (7)

Utilizou-se 0,53 g (0,00270 mol) da diisopropilfosforilidrazina, 0,38 g (0,00252 mol) de *o*-nitrobenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 2 h. Obteve-se 0,67 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 80 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido amarelo.
- Ponto de fusão: 102-104 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3143,6 (st NH); 1526,0 (st C=N); 1526,0 (st as NO₂); 1350,6 (st si NO₂); 1237,5 (st P=O); 1000,3 (st P-O-C).
- RMN de ¹H (CDCl₃): 8,34 [d, (NH), $J_{HP} = 30$ Hz, 1H]; 8,34 [s, (N=CH), 1H]; 8,06 [d, (H3), $J_{HH} = 8$ Hz, 1H]; 7,97 [d, (H6), $J_{HH} = 8$ Hz, 1H]; 7,59 [t, (H5), $J_{HH} = 8$ Hz, 1H]; 7,45 [t, (H4), $J_{HH} = 8$ Hz, 1H]; 4,73 [hd, (CHOP), $J_{HH} = 6$ Hz, $J_{HP} = 8$ Hz, 2H]; 1,39 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6$ Hz, 6H]; 1,33 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6$ Hz, 6H].

- RMN de ^{13}C (CDCl_3): 147,63 (C2); 139,55 [d, (N=CH), $J_{\text{CP}} = 19,5$ Hz, 1C]; 133,13 (C5); 129,52 (C1); 129,25 (C4); 128,19 (C3); 124,55 (C6); 72,29 [d, (CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C]; 23,80 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C]; 23,57 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{\text{CP}} = 6$ Hz, 2C].
- RMN de ^{31}P (CDCl_3): 0,47. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 98 (26 %), 123 (25 %), 246 (100 %), 288 (20 %).

3.4.8 Síntese do ácido fosforoidrazídico, *N'*-[(1*E*)-(m-nitrofenil)metileno]-, éster de diisopropila (8)

Utilizou-se 0,53 g (0,00270 mol) da diisopropilfosforilidrazina, 0,38 g (0,00252 mol) de *m*-nitrobenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 2 h. Obteve-se 0,79 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 94 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido amarelo.
- Ponto de fusão: 151-152 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3099,9 (st NH); 1566,7 (st C=N); 1530,4 (st as NO₂); 1350,5 (st si NO₂); 1244,5 (st P=O); 1023,4 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 8,63 [d, (NH), $J_{\text{HP}} = 28$ Hz, 1H]; 8,41 [s, (H2), 1H]; 8,15 [d, (H4), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,92 [d, (H6), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,89 [s, (N=CH), 1H]; 7,52 [t, (H5), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 4,73 [sex, (CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 2H]; 1,39 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H]; 1,33 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H].
- RMN de ^{13}C (CDCl_3): 148,48 (C3); 141,61 [d, (N=CH), $J_{\text{CP}} = 20$ Hz, 1C]; 136,65 (C1); 131,89 (C6); 129,49 (C5); 123,34 (C4); 121,00 (C2); 72,36 [d, (CHOP), $J_{\text{CP}} = 5$ Hz, 2C]; 23,74 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C]; 23,53 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C].
- RMN de ^{31}P (CDCl_3): 0,86. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 98 (58 %), 246 (100 %), 288 (5 %), 330 (3 %).

3.4.9 Síntese do ácido fosforoidrazídico, *N'*-[(1*E*)-(p-nitrofenil)metileno]-, éster de diisopropila (9)

Utilizou-se 0,32 g (0,00163 mol) da diisopropilfosforilidrazina, 0,23 g (0,00152 mol) de *p*-nitrobenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 2 h. Obteve-se 0,42 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 84 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido amarelo.
- Ponto de fusão: 150-152 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3097,8 (st NH); 1578,1 (st C=N); 1515,0 (st as NO₂); 1342,1 (st si NO₂); 1247,4 (st P=O); 1024,5 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (DMSO): 9,91 [d, (NH), $J_{\text{HP}} = 28$ Hz, 1H]; 8,24 [d, (H3), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 8,24 [d, (H5), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 8,01 [s, (N=CH), 1H]; 7,80 [d, (H6), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz,

- 1H]; 7,80 [d, (H2), $J_{HH} = 8$ Hz, 1H]; 4,55 [sex, (CHOP), $J_{HH} = 8$ Hz, 2H]; 1,27 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 8$ Hz, 6H]; 1,23 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 8$ Hz, 6H].
- RMN de ¹³C (CDCl₃): 147,72 (C4); 141,58 [d, (N=CH), $J_{CP} = 20$ Hz, 1C]; 140,90 (C1); 126,86 (C2); 126,86 (C6); 123,94 (C3); 123,94 (C5); 72,47 [d, (CHOP), $J_{CP} = 4,5$ Hz, 2C]; 23,77 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{CP} = 4,5$ Hz, 2C]; 23,56 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{CP} = 4,5$ Hz, 2C].
 - RMN de ³¹P (CDCl₃): 0,53. Espectro desacoplado.
 - m/z (%): 98 (100 %), 140 (18 %), 246 (93 %), 288 (25 %), 330 (45 %).

3.4.10 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)-(p-cianofenil) metileno]-, éster de diisopropila (10)

Utilizou-se 0,53 g (0,00270 mol) da diisopropilfosforilidrazina, 0,33 g (0,00252 mol) de *p*-cianobenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 2 h. Obteve-se 0,69 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 87 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido amarelo.
- Ponto de fusão: 107-109 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3144,0 (st NH); 2226,7 (st C≡N); 1597,1 (st C=N); 1245,4 (st P=O); 1006,8 (st P-O-C).
- RMN de ¹H (CDCl₃): 9,82 [d, (NH), $J_{HP} = 30$ Hz, 1H]; 7,94 [s, (N=CH), 1H]; 7,83 [d, (H3), $J_{HH} = 9$ Hz, 1H]; 7,83 [d, (H5), $J_{HH} = 9$ Hz, 1H]; 7,71 [d, (H6), $J_{HH} = 9$ Hz, 1H]; 7,71 [d, (H2), $J_{HH} = 9$ Hz, 1H]; 4,55 [hd, (CHOP), $J_{HH} = 6$ Hz, $J_{HP} = 8$ Hz, 2H]; 1,26 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6$ Hz, 6H]; 1,22 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6$ Hz, 6H].
- RMN de ¹H (DMSO): 8,83 [d, (NH), $J_{HP} = 30$ Hz, 1H]; 7,83 [s, (N=CH), 1H]; 7,68 [d, (H3), $J_{HH} = 8$ Hz, 1H]; 7,68 [d, (H5), $J_{HH} = 8$ Hz, 1H]; 7,61 [d, (H6), $J_{HH} = 8$ Hz, 1H]; 7,61 [d, (H2), $J_{HH} = 8$ Hz, 1H]; 4,70 [hd, (CHOP), $J_{HH} = 6$ Hz, $J_{HP} = 8$ Hz, 2H]; 1,37 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6$ Hz, 6H]; 1,31 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6$ Hz, 6H].
- RMN de ¹³C (CDCl₃): 142,07 [d, (N=CH), $J_{CP} = 19,5$ Hz, 1C]; 139,08 (C1); 132,28 (C3); 132,28 (C5); 126,70 (C2); 126,70 (C6); 118,64 (C≡N); 111,97 (C4); 72,33 [d, (CHOP), $J_{CP} = 6$ Hz, 2C]; 23,71 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{CP} = 4,5$ Hz, 2C]; 23,50 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{CP} = 4,5$ Hz, 2C].
- RMN de ³¹P (CDCl₃): 0,62. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 98 (100 %), 140 (15 %), 226 (60 %), 268 (18 %), 310 (43 %).

3.4.11 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N'-[(1E)-(p-carboxifenil) metileno]-, éster de diisopropila (11)

Utilizou-se 0,53 g (0,00270 mol) da diisopropilfosforilidrazina, 0,38 g (0,00253 mol) de *p*-carboxibenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 2 h. Obteve-se 0,48 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 57 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido creme.
- Ponto de fusão: 192-194 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3446,3 (st OH); 3196,3 (st NH); 1684,3 (st C=O); 1603,8 (st C=N); 1274,2 (st P=O); 1011,0 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (DMSO): 13,02 [s, (COOH), 1H]; 9,68 [d, (NH), $J_{\text{HP}} = 28$ Hz, 1H]; 7,96 [s, (N=CH), 1H]; 7,94 [d, (H3), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,94 [d, (H5), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,64 [d, (H6), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,64 [d, (H2), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 4,54 [sex, (CHOP), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 2H]; 1,25 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 6H]; 1,22 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 6H].
- RMN de ^1H (CDCl₃): 8,53 [d, (NH), $J_{\text{HP}} = 28$ Hz, 1H]; 8,10 [d, (H3), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 8,10 [d, (H5), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,87 [s, (N=CH), 1H]; 7,70 [d, (H6), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,70 [d, (H2), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 4,75 [hd, (CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, 2H]; 1,41 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H]; 1,38 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H].
- RMN de ^{13}C (DMSO): 166,99 (COOH); 142,59 [d, (N=CH), $J_{\text{CP}} = 20$ Hz, 1C]; 142,05 [d, (N=CH), $J_{\text{CP}} = 19,5$ Hz, 1C]; 138,94 (C4); 130,78 (C3); 130,78 (C5); 129,75 (C1); 126,05 (C2); 126,05 (C6); 70,86 [d, (CHOP), $J_{\text{CP}} = 6$ Hz, 2C]; 23,63 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C]; 23,42 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C].
- RMN de ^{31}P (CDCl₃): 0,93. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 98 (100 %), 148 (18 %), 287 (13 %), 329 (10 %).

3.4.12 Síntese do ácido fosforoidrazídico, *N'*-[(1*E*)-(1,3-benzodioxol-5-ylmetileno)]-, éster de diisopropila (12)

Utilizou-se 0,53 g (0,00270 mol) da diisopropilfosforilidrazina, 0,33 g (0,00252 mol) de piperonal, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 6 h. Obteve-se 0,75 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 95 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido amarelo.
- Ponto de fusão: 112-114 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3112,9 (st NH); 2980,7 e 2930,2 (st CH); 1624,8 (st C=N); 1244,2 (st P=O); 1008,3 (st P-O-C); 928,8 (st O-CH₂-O).
- RMN de ^1H (CDCl₃): 8,63 [d, (NH), $J_{\text{HP}} = 28$ Hz, 1H]; 8,19 [s, (N=CH), 1H]; 7,71 [d, (H3), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,40 [d, (H2), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,21 [s, (H6), 1H]; 6,43 [s, (OCH₂O), 1H]; 5,17 [hd, (CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, 2H]; 1,84 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H]; 1,78 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H].
- RMN de ^{13}C (CDCl₃): 148,57 (C5); 148,08 (C4); 143,86 [d, (N=CH), $J_{\text{CP}} = 19,5$ Hz, 1C]; 129,37 (C1); 122,25 (C2); 108,02 (C6); 105,14 (C3); 101,20 (O-CH₂-O); 71,92 [d, (CHOP), $J_{\text{CP}} = 5$ Hz, 2C]; 23,80 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C]; 23,56 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C].
- RMN de ^{31}P (CDCl₃): 1,49. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 98 (50 %), 147 (10 %), 245 (3 %), 287 (10 %), 329 (100 %).

3.4.13 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N¹-[(1E)-(fenil)metileno]-, éster de diisopropila (13)

Utilizou-se 0,74 g (0,00378 mol) da diisopropilfosforilidrazina, 0,38 g (0,00358 mol) de benzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 2 h. Obteve-se 0,85 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 84 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido branco.
- Ponto de fusão: 76-78 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3177,0 (st NH); 1609,8 (st C=N); 1238,1 (st P=O); 1004,1 (st P-O-C).
- RMN de ¹H (DMSO): 9,46 [d, (NH), *J*_{HP} = 28 Hz, 1H]; 7,90 [s, (N=CH), 1H]; 7,54 [m, (H3), 1H]; 7,54 [m, (H5), 1H]; 7,37 [m, (H2), 1H]; 7,37 [m, (H4), 1H]; 7,37 [m, (H6), 1H]; 4,54 [hd, (CHOP), *J*_{HH} = 6 Hz, *J*_{HP} = 8 Hz, 2H]; 1,26 [d, (CH₃)₂CHOP), *J*_{HH} = 6 Hz, 6H]; 1,23 [d, (CH₃)₂CHOP), *J*_{HH} = 6 Hz, 6H].
- RMN de ¹³C (DMSO): 143,63 [d, (N=CH), *J*_{CP} = 20,40 Hz, 1C]; 143,22 [d, (N=CH), *J*_{CP} = 20,15 Hz, 1C]; 134,92 (C1); 129,01 (C4); 128,76 (C3); 128,76 (C5); 126,06 (C2); 126,06 (C6); 70,79 [d, (CHOP), *J*_{CP} = 5,15 Hz, 2C]; 23,64 [d, ((CH₃)₂CHOP), *J*_{CP} = 3,5 Hz, 2C]; 23,42 [d, ((CH₃)₂CHOP), *J*_{CP} = 4,75 Hz, 2C].
- RMN de ³¹P (CDCl₃): 1,32. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 98 (25 %), 140 (5 %), 201 (3 %), 243 (23 %), 285 (100 %).

3.4.14 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N¹-[(1E)-(m-metoxifenil) metileno]-, éster de diisopropila (14)

Utilizou-se 0,53 g (0,00270 mol) da diisopropilfosforilidrazina, 0,35 g (0,00257 mol) de *m*-metoxibenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. Esta reação foi realizada em duas condições:

- a) Tempo de 2 h: Obteve-se 0,18 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 22 %.
- b) Tempo de 6 h: Obteve-se 0,54 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 67 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido branco.
- Ponto de fusão: 84-85 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3119,6 (st NH); 1606,9 (st C=N); 1266,7 (st as C-O-C); 1238,0 (st P=O); 1084,4 (st si C-O-C); 1010,7 (st P-O-C).
- RMN de ¹H (DMSO): 9,49 [d, (NH), *J*_{HP} = 28 Hz, 1H]; 7,86 [s, (N=CH), 1H]; 7,30 [m, (H5), 1H]; 7,11 [m, (H4), 1H]; 7,09 [s, (H2), 1H]; 6,92 [m, (H6), 1H]; 4,53 [hd, (CHOP), *J*_{HH} = 6 Hz, *J*_{HP} = 8 Hz, 2H]; 3,75 [s, (OCH₃), 3H]; 1,26 [d, (CH₃)₂CHOP), *J*_{HH} = 6 Hz, 6H]; 1,23 [d, (CH₃)₂CHOP), *J*_{HH} = 6 Hz, 6H].
- RMN de ¹³C (DMSO): 159,50 (C3); 143,38 [d, (N=CH), *J*_{CP} = 20 Hz, 1C]; 142,91 [d, (N=CH), *J*_{CP} = 21 Hz, 1C]; 136,36 (C1); 129,84 (C5); 118,71 (C4); 110,73 (C2); 114,80 (C6); 70,74 [d, (CHOP), *J*_{CP} = 6,5 Hz, 2C]; 55,03 (O-CH₃); 23,60 [d, ((CH₃)₂CHOP), *J*_{CP} = 4,5 Hz, 2C]; 23,39 [d, ((CH₃)₂CHOP), *J*_{CP} = 4,5 Hz, 2C].

- RMN de ^{31}P (DMSO): 1,21. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 98 (100 %), 133 (43 %), 140 (28 %), 231 (13 %), 273 (38 %), 315 (88 %).

3.4.15 Síntese do ácido fosforoidrazídico, *N'*-[(1*E*)-(p-metoxifenil) metileno]-, éster de diisopropila (15)

Utilizou-se 0,53 g (0,00270 mol) da diisopropilfosforilidrazina, 0,35 g (0,00257 mol) de *p*-metoxibenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. Esta reação foi realizada em duas condições:

- Tempo de 2 h: Obteve-se 0,32 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 40 %.
- Tempo de 6 h: Obteve-se 0,57 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 71 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido branco.
- Ponto de fusão: 79-80 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3114,4 (st NH); 2836,4 (st OCH₃); 1609,8 (st C=N); 1234,8 (st P=O); 1083,0 (st si C-O-C); 1008,1 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl₃): 7,89 [d, (NH), $J_{\text{HP}} = 28$ Hz, 1H]; 7,75 [s, (N=CH), 1H]; 7,53 [d, (H₂), $J_{\text{HH}} = 9$ Hz, 1H]; 7,53 [d, (H₆), $J_{\text{HH}} = 9$ Hz, 1H]; 6,87 [d, (H₃), $J_{\text{HH}} = 9$ Hz, 1H]; 6,87 [d, (H₅), $J_{\text{HH}} = 9$ Hz, 1H]; 4,71 [hd, (CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, 2H]; 3,80 [s, (OCH₃), 3H]; 1,37 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H]; 1,31 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H].
- RMN de ^{13}C (CDCl₃): 160,33 (C₄); 143,92 [d, (N=CH), $J_{\text{CP}} = 19,5$ Hz, 1C]; 127,89 (C₂); 127,89 (C₆); 127,58 (C₁); 113,91 (C₃); 113,91 (C₅); 71,80 [d, (CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C]; 55,23 (O-CH₃); 23,80 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C]; 23,53 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C].
- RMN de ^{31}P (CDCl₃): 1,69. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 98 (58 %), 133 (40 %), 140 (13 %), 231 (2 %), 273 (13 %), 315 (100 %).

3.4.16 Síntese do ácido fosforoidrazídico, *N'*-[(1*E*)-[4-(dimetilamino)fenil]metileno]-, éster de diisopropila (16)

Utilizou-se 0,57 g (0,00291 mol) da diisopropilfosforilidrazina, 0,41 g (0,00275 mol) de 4-(dimetilamino)benzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. Esta reação foi realizada em duas condições:

- Tempo de 2 h: Obteve-se 0,13 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 14 %.
- Tempo de 6 h: Obteve-se 0,44 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 49 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido laranja.
- Ponto de fusão: 128-130 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3194,3 (st NH); 1609,0 (st C=N); 1228,2 (st P=O); 1076,2 (st C-N); 991,2 (st P-O-C).

- RMN de ^1H (DMSO): 9,09 [d, (NH), $J_{\text{HP}} = 28$ Hz, 1H]; 7,77 [s, ($\text{N}=\text{CH}$), 1H]; 7,35 [d, (H_2), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,35 [d, (H_6), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 6,69 [d, (H_3), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 6,69 [d, (H_5), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 4,52 [hd, (CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, 2H]; 2,91 [s, (NCH_3), 6H]; 1,25 [d, (CH_3) $_2$ CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H]; 1,22 [d, (CH_3) $_2$ CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H].
- RMN de ^{13}C (DMSO): 150,76 (C_4); 144,25 [d, ($\text{N}=\text{CH}$), $J_{\text{CP}} = 18,5$ Hz, 1C]; 143,88 [d, ($\text{N}=\text{CH}$), $J_{\text{CP}} = 18$ Hz, 1C]; 127,17 (C_2); 127,17 (C_6); 122,71 (C_1); 112,01 (C_3); 112,01 (C_5); 70,39 [d, (CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C]; 39,86 ($\text{N}-(\text{CH}_3)_2$); 23,63 [d, (CH_3) $_2$ CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C]; 23,40 [d, (CH_3) $_2$ CHOP), $J_{\text{CP}} = 6$ Hz, 2C].
- RMN de ^{31}P (DMSO): 2,14. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 98 (12 %), 163 (28 %), 243 (15 %), 286 (10 %), 328 (100 %).

3.4.17 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N' -[(1E)-(m-hidroxifenil) metileno]-, éster de diisopropila (17)

Utilizou-se 0,30 g (0,00153 mol) da diisopropilfosforilidrazina, 0,19 g (0,00156 mol) de *m*-hidroxibenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 6 h. Obteve-se 0,28 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 61 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido creme.
- Ponto de fusão: 170-172 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3321,6 (st NH); 3183,6 (st OH); 1613,9 (st C=N); 1225,2 (st P=O); 1198,5 (st C-O); 1009,0 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (DMSO): 9,39 [d, (NH), $J_{\text{HP}} = 28$ Hz, 1H]; 7,82 [s, ($\text{N}=\text{CH}$), 1H]; 7,16 [t, (H_5), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,01 [s, (H_2), 1H]; 6,91 [d, (H_4), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 6,73 [d, (H_6), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 4,52 [hd, (CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, 2H]; 1,24 [d, (CH_3) $_2$ CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H]; 1,21 [d, (CH_3) $_2$ CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H].
- RMN de ^{13}C (DMSO): 157,74 (C_3); 143,93 [d, ($\text{N}=\text{CH}$), $J_{\text{CP}} = 22,5$ Hz, 1C]; 143,52 [d, ($\text{N}=\text{CH}$), $J_{\text{CP}} = 18,5$ Hz, 1C]; 136,27 (C_1); 129,87 (C_5); 117,89 (C_4); 116,50 (C_6); 111,92 (C_2); 70,89 [d, (CHOP), $J_{\text{CP}} = 6$ Hz, 2C]; 23,72 [d, (CH_3) $_2$ CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C]; 23,51 [d, (CH_3) $_2$ CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C].
- RMN de ^{31}P (DMSO): 0,35 [dt, $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, $J_{\text{HP}} = 27,2$ Hz, 1P]. Espectro acoplado.
- m/z (%): 98 (100 %), 140 (10 %), 217 (7 %), 259 (10 %), 301 (5 %).

3.4.18 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N' -[(1E)-(p-hidroxifenil) metileno]-, éster de diisopropila (18)

Utilizou-se 0,30 g (0,00153 mol) da diisopropilfosforilidrazina, 0,19 g (0,00156 mol) de *p*-hidroxibenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 6 h. Obteve-se 0,32 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 70 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido amarelo.
- Ponto de fusão: 156-158 °C.

- IV (Pastilha de KBr): 3297,7 (st NH); 3180,6 (st OH); 1607,0 (st C=N); 1220,4 (st P=O); 1164,8 (st C-O); 974,2 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (DMSO): 9,74 [s, (OH), 1H]; 9,20 [d, (NH), $J_{\text{HP}} = 26$ Hz, 1H]; 7,80 [s, (N=CH), 1H]; 7,36 [d, (H2), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 7,36 [d, (H6), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 6,76 [d, (H3), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 6,76 [d, (H5), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 4,53 [hd, (CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, 2H]; 1,25 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H]; 1,21 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H].
- RMN de ^{13}C (DMSO): 158,62 (C4); 144,11 [d, (N=CH), $J_{\text{CP}} = 19,5$ Hz, 1C]; 143,70 [d, (N=CH), $J_{\text{CP}} = 21$ Hz, 1C]; 127,72 (C2); 127,72 (C6); 126,08 (C1); 115,68 (C3); 115,68 (C5); 70,74 [d, (CHOP), $J_{\text{CP}} = 6,5$ Hz, 2C]; 23,69 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C]; 23,48 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C].
- RMN de ^{31}P (DMSO): 0,79 [dt, $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, $J_{\text{HP}} = 27,2$ Hz, 1P]. Espectro acoplado.
- m/z (%): 98 (100 %), 119 (23 %), 140 (13 %), 241 (10 %), 258 (5 %), 301 (13%).

3.4.19 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N^3 -[(1E)-(m-hidroxi-p-metoxifenil)metileno]-, éster de diisopropila (19)

Utilizou-se 0,39 g (0,00199 mol) da diisopropilfosforilidrazina, 0,30 g (0,00197 mol) de *m*-hidroxi-*p*-metoxibenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 6 h. Obteve-se 0,51 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 79 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido amarelo.
- Ponto de fusão: 155-157 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3180,6 (st OH); 3178,9 (st NH); 2839,5 (st OCH₃); 1613,9 (st C=N); 1278,8 (st P=O); 1253,2 (st as C-O-C); 1197,2 (st C-O); 1025,0 (st si C-O-C); 1004,4 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl₃): 7,65 [s, (N=CH), 1H]; 7,46 [d, (NH), $J_{\text{HP}} = 28$ Hz, 1H]; 7,26 [d, (H2), $J_{\text{HH}} = 2$ Hz, 1H]; 7,02 [dd, (H6), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, $J_{\text{HH}} = 2$ Hz, 1H]; 6,81 [d, (H5), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 5,79 [s, (OH), 1H]; 4,72 [hd, (CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, 2H]; 3,89 [s, (OCH₃), 3H]; 1,37 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H]; 1,31 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H].
- RMN de ^{13}C (DMSO): 149,01 (C4); 146,88 (C3); 143,93 [d, (N=CH), $J_{\text{CP}} = 19,5$ Hz, 1C]; 143,52 [d, (N=CH), $J_{\text{CP}} = 21,5$ Hz, 1C]; 127,99 (C1); 119,01 (C6); 111,98 (C5); 111,70 (C2); 70,71 [d, (CHOP), $J_{\text{CP}} = 6,5$ Hz, 2C]; 23,72 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C]; 23,51 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C].
- RMN de ^{31}P (CDCl₃): 0,72 [dt, $J_{\text{HP}} = 7,2$ Hz, $J_{\text{HP}} = 26,4$ Hz, 1P]. Espectro acoplado.
- m/z (%): 98 (100 %), 140 (15 %), 149 (50 %), 165 (28 %), 246 (5 %), 289 (18 %), 331 (50 %).

3.4.20 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N^3 -[(1E)-(m-etoxi-p-hidroxifenil)metileno]-, éster de diisopropila (20)

Utilizou-se 0,42 g (0,00214 mol) da diisopropilfosforilidrazina, 0,36 g (0,00217 mol) de *m*-etoxi-*p*-hidroxibenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %.

O tempo da reação foi de 6 h. Obteve-se 0,45 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 60 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido bege.
- Ponto de fusão: 186-188 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3285,6 (st OH); 3178,4 (st NH); 1604,8 (st C=N); 1279,8 (st P=O); 1221,8 (st as C-O-C); 1184,5 (st C-O); 1036,4 (st si C-O-C); 1007,8 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 8,11 [d, (NH), $J_{\text{HP}} = 28$ Hz, 1H]; 7,72 [s, ($\text{N}=\text{CH}$), 1H]; 7,20 [d, (H_2), $J_{\text{HH}} = 2$ Hz, 1H]; 6,98 [dd, (H_6), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, $J_{\text{HH}} = 2$ Hz, 1H]; 6,87 [d, (H_5), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 1H]; 6,10 [s, (OH), 1H]; 4,69 [hd, (CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, 2H]; 4,10 [q, (OCH_2CH_3), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 2H]; 1,42 [t, (OCH_2CH_3), $J_{\text{HH}} = 8$ Hz, 3H]; 1,37 [d, (CH_3) $_2$ CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H]; 1,31 [d, (CH_3) $_2$ CHOP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H].
- RMN de ^{13}C (DMSO): 148,34 (C_3); 147,09 (C_4); 144,23 [d, ($\text{N}=\text{CH}$), $J_{\text{CP}} = 20$ Hz, 1C]; 143,84 [d, ($\text{N}=\text{CH}$), $J_{\text{CP}} = 19,5$ Hz, 1C]; 126,59 (C_1); 120,29 (C_6); 115,71 (C_5); 110,34 (C_2); 70,83 [d, (CHOP), $J_{\text{CP}} = 6$ Hz, 2C]; 23,72 [d, ((CH_3) $_2$ CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C]; 23,48 [d, ((CH_3) $_2$ CHOP), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 2C].
- RMN de ^{31}P (CDCl_3): 0,75 [dt, $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, $J_{\text{HP}} = 26,4$ Hz, 1P]. Espectro acoplado.
- m/z (%): 98 (100 %), 135 (33 %), 140 (10 %), 163 (28 %), 179 (38 %), 243 (13 %), 260 (13 %), 287 (5 %).

3.4.21 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N^2 -[(1E)-(m-hidroxi-p-metoxifenil)metileno]-, éster de dipropila (21)

Utilizou-se 0,51 g (0,00260 mol) da dipropilfosforilidrazina, 0,40 g (0,00263 mol) de *m*-hidroxi-*p*-metoxibenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 6 h. Obteve-se 0,49 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 56 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido bege.
- Ponto de fusão: 154-156 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3285,6 (st OH); 3168,0 (st NH); 2841,4 (st OCH_3); 1615,8 (st C=N); 1276,9 (st P=O); 1243,8 (st as C-O-C); 1213,2 (st C-O); 1060,2 (st si C-O-C); 1015,8 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (DMSO): 9,30 [d, (NH), $J_{\text{HP}} = 28$ Hz, 1H]; 9,19 [s, ($\text{N}=\text{CH}$), 1H]; 7,76 [s, (OH), 1H]; 7,07 [s, (H_2), 1H]; 6,88 [s, (H_6), 1H]; 6,88 [s, (H_5), 1H]; 3,91 [m, (CH_2OP), 4H]; 3,75 [s, (OCH_3), 3H]; 1,61 [sex, ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 4H]; 0,87 [t, (CH_3 (CH_2) $_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 6H].
- RMN de ^{13}C (DMSO): 148,94 (C_4); 146,77 (C_3); 143,93 [d, ($\text{N}=\text{CH}$), $J_{\text{CP}} = 19,5$ Hz, 1C]; 127,76 (C_1); 118,95 (C_6); 111,84 (C_5); 111,66 (C_2); 67,69 [d, (CH_2OP), $J_{\text{CP}} = 5,5$ Hz, 2C]; 55,55 ($\text{O}-\text{CH}_3$); 23,23 [d, ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 6,5$ Hz, 2C]; 10,07 [(CH_3 (CH_2) $_2\text{OP}$), 2C].
- RMN de ^{31}P (DMSO): 2,67 [dt, $J_{\text{HP}} = 8,1$ Hz, $J_{\text{HP}} = 27,5$ Hz, 1P]. Espectro acoplado.
- m/z (%): 98 (100 %), 140 (25 %), 330 (13 %).

3.4.22 Síntese do ácido fosforoidrazídico, N^2 -[(1E)-(m-etoxi-p-hidroxifenil)metileno]-, éster de dipropila (22)

Utilizou-se 0,47 g (0,00240 mol) da dipropilfosforilidrazina, 0,40 g (0,00241 mol) de *m*-etoxi-*p*-hidroxibenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo da reação foi de 6 h. Obteve-se 0,64 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 77 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido amarelo.
- Ponto de fusão: 167-169 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3285,6 (st OH); 3169,3 (st NH); 2898,6 (st OCH₂); 1605,2 (st C=N); 1280,8 (st P=O); 1226,1 (st as C-O-C); 1180,5 (st C-O); 1060,7 (st si C-O-C); 1015,9 (st P-O-C).
- RMN de ¹H (DMSO): 9,28 [d, (NH), $J_{HP} = 28$ Hz, 1H]; 9,29 [s, (N=CH), 1H]; 7,77 [s, (OH), 1H]; 7,10 [s, (H₂), 1H]; 6,92 [d, (H₆), $J_{HH} = 8$ Hz, 1H]; 6,77 [d, (H₅), $J_{HH} = 8$ Hz, 1H]; 3,95 [m, (CH₂OP), 4H]; 3,95 [m, (OCH₂CH₃), 2H]; 1,61 [sex, (CH₂CH₂OP), $J_{HH} = 7$ Hz, 4H]; 1,31 [t, (OCH₂CH₃), 3H]; 0,88 [t, (CH₃(CH₂)₂OP), $J_{HH} = 7$ Hz, 6H].
- RMN de ¹³C (DMSO): 148,22 (C₃); 146,98 (C₄); 144,11 [d, (N=CH), $J_{CP} = 19$ Hz, 1C]; 126,31 (C₁); 120,28 (C₆); 115,53 (C₅); 110,07 (C₂); 67,71 [d, (CH₂OP), $J_{CP} = 6$ Hz, 2C]; 63,74 (O-CH₂CH₃); 23,21 [d, (CH₂CH₂OP), $J_{CP} = 6,5$ Hz, 2C]; 14,70 (O-CH₂CH₃); 10,05 [(CH₃(CH₂)₂OP), 2C].
- RMN de ³¹P (DMSO): 2,62 [dt, $J_{HP} = 7,29$ Hz, $J_{HP} = 28,4$ Hz, 1P]. Espectro acoplado.
- m/z (%): 98 (100 %), 140 (24 %), 344 (21 %).

3.5 Tentativas de síntese de algumas dialquilfosforilidrazonas

3.5.1 Tentativa de síntese do ácido fosforoidrazídico N^2 -[(1E)-(m-metoxifenil)metileno]- éster de dipropila

Seguindo o procedimento geral descrito no tópico 3.4, utilizou-se 0,74 g (0,00378 mol) da dipropilfosforilidrazina, 0,49 g (0,00360 mol) de *m*-metoxibenzaldeído e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo de reação foi de 24 h. Esta reação foi realizada em duas condições:

- a) Solvente: 8 mL de etanol. Ao término da reação adicionou-se 10 gotas de solução de bicarbonato de sódio 10%. Parte da solução resultante foi vertida em água gelada, que estava imersa em banho de gelo. Como nenhuma precipitação ocorreu, a outra parte da solução foi posta no freezer por 2 dias. Ao final deste período, não ocorreu qualquer precipitação, somente a formação de uma fase oleosa na solução. Através de um funil de separação, a fase líquida e a fase oleosa foram separadas. Após a concentração da fase líquida, obteve-se uma solução amarela. Sobre esta solução, adicionou-se éter etílico. Após nova separação de fases, as soluções foram evaporadas em evaporador rotatório e colocadas em repouso no freezer. Como não ocorreu qualquer precipitação, ocorreu nova evaporação, sendo obtidos, da fase etérea, 150 mg de um óleo amarelo, cuja análise de RMN de ¹H, deste produto e do óleo obtido na primeira separação, revelou não ser o produto desejado.

- b) Solvente: 8 mL de acetona. Ao término da reação seguiu-se o mesmo procedimento para a reação feita com 8 mL de etanol, sendo que ao final obteve-se 330 mg de um óleo marrom, cuja análise de RMN de ^1H , deste produto e do óleo obtido na primeira separação, revelou não ser o produto desejado.

3.5.2 Tentativa de síntese do ácido fosforoidrazídico N' -[(1E)-(p-metoxifenil)metileno]-éster de dipropila

Seguindo o procedimento geral descrito no tópico 3.4, utilizou-se 0,74 g (0,00378 mol) da dipropilfosforilidrazina, 0,49 g (0,00360 mol) de *p*-metoxibenzaldeído e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo de reação foi de 24 h. Esta reação foi realizada em duas condições:

- a) Solvente: 8 mL de etanol. Seguiu-se o mesmo procedimento apresentado no tópico 3.5.1. Obtiveram-se, da fase etérea, 450 mg de um óleo amarelo, cuja análise de RMN de ^1H revelou não ser o produto desejado.
- b) Solvente: 8 mL de acetona. Seguiu-se o mesmo procedimento apresentado no tópico 3.5.1. Obtiveram-se, da fase etérea, 230 mg de um óleo marrom e, da fase líquida, 180 mg também de um óleo marrom (mais escuro que o anterior). A análise de RMN de ^1H de ambos os óleos revelou não ser o produto desejado.
- c) Solvente: 8 mL de acetona. Ao término da reação adicionou-se 10 gotas de solução de bicarbonato de sódio 10%. Em seguida, adicionou-se acetona e sulfato de magnésio anidro. O meio foi filtrado, e a fase líquida foi evaporada em evaporador rotatório, sem aquecimento. Obteve-se 560 mg de um óleo vermelho, cuja análise de RMN de ^1H revelou não ser o produto desejado.

3.5.3 Tentativa de síntese do ácido fosforoidrazídico N' -[(1E)-(p-*N,N*-dimetilaminofenil)metileno]-éster de dipropila

Seguindo o procedimento geral descrito no tópico 3.4, utilizou-se 0,74 g (0,00378 mol) da dipropilfosforilidrazina, 0,53 g (0,00356 mol) de *p-N,N*-dimetilaminobenzaldeído e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo de reação foi de 24 h. Esta reação foi realizada em duas condições:

- a) Solvente: 8 mL de etanol. Ao término da reação adicionou-se 10 gotas de solução de bicarbonato de sódio 10%. A solução resultante foi vertida em água gelada, que estava imersa em banho de gelo. Como nenhuma precipitação ocorreu, a solução foi posta no freezer por 2 dias. Ao final deste período observou-se a formação de sólido. Após filtração, obteve-se uma fase líquida de coloração laranja e 55 mg de um sólido bege, cuja análise por RMN de ^1H revelou não ser o produto desejado. A fase líquida de coloração laranja foi evaporada em evaporador rotatório. O óleo resultante foi dividido em duas partes. Sobre uma parte adicionou-se éter etílico e sobre a outra etanol. Em ambos os casos não ocorreu qualquer precipitação. Após evaporação obteve-se para a fase etérea, 180 mg de um óleo marrom muito viscoso, que foi

descartado. Para a fase etílica, obteve-se 300 mg de um óleo preto, cuja análise de RMN de ^1H revelou não ser o produto desejado.

- b) Solvente: 8 mL de acetona. Ao término da reação adicionou-se 10 gotas de solução de bicarbonato de sódio 10%. A solução resultante foi vertida em água gelada, que estava imersa em banho de gelo. Nenhum precipitado foi obtido, porém, obteve-se uma solução com duas fases. Após a separação das fases, ambas foram extraídas com acetona, uma vez que as dialquilfosforilidrazonas são solúveis em acetona. Após tratamento com sulfato de magnésio anidro, ambas as fases foram evaporadas em evaporador rotatório. Da fase originalmente aquosa, não se obteve qualquer produto. Já da outra fase, obteve-se 1,1 g de um óleo marrom, cuja análise de RMN de ^1H revelou não ser o produto desejado.

3.5.4 Tentativa de síntese do ácido fosforoidrazídico N' -[(1E)-(m-hidroxifenil)metileno]-éster de dipropila

Seguindo o procedimento geral descrito no tópico 3.4, utilizou-se 0,64 g (0,00327 mol) da dipropilfosforilidrazina, 0,40 g (0,00328 mol) de *m*-hidroxibenzaldeído e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo de reação foi de 6 h. Ao término da reação adicionou-se 10 gotas de solução de bicarbonato de sódio 10%. A solução resultante foi vertida em água gelada, que estava imersa em banho de gelo. Como nenhuma precipitação ocorreu, a solução foi evaporada em evaporador rotatório, obtendo-se um óleo marrom, cuja análise de RMN de ^1H revelou não ser o produto desejado.

3.5.5 Tentativa de síntese do ácido fosforoidrazídico N' -[(1E)-(p-hidroxifenil)metileno]-éster de dipropila

Seguindo o procedimento geral descrito no tópico 3.4, utilizou-se 0,64 g (0,00327 mol) da dipropilfosforilidrazina, 0,40 g (0,00328 mol) de *p*-hidroxibenzaldeído e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. O tempo de reação foi de 6 h. Ao término da reação adicionou-se 10 gotas de solução de bicarbonato de sódio 10%. A solução resultante foi vertida em água gelada, que estava imersa em banho de gelo. Como nenhuma precipitação ocorreu, a solução foi evaporada em evaporador rotatório, obtendo-se um óleo marrom, cuja análise de RMN de ^1H revelou não ser o produto desejado.

3.6 Tentativas de síntese das dialquilfosforilidrazonas via rota alternativa

3.6.1 Síntese das R_1 fenilidrazonas

⇒ Procedimento geral

Em um balão monotubulado de 50 mL adicionou-se diretamente o aldeído, etanol, a hidrazina (com excesso de 1 %) e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A mistura reacional foi mantida sob agitação, a temperatura ambiente ($\cong 25\text{ }^\circ\text{C}$), por 4 h. Após a reação se completar foram adicionadas 10 gotas de solução de bicarbonato de sódio a 10 %. A solução resultante foi vertida em um becker com 10 mL de água destilada gelada, sendo observada a formação imediata de precipitado. Este becker foi mantido em banho de gelo por cerca de 30 min. Após este período, o meio foi filtrado e o sólido resultante foi

seco em pistola por cerca de 1 h. Após este tempo obteve-se, para todas as reações, um produto sólido.

3.6.1.1 Síntese da *p*-nitrofenilidrazona

Utilizou-se 0,50 mL (0,51 g - 0,0102 mol) da hidrazina monohidratada, 1,51 g (0,0100 mol) de *p*-nitrobenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. Obteve-se 1,40 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 85 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido amarelo.
- Ponto de fusão: 134-135 °C.

3.6.1.2 Síntese da *p*-metoxifenilidrazona

Utilizou-se 0,18 mL (0,19 g - 0,0038 mol) da hidrazina monohidratada, 0,50 g (0,00368 mol) de *p*-metoxibenzaldeído, 8 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. Obteve-se 0,22 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 40 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido branco.
- Ponto de fusão: 171-172 °C.

3.6.2 Síntese das dialquilfosforilidrazonas (rota alternativa)

⇒ 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 R_1 fenilidrazona 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 10 h.

3.6.2.1 Tentativa de síntese do ácido fosforoidrazídico N' -[(1*E*)-(p-nitrofenil)metileno]-éster de diisopropila (9)

Utilizou-se 0,50 g (0,00301 mol) do fosfonato de diisopropila, 0,50 g (0,00303 mol) da *p*-nitrofenilidrazona, 0,12 g (0,003 mol) de hidróxido de sódio, 5 mL de etanol, 5 mL de água, 0,41 mL (0,65 g - 0,00422 mol) de tetracloreto de carbono. O acompanhamento da reação foi feito por cromatografia em camada fina, que indicou que a reação não evoluiu.

3.6.2.2 Tentativa de síntese do ácido fosforoidrazídico *N'*-[(1*E*)-(*p*-metoxifenil)metileno]-éster de diisopropila (15)

Utilizou-se 0,25 g (0,00151 mol) do fosfonato de diisopropila, 0,22 g (0,00147 mol) da *p*-metoxifenilidrazona, 0,07 g (0,00175 mol) de hidróxido de sódio, 4 mL de etanol, 4 mL de água, 0,20 mL (0,32 g – 0,00208 mol) de tetracloreto de carbono. O acompanhamento da reação foi feito por cromatografia em camada fina, que indicou que a reação não evoluiu.

3.7 Síntese dos fosforocloridatos de dialquila (MC COMBIE *et al.*, 1945)

⇒ Procedimento geral

Esta síntese foi realizada em aparelhagem apropriada, a qual consiste de 5 borbulhadores, sendo o primeiro com aproximadamente 200 mL de ácido sulfúrico 98%, o segundo é um trape de segurança, o terceiro é o reator, o quarto é um trape de segurança, e o quinto possui cerca de 200 mL de solução de hidróxido de sódio.

No reator, sob banho de gelo, adicionou-se o fosfonato de dialquila. Sobre este, em agitação magnética, borbulhou-se cloro gasoso por cerca de 35 min, quando o meio reacional estava completamente esverdeado, cessou-se o borbulhamento. Uma vez que se verificou que o meio reacional permaneceu esverdeado, indicando excesso de cloro, confirmou-se o término da reação. Passou-se então nitrogênio gasoso sobre o meio reacional para retirar o excesso de cloro. O produto resultante foi então submetido a evaporação no evaporador rotatório por 1 h, sem aquecimento, sendo então armazenado no freezer.

3.7.1 Síntese do fosforocloridato de dipropila (125)

Utilizou-se 11,65 g (0,0702 mol) de fosfonato de dipropila e 4,98 g (0,0702 mol) de cloro gasoso. Obteve-se 13,92 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 99 %.

Caracterização:

- Aspecto: líquido incolor.
- IV (Célula de NaCl): 1251,7 (st P=O); 1024,7 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 4,15 [m, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OP}$), 4H]; 1,78 [m, ($\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{CH}_2\text{OP}$), 4H]; 0,99 [m, ($\underline{\text{C}}\text{H}_3(\text{CH}_2)_2\text{OP}$), 6H].
- RMN de ^{13}C (CDCl_3): 71,41 [d, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 7,5$ Hz, 1C]; 70,77 [d, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 7,5$ Hz, 1C]; 23,29 [d, ($\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 7,5$ Hz, 1C]; 23,11 [d, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 1C]; 9,81 [$\underline{\text{C}}\text{H}_3(\text{CH}_2)_2\text{OP}$), 2C].
- m/z (%): 117 (100 %), 159 (20 %), 201 (80 %).

3.7.2 Síntese do fosforocloridato de diisopropila (126)

Utilizou-se 11,65 g (0,0702 mol) de fosfonato de diisopropila e 4,98 g (0,0702 mol) de cloro gasoso. Obteve-se 12,65 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 90 %.

Caracterização:

- Aspecto: líquido incolor.
- IV (Célula de NaCl): 1249,3 (st P=O); 1017,8 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 4,77 [m, (CHOP), 2H]; 1,35 [m, ($(\text{CH}_3)_2\text{CHOP}$), 12H].
- m/z (%): 117 (100 %), 143 (88 %), 159 (25 %).

3.7.3 Síntese do fosforocloridato de dibutila (127)

Utilizou-se 30,20 g (0,156 mol) de fosfonato de dibutila e 11,05 g (0,156 mol) de cloro gasoso. Obteve-se 35,21 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 99 %.

Caracterização:

- Aspecto: líquido incolor.
- IV (Célula de NaCl): 1260,0 (st P=O); 1029,5 (st P-O-C).
- m/z (%): 117 (100 %), 173 (2 %), 228 (2 %).

3.7.4 Síntese do fosforocloridato de diisobutila (128)

Utilizou-se 30,20 g (0,156 mol) de fosfonato de diisobutila e 11,05 g (0,156 mol) de cloro gasoso. Obteve-se 34,15 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 96 %.

Caracterização:

- Aspecto: líquido incolor.
- IV (Célula de NaCl): 1297,5 (st P=O); 1022,0 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 3,94 [m, (CH_2OP), 4H]; 1,97 [m, (CHCH_2OP), 2H]; 0,95 [d, ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 12H].
- m/z (%): 117 (100 %), 173 (3 %), 229 (1 %).

3.8 Síntese dos fosforoisotiocianatidatos de dialquila (KULKA, 1959)**⇒ Procedimento geral**

Em um balão monotubulado de 125 mL, adicionou-se o fosforocloridato de dialquila e 15 – 20 mL de solvente seco e destilado¹, o meio foi mantido em agitação sob banho de gelo. Sobre o meio reacional adicionou-se rapidamente, com um adaptador de vidro, tiocianato de amônio². A mistura reacional foi então agitada por 20 h a temperatura ambiente ($\cong 25$ °C), sendo o sistema mantido com uma saída para um bolhometro. Após a reação, o meio estava composto de duas fases, uma sólida (NH_4Cl) e uma líquida (solvente + produto). O meio reacional foi filtrado a vácuo, o sólido foi descartado após ser lavado com o solvente, e o filtrado foi submetido à evaporação no evaporador rotatório. Procurou-se não elevar a temperatura do banho a mais de 80 °C, pois o produto é passível de degradação. Após a evaporação de todo o solvente, o produto, que é higroscópico, foi guardado no freezer.

¹ O solvente comumente utilizado nesta reação é o benzeno. No entanto, alguns testes com acetonitrila foram realizados. A mudança no solvente teve por objetivo aumentar a

solubilidade do tiocianato de amônio no solvente e minimizar, ou até evitar, a degradação do produto quando da filtração a vácuo.

² O tiocianato de amônio encontra-se frequentemente com muita água residual, sendo necessária uma eficiente secagem. Esta secagem foi realizada em aparelhagem Deanstark com refluxo de tolueno (seco e destilado), até serem obtidos cristais brancos e soltos de NH₄SCN e até não ser mais observada a decantação de água no tubo recolhedor. Após filtração do conteúdo do balão, o NH₄SCN foi lavado por 2 vezes com benzeno e seco sob vácuo.

3.8.1 Síntese do fosfoisotiocianatidato de diisopropila (129)

3.8.1.1 Sendo benzeno o solvente da reação

Utilizou-se 40,94 g (0,204 mol) de fosforocloridato de diisopropila e 16,22 g (0,213 mol) de tiocianato de amônio, estando este com um excesso de 5 %. Após a evaporação do solvente no evaporador rotatório, obteve-se 29,37 g do produto, correspondendo ao rendimento de 66 %.

Caracterização:

- Aspecto: líquido laranja.
- IV (Célula de NaCl): 1246,2 (st P=O); 1015,4 (st P-O-C); 2000,0 (st as N=C=S).
- RMN de ¹H (CDCl₃): 4,63 [m, (CHOP), 2H]; 1,29 [m, ((CH₃)₂CHOP), 12H].
- m/z (%): 140 (10 %), 182 (38 %), 224 (100 %).

3.8.1.2 Sendo acetonitrila o solvente da reação

Utilizou-se 6,36 g (0,0317 mol) de fosforocloridato de diisopropila e 2,65 g (0,0349 mol) de tiocianato de amônio, estando este com um excesso de 10 %. Após a evaporação do solvente no evaporador rotatório, obteve-se 3,03 g do produto, correspondendo ao rendimento de 43 %. O balão utilizado nesta reação foi de 50 mL.

3.8.2 Síntese do fosfoisotiocianatidato de dibutila (130)

Utilizou-se 43 g (0,188 mol) de fosforocloridato de dibutila e 14,30 g (0,188 mol) de tiocianato de amônio, sendo benzeno o solvente da reação. Após a evaporação do solvente no evaporador rotatório, obteve-se 33,02 g do produto, correspondendo ao rendimento de 70%.

Caracterização:

- Aspecto: líquido amarelo.
- IV (Célula de NaCl): 1229,8 (st P=O); 1035,7 (st P-O-C); 2027,1 (st as N=C=S).
- m/z (%): 140 (58 %), 196 (18 %), 252 (100 %).

3.8.3 Síntese do fosfoisotiocianatidato de diisobutila (131)

Utilizou-se 35,30 g (0,154 mol) de fosforocloridato de diisobutila e 13,27 g (0,175 mol) de tiocianato de amônio, estando este com um excesso de 13 %. Após a

evaporação do benzeno (solvente da reação) no evaporador rotatório, obteve-se 20 g do produto, correspondendo ao rendimento de 52 %.

Caracterização:

- Aspecto: líquido amarelo.
- IV (Célula de NaCl): 1279,2 (st P=O); 1031,9 (st P-O-C); 2002,8 (st as N=C=S).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 3,87 [m, (CH_2OP), 4H]; 1,96 [m, (CHCH_2OP), 2H]; 0,96 [d, ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H]; 0,93 [d, ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H].
- m/z (%): 140 (100 %), 196 (18 %), 251 (5 %).

3.8.4 Tentativa de síntese do fosfoisotiocianatidato de dipropila

Utilizou-se 30,34 g (0,151 mol) de fosforocloridato de dipropila e 11,50 g (0,151 mol) de tiocianato de amônio, sendo benzeno o solvente da reação. Após a evaporação do solvente no evaporador rotatório, obteve-se 18,3 g de um líquido com coloração amarelo intenso. A análise de RMN de ^1H revelou não ser o produto desejado. Esta reação também foi realizada com excesso de 10 % de tiocianato de amônio, não sendo também obtido o produto.

3.9 Síntese das *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas (bis-[(ácido fosforamídico, éster de diisobutila), N-tioxometileno]-, diamina) (SOUZA, 1995)

⇒ Procedimento geral

Em um balão bitubulado de 50 mL equipado com um funil de adição contínua e um borbulhador, adicionou-se a diamina correspondente e cerca de 25 mL de benzeno seco e destilado. Sobre esta mistura, que estava sob agitação, adicionou-se, gota a gota, através de um funil de adição, o fosfoisotiocianatidato de diisobutila em 5 ml de benzeno. A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética por 24 h. Após a reação, adicionou-se éter etílico gelado para promover uma maior precipitação do produto e filtrou-se o meio a vácuo. A fase sólida, que é o produto, foi lavada com éter etílico gelado, sendo a fase líquida evaporada para tentar a recuperação de alguma porção produto que tenha passado na filtração. A massa sólida obtida foi seca, sob vácuo, em pistola.

3.9.1 Síntese da *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)1,2-etilenodiamina (23)

Utilizou-se 3 g (0,012 mol) de fosfoisotiocianatidato de diisobutila e 0,36 g (0,006 mol) de etilenodiamina. Obteve-se, após filtração, 0,59 g do produto, correspondendo ao rendimento de 18 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido branco.
- Ponto de fusão: 145-147 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3275,3 (st NH); 3132,2 (st NH); 1519,6 (δ NH); 1343,6 (st N-C(S)-N); 1232,8 (st P=O); 1027,0 (st P-O-C).

- RMN de ^1H (CDCl_3): 9,12 [s, ($\underline{\text{H}}\text{-NCH}_2$), 2H]; 6,94 [d, ($\underline{\text{HN}}\text{-P=O}$), $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, 2H]; 3,86 [m, ($\underline{\text{CH}}_2\text{OP}$), 8H]; 3,86 [m, (NCH_2), 4H]; 1,95 [m, ($\underline{\text{CH}}\text{CH}_2\text{OP}$), 4H]; 0,94 [d, ($(\underline{\text{CH}}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 24H].
- RMN de ^{13}C (CDCl_3): 182,78 [($\underline{\text{C}}=\text{S}$), 2C]; 73,97 [d, ($\underline{\text{CH}}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 6$ Hz, 4C]; 44,01 [($\text{N-}\underline{\text{CH}}_2$), 2C]; 28,92 [d, ($\underline{\text{CH}}\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 7,5$ Hz, 4C]; 18,53 [($(\underline{\text{CH}}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$), 8C].
- RMN de ^{31}P (CDCl_3): 1,20 e - 4,13. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 140 (100 %); 196 (18 %); 252 (8 %).

3.9.2 Síntese da *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)1,3-propilenodiamina (24)

Utilizou-se 3 g (0,012 mol) de fosfoisotiocianatidato de diisobutila e 0,44 g (0,006 mol) de propilenodiamina. Obteve-se, após filtração, 0,90 g do produto, correspondendo ao rendimento de 26%.

Caracterização:

- Aspecto: sólido branco.
- Ponto de fusão: 133-135 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3276,8 (st NH); 3143,1 (st NH); 1532,0 (δ NH); 1328,6 (st N-C(S)-N); 1233,8 (st P=O); 1022,0 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 8,99 [s, ($\underline{\text{H}}\text{-NCH}_2$), 2H]; 6,54 [d, ($\underline{\text{HN}}\text{-P=O}$), $J_{\text{HP}} = 8$ Hz, 2H]; 3,86 [m, ($\underline{\text{CH}}_2\text{OP}$), 8H]; 3,70 [m, (NCH_2), 4H]; 1,96 [m, ($\underline{\text{CH}}\text{CH}_2\text{OP}$), 4H]; 1,96 [m, ($\text{NCH}_2\underline{\text{CH}}_2$), 2H]; 0,94 [d, ($(\underline{\text{CH}}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 24H].
- RMN de ^{13}C (CDCl_3): 182,05 [($\underline{\text{C}}=\text{S}$), 2C]; 73,99 [d, ($\underline{\text{CH}}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 4,5$ Hz, 4C]; 43,16 [($\text{N-}\underline{\text{CH}}_2$), 2C]; 28,93 [d, ($\underline{\text{CH}}\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 6$ Hz, 4C]; 27,72 [($\text{N-}\underline{\text{CH}}_2\underline{\text{CH}}_2$), 1C]; 18,56 [($(\underline{\text{CH}}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$), 8C].
- RMN de ^{31}P (CDCl_3): - 3,93. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 140 (100 %); 196 (43 %); 252 (33 %).

3.9.3 Síntese da *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)1,4-butilenodiamina (25)

Utilizou-se 3 g (0,012 mol) de fosfoisotiocianatidato de diisobutila e 0,53 g (0,006 mol) de butilenodiamina. Obteve-se, após filtração, 0,93 g do produto, correspondendo ao rendimento de 26%.

Caracterização:

- Aspecto: sólido branco.
- Ponto de fusão: 158-160 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3265,8 (st NH); 3132,3 (st NH); 1534,2 (δ NH); 1342,0 (st N-C(S)-N); 1233,8 (st P=O); 1022,0 (st P-O-C).
- RMN de ^1H (CDCl_3): 8,96 [s, ($\underline{\text{H}}\text{-NCH}_2$), 2H]; 6,53 [d, ($\underline{\text{HN}}\text{-P=O}$), $J_{\text{HP}} = 2$ Hz, 2H]; 3,83 [m, ($\underline{\text{CH}}_2\text{OP}$), 8H]; 3,63 [m, (NCH_2), 4H]; 1,70 [m, ($\underline{\text{CH}}\text{CH}_2\text{OP}$), 4H]; 1,96 [m, ($\text{NCH}_2\underline{\text{CH}}_2$), 4H]; 0,94 [d, ($(\underline{\text{CH}}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7$ Hz, 24H].
- RMN de ^{13}C (CDCl_3): 181,80 [($\underline{\text{C}}=\text{S}$), 2C]; 73,99 [d, ($\underline{\text{CH}}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 6$ Hz, 4C]; 45,58 [($\text{N-}\underline{\text{CH}}_2$), 2C]; 28,95 [d, ($\underline{\text{CH}}\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 7,6$ Hz, 4C]; 25,84 [($\text{N-}\underline{\text{CH}}_2\underline{\text{CH}}_2$), 2C]; 18,53 [($(\underline{\text{CH}}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$), 8C].
- RMN de ^{31}P (CDCl_3): - 3,95. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 140 (100 %); 196 (58 %); 252 (63 %).

3.10 Tentativas de síntese de algumas *N,N'*-bis(dialquilfosforiltioamida)diaminas (AGRE et al., 1980; SOUZA, 1995)

3.10.1 Tentativa de síntese da *N,N'*-bis(diisopropilfosforiltioamida)1,2-etilenodiamina

⇒ Procedimento geral

Em um balão bitubulado de 25 mL equipado com um funil de adição contínua e um borbulhador, adicionou-se a etilenodiamina e cerca de 2,5 mL de solvente seco e destilado. Sobre esta mistura, que estava sob agitação, adicionou-se, gota a gota, através de um funil de adição o fosfoisotiocianatidato de diisopropila em 2,5 mL de solvente. Após a adição o meio reacional foi condicionado com N₂ (g) por cerca de 15 min. Esta reação foi realizada sob diferentes condições de tempo, temperatura, solvente e base adicionada, sempre buscando a melhor condição de reação para um melhor rendimento. Nas reações que ocorreram sob condição de refluxo do solvente também foi utilizado um condensador de refluxo.

As diferentes condições de reação que foram testadas estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Condições de reação para a obtenção da *N,N'*-bis(diisopropilfosforiltioamida)1,2-etilenodiamina.

Condição	Solvente	Temperatura	Tempo de Reação	Base Adicionada (excesso ou relação estequiométrica para a etilenodiamina).
1	isopropanol	30 °C	4 h	etilenodiamina (0 %)
2	isopropanol	30 °C	4 h	etilenodiamina (50 %)
3	isopropanol	30 °C	4 h	etilenodiamina (100 %)
4	isopropanol	0 °C – 5° C	4 h	etilenodiamina (0 %)
5	isopropanol	0 °C – 5° C	4 h	etilenodiamina (50 %)
6	isopropanol	0 °C – 5° C	4 h	etilenodiamina (100 %)
7	isopropanol	0 °C – 5° C	4 h	trietilamina (1 mol)
8	isopropanol	0 °C – 5° C	4 h	trietilamina (2 mol)
9	isopropanol	82 °C	4 h 30 min	trietilamina (2 mol)
10	diclorometano	40 °C	4 h 30 min	trietilamina (2 mol)
11	clorofórmio	61 °C	4 h 30 min	trietilamina (2 mol)
12	tolueno	110 °C	4 h 30 min	trietilamina (2 mol)
13	clorofórmio	61 °C	19 h	trietilamina (2 mol)
14	isopropanol	25 °C	24 h	etilenodiamina (0 %)
15	benzeno	25 °C	24 h	etilenodiamina (0 %)

Após o tratamento das fases resultantes da reação (frequentemente um sólido branco e um óleo marrom, ou somente um óleo marrom) a análise por RMN de ¹H demonstrou que nenhuma das 15 tentativas resultou no produto desejado.

3.10.2 Tentativa de síntese da *N,N'*-bis(dibutilfosforiltioamida)1,4-butilenodiamina

Em um balão bitubulado de 50 mL equipado com um funil de adição contínua e um borbulhador, adicionou-se a diamina correspondente e cerca de 15 mL de benzeno seco e destilado. Sobre esta mistura, que estava sob agitação, adicionou-se, gota a gota, através de um funil de adição o fosforoisotiocianatidato de dibutila em 5 mL de benzeno.

Esta reação foi feita em duas condições diferentes:

- a) a reação ocorreu no tempo de 41 h a temperatura ambiente ($\cong 25\text{ }^{\circ}\text{C}$). Utilizou-se 3g (0,0119 mol) de fosforoisotiocianatidato de dibutila e 0,53g (0,00602 mol) de 1,4-butilenodiamina. Após a reação o meio foi filtrado, obtendo-se 0,310 g de um sólido branco (Ponto de fusão: 95-100 $^{\circ}\text{C}$). A fase líquida foi evaporada no evaporador rotatório, sendo então adicionado éter etílico gelado para promover alguma precipitação. Após a filtração do meio e a evaporação do éter obteve-se 70 mg de um sólido branco (Ponto de fusão: 125-130 $^{\circ}\text{C}$).
- b) a reação procedeu primeiramente por 2 h em refluxo de benzeno (80 $^{\circ}\text{C}$). Utilizou-se 3 g (0,0119 mol) de fosforoisotiocianatidato de dibutila e 0,53 g (0,00602 mol) de 1,4-butilenodiamina. Como o pH do meio era igual a zero, resfriou-se a reação até a temperatura ambiente, sendo então adicionado trietilamina até se obter o pH igual a 7. Uma vez que a diamina adicionada inicialmente muito provavelmente estaria protonada, adicionou-se mais 0,25 g (0,00284 mol) de 1,4-butilenodiamina. Continuou-se a reação por mais 14 h em refluxo de benzeno (80 $^{\circ}\text{C}$). Após a reação o meio foi filtrado, obtendo-se pouca quantidade de um sólido pastoso.

A análise por RMN de ^1H demonstrou que nenhuma das 2 tentativas resultou no produto desejado.

3.10.3 Tentativa de síntese da *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)piperazina

Seguindo o procedimento geral apresentado no item 3.9, utilizou-se 3,5 g (0,014 mol) de fosforoisotiocianatidato de diisobutila e 0,60 g (0,007 mol) de piperazina. Obteve-se após filtração 3,2 g de um sólido branco, cuja análise por RMN de ^1H revelou ser uma mistura de reagente (piperazina) e possivelmente o produto.

3.10.4 Tentativa de síntese da diisobutilfosforiltioamidatiosemicarbazida e da diisobutilfosforiltioamidatiouréia

⇒ Procedimento geral

Em um balão bitubulado de 125 mL equipado com um funil de adição contínua e um borbulhador, adicionou-se a tiosemicarbazida ou a tiouréia e cerca de 25 mL de benzeno seco e destilado. Sobre esta mistura, que estava sob agitação, adicionou-se, gota a gota, através de um funil de adição o fosforoisotiocianatidato de diisobutila em 5 mL de benzeno. A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética por 24 h. Após a reação adicionou-se éter etílico gelado, visando promover uma maior precipitação de

sólido e filtrou-se o meio a vácuo. A fase sólida foi lavada com éter etílico gelado, sendo a fase líquida evaporada. A massa sólida obtida foi seca em pistola.

3.10.4.1 Tentativa de síntese da diisobutilfosforiltioamidatiosemicarbazida

Utilizou-se 3,5 g (0,014 mol) de fosfoisotiocianatidato de diisobutila e 1,09 g (0,012 mol) de tiosemicarbazida. Obteve-se após filtração 2,8 g de um sólido branco, cuja análise por RMN de ^1H revelou ser uma mistura de reagente (tiosemicarbazida) e possivelmente o produto.

3.10.4.2 Tentativa de síntese da diisobutilfosforiltioamidatiouréia

Utilizou-se 3 g (0,012 mol) de fosfoisotiocianatidato de diisobutila e 0,91 g (0,012 mol) de tiouréia. Obteve-se após filtração 0,64 g de um sólido branco, cuja análise por RMN de ^1H revelou ser uma mistura de reagente (tiouréia) e possivelmente o produto.

3.10.5 Tentativa de síntese dos bisfosforoditioatos de diisobutila derivados do fosfoisotiocianatidato de diisobutila

⇒ Procedimento geral

Em um balão bitubulado de 125 mL equipado com um funil de adição contínua e um condensador de refluxo munido de um borbulhador, adicionou-se o ditiol correspondente e cerca de 25 mL de benzeno seco e destilado. Sobre esta mistura, que estava sob agitação, adicionou-se, gota a gota, através de um funil de adição o fosfoisotiocianatidato de diisobutila em 5 mL de benzeno.

3.10.5.1 Tentativa de síntese do bis(diisobutilfosforiltioamida)1,2-etilenoditiol

Utilizou-se 4 g (0,016 mol) de fosfoisotiocianatidato de diisobutila e 0,67 mL (0,75 g - 0,008 mol) de etilenoditiol. A mistura reacional foi inicialmente mantida a temperatura ambiente ($\cong 25\text{ }^\circ\text{C}$) por 24 h, após este período a análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas indicava que a relação entre o reagente fosfoisotiocianatidato de diisobutila e o bis(diisobutilfosforiltioamida)1,2-etilenoditiol era de 1:1. A reação foi então mantida sob refluxo ($80\text{ }^\circ\text{C}$) por 14 h, sem que a relação estequiométrica se alterasse.

3.10.5.2 Tentativa de síntese do bis(diisobutilfosforiltioamida)1,3-propilenoditiol

Utilizou-se 4 g (0,016 mol) de fosfoisotiocianatidato de diisobutila e 0,80 mL (0,86 g - 0,008 mol) de propilenoditiol. A mistura reacional foi mantida sob refluxo ($80\text{ }^\circ\text{C}$) por 14 h. Após este período, a análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas indicava que a relação entre o reagente fosfoisotiocianatidato de diisobutila e o bis(diisobutilfosforiltioamida)1,3-propilenoditiol era de 1:1.

3.11 Ensaio sobre a enzima tirosinase

Os testes de atividade frente à enzima tirosinase foram realizados tendo como substrato a L-DOPA (Aldrich, 99 %). A mistura de teste, que possuía volume total de 1,5 mL, era formada por tampão fosfato (50 mM, pH = 6,8), 50 µL de L-DOPA (0,17 mM), 50 µL de EDTA (0,022 mM), 50 µL de tirosinase (50-100 unidades) e 50 µL do composto a ser testado, em concentrações variadas, sendo a concentração inicial de teste 0,66 mM. Para a observação do efeito sobre a enzima, foram feitas leituras, da mistura de teste, no UV-visível a 475 nm, no tempo inicial t = 0 (logo após a adição da enzima) e após 10, 20 e 30 min. Como inibidor padrão foi utilizado ácido ascórbico (0,33 mM).

3.12 Ensaio sobre camundongos (*Mus musculus*) para avaliação da atividade toxicológica aguda, atividade farmacológica geral e ação antinociceptiva

Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) SW-55 adultos, machos e fêmeas, que pesavam entre 20 e 30 g. Os animais que receberam tratamento via oral, estiveram sob jejum de no mínimo 8 h antes dos experimentos. Ao término do experimento, os animais foram sacrificados por anestesia inalatória com éter etílico. Todos os experimentos foram realizados seguindo normas éticas para uso em testes envolvendo dor (ZIMMERNANN, 1983; ZIMMERNANN, 1986; PORTER, 1992).

No teste de atividade toxicológica aguda foram utilizados 3 camundongos de cada sexo, para cada dosagem de substância avaliada. Os animais, em jejum de 12 h, foram tratados, por via oral, sendo DMSO a 20 % o veículo de administração, com as dialquifosforilidrazonas 5, 8, 13 e 16 nas concentrações de 2, 20 e 100 mg/kg, passando a serem observados os possíveis efeitos destes compostos, como morbidade e mortalidade. Se nenhum dos animais morrerem nestas concentrações, os testes são suspensos, podendo ser consideradas estas dialquifosforilidrazonas como tendo DL₅₀ superior a 100 mg/kg (YAMANAKA, 1990).

Os testes de atividade farmacológica geral foram realizados simultaneamente aos de atividade toxicológica, com os mesmos animais. Este teste consiste na observação de possíveis ações no sistema nervoso central (SNC), além de outros sistemas, através da visualização dos animais nos seguintes intervalos de tempo: 0, 5, 10, 15, 30 e 60 min; 4, 8, 24 e 48 h; 4 e 7 dias. As ações avaliadas são as seguintes:

- Ação estimulante do SNC: aumento de motilidade, taquipnéia, piloereção, exoftalmia, movimentos estereolipados, lambem as patas, coçar o focinho, morder a cauda, convulsão crônica, convulsão tóxica, tremores finos, tremores agressivos, sialorréia, fasciculações, midríase, ereção da cauda e tremor da cauda.
- Ação depressora do SNC: diminuição da motilidade, bradicardia, catatonía, ptose pálpebra, analgesia, anestesia, perda de reflexo corneano, ataxia, dispnéia, alienação ao ambiente, exoftalmia, paralisia de trem posterior, sedação e miose.
- Ação no sistema circulatório (observação da orelha): palidez, cianose e hiperemia.
- Ação no sistema urinário (observação da micção): aumento, diminuição e coloração.
- Outras ações: diarreia, contorção, reação de fuga, passividade, agressividade e ganidos.

A avaliação da atividade antinociceptiva foi feita através do método das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. Neste método, os animais (seis machos) foram pré-tratados por via oral, sendo DMSO a 20 % o veículo de administração, com as dialquilfosforilidrazonas 5, 8, 13 e 16 nas doses de 2, 20 e 100 mg/kg, sendo após 60 min administrado ácido acético 1% por via intraperitoneal (estímulo nociceptivo de natureza química). O ácido acético após ser administrado possui um tempo de latência de aproximadamente 3 min, quando então provoca nos ratos uma reação comportamental caracterizada por distensão do abdome, com posterior distensão de pelo menos uma das patas posteriores (contorção abdominal). Estas contorções são então contabilizadas de modo acumulativo pelos 30 min seguintes à administração das doses dos compostos. A substância indometacina, na concentração de 10 mg/kg, foi utilizada como substância padrão, e uma solução de salina fisiológica (NaCl 0,9 %), juntamente com outra solução de DMSO a 20 %, foram utilizadas como controles negativos.

3.13 Ensaios de letalidade sobre *Musca domestica*

3.13.1 Criação de *Musca domestica*

Inicialmente foram coletadas moscas no campus da UFRRJ e na Estação para Pesquisas Parasitológicas Willian Otto Neitz. Para atrair as moscas foram utilizadas iscas compostas de carne equina em início de decomposição. As moscas coletadas foram criadas no Laboratório de Míases Tropicais do Departamento de Parasitologia do Instituto de Veterinária da UFRRJ. A criação foi feita em gaiolas de madeira (30 cm x 30 cm x 30 cm) revestidas com tela de nylon. O acesso ao interior das gaiolas era realizado através de uma manga de tecido. As moscas coletadas foram alimentadas diariamente com água e uma mistura de leite em pó integral e açúcar, estando estes ingredientes na proporção de 1:1. A mistura era colocada dentro da gaiola sobre uma placa de Petri (10 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura), coberta com uma tela para anteparo de pouso e facilitação da alimentação. Para o auxílio à maturação dos ovários e o estímulo à oviposição, foi introduzida, também em placa de Petri, uma mistura de ração concentrada contendo 23% de proteína bruta, farelo de trigo e água, em proporções iguais. Após a oviposição, os ovos contidos no meio foram introduzidos em recipientes de plástico, contendo o mesmo substrato utilizado para a oviposição, o qual serviu de dieta básica para o desenvolvimento larval. Após o desenvolvimento larval, foram obtidas as pupas, que foram selecionadas, com o objetivo de se obter uniformidade, e acondicionadas em potes de vidro com dimensões de 15 cm x 6 cm. Os potes foram cobertos com tela fina, presa por elástico. Após a emergência das moscas adultas, estas foram transferidas para gaiolas de madeira (30 cm x 30 cm x 30 cm). Através deste procedimento estabeleceu-se uma colônia de *Musca domestica*, sendo utilizada a segunda geração para os ensaios biológicos.

3.13.2 Aplicação tópica dos compostos

Para a realização dos ensaios (Figura 38), as moscas foram retiradas das gaiolas com o auxílio de um aspirador de pó, contendo um pano preso à boca de sucção. As moscas coletadas foram transferidas para um copo do sistema e anestesiadas com CO₂. Após a anestesia dos insetos foi feita a identificação entre machos e fêmeas. Em seguida, estando os insetos ainda anestesiados, foi aplicado, com o auxílio de uma

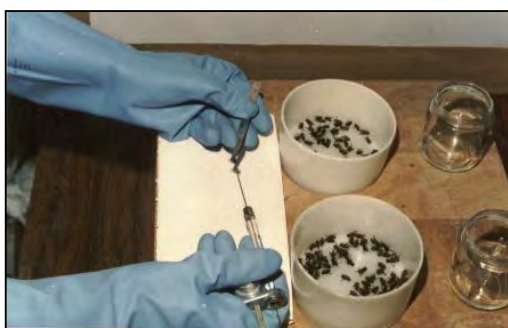
micro-seringa, 0,5 μ L da solução do composto sobre a região torácica das moscas (aplicação tópica). Cada composto foi aplicado na concentração de 70 mg/mL, sendo acetona o solvente. Para o ensaio com cada composto, foram utilizadas quatro repetições, contendo cada uma 25 moscas, perfazendo o total de 100 moscas. Estas 100 moscas estavam divididas igualmente (50 %) entre machos e fêmeas. Em cada ensaio realizado, também foram utilizadas como controle amostras denominadas de branco, onde foi aplicado somente o solvente (acetona). Os ensaios com as amostras controle também foram realizados com 100 moscas, estando estas igualmente divididas em machos e fêmeas. As moscas adultas utilizadas nos testes tinham até 72 h de emergidas. Após a aplicação tópica dos compostos, as moscas foram acondicionadas em recipientes de vidro (10 cm de altura x 3 cm de diâmetro), sendo o fundo forrado com disco de papel de filtro, com a parte superior fechada com gaze estéril, presa por elástico. Estas moscas foram alimentadas com solução aquosa de glicose a 20 %. Após 24 h foi verificado o número de insetos mortos presentes nos recipientes de vidro.



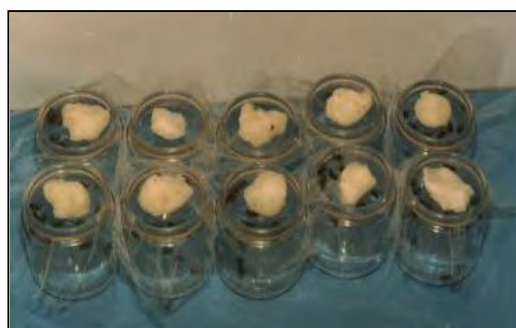
Retirada das moscas da gaiola



Sistema de anestesia



Aplicação dos compostos



Acondicionamento das moscas

Figura 38: Aplicação tópica dos compostos nas moscas.

3.14 Estudos de modelagem molecular (DA SILVA, 2007)

Os cálculos foram efetuados em computadores Pentium III 1.1 GHz e Pentium IV 3.2 GHz, utilizando os programas MOPAC 6.0 (STEWART, 1989) e PC Spartan Pro (Wavefunction, Inc.).

3.14.1 Modelo reacional de síntese e modelo reacional para avaliação da atividade inseticida

Através do programa PC Spartan Pro foram construídas as geometrias das dialquilfosforilidrazinas, dos aldeídos protonados e dos intermediários envolvidos na síntese das dialquilfosforilidrazonas.

Após a construção de cada molécula em formato de arquivo pdb, os arquivos foram transformados de pdb para mop, com o programa Babel 1.6 (WALTERS & STAHL, 1996) em arquivos de entrada (mop) para cálculos com o programa MOPAC 6.0. O arquivo pdb mostra o sistema em coordenadas cartesianas e o arquivo do tipo mop mostra o sistema em coordenadas internas. O formato do comando, no ambiente DOS, utilizado para transformar os arquivos pdb em arquivos mop foi:

babel -ipdb [nome do arquivo].pdb -omopint [nome do arquivo].mop

Todos os cálculos de otimização de energia feitos no MOPAC 6.0 foram antecedidos por cálculos envolvendo somente um ciclo de auto-consistência de campo. Isto foi feito para verificar se haviam erros simples que poderiam levar a resultados incorretos quando da realização do cálculo com muitos ciclos.

As palavras-chave utilizadas no MOPAC para a realização dos cálculos foram as seguintes:

PM3 GRAD NOINTER NOLOG PRECISE CHARGE=n T=nH XYZ

A palavra-chave CHARGE=n foi alterada, em cada caso, de acordo com a carga total de cada estrutura.

No caso do modelo reacional para avaliação da atividade inseticida, a adição da molécula de serina no sistema foi feita pelo programa PC Spartan Pro.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo está estruturado em seis 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 a síntese e a determinação estrutural dos compostos com o esqueleto base *N,N'*-bis(dialquilfosforiltioamida)diamina.

O terceiro tópico apresenta o estudo da atividade das dialquilfosforilidrazonas e das *N,N'*-bis(dialquilfosforiltioamida)diaminas sobre a enzima tirosinase, avaliando o potencial inibitório dos compostos.

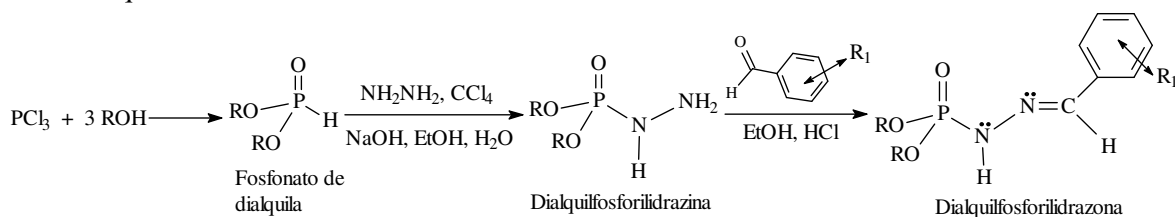
O quarto tópico descreve os testes realizados para avaliar a atividade toxicológica aguda, a atividade farmacológica geral e a ação antinociceptiva de algumas das dialquilfosforilidrazonas.

O quinto tópico apresenta os estudos de avaliação da atividade inseticida das dialquilfosforilidrazonas e das *N,N'*-bis(dialquilfosforiltioamida)diaminas sobre a espécie *Musca domestica*.

Finalmente, o sexto tópico relata os estudos de modelagem molecular realizados visando a comparação dos resultados obtidos experimentalmente com aqueles previstos nos modelos teóricos propostos, especificamente para a síntese das dialquilfosforilidrazonas e a avaliação de sua atividade inseticida.

4.1 Dialquilfosforilidrazonas

As dialquilfosforilidrazonas foram obtidas a partir da rota sintética apresentada no Esquema 1.

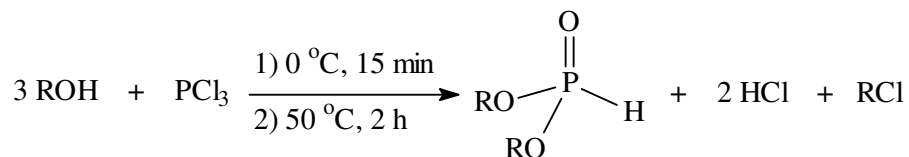


Esquema 1: Rota de síntese das dialquilfosforilidrazonas.

Estas reações serão apresentadas em detalhes nos próximos tópicos.

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 2 mostra a reação de obtenção dos fosfonatos de dialquila.

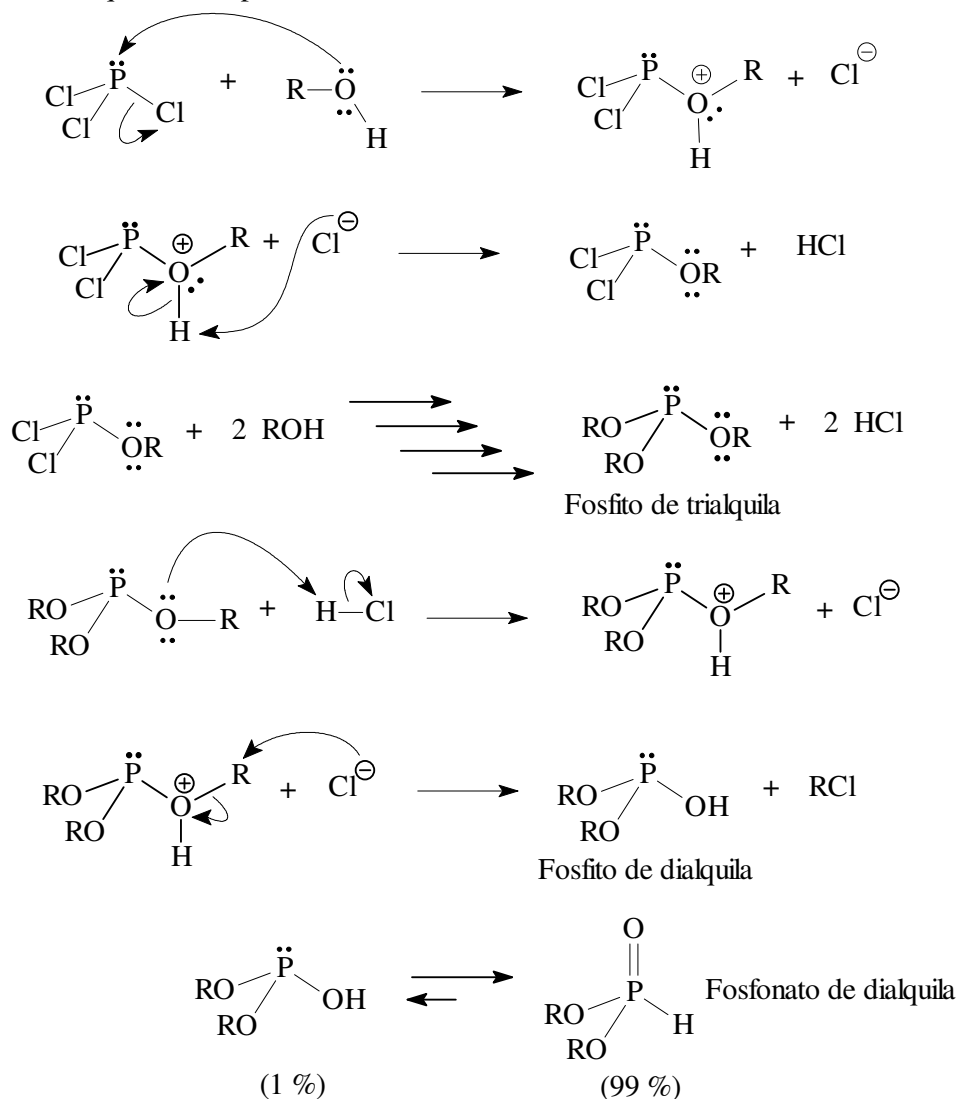


(113) R = propil; (114) R = isopropil; (115) R = butil e (116) R = isobutil.

Esquema 2: Esquema de reação dos fosfonatos de dialquila.

A formação dos fosfonatos de dialquila envolve um sistema de reações do tipo SN_2 (KOSALOPOFF & MAIER, 1973), conforme é mostrado no Esquema 3.

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 3: Mecanismo de obtenção dos fosfonatos de dialquila.

Conforme também é mostrado no Esquema 3, 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 2 apresenta os rendimentos obtidos na síntese dos fosfonatos de dialquila.

Tabela 2: Rendimentos dos fosfonatos de dialquila.

(RO)₂P(O)H	
R	Rendimento (%)
propil	91
isopropil	94
butil	85
isobutil	79

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. 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.

Nas primeiras tentativas de síntese destes compostos, foi utilizada a destilação sob pressão reduzida para purificação, porém obtinha-se pouquíssima quantidade de líquido no balão recolhedor, e em contrapartida recolhia-se grande quantidade de líquido no trap, sendo observado contínuo aumento da viscosidade do conteúdo do balão destilado. A análise de todas as frações por RMN de ¹H, inclusive a do trap, indicou que não havia a presença de fosfonato de dialquila. Atribuiu-se o problema a polimerização do fosfonato, originando a formação de polifosfatos, quando da destilação, de forma que só o cloreto de alquila estava sendo destilado. Desta forma, os fosfonatos de dialquila sintetizados foram tratados sob condições mais brandas de vácuo, em evaporador rotatório, para a eliminação do cloreto de alquila e do cloreto de hidrogênio residual, os quais são subprodutos da reação. Após este tratamento, os fosfonatos de dialquila apresentam grau de pureza adequado para serem utilizados.

Os fosfonatos de dipropila e de diisopropila sintetizados foram utilizados para a obtenção das dialquilfosforilidrazonas e na tentativa de síntese das *N,N'*-bis(dialquilfosforiltioamida) diaminas. O fosfonato de dibutila foi utilizado somente na tentativa de síntese das *N,N'*-bis(dibutilfosforiltioamida) diaminas. Já o fosfonato de diisobutila foi utilizado na síntese das *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida) diaminas, e na tentativa de síntese da diisobutilfosforiltioamida tiosemicarbazida, da diisobutilfosforiltioamida tiouréia e dos bis(diisobutilfosforiltioamida) ditióis.

4.1.2 Determinação estrutural dos fosfonatos de dialquila

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

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 3 apresenta os estiramentos das principais bandas de absorção dos fosfonatos de dialquila sintetizados.

Tabela 3: Dados de infravermelho das principais bandas de absorção dos fosfonatos de dialquila sintetizados.*

(RO)₂P(O)H			
R	P-H	P=O	P-O-C
propil	2424,6 (st)	1234,9 (st)	987,4 (st)
isopropil	2433,6 (st)	1222,6 (st)	988,2 (st)
butil	2428,3 (st)	1228,8 (st)	994,5 (st)
isobutil	2431,7 (st)	1245,2 (st)	985,3 (st)

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

4.1.2.2 Análise por espectrometria de RMN de ¹H

Nos espectros de RMN de ¹H dos fosfonatos de dialquila sintetizados, o sinal característico, que comprova a obtenção destes compostos, é um duplete referente ao hidrogênio ligado diretamente ao átomo de fósforo, centrado em aproximadamente 6,77 ppm, com constante de acoplamento P-H elevada, em torno de 697 Hz. 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 4 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 4, 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). Já para o acoplamento $\text{CH}_n\text{O-P}$ ($n = 1, 2$ ou 3), a três ligações, a literatura registra uma ampla faixa que vai de 2,0 a 32 Hz. Para o acoplamento $\text{CH}_{n2}\text{CH}_{n1}\text{O-P}$ ($n1 = 1$ ou 2 e $n2 = 1, 2$, ou 3), a quatro ligações, a faixa varia de 0,5 a 2,0 Hz (THOMAS, 1974).

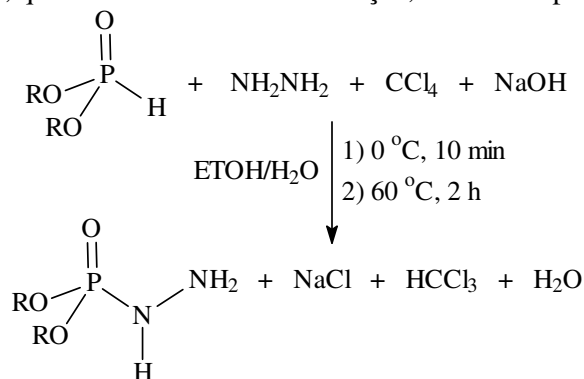
Tabela 4: Dados de RMN de ^1H dos fosfonatos de dialquila sintetizados.

Comp.	P-H	δ em ppm (multiplicidade)*					
		CH_nOP	$\text{CH}_n\text{CH}_2\text{OP}$	$\text{CH}_n(\text{CH}_2)_m\text{OP}$	$(\text{CH}_3)_2\text{CHOP}$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OP}$	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$
113	6,74 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 696$	n = 2 3,97 (dt)/4H $J_{\text{HH}} = 7,0$ $J_{\text{HP}} = 8,0$	n = 2 1,66 (sex)/4H $J_{\text{HH}} = 7,0$	n1 = 2, n = 3 0,91 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 7,0$	-	-	-
114	6,77(d)/1H $J_{\text{HP}} = 695$	n = 1 4,68 (hd)/2H $J_{\text{HH}} = 8,0$ $J_{\text{HP}} = 8,0$	-	-	1,30 (d)/12H $J_{\text{HH}} = 8,0$	-	-
115	6,76 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 698$	n = 2 4,03 (dt)/4H $J_{\text{HH}} = 6,0$ $J_{\text{HP}} = 8,0$	n = 2 1,64 (m)/4H $J_{\text{HH}} = 6,0$	n1 = 2, n = 2 1,38 (m)/4H $J_{\text{HH}} = 6,0$	-	0,91 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 6,0$	-
116	6,79 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 697$	n = 2 3,81(m)/2H	n = 1 1,94 (h)/1H $J_{\text{HH}} = 6,0$	-	-	-	0,98 (m)/6H 0,89 (m)/6H

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

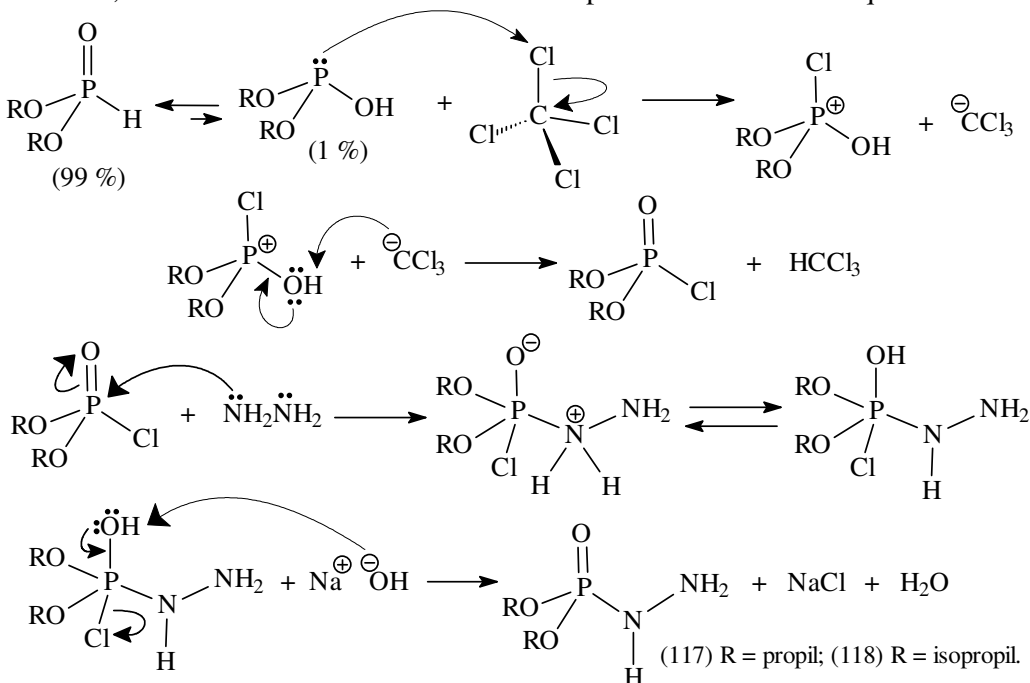
4.1.3 Síntese das dialquilfosforilidrazinas

A síntese das dialquilfosforilidrazinas, 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 4 .



Esquema 4: Reação de obtenção das dialquilfosforilidrazinas.

O mecanismo desta reação, apresentado no Esquema 5, tem início a partir de um ataque nucleofílico sobre o tetracloreto de carbono, que, neste sistema, é um reagente que age como eletrófilo. Este ataque nucleofílico é realizado pelo par de elétrons presente na forma trivalente do fosfonato de dialquila, 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 dialquilfosforilidrazina. Esta reação é, atualmente, a forma usual de síntese de fosoramidatos a partir de fosfonatos de dialquila.



Esquema 5: Mecanismo de síntese das dialquilfosforilidrazinas.

A dipropilfosforilidrazina (117) e a diisopropilfosforilidrazina (118) foram sintetizadas, respectivamente, com os rendimentos de 47% e 39%.

4.1.4 Determinação estrutural das dialquilfosforilidrazinas

Os espectros de IV, RMN de ^1H , RMN de ^{13}C e massas da dipropilfosforilidrazina (117) e da diisopropilfosforilidrazina (118) estão no anexo A.

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. 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} . Para as dialquilfosforilidrazinas sintetizadas, esta banda somente se apresenta para o composto 117, não sendo possível identificá-la para o composto 118, uma vez que somente aparece uma banda de absorção na região citada, a qual pode ser atribuída ao estiramento da ligação P-O-C, que é extremamente característica dos compostos de fósforo que apresentam esta ligação (THOMAS, p. 38, 1974). Os estiramentos das ligações P-O-C e P=O foram discutidos com maiores detalhes no tópico 4.1.2.1.

A Tabela 5 apresenta as principais bandas de absorção das dialquilfosforilidrazinas sintetizadas.

Tabela 5: Principais bandas de absorção das dialquilfosforilidrazinas.*

$(\text{RO})_2\text{P}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{NH}_2$				
Composto	P=O	P-O-C	P-N	N-H
117	1215,3 (st)	1004,9 (st)	1062,2 (st)	3349,3 (st) 1633,6 (δ)
118	1226,5 (st)	996,0 (st)	-	3352,6 (st) 1634,8 (δ)

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

Nos espectros de IV dos compostos 117 e 118, 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 117 e 118, é um simpleto largo em aproximadamente 3,6 ppm, com integração para três hidrogênios, que são aqueles correspondentes aos hidrogênios ligados aos átomos de nitrogênio.

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

A Tabela 6 apresenta os deslocamentos químicos (δ) e as multiplicidades de todos os hidrogênios presentes nas dialquilfosforilidrazinas 117 e 118.

Tabela 6: Dados de RMN de ^1H das Dialquilfosforilidrazinas.

Composto	δ em ppm (multiplicidade)*				
	$\underline{\text{CH}}_3$	$\underline{\text{CH}}\text{O}$	$\underline{\text{CH}}_2\underline{\text{CH}}_2\underline{\text{O}}$	$\underline{\text{CH}}_2\underline{\text{O}}$	$\text{N}-\underline{\text{H}}$
117	0,92 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 6,0$	-	1,68 (sex)/4H $J_{\text{HH}} = 6,0$	3,96 (dt)/4H $J_{\text{HH}} = 6,0$ $J_{\text{HP}} = 8,0$	3,59 (s)/3H
118	1,30 (d)/12H $J_{\text{HH}} = 6,0$	4,61 (hd)/2H $J_{\text{HH}} = 6,0$ $J_{\text{HP}} = 8,0$	-	-	3,67 (s)/3H

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

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

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

A Tabela 7 apresenta as constantes de acoplamento, os deslocamentos químicos (δ) e as multiplicidades dos carbonos presentes nos compostos 117 e 118.

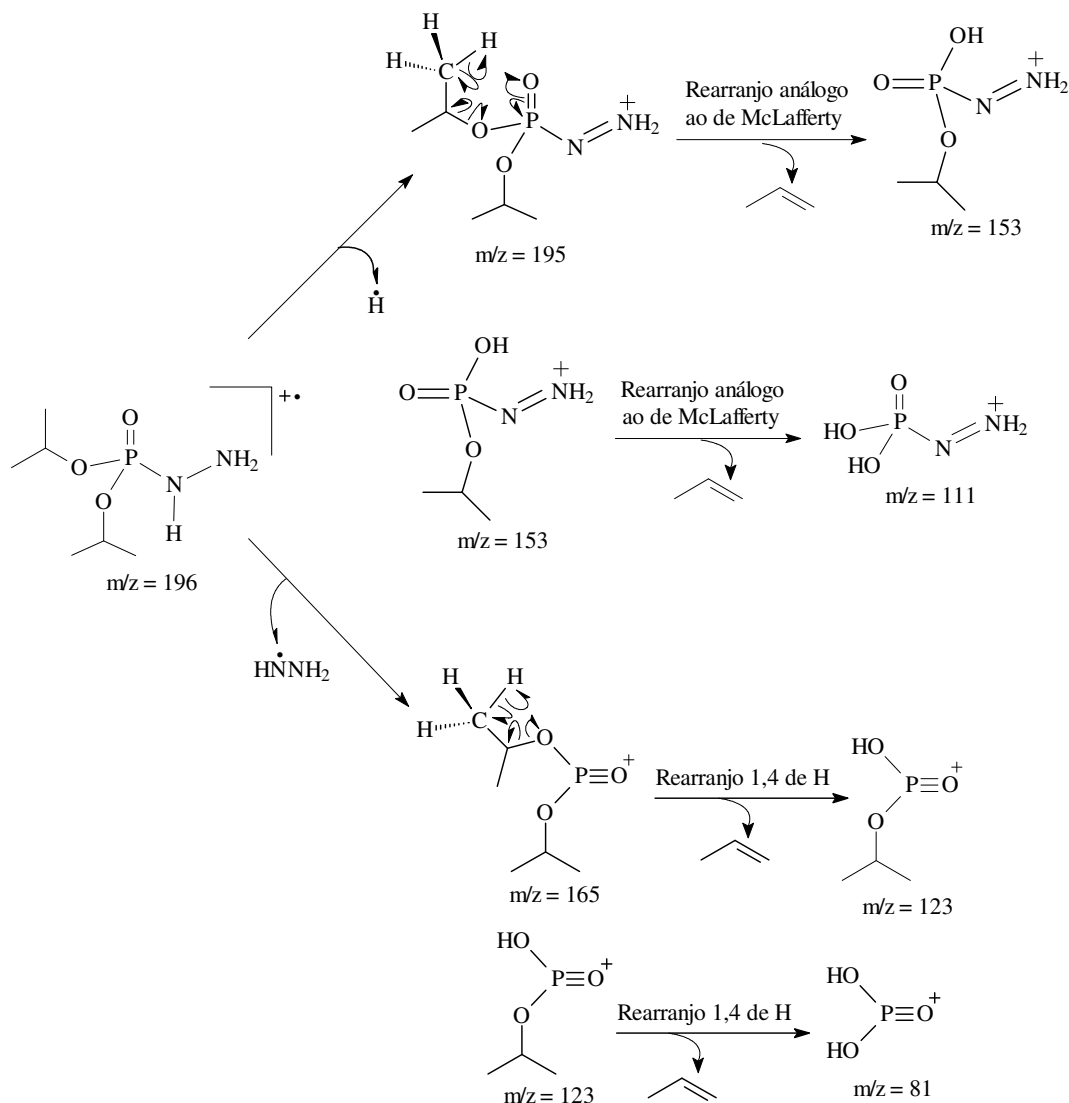
Tabela 7: Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazinas.

Composto	δ em ppm (multiplicidade)*			
	$\underline{\text{CH}}_3$	$\underline{\text{CH}}$	$\underline{\text{CH}}_2\underline{\text{CH}}_2\underline{\text{O}}$	$\underline{\text{CH}}_2\underline{\text{O}}$
117	9,80	-	23,45 (d) $J_{\text{CP}} = 6,5$	68,12 (d) $J_{\text{CP}} = 6,5$
118	23,46 (d) $J_{\text{CP}} = 5,0$	71,12 (d) $J_{\text{CP}} = 6,0$	-	-

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

4.1.4.4 Análise por espectrometria de massas

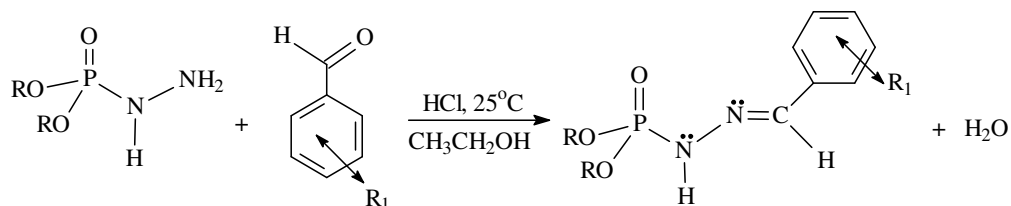
Na análise por espectrometria de massas dos compostos 117 e 118, o fragmento que corresponde ao pico base é o $m/z = 111$. Um segundo fragmento característico de ambos os compostos é o $m/z = 81$. As propostas de fragmentação que originam estes dois fragmentos são apresentadas no Esquema 6.



Esquema 6: Propostas de fragmentação do composto 118.

4.1.5 Síntese das dialquilfosforilidrazonas

Uma vez que as dialquilfosforilidrazinas foram obtidas, partiu-se para a última etapa da síntese das dialquilfosforilidrazonas, que consiste na reação de condensação, catalisada por meio ácido, entre a dialquilfosforilidrazina e o respectivo aldeído aromático substituído, formando os compostos ácido fosforoidrazídico, *N'*-[(1*E*)-(R₁fenil)mileno]-, éster de dialquila, ou seja, as dialquilfosforilidrazonas, conforme apresenta o Esquema 7.



Esquema 7: Reação de obtenção das dialquilfosforilidrazonas.

A reação de formação das dialquilfosforilidrazonas ocorre a partir do ataque nucleofílico do nitrogênio hidrazídico à carbonila do aldeído aromático, de forma que quanto

menor a densidade eletrônica sobre o carbono carbonílico, mais favorecida será a reação e, conseqüentemente, a formação dos produtos. Experimentalmente este efeito foi observado, visto que para os substituintes R₁ retiradores de elétrons a reação ocorreu com bons rendimentos, num tempo de 2 h, enquanto que para os substituintes R₁ doadores de elétrons, rendimentos satisfatórios somente foram obtidos num tempo de reação equivalente a 6 h. Algumas das dialquilfosforilidrazonas com substituintes R₁ doadores de elétrons também foram sintetizadas num tempo de reação de 24 h, não sendo observadas alterações nos rendimentos das reações se comparados ao tempo de reação de 6 h. Este efeito foi também observado em um estudo de modelagem molecular, que está descrito em maiores detalhes no tópico 4.6.

A Tabela 8 apresenta os rendimentos obtidos e o tempo da reação para a síntese das dialquilfosforilidrazonas. Além das dialquilfosforilidrazonas monossustituídas, também foram sintetizadas quatro dialquilfosforilidrazonas dissustituídas, as quais compreendem os compostos 19 a 22 da Tabela 8.

Tabela 8: Rendimentos e tempos de reação da síntese das dialquilfosforilidrazonas.

Composto	R	R ₁	Rendimento (%)	Tempo de reação
1	propil	<i>o</i> -NO ₂	82	2 h
2	propil	<i>m</i> -NO ₂	82	2 h
3	propil	<i>p</i> -NO ₂	74	2 h
4	propil	<i>p</i> -CN	61	2 h
5	propil	<i>p</i> -COOH	76	2 h
6	propil	OCH ₂ O	68	6 h
7	isopropil	<i>o</i> -NO ₂	80	2 h
8	isopropil	<i>m</i> -NO ₂	94	2 h
9	isopropil	<i>p</i> -NO ₂	84	2 h
10	isopropil	<i>p</i> -CN	87	2 h
11	isopropil	<i>p</i> -COOH	57	2 h
12	isopropil	OCH ₂ O	95	6 h
13	isopropil	H	84	2 h
14	isopropil	<i>m</i> -OCH ₃	22	2 h
			67	6 h
15	isopropil	<i>p</i> -OCH ₃	40	2 h
			71	6 h
16	isopropil	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	14	2 h
			49	6 h
17	isopropil	<i>m</i> -OH	61	6 h
18	isopropil	<i>p</i> -OH	70	6 h
19	isopropil	<i>m</i> -OH e <i>p</i> -OCH ₃	79	6 h
20	isopropil	<i>p</i> -OH e <i>m</i> -OCH ₂ CH ₃	60	6 h
21	propil	<i>m</i> -OH e <i>p</i> -OCH ₃	56	6 h
22	propil	<i>p</i> -OH e <i>m</i> -OCH ₂ CH ₃	77	6 h

Em geral, a reação de hidrazinas com aldeídos e cetonas ocorre através da precipitação da hidrazona correspondente no meio reacional (COSTA *et al.*, 2003). No entanto, para o sistema estudado, não ocorreu a reação entre o intermediário dialquilfosforilidrazina, quando o grupamento alquila R era o grupo propil, e os substituintes R₁ do anel aromático eram grupos doadores de elétrons do tipo *p*-OCH₃, *m*-OCH₃, *p*-N(CH₃)₂, *p*-OH, *m*-OH. Diferentes condições de reação, incluindo tempo de reação e solvente utilizado foram testadas, sem sucesso. Embora se tenha o conhecimento de que cetonas reagem com hidrazinas formando hidrazonas, testou-se este solvente como alternativa, buscando-se uma alteração da polaridade do meio reacional e a maior solubilidade dos reagentes e do produto. Com o objetivo de investigar os fatores que possam estar contribuindo para a pouca reatividade do sistema, realizou-se um estudo de modelagem molecular, o qual está descrito no tópico 4.6.

Apesar dos aldeídos tenderem a formar, preferencialmente, hidrazonas com configuração *E*, que é termodinamicamente a mais estável (COSTA *et al.*, 2003), em geral o isômero *Z* também é formado, como um produto minoritário. No entanto, dentre as 22 dialquilfosforilidrazonas sintetizadas foi observada somente a formação do diastereoisômero *E*, indicando que a reação foi 100% diastereoseletiva. A confirmação da configuração diastereoisomérica *E* foi obtida a partir das análises dos espectros de RMN de ¹H, NOE, RMN de ³¹P e pelo padrão de fragmentação obtido nos espectros de massas. A contribuição de cada análise espectrométrica para a confirmação da diastereoseletividade da reação, será discutida em detalhes no tópico 4.1.6.

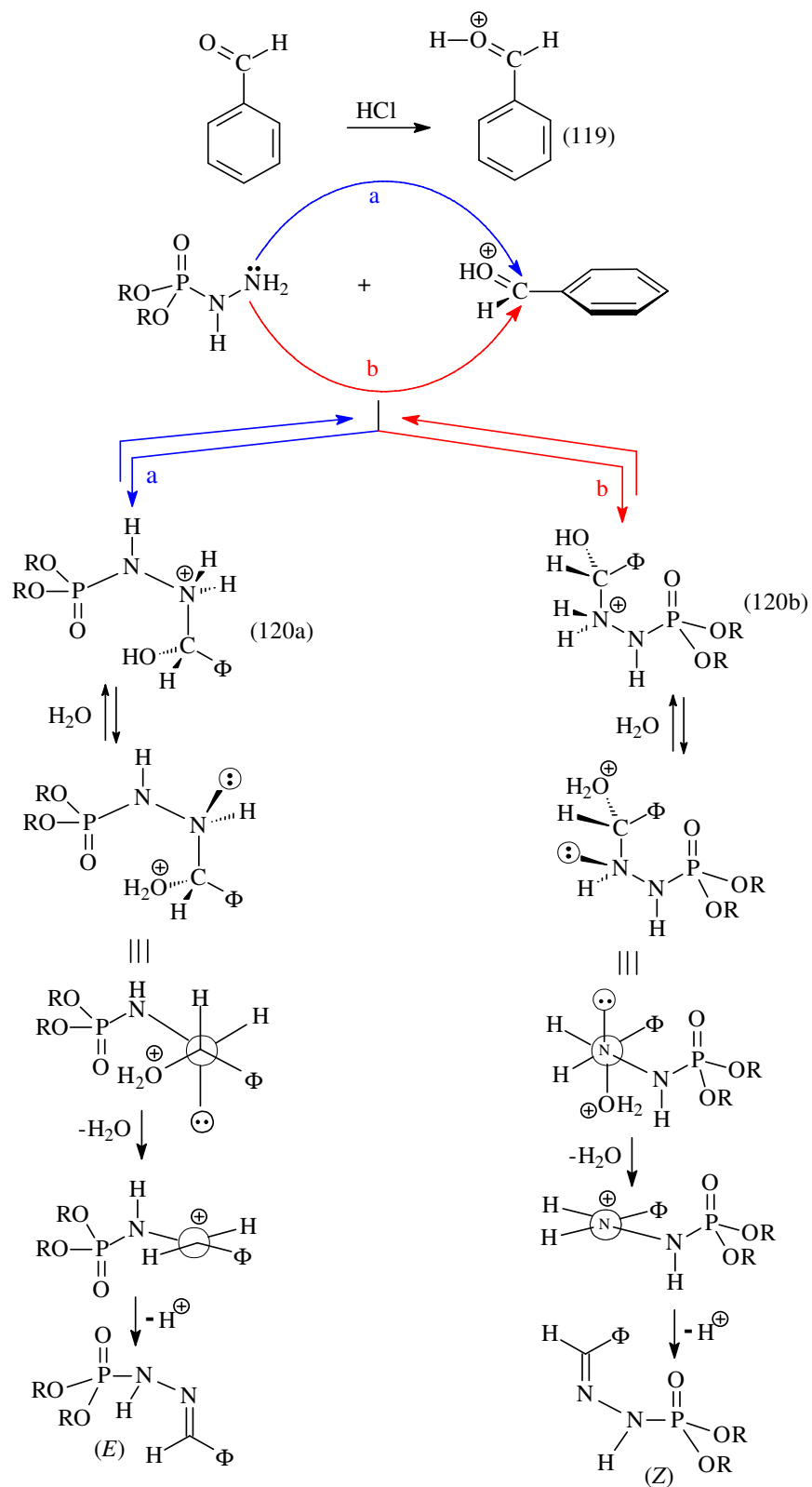
Em relação ao mecanismo de reação envolvido na síntese destas dialquilfosforilidrazonas há duas propostas. A primeira proposta (proposta 1 - Esquema 8) compreende o mecanismo convencional que envolve a síntese de hidrazonas; já a segunda proposta (proposta 2 - Esquema 9), é uma proposta alternativa, embasada em um estudo de RMN de ¹H reportado na literatura (CARRÉ *et al.*, 1995). As propostas 1 e 2 são discutidas em detalhes a seguir.

- Proposta 1 (COSTA *et al.*, 2003): Neste mecanismo, apresentado no Esquema 8, inicialmente ocorre a protonação do respectivo aldeído levando à formação do íon oxônio correspondente (119). A segunda etapa consiste no ataque nucleofílico da dialquilfosforilidrazina à carbonila do aldeído gerando os intermediários hemiaminais *N*-protonados (120a e 120b). Este ataque ocorre por ambas as faces do aldeído. 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.

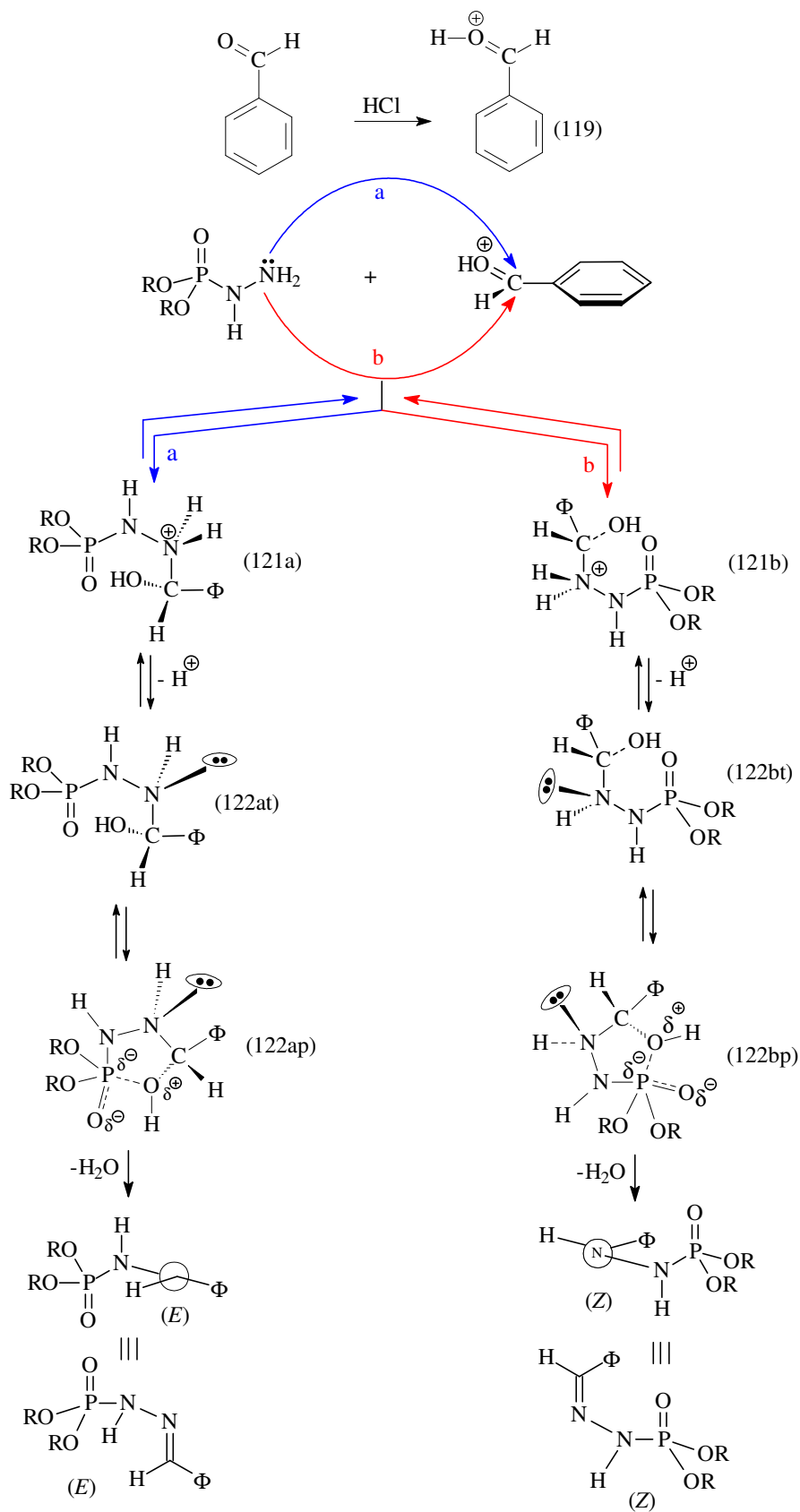
Nesta proposta mecanística, há dois fatores que favorecem a formação do diastereoisômero *E*, que são a posição antiperiplanar entre a molécula de água (grupo de saída) e o par de elétrons do átomo de nitrogênio, e o menor impedimento estérico na rota de formação deste diastereoisômero, uma vez que os grupamentos fenila e fosforamidato estão em lados opostos.

- Proposta 2 (CARRÉ *et al.*, 1995): A proposta 2 é baseada na possibilidade da ocorrência de coordenação intramolecular envolvendo o átomo de fósforo e o átomo de oxigênio advindo do grupamento carbonila, formando uma estrutura cíclica. O átomo de fósforo estaria presente portanto, em duas estruturas isoméricas, ambas em equilíbrio, correspondendo às formas tetracoordenadas (122at e 122bt) e às formas pentacoordenadas (122ap e 122bp), conforme apresenta o Esquema 9. Com o intuito de investigar este mecanismo proposto, assim como avaliar, através de um modelo teórico, a formação preferencial do diastereoisômero *E* em relação

ao diastereoisômero Z, foi realizado um estudo de modelagem molecular, que está apresentado no tópico 4.6.



Esquema 8: Mecanismo convencional de obtenção das dialquilfosforilidrazonas (1 a 22).



Esquema 9: Proposta mecânica de obtenção das dialquilfosforilidrazonas (1 a 22).

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 22, estão no anexo A.

4.1.6.1 Análise por espectrometria de infravermelho

Os espectros de infravermelho dos compostos 1 a 22 apresentam as bandas de absorção características das dialquilfosforilidrazonas sintetizadas. As principais bandas de absorção são correspondentes às frequências de estiramento das ligações P=O, P-O-C e C=N. Nos compostos de fósforo pentavalentes, onde o átomo de fósforo está ligado a um átomo de nitrogênio e a dos grupamentos alcóxidos, a faixa de frequência de estiramento da ligação P=O é, geralmente, de 1198 a 1274 cm^{-1} (THOMAS, p. 28, 1974). Já a ligação P-O-C, como já citado, absorve na faixa de 950 a 1018 cm^{-1} , enquanto que a ligação C=N possui frequência de estiramento na faixa de 1580 a 1690 cm^{-1} (CAMPS & CASTELLS, 1980). A presença da ligação C=N confirma a reação entre as dialquilfosforilidrazinas e os aldeídos aromáticos, formando as dialquilfosforilidrazonas.

A Tabela 9 apresenta as principais bandas de absorção presentes nos espectros de IV dos compostos 1 a 22, incluindo as absorções dos grupos substituintes (R_1) no anel aromático.

Tabela 9: Principais bandas de absorção das dialquilfosforilidrazonas sintetizadas.*
(continua)

Comp.	P=O	P-O-C	C=N	N-H	Substituinte R_1
1	1237,7 (st)	1014,9 (st)	1585,6 (st)	3116,5(st)	NO_2 (st as) \rightarrow 1521,4 NO_2 (st si) \rightarrow 1345,9
2	1232,4 (st)	1020,5 (st)	1602,1 (st)	3117,0 (st)	NO_2 (st as) \rightarrow 1530,8 NO_2 (st si) \rightarrow 1350,5
3	1246,8 (st)	1021,5 (st)	1578,4 (st)	3096,2 (st)	NO_2 (st as) \rightarrow 1518,0 NO_2 (st si) \rightarrow 1343
4	1231,4 (st)	1013,9 (st)	1596,9 (st)	3137,2 (st)	$\text{C}\equiv\text{N}$ (st) \rightarrow 2224,1
5	1231,0 (st)	1022,9 (st)	1600,5 (st)	3105,4 (st)	OH (st) \rightarrow 3423,1 C=O (st) \rightarrow 1690,5
6	1233,8 (st)	1015,4 (st)	1624,3 (st)	3146,8 (st)	O- CH_2 -O (st) \rightarrow 938,4 CH (st) \rightarrow 2967,6
7	1237,5 (st)	1000,3 (st)	1526,0 (st)	3143,6 (st)	NO_2 (st as) \rightarrow 1526,0 NO_2 (st si) \rightarrow 1350,6
8	1244,5 (st)	1023,4 (st)	1566,7 (st)	3099,9 (st)	NO_2 (st as) \rightarrow 1530,4 NO_2 (st si) \rightarrow 1350,5

Tabela 9: Continuação

9	1247,4 (st)	1024,5 (st)	1578,1 (st)	3097,8 (st)	NO ₂ (st as) → 1515,0 NO ₂ (st si) → 1342,1
10	1245,4 (st)	1006,8 (st)	1597,1 (st)	3144,0 (st)	C≡N (st) → 2226,7
11	1274,2 (st)	1011,0 (st)	1603,8 (st)	3196,3 (st)	OH (st) → 3446,3 C=O (st) → 1684,3
12	1244,2 (st)	1008,3 (st)	1624,8 (st)	3112,9 (st)	O-CH ₂ -O (st) → 928,8 CH (st) → 2980,7 e 2930,2
13	1238,1 (st)	1004,1 (st)	1609,8 (st)	3177,0 (st)	-
14	1238,0 (st)	1010,7 (st)	1606,9 (st)	3119,6 (st)	OCH ₃ (C-O-C st as) → 1266,7 OCH ₃ (C-O-C st si) → 1084,4
15	1234,8 (st)	1008,1 (st)	1609,8 (st)	3114,4 (st)	OCH ₃ (st) → 2836,4 OCH ₃ (C-O-C st si) → 1083,0
16	1228,2 (st)	991,2 (st)	1609,0 (st)	3194,3 (st)	C-N (st) → 1076,2
17	1225,2 (st)	1009,0 (st)	1613,9 (st)	3321,6 (st)	OH (st) → 3183,6 COH (C-O st) → 1198,5
18	1220,4 (st)	974,2 (st)	1607,0 (st)	3297,7 (st)	OH (st) → 3180,6 COH (C-O st) → 1164,8
19	1278,8 (st)	1004,4 (st)	1613,9 (st)	3178,9 (st)	OH (st) → 3180,6 COH (C-O st) → 1197,2 OCH ₃ (st) → 2839,5 OCH ₃ (C-O-C st as) → 1253,2 OCH ₃ (C-O-C st si) → 1025,0
20	1279,8 (st)	1007,8 (st)	1604,8 (st)	3178,4 (st)	OH (st) → 3285,6 COH (C-O st) → 1184,5 OCH ₂ (C-O-C st as) → 1221,8 OCH ₂ (C-O-C st si) → 1036,4

Tabela 9: Continuação

21	1276,9 (st)	1015,8 (st)	1615,8 (st)	3168,0 (st)	OH (st) → 3285,6 COH (C-O st) → 1213,2 OCH ₃ (st) → 2841,4 OCH ₃ (C-O-C st as) → 1243,8 OCH ₃ (C-O-C st si) → 1060,2
22	1280,8 (st)	1015,9 (st)	1605,2 (st)	3169,3 (st)	OH (st) → 3285,6 COH (C-O st) → 1180,5 OCH ₂ (st) → 2898,6 OCH ₂ (C-O-C st as) → 1226,1 OCH ₂ (C-O-C st si) → 1060,7

*As absorções estão expressas em cm⁻¹.

4.1.6.2 Análise por espectrometria de RMN de ¹H

Na análise por RMN de ¹H há dois sinais característicos que confirmam a obtenção das dialquilfosforilidrazonas. Estes sinais são correspondentes ao hidrogênio imínico com deslocamento químico (δ) na faixa de 7,75 a 8,42 ppm e ao hidrogênio fosforamídico, que é aquele ligado ao átomo de nitrogênio em posição α ao átomo de fósforo, que apresenta deslocamento químico na faixa de 7,89 a 9,91 ppm. Este hidrogênio apresenta a multiplicidade de duplete, pois acopla com o átomo de fósforo a duas ligações com constante de acoplamento (J) que varia de 26 a 30 Hz. A literatura registra que este acoplamento ocorre na faixa de 23 a 53 Hz (THOMAS, 1974).

Além do hidrogênio fosforamídico, os hidrogênios metínicos das cadeias isopropílicas das diisopropilfosforilidrazonas, também acoplam com o átomo de fósforo e com os hidrogênios metílicos, com constante de acoplamento (J) de 8 Hz para o acoplamento J_{HP} e de 6,0 a 8,0 Hz para o acoplamento J_{HH} . A Figura 39, tendo como base o composto 13, ilustra um padrão de acoplamento para estes compostos.

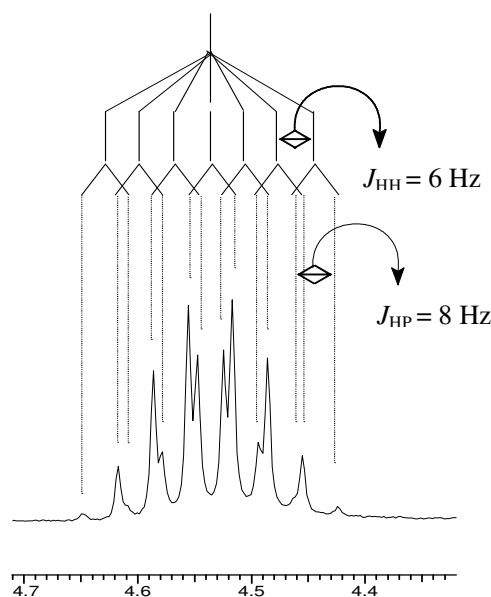


Figura 39: Padrão de acoplamento dos hidrogênios metínicos das diisopropilfosforilidrazonas.

Os hidrogênios metilênicos (CH_2O) das cadeias propílicas das dipropilfosforilidrazonas, também acoplam com o átomo de fósforo e com os hidrogênios metilênicos ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) que estão em posição α a eles. No entanto, devido ao sinal destes hidrogênios metilênicos aparecer como um multiplete no espectro de RMN de ^1H , não foi possível obter os valores das constantes dos acoplamentos J_{HP} e J_{HH} .

A Tabela 10 apresenta os deslocamentos químicos (δ), as multiplicidades e as constantes de acoplamento para os compostos do tipo dipropilfosforilidrazonas. Já a Tabela 11 apresenta as mesmas informações, sendo que referentes às diisopropilfosforilidrazonas.

No anexo A há dois espectros de RMN de ^1H para o composto 10, os quais são representados pela Figura 113 e pela Figura 114. A Figura 113 apresenta o espectro de RMN de ^1H feito em CDCl_3 , onde o sinal para HDO aparece com o deslocamento químico em 1,94 ppm. Algumas das dialquilfosforilidrazonas apresentam o sinal para HDO na faixa de 1,83 a 1,94 ppm, enquanto que o sinal para HDO tabelado quando o espectro é feito em CDCl_3 é 1,5 ppm (CIL-Data Chart). Com o intuito de confirmar se este sinal era realmente HDO, o espectro de RMN de ^1H do composto 10 foi repetido em DMSO, estando representado pela Figura 114, onde se observa que não há qualquer sinal na região de 1,80 a 2,0 ppm, assim como não há quaisquer outros sinais que não sejam aqueles referentes aos hidrogênios do composto, ao DMSO e a HDO, confirmando portanto, que nos espectros feitos em CDCl_3 , o sinal que aparece na faixa de 1,83 a 1,94 ppm é HDO.

O anexo A também apresenta dois espectros de RMN de ^1H para o composto 11, os quais são representados pela Figura 119 e pela Figura 120. A Figura 119 apresenta o espectro de RMN de ^1H feito em DMSO, onde o sinal para o hidrogênio carboxílico aparece desblindado com deslocamento químico em 13,02 ppm. Isto ocorre porque este hidrogênio faz ligação hidrogênio com o átomo de oxigênio do grupamento sulfóxido do DMSO, ficando, portanto em campo mais baixo. O mesmo efeito é observado para o hidrogênio fosforamídico que, em virtude da ligação hidrogênio com o DMSO, também se apresenta desblindado, com deslocamento químico em 9,68 ppm. Já no espectro feito em CDCl_3 (Figura 120), onde não ocorrem as ligações hidrogênios entre composto e solvente, estes sinais estão mais blindados, sendo que o sinal para o hidrogênio carboxílico não aparece no espectro, ou por estar relaxado, ou por estar trocando com hidrogênios ácidos oriundos de impureza do solvente.

Tabela 10: Dados de RMN de ^1H das dipropilfosforilidrazonas.

Comp.	RMN de ^1H										
	CH_3	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$	CH_2O	NH	N=CH	H2	H3	H4	H5	H6	R ₁
	δ em ppm (multiplicidade)*										
1	0,95 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 7,0$	1,74 (sex)/4H $J_{\text{HH}} = 7,0$	4,09 (m)/4H	8,48 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 28,0$	8,35 (s)/1H	-	8,04 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,46 (dd) $J_{\text{HH}} = 8,0$ $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,59 (dd) $J_{\text{HH}} = 8,0$ $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,97 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	-
2	0,96 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 7,0$	1,74 (sex)/4H $J_{\text{HH}} = 7,0$	4,09 (m)/4H	8,96 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 28,0$	7,92 (s)/1H	8,42 (s)	-	8,16 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,52 (dd) $J_{\text{HH}} = 8,0$ $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,90 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	-
3	0,95 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 7,0$	1,73 (sex)/4H $J_{\text{HH}} = 7,0$	4,08 (m)/4H	9,06 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 28,0$	7,90 (s)/1H	7,73 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	8,20 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	-	8,20 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,73 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	-
4	0,94 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 7,0$	1,72 (sex)/4H $J_{\text{HH}} = 7,0$	4,06 (m)/4H	9,11 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 30,0$	7,86 (s)/1H	7,61 (d) $J_{\text{HH}} = 10,0$	7,68 (d) $J_{\text{HH}} = 10,0$	-	7,68 (d) $J_{\text{HH}} = 10,0$	7,61 (d) $J_{\text{HH}} = 10,0$	-
5	0,97 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 8,0$	1,75 (sex)/4H $J_{\text{HH}} = 8,0$	4,12 (m)/4H	8,78 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 28,0$	7,91 (s)/1H	7,70 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	8,10 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	-	8,10 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,70 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	COOH 8,38 (s)
6	0,94 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 8,0$	1,72 (sex)/4H $J_{\text{HH}} = 8,0$	4,06 (m)/4H	8,09 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 26,0$	7,71 (s)/1H	6,76 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	6,93 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	-	-	7,22 (s)	O-CH ₂ -O 5,96 (s)
21	0,87 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 7,0$	1,61 (sex)/4H $J_{\text{HH}} = 7,0$	3,91 (m)/4H	9,30 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 28,0$	9,19 (s)/1H	7,07 (s)	-	-	6,88 (s)	6,88 (s)	O-CH ₃ 3,75 (s) OH 7,76 (s)
22	0,88 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 7,0$	1,61 (sex)/4H $J_{\text{HH}} = 7,0$	3,95 (m)/4H	9,28 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 28,0$	9,29 (s)/1H	7,10 (s)	-	-	6,77 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	6,92 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	O-CH ₂ 3,95 (m) O-CH ₂ CH ₃ 1,31 (t) OH 7,77 (s)

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

Tabela 11: Dados de RMN de ^1H das diisopropilfosforilidrazonas (continua).

Comp.	RMN de ^1H							R_1		
	CH_3	CHO	NH	N=CH	H2	H3	H4		H5	H6
δ em ppm (multiplicidade)*										
7	1,33 (d)/6H $J_{\text{HH}} = 6,0$	4,73 (hd)/2H $J_{\text{HH}} = 6,0$ $J_{\text{HP}} = 8,0$	8,34 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 30,0$	8,34 (s)/1H	-	8,06 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,45 (t) $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,59 (t) $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,97 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	-
	1,39 (d)/6H $J_{\text{HH}} = 6,0$									
8	1,33 (d)/6H $J_{\text{HH}} = 6,0$	4,73 (sex)/2H $J_{\text{HH}} = 6,0$	8,63 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 28,0$	7,89 (s)/1H	8,41 (s)	-	8,15 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,52 (t) $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,92 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	-
	1,39 (d)/6H $J_{\text{HH}} = 6,0$									
9	1,23 (d)/6H $J_{\text{HH}} = 8,0$	4,55 (sex)/2H $J_{\text{HH}} = 8,0$	9,91 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 28,0$	8,01 (s)/1H	7,80 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	8,24 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	-	8,24 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,80 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	-
	1,27 (d)/6H $J_{\text{HH}} = 8,0$									
10a	1,22 (d)/6H $J_{\text{HH}} = 6,0$	4,55 (hd)/2H $J_{\text{HH}} = 6,0$ $J_{\text{HP}} = 8,0$	9,82 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 30,0$	7,94 (s)/1H	7,71 (d) $J_{\text{HH}} = 9,0$	7,83 (d) $J_{\text{HH}} = 9,0$	-	7,83 (d) $J_{\text{HH}} = 9,0$	7,71 (d) $J_{\text{HH}} = 9,0$	-
	1,26 (d)/6H $J_{\text{HH}} = 6,0$									
10b	1,31 (d)/6H $J_{\text{HH}} = 6,0$	4,70 (hd)/2H $J_{\text{HH}} = 6,0$ $J_{\text{HP}} = 8,0$	8,83 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 30,0$	7,83 (s)/1H	7,61 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,68 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	-	7,68 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,61 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	-
	1,37 (d)/6H $J_{\text{HH}} = 6,0$									

Tabela 11: Continuação

11a	1,22 (d)/6H $J_{HH} = 7,0$	4,54 (sex)/2H $J_{HH} = 7,0$	9,68 (d)/1H $J_{HP} = 28,0$	7,96 (s)/1H	7,64 (d) $J_{HH} = 8,0$	7,94 (d) $J_{HH} = 8,0$	-	7,94 (d) $J_{HH} = 8,0$	7,64 (d) $J_{HH} = 8,0$	COOH 13,02 (s)
	1,25 (d)/6H $J_{HH} = 7,0$									
11b	1,38 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$	4,75 (hd)/2H $J_{HH} = 6,0$ $J_{HP} = 8,0$	8,53 (d)/1H $J_{HP} = 28,0$	7,87 (s)/1H	7,70 (d) $J_{HH} = 8,0$	8,10 (d) $J_{HH} = 8,0$	-	8,10 (d) $J_{HH} = 8,0$	7,70 (d) $J_{HH} = 8,0$	COOH não aparece
	1,41 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$									
12	1,78 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$	5,17 (hd)/2H $J_{HH} = 6,0$ $J_{HP} = 8,0$	8,63 (d)/1H $J_{HP} = 28,0$	8,19 (s)/1H	7,40(d) $J_{HH} = 8,0$	7,71 (d) $J_{HH} = 8,0$	-	-	7,21(s)	O-CH ₂ -O 6,43 (s)
	1,84 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$									
13	1,23 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$	4,54 (hd)/2H $J_{HH} = 6,0$ $J_{HP} = 8,0$	9,46 (d)/1H $J_{HP} = 28,0$	7,90 (s)/1H	7,37 (m)	7,54 (m)	7,37 (m)	7,54 (m)	7,37 (m)	-
	1,26 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$									
14	1,23 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$	4,53 (hd)/2H $J_{HH} = 6,0$ $J_{HP} = 8,0$	9,49 (d)/1H $J_{HP} = 28,0$	7,86 (s)/1H	7,09 (s)	-	7,11 (m)	7,30 (m)	6,92 (m)	O-CH ₃ 3,75 (s)
	1,26 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$									
15	1,31 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$	4,71 (hd)/2H $J_{HH} = 6,0$ $J_{HP} = 8,0$	7,89 (d)/1H $J_{HP} = 28,0$	7,75 (s)/1H	7,53 (d) $J_{HH} = 9,0$	6,87 (d) $J_{HH} = 9,0$	-	6,87 (d) $J_{HH} = 9,0$	7,53 (d) $J_{HH} = 9,0$	O-CH ₃ 3,80 (s)
	1,37 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$									
16	1,22 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$	4,52 (hd)/2H $J_{HH} = 6,0$ $J_{HP} = 8,0$	9,09 (d)/1H $J_{HP} = 28,0$	7,77 (s)/1H	7,35 (d) $J_{HH} = 8,0$	6,69 (d) $J_{HH} = 8,0$	-	6,69 (d) $J_{HH} = 8,0$	7,35 (d) $J_{HH} = 8,0$	N-CH ₃ 2,91 (s)/6H
	1,25 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$									

Tabela 11: Continuação

17	1,21 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$	4,52 (hd)/2H $J_{HH} = 6,0$ $J_{HP} = 8,0$	9,39 (d)/1H $J_{HP} = 28,0$	7,82 (s)/1H	7,01 (s)	-	6,91 (d) $J_{HH} = 8,0$	7,16 (t) $J_{HH} = 8,0$	6,73 (d) $J_{HH} = 8,0$	OH não aparece
	1,24 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$									
18	1,21 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$	4,53 (hd)/2H $J_{HH} = 6,0$ $J_{HP} = 8,0$	9,20 (d)/1H $J_{HP} = 26,0$	7,80 (s)/1H	7,36 (d) $J_{HH} = 8,0$	6,76 (d) $J_{HH} = 8,0$	-	6,76 (d) $J_{HH} = 8,0$	7,36 (d) $J_{HH} = 8,0$	OH 9,74 (s)
	1,25 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$									
19	1,31 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$	4,72 (hd)/2H $J_{HH} = 6,0$ $J_{HP} = 8,0$	7,46 (d)/1H $J_{HP} = 28,0$	7,65 (s)/1H	7,26 (d) $J_{HH} = 2,0$	-	-	6,81 (d) $J_{HH} = 8,0$	7,02 (dd) $J_{HH} = 8,0$ $J_{HH} = 2,0$	O-CH ₃ 3,89 (s) OH 5,79 (s)
	1,37 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$									
20	1,31 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$	4,69 (hd)/2H $J_{HH} = 6,0$ $J_{HP} = 8,0$	8,11 (d)/1H $J_{HP} = 28,0$	7,72 (s)/1H	7,20 (d) $J_{HH} = 2,0$	-	-	6,87 (d) $J_{HH} = 8,0$	6,98 (dd) $J_{HH} = 8,0$ $J_{HH} = 2,0$	O-CH ₂ 4,10 (q) $J_{HH} = 8,0$
	1,37 (d)/6H $J_{HH} = 6,0$									O-CH ₂ CH ₃ 1,42 (t)/3H $J_{HH} = 8,0$ OH 6,10 (s)

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

Conforme relatado no tópico 4.1.5, foi observada somente a formação do diastereoisômero *E*, indicando que a reação foi 100% diastereoseletiva. A formação de somente um diastereoisômero é confirmada em todos os espectros de RMN de ^1H das dialquilfosforilidrazonas sintetizadas, pois somente há um sinal simples (simpleto) correspondente ao hidrogênio imínico ($\delta = 7,65$ a $9,29$ ppm), o que indica a presença de somente um diastereoisômero. Para se determinar qual configuração está presente nos compostos sintetizados, ou seja, se o diastereoisômero é *E* ou *Z*, foi realizado um estudo através da técnica de NOE (NEUHAUS & WILLIAMSON, 1989), com o objetivo de correlacionar o hidrogênio imínico (Hb) tanto com o hidrogênio fosforamídico (Ha), como com o hidrogênio do anel aromático da posição orto (Hc). A Figura 40 apresenta os hidrogênios alvos do estudo por NOE, ressaltando a distância existente entre os mesmos.

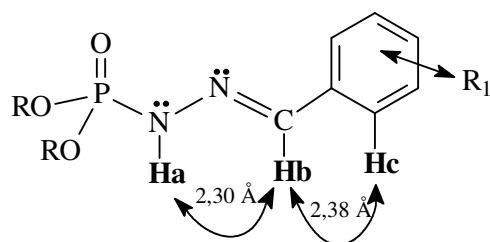


Figura 40: Hidrogênios alvos do estudo por NOE.

O espectro de NOE (Figura 41) confirmou a configuração diastereoisomérica *E* como a presente para todas as dialquilfosforilidrazonas sintetizadas. O composto estudado (composto 13, onde $\text{R}_1 = \text{H}$) foi irradiado em dois pontos diferentes. Primeiramente, irradiou-se o hidrogênio fosforamídico (Ha) em 100%, gerando-se NOE no hidrogênio imínico (Hb) em 42%. Uma segunda irradiação consistiu na incidência sobre o hidrogênio imínico em 100%, gerando-se NOE no hidrogênio fosforamídico em 19% e no hidrogênio do anel aromático da posição orto (Hc) em 35%. O padrão de resposta obtida através da técnica de NOE só é possível para as dialquilfosforilidrazonas com a configuração diastereoisomérica *E*, confirmando-se, portanto, a obtenção de somente este diastereoisômero.

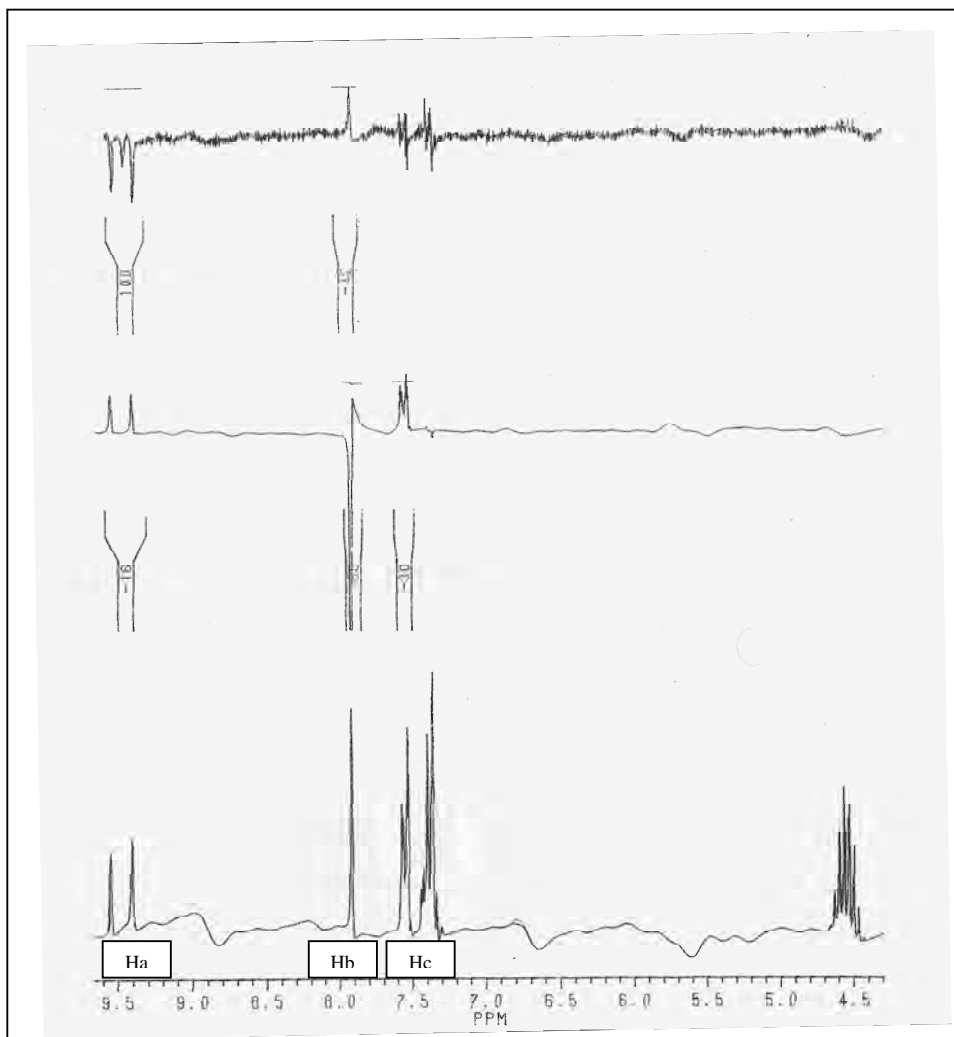


Figura 41: Espectro de NOE do composto 13.

Vale ressaltar, que a obtenção de NOE somente é possível para os hidrogênios que estão a uma distância máxima de 4 Å entre si (NEUHAUS & WILLIAMSON, 1989). Este efeito foi confirmado experimentalmente, uma vez que não se obteve NOE no hidrogênio Hc quando se irradiou o hidrogênio Ha, os quais são distantes entre si em 4,68 Å. Os cálculos da distância entre os hidrogênios foram feitos através do programa PC Spartan Pro program (Wavefunction Inc.).

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

No espectro de RMN de ^{13}C das dialquifosforilidrazonas, o sinal característico da obtenção destes compostos é referente ao carbono imínico, que possui deslocamento químico na faixa de 139 a 144 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 18 a 22,5 Hz.

A Tabela 12 apresenta os deslocamentos químicos (δ), as multiplicidades e as constantes de acoplamento referentes às dipropilfosforilidrazonas, enquanto que a Tabela 13 apresenta as mesmas informações para as diisopropilfosforilidrazonas. 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.

Para todos os compostos da Tabela 13 há dois sinais referentes aos carbonos metílicos, que se encontram em ambientes químicos diferentes, devido ao impedimento estérico do grupamento isopropila.

Dentre as 22 dialquilfosforilidrazonas sintetizadas, algumas possuem carbonos que estão, a princípio, num ambiente eletrônico equivalente, como por exemplo, os carbonos em posição orto ao grupo nitro no composto 8; porém no espectro de RMN de ^{13}C estes carbonos apresentam deslocamentos químicos diferentes. Com o objetivo de se assinalar corretamente o deslocamento químico destes carbonos, foram realizados espectros bidimensionais de HETCOSY para os compostos 7, 8, 11, 12, 14, 17, 21 e 22. Os espectros de HETCOSY estão no anexo A.

Tabela 12: Dados de RMN de ^{13}C das dipropilfosforilidrazonas.

Composto	RMN de ^{13}C										
	CH_3	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$	CH_2O	$\text{N}=\text{C}-\text{H}$	C1	C2	C3	C4	C5	C6	R₁
1	9,95 $J_{\text{CP}} = 6,0$	23,51 (d) $J_{\text{CP}} = 6,0$	68,90 (d) $J_{\text{CP}} = 6,0$	140,03 (d) $J_{\text{CP}} = 20,0$	129,40	147,66	128,22	129,28	133,01	124,46	-
2	10,04	23,56 (d) $J_{\text{CP}} = 7,5$	69,09 (d) $J_{\text{CP}} = 6,5$	142,01 (d) $J_{\text{CP}} = 19,5$	136,53	121,09	148,54	123,46	129,49	132,04	-
3	9,98	23,51 (d) $J_{\text{CP}} = 6,0$	69,09 (d) $J_{\text{CP}} = 6,5$	142,07 (d) $J_{\text{CP}} = 19,5$	140,77	126,92	123,85	147,69	123,85	126,92	-
4	9,98	23,49 (d) $J_{\text{CP}} = 8,0$	69,06 (d) $J_{\text{CP}} = 6,5$	142,52 (d) $J_{\text{CP}} = 20,0$	138,89	126,79	132,28	112,12	132,28	126,79	$\text{C}\equiv\text{N}$ 118,64
5	10,01	23,53 (d) $J_{\text{CP}} = 7,5$	69,30 (d) $J_{\text{CP}} = 6,0$	143,92 (d) $J_{\text{CP}} = 19,5$	130,31	126,46	130,40	139,08	130,40	126,46	COOH 170,16
6	9,98	23,51 (d) $J_{\text{CP}} = 6,0$	68,75 (d) $J_{\text{CP}} = 6,0$	144,34 (d) $J_{\text{CP}} = 19,5$	129,22	122,28	105,17	148,02	148,57	107,96	$\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$ 101,17
21	10,07	23,23 (d) $J_{\text{CP}} = 6,5$	67,69 (d) $J_{\text{CP}} = 5,5$	143,93 (d) $J_{\text{CP}} = 19,5$	127,76	111,66	146,77	148,94	111,84	118,95	$\text{O}-\text{CH}_3$ 55,55
22	10,05	23,21 (d) $J_{\text{CP}} = 6,5$	67,71 (d) $J_{\text{CP}} = 6,0$	144,11 (d) $J_{\text{CP}} = 19,0$	126,31	110,07	148,22	146,98	115,53	120,28	$\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 14,70
											$\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 63,74

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

Tabela 13: Dados de RMN de ^{13}C das diisopropilfosforilidrazonas.

Composto	RMN de ^{13}C										R_1
	CH_3	CHO	N=C-H	C1	C2	C3	C4	C5	C6		
δ em ppm (multiplicidade)*											
7	23,57 (d); $J_{\text{CP}} = 6,0$ 23,80 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$	72,29 (d) $J_{\text{CP}} = 4,5$	139,55 (d); $J_{\text{CP}} = 19,5$	129,52	147,63	128,19	129,25	133,13	124,55	-	-
8	23,53 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$ 23,74 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$	72,36 (d) $J_{\text{CP}} = 5,0$	141,61 (d); $J_{\text{CP}} = 20,0$	136,65	121,00	148,48	123,34	129,49	131,89	-	-
9	23,56 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$ 23,77 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$	72,47 (d) $J_{\text{CP}} = 4,5$	141,58 (d); $J_{\text{CP}} = 20,0$	140,90	126,86	123,94	147,72	123,94	126,86	-	-
10	23,50 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$ 23,71 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$	72,33 (d) $J_{\text{CP}} = 6,0$	142,07 (d); $J_{\text{CP}} = 19,5$	139,08	126,70	132,28	111,97	132,28	126,70	C≡N 118,64	
11	23,42 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$ 23,63 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$	70,86 (d) $J_{\text{CP}} = 6,0$	142,05 (d); $J_{\text{CP}} = 19,5$ 142,59 (d); $J_{\text{CP}} = 20,0$	129,75	126,05	130,78	138,94	130,78	126,05	COOH 166,99	
12	23,56 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$ 23,80 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$	71,92 (d) $J_{\text{CP}} = 5,0$	143,86 (d); $J_{\text{CP}} = 19,5$	129,37	122,25	105,14	148,08	148,57	108,02	O-CH ₂ -O 101,20	
13	23,42 (d); $J_{\text{CP}} = 4,75$ 23,64 (d); $J_{\text{CP}} = 3,50$	70,79 (d) $J_{\text{CP}} = 5,15$	143,22 (d); $J_{\text{CP}} = 20,15$ 143,63 (d); $J_{\text{CP}} = 20,40$	134,92	126,06	128,76	129,01	128,76	126,06	-	
14	23,39 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$ 23,60 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$	70,74 (d) $J_{\text{CP}} = 6,5$	142,91 (d); $J_{\text{CP}} = 21,0$ 143,38 (d); $J_{\text{CP}} = 20,0$	136,36	110,73	159,50	118,71	129,84	114,80	O-CH ₃ 55,03	
15	23,53 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$ 23,80 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$	71,80 (d) $J_{\text{CP}} = 4,5$	143,92 (d); $J_{\text{CP}} = 19,5$	127,58	127,89	113,91	160,33	113,91	127,89	O-CH ₃ 55,23	
16	23,40 (d); $J_{\text{CP}} = 6,0$ 23,63 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$	70,39 (d) $J_{\text{CP}} = 4,5$	143,88 (d); $J_{\text{CP}} = 18,0$ 144,25 (d); $J_{\text{CP}} = 18,5$	122,71	127,17	112,01	150,76	112,01	127,17	N-CH ₃ 39,86	
17	23,51 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$ 23,72 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$	70,89 (d) $J_{\text{CP}} = 6,0$	143,52 (d); $J_{\text{CP}} = 18,5$ 143,93 (d); $J_{\text{CP}} = 22,5$	136,27	111,92	157,74	117,89	129,87	116,50	-	
18	23,48 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$ 23,69 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$	70,74 (d) $J_{\text{CP}} = 6,5$	143,70 (d); $J_{\text{CP}} = 21,0$ 144,11 (d); $J_{\text{CP}} = 19,5$	126,08	127,72	115,68	158,62	115,68	127,72	-	
19	23,51 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$ 23,72 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$	70,71 (d) $J_{\text{CP}} = 6,5$	143,52 (d); $J_{\text{CP}} = 21,5$ 143,93 (d); $J_{\text{CP}} = 19,5$	127,99	111,70	146,88	149,01	111,98	119,01	O-CH ₃ 55,63	
20	23,48 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$ 23,72 (d); $J_{\text{CP}} = 4,5$	70,83 (d) $J_{\text{CP}} = 6,0$	143,84 (d); $J_{\text{CP}} = 19,5$ 144,23 (d); $J_{\text{CP}} = 20,0$	126,59	110,34	148,34	147,09	115,71	120,29	O-CH ₂ CH ₃ 14,75 O-CH ₂ CH ₃ 63,88	

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

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

Para os compostos 1 a 16 os espectros de RMN de ^{31}P estão totalmente desacoplados. Nestes espectros só há um sinal de fósforo, o que indica a presença de somente um composto fosforado, confirmando que há somente uma forma diastereoisomérica. Já os espectros dos compostos 17 a 22 foram obtidos no modo acoplado. Nestes espectros é possível observar os acoplamentos do átomo de fósforo com o hidrogênio fosforamídico, na faixa de 26,4 a 28,4 Hz, e com os hidrogênios da cadeia do alcóxido, na faixa de 7,2 a 8,1 Hz.

A Tabela 14 apresenta os deslocamentos químicos (δ) obtidos na análise de RMN de ^{31}P .

Tabela 14: Dados de RMN de ^{31}P (continua).

Composto	δ em ppm (multiplicidade)*
1	2,46
2	2,82
3	2,53
4	2,59
5	2,90
6	3,40
7	0,47
8	0,86
9	0,53
10	0,62
11	0,93
12	1,49
13	1,32
14	1,21
15	1,69
16	2,14
17	0,35 (dt) $J_{\text{HP}} = 8,0$ $J_{\text{HP}} = 27,2$
18	0,79 (dt) $J_{\text{HP}} = 8,0$ $J_{\text{HP}} = 27,2$
19	0,72 (dt) $J_{\text{HP}} = 7,2$ $J_{\text{HP}} = 26,4$

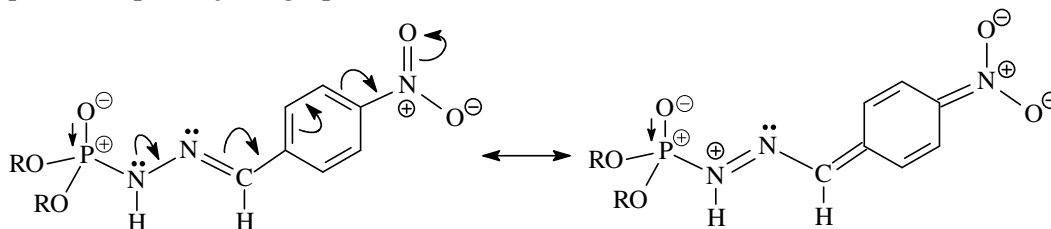
Tabela 14: Continuação

20	0,75 (dt) $J_{HP} = 8,0$ $J_{HP} = 26,4$
21	2,67 (dt) $J_{HP} = 8,1$ $J_{HP} = 27,5$
22	2,62 (dt) $J_{HP} = 7,29$ $J_{HP} = 28,4$

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

Com base nos dados da Tabela 14, verifica-se que o grupamento isopropil exerce um efeito de blindagem sobre o átomo de fósforo se comparado ao grupamento propil. Este efeito pode ser atribuído ao volume maior do grupamento isopropil em relação ao grupo propil, o que ocasiona uma proteção estérica sobre o átomo de fósforo.

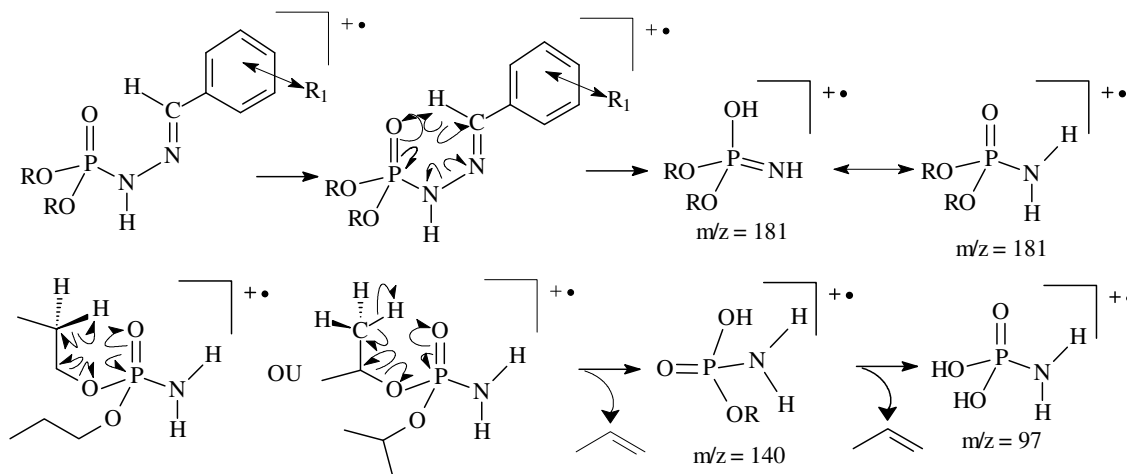
Os dados da Tabela 14 também indicam uma tendência do átomo de fósforo estar em campo mais alto (mais protegido) quando da presença de substituintes R_1 retiradores de elétrons no anel aromático. Este efeito é claramente observado nas diisopropilfosforilidrazonas monossustituídas (compostos 7 a 16), que quando R_1 exerce efeito doador de elétrons (compostos 12, 14, 15 e 16), o deslocamento químico do átomo de fósforo varia de 1,21 a 2,14 ppm, sendo maior para os compostos 15 e 16 que têm R_1 em posição para. Já quando R_1 exerce efeito retirador de elétrons (compostos 7 a 11), o deslocamento químico varia de 0,47 a 0,93 ppm, sendo os menores valores para $R_1 = o\text{-NO}_2$ e $p\text{-NO}_2$, que exercem o maior efeito retirador dentre os substituintes. O Esquema 10 explica o porquê de este efeito ocorrer. Quando um grupo retirador de elétrons é um substituinte do anel aromático, os elétrons presentes ao longo da cadeia nas dialquilfosforilidrazonas se deslocam, a partir do par de elétrons do nitrogênio fosforamídico, 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 dialquilfosforilidrazonas, caráter eletropositivo, “puxa” elétrons do átomo de oxigênio, que tem pares de elétrons livres, ficando desta forma blindado. DA SILVA e colaboradores estudou 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).



Esquema 10: Estruturas em equilíbrio no composto diisopropilfosforil *p*-nitrofenilidrazona.

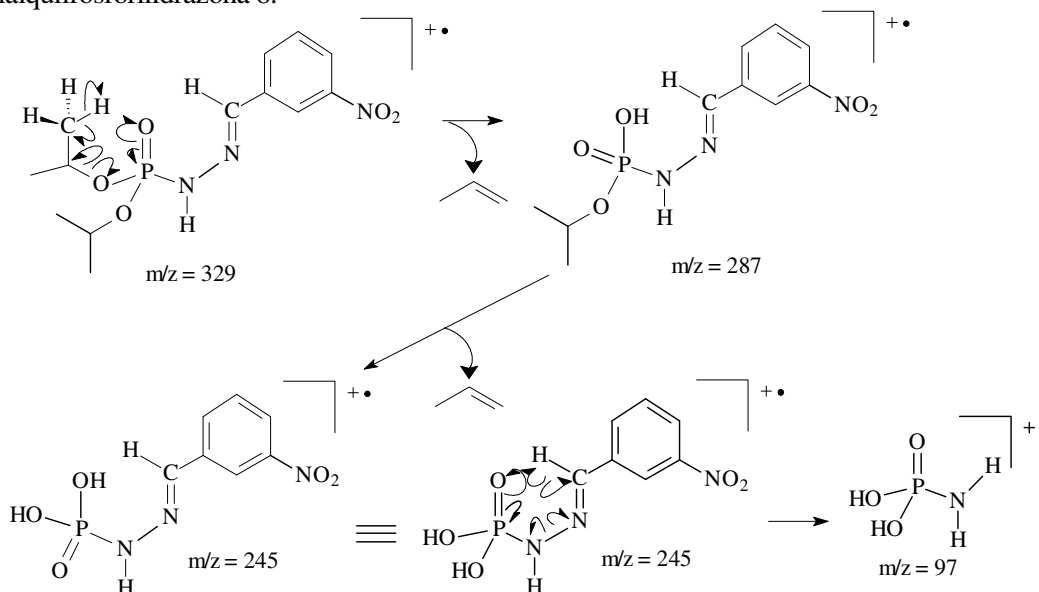
4.1.6.5 Análise por espectrometria de massas

No espectro de massas das dialquilfosforilidrazonas sintetizadas, há a presença do fragmento $(m/z)+1$ correspondente a $m/z = 98$, sendo que em muitos casos este fragmento é correspondente ao pico base. Na proposta de fragmentação apresentada no Esquema 11, este fragmento é obtido a partir de três rearranjos análogos ao rearranjo de McLafferty. Inicialmente, o hidrogênio imínico se rearranja, ligando-se ao oxigênio fosforamídico, ocorrendo a liberação de uma molécula aromática neutra e a formação do fragmento $m/z = 181$. Na sequência, ocorrem dois rearranjos análogos ao rearranjo de McLafferty, envolvendo os hidrogênios das duas cadeias alquílicas do alcóxido, levando à formação do fragmento $m/z = 97$.



Esquema 11: Proposta de fragmentação para a obtenção do fragmento $m/z = 97$.

Nos espectros de massas das dialquilfosforilidrazonas, também se observa a presença de fragmentos que são oriundos dos mesmos rearranjos análogos ao de McLafferty apresentados no Esquema 11, porém nestes casos estes rearranjos ocorrem em uma sequência diferente, gerando, além do fragmento $m/z = 97$, outros fragmentos, conforme apresenta o Esquema 12, que exemplifica a proposta de fragmentação para a dialquilfosforilidrazona 8.



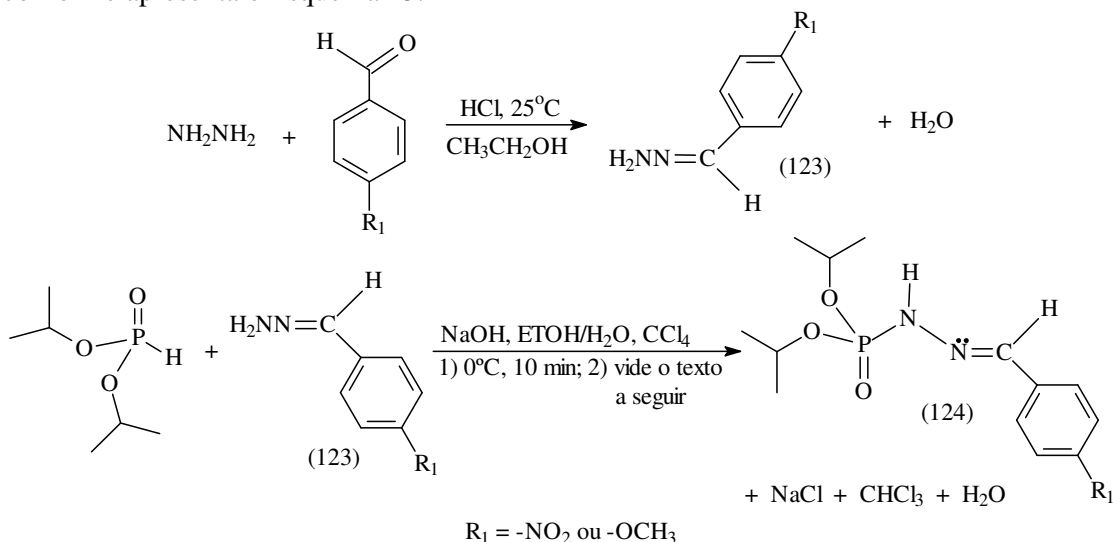
Esquema 12: Proposta de fragmentação para a dialquilfosforilidrazona 8.

As propostas de fragmentação apresentadas no Esquema 11 e no Esquema 12, originam o fragmento $m/z = 97$, porém o que se observa nos espectros de massas das dialquilfosforilidrazonas sintetizadas é o fragmento $m/z = 98$. Acredita-se, que isto 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 $m/z = 98$. Este mesmo efeito ocorre para o pico do íon molecular de várias dialquilfosforilidrazonas e para os fragmentos apresentados no

Esquema 12, onde o que se observa no espectro de massas são os fragmentos $m/z = 330$, $m/z = 288$, $m/z = 246$ (pico base) e o $m/z = 98$.

4.1.7 Tentativa de uma rota alternativa para a síntese das dialquilfosforilidrazonas

Com o objetivo de se avaliar a melhor rota de síntese para a obtenção das dialquilfosforilidrazonas, no início do desenvolvimento deste projeto, foi testada uma rota sintética alternativa à apresentada no tópico 4.1.5. Esta rota sintética envolveu duas etapas, sendo a primeira correspondente à reação dos aldeídos aromáticos com a hidrazina monohidratada, formando uma hidrazona, seguido da reação desta hidrazona com o fosfonato de dialquila correspondente. Esta rota de síntese foi testada com o fosfonato de diisopropila e com os aldeídos *p*-nitrobenzaldeído e *p*-metoxibenzaldeído, conforme apresenta o Esquema 13.



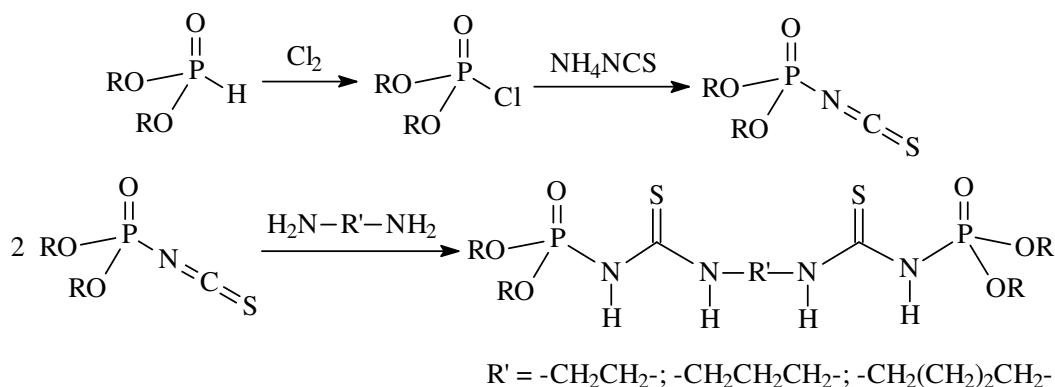
Esquema 13: Rota alternativa de síntese das dialquilfosforilidrazonas.

A primeira etapa levou, após 4 h, à síntese do composto 123. Os rendimentos obtidos foram de 85% para $R_1 = p\text{-NO}_2$ e 58,5% para $R_1 = p\text{-OCH}_3$. Já a síntese do composto 124, tanto para $R_1 = p\text{-NO}_2$, quanto para $R_1 = p\text{-OCH}_3$, gerou uma mistura do reagente e o correspondente produto, verificada por cromatografia em camada fina e por RMN de 1H , mostrando uma quantidade muito superior do reagente em relação ao produto. A tentativa de síntese do composto 124 para $R_1 = p\text{-NO}_2$ ocorreu com o sistema sendo aquecido a $80^\circ C$ por 10h. Já a tentativa de síntese do composto 124 para $R_1 = p\text{-OCH}_3$ ocorreu durante 10h a $80^\circ C$, com posterior adição de acetona, numa

tentativa de aumentar a solubilidade do meio reacional, sendo portanto o meio aquecido por mais 8h. Uma vez que esta rota sintética alternativa mostrou-se insatisfatória nas condições reacionais testadas, decidiu-se sintetizar as dialquilfosforilidrazonas através da rota de síntese apresentada no tópico 4.1.5.

4.2 *N,N'*-bis(dialquilfosforiltoamida)diaminas

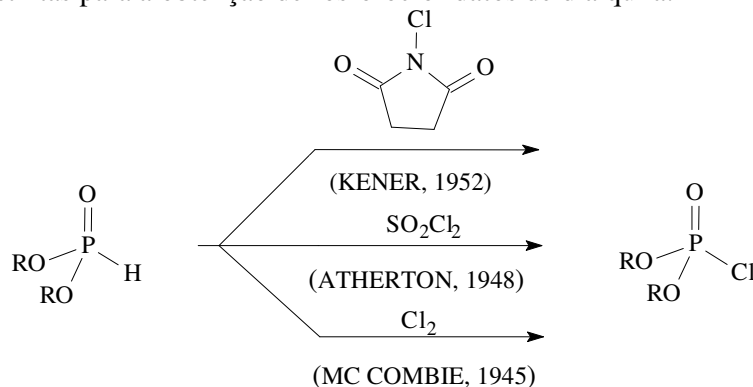
A síntese das *N,N'*-bis(dialquilfosforiltoamida)diaminas ocorre conforme a rota de síntese apresentada no Esquema 14.



Esquema 14: Rota de síntese das *N,N'*-bis(dialquilfosforiltoamida)diaminas.

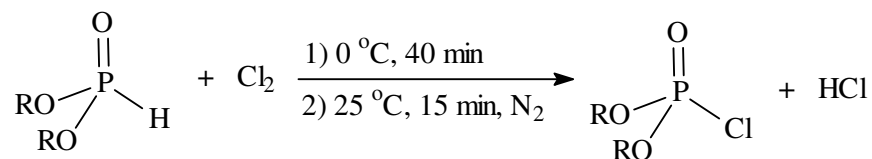
4.2.1 Síntese dos fosforocloridatos de dialquila

A substituição de um átomo de hidrogênio por um átomo de cloro, aumenta o potencial eletrofílico do átomo de fósforo, gerando os fosforocloridatos de dialquila, que são derivados mais reativos que os fosfonatos de dialquila. O Esquema 15 apresenta três formas distintas para a obtenção de fosforocloridatos de dialquila.



Esquema 15: Formas distintas de obtenção de fosforocloridatos de dialquila.

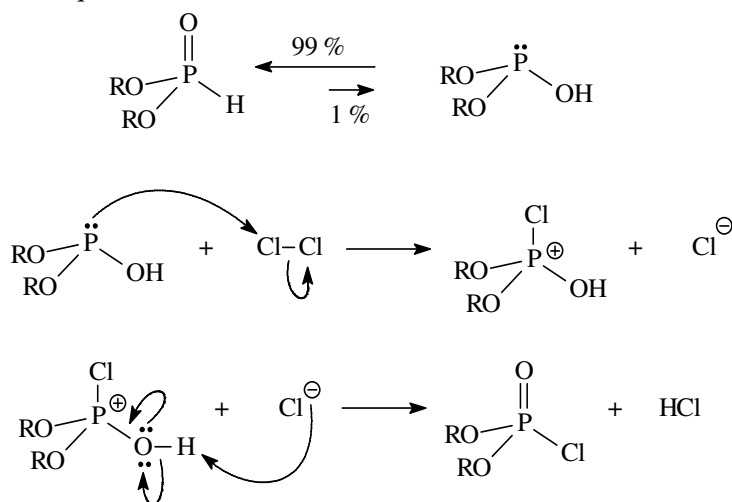
Em virtude da facilidade e eficiência da reação com cloro gasoso, aliada a disponibilidade deste reagente no laboratório, a rota de síntese envolvendo a reação de 1 mol de fosfonato de dialquila com 1 mol de cloro gasoso (Esquema 16), foi a forma escolhida para a obtenção dos fosforocloridatos de dialquila.



(125) R = propil; (126) R = isopropil; (127) R = butil; (128) R = isobutil.

Esquema 16: Reação de obtenção dos fosforocloridatos de dialquila.

Os fosforocloridatos de dialquila são extremamente higroscópicos, devendo ser manuseados rapidamente. O mecanismo de obtenção dos fosforocloridatos de dialquila é apresentado no Esquema 17.



(125) R = propil; (126) R = isopropil; (127) R = butil; (128) R =

Esquema 17: Mecanismo de síntese dos fosforocloridatos de dialquila.

Os rendimentos obtidos na síntese destes compostos são apresentados na Tabela 15.

Tabela 15: Rendimento de síntese dos fosforocloridatos de dialquila.

$(\text{RO})_2\text{P}(\text{O})\text{Cl}$	
R	Rendimento (%)
propil	99
isopropil	90
butil	99
isobutil	96

4.2.2 Determinação estrutural dos fosforocloridatos de dialquila

Os espectros de IV, RMN de ^1H e RMN de ^{13}C dos fosforocloridatos de dialquila estão no anexo A.

4.2.2.1 Análise por espectrometria de infravermelho

O principal indicativo da ocorrência da reação dos fosfonatos de dialquila com o cloro gasoso é o desaparecimento da banda de absorção, em aproximadamente 2425 cm^{-1} , característica de deformação axial da ligação P-H. Excetuando-se a presença desta banda e da banda referente ao estiramento da ligação OH, já discutida no tópico 4.1.2.1, todas as demais bandas presentes no espectro de infravermelho dos fosforocloridatos de dialquila são equivalentes àsquelas presentes no espectro de infravermelho dos fosfonatos de dialquila.

A Tabela 16 apresenta os valores das bandas de absorção dos fosforocloridatos de dialquila sintetizados.

Tabela 16: Principais bandas de absorção do fosforocloridatos de dialquila.*

$(\text{RO})_2\text{P}(\text{O})\text{Cl}$		
R	P=O	P-O-C
Propil	1251,7 (st)	1024,7 (st)
Isopropil	1249,3 (st)	1017,8 (st)
Butil	1260,0 (st)	1029,5 (st)
Isobutil	1297,5 (st)	1022,0 (st)

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

4.2.2.2 Análise por espectrometria de RMN de ^1H

O espectro de RMN de ^1H dos fosforocloridatos de dialquila é similar ao dos fosfonatos de dialquila, a diferença existente é a ausência do duplete referente ao átomo de hidrogênio ligado ao átomo de fósforo.

A Tabela 17 apresenta os valores dos deslocamentos químicos e as multiplicidades para todos os hidrogênios presentes nos fosforocloridatos de dialquila.

Tabela 17: Dados de RMN de ^1H dos fosforocloridatos de dialquila sintetizados.

δ em ppm (multiplicidade)*					
Comp.	CH_nOP	$\text{CH}_n\text{CH}_2\text{OP}$	$\text{CH}_n(\text{CH}_2)_{n1}\text{OP}$	$(\text{CH}_3)_2\text{CHOP}$	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$
125	n = 2 4,15 (m)/4H	n = 2 1,78 (m)/4H	n1 = 2, n = 3 0,99 (m)/6H	-	-
126	n = 1 4,77 (m)/2H	-	-	1,35 (m)/12H	-
128	n = 2 3,94 (m)/4H	n = 1 1,97 (m)/2H	-	-	0,95 (d)/12H $J_{\text{HH}} = 6,0$

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

4.2.2.3 Análise por espectrometria de RMN de ^{13}C

Os espectros de RMN de ^{13}C dos fosforocloridatos de dialquila apresentam os sinais característicos dos carbonos da cadeia alquílica do alcóxido, que acoplam com o átomo de fósforo a duas e três ligações em 7,5 Hz. A Tabela 18 apresenta os sinais de carbono característicos do fosforocloridato de dipropila.

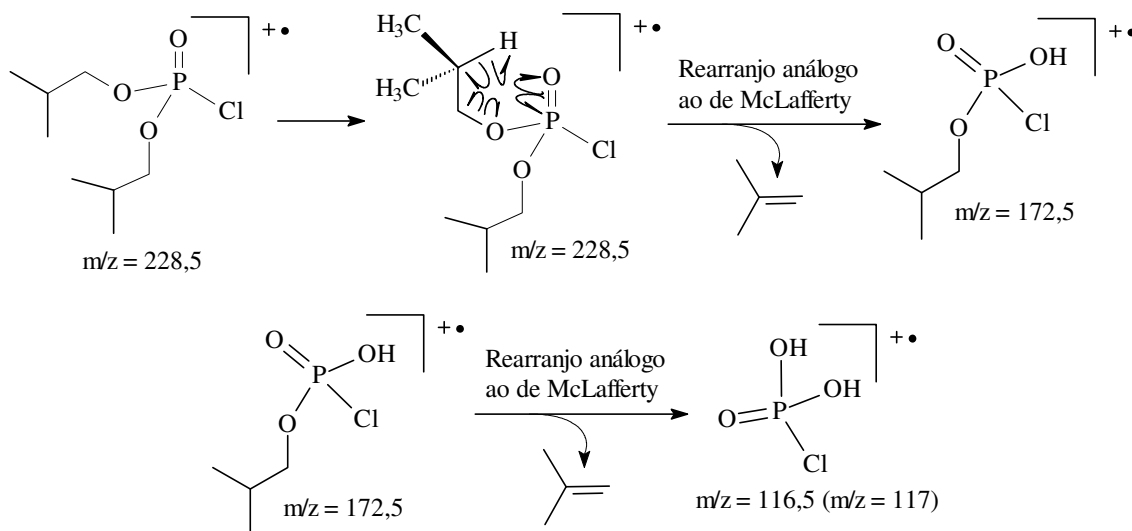
Tabela 18: Dados de RMN de ^{13}C do fosforocloridato de dipropila.

Composto	δ em ppm (multiplicidade)*		
	CH_3	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$	CH_2O
125	9,81	23,11 (d)	70,77 (d)
		$J_{\text{CP}} = 4,5$	$J_{\text{CP}} = 7,5$
		23,29 (d)	71,41 (d)
		$J_{\text{CP}} = 7,5$	$J_{\text{CP}} = 7,5$

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

4.2.2.4 Análise por espectrometria de massas

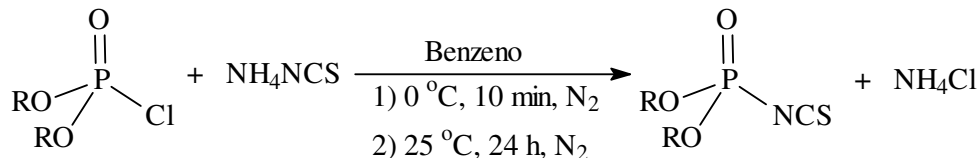
No espectro de massas de todos os fosforocloridatos de dialquila sintetizados, o pico base possui relação massa/carga (m/z) correspondente a 117. Na proposta de fragmentação apresentada no Esquema 18, este fragmento é proveniente do rearranjo análogo ao de McLafferty, envolvendo os hidrogênios metínicos presentes nas duas cadeias alquílicas dos compostos. O Esquema 18 apresenta a obtenção deste fragmento tendo como exemplo o fosforocloridato de diisobutila.



Para todos os fosforocloridatos de dialquila obtidos é possível observar o pico do íon molecular em seus respectivos espectros de massas.

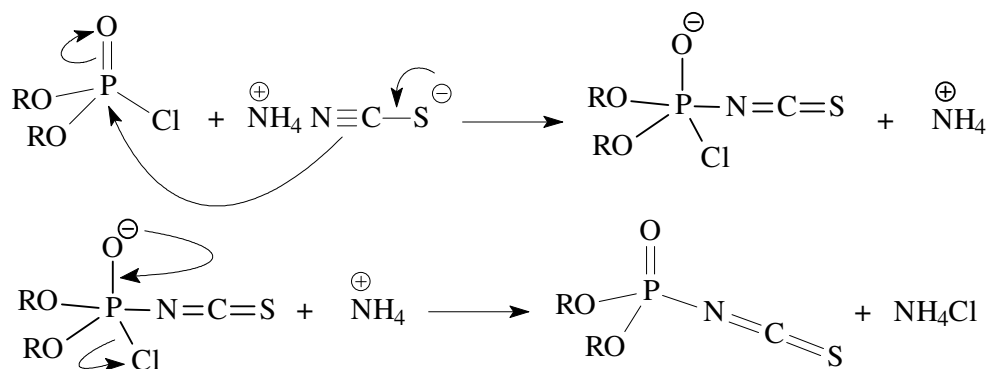
4.2.3 Síntese dos fosfoisotiocianatidatos de dialquila

Os fosfoisotiocianatidatos de dialquila são obtidos a partir da reação de 1 mol de fosforocloridato de dialquila com 1 mol de tiocianato de amônio, em meio anidro, conforme apresenta o Esquema 19 (KULKA, 1959).



Esquema 19: Reação de obtenção dos fosfoisotiocianatidatos de dialquila.

O mecanismo de obtenção dos fosfoisotiocianatidatos de dialquila é apresentado no Esquema 20.



(129) R = isopropil; (130) R = butil; (131) R = isobutil.

Esquema 20: Mecanismo de síntese dos fosfoisotiocianatidatos de dialquila.

Apesar do elevado potencial eletrofílico do átomo de fósforo, o que torna propícia a reação, a obtenção dos fosfoisotiocianatidatos de dialquila é complicada, pois o produto formado é extremamente instável. Em todos os casos em que a reação foi utilizada, tendo benzeno com solvente (SOUZA, 1995), obteve-se ao término da reação o precipitado de cloreto de amônio e uma solução amarela, a qual continha majoritariamente o produto e o solvente. Durante o tratamento do filtrado (solução amarela), a coloração deste evoluía rapidamente para laranja intenso, indicando uma possível degradação do meio. Com o objetivo de se tentar contornar este problema e também visando uma maior solubilidade do tiocianato de amônio no solvente, realizou-se um teste tendo acetonitrila como solvente, na síntese do fosfoisotiocianatidato de diisopropila. Na reação com acetonitrila, durante todo o tempo, incluindo a etapa de filtração, a fase líquida ficou com coloração amarela, não escurecendo durante a manipulação.

Em todas as reações o pH dos fosfoisotiocianatidatos de dialquila obtidos foi igual a zero.

O tiocianato de amônio utilizado em todas as reações foi seco em aparelhagem Dean-stark através de uma destilação azeotrópica com tolueno. Esta secagem é realizada para remover a água residual deste sal, sendo o procedimento com Dean-stark mais eficiente que o método convencional de secagem em estufa (SOUZA, 1995).

Os fosforoisotiocianatidatos de dialquila sintetizados foram o fosforoisotiocianatidato de diisopropila, o fosforoisotiocianatidato de dibutila e o fosforoisotiocianatidato de diisobutila. Apesar de várias tentativas de síntese, o composto fosforoisotiocianatidato de dipropila não foi obtido.

Os rendimentos obtidos na síntese dos fosforoisotiocianatidatos de dialquila são apresentados na Tabela 19.

Tabela 19: Rendimento da síntese dos fosforoisotiocianatidatos de dialquila.

(RO)₂P(O)NCS	
R	Rendimento (%)
isopropil*	66
isopropil**	43
butil	70
isobutil	52

* Sendo benzeno o solvente da reação.

** Sendo acetonitrila o solvente da reação.

Com base nos rendimentos de síntese apresentados na Tabela 19, conclui-se que a reação tendo acetonitrila como solvente, não ocasiona qualquer vantagem em relação à reação com benzeno.

4.2.4 Determinação estrutural dos fosforoisotiocianatidatos de dialquila

Os fosforoisotiocianatidatos de dialquila foram caracterizados através das espectrometrias de infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e espectrometria de massas. Os espectros referentes a estas análises estão no anexo A.

4.2.4.1 Análise por espectrometria de infravermelho

Os fosforoisotiocianatidatos de dialquila possuem uma absorção característica na região do infravermelho referente ao estiramento assimétrico do grupo isotiocianato (N=C=S) ligado ao átomo de fósforo (CAMPS *et al.*, 1980). Este estiramento reflete-se como uma banda de absorção intensa em aproximadamente 2000 cm⁻¹.

A Tabela 20 apresenta os valores das principais bandas de absorção das ligações dos fosforoisotiocianatidatos de dialquila sintetizados.

Tabela 20: Principais bandas de absorção dos fosforoisotiocianatidatos de dialquila.*

(RO)₂P(O)NCS			
R	P=O	P-O-C	N=C=S
isopropil	1246,2 (st)	1015,4 (st)	2000,0 (st as)
butil	1229,8 (st)	1035,7 (st)	2027,1 (st as)
isobutil	1279,2 (st)	1031,9 (st)	2002,8 (st as)

* As absorções estão expressas em cm⁻¹.

O espectro de infravermelho do composto fosforoisotiocianatidato de dibutila apresenta uma banda de absorção intensa em $3421,8\text{ cm}^{-1}$, que é característica do grupamento OH, o que indica uma possível hidrólise de parte do composto.

4.2.4.2. Análise por espectrometria de RMN de ^1H

O espectro de RMN de ^1H dos fosforoisotiocianatidatos de dialquila é similar ao dos fosforocloridatos de dialquila, uma vez que em ambos os únicos hidrogênios existentes são aqueles da cadeia alquílica.

A Tabela 21 mostra os valores dos deslocamentos químicos e as multiplicidades para o fosforoisotiocianatidato de diisopropila (129) e o fosforoisotiocianatidato de diisobutila (131).

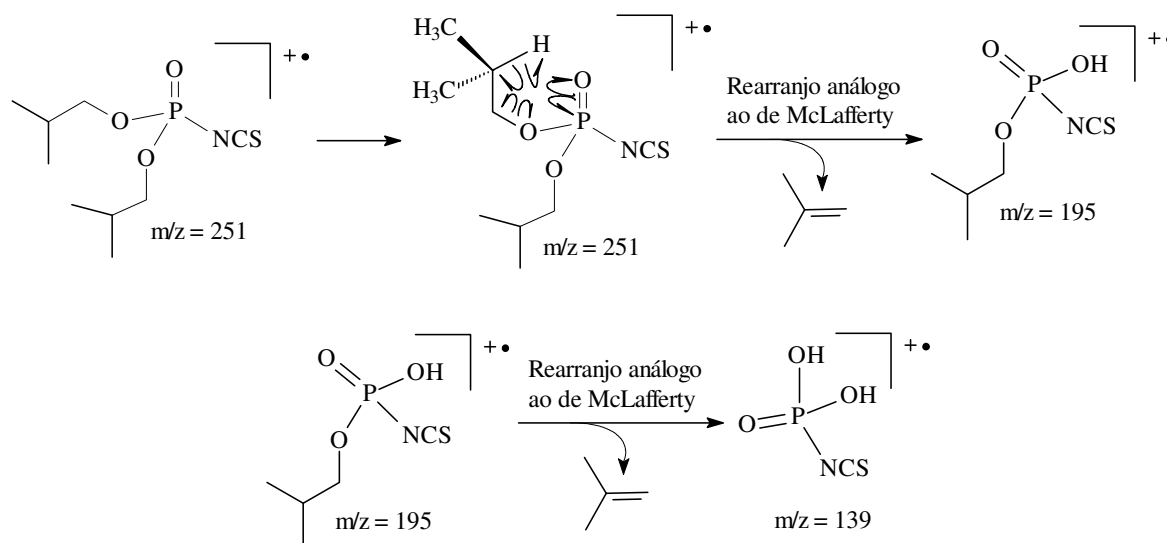
Tabela 21: Dados de RMN de ^1H dos fosforoisotiocianatidatos de dialquila.

Comp.	δ em ppm (multiplicidade)*			
	CH_nOP	$\text{CH}_n\text{CH}_2\text{OP}$	$(\text{CH}_3)_2\text{CHOP}$	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$
129	n = 1 4,63 (m)/2H	-	1,29 (m)/12H	-
131	n = 2 3,87 (m)/4H	n = 1 1,96 (m)/2H	-	0,93 (d)/6H $J_{\text{HH}} = 6,0$ 0,96 (d)/6H $J_{\text{HH}} = 6,0$

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

4.2.4.3 Análise por espectrometria de massas

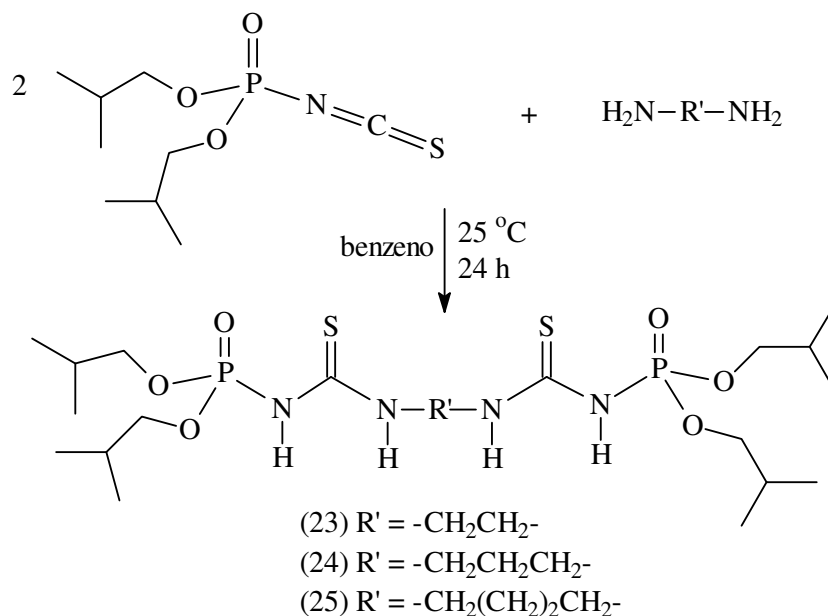
No espectro de massas do composto fosforoisotiocianatidato de diisobutila (131), o pico base é correspondente ao fragmento $m/z = 140$. Assim como no caso das dialquifosforilidrazonas, este fragmento é devido à transferência de um próton, para a molécula de um fragmento, no caso o fragmento $m/z = 139$, originando o fragmento $(m/z)+1 = 140$. Conforme a proposta de fragmentação apresentada no Esquema 21, o fragmento $m/z = 139$ é oriundo de dois rearranjos análogos ao rearranjo de Mc Lafferty dos hidrogênios metínicos nas cadeias isobutílicas. Já no caso dos compostos fosforoisotiocianatidato de diisopropila (129) e fosforoisotiocianatidato de dibutila (130), o pico base é o pico do íon molecular mais um próton, sendo equivalente a, respectivamente, $(m/z)+1 = 224$ e $(m/z)+1 = 252$. O fragmento $m/z = 140$ também está presente no espectro de massas dos compostos 129 e 130. O Esquema 21 mostra a obtenção do fragmento $m/z = 139$ para o composto fosforoisotiocianatidato de diisobutila.



Esquema 21: Proposta de obtenção do fragmento $m/z = 139$ para o composto fosforoisotiocianatidato de diisobutila.

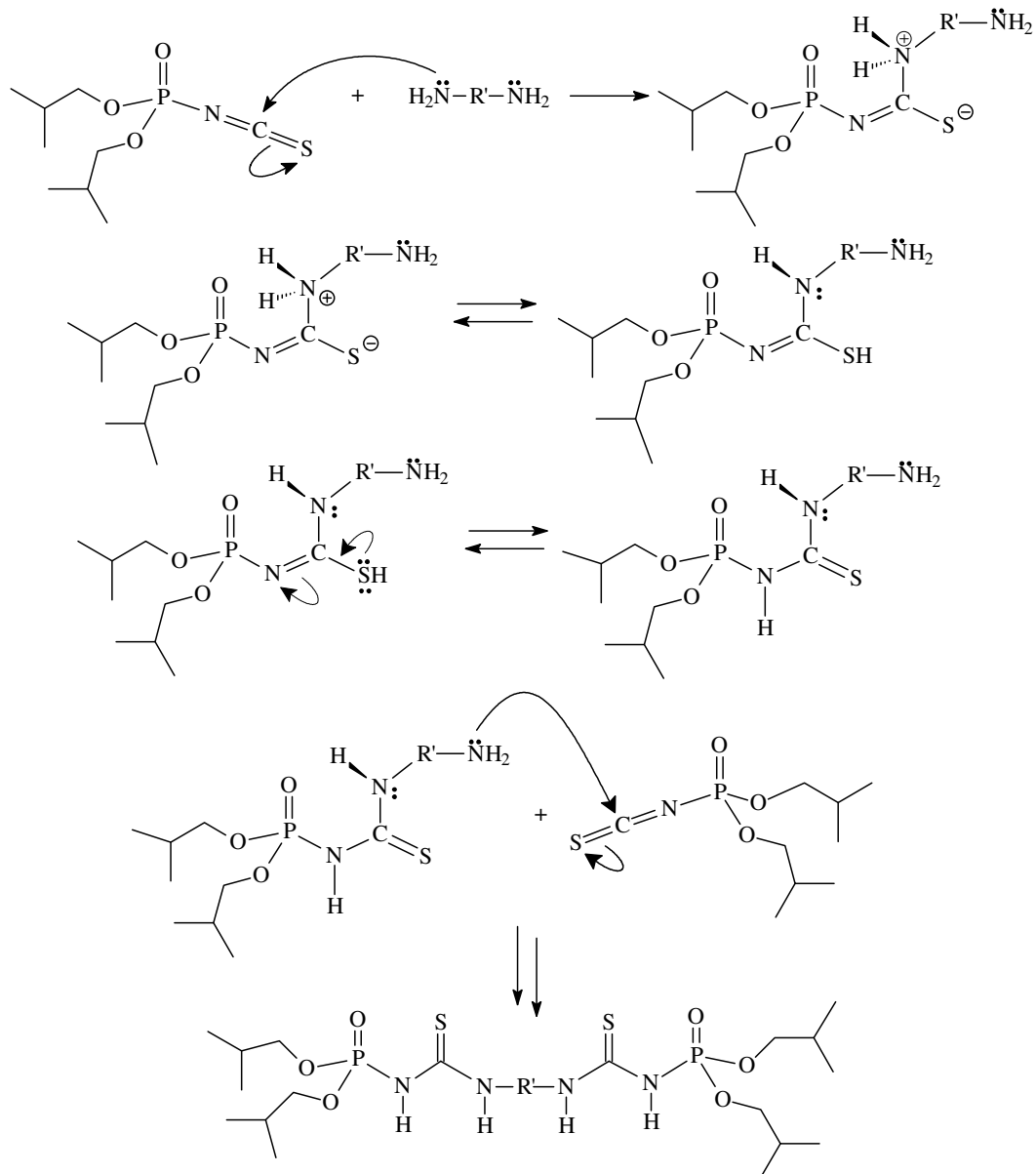
4.2.5 Síntese das N,N' -bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas

A síntese dos compostos bis-[(ácido fosforamídico, éster de diisobutila), N -tioxometileno]-, diamina, também denominados neste trabalho de N,N' -bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas, ocorre a partir da reação de adição de 2 mol do fosforoisotiocianatidato de diisobutila com 1 mol da diamina correspondente (DAVID *et al.*, 1978; SOUZA, 1995), conforme apresenta o Esquema 22.



Esquema 22: Síntese das N,N' -bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas.

O mecanismo desta reação (Esquema 23) envolve o ataque nucleofílico do nitrogênio da diamina ao carbono do grupamento isotiocianato, que possui caráter eletrofílico.



Esquema 23: Mecanismo de obtenção das N,N' -bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas.

Os compostos N,N' -bis(diisobutilfosforiltioamida)1,2-etilenodiamina (23), N,N' -bis(diisobutilfosforiltioamida)1,3-propilenodiamina (24) e N,N' -bis(diisobutilfosforiltioamida)1,4-butilenodiamina (25) foram sintetizados, respectivamente, com os rendimentos de 18, 26 e 26 %.

Apesar das várias tentativas, não se conseguiu sintetizar os compostos com o esqueleto base N,N' -bis(diisopropilfosforiltioamida)diaminas e N,N' -bis(dibutilfosforiltioamida)diaminas. As tentativas de síntese envolveram a realização das reações em diferentes condições de temperatura, tempo de reação e solvente. Com o objetivo de se garantir a nucleofilicidade dos átomos de nitrogênio presentes nas diaminas, estas foram utilizadas em excesso, em conjunto com outras alterações no meio reacional. Em outras tentativas a base utilizada foi a trietilamina. AGRE e colaboradores estudaram a reação de

diaminas com isotiocianatos e isocianatos, dentre as diferentes condições estudadas está o uso de diferentes solventes, como álcool isopropílico e clorofórmio (AGRE *et al.*, 1980). Outros compostos que também foram alvo de tentativas de síntese sem sucesso, foram a *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)piperazina, a diisobutilfosforiltioamidatiosemicarbazida, a diisobutilfosforiltioamidatiouréia, o bis(diisobutilfosforiltioamida)1,2-etilenoditiol e o bis(diisobutilfosforiltioamida)1,3-propilenoditiol.

4.2.6 Determinação estrutural dos compostos *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida) diaminas

As *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas sintetizadas foram caracterizadas através das espectrometrias de infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio, ressonância magnética nuclear de carbono 13, ressonância magnética nuclear de fósforo e espectrometria de massas. Os espectros referentes a estas análises estão no anexo A.

4.2.6.1 Análise por espectrometria de infravermelho

As absorções características das *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas são aquelas referentes ao estiramento de N-C(S)-N, na região de 1325-1345 cm^{-1} , aquelas referentes ao estiramento de P=O na região em torno de 1230 cm^{-1} , aquelas na faixa de 980-1040 cm^{-1} para o estiramento de P-O-C e ainda, as absorções referentes ao estiramento da ligação N-H na faixa de 3130 a 3280 cm^{-1} e a deformação de N-H em 1520-1535 cm^{-1} .

As principais bandas de absorção das *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas 23, 24 e 25 estão na Tabela 22.

Tabela 22: Principais bandas de absorção das *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas.*

Composto	N-H	N-H	N-C(S)-N	P=O	P-O-C
23	3275,3 (st) 3132,2 (st)	1519,6 (δ)	1343,6 (st)	1232,8 (st)	1027,0 (st)
24	3276,8 (st) 3143,1 (st)	1532,0 (δ)	1328,6 (st)	1233,8 (st)	1022,0 (st)
25	3265,8 (st) 3132,3 (st)	1534,2 (δ)	1342,0 (st)	1234,0 (st)	1031,2 (st)

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

4.2.6.2 Análise por espectrometria de RMN de ^1H

Analisando os espectros de RMN de ^1H das *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida) diaminas obtidas, observa-se todos os sinais, com as respectivas integrações, referentes aos hidrogênios das moléculas, sendo o mais característico aquele referente ao N-H ligado ao átomo de fósforo, que possui constante de acoplamento na faixa de 2 a 8 Hz.

A Tabela 23 apresenta os valores dos deslocamentos químicos e as multiplicidades para todos os hidrogênios presentes nas *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas obtidas.

Tabela 23: Dados de RMN de ^1H das N,N' -bis(diisobutilfosforil)amidas sintetizadas.

Comp.	δ em ppm (multiplicidade)*						
	HN-P=O	H-NCH_2	CH_2OP	N-CH_2	$\text{N-CH}_2\text{CH}_2$	CHCH_2OP	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$
23	6,94 (d)/2H $J_{\text{HP}} = 8,0$	9,12 (s)/2H	3,86 (m)/8H	3,86 (m)/4H	-	1,95 (m)/4H	0,94 (d)/24H $J_{\text{HH}} = 7,0$
24	6,54 (d)/2H $J_{\text{HP}} = 8,0$	8,99 (s)/2H	3,86 (m)/8H	3,70 (m)/4H	1,96 (m)/2H	1,96 (m)/4H	0,94 (d)/24H $J_{\text{HH}} = 7,0$
25	6,53 (d)/2H $J_{\text{HP}} = 2,0$	8,96 (s)/2H	3,83 (m)/8H	3,63 (m)/4H	1,70 (m)/4H	1,96 (m)/4H	0,94 (d)/24H $J_{\text{HH}} = 7,0$

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

4.2.6.3 Análise por espectrometria de RMN de ^{13}C

Os espectros de RMN de ^{13}C das N,N' -bis(diisobutilfosforil)amidas apresentam todos os sinais característicos correspondentes aos compostos sintetizados.

A Tabela 24 apresenta os valores dos deslocamentos químicos e as multiplicidades para todos os carbonos presentes nas N,N' -bis(diisobutilfosforil)amidas obtidas.

Tabela 24: Dados de RMN de ^{13}C dos compostos N,N' -bis(diisobutilfosforil)amidas.

Composto	δ em ppm (multiplicidade)*					
	C=S	CH_2OP	N-CH_2	$\text{N-CH}_2\text{CH}_2$	CHCH_2OP	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$
23	182,78	73,97 $J_{\text{CP}} = 6,0$	44,01	-	28,92 $J_{\text{CP}} = 7,5$	18,53
24	182,05	73,99 $J_{\text{CP}} = 4,5$	43,16	27,72	28,93 $J_{\text{CP}} = 6,0$	18,56
25	181,80	73,99 $J_{\text{CP}} = 6,0$	45,58	25,84	28,95 $J_{\text{CP}} = 7,6$	18,53

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

Nos espectros de RMN de ^{13}C dos compostos sintetizados, verifica-se a presença do acoplamento dos carbonos da cadeia isobutílica com o átomo de fósforo a 2 e a 3 ligações. Estes acoplamentos (Tabela 24) são, respectivamente, referentes ao carbono metilênico em 74 ppm, com J_{CP} na faixa de 4,5 a 6,0 Hz, e ao carbono terciário, em torno de 29 ppm, com J_{CP} entre 6,0 e 7,6 Hz.

4.2.6.4 Análise por espectrometria de RMN de ^{31}P

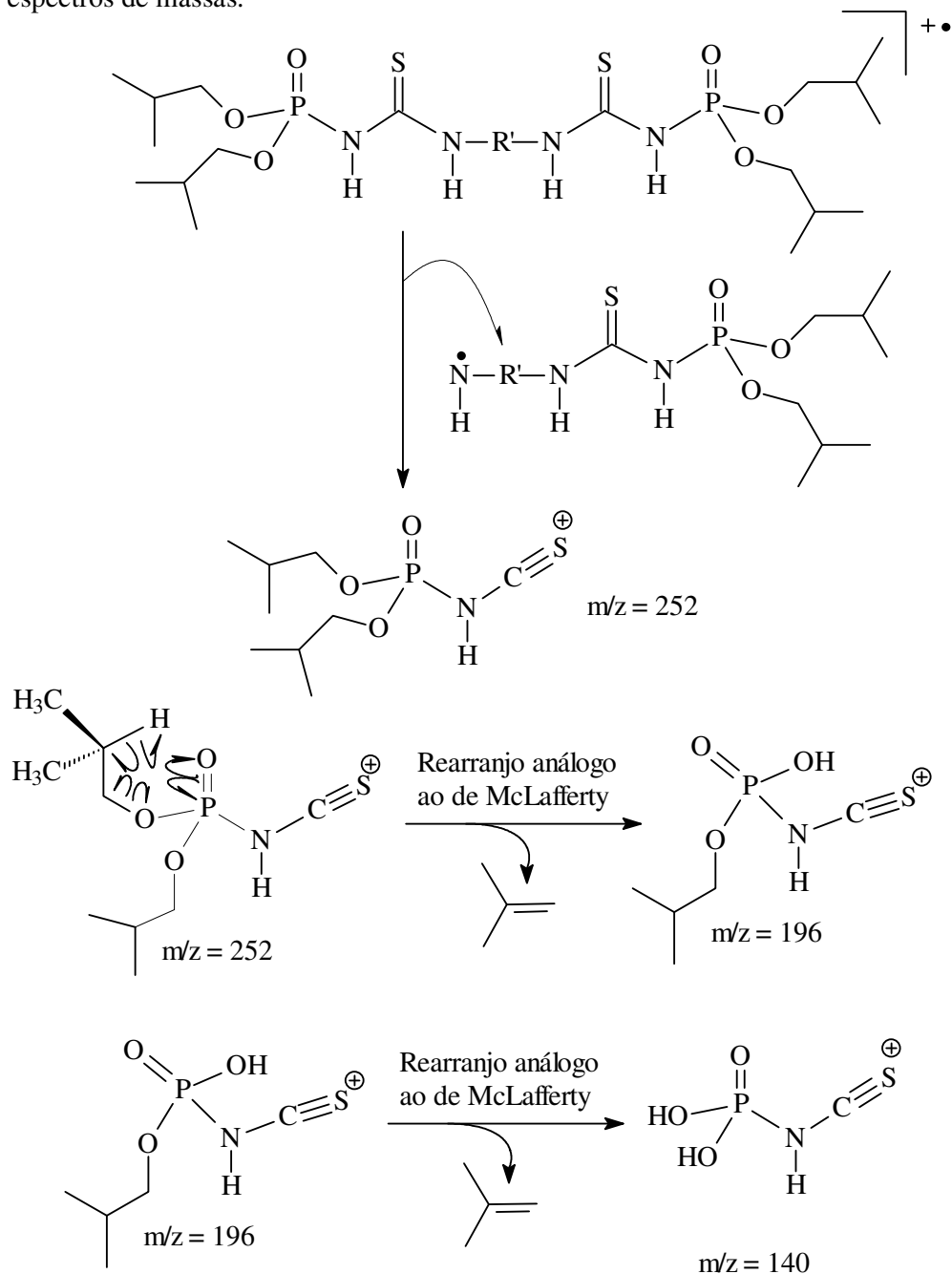
Os espectros de RMN de ^{31}P para os compostos 23, 24 e 25 estão totalmente desacoplados. A Tabela 25 apresenta os deslocamentos químicos (δ) obtidos na análise de RMN de ^{31}P .

Tabela 25: Dados de RMN de ^{31}P para os compostos 23, 24 e 25.

Composto	δ (ppm)
23	- 3,47
24	- 3,93
25	- 3,95

4.2.6.5 Análise por espectrometria de massas

Nos espectros de massas das *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas o pico base, cuja relação massa carga (m/z) corresponde a 140 é, segundo a proposta de fragmentação apresentada no Esquema 24, proveniente de dois rearranjos análogos ao rearranjo de McLafferty, envolvendo, cada um, um átomo de hidrogênio das cadeias isobutílicas presentes na estrutura molecular. Os fragmentos $m/z = 252$ e $m/z = 196$, gerados nesta seqüência de fragmentação, também são dois sinais intensos nos espectros de massas.



Esquema 24: Proposta de obtenção dos fragmentos $m/z = 252$, $m/z = 196$ e $m/z = 140$ dos compostos *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas.

4.3 Ensaios sobre a enzima tirosinase

Os compostos sintetizados neste trabalho foram avaliados quanto à ação sobre a atividade difenolase da enzima tirosinase, ou seja, quanto à capacidade de inibirem a conversão da L-DOPA em dopacromona (Figura 21). A substância dopacromona absorve em 475 nm e, neste comprimento de onda, a absorvância da mistura composta por L-DOPA e tirosinase aumenta à medida que a dopacromona é formada. Sendo assim, compostos que inibem a formação da dopacromona promovem, quando presentes no meio L-DOPA e tirosinase, uma redução no valor da absorvância da mistura.

Como triagem inicial, os compostos foram testados na concentração de 660 μ M. Os resultados obtidos estão na Tabela 26.

Tabela 26: Ação dos compostos sobre a atividade difenolase da enzima tirosinase.

Composto	% de inibição
1	19
2	22
3	0
4	25
5	90
6	7
7	14
8	64
9	0
10	21
11	*
12	37,5
13	74
14	14
15	7
16	**
17	**
18	33
21	**
22	**
23	*
24	*
25	*

* Compostos insolúveis.

** Compostos que aumentaram a absorvância da solução testada.

Os compostos 11, 23, 24 e 25 foram insolúveis quando misturados à solução de teste, de forma que não foram realizados os ensaios com estes compostos.

Os compostos 5, 8 e 13 apresentaram na concentração de 660 μ M um percentual inibitório superior a 50%, sendo considerados como potenciais candidatos a inibirem a tirosinase. Desta forma, estes compostos foram ensaiados de forma mais detalhada, com o objetivo de se encontrar a concentração que inibe 50 % da atividade difenolase da tirosinase (IC_{50}). Os demais compostos apresentaram percentual de inibição inferior a 50%, não sendo portanto, alvo de estudos mais detalhados.

O percentual de inibição dos compostos 5, 8 e 13, para cada concentração testada, foi calculado a partir da Equação 1.

$$\% \text{ de inibição} = \{[(B_{30} - B_0) - (A_{30} - A_0)] / (B_{30} - B_0)\} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

B_0 = valor da absorvância da solução contendo L-DOPA + tirosinase no tempo $t = 0$ min;

B_{30} = valor da absorvância da solução contendo L-DOPA + tirosinase no tempo $t = 30$ min;

A_0 = valor da absorvância da solução contendo L-DOPA + tirosinase + composto no tempo $t = 0$ min;

A_{30} = valor da absorvância da solução contendo L-DOPA + tirosinase + composto no tempo $t = 30$ min.

Os valores de absorvância para cada uma das medições são apresentados no anexo B.

O tempo de 30 min é o tempo de formação da dopacromona, de forma que o ensaio é realizado neste tempo total.

A Tabela 27 apresenta o percentual de inibição obtido para os compostos 5, 8 e 13, a partir da Equação 1.

Tabela 27: Percentual de inibição dos compostos 5, 8 e 13 em diferentes concentrações.

Composto 5	
Concentração (μM)	% de inibição
266,67	71,43
133,33	57,14
66,67	35,71
33,33	28,57
Composto 8	
Concentração (μM)	% de inibição
1000	71,43
666,67	64,29
333,33	57,14
166,67	50
66,67	35,71
Composto 13	
Concentração (μM)	% de inibição
666,67	73,68
333,33	63,16
166,67	47,37
66,67	21,05

A partir dos dados da Tabela 27 foram construídas as curvas de % de inibição x concentração e, conseqüentemente, foram obtidas as equações correspondentes ao melhor modelo matemático que expressa a relação entre o percentual de inibição e a concentração. Através da aplicação do valor de 50 % para o percentual de inibição, encontrou-se o valor da IC_{50} . A Figura 42 apresenta a variação do % de inibição em relação à concentração e o valor da IC_{50} para os compostos 5, 8 e 13.

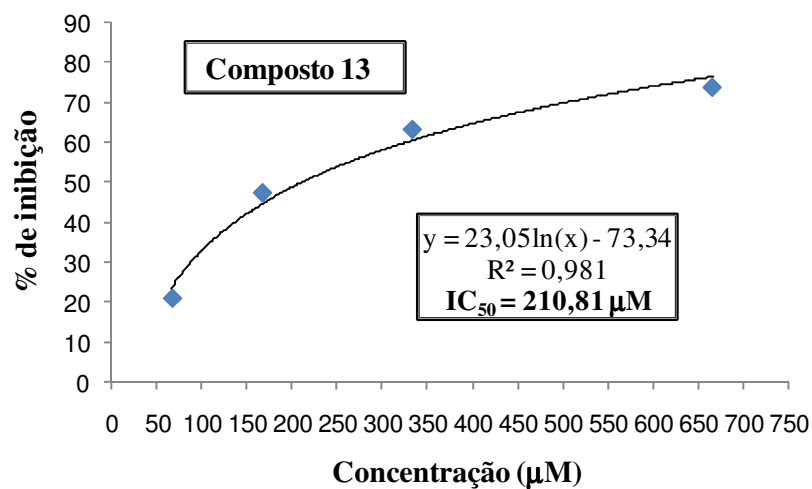
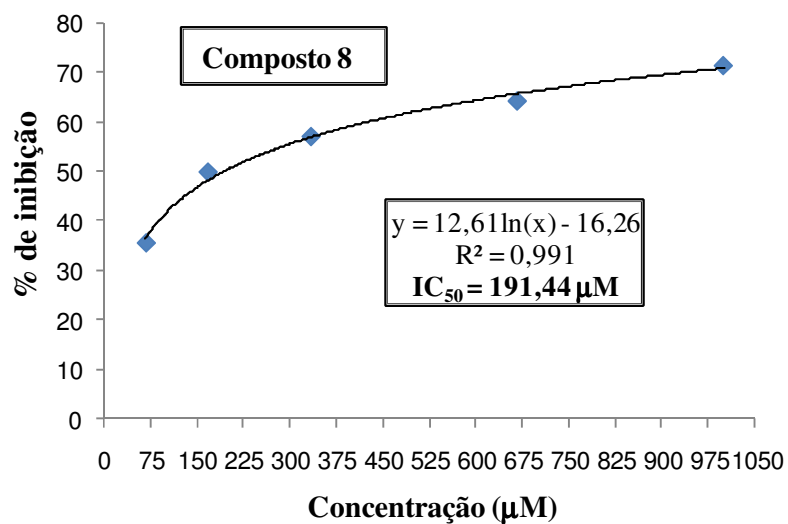
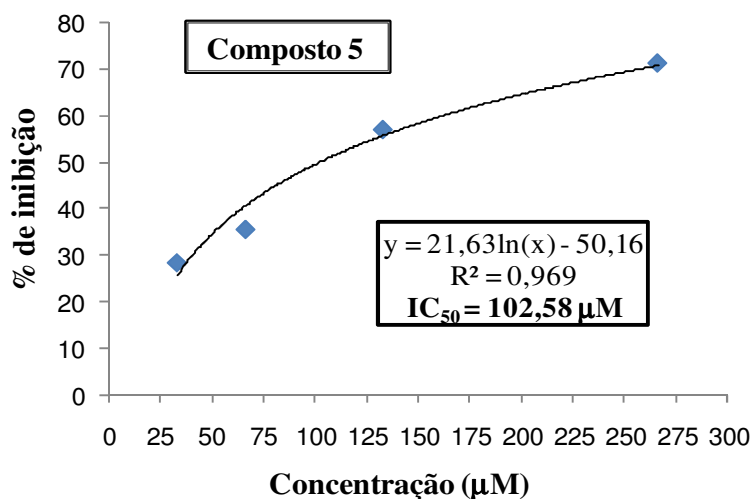


Figura 42: Valores de IC_{50} dos compostos 5, 8 e 13.

Os valores de IC_{50} obtidos para os compostos 5, 8 e 13 indicam estas dialquilfosforilidrazonas como inibidoras da atividade difenolase da enzima tirosinase, sendo o composto 5 aquele com o maior efeito inibitório. Comparando a IC_{50} do composto 5, com a IC_{50} dos compostos ácidos apresentados na Figura 30, verifica-se que este composto somente possui efeito inibitório inferior ao do ácido kójico ($IC_{50} = 55 \mu M$), que é um inibidor da tirosinase empregado comercialmente. Em relação ao também inibidor ácido ascórbico, que foi utilizado como substância padrão neste trabalho, as dialquilfosforilidrazonas 5, 8 e 13, apresentam efeito inibitório de três (composto 13) a sete (composto 5) vezes superior a este composto, cuja IC_{50} é equivalente a $730 \mu M$ (TAKEKOSHI et al., 2003). Portanto, os resultados apresentados pelas dialquilfosforilidrazonas 5, 8 e 13 podem ser considerados como extremamente promissores.

Uma vez que o composto 5 foi o mais ativo, decidiu-se por avaliar, ao longo do tempo, o comportamento da variação da absorvância da solução contendo o composto 5, a L-DOPA e a tirosinase. Para tanto, foram realizadas leituras da absorvância desta solução a cada 10 min, até o tempo total de 30 min. Os resultados obtidos foram comparados com aqueles da solução que continha somente a L-DOPA e a tirosinase. Esta avaliação permitiu acompanhar a evolução da inibição da tirosinase pela dialquilfosforilidrazona 5, estando esta em diferentes concentrações. Através da Figura 43 observa-se que, após 30 min, para todas as concentrações testadas, a absorvância da solução contendo o composto 5, a L-DOPA e a tirosinase, é menor do que a absorvância da solução contendo somente a L-DOPA e a tirosinase e ainda, que quanto maior a concentração do composto 5, menor é a absorvância da solução. Este resultado evidencia um efeito inibidor da dialquilfosforilidrazona 5 sobre a tirosinase dependente da concentração.

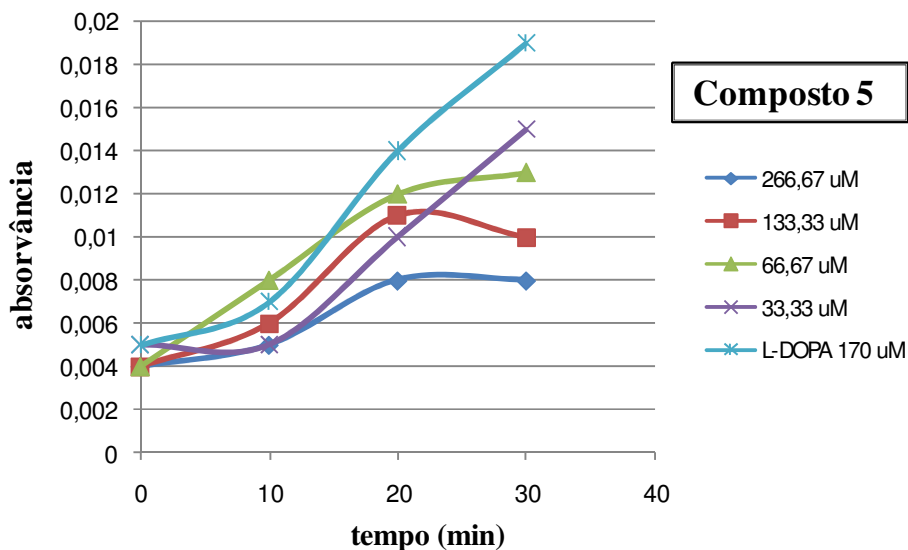


Figura 43: Avaliação da variação da absorvância ao longo do tempo para o composto 5.

Com o objetivo de avaliar, na ausência de L-DOPA, a interação das dialquilfosforilidrazonas 5, 8 e 13 com a enzima tirosinase, foi realizada a comparação do perfil da variação da absorvância em função do comprimento de onda, quando se tem uma solução composta somente pela dialquilfosforilidrazona, e outra solução, composta pela dialquilfosforilidrazona e a tirosinase. A Figura 44 apresenta as curvas obtidas para cada composto e também para o experimento realizado com a L-DOPA.

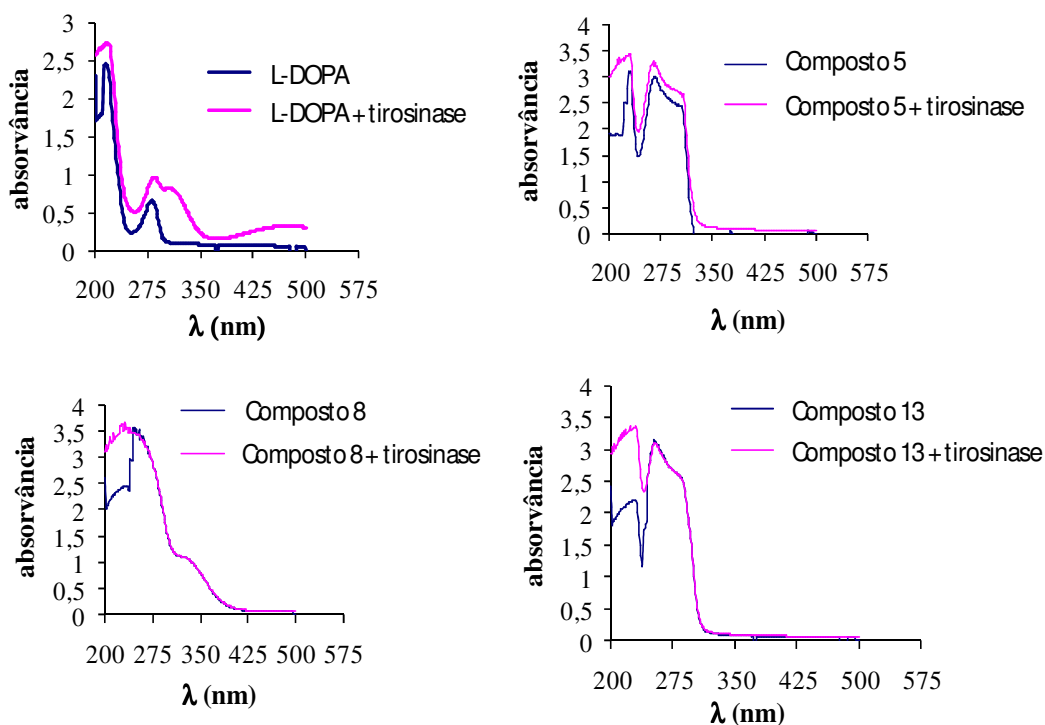


Figura 44: Variação da absorvância dos compostos em função do comprimento de onda.

Avaliando a Figura 44 observa-se, como esperado, que a L-DOPA interage com a enzima tirosinase, uma vez que a absorvância da solução composta pela L-DOPA e a enzima é maior se comparada à solução que contém somente L-DOPA, evidenciando um efeito hipercrômico. Em relação aos compostos 5, 8 e 13, verifica-se que estas dialquilfosforilidrazonas interagem com a enzima, na região de comprimento de onda inferior a 230 nm, no caso do composto 5, e inferior a 240 nm no caso de 8 e 13. Para o composto 5, esta interação deve, provavelmente, envolver ou uma ligação covalente com o fósforo, ou uma ligação hidrogênio, entre a fosforila presente na dialquilfosforilidrazona e um grupo cromóforo presente na tirosinase, uma vez que este mesmo comportamento foi observado no ensaio realizado com a dipropilfosforilidrazina (117), precursora do composto 5, que também apresentou interação com a enzima em comprimentos de onda inferiores a 230 nm (Figura 45). A dialquilfosforilidrazina 117 também possui um pico de absorvância em 280 nm, o que provavelmente deve resultar de alguma interação entre o grupamento $-NH_2$ presente neste composto e a tirosinase.

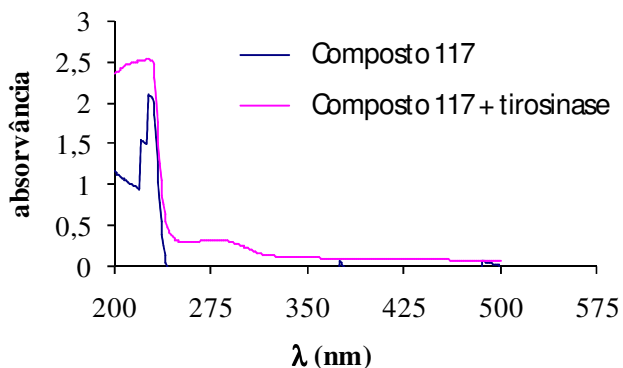


Figura 45: Variação de absorvância em função do comprimento de onda para a dipropilfosforilidrazina.

Analisando a Figura 44, observa-se que entre os compostos 5, 8 e 13, somente a dialquilfosforilidrazona 5 provoca um efeito hipercrômico na solução composta por composto e tirosinase, em comprimentos de onda superiores a 240 nm, indicando que esta dialquilfosforilidrazona apresenta uma interação adicional com a enzima, provavelmente envolvendo o grupamento carboxila. Esta interação adicional pode ser a responsável pelo maior efeito inibidor deste composto sobre a atividade difenolase da tirosinase.

Conforme indicado na Tabela 26, os compostos 16, 17, 21 e 22 promoveram um aumento no valor da absorvância da solução testada (composto, L-DOPA e tirosinase) quando comparada à solução que contém somente L-DOPA e tirosinase. O percentual de absorção destes compostos na concentração de 660 μM foi calculado através da Equação 1, sendo obtidos, respectivamente, os valores de 59, 22, 32 e 75 % (valores em módulo).

A fim de investigar o comportamento apresentado por estas dialquilfosforilidrazonas, considerou-se como hipótese inicial, que estas teriam interagido com a tirosinase formando espécies com grupos cromofóricos que possuam elevada absorvância. Se esta hipótese fosse verdadeira, a ação difenolase da tirosinase estaria sendo inibida pois, neste caso, esta enzima não estaria interagindo somente com a L-DOPA, mas também com estas dialquilfosforilidrazonas. Com o intuito de avaliar esta hipótese, foram selecionados 3 compostos da série acima, 17, 21 e 22, determinando-se a variação da absorvância em relação ao comprimento de onda da solução contendo o composto e a tirosinase, que foi comparada a da solução contendo somente o composto. Este resultado está apresentado na Figura 46.

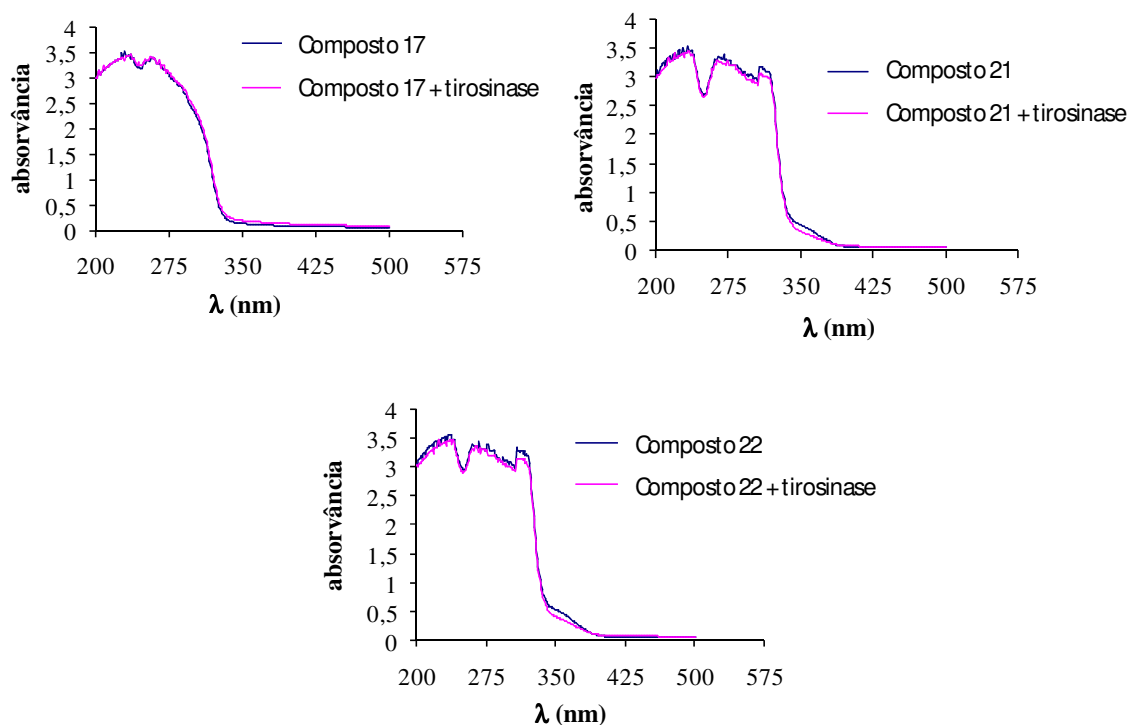


Figura 46: Interação das dialquilfosforilidrazonas 17, 21 e 22 com a tirosinase.

Ao contrário do que ocorreu para as dialquilfosforilidrazonas 5, 8, 13, o perfil das curvas de absorvância versus comprimento de onda (λ) apresentado na Figura 46, indica que os compostos 17, 21 e 22 não interagem com a enzima tirosinase, uma vez que não há qualquer modificação na curva da solução contendo o composto e a tirosinase em relação aquela que contém somente o composto. Sendo assim, a hipótese de que o composto e a enzima estão interagindo não deve ser verdadeira. De qualquer forma, quando da realização dos testes de avaliação de inibição, foi evidenciado, para o mesmo período de tempo de 30 min, um aumento da absorvância da solução contendo o composto, a L-DOPA e a tirosinase, se comparado à solução contendo a L-DOPA e a tirosinase. Outras duas hipóteses, que ainda requerem uma investigação mais aprofundada, podem também ser consideradas, como os compostos estarem interagindo com a L-DOPA formando cromóforos, o que indicaria uma ação inibitória sobre a ação difenolase da tirosinase, ou ainda, que a formação de dopacromona esteja sendo de alguma forma potencializada, neste caso há uma ação de ativação da enzima por parte destas dialquilfosforilidrazonas.

Com o objetivo de verificar se a introdução da porção R₁-fenilidrazona provoca alguma ação sobre a atividade difenolase da enzima tirosinase, as dialquilfosforilidrazinas 117 e 118, precursoras das dialquilfosforilidrazonas, também foram avaliadas quanto à atividade inibitória sobre a tirosinase. Ambas as dialquilfosforilidrazinas foram testadas inicialmente na concentração máxima de 660 μ M. Nesta concentração, a dialquilfosforilidrazina 118 (diisopropilfosforilidrazina) apresentou percentual de inibição de 21 %, já a dialquilfosforilidrazina 117 (dipropilfosforilidrazina) apresentou percentual de inibição de 65 %. Para se determinar a IC₅₀ da dialquilfosforilidrazina 117, esta foi ensaiada em diferentes concentrações. O percentual de inibição, calculado através da Equação 1, para cada concentração testada é apresentado na Tabela 28.

Tabela 28: Percentual de inibição do composto 117 em diferentes concentrações.

Composto 117	
Concentração (μM)	% de inibição
1000	85,71
460	57,14
200	35,71
6	0

A Figura 47 apresenta, para o composto 117, a variação do % de inibição em relação à concentração, o modelo matemático que melhor se ajusta a curva obtida e o valor da IC₅₀, calculado através deste modelo. O valor mais elevado da IC₅₀ da dialquilfosforilidrazina 117, comparado com o dos compostos 5, 8 e 13 indica a importância das respectivas porções R₁-fenilidrazona para a atividade inibitória.

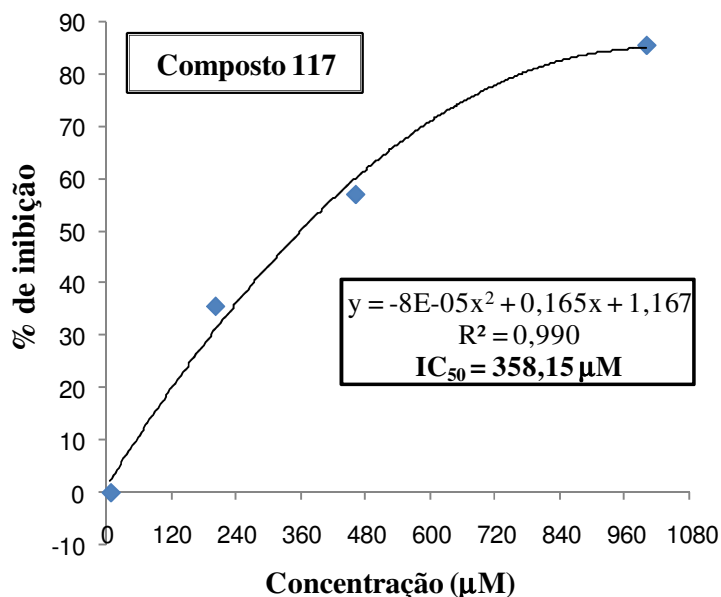


Figura 47: Valor de IC₅₀ do composto 117.

Os resultados obtidos na avaliação da ação das dialquilfosforilidrazonas e dialquilfosforilidrazinas sobre a enzima tirosinase, não permitem uma conclusão quanto à melhor relação estrutura versus atividade, uma vez que não ocorreu um favorecimento preferencial dos compostos quanto o grupamento alquila R era propil ou isopropil, assim como em relação à posição do substituinte R₁ no anel aromático. No entanto, dentre os 19 compostos testados, aqueles que apresentaram um percentual inibitório significativo, tem o seguinte ponto em comum, ou não possuem substituintes R₁ no anel aromático (dialquilfosforilidrazona 13), ou possuem substituintes que apresentam ação retiradora de elétrons do anel por ressonância, de fraca (dialquilfosforilidrazona 8) a moderada (dialquilfosforilidrazona 5). Os compostos 1 e 7, que possuem o substituinte NO₂ (forte retirador de elétrons do anel) em posição orto, apresentaram percentual de inibição de 19 e 14 % respectivamente. Já os compostos 3 e 9, que possuem o substituinte NO₂ em posição para, na concentração de 660 µM, não apresentaram qualquer efeito inibitório. Este resultado indica que as dialquilfosforilidrazonas que possuem substituintes que retiram fortemente elétrons do anel aromático por ressonância, apresentam fraca ação inibitória sobre a tirosinase. Em relação aos compostos que possuem substituintes R₁ doadores de elétrons para o anel aromático por ressonância, o comportamento foi diverso. Os compostos 14 e 15, que possuem o substituinte metoxi, respectivamente nas posições meta e para, e o composto 18, que possui o substituinte hidroxí em posição para, apresentaram fraca ação inibitória sobre a tirosinase. Já em relação às demais dialquilfosforilidrazonas com substituintes R₁ doadores de elétrons, não se chegou a uma posição conclusiva quanto à ação destes compostos sobre a enzima, se inibitória ou ativadora, no entanto, pode-se afirmar que eles “perturbam” o sistema formado pelo composto, a L-DOPA e a tirosinase.

4.4 Ensaios para avaliação da atividade toxicológica aguda, atividade farmacológica geral e ação antinociceptiva

Os testes para avaliação da atividade toxicológica aguda, atividade farmacológica geral e ação antinociceptiva foram realizados com os compostos 5, 8, 13 e 16. A exceção da avaliação da atividade antinociceptiva, todos os ensaios foram realizados com 3 ratos machos e 3 fêmeas. No teste da ação antinociceptiva, foram utilizados 6 ratos machos, pois o ciclo hormonal das fêmeas pode mascarar o resultado do ensaio.

Em todos os ensaios os compostos foram testados nas concentrações de 2, 20 e 100 mg/kg. A Tabela 29 apresenta, para cada composto, estas concentrações expressas em $\mu\text{mol/kg}$.

Tabela 29: Concentrações de teste em mg/kg e em $\mu\text{mol/kg}$.

Dose (mg/kg)/ Compostos	2	20	100
5	6,10 $\mu\text{mol/kg}$	60,98 $\mu\text{mol/kg}$	304,88 $\mu\text{mol/kg}$
8	6,08 $\mu\text{mol/kg}$	60,79 $\mu\text{mol/kg}$	303,95 $\mu\text{mol/kg}$
13	7,04 $\mu\text{mol/kg}$	70,42 $\mu\text{mol/kg}$	352,11 $\mu\text{mol/kg}$
16	6,12 $\mu\text{mol/kg}$	61,16 $\mu\text{mol/kg}$	305,81 $\mu\text{mol/kg}$

4.4.1 Atividade farmacológica geral e atividade toxicológica aguda

A avaliação da atividade farmacológica geral e da atividade toxicológica aguda visa avaliar, visualmente, os efeitos decorrentes da estimulação ou depressão do sistema nervoso central, sistema circulatório e sistema urinário dos ratos. Para todas as concentrações testadas (2, 20 e 100 mg/kg), não foram observados, durante os 7 dias de acompanhamento, efeitos estimulantes ou depressores agudos, não sendo verificados também sinais de toxidez aguda na faixa de doses utilizada. Os efeitos estimulantes esperados seriam, por exemplo, o aumento da mobilidade do animal, o eriçamento de pêlos e convulsões. Já dentre os efeitos característicos de depressão do sistema nervoso central, podem ser citadas a sonolência, a diminuição da mobilidade e a falta de coordenação motora.

Depois de completados os 7 dias, os animais foram sacrificados por inalação etérea, e a seguir necropsiados, não se observando alterações macroscópicas nos rins, fígado, coração, pulmões e baço. Estes resultados sugerem que a curto prazo, as dialquilfosforilidrazonas estudadas, não ocasionam qualquer toxidez ao organismo dos roedores, e ainda que a DL_{50} destes compostos é superior aos valores de dosagem estudados ($DL_{50} > 100 \text{ mg/kg}$).

4.4.2 Atividade antinociceptiva

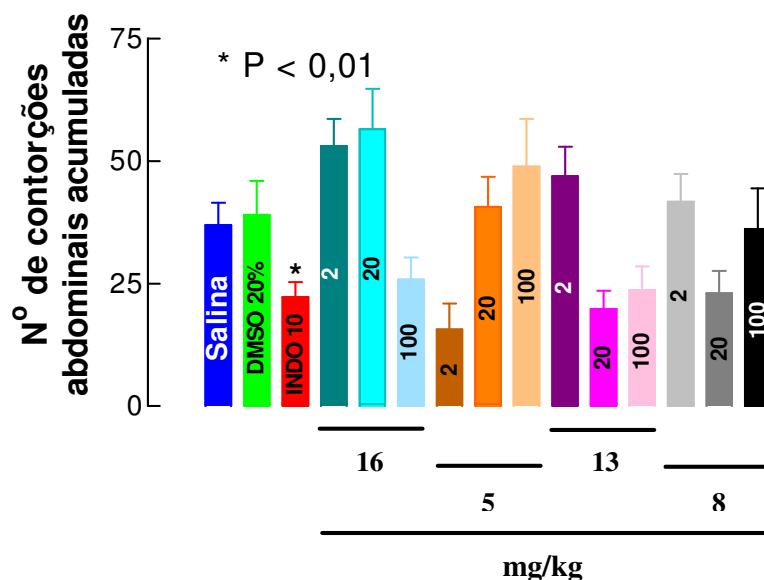
A avaliação da atividade antinociceptiva visa observar se os compostos testados possuem ação analgésica. No ensaio realizado, o número de contorções abdominais apresentadas pelos animais é contabilizado, após estes serem tratados inicialmente com os compostos de estudo, nas concentrações de 2, 20 e 100 mg/kg, seguido, após 60 min, de administração de ácido acético 1 %. Após 3 min, foram monitoradas as contorções abdominais apresentadas pelos animais durante 30 min. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 30.

Tabela 30: Contorções abdominais induzidas pelo ácido acético.*

N° de contorções abdominais acumuladas			
Dose (mg/kg)/ Compostos	2	20	100
5	15,67 ± 5,26	40,67 ± 6,13	48,83 ± 9,75
8	41,67 ± 5,67	23,00 ± 4,60	36,17 ± 8,25
13	46,83 ± 5,97	19,83 ± 3,65	23,67 ± 4,84
16	53,00 ± 5,59	56,50 ± 8,18	25,83 ± 4,45
N° de contorções abdominais acumuladas			
Solução salina	36,93 ± 4,53		
DMSO 20 %	39,00 ± 6,91		
N° de contorções abdominais acumuladas			
Composto referência	21,60 ± 2,63		
Indometacina 10 mg/kg	21,60 ± 2,63		

* Resultados expressos como média ± erro padrão da média.

A Figura 48 apresenta graficamente os resultados obtidos neste ensaio. Os números dentro de cada barra são as concentrações testadas dos compostos em mg/kg.

**Figura 48:** Contorções abdominais induzidas pelo ácido acético.

Com base nos dados da Tabela 30 e da Figura 48 observa-se que as dialquilfosforilidrazonas não apresentaram uma tendência uniforme de ação, ou seja, não ocorreu, a exceção do composto 5, uma relação clara entre o aumento da concentração do composto e o número de contorções apresentadas pelos animais. Se comparadas ao composto de referência (indometacina), as dialquilfosforilidrazonas estudadas não diminuíram a percepção da nocicepção (estímulo nocivo), não apresentando portanto, atividade antinociceptiva dentro da faixa de doses utilizada.

4.5 Ensaios para avaliação da atividade inseticida

A avaliação da atividade inseticida dos compostos sintetizados foi feita sobre a espécie de mosca denominada *Musca domestica*, popularmente conhecida como mosca doméstica. A *Musca domestica* é um inseto abundante, sendo o mais comum e mais familiar do mundo. Por viver habitualmente no domicílio e peridomicílio humano, esta mosca está em associação muito estreita com o homem, seu alimento, bebida e lixo (GEDEN *et al.*, 1990; IWASA *et al.*, 1999; ADEYEMI & DIPEOLU, 1984).

A *Musca domestica* pode ser responsável pela transmissão de uma variedade de doenças, uma vez que é um veículo de transporte de agentes como vírus, bactérias, protozoários e ovos de parasitos. Estes agentes são transportados pelas moscas em suas patas, pêlos, nas peças bucais, nas fezes, sendo também transmitidos através da regurgitação (JACKSON, 1989).

Em virtude dos malefícios causados pela espécie *Musca domestica* e com o objetivo de se continuar os trabalhos iniciados por DOS SANTOS em sua tese de doutorado (DOS SANTOS, 2003; DOS SANTOS, 2007), as dialquilfosforilidrazonas e as *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas sintetizadas neste trabalho, tiveram a atividade inseticida avaliada.

Os compostos foram testados em adultos de *Musca domestica* na concentração de 70 mg/mL, sendo acetona o solvente. Para cada composto foram feitas quatro repetições, utilizando-se 25 moscas em cada repetição, perfazendo o total de 100 moscas. Estas 100 moscas estavam divididas igualmente (50 %) entre machos e fêmeas. Em cada ensaio realizado, também foram utilizadas como controle amostras denominadas de branco, onde foi aplicado somente o solvente (acetona). Os ensaios com as amostras controle também foram realizados com 100 moscas, estando estas igualmente divididas em machos e fêmeas. Os ensaios na concentração de 70 mg/mL funcionariam como uma triagem dos compostos, visando identificar aqueles que possuiriam potencial atividade inseticida, para um posterior teste, em diferentes concentrações, com o objetivo de se determinar a DL₅₀. Contudo, nenhum dos compostos apresentou atividade significativa na concentração estudada, sinalizando a inatividade, quanto ao potencial inseticida, e conduzindo a não realização de testes adicionais.

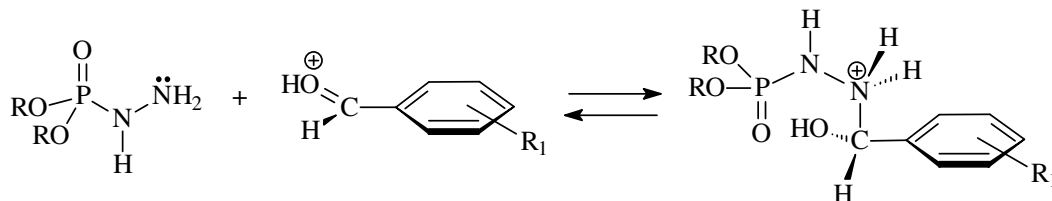
Como parâmetro de comparação, tem-se que a concentração de 70 mg/mL dos compostos testados, quando expressa em mol/L, varia na faixa de $1,2 \times 10^{-1}$ mol/L a $2,5 \times 10^{-1}$ mol/L. DOS SANTOS em sua tese de doutorado sintetizou bisfosforamidatos e bisfosforotioatos que, testados sobre *Musca domestica*, apresentaram DL₅₀ na faixa de $7,0 \times 10^{-4}$ mol/L a $4,7 \times 10^{-2}$ mol/L, assim como realizou os mesmos testes com o inseticida comercial crufomato, o qual apresentou DL₅₀ de $2,2 \times 10^{-3}$ mol/L (DOS SANTOS, 2003). Sendo assim, conclui-se que as dialquilfosforilidrazonas e as *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas sintetizadas neste trabalho, apresentam DL₅₀ muito elevada para serem consideradas como detentoras de atividade inseticida.

Os estudos de modelagem molecular (tópico 4.6.3) realizados com algumas das dialquilfosforilidrazonas sintetizadas, apontam para a ineficiência de compostos com esta estrutura em agirem como agentes inseticidas.

4.6 Estudos de modelagem molecular

4.6.1 Avaliação da viabilidade da reação e sua relação com o substituinte do anel R₁

A avaliação da viabilidade da síntese das dialquilfosforilidrazonas a partir da reação das dialquilfosforilidrazinas com aldeídos aromáticos, em meio ácido, foi realizada, através do modelo reacional apresentado no Esquema 25.



Esquema 25: Modelo utilizado no estudo de viabilidade reacional.

Este modelo considera como sendo a etapa lenta e portanto, a determinante da velocidade da reação, àquela em que a dialquilfosforilidrazina se adiciona à carbonila dos aldeídos aromáticos protonados. A entalpia de reação (ΔH_r) desta etapa da síntese foi calculada pelo método PM3. A Tabela 31 apresenta os valores de ΔH_r para as dialquilfosforilidrazonas que foram objeto deste estudo.

Tabela 31: Entalpia da etapa lenta da reação de formação das dialquilfosforilidrazonas.

Substituinte R ₁	ΔH_r (kcal/mol)	
	R = iPr	R = Pr
<i>m</i> -OCH ₃	-204,26	-206,21
<i>p</i> -OCH ₃	-197,86	-200,94
H	-202,34	-206,55
CH ₂ O ₂	-200,47	-203,75
<i>p</i> -CN	-204,63	-208,51
<i>p</i> -COOH	-202,79	-209,08
<i>o</i> -NO ₂	-204,94	-206,00
<i>m</i> -NO ₂	-207,49	-210,37
<i>p</i> -NO ₂	-209,55	-212,66

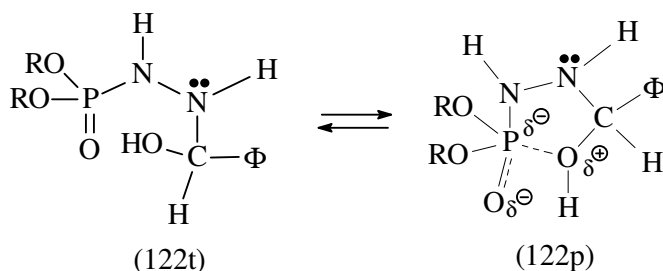
Os valores de ΔH_r apresentados na Tabela 31 mostram que a etapa de síntese estudada é um processo favorável, e que os substituintes retiradores de elétrons favorecem a reação se comparados aos substituintes doadores de elétrons, uma vez que a entalpia da reação quando R₁ é retirador de elétron é mais favorável. Este resultado está de acordo com o que foi observado experimentalmente, uma vez que a reação se processou em menor tempo com maiores rendimentos quando o substituinte R₁ é retirador de elétron.

Em relação ao grupamento alquila presente na cadeia do alcóxido das dialquilfosforilidrazonas (R = isopropil ou propil), os resultados deste estudo indicam que a etapa de síntese estudada é mais favorecida quando R = propil, possivelmente pelo menor congestionamento causado por esse grupo menor quando ocorre formação do produto desta etapa. No entanto, o resultado observado experimentalmente foi o

oposto, sendo a reação mais favorecida quando R = isopropil. Talvez esse resultado seja consequência de algum fator cinético e no modelo estudado apenas foi considerada a estabilidade relativa entre o produto e os reagentes.

4.6.2 Avaliação do mecanismo da reação

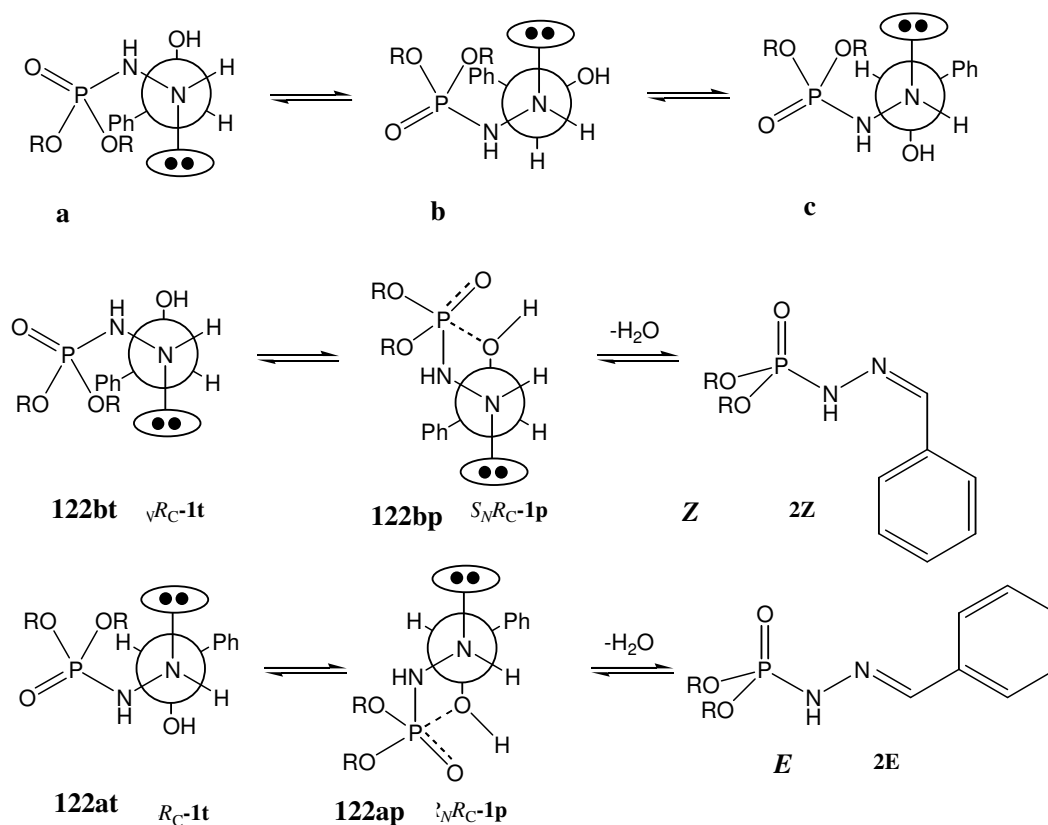
A avaliação do mecanismo de reação apresentado no Esquema 9 é baseada na ocorrência de coordenação intramolecular do átomo de fósforo (CARRÉ *et al.*, 1995). Para a reação de formação das dialquilfosforilidrazonas é proposto que o intermediário 122 exista como dois isômeros, sendo um com o átomo de fósforo na configuração tetracoordenada (122t) e o outro com o átomo de fósforo na configuração pentacoordenada (122p), conforme ilustra o Esquema 26.



Esquema 26: Configurações tetracoordenada e pentacoordenada do átomo de fósforo nas dialquilfosforilidrazonas.

Considerando-se que a etapa final na formação das dialquilfosforilidrazonas envolve a eliminação de uma molécula de água (**Esquema 9**), assumiu-se neste estudo um mecanismo E2 para a etapa de desidratação, a qual é favorecida quando o par de elétrons do átomo de nitrogênio e o grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono quiral estão em uma conformação anti-periplanar. Na temperatura ambiente ($\cong 25\text{ }^\circ\text{C}$), conforme apresenta o Esquema 27, a inversão piramidal do átomo de nitrogênio (estruturas a e b) deve ocorrer rapidamente, podendo se obter a conformação anti-periplanar para ambas as configurações do átomo de nitrogênio (estruturas a e c), através de uma simples rotação da ligação C-N. Estas duas conformações (estruturas a e c) produzirão dois produtos diastereoisoméricos (*Z* e *E*) após a etapa de desidratação.

O Esquema 27 apresenta a etapa de desidratação das configurações pentacoordenadas do átomo de fósforo (122ap e 122bp), com a consequente formação dos diastereoisômeros *E* e *Z*.



Esquema 27: Aspectos estereoquímicos considerados no estudo para avaliação do mecanismo de reação.

O estudo desenvolvido teve como base na avaliação dois parâmetros: a energia E envolvida na reação e o número de moléculas presentes na mistura reacional.

Considerando-se que as conformações apresentadas no Esquema 27 estão presentes em equilíbrio na mistura reacional, os resultados da Tabela 32 são relativos, ou seja, são referentes à comparação da energia relativa (expressa como ΔE) e do número relativo de moléculas da estrutura da rota de formação do diastereoisômero E , em relação à estrutura correspondente na rota de formação do diastereoisômero Z (expresso como a razão N_{ii}/N_i).

Tabela 32: Dados obtidos na avaliação das conformações presentes na mistura reacional.

Estrutura	ΔE (3-21G*/6-31+G*) ^a	N_{ii}/N_i ^b
122bt	0,0	-
122at	-0,0042359	89,1
122bp	0,0	-
122ap	-0,0051457	234
Z	0,0	-
E	-0,0054888	336

^a Em Hartree.

^b Número de moléculas do componente presente na mistura em relação ao componente anterior, a 25 °C.

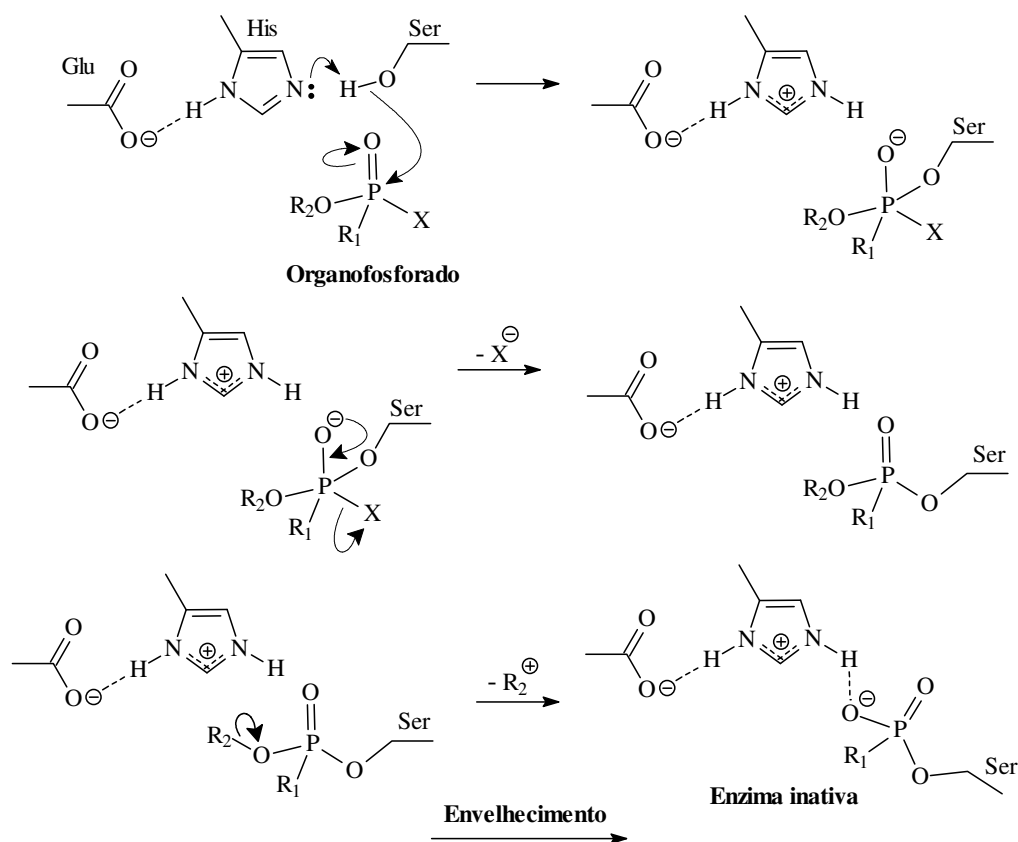
Com base nos dados da Tabela 32, observa-se que todos os valores de ΔE são negativos, o que significa que a formação das estruturas presentes na rota de formação do diastereoisômero *E* é preferencial em relação à estrutura correspondente na rota de formação do diastereoisômero *Z*, ou seja, a formação de **122at** é preferencial em relação à formação de **122bt**, assim como as formações de **122ap** e *E* são, respectivamente, preferenciais à formação de **122bp** e *Z*. O mesmo efeito é observado para a razão N_{ii}/N_i , que é sempre favorável (fração maior do que a unidade) na rota de formação do diastereoisômero *E*. Em relação aos valores de N_{ii}/N_i , também é importante observar que o número relativo de moléculas aumenta no sentido da formação de *E*, indicando o favorecimento da reação de formação da dialquilfosforilidrazona.

Todos os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com o que foi observado experimentalmente, ou seja, a formação preferencial do diastereoisômero *E* provavelmente se deve a uma entalpia mais favorável.

4.6.3 Avaliação da atividade inseticida

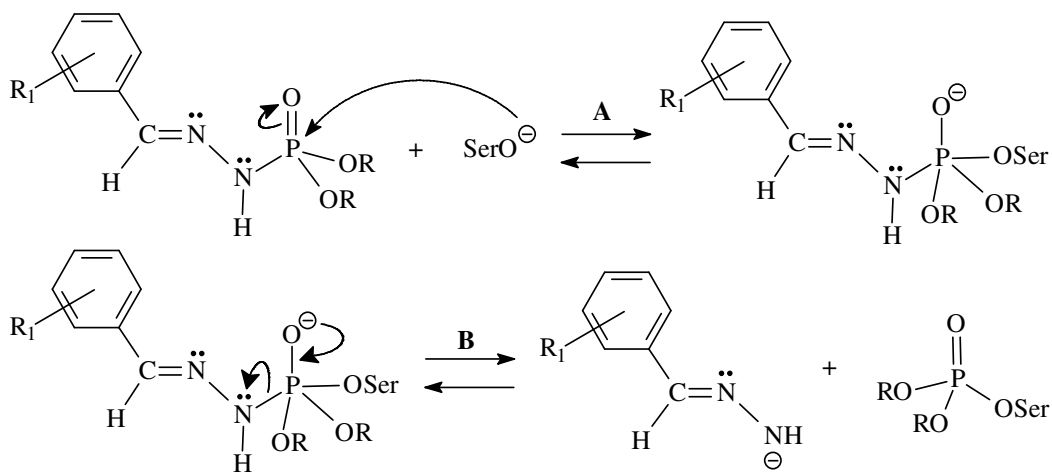
O estudo de modelagem molecular para a avaliação da atividade inseticida das dialquilfosforilidrazonas baseou-se no fato dos compostos organofosforados atuarem nos insetos no sentido de inibir irreversivelmente a enzima acetilcolinesterase (AChE). A AChE é responsável pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh), em colina e ácido acético, nas fibras colinérgicas do sistema nervoso. As fibras colinérgicas são responsáveis pela estimulação de vários órgãos do corpo e dos músculos voluntários, ocorrendo no sistema nervoso central e nos sistemas periféricos simpático e parassimpático. Neste tipo de fibra nervosa, a acetilcolina é responsável pela transmissão do impulso nervoso, através da sinapse, até receptores específicos. A terminação do impulso nervoso ocorre através da hidrólise da acetilcolina, realizada pela AChE. Desta forma, a inibição da AChE resulta no acúmulo de acetilcolina em todos os sítios de transmissão colinérgica, com conseguinte superestimulação das estruturas enervadas por aquelas fibras (KOROLKOVAS & BURCKHALTER, 1988; STORM *et al.*, 2000).

O mecanismo de inibição da enzima acetilcolinesterase pelos compostos organofosforados (Esquema 28), ocorre através da reação destes com um resíduo da serina da enzima, seguida da saída de um grupamento do organofosforado (grupo de saída), deixando a enzima com o resíduo da serina fosforilado. Na seqüência, pode ocorrer a etapa de envelhecimento, onde há a saída de um grupamento alquila, na forma de um carbocátion (convertido logo a um alceno, por exemplo), que leva à formação de uma ligação hidrogênio entre o oxigênio, agora com carga negativa, e o nitrogênio protonado do anel imidazol de um resíduo de histidina. Nesta condição, o resíduo de histidina não pode ser desprotonado pela ação de moléculas de água, bloqueando irreversivelmente o sítio ativo da enzima. Como resultado, tem-se o acúmulo de acetilcolina, causando a interrupção da atividade nervosa, com conseqüente perda de coordenação muscular, convulsões, podendo chegar à morte (KOROLKOVAS & BURCKHALTER, 1988; STORM *et al.*, 2000).



Esquema 28: Esquema geral de inibição da enzima acetilcolinesterase por organofosforados.

Neste trabalho, estudou-se o mecanismo de inibição da AChE pelas dialquilfosforilidrazonas sintetizadas, com base na reação apresentada no Esquema 29, onde foi utilizado um resíduo de serina desprotonado como um modelo simples para o sítio ativo enzimático. O objetivo do estudo através deste modelo é avaliar que fatores favorecem as etapas A e B, através do cálculo da entalpia de formação dos compostos formados.



Esquema 29: Etapas reacionais modeladas para a avaliação da ação das dialquilfosforilidrazonas sobre a AChE.

A Tabela 33 apresenta os resultados obtidos para a entalpia de reação (ΔH_r) das etapas A e B. Os resultados mostram que somente a etapa A é favorável, pois apresenta valores de ΔH_r negativos. Já a etapa B é entalpicamente desfavorável, uma vez que apresenta, para a maioria dos compostos estudados, valores de ΔH_r positivos. Este resultado indica que para as dialquilfosforilidrazonas sintetizadas neste trabalho, a interação com a AChE ocorre somente de forma reversível, não prosseguindo para a posterior etapa de envelhecimento (inibição irreversível). Estes resultados sugerem uma explicação para os obtidos em laboratório, uma vez que nenhuma das dialquilfosforilidrazonas apresentou atividade inseticida frente à espécie de mosca *Musca domestica*.

Tabela 33: Dados de entalpia de formação das reações modeladas para as dialquilfosforilidrazonas estudadas.

Substituinte R ₁	Etapa A	Etapa B
	ΔH_r (kcal/mol) R = iPr	ΔH_r (kcal/mol) R = iPr
<i>p</i> -OCH ₃	-25,79	6,64
H	-26,02	7,85
CH ₂ O ₂	-27,63	5,71
<i>p</i> -CN	-32,60	-3,42
<i>p</i> -COOH	-41,98	2,03
<i>p</i> -NO ₂	-38,33	-3,54

Com base nos valores de ΔH_r apresentados na Tabela 33, observa-se que, para ambas as etapas, a reação é mais favorável quando se tem substituintes R₁ retiradores de elétrons. Para o produto formado na etapa A, este efeito pode ser atribuído ao fato de que os substituintes retiradores de elétrons, se comparados aos doadores, diminuem a densidade eletrônica sobre o nitrogênio fosforamídico e, conseqüentemente, estabilizam por efeito indutivo e de campo, a carga negativa do oxigênio. Já na etapa B, o produto formado possui uma carga negativa livre sobre o átomo de nitrogênio, que é estabilizada, por ressonância, pela presença de substituintes retiradores de elétrons no anel aromático. A presença de substituintes R₁ doadores de elétrons não estabiliza esta carga negativa.

5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

As dialquilfosforilidrazonas foram obtidas com bons rendimentos, numa faixa que variou de 49 a 95 % na condição ótima de reação. É importante ressaltar que, nesta condição, 64 % das dialquilfosforilidrazonas foram sintetizadas com rendimento superior a 70 %. A síntese das dialquilfosforilidrazonas é favorecida quando se têm substituintes retiradores de elétrons no anel aromático. Esta afirmação é reforçada pelo estudo de modelagem molecular realizado, que indica uma entalpia de reação mais favorável quando estes substituintes estão presentes. Para a obtenção destes compostos com rendimentos superiores a 50 %, sendo o substituinte do anel aromático um grupo doador de elétrons, é necessária a realização da reação num tempo mínimo de 6 h.

A etapa de otimização do processo de síntese das dialquilfosforilidrazonas indicou que a rota que envolve inicialmente a formação das dialquilfosforilidrazinas, seguida da reação destas com os aldeídos aromáticos, é preferencial em relação à rota de síntese onde a primeira etapa é a reação dos aldeídos aromáticos com a hidrazina, seguida da reação das hidrazonas formadas com os fosfonatos de dialquila.

As *N,N'*-bis(diisobutilfosforiltioamida)diaminas, 23, 24 e 25, foram obtidas com baixos rendimentos, 18, 26 e 26 % respectivamente. A síntese destes compostos é extremamente complexa, principalmente na etapa de síntese do fosfoisotiocianatido de diisobutila, que é instável. Apesar das várias tentativas, os compostos com o esqueleto base *N,N'*-bis(diisopropilfosforiltioamida) diamina e *N,N'*-bis(dibutilfosforiltioamida)diamina não foram obtidos.

Os ensaios sobre a enzima tirosinase revelaram que os compostos 5, 8 e 13 têm um efeito inibitório superior ao ácido ascórbico, que foi o padrão utilizado neste trabalho. Os testes realizados também indicaram que os compostos 5, 8 e 13 interagem com a enzima tirosinase, sugerindo que os mecanismos de ação inibitória passam pela ligação com a enzima. Como um trabalho futuro é importante a realização de estudos de cinética, com o objetivo de se determinar o mecanismo de inibição dos compostos, e se este envolve uma inibição do tipo competitiva, não competitiva ou mista e ainda, se a inibição é ou não reversível.

Outro estudo que poderá vir a ser realizado é a avaliação do potencial inibitório sobre a enzima tirosinase de compostos do tipo dibutilfosforilidrazona e diisobutilfosforilidrazona. Uma vez que um dos mecanismos de inibição relatados na literatura é a interação hidrofóbica com a enzima, a presença de cadeias apolares nos compostos deve favorecer esta interação e promover a inibição.

O estudo para a avaliação da atividade inseticida contra a espécie *Musca domestica* demonstrou que nenhum dos compostos sintetizados neste trabalho possui ação inseticida. Segundo o estudo de modelagem molecular realizado com algumas das dialquilfosforilidrazonas sintetizadas, esta inatividade é devido, possivelmente, ao fato de que a interação destes compostos com a AChE ocorre somente de forma reversível, não prosseguindo a reação para a etapa de envelhecimento, que é irreversível.

A avaliação da atividade farmacológica geral e da atividade toxicológica aguda realizada com os compostos 5, 8, 13 e 16 revelou que, nas concentrações testadas, estes compostos não promovem efeitos estimulantes ou depressores agudos, assim como não foram evidenciados qualquer sinal de toxidez aguda. Estes resultados são satisfatórios, uma vez que indicam, preliminarmente, que estas dialquilfosforilidrazonas podem ser utilizadas em mamíferos sem causar malefícios ao sistema nervoso central. Em relação à atividade antinociceptiva, os ensaios realizados demonstraram que os compostos 5, 8, 13 e 16 não apresentam, na faixa de doses utilizada, ação analgésica em mamíferos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEYEMI, O.; DIPEOLU, O.O. The Numbers and Varieties of Bacteria Carried by Filth Flies in Sanitary and Unsanitary City Area. *International Journal of Zoonoses*. v. 11, n. 2, p. 195-203, 1984.
- AGRE, C.L.; STOUTLAND, O.; HELGEN, L. Reactions of Diamines with Isocyanates and Isothiocyanates. *Journal of Organic Chemistry*. v. 24, p. 818-820, 1959.
- AINSCOUGH, E.W.; BRODIE, A.M.; DOBBS, A.J.; RANFORD, J.D.; WATERS, J.M. Antitumour Copper (II) Salicylaldehyde Benzoylhydrazone (H₂sb) Complexes: Physicochemical Properties and the Single-Crystal X-Ray Structures of [Cu(H₂sb)(CCl₃CO₂)₂]₂] and [Cu(H₂sb)(ClO₄)(C₂H₅OH)]₂] and the Related Salicylaldehyde Acetylhydrazone (H₂sa) Complex, of [Cu(Hsa)Cl(H₂O)]. H₂O. *Inorganica Chimica Acta*. v. 267, p. 27-38, 1998.
- ALMENDRAL, F.C. Espectroscopia Ultravioleta Y Visible. *Alhambra S. A.* 1^a Ed. Versão Espanhola. 1970.
- ANDRAWIS, A.; KANH, V. Effect of Methimazole on the Activity of Mushroom Tyrosinase. *Biochemical Journal*. v. 235, p. 91-96, 1986.
- ATHERTOON, F.R.; OPENSHAW, H.T.; TODD, A.R. Studies on Phosphorilation.4. Further Studies on the Use of Dibenzyl Chlorophosphonate and the Examinations of Certain Alternative. *Journal of the Chemical Society*. p. 1106, 1948.
- BARREIRO, E.J.; GASTON, M.A.; DIAS, L.R.S.; FREITAS, A.C.C.; MIRANDA, A.L.P. Synthesis and Analgesic Properties of New 4-arylhydrazone 1-H pyrazole [3,4-b] pyridine Derivatives. *Pharm. Acta Helv.* v. 71, p. 213-219, 1996.
- BARREIRO, E.J.; MIRANDA, A.L.P.; LIMA, P.C.; LIMA, L.M.; da SILVA, K.C.M.; LÉDA, P.H.O.; FRAGA, C.A.M. Synthesis and Analgesic Activities of Novel N-Acylarylhydrazones and Isosters, Derived from Natural Safrole. *European Journal of Medicinal Chemistry*. v. 35, p. 187-203, 2000.
- BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M.; MIRANDA, A.L.P.; RODRIGUES, C.R. A Química Medicinal de N-Acilidrazonas: Novos Compostos-Protótipos de Fármacos Analgésicos, Antiinflamatórios e Anti-Trombóticos. *Química Nova*. v. 25, n. 1, p. 129-148, 2002.
- BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M.; ZAPATA-SUDO, G.; SILVA, A.G.; KUMMERLE, A.E.; SUDO, R.T. Synthesis and Vasodilatory Activity of New N-acylhydrazone Derivatives, Designed as LASSBio-294 Analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. v. 13, p. 3431-3437, 2005.
- BLAIR, H.C.; CARANO, A.; TEITELBAUM, S.L.; KONSEK, J.D.; SCHLESINGER, P.H. Bisphosphonates Directly Inhibit the Bone Resorption Activity of Isolated Avian Osteoclasts in Vitro. *Journal of Clinical Investigation*. v. 85, p. 456-461, 1990.
- CADOGAN, J. I. G., Organophosphorus Reagentes 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.
- CARRÉ, F.; CORRIU, R.J.P.; CHUIT, C.; MONFORTE, P.; NAYYAR, N.K.; REYÉ, C. Intramolecular Coordination at Phosphorus: donor-acceptor interaction in three- and four-coordinated phosphorus compounds. *Journal of Organometallic Chemistry.* v. 499, p. 147-154, 1995.
- CHEN, Q.-X.; SONG, K-K.; WANG, Q.; QIU, L.; HUANG, H. Inhibitory Effects on Mushroom Tyrosinase by some Alkylbenzaldehydes. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry.* v. 18, n. 6, p. 491-496, 2003.
- CHEN, Q.-X.; SONG, K-K.; CHEN, Q.; QIU, L.; HUANG, H. Inhibitory Effect of 4-cyanobenzaldehyde and 4-cyanobenzoic acid on Mushroom (*Agaricus bisporus*) Tyrosinase. *Journal of Protein Chemistry.* v. 22, n. 7/8, p. 607-612, 2003.
- CHEN, Q.-X.; KE, L-N.; SONG, K-K.; HUANG, H.; LIU, X-D. Inhibitory Effects of Hexylresorcinol and Dodecylresorcinol on Mushroom (*Agaricus bisporus*) Tyrosinase. *The Protein Journal.* v. 23, n. 2, p. 135-141, 2004.
- CHEN, Q.-X.; SONG, K-K.; WANG, Q.; QIU, L.; SHI, Y.; GUO, H-Y. Inhibitory Effects of 4-Halobenzoic Acids on the Diphenolase and Monophenolase Activity of Mushroom Tyrosinase. *The Protein Journal.* v. 23, n. 5, p. 303-308, 2004.
- CHEN, Q.-X.; SONG, K-K.; WANG, Q.; QIU, L.; HUANG, H. Inhibitory Effects of 4-vinylbenzaldehyde and 4-vinylbenzoic acid on the Activity of Mushroom Tyrosinase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry.* v. 20, n. 3, p. 239-243, 2005.
- CIL (*Cambridge Isotope Laboratories*) NMR Solvent DATA CHART.
- 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.
- COSTA, P.; PILLI, R.; PINHEIRO, S.; VASCONCELLOS. Substâncias Carbonilados e Derivados. *Armed Editora S A Subdivisão Bookman Companhia Editora.* Série Química Orgânica. 2003.
- DaCOSTA, J.B.N.; RODRIGUES, J.M.; DONNICI, C.L.; SANTOS dos, V.M.R. Compostos Organofosforados Pentavalentes: Histórico, Métodos Sintéticos de Preparação e Aplicações como Inseticidas e Agentes Antitumorais. *Química Nova.* v. 30, n. 1, p. 159-170, 2007.
- 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, 1997.
- DA SILVA, D.R. Estudo Teórico da Síntese de Novos Fosforamidatos e Avaliação do seu Perfil Inibitório Relativo como Inibidores Propostos da Enzima Acetilcolinaesterase. Monografia. UFRRJ, 2007.

- DAVID, W.W.; DIETER, W.E.; MARTHA, W. Phosphorus Containing Derivatives of Urea and Thiourea. *Patent Rohm & Haas*, n. DE2728321, 1978.
- DE CLERCQ, E. New Developments in Anti-HIV Chemotherapy. *Current Medicinal Chemistry*. v. 8, p. 1543-1572, 2001.
- DOS SANTOS, V.M.R. Tese de Doutorado. UFRRJ, 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.
- ESPÍN, J.C.; WICHERS, H.J. Effect of Captropil on Mushroom Tyrosinase Acitivity in Vitro. *Biochimica et Biophysica Acta*. v. 1544, p. 289-300, 2001.
- FEST, C.; SCHMIDT, K.J. *The Chemistry of Organophosphorus Pesticides*. New York. 1973.
- FRIEDMAN, M. Food Browning and Its Prevention: An Overview. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 44, n. 3, p. 631-653, 1996.
- GARCÍA-CARMONA, F.; SÁNCHEZ-FERRER, A.; RODRÍGUEZ-LÓPEZ, J.N.; GARCÍA-CANOVAS, F. Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta*. v. 1247, p. 1-11, 1995.
- GARCÍA-CARMONA, F.; JÍMENEZ, M.; CHAZARRA, S.; ESCRIBANO, J.; CABANES, J. Competitive Inhibition of Mushroom Tyrosinase by 4-substituted Benzaldehydes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 49, p. 4060-4063, 2001.
- GEDEN, C.J.; STEINKARAUS, D.C.; LONG, S.J.; RUTZ, D.A.; SHOOP, W.L. Susceptibility of Insecticide – Susceptibility and Wild House Flies (Diptera muscidae) to Abamectin on Whitewashed and Unpaint Wood. *Journal of Economic Entomology*. v. 83, p. 1935-1939, 1990.
- GESSION, J.P.; PAPOT, S.; TRANOY, I.; TILLEQUIN, F.; FLORENT, J.C. Design of Selectivity Activated Anticancer Prodrugs: Elimination and Cyclization Strategies. *Current Medicinal Chemistry – Anti-Cancer Agents*. v. 2, p. 155-185, 2002.
- 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.
- HALLER, H.; MAASCH, C.; DRAGUN, D.; WELLNER, M.; von JANTA-LIPINSKI, M.; LUFT, F.C. Antisense Oligodesoxynucleotide Strategies in Renal and Cardiovascular Disease. *Kidney International*. v. 53, p. 1550-1558, 1998.
- HAN, H.; JANDA, K.D. Azatides: Solution and Liquid Phase Synthesis of a New Peptidomimetic. *J. Am. Chem. Soc.* v. 118, p. 2539-2544, 1996.
- <http://www.rsc.org/Education/EiC/issues/2005July/painrelief.asp>. Site da Royal Society of Chemistry, pesquisa realizada em 16/01/2007.
- HUSZTI, Z.; SZILÁGYI, G.; KASZTREINER, E. Tyrosine Hydroxylase and Dopamine β -Hydroxylase Inhibiting Properties of a New Series of Pyridazinyl Hydrazones. *Biochemical Pharmacology*. v. 32, n. 4, p. 627-636, 1983.

- 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.
- IRIBARREN, A.M.; MONTSERRAT, J.M.; GALLO, M. Design and Applications of Modified Oligonucleotides. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. v. 36, p. 143-151, 2003.
- IWASA, M.; MAKINO, S.; ASAKORA, H.; KOBORI, H.; MORIMOTO, Y. Detection of *Scherichia coli* O157:H7 from *Musca domestica* (Diptera muscidae) at a Cattle Farm in Japan. *Journal of Medical Entomology*. v. 36, n. 1, p. 108-112, 1999.
- JACKSON, H. Ivermectin as a Systemic Insecticide. *Parasitology Today*. v. 5, p. 146-155, 1989.
- KAFARSKI, P.; MAKOWIECKA, E.; LEJCZAK, B. Phosphonic Analogues of Tyrosine and 3,4-Dihydroxyphenylalanine (dopa) Influence Mushroom Tyrosinase Activity. *Biochemistry Journal*. v. 242, p. 81-88, 1987.
- KENER, G.W.; TODD, A.R.; WEY MOUTH, F.J. Nucleotides.16.ribonucleosides-5'phosphites- A New Method for the Preparation on Mixed Secondary Phosphites. *Journal of the Chemical Society*. p. 3669, 1952.
- KIRK-OTHMER. *Encyclopedia of Chemical Tecnology*. 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.
- KITAEV, Yu.P.; BUZYKIN, B.I.; TROEPOL'SKAYA, T.V. The Structure of Hydrazones. *Russian Chemical Reviews*. v. 39, n. 6, p. 441-456, 1970.
- KONDO, R.; SHIMIZU, K.; SAKAI, K. Inhibition of Tyrosinase by Flavonoids, Stilbenes, and Related 4-Substituted Resorcinols: Structure-Activity Investigations. *Planta Medica*. v. 66, p. 11-15, 2000.
- KOROKOLVAS, A.; BURCKHALTER, J.H. *Química Farmacêutica*. Guanabara Koogan S.A. Capítulo 15, p. 290-301, 1ª Edição, 1988.
- KOSALOPPOFF, G.M.; MAIER, L. *Organic Phosphorus Compounds*. Wiley – Interscience, N.Y. v. 5, 1973.
- KUBO, I.; KINST-HORI, I. Tyrosinase Inhibitors from Anise Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 46, p. 1268-1271, 1998.
- KUBO, I.; KINST-HORI, I. Tyrosinase Inhibitors from Cumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 46, p. 5338-5341, 1998.
- KUBO, I.; KINST-HORI, I. Flavonols from Saffron Flower: Tyrosinase Inhibitory Activity and Inhibition Mechanism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 47, p. 4121-4125, 1999.
- KUBO, I.; KINST-HORI, I. Tyrosinase Inhibitory Activity of the Olive Oil Flavor Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 47, p. 4574-4578, 1999.
- KUBO, I.; KINST-HORI, I.; CHAUDHURI, S.K.; KUBO, Y.; SÁNCHEZ, Y.; OGURA, T. Flavonols from *Heterotheca inuloides*: Tyrosinase Inhibitory Activity and Structural Criteria. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. v. 8, p. 1749-1755, 2000.

- KUBO, I.; KINST-HORI, I.; KUBO, Y.; YAMAGIWA, Y.; KAMIKAWA, T.; HARAGUCHI, H. Molecular Design of Antibrowning Agents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 48, p. 1393-1399, 2000.
- KUBO, I.; CHEN, Q-X.; NIHEI, K-i. Molecular Design of Antibrowning Agents: Antioxidative Tyrosinase Inhibitors. *Food Chemistry*. v. 81, p. 241-247, 2003.
- KUBO, I.; NIHEI, K.; YAMAGIWA, Y.; KAMIKAWA, T. 2-Hydroxy-4-isopropylbenzaldehyde, a Potent Partial Tyrosinase Inhibitor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. v. 14, p. 681-683, 2004.
- KUBO, I.; HA, T.J.; TAMURA, S. Effects of Mushroom Tyrosinase on Anisaldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 53, p. 7024-7028, 2005.
- KULKA, M. Dialkyl phosphoroisothiocyanatidates. *Canadian Journal of Chemistry*. v. 37, p. 525-528, 1959.
- 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.
- LEE, H-S. Tyrosinase Inhibitors of *Pulsatilla cernua* Root-Derived Materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 50, p. 1400-1403, 2002.
- MARSHALL, M.J.; HOLT, I.; DAVIE, M.W.J. Osteoclast Recruitment in Mice is Stimulated by (3-Amino-1-Hydroxypropylidene)-1,1-Bisphosphonate. *Calcified Tissue International*. v. 52, p. 21-25, 1993.
- MASON, H.S. *Annu. Rev. Biochem.* v. 34, p. 595-634, 1965.
- MC COMBIE, H.; SAUNDERS, B.C.; SHKEY, G.J. Esters Containing Phosphorus *Journal of American Chemical Society*. p. 380, 1945.
- 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.
- MICHELSON, A. M. The Chemistry of Nucleosides and Nucleotides. *Academic Press*. 1963.
- NEUHAUS, D.; WILLIAMSON, M.P. The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis. *VHC Publishers*. New York. 1989.
- NUGENT, R.A.; SCHLACHTER, S.T.; MURPHY, M.; DUNN, C.J.; SMITH, R.J.; STAITE, N.D.; GALINET, L.A.; SHIELDS, S.K.; ASPAR, D.G.; RICHARD, K.A.; ROHLOFF, N.A. Pyrazoline Bisphosphonate Esters as Novel Antiinflammatory and Antiarthritic Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*. v. 36, p. 134-139, 1993.
- NUGENT, R.A.; SCHLACHTER, S.T.; MURPHY, M.; DUNN, C.J.; STAITE, N.D.; GALINET, L.A.; SHIELDS, S.K.; WU, H.; ASPAR, D.G.; RICHARD, K.A. Carbonyl-Containing Bisphosphonate Esters as Novel Antiinflammatory and Antiarthritic Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*. v. 37, p. 4449-4454, 1994.

- ONNIS, V.; COCCO, M.T.; CONGIU, C.; LILLIU, V. Synthesis and in Vitro Antitumoral Activity of New Hydrazinopyrimidine-5-Carbonitrile Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. v. 14, p. 366-372, 2006.
- OSBORN, H.M.I.; JORDAN, A.M.; KHAN, T.H.; PHOTIOU, A.; RILEY, P.A. Melanocyte-Directed Enzyme Prodrug Therapy (MDEPT): Development of a Targeted Treatment for Malignant Melanoma. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. v. 7, p. 1775-1780, 1999.
- OSBORN, H.M.I.; JORDAN, A.M.; KHAN, T.H.; PHOTIOU, A.; RILEY, P.A.; MALKIN, H. Melanocyte-Directed Enzyme Prodrug Therapy (MDEPT): Development of Second Generation Prodrugs for Targeted Treatment of Malignant Melanoma. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. v. 9, p. 1549-1558, 2001.
- PÉRIGAUD, C.; EGRON, D.; IMBACH, J-L.; GOSSELIN, G.; AUBERTIN, A-M. S-Acyl-2-thioethyl Phosphoramidate Diester Derivatives as Mononucleotide Prodrugs. *Journal of Medicinal Chemistry*. v. 46, p. 4564-4571, 2003.
- PORTER, D.G. Ethical Scores for Animal Experiments. v. 356, p. 101, 1992.
- RAMESH, A.; SRIDHAR, S.K.; SARAVANAN, M. Synthesis and Antibacterial Screening of Hydrazones, Schiff and Mannich Bases of Isatin Derivatives. *European Journal Medicinal Chemistry*. v. 36, p. 615-625, 2001.
- RAMESH, A.; SRIDHAR, S.K.; PANDEYA, S.N.; STABLES, J.P. Anticonvulsant Activity of Hydrazones, Schiff and Manich Bases of Isatin Derivatives. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 16, p. 129-132, 2002.
- RAPER, H.S. *Physiol. Rev.* v. 8, p. 245-282, 1928.
- RÄSÄNEN, J.P.; POHJALA, E.; NIKANDER, H.; PAKKANEN, T.A. *Ab Initio* Studies on Organophosphorus Compounds. 6.¹⁻⁵ Interactions of Dimethylphosphinic and Dimethylphosphinothioic Acid Monoanions and Methylenebisphosphonic Acid Dianion with Calcium. *Journal Physical Chemistry A*. v. 101, p. 5196-5204, 1997.
- RODRIGUES, J.M.; DaCOSTA, J.B.N. Synthesis and Characterization of New Symmetrical Bisphosphonates. *Phosphorus Sulfur and Silicon and the Related Elements*. v. 177, p. 137-149, 2002.
- 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.
- RUSSELL, R.G.G.; ROGERS, M.J. Introduction to Bisphosphonates and the Clinical Pharmacology of Alendronate. *British Journal of Rheumatology*. v. 36, n. 1, p. 10-14, 1997.
- SHIINO, M.; WATANABE, Y.; UMEZAWA, K. Synthesis of *N*-substituted *N*-nitrosohydroxylamines as Inhibitors of Mushroom Tyrosinase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. v. 9, p. 1233-1240, 2001.
- SKORSKI, T.; PERROTTI, D.; NIEBOROWSKA-SKORSKA, M.; GRYAZNOV, S.; CALABRETTA, B. Antileukemia effect of *c-myc* N3'→P5' Phosphoramidate Antisense Oligonucleotides *in vivo*. *Medical Sciences*. v. 94, p. 3966-3971, 1997.
- SOLOMONS, T.W.G.; FRYHLE, C.B. Organic Chemistry. *John Wiley & Sons, Inc.* USA. 7th Ed., 2000.
- SOUZA, M.C. Tese de Doutorado. IME. 1995.

- STEWART, J.J.P. Optimization of parameters for semi-empirical methods. I. Method. *J Comput Chem.* v. 10, p. 209-220, 1989-a.
- STEWART, J.J.P. Optimization of parameters for semi-empirical methods. II. Application. *J Comput Chem.* v. 10, p. 221-264, 1989-a.
- STORM, J.E.; ROZMAN, K.K.; DOULL, J. Occupational Exposure Limits for 30 Organophosphate Pesticides Based on Inhibition of Red Blood Cell Acetylcholinesterase. *Toxicology.* v. 150, p. 1-29, 2000.
- SUGUMARAN, M. Molecular Mechanisms for Mammalian Melanogenesis. *Federation of European Biochemical Societies Letters – FEBS Letters.* v. 293, n. 1/2, p. 4-10, 1991.
- TAKEKOSHI, S.; KANEHIRA, T.; NAGATA, H.; OSAMURA, R.Y.; HOMMA, T. Kinobeaon A as a Potent Tyrosinase Inhibitor from Cell Culture of Safflower: In vitro Comparisons of Kinobeaon A with Other Putative Inhibitor. *Planta Medica.* v. 69, p. 457-459, 2003.
- 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., Phosphorus Chemistry in Everyday Living. *Am. Chem. Soc. USA.* 2nd Ed., p.154-155, 1977.
- TREVISAN, M.T.S.; MACEDO, F.V.V.; van de MEENT, M.; RHEE, I.K.; VERPOORTE, R. Seleção de Plantas com Atividade Anticolinesterase para Tratamento da Doença de Alzheimer. *Química Nova.* v. 26, n. 3, 2003.
- TSVETKOV, E.N.; BEZOSKO, B.K.; NEGANOVA, E.G.; SYUNDYUKOVA, V.Kh. Organophosphorus Compounds with Anti-Inflammatory and Analgesic Activity (Review). *Pharmaceutical Chemistry Journal.* v. 26, n. 7/8, p. 565-575, 1992.
- UCKUN, F.M.; QAZI, S.; SAMUEL, P.; VENKATACHALAM, T.K. Effect of Change in Nucleoside Structure on the Activation and Antiviral Activity of Phosphoramidate Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* v. 13, p. 5408-5423, 2005.
- UYAMA, H.; KIM, Y.J. Tyrosinase Inhibitors from Natural and Synthetic Sources: Structure, Inhibition Mechanism and Perspective for the Future. *CMLS Cellular and Molecular Life Sciences.* v. 62, p. 1707-1723, 2005.
- VRANA, K.E.; XU, Y.; STOKES, A.H.; FREEMAN, W.M.; KUMER, S.C.; VOGT, B.A. Tyrosinase mRNA is Expressed in Human Substantia Nigra. *Molecular Brain Research.* v. 45, p. 159-162, 1997.
- WALSH, N.E.; GRIFFITH, E.J.; PARRY, R.W.; QUIN, L.D. Phosphorus Chemistry. *American Chemical Society.* Washington DC. 1992.
- WALTERS, P.; STAHL, M. University of Arizona, Arizona, USA, 1996.

- WATSON, J.T. Introduction to Mass Spectrometry. *Lippincott-Raven*. New York. 3^a Edição. 1997.
- WINDER, A.J.; HARRIS, H. New Assays for the Tyrosinase Hydroxylase and Dopa Oxidase Activities of Tyrosinase. *European Journal of Biochemistry*. v. 198, p. 317-326, 1991.
- WOJTASEK, H.; GASOWSKA, B.; HUREK, J.; DRAG, M.; NOWAK, K.; KAFARSKI, P. Redox Reaction between amino-(3,4-dihydroxyphenyl)methyl phosphonic acid and Dopaoquinone is Responsible for the Apparent Inhibitory Effect on Tyrosinase. *European Journal Biochemistry*. v. 269, p. 4098-4104, 2002.
- WORTSMAN, J.; SLOMINSKI, A.; TOBIN, D.J.; SHIBAHARA, S. Melanina Pigmentation in Mammalian Skin and Its Hormonal Regulation. *Physiol. Rev.* v. 84, p. 1155-1228, 2004.
- YAMANAKA, S.; HASHIMOTO, M.; TOBE, M.; KOBAYASHI, K.; SEKIZAWA, J.; NISHIMURA, M. *Arch. Toxicol.* v. 64, p. 262, 1990.
- Yu, L. Inhibitory Effects of (S)- and (R)-6-Hydroxi-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic Acids on Tyrosinase Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 51, p. 2344-2347, 2003.
- YUDELEVICH, V.I.; KOMAROV, E.V.; IONIN, B.I. Organophosphorus Drugs. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. v. 19, n. 6, p. 382-397, 1986.
- ZAHED, L.; ZAHREDDINE, H.; NOUREDDINE, B.; REBEIZ, N.; SHAKAR, N.; ZALLOUA, P.; HADDAD, F. Molecular Basis of Oculocutaneous Albinism Type 1 in Lebanese Patients. *J. Hum. Gen.* v. 50, p. 317-319, 2005.
- ZELNIN, K.N.; KHORSEEVA, 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.
- ZIMMERMANN, M. *Pain*. v. 16, p. 109, 1983.
- ZIMMERMANN, M. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* v. 554, p. 221, 1986.

ANEXOS

Anexo A: Espectros de infravermelho, RMN de ^1H , RMN de ^{13}C , RMN de ^{31}P , HETCOSY e espectrometria de massas.

Anexo B: Dados de absorvância dos ensaios com a tirosinase.

ANEXO A

Espectros de infravermelho, RMN de ^1H , RMN de ^{13}C , RMN de ^{31}P , HETCOSY e espectrometria de massas.

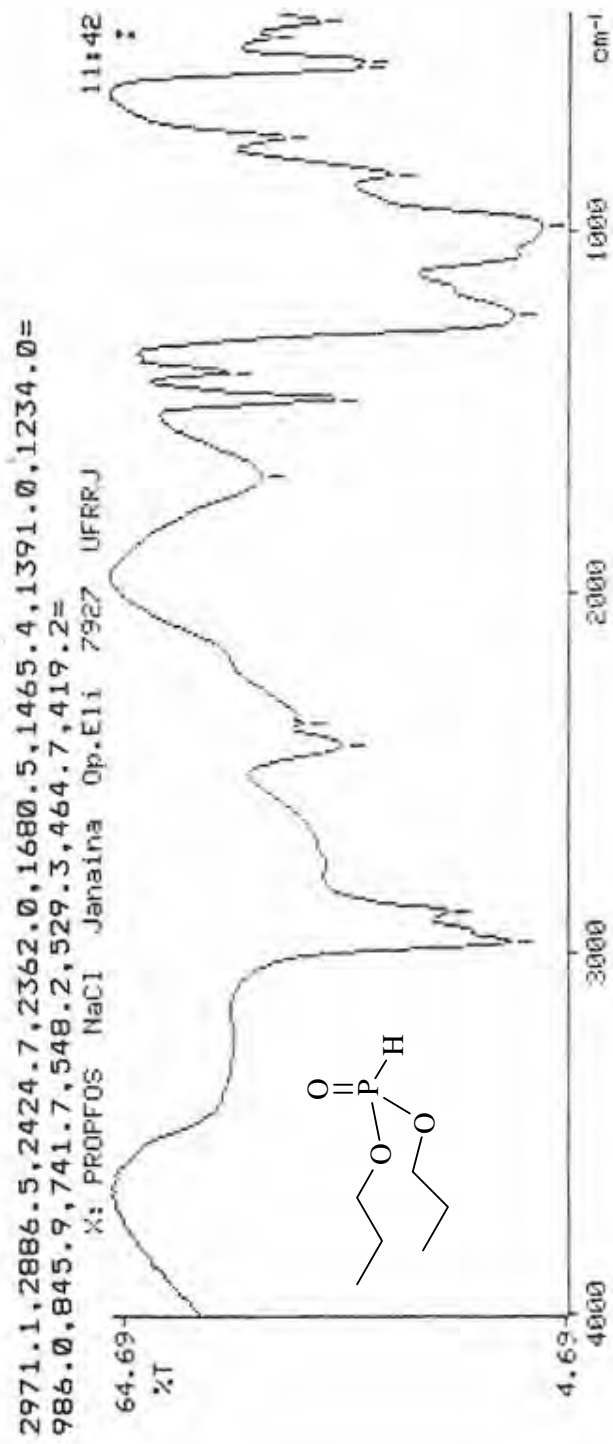


Figura 49: Espectro de IV do fosfonato de dipropila (composto 113).

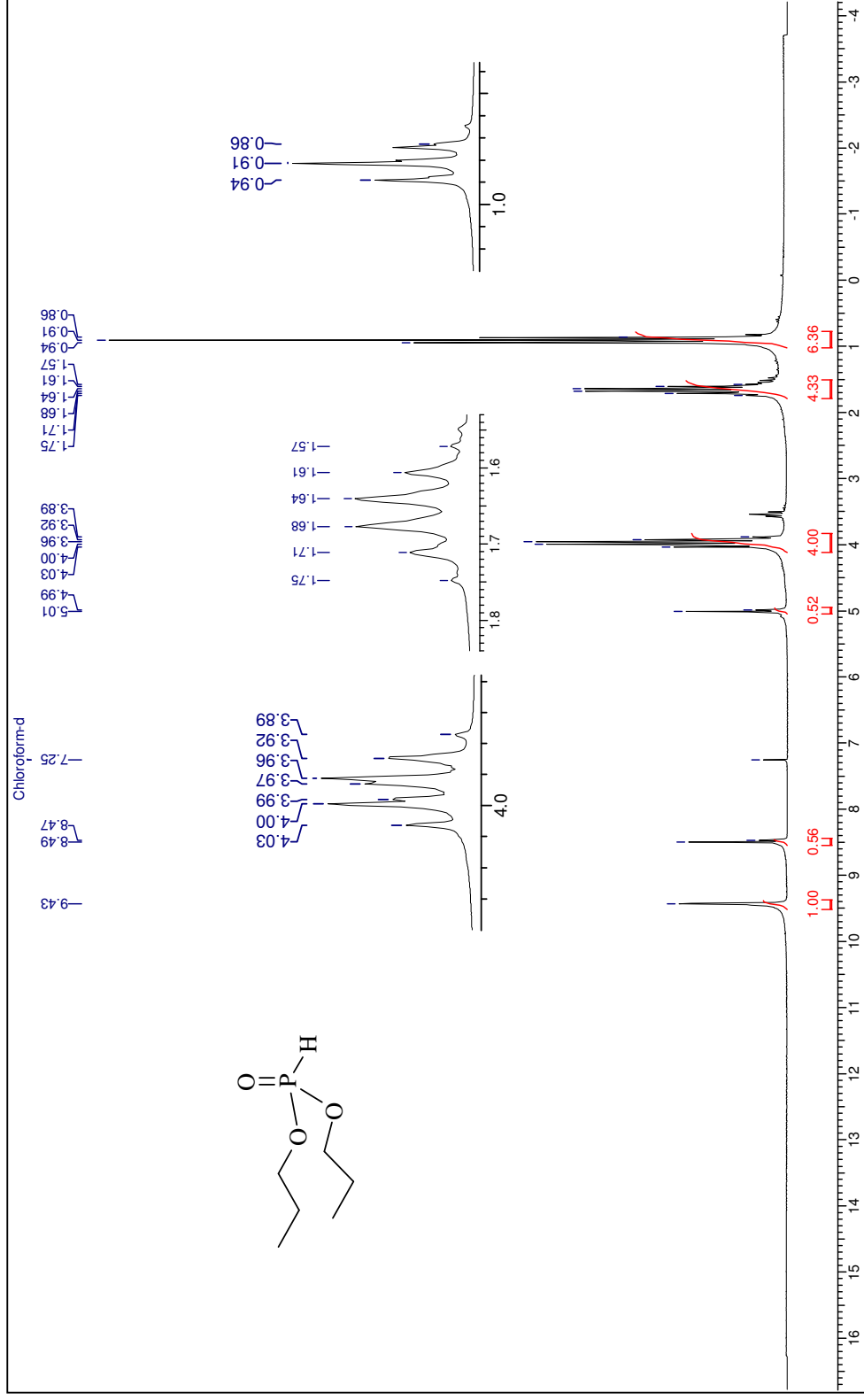


Figura 50: Espectro de RMN de ^1H do fosfonato de dipropila (composto 113).

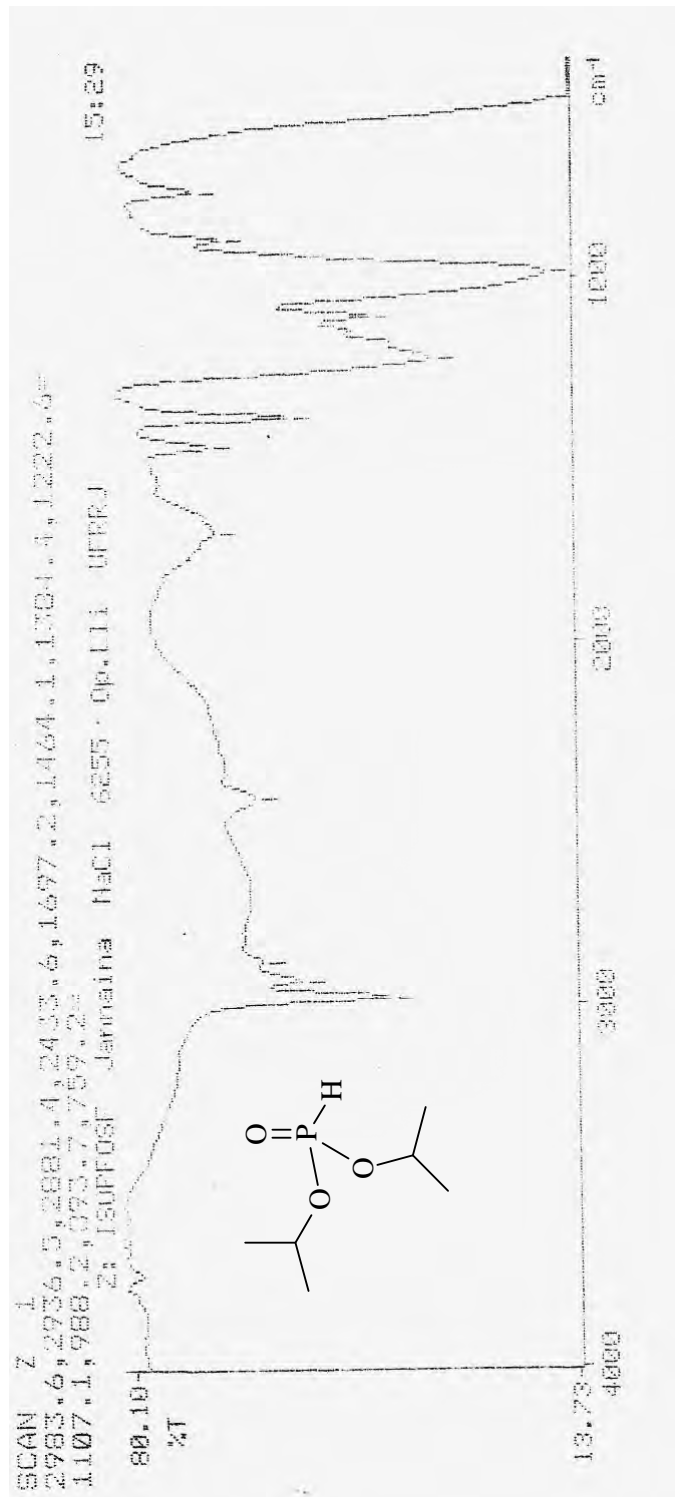


Figura 51: Espectro de IV do fosfonato de diisopropila (composto 114).

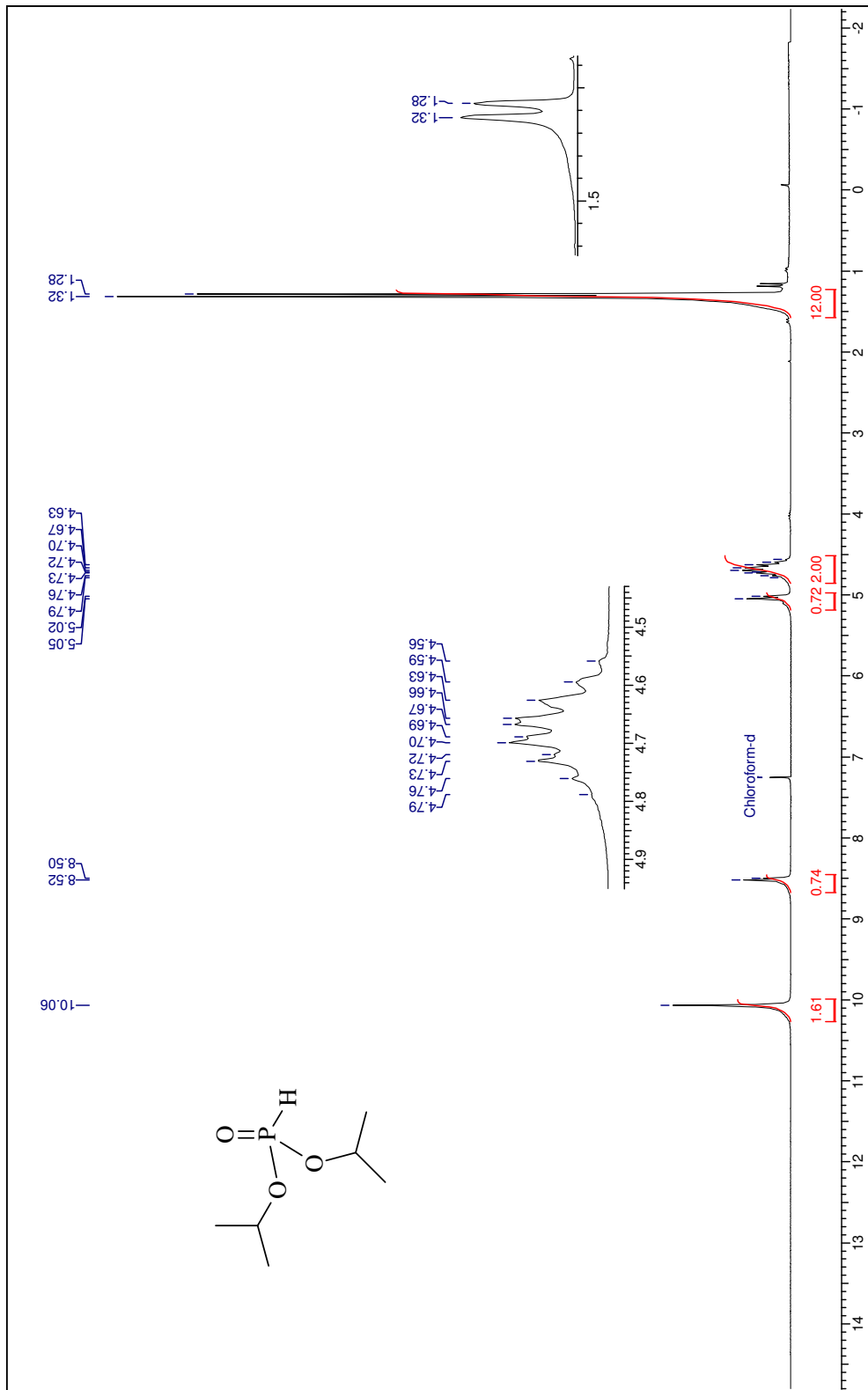


Figura 52: Espectro de RMN de ¹H do fosfonato de diisopropila (composto 114).

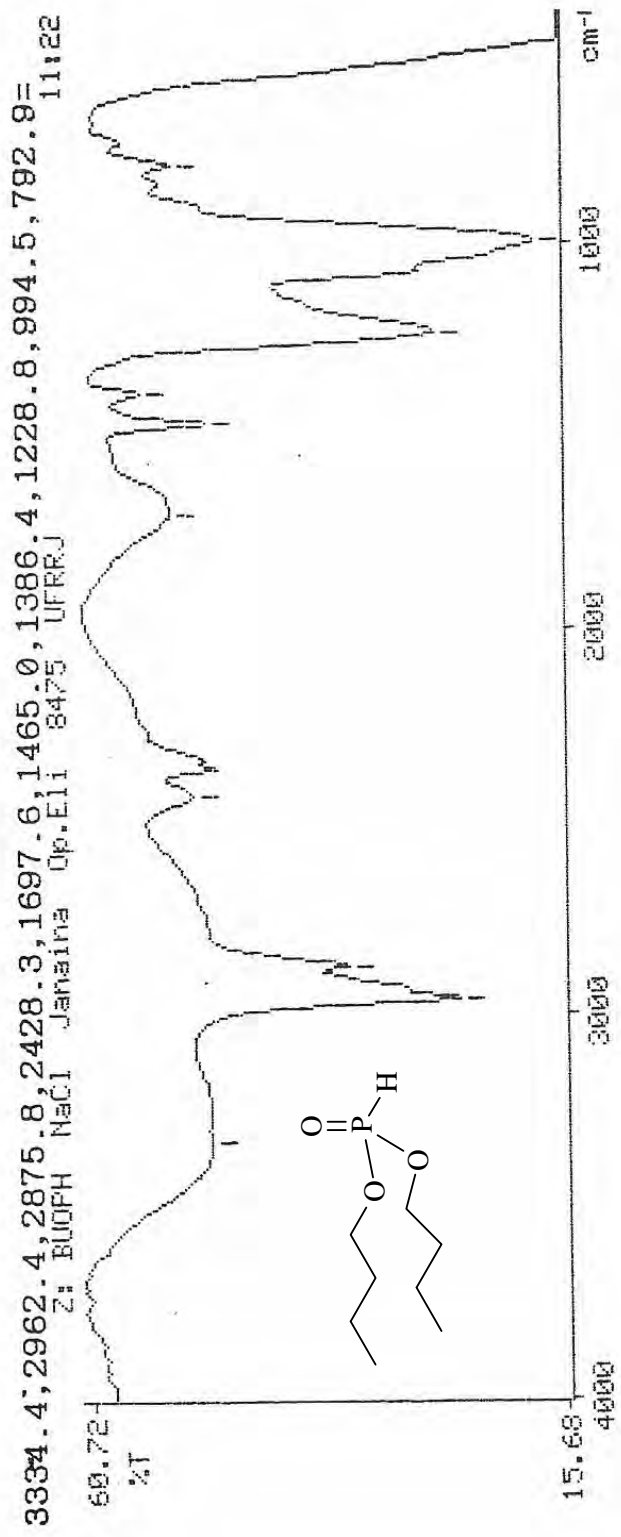


Figura 53: Espectro de IV do fosfonato de dibutila (composto 115).

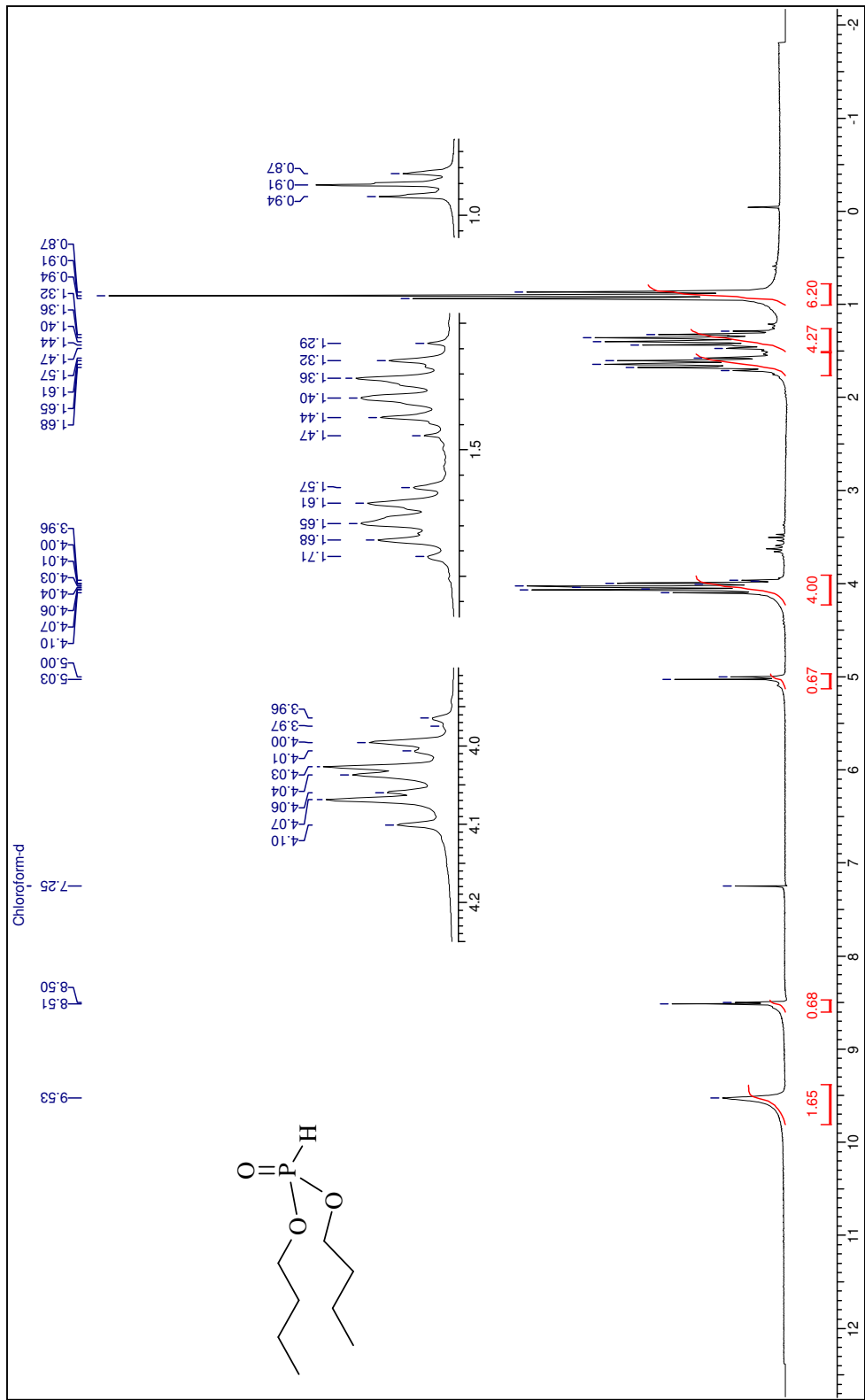


Figura 54: Espectro de RMN de ¹H do fosfonato de dibutila (composto 115).

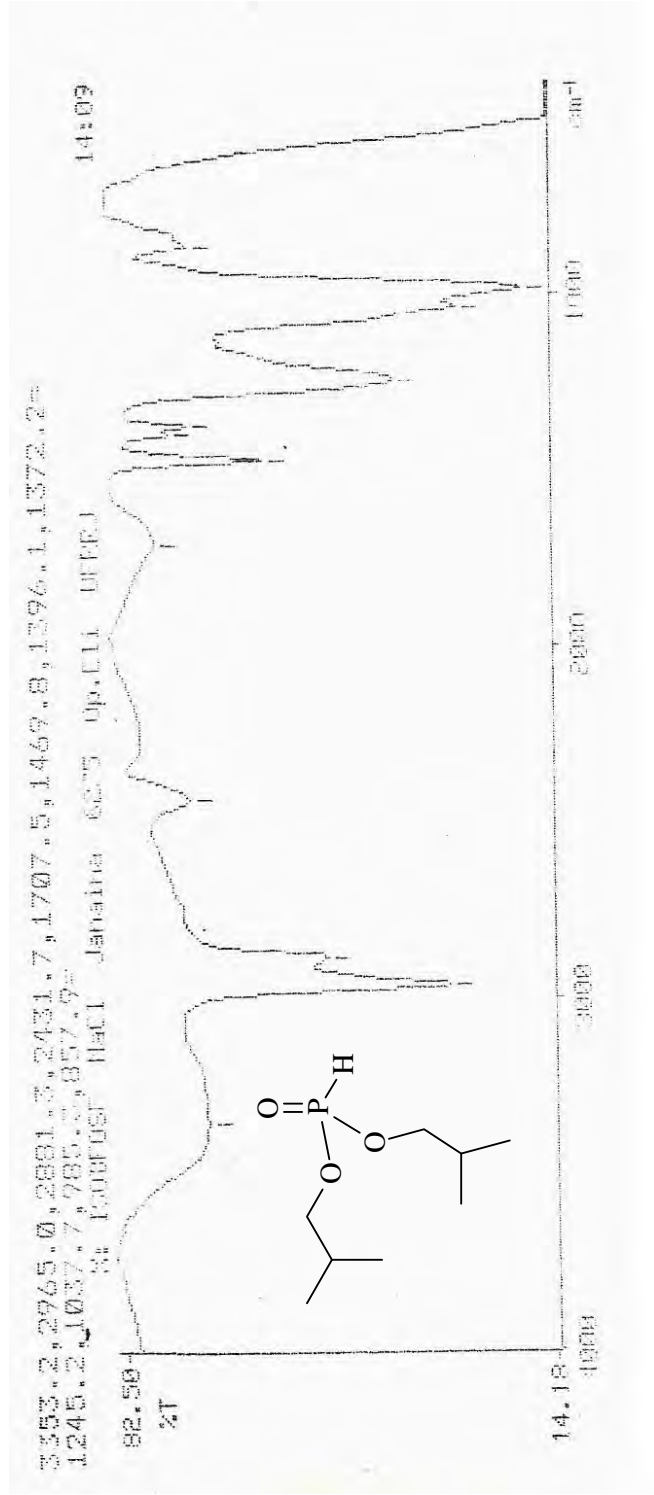


Figura 55: Espectro de IV do fosfonato de diisobutila (composto 116).

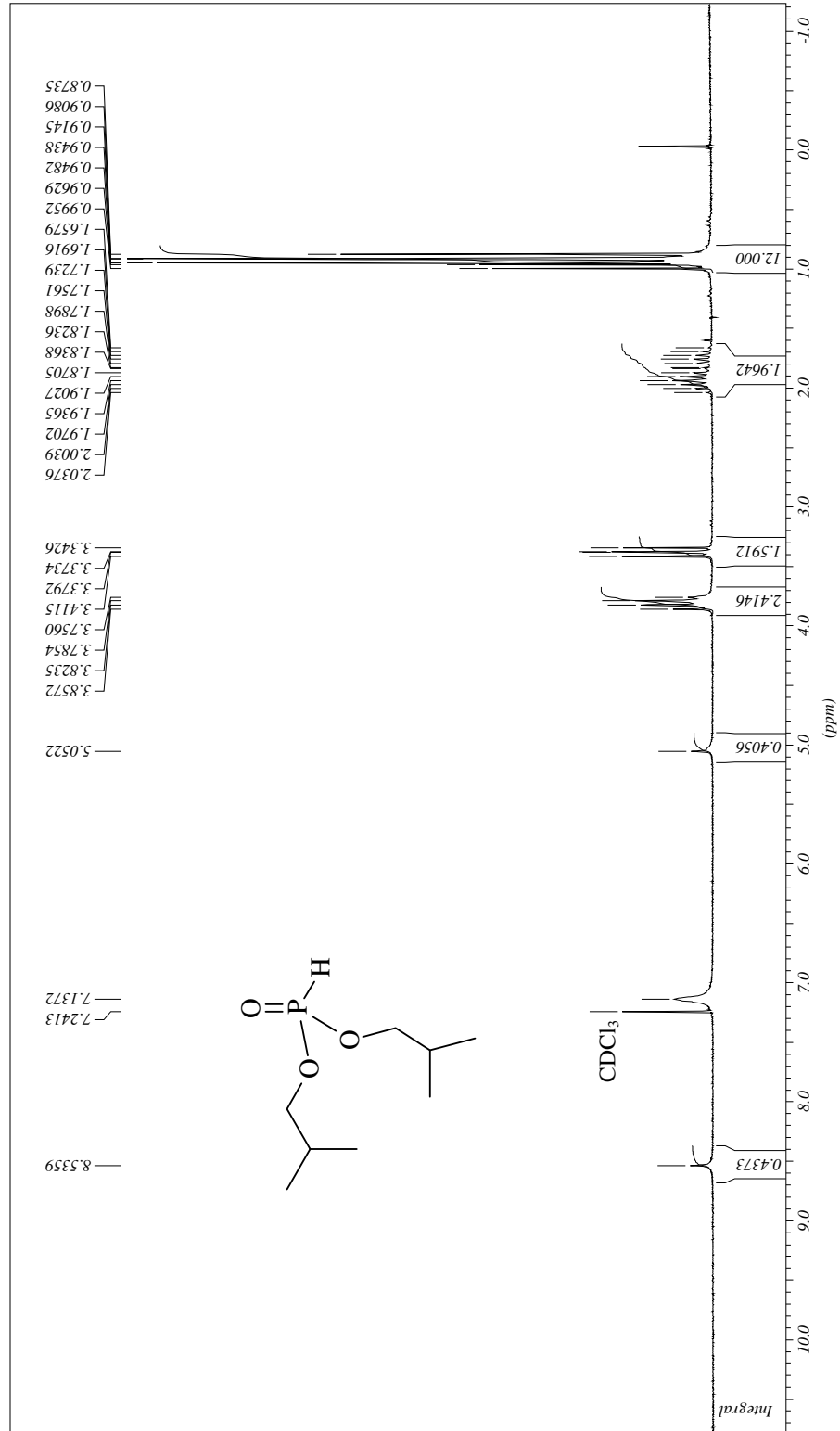


Figura 56: Espectro de RMN de ¹H do fosfonato de diisobutila (composto 116).

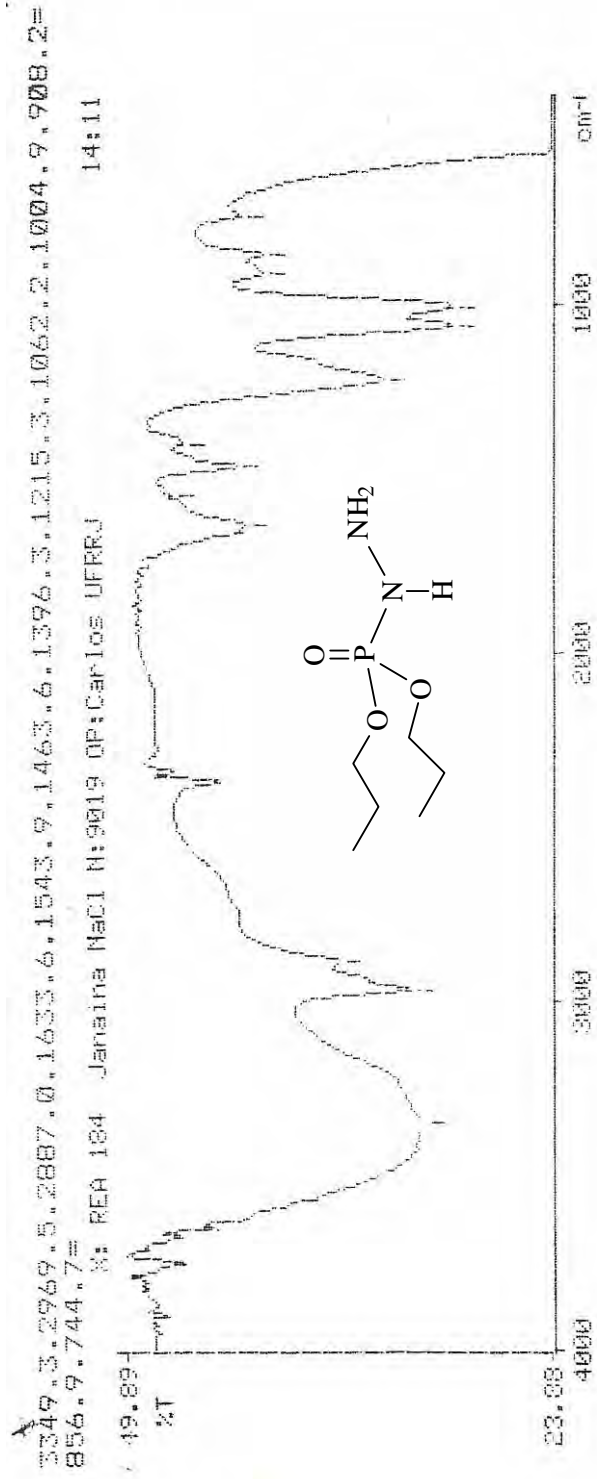


Figura 57: Espectro de IV da dipropilfosforilidrazina (composto 117).

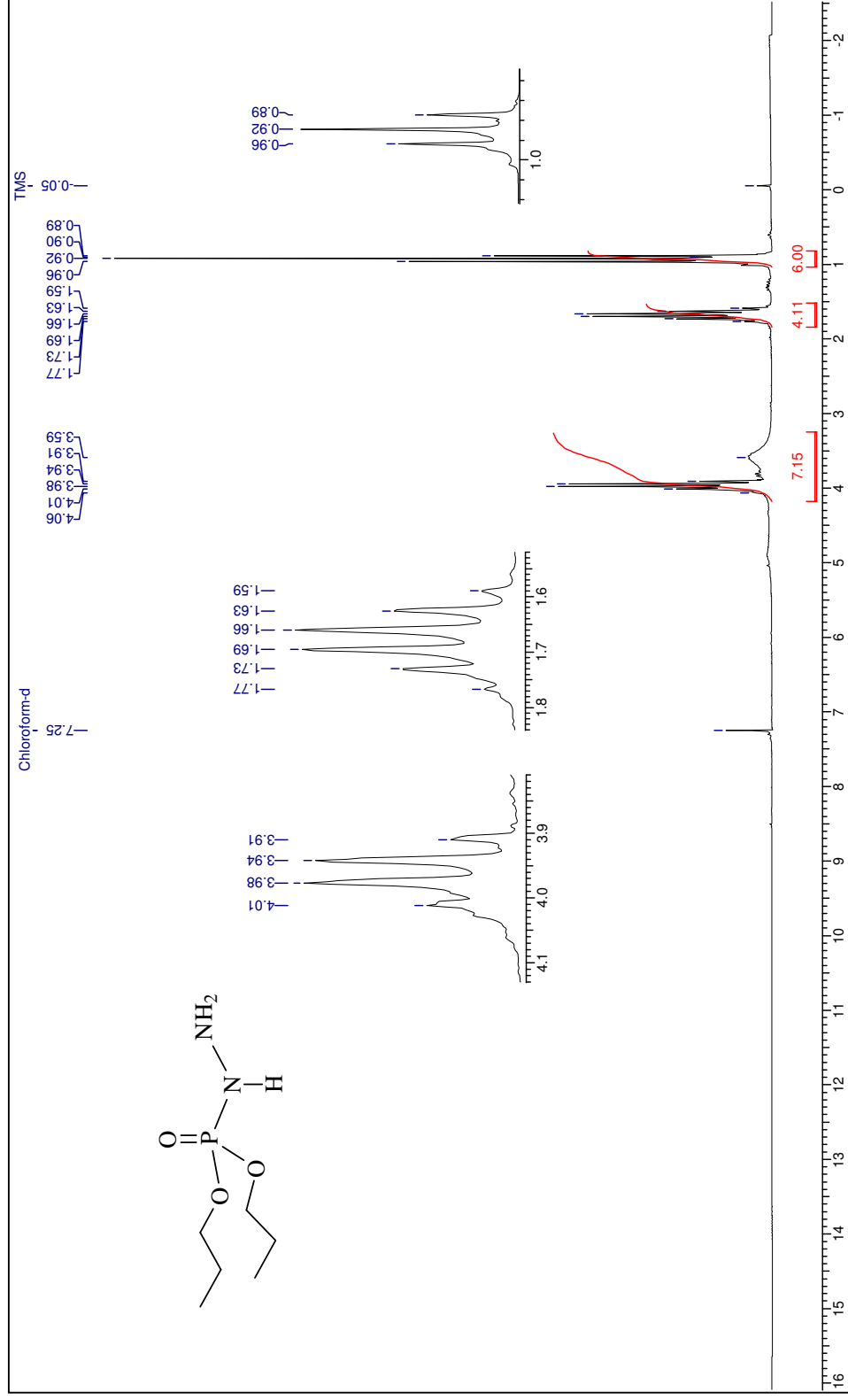


Figura 58: Espectro de RMN de ¹H da dipropilfosforilidrazina (composto 117).

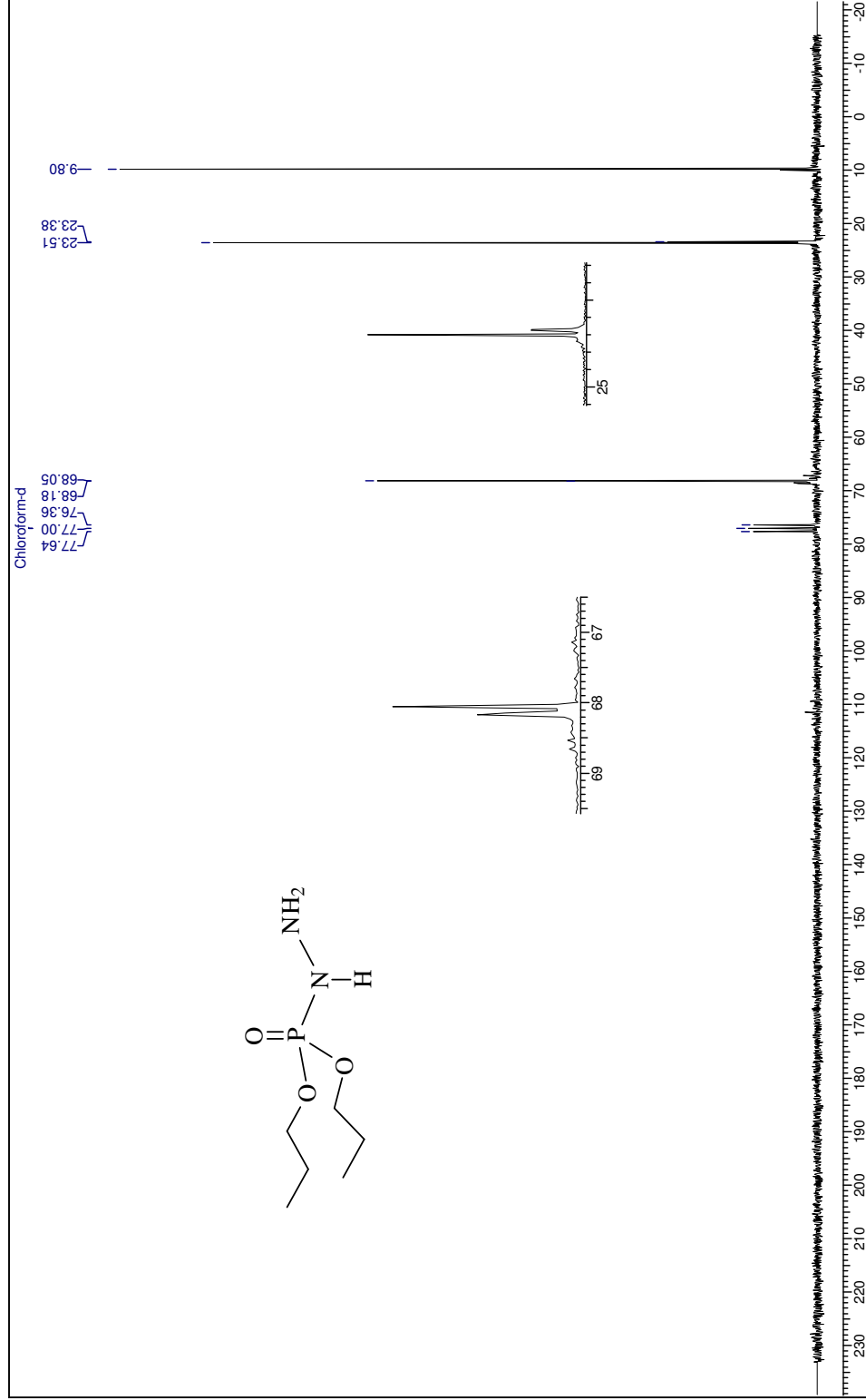


Figura 59: Espectro de RMN de ¹³C da dipropilfosforidrazina (composto 117).

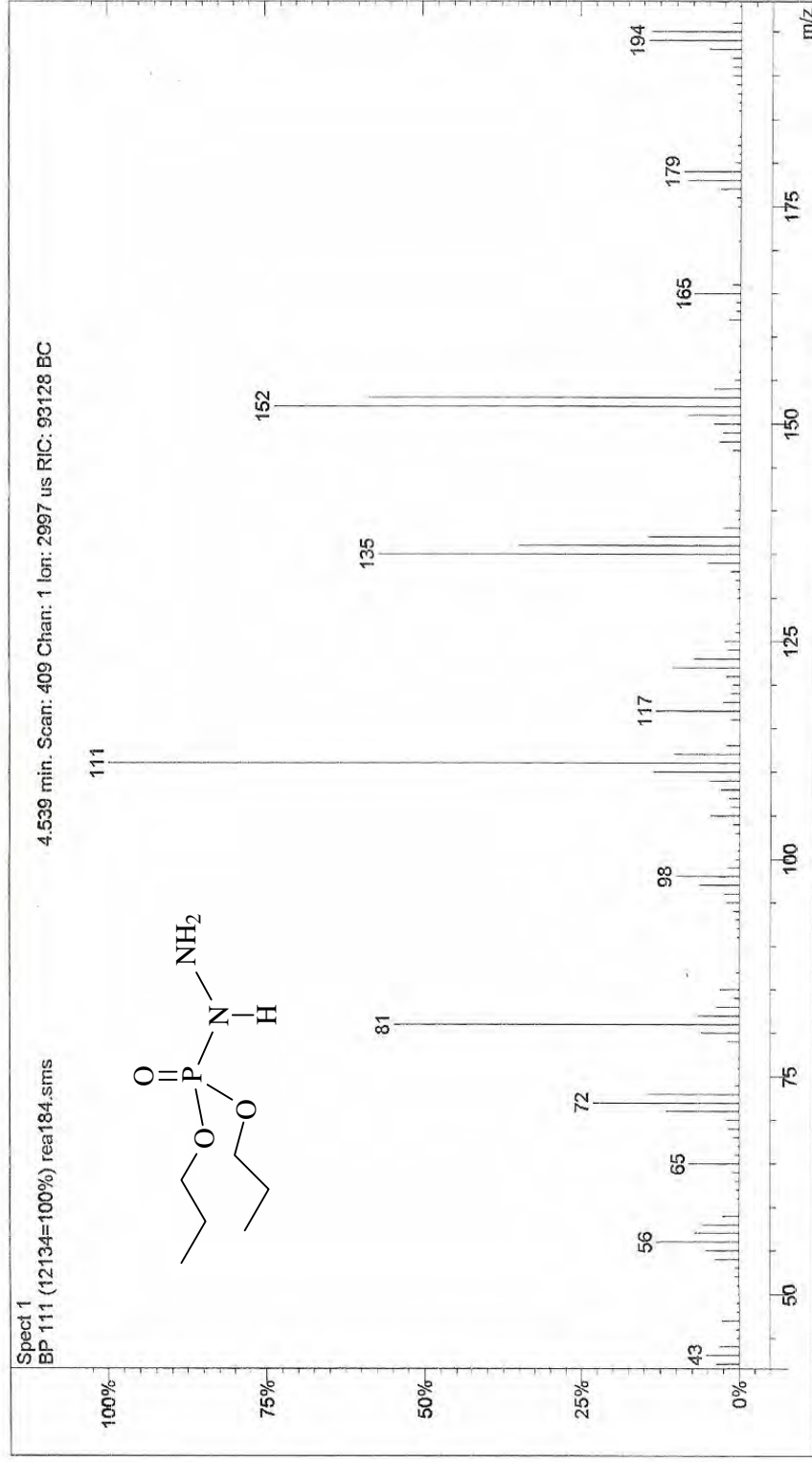


Figura 60: Espectro de massas da dipropilfosforilidrazina (composto 117).

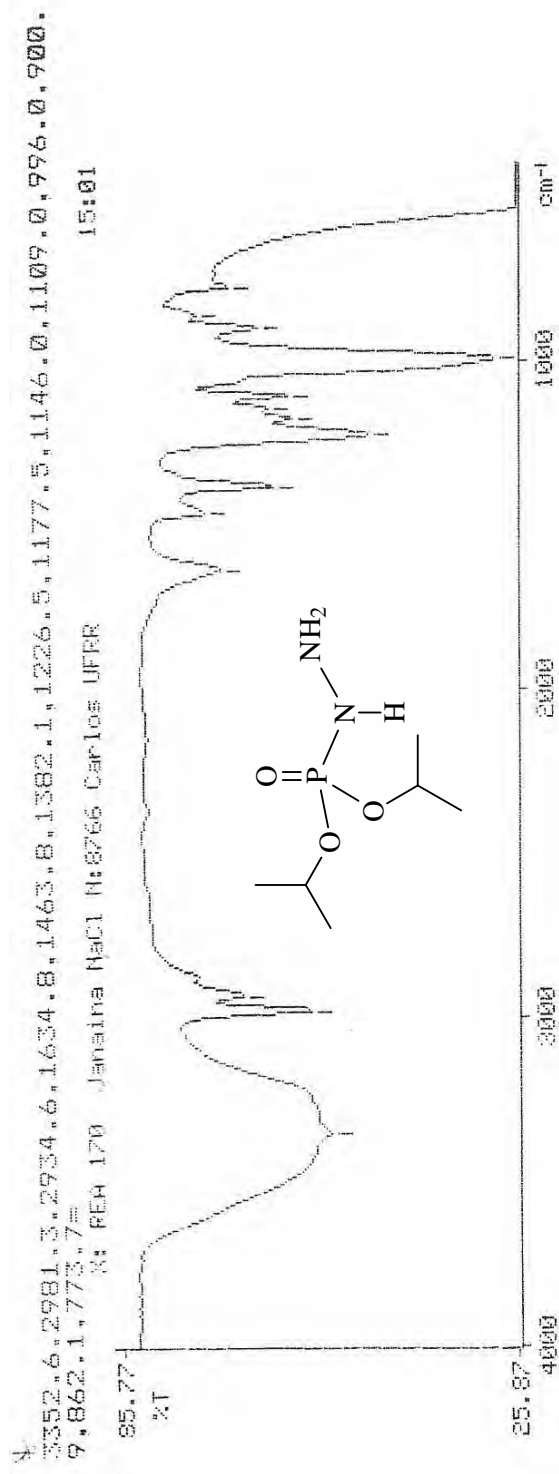


Figura 61: Espectro de IV da diisopropilfosforilidrazina (composto 118).

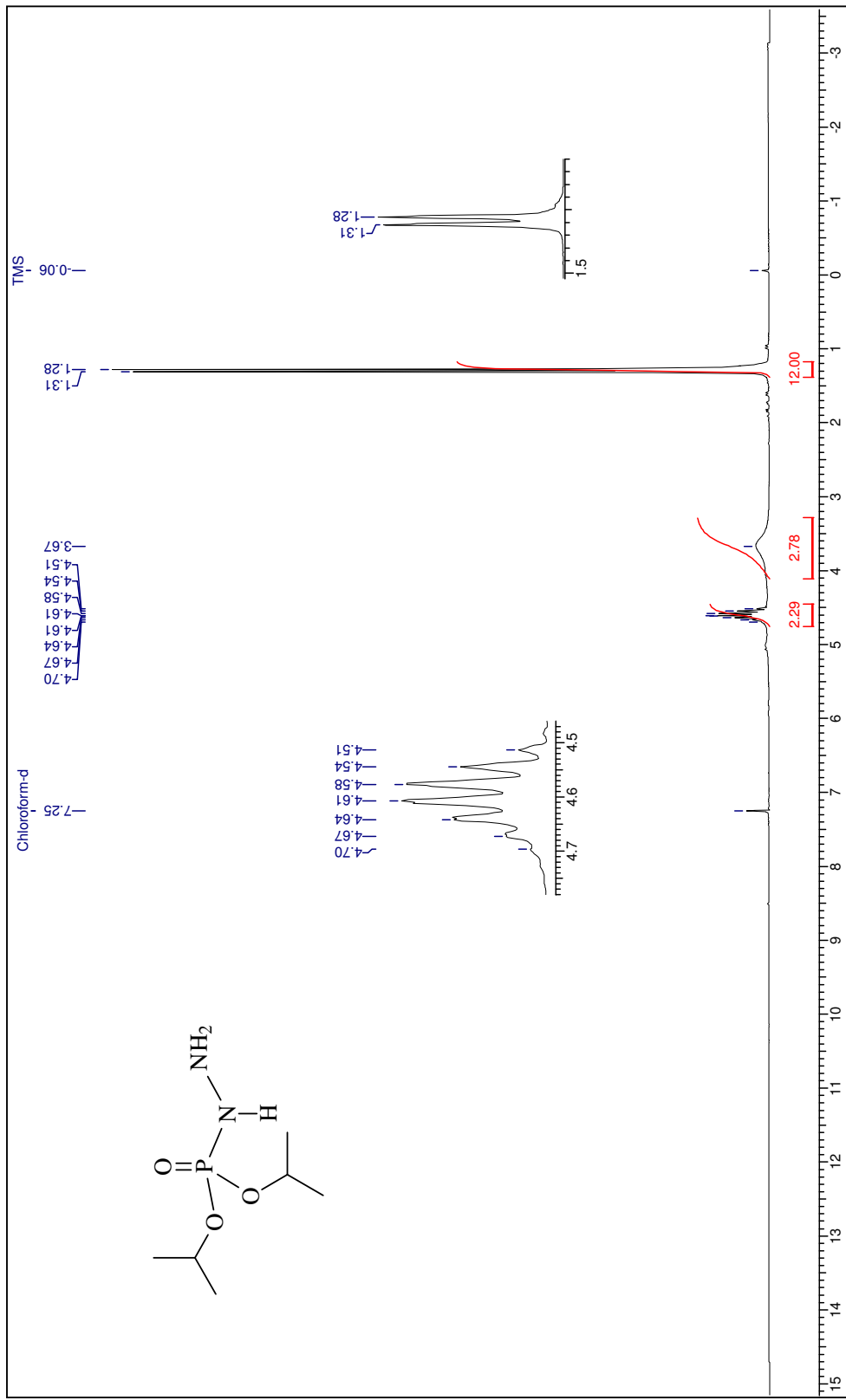


Figura 62: Espectro de RMN de ¹H da diisopropilfosforilidrazina (composto 118).

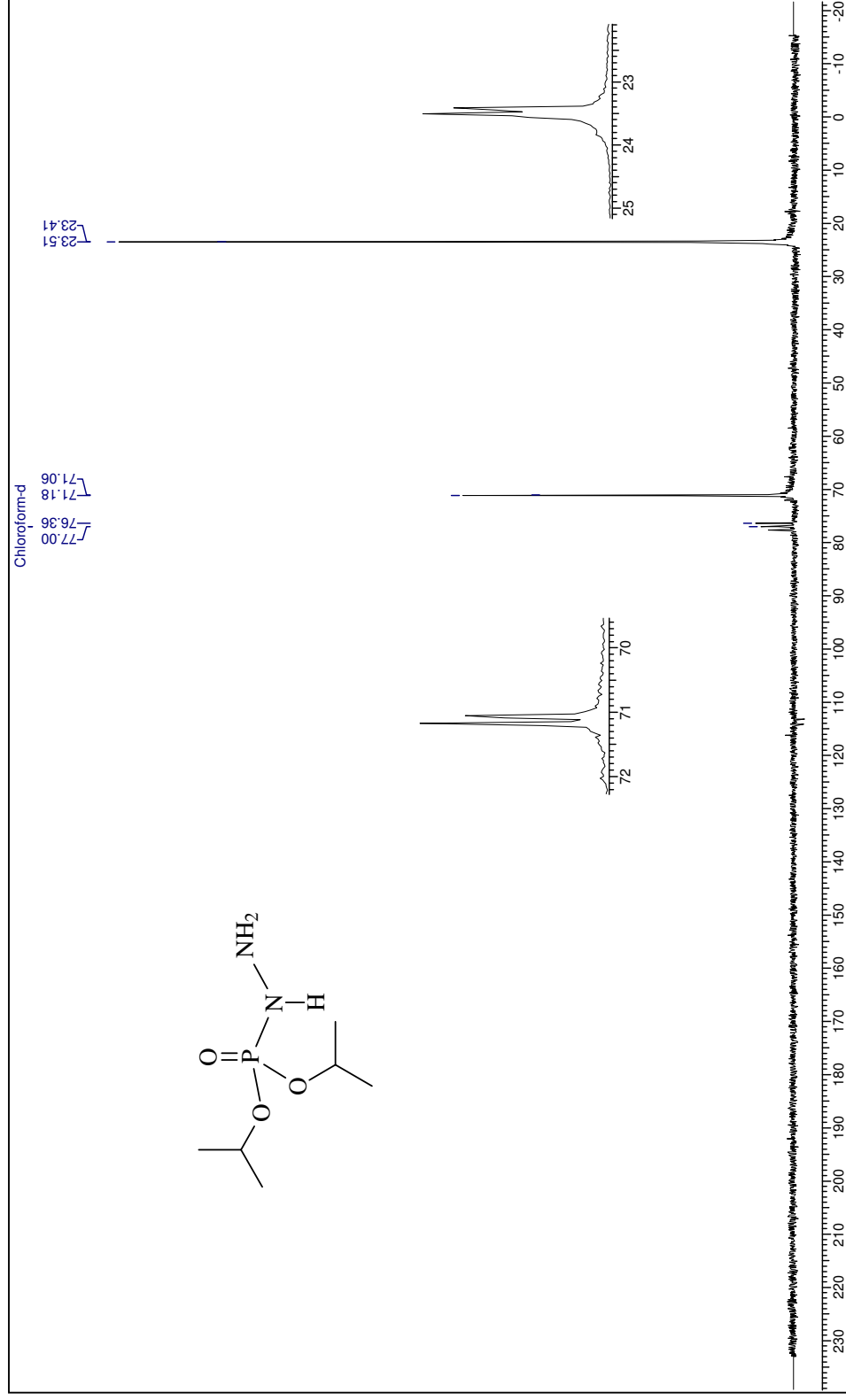


Figura 63: Espectro de RMN de ^{13}C da diisopropilfosforilidrazina (composto 118).

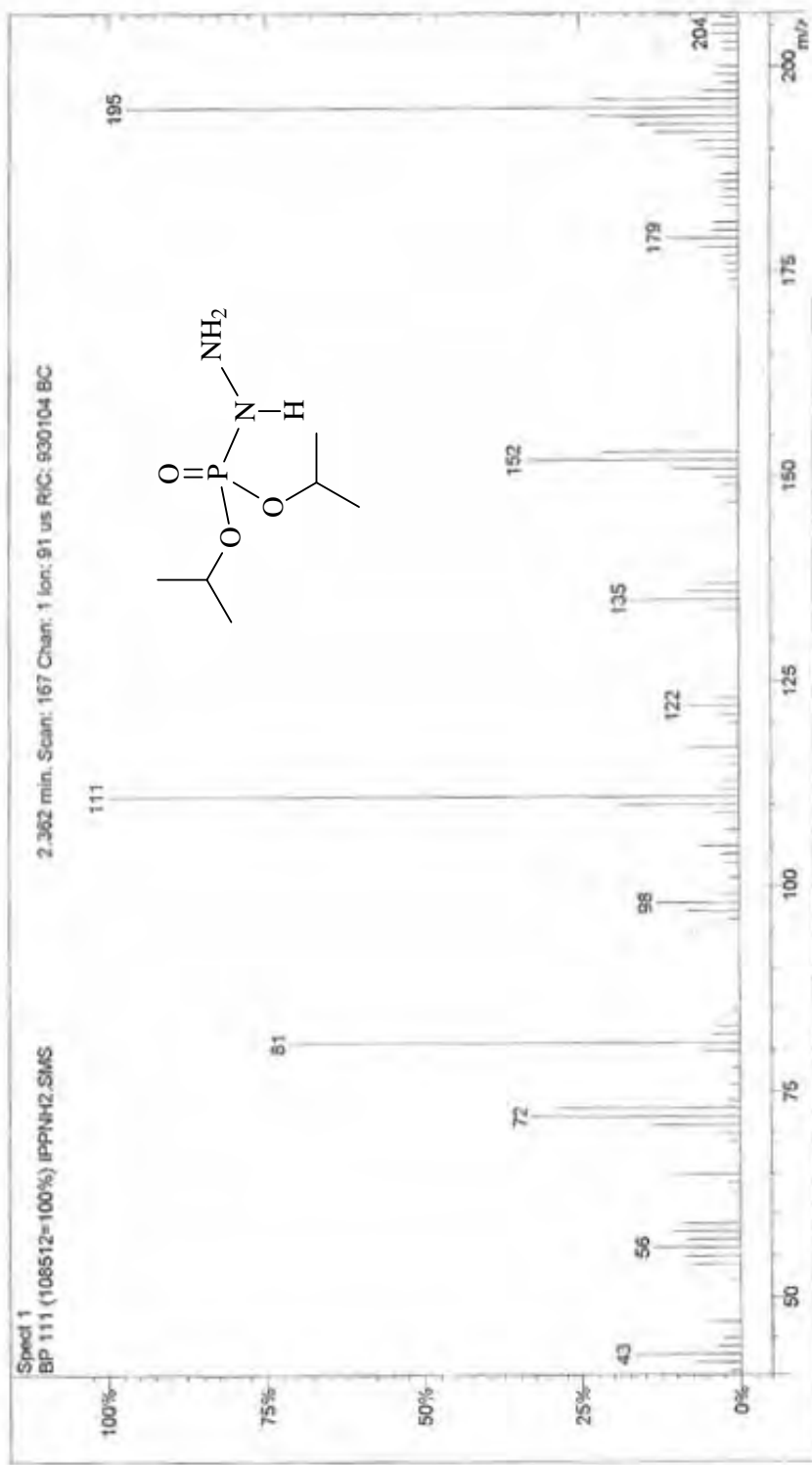


Figura 64: Espectro de massas da diisopropilfosforilidrazina (composto 118).

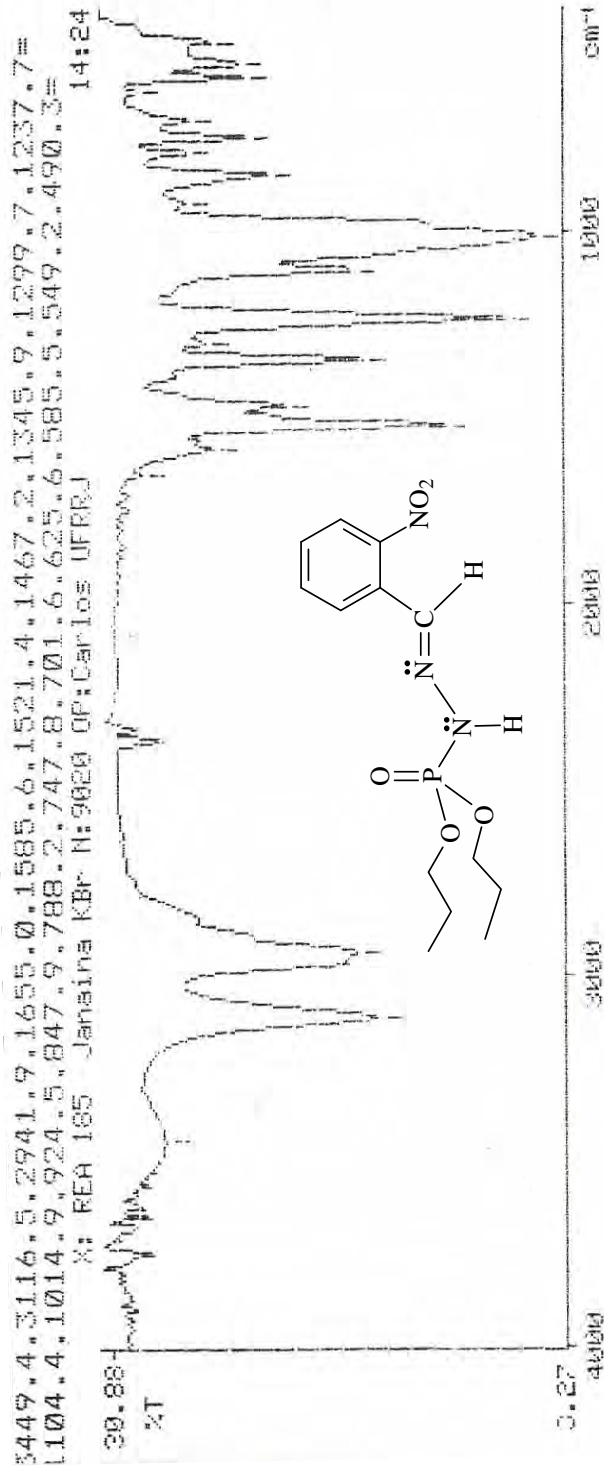


Figura 65: Espectro de IV do composto 1.

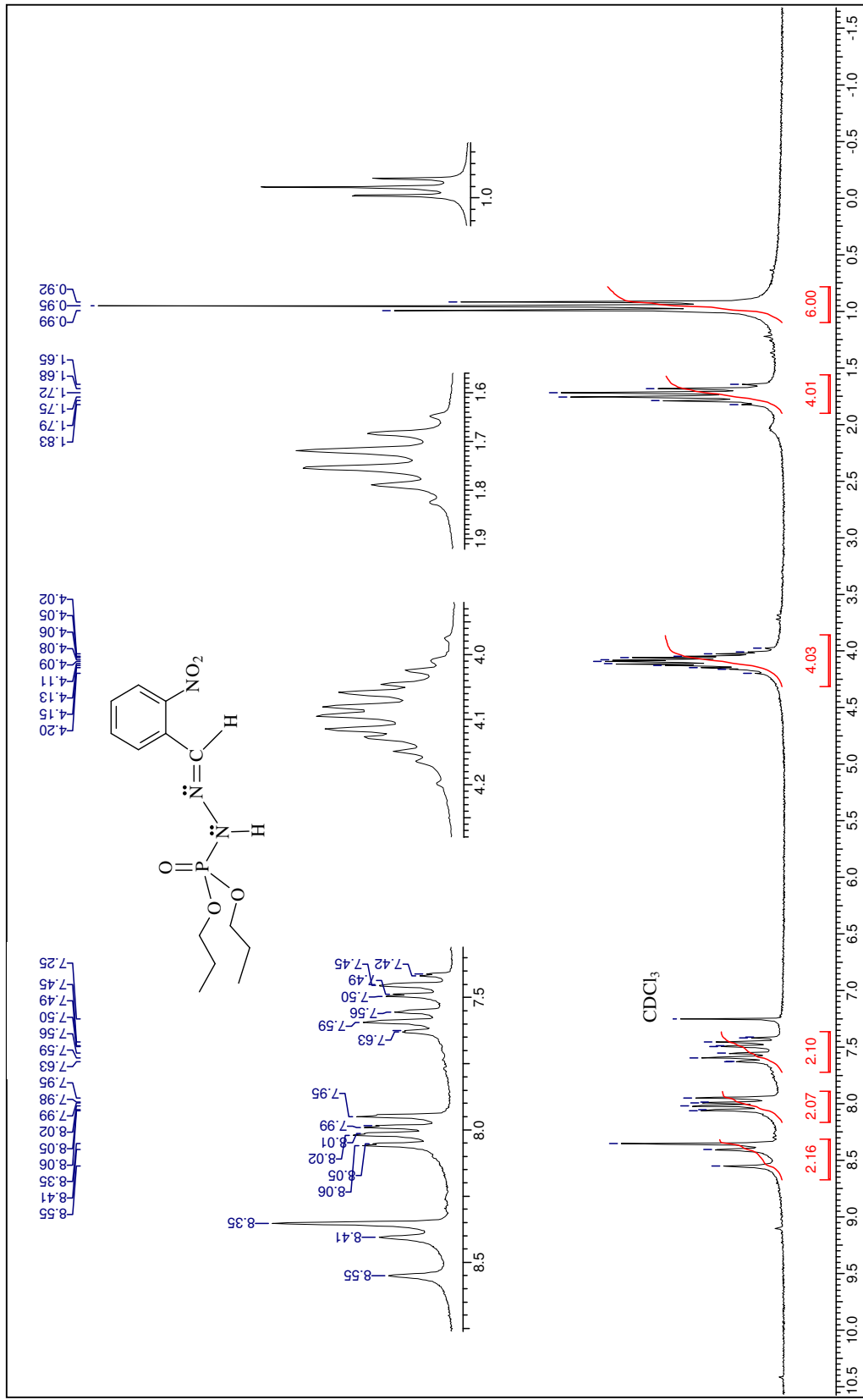


Figura 66: Espectro de RMN de ¹H do composto 1.

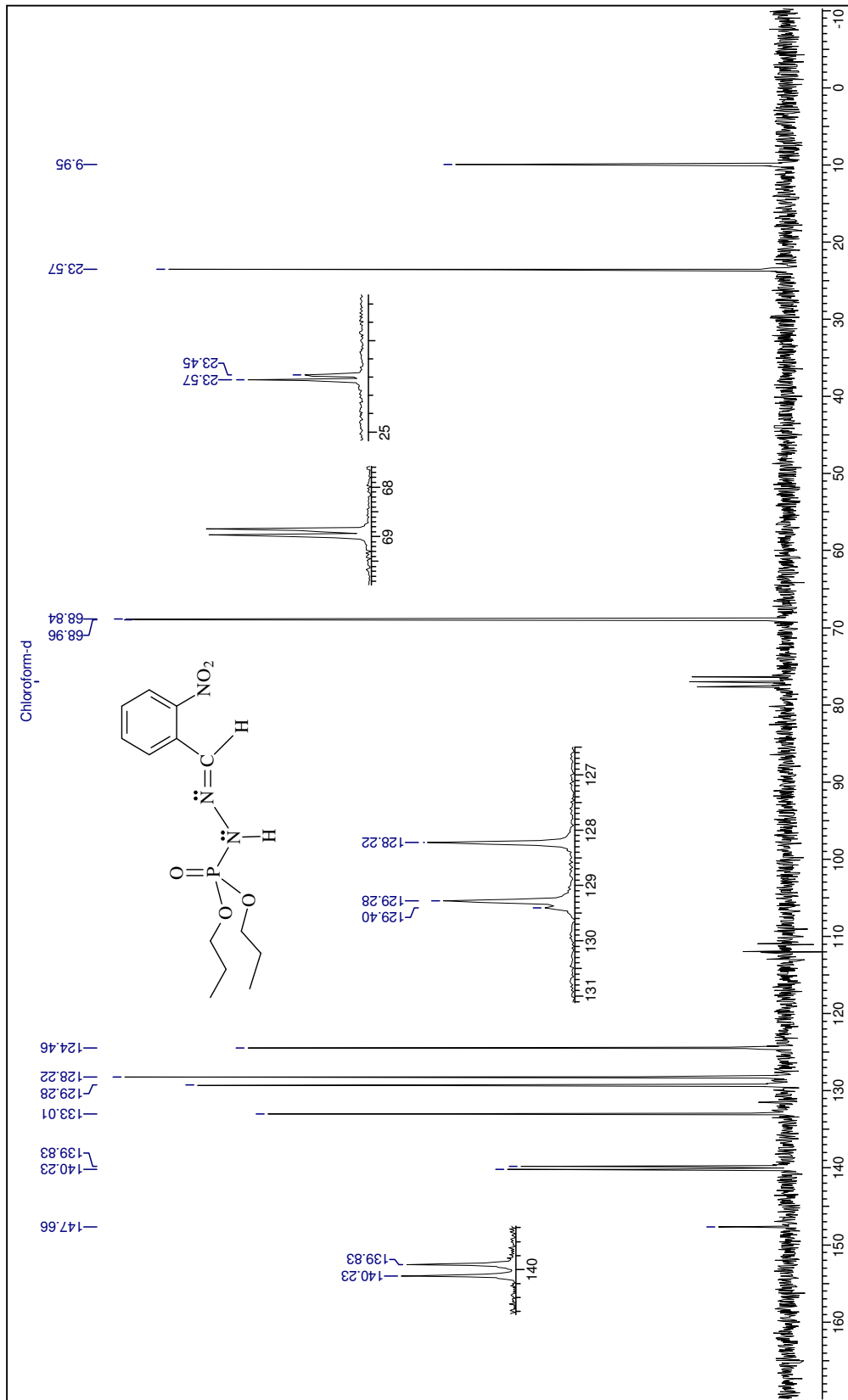


Figura 67: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 1.

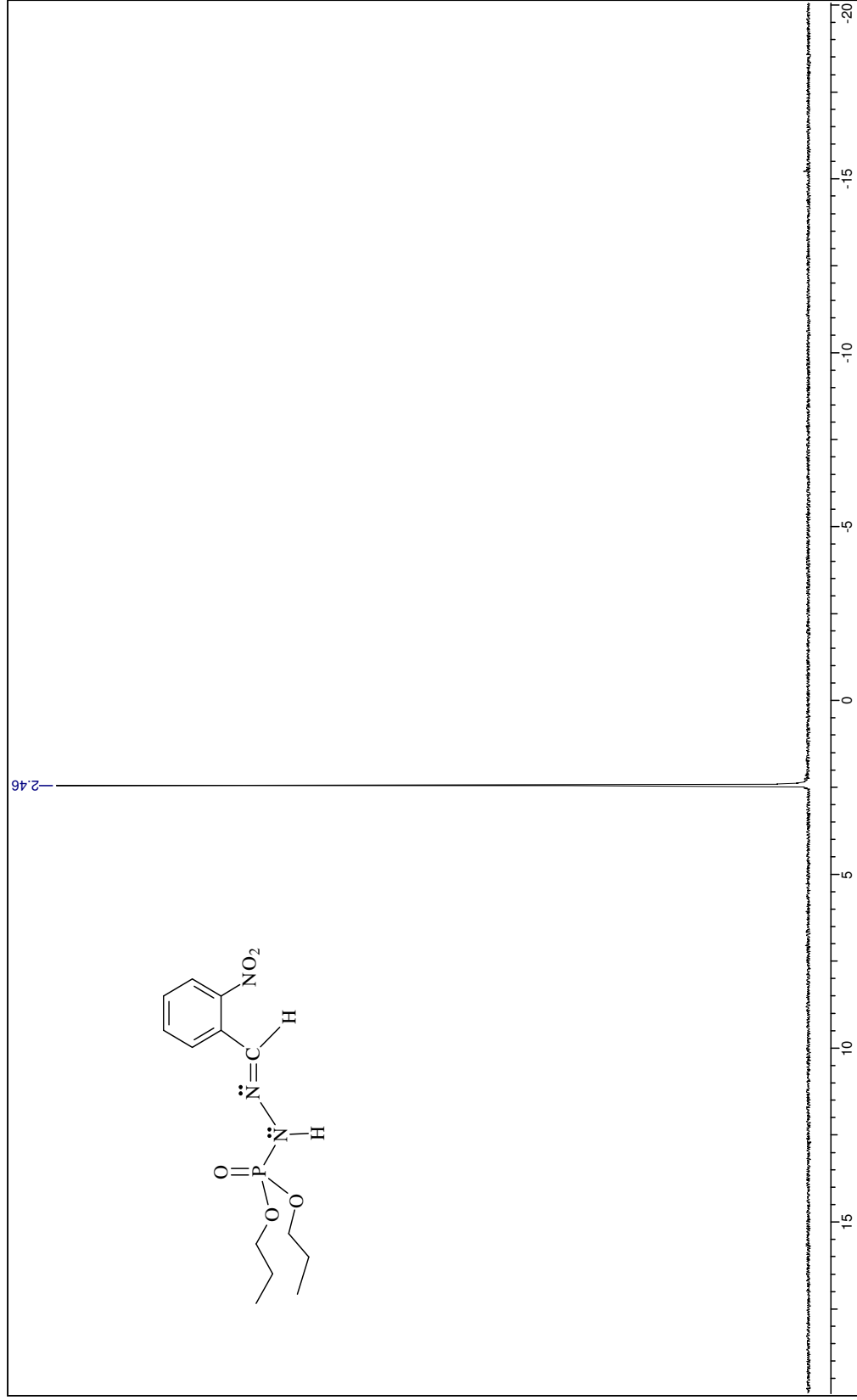


Figura 68: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 1.

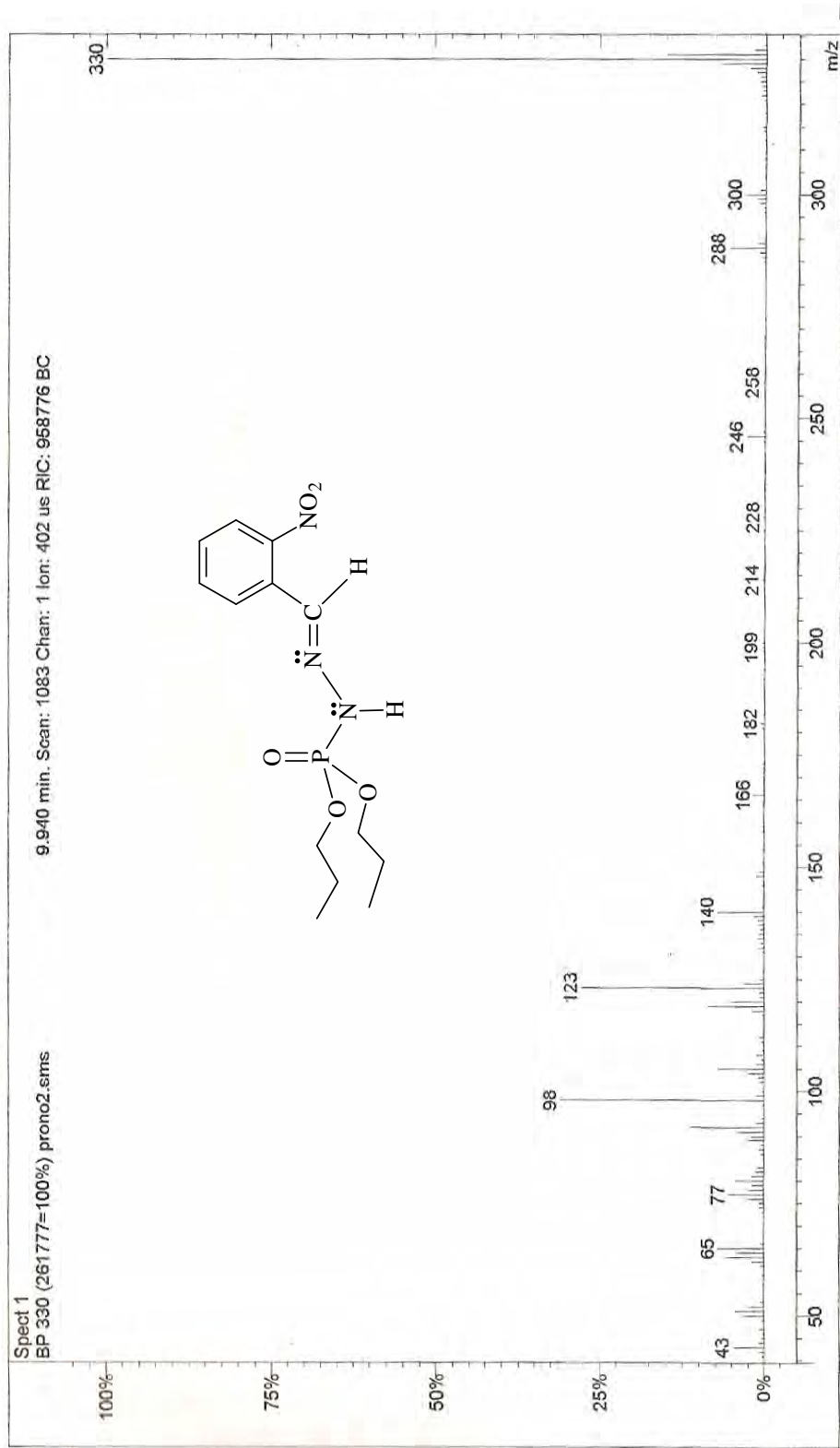


Figura 69: Espectro de massas do composto 1.

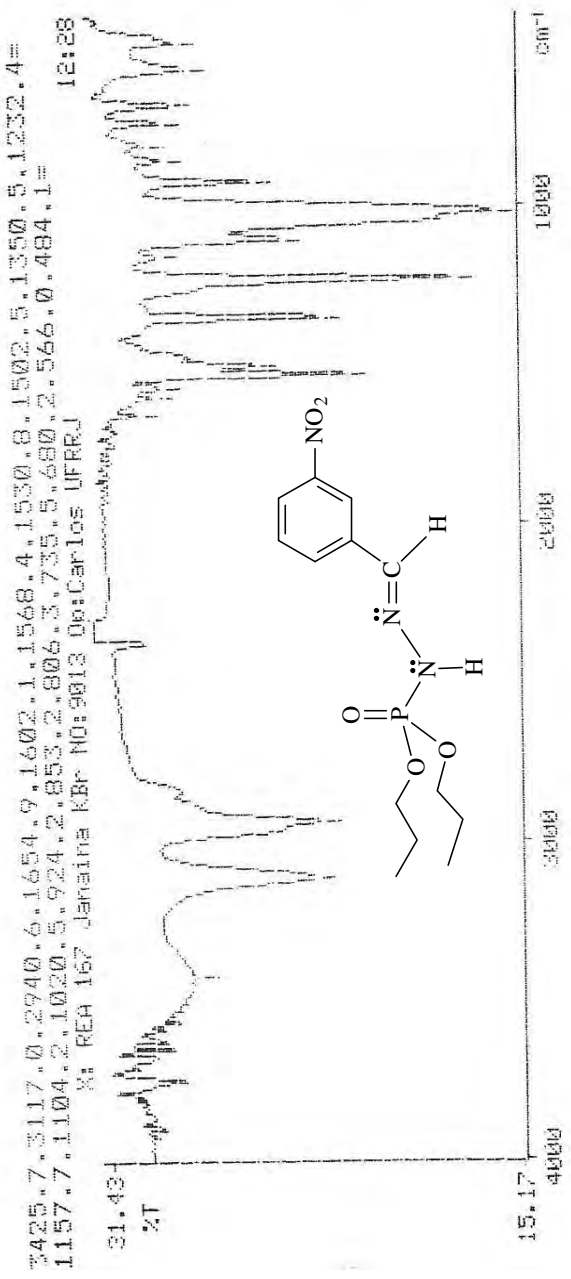


Figura 70: Espectro de IV do composto 2.

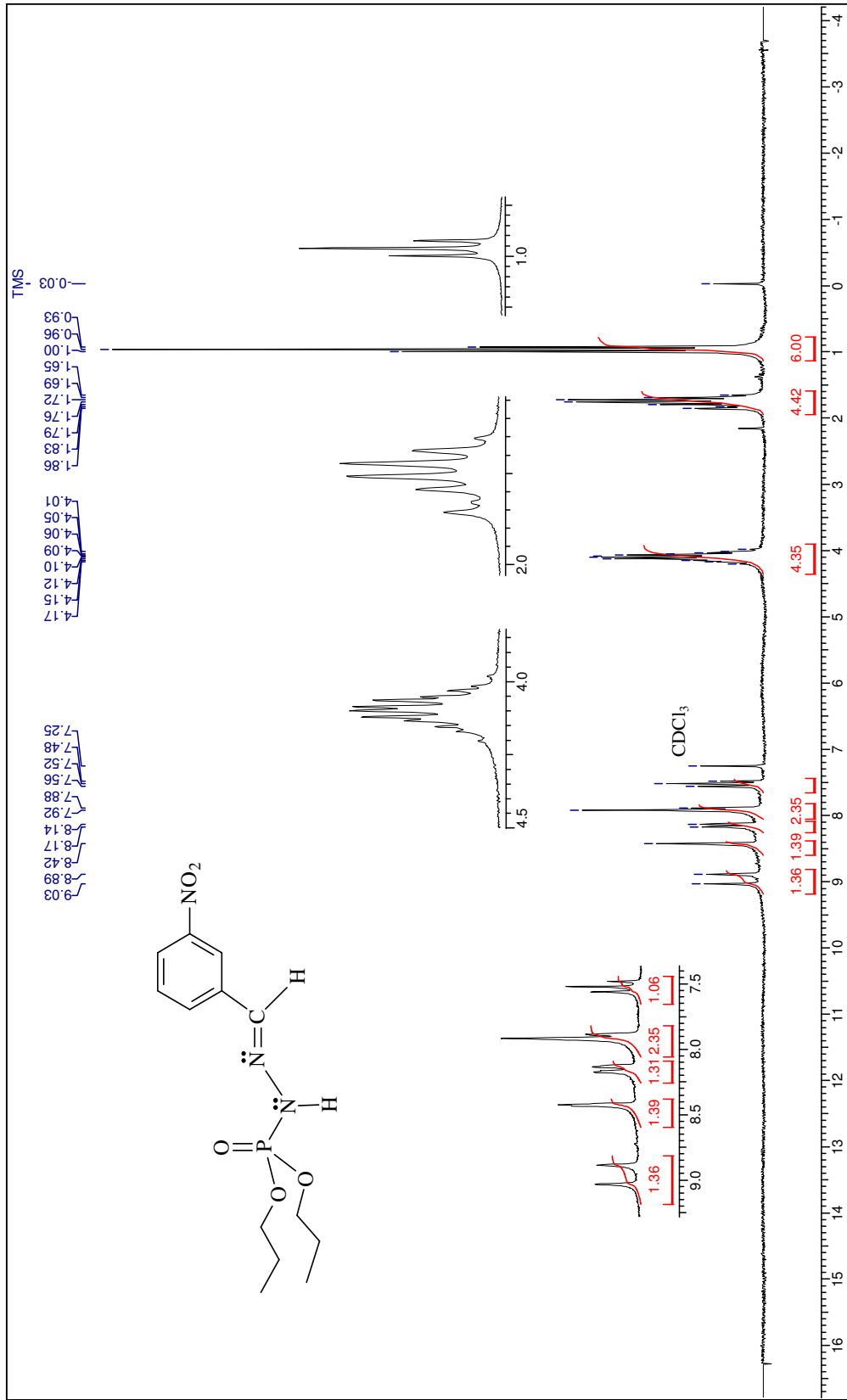


Figura 71: Espectro de RMN de ¹H do composto 2.

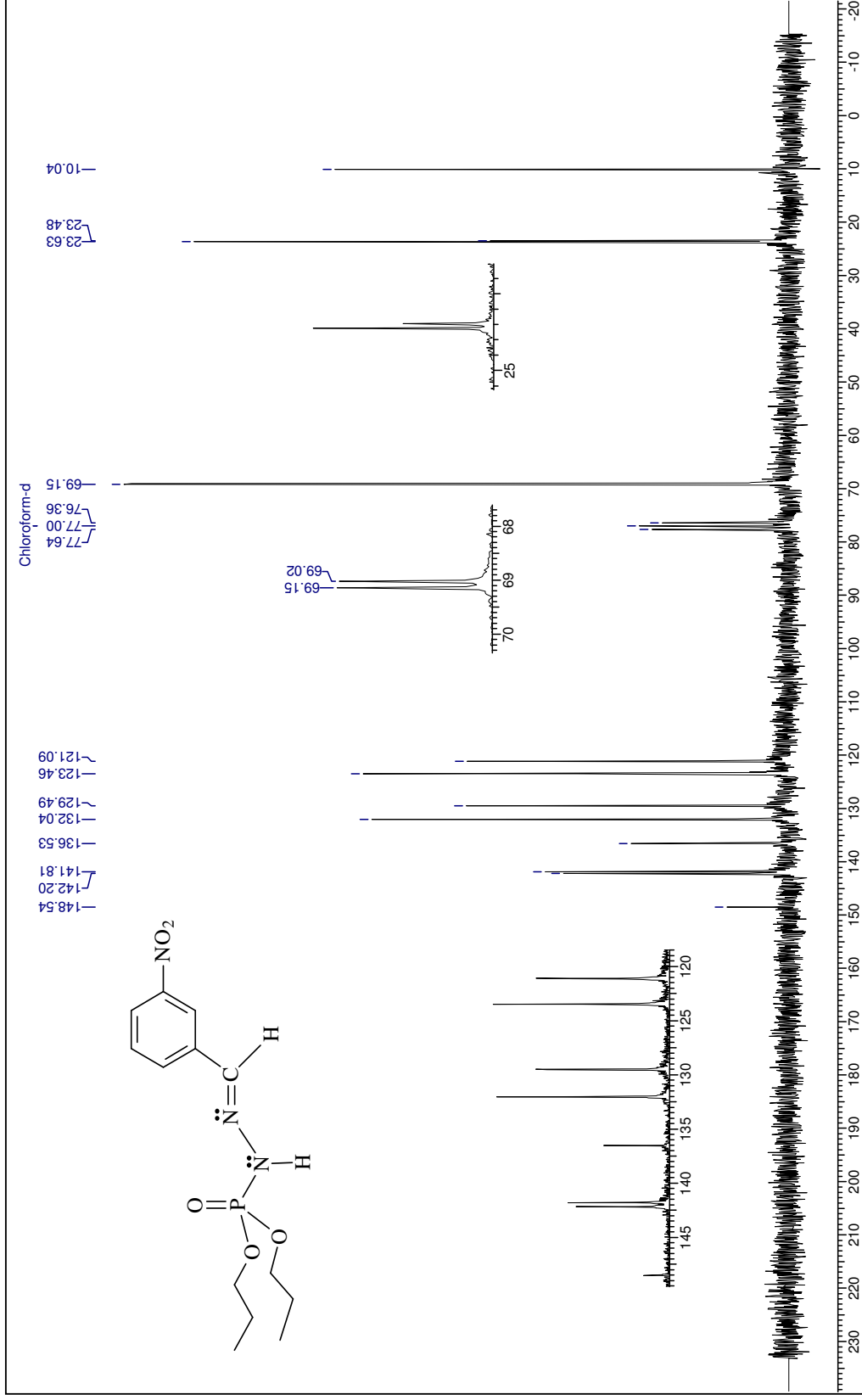


Figura 72: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2.

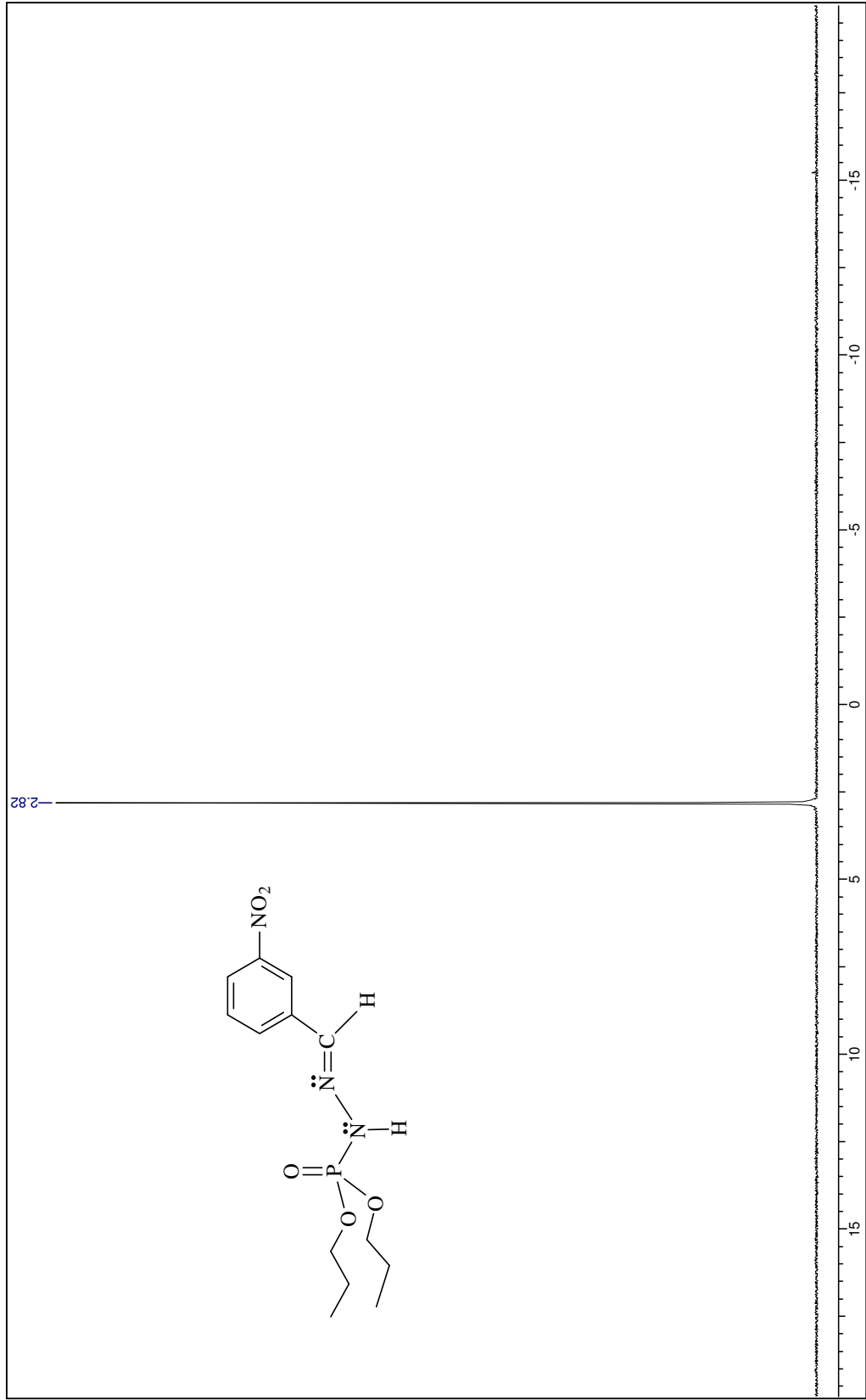


Figura 73: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 2.

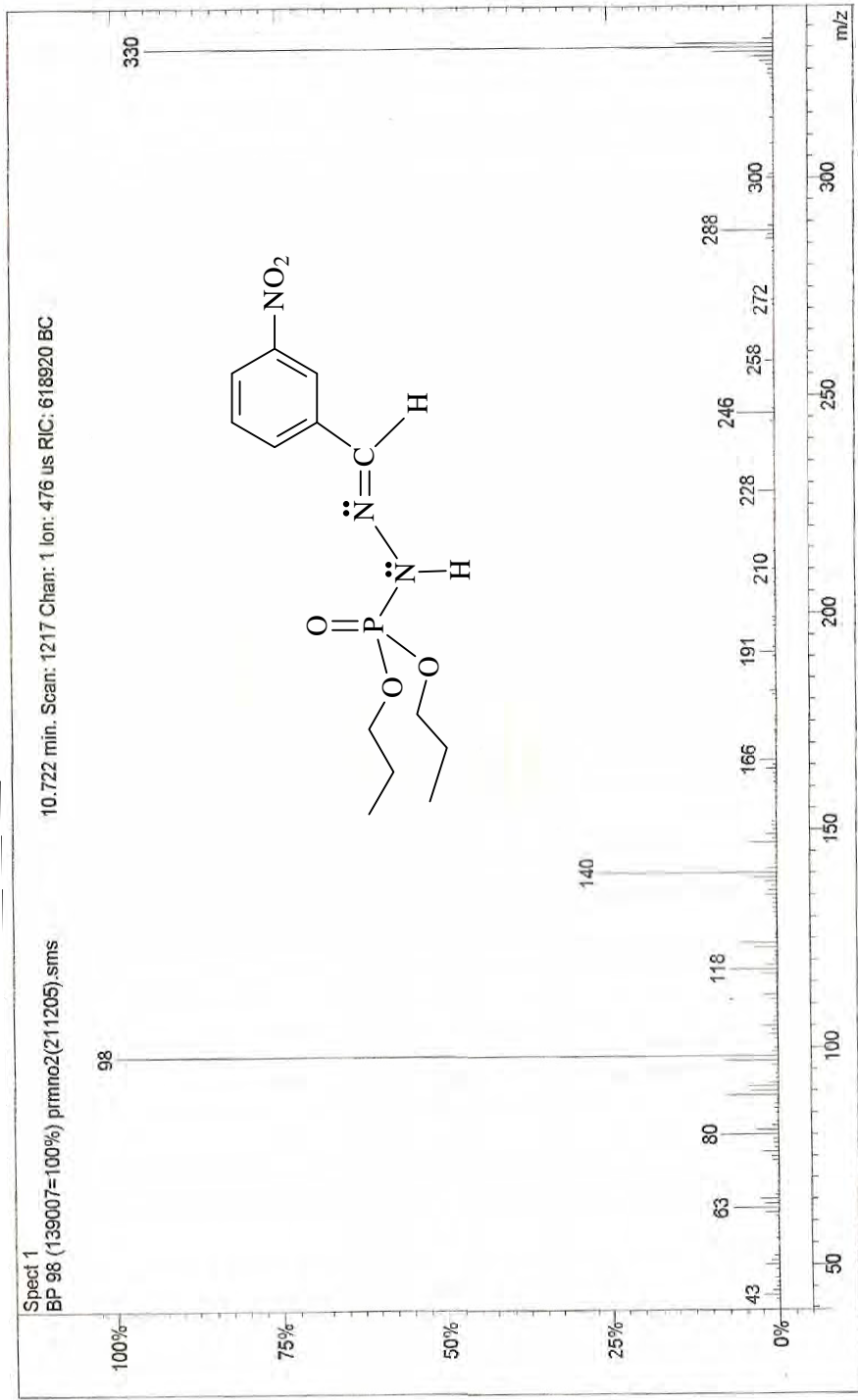


Figura 74: Espectro de massas do composto 2.

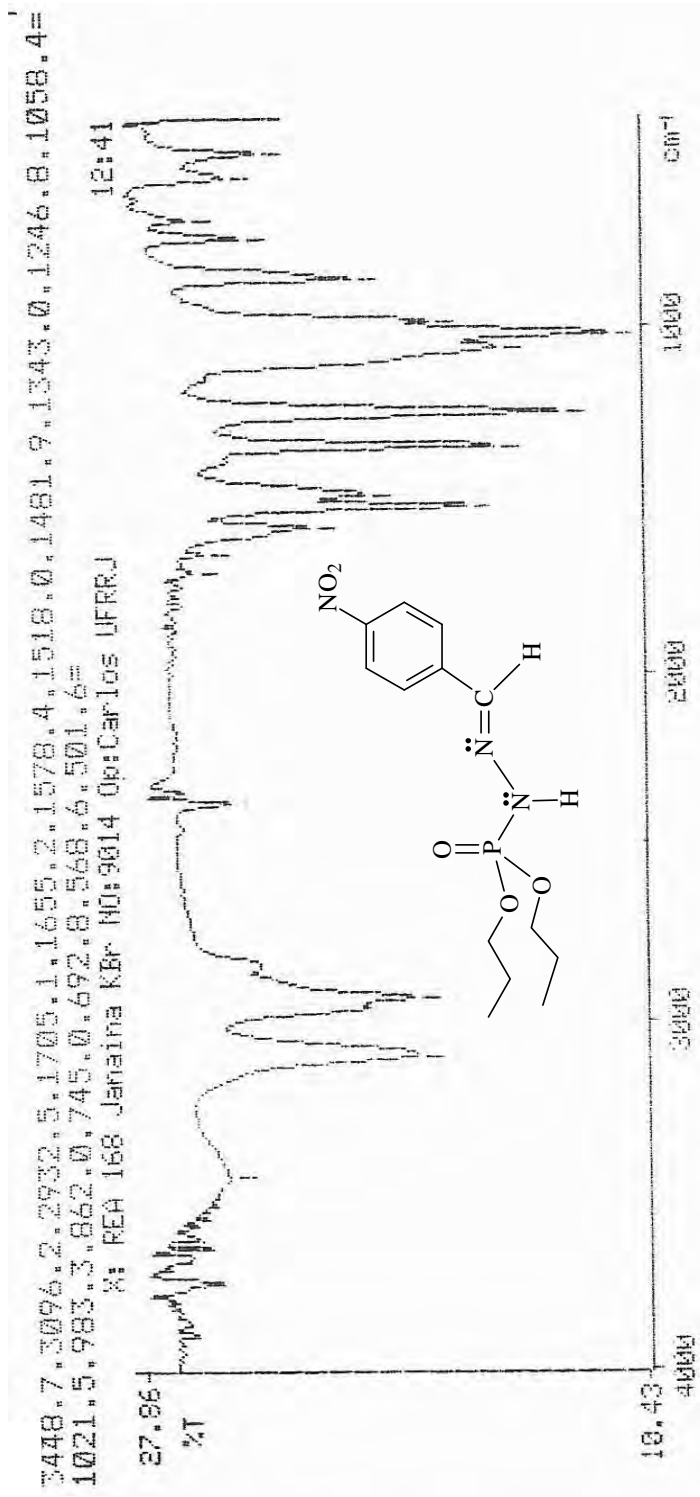


Figura 75: Espectro de IV do composto 3.

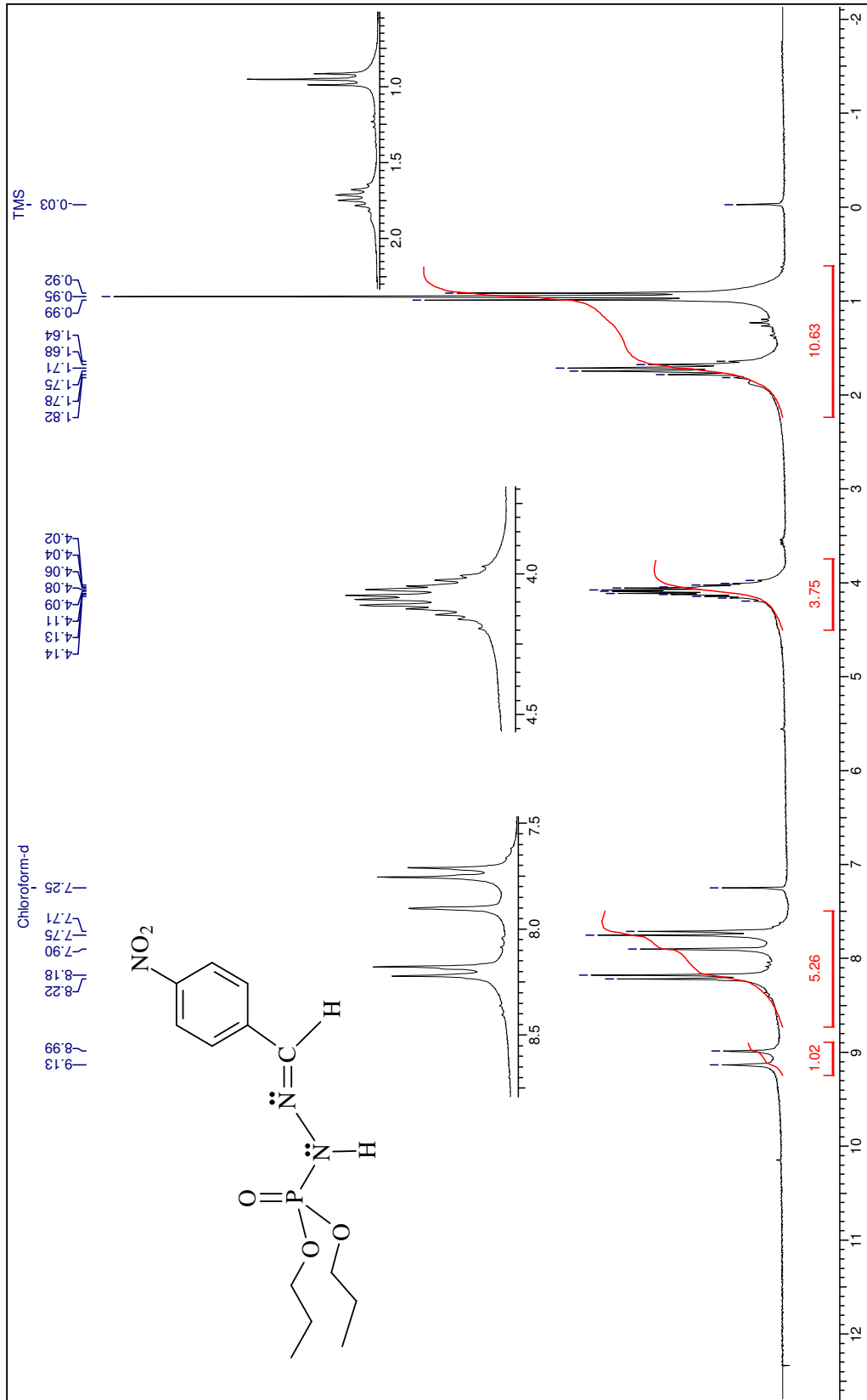


Figura 76: Espectro de RMN de ¹H do composto 3.

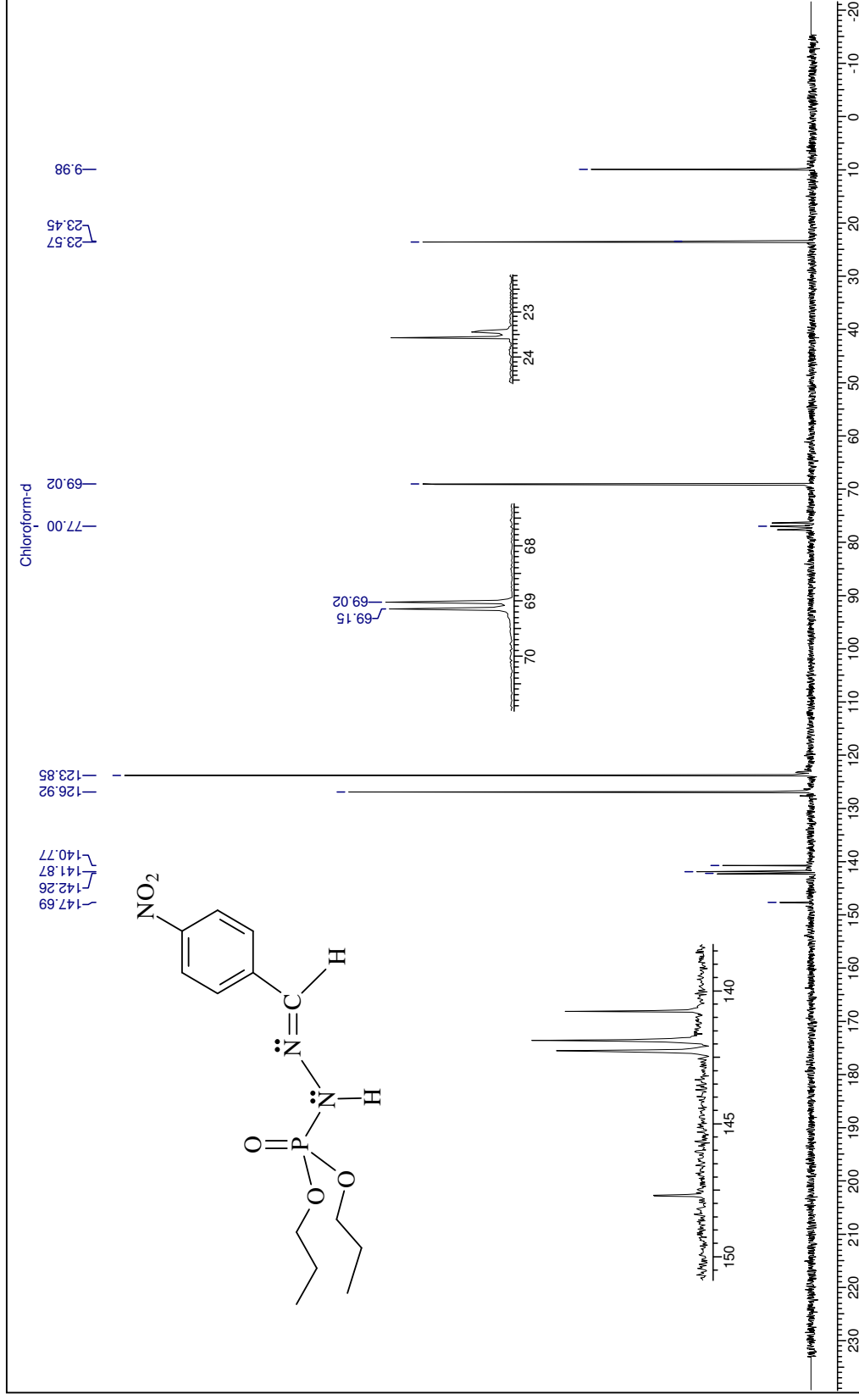


Figura 77: Espectro de RMN de ¹³C do composto 3.

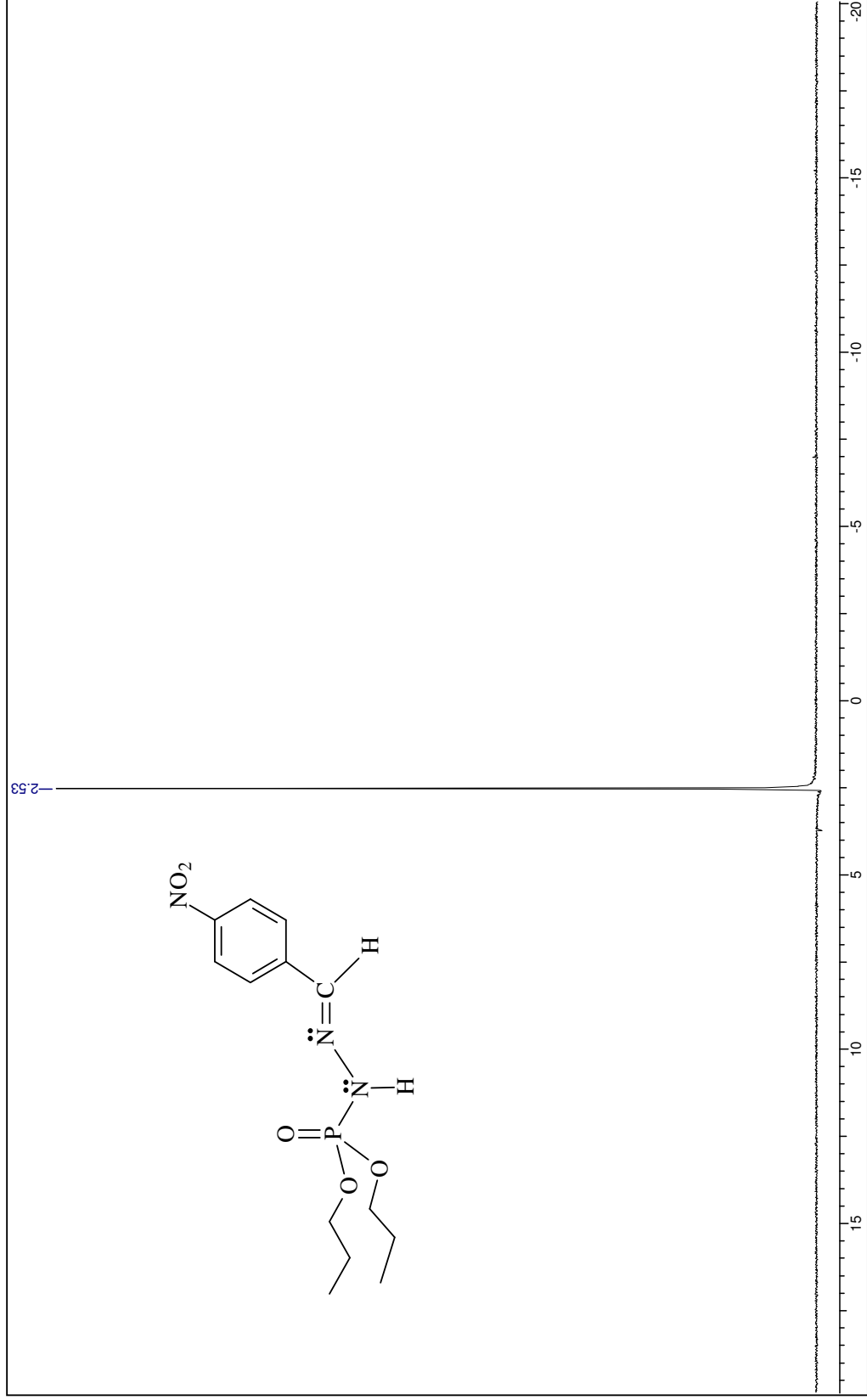


Figura 78: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 3.

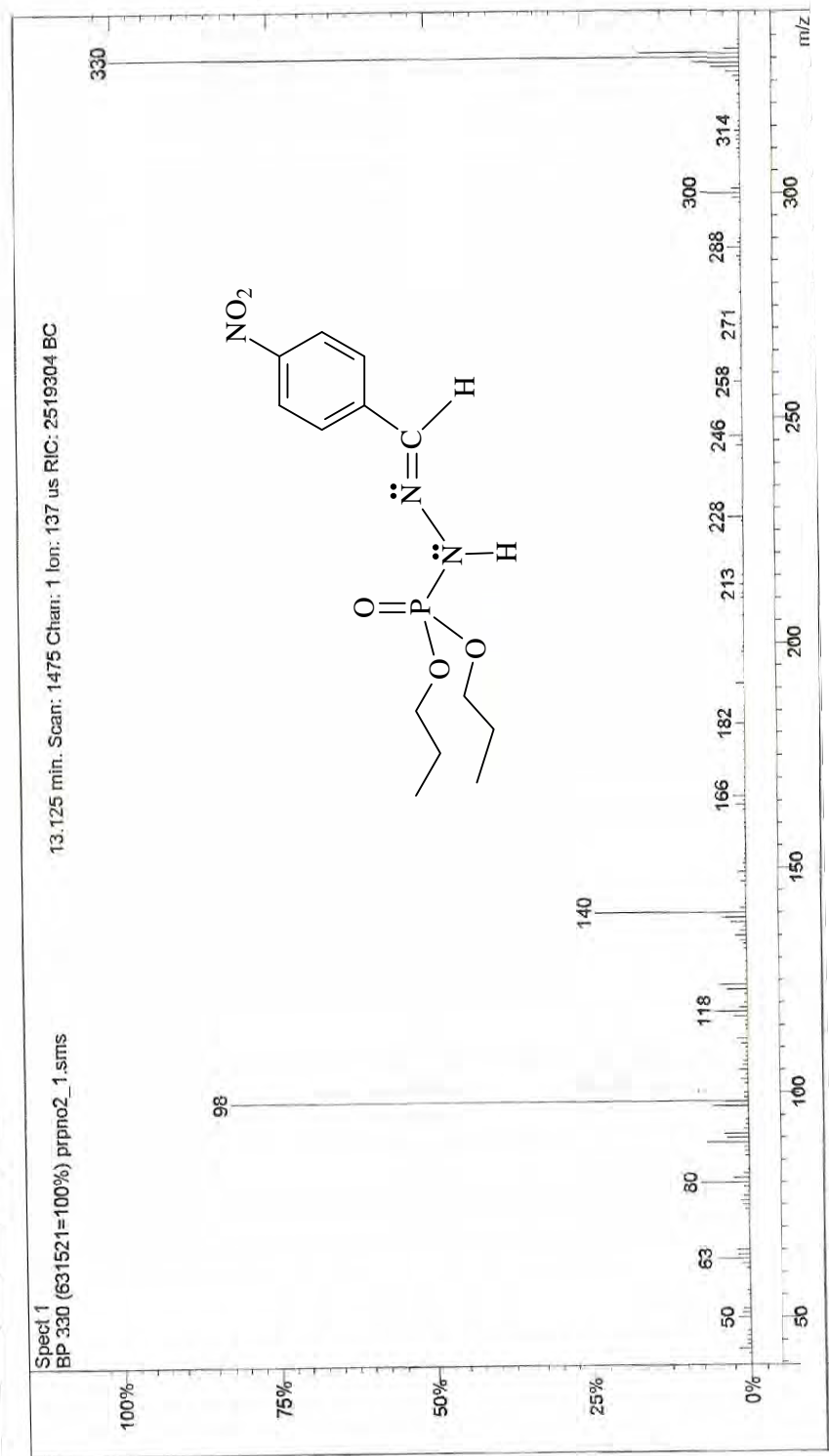


Figura 79: Espectro de massas do composto 3.

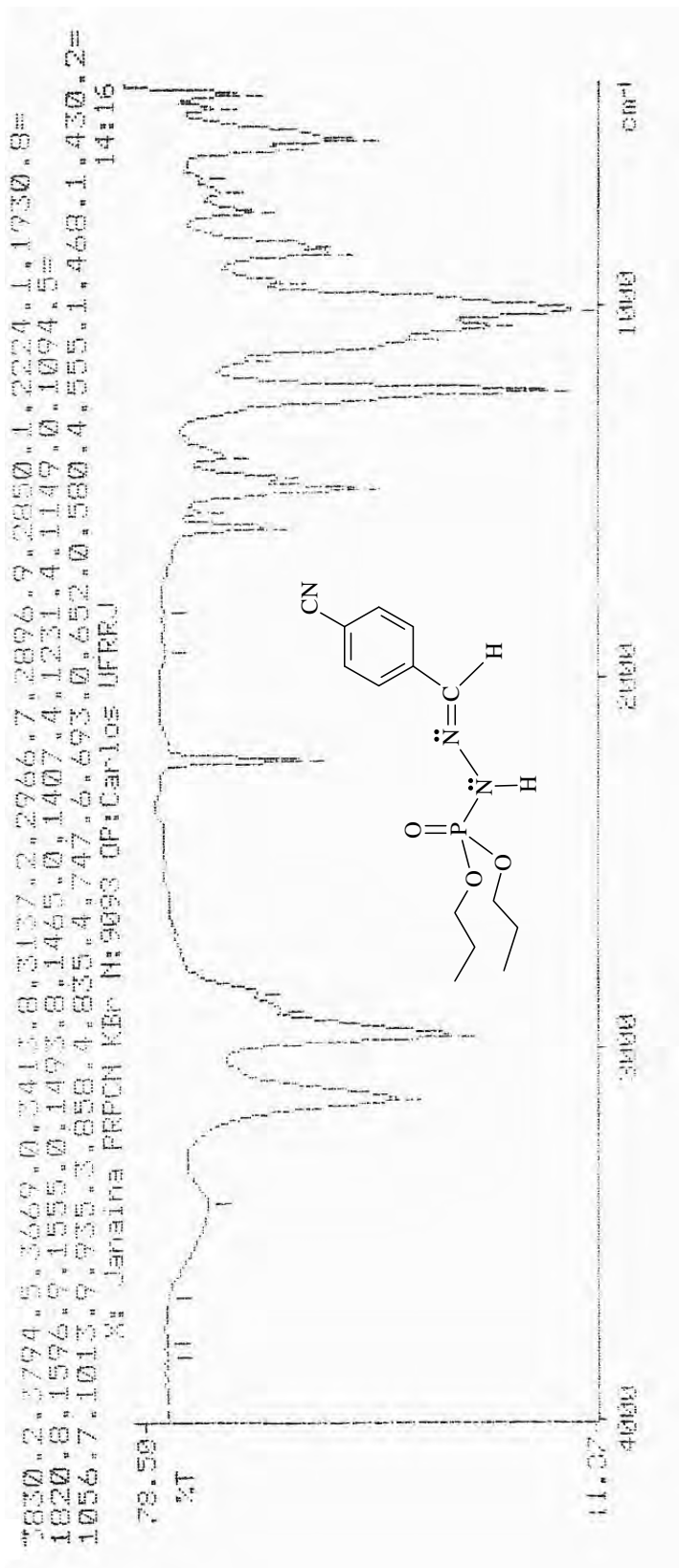


Figura 80: Espectro de IV do composto 4.

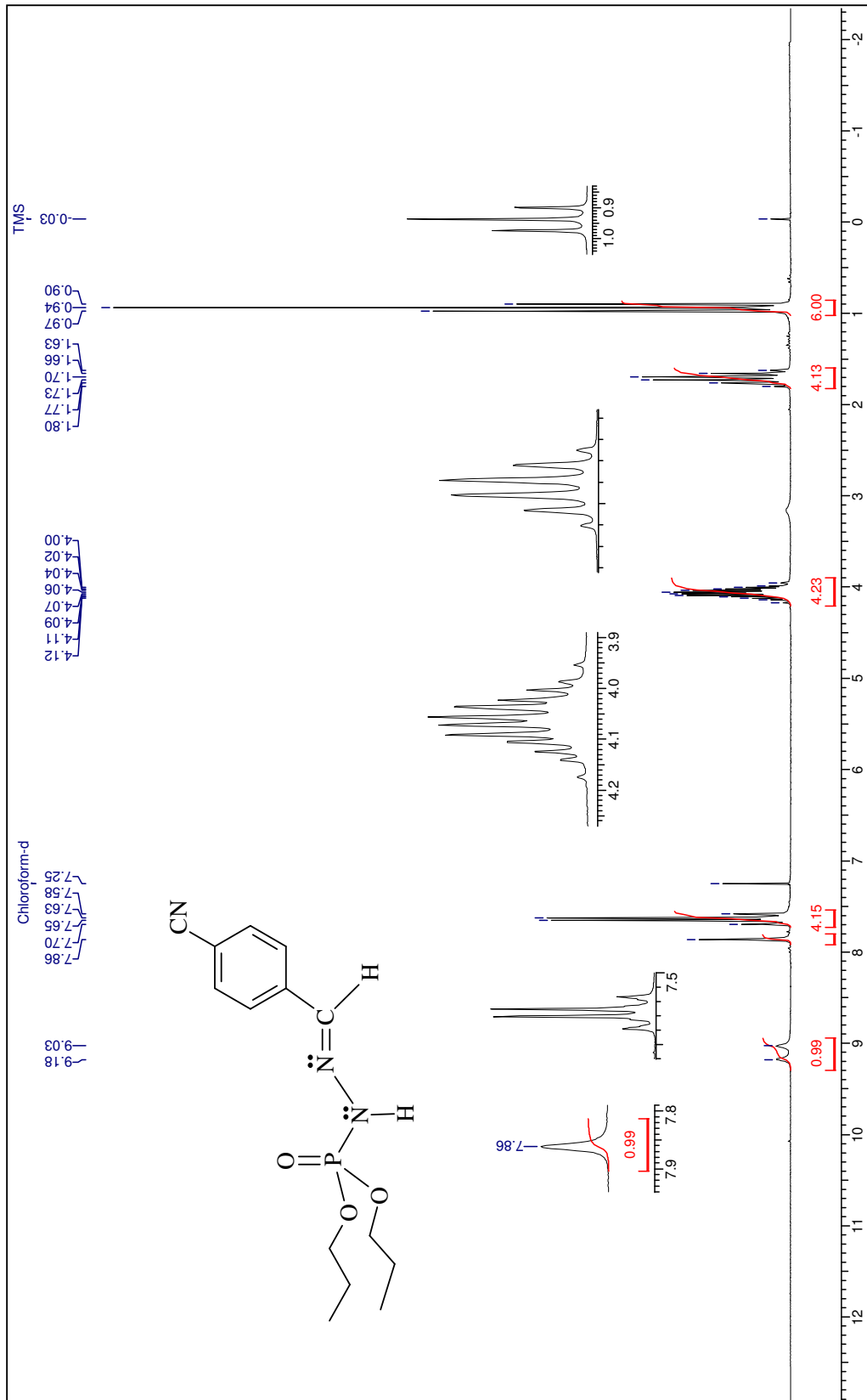


Figura 81: Espectro de RMN de ¹H do composto 4.

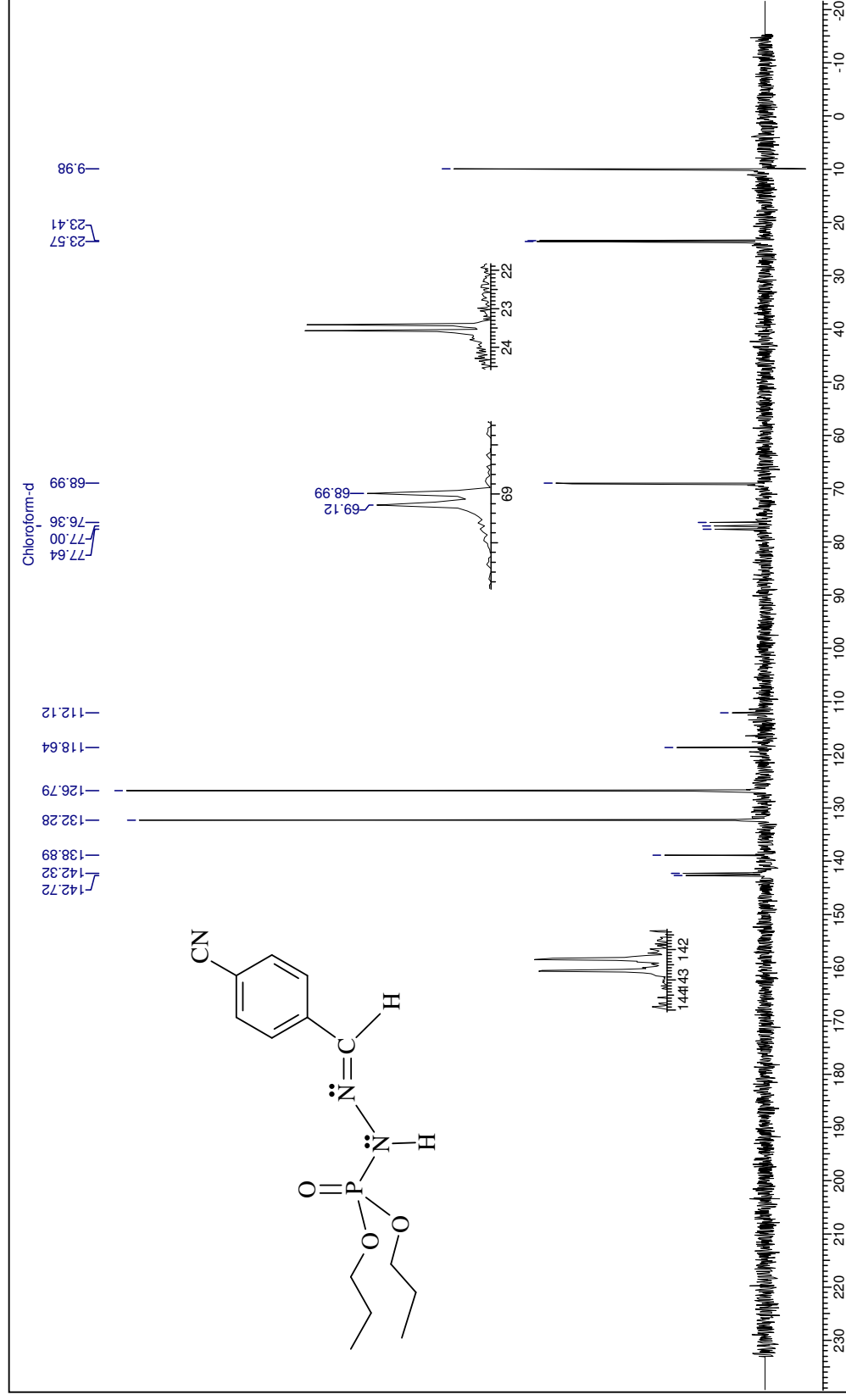


Figura 82: Espectro de RMN de ¹³C do composto 4.

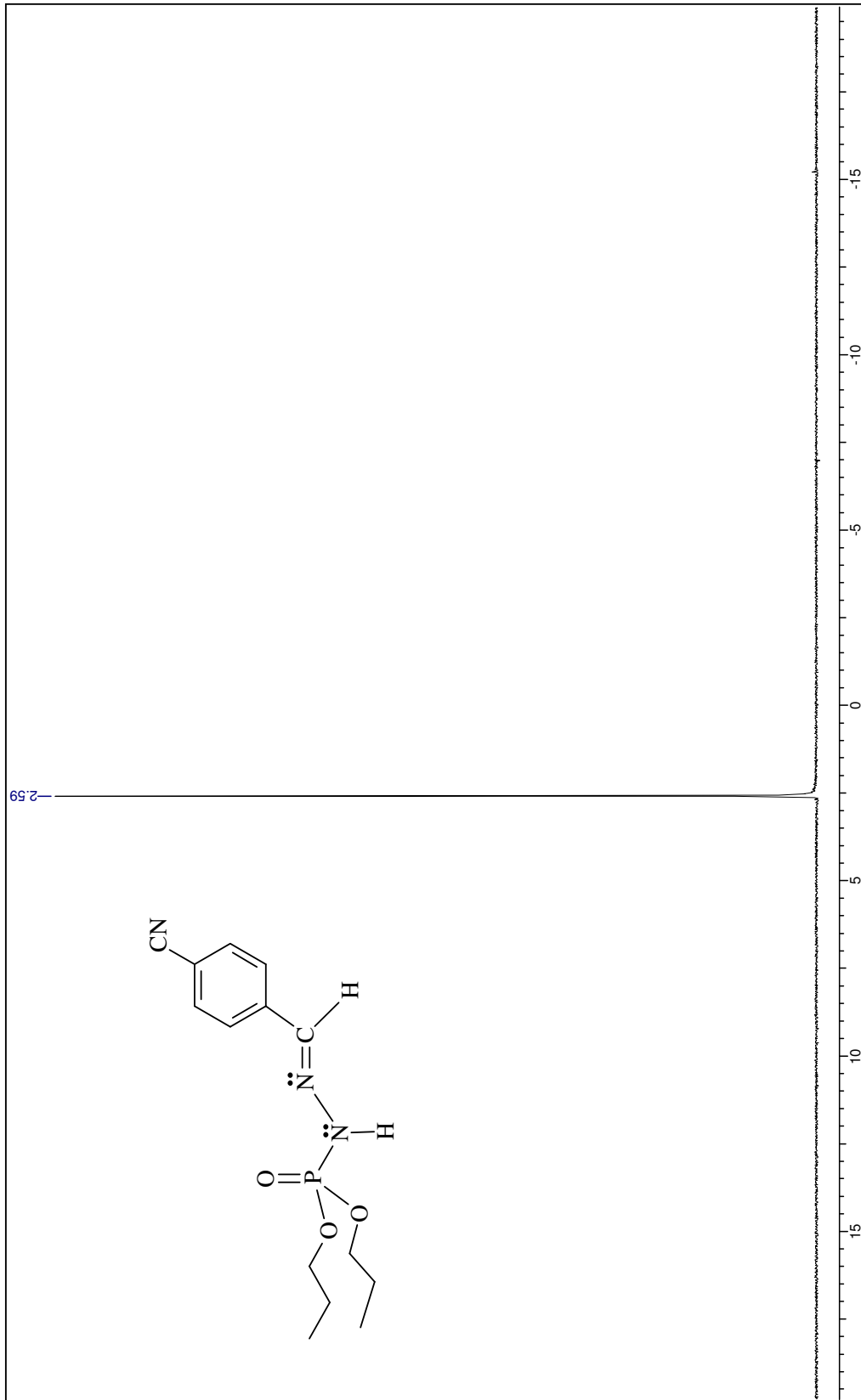


Figura 83: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 4.

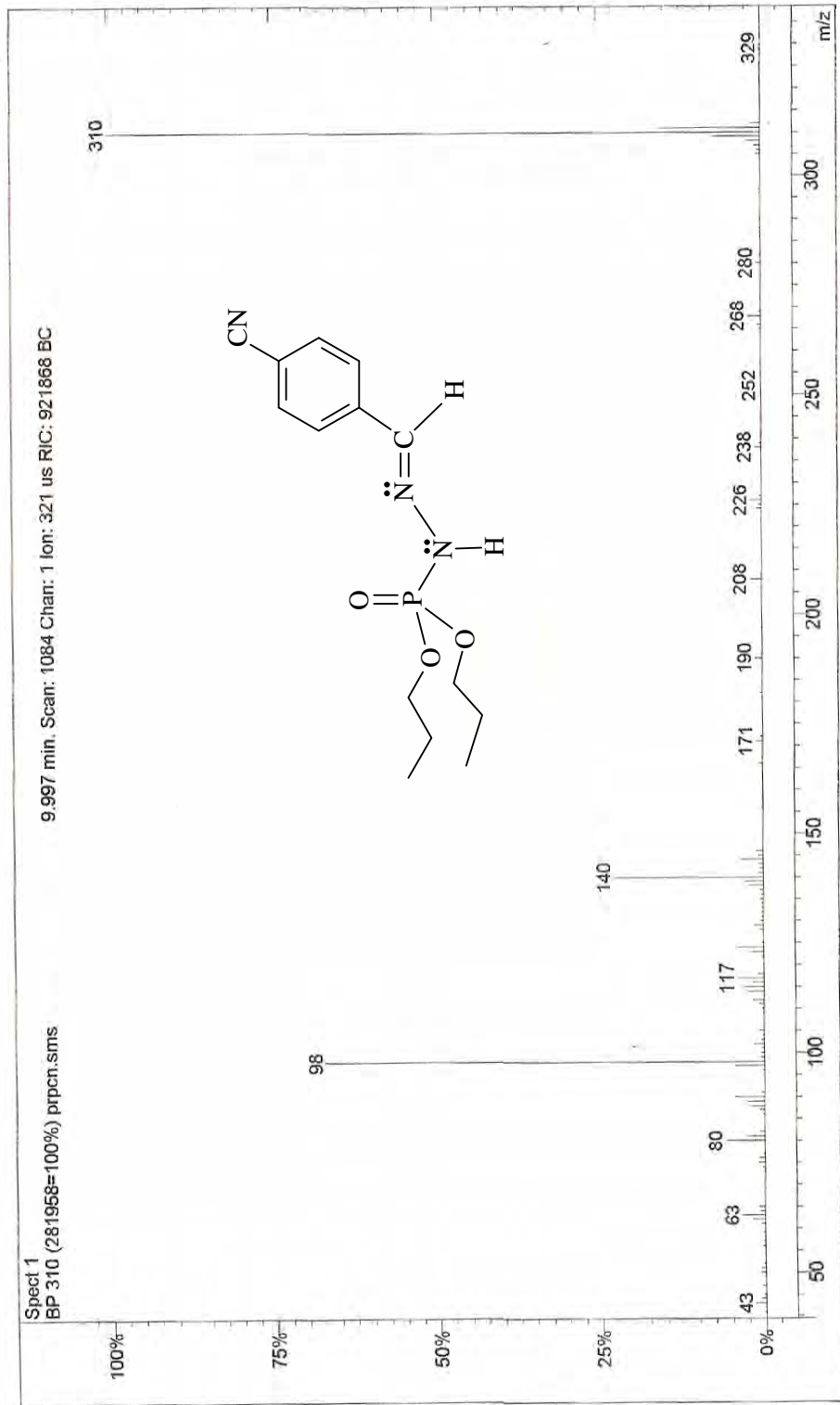


Figura 84: Espectro de massas do composto 4.

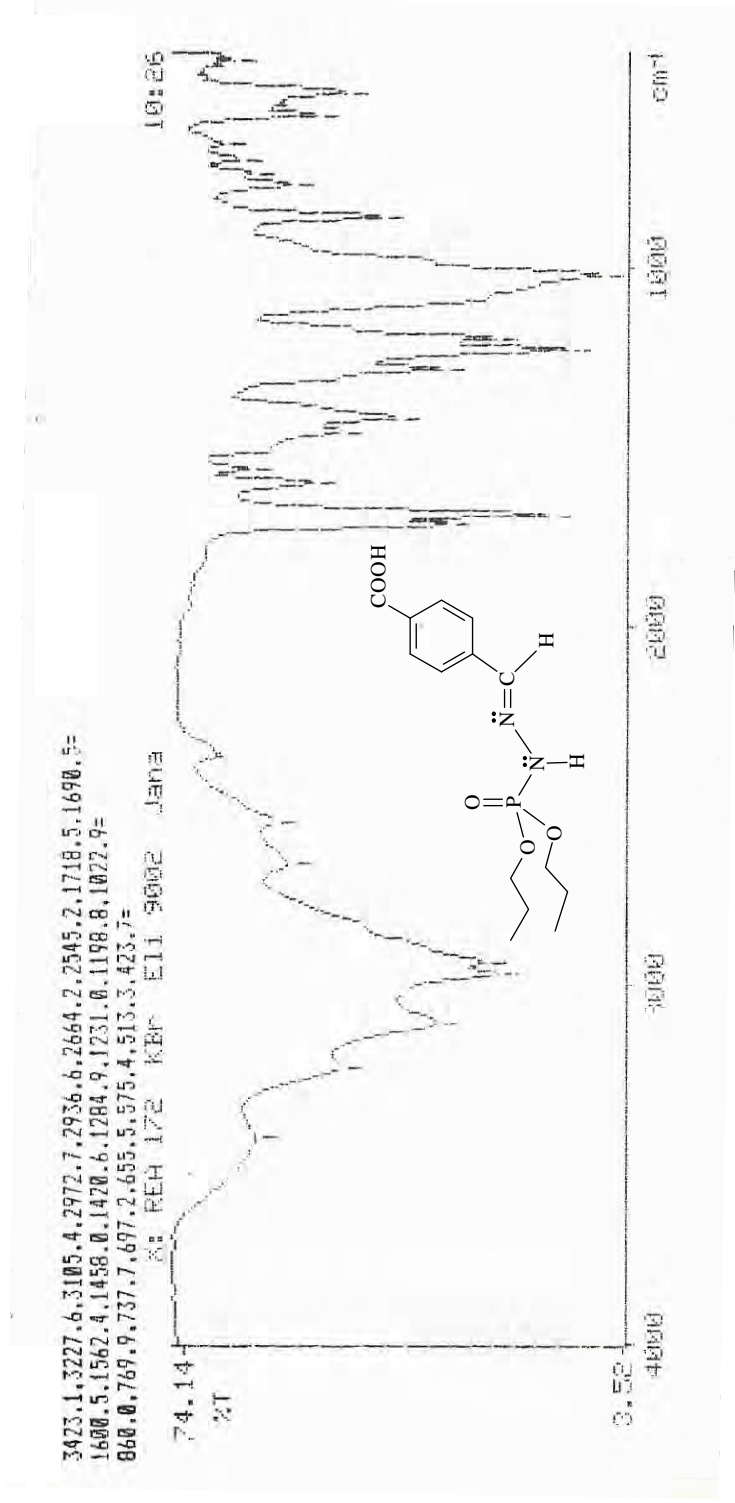


Figura 85: Espectro de IV do composto 5.

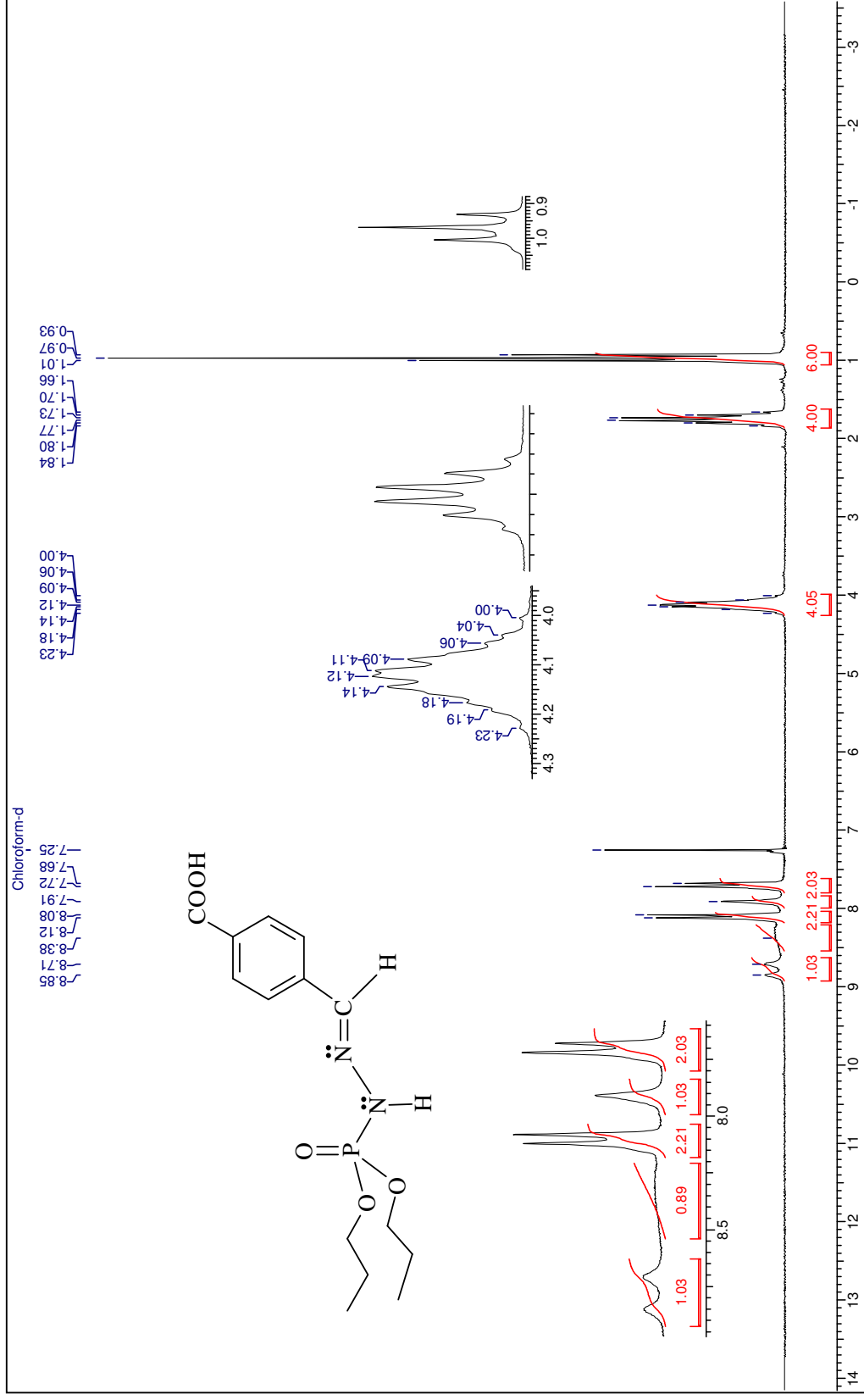


Figura 86: Espectro de RMN de ^1H do composto 5.

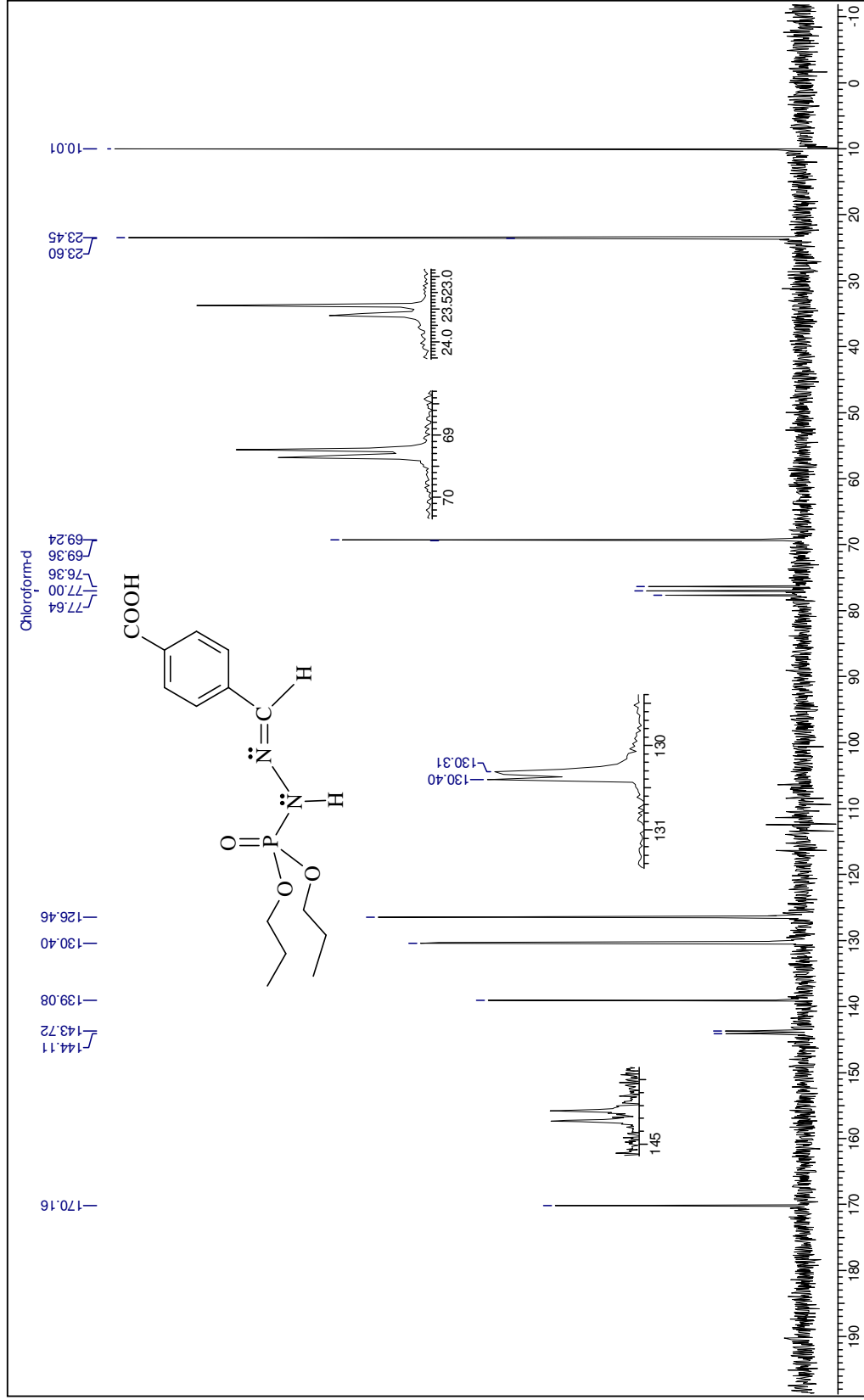


Figura 87: Espectro de RMN de ¹³C do composto 5.

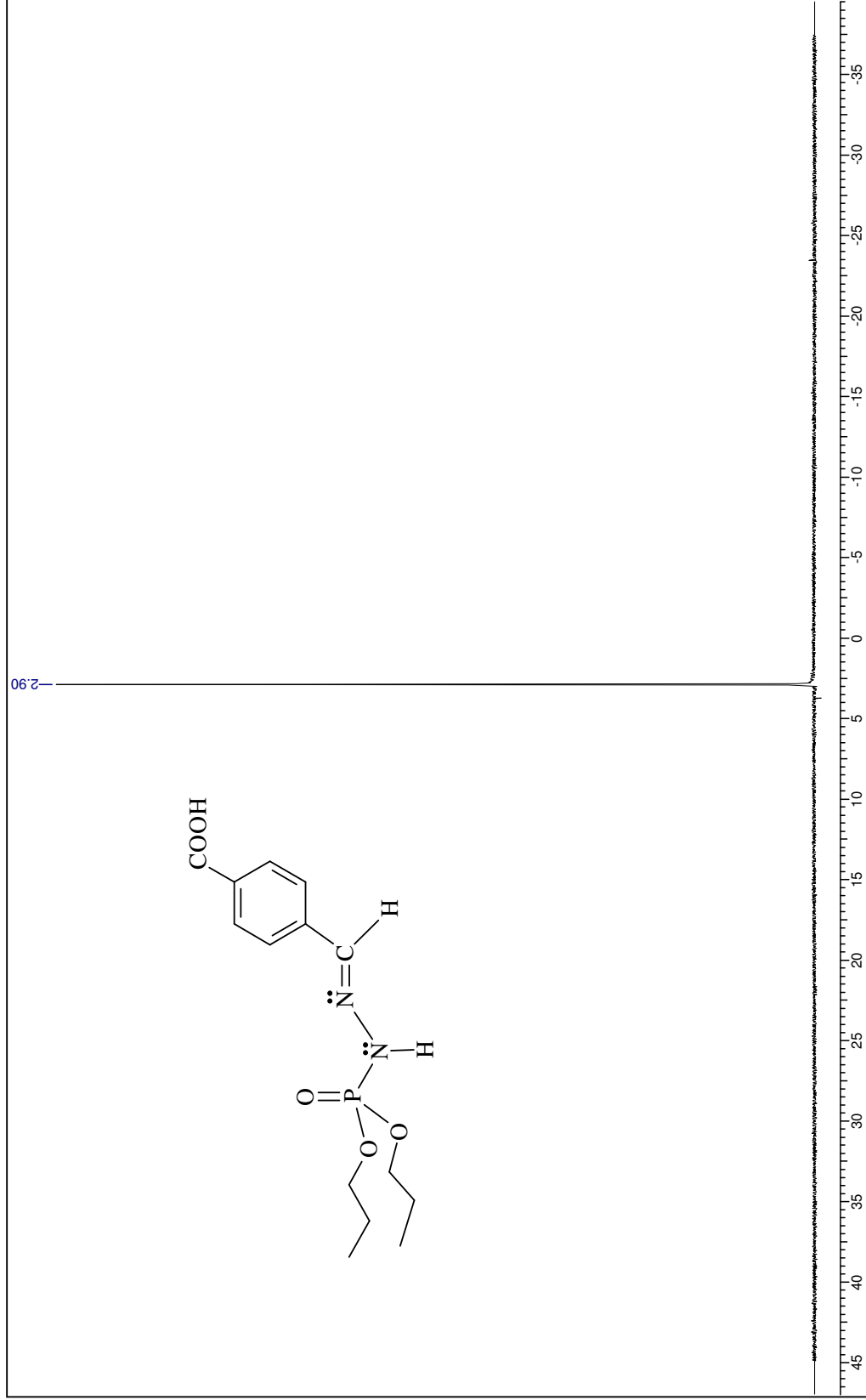


Figura 88: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 5.

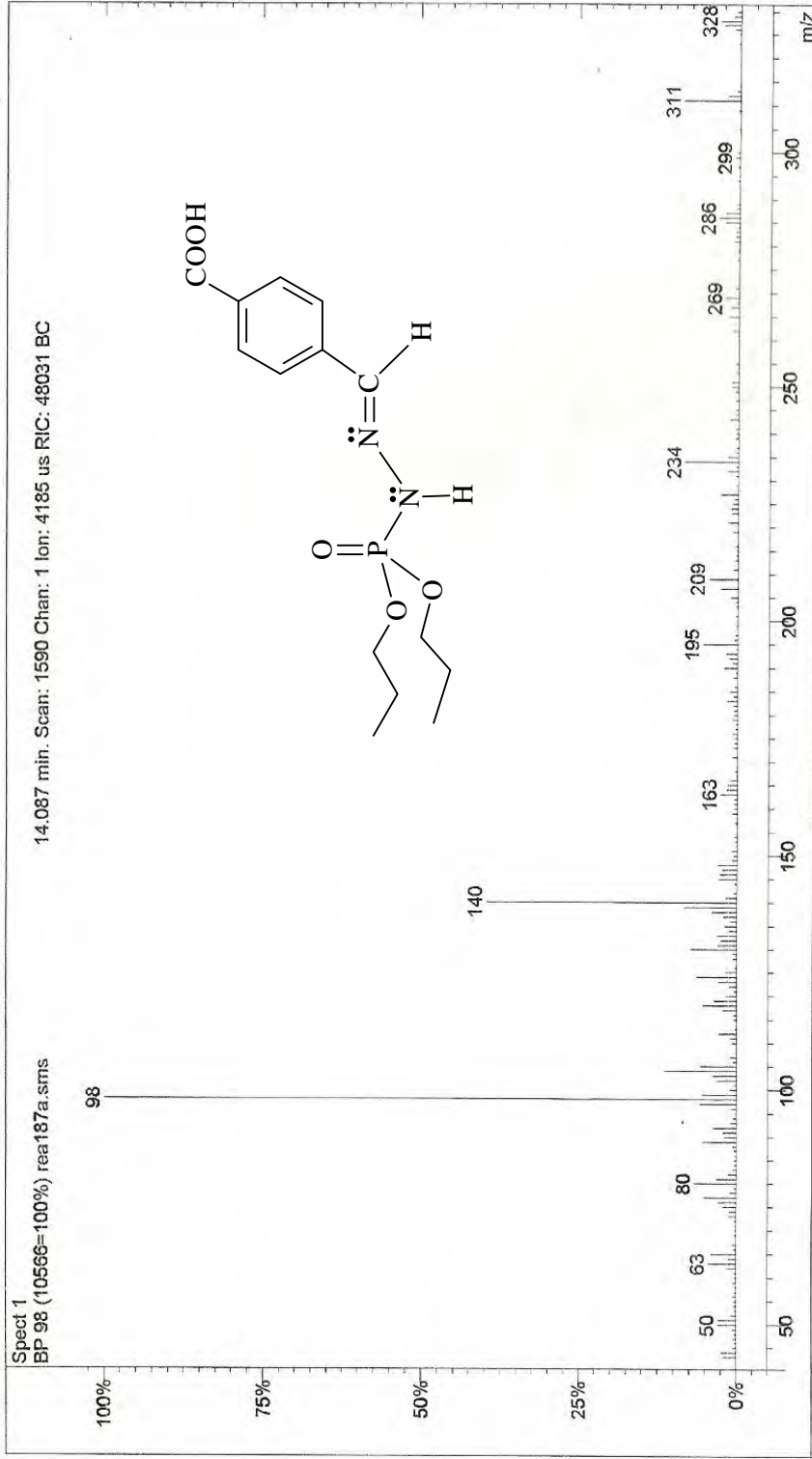


Figura 89: Espectro de massas do composto 5.

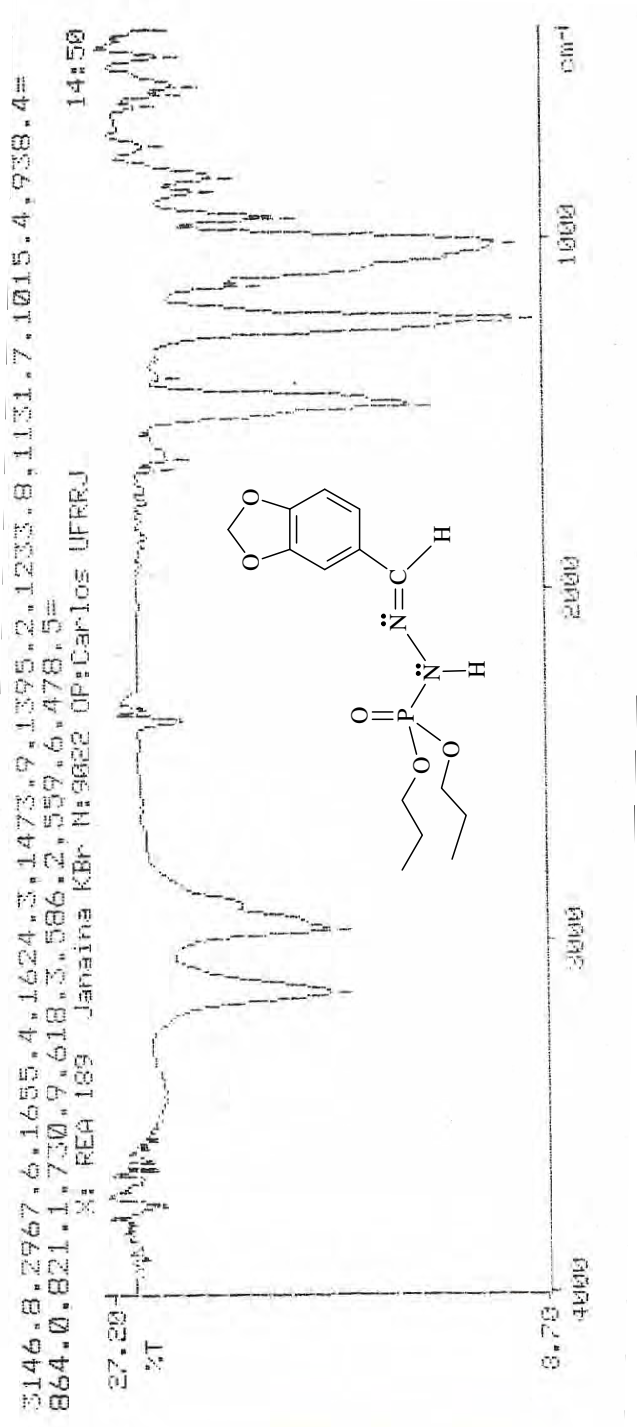


Figura 90: Espectro de IV do composto 6.

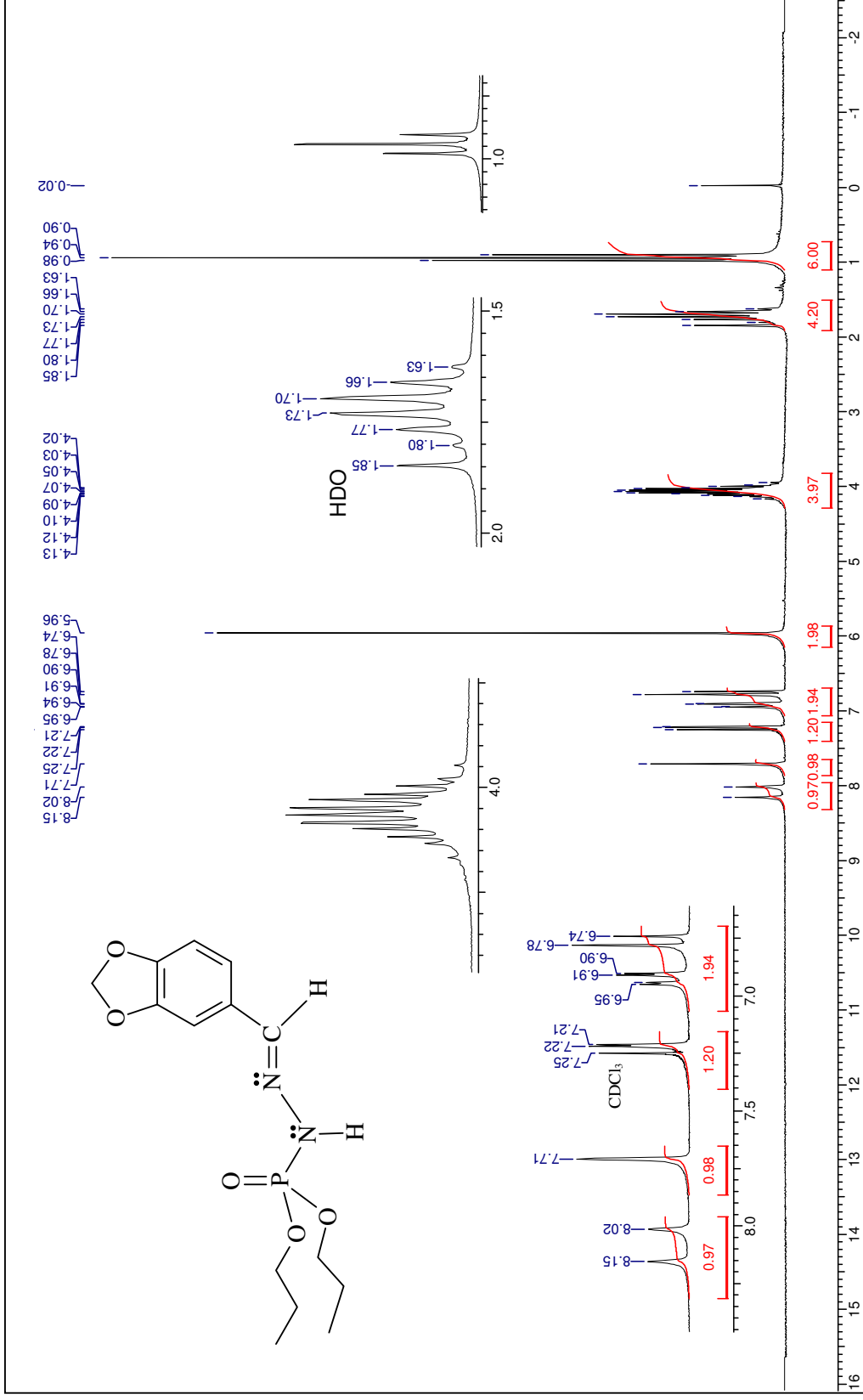


Figura 91: Espectro de RMN de ¹H do composto 6.

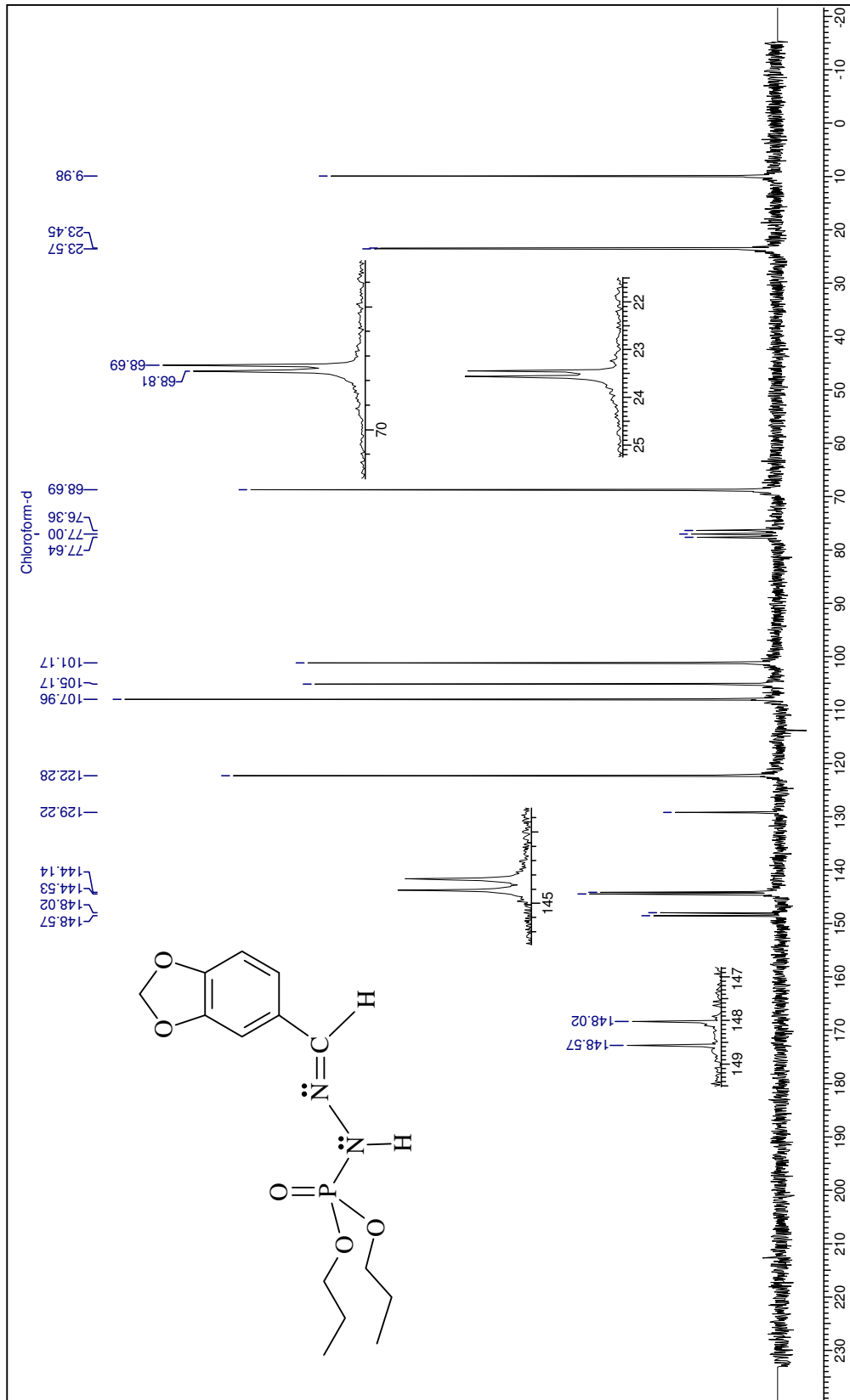


Figura 92: Espectro de RMN de ¹³C do composto 6.

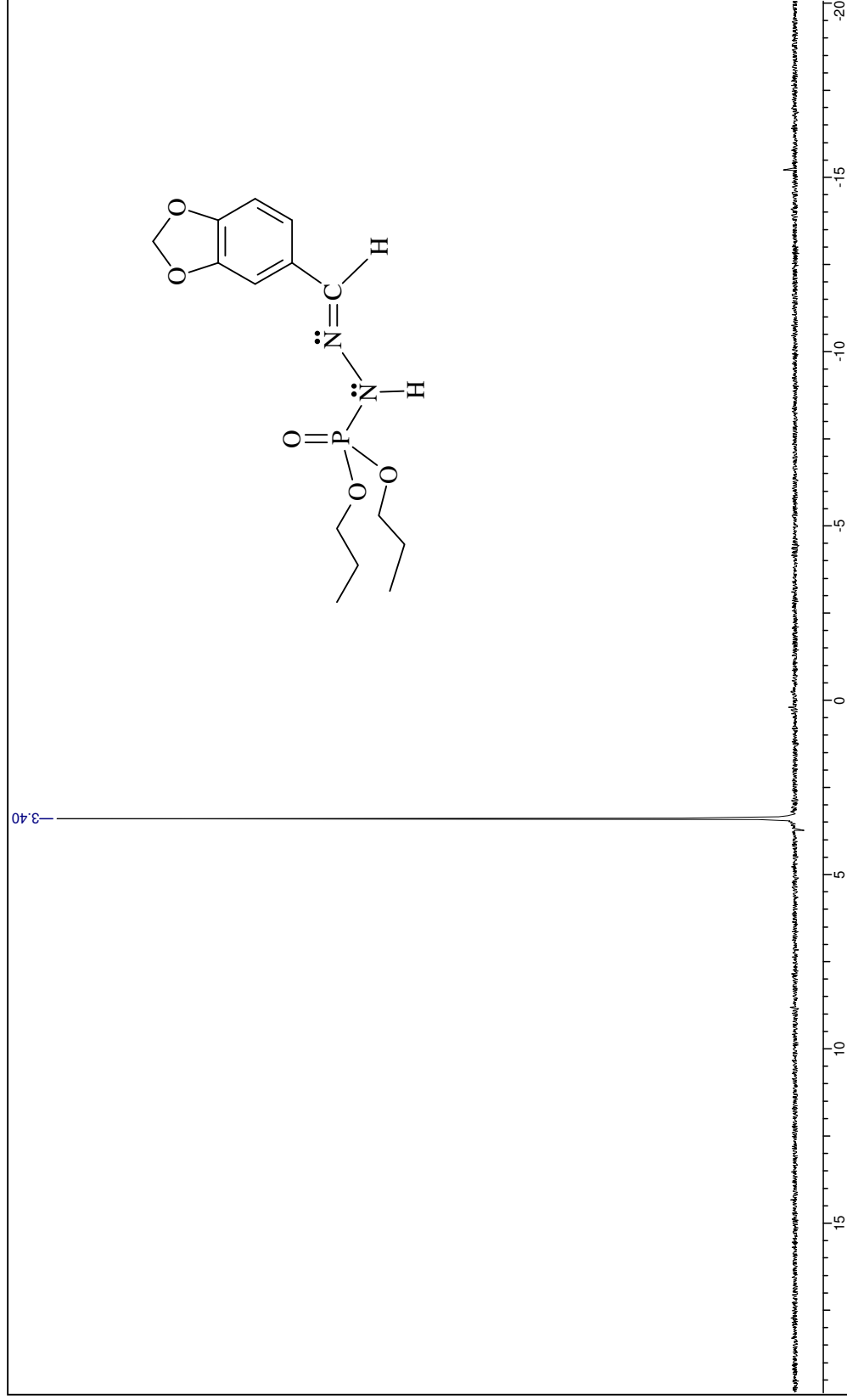


Figura 93: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 6.

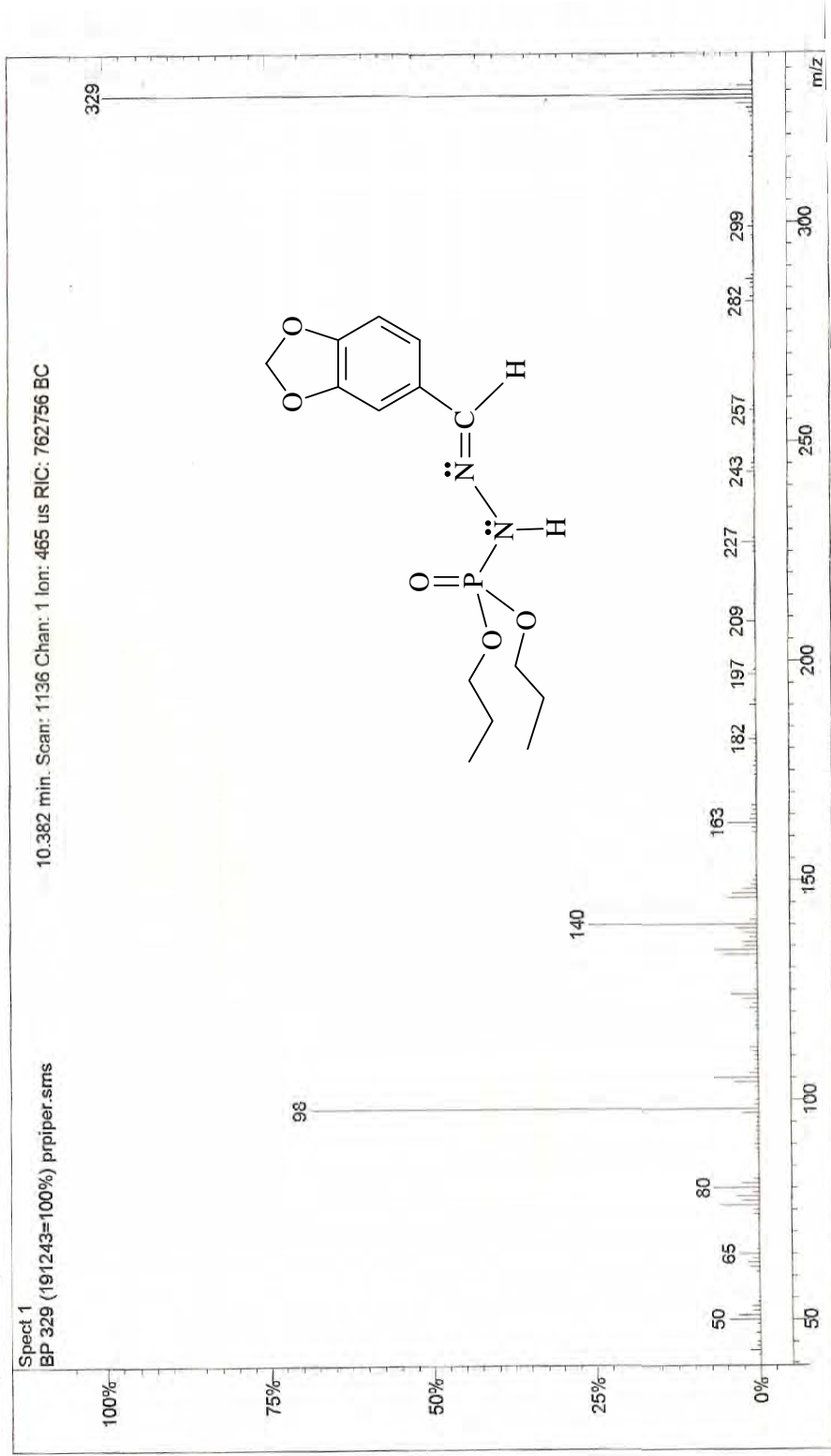


Figura 94: Espectro de massas do composto 6.

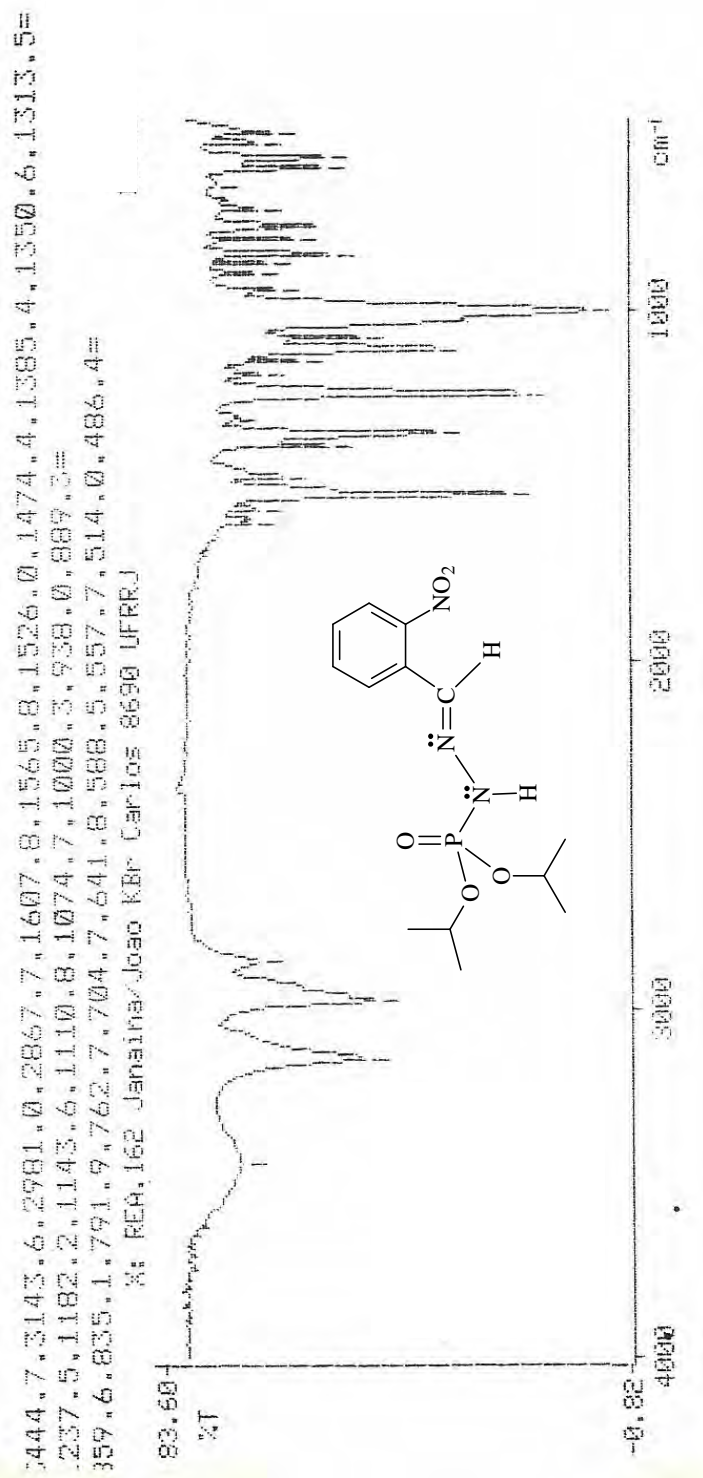


Figura 95: Espectro de IV do composto 7.

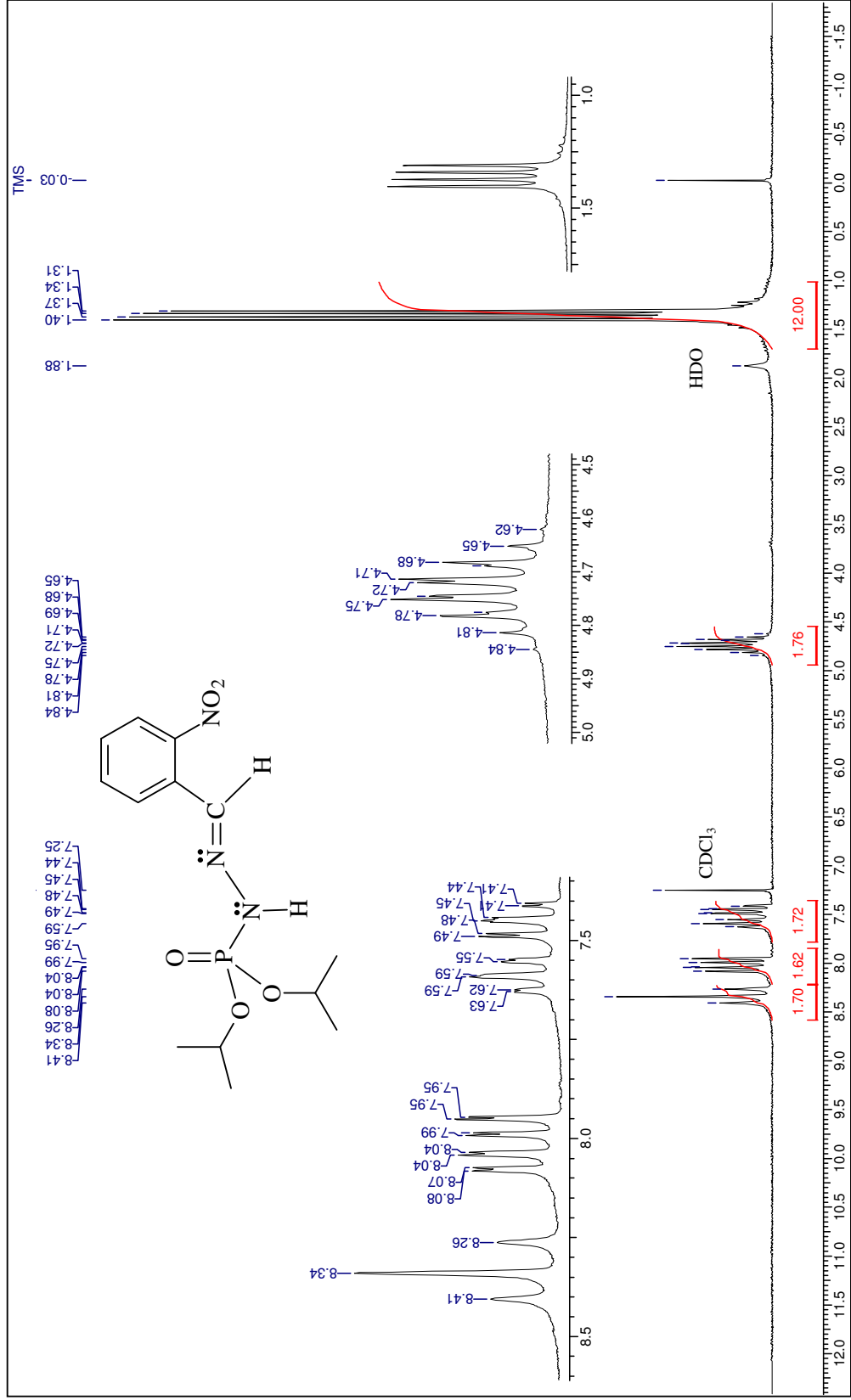


Figura 96: Espectro de RMN de ¹H do composto 7.

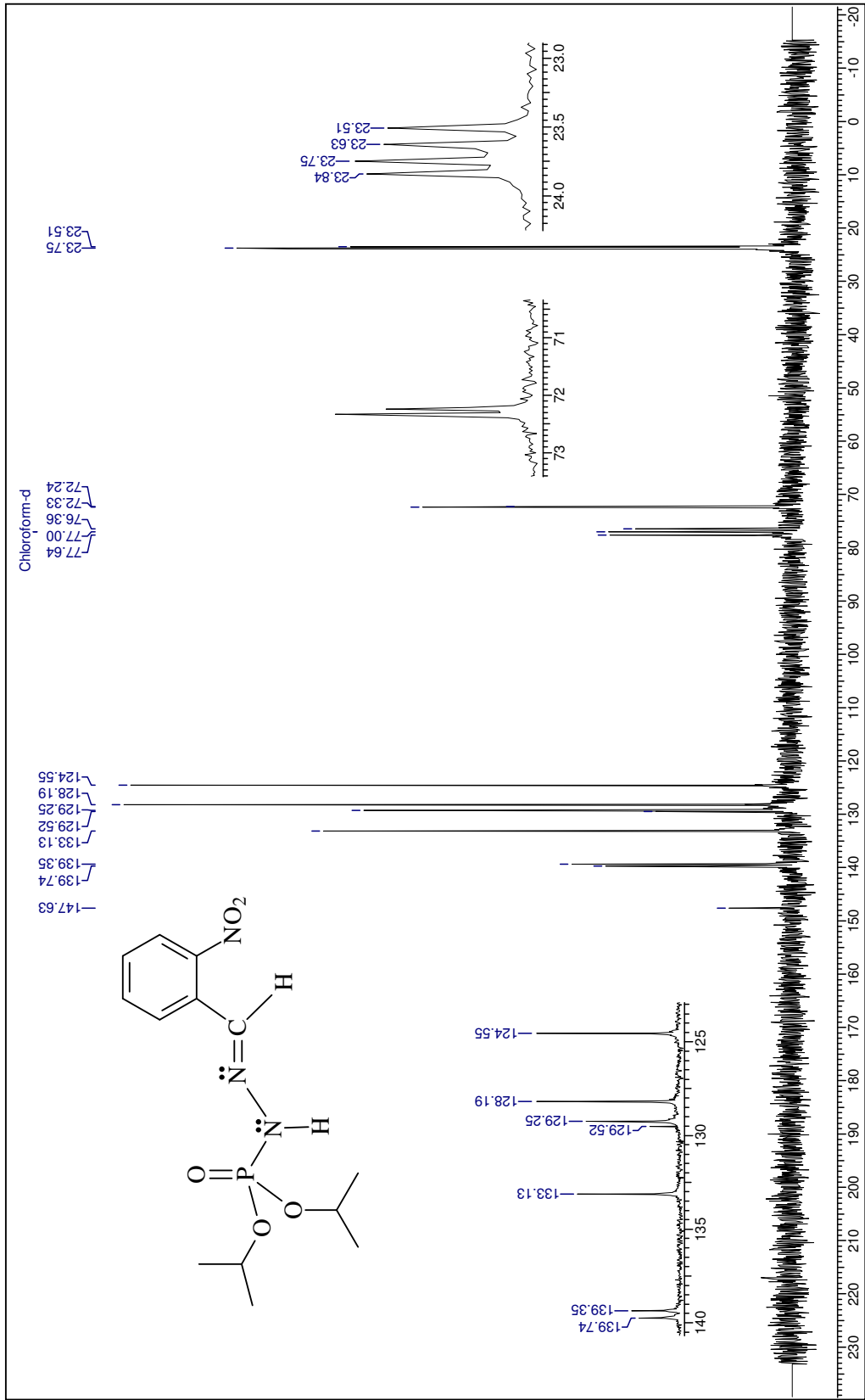


Figura 97: Espectro de RMN de ¹³C do composto 7.

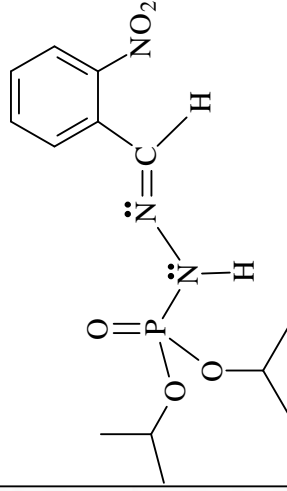
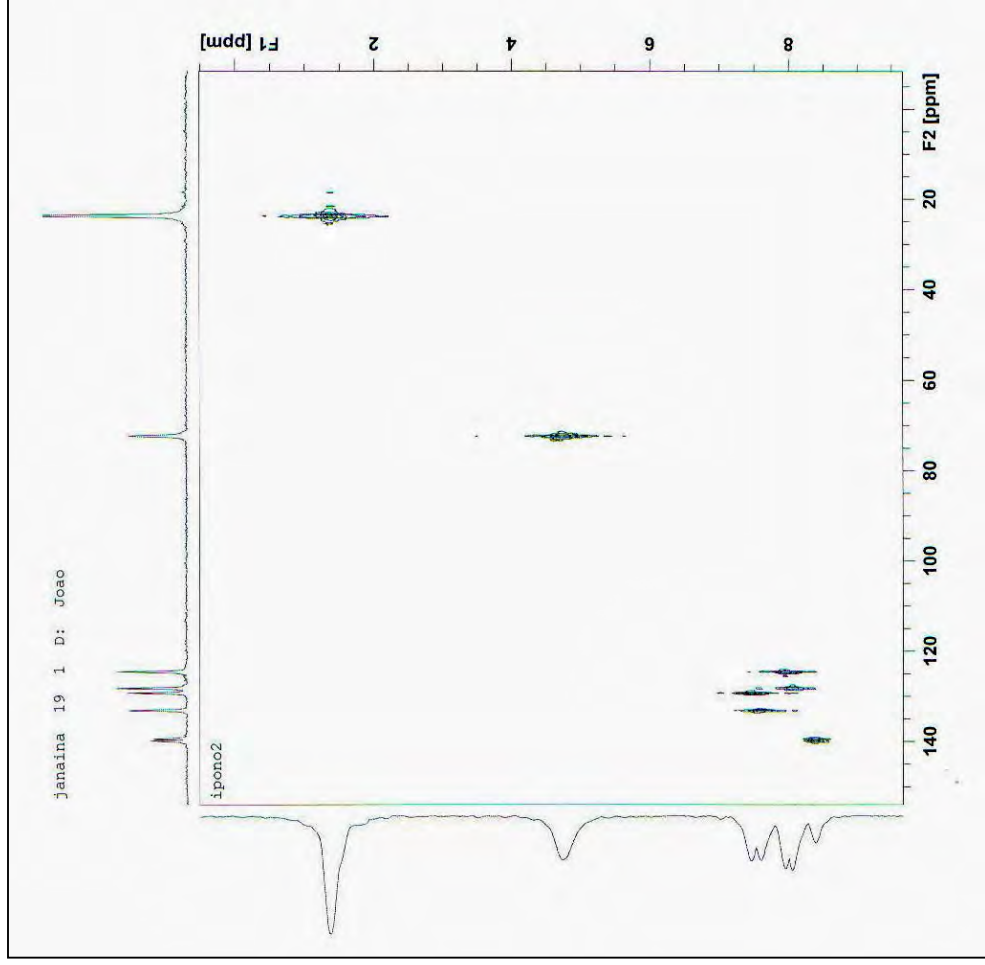


Figura 98: Espectro de HETCOSY do composto 7.

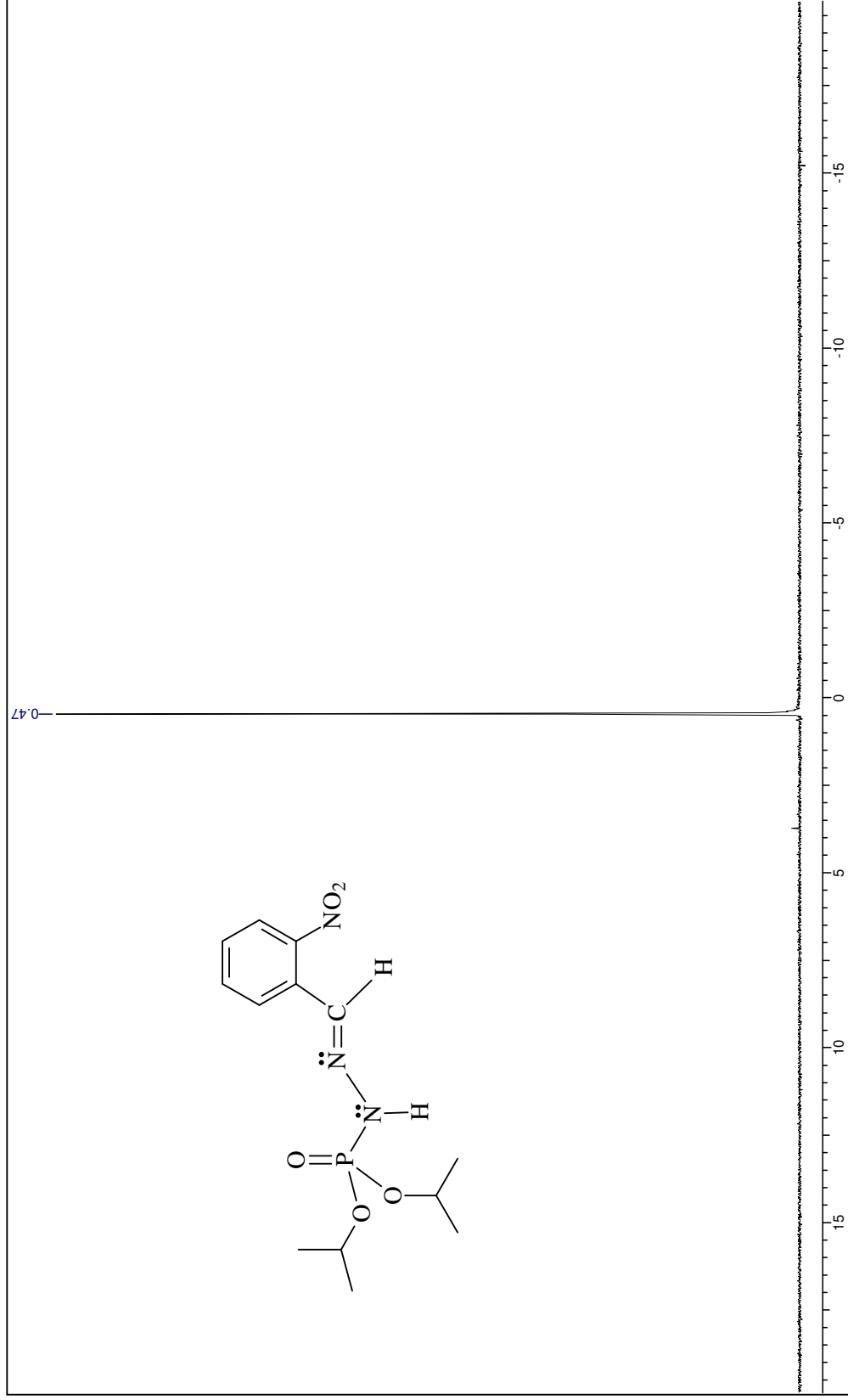


Figura 99: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 7.

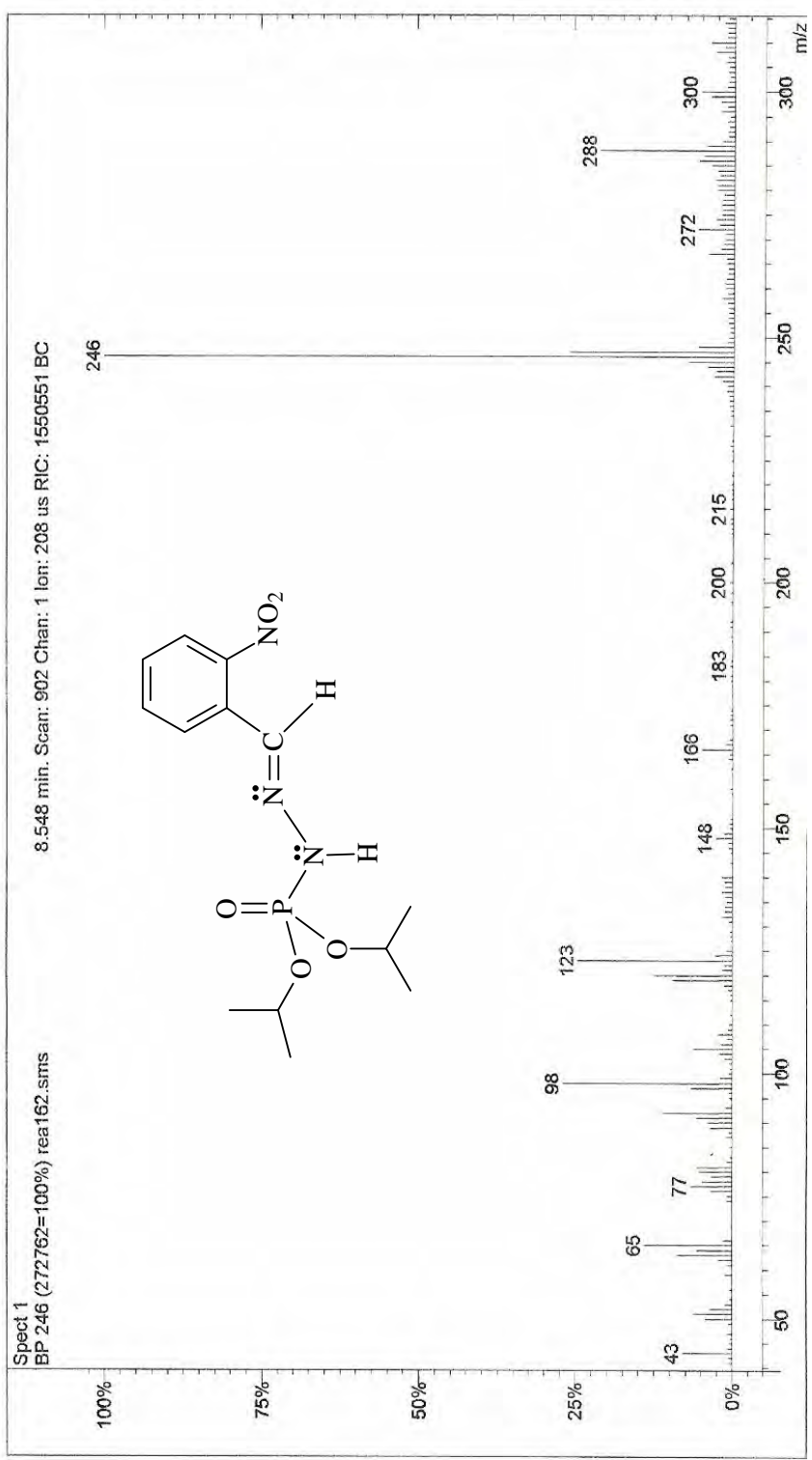


Figura 100: Espectro de massas do composto 7.

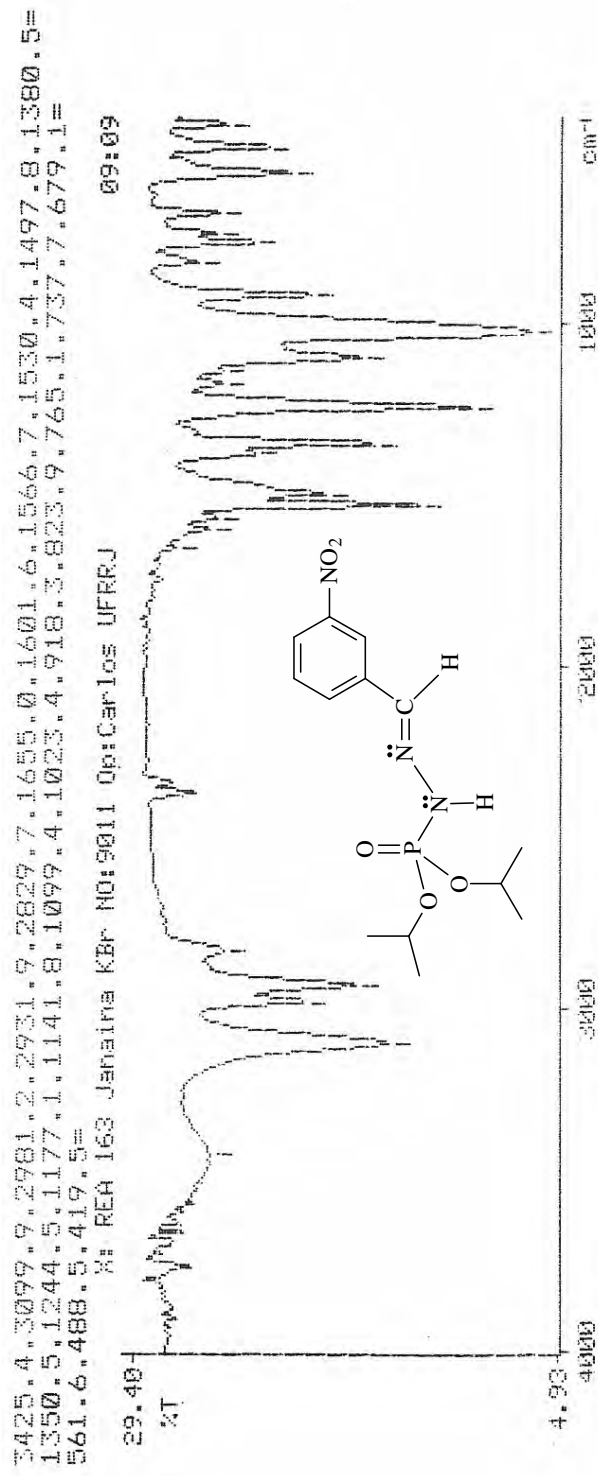


Figura 101: Espectro de IV do composto 8.

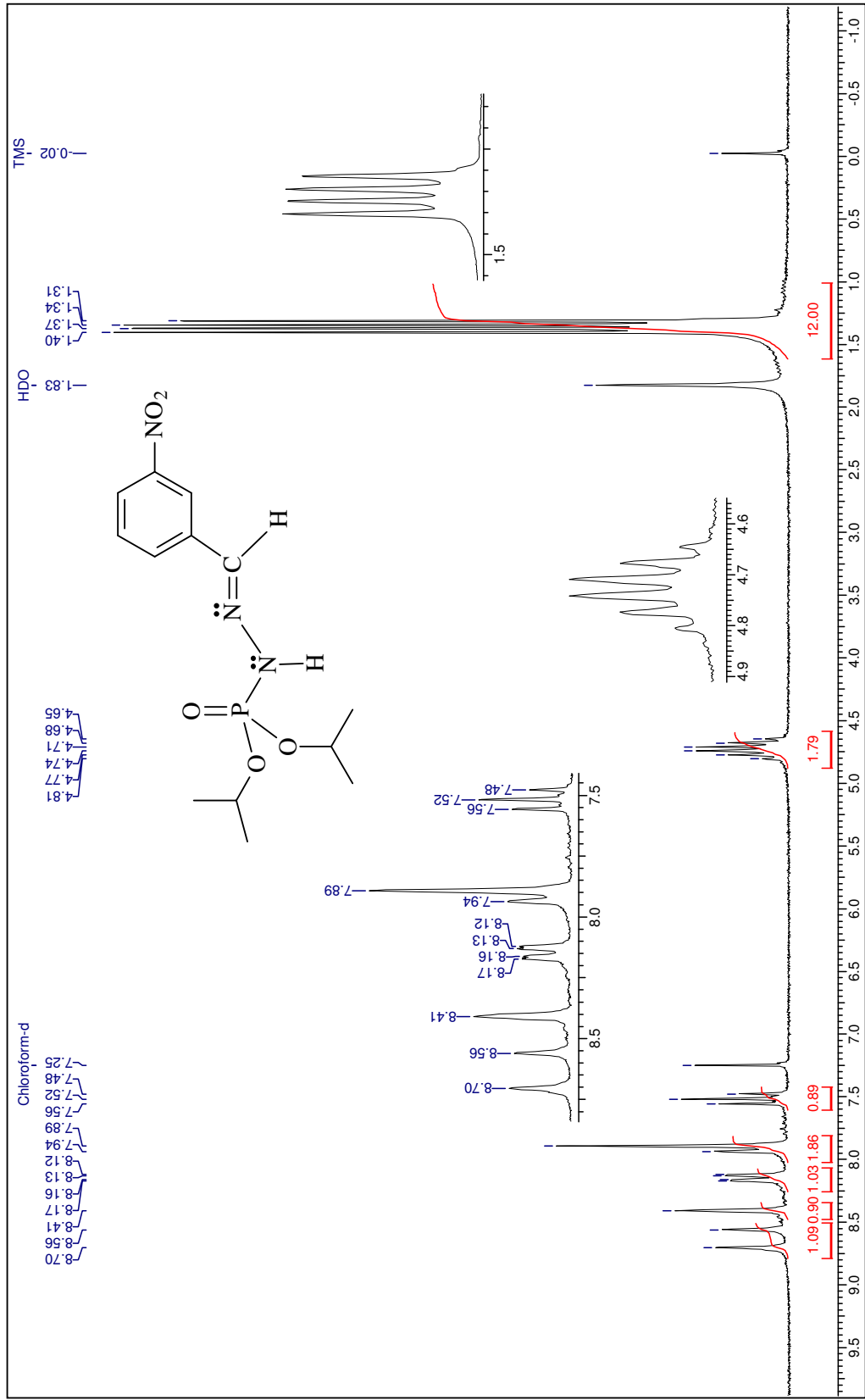


Figura 102: Espectro de RMN de ¹H do composto 8.

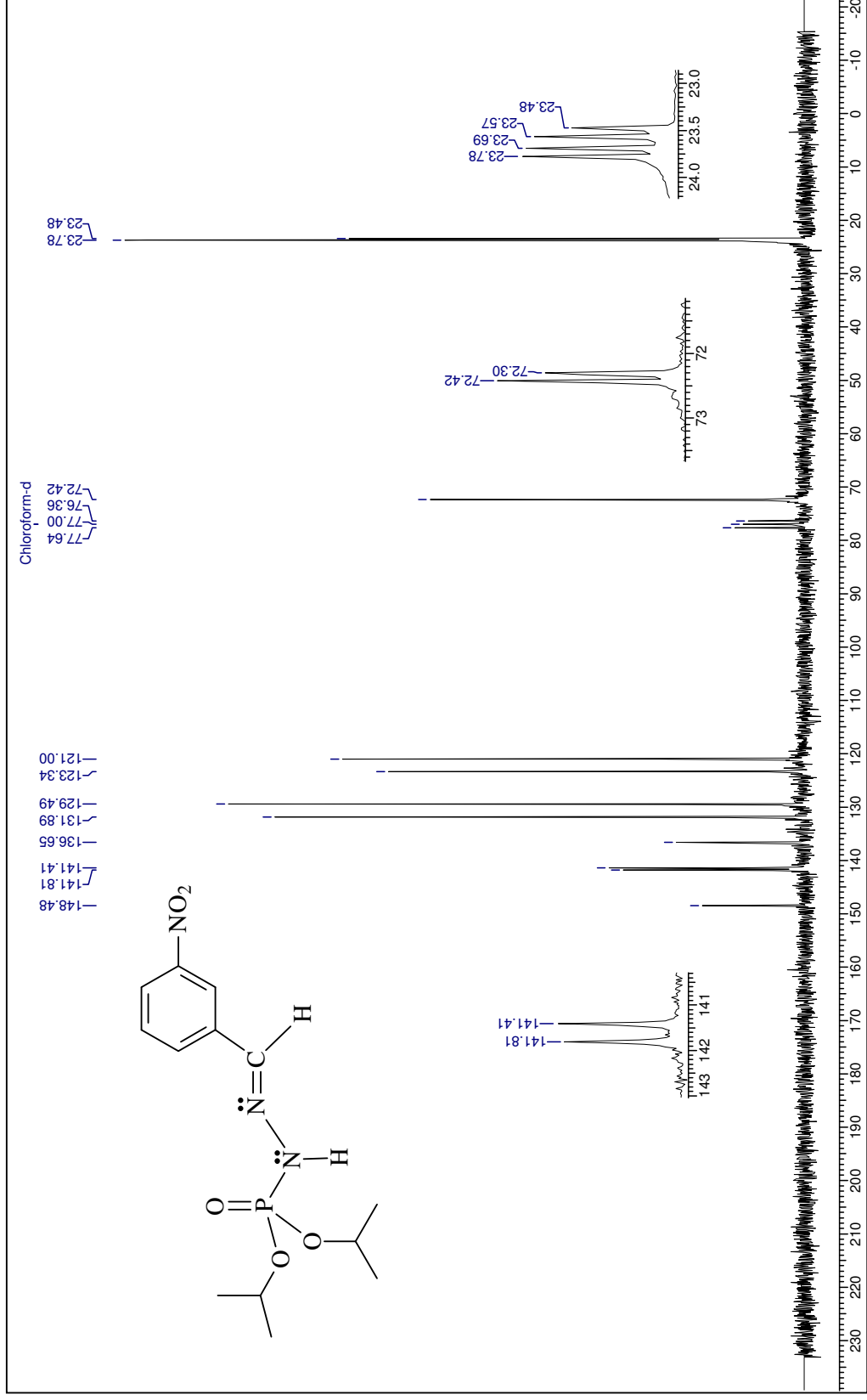


Figura 103: Espectro de RMN de ¹³C do composto 8.

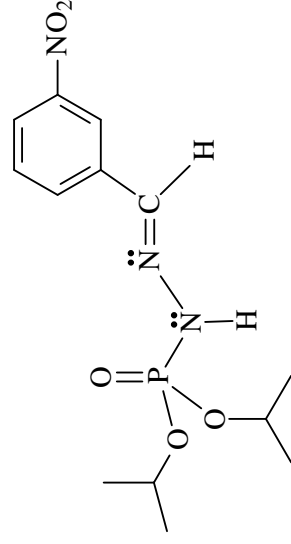
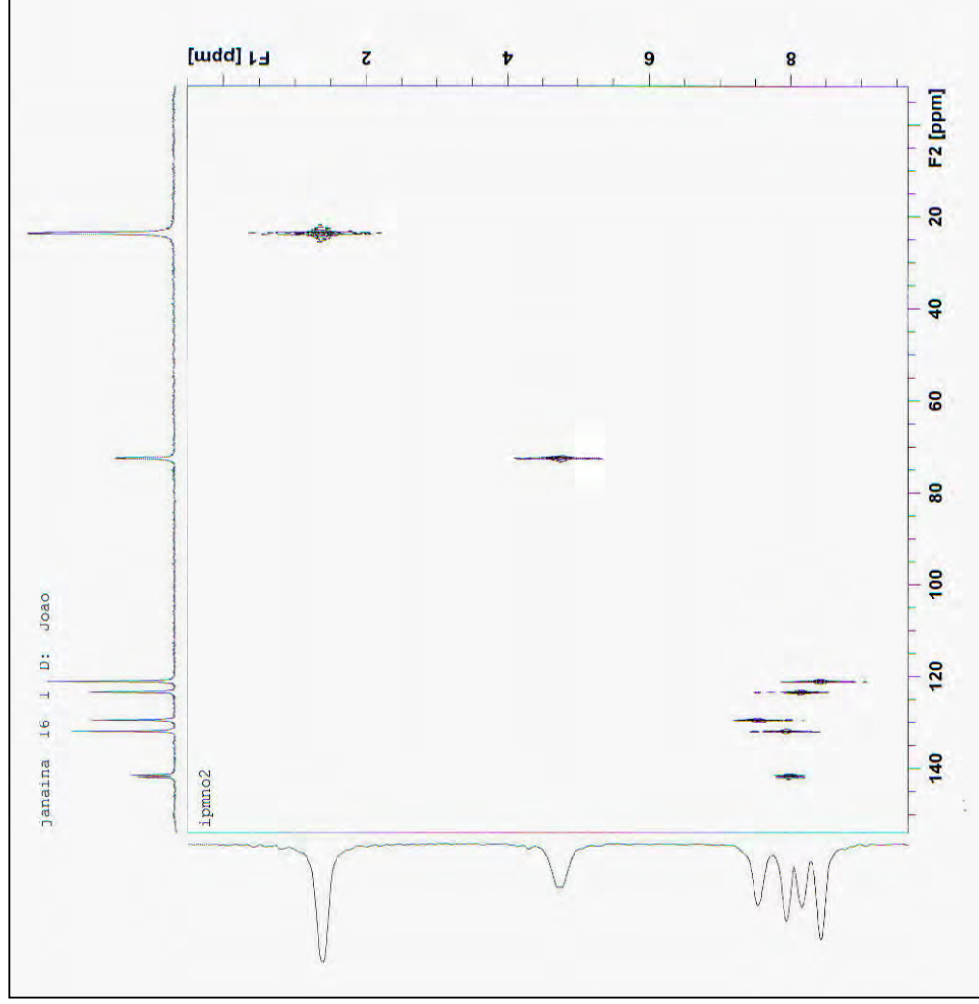


Figura 104: Espectro de HETCOSY do composto 8.

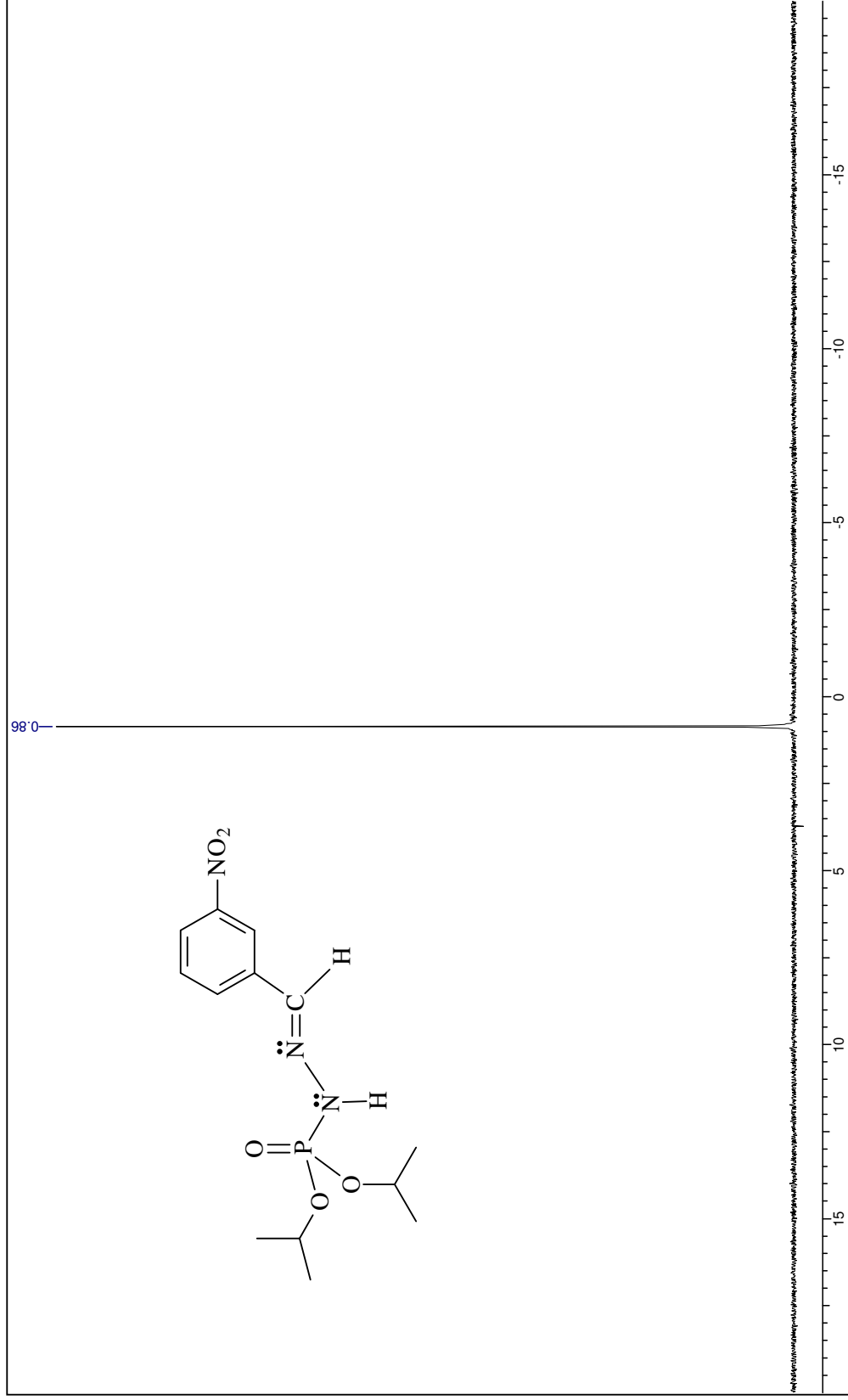


Figura 105: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 8.

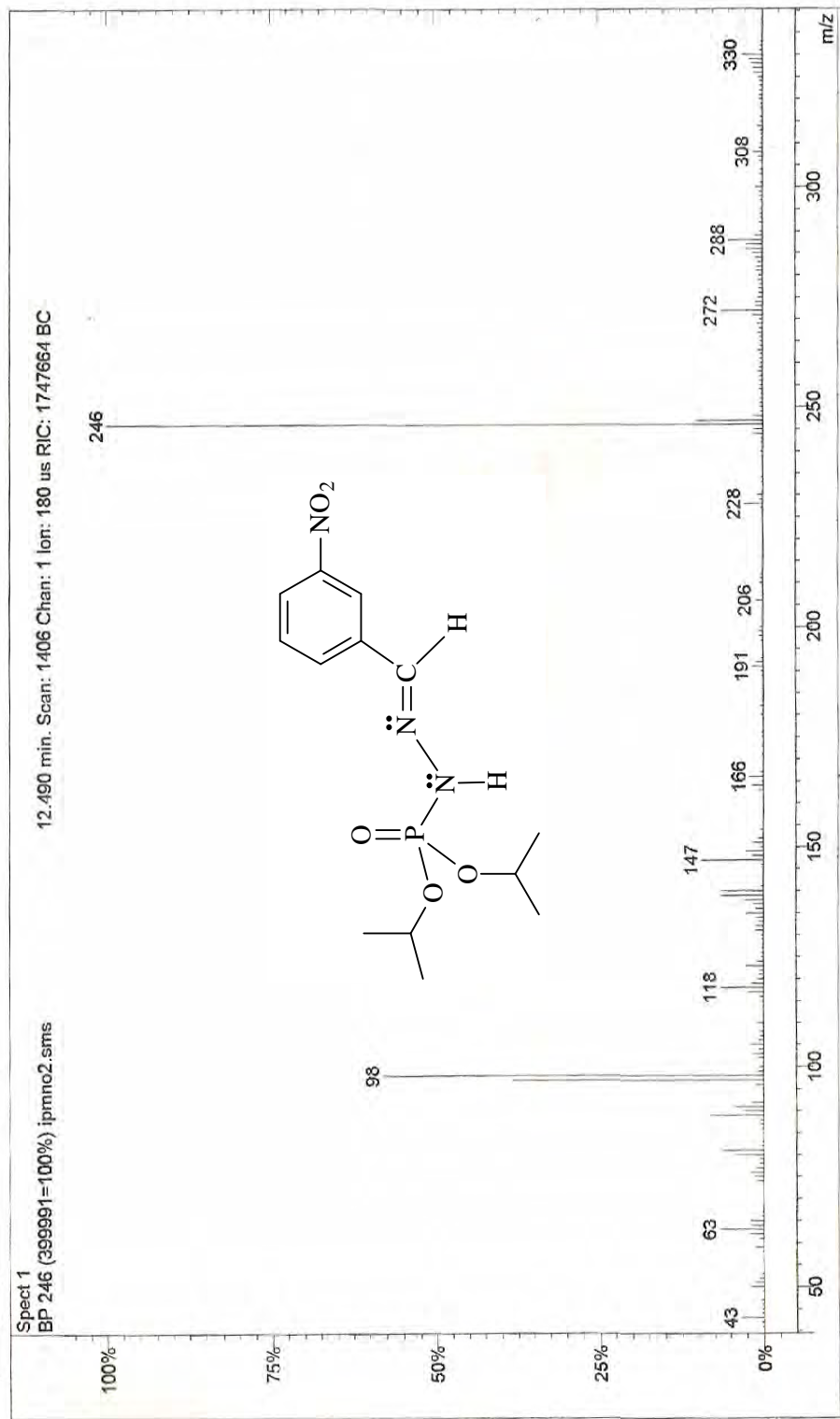


Figura 106: Espectro de massas do composto 8.

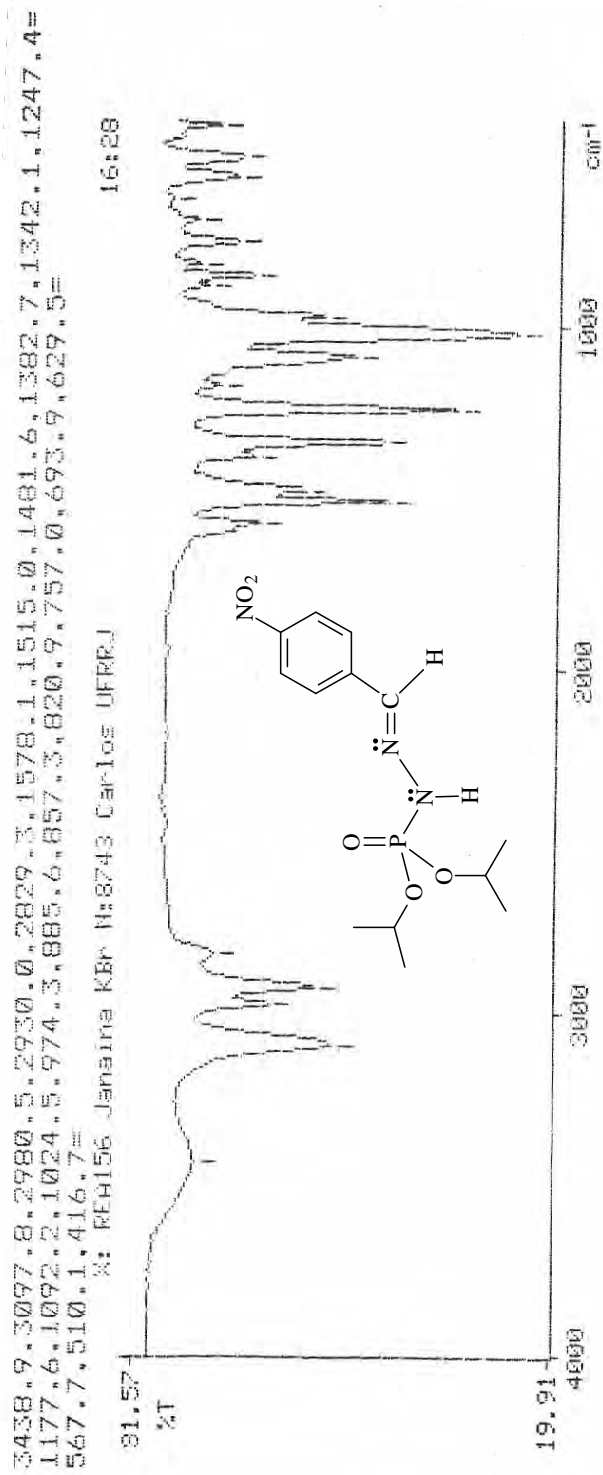


Figura 107: Espectro de IV do composto 9.

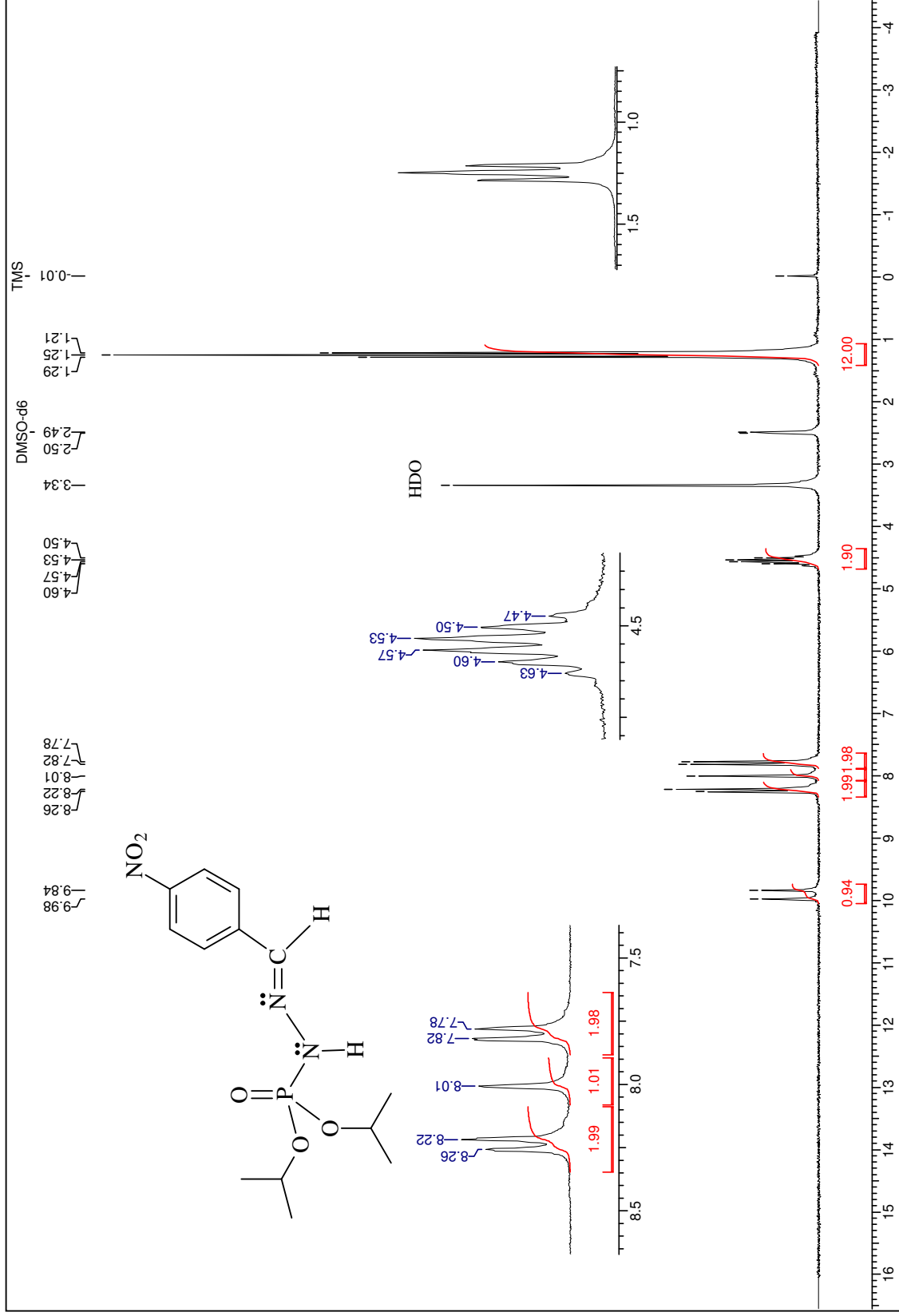


Figura 108: Espectro de RMN de ¹H do composto 9.

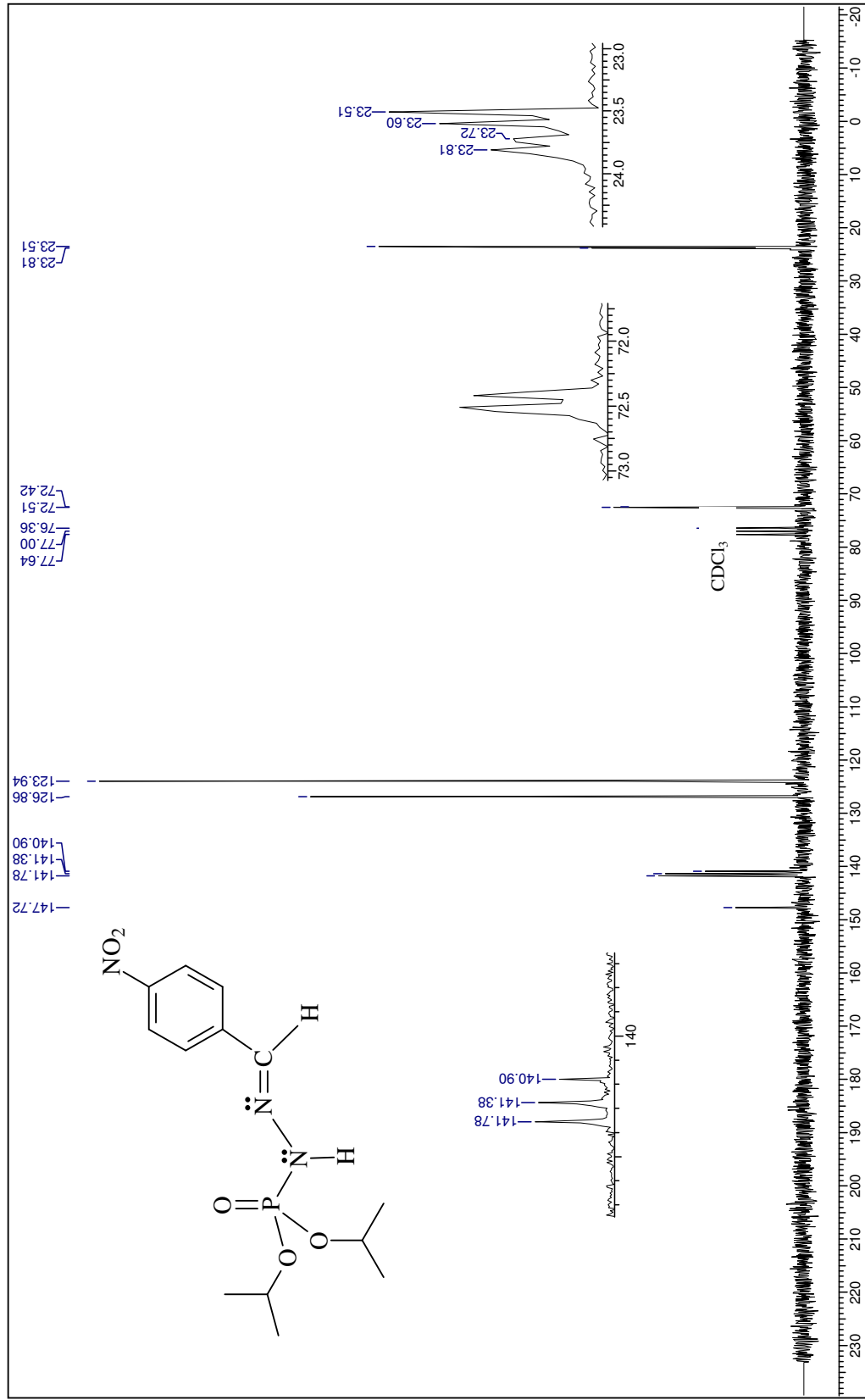


Figura 109: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 9.

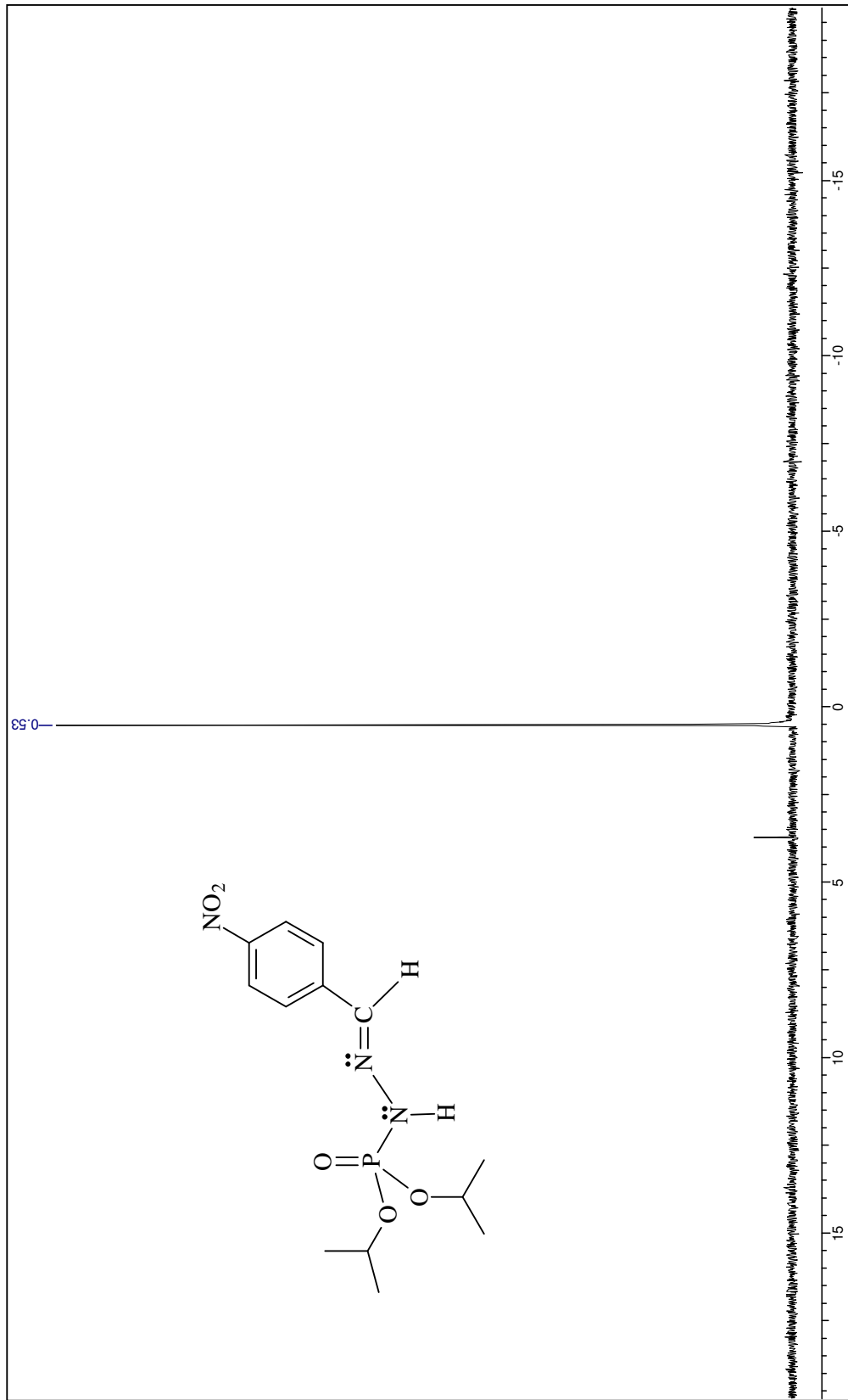


Figura 110: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 9.

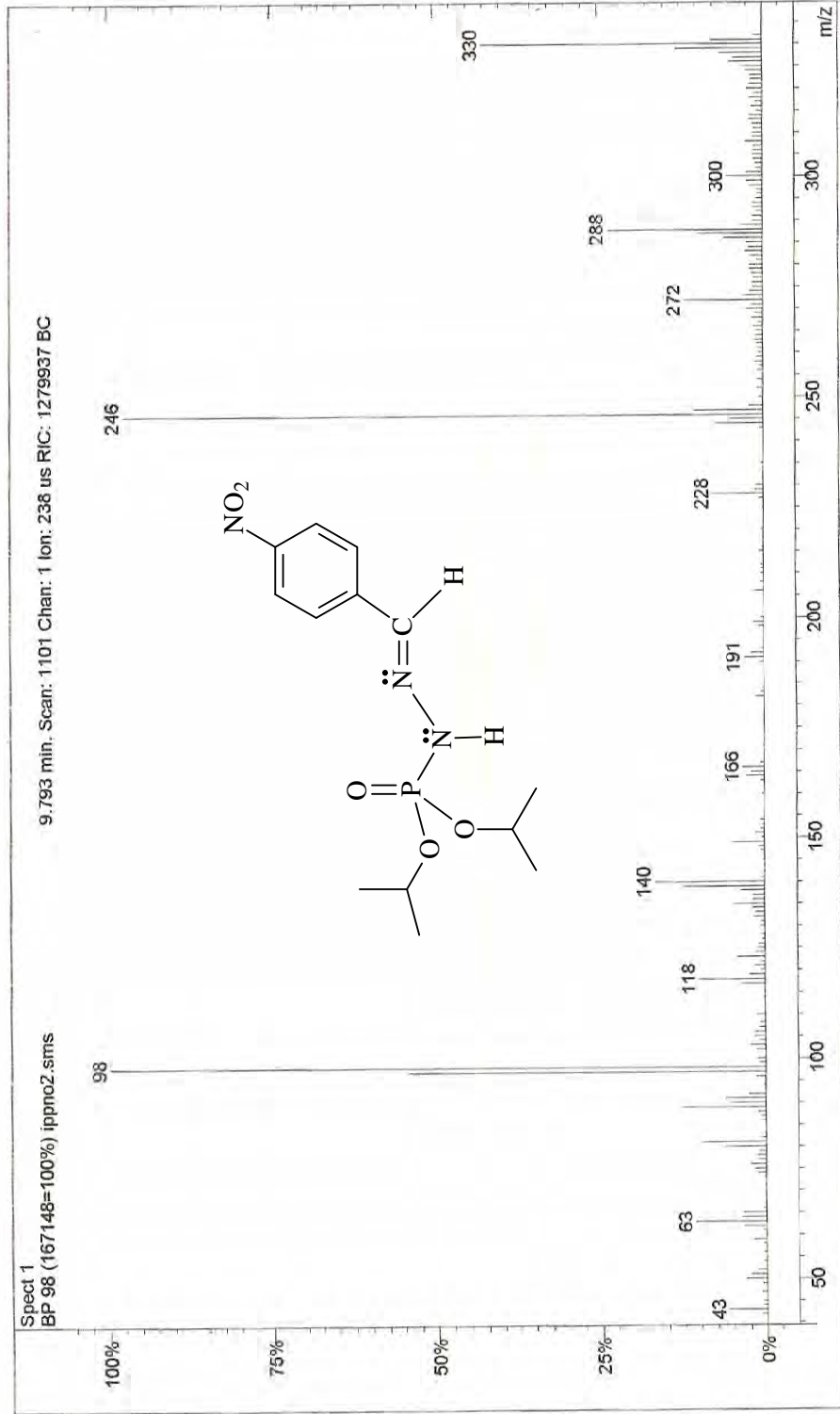


Figura 111: Espectro de massas do composto 9.

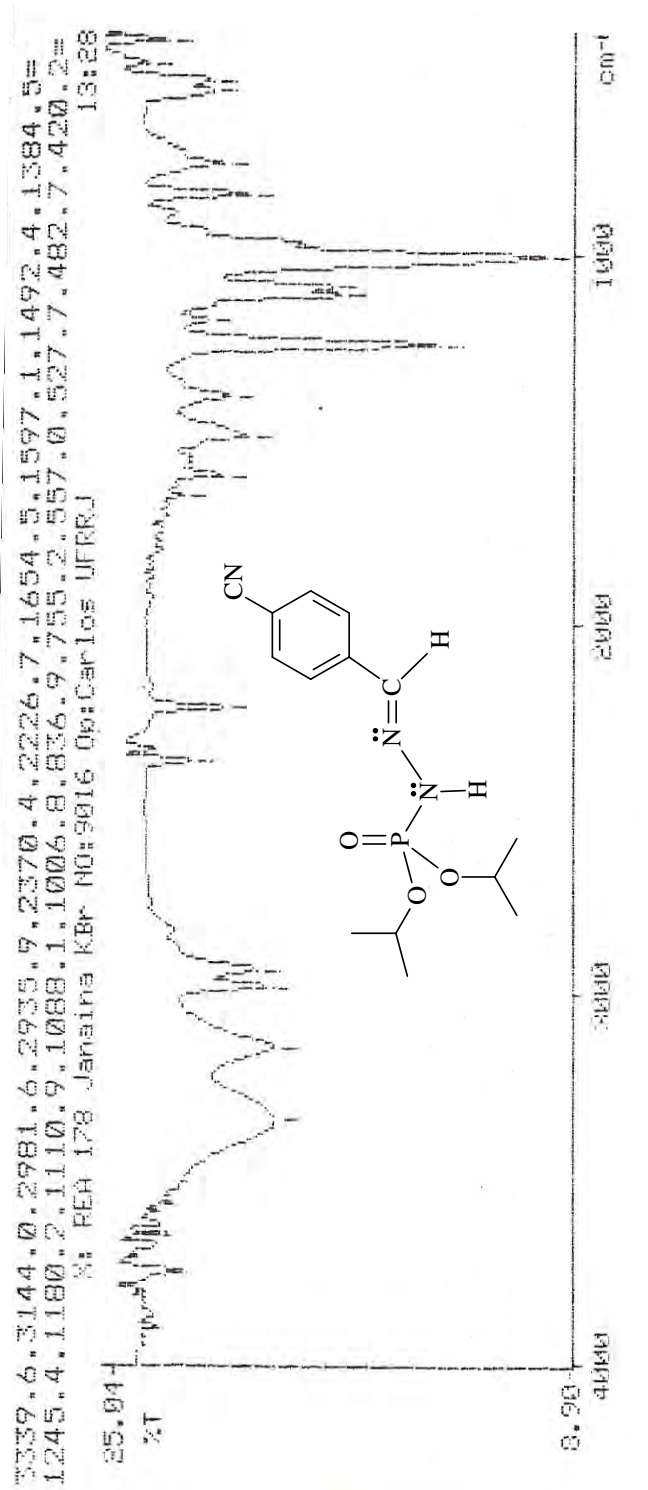


Figura 112: Espectro de IV do composto 10.

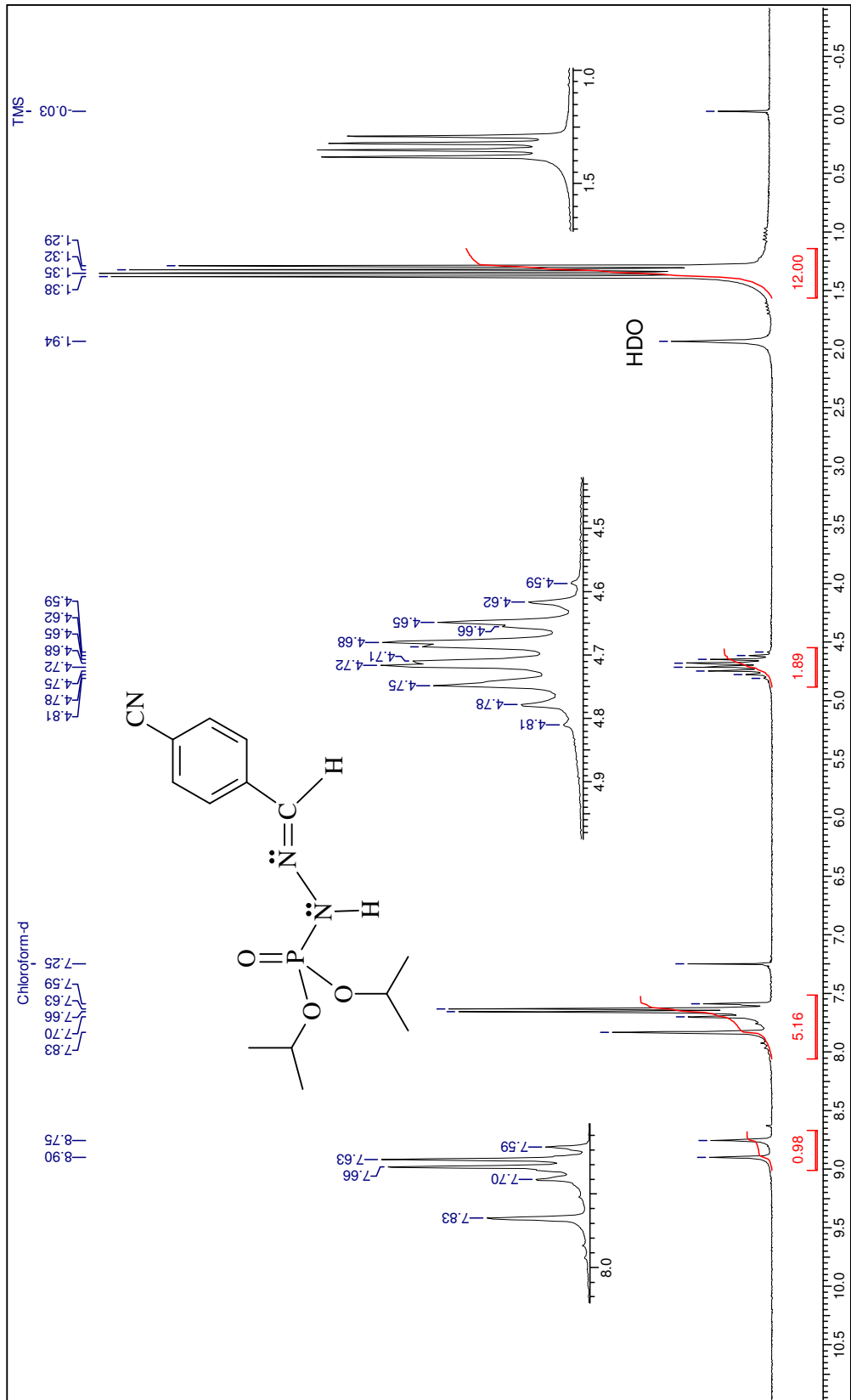


Figura 113: Espectro de RMN de ¹H do composto 10 feito em CDCl₃.

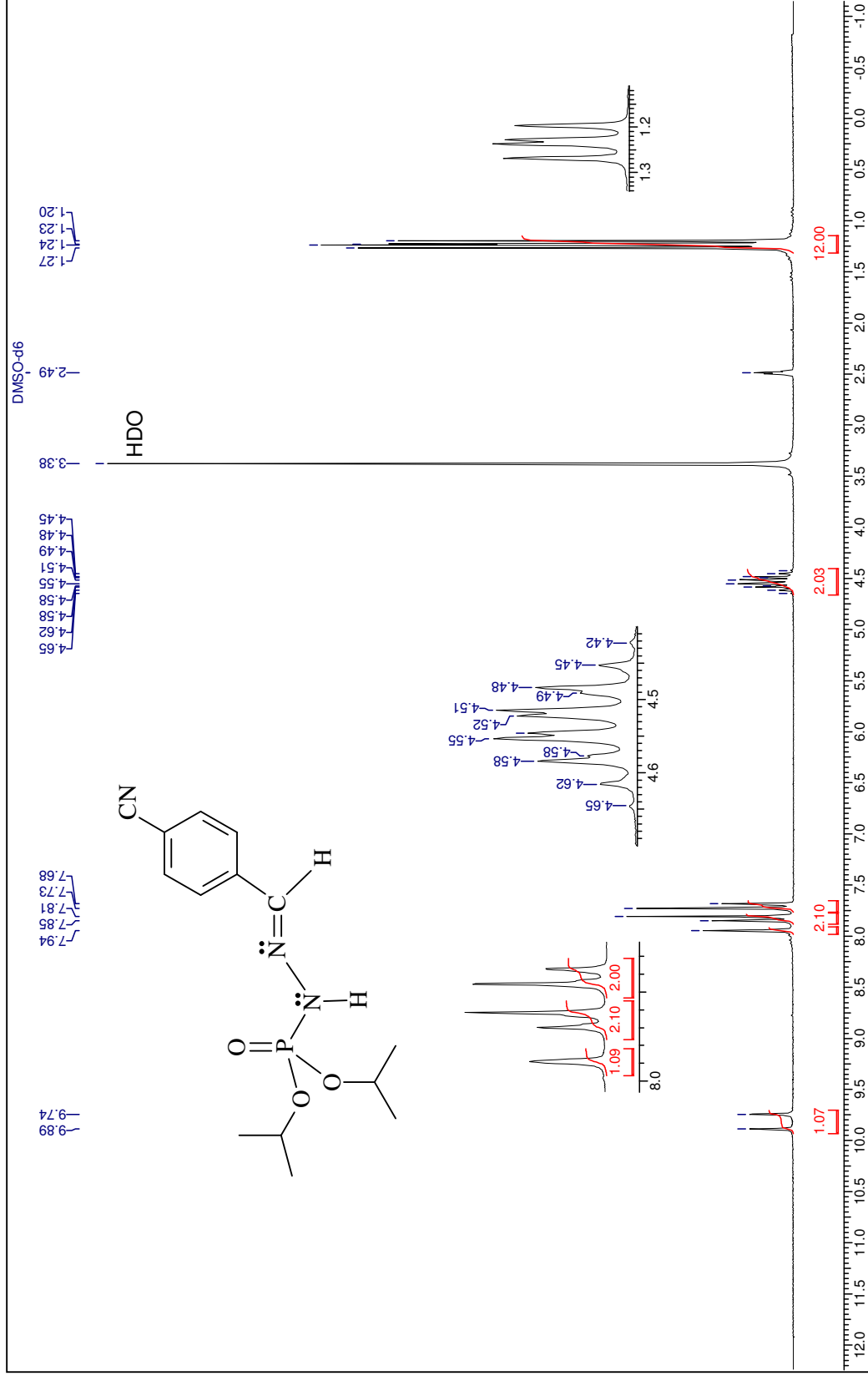


Figura 114: Espectro de RMN de ¹H do composto 10 feito em DMSO.

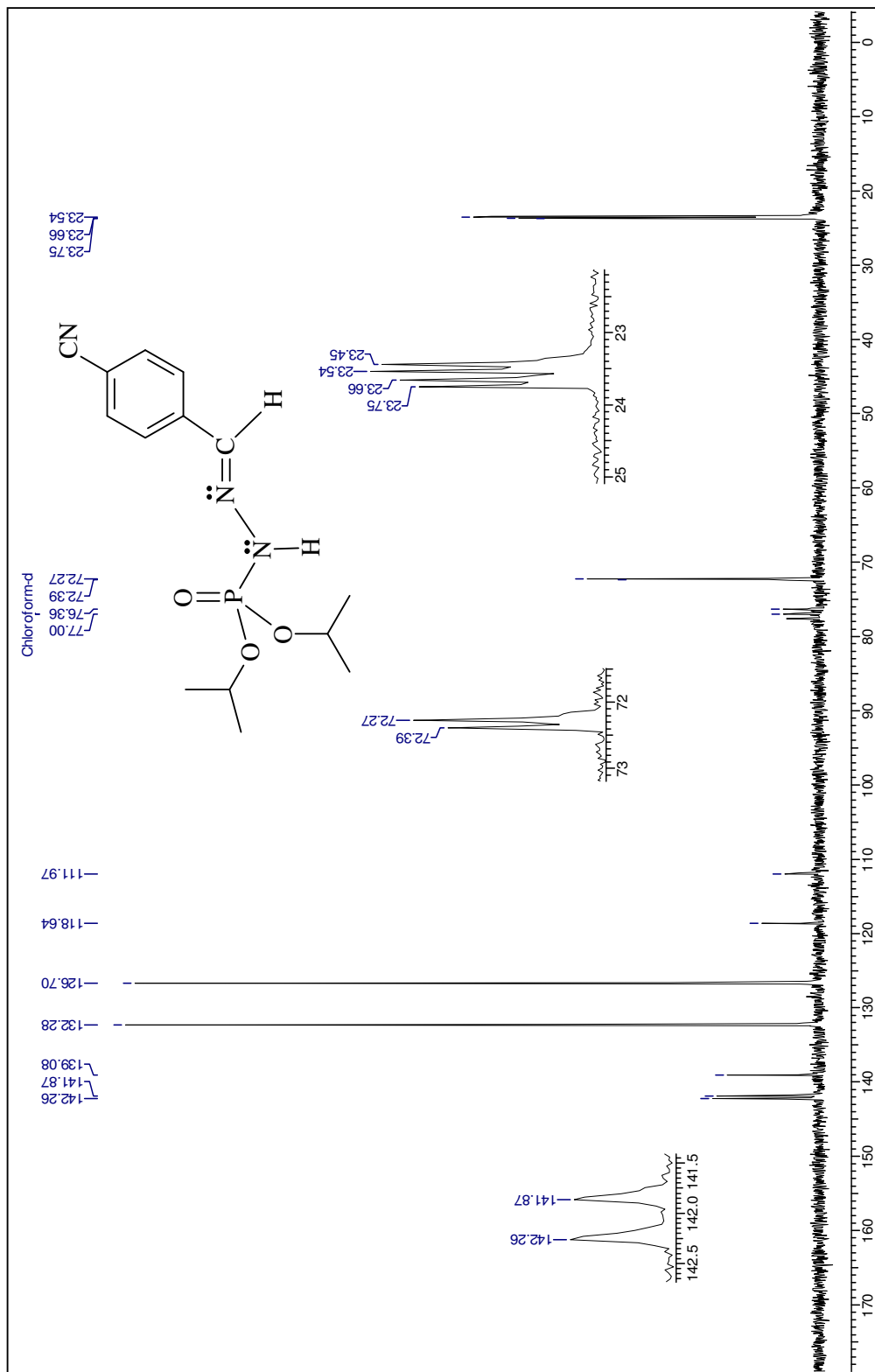


Figura 115: Espectro de RMN de ¹³C do composto 10.

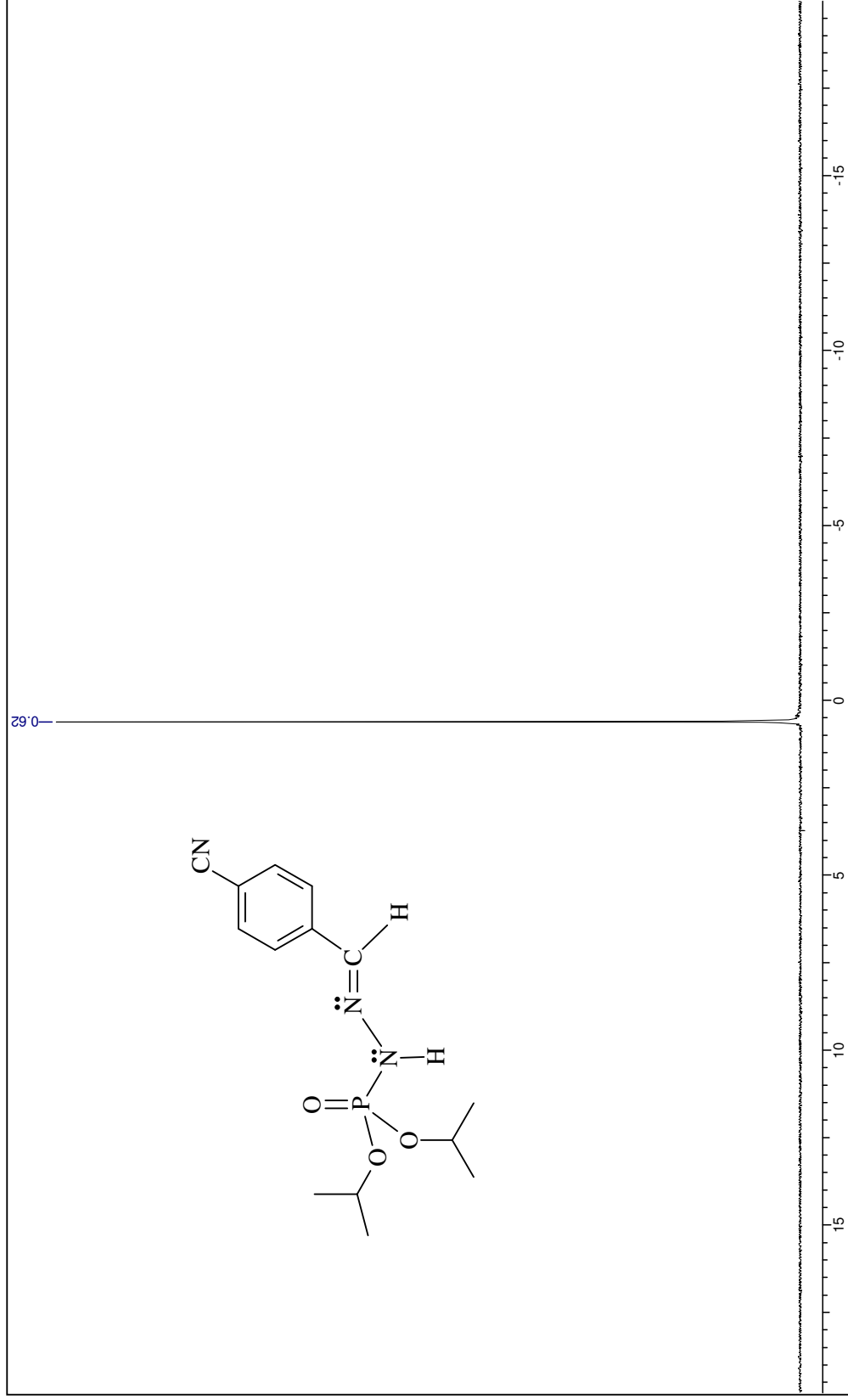


Figura 116: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 10.

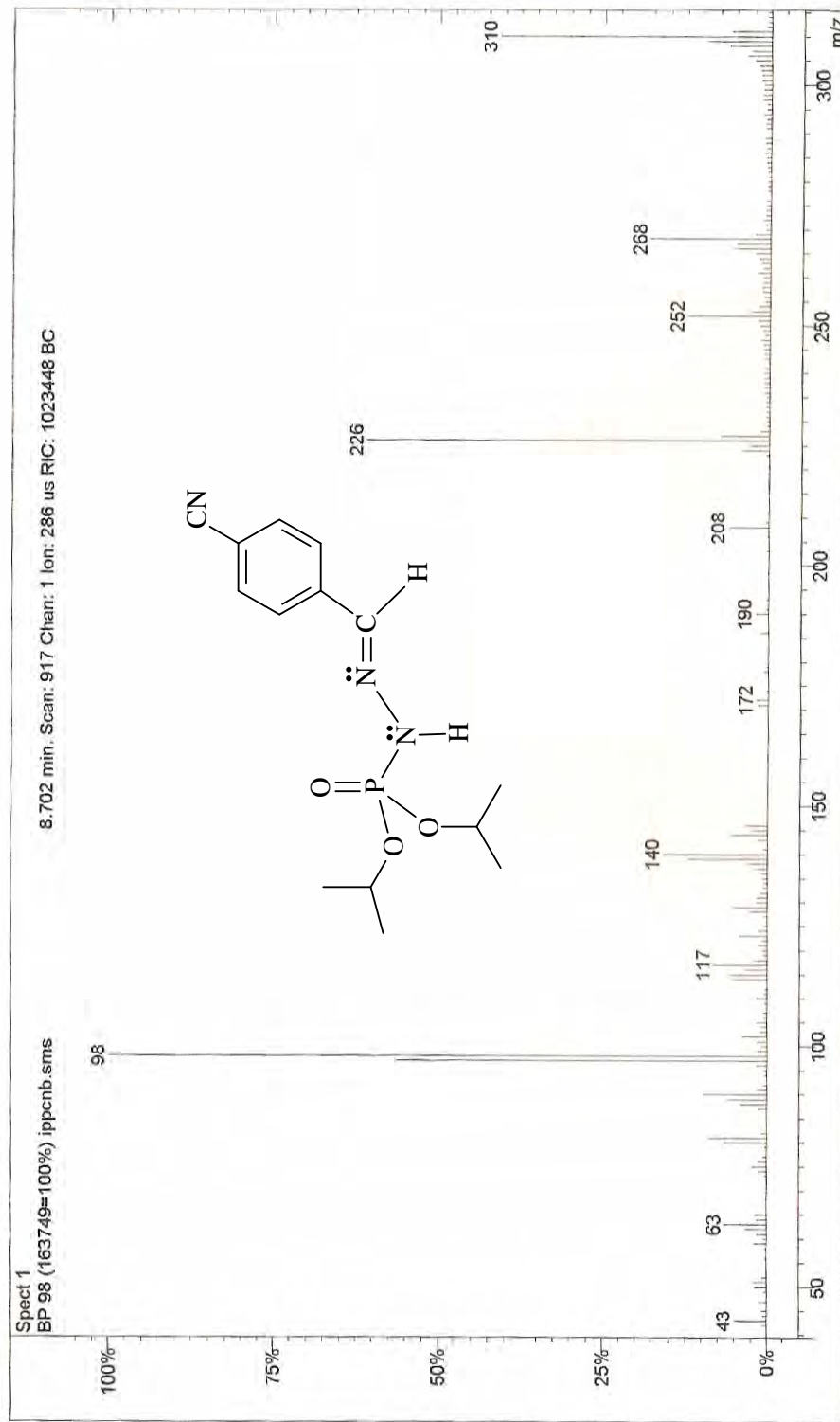


Figura 117: Espectro de massas do composto 10.

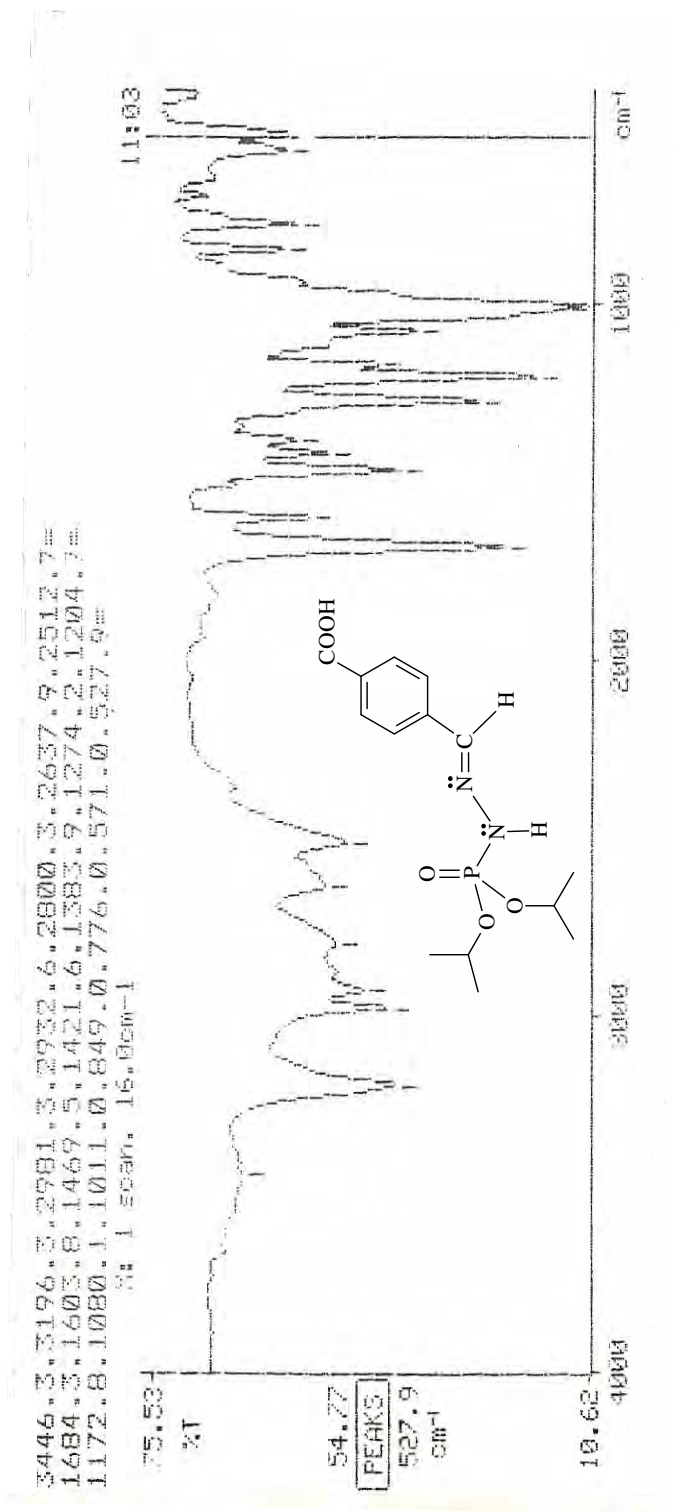


Figura 118: Espectro de IV do composto 11.

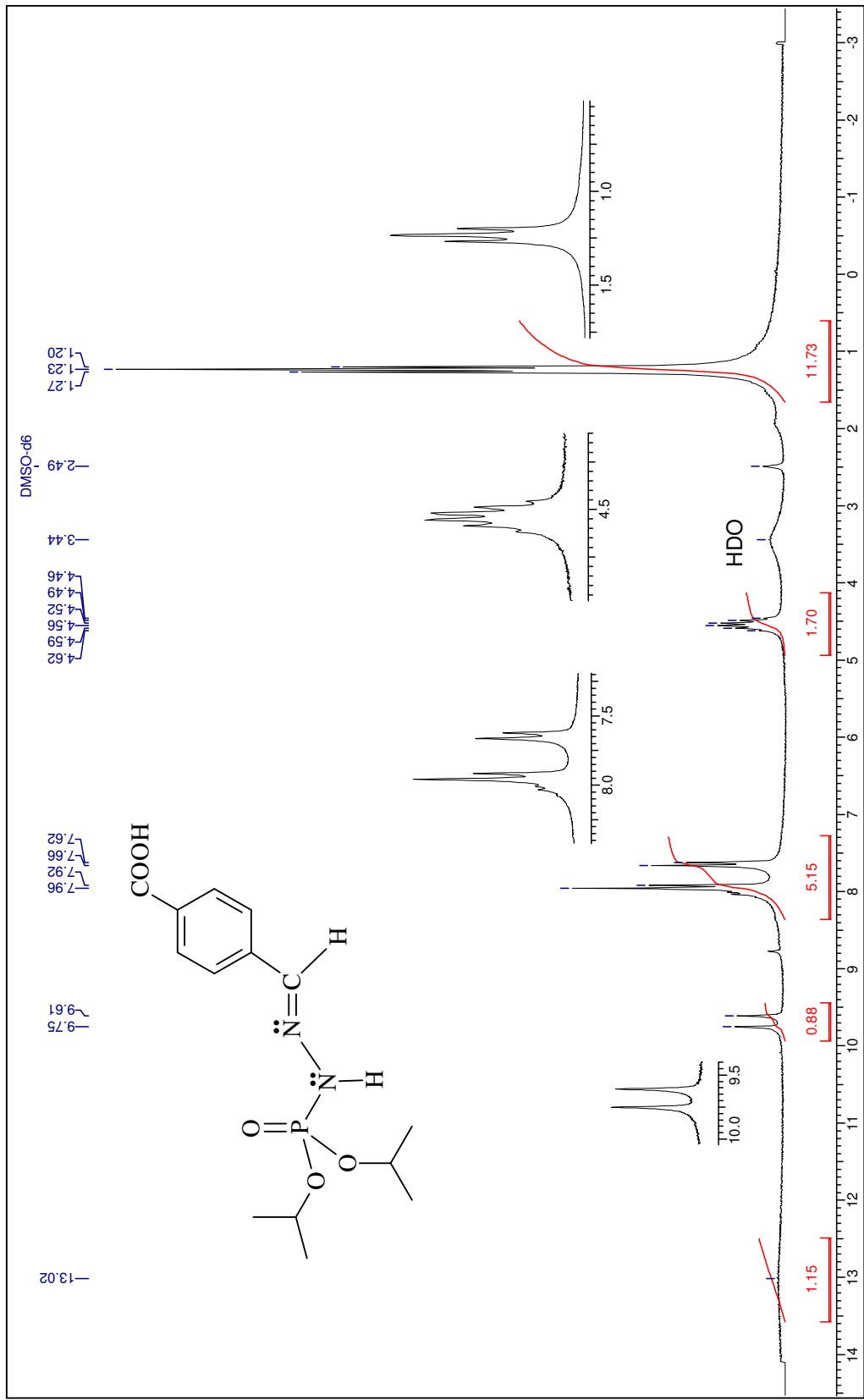


Figura 119: Espectro de RMN de ¹H do composto 11 feito em DMSO.

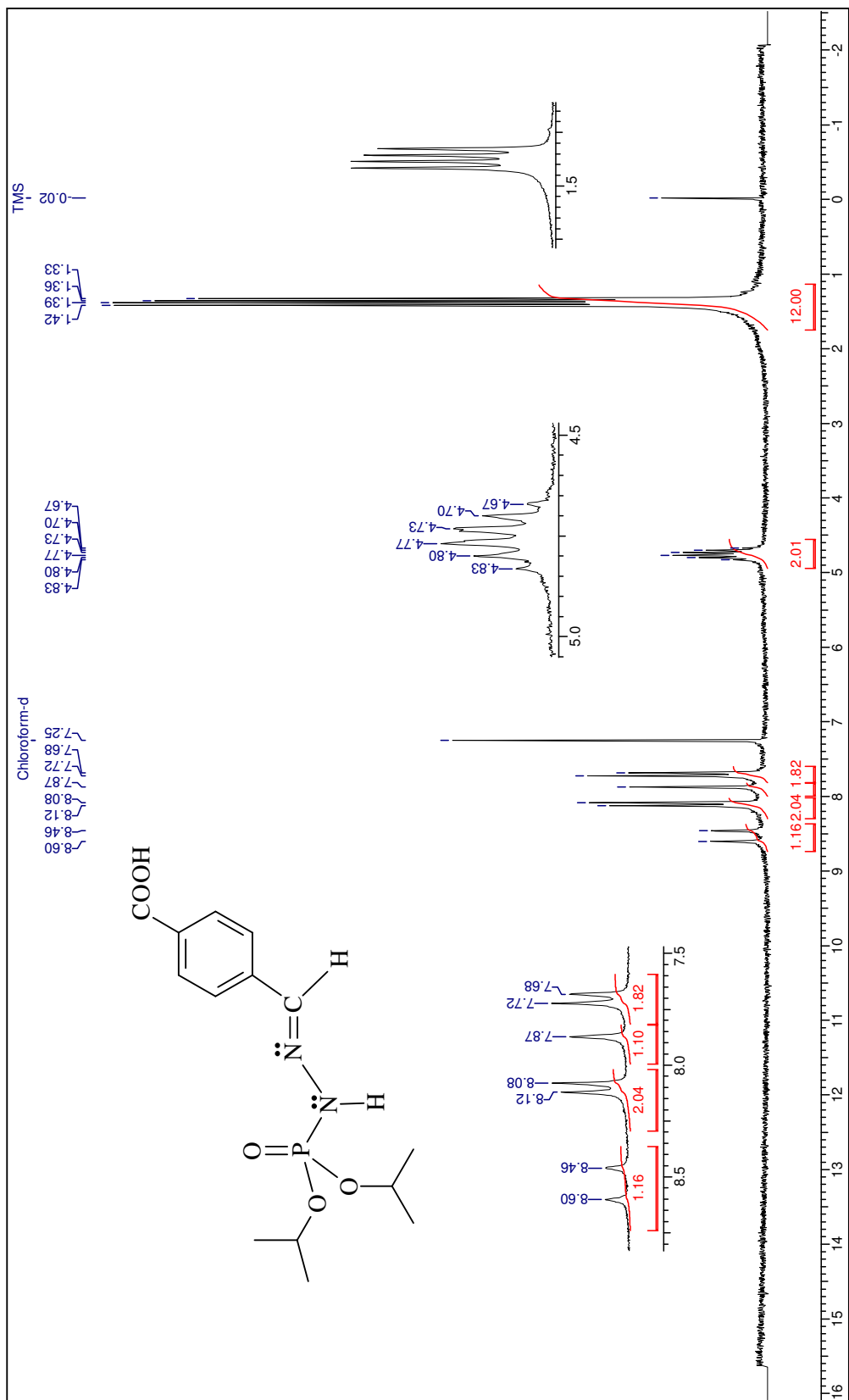


Figura 120: Espectro de RMN de ¹H do composto 11 feito em CDCl₃.

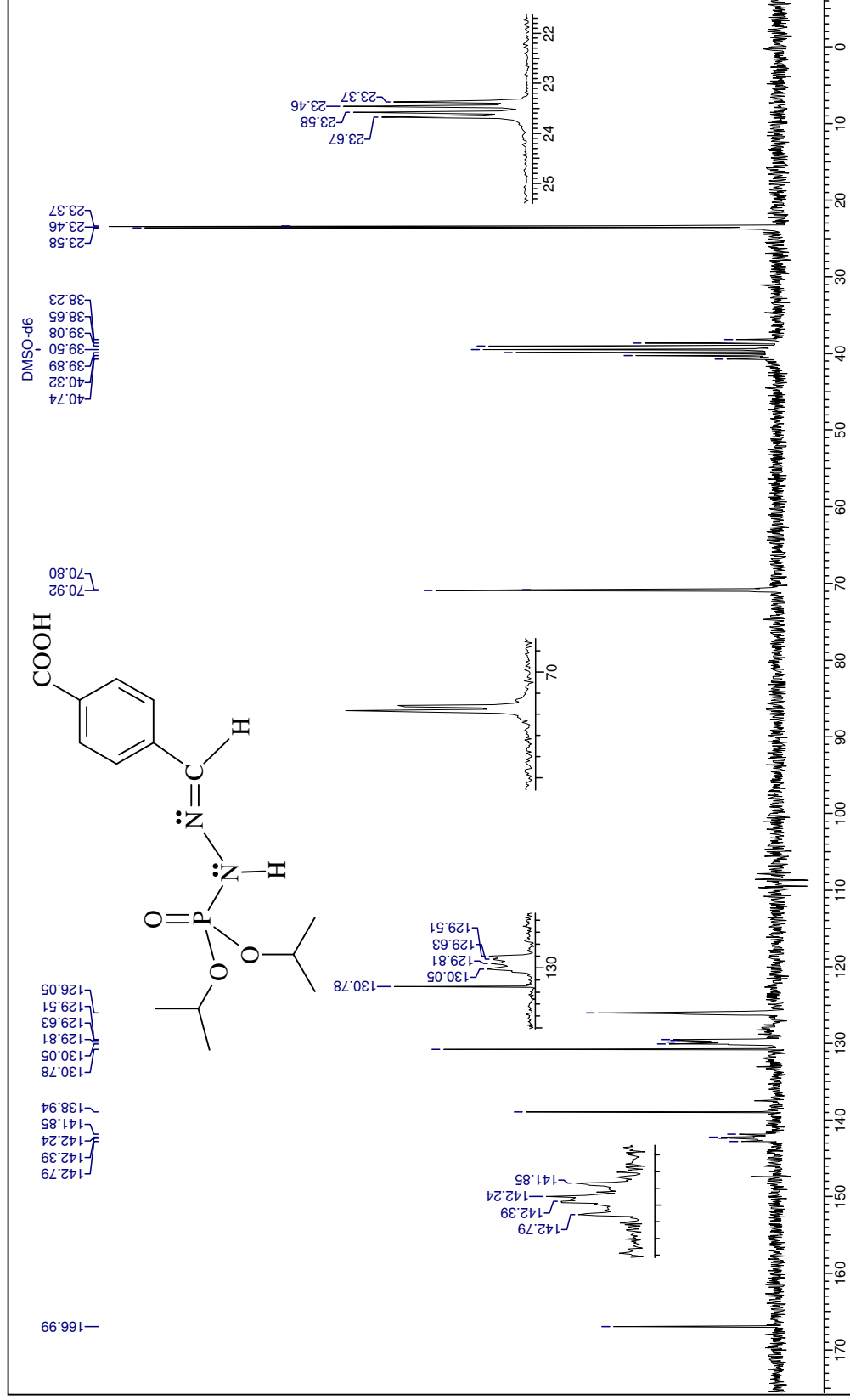


Figura 121: Espectro de RMN de ¹³C do composto 11.

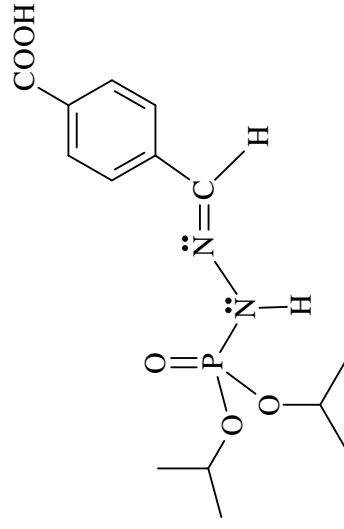
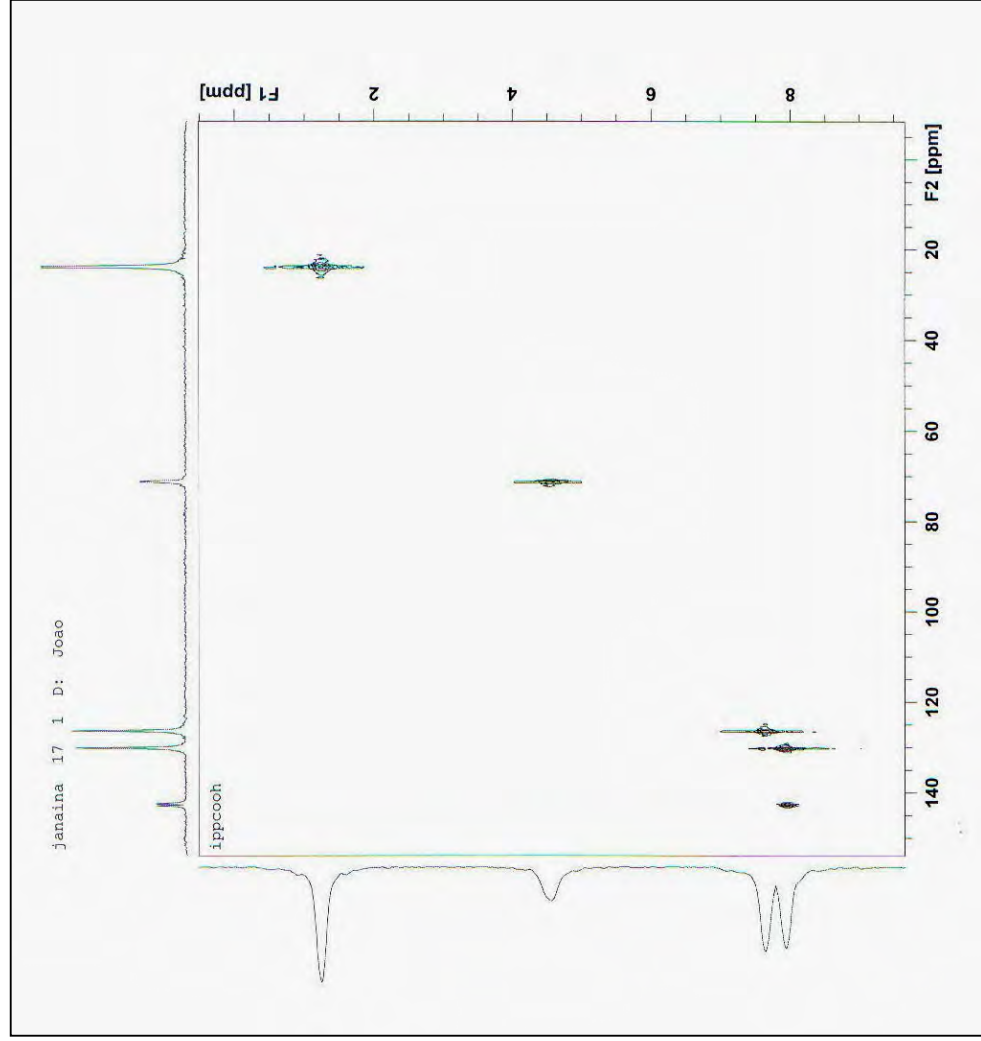


Figura 122: Espectro de HETCOSY do composto 11.

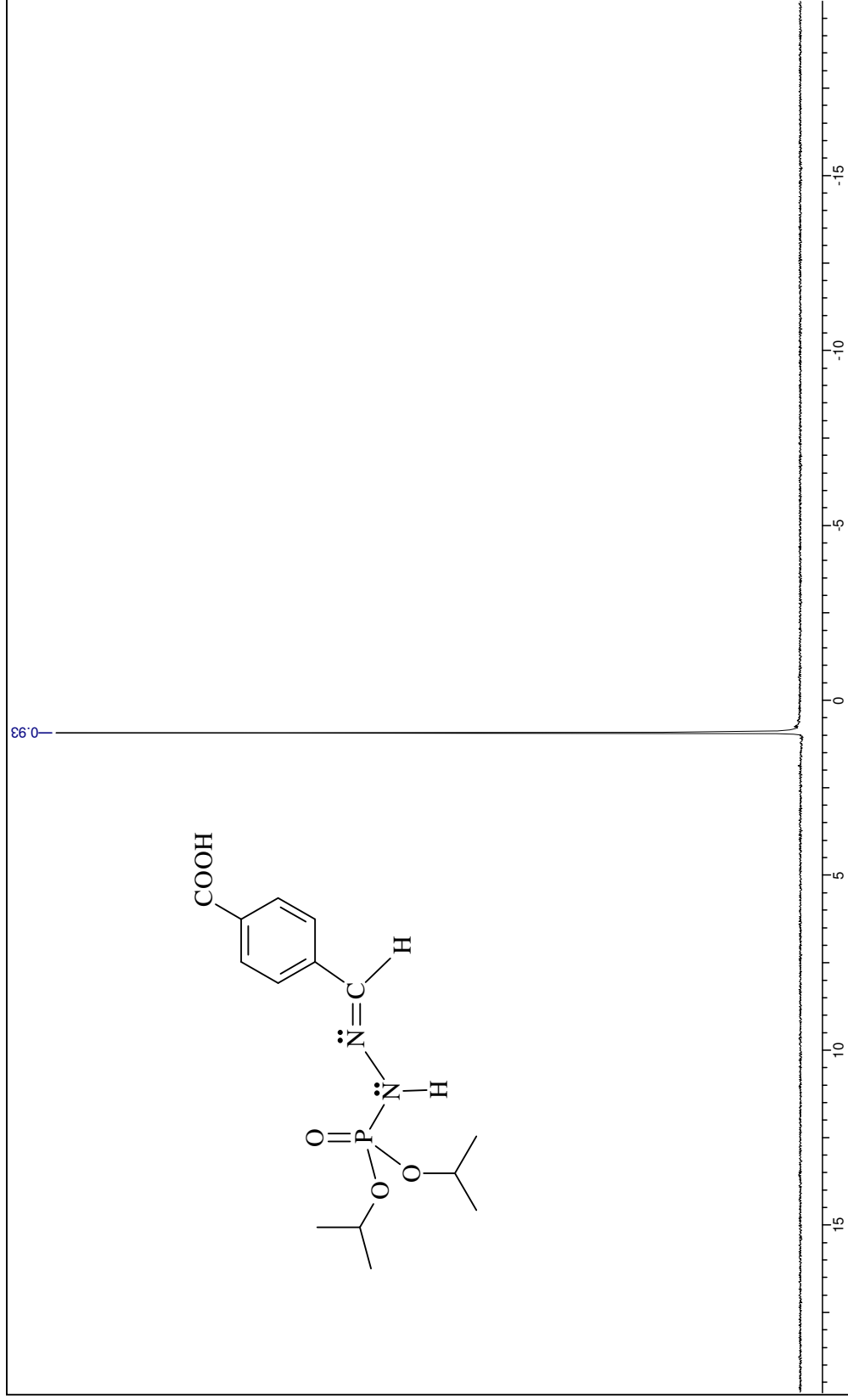


Figura 123: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 11.

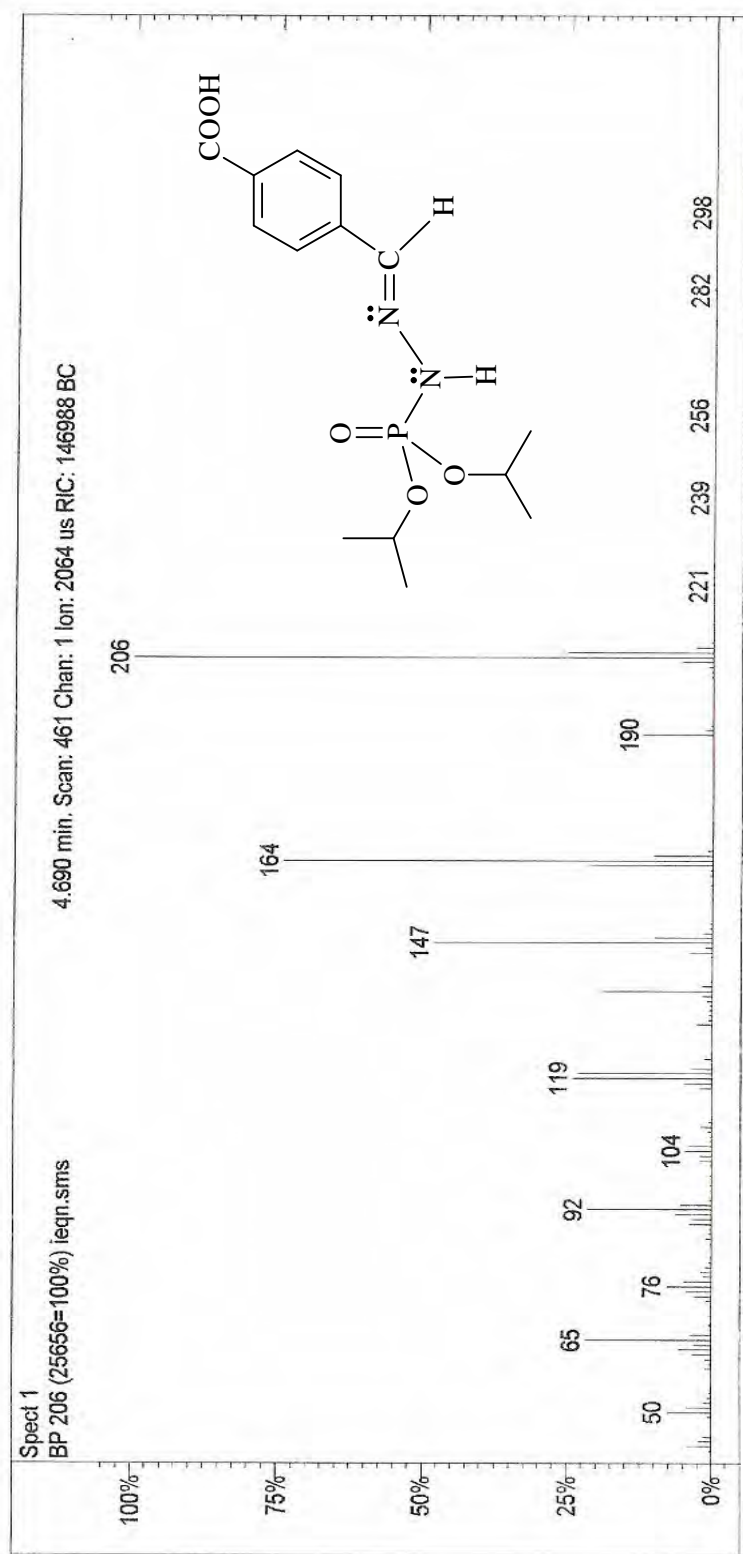


Figura 124: Espectro de massas do composto 11.

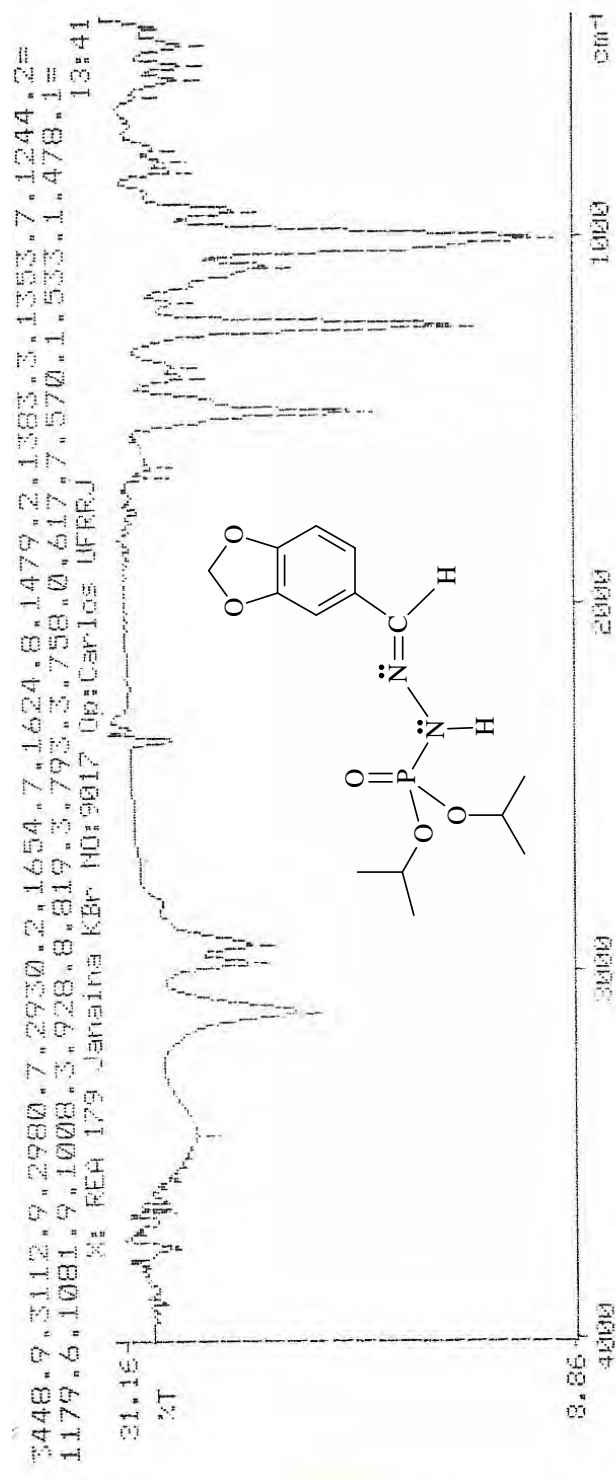


Figura 125: Espectro de IV do composto 12.

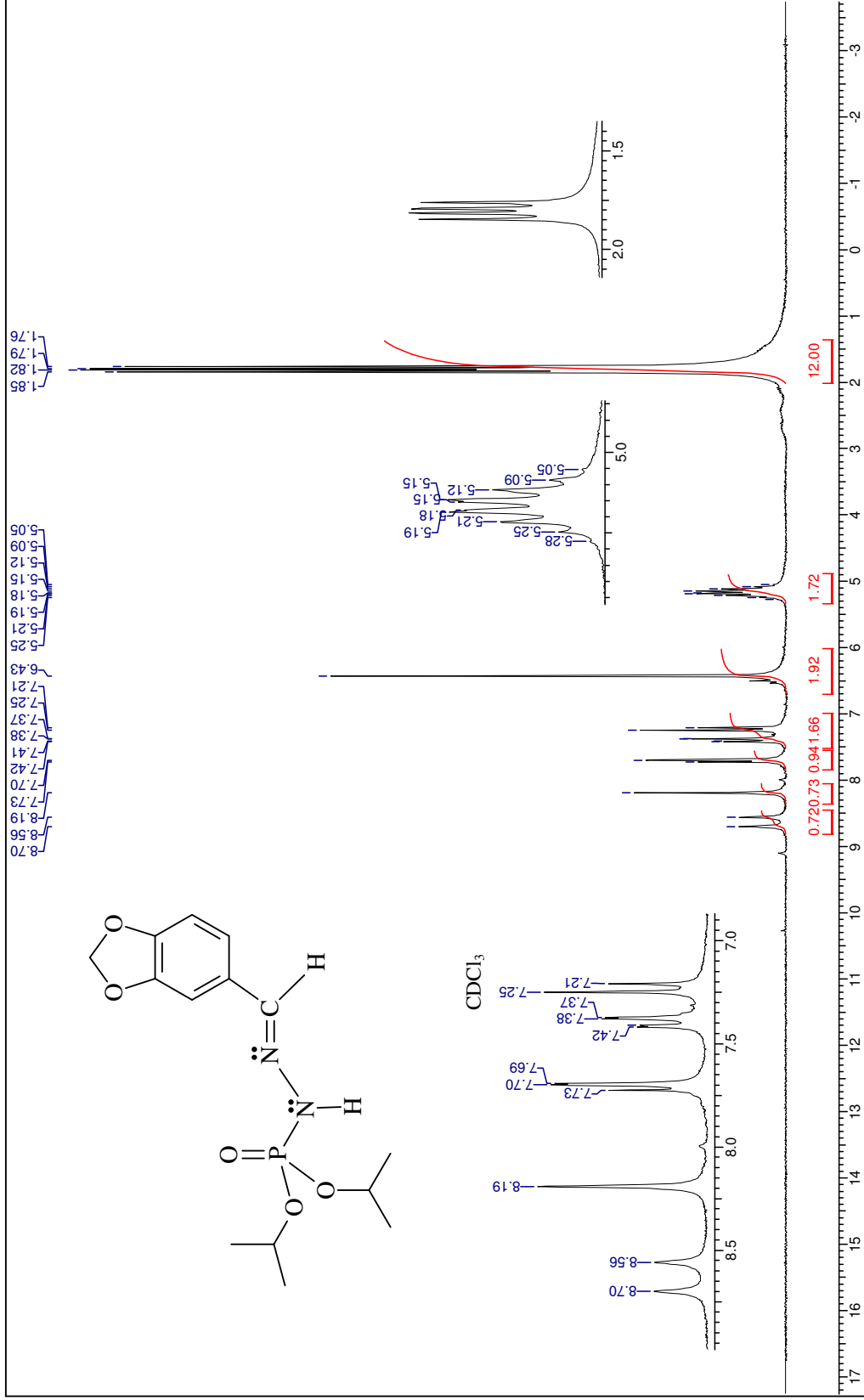


Figura 126: Espectro de RMN de ¹H do composto 12.

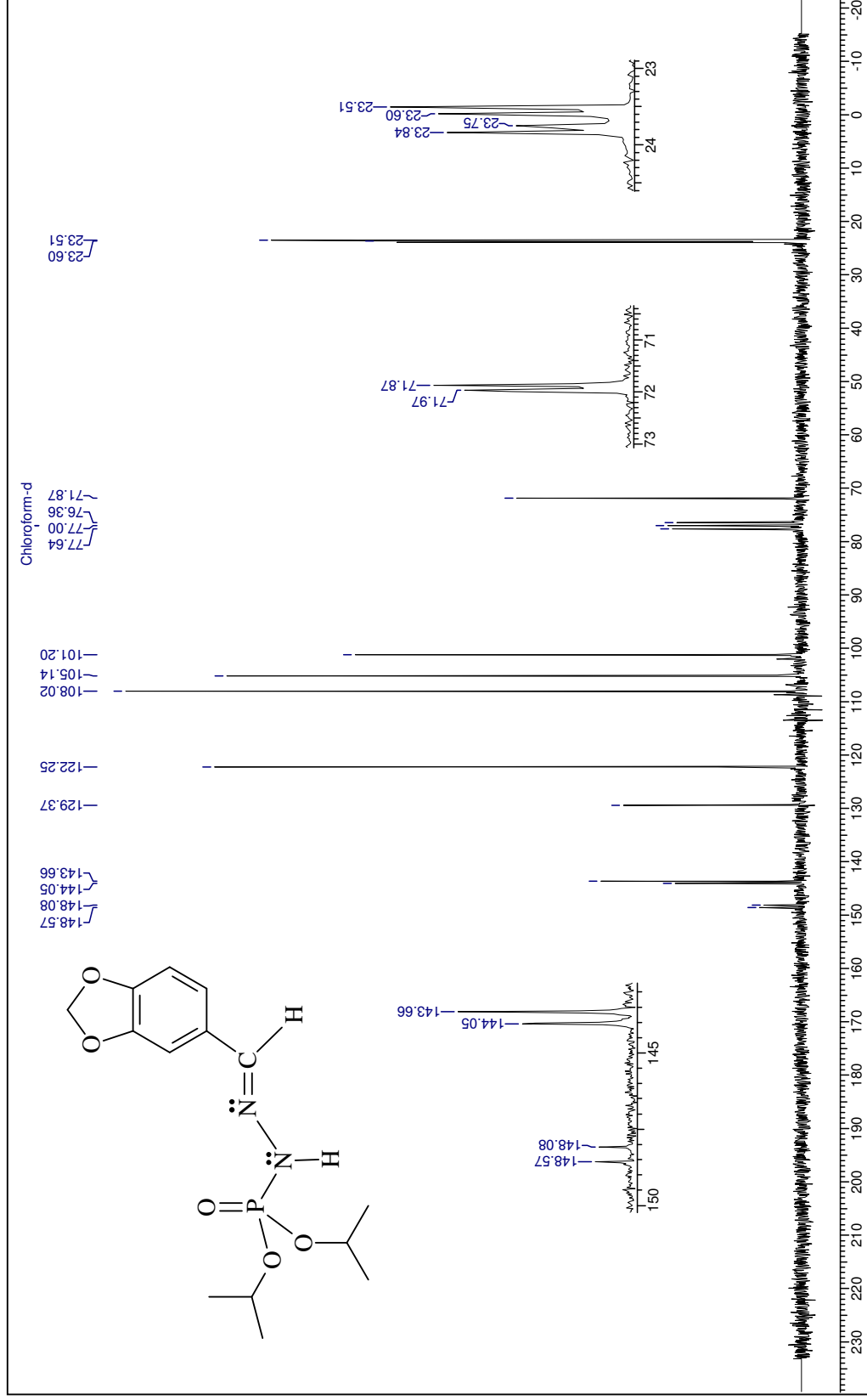


Figura 127: Espectro de RMN de ¹³C do composto 12.

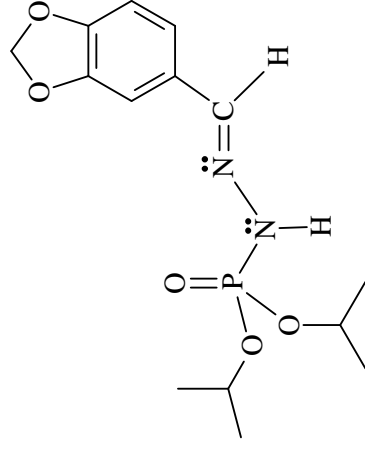
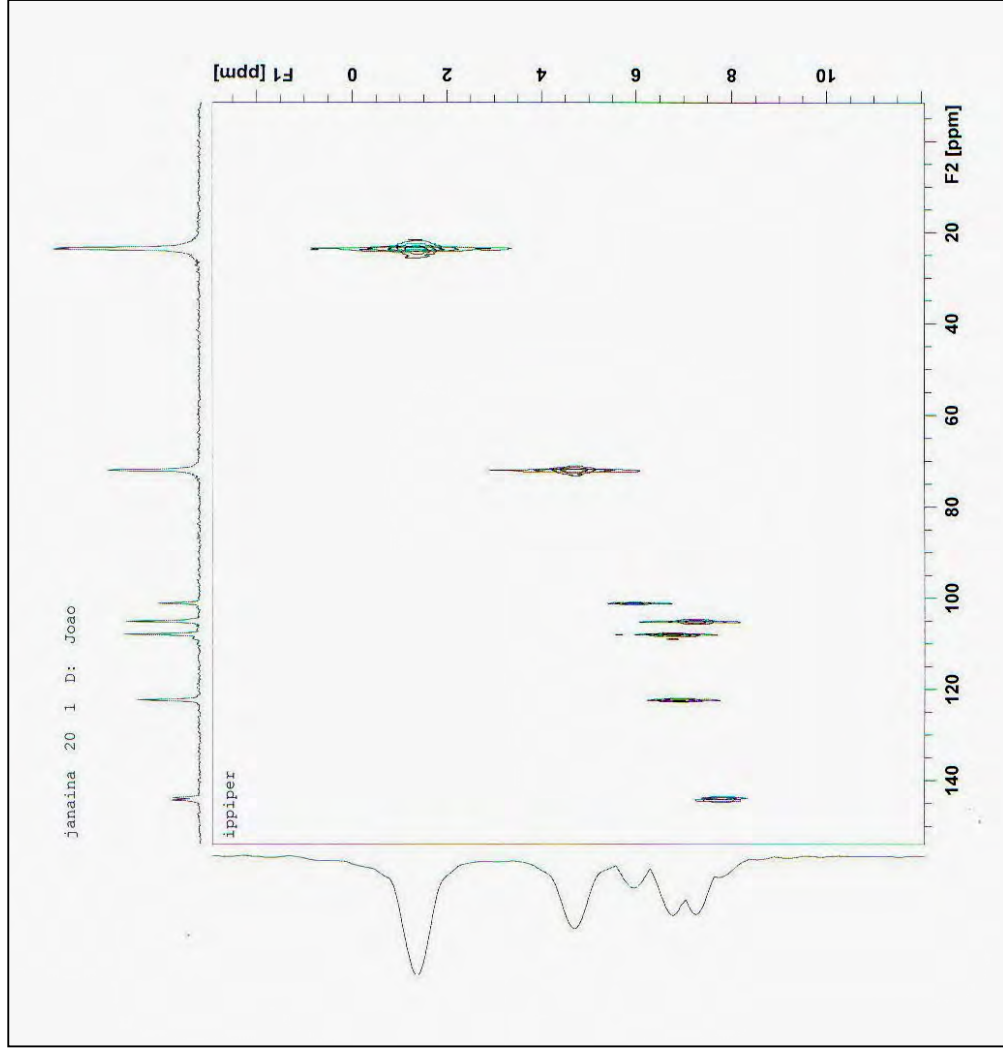


Figura 128: Espectro de HETCOSY do composto 12.

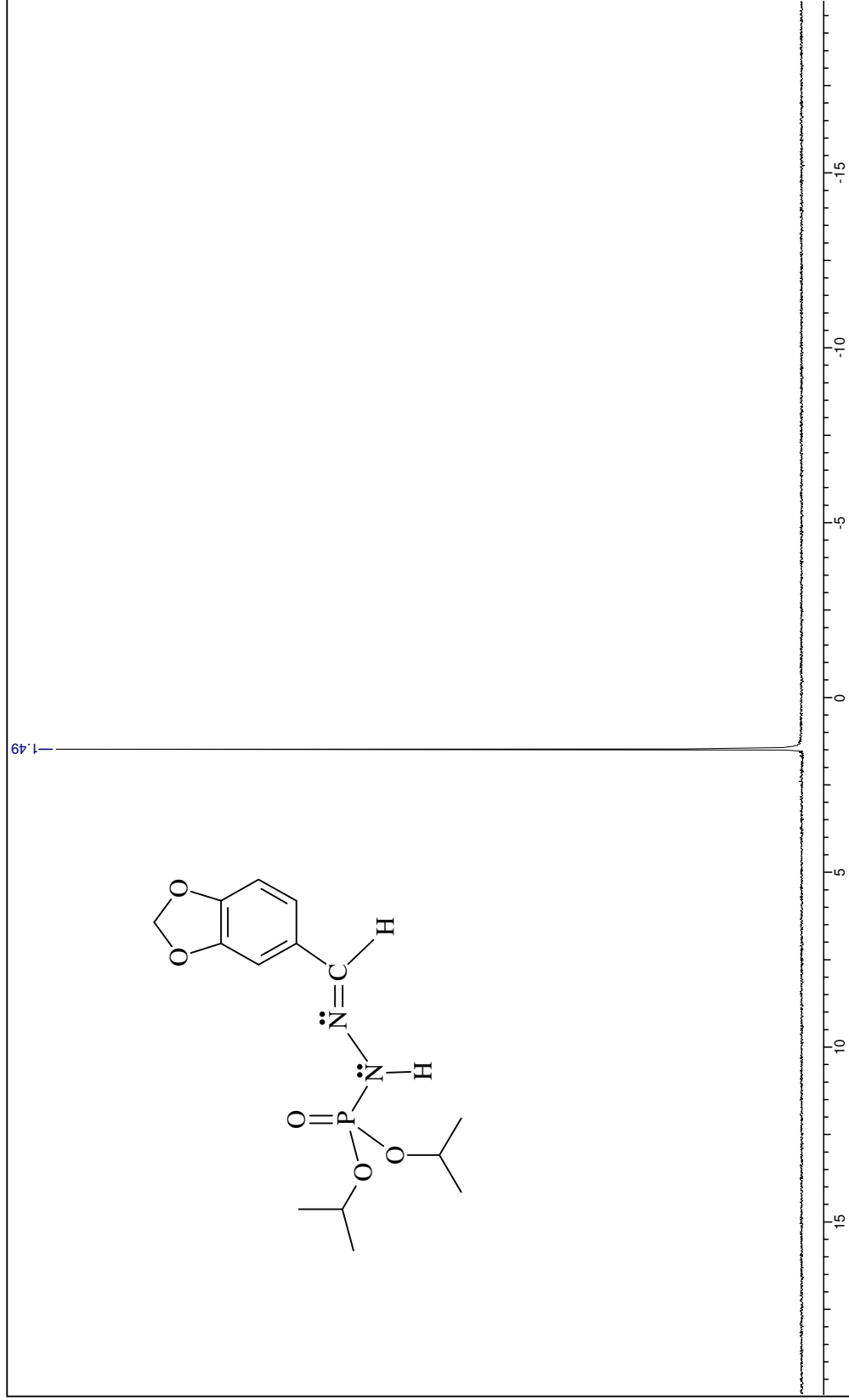


Figura 129: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 12.

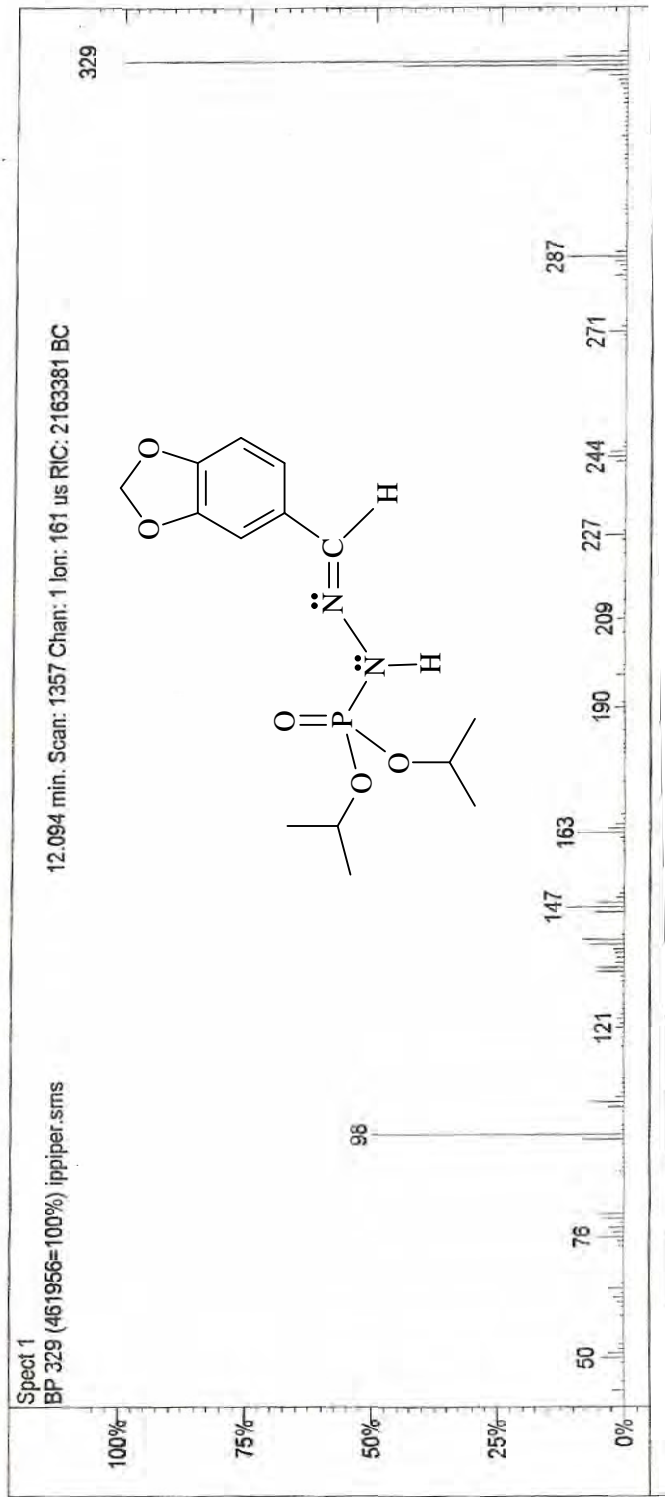


Figura 130: Espectro de massas do composto 12.

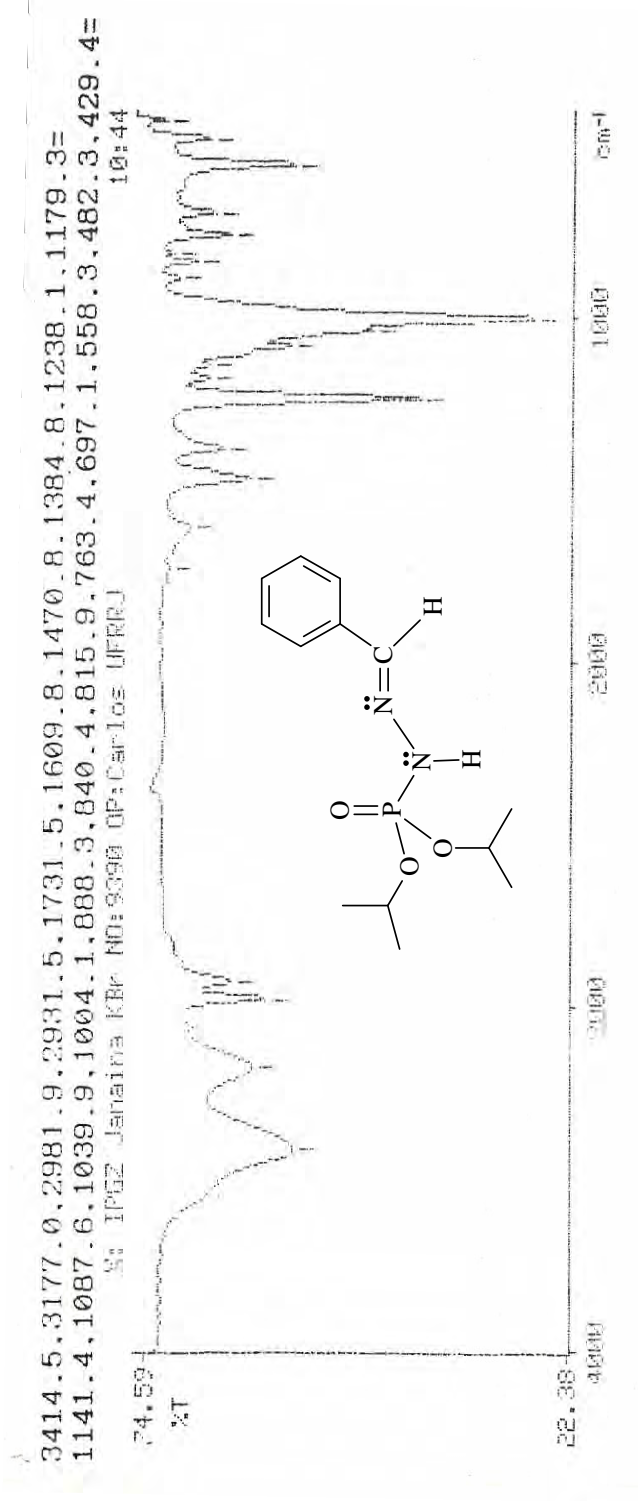


Figura 131: Espectro de IV do composto 13.

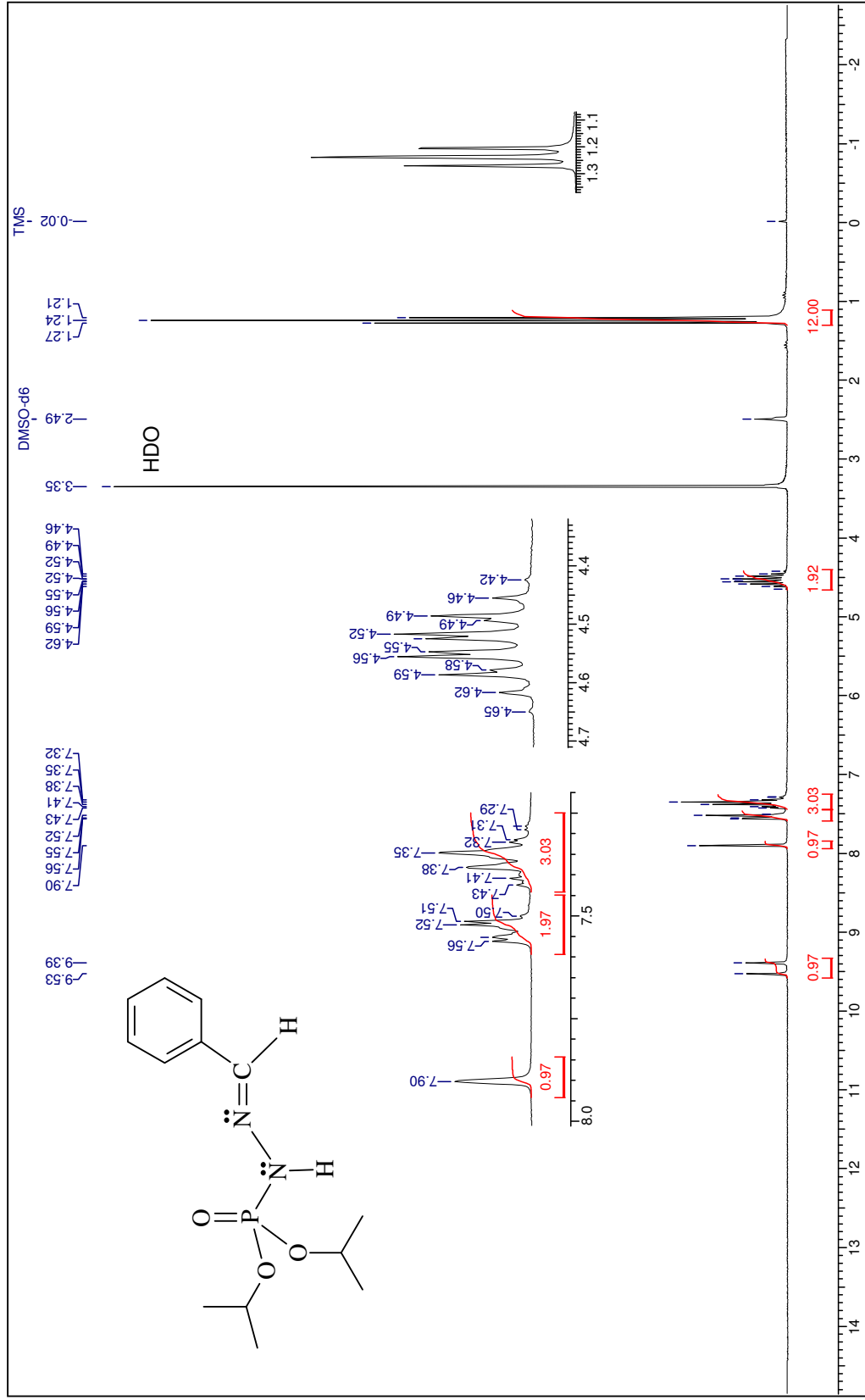


Figura 132: Espectro de RMN de ¹H do composto 13.

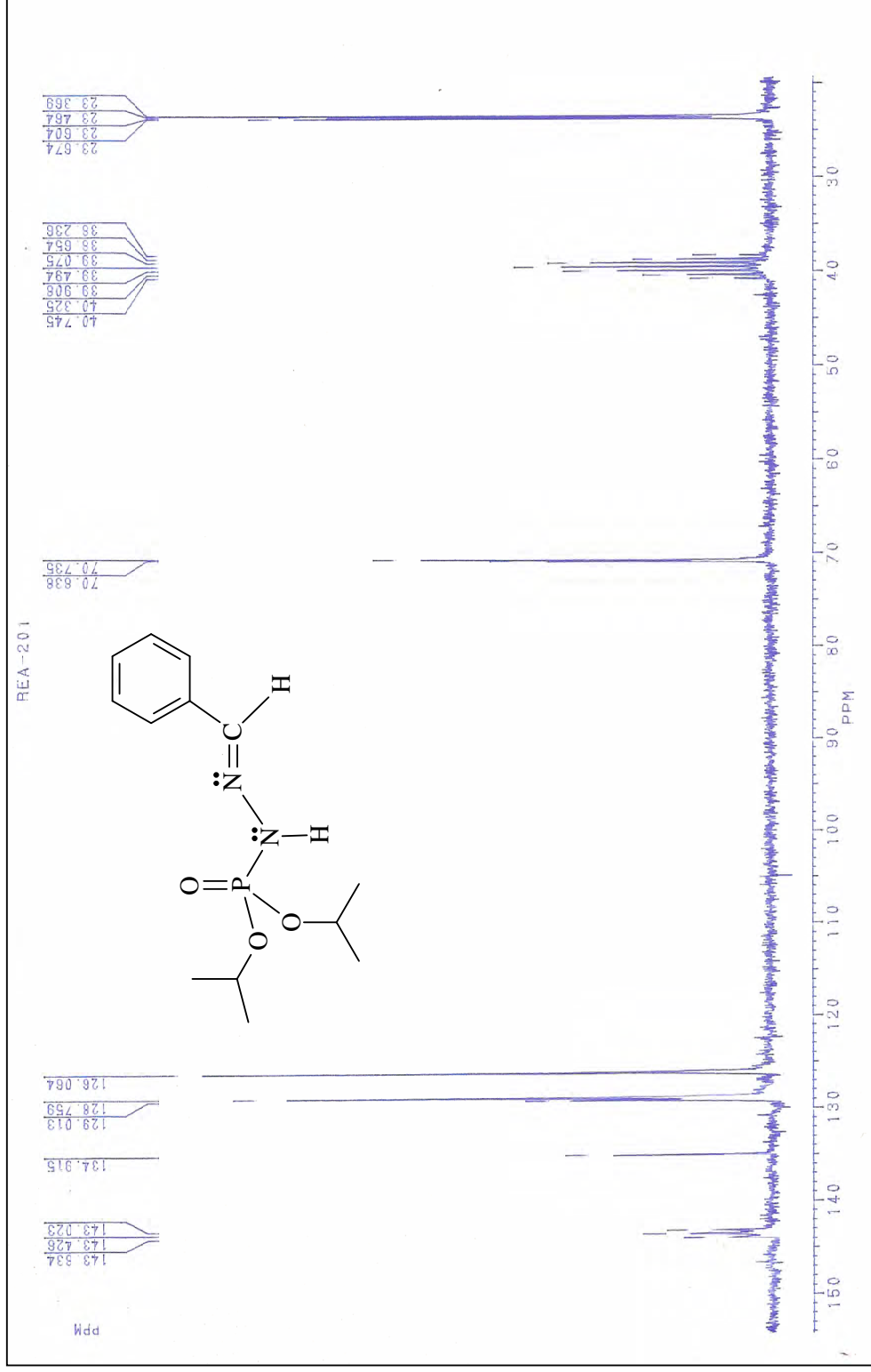


Figura 133: Espectro de RMN de ¹³C do composto 13.

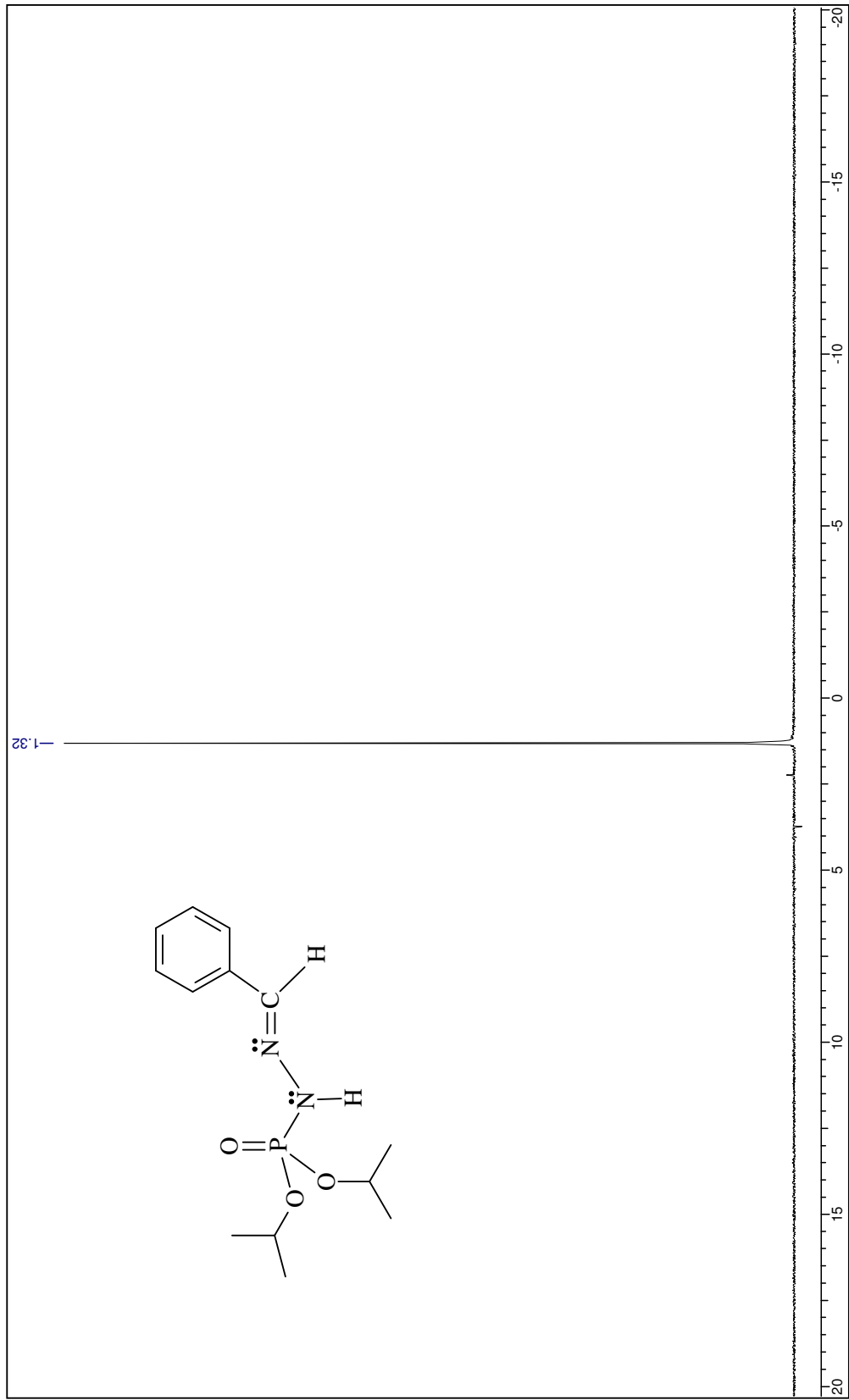


Figura 134: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 13.

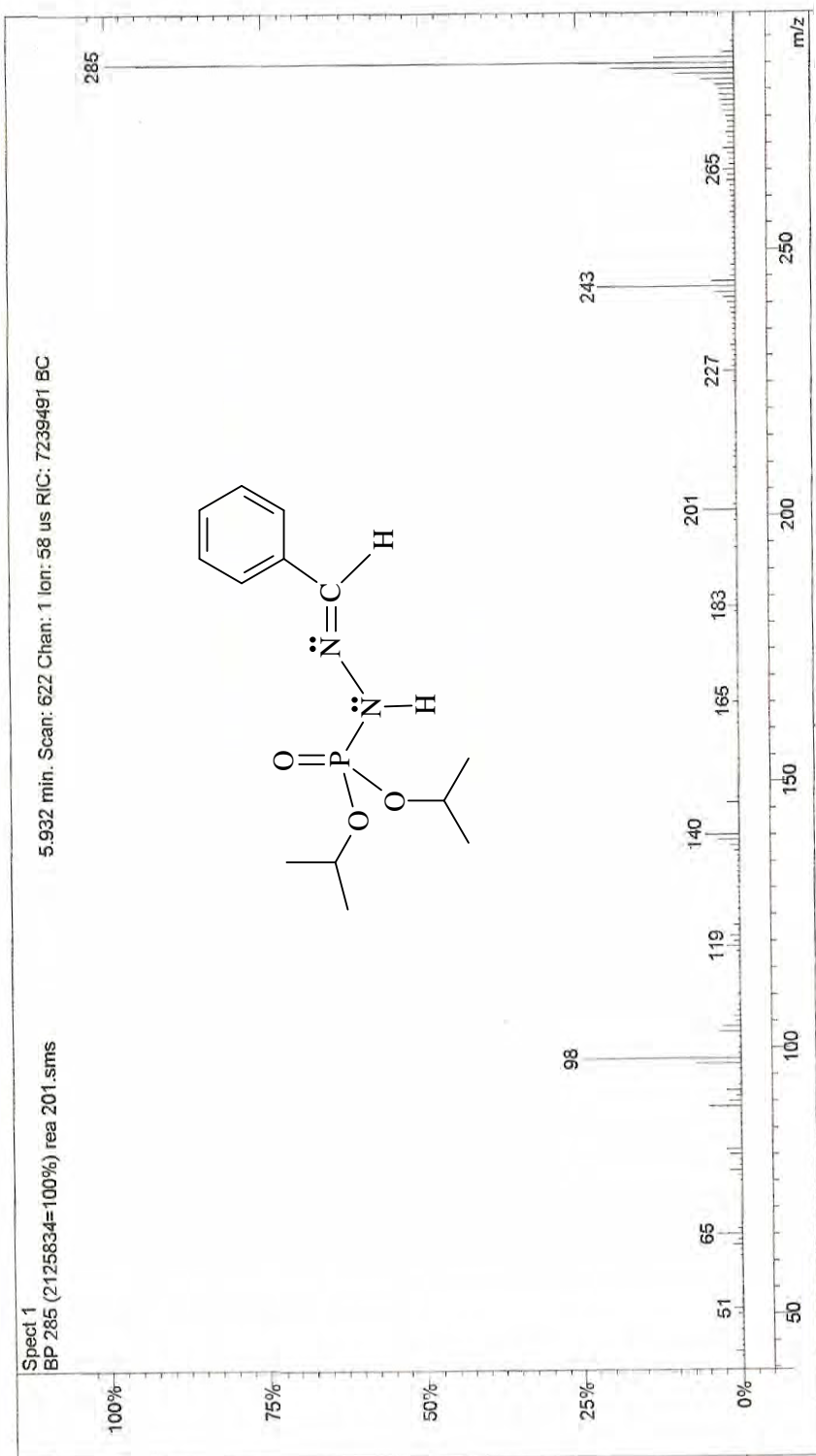


Figura 135: Espectro de massas do composto 13.

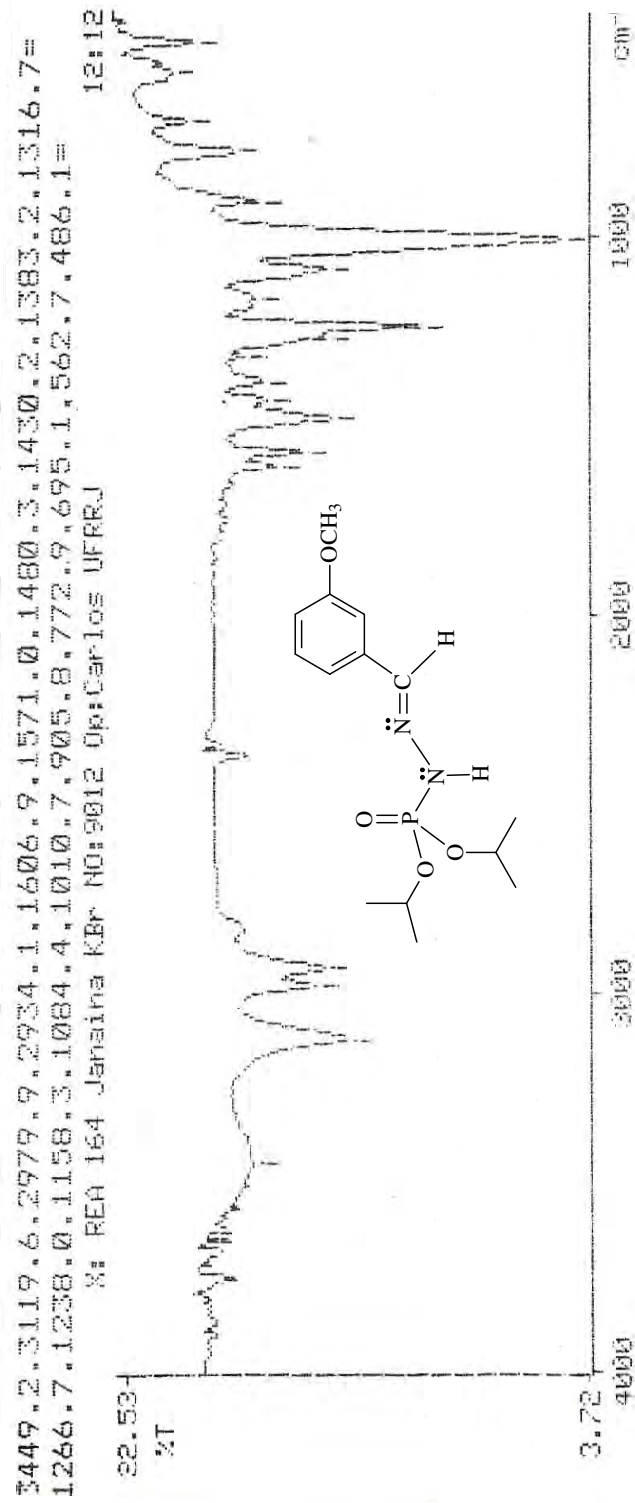


Figura 136: Espectro de IV do composto 14.

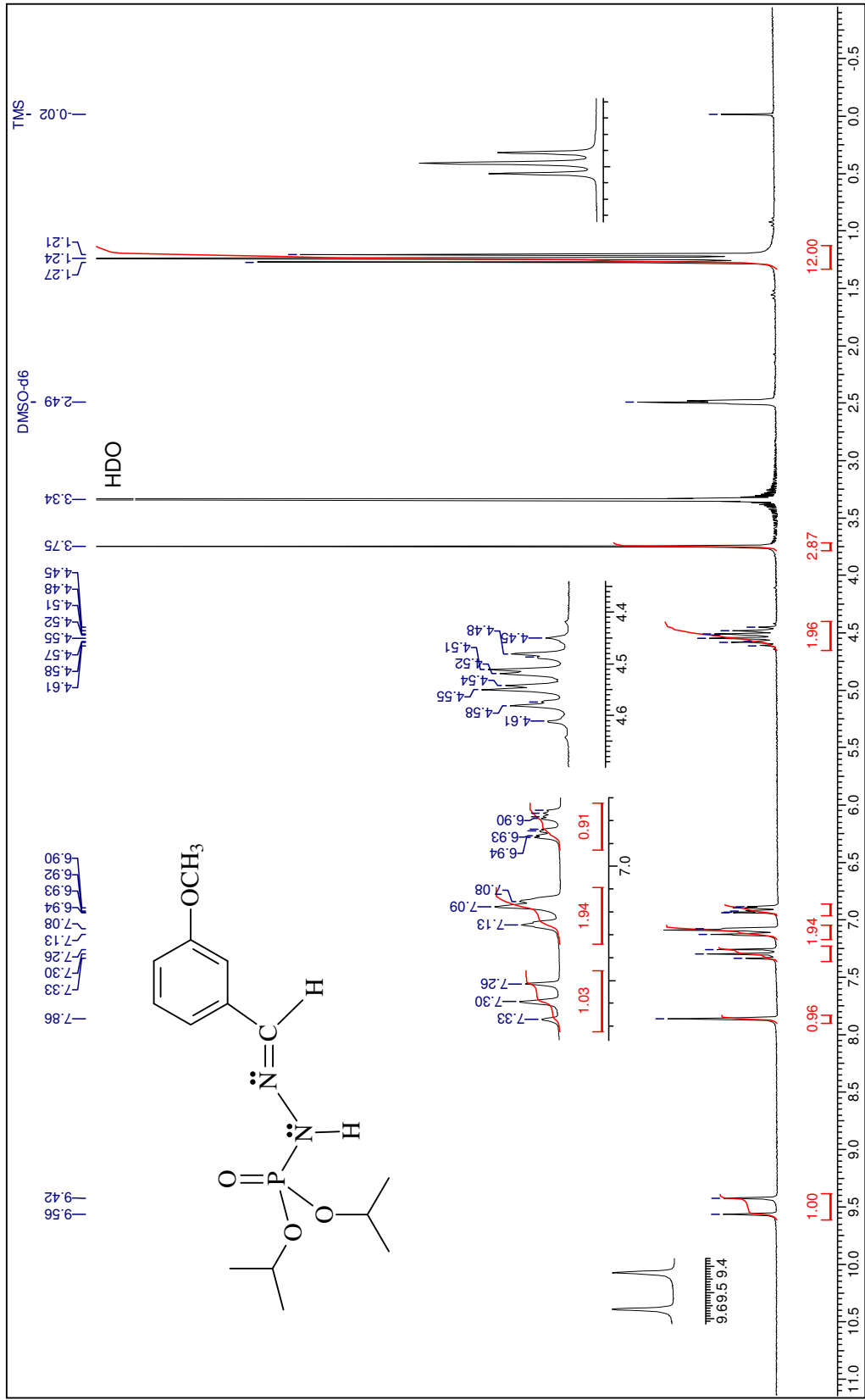


Figura 137: Espectro de RMN de ¹H do composto 14.

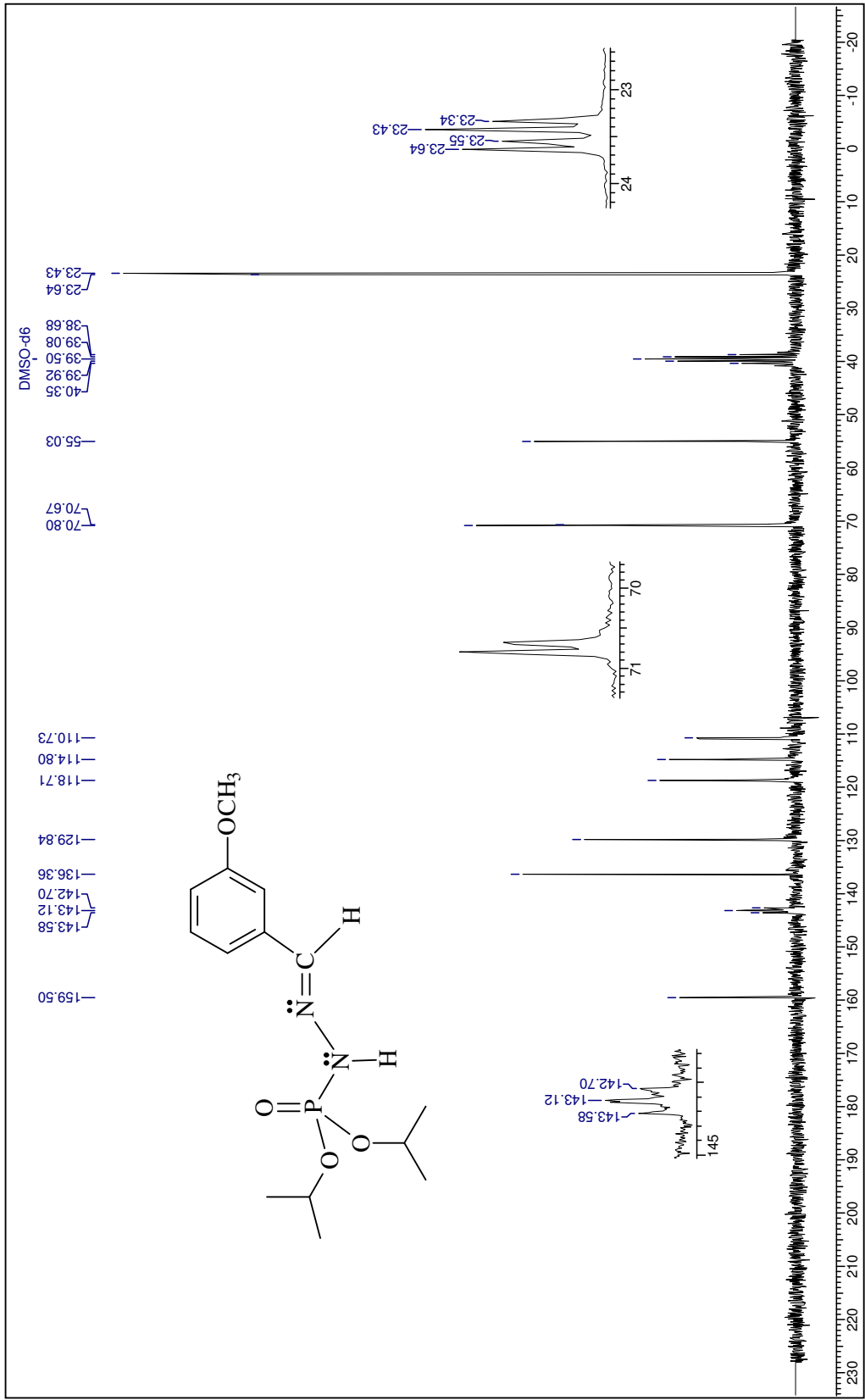


Figura 138: Espectro de RMN de ¹³C do composto 14.

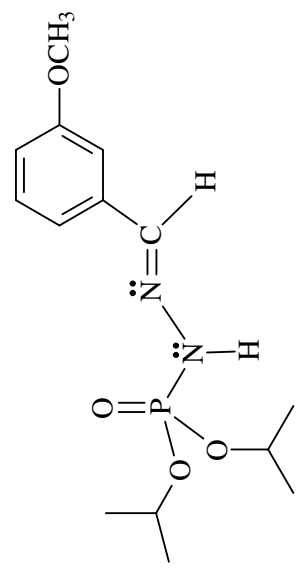
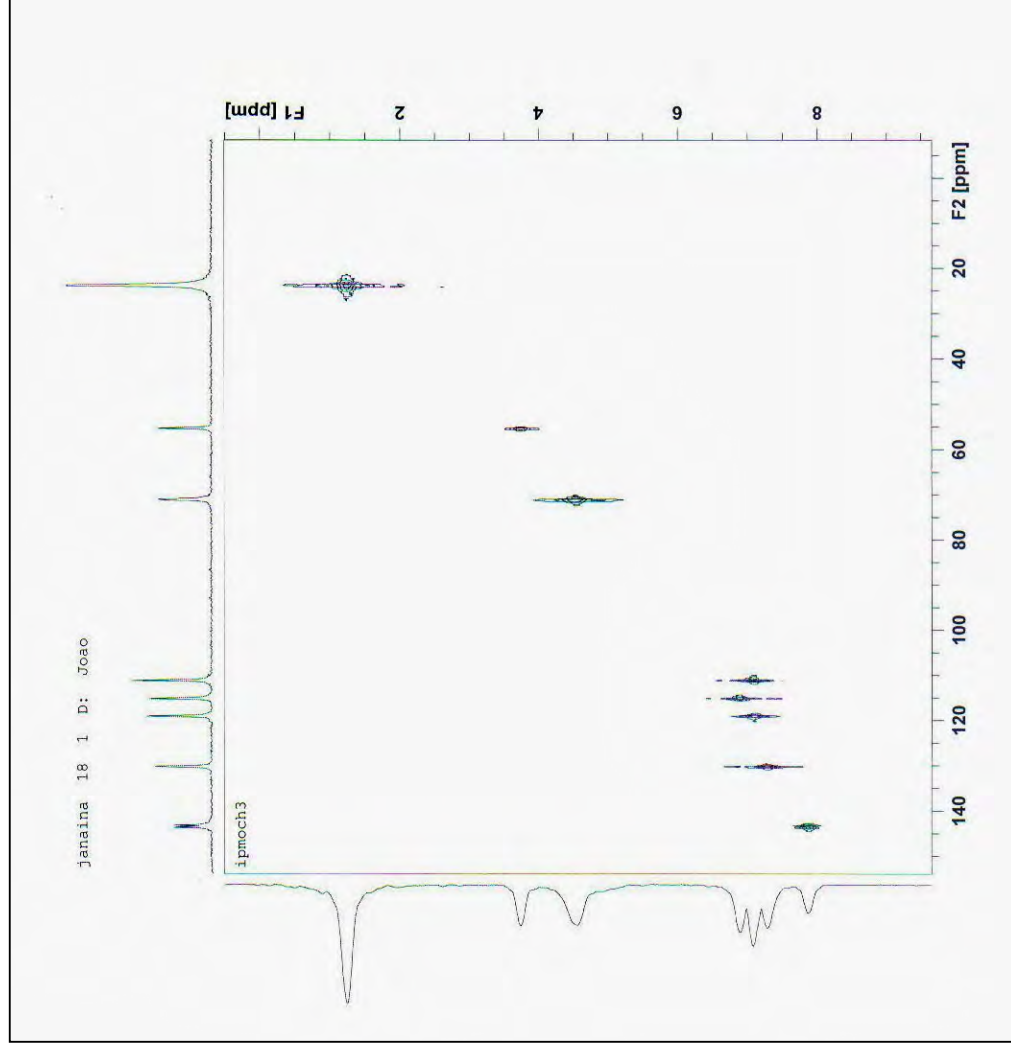


Figura 139: Espectro de HETCOSY do composto 14.

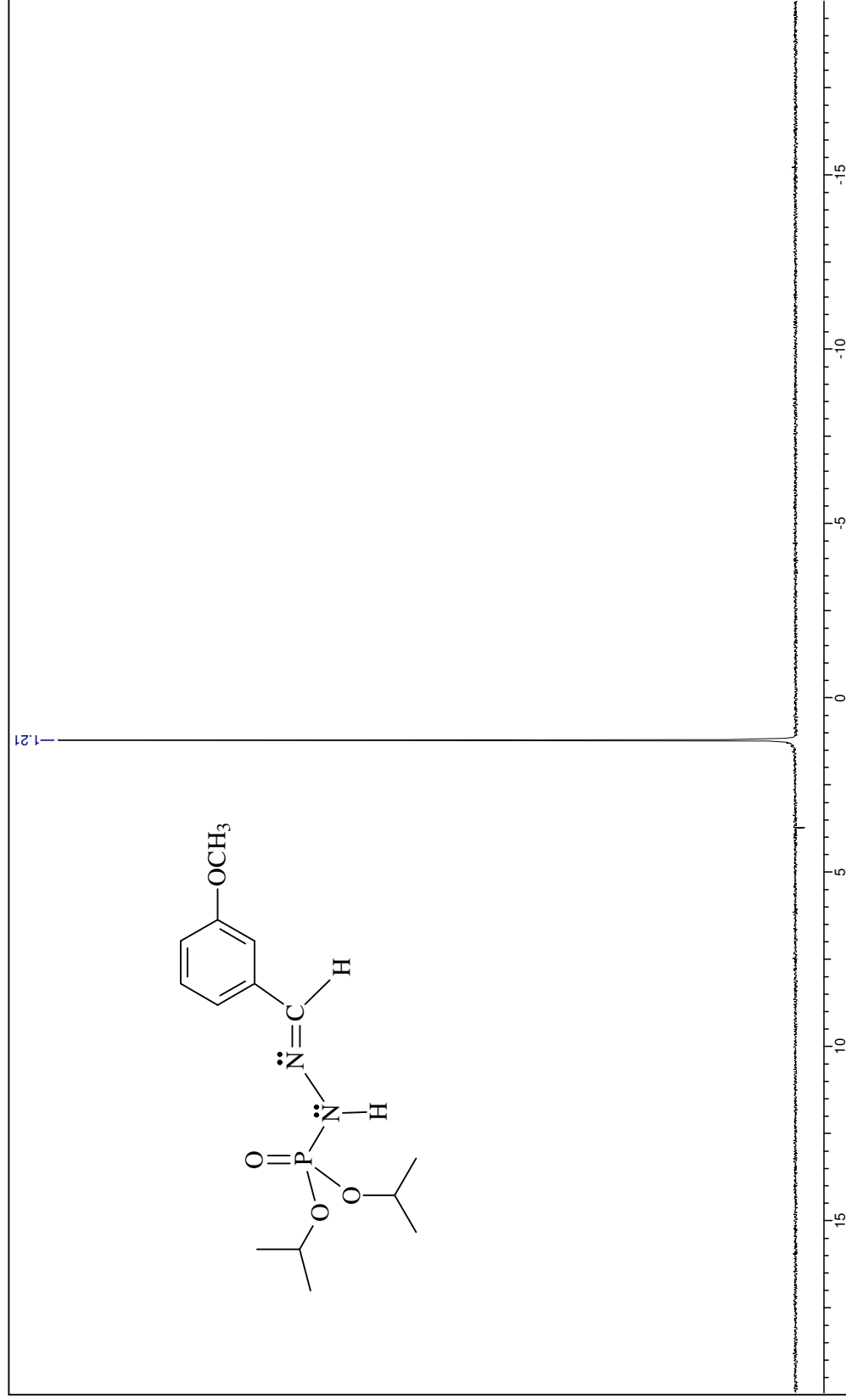


Figura 140: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 14.

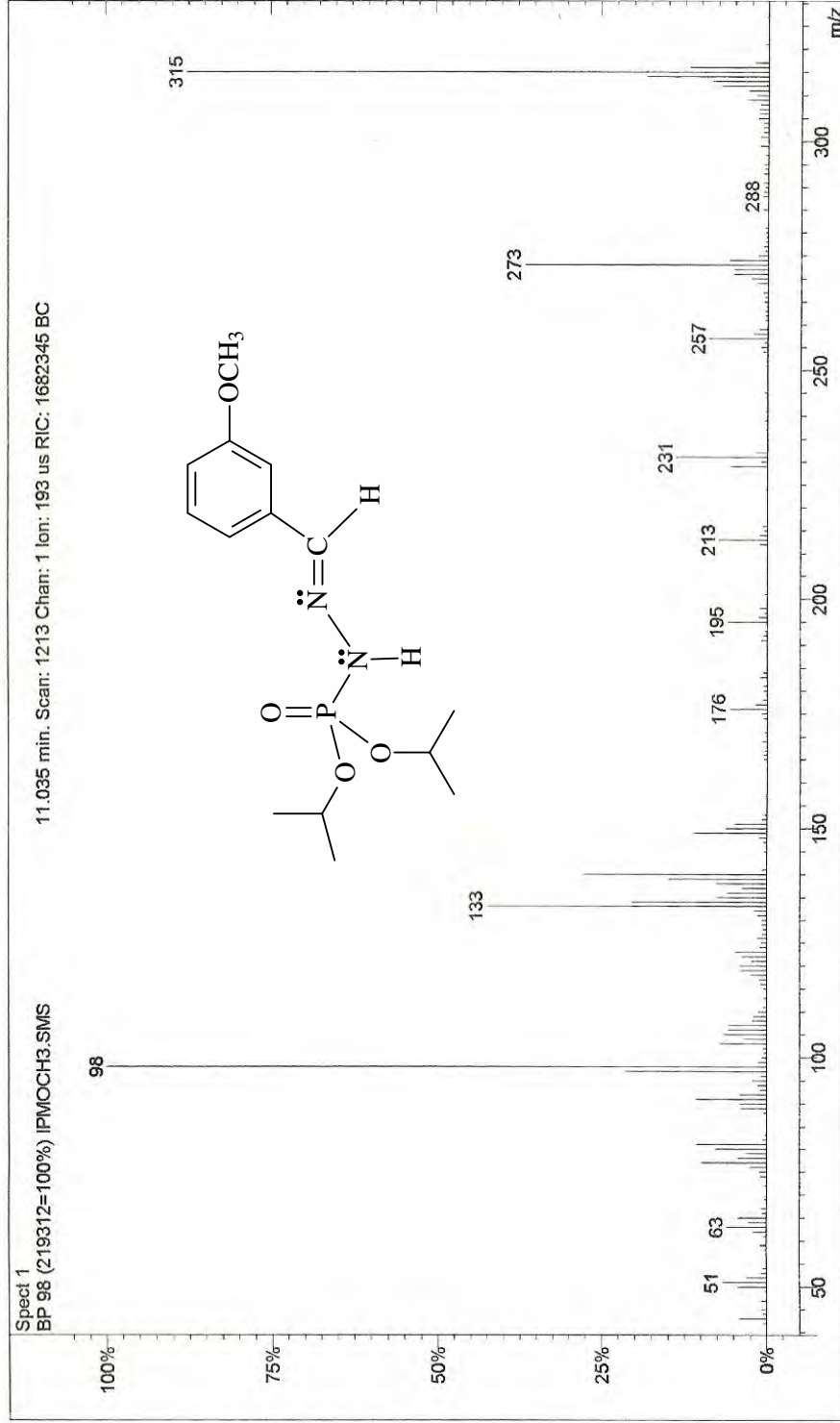


Figura 141: Espectro de massas do composto 14.

3114.4, 2982.1, 2933.4, 2836.4, 1609.8, 1543.2, 1513.2, 1486.9, 1383.9, 1304.1, 1234.8 =
 1171.8, 1142.5, 1083.0, 1008.1, 895.8, 833.4, 776.7, 739.8, 689.9, 638.9, 569.2, 535.8, 498.

1 =

X: REA 161C Janaina KBr NO: 9009 Op: Carlos UFRRJ

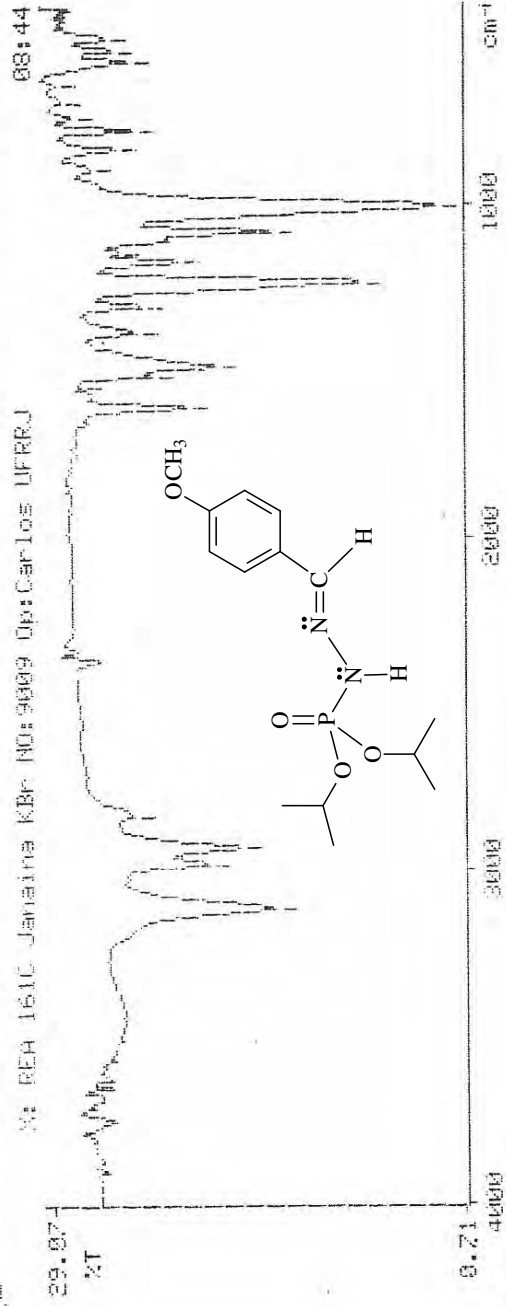


Figura 142: Espectro de IV do composto 15.

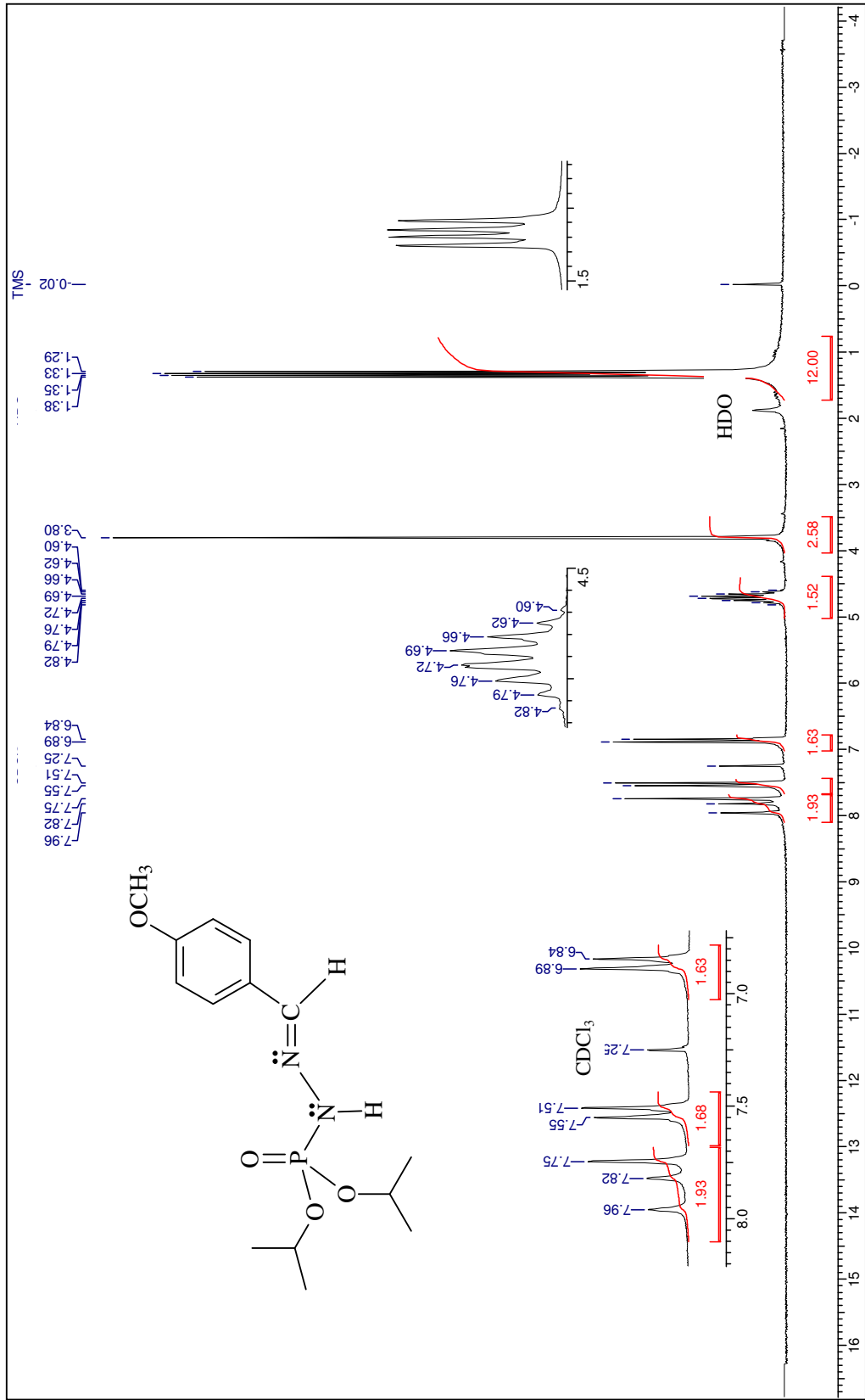


Figura 143: Espectro de RMN de ¹H do composto 15.

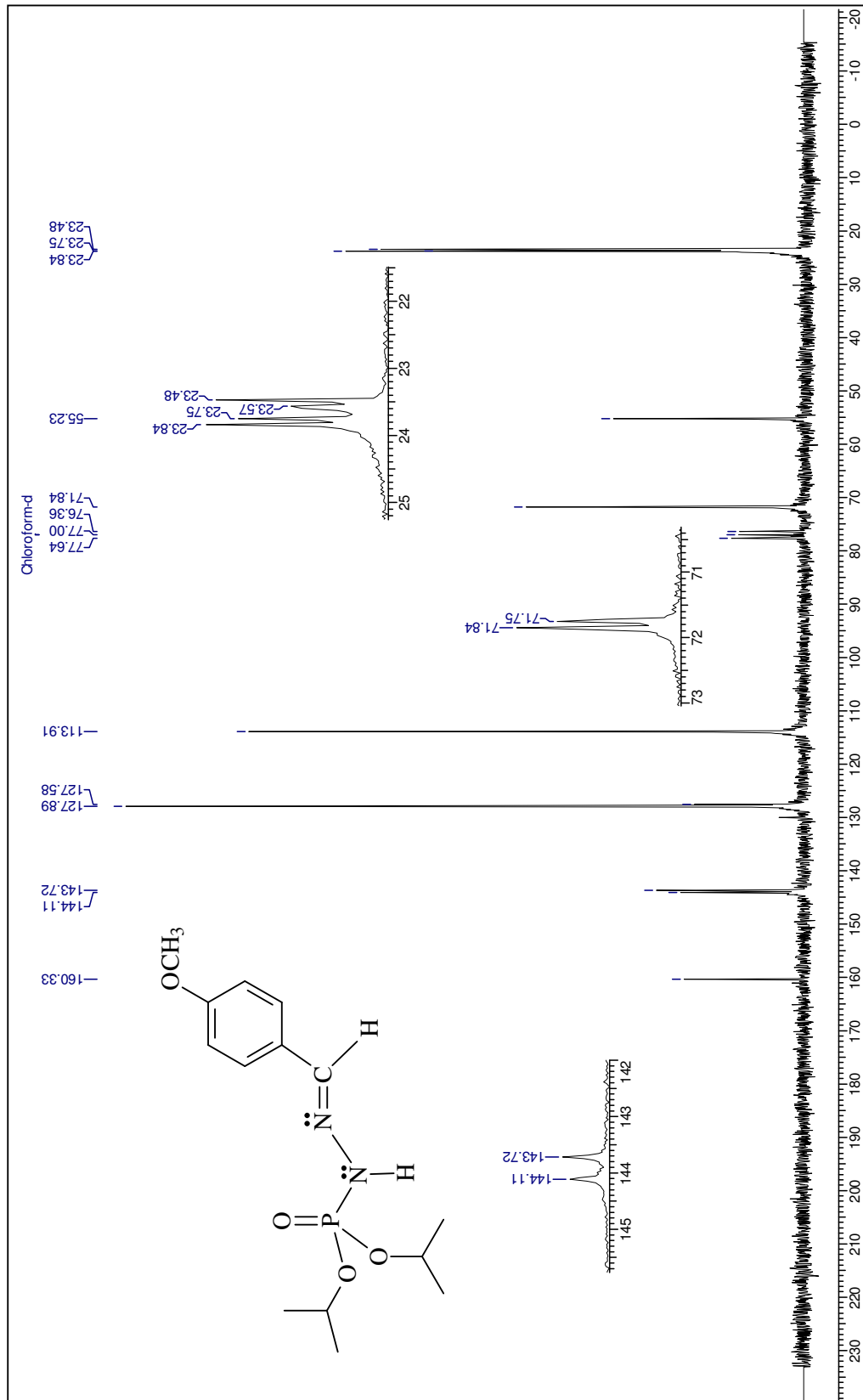


Figura 144: Espectro de RMN de ¹³C do composto 15.

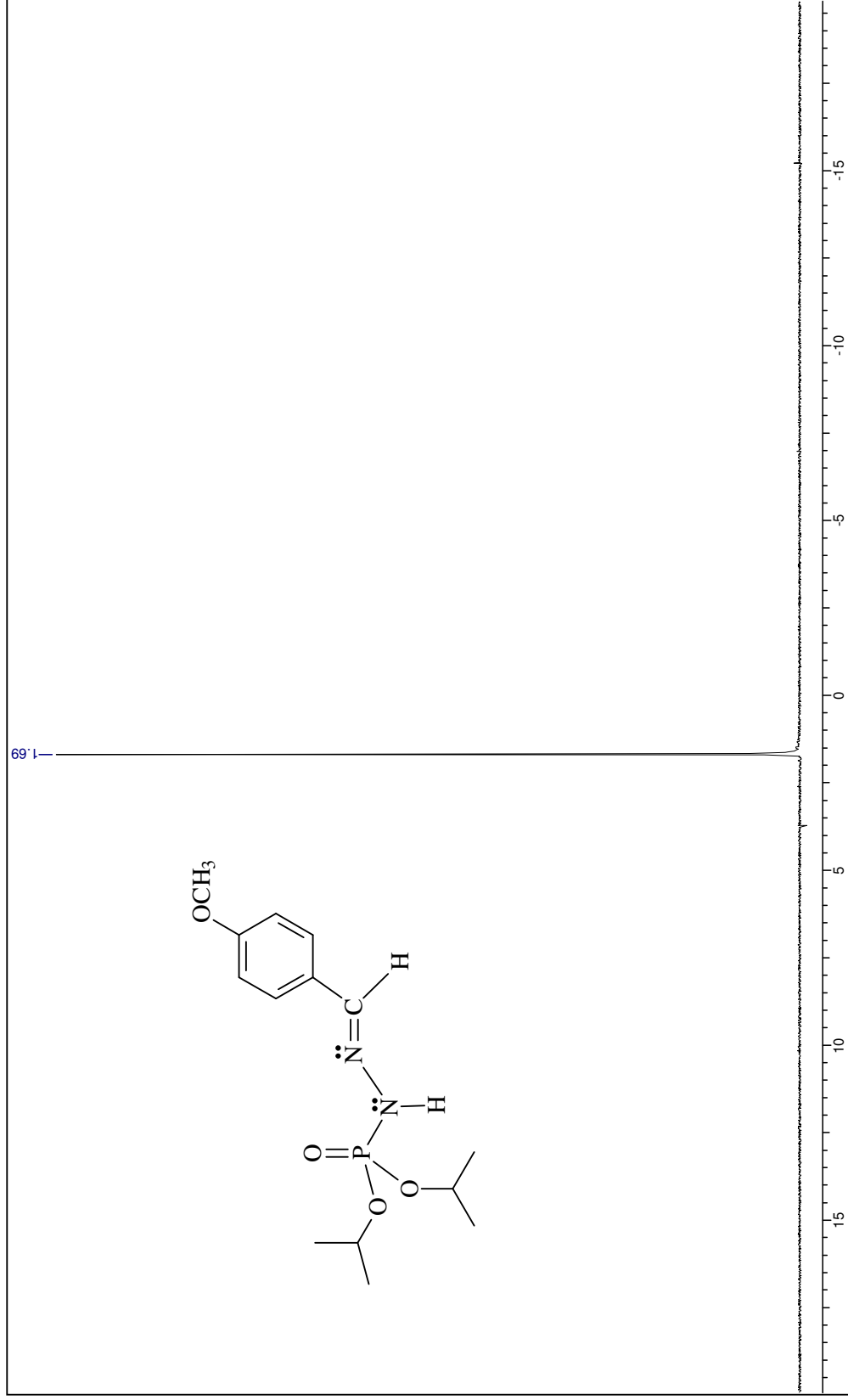


Figura 145: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 15.

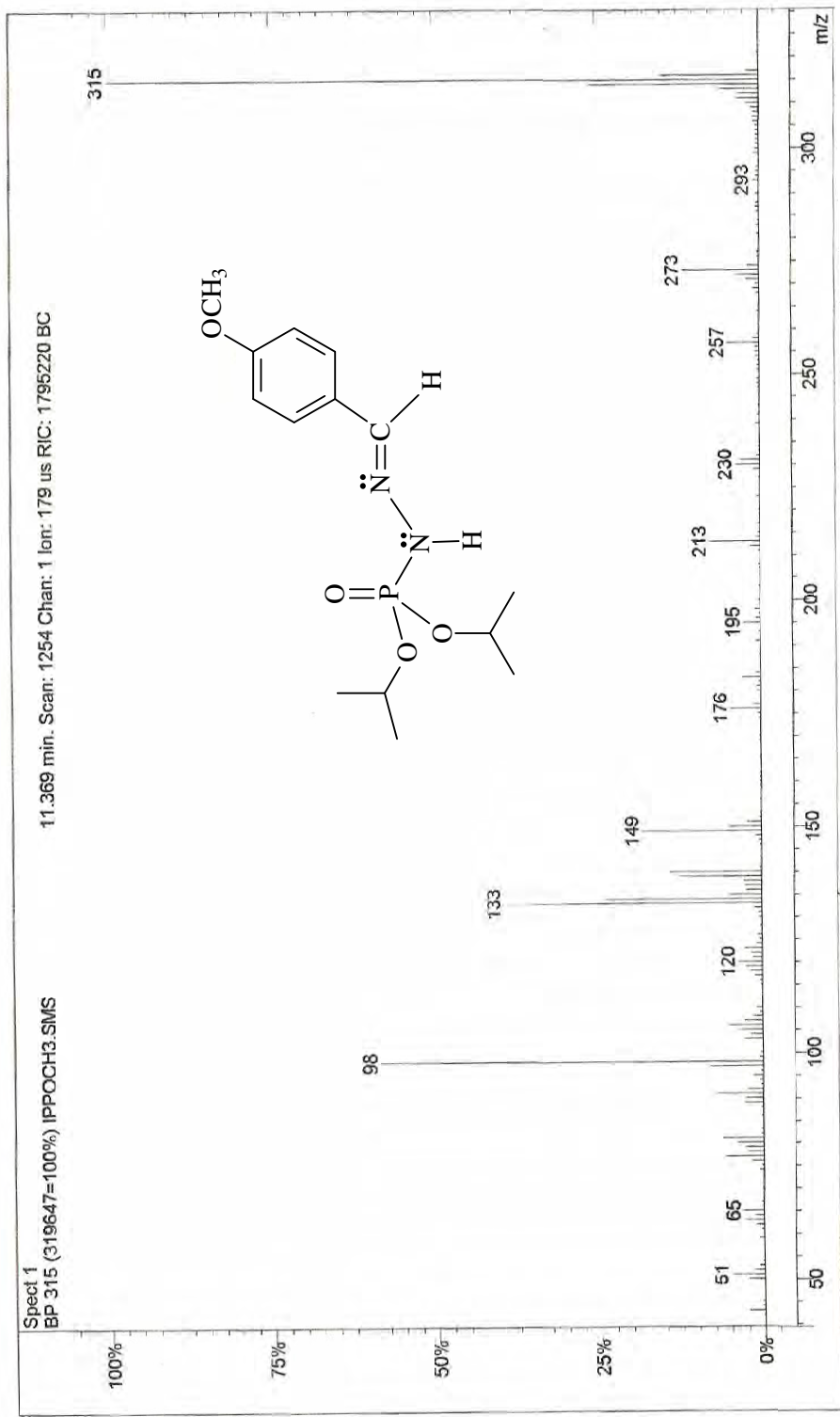


Figura 146: Espectro de massas do composto 15.

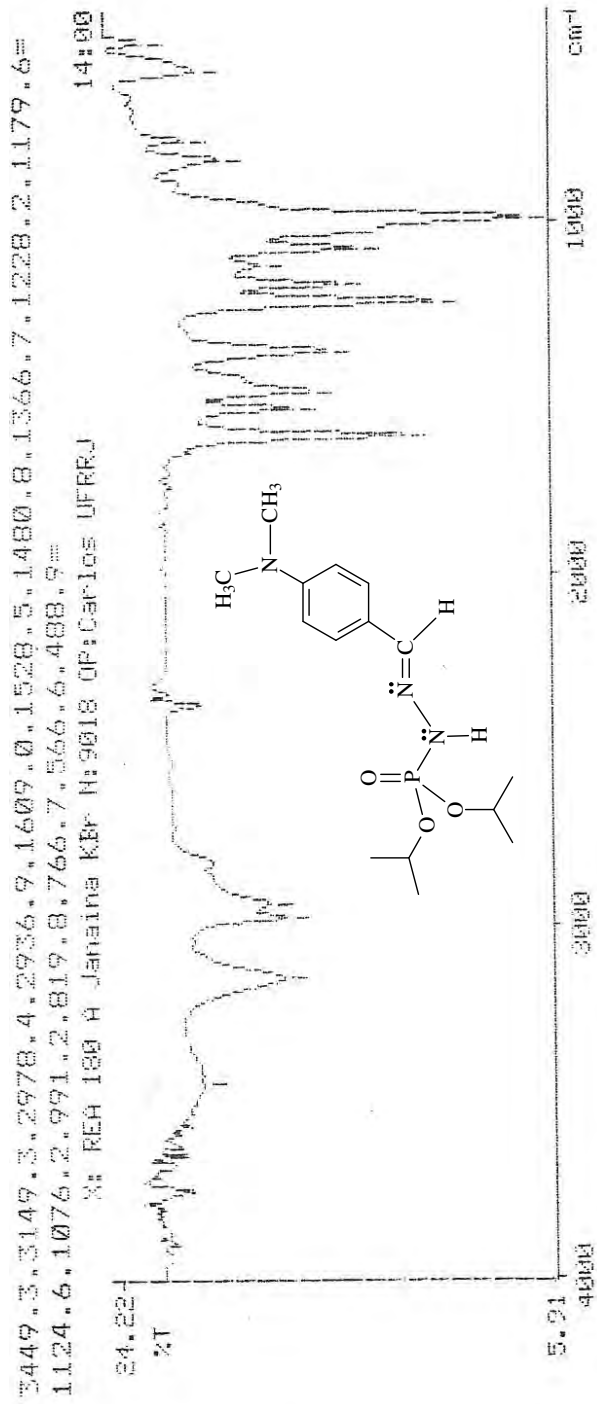


Figura 147: Espectro de IV do composto 16.

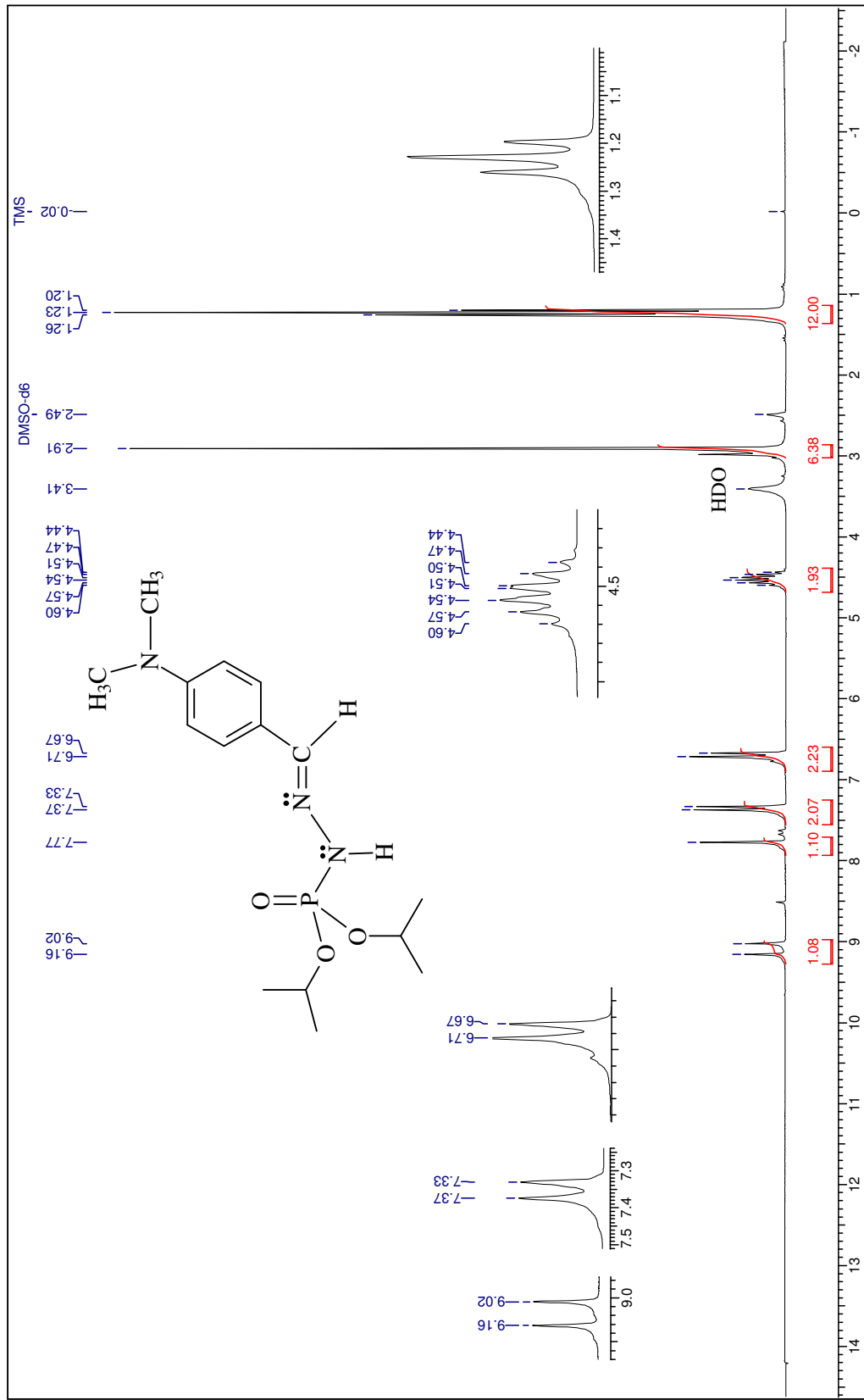


Figura 148: Espectro de RMN de ¹H do composto 16.

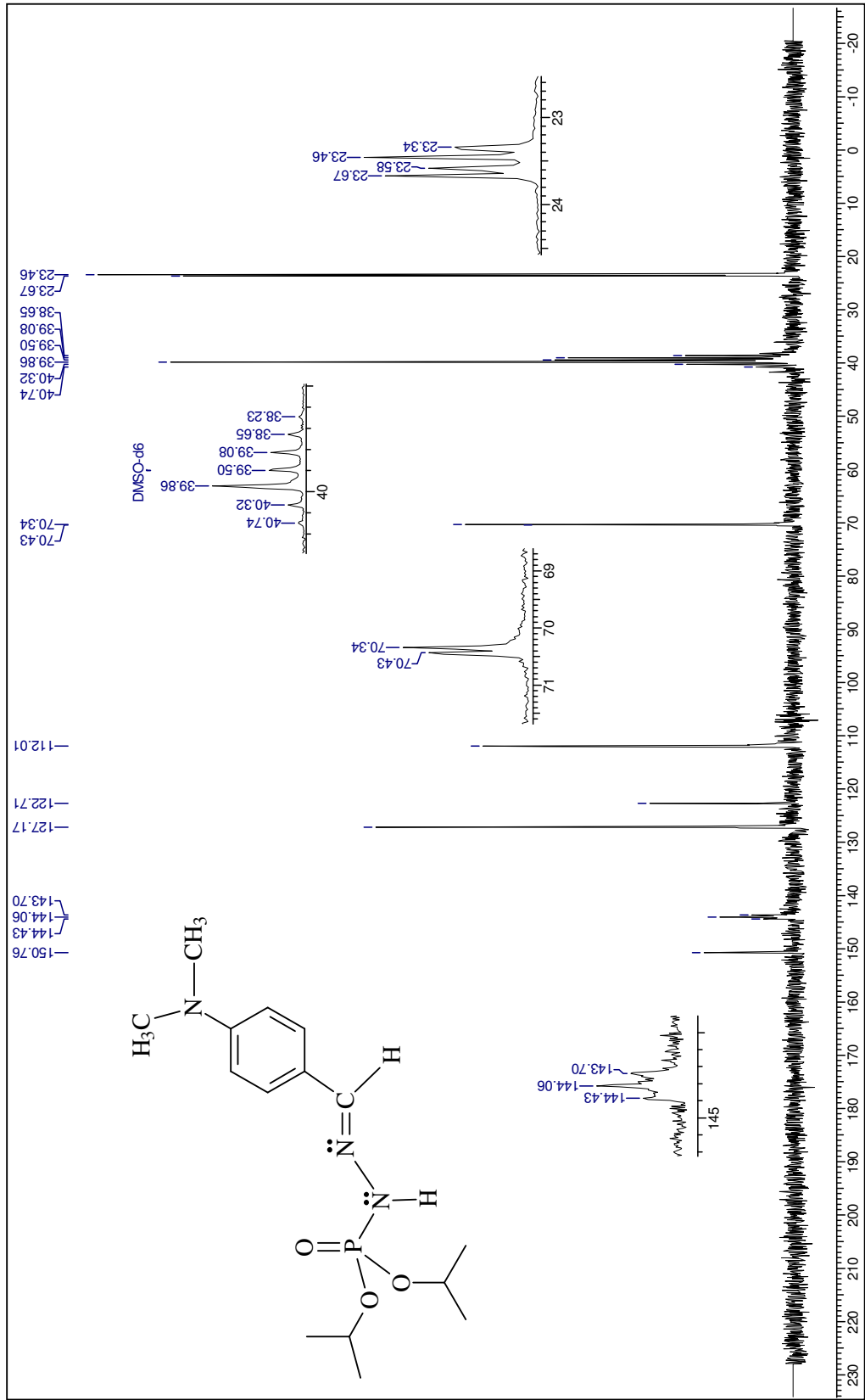


Figura 149: Espectro de RMN de ¹³C do composto 16.

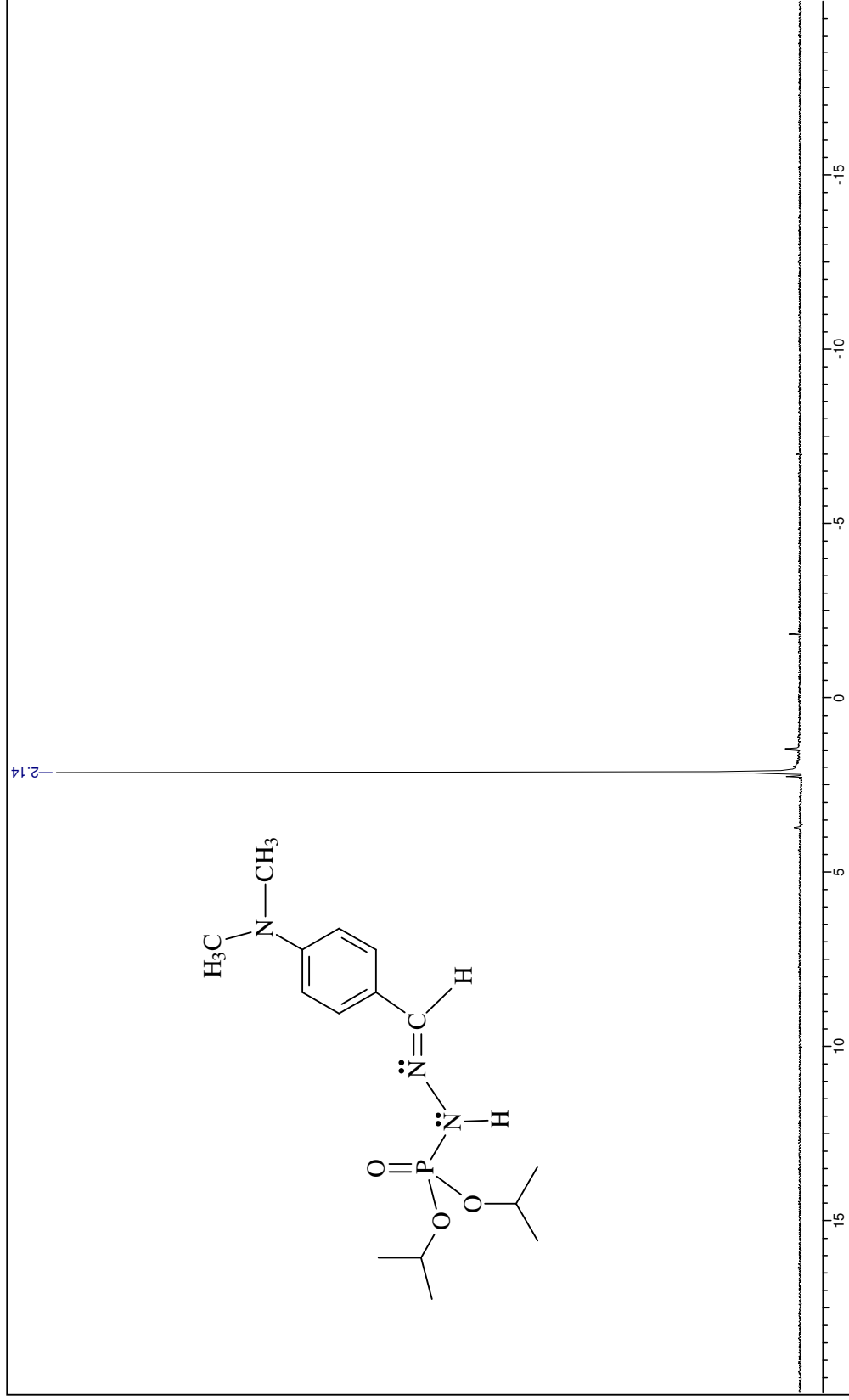


Figura 150: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 16.

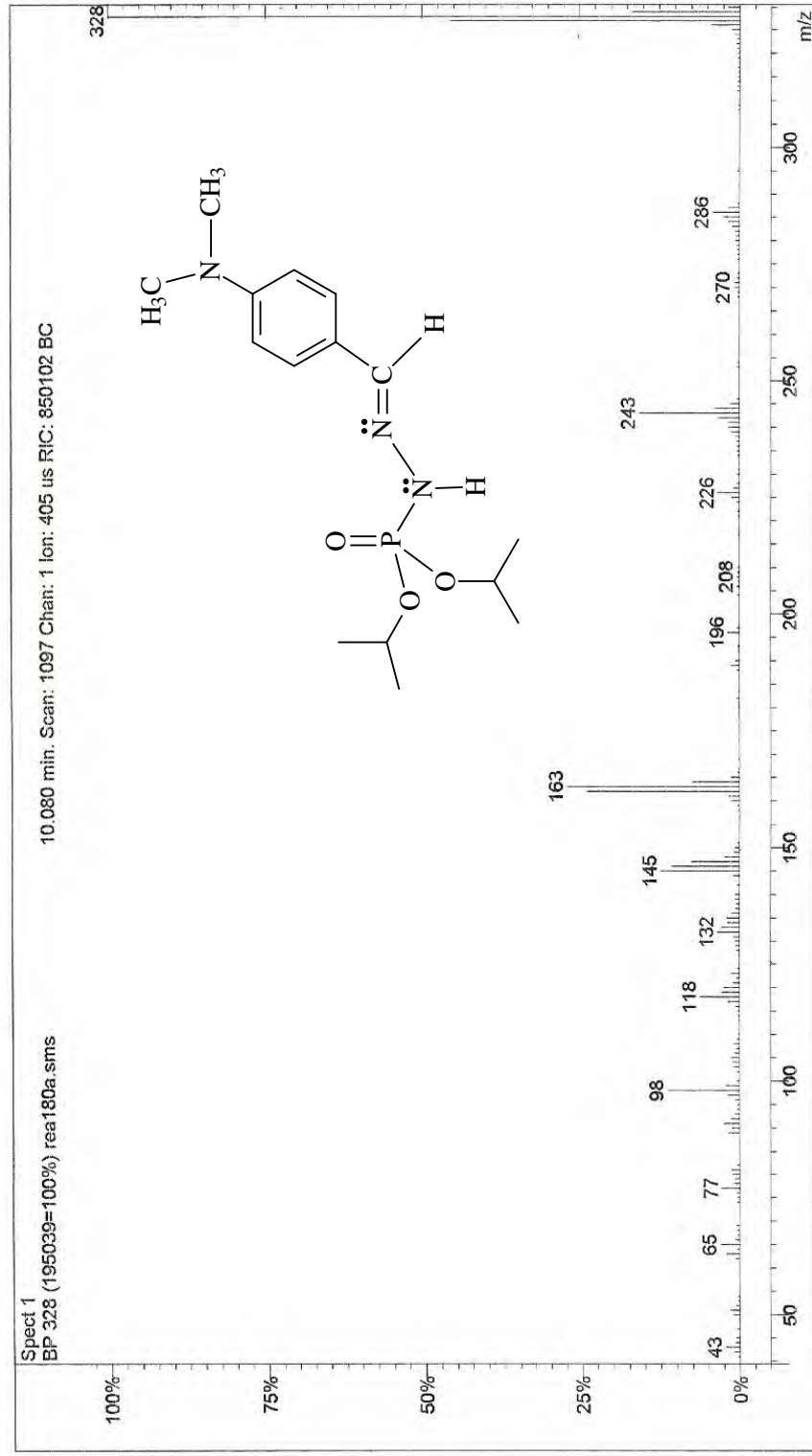


Figura 151: Espectro de massas do composto 16.

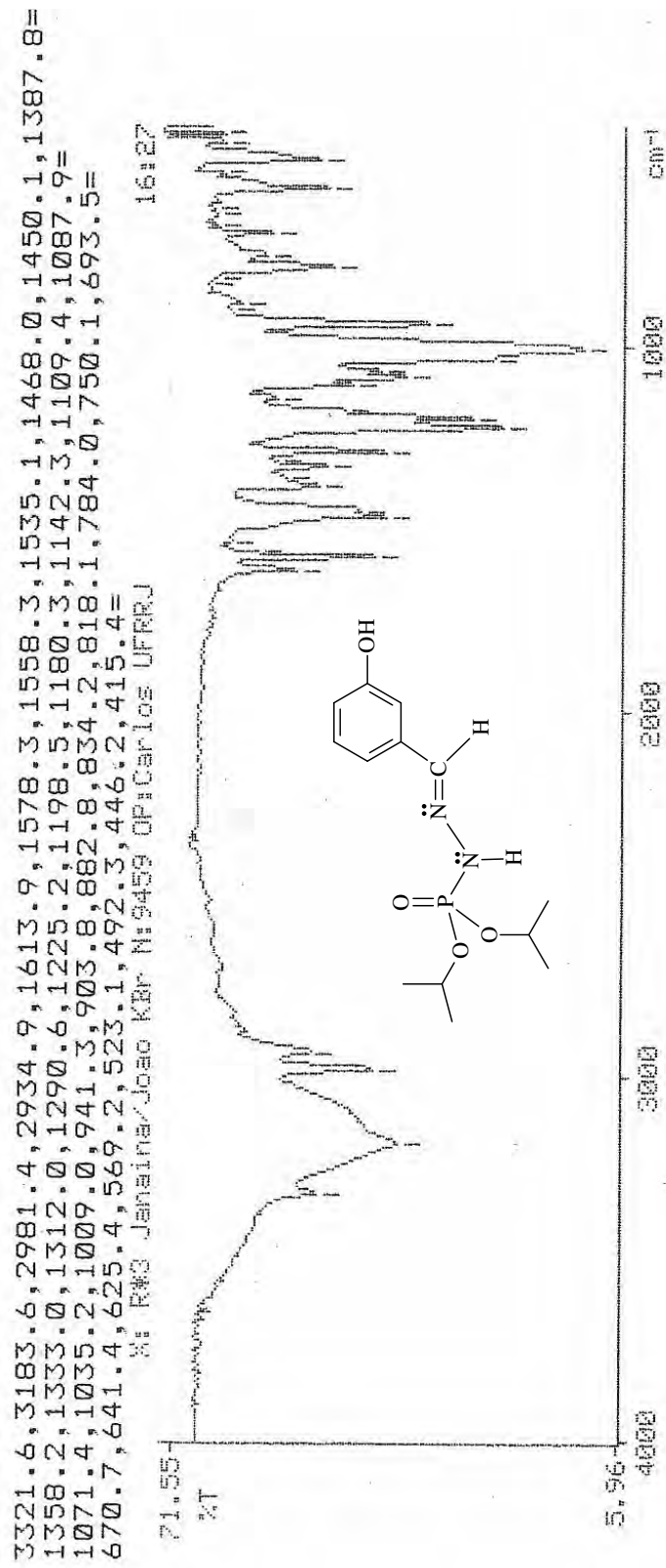


Figura 152: Espectro de IV do composto 17.

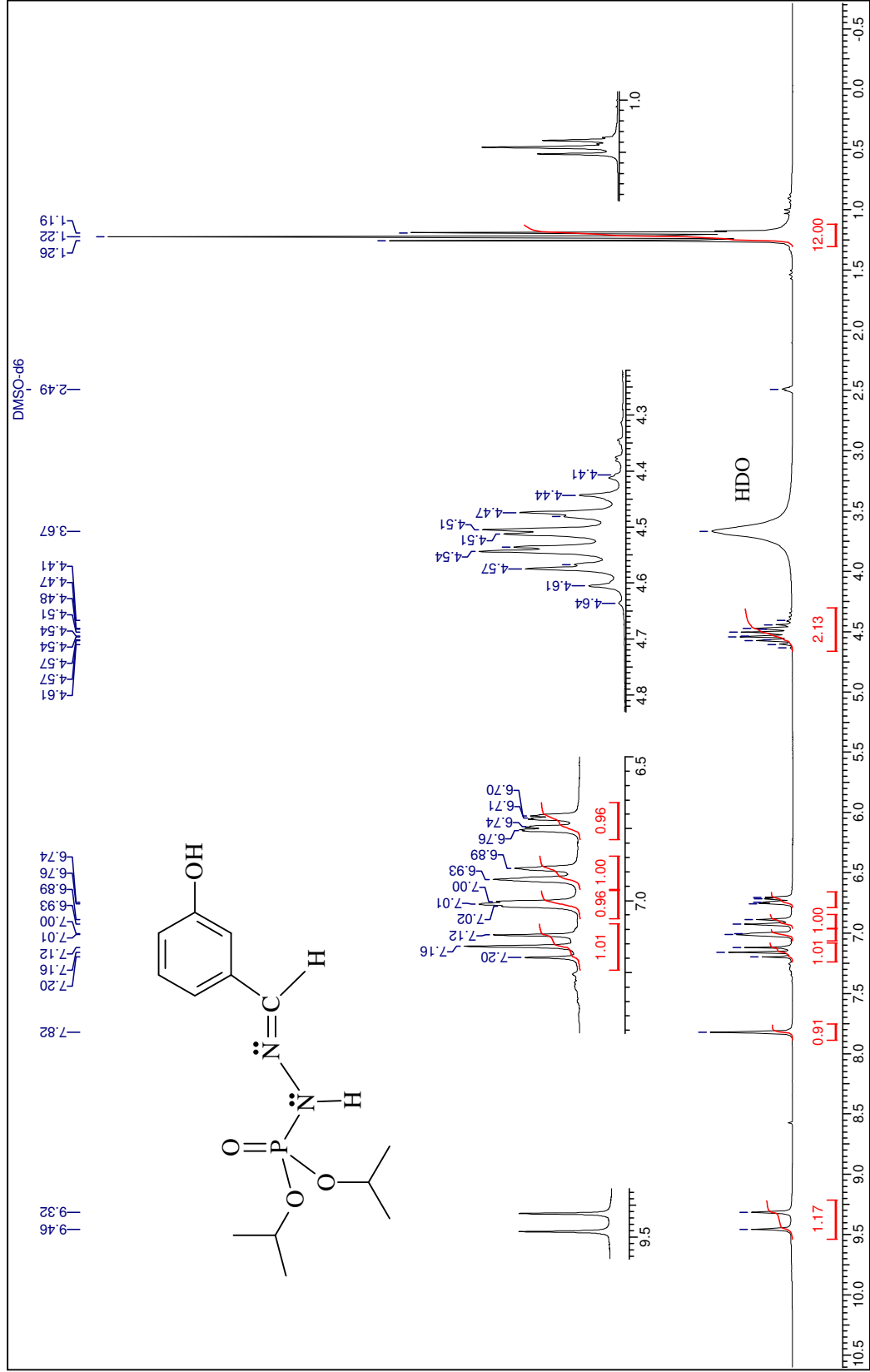


Figura 153: Espectro de RMN de ¹H do composto 17.

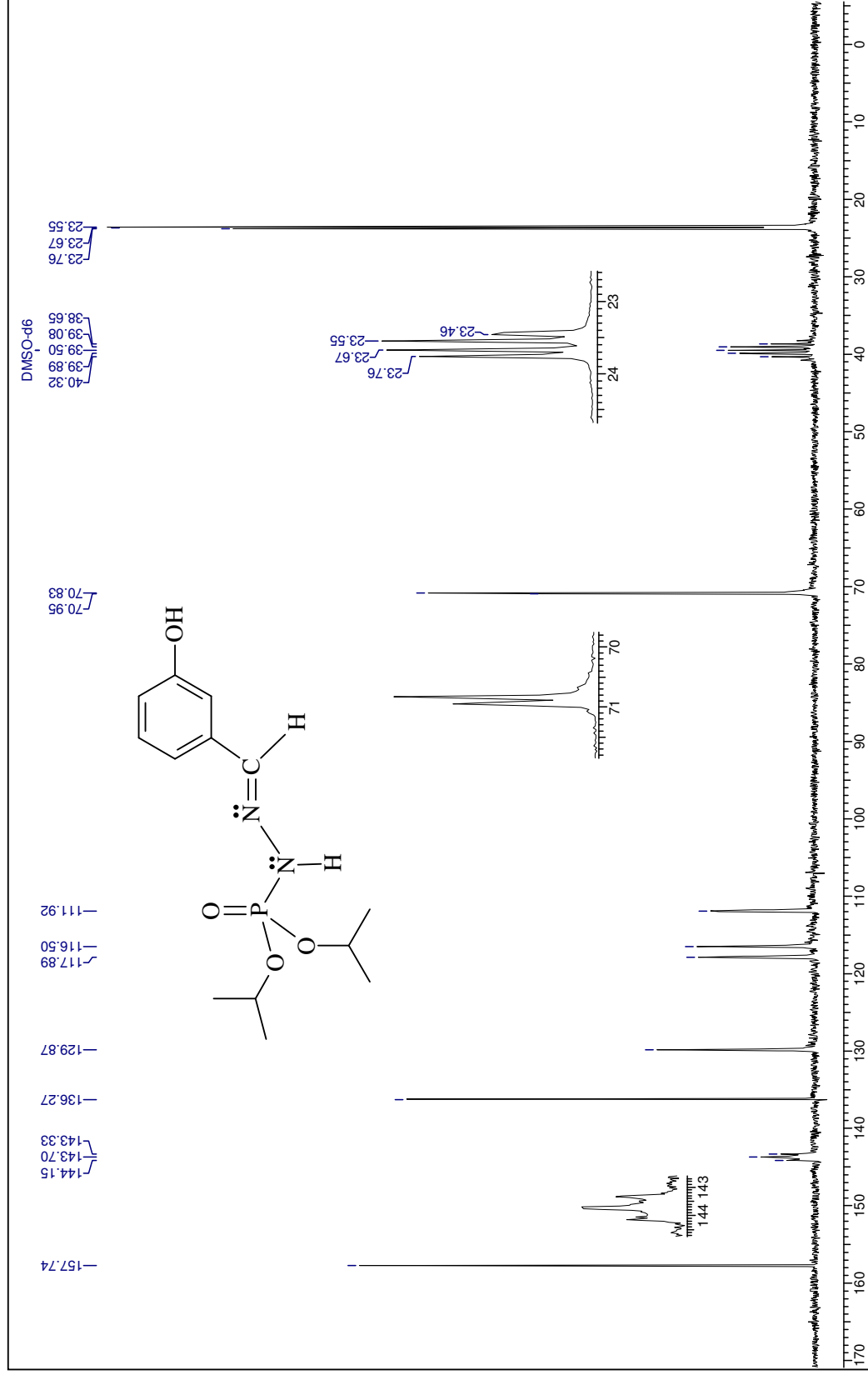


Figura 154: Espectro de RMN de ¹³C do composto 17.

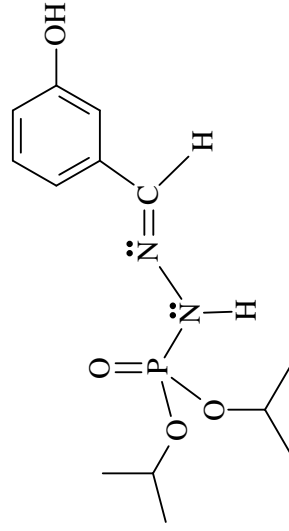
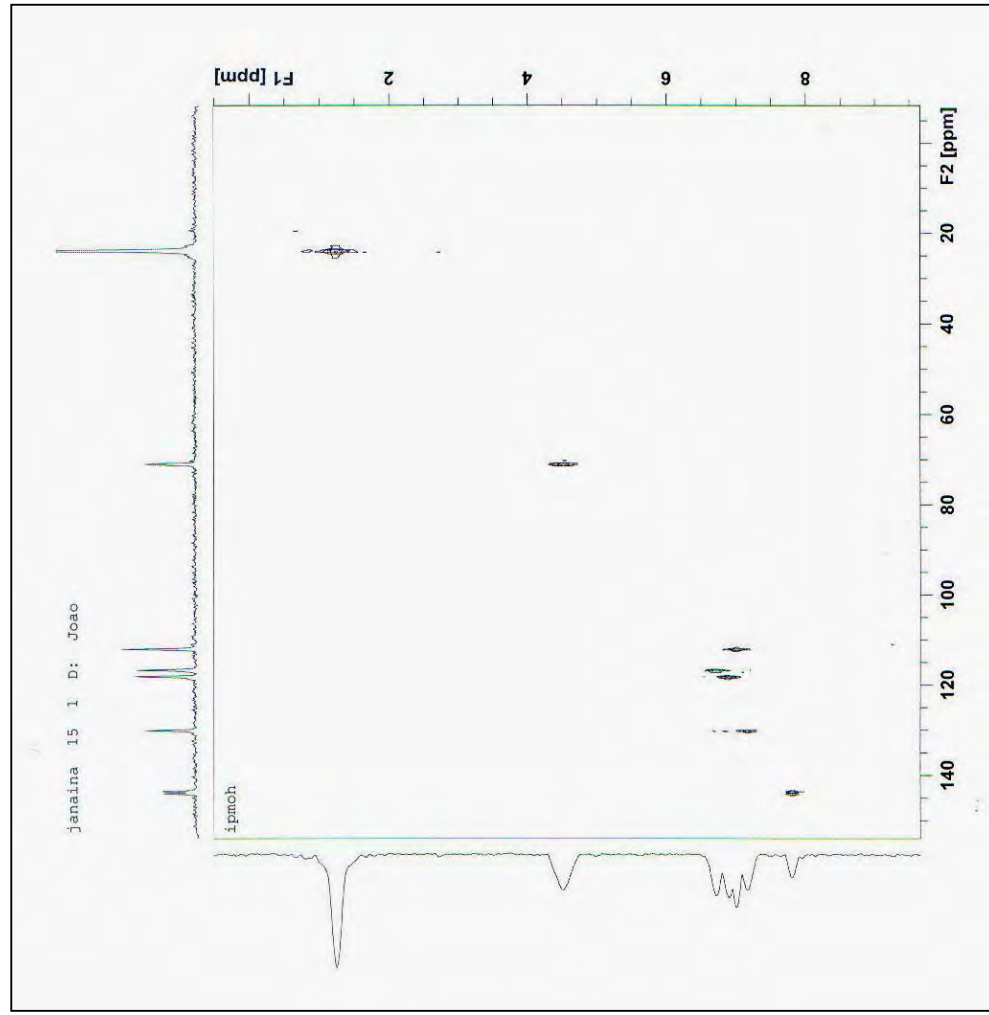


Figura 155: Espectro de HETCOSY do composto 17.

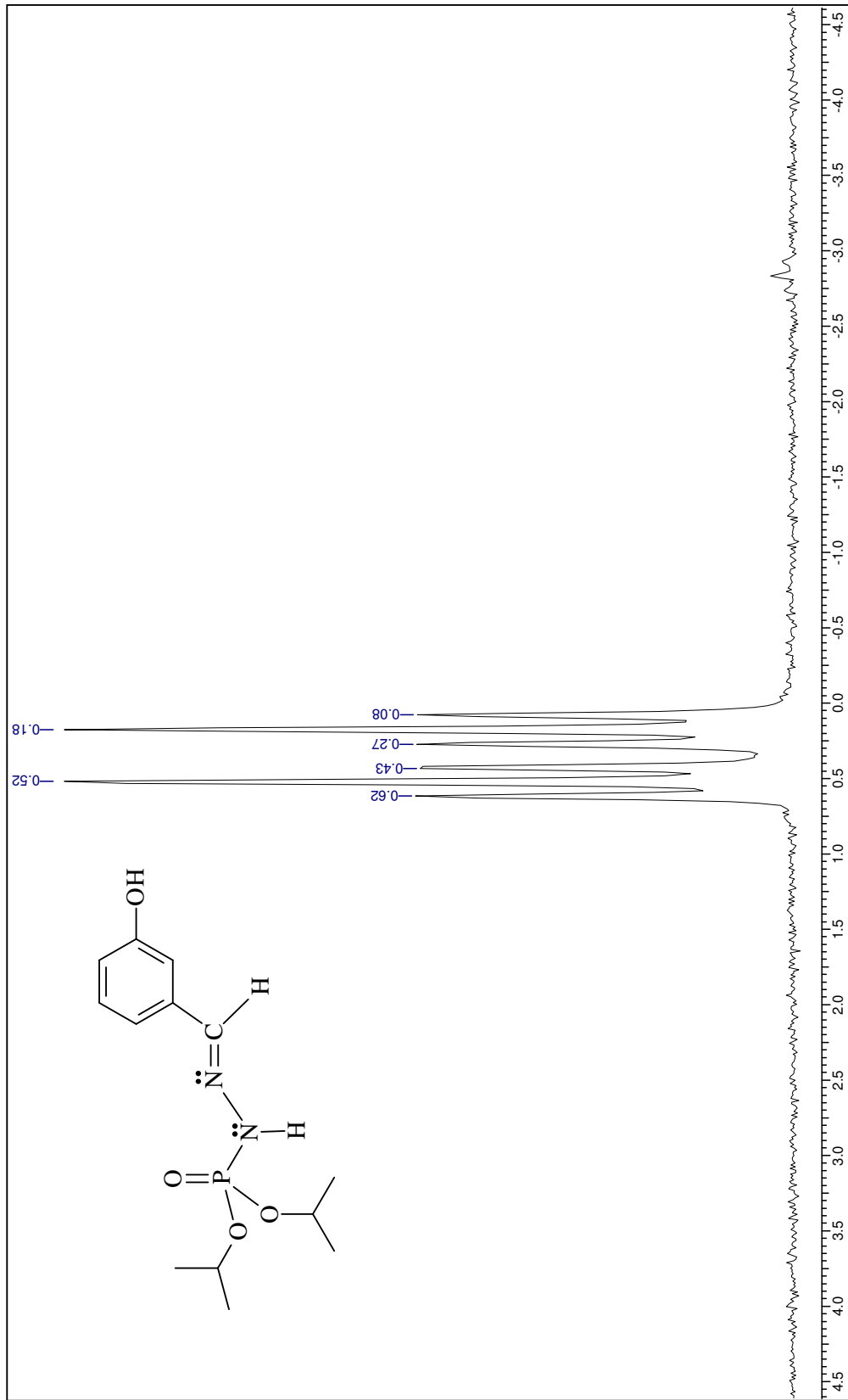


Figura 156: Espectro de RMN de ^{31}P acoplado do composto 17.

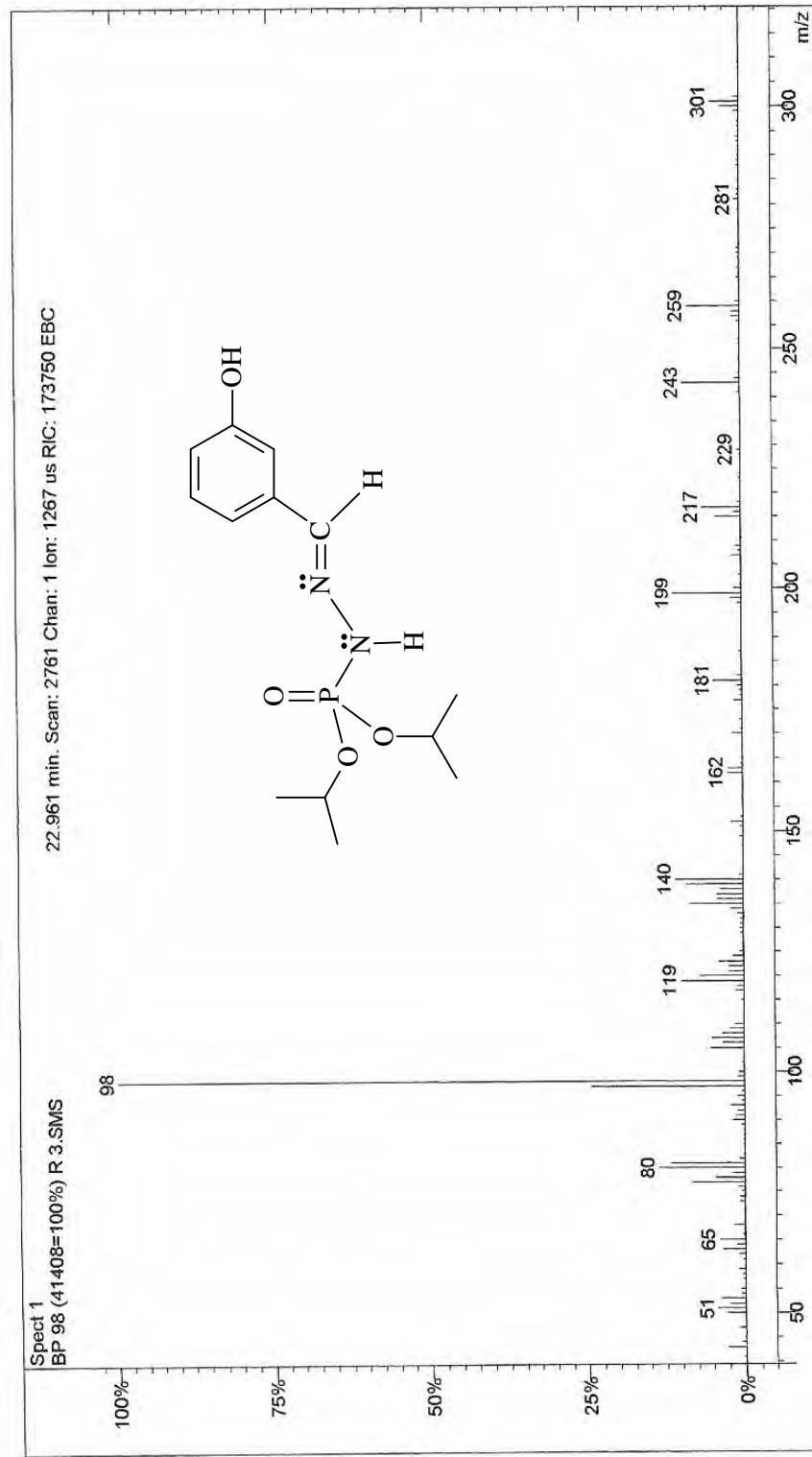


Figura 157: Espectro de massas do composto 17.

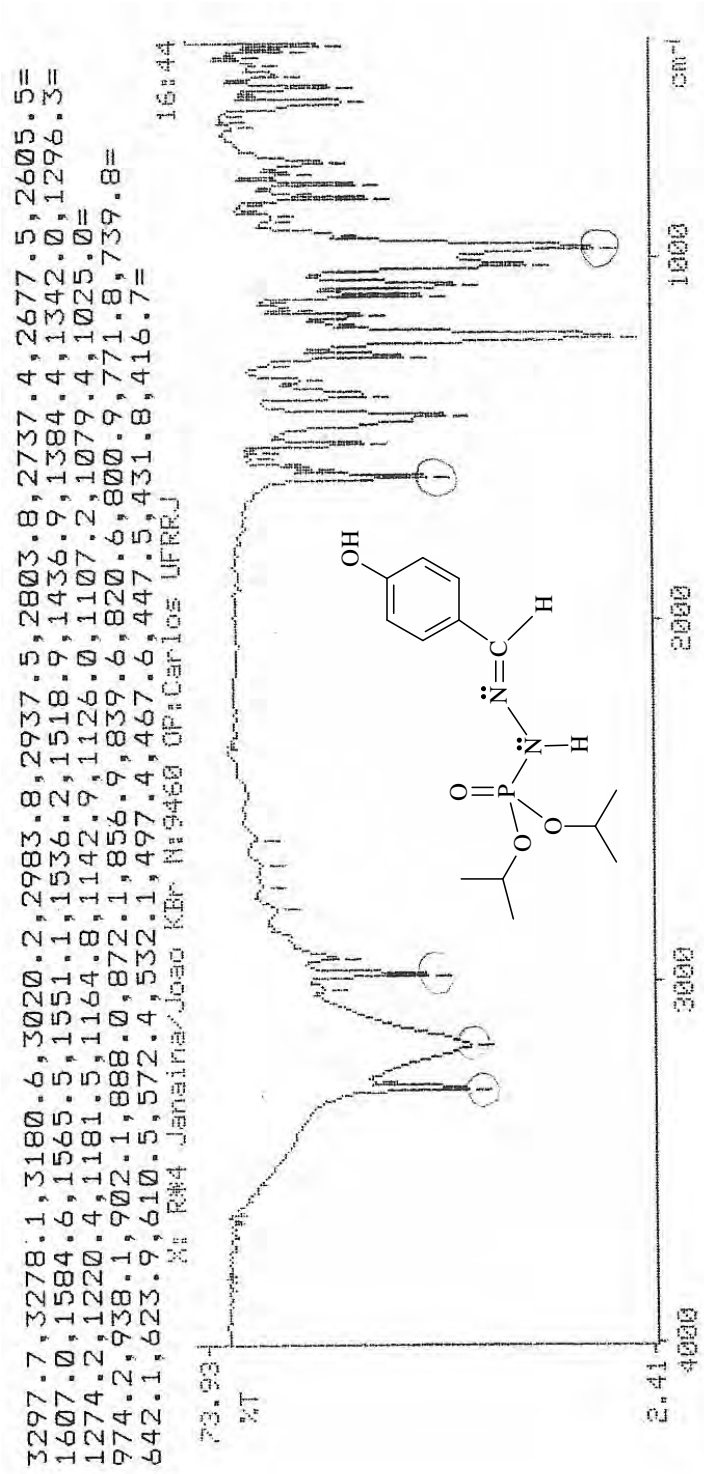


Figura 158: Espectro de IV do composto 18.

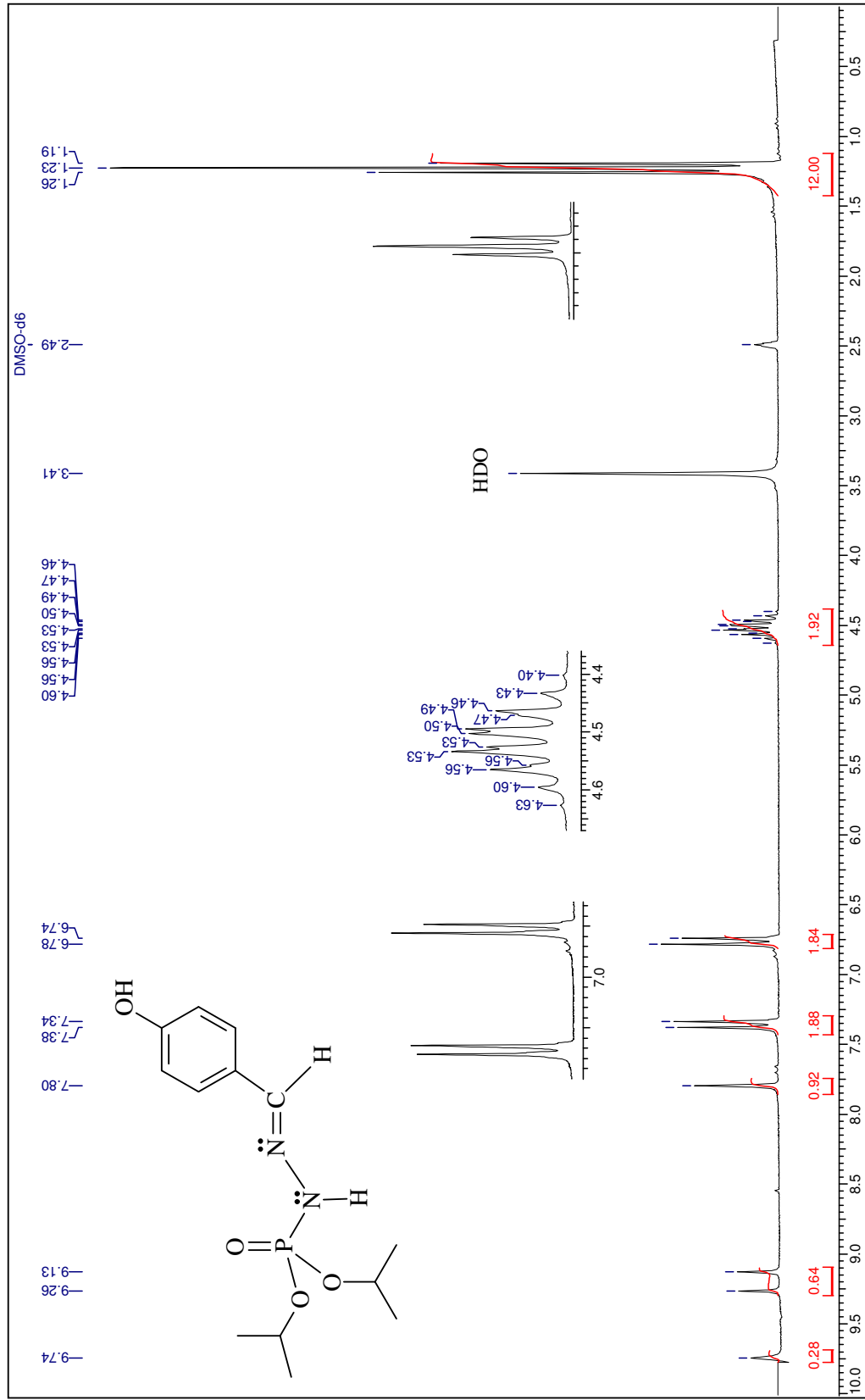


Figura 159: Espectro de RMN de ¹H do composto 18.

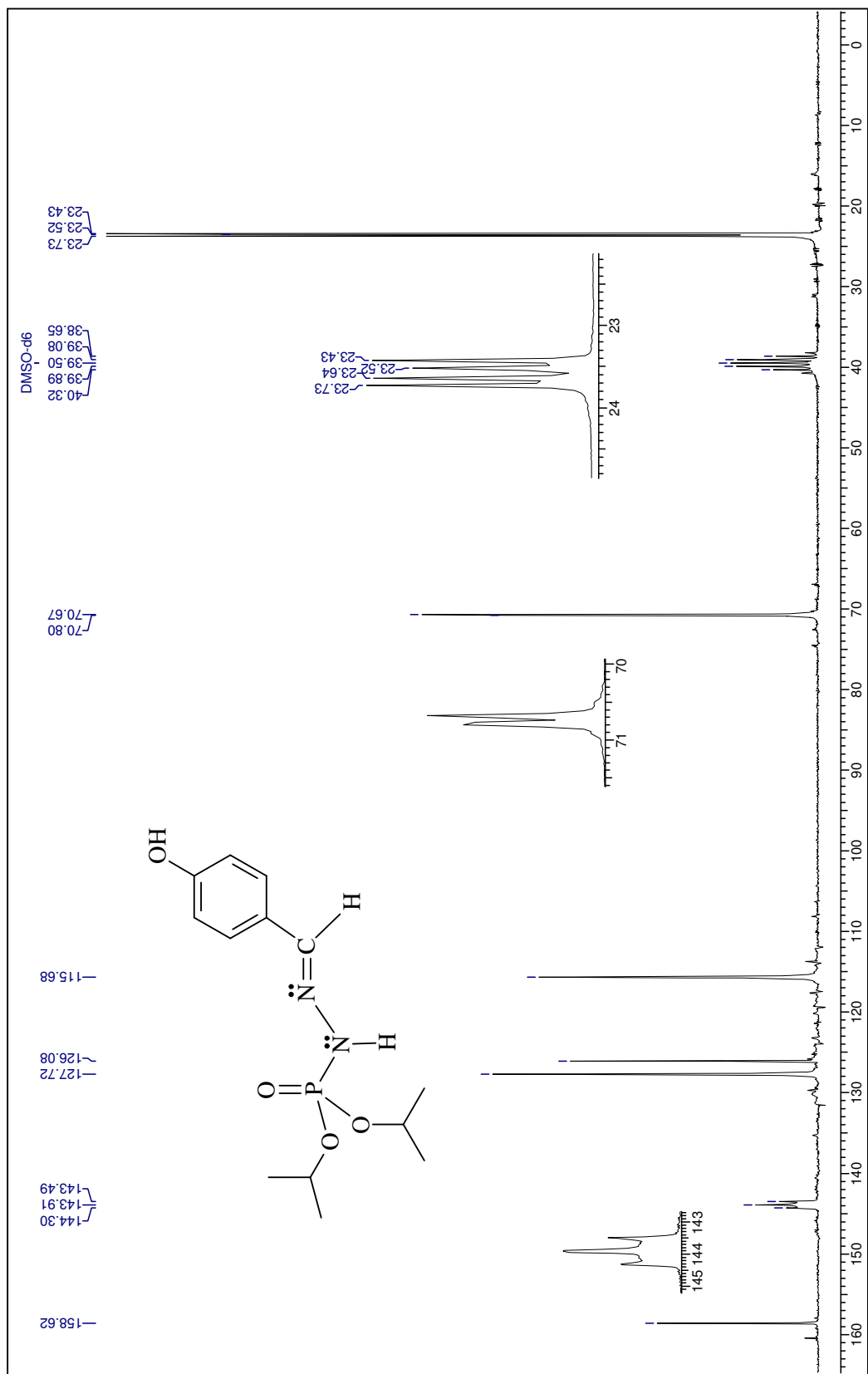


Figura 160: Espectro de RMN de ¹³C do composto 18.

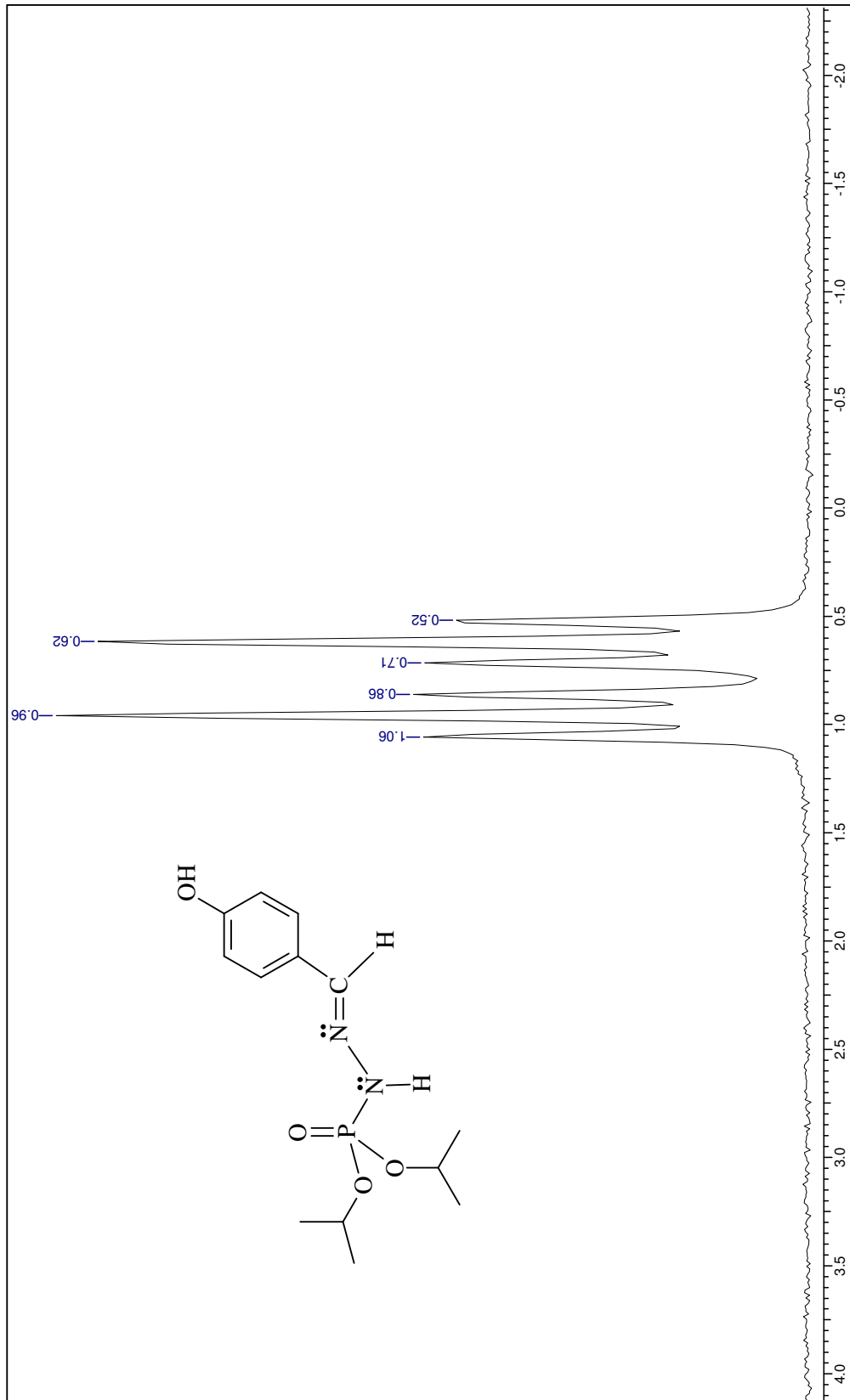


Figura 161: Espectro de RMN de ³¹P acoplado do composto 18.

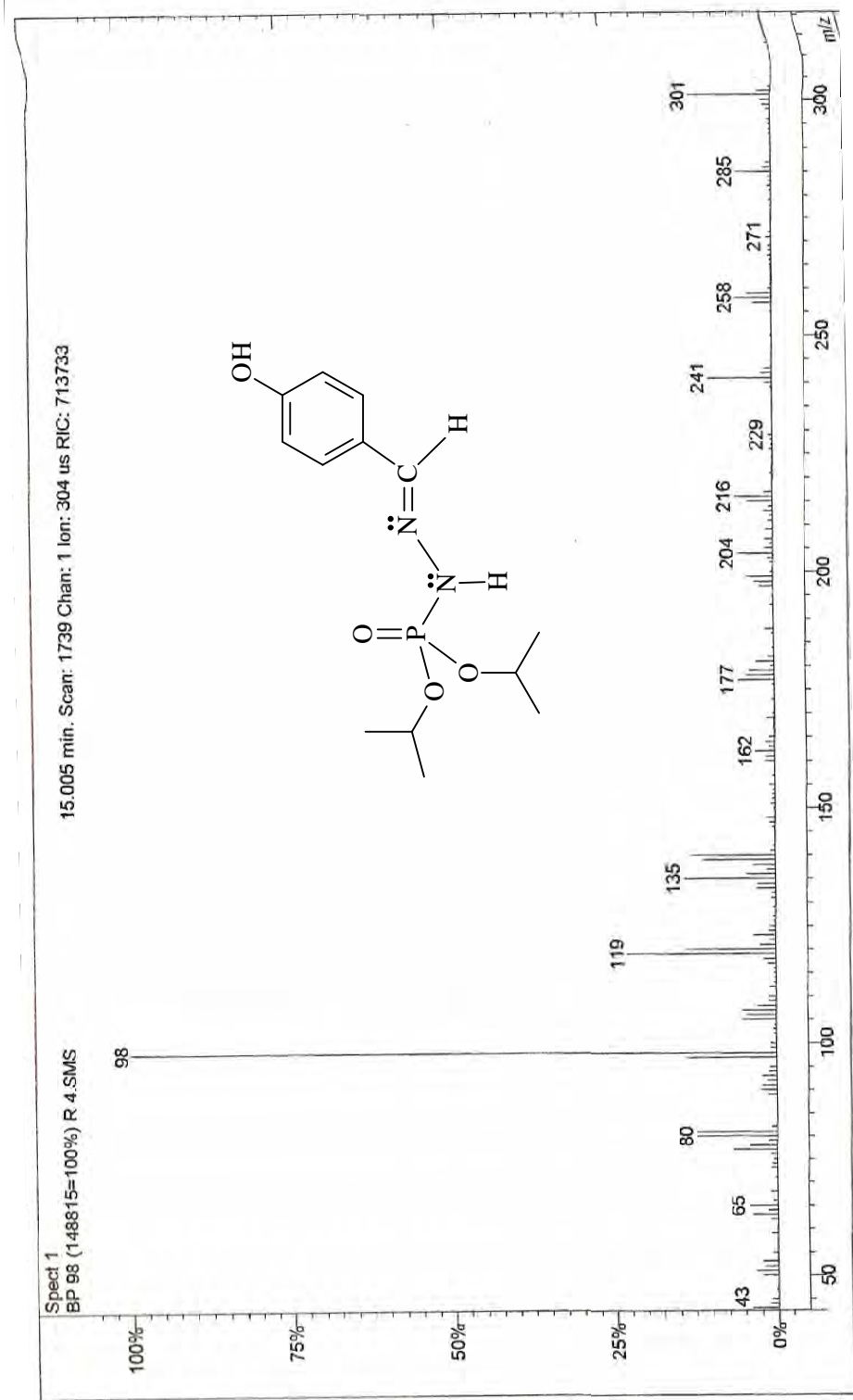


Figura 162: Espectro de massas do composto 18.

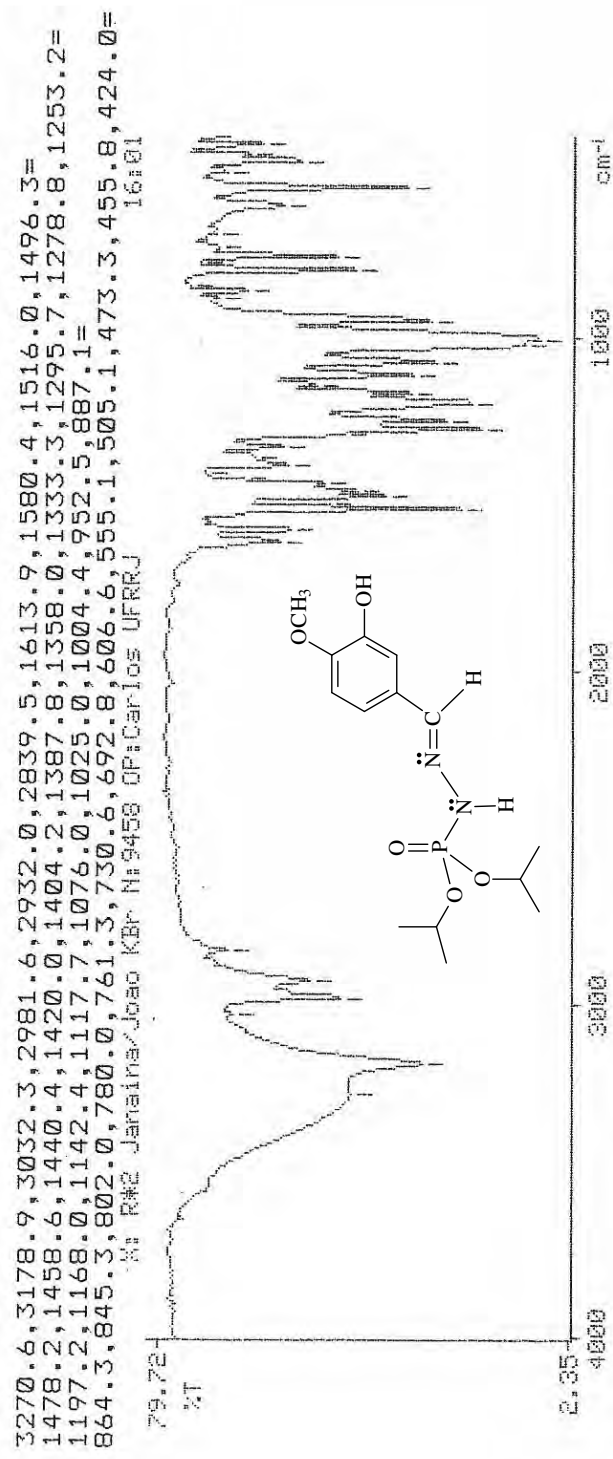


Figura 163: Espectro de IV do composto 19.

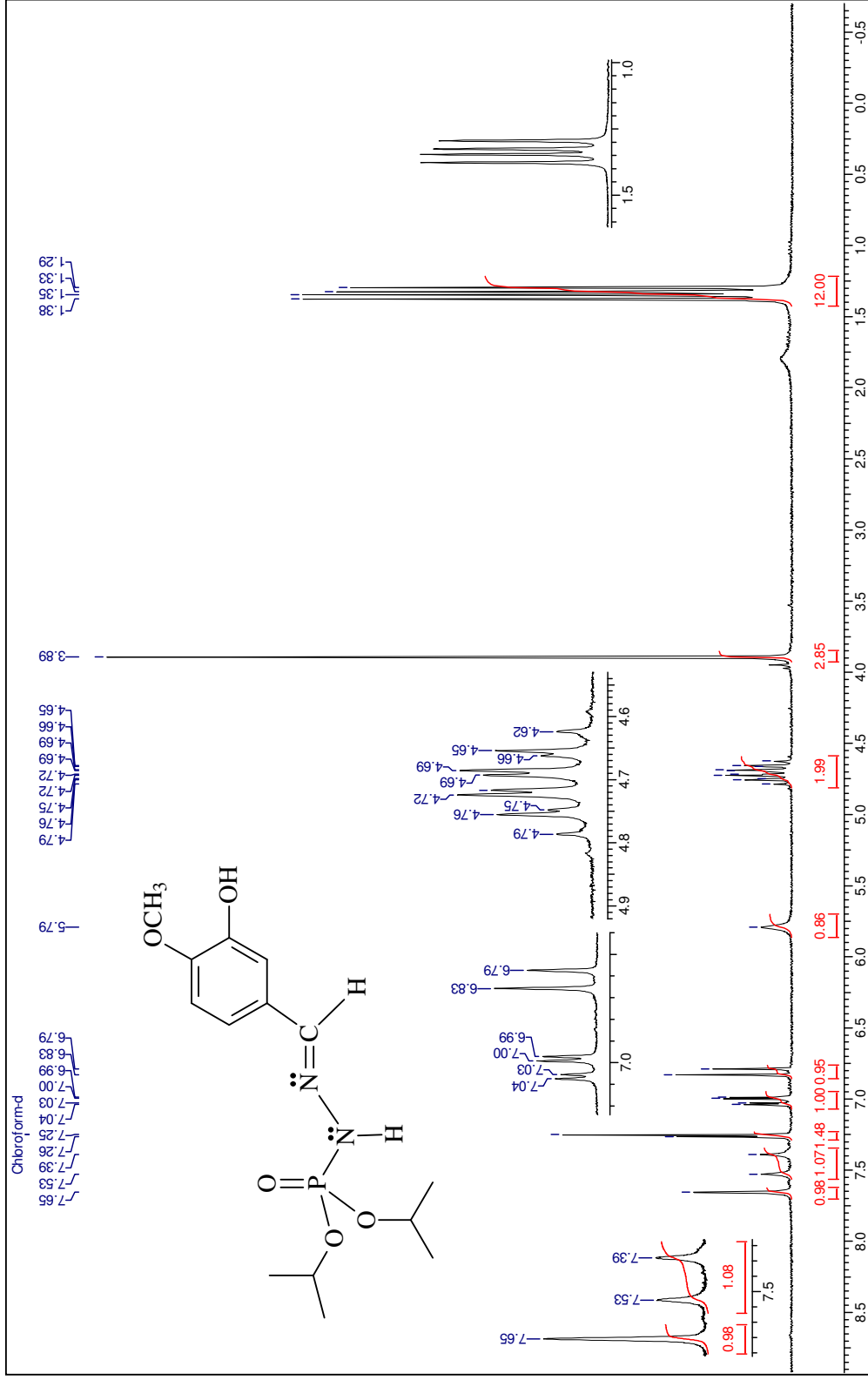


Figura 164: Espectro de RMN de ¹H do composto 19.

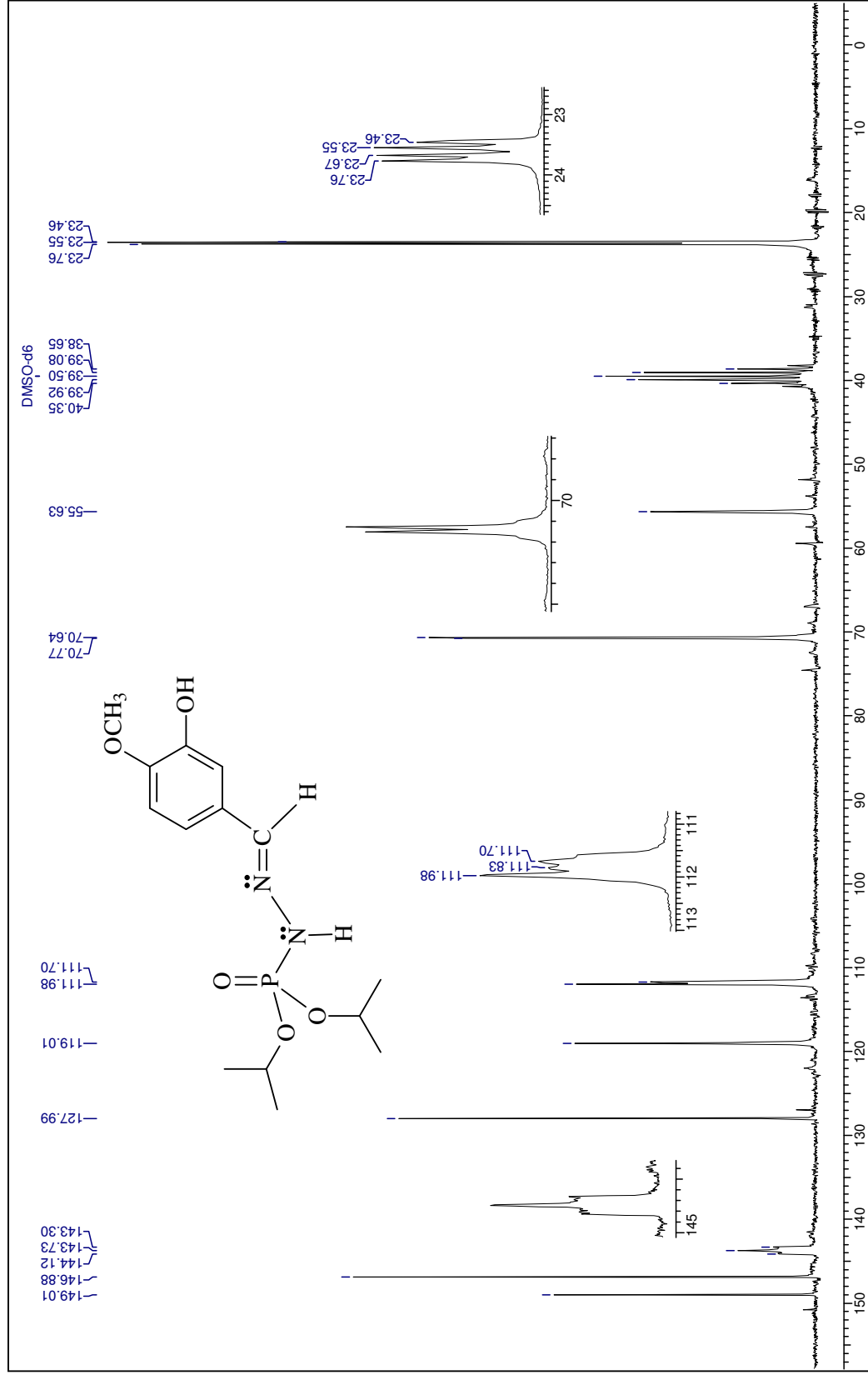


Figura 165: Espectro de RMN de ¹³C do composto 19.

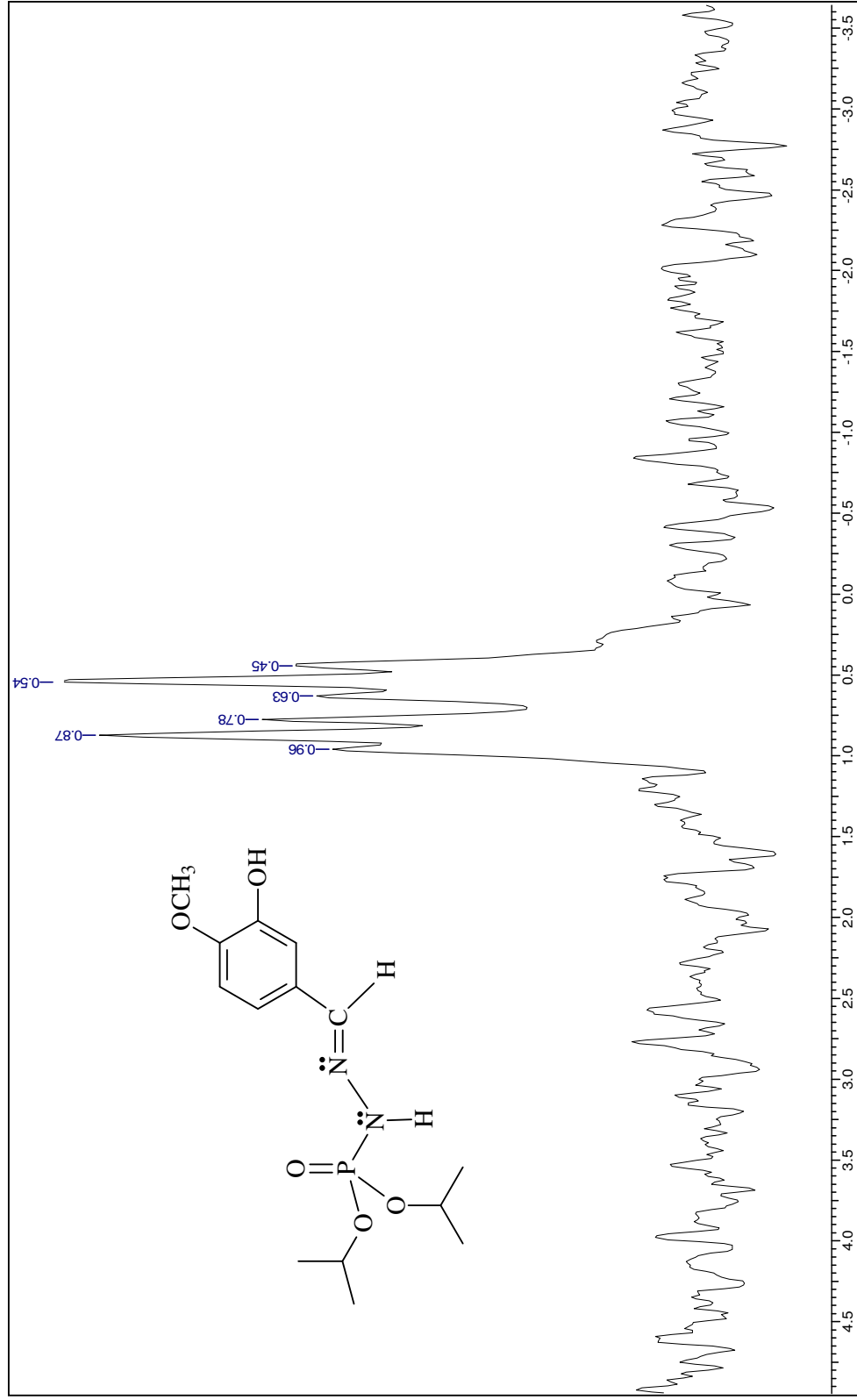


Figura 166: Espectro de RMN de ^{31}P acoplado do composto 19.

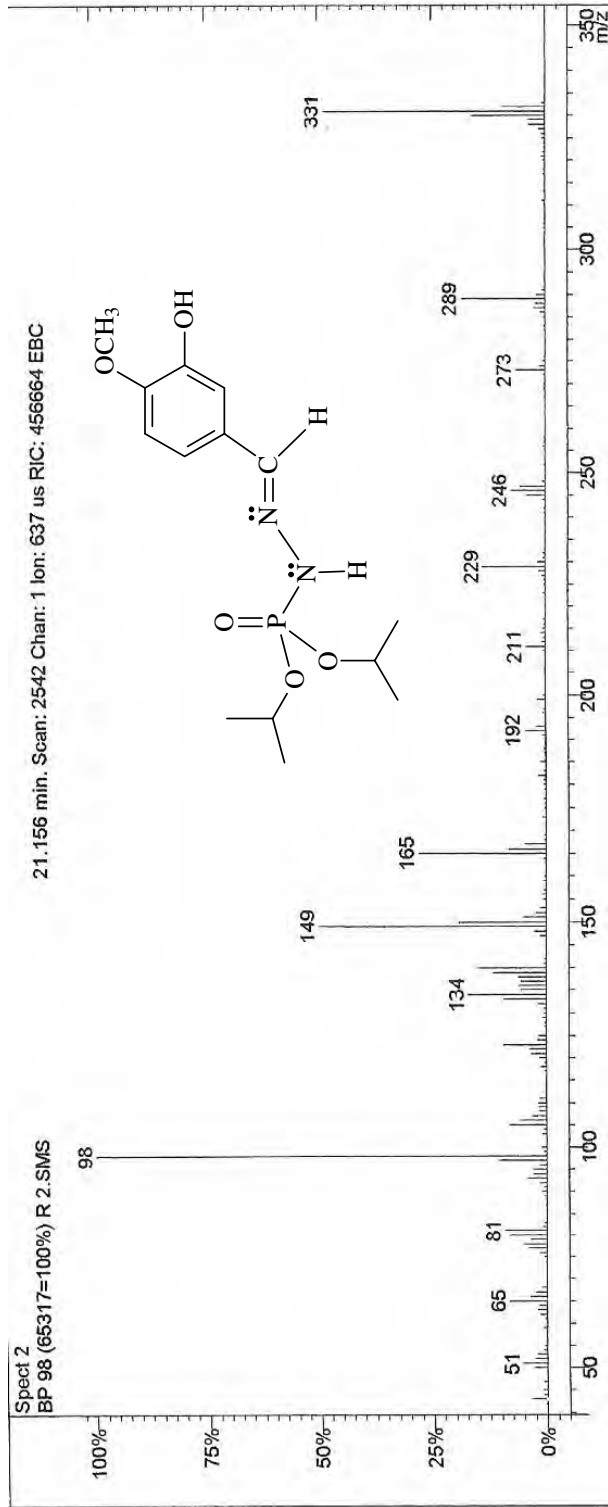


Figura 167: Espectro de massas do composto 19.

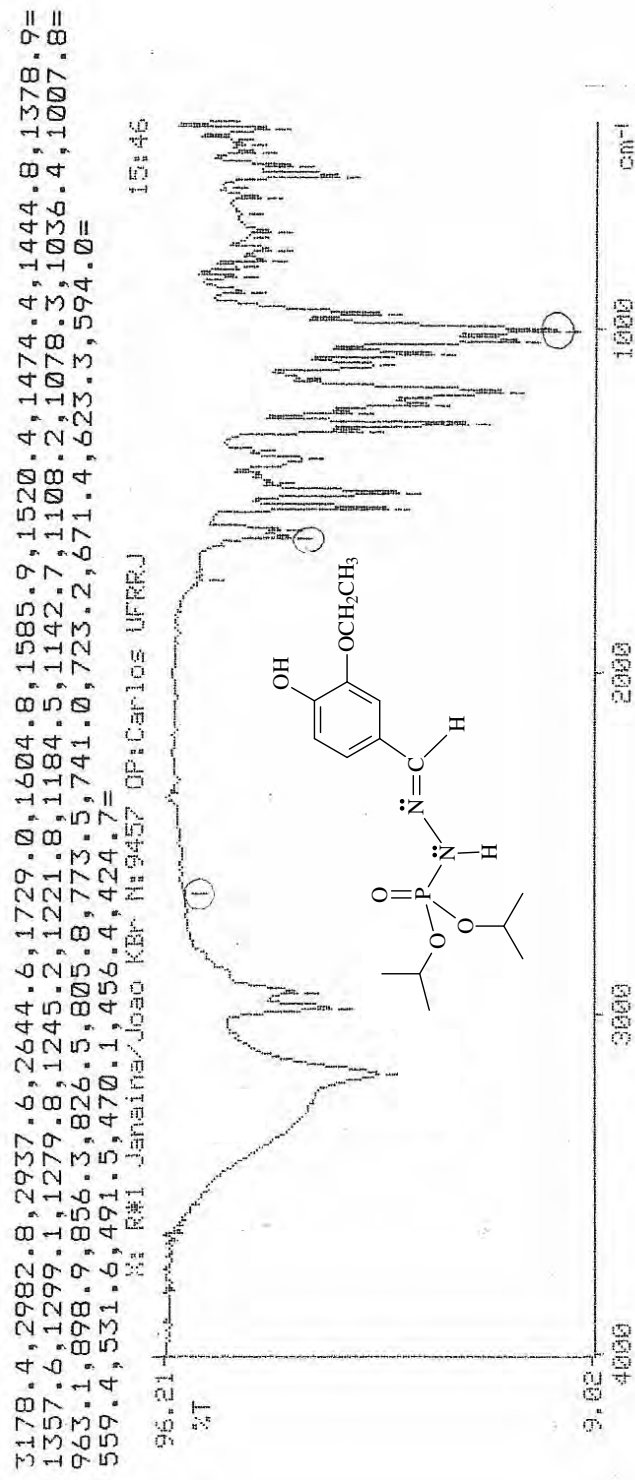


Figura 168: Espectro de IV do composto 20.

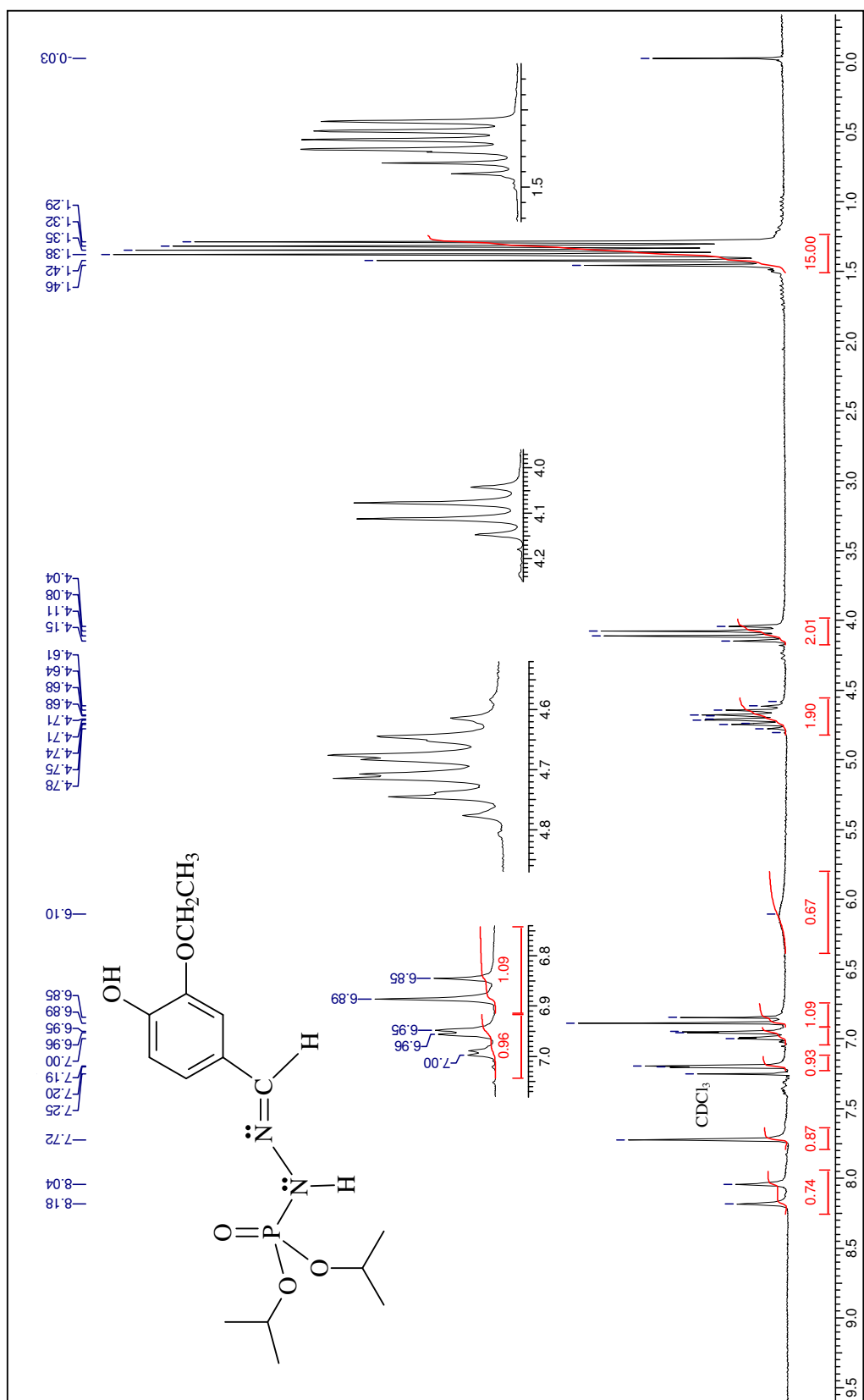


Figura 169: Espectro de RMN de ¹H do composto 20.

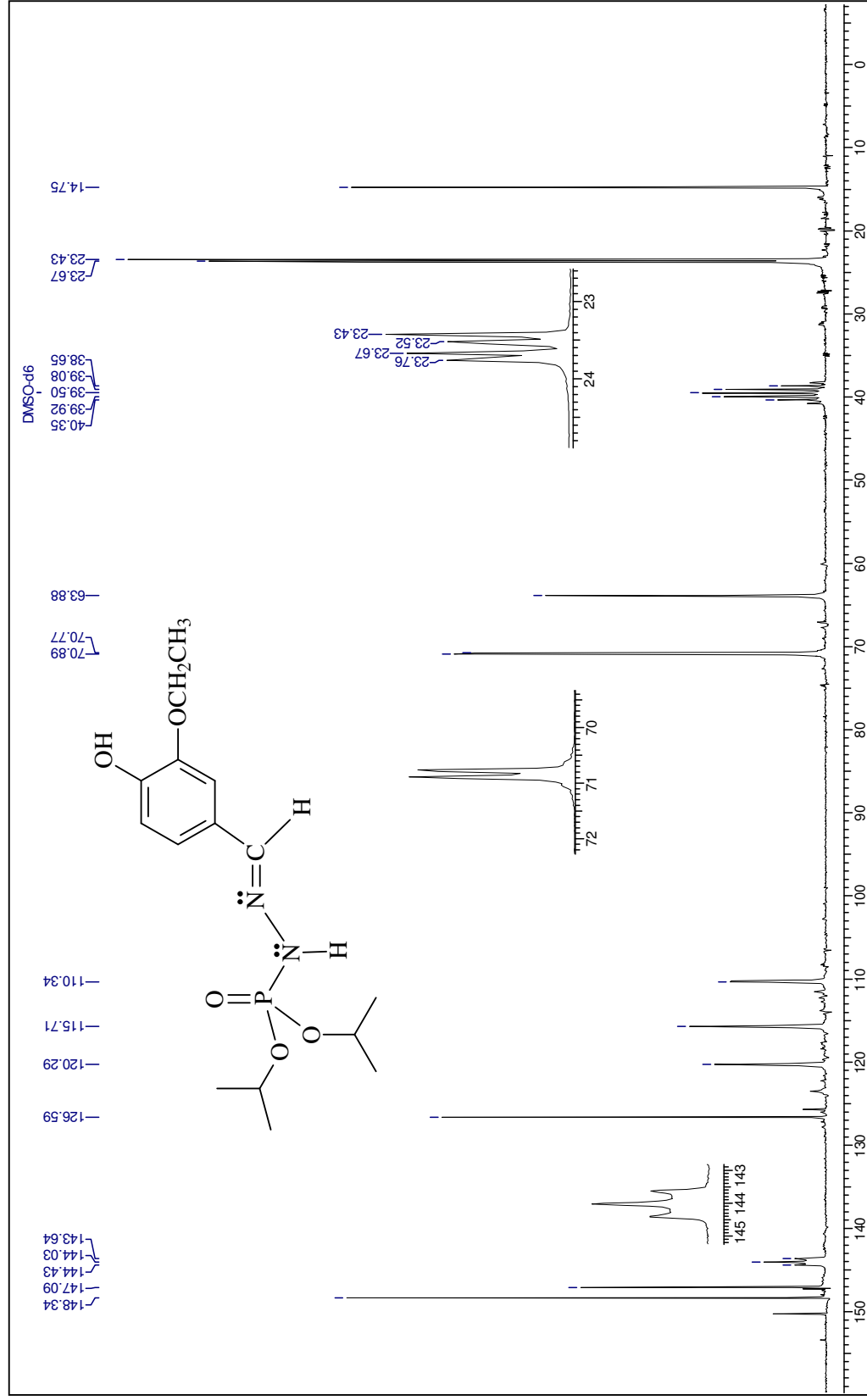


Figura 170: Espectro de RMN de ¹³C do composto 20.

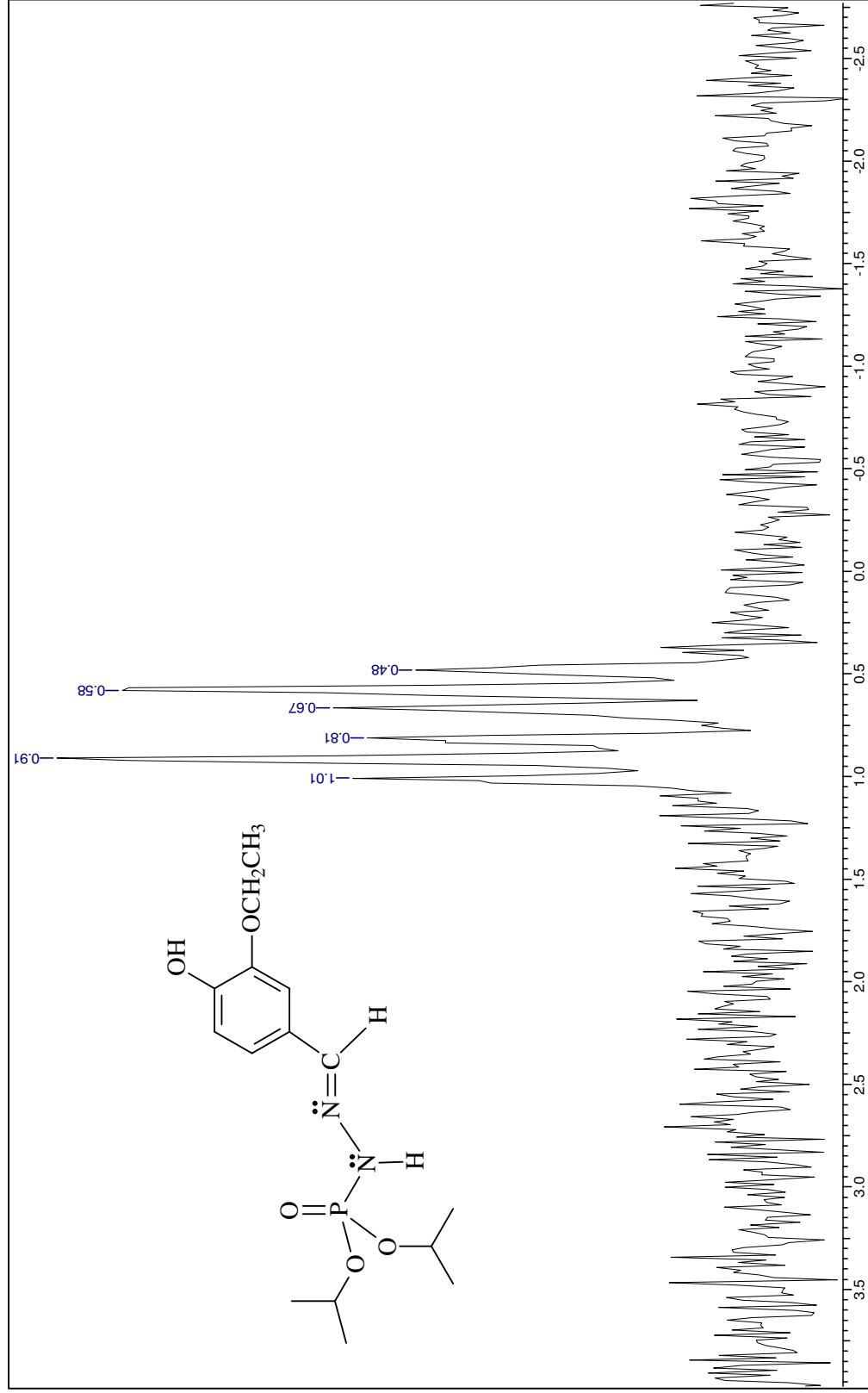


Figura 171: Espectro de RMN de ^{31}P acoplado do composto 20.

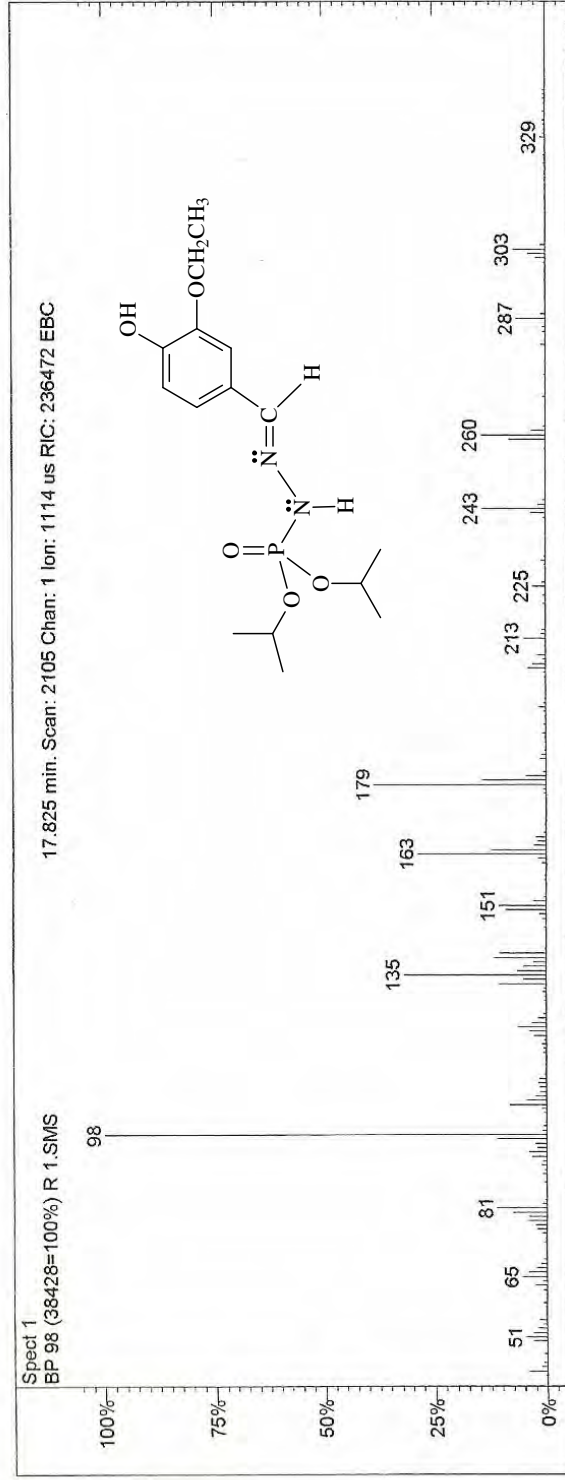


Figura 172: Espectro de massas do composto 20.

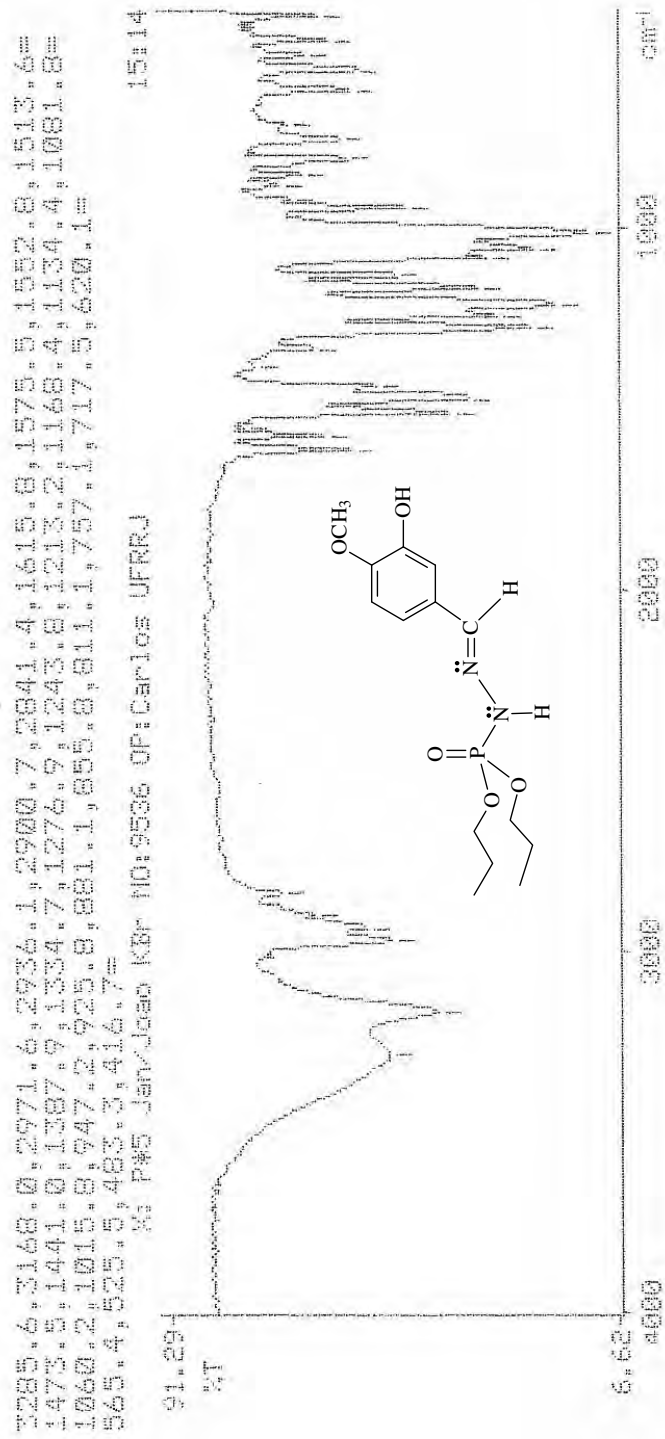


Figura 173: Espectro de IV do composto 21.

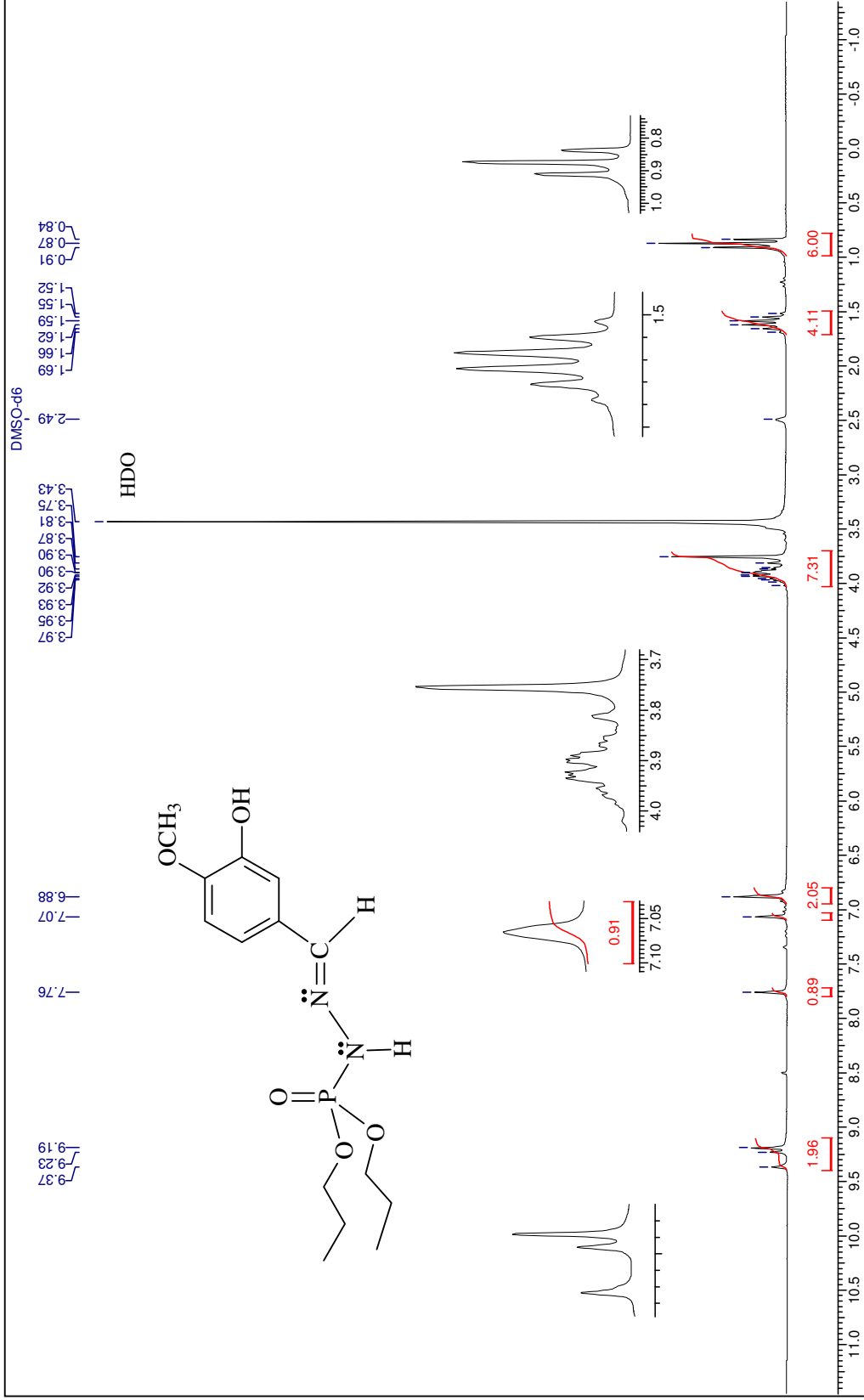


Figura 174: Espectro de RMN de ¹H do composto 21.

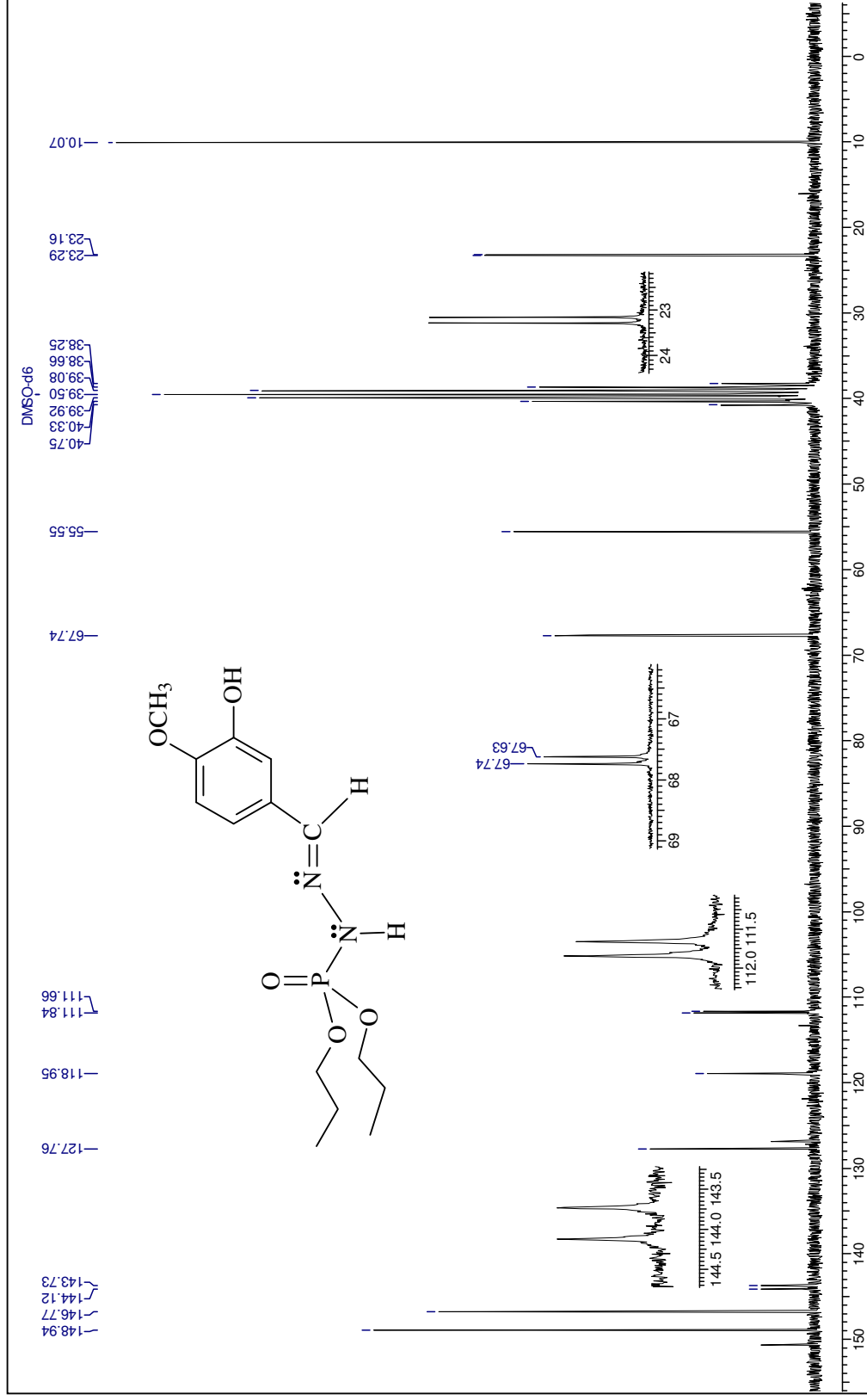


Figura 175: Espectro de RMN de ¹³C do composto 21.

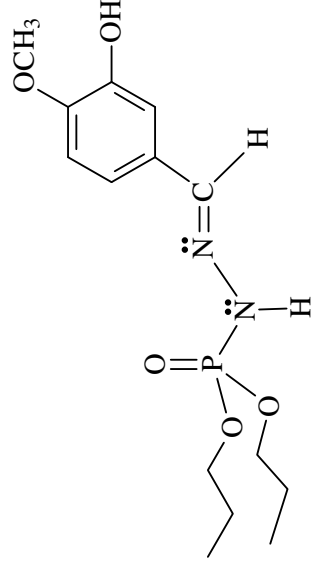
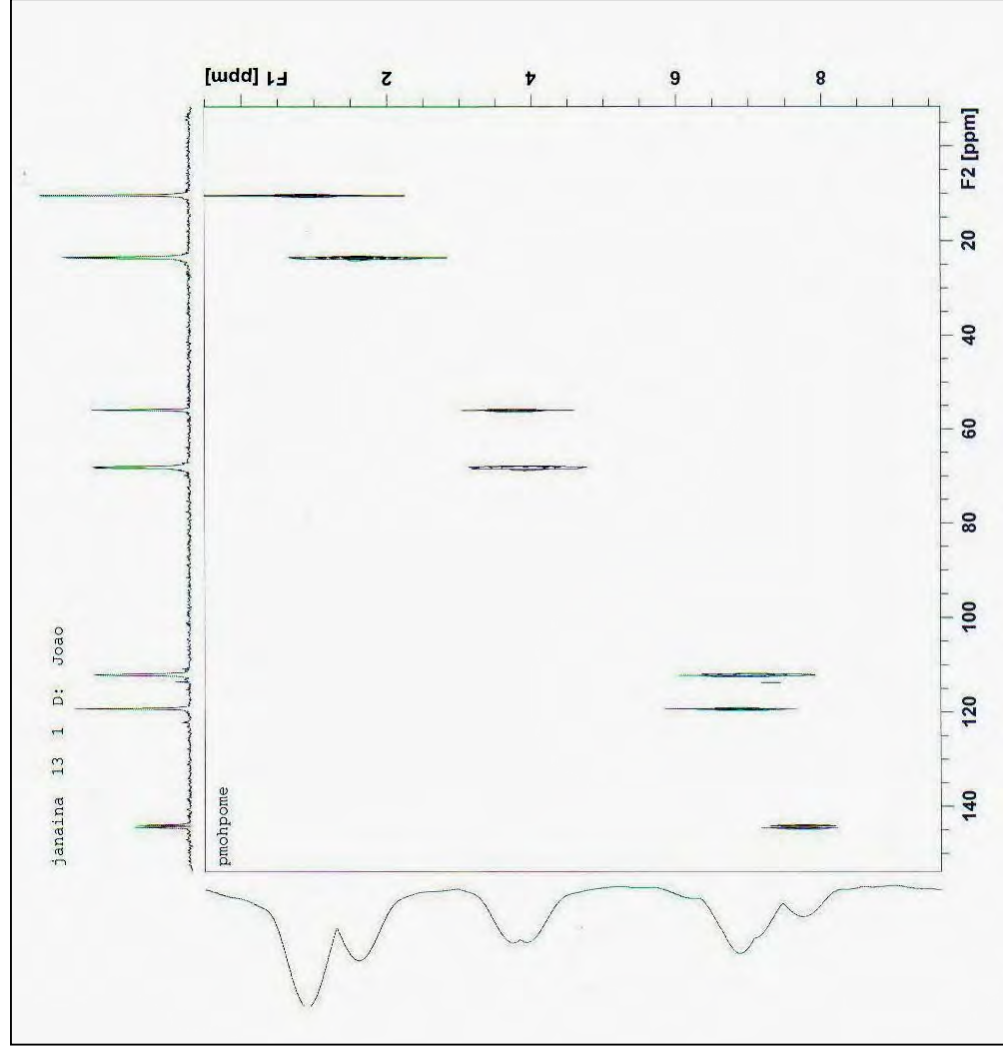


Figura 176: Espectro de HETCOSY do composto 21.

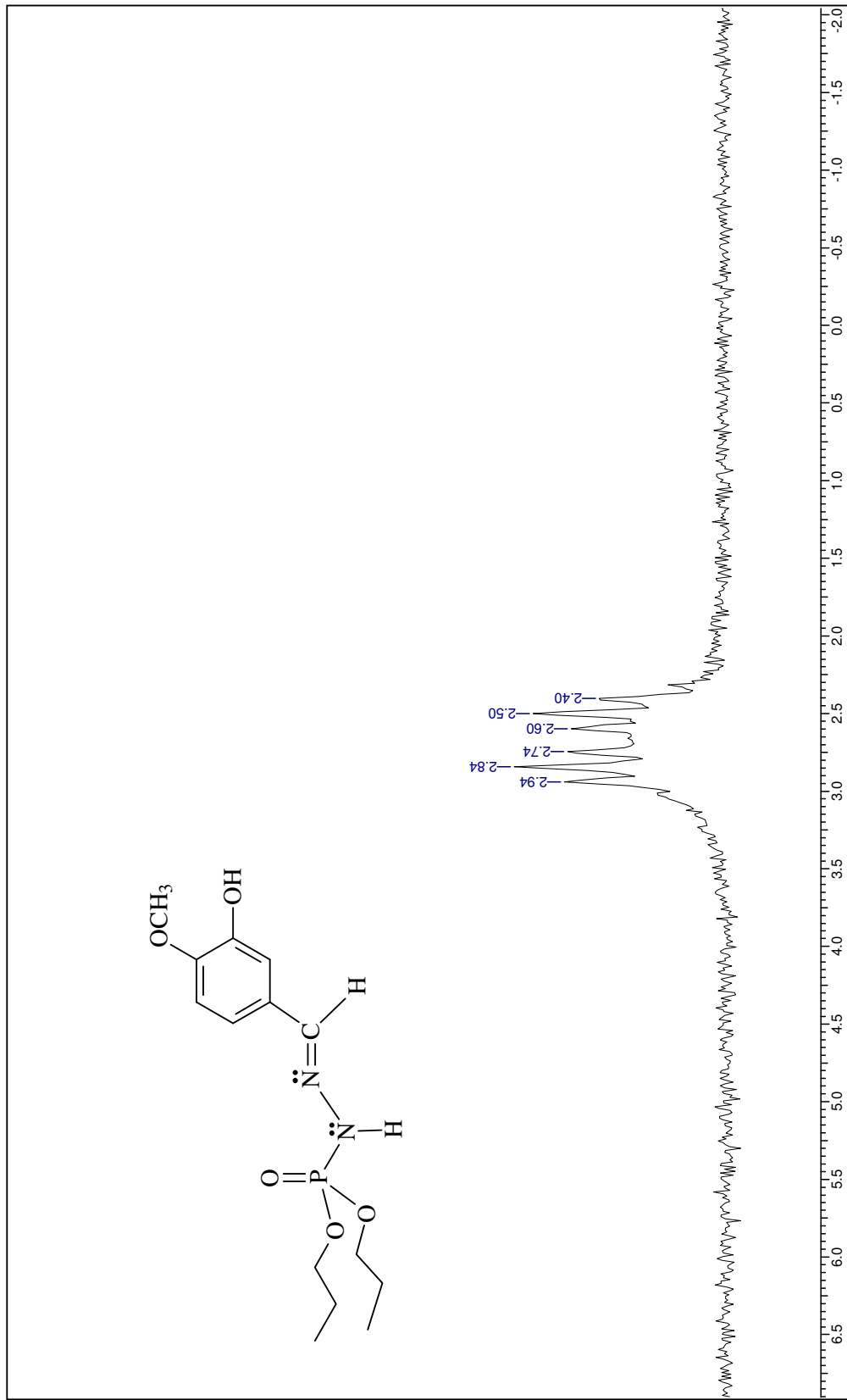


Figura 177: Espectro de RMN de ³¹P acoplado do composto 21.

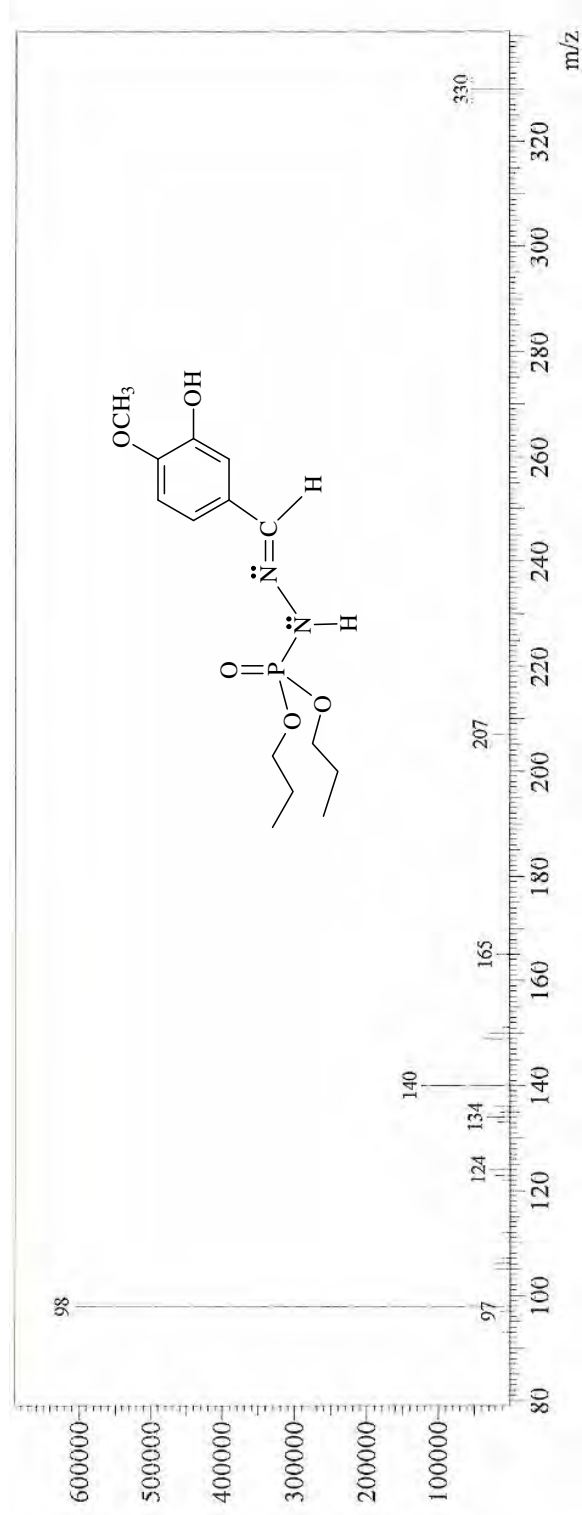


Figura 178: Espectro de massas do composto 21.

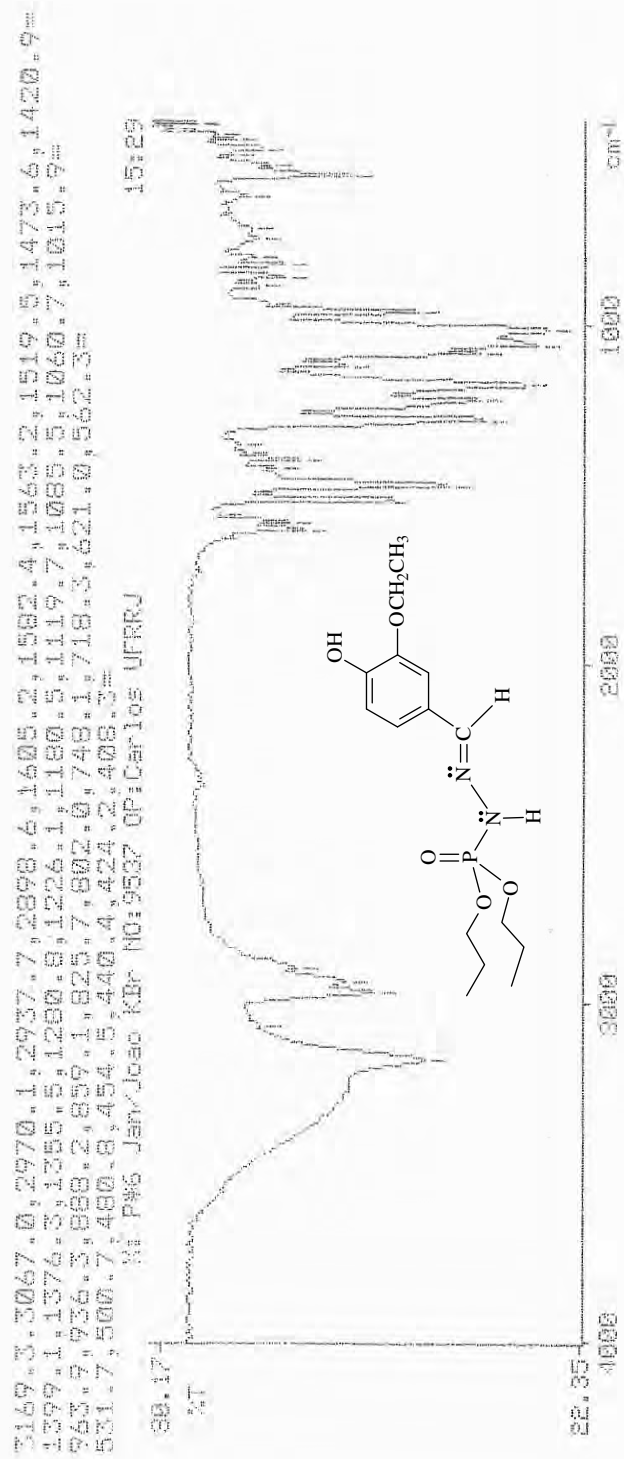


Figura 179: Espectro de IV do composto 22.

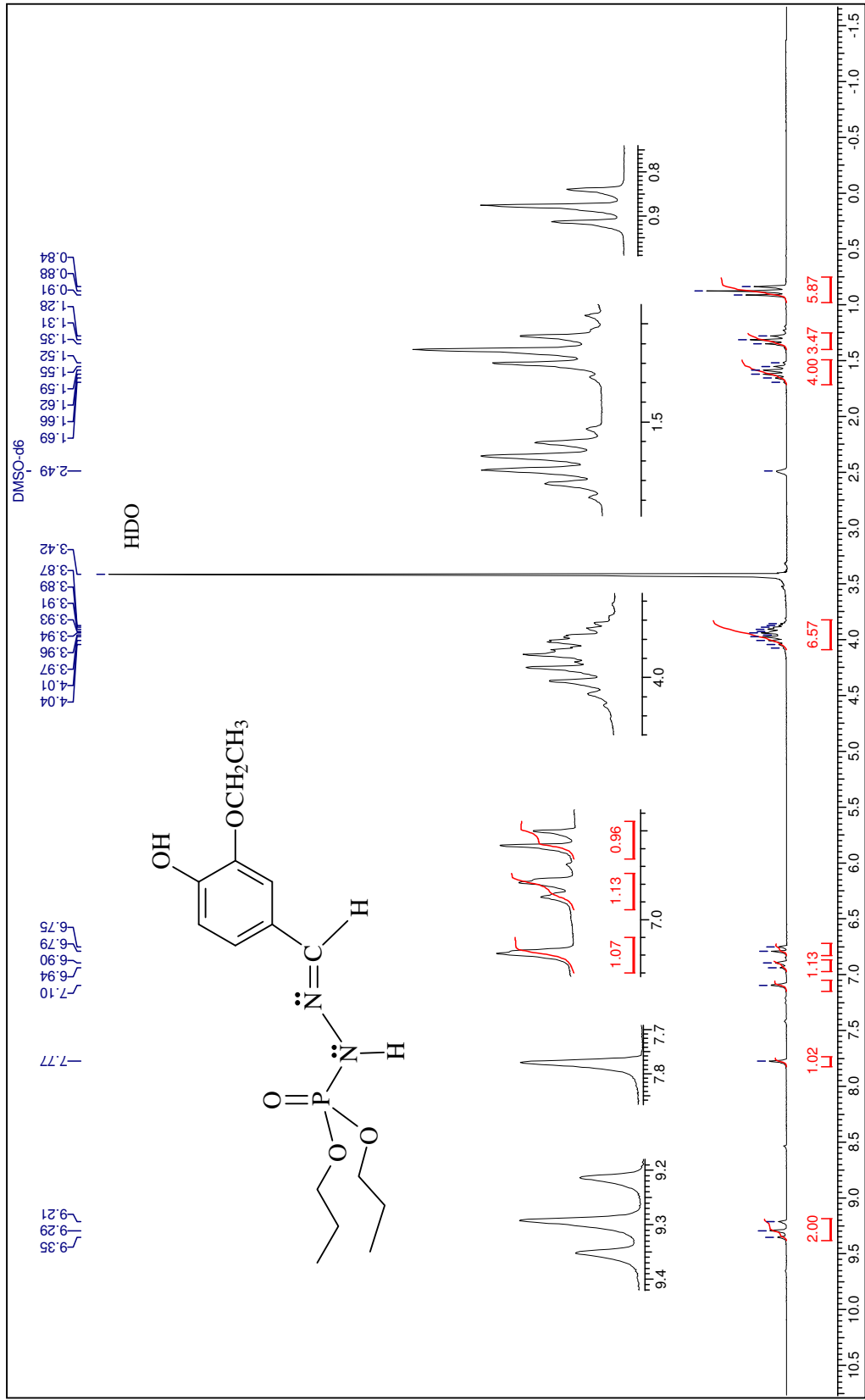


Figura 180: Espectro de RMN de ¹H do composto 22.

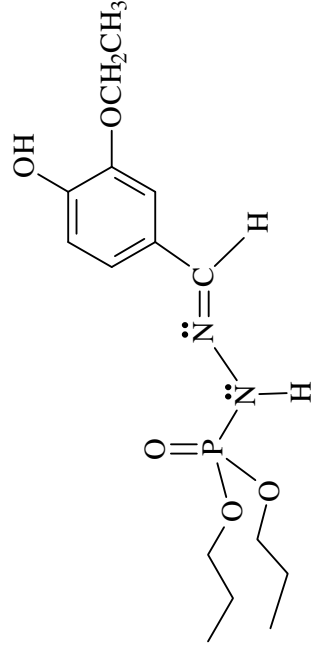
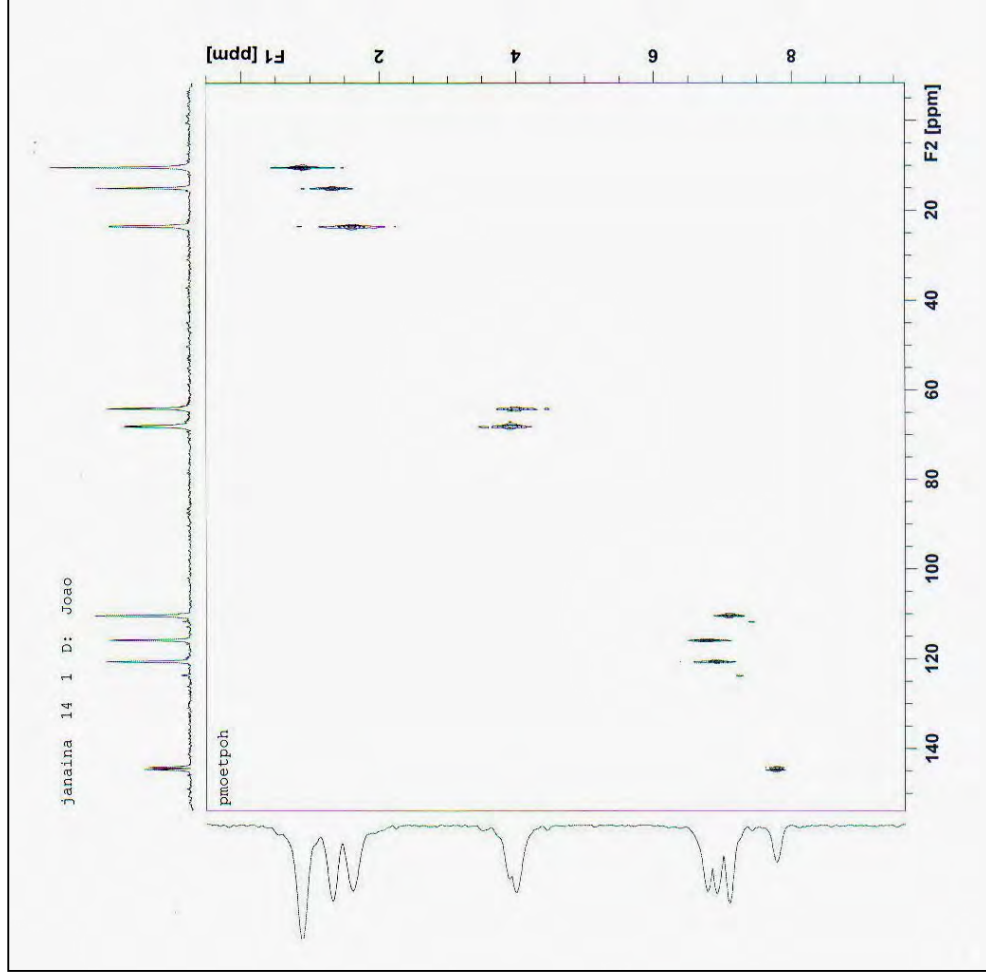


Figura 182: Espectro de HETCOSY do composto 22.

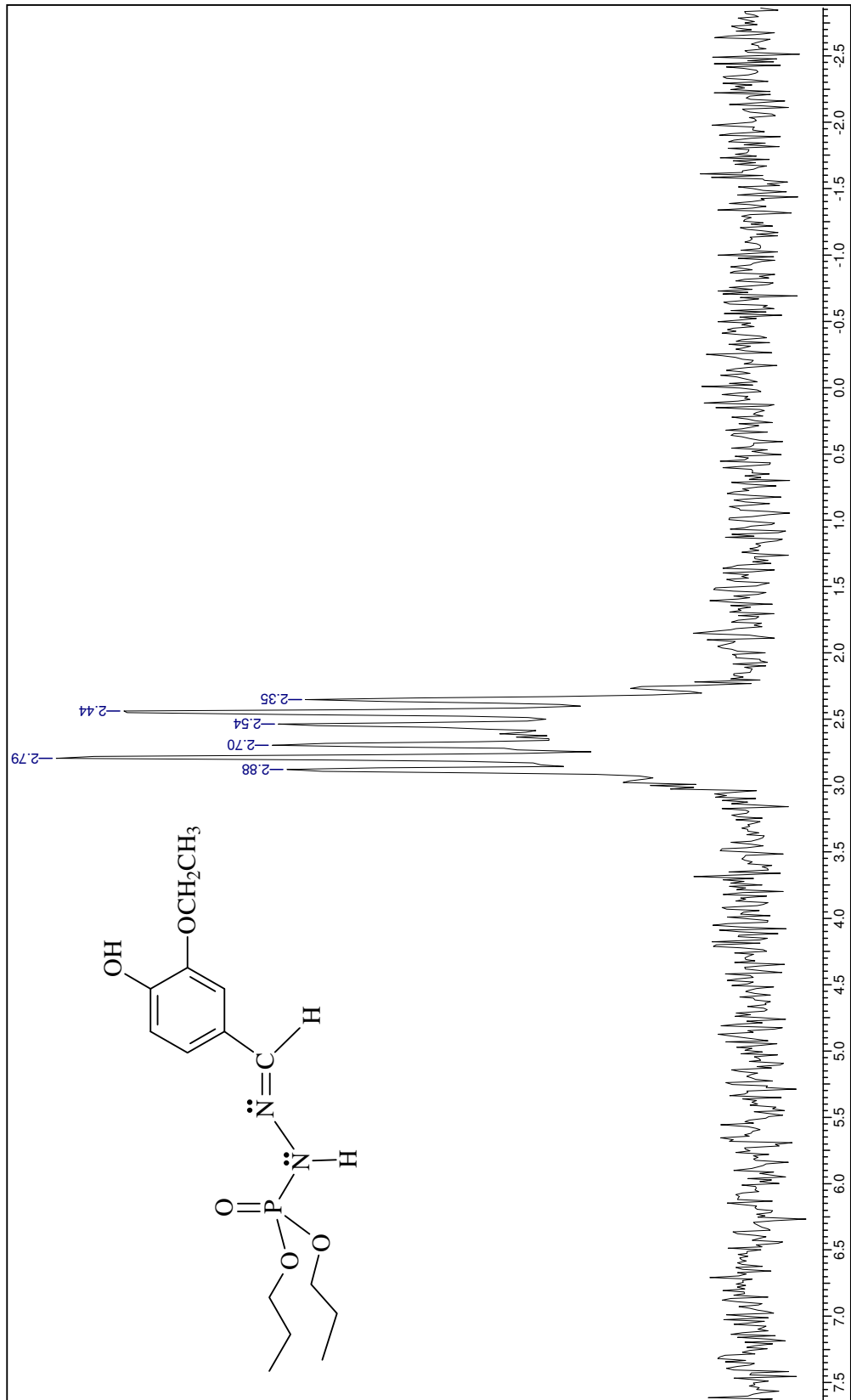


Figura 183: Espectro de RMN de ^{31}P acoplado do composto 22.

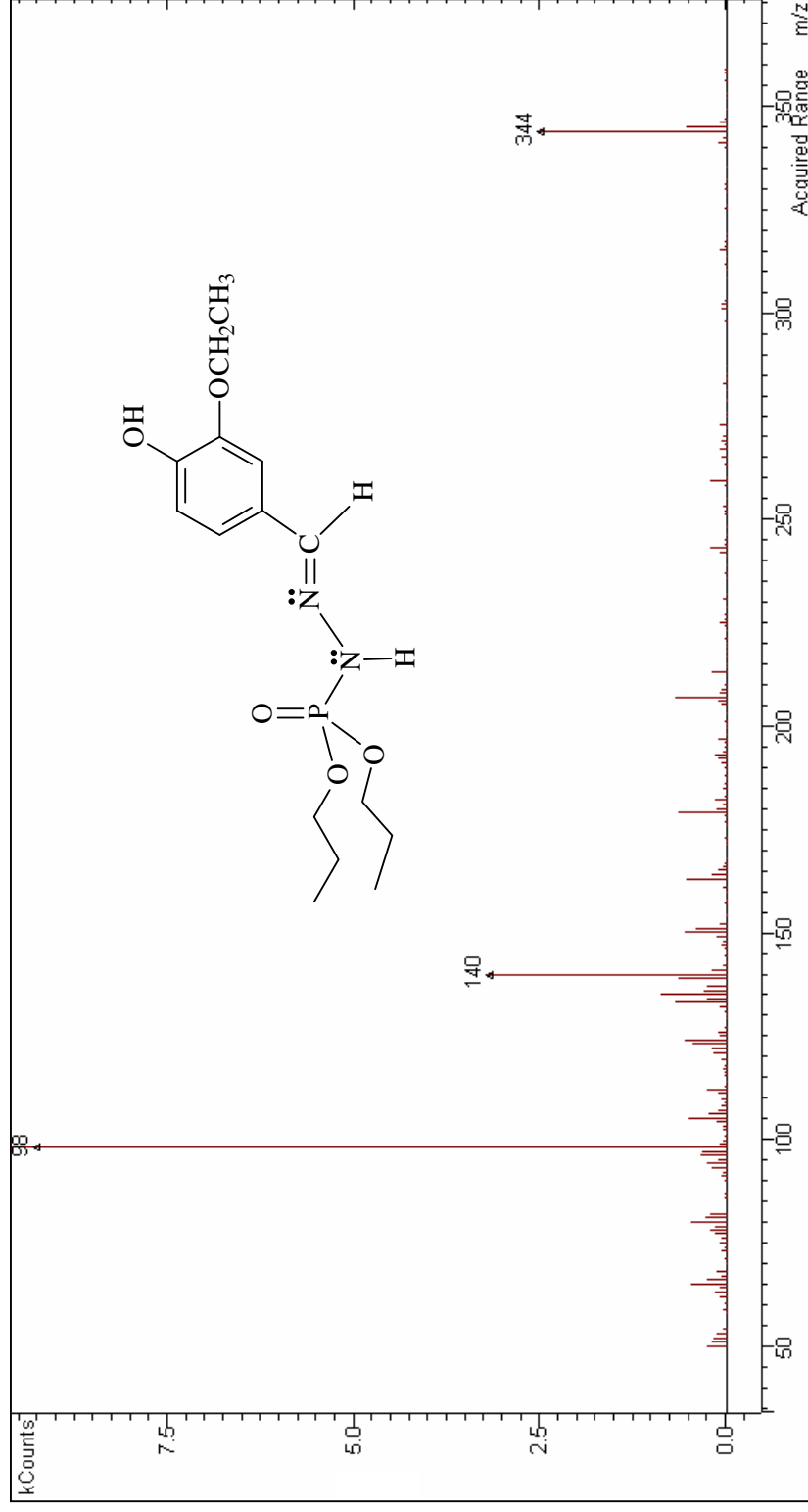


Figura 184: Espectro de massas do composto 22.

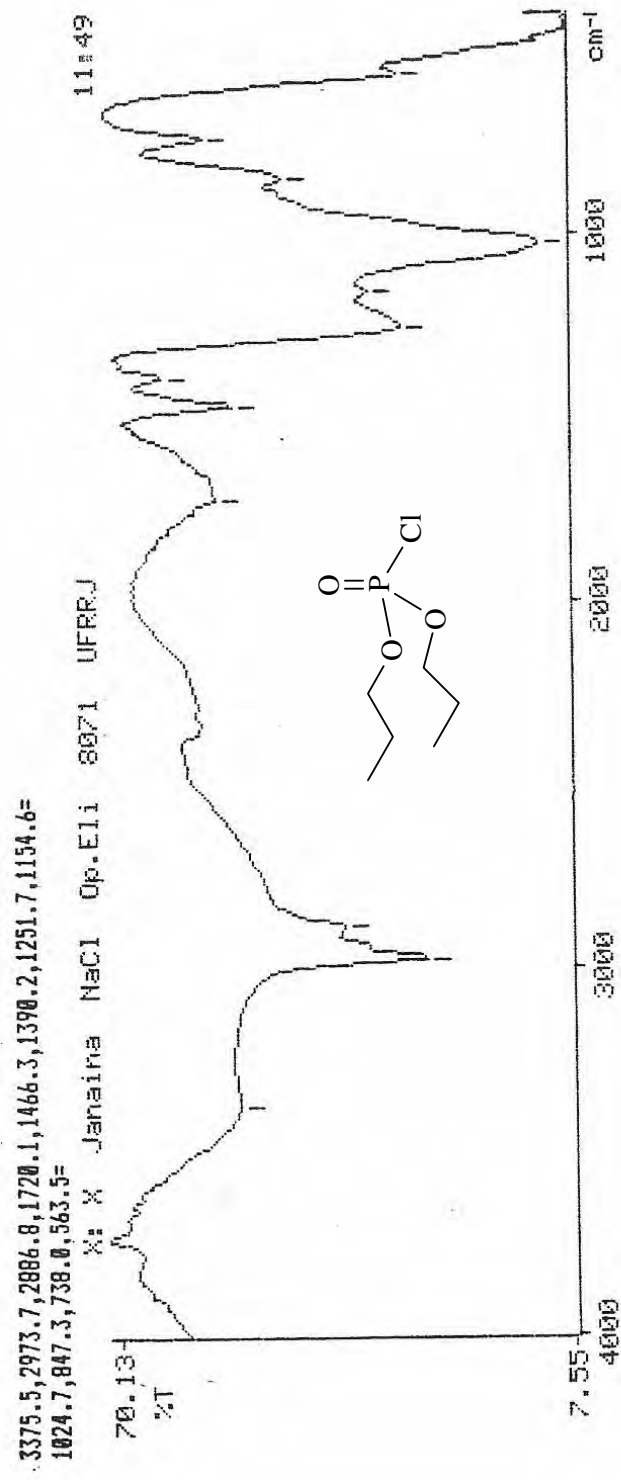


Figura 185: Espectro de IV do fosforocloridato de dipropila (composto 125).

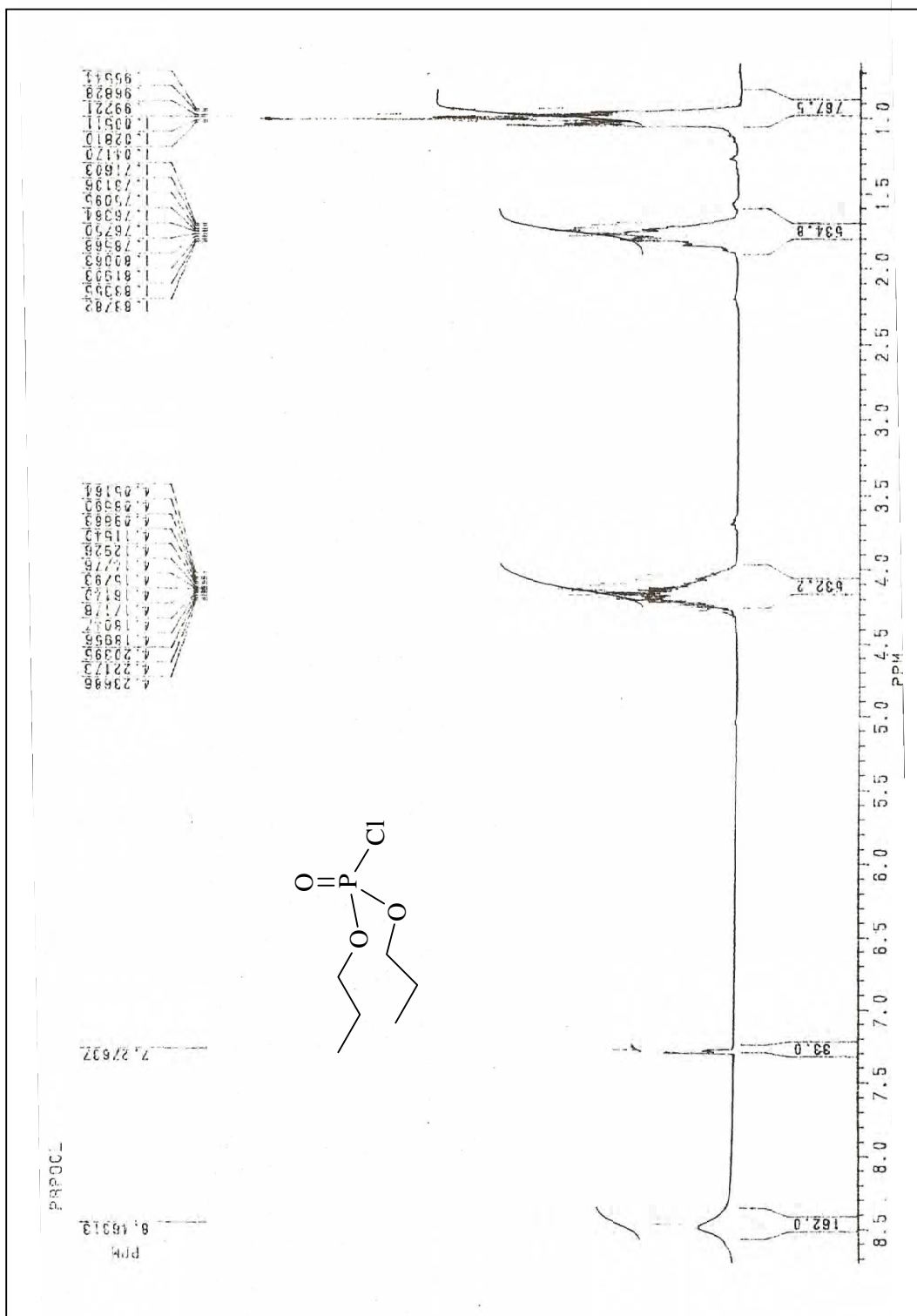


Figura 186: Espectro de RMN de ¹H do fosforocloridato de dipropila (composto 125).

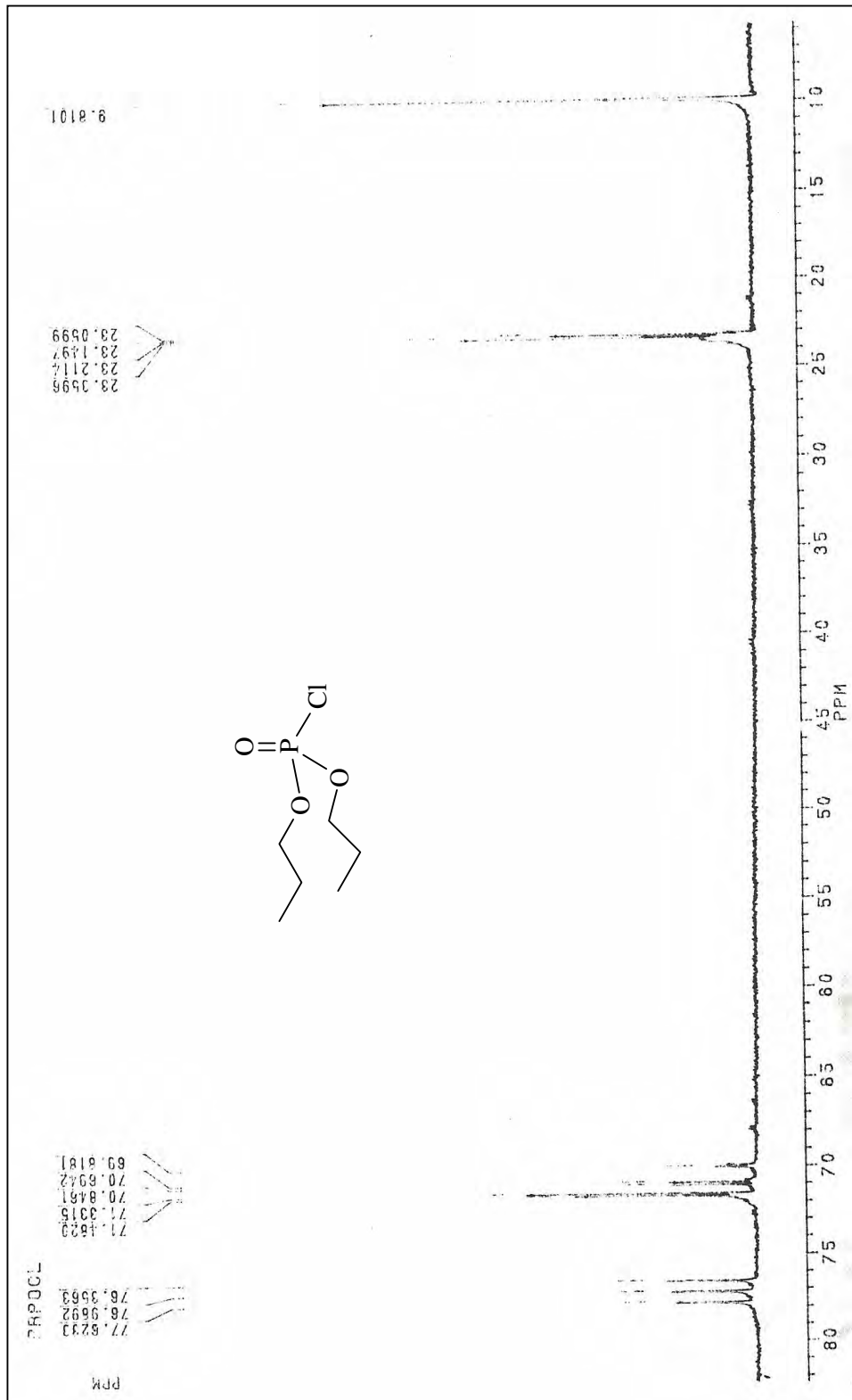


Figura 187: Espectro de RMN de ¹³C do fosforocloridato de dipropila (composto 125).

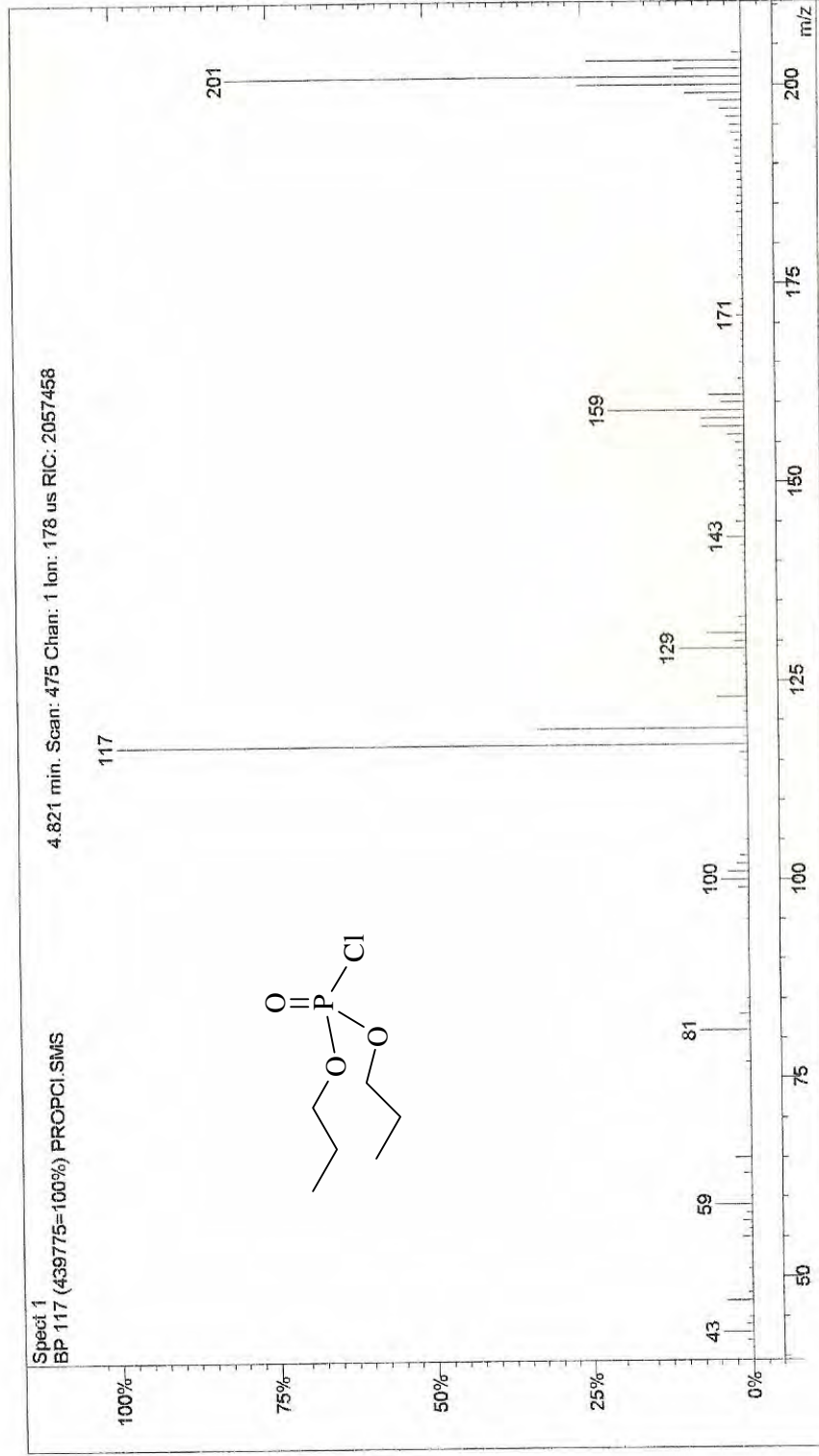


Figura 188: Espectro de massas do fosforocloridato de dipropila (composto 125).

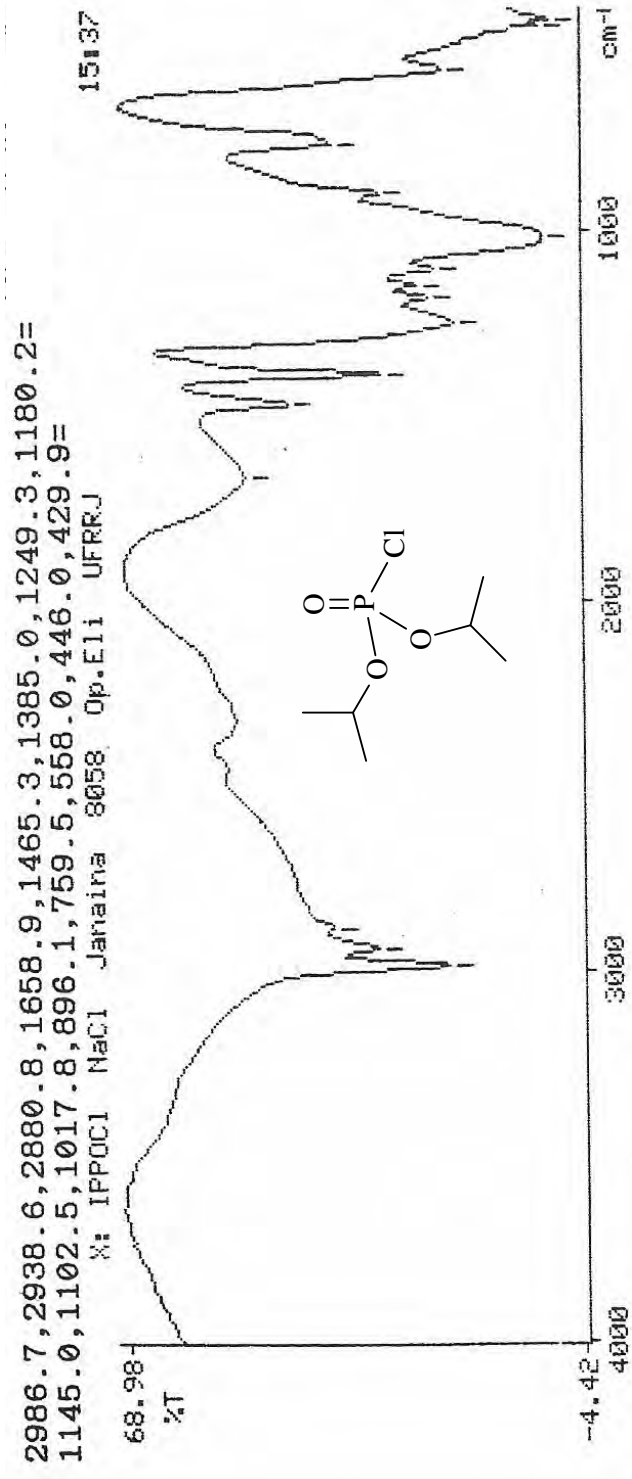


Figura 189: Espectro de IV do fosforocloridato de diisopropila (composto 126).

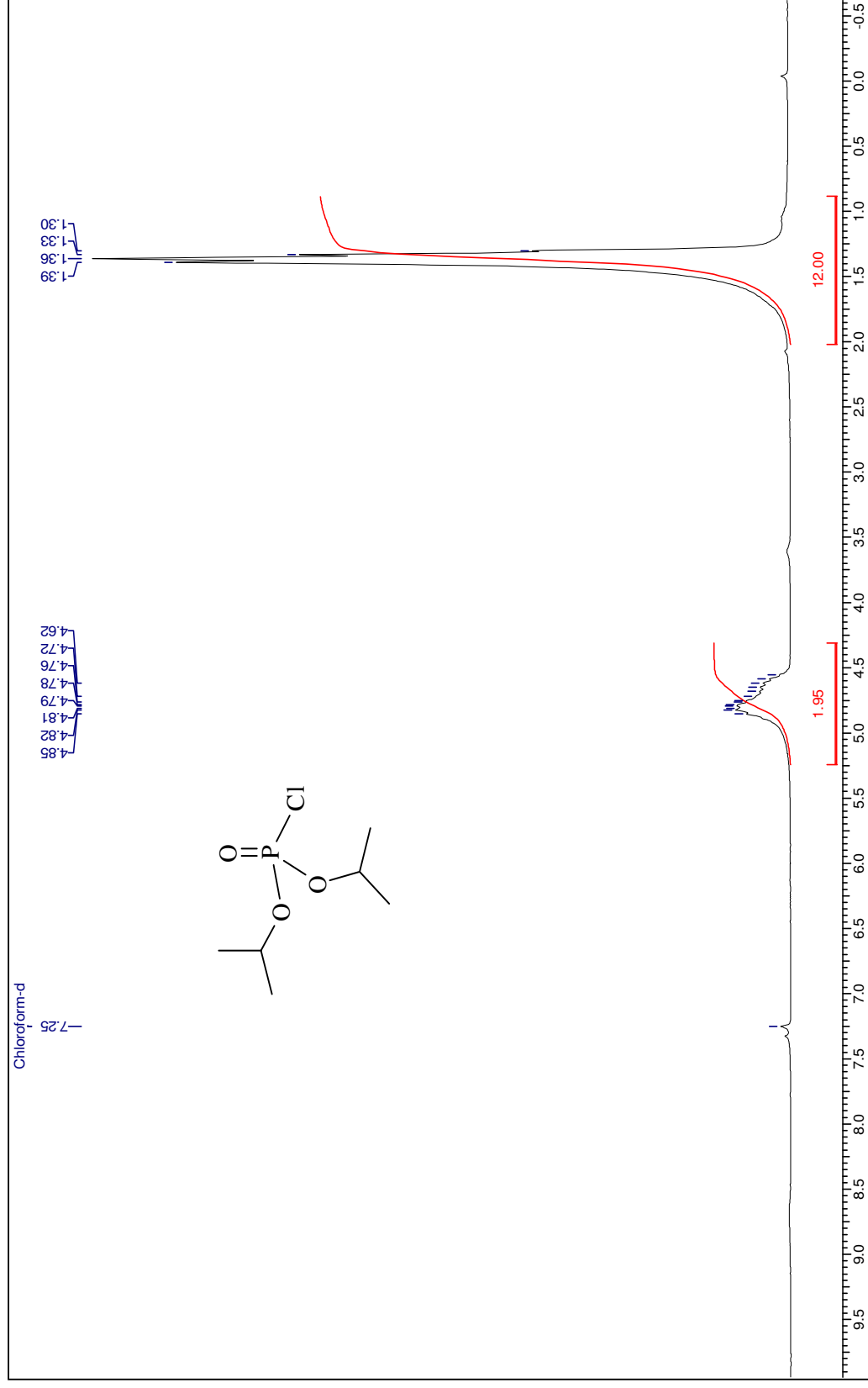


Figura 190: Espectro de RMN de ^1H do fosforocloridato de diisopropila (composto 126).

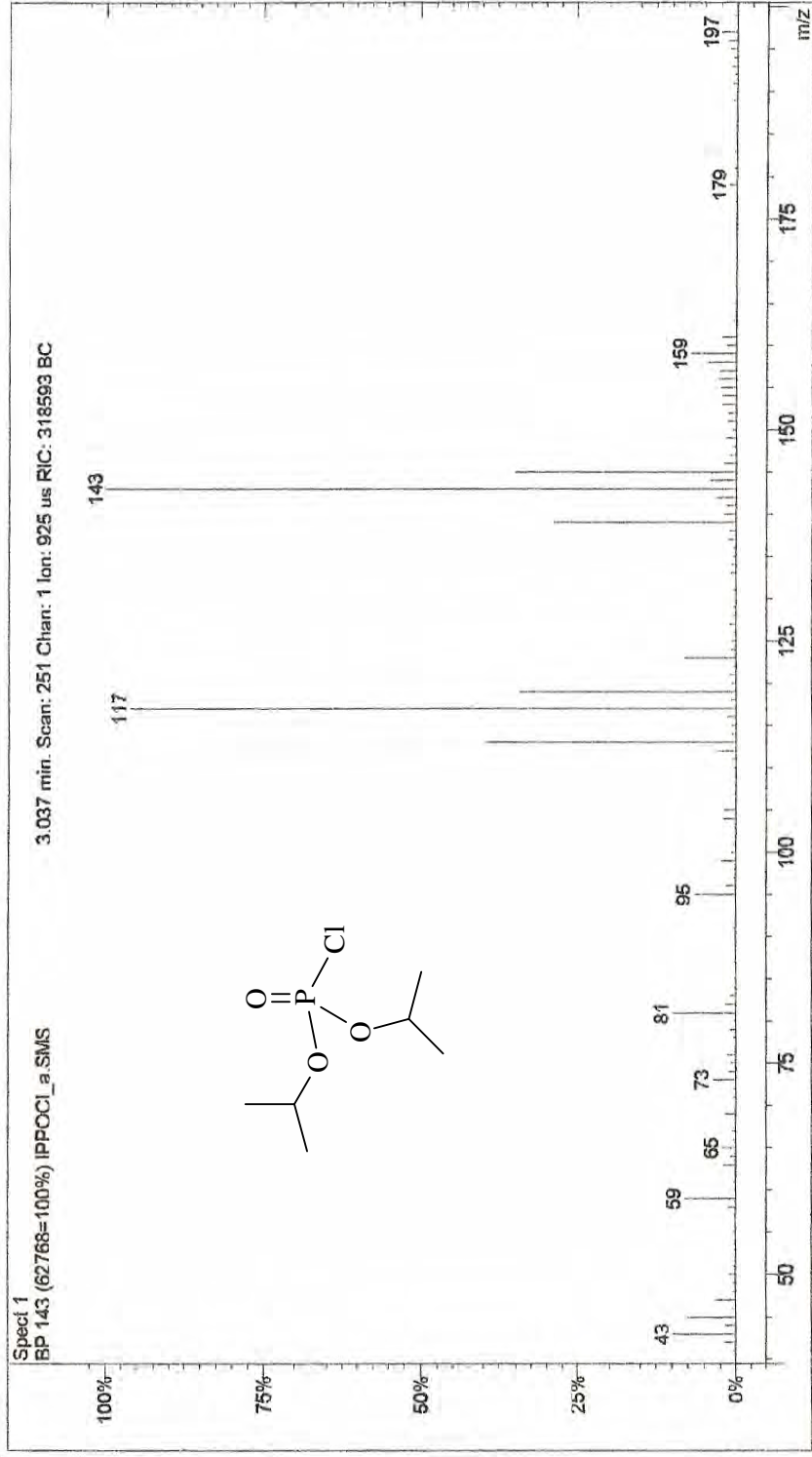


Figura 191: Espectro de massas do fosforocloridato de diisopropila (composto 126).

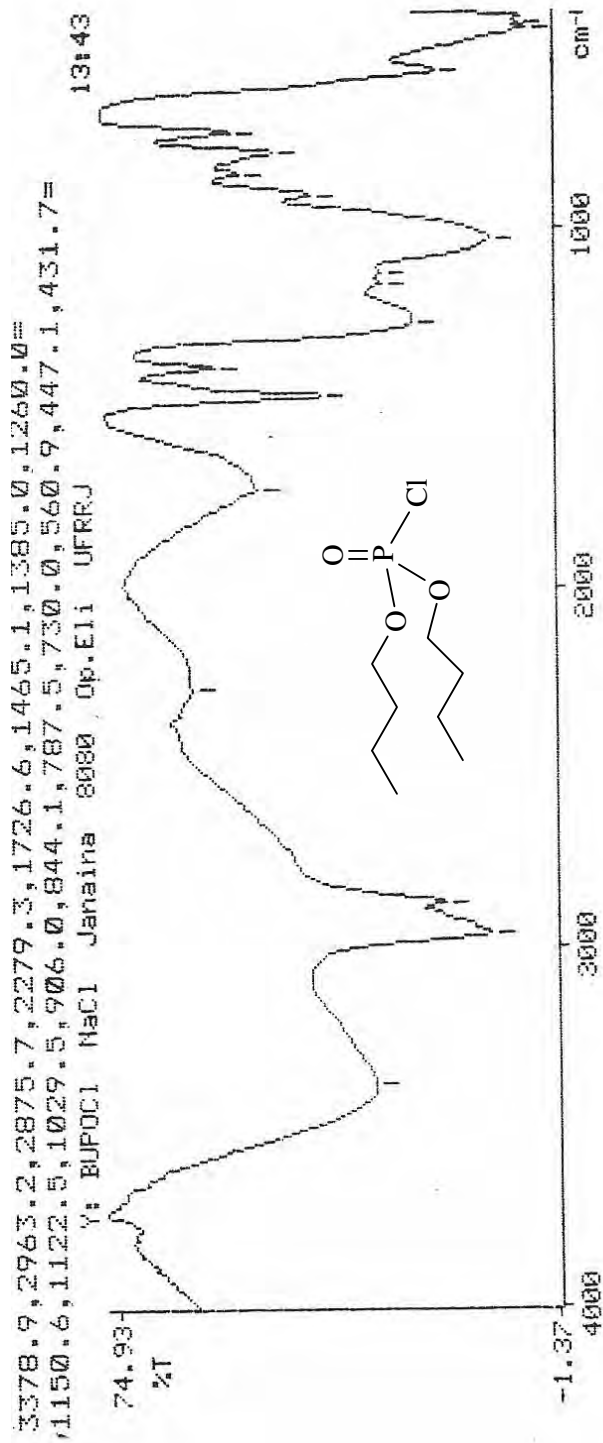


Figura 192: Espectro de IV do fosforocloridato de dibutila (composto 127).

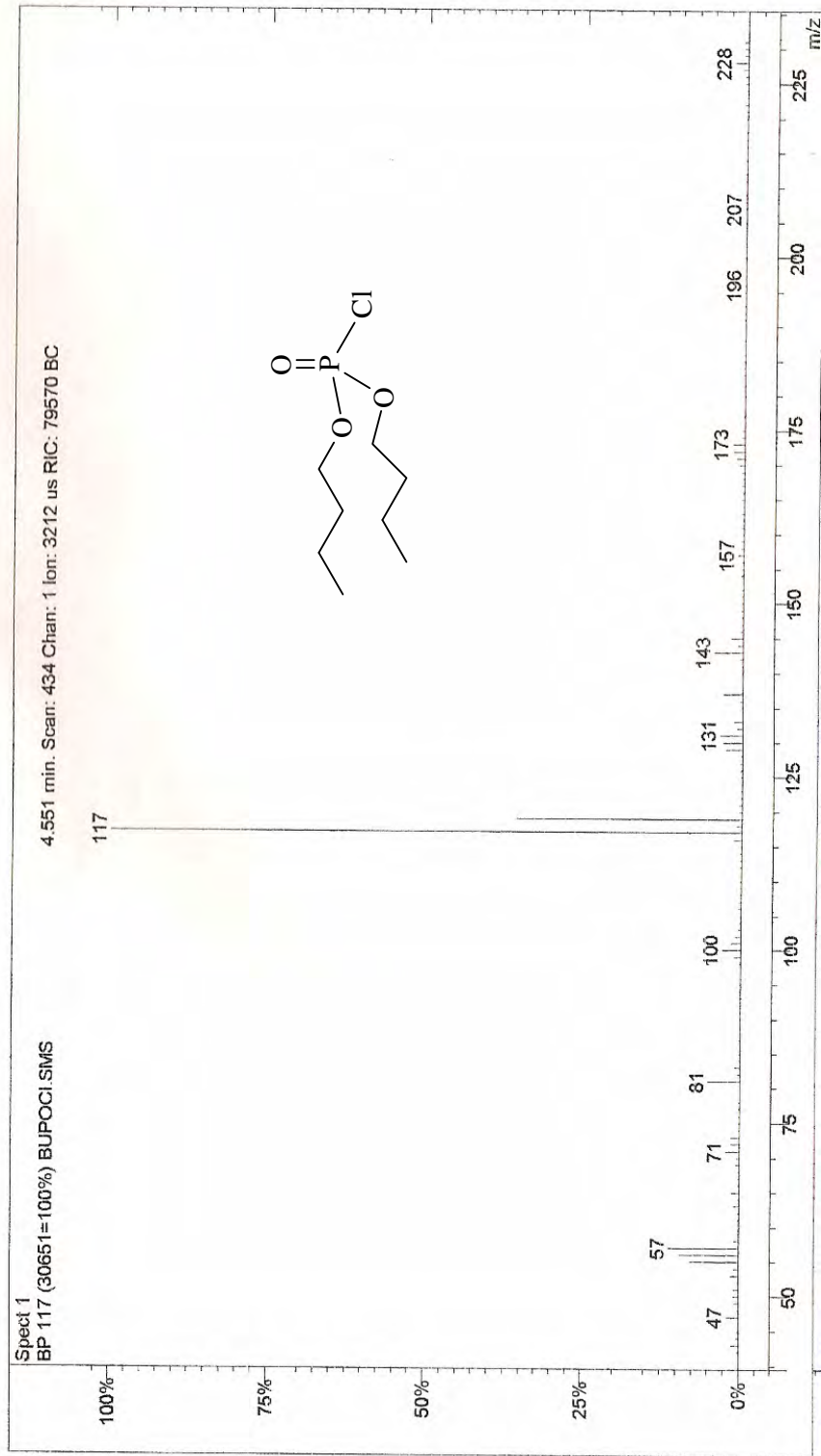


Figura 193: Espectro de massas do fosforocloridato de dibutila (composto 127).

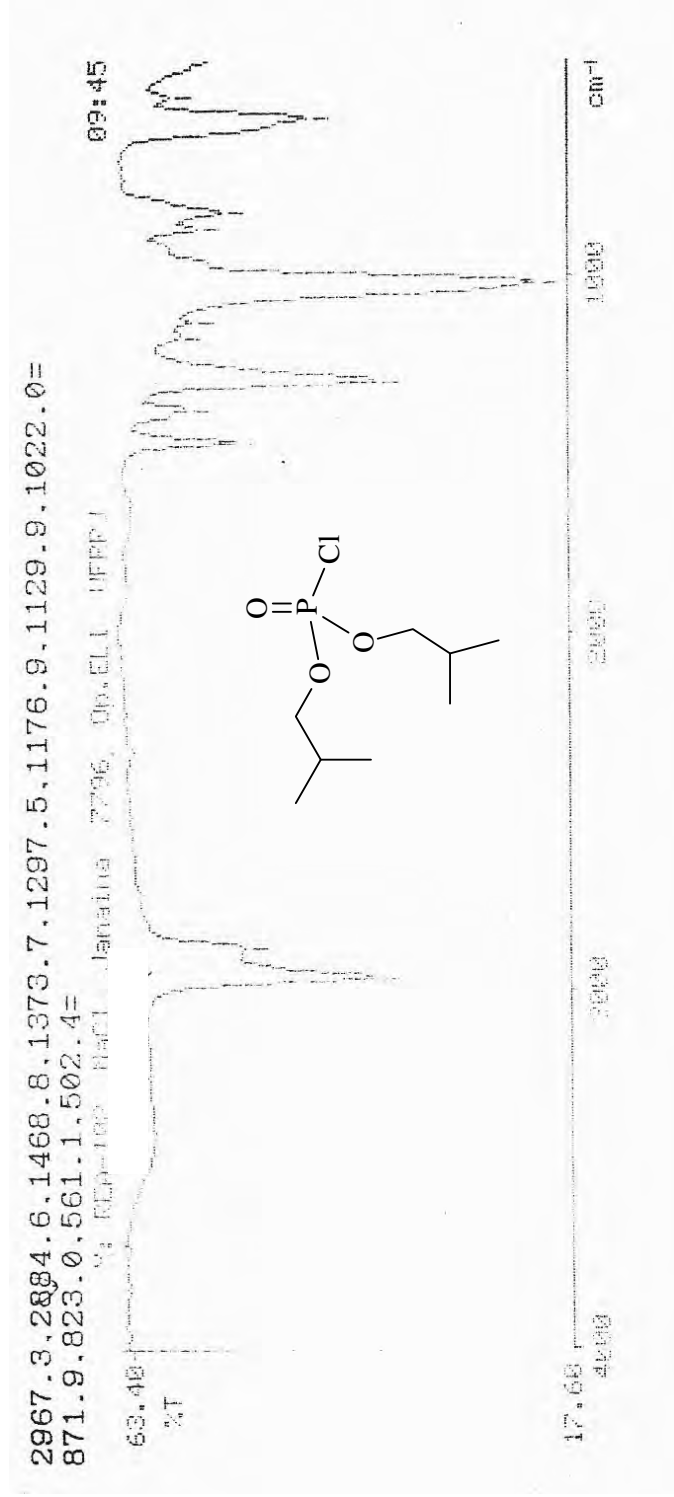


Figura 194: Espectro de IV do fosforocloridato de diisobutila (composto 128).

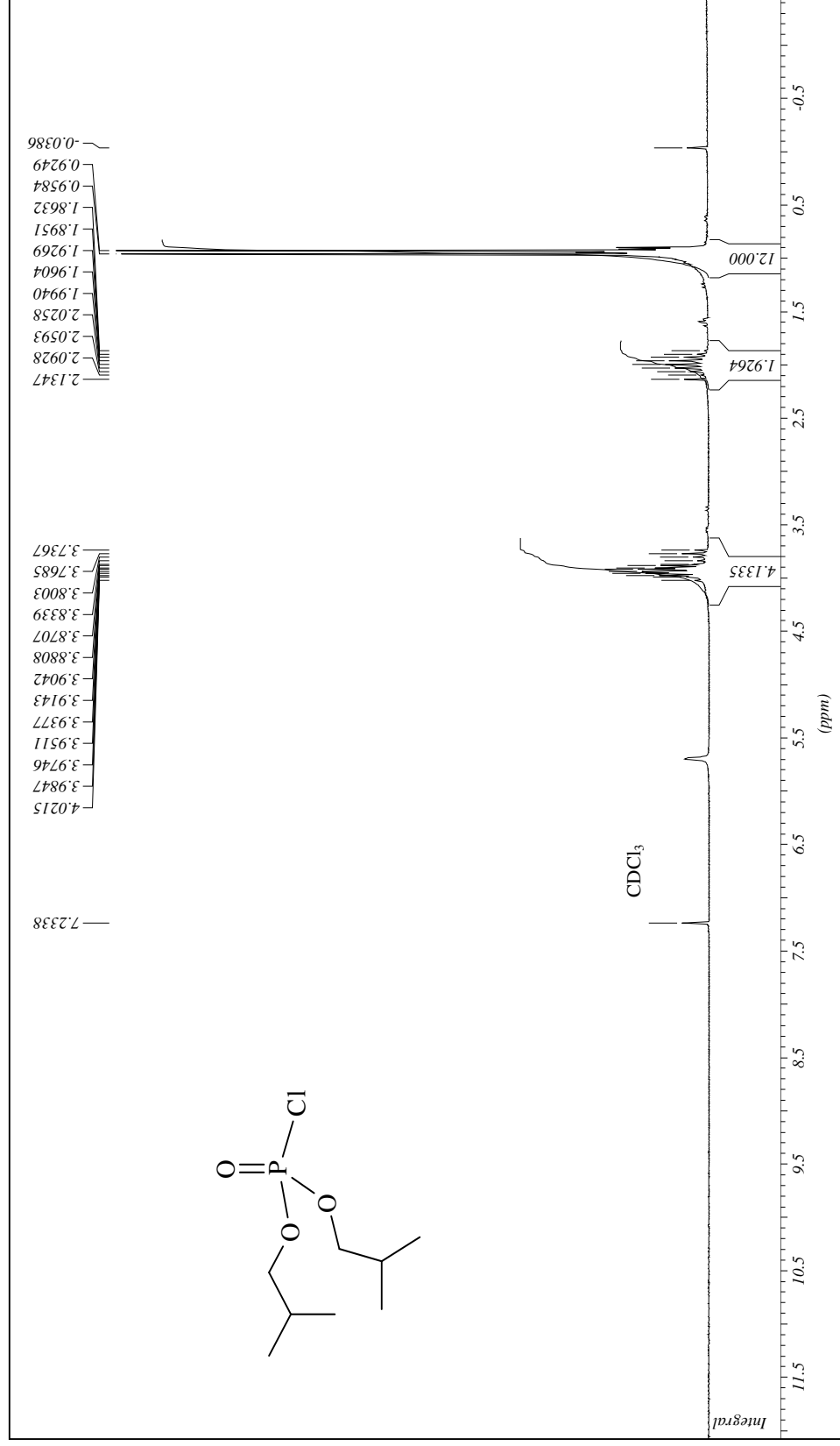


Figura 195: Espectro de RMN de ¹H do fosforocloridato de diisobutila (composto 128).

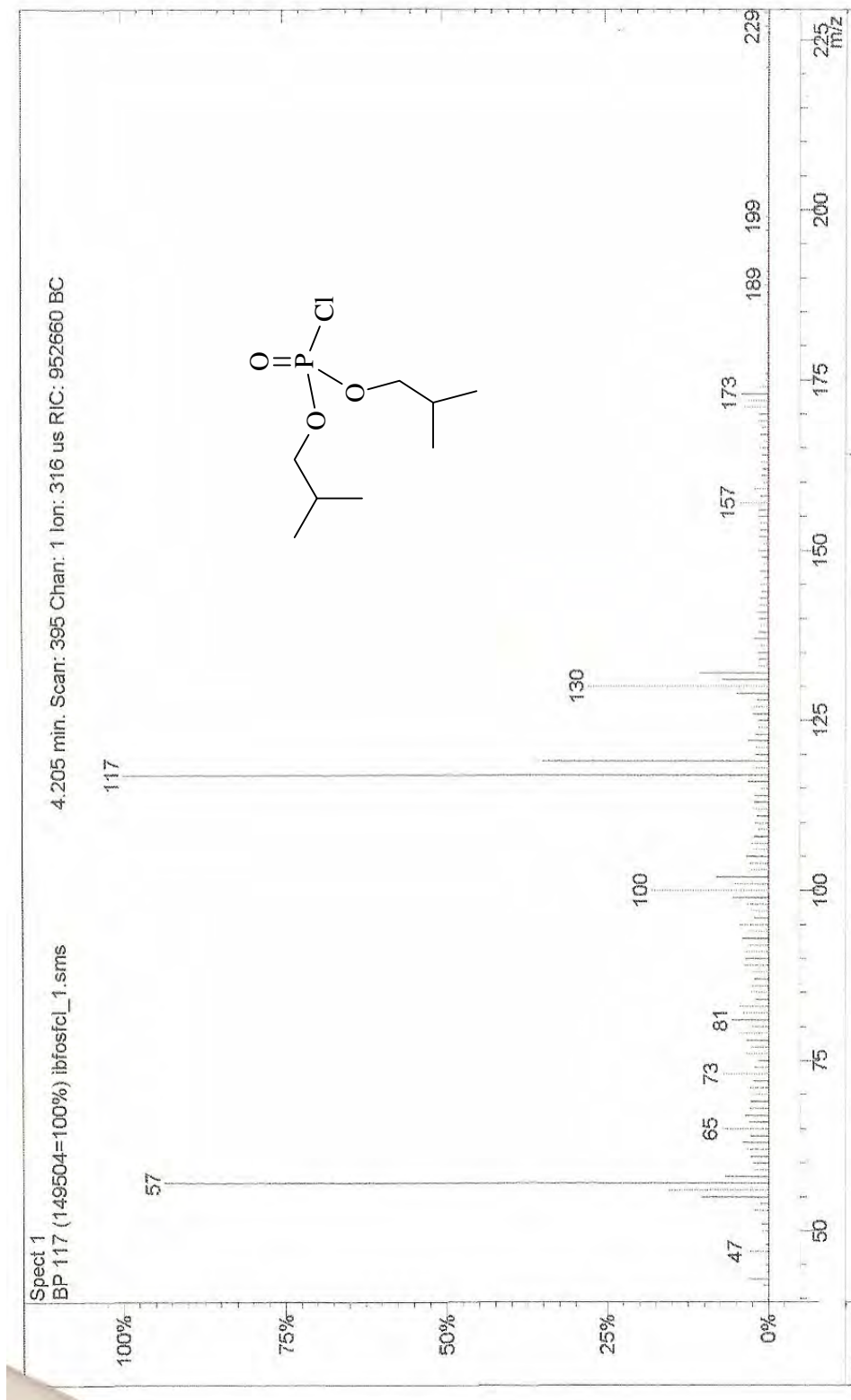


Figura 196: Espectro de massas do fosforocloridato de diisobutila (composto 128).

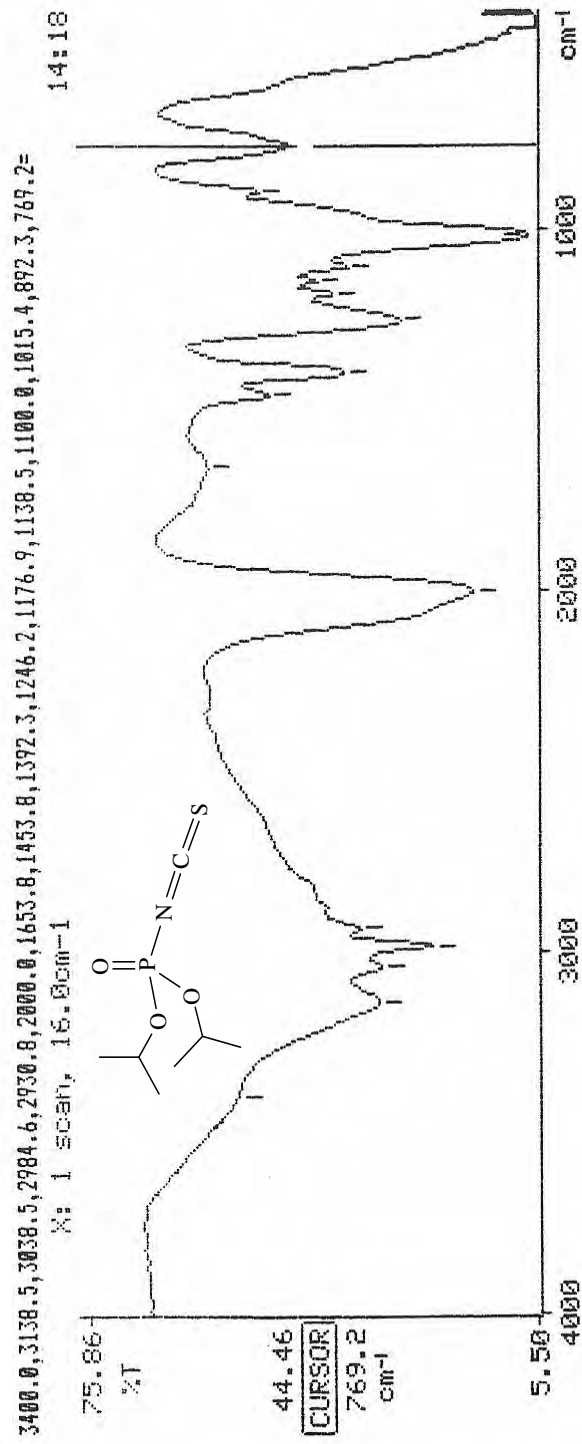


Figura 197: Espectro de IV do fosforisotiocianatado de diisopropila (composto 129).

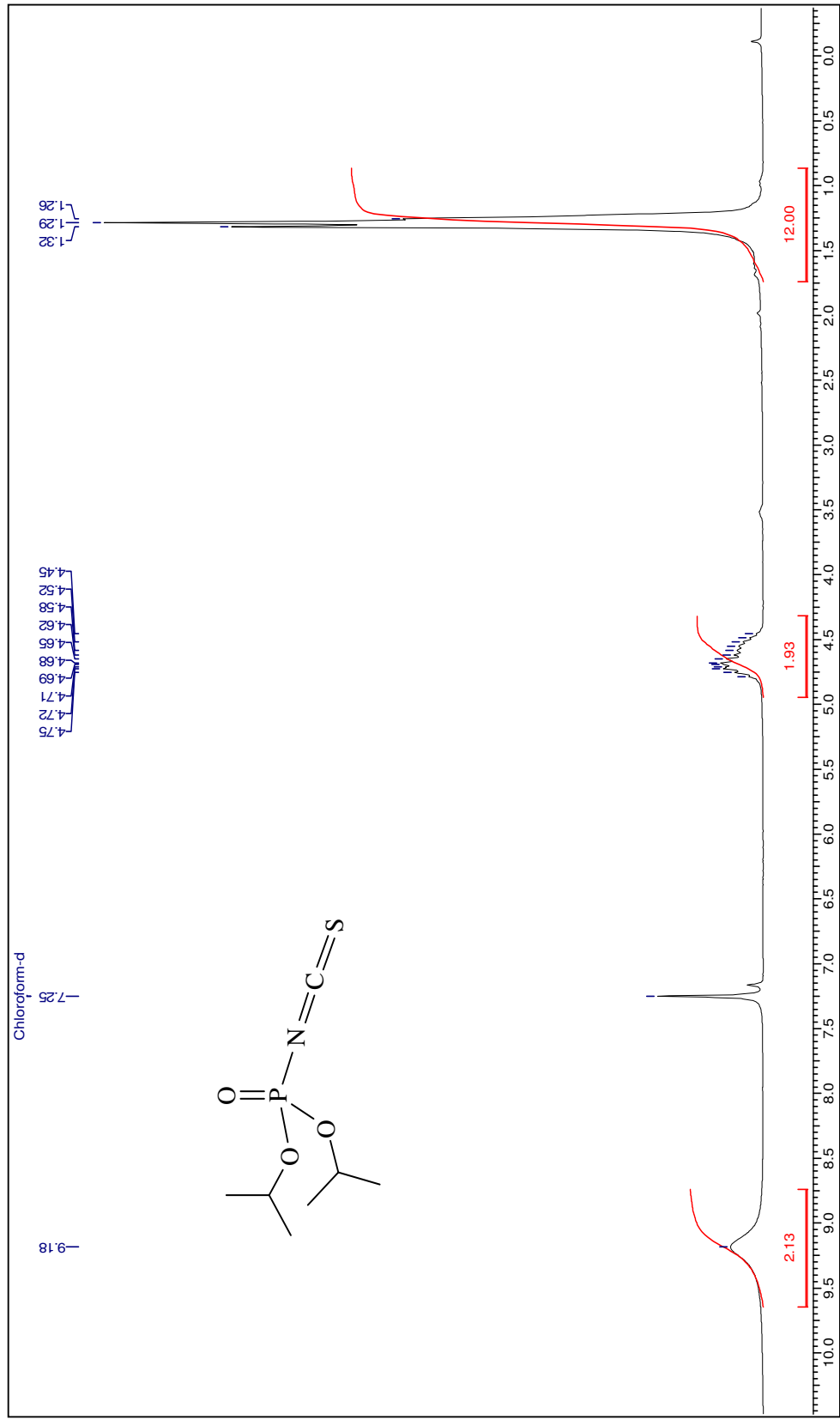


Figura 198: Espectro de RMN de ^1H do fosforoiscianatado de diisopropila (composto 129).

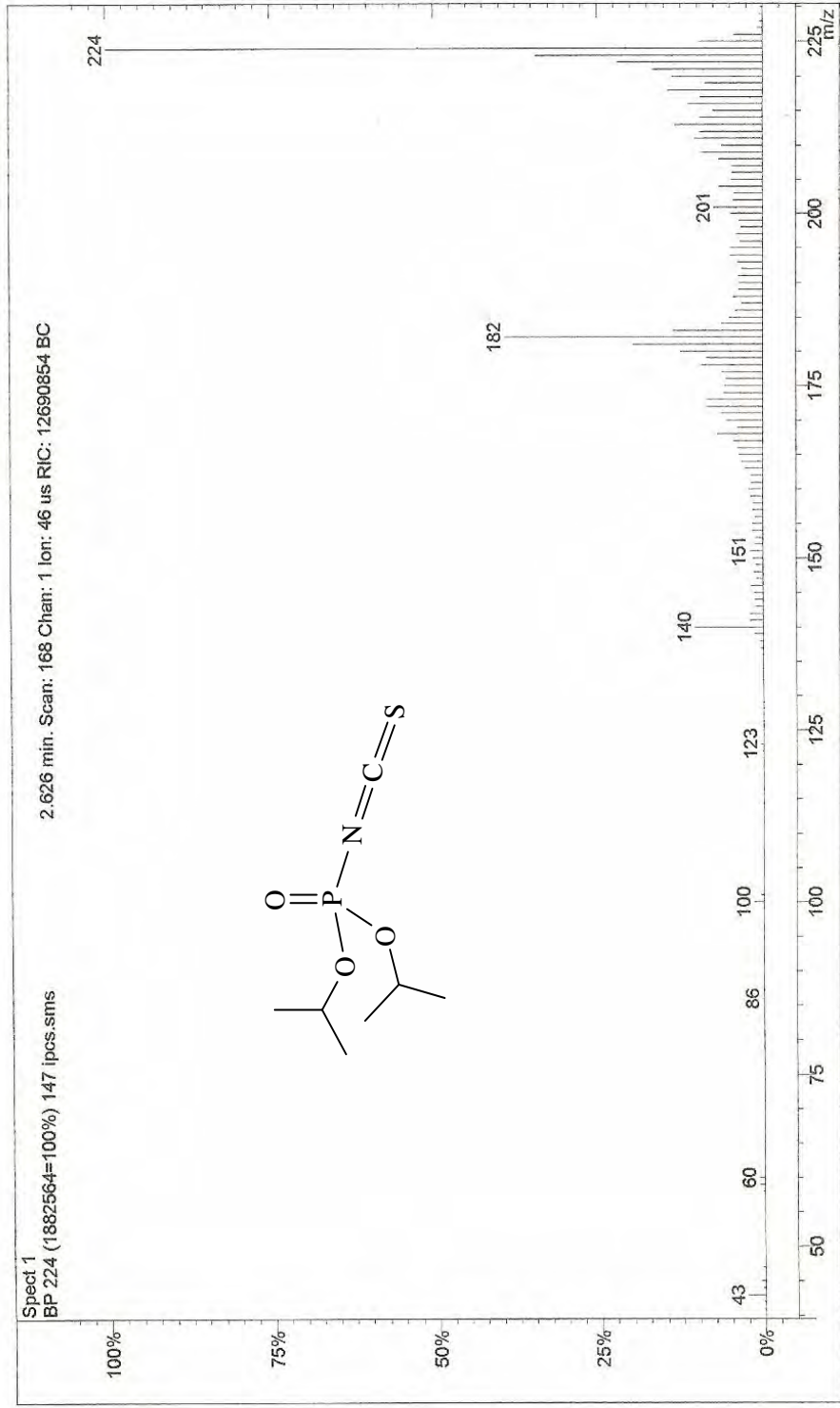


Figura 199: Espectro de massas do fosforoiscianato de diisopropila (composto 129).

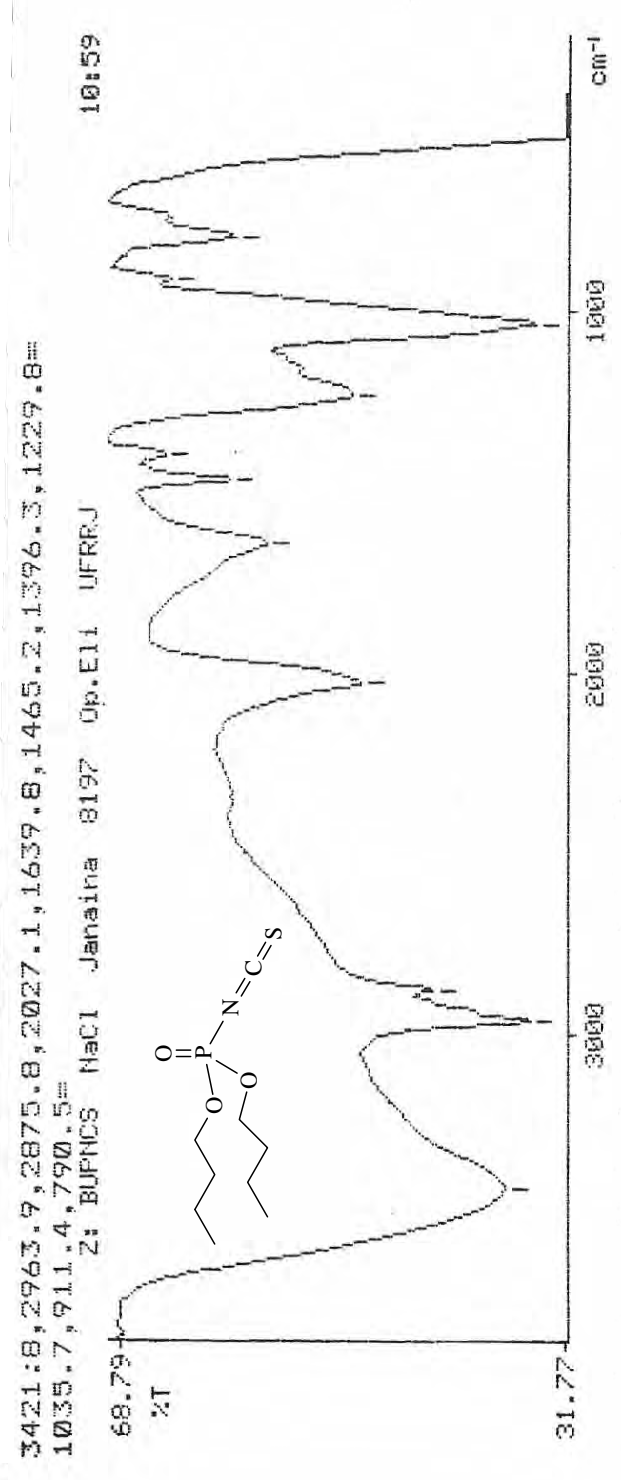


Figura 200: Espectro de IV do fosforoiscianatido de dibutila (composto 130).

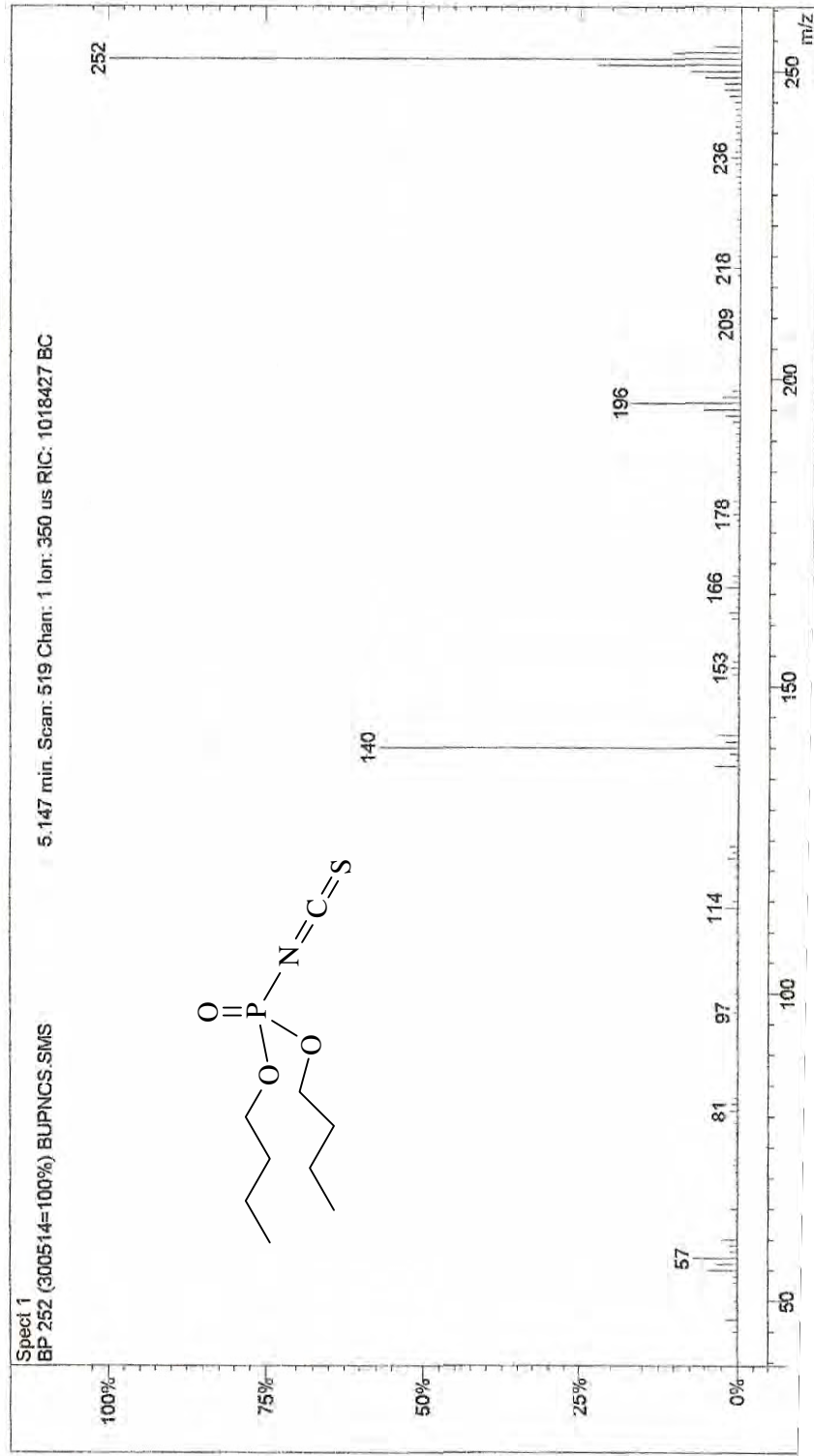


Figura 201: Espectro de massas do fosforoiscianato de dibutila (composto 130).

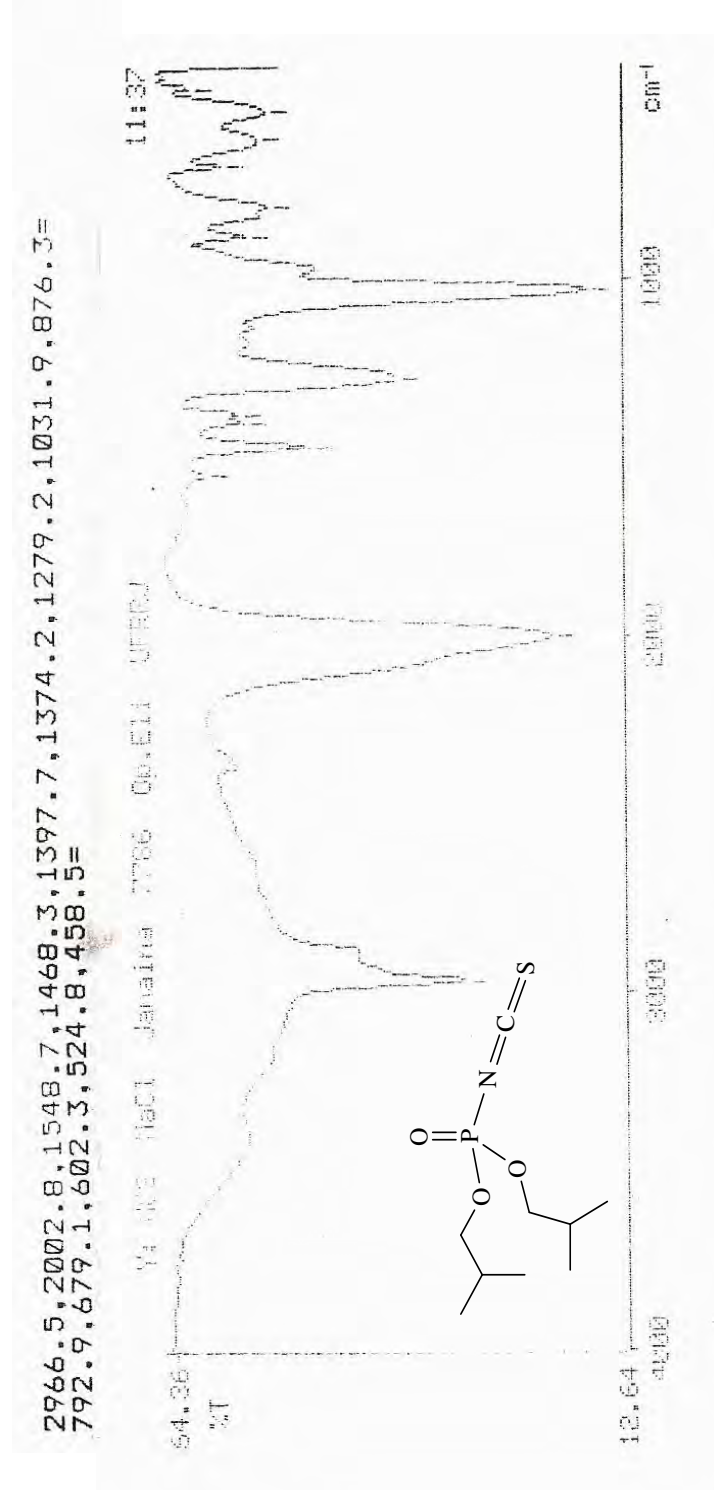


Figura 202: Espectro de IV do fosforoiscianatidato de diisobutila (composto 131).

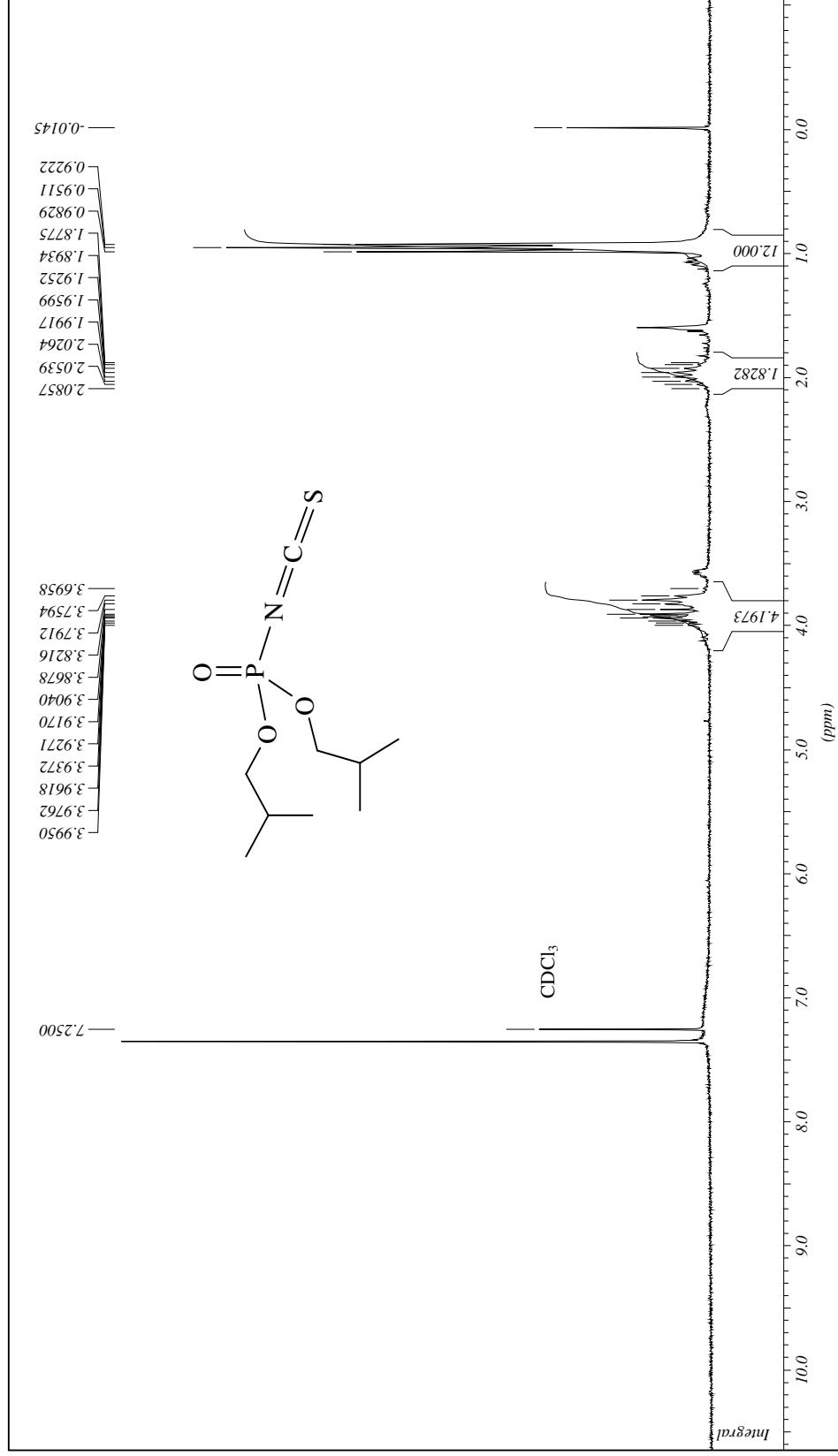


Figura 203: Espectro de RMN de ¹H do fosforisotiocianatado de diisobutila (composto 131).

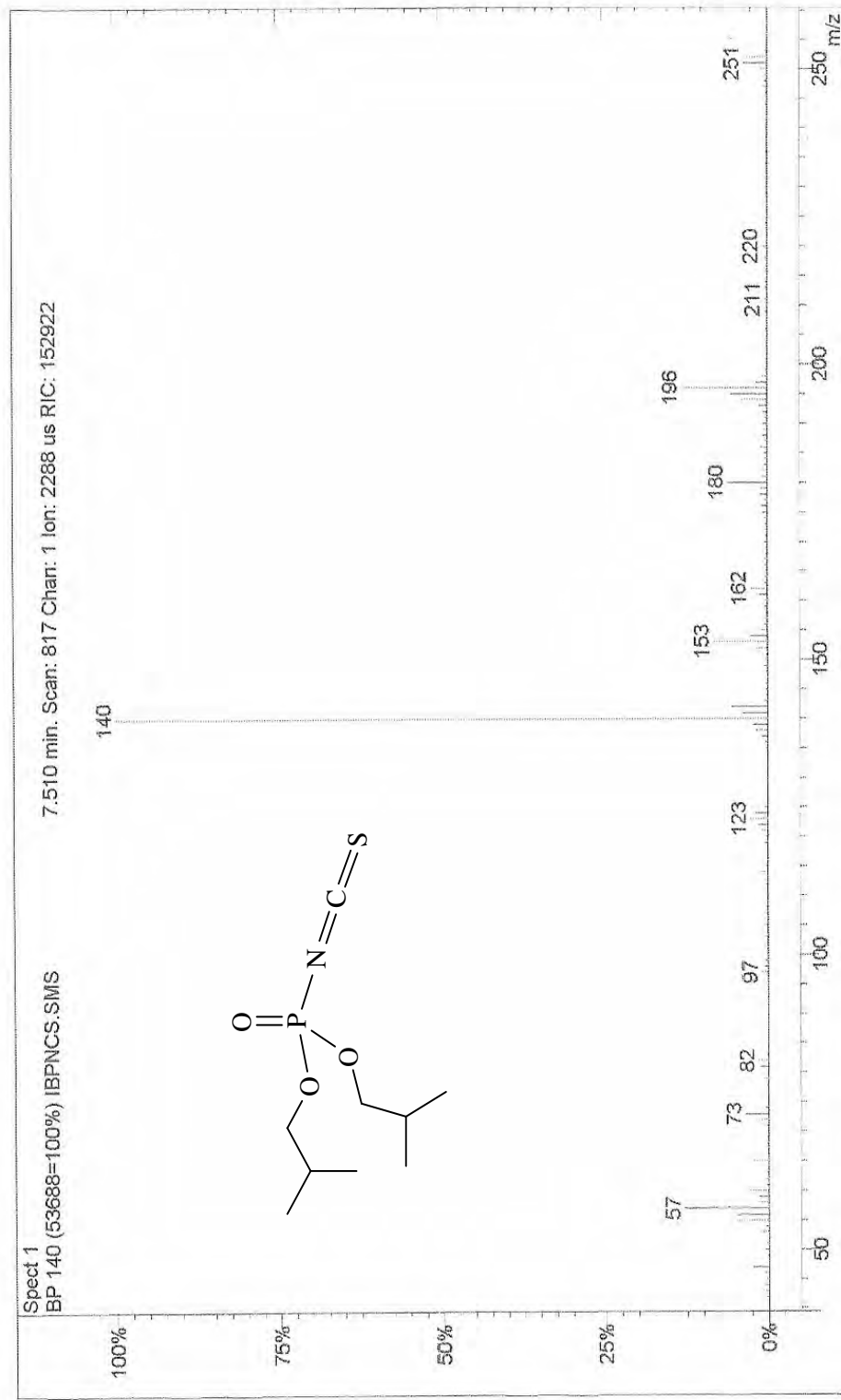


Figura 204: Espectro de massas do fosforotiocianatidato de diisobutila (composto 131).

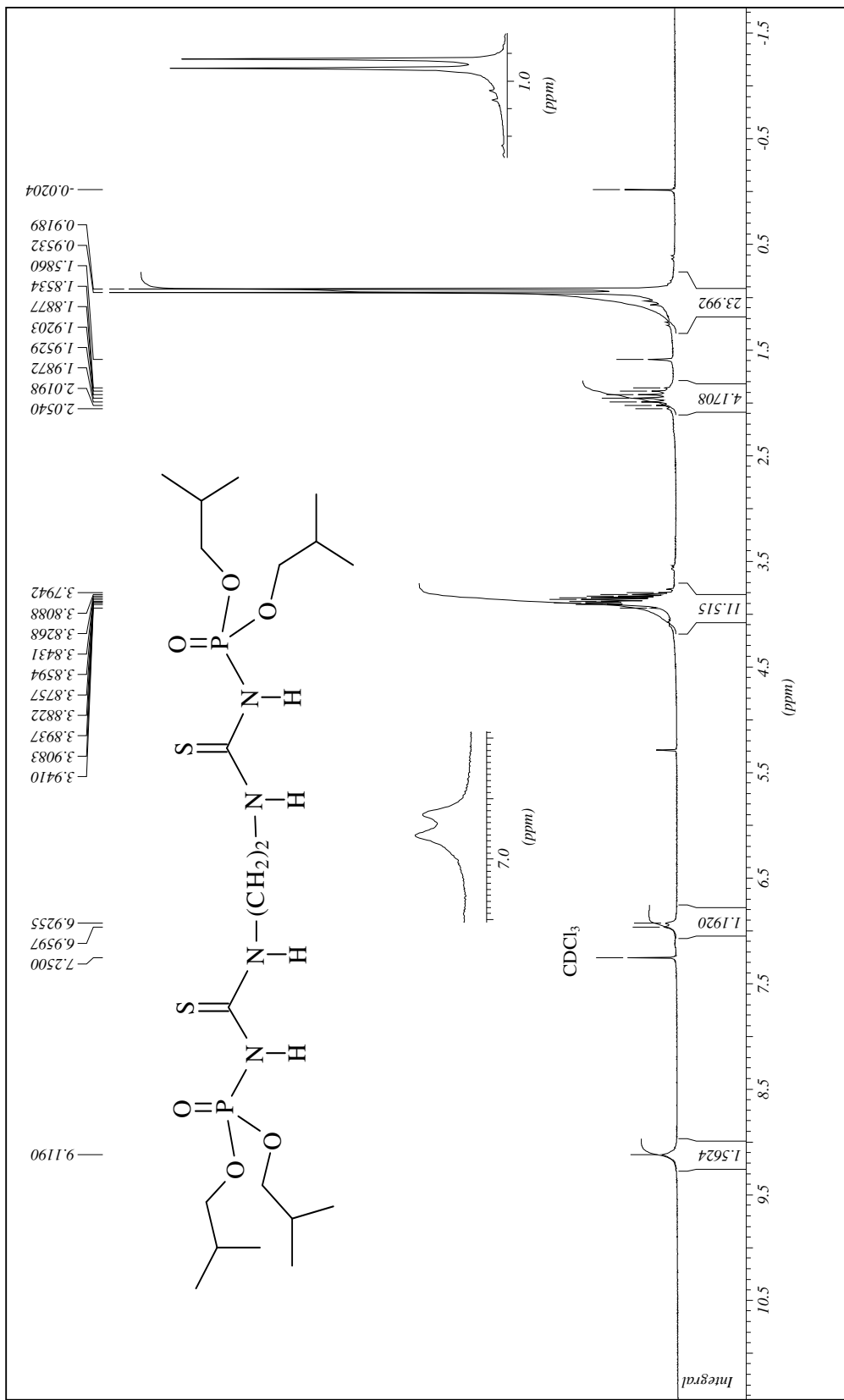


Figura 206: Espectro de RMN de ^1H do composto 23.

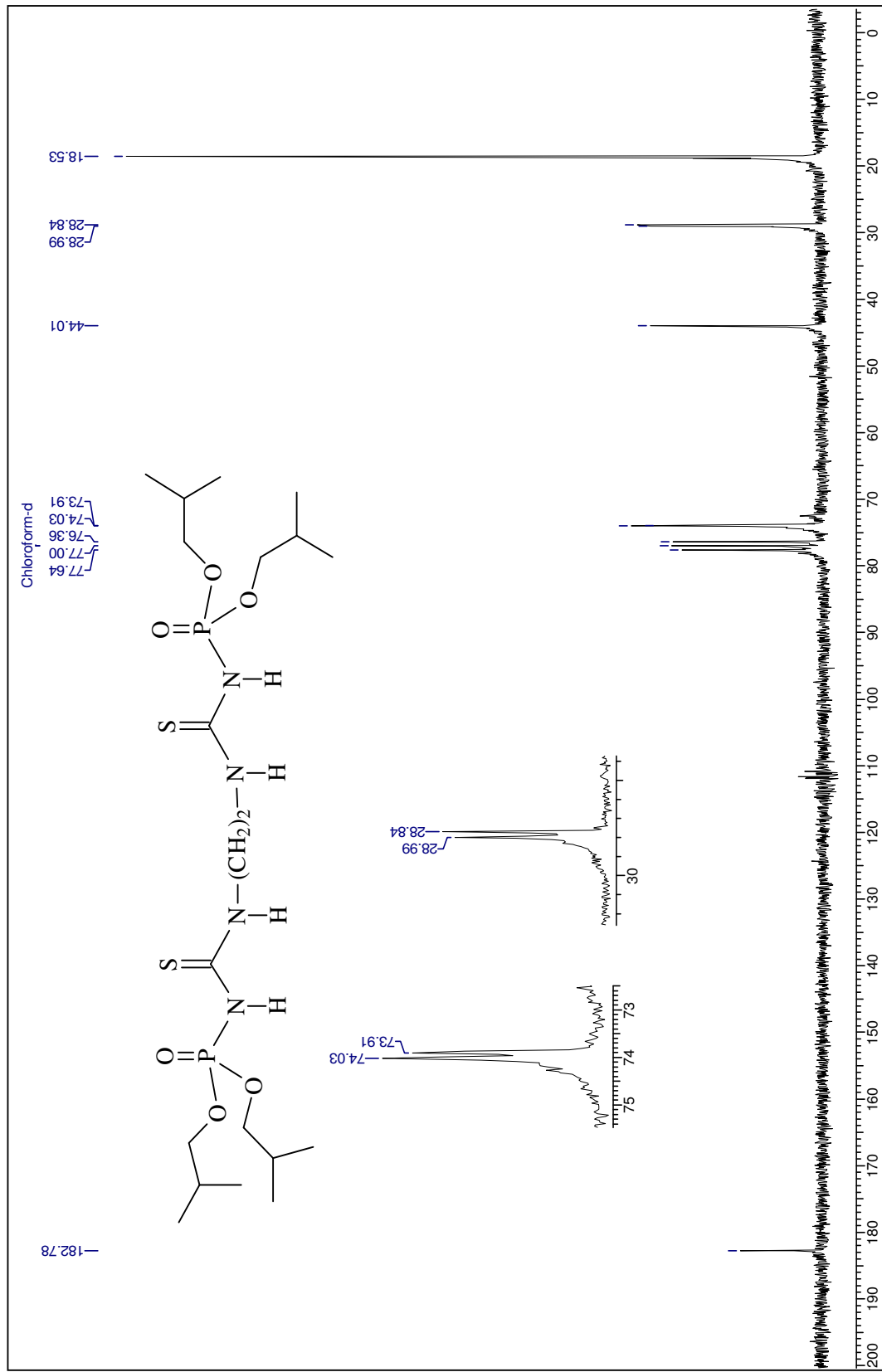


Figura 207: Espectro de RMN de ¹³C do composto 23.

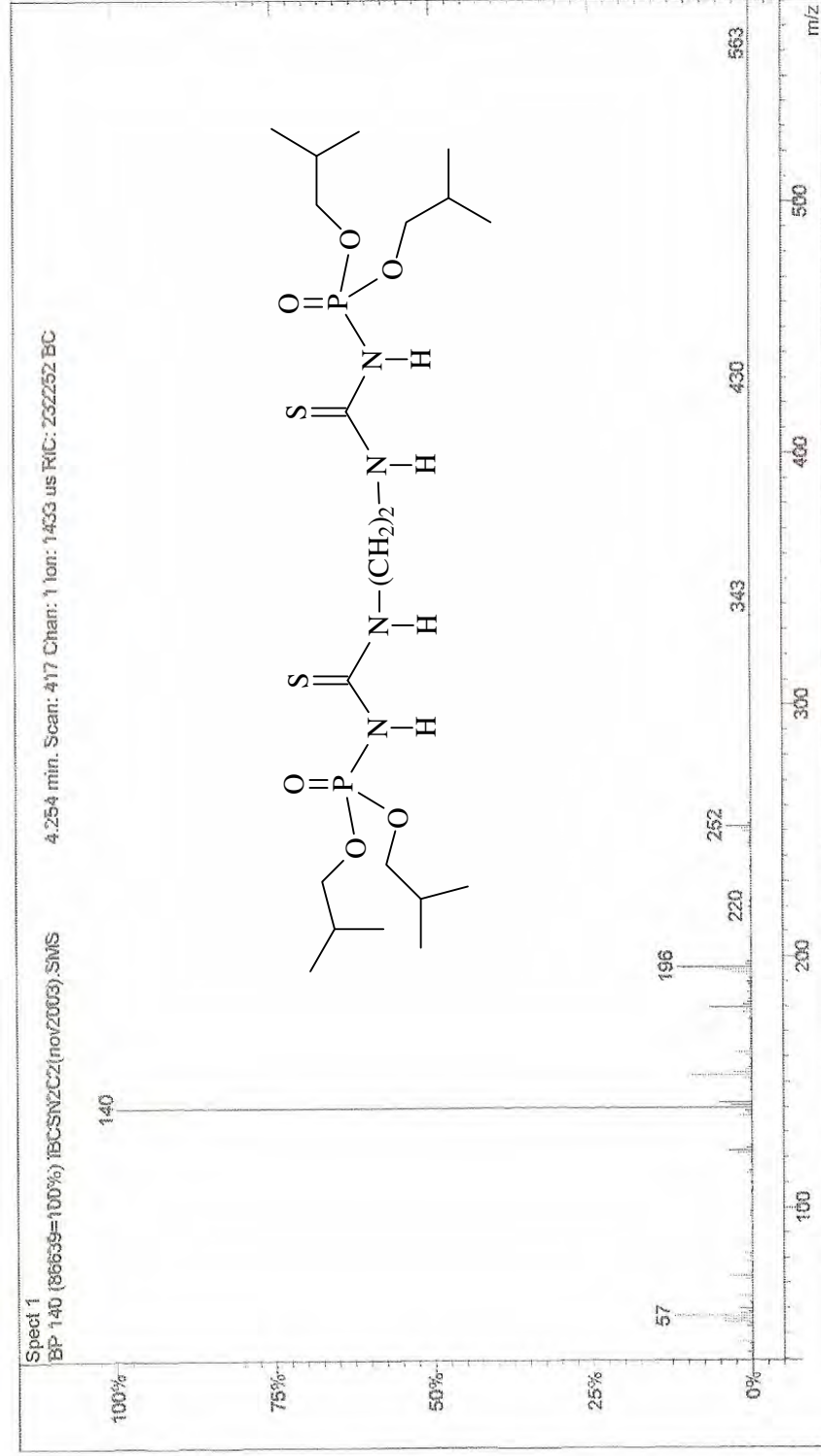


Figura 209: Espectro de massas do composto 23.

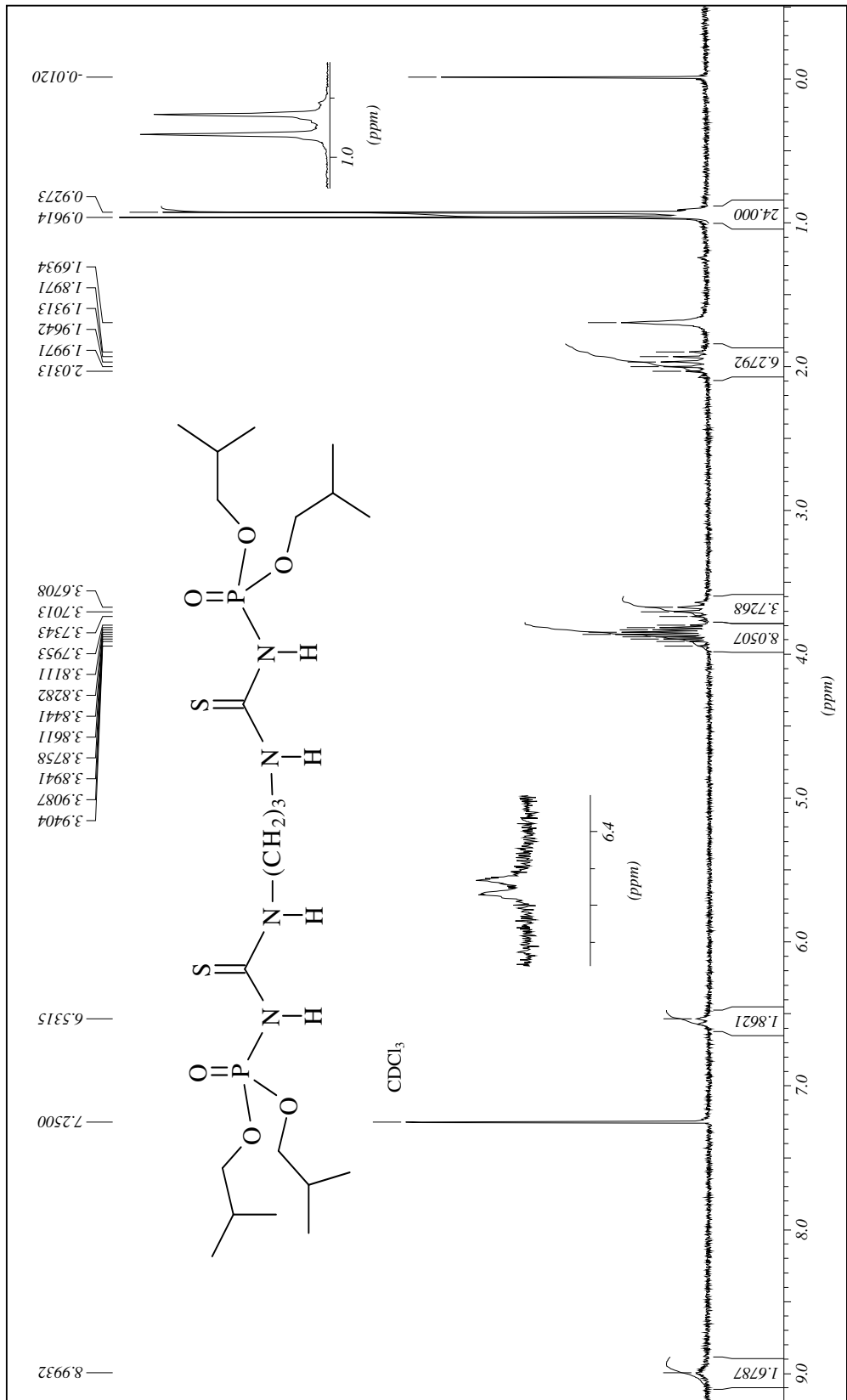


Figura 211: Espectro de RMN de ^1H do composto 24.

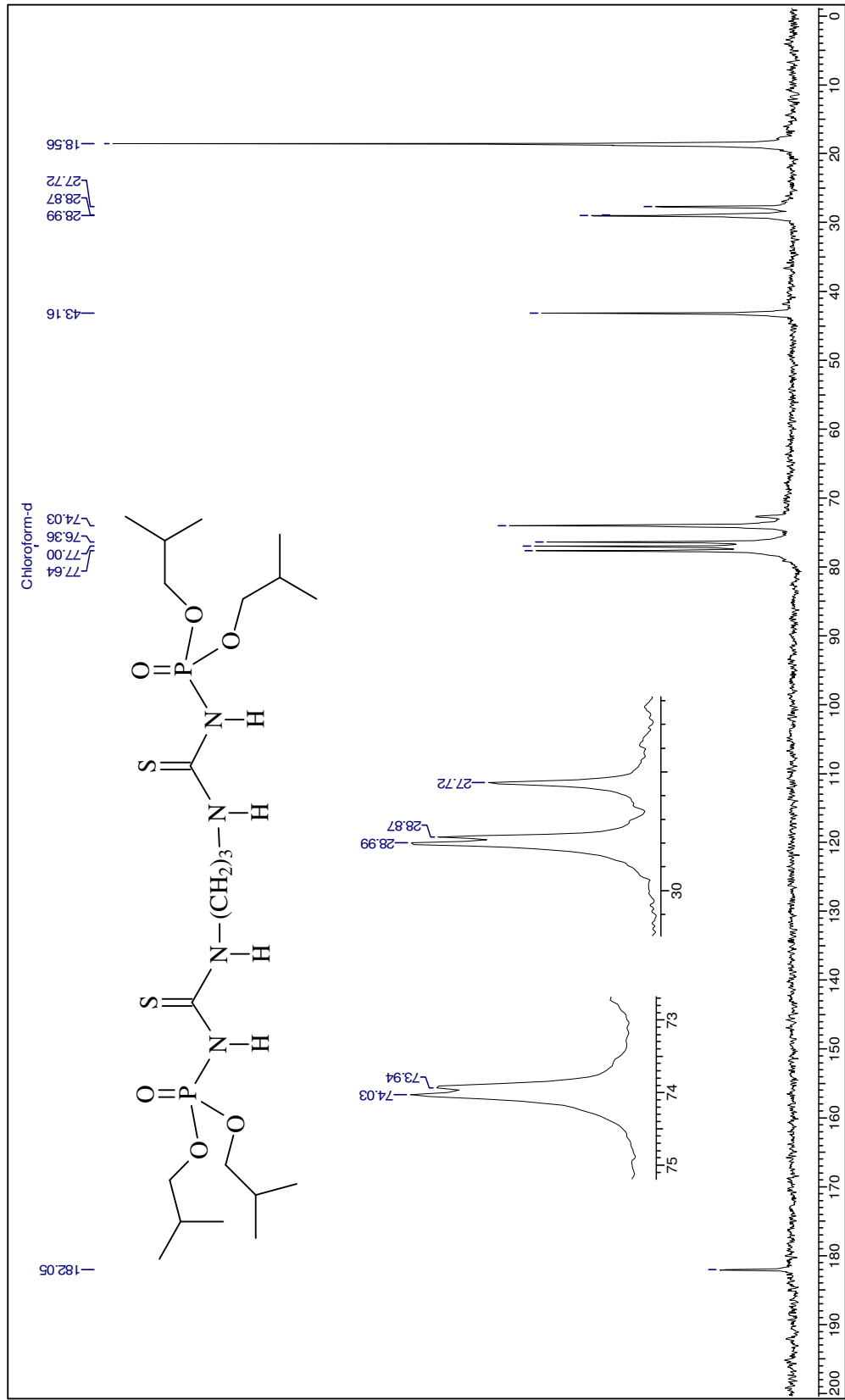


Figura 212: Espectro de RMN de ¹³C do composto 24.

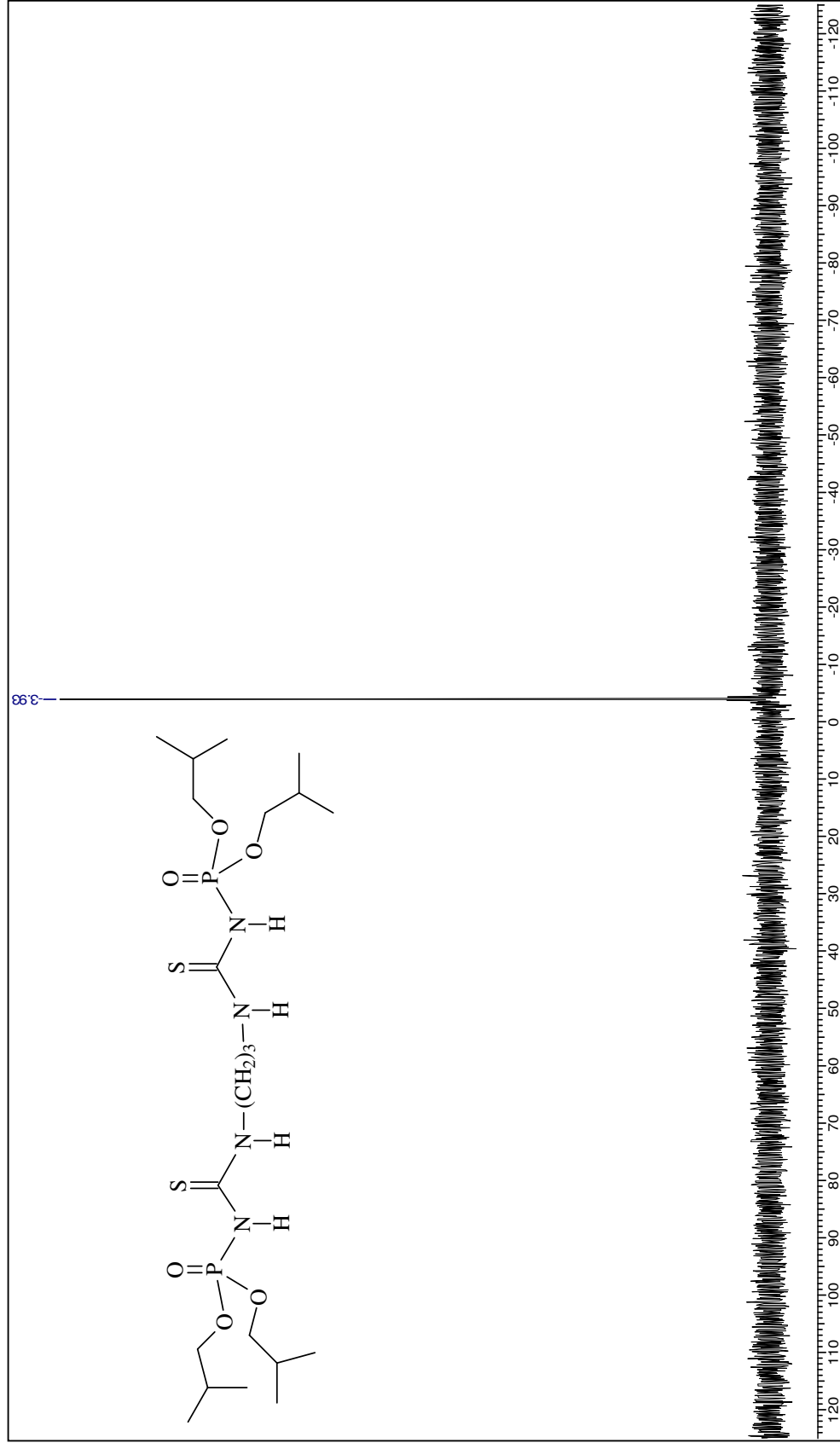


Figura 213: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 24.

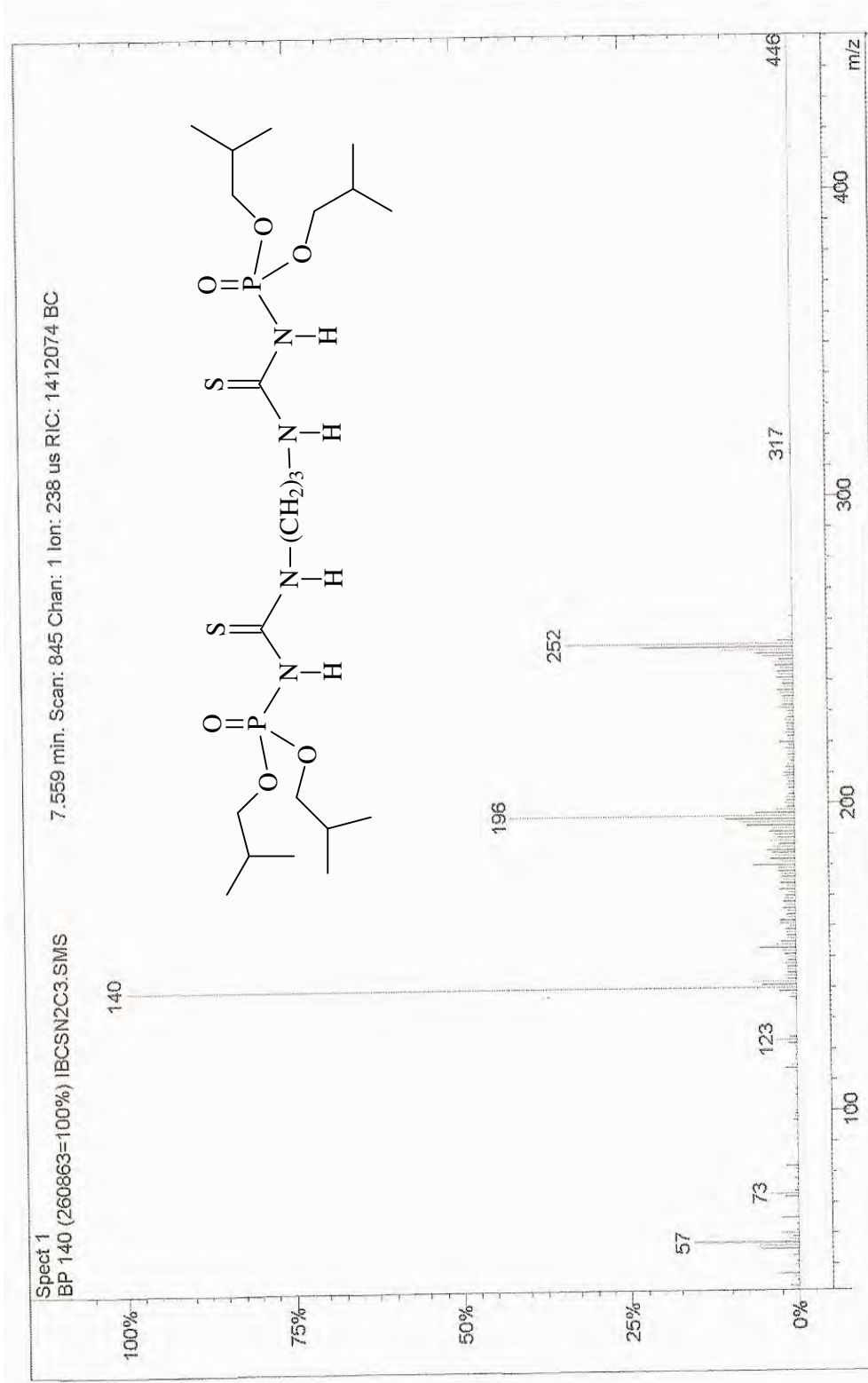


Figura 214: Espectro de massas do composto 24.

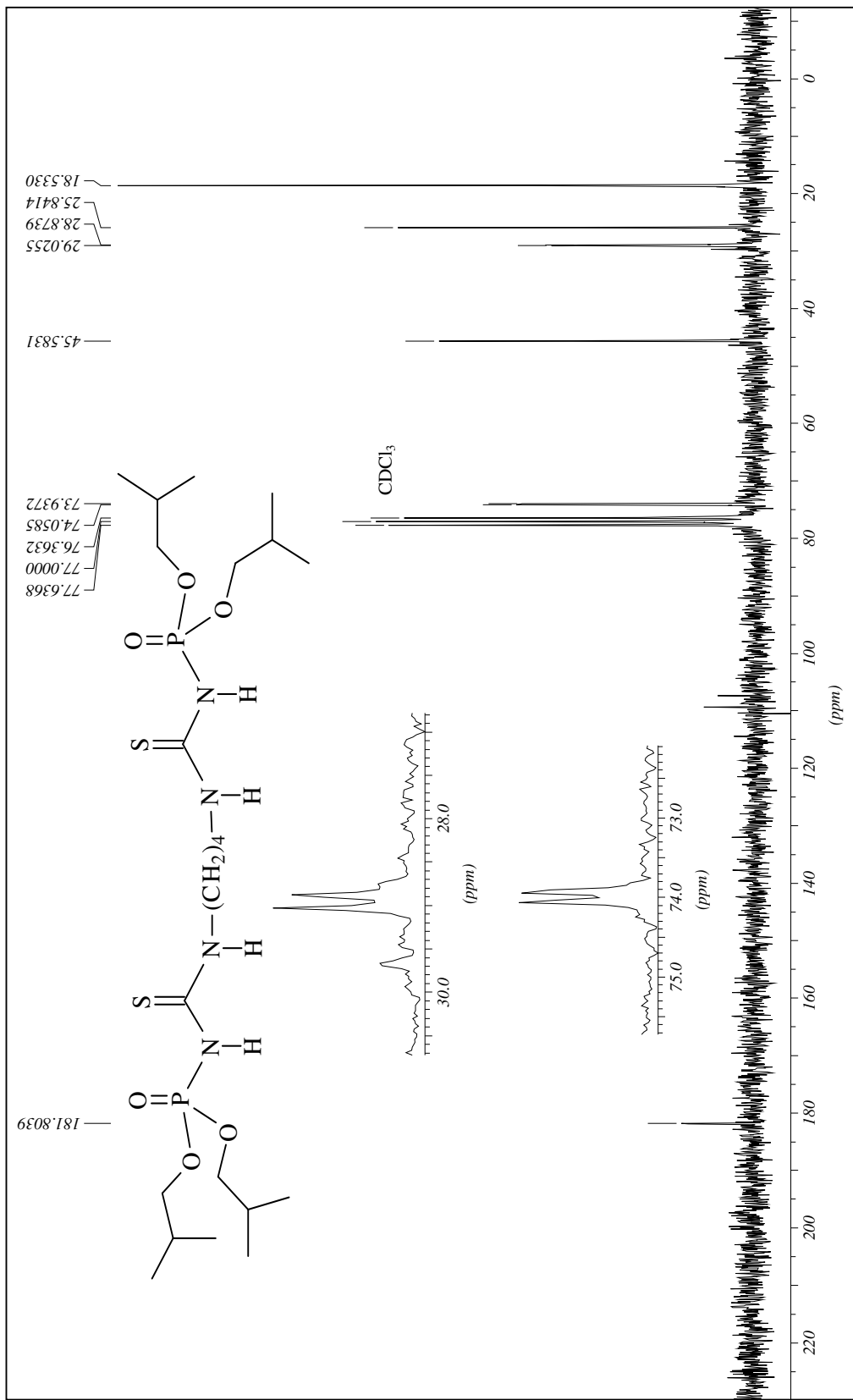


Figura 217: Espectro de RMN de ¹³C do composto 25.

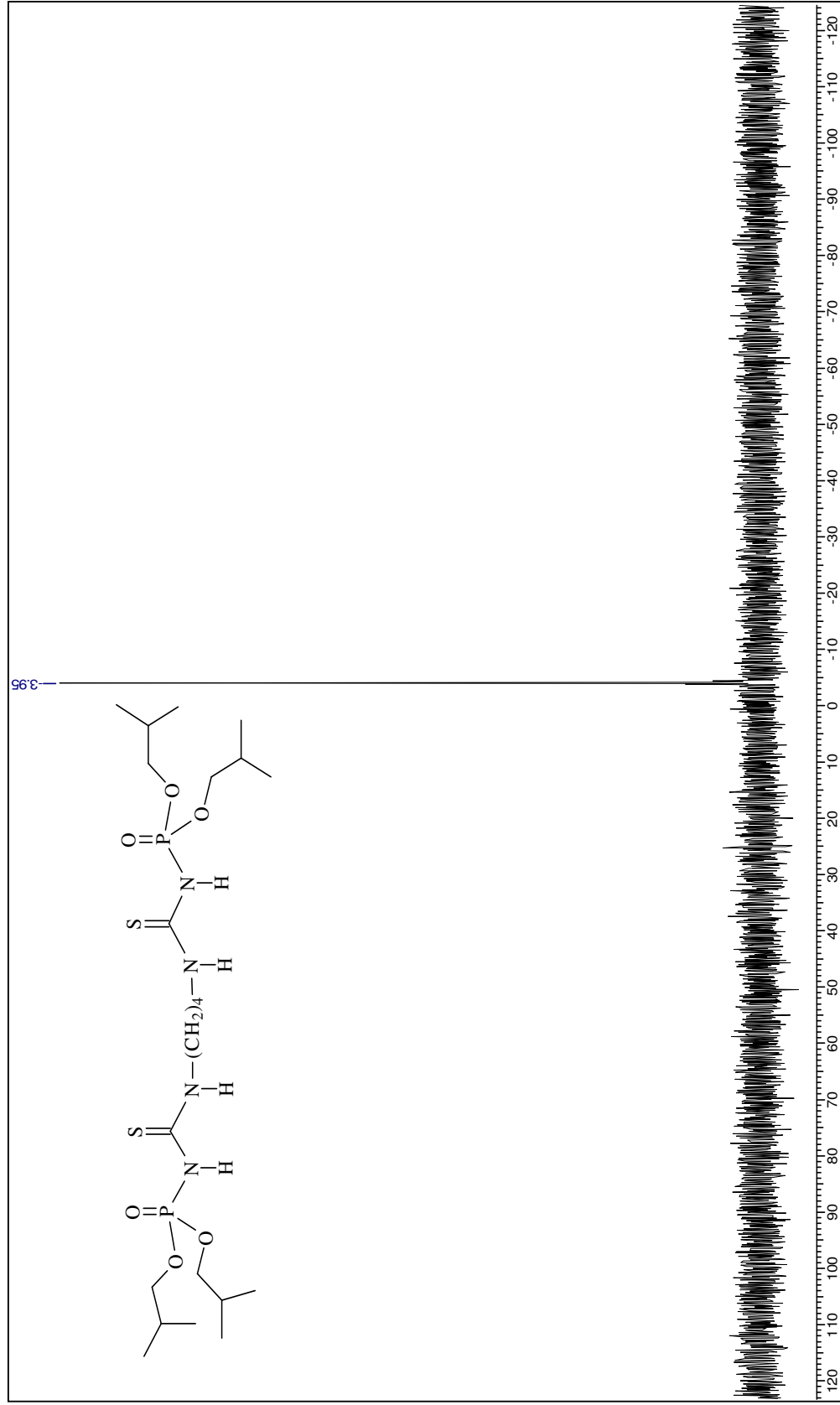


Figura 218: Espectro de RMN de ^{31}P totalmente desacoplado do composto 25.

ANEXO B

Dados de absorvância dos ensaios com a tirosinase

Tabela 34: Dados de absorvância para o composto 5.

Composto 5			
Tempo (min)	0	30	Concentração (µM)
Absorvância	0,004	0,008	266,67
	0,004	0,010	133,33
	0,004	0,013	66,67
	0,005	0,015	33,33
L-DOPA			
Tempo (min)	0	30	Concentração (µM)
	0,005	0,019	170

Tabela 35: Dados de absorvância para o composto 8.

Composto 8			
Tempo (min)	0	30	Concentração (µM)
Absorvância	0,025	0,029	1000
	0,023	0,028	666,67
	0,020	0,026	333,33
	0,017	0,024	166,67
	0,007	0,016	66,67
L-DOPA			
Tempo (min)	0	30	Concentração (µM)
	0,005	0,019	170

Tabela 36: Dados de absorvância para o composto 13.

Composto 13			
Tempo (min)	0	30	Concentração (µM)
Absorvância	0,003	0,008	666,67
	0,004	0,011	333,33
	0,004	0,014	166,67
	0,003	0,018	66,67
L-DOPA			
Tempo (min)	0	30	Concentração (µM)
	0,003	0,022	170

Tabela 37: Dados de absorvância para o composto 117.

Composto 117			
Tempo (min)	0	30	Concentração (µM)
Absorvância	0,01	0,012	1000
	0,006	0,012	460
	0,005	0,014	200
	0,003	0,017	6
L-DOPA			
Tempo (min)	0	30	Concentração (µM)
	0,005	0,019	170