

UFRRJ

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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DIALQUILFOSFORILIDRAZONAS DERIVADAS DE ISATINAS N-
SUBSTITUÍDAS COM POTENCIAL ATIVIDADE BIOLÓGICA**

LETÍCIA SILOTTI ZAMPIROLI

2009



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

**DIALQUILFOSFORILIDRAZONAS DERIVADAS DE ISATINAS N-
SUBSTITUÍDAS COM POTENCIAL ATIVIDADE BIOLÓGICA**

LETÍCIA SILOTTI ZAMPIROLI

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

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

Seropédica, RJ
Maio de 2009

547.21

Z26d

T

Zampirolli, Letícia Silotti, 1985 -
Dialquilfosforilidrazonas derivadas de
isatinas *N* - *substituídas* com potencial
atividade biológica / Letícia Silotti
Zampirolli - 2009.
255 f. : il.

Orientador: João Batista Neves da
Costa.

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

Bibliografia: f. 110-117

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

Bibliotecário: _____

Data: ___/___/___

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

LETÍCIA SILOTTI ZAMPIROLI

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

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27/05/2009

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

Mônica Regina da Costa Marques. Dr. IQ, UERJ

Alice Maria Rolim Bernardino. Dr. IQ, UFF

Victor Marcos Rumjanek. Dr. ICE, UFRRJ

Dedico este trabalho aos meus pais Helvécio e Maria Auxiliadora, pelo amor, apoio, estímulos constantes, dedicação e compreensão nos momentos difíceis, e ao meu irmão, Gustavo pelo amor e carinho sempre presente.

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 dois anos de convívio.

Ao Dr. Marcos André Vannier dos Santos, a Dr. Adriana Lanfredi Rangel e a aluno da Fundação Oswaldo Cruz (Salvador - BA), pela execução dos ensaios biológico sobre protozoários.

Ao aluno de doutorado do PPGQ-Agrobioquímica Marcos André, à professora Sônia Regina de Souza e à estagiária Marcela Jacques de Lemos pela execução dos ensaios sobre germinação de sementes e realização de ensaios sobre fungos.

Aos professores Rosane Nora Castro, Marco Edilson Freire de Lima, Carlos Maurício Rabello de Sant'Anna 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.

Aos colegas que já passaram e àqueles que ainda estão no Programa de Pós-Graduação em Química da UFRRJ: Alessandra, Aline, Andressa, Ana Paula, Anivaldo, Ari, Bauer, Breno, Camila, Catarina, Cláudio, Cristian, Ceará, Daniel, Diego, Kenia, Luciano, Marcelo, Mário Sérgio, Regina, Roberta, Rodnei, Rose, e Wellison, pelos anos de agradável convivência e toda a ajuda.

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

Aos funcionários do curso de Pós-graduação e graduação: Eli, Carlão, Osmar, Fábio, Mauricio, Rui, Conceição e Pedro.

À CAPES pelo auxílio financeiro concedido no início deste trabalho.

Aos meus pais Helvécio e Maria Auxiliadora, por tudo o que me foi transmitido e por toda a dedicação à minha formação.

Ao meu namorado Johann, pela companhia, compreensão, paciência e por todo o carinho.

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

RESUMO

ZAMPIROLI, Letícia Silotti. **Dialquilfosforilidrazonas derivadas de isatinas N-substituídas com potencial atividade biológica**. Dissertação de mestrado, Mestre em Ciências, Química Orgânica. Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

Uma série de 16 dialquilfosforilidrazonas (ácido fosforoidrazídico, N' -[1,2-diidro-2-oxo-(R_1)-3*H*-indol-3-ilideno] -, éster de dialquila), sendo todas inéditas, foram sintetizadas e caracterizadas pelas técnicas de espectrometria de IV, RMN de ^1H , RMN de ^{13}C , RMN de ^{31}P e massas. As novas dialquilfosforilidrazonas foram sintetizadas em três etapas de reação. A primeira etapa consistiu na síntese de diferentes fosfitos de dialquila que foram obtidos através da reação do tricloreto de fósforo (PCl_3) com três mols do álcool correspondente. Na segunda etapa, a reação dos fosfitos de dialquila com a hidrazina, em um sistema bifásico, levou à formação das dialquilfosforilidrazinas. A última etapa foi a condensação destas dialquilfosforilidrazinas com diferentes isatinas substituídas. A análise dos espectros de RMN de ^1H , RMN de ^{13}C , RMN de ^{31}P das dialquilfosforilidrazonas mostraram a coexistência dos dois possíveis diastereoisômeros E e Z, para os compostos **1**, **2**, **6**, **10** e **12**, enquanto que para os compostos restantes observou-se apenas o diastereoisômero Z.

Dos compostos sintetizados, dez foram avaliados preliminarmente quanto ao potencial inibitório de proliferação de dois protozoários (*Trypanosoma cruzi* e *Leishmania amazonensis*). Para *Leishmania amazonensis* todos os compostos testados apresentaram inibição da proliferação celular de 98 % a 50 μM . Enquanto que para *T. cruzi* verificou-se inibição da proliferação celular de epimastigotas superior a 75% para todos compostos testados, a exceção do composto (**6**) cuja inibição foi de 59 %. Esses dez compostos também foram avaliados frente ao protozoário *Plasmodium falciparum* apresentando inibição superior a 90 % para todos os compostos testados, a uma concentração de 1mM.

Essas dialquilfosforilidrazonas também tiveram a ação fungicida avaliada frente aos fungos fitopatogênicos (*Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum*). Em *Rhizoctonia solani* os compostos (**9**) e (**11**) apresentaram inibição do crescimento miscelial de 58 %, já o composto (**12**) apresentou inibição de 72%. Para o *Fusarium oxysporum* destacaram-se os compostos (**1**, **2**, **11** e **12**) com inibição superior a 52 %. Esses compostos também foram avaliados quanto ao potencial inibitório de germinação em sementes de alface e verificou-se que os mesmos compostos que apresentaram efeitos fungistáticos, não inibiram a germinação de sementes de alface.

Palavras chave: Dialquilfosforilidrazonas, ácido fosforoidrazídico, atividade biológica, isatina.

ABSTRACT

ZAMPIROLI, Letícia Silotti. **Dialkylphosphorylhydrazones derived from *N*-substituted isatins with potential biological activity. Dialquilfosforilidrazonas derivadas de isatinas *N*-substituídas com potencial atividade biológica.** Dissertação de mestrado, Mestre em Ciências, Química Orgânica. Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

A series of new dialkylphosphorylhydrazones (phosphorohydrazidic acid, *N*'-[1,2-dihydro-2-oxo-(R₁)-3*H*-indole-3-iliden]- dialkyl esters) was synthesized and characterized by IR, ¹H, ¹³C and ³¹P NMR and mass spectroscopy. These dialkylphosphorylhydrazones were synthesized in three steps. The first step involved the synthesis of different dialkylphosphites which are obtained by the reaction of PCl₃ with three mols of the corresponding alcohols. The second step consisted of the reaction between the dialkylphosphites and hydrazine in a two phase system, leading to the formation of the dialkylphosphorylhydrazines. Finally, the last step was the condensation of these dialkylphosphorylhydrazines with different *N*-substituted isatins. The analysis of the ¹H, ¹³C and ³¹P NMR spectra showed the existence of the two possible diastereoisomers E and Z for compounds **1**, **2**, **6**, **10** and **12**, while for the remaining compounds only the Z isomer is present. Ten of these compounds were preliminarily tested for their inhibition potential against two protozoa (*Trypanosoma cruzi* and *Leishmania amazonensis*). All compounds tested showed cell proliferation inhibition of 98% at 50 μM for *Leishmania amazonensis*, whereas for *T. cruzi*, inhibition of epimastigote cell proliferation was found to be higher than 75% for all compounds tested except **6**, which showed a 59% inhibition. These ten compounds were also evaluated against *Plasmodium falciparum*, affording inhibitions higher than 90% for a 1mM concentration. These compounds were also investigated for their fungicidal activity against phytopatogenic *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum*. Compounds **9** and **11** showed a miscelial growth inhibition of 58% for *Rhizoctonia solani* while compound **12** afforded a 72% inhibition. Compounds **1**, **2**, **11** and **12** gave *Fusarium oxysporum* inhibition higher than 52%. Finally, the compounds synthesized were also evaluated for their inhibitory potential against lettuce seed germination and it was observed that the same compounds which showed fungicidal activity were not able to inhibit seed germination.

Keywords: dialkylphosphorylhydrazones, phosphorohydrazidic acid, biological activity, isatin.

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1: Reação do fosfito de trialquila com um halogeneto de alquila.....	5
Esquema 2: Obtenção do fosfonato, fosfinato e óxido de fosfina.....	5
Esquema 3: Reação de Michaelis-Becker.....	6
Esquema 4: Aplicações sintéticas do PCl_3	6
Esquema 5: Reação de cloretos de fósforo com aminas.....	7
Esquema 6: Preparação do inseticida crufomato.....	7
Esquema 7: Síntese de fosforamidas a partir de fosfonatos de dialquila.....	8
Esquema 8: Reação de fosfonatos de dialquila com aminas.....	8
Esquema 9: Fosforilação de aminas em sistema bifásico com fosfonato de dialquila e CCl_4	8
Esquema 10: Obtenção da isatina pelo método de Sandmeyer.....	11
Esquema 11: Obtenção da isatina pelo método de Stolle.....	12
Esquema 12: Obtenção da isatina pelo método de Martinet.....	12
Esquema 13: Reação de isatina com amônia.....	13
Esquema 14: Reação de isatina com hidrazina.....	14
Esquema 15: Reação de isatinas e <i>N</i> -alquilisatinas com alquilaminas.....	14
Esquema 16: Reação de <i>N</i> -acilisatina com alquilamina.....	15
Esquema 17: Reação de isatinas e <i>N</i> -alquilisatinas com oxigênio nucleofílico.....	15
Esquema 18: Reações de <i>N</i> -alquilação de isatina.....	16
Esquema 19: Reações de <i>N</i> -acilação de isatina.....	17
Esquema 20: Reações de cloração regioseletiva de isatina na posição 5.....	18
Esquema 21: Reações de cloração regioseletiva de isatina na posição 5.....	18
Esquema 22: Síntese dos fosfonatos de dialquila.....	41
Esquema 23: Síntese das dialquilfosforilidrazina.....	43
Esquema 24: <i>N</i> -alquilação de isatinas.....	45
Esquema 25: Reações de cloração regioseletiva de isatina na posição 5.....	49
Esquema 26: Síntese das dialquilfosforilidrazonas.....	51
Esquema 27: Esquema de reação dos fosfonatos de dialquila.....	70
Esquema 28: Mecanismo de obtenção dos fosfonatos de dialquila.....	71
Esquema 29: Reação de obtenção das dialquilfosforilidrazinas.....	75
Esquema 30: Mecanismo de síntese das dialquilfosforilidrazinas.....	76
Esquema 31: Propostas de fragmentação dos principais picos da diisobutilfosforilidrazina.....	79
Esquema 32: Proposta mecanística da síntese das dialquilfosforilidrazonas.....	86
Esquema 33: Proposta de fragmentação para alguns picos da diisobutilfosforilidrazona derivada de isatina (1).....	98

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Compostos dialquilfosforilidrazônicos sintetizados neste trabalho.....	3
Figura 2: Endoxan, utilizado como agente antitumoral.....	9
Figura 3: Glifosato (Roundup)®.....	9
Figura 4: Estrutura química geral dos bisfosfonatos.....	10
Figura 5: Bisfosfonatos com atividade anti- <i>T.cruzi</i>	10
Figura 6: Obtenção da isatina pela oxidação do índigo.....	11
Figura 7: Diferentes centros de reatividades da isatina.....	13
Figura 8: Fragmento triatômico que caracteriza as hidrazonas.....	19
Figura 9: Complexos de hidrazona com atividade fisiológica.....	20
Figura 10: Hidrazonas com atividade analgésica, antiinflamatória e antitrombótica.....	20
Figura 11: Hidrazonas com atividade antibacteriana e anticonvulsiva.....	21
Figura 12: Hidrazonas derivadas de isatina com atividade antiparasitária.....	21
Figura 13: Hidrazonas com atividade fungicida.....	22
Figura 14: Estrutura química de alguns fármacos de ação antiprotozoária.....	24
Figura 15: Estrutura química de alguns derivados de isatina com atividade antiparasitária.....	25
Figura 16: (A) Incidência de doença de Chagas na América Latina.....	27
Figura 17: Ciclo de vida do <i>T.cruzi</i> . As diferentes formas do <i>T.cruzi</i> ao longo de seu ciclo evolutivo no hospedeiro vertebrado e invertebrado. Figura adaptada de WHO, 2000.....	28
Figura 18: Fármacos de utilidade clínica reconhecida.....	29
Figura 19: Densidade de casos de leishmaniose tegumentar americana por município, Brasil – 2003 e 2004.....	30
Figura 20: (A) <i>Leishmania</i> – Forma flagelada ou promastigota; (B) <i>Leishmania</i> – Forma aflagelada ou amastigota. (Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana, 2007).....	30
Figura 21: LTA- Lesão cutânea múltipla; LTA – Gato com lesão no focinho.....	31
Figura 22: Fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose.....	32
Figura 23: Fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose.....	33
Figura 24: Fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose.....	33
Figura 25: Fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose.....	34
Figura 26: Casos e óbitos de malária no Brasil de 1980 a 2005.....	35
Figura 27: Imagens de culturas atacadas pelo fungo <i>Rhizoctonia solani</i>	38
Figura 28: Sala climatizada com foto período de 12 horas sob luz artificial do dia e com temperatura de 23°C (± 1°C) e imagens de placas de Petri contendo sementes de alface.....	69
Figura 29: Provável estrutura do composto 1 (configuração Z).....	82
Figura 30: Configuração dos possíveis estereoisômeros.....	83
Figura 31: Possíveis ligações de hidrogênio realizadas pelos intermediários.....	84
Figura 32: Promastigotas de <i>Leishmania</i> tratados com derivados de isatina a 50µM. Protozoários avaliados após 72 horas de incubação a 26 °C (± 1 °C) em meio warren suplementado com 10% de soro fetal bovino.....	99
Figura 33: Epimastigotas de <i>Trypanosoma cruzi</i> tratados com derivados de isatina. Protozoários avaliados após 96 horas de incubação a 26 °C (± 1 °C) em meio LIT suplementado com 10% de soro fetal bovino.....	100
Figura 34: <i>P. falciparum</i> tratados com derivados de isatina. Protozoários avaliados após 24 horas de incubação a 37 °C em meio RPMI 1640 (GibcoBRL) suplementados com	

10% de plasma humano (inativado) e um hematócrito de 5% em uma atmosfera de 90% N ₂ ; 5% O ₂ ; 5% C.	101
Figura 35: Imagens do fungo <i>Rhizoctonia solani</i> em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo os derivados de isatina em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,5 mL.50mL ⁻¹) na concentração de 0,5 g.L ⁻¹ . Imagem capturada no final do ensaio das placas contendo o controle positivo e negativo e os compostos 5, 6, 9, 11, 12 e 16..	103
Figura 36: Imagens do fungo <i>Fusarium oxysporum</i> em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo os derivados de isatina em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,5 mL.50mL ⁻¹) na concentração de 0,5 g.L ⁻¹ . Imagem capturada no final do ensaio das placas contendo o controle positivo e negativo e os compostos 1, 2, 9, 11,12 e 15..	105
Figura 37: Imagem das placas de Petri contendo as sementes de alface submetidas a tratamento com os produtos em diclorometano na concentração de 0,4 g.L ⁻¹	107
Figura 38: Espectro de RMN- ¹ H do fosfonato de dietila (35).....	119
Figura 39: Espectro de infravermelho do fosfonato de dietila (35).....	120
Figura 40: Espectro de infravermelho do fosfito de dietilfosforilidrazina (38).	121
Figura 41: Espectro de RMN- ¹ H do fosfito de dietilfosforilidrazina (38).	122
Figura 42: Espectro de RMN- ¹³ C da dietilfosforilidrazina (38).....	123
Figura 43: Espectro de infravermelho do fosfito de dibutila (36).	124
Figura 44: Espectro de RMN- ¹ H do fosfonato de dibutila (36).	125
Figura 45: Espectro de massas do fosfonato de dibutila (36).....	126
Figura 46: Espectro de Infravermelho da dibutilfosforilidrazina (39).	127
Figura 47: Espectro de RMN- ¹ H da dibutilfosforilidrazina (39).....	128
Figura 48: Espectro de RMN- ¹³ C da dibutilfosforilidrazina (39).....	129
Figura 49: Espectro de massas da dibutilfosforilidrazina (39).	130
Figura 50: Espectro de Infravermelho do fosfonato de isobutila (37).....	131
Figura 51: Espectro de RMN- ¹ H de fosfonato de diisobutila (37).	132
Figura 52: Espectro de massas do fosfonato de diisobutila (37).	133
Figura 53: Espectro de Infravermelho da diisobutilfosforilidrazina (40).....	134
Figura 54: Espectro de RMN- ¹ H da diisobutilfosforilidrazina (40).	135
Figura 55: Espectro de RMN- ¹³ C da diisobutilfosforilidrazina (40).....	136
Figura 56: Espectro de massas da diisobutilfosforilidrazina (40).	137
Figura 57: Espectro de infravermelho de 1-benzilisatina (41).	138
Figura 58: Espectro de RMN- ¹ H de 1-benzilisatina (41).	139
Figura 59: Espectro de massas de 1-benzilisatina (41).....	140
Figura 60: Espectro de infravermelho de 1-metilisatina (42).....	141
Figura 61: Espectro de RMN- ¹ H de 1-metilisatina (42).....	142
Figura 62: Espectro de massas de 1-metilisatina (42).	143
Figura 63: Espectro de infravermelho de 1-(3-bromopropil) isatina (43).	144
Figura 64: Espectro de RMN- ¹ H de 1-(3-bromopropil) isatina (43).	145
Figura 65: Espectro de massas de 1-(3-bromopropil) isatina (43).	146
Figura 66: Espectro de infravermelho de 1-butilisatina (44).....	147
Figura 67: Espectro de RMN- ¹ H de 1-butilisatina (44).....	148
Figura 68: Espectro de massas de 1-butilisatina (44).	149
Figura 69: Espectro de RMN- ¹ H de 1-alilisatina (45).....	150
Figura 70: Espectro de infravermelho de 5-cloro-1-metilisatina (46).....	151
Figura 71: Espectro de RMN- ¹ H de 5-cloro-1-metilisatina (46).....	152
Figura 72: Espectro de massas de 5-cloro-1-metilisatina (46).	153
Figura 73: Espectro de infravermelho de 5-cloro-1-benzilisatina (47).	154
Figura 74: Espectro de RMN- ¹ H de 5-cloro-1-benzilisatina (47).	155
Figura 75: Espectro de massas de 5-cloro-1-benzilisatina (47).....	156

Figura 76: Espectro de massas de 5-cloroisatina (48).....	157
Figura 77: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> -[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]- éster de diisobutila (1).....	158
Figura 78: Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃ -200MHz) do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> -[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]- éster de diisobutila (1).....	159
Figura 79: Espectro de RMN- ¹³ C do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> -[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]- éster de diisobutila (1).....	160
Figura 80: Espectro de RMN- ³¹ P desacoplado do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> -[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]- éster de diisobutila (1).....	161
Figura 81: Espectro de massas do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> -[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]- éster de diisobutila (1).....	162
Figura 82: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> -[1,2-diidro-1-metil-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de diisobutila (2).....	163
Figura 83: Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃ -200MHz) do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> -[1,2-diidro-1-metil-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de diisobutila (2).....	164
Figura 84: Espectro de RMN- ¹³ C (CDCl ₃ -100MHz) do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> -[1,2-diidro-1-metil-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de diisobutila (2).....	165
Figura 85: Espectro de RMN- ³¹ P desacoplado do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> -[1,2-diidro-1-metil-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de diisobutila (2).....	166
Figura 86: Espectro de massas do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> -[1,2-diidro-1-metil-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de diisobutila (2).....	167
Figura 87: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> - [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (3).....	168
Figura 88: Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃ -200MHz) do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> - [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (3).....	169
Figura 89: Espectro de RMN- ¹³ C do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> - [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (3).....	170
Figura 90: Espectro de RMN - ³¹ P acoplado do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> - [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (3).....	171
Figura 91: Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃ -200MHz) do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> -[1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]- éster de diisobutila (4).....	172
Figura 92: Espectro de RMN- ¹³ C do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> -[1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]- éster de diisobutila (4).....	173
Figura 93: Espectro de RMN- ¹³ C do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> -[1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]- éster de diisobutila (4).....	174
Figura 94: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> - [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (5).....	175
Figura 95: Espectro de RMN - ¹ H (CDCl ₃ -400MHz) do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> - [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (5).....	176
Figura 96: Espectro de RMN - ¹³ C do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> - [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (5).....	177
Figura 97: Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃ -400MHz) do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> - [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (5).....	178
Figura 98: Espectro de massas do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> - [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-1-(fenil metil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (5).....	179
Figura 99: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> - [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (6).....	180
Figura 100: Espectro de RMN - ¹ H (CDCl ₃ -200MHz) do ácido fosforoidrazídico <i>N'</i> - [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (6).....	181

Figura 101: Espectro de RMN – ¹³ C do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (6).	182
Figura 102: Espectro de RMN - ³¹ P acoplado do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila.....	183
Figura 103: Espectro de massas do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (6).....	184
Figura 104: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [1,2-diidro-2-oxo-1-(2-propenil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (7).	185
Figura 105: Espectro de RMN – ¹ H (CDCl ₃ -400MHz) do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [1,2-diidro-2-oxo-1-(2-propenil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (7).	186
Figura 106: Espectro de RMN – ¹³ C do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [1,2-diidro-2-oxo-1-(2-propenil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (7).....	187
Figura 107: Espectro de RMN - ³¹ P acoplado do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [1,2-diidro-2-oxo-1-(2-propenil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (7).	188
Figura 108: Espectro de massa do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [1,2-diidro-2-oxo-1-(2-propenil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (7).....	189
Figura 109: Espectro de infravermelho de ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [1-(3-bromo propil)-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (8).....	190
Figura 110: Espectro de RMN – ¹ H (CDCl ₃ -200MHz) do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [1-(3-bromo propil)-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (8).....	191
Figura 111: Espectro de RMN – ¹³ C do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [1-(3-bromo propil)-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (8).....	192
Figura 112: Espectro de RMN – ³¹ P desacoplado do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> ' - [1-(3-bromo propil)-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (8).	193
Figura 113: Espectro de massas do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> ' - [1-(3-bromo propil)-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (8).	194
Figura 114: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> ' - [5-cloro-1,2-diidro-1-metil-2oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (9).....	195
Figura 115: Espectro de RMN – ¹ H (CDCl ₃ -400MHz) do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> ' - [5-cloro-1,2-diidro-1-metil-2oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (9).....	196
Figura 116: Espectro de RMN – ¹³ C do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> ' - [5-cloro-1,2-diidro-1-metil-2oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (9).....	197
Figura 117: Espectro de RMN - ³¹ P acoplado do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> ' - [5-cloro-1,2-diidro-1-metil-2oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (9).....	198
Figura 118: Espectro de massas do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> ' - [5-cloro-1,2-diidro-1-metil-2oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (9).	199
Figura 119: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [1,2-diidro-2-oxo-1-(fenilmetil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (10).	200
Figura 120: Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃ -200MHz) do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (10).	201
Figura 121: Espectro de RMN- ¹³ C (CDCl ₃ -200MHz) do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (10).	202
Figura 122: Espectro de RMN- ³¹ P desacoplado do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (10).	203
Figura 123: Espectro de massas do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [1,2-diidro-2-oxo-1-(fenilmetil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (10).	204
Figura 124: Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃ -400MHz) do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [(3 <i>Z</i>)-1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (10a).	205
Figura 125: Espectro de RMN- ¹³ C do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> ' - [(3 <i>Z</i>)-1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (10a).	206

Figura 126: Espectro de RMN- ³¹ P desacoplado do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> '-[(3 <i>Z</i>)-1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (10a).	207
Figura 127: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (11).	208
Figura 128: Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃ -400MHz) do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (11).	209
Figura 129: Espectro de RMN- ¹³ C do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (11).	210
Figura 130: Espectro de RMN- ³¹ P acoplado do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (11).	211
Figura 131: Espectro de massa do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (11).	212
Figura 132: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (12).	213
Figura 133: Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃ -200MHz) do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (12).	214
Figura 134: Espectro de RMN- ¹³ C (CDCl ₃ -100MHz) do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (12).	215
Figura 135: Espectro de RMN- ³¹ P acoplado do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (12).	216
Figura 136: Espectro de massa do ácido fosforoidrazídico <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster de dibutila (12).	217
Figura 137: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> '-[5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dibutila (13).	218
Figura 138: Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃ -400MHz) do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> '-[5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dibutila (13).	219
Figura 139: Espectro de RMN- ¹³ C do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> '-[5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dibutila (13).	220
Figura 140: Espectro de RMN- ³¹ P desacoplado do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> '-[5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dibutila (13).	221
Figura 141: Espectro de massas do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> '-[5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dibutila (13).	222
Figura 142: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dietila (14).	223
Figura 143: Espectro de RMN- ¹ H do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dietila (14).	224
Figura 144: Espectro de RMN- ¹³ C do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dietila (14).	225
Figura 145: Espectro de RMN- ³¹ P acoplado do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dietila (14).	226
Figura 146: Espectro de massas do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dietila (14).	227
Figura 147: Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃ -400MHz) do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dietila (15).	228
Figura 148: Espectro de RMN- ¹³ C do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dietila (15).	229
Figura 149: Espectro de RMN- ³¹ P acoplado do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dietila (15).	230
Figura 150: Espectro de massa do ácido fosforoidrazídico, <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster dietílico (15).	231

Figura 151: Espectro de infravermelho do ácido fosforidrazídico, <i>N</i> ' - [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dietila (16).	232
Figura 152: Espectro de RMN – ¹ H (CDCl ₃ -400MHz) do ácido fosforidrazídico, <i>N</i> ' - [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dietila (16).	233
Figura 153: Espectro de RMN – ¹³ C do ácido fosforidrazídico, <i>N</i> ' - [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dietila (16).	234
Figura 154: Espectro de RMN - ³¹ P acoplado do ácido fosforidrazídico, <i>N</i> ' - [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dietila (16).	235
Figura 155: Espectro de massa do ácido fosforidrazídico, <i>N</i> ' - [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dietila (16).....	236

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Protozooses de maior impacto mundial.....	23
Tabela 2: Fármacos para doenças tropicais introduzidos no mercado através de parcerias público-privadas (WHO, 2008; MMV, 2008; DNDi, 2008).	26
Tabela 3: Rendimentos dos fosfonatos de dialquila.	72
Tabela 4: Dados de infravermelho das principais bandas de absorção dos fosfonatos de dialquila sintetizados.*.....	73
Tabela 5: Deslocamentos químicos de RMN de ^1H dos fosfonatos de dialquila sintetizados.	74
Tabela 6: Principais bandas de absorção das dialquifosforilidrazinas.*	77
Tabela 7: Dados de RMN de ^1H das dialquifosforilidrazinas.	78
Tabela 8: Dados de RMN de ^{13}C das dialquifosforilidrazinas.	79
Tabela 9: Dados dos compostos sintetizados.	81
Tabela 10: Principais bandas de absorção das dialquifosforilidrazonas sintetizadas.*	87
Tabela 11: Dados de RMN de ^1H das diisobutilfosforilidrazonas.....	89
Tabela 12: Dados de RMN de ^1H das dibutilfosforilidrazonas.	91
Tabela 13: Dados de RMN de ^1H das dietilfosforilidrazonas.	92
Tabela 14: Dados de RMN- ^{13}C das diisobutilfosforilidrazonas.....	1
Tabela 15: Dados de RMN- ^{13}C das dibutilfosforilidrazonas.....	1
Tabela 16: Dados de RMN- ^{13}C das dietilfosforilidrazonas.....	1
Tabela 17: Dados de RMN- ^{31}P das dialquifosforilidrazonas.	97
Tabela 18: Porcentagem de inibição dos compostos testados.	99
Tabela 19: Porcentagem de inibição dos compostos testados.	100
Tabela 20: Crescimento miscelial do fungo <i>Rhizoctonia solani</i> em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo as dialquifosforilidrazonas derivadas de isatina em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,5 mL.50 mL $^{-1}$) na concentração de 0,5 g.L $^{-1}$	102
Tabela 21: Crescimento miscelial do fungo <i>Fusarium oxysporum</i> em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo as dialquifosforilidrazonas derivadas de isatina em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,5 mL.50 mL $^{-1}$) na concentração de 0,5 g.L $^{-1}$	104
Tabela 22: Percentual de germinação de sementes de alface comercial em placas de Petri submetidas a tratamento com derivados de isatina diluídos em diclorometano na concentração de 0,4 g.L $^{-1}$	106

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1	Compostos Organofosforados.....	4
2.2	As isatinas.....	11
2.2.1	Síntese de isatina	11
2.2.2	Reações de isatinas	12
2.2.3	Ataque Nucleofílico nas posições C-2 e C-3.....	13
2.2.4	Reações de <i>N</i> -alquilação e <i>N</i> -acilação.....	16
2.2.5	Reações de cloração de isatinas.....	18
2.3	Hidrazonas	19
2.4	Estudos Biológicos.....	22
2.4.1	Doenças Tropicais	22
2.4.2	Doenças de Chagas.....	26
2.4.3	Leishmaniose	30
2.4.4	Malária.....	35
2.5	Fitopatógenos.....	36
2.6	Efeito dos compostos organofosforados na germinação	38
3	OBJETIVOS.....	39
4	MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1	Considerações Gerais.....	40
4.2	Síntese dos fosfonatos de dialquila	41
4.2.1	Síntese do fosfonato de dietila (35)	42
4.2.2	Síntese do fosfonato de dibutila (36).....	42
4.2.3	Síntese do fosfonato de diisobutila (37).	42
4.3	Síntese das dialquilfosforilidrazinas.....	43
4.3.1	Síntese da dietilfosforilidrazina (38).	44
4.3.2	Síntese da dibutilfosforilidrazina (39).	44
4.3.3	Síntese da diisobutilfosforilidrazina (40).	45
4.4	Reações de <i>N</i> -alquilação de isatina.....	45
4.4.1	Síntese da 1-benzilisatina (41).....	46
4.4.2	Síntese de 1-metilisatina (42).	46
4.4.3	Síntese do 1-(3-bromopropil) isatina (43).	47
4.4.4	Síntese do 1-butilisatina (44).....	48
4.4.5	Síntese do 1-alilisatina (45).	48
4.4.6	Síntese do 5-cloro-1-metilisatina (46).	48
4.4.7	Síntese do 5-cloro-1-benzilisatina (47).	49
4.5	Reação de cloração de isatina.....	49
4.5.1	Síntese do 5-cloroisatina (48).	50
4.6	Síntese das dialquilfosforilidrazonas.....	51
4.6.1	Síntese do Ácido fosforoidrazídico <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-éster (2-metil propílico). (1)	52

4.6.2	Síntese do Ácido fosforidrazídico <i>N</i> '-[1,2-diidro-1-metil-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster (2-metil propílico) (2).....	53
4.6.3	Síntese do Ácido fosforidrazídico <i>N</i> '- [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-éster bis (2-metil propílico) (3).....	54
4.6.4	Síntese do Ácido fosforidrazídico <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-1-(fenilmetil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]- éster (2 –metil propílico) (4)	55
4.6.5	Síntese do ácido fosforidrazídico, <i>N</i> '- [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster bis (2-metil propílico). (5).....	56
4.6.6	Síntese do ácido fosforidrazídico, <i>N</i> '- [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster (2-metil propílico). (6).....	57
4.6.7	Síntese do ácido fosforidrazídico, <i>N</i> '- [1,2-diidro-2-oxo-1-(2-propenil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster bis (2-metil propílico). (7).....	58
4.6.8	Síntese do ácido fosforidrazídico, <i>N</i> '- [1-(3-bromo propil)-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster (2-metil propílico). (8).....	59
4.6.9	Síntese do ácido fosforidrazídico, <i>N</i> '- [5-cloro-1,2-diidro-1-metil-2oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster (2-metil propílico). (9).....	60
4.6.10	Síntese do Ácido fosforidrazídico <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-1-(fenilmetil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]- éster dibutílico. (10)	61
4.6.11	Síntese do Ácido fosforidrazídico <i>N</i> '-[1,2-diidro-1-metil-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster dibutílico. (11)	62
4.6.12	Síntese do Ácido fosforidrazídico <i>N</i> '-[1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno] éster dibutílico. (12).....	63
4.6.13	Síntese do Ácido fosforidrazídico, <i>N</i> '- [5-cloro-1,2-diidro-2oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster de dibutila. (13)	64
4.6.14	Síntese do ácido fosforidrazídico, <i>N</i> '- [1,2-diidro-2-oxo-1-(fenil metil)-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster dietílico. (14)	65
4.6.15	Síntese do ácido fosforidrazídico, <i>N</i> '- [1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster dietílico. (15).....	66
4.6.16	Síntese do ácido fosforidrazídico, <i>N</i> '- [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3 <i>H</i> -indol-3-ilideno]-, éster dietílico. (16)	67
4.7	Ensaio de letalidade sobre <i>Leishmania (L.) amazonensis</i> e <i>Trypanosoma cruzi</i> . 68	
4.7.1	Medidas de proliferação celular	68
4.8	Atividade sobre o desenvolvimento sobre o fungo <i>Rhizoctonia solani</i>	68
4.9	Atividade sobre germinação de sementes.....	69
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
5.1	Síntese dos fosfonatos de dialquila.....	70
5.1.1	Determinação estrutural dos fosfonatos de dialquila.....	72
5.1.2	Síntese das dialquifosforilidrazinas.....	75
5.1.3	Determinação estrutural das dialquifosforilidrazinas.....	76
5.1.4	Síntese das dialquifosforilidrazonas.....	80
5.1.5	Determinação estrutural das dialquifosforilidrazonas.....	87
5.2	Ensaio Biológicos.....	99
5.2.1	Ensaio com protozoários.....	99
5.2.1.1	Ensaio em <i>Leishmania L. amazonensis</i>	99
5.2.2	Ensaio com fungos fitopatogênicos	102
5.2.3	Ensaio com germinação de sementes.	106
6	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	109

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

as	Assimétrico
BDA	Batata-dextrose-agar
DMSO	Dimetilsulfóxido
d	duplete
dt	duplo tripleto
Hz	Hertz
IC ₅₀	Concentração inibitória a 50%
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
LTA	Leishmaniose tegumentar americana
LC	Leishmaniose cutânea
LCD	Leishmaniose cutânea difusa
LV	Leishmaniose visceral
m	multiplete
m/z	relação massa/carga
ppm	partes por milhão
q	quarteto
qui	quinteto
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
s	simpleto
sex	sexteto
sim	simétrico
v	estiramento
t	tripleto
δ	Na espectrometria de IV: deformação angular Na espectrometria de RMN: deslocamento químico

1 INTRODUÇÃO

Os compostos organofosforados fazem parte de uma classe importante de inseticidas comerciais e sua descoberta foi um exemplo excelente de aplicação na química para a investigação da dependência da atividade biológica sobre a estrutura (NATH & KUMAR, 1999).

Estas substâncias vêm sendo amplamente utilizadas como inseticidas, fungicidas e parasiticidas na agricultura, desde a II Guerra Mundial, (ECOBICHON, 1996, SOARES, 1998). Atualmente, os organofosforados são os inseticidas mais utilizados na agricultura e nos ambientes domésticos (SINGH *et al.*, 1995). Além do amplo emprego como pesticidas, alguns organofosforados têm potencial medicamentoso, com ações que os tornariam passíveis de serem utilizados no tratamento do glaucoma e da miastenia gravis, embora sejam subutilizados, por serem medicamentos de risco, tendo sua dose tóxica próxima à dose terapêutica. Estes compostos são ainda utilizados em saúde pública no controle de vetores, como o da malária (NAMBA *et al.*, 1971, CARLTON *et al.*, 1998) e de outras doenças, como a dengue.

Em 1820, Lassaigne sintetizou o primeiro éster fosforado. Posteriormente, na Alemanha, o químico Michaelis evoluiu bastante a pesquisa destes compostos. Embora um grande número de compostos organofosforados tenha sido descoberto no início do século, o conhecimento de seus efeitos deletérios só foram relatados em 1932, quando Lang e Kreuger observaram efeitos tóxicos em ratos. A descoberta resultou em um grande número de novos usos potenciais para os compostos organofosforados, incluindo o seu uso como gases neurotóxicos, chamados de "*gases dos nervos*", os conhecidos gases de guerra *sarin*, *soman* e *tabun*, que foram usados na II Guerra Mundial. Na Guerra do Golfo, houve rumores sobre a ameaça da utilização destas armas químicas, o que motivou a distribuição de máscaras contra gases e atropina, para a população civil (ROSATI *et al.*, 1995), e os militares, por sua vez, portavam auto-injetores contendo atropina e Pralidoxima, para tratar eventual exposição aos gases neurotóxicos (CARLTON *et al.*, 1998). Recentemente, estes gases tornaram-se notórios, pelo seu uso como agentes de ataques terroristas, como o que ocorreu em 19 de março de 1995, no metrô de Tóquio, no Japão, envolvendo o gás *sarin* (ROSATI *et al.*, 1995, CARLTON *et al.*, 1998).

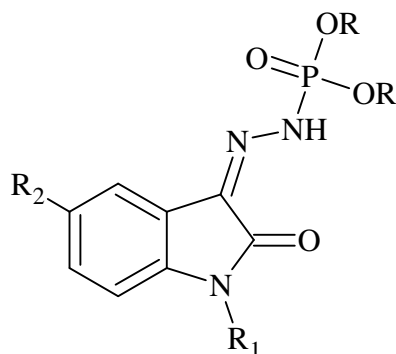
Os organoclorados eram até 1957 os compostos mais usados como pesticidas. Entretanto, esses foram sendo substituídos pelos organofosforados em função do reconhecido potencial inseticida e a menor persistência ambiental e posteriormente, em parte pelos carbamatos (GALLO *et al.*, 1991). Nos últimos anos, mais de 200 organofosforados diferentes e mais de 25 carbamatos são produzidos (ROSATI *et al.*, 1995, ECOBICHON, 1996) e comercializados, sendo as principais classes de pesticidas utilizadas nos Estados Unidos e em todo o mundo, movimentando bilhões de dólares anualmente (SAADEH *et al.*, 1996, CARLTON *et al.*, 1998).

Vários compostos de fósforo orgânicos estão se tornando bastante importantes. Entre as diversas aplicações industriais pode ser citado o uso como reagente de flotação, matéria-prima na síntese de plásticos não inflamáveis, antioxidantes, plastificantes, aditivo para óleos lubrificantes e combustíveis hidrocarbônicos, solventes aplicados em extrações seletivas e, principalmente, como inseticidas (TOY, 1976; COFFEY, 1965; FISHER, 1961) e agentes antitumorais (TEICHER, 1994; MICHAELIS, 1998). As aplicações industriais, junto com o aumento do uso de compostos de fósforo em síntese orgânica e na química de compostos organometálicos, têm adquirido um rápido aumento na literatura da química de organofosforados.

Na área medicinal, tanto os compostos organofosforados quanto as hidrazonas, que são uma porção das moléculas sintetizadas neste trabalho, 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), e estudos recentes mostram que esta classe de compostos, inibem o crescimento do protozoário *Trypanosoma cruzi in vitro* e *in vivo*, por meio da competição com o pirofosfato em sua via metabólica sem causar toxicidade nas células hospedeiras (SZAJNMAN, *et al.*, 2001). Já as hidrazonas têm sido relatadas como substâncias com potencial capacidade analgésica, antimicrobiana, antitumoral, dentre outras (BARREIRO *et al.*, 2000; BARREIRO *et al.*, 2002).

Nos últimos anos, uma grande variedade de compostos biologicamente ativos, obtidos a partir de isatinas e de hidrazonas derivadas de isatinas, tem sido preparada. Estas substâncias apresentam grande diversidade de atividades, tais como, antiparasitários (CHIBALE *et al.*, 2003; CHIBALE *et al.*, 2005), anticonvulsivantes (SINGH *et al.*, 2004), citostáticos (GAETA *et al.*, 2000), antiarrítmicos (JENSEN *et al.*, 2000); antiinflamatórios (BOECHAT *et al.*, 2000), antivirais (JUANG *et al.*, 2005; LAI *et al.*, 2006), e antirretrovirais (SELVAM *et al.*, 2001).

Dando continuidade aos trabalhos que vêm sendo realizados pelo grupo de síntese da UFRRJ na área de síntese de compostos organofosforados (DACOSTA., 1996; DACOSTA *et al.*, 2007; CAIXEIRO.,2007; NOGUEIRA., 2007; DOS SANTOS., 2003) e em virtude da ampla versatilidade e aplicabilidade desses compostos, buscou-se a síntese de dialquilfosforilidrazônicos derivados da isatina, com o objetivo de obter substâncias com atividades biológicas potencializadas. No âmbito deste trabalho foram sintetizados 16 compostos dialquilfosforilidrazônicos, sendo que, todos são inéditos. Os compostos sintetizados estão apresentados na **Figura 1**.



- | | |
|--|---|
| (1) R = isobutil, R ₁ = H, R ₂ = H | (9) R = isobutil, R ₁ = CH ₃ , R ₂ = Cl |
| (2) R = isobutil, R ₁ = CH ₃ , R ₂ = H | (10) R = butil, R ₁ = CH ₂ C ₆ H ₅ , R ₂ = H |
| (3) R = isobutil, R ₁ = C ₄ H ₉ , R ₂ = H | (11) R = butil, R ₁ = H, R ₂ = H |
| (4) R = isobutil, R ₁ = CH ₂ C ₆ H ₅ , R ₂ = H | (12) R = butil, R ₁ = CH ₃ , R ₂ = H |
| (5) R = isobutil, R ₁ = CH ₂ C ₆ H ₅ , R ₂ = Cl | (13) R = butil, R ₁ = H, R ₂ = Cl |
| (6) R = isobutil, R ₁ = H, R ₂ = Cl | (14) R = etil, R ₁ = CH ₂ C ₆ H ₅ , R ₂ = H |
| (7) R = isobutil, R ₁ = C ₃ H ₅ , R ₂ = H | (15) R = etil, R ₁ = H, R ₂ = H |
| (8) R = isobutil, R ₁ = C ₃ H ₆ Br, R ₂ = H | (16) R = etil, R ₁ = C ₄ H ₉ , R ₂ = H. |

Figura 1: Compostos dialquilfosforilidrazônicos sintetizados neste trabalho.

Além de terem sido caracterizados pelas técnicas usuais de espectroscopia, os compostos sintetizados neste trabalho foram avaliados quanto a diferentes tipos de atividades. Os compostos de 1 a 7, 10, 11 e 12 foram avaliados quanto a atividade antiprotozooses frente à *Leishmania amazonensis*, *Trypanosoma cruzi* e *Plasmodium falciparum*. Alguns compostos foram avaliados quanto à ação inibidora sobre o crescimento dos fungos *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum*. Foi também realizado um estudo da influência destes compostos sobre germinação de plântulas de alface (*Lactuca sativa*).

2 REVISÃO DE LITERATURA

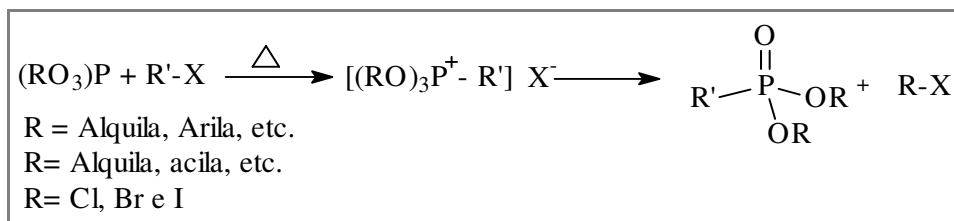
2.1 Compostos Organofosforados

Os compostos orgânicos de fósforo são os constituintes essenciais do protoplasma e possuem um papel importante para a manutenção da vida, por exemplo, como ácidos nucléicos, coenzimas nucleotídeos, intermediários metabólicos e fosfatídeos. Muitos compostos organofosforados são produzidos artificialmente para usos práticos como lubrificantes, óleo aditivos, plastificantes, e pesticidas (ETO, 1974). Os pesticidas organofosforados não incluem somente inseticidas, mas também fungicidas, herbicidas, e outros. Isto é surpreendente, para conhecer de que tal grande variedade em propriedades químicas, físicas e biológicas é governada pela seleção de grupos ligados ao átomo de fósforo. As diferentes atividades dos compostos organofosforados estão relacionadas, evidentemente, com características estruturais, tais como o tipo de heteroátomo ou grupo funcional ligado ao átomo de fósforo e seu estado de oxidação. Destacam-se os substituintes oxigenados e os estados de oxidação mais comuns deste elemento, P^V que são encontrados na natureza e P^{III} .

O grande avanço da química do fósforo está na variedade de compostos orgânicos e inorgânicos que este pode formar (RODRIGUES, 2002), o que é devido principalmente a sua distribuição eletrônica com orbitais d acessíveis e também por ser um átomo polarizável e eletropositivo (DACOSTA, 1996)

A pesquisa no campo da química orgânica de fósforo foi primeiro iniciada por Lassaigne em 1820, para preparar ésteres fosfatos (ETO, 1974). A química dos compostos organofosforados foi desenvolvida por Michaelis na Alemanha, conhecido como o fundador da química dos compostos organofosforados, que no final do século passado, explorou a nucleofilicidade do fósforo (MICHAELIS & KAEHNE, 1998), que foi estudada em detalhes por ARBUZOV (1906) e vários outros cientistas subsequentes (HARVEY & DESOMBRE, 1964). Michaelis executou muitos trabalhos para a química de compostos contendo a ligação P-N (ETO, 1974). Sobrepondo os últimos estágios de Michaelis, um químico Russo, A. E. Arbuzov, conduziu extensivamente a pesquisa, especialmente na química de compostos trivalentes, incluindo a famosa reação Michaelis-Arbuzov para formar a ligação P-C (ARBUZOV, 1910). Este trabalho foi continuado por seu irmão B. A. Arbuzov.

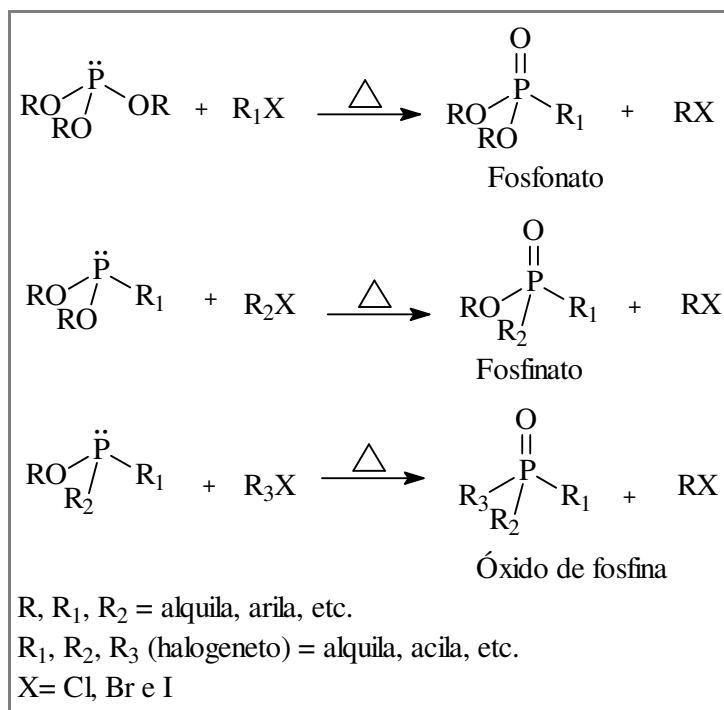
O rearranjo de Michaelis-Arbuzov, também conhecido como rearranjo de Arbuzov, é um dos caminhos mais versáteis para a formação da ligação carbono-fósforo que envolve a reação de um fosfito de trialquila com um halogeneto de alquila (FORD-MOORE & PERRY, 1963; CADOGAN, 1979), **Esquema 1**.



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

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

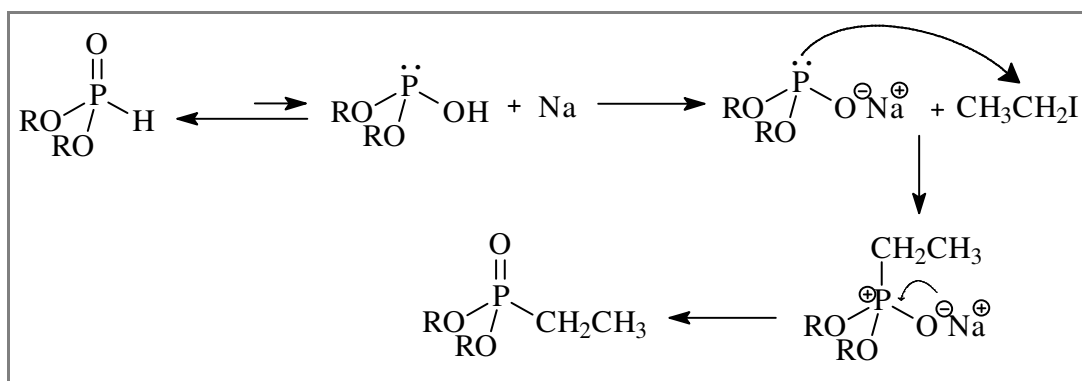
Durante a transformação, o fósforo trivalente (P^{III}) é convertido em fósforo pentavalente (P^{V}). Em geral, o grupo alquila do halogeneto liga-se ao fósforo e um grupo alquila do fósforo é combinado com o halogênio para formar um novo halogeneto de alquila, conforme é mostrado no **Esquema 2**.



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

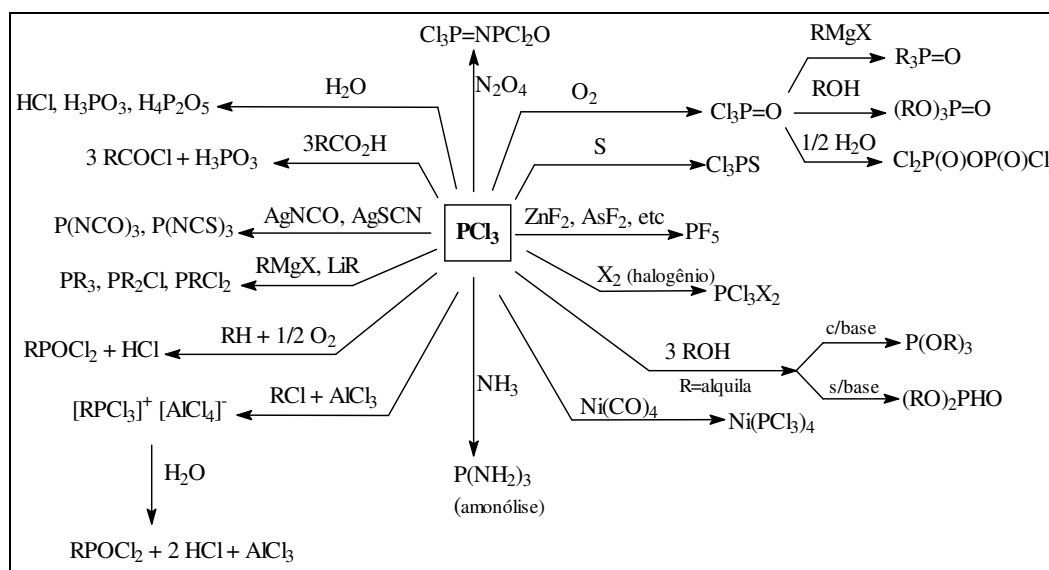
A literatura registra que a conversão de P-O-C para P(=O)-C (PIII \rightarrow PV) envolve uma quantidade de energia em torno de 32-65 Kcal/mol na estabilização total da ligação e, portanto, age como força diretora do rearranjo (MARK, 1969).

Uma outra variação, conhecida como reação de Michaelis-Becker (MICHAELIS & BECKER, 1897), envolve a síntese de fosfonato de dialquilalquila, através do deslocamento nucleofílico entre o ânion formado pela reação de fosfito de dialquila em presença de base forte, com um halogeneto de alquila, conforme mostrado no **Esquema 3**.



Esquema 3: Reação de Michaelis-Becker.

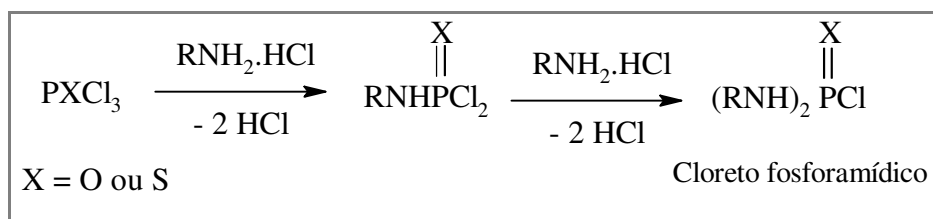
Dentre os compostos de fósforo, o tricloreto de fósforo (PCl_3) se apresenta como o reagente fosforado mais utilizado na síntese de compostos organofosforados e demais compostos, por ser extremamente reativo, possuindo diversas aplicações sintéticas (COTTON, 1988), as quais são mostradas no **Esquema 4**.



Esquema 4: Aplicações sintéticas do PCl_3 .

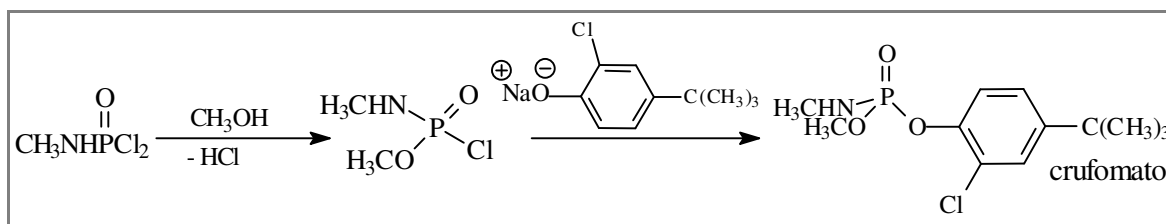
O manuseio de PCl_3 deve ser extremamente cuidadoso, pois o mesmo é instável, uma vez que é facilmente hidrolisado. Isto é devido ao poder eletrofílico do átomo de fósforo, que está ligado a três átomos de cloro (COTTON, 1988).

A ligação P-N, que caracteriza as fosforamidas, é geralmente formada por reações de cloretos de fósforo (PCl_3), cloreto de fosforila ou compostos trivalentes de fósforo com diferentes aminas ou amônia (TOY, 1976; FISHER *et al.*, 1961), **Esquema 5**.



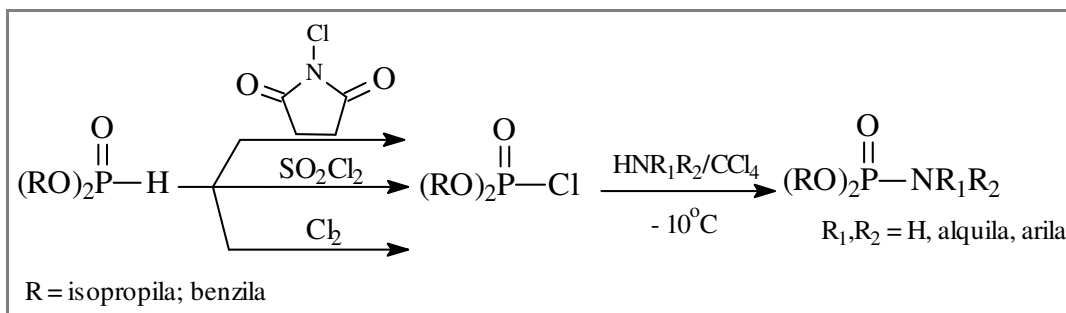
Esquema 5: Reação de cloretos de fósforo com aminas.

A partir de cloretos fosforamídicos, uma variedade de pesticidas do tipo fósforo-alcoxi e fósforo-amido-ésteres podem ser produzidas, como por exemplo, a preparação do crufomato (RAIJSKI *et al.*, 1998), **Esquema 6**.



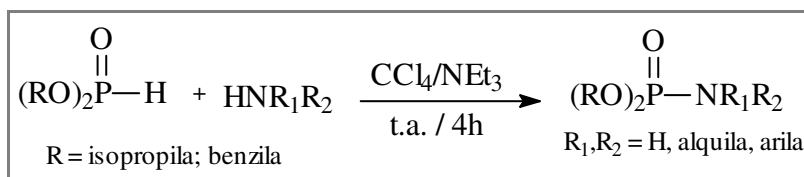
Esquema 6: Preparação do inseticida crufomato.

Os métodos de síntese de fosforamidas foram descritos a partir de 1945 com uma série de trabalhos realizados por Atherton (ATHERTON *et al.*, 1945). Nos trabalhos iniciais, fosforilcloridratos de dialquila formados como intermediário de reação eram usados como agentes de fosforilação, em meio anidro, conforme mostrado no **Esquema 7**.



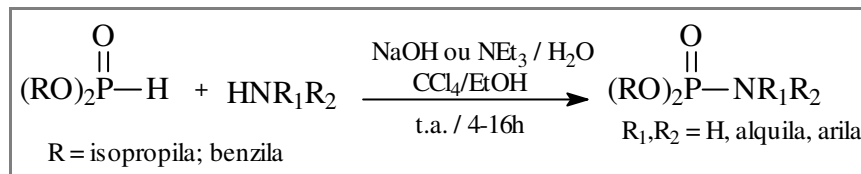
Esquema 7: Síntese de fosforamidas a partir de fosfonatos de dialquila.

Posteriormente, foi descoberto que fosfonatos de dialquila reagem diretamente com aminas e tetracloreto de carbono em meio básico, de modo mais brando e com resultados igualmente satisfatórios. Os fosfonatos de dialquila reagem suavemente com aminas primárias, secundárias ou amônia em tetracloreto de carbono para fornecer fosforamidatos de dialquila em excelentes rendimentos, **Esquema 8** (ATHERTON *et al.*, 1945).



Esquema 8: Reação de fosfonatos de dialquila com aminas.

Com pequenas modificações dos métodos de Atherton, Zhao (ZHAO *et al.*, 1984 e 1988) desenvolveu uma nova reação de fosforilação de aminas, que utiliza meio aquoso em reação bifásica com fosfito de diisopropila e tetracloreto de carbono, **Esquema 9**. Estas modificações melhoram, principalmente, os rendimentos das reações com aminoácidos e com aminas insolúveis em tetracloreto de carbono.



Esquema 9: Fosforilação de aminas em sistema bifásico com fosfonato de dialquila e CCl_4 .

Os compostos de fósforo pentavalente que possuem em sua estrutura os grupamentos funcionais P-O, P-S ou P-N funcionam como eficazes agentes de coordenação (COTTON *et al.*, 1963; HAUPT *et al.*, 1986), pois possuem, ligados ao átomo de fósforo, átomos que são eletrodoadores, o que propicia a coordenação com íons metálicos.

Os compostos organofosforados também se destacam na bioquímica e medicina, como o ciclofosfamida (Endoxan) mostrado na **Figura 2**, ativo como agente antitumoral (ARNOLD *et al.*, 1961).

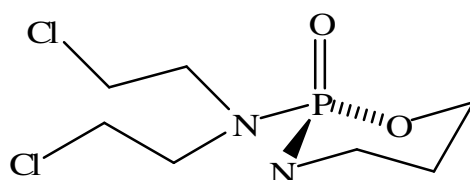


Figura 2: Endoxan, utilizado como agente antitumoral.

Os fosfonatos possuem atividade antibacteriana, antiviral e antitumoral e são também usados como retardantes de chama. Eles contêm uma ligação direta carbono-fósforo, quimicamente e termicamente muito estável e confere à molécula muito mais resistência a degradação não-biológica no ambiente do que seus análogos com ligação N-P, S-P ou O-P.

O fosfonato mais difundido é a *N*-fosfometilglicina, mais conhecido como glifosato, designado pelo nome comercial de Roundup (KERTZ *et al.*, 1994), utilizado como herbicida (**Figura 3**).

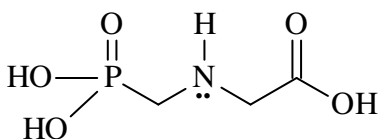


Figura 3: Glifosato (Roundup)®.

Os bisfosfonatos formam uma classe de substâncias químicas que apresenta um grupo P-C-P em sua estrutura, como mostra a **Figura 4**, e agem como inibidores da reabsorção óssea, mediada pelos osteoclastos. Estes compostos são extensivamente utilizados no tratamento de várias doenças ósseas, destacando-se a doença de Paget, a

hipercalcemia maligna, a osteoporose e a doença metastática e osteolítica (FERNANDES *et al.*, 2005).

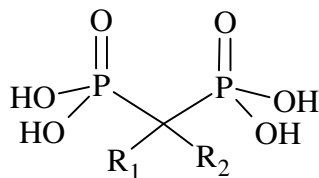


Figura 4: Estrutura química geral dos bisfosfonatos.

Estudos recentes mostram que os bisfosfonatos inibem o crescimento do protozoário *T. cruzi* *in vitro* e *in vivo*, por meio da competição com o pirofosfato em sua via metabólica, sem causar toxicidade nas células hospedeiras (SZAJNMAN, *et al.*, 2001). Foi verificada a ação dos bisfosfonatos que possuem nitrogênio na cadeia lateral, sobre o crescimento dos parasitos *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii* e *Plasmodium falciparum*. O mecanismo de ação dos BP's consiste, basicamente, na inibição da formação de proteínas de importância vital para os parasitos (MARTIN, *et al.*, 2001). A **Figura 5** (URBINA *et al.*, 2003) mostra algumas estruturas de bisfosfonatos com atividade anti-*T. cruzi*.

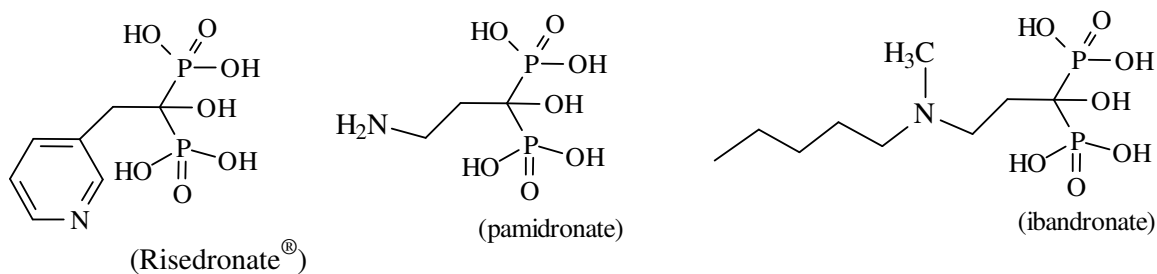


Figura 5: Bisfosfonatos com atividade anti-*T. cruzi*.

Devido à sua capacidade quelante, os bisfosfonatos também têm sido estudados para elaboração de novos medicamentos capazes de controlar a quantidade de íons ferro e alumínio no organismo humano (KONTECKA *et al.*, 2002).

2.2 As isatinas

Como a isatina foi a matéria-prima amplamente utilizada, como uma porção das fosforilidrazonas sintetizadas neste trabalho, será mostrada uma pequena revisão das principais reações que envolvem esta substância.

A isatina (1*H*-indol-2,3-diona) **Figura 6** foi obtida pela primeira vez por Erdman e Laurent em 1841 como um produto da oxidação do índigo pelos ácidos nítrico e crômico (SUMPTER, 1954). Pode ser encontrada na natureza em plantas do gênero *Isatis* (GUO *et al.*, 1998), nas espécies *Calanthe discolor* Lindl. (YOCHIKAWA *et al.*, 1998) e *Couropita guianensis* Aubl. (BERGMAN *et al.*, 1985), e ainda, na secreção da glândula parótida de sapos *Bufo* (WEI *et al.*, 1982).

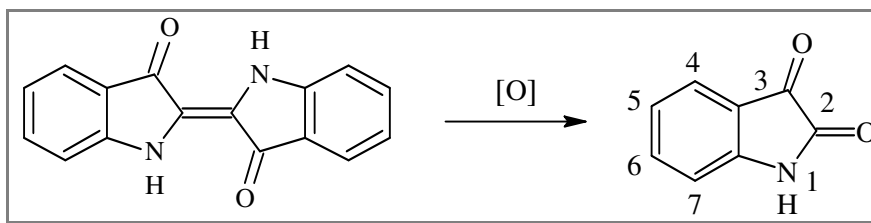
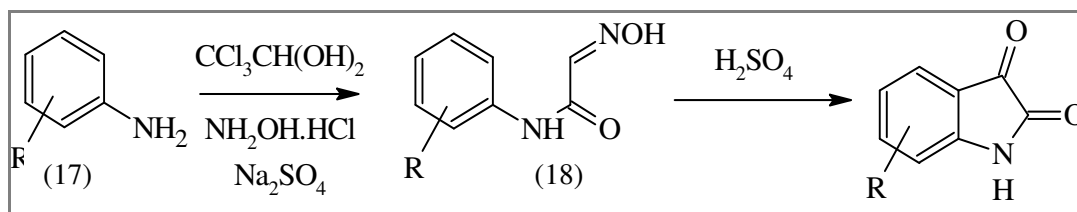


Figura 6: Obtenção da isatina pela oxidação do índigo.

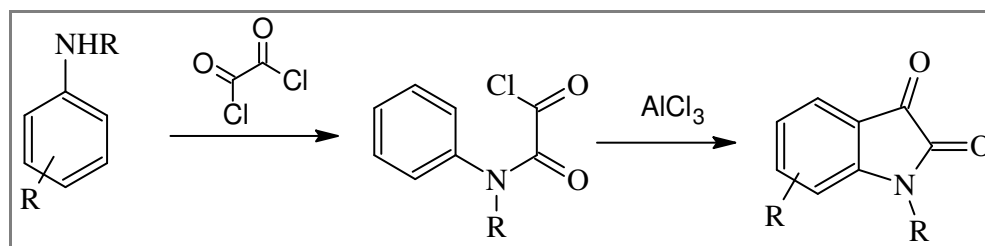
2.2.1 Síntese de isatina

Sandmeyer foi o primeiro cientista a desenvolver uma metodologia sintética para a obtenção de isatinas. Este procedimento, apesar de ser o mais antigo, é o mais empregado e baseia-se na reação entre uma anilina (17), hidrato de cloral, cloridrato de hidroxilamina e sulfato de sódio, formando a isonitrosoacetanilida (18). Esta, por ciclização, em presença de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4), fornece a isatina desejada com um rendimento total superior a 75 % (SANDMEYER, 1919; ALAM *et al.*, 1989) (**Esquema 10**).



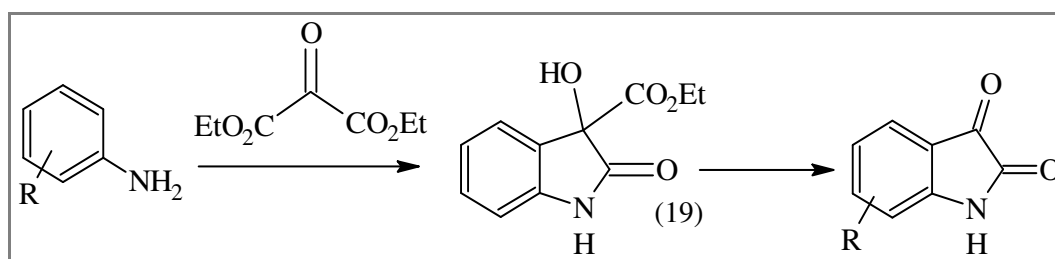
Esquema 10: Obtenção da isatina pelo método de Sandmeyer.

No método conhecido como Stolle a anilina reage com cloreto de oxalila formando o intermediário, que é então ciclizado em presença de ácido de Lewis. É uma das metodologias mais empregadas, depois do método de Sandmeyer (STOLLE, 1914; LOLOIU *et al.*, 1997) (**Esquema 11**).



Esquema 11: Obtenção da isatina pelo método de Stolle.

Na síntese de Martinet o cloreto de oxalila é substituído por oxomalonato de etila, gerando o dioxindol (19), que após descarboxilação oxidativa, fornece a respectiva isatina. (TAYLOR, 1980) (**Esquema 12**).



Esquema 12: Obtenção da isatina pelo método de Martinet.

Outros métodos sintéticos têm sido descritos para obtenção do núcleo isatínico, porém, apresentam menores rendimentos reacionais e aplicabilidade.

2.2.2 Reações de isatinas

As isatinas são versáteis materiais de partida para a preparação de outras classes de compostos, resultado da diferença na reatividade de suas carbonilas. A carbonila C-2 é tipicamente uma amida e a C-3 é essencialmente cetônica, tornando-as quimiosseletivas frente a nucleófilos (SILVA *et al.*, 2001). Desta forma as isatinas podem reagir principalmente de três formas diferentes: substituição eletrofílica aromática em C-5, *N*-alquilação em N-1 e adição nucleofílica as carbonilas C-2 e/ou C-3 (**Figura 7**)

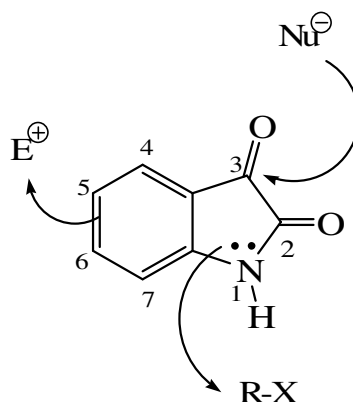


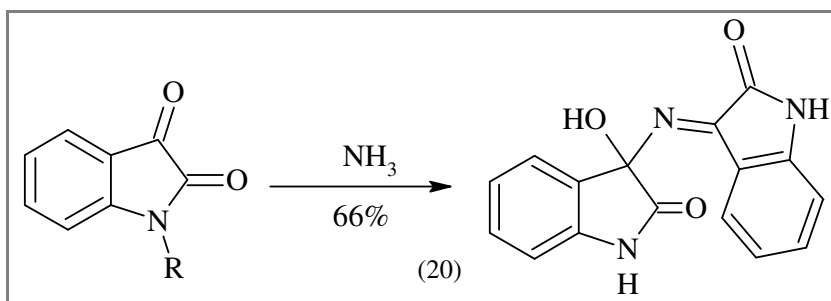
Figura 7: Diferentes centros de reatividades da isatina.

2.2.3 Ataque Nucleofílico nas posições C-2 e C-3

As isatinas podem sofrer ataques nucleofílicos em C-2 e C-3. A seletividade destas reações dependerá da natureza do nucleófilo e dos substituintes presentes em N-1 e no núcleo isatínico (BERGMAN *et al.*, 1988). Os nucleófilos mais comuns são:

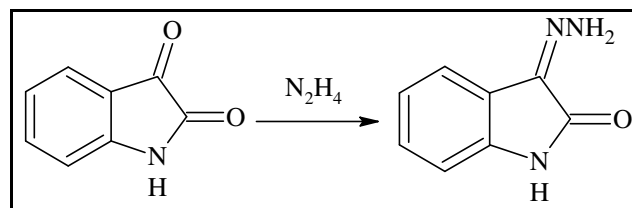
- ❖ Amônia, hidroxilamina e hidrazina;
- ❖ Alquilaminas;
- ❖ Anilinas e aminas heterocíclicas;
- ❖ Oxigênio, enxofre e fósforo.

Em reações do núcleo isatínico e seus derivados *N*-alquilados com amônia, na forma de hidróxido ou acetato, o ataque nucleofílico ocorrerá na carbonila C-3, fornecendo uma mistura de produtos, sendo o ácido isâmico (20) o principal produto (CORNFORTH, 1976) (WATIEN *et al.*, 1991) (**Esquema 13**).



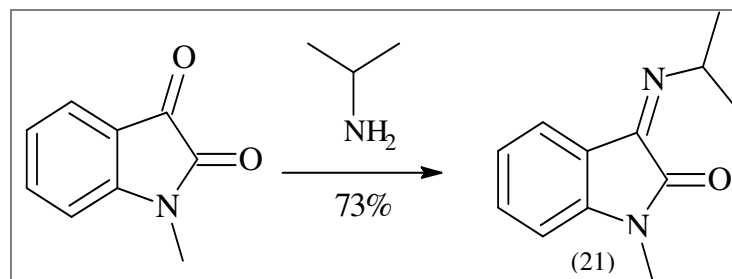
Esquema 13: Reação de isatina com amônia.

As hidrazinas, alquilhidrazinas e arilhidrazinas reagem com isatina e *N*-alquilisatinas formando as isatinas-3-hidrazonas correspondentes (**Esquema 14**).



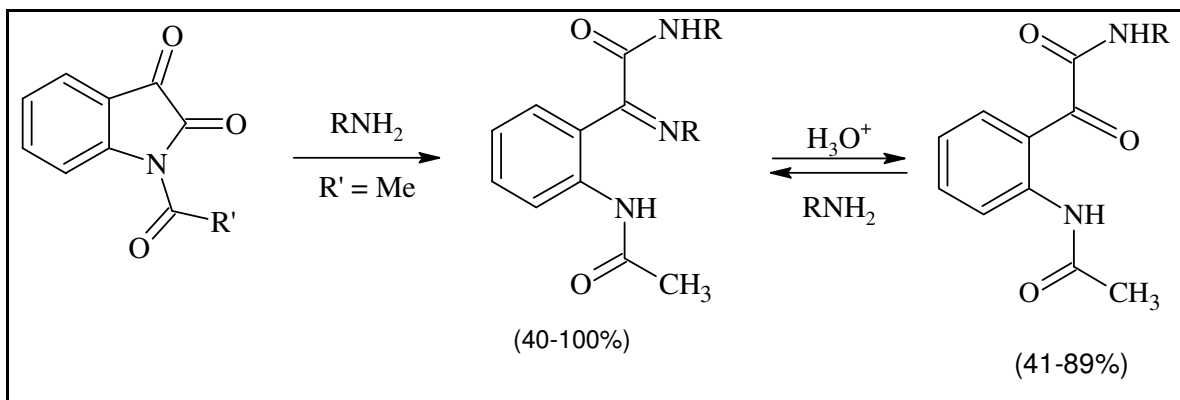
Esquema 14: Reação de isatina com hidrazina

As alquilaminas são também importantes nucleófilos que podem reagir com isatinas e *N*-alquilisatinas levando à formação de 3-iminas (21) correspondentes (ASHBY *et al.*, 1978) (**Esquema 15**).



Esquema 15: Reação de isatinas e *N*-alquilisatinas com alquilaminas.

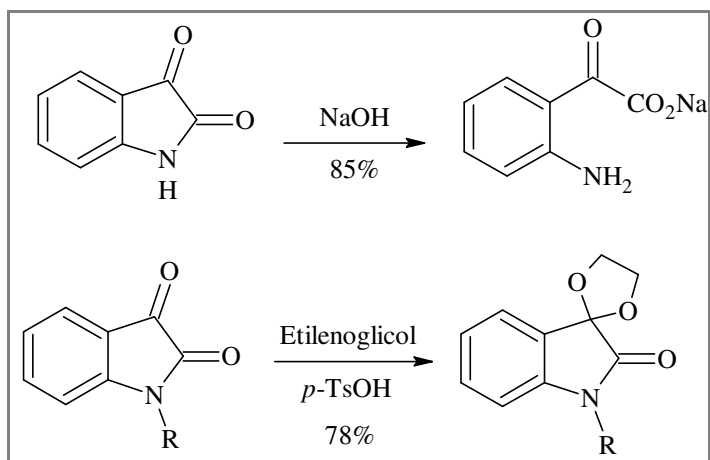
Nas reações com *N*-acilisatinas também foram observados ataques nucleofílicos à carbonila C-2, com subsequente abertura do anel heterocíclico (**Esquema 16**) (POPP. & PICCIRILLI., 1971).



Esquema 16: Reação de *N*-acilisatina com alquilamina.

Um outro grupo de nucleófilos bastante utilizado nas reações com isatinas são as anilinas e heteroaminas. É descrito que as reações destes nucleófilos com isatina e *N*-alquilisatinas também levam à formação das 3-iminas correspondentes (HAENSEL, 1976).

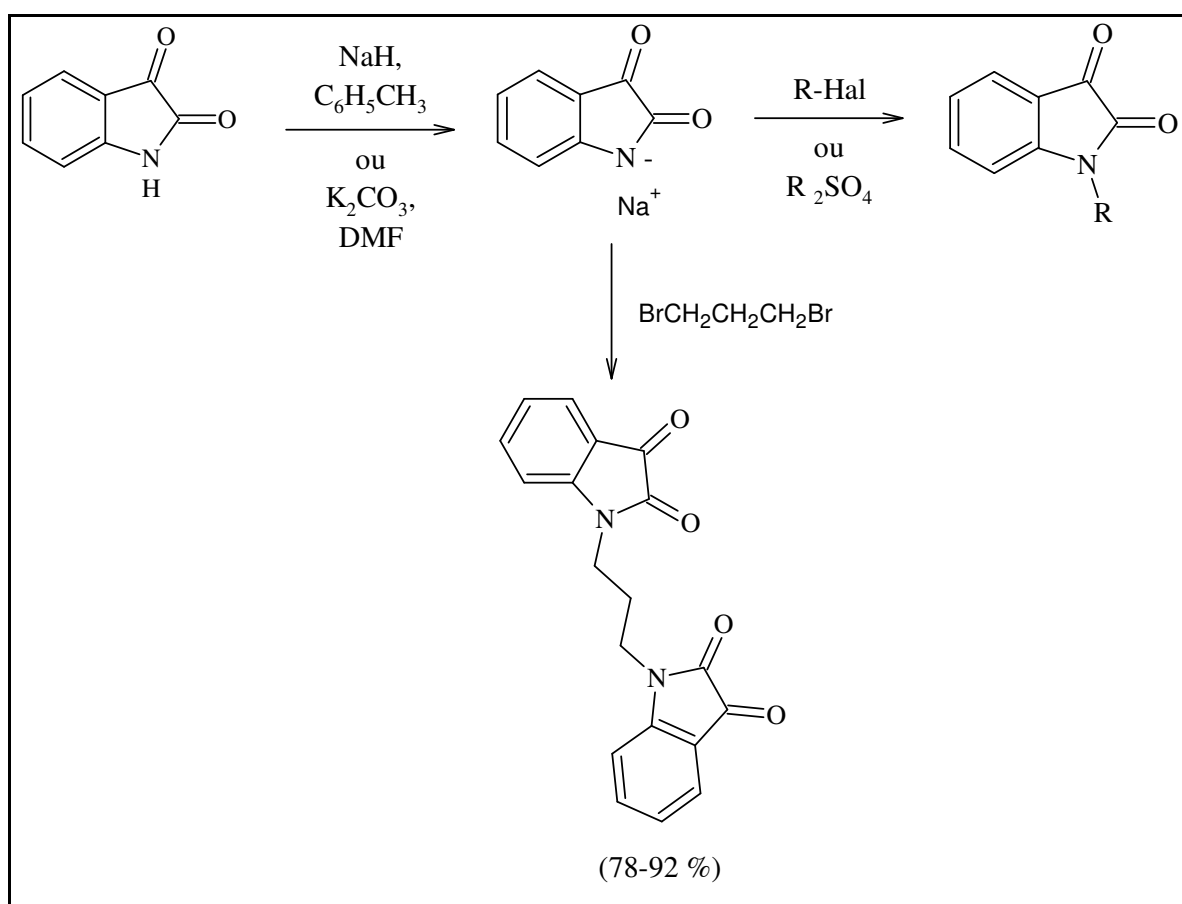
A literatura relata que o ataque nucleofílico do oxigênio nestes sistemas irá fornecer produtos que são dependentes da natureza do nucleófilo e das condições reacionais (CASEY *et al.*, 1993) (**Esquema 17**). As reações com enxofre e fósforo nucleofílico têm mostrado que os produtos de substituição na carbonila C-3 podem ser obtidos em bons rendimentos (WEBBER *et al.*, 1996; SINGHH *et al.*, 1991).



Esquema 17: Reação de isatinas e *N*-alquilisatinas com oxigênio nucleofílico

2.2.4 Reações de *N*-alquilação e *N*-acilação

As reações de *N*-alquilação e *N*-acilação podem ser feitas seletivamente na posição 1 por diversas metodologias. A mais utilizada consiste na formação do sal sódico com hidreto de sódio, o qual reage com haleto de alquila ou acila (ARSENJEVIC *et al.*, 1985). Na década de 90, Garden e colaboradores descreveram o uso do hidreto de cálcio (CaH₂) em dimetilformamida (DMF) para a obtenção de mono e bis *N*-alquilisatinas em bons rendimentos (**Esquema 18**) (GARDEN *et al.*, 1998).

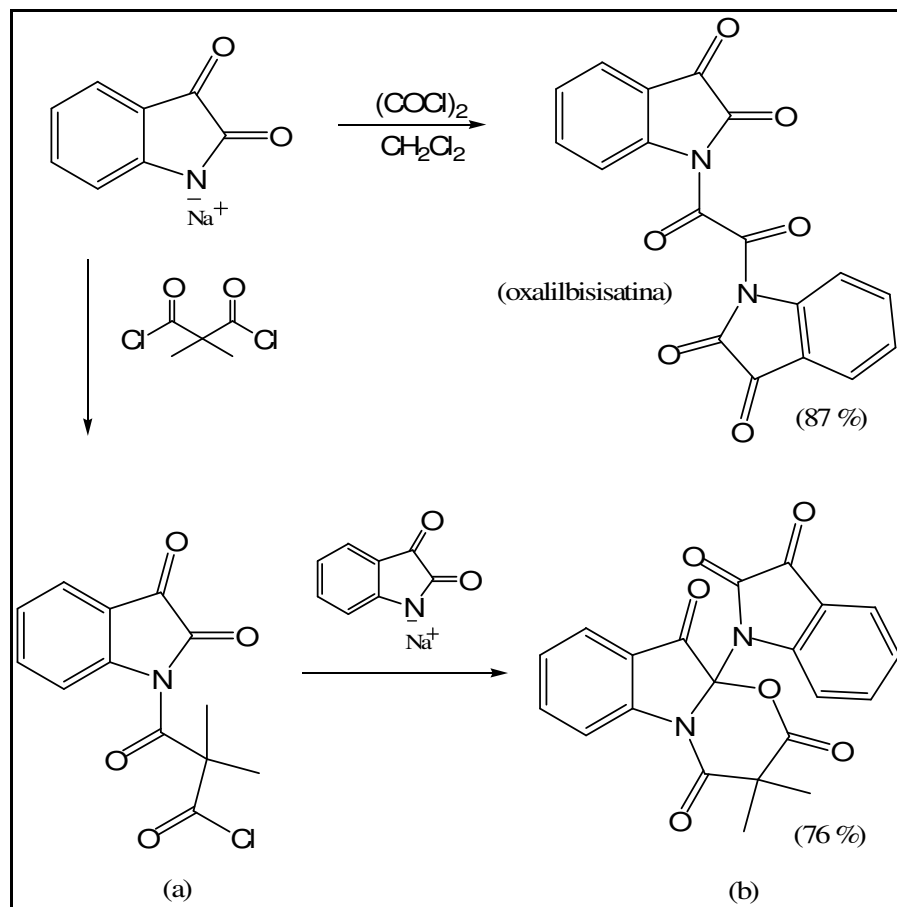


Esquema 18: Reações de *N*-alquilação de isatina.

A acilação de isatinas pode ser obtida em diversas condições:

- A partir de isatina e anidridos de ácido carboxílicos (POPP, 1975) ou cloretos de ácidos com grupos eletroatratores na posição α acarbonila (KHUSEINOV, 1976)
- A partir de isatina e anidridos ou cloretos de ácidos em presença de HClO_4 /benzeno (TOMCHIN *et al.*, 1986).
- A partir do sal sódico de isatina (gerado com NaH /tolueno ou K_2CO_3 /DMF) e cloretos de ácido (POPP, 1975; RADUL *et al.*, 1983).

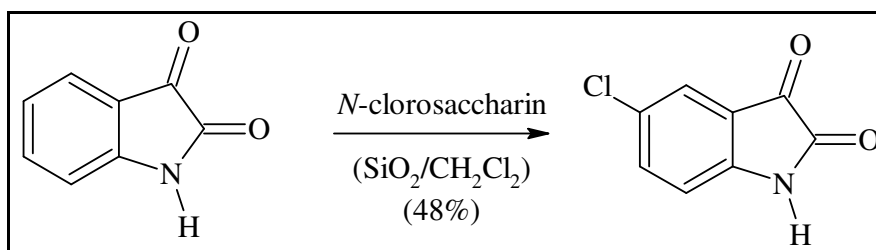
O uso de cloretos de diácidos leva a formação de bisisatinas. Pode-se observar no **Esquema 19** abaixo a formação da oxalilbisisatina (BLACK & MOSS, 1987). Entretanto, quando se utiliza o dicloreto de 2,2-dimetilmalonila obtém-se o produto (b), ao invés da bisisatina, devido ao ataque de um equivalente do sal sódico da isatina sobre a carbonila lactâmica do intermediário (a) (BLACK *et al.*, 1987).



Esquema 19: Reações de *N*-acilação de isatina.

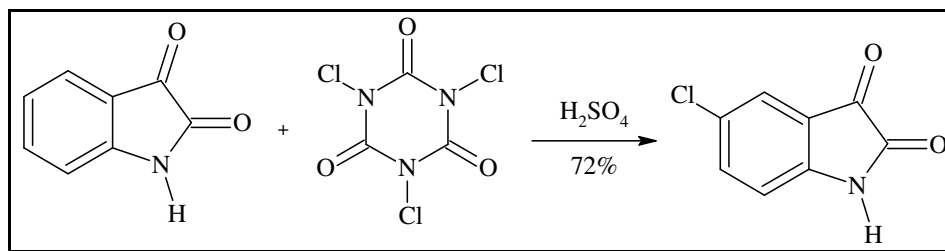
2.2.5 Reações de cloração de isatinas

Vários reagentes utilizados para a cloração da isatina, principalmente na posição 5 são descritos na literatura. Entre eles pode-se encontrar *N*-cloroamidas e *N*-cloroimidas (POPP,1975). Recentemente, relatou-se a preparação regioespecífica de 5-cloroisatina com 48% de rendimento, utilizando *N*-clorosaccharin em meio heterogêneo ($\text{SiO}_2/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) (DE SOUZA *et al.*, 2003). Essa reação pode ser observada no **Esquema 20**.



Esquema 20: Reações de cloração regioesletiva de isatina na posição 5.

A cloração de compostos aromáticos é bastante documentada na literatura. No entanto a cloração direta de compostos aromáticos desativados é pequena. O ácido tricloro-isocianúrico (TICA) em H_2SO_4 é um reagente eficiente para a cloração regioesletiva da isatina na posição 5 e compostos aromáticos desativados como o nitro benzeno (MATTOS & ESTEVES, 2005) (**Esquema 21**).



Esquema 21: Reações de cloração regioesletiva de isatina na posição 5.

2.3 Hidrazonas

Uma outra função que faz parte das moléculas obtidas neste trabalho é a hidrazona, especialmente as fosforilhidrazonas.

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

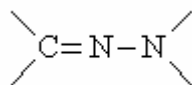


Figura 8: Fragmento triatômico que caracteriza as hidrazonas.

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, nematicida, 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). O composto 22 é relatado como tendo atividade

antibacteriana, já o composto 23 apresenta atividade inibitória sobre linhagens de vírus do tipo HSV 1 e 2 (herpes simples 1 e 2) (GÓES *et al.*, 2005) (**Figura 9**)

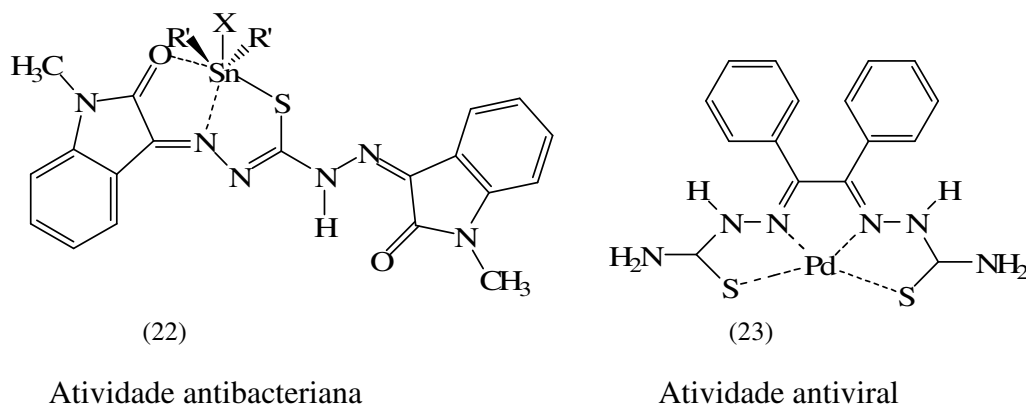


Figura 9: Complexos de hidrazona com atividade fisiológica

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). 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 apresentados na **figura 10**.

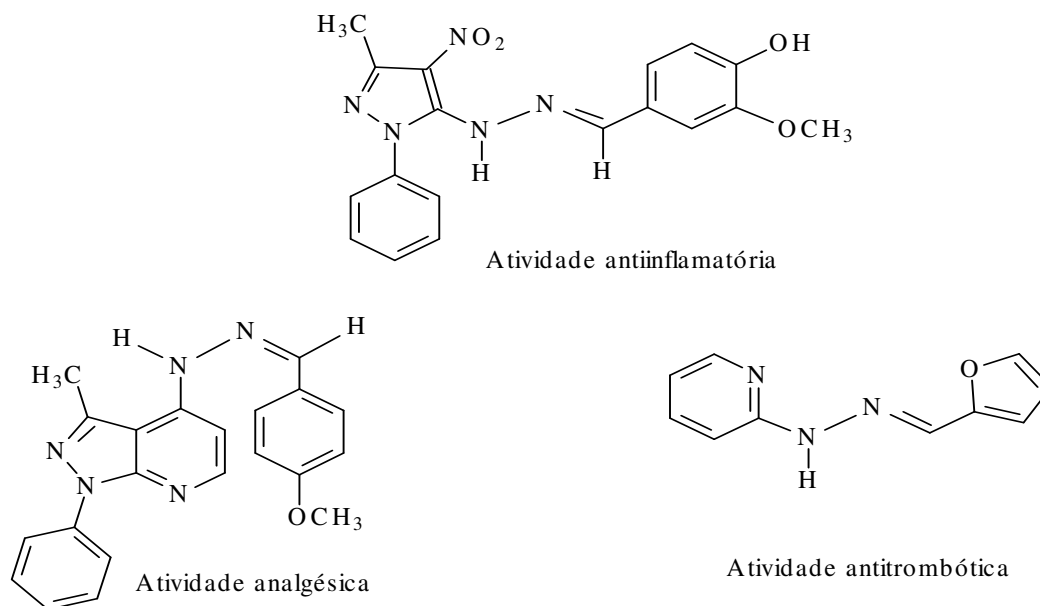
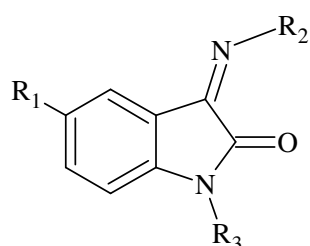


Figura 10: Hidrazonas com atividade analgésica, antiinflamatória e antitrombótica.

Hidrazonas derivadas de isatinas apresentam atividade antibacteriana. Dentre os derivados sintetizados, destacam-se os compostos 24, 25 e 26 (**Figura 11**). As hidrazonas 24 e 25 mostraram ter maior atividade do que o antibiótico amoxicilina contra a bactéria *Escherichia coli*. Já a hidrazona 26 também apresenta maior atividade do que a amoxicilina frente às bactérias *P.aeruginosa*, *P.vulgaris* e *S. typhimurium* (RAMESH *et al.*, 2001). As hidrazonas 24 e 25, assim como a hidrazona 27, também apresentam propriedades anticonvulsivas (RAMESH *et al.*, 2002).



(24) $R_1 = H$, $R_2 =$ tiossemicarbazino, $R_3 = H$

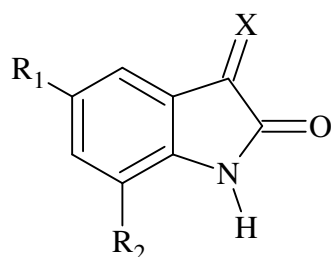
(25) $R_1 = CH_3$, $R_2 =$ tiossemicarbazino, $R_3 = H$

(26) $R_1 = Cl$, $R_2 =$ tiossemicarbazino, $R_3 = H$

(27) $R_1 = CH_3$, $R_2 =$ 2,4-dinitro fenilidrazina, $R_3 = H$

Figura 11: Hidrazonas com atividade antibacteriana e anticonvulsiva.

A atividade antiparasitária de hidrazonas derivadas de isatina também tem sido relatada frequentemente na literatura científica. Uma série de compostos foram sintetizados e avaliados frente a inibição de proteases cisteína identificadas em trypanossomas (cruzaína e rodesaína) e malária (falcipaína). Dentre os derivados testados, as hidrazonas 28, 29 e 30 demonstraram atividade inibitória mais significativa, frente aos trypanossomas (cruzaína e rodesaína). Adicionalmente a hidrazona 30 também apresentou atividade inibitória frente a falcipaína (CHIBALE *et al.*, 2003) (**Figura 12**).



(28) $R_1 = H$, $R_2 = H$, $X =$ tiossemicarbazino

(29) $R_1 = I$, $R_2 = H$, $X =$ tiossemicarbazino

(30) $R_1 = Cl$, $R_2 = CH_3$, $X =$ tiossemicarbazino

Figura 12: Hidrazonas derivadas de isatina com atividade antiparasitária.

Uma série de bases de Schiff e Mannich de derivados de isatina e *N*-[4-(4-clorofenil)tiazol] tiossemicarbazida foram sintetizados e avaliados quanto a atividade

fungicida. O clotrimazol foi usado como referência para avaliação da atividade inibitória frente aos fungos patogênicos. As hidrazonas 31 a 34 mostraram ter maior atividade do que o clotrimazol contra os fungos *Microsporium gypsum* e *Microsporium audouinii*. Já as hidrazonas 31 e 32 também apresentaram maior atividade que o clotrimazol frente o fungo *Epidermophyton floccosum* (PANDEYA *et al.*, 1999) (**Figura 13**).

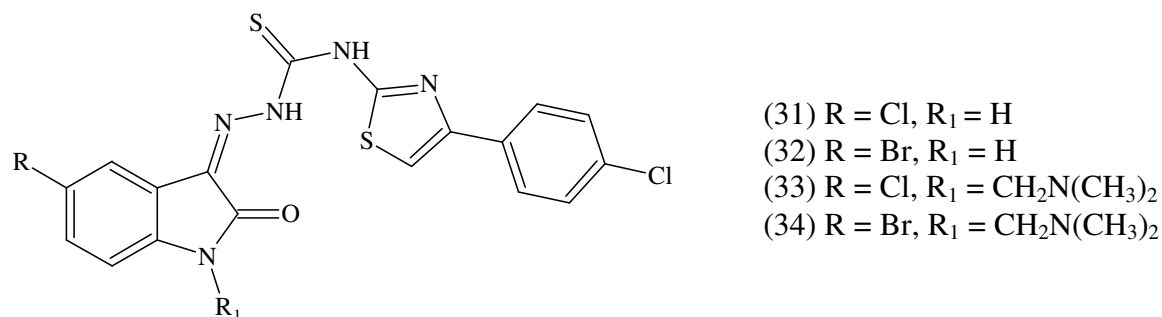


Figura 13: Hidrazonas com atividade fungicida.

2.4 Estudos Biológicos

2.4.1 Doenças Tropicais

Diversas doenças infecciosas graves têm como agente etiológico protozoários. Muitas destas enfermidades estão associadas aos baixos níveis de sanitário e à condição de vida precária de populações que vivem em bolsões de pobreza em diversas partes do mundo e mesmo no Brasil. Na **Tabela 1** abaixo descrevemos as protozooses de maior impacto, associando-as aos seus respectivos agentes etiológicos, bem como relatando as áreas em que as mesmas são endêmicas.

Tabela 1: Protozooses de maior impacto mundial.

Doença	Agente etiológico	Principal forma de transmissão	Área geográfica afetada
Giardíase	<i>Giardia lamblia</i>	Oral, via alimentos e água contaminados	Distribuição mundial
Tricomoníase	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Contato sexual	Distribuição mundial
Amebíase	<i>Entamoeba histolytica</i>	Oral, via alimentos e água contaminados	Distribuição mundial, principalmente em áreas pobres.
Malária	<i>Plasmodium vivax, ovale, falciparum e malariae</i>	Vetorial (mosquitos do gênero <i>Anopheles</i>)	América Latina, Ásia e África
Doença de Chagas	<i>Trypanosoma cruzi</i>	inseto-vetor hematófago (barbeiro)	Cone sul do continente americano
Doença do sono	<i>Trypanosoma gambiense</i>	Vetorial (mosca Tse-Tse)	África
Leishmanioses	<i>Leishmania sp.</i>	Vetorial (flebotomo)	Distribuição mundial, com ênfase nas Américas Central e do Sul, África Central, partes do sul e do centro da Ásia, Europa Mediterrânea.

As doenças tropicais afetam milhões de indivíduos em todo o mundo, entre homens, mulheres e crianças. Para a maioria destas doenças, que causam altos índices de morbidade e mortalidade, os tratamentos disponíveis são limitados e ineficazes, e o quadro é constantemente agravado pela emergência de cepas resistentes (TROUILLER *et al.*, 2002; NWAKA, 2006). O aumento considerável nos custos de desenvolvimento de novos fármacos, combinado com as perspectivas de retorno financeiro inadequado, tem como resultado a quase inexistência de investimentos em Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) na área de doenças tropicais por parte das companhias farmacêuticas (NWAKA, 2003).

Estima-se que do total investido em P&D de fármacos, somente 10 % são destinados a doenças que representam cerca de 90 % dos problemas globais de saúde humana (WIDDUS, 2001). Visando reverter esse panorama, vêm sendo estabelecidas iniciativas envolvendo parcerias efetivas na tríade governo-universidade-empresa. (NWAKA, 2003). Na **Figura 14** vemos as estruturas de alguns fármacos com atividade antiparasitária.

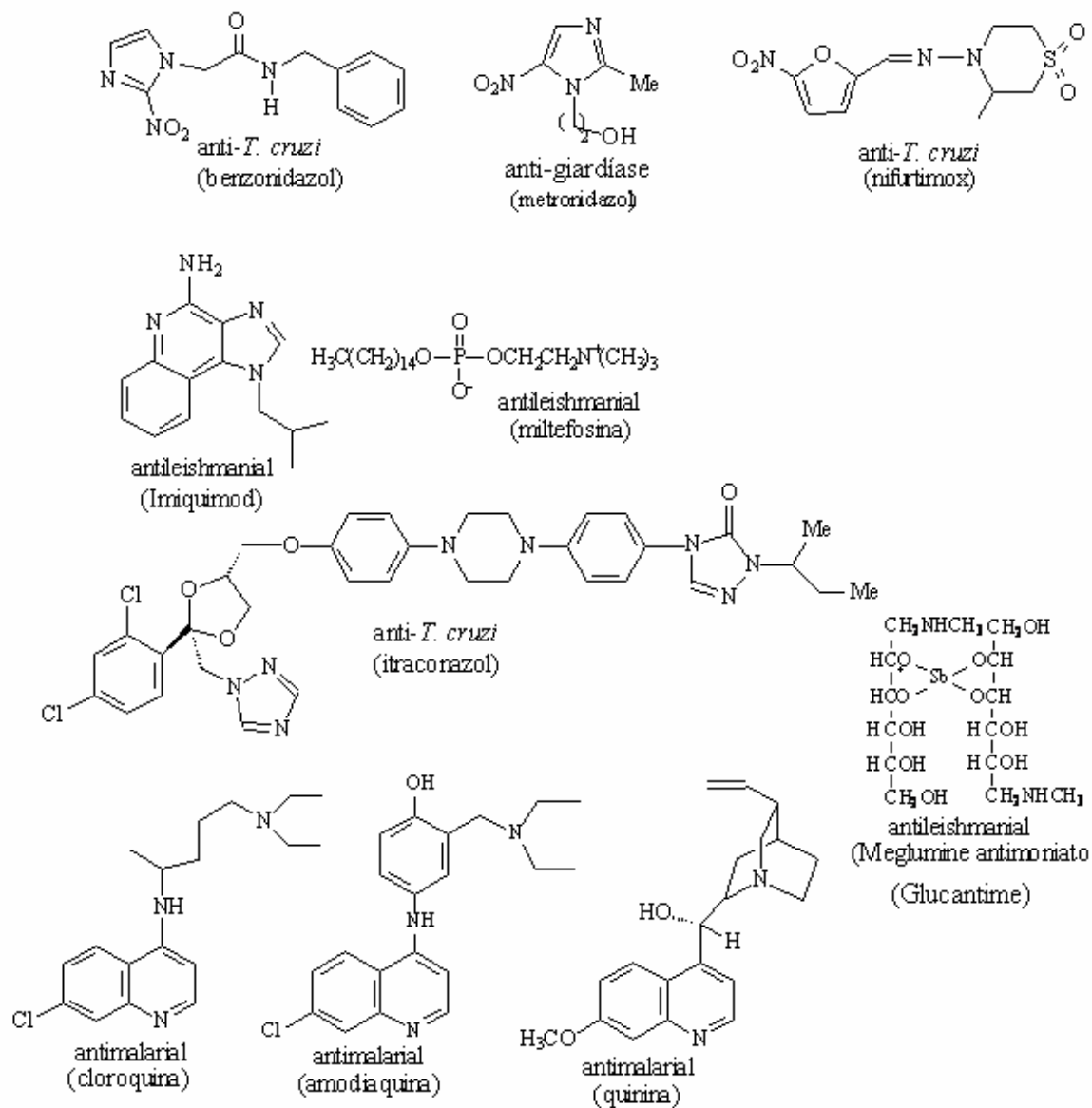


Figura 14: Estrutura química de alguns fármacos de ação antiprotozoária.

A seguir serão mostrados alguns derivados de isatina com ação antimalarial (CHIBALE *et al.*, 2003; CHIBALE *et al.*, 2005).

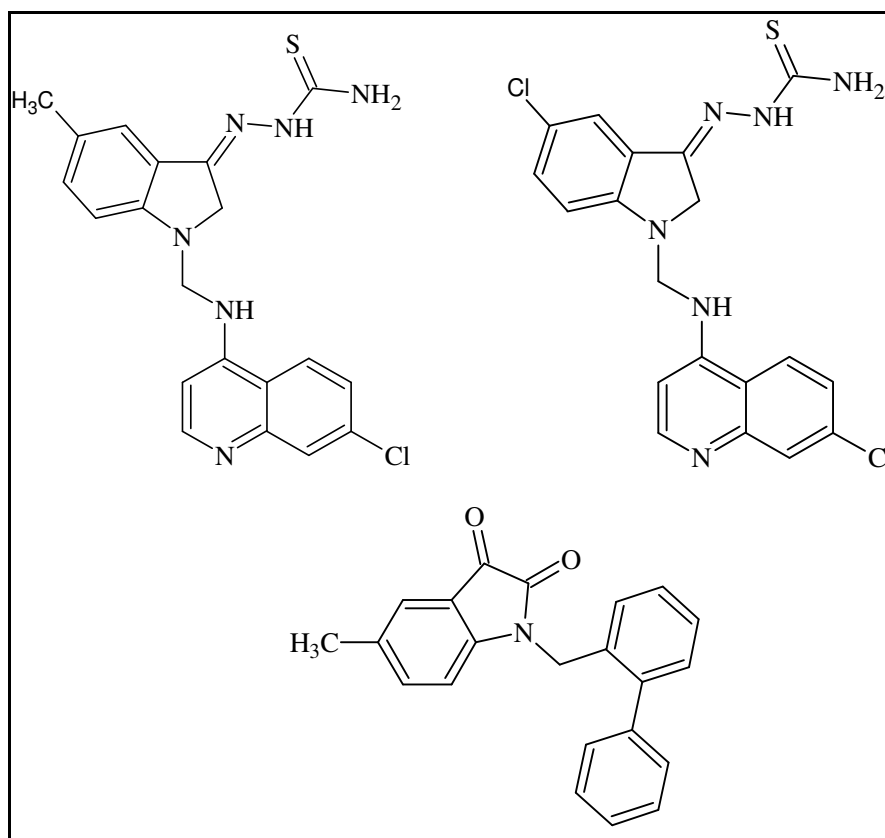


Figura 15: Estrutura química de alguns derivados de isatina com atividade antiparasitária.

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

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

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

2.4.2 Doenças de Chagas

A doença de Chagas, também conhecida como tripanossomíase americana, afeta 17 milhões de indivíduos em 18 países da América Latina, sendo que mais de seis milhões encontram-se em áreas sob o risco de contrair a doença (**Figura 16**). Anualmente, 200.000 indivíduos são infectados e 13.000 vão a óbito por complicações decorrentes da parasitose (MONCAYO, 2003). A doença de chagas é causada pela infecção com o protozoário *Trypanosoma cruzi*, o qual é principalmente transmitido pelo inseto-vetor hematófago conhecido vulgarmente como “barbeiro” ou “chupão”- da ordem *Hemiptera*; família *Ruduviidae* – que habita as frestas das paredes de barro ou de madeira das chamadas cafuas. Outras formas de transmissão desta parasitose ocorrem por transfusão de sangue e transmissão congênita (WHO/TDR, 2008).

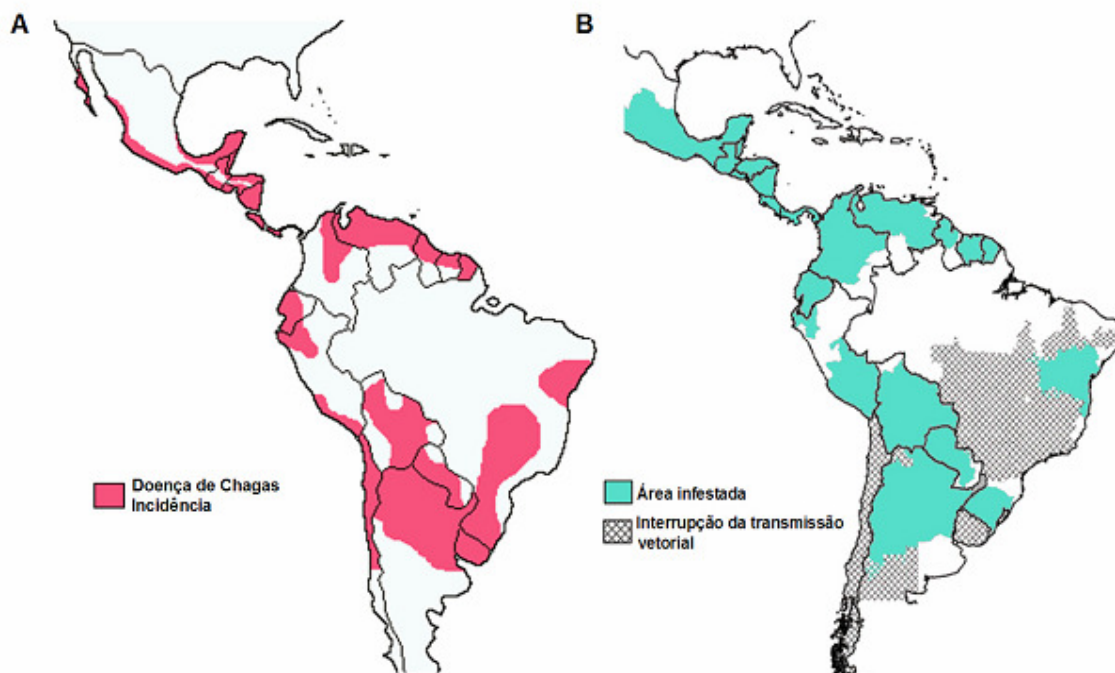


Figura 16: (A) Incidência de doença de Chagas na América Latina.
 (B) Distribuição geográfica do inseto vetor causador da doença.
<http://www.paho.org/english/ad/dpc/cd/chagas.htm>

O ciclo de vida do parasita (**Figura 17**) envolve obrigatoriamente a passagem por hospedeiros vertebrados (mamífero, incluindo o homem) e muitos invertebrados (insetos da família *Rudiviidae*), em uma série de estágios. A forma tripomastigota, presente no sangue do hospedeiro infectado, é ingerida pelo inseto e diferencia-se em epimastigota, forma não infectiva e replicativa, que no trato digestivo do inseto diferencia-se em tripomastigotas metacíclicas. As formas metacíclicas são liberados junto com as fezes e a urina do inseto durante seu repasto sanguíneo e ao penetrar no hospedeiro vertebrado diferenciam-se na forma amastigota intracelular. Após vários ciclos de replicação os parasitas diferenciam-se nas formas tripomastigotas, havendo liberação dos mesmos na corrente sanguínea do hospedeiro, reiniciando o ciclo.

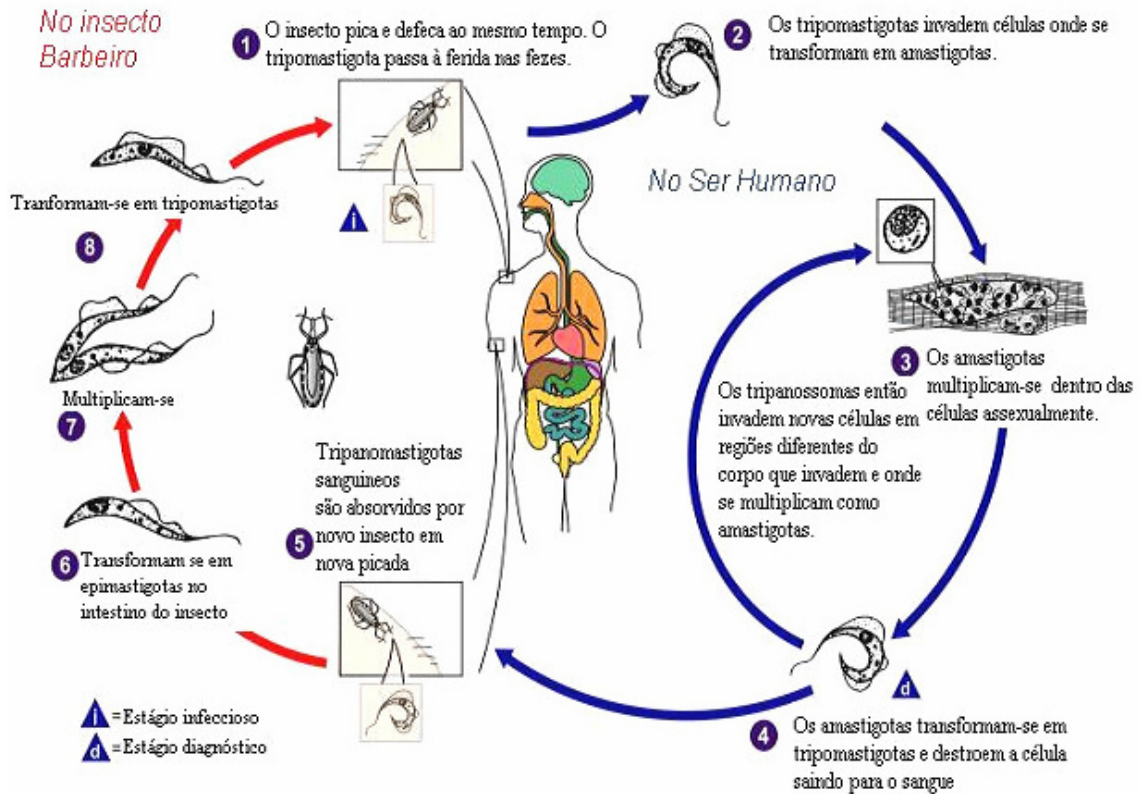


Figura 17: Ciclo de vida do *T. cruzi*. As diferentes formas do *T. cruzi* ao longo de seu ciclo evolutivo no hospedeiro vertebrado e invertebrado. Figura adaptada de WHO, 2000.

2.4.2.1 Tratamento

Em sua grande maioria, as drogas usadas no tratamento de pacientes portadores de infecções parasitárias provocam efeitos colaterais devido à sua toxidez (COURA E DE CASTRO, 2002).

As drogas utilizadas no tratamento de doenças de Chagas são (**Figura 18**):

a) O derivado nitro-heterocíclico Benzonidazol (2-nitro-*N*-fenilmetil-1*H*-imidazol-1-acetamida);

b) Nifurtimox (3-metil-*N*-[(5-nitro-2-furfuril)-metileno]-4-tiomorfolinoamina-1,1-dióxido).

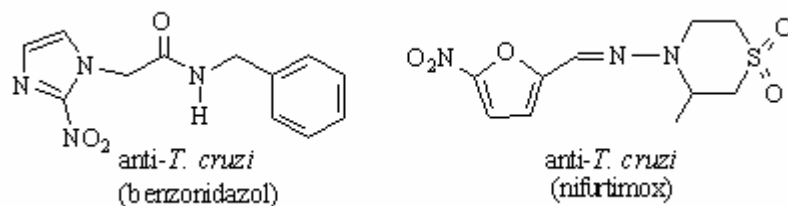


Figura 18: Fármacos de utilidade clínica reconhecida.

Atualmente, apenas o benznidazol é utilizado para o tratamento da doença de Chagas. O Nifurtimox, após ser usado em vários países da América do Sul, inclusive no Brasil, deixou de ser comercializado, devido ao seu alto grau de toxicidade (COURA E DE CASTRO, 2002).

Após 100 anos da descoberta da doença realizada pelo brilhante cientista brasileiro Carlos Chagas, não existe um único fármaco seguro e eficaz para o tratamento quimioterápico da doença de Chagas. Fica claro a dimensão do desafio colocado aos pesquisadores envolvidos no desenvolvimento de fármacos aplicáveis na quimioterapia da doença de Chagas, qual seja, a busca constante por novas substâncias com elevada atividade tripanocida, reduzidos efeitos colaterais, aliados à compreensão do mecanismo da ação antiparasitário dessas substâncias, o que facilita o desenvolvimento racional de novos compostos protótipo (RIBEIRO, 2004).

2.4.3 Leishmaniose

A leishmaniose é uma doença que afeta aproximadamente 12 milhões de pessoas no mundo. A cada ano dois milhões de novos casos são diagnosticados (WHO, 2002). A leishmaniose tegumentar americana (LTA) está entre uma das endemias de maior importância em saúde pública no Brasil, devido a sua ampla distribuição pelo território nacional, a ocorrência de formas clínicas graves e pelas dificuldades referentes tanto ao diagnóstico como ao tratamento das mesmas. Na **Figura 19** abaixo observa-se a densidade de casos de leishmaniose tegumentar americana, por município no Brasil.

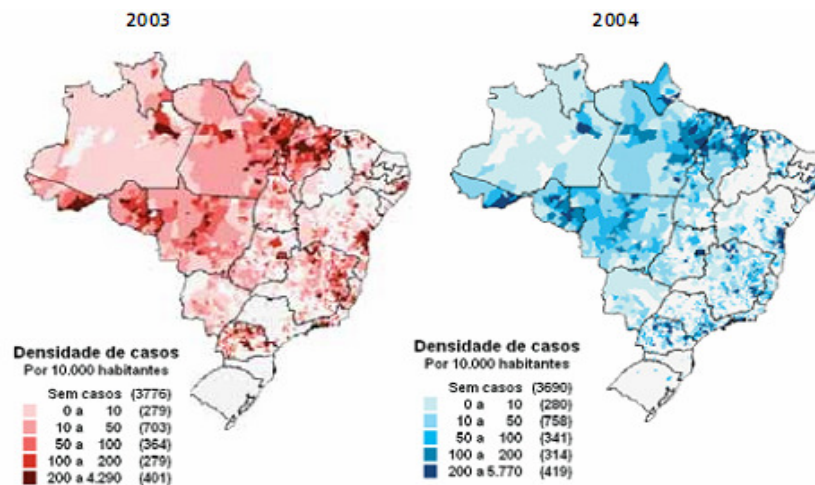
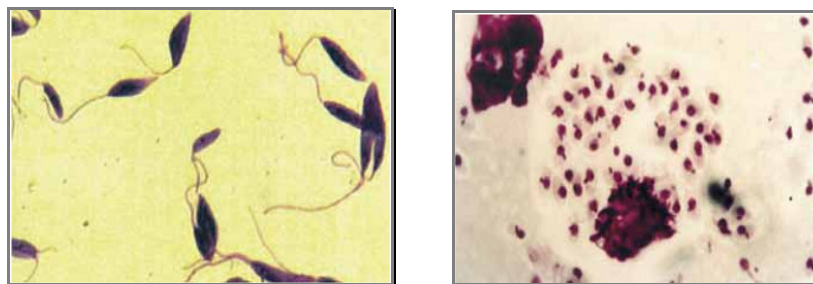


Figura 19: Densidade de casos de leishmaniose tegumentar americana por município, Brasil – 2003 e 2004.

(Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana, 2007)

A *Leishmania* é um protozoário pertencente à família Trypanosomatidae, parasito intracelular obrigatório das células do sistema fagocítico mononuclear, com duas formas principais: uma flagelada ou promastigota, encontrada no tubo digestivo do inseto vetor, e outra aflagelada ou amastigota, observada nos tecidos dos hospedeiros vertebrados

(**Figura 20**)



(A)

(B)

Figura 20: (A) *Leishmania* – Forma flagelada ou promastigota; (B) *Leishmania* – Forma aflagelada ou amastigota. (Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana, 2007).

Os vetores da LTA são insetos denominados flebotomíneos, pertencentes à Ordem Díptera, Família *Psychodidae*, Subfamília *Phlebotominae*, Gênero *Lutzomyia*, conhecidos popularmente, dependendo da localização geográfica, como mosquito palha, tatuquira, birigui, entre outros.

A leishmaniose pode ser classificada em quatro formas principais (MURRAY *et al.*, 2005; ALVAR, 1997): (i) leishmaniose cutânea (LC) causada por *L. major*, que é a forma mais comum da doença e caracteriza-se por lesões ulcerativas da derme com feridas comumente na face, braços e pernas; (ii) leishmaniose cutânea difusa (LCD) causada por *L. mexicana* e *L. amazonensis*, que é muito semelhante a LC, exceto pelo fato de que as lesões são espalhadas por todo o corpo; (iii) leishmaniose muco-cutânea causada por *L. braziliensis*, que é caracterizada pela disseminação dos parasitas via corrente sanguínea ou linfática causando ulcerações nos tecidos cartilagosos, principalmente na boca e nariz, produzindo lesões mutilantes. Essas três manifestações são agrupadas no continente americano em uma única doença denominada leishmaniose tegumentar americana (LTA), conhecida também como úlcera de Bauru, ferida brava, entre outras denominações regionais (HERWALDT, 1999; DAVIES, 2003); (iv) leishmaniose visceral (LV), também conhecida como calazar, é a forma mais letal da doença, sendo causada por *L. donovani*. Esta forma acomete o sistema retículo-endotelial, causando perda de peso, anemia e inchaço do baço e do fígado podendo levar a morte num período de dois a três anos (HERWALDT, 1999; DAVIES, 2003).

A LTA em animais domésticos pode apresentar-se como uma doença crônica com manifestações semelhantes as da doença humana, ou seja, o parasitismo ocorre preferencialmente em mucosas das vias aerodigestivas superiores.



Figura 21: LTA- Lesão cutânea múltipla; LTA – Gato com lesão no focinho.
(Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana, 2007).

O tratamento da leishmaniose, desde a década de 40, baseia-se no uso de antimoniais pentavalentes (CROFT, 2003). Duas formulações de antimoniais pentavalentes são disponíveis atualmente, o estibogluconato de sódio (Pentostam[®], GlaxoSmithKline) e o antimoniato-*N*-metil glucamina (Glucantime[®], Aventis) (**Figura 22**), sendo este último distribuído gratuitamente no Brasil pelo Ministério da Saúde. Em virtude do tempo de meia-vida pequeno dos antimoniais na corrente sanguínea (cerca de 2 horas), doses diárias altas são requeridas por longos períodos de tempo (20 a 40 dias) (CROFT, 2001). Além disso, doses maiores dos antimoniais acabam sendo empregadas devido ao aparecimento de resistência. Embora o mecanismo de ação não seja completamente elucidado, evidências demonstraram que estes fármacos atuam nas formas amastigotas do parasito, inibindo sua atividade glicolítica e a via oxidativa de ácidos graxos. Efeitos colaterais severos como trombose, toxidez hepática, hipersensibilidade e choque anafilático são associados ao tratamento quimioterápico (GEARY *et al.*, 1989).

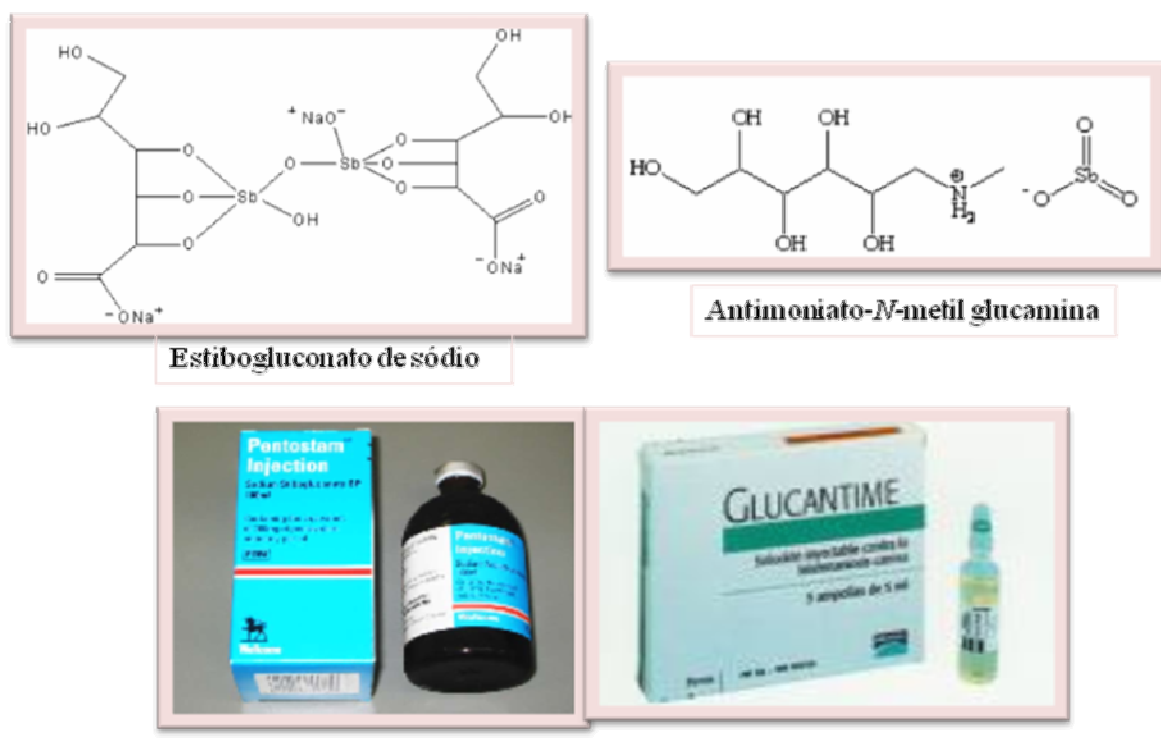


Figura 22: Fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose.

A pentamidina (Pentacarinat[®], Rhodia Farma) (**Figura 23**), tem sido utilizada desde a década de 50 como fármaco de segunda escolha contra a leishmaniose devido ao longo período de tratamento e aos graves efeitos colaterais, tais como: hipoglicemia, diabetes, taquicardia, entre outros (CROFT & COOMBS, 2003).

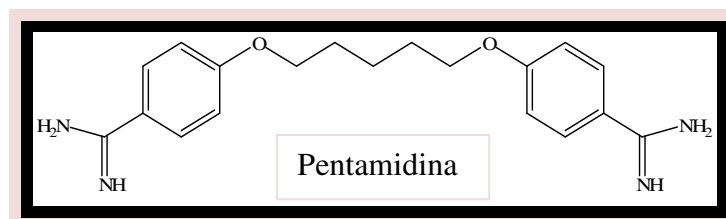


Figura 23: Fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose.

A anfotericina B (Fungisone[®], Bristol Meyers Squibb) (**Figura 24**) é o agente antileishmaniose mais eficaz, atuando na formas promastigotas e amastigotas do parasita através da ligação aos ésteres (ergosterol ou episterol) presentes na membrana plasmática do parasita. A administração do medicamento é feita por via intravenosa por períodos de até 4 horas. Diversos efeitos colaterais são causados pela anfotericina B, todos relacionados com a dose terapêutica administrada (CROFT, 2005). Novas formulações da anfotericina B associadas à lipossomas, (AmBisome[®], NeXstar Pharmaceuticals) e a dispersão coloidal (Amphocil, AstraZeneca), apresentam uma menor toxicidade relativa e maior tempo de meia-vida no plasma. Entretanto, o custo elevado limita o uso sistemático destes fármacos no serviço de saúde pública (CROFT, 2005).



Figura 24: Fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose.

A miltefosina (Impavido, Zentaris), recentemente introduzida no mercado farmacêutico, foi o primeiro fármaco administrado por via oral para o tratamento da LV e LC. A miltefosina foi originalmente desenvolvido para o tratamento de câncer de pele. Devido a sua indicação para o tratamento tópico de doenças ulcerativas, a miltefosina foi testada contra a LC. Testes clínicos com administração por via oral demonstraram a alta eficácia para o tratamento da LV e LC (SINDERMANN *et al.*, 2004). O mecanismo de ação da miltefosina ainda é desconhecido, contudo, acredita-se que o fármaco possa estar envolvido em um ou mais dos seguintes mecanismos: (i) inibição do metabolismo de fosfolípidos; interferência na transdução de sinais através da membrana do parasita; e (iii) interferência na biossíntese de glicosilfosfatidilinositol (SINDERMANN *et al.*, 2004).

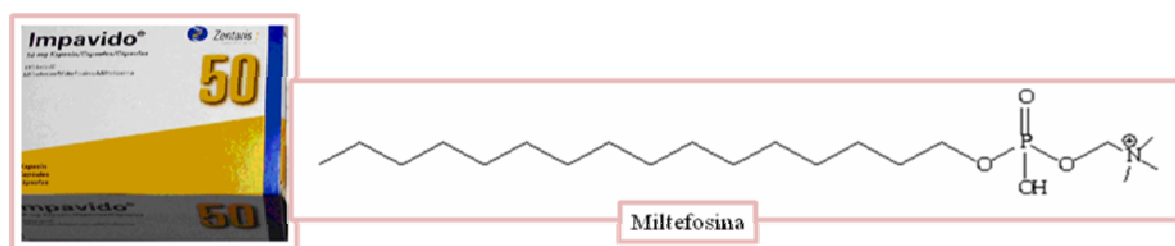


Figura 25: Fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose.

Em relação à prevenção da leishmaniose, os métodos mais comuns são desinsetização das áreas de risco para a erradicação dos insetos vetores, uso de mosquiteiros impregnados de inseticidas e a aplicação de repelentes sobre a pele. O sacrifício de animais domésticos infectados também faz parte do controle da doença, uma vez que esses animais representam reservatórios da doença. Além disso, surge como esperança o desenvolvimento de vacinas. Atualmente, a vacina Leishvacin[®] (Biobrás), constituída de uma mistura de antígenos provenientes da *L. amazonensis*, que encontra-se em fase clínica de desenvolvimento. Apesar da Leishvacin[®] ter demonstrado potencial imunogênico em voluntários saudáveis, sua eficácia ainda não está totalmente comprovada (ARMIJOS *et al.*, 2004; VELEZ *et al.*, 2005).

2.4.4 Malária

A malária, mundialmente um dos mais sérios problemas de saúde pública, uma doença infecciosa causada por protozoários do gênero *Plasmodium* e transmitida ao homem por fêmeas de mosquitos do gênero *Anopheles*, produzindo febre, além de outros sintomas. Quatro espécies de plasmódio podem causar a doença: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale* (essa, de transmissão natural apenas na África).

Dados da Organização mundial da Saúde (OMS) mostram que seu impacto sobre as populações humanas continua aumentando: ocorre em mais de 90 países, pondo em risco cerca de 40% da população mundial – estima-se que ocorram de 300 a 500 milhões de novos casos, com média de um milhão de mortes por ano. Representa, ainda, risco elevado para viajantes e migrantes, com casos importados em áreas não endêmicas.

No Brasil, o maior número de casos é registrado na região Amazônica, cujas condições ambientais e socioculturais favorecem a expansão de sua transmissão.

Em 2006, segundo dados do Ministério da Saúde, foram registrados 540.000 casos de malária (99 % na região Norte), um pouco menos que os 580.000 casos registrados em 2005 (**Figura 26**). Esses valores provavelmente são subestimados, devido à grande área da região Norte e a dificuldade de locomoção das pessoas que vivem nas áreas endêmicas. Atualmente, a área endêmica está localizada na chamada Amazônia Legal, compreendendo os estados do Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Pará, Rondônia, Roraima, e Tocantins (Figura).

Quanto às espécies de plasmódios circulantes no Brasil, os dados de 2006 revelam que *P. vivax* responde por aproximadamente 73% dos casos e *P. falciparum*, por 24%.

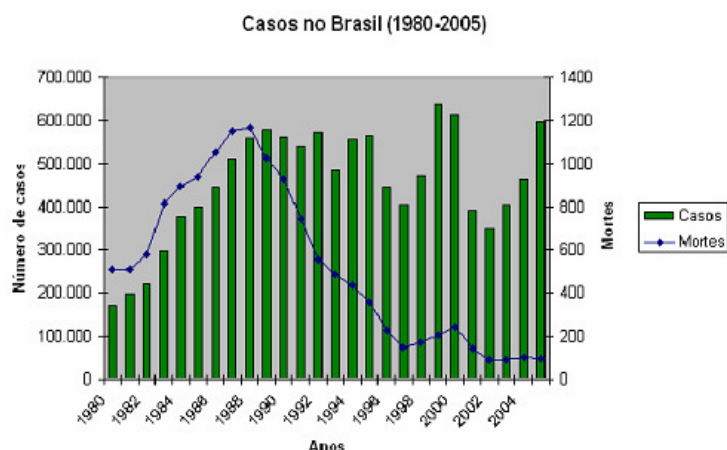


Figura 26. Casos e óbitos de malária no Brasil de 1980 a 2005.

Fonte: casos: MS/SVS; SES e Sinan a partir de 1998 – Óbitos: Sinan

2.5 Fitopatógenos

Os fungicidas são substâncias químicas ou biológicas que atacam os fungos sem atacar as culturas. Protegem as plantas contra a evasão de patógenos ou são usados para erradicar infecções já estabelecidas. O início da aplicação de fungicidas em grande escala para o controle de doenças se deu com a descoberta da calda bordalesa (mistura de sulfato de cobre e cal hidratada) em 1882. Por mais de 50 anos foi um dos fungicidas mais utilizados (AZEVEDO, 2001). A partir de então, diversos grupos de substâncias com ação fungicida foram sendo descobertos, desenvolvidos e utilizados comercialmente pelos agricultores. Os mercuriais por volta de 1914, os ditiocarbamatos na década de 30, heterocíclicos nitrogenados em 1949, ftalonitrilas e os primeiros fungicidas sistêmicos (carboxin e benomyl) nos anos 60, os triazóis na década de 70 (DEKKER & GEORGOPOULOS 1982; KIMATI, 1995) e as estrobilurinas no final dos anos 90 (AZEVEDO 2003).

De acordo com a Food and Agricultural Organization (FAO) os fungicidas são insumos importantes para a produção mundial de alimentos. Os fungicidas além de terem na manutenção do potencial produtivo das culturas, contribuem também para a manutenção da germinação e vigor das sementes, e no prolongamento da vida útil dos frutos na pós-colheita (Azevedo, 2001).

Dentre os fungos fitopatogênicos que causam grandes prejuízos à produção agrícola mundial, os de solo merecem destaque por afetarem praticamente todas as plantas cultiváveis, causando perdas de até 100% quando as condições encontram-se favoráveis para o seu desenvolvimento.

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

Os sintomas visíveis causados por esses fungos, na parte aérea das plantas, são tombamento, murcha, seca dos ponteiros, escurecimento ou podridão de tecidos, que refletem os danos causados às plantas, embora, na maioria dos casos, não seja possível identificar qual(is) o(s) patógeno(s) responsável(is) pela doença (**Figura 27**).

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

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

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

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

Medidas de controle para *R. solani* limitam-se apenas ao uso de práticas culturais que desfavoreçam o seu desenvolvimento como por exemplo, uso de um espaçamento adequado, semeadura rasa visando permitir uma rápida germinação e principalmente rotação de cultura, pois esse gênero pode sobreviver facilmente em restos de cultura. O deslincamento químico associado ao tratameto de sementes é uma prática recomendável principalmente para os patógenos causadores de tombamento que são veiculados externa ou internamente às sementes e os fungicidas mais recomendados são benomyl, captan, thiabendazol e a mistura de benomyl + thiram (CIA & SALGADO, 1997).

No gênero *Fusarium*, encontram-se agentes causais de podridões e doenças vasculares, como a murcha, e o seu controle é bastante difícil, pois se desenvolve no solo é capaz de sobreviver por longos períodos, o que dificulta a sua erradicação e aumenta os custos de produção (BEDENDO, 1995).

Devido ao exposto, torna-se essencial o desenvolvimento de estratégias alternativas capazes de controlar doenças causadas por fitopatógenos de solo.



Figura 27: Imagens de culturas atacadas pelo fungo *Rhizoctonia solani*.

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

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

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

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

3 OBJETIVOS

- Sintetizar e caracterizar novas dialquilfosforilidrazonas derivadas de isatina, visando à descoberta de potencias fungicidas utilizando-se, como teste preliminar, o bioensaio contra o fungo *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum*.
- Avaliar a atividade antiprotozoose frente a *Leishmania amazonensis*, *Trypanosoma cruzi* e *Plasmodium falciparum*.
- Avaliar o efeito tóxico dos compostos sintetizados na germinação de sementes de alface.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Considerações Gerais

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

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

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

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

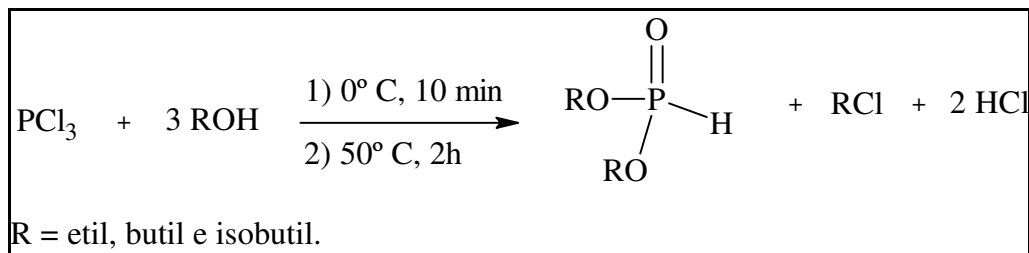
A remoção dos solventes foi feita em evaporador rotatório Fisatom modelo 820.

Os aparelhos utilizados para a caracterização dos compostos foram: o espectrômetro de infravermelho Perkin-Elmer modelo 1600 FT, e os espectros foram obtidos utilizando-se um filme sobre células de NaCl, nas amostras líquidas e pastilhas de KBr nas amostras sólidas. As absorções foram medidas em centímetros recíprocos (cm^{-1}).

O cromatógrafo de fase gasosa acoplado a espectrômetro de massas, modelo Saturn 2000-Varian. As condições de análise foram: coluna VF-5ms (30 x 0,25 x 0,25mm); temperatura 150-180°C/1'-10°C/min – 290°C/10'; injetor 270°C; EM trap 220°C, manifold 60°C txline 250°C ionização EI (70eV).

O espectrômetro de ressonância magnética nuclear de ^1H (200 e 400 MHz), ^{13}C (50 e 100 MHz) e ^{31}P (162 MHz) Bruker modelo AC-200 e Avance, e os espectros foram obtidos utilizando-se tetrametilsilano (TMS), ou o próprio solvente como referência para os núcleos de ^1H e ^{13}C . Para o núcleo de ^{31}P , foi utilizado o ácido fosfórico 85% como referência externa. Os solventes deuterados são especificados em cada caso, sendo os deslocamentos químicos medidos em ppm e as constantes de acoplamento em Hertz (Hz).

4.2 Síntese dos fosfonatos de dialquila .



Esquema 22: Síntese dos fosfonatos de dialquila.

⇒ Procedimento geral

Em um balão bitubulado de 200 mL de capacidade, equipado com um funil de adição contínua, condensador de refluxo e munido de um borbulhador (capaz de impedir a entrada de umidade e ao mesmo tempo permitir a saída do ácido clorídrico, liberado na reação), adicionou-se o álcool correspondente. Em seguida, através de 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 ácido foi adicionada, observou-se forte desprendimento de ácido clorídrico.

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

4.2.1 Síntese do fosfonato de dietila (35)

Utilizou-se 27,0 mL (21,5 g – 0,47 mol) de álcool etílico e 13,5 mL (21,3 g – 0,16 mol) de tricloreto de fósforo. Após a retirada dos subprodutos, 15,0 g do produto puro foram obtidos, correspondendo a um rendimento de 65%.

Caracterização:

- Aspecto: líquido incolor.
- IV (NaCl): 3459 (νOH); 2987, 2937, 2913 (νCH₂CH₃); 2431 (νP-H); 1480 (νC-O); 1395 (δ_{as}CH₃) 1252 (νP=O); 1046 (νP-O), 982 (δ_{as}P-H).
- RMN ¹H (CDCl₃): 6,7 [d(P-H, J_{HP} = 694 Hz, 1H)]; 4,1 [m(CH₃CH₂O-, 4H)]; 1,3 [t(CH₃CH₂O-, J_{HH} = 7,0 Hz, 6H)].

4.2.2 Síntese do fosfonato de dibutila (36).

Utilizou-se 25,43 g (0,334 mol) de álcool butílico e 15,75 g (0,114 mol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se, após evaporação a pressão reduzida, 17,5 g do produto com pureza satisfatória para as sínteses subseqüentes. O rendimento do fosfonato de dibutila foi de 78%.

Caracterização:

- Aspecto: líquido incolor.
- IV (NaCl): 3410 (νOH); 2963, 2876 (νCH₂ e CH₃); 2434 (νP-H); 1468 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1381 (δ_{sim}.CH₃); 1216 (νP=O); 1006 (νP-O-C); 970 (δ_{as}.P-H).
- RMN ¹H (CDCl₃): 0,91 [t (CH₃CH₂CH₂CH₂O-), 6H]; 1,38 [m (CH₃CH₂CH₂CH₂O-), 4H]; 1,65 [m (CH₃CH₂CH₂CH₂O-), 4H]; 4,03 [m (-CH₃CH₂CH₂CH₂O-), 4H]; 6,72 [d (P-H), J_{HP} = 699 Hz, 1H].
- m/z (%): 195(50), 167(1), 157(1), 147(1), 139(12), 123(5), 109(10), 97(5), 83(100), 65(12), 57(7,5), 47(5).

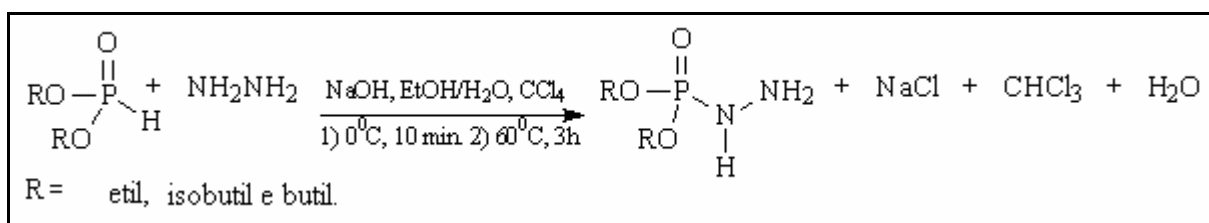
4.2.3 Síntese do fosfonato de diisobutila (37).

Utilizou-se 12,7 g (0,176 mol) de álcool isobutílico e 7,87 g (0,057 mol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se, após evaporação a pressão reduzida, 10 g do produto puro. O rendimento do fosfonato de diisobutila foi de 90%.

Caracterização:

- Aspecto: líquido incolor.
- IV (NaCl): 3445 (νOH); 2964, 2881 (νCH₂ e CH₃); 2426 (νP-H); 1469 (δas.CH, CH₂ e CH₃); 1395 e 1372 (δsim. CH, CH₂ e CH₃); 1255 (νP=O); 1039 (νP-O); 983 (δas.P-H).
- RMN ¹H (CDCl₃): 0,95 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), 12H]; 1,93 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 2H]; 3,84 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4H]; 6,81 [d(P-H), J_{HP} = 692,3Hz, 1H].
- m/z (%): 195(51), 139(12), 123(5), 109(11), 97(5), 83(100), 65(12), 57(8), 47(5).

4.3 Síntese das dialquifosforilidrazinas.



Esquema 23: Síntese das dialquifosforilidrazina.

⇒ 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.

4.3.1 Síntese da dietilfosforilidrazina (38).

Utilizou-se 8 g (0,058 mol) do fosfonato de dietila, 3,9 mL (0,029 mol) de tetracloreto de carbono, 1,2 g (0,024 mol) de hidrazina, 2,32 g (0,058 mol) de hidróxido de sódio, 10 mL de água destilada e 10 mL de etanol. Obteve-se, após evaporação a pressão reduzida, 4,78 g do produto com pureza adequada à sua utilização posterior. O rendimento da dietilfosforilidrazina foi de 48 %.

Caracterização:

- Aspecto: Líquido viscoso incolor.
- RMN ^1H (CDCl_3): 4,12 [q (CH_2OP), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 4H]; 1,34 [t ($-\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 6$ Hz, 6H].
- RMN ^{13}C (CDCl_3): 13,17 [d ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$), 2C]; 61,63 [m ($\text{CH}_2\text{O}-$), 2C].

4.3.2 Síntese da dibutilfosforilidrazina (39).

Utilizou-se 10 g (0,0515 mol) do fosfonato de dibutila, 11,10 g (0,0721 mol) de tetra cloreto de carbono, 2,60 g (0,052 mol) de hidrazina, 2,06 g (0,0515 mol) de hidróxido de sódio, 10 mL de água destilada e 10 mL de etanol. Obteve-se, após evaporação a pressão reduzida, 8,65 g do produto puro. O rendimento da dibutilfosforilidrazina foi de 49%.

Caracterização:

- **Aspecto:** Líquido viscoso incolor.
- **IV (NaCl):** 3351 (νNH); 2960 e 2878 (νCH_2 e CH_3); 1225 ($\nu\text{P}=\text{O}$); 1027 ($\nu\text{P}-\text{O}-\text{C}$); 1067 ($\nu\text{P}-\text{N}$); 1460 ($\delta_{\text{as.}}\text{CH}_2$ e CH_3); 1381 ($\delta_{\text{sim.}}\text{CH}_3$).
- **RMN ^1H (CDCl_3):** 0,81 [t ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), $J_{\text{HH}} = 6,0$ Hz, 6H]; 1,28 [m ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 4H]; 1,52 [m ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 4H]; 3,90 [m ($-\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 4H]; 5,23 [s (NHNH_2), 3H].
- **RMN ^{13}C (CDCl_3):** 13,17 [d ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 2C]; 18,36 [m ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 2C]; 32,05 [m ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 2C]; 65,55 [m ($-\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 2C].
- **m/z (%):** 225(100), 211(2), 195(1), 183(1), 169(7,5), 155(2), 139(2,5), 125(2), 112(60), 99(12), 82(5), 65(4), 57(2), 47(1).

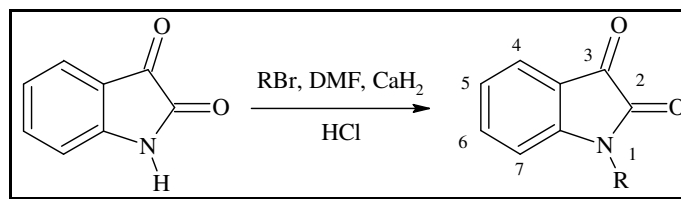
4.3.3 Síntese da diisobutilfosforilidrazina (40).

Utilizou-se 10 g (0,0515 mol) do fosfonato de diisobutila, 11,10 g (0,0721 mol) de tetracloreto de carbono, 2,60 g (0,052 mol) de hidrazina, 2,06 (0,0515 mol) de hidróxido de sódio, 10 mL de água destilada e 10 mL de etanol. Obteve-se, após evaporação a pressão reduzida, 10,22 g do produto com pureza adequada à sua utilização posterior. O rendimento da diisobutilfosforilidrazina foi de 51%.

Caracterização:

- **Aspecto:** Líquido viscoso incolor.
- **IV (NaCl):** 3351 (ν NH); 2961, 2878 e (ν CH₂, CH₃ e CH); 1230 (ν P=O); 1023 (ν P-O-C); 1166 (ν P-N); 1468 (δ as.CH₂ e CH₃); 1395 (δ sim.CH₃).
- **RMN ¹H (CDCl₃):** 0,90 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), $J_{\text{HH}} = 6,0$ Hz, 12H]; 1,89 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 2H]; 3,75 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4H]; 4,82 [(NHNH₂), 1H]; 3,98 [(NHNH₂), 2H].
- **RMN ¹³C (CDCl₃):** 13,81 [s(CH₃(CH₂)₃O-), 2C]; 18,64 [s (CH₃CH₂(CH₂)₂O-), 2C]; 32,18 [d(CH₃CH₂CH₂CH₂O-), $J_{\text{CP}} = 6,23$ Hz, 2C]; 66,54 [d (-CH₃(CH₂)₂CH₂O-), $J_{\text{CP}} = 5,87$ Hz, 2C].
- **m/z (%) :** 225(60), 193(1), 169(17), 153(3), 139(2,5), 125(2,5), 112(100), 98(2,5), 82(5), 73(2,5), 65(5), 57(5), 47(2,5).

4.4 Reações de N-alkilação de isatina



Esquema 24: N-alkilação de isatinas.

⇒ Procedimento geral

Em um balão bitubulado de 50 mL de capacidade, equipado com um condensador de refluxo e sob atmosfera de nitrogênio contendo a isatina (1 mol) e o hidreto de cálcio (1 mol), adicionou-se o DMF, previamente destilado e seco. A mistura reacional foi, inicialmente, mantida sob agitação magnética à temperatura de 100°C por 1 hora. Após

este período, a mistura reacional foi resfriada à temperatura de 30°C seguida da adição do haleto de alquila (1,5 mols) correspondente. O meio foi mantido sob agitação magnética à temperatura de 100°C de 2 a 4h até verificar o término da reação por cromatografia em camada fina.

A mistura reacional foi vertida em uma solução aquosa acidificada com HCl 0,5 M e extraído com acetato de etila. Em seguida a solução foi seca com Na₂SO₄, filtrado e evaporado.

4.4.1 Síntese da 1-benzilisatina (41).

Utilizou-se 0.60 g (4,07 mmol) de isatina, 0,73 mL (1,04 g - 6,11 mmol) de brometo de benzila e 0.17 g (4,07 mmol) de hidreto de cálcio. O 1-benzilisatina foi purificado por cromatografia em coluna aberta utilizando como adsorvente a sílica gel e eluente (hexano/ acetato de etila 15 %). Em seguida a fração foi evaporado à pressão reduzida e posteriormente caracterizada. Obteve-se 0,54 g do produto sólido, correspondendo a um rendimento de 61%.

Caracterização:

- Aspecto: sólido laranja.
- p.f. = 128-129° (Lit. 131° C).
- IV (Pastilha de KBr): 1731 (ν C=O amídica), 1612 (ν C=O), 2850 (ν CH₂), 3029 (ν =C-H aromático).
- RMN ¹H (CDCl₃): 4,94 [s, (CH₂C₆H₅), 2H]; 7,55 [d, (H4), J_{HH} = 7,95 Hz, 1H]; 6,96 [m, (H5), 1H]; 7,50 [m, (H6), 1H]; 6,79 [d, (H7), J_{HH} = 7,57 Hz, 1H]; 7,24 – 7,51 [CH₂C₆H₅), 5H].
- m/z (%): 237 (100), 180 (12), 146 (25), 132 (3), 91 (12).

4.4.2 Síntese de 1-metilisatina (42).

Utilizou-se 0,70 g (4,75 mmol) de isatina, 0,44 mL (1,01 g - 7,13 mmol) de iodeto de metila e 0,19 g (4,75 mmol) de hidreto de cálcio. O produto foi recristalizado em etanol e obteve-se 0,59 g da 1-metilisatina, um sólido de coloração laranja, correspondendo a um rendimento de 78 %.

Caracterização:

- Aspecto: sólido laranja.
- p.f. = 129-130° (Lit. 134° C).
- IV (Pastilha de KBr): 1745 (ν C=O amídica), 1606 (ν C=O), 2948 (ν CH₃), 3058 (ν =C-H aromático).
- RMN ¹H (CDCl₃): 3,25 [s, (CH₃), 3H]; 7,61 [m, (H₄), 1H]; 7,12 [t, (H₅), J_{HH} = 7,51 Hz, 1H]; 7,58 [m, (H₆), 1H]; 6,91 [d, (H₇), J_{HH} = 8,58 Hz, 1H].
- m/z (%): 161(100), 146(5), 133(30), 104(25), 78(12).

4.4.3 Síntese do 1-(3-bromopropil) isatina (43).

Utilizou-se 0.80 g (5,43 mmol) de isatina, 0,81 mL (1,62 g - 8,14 mmol) do 1,3 dibromo propano e 0.22 g (5,43 mmol) de hidreto de cálcio. Observou-se por cromatografia em camada fina a presença de três substâncias. O produto foi purificado por cromatografia em coluna aberta utilizando como adsorvente a sílica gel e eluente (hexano /acetato de etila 15 %). Obteve-se 0,09 g do produto sólido, correspondendo a um rendimento de 6%.

Caracterização:

- Aspecto: sólido laranja.
- p.f. = 89°C.
- IV (Pastilha de KBr): 1739 (ν C=O amídica), 1614 (ν C=O), 2852 e 2915 (ν CH₂), 3023 e 3058 (ν =C-H aromático).
- RMN ¹H (CDCl₃): 3,90 [t (CH₂CH₂CH₂Br), J_{HH} = 7,19 Hz, 2H]; 2,20 [qui (CH₂CH₂CH₂Br), J_{HH} = 6,56 Hz, 2H]; 3,48 [t (CH₂CH₂CH₂Br), J_{HH} = 6,18 Hz, 2H]; 7,8 e 7,01 [d (H₄ e H₇), J_{HH} = 7,43 Hz, 2H]; 7,03 e 7,8 [t (H₅ e H₆), J_{HH} = 7,63 Hz, 2H].
- m/z (%): 268 (26), 252 (0,5), 241 (12), 188 (50), 160 (20), 146 (10), 132 (100), 77 (28).

4.4.4 Síntese do 1-butilisatina (44).

Utilizou-se 0,80 g (5,43 mmol) de isatina, 0,87 mL (1,11 g - 8,15 mmol) de brometo de butila e 0,22 g (5,43 mmol) de hidreto de cálcio. O produto foi purificado por cromatografia em coluna aberta utilizando como adsorvente a sílica gel e eluente (hexano/acetato de etila 20 %). Obteve-se 0,50 g do 1-butilisatina, um líquido de coloração laranja, correspondendo a um rendimento de 45 %.

Caracterização:

- Aspecto: líquido laranja.
- IV (Pastilha de KBr): 1737 (ν C=O amídica), 1614 (ν C=O), 2873 e 2933 (ν CH₂ e CH₃), 3062 (ν =C-H aromático).
- RMN¹H (CDCl₃): 3,72 [t (-NCH₂CH₂CH₂CH₃), $J_{HH} = 7,32$ Hz, 2H]; 1,68 [m, (-NCH₂CH₂CH₂CH₃) 4H]; 1,43 [m, (-NCH₂CH₂CH₂CH₃), 2H]; 0,96 [t, (-NCH₂CH₂CH₂CH₃), $J_{HH} = 7,19$ Hz, 3H]; 7,59 [d, **H-4**, $J_{HH} = 7,44$ Hz, 1H]; 6,88 [t (**H-5**), $J_{HH} = 7,44$ Hz, 1H]; 7,55 [d, **H-6**, $J_{HH} = 7,44$ Hz, 1H]; 7,08 [d, (**H-7**), $J_{HH} = 7,44$ Hz, 1H].
- m/z (%) : 203 (25), 175(87), 161(37), 146(25), 132(100), 119(38), 104(30), 90(23), 77(42,5), 63(12,5), 51(22).

4.4.5 Síntese do 1-alilisatina (45).

Utilizou-se 0,70 g (4,75 mmol) de isatina, 0,62 mL (0,86 g - 7,13 mmol) de brometo de alila e 0,19 g (4,75 mmol) de hidreto de cálcio. Obteve-se 0,20 g do produto como um óleo de coloração laranja, correspondendo a um rendimento de 22%.

Caracterização:

- Aspecto: óleo laranja.
- RMN ¹H (CDCl₃): 4,38 [dt (NCH₂CH=CH₂), 2H]; 5,85 [m (NCH₂CH=CH₂), 2H]; 1H]; 5,30[m (NCH₂CH=CH₂), 2H]; 7,63 [d, **H-4**, $J_{HH} = 8$ Hz, 1H]; 7,13[t, **H-5**, $J_{HH} = 8$ Hz, 1H]; 7,55 [t, **H-6**, $J_{HH} = 8$ Hz, 1H]; 6,90 [d, **H-7**, $J_{HH} = 8$ Hz, 1H].

4.4.6 Síntese do 5-cloro-1-metilisatina (46).

Utilizou-se 0,60 g (3,30 mmol) de 5-cloro-1-metilisatina, 0,30 mL (0,70 g - 4,96 mmol) de iodeto de metila e 0,13 g (3,30 mmol) de hidreto de cálcio. Obteve-se 0,20 g do produto, correspondendo a um rendimento de 31%.

Caracterização:

- Aspecto: sólido laranja.
- Ponto de fusão: 167-168 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 1751 (ν C=O amídica), 1608 (ν C=O), 2919 (ν CH₃), 3048 (ν =C-H aromático).
- RMN ¹H (CDCl₃): 3,27 [s (NCH₃), 3H]; 7,60 [d ,H-4, J_{HH} = 8 Hz, 1H]; 7,58 [t ,H-6, J_{HH} = 8 Hz, 1H]; 6,88 [d ,H-7, J_{HH} = 8 Hz, 1H].
- m/z (%): 195 (100), 180 (2), 167 (22), 139 (10), 126 (5), 104 (3), 77 (5), 63 (7).

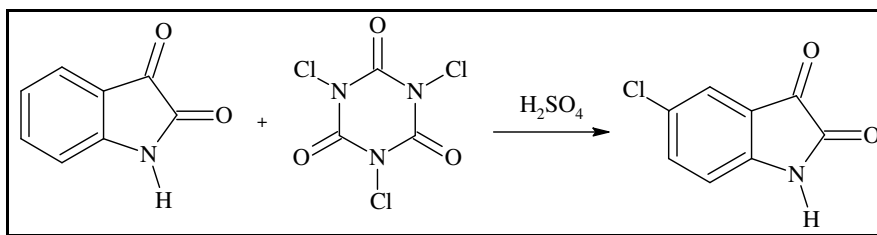
4.4.7 Síntese do 5-cloro-1-benzilisatina (47).

Utilizou-se 1,0 g (5,50 mmol) de 5-cloroisatina, 0,98 mL (1,41 g – 8,25 mmol) de brometo de benzila e 0,23 g (5,50 mmol) de hidreto de cálcio. Obteve-se 0,59 g do produto como um sólido de coloração laranja, correspondendo a um rendimento de 39%.

Caracterização:

- Aspecto: sólido laranja.
- Ponto de fusão: 95-96 °C
- IV (Pastilha de KBr): 1754 (ν C=O amídica), 1602 (ν C=O), 2948 (ν CH₂), 3058 (ν =C-H aromático).
- RMN ¹H (CDCl₃): 4,94 e 4,72 [s (NCH₂), 2H]; 7,59 [d ,H-4, J_{HH} = 8 Hz, 1H]; 7,46 [t ,H-6, J_{HH} = 8 Hz, 1H]; 6,73 [d ,H-7, J_{HH} = 8 Hz, 1H].
- m/z (%): 271 (100), 214 (8), 180 (27), 91 (25), 65 (2).

4.5 Reação de cloração de isatina.



Esquema 25: Reações de cloração regioseletiva de isatina na posição 5.

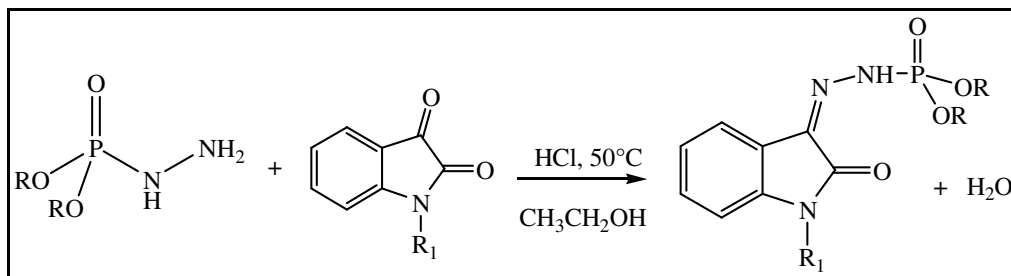
4.5.1 Síntese do 5-cloroisatina (48).

Em um balão monotubulado de 50 mL, uma suspensão de isatina 0.30 g (2,03 mmol) e o ácido tricloroisocianúrico 0,15 g (0,679 mmol), em H₂SO₄ (5 mL), foi agitado a temperatura ambiente por 10 minutos. Após a adição de água gelada, a mistura reacional foi tratada com solução 10 % de bicarbonato de sódio, extraída com acetato de etila (4x15 mL), filtrada, e seca com sulfato de sódio. O solvente orgânico foi evaporado e o produto obtido como um sólido laranja com 67 % de rendimento.

Caracterização:

- Aspecto: sólido laranja.
- Ponto de fusão: 248-249 °C
- RMN ¹H (CDCl₃): 7,61 [d ,**H**-4, $J_{\text{meta HH}} = 2,26$ Hz, 1H]; 7,55 [dd ,**H**-6, $J_{\text{ortoHH}} = 8,44$ Hz, $J_{\text{meta HH}} = 2,26$ Hz, 1H]; 6,90 [d ,**H**-7, $J_{\text{HH}} = 8,29$ Hz, 1H].
- m/z (%): 181 (100), 164 (5), 153 (75), 126 (32), 110 (2), 98 (7), 90 (12), 75 (7), 63 (42), 52 (7).

4.6 Síntese das dialquilfosforilidrazonas.



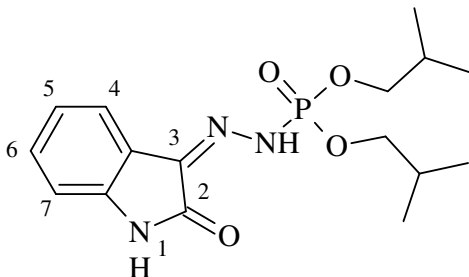
Esquema 26: Síntese das dialquilfosforilidrazonas.

⇒ Procedimento geral

Em um balão monotubulado de 50 mL de capacidade adicionou-se a dialquilfosforilidrazina solubilizada em etanol, os derivados de isatina correspondente, seguido de duas 2 gotas de HCl concentrado (37 %). A mistura reacional foi mantida sob agitação, a temperatura ambiente pelo tempo determinado em cada caso. Após a reação se completar foram adicionados 10 gotas de solução de bicarbonato de sódio a 10 %. A solução resultante foi extraída com diclorometano (4x15 mL). Em seguida adicionou-se a solução Na_2SO_4 anidro, o produto foi filtrado e evaporado.

4.6.1 Síntese do Ácido fosforoidrazídico *N*'-[1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-éster (2-metil propílico). (1)

Utilizou-se 0,30 g (2,04 mmol) de isatina e 0,45 g (2,04 mmol) de diisobutilfosforilidrazina. Obteve-se 0,60 g do produto, correspondendo a um rendimento de 84 %. O produto foi purificado através de uma filtração em coluna, utilizando a sílica gel como adsorvente e (hexano /acetato de etila 15%) como eluente.

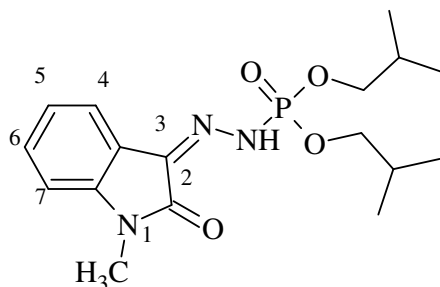


Caracterização:

- Aspecto: sólido amarelo.
- Ponto de fusão: 78-81 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3149,2 (νNH); 1619,9 (νC=N); 1695,1 (νC=O); 1238,1 (νP=O); 1020,1 (νP-O-C).
- RMN ¹H (CDCl₃): 11,42 e 8,47 [d, N-**H**, *J*_{HP} = 33,67 Hz e *J*_{HP} = 28,37 Hz, 1H]; 9,75 [s, N-**H**, 1H]; 7,87 [d, **H**-4, *J*_{HH} = 7,82 Hz, 1H]; 6,95 [m, **H**-5, 1H]; 7,07 [m, **H**-6, 1H]; 6,99 [d, **H**-7, *J*_{HH} = 8,0 Hz, 1H]; 0,96 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), 12H]; 2,01 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 2H]; 3,95 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4H].
- RMN ¹³C (CDCl₃): 18,66 [s ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4C]; 29,06 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{CP} = 6,97 Hz, 2C]; 73,92 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{CP} = 6,61Hz, 2C]; 144,66 [s (-N=C), 1C]; 163,17 [s (C=O), 1C]; 111,07-135,68 [s (C, arom.), 6C].
- RMN de ³¹P (CDCl₃): -0,55 e -0,92. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 353 (14), 297 (20), 281(5), 267 (5), 241 (85), 224 (10), 160 (100), 132 (45).

4.6.2 Síntese do Ácido fosforoidrazídico *N*'-[1,2-diidro-1-metil-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno] éster (2-metil propílico) (2)

Utilizou-se 0,51 g (3,20 mmol) de 1-metilisatina e 0,72 g (3,20 mmol) de diisobutilfosforilidrazina. Obteve-se 0,80 g do produto, como um óleo de coloração laranja, correspondendo a um rendimento de 68%.

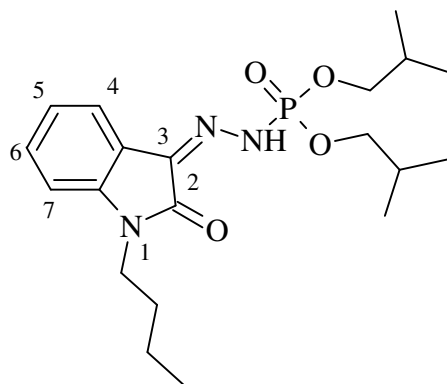


Caracterização:

- Aspecto: óleo laranja.
- IV (Pastilha de KBr): 3199,3 (νNH); 1616,0 (νC=N); 1691,2 (νC=O); 1255,4 (νP=O); 1018,2 (νP-O-C).
- RMN ¹H (CDCl₃): 11,41 [d, N-H, *J*_{HP} = 33,79 Hz e *J*_{HP} = 28,37 Hz, 1H]; 3,23 [s, N-CH₃, 3H]; 7,56 [d, H-4, *J*_{HH} = 7,62 Hz, 1H]; 7,08 [t, H-5, *J*_{HH} = 7,62 Hz, 1H]; 7,33 [t, H-6, *J*_{HH} = 7,85 Hz, 1H]; 6,84 [d, H-7, *J*_{HH} = 7,85 Hz, 1H]; 0,93 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{HH} = 6,69 Hz, 12H]; 1,98 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 2H]; 3,89 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4H].
- RMN ¹³C (CDCl₃): 18,63 [s ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4C]; 29,01 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{CP} = 7,34 Hz, 2C]; 73,72 e 74,24 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{CP} = 6,60 Hz, 2C]; 142,48 e 144,39 [s(-N=C), 1C]; 161,16 e 163,79 [s (C=O), 1C] 108,71-134,74 [s (C, arom.), 6C]; 139,14 [s (CH₃), 1C].
- m/z (%): 368 (70), 311 (53), 255(60), 172 (100), 146 (54), 117 (28), 91 (25).
- RMN de ³¹P (CDCl₃): -0,43. Espectro desacoplado.

4.6.3 Síntese do Ácido fosforoidrazídico *N*'- [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-éster bis (2-metil propílico) (3)

Utilizou-se 0,20 g (0,98 mmol) de 1-butilisatina e 0,22 g (0,98 mmol) de diisobutilfosforilidrazina. Obteve-se 0,30 g do produto laranja, correspondendo a 75% de rendimento.

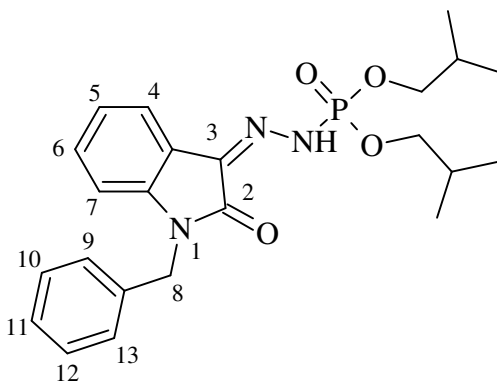


Caracterização:

- Aspecto: líquido viscoso laranja.
- IV (Pastilha de KBr): 3212,8 (vNH); 1614,15 (vC=N); 1685,5 (vC=O); 1276,6 (vP=O); 1022,1 (vP-O-C).
- RMN ^1H (CDCl_3): 11,44 [d, -N-H, $J_{\text{HP}} = 33,67$ Hz, 1H]; 3,71 [t, N-CH₂CH₂CH₂CH₃, $J_{\text{HH}} = 7,32$ Hz, 2H]; 1,66 [m, N-CH₂CH₂CH₂CH₃, 2H]; 1,36 [m, N-CH₂CH₂CH₂CH₃, 2H]; 0,93 [t, N-CH₂CH₂CH₂CH₃, $J_{\text{HH}} = 7,19$ Hz, 3H]; 7,58 [d, H-4, $J_{\text{HH}} = 7,0$ Hz, 1H]; 7,06 [t, H-5, $J_{\text{HH}} = 7,0$ Hz, 1H]; 7,31 [t, H-6, $J_{\text{HH}} = 7,0$ Hz, 1H]; 6,85 [d, H-7, $J_{\text{HH}} = 7,0$ Hz, 1H]; 0,93 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), $J_{\text{HH}} = 6,69$ Hz, 12H]; 1,99 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 2H]; 3,92 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4H].
- RMN ^{13}C (CDCl_3): 18,66 [s ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4C]; 29,05 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), $J_{\text{CP}} = 6,61$ Hz, 2C]; 73,76 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), $J_{\text{CP}} = 6,60$ Hz, 2C]; 141,99 [s(-N=C), 1C]; 161,15 [(C=O), 1C]; 108,97-134,97 [s (C, arom.), 6C]; 39,40 [s (NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1C]; 29,63 [s (NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1C]; 20,16 [s (NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1C]; 13,68 [s (NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1C].
- RMN de ^{31}P (CDCl_3): - 0,50 dq. Espectro acoplado.
- m/z (%): 409 (32), 388 (2), 353 (50), 297 (40), 269 (12), 216 (100), 170 (5), 146 (32), 117 (10), 77 (5), 57 (5).

4.6.4 Síntese do Ácido fosforoidrazídico *N*'-[1,2-diidro-2-oxo-1-(fenilmetil)-3*H*-indol-3-ilideno]-éster (2 –metil propílico) (4)

Utilizou-se 0,03 g (0,12 mmol) de 1-benzilisatina e 0,028 g (0,12 mmol) de diisobutilfosforilidrazina. Ao término da reação foi observado, por cromatografia em camada fina duas substâncias. Estas foram separadas por cromatografia em coluna aberta, utilizando como adsorvente sílica e (hexano / acetato de etila 30%) como eluente. Em seguida, a fração contendo o produto foi evaporado a pressão reduzida e posteriormente caracterizado. Após cromatografia em coluna, obteve-se 0,02 g do produto, como um óleo de coloração amarela, correspondendo a 38 % de rendimento.

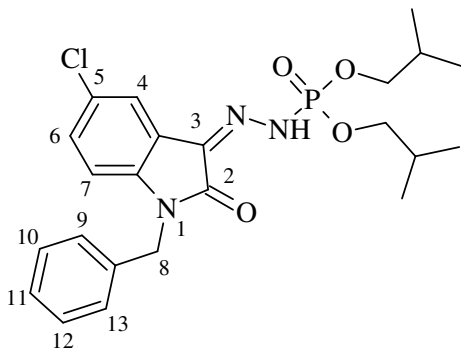


Caracterização:

- Aspecto: óleo amarelo.
- IV (Pastilha de KBr): 3209,0 (νNH); 1616,0 (νC=N); 1687,4 (νC=O); 1261,2 (νP=O); 1022,1 (νP-O-C).
- RMN ¹H (CDCl₃): 11,40 [d, -N-H, *J*_{HP} = 34,29 Hz, 1H]; 4,88 [s, N-CH₂, 2H]; 7,61-7,22 [m, H-9 a H-13, 5H]; 7,62 [d, H-4, *J*_{HH} = 7,0 Hz, 1H]; 7,08 [t, H-5, *J*_{HH} = 7,0 Hz, 1H]; 7,22 [m, H-6, 1H]; 6,78 [d, H-7, *J*_{HH} = 7,0 Hz, 1H]; 0,98 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{HH} = 6,68 Hz, 12H]; 2,04 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 2H]; 3,95 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4H].
- RMN ¹³C (CDCl₃): 18,66 [s ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4C]; 29,06 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{CP} = 7,33 Hz, 2C]; 73,81 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{CP} = 6,60 Hz, 2C]; 141,70 [s(-N=C), 1C]; 161,17 [(C=O), 1C] 109,68-135,17 [s (C, arom.), 6C]; 43,24 [s (CH₂C₆H₅), 1C]; 127,90-134,71 [s (CH₂C₆H₅), 6C].
- RMN de ³¹P (CDCl₃): - 0,55 dq. Espectro acoplado.
- m/z(%): 444 (70), 388 (60), 332 (30), 251(100), 222 (15), 91(73).

4.6.5 Síntese do ácido fosforoidrazídico, *N*²- [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster bis (2-metil propílico). (5)

Utilizou-se 0,20 g (0,75 mmol) de 5-cloro-1-benzilisatina e 0,16 g (0,75 mmol) de diisobutilfosforilidrazina. Obteve-se 0,33 g do produto laranja, correspondendo a 91 % de rendimento.

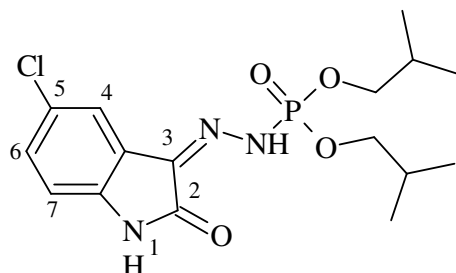


Caracterização:

- Aspecto: óleo laranja.
- IV (Pastilha de KBr): 3210,0 (νNH); 1614,1 (νC=N); 1691,2 (νC=O); 1247,3 (νP=O); 1020,1 (νP-O-C).
- RMN ¹H (CDCl₃): 11,44 [d, -N-H, *J*_{HP} = 33,63 Hz, 1H]; 4,92 [s, N-CH₂C₆H₅, 2H]; 7,60-7,29 [m, H-9 a H-13, 5H]; 7,38 [d, H-4, *J*_{HH} = 8,0 Hz, 1H]; 7,30 [d, H-6, *J*_{HH} = 8,0 Hz, 1H]; 6,69 [d, H-7, *J*_{HH} = 8,0 Hz, 1H]; 0,96 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{HH} = 6,78 Hz, 12H]; 2,01 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 2H]; 3,96 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4H].
- RMN ¹³C (CDCl₃): 18,68 [s ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4C]; 29,09 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{CP} = 6,60 Hz, 2C]; 73,98 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{CP} = 5,87 Hz, 2C]; 141,14 [s(-N=C), 1C]; 160,93 [(C=O), 1C]; 110,78-135,55 [s (C, arom.), 6C]; 43,38 [s (CH₂C₆H₅), 1C]; 127,44-139,99 [s (CH₂C₆H₅), 6C].
- RMN de ³¹P (CDCl₃): - 0,97 dq. Espectro acoplado.
- m/z (%): 477(47), 421 (100), 365 (62), 348 (7), 285 (87), 256 (27), 193 (7), 150 (5), 118 (7), 65 (20).

4.6.6 Síntese do ácido fosforoidrazídico, *N*²- [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster (2-metil propílico). (6)

Utilizou-se 0,05 g (2,83 mmol) de 5-cloroisatina e 0,07 g (2,83 mmol) de diisobutilfosforilidrazina. Obteve-se 0,11 g do produto, como um sólido de coloração amarelo, correspondendo a 90% de rendimento.

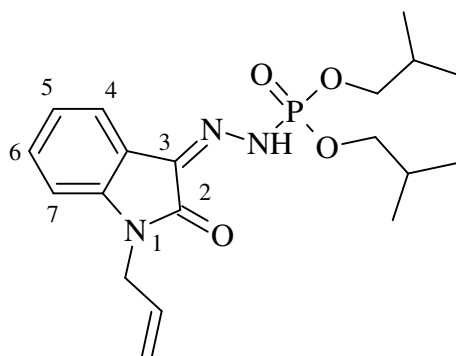


Caracterização

- Aspecto: sólido amarelo
- IV (Pastilha de KBr): 3122,2 (νNH); 1621,8 (νC=N); 1691,2 (νC=O); 1241,9 (νP=O); 1012,4 (νP-O-C).
- RMN ¹H (CDCl₃): 11,36 [d, -N-H, *J*_{HP} = 33,42 Hz, 1H]; 8,86 [s, N-H, 1H]; 7,51 [d, H-4, 1H]; 7,25 [d, H-6, *J*_{HH} = 8,0 Hz, 1H]; 6,87 [d, H-7, *J*_{HH} = 8,0 Hz, 1H]; 0,96 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{HH} = 6,68 Hz, 12H]; 2,01 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 2H]; 3,95 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4H].
- RMN ¹³C (CDCl₃): 18,66 [s ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4C]; 29,00 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{CP} = 6,61 Hz, 2C]; 74,22 e 73,97 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{CP} = 6,60 Hz, 2C]; 140,88 e 139,24 [s(-N=C), 1C]; 166,15 e 163,04 [s (C=O), 1C]; 116,90-136,25 [s (C, arom.), 6C].
- RMN de ³¹P (CDCl₃): - 0,93 dq. Espectro acoplado.
- m/z (%): 387 (12), 331 (20), 275 (100), 258 (12), 194 (82), 166 (24), 138 (15), 102 (12), 98 (13), 75 (7), 57 (7).

4.6.7 Síntese do ácido fosforoidrazídico, *N*'- [1,2-diidro-2-oxo-1-(2-propenil)-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster bis (2-metil propílico). (7)

Utilizou-se 0,20 g (1,08 mmol) de 1-alilisatina e 0,24 g (1,08 mmol) de diisobutilfosforilidrazina. Obteve-se 0,37 g do produto laranja, correspondendo a 88% de rendimento.

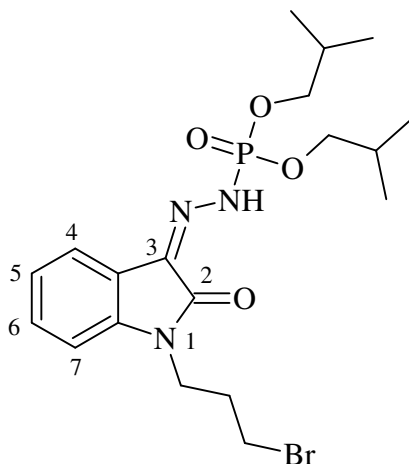


Caracterização:

- Aspecto: óleo laranja.
- IV (Pastilha de KBr): 3214,8 (νNH); 1614,1 (νC=N); 1689,3 (νC=O); 1272,8 (νP=O); 1020,1 (νP-O-C).
- RMN ¹H (CDCl₃): 11,40 [d, -N-H, *J*_{HP} = 33,63 Hz, 1H]; 4,36 [dt, N-CH₂CH=CH₂, 2H]; 5,83 [m, N-CH₂CH=CH₂, 2H]; 5,24 [m, N-CH₂CH=CH₂, 2H]; 7,60 [d, H-4, *J*_{HH} = 7,0 Hz, 1H]; 7,09 [t, H-5, *J*_{HH} = 7,0 Hz, 1H]; 7,30 [t, H-6, *J*_{HH} = 8,0 Hz, 1H]; 6,85 [d, H-7, *J*_{HH} = 8,0 Hz, 1H]; 0,95 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{HH} = 6,78 Hz, 12H]; 2,00 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 2H]; 3,92 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4H].
- RMN ¹³C (CDCl₃): 18,66 [s ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4C]; 29,06 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{CP} = 7,34 Hz, 2C]; 73,79 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{CP} = 5,87 Hz, 2C]; 141,75 [s(-N=C), 1C]; 160,88 [(C=O), 1C]; 109,57-134,72 [s (C, arom.), 6C]; 41,17 [s (CH₂-CH=CH₂), 1C]; 130,23 [s (CH₂-CH=CH₂), 1C]; 118,09 [s (CH₂-CH=CH₂), 1C].
- RMN de ³¹P (CDCl₃): - 0,50 dq. Espectro acoplado.
- m/z (%): 394 (87), 356 (5), 337 (52), 311(10), 281 (42), 253 (30), 200 (100), 172 (35), 143(27), 117 (15), 91 (5), 57 (10).

4.6.8 Síntese do ácido fosforidrazídico, *N*'- [1-(3-bromo propil)-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster (2-metil propílico). (8)

Utilizou-se 0,14 g (0,52 mmol) de 1-(3-bromo propil) isatina e 0,11g (0,52 mmol) de diisobutilfosforilidrazina. Obteve-se 0,18g do produto laranja, correspondendo a 75% de rendimento.

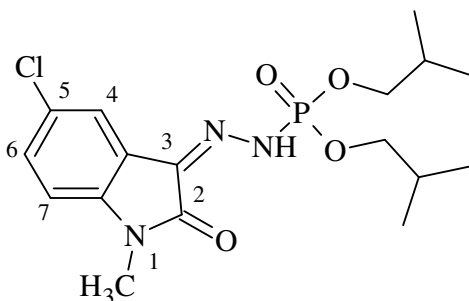


Caracterização

- Aspecto: óleo laranja.
- IV (Pastilha de KBr): 3212,8 (vNH); 1614,1 (vC=N); 1687,4 (vC=O); 1267,0 (vP=O); 1024,0 (vP-O-C).
- RMN ¹H (CDCl₃): 11,37 [d, -N-H, *J*_{HP} = 33,42 Hz, 1H]; 3,96 [m, N-CH₂CH₂CH₂Br, 2H]; 2,26 [m, N-CH₂CH₂CH₂Br, 2H]; 3,44 [t, N-CH₂CH₂CH₂Br, *J*_{HH} = 6,30 Hz, 2H]; 7,60 [d, H-4, *J*_{HH} = 7,0 Hz, 1H]; 7,10 [t, H-5, *J*_{HH} = 7,0 Hz, 1H]; 7,35 [t, H-6, *J*_{HH} = 7,0 Hz, 1H]; 6,96 [d, H-7, *J*_{HH} = 7,0 Hz, 1H]; 0,94 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{HH} = 6,68 Hz, 12H]; 2,00 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 2H]; 3,90 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4H].
- RMN ¹³C (CDCl₃): 18,67 [s ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4C]; 29,07 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{CP} = 6,60 Hz, 2C]; 73,83 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), *J*_{CP} = 5,87 Hz, 2C]; 141,66 [s(-N=C), 1C]; 161,29 [s (C=O), 1C]; 108,84-134,59 [s (C, arom.), 6C]; 38,11 [s (CH₂-CH₂CH₂Br), 1C]; 30,71 [s (CH₂-CH₂CH₂Br), 1C]; 30,17[s (CH₂-CH₂CH₂Br), 1C].
- RMN de ³¹P (CDCl₃): 0,56 . Espectro desacoplado.
- m/z (%): 475 (10), 419 (27), 395 (10), 363(45), 340 (15), 282 (100), 226 (10), 201 (27), 174 (25), 144 (25), 90 (12), 51 (7).

4.6.9 Síntese do ácido fosforoidrazídico, *N*²- [5-cloro-1,2-diidro-1-metil-2oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster (2-metil propílico). (9)

Utilizou-se 0,10 g (0,54 mmol) de 5-cloro-1-metilisatina e 0,12 g (0,54 mmol) de diisobutilfosforilidrazina. Obteve-se 0,16 g do produto laranja, correspondendo a 73% de rendimento.

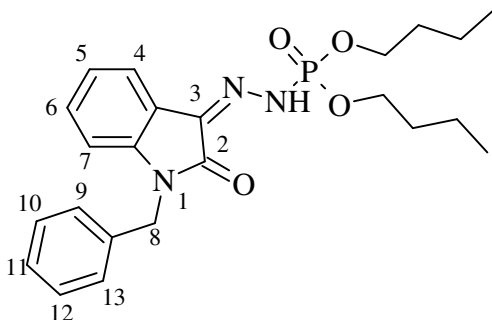


Caracterização:

- Aspecto: sólido laranja.
- IV (Pastilha de KBr): 3214,8 (νNH); 1614,1 (νC=N); 1691,2 (νC=O); 1268,9 (νP=O); 1014,3 (νP-O-C).
- m/z (%): 401(100), 373 (5), 346 (57), 290 (57), 272 (10), 250 (5), 235 (1), 208(60), 180 (30), 151 (10), 117 (20), 89 (10), 75 (5), 57 (7).
- RMN ¹H (CDCl₃): 11,41 [d, -N-H, J_{HP} = 33,63 Hz, 1H]; 3,25 [s, N-CH₃, 3H]; 7,59 [d, H-4, 1H]; 7,32 [d, H-6, J_{HH} = 8,0 Hz, 1H]; 6,81 [d, H-7, J_{HH} = 8,0 Hz 1H]; 0,96 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{HH} = 6,78 Hz, 12H]; 2,00 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 2H]; 3,94 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4H].
- RMN ¹³C (CDCl₃): 18,66 [s ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4C]; 29,07 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{CP} = 7,34 Hz, 2C]; 73,88 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{CP} = 5,87 Hz, 2C]; 148,73 [s(-N=C), 1C]; 160,96 [(C=O), 1C]; 109,70-133,66 [s (C, arom.), 6C]; 25,68 [s (CH₃), 1C].
- RMN de ³¹P (CDCl₃): - 0,25 dq. Espectro acoplado.

4.6.10 Síntese do Ácido fosfoindrazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-1-(fenilmetil)-3*H*-indol-3-ilideno]-éster dibutílico. (10)

Utilizou-se 0,36 g (1,54 mmol) de 1-benzilistatina e 0,34 g (1,54 mmol) de dibutilfosforilidrazina. Obteve-se 0,35 g do produto, como um óleo de coloração amarelo, correspondendo a 52 % de rendimento.

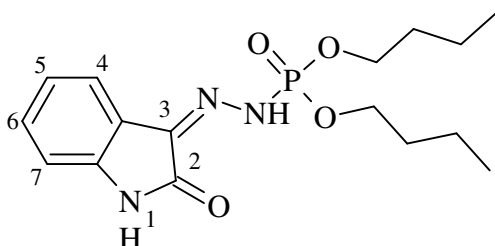


Caracterização:

- Aspecto: óleo amarelo.
- IV (Pastilha de KBr): 3216,7 (ν_{NH}); 1612,2 ($\nu_{\text{C=N}}$); 1712,5 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1253,5 ($\nu_{\text{P=O}}$); 1027,8 ($\nu_{\text{P-O-C}}$).
- m/z (%): 444 (78), 387 (10), 357 (5), 292 (26), 251(48), 222(45), 144(10), 91 (100).
- RMN ^1H (CDCl_3): 11,47 [d, N-**H**-, $J_{\text{HP}} = 33,16$ Hz e $J_{\text{HP}} = 28,12$ Hz, 1H]; 4,90 [s, N-**CH**₂-, 2H]; 7,23-7,93 [m, **H**-9 a **H**-13, 5H]; 7,95 [d, **H**-4, $J_{\text{HH}} = 7,44$ Hz, 1H]; 7,05 [t, **H**-5, $J_{\text{HH}} = 7,44$, 1H]; 7,19 [m, **H**-6, 1H]; 6,72 [d, **H**-7, $J_{\text{HH}} = 7,82$ Hz, 1H]; 0,86 [t (**CH**₃**CH**₂**CH**₂**CH**₂**O**-), 6H]; 1,37 [m, (**CH**₃**CH**₂**CH**₂**CH**₂**O**-) 4H]; 1,63 [m (**CH**₃**CH**₂**CH**₂**CH**₂**O**-), 4H]; 4,18 [m (**CH**₃**CH**₂**CH**₂**CH**₂**O**-), 4H].
- RMN de ^{31}P (CDCl_3): - 0,27 e -1,30. Espectro desacoplado.

4.6.11 Síntese do Ácido fosforoidrazídico *N'*-[1,2-diidro-1-metil-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno] éster dibutílico. (11)

Utilizou-se 0,37 g (2,51 mmol) de isatina e 0,6 g (2,67 mmol) de dibutilfosforilidrazina. Obteve-se 0,34 g do produto, como um óleo de coloração amarelo, correspondendo a 62 % de rendimento.

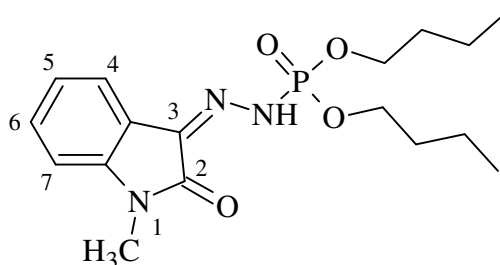


Caracterização:

- Aspecto: óleo amarelo.
- IV (Pastilha de KBr): 3185,8 (νNH); 1621,8 (νC=N); 1700,9 (νC=O); 1249,6 (νP=O); 1022,1 (νP-O-C).
- RMN ¹H (CDCl₃): 11,44 [d, N-**H**, *J*_{HP} = 33,63 Hz, 1H]; 9,79 [s, N-**H**, 1H]; 7,52 [d, **H**-4, *J*_{HH} = 7,53 Hz, 1H]; 7,05 [t, **H**-5, *J*_{HH} = 7,53 Hz, 1H]; 7,25 [t, **H**-6, *J*_{HH} = 7,78 Hz, 1H]; 6,94 [d, **H**-7, *J*_{HH} = 7,78 Hz, 1H]; 0,91 [t (CH₃CH₂CH₂CH₂O-), *J*_{HH} = 7,28 Hz, 6H]; 1,4 [m, (CH₃CH₂CH₂CH₂O-) 4H]; 1,68 [m (CH₃CH₂CH₂CH₂O-), 4H]; 4,15 [m (CH₃CH₂CH₂CH₂O-), 4H].
- RMN ¹³C (CDCl₃): 13,50 [s (CH₃(CH₂)₃O-), 2C]; 18,60 [s (CH₃CH₂(CH₂)₂O-), 2C]; 32,16 [d (CH₃CH₂CH₂CH₂O-), *J*_{CP} = 6,60 Hz, 2C]; 67,80 [d (-CH₃(CH₂)₂CH₂O-), *J*_{CP} = 5,87 Hz, 2C]; 140,99 [s (-N=C), 1C]; 163,17 [(C=O), 1C]; 111,15-135,92 [s (C, arom.), 6C].
- RMN de ³¹P (CDCl₃): - 0,12 dq. Espectro acoplado.
- m/z (%): 354 (100), 339 (5), 323 (7), 298 (10), 280 (7), 267 (5), 241 (12), 213 (25), 187 (5), 160 (77), 131 (65), 104 (32), 77 (21), 51 (10).

4.6.12 Síntese do Ácido fosforoidrazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno] éster dibutílico. (12)

Utilizou-se 0,60 g (3,74 mmol) de 1-metilistatina e 0,83 g (3,74 mmol) de dibutilfosforilidrazina. Obteve-se 0,80 g do produto, como um óleo laranja, correspondendo a 58 % de rendimento.

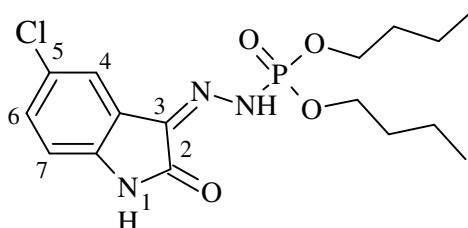


Caracterização:

- Aspecto: óleo laranja.
- IV (Pastilha de KBr): 3210,9 (νNH); 1614,1 (νC=N); 1689,3 (νC=O); 1272,8 (νP=O); 1029,8 (νP-O-C).
- RMN ¹H (CDCl₃): 11,35 [d, N-H, *J*_{HP} = 33,55 Hz e *J*_{HP} = 28,62 Hz, 1H]; 3,15 [s, N-CH₃, 3H]; 7,49 [d, H-4, *J*_{HH} = 6,93 Hz, 1H]; 6,99 [t, H-5, *J*_{HH} = 6,80 Hz, 1H]; 7,26 [t, H-6, *J*_{HH} = 7,69 Hz, 1H]; 6,77 [d, H-7, *J*_{HH} = 7,95 Hz, 1H]; 0,82 [t (CH₃CH₂CH₂CH₂O-), *J*_{HH} = 7,31 Hz, 6H]; 1,33 [m, (CH₃CH₂CH₂CH₂O-) 4H]; 1,57 [m (CH₃CH₂CH₂CH₂O-), 4H]; 4,06 [m (CH₃CH₂CH₂CH₂O-), 4H].
- RMN ¹³C (CDCl₃): 13,46 [s (CH₃(CH₂)₃O-), 2C]; 18,54 [s (CH₃CH₂(CH₂)₂O-), 2C]; 32,12 [d (CH₃CH₂CH₂CH₂O-), *J*_{CP} = 6,61 Hz, 2C]; 67,52 e 67,99 [d (-CH₃(CH₂)₂CH₂O-), *J*_{CP} = 6,60 Hz, 2C]; 142,43 e 14,29 [s (-N=C), 1C]; 161,06 e 163,74 [(C=O), 1C]; 108,70-134,97 [s (C, arom.), 6C]; 25,42 e 25,96 [s (CH₃), 1C].
- RMN de ³¹P (CDCl₃): - 0,25 dq. Espectro acoplado.
- m/z (%): 368 (100), 353(10), 337 (5), 312 (10), 208 (23), 174 (78), 146 (76), 117 (48), 91 (30).

4.6.13 Síntese do Ácido fosforoidrazídico, *N*'- [5-cloro-1,2-diidro-2oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de dibutila. (13)

Utilizou-se 0,50 g (2,75 mmol) de 1-cloroisatina e 0,61 g (2,75 mmol) de dibutilfosforilidrazina. Obteve-se 0,8 g do produto, como um sólido amarelo, correspondendo a 35 % de rendimento.

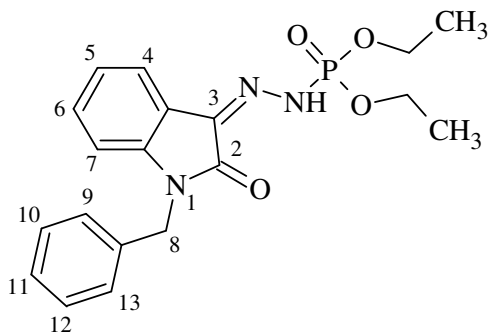


Caracterização:

- Aspecto: sólido amarelo.
- Ponto de Fusão: 144 – 147 °C.
- IV (Pastilha de KBr): 3129,9 (νNH); 1623,8 (νC=N); 1704,7 (νC=O); 1247,7 (νP=O); 1016,8 (νP-O-C).
- RMN ¹H (CDCl₃): 11,41 [d, N-H, *J*_{HP} = 33,63 Hz, 1H]; 9,63 [s, N-H, 1H]; 7,49 [d, H-4, *J*_{HH} = 2,01, 1H]; 7,24 [t, H-6, *J*_{HH} = 8,38 Hz, 1H]; 6,89 [d, H-7, *J*_{HH} = 8,28 Hz, 1H]; 0,91 [t (CH₃CH₂CH₂CH₂O-), *J*_{HH} = 7,28 Hz, 6H]; 1,42 [sex, (CH₃CH₂CH₂CH₂O-), *J*_{HH} = 7,53 Hz 4H]; 1,70 [qui (CH₃CH₂CH₂CH₂O-), *J*_{HH} = 8,03 Hz, 4H]; 4,15 [m (CH₃CH₂CH₂CH₂O-), 4H].
- RMN ¹³C (CDCl₃): 13,52 [s (CH₃(CH₂)₃O-), 2C]; 18,63 [s (CH₃CH₂(CH₂)₂O-), 2C]; 32,18 [d (CH₃CH₂CH₂CH₂O-), *J*_{CP} = 7,33 Hz, 2C]; 68,04 [d (-CH₃(CH₂)₂CH₂O-), *J*_{CP} = 5,87 Hz, 2C]; 139,08 [s (-N=C), 1C]; 162,86 [(C=O), 1C]; 120,60-134,92 [s (C, arom.), 6C].
- RMN de ³¹P (CDCl₃): - 0,75. Espectro desacoplado.
- m/z (%): 388 (100), 357 (10), 332 (13), 301 (7), 275 (25), 236 (20), 194 (60), 165 (40), 138 (28), 102 (12), 83 (15), 57 (7).

4.6.14 Síntese do ácido fosforoidrazídico, *N'*- [1,2-diidro-2-oxo-1-(fenil metil)-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster dietílico. (14)

Utilizou-se 0,11 g (0,46 mmol) de 1-benzilisatina e 0,074 g (0,46 mmol) de dietilfosforilidrazina. Obteve-se 1,05 g do produto laranja, correspondendo a 86% de rendimento.

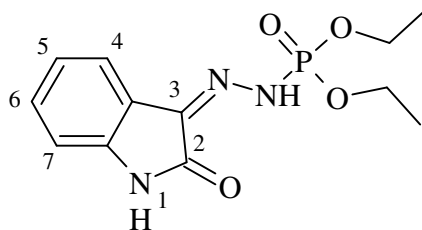


Caracterização:

- Aspecto: óleo laranja.
- IV (Pastilha de KBr): 3214,8 (νNH); 1614,1 (νC=N); 1685,5 (νC=O); 1267,0 (νP=O); 1025,9 (νP-O-C).
- RMN ¹H (CDCl₃): 11,47 [d, -N-H, *J*_{HP} = 33,38 Hz, 1H]; 4,93 [s, N-CH₂C₆H₅]; 7,22-7,38 [m, H-9 a H-13, 5H]; 7,65[d, H-4, *J*_{HH} = 7,0 Hz, 1H]; 7,08 [t, H-5, *J*_{HH} = 7,0 Hz, 1H]; 7,25 [t, H-6, *J*_{HH} = 7,0 Hz, 1H]; 6,78 [d, H-7, *J*_{HH} = 7,0 Hz, 1H]; 1,38 [t (CH₃CH₂O-), *J*_{HH} = 7,03 Hz, 6H]; 4,25[m (CH₃CH₂O-), 4H].
- RMN ¹³C (CDCl₃): 16,18 [d (CH₃CH₂O-), *J*_{CP} = 6,60 Hz, 2C]; 64,06 [d (CH₂O-), *J*_{CP} = 5,87 Hz, 2C]; 141,73 [s (-N=C), 1C]; 161,23 [(C=O), 1C]; 109,70-135,16 [s (C, arom.), 6C]; 43,20 [s (CH₂C₆H₅), 1C]; 127,37-134,99 [s (CH₂C₆H₅), 6C].
- RMN de ³¹P (CDCl₃): - 0,35 dq. Espectro acoplado.
- m/z (%): 388 (100), 360 (1), 250 (20), 222 (8), 194 (6), 144 (3), 109 (5), 91 (32).

4.6.15 Síntese do ácido fosforoidrazídico, *N'*- [1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster dietílico. (15)

Utilizou-se 0,6 g (4,07 mmol) de isatina e 0,65 g (4,07 mmol) de dietilfosforilidrazina. Obteve-se 1,05 g do produto laranja, correspondendo a 86% de rendimento.

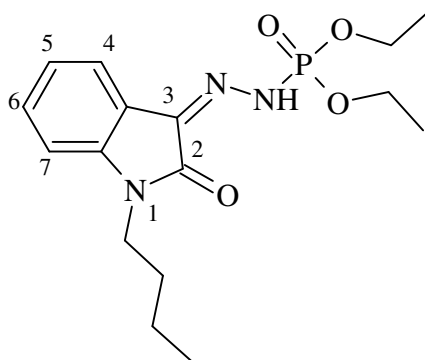


Caracterização:

- Aspecto: óleo laranja.
- IV (Pastilha de KBr): 3137,6 (νNH); 1621,8 (νC=N); 1697,0 (νC=O); 1240,0 (νP=O); 1018,2 (νP-O-C).
- RMN ¹H (CDCl₃): 11,43 [d, -N-H, *J*_{HP} = 33,63 Hz, 1H]; 9,63[s, N-H]; 7,55[d, H-4, *J*_{HH} = 8,0 Hz, 1H]; 7,02 [t, H-5, *J*_{HH} = 8,0 Hz, 1H]; 7,25 [t, H-6, *J*_{HH} = 8,0 Hz, 1H]; 6,92 [d, H-7, *J*_{HH} = 8,0 Hz, 1H]; 1,36 [t (CH₃CH₂O-), *J*_{HH} = 7,03 Hz, 6H]; 4,22 [m (CH₃CH₂O-), 4H].
- RMN ¹³C (CDCl₃): 16,13 [d (CH₃CH₂O-), *J*_{CP} = 6,61 Hz, 2C]; 64,20 [d (CH₂O-), *J*_{CP} = 5,13 Hz, 2C]; 140,74 [s (-N=C), 1C]; 163,19 [(C=O), 1C]; 111,15-136,06 [s (C, arom.), 6C].
- RMN de ³¹P (CDCl₃): - 0,29 dq. Espectro acoplado.
- m/z (%): 297 (100), 276 (8), 252 (5), 241 (8), 224 (7), 213 (18), 195 (5), 173 (10), 159 (55), 131 (85), 104 (35), 77 (27), 65 (5), 51 (12).

4.6.16 Síntese do ácido fosforoidrazídico, *N'*- [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster dietílico. (16)

Utilizou-se 0,07 g (0,34 mmol) da 1-butilisatina e 0,057 g (0,34 mmol) de dietilfosforilidrazina. Obteve-se 0,11 g do produto laranja, correspondendo a 65% de rendimento.



Caracterização

- Aspecto: óleo laranja.
- IV (Pastilha de KBr): 3209,0 (vNH); 1614,1 (vC=N); 1685,5 (vC=O); 1267,0 (vP=O); 1025,9 (vP-O-C).
- RMN ^1H (CDCl_3): 11,48 [d, -N-H, $J_{\text{CP}} = 33,38$ Hz, 1H]; 3,72 [t, N-CH₂CH₂CH₂CH₃, $J_{\text{HH}} = 7,28$ Hz, 2H]; 1,66 [m, N-CH₂CH₂CH₂CH₃, 2H]; 1,32 [m, N-CH₂CH₂CH₂CH₃, 2H]; 0,95 [t, N-CH₂CH₂CH₂CH₃, $J_{\text{HH}} = 7,28$ Hz, 2H]; 7,62 [d, H-4, $J_{\text{HH}} = 7,0$ Hz, 1H]; 7,08 [t, H-5, $J_{\text{HH}} = 7,0$ Hz, 1H]; 7,32 [t, H-6, $J_{\text{HH}} = 7,0$ Hz, 1H]; 6,86 [d, H-7, $J_{\text{HH}} = 7,0$ Hz, 1H]; 1,37 [t (CH₃CH₂O-), $J_{\text{HH}} = 7,03$ Hz, 6H]; 4,23 [m (CH₃CH₂O-), 4H].
- RMN ^{13}C (CDCl_3): 16,16 [d (CH₃CH₂O-), $J_{\text{CP}} = 6,60$ Hz, 2C]; 64,00 [d (CH₂O-), $J_{\text{CP}} = 5,13$ Hz, 2C]; 142,03 [s (-N=C), 1C]; 161,20 [(C=O), 1C]; 108,97-135,25 [s (C, arom.), 6C]; 39,33 [s (NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1C]; 29,64 [s (NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1C]; 20,18 [s (NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1C]; 13,70 [s (NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1C].
- RMN de ^{31}P (CDCl_3): - 0,20 dq. Espectro acoplado.
- m/z (%): 353 (100), 339 (2), 297 (2), 280 (3), 216 (52), 201 (10), 187 (18), 170 (12), 146 (30), 117 (15), 104 (7), 91 (12).

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

4.7.1 Medidas de proliferação celular

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

Foram utilizados inóculos de 5×10^5 parasitos/mL. Os parasitos foram centrifugados e lavados duas vezes em salina tamponada com fosfato (PBS) estéril. Após a última lavagem, o sobrenadante foi desprezado, as células foram ressuspensas em 1 mL do mesmo tampão e contadas em câmara de Neubauer. Os parasitos foram incubados, a 27°C, em presença ou ausência dos fármacos e o crescimento verificado após 72 horas (*Leishmanis*) e 120 horas (*T. cruzi*). Os dados apresentados são representativos de experimentos independentes realizados em triplicata.

4.8 Atividade sobre o desenvolvimento sobre o fungo *Rhizoctonia solani*

Os ensaios com o fungo *rhizoctonia solani* foram preparados em meio nutritivo batata-dextrose-ágar (BDA). As culturas puras do fungo foram obtidas junto as micotecas dos setores de Fitopatologia das Universidades Federal Rural do Rio de Janeiro e Federal de Viçosa. As substâncias puras foram misturadas ao meio de cultura BDA (preparado em pH 7), na relação de 0,025 g do composto puro em 50 mL de BDA e vertidos em placas de Petri, mantendo-se uma concentração de $0,5\text{g.L}^{-1}$.

Para que as substâncias fossem diluídas no meio BDA utilizou-se como veículo o dimetilsulfóxido (DMSO). Desse modo, os controles foram preparados de modo que os meios de cultura submetidos apenas ao tratamento com DMSO formassem o controle negativo e os meios de cultura sem nenhum tratamento formassem o controle positivo.

Aos meios de cultura foram adicionados o antibiótico de largo espectro gentamicina. Após a solidificação do meio, foram repicados no centro das placas discos de 6 mm de diâmetro, retirados de placas que continham a cultura pura do fungo. O material foi colocado então, em câmara termostática, à temperatura constante de 24°C ($\pm 1^\circ\text{C}$).

As propriedades fúngicas das soluções teste foram monitoradas através da avaliação do desenvolvimento ou não do miscélio fúngico. O crescimento miscelial dos fungos (média do diâmetro das colônias nos dois sentidos ortogonais) nos vários tratamentos foi avaliado antes que o halo de crescimento alcançasse o diâmetro total das placas.

4.9 Atividade sobre germinação de sementes

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

Os ensaios constituíram-se nos tratamentos com os compostos sintetizados e os controles positivos e negativos. Para o preparo dos tratamentos, as sementes foram imersas nas soluções preparadas, contendo os compostos, em seguida aguardou-se a evaporação do solvente, depois, sobre as placas de Petri contendo papel de filtro adicionou-se 3,0 mL de água destilada, por fim, as placas foram lacradas com filme plástico e acondicionadas no germinador com foto período de 12 horas sob luz do dia e com temperatura de 23°C ($\pm 1^\circ\text{C}$). Os controles foram preparados de forma que as sementes submetidas apenas ao tratamento com diclorometano, formariam o controle negativo e as sementes sem nenhum tratamento formariam o controle positivo. No último dia do experimento foram feitas as contagens, os dados foram submetidos a análise de variância e as médias verificadas por teste de médias.

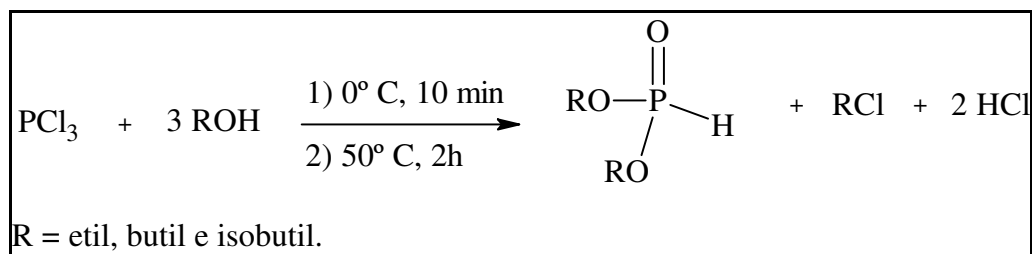


Figura 28: Sala climatizada com foto período de 12 horas sob luz artificial do dia e com temperatura de 23°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) e imagens de placas de Petri contendo sementes de alface.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Síntese dos fosfonatos de dialquila

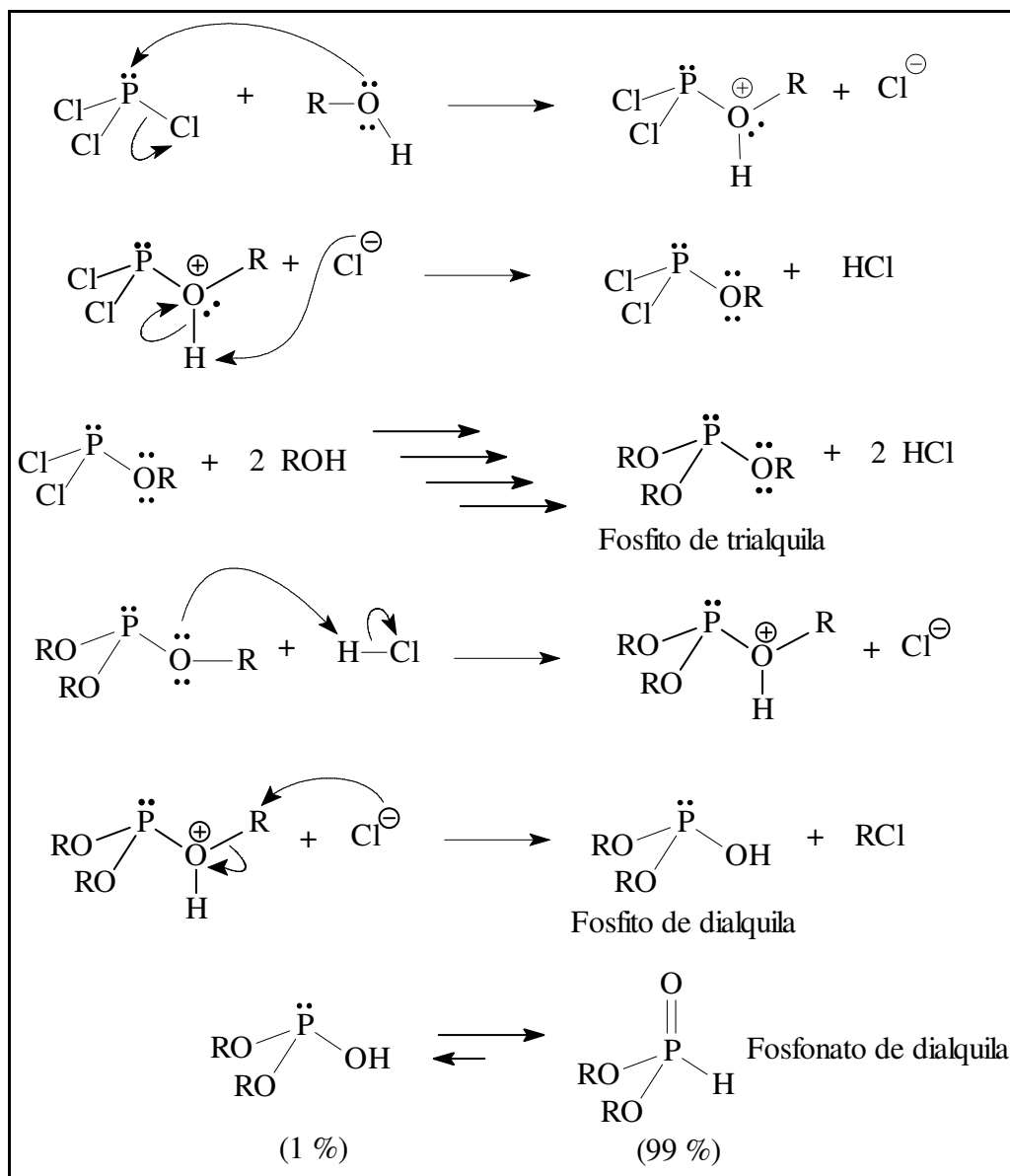
A matéria prima principal para esta síntese é o tricloreto de fósforo, que reage com três mols do álcool correspondente, para formar o fosfonato com a liberação de dois mols de ácido clorídrico e um mol do cloreto de alquila, o qual é eliminado através de evaporação a pressão reduzida em evaporador rotatório. O **Esquema 27** mostra a reação de obtenção dos fosfonatos de dialquila.



Esquema 27: 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 28**.

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 28: Mecanismo de obtenção dos fosfonatos de dialquila.

Conforme também é mostrado no **Esquema 28**, os fosfonatos de dialquila apresentam-se em duas formas em equilíbrio, sendo que a forma na qual o átomo de fósforo está no estado tetracoordenado é a preferencial (CARBRIDGE, 1974).

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

Tabela 3: Rendimentos dos fosfonatos de dialquila.

(RO)₂P(O)H	
R	Rendimento (%)
etil (35)	65
butil (36)	78
isobutil (37)	90

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 ácido clorídrico 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.

5.1.1 Determinação estrutural dos fosfonatos de dialquila

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

5.1.1.1 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).

Nos espectros dos fosfonatos de dialquila é também possível observar uma banda de absorção fraca em torno de 3400 cm⁻¹, a qual é atribuída a uma hidroxila, evidenciando o equilíbrio entre as duas formas de equilíbrio dos fosfonatos, já mostrados no Esquema 3.

A **Tabela 4** apresenta os estiramentos das principais bandas de absorção dos fosfonatos de dialquila sintetizados.

Tabela 4: Dados de infravermelho das principais bandas de absorção dos fosfonatos de dialquila sintetizados.*

(RO)₂P(O)H				
R	OH	P-H	P=O	P-O-C
etil (35)	3459	2431	1252	1046
butil (36)	3410	2434	1216	1006
isobutil (37)	3445	2426	1255	1039

*As absorções estão expressas em cm⁻¹.

5.1.1.2 Análise por espectrometria de RMN de ¹H

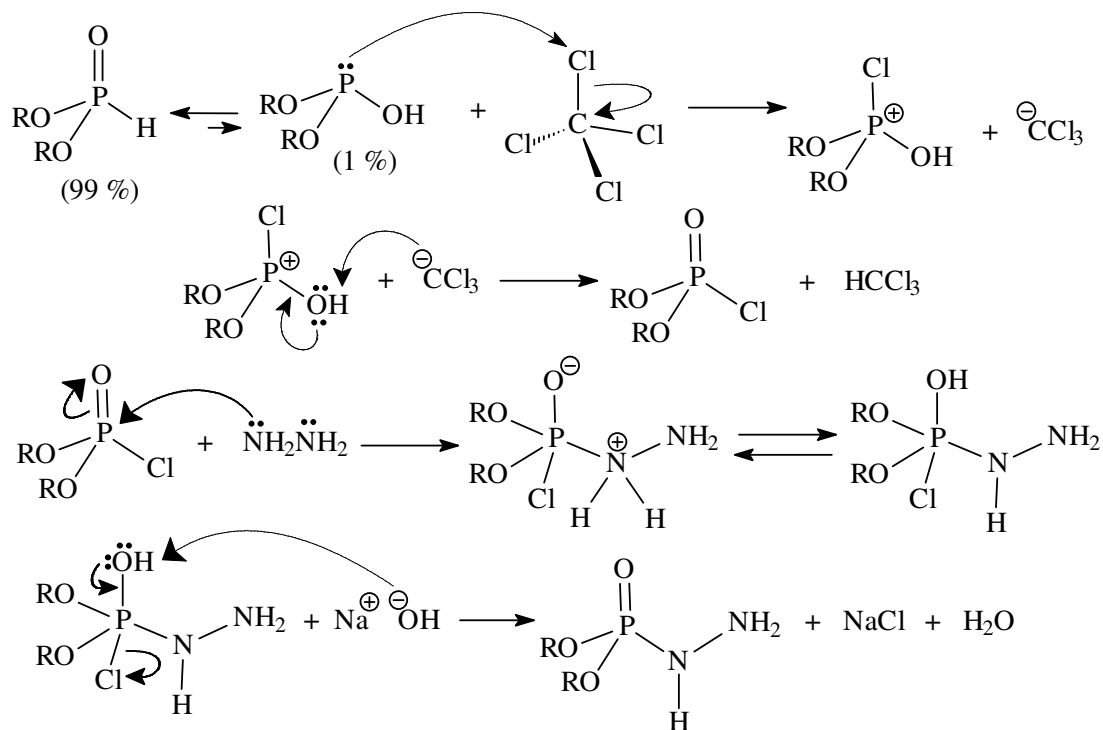
Nos espectros de RMN de ¹H dos fosfonatos de dialquila sintetizados, o sinal característico, que comprova a obtenção destes compostos, é um duplete referente ao hidrogênio ligado diretamente ao átomo de fósforo, centrado em aproximadamente 6,77 ppm, com constante de acoplamento P-H elevada, em torno 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). Pode-se também encontrar acoplamento de fósforo-hidrogênio a uma distância de até 4 ligações. (THOMAS, 1974).

A **Tabela 5** 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.

Tabela 5: Deslocamentos químicos de RMN de ^1H dos fosfonatos de dialquila sintetizados.

Comp.	P-H	CH_nOP	$\text{CH}_n\text{CH}_2\text{OP}$	$\text{CH}_n(\text{CH}_2)_{n1}\text{OP}$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OP}$	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OP}$
35	6,70 (d)/1H	n = 2	n = 3	-	-	-
	$J_{\text{HP}} = 694$	4,10 (m)/4H	1,30 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 7,0$			
36	6,72(d)/1H	n = 2	n = 2	n1 = 2, n = 2	0,91 (t) / 6H	-
	$J_{\text{HP}} = 699$	4,03 (m)/4H	1,65 (quin)/4H $J_{\text{HH}} = 6,0$	1,38 (sex)/4H $J_{\text{HH}} = 6,0$	$J_{\text{HH}} = 6,0$	
37	6,81 (d)/1H	n = 2	n = 1	-	-	0,95 (d) / 12H
	$J_{\text{HP}} = 692$	3,84(m)/4H	1,93 (m)/2H			$J_{\text{HH}} = 7,0$

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.



Esquema 30: Mecanismo de síntese das dialquilfosforilidrazinas.

A dietilfosforilidrazina (38), dibutilfosforilidrazina (39) e diisobutilfosforilidrazina (40) foram sintetizadas, respectivamente, com os rendimentos de 48%, 49% e 51%.

5.1.3 Determinação estrutural das dialquilfosforilidrazinas

Os espectros de IV, RMN de ^1H , RMN de ^{13}C e massas da dietilfosforilidrazina (38), dibutilfosforilidrazina (39) e diisobutilfosforilidrazina (40) estão no anexo A.

5.1.3.1 Análise por espectrometria de infravermelho

A formação da ligação P-N é a evidência da reação entre os fosfonatos de dialquila e a hidrazina. Em geral, a vibração P-N é caracterizada por uma banda de intensidade de média a forte na região entre 1067 a 1166 cm^{-1} (THOMAS, p. 65, 1974).

A **Tabela 6** apresenta as principais bandas de absorção das dialquifosforilidrazinas sintetizadas.

Tabela 6: Principais bandas de absorção das dialquifosforilidrazinas.*

(RO)₂P(O)N(H)NH₂				
Composto	P=O	P-O-C	P-N	N-H
38	1230	971	1031	3347
39	1225	1027	1067	3356
40	1230	1023	1166	3351

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

Nos espectros de IV dos compostos (38), (39) e (40) 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.

5.1.3.2 Análise por espectrometria de RMN de ^1H

No espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da dibutilfosforilidrazina podemos observar a presença de um simpleto largo referente aos três hidrogênios hidrazínicos e no espectro da diisobutilfosforilidrazina dois simpletos largos referentes também aos hidrogênios hidrazínicos e nos dois espectros os hidrogênios metilênicos e metílicos da cadeia alcoídica.

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

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

A **Tabela 7** apresenta os deslocamentos químicos (δ) e as multiplicidades de todos os hidrogênios presentes nas dialquifosforilidrazinas (38), (39) e (40).

Tabela 7: Dados de RMN de ^1H das dialquifosforilidrazinas.

Composto	δ em ppm (multiplicidade)*					
	CH_3	$\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{O}$	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$	CH_2O	CHCH_2O	N- H
38	1,34(t)/6H $J_{\text{HH}} = 6,0$	-	-	4,12(m)/4H	-	3,98(s)/3H
39	0,81(t)/6H $J_{\text{HH}} = 6,0$	1,28 (m)/4H	1,52 (m)/4H	3,90 (m)/4H	-	5,23(s)/3H
40	0,90(d)/12H $J_{\text{HH}} = 6,0$	-	-	3,75(m)/4H	1,89(m)/2H	3,98(s)/2H 4,82(s)/1H

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz. O solvente utilizado foi CDCl_3 .

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

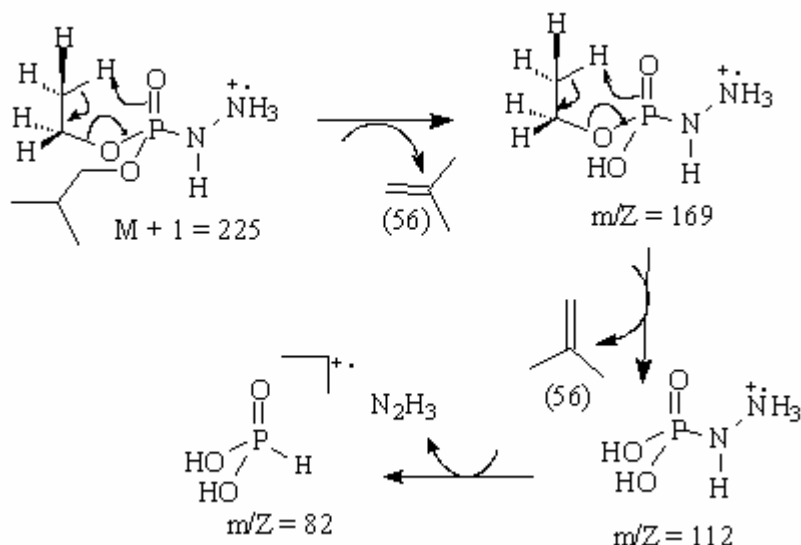
A **Tabela 8** apresenta as constantes de acoplamento, os deslocamentos químicos (δ) e as multiplicidades dos carbonos presentes nos compostos 38, 39 e 40.

Tabela 8: Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazinas.

Composto	δ em ppm (CDCl_3)				
	$\underline{\text{C}}\text{H}_3$	$\underline{\text{C}}\text{H}_2(\text{CH}_2)_2\text{O}$	$\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{O}$	$\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{O}$	$\underline{\text{C}}\text{HCH}_2\text{O}$
38	15,06 e 17,05	-	-	61,63 e 56,06	
39	13,17	18,36	32,05	65,55	-
40	18,13	-	-	73,21	26,52

5.1.3.4 Análise por espectrometria de massas

Na análise por espectrometria de massas da dibutilfosforilidrazina temos como pico base o $M + 1 = 225$ e o segundo pico de maior abundância é o m/z 112 e no massas da diisobutilfosforilidrazina temos como pico base o pico m/z 112 e o segundo de maior abundância o $M + 1$. As propostas de fragmentação que originam estes fragmentos são apresentadas no **Esquema 31**.



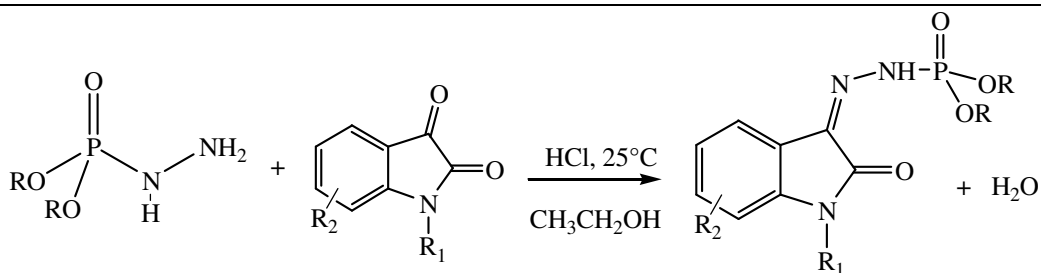
Esquema 31: Propostas de fragmentação dos principais picos da diisobutilfosforilidrazina.

5.1.4 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 a respectiva isatina substituída, formando os compostos ácido fosforidrazídico, *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-(R₁)-3*H*- indol-3-ilideno] -, éster de dialquila, ou seja, as dialquilfosforilidrazonas, conforme apresenta a tabela 7.

Na **Tabela 9** estão os rendimentos, as massas moleculares, os aspectos físicos e os tempos das reações para a síntese das dialquilfosforilidrazonas.

Tabela 9: Dados dos compostos sintetizados.



- (1) R = isobutil, R₁ = H;
 (2) R = isobutil, R₁ = CH₃;
 (3) R = isobutil, R₁ = C₄H₉;
 (4) R = isobutil, R₁ = CH₂C₆H₅;
 (5) R = isobutil, R₁ = CH₂C₆H₅, R₂=Cl;
 (6) R = isobutil, R₁ = H, R₂= Cl;
 (7) R = isobutil, R₁ = C₃H₅;
 (8) R = isobutil, R₁ = C₃H₆Br;
 (9) R = isobutil, R₁ = CH₃, R₂ = Cl;
 (10) R = butil, R₁ = CH₂C₆H₅;
 (11) R = butil, R₁ = H;
 (12) R = butil, R₁ = CH₃;
 (13) R = butil, R₁ = H, R₂ = Cl;
 (14) R = etil, R₁ = CH₂C₆H₅;
 (15) R = etil, R₁ = H;
 (16) R = etil, R₁ = C₄H₉

Composto	massa	Rend. (%)	Tempo de reação	Aspecto físico
1	353	84	3 h	Sólido amarelo
2	367	85	4 h	Sólido amarelo
3	409	75	4 h	Óleo laranja
4	443	80	3 h	Óleo laranja
5	477,5	91	3 h	Óleo laranja
6	387,5	90	3h	Sólido amarelo
7	393	88	4 h	Óleo laranja
8	474	75	5 h	Óleo laranja
9	401,5	73	3 h	Óleo laranja
10	443	88	3 h	Óleo amarelo
11	353	83	3 h	Óleo amarelo
12	367	81	4 h	Óleo laranja
13	387	35	4 h	Sólido amarelo
14	380	86	4 h	Óleo laranja
15	297	86	3 h	Sólido marrom
16	353	65	4 h	Óleo laranja

Dentre as 16 dialquilfosforilidrazonas sintetizadas foi observada a formação do diastereoisômero Z para 11 compostos, indicando que a reação foi 100% diastereoseletiva. Enquanto que para os outros compostos observou-se mistura de diastereoisômeros.

Em todos os compostos observa-se uma ligação de hidrogênio intramolecular entre o hidrogênio amídico e a carbonila da isatina formando um anel de seis membros favorecendo a configuração Z, como podemos observar na **Figura 29**. Esta configuração é confirmada no espectro de RMN-¹H, onde aparece um duplete referente ao deslocamento químico do hidrogênio amídico na faixa de 11,36-11,47 ppm com uma constante de aproximadamente 33 Hz, que é característico de hidrogênio em ponte.

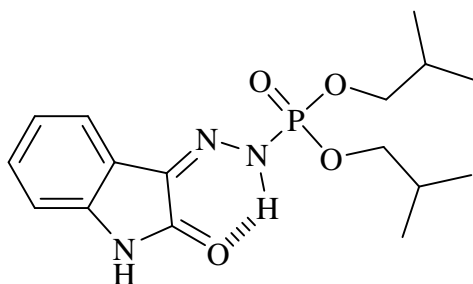


Figura 29: Provável estrutura do composto 1 (configuração Z).

No entanto a análise dos espectros de RMN de ¹H, RMN de ¹³C e RMN de ³¹P mostram a coexistência de dois possíveis diastereoisômeros o E e o Z, para os compostos **1, 2, 6, 10 e 12**, já que podemos observar no espectro de RMN de ¹H, um outro duplete em 8,45 ppm com uma constante de acoplamento de aproximadamente 28 Hz.

Em alguns espectros de RMN-¹³C também observa-se sinais duplicados referente aos dois possíveis diastereoisômeros. Assim como em alguns espectros de RMN de ³¹P desacoplado desses compostos, observa-se a presença de dois sinais referente à mistura.

No **Esquema 32** (página 86) é apresentado o mecanismo de reação envolvido na síntese destas dialquilfosforilidrazonas.

Neste mecanismo, inicialmente ocorre a protonação da isatina, levando à formação do íon oxônio correspondente. A segunda etapa consiste no ataque nucleofílico da dialquilfosforilidrazina à carbonila adjacente ao anel da isatina, gerando o intermediário hemiaminal N-protonado. Esta etapa é um processo bimolecular, entropicamente desfavorável ($\Delta S^\circ < 0$), e que entalpicamente, também, não favorece a formação espontânea dos produtos.

Consequentemente, a reação inversa (retroadição nucleofílica) ocorre em velocidade competitiva com a adição nucleofílica, pois nesta etapa uma molécula neutra,

no caso a própria dialquifosforilidrazina, 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 dialquifosforilidrazonas (COSTA *et al.*, 2003).

Outras evidências deste mecanismo foram realizadas através de cálculos de modelagem molecular. Para o qual, foi utilizado o programa MOPAC2009 (STEWART, 2008), onde foi calculado o ΔH de formação para a avaliação do produto mais estável (**Figura 30**).

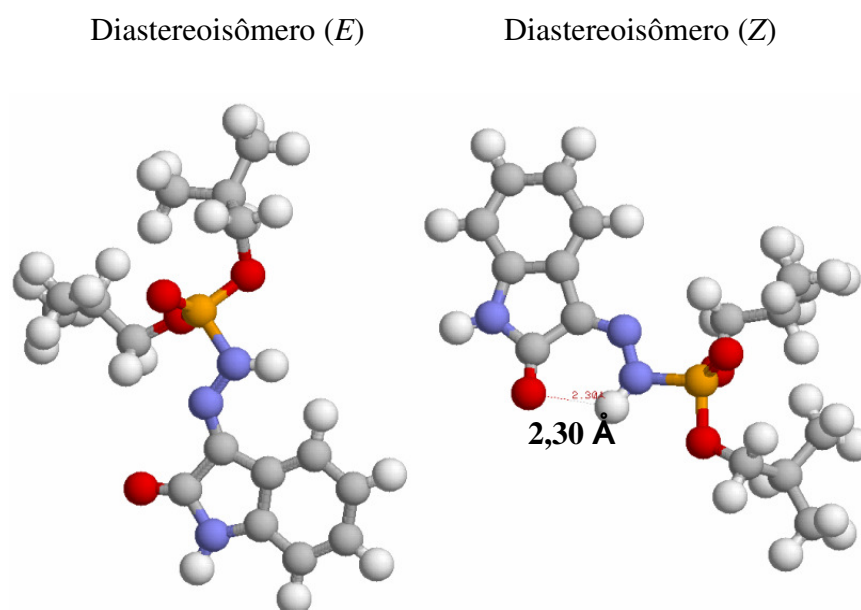


Figura 30: Configuração dos possíveis estereoisômeros

Foi encontrado para a dialquifosforilhidrozona de geometria *E*, o valor de $\Delta H_f = -211,5$ Kcal/mol e para o diastereoisômero de geometria *Z* $\Delta H_f = -214,3$ Kcal/mol, indicando desta forma que o produto mais estável termodinamicamente é o de geometria *Z*. Ao avaliar as estruturas obtidas depois dos cálculos, observou-se uma ligação hidrogênio para o diastereoisômero de geometria *Z*, com distância entre o hidrogênio amídico e o oxigênio da carbonila de 2,30 Å e nenhuma evidência de que o mesmo ocorre com o de geometria *E*, conforme **Figura 29**. Este fato isolado não caracteriza a formação em proporção majoritária do diastereoisômero *Z*, na maior parte das moléculas sintetizadas, mas serve de indício para verificar se os intermediários é que orientam a formação deste que esta em maior proporção. Dessa forma, através de novos

cálculos com os intermediários, novas suposições foram realizadas para determinar a orientação da geometria final (**Figura 31**).

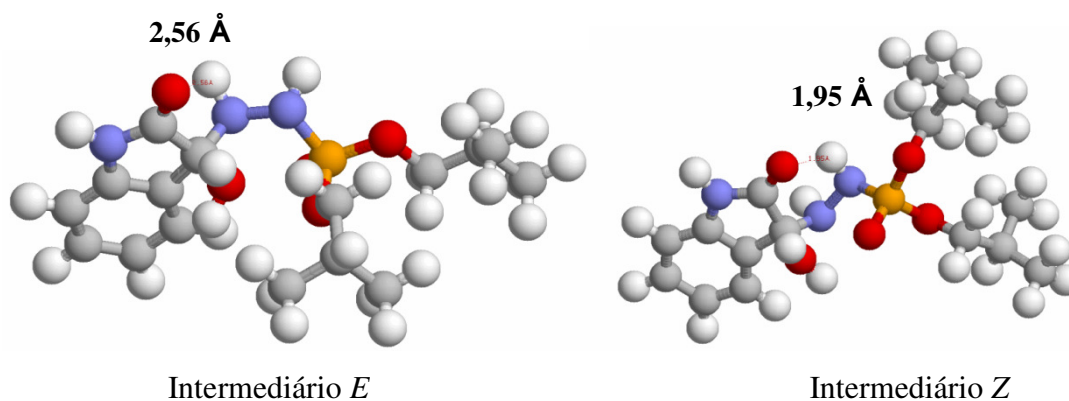


Figura 31: Possíveis ligações de hidrogênio realizadas pelos intermediários.

Dois possíveis intermediários podem ser formados, que orientam a formação dos diastereoisômeros, mas somente o intermediário *Z*, forma uma ligação de hidrogênio mais efetiva de 1,95Å num anel de 6 membros, enquanto que o intermediário *E*, forma uma ligação de hidrogênio de 2,56 Å em um anel de 5 membros. Os calores de formação destes intermediários mostram que intermediário *Z* ($\Delta H_f = -81,4$ Kcal/mol) é mais estável que o intermediário *E* ($\Delta H_f = -74,3$ Kcal/mol) e, portanto, termodinamicamente o mais provável de ser formado.

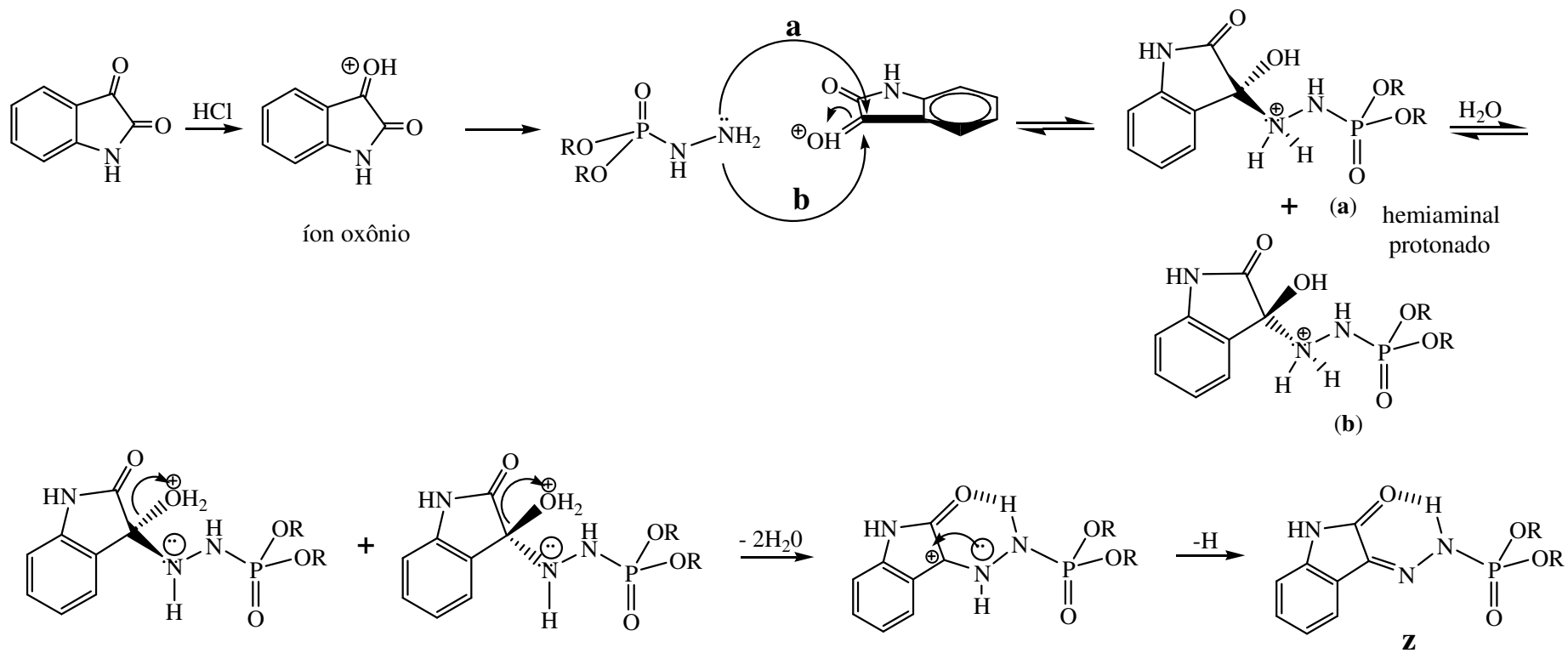
Ainda avaliando os intermediários, observa-se que para a formação do diastereoisômero *E*, seria necessária uma eliminação anti-periplanar, que é o mecanismo normalmente apresentado para reação de adição de derivados nitrogenados a cetonas e aldeídos em meio ácido e aquele representado pelo intermediário *E* (**Figura 31**), mas que é formado minoritariamente, observado na fase experimental. Em relação ao intermediário *Z* (**Figura 31**), para que ocorresse uma eliminação anti-periplanar, o nitrogênio vizinho ao que faz a ligação de hidrogênio com a carbonila de cetona, deveria girar 180° de forma inviabilizada, por ser termodinamicamente desfavorável, de acordo com os dados de calor de formação gerados por modelagem molecular.

Diante deste revés, propôs-se que um mecanismo alternativo (**Esquema 32**). Assumindo-se que os intermediários estão protonados, uma molécula de água deve ser eliminada primeiramente, gerando um carbocátion planar e estabilizado por ressonância com o anel aromático e orientado pelo próprio nitrogênio amidico, que tem um par de elétrons não ligante. Posteriormente, a evidente ligação de hidrogênio já presente no

intermediário *Z*, orienta a geometria favorável para subsequente abstração de um próton do nitrogênio amidico, levando a formação da hidrazona majoritária de geometria *Z* em detrimento ao *E*, que é formado minoritariamente.

Tentou-se separar apenas a dialquilfosforilidrazona 10 que corresponde a uma mistura de diastereoisômeros (*E/Z*), através de uma cromatografia em coluna aberta (comprimento 60 cm/diâmetro 2,0 cm, usando sílica gel, e eluente hexano/acetato de etila 25%). No entanto conseguiu-se isolar e identificar apenas o diastereoisômero *Z*. No espectro de RMN-¹H da mistura 10 (*E/Z*) aparece os dois dupletos (11,47 e 8,74 ppm), enquanto que no espectro do composto 10a (composto isolado) aparece apenas o duplete em 11,46 ppm ratificando a presença do diastereoisômero (*Z*).

Como o diastereoisômero (*E*) saiu junto com o (*Z*) fazendo, praticamente, parte da mesma fração, e este em menor quantidade, não foi possível isolar o diastereoisômero (*E*).



Esquema 32: Proposta mecânica da síntese das dialquilfosforilidrazonas.

5.1.5 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 16, estão no anexo A.

5.1.5.1 Análise por espectrometria de infravermelho

As absorções referentes às funções das dialquilfosforilidrazonas sintetizadas são bem definidas e podem ser observadas nos espectros analisados, como mostrado resumidamente na **Tabela 10**. As principais bandas de absorção são correspondentes às frequências de estiramento das ligações P=O, P-O-C e C=N. A presença da ligação C=N confirma a reação entre as dialquilfosforilidrazinas e as isatinas substituídas, formando as dialquilfosforilidrazonas.

Tabela 10: Principais bandas de absorção das dialquilfosforilidrazonas sintetizadas.*

Comp.	P=O	P-O-C	C=N	N-H	C=O
1	1238,1	1020,1	1619,9	3149,2	1695,1
2	1255,4	1018,2	1616,0	3199,3	1691,2
3	1276,6	1022,1	1614,1	3212,8	1685,5
4	1261,2	1022,1	1616,0	3209,0	1687,4
5	1247,3	1020,1	1614,1	3210,0	1691,2
6	1241,9	1012,4	1621,8	3122,2	1691,2
7	1272,8	1020,1	1614,1	3214,8	1689,3
8	1267,0	1024,0	1614,1	3212,8	1687,4
9	1268,9	1014,3	1614,1	3214,8	1691,2
10	1253,5	1027,8	1612,2	3216,7	1712,5
11	1249,6	1022,1	1621,8	3185,8	1700,9

Tabela 10: Continuação

12	1272,8	1029,8	1614,1	3210,9	1689,3
13	1247,7	1016,3	1623,8	3129,9	1704,7
14	1267,0	1025,9	1614,1	3214,8	1685,5
15	1240,0	1018,2	1621,8	3137,6	1697,0
16	1267,0	1025,9	1614,1	3209,0	1685,5

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

5.1.5.2 Análise por espectrometria de RMN de ^1H

Na análise por RMN de ^1H há um sinal característico que confirma a obtenção das dialquilfosforilidrazonas. Este sinal corresponde 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 11,36 a 11,47 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 33 a 34 Hz. A literatura registra que este acoplamento ocorre na faixa de 23 a 53 Hz (THOMAS, 1974).

Nas **Tabelas 11, 12 e 13** estão apresentados os dados referentes aos deslocamentos químicos, as multiplicidades e as constantes de acoplamento das dialquilfosforilidrazonas sintetizadas.

Tabela 11: Dados de RMN de ^1H das diisobutilfosforilidrazonas.

RMN de ^1H									
δ em ppm (multiplicidade)									
Comp.	$\underline{\text{CH}}_3$	$\underline{\text{CH}}\text{CH}_2\text{O}$	$\underline{\text{CH}}_2\text{O}$	$\underline{\text{NH}}$	$\underline{\text{H4}}$	$\underline{\text{H5}}$	$\underline{\text{H6}}$	$\underline{\text{H7}}$	R_1
1	0,94 (d)/12H $J_{\text{HH}} = 7,0$	1,99 (m)/2H	3,93 (m)/4H	11,40 (d)/1H	7,87 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	6,95 (t) $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,07 (t) $J_{\text{HH}} = 8,0$	6,99 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	H
				$J_{\text{HP}} = 33,67$ 8,47 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 28,37$					9,69 (s)/1H 9,75 (s)/1H
2	0,93 (d)/12H $J_{\text{HH}} = 7,0$	1,98 (m)/2H	3,91 (m)/4H	11,41 (d)/1H	7,56 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,08 (dt) $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,32 (t) $J_{\text{HH}} = 8,0$	6,84 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	H
				$J_{\text{HP}} = 33,79$ 8,3 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 28,37$					9,69 (s)/1H 9,75 (s)/1H
3	0,93 (d)/12H $J_{\text{HH}} = 7,0$	1,99 (m)/12H	3,92 (m)/4H	11,44 (d)/1H	7,58 (d) $J_{\text{HH}} = 7,0$	7,06 (t) $J_{\text{HH}} = 7,0$	7,31 (t) $J_{\text{HH}} = 8,0$	6,85 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$
				$J_{\text{HP}} = 33,67$					1 2 3 4 1 = 3,71 (t)/2H $J_{\text{HH}} = 7,32$; 2 = 1,66 (m)/2H; 3 = 1,35 (m)/2H; 4 = 0,93 (t)/3H $J_{\text{HH}} = 7,19$.
4	0,94 (d)/12H $J_{\text{HH}} = 7,0$	2,01 (m)/2H	3,91 (m)/4H	11,45 (d)/1H	7,61 (d) $J_{\text{HH}} = 7,0$	7,05 (t) $J_{\text{HH}} = 7,0$	7,30 (t) $J_{\text{HH}} = 7,0$	6,75 (d) $J_{\text{HH}} = 7,0$	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$
				$J_{\text{HP}} = 34,29$					4,93 (s)/2H 7,21-7,64/6H

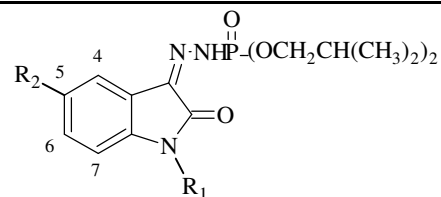


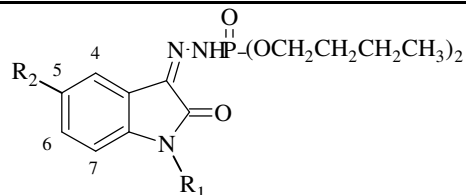
Tabela 11: Continuação

5	0,96 (d)/12H $J_{HH} = 7,0$	2,01 (m)/2H	3,96 (m)/4H	11,44 (d)/1H $J_{HP} = 33,63$	7,38 (d) $J_{HH} = 8,0$	–	7,30 (t) $J_{HH} = 8,0$	6,69 (d) $J_{HH} = 8,0$	<chem>CH2C6H5</chem> 4,92 (s)/2H 7,29-7,60/6H
6	0,96 (d)/12H $J_{HH} = 7,0$	2,01 (m)	3,95 (m)/4H	11,36 (d)/1H $J_{HP} = 33,42$	7,51 (d) $J_{HH} = 8,0$	–	7,25 (t) $J_{HH} = 8,0$	6,87 (d) $J_{HH} = 8,0$	H 8,86 (s)
7	0,95 (d)/12H $J_{HH} = 7,0$	2,00 (m)/2H	3,92 (m)/4H	11,40 (d)/1H $J_{HP} = 33,63$	7,60 (d) $J_{HH} = 8,0$	7,09 (t) $J_{HH} = 8,0$	7,30 (t) $J_{HH} = 8,0$	6,85 (d) $J_{HH} = 8,0$	<chem>CH2CH=CH2</chem> 1 2 3 1 = 4,36 (dt)/2H; 2 = 5,83 (m)/1H; 3 = 5,24 (m)/2H
8	0,94 (d)/12H $J_{HH} = 8,0$	2,00 (m)/2H $J_{HH} = 8,0$	3,90 (m)/4H	11,37 (d)/1H $J_{HP} = 33,42$	7,6 (d) $J_{HH} = 7,0$	7,10 (t) $J_{HH} = 7,0$	7,35 (t) $J_{HH} = 7,0$	6,96 (d) $J_{HH} = 7,0$	<chem>CH2CH2CH2Br</chem> 1 2 3 1 = 3,96 (m)/2H; 2 = 2,26 (m)/2H; 3 = 3,44 (t)/2H $J_{HH} = 6,30$
9	0,96 (d)/12H $J_{HH} = 7,0$	2,00 (m)/2H	3,94 (m)/4H	11,41 (d)/1H $J_{HP} = 33,63$	7,59 (d) $J_{HH} = 8,0$	–	7,32 (t) $J_{HH} = 8,0$	6,81 (d) $J_{HH} = 8,0$	<chem>CH3</chem> 3,25 (s)

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

Tabela 12: Dados de RMN de ^1H das dibutilfosforilidrazonas.

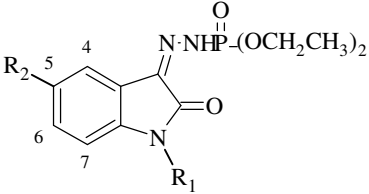
RMN de ^1H



δ em ppm (multiplicidade)

Comp.	CH_3	$\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{O}$	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$	CH_2O	NH	H4	H5	H6	H7	R₁
10	0,90 (t) $J_{\text{HH}} = 7,0$	1,41 (m)	1,67 (m)	4,16 (m)/4H	11,47/1H $J_{\text{HP}} = 33,16$ 8,74/1H $J_{\text{HP}} = 28,12$	7,98 (d) $J_{\text{HH}} = 7,0$	7,05 (t) $J_{\text{HH}} = 7,0$	7,23 (t) $J_{\text{HH}} = 7,0$	6,75 (d) $J_{\text{HH}} = 7,0$	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ 4,93 (s) $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ 7,21-7,33
10a	0,92 (t) $J_{\text{HH}} = 7,0$	1,43 (sex) $J_{\text{HH}} = 7,0$	1,71 (qui) $J_{\text{HH}} = 7,0$	4,18 (m)/4H	11,46 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 33,38$	7,60 (d) $J_{\text{HH}} = 7,0$	7,06 (t) $J_{\text{HH}} = 7,0$	7,23 (t) $J_{\text{HH}} = 7,0$	6,76 (d) $J_{\text{HH}} = 7,0$	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ 4,93 (s) $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ 7,21-7,33
11	0,91 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 7,0$	1,43 (sex)/4H $J_{\text{HH}} = 7,0$	1,70(qui)/4H $J_{\text{HH}} = 7,0$	4,18 (m)/4H	11,46 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 33,63$	7,53 (d) $J_{\text{HH}} = 7,0$	7,04 (t) $J_{\text{HH}} = 7,0$	7,26 (t) $J_{\text{HH}} = 7,0$	6,96 (d) $J_{\text{HH}} = 7,0$	H 9,79 (s)
12	0,87 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 7,0$	1,38 (m)/4H	1,66 (m)/4H	4,12 (m)/4H	11,40 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 33,55$ 8,33 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 28,62$	7,54 (d) $J_{\text{HH}} = 7,0$	7,04 (t) $J_{\text{HH}} = 7,0$	7,30 (t) $J_{\text{HH}} = 7,0$	6,82 (d) $J_{\text{HH}} = 7,0$	CH_3 3,20 (s)
13	0,91 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 7,0$	1,42 (sex)/4H $J_{\text{HH}} = 7,0$	1,70 (quin)/4H $J_{\text{HH}} = 7,0$	4,17 (m) / 4H	11,41 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 33,63$	7,49 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	—	7,22 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	6,89 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	H 9,63 (s)

Tabela 13: Dados de RMN de ^1H das dietilfosforilidrazonas.

RMN de ^1H								
								
δ em ppm (multiplicidade)								
Comp.	<u>CH</u> ₃	<u>CH</u> ₂ O	<u>NH</u>	<u>H4</u>	<u>H5</u>	<u>H6</u>	<u>H7</u>	<u>R</u> ₁
14	1,38 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 7,0$	4,25 (m)/4H	11,47 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 33,38$	7,65 (d) $J_{\text{HH}} = 7,0$	7,08 (t) $J_{\text{HH}} = 7,0$	7,25 (t) $J_{\text{HH}} = 7,0$	6,78 (d) $J_{\text{HH}} = 7,0$	CH ₂ C ₆ H ₅ 4,93 (s)/2H 7,22-7,38/6H
15	1,36 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 7,0$	4,22 (m)/4H	11,43(d)/1H $J_{\text{HP}} = 33,63$	7,55 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,02 (t) $J_{\text{HH}} = 8,0$	7,25 (t) $J_{\text{HH}} = 8,0$	6,92 (d) $J_{\text{HH}} = 8,0$	H 9,63 (s)
16	1,37 (t)/6H $J_{\text{HH}} = 7,0$	4,23 (m)/4H	11,48 (d)/1H $J_{\text{HP}} = 33,38$	7,62 (d) $J_{\text{HH}} = 7,0$	7,08 (t) $J_{\text{HH}} = 7,0$	7,32 (t) $J_{\text{HH}} = 7,0$	6,86 (d) $J_{\text{HH}} = 7,0$	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃ 1 2 3 4 1 = 3,71 (t)/2H $J_{\text{HH}} = 7,32$; 2 = 1,66 (m)/2H; 3 = 1,35 (m)/2H; 4 = 0,93 (t)/3H $J_{\text{HH}} = 7,28$.

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

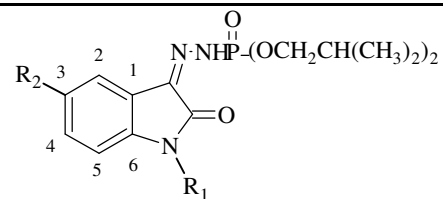
5.1.5.3 Análise por espectrometria de RMN-¹³C.

No espectro de RMN de ¹³C das dialquifosforilidrazonas, o sinal característico da obtenção destes compostos é referente ao carbono 3, que possui deslocamento químico na faixa de 139 a 144 ppm e se apresenta na forma de simpleto.

A **Tabela 14** apresenta os deslocamentos químicos (δ), as multiplicidades e as constantes de acoplamento referentes às diisobutilfosforilidrazonas, enquanto que as **Tabelas 15** e **16** apresentam as mesmas informações para as dibutilfosforilidrazonas e dietilfosforilidrazonas, respectivamente. Nestas tabelas também são descritos os acoplamentos, a duas e três ligações, entre os carbonos da cadeia alquílica do alcóxido e o átomo de fósforo.

Tabela 14: Dados de RMN-¹³C das diisobutilfosforilidrazonas.

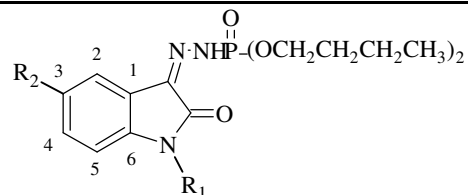
RMN de ¹³C



Comp.	δ em ppm (multiplicidade)*											R ₁
	CH ₃	CHCH ₂ O	CH ₂ O	C=N	C=O	C1	C2	C3	C4	C5	C6	
1	18,66	29,06 (d); $J_{C-P} = 7,34$	73,92 (d); $J_{C-P} = 6,61$	140,63	163,17	120,51	122,83	120,73	130,48	111,07	135,68	H
2	18,63	29,01 (d); $J_{C-P} = 7,34$	73,72 (d); $J_{C-P} = 6,61$ 74,24 (d); $J_{C-P} = 6,60$	142,48 144,39	161,16 163,79	122,54 123,06	124,4	120,25 120,04	134,74 134,90	108,71 108,76	130,32 131,75	CH ₃ 25,49 26,03
3	18,66	29,05 (d); $J_{C-P} = 6,61$	73,76 (d); $J_{C-P} = 6,60$	141,99	161,15	120,47	122,87	120,29	130,22	108,97	134,97	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃ 39,40 ; 29,63 ; 20,16; 13,68
4	18,66	29,06 (d); $J_{C-P} = 7,33$	73,81 (d); $J_{C-P} = 6,60$	141,7	161,17	120,42	123,13	120,28	130,25	109,68	135,17	CH ₂ C ₆ H ₅ 43,24 CH ₂ C ₆ H ₅ 127,90-134,71
5	18,68	29,09 (d); $J_{C-P} = 6,60$	73,98 (d); $J_{C-P} = 5,87$	141,14	160,93	120,58	121,7	127,33	133,71	110,78	133,55	CH ₂ C ₆ H ₅ 43,38 CH ₂ C ₆ H ₅ 127,44 - 139,99
6	18,66	29,00 (d); $J_{C-P} = 6,61$	74,22 (d); $J_{C-P} = 6,60$ 73,97 (d); $J_{C-P} = 6,60$	140,88 139,24	166,15 163,04	112,10 112,34	125,02 122,08	127,83 128,20	131,17 130,00	116,90 120,39	136,25 134,81	H
7	18,66	29,06 (d); $J_{C-P} = 7,34$	73,79 (d); $J_{C-P} = 5,87$	141,75	160,88	120,21	123,08	120,44	130,86	109,57	134,72	CH ₂ -CH=CH ₂ 41,77 ; CH ₂ -CH=CH ₂ 130,23 ; 118,09
8	18,67	29,07 (d); $J_{C-P} = 6,60$	73,83 (d); $J_{C-P} = 5,87$	141,66	161,29	120,28	123,21	120,61	130,39	108,84	134,59	CH ₂ CH ₂ CH ₂ Br 38,11; 30,71; 30,17
9	18,66	29,07 (d); $J_{C-P} = 7,34$	73,88 (d); $J_{C-P} = 5,87$	148,73	160,96	121,55	120,52	128,78	129,84	109,7	133,66	CH ₃ 94 25,68

Tabela 15: Dados de RMN-¹³C das dibutilfosforilidrazonas.

RMN de ¹³C

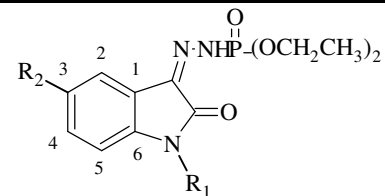


Composto	δ em ppm (multiplicidade)*												R ₁
	<u>CH</u> ₃	<u>CH</u> ₂ (CH ₂) ₂ O	<u>CH</u> ₂ CH ₂ O	<u>CH</u> ₂ O	<u>C</u> =N	<u>C</u> =O	<u>C</u> ₁	<u>C</u> ₂	<u>C</u> ₃	<u>C</u> ₄	<u>C</u> ₅	<u>C</u> ₆	
10 (a)	13,58	18,66	32,25 (d); <i>J</i> _{C-P} = 6,60	67,69 (d); <i>J</i> _{C-P} = 5,86	141,71	161,2	120,52	123,13	120,28	130,27	109,67	135,18	<u>CH</u> ₂ C ₆ H ₅ 43,26 <u>CH</u> ₂ C ₆ H ₅ 127,37-134,64
11	13,5	18,6	32,16 (d); <i>J</i> _{C-P} = 6,60	67,80 (d); <i>J</i> _{C-P} = 5,87	140,99	163,17	120,43	125,54	122,12	133,08	111,15	135,92	H
12	13,46	18,54	32,12 (d); <i>J</i> _{C-P} = 6,61	67,52 (d); <i>J</i> _{C-P} = 6,60 67,99 (d); <i>J</i> _{C-P} = 6,60	142,43	161,06	120,16	122,97	119,88	134,81	108,7	134,97	CH ₃ 25,42; 25,96
13	13,52	18,63	32,18 (d); <i>J</i> _{C-P} = 7,33	68,04 (d); <i>J</i> _{C-P} = 5,87	139,08	162,86	112,14	122,01	128,37	130,11	120,6	134,92	H

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

Tabela 16: Dados de RMN-¹³C das dietilfosforilidrazonas.

RMN de ¹³C



δ em ppm (multiplicidade)*

Composto	<u>CH</u> ₃	<u>CH</u> ₂ O	<u>C=N</u>	C=O	<u>C1</u>	<u>C2</u>	<u>C3</u>	<u>C4</u>	<u>C5</u>	<u>C6</u>	R ₁
14	16,18 (d); <i>J</i> _{C-P} = 6,60	64,06 (d); <i>J</i> _{C-P} = 5,87	141,73	161,23	120,58	123,14	120,2	130,35	109,7	135,16	<u>CH</u> ₂ C ₆ H ₅ 43,2; <u>CH</u> ₂ C ₆ H ₅ 127,37-134,99
15	16,13 (d); <i>J</i> _{C-P} = 6,61	64,20 (d); <i>J</i> _{C-P} = 5,13	140,74	163,19	120,58	130,58	122,78	135,9	111,15	136,06	H
16	16,16 (d); <i>J</i> _{C-P} = 6,60	64,00 (d); <i>J</i> _{C-P} = 5,13	142,03	161,2	120,66	122,22	120,23	130,3	108,97	135,25	<u>CH</u> ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃ 39,33 ;29,64 ; 20,18; 13,70

* Os valores das constantes de acoplamento estão em Hz.

5.1.5.4 Análise por espectrometria de RMN-³¹P.

Tabela 17: Dados de RMN-³¹P das dalquifosforilidrazonas.

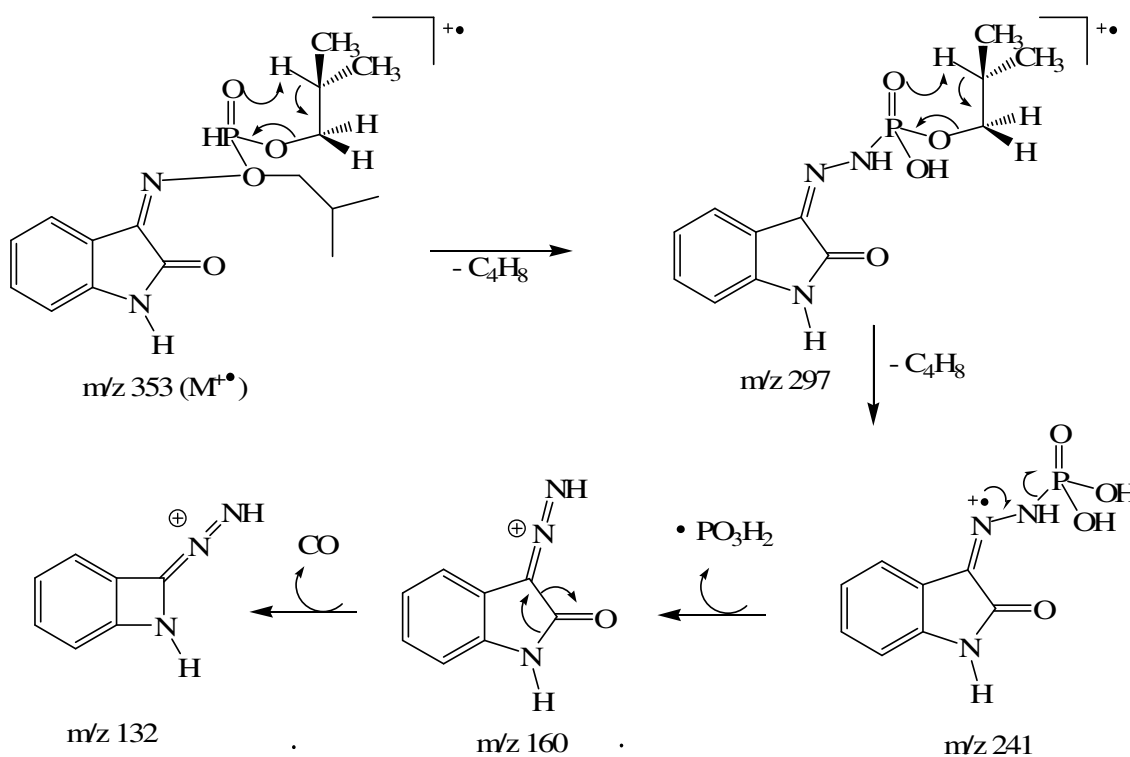
RMN- ³¹ P	
Composto	P=O (δ ppm)
1	-0,55 e -0,92
2	-0,43
3	-0,39 dq
4	-0,53 dq
5	-0,97 dq
6	-0,93 dq
7	-0,50 dq
8	-0,56
9	-0,25 dq
10	-0,27 e -1,30
10a	-0,26 dq
11	-0,22 dq
12	-0,25 dq
13	-0,75 dq
14	-0,32 dq
15	-0,29 dq
16	-0,20 dq

5.1.5.5 Análise por espectrometria de massas.

Os fragmentos m/z 297 e m/z 241 vêm do rearranjo 1,4 dos hidrogênios da cadeia alcóxida das dialquifosforilidrazonas, esse tipo de rearranjo é comum para todos os compostos desse sistema.

Podemos observar que o pico m/z 160 ocorre em todos os espectros de massa dessa série de moléculas e na maioria dos casos se trata do pico base.

O **Esquema 33** apresenta a proposta das principais fragmentações para diisobutilfosforilidrazona derivada de isatina (1).



Esquema 33: Proposta de fragmentação para alguns picos da diisobutilfosforilidrazona derivada de isatina (1).

5.2 Ensaios Biológicos

5.2.1 Ensaios com protozoários.

O nosso grupo teve a oportunidade, através de uma colaboração com a Fundação Oswaldo Cruz de Salvador (BA), de ter alguns dos compostos sintetizados neste trabalho testados em alguns protozoários a fim de se avaliar o potencial antiparasitário dos mesmos.

Os resultados que serão descritos dizem respeito a um grupo de dez compostos, porém os demais compostos também serão testados. Os resultados são preliminares, pois os ensaios estão em andamento.

5.2.1.1 Ensaios em *Leishmania L. amazonensis*.

O ensaio foi realizado na concentração de 50 μ M (Figura 22), por 72 horas cada ensaio, período que as células chegam a sua fase estacionária.

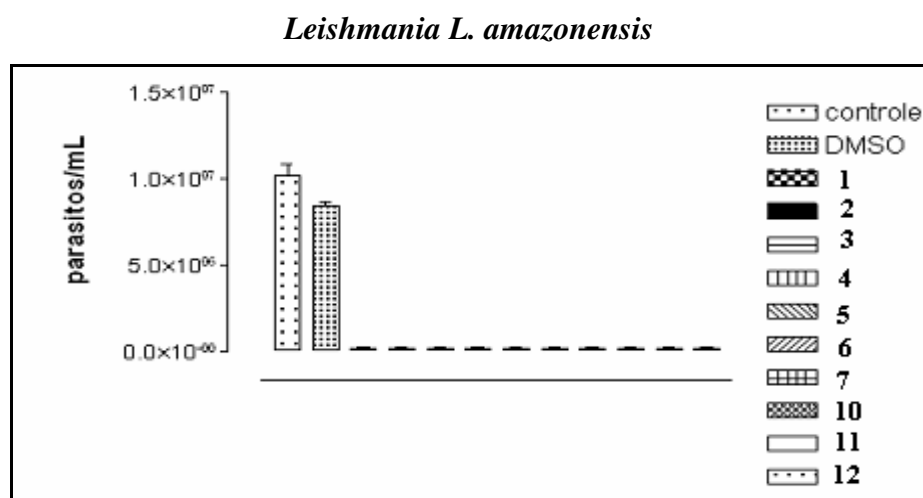


Figura 32: Promastigotas de *Leishmania* tratados com derivados de isatina a 50 μ M. Protozoários avaliados após 72 horas de incubação a 26 $^{\circ}$ C (\pm 1 $^{\circ}$ C) em meio warren suplementado com 10% de soro fetal bovino.

Tabela 18: Porcentagem de inibição dos compostos testados.

Composto	1	2	3	4	5	6	7	10	11	12
% de inibição	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98

Podemos observar que todas as novas dialquilfosforilidrazonas testadas apresentaram inibição da proliferação celular em 98 % na concentração de 50 μ M, assim, estão sendo feitos novos ensaios em diferentes concentrações, a fim de se calcular o IC₅₀

para estas substâncias. Para todos os compostos estão sendo realizados ensaios de toxicidade sobre macrófagos.

5.2.1.2 Ensaios em *Trypanosoma cruzi*.

Os ensaios foram realizados a uma concentração de 50 μ M (**Figura 33**) por 96 horas cada ensaio. Verificou-se inibição da proliferação celular de epimastigotas de *T. cruzi* superior a 75% a exceção do composto (6) cuja inibição foi de 59 %. Desta forma para este ensaio, também estão sendo feitos novos ensaios em concentrações mais baixas para se estabelecer a relação entre a estrutura e a atividade dos derivados.

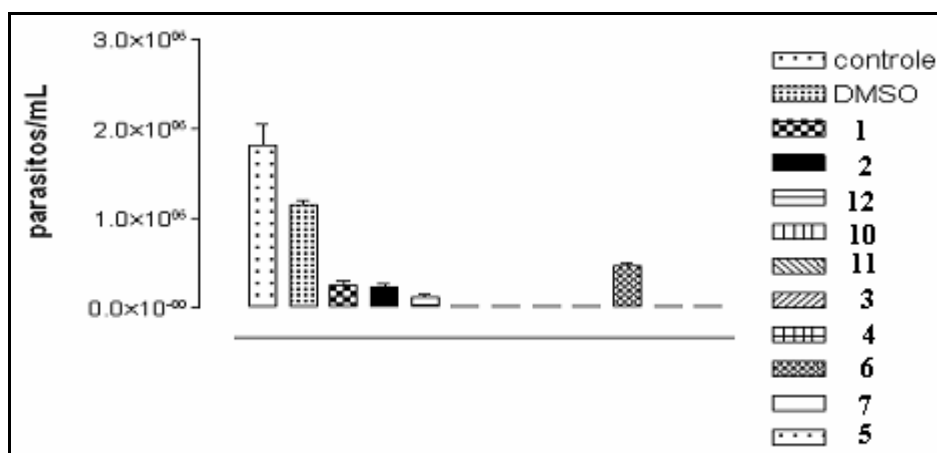


Figura 33: Epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* tratados com derivados de isatina. Protozoários avaliados após 96 horas de incubação a 26 °C (\pm 1 °C) em meio LIT suplementado com 10% de soro fetal bovino.

Tabela 19: Porcentagem de inibição dos compostos testados.

Composto	1	2	12	10	11	3	4	6	7	5
% de inibição	79	80	89	99	99	99	99	59	99	99

5.2.1.3 Ensaios em *P. falciparum* screening.

Os ensaios foram realizados a uma concentração de 1mM (**Figura 34**) por 24 horas cada ensaio. Podemos observar a inibição do protozoário superior a 90 %, exceto para o composto 2 que apresentou 89 % de inibição. Assim estão sendo feitos novos ensaios em diferentes concentrações, a fim de se calcular o IC₅₀ destas substâncias.

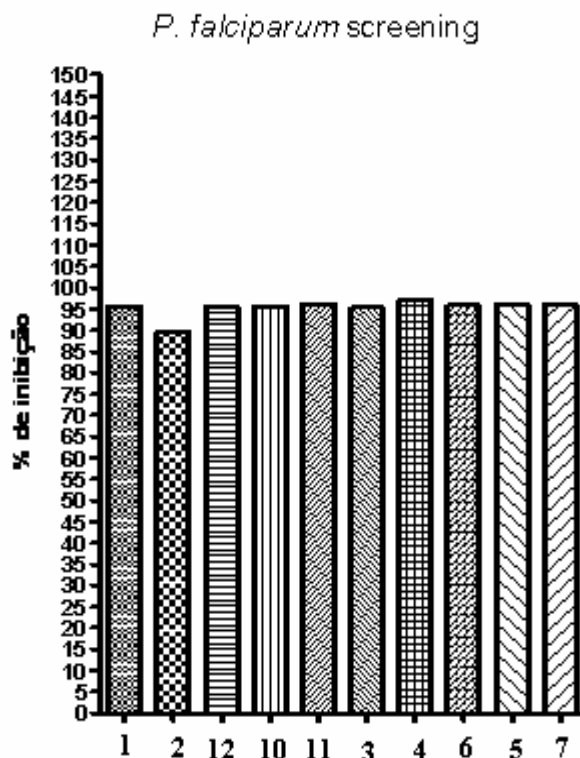


Figura 34: *P. falciparum* tratados com derivados de isatina. Protozoários avaliados após 24 horas de incubação a 37 °C em meio RPMI 1640 (GibcoBRL) suplementados com 10% de plasma humano (inativado) e um hematócrito de 5% em uma atmosfera de 90% N₂; 5% O₂; 5% C.

5.2.2 Ensaio com fungos fitopatogênicos

Na **Tabela 20** podemos observar que o fungo *Rhizoctonia solani* teve seu crescimento inibido pela presença das dialquilfosforilidrazonas testadas. Destacando-se os compostos (9) e (11) com 58 % de inibição e o composto (12) com 72 % de inibição (**Figura 35**).

Tabela 20: Crescimento miscelial do fungo *Rhizoctonia solani* em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo as dialquilfosforilidrazonas derivadas de isatina em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,5 mL.50 mL⁻¹) na concentração de 0,5 g.L⁻¹.

Compostos	BDA (mL)	¹ DMSO (mL)	² Concentração (g.L ⁻¹)	Diâmetro da colônia (cm)	% Inibição
Controle (+)	50	0	0	6,05 a	-
Controle (-)	50	0,5	0	4,30 b	0
5	50	0,5	0,5	2,98 d	30
6	50	0,5	0,5	3,83 c	11
9	50	0,5	0,5	1,80 f	58
11	50	0,5	0,5	1,78 f	58
12	50	0,5	0,5	1,20 g	72
16	50	0,5	0,5	2,18 e	49

¹Dimetilsulfóxido. ²Concentração em grama do composto químico por litro de meio de cultura BDA. ³Letras iguais resultado não significativo.

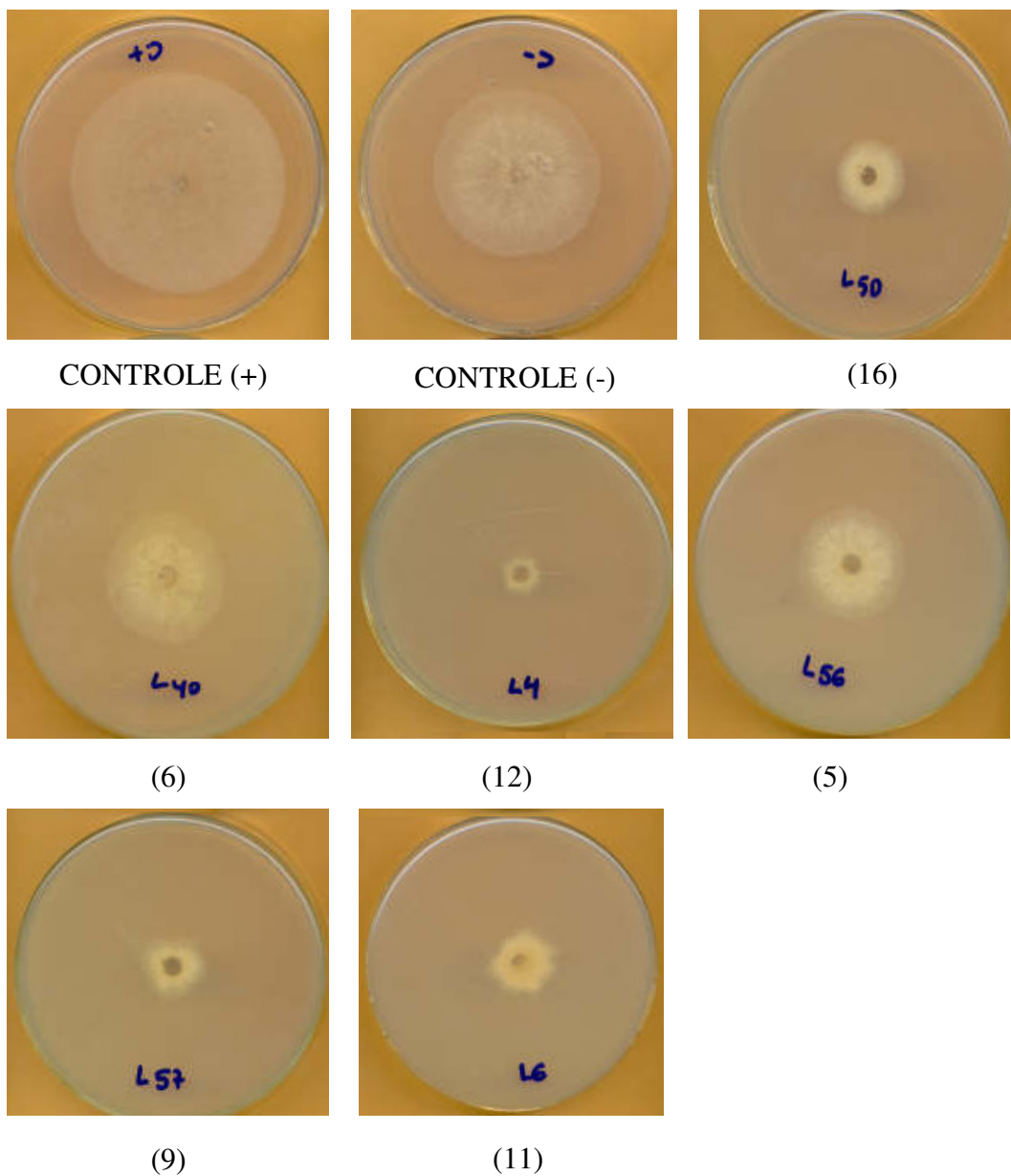


Figura 35: Imagens do fungo *Rhizoctonia solani* em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo os derivados de isatina em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,5 mL.50mL⁻¹) na concentração de 0,5 g.L⁻¹. Imagem capturada no final do ensaio das placas contendo o controle positivo e negativo e os compostos 5, 6, 9, 11, 12 e 16.

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

Na **Tabela 21** observamos a inibição superior a 50 % do crescimento do fungo *Fusarium oxysporum*. Destacando-se os compostos (1), (11) e (12) com inibição de 58, 59 e 52 % respectivamente (**Figura 36**). Todas as substâncias testadas promoveram efeito fungistático ao crescimento do fungo.

Tabela 21: Crescimento miscelial do fungo *Fusarium oxysporum* em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo as dialquilfosforilidrazonas derivadas de isatina em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,5 mL.50 mL⁻¹) na concentração de 0,5 g.L⁻¹.

Compostos	BDA (mL)	¹ DMSO (mL)	² Concentração (g.L ⁻¹)	³ Diâmetro da colônia (cm)	% Inibição
Controle (+)	50	0	0	5,85	–
Controle (-)	50	0,5	0	5,05	0
1	50	0,5	0,5	2,05	58
2	50	0,5	0,5	3,65	55
3	50	0,5	0,5	2,86	27
4	50	0,5	0,5	2,42	24
5	50	0,5	0,5	3,30	14
6	50	0,5	0,5	2,95	27
7	50	0,5	0,5	3,82	34
9	50	0,5	0,5	2,27	43
11	50	0,5	0,5	3,67	59
12	50	0,5	0,5	4,33	52
15	50	0,5	0,5	2,12	41

¹ Dimetilsulfóxido. ² Concentração em grama do composto químico por litro de meio de cultura BDA. ³ Letras iguais resultado não significativo.

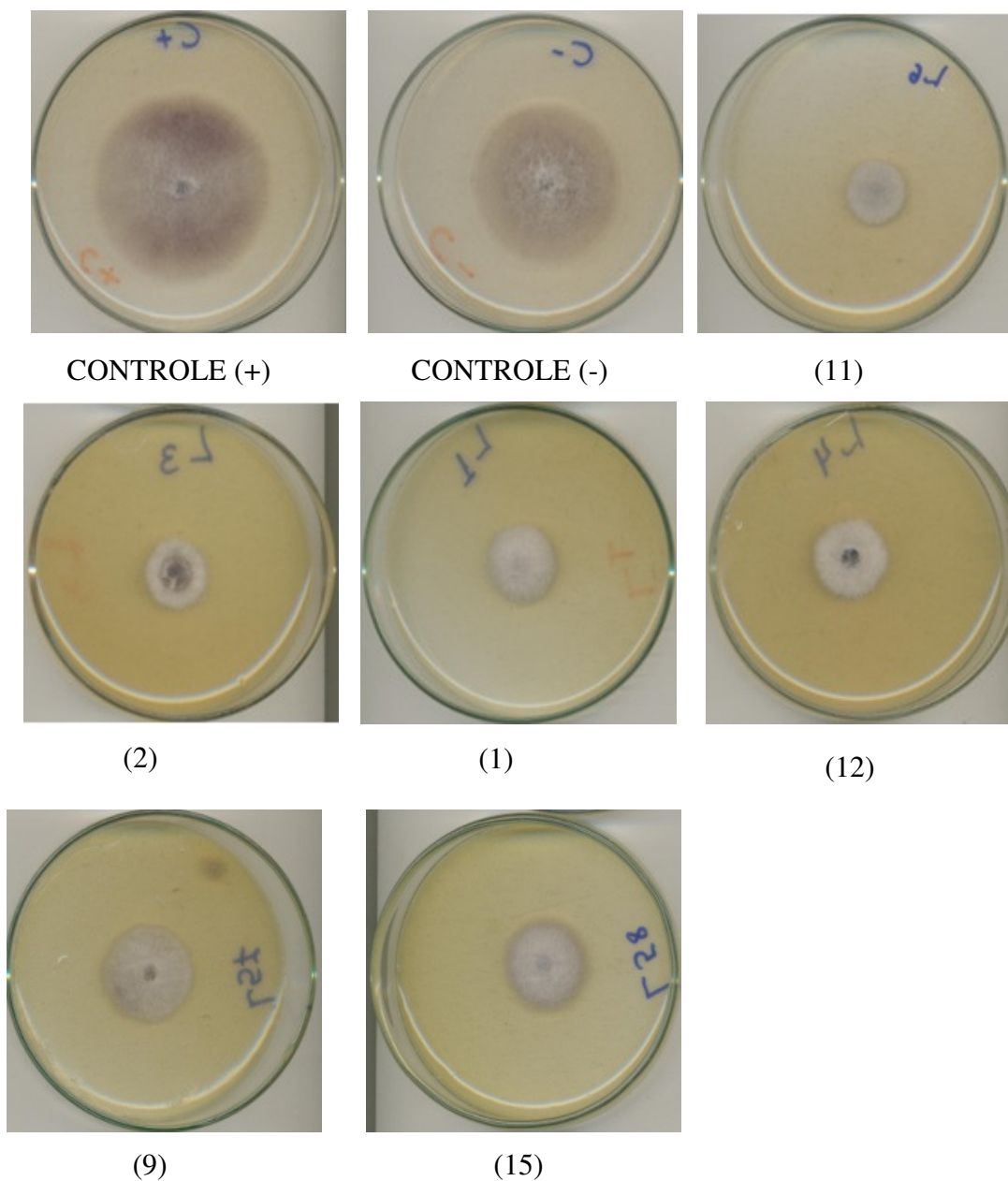


Figura 36: Imagens do fungo *Fusarium oxysporum* em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo os derivados de isatina em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,5 mL.50mL⁻¹) na concentração de 0,5 g.L⁻¹. Imagem capturada no final do ensaio das placas contendo o controle positivo e negativo e os compostos 1, 2, 9, 11,12 e 15.

5.2.3 Ensaio com germinação de sementes.

Os compostos que inibiram o crescimento miscelial dos fungos foram testados para se avaliar o efeito tóxico destes compostos, frente a germinação de sementes de alface, já que os fungicidas são substâncias que atacam os fungos sem atacar as culturas.

Os ensaios com germinação de sementes foram feitos em alface comercial (*Lactuca sativa* L.) com dois controles, um positivo e outro negativo com diclorometano. A concentração da solução em diclorometano das dialquilfosforilidrazonas derivadas de isatina foi de 400 mg.L⁻¹. As sementes foram tratadas com 2 mL de cada solução feitas em quadruplicata com 50 sementes cada teste. As placas de Petri foram lacradas com filme plástico e acondicionadas em câmara com fotoperíodo de 12 horas (luz do dia) e temperatura de 23 °C ± 1°C. A germinação foi avaliada no 7º dia após o início dos ensaios e somente as sementes que apresentaram a radícula e as primeiras duas folhas visíveis e soltas foram aceitas como germinadas (**Tabela 22**).

Tabela 22: Percentual de germinação de sementes de alface comercial em placas de Petri submetidas a tratamento com derivados de isatina diluídos em diclorometano na concentração de 0,4 g.L⁻¹.

Composto	Água (mL)	¹ CH ₂ Cl ₂ (mL)	² Concentração (g.L ⁻¹)	³ Germinação de alface (%)
Controle positivo	3	–	–	100
Controle negativo	3	2	–	97
1	3	2	0,4	94
2	3	2	0,4	93
5	3	2	0,4	85
6	3	2	0,4	96
9	3	2	0,4	87
11	3	2	0,4	92
12	3	2	0,4	90
15	3	2	0,4	90
16	3	2	0,4	97

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

Na **Figura 37** estão as imagens capturadas após 7 dias na câmara de germinação.

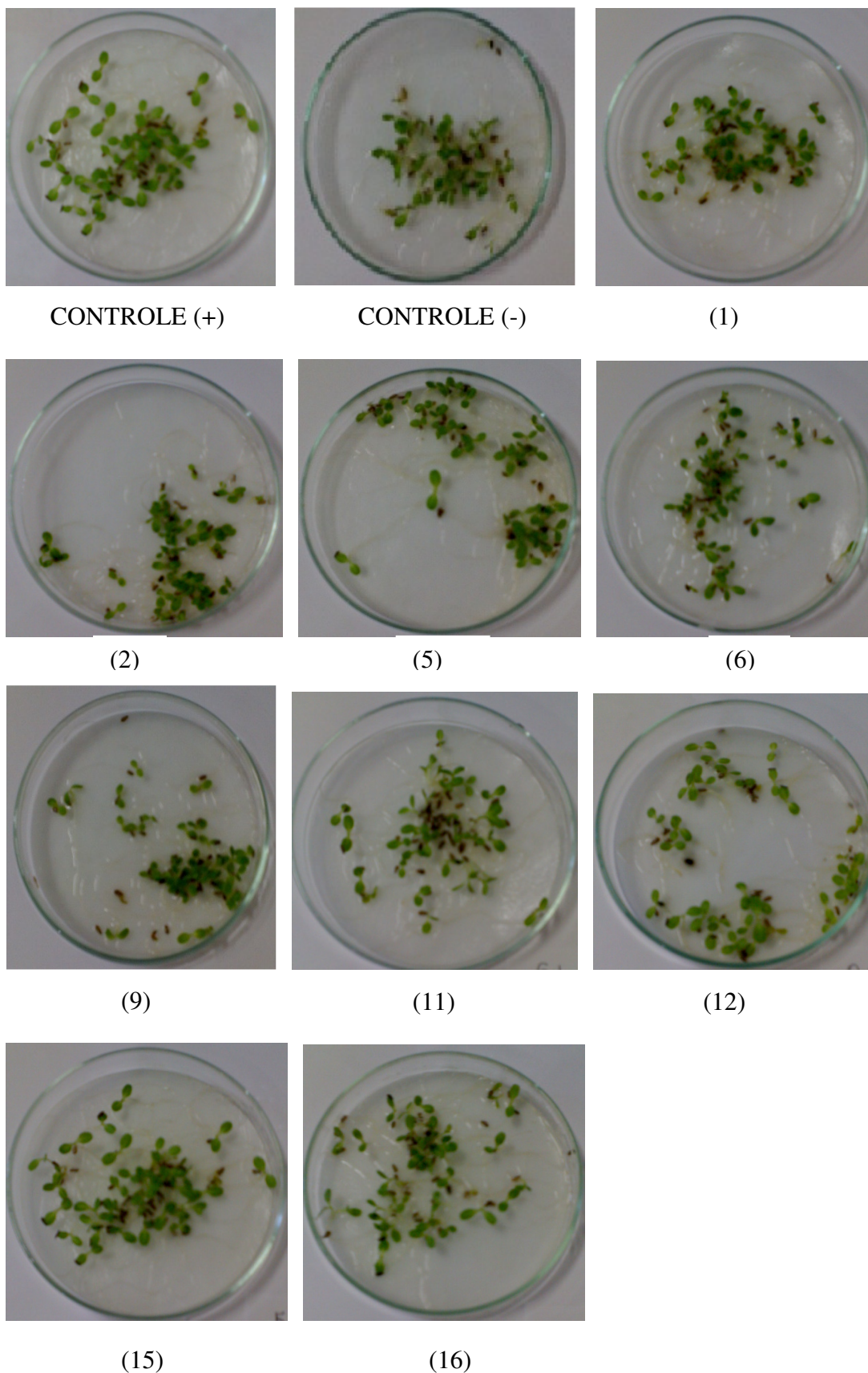


Figura 37: Imagem das placas de Petri contendo as sementes de alfafa submetidas a tratamento com os produtos em diclorometano na concentração de $0,4 \text{ g.L}^{-1}$.

Verificou-se que os mesmos compostos que apresentaram efeitos fungistáticos sobre o crescimento dos fungos, nas tabelas 19 e 20, não inibiram a germinação de sementes de alface.

Neste trabalho observou-se que a utilização das sementes de alface, como parâmetro para avaliar o efeito dos compostos químicos na germinação, tem mostrado ser um bom método (SOUZA *et al*, 2002), principalmente, em relação a alguns fatores. Primeiro, quanto ao tempo, pois as sementes germinam em poucos dias em condições ideais (entre 4 e 6 dias para alface e 5 e 10 dias para o tomate), proporcionando rápidos resultados. Segundo, quanto ao espaço, pois os testes podem ser realizados em placas de Petri e facilmente manipulados em câmara de germinação. Por último, quanto ao baixo custo de execução. Contudo, torna-se importante a realização destes testes com outras sementes, tanto de plantas cultivadas quanto de plantas invasoras, uma vez que os resultados obtidos não podem ser extrapolados para todos os tipos de sementes.

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

As dialquilfosforilidrazonas derivadas de isatina foram obtidas com ótimos rendimentos. As moléculas são bastante interessantes e podem ser sintetizados por metodologias relativamente simples e reprodutíveis.

Todos os compostos sintetizados são inéditos.

A metodologia de separação de diastereoisômeros por cromatografia em coluna aberta usando sílica gel foi satisfatória para o composto 10. O isômero Z obtido foi caracterizado pelas técnicas de identificação estrutural usuais (RMN ¹H, RMN ¹³C, I.V. e CG/EM)

Os resultados obtidos demonstram a potencial atividade das dialquilfosforilidrazonas derivadas de isatinas, no desenvolvimento de uma nova família de moléculas candidatas a fármacos, úteis no tratamento da doença de Chagas e Leishmaniose. Em *leishmania amazonensis* todos os compostos testados apresentaram inibição da proliferação celular de 98 % a 50 µM. Enquanto que para *T.cruzi* verificou-se inibição da proliferação celular de epimastigotas superior a 75% para todos compostos testados, a exceção do composto (6) cuja inibição foi de 59 %.

Dez compostos também foram avaliados frente ao protozoário *Plasmodium falciparum* apresentando inibição superior a 90 % para todos os compostos testados, a uma concentração de 1mM.

Os resultados da avaliação da atividade fungicida sobre os fungo *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum* apresentaram excelente atividade inibitória para os compostos (1), (9), (11) e (12), destacando-se o composto (12) que apresentou 72 % de inibição sobre o crescimento miscelial do fungo *Rhizoctonia solani*, sendo assim compostos promissores para o desenvolvimento de novas moléculas com potencial fungicida. Verificou-se que os mesmos compostos que apresentaram efeitos fungistáticos sobre o crescimento dos fungos, não inibiram a germinação de sementes de alface.

Estudos *in vivo* sobre a toxicidade dos produtos finais encontram-se em andamento no laboratório da Fundação Oswaldo Cruz (Salvador-Bahia).

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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 [$\{\text{Cu}(\text{H}_2\text{sb})(\text{CCl}_3\text{CO}_2)_2\}_2$] and [$\{\text{Cu}(\text{H}_2\text{sb})(\text{ClO}_4)(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})\}_2$] and the Related Salicylaldehyde Acetylhydrazone (H₂sa) Complex, of $[\text{Cu}(\text{Hsa})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$. H₂O. *Inorganica Chimica Acta*. v. 267, p. 27-38, 1998.
- ALVAR, J.; CANAVATE, C.; GUTIÉRREZ-SOLAR, B.; JIMÉNEZ, M.; LAGUNA, F.; LÓPEZ-VÉLEZ, R.; MOLINA, R.; MORENO, J. Leishmania and human immunodeficiency virus coinfection: the first 10 years. *Clin. Microbiol. Rev.* v.10, p. 298-319, 1997.
- ALDRIDGE, W. N. & REINER, E. Enzyme inhibitors as substrates. Interaction of esterases with esters of organophosphorus and carbamic acids. In *Frontiers of biology* (A Neuberger and E. L. Tatum, Eds). North-Holland, Amsterdam. v. 26, 1976.
- ARMIJOS, R. X.; WEIGEL, M.M.; HIDALGO, A.; CEVALLOS, W.; CORREA, J. Safety, immunogenicity, and efficacy of na autoclaved *Leishmania amazonensis* vaccine plus BCG adjuvant against New World cutaneous leishmaniasis. *Vaccine*.v. 22, p. 1320-1326, 2004.
- ARSENJEVIC, L.; BOGAVAC, M.; PAVLOV, S; ARSENJEVIC, V. Reduction of the carbonyl groups of *N*-alkylisatin with zinc in na aprotic solvent. *Arh. Farm.* v. 35, p. 1-2, n. 39, 1985.
- ARBUZOV, A. E.; *Phys. Chem. Soc.* v. 38, p. 687, 1906.
- ATHERTOON, F. R. OPENSHAW, H. T. & TODD, A. R. Studies on phosphorylation. Further studies on the use of dibenzyl chlorophosphonate and the examination of certain alternative. *J. Chem. Soc.* p. 660, 1945.
- 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.; 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.; 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.
- BATTACHARYA, L. K. & THYAGARAJAN, G. The Michaelis-Arbuzov Rearrangement. *Chem. Rev.*v. 81, p. 415, 1981.
- BEDENDO, I.P. Parte X: Grupos de Doenças. In: A.BERGAMIN FILHO; H. KIMATI; L. AMORIM. *Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos*. 3 ed. Ceres, São Paulo v.1, p. 805-907, 1995
- BERGMAN, J; ENGELHARDT, P; KISS, A. I; LINDSTROM, J. O; WARNMARK, K. Ring expansions of *N*-acylisatins to *N*-oxidoquinazoline-4-carbohydroxamic acid derivatives induced by hydroxylamine. *Studies Org. Chem.: Chem. Heterocycl. Compd.* v. 35, p.1, 1988.

- BERGMAN, J; LINDSTORM, J.O; TILSTAM, U. The structure and properties of some indolic constituents in *Couroupita guianensis* Aubl. *Tetrahedron*. v. 41, n. 14, p. 2879-2881, 1985.
- BOECHAT, N. e Pinto, A. C. Preparation of, -difluorophenylacetates and -phenylacetamides as analgesics and antiinflammatories. US6034266, p. 9, 2000.
- CARBRIDGE, P.E.C. The Structural Chemistry of Phosphorus. *Elsevier Scientific Publishing, N.Y.* 203, 1974.
- CADOGAN, J. I. G., Organophosphorus Reagentes in Organic Synthesis. *Academic Press Inc. (London) LTD.* 1st Ed., 1979.
- CAIXEIRO, J.M.R.; Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2007.
- CARLTON, F.B.; SIMPSON, W.M. & HADDAD, L.M. The Organophosphate and Other Insecticides. *Clinical Management of Poisoning and Drug Overdose*, Philadelphia, Pennsylvania, USA. WB Saunders Company, 3^a ed, p. 836-850, 1998.
- CASEY, L. A; GALT, R; PAGE, M. I. The mechanisms of hydrolysis of the γ -lactam isatin and its derivatives. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* v. 2, n. 1, p. 23, 1993.
- CHIBALE, K; CHIYANZU, I MCKERROW, J. H; HANSELL, E ROSENTHAL, P.J; GUT, J. Synthesis and Evaluation of Isatins and Thiosemicarbazone Derivatives against Cruzain, Falcipain-2 and Rhodesain. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. v. 13, p. 3527-3530, 2003.
- CHIBALE, K.; CHIYANZU, I.; CLARKSON, C.; SMITH, P. J.; LEHMAN, J.; GUT, J. e ROSENTHAL, P. J. Design, synthesis and anti-plasmodial evaluation in vitro of new 4-aminoquinoline isatin derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* v. 13, n. 9, p. 3249, 2005.
- CIA, E.; SALGADO, C. L. Doenças do algodoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J. A. M. *Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas*. v. 2, p. 33-48, 1997.
- COOK, R. J. Management of the associated microbiota. *Plant Disease*. v. 1, p. 145-166.
- COFFEY, S. *Rood's Chemistry of Carbon Compounds*, 2nd ed., *Elsevier Publishing Company*: London, 1965.
- CORNFORTH, J. W. Structures of isamic acid and methylisatoid. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* v. 19, p. 2004, 1976.
- COSTA, P.; PILLI, R.; PINHEIRO, S.; VASCONCELLOS. Substâncias Carbonilados e Derivados. *Artmed Editora S A Subdivisão Bookman Companhia Editora*. Série Química Orgânica. 2003.
- COTTON, F. A. Advanced Inorganic Chemistry. In: USA. 5th Ed. John Wiley and Sons. 1988.
- COTTON, F. A. & SCHUNN, P. A. *J. Am. Chem. Soc.* v. 85, p. 2394, 1963.
- COURA, J. R.; DE CASTRO, S. L. A Critical review on Chagas disease chemotherapy. *Mem. Inst. Oswald Cruz*. v. 97. n. 1 p. 3-24, 2002.
- CROFT, S. L.; YARDLEY, V. Chemotherapy of leishmaniasis. *Curr. Pharm. Des.* v. 8, p. 319-342, 2002.

- CROFT, S. L. Neglected diseases: progress in drug development. *Curr. Opin. Investing. Drugs.* v. 8, p. 103-104, 2007.
- CROFT, S. L.; COOMBS, G. H. Leishmaniasis-current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. *Trends Parasitol.* v. 19, p. 502-508, 2003.
- CROFT, S. L.; BARRETT, M. P.; URBINA, J. A. Chemotherapy of trypanosomiasis and leishmaniasis. *Trends Parasitol.* v. 21, p. 508-512, 2005.
- CROFT, S. L. Monitoring drug resistance in leishmaniasis. *Trop.Med. Int. Health.* v. 6, p. 899-905, 2001.
- DaCOSTA, J. B. N.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil, 1996.
- 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.
- DAVIDSON, R. N. AIDS and leishmaniasis. *Genitourin. Med.* v. 73, p. 237-239.
- DAVIES, C. R.; KAYE, P.; CROFT, S. L.; SUNDAR, S. Leishmaniasis: new approaches to disease control. *BMJ.* v. 326, p. 77-82, 2003.
- DE SOUZA, S. P. L.; DA SILVA, J. F. M.; DE MATTOS, M. C. S. *Heterocycl. Commun.* v. 9, p. 31, 2003.
- DNDi – Drugs for Neglected Diseases initiative, 2008. Disponível em: <<http://www.dndi.org/>>. Acessado em: 16 Jan 2008.
- DOS SANTOS, V. M. R.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil, 1996.
- ECOBICHON, D. J. Toxic Effects of Pesticides. In Casarett and Doill's Toxicology. 5th ed., (C.D. Klaussen, Ed). p. 643-698. NY.
- ETO, M. *Organophosphorus Pesticides: Organic and Biological Chemistry*, 1st ed., CRC Press: Fukuoka, Japan, 1974.
- FERNANDES, C.; LEITE, R.S.; LANÇAS, F.M. Bisfosfonatos: Síntese, Análises Químicas e Aplicações Farmacológicas. *Química Nova.* v. 28, n. 2, p. 274-280, 2005.
- FISHER, E. B.; VAN WAZER, R, J. R. Use of Organic in phosphorus compounds and its compounds. Interscience: New York, vol. 2, p. 1961, 1897.
- FORD MOORE, A. H.; PERRY, B. J.; *Org. Syn. Coll.* v. 4, p. 955, 1963.
- GAETA, F. C. A.; GALAN, A. A. e KRAYNACK, E. A. Preparation of isatin derivatives as telomerase inhibitors and anticancer agents. *PCT Int. Appl.* WO9965875, p. 56, 2000.
- GALLO, M & LAWRYK, N. Organic Phosphorus Pesticides. In HAYES, W.J, LAWS, E. R. *Handbook of Pesticide Toxicology*. San Diego, California, USA. Academic Press, Inc., v. 2, p. 917-1124, 1991.
- GARDEN, S. J.; TORRES, J. C.; SILVA, L. E; PINTO, A. C. A convenient methodology for the *N*-alkylation of isatin compounds. *Synth. Commun.* v. 28, n. 9, p. 1679, 1998.
- GEARY, T. G.; EDGAR, A.; JENSEN, J. B. Leishmaniasis – current treatment. In: CAMPBELL, W. C. e REW. R. S (eds). *Chemoterapy of Parasitic Diseases*. New York: Plenum Press, p. 209-238, 1989.

- GOULART, A. C. P. Doenças associadas às sementes. *Correio Agrícola*, janeiro-junho, p. 12-15.
- GOES, A. J. S.; TENÓRIO, R. P.; LIMA, J.G.; FARIA, A.R.; ALVES, A.J.; AQUINO, T.M. Tiossemicarbazonas: Métodos de Obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. *Química Nova*. v. 28, n. 6, p. 1030-1037, 2005.
- GUO, Y.; CHEN, F. TLC-UV-spectrophotometric and TLC-scanning determination of isatin in leaf of *Isatis*. *Zhongcaoyao*. v. 17, p. 8-11, 1986.
- HAENSEL, W. 4-(5-Hydroxy-4-pyrazolylimino)-2-pyrazolin-5-ones and their metal chelates, I. Synthesis of 4-(5-hydroxy-4-pyrazolylimino)-2-pyrazolin-5-ones (rubazoic acids) and compounds with analogous structures. *Justus Liebigs Ann. Chem.* n. 7/8, p. 1380, 1976.
- HAUPT, E. T. K. & TOM DICK, H. *Phosphorus and Sulfur*. v. 27, p. 285, 1986.
- HERWALDT, B. L. Leishmaniasis. *Lancet*, v.354, p. 1191-1199, 1999.
- JENSEN, B. S.; JORGENSEN, T. D.; AHRING, P. K.; CHRISTOPHERSEN, P.; STROBAEK, D.; TEUBER, L. E OLESEN, S. P. Use of isatin oxime derivatives as ion channel activating agents. PCT Int. Appl. WO0033834, p. 49, 2000.
- JUANG, S. H.; CHEN, L. R.; WANG, Y. C.; LIN, Y. W.; CHOU, S. Y.; CHEN, S. F.; LIU, L. T.; WU, Y. T.; KUO, C. J.; CHEN, T. S. S. Synthesis and evaluation of isatin derivatives as effective SARS coronavirus 3CL protease inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, v. 15, n.12, p. 3058, 2005.
- KARCZMAR, A. Invited Review: Anticholinesterases: dramatic aspects of their use and misuse. *Neurochem. Int.* v. 32, p. 401-411, 1997.
- KERTESZ, M. A.; COOK, A.M. & LEISINGER, T. *Microbiology Reviews*.v. 15, 195-215, 1994.
- KELSEY, R. G. & LOCKEN, L. Phytotoxic properties of cnici, a Sesquiterpene lactone from *Centaurea maculosa* (Spotted Knapweed). *Journal of Chemical Ecology*. v.13, p. 19-33, 1982.
- 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.
- KITAEV, Yu.P.; BUZYKIN, B.I. The Reactions of Hydrazones. *Russian Chemical Reviews*. v. 41, n. 6, p. 495-515, 1972.
- KONTECKA, E. G.; SILVAGNI, R.; LIPINSKI, R.; LECOUCVEY, M.; MARINCOLA, F. C.; CRISPONI, G.; NURCHI, V. M.; LEROUX, Y.; KOZLOWSKI, H.; *Inorg. Chim. Acta*, 339, 111, 2002.
- KOSALPOFF, G.M.; MAIER, L. *Organic Phosphorus Compounds*. Wiley – Interscience, N.Y. v. 5, 1973.
- KUSSEINOV, K. Unsaturated isatin derivatives. *Dokl. Akad. Nauk Tadzh. SSR*. v. 19, p. 30-32, 1976.
- LANG, W & KRUEGER, B. Uber ester der Monofluorphosphorsaure. *Chem. Ber.* 65: 1598.
- LIU, J.; OLIVIER, K. & PODE, N. C. *Toxicology and Applied Pharmacology*. v. 158, p.186-196, 1999.

- LOLOIU, G; MAIOR, O. Isatin chemistry. Synthesis of N-methyl-2,3-dioxo-2,3-dihydropyrrolo[2,3-b]phenoxatiin. *Rev. Roum. Chim.* v. 42, n.1, p.67, 1997.
- MAGILL, A. J.; GROGL, M.; GASSER, R. A.; SUN, W.; OSTER, C. N. Visceral infection caused by *Leishmania tropica* in veterans of Operation Desert Storm. *N. Engl. J. Med.* v. 328, p. 1383-1387, 1993.
- MATTOS, M.C.S; ESTEVES, P.M; MENDONÇA, G. F; MAGALHÃES, R.R. Trichloroisocyanuric Acid in H₂SO₄: Na Efficient Superelectrophilic Reagent for Chlorination of Isatin and Benzene Derivatives. *J. Braz. Chem. Soc.* v. 16, n. 4, p.695-698, 2005.
- MMV – Medicines for Malaria Venture, 2008. Disponível em: <<http://www.mmv.org/>>. Acessado em: 16 Jan 2008.
- MARK, V. *Mech. Mol. Migr.* v.2, p. 319, 1969.
- MARTIN, M. B.; GRIMLEY, J. S.; LEWIS, J. C.; HEATH, H. T.; BAILEY, B. N.; KENDRICK, H.; YARDLEY, V.; CALDERA, A.; LIRA, R.; URBINA, J. A.; MORENO, S. N. J.; DOCAMPO, R.; CROFT, S. L.; OLDFIELD, E. Bisphosphonates Inhibit the Growth of *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii*, and *Plasmodium falciparum*: A Potential Route to Chemotherapy. *J. Med. Chem.* v. 44, p. 909, 2001.
- MICHAELIS, A. E.; KAEHNE, R. *Chem. Ber. Stsch. Ges.* v. 31, p. 1048, 1898.
- MICHAELIS, A.; BECKER, T. *Ber. Stsch. Chem. Ges.* v. 30, p.1003, 1897.
- MILESON, B. E.; CHAMBERS, J. E.; CHEN, W. L.; EHRICH, M.; ELDEFRAWI, A. L.; GAYLOR, D. W.; HARMENICK, K.; HODGSON, E.; KARZMAR, A. G.; PADILHA, S.; PODE, C. N.; RICHARDSON, R. J.; SAUNDERS, D. R.; SHEETS, L. P.; SULTATOS, L. G. & WALLECE, K. B. Common Mechanism of Toxicity: A Case Study of Organophosphorus Pesticides. *Toxicolo. Sci.* v. 41, p. 8-20, 1998.
- MOPAC2009, JAMES J. P. STEWART, Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA, [HTTP://OpenMOPAC.net](http://OpenMOPAC.net) (2008).
- MONCAYO, A. Chagas disease: current epidemiological trends after the interruption of vectorial and transfusional transmission in the Southern Cone countries. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 98, p. 577-591, 2003.
- MONCAYO, A.; ORTIZ YANINE, M. I. An update on Chagas disease (human American trypanosomiasis). *Ann. Trop. Med. Parasitol.* v. 100, p. 663-677, 2006.
- MURRAY, H. W. BERMAN, J.; DAVIES, C.; SARAVIA. Advances in leishmaniasis. *Lancet*, v. 366, p. 1561-1577, 2005.
- NAMBA, T.; NOLTE, C.T.; JACKREL, J.; GROB, D. Poisoning Due to Organophosphate Insecticides: Acute and Chronic Manifestations. *The American Journal of Medicine.* v. 50, p. 475-492, 1971.
- NATH, B.S & KUMAR, R.P.S. Toxic Impact of Organophosphorus Insecticides on Acetylcholinesterase Activity in the Silkworm, *Bombyx mori* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* v. 42, p. 157-162.
- NOGUEIRA, A.J.M.; Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2007.

- 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.
- NWAKA, S.; HUDSON, A. Innovative lead Discovery strategies for tropical diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* v.5, p. 941-955, 2006.
- O'BRIEN, R. D. Toxic phosphorus esters. New York : Academica, p. 434, 1961.
- PADILHA, S.; WILSON, V. Z. & BUSHNELL, P. J. *Toxicology*. v. 92, p. 11-25, 1994.
- POPP, F. D. & PICCIRILLI, R. M. The Reaction of *N*-Acetylisonitin with Amines. *J. Heterocycl. Chem.* v. 8. n. 6, p.473-475, 1971.
- POPP, F. D. *Heterocycl. Chem.* 18, 1, 1975.
- RAJSKI, R. S.; WILLIAMS, R. M. "DNA Cross-Linking Agents as Antitumor Drugs". *Chem. Rev.* v. 98, p. 2733, 1998.
- RADUL, O. M.; ZHUNGIETU, G. I.; REKHTER, M. A.; BUKHANYUK, S. M. Simple Method for the Synthesis of 1-substituted isatins. *Khim. Geterotsiki. Soedin.* P. 353-5, 1983.
- 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.
- 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.
- RIBEIRO, T. S. Transformações químicas no alcalóide natural piperina e avaliação da atividade tóxica sobre *Trypanosoma cruzi*. Dissertação de Mestrado, UFRural, 2004.
- ROSATI, J. L. R.; DUTRA, A. A. M.; MORAES, A. C. L.; FERREIRA, M. C. L. & ROCHA, L. F. R. Intoxicação por Carbamatos e Organofosforados. *JBM*. v. 69, n .3, p. 73-96, 1995.
- SAADEH, A. M.; FARSAKH, N. A. & AL-ALI, M.K. Cardiac Manifestations of Acute Carbamate and Organophosphate Poisoning. *Heart*. v. 77, p. 461-464, 1997.
- SANDMEYER, T. Isonitrosoacetanilides and their condensation to form isatin derivatives. *Helv. Chim. Acta*. v. 2, p. 234, 1919.
- SELVAM, P.; CHANDRAMOHAN, M.; DE CLERCQ, E.; WITVROUW, M. E PANNECOUQUE, C. Synthesis and anti-HIV activity of 4-[(1,2-dihydro-2-oxo-3H-indol-3-ylidene)amino]-N(4,6-dimethyl-2-pyrimidinyl)benzene sulfonamide and its derivatives. *Eur. J. Pharm. Sci.* v. 14, n. 4, p. 313, 2001.
- SILVA, J. F. M.; GARDEN, S. J. e PINTO, A. C. The chemistry of isatins: a review from 1975 to 1999. *J. Braz. Chem. Soc.* v. 12, n. 3, p. 273, 2001.
- SILVA, J. F. M. (1995) Síntese de benzoeterociclos a partir da isatina (1H-indol-2,3-diona). Monografia, IQ/UFRJ.
- SINDERMANN, H.; CROFT, S. L.; ENGEL, K. R.; BOMMER, W.; EIBL, H. J.; UNGER, C.; ENGEL, J. Miltefosine (Impavido): the first oral treatment against leishmaniasis. *Med. Microbiol. Immunol.* v. 193, p. 173-180, 2004.

- SINGH, M. S.; MISHRA, G.; MEHROTRA, K. N. Novel and convenient one-pot synthesis of fused ring heterocycles from 1,2-diketones and phosphorodichloridate and phosphorothiodichloridate. *Phosph. Sulf. Silicon*. v. 63, n. 1/2, p. 177, 1991.
- SINGH, S.; BATRA, Y.K.; SINGH, S.M, WIG, N.; SHARMA, B.K. Is Atropine Alone Sufficient in Acute Severe Organophosphorous Poisoning.: Experience of a North West Indian Hospital. *International Journal of clinical Pharmacology and Therapeutics*. v. 33 n. 11, p. 628-630, 1995.
- SOARES, L.F. Intoxicações Agudas por Carbamatos em Pediatria. Aspectos Epidemiológicos, Clínicos e Terapêuticos. Rio de Janeiro. Monografia do Curso de Especialização em Pediatria da UFF, 1998.
- STOLLE, R. New method for the preparation of *N*-substituted isatins. *Berichte Deut. Chem. Gesells.* v. 46, p. 3915, 1914.
- SUMPTER, W.C & MILLER, F.M. Heterocyclic Compounds with Indole and Carbaloze Systems. *The Chemistry of Heterocyclic Compounds*. New York. 1954.
- SZAJNMAN, S. H.; BAILEY, B. N.; DOCAMPO, R.; RODRIGUEZ, J. B.; *Bioorg Med. Chem. Lett.* v. 11, p. 789, 2001.
- TAYLOR, A. The synthesis of the dimethoxyisatins. *J. Chem. Res. (S)*. v. 10, p. 347, 1980.
- TEICHER, B. A.; SOTOMAYOR, E. A. Em *Cancer Chemotherapeutic Agents*; Foye, W. O.; *American Chemical Society*: Washington, D.C., 1994.
- 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*. p.660, 1945.
- TODD, A.R.; ATHERTON, F.R. *Journal of the Chemical Society*. p.674, 1947.
- TODD, A.R.; ATHERTON, F.R.; HOWARD, H.T. *Journal of the Chemical Society*. p.1106, 1948.
- TOMCHIN, A. B & KRYLOVA, I. M. Semicarbazones and Thiosemicarbazones of the heterocyclic series. Reaction of 1-Acetilisatins with thiosemicarbazines. *J. Org. Chem. USSR*. v. 22, p. 2420-34.
- TOY, A.D.F., Phosphorus Chemistry in Everyday Living. *Am. Chem. Soc. USA*. 2nd Ed., p.154-155, 1977.
- TROUILLER, P.; OLLIARO, P.; TORREELE, E.; ORBINSKI, J.; LAING, R.; FORD, N. Drug development for neglected diseases: a deficient market and a public-health policy failure. *The Lancet*. p. 359, 2002.
- URBINA, J.A.; DOCAMPO, R. Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. *Trends in Parasitology*. v.19, p. 495-501, 2003.
- VELEZ, I. D.; GILCHRIST, K.; ARBELAEZ, M. P.; ROJAS, C. A.; PUERTA, J.A.; ANTUNES, C.M.F.; ZICKER, F.; MODABBER, F. Failure of a killed *Leishmania amazonensis* vaccine against American cutaneous leishmaniasis in Colombia. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* v. 99, p. 593-598, 2005.

WATIEN, F; DREJER, J; JENSEN, L.H. Preparation of isatin derivatives as central nervous system (CNS) agents. EP432648, p. 14, 1991.

WEBBER, S. E.; TIKHE, J.; WORLAND, S. T.; FUHRMAN, S. A.; HENDRICKSON, T. F.; MATTHEWS, D. A.; LOVE, R. A.; PATICK, A. K.; MEADOR, J.W. Design, Synthesis, and Evaluation of Nonpeptidic Inhibitors of Human Rhinovirus 3C Protease. *J. Med. Chem.* v. 39, n. 26, p. 5072, 1996.

WEI, L; WANG, Q; LIU, X. Application of thin-layer chromatography in quality control of Chinese medicinal preparations. II. Qualitative analysis of some Chinese medicinal preparations of Chansu. *Yaowu Fenxi Zazhi.* v. 2, p. 228-291, 1982.

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

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

WIDDUS, R. Public-private partnerships for health: their main targets, their diversity, and their future directions. *Bull. World Health Organization.* v. 79, p. 728-734, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Control of Chagas disease: second report of the WHO expert committee.* Geneva: WHO, 2002. (Technical Report Series, 905).

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

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.

YOSHIZAWA, M; MURAKAMI, T; KISHI, A; SAKURAMA, T; MATSUDA, H; NOMURA, M; MATSUDA, H; KUBO, M. Novel indole S,O-bisdesmoside, calanthoside, the precursor glycoside of tryptanthrin, indirubin, and isatin, with increasing skin blood flow promoting effects, from two *Calanthe* species (Orchidaceae). *Chemical & Pharmaceutical Bulletin.* v. 46, n. 5, p. 886-888, 1998.

Anexo A

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

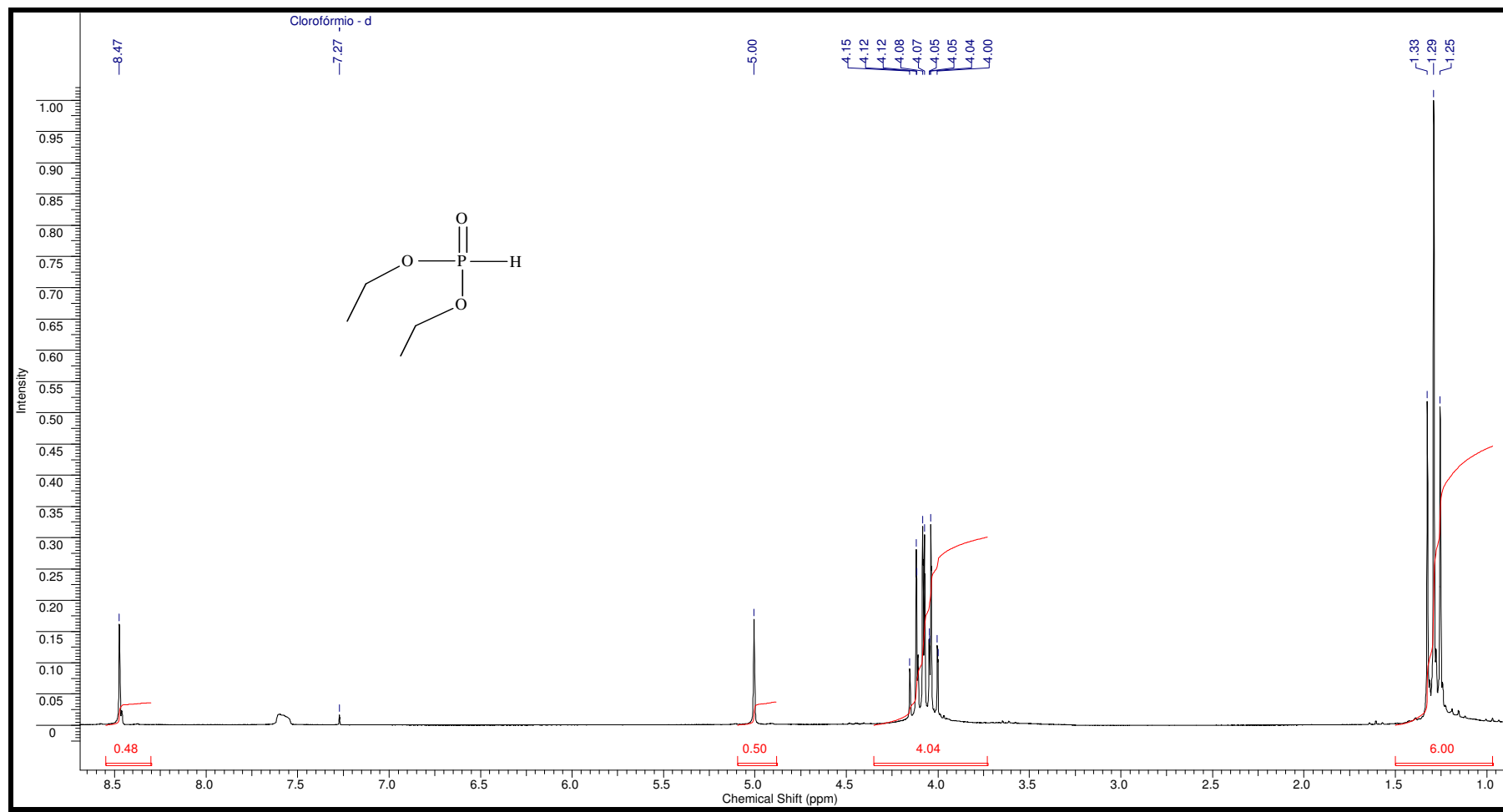


Figura 38: Espectro de RMN-¹H do fosfonato de dietila (35).

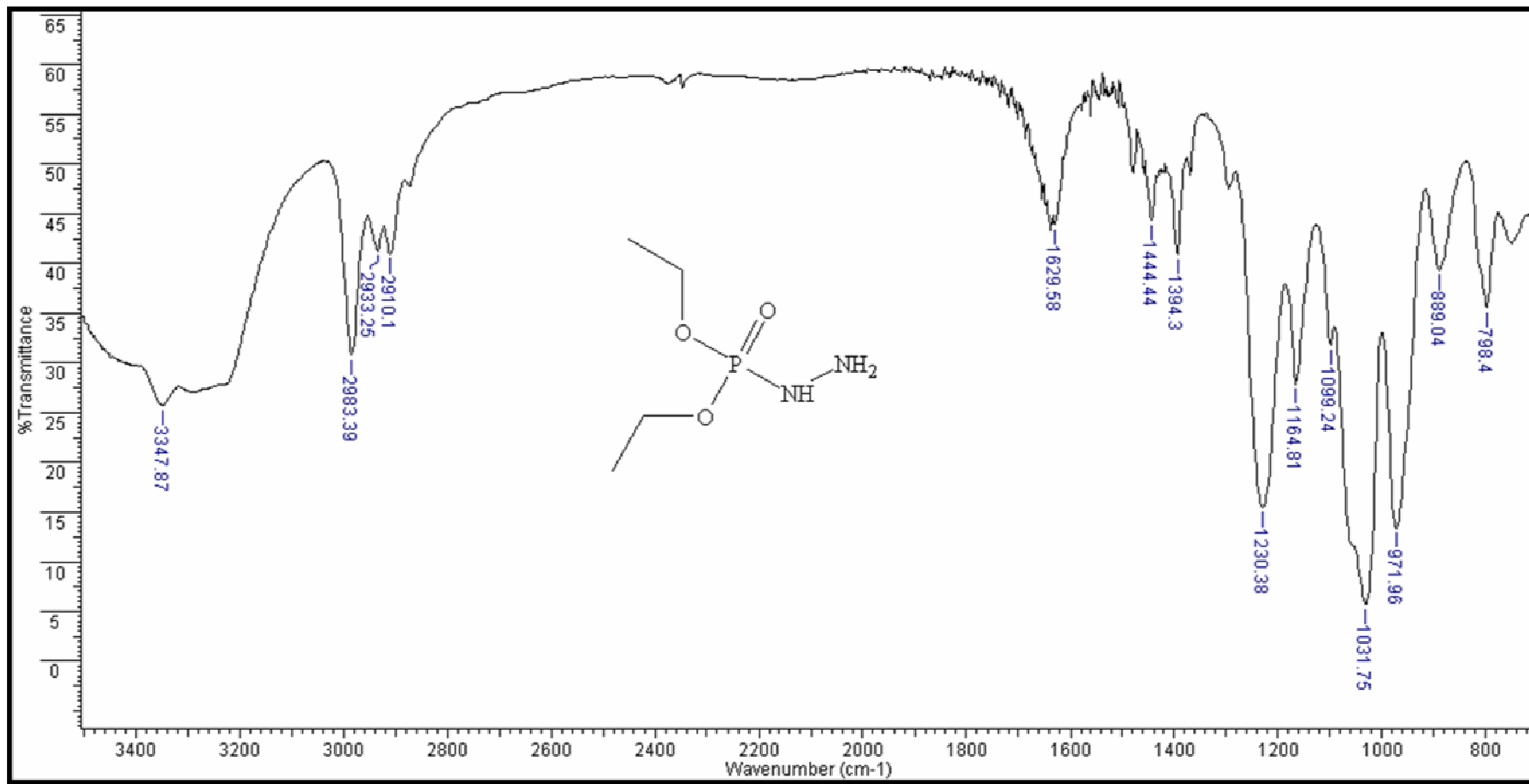


Figura 40: Espectro de infravermelho do fosfito de dietilfosforilidrazina (38).

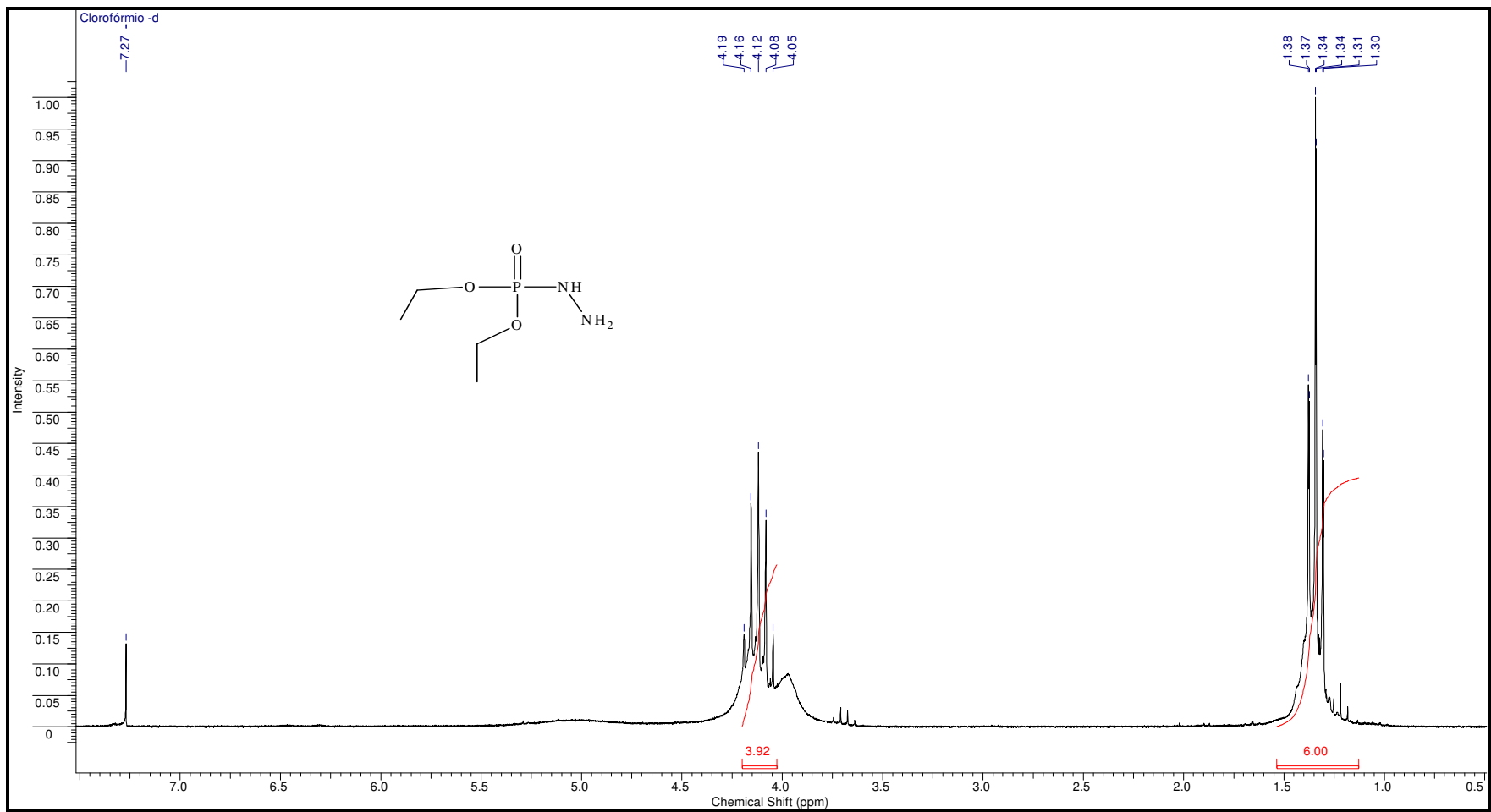


Figura 41: Espectro de RMN-¹H do fosfito de dietilfosforilidrazina (38).

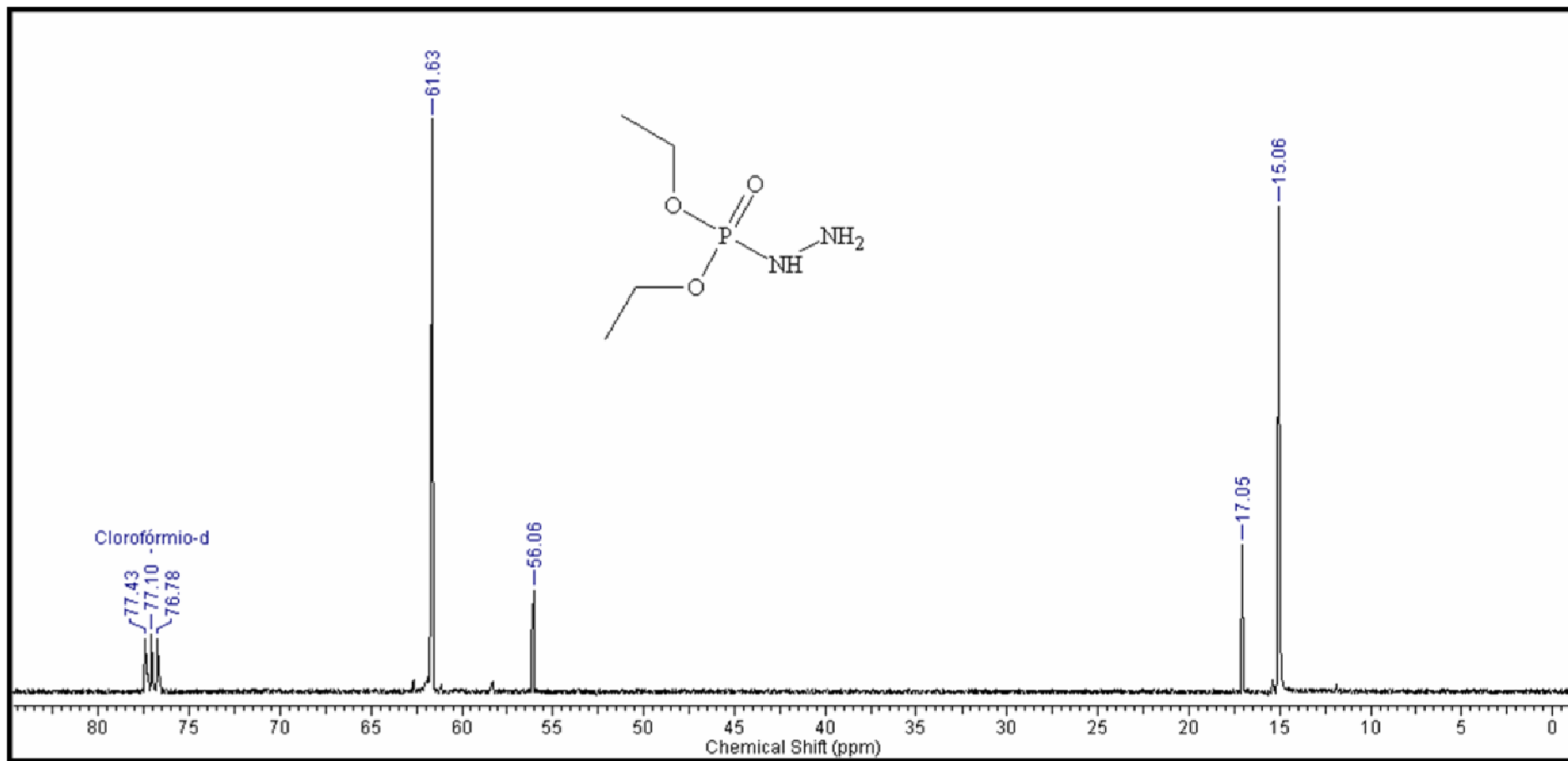


Figura 42: Espectro de RMN- ^{13}C da dietilfosforilidrazina (38)

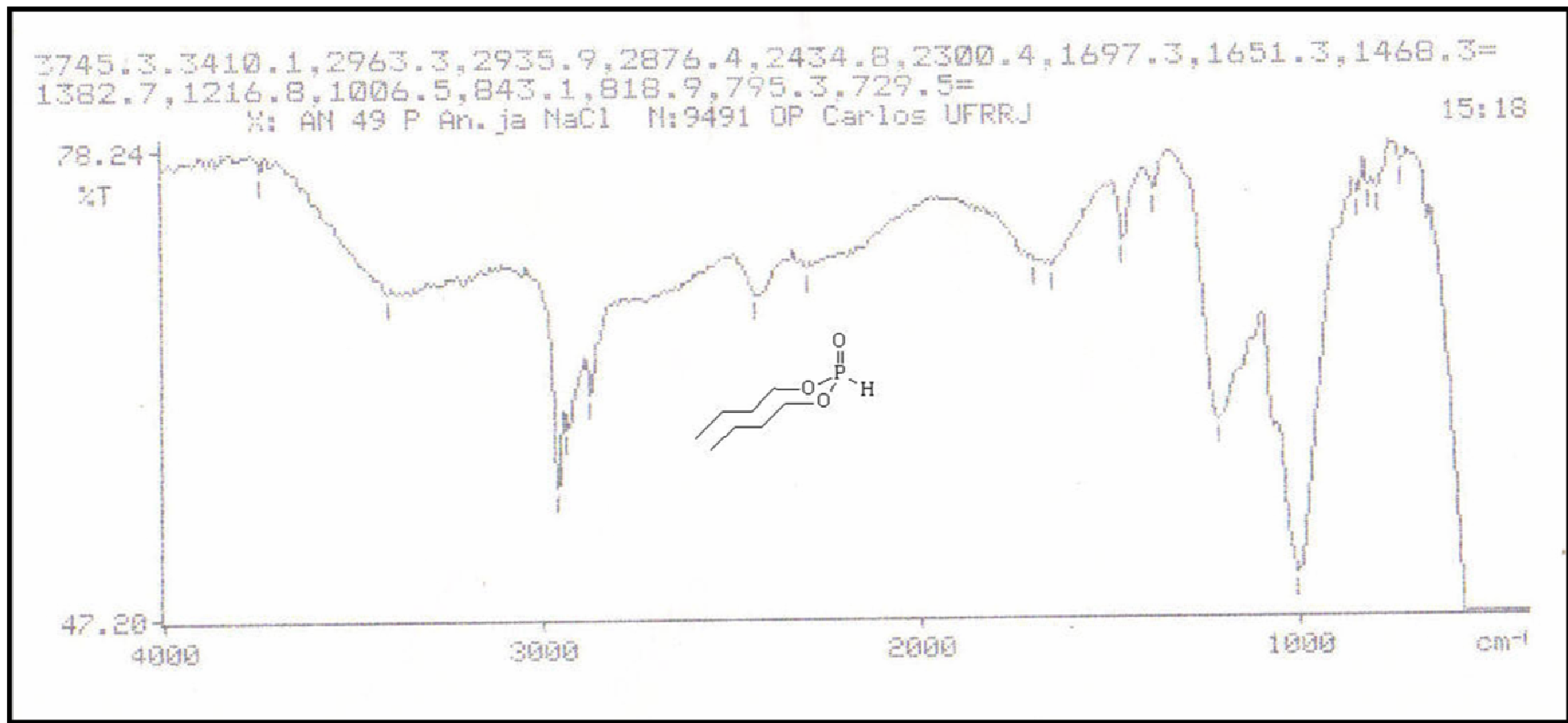


Figura 43: Espectro de infravermelho do fosfito de dibutila (36).

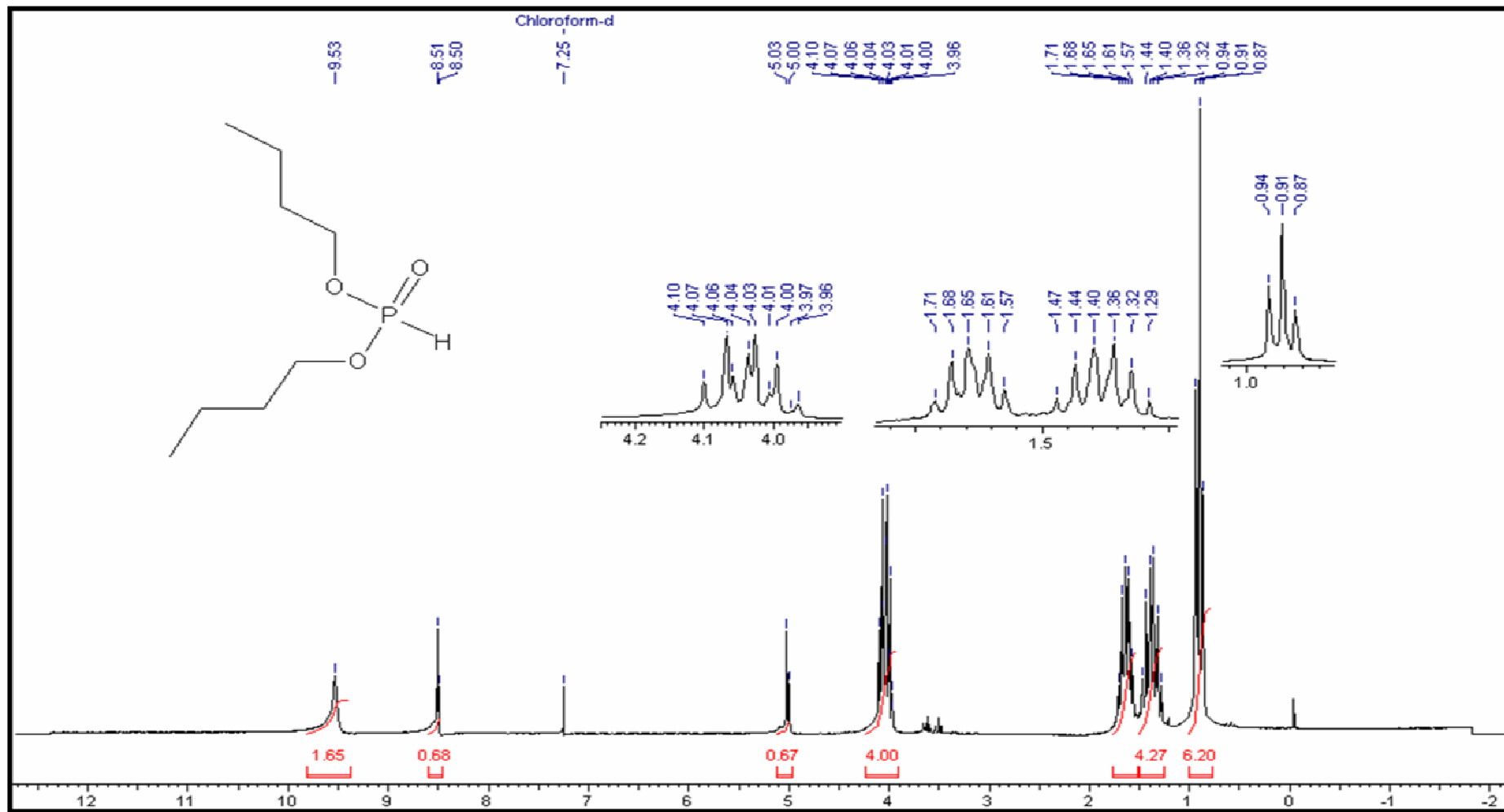


Figura 44: Espectro de RMN-¹H do fosfonato de dibutila (36).

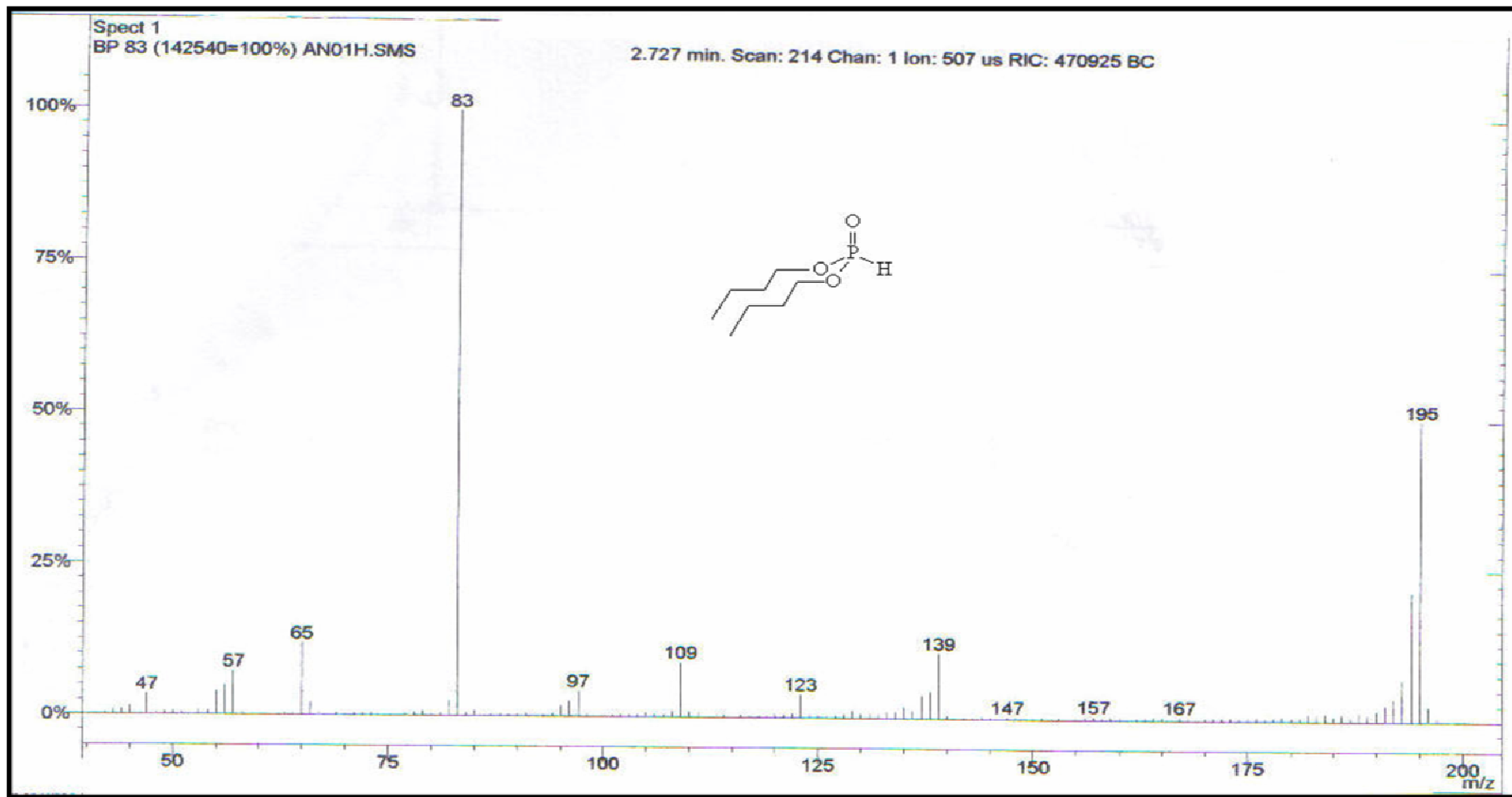


Figura 45: Espectro de massas do fosfonato de dibutila (36).

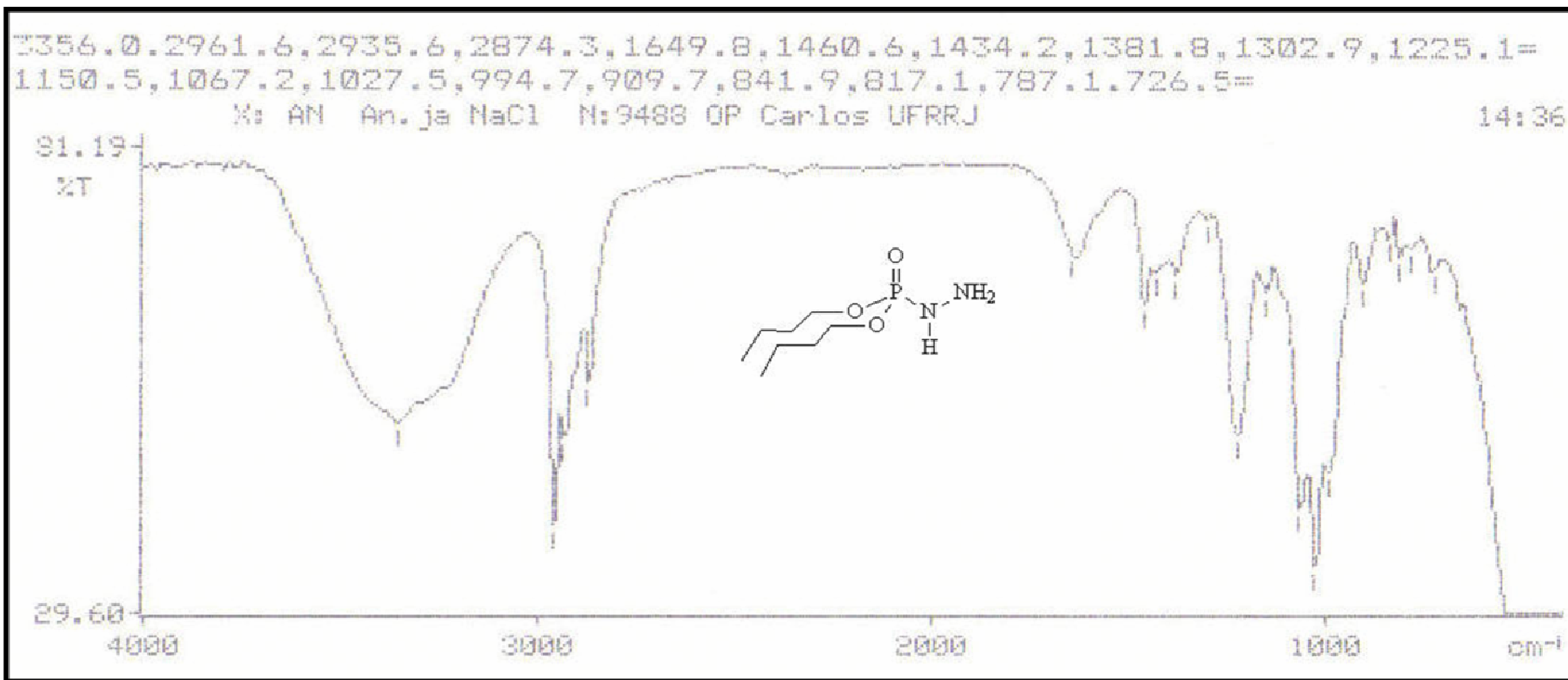


Figura 46: Espectro de Infravermelho da dibutilfosforilidrazina (39).

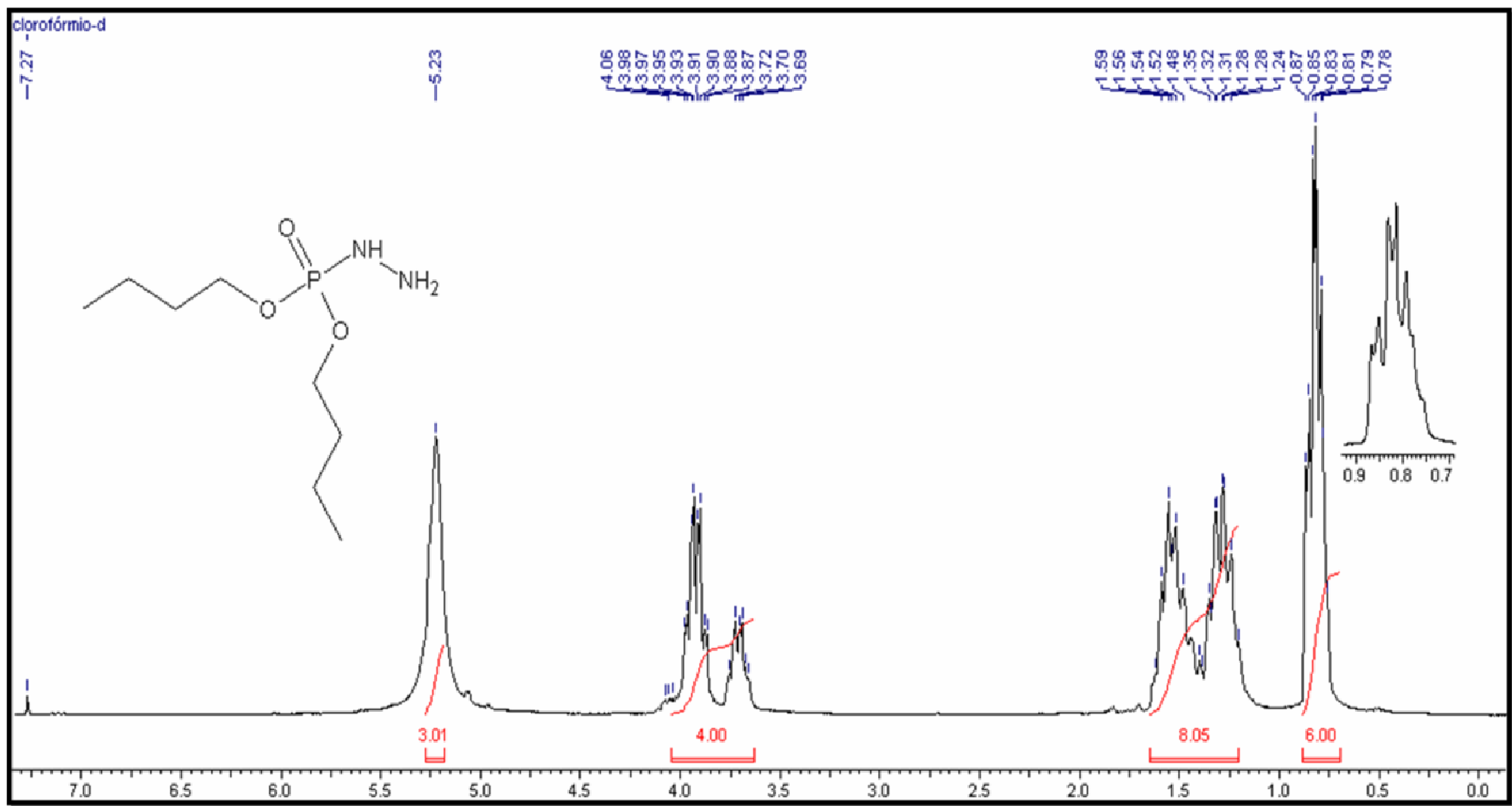


Figura 47: Espectro de RMN-¹H da dibutilfosforilidrazina (39).

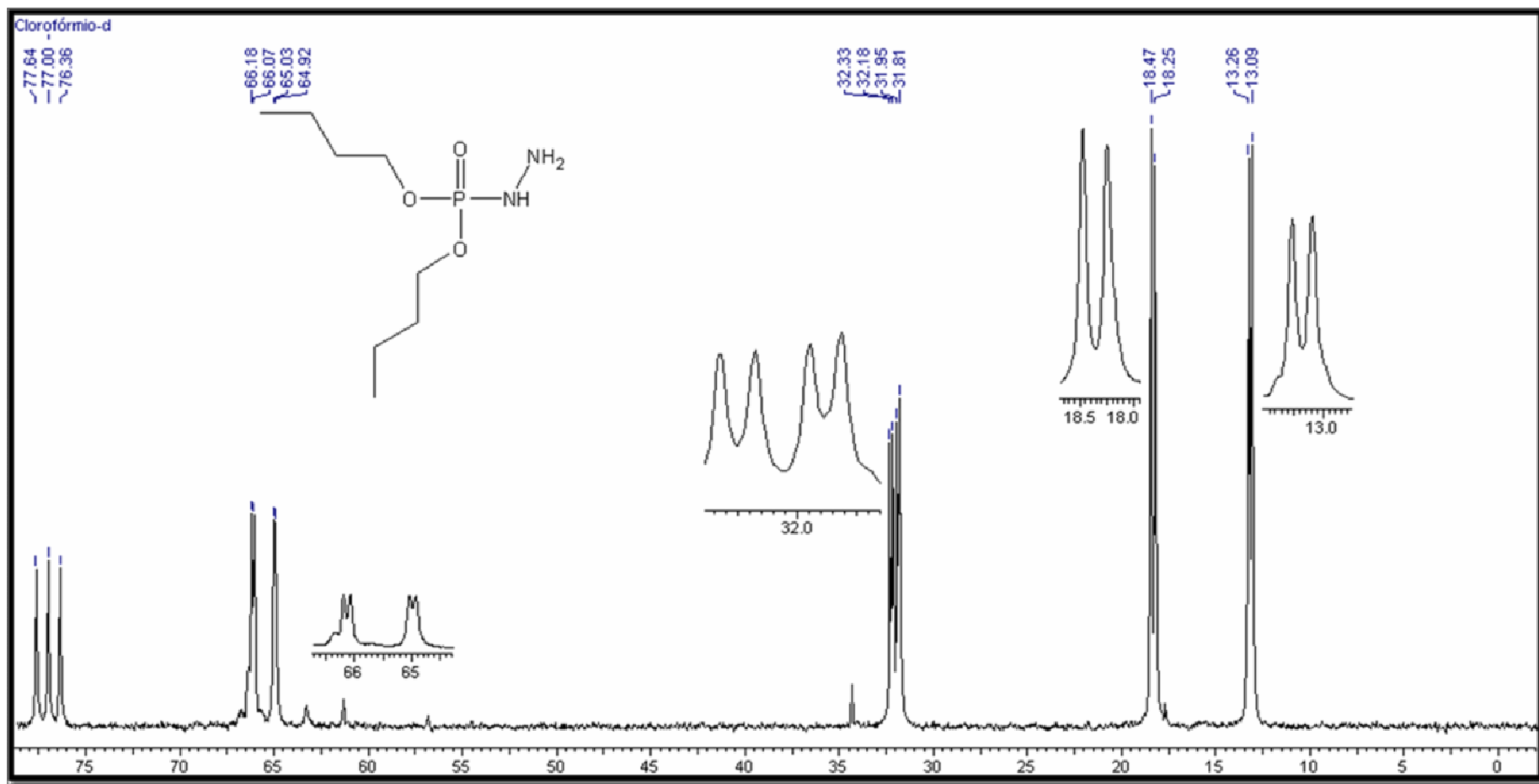


Figura 48: Espectro de RMN-¹³C da dibutilfosforilidrazina (39).

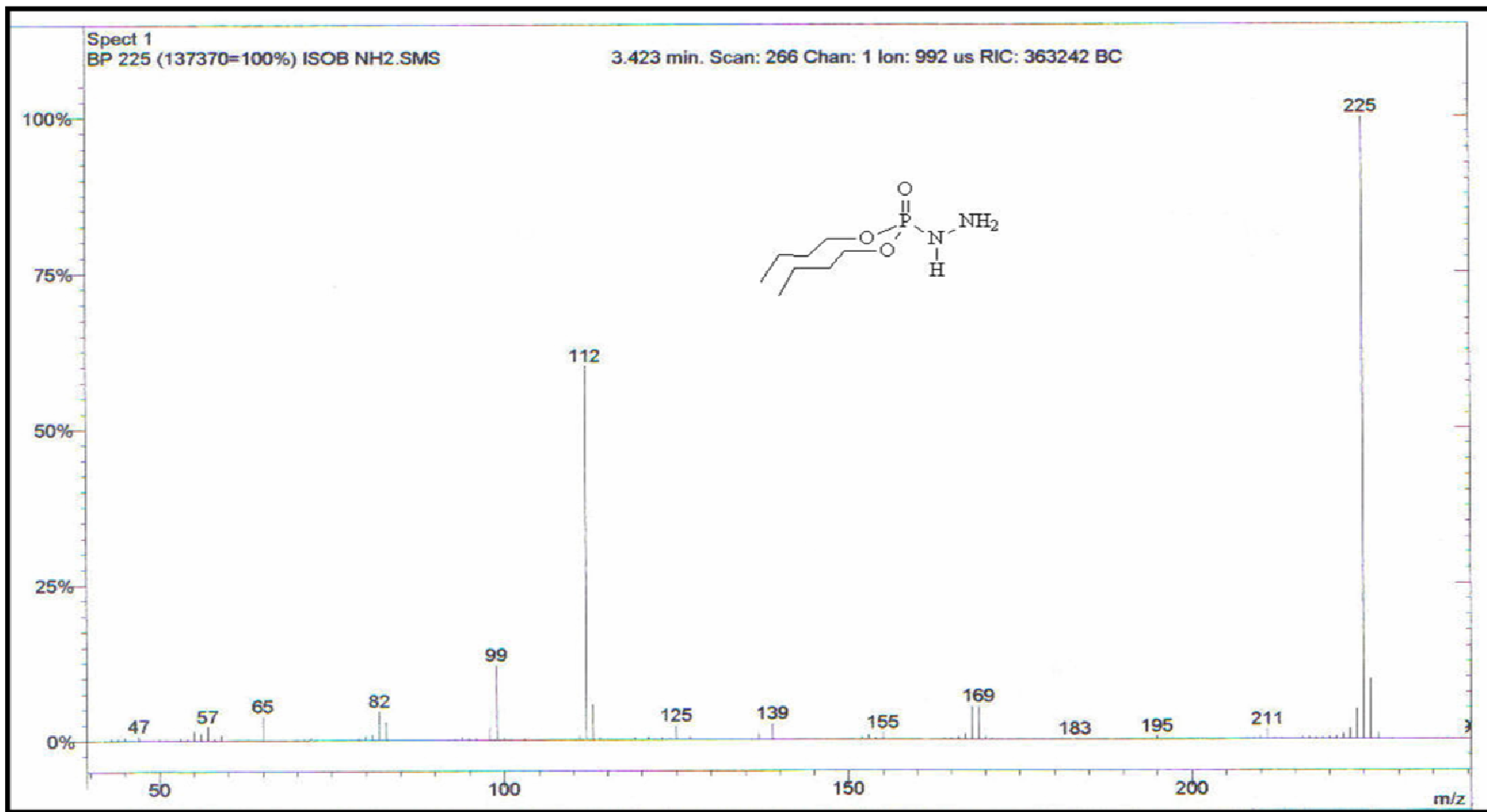


Figura 49: Espectro de massas da dibutilfosforilidrazina (39).

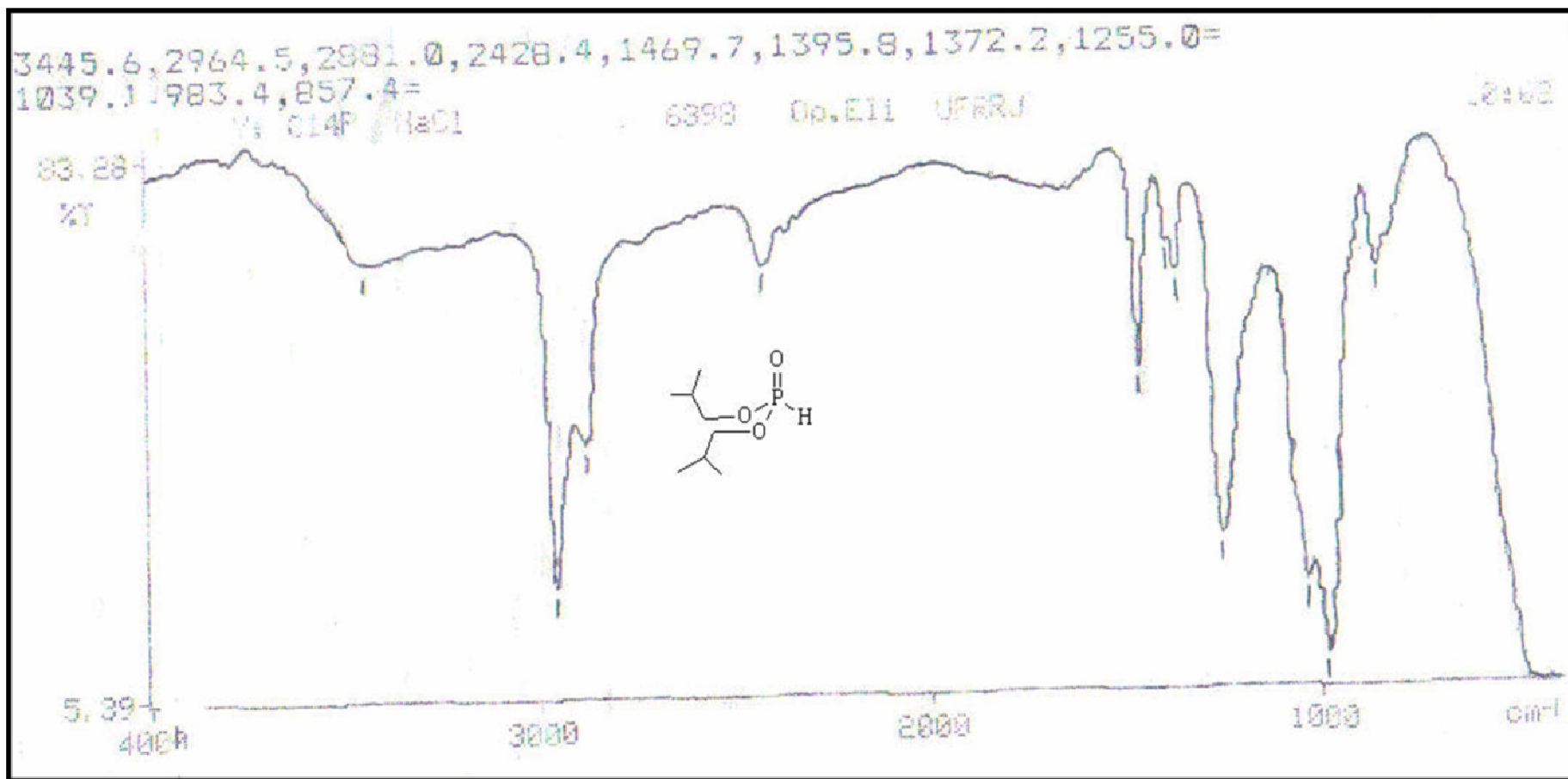


Figura 50: Espectro de Infravermelho do fosfonato de isobutila (37).

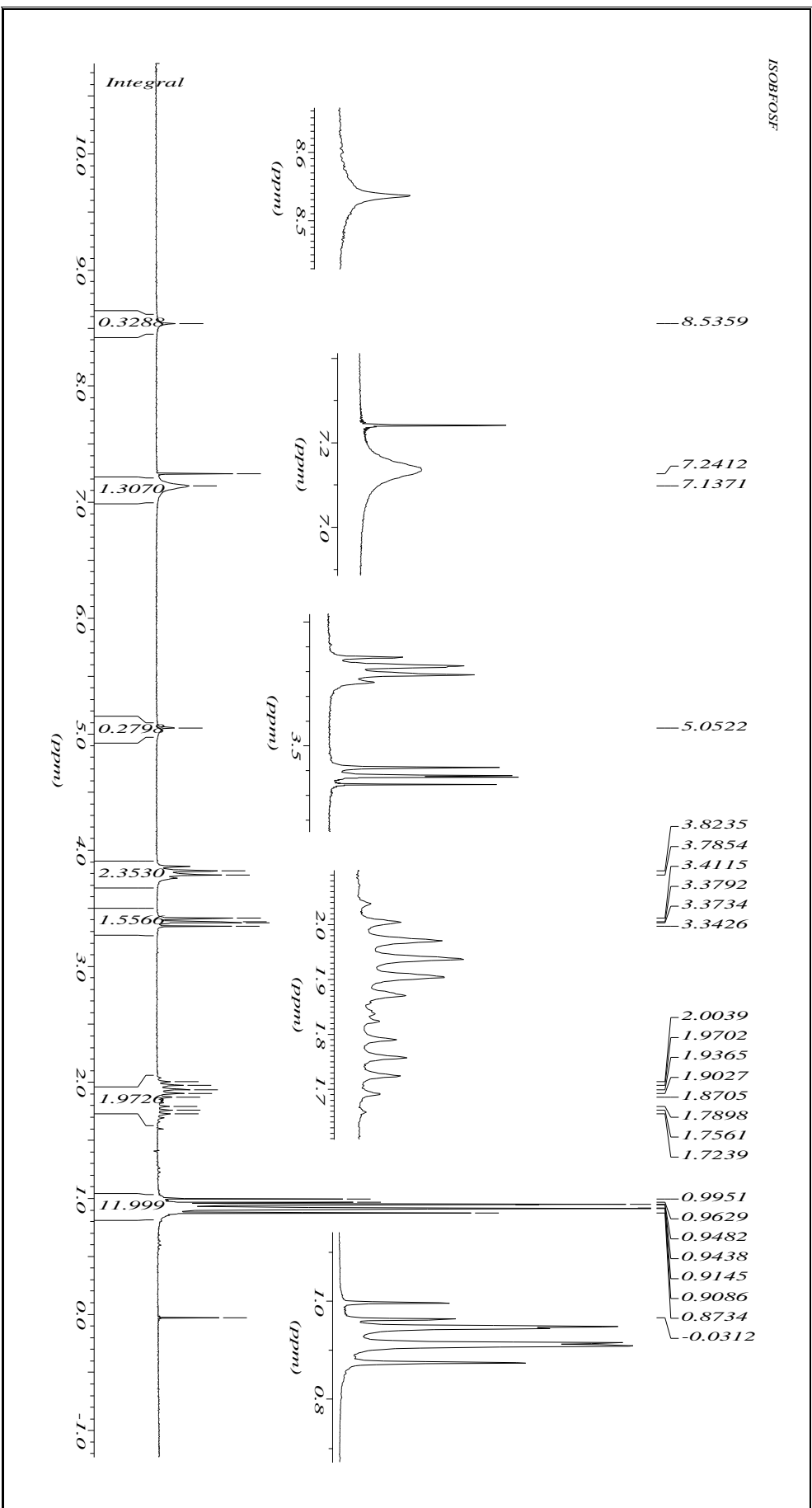


Figura 51: Espectro de RMN- ^1H de fosfonato de diisobutila (37).

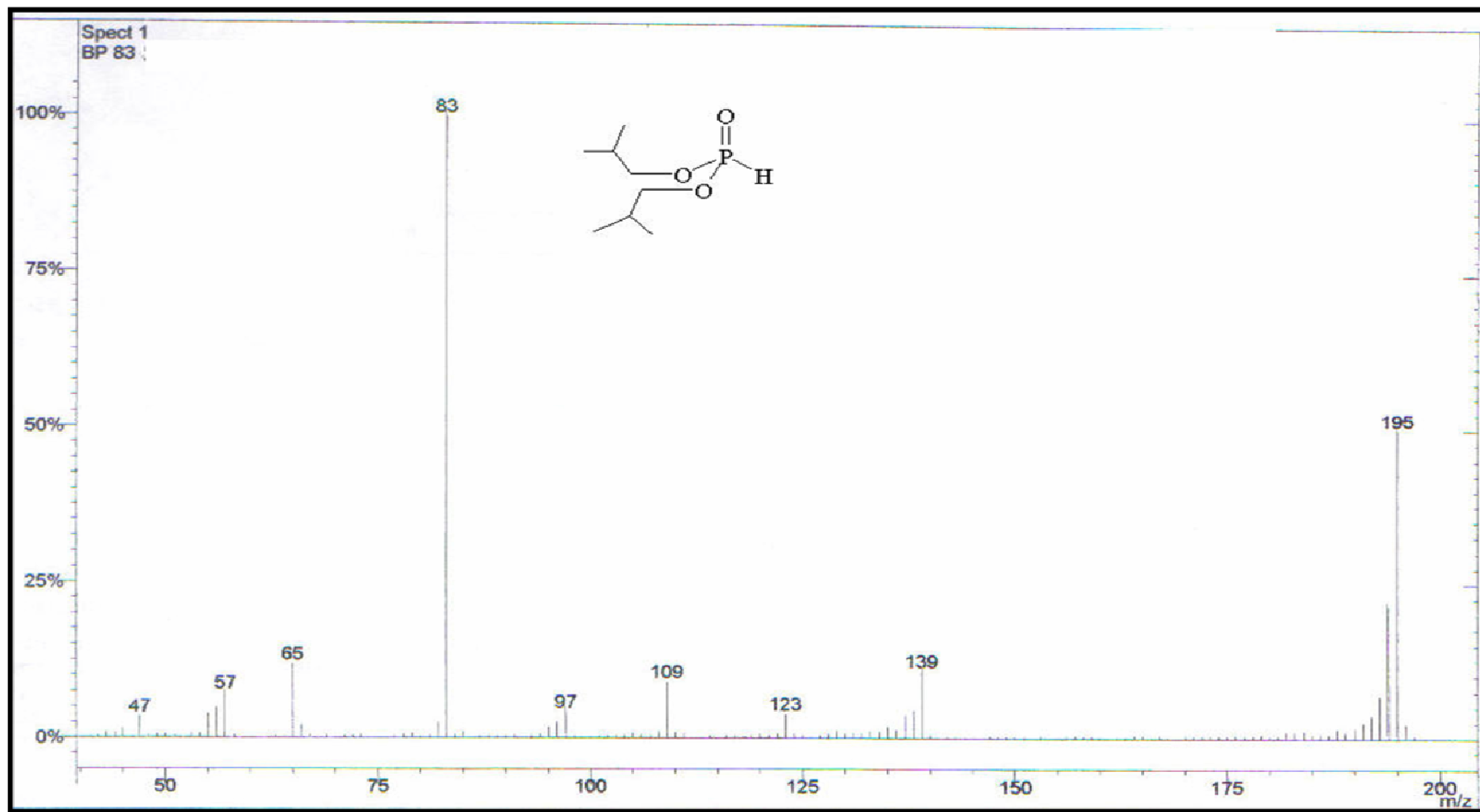


Figura 52: Espectro de massas do fosfonato de diisobutila (37).

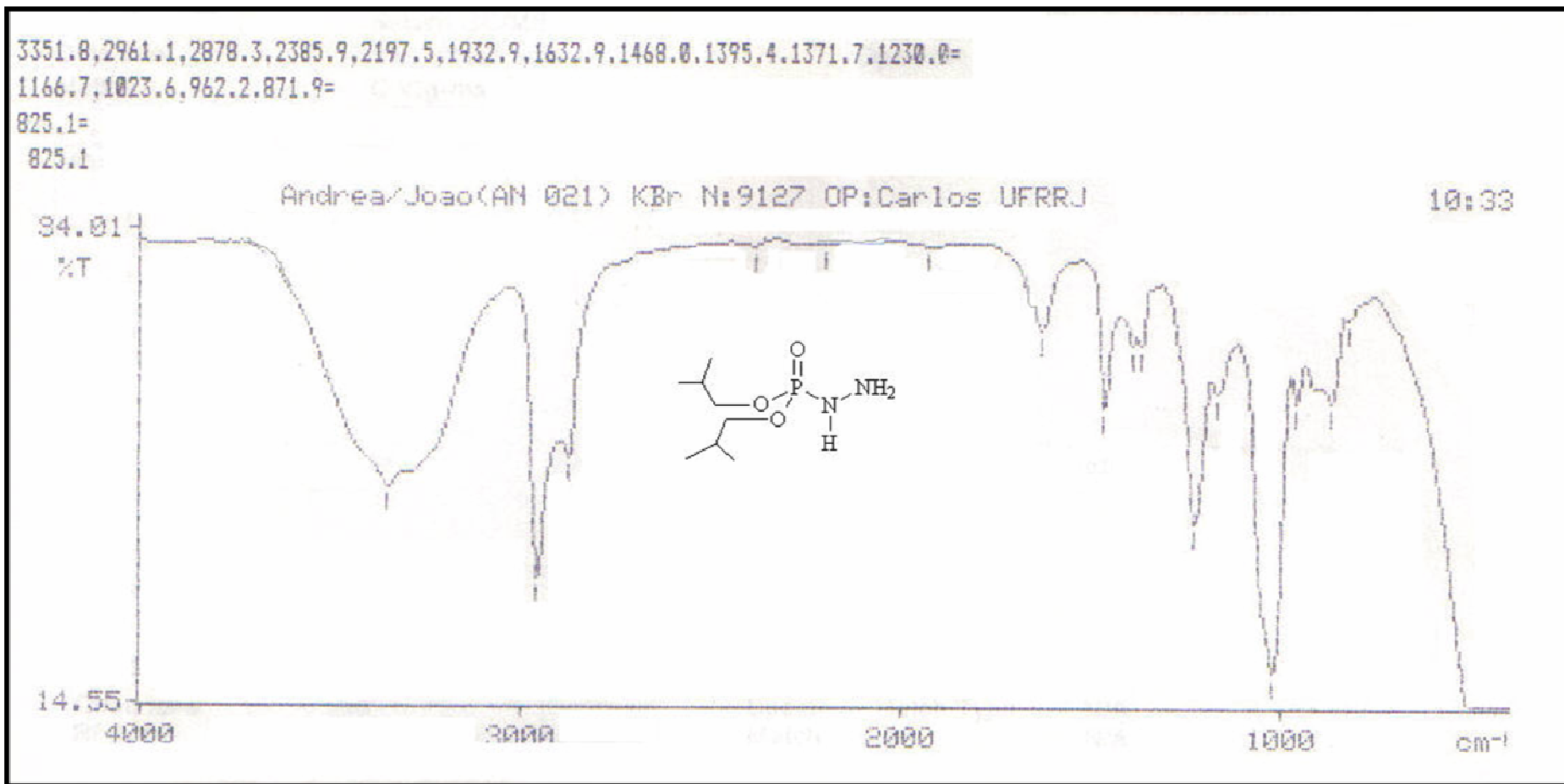


Figura 53: Espectro de Infravermelho da diisobutilfosforilidrazina (40).

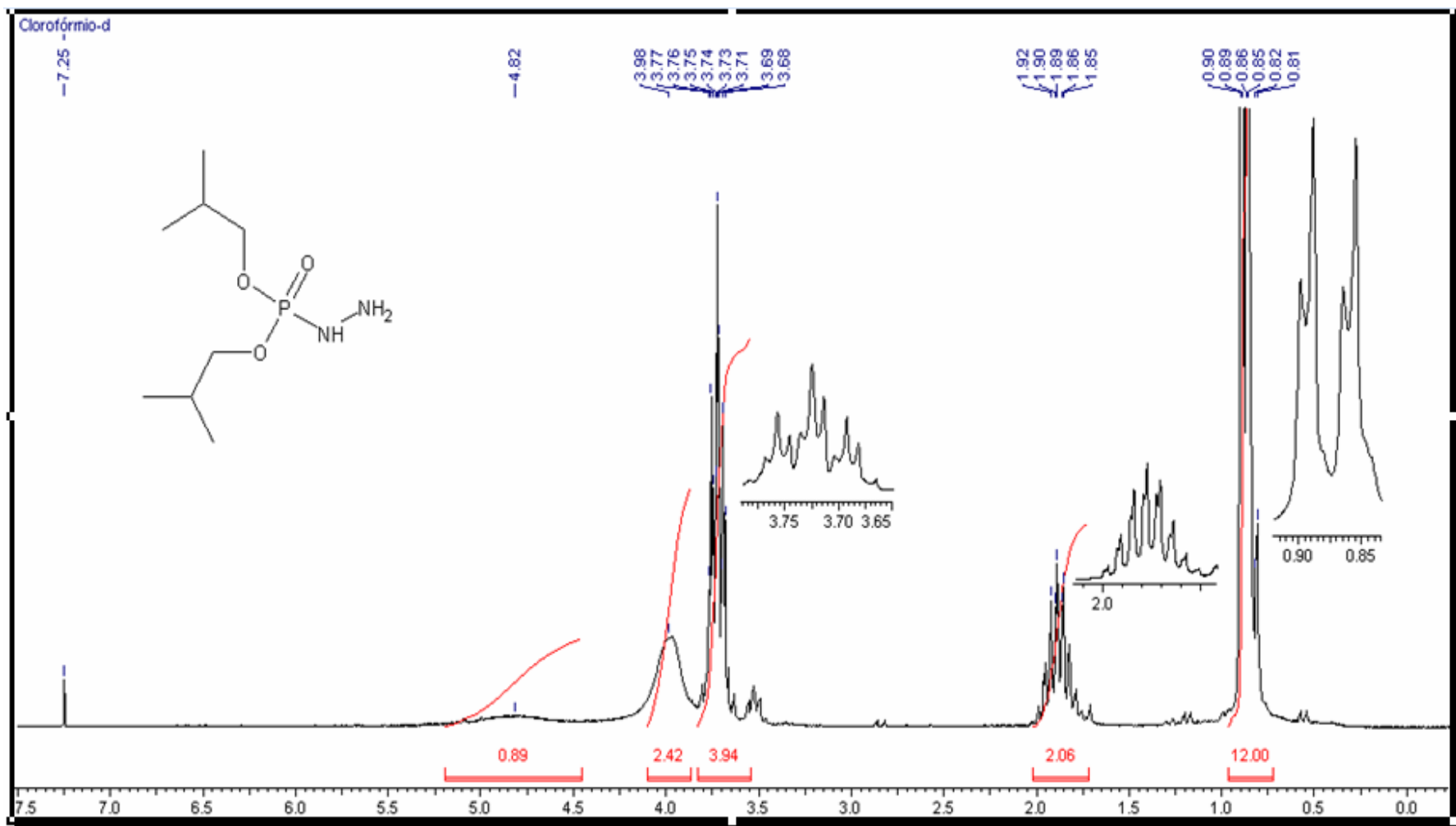


Figura 54: Espectro de RMN-¹H da diisobutilfosforilidrazina (40).

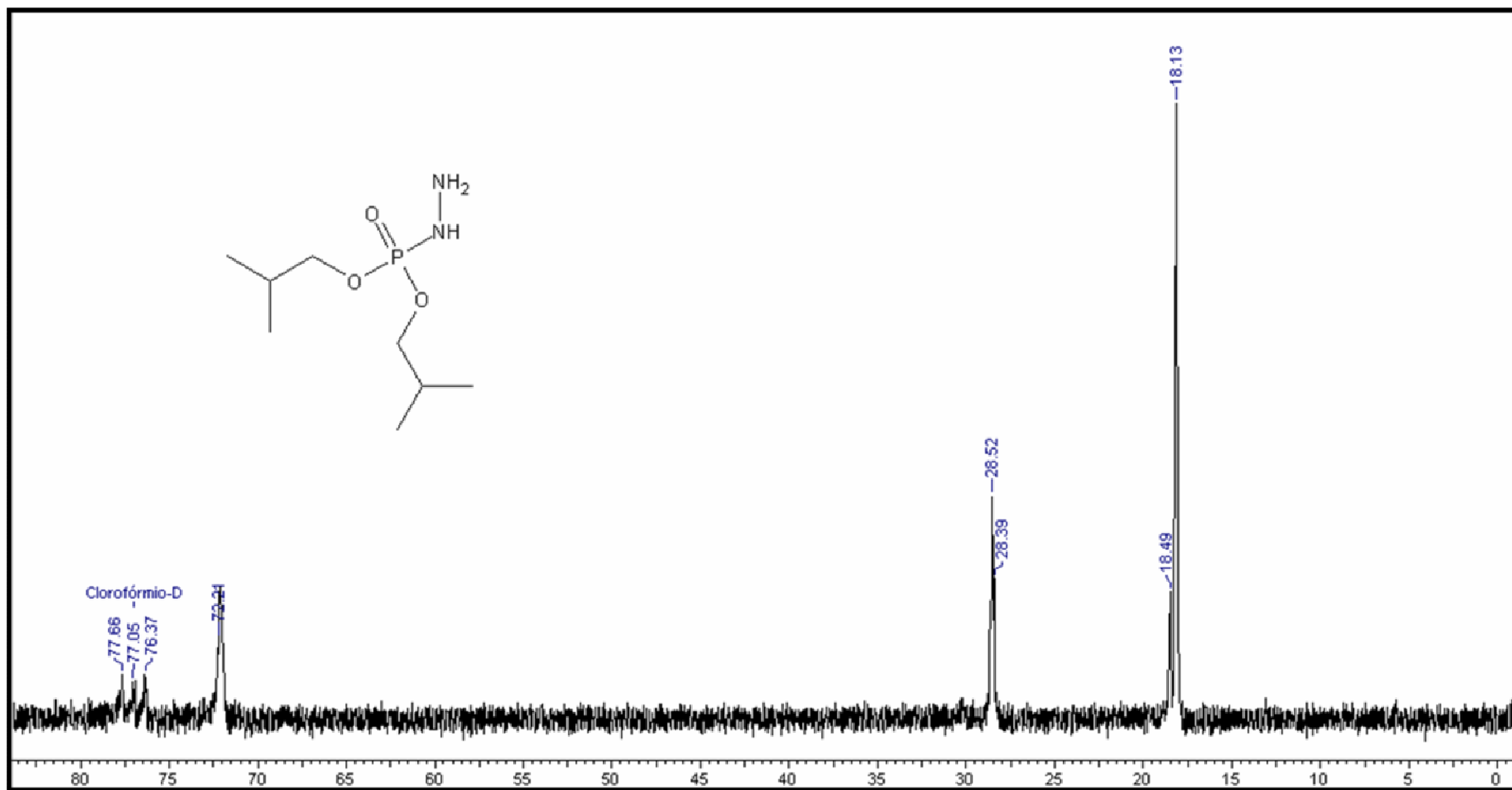


Figura 55: Espectro de RMN- ^{13}C da diisobutilfosforilidrazina (40).

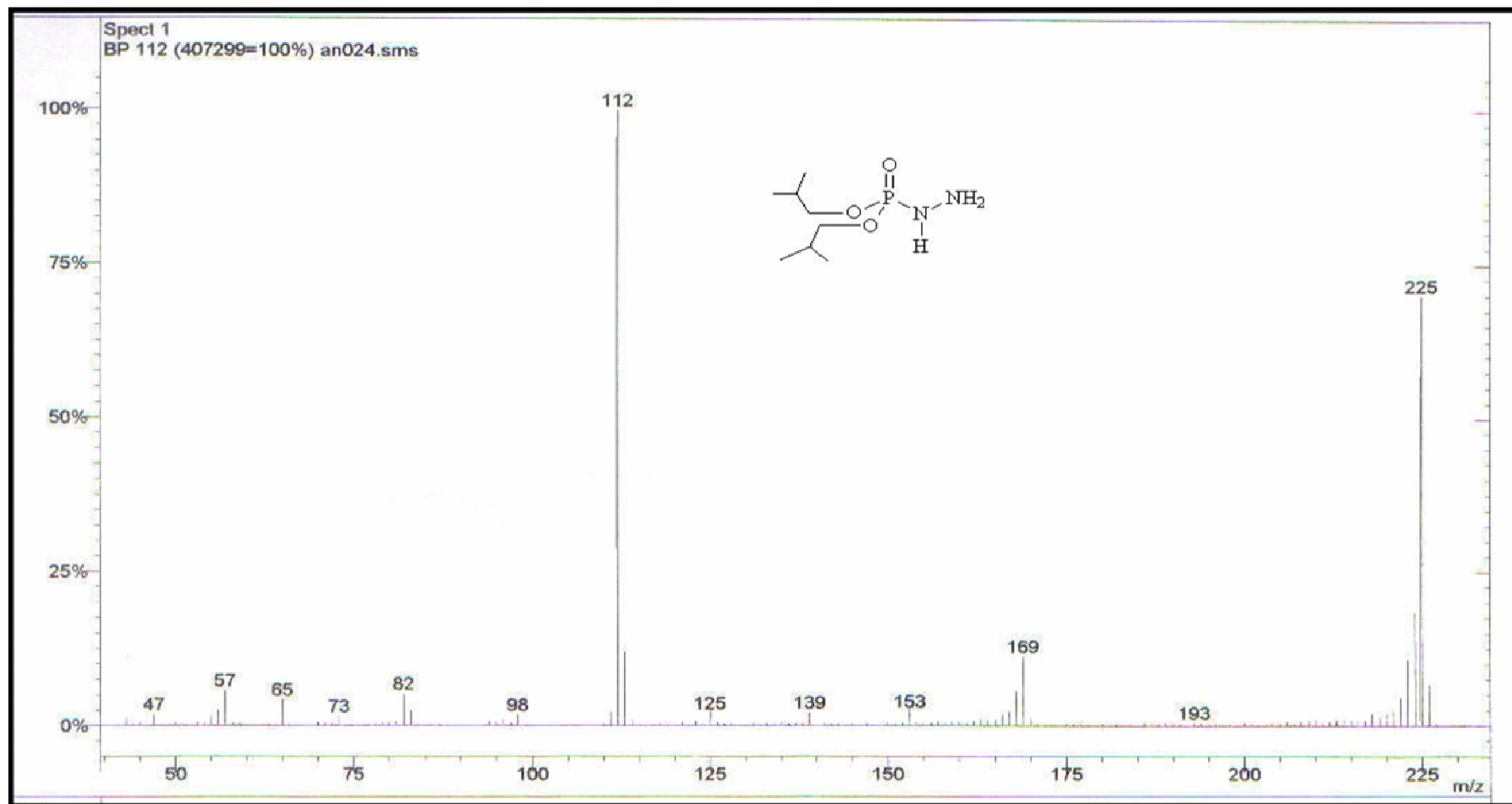


Figura 56: Espectro de massas da diisobutilfosforilidrazina (40).

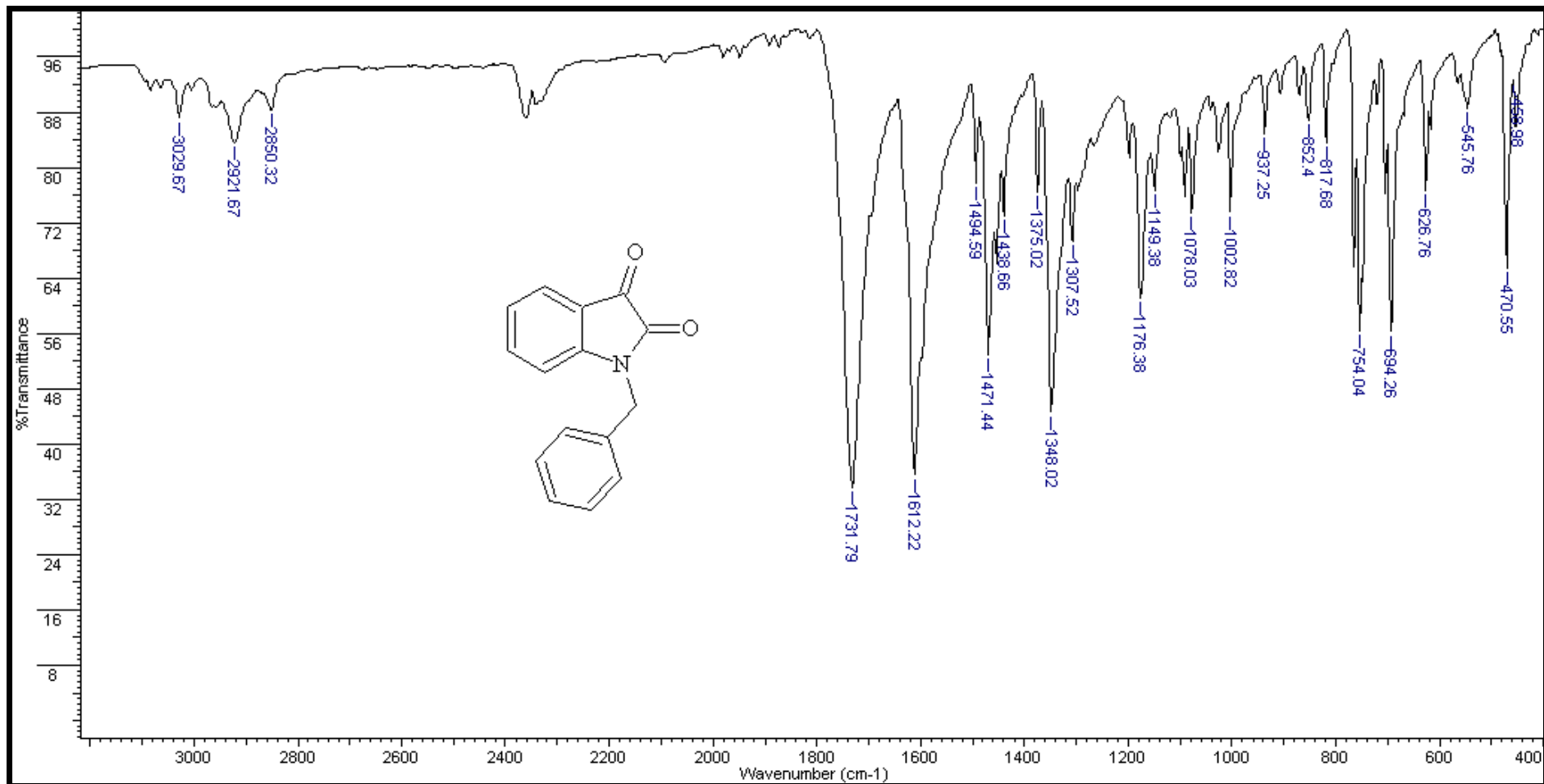


Figura 57: Espectro de infravermelho de 1-benzilisatina (41).

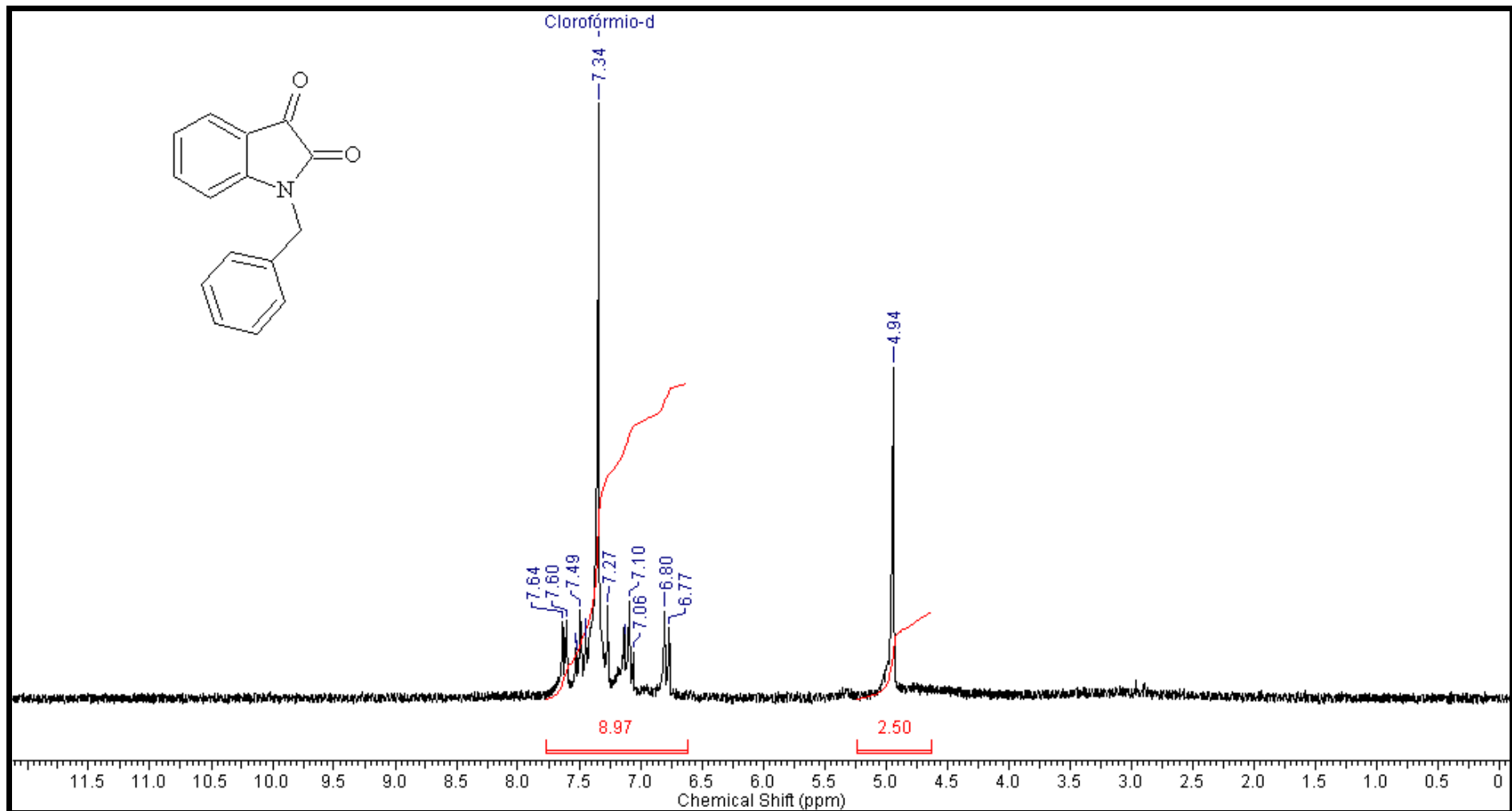


Figura 58: Espectro de RMN-¹H de 1-benzilisatina (41).

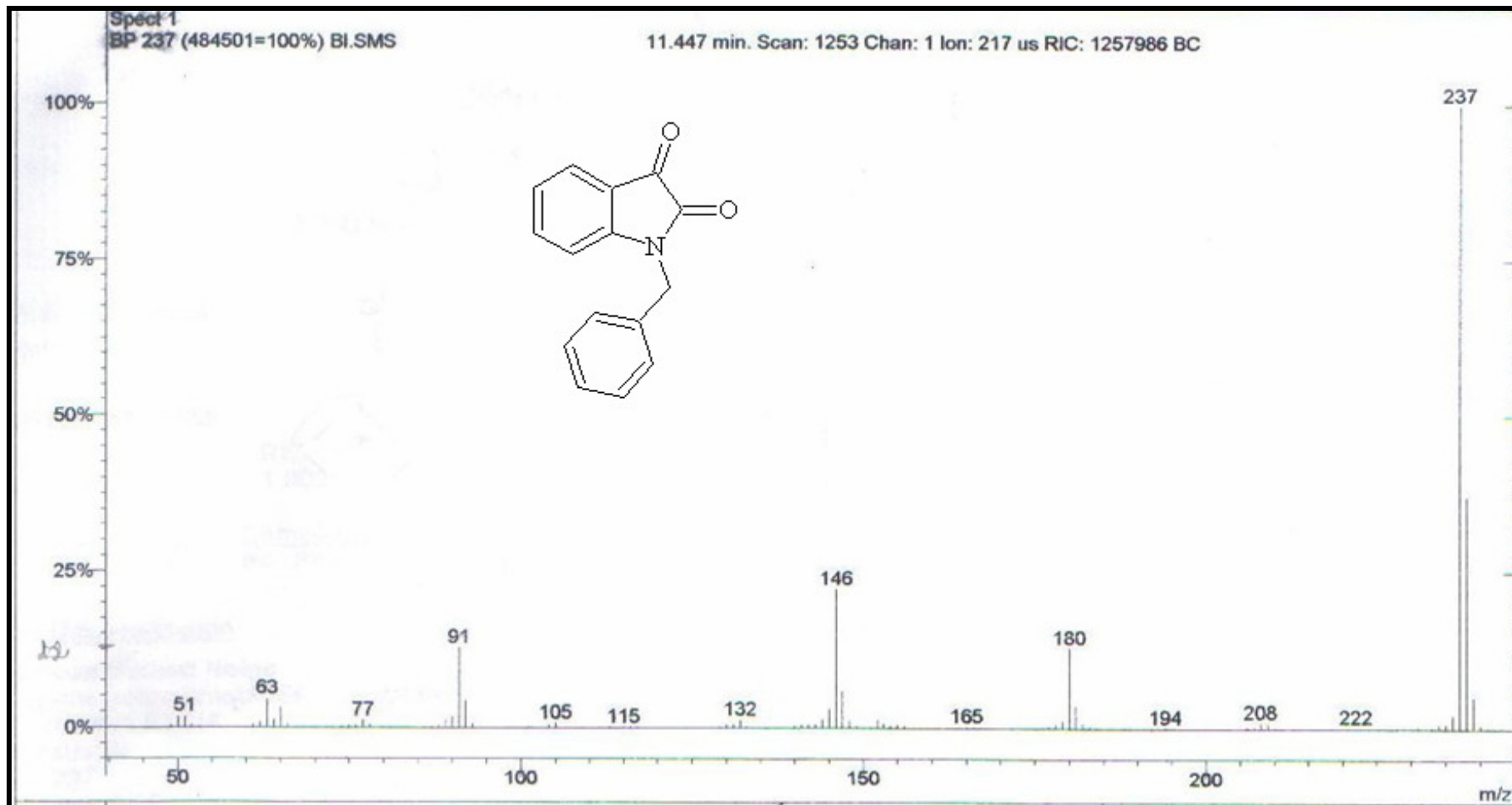


Figura 59: Espectro de massas de 1-benzilisatina (41).

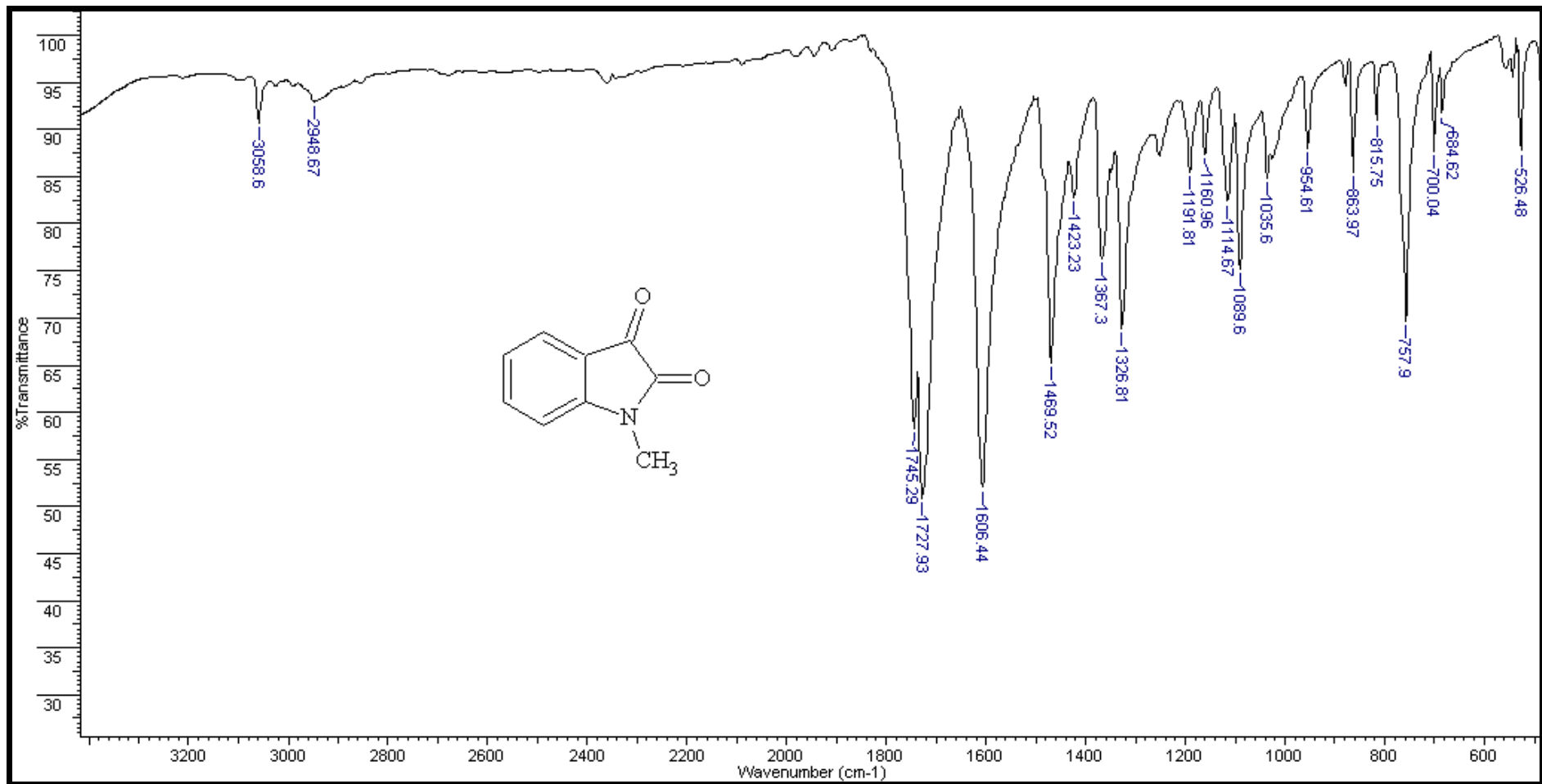


Figura 60: Espectro de infravermelho de 1-metilisatina (42).

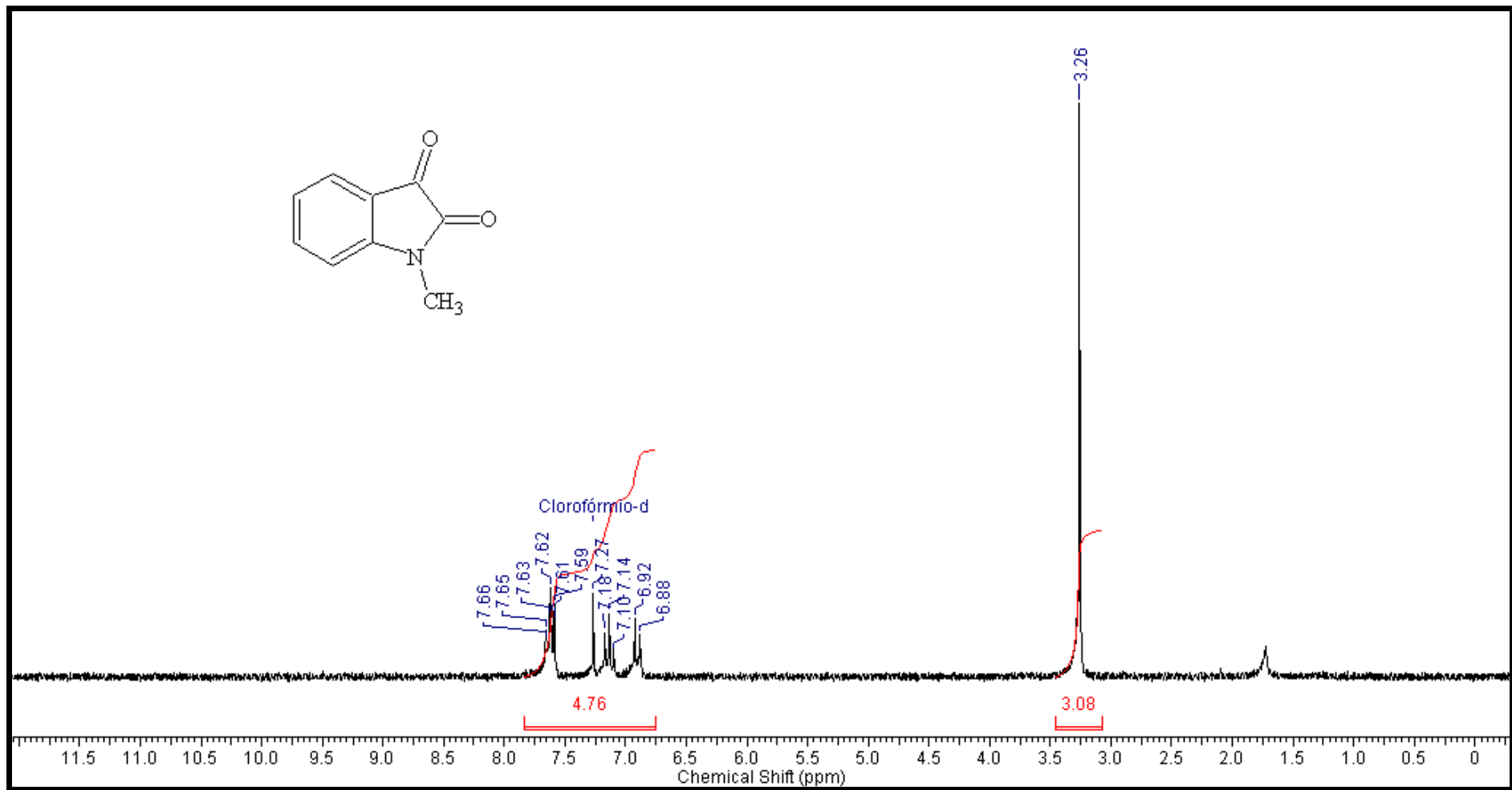


Figura 61: Espectro de RMN- ^1H de 1-metilisatina (42).

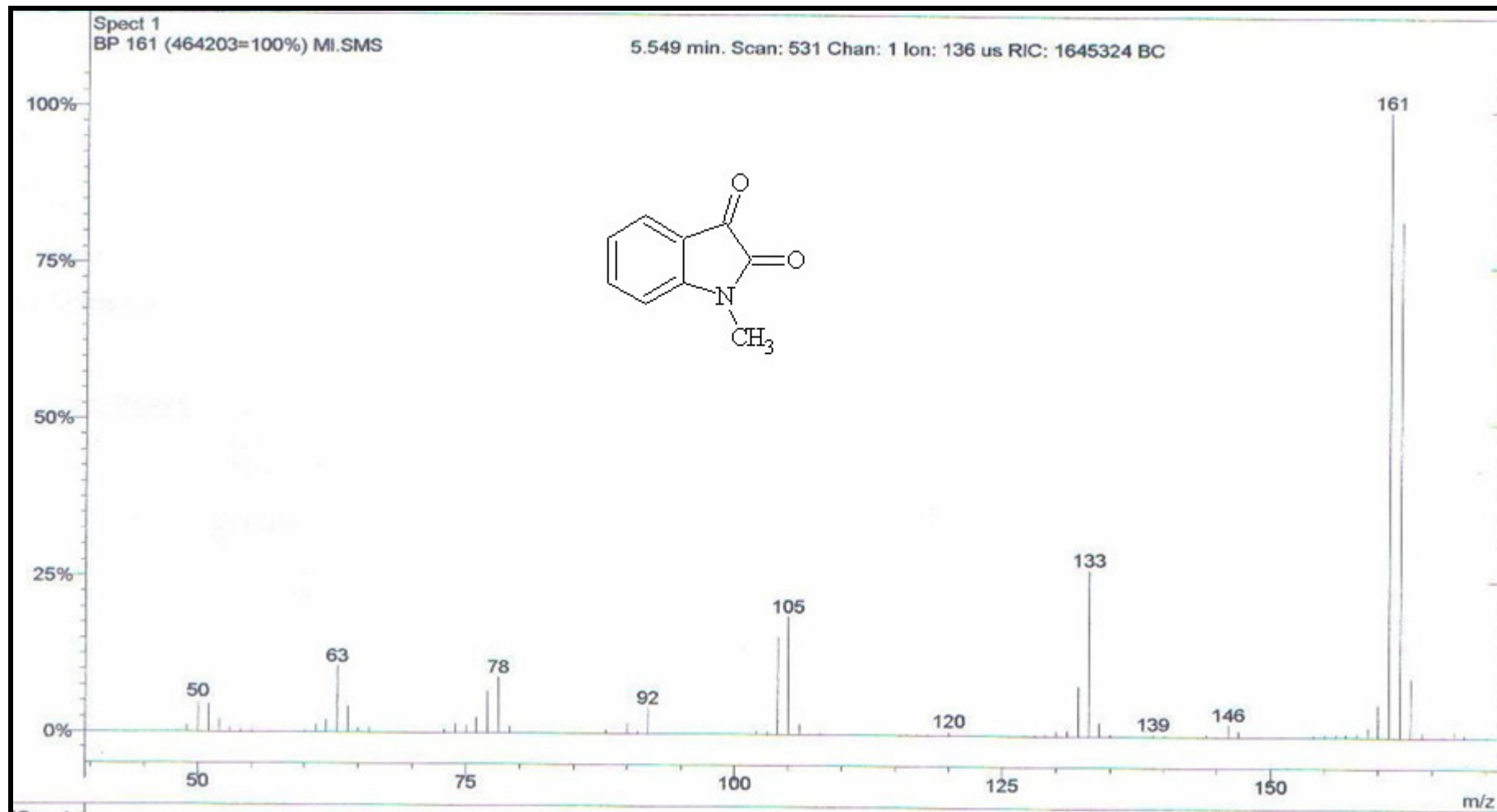


Figura 62: Espectro de massas de 1-metilisatina (42).

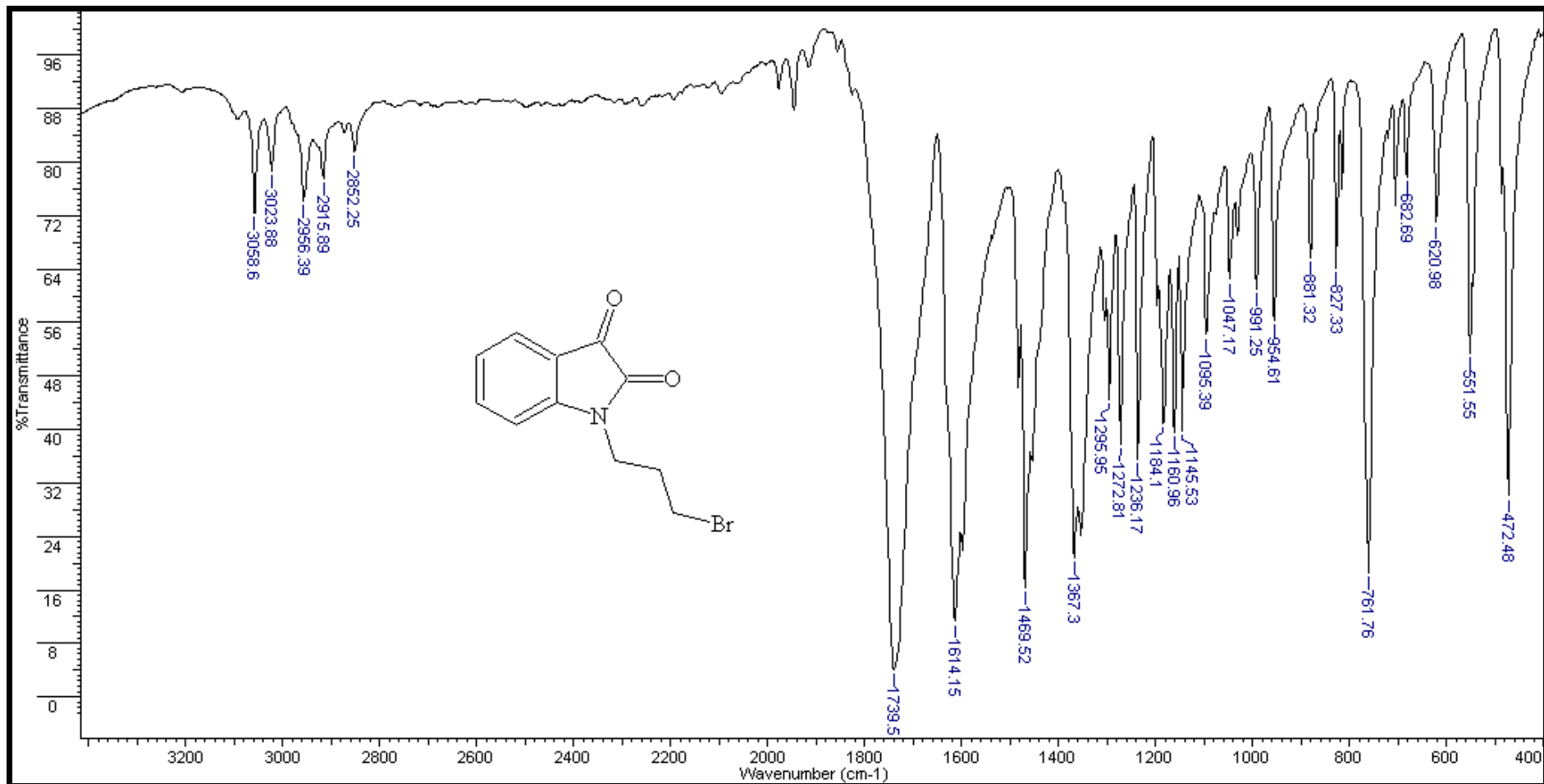


Figura 63: Espectro de infravermelho de 1-(3-bromopropil) isatina (43).

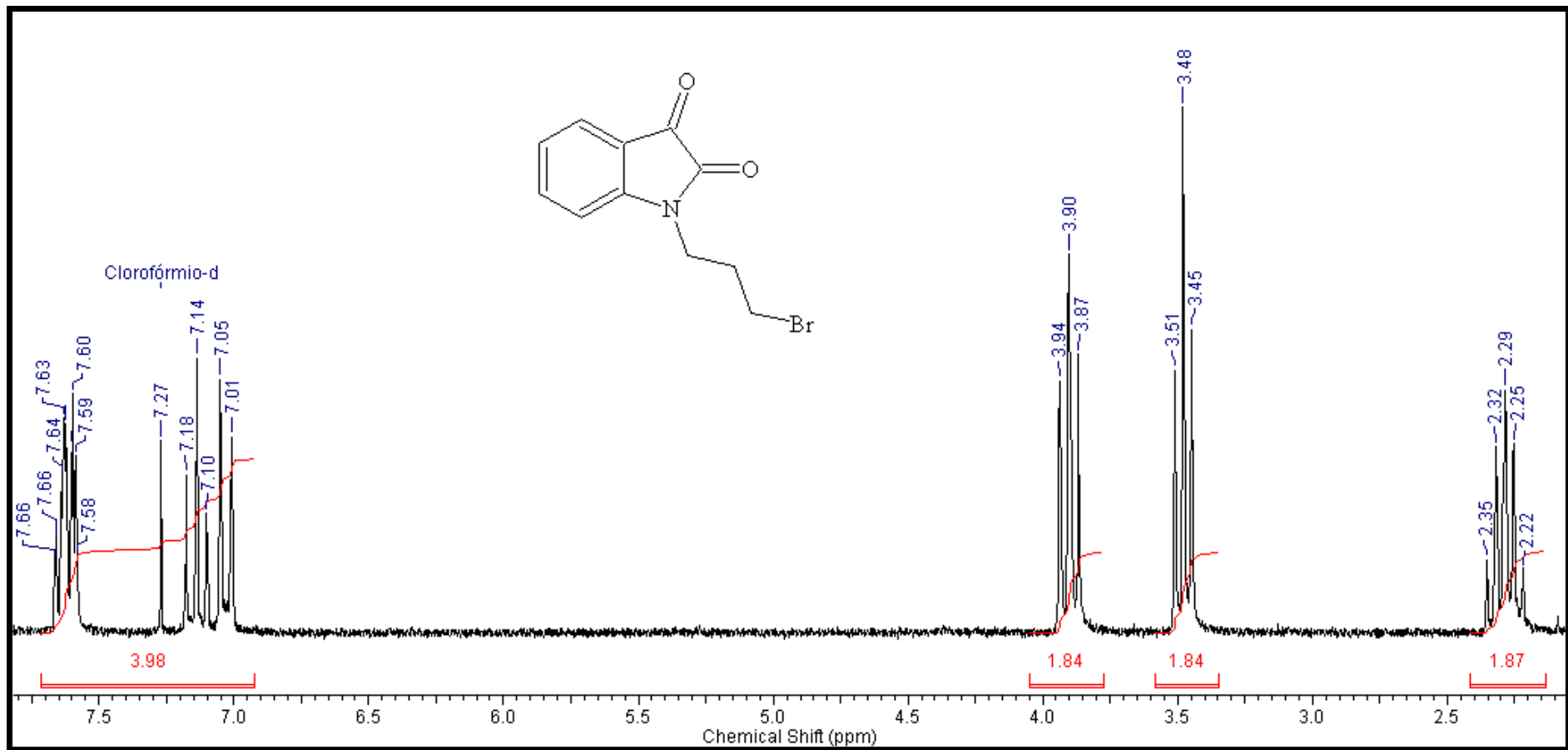


Figura 64: Espectro de RMN-¹H de 1-(3-bromopropil) isatina (43).

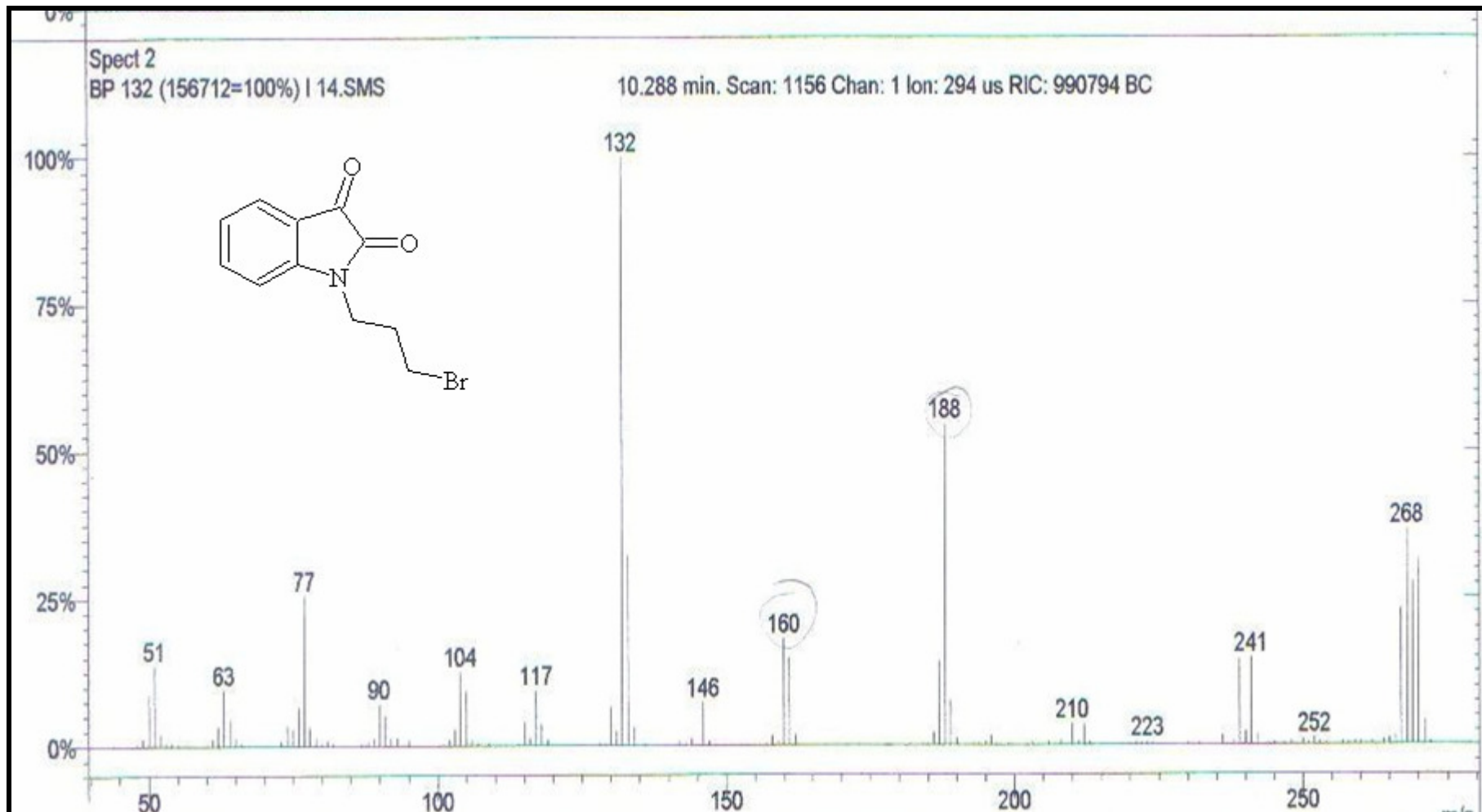


Figura 65: Espectro de massas de 1-(3-bromopropil) isatina (43).

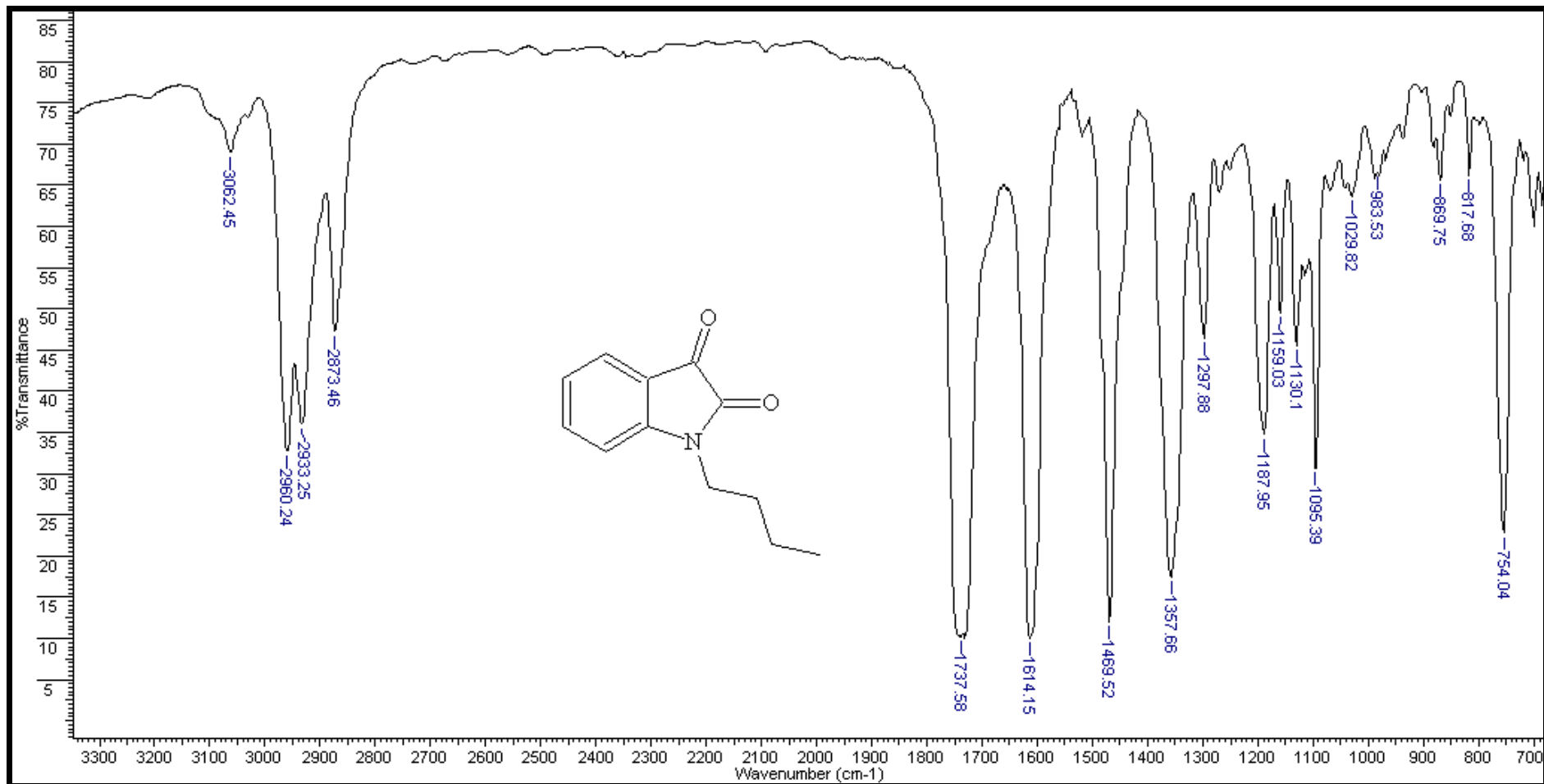


Figura 66: Espectro de infravermelho de 1-butilisatina (44).

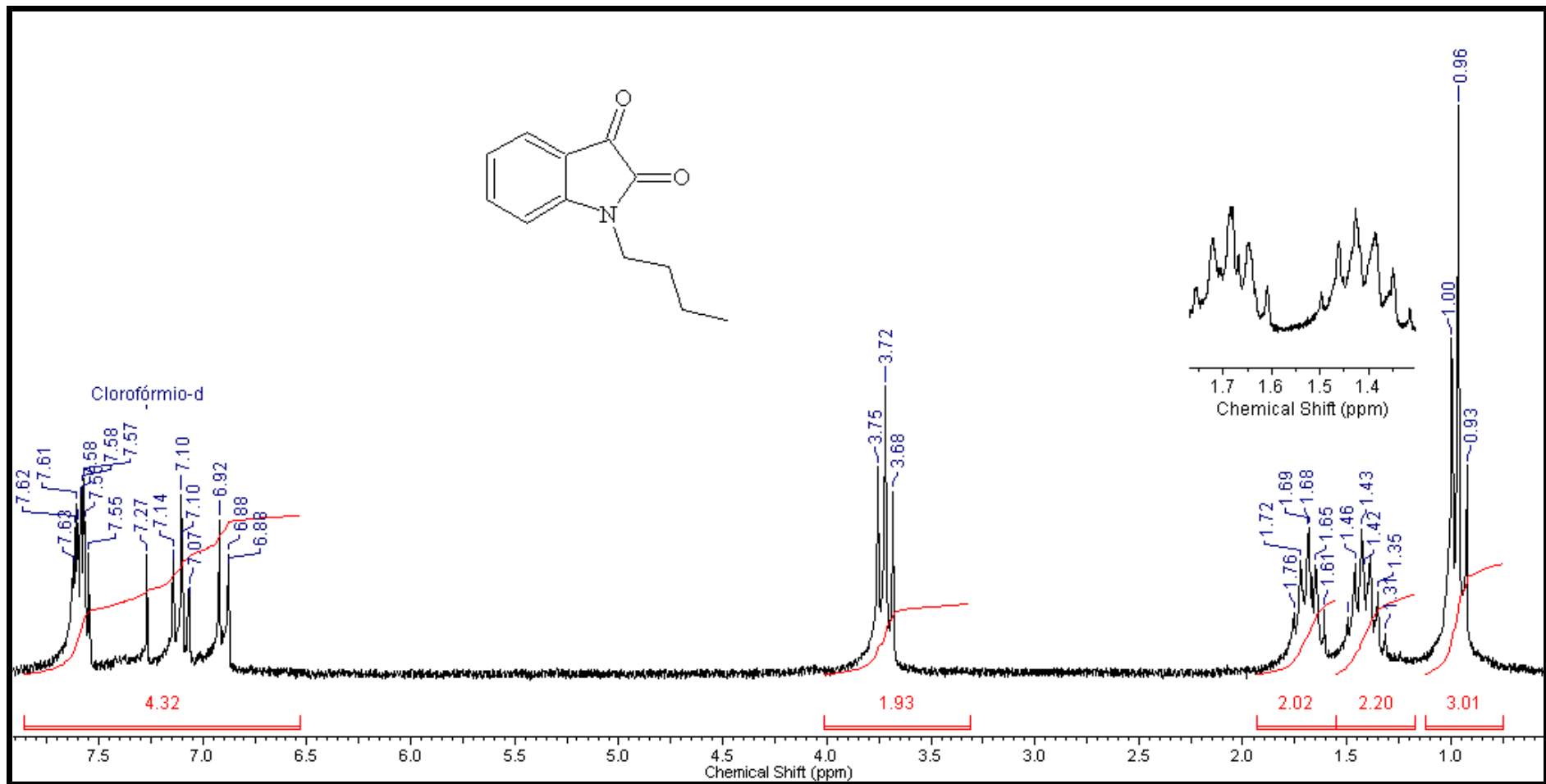


Figura 67: Espectro de RMN-¹H de 1-butilisatina (44).

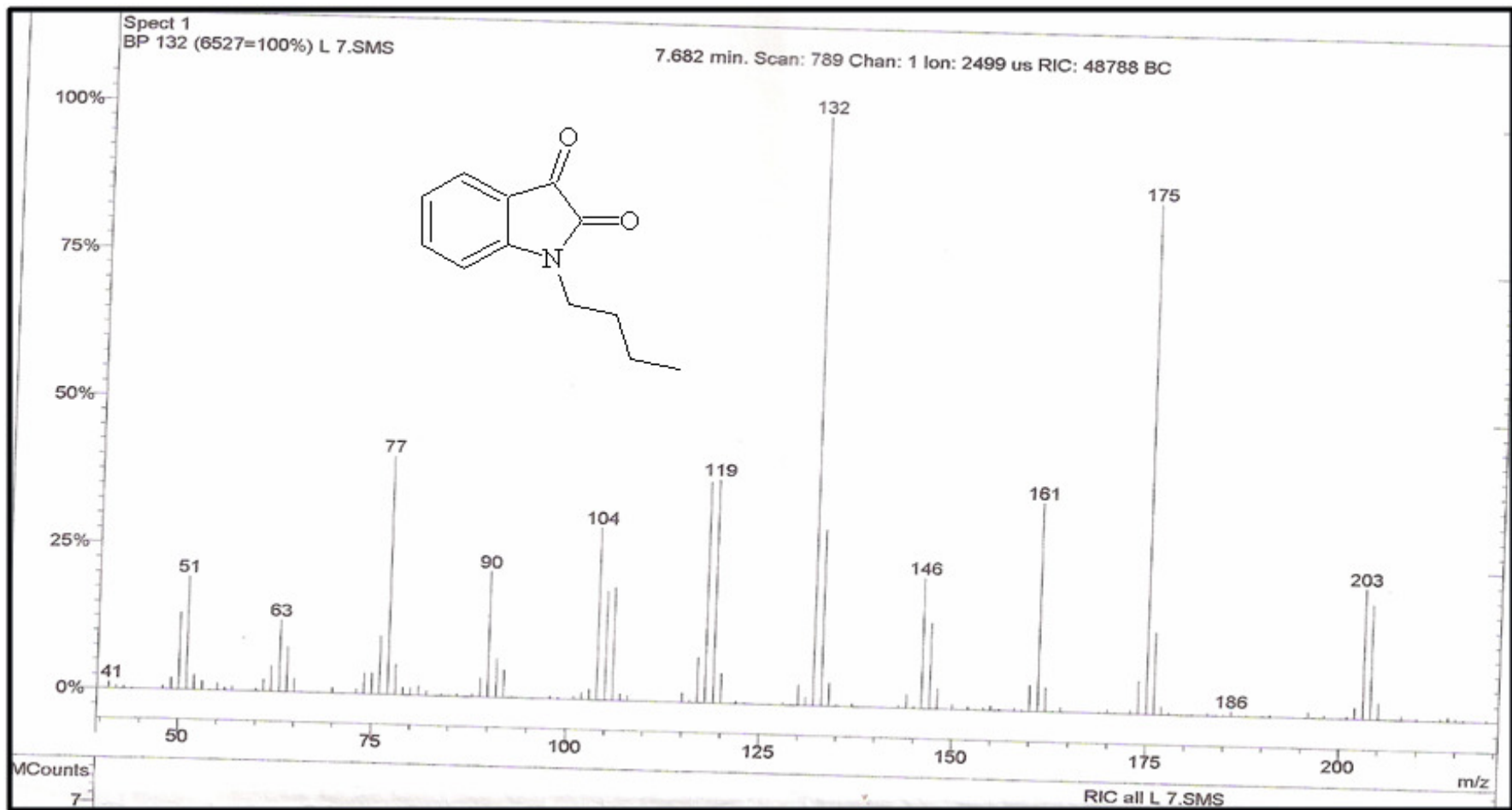


Figura 68: Espectro de massas de 1-butilisatina (44).

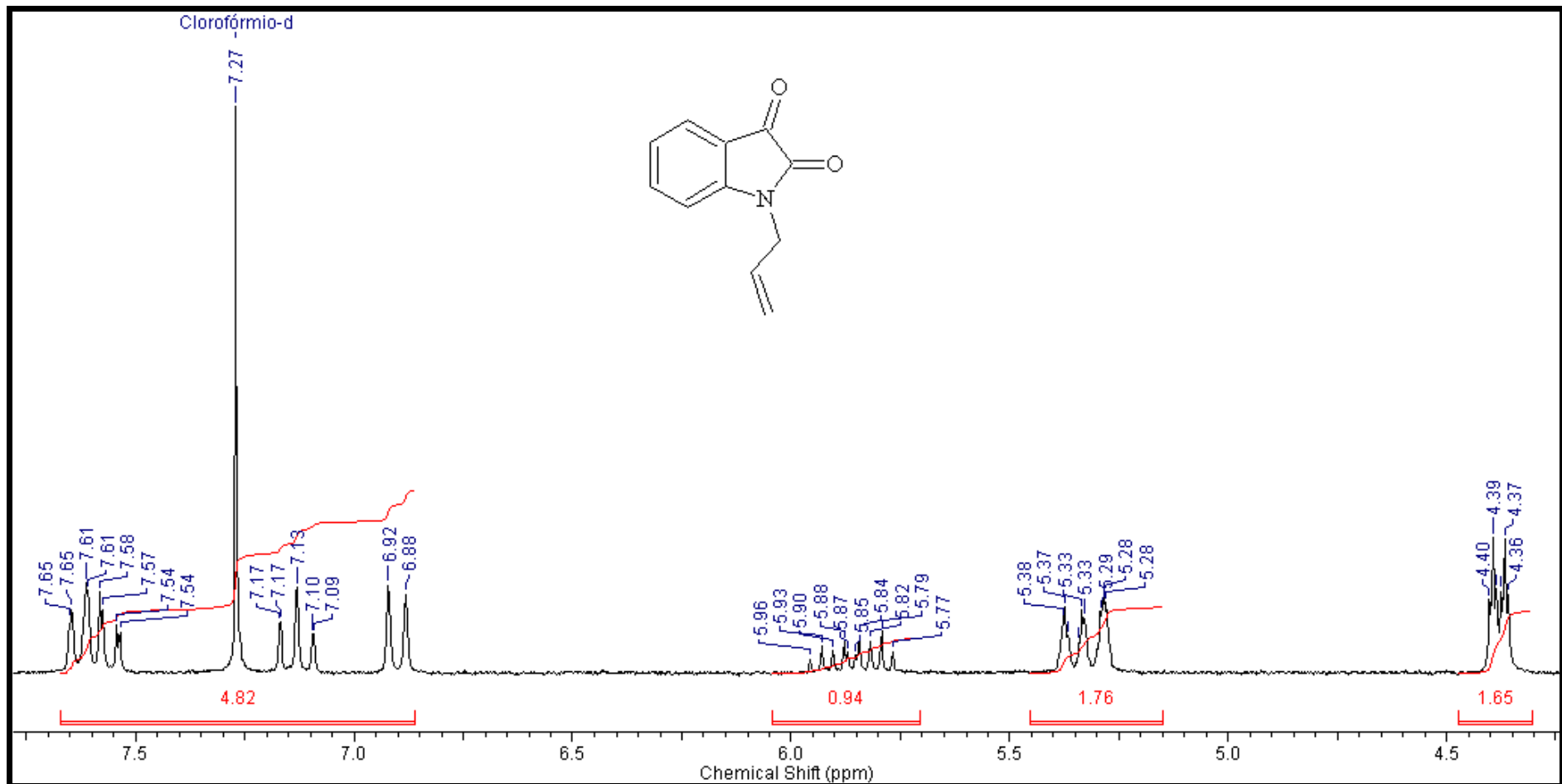


Figura 69: Espectro de RMN-¹H de 1-alilisatina (45).

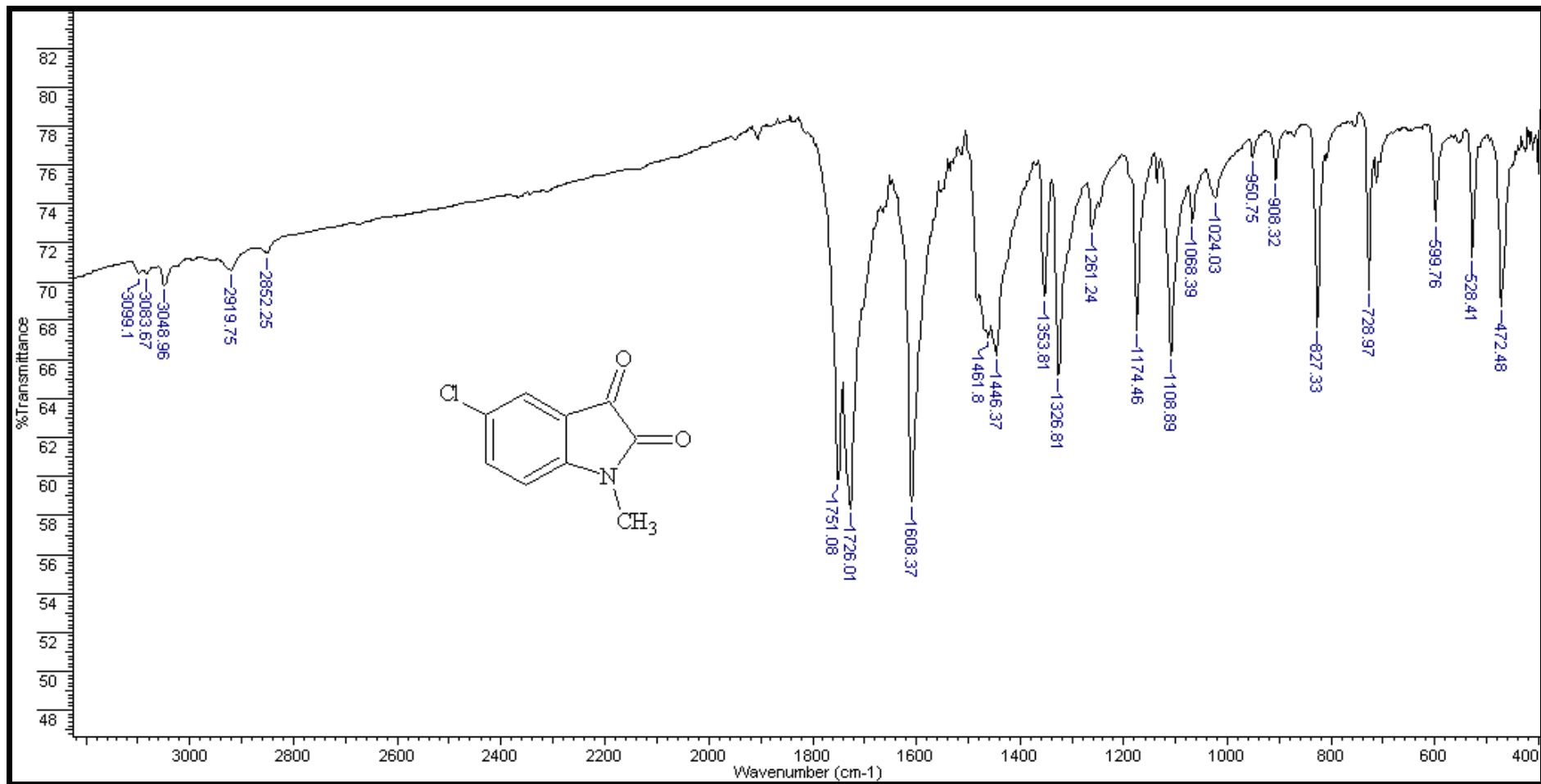


Figura 70: Espectro de infravermelho de 5-cloro-1-metilisatina (46).

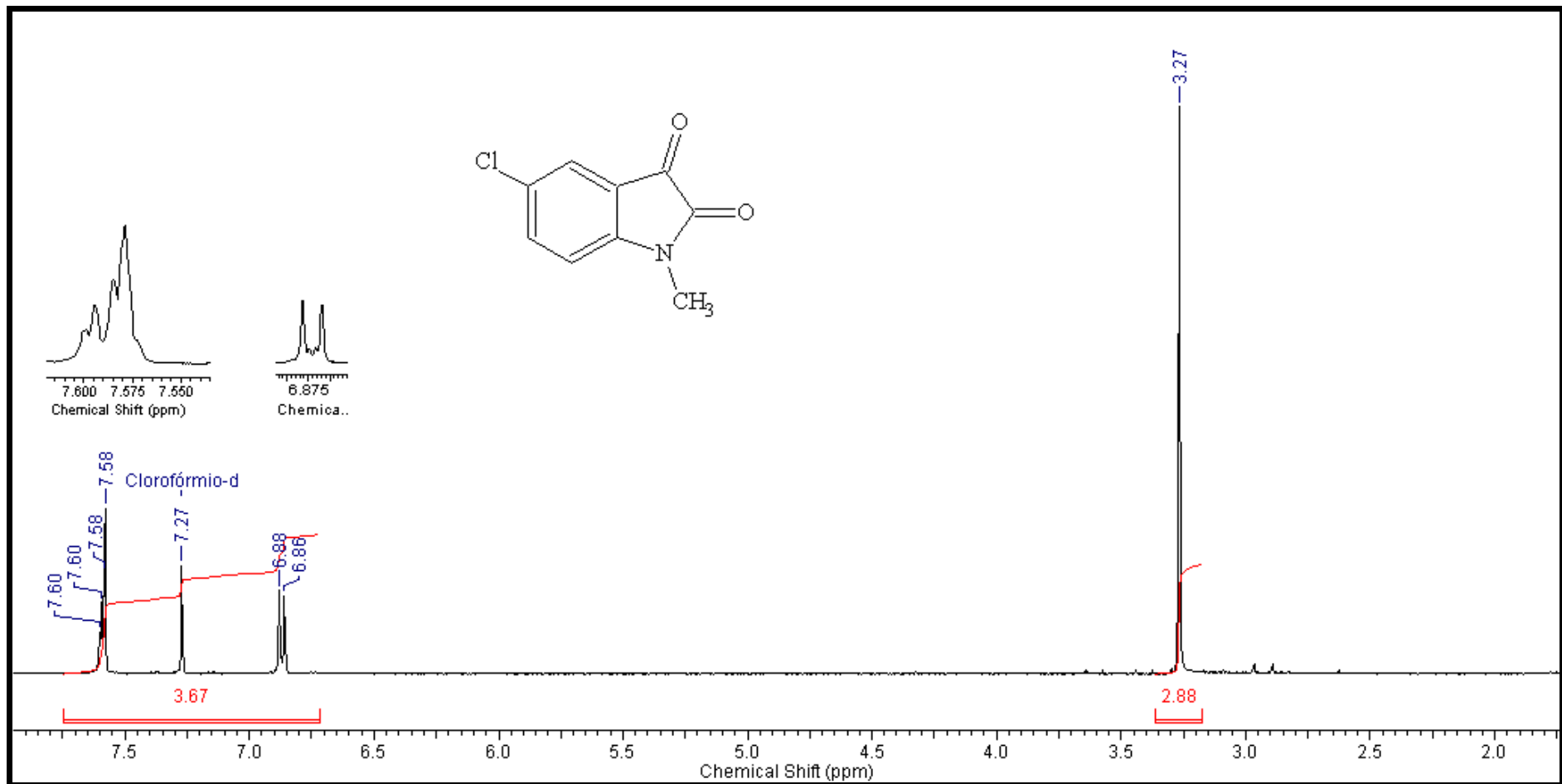


Figura 71: Espectro de RMN- ^1H de 5-cloro-1-metilisatina (46).

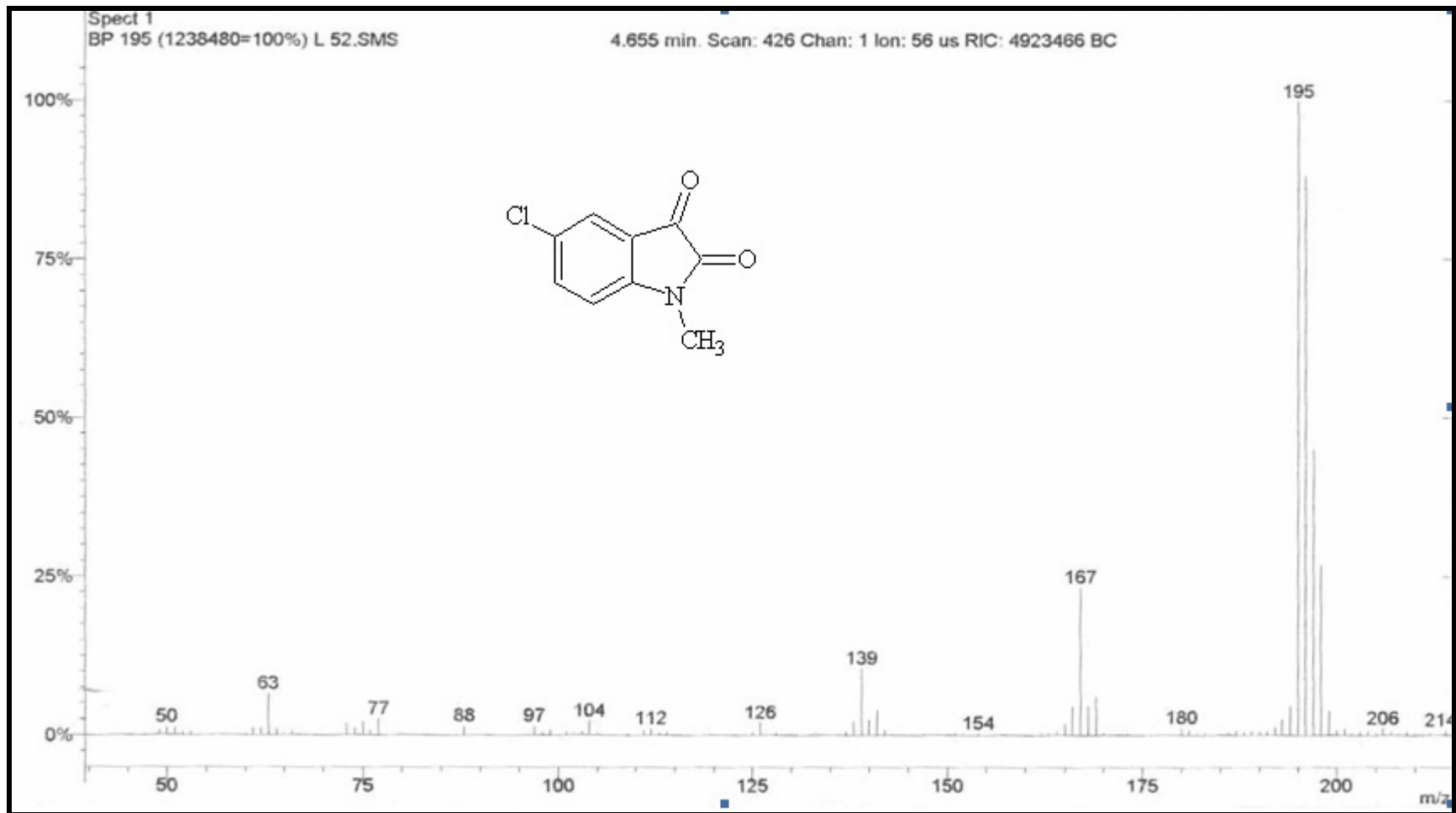


Figura 72: Espectro de massas de 5-cloro-1-metilisatina (46).

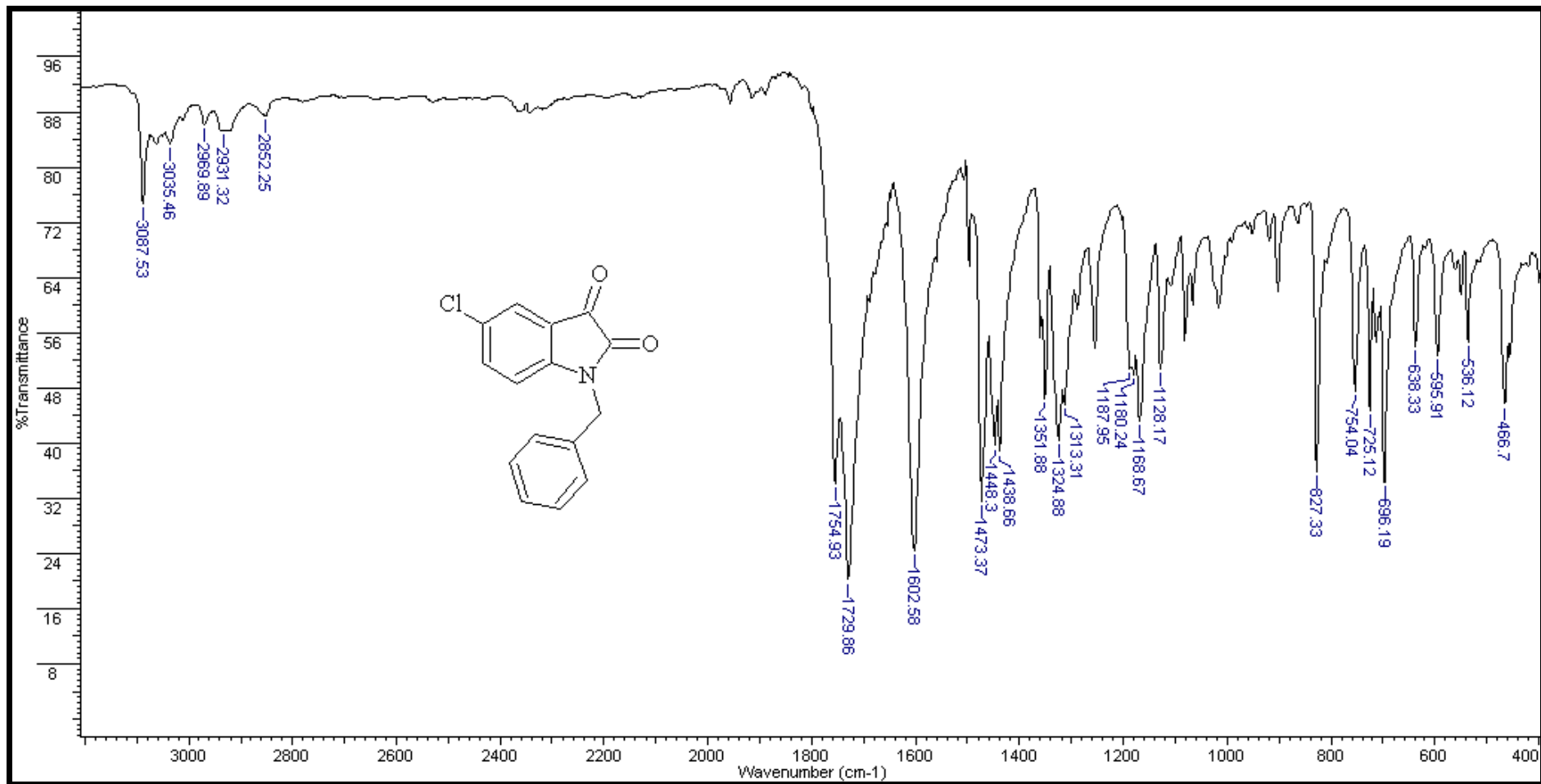


Figura 73: Espectro de infravermelho de 5-cloro-1-benzilisatina (47).

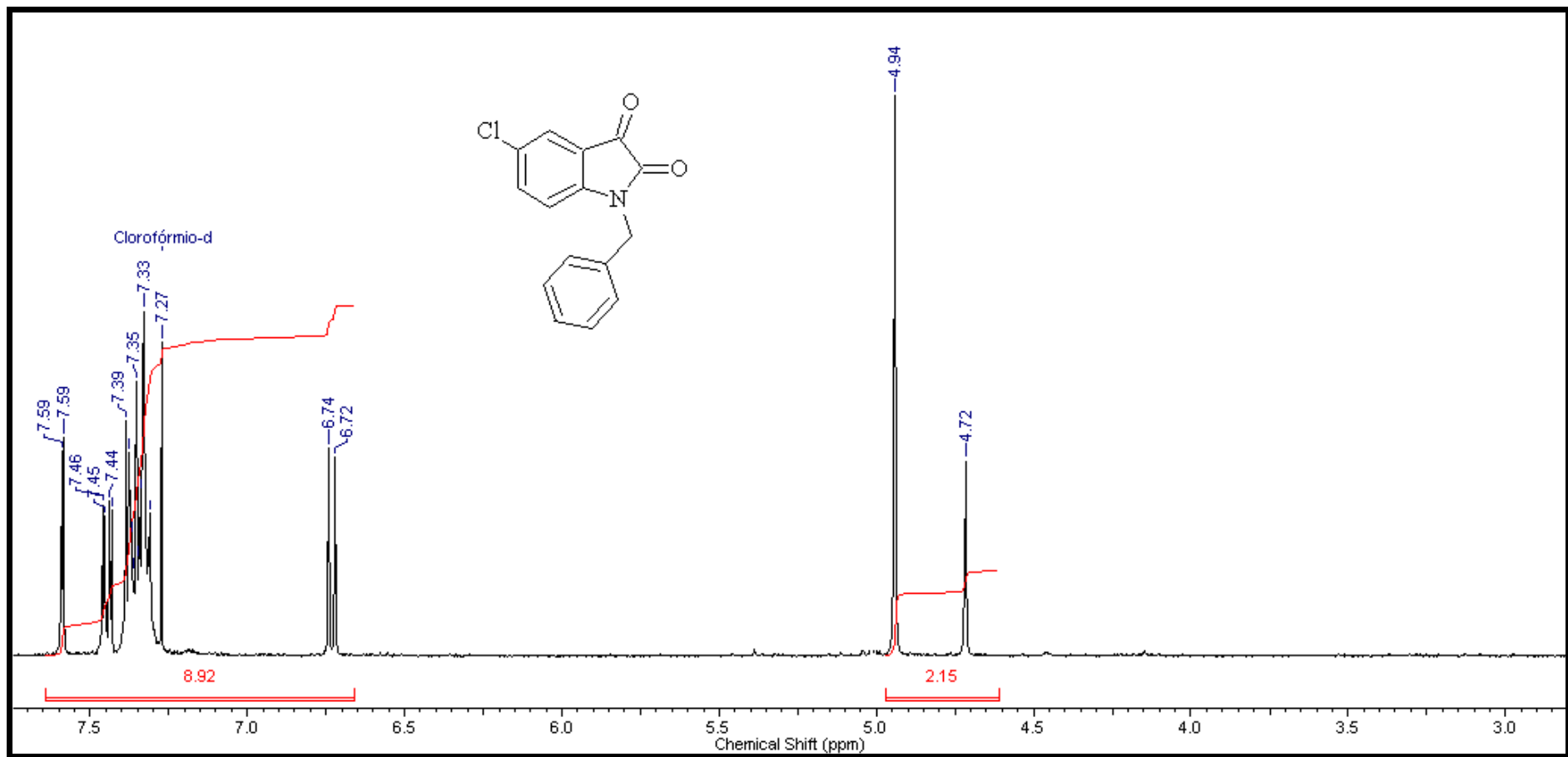


Figura 74: Espectro de RMN-¹H de 5-cloro-1-benzilisatina (47).

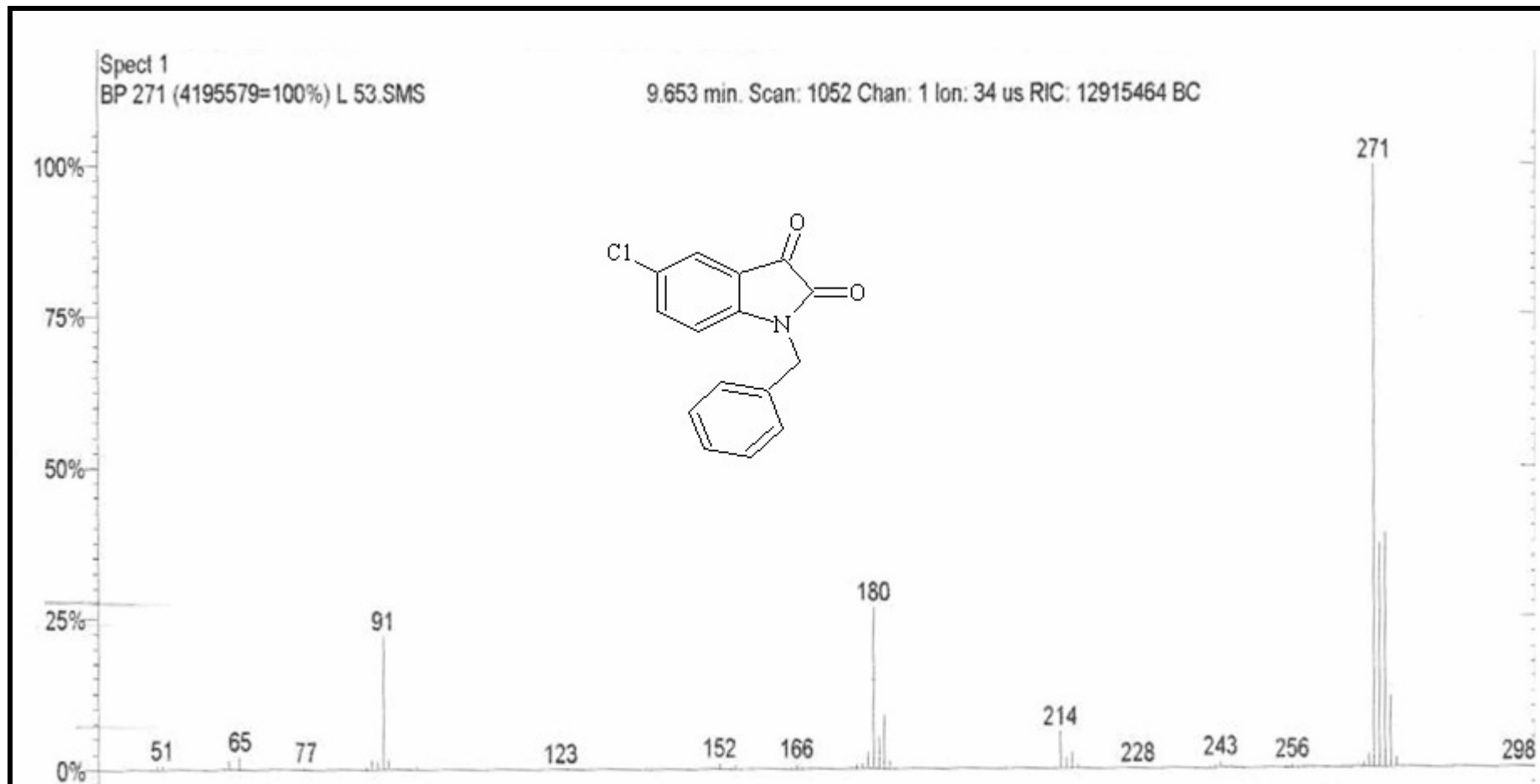


Figura 75: Espectro de massas de 5-cloro-1-benzilistatina (47).

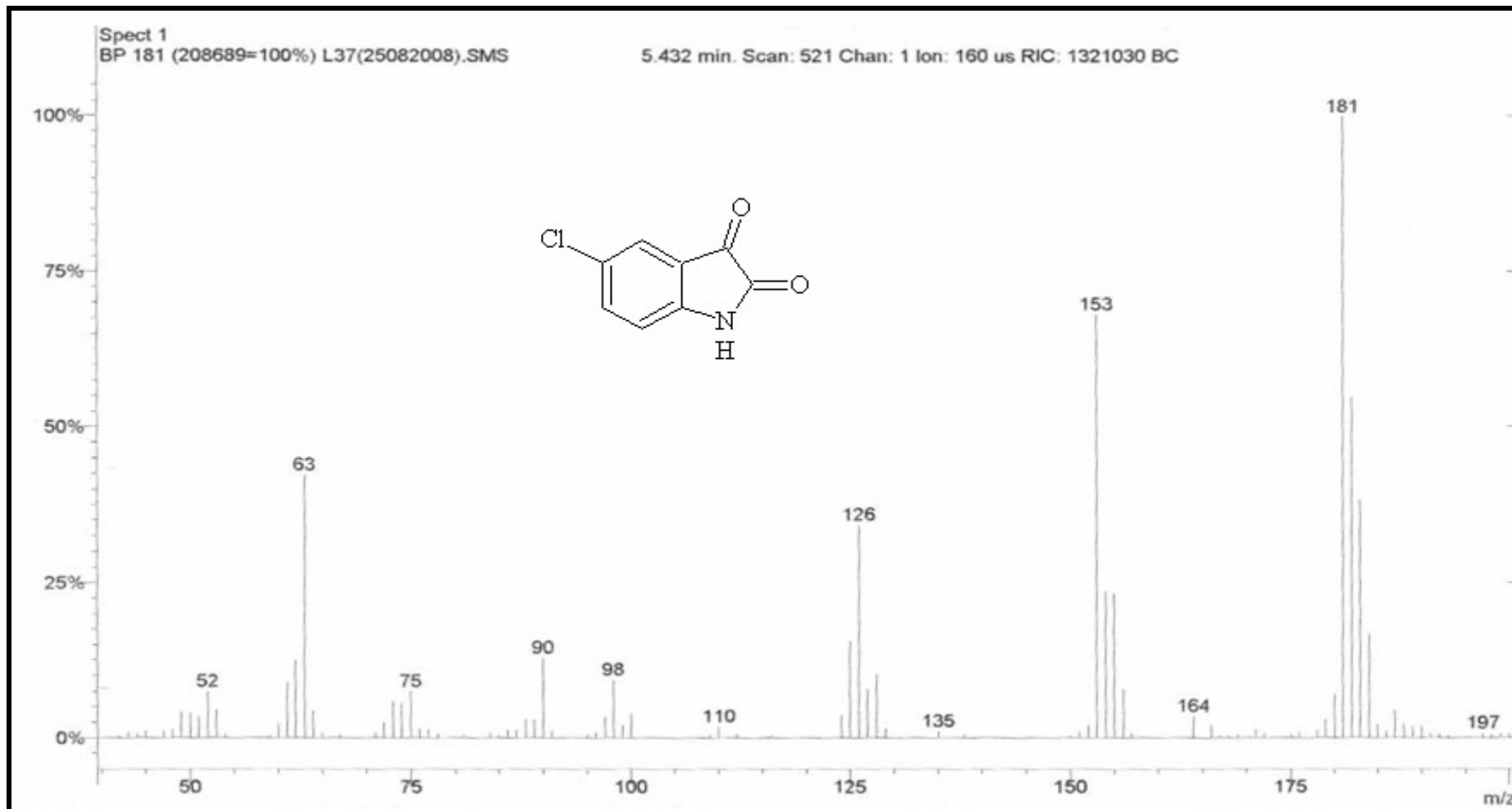


Figura 76: Espectro de massas de 5-cloroisatina (48).

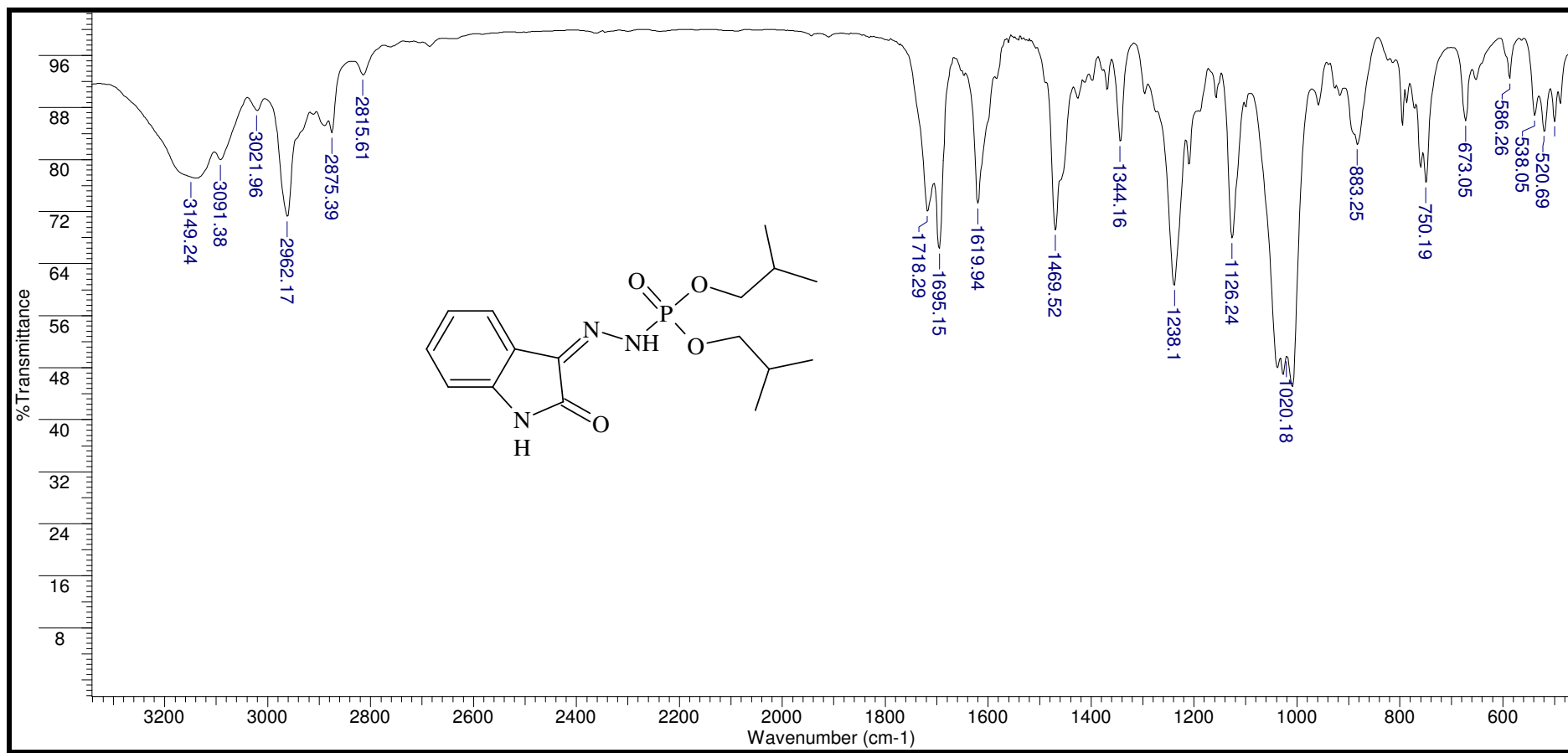


Figura 77: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]- éster de diisobutila (1).

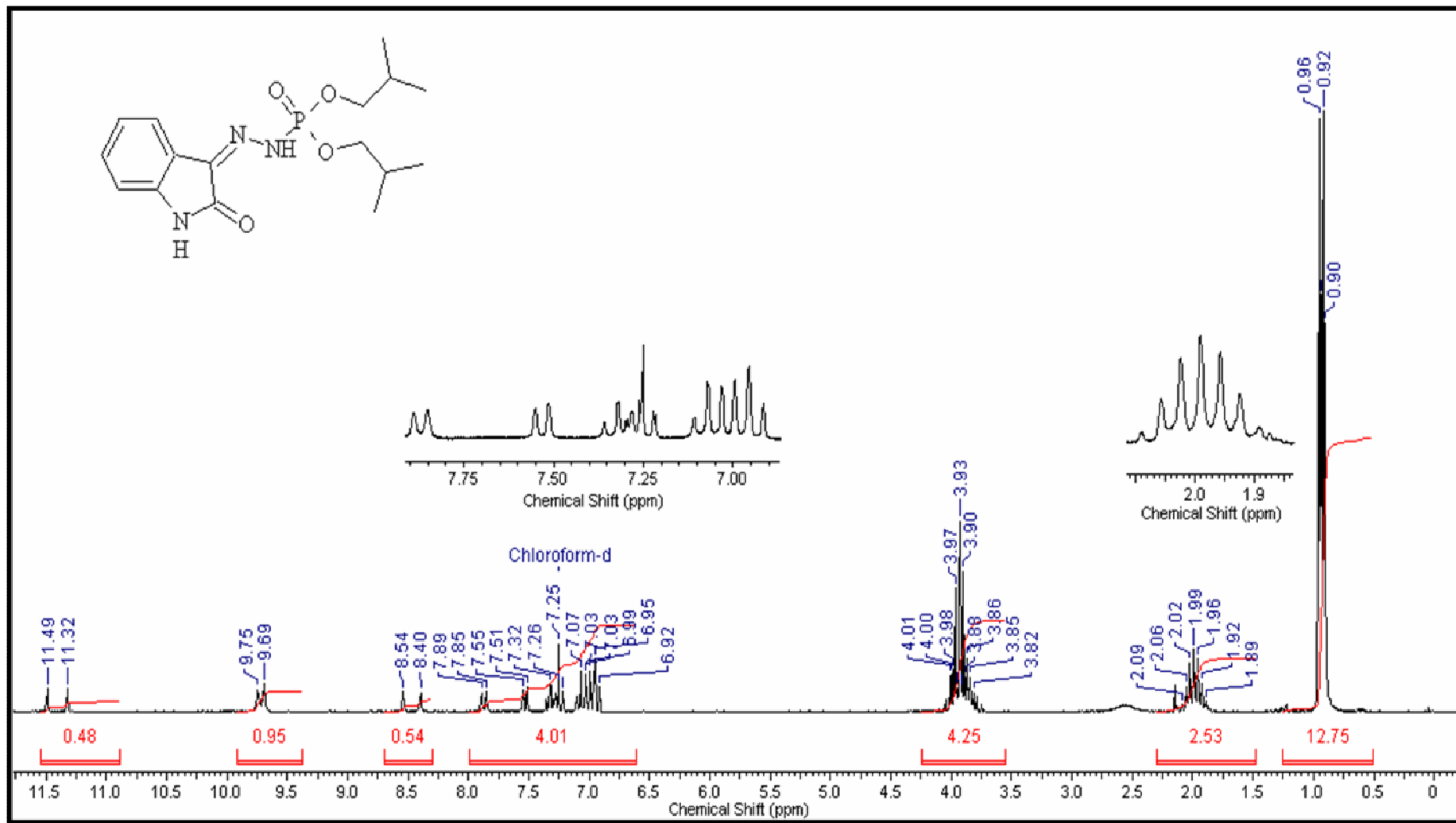


Figura 78: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃-200MHz) do ácido fosforidrazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]- éster de diisobutila (1).

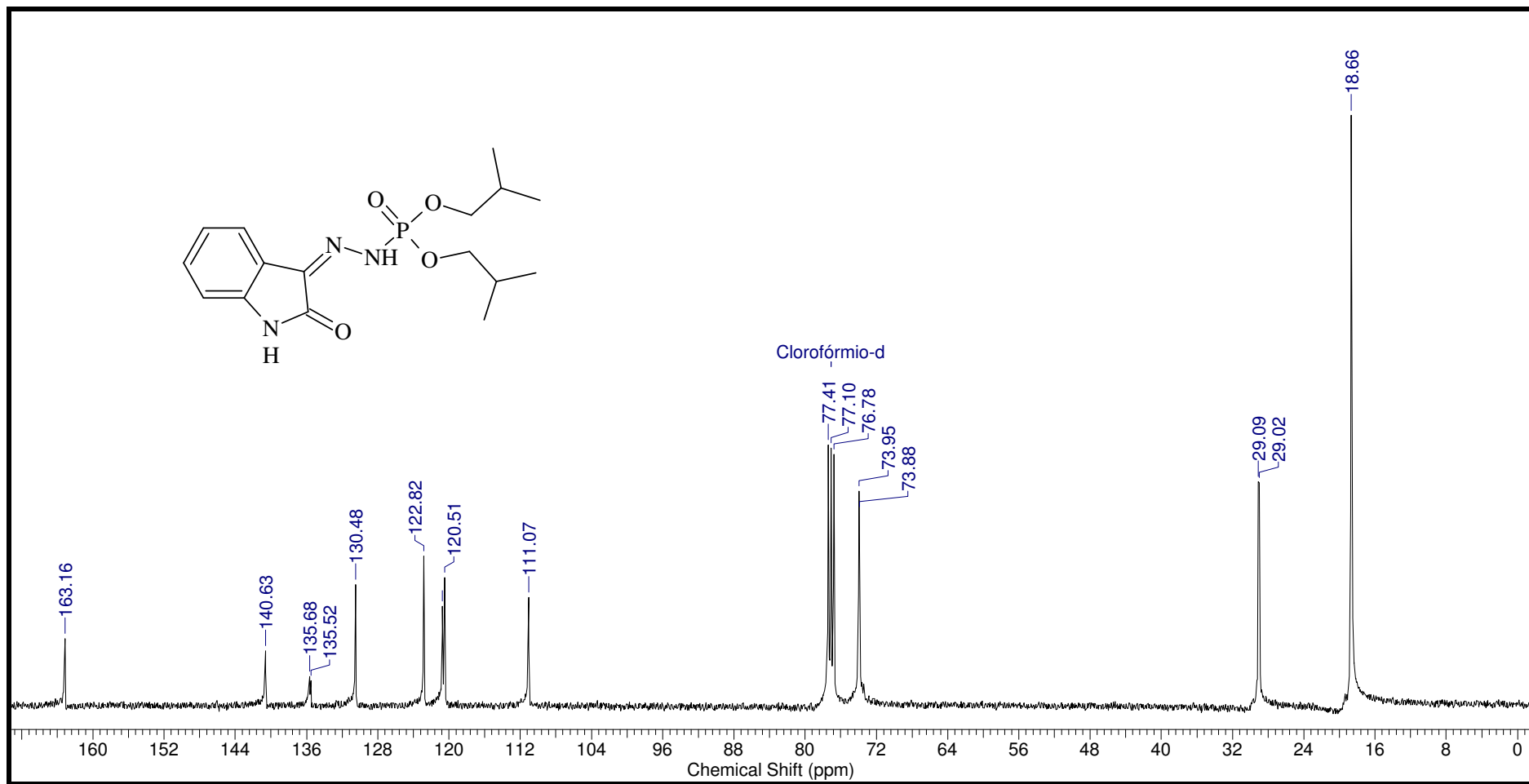


Figura 79: Espectro de RMN-¹³C do ácido fosforoidrazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]- éster de diisobutila (1).

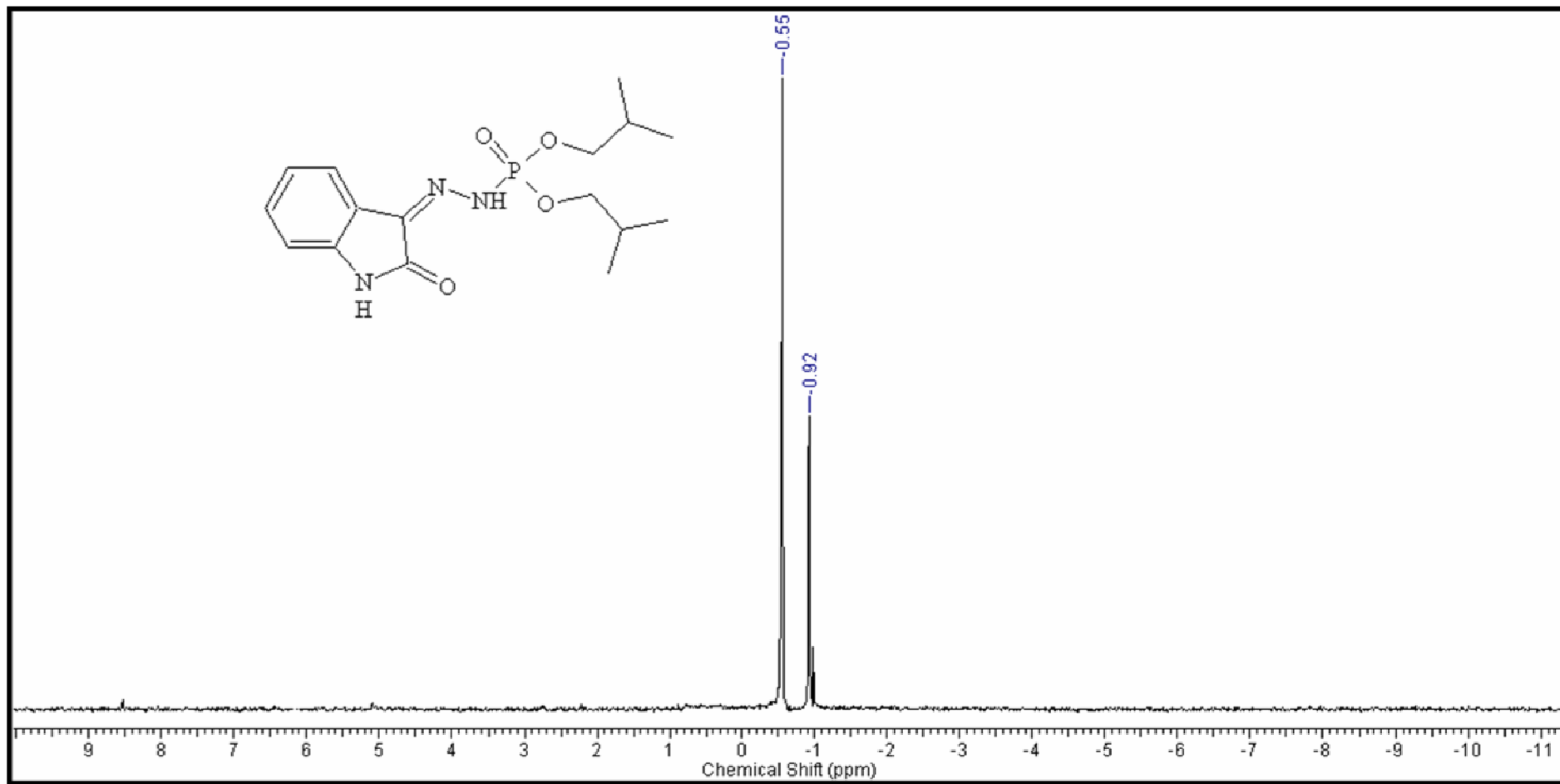


Figura 80: Espectro de RMN-³¹P desacoplado do ácido fosforoidrazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]- éster de diisobutila (1).

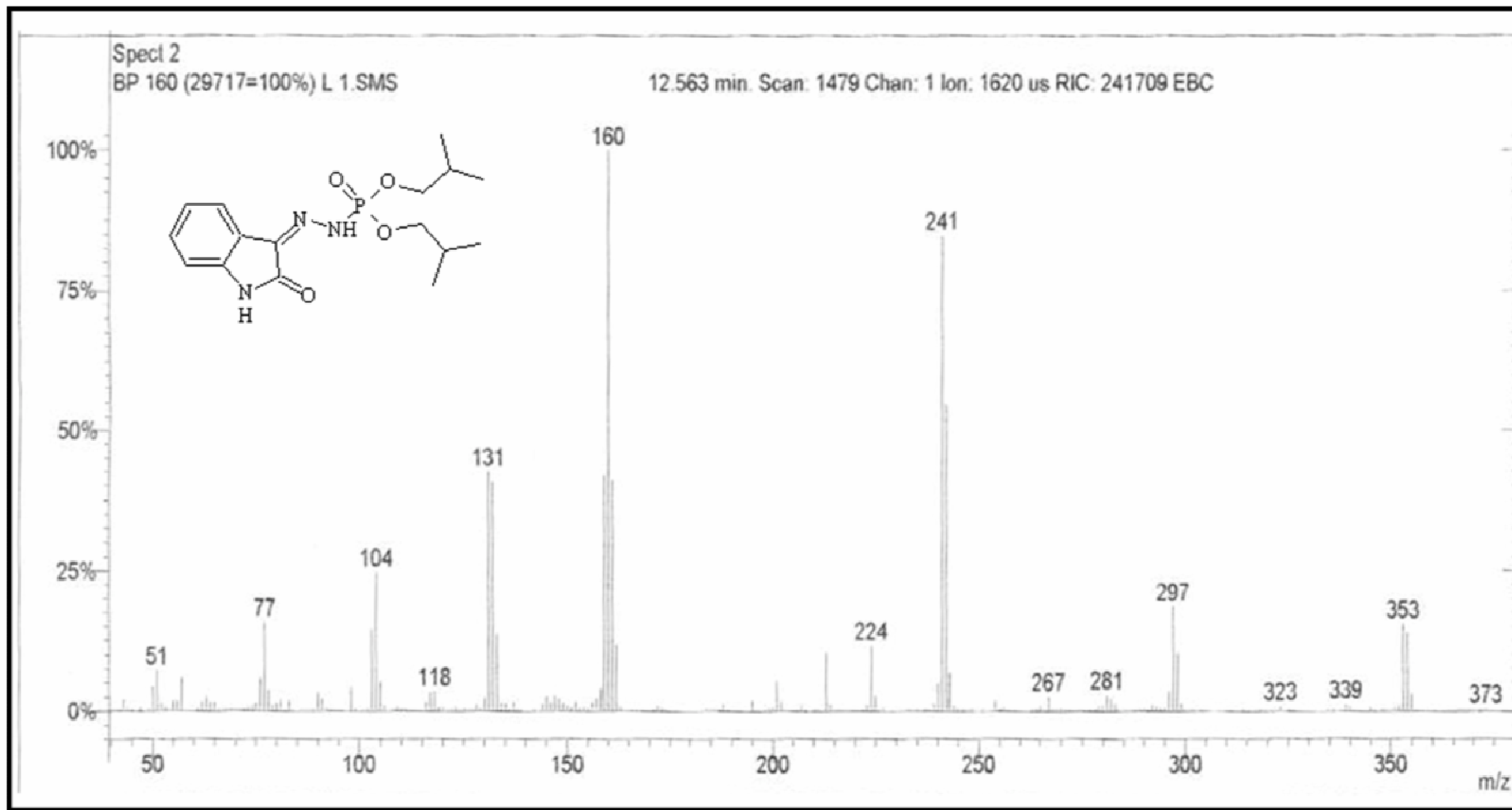


Figura 81: Espectro de massas do ácido fosforidrazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-éster de diisobutila (1).

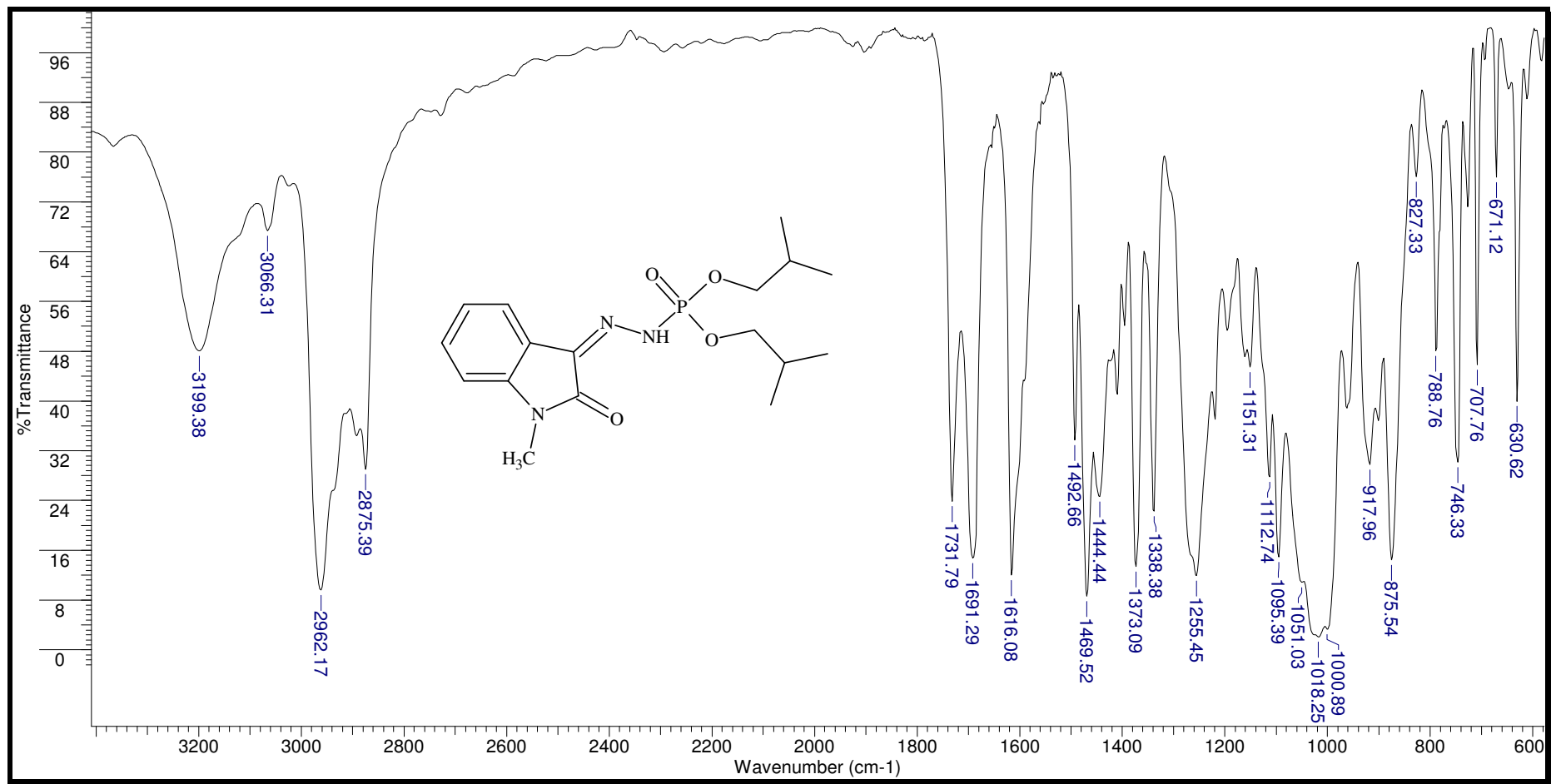


Figura 82: Espectro de infravermelho do ácido fosforidrazídico *N'*-[1,2-diidro-1-metil-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno] éster de diisobutila (2).

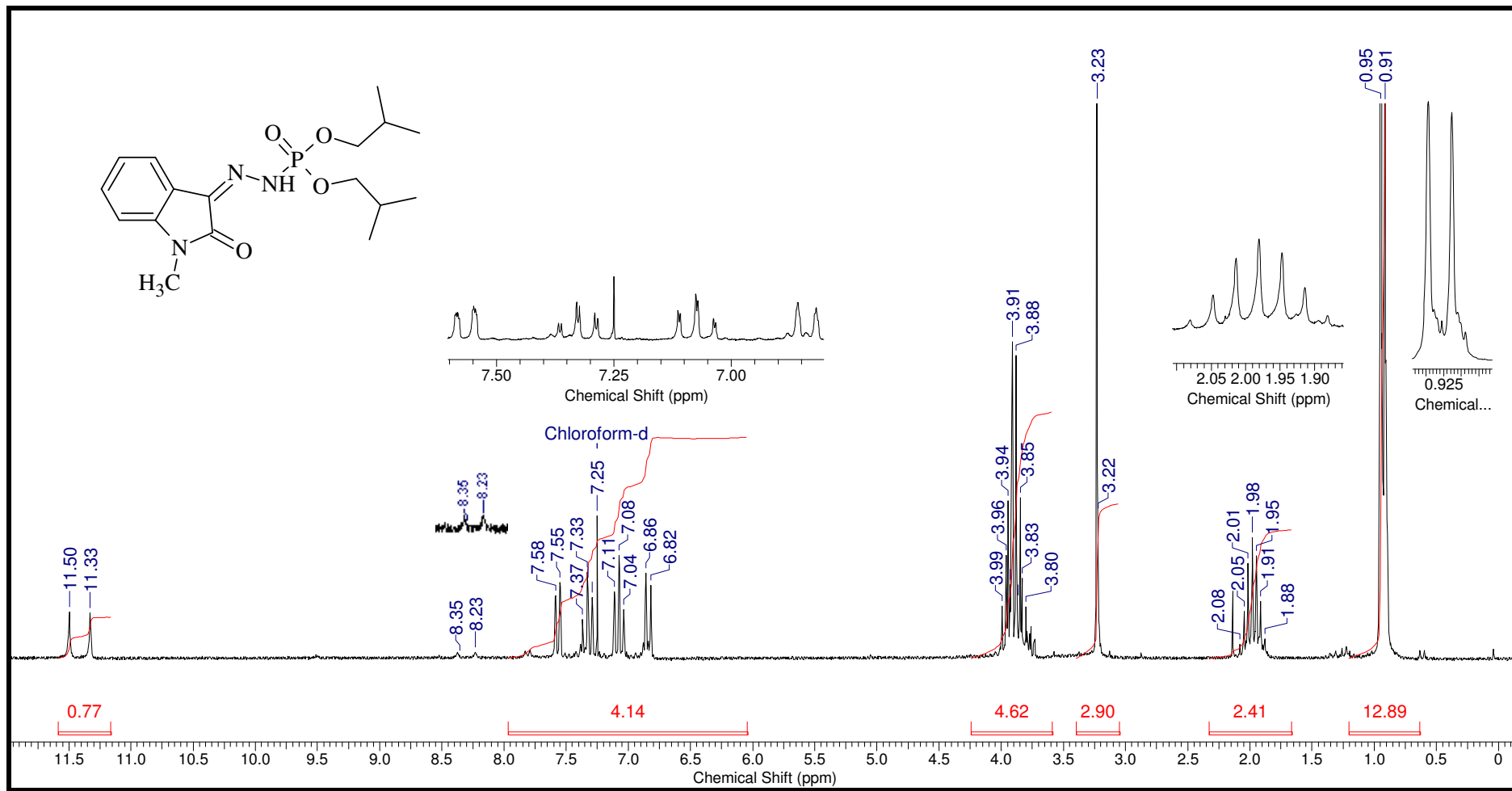


Figura 83: Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3 -200MHz) do ácido fosforidrazídico *N'*-[1,2-diidro-1-metil-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno] éster de diisobutila (2)

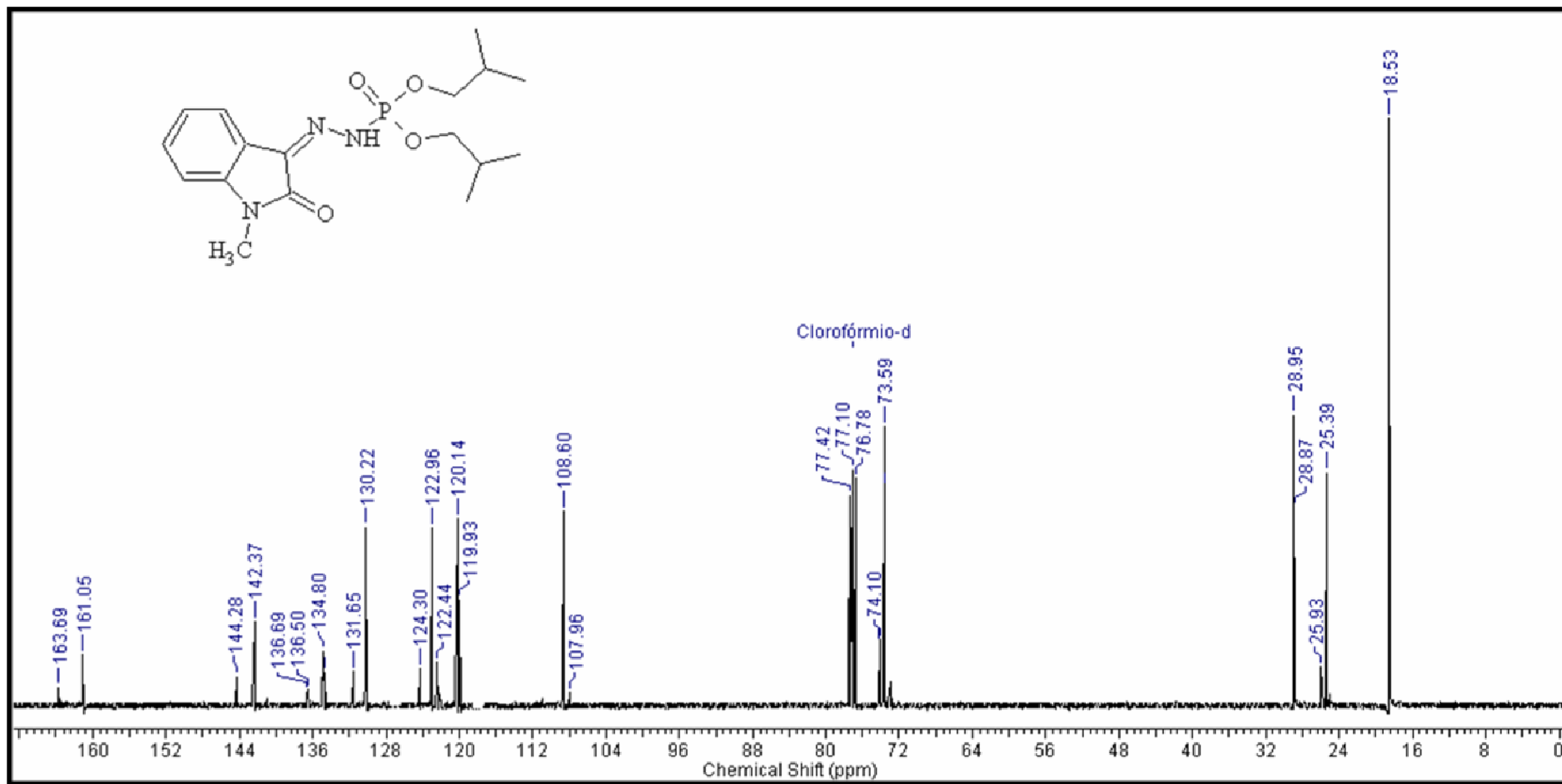


Figura 84: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃-100MHz) do ácido fosforoidrazídico *N'*-[1,2-diidro-1-metil-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno] éster de diisobutila (2).

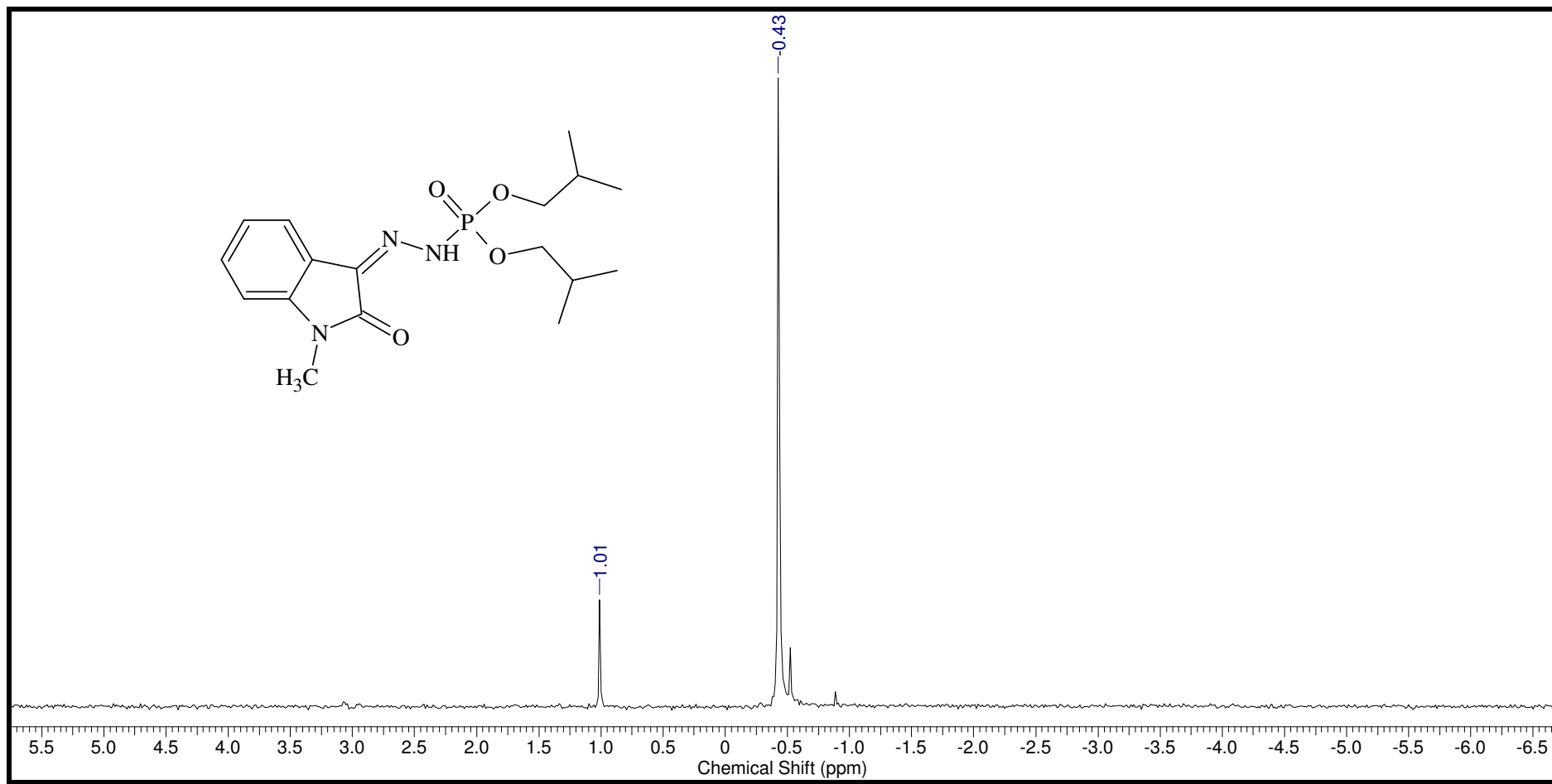


Figura 85: Espectro de RMN- ^{31}P desacoplado do ácido fosforoidrazídico N' -[1,2-diidro-1-metil-2-oxo-3H-indol-3-ilideno] éster de diisobutila (2).

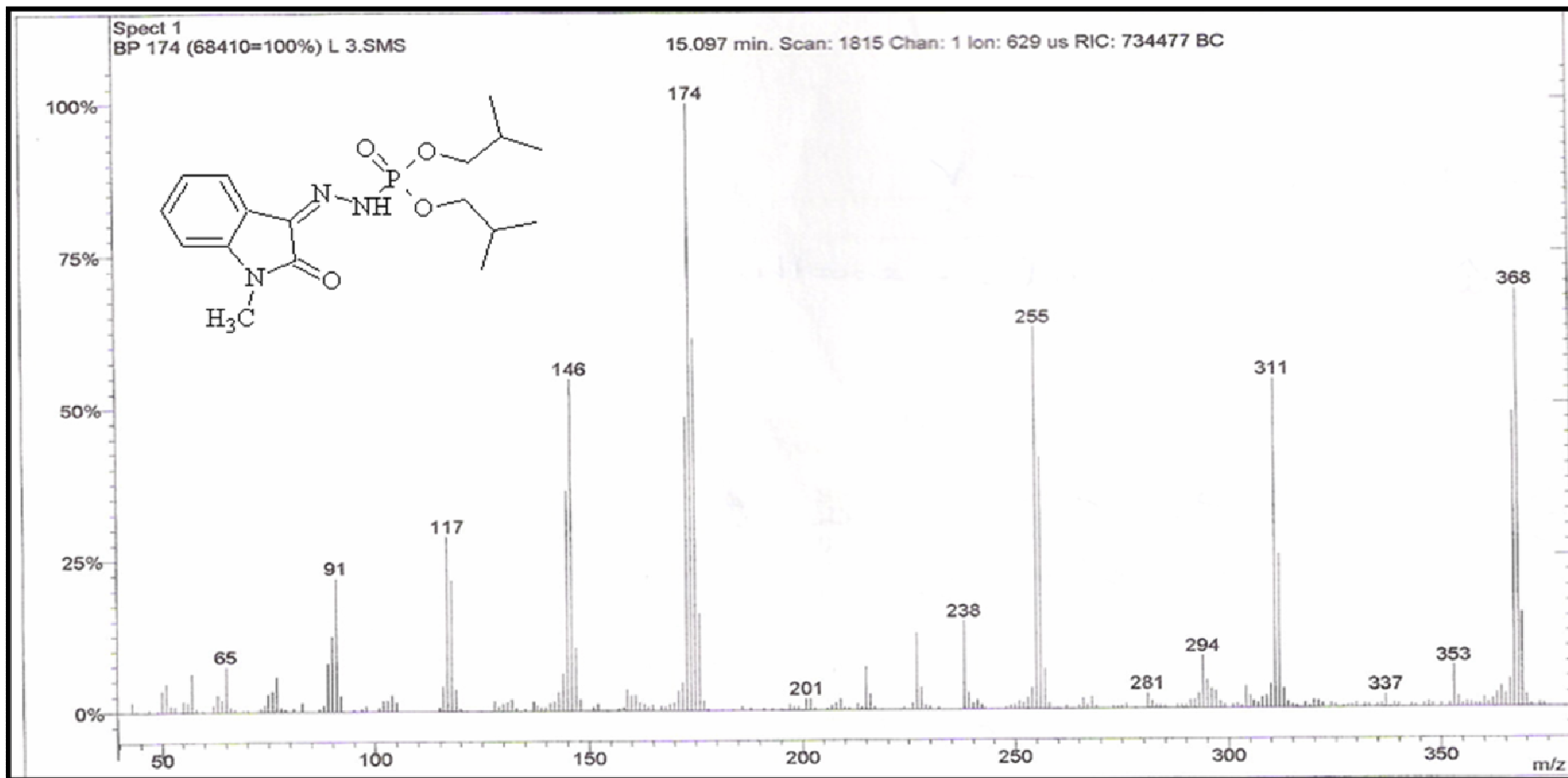


Figura 86: Espectro de massas do ácido fosforoidrazídico *N*'-[1,2-diidro-1-metil-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno] éster de diisobutila (2).

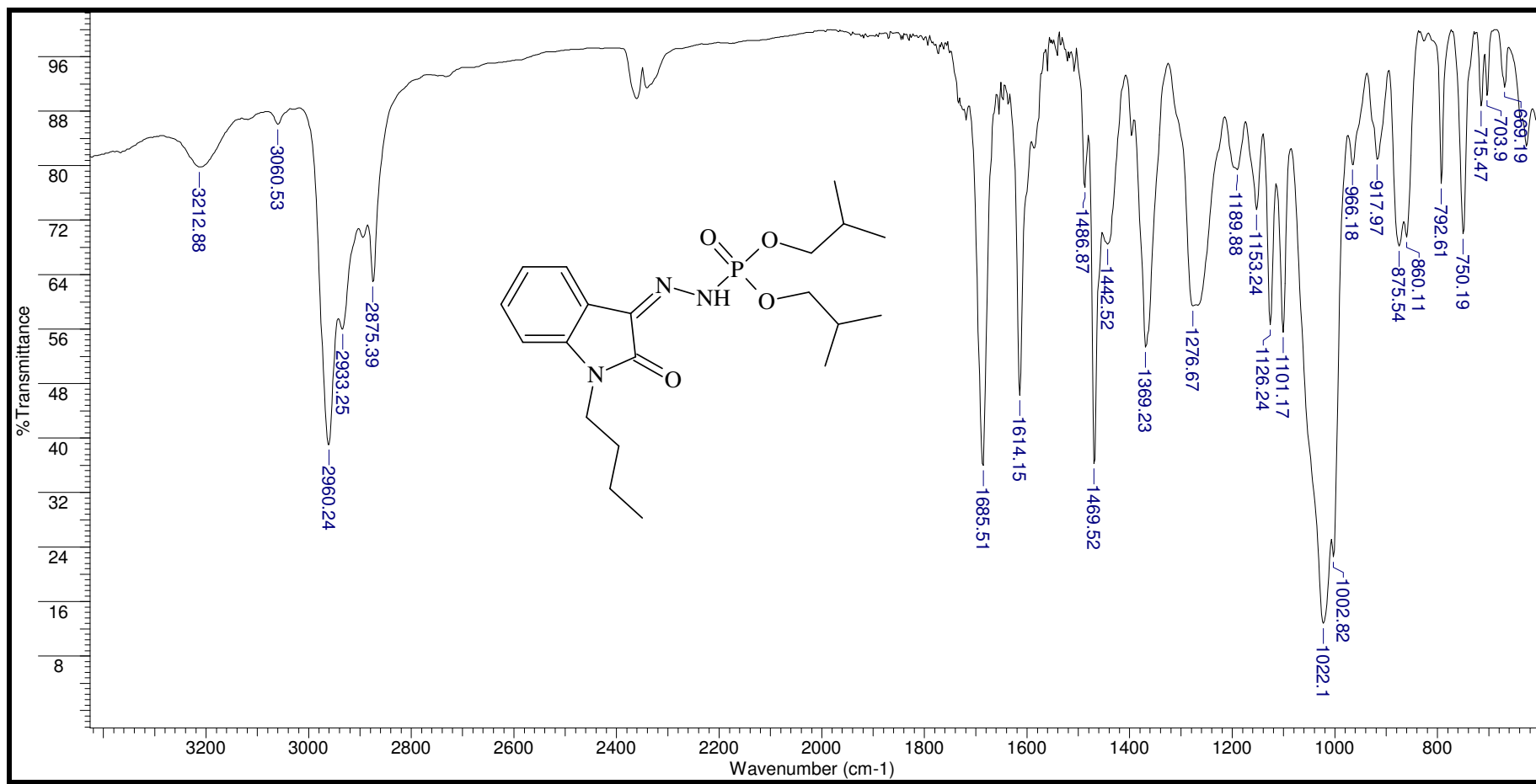


Figura 87: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico *N'*- [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (3).

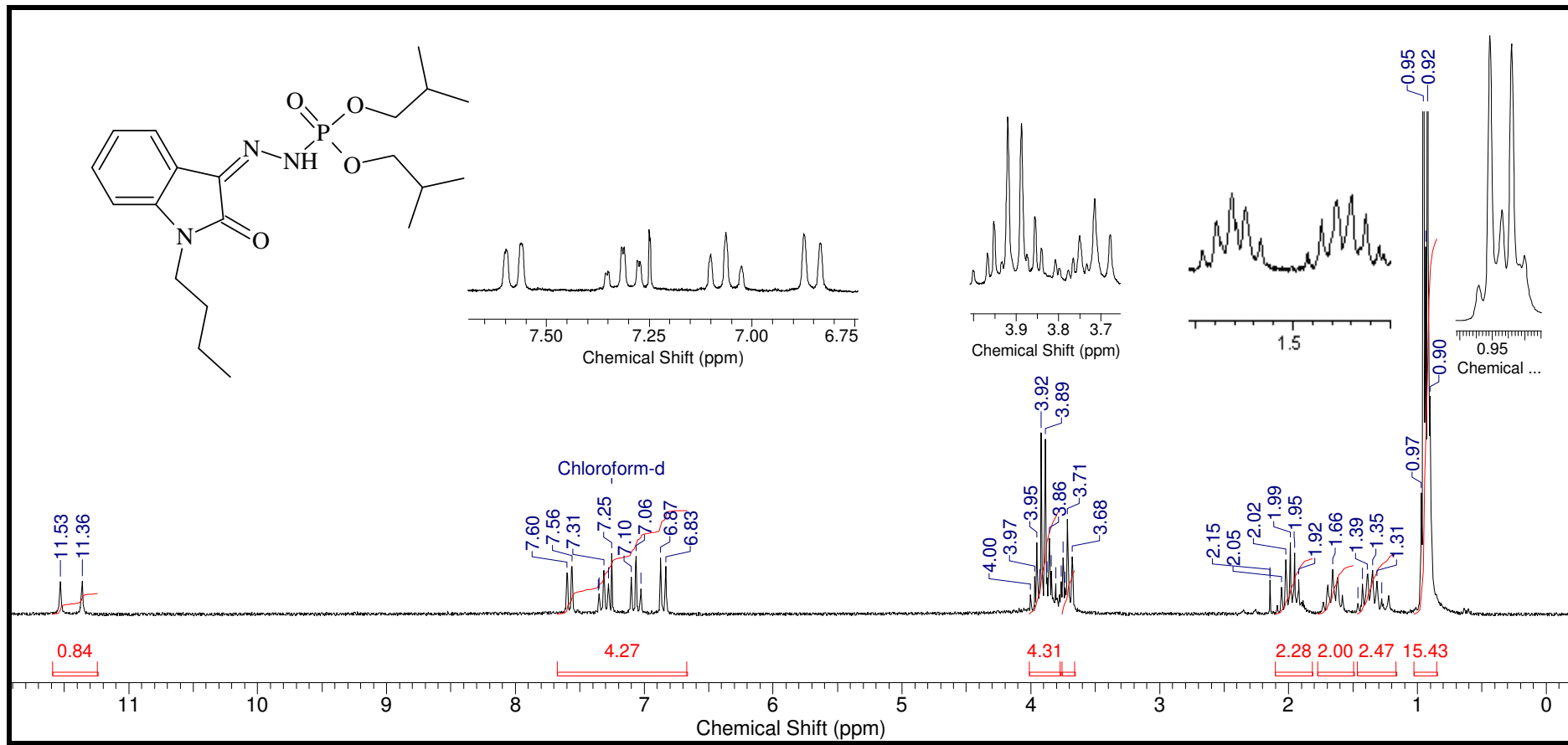


Figura 88: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃-200MHz) do ácido fosforidrazídico *N'*- [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutílica (3).

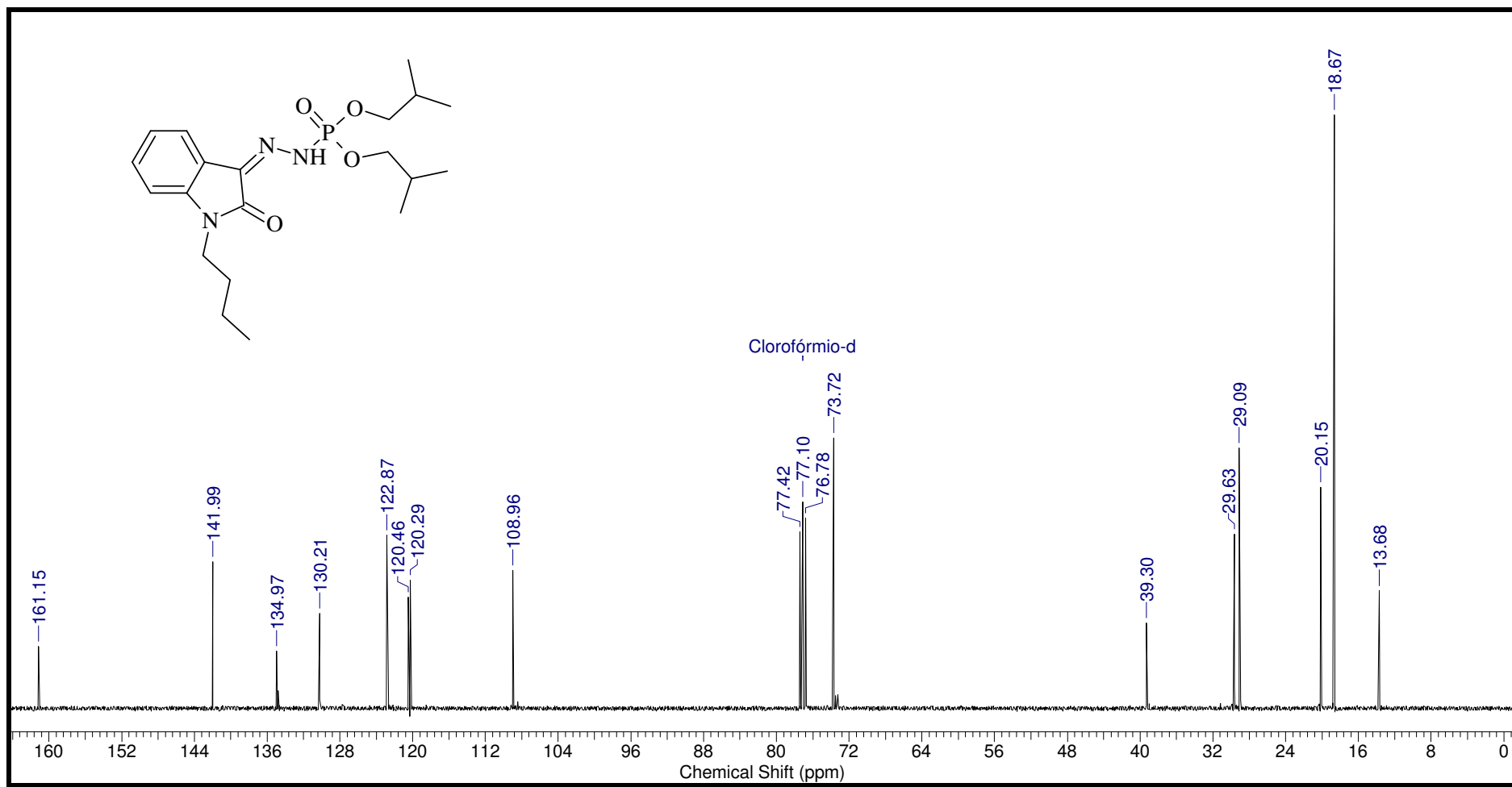


Figura 89: Espectro de RMN-13C do ácido fosforoidrazídico *N'*- [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (3).

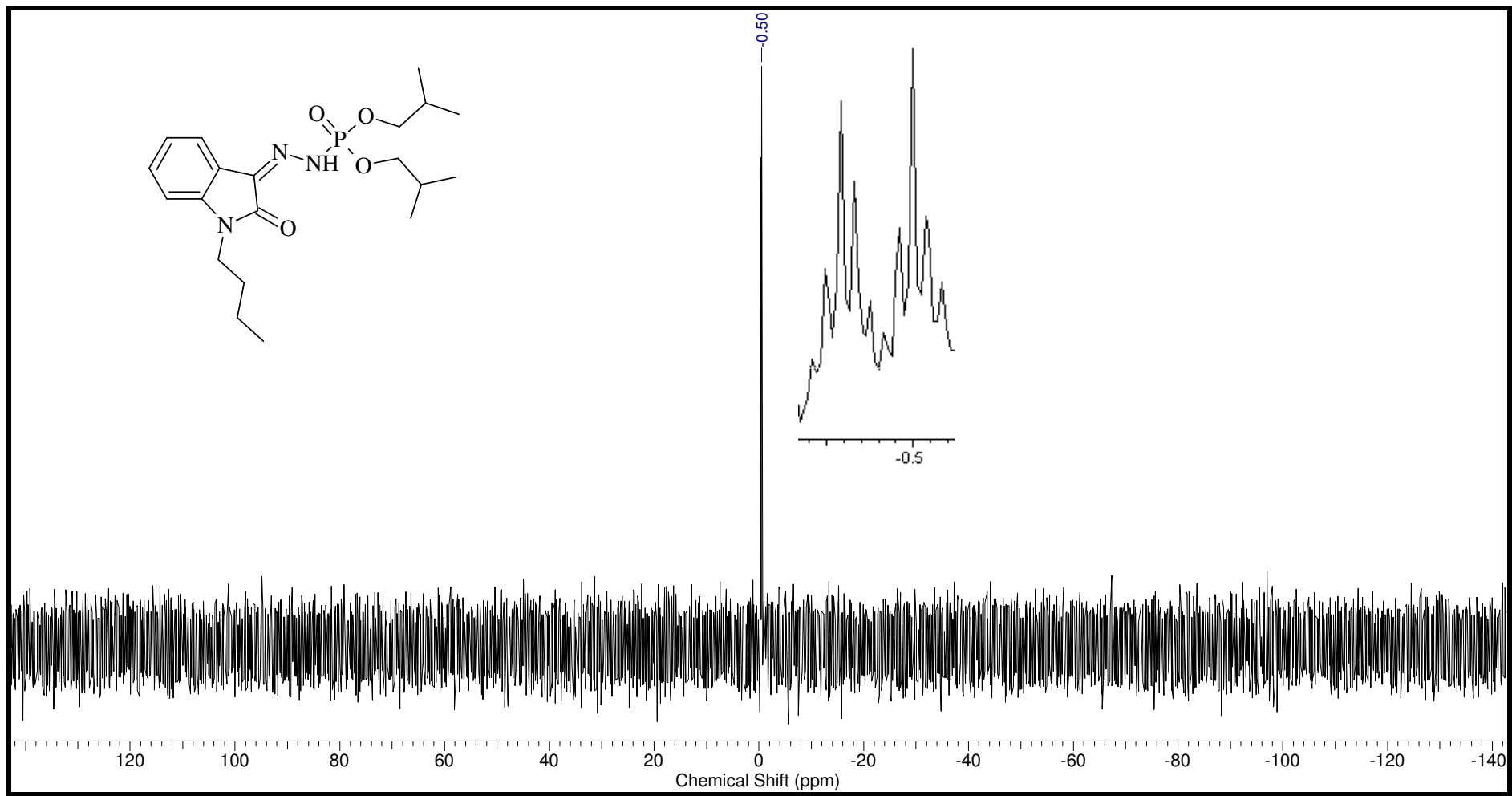


Figura 90: Espectro de RMN - ^{31}P acoplado do ácido fosforodrazídico *N*'-[1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (3).

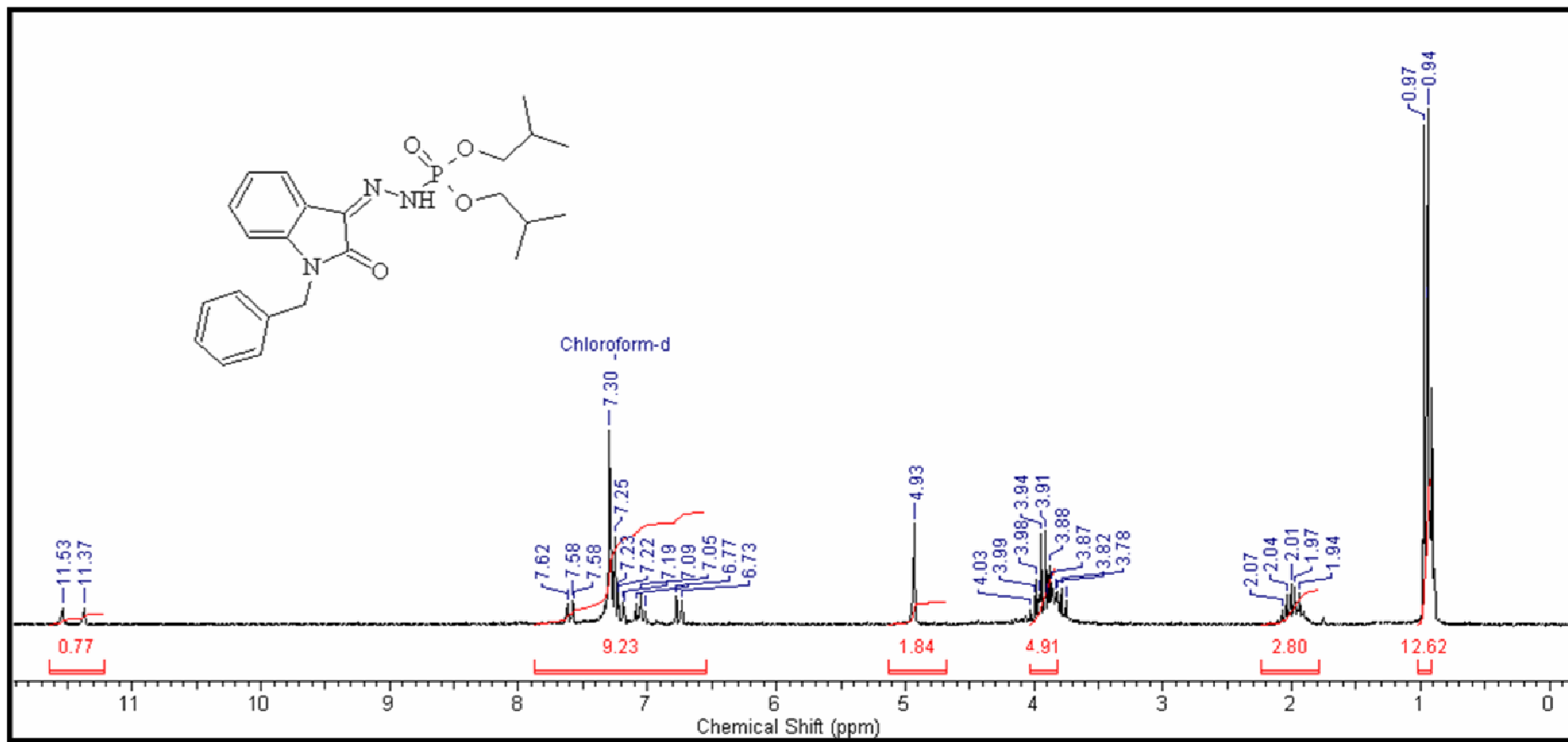


Figura 91: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃-200MHz) do ácido fosforoidrazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3*H*-indol-3-ilideno]- éster de diisobutila (4).

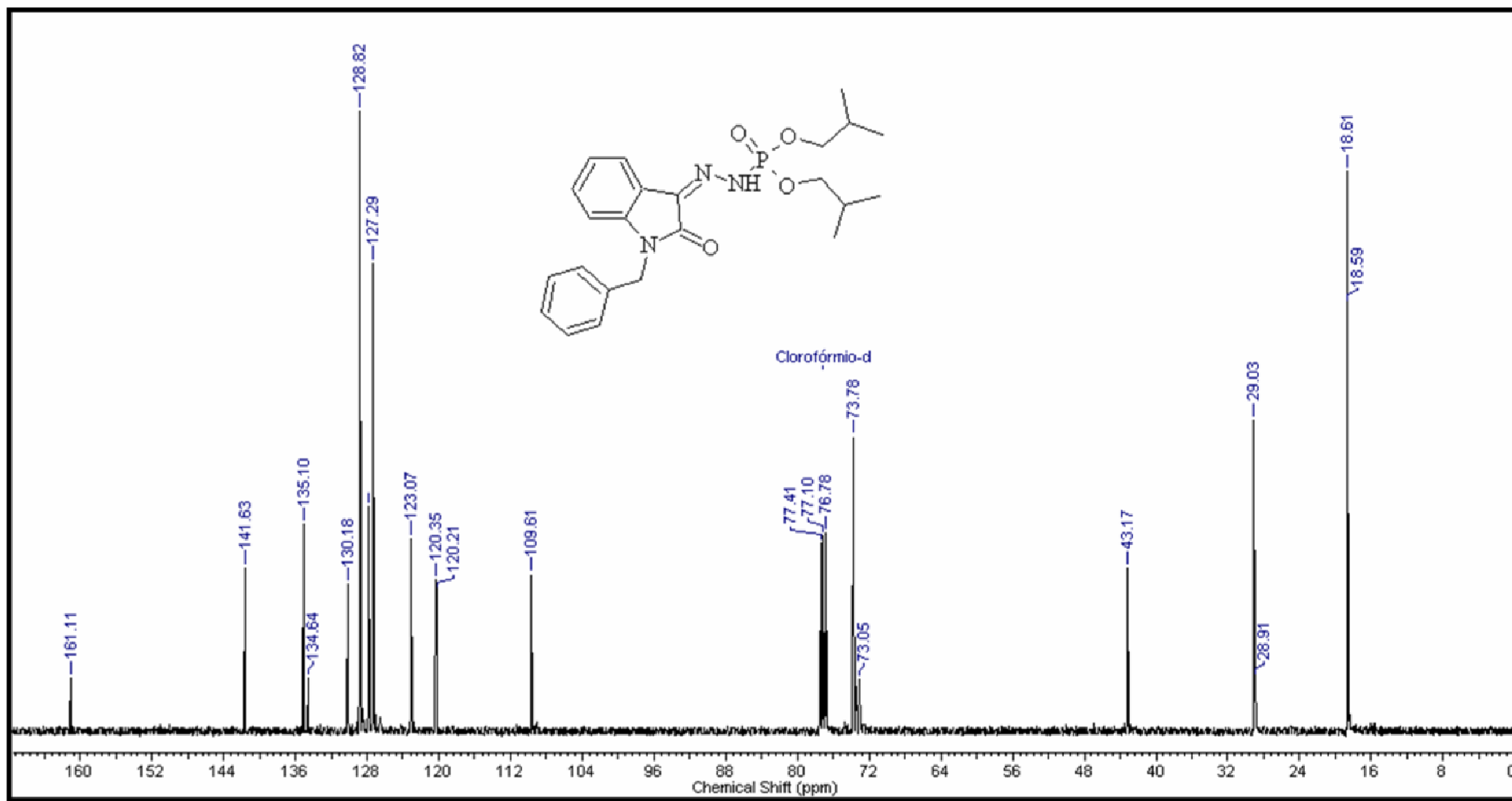


Figura 92: Espectro de RMN-¹³C do ácido fosfohidrazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3*H*-indol-3-ilideno]-éster de diisobutila (4).

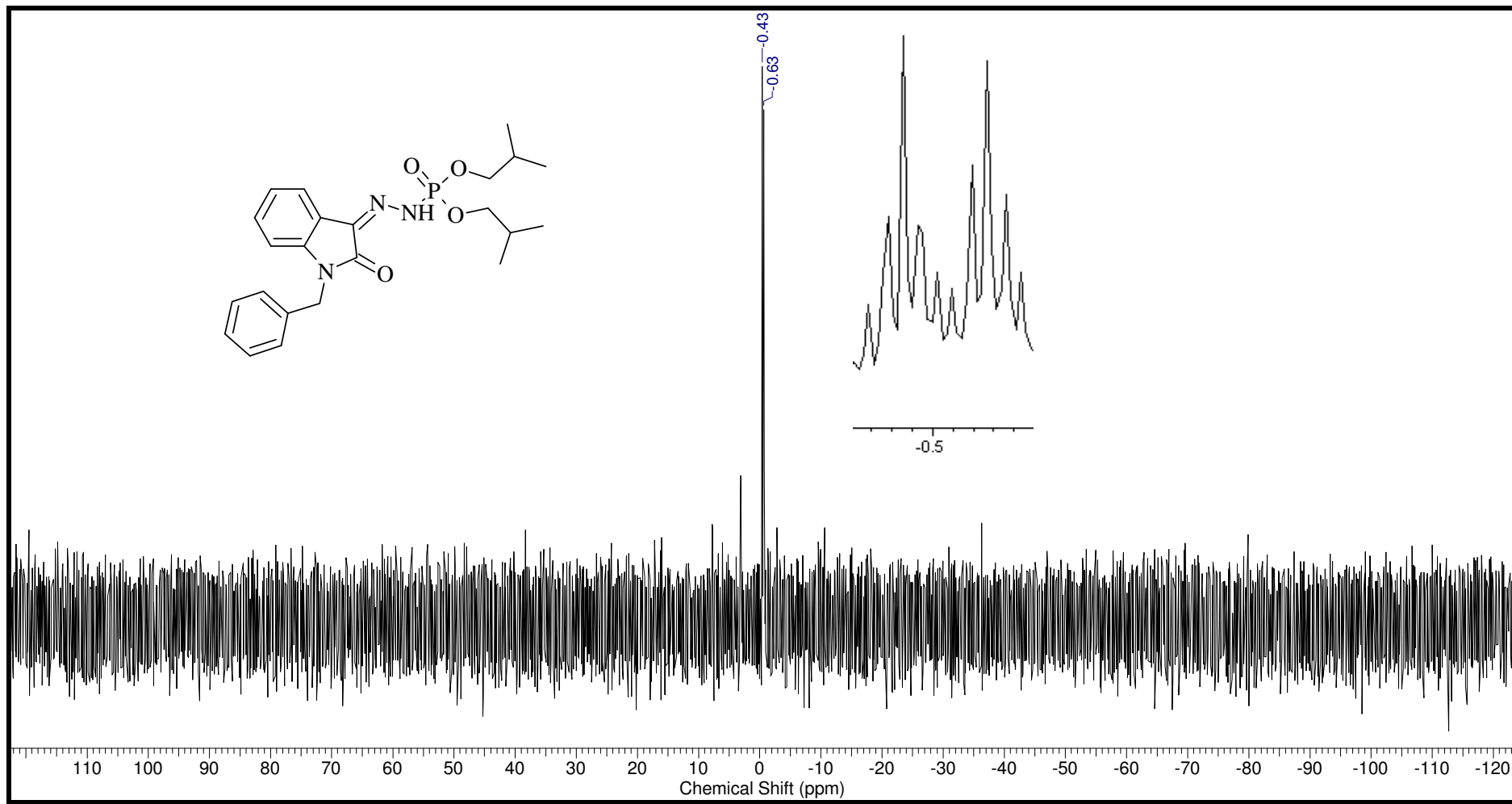


Figura 93: Espectro de RMN- ^{13}C do ácido fosfoindrazídico N' -[1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3*H*-indol-3-ilideno]- éster de diisobutila (4).

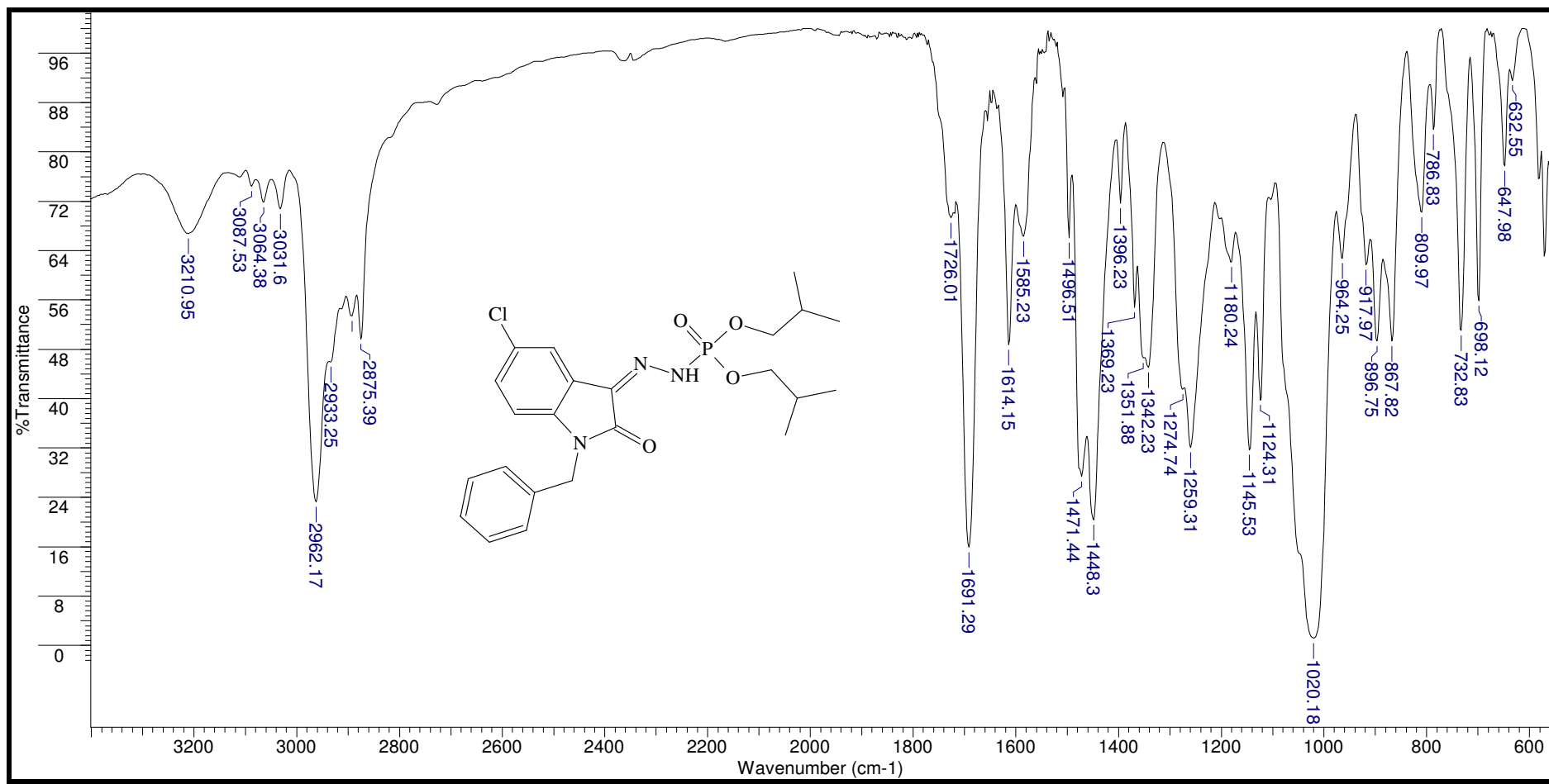


Figura 94: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico *N'*- [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (5).

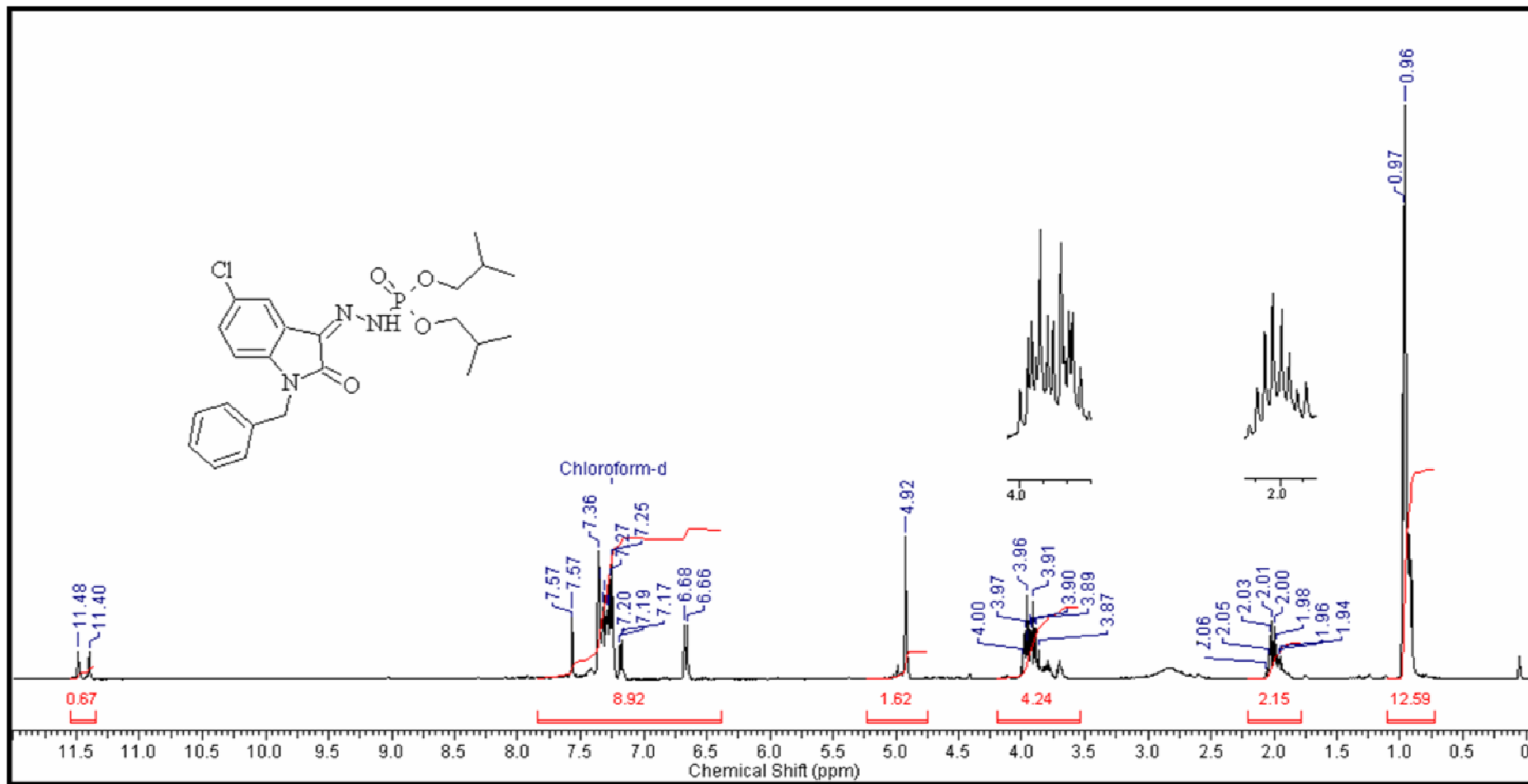


Figura 95: Espectro de RMN – ^1H (CDCl_3 -400MHz) do ácido fosforoidrazídico N' - [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-1-benzil)-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (5).

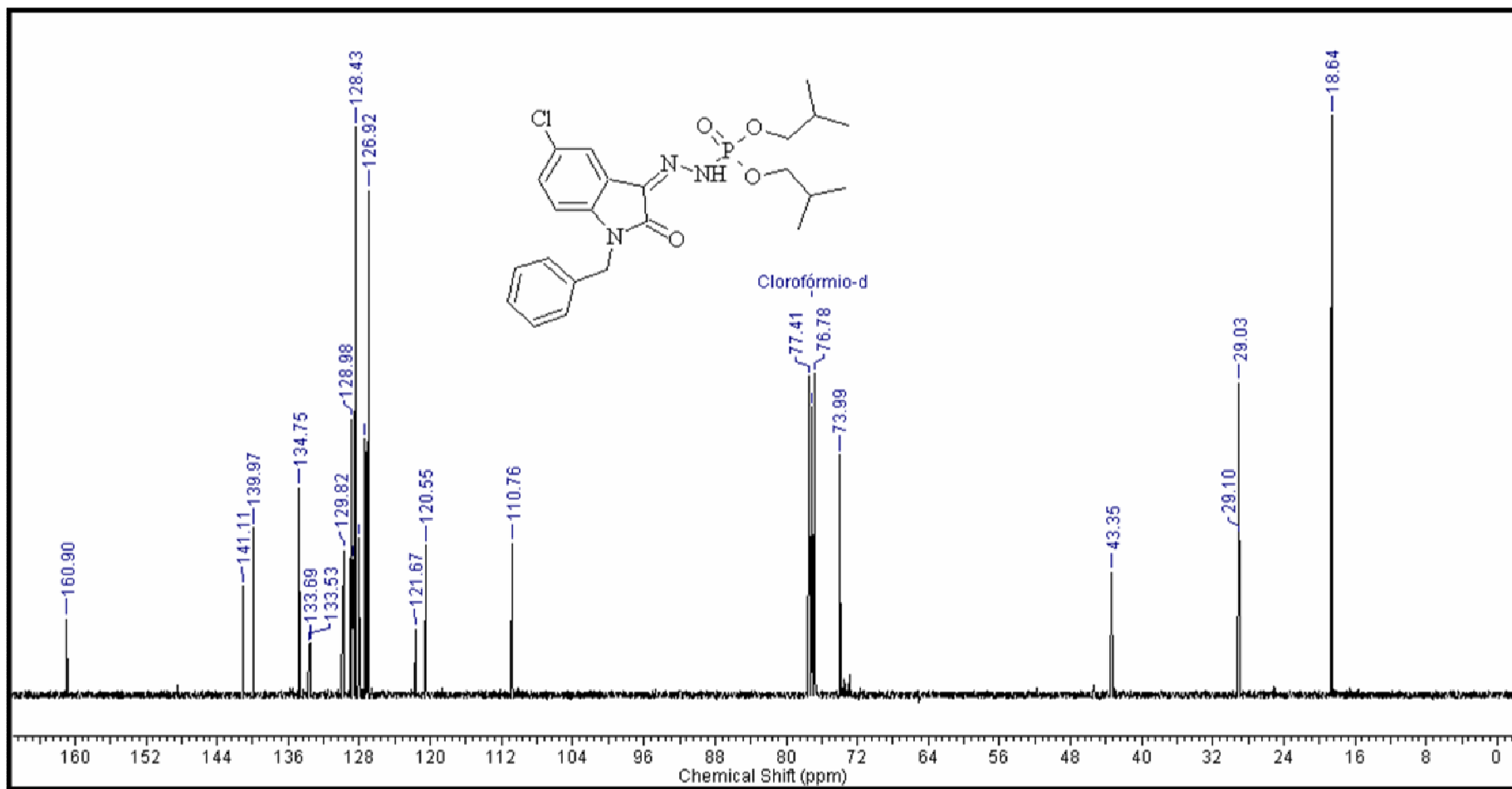


Figura 96: Espectro de RMN – ^{13}C do ácido fosforoidrazídico N'- [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-1-benzil)-3H-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (5).

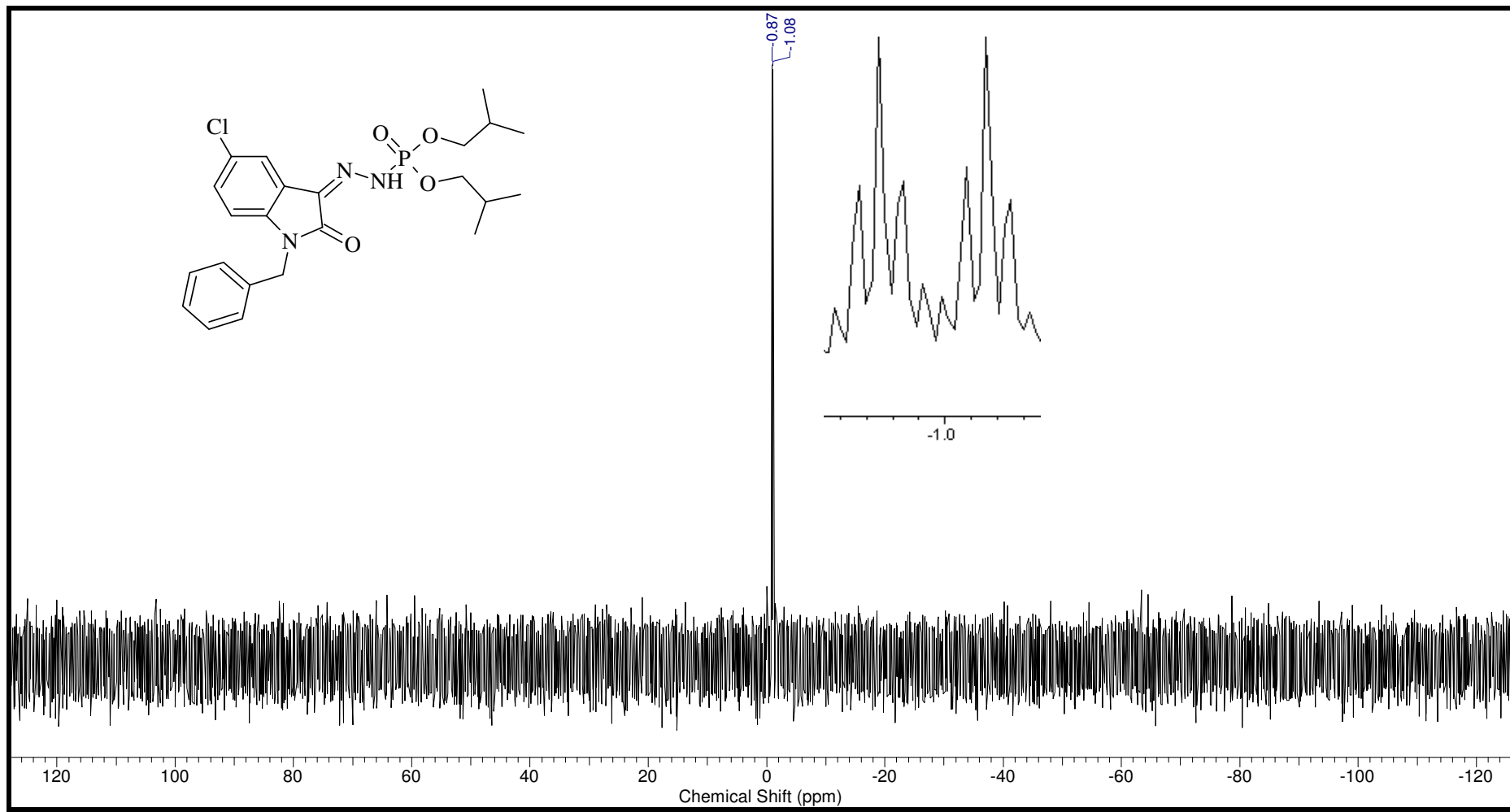


Figura 97: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃-400MHz) do ácido fosforoidrazídico *N'*- [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-1-benzil)-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (5).

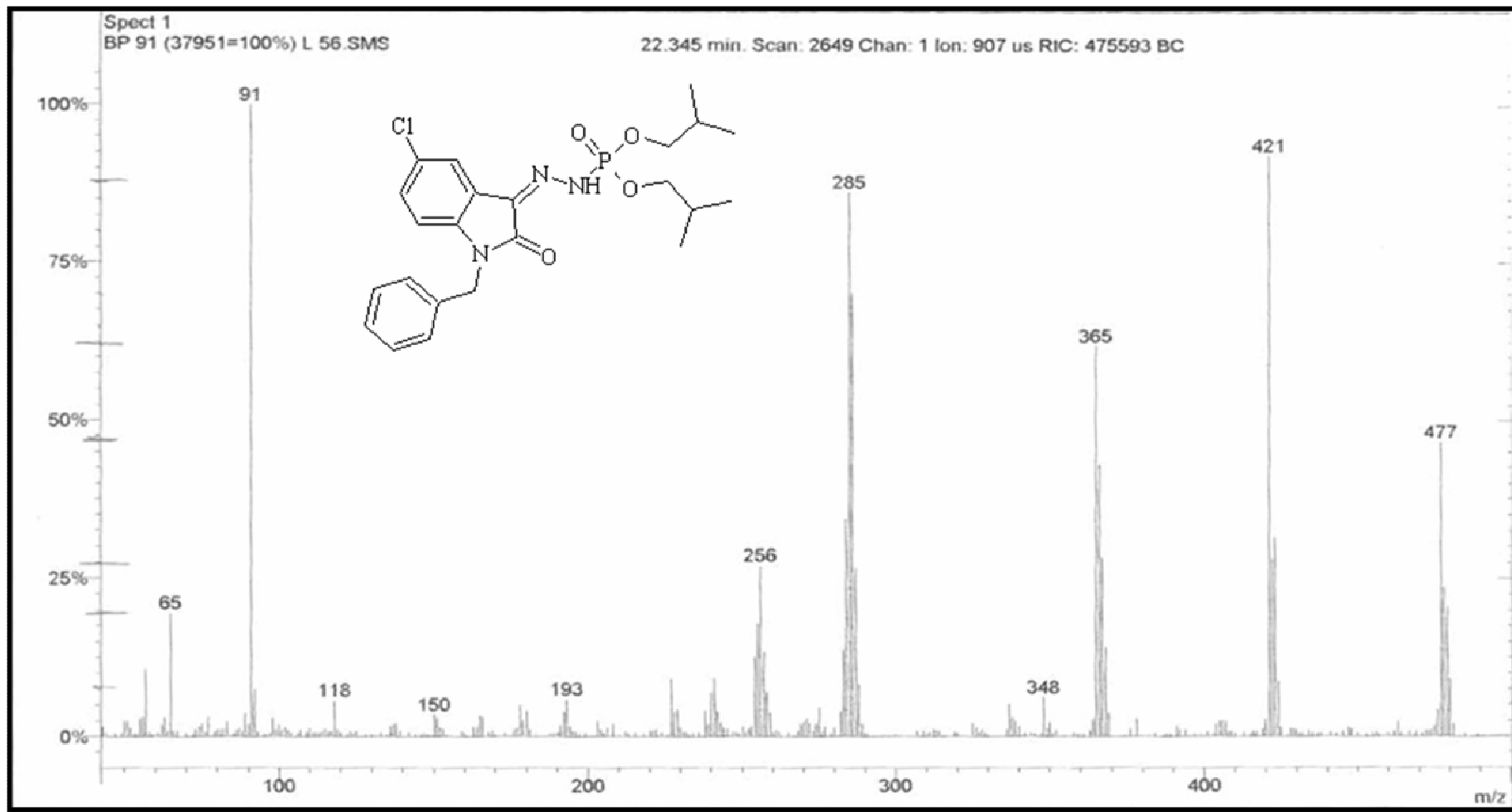


Figura 98: Espectro de massas do ácido fosforoidrazídico *N'*- [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-1-(fenil metil)-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (5).

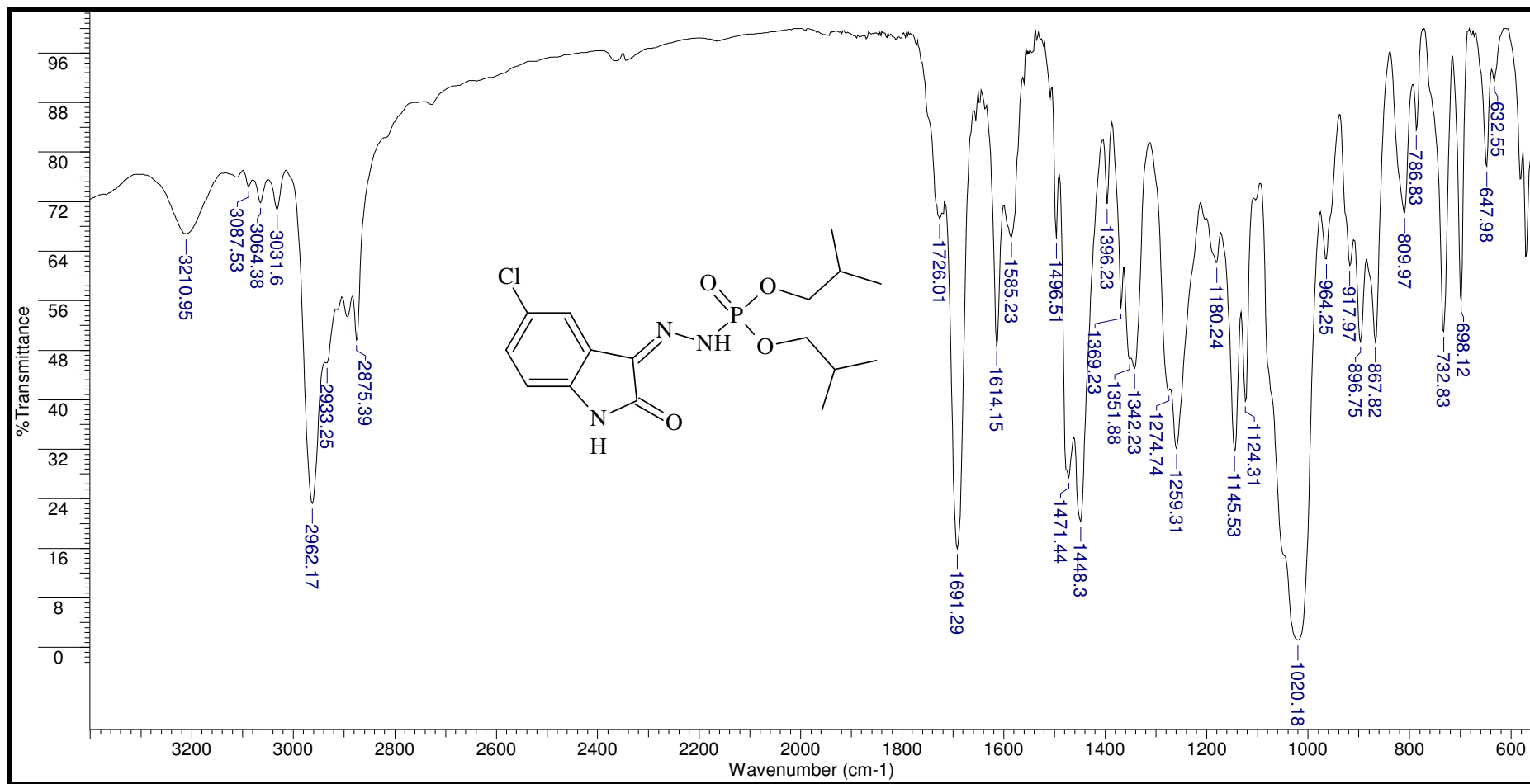


Figura 99: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico *N'*- [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (6).

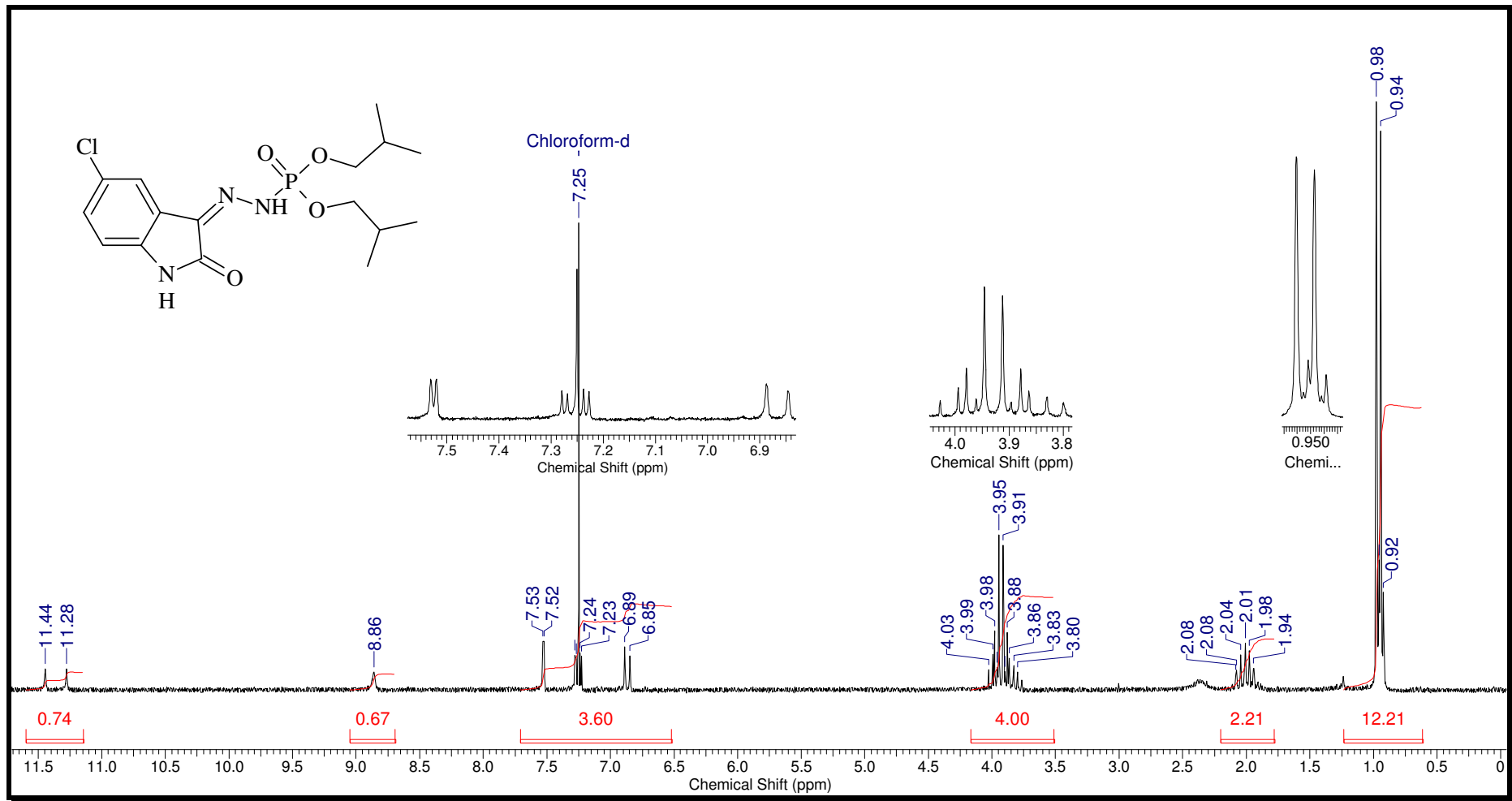


Figura 100: Espectro de RMN – ^1H (CDCl₃-200MHz) do ácido fosforoidrazídico *N'*- [5-c loro-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (6).

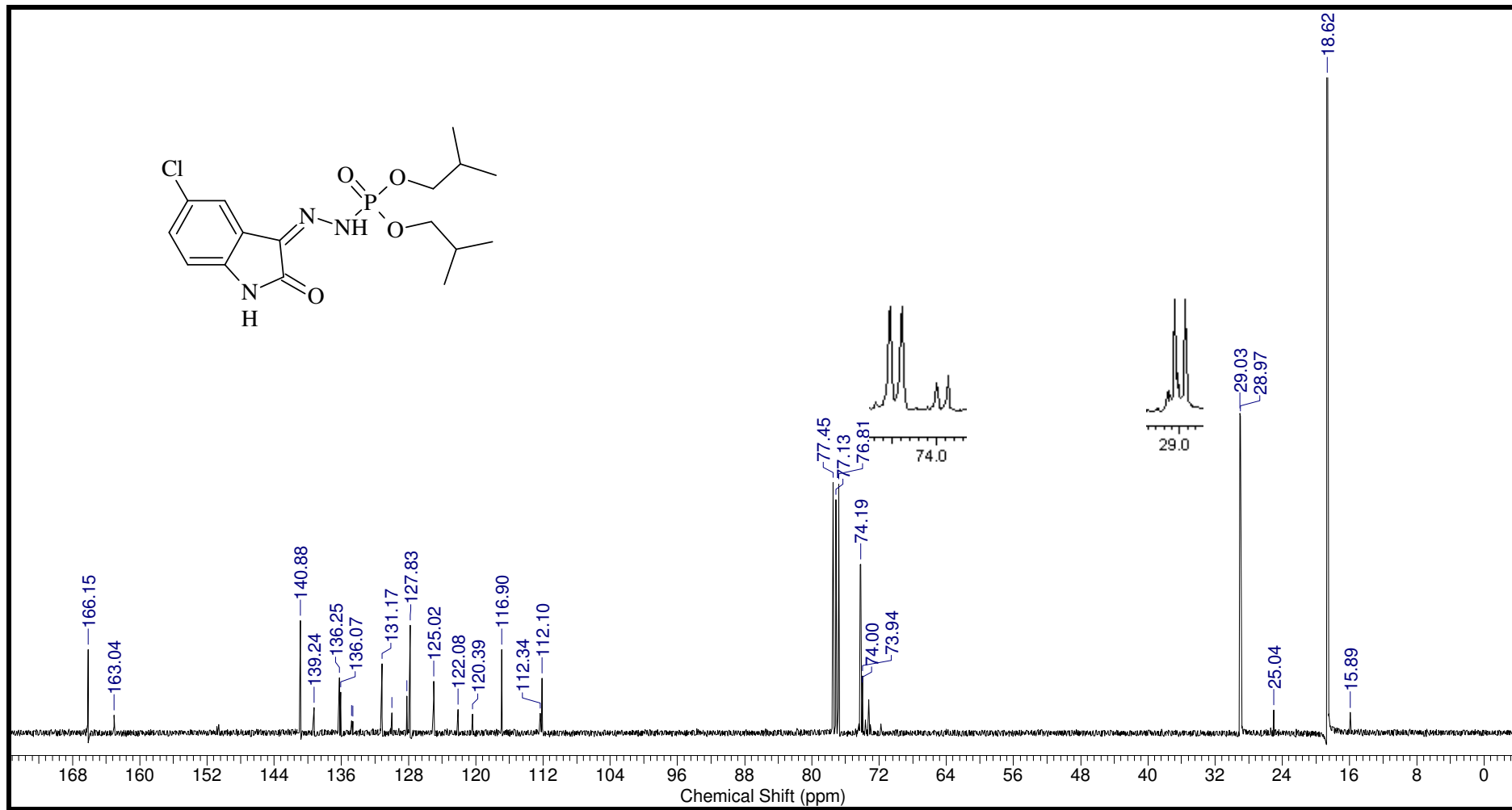


Figura 101: Espectro de RMN – ^{13}C do ácido fosforidrazídico N' - [5-c loro-1,2-diidro-2-oxo-3H-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (6).

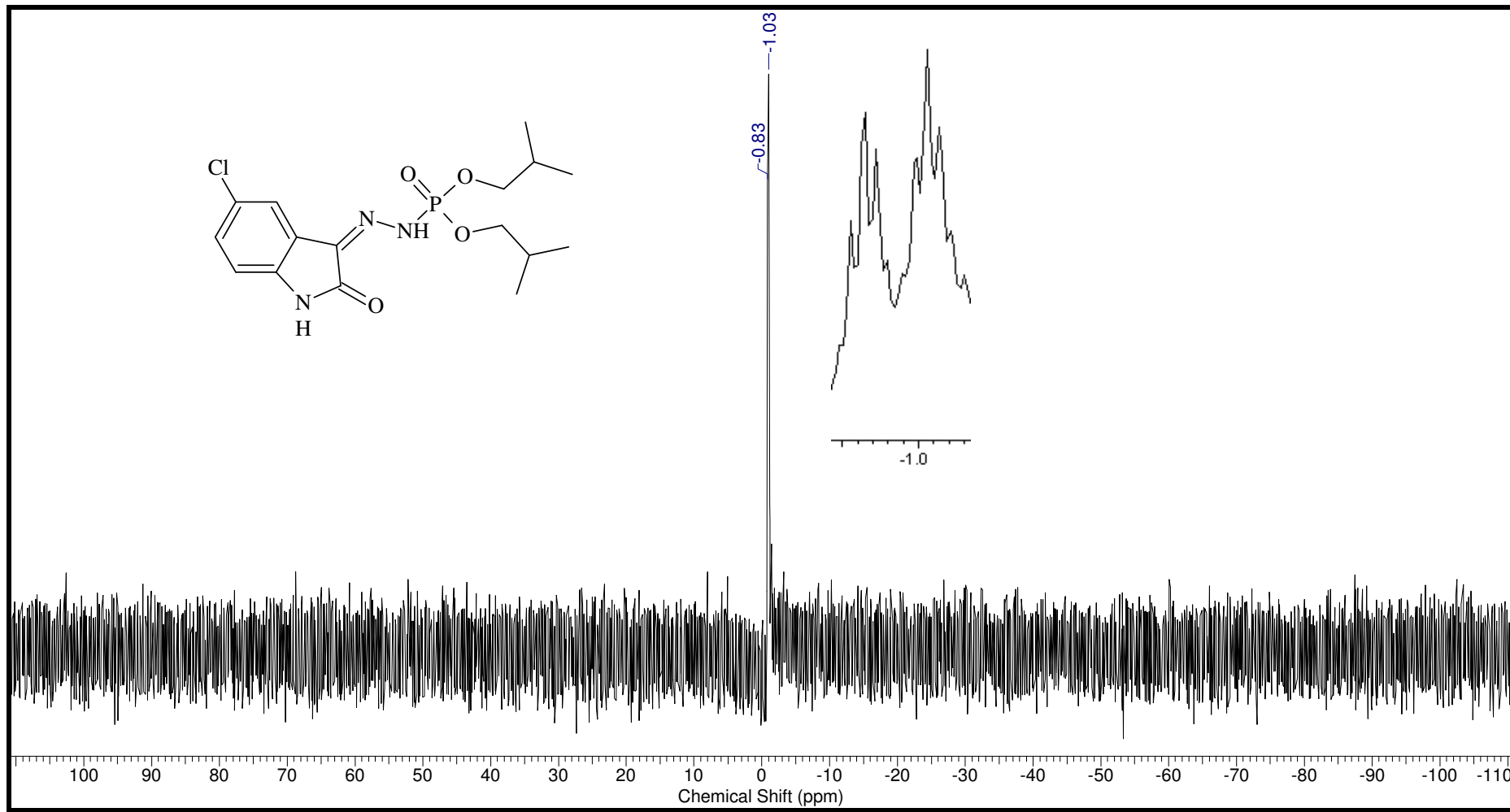


Figura 102: Espectro de RMN - ^{31}P acoplado do ácido fosforoidrazídico N' - [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila

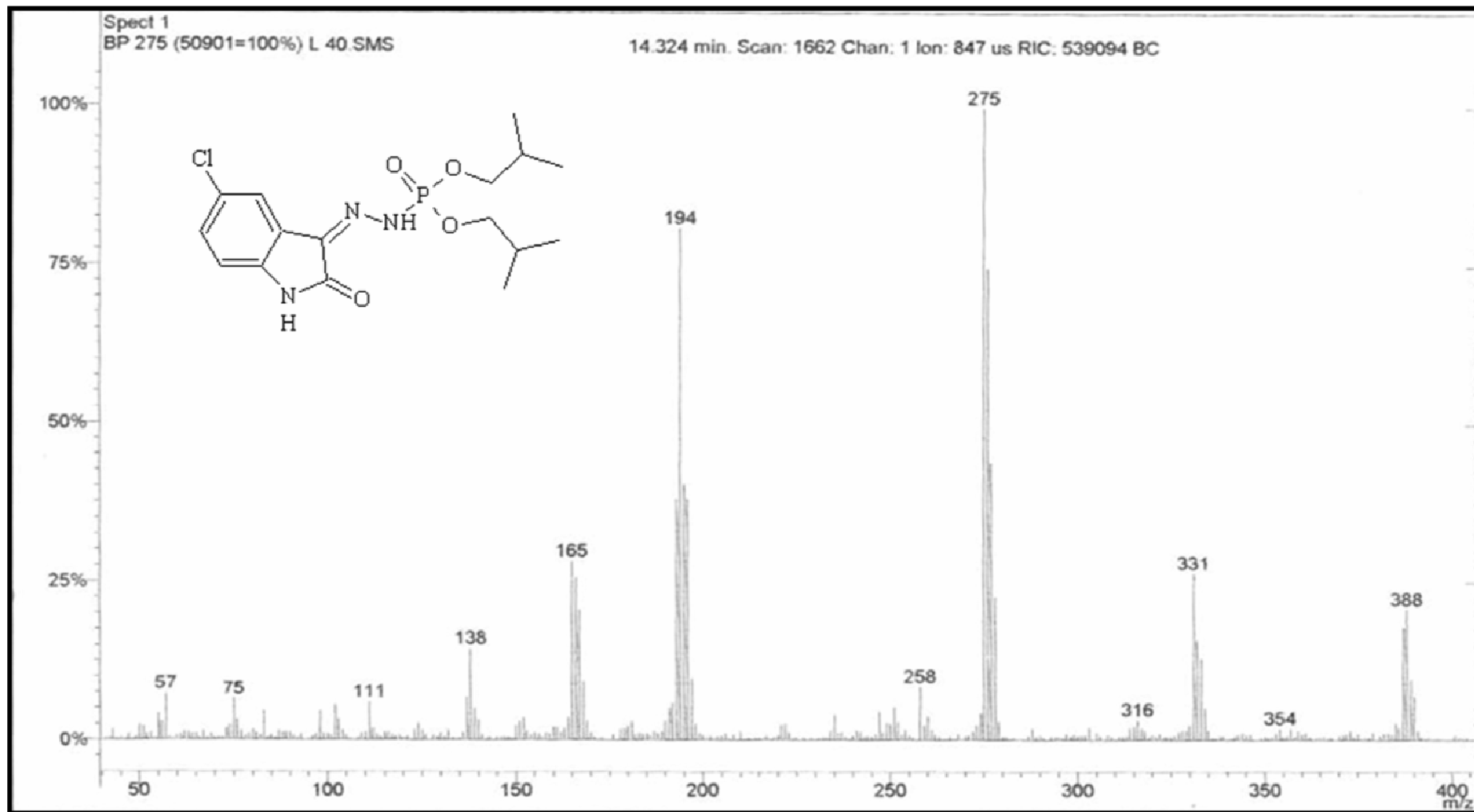


Figura 103: Espectro de massas do ácido fosforoidrazídico *N'*- [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (6).

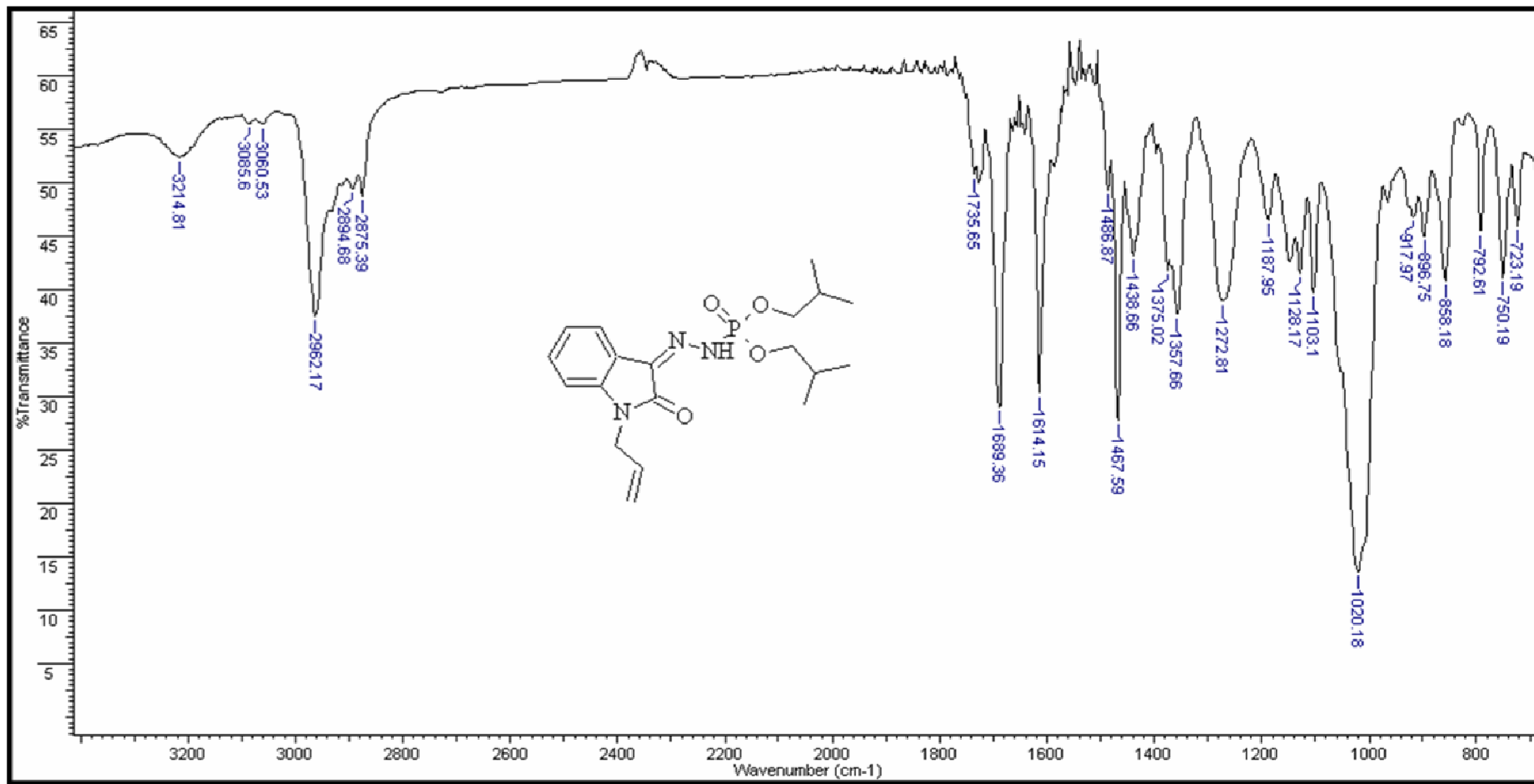


Figura 104: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico *N'*- [1,2-diidro-2-oxo-1-(2-propenil)-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (7).

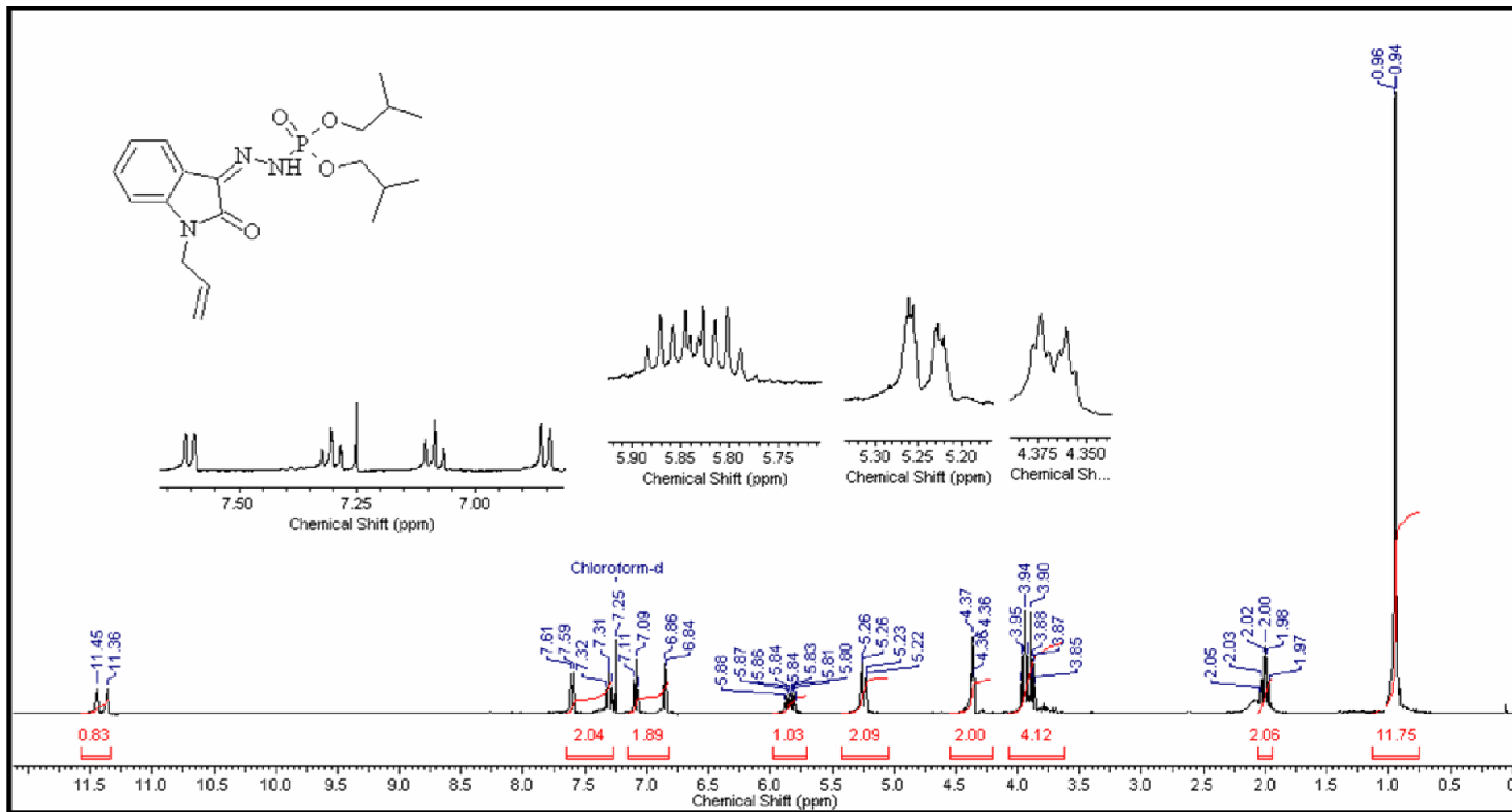


Figura 105: Espectro de RMN – ^1H (CDCl_3 -400MHz) do ácido fosforoidrazídico *N'*- [1,2-diidro-2-oxo-1-(2-propenil)-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (7).

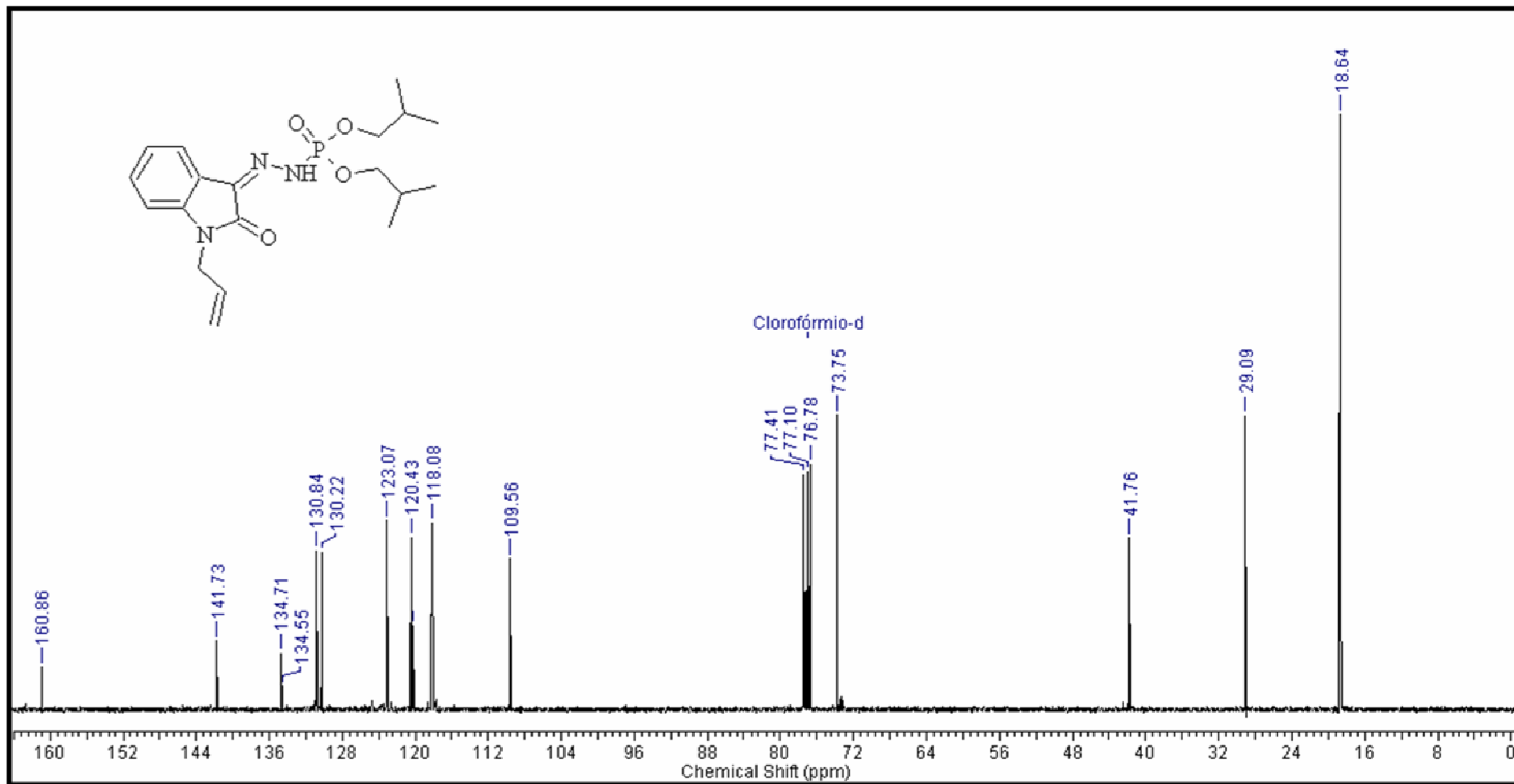


Figura 106: Espectro de RMN – ¹³C do ácido fosforidrazídico *N'*- [1,2-diidro-2-oxo-1-(2-propenil)-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (7).

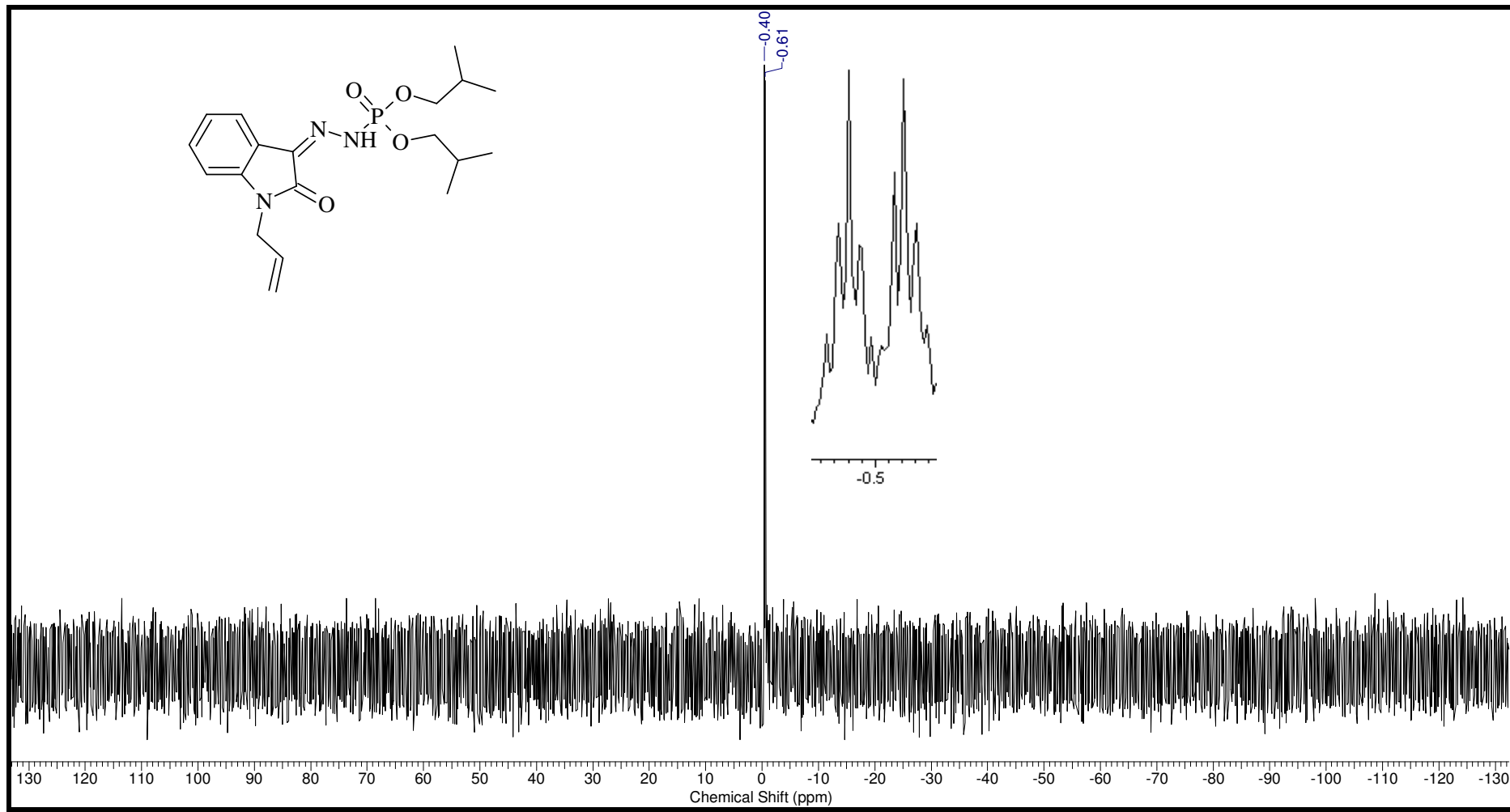


Figura 107: Espectro de RMN - ^{31}P acoplado do ácido fosforidrazídico *N'*- [1,2-diidro-2-oxo-1-(2-propenil)-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (7).

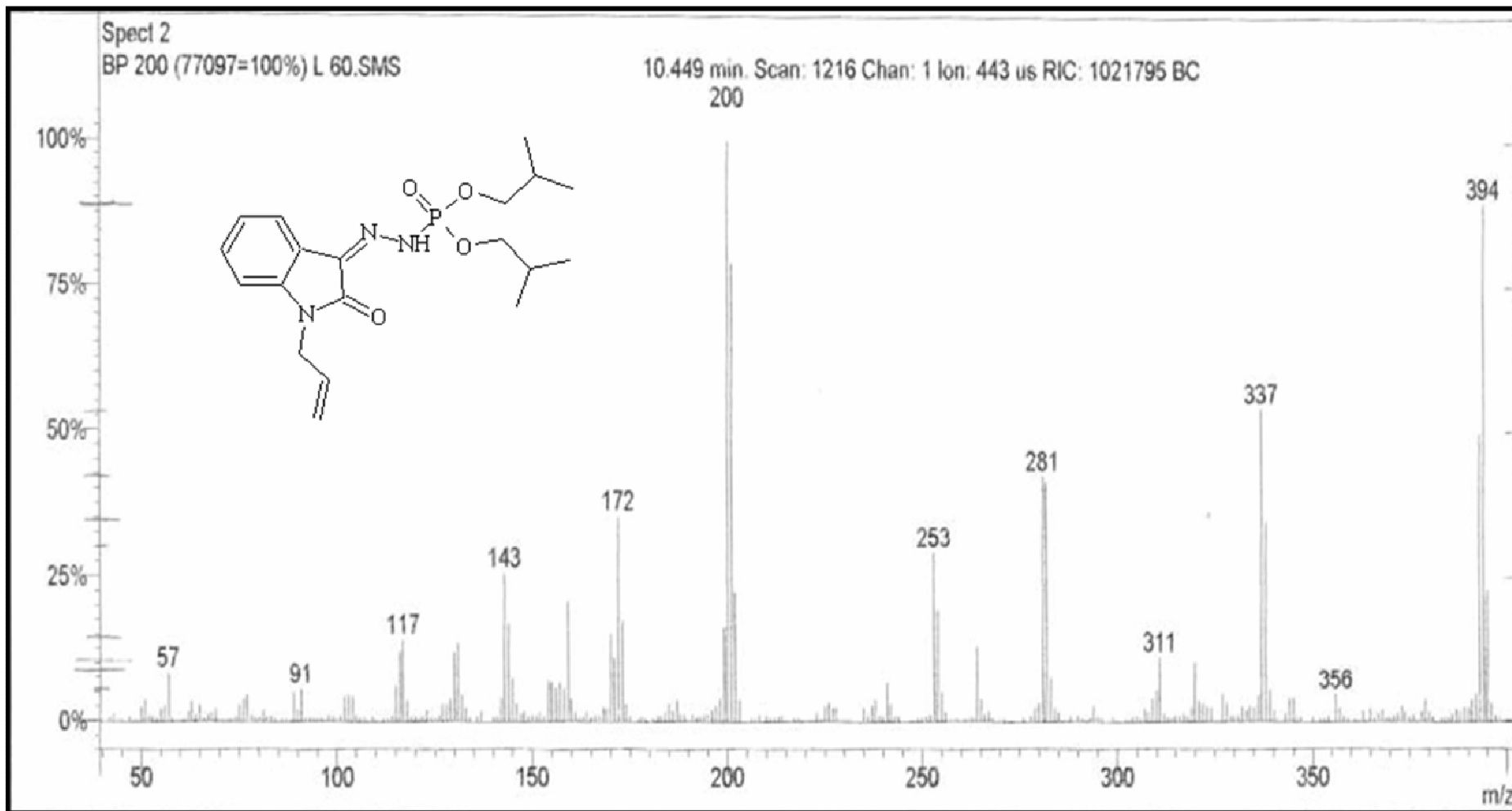


Figura 108: Espectro de massa do ácido fosforoidrazídico *N'*- [1,2-diidro-2-oxo-1-(2-propenil)-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (7).

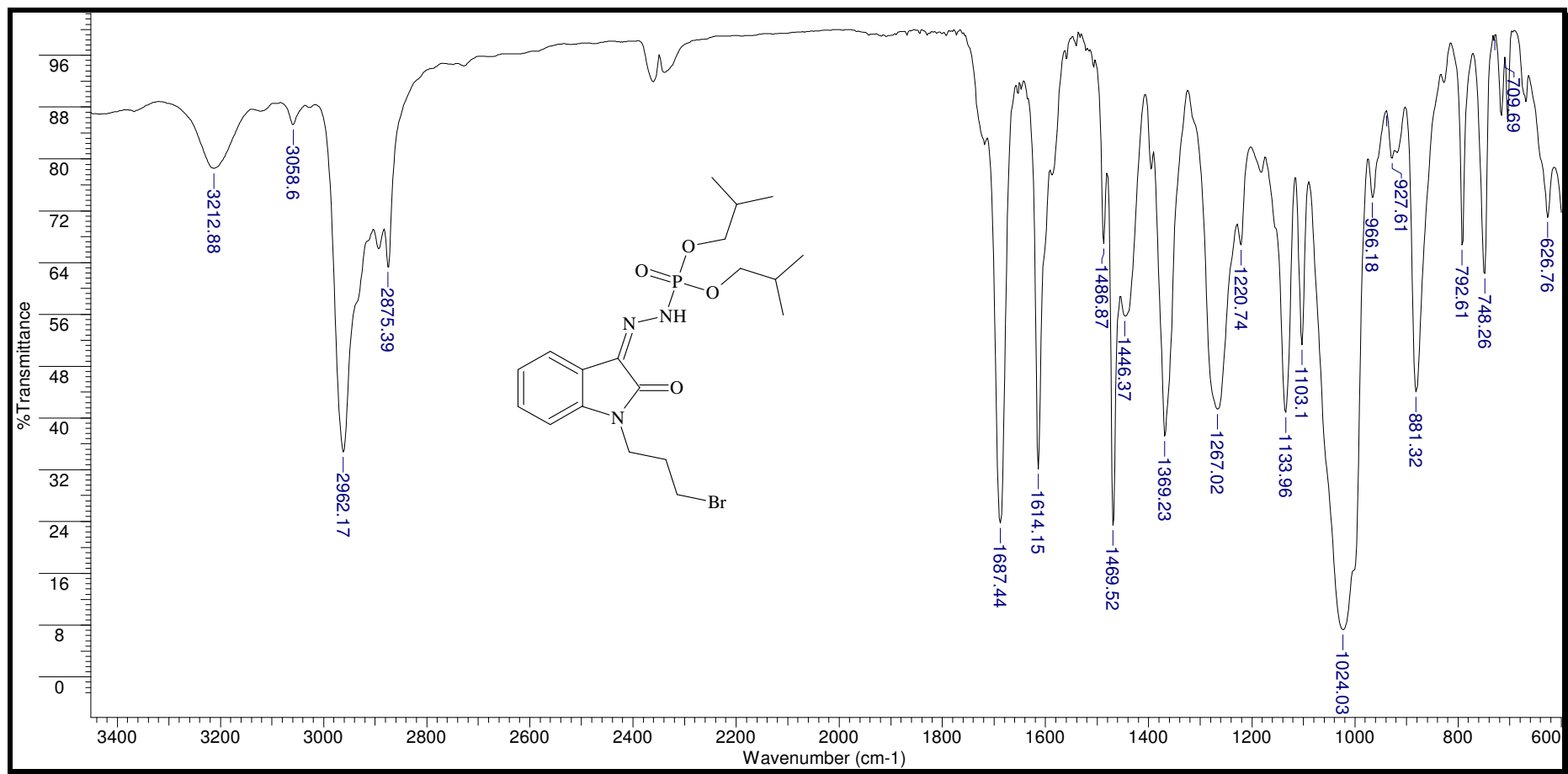


Figura 109: Espectro de infravermelho de ácido fosforoidrazídico *N'*- [1-(3-bromo propil)-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (8).

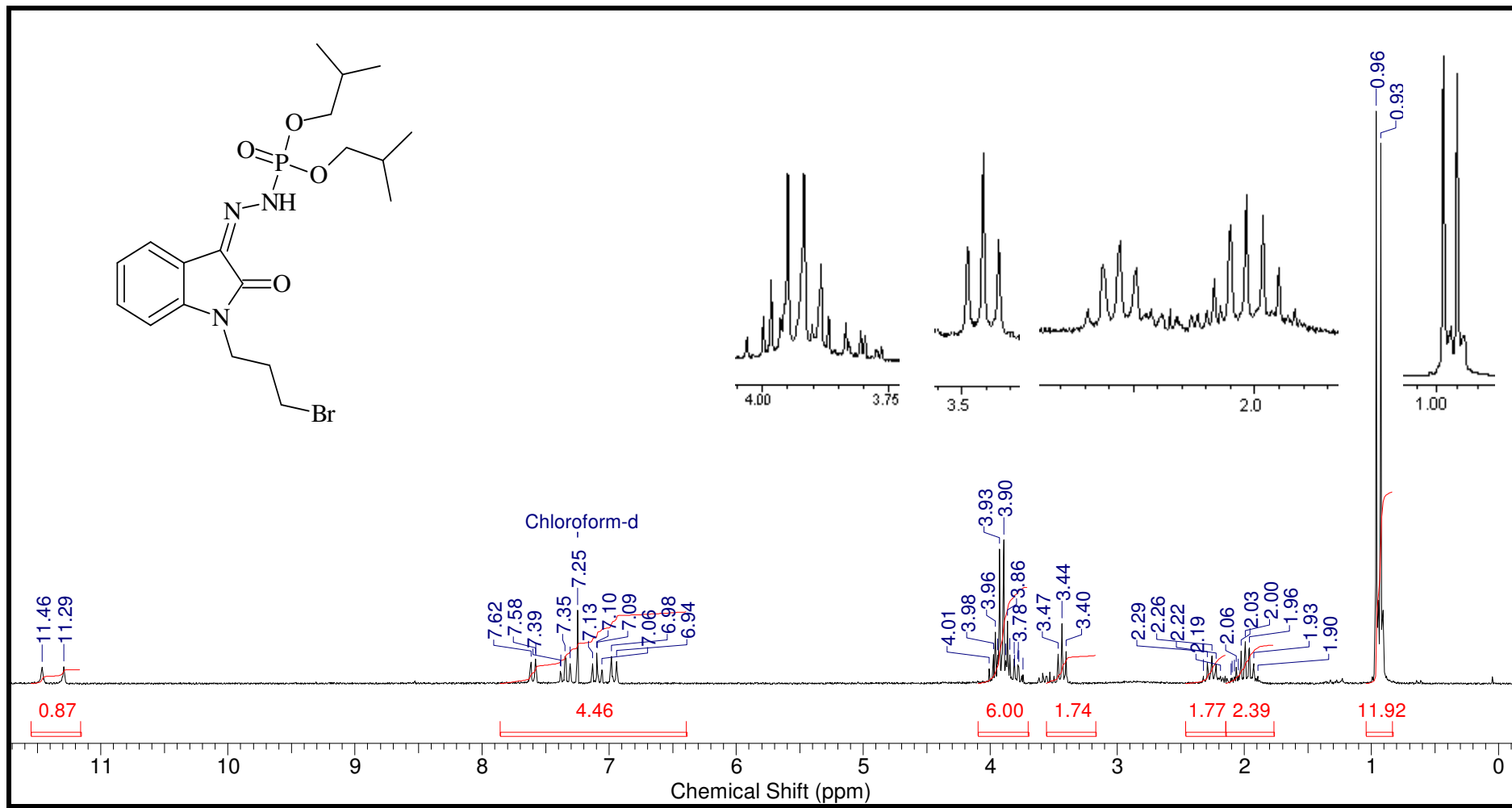


Figura 110: Espectro de RMN – ¹H (CDCl₃-200MHz) do ácido fosforidrazídico *N'*- [1-(3-bromo propil)-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (8).

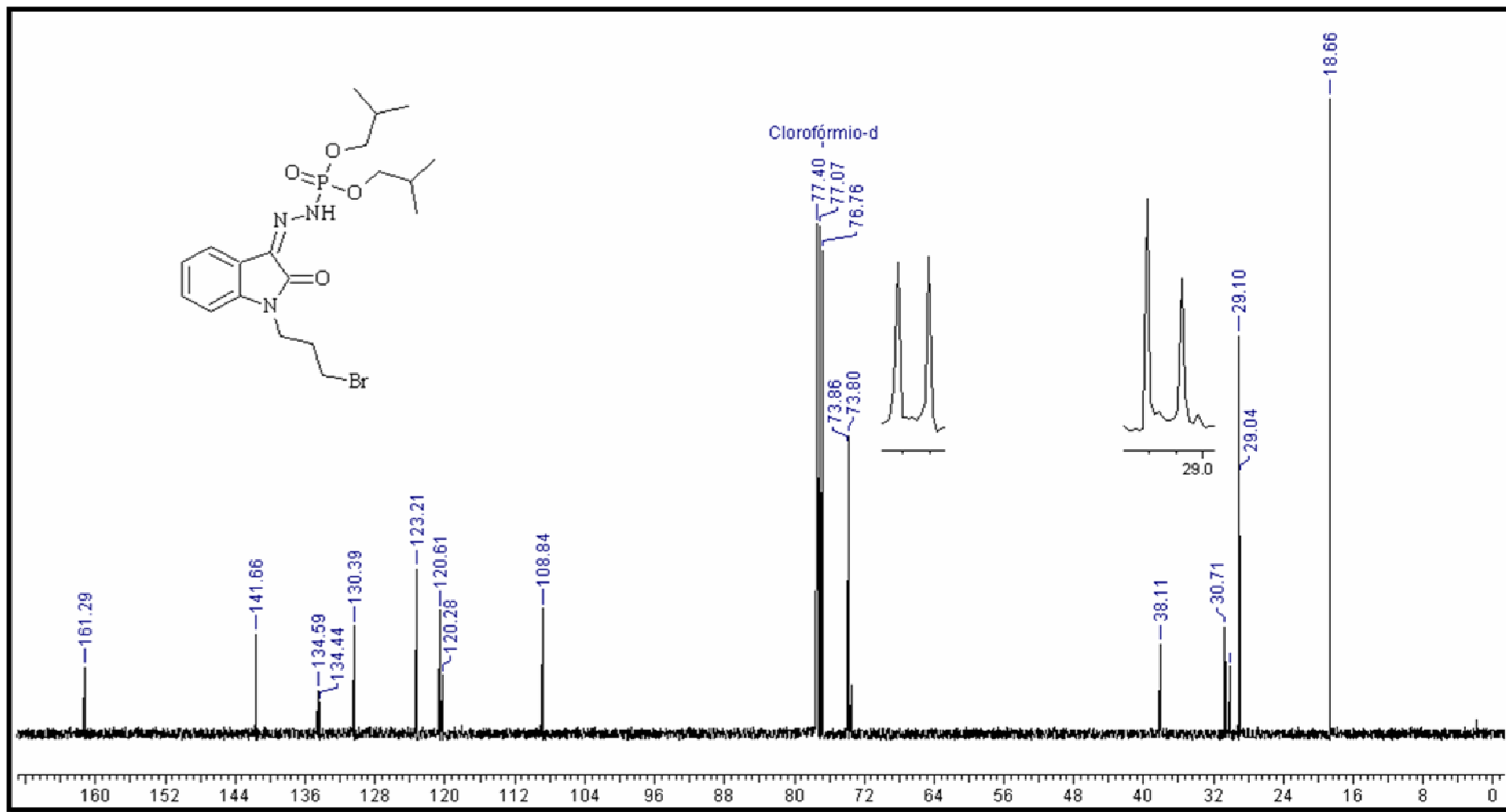


Figura 111: Espectro de RMN – ¹³C do ácido fosforoidrazídico *N'*- [1-(3-bromo propil)-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (8).

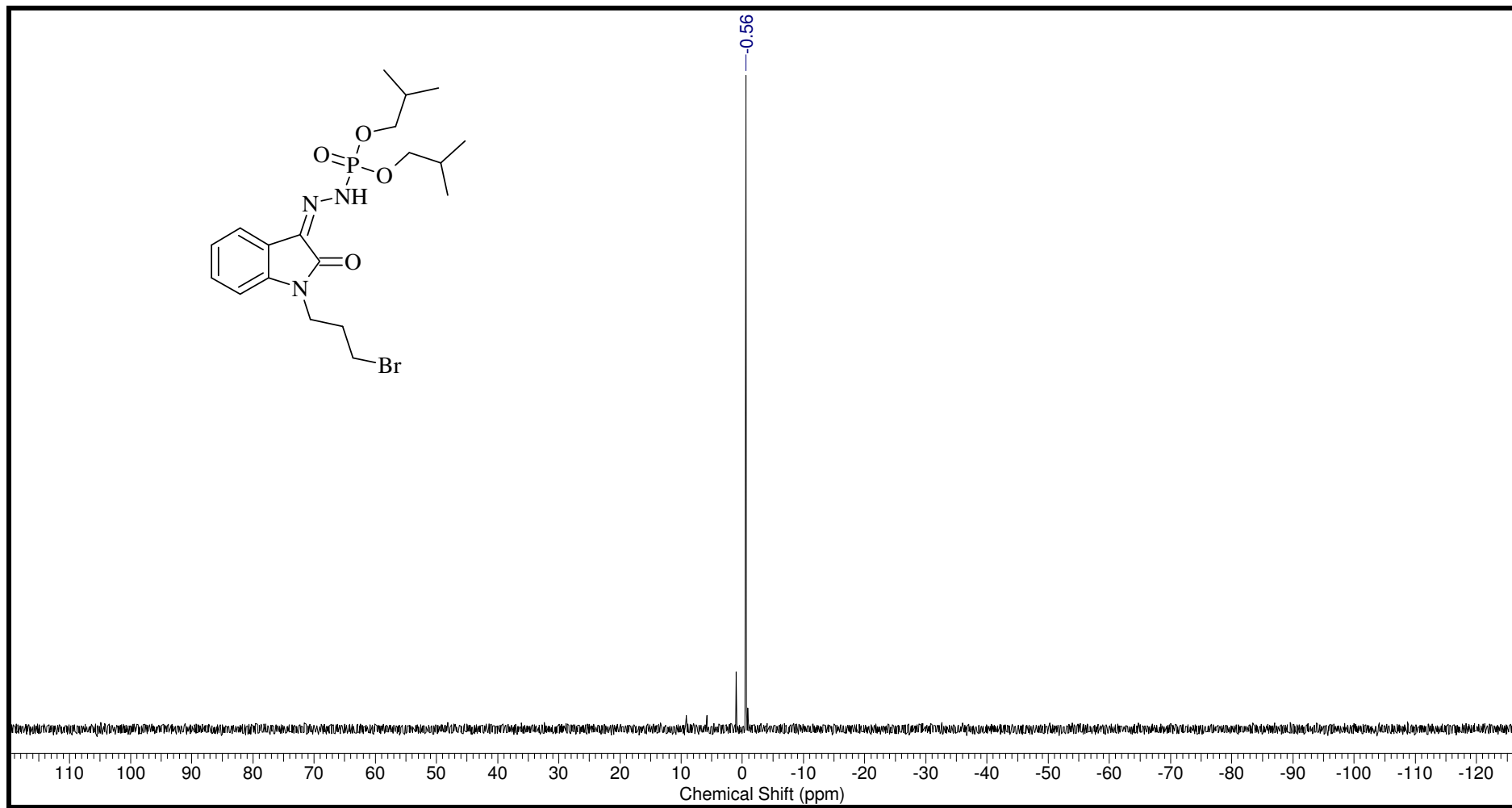


Figura 112: Espectro de RMN – ^{31}P desacoplado do ácido fosforodrazídico, N^7 - [1-(3-bromo propil)-1,2-diidro-2-oxo-3H-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (8).

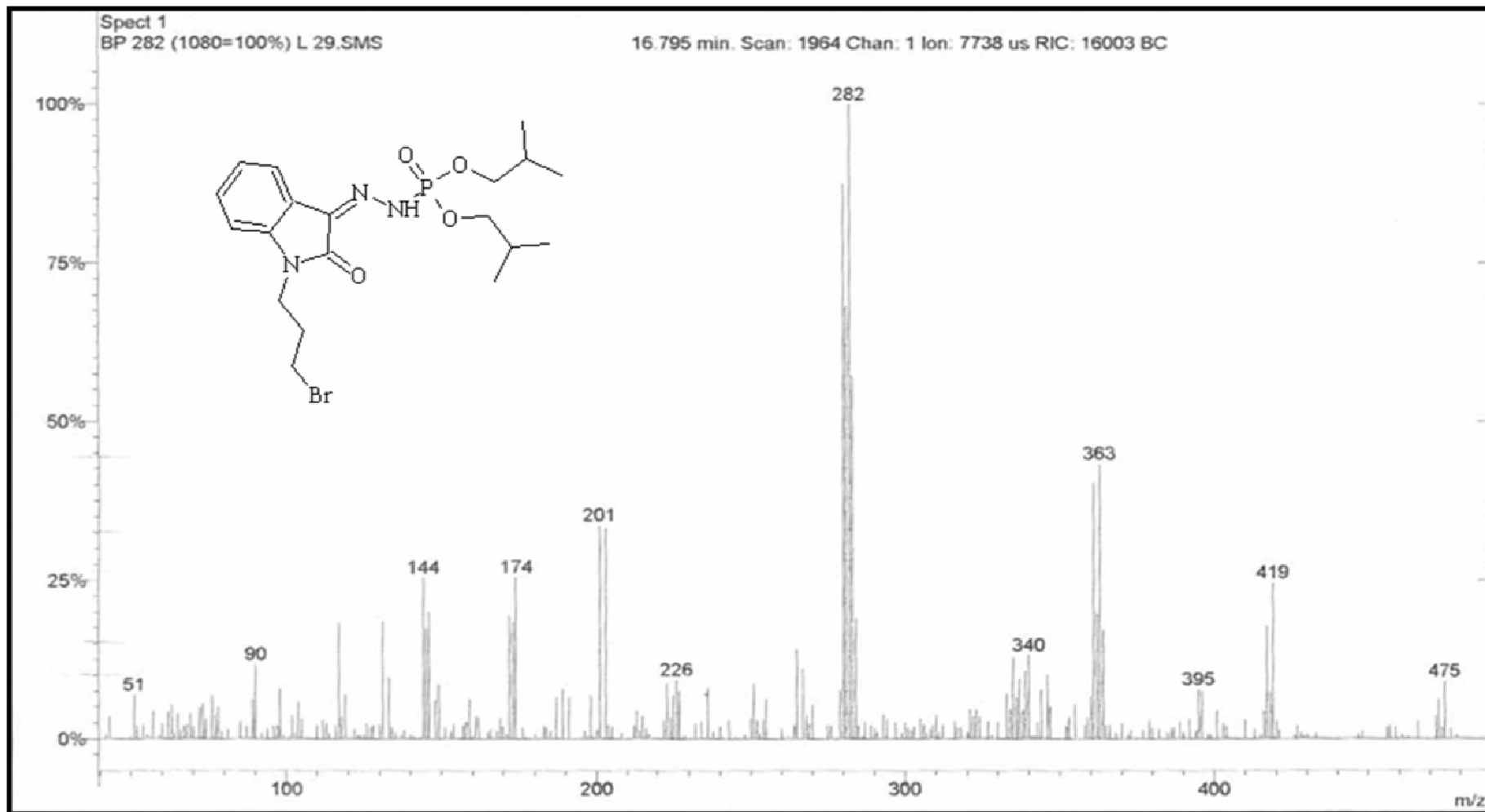


Figura 113: Espectro de massas do ácido fosforodrazídico, *N'*- [1-(3-bromo propil)-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (8).

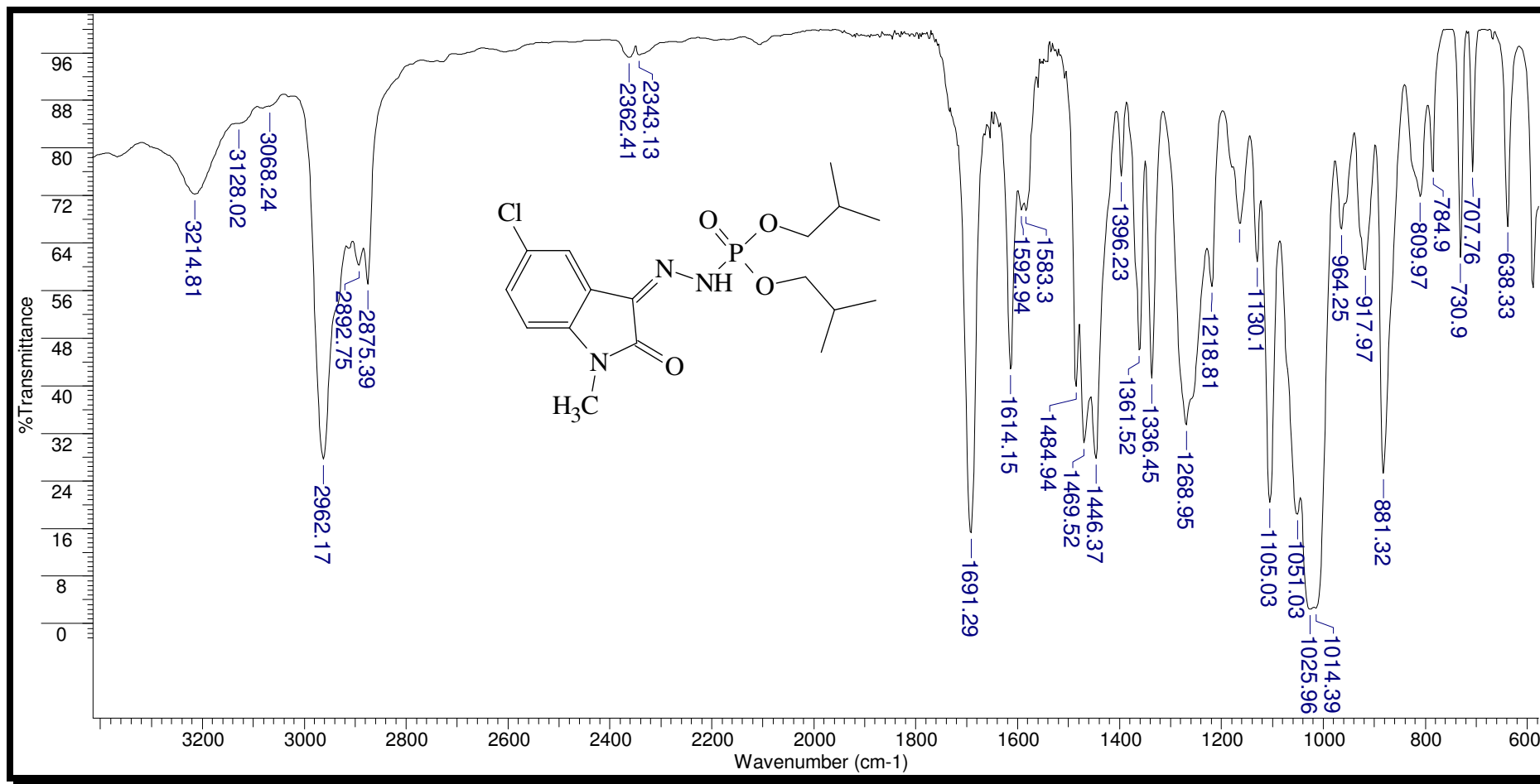


Figura 114: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico, N'- [5-cloro-1,2-diidro-1-metil-2oxo-3H-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutíla (9).

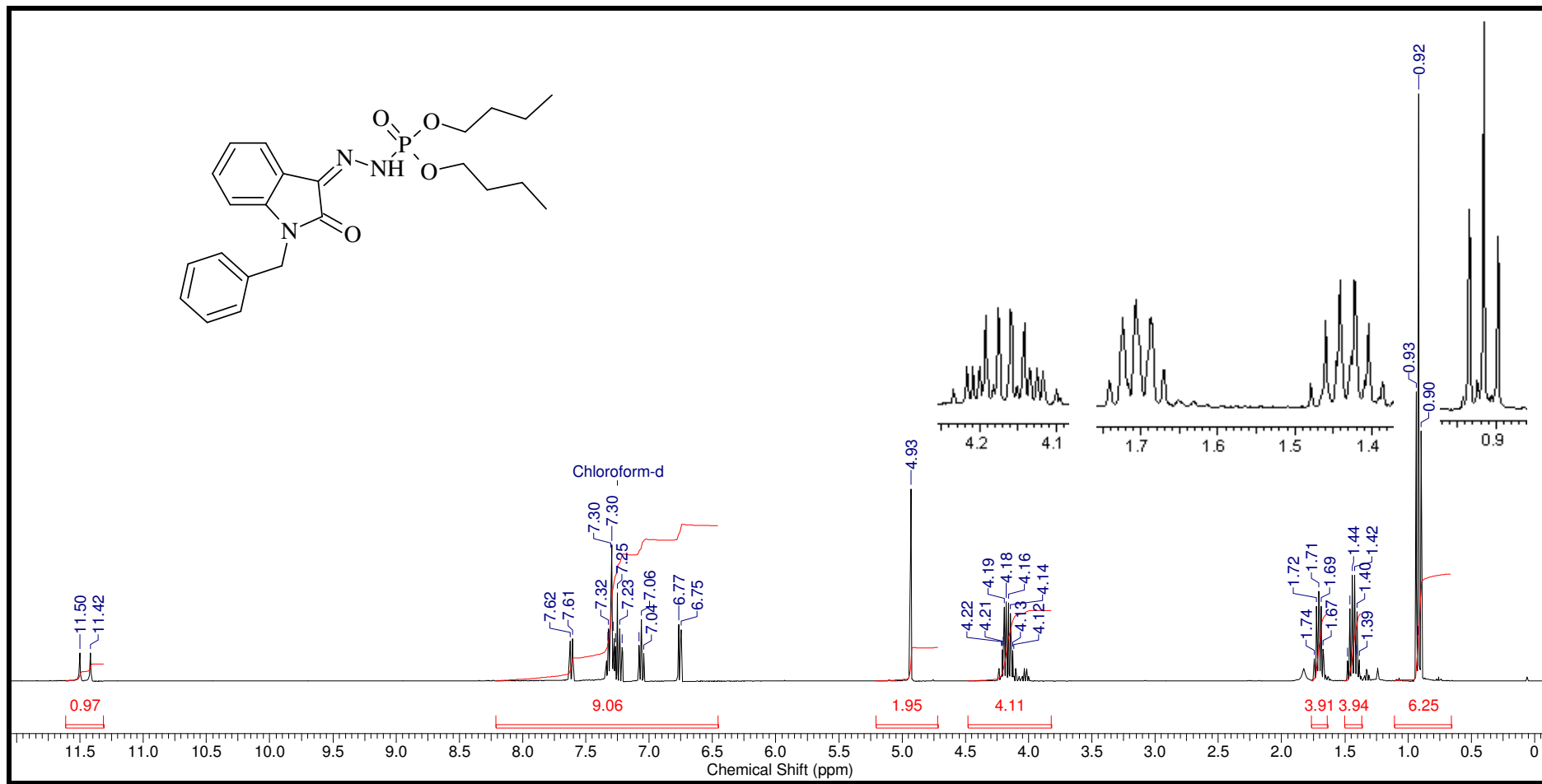


Figura 115: Espectro de RMN – ¹H (CDCl₃-400MHz) do ácido fosforidrazídico, *N'*- [5-cloro-1,2-diidro-1-metil-2oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (9).

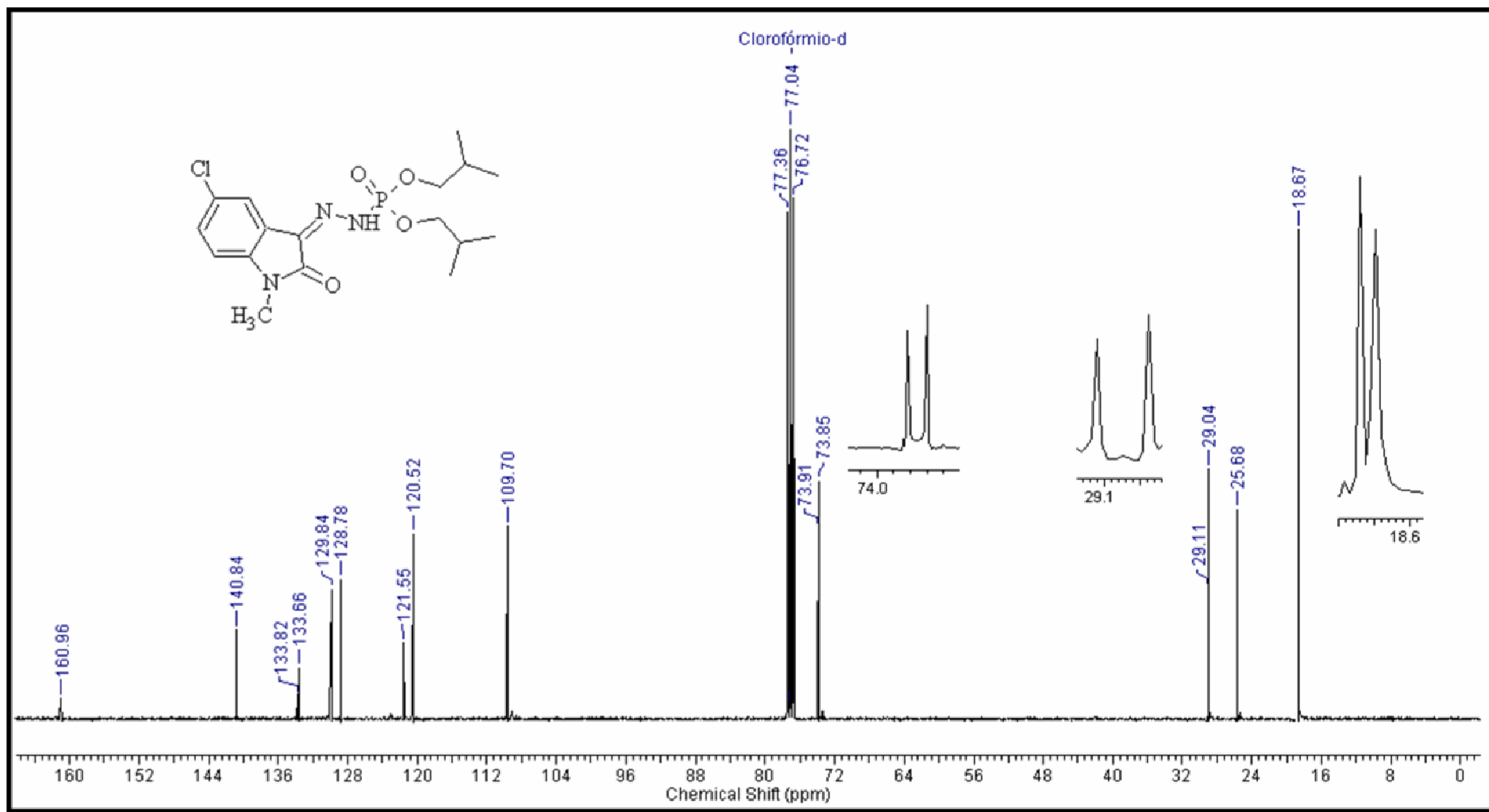


Figura 116: Espectro de RMN – ^{13}C do ácido fosforodrazídico, *N'*- [5-cloro-1,2-diidro-1-metil-2oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (9).

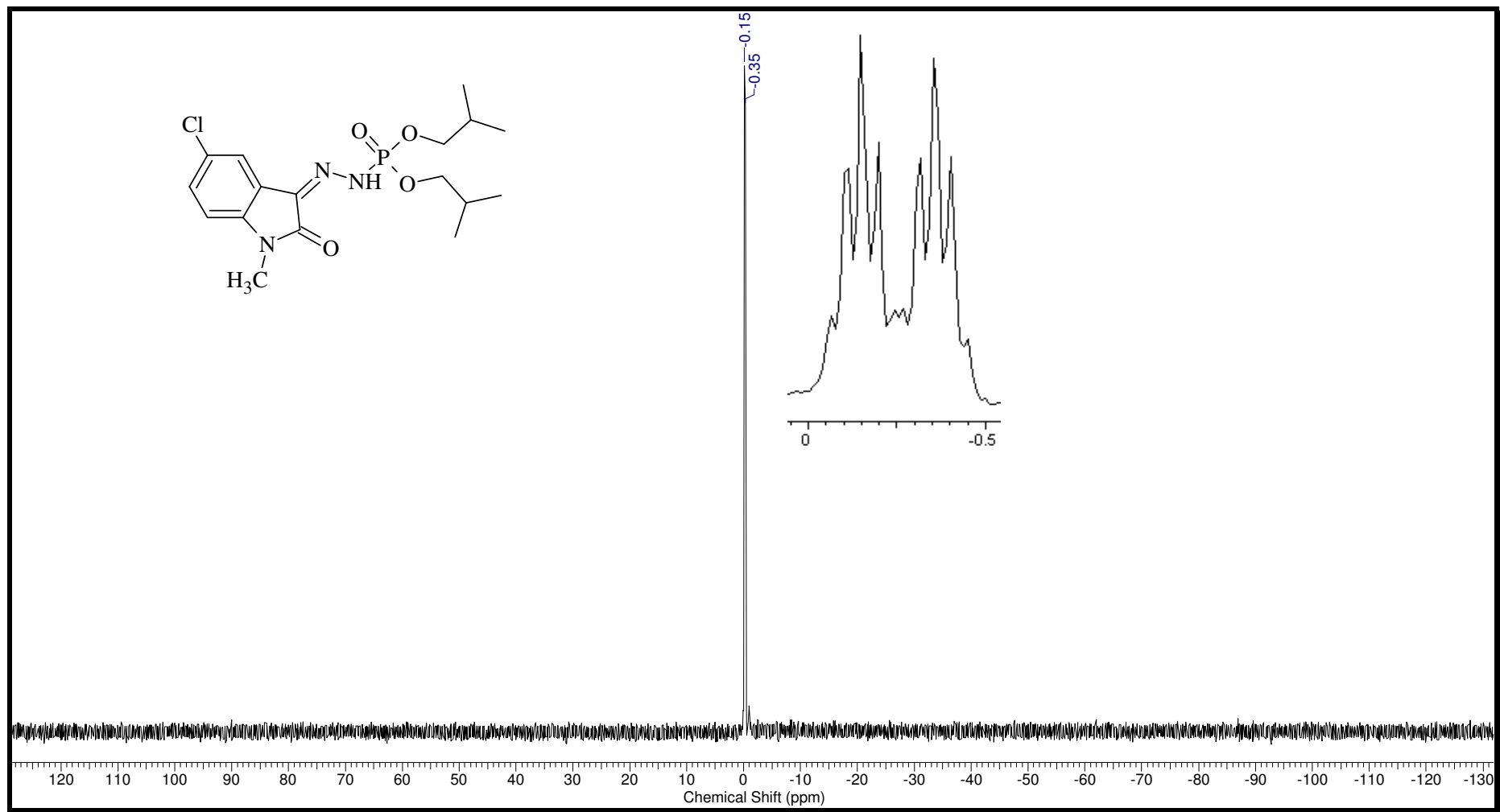


Figura 117: Espectro de RMN - ^{31}P acoplado do ácido fosforodrazídico, N '- [5-cloro-1,2-diidro-1-metil-2oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (9).

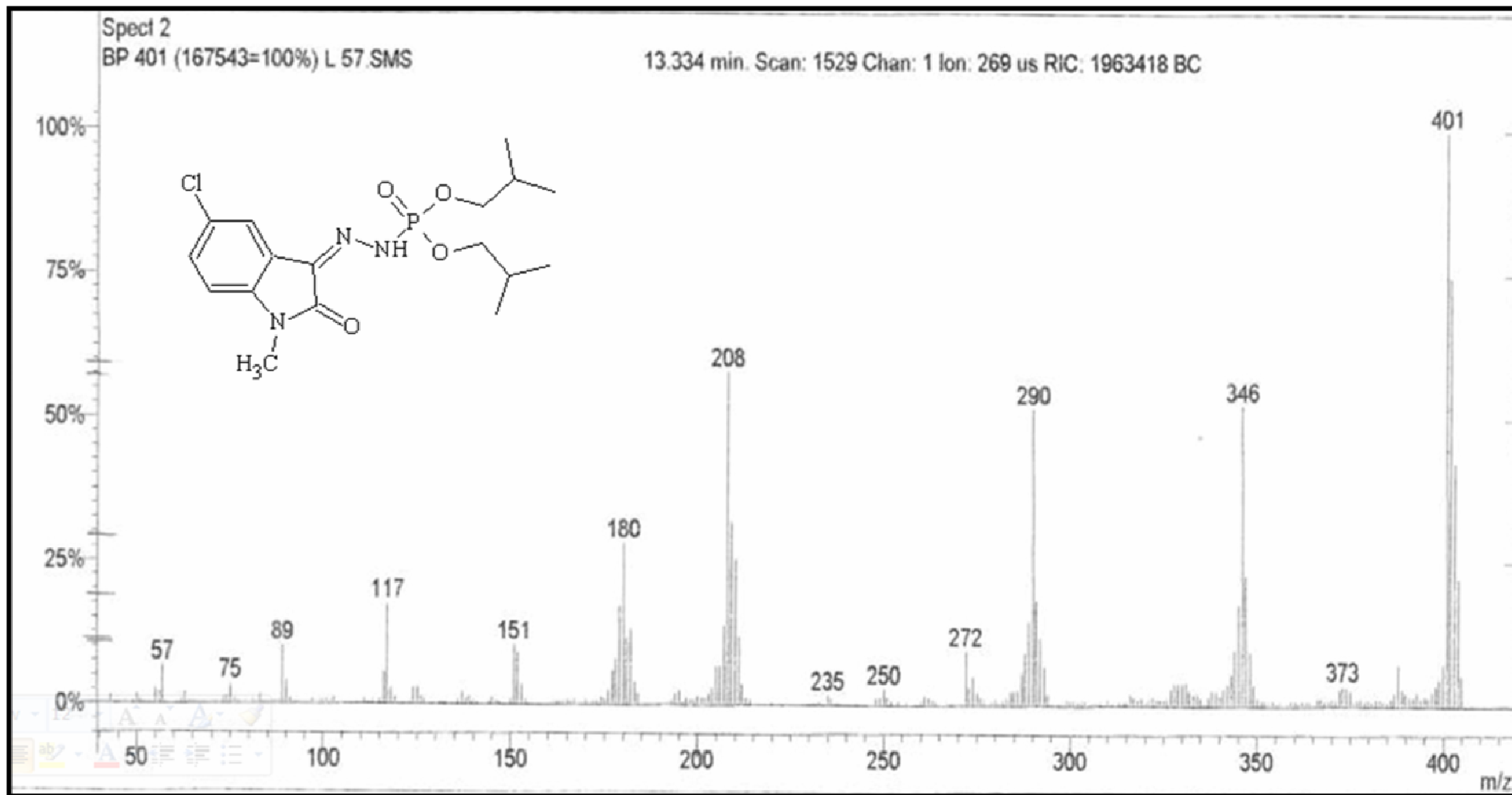


Figura 118: Espectro de massas do ácido fosforoidrazídico, *N'*- [5-cloro-1,2-diidro-1-metil-2oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de diisobutila (9).

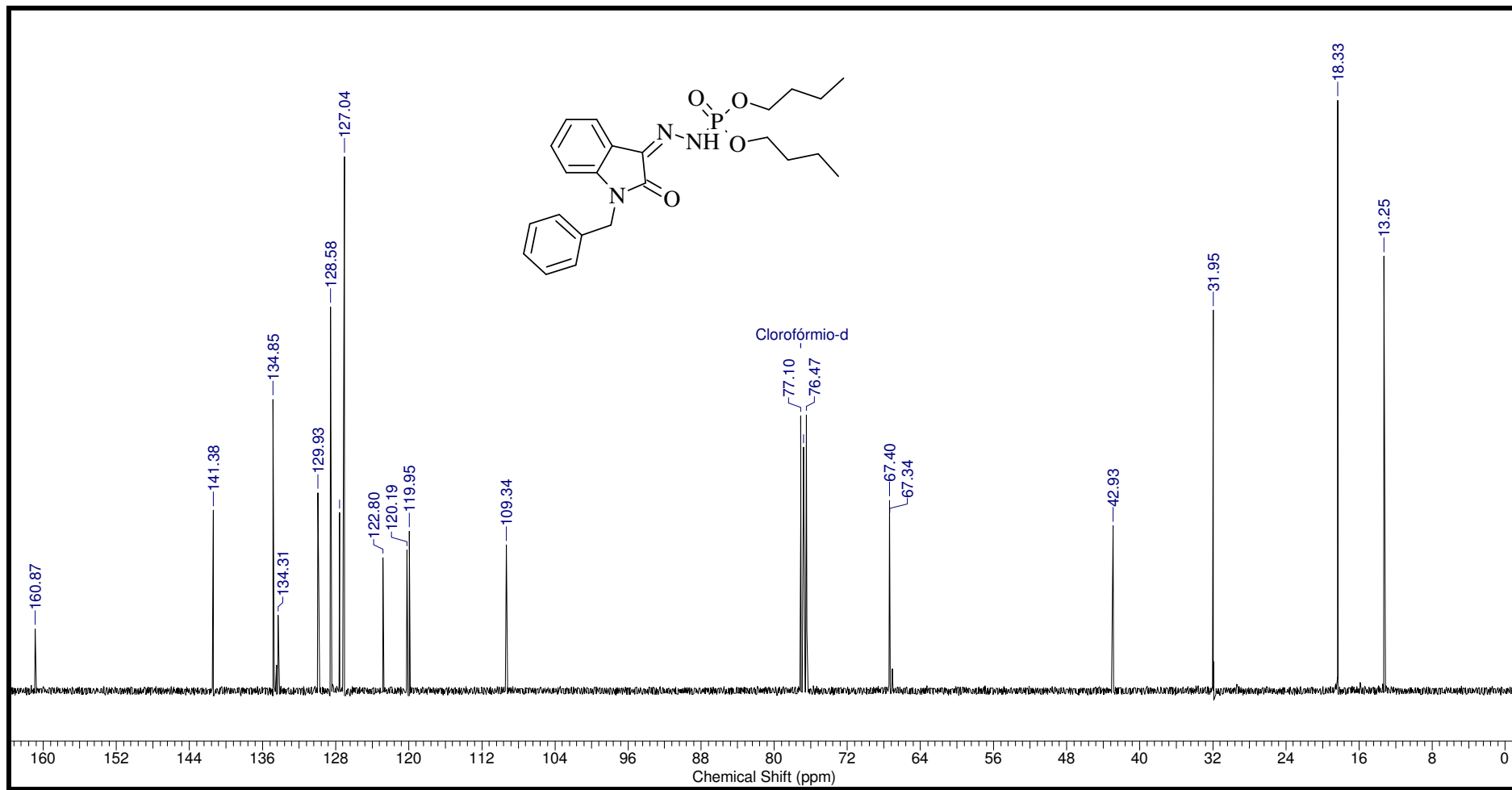


Figura 119: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-1-(fenilmetil)-3*H*-indol-3-ilideno] éster de dibutila (10).

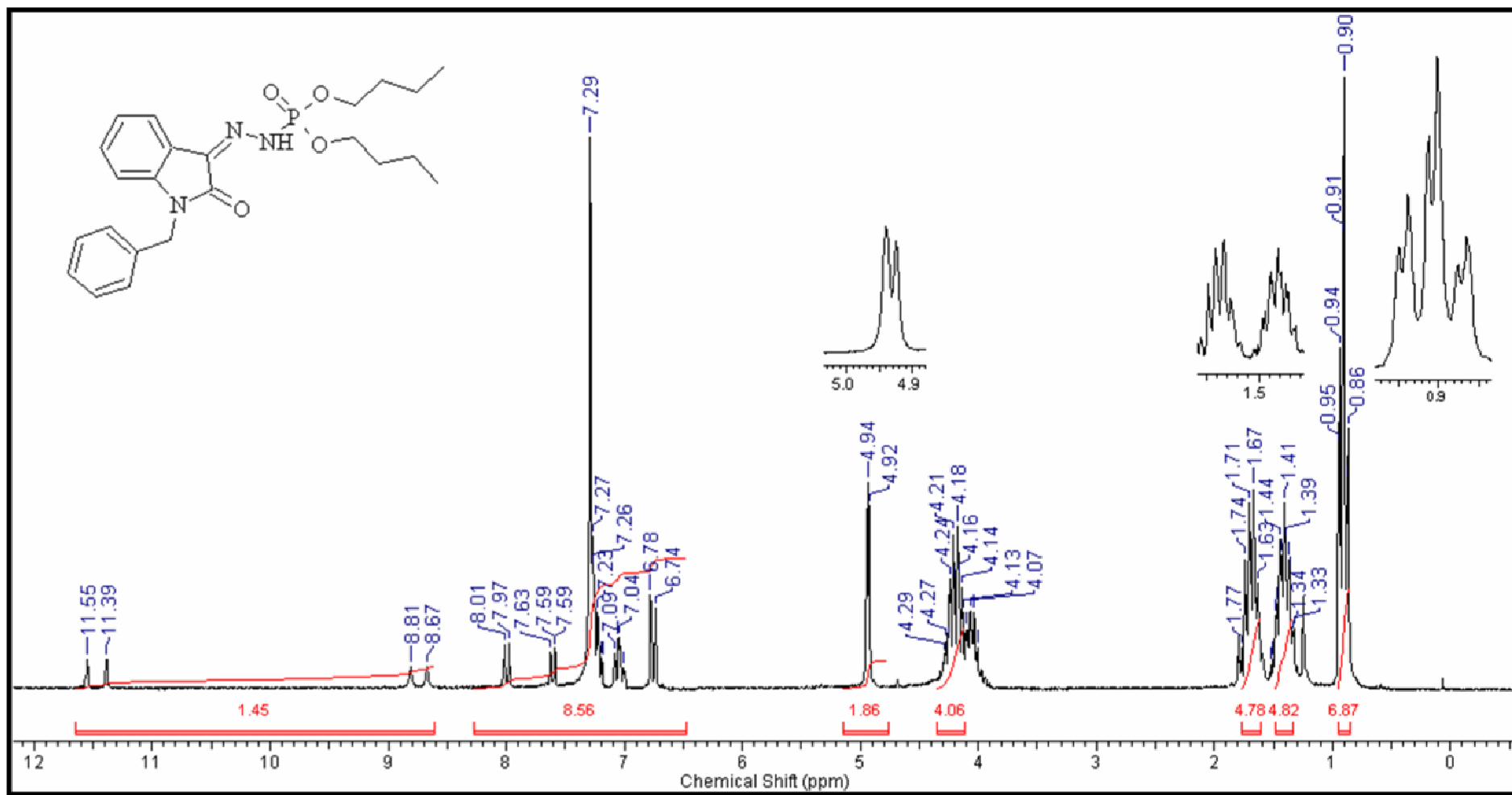


Figura 120: Espectro de RMN- ^1H (CDCl₃-200MHz) do ácido fosforoidrazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3*H*-indol-3-ilideno] éster de dibutila (10).

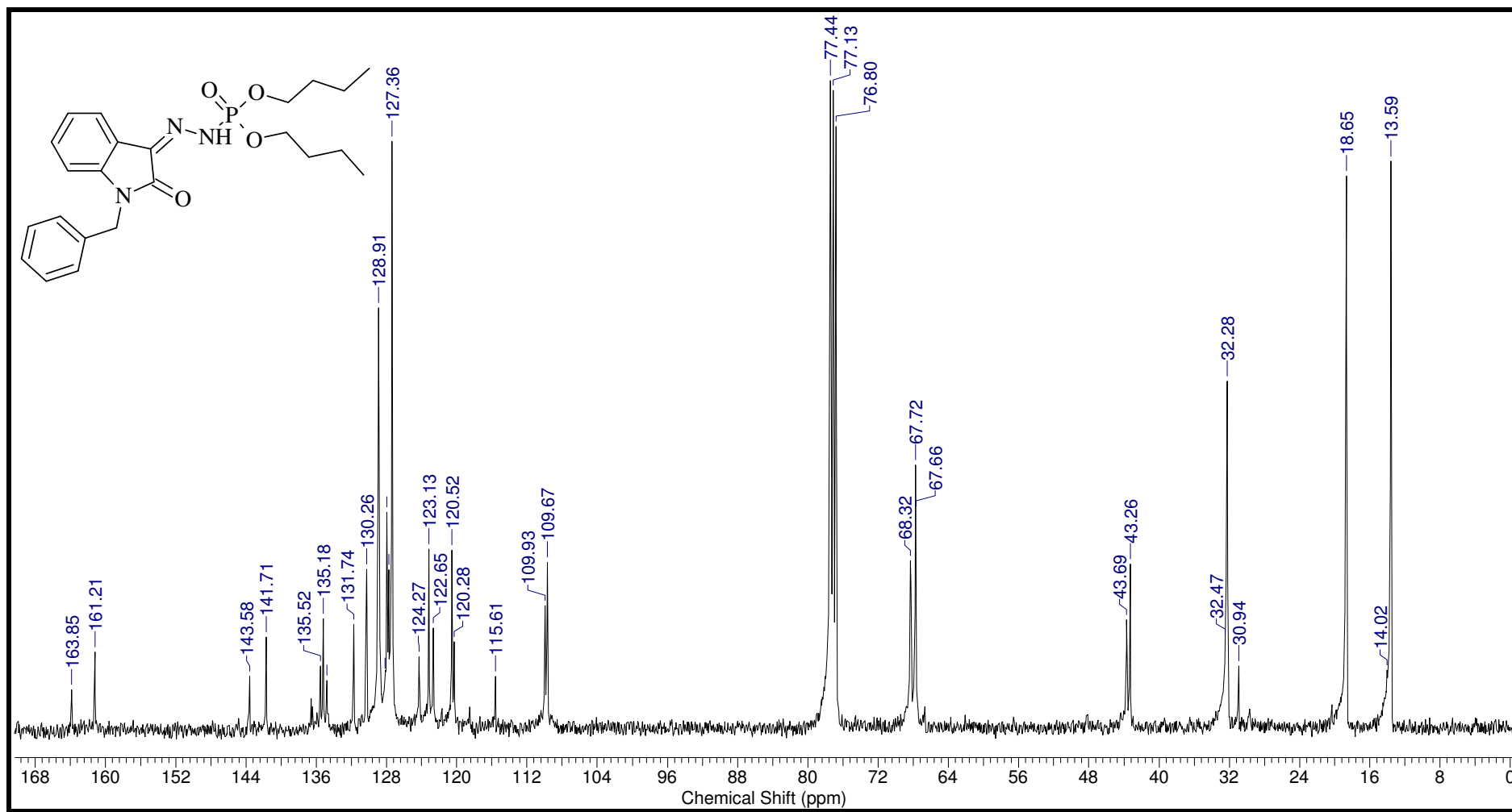


Figura 121: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃-200MHz) do ácido fosforidrazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3*H*-indol-3-ilideno] éster de dibutila (10).

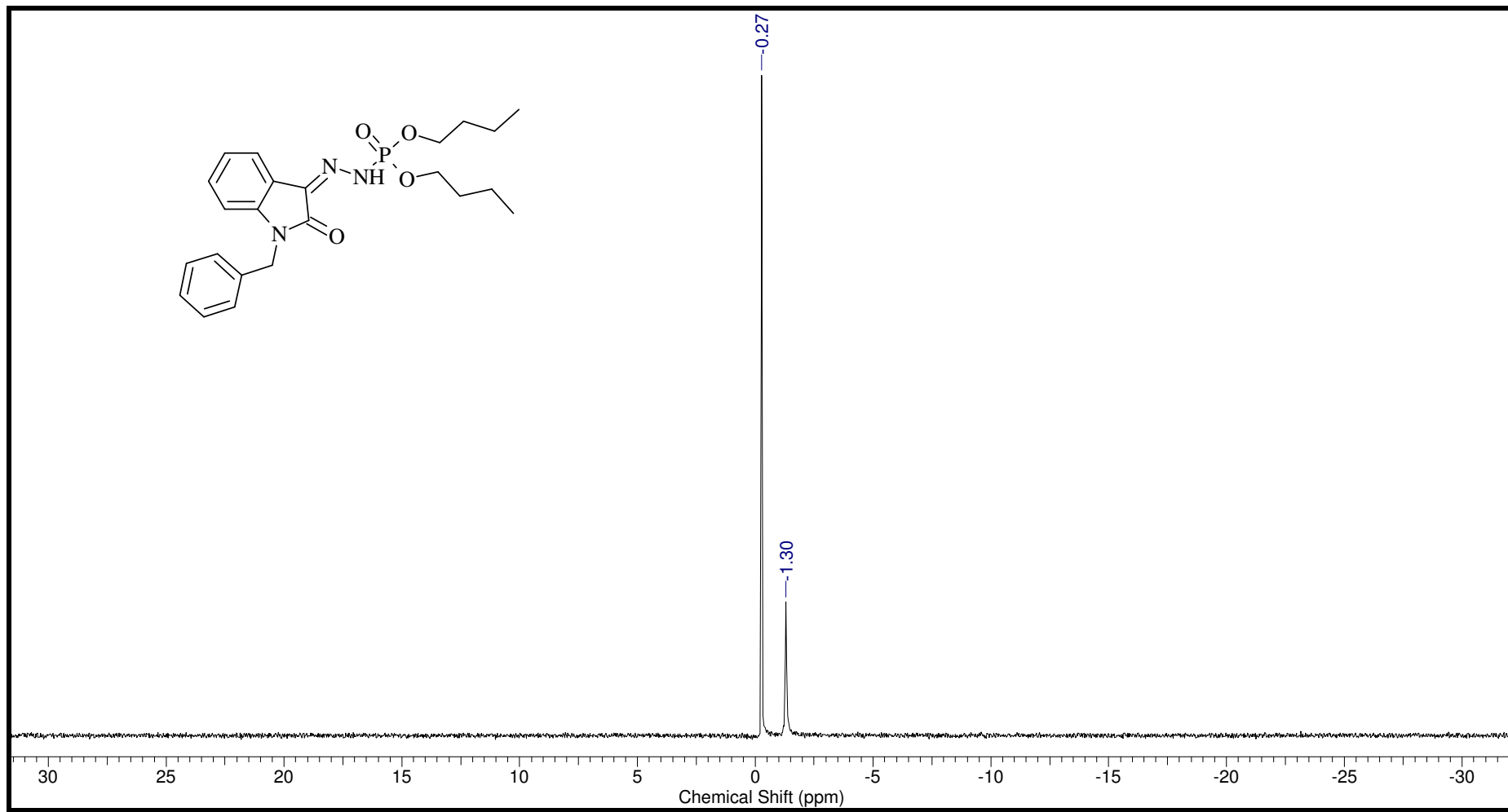


Figura 122: Espectro de RMN- ^{31}P desacoplado do ácido fosforodrazídico N' -[1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3*H*-indol-3-ilideno] éster de dibutila (10).

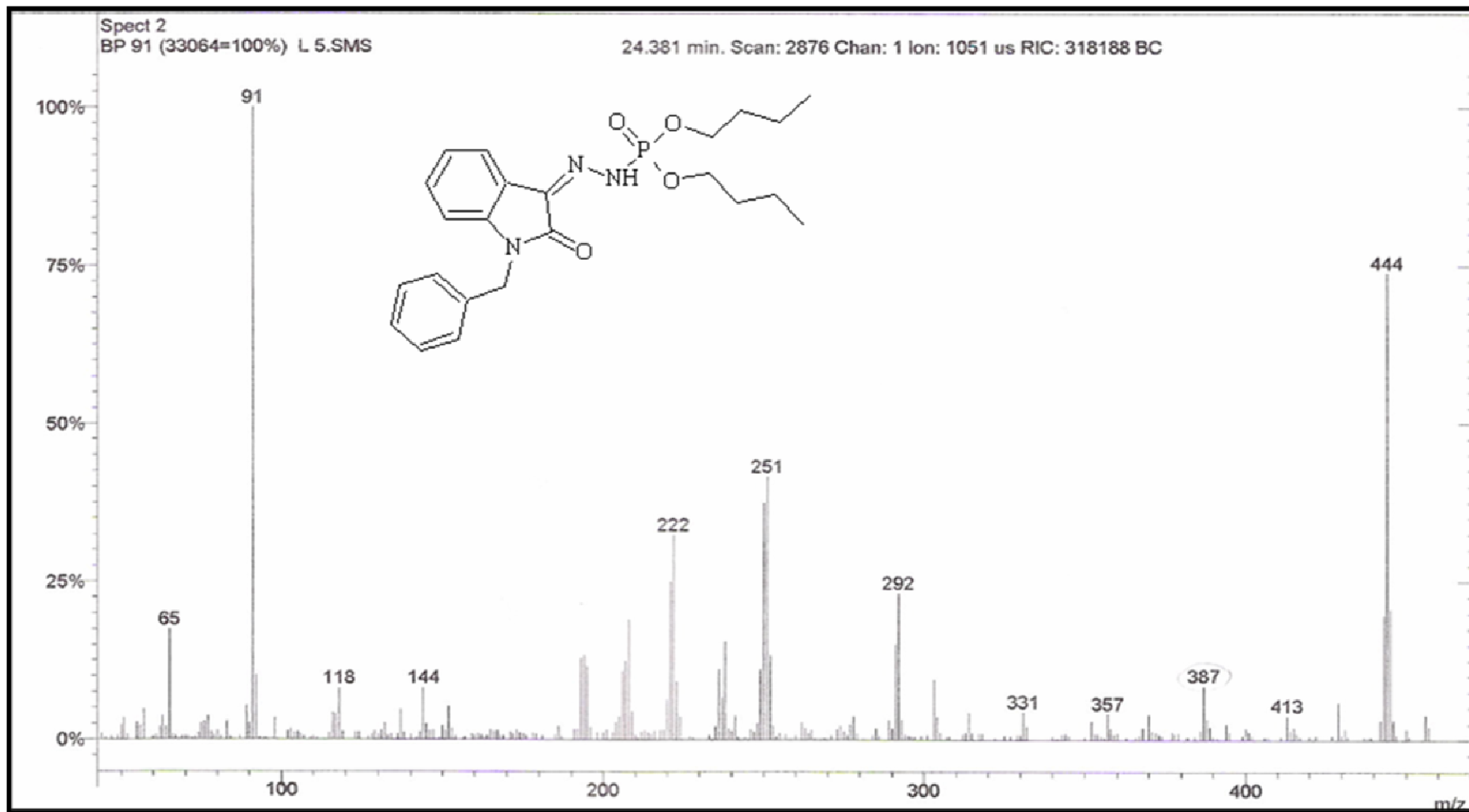


Figura 123: Espectro de massas do ácido fosforimidrazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-1-(fenilmetil)-3*H*-indol-3-ilideno] éster de dibutila (10).

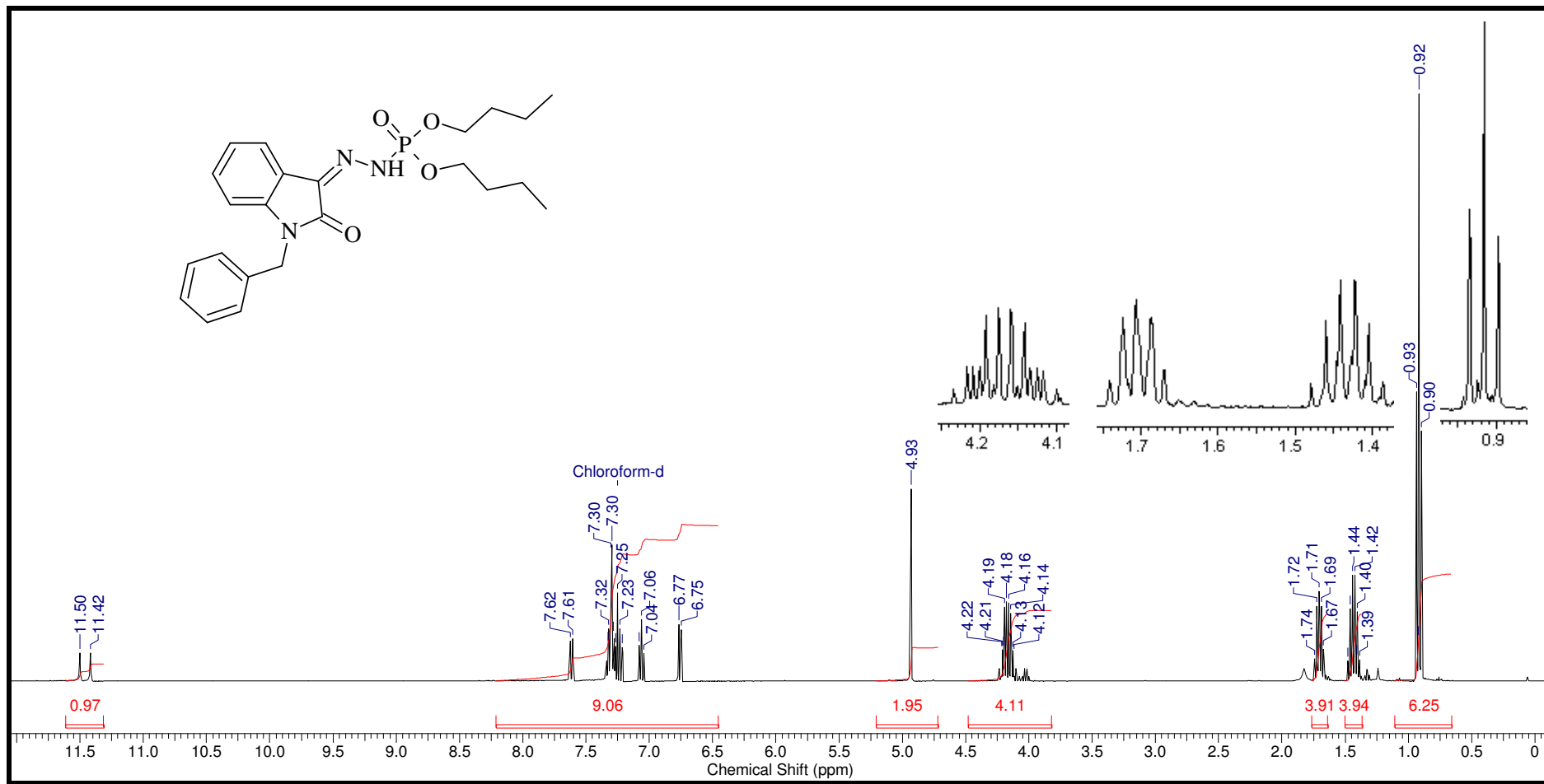


Figura 124: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃-400MHz) do ácido fosforidrazídico *N*'-[(3*Z*)-1,2-dihidro-2-oxo-1-(benzil)-3*H*-indol-3-ilideno] éster de dibutila (10a).

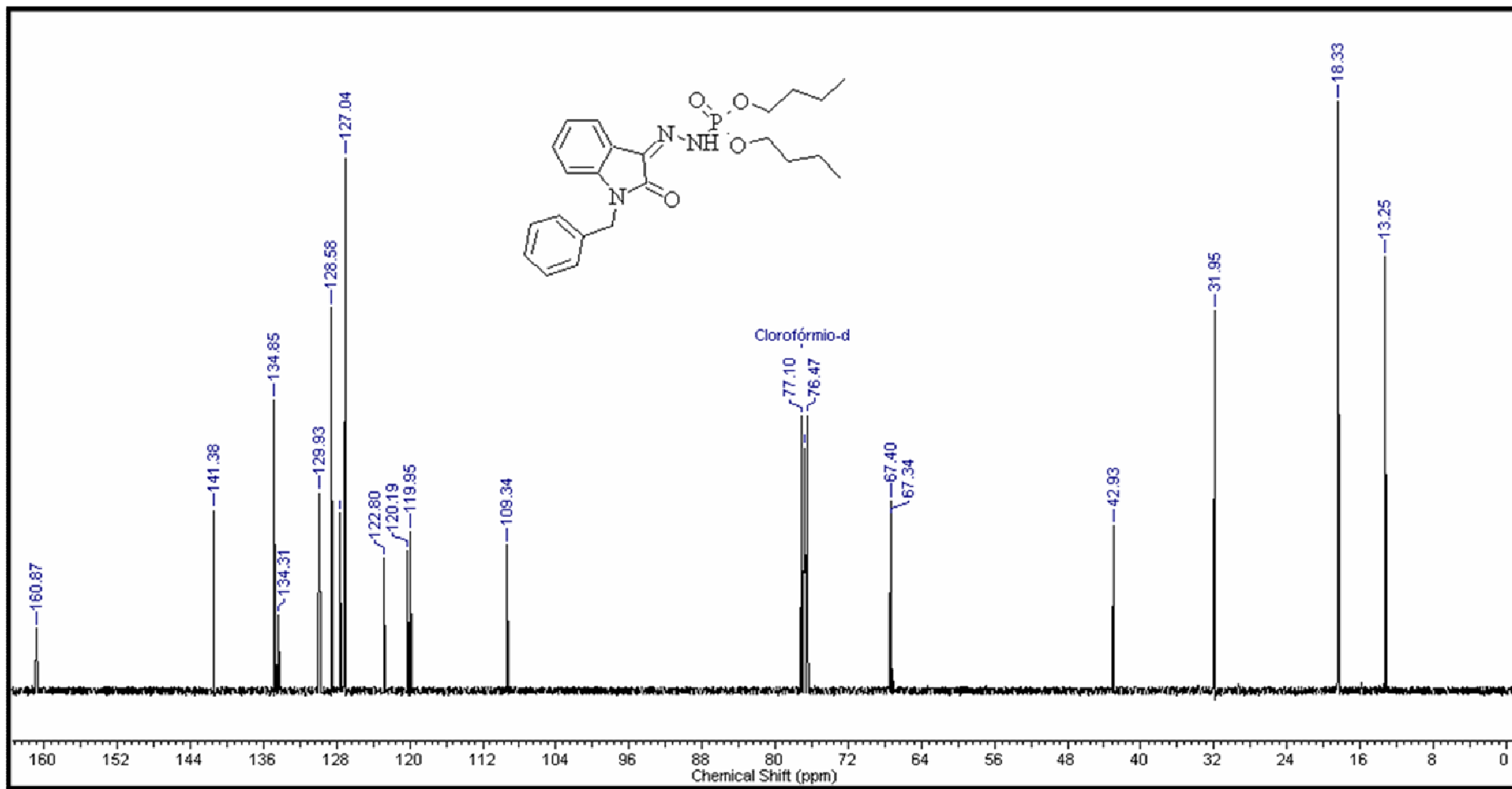


Figura 125: Espectro de RMN-¹³C do ácido fosforoidrazídico *N*'-[(3*Z*)-1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3*H*-indol-3-ilideno] éster de dibutila (10a).

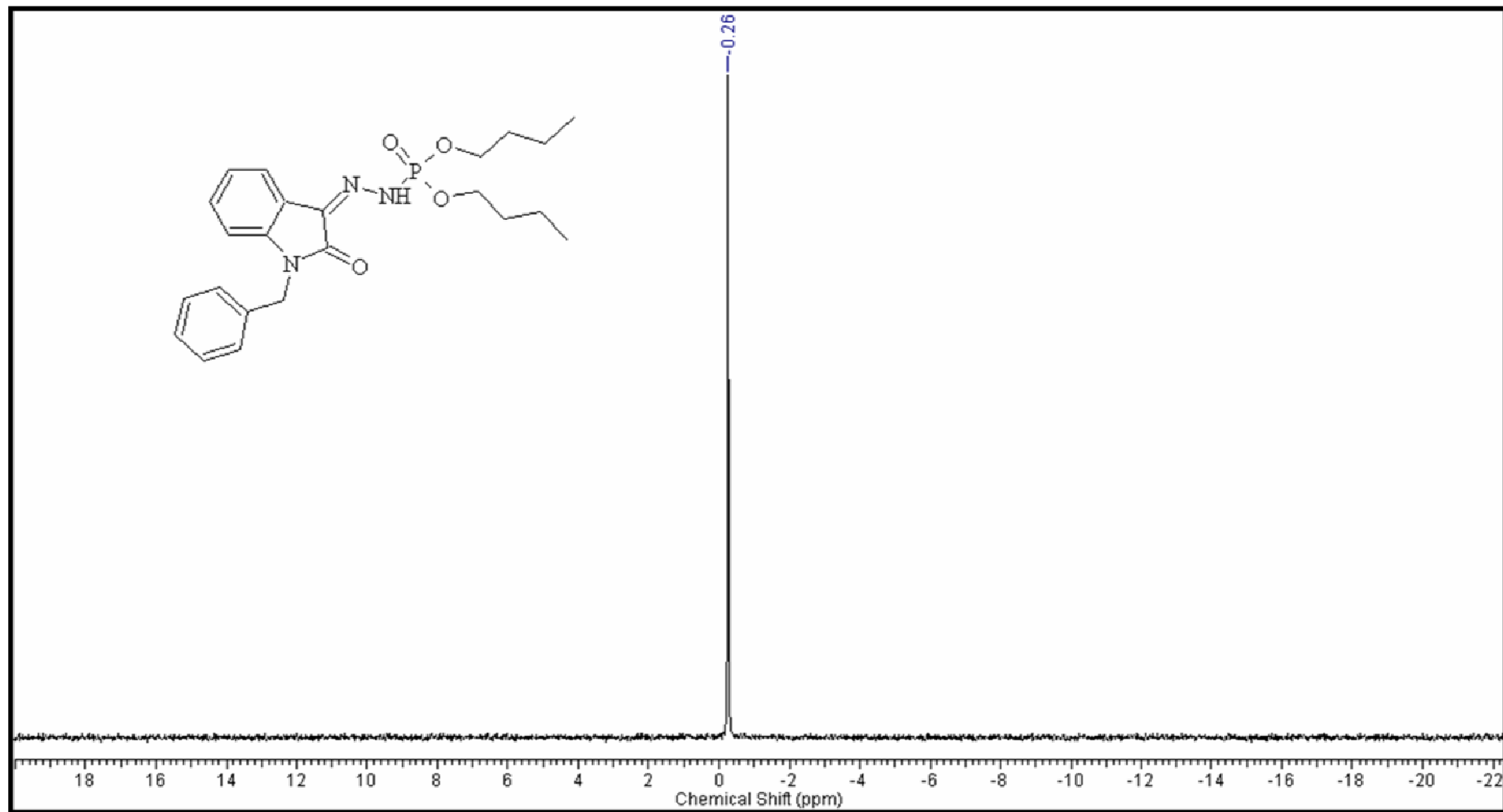


Figura 126: Espectro de RMN- ^{31}P desacoplado do ácido fosfoídrazídico *N'*-[(3*Z*)-1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3*H*-indol-3-ilideno] éster de dibutila (10a).

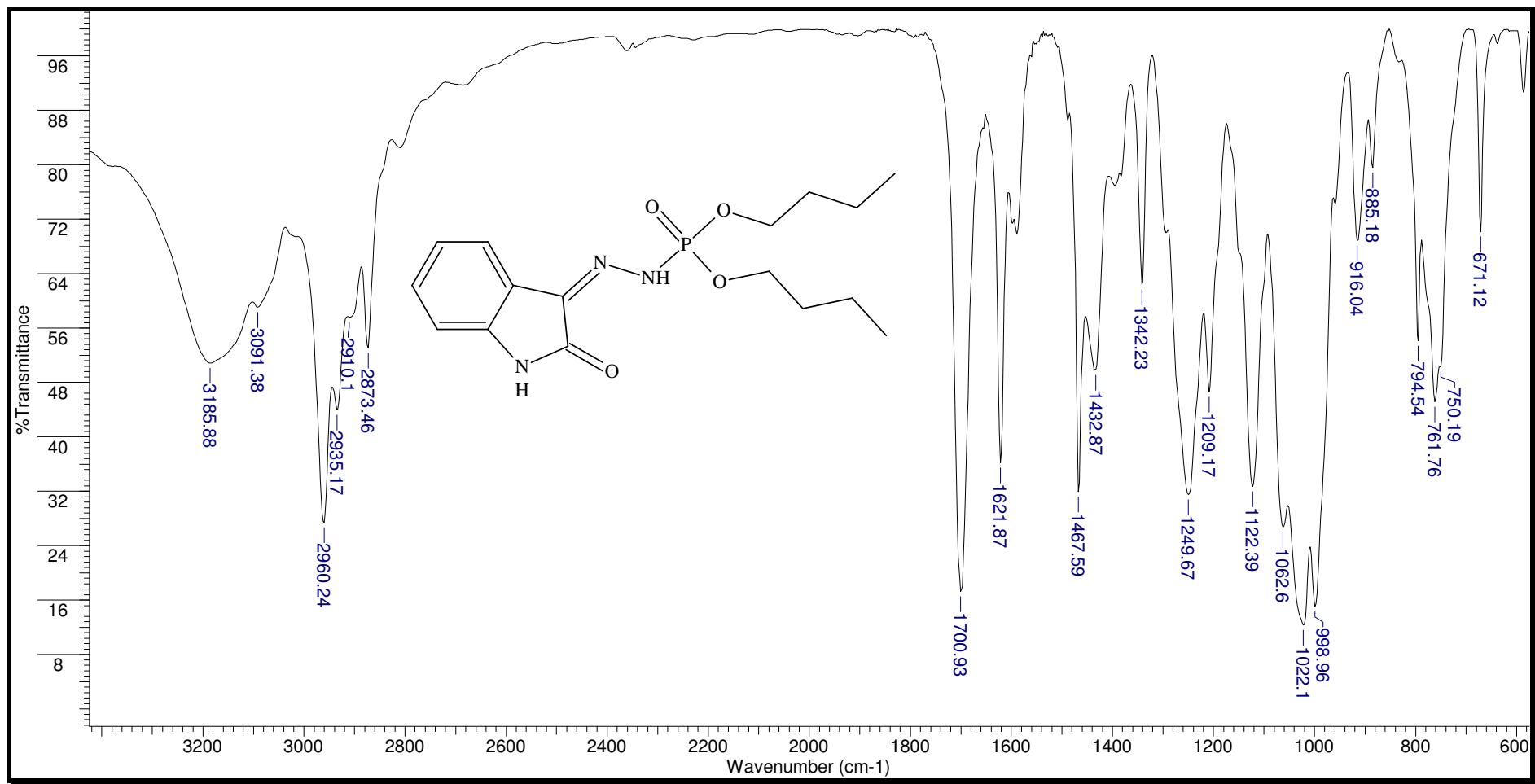


Figura 127: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico *N*^o-[1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno] éster de dibutila (11).

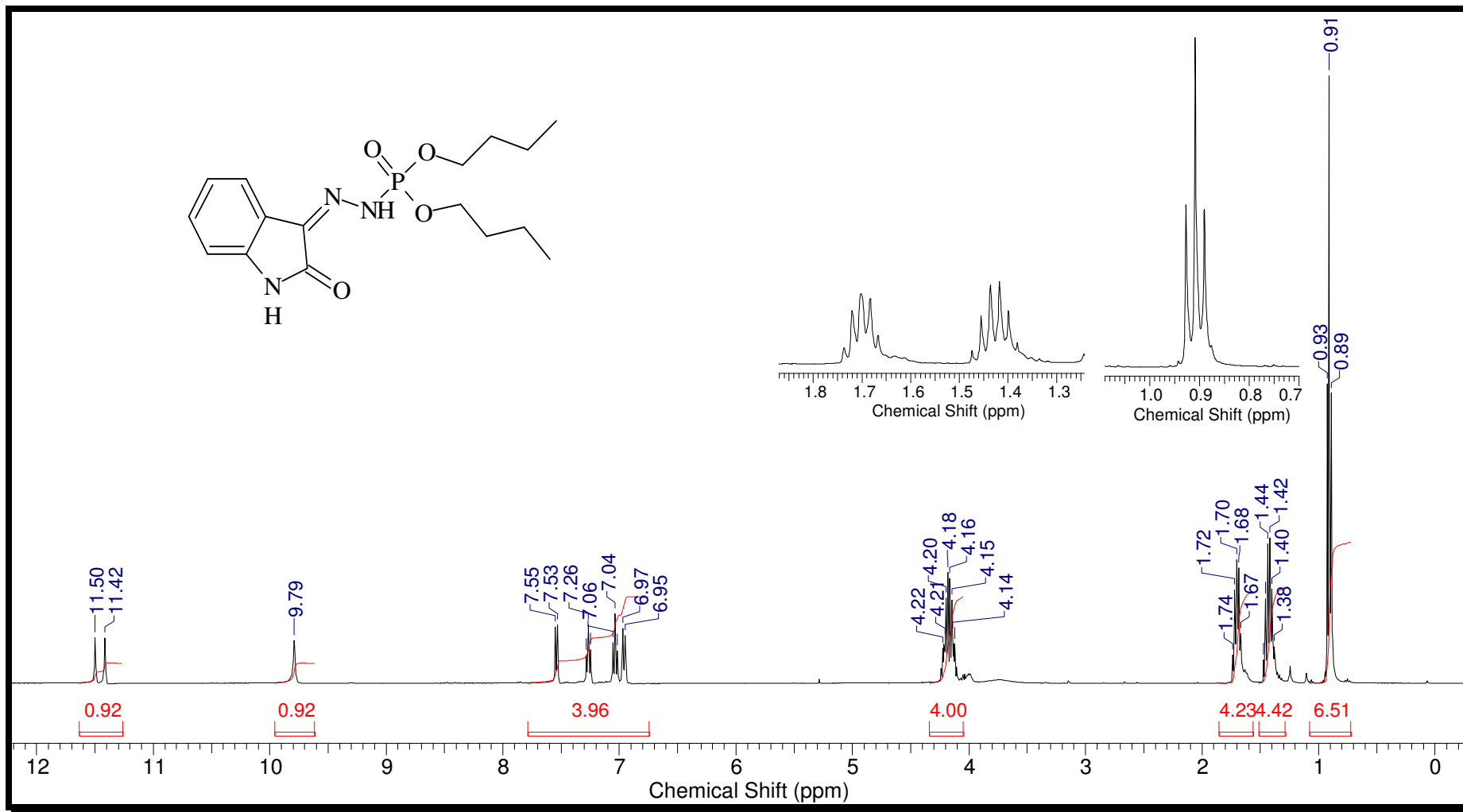


Figura 128: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃-400MHz) do ácido fosforoidrazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno] éster de dibutila (11).

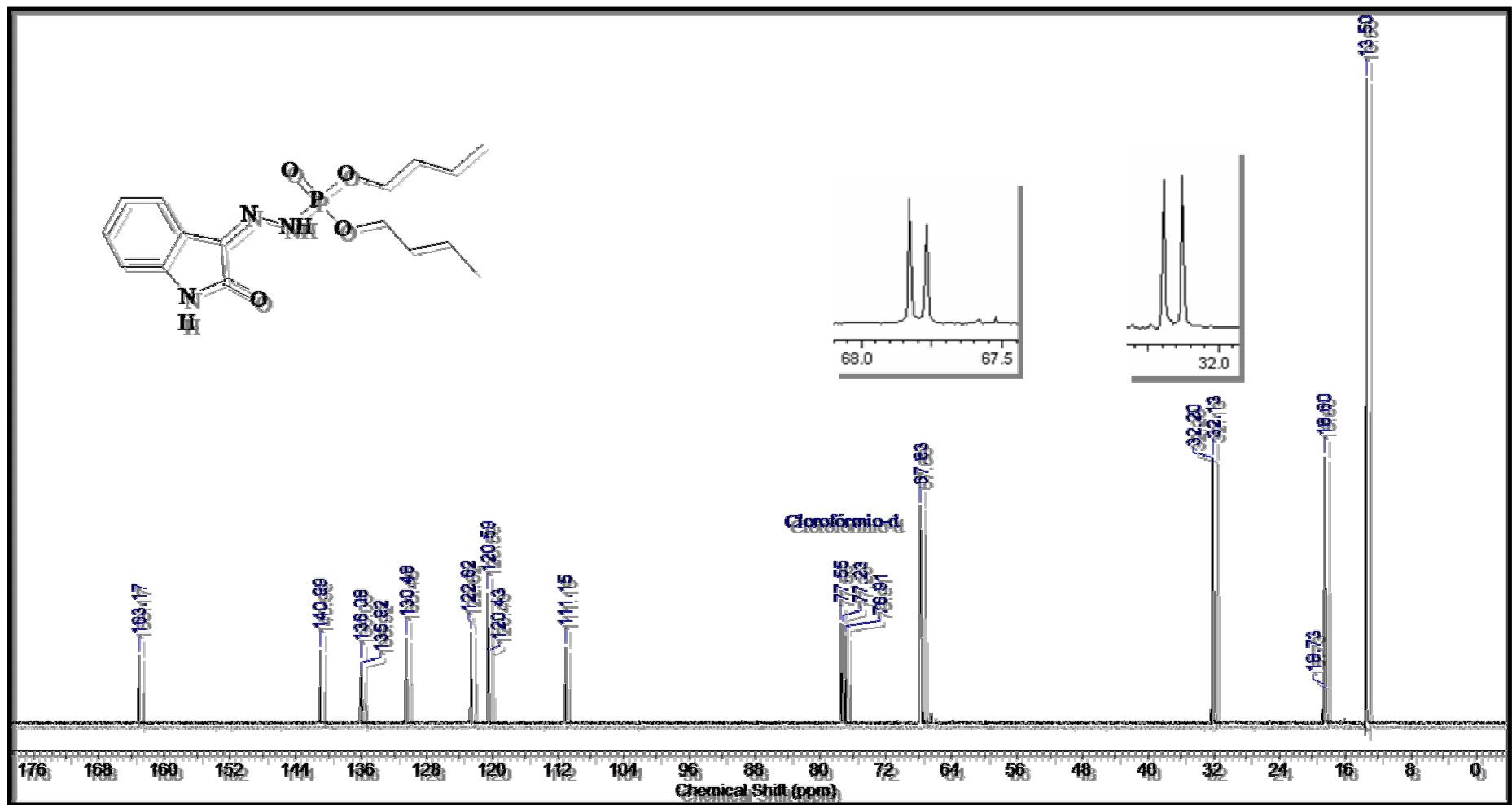


Figura 129: Espectro de RMN- ^{13}C do ácido fosforoidrazídico N' -[1,2-diidro-2-oxo-3H-indol-3-ilideno] éster de dibutila (11).

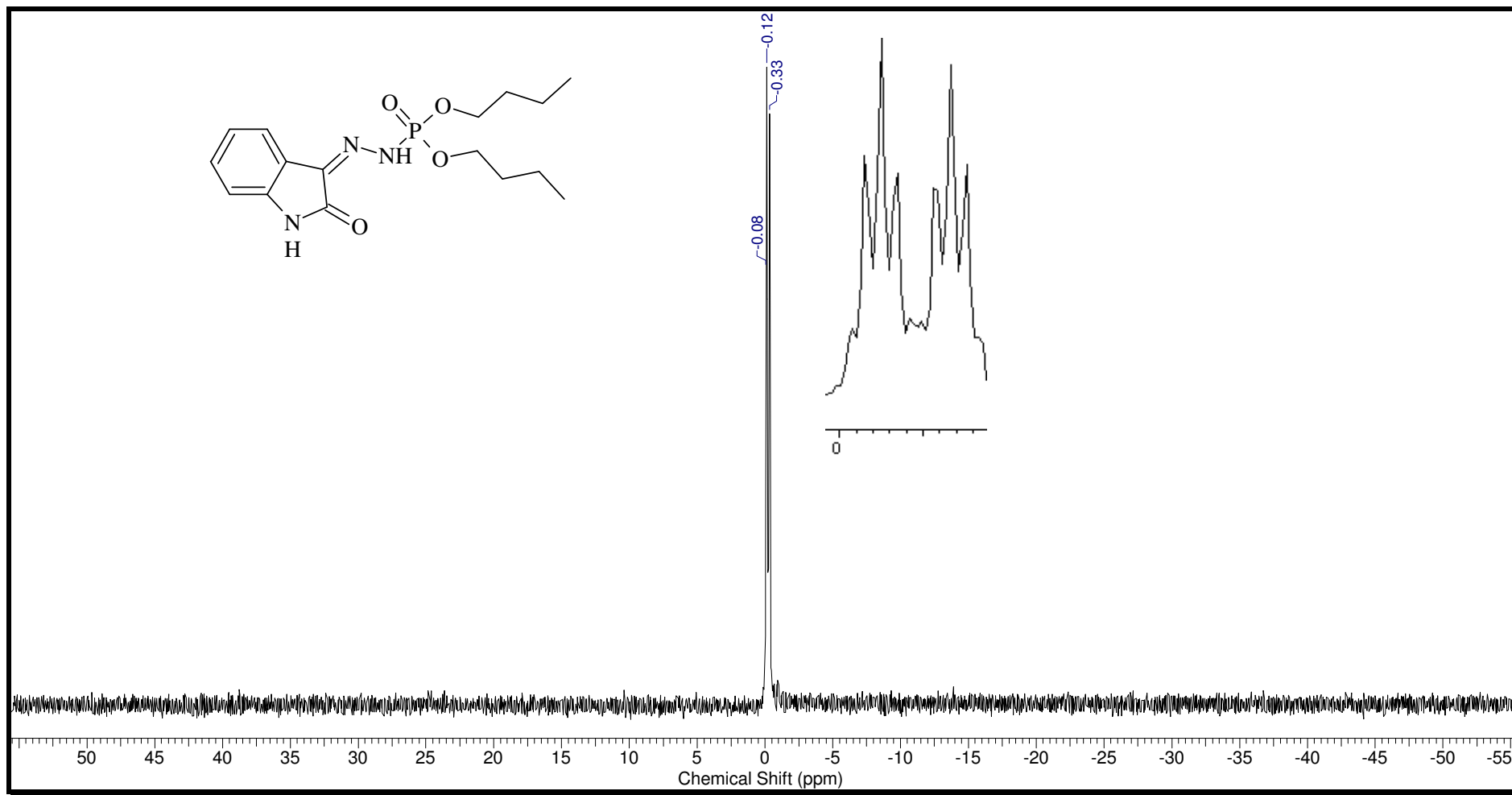


Figura 130: Espectro de RMN - ^{31}P acoplado do ácido fosfohidrazídico N' -[1,2-diidro-2-oxo-3H-indol-3-ilideno] éster de dibutila (11).

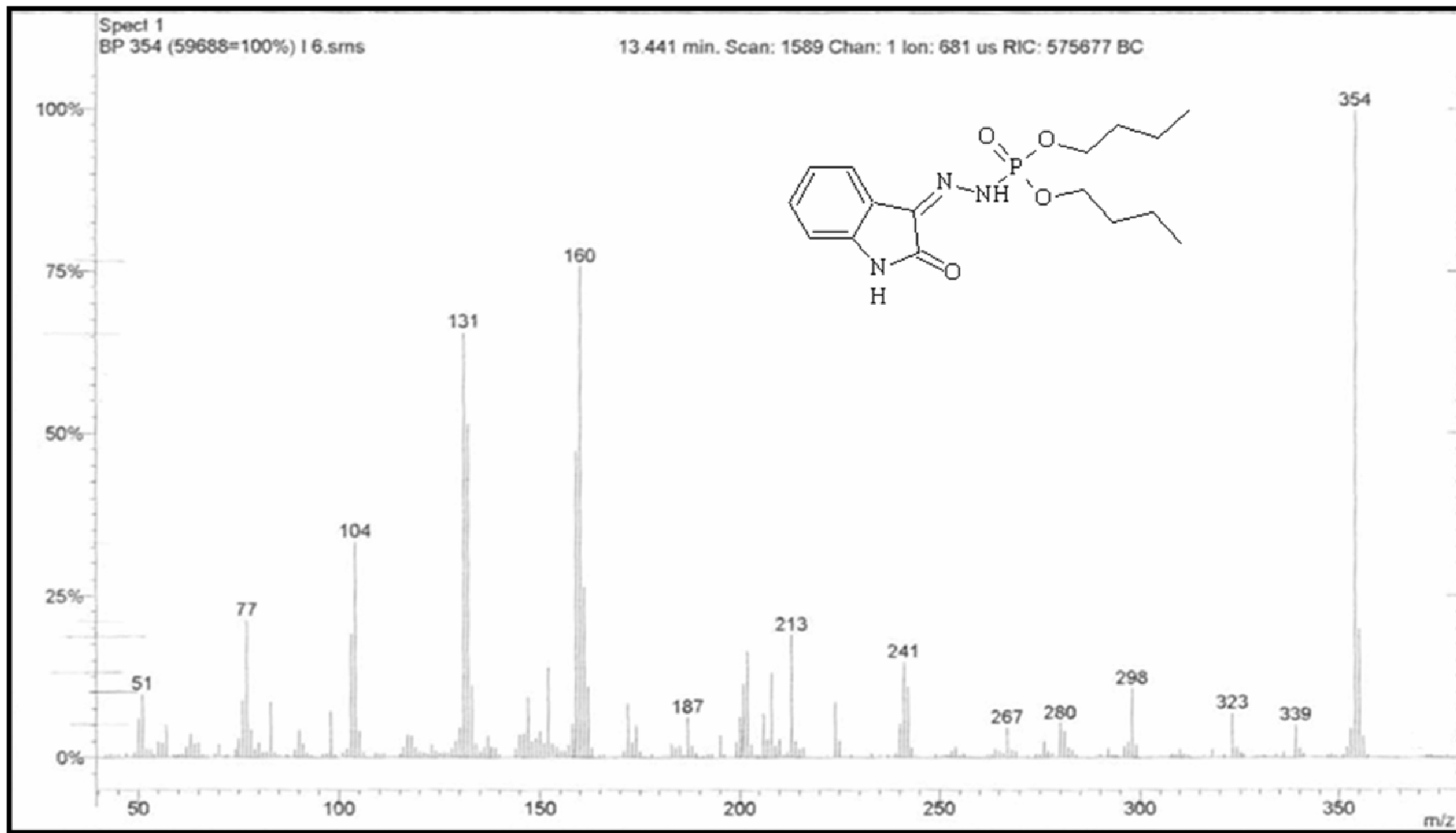


Figura 131: Espectro de massa do ácido fosforoidrazídico *N*'-[1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno] éster de dibutila (11).

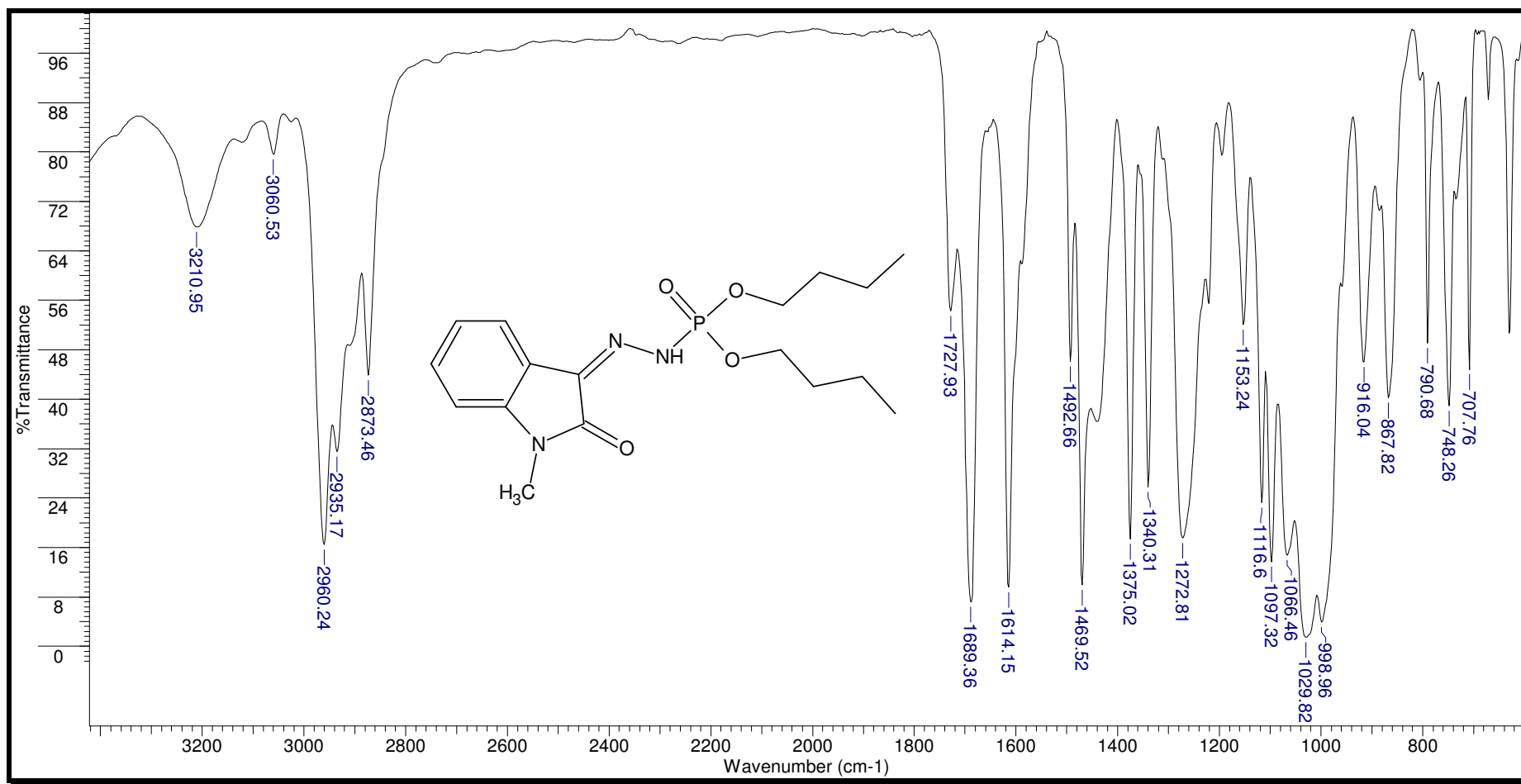


Figura 132: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno] éster de dibutila (12).

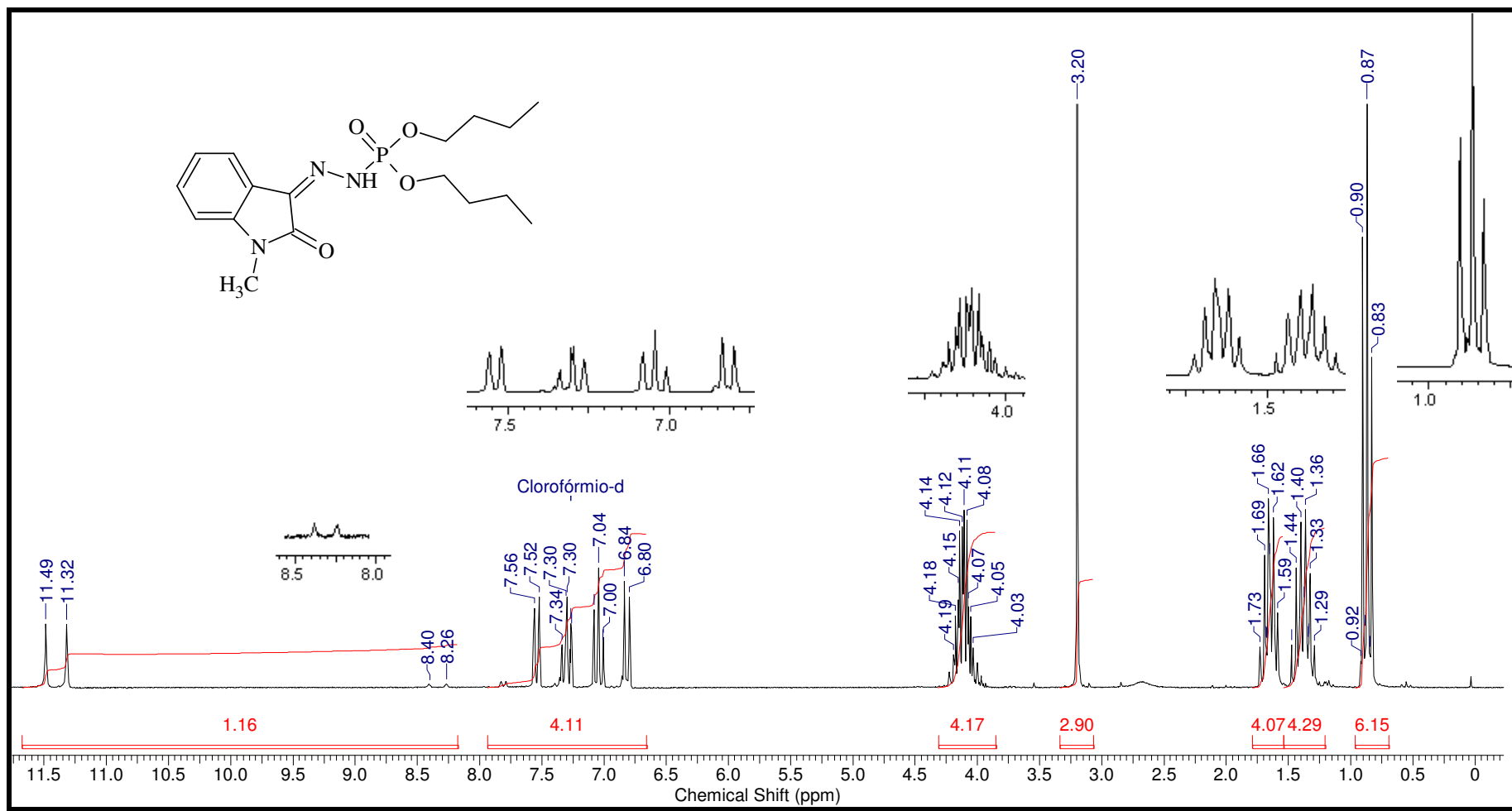


Figura 133: Espectro de RMN – ^1H (CDCl_3 -200MHz) do ácido fosforidrazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno] éster de dibutila (12).

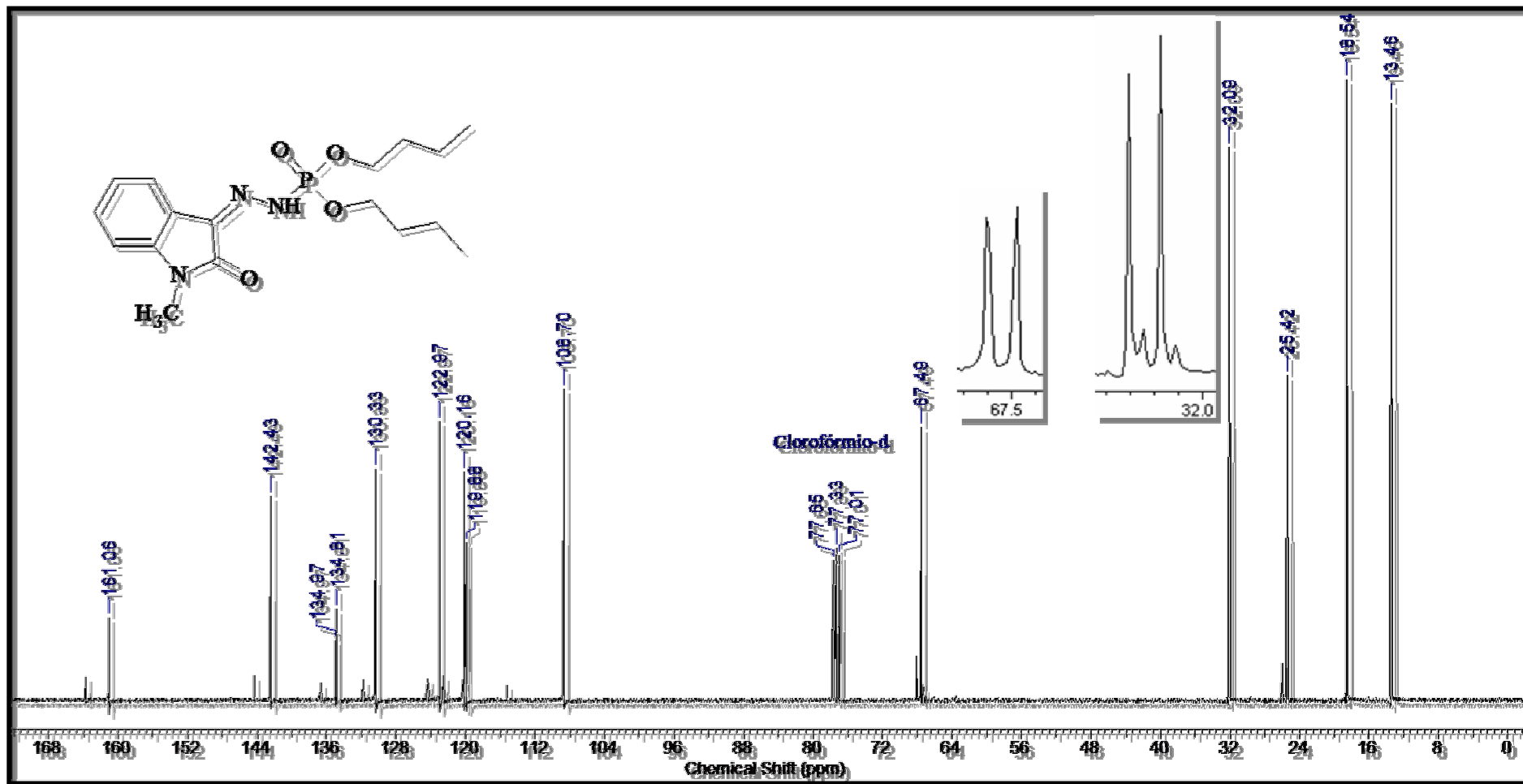


Figura 134: Espectro de RMN – ¹³C (CDCl₃-100MHz) do ácido fosforimidazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno] éster de dibutila (12).

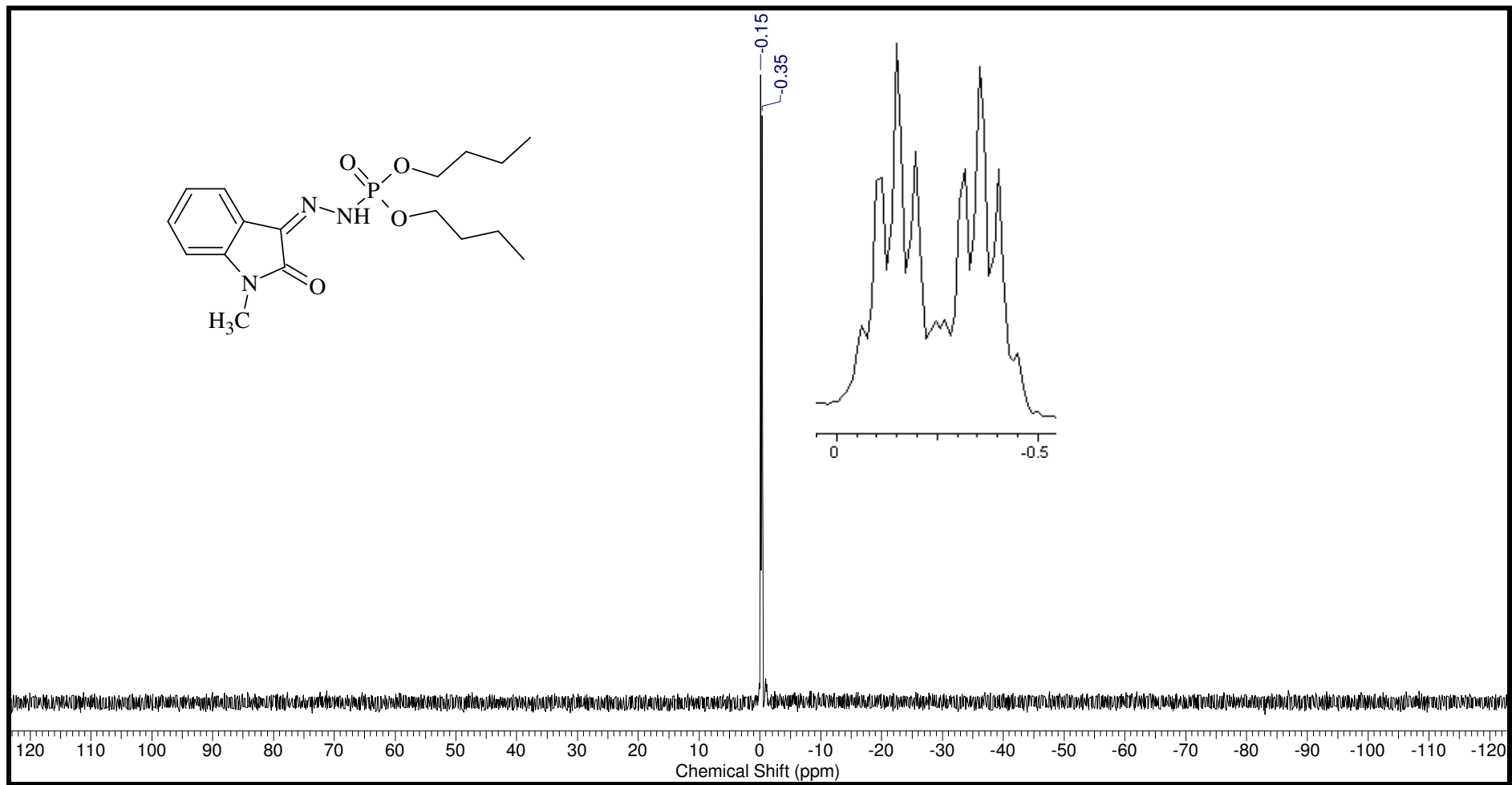


Figura 135: Espectro de RMN - ^{31}P acoplado do ácido fosforoidrazídico *N*'-[1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno] éster de dibutila (12).

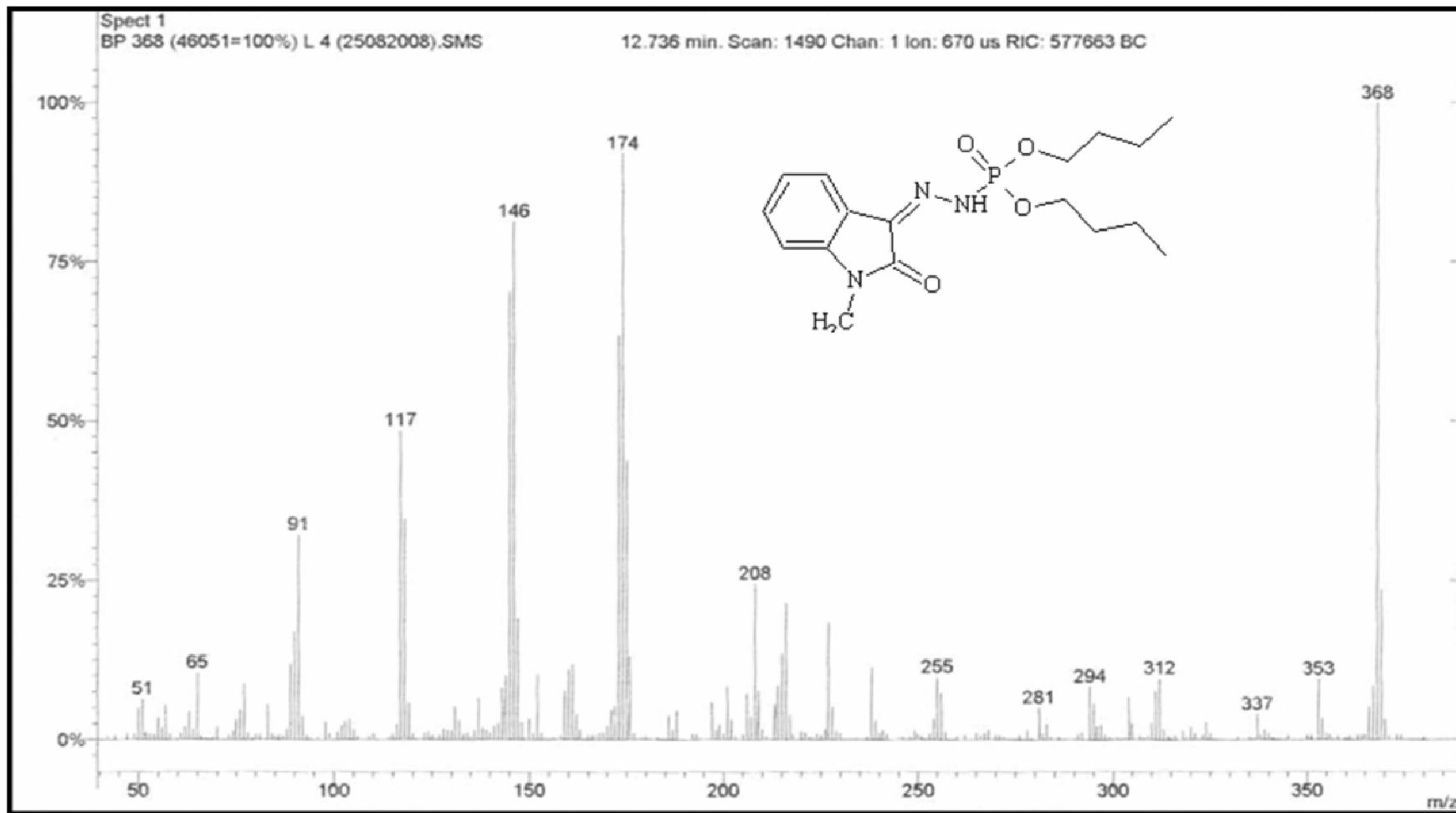


Figura 136: Espectro de massa do ácido fosforoidrazídico *N'*-[1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno] éster de dibutila (12).

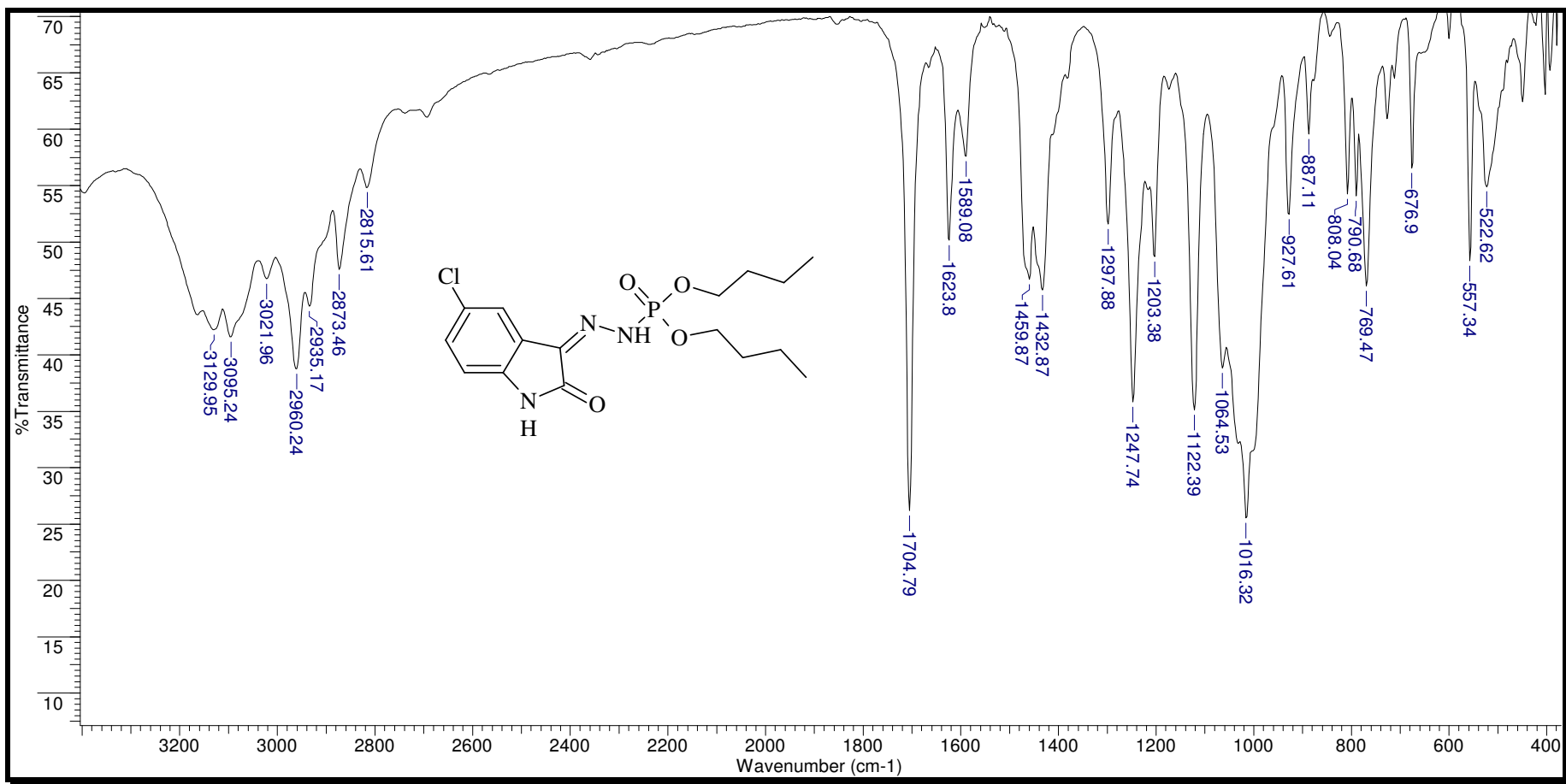


Figura 137: Espectro de infravermelho ácido fosforoidrazídico, *N'*- [5-cloro-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de dibutíla (13).

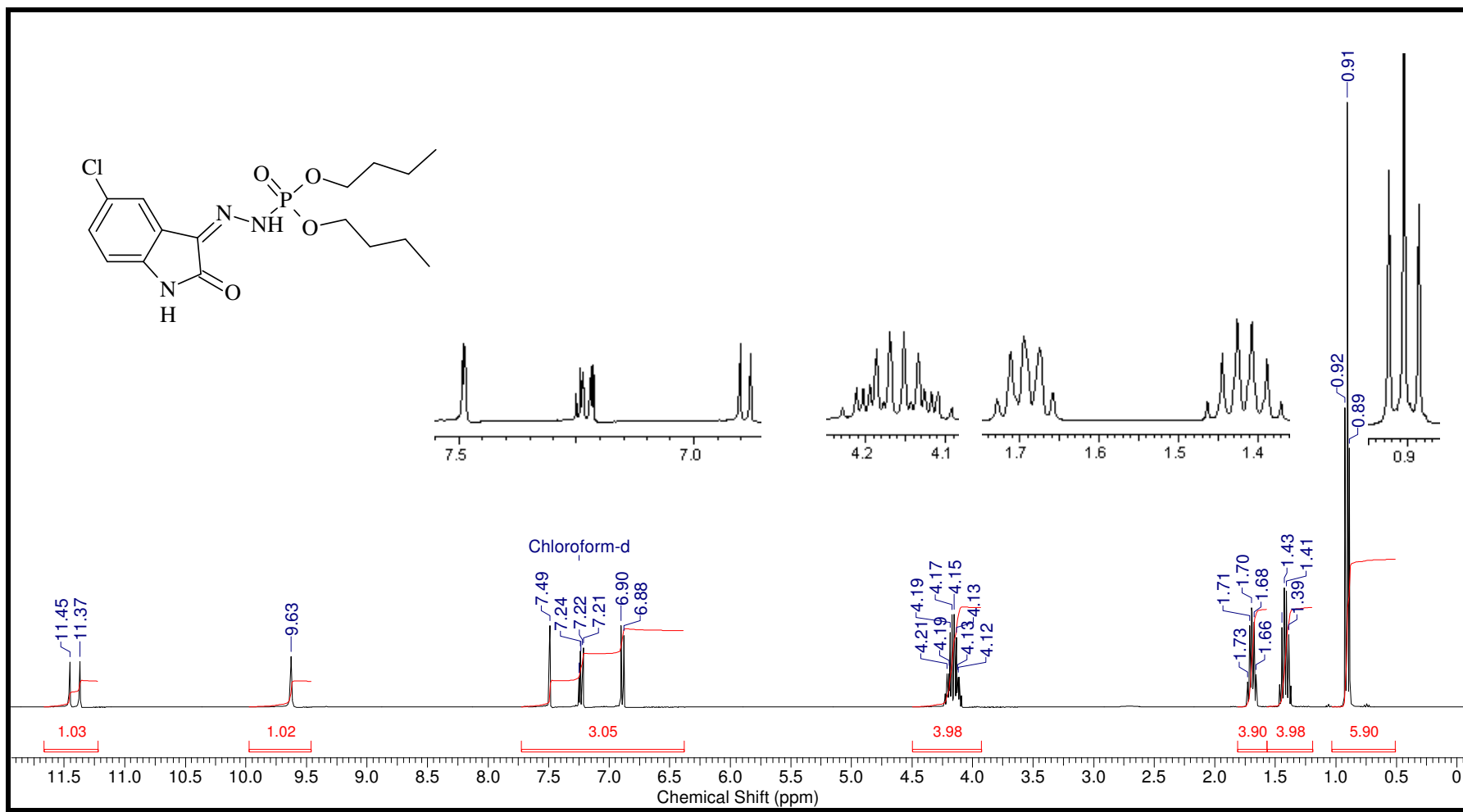


Figura 138: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃-400MHz) do ácido fosforoidrazídico, *N'*- [5-cloro-1,2-diidro-2oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de dibutila (13).

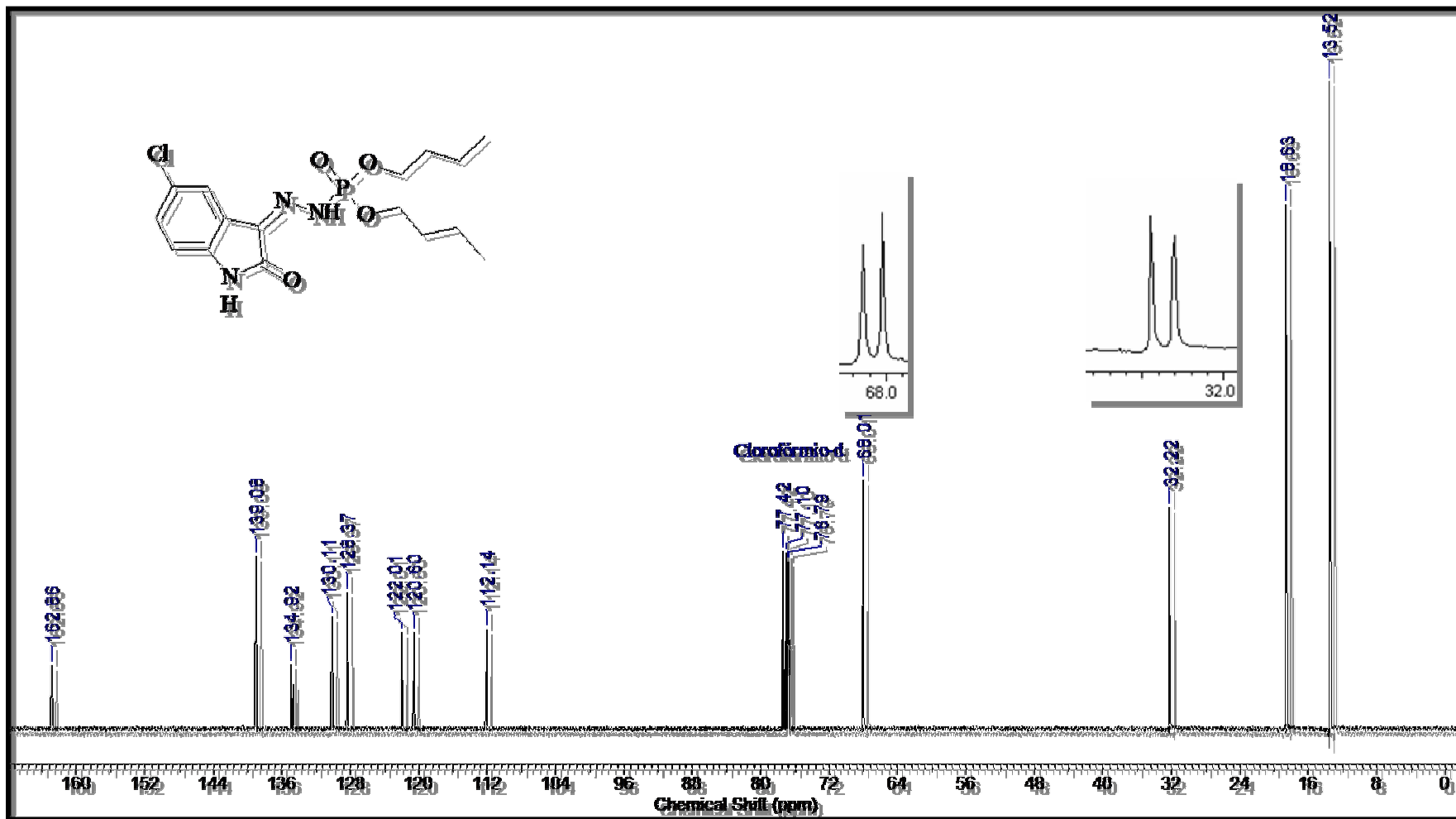


Figura 139: Espectro de RMN-¹³C do ácido fosforoidrazídico, *N'*- [5-cloro-1,2-diidro-2oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de dibutila (13).

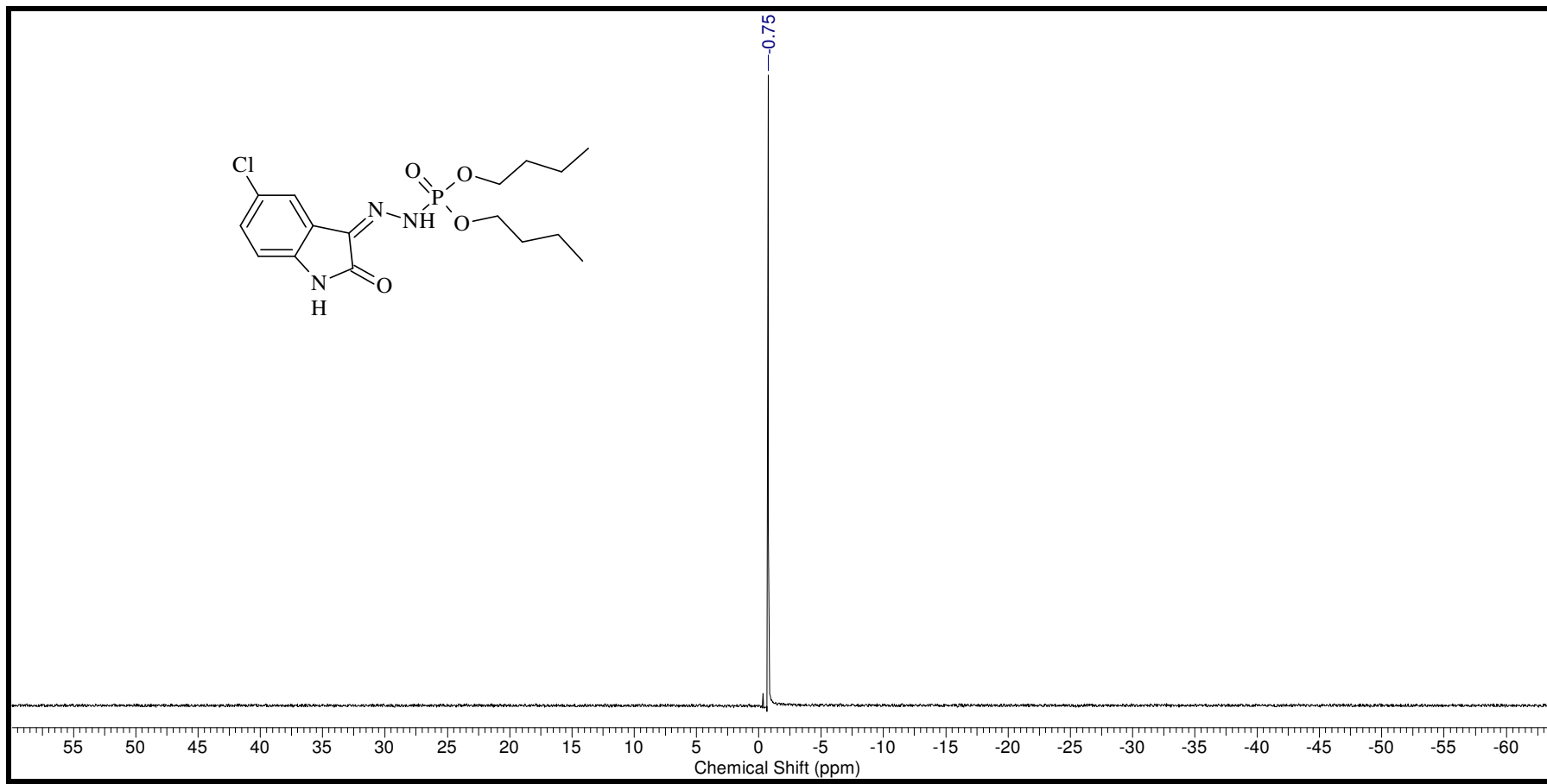


Figura 140: Espectro de RMN- ^{31}P desacoplado do ácido fosforoidrazídico, *N*'-[5-cloro-1,2-diidro-2oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de dibutila (13).

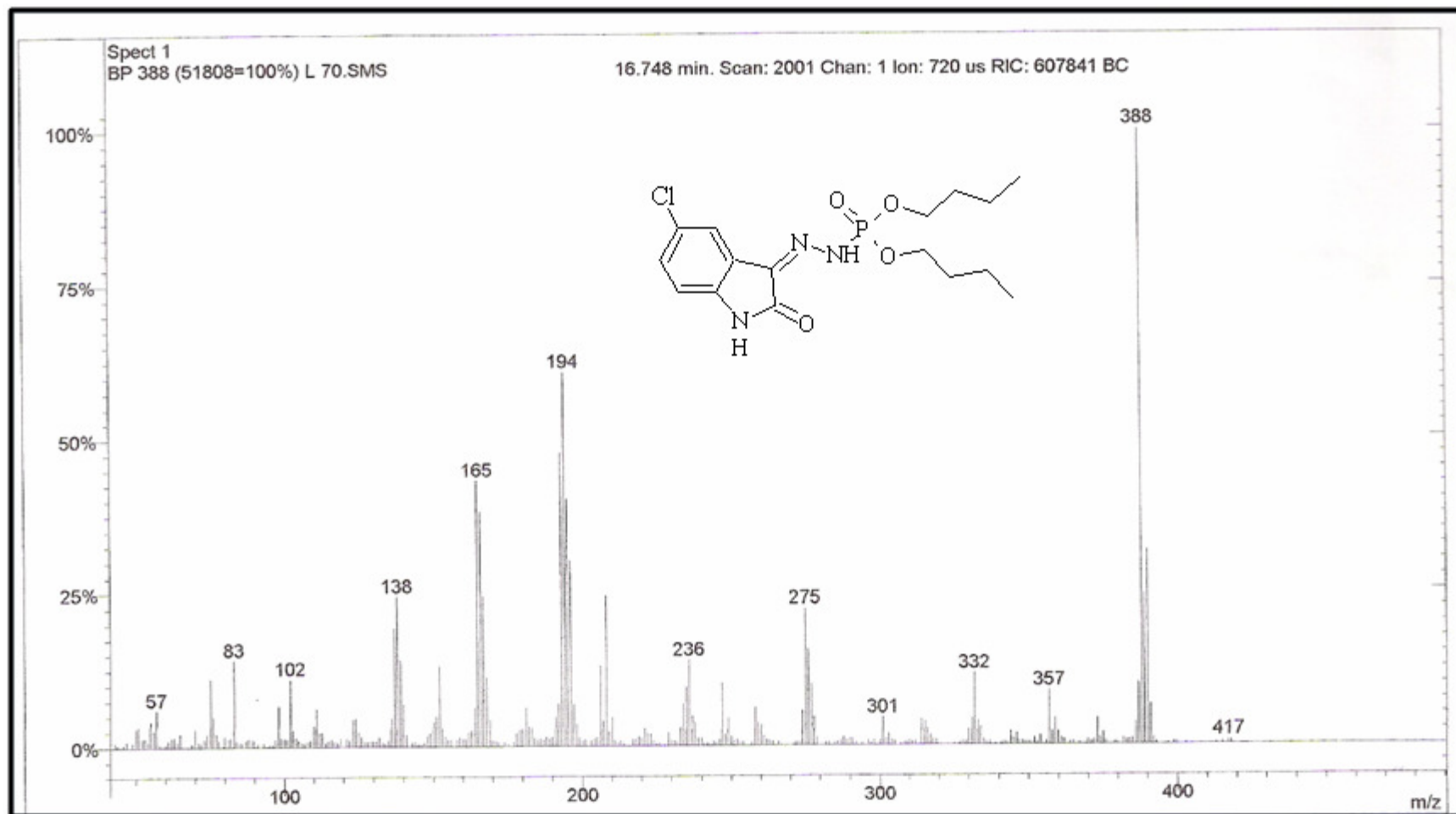


Figura 141: Espectro de massas do ácido fosfohidrazídico, N'- [5-cloro-1,2-diidro-2oxo-3H-indol-3-ilideno]-, éster de dibutila (13).

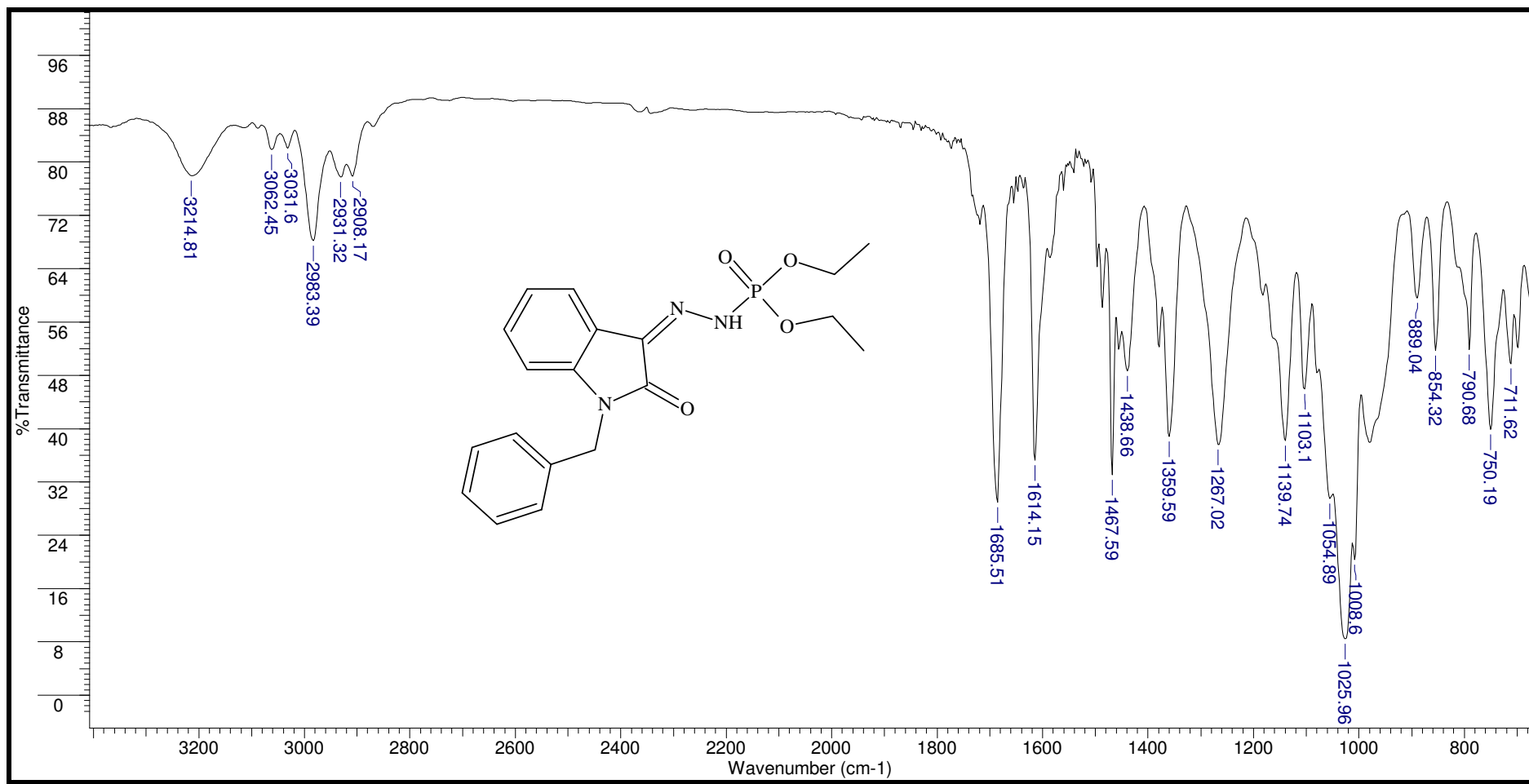


Figura 142: Espectro de infravermelho do ácido fosforodrazídico, *N'*- [1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de dietila (14).

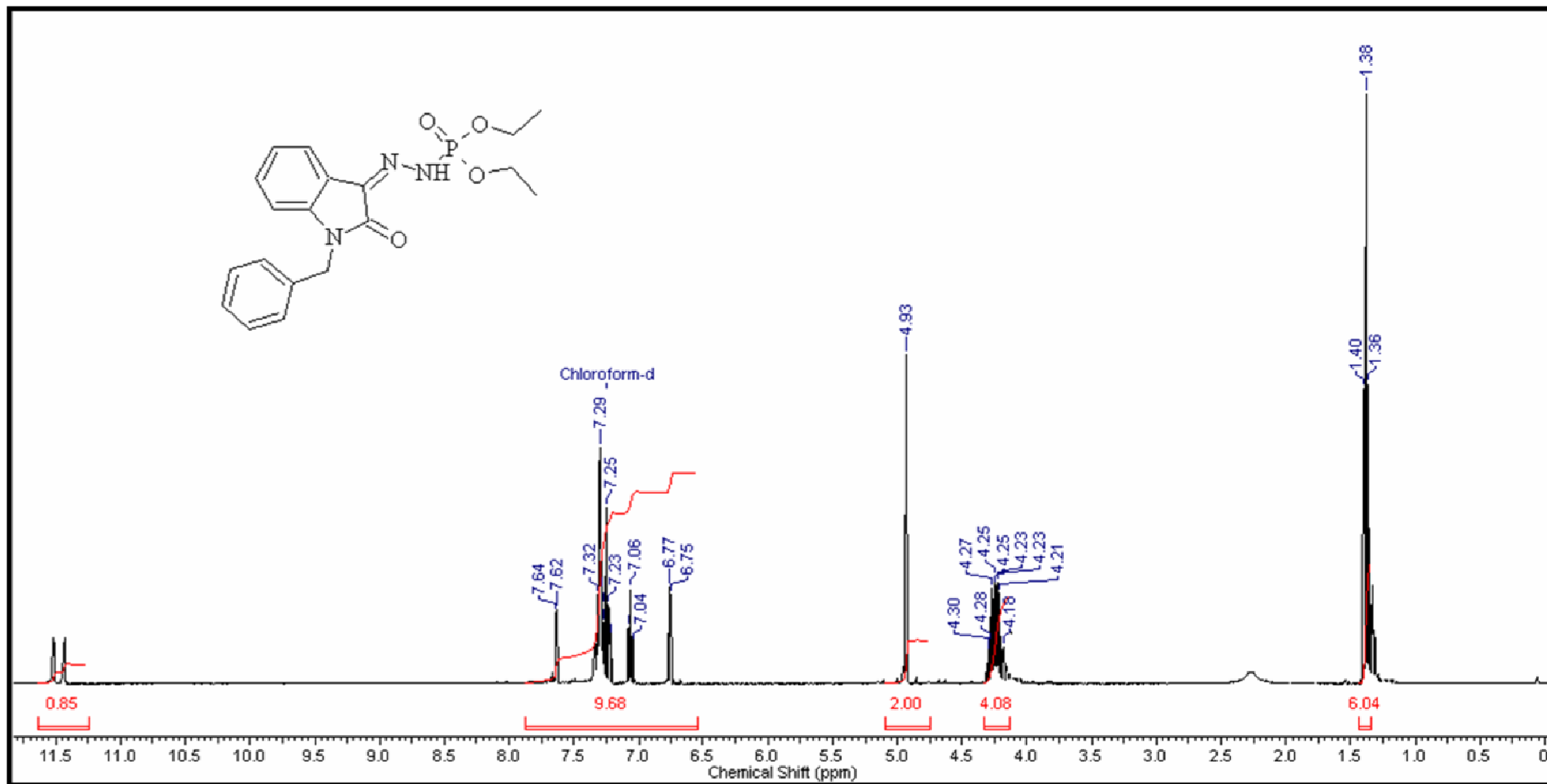


Figura 143: Espectro de RMN – ^1H do ácido fosforoidrazídico, N' - [1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de dietila (14).

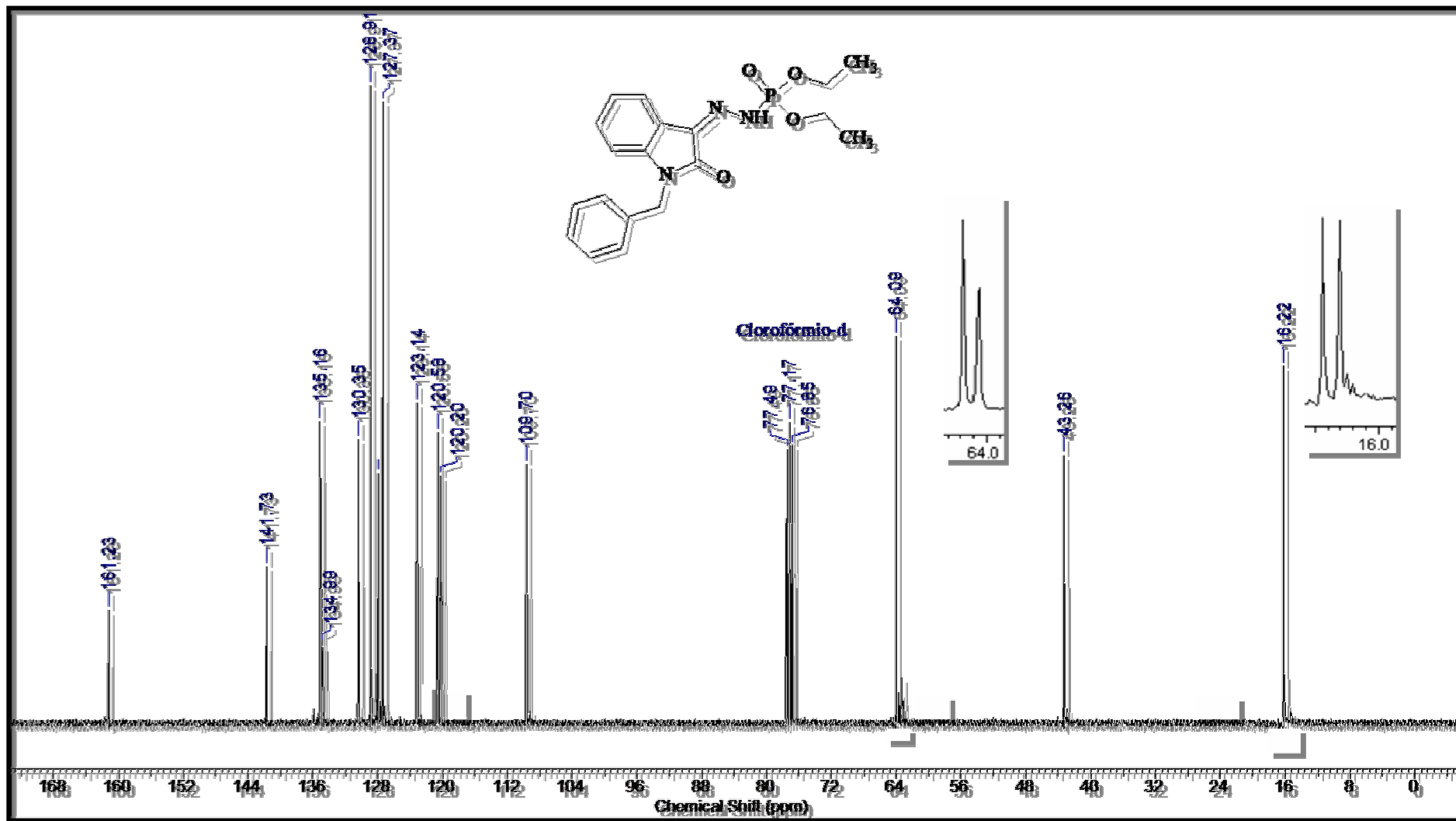


Figura 144: Espectro de RMN – ^{13}C do ácido fosforoidrazídico, N' - [1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de dietila (14).

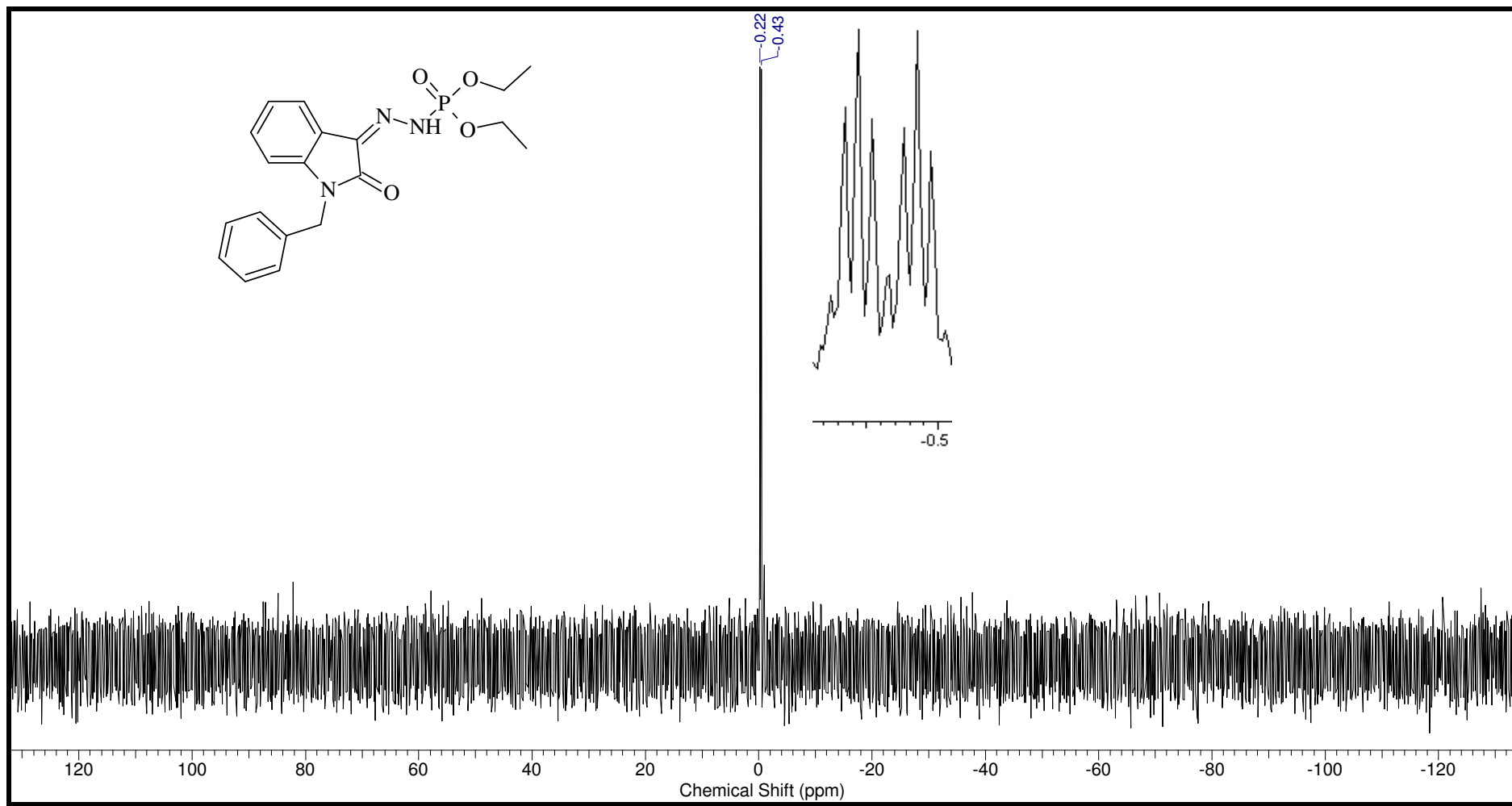


Figura 145: Espectro de RMN - ^{31}P acoplado do ácido fosforoidrazídico, N' -[1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de dietila (14).

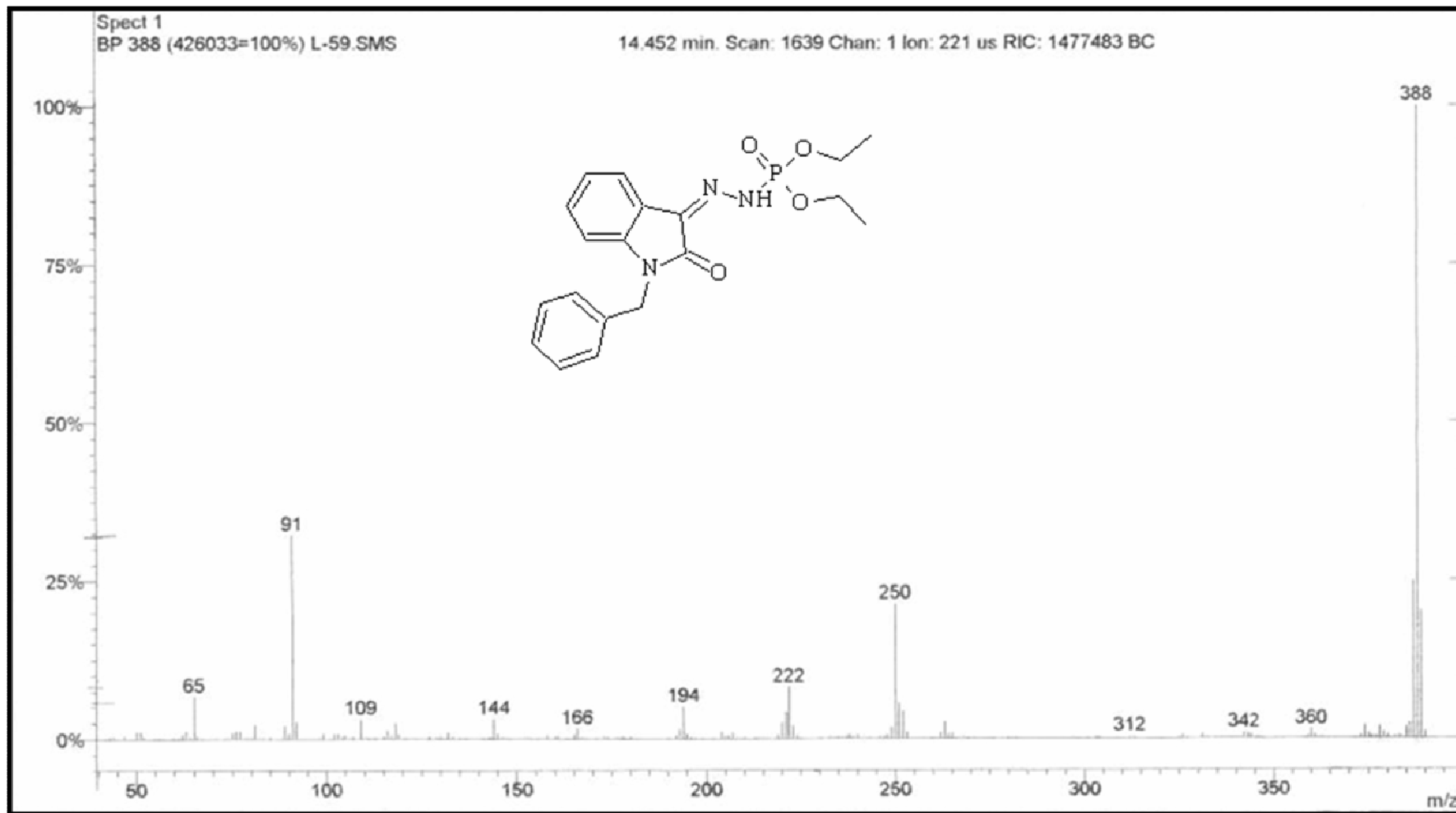


Figura 146: Espectro de massas do ácido fosforoidrazídico, *N'*- [1,2-diidro-2-oxo-1-(benzil)-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de dietila (14).

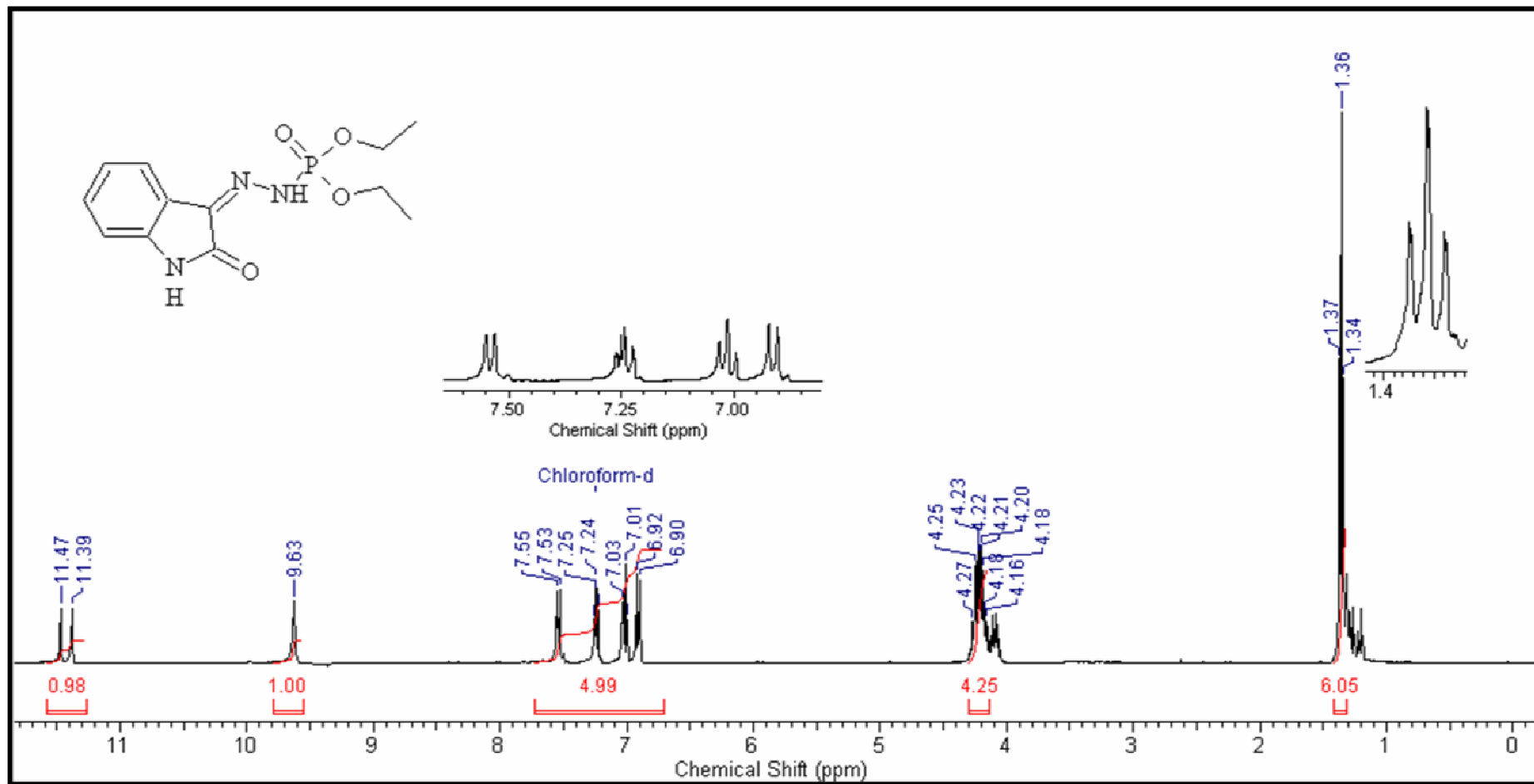


Figura 147: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃-400MHz) do ácido fosforodrazídico, *N'* – [1,2- diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno-, éster de dietila (15).

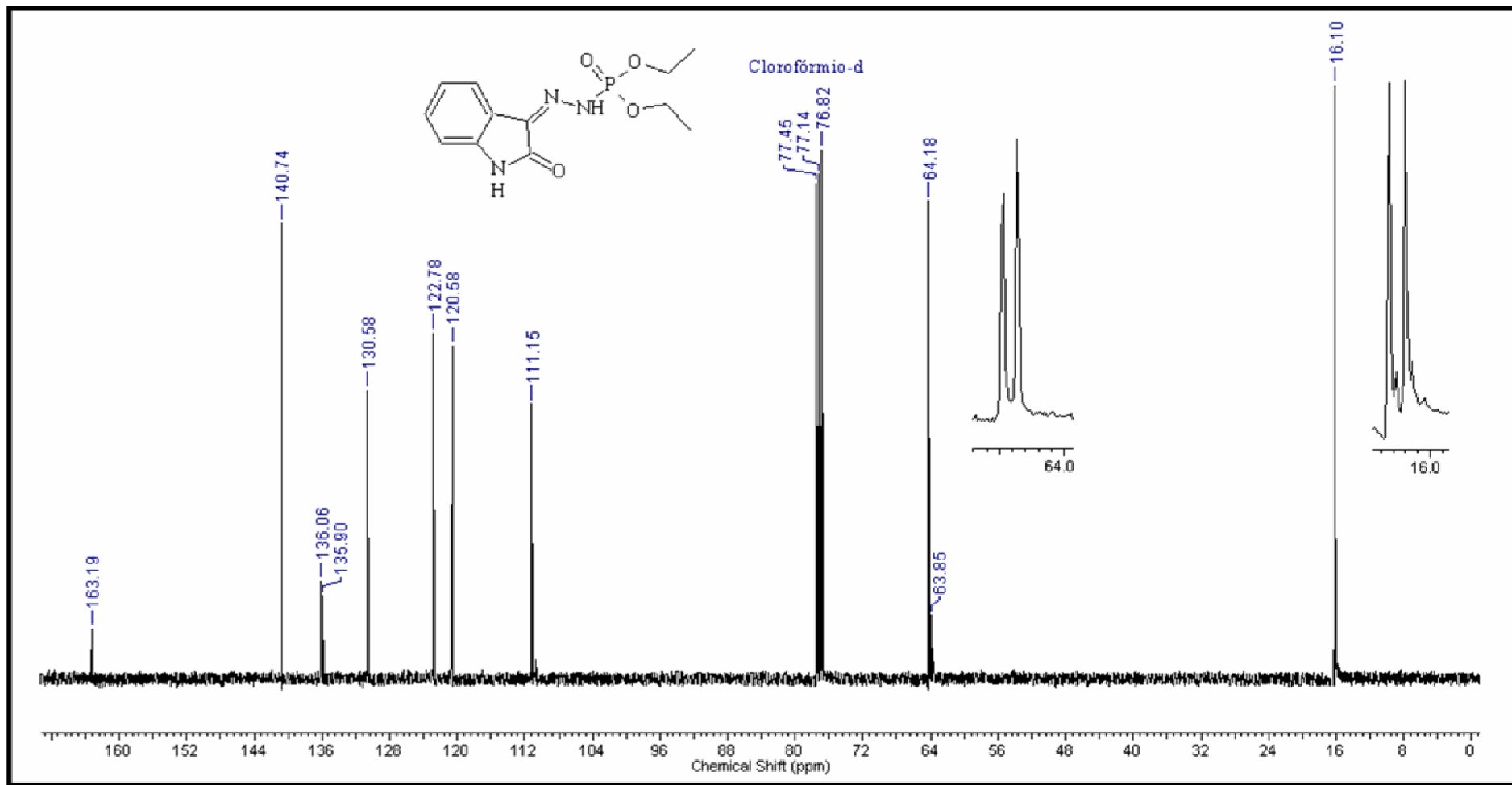


Figura 148: Espectro de RMN-¹³C do ácido fosforoidrazídico, *N'* – [1,2- diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno-, éster de dietila (15).

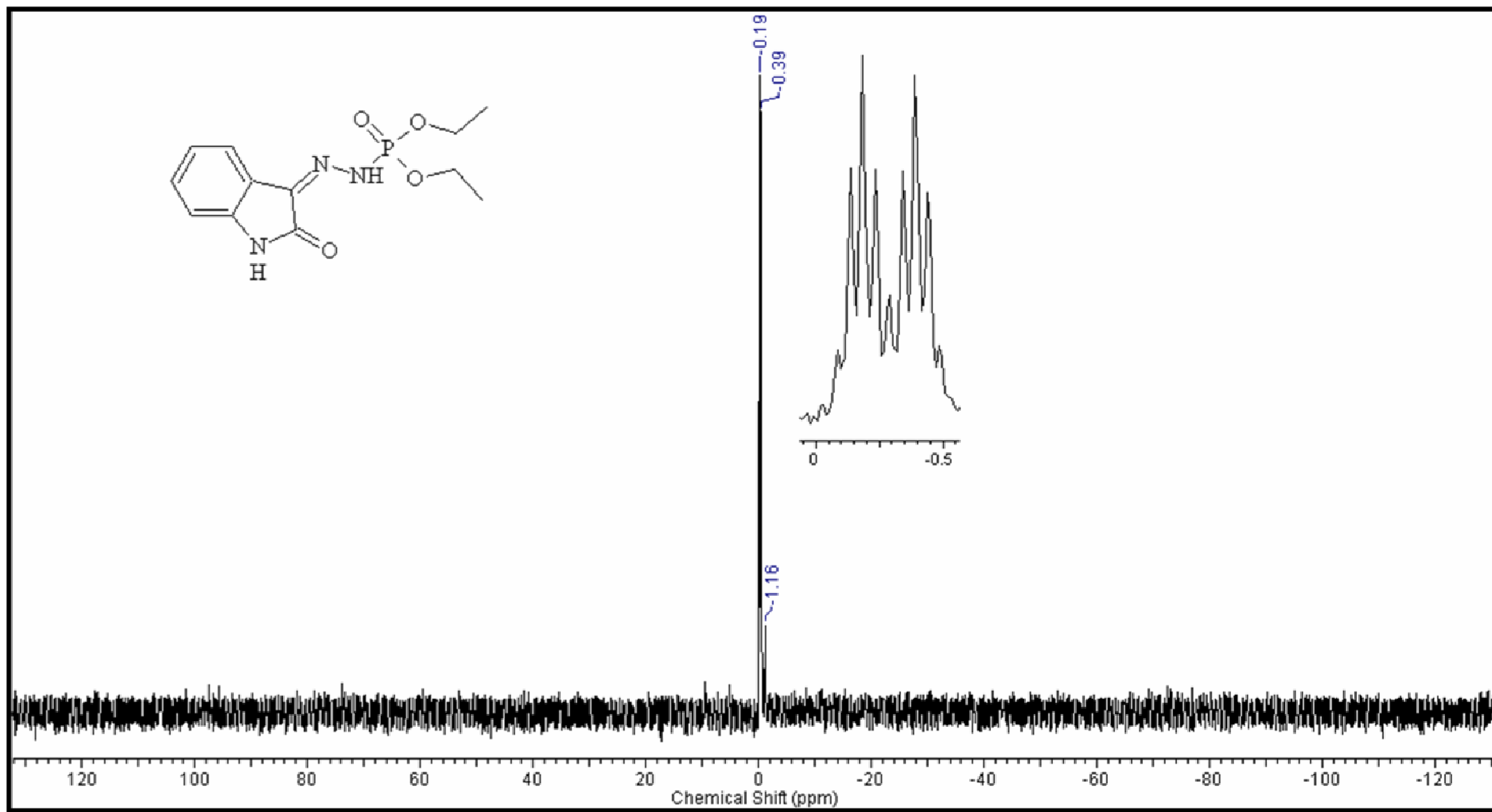


Figura 149: Espectro de RMN- ^{31}P acoplado do ácido fosforoidrazídico, N^7 - [1,2- diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno-, éster de dietila (15).

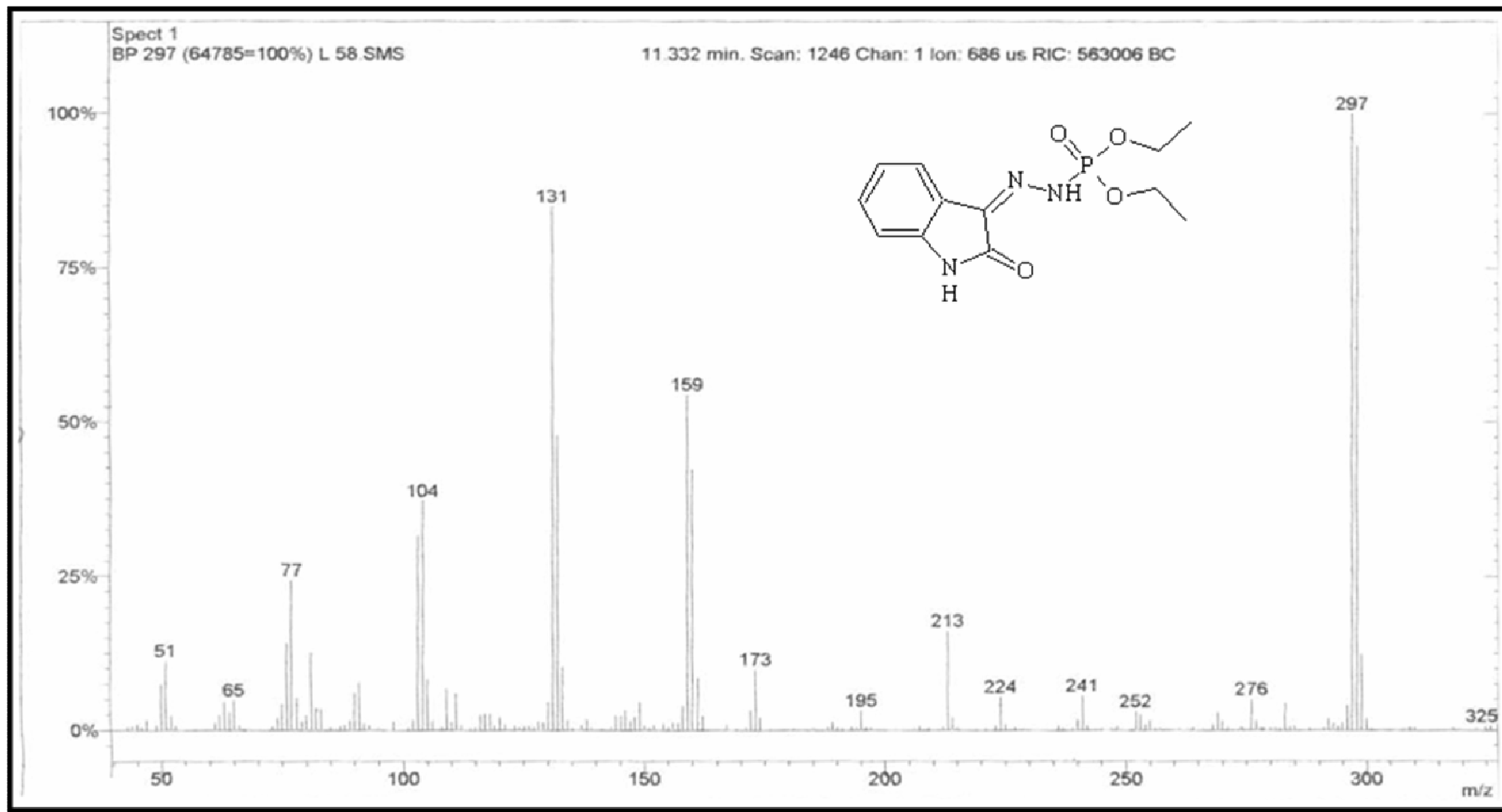


Figura 150: Espectro de massa do ácido fosforoidrazídico, *N*' – [1,2- diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno-, éster dietílico (15).

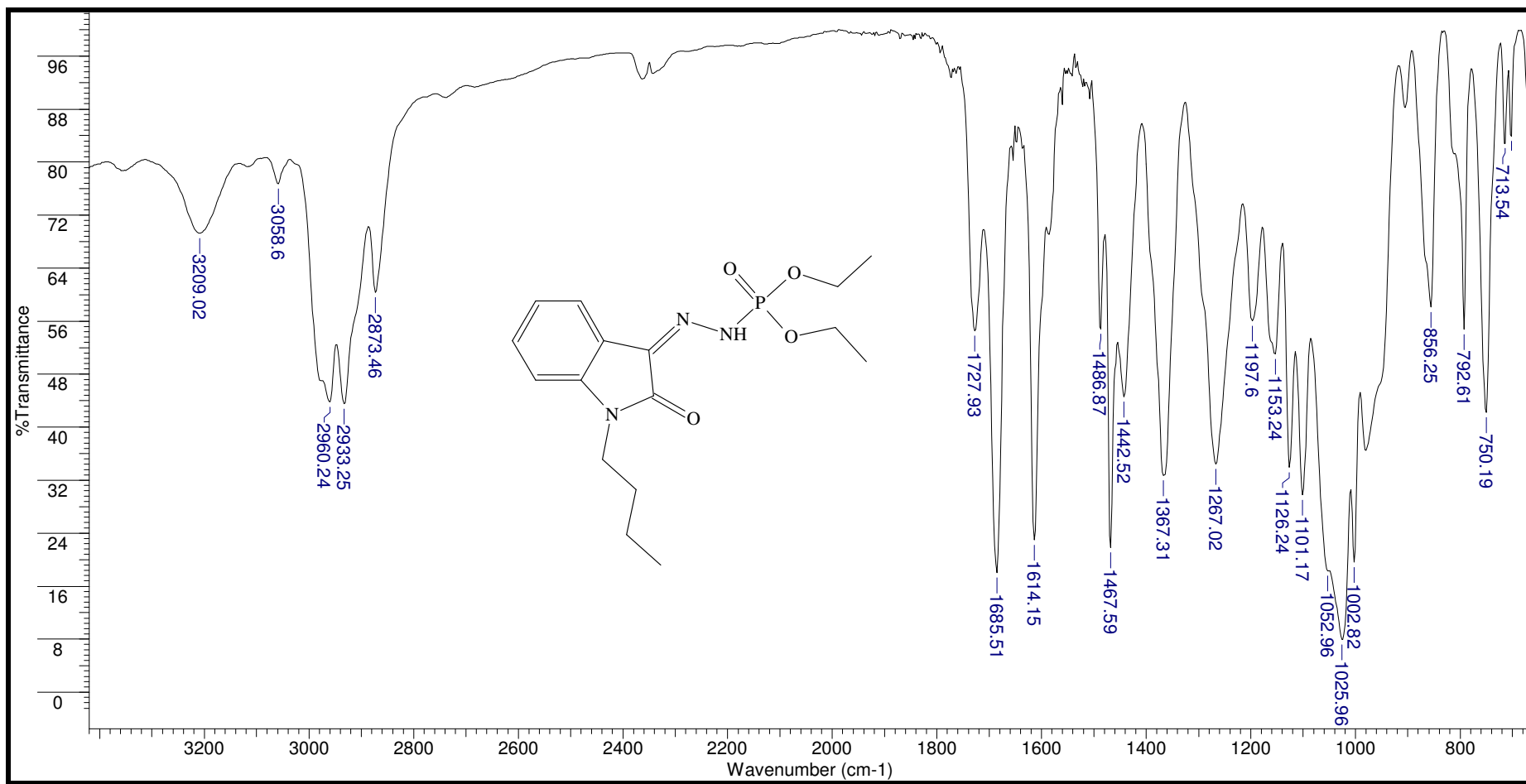


Figura 151: Espectro de infravermelho do ácido fosforoidrazídico, *N'*- [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de dietila (16).

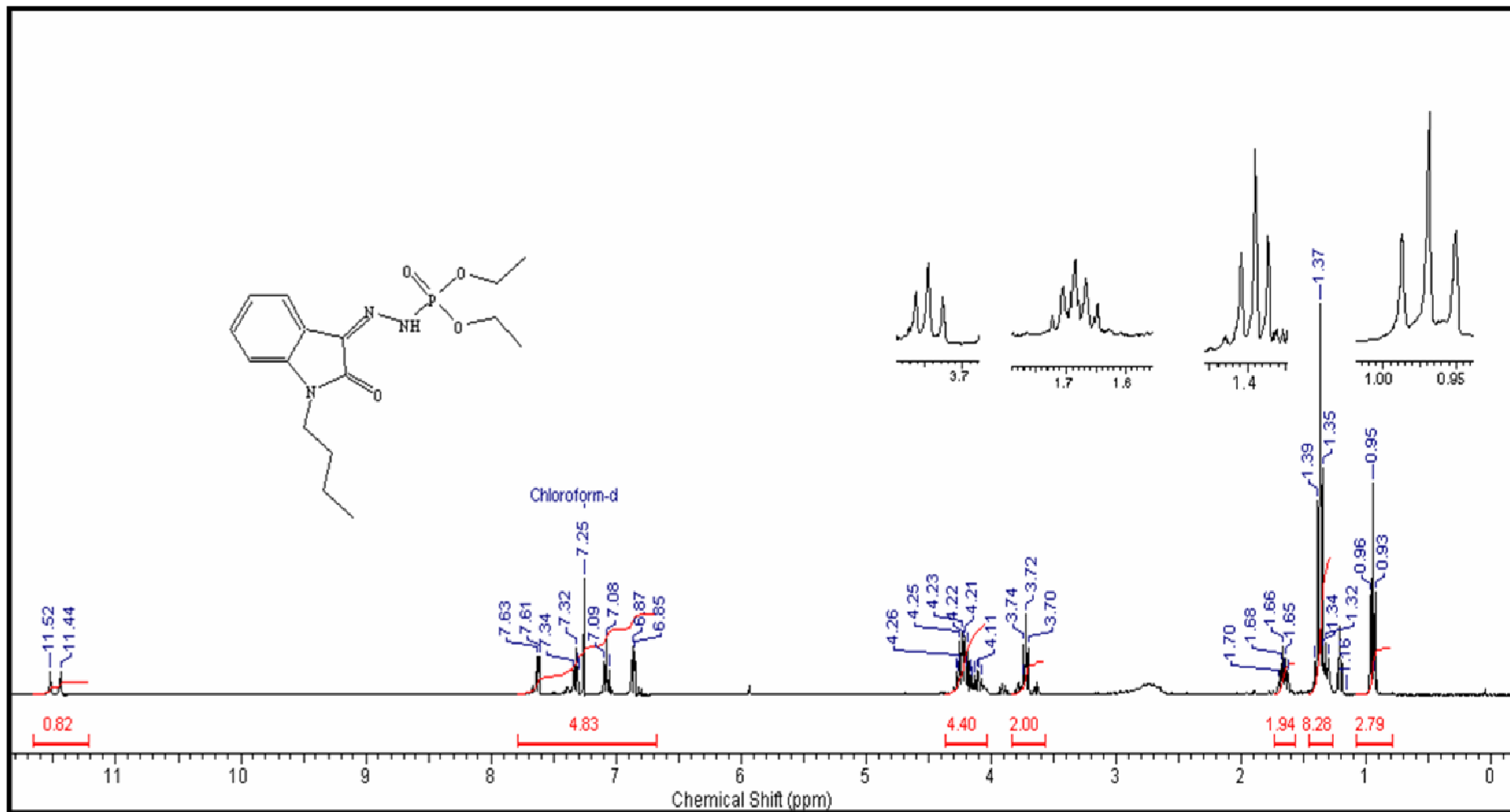


Figura 152: Espectro de RMN – ^1H (CDCl_3 -400MHz) do ácido fosforoidrazídico, N' - [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de dietila (16).

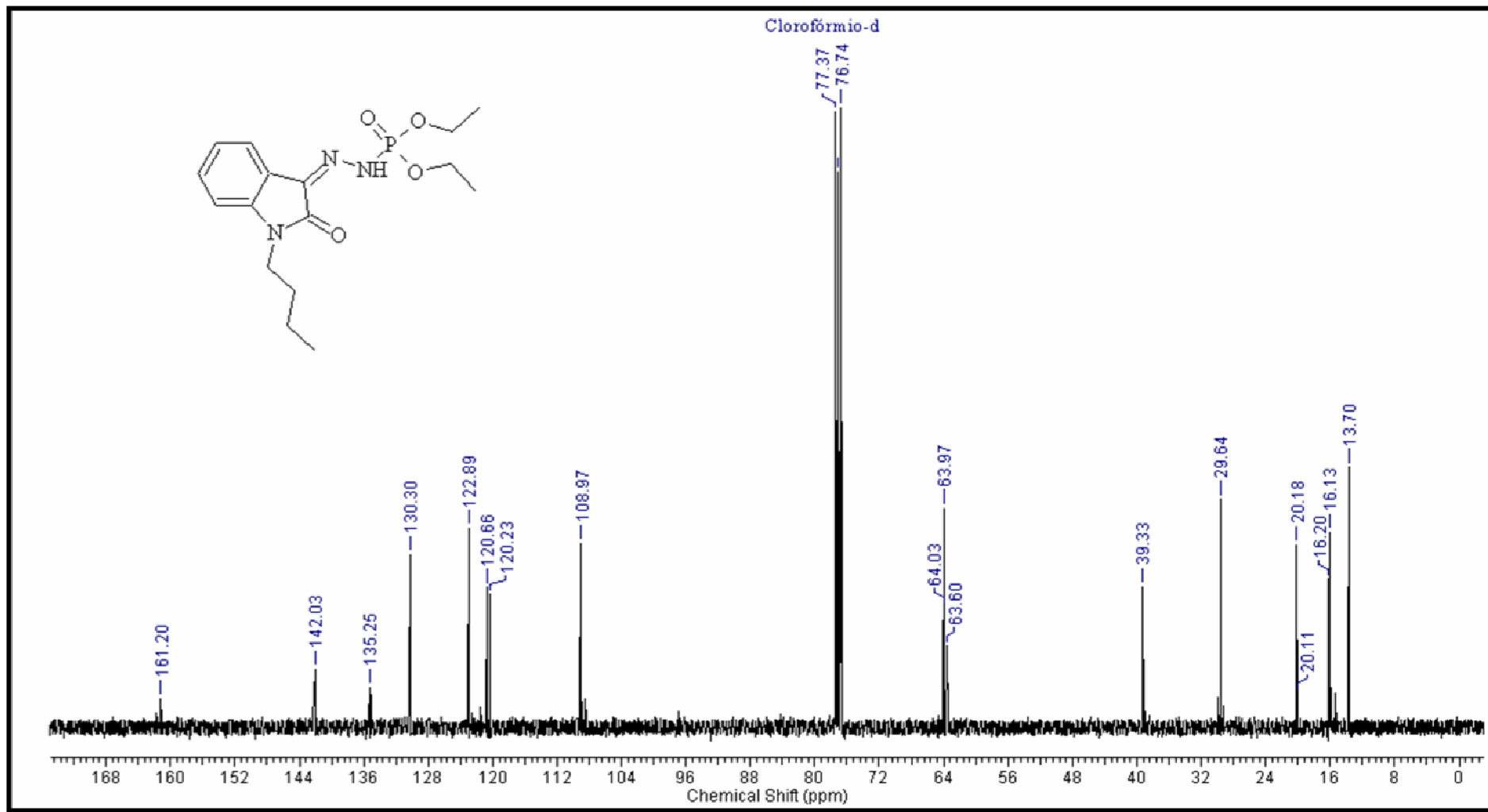


Figura 153: Espectro de RMN – ^{13}C do ácido fosforoidrazídico, N' - [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de dietila (16).

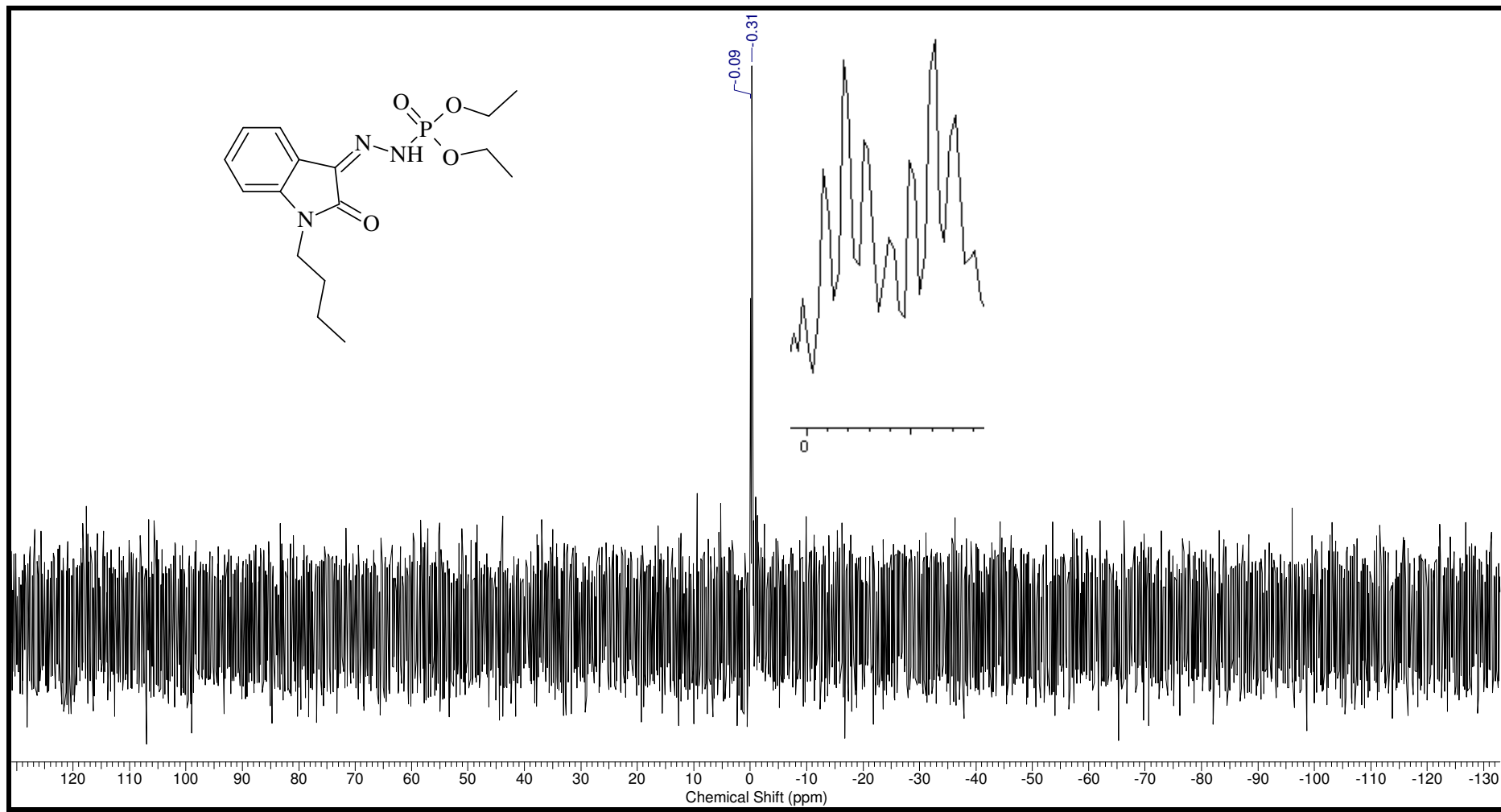


Figura 154: Espectro de RMN - ^{31}P acoplado do ácido fosforoidrazídico, N' - [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3H-indol-3-ilideno]-, éster de dietila (16).

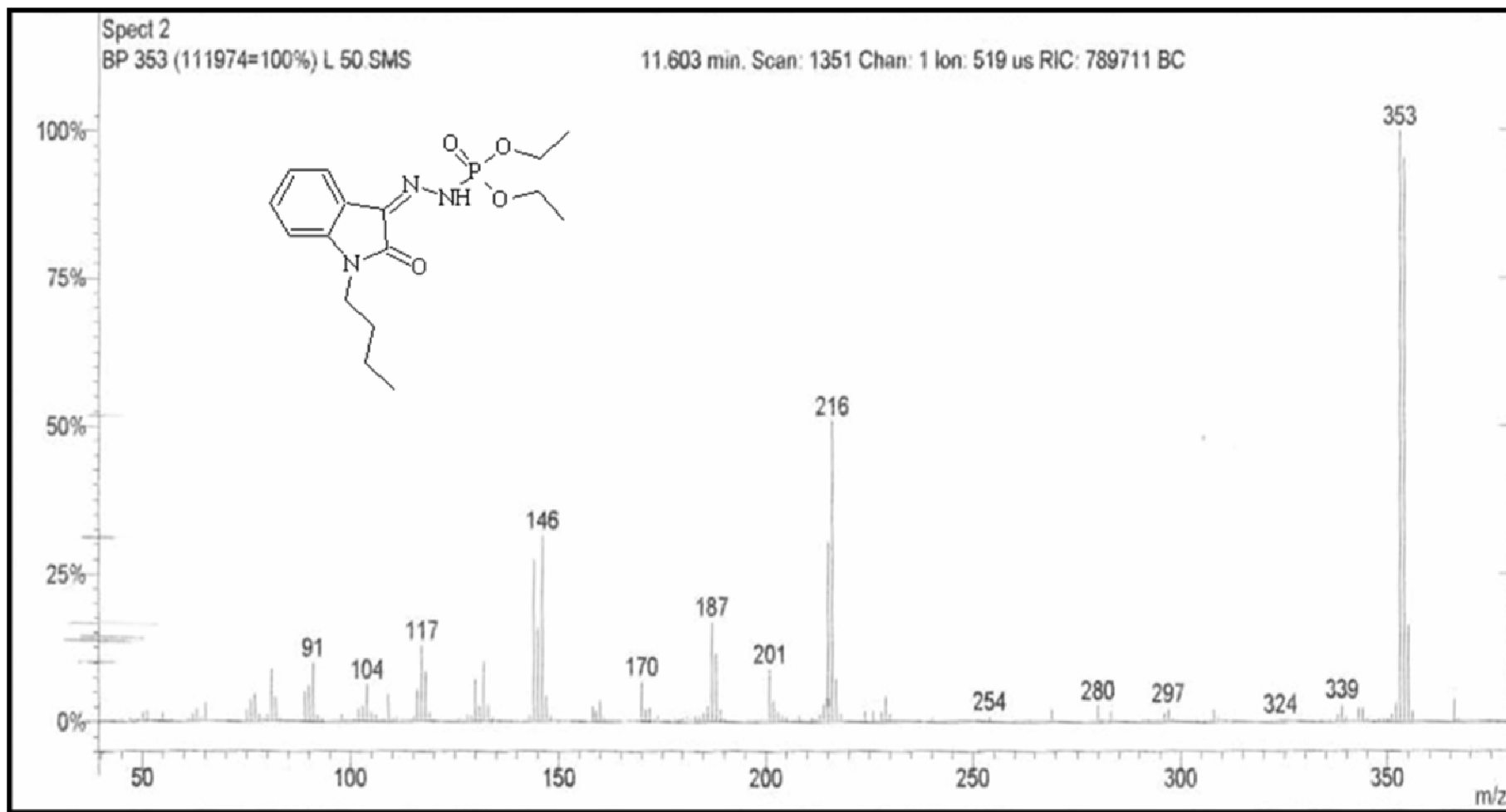


Figura 155: Espectro de massa do ácido fosforoidrazídico, *N*' - [1-butil-1,2-diidro-2-oxo-3*H*-indol-3-ilideno]-, éster de dietila (16).

