

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Tese de Doutorado

**Síntese, Caracterização e Avaliação da Atividade Leishmanicida
de novas Dialquifosforilidrazonas Derivadas de Aldeídos
Piridínicos.**

Volume I

Vinícius Tomaz Gonçalves

2014

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Síntese, Caracterização e Avaliação da Atividade Leishmanicida
de novas Dialquilfosforilidrazonas Derivadas de Aldeídos
Piridínicos.**

Vinícius Tomaz Gonçalves

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

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

Seropédica, RJ
Maio de 2014

547

G635s

T

Gonçalves, Vinícius Tomaz, 1980-

Síntese, caracterização e avaliação da atividade leishmanicida de novas dialquilfosforilidrazonas derivadas de aldeídos piridínicos / Vinícius Tomaz Gonçalves. - 2014.

2 v.: il.

Orientador: João Batista Neves da Costa.
Tese (doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Química, 2014.

Inclui bibliografia.

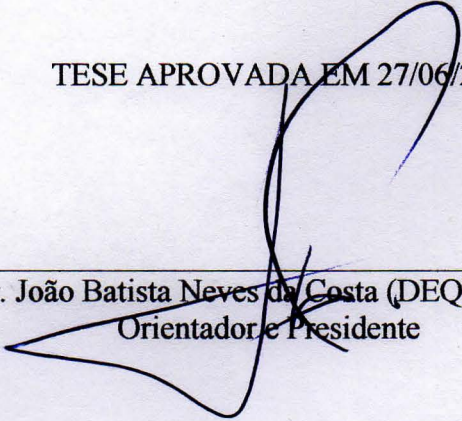
1. Química orgânica - Teses. 2. Síntese orgânica - Teses. 3. Compostos organofosforados - Teses. 4. Piridina - Teses. 5. Aldeídos - Teses. 6. Leishmaniose - Teses. I. Costa, João Batista Neves da, 1956- II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Química. III. Título.

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

VINÍCIUS TOMAZ GONÇALVES

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

TESE APROVADA EM 27/06/2014



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

Alice R. R. Bernardino
Prof^a Dr^a. Alice Maria Rolim Bernadino (IQ-UFF)
Membro Titular

Alcino Palermo de Aguiar
Prof. Dr. Alcino Palermo de Aguiar (SE/5-IME-RJ)
Membro Titular

Victor Marcos Rumjanek
Profa. Dr. Victor Marcos Rumjanek (DEQUIM-UFRRJ)
Membro Titular

Aurélio Baird Buarque Ferreira
Prof. Dr. Aurélio Baird Buarque Ferreira (DEQUIM-UFRRJ)
Membro Titular

REALMENTE

A tempestade espanta. Entretanto, acentuar-nos-á a resistência se soubermos recebê-la.

A dor dilacera. Mas aperfeiçoar-nos-á o coração, se buscarmos aproveitá-la.

A incompreensão dói. Contudo, oferece-nos excelente oportunidade de compreender.

A luta perturba. Todavia, será portadora de incalculáveis benefícios, se lhe aceitarmos o concurso.

O desespero destrói. Diante dele, porém, encontramos ensejo de cultivar a serenidade.

O ódio enegrece. No entanto, descortina bendito horizonte à revelação do amor.

A aflição esmaga. Abre-nos, todavia, as portas da ação consoladora.

O choque assombra. Nele, contudo, encontraremos abençoada renovação.

A prova tortura. Sem ela, entretanto, é impossível a aprendizagem.

O obstáculo aborrece. Temos nele, porém, legítimo produtor de elevação e capacidade.

Francisco Cândido Xavier.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente àquele que considero ser a fonte de toda a razão de minha existência, àquele que me fortalece, me revigora, me ensina e me inspira a ser cada vez mais obediente às suas lições, Deus.

Agradeço profundamente aos meus pais, Iderval Antônio Gonçalves e Teresinha da Luz Tomaz Gonçalves, por todo o sustento material, maternal e educacional, impulsionando os meus passos para o caminho do amor, da bondade e da perseverança.

Aos meus irmãos Jefferson Tomaz Gonçalves e Romeu Tomaz Gonçalves pela atenção, companheirismo e afeto ao longo de minha jornada.

Aos meus parentes, principalmente: Iara, Ione, Sandra, José Jorge, Antônio, Maria José, Robson, Rodolfo, Pablo, Delba, Andréia e Marcelo, pelos momentos de prestação de fraternidade e acolhimento de paz.

Ao meu Orientador e amigo, professor João Batista Neves Da Costa, por todo o empenho, amizade e transmissão de conhecimento diante desta minha passagem por esta instituição.

Agradeço a todos os professores que me propiciaram a oportunidade de compartilhar os seus conhecimentos para a minha evolução intelectual, principalmente: Antônia, Luciano, Márcia, Aurélio, Rosane, Marco, Vitor, Maurício, Cayoco, Sérgio, Teresinha, Dari, Laerte e Adelina.

Aos técnicos: Maurício, Fran, Carlão, Aldir, Vinícius, Vitor e André, por toda a camaradagem e o apoio prestado para a realização deste trabalho.

Aos meus amigos que já passaram e que ainda estão neste estabelecimento de ensino: Daniel, Aline, Ana Paula, Geraldo, Mirza, Marcela, Letícia, Verônica, Wellinson, Rodney, Breno, Nailton, Vitor, André, Ari, Cleber, Cláudio, Sabrina, Mariana, Bauer, Rose, Cíntia, Wagner, Danilo, Renata, Ceará, Marcelo, Geovane, Cristiane, Carla, Silvana, Juliana, Sabrina, Vitor, Fernanda, Catarina, Daniele e Diego. Amigos que compartilharam os dias de risadas, de nervosismo, ansiedade, (...), amigos.

Aos meus amigos de infância: Janine, Rodrigo, Vinícius, Júnior e Maria, por tornarem os meus finais de semana mais agradável e de certa forma amnésica em relação aos embaraços da vida.

Agradeço a Branca, “bonequinha de porcelana”, por todo o apoio, companheirismo, paciência e carinhosidade.

Ao grupo do laboratório de Farmacologia e Imunidade, do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, pertencente à Universidade Federal de Alagoas (UFAL), pela realização dos ensaios biológicos, em particular à Carolina, Aline e a Dr^a. Magna.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida.

Índice de Tabelas

Tabela 1: Principais anti-helmínticos e antiprotozoários disponíveis.	17
Tabela 2: Casos de Leishmaniose tegumentar americana no Brasil.....	26
Tabela 3: Casos de Leishmaniose visceral no Brasil.....	27
Tabela 4: Rendimentos dos fosfonatos de dialquila.	66
Tabela 5: Dados aproximados de infravermelho das principais bandas de absorção dos fosfonatos de dialquila sintetizados.	67
Tabela 6: Dados de RMN de ^1H dos fosfonatos de dialquila sintetizados.	68
Tabela 7: Rendimentos das dialquifosforilidrazinas.	70
Tabela 8: Principais bandas de absorção das dialquifosforilidrazinas.*	71
Tabela 9: Dados de RMN - ^1H das dialquifosforilidrazinas.....	72
Tabela 10: Dados de RMN de ^{13}C das dialquifosforilidrazinas.	74
Tabela 11: Rendimentos das dialquifosforilidrazonas.	75
Tabela 12: Principais bandas de absorção das dialquifosforilidrazonas sintetizadas.*	78
Tabela 13: Dados de RMN de ^1H das dialquifosforilidrazonas derivadas do 4-carbaldeído piridina.....	82
Tabela 14: Dados de RMN de ^1H das dialquifosforilidrazonas derivadas do 3-carbaldeído piridina.....	83
Tabela 15: Dados de RMN de ^1H das dialquifosforilidrazonas derivadas do 2-carbaldeído piridina.....	84
Tabela 16: Dados de RMN de ^1H das dialquifosforilidrazonas derivadas do 2-cloro-3-carbaldeído piridina.	85
Tabela 17: Dados de RMN de ^1H das dialquifosforilidrazonas derivadas do 5-bromo-3-carbaldeído piridina.	86
Tabela 18: Dados de RMN de ^1H das dialquifosforilidrazonas 2-bromo-3-carbaldeído piridina.	87
Tabela 19: Dados de RMN de ^1H das dialquifosforilidrazonas 3-cloro-4-carbaldeído piridina.	88
Tabela 20: Dados de RMN de ^1H das dialquifosforilidrazonas 3,5-dicloro-4-carbaldeído piridina.....	89

Tabela 21: Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 4-carbaldeído piridina.....	91
Tabela 22: Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 3-carbaldeído piridina.....	92
Tabela 23: Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 2-carbaldeído piridina.	93
Tabela 24: Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 2-cloro- 3-carbaldeído piridina.	94
Tabela 25: Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 5-bromo-3-carbaldeído piridina.	95
Tabela 26: Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 2-bromo-3-carbaldeído piridina.	96
Tabela 27: Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 3-cloro-4-carbaldeído piridina.	97
Tabela 28: Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 3,5-dicloro-4-carbaldeído piridina.	98
Tabela 29: Dados de RMN de ^{31}P	99
Tabela 30: Atividade das DAPH contra as formas promastigota de <i>L. braziliensis</i> e <i>L. amazonensis</i>	104
Tabela 31: Avaliação da toxicidade de fármacos convencionais e inibidores de 5-fosfato isomerase em linha celular J774.....	105

Índice de Esquemas

Esquema 1: Reação do fosfito de trialquila com um halogeneto de alquila.	1
Esquema 2: Obtenção do fosfonato, fosfinato e óxido de fosfina.....	2
Esquema 3: Reação de Michaelis-Becker.	3
Esquema 4: Obtenção de fosforamidas.	4
Esquema 5: Preparação do inseticida crufomato.....	5
Esquema 6: Síntese do tabun a partir de fosforamidocloridrato e dimetilamina.	5
Esquema 7: Formação de fosforamidas a partir de fosforilcloridratos.	5
Esquema 8: Síntese de fosforamidas a partir de fosfonatos de dialquila.	6
Esquema 9: Reação de fosfonatos de dialquila com aminas.....	6
Esquema 10: Síntese dos fosfonatos de dialquila.	33
Esquema 11: Síntese das dialquifosforilidrazinas.....	36
Esquema 12: Síntese das dialquifosforilidrazonas.....	39
Esquema 13: Mecanismo de obtenção dos fosfonatos de dialquila	65
Esquema 14: Mecanismo de síntese dos fosforidrazidatos de dialquila.	69
Esquema 15: Proposta de fragmentação dos principais picos da di-isobutilfosforilidrazina..	73
Esquema 16: Reação de obtenção das dialquifosforilidrazonas	75
Esquema 17: Mecanismo de reação para as dialquifosforilidrazonas.....	76
Esquema 18: Representação dos híbridos de ressonância do anel piridínico	81
Esquema 19: Proposta de fragmentação para os compostos (9), (10), (11) e (12).....	101
Esquema 20: Proposta de fragmentação para os 28 compostos contendo como pico base, o fragmento $m/z = 98$	102

Índice de Figuras

Figura 1: Estrutura básica dos organofosforados tetracoordenados.....	3
Figura 2: Compostos fosforados tri, tetra, penta e hexacoordenados.....	4
Figura 3: Compostos organofosforados com atividade pesticida.....	7
Figura 4: Exemplos de organofosforados com atividade farmacológica.	8
Figura 5: Fosforamidatos pró-nucleotídeos com atividade anticancerígena.....	8
Figura 6: Derivados fosfolipídeos com atividade em <i>L. donovani</i>	9
Figura 7: Derivados da miltefosina com atividade em <i>L. donovani</i> e <i>L. infantum</i>	9
Figura 8: Dialquifosforilidrazonas com atividade em <i>L. amazonensis</i>	10
Figura 9: Fragmento estrutural pertencente à classe das hidrazonas.	11
Figura 10: Hidrazonas com atividade antiinflamatória, antitrombótica e anticonvulsivante respectivamente.	11
Figura 11: Hidrazonas com atividade em células leucêmicas e carcinogênicas.	12
Figura 12: Hidrazonas com atividade analgésica, antineoplásica e anti-microbiana.....	12
Figura 13: Hidrazonas com atividade frente a <i>L. major</i> , utilizando anfotericina como fármaco padrão.	13
Figura 14: Hidrazonas com atividade leishmanicida, utilizando pentamidina como fármaco padrão.	13
Figura 15: Fórmula estrutural da piridina	14
Figura 16: Fármacos comerciais contendo núcleo piridínico.....	14
Figura 17: Agonistas dos receptores de acetilcolina nicotínicos neurais.	15
Figura 18: Complexos de terpiridina platina (II) com ação antiparasitária.....	16
Figura 19: Visão geral do processo de pesquisa e desenvolvimento de um novo fármaco. ...	18
Figura 20: Insetos vetores pertencentes aos gêneros <i>Phlebotomus</i> e <i>Lutzmya</i>	19
Figura 21: Manifestações clínicas das leishmanioses.	20

Figura 22: Distribuição de espécies de leishmania responsáveis pela transmissão da LTA Brasil – 2005.....	21
Figura 23: Principais formas de leishmaniose. a) Forma promastigota. b) Forma amastigota.....	21
Figura 24: Representação esquemática do ciclo evolutivo do parasito da leishmania.....	24
Figura 25: Distribuição mundial de Leishmaniose tegumentar (a) e visceral (b)	25
Figura 26: Fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose.	29
Figura 27: Formação de Ligação hidrogênio intramolecular nos compostos 9 e 10.....	79
Figura 28: Representação da possível ligação hidrogênio para os compostos 22 e 23.....	80
Figura 29: Representação da análise por NOEDIF para a verificação da configuração diastereoisomérica.	81
Figura 30: Efeito de blindagem ocasionado por radicais volumosos sobre o átomo de fósforo	100
Figura 31: Efeito leishmanicida das substâncias (20) e (24) em camundongos albinos BALB/c <i>in vivo</i>	106
Figura 32: Carga parasita da orelha e linfonodo drenante em camundongos albinos BALB/c <i>in vivo</i>	107

Abreviaturas e Símbolos

BSA	albumina sérica bovina
CDCl₃	clorofórmio deuterado
DMSO – d₆	dimetilsulfóxido hexadeuterado
DMEM	meio Eagle modificado por Dulbecco
d	duplete
dd	duplo-duplete
ddd	duplo-duplo-dupletos
dt	duplete de tripletos
dq	duplete de quintetos
h	hepteto
hd	hepteto de dupletos
IV	infravermelho
J	constante de acoplamento
m	multiplete
m/z	relação massa/carga
NOE	efeito nuclear Overhauser
n	noneto
ppm	partes por milhão
q	quarteto
quin	quinteto
n	noneto
PF	ponto de fusão
RMN-¹³C	ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN-¹H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN-³¹P	ressonância magnética nuclear de fósforo 31
HSQC	correlação heteronuclear a uma ligação
HMBC	correlação heteronuclear a múltiplas ligações
SFB	soro fetal bovino
s	simpleto
sex	sexteto
v	estiramento
T	temperatura
t	triplete
δ	na espectrometria de IV: deformação angular
δ	na espectrometria de RMN: deslocamento químico
Δ	aquecimento
t.a.	temperatura ambiente

Sumário

1. Introdução.....	1
1.1. Revisão da literatura.....	1
1.1.1. Compostos organofosforados.....	1
1.1.1.1. Fosforamidatos.....	4
1.1.1.2. Versatilidade dos compostos organofosforados.....	6
1.1.2. Hidrazonas.....	10
1.1.3. Compostos piridínicos.....	14
1.2. Estudos biológicos.....	16
1.2.1. Doenças negligenciadas.....	16
1.2.2. Leishmanioses.....	19
1.2.2.1. Agentes etiológicos.....	20
1.2.2.2. Ciclo de vida.....	22
1.2.2.3. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar e visceral.....	24
1.2.2.4. Tratamento.....	28
2. Objetivos.....	31
3. Materiais e métodos.....	32
3.1. Considerações gerais.....	32
3.2. Síntese dos fosfonatos de dialquila simétricos.....	33
3.2.1. Síntese do fosfonato de dietila [105].....	33
3.2.2. Síntese do fosfonato de dibutila [106].....	34
3.2.3. Síntese do fosfonato de di-isopropila [107].....	34
3.2.4. Síntese do fosfonato de di-isobutila [108].....	34
3.2.5. Síntese do fosfonato de di-s-butila [109].....	35
3.3. Síntese das dialquilfosforilidrazinas (fosforoidrazidatos de dialquila).....	35
3.3.1. Síntese do fosforoidrazidato de dietila [110].....	36
3.3.2. Síntese do fosforoidrazidato de dibutila [111].....	36
3.3.3. Síntese do fosforoidrazidato de di-isopropila [112].....	37
3.3.4. Síntese do fosforoidrazidato de di-isobutila [113].....	38
3.3.5. Síntese do fosforoidrazidato de di-s-butila [114].....	38
3.4. Síntese das dialquilfosforilidrazonas (<i>n</i> '-metileno piridina fosforoidrazidatos de dialquila).....	39
3.4.1. Síntese do <i>n</i> '- [4- metilenopiridina], fosforoidrazidato de dietila [1].....	40

3.4.2. Síntese do n° - [4- metilenopiridina], fosforidrazidato de dibutila [2].	40
3.4.3. Síntese do n° - [4- metilenopiridina], fosforidrazidato de di-isopropila [3].	41
3.4.4. Síntese do n° - [4- metilenopiridina], fosforidrazidato de di-isobutila [4].	42
3.4.5. Síntese do n° - [3- metilenopiridina], fosforidrazidato de dietila [5].	42
3.4.6. Síntese do n° - [3- metilenopiridina], fosforidrazidato de dibutila [6].	43
3.4.7. Síntese do n° - [3- metilenopiridina], fosforidrazidato de di-isopropila [7].	44
3.4.8. Síntese do n° - [3- metilenopiridina], fosforidrazidato de di-isobutila [8].	44
3.4.9. Síntese do n° - [2- metilenopiridina], fosforidrazidato de dietila [9].	45
3.4.10. Síntese do n° - [2- metilenopiridina], fosforidrazidato de dibutila [10].	46
3.4.11. Síntese do n° - [2- metilenopiridina], fosforidrazidato de di-isopropila [11].	46
3.4.12. Síntese do n° - [2- metilenopiridina], fosforidrazidato de di-isobutila [12].	47
3.4.13. Síntese do n° - [2-cloro-3-metilenopiridina], fosforidrazidato de dibutila [13].	48
3.4.14. Síntese do n° - [2-cloro-3-metilenopiridina], fosforidrazidato de di-isopropila [14].	48
3.4.15. Síntese do n° - [2-cloro-3-metilenopiridina], fosforidrazidato de di-isobutila [15].	49
3.4.16. Síntese do n° - [2-cloro-3-metilenopiridina], fosforidrazidato de di-s-butila [16].	50
3.4.17. Síntese do n° - [5-bromo-3-metilenopiridina], fosforidrazidato de dibutila [17].	51
3.4.18. Síntese do n° - [5-bromo-3-metilenopiridina], fosforidrazidato de di-isopropila [18].	51
3.4.19. Síntese do n° - [5-bromo-3-metilenopiridina], fosforidrazidato de di-isobutila [19].	52
3.4.20. Síntese do n° - [5-bromo-3-metilenopiridina], fosforidrazidato de di-s-butila [20].	53
3.4.21. Síntese do n° - [2-bromo-3-metilenopiridina], fosforidrazidato de dibutila [21].	53
3.4.22. Síntese do n° - [2-bromo-3-metilenopiridina], fosforidrazidato de di-isopropila [22].	54
3.4.23. Síntese do n° - [2-bromo-3-metilenopiridina], fosforidrazidato de di-isobutila [23].	55
3.4.24. Síntese do n° - [2-bromo-3-metilenopiridina], fosforidrazidato de di-s-butila [24].	55
3.4.25. Síntese do n° - [3-cloro-4-metilenopiridina], fosforidrazidato de dibutila [25].	56
3.4.26. Síntese do n° - [3-cloro-4-metilenopiridina], fosforidrazidato de di-isopropila [26].	57
3.4.27. Síntese do n° - [3-cloro-4-metilenopiridina], fosforidrazidato de di-isobutila [27].	57
3.4.28. Síntese do n° - [3-cloro-4-metilenopiridina], fosforidrazidato de di-s-butila [28].	58
3.4.29. Síntese do n° - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], fosforidrazidato de dibutila [29].	59
3.4.30. Síntese do n° - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], fosforidrazidato de di-isopropila [30].	59
3.4.31. Síntese do n° - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], fosforidrazidato de di-isobutila [31].	60
3.4.32. Síntese do n° - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], fosforidrazidato de di-s-butila [32].	61

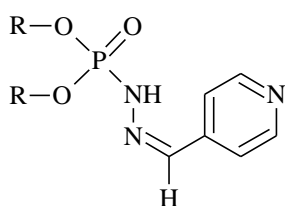
3.5. Ensaio de letalidade sobre os protozoários.....	62
3.5.1. Metodologia - ensaios farmacológicos.....	62
3.5.1.1. Ética dos experimentos.....	62
3.5.1.2. Manutenção de linhagem macrófagos e infecção.....	62
3.5.1.3. Determinação da viabilidade celular.....	62
3.5.1.4. Ensaio de viabilidade de parasitos <i>in vitro</i>	63
3.5.1.5. Dosagem do óxido nítrico.....	63
3.5.1.6. Ensaio <i>in vivo</i>	63
3.5.1.7. Avaliação da carga parasitária <i>in vivo</i>	64
3.5.1.8. Análise estatística.....	64
4. Resultados e discussão.....	65
4.1. Síntese dos fosfonatos de dialquila.....	65
4.1.1. Análise estrutural dos fosfonatos de dialquila por infravermelho.....	66
4.1.2. Análise estrutural por espectrometria de rmn de ¹ H.....	67
4.2. Síntese das dialquifosforilidrazinas (fosforoidrazidatos de dialquila).....	69
4.2.1. Análise estrutural das dialquifosforilidrazinas por espectrometria de infravermelho...	70
4.2.2. Análise por espectrometria de rmn de ¹ H.....	71
4.2.3. Análise por espectrometria de rmn de ¹³ C.....	73
4.2.4. Análise por espectrometria de massas.....	73
4.3. Síntese das dialquifosforilidrazonas (n ^o - metilenopiridina fosforoidrazidatos de dialquila).....	75
4.3.1. análise por espectrometria de infravermelho.....	77
4.3.2. Análise por espectrometria de rmn- ¹ H.....	79
4.3.3. Análise por espectrometria de rmn- ¹³ C.....	90
4.3.4. Análise por espectrometria de rmn- ³¹ P.....	99
4.3.5. Análise por espectrometria de massas.....	100
4.3.6. Análise bidimensional.....	102
4.4. Avaliação da atividade biológica.....	103
5. Conclusão.....	108
6. Referências bibliográficas.....	109

Resumo

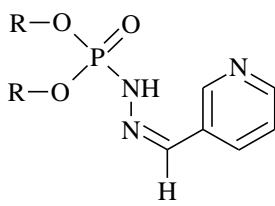
GONÇALVES, Vinícius Tomaz. **Síntese, Caracterização e Avaliação da Atividade Leishmanicida de novas Dialquilfosforilidrazonas Derivadas de Aldeídos Piridínicos.** Tese de Doutorado, Doutor em Ciências, Síntese Orgânica. Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

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

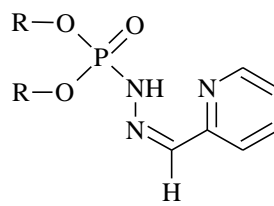
Todos os compostos obtidos foram caracterizados pelas técnicas de espectrometria de RMN de ^1H , RMN de ^{13}C e RMN de ^{31}P , IV e massas e apresentaram um rendimento na faixa de 60%.



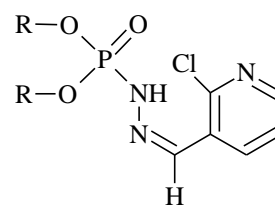
R= etil (1)
R= butil (2)
R= *isopropil* (3)
R= *isobutil* (4)



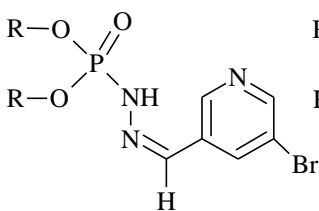
R= etil (5)
R= butil (6)
R= *isopropil* (7)
R= *isobutil* (8)



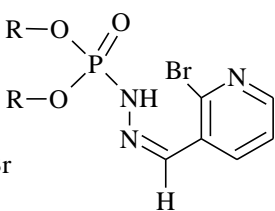
R= etil (9)
R= butil (10)
R= *isopropil* (11)
R= *isobutil* (12)



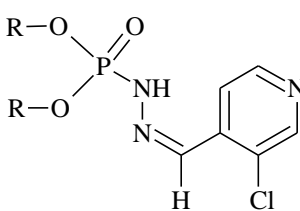
R= butil (13)
R= *isopropil* (14)
R= *isobutil* (15)
R= *secbutil* (16)



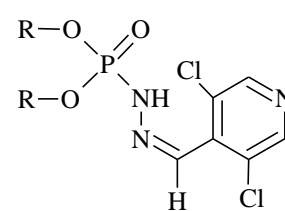
R= butil (17)
R= *isopropil* (18)
R= *isobutil* (19)
R= *secbutil* (20)



R= butil (21)
R= *isopropil* (22)
R= *isobutil* (23)
R= *secbutil* (24)



R= butil (25)
R= *isopropil* (26)
R= *isobutil* (27)
R= *secbutil* (28)



R= butil (29)
R= *isopropil* (30)
R= *isobutil* (31)
R= *secbutil* (32)

Sete grupos dos compostos sintetizados (8, 10, 15, 18, 21, 26 e 31) contendo anéis piridínicos distintos, foram analisados por HSQC, HMBC e NOEDIF devido à dificuldade de assinalamento para alguns sinais referentes ao núcleo aromático, assim como, para verificar a prevalência dos diastereoisômeros correspondentes.

Os efeitos de quinze dialquilfosforilidrazonas foram avaliados *in vitro* nas formas promastigota de *L. braziliensis* e *L. amazonensis* e *in vivo* sobre a espécie *L. amazonensis*, destacando-se os compostos (6, 10, 20, 24 e 32) no estudo *in vitro*, por apresentarem atividade em ambas espécies e baixa citotoxicidade para macrófagos a uma concentração de 100 µM, com ressalva ao composto (32) que exibiu toxicidade em torno de 20% para as células avaliadas.

Os compostos (20 e 24), mediante as correlações citadas anteriormente, foram avaliados *in vivo* demonstrando apreciável redução da lesão cutânea análogo ao fármaco miltefosina, porém, incapazes de reduzir a carga parasitária nos linfonodos.

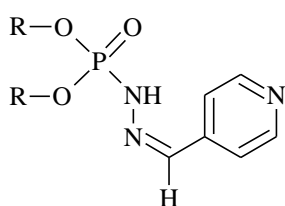
Palavras chave: Compostos organofosforados, Dialquilfosforilidrazonas, Leishmaniose, Atividade leishmanicida, Aldeídos piridínicos.

Abstract

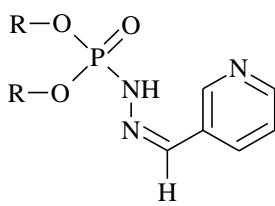
GONÇALVES, Vinícius Tomaz. **Synthesis, Characterization and Evaluation of Leishmanicidal activity of new Dialkylphosphorylhydrazones derived from pyridine aldehydes** Doctoral Thesis, Doctor of Science, Organic Synthesis. Institute of Exact Sciences, Chemistry Department, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

A series of thirty-two new dialkylphosphorylhydrazones derived from pyridine aldehydes were synthesized in three steps. The first involves the synthesis of different dialkylphosphonates, which are obtained by phosphorus trichloride (PCl_3) reaction with three mols of the corresponding alcohol. In the second step, the reaction of dialkylphosphonates with hydrazine, in a biphasic system, leads to the formation of dialkylphosphorylhydrazines. The last step is the condensation of these dialkylphosphorylhydrazines with different pyridine aldehydes.

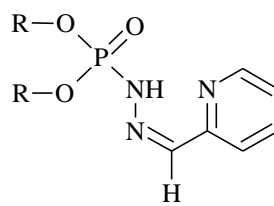
All the obtained compounds were characterized by $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, $^{31}\text{P NMR}$, IR and mass spectrometry techniques and presented a yield in the range of 60%.



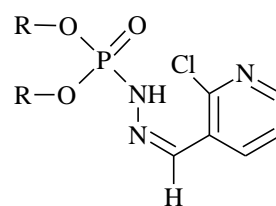
R= etil (1)
R= butil (2)
R= *isopropil* (3)
R= *isobutil* (4)



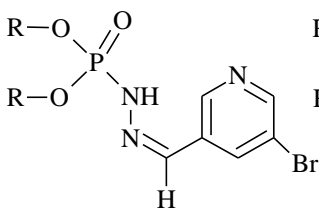
R= etil (5)
R= butil (6)
R= *isopropil* (7)
R= *isobutil* (8)



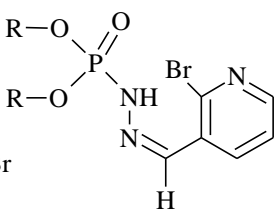
R= etil (9)
R= butil (10)
R= *isopropil* (11)
R= *isobutil* (12)



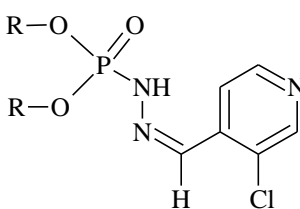
R= butil (13)
R= *isopropil* (14)
R= *isobutil* (15)
R= *secbutil* (16)



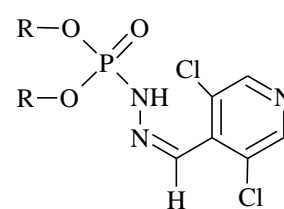
R= butil (17)
R= *isopropil* (18)
R= *isobutil* (19)
R= *secbutil* (20)



R= butil (21)
R= *isopropil* (22)
R= *isobutil* (23)
R= *secbutil* (24)



R= butil (25)
R= *isopropil* (26)
R= *isobutil* (27)
R= *secbutil* (28)



R= butil (29)
R= *isopropil* (30)
R= *isobutil* (31)
R= *secbutil* (32)

Seven groups of these synthesized compounds (8, 10, 15, 18, 21, 26 e 31) containing different pyridine rings, were analyzed by HSQC, HMBC and NOEDIF due to the difficulty in assignment of some signals related to aromatic nucleus, as well as to check the existence of corresponding diastereoisomers.

The effects of the fifteen dialkylphosphorylhydrazones were evaluated *in vitro* in the promastigote forms of *L. braziliensis* and *L. amazonensis* and *in vivo* on the species *L. amazonensis*, highlighting the compounds (6, 10, 20, 24 and 32) in the *in vitro* study, for presenting activity in both species, and low cytotoxicity to macrophages at a 100 μM concentration, with caveat to the compound (32) that exhibited a toxicity around 20% to the evaluated cells.

The compounds (20 e 24), through the correlations mentioned before, were evaluated *in vivo* demonstrating a significant reduction of the skin lesion, analogue to the drug miltefosina, however, unable to reduce the parasite load in the lymphnodes.

Key words: Organophosphorus compounds, Dialkylphosphorylhydrazones, Leishmaniasis, Leishmanicide activity, Pyridine aldehydes.

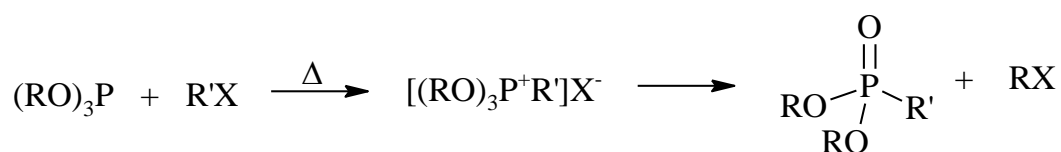
1. Introdução

1.1. Revisão da Literatura

1.1.1. Compostos Organofosforados

O início dos estudos das propriedades e características do fósforo no campo da química ocorreu, primeiramente, pelos estudos de LASSAIGNE em 1820, na preparação de ésteres fosfatos (ETO, 1974). A química dos compostos organofosforados foi desenvolvida por MICHAELIS, conhecido como o fundador da química dos compostos organofosforados, que no final do século XIX explorou a nucleofilicidade do fósforo (MICHAELIS & KAEHNE, 1898), que foi estudada em detalhes por ARBUZOV (1906) e vários outros cientistas subsequentes (HARVEY & DE SOMBRE, 1964). MICHAELIS desenvolveu muitos trabalhos para a química de compostos contendo a ligação P-N (ETO, 1974). Sobrepondo os últimos estágios de MICHAELIS, um químico russo, A. E. ARBUZOV, conduziu extensivamente a pesquisa, especialmente na química de compostos trivalentes, incluindo a famosa reação MICHAELIS-ARBUZOV para formar a ligação P-C (ARBUZOV, 1906). Este trabalho foi continuado por seu filho B. A. ARBUZOV (ARBUZOV, B. A. *et al.*, 1963).

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

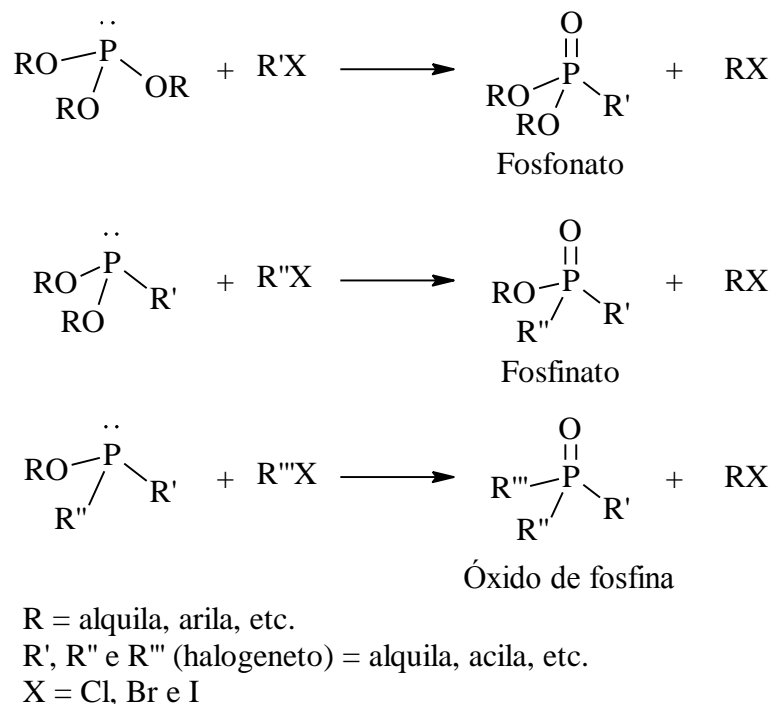


R = Alquila, Arila, etc.
R' = Alquila, Acila, etc.
X = Cl, Br e I

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

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

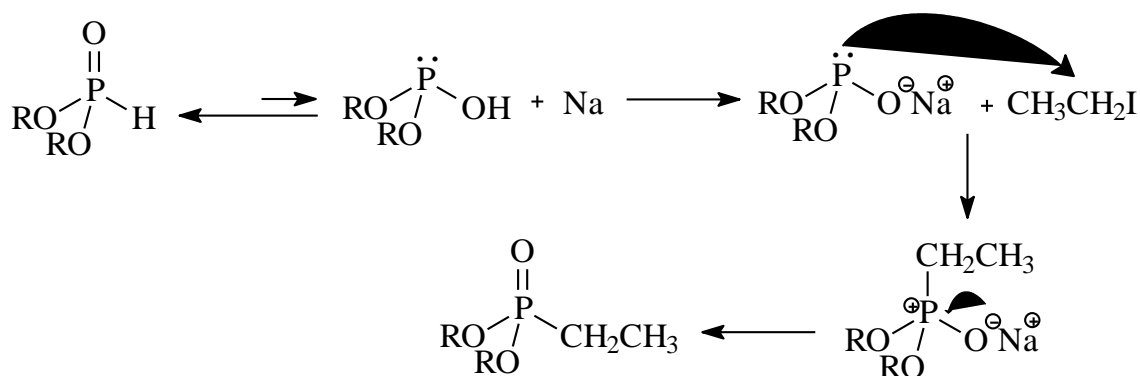
Durante a transformação, o fósforo trivalente (P^{III}) é convertido em fósforo pentavalente (P^V). Em geral, ocorre uma permuta entre o grupo alquila do halogeneto e o grupo alcóxila do fósforo, gerando às diferentes classes fosforadas e, concomitantemente, novos halogenetos (MARK, 1969; dos SANTOS *et al.*, 2007), **Esquema 2**.



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

A literatura registra que a conversão de P-O-C para P(=O)-C ($P^{III} \rightarrow P^V$) envolve uma quantidade de energia em torno de 32-65 kcal/mol na estabilização total da ligação e, portanto, age como força diretora do rearranjo (PERKOW *et al.*, 1952).

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



Esquema 3: Reação de Michaelis-Becker.

A estrutura básica dos compostos organofosforados está mostrada na **Figura 1**. Usualmente, R e R' são grupos arilas ou alquilas que são ligados diretamente ao átomo de fósforo (formando fosfinatos) ou através de um átomo de oxigênio ou de enxofre (formando fosfatos e fosfortioatos). Em outros casos, R está diretamente ligado ao átomo de fósforo, e R' está ligado por um átomo de oxigênio ou de enxofre (formando fosfonatos ou tiofosfonatos). Nos fosforamidatos, no mínimo um destes grupos é o NH₂. O grupo amino dos fosforamidatos pode ser não substituído, mono ou dissustituído. O átomo formando ligação dupla com o fósforo pode ser oxigênio ou enxofre ou selênio. Finalmente, o grupo L pode pertencer a uma variedade de grupos tais como, halogenetos, alquilas, arilas ou heteroarilas (SOGORB & VILANOVA, 2002).

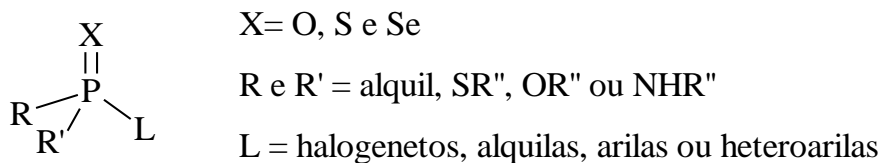


Figura 1: Estrutura básica dos organofosforados tetracoordenados.

Uma característica do elemento fósforo é a sua capacidade de realizar inúmeras coordenações [P(III) → P(IV) → P(V) → P(VI)] (**Figura 2**), devido a alguns fatores, tais como a alta nucleofilicidade dos compostos de fósforo trivalente, fosfitos de alquila e arila, a forte ligação formada entre o átomo de fósforo e heteroátomos como O, S, N e halogênios, a capacidade do átomo de fósforo em estabilizar ânions adjacentes, o que possibilita à formação de vários ilídeos de fósforo, e também à sua capacidade de atuar como eletrófilo, o que

confere elevada flexibilidade aos compostos de fósforo, em especial aos organofosforados (CADOGAN, 1979).

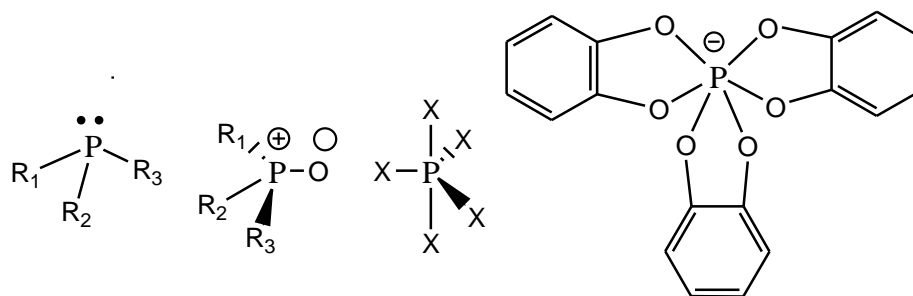
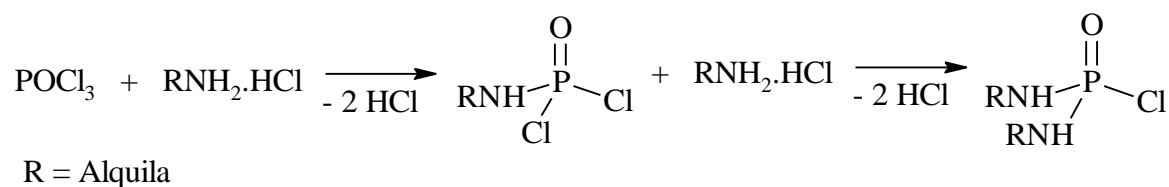


Figura 2: Compostos fosforados tri, tetra, penta e hexacoordenados.

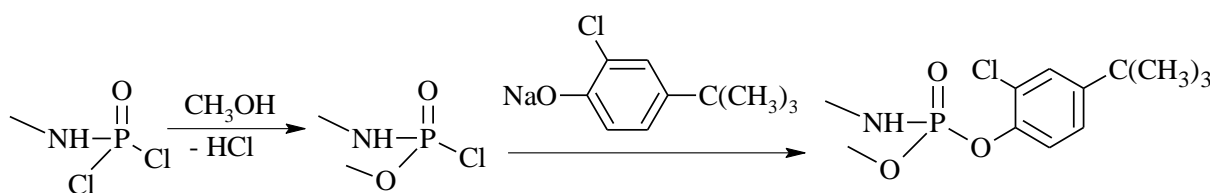
1.1.1.1. Fosforamidatos

A ligação P-N, que caracteriza as fosforamidas, é geralmente formada por reações de cloretos de fósforo (PCl_3), cloreto de fosforila ou compostos trivalentes de fósforo com diferentes aminas ou amônia (TOY, 1977; FISHER & VAN WAZER, 1961) **Esquema 4**.



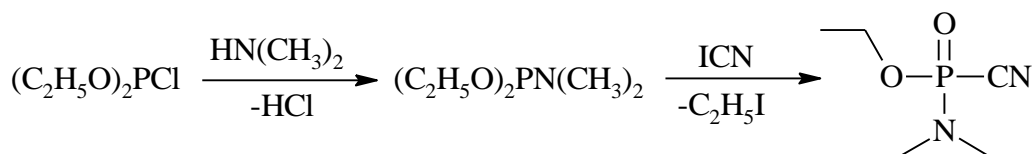
Esquema 4: Obtenção de fosforamidas.

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



Esquema 5: Preparação do inseticida crufomato.

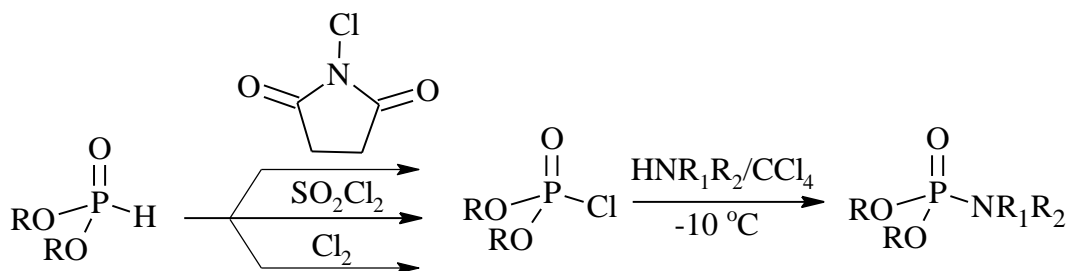
Os fosforamidocloridratos de dialquila reagem com aminas para preparação dos correspondentes amidetos, como na preparação do tabun, descoberto na II Guerra Mundial, conhecido como gás dos nervos por agir no sistema nervoso através da interação com a acetilcolinesterase de vertebrados e invertebrados, causando diversos sintomas como: contrações musculares e convulsões, até a paralisia do sistema respiratório, como é mostrado no **Esquema 6** (SAUNDERS, 1957).



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

Os métodos de síntese de fosforamidas foram descritos a partir de 1945 com uma série de trabalhos realizados por ATHERTON (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**.

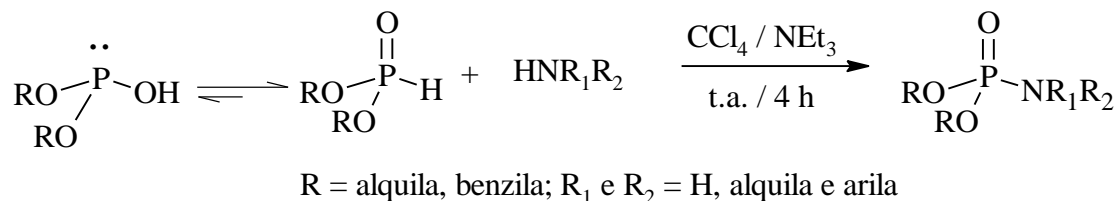


R = alquila ou arila.

Esquema 7: Formação de fosforamidas a partir de fosforilcloridratos.

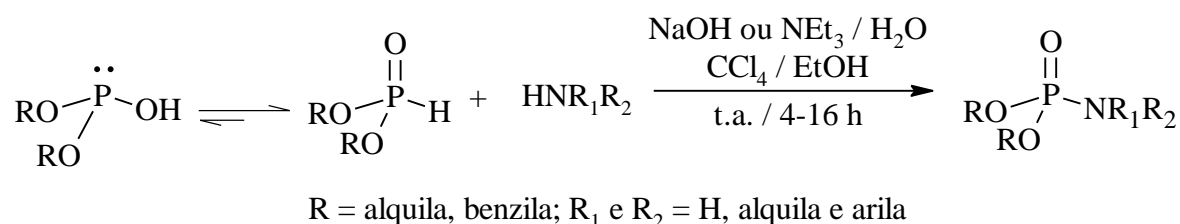
Posteriormente, foi descoberto que fosfonatos de dialquila reagem diretamente com aminas e tetracloreto de carbono em meio básico, de modo mais brando e com resultados igualmente satisfatórios. Os fosfonatos de dialquila reagem suavemente com aminas

primárias, secundárias ou amônia em tetracloreto de carbono para fornecer fosforamidatos de dialquila em excelentes rendimentos, **Esquema 8** (ATHERTON *et al.*, 1945).



Esquema 8: Síntese de fosforamidas a partir de fosfonatos de dialquila.

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: Reação de fosfonatos de dialquila com aminas.

1.1.1.2. Versatilidade dos compostos organofosforados.

Atuando como pesticidas, os organofosforados não incluem somente inseticidas, mas também fungicidas, herbicidas, nematicidas, acaricidas e molusquicidas (**Figura 3**). Esta gama de atribuições refletidas pela atuação desses compostos permite destacar a enorme influência de suas estruturas, onde, átomo de fósforo, através de sua distribuição eletrônica com orbitais “d” acessíveis e também por ser um átomo polarizável e eletropositivo desempenha um papel fundamental (CADOGAN & HODGSON, 1987).

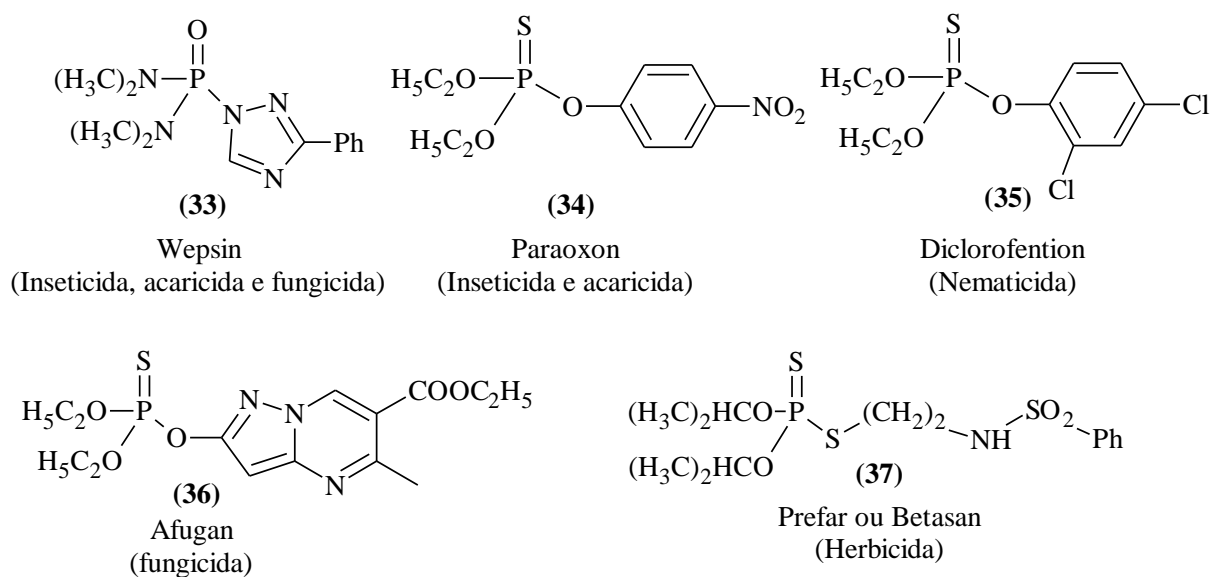
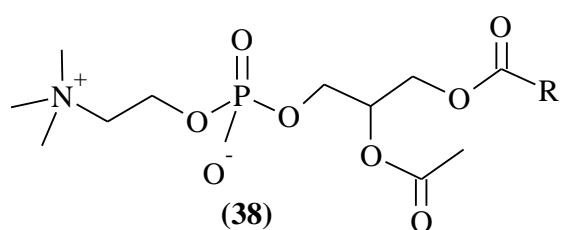


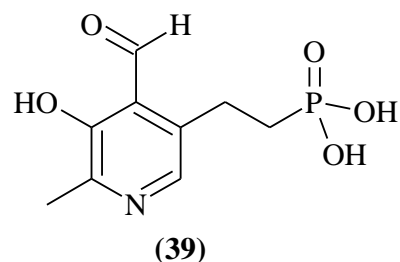
Figura 3: Compostos organofosforados com atividade pesticida.

Nas últimas décadas, o desempenho destes compostos na farmacologia tem despertado um grande interesse em função de suas variadas atividades como: anticolinesterásica, antiglaucoma, antiblastoma, anti-helmíntica, antiviral, antiarteroesclerose, antibacteriana, antiartrite, anti-hipoglicêmica e compostos de fósforo que são classificados como vitaminas (YUDELEVICH *et al.*, 1986; LANÇAS *et al.*, 2005; dos SANTOS *et al.*, 2007).

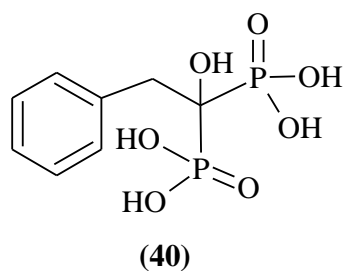
A **Figura 4** apresenta alguns exemplos de compostos organofosforados com atividade farmacológica.



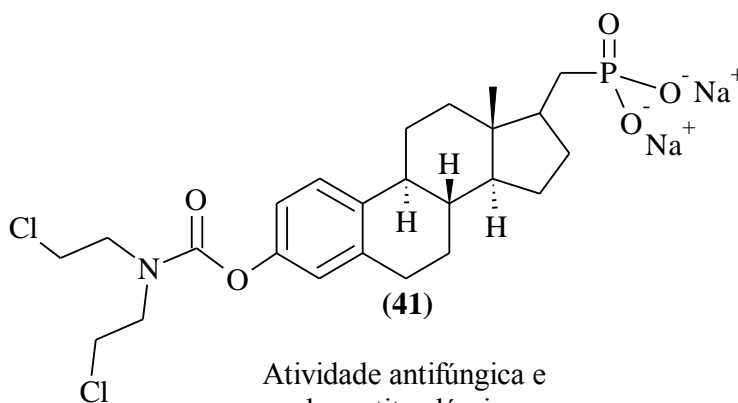
R = Resíduos presentes em
ácidos graxos
Atividade neurotrópica



Forma presente na vitamina B6



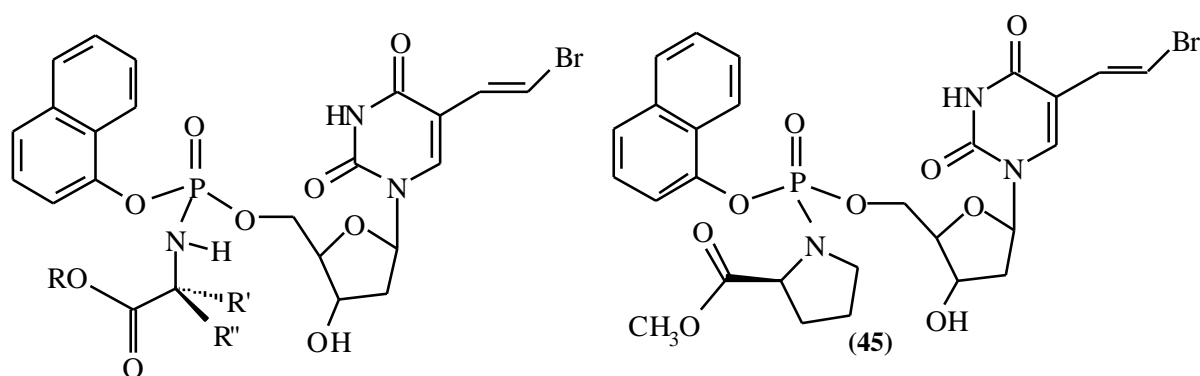
Atividade contra artrite



Atividade antifúngica e
dermatite alérgica

Figura 4: Exemplos de organofosforados com atividade farmacológica.

Os fosforamidatos (42), (43 e 44) e (45) citados na **Figura 5**, apresentaram boas atividades citostáticas *in vitro*, contra a linhagem de células de câncer de mama humano MDA MB 231, células de próstata PC-3 e células de bexiga T24, respectivamente (McGUIGAN *et al.*, 2006).



- (42) R = Me, R' = Me, R'' = Me
 (43) R = Bu, R' = H, R'' = CHMeEt
 (44) R = Me, R' = H, R'' = Ph

Figura 5: Fosforamidatos pró-nucleotídeos com atividade anticancerígena.

SEIFERT e colaboradores sintetizaram compostos derivados de fosfolípídeos (**46**, **47** e **48**) mostrando ser mais ativos que o fármaco comercial, miltefosina (**49**), quando testados *in vitro* contra ambas as fases do ciclo de vida (intracelular e extracelular) de *L. donovani*, **Figura 6** (SEIFERT *et al.*, 2007).

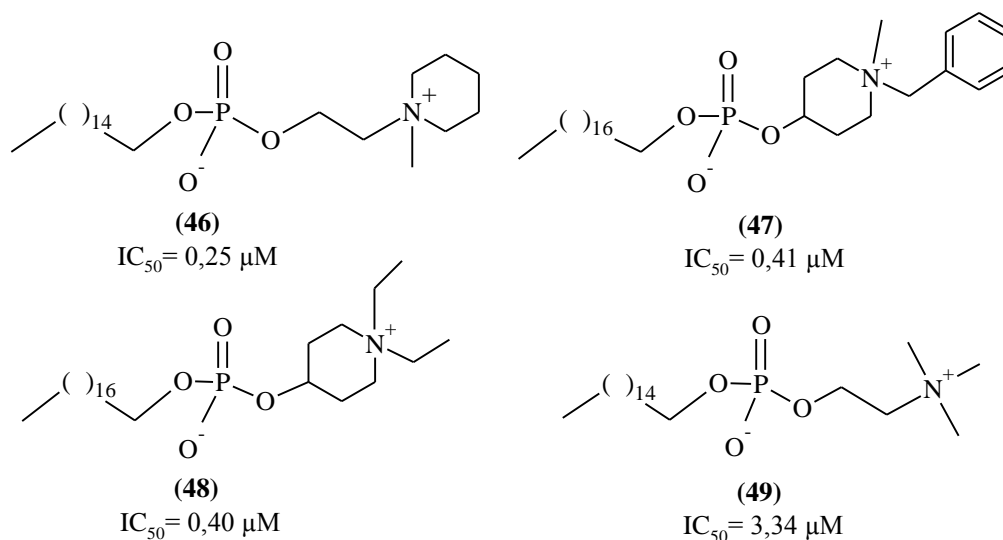


Figura 6: Derivados fosfolípídeos com atividade em *L. donovani*.

AVLONITIS e colaboradores sintetizaram compostos derivados da miltefosina contendo como grupos substituintes, *N, N, N*-trimetilamônio, *N*-metilpiperidina e *N*-metilmorfolina. A **Figura 7** mostra substâncias mais potentes que a miltefosina, composto controle, contra as formas promastigotas de *L. donovani* e *L. infantum* em avaliação *in vitro* (AVLONITIS *et al.*, 2003).

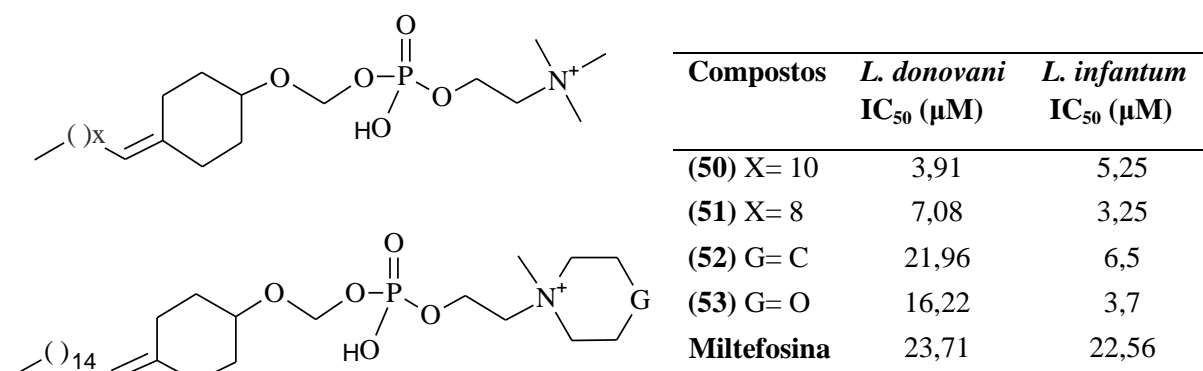
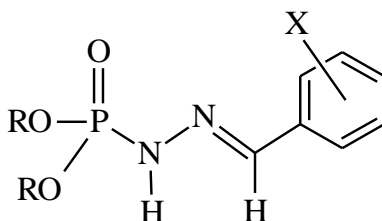


Figura 7: Derivados da miltefosina com atividade em *L. donovani* e *L. infantum*.

Recentemente, um conjunto de compostos organofosforados desenvolvidos por nosso grupo, especificamente, dialquilfosforilidrazonas derivadas de aldeídos aromáticos, foram avaliadas *in vitro* contra promastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis* evidenciando uma eficiente atividade inibitória proliferativa do parasito, como também, ausência de toxicidade sobre os linfócitos do hospedeiro em doses de até 50 µM, **Figura 8** (NOGUEIRA *et al.*, 2011).



Compostos R= butil	% inibição de <i>L. amazonensis</i>	Compostos R= isobutil	% inibição de <i>L. amazonensis</i>
(54) X= H	86,7	(59) X= H	24,0
(55) X= pNO ₂	95,2	(60) X= p-NO ₂	99,4
(56) X= oNO ₂	91,6	(61) X= p- CO ₂ H	N.T.
(57) X= p-CN	91,6	(62) X= p-Cl	95,2
(58) X= P-CO ₂ H	N.T.	(63) X= p-CN	86,7

Figura 8: Dialquilfosforilidrazonas com atividade em *L. amazonensis*.

1.1.2. Hidrazonas

Neste trabalho, como a porção hidrazônica é parte importante das estruturas sintetizadas faz-se necessário uma pequena revisão da literatura para ter conhecimento de sua atividade, aplicações e importância.

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 considerados hidrazonas, todos os compostos cujas moléculas possuem em sua estrutura uma porção triatômica conforme a apresentada na **Figura 9** considerando que esta não pertença a um heterociclo (KITAEV & BUZYKIN, 1972).

todos os tipos de câncer avaliados, apresentando IC₅₀ na faixa de 0,5 a 8,0 µM, 3 a 9,4 µM e 4 a 14 µM respectivamente. As maiores atividades destas hidrazonas foram frente às células leucêmicas (COLLA *et al.*, 2006).

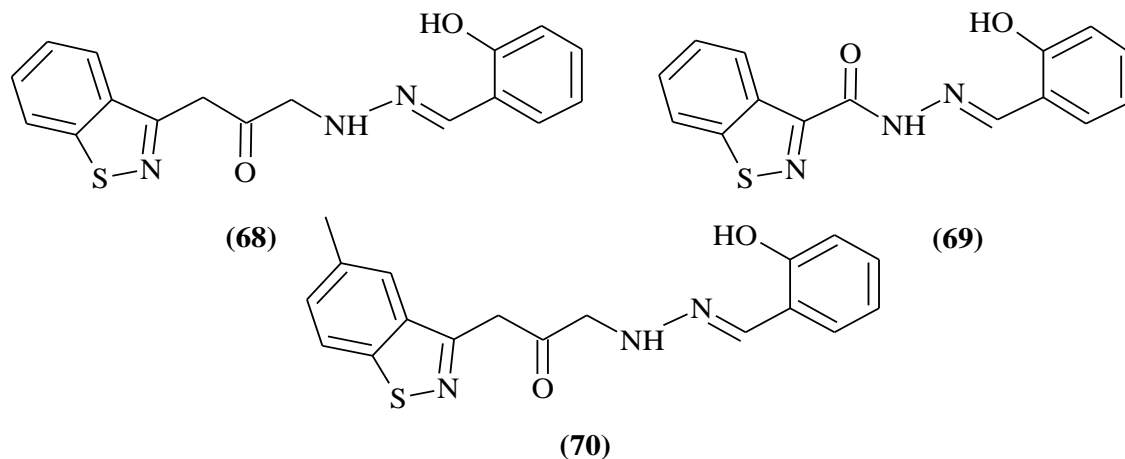


Figura 11: Hidrazonas com atividade em células leucêmicas e carcinogênicas.

As sulfonilhidrazonas apresentam grande versatilidade farmacológica que incluem atividades analgésicas (71 e 72), atividade antineoplásica (73 e 74) e atividade anti-microbiana (75 e 76) (LIMA *et al.*, 1999) (Figura 12).

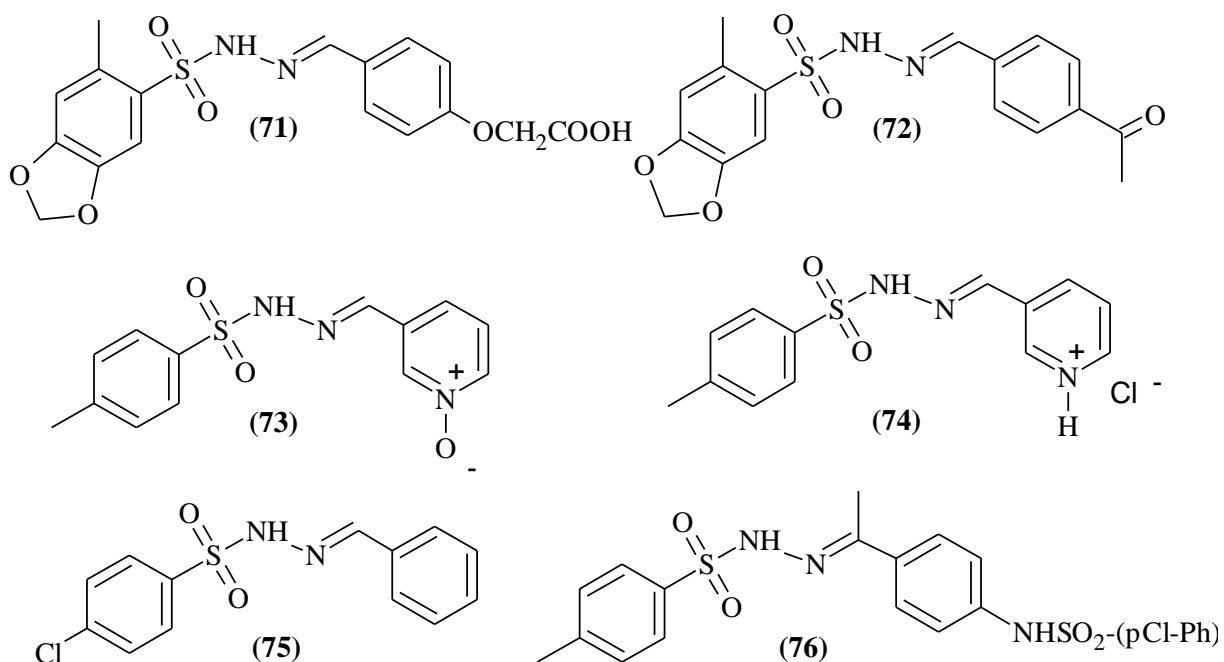


Figura 12: Hidrazonas com atividade analgésica, antineoplásica e anti-microbiana.

YASSER e colaboradores relataram a síntese de hidrazonas com boa atividade leishmanicida sobre *L. major* a partir de benzofenonas e 1,2-dicetonas tendo como referência padrão, a anfotericina B (YASSER *et al.*, 2012) (**Figura 13**).

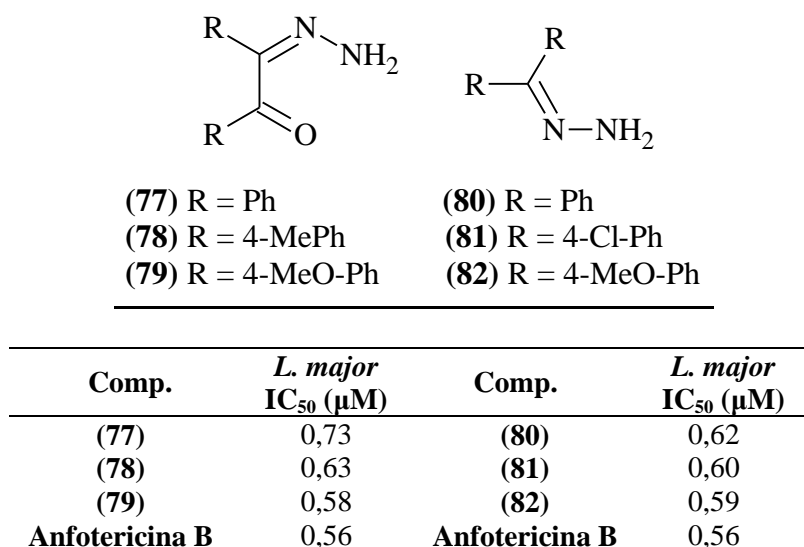


Figura 13: Hidrazonas com atividade frente a *L. major*, utilizando anfotericina como fármaco padrão.

MUHAMAD e colaboradores descrevem um grupo de compostos denominados 2-metoxi-benzoilidrazonas, derivados de diferentes aldeídos aromáticos contendo diferentes graus de atividade leishmanicida quando comparadas com o modelo padrão, pentamidina (MUHAMMAD *et al.*, 2013) (**Figura 14**).

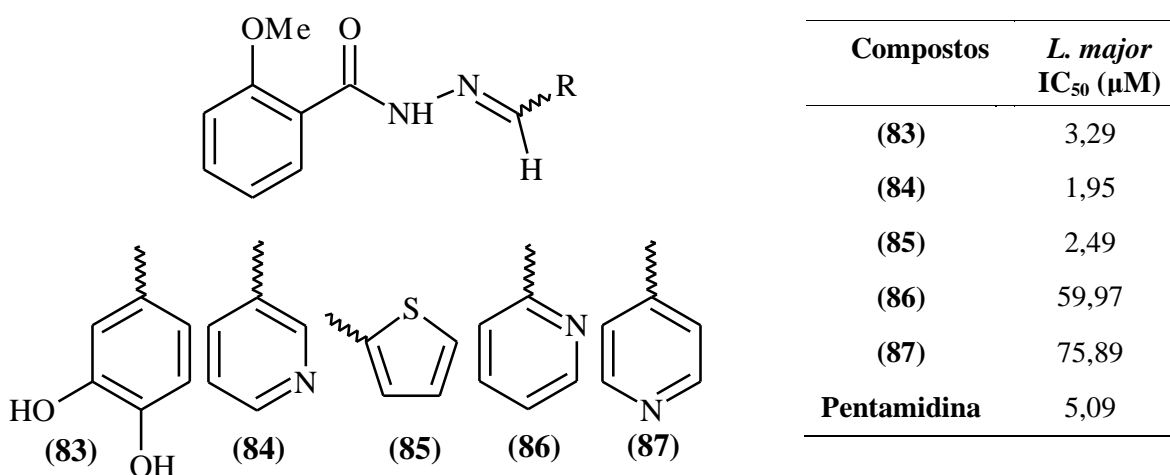
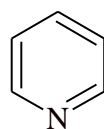


Figura 14: Hidrazonas com atividade leishmanicida, utilizando pentamidina como fármaco padrão.

1.1.3. Compostos Piridínicos

Heterociclos são compostos orgânicos que apresentam uma estrutura cíclica contendo um ou mais heteroátomos, sendo os mais frequentes, o oxigênio, nitrogênio e o enxofre. Estes compostos orgânicos são largamente produzidos pela natureza, estando presentes nas estruturas de mais da metade das substâncias essenciais à vida em muitos aspectos, pois constituem muitos dos açúcares, vitaminas e produtos naturais, como os alcalóides (NEWKOME, 1982; BAKER, 2007). Muitos compostos heterocíclicos sintéticos, obtidos apenas através de síntese laboratorial, apresentam propriedades valiosas como agentes quimioterapêuticos, corantes, polímeros, etc (ACHERSON, 1977; TAVARES, 1996).

Dentre a grande família de compostos pertencentes a essa classe, encontra-se a piridina (**Figura 15**).

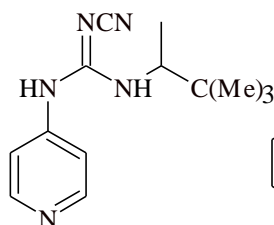


(88)

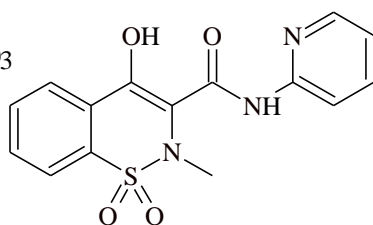
Figura 15: Fórmula estrutural da piridina

A piridina pode ser encontrada em um extenso número de agentes farmacêuticos com diversas séries de propriedades biológicas (ROTH & KLEEMAN, 1988).

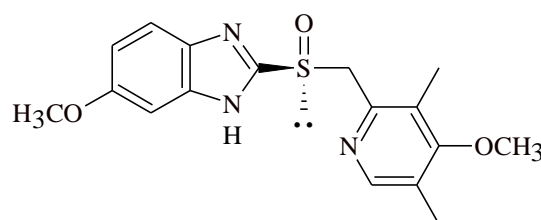
Abaixo, são demonstradas as estruturas de três fármacos comerciais contendo o núcleo piridínico (**Figura 16**).



Pinacidil
vasodilatador
(89)



Piroxicam
anti-inflamatório
(90)



(R,S)- Omeprazol
antiulceroso
(91)

Figura 16: Fármacos comerciais contendo núcleo piridínico.

BUNELLE e colaboradores (BUNELLE *et al.*, 2007) investigaram a afinidade de análogos estruturais da epibatidina (**Figura 17**) pelos receptores de acetilcolina nicotínicos neurais (nAChRs). A epibatidina é um potente analgésico agonista de nAChRs mas, inviável para o uso clínico devido a sua alta toxicidade. Nestes estudos observou-se que o análogo 3-piridil-substituído possui mais afinidade ao subtipo $\alpha 2\beta 4$ de nAChRs que os análogos 2- e 4-piridil-substituído.

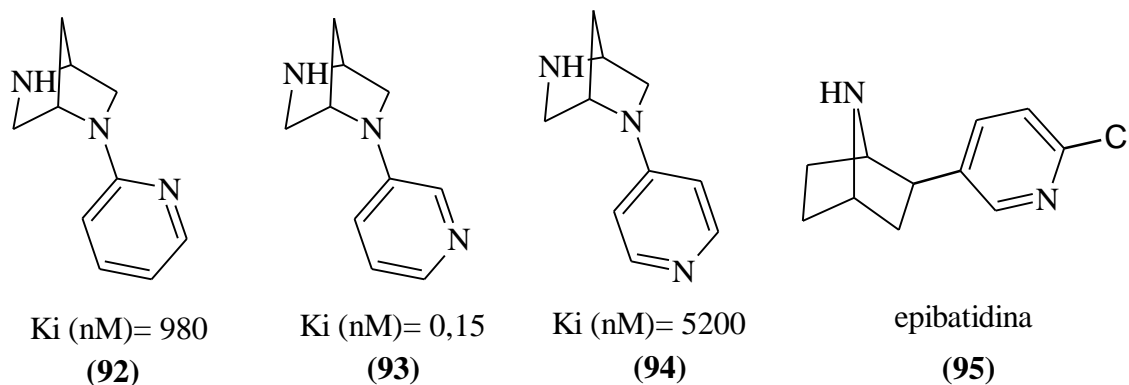
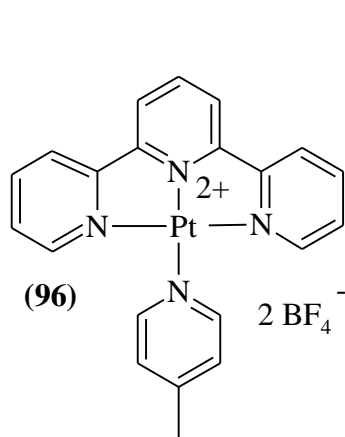
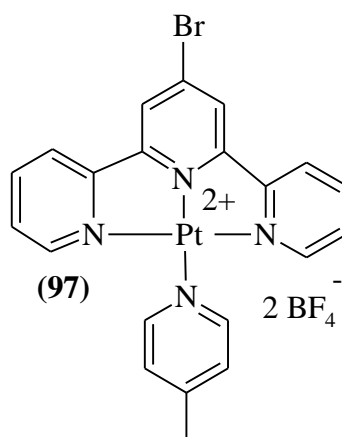


Figura 17: Agonistas dos receptores de acetilcolina nicotínicos neurais.

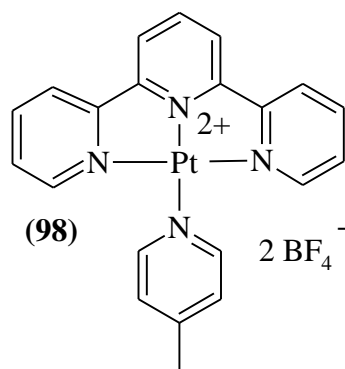
Há mais de vinte anos os complexos de terpiridina platina (II) foram descritos como intercalantes da dupla-hélice do DNA sendo, por isso, investigados quanto às ações antiparasitárias, antibióticas e antitumorais (JENNETTE *et al.*, 1974). Buscando avaliar os efeitos antiparasitários desta classe de compostos, LOWE e colaboradores sintetizaram diferentes derivados (**Figura 18**) e avaliaram seus efeitos em cepas de *Leishmania donovani*, *Trypanosoma cruzi* e *Trypanosoma brucei*, agentes etiológicos da leishmaniose, doença de Chagas e doença do sono respectivamente. (LOWE *et al.*, 1999). Neste estudo, verificou-se que a substituição em um dos anéis piridínicos do complexo favoreceu a atividade antiparasitária.



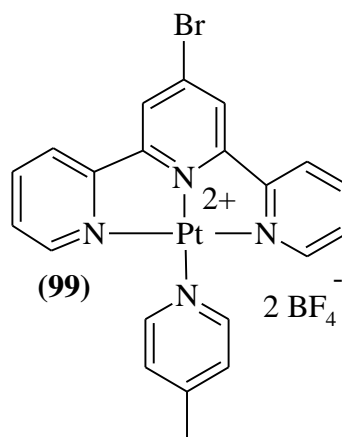
L. dovani - Sem inibição
T. cruzi - Sem inibição
T. brucei - 3 μM - 100



L. dovani - 30 μM - 100
T. cruzi - Sem inibição
T. brucei - 1 μM - 100



L. dovani - 30 μM - 100
T. cruzi - 30 μM - 100
T. brucei - 0,3 μM - 83,3



L. dovani - 10 μM - 100
T. cruzi - 3 μM - 100
T. brucei - 0,3 μM - 100

Figura 18: Complexos de terpiridina platina (II) com ação antiparasitária.

1.2. Estudos Biológicos

1.2.1. Doenças Negligenciadas.

No mundo atual, o desenvolvimento da ciência e da tecnologia leva a uma melhora de vida da população, porém isso não ocorre de maneira abrangente e igualitária. No que diz respeito à saúde em âmbito mundial e ao aparecimento de novas terapias eficazes contra diversas doenças há uma carência no investimento e desenvolvimento de pesquisas que contemplem terapias para doenças características de países em desenvolvimento, as chamadas doenças negligenciadas.

A expressão "doença negligenciada" refere-se às doenças causadas por agentes infecciosos e parasitários. O termo, "negligenciada" é empregado em decorrência da vigente indiferença demonstrada pelas grandes indústrias farmacêuticas devido ao mercado pouco lucrativo, já, que, tais patologias, afetam principalmente, as populações mais empobrecidas de países subdesenvolvidos. Ressalta-se que quase todo o investimento nessa área advém de instituições filantrópicas e públicas, que não permanecem, na maioria das vezes, com a progressão de tais recursos. (<http://www.farmacia.ufpa.br/Agenda/doen%C3%A7as%20negligenciadas%20II.PDF>).

Doenças como dengue, Chagas e leishmanioses, ocorrem de maneira endêmica nos países em desenvolvimento e constituem 11% do total de enfermidades no mundo, mas apenas 1,4% dos estudos clínicos dedicam-se a elas. Do conjunto de medicamentos desenvolvidos entre 2000 e 2011, apenas 3,8% são usados para tratar pessoas que sofrem de alguma doença tropical, geralmente de países pobres da América Latina, Ásia e África (http://revistapesquisa.fapesp.br/wp-content/uploads/2013/02/010-011_estrategias_2042.pdf).

Esse déficit de desenvolvimento de novas drogas pode ser evidenciado na **Tabela 1**, onde entre os anos de 1972 e 2007 poucos foram os fármacos desenvolvidos para combater as doenças negligenciadas (http://ec.europa.eu/research/health/infectious-diseases/neglected-diseases/pdf/nid-conference/solomon-nwaka_en.pdf).

Tabela 1: Principais anti-helmínticos e antiprotozoários disponíveis.

Fármaco	Ano	Fabricante	Indicação
Nifurtimox	1972	Bayer	Doença de Chagas
Oxamniquina	1973	Pfizer	Esquistossomose
Praziquantel	1976	Bayer	Esquistossomose
Benznidazol	1978	Roche	Doença de Chagas
Terapia multidrogas	1980	Novartis	Hanseníase
Albendazol	1981	GlaxoSmithKline	Parasitas intestinais
Mefloquina	1984	Roche	Malária
Ivermectina	1987	Merck	Oncocercose
Halofantrina	1988	Roche	Malária
Eflornitina	1991	Aventis	Doença do sono
Anfotericina B em lipossomos	1994	NeXstar	Leishmaniose visceral
Artemeter	1997	Sanofi-Aventis	Malária
Artemeter-lumefantrina	1999	Novartis	Malária
Atovaquona-proguanila	2000	GlaxoSmithKline	Malária
Artemotil (beta-arteeter)	2000	Artecef	Malária
Miltefosina	2002	Zentaris	Leishmaniose visceral
Cloroproguanila-dapsona	2003	GlaxoSmithKline	Malária
Paromomicina	2006	IOWH	Leishmaniose visceral
Artesunato-amodiaquina	2007	Sanofi-Aventis	Malária

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

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

Estima-se que o desdobramento de um projeto até a inclusão de um único medicamento no mercado farmacêutico requer uma faixa de 12 a 15 anos com custos estimados entre US\$ 500-880 milhões, podendo atingir, em algumas situações, valores acima de US\$ 1 bilhão (DIMASI *et al.*, 2003) (**Figura 19**).



Figura 19: Visão geral do processo de pesquisa e desenvolvimento de um novo fármaco. <http://www.bayerpharma.com.br/pt/pesquisa-desenvolvimento/processos/> (acesso: 25/05/2014).

Em 2006, o Ministério da Saúde lançou o Programa de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) em Doenças Negligenciadas no Brasil, em parceria com o Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT). Foram estabelecidas sete prioridades de atuação que compõem o

programa em doenças negligenciadas: dengue, Doença de Chagas, leishmaniose, hanseníase, malária, esquistossomose e tuberculose.

Com esses avanços o Brasil tornou-se destaque mundial na produção de medicamentos para assistência a doenças negligenciadas, por meio de parcerias entre laboratórios públicos e privados. O investimento em laboratórios públicos produtores saltou de R\$ 8,8 milhões em 2000 para mais de R\$ 54 milhões em 2011 (<http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/4180/162/combate-as-doencas-negligenciadas-e-reforcado.html>).

1.2.2. Leishmanioses

As leishmanioses são doenças parasitárias causadas por pelo menos 24 espécies de protozoários do gênero *Leishmania spp.* sendo transmitida por cerca de 30 espécies de insetos vetores pertencentes aos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia* (HERWALDT, 1999; DESJEUX, 2001 e 2004; MURRAY, 2005; YAMEY *et al.*, 2002; MAGILL, 1993; ALVAR *et al.*, 1997; DAVIDSON *et al.*, 2002; DAVIES, 2002; CROFT, 2007; CROFT *et al.*, 2003) (**Figura 20**).



(a)



(b)

Figura 20: Insetos vetores pertencentes aos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia*.
a) Inseto vetor *Phlebotomus Sp.* (www.fiocruz.br); b) Inseto vetor *Lutzomyia Longipalpis*.
(Centre for Applied Entomology and Parasitology, 2005; National Institute of Infectious Diseases, NI).

Existem diferentes manifestações clínicas nas leishmanioses e estas são relacionadas com a espécie do parasito e a resposta imune do hospedeiro, podendo o indivíduo apresentar desde a cura espontânea da doença até formas graves que levam à morte. (<http://www.webartigos.com/artigos/a-leishmaniose-tegumentar-americana/51716/>). A Leish-

maniose pode ser caracterizada em quatro formas principais (MURRAY, 2005; YAMEY *et al.*, 2002; MAGILL, 1993; ALVAR *et al.*, 1997; DAVIDSON *et al.*, 2002): (i) leishmaniose cutânea (LC) causada por *L. major* que é a forma mais comum da doença e caracteriza-se por lesões ulcerativas da derme com feridas comumente na face, braços e pernas, (ii) leishmaniose cutânea difusa (LCD) causada por *L. mexicana* e *L. amazonensis* que é muito semelhante a LC, exceto que as lesões são espalhadas por todo corpo. (iii) leishmaniose muco – cutânea (LMC) causada por *L. braziliensis* e *L. peruviana*, que é caracterizada pela disseminação dos parasitas via corrente sanguínea ou linfática, causando ulcerações nos tecidos cartilagosos, principalmente na boca e nariz produzindo lesões mutilantes. Essas três manifestações são agrupadas no continente americano em uma doença denominada leishmaniose tegumentar americana (LTA) (HERWALDT, 1999; DAVIES, 2002). (iv) leishmaniose visceral (LV), também conhecida como calazar, é a forma mais letal da doença, sendo causada por *L. donovani*. No Brasil seu agente etiológico é a *L. chagasi*. Esta forma acomete o sistema retículo – endotelial, causando perda de peso, anemia e inchaço do baço e do fígado, podendo levar a morte num período de dois a três anos (HERWALDT, 1999; MURRAY, 2005; DAVIES, 2002) (**Figura 21**).

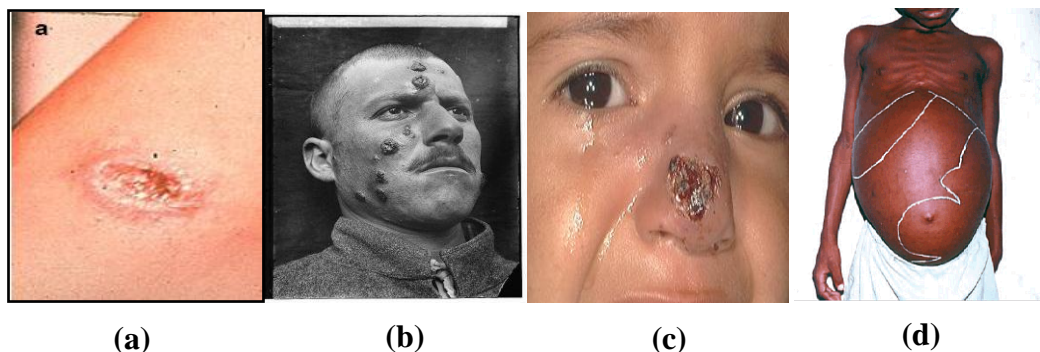


Figura 21: Manifestações clínicas das leishmanioses. (WHO: 2002)

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

1.2.2.1. Agentes Etiológicos

No Brasil atualmente sete espécies dermatrópicas de leishmania são conhecidos como agentes das leishmanioses, sendo seis deles do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania*, enquanto que na Ásia, essa forma clínica é causada principalmente pela *L. major*.

As três principais espécies encontradas no Brasil são: *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis* e *L.(L.) amazonensis* e, mais recentemente, as espécies *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) lindenberg* e *L. (V.) shawi* foram identificadas em estados das regiões Norte e Nordeste do país. A distribuição das principais espécies de *Leishmania spp.* responsáveis pela transmissão da LTA no Brasil, causadora das manifestações clínicas de origem cutânea, é mostrada na **Figura 22**.

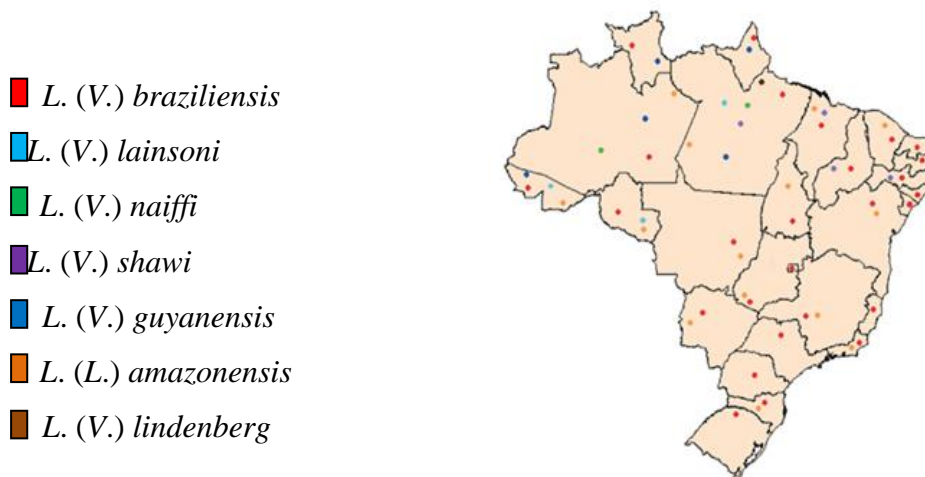


Figura 22: Distribuição de espécies de leishmania responsáveis pela transmissão da LTA
Fonte: SVS/MS.Brasil – 2005

As leishmanias são microorganismos unicelulares que se expressam em duas formas principais: uma aflagelada denominada amastigota, observadas nos tecidos dos hospedeiros e outra flagelada denominada promastigota encontrada no tubo digestivo do inseto vetor (**Figura 23**).

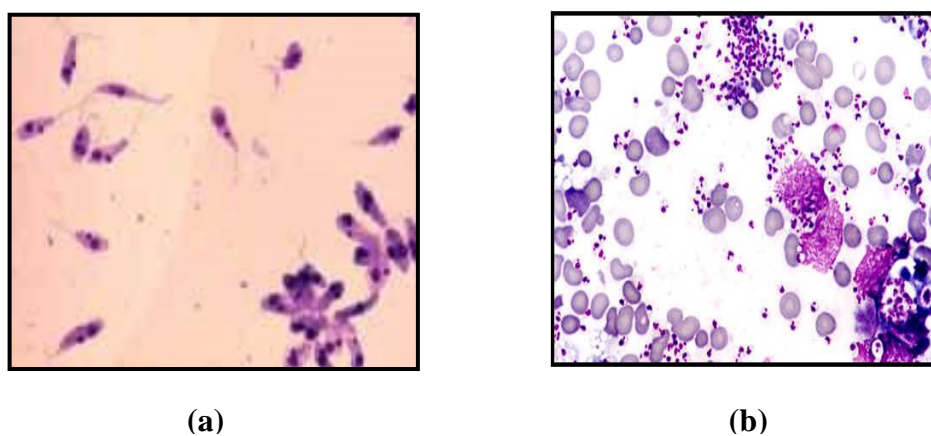


Figura 23: Principais formas de leishmaniose. a) Forma promastigota. b) Forma amastigota
(<http://www.ohsu.edu/som-MicroBio/landfear.html>). (acesso: 20/06/2013)

As formas amastigotas apresentam formato redondo ou oval, e imóvel possuindo um diâmetro que varia de acordo com a espécie entre 2 e 3 μm e um núcleo facilmente identificável. São encontradas no interior dos fagolisossomos das principais células fagocíticas dos mamíferos, onde se multiplicam. À medida que as formas amastigotas vão se multiplicando, os macrófagos se rompem liberando parasitas que são fagocitados por outros macrófagos.

As formas promastigotas, são as formas infectantes, que apresentam um corpo alongado com aproximadamente entre 14 e 20 μm de comprimento com um único flagelo, que geralmente é maior que o corpo e dá uma grande mobilidade ao protozoário. São encontradas nos flebotomíneos, onde vivem no meio extracelular, na luz do trato digestivo. Ali, as formas amastigotas, ingeridas durante o repasto sanguíneo, se diferenciam em formas promastigotas (flageladas) que são posteriormente inoculadas na pele dos mamíferos durante a picada.

Infecções por leishmanias que causam LTA e LV foram descritas em várias espécies de animais silvestres, sinantrópicos e domésticos (canídeos, felídeos e equídeos). Em relação a LV, encontramos o cão doméstico como sendo o principal reservatório da *L. chagasi* em ambientes urbanos e rurais, e as raposas e marsupiais como principais reservatórios em matas e florestas (http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_viscerai.pdf).

1.2.2.2. Ciclo de Vida

O ciclo de vida da leishmania se inicia no momento do repasto sanguíneo, quando o inseto fêmea lacera os vasos sanguíneos do hospedeiro vertebrado infectado e assim as formas amastigotas contidas no interior dos macrófagos são sugadas para o intestino do vetor onde viram promastigotas. No intestino dos insetos vetores, as formas promastigotas passam por um processo denominado metaciclogênese, que é o processo pelo qual estas formas param a fase reprodutiva e tornam-se infectantes (promastigotas metacíclicas). As formas reprodutivas, não infectantes (procíclicas), prendem-se à parede do tubo digestivo do inseto vetor. Durante a metaciclogênese, as promastigotas sofrem modificações bioquímicas em sua superfície, perdendo assim sua capacidade de adesão ao epitélio do intestino médio do flebótomo. Como resultado, as promastigotas metacíclicas destacam-se, migrando para a

faringe e cavidade bucal, de onde elas são transmitidas ao hospedeiro vertebrado, durante o próximo repasto sanguíneo, onde são libertados no sangue pela picada de dois gêneros atípicos de insetos: *Lutzmyia* e *Phlebotomus*. As leishmanias na forma de promastigotas ligam-se por receptores específicos aos macrófagos pelos quais são fagocitadas. Elas são imunes aos ácidos e enzimas dos lisossomos com que os macrófagos tentam digerí-las, e transformam-se nas formas amastigotas após algumas horas (cerca de 12h) até que começam a multiplicar-se por divisão binária, saindo para o sangue ou linfa por exocitose e por fim conduzem à destruição da célula, invadindo mais macrófagos ou sendo ingeridos através de suas formas parasitadas ou amastigotas livres do sangue ou mesmo em tecidos em uma nova picada de inseto, que ao atingirem seu intestino médio se transformam em promastigotas onde é reiniciado um novo ciclo (SERENO *et al.*, 2007), **Figura 24**.

O processo de ruptura da parede celular do macrófago infectado leva a liberação de partículas antigênicas que serão apresentadas ao sistema imune, gerando a resposta específica. Aquelas formas promastigotas que não forem internalizadas serão destruídas no meio extracelular pela resposta inata e as partículas antigênicas produzidas neste processo também poderão ser utilizadas pelas células apresentadoras de antígeno no processo de reconhecimento antigênico. É provavelmente neste momento que características como intensidade e qualidade da resposta imune são definidas, influenciando assim a evolução da doença para cura espontânea (GILLESPIE & PEARSON, 2001).

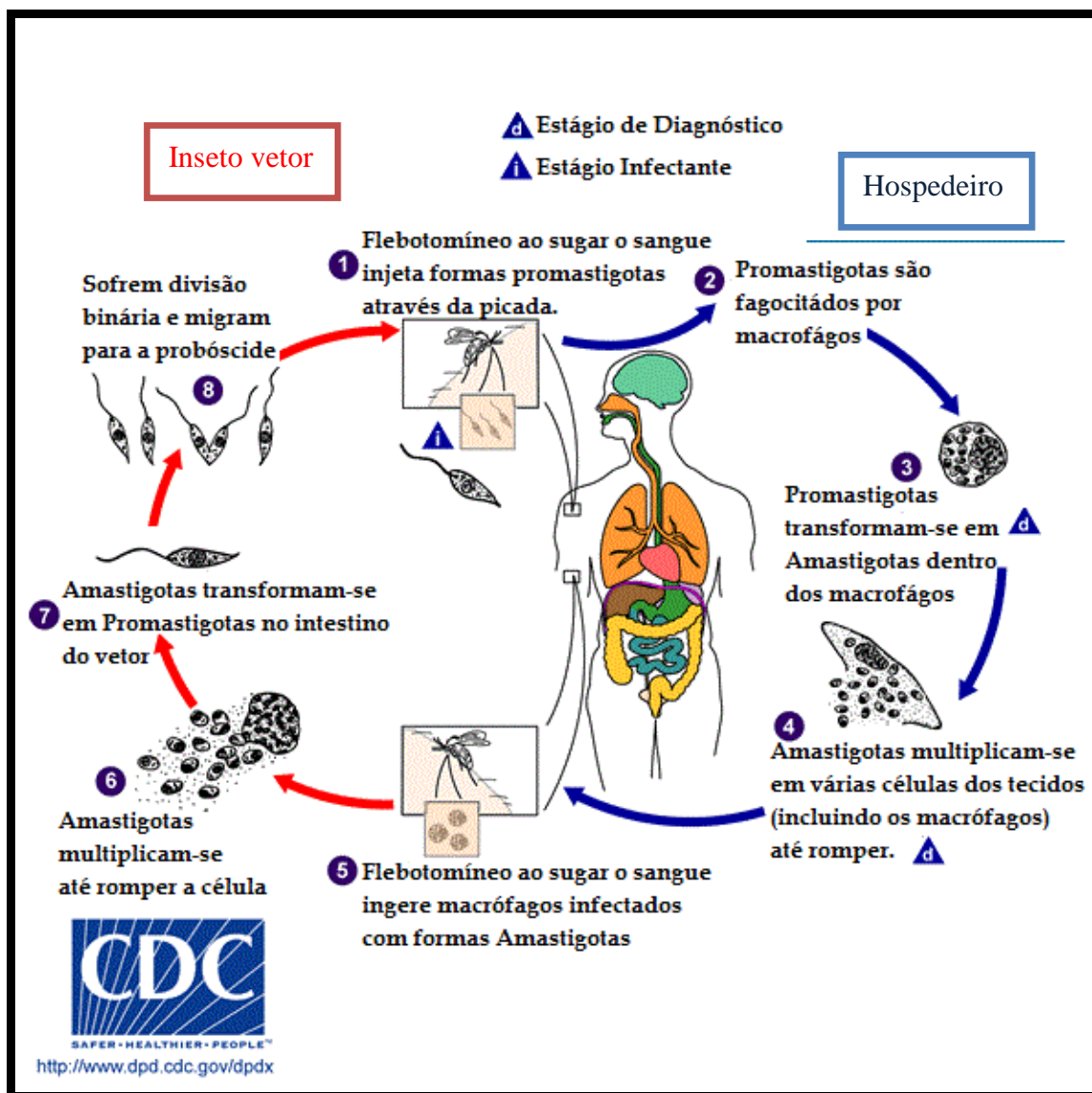


Figura 24: Representação esquemática do ciclo evolutivo do parasito da leishmania. (<http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/html/Leishmaniasis.htm>). (acesso: 14/04/2013).

1.2.2.3. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar e visceral.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 350 milhões de pessoas estejam expostas ao risco das leishmanioses com registro aproximado de dois milhões de novos casos das diferentes formas clínicas ao ano sem contar a presença de infecção quando de maneira subclínica e assintomática, onde esses números podem aumentar bastante.

A leishmaniose tegumentar (LT) tem ampla distribuição mundial e no Continente Americano há registro de casos desde o extremo sul dos Estados Unidos até o norte da

Argentina, com exceção do Chile e Uruguai. O Peru é um dos países mais afetados, somatizando com a Bolívia e com o Brasil contabiliza-se um total de 90% de todos os casos mundiais (WHO, 2010) **Figura 25.**

Já a leishmaniose visceral (LV) possui característica endêmica em 88 países e cerca de 90% dos casos notificados no mundo ocorrem na Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão e Brasil. Estima-se que aproximadamente 350 a 400 milhões de pessoas no mundo, encontram-se em risco de contrair leishmaniose e 12 a 14 milhões estão infectadas onde cerca de 59.000 morrem anualmente devido a LV. É importante ressaltar que esses dados são subestimados devido à carência de um sistema de notificações competente (DESJEUX, 2004; WHO, 2010)

Figura 25.

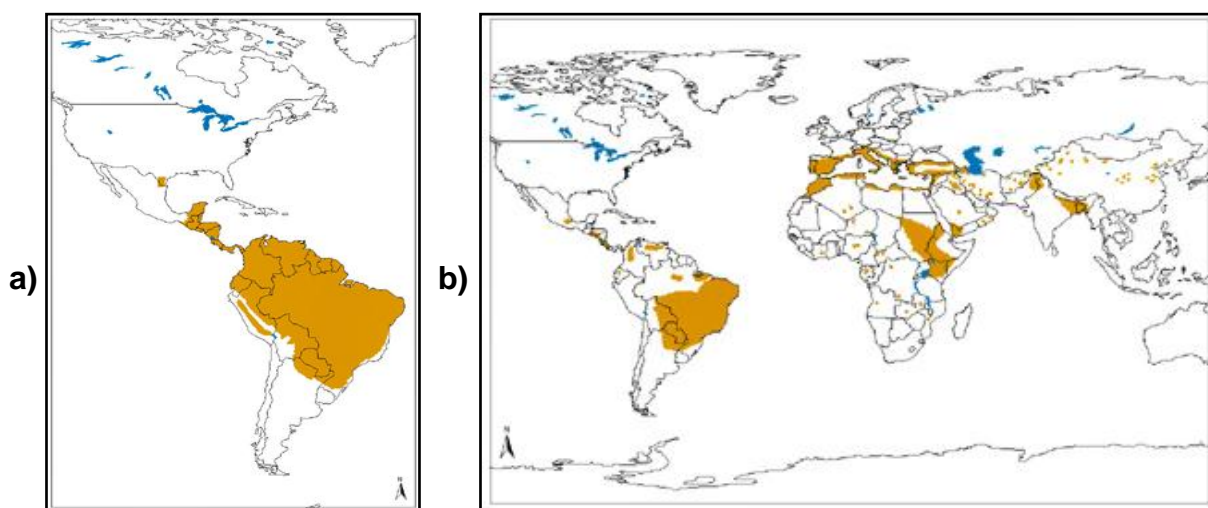


Figura 25: Distribuição mundial de Leishmaniose tegumentar (a) e visceral (b) (http://www.who.int/leishmaniasis/leishmaniasis_maps/en/). (acesso: 12/02/2013).

Pelas áreas afetadas do globo, é possível perceber que a doença permanece inserida nos países pobres e com menores condições, como uma doença negligenciada.

O Ministério da Saúde do Brasil, anualmente, divulga o número de casos registrados de várias doenças, como Malária, Dengue Doença de Chagas e Leishmaniose. A compreensão do número de casos da LT e da LV, pode ser observado nas **Tabelas 2 e 3** que mostram os números referentes aos casos confirmados entre os anos de 1990 e 2011.

Tabela 2: Casos de Leishmaniose tegumentar americana no Brasil. Fonte: BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. (http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/2012_11_casos_de_lta_entre_1990_e_2011.pdf). (acesso: 26/03/2013).

Região e UF	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	
Região Norte	7.318	9.359	9.720	9.739	11.306	13.117	9.987	11.058	6.078	9.129	11.140	8.107	10.207	13.508	13.125	10.679	8.833	9.890	8.680	8.272	7.108	7.362	
Roraima	1346	2118	2220	2822	2249	2499	1738	1.465	1.317	1.737	1.421	1.563	1.812	1.980	2.181	1.668	1.204	971	941	1.035	922	704	
Acre	59	252	403	563	372	365	490	413	280	490	903	717	1.076	1.385	1.532	1.356	1.124	913	972	906	1.026	781	
Amazonas	1733	2590	3424	1982	741	1557	988	2.290	715		1.744	2.153	2.130	3.816	2.212	1.957	1.554	2.219	1.778	1.439	1.130	1.752	
Roraima	170	507	492	605	470	251	303	308	244	146	352	454	451	303	160	280	285	340	350	441	641	368	
Pará	3269	3196	2236	2543	5748	7064	5042	5.038	2.177	5.051	5.565	2.521	3.741	4.862	5.324	4.345	3.554	4.305	3.623	3.347	2.331	2.971	
Amapá	185	394	475	643	895	645	563	902	892	884	592	52	377	555	1162	580	595	667	629	513	462	504	
Tocantins	556	302	470	581	831	736	863	642	453	821	563	647	620	607	554	493	517	475	387	591	596	282	
Região Nordeste	12.428	12.020	7.140	8.218	14.426	13.887	11.303	11.868	8.455	9.112	13.078	11.149	9.373	7.985	7.863	8.112	6.169	5.925	6.003	6.910	8.911	5.234	
Maranhão	3109	3926	2027	2868	6262	4725	3794	4.634	2.355	3.005	4.488	5.658	4.364	3.777	3.072	3.395	2.174	2.335	1.661	1.624	2.455	1.701	
Piauí	249	324	161	72	56	40	96	102	96	106	95	164	151	126	117	257	152	108	73	104	146	90	
Ceará	3848	2862	1358	1463	1928	4262	2793	2787	1490	1372	3043	2543	2123	1329	2064	1977	1006	935	700	993	1014	556	
Rio Grande do Norte	20	6	...	13	4	15	42	49	26	13	11	8	5	8	13	10	7	6	6	6	56	82	3
Paraíba	85	165	342	273	264	196	173	233	113	128	177	50	68	56	74	68	46	60	53	109	83	64	
Pernambuco	680	474	378	436	806	891	714	667	643	979	1.149	518	556	558	719	337	413	446	388	501	419	203	
Alagoas	28	54	53	71	224	114	81	144	72	156	258	88	80	97	65	57	33	111	89	77	32	18	
Sergipe	54	50	24	46	46	52	19	47	34	30	58	93	61	16	7	11	6	4	10	11	7	7	
Bahia	4355	4159	2797	2976	4836	3592	3591	3.205	3.626	3.323	3.799	2.027	1.965	2.018	1.732	2.000	2.332	1.920	3.023	3.435	4.673	2.592	
Região Sudeste	2.347	3.386	3.854	4.771	3.763	2.605	2.369	2.294	2.945	3.983	2.938	2.112	2.894	3.252	2.540	2.809	2.868	1.898	1.592	1.605	2.428	986	
Minas Gerais	1338	2134	2504	2547	2040	1574	1504	1.445	1.973	2.701	1.874	1.116	1.610	1.767	1.507	1.802	1.855	1.322	1.123	1.021	1.887	725	
Espírito Santo	670	728	722	893	490	307	244	404	646	884	548	351	209	234	146	193	241	109	76	100	124	75	
Rio de Janeiro	227	319	269	496	396	241	282	302	186	269	250	169	289	226	209	317	283	119	55	92	86	20	
São Paulo	112	205	359	835	837	483	339	143	140	129	266	476	786	1.025	678	497	489	348	338	392	331	166	
Região Sul	192	139	690	819	1.361	796	617	430	455	460	853	568	943	932	607	541	573	514	630	464	253	324	
Paraná	192	139	690	819	1361	794	616	428	453	457	850	553	909	886	579	444	409	438	533	409	228	308	
Santa Catarina	0	0	0	0	0	0	1	2	2	3	1	10	14	28	17	84	158	67	87	45	21	12	
Rio Grande do Sul	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	5	20	18	11	13	6	9	10	10	4	4	
Região Centro-Oeste	2.468	3.546	3.264	3.907	4.247	5.343	4.721	4.640	2.981	6.384	4.605	4.629	4.839	4.980	4.460	4.388	3.852	3.095	3.005	4.492	3.163	1.732	
Mato Grosso do Sul	221	165	304	215	243	568	178	433	256	338	158	372	301	235	192	139	116	99	118	105	89	69	
Mato Grosso	2021	3200	2682	3346	3734	4492	4195	3.779	2.283	5.504	3.921	3.816	4.067	4.189	3.752	3.639	3.181	2.715	2.521	3.900	2.466	1.441	
Goiás	226	181	277	345	270	281	348	414	440	532	525	411	441	500	458	578	505	246	351	460	553	201	
Distrito Federal	0	0	1	1	0	2	0	14	2	10	1	30	30	56	58	32	50	35	15	27	55	21	
UF ignorada	1.033	1.013	887	1.299	1.106	71	105	157	142	156	102	85	82	81	118	93	
Brasil	24.753	28.450	24.668	27.454	35.103	35.748	30.030	31.303	21.801	30.367	33.720	26.636	28.361	30.814	28.737	26.685	22.397	21.407	19.992	21.824	21.981	15.731	

Tabela 3: Casos de Leishmaniose visceral no Brasil. Fonte: BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. (http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/2012_11_casos_de_lv_entre_1990_e_2011_final.pdf). (acesso: 26/03/2013).

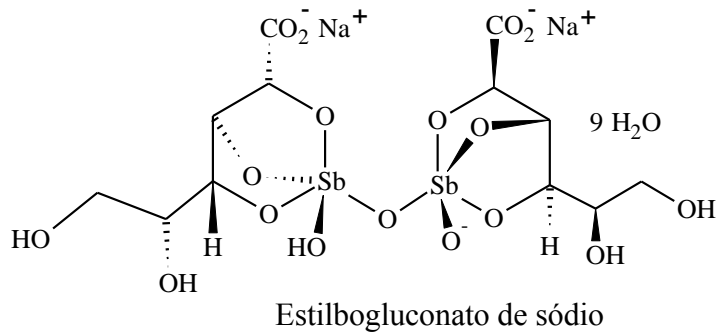
Região e UF	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	
Região Norte	35	53	99	84	118	117	133	152	112	375	366	299	333	437	543	660	684	735	815	709	636	834	
Rondônia*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Acre*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amazonas*	0	0	0	0	0	0	0	0	...	0	0	0	3	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Roraima	6	41	62	39	21	49	19	12	8	2	13	4	8	9	15	12	4	1	2	6	15	10	
Pará	22	12	31	33	64	20	45	43	46	188	171	140	134	191	372	471	452	333	379	275	278	337	
Amapá*	0	0	0	0	0	0	0	0	...	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
Tocantins	7	0	6	12	33	48	69	97	58	185	182	154	188	237	154	176	225	401	434	428	343	487	
Região Nordeste	1.650	1.380	1.657	2.407	3.183	3.519	2.932	2.257	1.688	2.965	4.029	1.873	1.487	1.766	1.954	2.011	1.982	1.570	1.739	1.754	1.662	1.832	
Maranhão	91	61	114	575	534	263	144	116	483	724	842	490	555	747	615	555	477	385	560	417	417	454	
Piauí	201	86	196	701	778	407	239	205	185	348	404	120	127	252	348	306	242	239	252	157	151	202	
Ceará	140	150	159	248	486	490	220	130	158	421	496	231	221	212	296	391	599	499	508	629	485	539	
Rio Grande do Norte	74	147	236	132	135	93	71	115	126	276	332	148	68	62	55	48	70	57	72	83	67	97	
Paraíba	60	92	81	46	91	127	89	72	22	61	108	94	20	31	28	31	36	23	27	16	23	30	
Pernambuco	97	80	60	82	188	273	208	161	110	168	539	228	86	79	85	91	96	56	73	62	50	57	
Alagoas	56	32	40	58	71	111	103	87	35	171	285	234	116	49	57	57	49	29	26	30	34	36	
Sergipe	82	78	119	98	203	266	210	117	1	102	142	41	30	19	32	42	47	62	32	39	75	59	
Bahia	849	654	652	467	697	1.489	1.648	1.254	568	694	881	287	264	315	438	490	366	220	189	321	360	358	
Região Sudeste	243	76	96	59	90	171	166	140	89	189	314	240	425	534	782	656	704	617	723	641	629	592	
Minas Gerais	226	62	96	58	88	164	166	138	88	160	218	145	298	349	620	484	430	384	471	464	469	412	
Espírito Santo	15	13	0	0	0	0	0	1	1	29	4	7	1	4	4	4	1	0	2	5	3	6	
Rio de Janeiro	2	1	0	1	2	7	0	1	0	0	4	4	1	2	3	3	9	2	0	3	0	1	
São Paulo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	88	84	125	179	155	165	264	231	250	169	157	173		
Região Sul	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	2	5	3	3	0	0	8	2	2	
Paraná*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	1	3	3	3	0	0	0	0	0	
Santa Catarina*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	
Rio Grande do Sul	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	8	2	2	
Região Centro-Oeste	16	1	18	20	35	78	15	21	88	95	149	123	201	231	289	261	277	273	322	275	303	330	
Mato Grosso do Sul	5	1	3	3	27	59	12	18	53	47	82	87	176	190	232	204	209	220	231	173	212	248	
Mato Grosso	0	0	0	0	0	0	0	0	13	26	23	18	8	13	20	22	21	30	61	67	54	50	
Goiás	11	0	15	17	8	19	3	3	22	22	44	18	17	28	28	26	32	20	25	30	34	24	
Distrito Federal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	15	3	5	5	3	8	
UF ignorada	11	2	1	7	6	1	251	253	306	294	304	
Brasil	1.944	1.510	1.870	2.570	3.426	3.885	3.246	2.570	1.977	3.624	4.858	2.549	2.450	2.971	3.580	3.597	3.651	3.446	3.852	3.693	3.526	3.894	

1.2.2.4. Tratamento

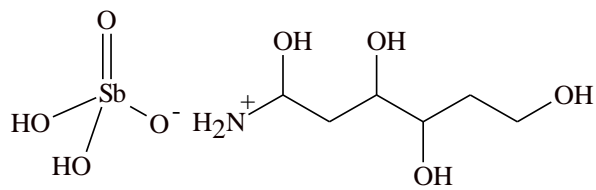
O tratamento da leishmaniose desde a década de 40 baseia-se no uso de antimoniais pentavalentes (CROFT *et al.*, 2005; CROFT, 2007). Duas fórmulas de antimoniais pentavalentes estão disponíveis atualmente, o estilbogluconato de sódio (**100**), (Pentostan®, GlaxoSmithKline) e o antimoniato de N-metil glucamina (**101**), (Glucantime®, Aventis) (**Figura 26**), não parecendo existir diferenças quanto à eficácia terapêutica destas formulações. No Brasil, a única formulação disponível gratuitamente, é o antimoniato de N-metil glucamina.

Como drogas de segunda escolha, no tratamento contra as Leishmanioses, são oferecidas a Anfotericina B (**102**), (**Figura 26**) e a Pentamidina (**103**), (**Figura 26**), quando o tratamento com antimoniais não proporciona resposta satisfatória.

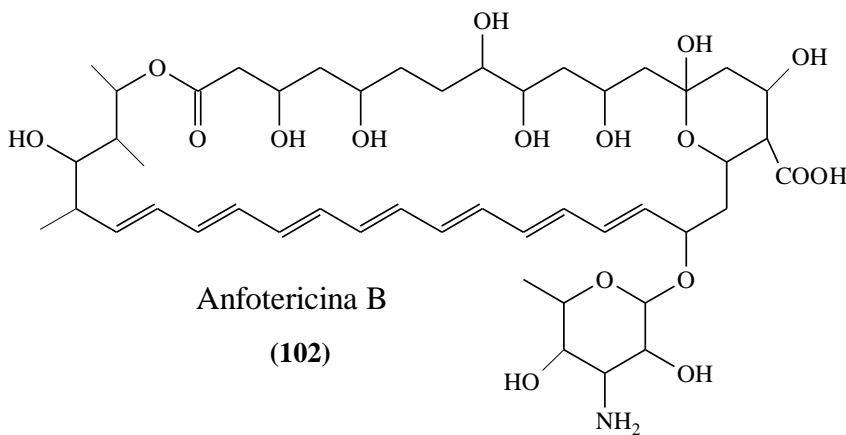
A miltefosina (**104**), (Impavido®, Zentaris), recentemente introduzida ao mercado farmacêutico, foi o primeiro fármaco administrado por via oral para o tratamento da LV (SINDERMANN *et al.*, 2004). Devido à sua indicação para o tratamento tópico de lesões ulcerativas, a miltefosina foi testada contra a LV. Testes clínicos com administração por via oral demonstraram a alta eficácia do fármaco para o tratamento da LV (SINDERMANN *et al.*, 2004; SINDERMANN & ENGEL, 2006). O mecanismo de ação da miltefosina ainda é desconhecido, contudo, acredita-se que o fármaco possa estar envolvido em um ou mais dos seguintes mecanismos: (i) inibição do metabolismo de fosfolipídeos; (ii) interferência na transdução de sinais através da membrana do parasita; e (iii) interferência na biossíntese de glicosilfosfatidilinositol (**Figura 26**).



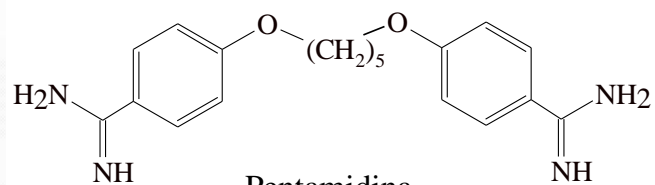
(100)



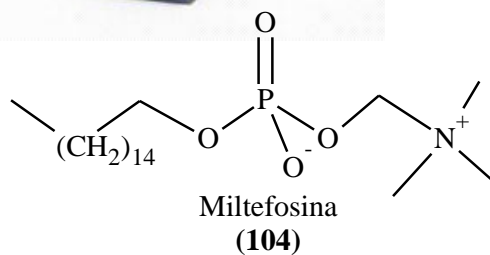
(101)



(102)



(103)



(104)

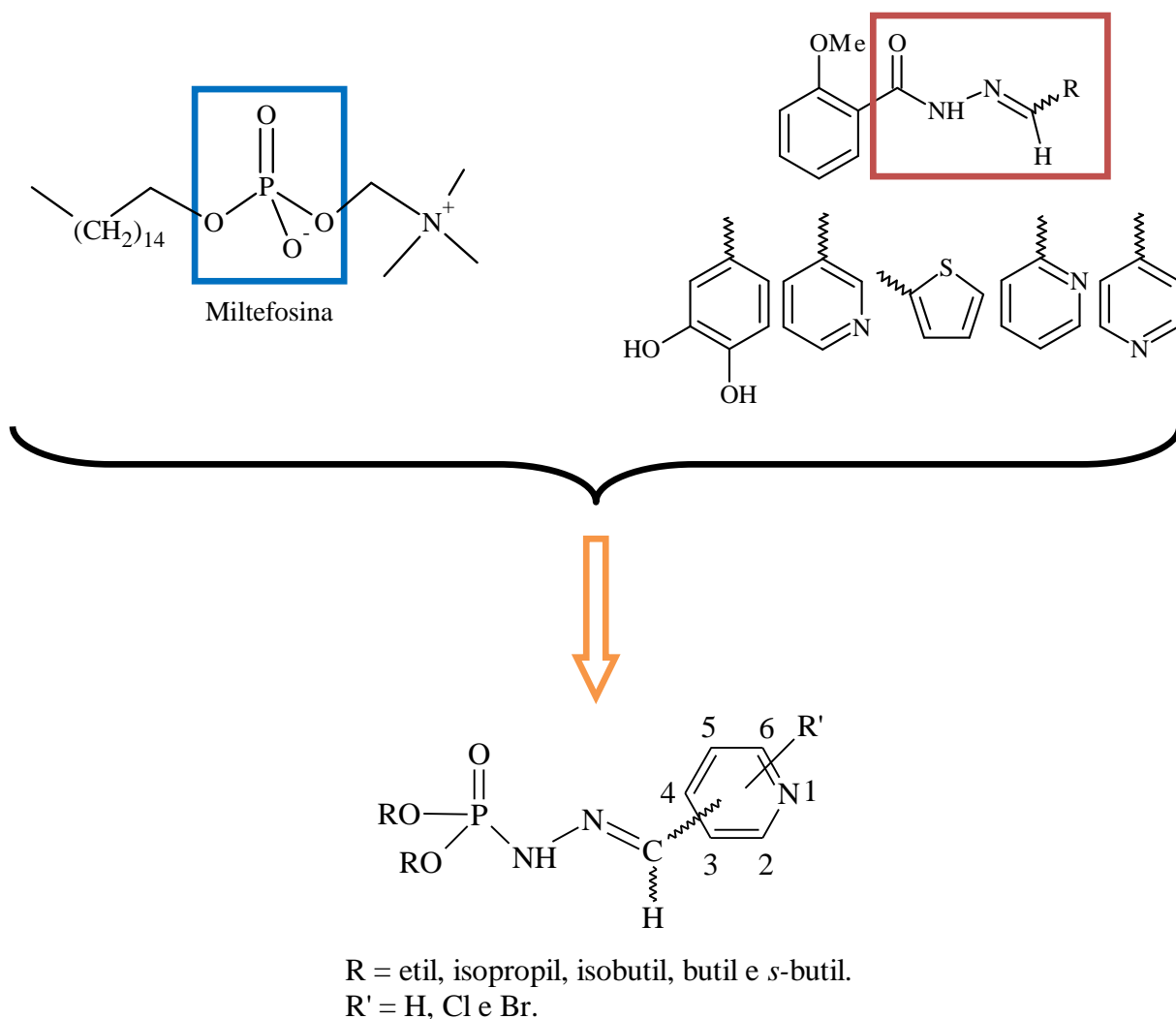


Figura 26: Fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose.

A resistência que certas cepas vêm apresentando aos fármacos em uso e o grande número de efeitos colaterais são dificuldades encontradas no combate as leishmanioses. É necessária a busca por novos protótipos que possam expandir as opções de tratamentos, contendo um perfil de menor toxicidade e maior eficiência.

2. Objetivos

Sintetizar novas *N*'-metilenopiridina fosforoidrazidatos de dialquila derivadas de aldeídos piridínicos utilizando a Miltefosina (**Figura 26**) e os compostos denominados 2-metoxi-benzoilidrazonas (**Figura 14**) como protótipos;



Estudar a atividade *in vitro* das novas moléculas frente às formas promastigota de *L. amazonensis* e *L. brasiliensis*;

Estudar as novas moléculas quanto à citotoxicidade para a célula hospedeira e ao comportamento nos ensaios *in vivo* para *L. amazonensis*.

3. Materiais e métodos

3.1. Considerações Gerais

Todos os solventes utilizados foram de grau P.A das marcas Vetec, Isobar ou Aldrich. Quando necessário foram previamente destilados e tratados de acordo com os métodos tradicionais descritos na literatura. (VOGEL, 1981)

A técnica de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) foi realizada utilizando-se cromatofolhas de alumínio Kiessel Gel 60 F₂₅₄ 20x20 cm com 0,2 mm de espessura, sendo reveladas em lâmpada ultravioleta com comprimento de onda em 254 nm.

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

Os aparelhos utilizados para a caracterização dos compostos foram; (a) espectrômetro de infravermelho Perkin-Elmer modelo 1600 FT, e os espectros foram obtidos utilizando-se um filme sobre células de NaCl, nas amostras líquidas e pastilhas de KBr nas amostras sólidas. As absorções foram medidas em centímetros recíprocos (cm⁻¹); (b) cromatógrafo de fase gasosa acoplado a espectrômetro de massas com analisador de íons quadrupolo e com modo de ionização por impacto de elétrons (70 eV), modelo Varian Saturn 2000 e Shimadzu QP2010 Plus. 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.; (c) espectrômetro de ressonância magnética nuclear Bruker Advance II 9,4T para (RMN ¹H 400 MHz) e (RMN ¹³C 100 MHz) e 11,5T (RMN ¹H 500MHz) e (RMN ¹³C 125 MHz) e ³¹P (162MHz). Os espectros foram obtidos utilizando-se tetrametilsilano (TMS), ou o próprio solvente como referência para os núcleos de ¹H e ¹³C. Para o núcleo de ³¹P foi utilizado o ácido fosfórico 85% como referência externa.

Os solventes deuterados são especificados em cada caso, sendo os deslocamentos químicos medidos em ppm e as constantes de acoplamento em Hertz (Hz).

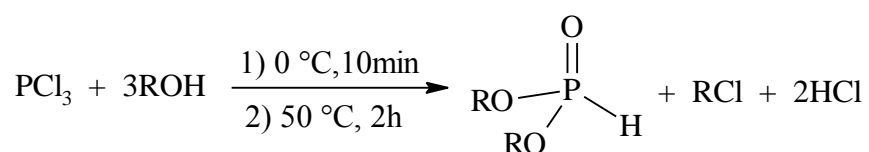
3.2. Síntese dos fosfonatos de dialquila simétricos.

Procedimento Geral

Em um balão bitubulado de 200,0 mL, equipado com um funil de adição contínua, condensador de refluxo e munido de um borbulhador, capaz de impedir a entrada de umidade e ao mesmo tempo permitir a saída do ácido clorídrico (HCl) liberado na reação, adiciona-se o álcool correspondente (**Esquema 10**). Em seguida, através de funil de adição, goteja-se cuidadosamente o tricloreto de fósforo (PCl₃) recém destilado, sob agitação magnética, mantendo-se a mistura reacional a uma temperatura em torno de 0°C. Quando cerca da metade do PCl₃ tiver sido adicionado, observa-se forte desprendimento de HCl.

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

Finalmente, coloca-se a mistura reacional sob vácuo a fim de que seja retirado todo o HCl e haleto de alquila residuais (GONÇALVES, 2009).



R = etila, isopropila, isobutila, butila e *s*-butila.

Esquema 10: Síntese dos fosfonatos de dialquila.

3.2.1. Síntese do fosfonato de dietila [105].

Utilizou-se 27,0 mL (21,5 g – 467 mmol) de álcool etílico e 13,5 mL (21,3 g – 154 mmol) de tricloreto de fósforo. Após a retirada dos subprodutos, 15,0 g do produto puro foram obtidos, correspondendo a um rendimento de 65%.

Aspecto: líquido incolor.

IV (NaCl): 3459 (ν OH); 2987, 2937, 2913 (ν CH₂CH₃); 2431 (ν P-H); 1480 (ν C-O); 1395 (δ_{as} CH₃) 1252 (ν P=O); 1046 (ν P-O), 982 (δ_{as} P-H).

RMN ¹H (CDCl₃): 6,7 [d, (P-H), $J_{HP} = 694$ Hz, 1H]; 4,1 [m, (CH₃CH₂OP), 4H]; 1,3 [t, (CH₃CH₂OP), $J_{HH} = 7,0$ Hz, 6H].

3.2.2. Síntese do fosfonato de dibutila [106].

Utilizou-se 31,3 mL (25,4 g – 343 mmol) de *n*-butanol e 10,0 mL (15,7 g – 114 mmol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se, 17,5 g do produto com pureza satisfatória para as sínteses subsequentes. O rendimento do fosfonato de di (*n*-butila) foi de 78%

Aspecto: líquido incolor.

IV (NaCl): 3410 (v OH); 2963, 2935 (v CH₂ e CH₃); 2434 (v P-H); 1468 (δ_{as} .CH₂ e CH₃); 1382 (δ_{sim} .CH₃); 1216 (v P=O); 1006 (v P-O-C); 843 (δ_{as} .P-H).

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

3.2.3. Síntese do fosfonato de di-isopropila [107].

Utilizou-se 54,0 mL (42,1 g – 702 mmol) de álcool isopropílico e 20,5 mL (32,2 g – 234 mmol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se 36,6 g do produto, correspondendo ao rendimento de 94 %.

Aspecto: líquido incolor.

IV (NaCl): 2983, 2936 (v CH₂ e CH₃); 2433 (v P-H); 1464 (δ_{as} .CH₂ e CH₃); 1384 (δ_{sim} .CH₃); 1222 (st P=O); 988 (v P-O-C); 893 (δ_{as} .P-H).

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

3.2.4. Síntese do fosfonato de di-isobutila [108].

Utilizou-se 127,0 mL (101,7 g – 1374 mmol) de álcool isobutílico e 40,0 mL (62,9 g – 458 mmol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se 30,2 g do produto, correspondendo ao rendimento de 79 %.

Aspecto: líquido incolor.

IV (NaCl): 3445 (v OH); 2964, 2881 (v CH₂ e CH₃); 2428 (v P-H); 1469 (δ_{as} .CH₂ e CH₃); 1395 (δ_{sim} .CH₃); 1255 (v P=O); 1039 (v P-O-C).

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

3.2.5. Síntese do fosfonato de di-*s*-butila [109].

Utilizou-se (23,8 g – 0,1227 mol) de álcool *s*-butílico e (5,6 g – 0,041 mol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se 17,2 g do produto, correspondendo ao rendimento de 83 %.

Aspecto: líquido incolor.

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

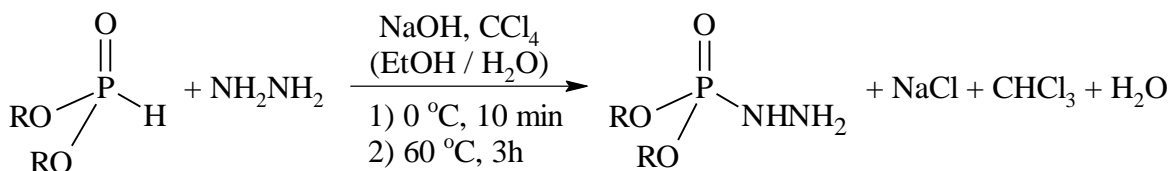
RMN ¹H (CDCl₃): 6,75 [d, (P-H), $J_{HP} = 694$ Hz, 1H]; 4,39 [m, (CHOP), 2H]; 1,55 [m, (CH₂CHOP), 4H]; 1,28 [d, (CH₃CHOP), $J_{HH} = 6,1$ Hz, 3H]; 1,15 [d, (CH₃CHOP), $J_{HH} = 6,1$ Hz, 3H]; 0,88 [t, (CH₃CH₂CHOP), $J_{HH} = 7,5$ Hz, 3H]; 0,86 [t, (CH₃CH₂CHOP), $J_{HH} = 7,5$ Hz, 3H].

3.3. Síntese das dialquilfosforilidrazinas (fosforoidrazidatos de dialquila).

Procedimento Geral

Em um balão bitubulado de 125,0 mL, equipado com um funil de adição contínua, condensador de refluxo munido de um borbulhador, adicionou-se a hidrazina monohidratada comercial e uma solução de hidróxido de sódio dissolvido em uma mistura etanol:água destilada na proporção 1:1 em volume. Em seguida, sob agitação magnética, gotejou-se, através do funil de adição, uma solução formada pelo fosfonato de dialquila e o tetracloreto de carbono, em excesso de 40 %. A mistura reacional foi mantida a uma temperatura em torno de 0°C durante a adição do conteúdo do funil. Após a adição se completar, a mistura reacional foi mantida sob refluxo por 3h. Ao término da reação, a solução resultante foi filtrada, e a fase líquida foi extraída com 5x15 mL de diclorometano, sendo posteriormente seca com sulfato

de magnésio anidro. Após a secagem, o solvente foi evaporado em evaporador rotatório, obtendo-se um óleo viscoso (GONÇALVES, 2009) (**Esquema 11**).



R = etila, isopropila, isobutila, butila e *s*-butila.

Esquema 11: Síntese das dialquifosforilidrazinas

3.3.1. Síntese do fosforidrazidato de dietila [110].

Utilizou-se 8,0 g (47,6 mmol) do fosfonato de dietila, 3,9 mL (40,01 mmol) de tetracloreto de carbono, 1,2 g (24,0 mmol) de hidrazina monohidratada, 2,3 g (58,0 mmol) de hidróxido de sódio, 10,0 mL de água destilada e 10,0 mL de etanol. Obteve-se, após evaporação a pressão reduzida, 4,8 g do produto com pureza adequada à sua utilização posterior, com rendimento equivalente de 48 %

Aspecto: Líquido viscoso incolor.

IV (NaCl): 3347,8 (v NH); 2983,4 , 2933,2 e 2910,1 (v CH₂ e CH₃); 1444,4 (δ_{as} CH₂ e CH₃); 1394,3 (δ_{sim}.CH₃), 1230,4 (v P=O); 1099,2 (v P-N); 1031,7 (v P-O-C).

RMN ¹H (CDCl₃): 4,12 [q, (CH₂OP), J_{HH} = 6 Hz, 4H]; 1,34 [t, (CH₃CH₂OP), J_{HH}= 6 Hz, 6H].

RMN ¹³C (CDCl₃): 61,63 [m, (CH₂OP), 2C]; 13,17 [d, (CH₃CH₂OP), 2C].

3.3.2. Síntese do fosforidrazidato de dibutila [111].

Utilizou-se 20,0 g (103,1 mmol) do fosfonato de dibutila, 22,2 g (144,1 mmol) de tetracloreto de carbono, 3,3 g (103,0 mmol) de hidrazina monohidratada, 4,1 g (103,1 mmol) de hidróxido de sódio, 10,0 mL (10 g – 556 mmol) de água destilada e 10,0 mL (8,2 g – 177

mmol) de etanol. Obteve-se, após evaporação a pressão reduzida, 10,6 g do produto puro, com rendimento equivalente a 46%.

Aspecto: óleo incolor.

IV (NaCl): 3344,0 (v NH); 2960,2 , 2935,0 e 2873,5 (v CH₂ e CH₃); 1461,8 (δ_{as} CH₂ e CH₃); 1380,8 (δ_{sim}.CH₃), 1226,5 (v P=O); 1064,5 (v P-N); 1027,9 (v P-O-C).

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

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

m/z: 65 (4%), 82 (5%), 99 (12%), 112 (60%), 169 (7,5%), 225 (100%),

3.3.3. Síntese do fosforoidrazidato de di-isopropila [112].

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

Aspecto: óleo incolor.

IV (NaCl): 3347,8 (v NH); 2979,5 e 2935,0 (v CH₂ e CH₃); 1467,6 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1386,5 (δ_{sim}.CH₃), 1236,2 (v P=O); 1108,9 (v P-N); 993,2 (v P-O-C).

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

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

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

3.3.4. Síntese do fosforoidrazidato de di-isobutila [113].

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

Aspecto: óleo incolor.

IV (NaCl): 3351,8 (v NH); 2961,1 e 2878,3 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1468,0 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1395,4 (δ_{sim}.CH₃); 1230 (v P=O); 1166,7 (v P-N); 1023,6 (v P-O-C).

RMN ¹H (CDCl₃): 4,82 [s, (NH₂NH₂), 1H]; 3,98 [s, (NH₂NH₂), 2H]; 3,75 [m, ((CH₃)₂CHCH₂OP), 4H]; 1,89 [m, ((CH₃)₂CHCH₂OP), 2H]; 0,90 [dd, ((CH₃)₂CHCH₂OP), J_{HH} = 2,02 Hz, 12H].

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

m/z: 57 (5%), 65 (5%), 82 (5%), 112 (100%), 169 (17%), 225 (60%),

3.3.5. Síntese do fosforoidrazidato de di-s-butila [114].

Utilizou-se 18,0 g (0,0927 mol) do fosfonato de di-s-butila, 20,0 g (0,1301 mol) de tetracloreto de carbono, 4,6 g (0,0927 mol) de hidrazina monohidratada, 3,7 g (0,0927 mol) de hidróxido de sódio, 10,0 mL (10 g – 0,556 mol) de água destilada e 10,0 mL (8,2 g – 0,177 mol) de etanol. Obteve-se, após evaporação a pressão reduzida, 8,7 g do produto com pureza adequada à sua utilização posterior, e rendimento equivalente a 42%

Aspecto: óleo amarelo.

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

RMN ¹H (CDCl₃): 4,37 [m, (CHOP), 2H]; 3,05 [s, (NH₂NH₂), 3H]; 1,55 [m, (CH₂CHOP), 4H]; 1,26 [d, (CH₃CHOP), J_{HH} = 6 Hz, 6H]; 0,89 [t, (CH₃CH₂CHOP), J_{HH} = 7,50 Hz, 6H].

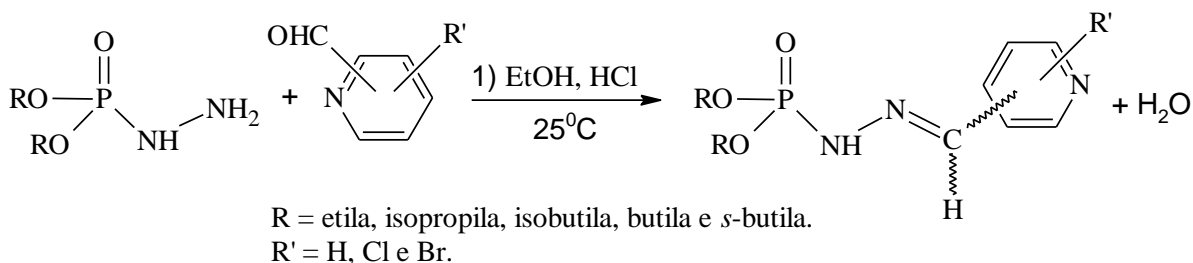
RMN ^{13}C (CDCl_3): 76,00 [d, ($\underline{\text{C}}\text{HOP}$), $J_{\text{CP}} = 6,02$ Hz, 1C]; 75,95 [d, ($\underline{\text{C}}\text{HOP}$), $J_{\text{CP}} = 6,02$ Hz, 1C]; 30,33 [d, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CHOP}$), $J_{\text{CP}} = 5,93$ Hz, 2C]; 20,97 [d, ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{CHOP}$), $J_{\text{CP}} = 3,38$ Hz, 2C]; 9,45 [s, ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{CH}_2\text{CHOP}$), 2C].

m/z : 47 (52,5%), 57,65 e 82 (7%), 112 (100%), 139 (12,5%), 169 (20%), 225 (30%),

3.4. Síntese das dialquilfosforilidrazonas (*N'*-metileno piridina fosforoidrazidatos de dialquila).

Procedimento Geral

Em um balão monotubulado de 50,0 mL adicionou-se dialquilfosforilidrazina, etanol, aldeído e três gotas de ácido clorídrico 37%, catalisador da reação. A mistura reacional foi mantida sob agitação, a temperatura ambiente ($\cong 25$ °C), por um tempo médio de 4h. Ao término da reação adicionou-se dez (10) gotas de bicarbonato de sódio a 10% para neutralizar o meio. A solução resultante foi vertida para um becher, sobre gelo picado, contendo 20,0 mL de água destilada gelada, sendo mantida em repouso durante um tempo médio de 20 minutos, sendo verificado a formação de precipitado, para a maioria das misturas, que posteriormente, foram filtradas, obtendo-se um sólido, seco à temperatura ambiente. Os compostos que não precipitaram em água, tiveram suas soluções transferidas para uma ampola de separação, onde, por partição, obteve-se a separação entre as fases orgânica e aquosa. Após a separação, adicionou-se sulfato de magnésio anidro para a completa remoção da água residual. A seguir, foi realizada uma filtração simples, para a remoção do agente dessecante, e finalmente foi promovida uma filtração a vácuo, onde obteve-se um produto oleoso (**Esquema 12**).



Esquema 12: Síntese das dialquilfosforilidrazonas

3.4.1. Síntese do *N'*- [4- metilenopiridina], fosforoidrazidato de dietila [1].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,64 g (5,98 mmol) de 4-carbaldeído piridina, 1,01 g (5,98 mol) de dietilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,83 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 53%.

Aspecto: óleo laranja.

IV (NaCl): 3425,7 (v NH); 3149,6 (v CHaromático); 2985,7 , 2925,9 e 2821,7 (vas. CH₃ e CH₂); 1597,0 (v C=N); 1475,5 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1407,9 (δ_{sim}.CH₃); 1240,1 (v P=O); 1163,0 (v P-N); 1031,8 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,95 [d, (P-N-H), *J*_{HP} = 29,0 Hz, 1H]; 8,56 [d, (H₂ e H₆), *J*_o = 6,27 Hz, 2H]; 7,89 [s, (N=C-H), 1H]; 7,48 [d, (H₃ e H₅), *J*_o = 6,27 Hz, 2H]; 4,03 [m, (CH₃CH₂OP), 4H]; 1,23 [t, (CH₃CH₂OP), *J*_{HH} = 7,41 Hz, 6H].

RMN ¹³C (DMSO): 150,13 [s, (C₂ e C₆), 2C]; 141,76 [s, (C₄), 1C]; 141,46 [d, (N=C), *J*_{cp} = 20,35 Hz, 1C]; 120,23 [s, (C₃ e C₅), 1C]; 62,57 [d, (CH₂OP), *J*_{cp} = 5,30 Hz, 2c]; 16,06 [d, (CH₃CH₂OP), *J*_{cp} = 6,26 Hz, 2c].

RMN de ³¹P (DMSO): 1,33 [dq, (P-N-H), *J*_{HP} = 29,35 Hz, (CH₂OP), *J*_{HP} = 7,91 Hz]. Espectro acoplado.

***m/z*:** 45 (8%), 81 (61%), 98 (100%), 126 (87%), 133 (3 %), 153 (22%), 184 (3%), 200 (2%), 228 (1%), 258 (3%).

3.4.2. Síntese do *N'*- [4- metilenopiridina], fosforoidrazidato de dibutila [2].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,71 g (6,65 mmol) de 4-carbaldeído piridina, 1,49 g (6,66 mmol) de dibutilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 1,15 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 55%.

Aspecto: óleo laranja.

IV (NaCl): 3437,0 (v NH); 3101,4 (v CHaromático); 2960,6 , 2931,7 e 2879,6 (vas. CH₃ e CH₂); 1591,2 (v C=N); 1471,6 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1394,4 (δ_{sim}.CH₃); 1240,1 (v P=O); 1110,9 (v P-N); 1029,9 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,96 [d, (P-N-H), *J*_{HP} = 28,10 Hz, 1H]; 8,57 [d, (H₂ e H₆), *J*_o = 6,21 Hz, 2H]; 7,88 [s, (N=C-H), 1H]; 7,48 [d, (H₃ e H₅), *J*_o = 6,21 Hz, 2H]; 3,83 [m, (CH₂OP), 4H];

1,57 [qui, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 6,47$ Hz, 4H]; 1,33 [sex, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2(\text{CH}_2)_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7,02$ Hz, 4H]; 0,84 [t, ($\underline{\text{C}}\text{H}_3(\text{CH}_2)_3\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7,55$ Hz, 6H].

RMN ^{13}C (DMSO): 150,13 [s, ($\underline{\text{C}}2$ e $\underline{\text{C}}6$), 2C]; 141,80 [s, ($\underline{\text{C}}4$), 1C]; 141,34 [d, ($\text{N}=\underline{\text{C}}$), $J_{\text{cp}} = 20,01$ Hz, 1C]; 120,18 [s, ($\underline{\text{C}}3$ e $\underline{\text{C}}5$), 1C]; 66,04 [d, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OP}$), $J_{\text{cp}} = 5,35$ Hz, 2c]; 31,74 [d, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{cp}} = 6,57$ Hz, 2c]; 18,18 [s, ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}$), 2c]; 13,37 [s, ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}$), 2c].

RMN de ^{31}P (DMSO): 1,33 [dq, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 27,56$ Hz, (CH_2OP), $J_{\text{HP}} = 7,35$ Hz]. Espectro acoplado.

m/z: 41 (13%), 80 (4%), 98 (100%), 124 (4%), 154 (22%), 202 (2%), 214 (< 2%), 258 (< 2%), 270 (< 2%), 314 (< 2%).

3.4.3. Síntese do *N'*- [4- metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-isopropila [3].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,68 g (6,40 mmol) de 4-carbaldeído piridina, 1,25 g (6,40 mmol) de di-isopropilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,95 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 52%.

Aspecto: sólido laranja com ponto de fusão entre (156-158)°C.

IV (NaCl): 3431,2 (v NH); 3116,8 (v $\text{CH}_{\text{aromático}}$); 2979,9 , 2933,6 e 2823,6 ($\nu_{\text{as}} \text{CH}_3$ e CH_2); 1597,0 (v $\text{C}=\text{N}$); 1481,2 ($\delta_{\text{as}} \text{CH}_2$ e CH_3); 1386,7 ($\delta_{\text{sim}} \text{CH}_3$); 1236,3 (v $\text{P}=\text{O}$); 1114,8 (v P-N); 1014,5 (v P-O-C).

RMN ^1H (DMSO): 9,87 [d, (P-N $\underline{\text{H}}$), $J_{\text{HP}} = 28,92$ Hz, 1H]; 8,57 [d, ($\underline{\text{H}}2$ e $\underline{\text{H}}6$), $J_0 = 6,77$ Hz, 2H]; 7,88 [s, ($\text{N}=\text{C}-\underline{\text{H}}$), 1H]; 7,50 [d, ($\underline{\text{H}}3$ e $\underline{\text{H}}5$), $J_0 = 6,77$ Hz, 2H]; 4,55 [m, ($\underline{\text{C}}\text{HOP}$), 2H]; 1,27 [d, ($(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2\text{CHOP}$), $J_{\text{HH}} = 6,42$ Hz, 6H]; 1,22 [d, ($(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2\text{CHOP}$), $J_{\text{HH}} = 6,42$ Hz, 6H].

RMN ^{13}C (DMSO): 149,80 [s, ($\underline{\text{C}}2$ e $\underline{\text{C}}6$), 2C]; 142,25 [s, ($\underline{\text{C}}4$), 1C]; 140,83 [d, ($\text{N}=\underline{\text{C}}$), $J_{\text{cp}} = 21,02$ Hz, 1C]; 120,20 [s, ($\underline{\text{C}}3$ e $\underline{\text{C}}5$), 1C]; 71,00 [d, ($\underline{\text{C}}\text{HOP}$), $J_{\text{cp}} = 5,97$ Hz, 2c]; 23,56 [d, ($(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2\text{CHOP}$), $J_{\text{cp}} = 4,41$ Hz, 2c]; 23,36 [d, ($(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2\text{CHOP}$), $J_{\text{cp}} = 4,41$ Hz, 2c].

RMN de ^{31}P (DMSO): -0,79 [dt, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 29,52$ Hz, (CHOP), $J_{\text{HP}} = 7,64$ Hz]. Espectro acoplado.

m/z: 43 (27%), 81 (11%), 98 (100%), 120 (4%), 140 (17%), 184 (6%), 200 (1%), 228 (5%), 242 (2%), 286 (< 2%).

3.4.4. Síntese do *N'*- [4- metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-isobutila [4].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,48 g (4,49 mmol) de 4-carbaldeído piridina, 1,01 g (4,49 mmol) de di-isobutilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Após a recristalização em hexano, obteve-se 0,60 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 43%.

Aspecto: sólido amarelo com ponto de fusão entre (110-112)°C.

IV (NaCl): 3453,1 (v NH); 3097,5 (v CHaromático); 2956,7 , 2925,9 e 2821,7 (vas CH₃ e CH₂); 1597,0 (v C=N); 1475,5 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1409,9 (δ_{sim}.CH₃); 1245,9 (v P=O); 1105,1 (v P-N); 1033,8 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,98 [d, (P-N-H), *J*_{HP} = 29,0 Hz, 1H]; 8,57 [d, (H₂ e H₆), *J*_o = 6,27 Hz, 2H]; 7,88 [s, (N=C-H), 1H]; 7,48 [d, (H₃ e H₅), *J*_o = 6,27 Hz, 2H]; 3,77 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,88 [n, (CHCH₂OP), *J*_{HH} = 6,69 Hz, 2H]; 0,88 [d, ((CH₃)₂CHCH₂OP), *J*_{HH} = 6,97 Hz, 12H].

RMN ¹³C (DMSO): 150,10 [s, (C₂ e C₆), 2C]; 141,84 [s, (C₄), 1C]; 141,31 [d, (N=C), *J*_{cp} = 18,90 Hz, 1C]; 120,16 [s, (C₃ e C₅), 1C]; 72,26 [d, (CH₂OP), *J*_{cp} = 6,28 Hz, 2c]; 28,57 [d, (CHCH₂OP), *J*_{cp} = 6,76 Hz, 2c]; 18,51 [d, ((CH₃)₂CHCH₂OP), *J*_{cp} = 3,97 Hz, 4c].

RMN de ³¹P (DMSO): 1,14 [dq, (P-N-H), *J*_{HP} = 29,0 Hz, (CH₂OP), *J*_{HH} = 8,00 Hz]._Espectro acoplado.

***m/z*:** 57 (16%), 92 (3%), 98 (100%), 138 (3%), 154 (10%), 202 (2%), 214 (1%), 242 (3%), 314 (< 1%).

3.4.5. Síntese do *N'*- [3- metilenopiridina], fosforoidrazidato de dietila [5].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,64 g (4,49 mmol) de 3-carbaldeído piridina, 1,01 g (4,49 mmol) de dietilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,85 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 55%.

Aspecto: óleo amarelo.

IV (NaCl): 3427,3 (v NH); 3165,0 (v CHaromático); 2985,7 e 2927,8 (vas CH₃ e CH₂); 1604,7 (v C=N); 1475,5 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1413,7 (δ_{sim}.CH₃); 1238,2 (v P=O); 1163,0 (v P-N); 1031,8 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,77 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 28,48$ Hz, 1H]; 8,69 [d, (H2), $J_{HH} = 1,71$ Hz, 1H]; 8,52 [dd, (H6), $J_o = 4,83$ Hz, $J_m = 1,71$ Hz, 1H]; 7,94 [m, (N=CH e H4), 2H]; 7,40 [dd, (H5), $J_o = 4,71$ Hz e 7,90 Hz, 1H]; 4,04 [m, (CH₃CH₂OP), 4H]; 1,23 [t, (CH₃CH₂OP), $J_{HH} = 6,90$ Hz, 6H].

RMN ¹³C (DMSO): 149,82 [s, (C6), 1C]; 147,77 [s, (C2), 1C]; 141,01 [d, (N=C), $J_{cp} = 19,02$ Hz, 1C]; 132,65 [s, (C4), 1C]; 130,53 [s, (C3), 1C]; 123,89 [s, (C5), 1C]; 62,45 [d, (CH₂OP), $J_{cp} = 5,48$ Hz, 2c]; 16,03 [d, (CH₃CH₂OP), $J_{cp} = 5,48$ Hz, 2c].

RMN de ³¹P (DMSO): 1,61 [dq, (P-N-H), $J_{HP} = 29,89$ Hz, (CH₂OP), $J_{HP} = 7,35$ Hz]. _Espectro acoplado.

m/z: 51 (5%), 65 (38%), 92 (96%), 120 (100%), 133 (2%), 155 (2%), 184 (2%), 200 (< 1%), 229 (< 1%), 257 (8%).

3.4.6. Síntese do N'- [3- metilenopiridina], fosforoidrazidato de dibutila [6].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,50 g (4,65 mmol) de 3-carbaldeído piridina, 1,04 g (4,66 mmol) de dibutilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,79 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 54%.

Aspecto: óleo laranja.

IV (NaCl): 3431,2 (v NH); 3101,4 (v CHaromático); 2960,6 , 2931,7 e 2873,8 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1600,8 (v C=N); 1465,8 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1419,5 (δ_{sim}.CH₃); 1242,1 (v P=O); 1066,6 (v P-N); 1029,9 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,77 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 28,02$ Hz, 1H]; 8,70 [d, (H2), $J_{HH} = 1,70$ Hz, 1H]; 8,52 [dd, (H6), $J_o = 4,74$ Hz e 1,58 Hz, 1H]; 7,93 [s, (N=CH), 1H]; 7,92 (td (H4), $J_o = 6,45$ Hz, $J_m = 1,94$ Hz, 1H); 7,41 [dd, (H5), $J_o = 4,61$ Hz e 7,83 Hz, 1H]; 3,98 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,57 [m, (CH₂CH₂OP), 4H]; 1,33 [sex, (CH₂(CH₂)₂OP), $J_{HH} = 7,39$ Hz, 4H]; 0,84 [t, (CH₃(CH₂)₃OP), $J_{HH} = 7,20$ Hz, 6H].

RMN ¹³C (DMSO): 149,83 [s, (C6), 1C]; 147,72 [s, (C2), 1C]; 140,90 [d, (N=C), $J_{cp} = 20,84$ Hz, 1C]; 132,63 [s, (C4), 1C]; 130,56 [s, (C3), 1C]; 123,90 [s, (C5), 1C]; 65,95 [d, (CH₂OP), $J_{cp} = 6,64$ Hz, 2c]; 31,71 [d, (CH₂CH₂OP), $J_{cp} = 6,64$ Hz, 2c]; 18,20 [s, (CH₂CH₂CH₂OP), 2c]; 13,38 [s, (CH₃CH₂CH₂CH₂OP), 2c].

RMN de ³¹P (DMSO): 1,73 [dq, (P-N-H), $J_{HP} = 27,47$ Hz, (CH₂OP), $J_{HP} = 7,84$ Hz]. Espectro acoplado.

m/z: 41 (11%), 80 (5%), 98 (100%), 124 (7%), 154 (21%), 184 (2%), 214 (1%), 258 (1%), 270 (< 1%), 314 (1%).

3.4.7. Síntese do *N'*- [3- metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-isopropila [7].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,69 g (6,49 mmol) de 3-carbaldeído piridina, 1,27 g (6,47 mmol) de di-isopropilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 1,01 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 55%.

Aspecto: óleo laranja.

IV (NaCl): 3431,2 (v NH); 3099,5 (stCHaromático); 2979,9 , 2925,9 e 2817,9 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1604,7 (v C=N); 1475,5 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1380,9 (δ_{sim}.CH₃); 1245,9 (v P=O); 1097,4 (v P-N); 1028,0 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,67 [d, (P-N-H), *J*_{HP} = 28,32 Hz, 1H]; 8,70 [d, (H₂), *J*_{HH} = 1,75 Hz, 1H]; 8,52 [dd, (H₆), *J*_o = 4,92 Hz e 1,66 Hz, 1H]; 7,94 [m, (N=CH) e (H₄), 2H]; 7,41 [dd, (H₅), *J*_o = 4,72 Hz e 7,94 Hz, 1H]; 4,54 [m, (CHOP), 2H]; 1,23 [d, (CH₃)₂CHOP), *J*_{HH} = 6,22 Hz, 6H]; 1,19 [d, (CH₃)₂CHOP), *J*_{HH} = 6,22 Hz, 6H].

RMN ¹³C (DMSO): 149,57 [s, (C₆), 1C]; 147,51 [s, (C₂), 1C]; 140,43 [d, (N=C), *J*_{cp} = 19,15 Hz, 1C]; 132,63 [s, (C₄), 1C]; 130,71 [s, (C₃), 1C]; 123,93 [s, (C₅), 1C]; 70,82 [d, (CHOP), *J*_{cp} = 5,32 Hz, 2c]; 23,58 [d, (CH₃)₂CHOP), *J*_{cp} = 4,52 Hz, 2c]; 23,34 [d, (CH₃)₂CHOP), *J*_{cp} = 4,52 Hz, 2c].

RMN de ³¹P (DMSO): - 0,15 [dt, (P-N-H), *J*_{HP} = 27,54 Hz, (CHOP), *J*_{HP} = 7,36 Hz]. Espectro acoplado.

m/z: 43 (22%), 81 (11%), 98 (100%), 120 (19%), 140 (16%), 184 (6%), 200 (1%), 228 (3%), 242 (1%), 285 (1%).

3.4.8. Síntese do *N'*- [3- metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-isobutila [8].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,48 g (4,46 mmol) de 3-carbaldeído piridina, 1,00 g (4,47 mmol) de di-isobutilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se, após recristalização em isoctano, 0,66 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 47%.

Aspecto: sólido branco com ponto de fusão entre (92-94)°C.

IV (NaCl): 3435,1 (v NH); 3097,5 (v CHaromático); 2956,7 , 2927,8 e 2823,6 (vas CH₃ e CH₂); 1606,6 (v C=N); 1465,8 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1398,3 (δ_{sim}.CH₃); 1247,9 (v P=O); 1093,6(v P-N); 1031,8 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,78 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 28,52$ Hz, 1H]; 8,70 [d, (H₂), $J_{HH} = 1,86$ Hz, 1H]; 8,52 [dd, (H₆), $J_o = 4,76$ Hz e 1,65 Hz, 1H]; 7,93 [s, (N=CH), 1H]; 7,92 (td (H₄), $J_o = 7,04$ Hz, $J_m = 1,86$ Hz, 1H); 7,42 [dd, (H₅), $J_o = 4,26$ Hz e 7,65 Hz, 1H]; 3,77 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,88 [n, (CHCH₂OP), $J_{HH} = 6,50$ Hz, 2H]; 0,88 [d, ((CH₃)₂CHCH₂OP), $J_{HH} = 7,66$ Hz, 12H].

RMN ¹³C (DMSO): 149,76 [s, (C₆), 1C]; 147,64 [s, (C₂), 1C]; 140,84 [d, (N=C), $J_{cp} = 19,30$ Hz, 1C]; 132,61 [s, (C₄), 1C]; 130,58 [s, (C₃), 1C]; 123,91 [s, (C₅), 1C]; 72,12 [d, (CH₂OP), $J_{cp} = 6,37$ Hz, 2c]; 28,57 [d, (CHCH₂OP), $J_{cp} = 6,37$ Hz, 2c]; 18,53 [d, (CH₃)₂CHCH₂OP), $J_{cp} = 3,70$ Hz, 4c].

RMN de ³¹P (DMSO): 1,64 [dq, (P-N-H), $J_{HP} = 30,5$ Hz, (CH₂OP), $J_{HP} = 7,56$ Hz]._Espectro acoplado.

m/z: 57 (13%), 92 (4%), 98 (100%), 138 (4%), 154 (11%), 184 (3%), 214 (1%), 242 (1%), 313 (< 1%).

3.4.9. Síntese do N'- [2- metilenopiridina], fosforoidrazidato de dietila [9].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,70 g (6,54 mmol) de 2-carbaldeído piridina, 1,10 g (6,54 mmol) de dietilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se, após recristalização em isoctano, 0,60 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 36%.

Aspecto: óleo escuro.

IV (NaCl): 3433,1(v NH); 3140,0 (v CHaromático); 2983,7 , 2931,7 e 2912,4 (vas CH₃ e CH₂); 1585,4 (v C=N); 1461,9 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1394,4 (δ_{sim}.CH₃); 1240,1 (v P=O); 1164,9 (v P-N); 1028,0 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,84 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 27,94$ Hz, 1H]; 8,53 [ddd, (H₆), $J_o = 4,93$ Hz, $J_m = 1,82$ Hz, $J_p = 0,64$ Hz, 1H]; 7,96 [s, (N=CH), 1H]; 7,79 [dt, (H₄), $J_o = 7,64$ Hz, $J_m = 1,96$ Hz, 1H]; 7,75 [td, (H₃), $J_o = 7,82$ Hz, $J_m = 1,10$ Hz, 1H]; 7,33 [ddd, (H₅), $J_o = 7,52$ Hz, $J_o = 5,37$, $J_m = 1,28$ Hz, 1H]; 4,03 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,24 [t, (CH₃CH₂OP), $J_{HH} = 7,23$ Hz, 6H].

RMN ¹³C (DMSO): 153,49 [s, (C₂), 1C]; 123,66 [s, (C₅), 1C]; 144,60 [d, (N=C), $J_{cp} = 19,15$ Hz, 1C]; 149,30 [s, (C₆), 1C]; 136,74 [s, (C₄), 1C]; 119,03 [s, (C₃), 1C]; 62,56 [d, (CH₂OP), $J_{cp} = 5,67$ Hz, 2c]; 16,04 [d, (CH₃CH₂OP), $J_{cp} = 6,60$ Hz, 2c].

RMN de ^{31}P (DMSO): 1,53 [dq, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 28,25$ Hz, (CH_2OP), $J_{\text{HP}} = 7,70$ Hz]; 0,97 [td, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 34,01$ Hz, (CH_2OP), $J_{\text{HP}} = 7,70$ Hz]. Espectro acoplado.

m/z: 51 (5%), 65 (39%), 92 (94%), 120 (100%), 133 (2%), 155 (2%), 184 (2%), 200 (< 1%), 229 (< 1%), 257 (7%).

3.4.10. Síntese do N' - [2- metilenopiridina], fosforoidrazidato de dibutila [10].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,50 g (4,65 mmol) de 2-carbaldeído piridina, 1,04 g (4,65 mmol) de dibutilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,66 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 45%.

Aspecto: óleo escuro.

IV (NaCl): 3429,3 (v NH); 3136,1 (v CHaromático); 2960,6 e 2877,7 (vas CH_3 e CH_2); 1585,4 (v C=N); 1463,9 (δ_{as} . CH_2 e CH_3); 1386,7 (δ_{sim} . CH_3); 1240,1 (v P=O); 1110,9 (v P-N); 1028,0 (v P-O-C).

RMN ^1H (DMSO): 9,85 [d, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 28,72$ Hz, 1H]; 8,53 [ddd, (H_6), $J_o = 5,04$ Hz, $J_m = 1,84$ Hz, $J_p = 0,96$ Hz, 1H]; 7,95 [s, (N=CH), 1H]; 7,79 [dt, (H_4), $J_o = 7,73$ Hz, $J_m = 1,89$ Hz, 1H]; 7,74 [td, (H_3), $J_o = 7,87$ Hz, $J_m = 1,10$ Hz, 1H]; 7,34 [ddd, (H_5), $J_o = 7,37$ Hz, $J_o = 5,28$ Hz, $J_m = 1,32$ Hz, 1H]; 3,98 [m, (CH_2OP), 4H]; 1,57 [m, ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}$), 4H]; 1,34 [sex, ($\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7,28$ Hz, 4H]; 0,84 [t, ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7,25$ Hz, 6H].

RMN ^{13}C (DMSO): 153,54 [s, (C_2), 1C]; 123,63 [s, (C_5), 1C]; 144,49 [d, (N=C), $J_{\text{cp}} = 19,11$ Hz, 1C]; 149,29 [s, (C_6), 1C]; 136,68 [s, (C_4), 1C]; 118,85 [s, (C_3), 1C]; 65,98 [d, (CH_2OP), $J_{\text{cp}} = 5,49$ Hz, 2c]; 31,76 [d, ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{cp}} = 6,34$ Hz, 2c]; 18,19 [s, ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}$), 2c]; 13,36 [s, ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}$), 2c].

RMN de ^{31}P (DMSO): 1,54 [dq, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 29,41$ Hz, (CH_2OP), $J_{\text{HP}} = 7,66$ Hz]; 1,05 [td, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 34,83$ Hz, (CH_2OP), $J_{\text{HP}} = 7,66$ Hz]. Espectro acoplado.

m/z: 65 (19%), 92 (67%), 120 (100%), 133 (2%), 161 (4%), 184 (1%), 208 (2%), 258 (1%), 270 (< 1%), 313 (1%).

3.4.11. Síntese do N' - [2- metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-isopropila [11].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,80 g (7,47 mmol) de 2-carbaldeído piridina, 1,46 g (7,46 mmol) de di-isopropilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de

aproximadamente 25 °C. Obteve-se, após lavagem com éter de petróleo e éter etílico 1,15 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 54%.

Aspecto: sólido branco com ponto de fusão entre (171-173)°C.

IV (NaCl): 3427,3 (ν NH); 3136,1 (ν CHaromático); 2981,8 , 2943,2 e 2839,1 (ν_{as} CH₃ e CH₂); 1583,5 (ν C=N); 1456,2 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1382,9 (δ_{sim}.CH₃); 1228,6 (ν P=O); 1110,9 (ν P-N); 1024,1 (ν P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,74 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 27,83$ Hz, 1H]; 8,53 [ddd, (H6), $J_o = 5,24$ Hz, $J_m = 1,95$ Hz, $J_p = 0,86$ Hz, 1H]; 7,96 [s, (N=CH), 1H]; 7,79 [dt, (H4), $J_o = 7,91$ Hz, $J_m = 1,88$ Hz, 1H]; 7,74 [td, (H3), $J_o = 7,65$ Hz, $J_m = 1,25$ Hz, 1H]; 7,32 [ddd, (H5), $J_o = 7,45$ Hz, $J_o = 5,43$ Hz, $J_m = 1,51$ Hz, 1H]; 4,55 [m, (CHOP), 2H]; 1,34 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6,35$ Hz, 6H]; 1,28 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6,35$ Hz, 6H].

RMN ¹³C (DMSO): 153,64 [s, (C2), 1C]; 123,52 [s, (C5), 1C]; 144,12 [d, (N=C), $J_{cp} = 18,42$ Hz, 1C]; 149,25 [s, (C6), 1C]; 136,71 [s, (C4), 1C]; 118,77 [s, (C3), 1C]; 70,90 [d, (CHOP), $J_{cp} = 5,51$ Hz, 2c]; 23,55 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{cp} = 4,82$ Hz, 2c]; 23,34 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{cp} = 4,82$ Hz, 2c].

RMN de ³¹P (DMSO): - 0,36 [dt, (P-N-H), $J_{HP} = 27,43$ Hz, (CHOP), $J_{HP} = 7,34$ Hz]. Espectro acoplado.

m/z: 43 (16%), 65 (20%), 92 (56%), 120 (100%), 147 (5%), 184 (5%), 201 (1%), 228 (2%), 243 (23%), 285 (5%).

3.4.12. Síntese do N'- [2- metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-isobutila [12].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,48 g (4,46 mmol) de 2-carbaldeído piridina, 1,00 g (4,46 mmol) de di-isobutilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se, após lavagem com éter de petróleo e éter etílico 0,70 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 50%.

Aspecto: sólido bege com ponto de fusão entre (90-92)°C.

IV (NaCl): 3438,9 (ν NH); 3134,2 (ν CHaromático); 2958,7 , 2875,7 (ν_{as} CH₃ e CH₂); 1585,4 (ν C=N); 1461,9 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1371,3 (δ_{sim}.CH₃); 1228,6 (ν P=O); 1103,2 (ν P-N); 1018,3 (ν P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,84 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 28,90$ Hz, 1H]; 8,52 [ddd, (H6), $J_o = 4,82$ Hz, $J_m = 1,92$ Hz, $J_p = 0,63$ Hz, 1H]; 7,95 [s, (N=CH), 1H]; 7,80 [dt, (H4), $J_o = 7,75$ Hz, $J_m = 1,64$ Hz, 1H]; 7,72 [td, (H3), $J_o = 7,90$ Hz, $J_m = 1,16$ Hz, 1H]; 7,32 [ddd, (H5), $J_o = 7,51$ Hz, $J_o = 6,11$ Hz, $J_m = 1,36$ Hz, 1H]; 3,78 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,88 [n, (CHCH₂OP), $J_{HH} = 6,61$ Hz, 2H]; 0,87 [d, (CH₃)₂CHCH₂OP), $J_{HH} = 6,98$ Hz, 12H].

RMN ^{13}C (DMSO): 153,54 [s, ($\underline{\text{C2}}$), 1C]; 123,6 [s, ($\underline{\text{C5}}$), 1C]; 144,46 [d, ($\text{N}=\underline{\text{C}}$), $J_{\text{cp}} = 19,80$ Hz, 1C]; 149,28 [s, ($\underline{\text{C6}}$), 1C]; 136,71 [s, ($\underline{\text{C4}}$), 1C]; 118,76 [s, ($\underline{\text{C3}}$), 1C]; 72,15 [d, ($\underline{\text{CH}_2\text{OP}}$), $J_{\text{cp}} = 6,51$ Hz, 2c]; 28,51 [d, ($\underline{\text{CHCH}_2\text{OP}}$), $J_{\text{cp}} = 6,25$ Hz, 2c]; 18,50 [d, ($\underline{\text{CH}_3}_2\text{CHCH}_2\text{OP}$), $J_{\text{cp}} = 3,50$ Hz, 4c].

RMN de ^{31}P (DMSO): 1,43 [dq, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 30,05$ Hz, (CH_2OP), $J_{\text{HP}} = 7,12$ Hz]. Espectro acoplado.

***m/z*:** 65 (17%), 92 (61%), 120 (100%), 123 (1%), 161 (5%), 202 (4%), 214 (< 1%), 258 (4%), 313 (2%).

3.4.13. Síntese do *N*'- [2-cloro-3-metilenopiridina], fosforoidrazidato de dibutila [13].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,49 g (3,48 mmol) de 2-cloro-3-carbaldeído piridina, 0,78 g (3,48 mmol) de dibutilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,67 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 55%.

Aspecto: óleo amarelo.

IV (NaCl): 3433,1 (v NH); 3053,2 (v CHaromático); 2925,9 e 2858,4 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1618,2 (v C=N); 1392,5 (δ_{sim} -CH₃); 1272,9 (v P=O); 1118,6 (v P-N); 1060,8 (v P-O-C).

RMN ^1H (DMSO): 9,99 [d, (P-N- $\underline{\text{H}}$), $J_{\text{HP}} = 29,02$ Hz, 1H]; 8,38 [dd, ($\underline{\text{H6}}$), $J_o = 4,62$ Hz, $J_m = 1,94$ Hz, 1H]; 8,22 [s, ($\text{N}=\underline{\text{CH}}$), 1H]; 8,12 [dd, ($\underline{\text{H4}}$), $J_o = 7,89$ Hz, $J_m = 1,94$ Hz, 1H]; 7,46 [dd, ($\underline{\text{H5}}$), $J_o = 7,90$ Hz, $J_m = 5,04$ Hz, 1H]; 4,00 [m, ($\underline{\text{CH}_2\text{OP}}$), 4H]; 1,57 [m, ($\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}}$), 4H]; 1,33 [sex, ($\underline{\text{CH}_2}(\text{CH}_2)_2\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7,17$ Hz, 4H]; 0,84 [t, ($\underline{\text{CH}_3}(\text{CH}_2)_3\text{OP}$), $J_{\text{HH}} = 7,13$ Hz, 6H].

RMN ^{13}C (DMSO): 149,95 [s, ($\underline{\text{C6}}$), 1C]; 148,39 [s, ($\underline{\text{C2}}$), 1C]; 138,57 [d, ($\text{N}=\underline{\text{C}}$), $J_{\text{cp}} = 19,45$ Hz, 1C]; 134,90 [s, ($\underline{\text{C4}}$), 1C]; 128,83 [s, ($\underline{\text{C3}}$), 1C]; 123,71 [s, ($\underline{\text{C5}}$), 1C]; 66,13 [d, ($\underline{\text{CH}_2\text{OP}}$), $J_{\text{cp}} = 5,84$ Hz, 2c]; 31,71 [d, ($\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}}$), $J_{\text{cp}} = 5,84$ Hz, 2c]; 18,19 [s, ($\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}}$), 2c]; 13,55 [s, ($\underline{\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OP}}$), 2c].

RMN de ^{31}P (DMSO): 1,23 [dq, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 30,14$ Hz, (CH_2OP), $J_{\text{HP}} = 7,31$ Hz]; Espectro acoplado.

***m/z*:** 41 (11%), 98 (100%), 120 (6%), 154 (22%), 195, 218, 236, 262, 292, 348 (< 3%).

3.4.14. Síntese do *N*'- [2-cloro-3-metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-isopropila [14].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,49 g (3,44 mmol) de 2-cloro-3-carbaldeído pi-

ridina, 0,67 g (3,44 mmol) de di-isopropilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,53g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 48%.

Aspecto: óleo vermelho.

IV (NaCl): 3435,1 (v NH); 3141,9 (v CHaromático); 2981,5 e 2931,7 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1583,5 (v C=N); 1492,8 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1394,5 (δ_{sim}.CH₃); 1238,2 (v P=O); 1107,1 (v P-N); 1006,8 (stP-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,90 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 29,03$ Hz, 1H]; 8,38 [dd, (H₆), $J_o = 5,03$ Hz, $J_m = 1,69$ Hz, 1H]; 8,21 [s, (N=CH), 1H]; 8,13 [dd, (H₄), $J_o = 7,84$ Hz, $J_m = 1,69$ Hz, 1H]; 7,46 [dd, (H₅), $J_o = 7,59$ Hz, $J_m = 4,91$ Hz, 1H]; 4,55 [m, (CHOP), 2H]; 1,26 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6,03$ Hz, 6H]; 1,23 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6,03$ Hz, 6H].

RMN ¹³C (DMSO): 149,87 [s, (C₆), 1C]; 148,34 [s, (C₂), 1C]; 138,22 [d, (N=C), $J_{cp} = 21,04$ Hz, 1C]; 134,85 [s, (C₄), 1C]; 128,94 [s, (C₃), 1C]; 123,80 [s, (C₅), 1C]; 71,06 [d, (CHOP), $J_{cp} = 5,79$ Hz, 2c]; 23,58 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{cp} = 4,82$ Hz, 2c]; 23,39 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{cp} = 4,82$ Hz, 2c].

RMN de ³¹P (DMSO): - 0,70 [dt, (P-N-H), $J_{HP} = 29,76$ Hz, (CHOP), $J_{HP} = 7,80$ Hz]; Espectro acoplado.

m/z: 43 (22%), 81 (12%), 98 (100%), 139 (24%), 154, 182, 218, 262, 276, 320 (< 3%).

3.4.15. Síntese do N'-[2-cloro-3-metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-isobutila [15].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,48 g (3,41 mmol) de 2-cloro-3-carbaldeído piridina, 0,76 g (3,41 mmol) de di-isobutilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,93g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 79%.

Aspecto: óleo marrom.

IV (NaCl): 3433,1 (v NH); 3132,2 (stCHaromático); 2964,9 , 2895,0 e 2844,9 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1579,6 (v C=N); 1469,7 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1396,4 (δ_{sim}.CH₃); 1249,8 (v P=O); 1118,6 (v P-N); 1033,8 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,99 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 29,68$ Hz, 1H]; 8,38 [dd, (H₆), $J_o = 4,73$ Hz, $J_m = 2,82$ Hz, 1H]; 8,22 [s, (N=CH), 1H]; 8,11 [dd, (H₄), $J_o = 7,67$ Hz, $J_m = 1,80$ Hz, 1H]; 7,46

[dd, (H5), $J_o = 7,60$ Hz, $J_m = 4,15$ Hz, 1H]; 3,76 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,88 [n, (CHCH₂OP), $J_{HH} = 6,65$ Hz, 2H]; 0,87 [d, ((CH₃)₂CHCH₂OP), $J_{HH} = 6,47$ Hz, 12H].

RMN ¹³C (DMSO): 149,99 [s, (C6), 1C]; 148,42 [s, (C2), 1C]; 138,61 [d, (N=C), $J_{cp} = 19,43$ Hz, 1C]; 134,87 [s, (C4), 1C]; 128,86 [s, (C3), 1C]; 123,79 [s, (C5), 1C]; 72,34 [d, (CH₂OP), $J_{cp} = 6,47$ Hz, 2c]; 28,57 [d, (CHCH₂OP), $J_{cp} = 6,47$ Hz, 2c]; 18,53 [d, ((CH₃)₂CHCH₂OP), $J_{cp} = 3,24$ Hz, 4c].

RMN de ³¹P (DMSO): 1,09 [dq, (P-N-H), $J_{HP} = 29,02$ Hz, (CH₂OP), $J_{HP} = 7,47$ Hz]; Espectro acoplado.

m/z: 57 (13%), 98 (100%), 120 (6%), 154 (11%), 171, 218, 236, 276, 290, 348 (< 3%).

3.4.16. Síntese do N'- [2-cloro-3-metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-s-butila [16].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,52 g (3,70 mmol) de 2-cloro-3-carbaldeído piridina, 0,83 g (3,70 mmol) de di-s-butilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 1,00g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 78%.

Aspecto: óleo amarelo.

IV (NaCl): 3408,1 (v NH); 3126,5 (stCHaromático); 2976,0 e 2935,5 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1585,4 (v C=N); 1458,1 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1394,4 (δ_{sim}.CH₃); 1234,4 (v P=O); 1114,8 (v P-N); 1001,0 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,98 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 29,09$ Hz, 1H]; 8,38 [dd, (H6), $J_o = 4,89$ Hz, $J_m = 1,86$ Hz, 1H]; 8,20 [s, (N=CH), 1H]; 8,12 [dd, (H4), $J_o = 7,72$ Hz, $J_m = 2,81$ Hz, 1H]; 7,48 [dd, (H5), $J_o = 7,72$ Hz, $J_m = 4,68$ Hz, 1H]; 4,35 [m, (CHOP), 2H]; 1,55 [m, (CH₂CHOP), 4H]; 1,27 [d, (CH₃CHOP), $J_{HH} = 6,59$ Hz, 3H]; 1,21 [d, (CH₃CHOP), $J_{HH} = 6,59$ Hz, 3H]; 0,87 [t, (CH₃CH₂CHOP), $J_{HH} = 7,40$ Hz, 3H]; 0,83 [t, (CH₃CH₂CHOP), $J_{HH} = 7,40$ Hz, 3H].

RMN ¹³C (CDCl₃): 149,85 [s, (C6), 1C]; 148,31 [s, (C2), 1C]; 138,03 [d, (N=C), $J_{cp} = 18,98$ Hz, 1C]; 134,67 [s, (C4), 1C]; 128,94 [s, (C3), 1C]; 123,78 [s, (C5), 1C]; 75,62 [t, (CHOP), $J_{cp} = 5,70$ Hz, 2c]; 29,90 [d, (CH₂CHOP), $J_{cp} = 5,33$ Hz, 1c]; 29,74 [d, (CH₂CHOP), $J_{cp} = 5,33$ Hz, 1c]; 21,11 [d, (CH₃CHOP), $J_{cp} = 3,82$ Hz, 1c]; 20,83 [d, (CH₃CHOP), $J_{cp} = 3,82$ Hz, 1c]; 9,38 [d, (CH₃CH₂CHOP), $J_{cp} = 6,38$ Hz, 2c].

RMN de ³¹P (DMSO): -0,63 [dt, (P-N-H), $J_{HP} = 28,83$ Hz, (CHOP), $J_{HP} = 6,65$ Hz]; Espectro acoplado.

m/z: 41 (14%), 90 (< 3%), 98 (100%), 139 (19%), 154 (7%), 182, 200, 218, 262, 276 (< 3%).

3.4.17. Síntese do N'- [5-bromo-3-metilenopiridina], fosforoidrazidato de dibutila [17].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,50 g (2,67 mmol) de 5-bromo-3-carbaldeído piridina, 0,60 g (2,67 mmol) de dibutilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,47 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 45%.

Aspecto: óleo amarelo.

IV (NaCl): 3433,1 (v NH); 3039,7 (v CHaromático); 2925,9 e 2858,4 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1575,7 (v C=N); 1409,9 (δ_{sim}.CH₃); 1230,5 (v P=O); 1085,8 (v P-N); 1012,6 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,90 [d, (P-N-H), J_{HP} = 29,84 Hz, 1H]; 8,63 [s, (H₆), 1H]; 8,69 [d, (H₂), J = 1,98 Hz, 1H]; 8,12 [s, (H₄), 1H]; 7,92 [s, (N=CH), 1H]; 3,98 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,57 [m, (CH₂CH₂OP), 4H]; 1,33 [sex, (CH₂(CH₂)₂OP), J_{HH} = 7,38 Hz, 4H]; 0,84 [t, (CH₃(CH₂)₃OP), J_{HH} = 8,39 Hz, 6H].

RMN ¹³C (DMSO): 150,15 [s, (C₆), 1C]; 146,15 [s, (C₂), 1C]; 139,26 [d, (N=C), J_{cp} = 21,69 Hz, 1C]; 134,64 [s, (C₄), 1C]; 132,58 [s, (C₃), 1C]; 120,49 [s, (C₅), 1C]; 66,13 [d, (CH₂OP), J_{cp} = 5,62 Hz, 2c]; 31,79 [d, (CH₂CH₂OP), J_{cp} = 6,23 Hz, 2c]; 18,24 [s, (CH₂CH₂CH₂OP), 2c]; 13,38 [s, (CH₃CH₂CH₂CH₂OP), 2c].

RMN de ³¹P (DMSO): 1,37 [dq, (P-N-H), J_{HP} = 29,28 Hz, (CH₂OP), J_{HP} = 7,17 Hz]; Espectro acoplado.

m/z: 41 (13%), 98 (100%), 124 (< 3%), 154 (18%), 200, 239, 280, 292, 336, 392 (< 3%).

3.4.18. Síntese do N'- [5-bromo-3-metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-isopropila [18].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,49 g (2,61 mmol) de 5-bromo-3-carbaldeído piridina, 0,52 g (2,61 mmol) de di-isopropilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,55g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 58%.

Aspecto: óleo amarelo.

IV (NaCl): 3431,2 (v NH); 3109,1 (v CHaromático); 2979,9 , 2929,7 e 2825,6 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1600,8 (v C=N); 1477,4 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1398,3 (δ_{sim}.CH₃); 1245,9 (v P=O); 1083,9 (v P-N); 1028,3 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,82 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 28,20$ Hz, 1H]; 8,63 [d, (H6), $J_m = 1,99$ Hz, 1H]; 8,69 [d, (H2), $J_m = 2,05$ Hz, 1H]; 8,12 [dd, (H4), $J_m = 1,86$ Hz, $J_m = 2,68$ Hz, 1H]; 7,91 [s, (N=CH), 1H]; 4,55 [hd, (CHOP), $J_{HH} = 6,24$, $J_{HP} = 1,56$ Hz, 2H]; 1,26 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6,20$ Hz, 6H]; 1,22 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6,20$ Hz, 6H].

RMN ¹³C (DMSO): 150,07 [s, (C6), 1C]; 145,97 [s, (C2), 1C]; 138,97 [d, (N=C), $J_{cp} = 20,17$ Hz, 1C]; 134,69 [s, (C4), 1C]; 132,69 [s, (C3), 1C]; 120,52 [s, (C5), 1C]; 71,03 [d, (CHOP), $J_{cp} = 5,30$ Hz, 2c]; 23,59 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{cp} = 4,57$ Hz, 2c]; 23,38 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{cp} = 4,57$ Hz, 2c].

RMN de ³¹P (DMSO): - 0,53 [dt, (P-N-H), $J_{HP} = 28,04$ Hz, (CHOP), $J_{HP} = 7,62$ Hz]; Espectro acoplado.

m/z: 43 (25%), 98 (100%), 119 (< 3%), 140 (15%), 200 (5%), 225, 264, 280, 306, 365 (< 3%).

3.4.19. Síntese do N'- [5-bromo-3-metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-isobutila [19].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,50 g (2,69 mmol) de 5-bromo-3-carbaldeído piridina, 0,60 g (2,69 mmol) de di-isobutilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,75g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 71%.

Aspecto: óleo incolor.

IV (NaCl): 3433,1 (stNH); 3101,4 (stCHaromático); 2958,7 , 2929,7 e 2873,8 (ν_{as} CH₃ e CH₂); 1602,7 (ν C=N); 1481,2 (δ_{as} .CH₂ e CH₃); 1406,0 (δ_{sim} .CH₃); 1247,9 (ν P=O); 1085,8 (ν P-N); 1029,9 (ν P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,91 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 30,67$ Hz, 1H]; 8,64 [d, (H6), $J_m = 1,50$ Hz, 1H]; 8,69 [d, (H2), $J_m = 1,80$ Hz, 1H]; 7,91 [s, (N=CH), 1H]; 8,12 [s, (H4), 1H]; 3,78 [m, (CH₂OP), 2H]; 3,74 [m, (CH₂OP), 2H]; 1,88 [n, (CHCH₂OP), $J_{HH} = 6,24$ Hz, 2H]; 0,87 [d, ((CH₃)₂CHCH₂OP), $J_{HH} = 7,13$ Hz, 12H].

RMN ¹³C (DMSO): 150,10 [s, (C6), 1C]; 146,02 [s, (C2), 1C]; 139,24 [d, (N=C), $J_{cp} = 19,10$ Hz, 1C]; 134,74 [s, (C4), 1C]; 132,58 [s, (C3), 1C]; 120,47 [s, (C5), 1C]; 72,27 [d, (CH₂OP), $J_{cp} = 6,55$ Hz, 2c]; 28,53 [d, (CHCH₂OP), $J_{cp} = 6,55$ Hz, 2c]; 18,48 [d, ((CH₃)₂CHCH₂OP), $J_{cp} = 4,37$ Hz, 4c].

RMN de ³¹P (DMSO): 1,35 [dq, (P-N-H), $J_{HP} = 30,17$ Hz, (CH₂OP), $J_{HP} = 7,54$ Hz]; Espectro acoplado.

m/z: 57 (14%), 98 (100%), 138 (< 3%), 154 (9%), 200, 241, 280, 322, 336, 393 (< 3%).

3.4.20. Síntese do N'- [5-bromo-3-metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-s-butila [20].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,48 g (2,61 mmol) de 5-bromo-3-carbaldeído piridina, 0,58 g (2,69 mmol) de di-s-butilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,63g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 62%.

Aspecto: sólido branco com ponto de fusão entre (156-158)°C.

IV (NaCl): 3440,9 (ν NH); 3101,4 (ν CHaromático); 2972,2 , 2931,7 e 2827,5 (ν_{as} CH₃ e CH₂); 1600,8 (ν C=N); 1471,6 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1242,1 (ν P=O); 1095,5 (ν P-N); 1018,3 (ν P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,91 [d, (P-N-H), *J*_{HP} = 28,62 Hz, 1H]; 8,64 [s, (H₆), 1H]; 8,70 [s, (H₂), 1H]; 7,89 [s, (N=CH), 1H]; 8,12 [s, (H₄), 1H]; 4,34 [m, (CHOP), 2H]; 1,55 [m, (CH₂CHOP), 4H]; 1,27 [d, (CH₃CHOP), *J*_{HH} = 5,45 Hz, 3H]; 1,21 [d, (CH₃CHOP), *J*_{HH} = 5,45 Hz, 3H]; 0,88 [t, (CH₃CH₂CHOP), *J*_{HH} = 7,80 Hz, 3H]; 0,84 [t, (CH₃CH₂CHOP), *J*_{HH} = 7,80 Hz, 3H].

RMN ¹³C (DMSO): 150,00 [s, (C₆), 1C]; 145,90 [s, (C₂), 1C]; 138,68 [d, (N=C), *J*_{cp} = 19,85 Hz, 1C]; 134,62 [s, (C₄), 1C]; 132,70 [s, (C₃), 1C]; 120,48 [s, (C₅), 1C]; 75,55 [t, (COP), *J*_{cp} = 5,76 Hz, 2c]; 29,84 [d, (CH₂CHOP), *J*_{cp} = 6,00 Hz, 1c]; 29,68 [d, (CH₂CHOP), *J*_{cp} = 6,00 Hz, 1c]; 21,10 [d, (CH₃CHOP), *J*_{cp} = 2,63 Hz, 1c]; 20,82 [d, (CH₃CHOP), *J*_{cp} = 2,63 Hz, 1c]; 9,32 [d, (CH₃CH₂CHOP), *J*_{cp} = 6,72 Hz, 2c];

RMN de ³¹P (DMSO): - 0,30 [dt, (P-N-H), *J*_{HP} = 27,97 Hz, (CH₂OP), *J*_{HP} = 8,13 Hz]; Espectro acoplado.

m/z: 57 (17%), 91 (4%), 98 (100%), 137 (1%), 154 (5%), 200 (5%), 262 (4%), 280 (1%), 306 (2%), 392 (< 1%).

3.4.21. Síntese do N'- [2-bromo-3-metilenopiridina], fosforoidrazidato de dibutila [21].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,49 g (2,64 mmol) de 2-bromo-3-carbaldeído piridina, 0,59 g (2,64 mmol) de dibutilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,48 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 46%.

Aspecto: óleo amarelo.

IV (NaCl): 3437,0 (v NH); 3047,4 (v CHaromático); 2923,9 e 2856,4 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1618,2 (v C=N); 1384,8 (δ_{sim}.CH₃); 1269,1 (v P=O); 1110,9 (v P-N); 1045,3 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 10,02 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 28,17$ Hz, 1H]; 8,35 [dd, (H6), $J_o = 4,78$ Hz, $J_m = 1,99$ Hz, 1H]; 8,18 [s, (N=CH), 1H]; 8,05 [dd, (H4), $J_o = 7,81$ Hz, $J_m = 1,92$ Hz, 1H]; 7,48 [dd, (H5), $J_o = 7,62$ Hz, $J_m = 4,49$ Hz, 1H]; 3,98 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,57 [m, (CH₂CH₂OP), 4H]; 1,33 [sex, (CH₂(CH₂)₂OP), $J_{HH} = 7,25$ Hz, 4H]; 0,84 [t, (CH₃(CH₂)₃OP), $J_{HH} = 7,02$ Hz, 6H].

RMN ¹³C (DMSO): 150,48 [s, (C6), 1C]; 141,28 [s, (C2), 1C]; 140,57 [d, (N=C), $J_{cp} = 18,99$ Hz, 1C]; 134,78 [s, (C4), 1C]; 130,99 [s, (C3), 1C]; 123,92 [s, (C5), 1C]; 66,10 [d, (CH₂OP), $J_{cp} = 6,03$ Hz, 2c]; 31,72 [d, (CH₂CH₂OP), $J_{cp} = 6,03$ Hz, 2c]; 18,20 [s, (CH₂CH₂CH₂OP), 2c]; 13,38 [s, (CH₃CH₂CH₂CH₂OP), 2c].

RMN de ³¹P (DMSO): 1,37 [dq, (P-N-H), $J_{HP} = 29,07$ Hz, (CH₂OP), $J_{HP} = 7,57$ Hz]; Espectro acoplado.

m/z: 41 (13%), 98 (100%), 120 (7%), 154 (26%), 185, 239, 264, 294, 336, 392 (< 3%).

3.4.22. Síntese do N'- [2-bromo-3-metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-isopropila [22].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,48 g (2,59 mmol) de 2-bromo-3-carbaldeído piridina, 0,51 g (2,59 mmol) de di-isopropilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,60g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 64%.

Aspecto: óleo marrom.

IV (NaCl): 3429,3 (v NH); 3140,0 (v CHaromático); 2979,9 , 2931,7 e 2817,9 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1581,5 (v C=N); 1492,8 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1390,6 (δ_{sim}.CH₃); 1238,2 (v P=O); 1097,4 (v P-N); 1000,0 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 9,93 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 29,47$ Hz, 1H]; 8,34 [dd, (H6), $J_m = 2,14$ Hz, $J_o = 4,64$ Hz, 1H]; 8,18 [s, (N=CH), 1H]; 8,07 [dd, (H4), $J_m = 2,03$ Hz, $J_o = 7,80$ Hz, 1H]; 7,47 [dd, (H5), $J_o = 5,61$ Hz, $J_o = 7,50$ Hz, 1H]; 4,54 [hd, (CHOP), $J_{HH} = 6,93$, $J_{HP} = 1,30$ Hz, 2H]; 1,26 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6,04$ Hz, 6H]; 1,22 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6,04$ Hz, 6H].

RMN ¹³C (DMSO): 150,37 [s, (C6), 1C]; 141,24 [s, (C2), 1C]; 140,23 [d, (N=C), $J_{cp} = 18,41$ Hz, 1C]; 134,71 [s, (C4), 1C]; 131,11 [s, (C3), 1C]; 123,97 [s, (C5), 1C]; 71,02 [d, (CHOP), $J_{cp} = 5,61$ Hz, 2c]; 23,62 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{cp} = 4,77$ Hz, 2c]; 23,39 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{cp} = 4,77$ Hz, 2c].

RMN de ^{31}P (DMSO): - 0,79 [dt, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 27,79$ Hz, (CHOP), $J_{\text{HP}} = 7,34$ Hz]; -2,74 [t, (CHOP), $J_{\text{HP}} = 7,34$ Hz]. Espectro acoplado.

***m/z*:** 43 (23%), 98 (100%), 120 (6%), 140 (14%), 183 (8%), 226, 262, 280, 308, 365 (< 3%).

3.4.23. Síntese do *N*'- [2-bromo-3-metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-isobutila [23].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,48 g (2,60 mmol) de 2-bromo-3-carbaldeído piridina, 0,58 g (2,60 mmol) de di-isobutilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,70g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 69%.

Aspecto: óleo marrom.

IV (NaCl): 3394,6 (v NH); 3126,5 (v CHaromático); 2962,5 e 2885,4 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1585,4 (v C=N); 1465,8 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1390,6 (δ_{sim}.CH₃); 1238,2 (v P=O); 1107,1 (v P-N); 1024,1 (v P-O-C).

RMN ^1H (DMSO): 10,02 [d, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 29,34$ Hz, 1H]; 8,35 [dd, (H₆), $J_{\text{m}} = 1,79$ Hz, $J_{\text{o}} = 4,69$ Hz, 1H]; 8,18 [s, (N=CH), 1H]; 8,05 [dd, (H₄), $J_{\text{m}} = 1,95$ Hz, $J_{\text{o}} = 7,82$ Hz, 1H]; 7,48 [m, (H₅), 1H]; 3,75 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,87 [m, (CHCH₂OP), 2H]; 0,87 [d, ((CH₃)₂CHCH₂OP), $J_{\text{HH}} = 6,52$ Hz, 12H].

RMN ^{13}C (DMSO): 150,47 [s, (C₆), 1C]; 141,29 [s, (C₂), 1C]; 140,56 [d, (N=C), $J_{\text{cp}} = 18,96$ Hz, 1C]; 134,70 [s, (C₄), 1C]; 130,99 [s, (C₃), 1C]; 123,95 [s, (C₅), 1C]; 72,25 [d, (CH₂OP), $J_{\text{cp}} = 6,49$ Hz, 2c]; 28,59 [d, (CHCH₂OP), $J_{\text{cp}} = 6,49$ Hz, 2c]; 18,59 [d, ((CH₃)₂CHCH₂OP), $J_{\text{cp}} = 2,36$ Hz, 4c].

RMN de ^{31}P (DMSO): 1,23 e -1,24 [dq, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 28,27$ Hz, (CH₂OP), $J_{\text{HP}} = 7,70$ Hz]; Espectro acoplado.

***m/z*:** 41 (28%), 57 (20%), 73 (10%), 98 (100%), 103 (6%), 120 (7%), 154 (4%), 185 (5%), 392 (< 1%).

3.4.24. Síntese do *N*'- [2-bromo-3-metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-*s*-butila [24].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,52 g (2,77 mmol) de 2-bromo-3-carbaldeído piridina, 0,62 g (2,77 mmol) de di-*s*-butilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de

aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,69 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 64%.

Aspecto: óleo amarelo.

IV (NaCl): 3435,1 (ν NH); 3134,2 (ν CHaromático); 2974,1, 2937,5 e 2879,6 (ν_{as} CH₃ e CH₂); 1577,7 (ν C=N); 1460,0 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1392,6 (δ_{sim}.CH₃); 1234,4 (ν P=O); 1105,2 (ν P-N); 1002,9 (ν P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 10,00 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 29,20$ Hz, 1H]; 8,35 [dd, (H6), $J_m = 2,12$ Hz, $J_o = 4,87$ Hz, 1H]; 8,17 [s, (N=CH), 1H]; 8,06 [dd, (H4), $J_m = 1,94$ Hz, $J_o = 7,77$ Hz, 1H]; 7,50 [m, (H5), 1H]; 4,35 [m, (CHOP), 2H]; 1,55 [m, (CH₂CHOP), 2H]; 1,25 [d, (CH₃CHOP), $J_{HH} = 6,08$ Hz, 3H]; 1,20 [d, (CH₃CHOP), $J_{HH} = 6,08$ Hz, 3H]; 0,87 [t, (CH₃CH₂CHOP), $J_{HH} = 7,44$ Hz, 3H]; 0,84 [t, (CH₃CH₂CHOP), $J_{HH} = 7,44$ Hz, 3H].

RMN ¹³C (DMSO): 150,36 [s, (C6), 1C]; 141,21 [s, (C2), 1C]; 140,02 [d, (N=C), $J_{cp} = 18,22$ Hz, 1C]; 134,53 [s, (C4), 1C]; 131,10 [s, (C3), 1C]; 123,96 [s, (C5), 1C]; 75,66 [m, (CHOP), 2c]; 29,84 [d, (CH₂CHOP), $J_{cp} = 4,19$ Hz, 1c]; 29,73 [d, (CH₂CHOP), $J_{cp} = 4,19$ Hz, 1c]; 21,10 [d, (CH₃CHOP), $J_{cp} = 3,60$ Hz, 1c]; 20,83 [d, (CH₃CHOP), $J_{cp} = 3,60$ Hz, 1c]; 9,38 [d, (CH₃CH₂CHOP), $J_{cp} = 6,47$ Hz, 2c].

RMN ³¹P (DMSO): - 0,46 [dt, (P-N-H), $J_{HP} = 29,45$ Hz, (CHOP), $J_{HP} = 8,12$ Hz]; Espectro acoplado.

m/z: 41 (28%), 57 (21%), 73 (10%), 98 (100%), 103(6%), 120 (8%), 154 (4%), 185 (5%).

3.4.25. Síntese do N'- [3-cloro-4-metilenopiridina], fosforoidrazidato de dibutila [25].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,47 g (2,64 mmol) de 3-cloro-4-carbaldeído piridina, 0,75 g (3,34 mmol) de dibutilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,67g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 58%.

Aspecto: óleo vermelho.

IV (NaCl): 3427,3 (ν NH); 3120,7 (ν CHaromático); 2960,6, 2933,6 e 2873,8 (ν_{as} CH₃ e CH₂); 1579,3 (ν C=N); 1467,7 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1400,2 (δ_{sim}.CH₃); 1249,8 (ν P=O); 1128,3 (ν P-N); 1029,9 (ν P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 10,20 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 29,39$ Hz, 1H]; 8,62 [s, (H2), 1H]; 8,48 [d, (H6), $J_o = 4,84$, 1H]; 8,24 [s, (N=CH), 1H]; 7,67 [d, (H5), $J_o = 484$ Hz, 1H]; 3,99 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,57 [m, (CH₂CH₂OP), 4H]; 1,33 [sex, (CH₂(CH₂)₂OP), $J_{HH} = 7,60$ Hz, 4H]; 0,83 [t, (CH₃(CH₂)₃OP), $J_{HH} = 7,40$ Hz, 6H].

RMN ^{13}C (DMSO): 149,92 [s, (C2), 1C]; 148,02 [s, (C6), 1C]; 138,96 [s, (C3), 1C]; 137,40 [d, (N=C), $J_{\text{cp}} = 19,82$ Hz, 1C]; 128,99 [s, (C4), 1C]; 119,24 [s, (C5), 1C]; 66,18 [d, (CH2OP), $J_{\text{cp}} = 6,25$ Hz, 2c]; 31,71 [d, (CH2CH2OP), $J_{\text{cp}} = 6,25$ Hz, 2c]; 18,14 [s, (CH2CH2CH2OP), 2c]; 13,32 [s, (CH3CH2CH2CH2OP), 2c].

RMN de ^{31}P (DMSO): 0,83 [dq, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 29,77$ Hz, (CH2OP), $J_{\text{HP}} = 7,09$ Hz]; Espectro acoplado.

***m/z*:** 98 (100%), 124 (3%), 154 (23%), 195, 218, 236, 262, 292, 348 (< 3%).

3.4.26. Síntese do *N*'- [3-cloro-4-metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-isopropila [26].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,46 g (3,27 mmol) de 3-cloro-4-carbaldeído piridina, 0,64 g (3,27 mmol) de di-isopropilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,70g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 70%.

Aspecto: óleo vermelho.

IV (NaCl): 3425,4 (v NH); 3138,0 (v CHaromático); 2979,9 e 2864,7 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1581,5 (v C=N); 1465,8 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1390,6 (δ_{sim}.CH₃); 1234,4 (v P=O); 1109,0 (v P-N); 1004,8 (v P-O-C).

RMN ^1H (DMSO): 10,15 [d, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 29,39$ Hz, 1H]; 8,63 [s, (H2), 1H]; 8,48 [d, (H6), $J_{\text{o}} = 4,77$ Hz, 1H]; 8,24 [s, (N=CH), 1H]; 7,68 [d, (H5), $J_{\text{o}} = 4,77$ Hz, 1H]; 4,55 [hd, (CHOP), $J_{\text{HH}} = 6,98$, $J_{\text{HP}} = 1,42$ Hz, 2H]; 1,27 [d, ((CH3)₂CHOP), $J_{\text{HH}} = 5,69$ Hz, 6H]; 1,24 [d, (CH3)₂CHOP), $J_{\text{HH}} = 5,69$ Hz, 6H].

RMN ^{13}C (DMSO): 149,90 [s, (C2), 1C]; 148,08 [s, (C6), 1C]; 139,09 [s, (C3), 1C]; 137,04 [d, (N=C), $J_{\text{cp}} = 20,02$ Hz, 1C]; 128,96 [s, (C4), 1C]; 119,19 [s, (C5), 1C]; 71,24 [d, (CHOP), $J_{\text{cp}} = 5,52$ Hz, 2c]; 23,56 [d, ((CH3)₂CHOP), $J_{\text{cp}} = 4,52$ Hz, 2c]; 23,37 [d, ((CH3)₂CHOP), $J_{\text{cp}} = 4,52$ Hz, 2c].

RMN de ^{31}P (DMSO): - 1,20 [dt, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 29,79$ Hz, (CHOP), $J_{\text{HP}} = 7,77$ Hz]; Espectro acoplado.

***m/z*:** 43 (27%), 81 (12%), 98 (100%), 140 (17%), 154, 200, 218, 262, 276, 320 (< 3%).

3.4.27. Síntese do *N*'- [3-cloro-4-metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-isobutila [27].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,46 g (3,26 mmol) de 3-cloro-4-carbaldeído pi-

ridina, 0,73 g (3,26 mmol) de di-isobutilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,54g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 48%.

Aspecto: óleo laranja.

IV (NaCl): 3427,3 (v NH); 3118,7 (v CHaromático); 2962,5 e 2835,2 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1579,6 (v C=N); 1469,7 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1406,0 (δ_{sim}.CH₃); 1249,8 (v P=O); 1124,4 (v P-N); 1018,3 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 10,20 [d, (P-N-H), J_{HP} = 29,73 Hz, 1H]; 8,62 [s, (H₂), 1H]; 8,47 [d, (H₆), J_o = 5,08 Hz, 1H]; 8,24 [s, (N=CH), 1H]; 7,65 [d, (H₅), J_o = 5,08 Hz, 1H]; 3,77 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,88 [m, (CHCH₂OP), 2H]; 0,87 [d, ((CH₃)₂CHCH₂OP), J_{HH} = 6,74 Hz, 12H].

RMN ¹³C (DMSO): 149,93 [s, (C₂), 1C]; 148,04 [s, (C₆), 1C]; 138,97 [s, (C₃), 1C]; 137,39 [d, (N=C), J_{cp} = 20,49 Hz, 1C]; 128,99 [s, (C₄), 1C]; 119,16 [s, (C₅), 1C]; 72,37 [d, (CH₂OP), J_{cp} = 6,25 Hz, 2c]; 28,49 [d, (CHCH₂OP), J_{cp} = 6,25 Hz, 2c]; 18,46 [d, ((CH₃)₂CHCH₂OP), J_{cp} = 2,67 Hz, 4c].

RMN de ³¹P (DMSO): 0,67 [dq, (P-N-H), J_{HP} = 30,07 Hz, (CH₂OP), J_{HP} = 7,73 Hz]; Espectro acoplado.

m/z: 57 (15%), 98 (100%), 120 (< 3%), 154 (9%), 182, 218, 236, 276, 290, 348 (< 3%).

3.4.28. Síntese do N'- [3-cloro-4-metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-s-butila [28].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,51 g (3,60 mmol) de 3-cloro-4-carbaldeído piridina, 0,81 g (3,60 mmol) de di-s-butilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,65 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 52%.

Aspecto: óleo laranja.

IV (NaCl): 3425,4 (v NH); 3126,5 (v CHaromático); 2976,0 , 2933,6 e 2887,3 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1581,5 (v C=N); 1461,9 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1392,5 (δ_{sim}.CH₃); 1236,3 (v P=O); 1107,1 (v P-N); 1001,0 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 10,17 [d, (P-N-H), J_{HP} = 29,70 Hz, 1H]; 8,64 [s, (H₂), 1H]; 8,50 [d, (H₆), J_o = 5,57 Hz, 1H]; 8,22 [s, (N=CH), 1H]; 7,67 [d, (H₅), J_o = 5,08 Hz, 1H]; 4,37 [m, (CHOP), 2H]; 1,55 [m, (CH₂CHOP), 4H]; 1,27 [d, (CH₃CHOP), J_{HH} = 6,21 Hz, 3H]; 1,22 [d, (CH₃CHOP), J_{HH} = 6,21 Hz, 3H]; 0,88 [t, (CH₃CH₂CHOP), J_{HH} = 7,77 Hz, 3H]; 0,84 [t, (CH₃CH₂CHOP), J_{HH} = 7,77 Hz, 3H].

RMN ¹³C (DMSO): 149,99 [s, (C2), 1C]; 148,09 [s, (C6), 1C]; 139,12 [s, (C3), 1C]; 136,89 [d, (N=C), $J_{cp} = 20,02$ Hz, 1C]; 128,96 [s, (C4), 1C]; 119,07 [s, (C5), 1C]; 75,84 [d, (CHOP), $J_{cp} = 5,16$ Hz, 1c]; 75,80 [d, (CHOP), $J_{cp} = 5,16$ Hz, 1c]; 29,81 [d, (CH₂CHOP), $J_{cp} = 5,16$ Hz, 1c]; 29,73 [d, (CH₂CHOP), $J_{cp} = 5,16$ Hz, 1c]; 21,06 [d, (CH₃CHOP), $J_{cp} = 3,08$ Hz, 1c]; 20,83 [d, (CH₃CHOP), $J_{cp} = 3,08$ Hz, 1c]; 9,38 [d, (CH₃CH₂CHOP), $J_{cp} = 7,96$ Hz, 2c].

RMN de ³¹P (DMSO): -1,03 [dt, (P-N-H), $J_{HP} = 29,26$ Hz, (CHOP), $J_{HP} = 8,36$ Hz]; Espectro acoplado.

m/z: 57 (17%), 98 (100%), 120 (< 3%), 139 (11%), 182 (< 3%), 218 (4%), 236 (< 3%), 262 (5%), 290, 348 (< 3%).

3.4.29. Síntese do N'- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], fosforoidrazidato de dibutila [29].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,41 g (2,31 mmol) de 3,5-dicloro-4-carbaldeído piridina, 0,52 g (2,31 mmol) de dibutilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,65g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 74%.

Aspecto: óleo vermelho.

IV (NaCl): 3417,7 (v NH); 3124,5 (v CHaromático); 2962,5 e 2877,7 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1589,2 (v C=N); 1465,8 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1392,5 (δ_{sim}.CH₃); 1242,1 (v P=O); 1109,0 (v P-N); 1029,9 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 10,21 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 29,51$ Hz, 1H]; 8,63 [s, (H2), 1H]; 8,60 [s, (H6), 1H]; 8,14 [s, (N=CH), 1H]; 3,99 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,57 [m, (CH₂CH₂OP), 4H]; 1,33 [sex, (CH₂(CH₂)₂OP), $J_{HH} = 7,46$ Hz, 4H]; 0,84 [t, (CH₃(CH₂)₃OP), $J_{HH} = 7,11$ Hz, 6H].

RMN ¹³C (DMSO): 148,71 e 148,35 [s, (C2 e C6), 2C]; 137,10 [s, (C3 e C5), 2C]; 136,79 [d, (N=C), $J_{cp} = 20,65$ Hz, 1C]; 129,88 [s, (C4), 1C]; 66,26 [d, (CH₂OP), $J_{cp} = 6,28$ Hz, 2c]; 31,69 [d, (CH₂CH₂OP), $J_{cp} = 6,28$ Hz, 2c]; 18,15 [s, (CH₂CH₂CH₂OP), 2c]; 13,35 [s, (CH₃CH₂CH₂CH₂OP), 2c].

RMN de ³¹P (DMSO): 0,34 [dq, (P-N-H), $J_{HP} = 28,06$ Hz, (CH₂OP), $J_{HP} = 7,79$ Hz]; Espectro acoplado.

m/z: 41 (14%), 98 (100%), 124 (4%), 154 (18%), 190, 234, 270, 282, 326, 382 (< 3%).

3.4.30. Síntese do N'- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-isopropila [30].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,49 g (2,78 mmol) de 3,5-dicloro-4-carbaldeí-

do piridina, 0,55 g (2,78 mmol) de di-isopropilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,75g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 76%.

Aspecto: óleo vermelho.

IV (NaCl): 3429,3 (v NH); 3091,7 (v CHaromático); 2981,8 , 2916,2 e 2817,9 (vas CH₃ e CH₂); 1589,2 (v C=N); 1442,7 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1390,6 (δ_{sim}.CH₃); 1232,4 (v P=O); 1101,3 (v P-N); 1012,6 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 10,10 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 28,70$ Hz, 1H]; 8,62 [s, (H₂), 1H]; 8,59 [s, (H₆), 1H]; 8,13 [s, (N=CH), 1H]; 4,56 [m, (CHOP), 2H]; 1,25 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6,02$ Hz, 6H]; 1,22 [d, ((CH₃)₂CHOP), $J_{HH} = 6,02$ Hz, 6H].

RMN ¹³C (DMSO): 148,70 e 148,33 [s, (C₂ e C₆), 2C]; 137,20 [s, (C₃ e C₅), 2C]; 136,56 [d, (N=C), $J_{cp} = 19,48$ Hz, 1C]; 129,87 [s, (C₄), 1C]; 71,18 [d, (CHOP), $J_{cp} = 5,44$ Hz, 2c]; 23,54 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{cp} = 4,54$ Hz, 2c]; 23,31 [d, (CH₃)₂CHOP), $J_{cp} = 4,54$ Hz, 2c].

RMN de ³¹P (DMSO): - 1,64 [dt, (P-N-H), $J_{HP} = 27,46$ Hz, (CHOP), $J_{HP} = 7,28$ Hz]; Espectro acoplado.

m/z: 43 (28%), 98 (100%), 124 (< 3%), 140 (11%), 173, 216, 252, 270, 296, 354 (< 3%).

3.4.31. Síntese do N'- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-isobutila [31].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,45 g (2,57 mmol) de 3,5-dicloro-4-carbaldeído piridina, 0,58 g (2,57 mmol) de di-isobutilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,75g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 76%.

Aspecto: óleo amarelo.

IV (NaCl): 3437,0 (v NH); 3095,6 (v CHaromático); 2962,5 , 2952,9 e 2823,6 (vas CH₃ e CH₂); 1591,2 (v C=N); 1463,9 (δ_{as}.CH₂ e CH₃); 1396,4 (δ_{sim}.CH₃); 1245,9 (v P=O); 1099,3 (v P-N); 1041,5 (v P-O-C).

RMN ¹H (DMSO): 10,20 [d, (P-N-H), $J_{HP} = 29,47$ Hz, 1H]; 8,64 [s, (H₂ e H₆), 2H]; 8,14 [s, (N=CH), 1H]; 3,80 [m, (CH₂OP), 4H]; 1,87 [n, (CHCH₂OP), $J_{HH} = 6,77$ Hz, 2H]; 0,87 [d, ((CH₃)₂CHCH₂OP), $J_{HH} = 6,77$ Hz, 12H].

RMN ^{13}C (DMSO): 148,35 [s, (C2 e C6), 2C]; 137,03 [d, (N=C), $J_{\text{cp}} = 19,97$ Hz, 1C]; 136,66 [s, (C3 e C5), 2C]; 129,86 [s, (C4), 1C]; 72,36 [d, (CH2OP), $J_{\text{cp}} = 6,28$ Hz, 2c]; 28,49 [d, (CHCH2OP), $J_{\text{cp}} = 7,24$ Hz, 2c]; 18,43 [s, (CH3)2CHCH2OP), 4c].

RMN de ^{31}P (DMSO): 0,13 [dq, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 29,55$ Hz, (CH2OP), $J_{\text{HP}} = 7,49$ Hz]; Espectro acoplado.

m/z : 57 (15%), 97 (7%), 98 (100%), 154 (8%), 173, 190, 234, 252, 270, 310 (< 3%).

3.4.32. Síntese do *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], fosforoidrazidato de di-*s*-butila [32].

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 0,48 g (2,75 mmol) de 3,5-dicloro-4-carbaldeído piridina, 0,62 g (2,75 mmol) de di-*s*-butilfosforilidrazina, 10,0 mL de etanol e 3 gotas de ácido clorídrico 37 %. A reação foi processada durante 4 h sob agitação contínua a temperatura de aproximadamente 25 °C. Obteve-se 0,67 g do produto puro, correspondendo ao rendimento de 64%.

Aspecto: óleo amarelo.

IV (NaCl): 3423,5 (v NH); 3128,4 (v CHaromático); 2974,1 e 2929,7 (v_{as} CH₃ e CH₂); 1600,8 (v C=N); 1465,2 (δ_{as} .CH₂ e CH₃); 1388,7 (δ_{sim} .CH₃); 1238,2 (v P=O); 1109,3 (v P-N); 1004,8 (v P-O-C).

RMN ^1H (DMSO): 10,16 [d, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 29,74$ Hz, 1H]; 8,63 [s, (H2 e H6), 2H]; 8,13 [s, (N=CH), 1H]; 4,36 [m, (CHOP), 2H]; 1,56 [m, (CH2CHOP), 4H]; 1,24 [d, (CH3CHOP), $J_{\text{HH}} = 6,07$ Hz, 3H]; 1,20 [d, (CH3CHOP), $J_{\text{HH}} = 6,07$ Hz, 3H]; 0,86 [t, (CH3CH2CHOP), $J_{\text{HH}} = 7,29$ Hz, 3H]; 0,83 [t, (CH3CH2CHOP), $J_{\text{HH}} = 7,29$ Hz, 3H].

RMN ^{13}C (DMSO): 148,87 [s, (C2 e C6), 2C]; 137,64 [d, (N=C), $J_{\text{cp}} = 20,19$ Hz, 1C]; 136,80 [s, (C3 e C5), 2C]; 130,33 [s, (C4), 1C]; 76,17 [m, (CHOP), 2c]; 30,30 [d, (CH2CHOP), $J_{\text{cp}} = 5,62$ Hz, 1c]; 30,14 [d, (CH2CHOP), $J_{\text{cp}} = 5,62$ Hz, 1c]; 21,41 [d, (CH3CHOP), $J_{\text{cp}} = 3,00$ Hz, 1c]; 21,30 [d, (CH3CHOP), $J_{\text{cp}} = 3,00$ Hz, 1c]; 9,70 [s, (CH3CH2CHOP), 2c].

RMN de ^{31}P (DMSO): -1,54 [dt, (P-N-H), $J_{\text{HP}} = 29,97$ Hz, (CHOP), $J_{\text{HP}} = 8,12$ Hz]; Espectro acoplado.

m/z : 57 (15%), 98 (100%), 124 (2%), 154 (5%), 252 (2%), 296 (2%), 326 (< 1%), 352 (< 1%), 382 (< 1%).

3.5. Ensaio de letalidade sobre os protozoários.

3.5.1. Metodologia - Ensaio Farmacológicos

3.5.1.1. Ética dos experimentos

Os estudos envolvendo animais neste projeto resumiram-se a um único ensaio utilizado para determinar o efeito terapêutico dos compostos selecionados nos modelos *in vitro*. Nesta experiência foram utilizados camundongos da linhagem BALB/c (20-25g) machos, adultos jovens, com 6 a 8 semanas de idade. Todos os animais utilizados neste trabalho foram manipulados de acordo com normas estabelecidas pela Comissão de Ética para Utilização de Animais de Laboratório da UFAL (ZIMMERMAN, 1983).

3.5.1.2. Manutenção de linhagem macrófagos e infecção

Macrófagos da linhagem J774 foram mantidos em garrafas de cultura em 5 mL de meio DMEM. No momento da utilização, determinou-se a contagem celular e ajuste em meio DMEM suplementado com 10% de SFB na concentração de 2×10^5 células/mL, sendo 1 mL dessa suspensão posteriormente distribuída em placas de 24 poços com ou sem lamínulas. Os macrófagos foram infectados com formas promastigotas na fase estacionária de crescimento, numa proporção de 10 parasitos: 1 macrófago e incubados por 4 horas em estufa a 37 °C com atmosfera úmida contendo 7% de CO₂. Após 4 horas de infecção, foi realizada a “lavagem dos macrófagos” com Hanks’ sem soro, para remoção dos parasitos não interiorizados e subsequente cultivo com DMEM suplementado com 2 mM de L-glutamina, 2 mM de piruvato e 2 mM de aminoácidos não-essenciais (Sigma), na presença ou não de diferentes concentrações do(s) composto(s), e mantidos em estufa a 37 °C com atmosfera úmida contendo 7% de CO₂ por 3 dias.

3.5.1.3. Determinação da viabilidade celular

Macrófagos da linhagem J774 foram cultivados em triplicatas em placas de 48 poços, na concentração de $1,5 \times 10^5$ células/poço e incubados em estufa a 37 °C com atmosfera úmida contendo 7% de CO₂ por 4 horas, para adesão dos macrófagos ao plástico. Em seguida, efetuou-se as lavagens dos poços para a remoção das células não aderentes e acrescentou-se

as substâncias testes em diferentes concentrações. Os poços controles constaram de células cultivadas somente com meio de cultura (Roche) ou células cultivadas na presença do diluente das substâncias (DMSO, Sigma). A determinação da viabilidade celular ocorreu através de dois métodos: o ensaio de lactato desidrogenase (LDH) (KOSKI *et al.*, 1983) e o ensaio do MTT, 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina (HUSSAIN *et al.*, 1993). A viabilidade celular das culturas tratadas com as substâncias sintetizadas foi comparada ao padrão de morte obtido nas culturas controle.

3.5.1.4. Ensaio de viabilidade de parasitos *in vitro*

Formas promastigotas de *Leishmania braziliensis*, *L. chagasi* ou *L. amazonensis*, numa concentração de 1×10^5 parasitos/poço em um volume de 200 μ L foram cultivadas em triplicatas em placa de 96 poços com meio Schneider's suplementado com 10% de SFB, 2 mM de L-glutamina, 2% de urina humana. Diferentes concentrações dos compostos foram adicionadas aos poços contendo as promastigotas com subsequente incubação em estufa BOD a 27 °C por 48 horas. Após esse período, homogeneizou-se os parasitos e, posteriormente, 20 μ L da suspensão foram transferidos para um tubo de ensaio contendo 5 mL de isotona, sendo, em seguida, utilizado um contador automático de células para calcular o número de parasitos (ÁVILA *et al.*, 1997).

3.5.1.5. Dosagem do óxido nítrico

Os sobrenadantes das culturas de macrófagos inflamatórios infectados e cultivados ou não na presença dos compostos foram coletados e mantidos a -20 °C até o momento da utilização. A avaliação da produção de NO ocorreu de forma indireta pela medida da produção de nitrito (NO_2^-) no sobrenadante das culturas, sendo determinada através de reação colorimétrica de Griess. Resumidamente, misturou-se 50 μ L do reagente de Griess a 50 μ L do sobrenadante e após 10 minutos à temperatura ambiente verificou-se a absorbância (filtro de 540 nm) em leitor de ELISA (GREEN *et al.*, 1982).

3.5.1.6. Ensaio *in vivo*

Para a infecção dos animais, utilizou-se promastigotas de *L. amazonensis* na 3ª passa-

gem de cultivo *in vitro* após serem lavadas com PBS. Os parasitos foram contados em câmara de Neubauer, ressuspensos em PBS na concentração de 10^7 /mL e injetados (10 μ L) por via intradérmica na orelha direita dos camundongos). Após uma semana de infecção, os animais receberam por via oral com o(s) composto(s) selecionado(s) durante 35 dias. Os animais infectados do grupo controle receberam PBS estéril seguindo o mesmo esquema. O acompanhamento do crescimento da lesão ocorreu através da mensuração da espessura da orelha infectada, descontando a medida da orelha não infectada, com um paquímetro (Mitutoyo) duas vezes por semana (PEREIRA *et al.*, 2010). Acompanhou-se o estado clínico geral dos animais por meio de observação de sinais (diarréia, poliúria) e sintomas (diminuição do apetite, alterações de comportamento) que indicam toxicidade das substâncias administradas. Após 35 dias após o início do tratamento, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical após anestesia. Para avaliação da toxicidade produzida pelo tratamento com o(s) composto(s), retirou-se o baço, fígado e rim para análise histológica.

3.5.1.7. Avaliação da carga parasitária *in vivo*

Para avaliação da carga parasitária *in vivo* quantificou-se os parasitos nas orelhas infectadas e linfonodos drenantes pela análise de diluições limitantes (ADL). Resumidamente, as orelhas infectadas e os linfonodos drenantes sofreram remoção seguido de processamento em meio Schneider's. A partir do homogeneizado foram realizadas diluições seriadas em meio Schneider's suplementado com 10% de SFB, 2 mM de L-glutamina e 2% de urina humana. Posteriormente, um volume equivalente a 100 μ L das diluições efetivadas foram distribuídas em placas de 96 poços de fundo redondo, com subsequente conservação em estufa BOD a 27 °C por 14 dias e examinadas ao microscópio invertido para determinação do número de poços positivos e negativos para o crescimento de formas promastigotas.

3.5.1.8. Análise estatística

Os níveis de significância entre os grupos experimentais e o controle foram realizados utilizando-se análise de variância (ANOVA) seguido do teste Dunnett no programa GraphPad Prism 5. Os valores considerados significativos ocorreram quando: #p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001 ao comparar com o controle negativo (meio); e *p < 0,05, **p < 0,01 quando comparado ao grupo veículo.

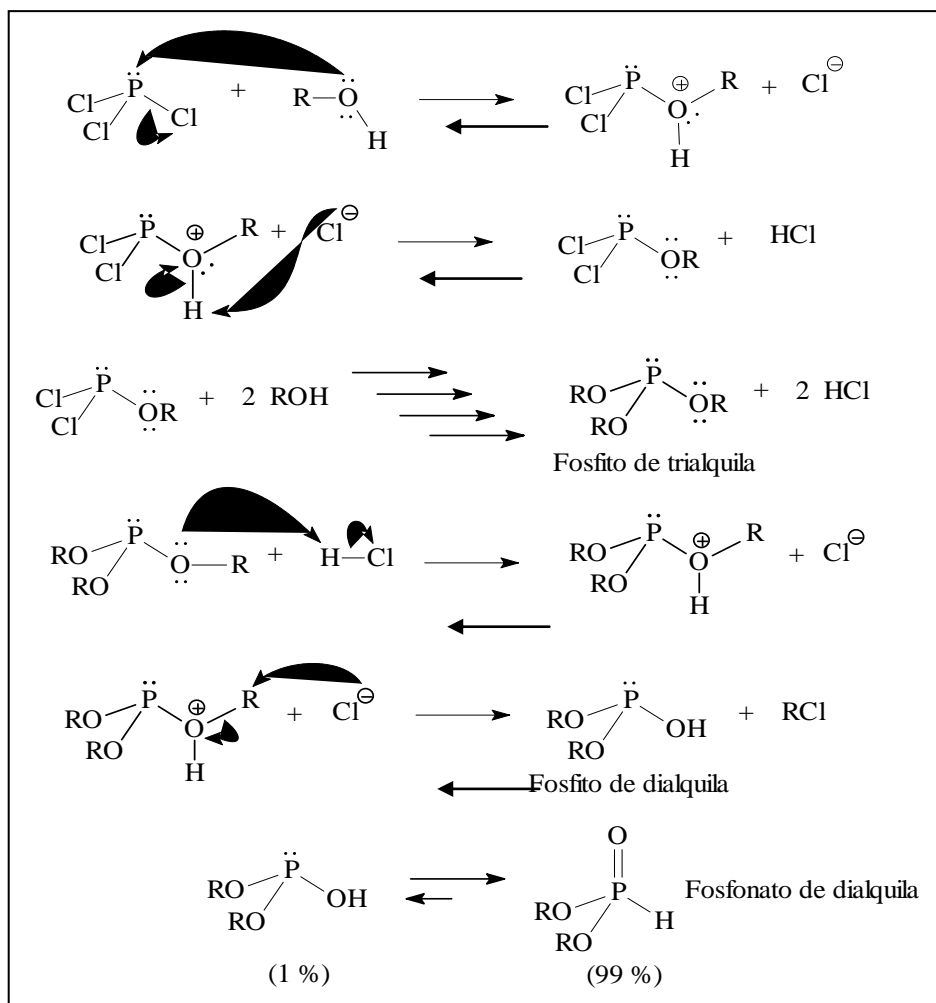
4. Resultados e Discussão

4.1. Síntese dos fosfonatos de dialquila

A formação dos fosfonatos de dialquila envolve um sistema de reações do tipo S_N2 (KOSALOPOFF & MAIER, 1973), conforme é mostrado no **Esquema 13**.

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.

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



Esquema 13: Mecanismo de obtenção dos fosfonatos de dialquila

Conforme também é mostrado no **Esquema 13**, 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 4** apresenta os rendimentos obtidos na síntese dos fosfonatos de dialquila.

Tabela 4: Rendimentos dos fosfonatos de dialquila.

(RO)₂P(O)H	
R	Rendimento (%)
(105) etila	65
(106) butila	78
(107) isopropila	94
(108) isobutila	79
(109) <i>s</i> -butila	83

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

4.1.1. Análise estrutural dos fosfonatos de dialquila por infravermelho

Através da análise por espectrometria de infravermelho, pode-se verificar que 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, 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 13**.

A **Tabela 5** apresenta os estiramentos das principais bandas de absorção dos fosfonatos de dialquila sintetizados.

Tabela 5: Dados aproximados 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
(105) etila	3459 (v)	2431 (v)	1252 (v)	1046 (v)
(106) butila	3410 (v)	2434 (v)	1216 (v)	1006 (v)
(107) isopropila	-	2433 (v)	1222 (v)	988 (v)
(108) isobutila	3445 (v)	2428 (v)	1255 (v)	1039 (v)
(109) <i>s</i> -butila	-	2433 (v)	1216 (v)	989 (v)

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

4.1.2. Análise estrutural por espectrometria de RMN de ^1H

Nos espectros de RMN de ^1H dos fosfonatos de dialquila sintetizados, os sinais característicos, que comprovam a obtenção destes compostos, é um duplete referente ao hidrogênio ligado diretamente ao átomo de fósforo, em uma faixa de 6,54 e 6,79 ppm, com constante de acoplamento P-H elevada, em torno de 697 Hz e um sinal em torno de 4,0 ppm, correspondente aos hidrogênios do carbono ligado aos oxigênios do grupo fosforila, como pode ser verificado na **Tabela 6**. 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, 1974).

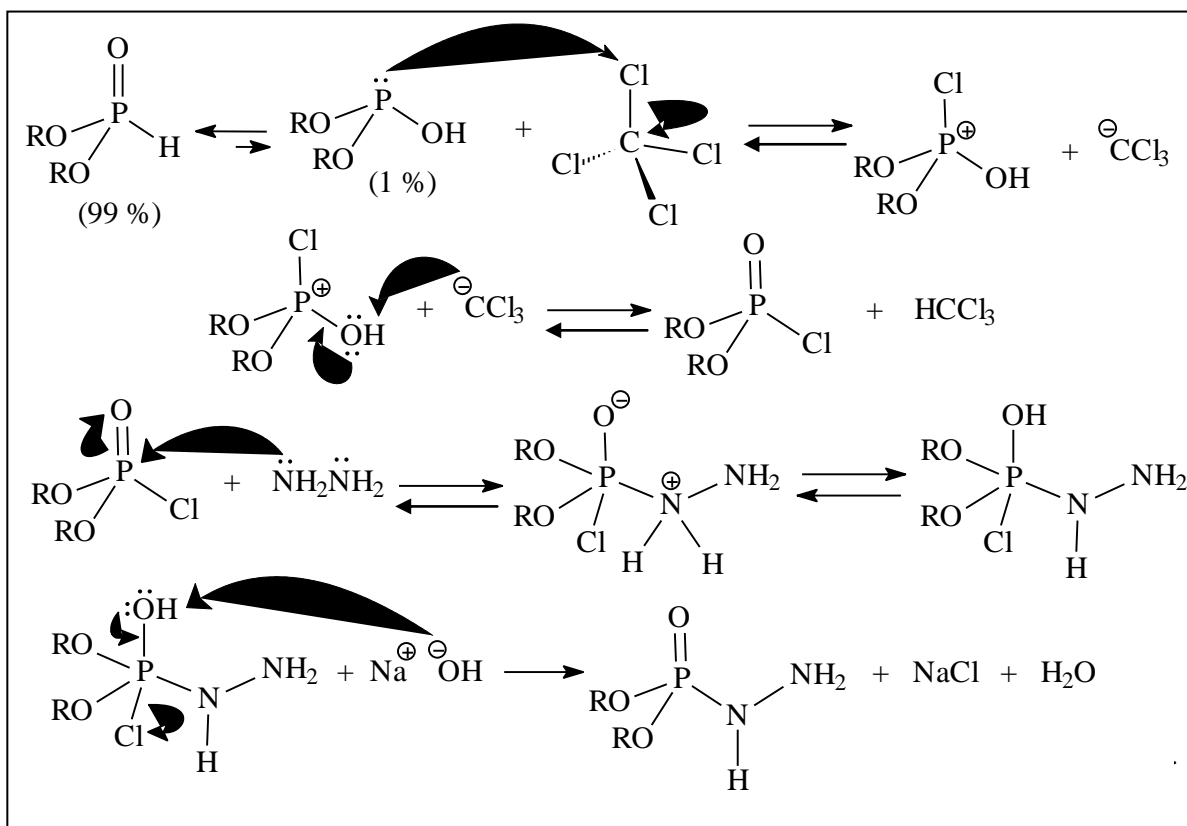
Tabela 6: Dados de RMN de ^1H dos fosfonatos de dialquila sintetizados.

Comp.	P-H	CH_nOP	$\text{CH}_n\text{CH}_{n1}\text{OP}$	$\text{CH}_n(\text{CH}_2)_{n1}\text{OP}$	$(\text{CH}_3)_n\text{CHOP}$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OP}$
(105)	6,71 (d) /1H $J_{\text{HP}} = 694$	n = 2 4,1 (m) /4H	n1 = 2, n = 3 1,3 (t) /6H $J_{\text{HH}} = 7,0$	-	-	-
(106)	6,76 (d) /1H $J_{\text{HP}} = 698$	n = 2 4,03(td) /2H $J_{\text{HH}} = 6,0$ $J_{\text{HP}} = 8,0$	n1 = 2, n = 2 1,63 (quin) /4H $J_{\text{HH}} = 6,0$	n1 = 2, n = 2 1,38 (sex) /4H $J_{\text{HH}} = 6,0$	-	0,91 (t) /6H $J_{\text{HH}} = 6,0$
(107)	6,54 (d) /1H $J_{\text{HP}} = 695$	n = 1 4,68(hd) /2H $J_{\text{HH}} = 6,0$ $J_{\text{HP}} = 8,0$	-	-	n = 2 1,30 (d) /12H $J_{\text{HH}} = 6,0$	-
(108)	6,79 (d) /1H $J_{\text{HP}} = 697$	n = 2 3,81(m) /2H 3,38 (dd) /2H $J_{\text{HH}} = 6,0$ $J_{\text{HP}} = 8,0$	n1 = 2, n = 1 1,94 (n) /1H 1,76 (n) /1H $J_{\text{HH}} = 6,7$	-	-	-
(109)	6,75 (d) /1H $J_{\text{HP}} = 694$	n = 1 4,39 (m) /2H	n1 = 1, n = 2 1,55 (m) /4H	-	-	-

4.2. Síntese das dialquilfosforilidrazinas (fosforidrazidatos de dialquila)

A síntese dos fosforidrazidatos de dialquila, também denominadas dialquilfosforilidrazinas, ocorreu segundo a reação de Todd-Atherton modificada (TODD & ATHERTON, 1945; TODD & ATHERTON, 1947; TODD & ATHERTON, 1948; ZHAO *et al.*, 1984; ZHAO *et al.*, 1988), a qual envolve um sistema bifásico composto por tetracloreto de carbono, solução aquosa de hidróxido de sódio e etanol, que atua como solvente na reação.

O mecanismo desta reação, apresentado no **Esquema 14**, tem início a partir de um ataque nucleofílico pelo par de elétrons presente na forma trivalente do fosfonato de dialquila sobre o tetracloreto de carbono que, neste sistema, é um reagente que age como eletrófilo, gerando um cátion trivalente de fósforo, que por sua vez, através da abstração de um átomo de hidrogênio, é convertido num fosforocloridrato de dialquila, o qual é atacado pela hidrazina formando, após a ação básica do hidróxido de sódio, a dialquilfosforilidrazina. Esta reação é, atualmente, a forma usual de síntese de fosoramidatos a partir de fosfonatos de dialquila.



Esquema 14: Mecanismo de síntese dos fosforidrazidatos de dialquila.

A **Tabela 7** apresenta os rendimentos obtidos na síntese das dialquifosforilidrazinas.

Tabela 7: Rendimentos das dialquifosforilidrazinas.

$(RO)_2P(O)NHNH_2$	
R	Rendimento (%)
(110) etila	48
(111) butila	46
(112) isopropila	46
(113) isobutila	44
(114) <i>s</i> -butila	42

4.2.1. Análise estrutural das dialquifosforilidrazinas por espectrometria de infravermelho

A formação da ligação P-N é a evidência da reação entre os fosfonatos de dialquila e a hidrazina. No entanto, há uma grande dificuldade em se assinalar a frequência de vibração da ligação P-N que muitas vezes não é observada devido à sobreposição com a frequência característica da ligação P-O-C (THOMAS, 1974). Em geral, a vibração P-N é caracterizada por uma banda de intensidade média a forte na região entre 789 e 1102 cm^{-1} . Outra característica desses compostos é a presença, geralmente, de uma única banda em torno de 3350 cm^{-1} , referente ao estiramento axial da ligação N-H que promove o mesmo efeito de sobreposição na frequência de vibração da ligação H-N-H encontrada entre 3400 e 3500 cm^{-1} . Os estiramentos das ligações P-O-C e P=O foram discutidos com maiores detalhes no tópico 4.1.1.

A ausência de bandas de absorção na região de 2425 cm^{-1} para os quatro intermediários evidencia a ausência de ligação P-H, característica dos fosfonatos de dialquila.

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

Tabela 8: Principais bandas de absorção das dialquifosforilidrazinas.*

(RO)₂P(O)N(H)NH₂				
Composto	P=O	P-O-C	P-N	N-H
(110) etila	1230,4 (v)	1031,7 (v)	1099,2 (v)	3347,8 (v)
(111) butila	1226,5 (v)	1064,5 (v)	1120,4 (v)	3344,0 (v)
(112) isopropila	1236,1 (v)	993,2 (v)	1108,9 (v)	3347,8 (v)
(113) isobutila	1230,0 (v)	1023,6 (v)	1166,7 (v)	3351,8 (v)
(114) <i>s</i> -butila	1230,4 (v)	995,1 (v)	1174,5 (v)	3347,8 (v)

4.2.2. Análise por espectrometria de RMN de ¹H

O sinal característico, observado na espectrometria de RMN de ¹H para os compostos **(110)**, **(111)**, **(112)** e **(114)** é um simpleto largo em aproximadamente (3,8), (5,2), (3,7) e (3,0) ppm respectivamente, com integração para três hidrogênios referentes as ligações –NHNH₂, enquanto que para o composto **(113)**, são visualizados dois simpletos largos em aproximadamente (4,0 e 4,8) ppm.

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

A evidência de que todo o fosfonato de dialquila reagiu, é o desaparecimento do duplete centrado em aproximadamente 6,70 ppm referente a ligação P-H.

A **Tabela 9** apresenta os deslocamentos químicos (δ), as multiplicidades e as constantes de acoplamento em Hertz (Hz) de todos os hidrogênios presentes nas dialquifosforilidrazinas sintetizadas.

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

Comp.	P-NHNH ₂	δ em ppm (multiplicidade)*					
		CH _n OP	CH _n CH _{n1} OP	CH _n (CH ₂) _{n1} OP	(CH ₃) _n CHOP	CH ₃ (CH ₂) ₃ OP	(CH ₃) _n CHn ₂ CH _{n1} OP
(110)	3,80 (s)/3H	n = 2 4,12 (q)/ 4H $J_{\text{HH}} = 6,0$	n1 = 2, n = 3 1,34 (t)/ 6H $J_{\text{HH}} = 6,0$	-	-	-	-
(111)	5,23 (s)/3H	n = 2 3,90 (m)/ 4H	n1 = 2, n = 2 1,52 (m)/ 4H	n1 = 2, n = 2 1,28 (m)/ 4H	-	0,81 (t)/ 6H $J_{\text{HH}} = 3,28$	-
(112)	3,67 (s)/ 3H	n = 1 4,61(hd)/ 2H $J_{\text{HH}} = 6,0$ $J_{\text{HP}} = 8,0$	-	-	n = 2 1,30 (d)/ 12H $J_{\text{HH}} = 6,0$	-	-
(113)	4,82 (s)/ 1H 3,98 (s)/ 2H	n = 2 3,75 (m)/ 4H	n1 = 2, n = 1 1,89 (m)/ 2H	-	-	-	n1 = 2, n2 = 1, n = 2 0,90 (dd)/ 12H $J_{\text{HH}} = 2,02$
(114)	3,05 (s)/ 3H	n = 1 4,37 (m)/ 2H	n1 = 1, n = 2 1,55 (m)/ 4H	-	n = 1 1,26 (d)/ 6H $J_{\text{HH}} = 6,0$	-	n1 = 1, n2 = 2, n = 1 0,89 (t)/ 6H $J_{\text{HH}} = 7,50$

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

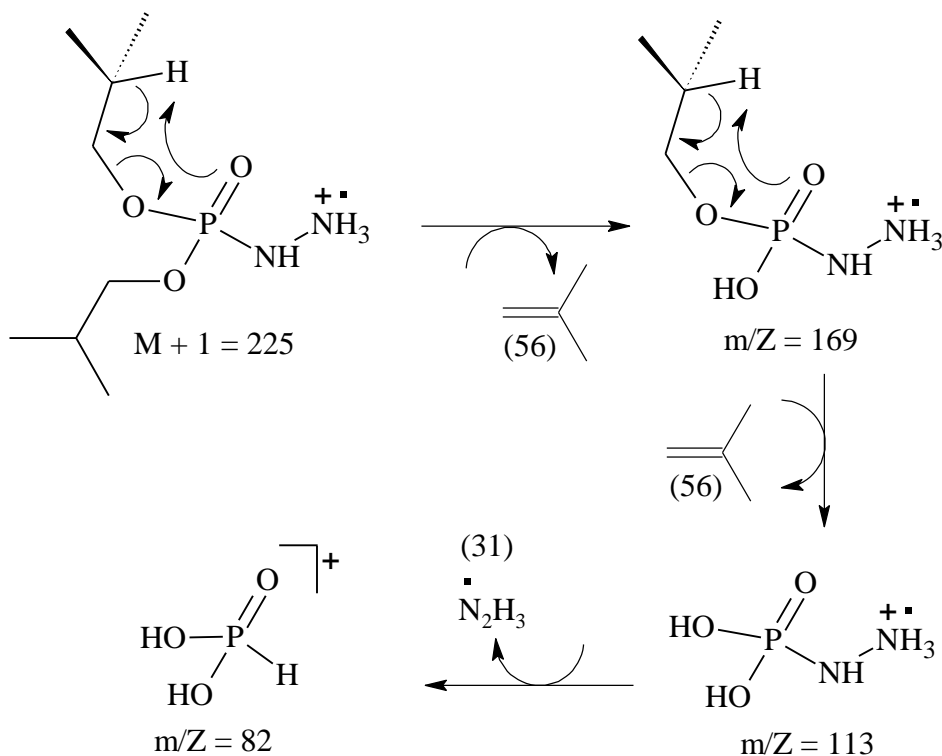
Os carbonos da cadeia alcóxida nas dialquifosforilidrazinas acoplam com o átomo de fósforo até três ligações, apresentando constantes de acoplamento que variam de 5,0 a 6,3 Hz.

A **Tabela 10** apresenta os deslocamentos químicos (δ), as multiplicidades e as constantes de acoplamento de todos os carbonos presentes nas dialquifosforilidrazinas sintetizadas.

4.2.4. Análise por espectrometria de massas

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

O **Esquema 15** apresenta as propostas de fragmentação para o composto contendo o isobutoxi como cadeia lateral.



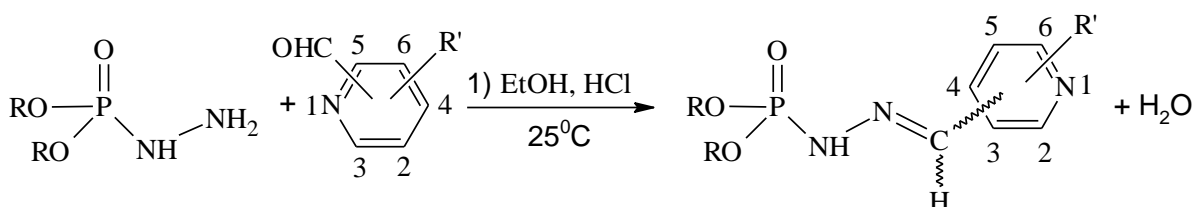
Esquema 15: Proposta de fragmentação dos principais picos da diisobutilfosforilidrazina.

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

Comp.	$\underline{\text{C}}\text{H}_n\text{OP}$	$\underline{\text{C}}\text{H}_n\text{CH}_{n1}\text{OP}$	$\underline{\text{C}}\text{H}_n(\text{CH}_2)_{n1}\text{OP}$	$(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_n\text{CHOP}$	$\underline{\text{C}}\text{H}_3(\text{CH}_2)_3\text{OP}$	$(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_n\text{CH}_n\text{CH}_{n1}\text{OP}$
(110)	n = 2 61,63 (m)/ 2C	n1 = 2, n = 3 13,17 (d)/ 2C	-	-	-	-
(111)	n = 2 66,18 (d)/ 1C 65,03 (d)/ 1C $J_{\text{CP}}=6,0$	n1 = 2, n = 2 32,23 (d)/ 1C 31,81 (d)/ 1C $J_{\text{CP}}=5,0$	n1 = 2, n = 2 18,47 (s)/ 2C	-	13,47 (s)/ 2C	-
(112)	n = 1 71,18 (d)/ 2C $J_{\text{CP}}=6,0$	-	-	n = 2 23,41 (d)/ 4C $J_{\text{CP}}=5,0$	-	-
(113)	n = 2 72,21 (d)/ 2C $J_{\text{CP}}=5,87$	n1 = 2, n = 1 26,52 (d)/ 2C $J_{\text{CP}}=4,23$	-	-	-	n1 = 2, n2 = 1, n = 2 18,49 (s)/ 4C
(114)	n = 1 76,00 (d)/ 1C 75,95 (d)/ 1C $J_{\text{CP}}=6,02$	n1 = 1, n = 2 30,33 (d)/ 2C $J_{\text{CP}}=5,93$	-	n = 1 20,97 (d)/ 2C $J_{\text{CP}}=3,38$	-	n1 = 1, n2 = 2, n = 1 9,45 (s)/ 2C

4.3. Síntese das dialquilfosforilidrazonas (N'- metilenopiridina fosforoidrazidatos de dialquila).

A síntese para a formação das 32 dialquilfosforilidrazonas inéditas ocorreu através da reação condensação, catalisada em meio ácido, entre as dialquilfosforilidrazinas e a os respectivos aldeídos, à temperatura ambiente, conforme apresenta o **Esquema 16**.



R = etil (Et), isopropil (Isop), isobutil (Isob), butil (But) e *s*-butil (Secb).
R' = H, Cl e Br.

Esquema 16: Reação de obtenção das dialquilfosforilidrazonas

A **tabela 11** mostra a relação dos compostos sintetizados e seus respectivos rendimentos.

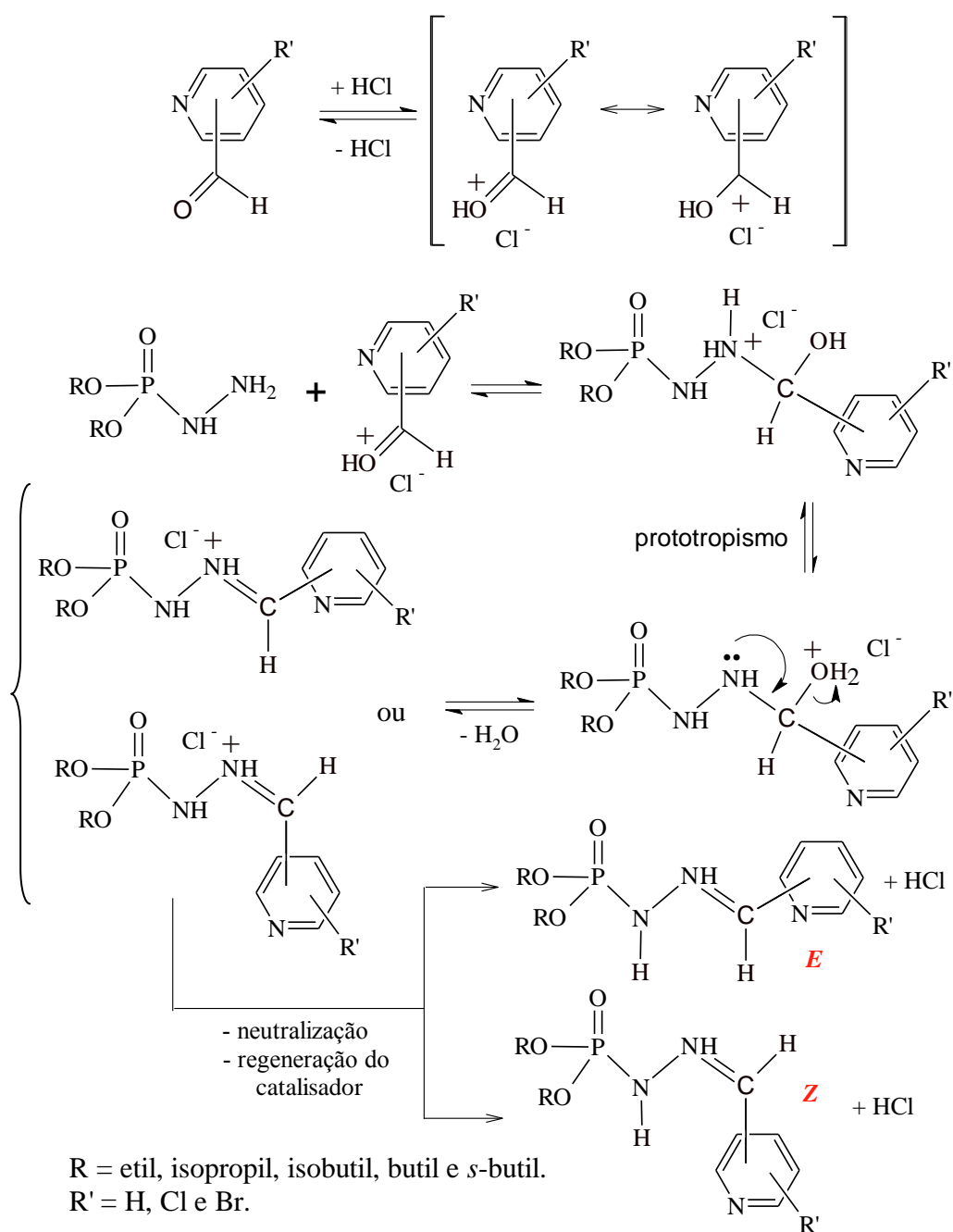
Tabela 11: Rendimentos das dialquilfosforilidrazonas.

R	R'	-CHO	Rend (%)	P.F.	R	R'	-CHO	Rend (%)	P.F.
(1) Et	H	4	53	---	(17) But	5-Br	3	45	---
(2) But	H	4	55	---	(18) Isop	5-Br	3	58	---
(3) Isop	H	4	52	156-158	(19) Isob	5-Br	3	71	---
(4) Isob	H	4	43	110-112	(20) Secb	5-Br	3	62	121-122
(5) Et	H	3	55	---	(21) But	2-Br	3	46	---
(6) But	H	3	55	---	(22) Isop	2-Br	3	64	---
(7) Isop	H	3	55	---	(23) Isob	2-Br	3	69	---
(8) Isob	H	3	47	92-94	(24) Secb	2-Br	3	64	---
(9) Et	H	2	36	---	(25) But	5-Cl	4	58	---
(10) But	H	2	45	---	(26) Isop	5-Cl	4	70	---
(11) Isop	H	2	54	171-173	(27) Isob	5-Cl	4	48	---
(12) Isob	H	2	50	90-92	(28) Secb	5-Cl	4	52	---
(13) But	2-Cl	3	55	---	(29) But	3,5-Cl	4	74	---
(14) Isop	2-Cl	3	48	---	(30) Isop	3,5-Cl	4	76	---
(15) Isob	2-Cl	3	79	---	(31) Isob	3,5-Cl	4	76	---
(16) Secb	2-Cl	3	78	---	(32) Secb	3,5-Cl	4	64	---

A proposta do mecanismo reacional envolvido na síntese destas dialquifosforilidrazonas é mostrada no **Esquema 17** (COSTA *et al.*, 2003). Inicialmente ocorre a protonação do respectivo aldeído, levando a formação do íon oxônio correspondente.

A segunda etapa é a formação dos intermediários gerados através do ataque nucleofílico por parte da dialquifosforilidrazina a uma das faces da carbonila gerando um intermediário tetraédrico, com posterior eliminação de água.

A terceira etapa corresponde a neutralização, promovendo a regeneração do catalisador e a formação das respectivas dialquifosforilidrazonas.



Esquema 17: Mecanismo de reação para as dialquifosforilidrazonas

4.3.1 Análise por espectrometria de infravermelho

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

A **Tabela 12** apresenta as principais bandas de absorção presentes nos espectros de IV dos 32 compostos.

Tabela 12: Principais bandas de absorção das dialquilfosforilidrazonas sintetizadas.*

Comp.	P=O	P-O-C	C=N	N-H	Comp.	P=O	P-O-C	C=N	N-H
(1)	1240,1	1031,8	1597,0	3425,7	(17)	1230,5	1012,6	1575,7	3433,1
(2)	1240,1	1029,9	1591,2	3437,0	(18)	1245,9	1028,3	1600,8	3431,2
(3)	1236,3	1014,5	1597,0	3431,2	(19)	1247,9	1029,9	1602,7	3433,1
(4)	1245,9	1033,8	1597,0	3453,1	(20)	1242,1	1018,3	1600,8	3440,9
(5)	1236,2	1031,8	1604,7	3427,3	(21)	1269,1	1045,3	1618,2	3437,0
(6)	1242,1	1029,9	1600,8	3431,2	(22)	1236,2	1000,0	1581,5	3429,3
(7)	1245,9	1028,0	1604,7	3431,2	(23)	1238,2	1024,1	1585,4	3394,6
(8)	1247,9	1031,8	1606,6	3435,1	(24)	1234,4	1002,9	1577,7	3435,1
(9)	1240,1	1028,0	1585,4	3433,1	(25)	1249,8	1029,9	1579,3	3427,3
(10)	1240,1	1028,0	1585,4	3429,3	(26)	1234,4	1004,8	1581,5	3425,4
(11)	1228,6	1024,1	1583,5	3427,3	(27)	1249,8	1018,3	1579,6	3427,3
(12)	1228,6	1018,3	1585,4	3438,9	(28)	1236,3	1001,0	1581,5	3425,4
(13)	1272,9	1060,8	1618,2	3433,1	(29)	1242,1	1029,9	1589,2	3417,7
(14)	1238,2	1006,8	1583,5	3435,1	(30)	1232,4	1012,6	1589,2	3429,3
(15)	1249,8	1033,8	1579,6	3433,1	(31)	1245,9	1041,5	1591,2	3437,0
(16)	1234,4	1001,0	1585,4	3408,1	(32)	1238,2	1004,8	1600,8	3423,5

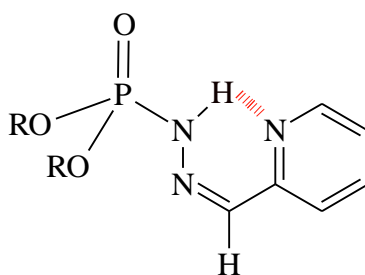
* As absorções estão expressas em cm^{-1} .

4.3.2. Análise por espectrometria de RMN-¹H.

Através da análise espectroscópica de RMN ¹H, pode-se verificar a presença dos diastereoisômeros *E* e *Z*, para as dialquilfosforilidrazonas, (**9**, **10**, **22** e **23**). Os compostos diastereoisoméricos são oriundos dos possíveis efeitos estéricos ocasionados pelos diferentes radicais ligados ao grupo carbonílico enantiotópico, através de reações assimétricas. A seletividade preferencial dos diastereoisômeros é decorrente da aproximação do nucleófilo, fosforamidato, em uma das faces da carbonila aldeídica, de modo que a sua disposição em relação ao maior radical ligado a ela desempenhe o menor impedimento estérico, favorecendo a conformação anti-periplanar entre os pares de elétrons do átomo de nitrogênio e a molécula de água, grupo de saída, como verificado na formação do diastereoisômero *E*. Já na formação do diastereoisômero *Z*, a conformação anti-periplanar é dificultada pelos impedimentos estéricos ocasionados pela proximidade dos grupos volumosos.

Na análise por RMN de ¹H há dois sinais característicos que confirmam a obtenção das dialquilfosforilidrazonas. Estes sinais são correspondentes ao hidrogênio imínico com deslocamento químico (δ) na faixa de 7,88 a 8,26 ppm e ao hidrogênio fosforamídico, que é aquele ligado ao átomo de nitrogênio em posição α ao átomo de fósforo, que apresenta deslocamento químico na faixa de 9,74 a 10,21 ppm. Este hidrogênio se apresenta como um duplete, pois acopla com o átomo de fósforo a duas ligações com constante de acoplamento (J) que varia de 27 a 31 Hz. A literatura registra que este acoplamento ocorre na faixa de 23 a 53 Hz (THOMAS, 1974).

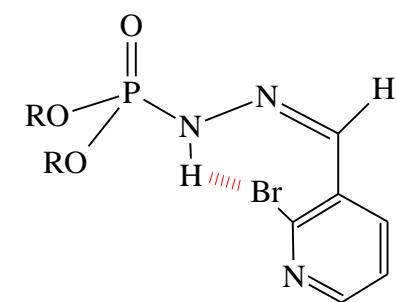
Como pode ser observado pela **Figura 27**, os compostos (**9**) e (**10**) apresentaram um duplete adicional na região em torno de 12,8 ppm com uma constante de acoplamento de aproximadamente 34 Hz, característico de ligação hidrogênio intramolecular, evidenciando a configuração *Z*.



R= etil (**9**) e butil (**10**).

Figura 27: Formação de Ligação hidrogênio intramolecular nos compostos 9 e 10.

Os compostos com os radicais isopropil (**22**) e isobutil (**23**), apresentaram um duplete adicional na região em torno de 10,00 ppm com uma constante de acoplamento em torno de 30,0 Hz. Uma hipótese para tal comportamento pode ser atribuído a uma ligação hidrogênio fraca entre o hidrogênio fosforamídico e o átomo de bromo, porém ainda com predominância das interações estéricas dos grupamentos alcóxidos da cadeia lateral, podendo ser observado em solução, o equilíbrio entre as duas formas diastereoisoméricas, verificado nos espectros de RMN de ^1H e ^{31}P no volume II [páginas 124 e 125 (**22**) e páginas 129 e 130 (**23**)]. **Figura 28**.



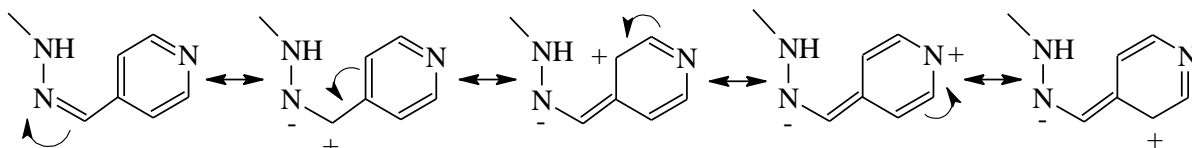
R = isopropil (**22**) e isobutil (**23**).

Figura 28: Representação da possível ligação hidrogênio para os compostos 22 e 23.

Em todos os outros compostos derivados de piridinas substituídas com cloro ou bromo em posição orto, não foram evidenciadas misturas diastereoisoméricas.

Todas as dialquifosforilidrazonas apresentaram um multiplete em torno de 3,7 e 4,9 ppm, referente ao hidrogênios metilênicos no fragmento ($-\text{CH}_n\text{OP}$), assim como, alguns hidrogênios metínicos em mesma posição molecular, porém, pode-se verificar nos compostos (**19**, **25** e **30**), que o hidrogênio metínico apresenta um sinal referente a um hepteto de duplete, motivado pelo acoplamento com os hidrogênios vizinhos da cadeia alcóxídica e o átomo de fósforo, com constantes J_{HP} variando entre 1,30 e 1,60 Hz e J_{HH} variando entre 6,2 e 7,0 Hz.

Os hidrogênios pertencentes aos heterociclos tiveram os seus sinais variando em uma escala entre 7,32 e 8,70 ppm. Este intervalo pode ser explicado pelos efeitos de ressonância mostrado no **Esquema 18**, e pelo forte efeito indutivo retirador de elétrons provocado pelos átomos de nitrogênio alifáticos e aromático e pelos halogênios ligados ao anel, estes últimos, contribuintes preponderantemente por efeito indutivo retirador de elétrons frente ao efeito doador por ressonância, sendo constatado através da maior desproteção dos hidrogênios em posição orto ao heteroátomo.



Esquema 18: Representação dos híbridos de ressonância do anel piridínico

Os 32 compostos foram divididos em 7 grupos através das características dos seus núcleos piridínicos e tiveram suas configurações diastereoisoméricas avaliadas mediante a análise de NOEDIF por irradiações dos hidrogênios imínico e fosforamídico. Como resultado, observou-se a predominância do diastereoisômero *E*, já que, o efeito NOE só é verificado para os hidrogênios supracitados quando o composto em estudo apresenta o requerido arranjo espacial, como mostra a **Figura 29**.

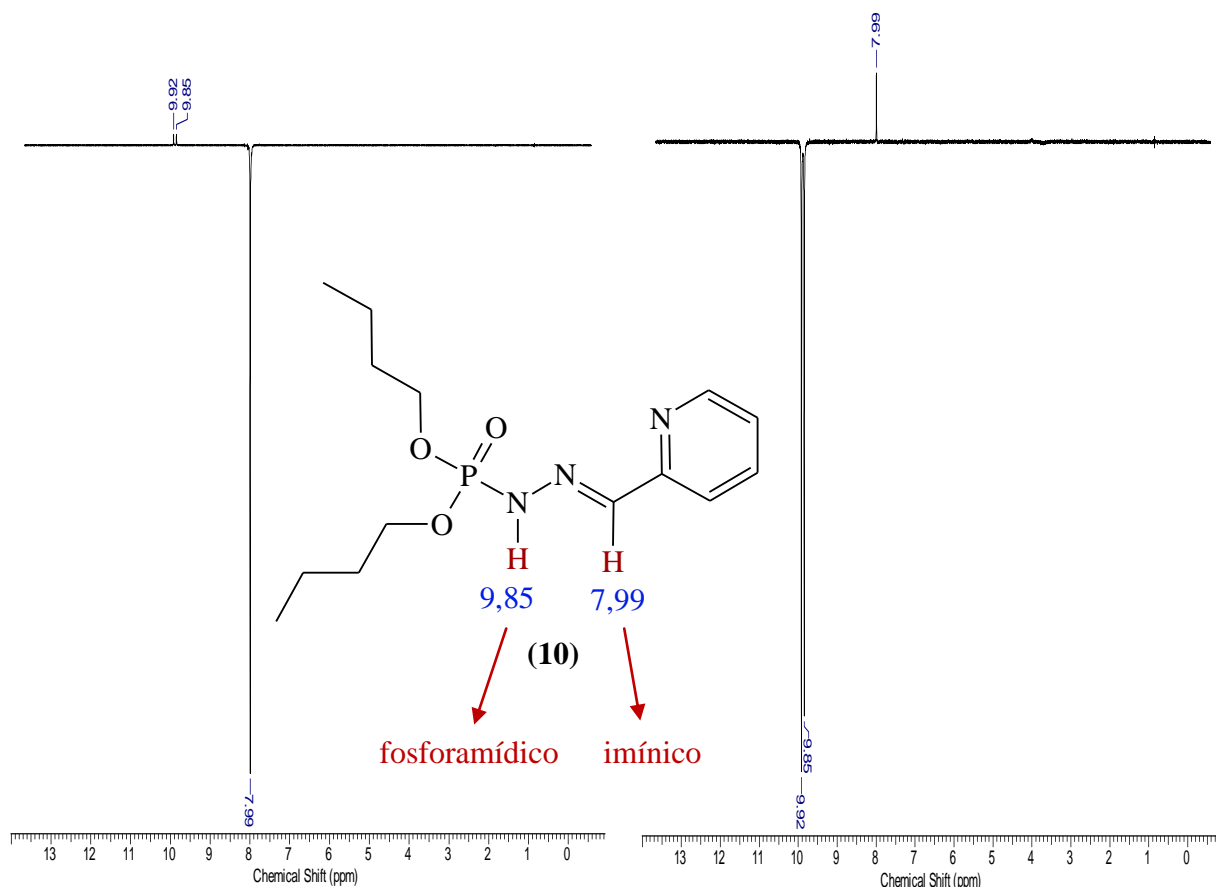
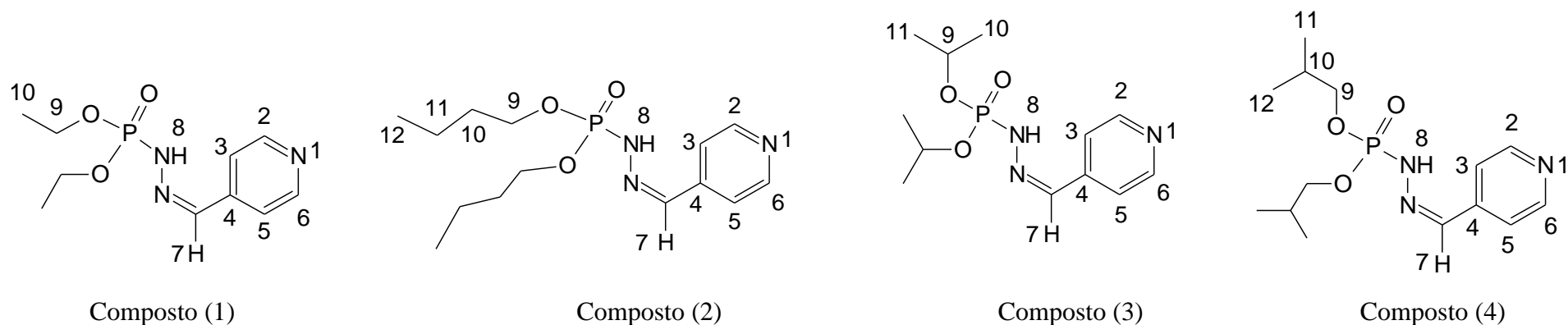


Figura 29: Representação da análise por NOEDIF para a verificação da configuração diastereoisomérica.

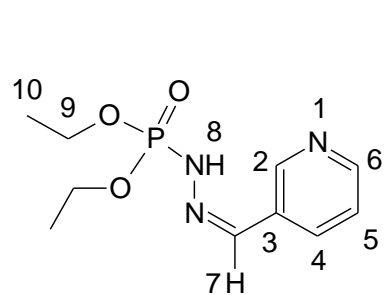
As **tabelas 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20** mostram os deslocamentos químicos (ppm), as multiplicidades e os acoplamentos (Hz) referentes as dialquilfosforilidrazonas.

Tabela 13: Dados de RMN de ^1H das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 4-carbaldeído piridina.

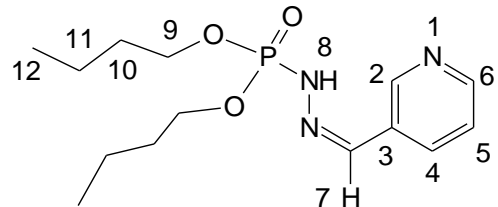


Composto	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12
(1)	8,56 (d) 1H $J_o = 6,27$	7,48 (d) 1H $J_o = 6,27$	-	7,48 (d) 1H $J_o = 6,27$	8,56 (d) 1H $J_o = 6,27$	7,89 (s) 1H	9,95 (d) 1H $J_{\text{HP}} = 29,07$	4,03 (m), 4H	1,23 (t) 6H $J_{\text{HH}} = 7,41$	-	-
(2)	8,57 (d) 1H $J_o = 6,21$	7,48 (d) 1H $J_o = 6,21$	-	7,48 (d) 1H $J_o = 6,21$	8,57 (d) 1H $J_o = 6,21$	7,88 (s) 1H	9,96 (d) 1H $J_{\text{HP}} = 28,10$	3,83 (m) 4H	1,57 (qui) 4H $J_{\text{HH}} = 6,47$	1,33 (sex) 4H $J_{\text{HH}} = 7,02$	0,84 (t) 6H $J_{\text{HH}} = 7,55$
(3)	8,57 (d) 1H $J_o = 6,77$	7,50 (d) 1H $J_o = 6,77$	-	7,50 (d) 1H $J_o = 6,77$	8,57 (d) 1H $J_o = 6,77$	7,88 (s) 1H	9,87 (d) 1H $J_{\text{HP}} = 28,92$	4,55 (m), 2H	1,27 (d), 3H 1,22 (d), 3H $J_{\text{HH}} = 6,42$	1,27 (d), 3H 1,22 (d), 3H $J_{\text{HH}} = 6,42$	-
(4)	8,57 (d) 1H $J_o = 6,27$	7,48 (d) 1H $J_o = 6,27$	-	7,48 (d) 1H $J_o = 6,27$	8,57 (d) 1H $J_o = 6,27$	7,88 (s) 1H	9,98 (d) 1H $J_{\text{HP}} = 29,00$	3,77 (m) 4H	1,88 (n) 2H $J_{\text{HH}} = 6,69$	0,88 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 6,97$	0,88 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 6,97$

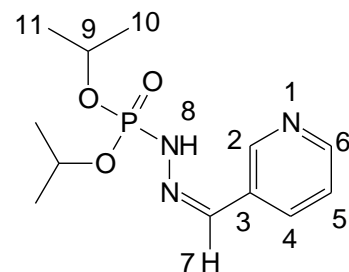
Tabela 14: Dados de RMN de ^1H das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 3-carbaldeído piridina.



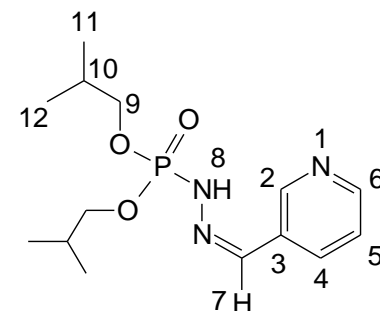
Composto (5)



Composto (6)



Composto (7)



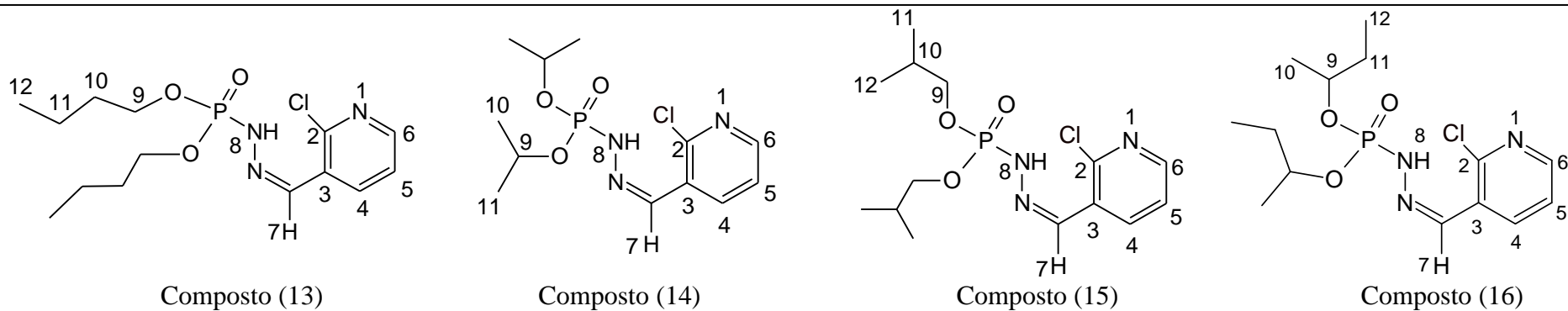
Composto (8)

Composto	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12
(5)	8,69 (d) 1H $J_{\text{HH}} = 1,71$	-	7,94 (m) 1H	7,40 (dd) 1H $J_o = 4,71$ $J_o = 7,90$	8,52 (dd) 1H $J_o = 4,83$ $J_m = 1,71$	7,94 (m) 1H	9,77 (d) 1H $J_{\text{HP}} = 28,48$	4,04 (m) 4H	1,23 (t) 6H $J_{\text{HH}} = 6,90$	-	-
(6)	8,70 (d) 1H $J_{\text{HH}} = 1,70$	-	7,92 (td) 1H $J_o = 6,45$ $J_m = 1,94$	7,41 (dd) 1H $J_o = 4,61$ $J_o = 7,83$	8,52 (dd) 1H $J_o = 4,74$ $J_m = 1,58$	7,93 (s) 1H	9,77 (d) 1H $J_{\text{HP}} = 28,02$	3,98 (m) 4H	1,57 (m) 4H	1,33 (sex) 4H $J_{\text{HH}} = 7,39$	0,84 (t) 6H $J_{\text{HH}} = 7,20$
(7)	8,70 (d) 1H $J_{\text{HH}} = 1,75$	-	7,94 (m) 1H	7,41 (dd) 1H $J_o = 4,72$ $J_o = 7,94$	8,52 (dd) 1H $J_o = 4,92$ $J_m = 1,66$	7,94 (s) 1H	9,78 (d) 1H $J_{\text{HP}} = 28,32$	4,54 (m) 2H	1,23 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 6,22$	1,19 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 6,22$	-
(8)	8,70 (d) 1H $J_{\text{HH}} = 1,86$	-	7,92 (td) 1H $J_o = 7,04$ $J_m = 1,86$	7,42 (dd) 1H $J_o = 4,26$ $J_o = 7,65$	8,52 (dd) 1H $J_o = 4,76$ $J_m = 1,65$	7,93 (s) 1H	9,78 (d) 1H $J_{\text{HP}} = 28,52$	3,77 (m) 4H	1,88 (n) 2H $J_{\text{HH}} = 6,50$	0,88 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 7,66$	0,88 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 7,66$

Tabela 15: Dados de RMN de ^1H das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 2-carbaldeído piridina.

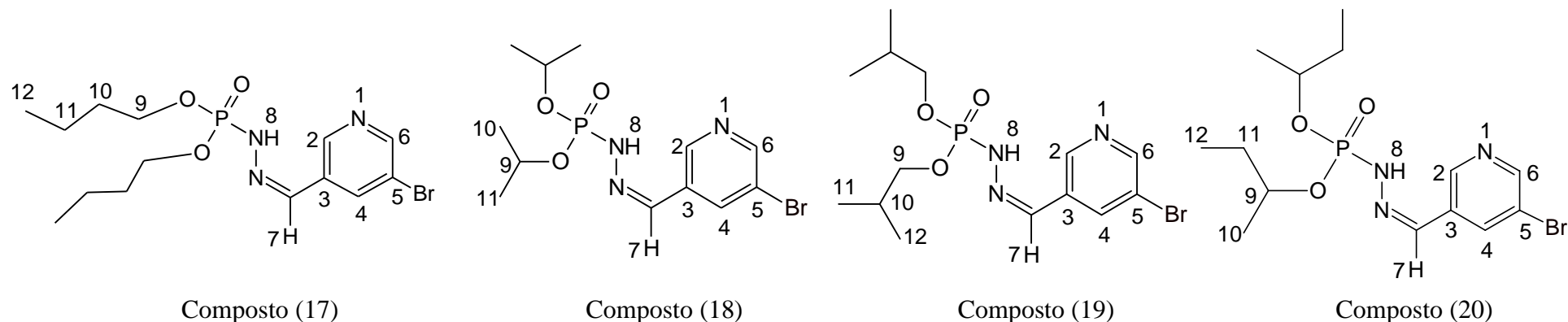
Composto	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12
(9)	-	7,75 (td) 1H $J_o = 7,82$ $J_m = 1,10$	7,79 (dt) 1H $J_o = 7,64$ $J_m = 1,96$	7,33 (ddd) 1H $J_o = 7,52$ $J_o = 5,37$ $J_m = 1,28$	8,53 (ddd) 1H $J_o = 4,93$ $J_m = 1,82$ $J_p = 0,64$	7,96 (s) 1H	9,84 (d) 1H $J_{\text{HP}} = 27,94$	4,03 (m) 4H	1,24 (t) 6H $J_{\text{HH}} = 7,23$	-	-
(10)	-	7,74 (td) 1H $J_o = 7,87$ $J_m = 1,10$	7,79 (dt) 1H $J_o = 7,73$ $J_m = 1,89$	7,34 (ddd) 1H $J_o = 7,37$ $J_o = 5,28$ $J_m = 1,32$	8,53 (ddd) 1H $J_o = 5,04$ $J_m = 1,84$ $J_p = 0,96$	7,95 (s) 1H	9,85 (d) 1H $J_{\text{HP}} = 28,72$	3,98 (m) 4H	1,57 (m) 4H	1,34 (sex) 4H $J_{\text{HH}} = 7,28$	0,84 (t) 6H $J_{\text{HH}} = 7,25$
(11)	-	7,74 (td) 1H $J_o = 7,65$ $J_m = 1,25$	7,79 (dt) 1H $J_o = 7,91$ $J_m = 1,88$	7,32 (ddd) 1H 1H $J_o = 7,45$ $J_o = 5,43$ $J_m = 1,51$	8,53 (ddd) 1H $J_o = 5,24$ $J_m = 1,95$ $J_p = 0,86$	7,96 (s) 1H	9,74 (d) 1H $J_{\text{HP}} = 27,83$	4,55 (m), 2H	1,34 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 6,35$	1,28 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 6,35$	-
(12)	-	7,72 (td) 1H $J_o = 7,90$ $J_m = 1,16$	7,80 (dt) 1H $J_o = 7,75$ $J_m = 1,64$	7,32 (ddd) 1H $J_o = 7,51$ $J_o = 6,11$ $J_m = 1,36$	8,52 (ddd) 1H $J_o = 4,82$ $J_m = 1,92$ $J_p = 0,63$	7,95 (s) 1H	9,84 (d) 1H $J_{\text{HP}} = 28,90$	3,78 (m) 4H	1,88 (n) 2H $J_{\text{HH}} = 6,61$	0,87 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 6,98$	0,87 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 6,98$

Tabela 16: Dados de RMN de ^1H das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 2-cloro-3-carbaldeído piridina.



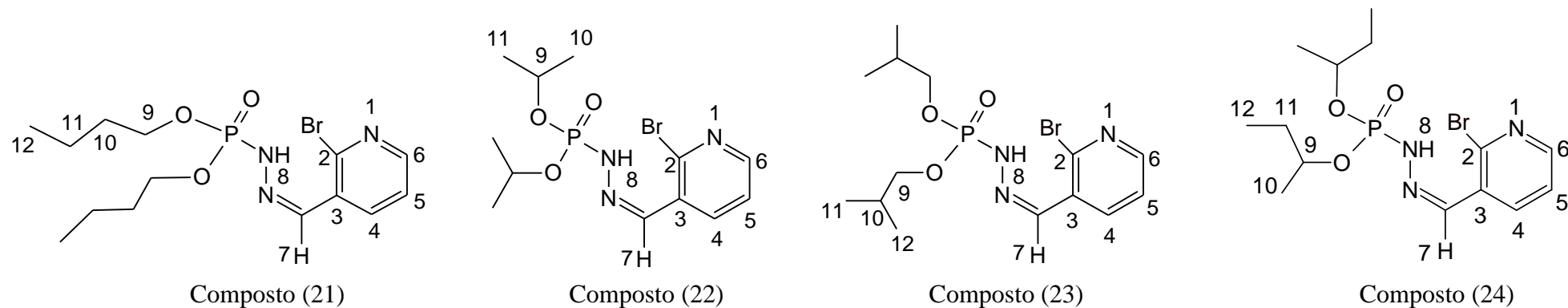
Composto	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12
(13)	-	-	8,12 (dd) 1H $J_o = 7,89$ $J_m = 1,94$	7,46 (dd) 1H $J_o = 7,90$ $J_o = 5,04$	8,38 (dd) 1H $J_o = 4,62$ $J_m = 1,94$	8,22 (s) 1H	9,99 (d) 1H $J_{\text{HP}} = 29,02$	4,00 (m) 4H	1,57 (m) 4H	1,33 (sex) 4H $J_{\text{HH}} = 7,17$	0,84 (t) 6H $J_{\text{HH}} = 7,13$
(14)	-	-	8,13 (dd) 1H $J_o = 7,84$ $J_m = 1,69$	7,46 (dd) 1H $J_o = 7,59$ $J_o = 4,91$	8,38 (dd) 1H $J_o = 5,03$ $J_m = 1,69$	8,21 (s) 1H	9,90 (d) 1H $J_{\text{HP}} = 29,03$	4,55 (m) 2H	1,26 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 6,03$	1,23 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 6,03$	-
(15)	-	-	8,11 (dd) 1H $J_o = 7,67$ $J_m = 1,80$	7,46 (dd) 1H $J_o = 7,60$ $J_o = 4,15$	8,38 (dd) 1H $J_o = 4,73$ $J_m = 2,82$	8,26 (s) 1H	9,99 (d) 1H $J_{\text{HP}} 29,68$	3,76 (m), 4H	1,88 (n) 2H $J_{\text{HH}} 6,35$	0,87 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 6,47$	0,87 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 6,47$
(16)	-	-	8,12 (dd) 1H $J_o = 7,72$ $J_m = 2,81$	7,48 (dd) 1H $J_o = 7,72$ $J_o = 4,68$	8,38 (dd) 1H $J_o = 4,89$ $J_m = 1,86$	8,20 (s) 1H	9,98 (d) 1H $J_{\text{HP}} 29,09$	4,35 (m), 2H	1,27 (d) 1,21 (d) 6H $J_{\text{HH}} 6,59$	1,55 (m) 4H $J_{\text{HH}} = 6,47$	0,87 (t) 0,83 (t) 6H $J_{\text{HH}} = 7,40$

Tabela 17: Dados de RMN de ^1H das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 5-bromo-3-carbaldeído piridina.



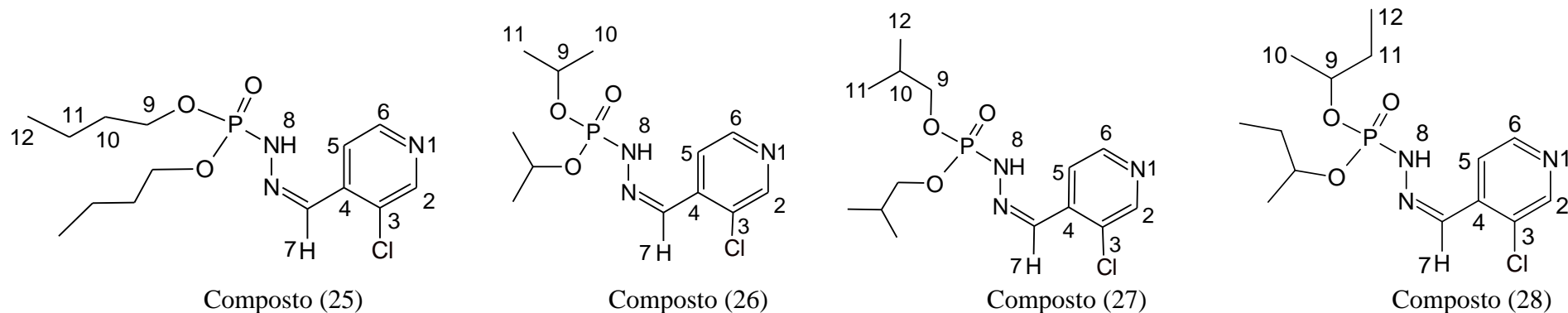
Composto	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12
(17)	8,69 (d) 1H $J_m = 1,98$	-	8,12 (s) 1H	-	8,63 (s) 1H	7,92 (s) 1H	9,90 (d) 1H $J_{HP} = 29,84$	3,98 (m) 4H	1,57 (m) 4H	1,33 (sex) 4H $J_{HH} = 7,38$	0,84 (t) 6H $J_{HH} = 8,39$
(18)	8,69 (d) 1H $J_m = 2,05$	-	8,12 (dd) 1H $J_m = 2,68$ $J_m = 1,86$	-	8,63 (d) 1H $J_m = 1,99$	7,91 (s) 1H	9,82 (d) 1H $J_{HP} 28,20$	4,55 (hd), 2H $J_{HH} = 6,24$ $J_{HP} = 1,56$	1,26 (d) 6H $J_{HH} 6,20$	1,22 (d) 6H $J_{HH} = 6,20$	-
(19)	8,69 (d) 1H $J_m = 1,80$	-	8,12 (s) 1H	-	8,64 (d) 1H $J_m = 1,50$	7,91 (s) 1H	9,91 (d) 1H $J_{HP} = 30,67$	3,78 (m) 2H 3,74 (m) 2H	1,88 (n) 2H $J_{HH} = 6,24$	0,87 (d) 6H $J_{HH} = 7,13$	0,87 (d) 6H $J_{HH} = 7,13$
(20)	8,70 (s) 1H $J_m = 1,80$	-	8,12 (s) 1H	-	8,64 (s) 1H $J_m = 1,50$	7,91 (s) 1H	9,91 (d) 1H $J_{HP} = 28,62$	4,34 (m) 2H	1,27 (d) 1,21 (d) 6H $J_{HH} = 5,45$	1,55 (m) 4H	0,88 (t) 6H $J_{HH} = 7,80$

Tabela 18: Dados de RMN de ^1H das dialquilfosforilidrazonas 2-bromo-3-carbaldeído piridina.



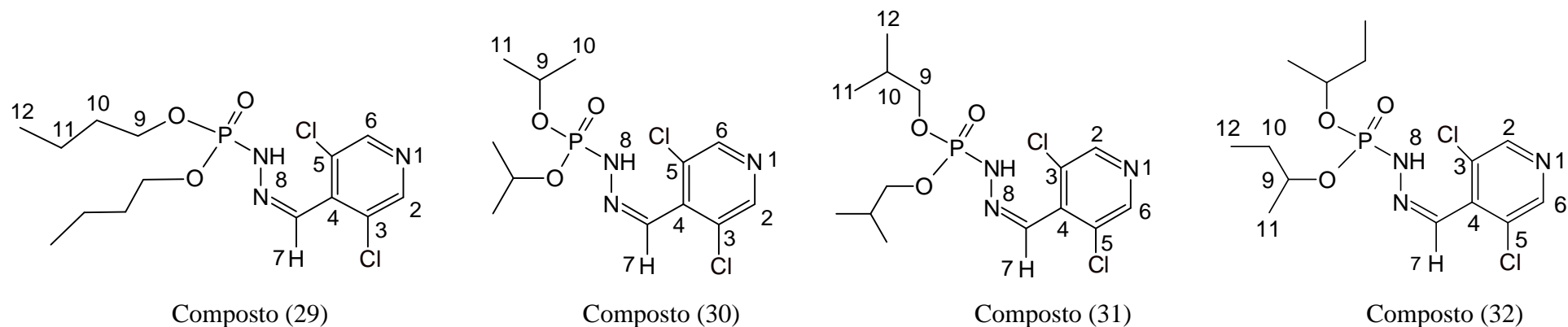
Composto	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12
(21)	-	-	8,05(dd) 1H $J_o = 7,81$ $J_m = 1,92$	7,48 (dd) 1H $J_o = 7,62$ $J_o = 4,49$	8,35 (dd) 1H $J_o = 4,78$ $J_m = 1,99$	8,18 (s) 1H	10,02 (d) 1H $J_{HP} = 28,17$	3,98 (m) 4H	1,57 (m) 4H	1,33 (sex) 4H $J_{HH} = 7,25$	0,84 (t) 6H $J_{HH} = 7,02$
(22)	-	-	8,07 (dd) 1H $J_o = 7,80$ $J_m = 2,03$	7,47 (dd) 1H $J_o = 5,61$ $J_o = 7,50$	8,34 (dd) 1H $J_o = 4,64$ $J_m = 2,14$	8,18 (s) 1H	9,93 (d) 1H $J_{HP} 29,47$	4,54 (hd), 2H $J_{HH} = 6,93$ $J_{HP} = 1,30$	1,26 (d) 6H $J_{HH} = 6,04$	1,22 (d) 6H $J_{HH} = 6,04$	-
(23)	-	-	8,05 (dd) 1H $J_o = 7,82$ $J_m = 1,95$	7,48 (m) 1H	8,35 (dd) 1H $J_o = 4,69$ $J_m = 1,79$	8,18 (s) 1H	10,02 (d) 1H $J_{HP} = 29,34$	3,75 (m) 4H	1,87 (m) 2H	0,87 (d) 6H $J_{HH} = 6,52$	0,87 (d) 6H $J_{HH} = 6,52$
(24)	-	-	8,06 (dd) 1H $J_o = 7,77$ $J_m = 1,94$	7,50 (m) 1H	8,35 (dd) 1H $J_o = 4,87$ $J_m = 2,12$	8,17 (s) 1H	10,00 (d) 1H $J_{HP} = 29,20$	4,35 (m) 2H	1,25 (d) 1,20 (d) 6H $J_{HH} = 6,08$	1,55 (m) 4H	0,87 (t) 0,84 (t) 6H $J_{HH} = 7,44$

Tabela 19: Dados de RMN de ^1H das dialquifosforilidrazonas 3-cloro-4-carbaldeído piridina.



Composto	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12
(25)	8,62 (s) 1H	-	-	7,67(d) 1H $J_o = 4,84$	8,48 (d) 1H $J_o = 4,84$	8,24 (s) 1H	10,20 (d) 1H $J_{HP} = 29,39$	3,99 (m) 4H	1,57 (m) 4H	1,33 (sex) 4H $J_{HH} = 7,60$	0,83 (t) 6H $J_{HH} = 7,40$
(26)	8,63 (s) 1H	-	-	7,68 (d) 1H $J_o = 4,77$	8,48 (d) 1H $J_o = 4,77$	8,24 (s) 1H	10,15 (d) 1H $J_{HP} 29,39$	4,55 (hd), 2H $J_{HH} = 6,98$ $J_{HP} = 1,42$	1,27 (d) 6H $J_{HH} = 5,69$	1,24 (d) 6H $J_{HH} = 5,69$	-
(27)	8,62 (s) 1H	-	-	7,65 (d) 1H $J_o = 5,08$	8,47 (d) 1H $J_o = 5,08$	8,24 (s) 1H	10,20 (d) 1H $J_{HP} = 29,73$	3,77 (m) 4H	1,88 (m) 2H	0,87 (d) 6H $J_{HH} = 6,74$	0,87 (d) 6H $J_{HH} = 6,74$
(28)	8,64 (s) 1H	-	-	7,67 (d) 1H $J_o = 5,08$	8,50 (d) 1H $J_o = 5,57$	8,22 (s) 1H	10,17 (d) 1H $J_{HP} = 29,70$	4,37 (m) 2H	1,27 (d) 1,22 (d) 6H $J_{HH} = 6,21$	1,55 (m) 4H	0,88 (t) 0,84 (t) 6H $J_{HH} = 7,77$

Tabela 20: Dados de RMN de ^1H das dialquilfosforilidrazonas 3,5-dicloro-4-carbaldeído piridina.



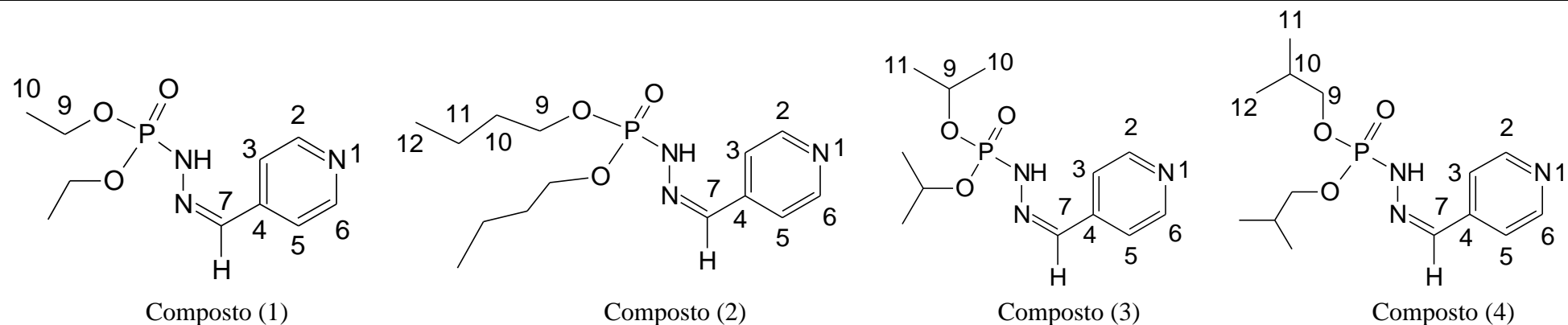
Composto	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12
(29)	8,63 (s) 1H	-	-	-	8,60 (s) 1H	8,14 (s) 1H	10,21 (d) 1H $J_{\text{HP}} = 29,51$	3,99 (m) 4H	1,57 (m) 4H	1,33 (sex) 4H $J_{\text{HH}} = 7,46$	0,84 (t) 6H $J_{\text{HH}} = 7,11$
(30)	8,62 (s) 1H	-	-	-	8,59 (s) 1H	8,13 (s) 1H	10,10 (d) 1H $J_{\text{HP}} 28,70$	4,56 (m) 2H	1,25 (d) 6H $J_{\text{HH}} 6,02$	1,22 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 6,35$	-
(31)	8,64 (s) 1H	-	-	-	8,64 (s) 1H	8,14 (s) 1H	10,20 (d) 1H $J_{\text{HP}} = 29,47$	3,80 (m) 4H	1,87 (n) 2H $J_{\text{HH}} = 6,77$	0,87 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 6,77$	0,87 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 6,77$
(32)	8,63 (s) 1H	-	-	-	8,63 (s) 1H	8,13 (s) 1H	10,16 (d) 1H $J_{\text{HP}} = 29,74$	4,36 (m) 2H	1,24 (d) 6H $J_{\text{HH}} = 6,07$	1,56 (m) 4H	0,86 (t) 6H $J_{\text{HH}} = 7,29$

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

No espectro de RMN de ^{13}C das dialquifosforilidrazonas, o sinal característico da obtenção destes compostos é referente ao carbono imínico, que possui deslocamento químico na faixa de 136 a 145 ppm e se apresenta na forma de duplete, uma vez que acopla com o átomo de fósforo a três ligações com constante de acoplamento na faixa de 18 a 21 Hz. A mesma característica é visível na cadeia alcóxida a duas, três e até quatro ligações, sendo que este último caso se restringe aos compostos contendo os radicais isobutil e *s*-butil.

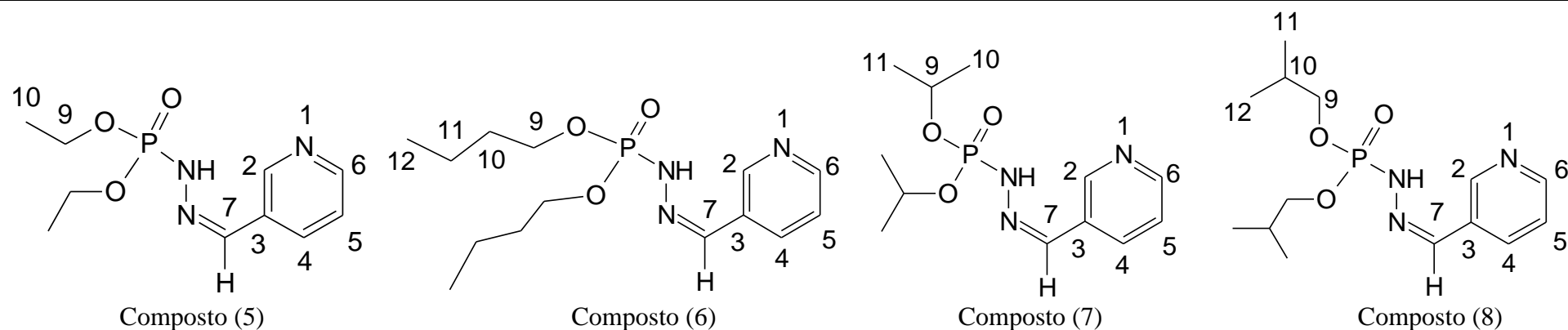
As **Tabelas 21, 22 e 23** apresentam os deslocamentos químicos (δ), as multiplicidades e as constantes de acoplamento em Hertz (Hz) referentes aos 12 compostos sem substituintes no anel piridínico, enquanto que as **Tabelas 24, 25, 26, 27 e 28** referem-se aos produtos contendo substituição no anel heterocíclico.

Tabela 21: Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 4-carbaldeído piridina.



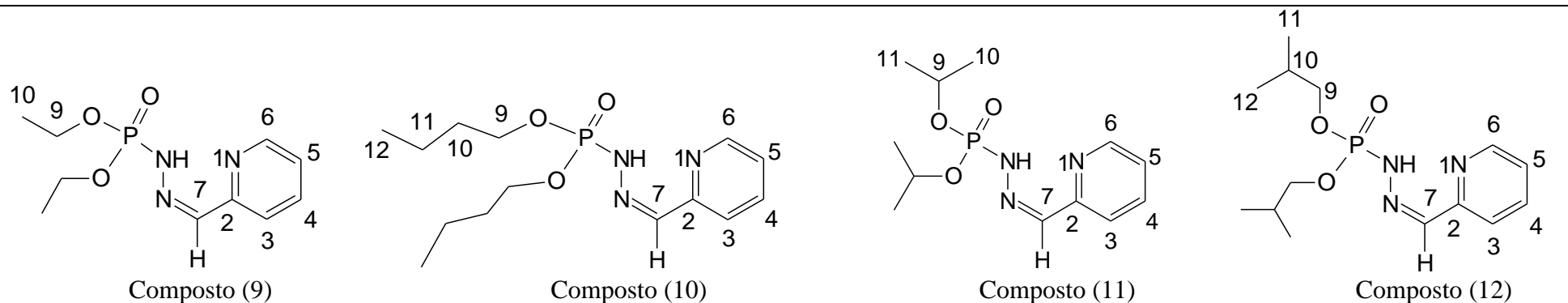
Composto	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12
(1)	150,13 (s) 1C	120,23 (s) 1C	141,76 (s) 1C	120,23 (s) 1C	150,13 (s) 1C	141,46 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 20,35 \text{ Hz}$	-	62,57 (d), 2C $J_{\text{cp}} = 5,30 \text{ Hz}$	16,06 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,26 \text{ Hz}$	-	-
(2)	150,13 (s) 1C	120,18 (s) 1C	141,80 (s) 1C	120,18 (s) 1C	150,13 (s) 1C	141,34 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 20,01 \text{ Hz}$	-	66,04 (d), 2C $J_{\text{cp}} = 5,35 \text{ Hz}$	31,74 (d), 2C $J_{\text{cp}} = 6,57 \text{ Hz}$	18,18 (s), 2C	13,37 (s), 2C
(3)	149,80 (s) 1C	120,20 (s) 1C	142,25 (s) 1C	120,20 (s) 1C	149,80 (s) 1C	140,83 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 21,02 \text{ Hz}$	-	71,00 (d), 2C $J_{\text{cp}} = 5,97 \text{ Hz}$	23,56 (d), 2C $J_{\text{cp}} = 4,41 \text{ Hz}$	23,36 (d), 2C $J_{\text{cp}} = 4,41 \text{ Hz}$	-
(4)	150,10 (s) 1C	120,16 (s) 1C	141,84 (s) 1C	120,16 (s) 1C	150,10 (s) 1C	140,31 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 18,90 \text{ Hz}$	-	72,26 (d), 2C $J_{\text{cp}} = 6,28 \text{ Hz}$	28,57 (d), 2C $J_{\text{cp}} = 6,76 \text{ Hz}$	18,51 (d), 4C $J_{\text{cp}} = 3,97 \text{ Hz}$	-

Tabela 22: Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 3-carbaldeído piridina.



Composto	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12
(5)	147,77 (s) 1C	130,53 (s) 1C	132,65 (s) 1C	123,89 (s) 1C	149,82 (s) 1C	141,01 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 19,02 \text{ Hz}$	-	62,45 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,48 \text{ Hz}$	16,03 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,48 \text{ Hz}$	-	-
(6)	147,72 (s) 1C	130,56 (s) 1C	132,63 (s) 1C	123,90 (s) 1C	149,83 (s) 1C	140,90 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 20,84 \text{ Hz}$	-	65,95 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,64 \text{ Hz}$	31,71 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,64 \text{ Hz}$	18,20 (s) 2C	13,38 (s) 2C
(7)	147,51 (s) 1C	130,71 (s) 1C	132,63 (s) 1C	123,93 (s) 1C	149,57 (s) 1C	140,43 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 19,15 \text{ Hz}$	-	70,82 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,32 \text{ Hz}$	23,58 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 4,52 \text{ Hz}$	23,34 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 4,52 \text{ Hz}$	-
(8)	147,64 (s) 1C	130,58 (s) 1C	132,61 (s) 1C	123,91 (s) 1C	149,76 (s) 1C	140,84 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 19,30 \text{ Hz}$	-	72,12 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,37 \text{ Hz}$	28,57 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,37 \text{ Hz}$	18,53 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 3,70 \text{ Hz}$	18,53 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 3,70 \text{ Hz}$

Tabela 23: Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 2-carbaldeído piridina.

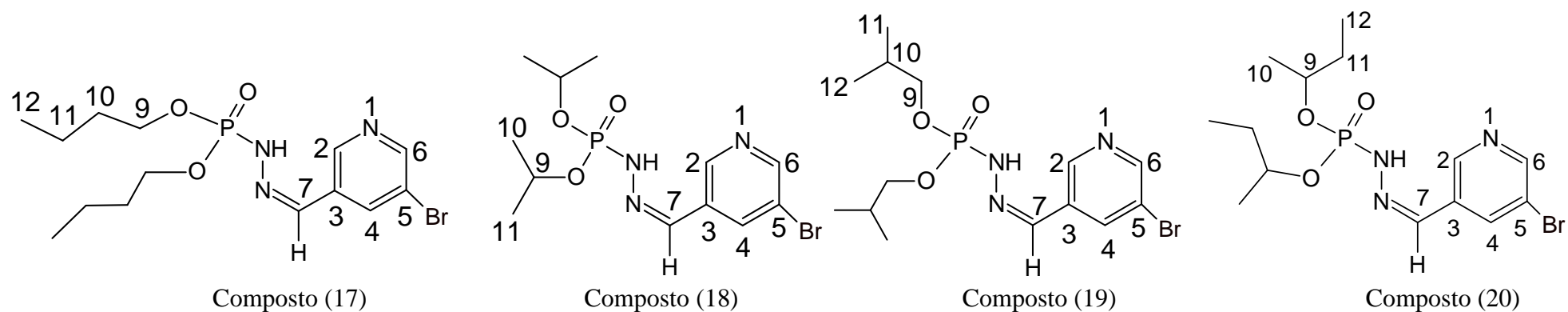


Composto	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12
(9)	153,49 (s) 1C	119,03 (s) 1C	136,74 (s) 1C	123,66 (s) 1C	149,30 (s) 1C	144,60 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 19,15 \text{ Hz}$	-	62,56 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,67 \text{ Hz}$	16,04 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,60 \text{ Hz}$	-	-
(10)	153,54 (s) 1C	118,85 (s) 1C	136,68 (s) 1C	123,63 (s) 1C	149,29 (s) 1C	144,49 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 19,11 \text{ Hz}$	-	65,98 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,49 \text{ Hz}$	31,76 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,34 \text{ Hz}$	18,19 (s) 2C	13,36 (s) 2C
(11)	153,64 (s) 1C	118,77 (s) 1C	136,71 (s) 1C	123,52 (s) 1C	149,25 (s) 1C	144,12 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 18,42 \text{ Hz}$	-	70,90 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,51 \text{ Hz}$	23,55 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 4,82 \text{ Hz}$	23,34 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 4,82 \text{ Hz}$	-
(12)	153,54 (s) 1C	118,76 (s) 1C	136,71 (s) 1C	123,61 (s) 1C	149,28 (s) 1C	144,46 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 19,80 \text{ Hz}$	-	72,25 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,51 \text{ Hz}$	28,51 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,25 \text{ Hz}$	18,50 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 3,50 \text{ Hz}$	18,50 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 3,50 \text{ Hz}$

Tabela 24: Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 2-cloro-3-carbaldeído piridina.

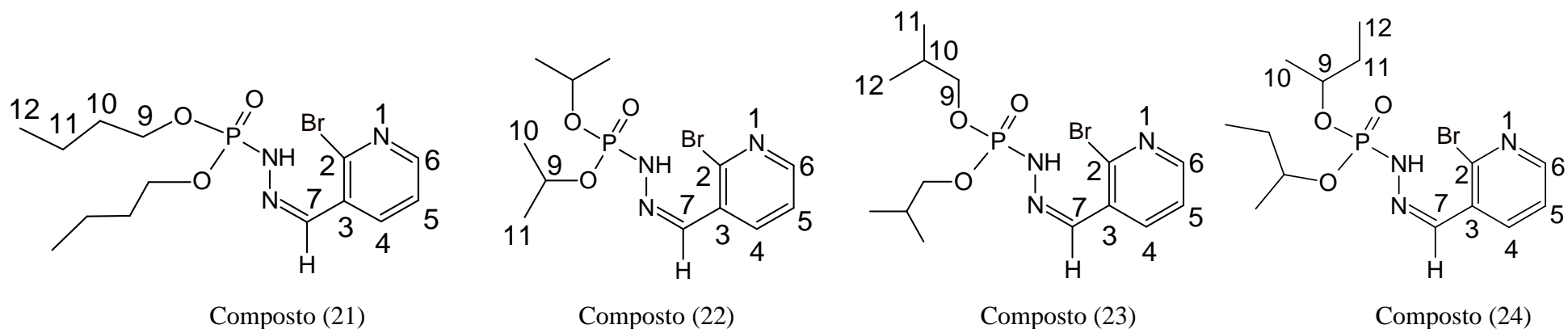
Composto	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12
(13)	148,39 (s) 1C	128,83 (s) 1C	134,90 (s) 1C	123,71 (s) 1C	149,95 (s) 1C	138,57 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 19,45 \text{ Hz}$	-	66,13 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,84 \text{ Hz}$	31,71 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,84 \text{ Hz}$	18,19 (s) 2C	13,55 (s) 2C
(14)	148,34 (s) 1C	128,94 (s) 1C	134,85 (s) 1C	123,80 (s) 1C	149,87 (s) 1C	138,22 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 21,04 \text{ Hz}$	-	71,06 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,79 \text{ Hz}$	23,58 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 4,82 \text{ Hz}$	23,39 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 4,82 \text{ Hz}$	-
(15)	148,42 (s) 1C	128,86 (s) 1C	134,87 (s) 1C	123,79 (s) 1C	149,99 (s) 1C	138,61 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 19,43 \text{ Hz}$	-	72,34 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,47 \text{ Hz}$	28,57 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,47 \text{ Hz}$	18,53 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 3,24 \text{ Hz}$	18,53 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 3,24 \text{ Hz}$
(16)	148,31 (s) 1C	128,94 (s) 1C	134,67 (s) 1C	123,78 (s) 1C	149,85 (s) 1C	138,03 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 18,98 \text{ Hz}$	-	75,62 (t) 2C $J_{\text{cp}} = 5,70 \text{ Hz}$	21,11 (d) 20,83 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 3,82 \text{ Hz}$	29,90 (d) 29,74 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,33 \text{ Hz}$	9,38 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,38 \text{ Hz}$

Tabela 25: Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 5-bromo-3-carbaldeído piridina.



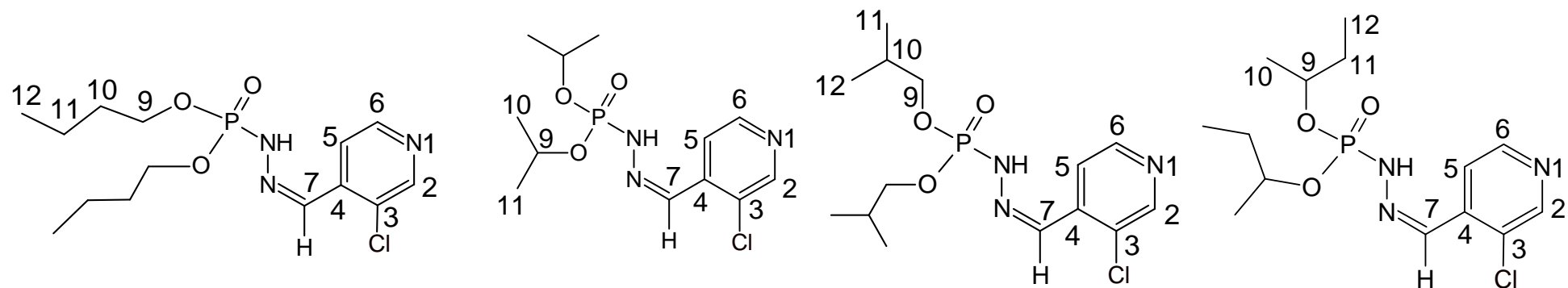
Composto	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12
(17)	146,15 (s) 1C	132,58 (s) 1C	134,64 (s) 1C	120,49 (s) 1C	150,15 (s) 1C	139,26 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 21,69$ Hz	-	66,13 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,62$ Hz	31,79 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,23$ Hz	18,24 (s) 2C	13,38 (s) 2C
(18)	145,97 (s) 1C	132,69 (s) 1C	134,69 (s) 1C	120,52 (s) 1C	150,07 (s) 1C	138,97 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 20,17$ Hz	-	71,03 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,30$ Hz	23,59 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 4,57$ Hz	23,38 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 4,57$ Hz	-
(19)	146,02 (s) 1C	132,58 (s) 1C	134,74 (s) 1C	120,47 (s) 1C	150,10 (s) 1C	139,24 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 19,10$ Hz	-	72,27 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,55$ Hz	28,53 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,55$ Hz	18,48 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 4,37$ Hz	18,48 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 4,37$ Hz
(20)	145,90 (s) 1C	132,70 (s) 1C	134,62 (s) 1C	120,48 (s) 1C	150,00 (s) 1C	138,68 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 19,85$ Hz	-	75,55 (t) 2C $J_{\text{cp}} = 5,76$ Hz	21,10 (d) 20,82 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 2,63$ Hz	29,84 (d) 29,68 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,00$ Hz	9,32 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,72$ Hz

Tabela 26: Dados de RMN de ^{13}C das dialquifosforilidrazonas derivadas do 2-bromo-3-carbaldeído piridina.



Composto	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12
(21)	141,28 (s) 1C	130,99 (s) 1C	134,78 (s) 1C	123,92 (s) 1C	150,48 (s) 1C	140,57 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 18,99 \text{ Hz}$	-	66,10 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,03 \text{ Hz}$	31,72 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,03 \text{ Hz}$	18,20 (s) 2C	13,38 (s) 2C
(22)	141,24 (s) 1C	131,11 (s) 1C	134,71 (s) 1C	123,97 (s) 1C	150,37 (s) 1C	140,23 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 18,41 \text{ Hz}$	-	71,02 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,61 \text{ Hz}$	23,62 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 4,77 \text{ Hz}$	23,39 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 4,77 \text{ Hz}$	-
(23)	141,29 (s) 1C	130,99 (s) 1C	134,70 (s) 1C	123,95 (s) 1C	150,47 (s) 1C	140,56 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 18,96 \text{ Hz}$	-	72,25 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,49 \text{ Hz}$	28,59 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,49 \text{ Hz}$	18,59 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 2,36 \text{ Hz}$	18,59 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 2,36 \text{ Hz}$
(24)	141,21 (s) 1C	131,10 (s) 1C	134,53 (s) 1C	123,96 (s) 1C	150,36 (s) 1C	140,02 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 18,22 \text{ Hz}$	-	75,66 (m) 2C	21,10 (d) 20,83 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 3,60 \text{ Hz}$	29,84 (d) 29,73 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 4,19 \text{ Hz}$	9,38 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,47 \text{ Hz}$

Tabela 27: Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilidrazonas derivadas do 3-cloro-4-carbaldeído piridina.



Composto (25)

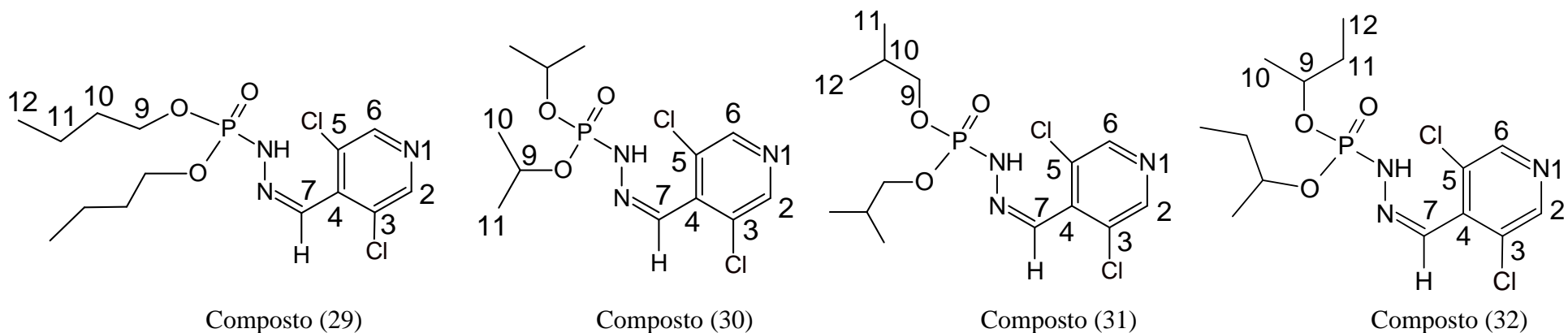
Composto (26)

Composto(27)

Composto (28)

Composto	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12
(25)	149,92 (s) 1C	138,96 (s) 1C	128,99 (s) 1C	19,24 (s) 1C	148,02 (s) 1C	137,40 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 19,82 \text{ Hz}$	-	66,18 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,25 \text{ Hz}$	31,71 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,25 \text{ Hz}$	18,14 (s) 2C	13,32 (s) 2C
(26)	149,90 (s) 1C	139,09 (s) 1C	128,96 (s) 1C	19,19 (s) 1C	148,08 (s) 1C	137,04 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 20,02 \text{ Hz}$	-	71,24(d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,52 \text{ Hz}$	23,56 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 4,52 \text{ Hz}$	23,37 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 4,52 \text{ Hz}$	-
(27)	149,93 (s) 1C	138,97 (s) 1C	128,99 (s) 1C	19,16 (s) 1C	148,04 (s) 1C	137,39 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 20,49 \text{ Hz}$	-	72,37(d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,25 \text{ Hz}$	28,49(d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,25 \text{ Hz}$	18,46 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 2,67 \text{ Hz}$	18,46 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 2,67 \text{ Hz}$
(28)	149,99 (s) 1C	139,12 (s) 1C	128,96 (s) 1C	19,07 (s) 1C	148,09 (s) 1C	136,89 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 20,02 \text{ Hz}$	-	75,84 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,16 \text{ Hz}$	21,06 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 3,08 \text{ Hz}$	29,81 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,16 \text{ Hz}$	9,38 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 7,96 \text{ Hz}$

Tabela 28: Dados de RMN de ^{13}C das dialquilfosforilhidrazonas derivadas do 3,5-dicloro-4-carbaldeído piridina.



Composto	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12
(29)	148,71 (s) 1C	137,10 (s) 1C	129,88 (s) 1C	137,10 (s) 1C	148,35 (s) 1C	136,79 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 20,65 \text{ Hz}$	-	66,26 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,28 \text{ Hz}$	31,69 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,28 \text{ Hz}$	18,15 (s) 2C	13,35 (s) 2C
(30)	148,70 (s) 1C	137,20 (s) 1C	129,87 (s) 1C	137,20 (s) 1C	148,33 (s) 1C	136,56 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 19,48 \text{ Hz}$	-	71,18 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,44 \text{ Hz}$	23,54 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 4,54 \text{ Hz}$	23,31 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 4,54 \text{ Hz}$	-
(31)	148,35 (s) 1C	136,66 (s) 1C	129,86 (s) 1C	136,66 (s) 1C	148,35 (s) 1C	137,06 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 19,97 \text{ Hz}$	-	72,36 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 6,28 \text{ Hz}$	28,49 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 7,24 \text{ Hz}$	18,43 (s) 2C	18,43 (s) 2C
(32)	148,87 (s) 1C	136,80 (s) 1C	130,33 (s) 1C	136,80 (s) 1C	148,87 (s) 1C	137,64 (d) 1C $J_{\text{cp}} = 20,19 \text{ Hz}$	-	76,17(m) 2C	21,41 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 3,00 \text{ Hz}$	30,30 (d) 2C $J_{\text{cp}} = 5,62 \text{ Hz}$	9,70 (s) 2C

4.3.4. Análise por espectrometria de RMN-³¹P.

A análise dos os espectros de RMN de ³¹P evidenciou os acoplamentos do átomo de fósforo com o hidrogênio fosforamídico (J_2) variando entre (27,43 e 34,83) Hz e com os hidrogênios presentes na cadeia do alcóxido (J_3) variando aproximadamente entre (7,0 e 8,0) Hz.

A **Tabela 29** apresenta os deslocamentos químicos (δ) em ppm, as multiplicidades e as constantes de acoplamento para as dialquifosforilidrazonas obtidos na análise de RMN de ³¹P.

Tabela 29: Dados de RMN de ³¹P.

Comp.	δ ,	J_2 ,	J_3 ,	Comp.	δ ,	J_2 ,	J_3 ,
(1)	1,33 (dq),	29,35 ,	7,91	(17)	1,37 (dq),	29,28	7,17
(2)	1,33 (dq),	27,56 ,	7,35	(18)	- 0,53 (dt),	28,04	7,62
(3)	- 0,79 (dt),	29,52 ,	7,64	(19)	1,35 (dq),	30,17	7,54
(4)	1,14 (dq),	29,00 ,	8,00	(20)	- 0,30 (dt),	27,97	8,13
(5)	1,61 (dq),	29,89 ,	7,35	(21)	1,37 (dq),	29,07	7,57
(6)	1,73 (dq),	27,47 ,	7,84	(22)	- 0,79 (dt),	27,79	7,34
(7)	- 0,15 (dt),	27,54 ,	7,36	(22)	- 2,74 (dt),	-	7,34
(8)	1,64 (dq),	30,50	7,56	(23)	1,23 (dq),	28,27	7,70
(9)	1,53 (dq),	28,25 ,	7,70	(23)	- 1,24 (dq),	-	7,70
(9)	0,97 (dq),	34,01	7,70	(24)	- 0,46 (dt)	29,45	8,12
(10)	1,54 (dq),	29,41	7,66	(25)	0,83 (dq),	29,77	7,09
(10)	1,05 (dq),	34,83	7,66	(26)	- 1,20 (dt),	29,79	7,77
(11)	- 0,36 (dt),	27,43	7,34	(27)	0,67 (dq),	30,07	7,73
(12)	1,43 (dq),	30,05	7,12	(28)	- 1,03 (dt)	29,26	8,56
(13)	1,23 (dq),	30,14,	7,31	(29)	0,34 (dq),	28,06	7,79
(14)	- 0,70 (dt)	29,76	7,80	(30)	- 1,64 (dt),	27,46	7,28
(15)	1,09 (dq),	29,02	7,47	(31)	0,13 (dq),	29,55	7,49
(16)	- 0,63 (dt)	28,83	6,65	(32)	- 1,54 (dt)	29,97	8,12

* As constantes de acoplamento estão em Hertz (Hz).

Os 32 compostos sintetizados mostraram os seguintes sinais de acordo com os seus radicais: [(etil, butil e isobutil) = duplete de quinteto (dq), enquanto que os radicais (isopropil e *s*-butil) = duplete de tripleto (dt)].

Todas as substâncias sintetizadas apresentaram um único sinal caracterizando a presença de um único diastereoisômero, com a exceção dos compostos (**9**, **10**, **22** e **23**), que apresentaram dois sinais, confirmando a presença de mistura.

Através da **Tabela 29**, verifica-se que todos os compostos contendo os radicais isopropil e *s*-butil apresentaram um efeito de blindagem contrastivo sobre o deslocamento químico do fósforo. Tal fenômeno pode ser motivado pela proximidade destes radicais, por consequência das suas disposições espaciais, provocando, conseqüentemente, um maior efeito de blindagem. (**Figura 30**).

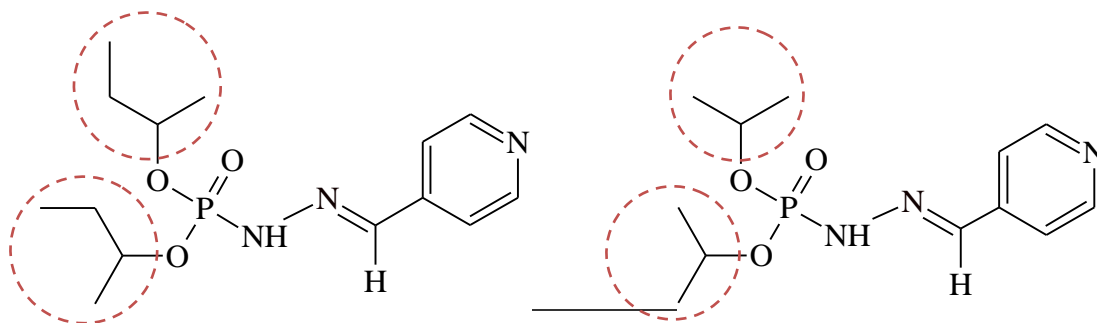
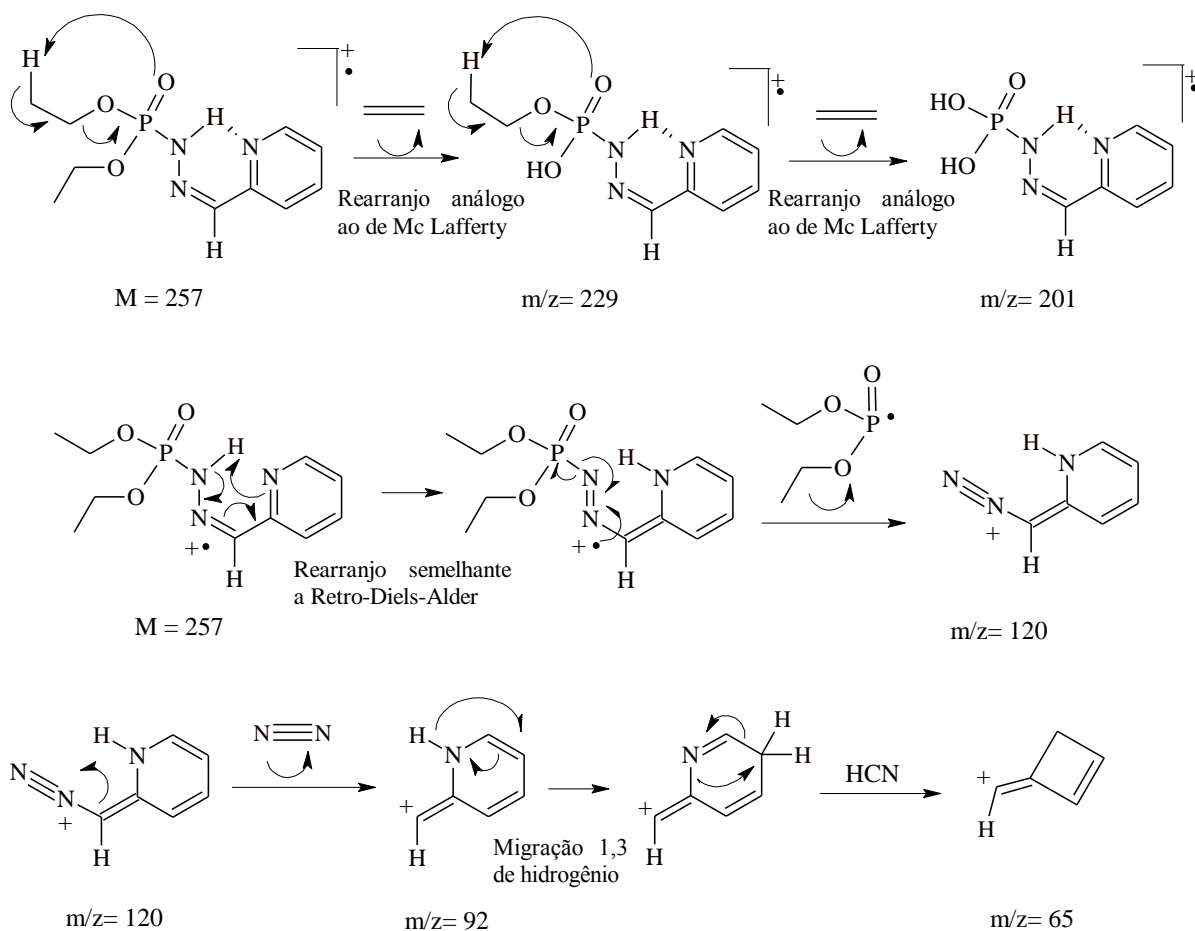


Figura 30: Efeito de blindagem ocasionado por radicais volumosos sobre o átomo de fósforo

4.3.5. Análise por espectrometria de massas.

Para os espectros de massas das dialquilfosforilidrazonas, observou-se a presença de dois picos base, m/z 98 e m/z 120.

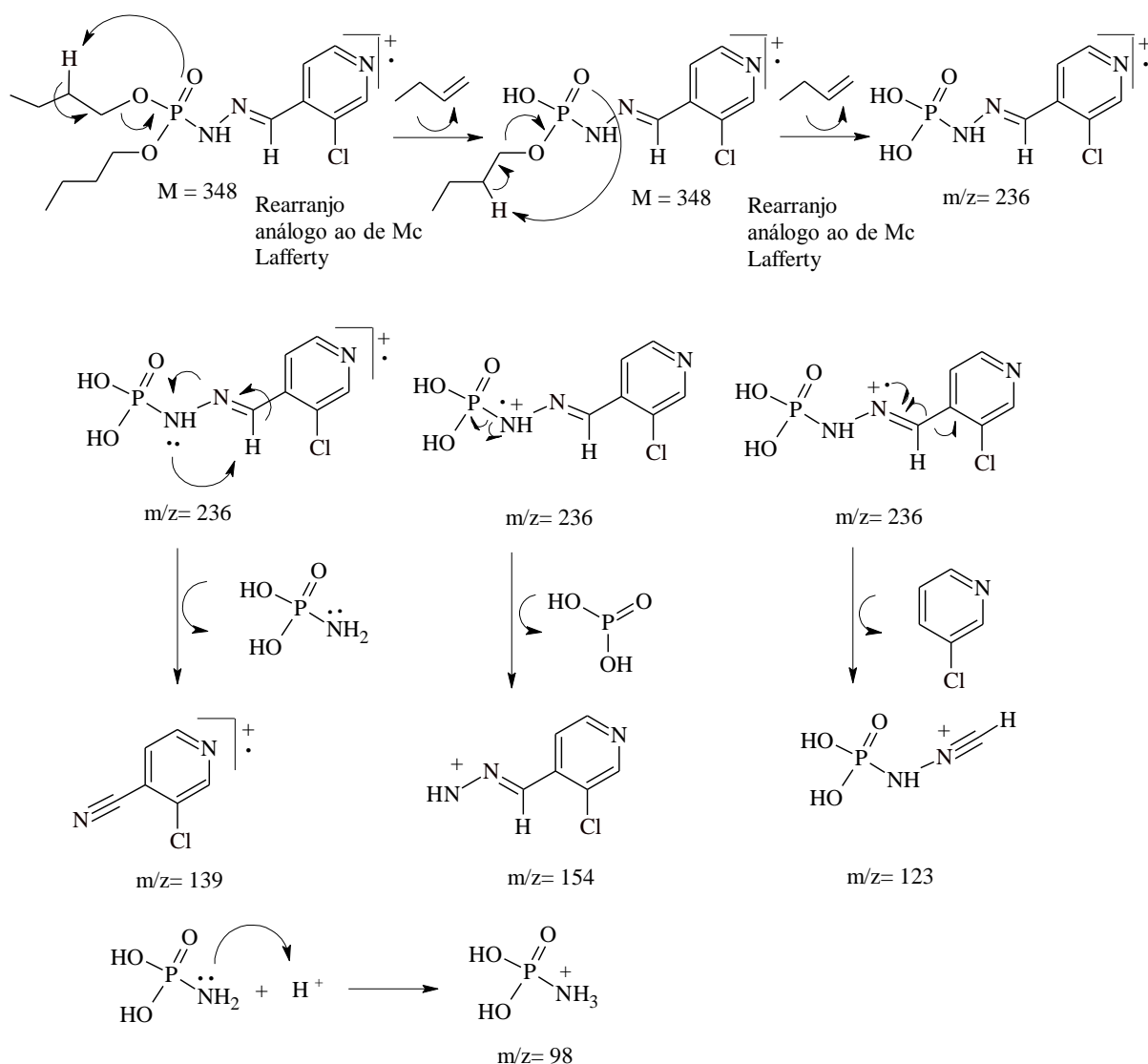
Apenas os quatro compostos (**9**, **10**, **11** e **12**) derivados de piridinas não substituídas contendo o nitrogênio heteroatômico em posição orto a carbonila, apresentaram o pico base m/z 120 e os fragmentos m/z 92 e m/z 65 de abundâncias consideráveis. Tal situação pode ser atribuída à presença da ligação de hidrogênio intramolecular, como demonstrada na proposta de fragmentação no **Esquema 19**.



Esquema 19: Proposta de fragmentação para os compostos (9), (10), (11) e (12).

Todos os outros (28) compostos apresentaram o fragmento m/z 98 como pico base, assim como, m/z 154 para a grande maioria das substâncias e os m/z 57, m/z 43 e m/z 41 para os radicais isobutil e *s*-butil, isopropil e butil respectivamente (**Esquema 20**).

A proposta de fragmentação apresentada no **Esquema 20**, origina o fragmento $m/z = 97$, decorrente de três rearranjos análogos ao de McLafferty, porém o que se observa nos espectros de massas das dialquilfosforilidrazonas sintetizadas é o fragmento $m/z = 98$. Acredita-se, que o fragmento m/z 98 ocorra devido aos espectros de massas terem sido realizados num espectrômetro de massas do tipo “íon trap”, onde os íons gerados pela fragmentação ficam acumulando no trap (“armadilha”), local onde ocorrem várias colisões entre as moléculas presentes (WATSON, 1997). Sendo assim, foi observado que para o fragmento $m/z = 97$, ocorreu a transferência de um próton (H^+), que gerou o fragmento $m/z = 98$.



Esquema 20: Proposta de fragmentação para os 28 compostos contendo como pico base, o fragmento $m/z = 98$

4.3.6. Análise bidimensional

O espectros bidimensionais (2D) HSQC de correlação heteronuclear de carbono e hidrogênio através de uma ligação ($^1J_{CH}$) e HMBC de correlação através de duas e três ligações ($^nJ_{CH}$, $n=2$ e $n=3$) auxiliaram na atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos dos carbonos e respectivos hidrogênios presentes nos núcleos piridínicos.

As referidas análises foram executadas para 7 grupos de compostos de acordo com as distinções existentes entre os núcleos aromáticos. Apenas o núcleo não substituído por

halogênio, contendo o heteroátomo em posição para, presente nos compostos (1, 2, 3 e 4) não foi avaliado.

4.4. Avaliação da Atividade Biológica

Uma triagem inicial foi realizada para avaliar e comparar o perfil leishmanicida de 15 substâncias e dois fármacos padrão *in vitro* contra formas promastigota de *L. braziliensis* e *L. amazonensis*. O efeito máximo e o valor de IC₅₀ (concentrações capaz de inibir 50% do crescimento das promastigotas) foram usados como parâmetros para a atividade leishmanicida das mesmas.

Após 48 horas de incubação, a maioria das substâncias foi significativamente ativa contra *L. braziliensis*. Dentre estas, as que mostraram eficácia superior a 70% foram: **(4)** (IC₅₀: 0,0 ± 0,06), **(8)** (IC₅₀: 40,7 ± 3,5), **(2)** (IC₅₀: 5,1 ± 0,5), **(6)** (IC₅₀: 5,4 ± 0,2), **(10)** (IC₅₀: 0,0 ± 0,06), **(7)** (IC₅₀: 0,4 ± 0,3), **(20)** (IC₅₀: 3,6 ± 0,3), **(32)** (IC₅₀: 0,03 ± 0,02) e **(24)** (IC₅₀: 5,2 ± 0,7). Por outro lado, nem todas as substâncias citadas anteriormente foram ativas contra *L. amazonensis*, mostrando alguma especificidade para a espécie *L. braziliensis*. As substâncias ativas contra *L. amazonensis* com eficácia em torno de 70% foram **(6)** (IC₅₀: 53,3 ± 2,9), **(10)** (IC₅₀: 6,2 ± 1,7), **(20)** (IC₅₀: 26,3 ± 2,0), **(32)** (IC₅₀: 26,0 ± 7,8) e **(24)** (IC₅₀ < 0,001). Além disso, **(24)** foi tão eficaz quanto os fármacos padrão, miltefosina e pentamidina, e foi cerca de 2000 vezes mais potente que os mesmos, como pode ser visualizado na **Tabela 30**.

Tabela 30: Atividade das DAPH contra as formas promastigota de *L. braziliensis* e *L. amazonensis*

Substância	<i>L. braziliensis</i>		<i>L. amazonensis</i>	
	IC ₅₀ (µM)	Eficácia (%)	IC ₅₀ (µM)	Eficácia (%)
Miltefosina	0.7 ± 0.6	84.5 ± 0.3	3.4 ± 0.4	96,3 ± 0.3
Pentamidina	0.06 ± 0.02	95.7 ± 0.5	1.8 ± 1.1	93.8 ± 0.7
(1)	> 100	NA	> 100	NA
(2)	5.1 ± 0.5	77.2 ± 4.2	99.3 ± 0.7	45.5 ± 3.2
(3)	> 100	NA	> 100	NA
(4)	0.06 ± 0.0	84.2 ± 2.6	> 100	NA
(5)	> 100	NA	> 100	NA
(6)	5.4 ± 0.2	87.9 ± 1.1	53.3 ± 2.9	85.6 ± 0.5
(7)	0.4 ± 0.3	75.9 ± 6.6	> 100	NA
(8)	40.7 ± 3.5	81.6 ± 0.4	83.3 ± 11.6	52.8 ± 5.6
(9)	7.5 ± 0.8	62.1 ± 3.4	> 100	NA
(10)	0.06 ± 0.0	76.3 ± 8.7	6.2 ± 1.7	69.5 ± 4.2
(11)	0.7 ± 0.1	56.3 ± 2.7	> 100	NA
(12)	> 100	NA	98.3 ± 1.2	40.7 ± 6.1
(20)	3.6 ± 0.3	92.2 ± 0.4	26.3 ± 2.0	93.8 ± 0.3
(24)	5.2 ± 0.7	80.1 ± 2.6	< 0.001	95.3 ± 0.4
(32)	0.03 ± 0.02	74.1 ± 0.3	26.0 ± 7.8	92.4 ± 0.1

Dados são reportados como médias ± erro padrão da média, E.P.M., Diferenças com um $**p < 0.01$ foram consideradas significantes em relação ao grupo DMSO 0,1%.

IC₅₀: é a concentração requerida para oferecer 50% de inibição; NA: Composto não ativo.

Um critério importante na busca de novas substâncias com atividade leishmanicida é que as mesmas não sejam tóxicas para células de mamíferos, uma exigência para realização de ensaios clínicos. Por conseguinte, o potencial citotóxico dessas substâncias em macrófagos J774 (linhagem celular murina) foi determinado pelo método colorimétrico do MTT (MOSMANN, 1983). Neste ensaio todas as substâncias apresentaram baixa citotoxicidade contra macrófagos J774 com valores de LC₅₀ > 100 µM, com exceção da substância (32) que foi tóxica para cerca de 20% das células tratadas (Tabela 31). Além disso, o fármaco de referência pentamidina foi tóxico para cerca de 30% das células na concentração de 100 µM.

Tabela 31: Avaliação da toxicidade de fármacos convencionais e inibidores de 5-fosfato isomerase em linha celular J774. As experiências foram realizadas duas vezes independentemente e cada contagem foi feita em triplicata. Os dados são mostrados como médias \pm EPM.

Substância	LC ₅₀ (μ M)	CE (%)	Substância	LC ₅₀ (μ M)	CE (%)
Miltefosina	>100	NT	(8)	>100	NT
Pentamidina	>100	28.8 \pm 0.1	(9)	> 100	NT
(1)	>100	NT	(10)	>100	NT
(2)	>100	NT	(11)	>100	NT
(3)	>100	NT	(12)	>100	NT
(4)	>100	NT	(20)	>100	NT
(5)	>100	NT	(24)	>100	NT
(6)	>100	NT	(32)	>100	20.5 \pm 0.1
(7)	>100	NT	-	-	-

LC₅₀: Concentração letal de 50%; CE: Efeito citotóxico; NT: Composto não tóxico.

A partir destes resultados, algumas substâncias foram selecionadas para o ensaio *in vivo*. Os critérios de seleção levaram em conta a potência e a eficácia contra ambas as espécies de leishmania, bem como a citotoxicidade de cada uma contra células de mamíferos. Entre as substâncias testadas somente os compostos (6), (10), (20), (24) e (32) mostraram atividade leishmanicida contra ambas as espécies, com eficácia superior a 70%. No entanto, as substâncias (20) e (24) preencheram melhor tais requisitos, portanto, foram escolhidas para o subsequente teste.

Utilizando um modelo murino bem estabelecido de leishmaniose cutânea, que mimetiza a leishmaniose humana (PEREIRA *et al.*, 2010), camundongos BALB/c foram infectados, na derme da orelha, com 10⁵ parasitos de *L. amazonensis* em fase estacionária de desenvolvimento. Os camundongos infectados foram tratados por via oral durante 28 dias consecutivos com os compostos (20) e (24) e, posteriormente, as lesões e a carga parasitária foram quantificadas.

O grupo não tratado foi usado como controle e resultou numa lesão de tamanho médio de 0,2831 mm (EPM = 0,1022). Os grupos tratados reduziram significativamente o tamanho da lesão na orelha, a média verificada no grupo contendo a substância (20) foi equivalente a 0,0527 mm (SEM = 0,0348) enquanto que para o grupo contendo a substância

(24) foi de 0,0804 mm (EP = 0,0392). O resultado foi semelhante ao grupo de miltefosina, com uma média de 0,0231 mm (EPM = 0,0021) (**Figura 31**).

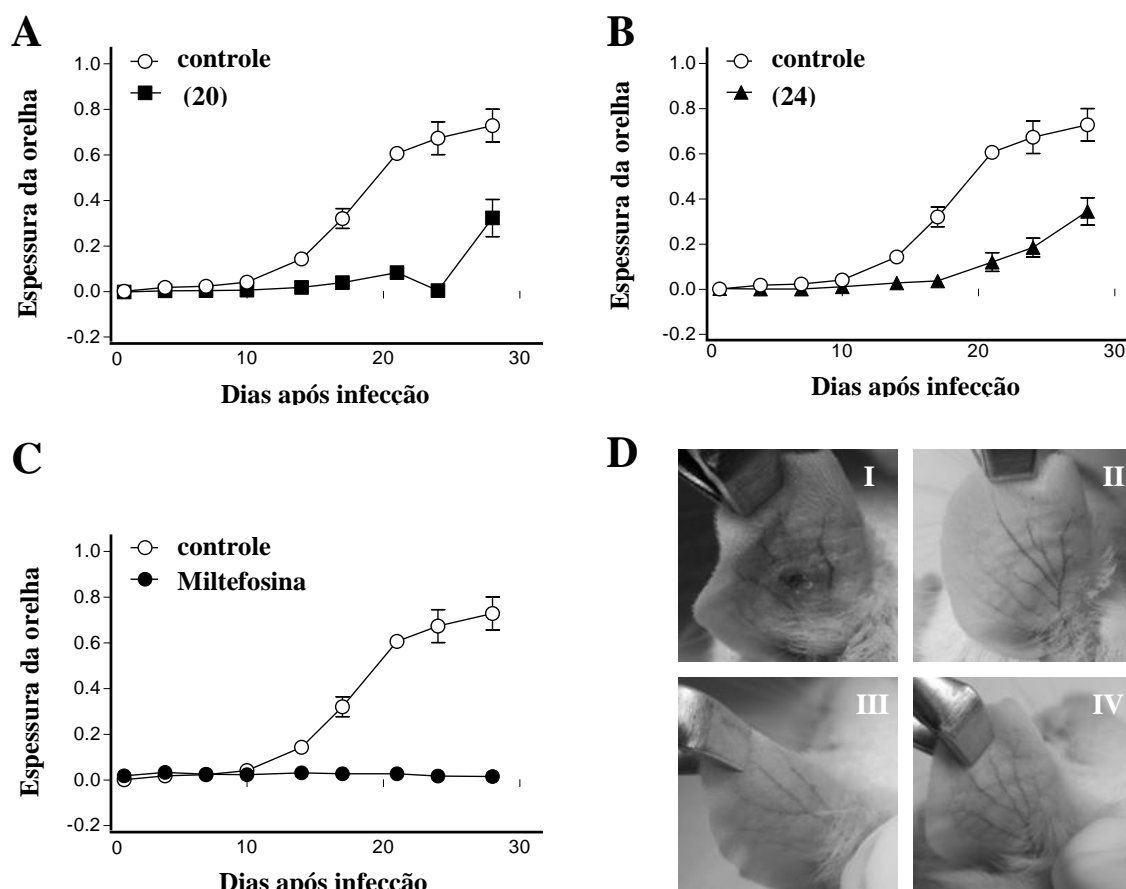


Figura 31: Efeito leishmanicida das substâncias (20) e (24) em camundongos albinos BALB/c *in vivo*. Os camundongos foram infectados com 10^5 parasitos de *L. amazonensis* na forma promastigota, e o curso de desenvolvimento da lesão foi monitorado por 28 dias durante o tratamento com os compostos (20) A, (24) B e miltefosina (C). O tamanho da lesão (mm) é exposto como média \pm EPM de um experimento representativo (n= 5 camundongos em cada grupo experimental) (Teste t não pareado, 5 semanas, ***p<0.0001). (D) Imagens das lesões após o término do tratamento dos camundongos BALB/c infectados com *L. amazonensis*. No grupo de controle (I), as lesões mostraram um inchaço intenso e ulcerado. Nos grupos tratados com miltefosina (II), substâncias (20) (III) e (24) (IV) em doses de 30mg/kg/dia, as fotografias revelaram uma cura completa dos nódulos e úlceras.

Para investigar se havia uma correlação entre o desenvolvimento de lesões e a replicação do parasito, a carga parasitária foi estimada tanto no local da inoculação como nos linfonodos drenantes. Na derme da orelha (**Figura 31**), o tratamento com o composto (24) controlou a carga parasitária de maneira estatisticamente significativa, corroborando a

melhora terapêutica nas lesões das orelhas. Já a substância (20) não foi capaz de reduzir a carga de parasito, embora tenha havido redução na lesão.

Por outro lado, os compostos (20) e (24) não reduziram a carga parasitária no nódulo linfático drenante (**Figura 32**). Isto indica que a dose (30 mg/kg/dia) não foi suficiente para controlar a infecção sistêmica ou, adicionalmente, a atividade leishmanicida de tais compostos contém também uma atividade anti-inflamatória. A carga parasitária foi reduzida no local da inoculação bem como nos nódulos linfáticos drenantes após o tratamento com a miltefosina.

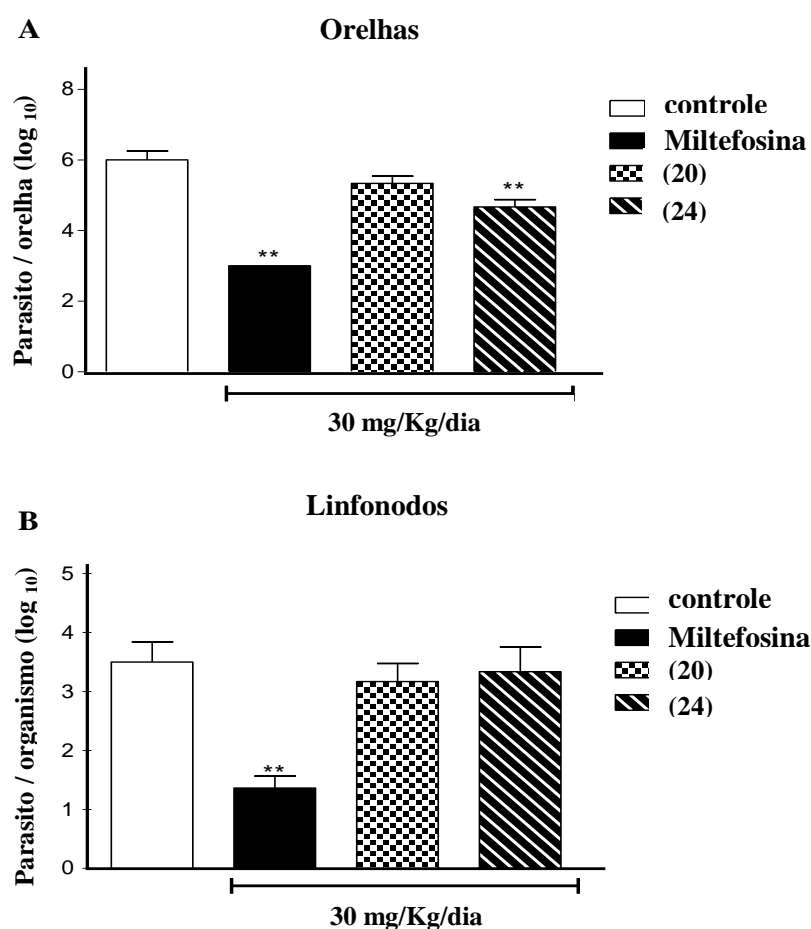


Figura 32: Carga parasita da orelha e linfonodo drenante foram determinados em 4 semanas pós-infecção através de um ensaio de diluição limitante. **(A)** Dados da carga parasita da orelha (distribuição normal seguindo transformada logarítmica) representa a média \pm EPM (n= 5) (Teste de Dunnett, $**p = 0,05$). **(B)** Os dados da carga parasita do linfonodo não sofreram distribuição normal, mesmo após a transformada logarítmica, e estão expressas como medianas \pm EPM (n= 5) (Teste de Dunnett, $**p = 0,05$).

5. Conclusão

As 32 dialquifosforilidrazonas sintetizadas nesse trabalho são inéditas e apresentaram um rendimento na faixa de 60 %.

A média dos rendimentos para as substâncias contendo os radicais: etil, butil, isopropil, isobutil e *s*-butil foi de (55%), (58%), (65%), (61%) e (63%), respectivamente.

Apenas os quatro compostos (**9**, **10**, **22** e **23**), apresentaram-se como misturas diastereoisoméricas, sendo verificado, através da integração dos sinais de RMN-¹H e RMN-³¹P, uma maior proporção do diastereoisômero *E* em relação ao *Z*, com correlações configuracionais aproximadas de: (80% - 20%), (85% - 15%), (80% - 20%) e (65% - 35%), respectivamente.

Através da análise por NOEDIF, constatou-se que todas as outras 28 substâncias foram geradas com configuração *E*.

O comportamento Leishmanicida das 15 substâncias (**1**, **2**, **3**, **4**, **5**, **6**, **7**, **8**, **9**, **10**, **11**, **12**, **20**, **24** e **32**) testadas *in vitro* contra as formas promastigotas de *L. braziliensis* e *L. amazonensis* demonstraram boa eficácia para a maioria dos compostos, observadas pelos valores de IC₅₀, destacando-se os compostos (**2**, **4**, **6**, **7**, **8**, **10**, **20**, **24** e **32**) para *L. braziliensis* e (**6**, **10**, **20**, **24** e **32**), para *L. amazonensis*.

As dialquifosforilidrazonas (**6**, **10**, **20**, **24** e **32**) apresentaram atividade mútua sobre ambas as espécies e baixa citotoxicidade para macrófagos, com a exceção do composto (**32**).

Os compostos (**20**) e (**24**), mediante a melhor correlação de IC₅₀ e citotoxicidade, foram testados *in vivo* em camundongos infectados com parasitos de *L. amazonensis*, exibindo uma considerável redução da lesão cutânea, equivalente ao fármaco de referência, miltefosina, contrastando-se, em relação à redução da carga parasitária no local de inoculação, verificada apenas para o composto (**24**) e equiparados na incapacidade de conter a porção parasitária no nódulo linfático.

6. Referências bibliográficas

- ❖ ACHERSON, R.M.; *An Introduction to the Chemistry of Heterocyclic Compounds*. Third Edition. John Wiley & Sons: Canada, p. 501, 1977.
- ❖ AGNEW, B. When Pharma merges, R & D is the dowry. *Science*, v. 287, p. 1952-1953, 2000.
- ❖ ALVAR, J. Leishmania and human immunodeficiency vírus coinfection: the first 10 years, *Clin. Microbiol. Rev.*, v. 10, p. 298-319, 1997.
- ❖ ARBUZOV, A. E.; *Phys. Chem. Soc.* v. 38, p. 687, 1906.
- ❖ ARBUZOV, B. A.; VINOGRADOVA, V. S.; POLEZHAEVA, N. A.; SHAMSUTDINOVA, A. K. Esters of β -oxophosphonic acids. Part 12. Structure of reaction products of some α -halo ketones of the aromatic series with triethyl phosphonic and diethyl sodium phosphate, *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser Khim.*, 1380, 1963; *Bull. Acad. Sci. USSR, Div. Chem. Sci. (Engl. Transl.)*, 1257, 1963.
- ❖ ATHERTON, F. R. OPENSHAW, H. T. & TODD, A. R. *J. Chem. Soc.* p. 660, 1945.
- ❖ ÁVILA, J.L., ÁVILA, A., POLEGRE, M.A. & MÁRQUEZ, V.E. Specific inhibitory effect of 3-deazaneplanocin A against several *Leishmania mexicana* and *L. braziliensis* strains. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v.57, n.4, p.407-412, 1997.
- ❖ AVLONITIS, N.; LEKKA, E.; DETSI, A.; KOUFAKI, M.; CALOGEROPOULOU, T.; SCOULICA, E.; SIAPI, E.; KYRIKOU, I.; MAVROMOUSTAKOS, T.; TSOTINIS, A.; GRDADOLNIK, S. G.; MAKRIYANNIS, A. Antileishmanial Ring-Substituted Ether Phospholipids. *J. Med. Chem.* v.46, p. 755-767, 2003.
- ❖ BAKER, D. D.; OZA, M. C. U.; RAJGARHIA V. The value of natural products to future pharmaceutical discovery. *Natural Product Reports*. v. 24, p. 1225-1244, 2007.
- ❖ BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M.; MIRANDA, A.L.P.; RODRIGUES, C.R. A Química Medicinal de N-Acildrazonas: Novos Compostos-Protótipos de Fármacos Analgésicos, Antiinflamatórios e Anti-Trombóticos. *Química Nova*. v. 25, n. 1, p. 129-148, 2002.
- ❖ BHATTACHARYA, L. K. & THYAGARAJAN, G.. Michaelis-Arbuzov Rearrangement. *Chem. Rev.*v. 81, p. 415, 1981.
- ❖ BUNELLE, W. H.; DAANEN, J. F.; RYTHER, K. B.; SCHRIMPF, M. R.; DART, M. J.; GELAIN, A.; MEYER, M. D.; FROST, J. M.; ANDERSON, D. J.; BUCKLEY, M.; CURZON, P.; CAO, Y. PUTTAFARCKEN, P.; SEARLE, X.; JI, J.; PUTMAN, B.; SUROWY, C.; TOMA, L.; BARLOCCO, D. Structure-Activity Studies and Analgesic

Efficacy of *N*-(3-Pyridinyl)-Bridged Bicyclic Diamines, Exceptionally Potent Agonists at Nicotinic Acetylcholine Receptors. *J. Med. Chem.*, v. 50, p. 3627-3644, 2007.

- ❖ CADOGAN, J. I. G., Organophosphorus Reagents in Organic Synthesis. *Academic Press Inc. (London) LTD.* 1st Ed., 1979.
- ❖ CADOGAN, J.I.G.; HODGSON, P.K.G. Organophosphorus Chemistry Today. *Phosphorus and Sulfur.* v. 30, p. 3-88, 1987
- ❖ CAMPS, F.; CASTELLS, J. Tablas para la Elucidación Estructural de Compuestos Orgánicos por Métodos Espectroscópicos. *Alhambra S. A.* 1^a Ed. Versão Espanhola. 1980.
- ❖ CARBRIDGE, P.E.C. The Structural Chemistry of Phosphorus. *Elsevier Scientific Publishing, New York*, p. 203, 1974.
- ❖ COHEN, F. J. Macro trends in pharmaceutical innovation. *Nat. Rev. Drug Discov.*, v. 4, p. 78-84, 2005
- ❖ COLLA, P.La; VICINI, P.; INCERTI, M.; DOYTCHINOVA, I.A.; BUSONERA, B.; LODDO, R. Synthesis and Antiproliferative Activity of Benzo[d]isothiazole Hydrazones. *European Journal of Medicinal Chemistry.* v. 41, p. 624-632, 2006.
- ❖ COSTA, P.; PILLI, R.; PINHEIRO, S.; VASCONCELLOS. Substâncias Carboniladas e Derivados. Artmed Editora S A Subdivisão Bookman Companhia Editora. Série Química Orgânica. 2003.
- ❖ COTTON F.A. & WILKINSON G. Advanced Inorganic Chemistry. John Wiley & Sons, New York. P. 35-83, 1988.
- ❖ COUZIN, J. The Brains behind blockbuster. *Science*, v. 309, p. 728-730, 2005.
- ❖ CROFT, S. L. Neglected diseases: progress in drug development. *Curr. Opin. Investig. Drugs.*, v. 8, p. 103-104, 2007.
- ❖ CROFT, S. L.; BARRET, M. P.; URBINA, J. A. Chemotherapy of trypanosomiasis and leishmaniasis. *Trends Parasitol.*, v. 21, p. 508-512, 2005.
- ❖ CROFT, S. L.; COOMBS, G. H. Leishmaniasis-current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. *Trends Parasitol.*, v. 19, p. 502-508, 2003.
- ❖ DAVIDSON, R. N. AIDS and leishmaniasis. *Genitourin. Med.* V. 73, p. 237-239, 199787.
CROFT, S. L.; YARDLEY, V. Chemotherapy of leishmaniasis. *Curr. Pharm. Des.*, v. 8, p. 319-342, 2002.

- ❖ DAVIES, C. R. Leishmaniasis: new approaches to disease control. *British Medical Journal*, v. 8, p. 319-342, 2002.
- ❖ DESJEUX, P. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 95, p. 239-243, 2001.
- ❖ DIMASI, J. A.; HANSEN, R. W.; GRABOWSKI, H. G. The price of innovation: new estimates of drug development costs. *Journal of Health Economics*, n. 22, p. 151, 2003.
- ❖ DOS SANTOS, V.M.R.; SANT'ANNA, C.M.R.; BORJA, G.E.M.; CHAABAN, A.; CORTES, W.S.; DACOSTA, J.B.N.. New Bisphosphorothioates and Bisphosphoroamidates: Synthesis, Molecular Modeling and Determination of Insecticide and Toxicological Profile. *Bioorganic Chemistry*. v. 35, n.1, p. 68-81, 2007.
- ❖ ETO, M. In: *Organophosphorus Pesticides: Organic and Biological Chemistry*. 1ª ed., CRC Press. Fukuoka, Japan, 1974.
- ❖ FISHER, E. B. & VAN WAZER, J. R. Uses of organic phosphorus compounds, in *Phosphorus and Its Compounds*. Vol.II. Ed. Interscience, New York, 1961.
- ❖ FORD MOORE, A. H.; PERRY, B. J.; "Triethyl Phosphite". *Org. Synth. Coll.* v. 4, p. 955, 1963.
- ❖ FRAYHA G. J.; SMYTH, J.D.; GOBERT, J. G. SAVEL, J. The Mechanisms of action of antiprotozoal and anthelmintic drugs in man. *General Pharmacology*, v. 28, n. 2, p. 273-299, 1997.
- ❖ GILLESPIE, S. H.; PEARSON, R. D., *Principles and Practice of Clinical Parasitology*, John Wiley & Sons Ltd., p. 287-313, 2001.
- ❖ GREEN, L. C.; WAGNER, D. A.; GLOGOWSKI, J.; SKIPPER, P. L.; WISHNOK, J. S.; TANNENBAUM, S. R.; Analysis of nitrate, nitrite and [15 N]nitrate in biological fluids. *Analytical Biochemistry*, v. 126, p. 131-138, 1982.
- ❖ HARVEY, R.G.; DE SOMBRE, E.R.. Michaelis-Arbuzov and Related Reactions. *Topics Phos. Chem*, v.1, p.57, 1964.
- ❖ HERWALDT, B. L. Leishmaniasis. *Lancet*, v. 354, p. 1191-1199, 1999.
- ❖ <http://www.farmacia.ufpa.br/Agenda/doen%C3%A7as%20negligenciadas%20II.PDF> (acessado em 23/05/2013).
- ❖ http://revistapesquisa.fapesp.br/wp-content/uploads/2013/02/010-11_estrategias_2042.pdf (acessado em 16/06/2013).

- ❖ http://ec.europa.eu/research/health/infectious-diseases/neglected-diseases/pdf/nidconference/solomon-nwaka_en.pdf (acessado em 18/ 06/2013).
- ❖ <http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/4180/162/combate-as-doencasnegligenciadas-e-reforcado.html> (acessado em 25/06/2013).
- ❖ <http://www.bayerpharma.com.br/pt/pesquisa-desenvolvimento/processos/> (acessado em 25/05/2013).
- ❖ <http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/4180/162/combate-as-doencasnegligenciadas-e-reforcado.html> (acessado em 25/06/2013).
- ❖ <http://www.fiocruz.br> (acessado em 18/ 06/2013).
- ❖ <http://www.ohsu.edu/som-MicroBio/landfear.html> (acessado em 20/06/2013).
- ❖ http://www.who.int/leishmaniasis/leishmaniasis_maps/en/ (acessado em 12/02/2013).
- ❖ <http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/html/Leishmaniasis.html> (acessado em 14/04/2013).
- ❖ HUSSAIN, R.F.; NOURI, A.M.; OLIVER, R. T. A new approach for measurement of cytotoxicity using colorimetric assay. *Journal of Immunological Methods*, v.160, n.1, p. 89-96, 1993.
- ❖ JENNETTE, K.; LIPPARD, S. J.; VASSILIADES, G.; BAUER, W. Metallointercalation Reagents. 2-Hydroxyethanethiolato(2,2':6',2''-terpyridine)- platinum(II) Monocation Binds strongly to DNA by Intercalation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* v. 71, p. 3839-3843, 1974.
- ❖ KOSALOPOFF, G.M.; MAIER, L. *Organic Phosphorus Compounds*. Ed. Wiley-Interscience, *New York*. v. 5, 1973.
- ❖ KITAEV, Yu.P.; BUZYKIN, B.I. The Reactions of Hydrazones. *Russian Chemical Reviews*. v. 41, n. 6, p. 495-515, 1972.
- ❖ KOSKI, C.L.; RAMM, L.E.; HAMMER, C.H.; MAYER, M.M.; SHIN, M.L. Cytolysis of nucleated cells by complement: cell death displays multi-hit characteristics. *PNAS* 80(12): p. 3816-3820, 1983.
- ❖ LANÇAS, F.M.; LEITE, R.S.; FERNANDES, C. Bisfosfonatos: Síntese, Análises Químicas e Aplicações Farmacológicas. *Química Nova*. v. 28, n. 2, p. 274-280, 2005.
- ❖ LOWE, G.; DROZ, A.S.; VILAIVAN, T.; WEAVER, G. W.; TWEEDALE, L.; PRATT, J. M.; ROCK, P.; YARDLEY, V.; CROFT, S. L.; Cytotoxicity of (2,2':6',2''-Terpyridine)platinum(II) Complexes to *Leishmania donovani*, *Trypanosoma cruzi*, and *Trypanosoma brucei*. *J. Med. Chem.* V. 42, p. 999-1006, 1999
- ❖ MAGILL, A. J. visceral infection caused by *Leishmania tropica* in veterans of Operation Desert Storm. *N. Engl. J. Med.*, v. 328, p. 1383-1387, 1993.

- ❖ MANUAL DE VIGILÂNCIA DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – 2. ed. atual. – Brasília : Editora do Ministério da Saúde, 2007.
- ❖ MARK, V.; Mech. Mol. Migr. *Chem. Abstr.*, n. 2, p. 319, 1969.
- ❖ McGUIGAN, C.; CONGIATU, C.; BRANCALE, A.; MASON, M.D.; JIANG, W.G. Novel Potential Anticancer Naphthyl Phosphoramidates of BVdU: Separation of Diastereoisomers and Assignment of the Absolute Configuration of the Phosphorus Center. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 49, p. 452-455, 2006.
- ❖ MINISTÉRIO DA SAÚDE, SECRETÁRIA DE VIGILANCIA EM SAÚDE, Casos de leishmaniose Tegumentar Americana no Brasil. (http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/2012_11_casos_de_lta_entre_1990_e_2011.pdf). (acessado em 26/03/2013).
- ❖ MINISTÉRIO DA SAÚDE, SECRETÁRIA DE VIGILANCIA EM SAÚDE, Casos de leishmaniose Visceral no Brasil. (http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/2012_11_casos_de_lv_entre_1990_e_2011_final.pdf) (acessado em 26/03/2013).
- ❖ MINISTÉRIO DA SAÚDE, SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília; p. 120, 2006.
- ❖ MINISTÉRIO DA SAÚDE, SECRETÁRIA DE VIGILANCIA EM SAÚDE, Distribuição de espécies de Leishmania responsáveis pela transmissão da LTA, Brasil – 2005. Fonte: SVS/MS.
- ❖ MICHAELIS, A.; BECKER, T. Organophosphorus monomers and polymers International series of monographs on organic chemistry. *Ber. Stsch. Chem. Ges*, v. 30, p. 1003, 1897.
- ❖ MICHAELIS, A. E.; KAEHNE, R. Organophosphorus monomers and polymers International series of monographs on organic chemistry *Ber. Stsch. Chem. Ges*, v. 31, p. 1048, 1898.
- ❖ MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*. v. 65, p. 55-63, 1983.
- ❖ MUHAMMAD TAHA; MOHD SYUKRI BAHARUDIN; NOR HADIANI ISMAIL; KHALID MOHAMMED KHAN; FARIDAHANIM MOHD JAAFAR; SAMREEN SALMAN SIDDIQUI; M. IQBAL CHOUDHARY. Synthesis of 2-methoxybenzoylhydrazone and evaluation of their antileishmanial activity. *Biorganic & Medicinal Chemistry Letters*. V. 23, p. 3463-3466, 2013.

- ❖ MURRAY, H. W.; Berman J. D.; Davies C. R.; Saravia N. G. Advances in leishmaniasis. *Lancet*, v. 366, p. 1561-1577, 2005.
- ❖ NEWKOME, G.R., PAUDLER, W.W. Contemporary Heterocyclic Chemistry. United States of America: Wiley-Interscience, p. 8-11, 1982.
- ❖ NOGUEIRA, A. J. M.; LIMA, M. E. F.; DACOSTA, J. B. N. Síntese, caracterização e estudo da atividade inibitória de novas dialquilfosforilidrazonas no crescimento de tripanosomatídeos. *Quim. Nova*, v. 34, n. 8, p. 1365-1369, 2011.
- ❖ PERKOW, W.; ULLERICH, K.; MEYER, F.;_New phosphoric acid ester with miotic activity; *Naturwiss*, n. 39, p. 353, 1952.
- ❖ PEREIRA, J.C.M.; CARREGARO, V.; COSTA, D.L.; SILVA, J.S.; CUNHA, F.Q.; FRANCO, D.W. Antileishmanial activity of ruthenium(II)tetraammine nitrosyl complexes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 45, p. 4180-4187, 2010.
- ❖ RAJSKI, R. S.; WILLIAMS, R. M.; DNA Cross-Linking Agents as Antitumor drugs. *Chem. Rev.* v. 98, p. 2733, 1998.
- ❖ 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.
- ❖ ROTH, H.J.; KLEEMANN, A. In *Pharmaceutical Chemistry. Volume 1; Drug Synthesis*; John Wiley & Sons: New York, 1988.
- ❖ SAUNDERS, B. Some Aspects of The Chemistry and Toxic Action of Organic Compounds Containig Phosphorus and fluorine, Cambridge University Press. London, 1957.
- ❖ SEIFERT, K.; LEMKE, A.; CROFT, S. L.; KAYSER, O. Antileishmanial Structure-Activity Relationships of Synthetic Phospholipids: In Vitro and In Vivo Activities of Selected Derivatives. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 51, p. 4525–4528, n. 12, 2007.
- ❖ SERENO, D.; CORDEIRO DA SILVA, A.; MATHIEU-DAUDE, F.; QUAISSI, A. Advances and perspectives in Leishmania cell based drug-screening procedures. *Parasitol Int.* 56(1): p. 3-7, 2007.
- ❖ SINDERMANN H.; CROFT SL.; ENGEL KR.; BOMMER W.; EIBL HJ.; UNGER C.; ENGEL J. Miltefosine (Impavido): the first oral treatment against leishmaniasis. *Med Microbiol Immunol*; 193(4), p. 173-80, 2004.

- ❖ SINDERMANN, H., ENGEL, J. Development of miltefosine as an oral treatment for leishmaniasis. *Trans. Royal Soc. of Trop. Med. & Hygiene*, p. 517-520, 2006.
- ❖ SOGORB, M. A., VILANOVA, E. Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis. *toxicology Letters (Shannon)*, v. 128, p. 215-228, 2002.
- ❖ TAVARES, W. Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos, Atheneu: Belo Horizonte, 1996.
- ❖ 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. Ltd.* 1st Ed. *London*, p. 79, 1974.
- ❖ TODD, A.R.; ATHERTON, F.R. Studies on phosphorylation. Part III. Further observations on the reaction of phosphites with polyhalogen compounds in presence of bases and its application to the phosphorylation of alcohols. *Journal of the Chemical Society*, p.674, 1947.
- ❖ TODD, A.R.; ATHERTON, F.R.; HOWARD, H.T. Studies on Phosphorylation. Part IV. Further Studies on the Use of dibenzyl chlorophosphonate and the Examination of Certain Alternative Phosphorylation Methods. *Journal of the Chemical Society*. p.1106, 1948.
- ❖ TODD, A.R.; ATHERTON, F.R.; OPENSHAW, H.T. Studies on phosphorylation. Part II. The reaction of dialkyl phosphites with polyhalogen compounds in presence of bases. A new method for the phosphorylation of amines. *Journal of the Chemical Society*, p.660, 1945.
- ❖ TOY, A.D.F., Phosphorus Chemistry in Everyday Living. *Am. Chem. Soc. USA*. 2nd Ed., p.154-155, 1977.
- ❖ VOGEL, A.I. Análise Orgânica Qualitativa, Ao Livro Técnico S.A., RJ, 1981.
- ❖ WATSON, J.T. Introduction to Mass Spectrometry. *Lippincott-Raven*. New York. 3^a Edição. 1997.
- ❖ WHO. The World Health Report, 2000 & 2002 (World Health Organization, Geneva, 2002). Disponível em: <http://www.who.int/whr/2002/annex/en/> (acessado em: 16/05/2013).
- ❖ WORLD HEALTH ORGANIZATION. Leishmaniasis: the global trend; 2009. Disponível em:

<http://www.who.int/neglected_diseases/integrated_media_Leishmaniasis/en/index.html>
(acessado em: 12/05/ 2013).

- ❖ YAMEY, G.; TORREELE, E. the world's most neglected diseases. *British Medical Journal* . v. 325, p. 176-177, 2002.
- ❖ YASSER M. S. A. AL-KAHRAMAN; MASOOM YASINZAI; GIRIJA S. SINGH; Evaluation of Some Classical Hydrazones of Ketones and 1,2-Diketones as Antileishmanial, Antibacterial and Antifungal Agents. *Arch Pharm Res*, v 35, n 6, p 1009-1013, 2012.
- ❖ YUDELEVICH, V.I.; KOMAROV, E.V.; IONIN, B.I. Organophosphorus Drugs. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. v. 19, n. 6, p. 382-397, 1986.
- ❖ 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-(diisopropyloxyphosphoryl) Amino Acids and Peptides. *Synthesis*. v. 6, p. 444, 1988.
- ❖ ZIMMERMAN, M. Ethical guidelines for investigation of experimental pain in conscious animals. *Journal of Pain*, v.16, p. 109-10, 1983.

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Tese de Doutorado

**Síntese, Caracterização e Avaliação da Atividade Leishmanicida
de novas Dialquilfosforilidrazonas Derivadas de Aldeídos
Piridínicos.**

Volume II

Vinícius Tomaz Gonçalves

2014

Anexo

Espectros de Infravermelho (Células de NaCl e Pastilhas de KBr), RMN-¹H [(500 MHz) – (DMSO-d₆)], RMN-¹³C [(500 MHz) – (DMSO-d₆)], RMN-³¹P [(500 MHz) – (DMSO-d₆)], HSQC [(500 MHz) – (DMSO-d₆)], HMBC [(400 MHz) – (DMSO-d₆)], NOEDIF [(400 MHz) – (DMSO-d₆)] e massas.

Índice de Espectros

Espectro 1: Espectro de RMN- 1H do éster dietílico, <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (1).	1
Espectro 2: Espectro de RMN- 31P do éster dietílico, <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (1).	2
Espectro 3: Espectro de RMN- 13C do éster dietílico, <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (1).	3
Espectro 4: Espectro de IV do éster dietílico, <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (1).	4
Espectro 5: Espectro de massas do éster dietílico, <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (1).	5
Espectro 6: Espectro de RMN- 1H do éster dibutílico, <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (2).	6
Espectro 7: Espectro de RMN- 31P do éster dibutílico, <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (2).	7
Espectro 8: Espectro de RMN- 13C do éster dibutílico, <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (2).	8
Espectro 9: Espectro de IV do éster dibutílico, <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (2).	9
Espectro 10: Espectro de massas do éster dibutílico, <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (2).	10
Espectro 11: Espectro de RMN- 1H do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (3).	11
Espectro 12: Espectro de RMN- 31P do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (3).	12
Espectro 13: Espectro de RMN- 13C do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (3).	13
Espectro 14: Espectro de IV do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (3).	14

Espectro 15: Espectro de massas do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (3).	15
Espectro 16: Espectro de RMN- 1H do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (4).	16
Espectro 17: Espectro de RMN- 31P do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (4).	17
Espectro 18: Espectro de RMN- 13C do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (4).	18
Espectro 19: Espectro de IV do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (4).	19
Espectro 20: Espectro de massas do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (4).	20
Espectro 21: Espectro de RMN- 1H do éster dietílico, <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (5).	21
Espectro 22: Espectro de RMN- 31P do éster dietílico, <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (5).	22
Espectro 23: Espectro de RMN- 13C do éster dietílico, <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (5).	23
Espectro 24: Espectro de IV do éster dietílico, <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (5).	24
Espectro 25: Espectro de massas do éster dietílico, <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (5).	25
Espectro 26: Espectro de RMN- 1H do éster dibutílico, <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (6).	26
Espectro 27: Espectro de RMN- 31P do éster dibutílico, <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (6).	27
Espectro 28: Espectro de RMN- 13C do éster dibutílico, <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (6).	28
Espectro 29: Espectro de IV do éster dibutílico, <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (6).	29
Espectro 30: Espectro de massas do éster dibutílico, <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (6).	30

Espectro 31: Espectro de RMN- 1H do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (7).	31
Espectro 32: Espectro de RMN- 31P do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (7).	32
Espectro 33: Espectro de RMN- 13C do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (7).	33
Espectro 34: Espectro de IV do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (7).	34
Espectro 35: Espectro de massas do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (7).	35
Espectro 36: Espectro de RMN- 1H do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (8).	36
Espectro 37: Espectro de RMN- 31P do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (8).	37
Espectro 38: Espectro de RMN- 13C do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (8).	38
Espectro 39: Espectro de IV do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (8).	39
Espectro 40: Espectro de massas do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (8).	40
Espectro 41: Espectro de HSQC do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (8).	41
Espectro 42: Espectro de HMBC do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (8).	42
Espectro 43: Espectro de NOE do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (8).	43
Espectro 44: Espectro de RMN- 1H do éster dietílico, <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (9).	44
Espectro 45: Espectro de RMN- 31P do éster dietílico, <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (9).	45
Espectro 46: Espectro de RMN- 13C do éster dietílico, <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (9).	46

Espectro 47: Espectro de IV do éster dietílico, <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (9).	47
Espectro 48: Espectro de massas do éster dietílico, <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (9).	48
Espectro 49: Espectro de RMN- 1H do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (10).	49
Espectro 50: Espectro de RMN- 31P do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (10).	50
Espectro 51: Espectro de RMN- 13C do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (10).	51
Espectro 52: Espectro de IV do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (10).	52
Espectro 53: Espectro de massas do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (10).	53
Espectro 54: Espectro de HSQC do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (10).	54
Espectro 55: Espectro de HMBC do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (10).	55
Espectro 56: Espectro de HMBC expandido do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (10).	56
Espectro 57: Espectro de NOE do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (10).	57
Espectro 58: Espectro de RMN- 1H do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (11).	58
Espectro 59: Espectro de RMN- 31P do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (11).	59
Espectro 60: Espectro de RMN- 13C do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (11).	60
Espectro 61: Espectro de IV do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (11).	61
Espectro 62: Espectro de massas do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (11).	62

Espectro 63: Espectro de RMN- 1H do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (12).	63
Espectro 64: Espectro de RMN- 31P do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (12).	64
Espectro 65: Espectro de RMN- 13C do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (12).	65
Espectro 66: Espectro de IV do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (12).	66
Espectro 67: Espectro de massas do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (12).	67
Espectro 68: Espectro de RMN- 1H do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (13).	68
Espectro 69: Espectro de RMN- 31P do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (13).	69
Espectro 70: Espectro de RMN- 13C do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (13).	70
Espectro 71: Espectro de IV do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (13).	71
Espectro 72: Espectro de massas do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (13).	72
Espectro 73: Espectro de RMN- 1H do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (14).	73
Espectro 74: Espectro de RMN- 31P do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (14).	74
Espectro 75: Espectro de RMN- 13C do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (14).	75
Espectro 76: Espectro de IV do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (14).	76
Espectro 77: Espectro de massas do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (14).	77
Espectro 78: Espectro de RMN- 1H do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (15).	78

Espectro 79: Espectro de RMN- 31P do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (15).....	79
Espectro 80: Espectro de RMN- 13C do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (15).....	80
Espectro 81: Espectro de IV do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (15).	81
Espectro 82: Espectro de massas do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (15).	82
Espectro 83: Espectro de HSQC do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (15).	83
Espectro 84: Espectro de HMBC do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (15).	84
Espectro 85: Espectro de HMBC expandido do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (15).....	85
Espectro 86: Espectro de NOE do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (15).	86
Espectro 87: Espectro de 1H do éster di- <i>secbutílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (16).	87
Espectro 88: Espectro de 31P do éster di- <i>secbutílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (16).	88
Espectro 89: Espectro de 13C do éster di- <i>secbutílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (16).	89
Espectro 90: Espectro de IV do éster di- <i>secbutílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (16).	90
Espectro 91: Espectro de massas do éster di- <i>secbutílico</i> , <i>N'</i> - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (16).	91
Espectro 92: Espectro de RMN- 1H do éster dibutílico, <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (17).	92
Espectro 93: Espectro de RMN- 31P do éster dibutílico, <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (17).	93
Espectro 94: Espectro de RMN- 13C do éster dibutílico, <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (17).	94

Espectro 95: Espectro de IV do éster dibutílico, <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (17).	95
Espectro 96: Espectro de massas do éster dibutílico, <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (17).	96
Espectro 97: Espectro de RMN- 1H do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (18).....	97
Espectro 98: Espectro de RMN- 31P do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (18).....	98
Espectro 99: Espectro de RMN- 31C do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (18).....	99
Espectro 100: Espectro de IV do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (18).	100
Espectro 101: Espectro de massas do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (18).....	101
Espectro 102: Espectro de HSQC do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (18).....	102
Espectro 103: Espectro de HMBC do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (18).....	103
Espectro 104: Espectro de NOE do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (18).	104
Espectro 105: Espectro de RMN- 1H do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (19).....	105
Espectro 106: Espectro de RMN- 31P do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (19).....	106
Espectro 107: Espectro de RMN- 13C do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (19).....	107
Espectro 108: Espectro de IV do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (19).	108
Espectro 109: Espectro de massas do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (19).	109
Espectro 110: Espectro de 1H do éster di- <i>secbutílico</i> , <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (20).	110

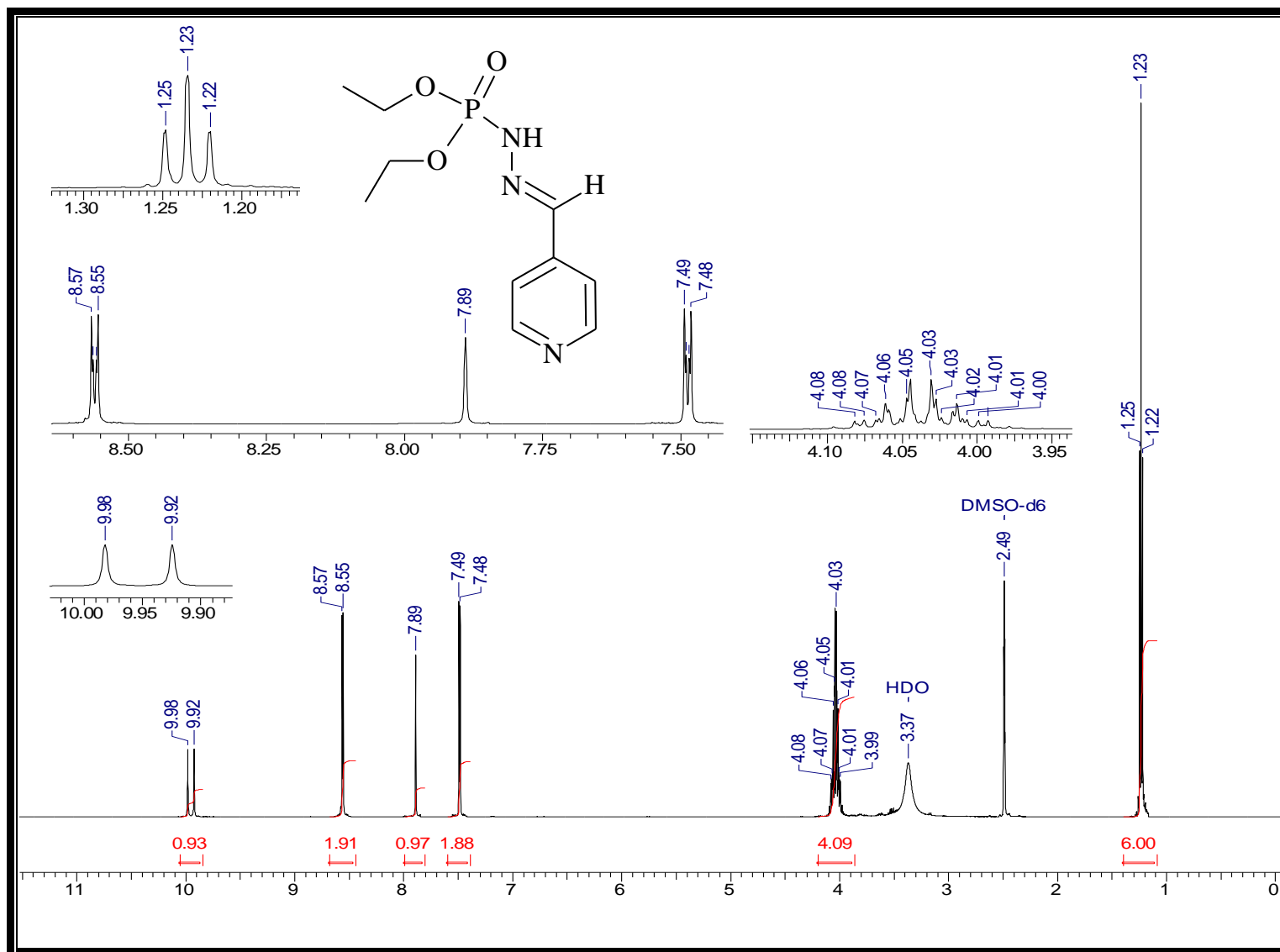
Espectro 111: Espectro de 31P do éster di- <i>sec</i> butílico, <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (20).	111
Espectro 112: Espectro de 13C do éster di- <i>sec</i> butílico, <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (20).	112
Espectro 113: Espectro de IV do éster di- <i>sec</i> butílico, <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (20).	113
Espectro 114: Espectro de massas do éster di- <i>sec</i> butílico, <i>N'</i> - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (20).	114
Espectro 115: Espectro de RMN- 1H do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (20).	115
Espectro 116: Espectro de RMN- 31P do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (20).	116
Espectro 117: Espectro de RMN- 31C do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (21).....	117
Espectro 118: Espectro de IV do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (21).	118
Espectro 119: Espectro de massas do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (21).	119
Espectro 120: Espectro de HSQC do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (21).	120
Espectro 121: Espectro de HMBC do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (21).	121
Espectro 122: Espectro de HMBC expandido do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (21).....	122
Espectro 123: Espectro de NOE do éster dibutílico, <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (21).	123
Espectro 124: Espectro de RMN- 1H do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (22).....	124
Espectro 125: Espectro de RMN- 31P do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (22).....	125
Espectro 126: Espectro de RMN- 13C do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (22).....	126

Espectro 127: Espectro de IV do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (22).	127
Espectro 128: Espectro de massas do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (22).....	128
Espectro 129: Espectro de RMN- 1H do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (23).....	129
Espectro 130: Espectro de RMN- 31P do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (23).....	130
Espectro 131: Espectro de RMN- 13C do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (23).....	131
Espectro 132: Espectro de IV do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (23).	132
Espectro 133: Espectro de massas do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (23).	133
Espectro 134: Espectro de RMN- 1H do éster di- <i>secbutílico</i> , <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (24).....	134
Espectro 135: Espectro de RMN- 31P do éster di- <i>secbutílico</i> , <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (24).....	135
Espectro 136: Espectro de RMN- 13C do éster di- <i>secbutílico</i> , <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (24).....	136
Espectro 137: Espectro de IV do éster di- <i>secbutílico</i> , <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (24).	137
Espectro 138: Espectro de massas do éster di- <i>secbutílico</i> , <i>N'</i> - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (24).	138
Espectro 139: Espectro de RMN- 1H do éster dibutílico, <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (25).	139
Espectro 140: Espectro de RMN- 31P do éster dibutílico, <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (25).	140
Espectro 141: Espectro de RMN- 13C do éster dibutílico, <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (25).	141
Espectro 142: Espectro de IV do éster dibutílico, <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (25).	142

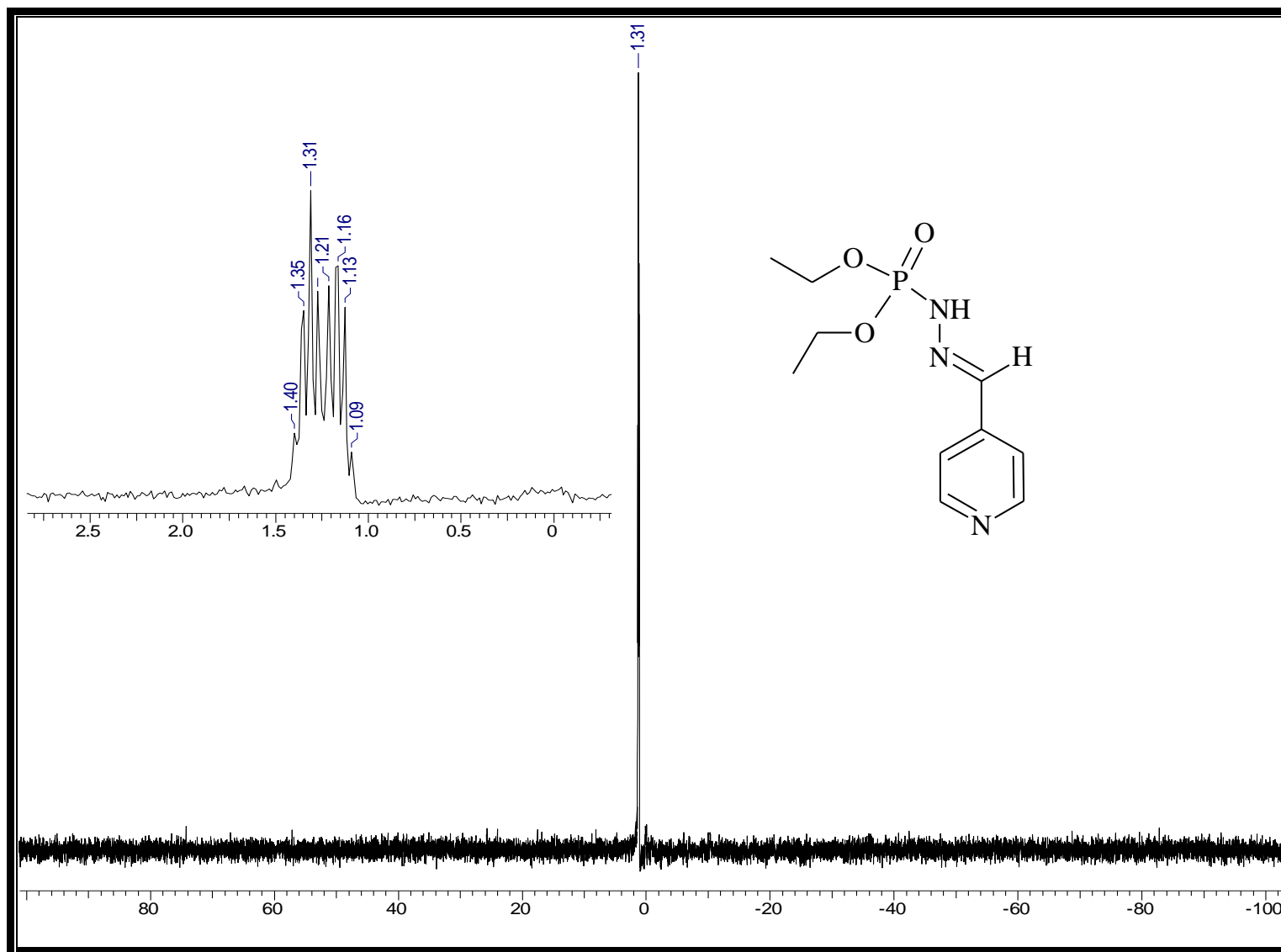
Espectro 143: Espectro de massas do éster dibutílico, <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (25).	143
Espectro 144: Espectro de RMN- 1H do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (26).....	144
Espectro 145: Espectro de RMN- 31P do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (26).....	145
Espectro 146: Espectro de RMN- 13C do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (26).....	146
Espectro 147: Espectro de IV do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (26).	147
Espectro 148: Espectro de massas do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (26).	148
Espectro 149: Espectro de HSQC do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (26).	149
Espectro 150: Espectro de HMBC do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (26).	150
Espectro 151: Espectro de NOE do éster di- <i>isopropílico</i> , <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (26).	151
Espectro 152: Espectro de RMN- 1H do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (27).....	152
Espectro 153: Espectro de RMN- 31P do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (27).....	153
Espectro 154: Espectro de RMN- 13C do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (27).....	154
Espectro 155: Espectro de IV do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (27).	155
Espectro 156: Espectro de massas do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (27).	156
Espectro 157: Espectro de 1H do éster di- <i>secbutílico</i> , <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (28).	157
Espectro 158: Espectro de 31P do éster di- <i>secbutílico</i> , <i>N'</i> - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (28).	158

Espectro 159: Espectro de ^{13}C do éster di- <i>sec</i> butílico, N' - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (28).	159
Espectro 160: Espectro de IV do éster di- <i>sec</i> butílico, N' - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (28).	160
Espectro 161: Espectro de massas do éster di- <i>sec</i> butílico, N' - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (28).	161
Espectro 162: Espectro de RMN- ^1H do éster dibutílico, N' - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (29).....	162
Espectro 163: Espectro de RMN- ^{31}P do éster dibutílico, N' - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (29).....	163
Espectro 164: Espectro de RMN- ^{13}C do éster dibutílico, N' - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (29).....	164
Espectro 165: Espectro de IV do éster dibutílico, N' - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (29).	165
Espectro 166: Espectro de massas do éster dibutílico, N' - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (29).	166
Espectro 167: Espectro de RMN- ^1H do éster di- <i>isopropílico</i> , N' - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (30).....	167
Espectro 168: Espectro de RMN- ^{31}P do éster di- <i>isopropílico</i> , N' - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (30).....	168
Espectro 169: Espectro de RMN- ^{13}C do éster di- <i>isopropílico</i> , N' - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (30).....	169
Espectro 170: Espectro de IV do éster di- <i>isopropílico</i> , N' - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (30).	170
Espectro 171: Espectro de massas do éster di- <i>isopropílico</i> , N' - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (30).....	171
Espectro 172: Espectro de RMN- ^1H do éster di- <i>isobutílico</i> , N' - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (31).....	172
Espectro 173: Espectro de RMN- ^{31}P do éster di- <i>isobutílico</i> , N' - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (31).....	173
Espectro 174: Espectro de RMN- ^{13}C do éster di- <i>isobutílico</i> , N' - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (31).....	174

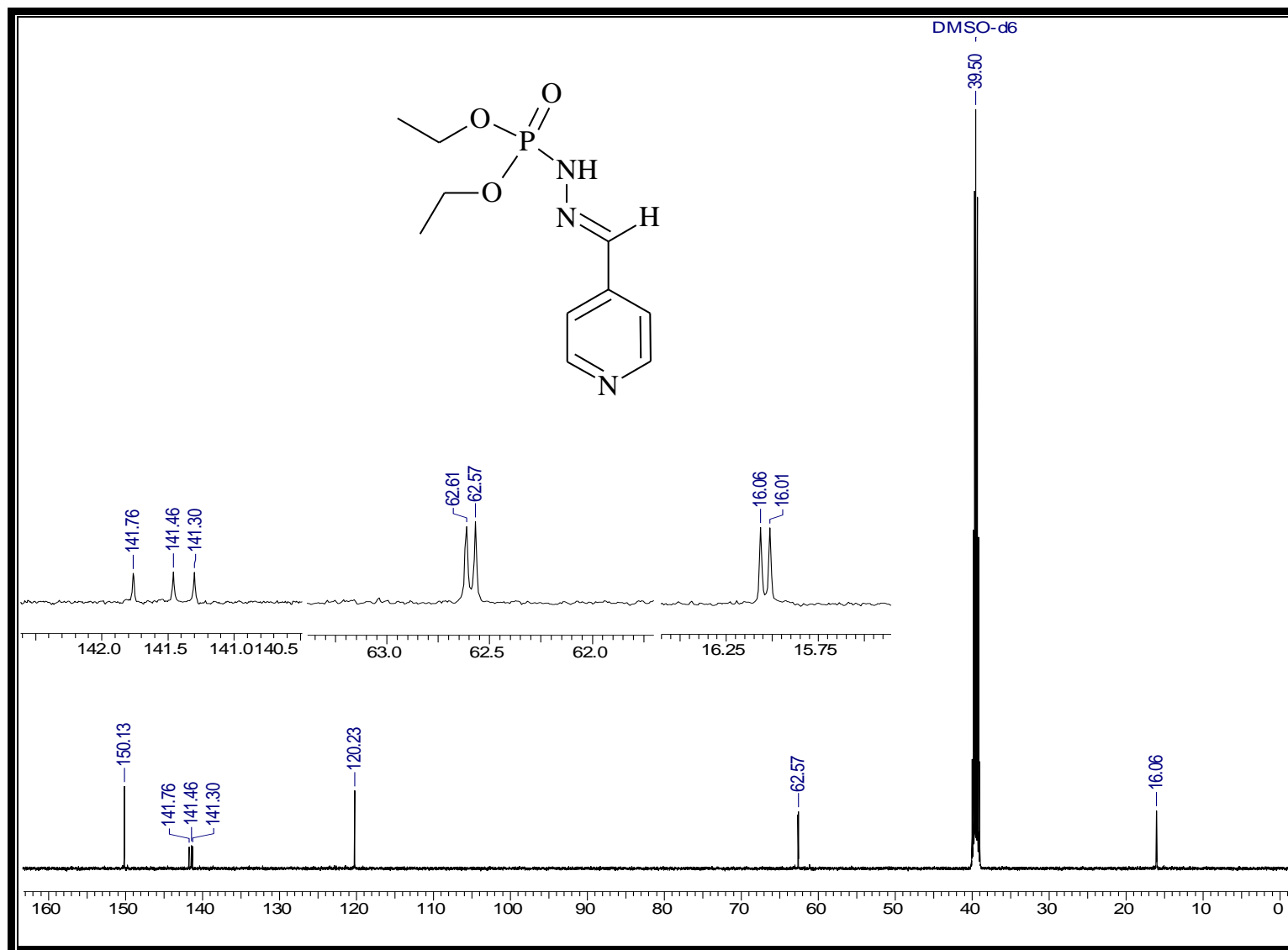
Espectro 175: Espectro de IV do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (31).	175
Espectro 176: Espectro de massas do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (31).....	176
Espectro 177: Espectro de HSQC do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (31).....	177
Espectro 178: Espectro de HMBC do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (31).....	178
Espectro 179: Espectro de HMBC expandido do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (31).....	179
Espectro 180: Espectro de NOE do éster di- <i>isobutílico</i> , <i>N'</i> - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (31).....	180
Espectro 181: Espectro de RMN- 1H do éster di- <i>secbutílico</i> , <i>N'</i> - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (32).....	181
Espectro 182: Espectro de RMN- 31P do éster di- <i>secbutílico</i> , <i>N'</i> - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (32).....	182
Espectro 183: Espectro de RMN- 13C do éster di- <i>secbutílico</i> , <i>N'</i> - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (32).....	183
Espectro 184: Espectro de IV do éster di- <i>secbutílico</i> , <i>N'</i> - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (32).	184



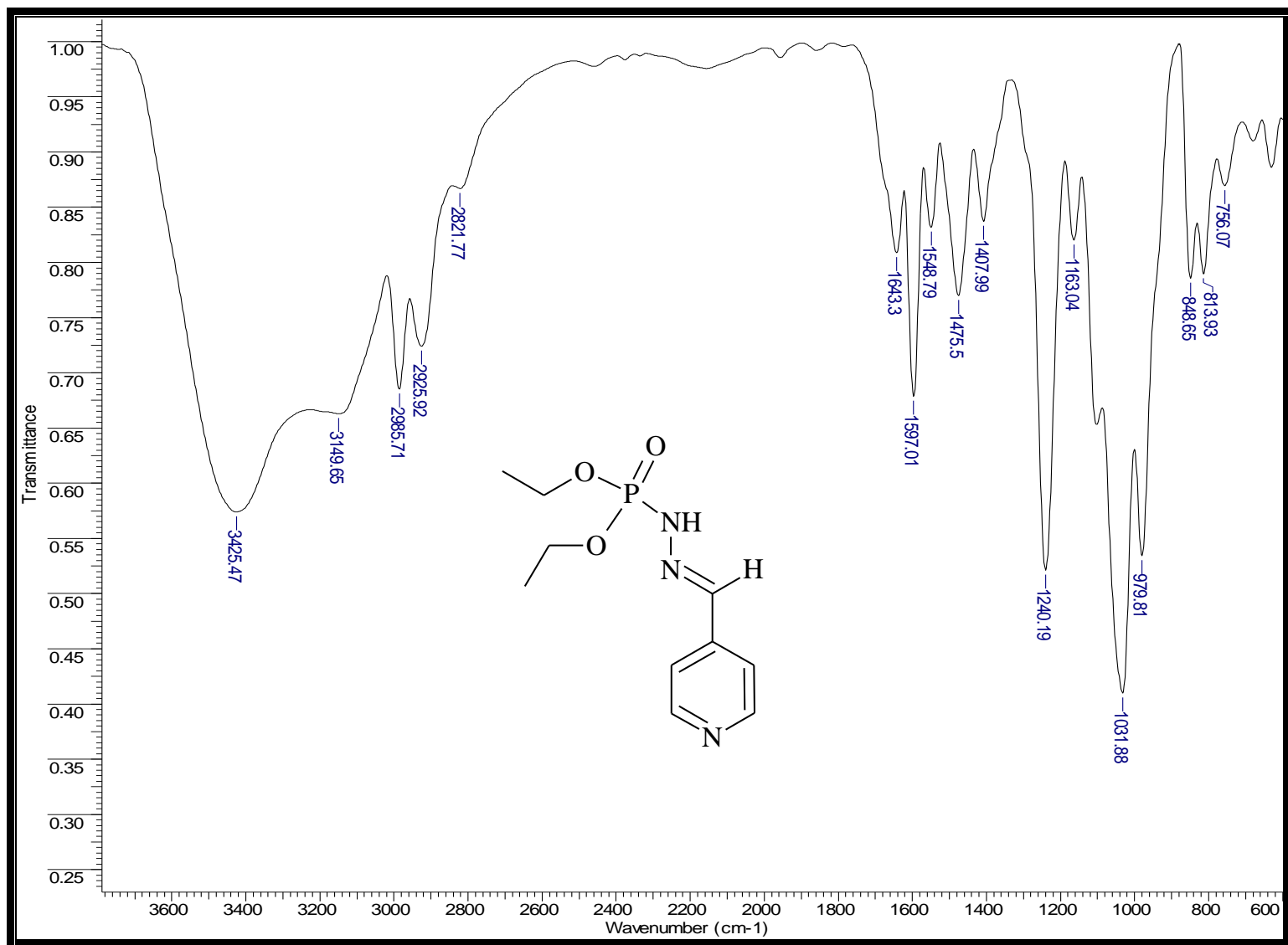
Espectro 1: Espectro de RMN- 1H do éster dietílico, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (1).



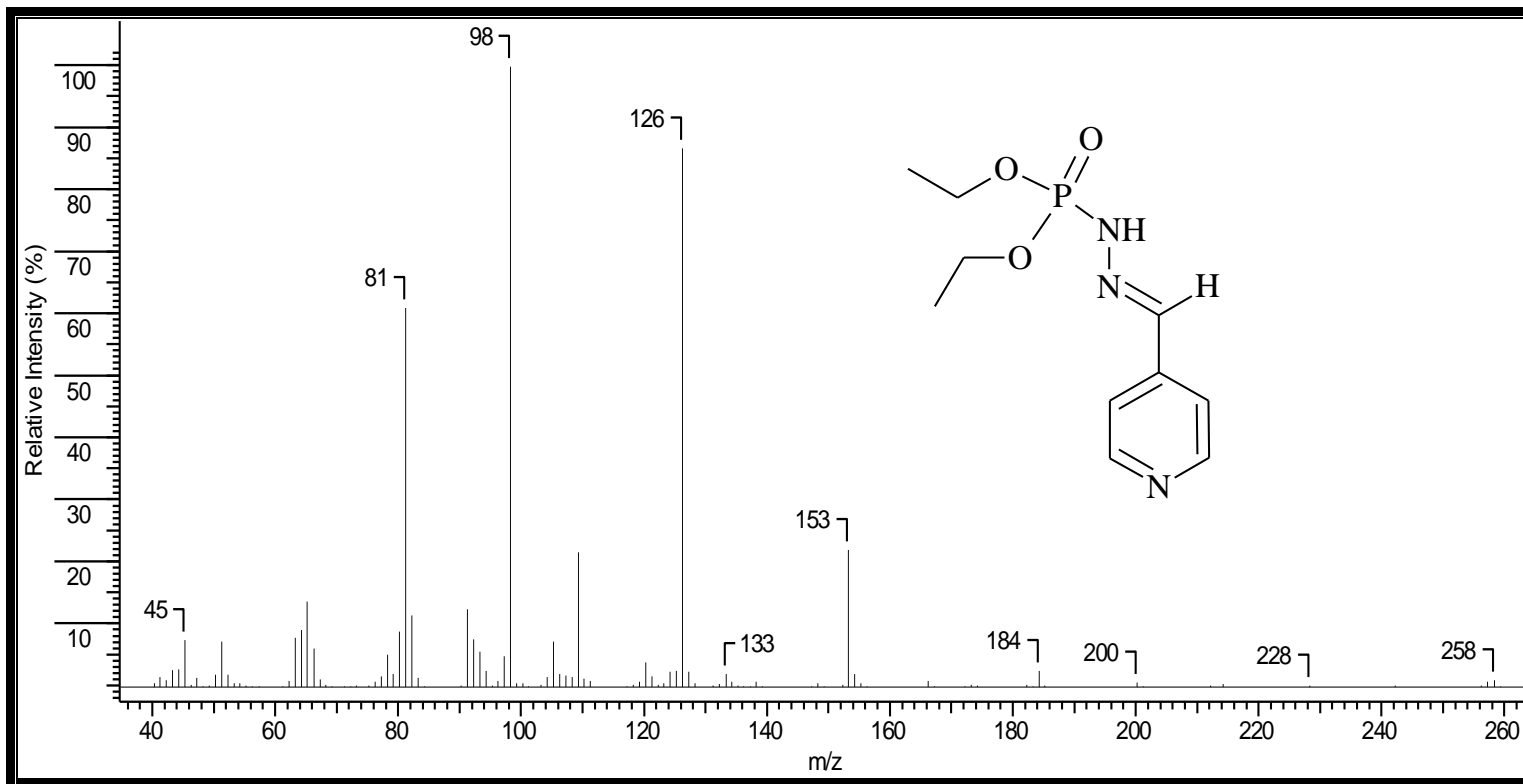
Espectro 2: Espectro de RMN- ^{31}P do éster dietílico, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (1).



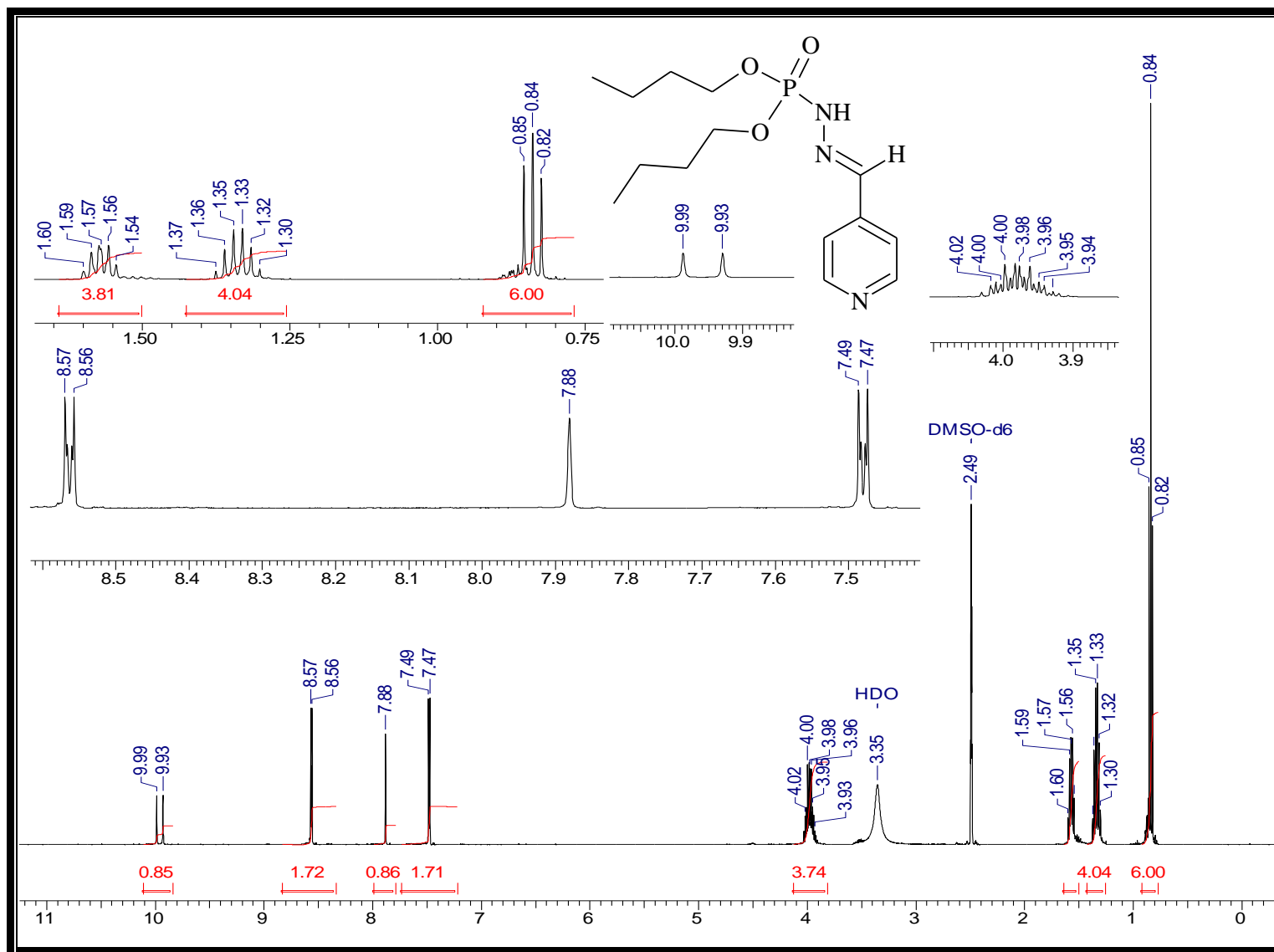
Espectro 3: Espectro de RMN- ¹³C do éster dietílico, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (1).



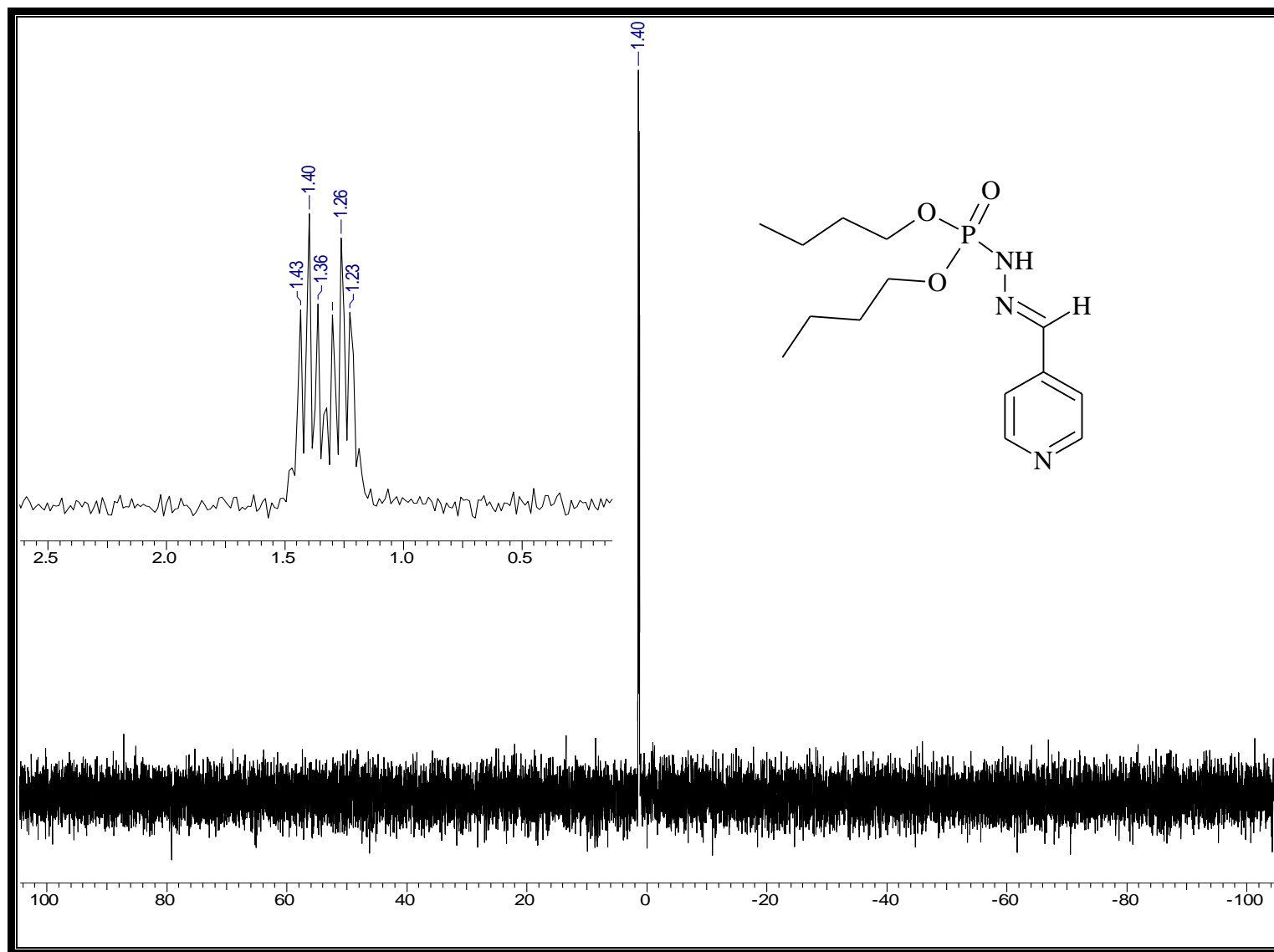
Espectro 4: Espectro de IV do éster dietílico, *N'*- [4-metilopiridina], do ácido fosforoidrazídico (1).



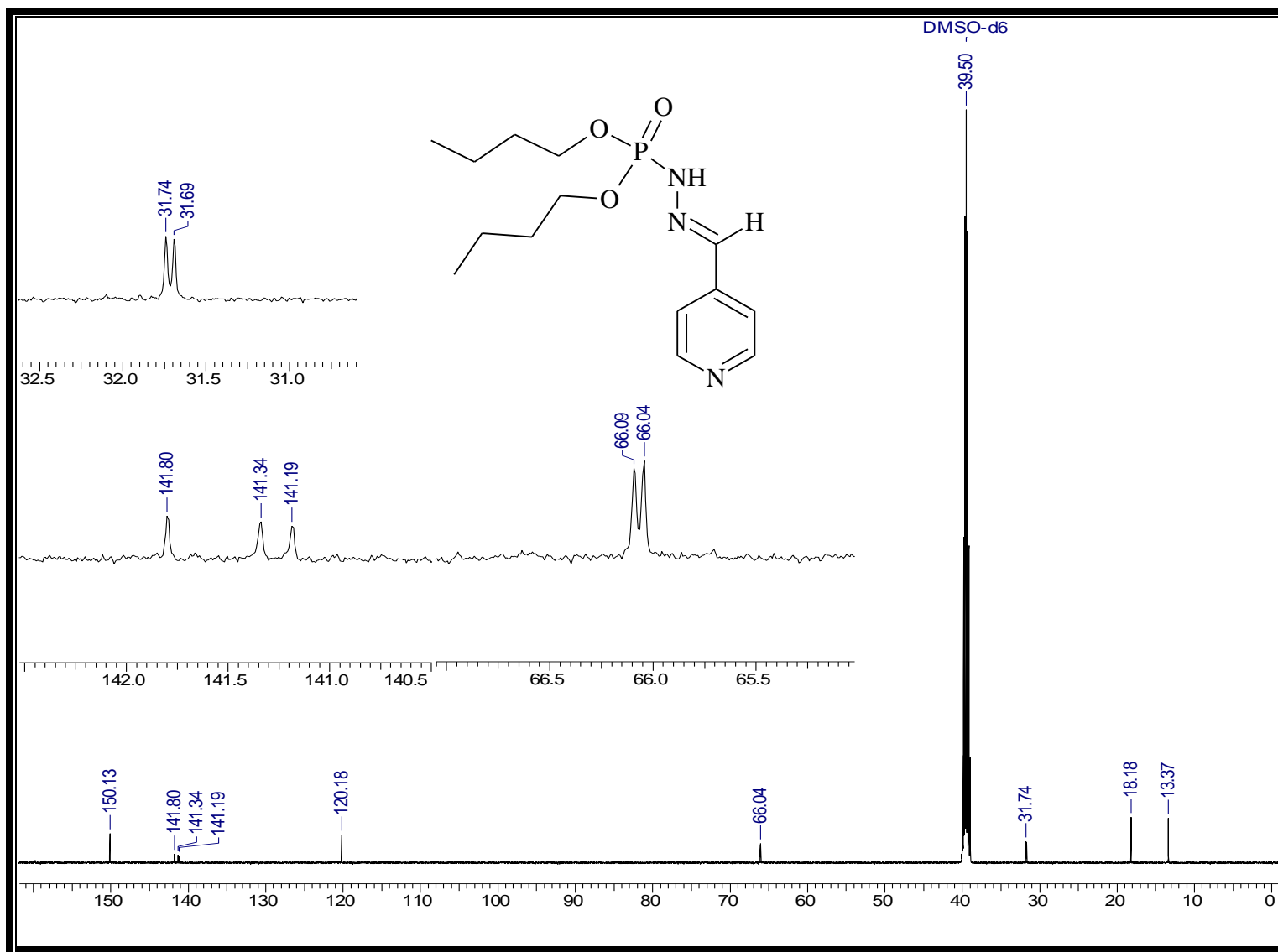
Espectro 5: Espectro de massas do éster dietílico, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (1).



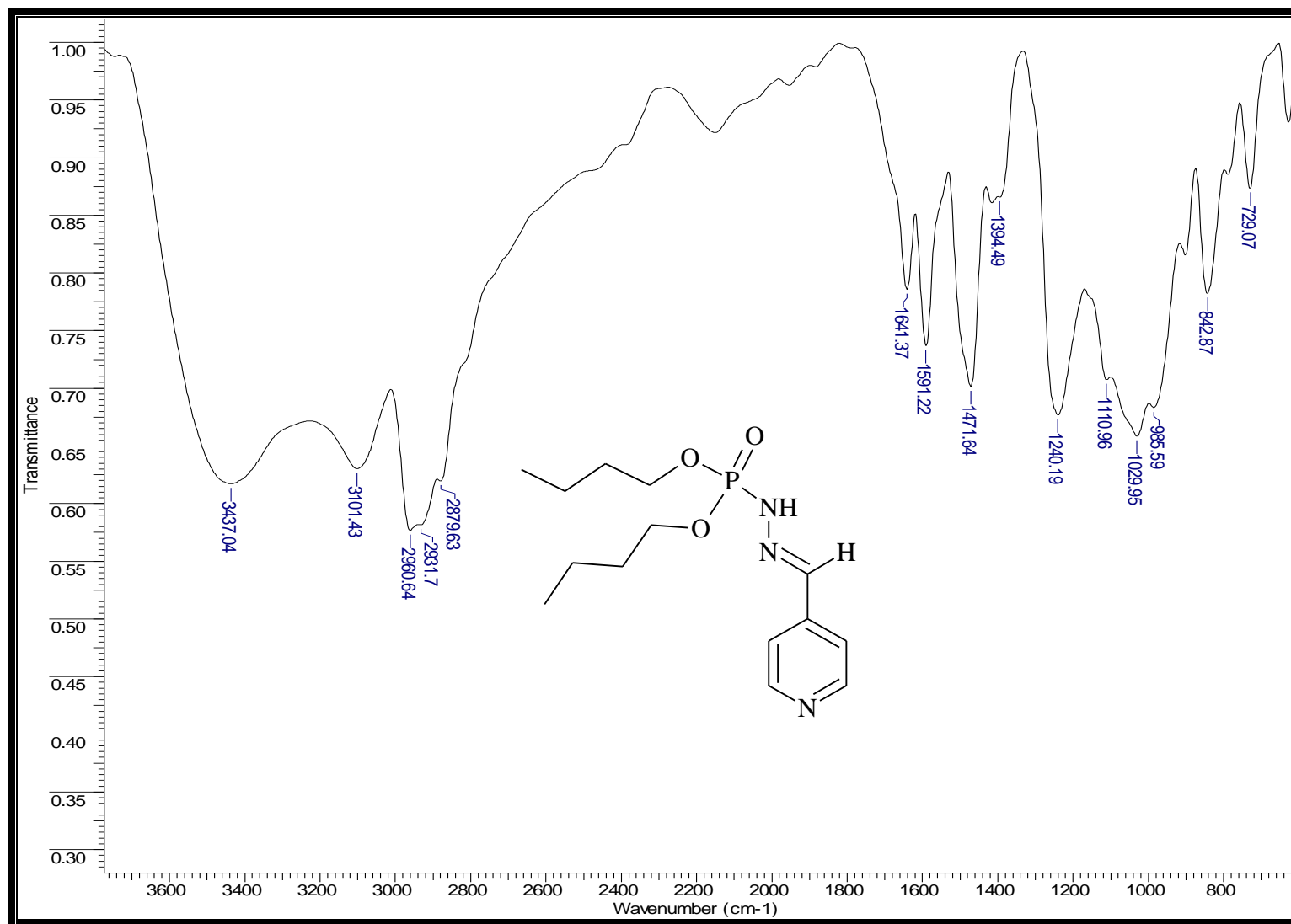
Espectro 6: Espectro de RMN- 1H do éster dibutílico, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (2).



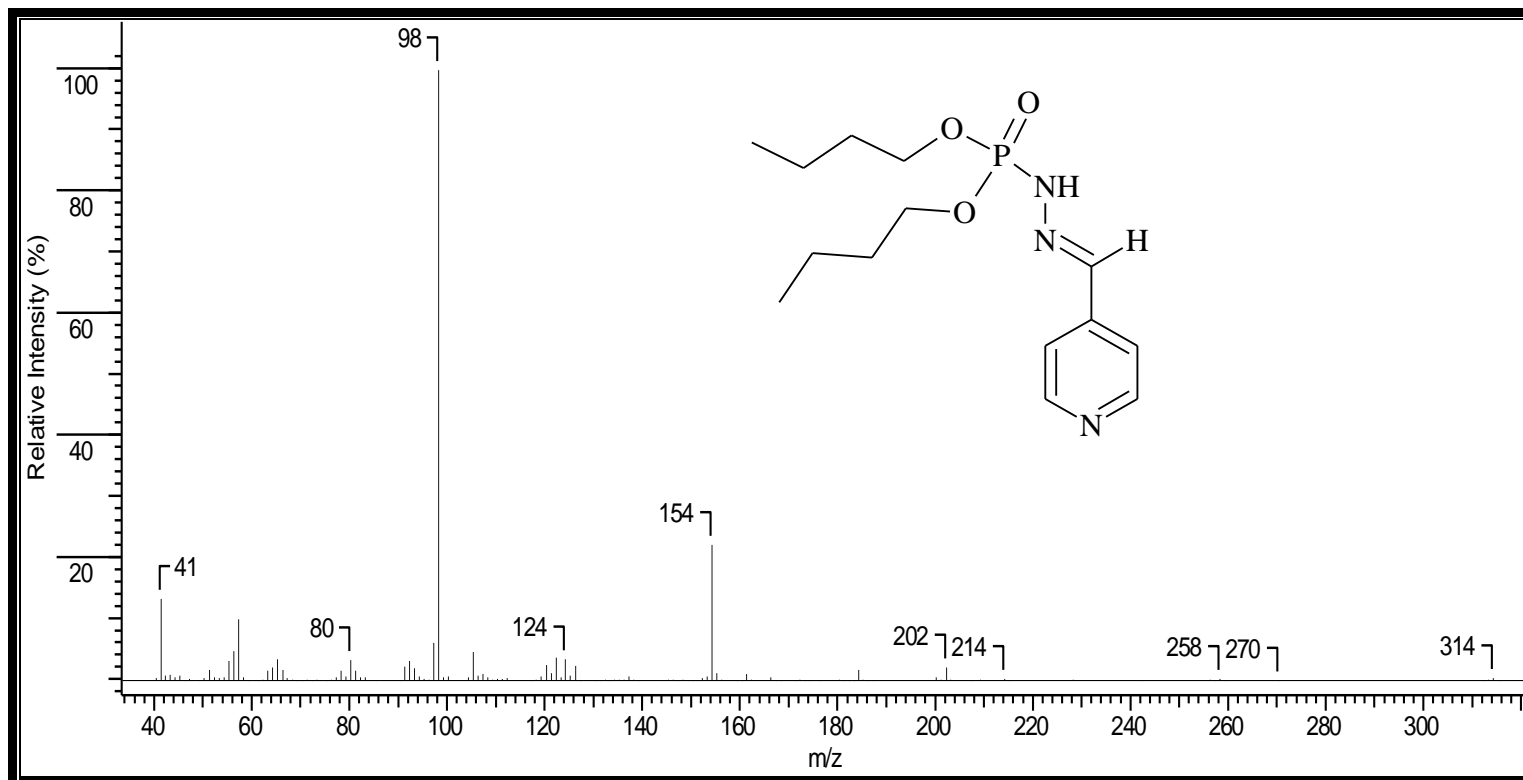
Espectro 7: Espectro de RMN- ^{31}P do éster dibutílico, N' - [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (2).



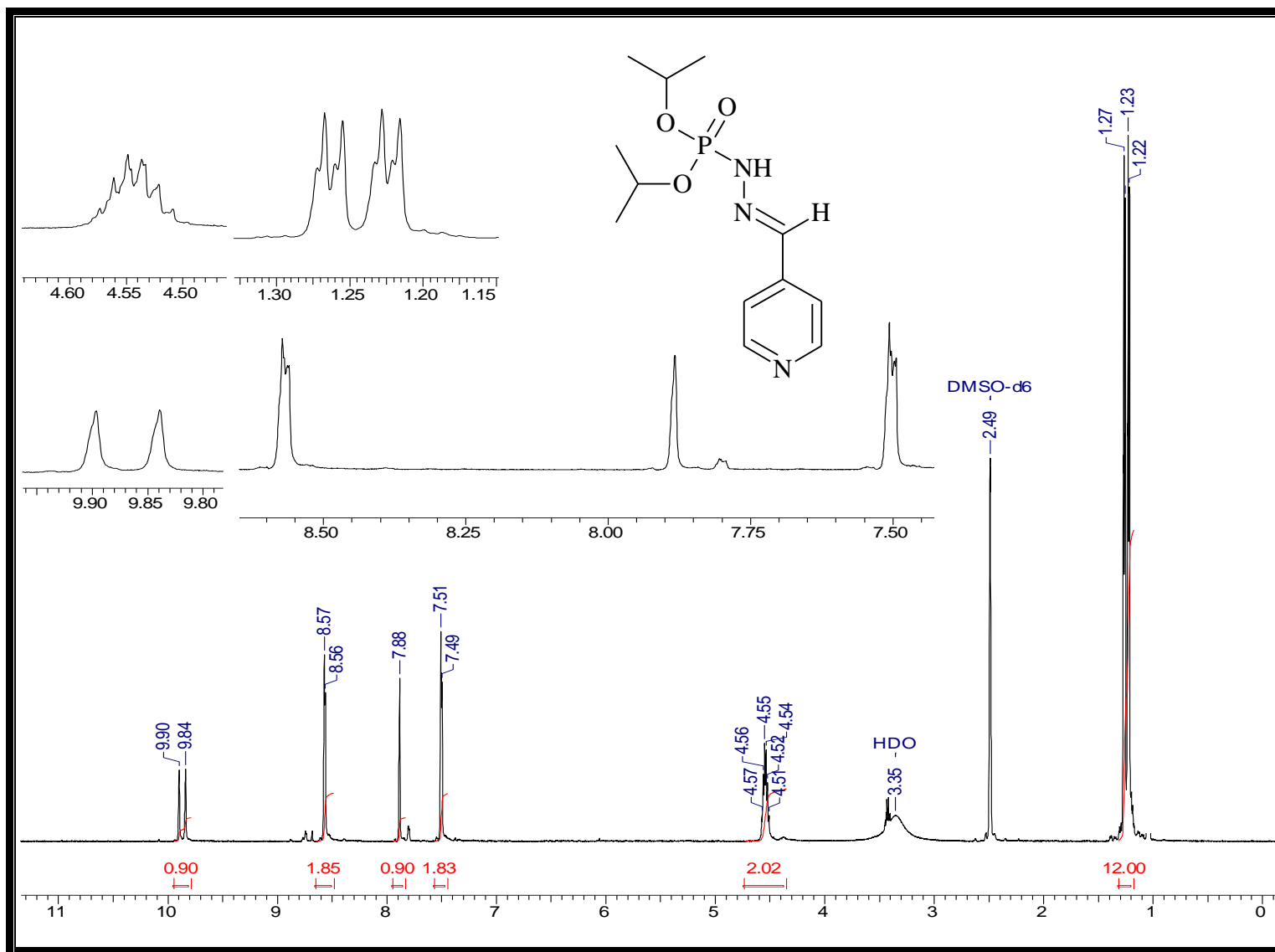
Espectro 8: Espectro de RMN- 13C do éster dibutílico, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (2).



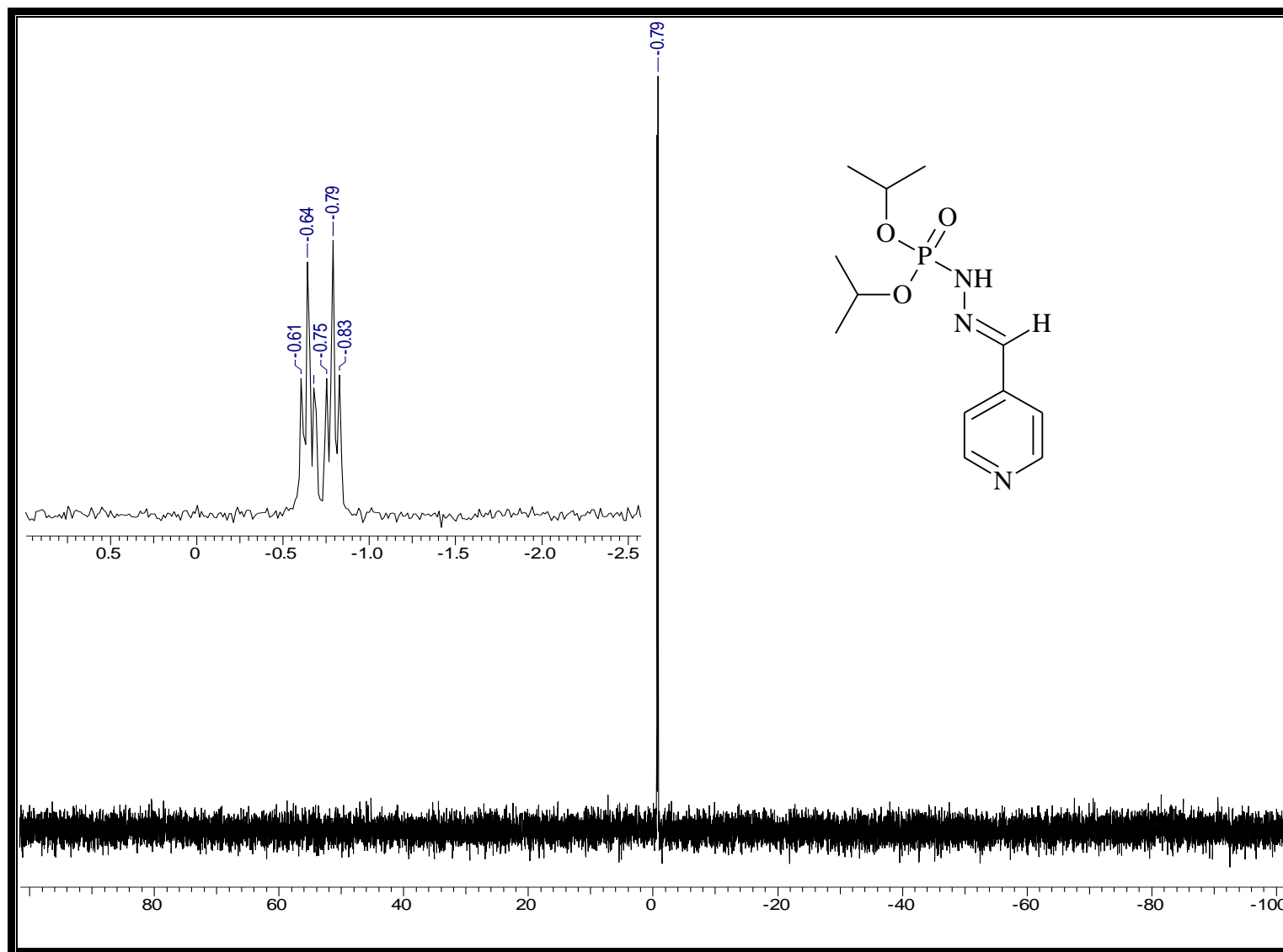
Espectro 9: Espectro de IV do éster dibutílico, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (2).



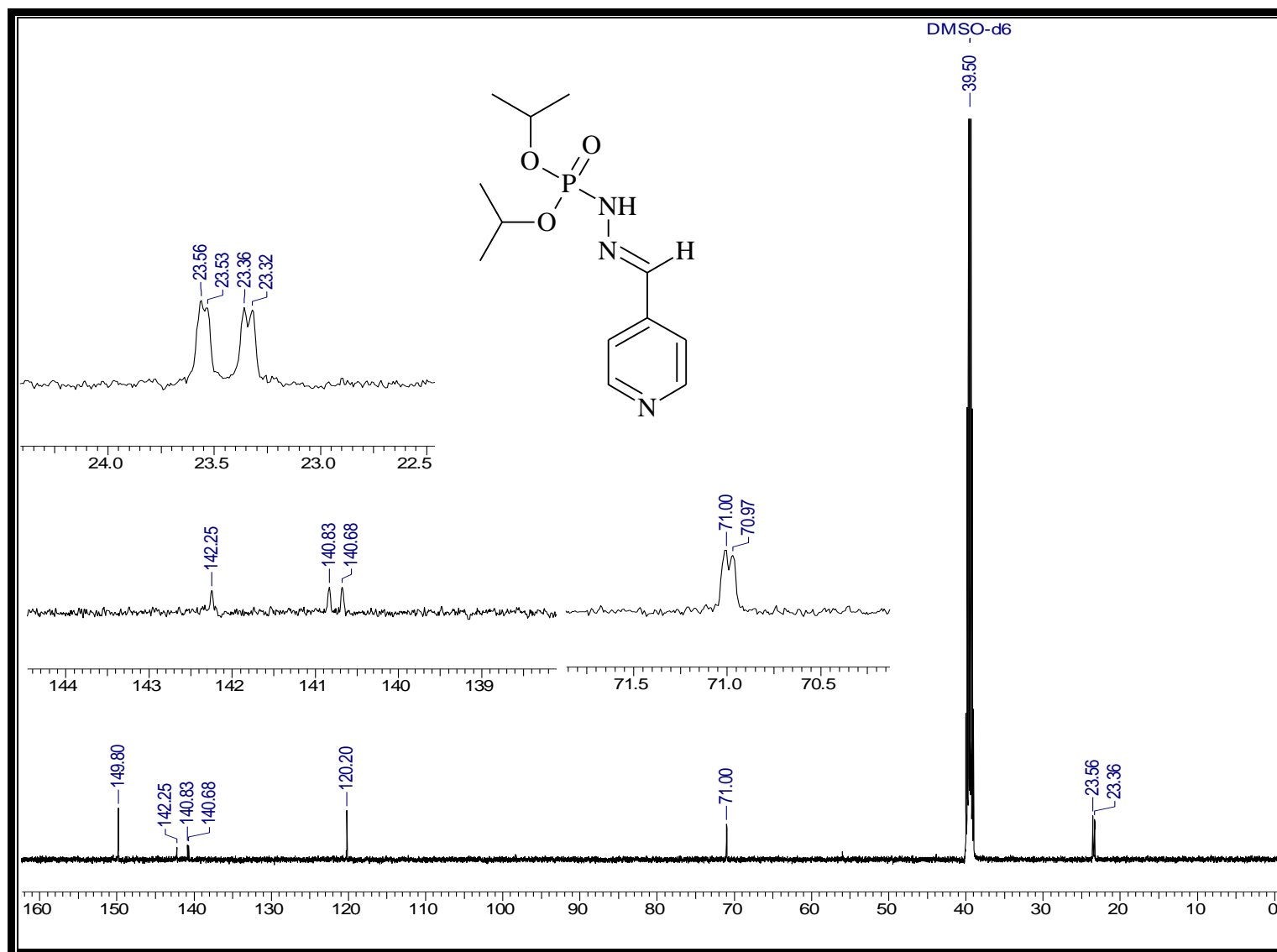
Espectro 10: Espectro de massas do éster dibutílico, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (2).



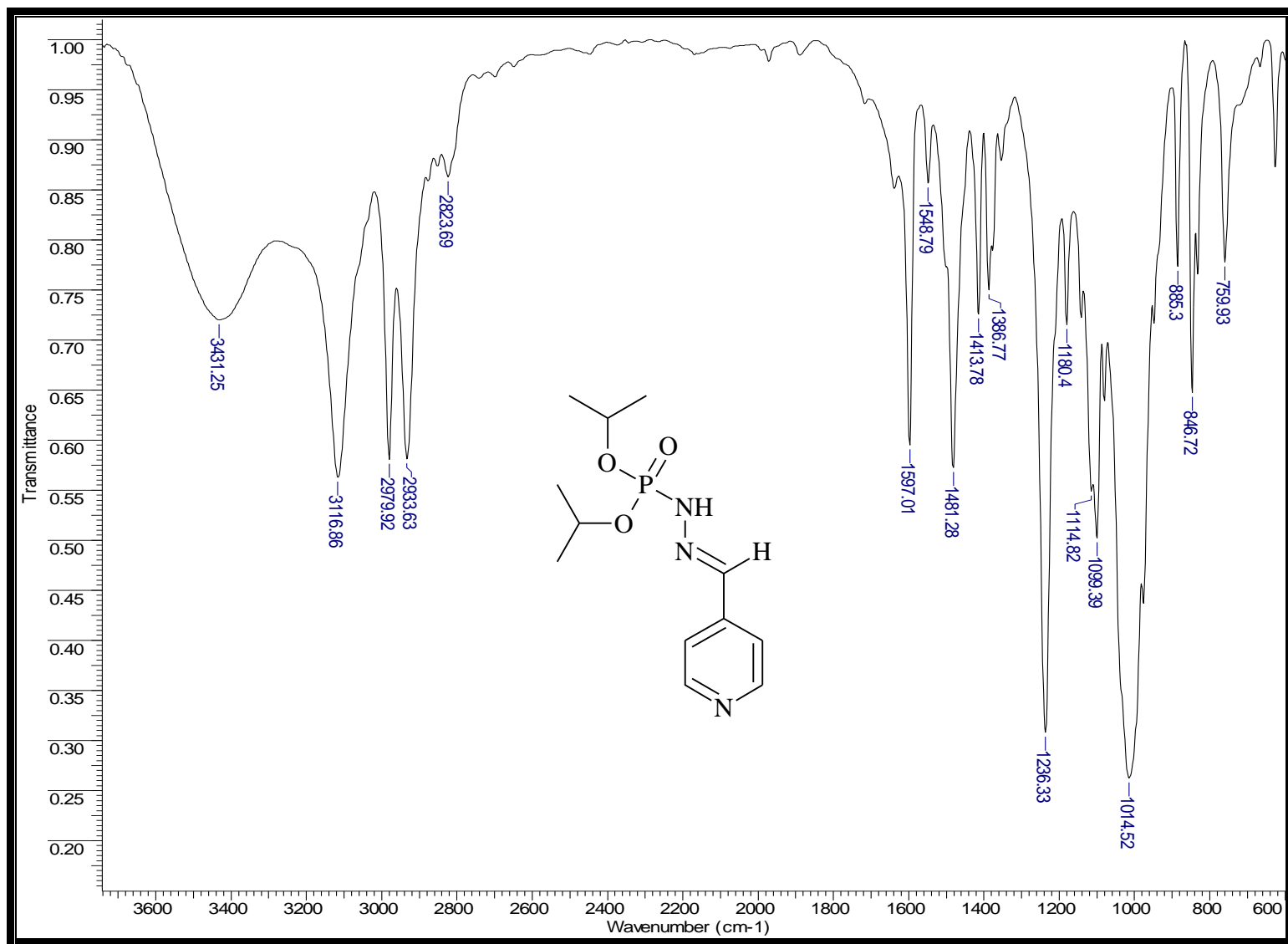
Espectro 11: Espectro de RMN- 1H do éster di-*isopropílico*, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (3).



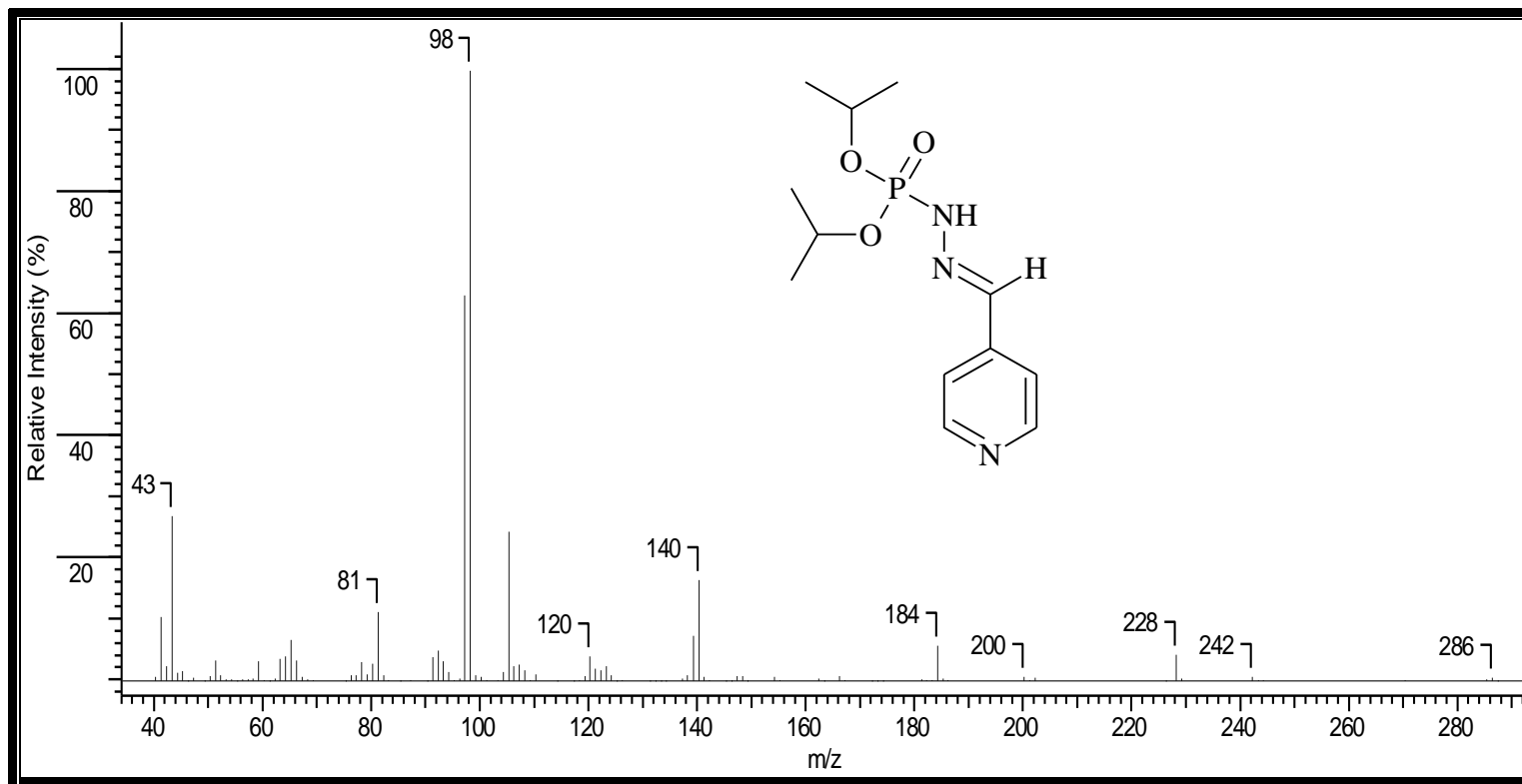
Espectro 12: Espectro de RMN- ³¹P do éster di-*isopropílico*, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (3).



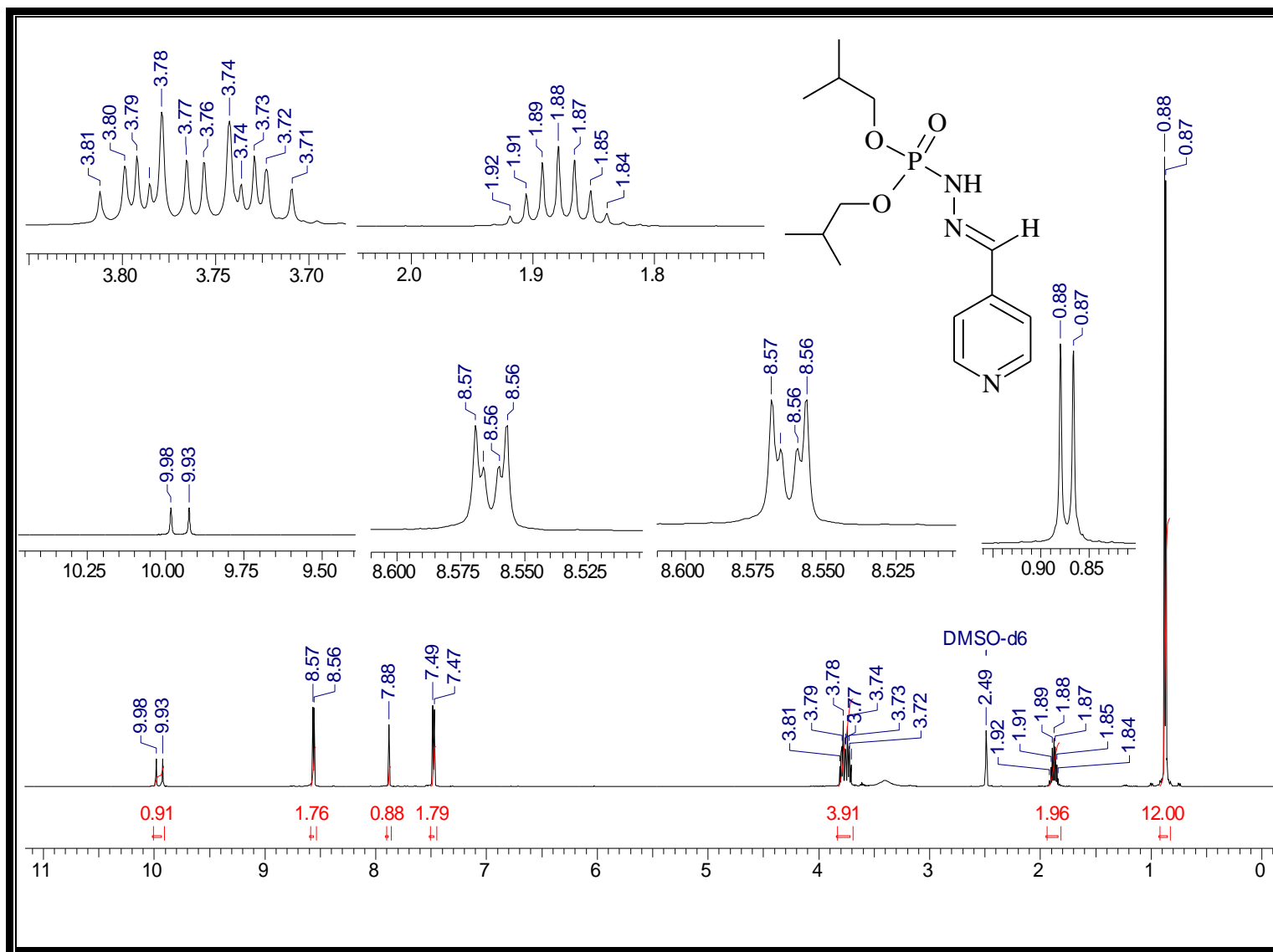
Espectro 13: Espectro de RMN- ¹³C do éster di-*isopropílico*, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (3).



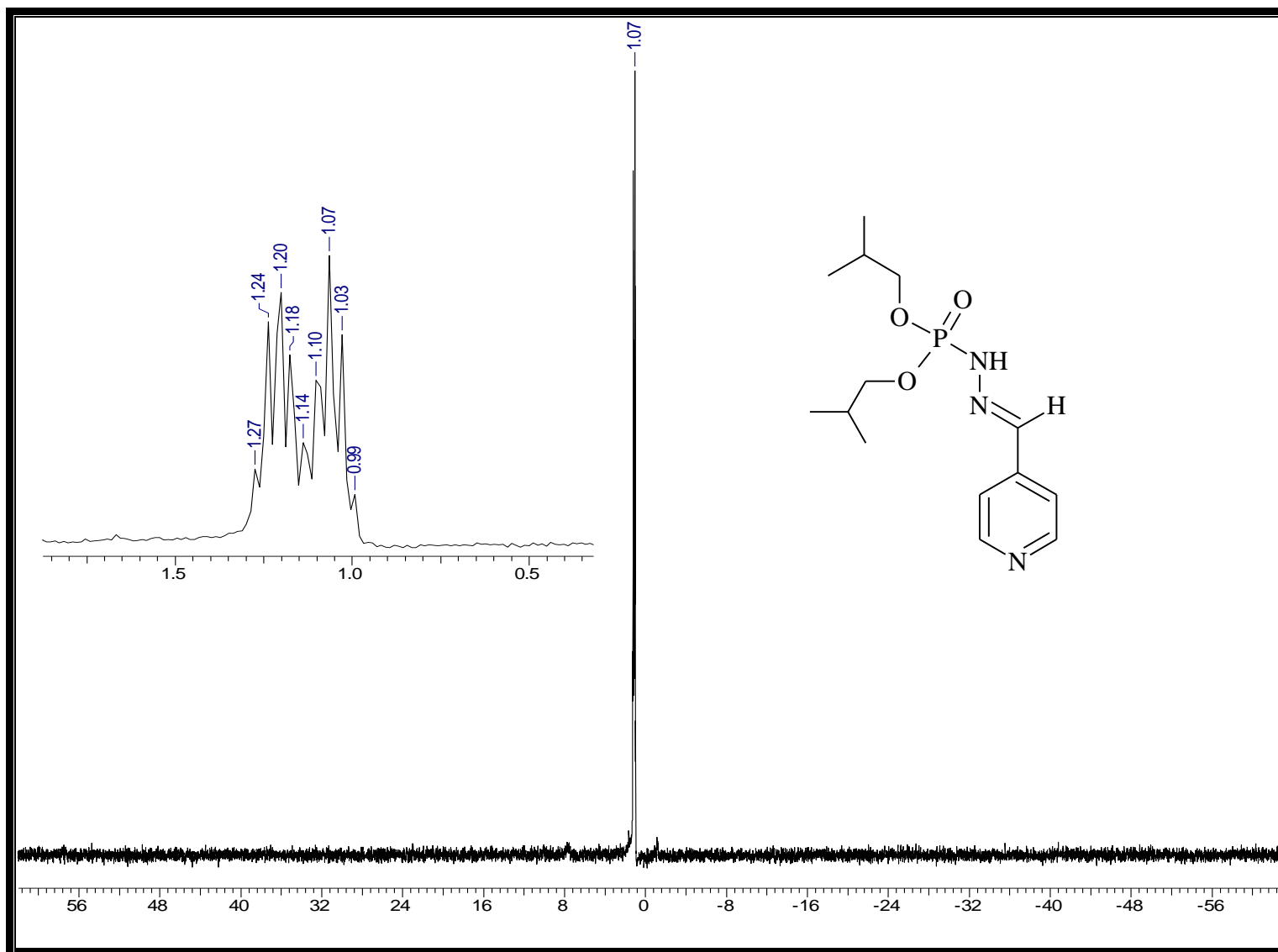
Espectro 14: Espectro de IV do éster di-*isopropílico*, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (3).



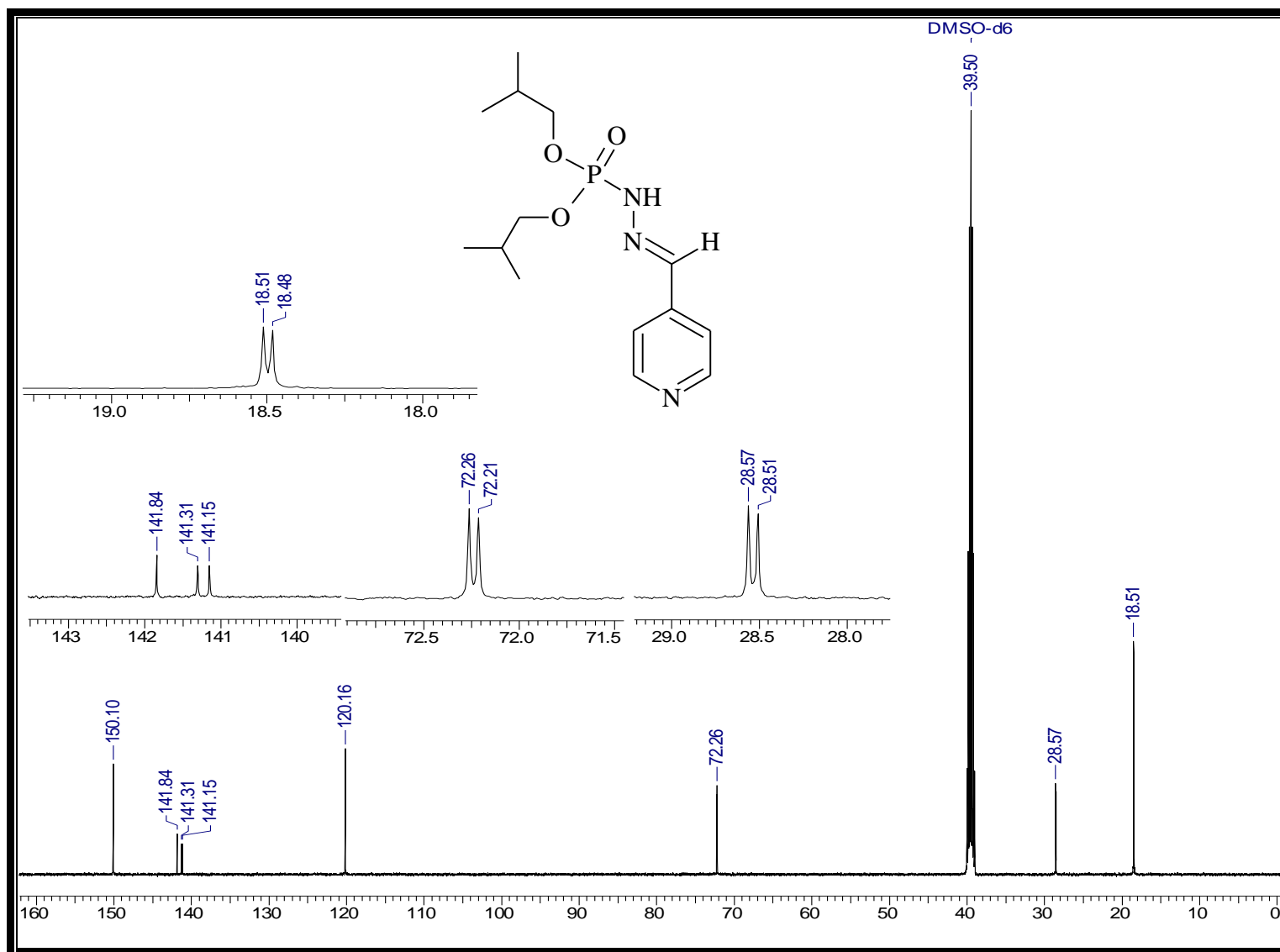
Espectro 15: Espectro de massas do éster di-*isopropílico*, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (3).



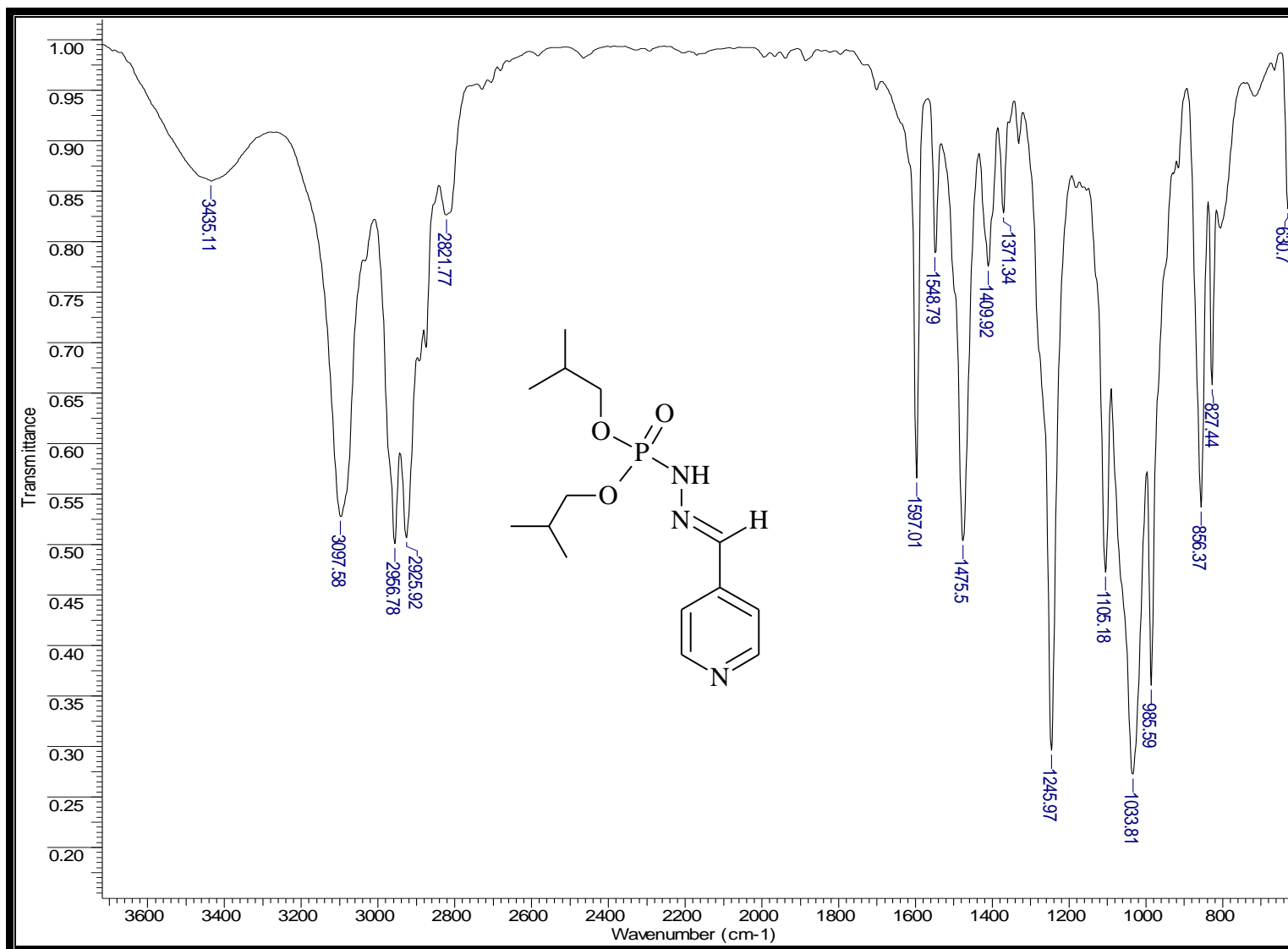
Espectro 16: Espectro de RMN- 1H do éster di-*isobutílico*, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (4).



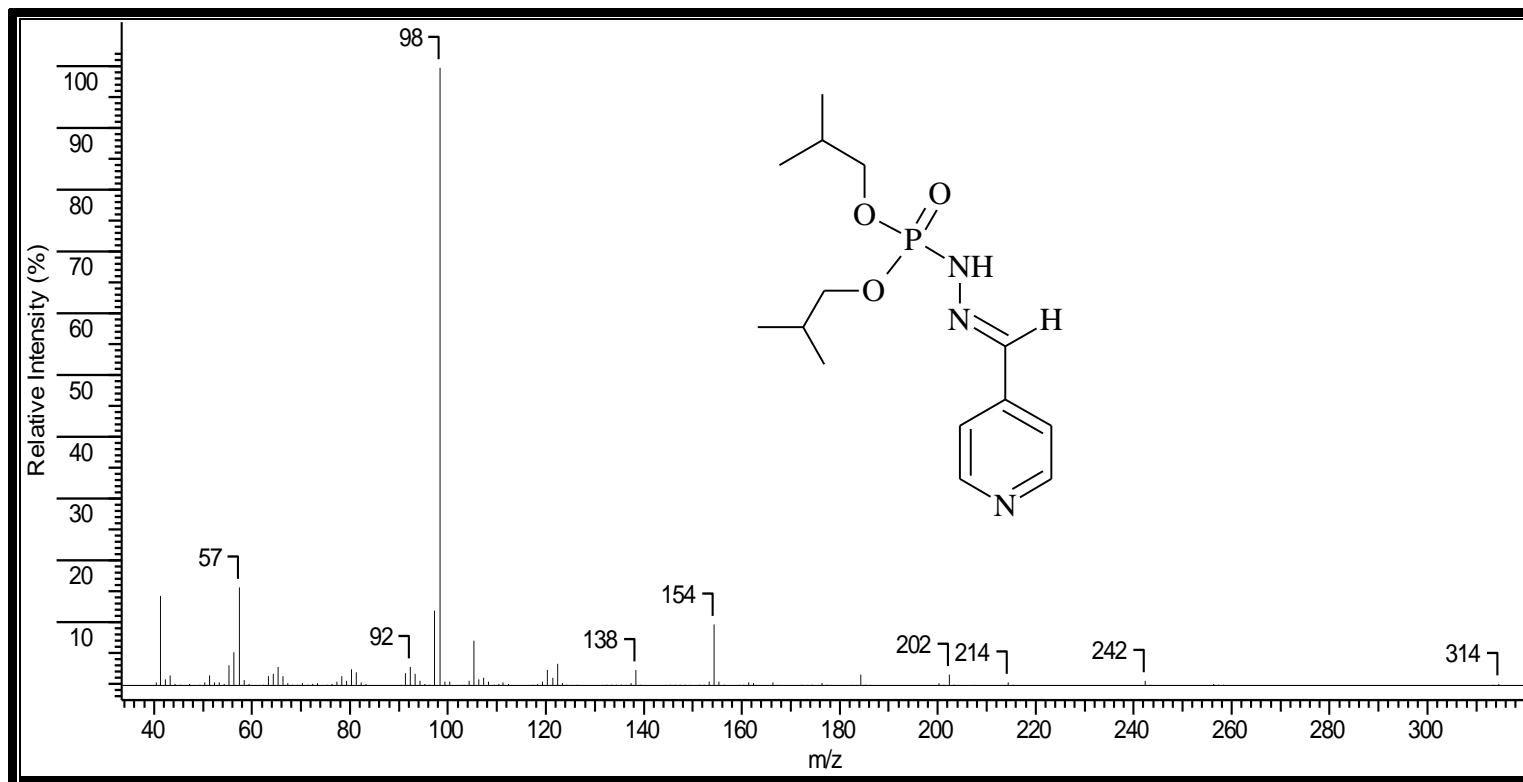
Espectro 17: Espectro de RMN- ^{31}P do éster di-*isobutílico*, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (4).



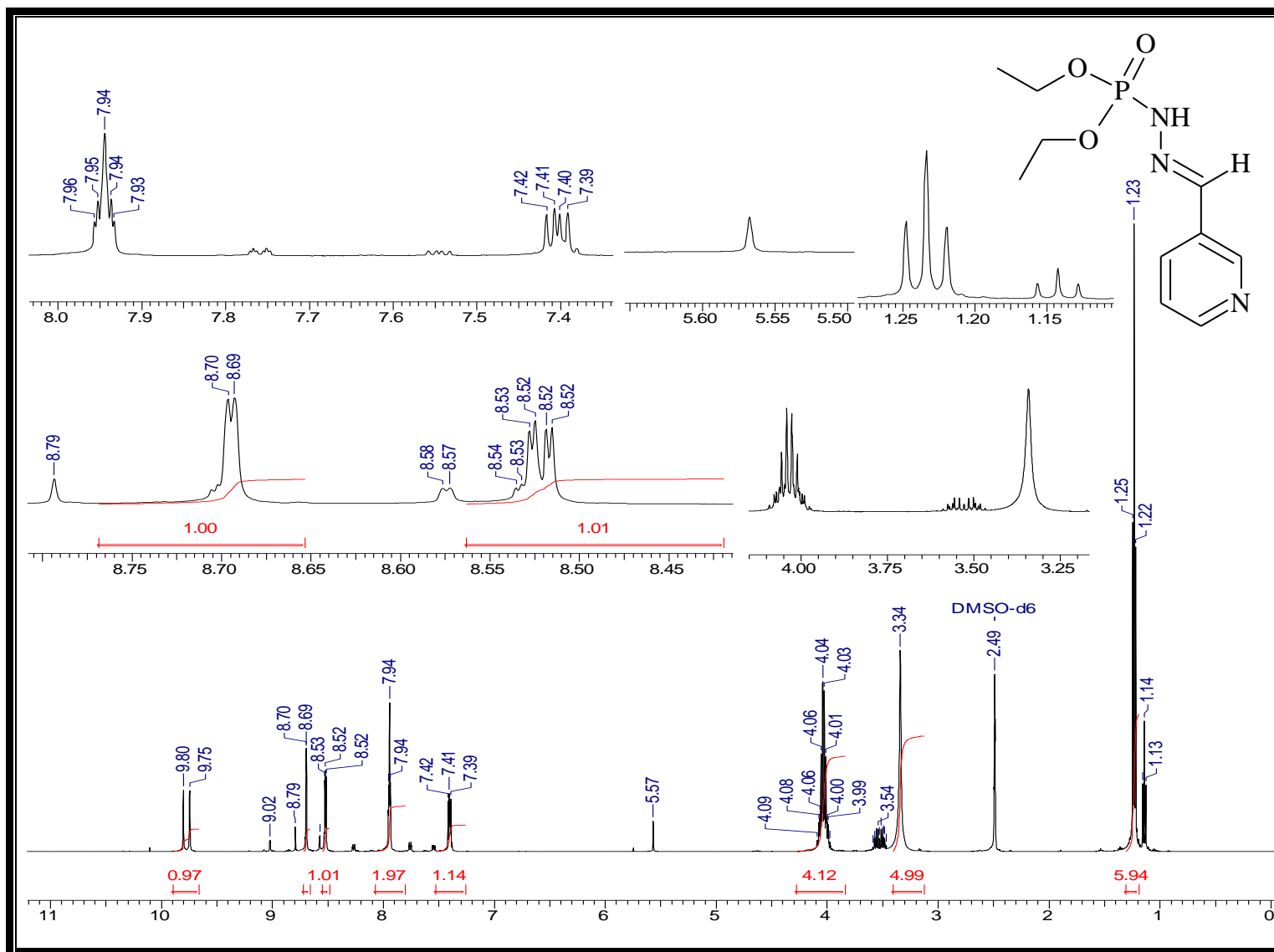
Espectro 18: Espectro de RMN- 13C do éster di-*isobutílico*, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (4).



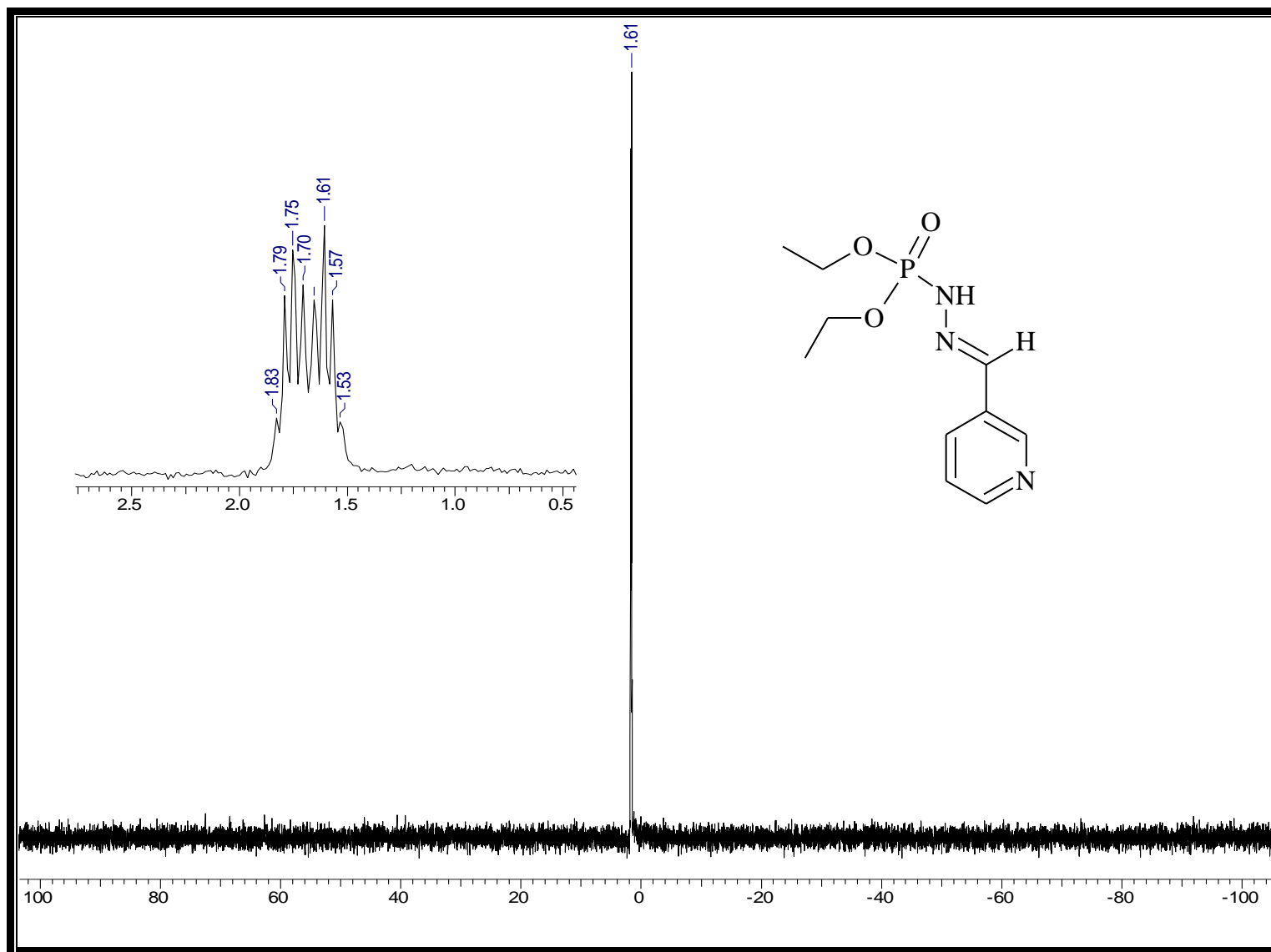
Espectro 19: Espectro de IV do éster di-*isobutílico*, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (4).



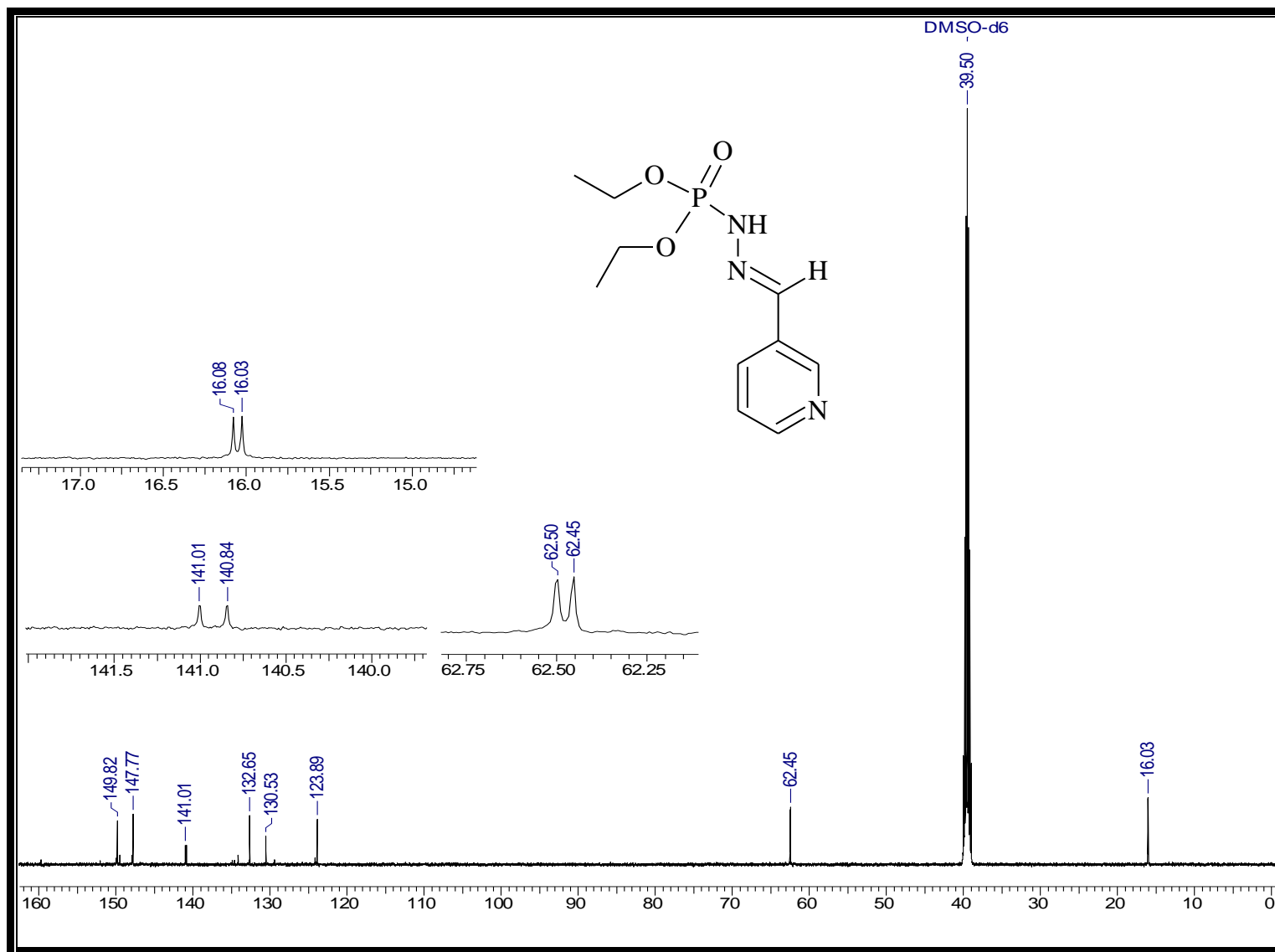
Espectro 20: Espectro de massas do éster di-*isobutílico*, *N'*- [4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (4).



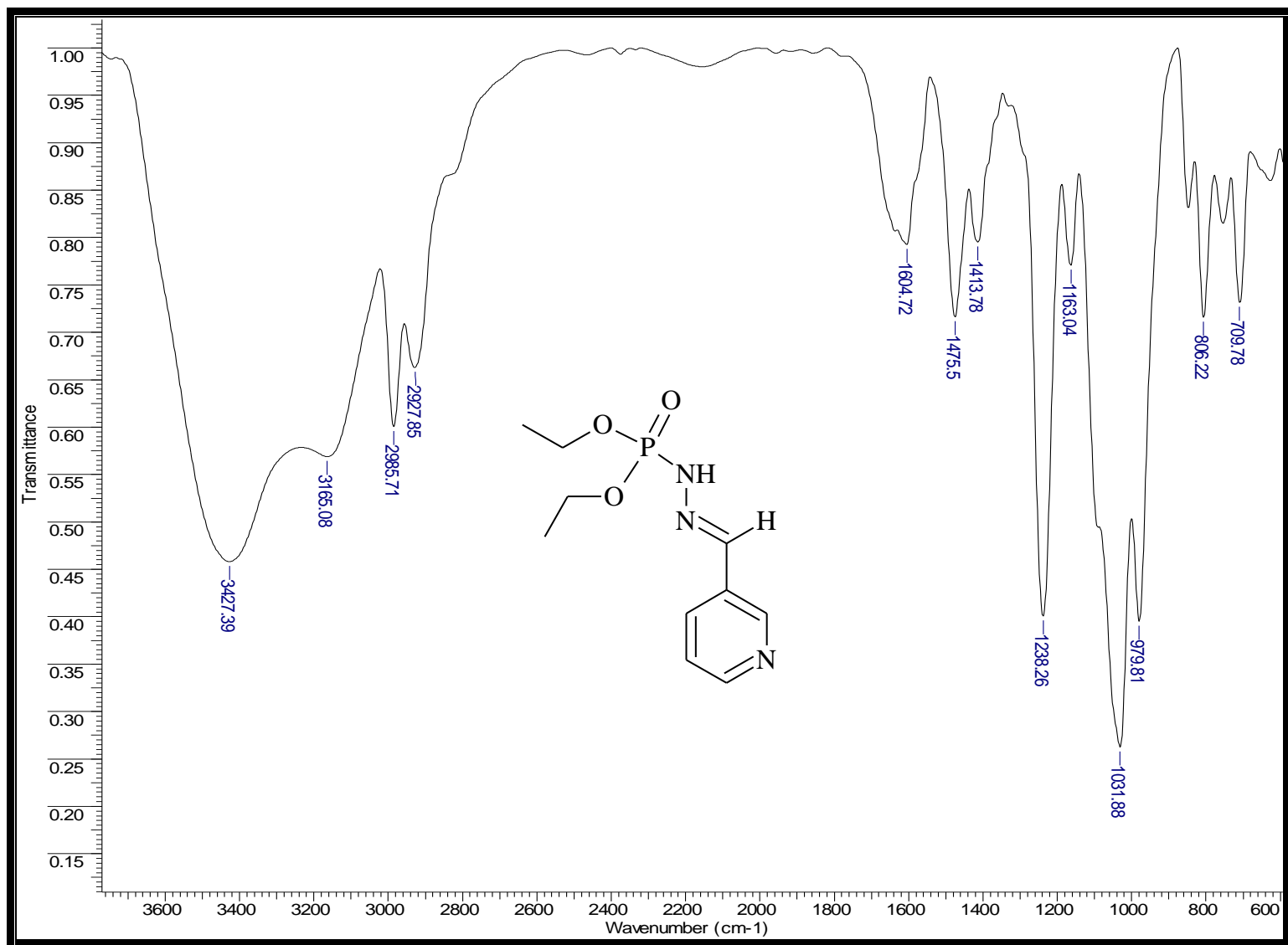
Espectro 21: Espectro de RMN- 1H do éster dietílico, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (5).



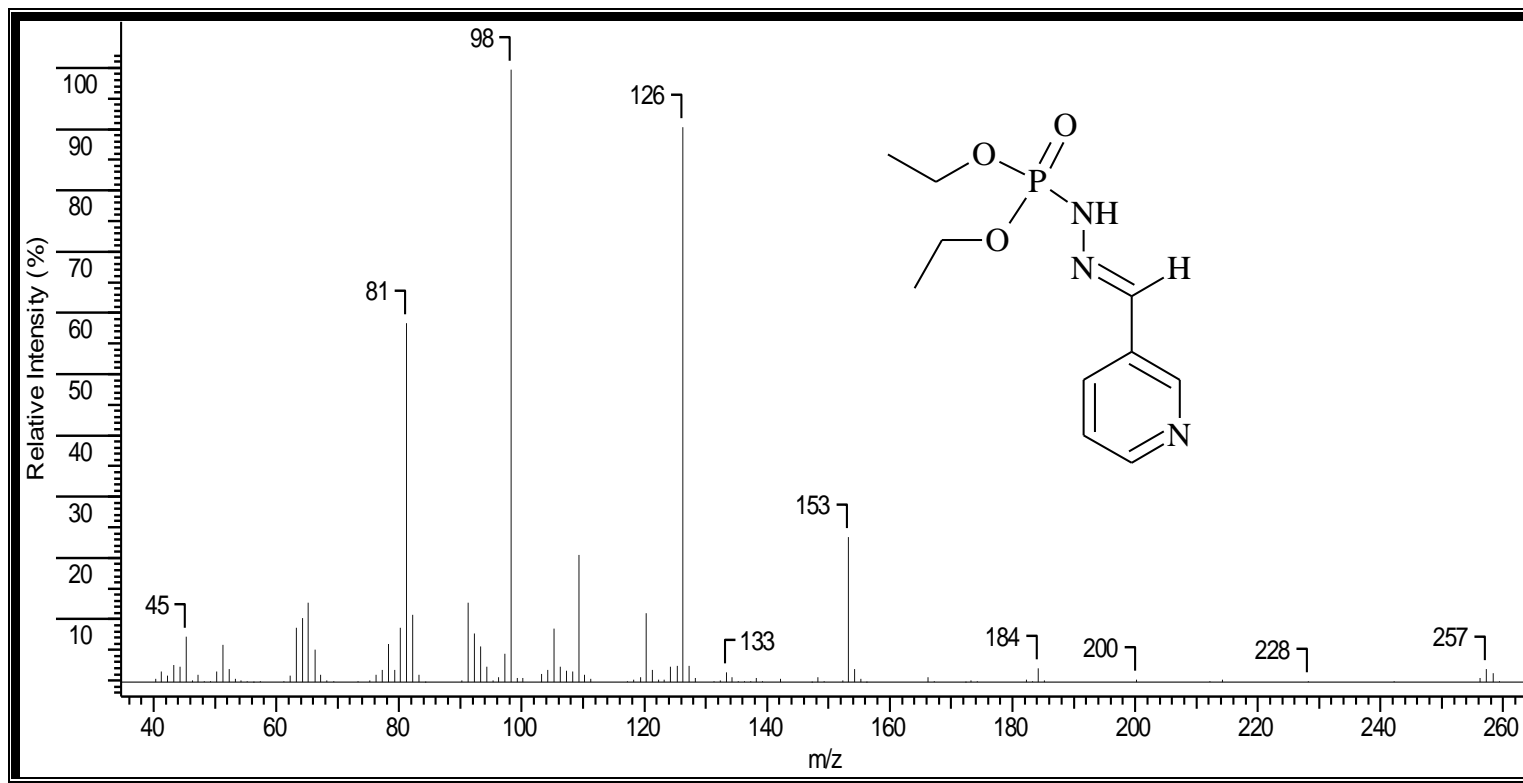
Espectro 22: Espectro de RMN- ^{31}P do éster dietílico, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (5).



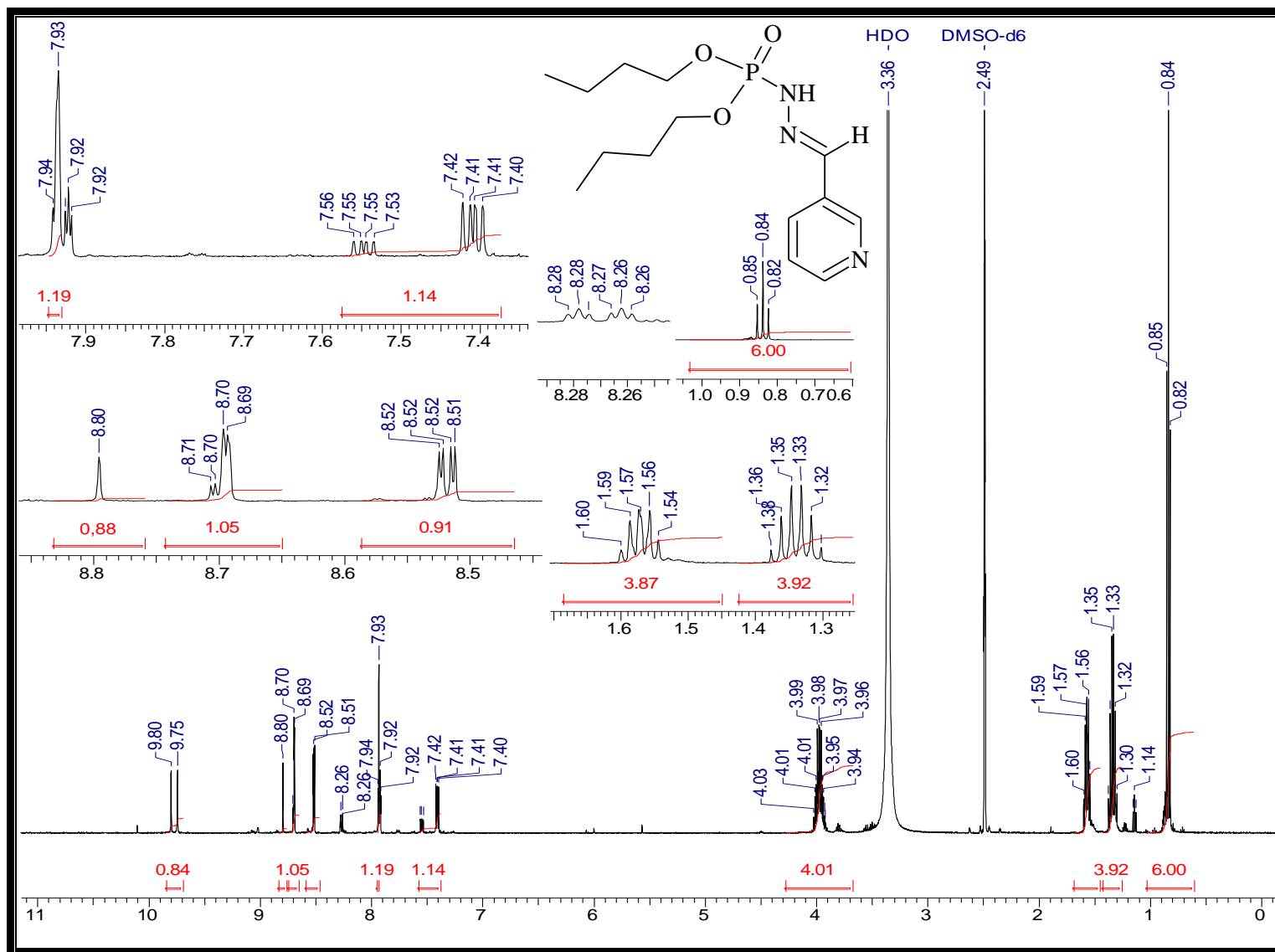
Espectro 23: Espectro de RMN- 13C do éster dietílico, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (5).



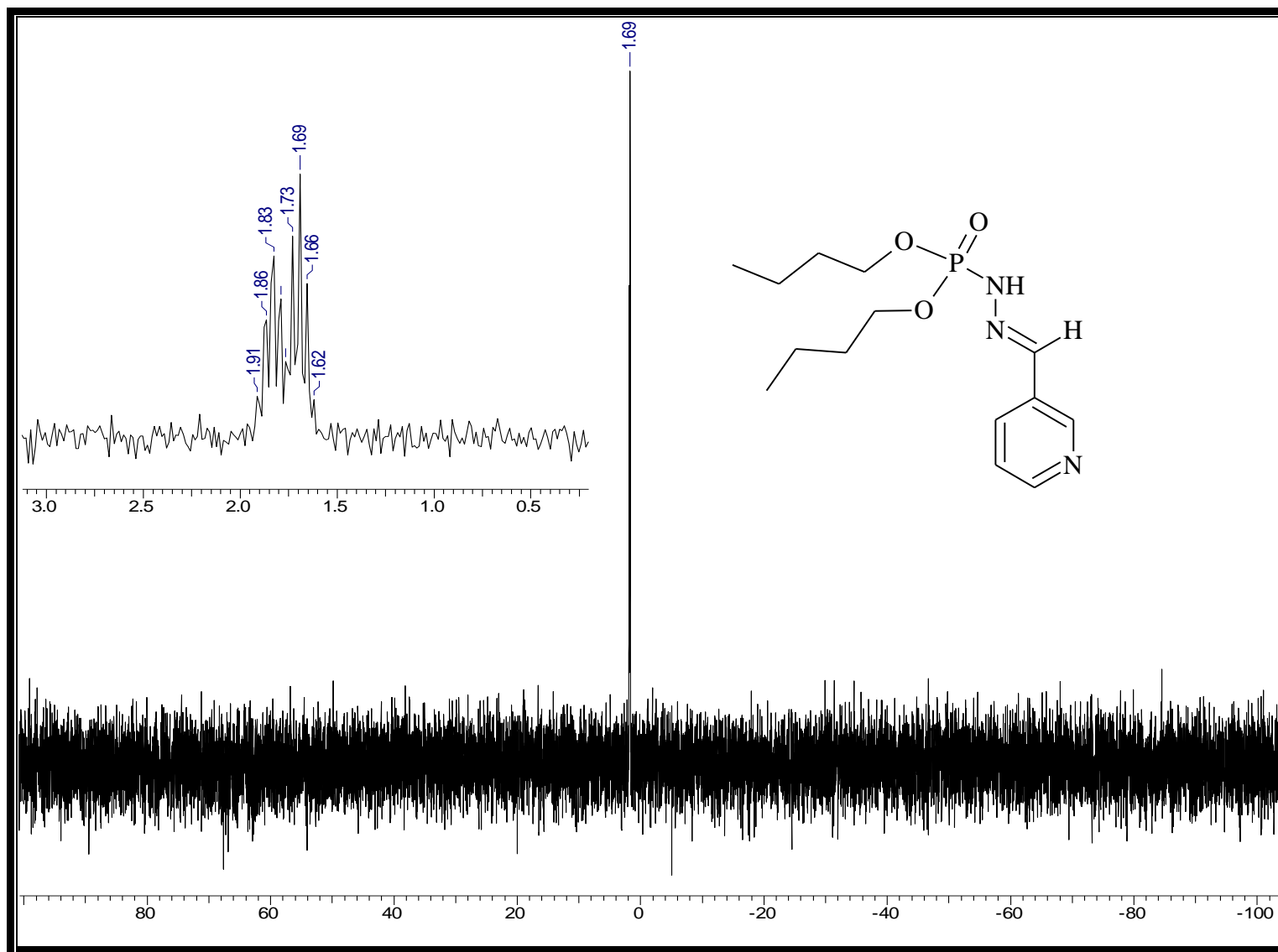
Espectro 24: Espectro de IV do éster dietílico, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (5).



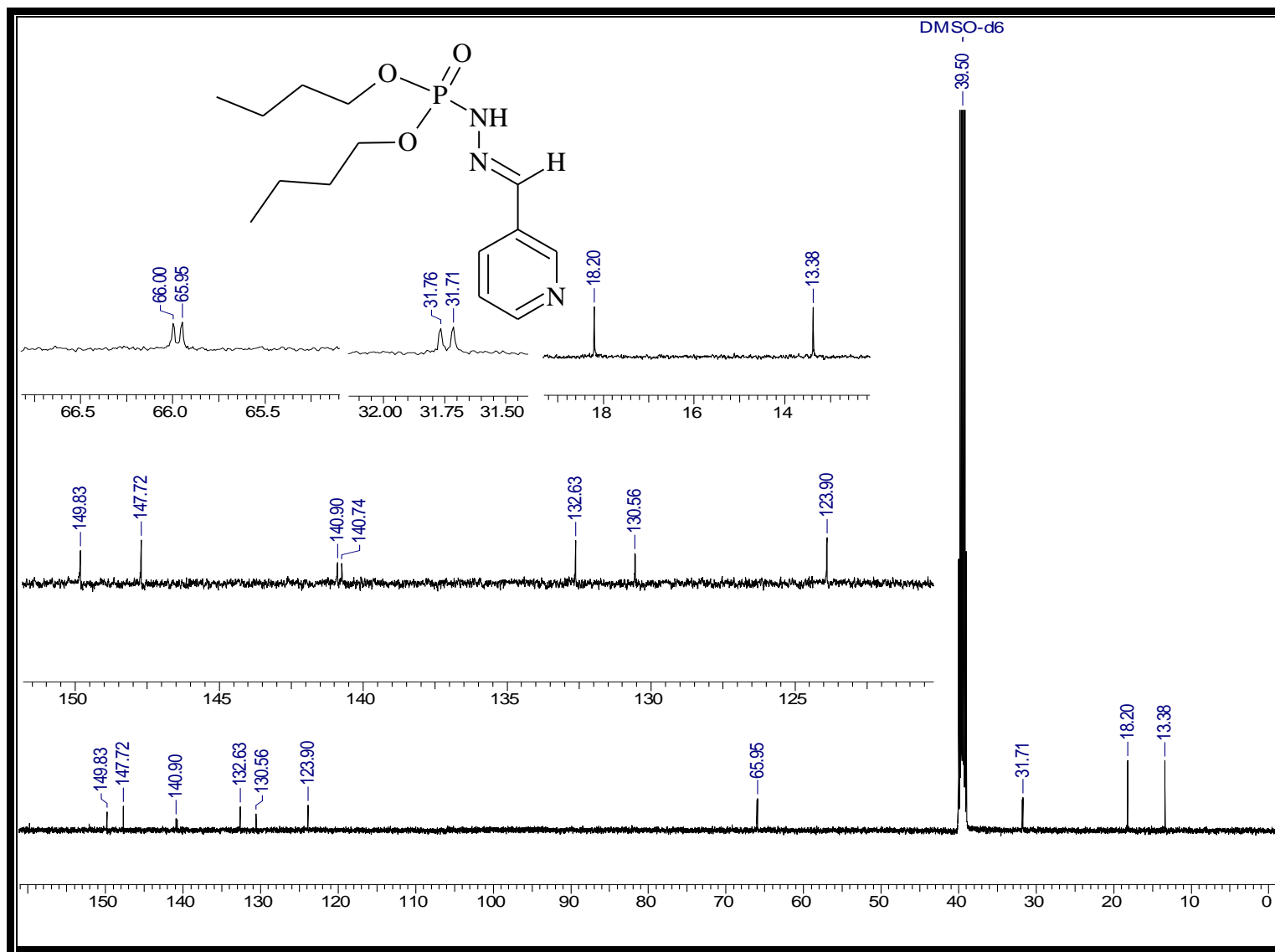
Espectro 25: Espectro de massas do éster dietílico, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (5).



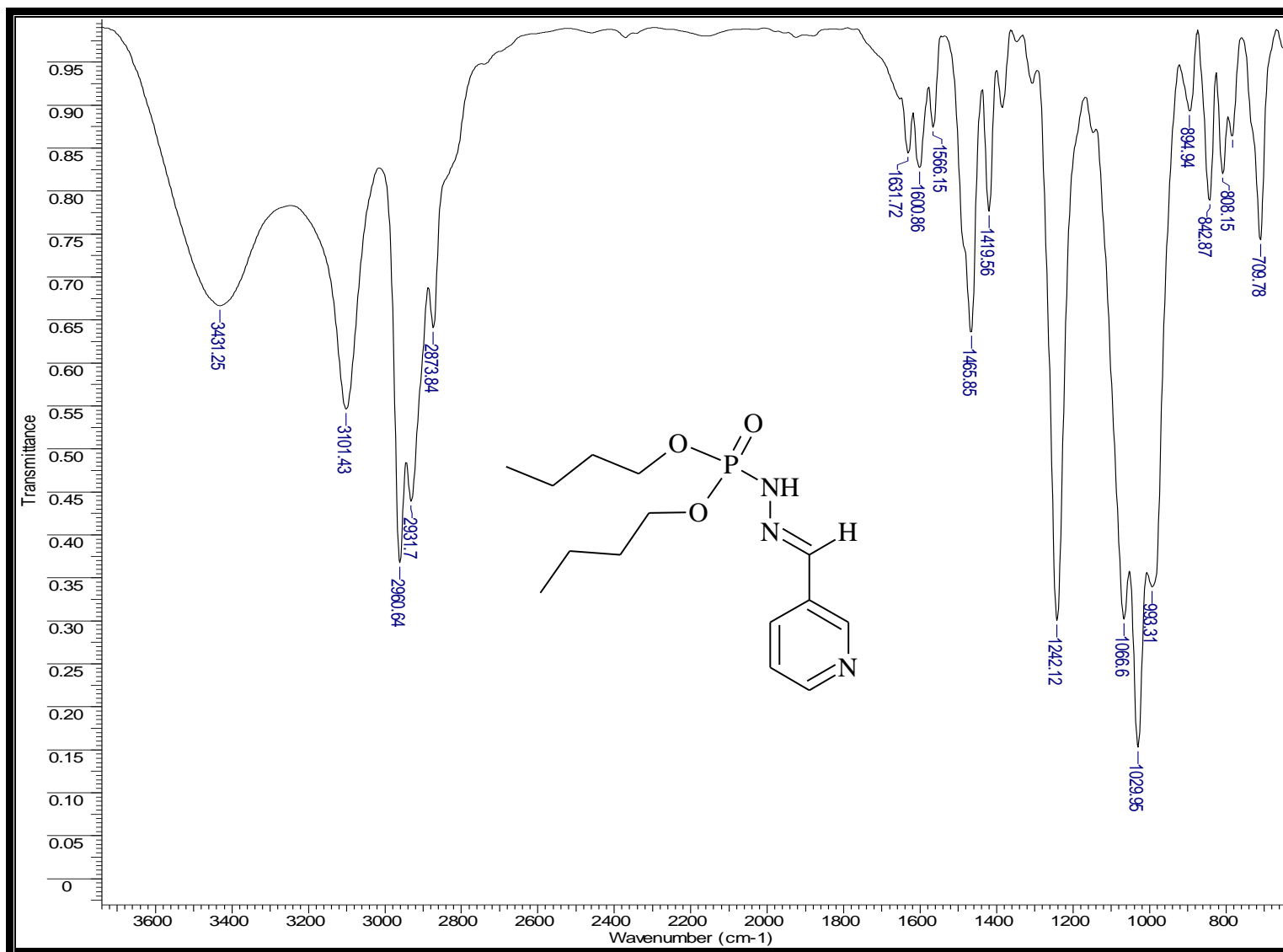
Espectro 26: Espectro de RMN- 1H do éster dibutílico, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (6).



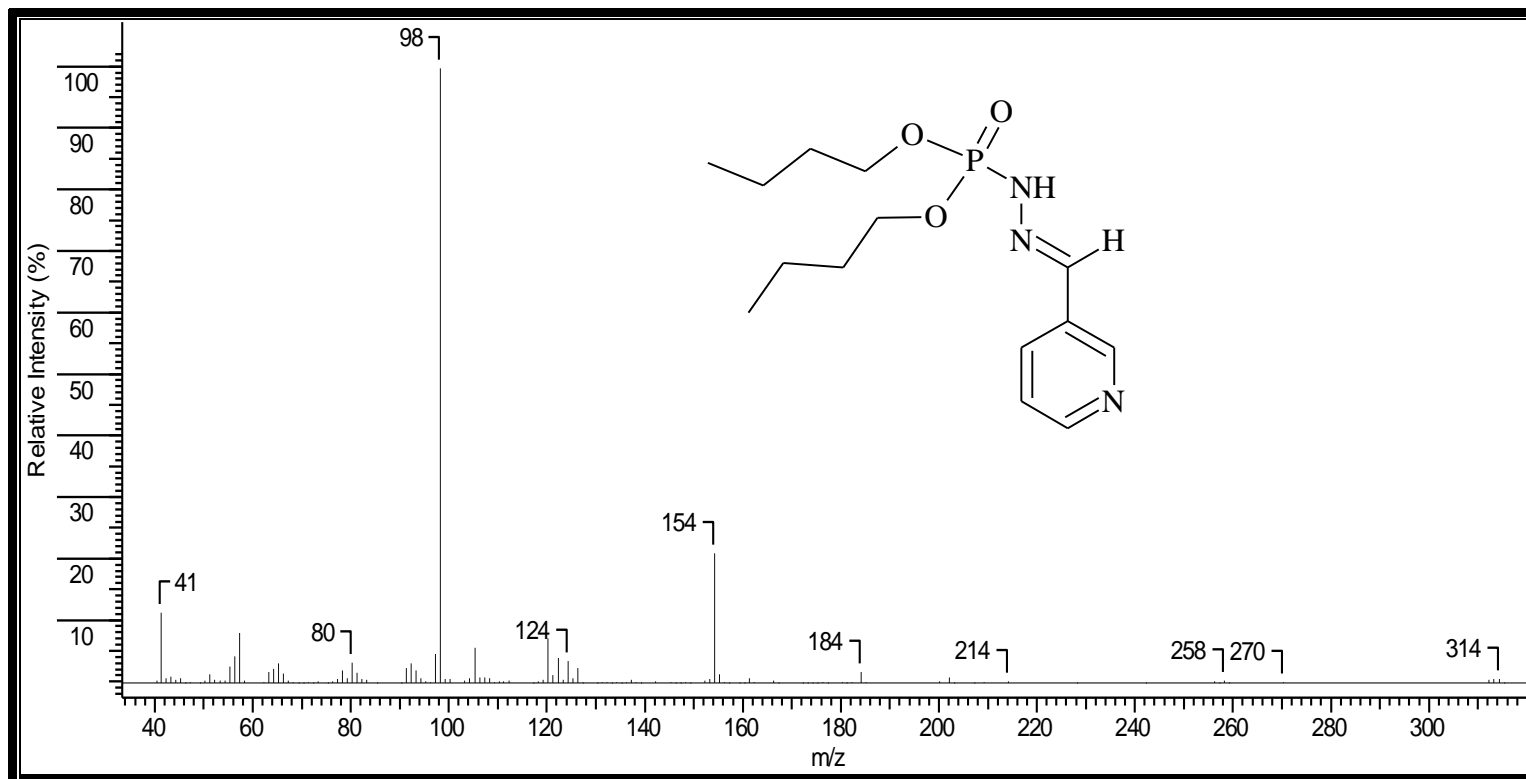
Espectro 27: Espectro de RMN- 31P do éster dibutílico, *N'*- [3-metilenpiridina], do ácido fosforoidrazídico (6).



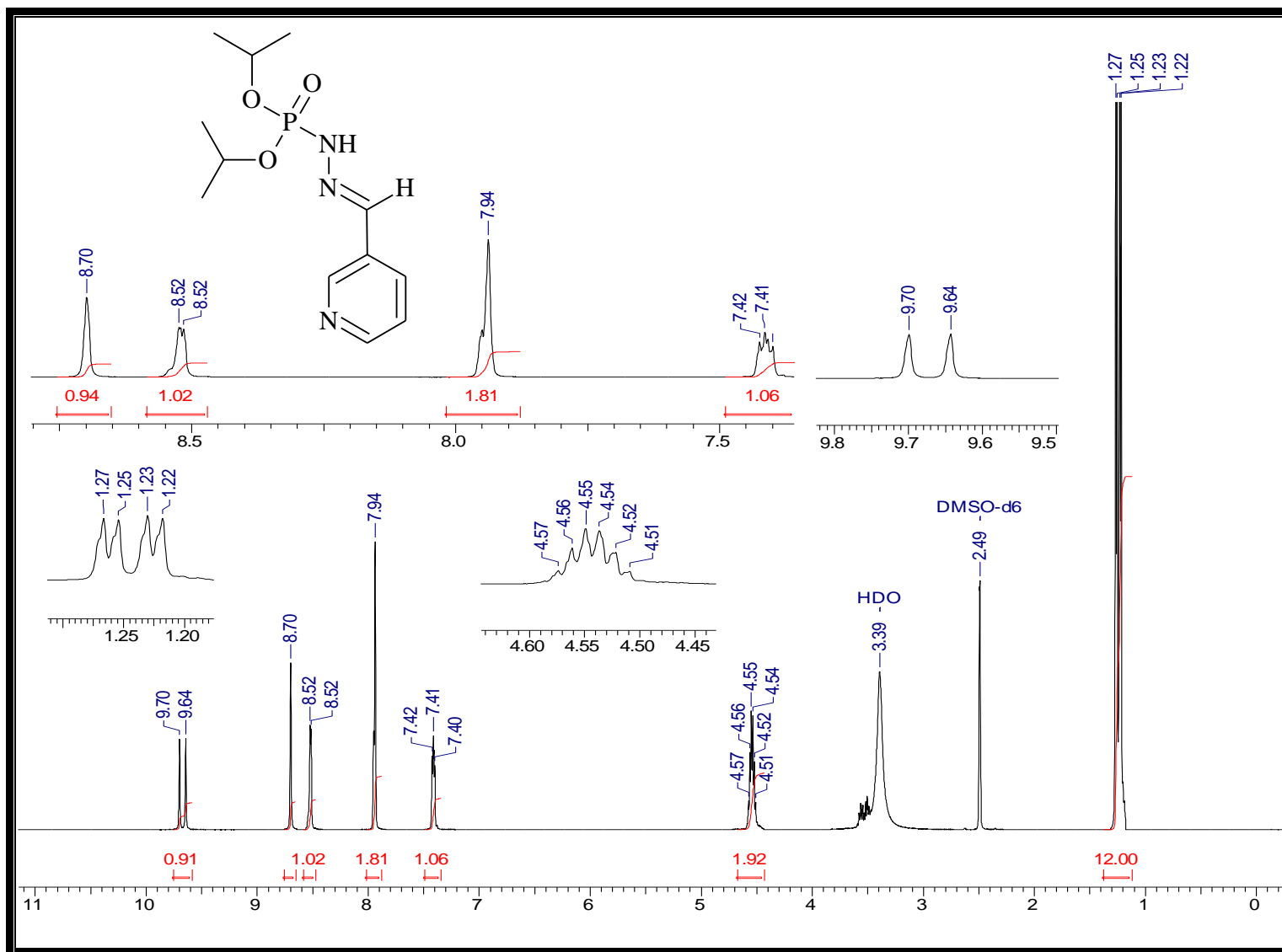
Espectro 28: Espectro de RMN- 13C do éster dibutílico, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (6).



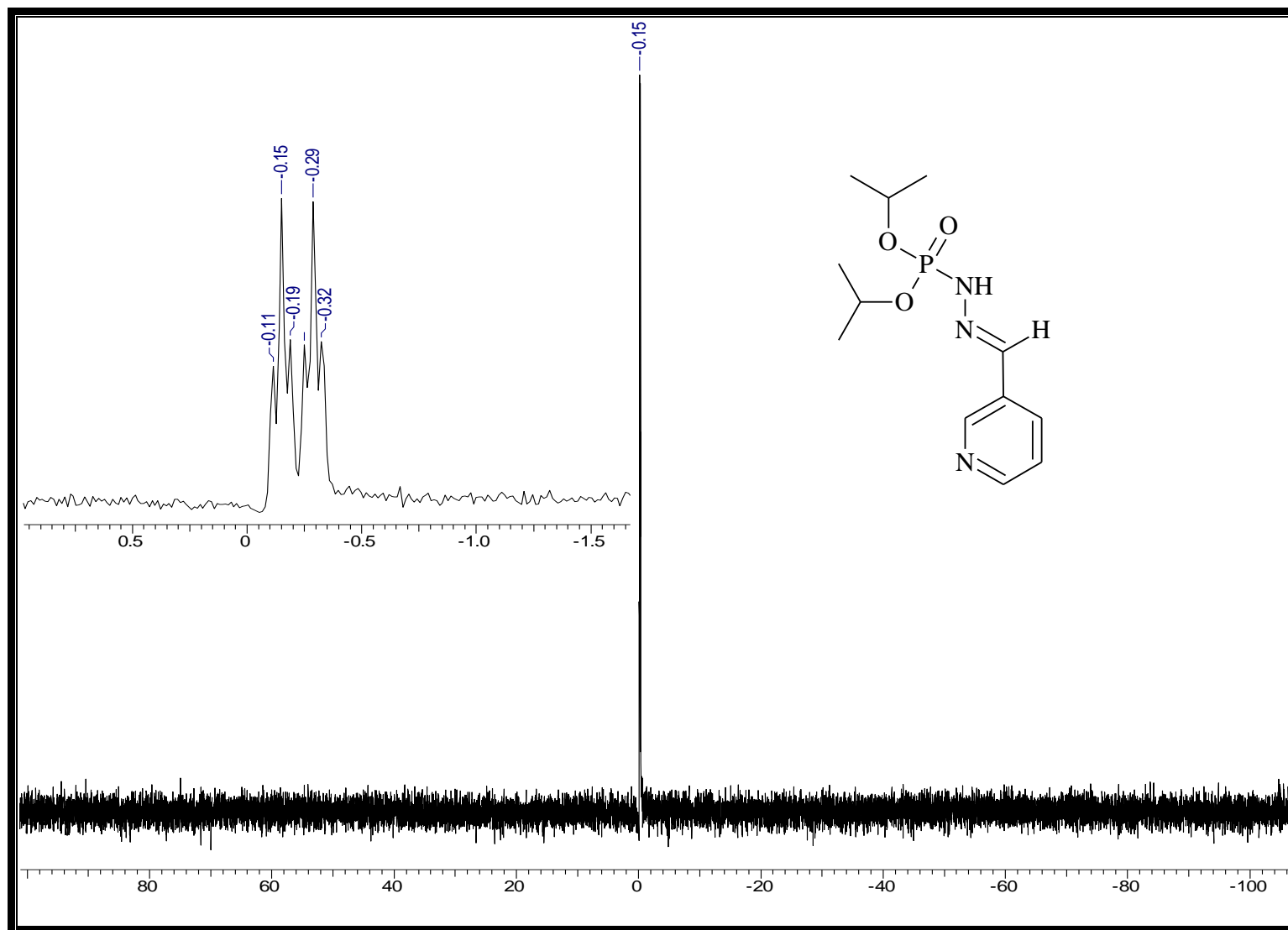
Espectro 29: Espectro de IV do éster dibutílico, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (6).



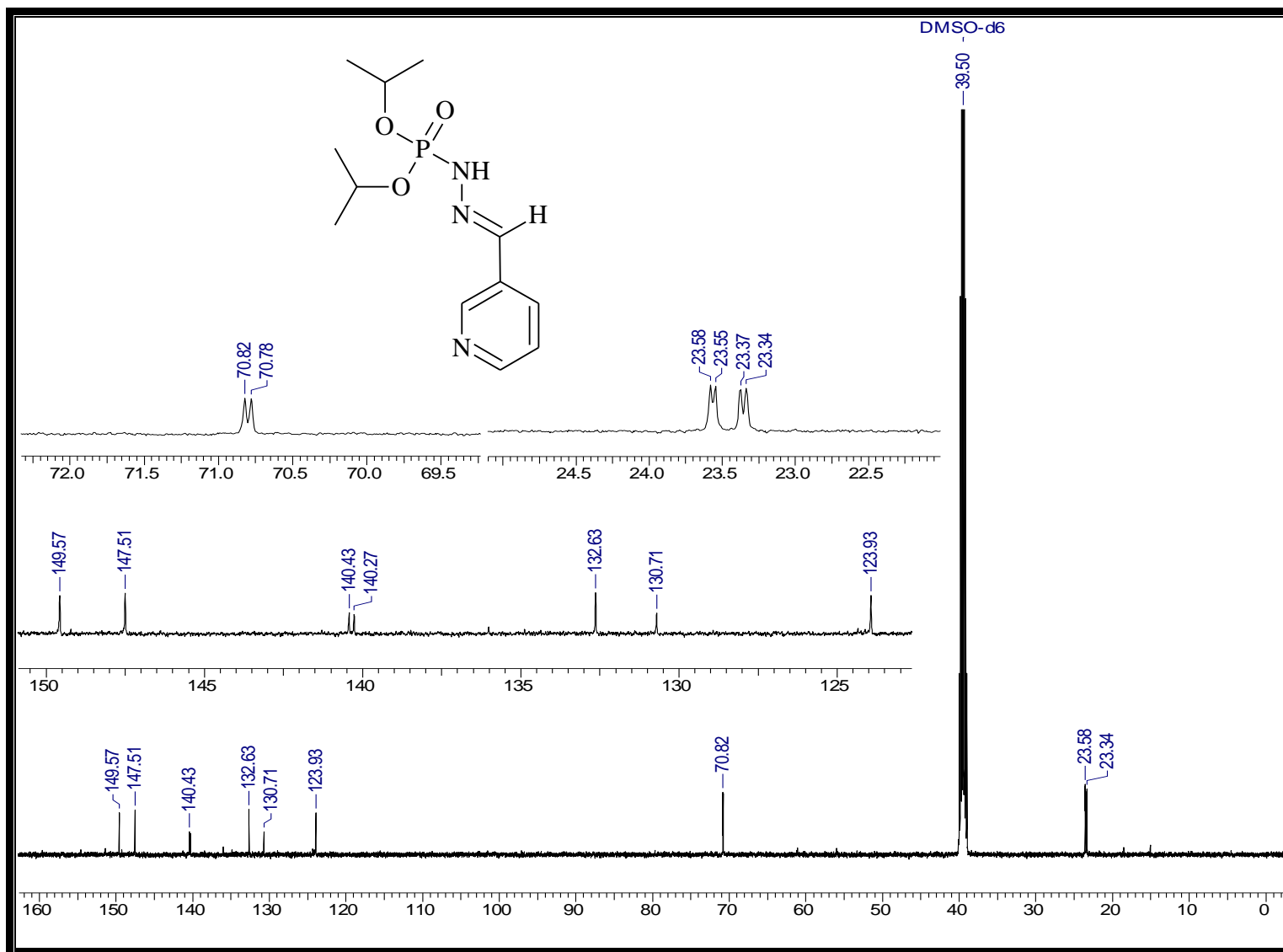
Espectro 30: Espectro de massas do éster dibutílico, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (6).



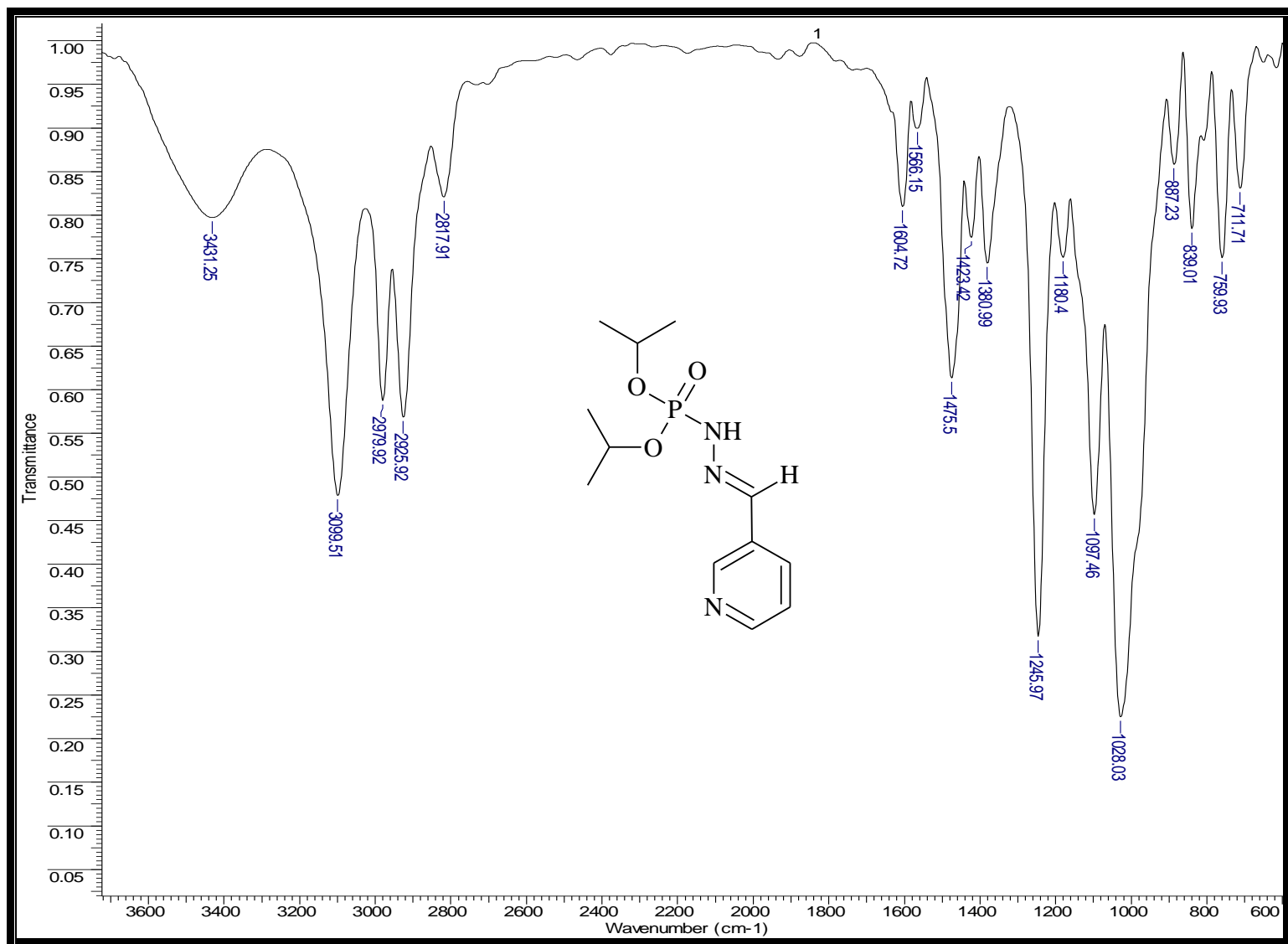
Espectro 31: Espectro de RMN- 1H do éster di-*isopropílico*, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (7).



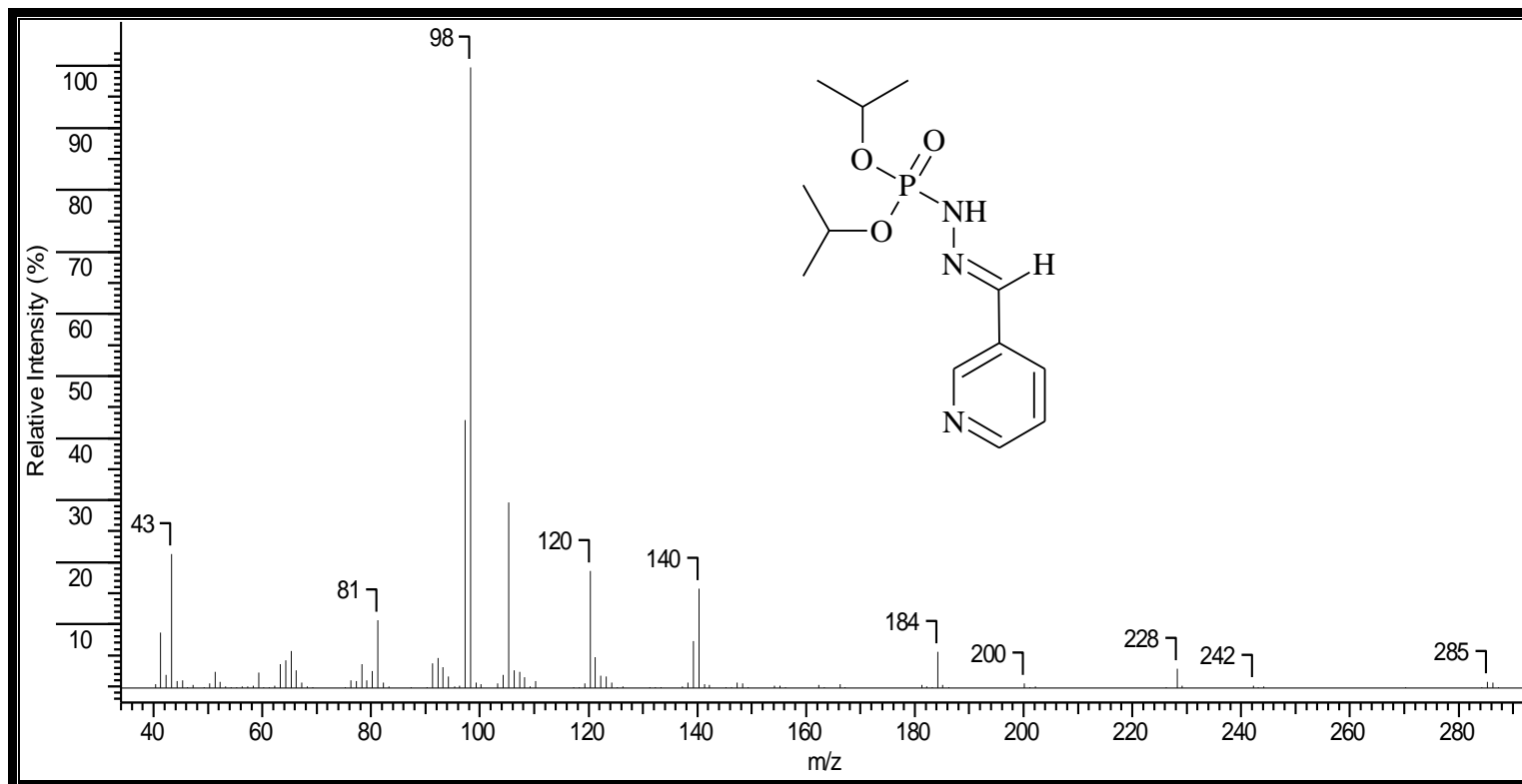
Espectro 32: Espectro de RMN- ^{31}P do éster di-*isopropílico*, N' - [3-metilenpiridina], do ácido fosforoidrazídico (7).



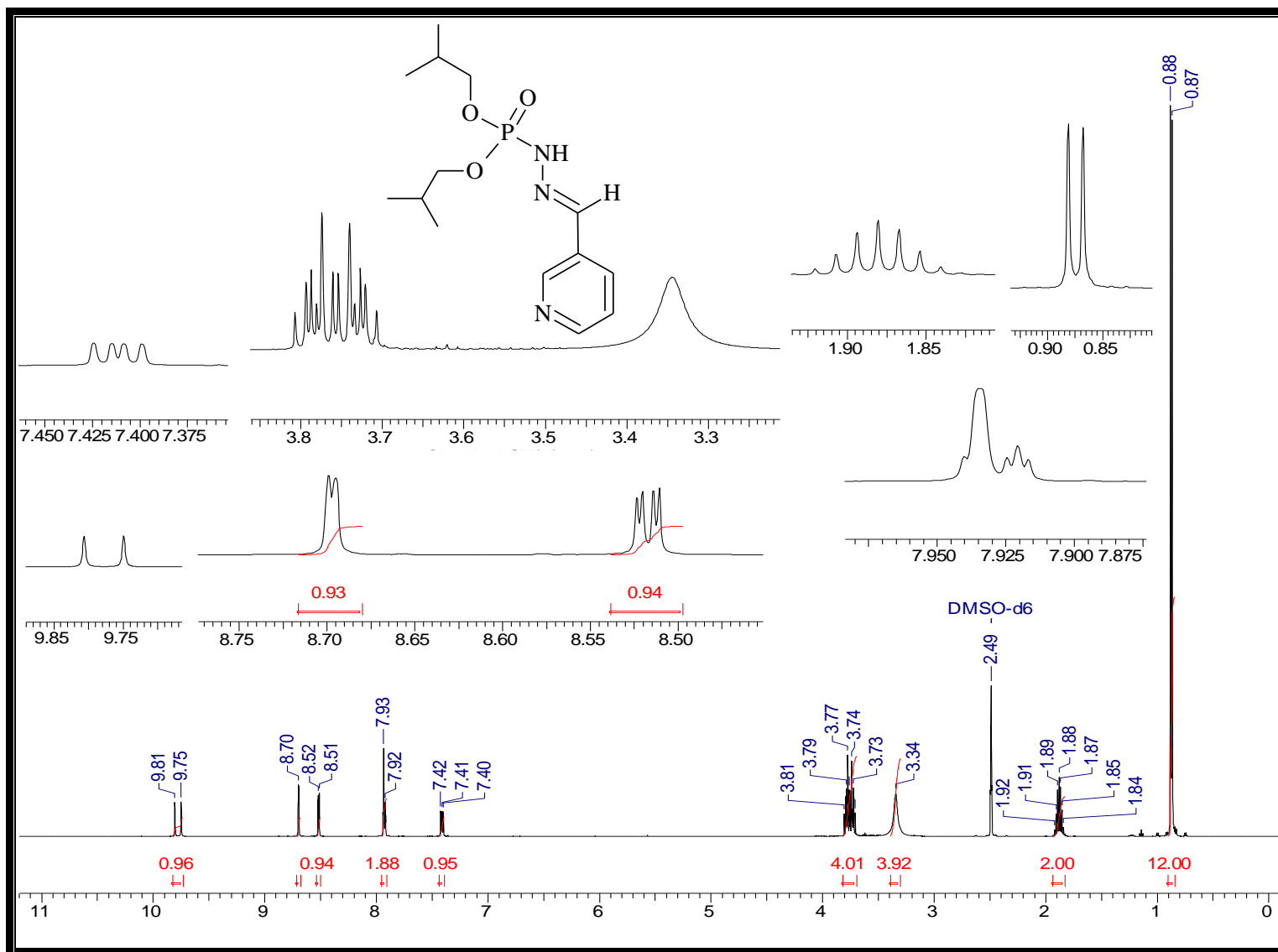
Espectro 33: Espectro de RMN- ¹³C do éster di-*isopropílico*, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (7).



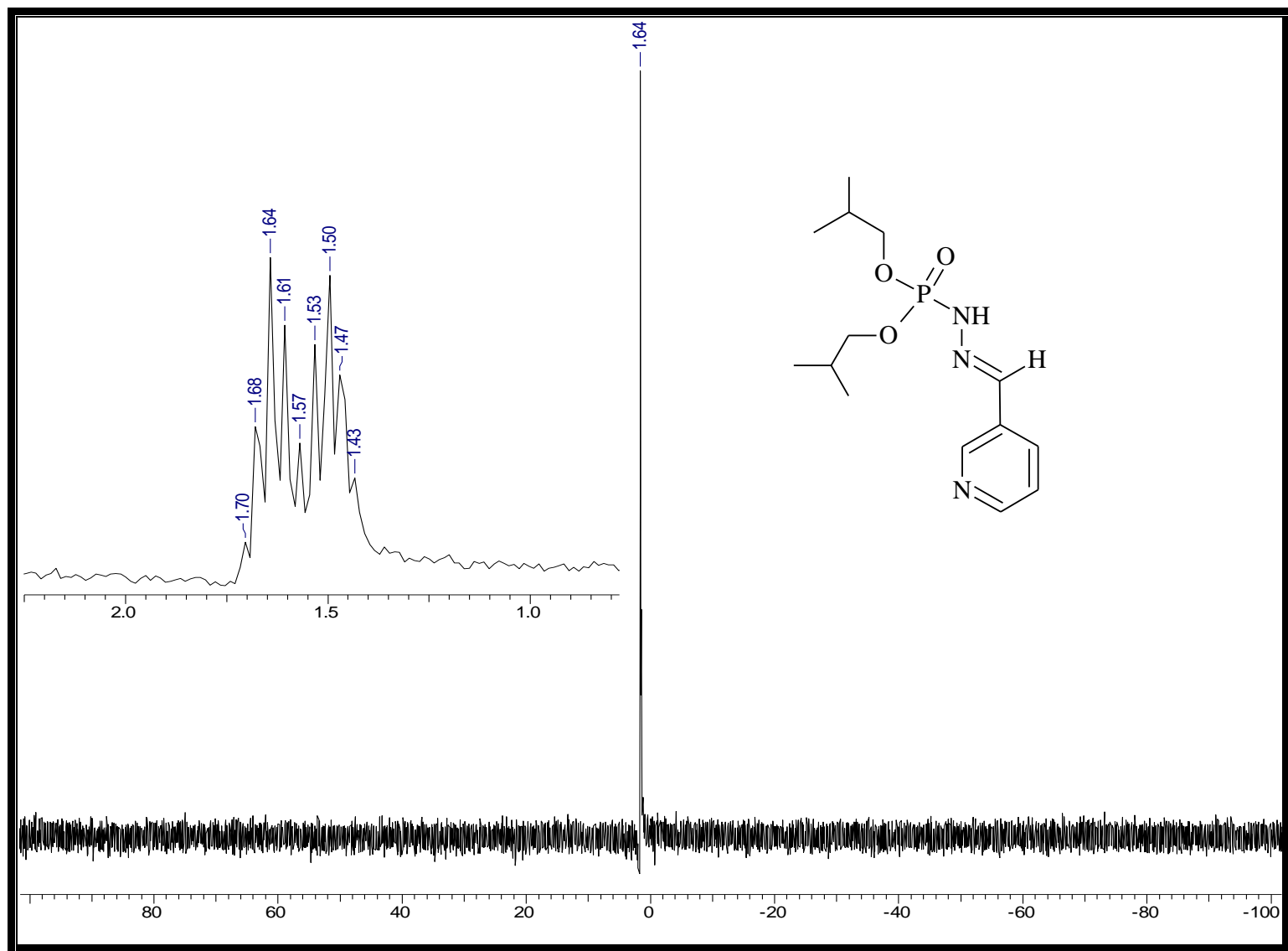
Espectro 34: Espectro de IV do éster di-*isopropílico*, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (7).



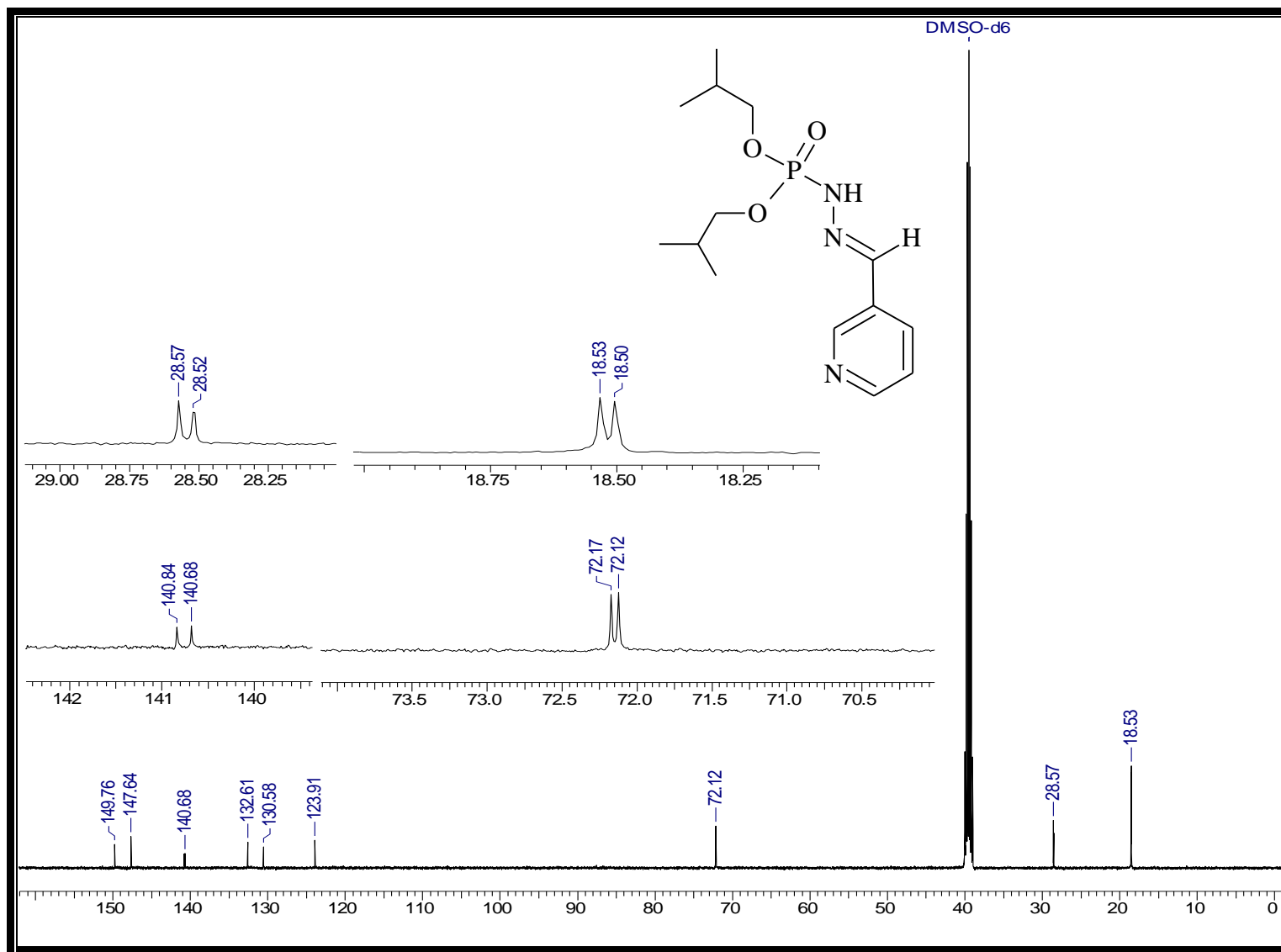
Espectro 35: Espectro de massas do éster di-*isopropílico*, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (7).



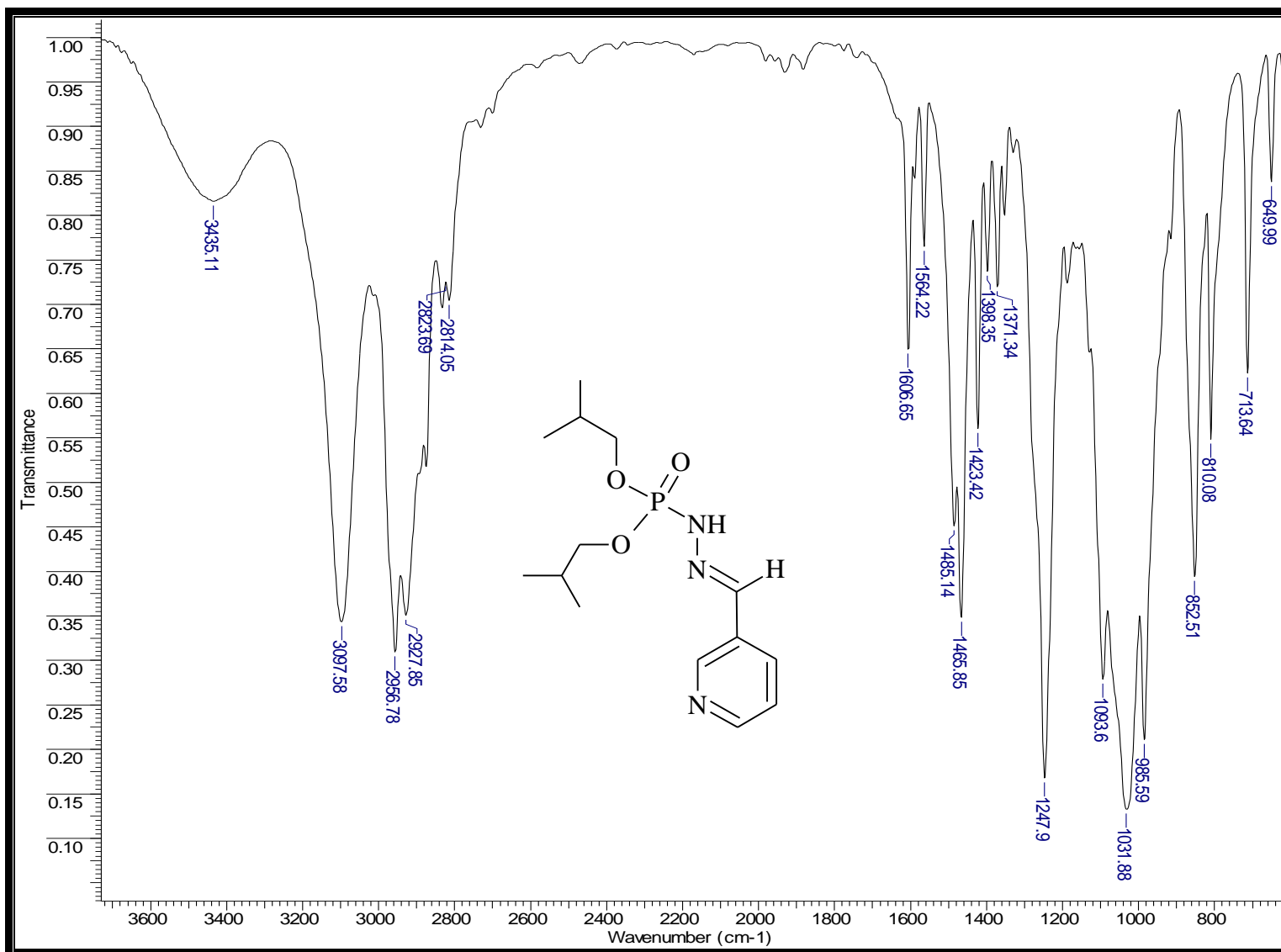
Espectro 36: Espectro de RMN- 1H do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (8).



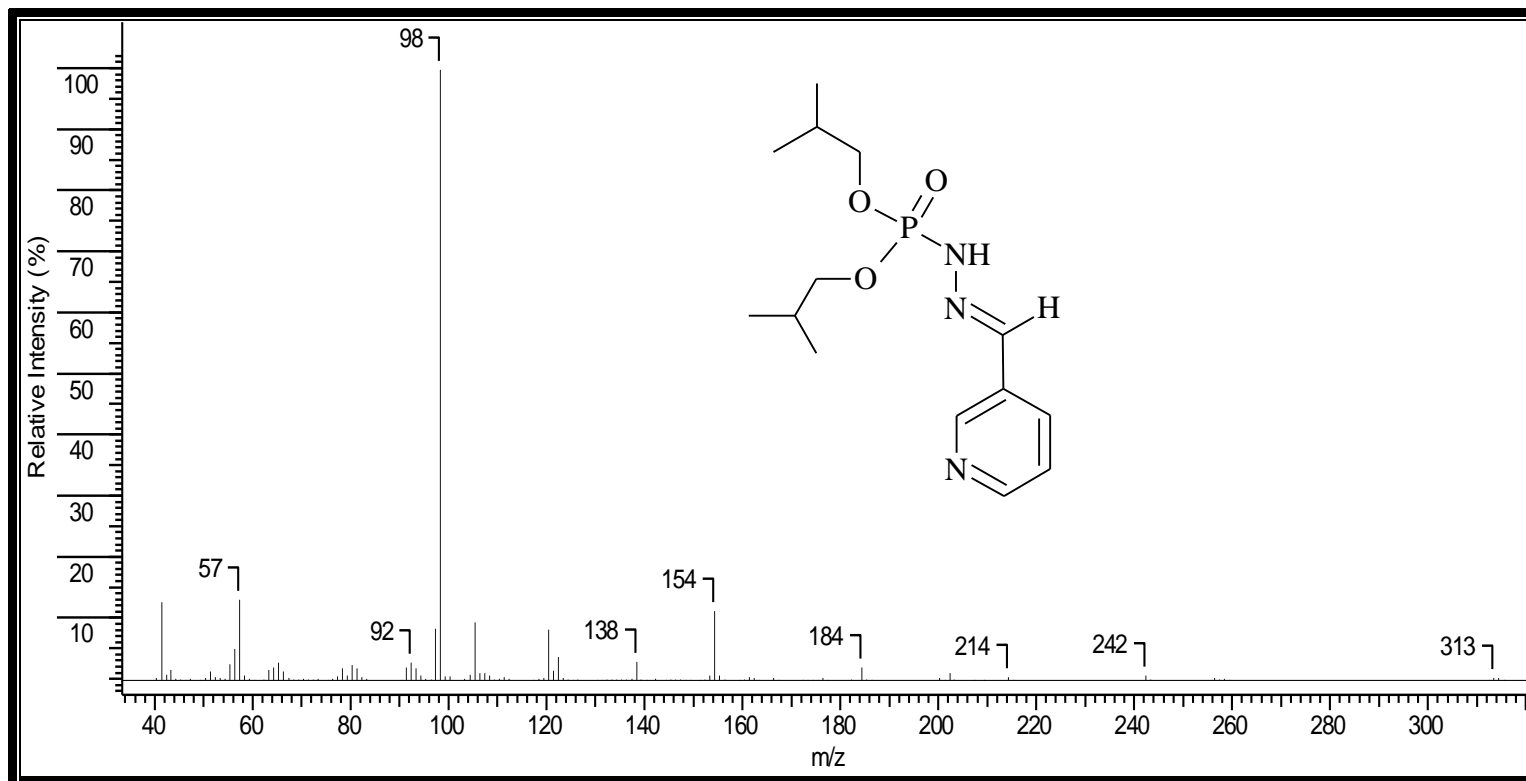
Espectro 37: Espectro de RMN- ^{31}P do éster di-*isobutílico*, N' - [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (8).



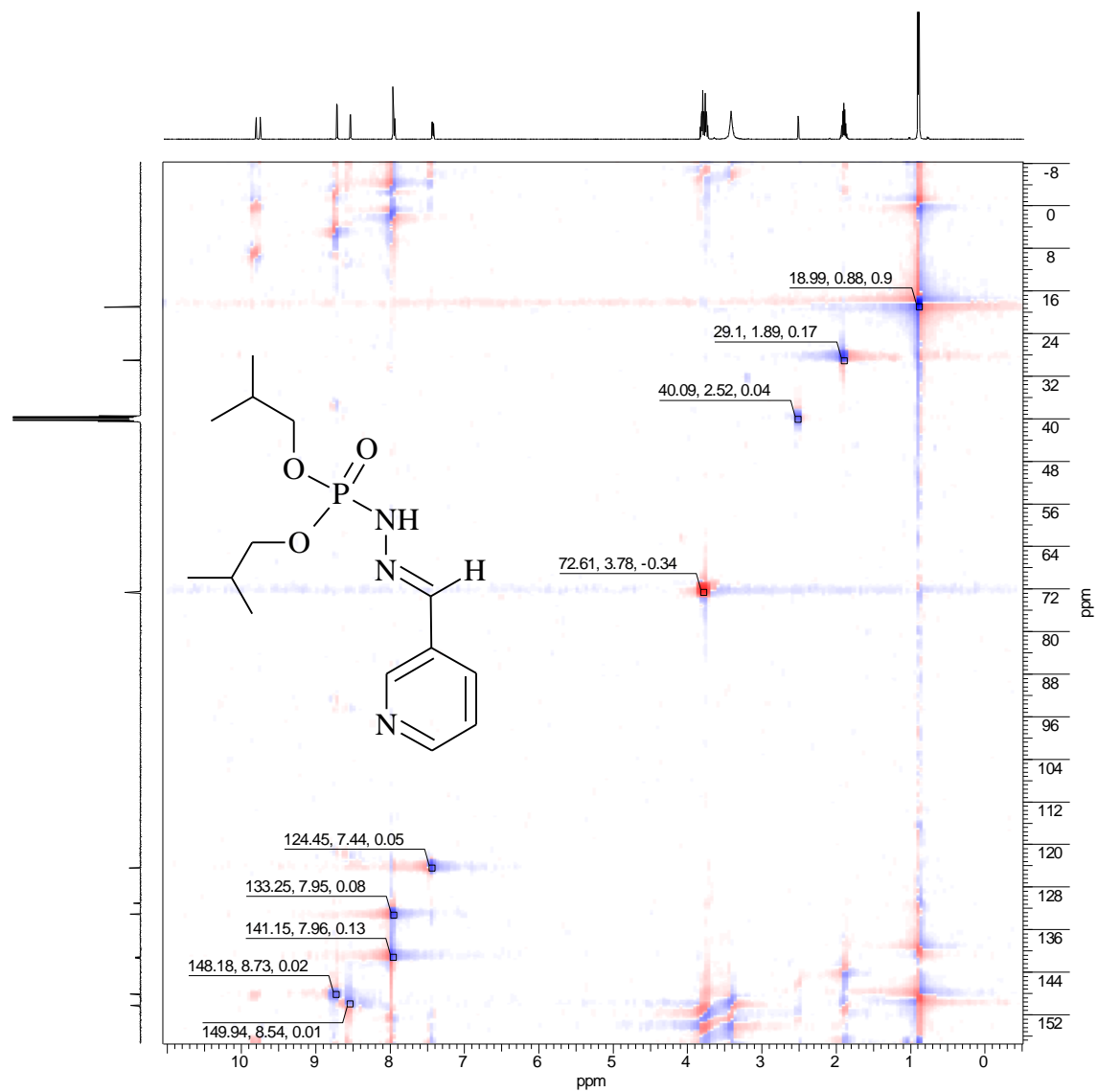
Espectro 38: Espectro de RMN- 13C do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (8).



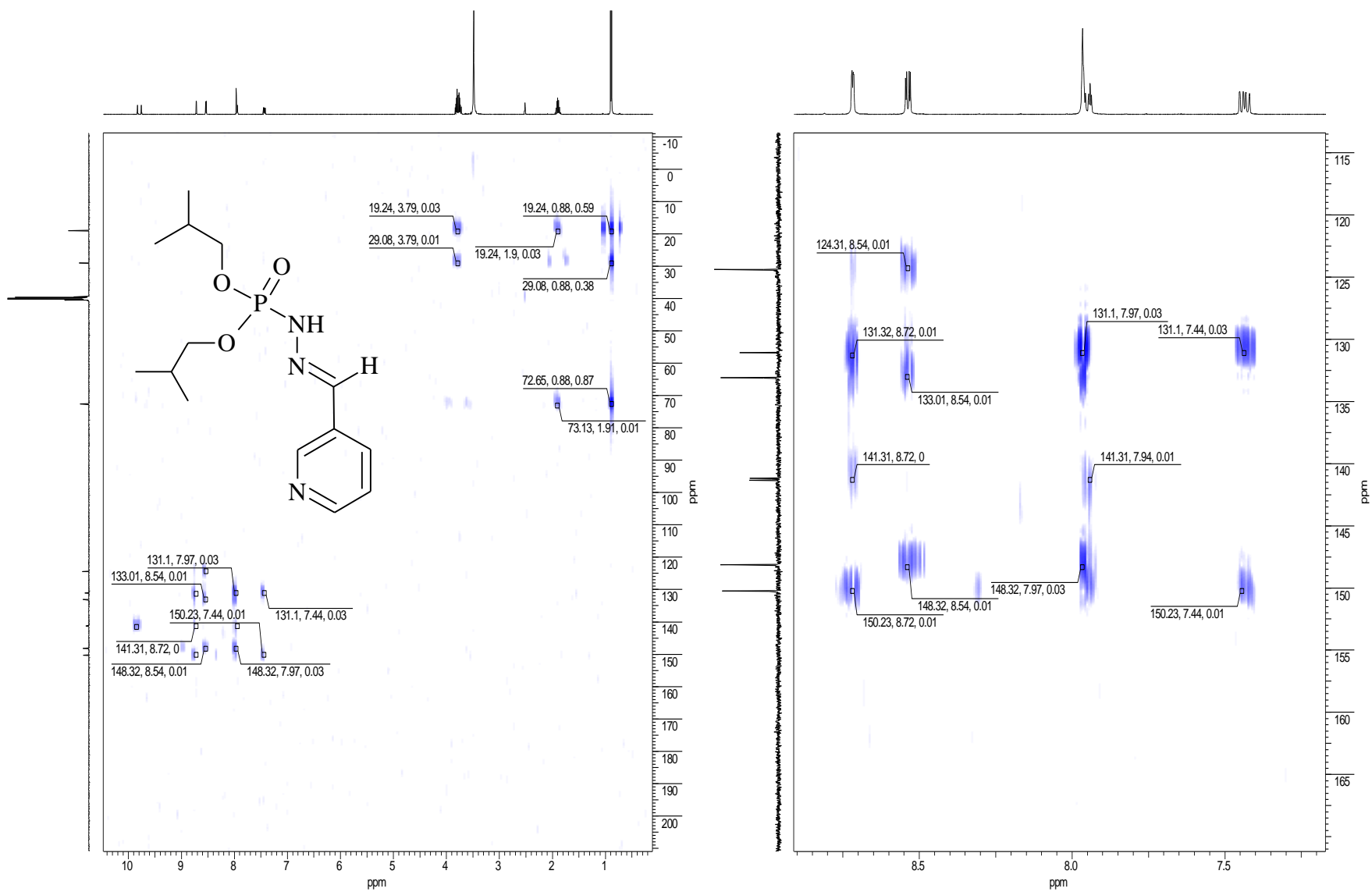
Espectro 39: Espectro de IV do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (8).



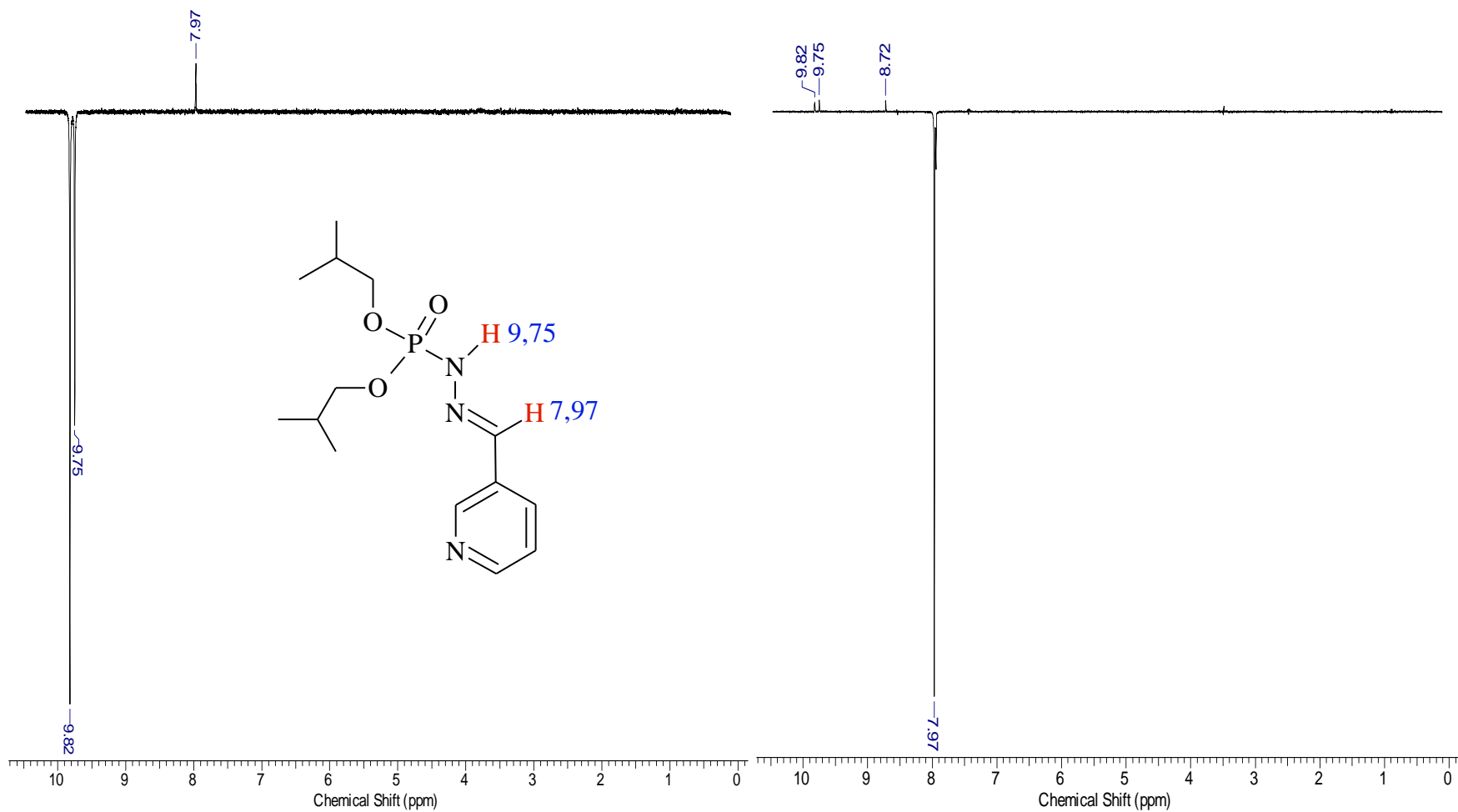
Espectro 40: Espectro de massas do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosfohidrazídico (8).



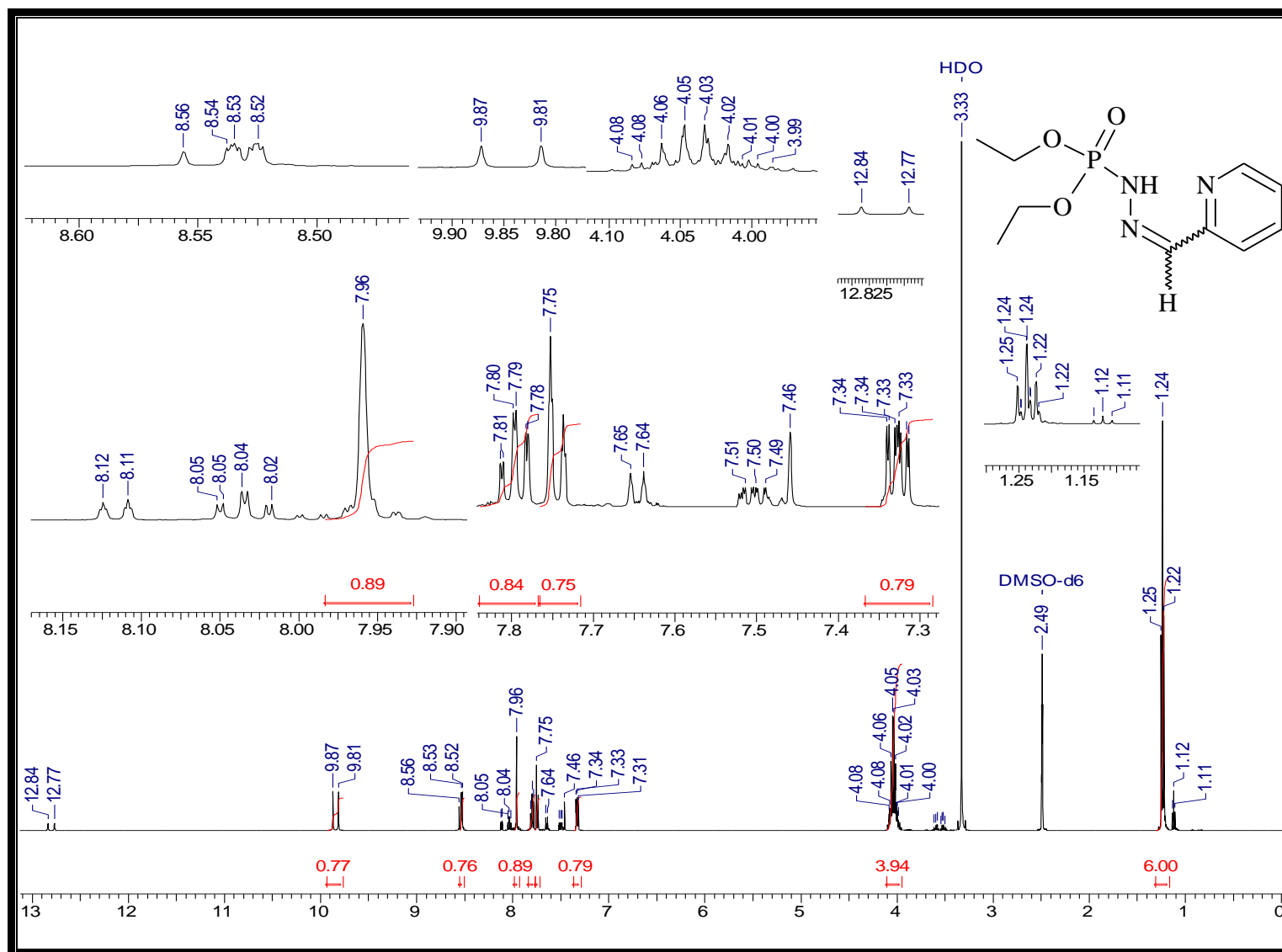
Espectro 41: Espectro de HSQC do éster di-*isobutílico*, *N'*-[3-metilenopiridina], do ácido fosfoimidazídico (8).



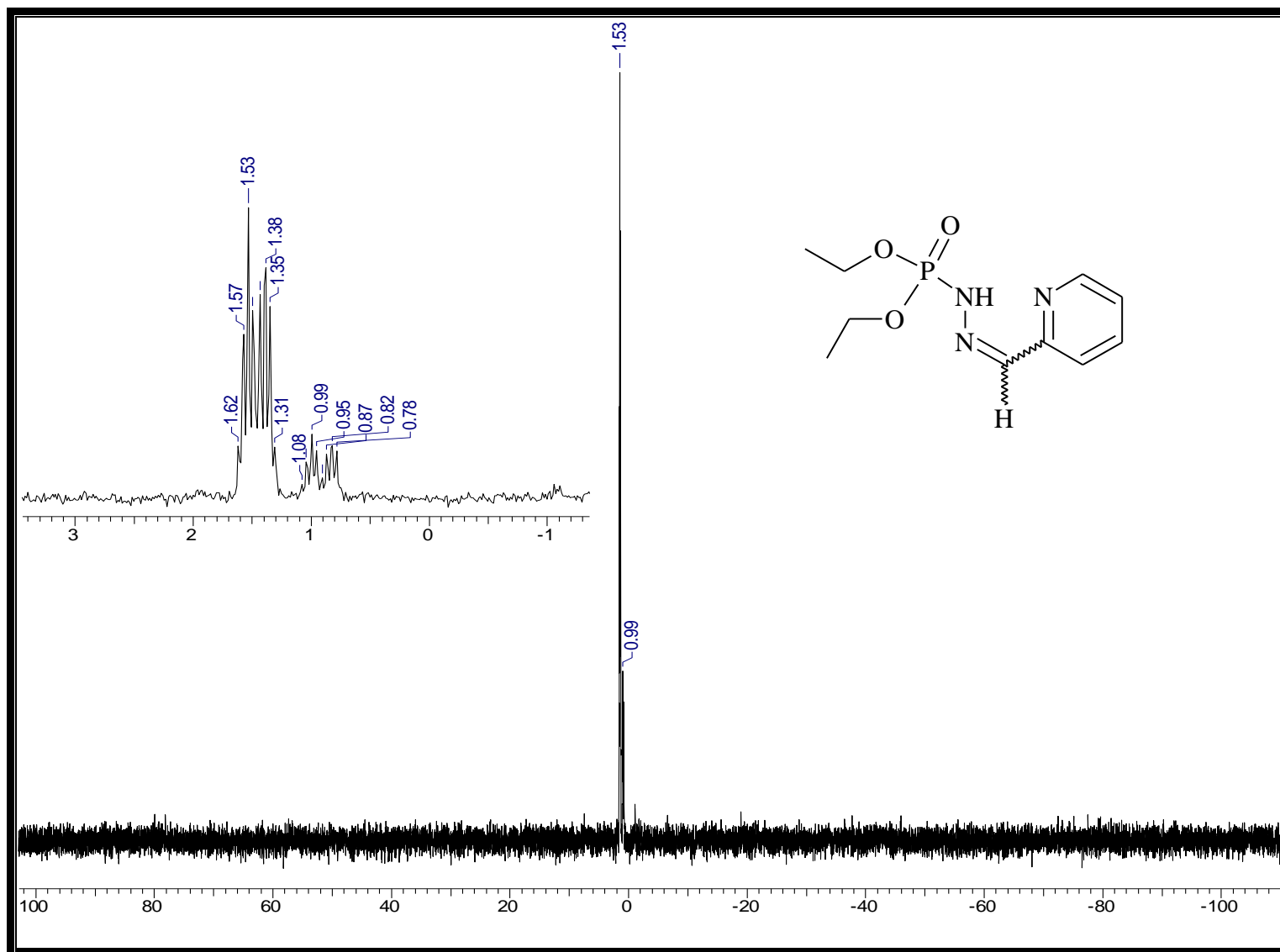
Espectro 42: Espectro de HMBC do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (8).



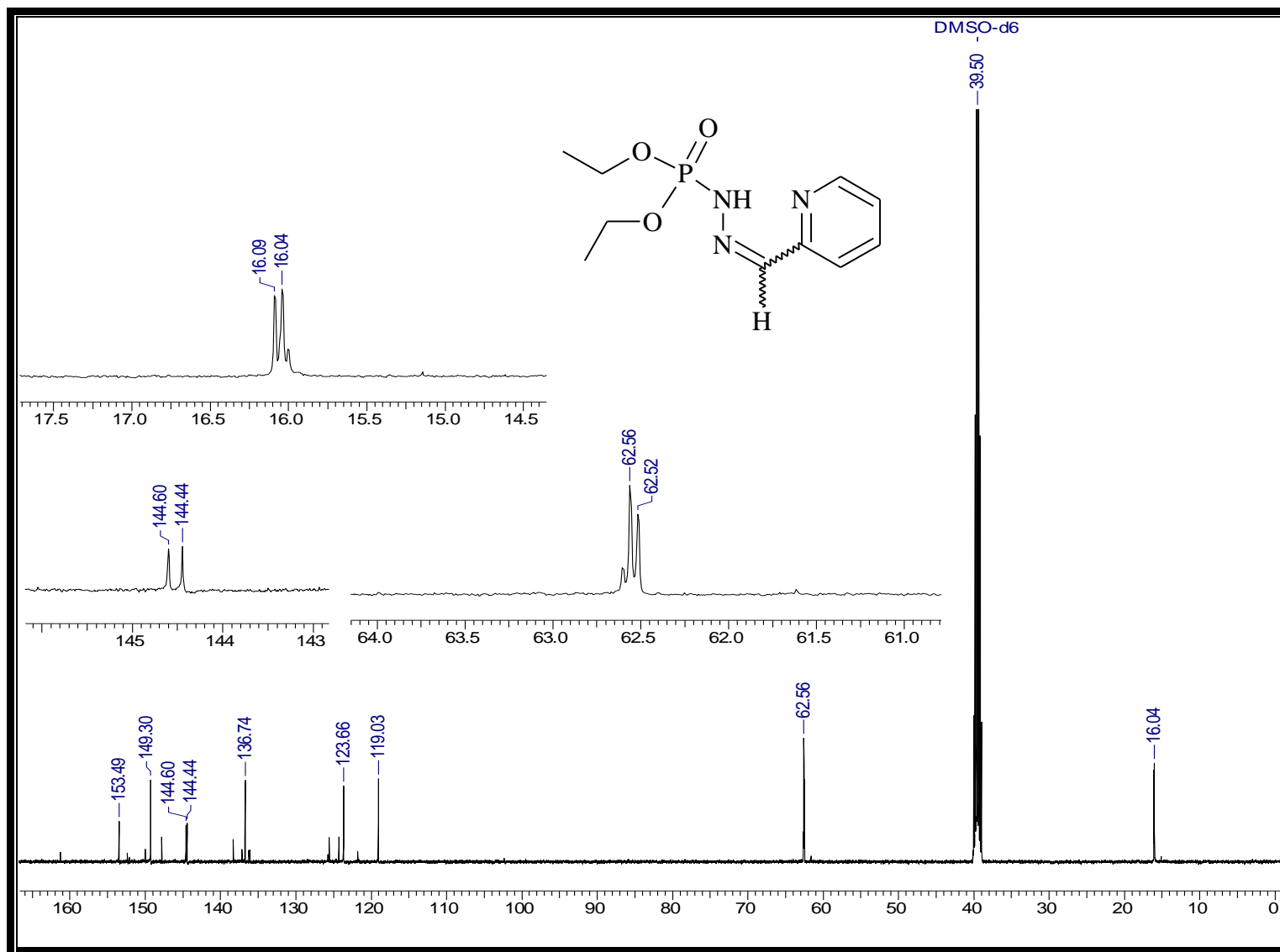
Espectro 43: Espectro de NOE do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (8).



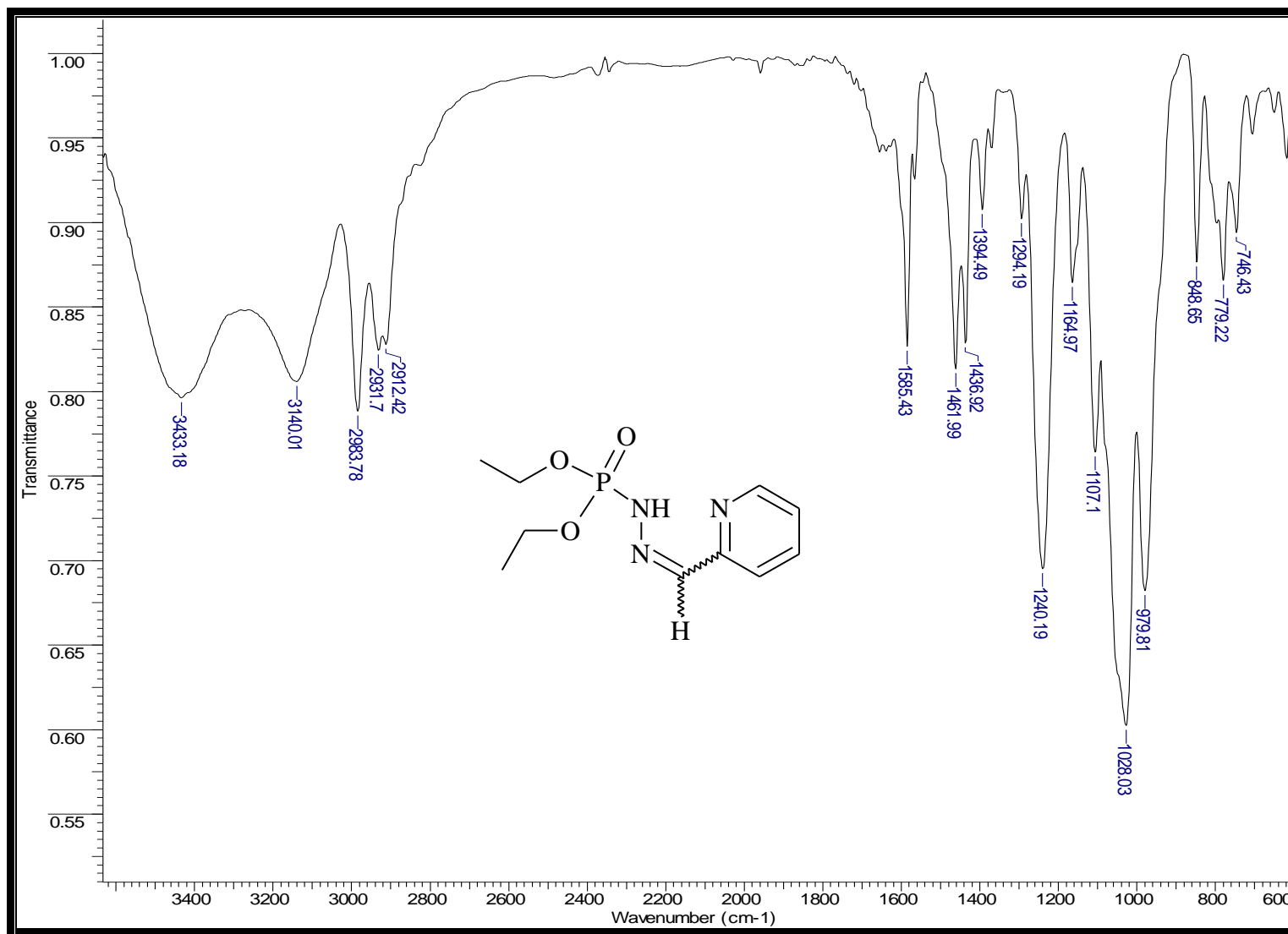
Espectro 44: Espectro de RMN- 1H do éster dietílico, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (9).



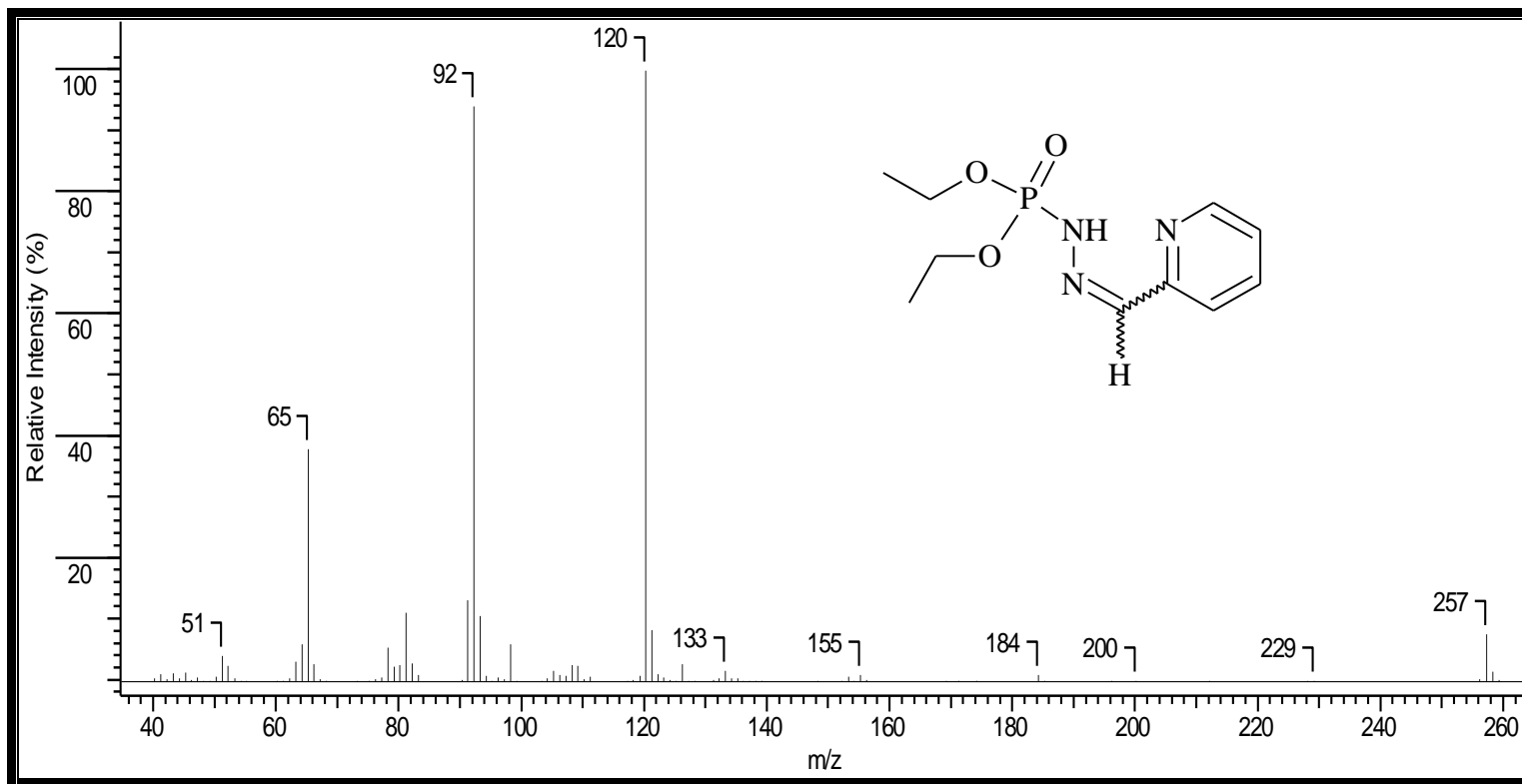
Espectro 45: Espectro de RMN- ^{31}P do éster dietílico, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (9).



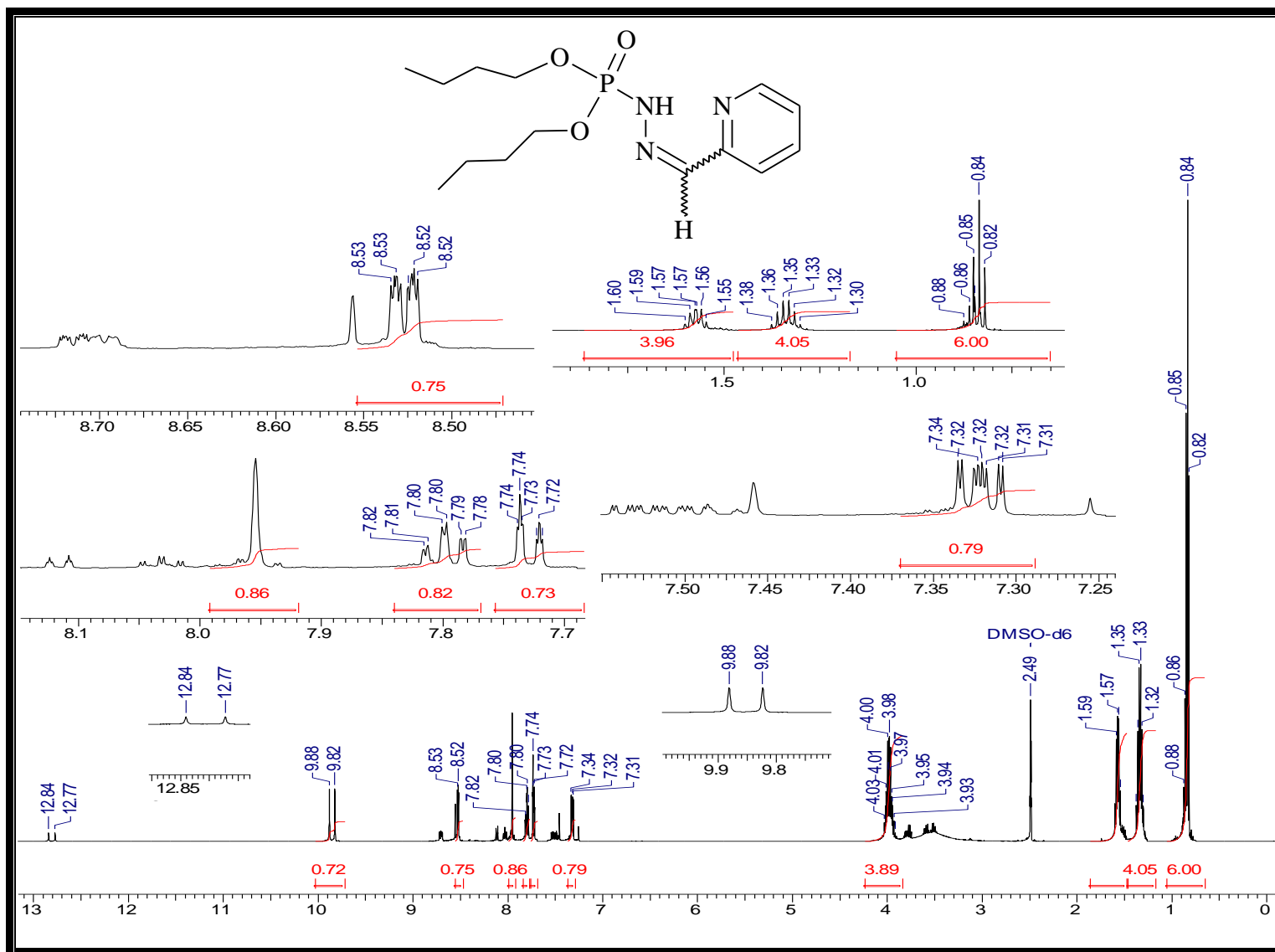
Espectro 46: Espectro de RMN- 13C do éster dietílico, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (9).



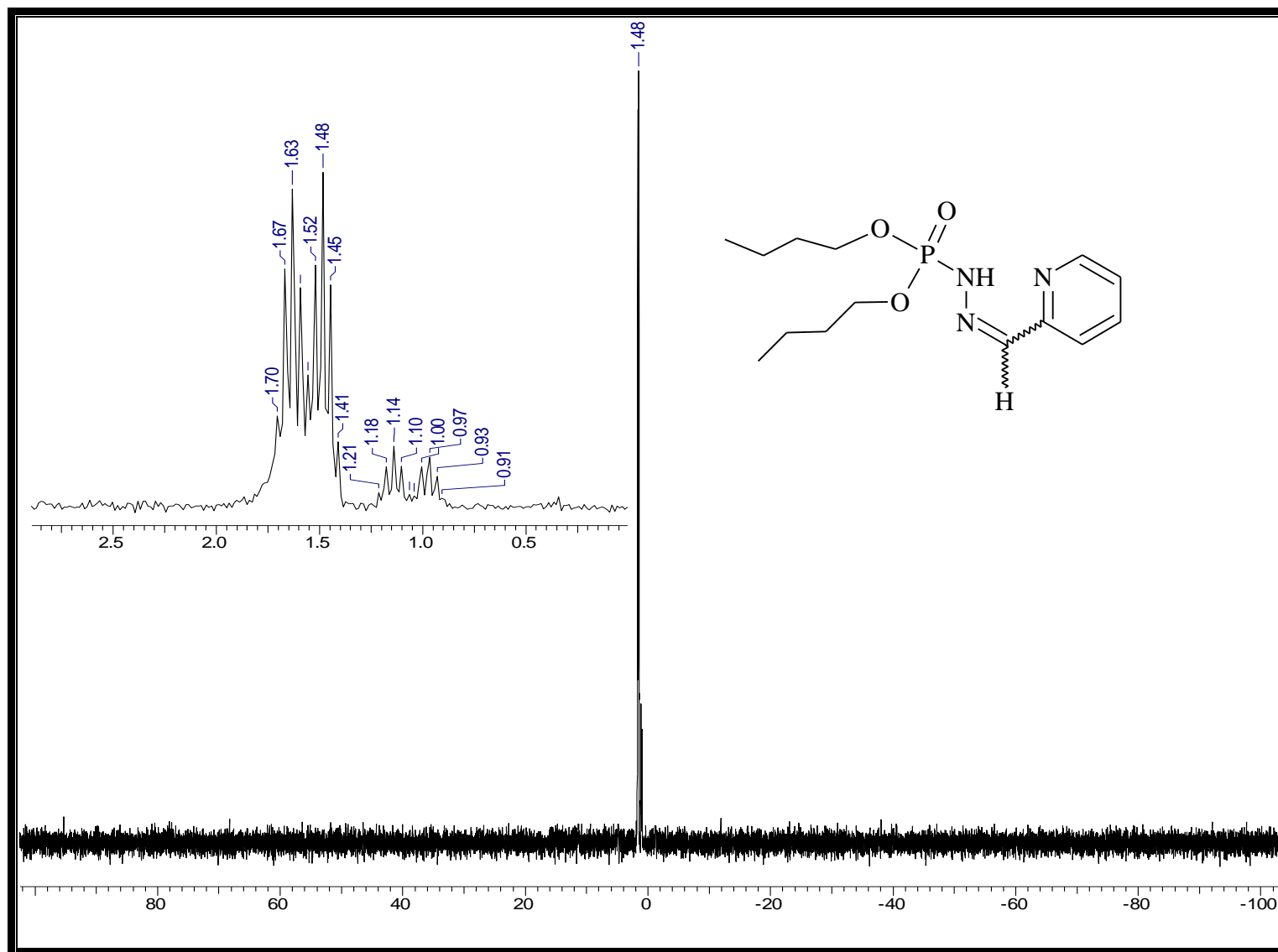
Espectro 47: Espectro de IV do éster dietílico, *N'*- [2-metilenpiridina], do ácido fosforodrazídico (9).



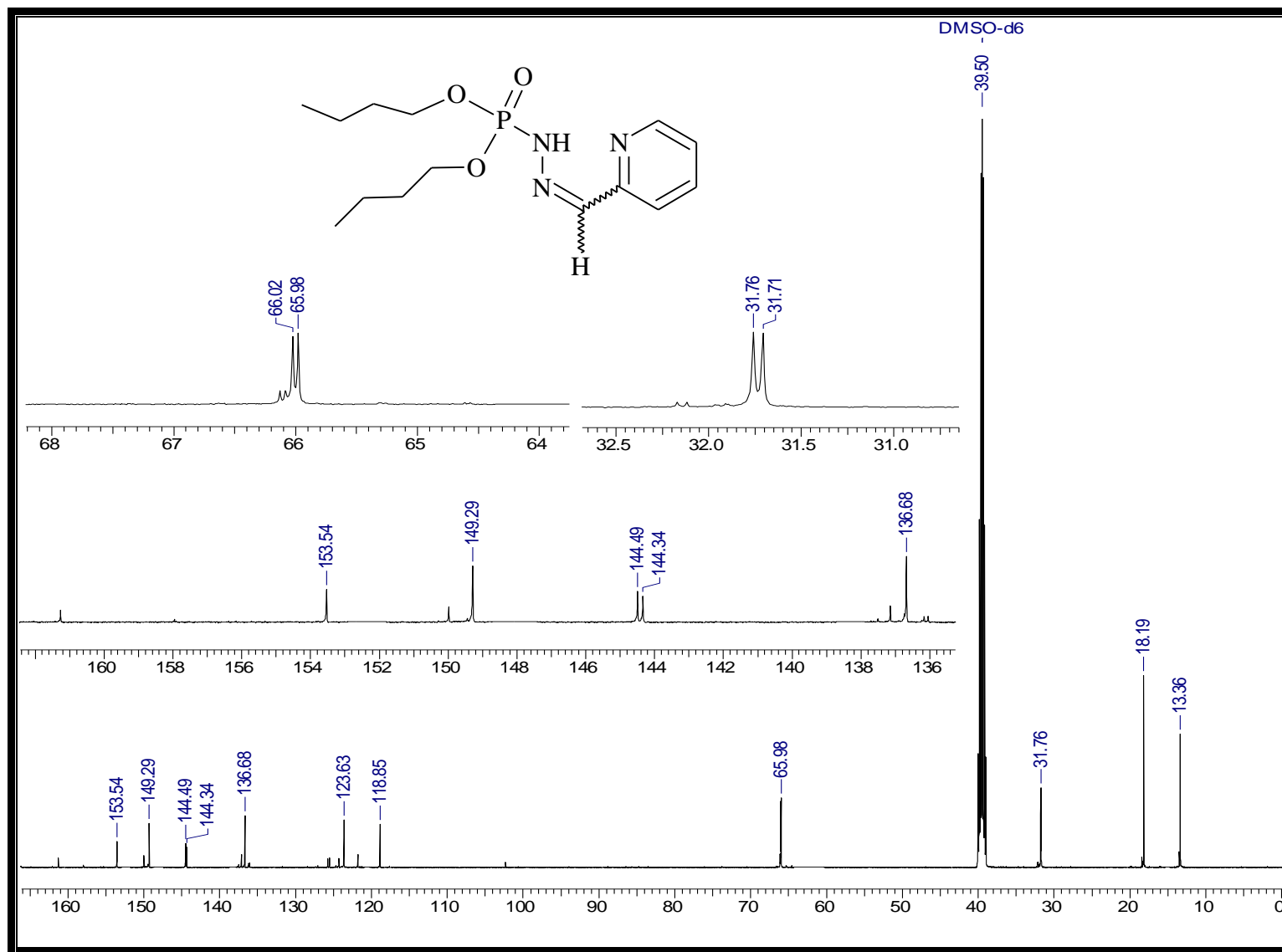
Espectro 48: Espectro de massas do éster dietílico, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosfoimidazídico (9).



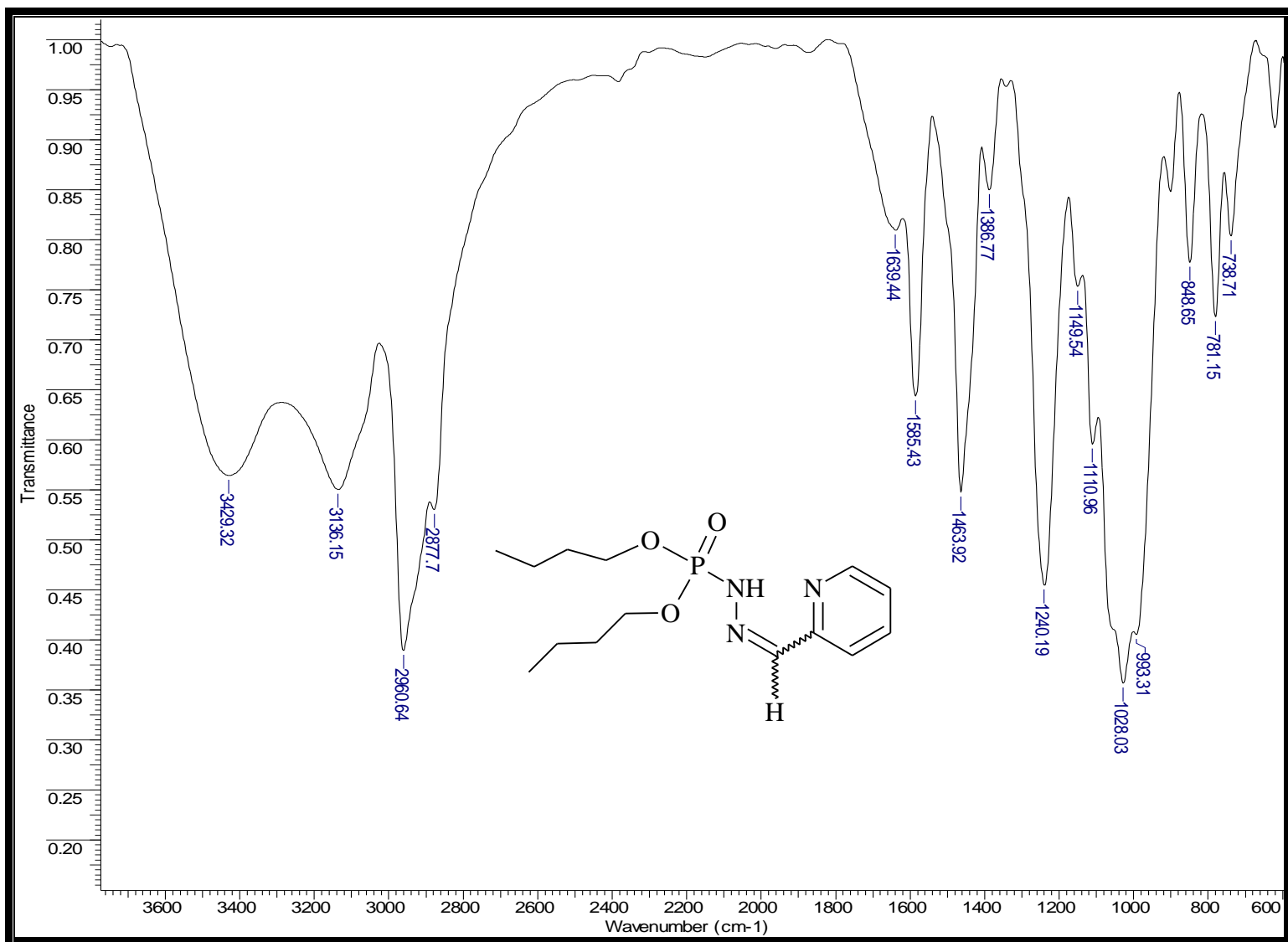
Espectro 49: Espectro de RMN- 1H do éster dibutílico, *N'*- [2-metilopiridina], do ácido fosforoidrazídico (10).



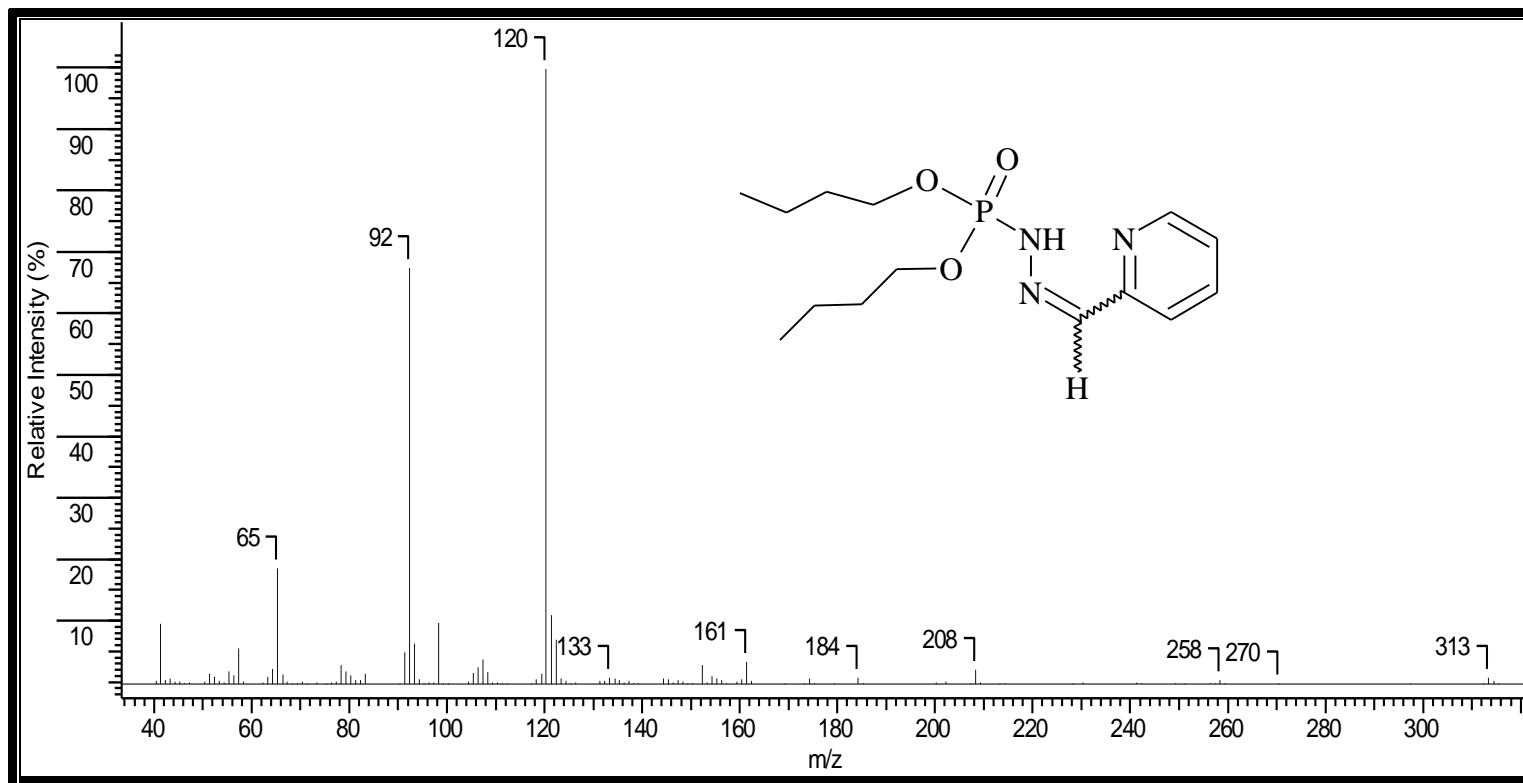
Espectro 50: Espectro de RMN- ³¹P do éster dibutílico, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (10).



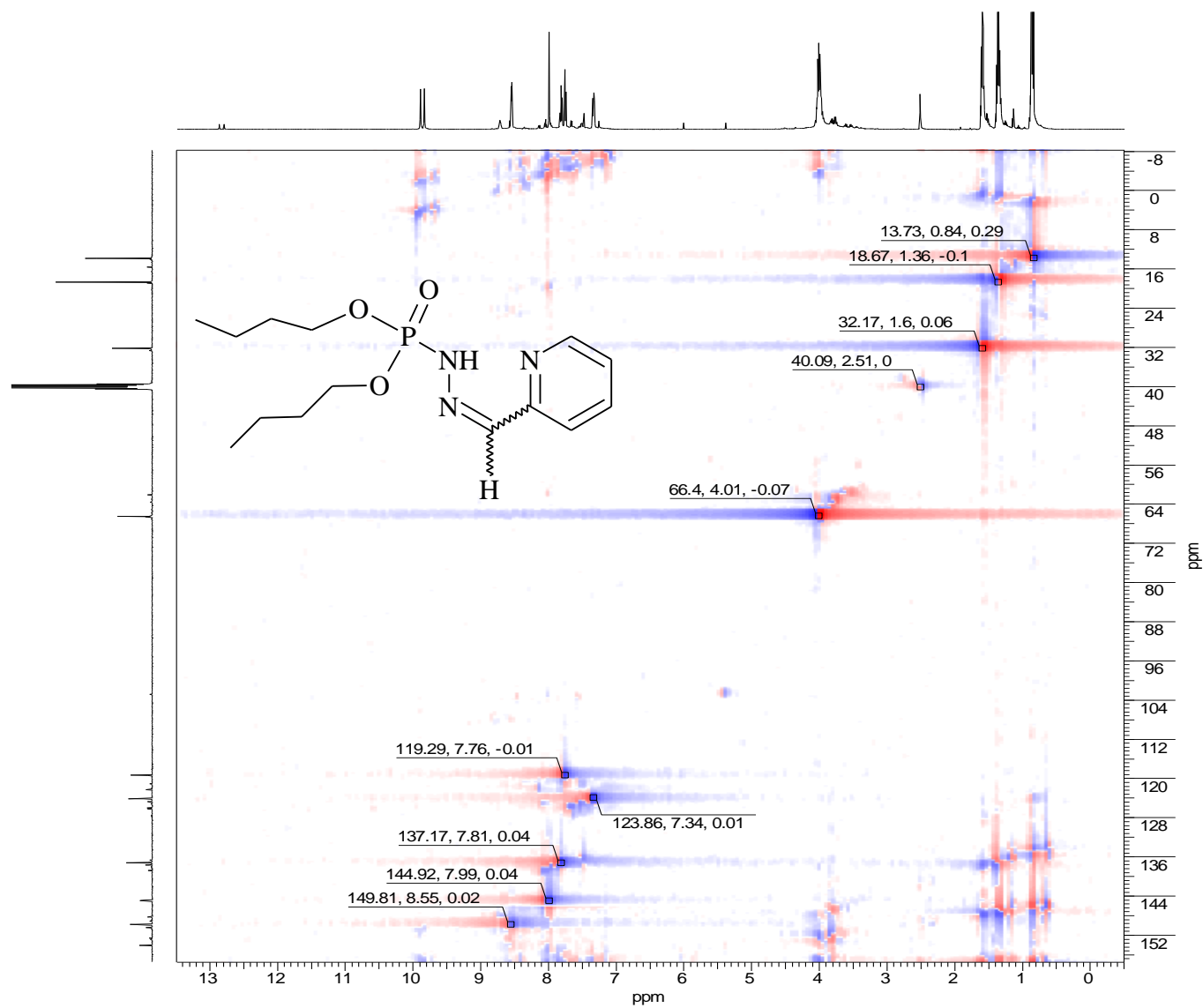
Espectro 51: Espectro de RMN- ¹³C do éster dibutílico, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (10).



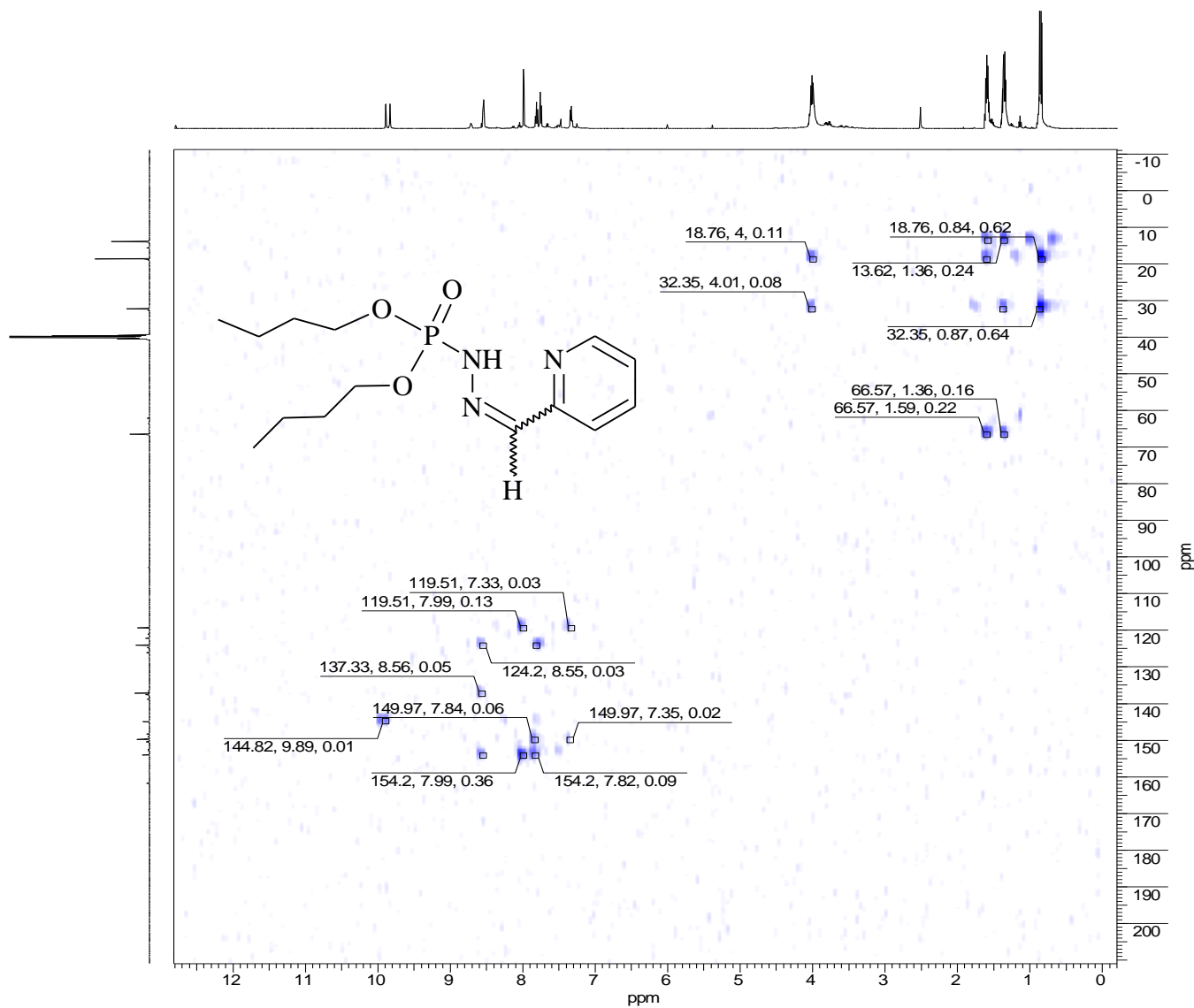
Espectro 52: Espectro de IV do éster dibutílico, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (10).



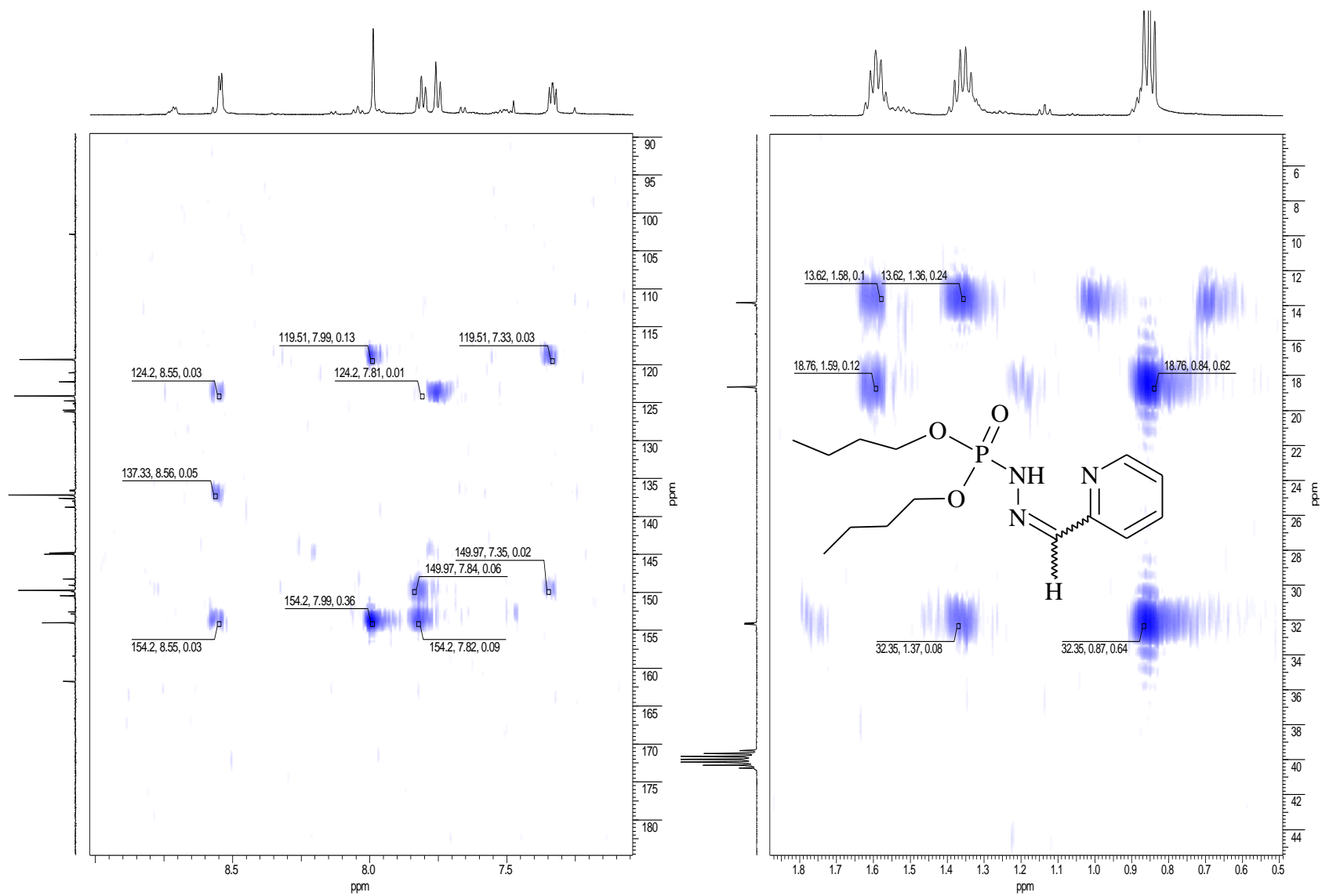
Espectro 53: Espectro de massas do éster dibutílico, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (10).



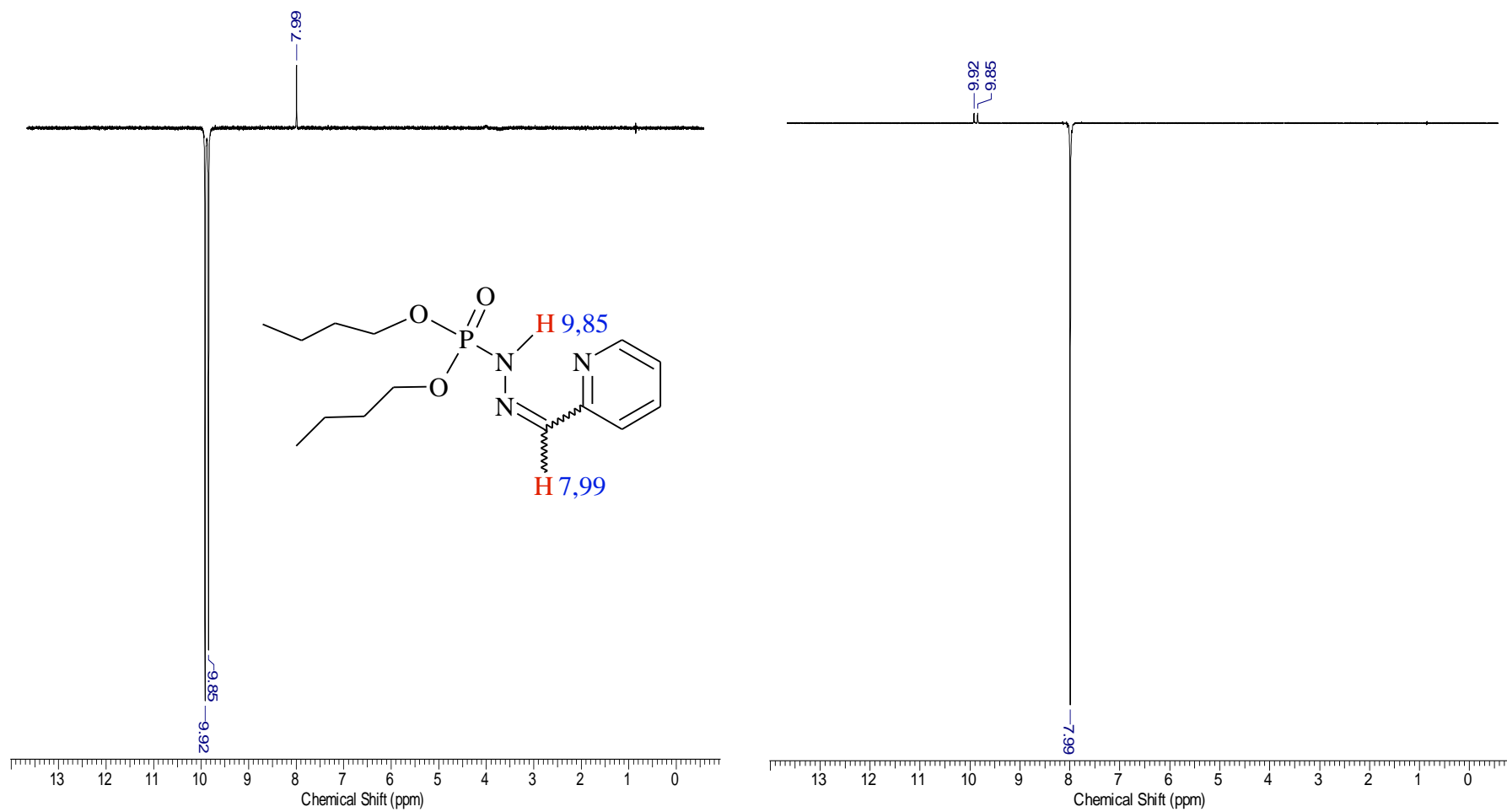
Espectro 54: Espectro de HSQC do éster dibutílico, *N'*-[2-metileno piridina], do ácido fosforodrazídico (10).



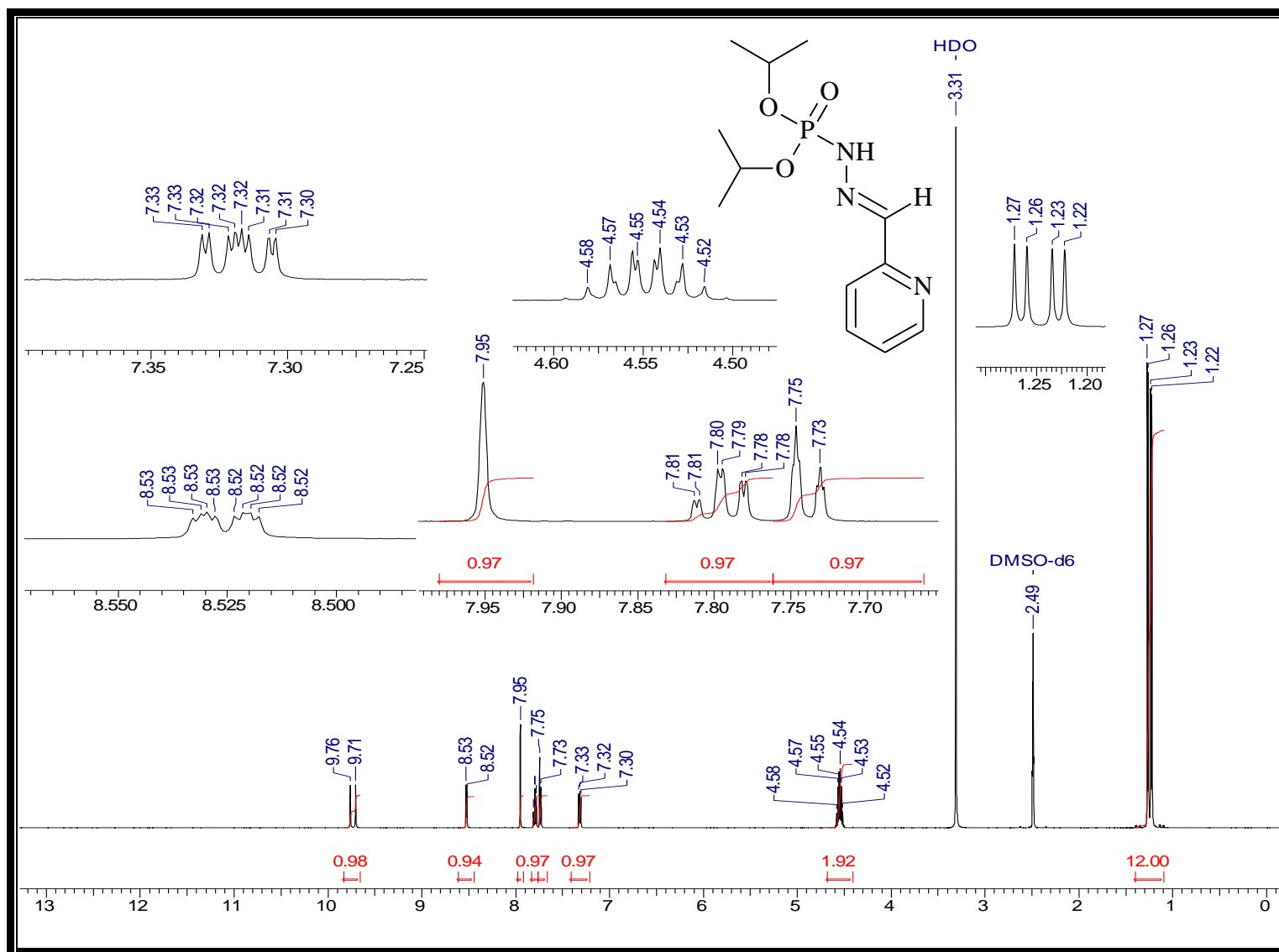
Espectro 55: Espectro de HMBC do éster dibutílico, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (10).



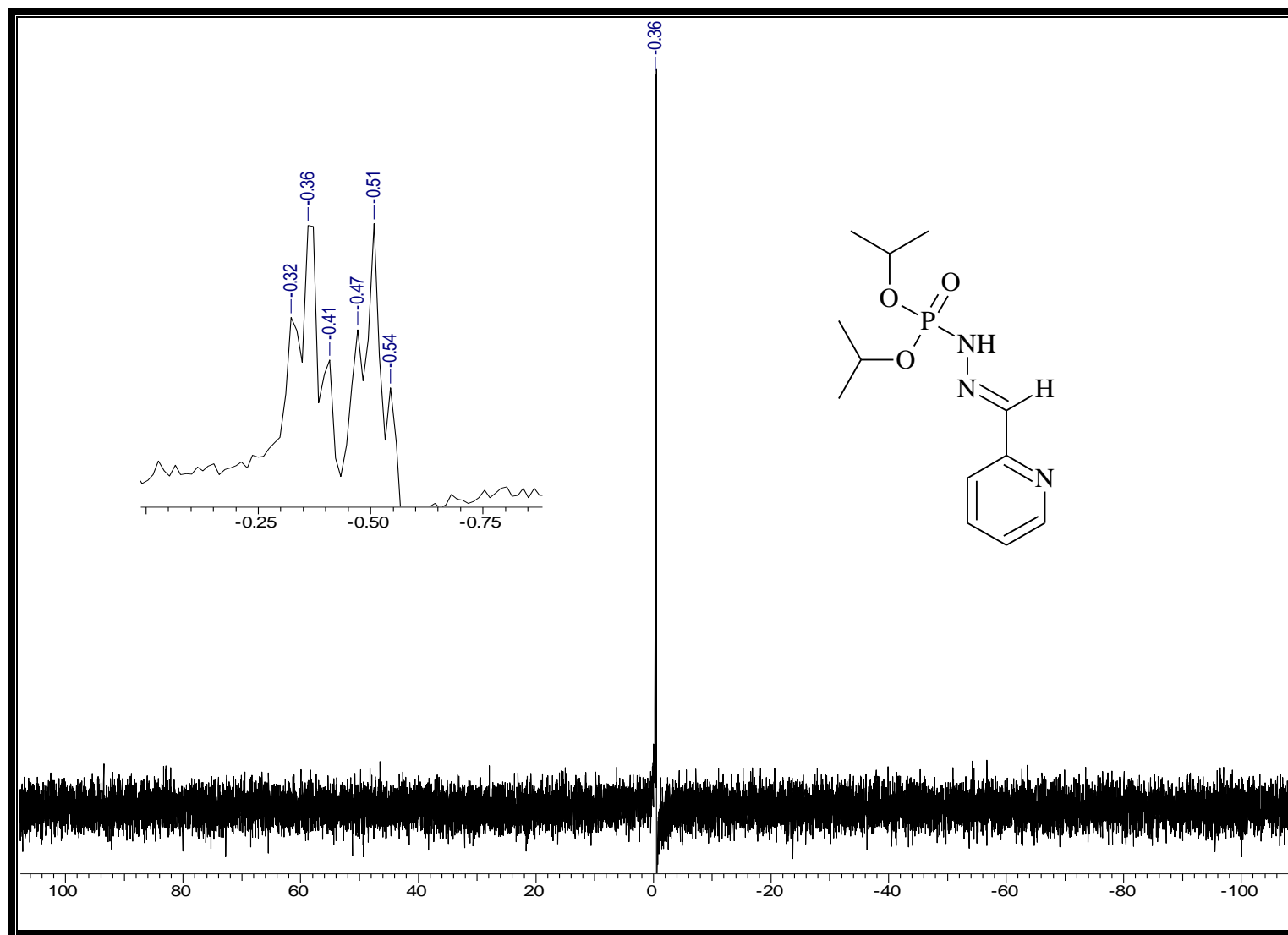
Espectro 56: Espectro de HMBC expandido do éster dibutílico, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (10).



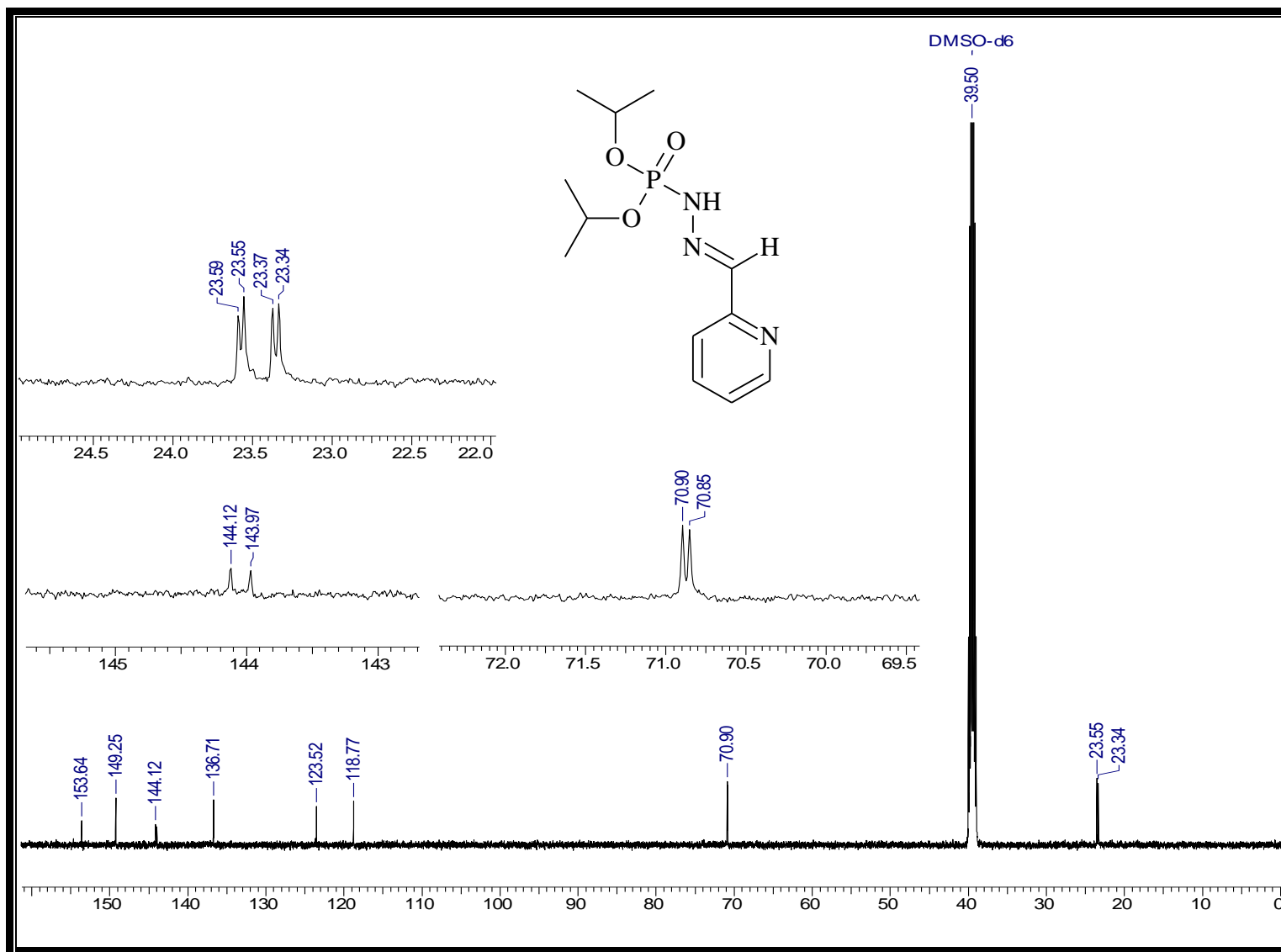
Espectro 57: Espectro de NOE do éster dibutílico, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (10).



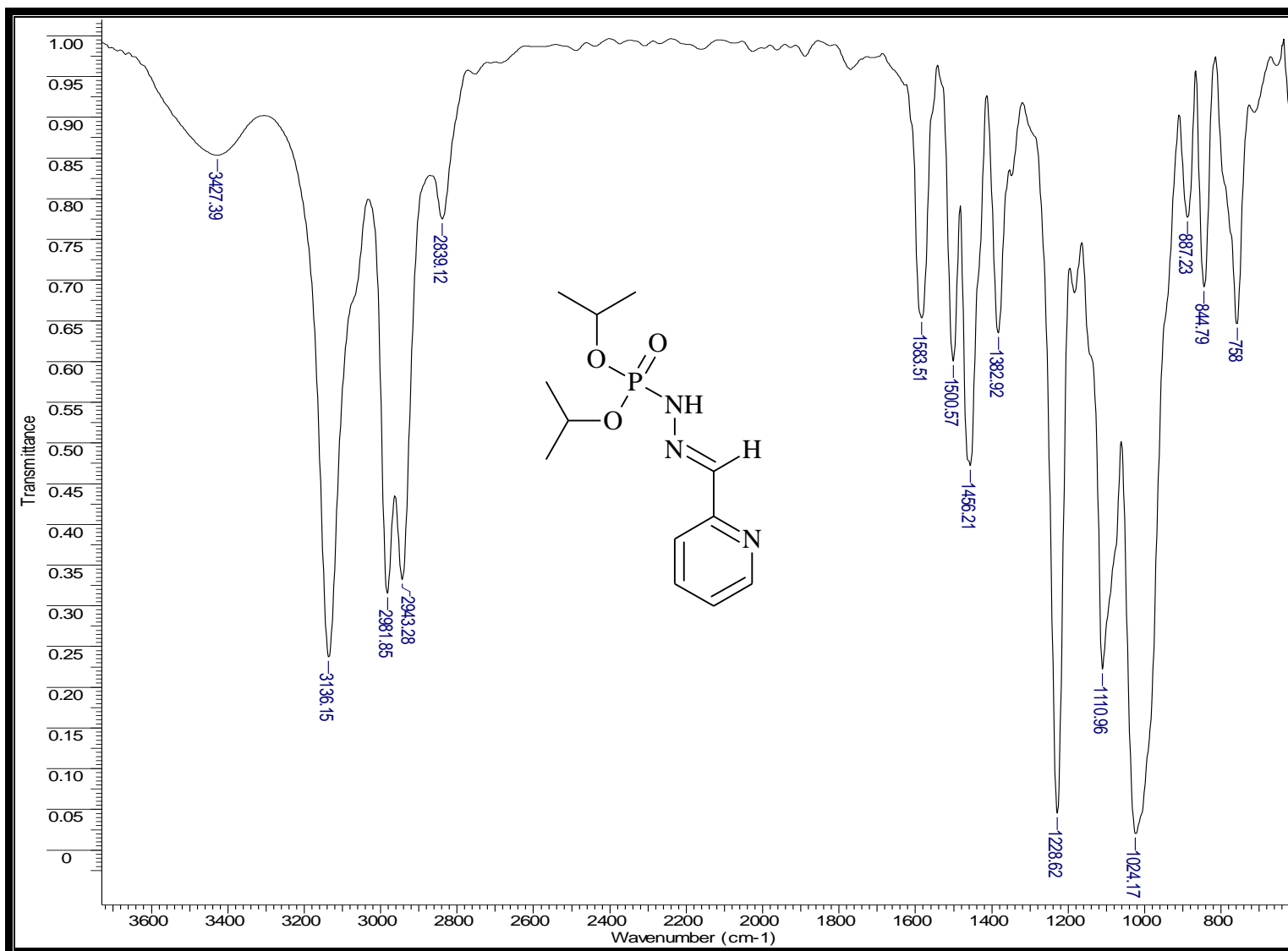
Espectro 58: Espectro de RMN- 1H do éster di-*isopropílico*, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (11).



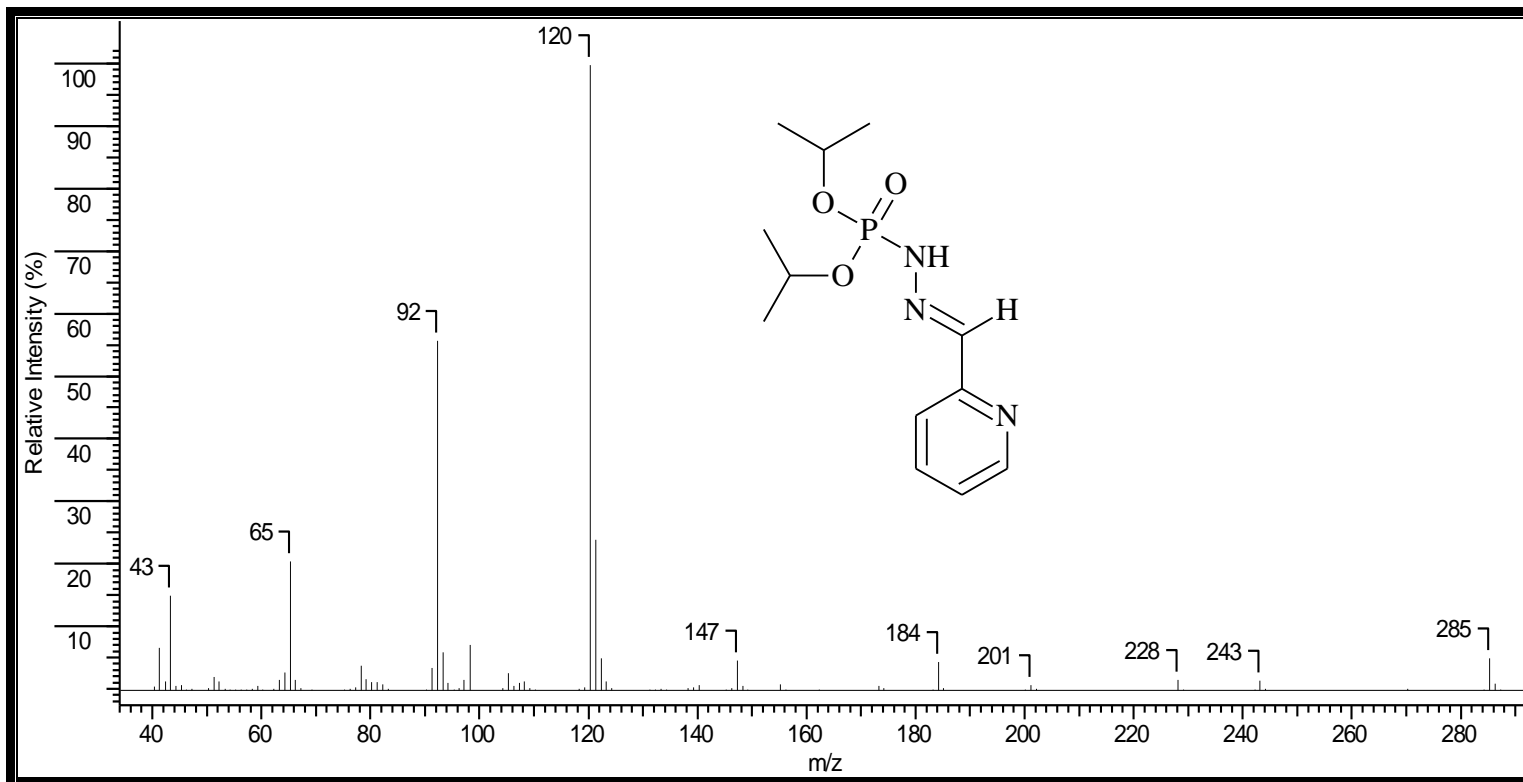
Espectro 59: Espectro de RMN- ^{31}P do éster di-*isopropílico*, N' - [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (11).



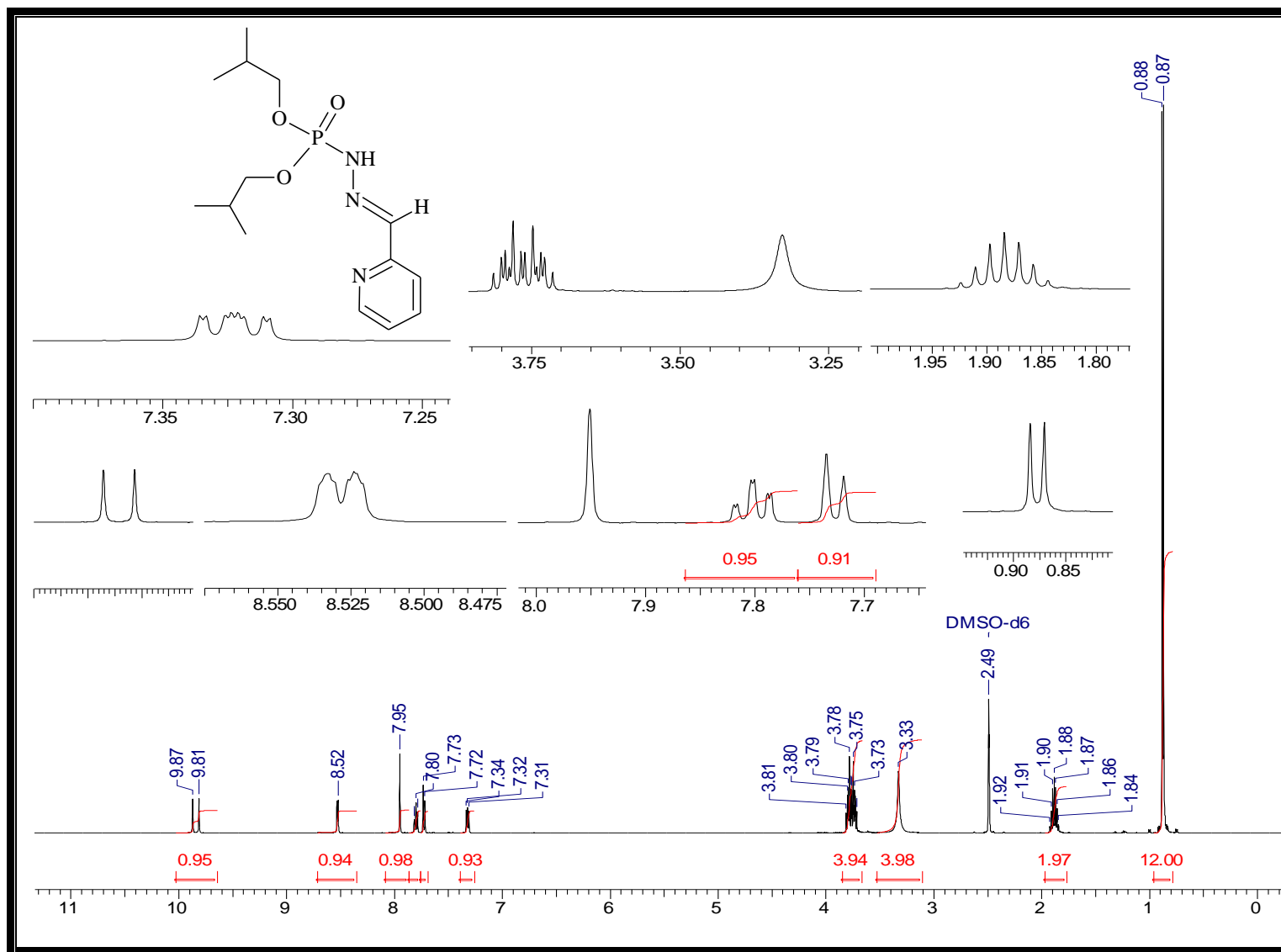
Espectro 60: Espectro de RMN- 13C do éster di-*isopropílico*, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (11).



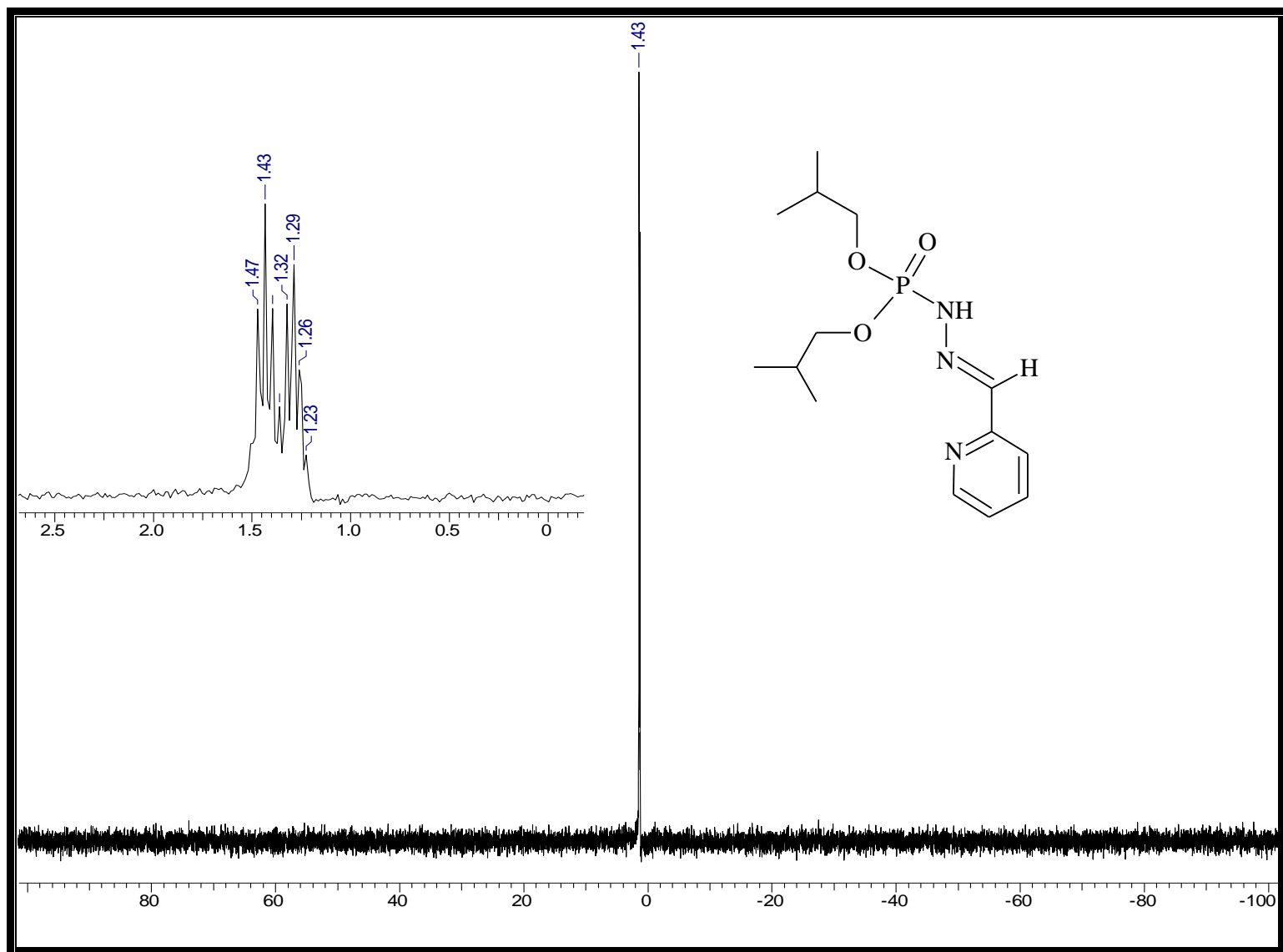
Espectro 61: Espectro de IV do éster di-*isopropílico*, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (11).



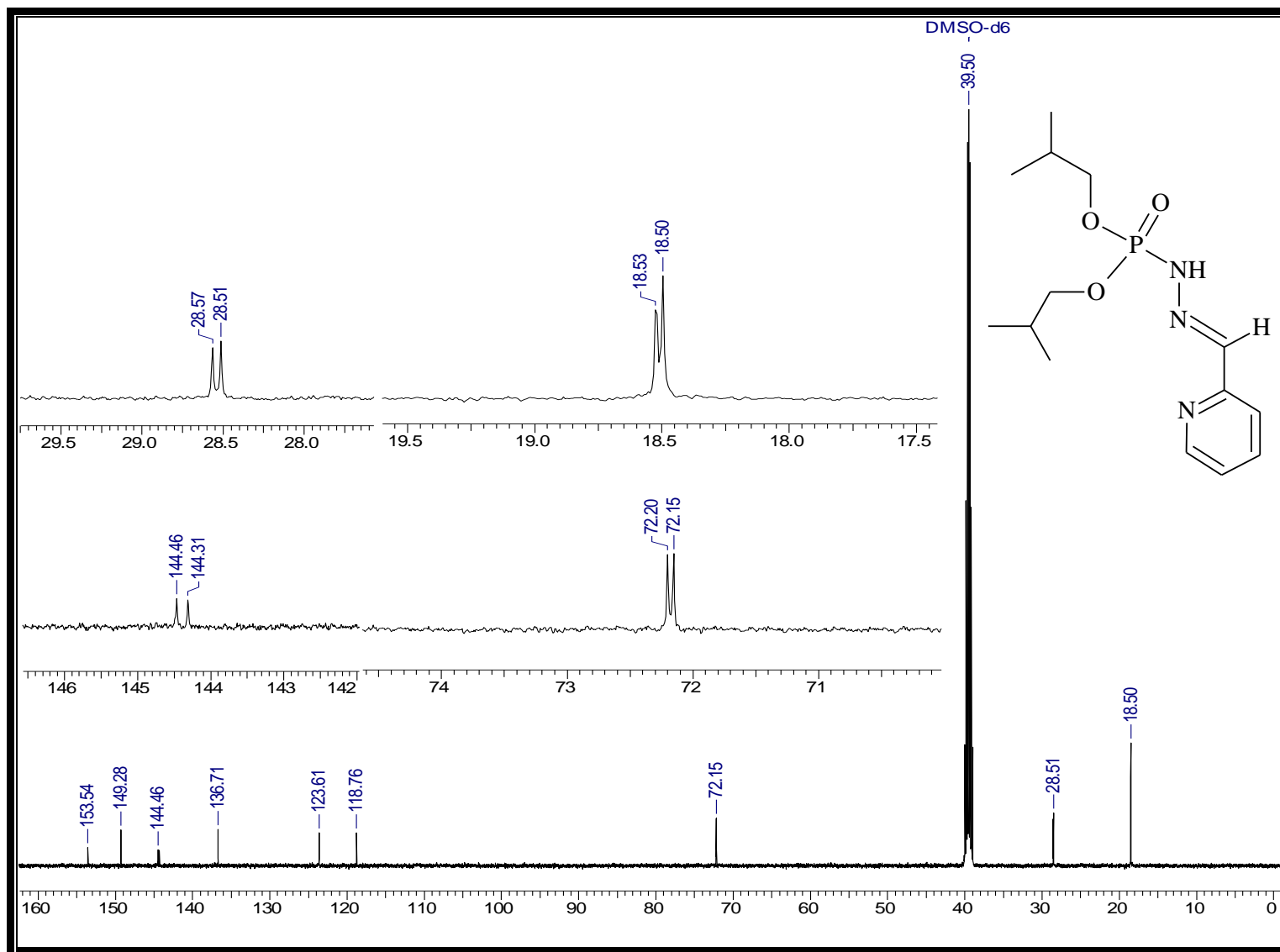
Espectro 62: Espectro de massas do éster di-*isopropílico*, *N'*- [2-metilenpiridina], do ácido fosforoidrazídico (11).



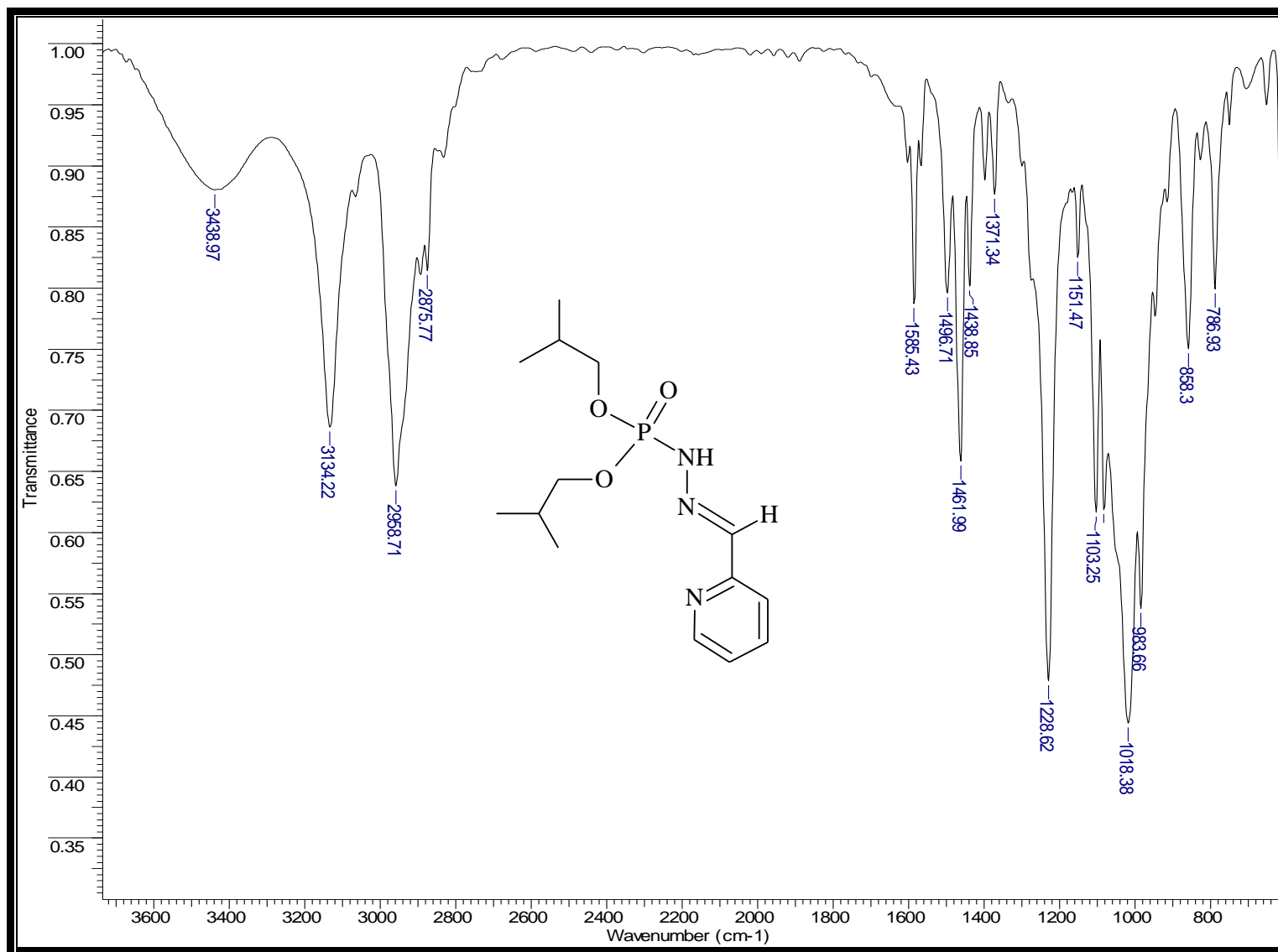
Espectro 63: Espectro de RMN- 1H do éster di-*isobutílico*, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (12).



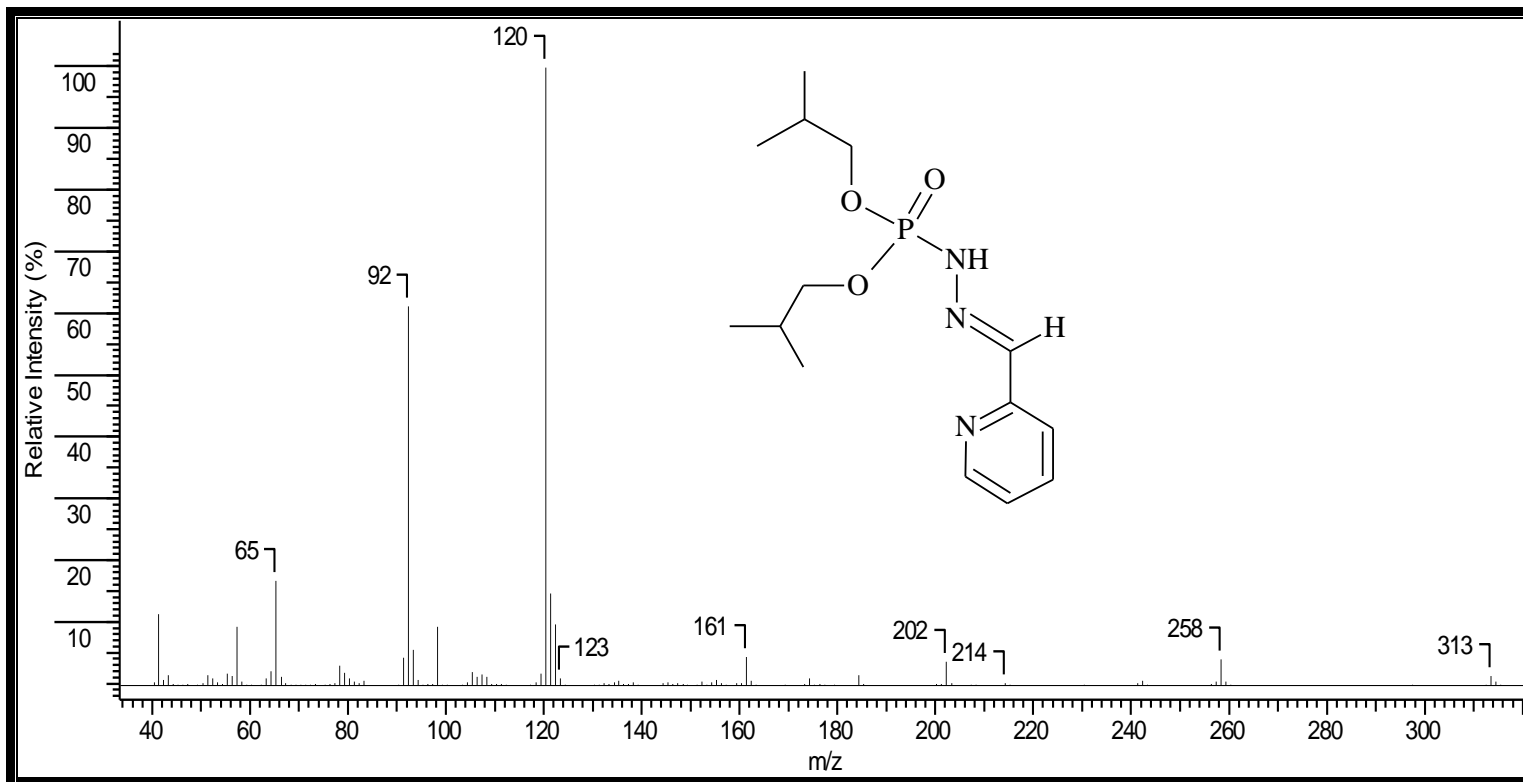
Espectro 64: Espectro de RMN- ³¹P do éster di-*isobut*ílico, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (12).



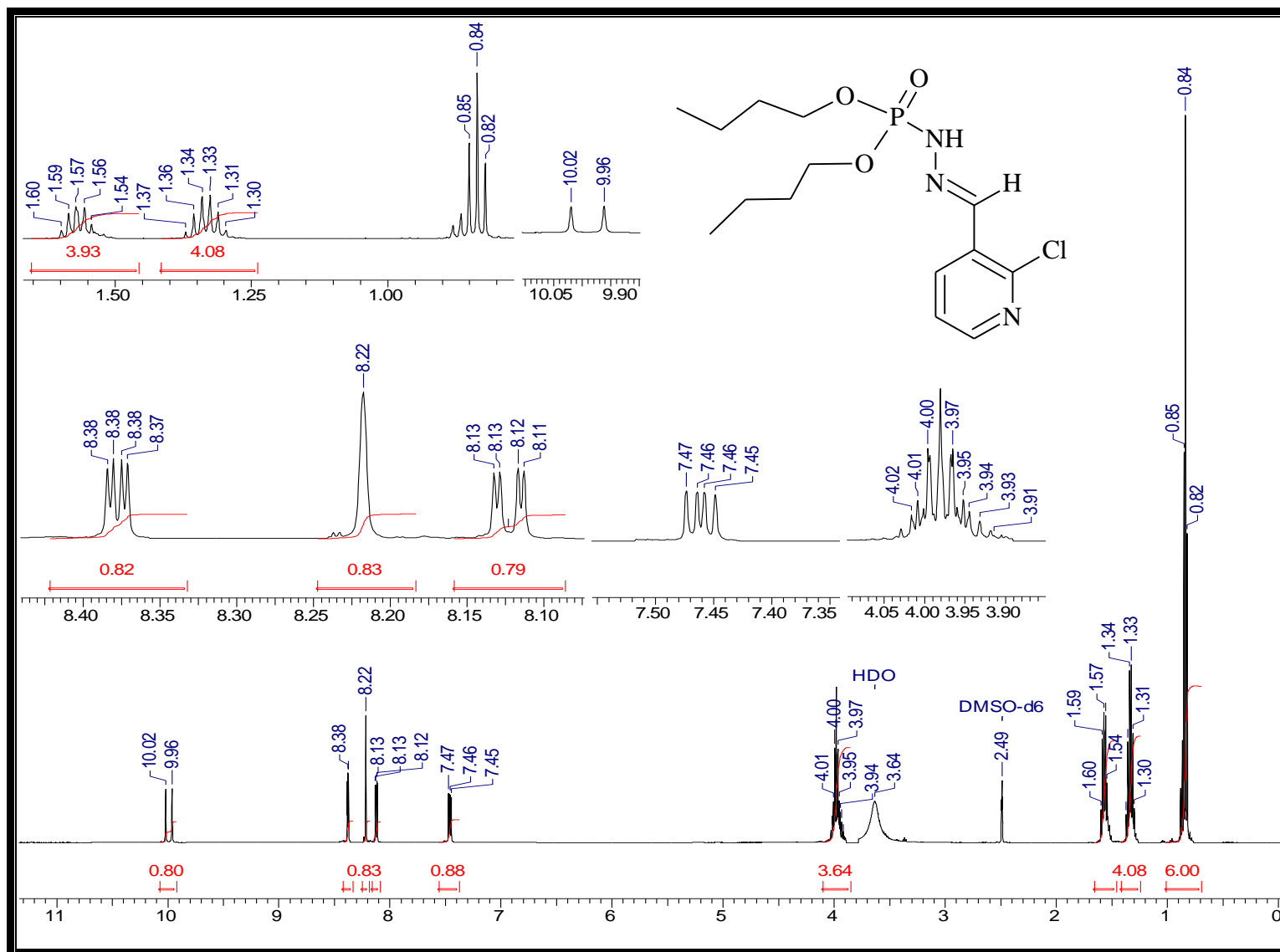
Espectro 65: Espectro de RMN- ¹³C do éster di-*isobutílico*, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (12).



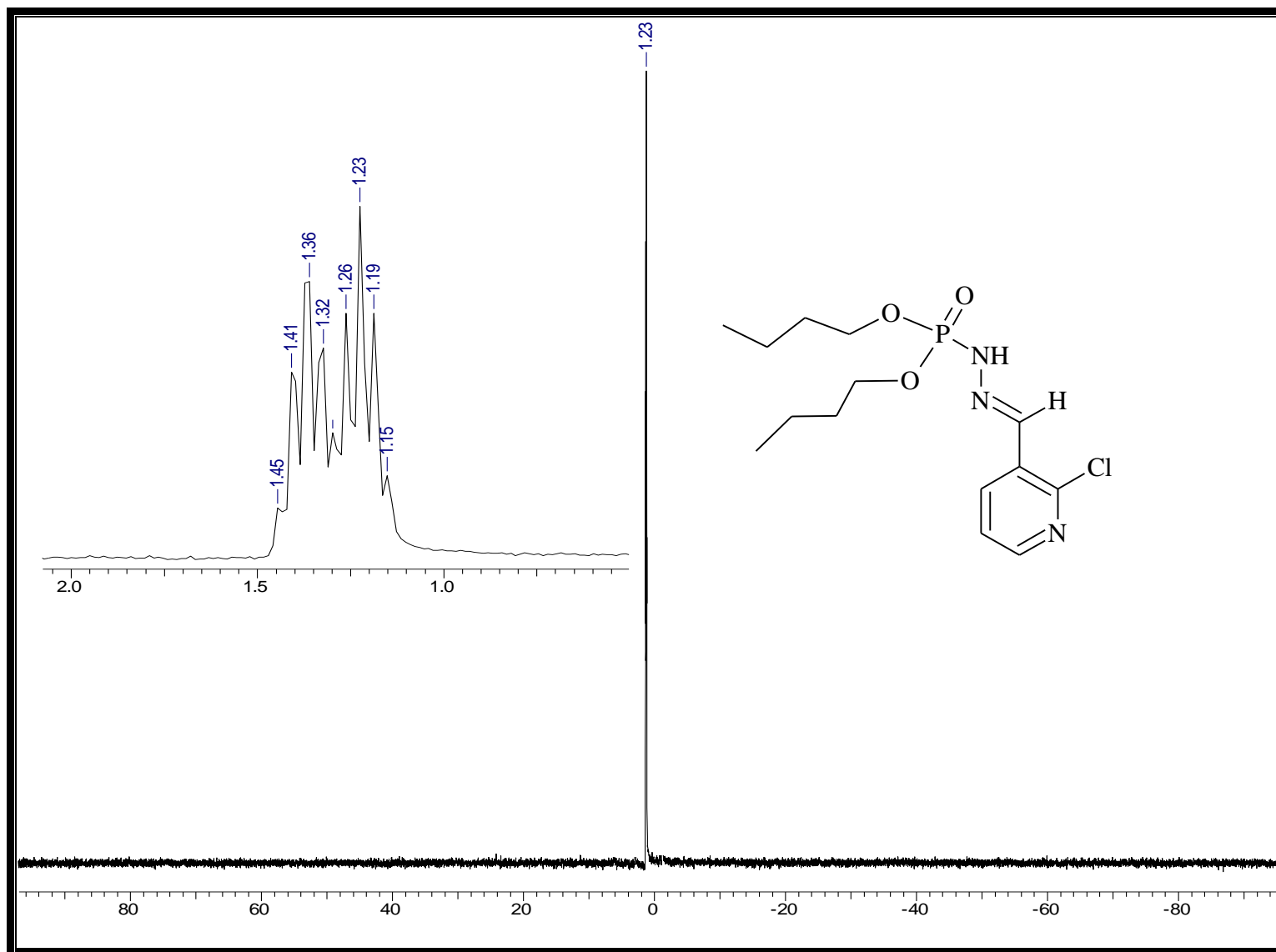
Espectro 66: Espectro de IV do éster di-*isobutílico*, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (12).



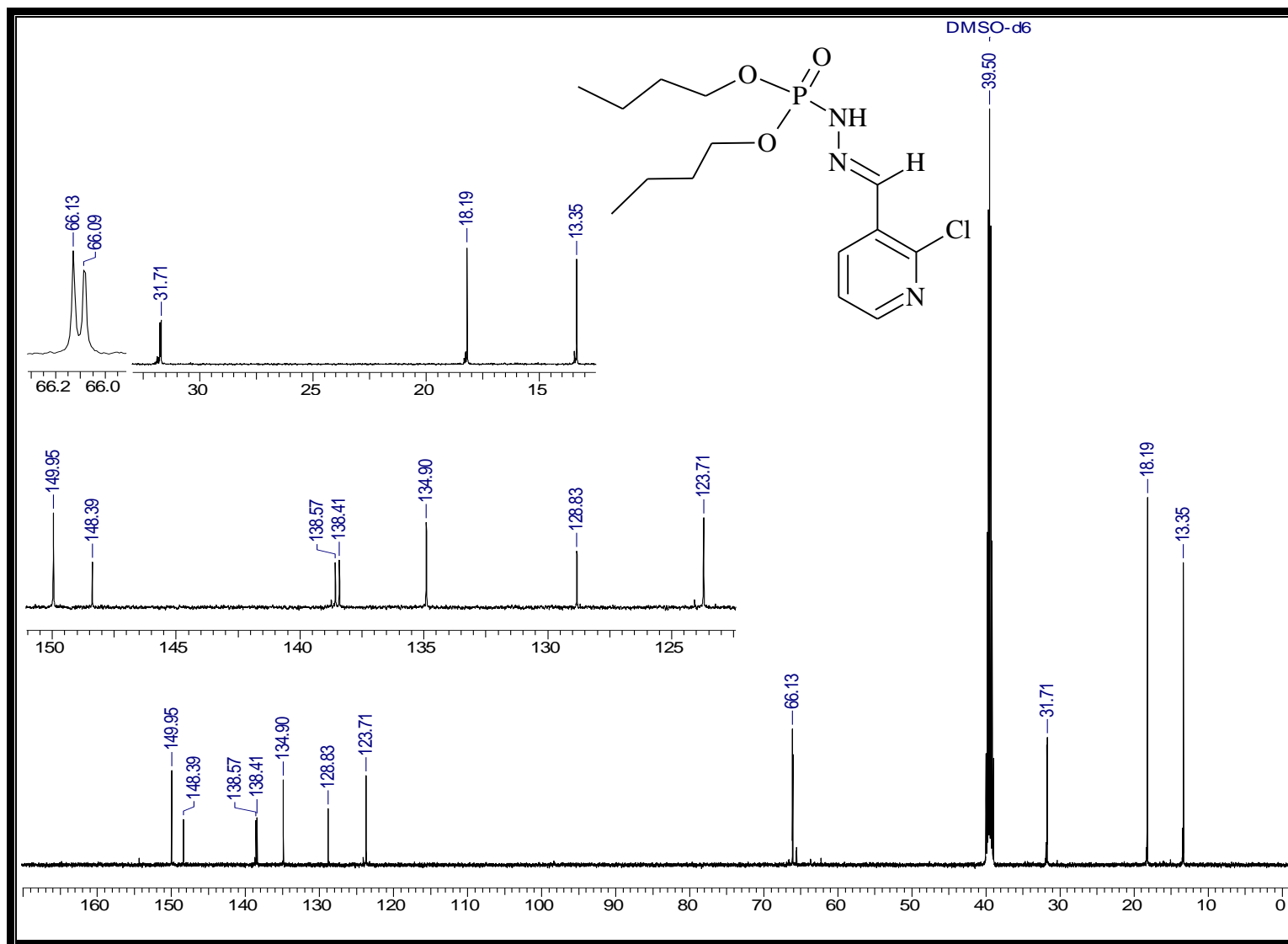
Espectro 67: Espectro de massas do éster di-*isobutílico*, *N'*- [2-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (12).



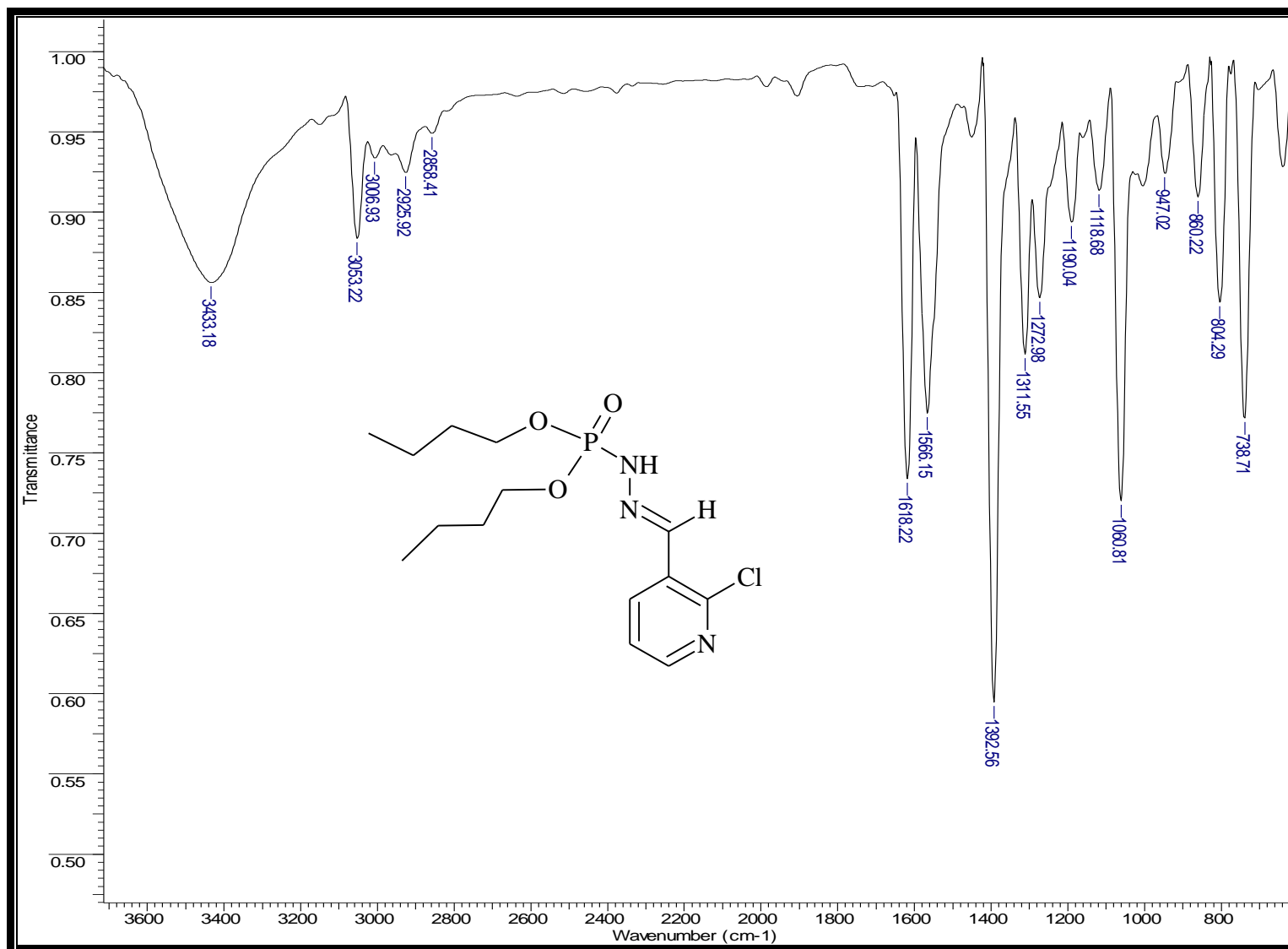
Espectro 68: Espectro de RMN- ¹H do éster dibutílico, N'- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (13).



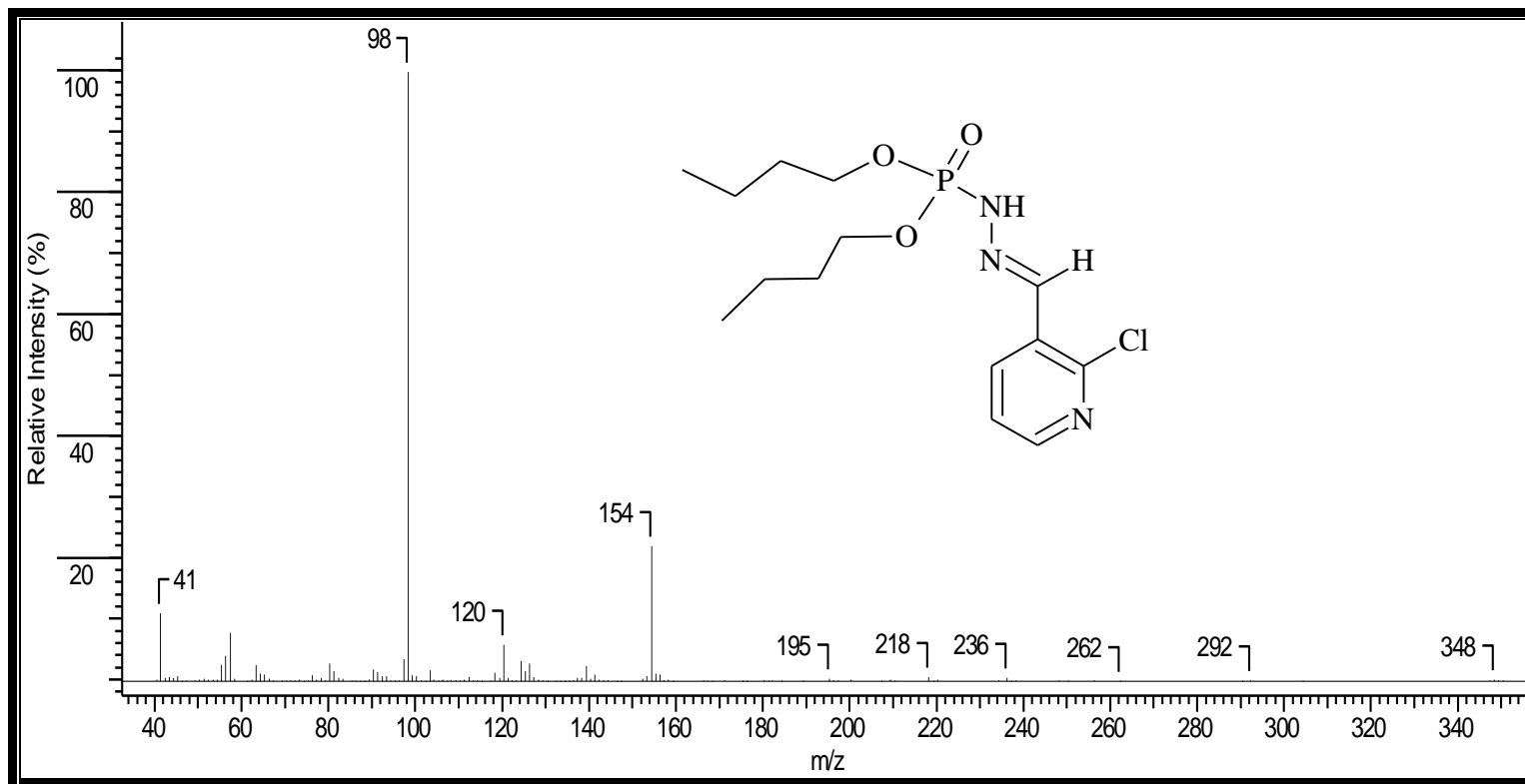
Espectro 69: Espectro de RMN- ³¹P do éster dibutílico, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (13).



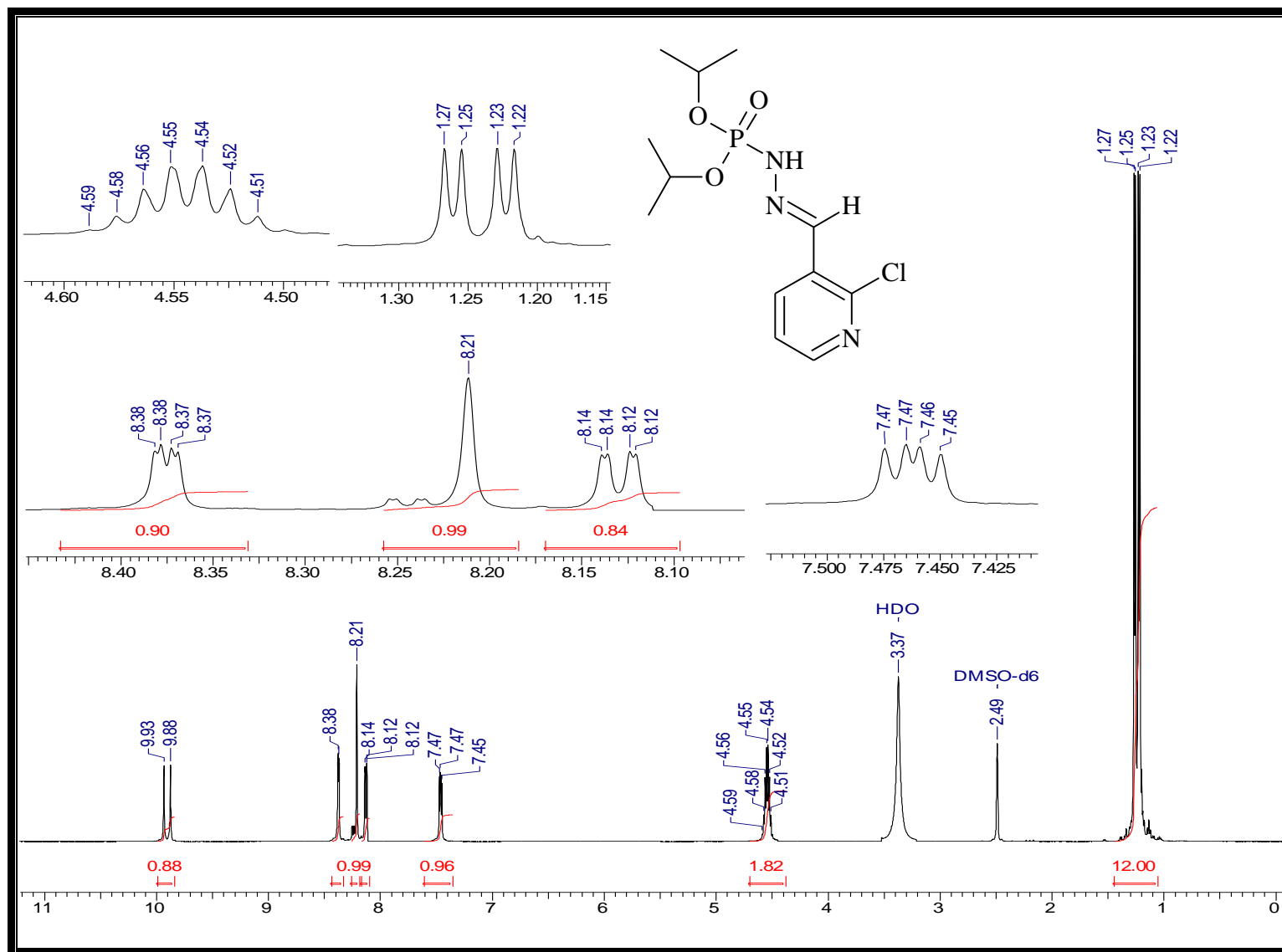
Espectro 70: Espectro de RMN- 13C do éster dibutílico, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (13).



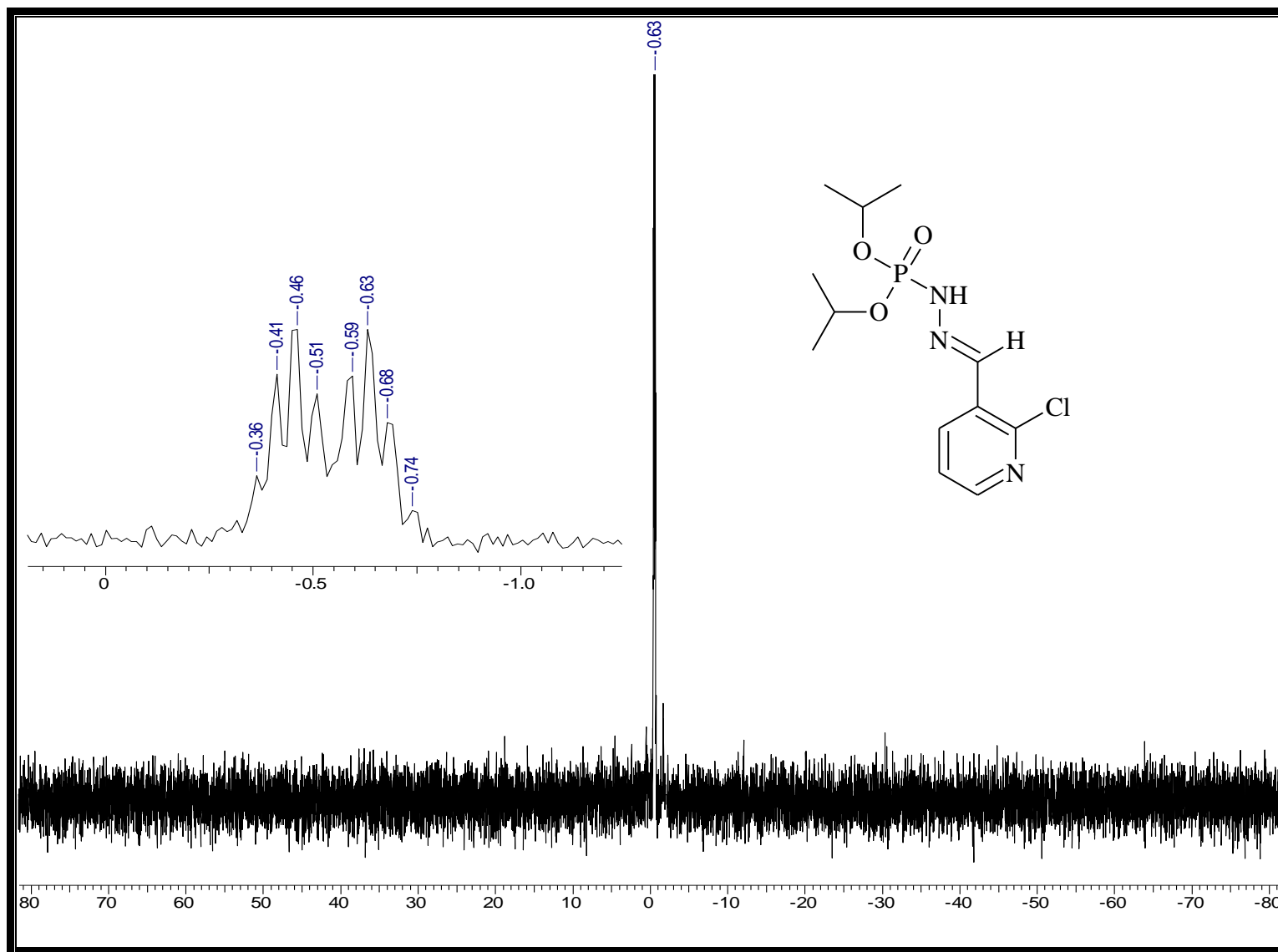
Espectro 71: Espectro de IV do éster dibutílico, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (13).



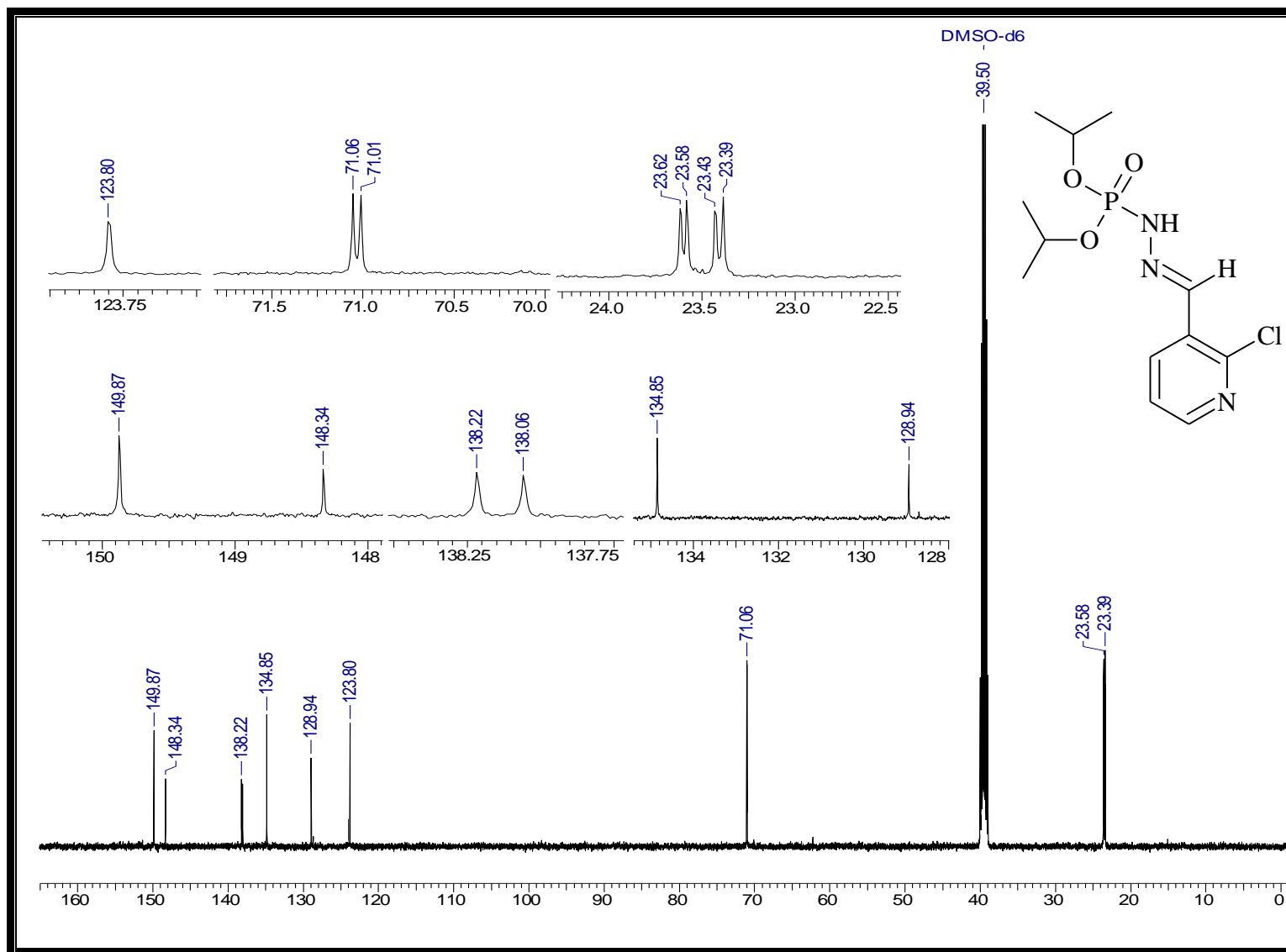
Espectro 72: Espectro de massas do éster dibutílico, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (13).



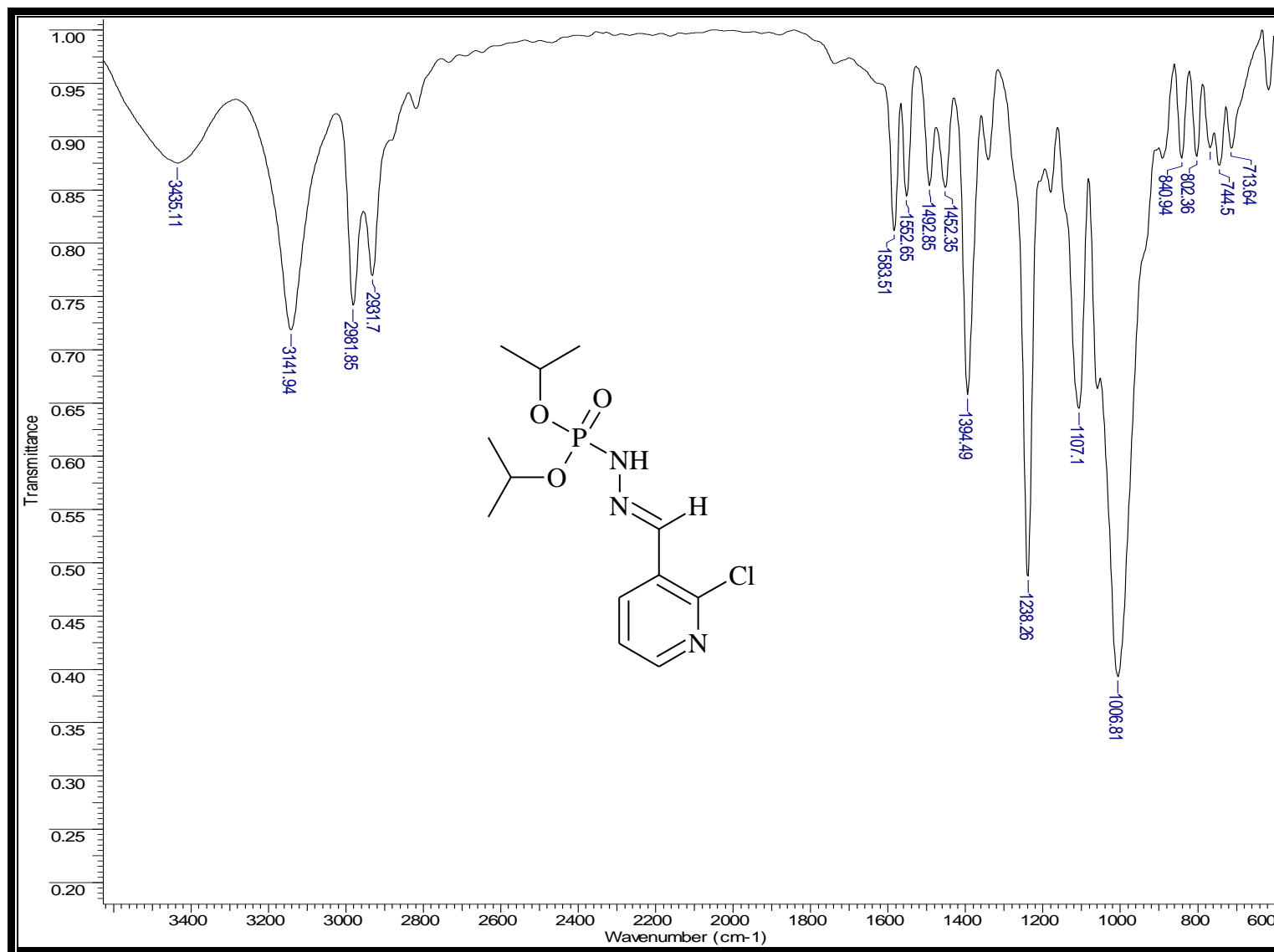
Espectro 73: Espectro de RMN- 1H do éster di-*isopropílico*, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (14).



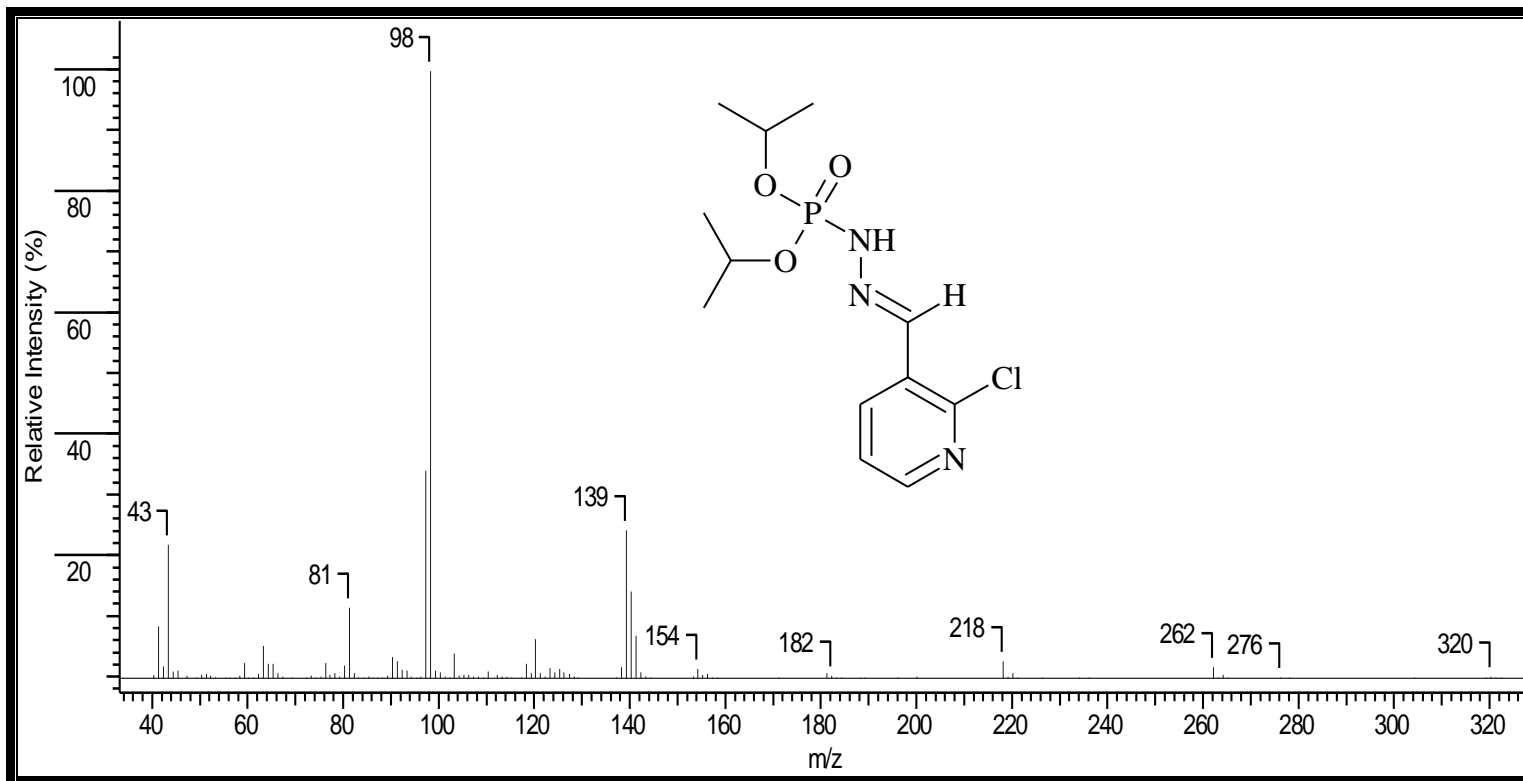
Espectro 74: Espectro de RMN- ³¹P do éster di-*isopropílico*, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (14).



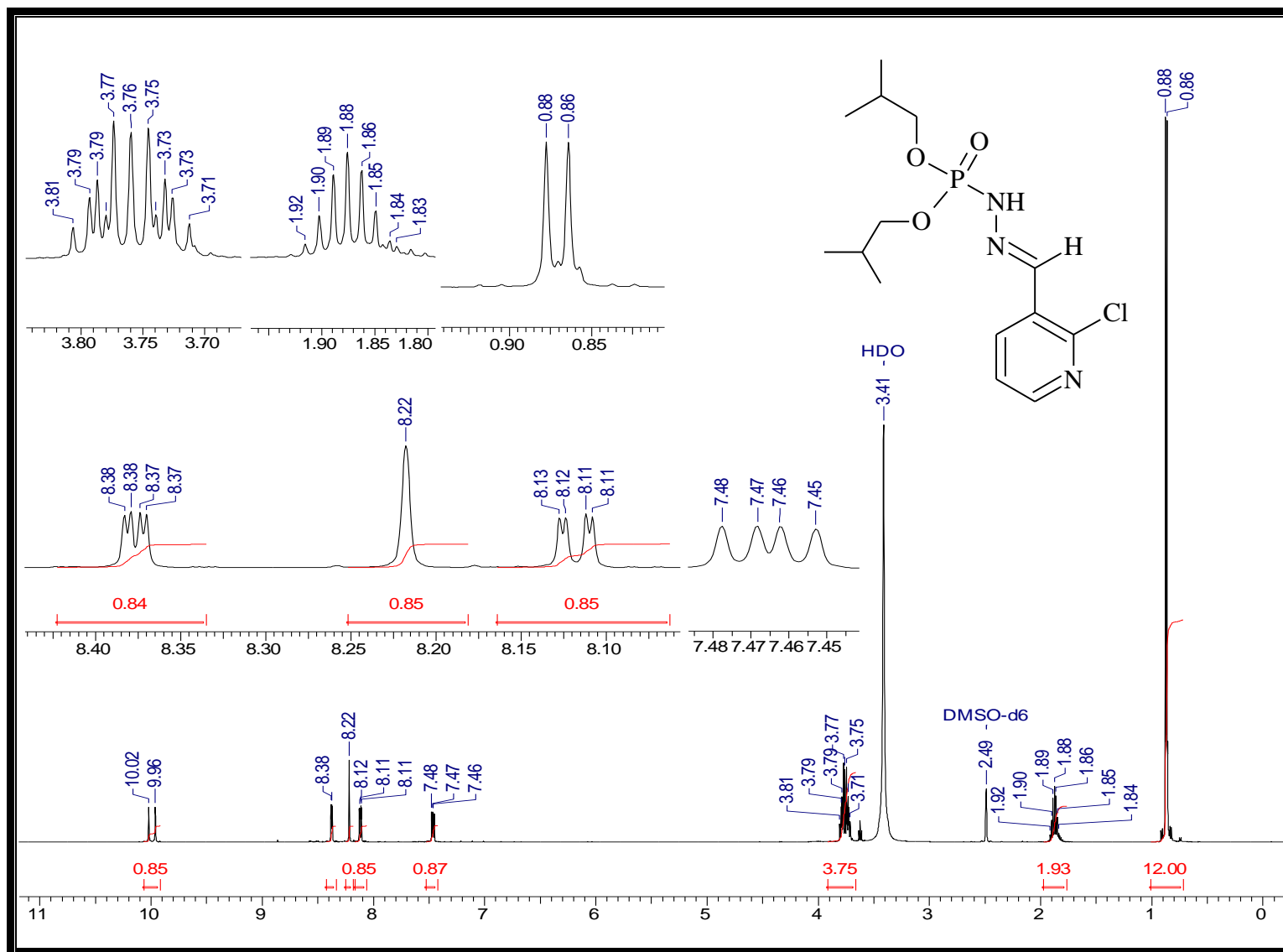
Espectro 75: Espectro de RMN- 13C do éster di-*isopropílico*, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosfoimidazídico (14).



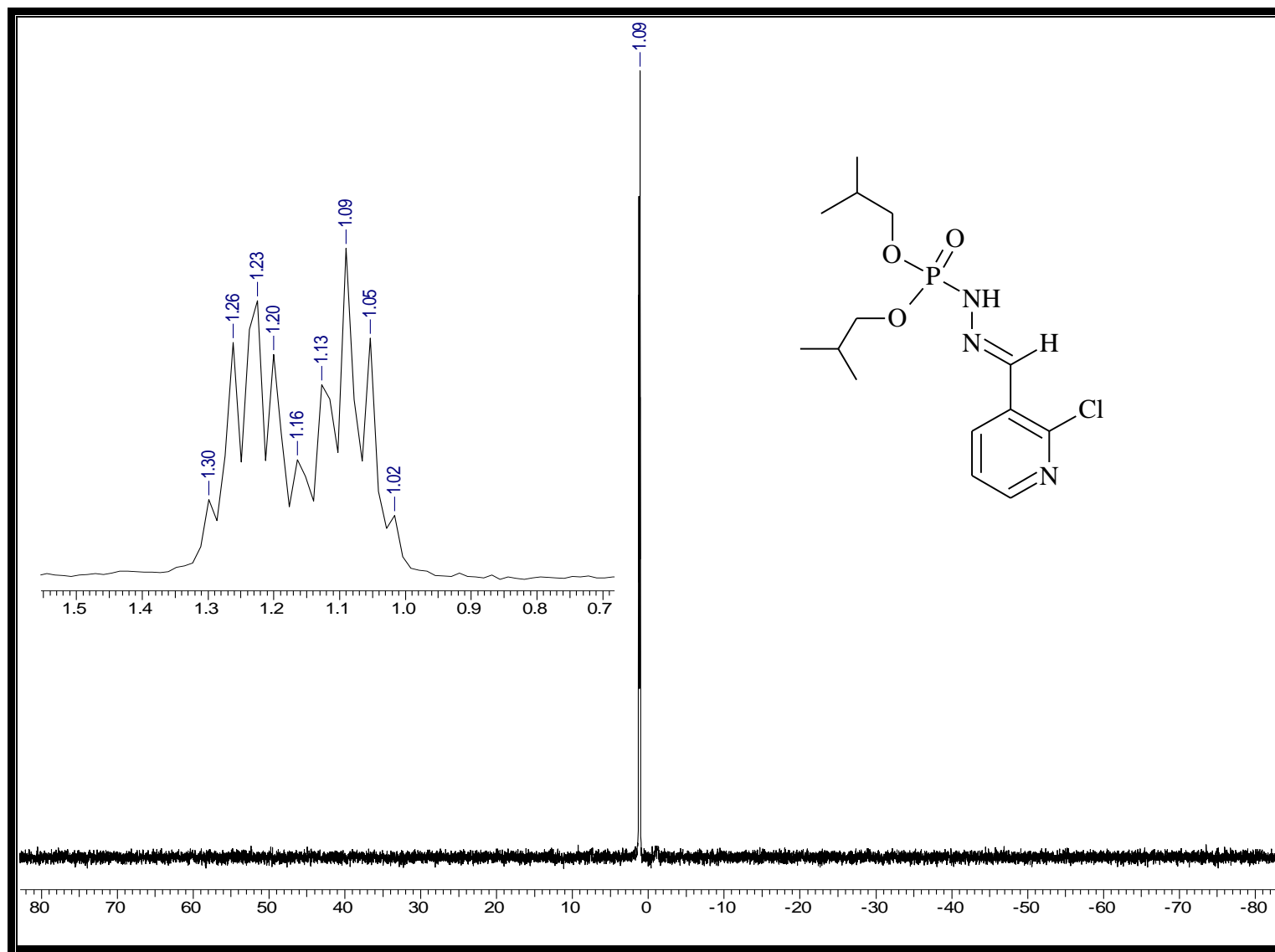
Espectro 76: Espectro de IV do éster di-*isopropílico*, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (14).



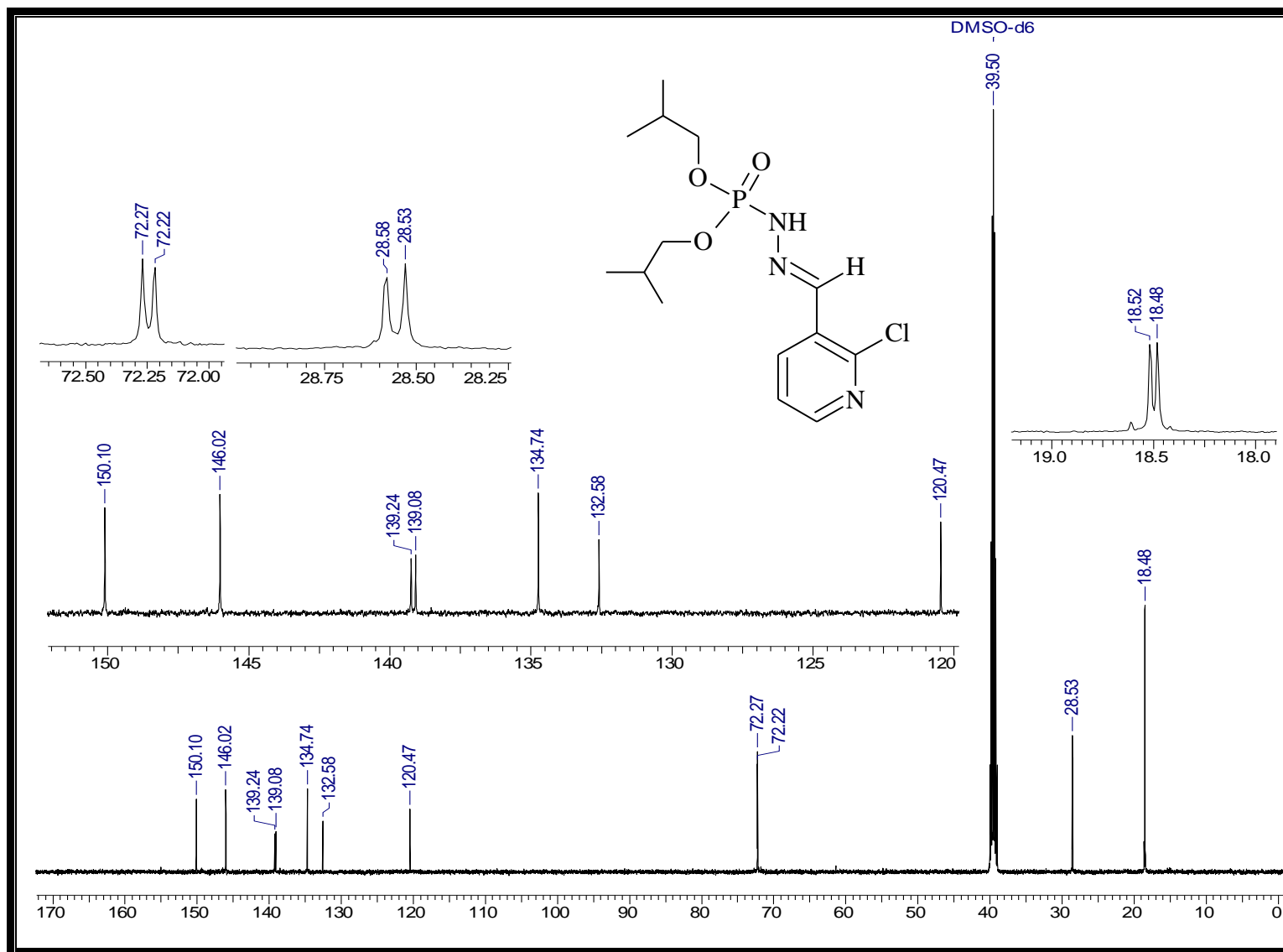
Espectro 77: Espectro de massas do éster di-*isopropílico*, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (14).



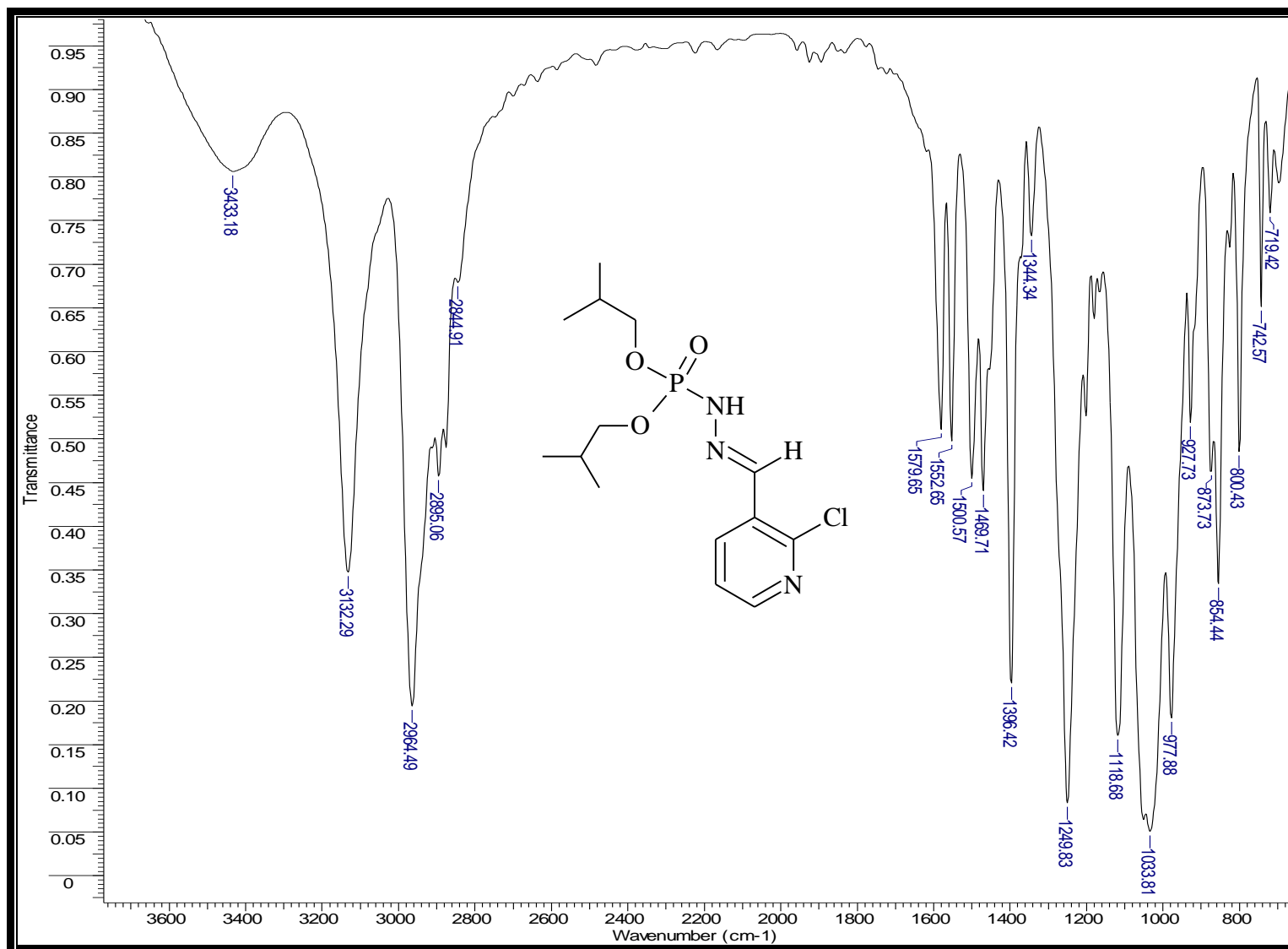
Espectro 78: Espectro de RMN- 1H do éster di-*isobutílico*, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (15).



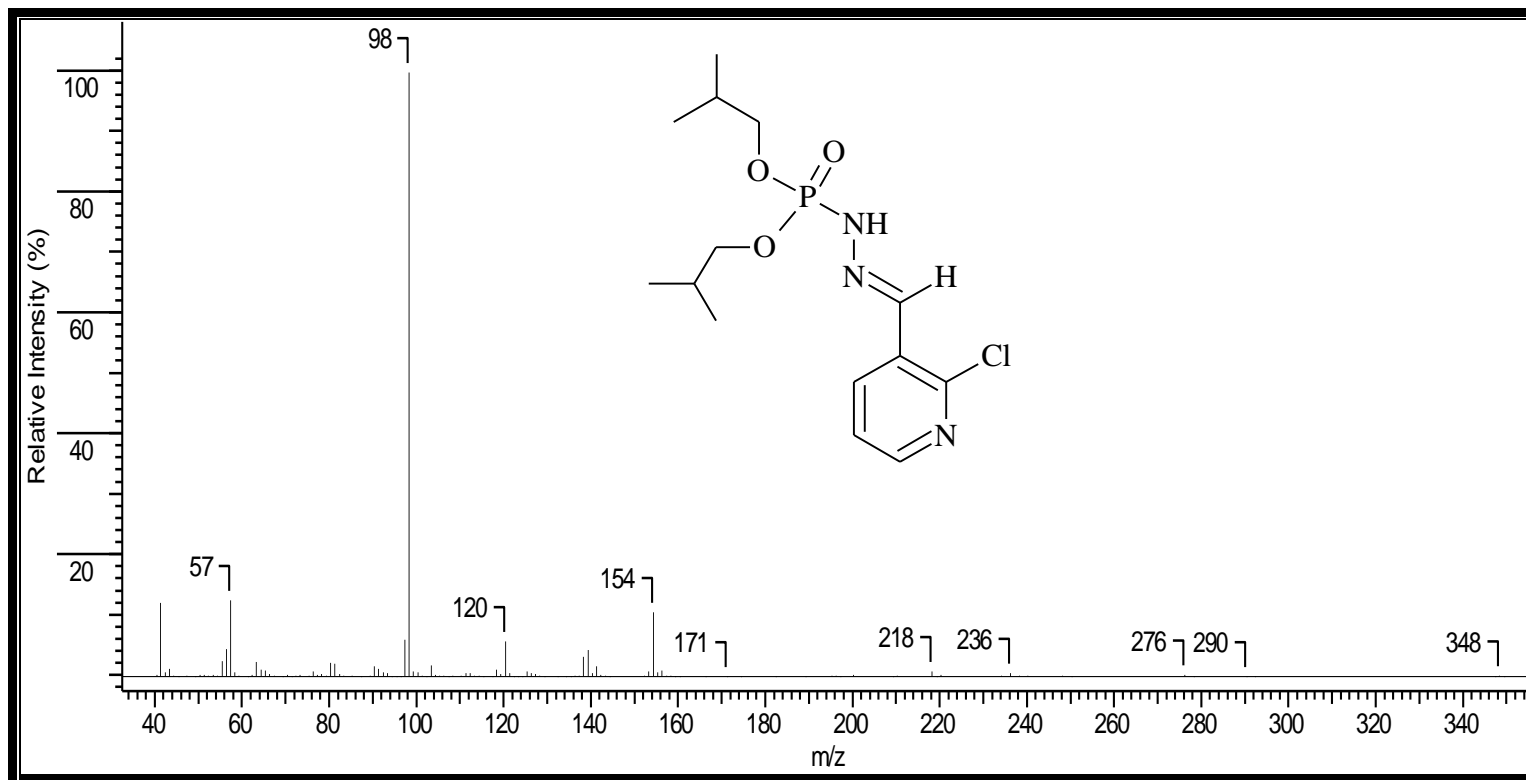
Espectro 79: Espectro de RMN- ^{31}P do éster di-*isobutílico*, N' - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (15).



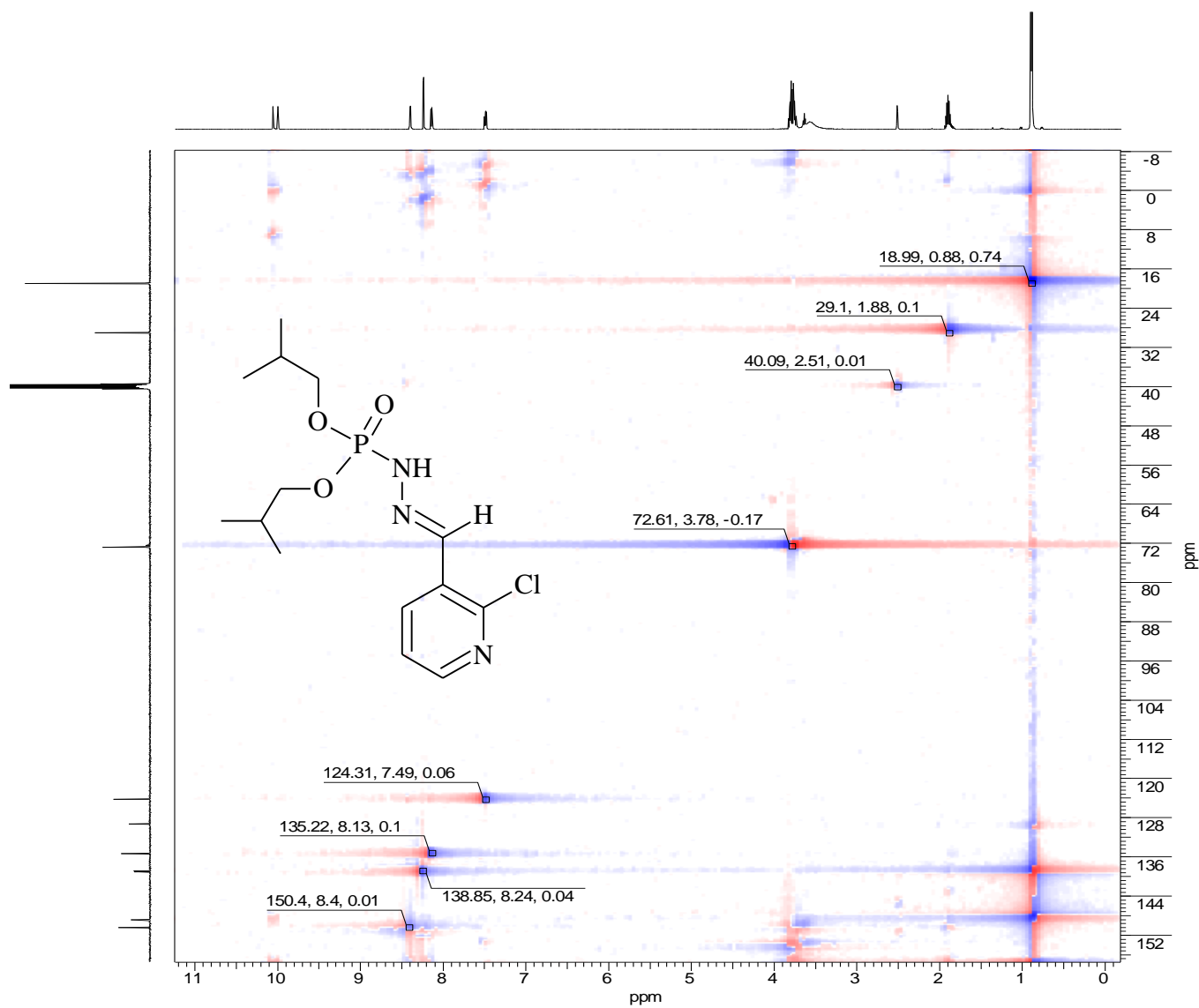
Espectro 80: Espectro de RMN- ¹³C do éster di-*isobutílico*, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (15).



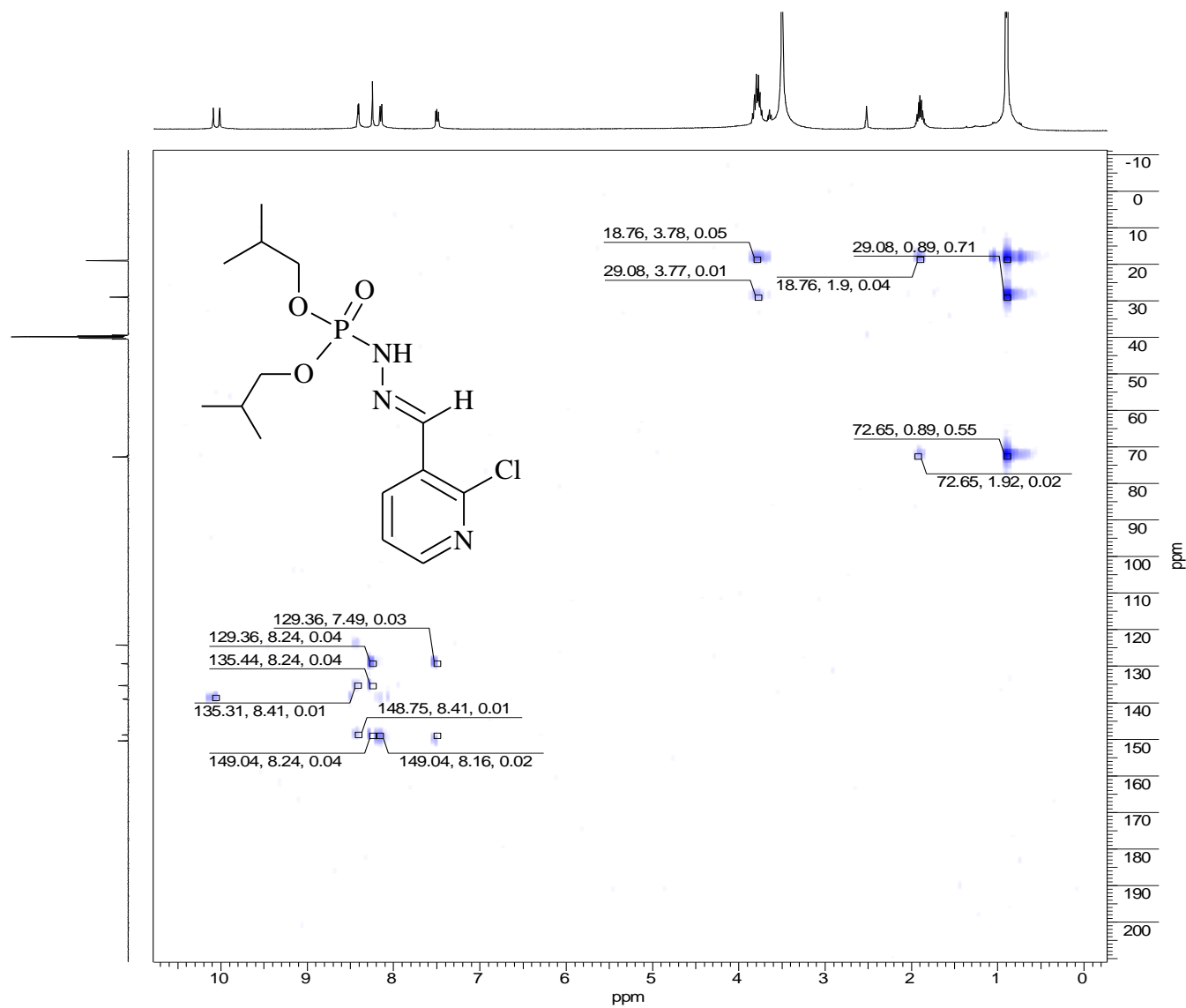
Espectro 81: Espectro de IV do éster di-*isobutílico*, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosfohidrazídico (15).



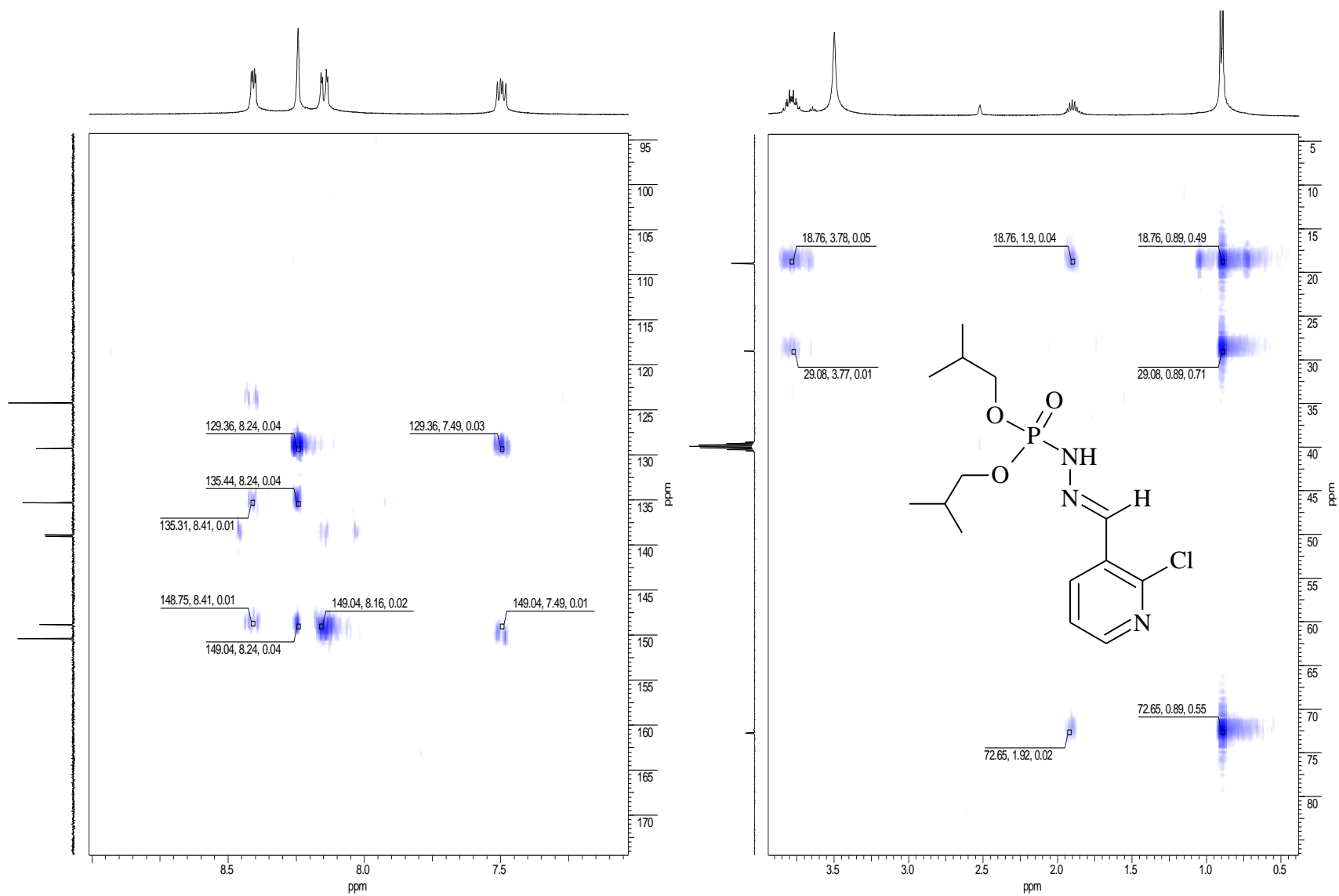
Espectro 82: Espectro de massas do éster di-*isobutílico*, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (15).



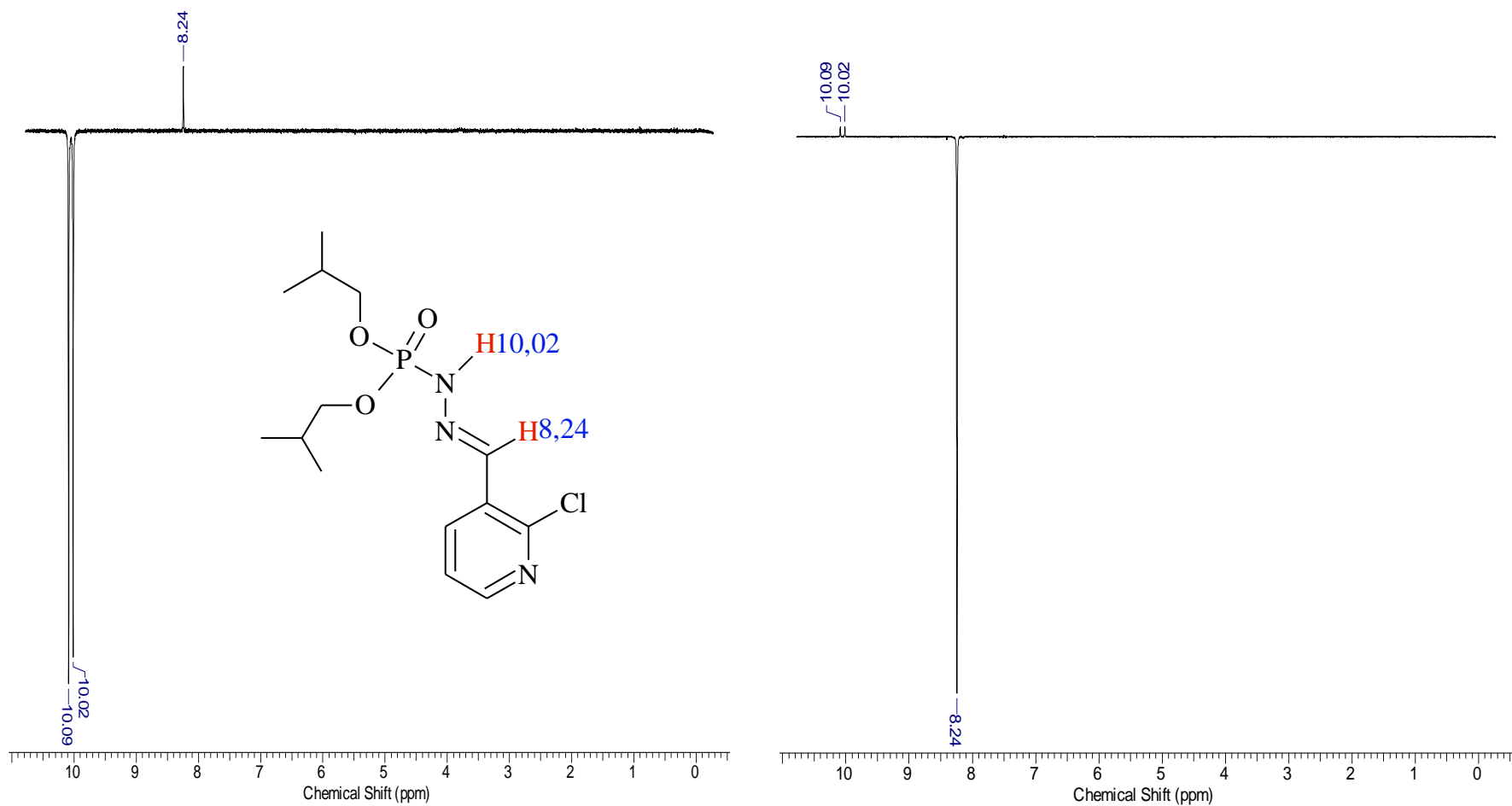
Espectro 83: Espectro de HSQC do éster di-*isobutílico*, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (15).



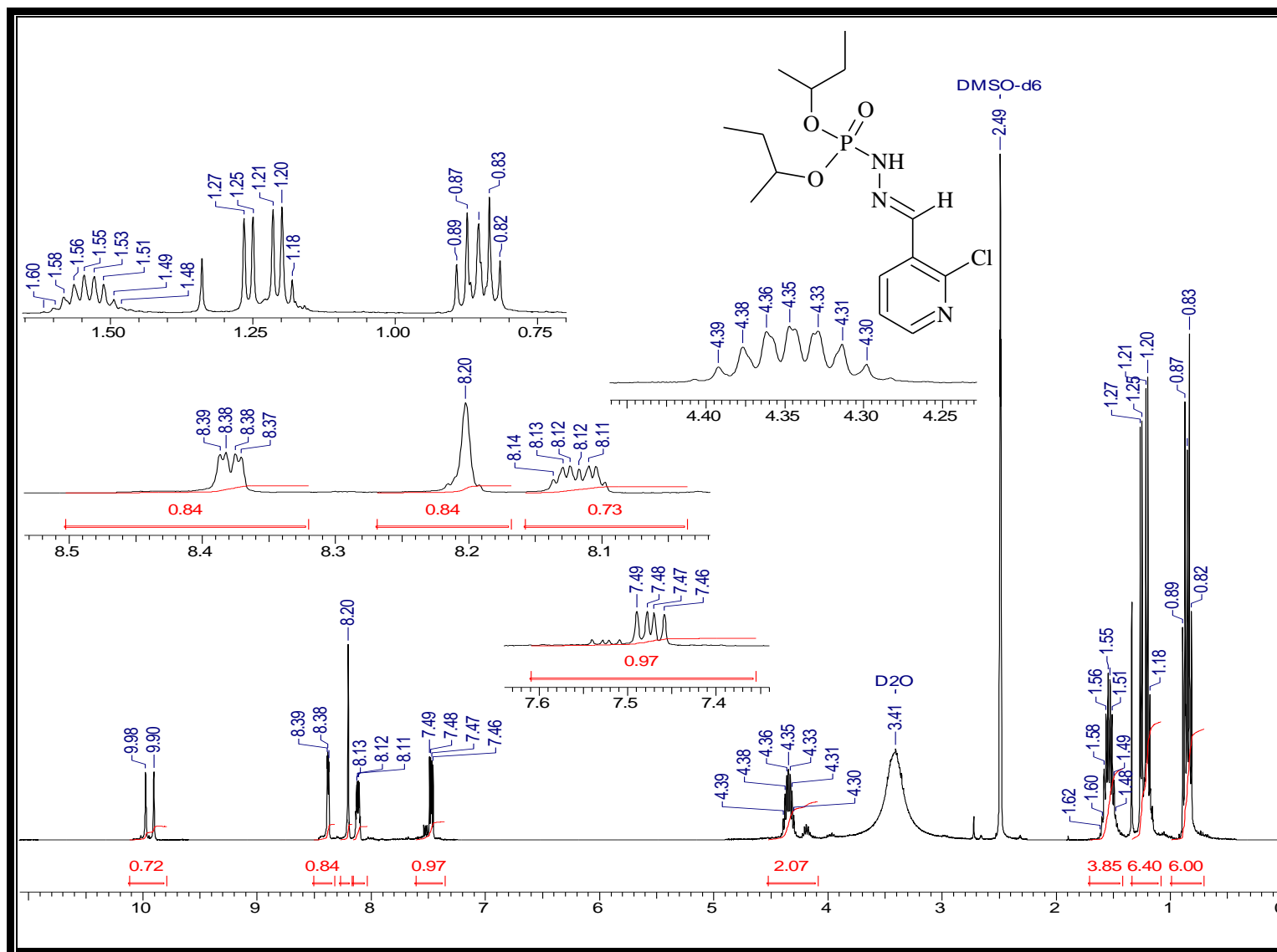
Espectro 84: Espectro de HMBC do éster di-*isobutílico*, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosfoimidazídico (15).



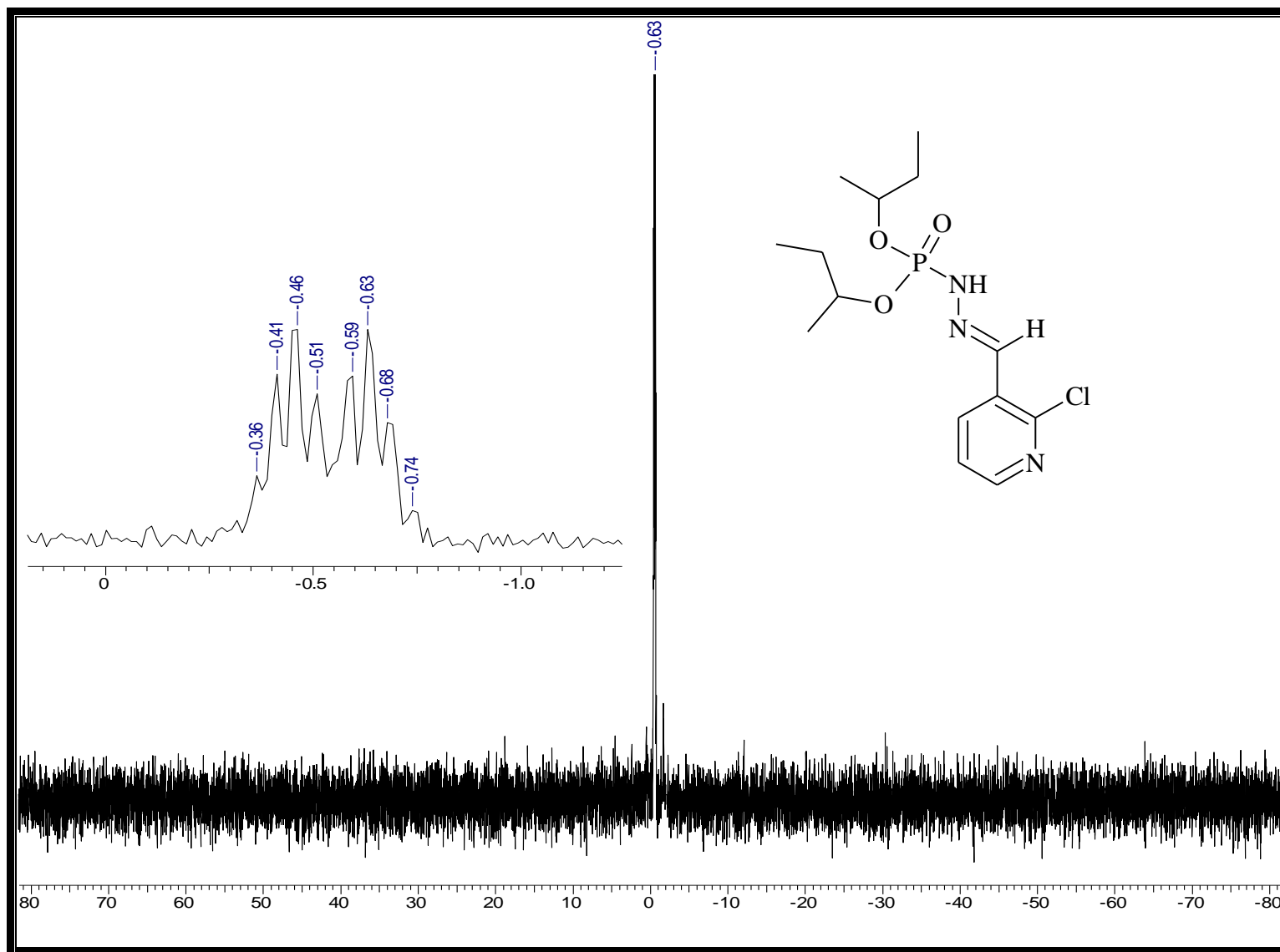
Espectro 85: Espectro de HMBC expandido do éster di-*isobutílico*, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (15).



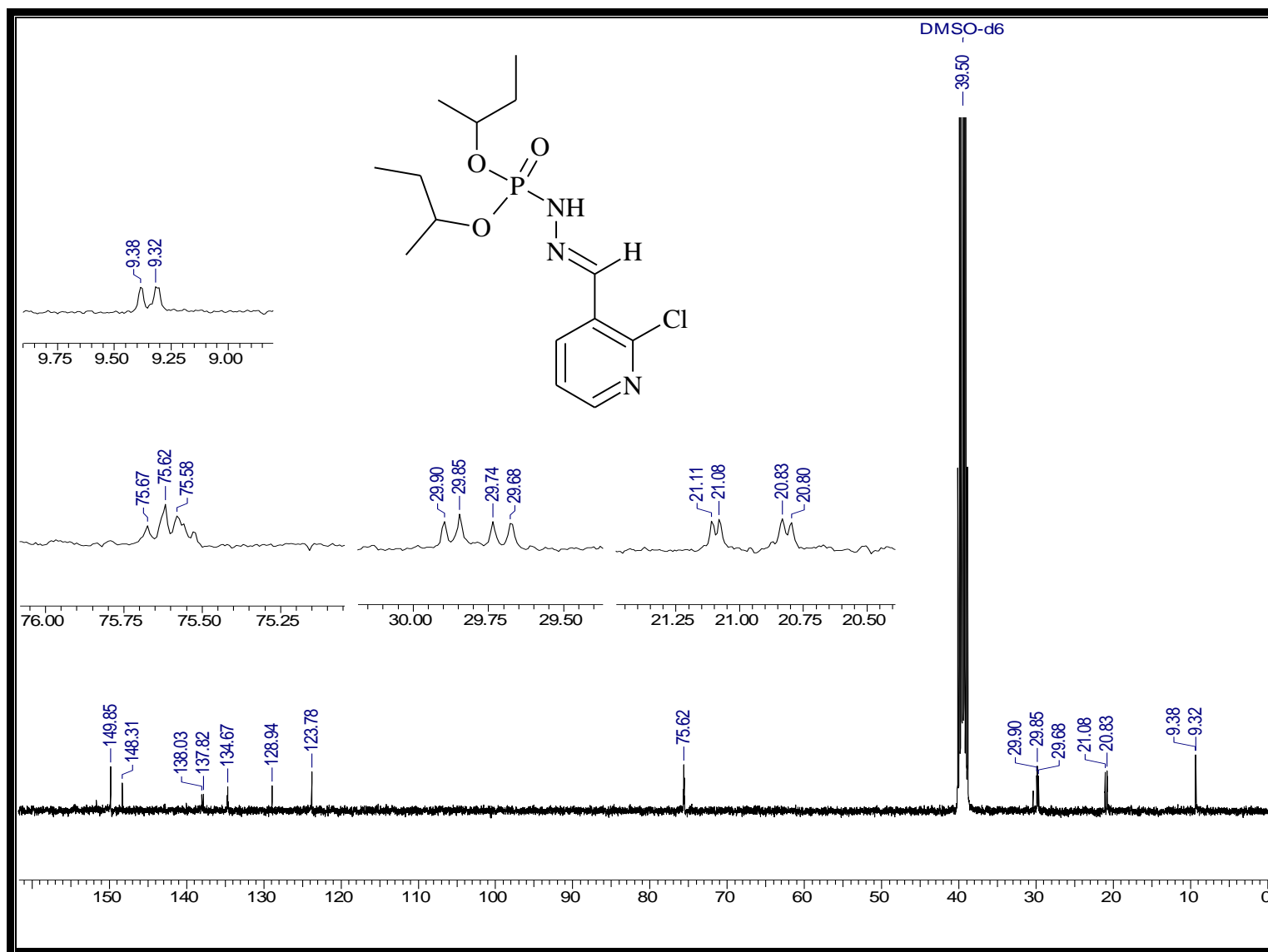
Espectro 86: Espectro de NOE do éster di-*isobutílico*, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosfoirdrazídico (15).



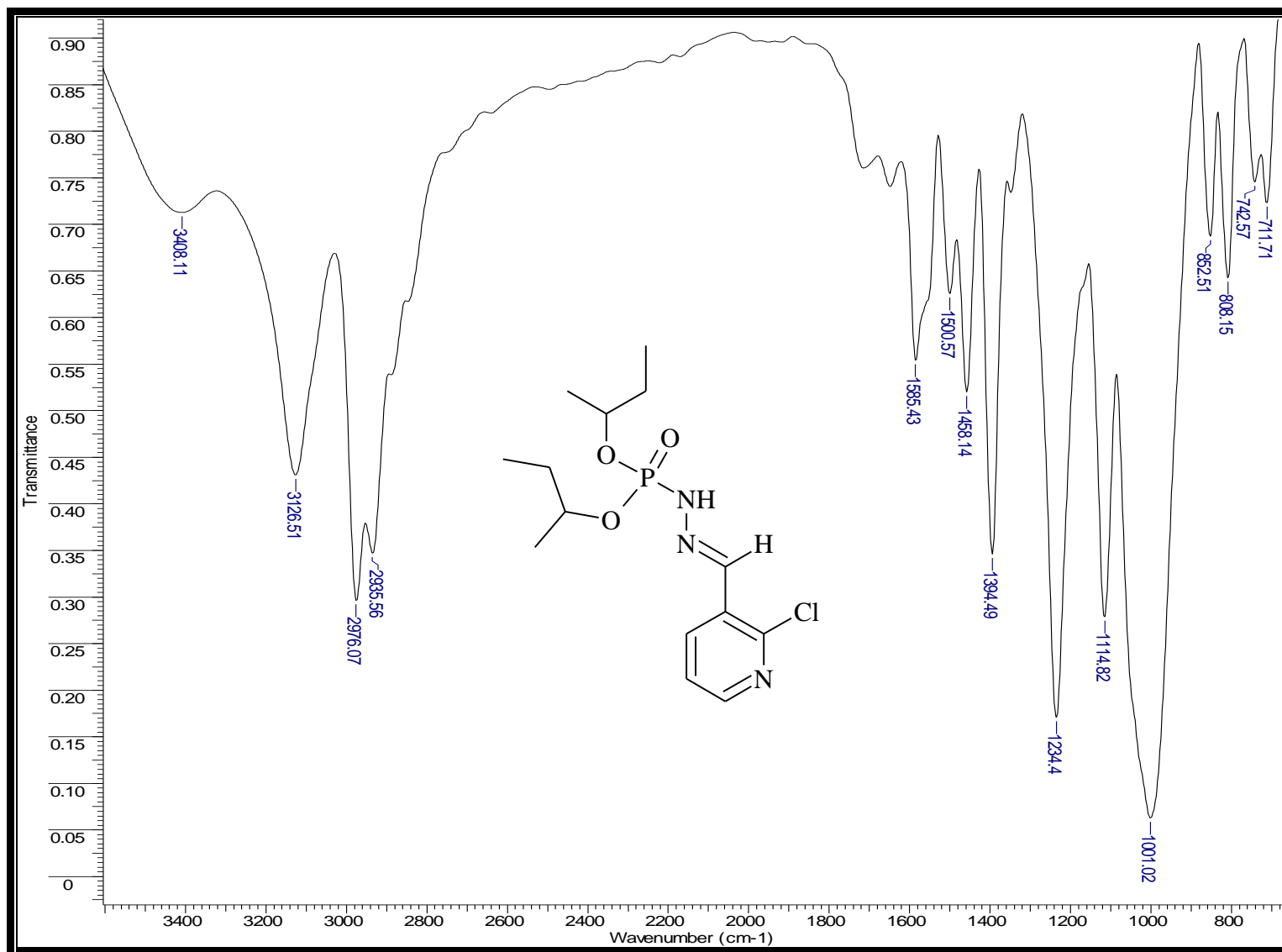
Espectro 87: Espectro de 1H do éster di-*sec*butílico, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (16).



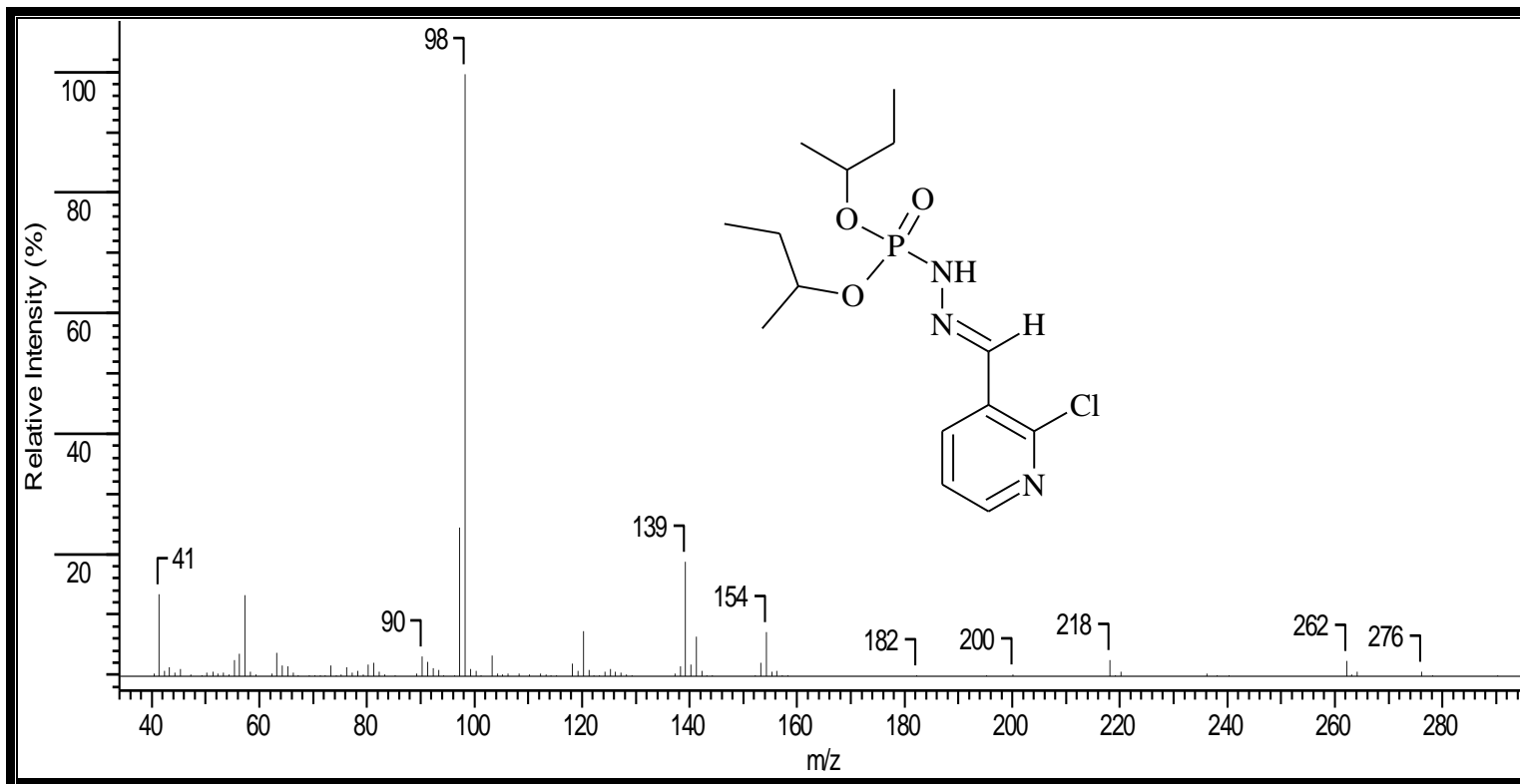
Espectro 88: Espectro de ^{31}P do éster di-*sec*butílico, N' - [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (16).



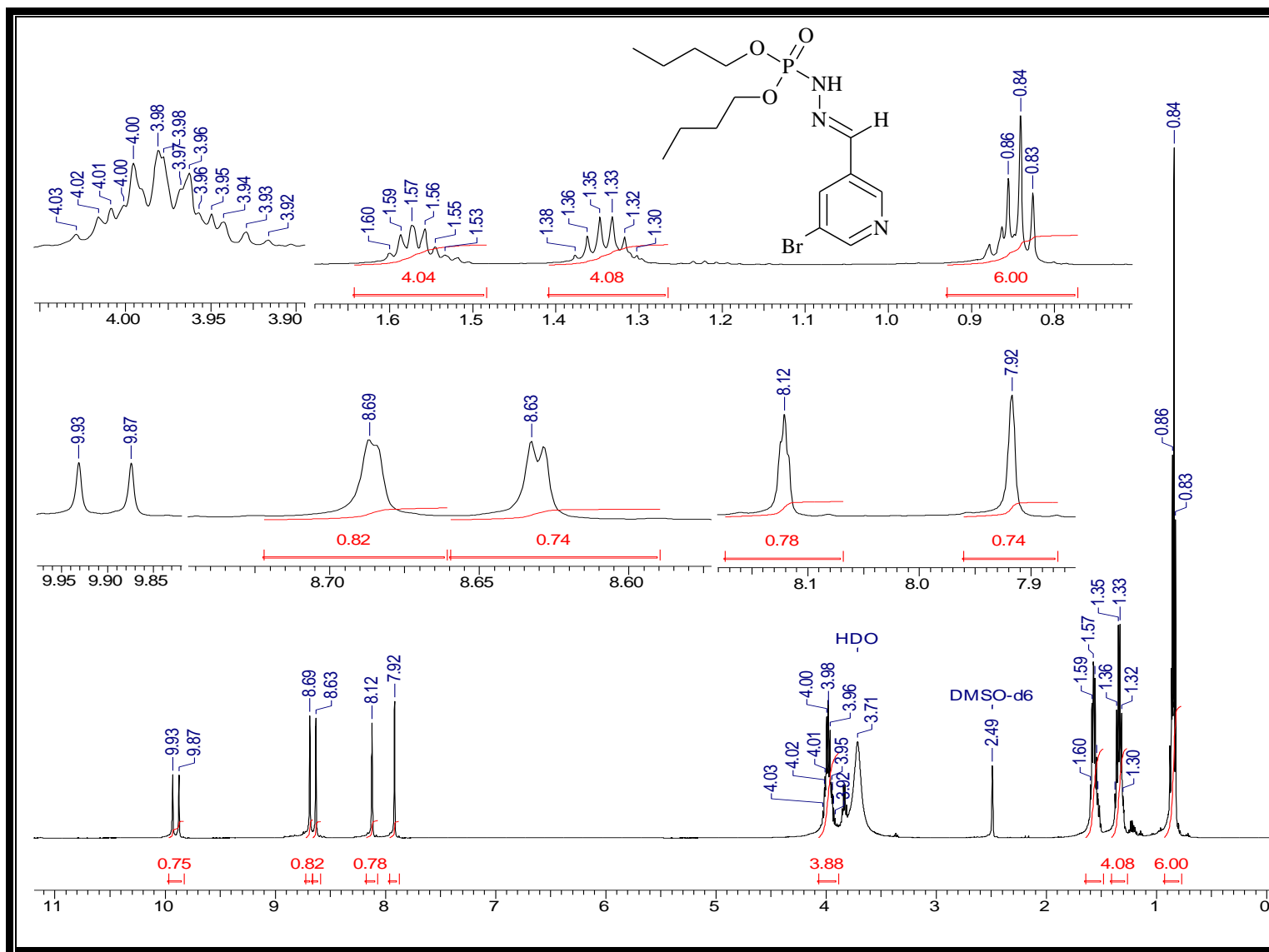
Espectro 89: Espectro de ¹³C do éster di-*sec*butílico, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodiazídico (16).



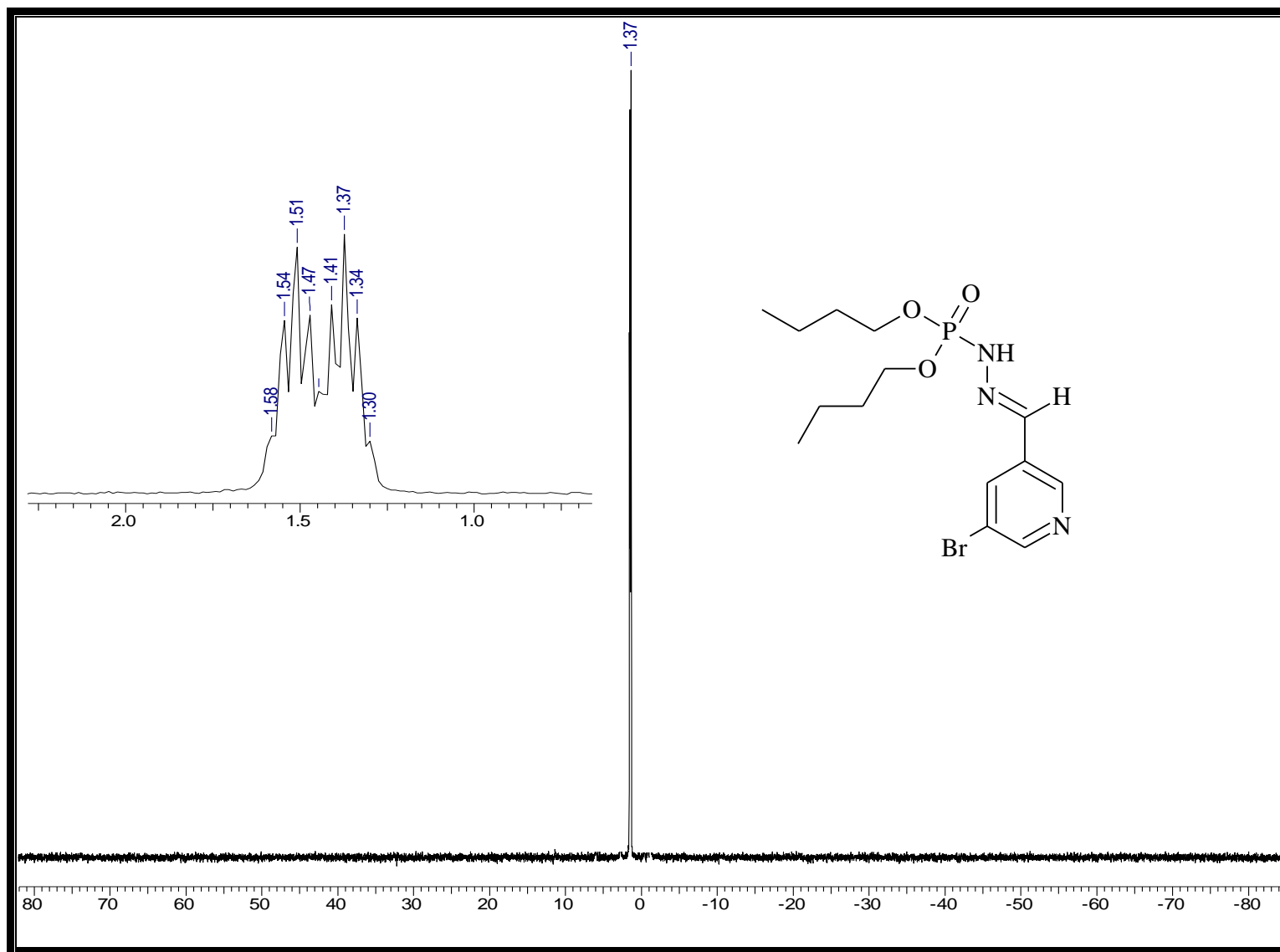
Espectro 90: Espectro de IV do éster di-*sec*butílico, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (16).



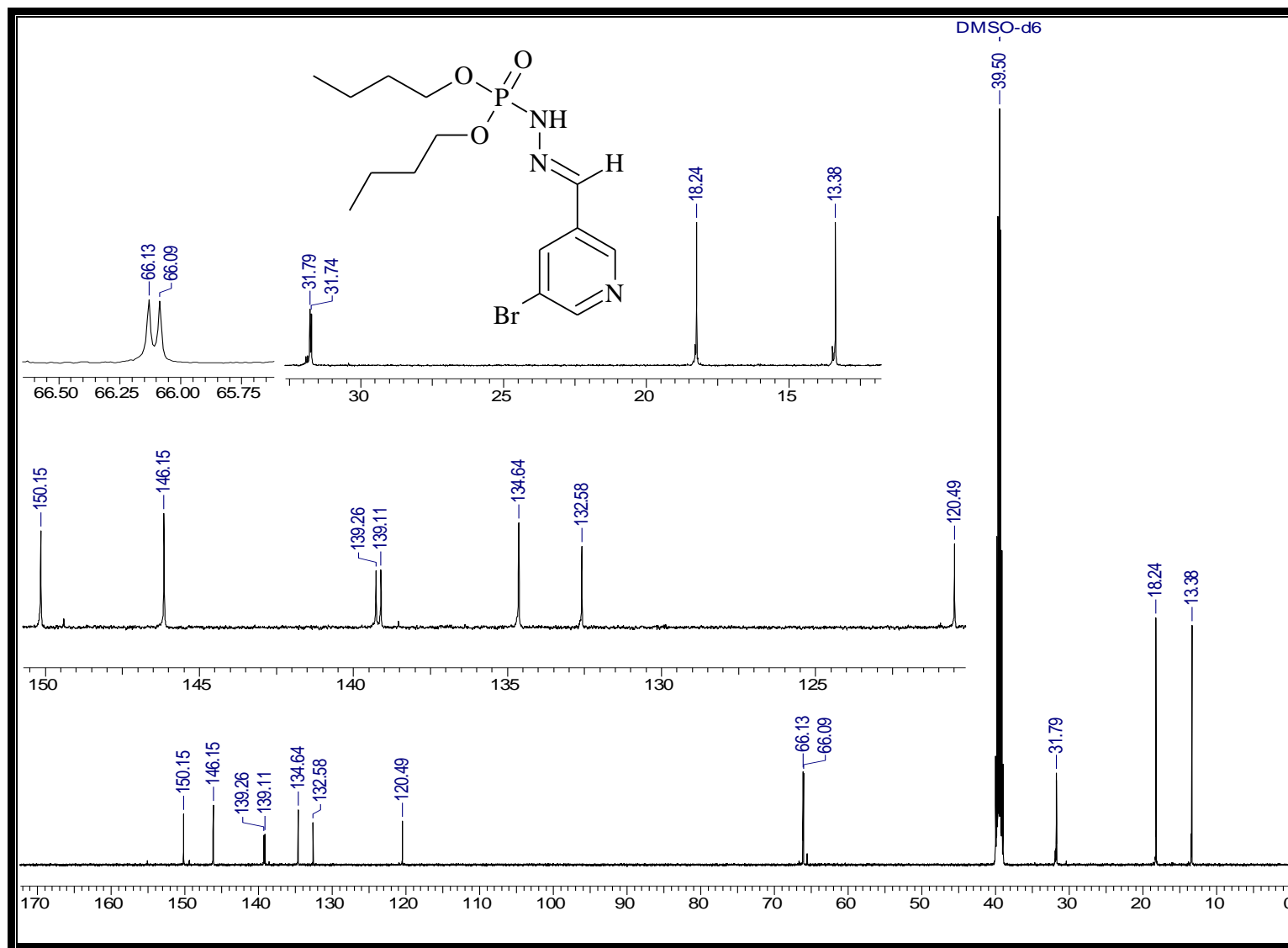
Espectro 91: Espectro de massas do éster di-*sec*butílico, *N'*- [2-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (16).



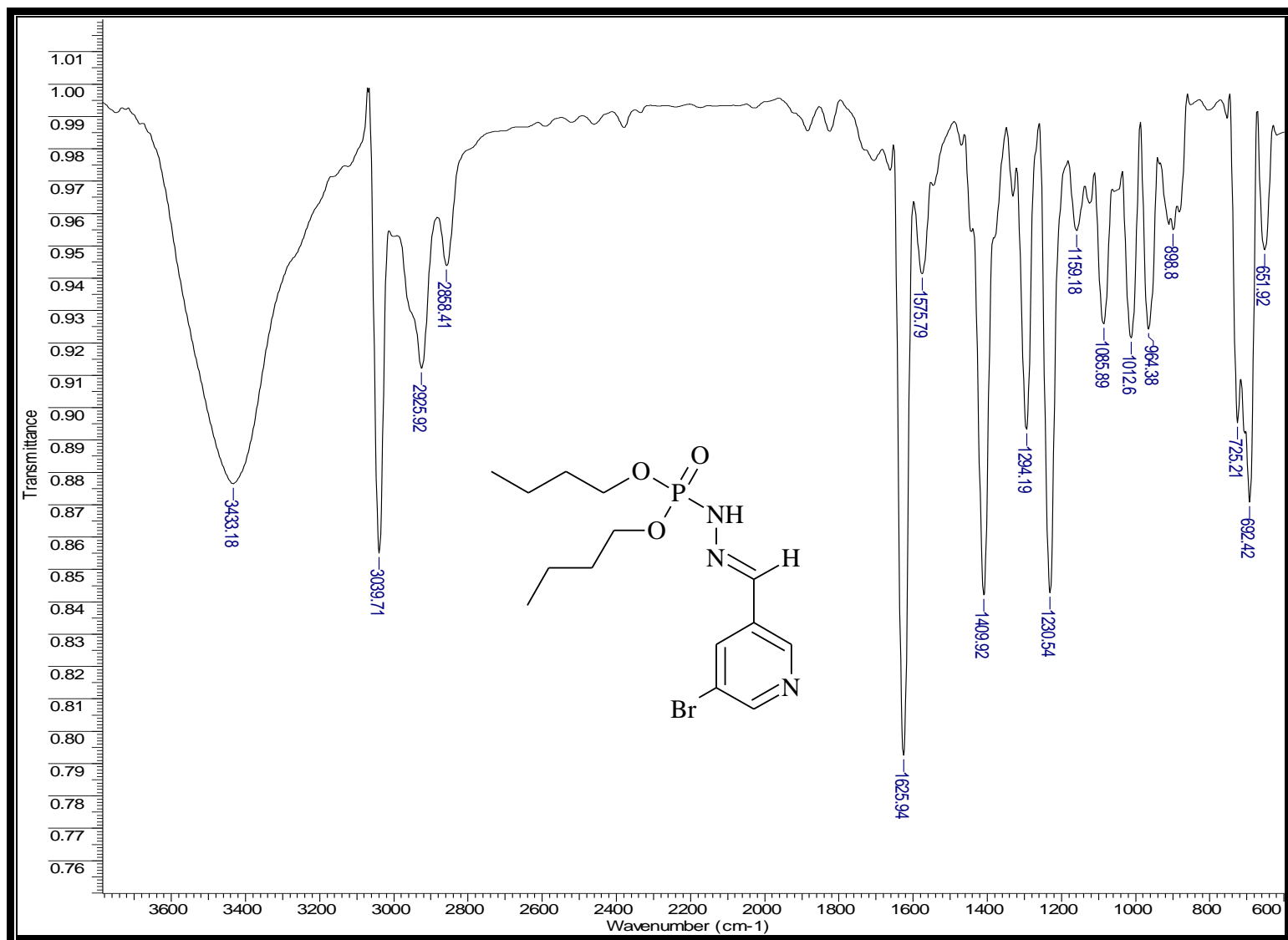
Espectro 92: Espectro de RMN- 1H do éster dibutílico, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (17).



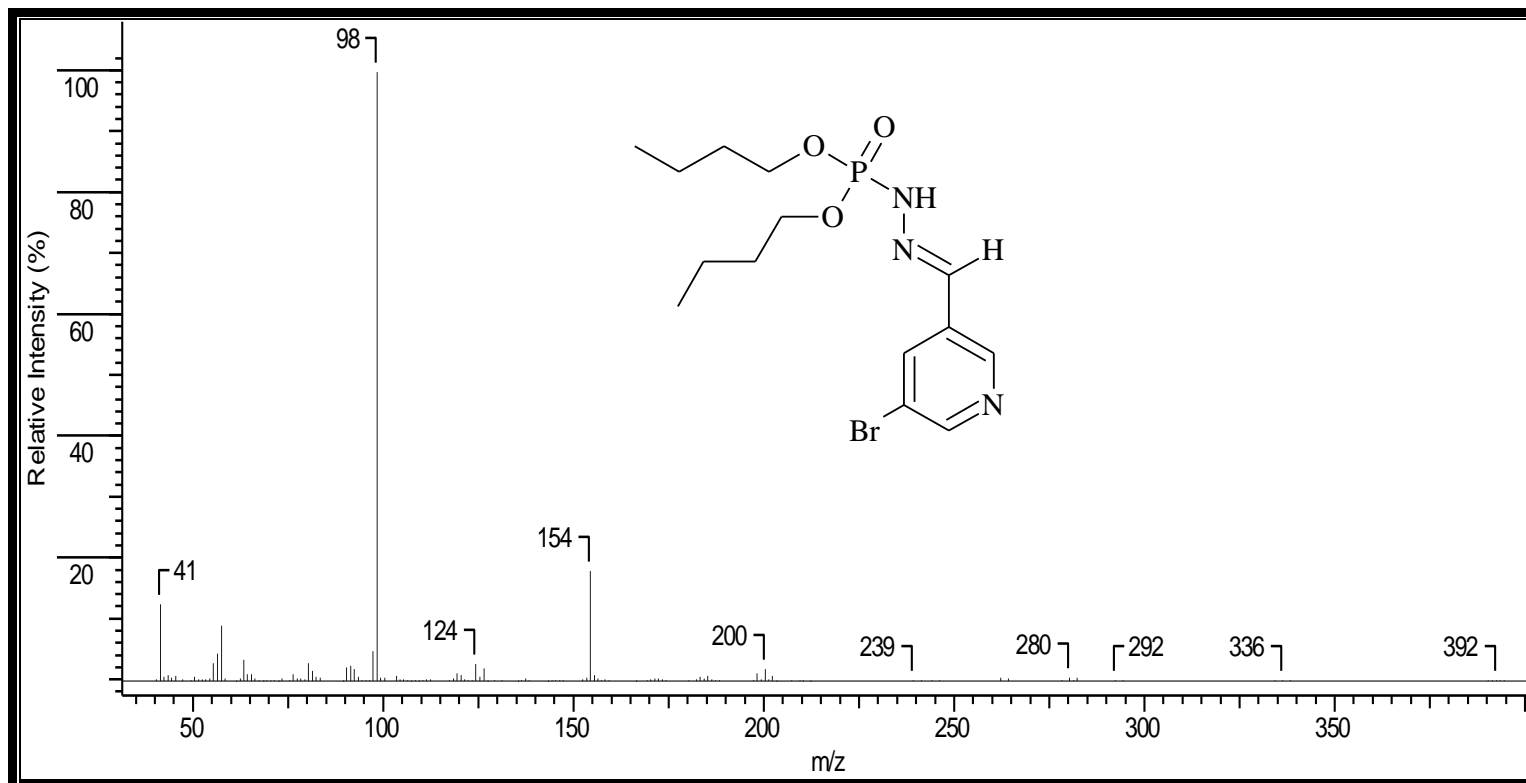
Espectro 93: Espectro de RMN- ^{31}P do éster dibutílico, N' - [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (17).



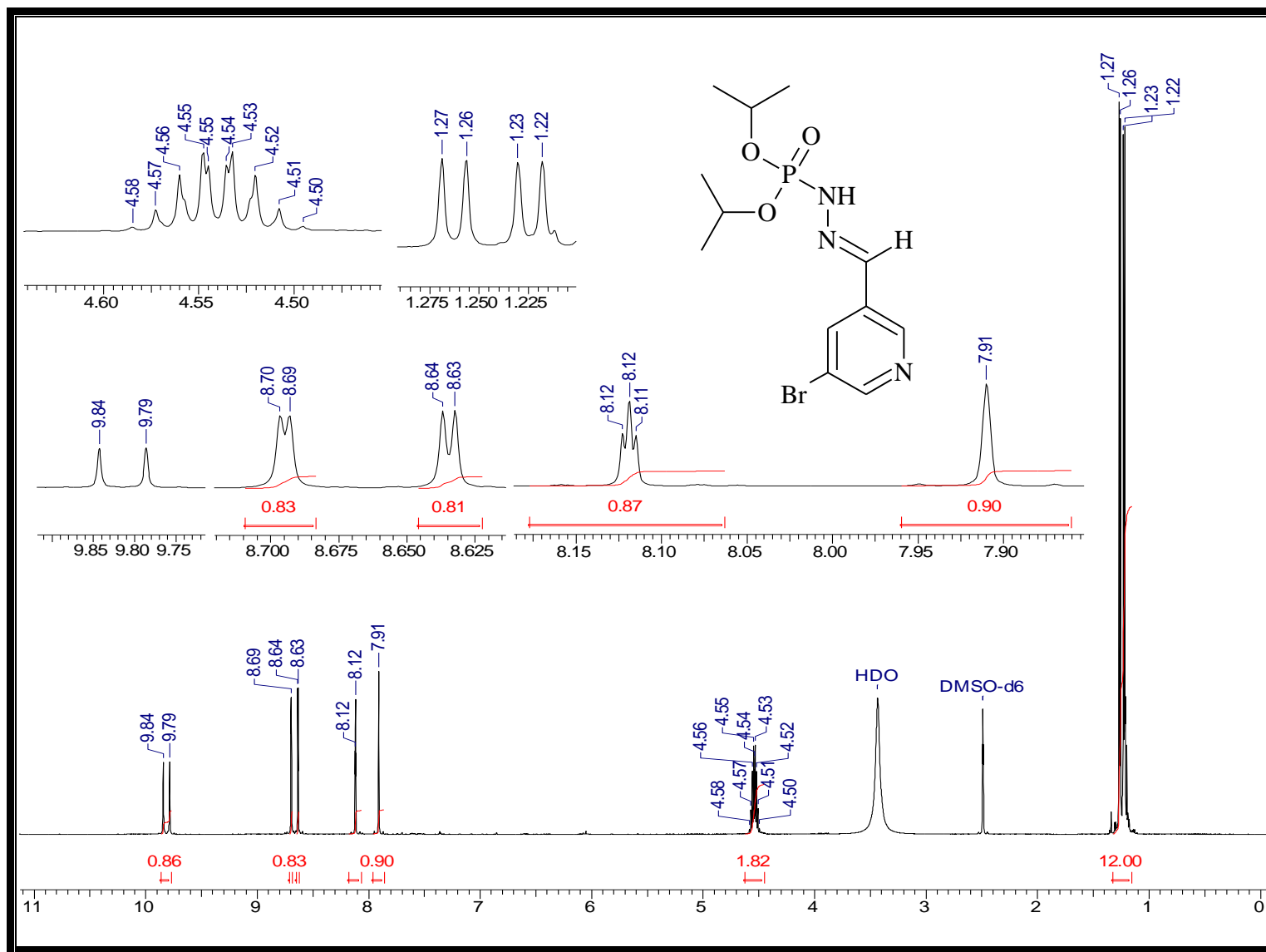
Espectro 94: Espectro de RMN- ¹³C do éster dibutílico, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (17).



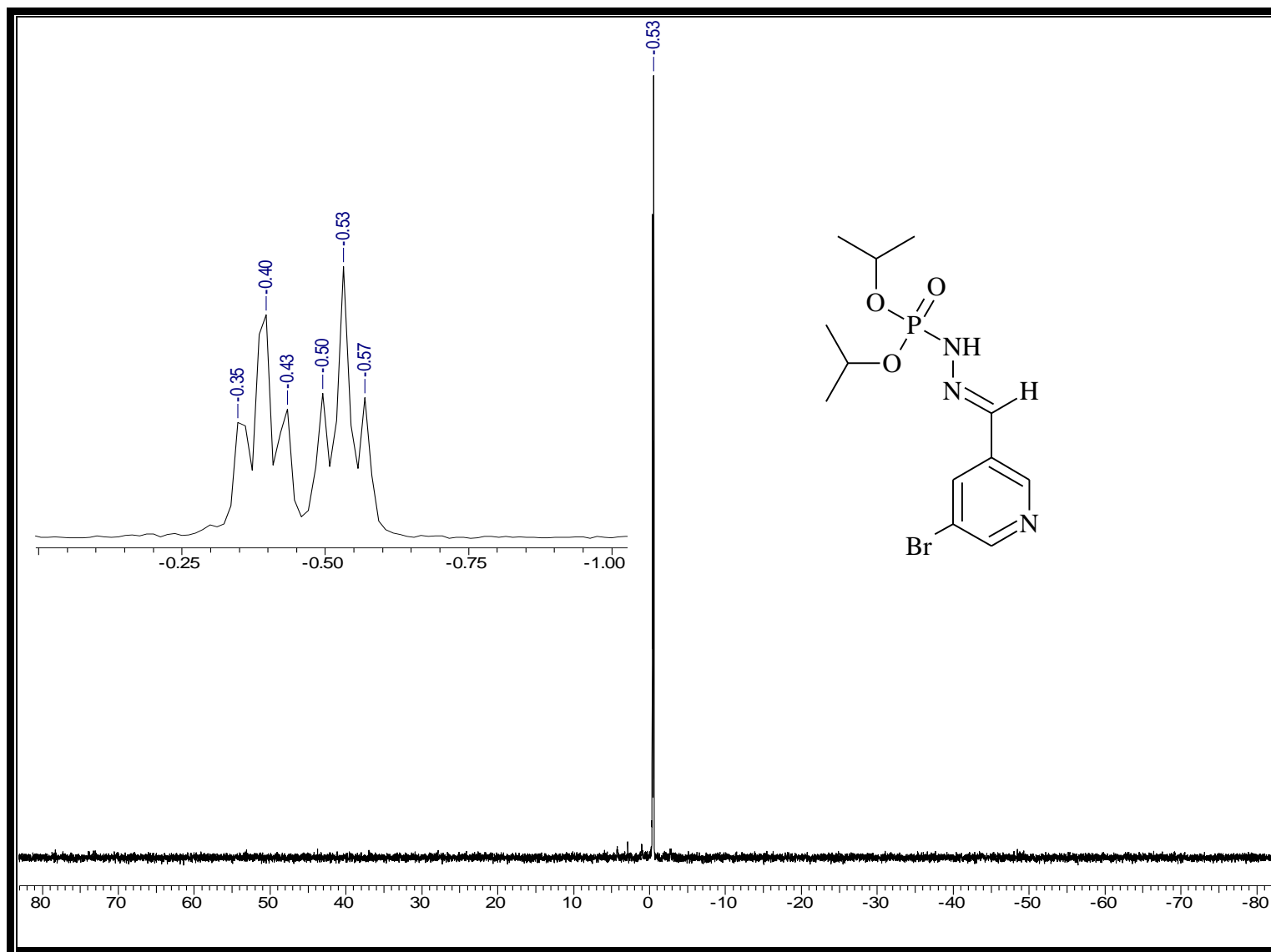
Espectro 95: Espectro de IV do éster dibutílico, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (17).



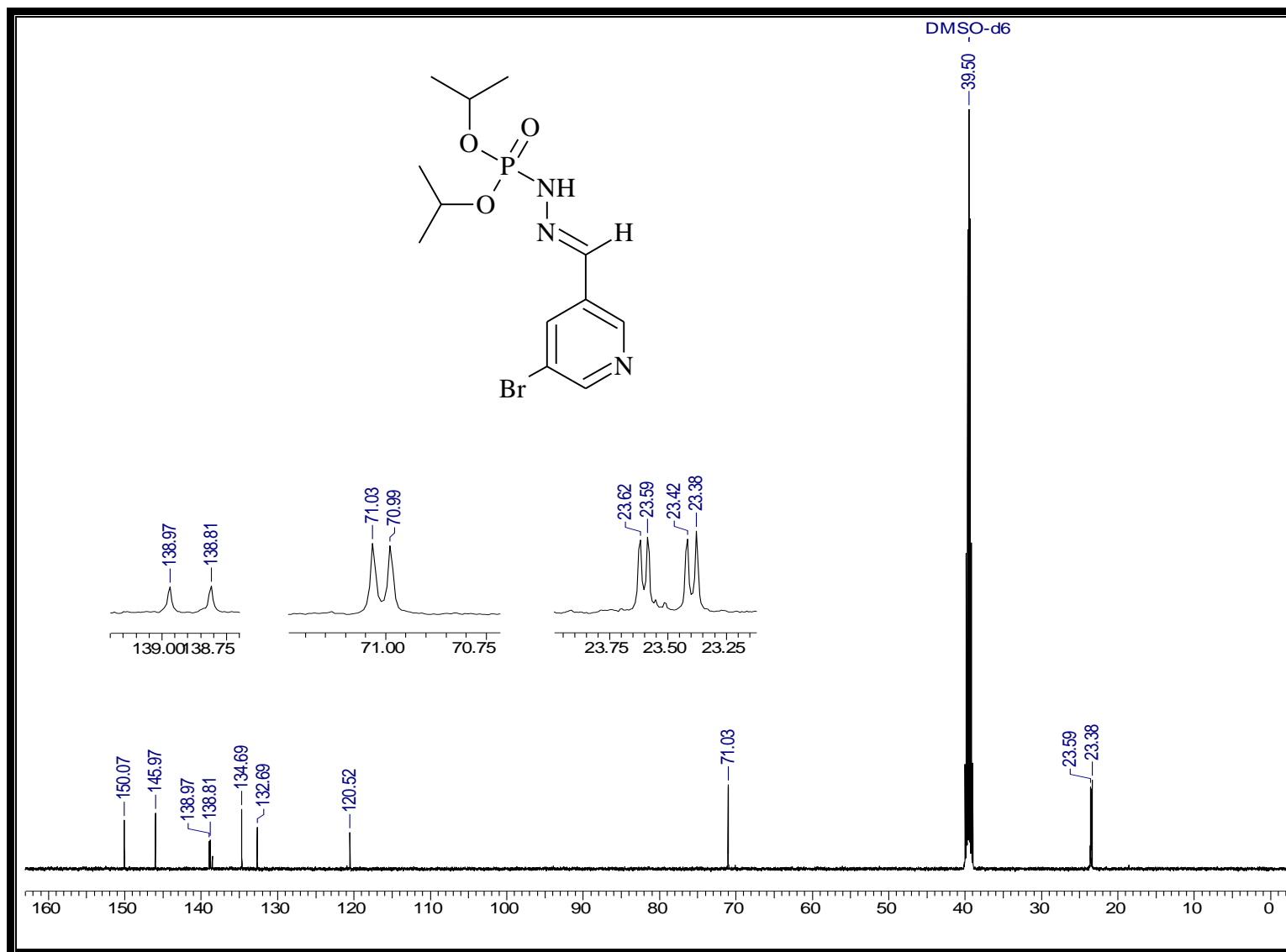
Espectro 96: Espectro de massas do éster dibutílico, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (17).



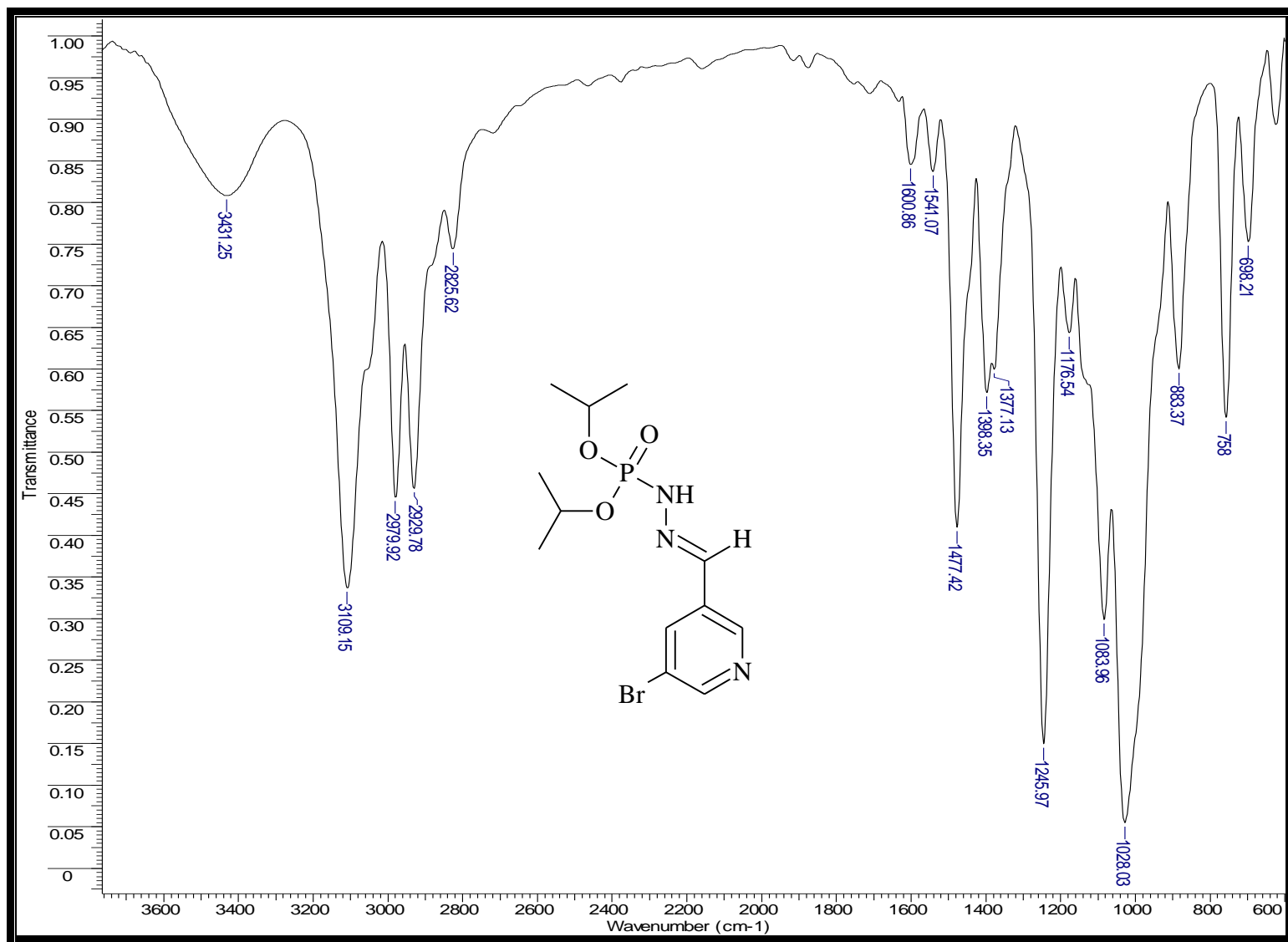
Espectro 97: Espectro de RMN- 1H do éster di-*isopropílico*, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosfoimidazídico (18).



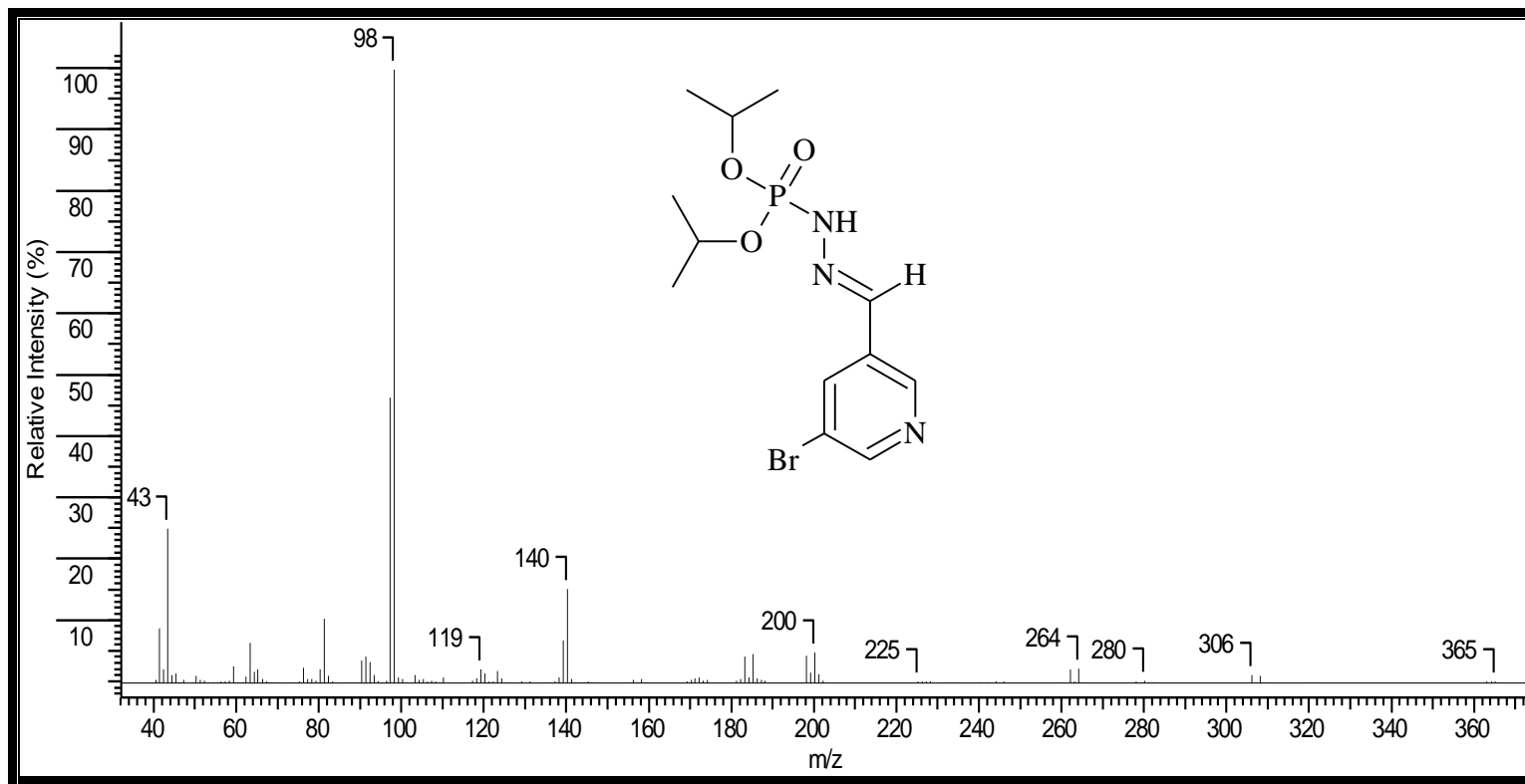
Espectro 98: Espectro de RMN- ³¹P do éster di-*isopropílico*, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (18).



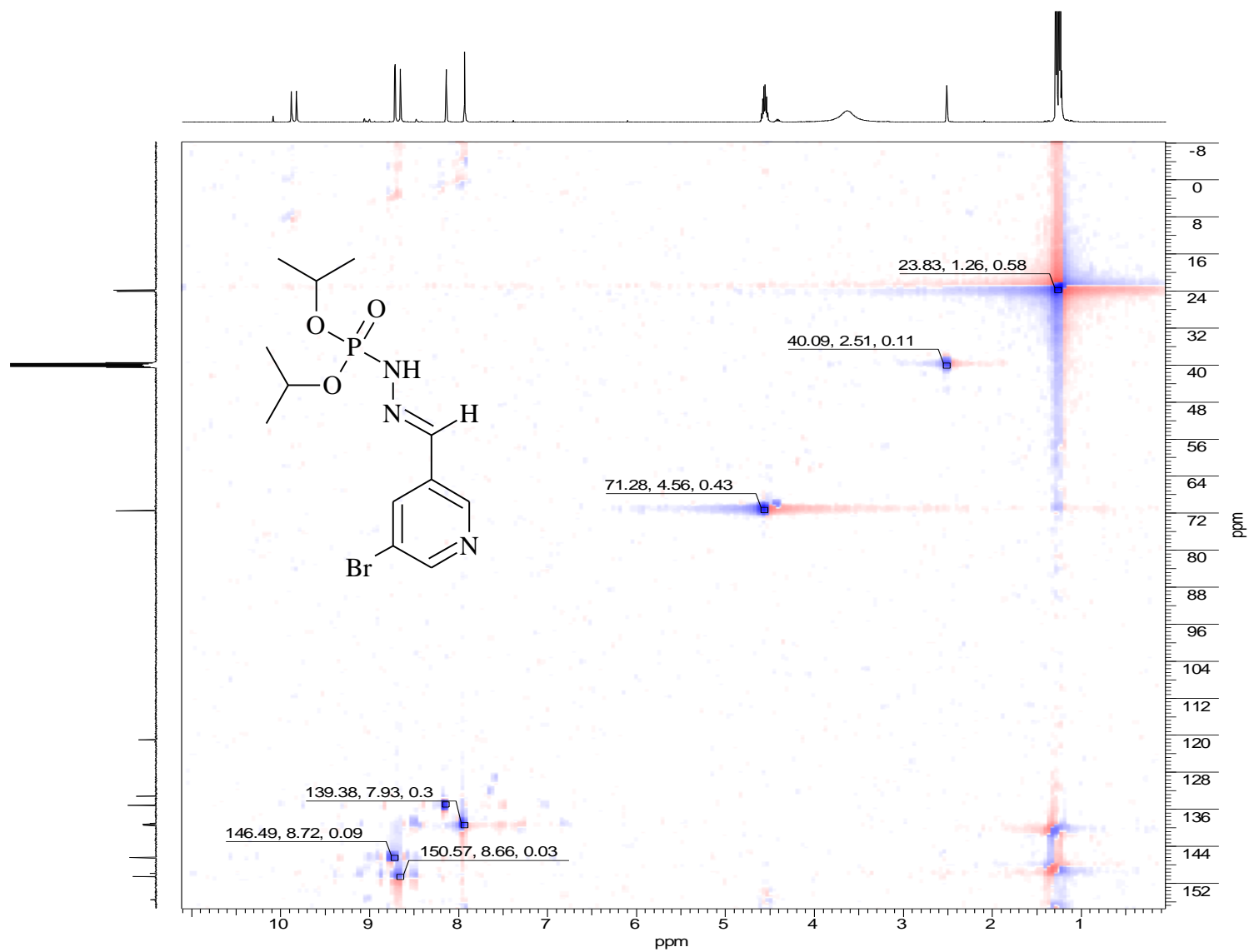
Espectro 99: Espectro de RMN- 31C do éster di-*isopropílico*, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (18).



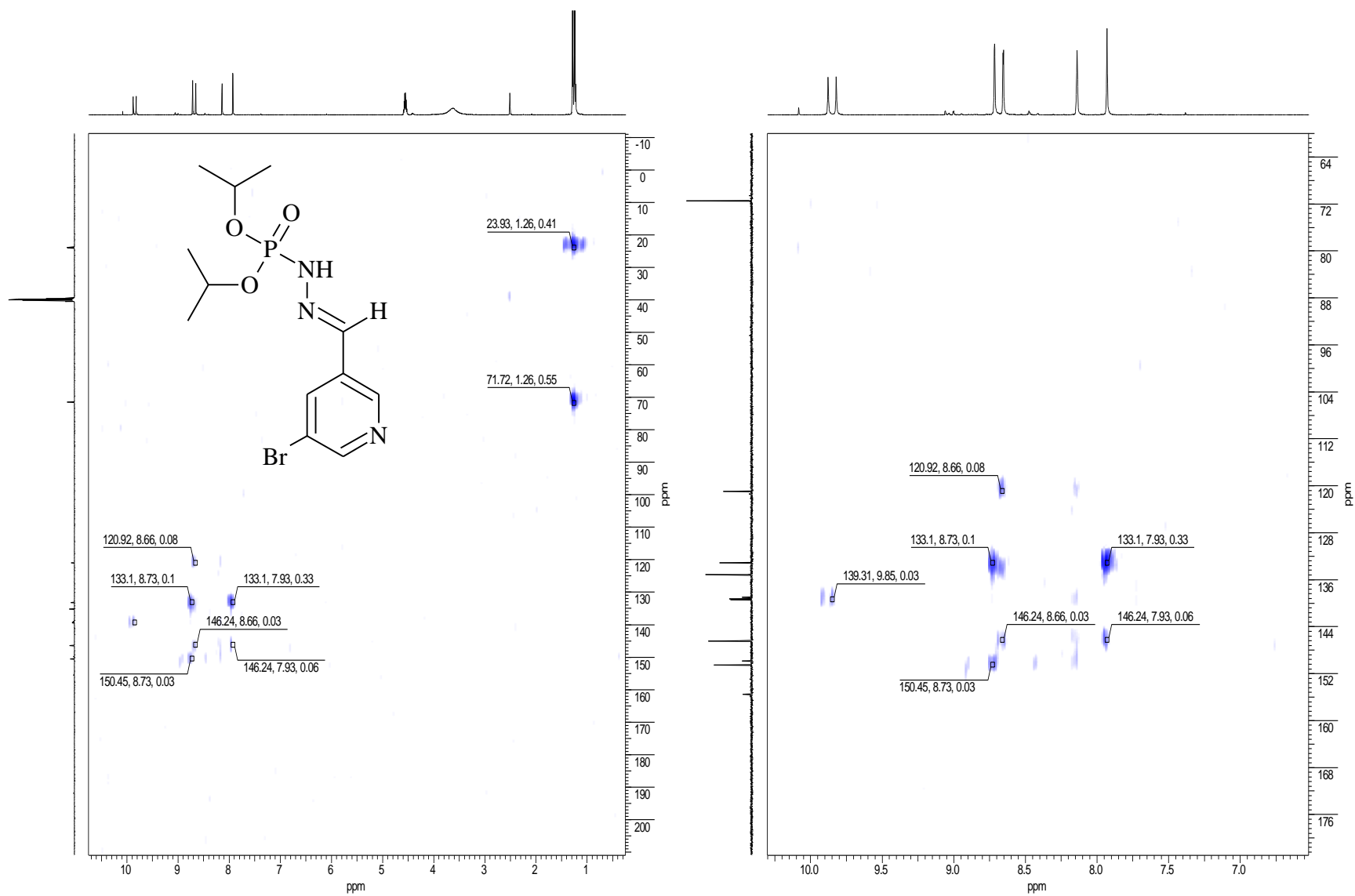
Espectro 100: Espectro de IV do éster di-*isopropílico*, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (18).



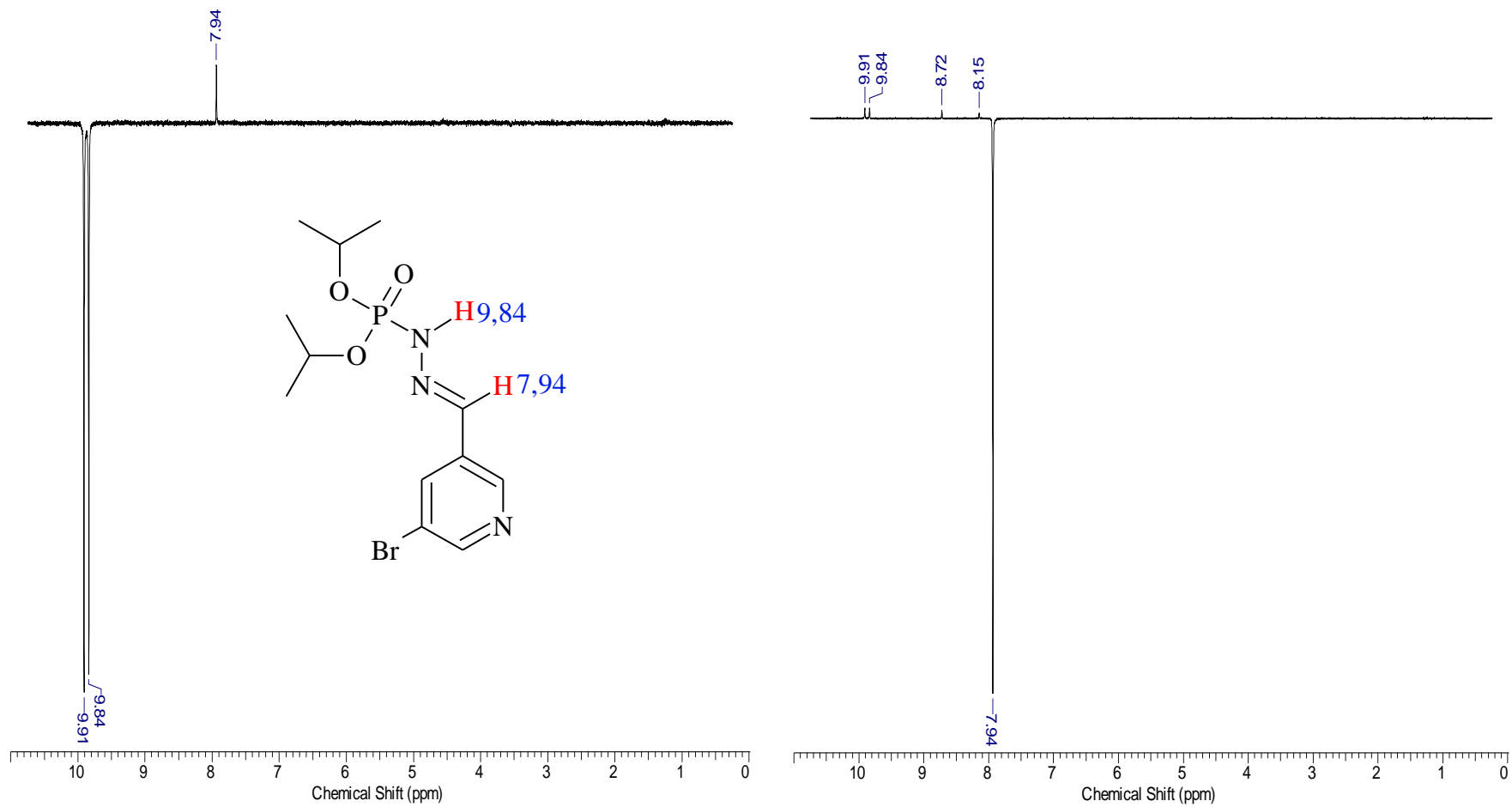
Espectro 101: Espectro de massas do éster di-*isopropílico*, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (18).



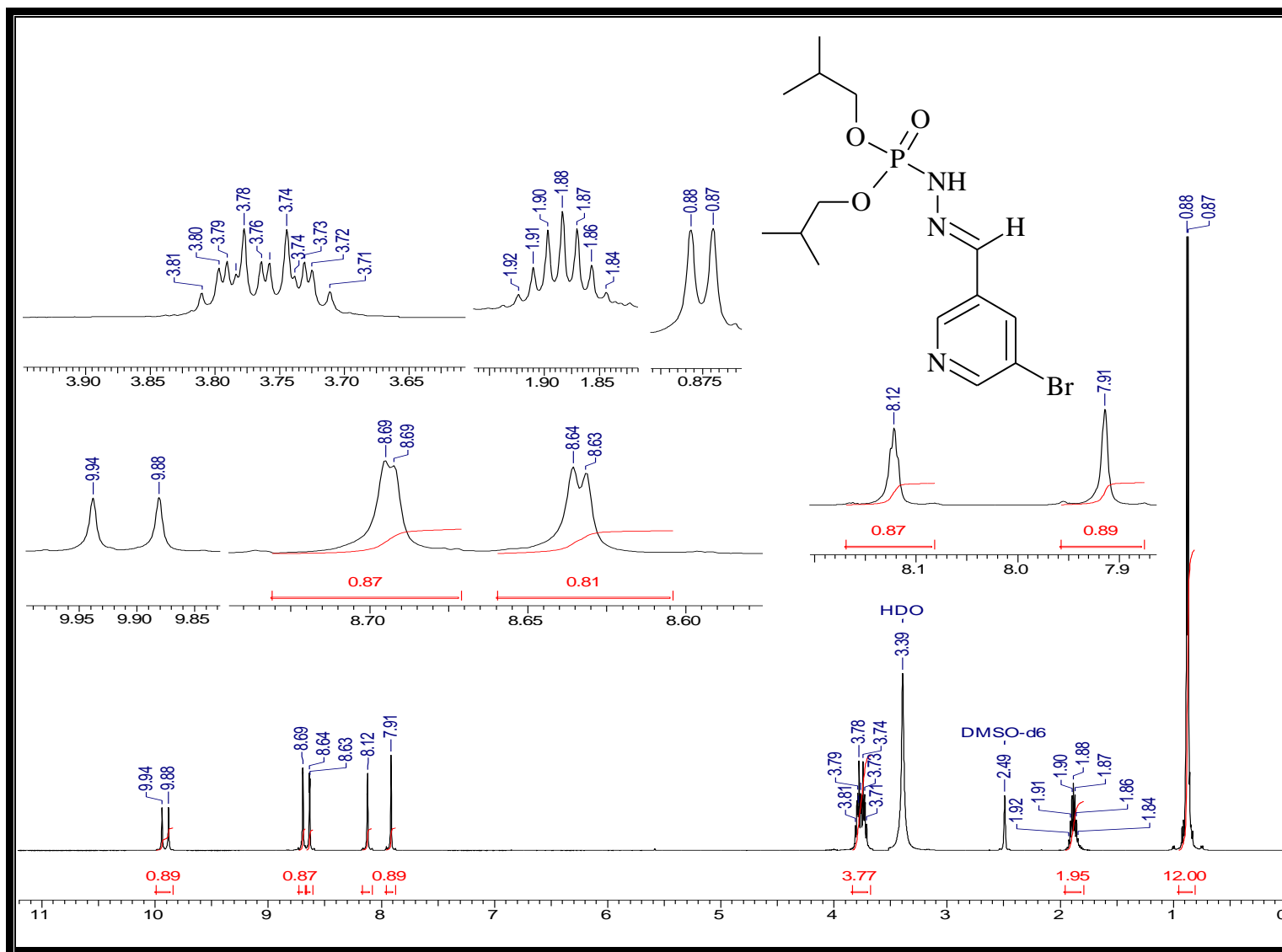
Espectro 102: Espectro de HSQC do éster di-*isopropílico*, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (18).



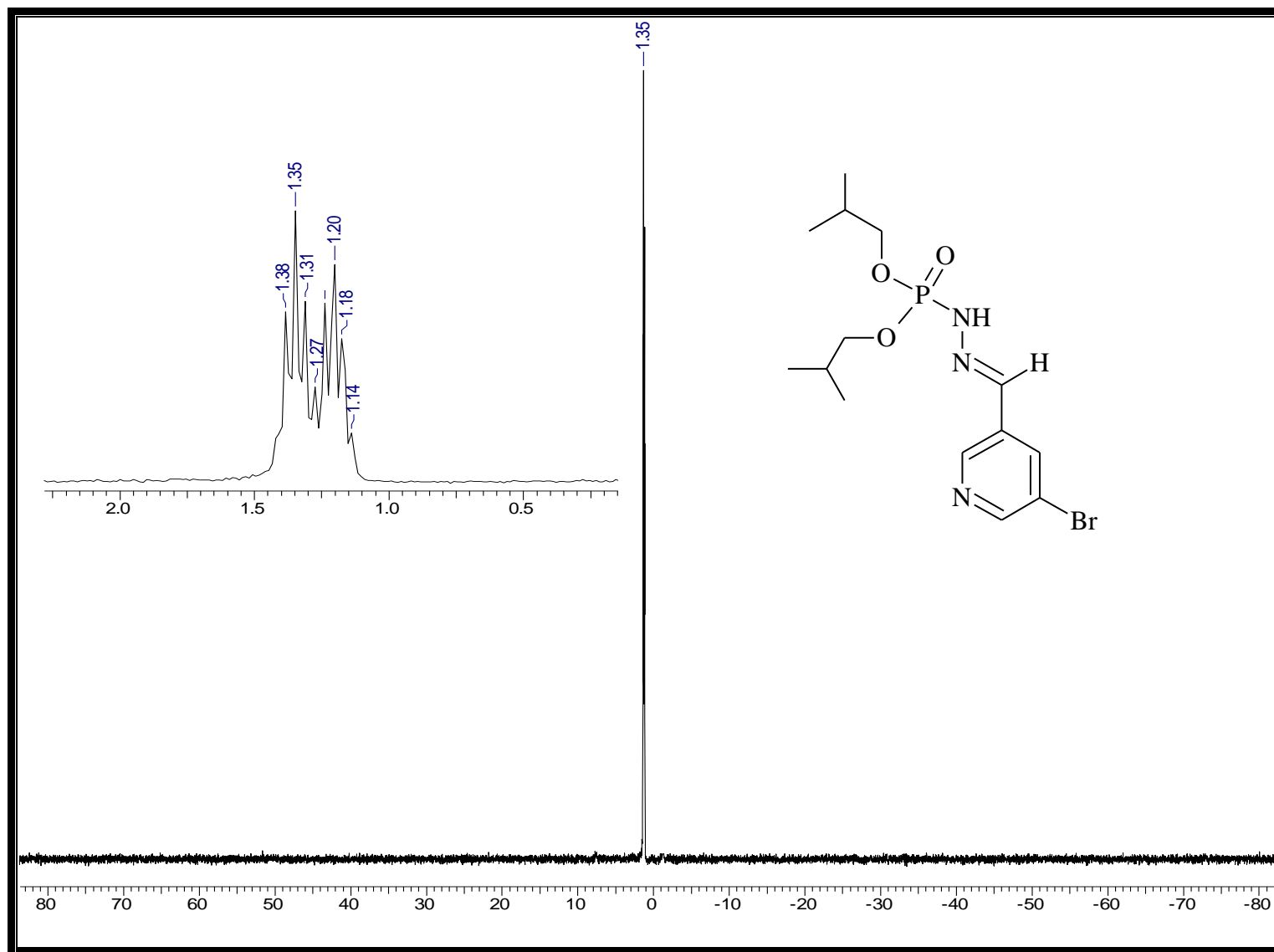
Espectro 103: Espectro de HMBC do éster di-*isopropílico*, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (18).



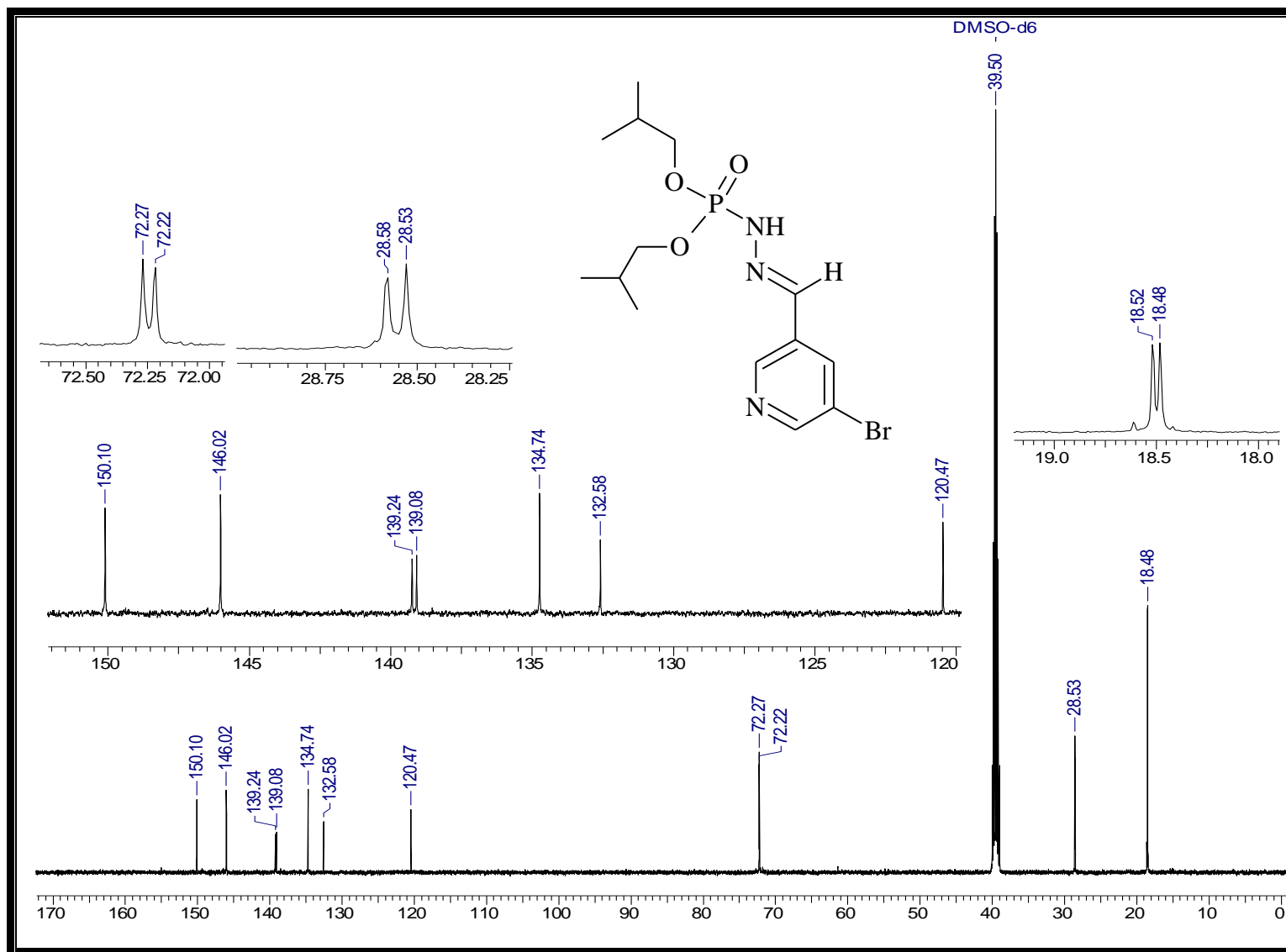
Espectro 104: Espectro de NOE do éster di-*isopropílico*, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (18).



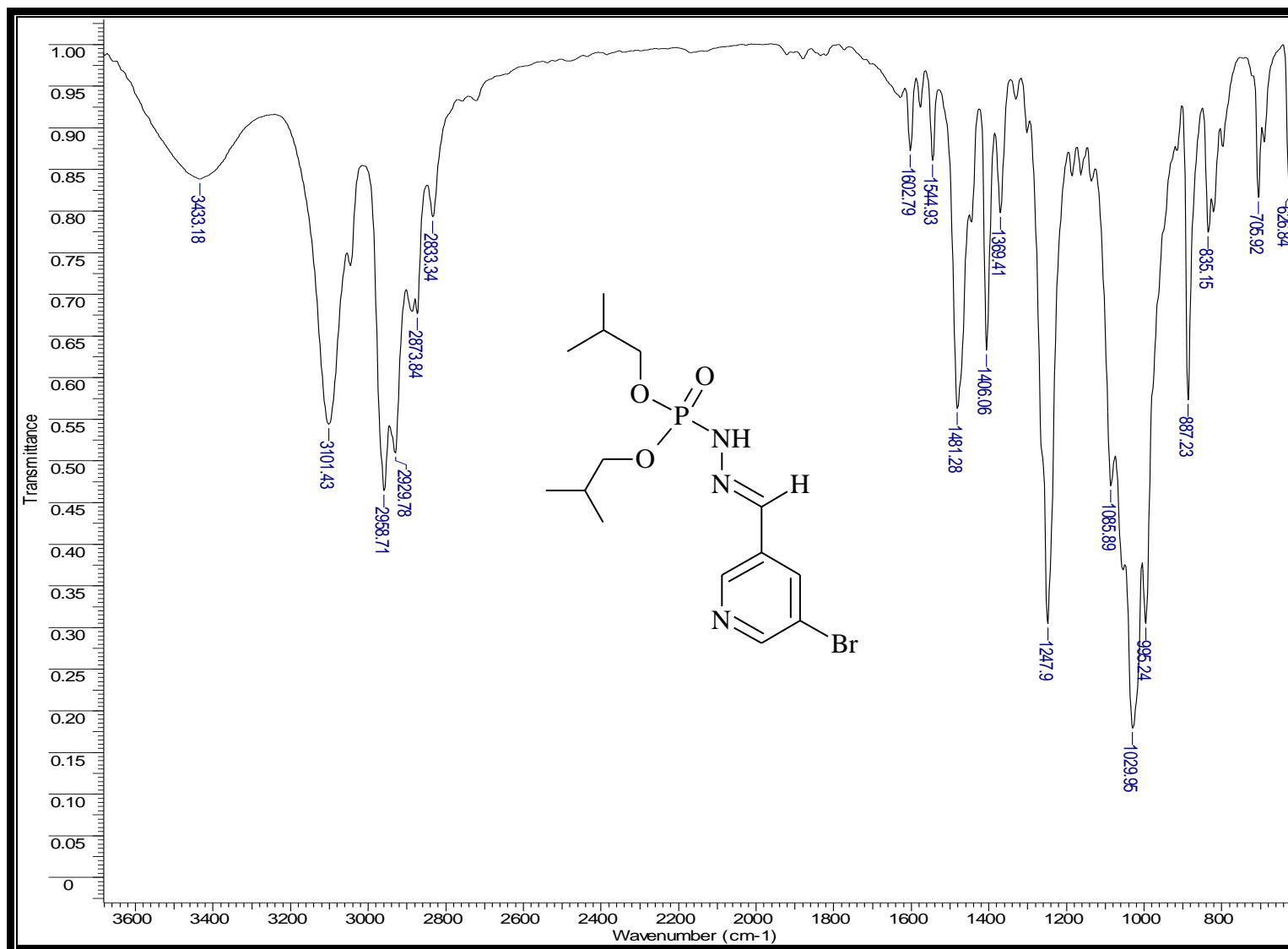
Espectro 105: Espectro de RMN- 1H do éster di-*isobutílico*, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (19).



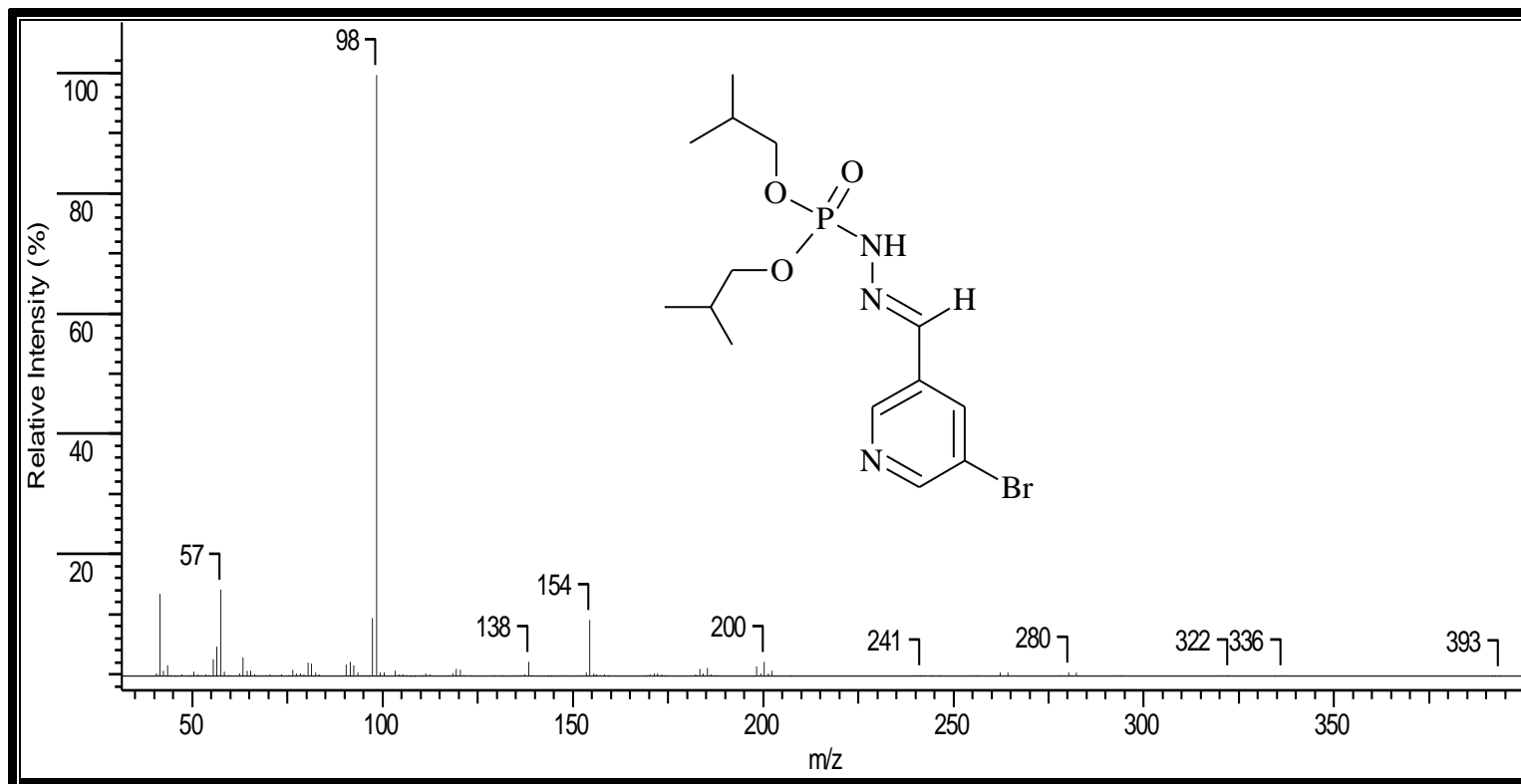
Espectro 106: Espectro de RMN- ^{31}P do éster di-*isobutílico*, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (19).



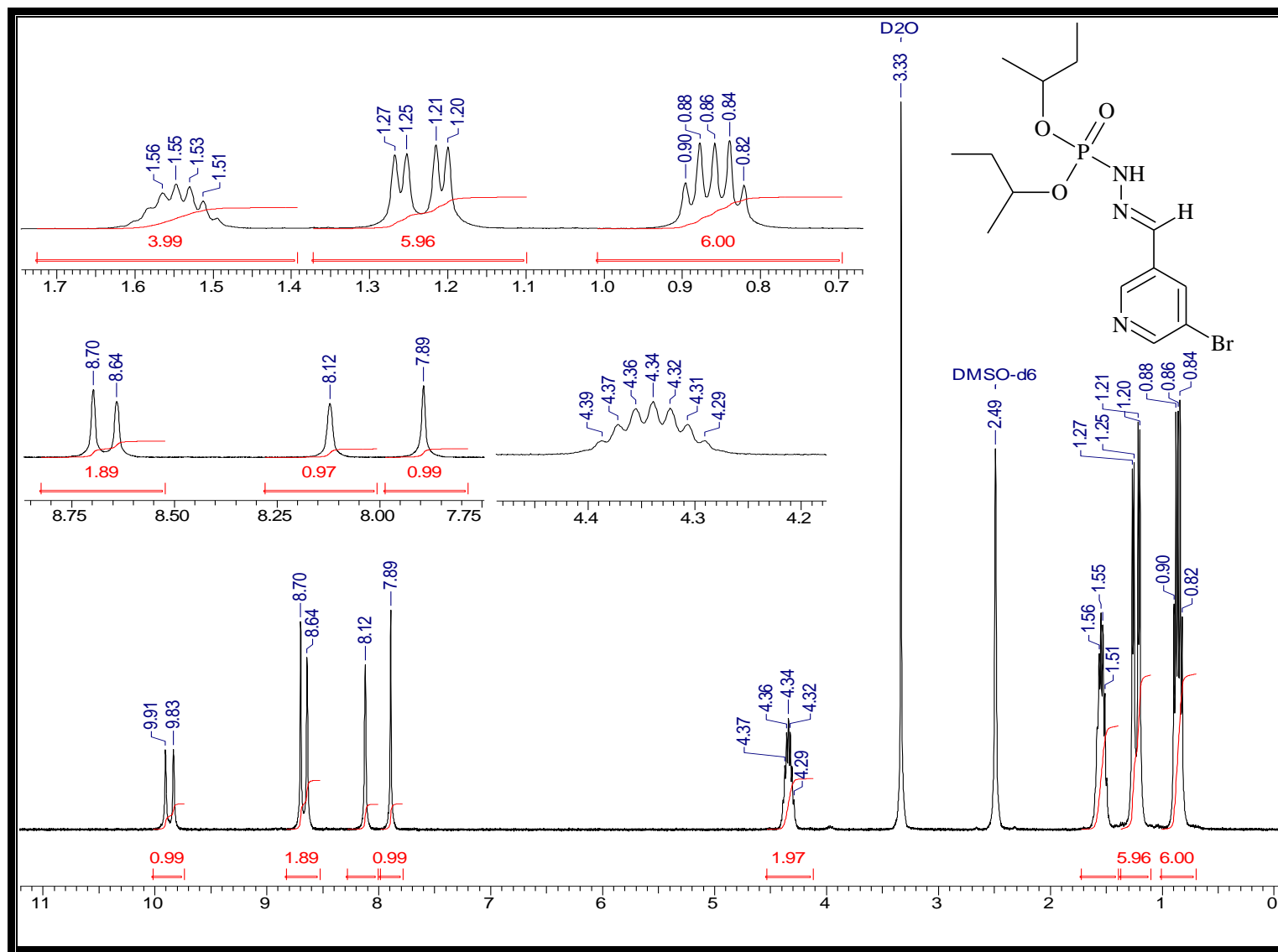
Espectro 107: Espectro de RMN- 13C do éster di-*isobutílico*, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (19).



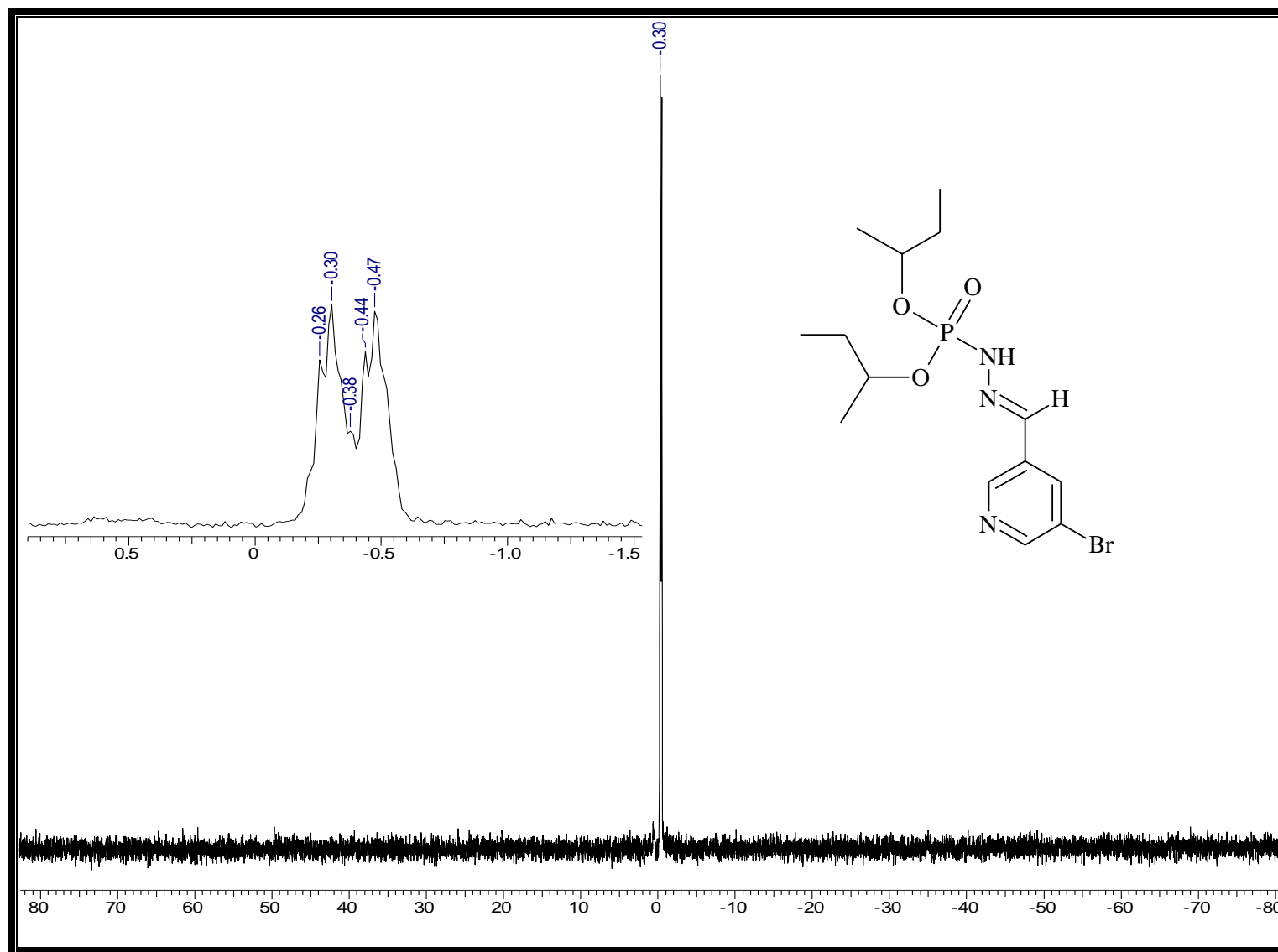
Espectro 108: Espectro de IV do éster di-*isobutílico*, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (19).



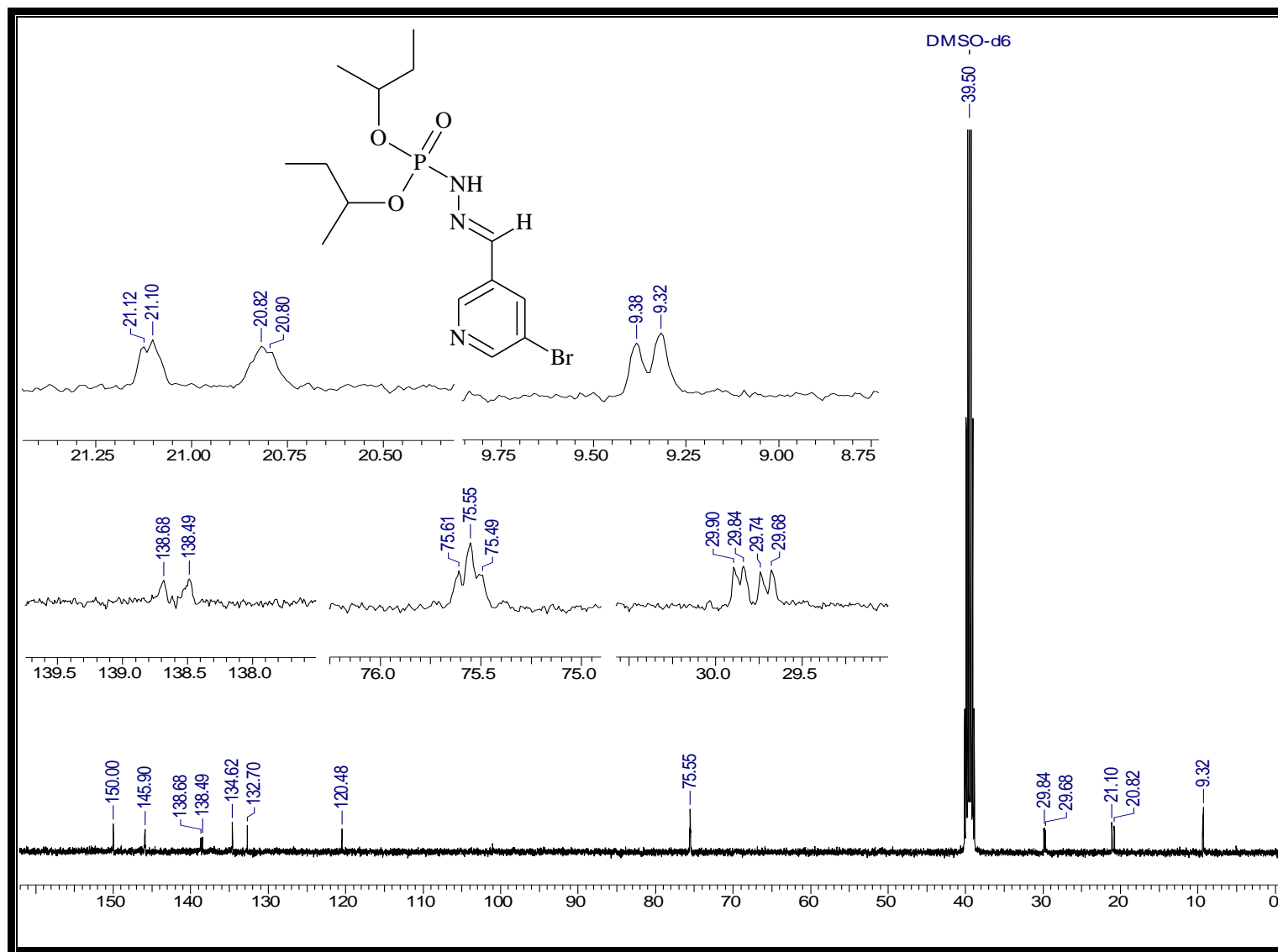
Espectro 109: Espectro de massas do éster di-*isobutílico*, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (19).



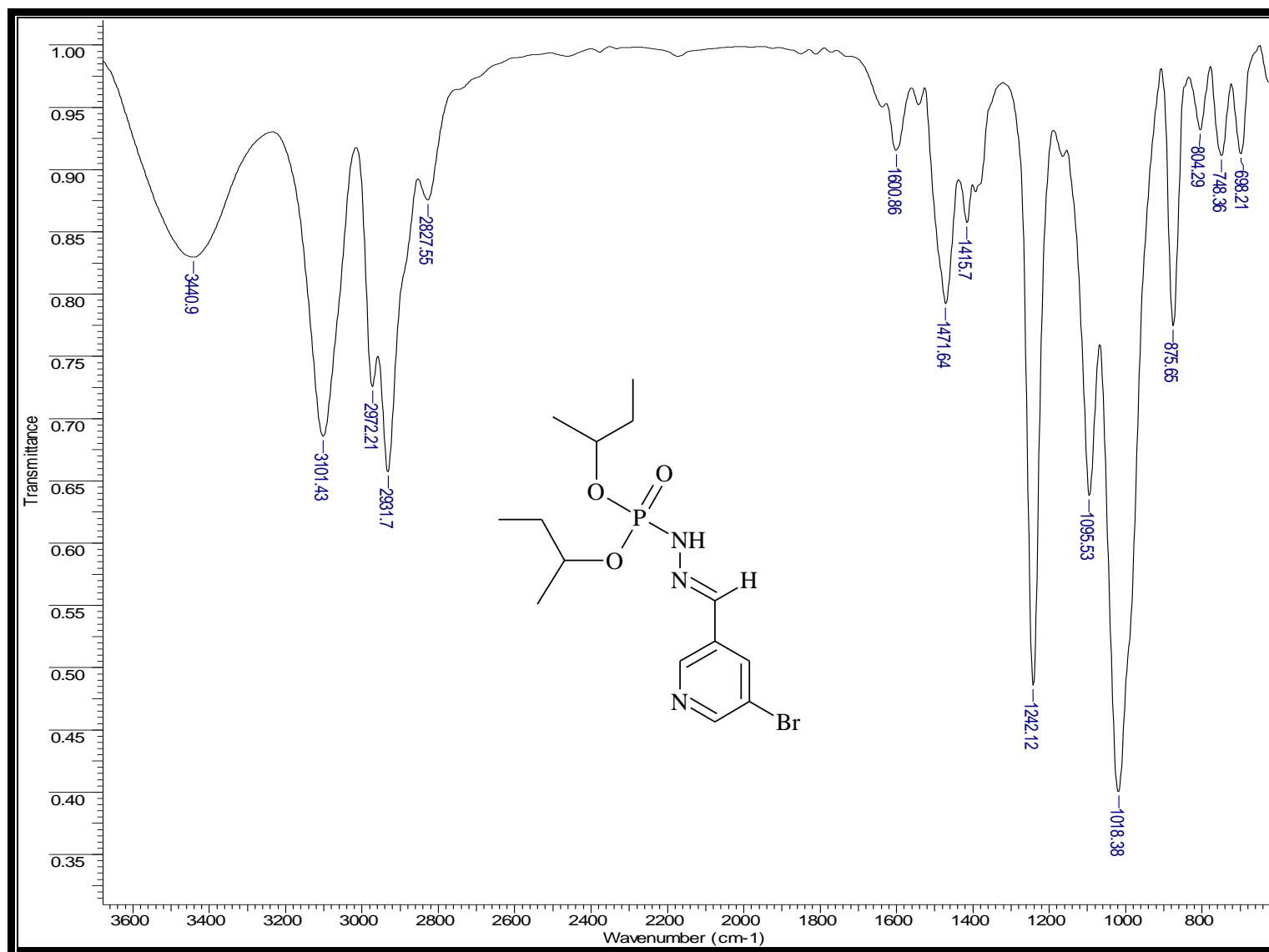
Espectro 110: Espectro de 1H do éster di-*sec*butílico, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (20).



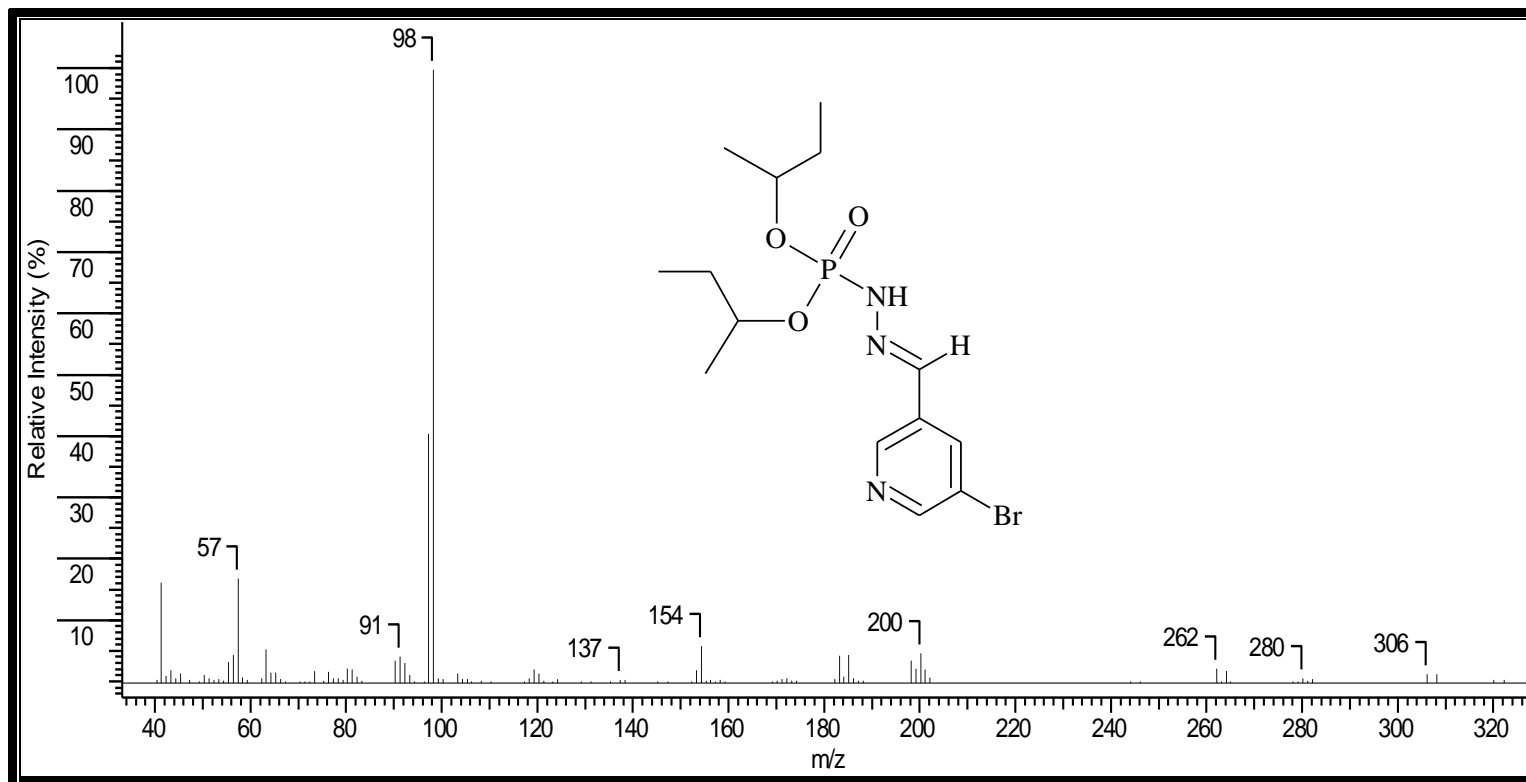
Espectro 111: Espectro de ^{31}P do éster di-*sec*butílico, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (20).



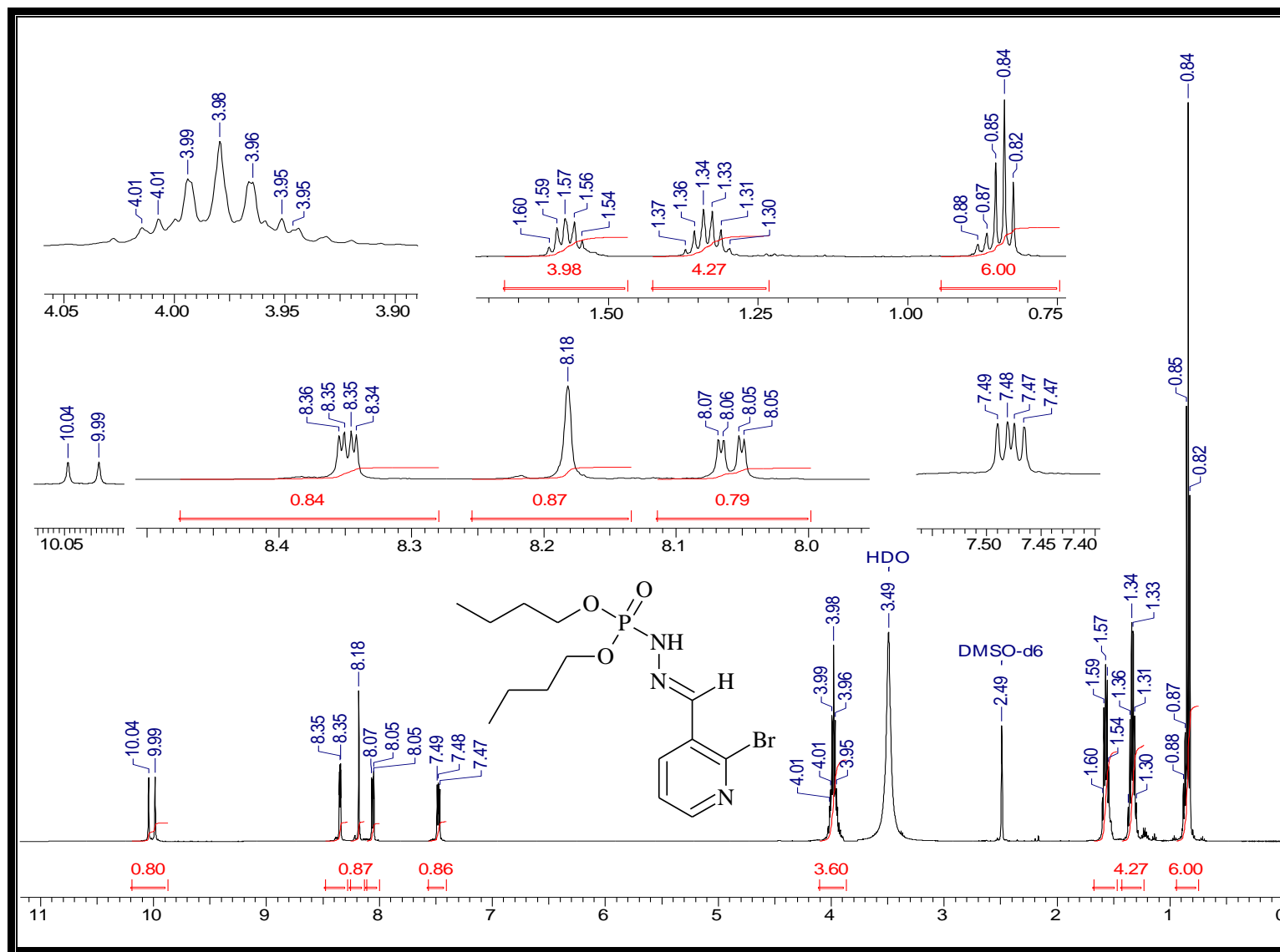
Espectro 112: Espectro de ^{13}C do éster di-*sec*butílico, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (20).



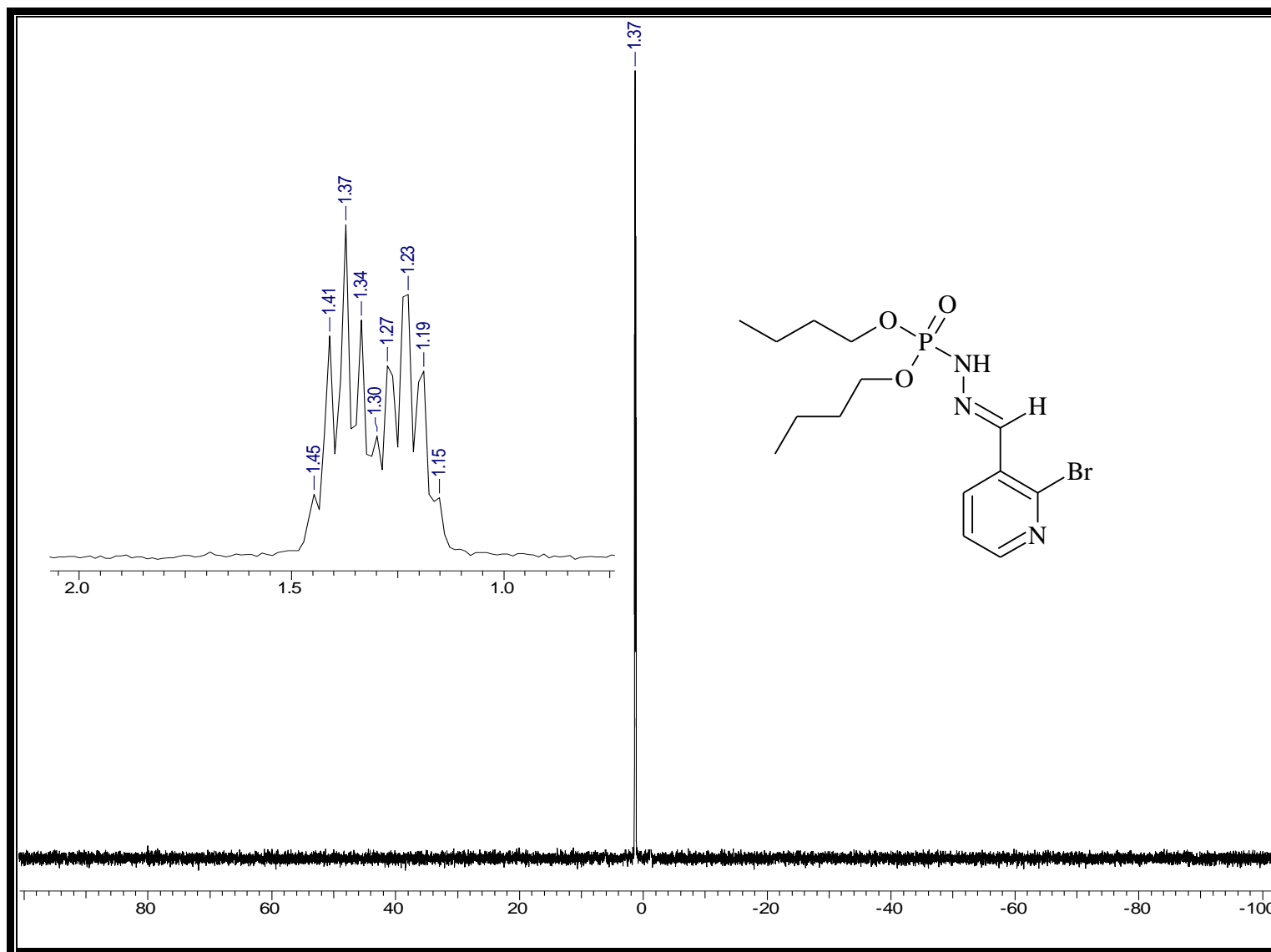
Espectro 113: Espectro de IV do éster di-*sec*butílico, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (20).



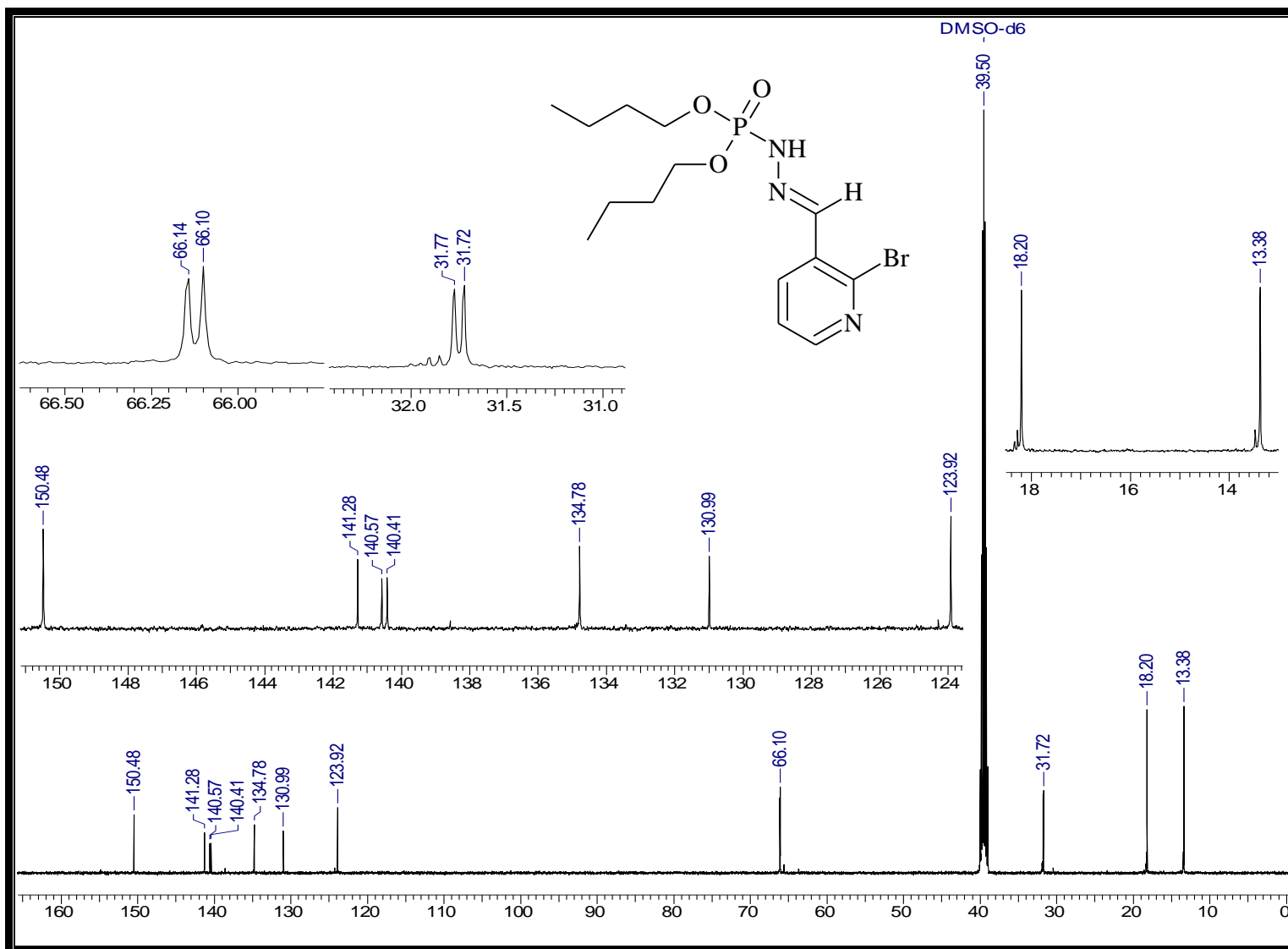
Espectro 114: Espectro de massas do éster di-*sec*butílico, *N'*- [5-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (20).



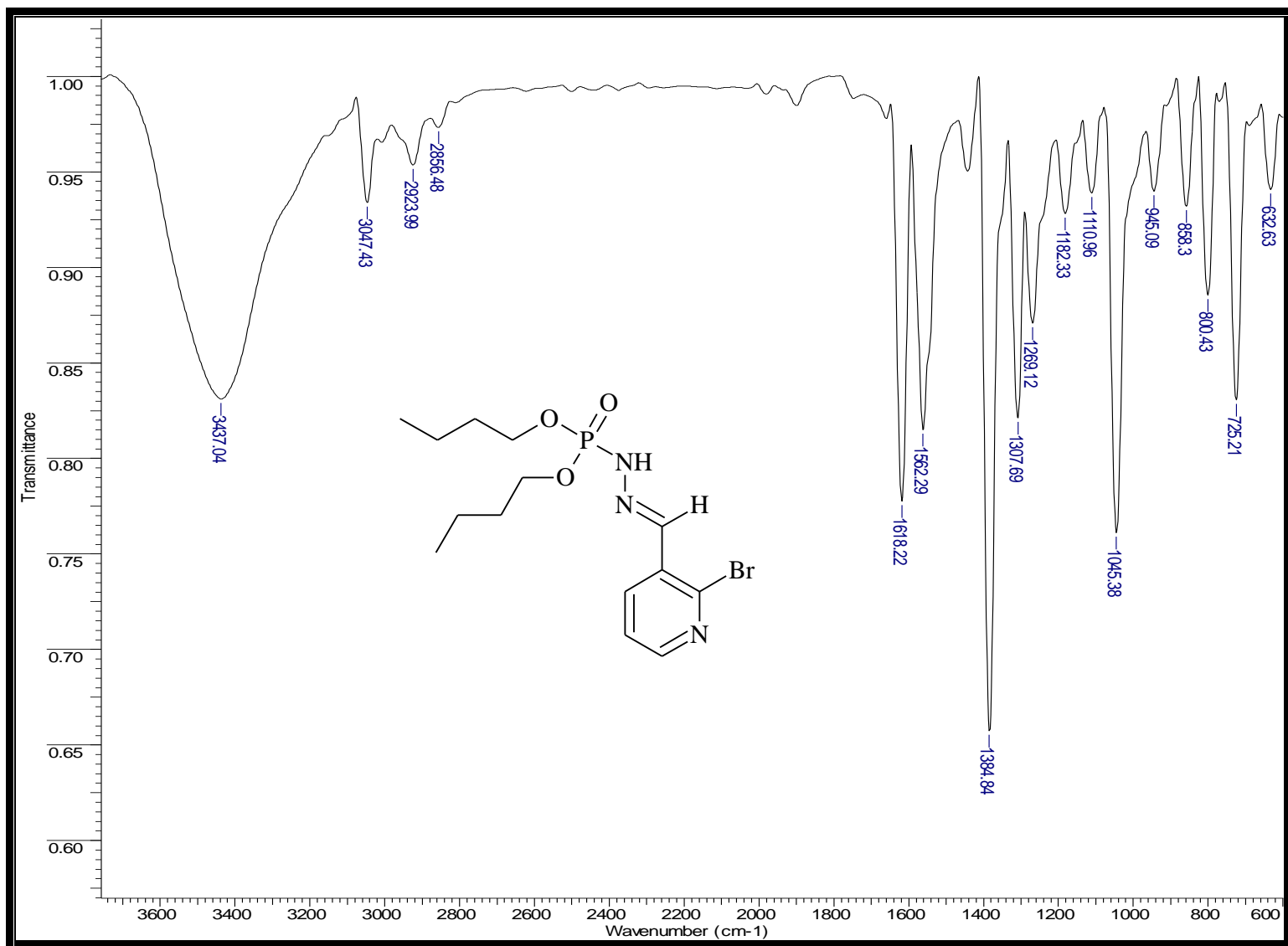
Espectro 115: Espectro de RMN- 1H do éster dibutílico, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodiazídico (20).



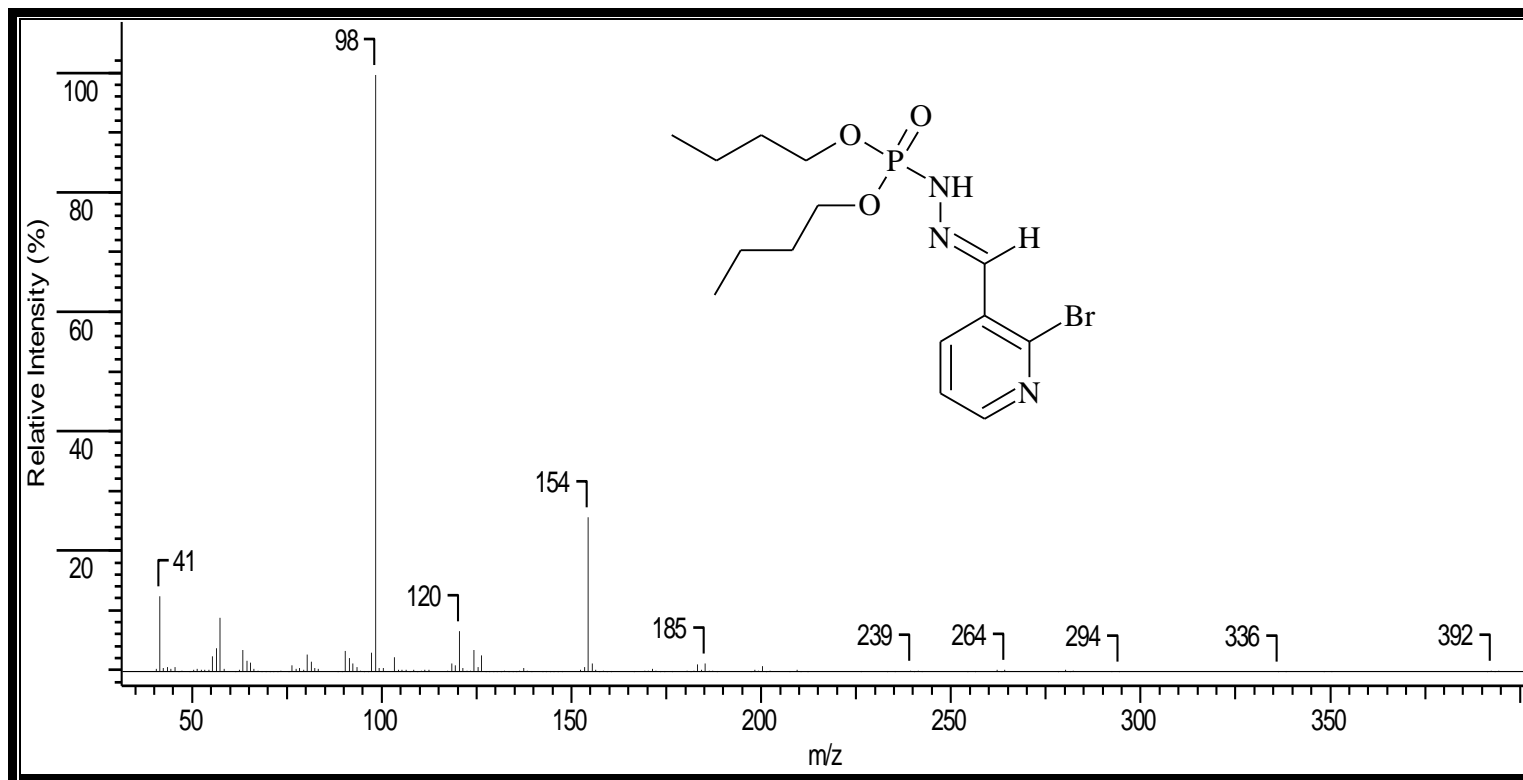
Espectro 116: Espectro de RMN- ^{31}P do éster dibutílico, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (20).



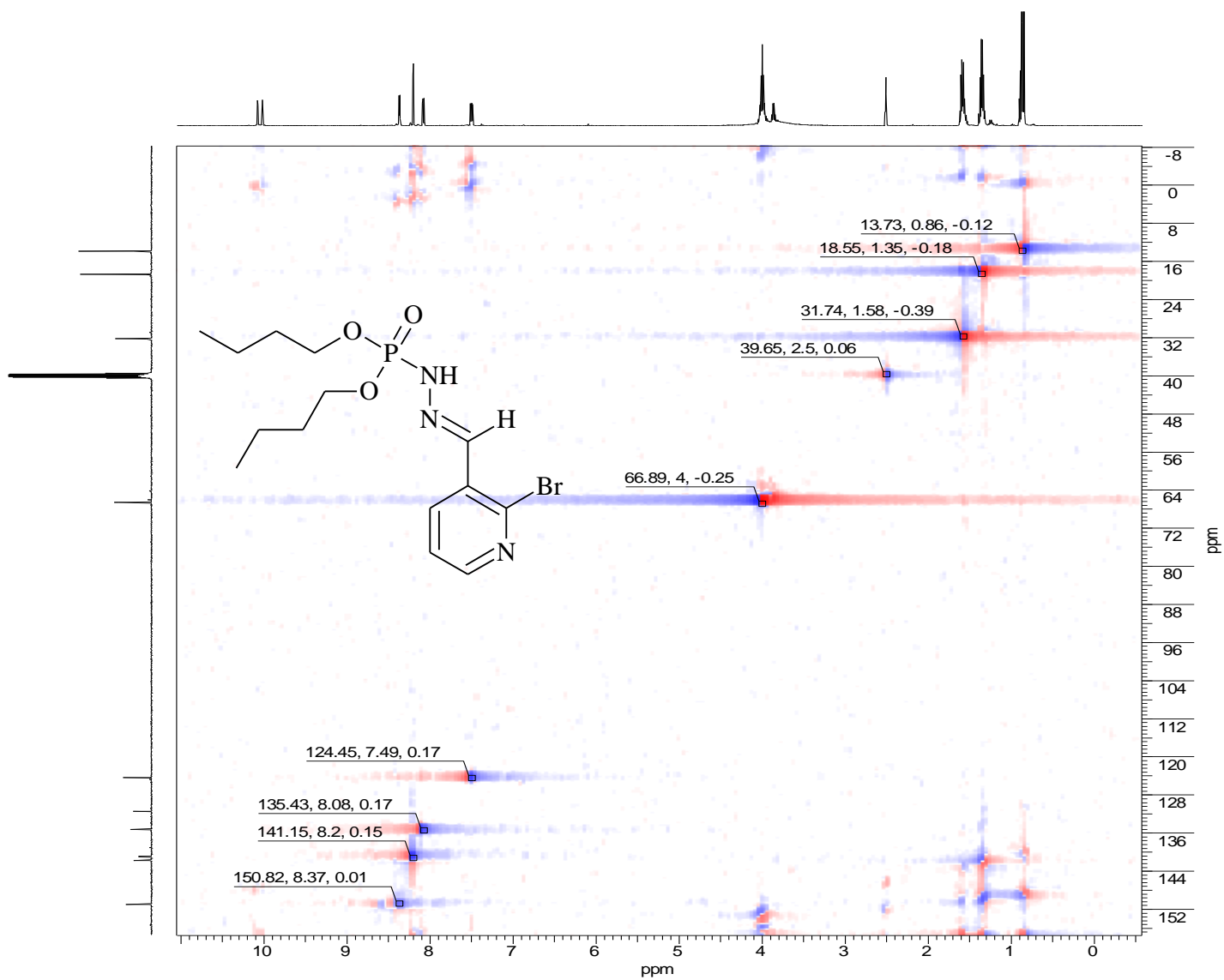
Espectro 117: Espectro de RMN- 31C do éster dibutílico, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (21).



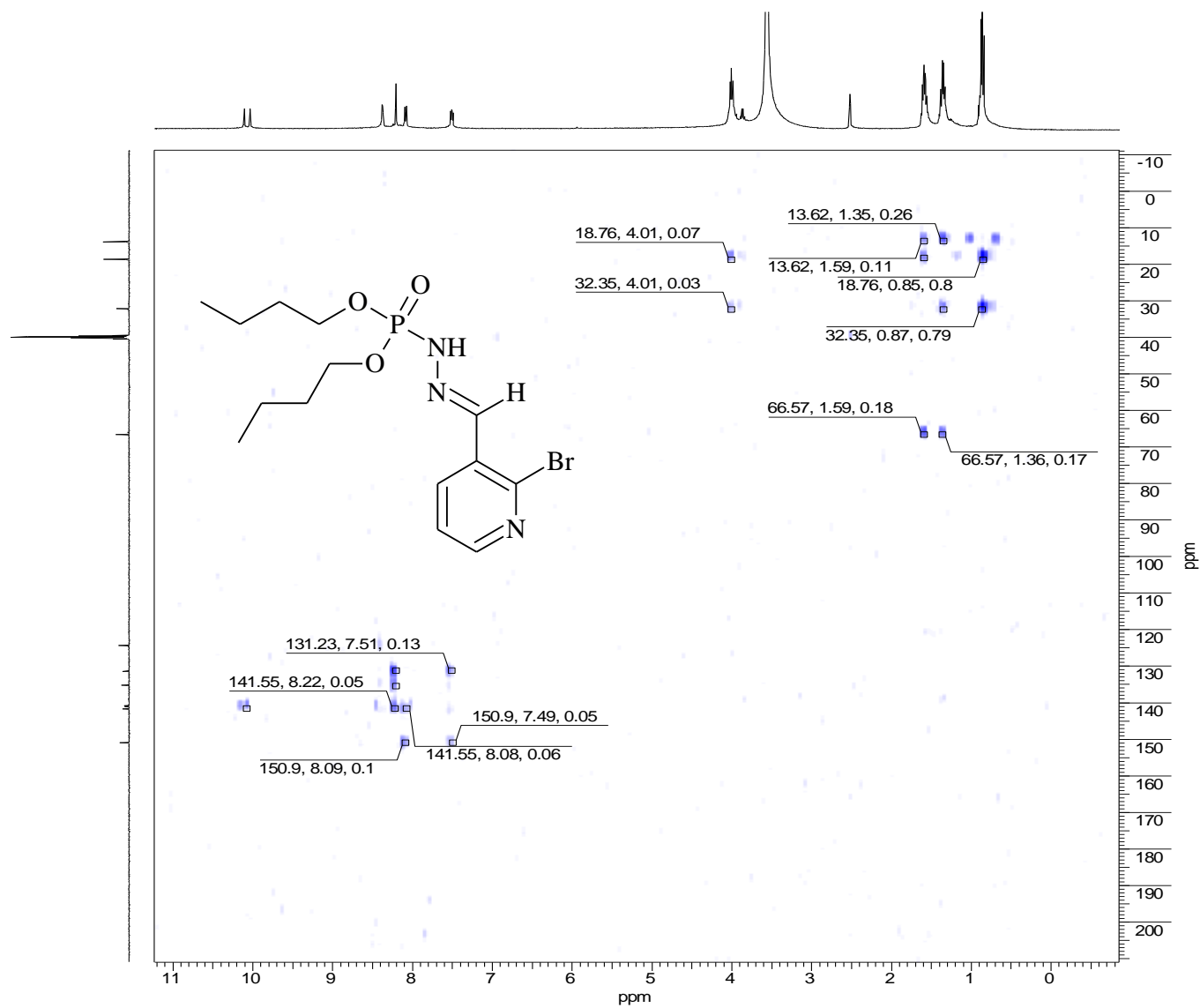
Espectro 118: Espectro de IV do éster dibutílico, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (21).



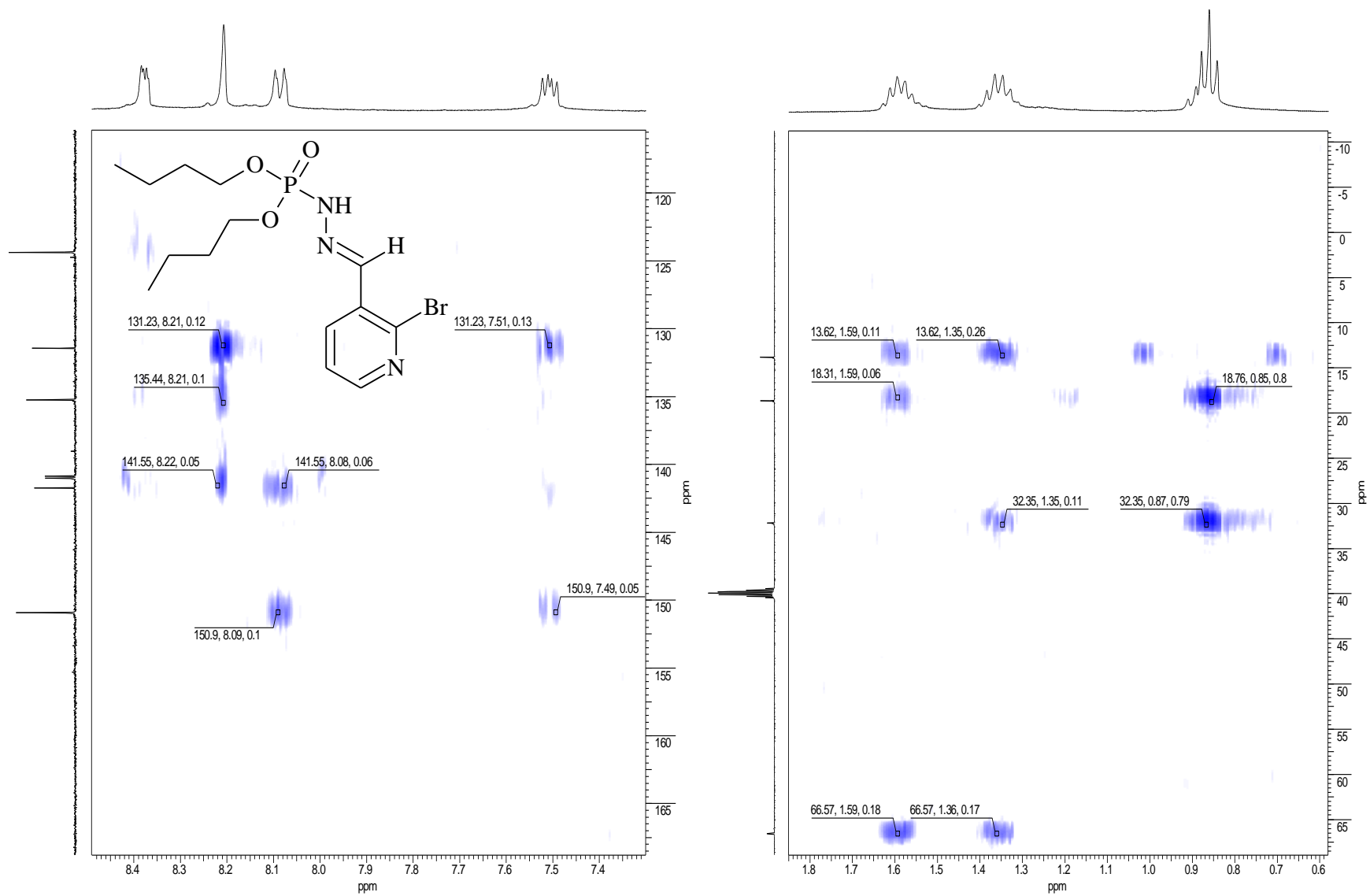
Espectro 119: Espectro de massas do éster dibutílico, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (21).



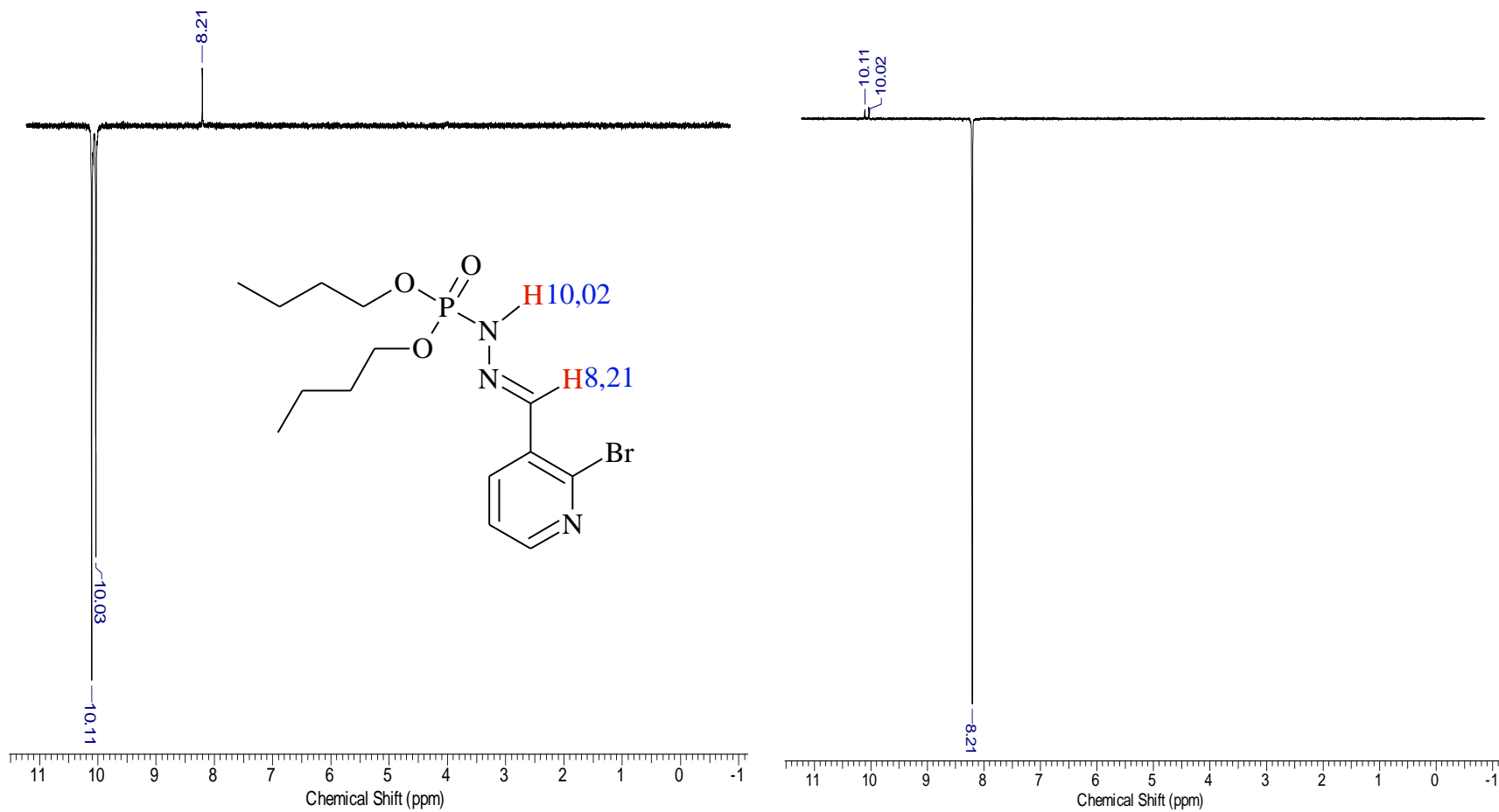
Espectro 120: Espectro de HSQC do éster dibutílico, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (21).



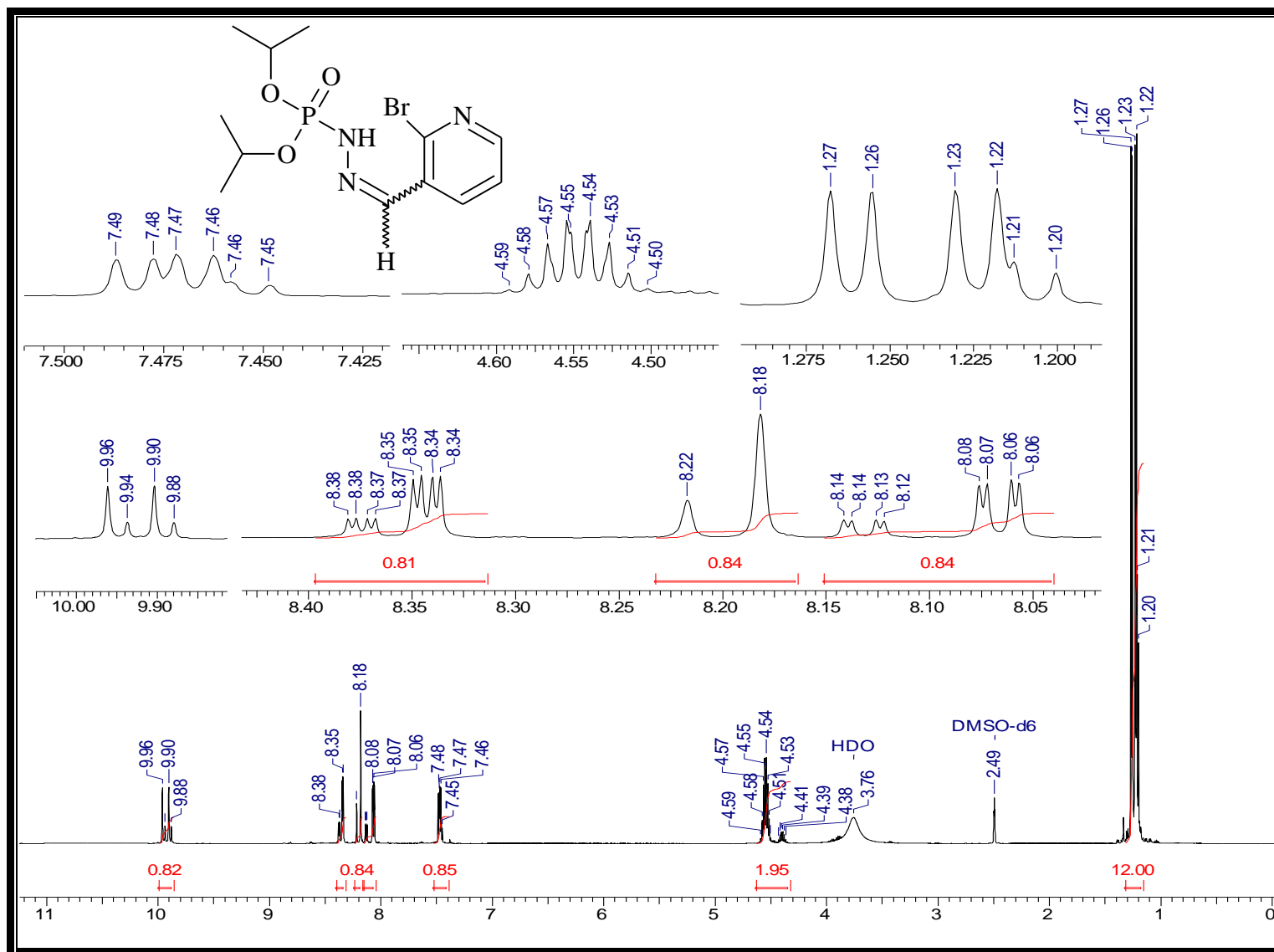
Espectro 121: Espectro de HMBC do éster dibutílico, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (21).



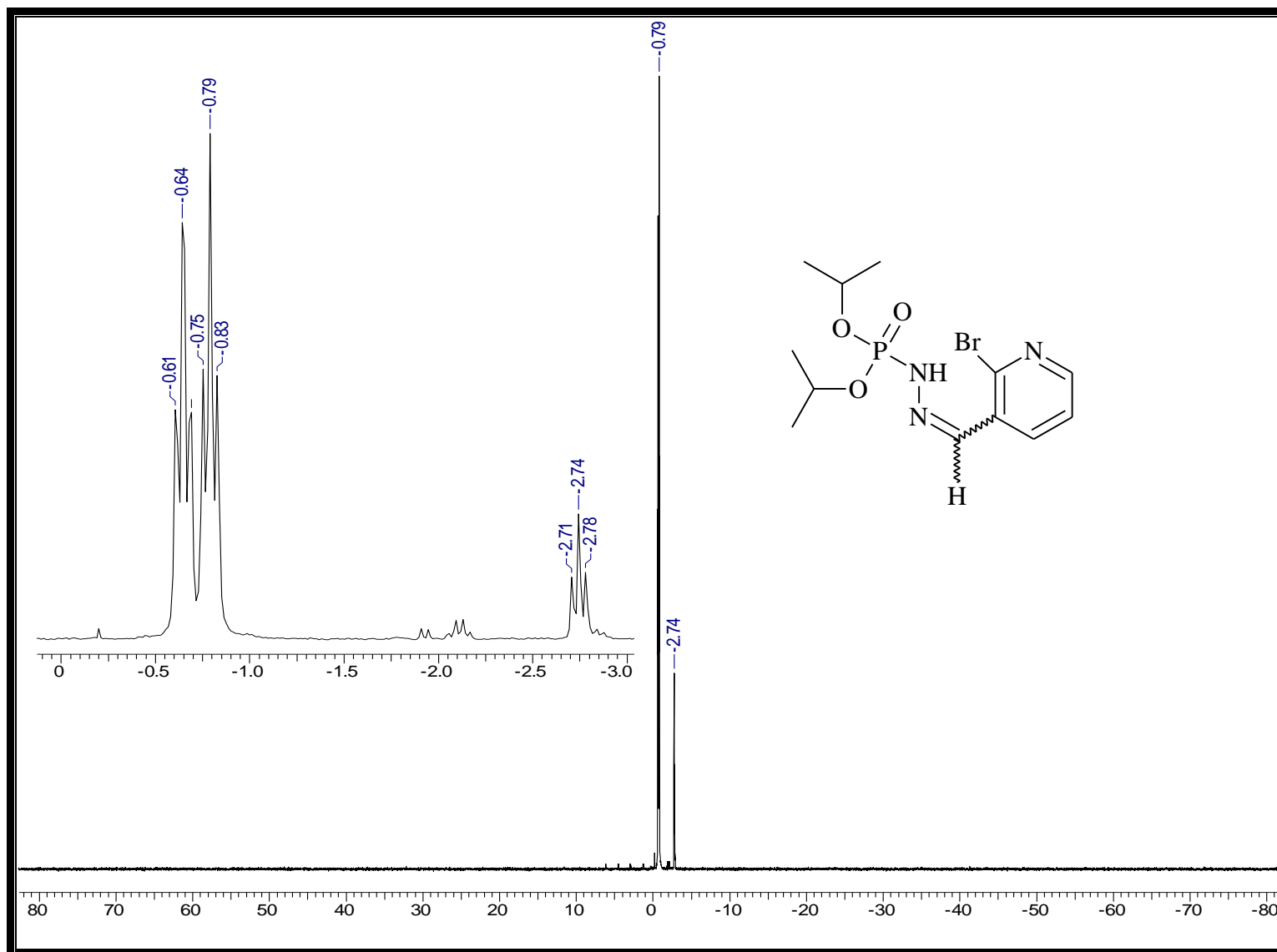
Espectro 122: Espectro de HMBC expandido do éster dibutílico, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (21).



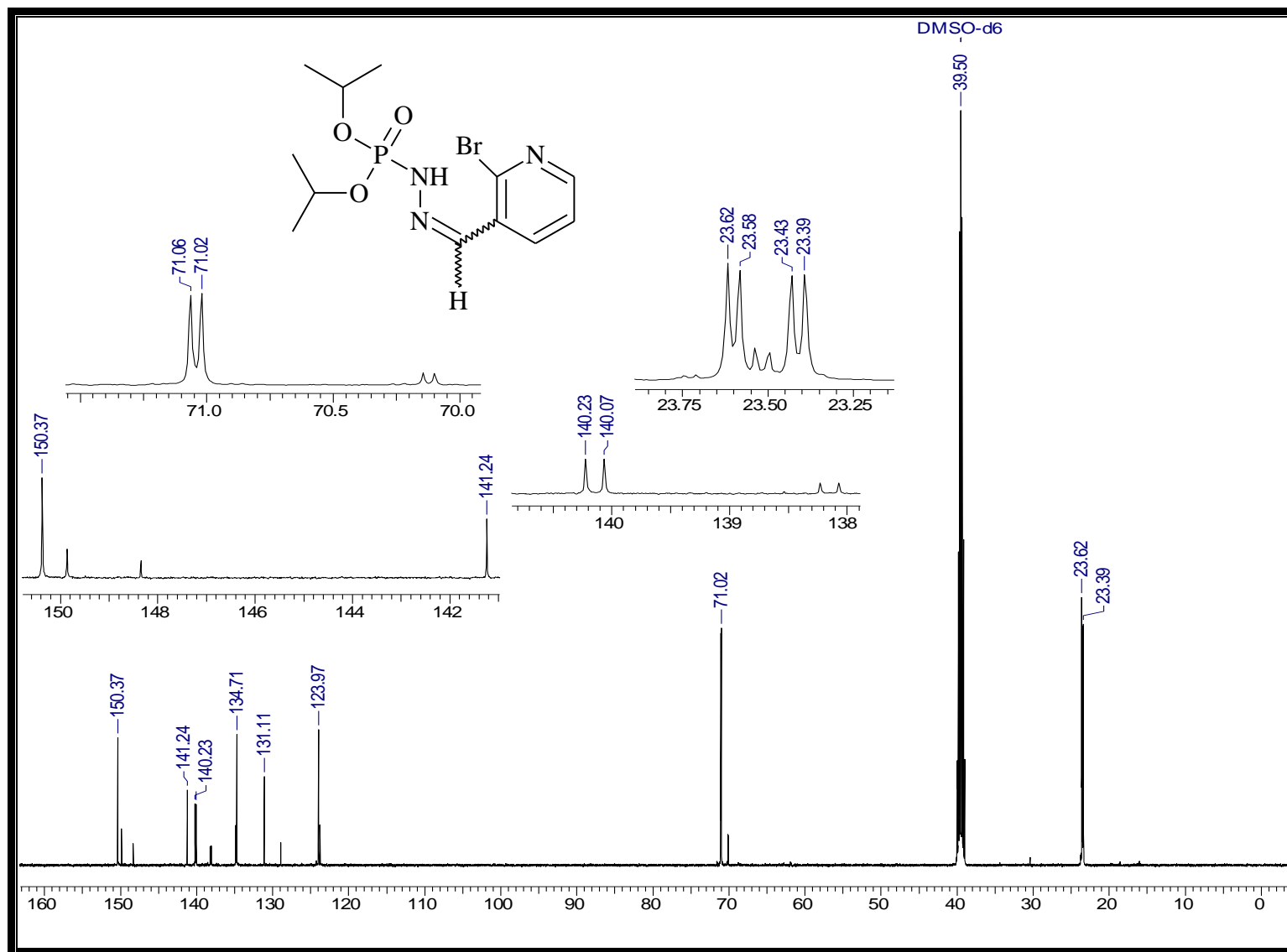
Espectro 123: Espectro de NOE do éster dibutílico, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (21).



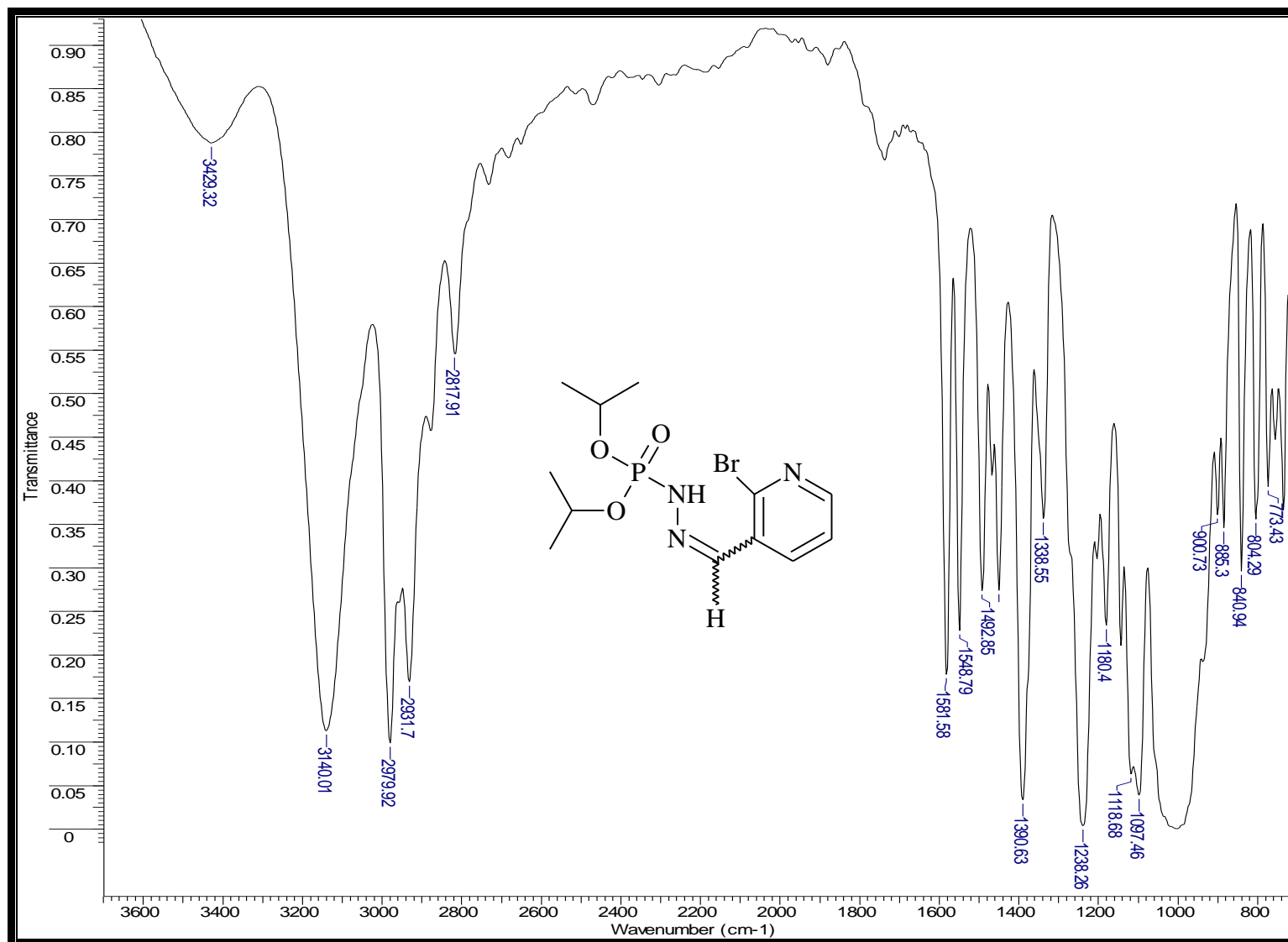
Espectro 124: Espectro de RMN- 1H do éster di-*isopropílico*, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (22).



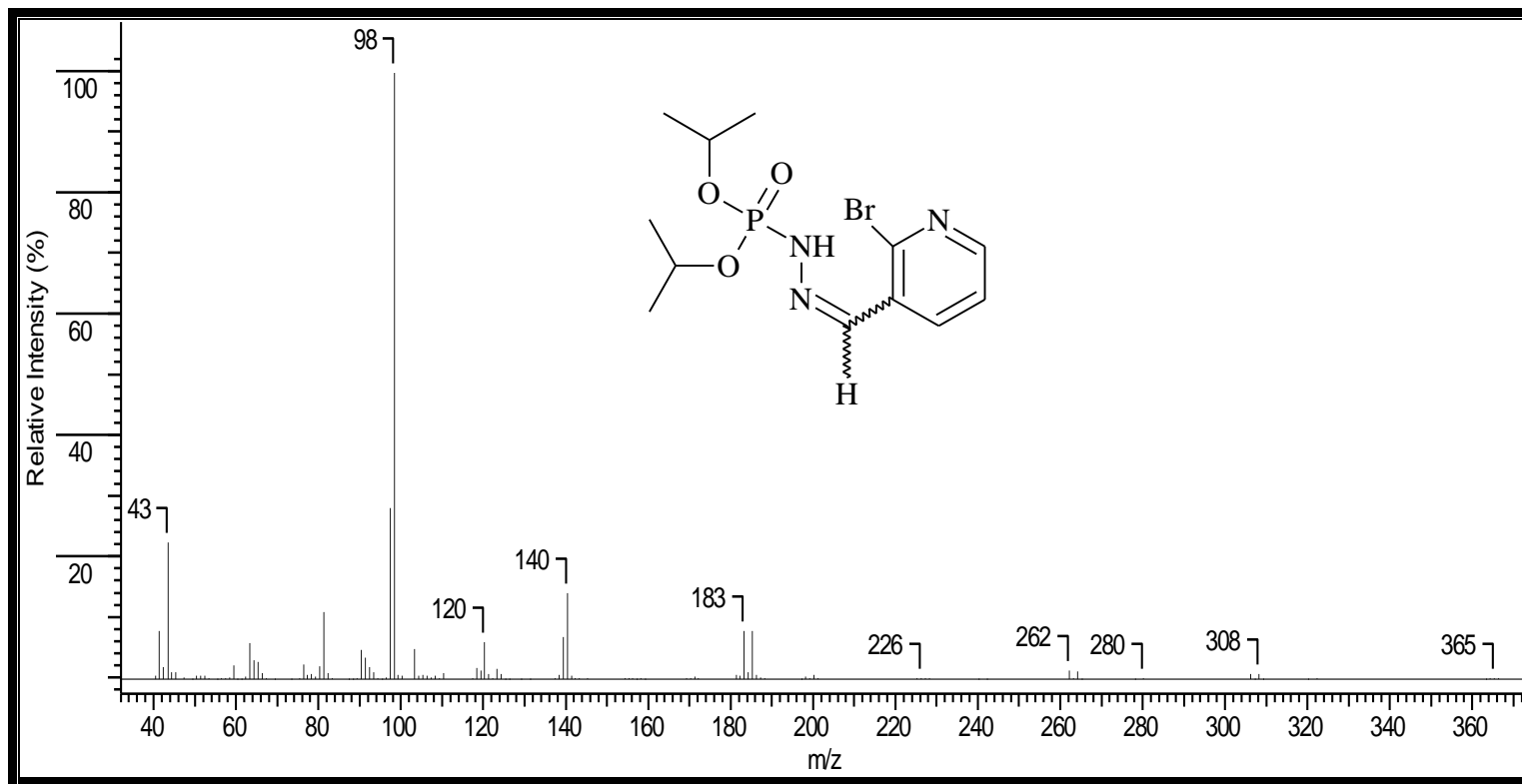
Espectro 125: Espectro de RMN- ^{31}P do éster di-*isopropílico*, N' - [2-bromo-3-metilenpiridina], do ácido fosforoidrazídico (22).



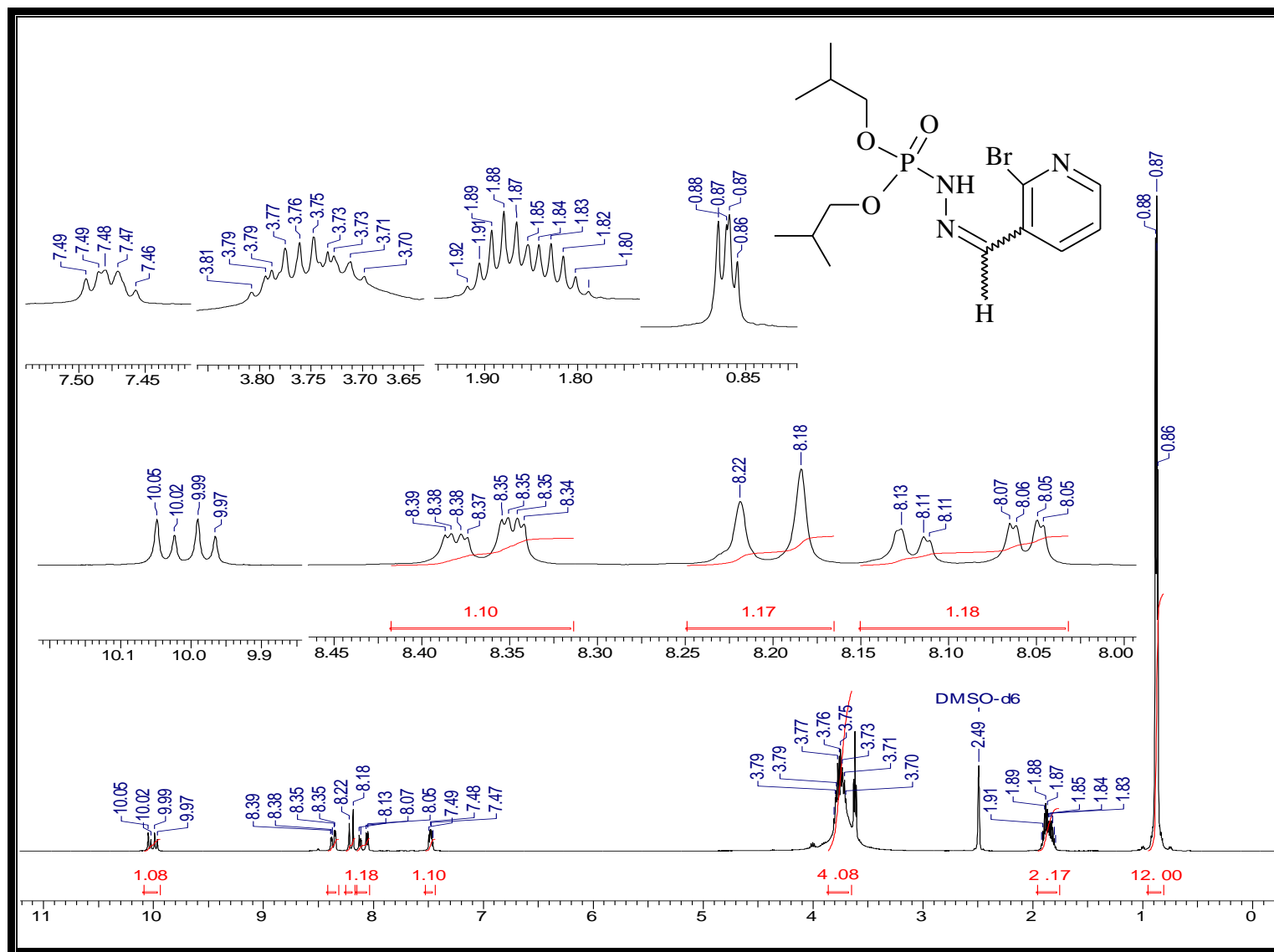
Espectro 126: Espectro de RMN- 13C do éster di-*isopropílico*, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (22).



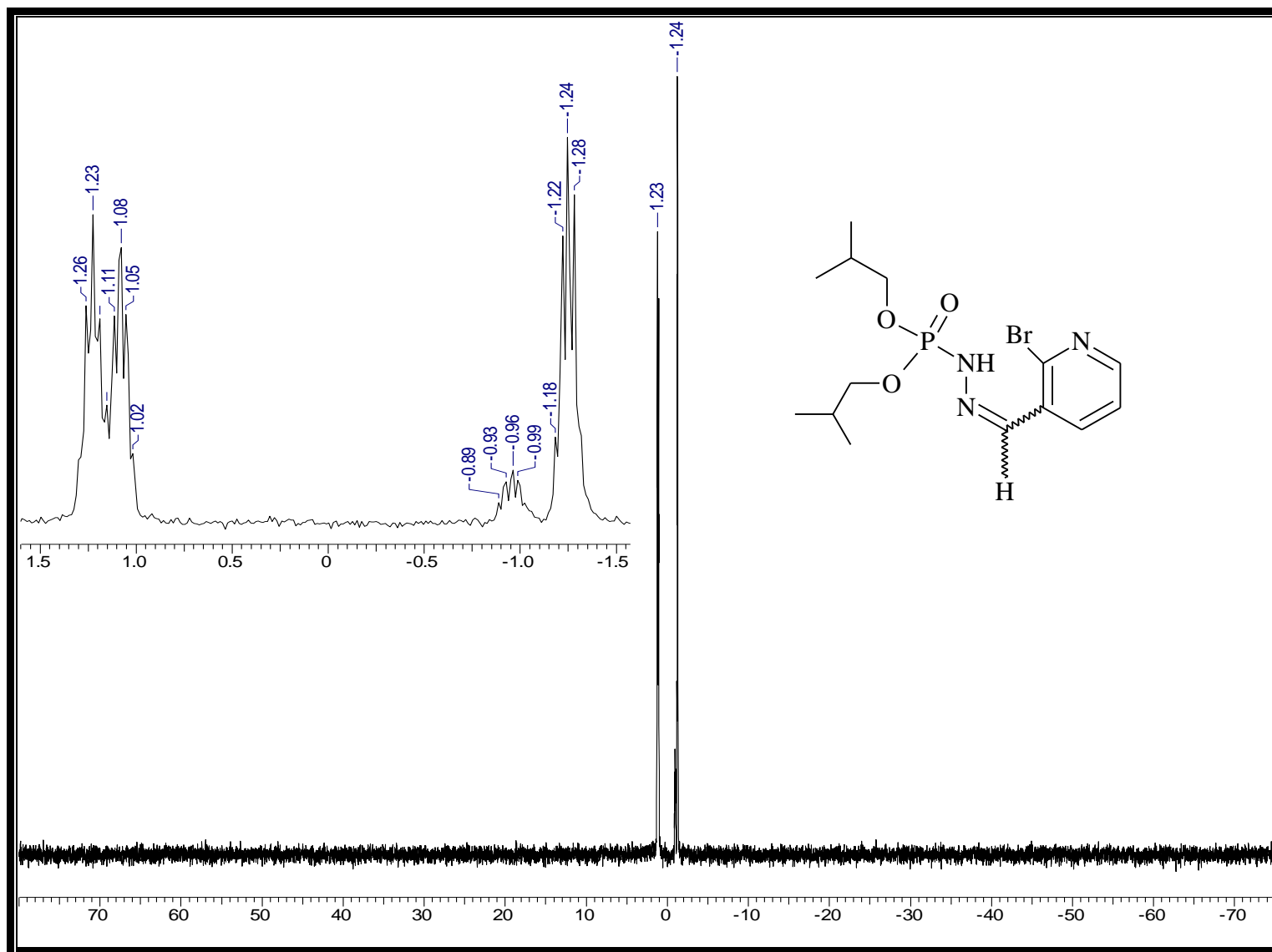
Espectro 127: Espectro de IV do éster di-*isopropílico*, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (22).



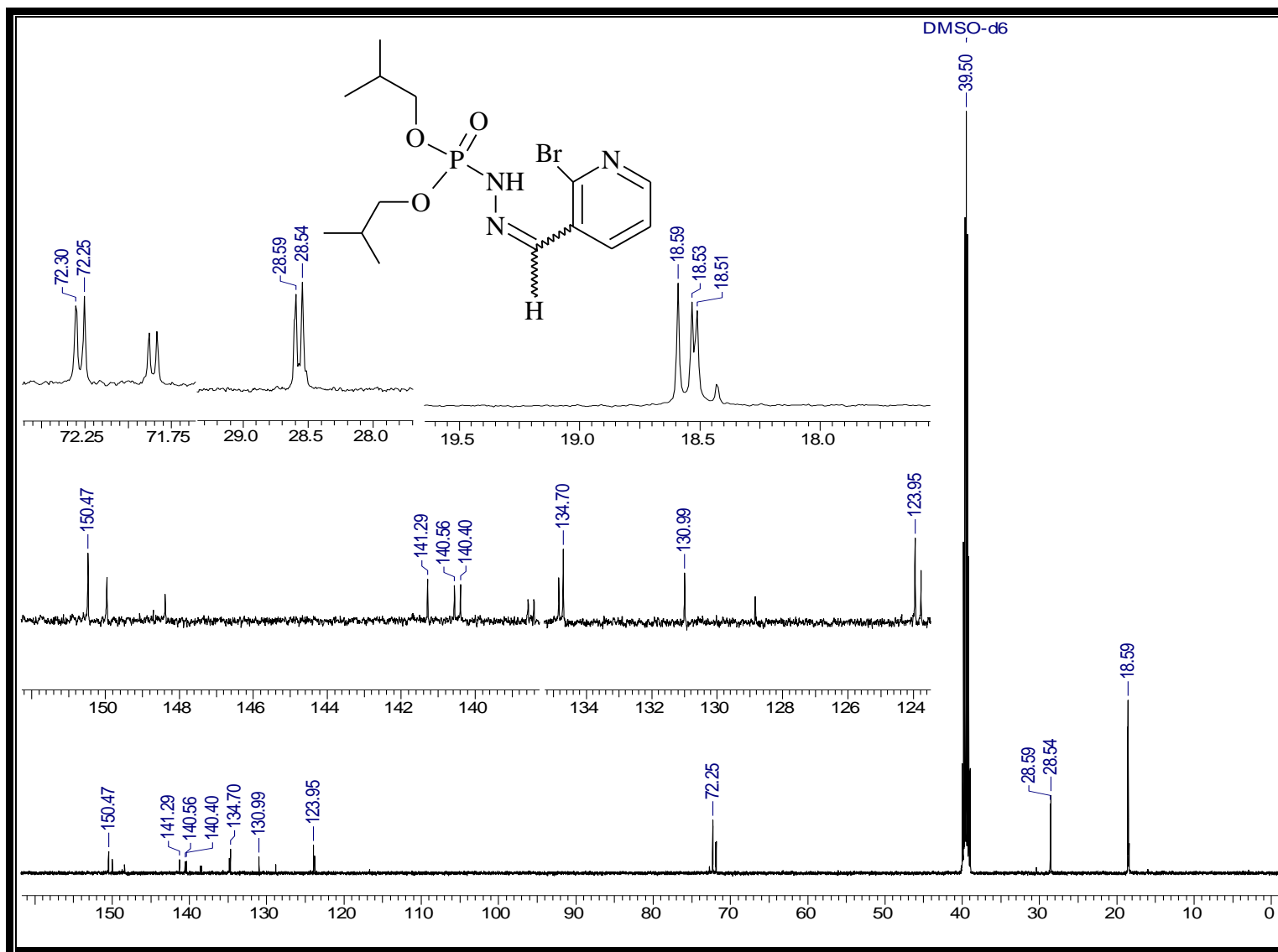
Espectro 128: Espectro de massas do éster di-*isopropílico*, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (22).



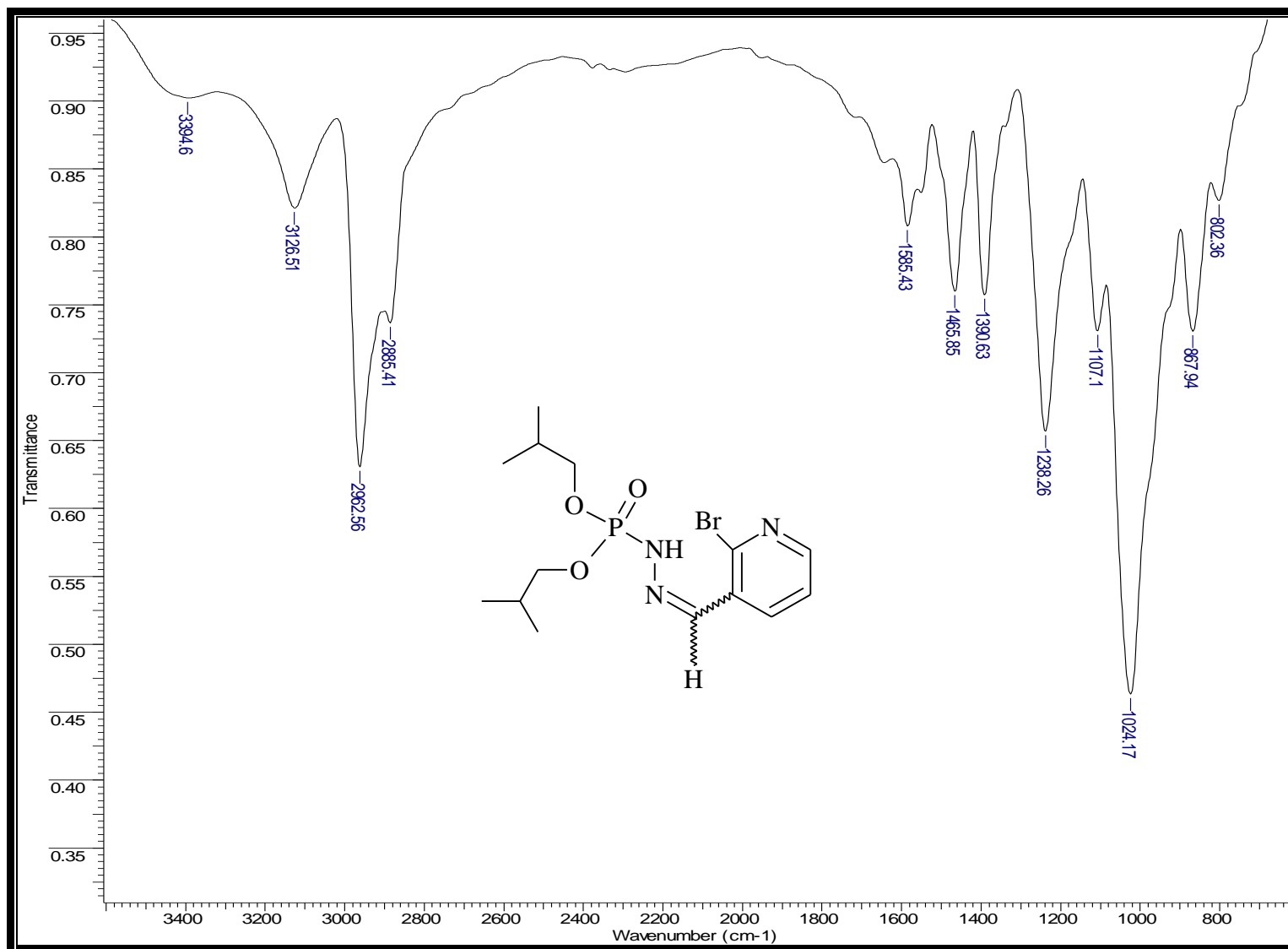
Espectro 129: Espectro de RMN- 1H do éster di-*isobutílico*, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (23).



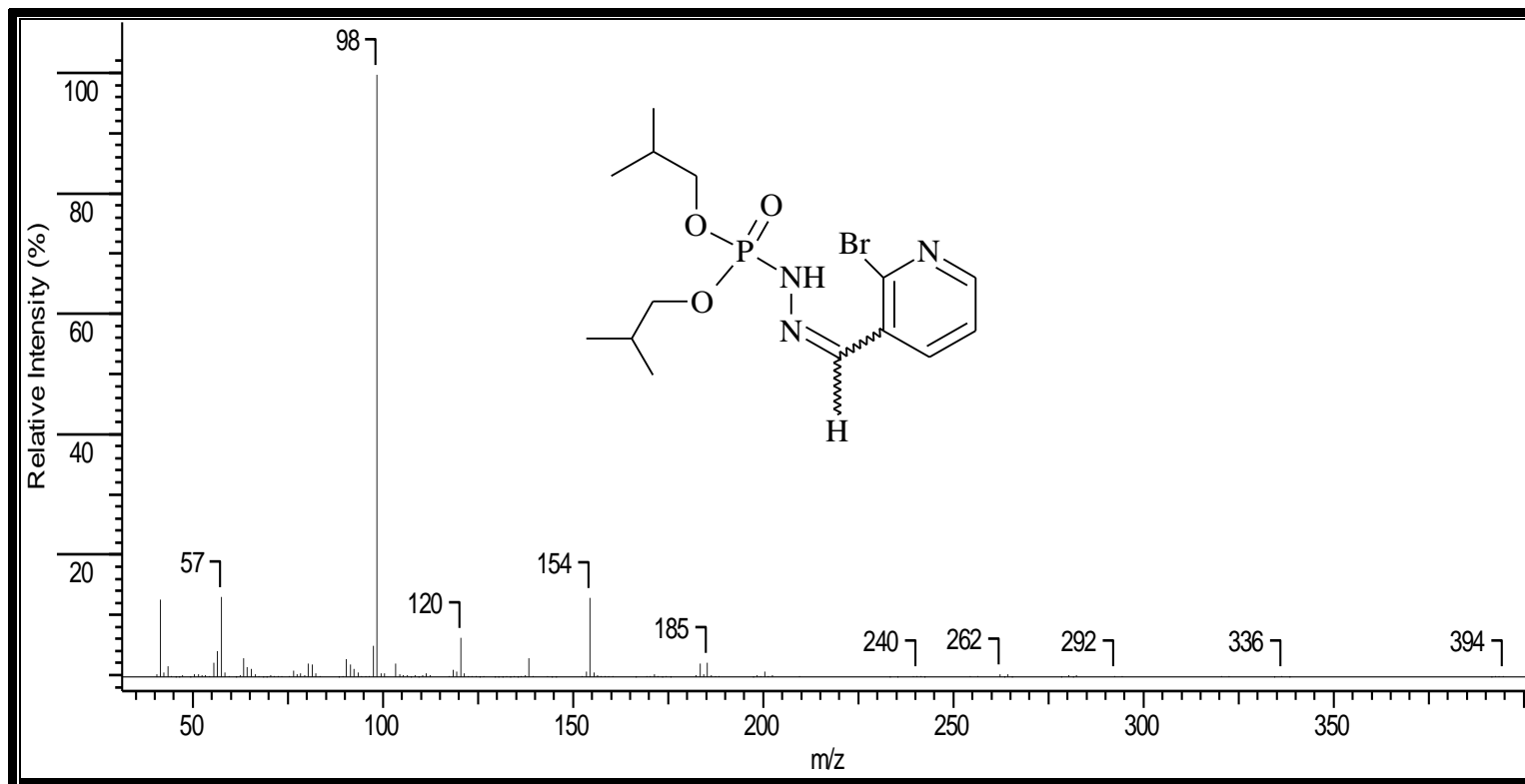
Espectro 130: Espectro de RMN- ^{31}P do éster di-*isobutílico*, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (23).



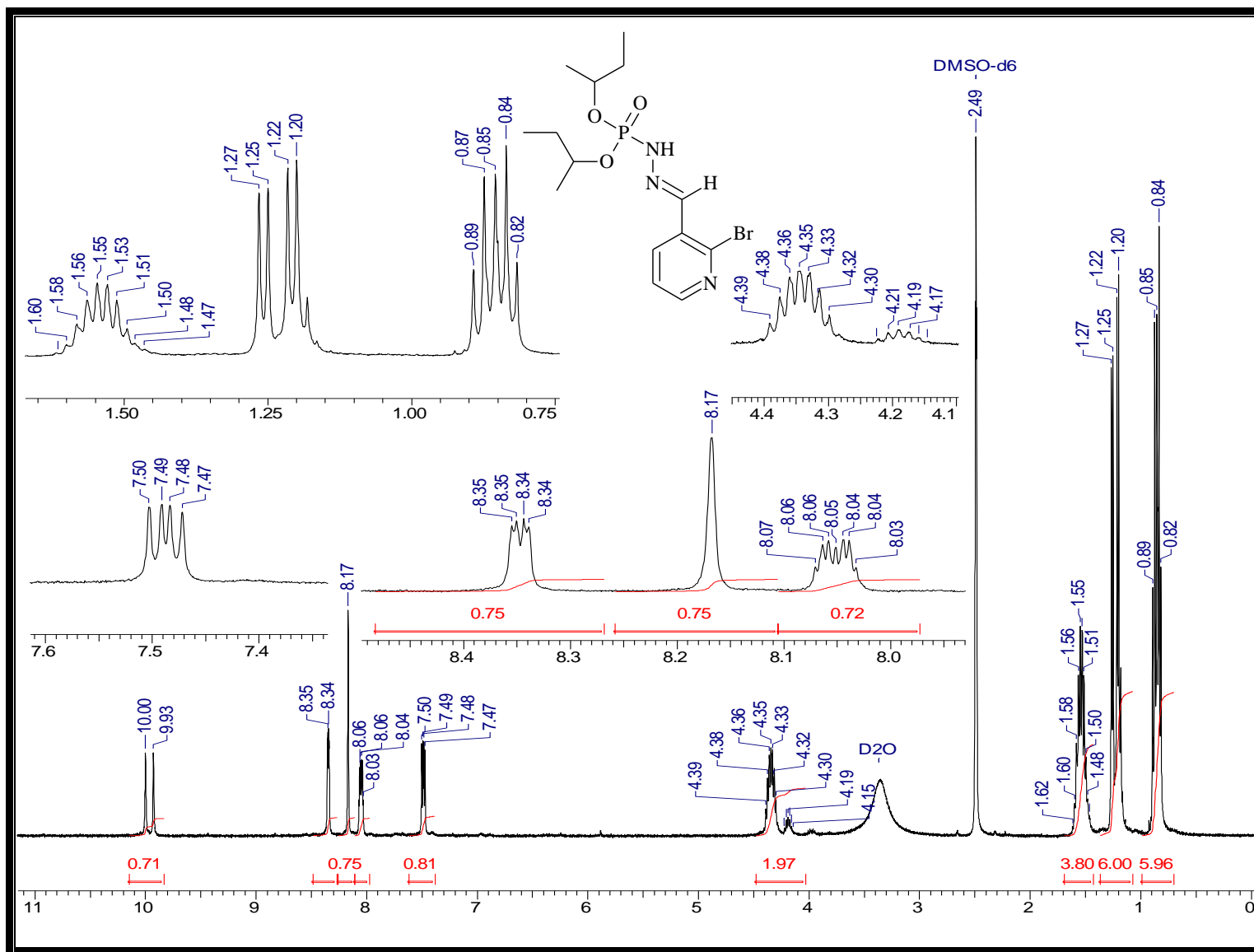
Espectro 131: Espectro de RMN- 13C do éster di-*isobutílico*, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (23).



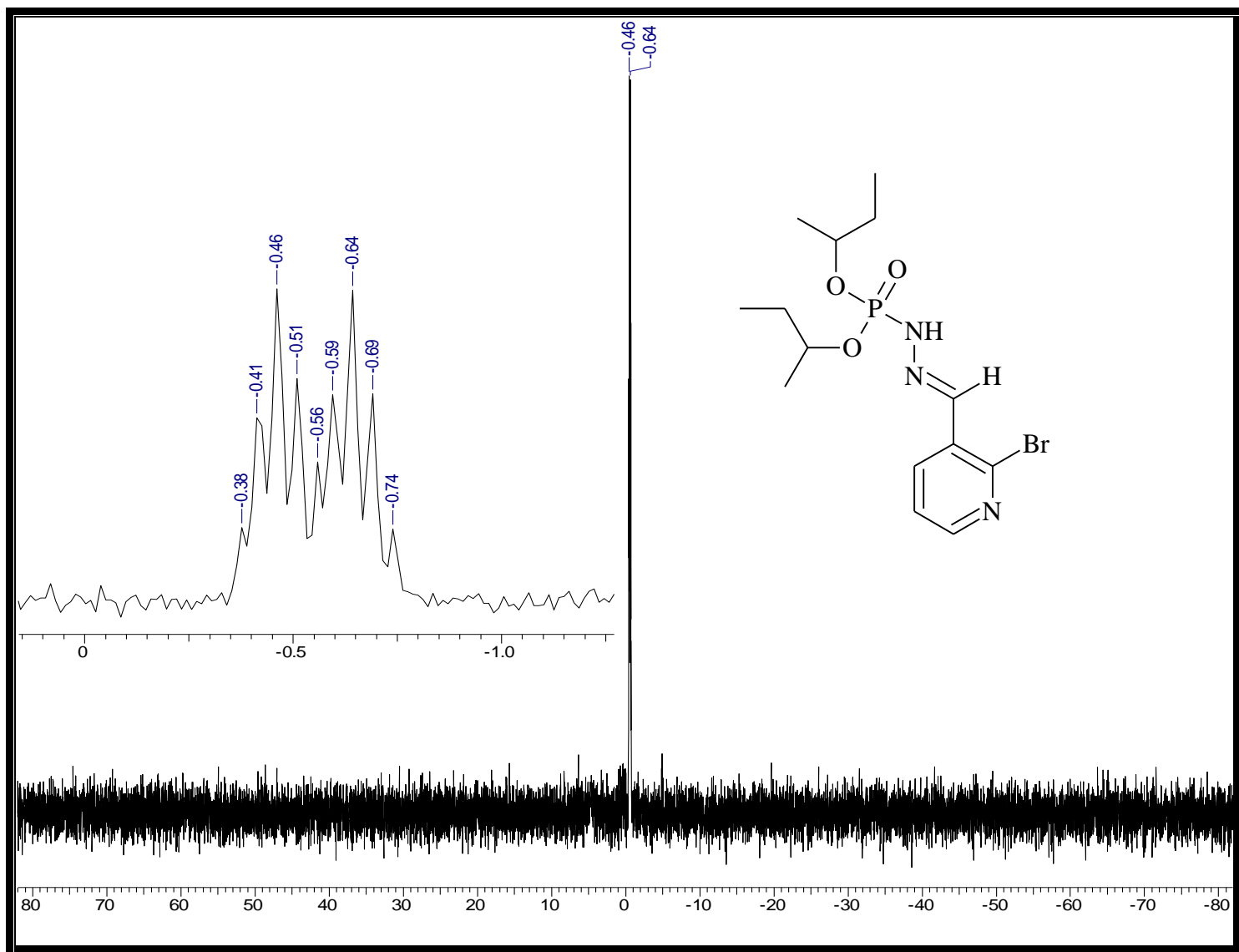
Espectro 132: Espectro de IV do éster di-*isobutílico*, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (23).



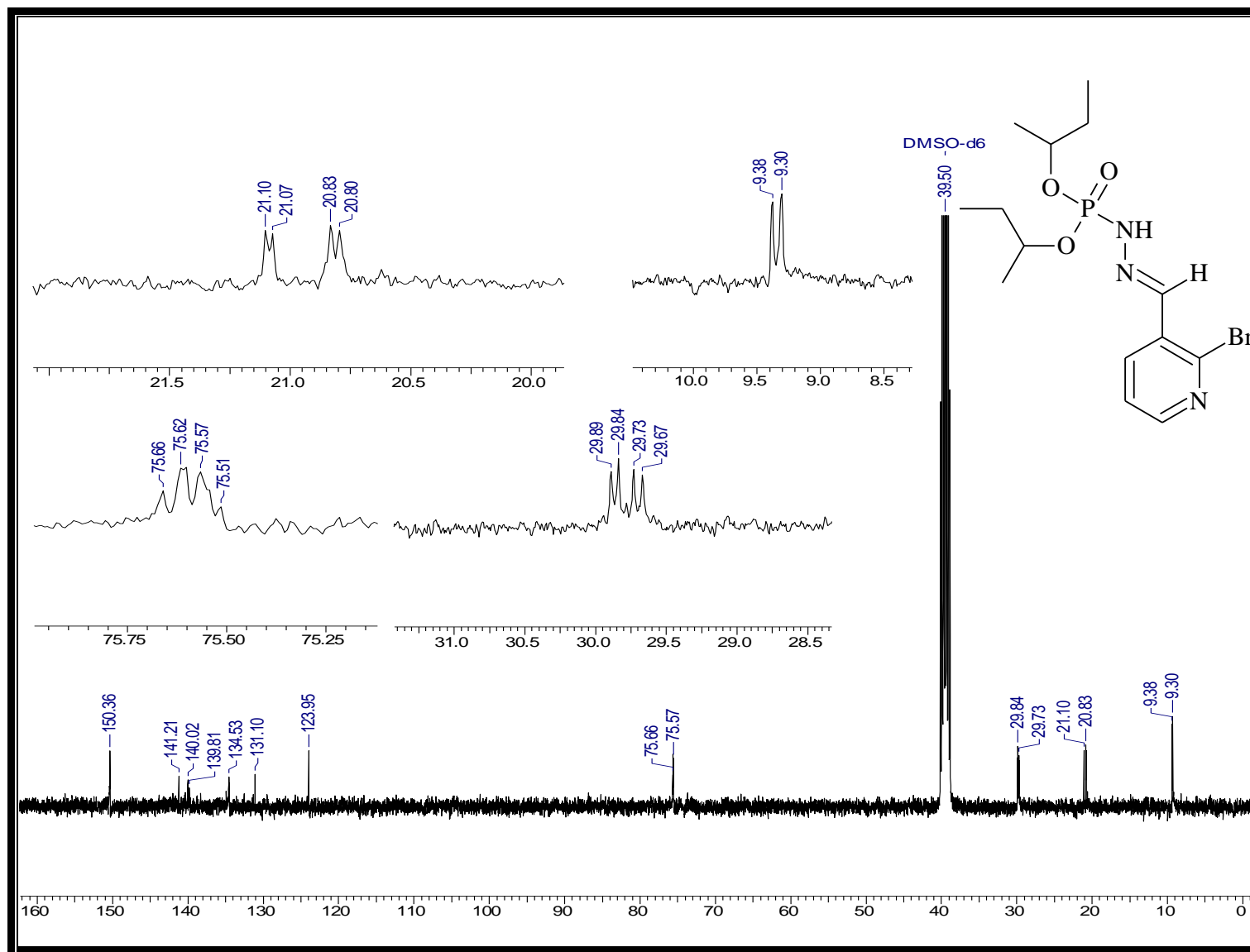
Espectro 133: Espectro de massas do éster di-*isobutílico*, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (23).



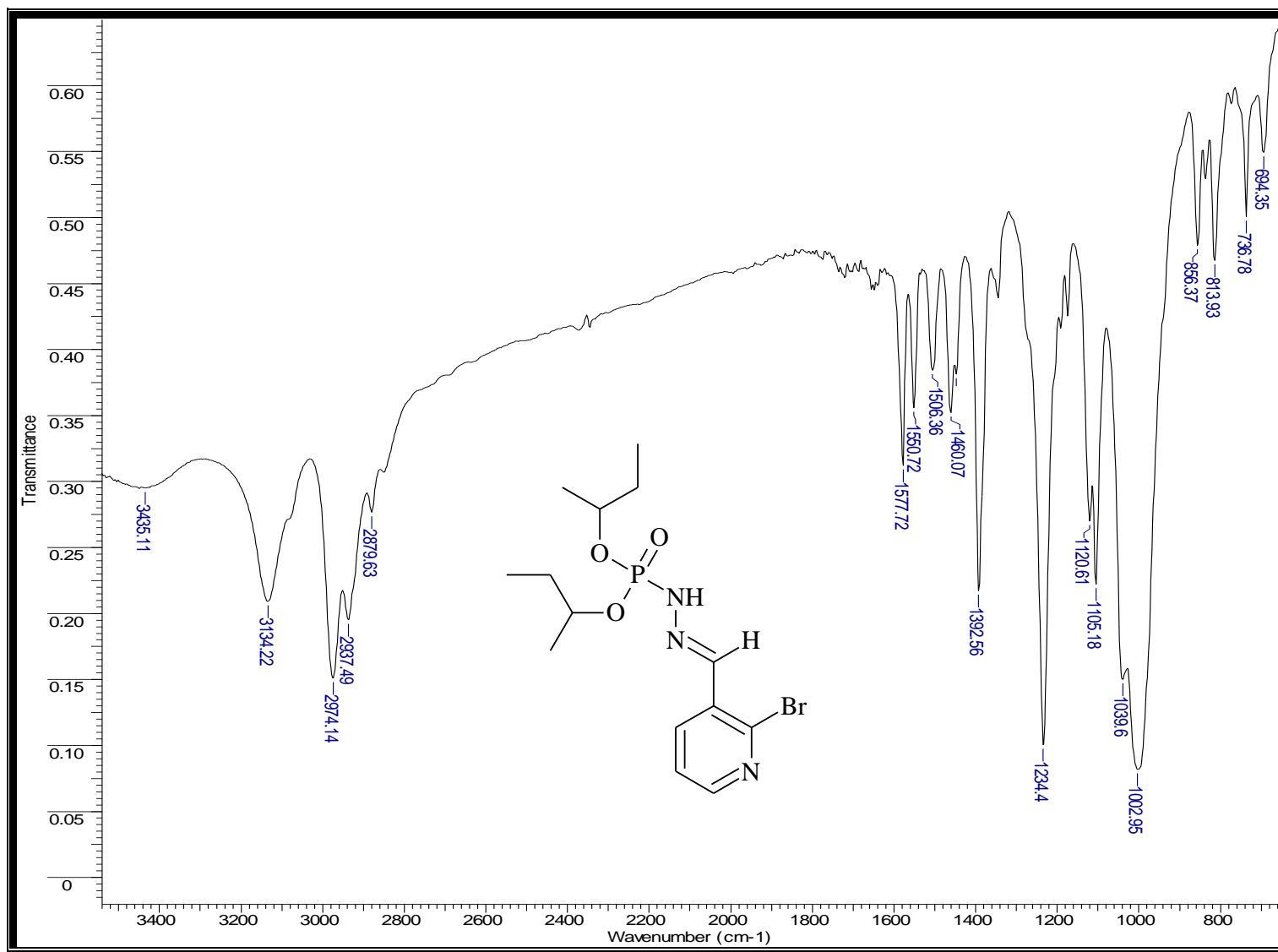
Espectro 134: Espectro de RMN- 1H do éster di-*sec*butílico, *N'*- [2-bromo-3-metilopiridina], do ácido fosforoidrazídico (24).



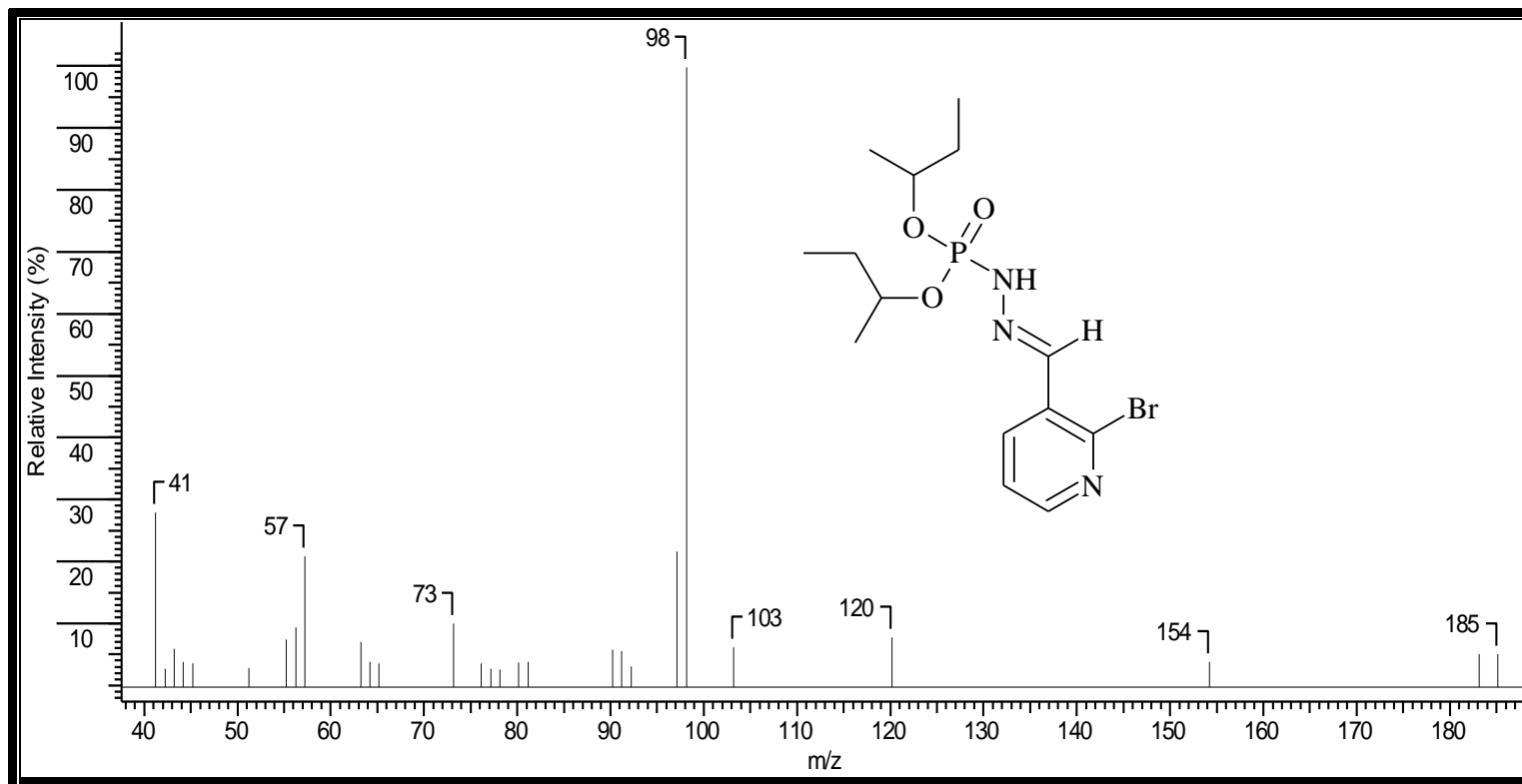
Espectro 135: Espectro de RMN- ^{31}P do éster di-*sec*butílico, N' - [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (24).



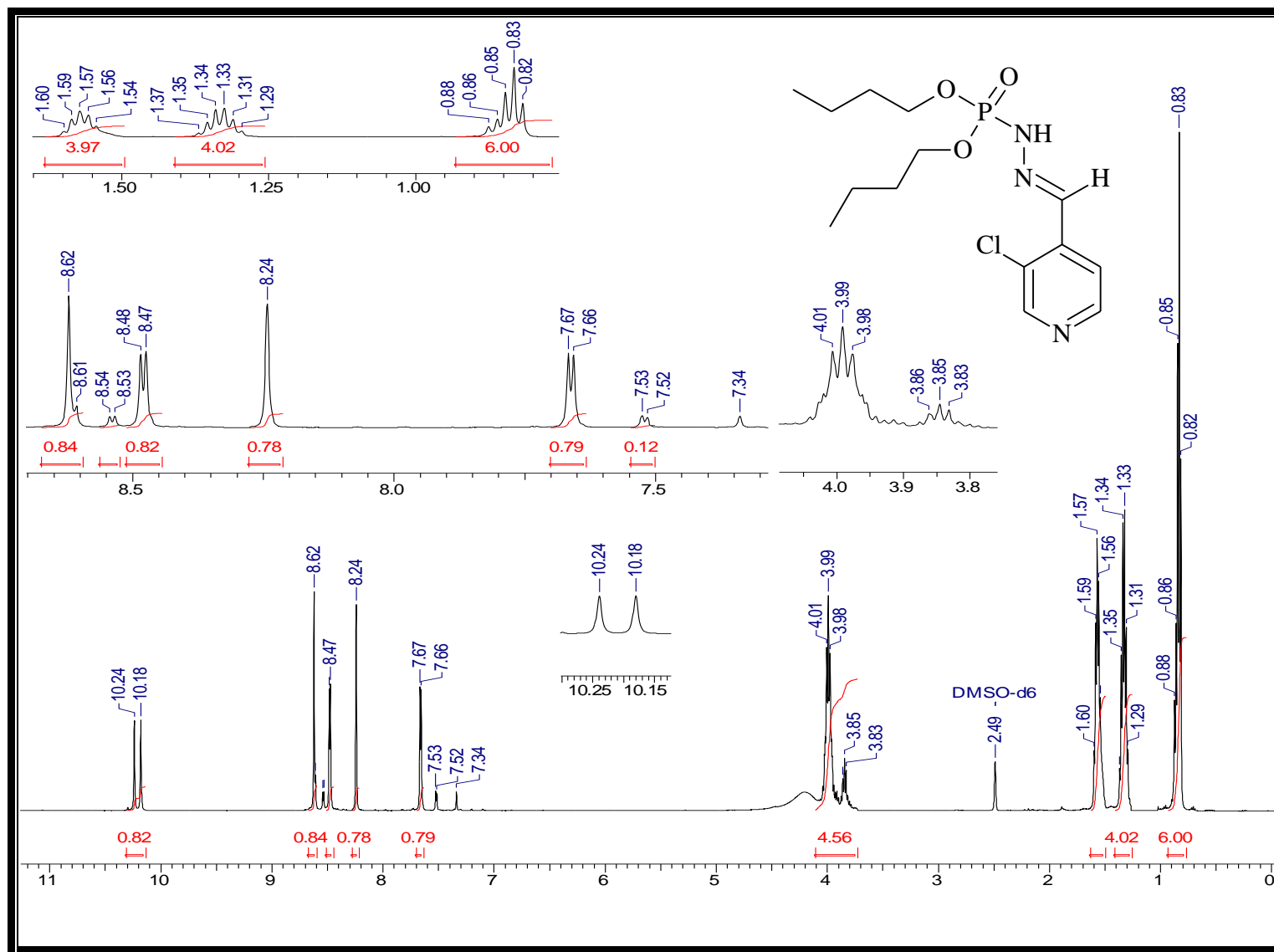
Espectro 136: Espectro de RMN- ¹³C do éster di-*sec*butílico, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (24).



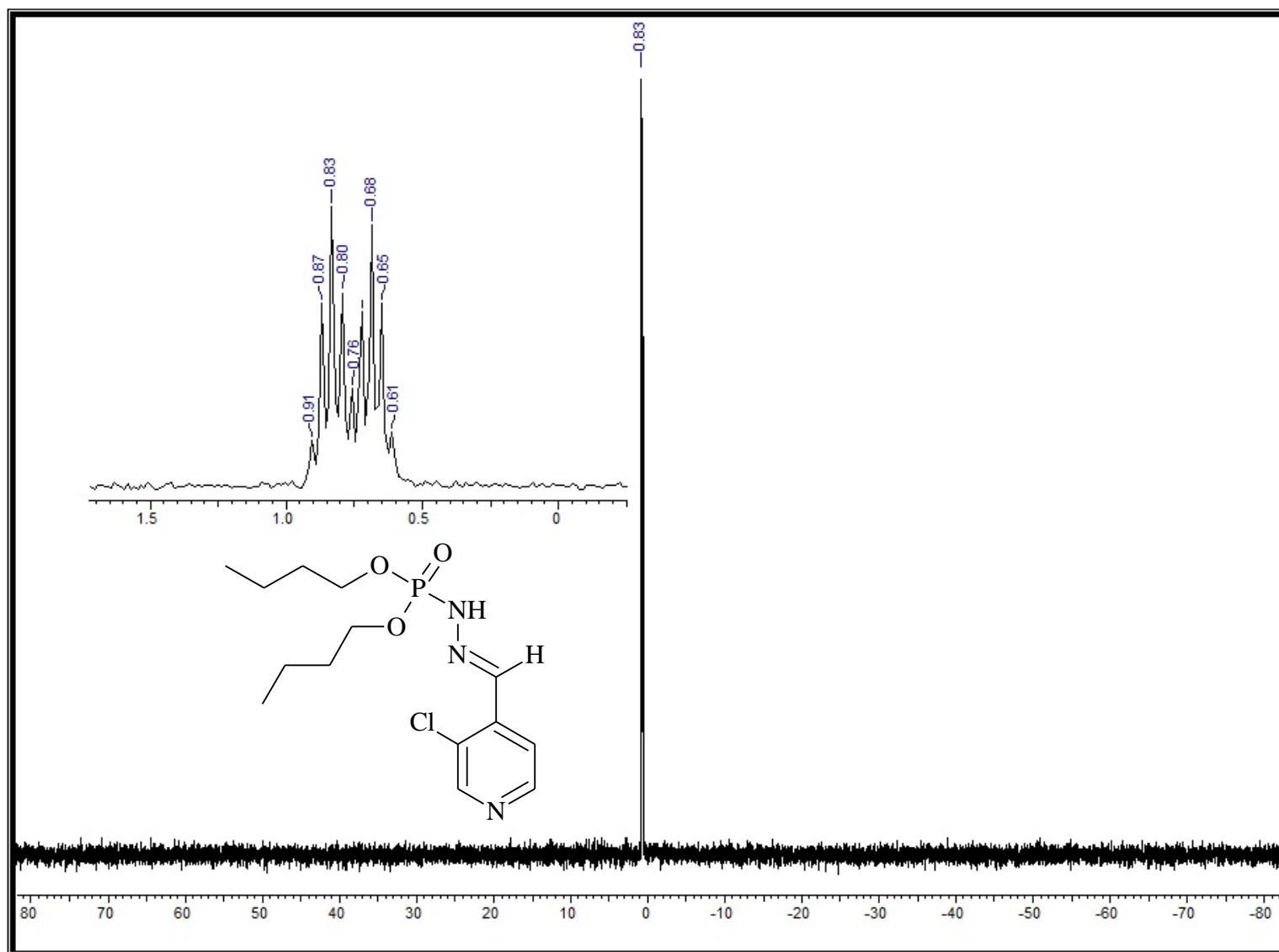
Espectro 137: Espectro de IV do éster di-*sec*butílico, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (24).



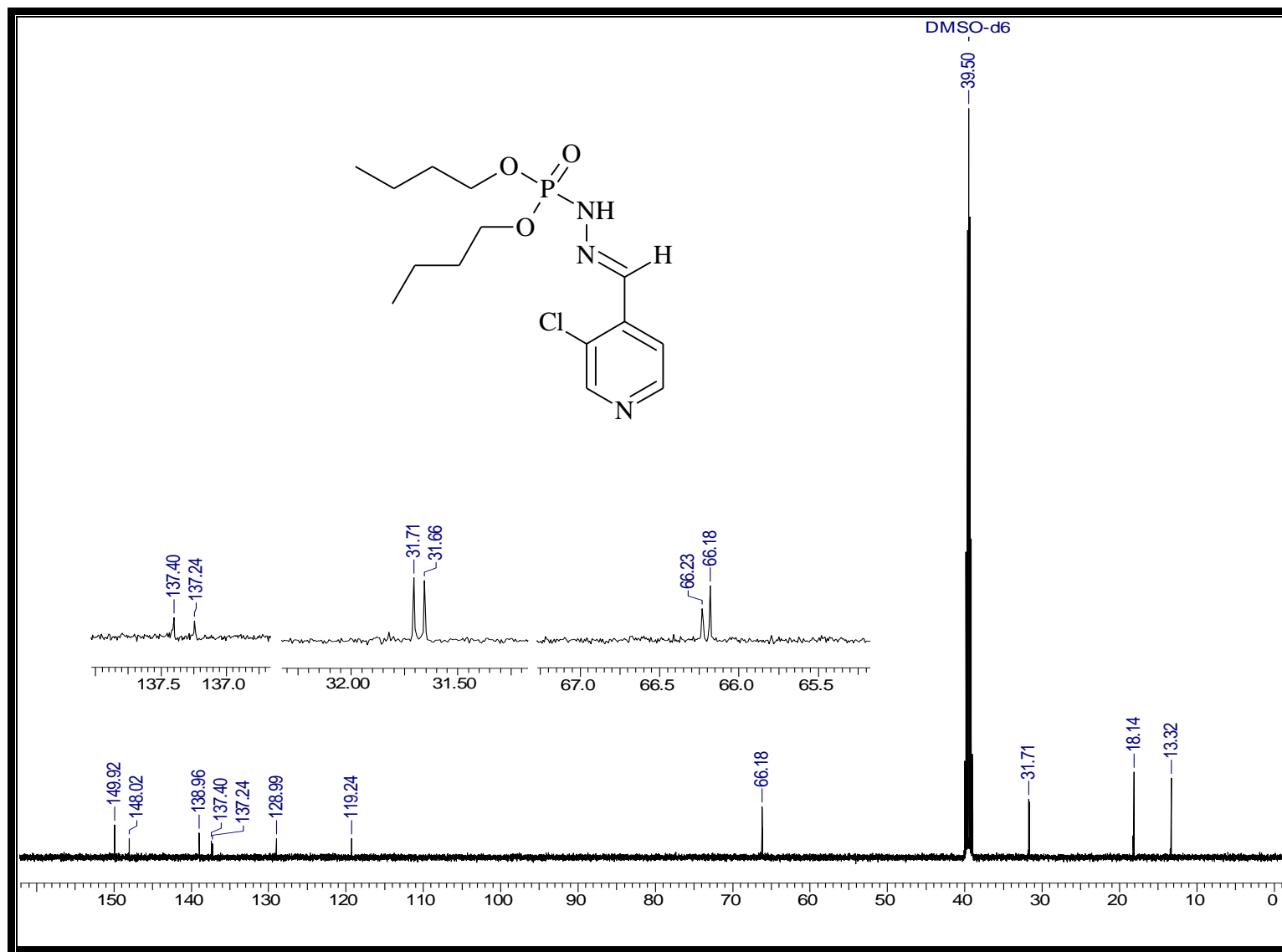
Espectro 138: Espectro de massas do éster di-*sec*butílico, *N'*- [2-bromo-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (24).



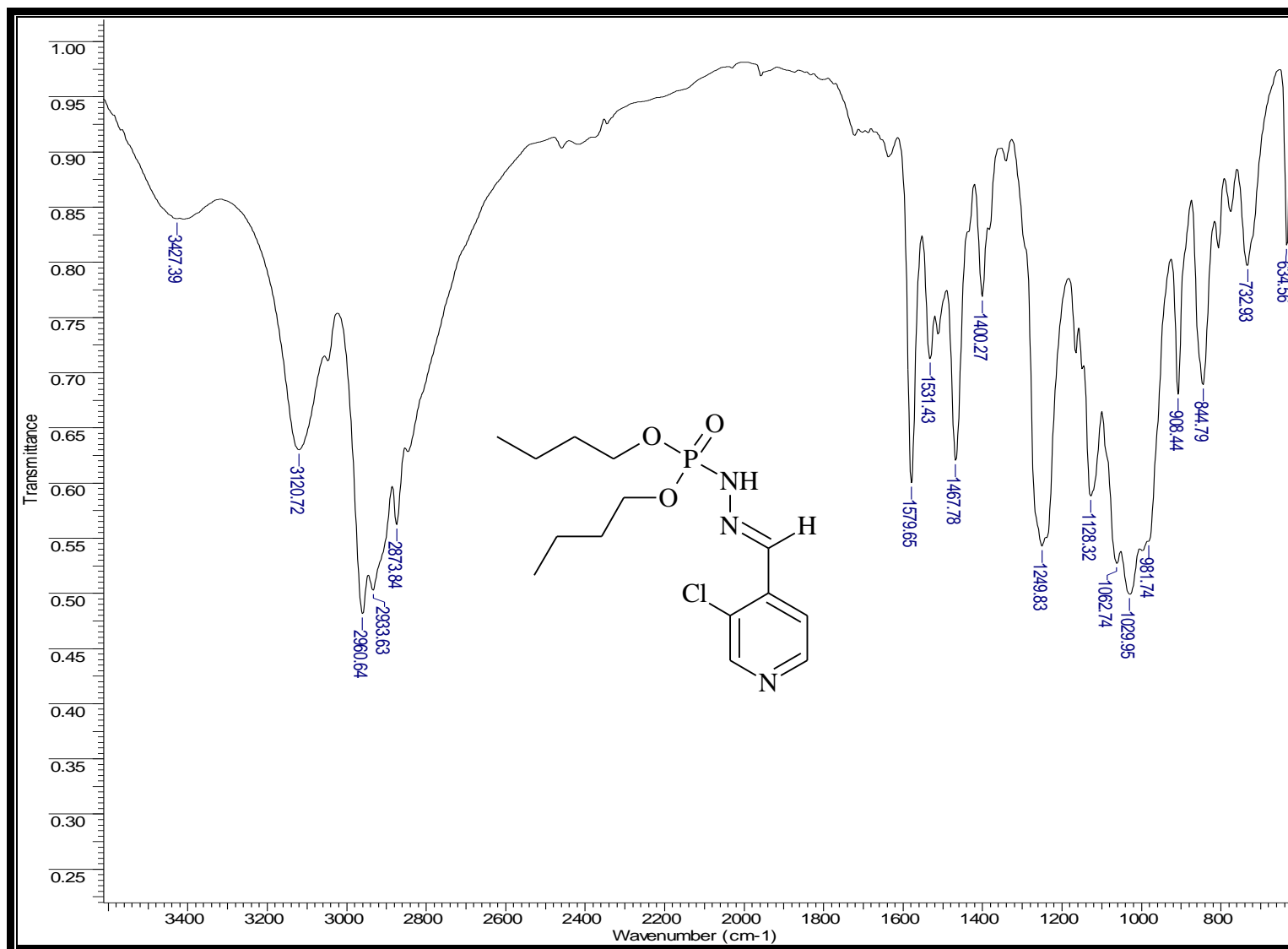
Espectro 139: Espectro de RMN- 1H do éster dibutílico, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (25).



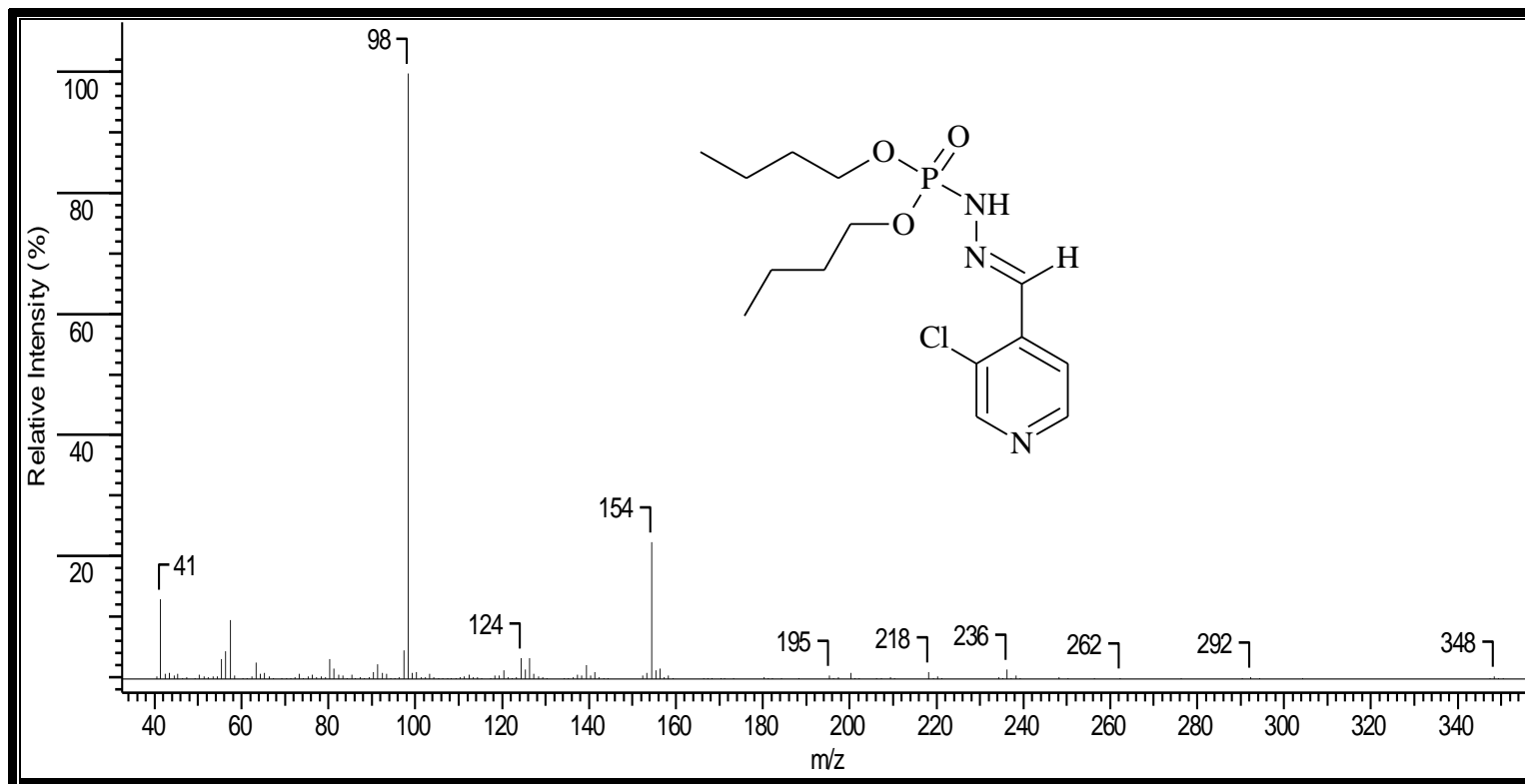
Espectro 140: Espectro de RMN- ^{31}P do éster dibutílico, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (25).



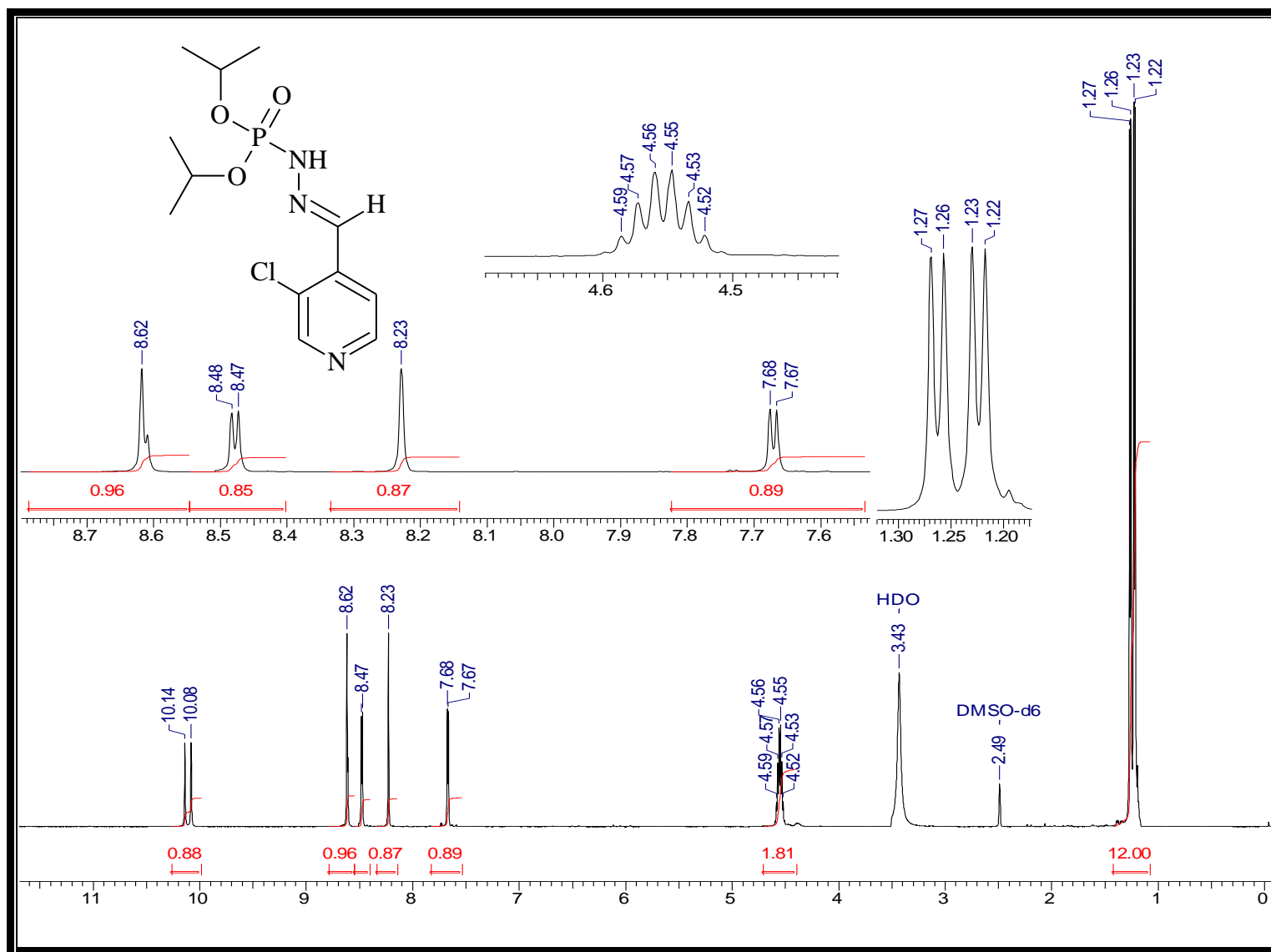
Espectro 141: Espectro de RMN- ¹³C do éster dibutílico, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (25).



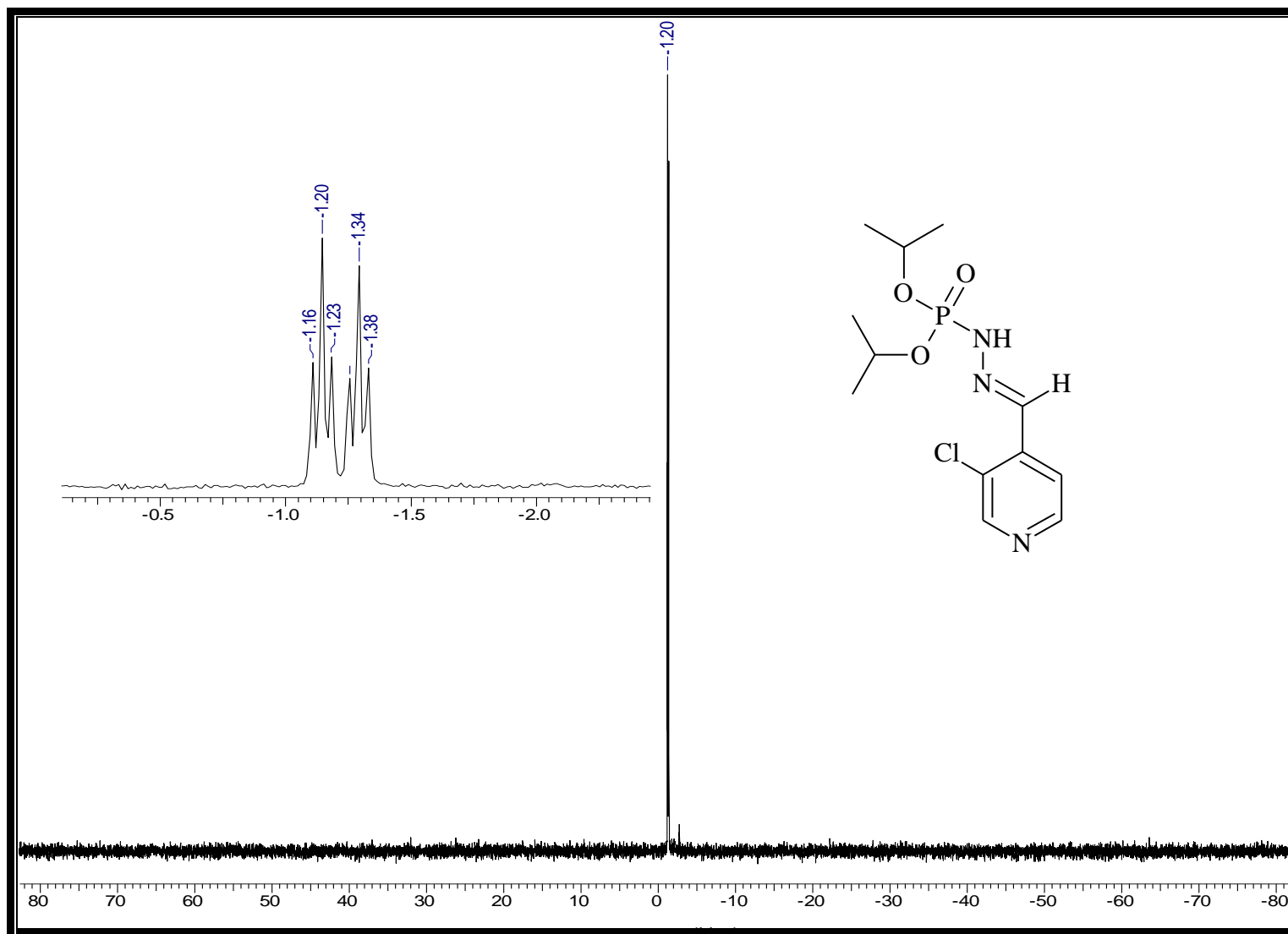
Espectro 142: Espectro de IV do éster dibutílico, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (25).



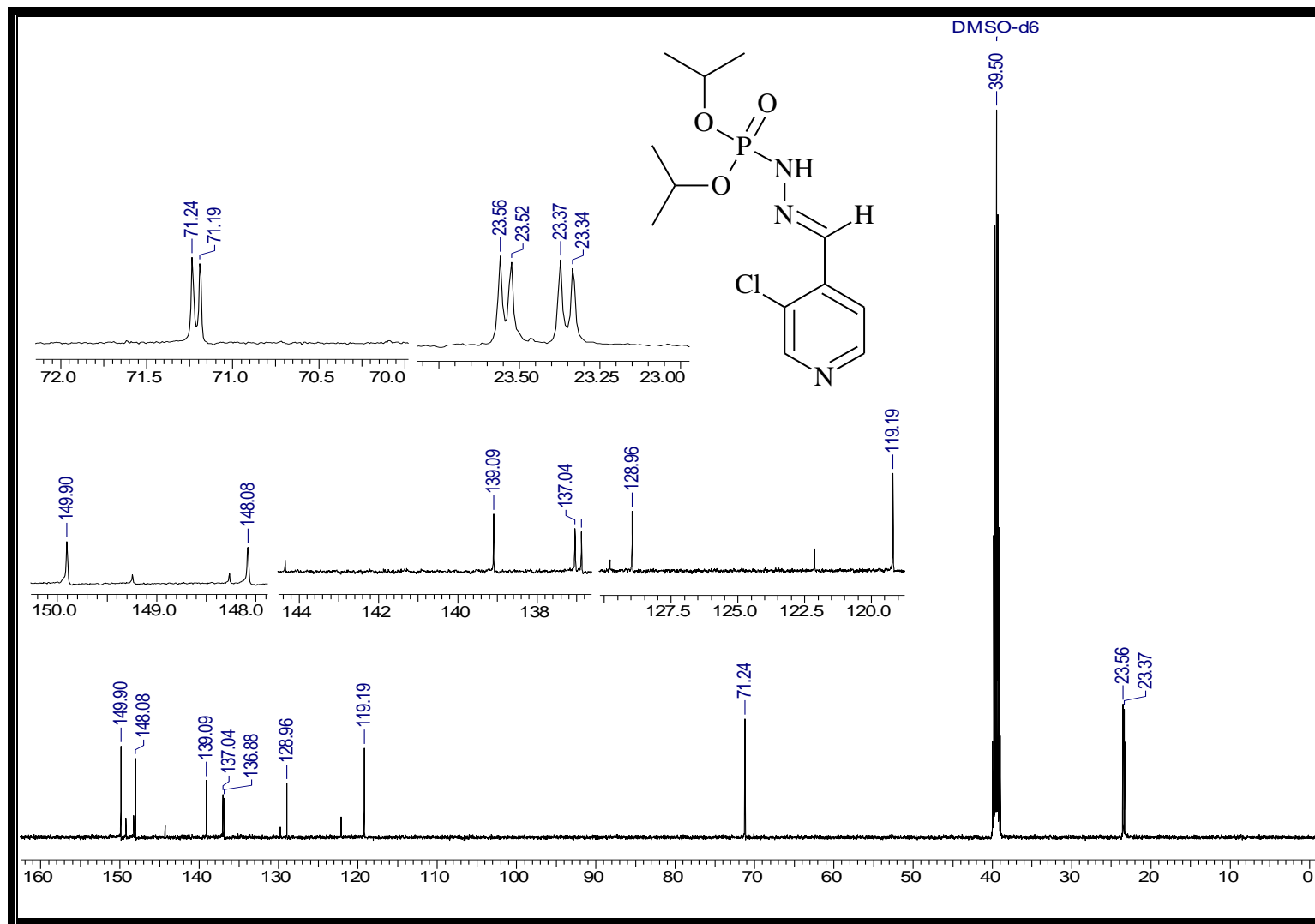
Espectro 143: Espectro de massas do éster dibutílico, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (25).



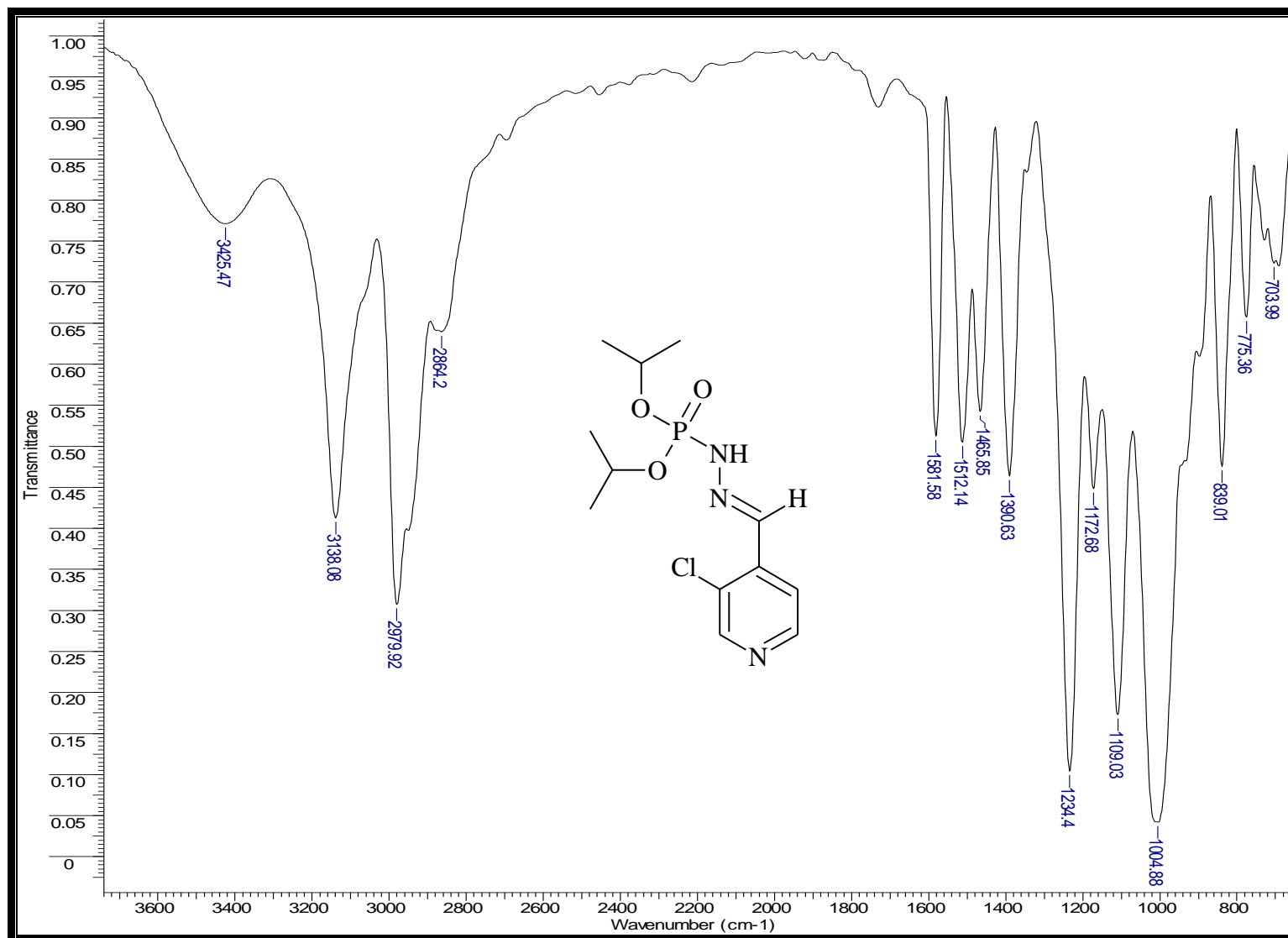
Espectro 144: Espectro de RMN- 1H do éster di-*isopropílico*, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (26).



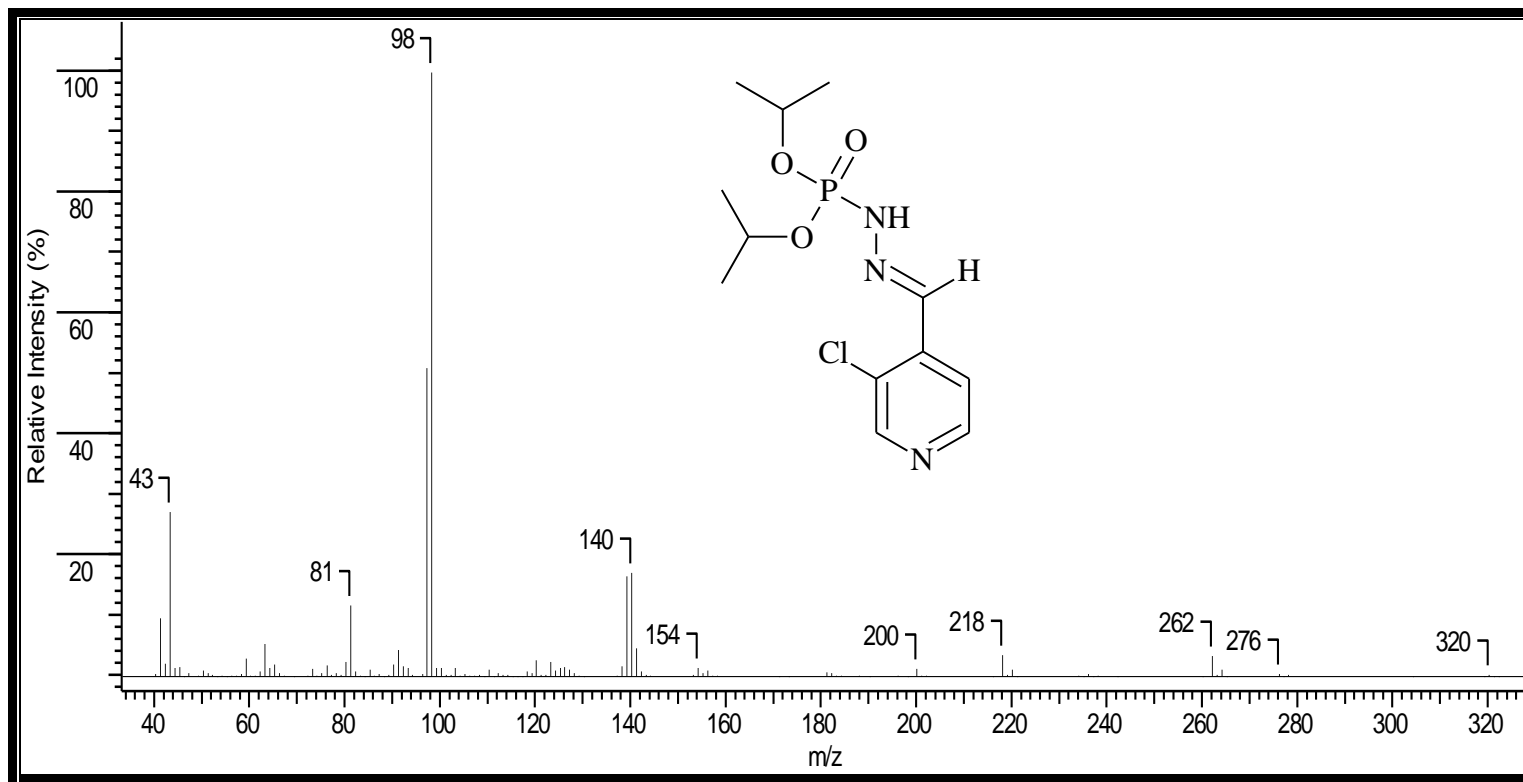
Espectro 145: Espectro de RMN- ^{31}P do éster di-*isopropílico*, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (26).



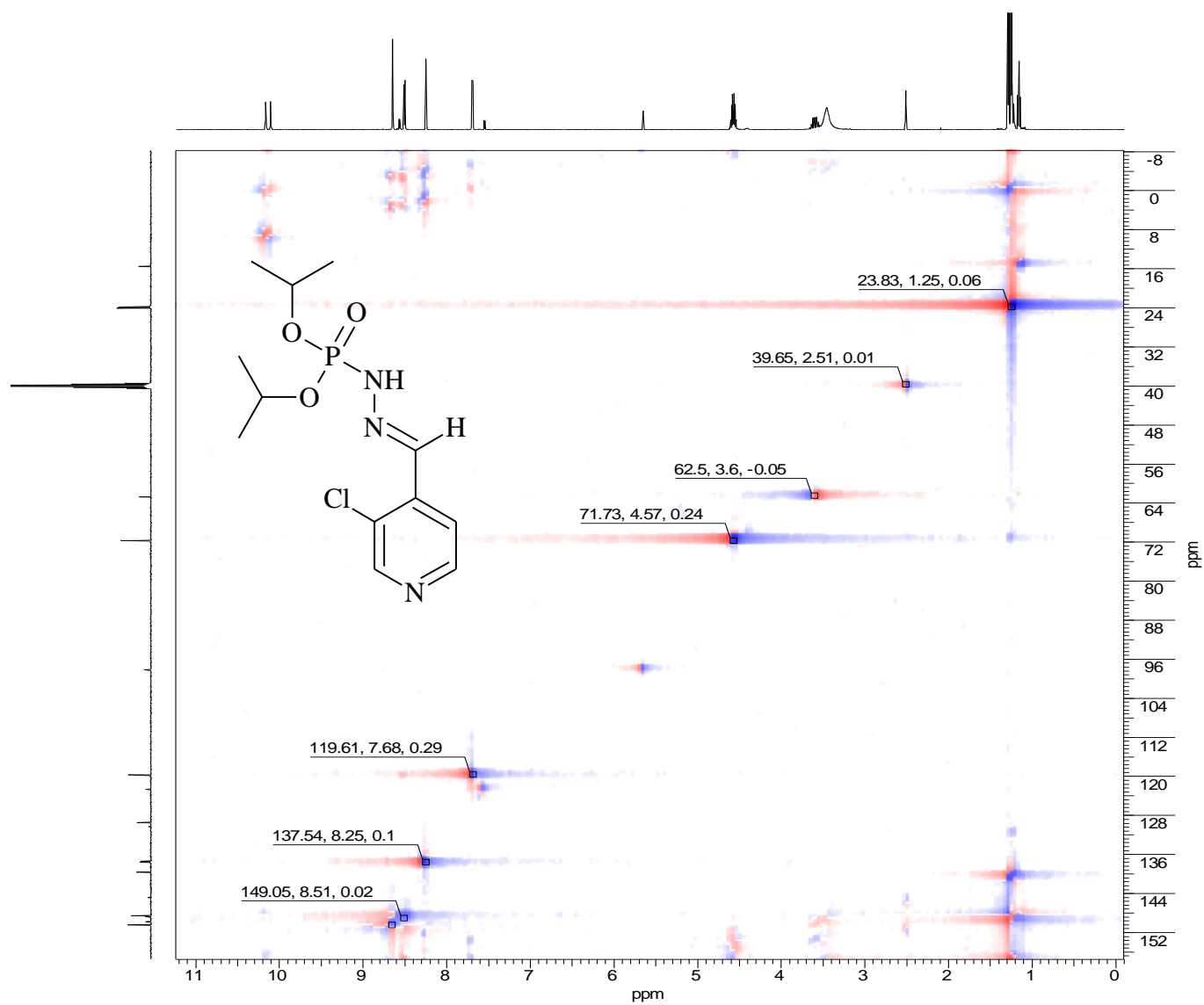
Espectro 146: Espectro de RMN- 13C do éster di-*isopropílico*, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (26).



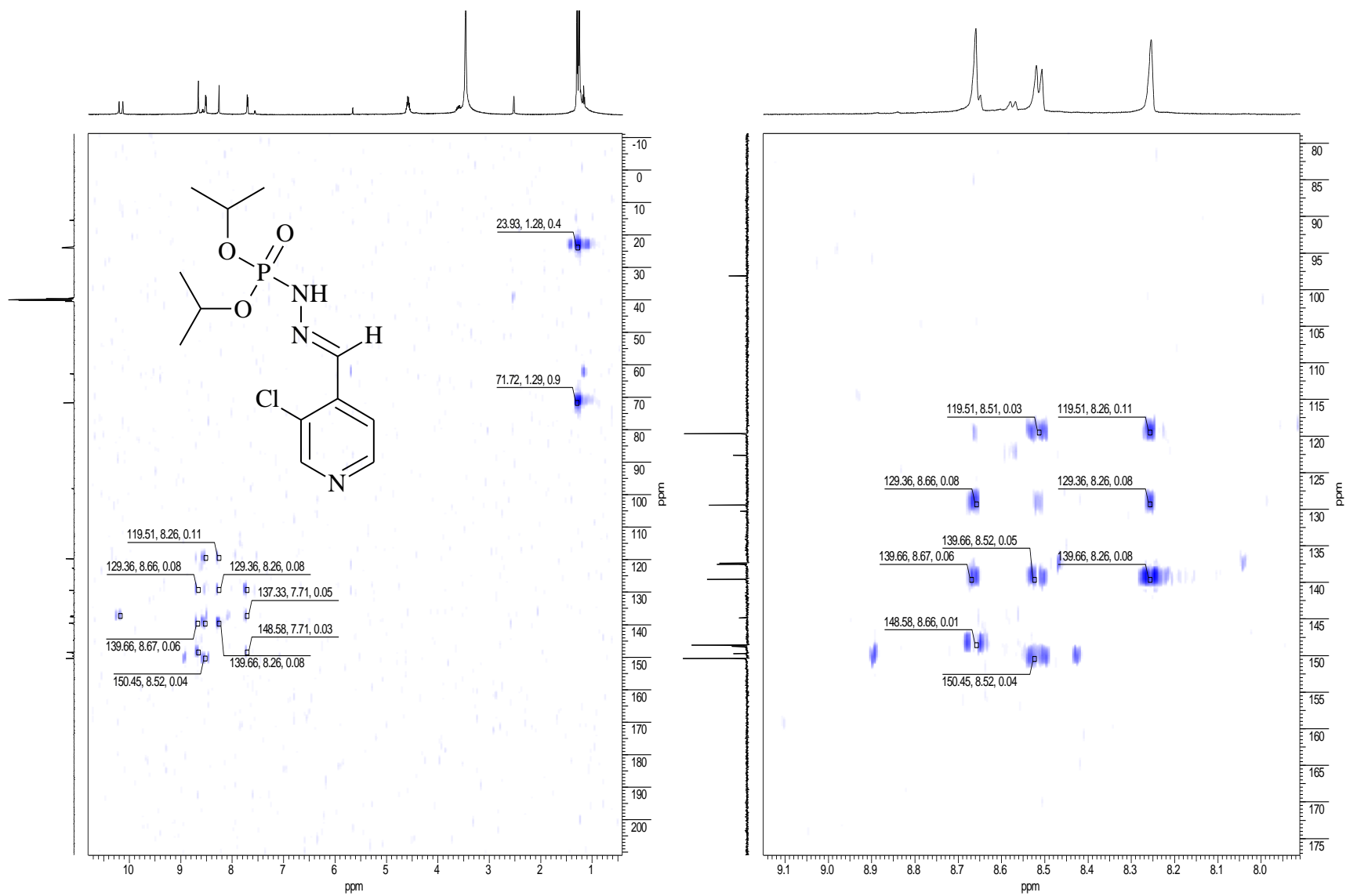
Espectro 147: Espectro de IV do éster di-*isopropílico*, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (26).



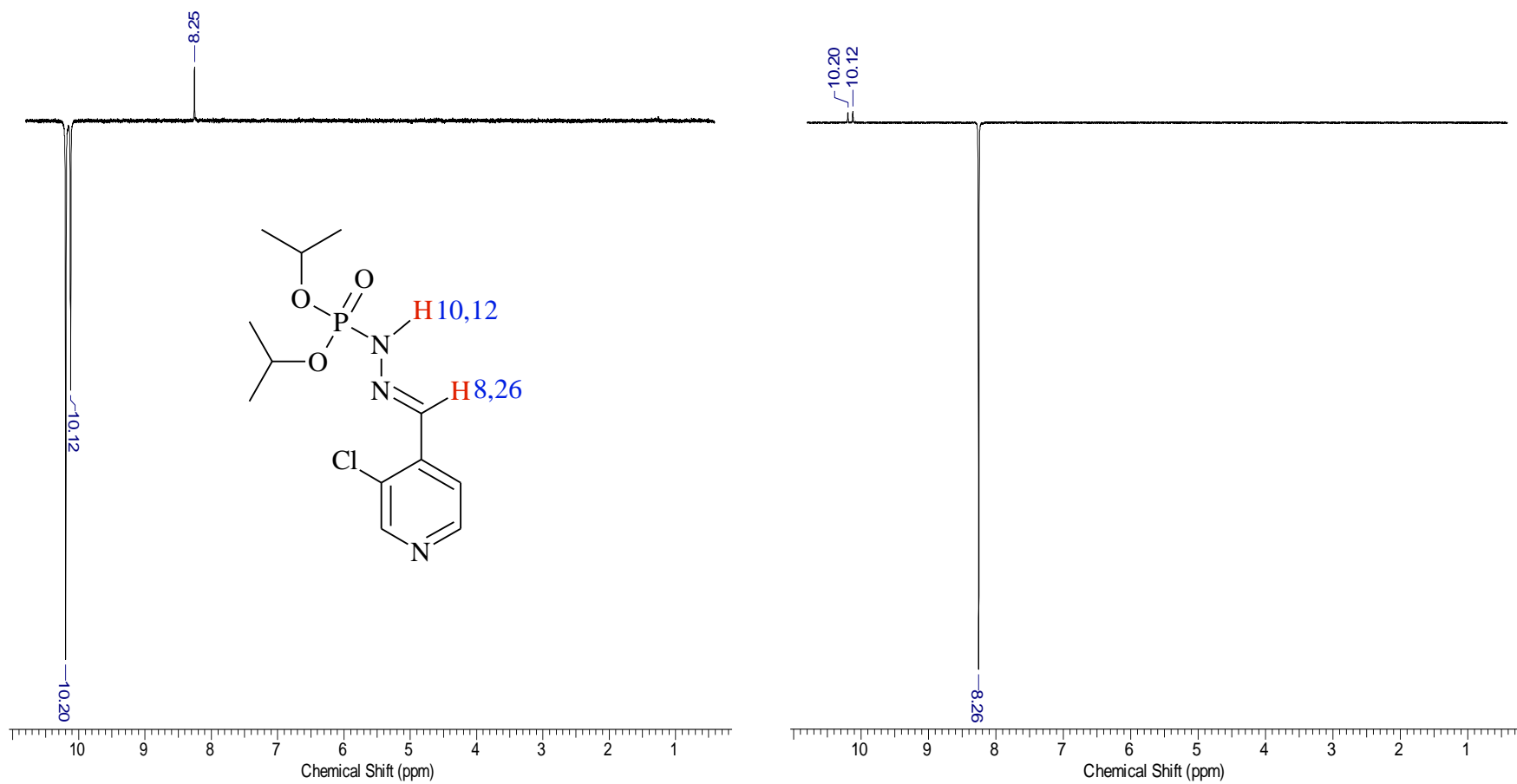
Espectro 148: Espectro de massas do éster di-*isopropílico*, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (26).



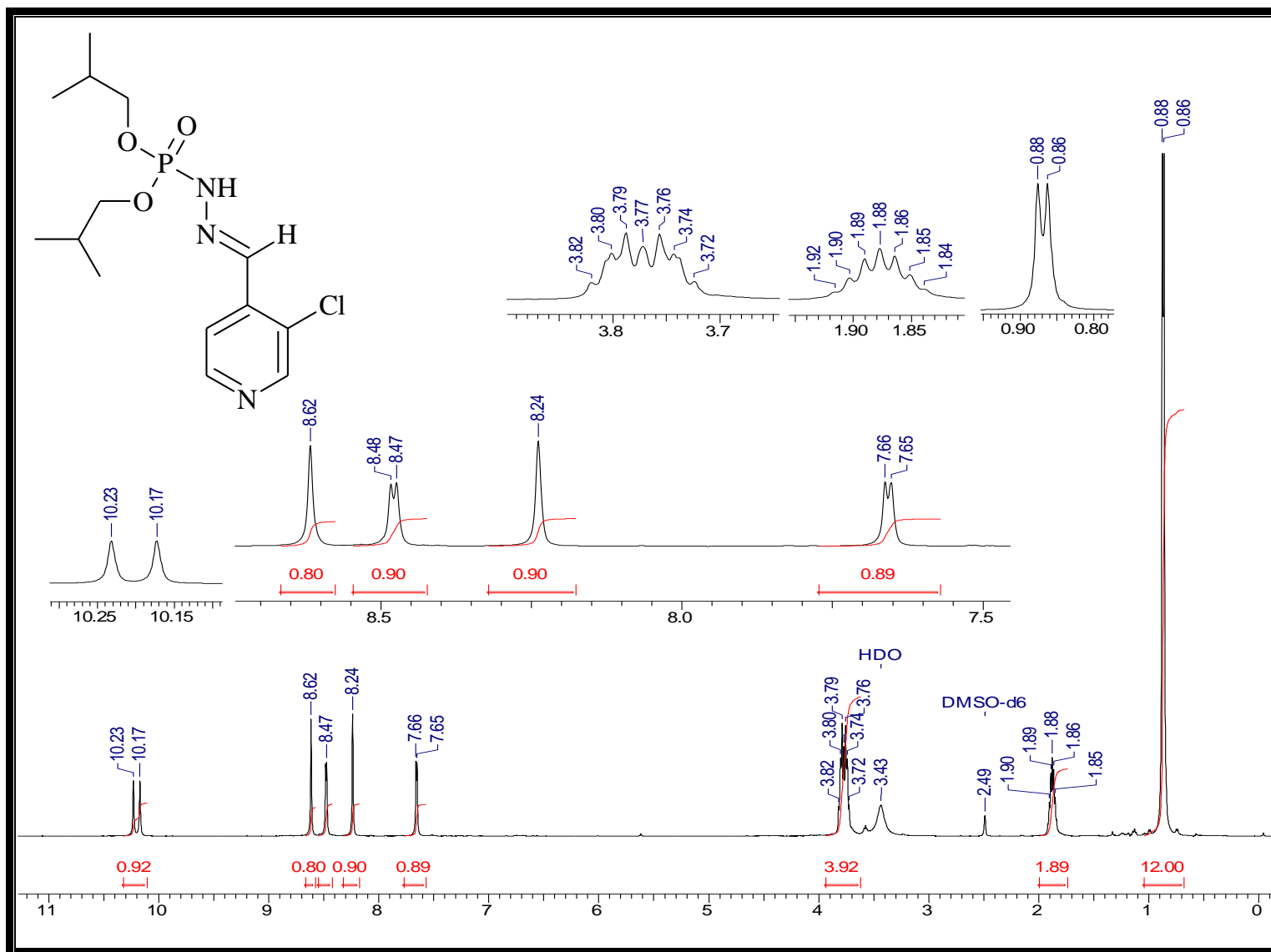
Espectro 149: Espectro de HSQC do éster di-*isopropílico*, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (26).



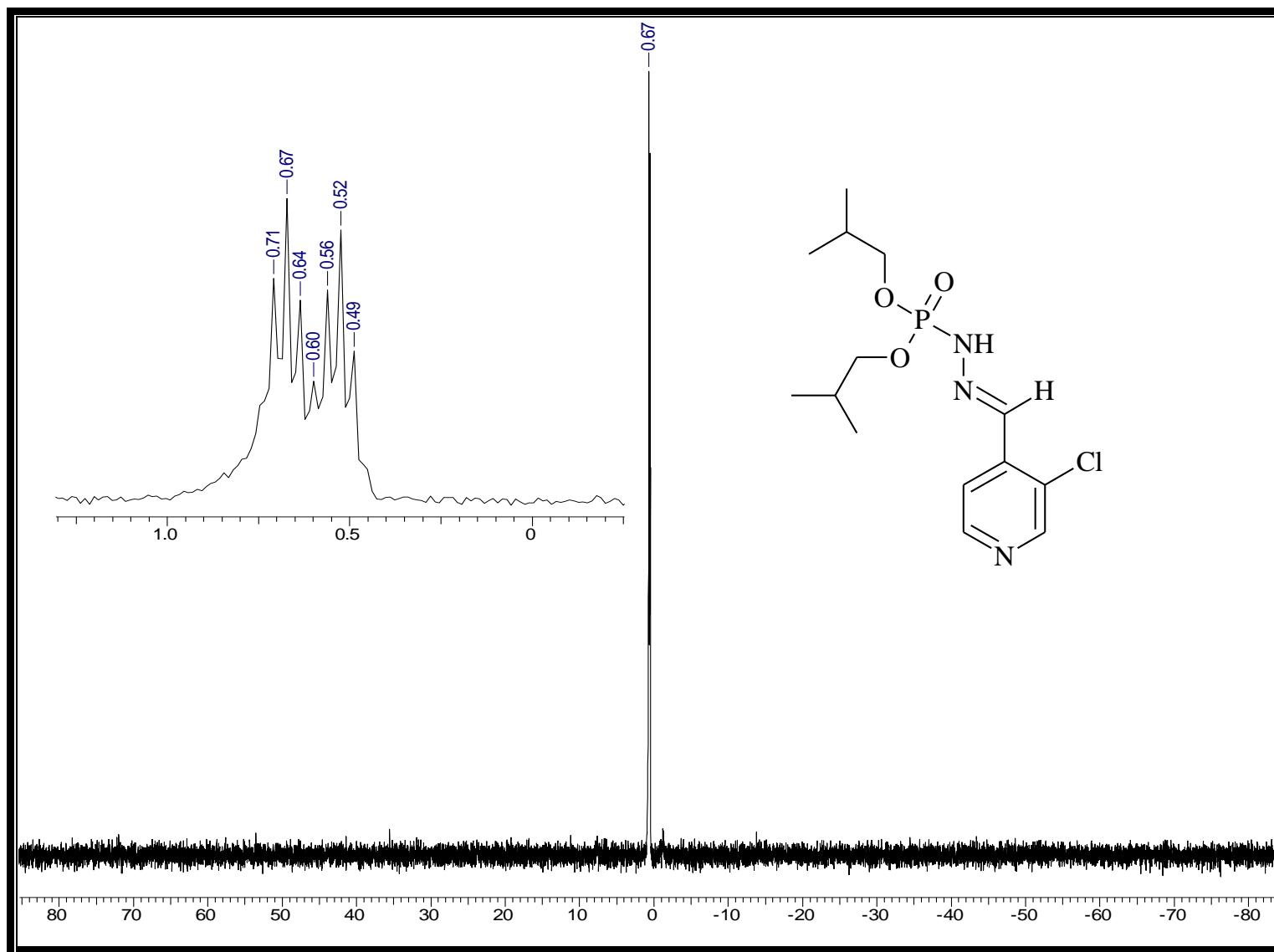
Espectro 150: Espectro de HMBC do éster di-*isopropílico*, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosfoimidrazídico (26).



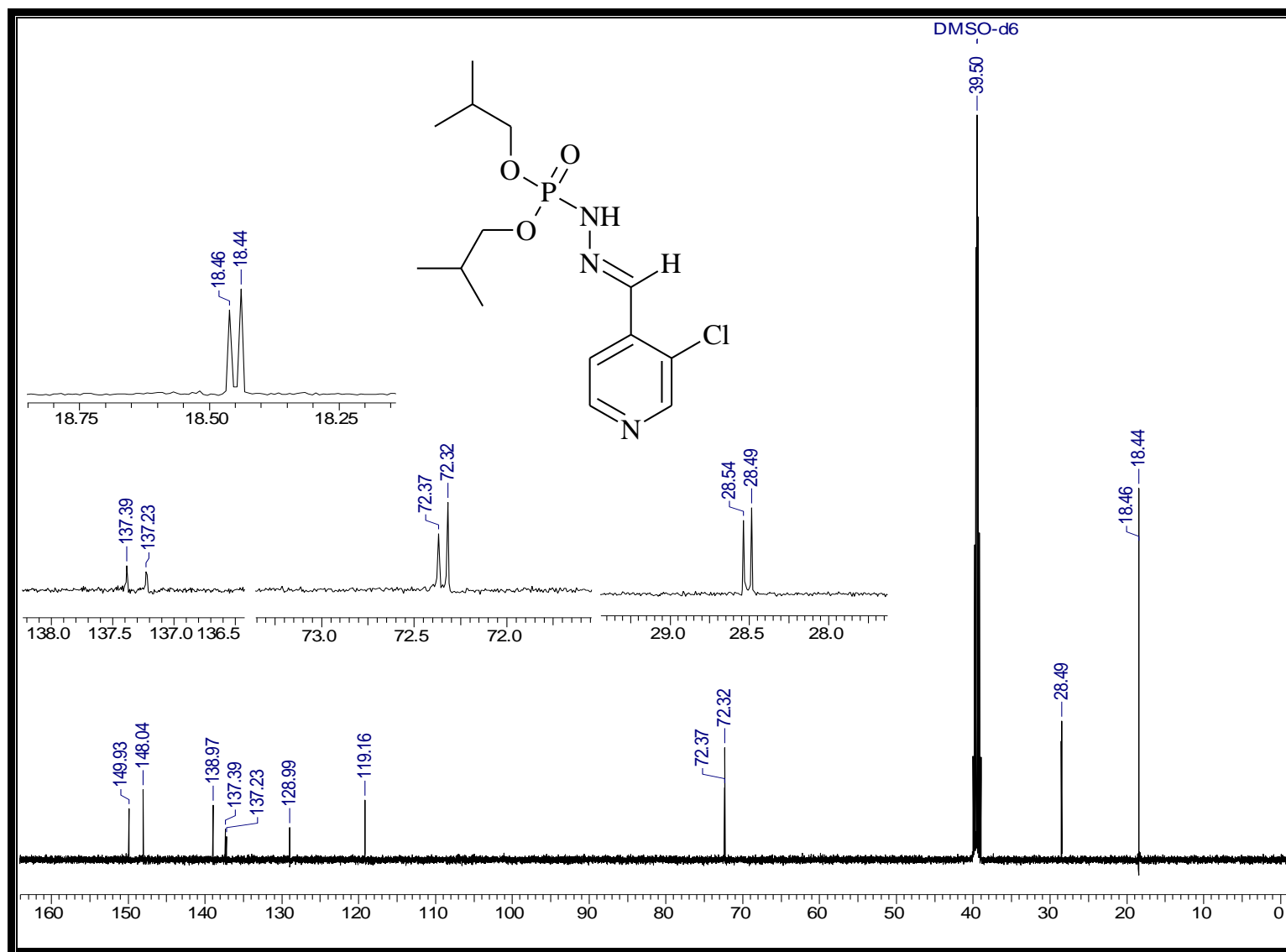
Espectro 151: Espectro de NOE do éster di-*isopropílico*, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (26).



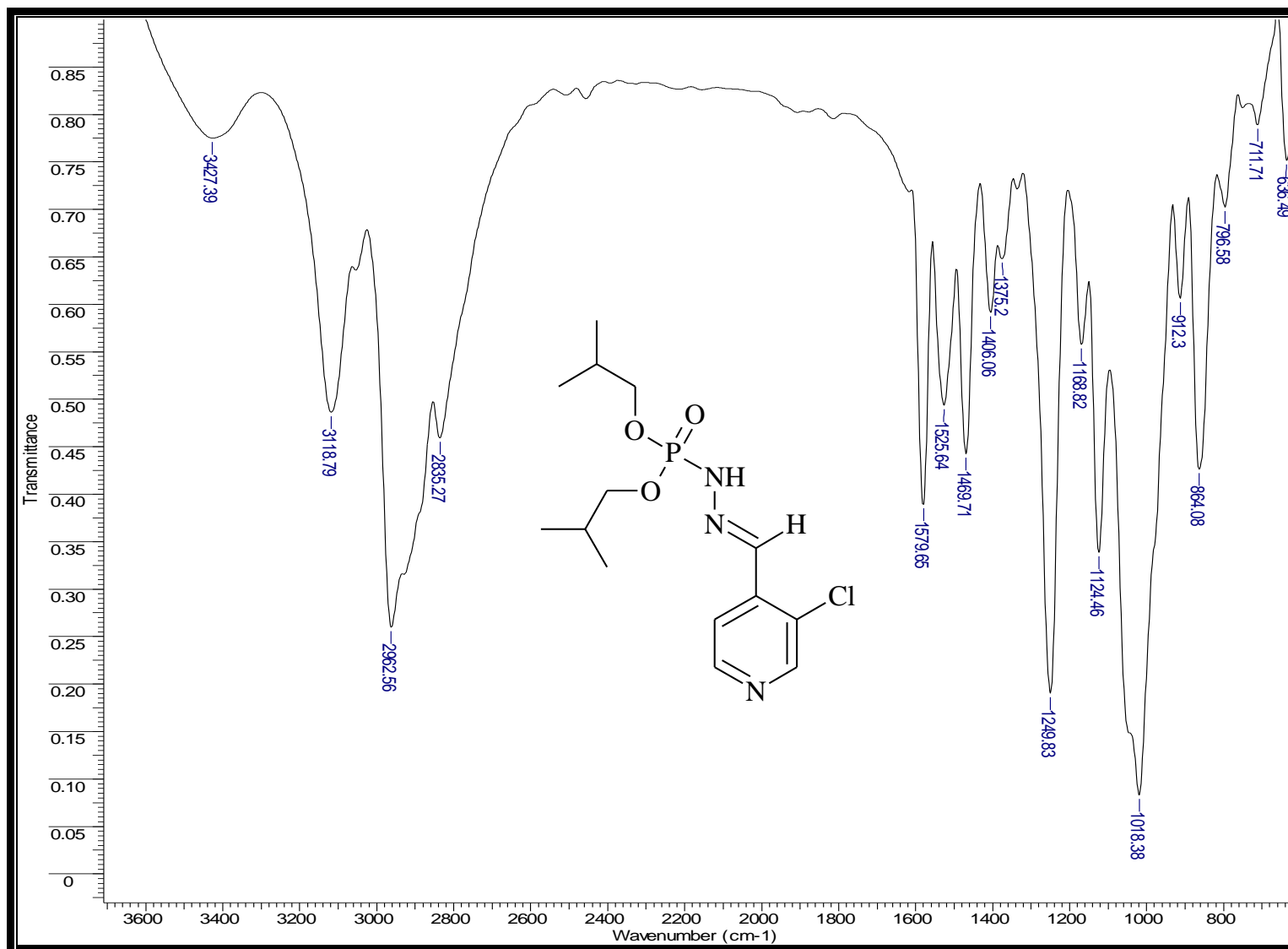
Espectro 152: Espectro de RMN- 1H do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (27).



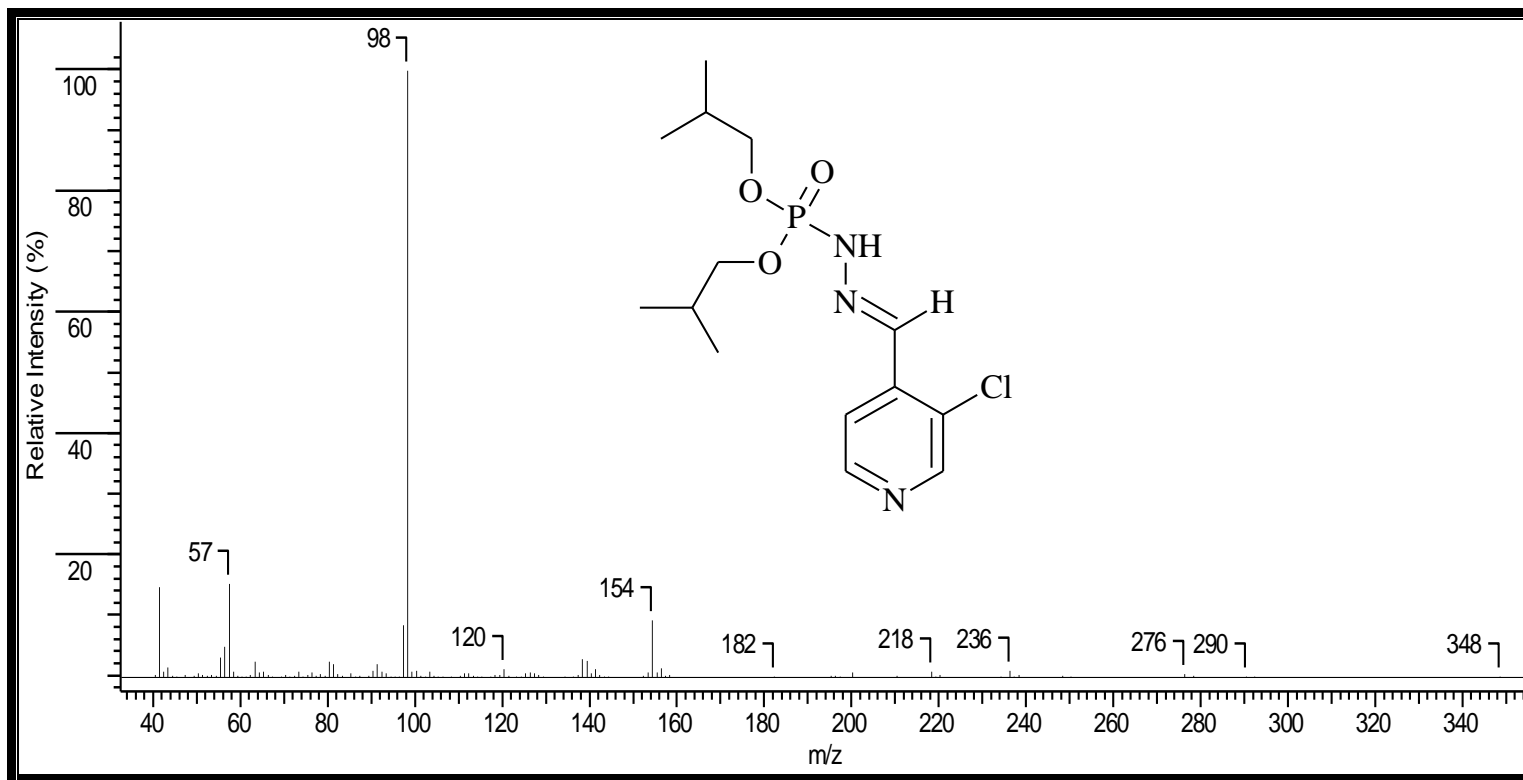
Espectro 153: Espectro de RMN- ^{31}P do éster di-*isobutílico*, N' - [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (27).



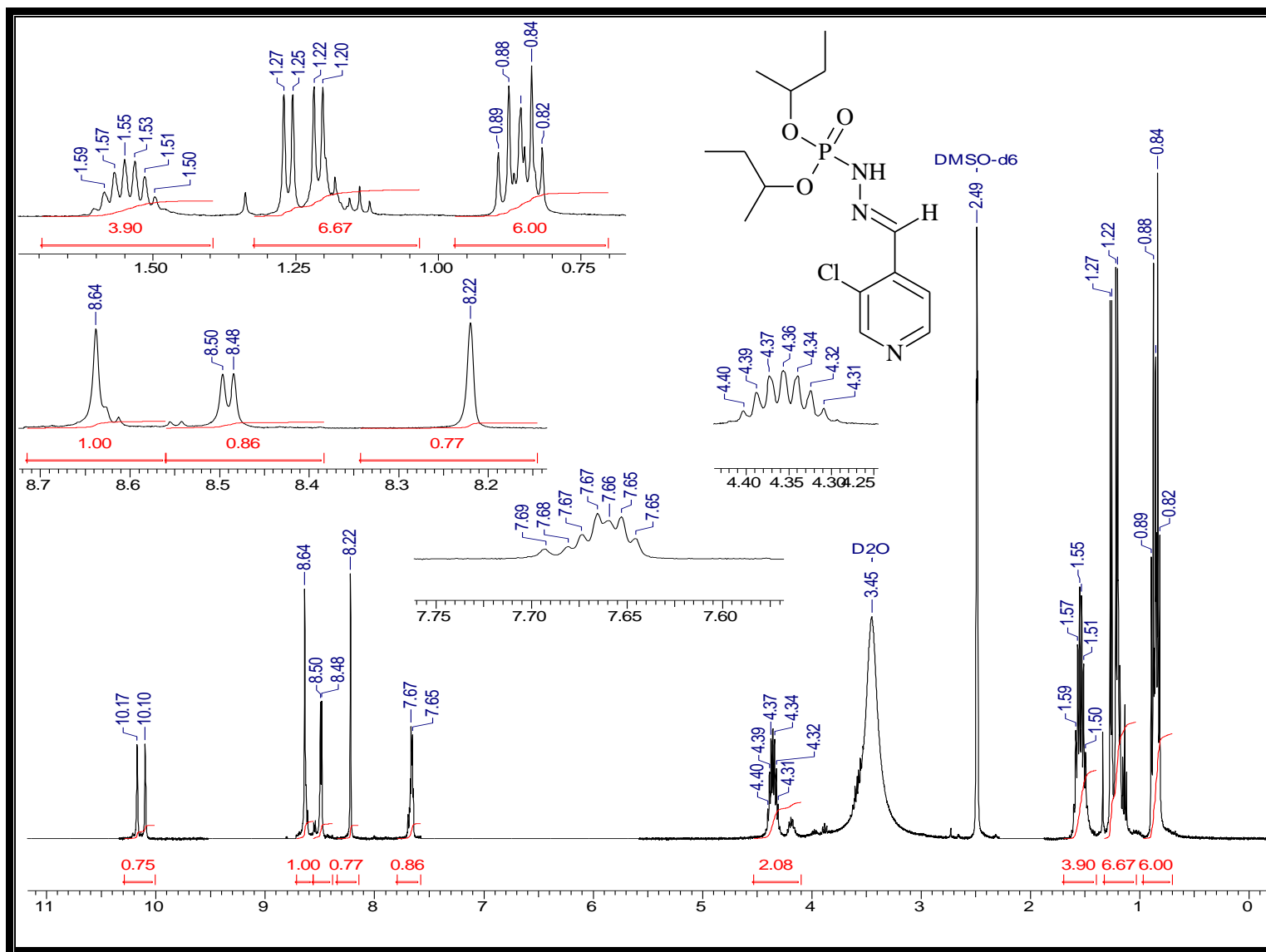
Espectro 154: Espectro de RMN- 13C do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosfohidrazídico (27).



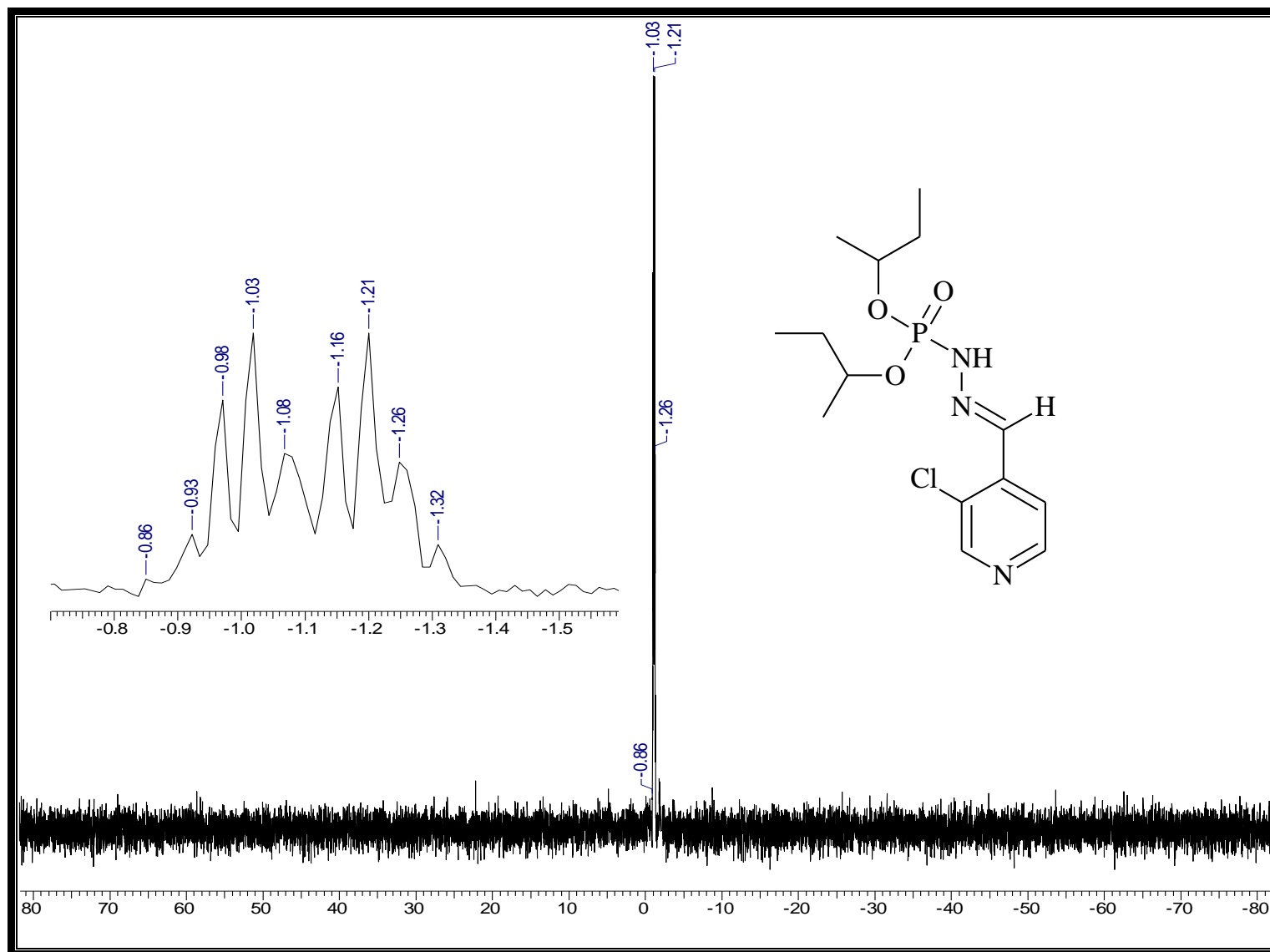
Espectro 155: Espectro de IV do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (27).



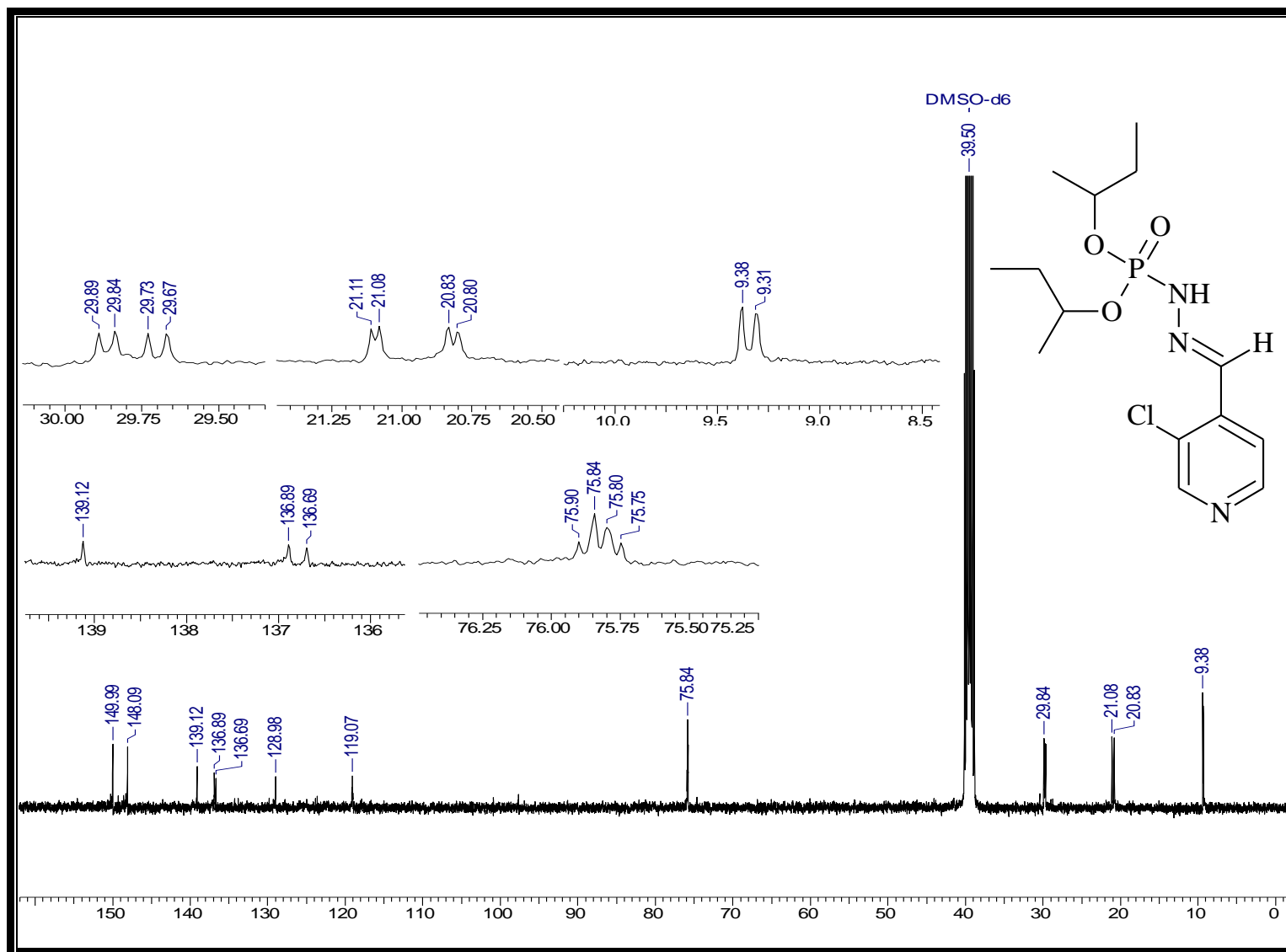
Espectro 156: Espectro de massas do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (27).



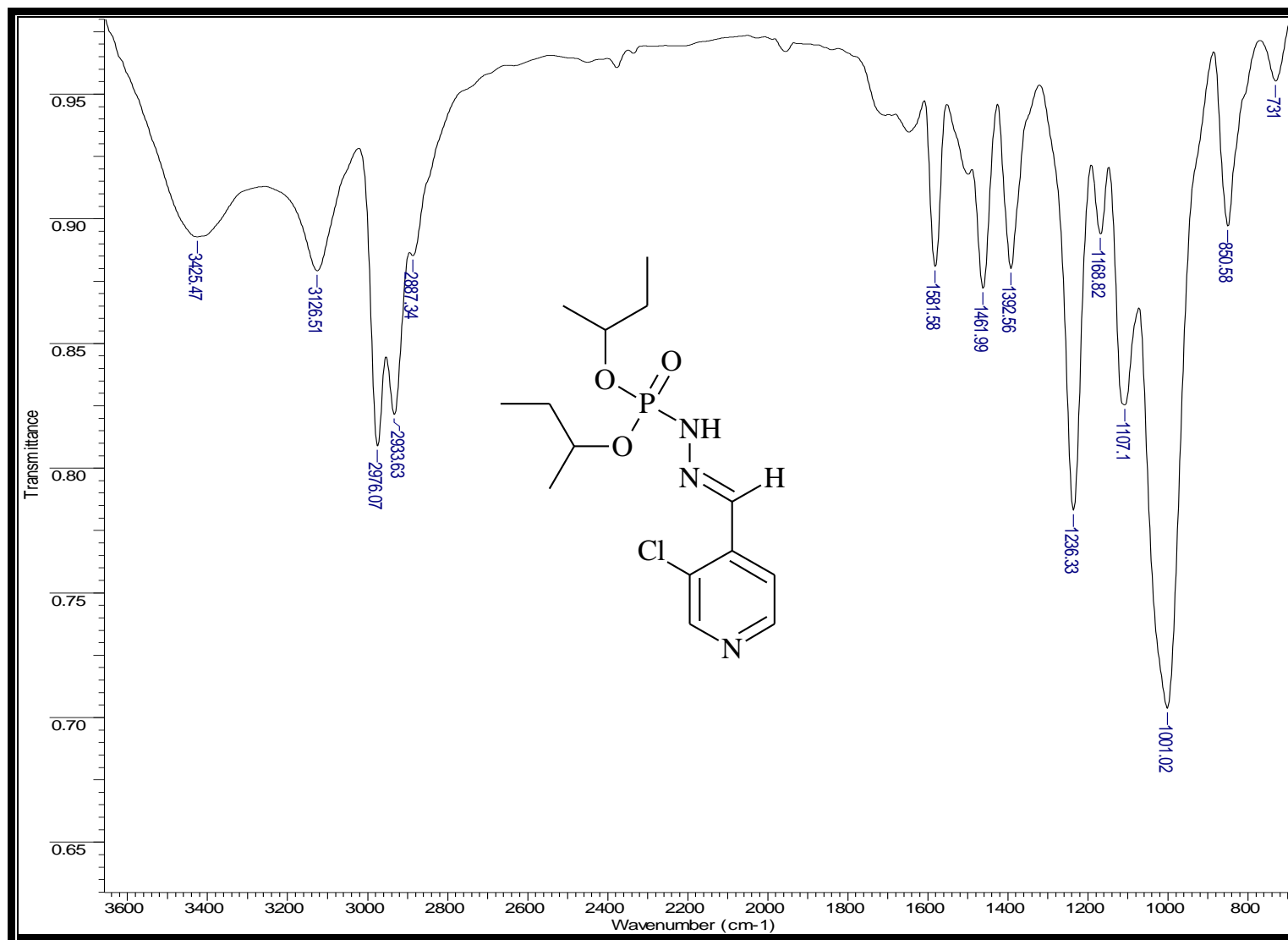
Espectro 157: Espectro de ¹H do éster di-*sec*butílico, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (28).



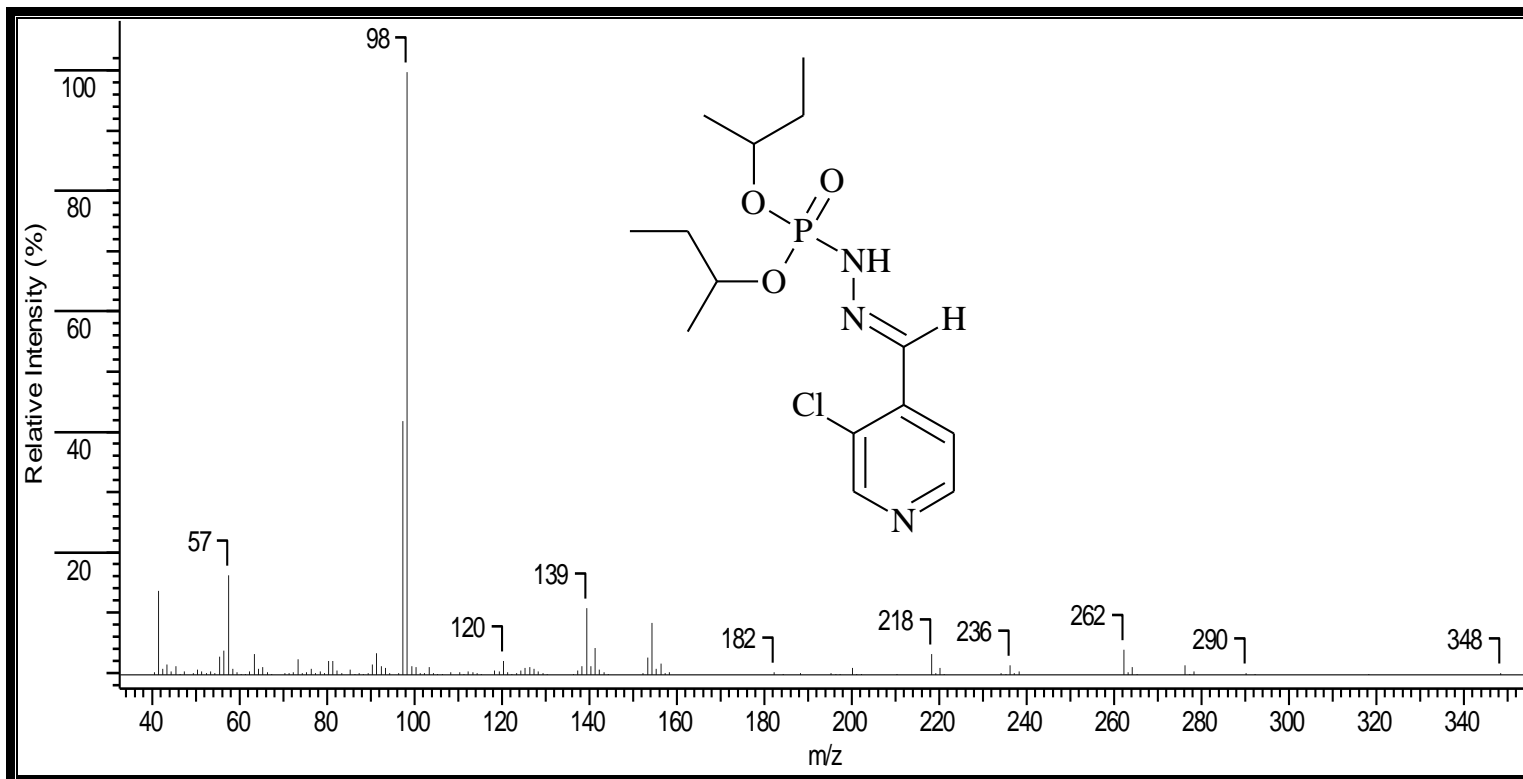
Espectro 158: Espectro de ^{31}P do éster di-*sec*butílico, N' -[3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (28).



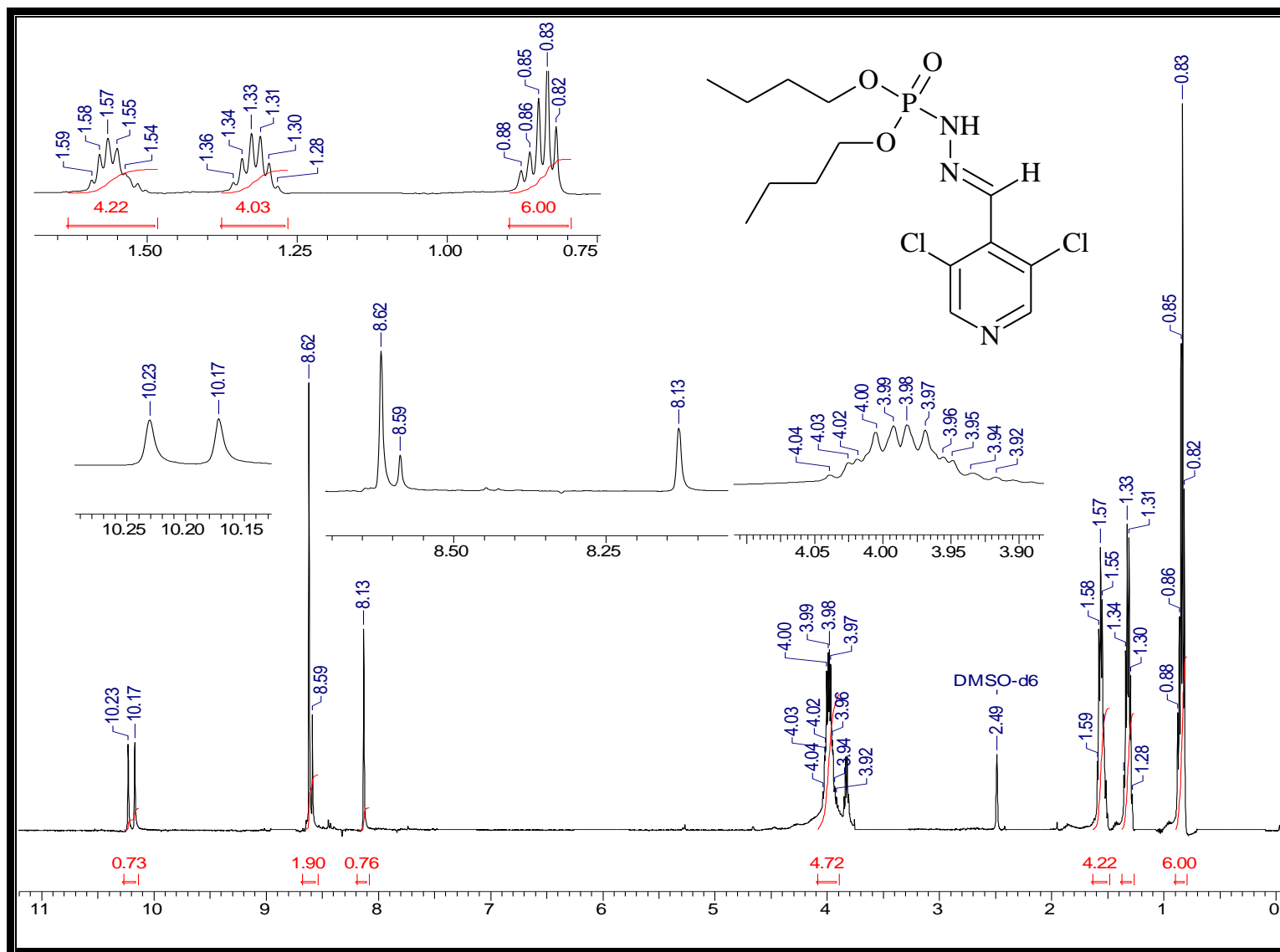
Espectro 159: Espectro de ¹³C do éster di-*sec*butílico, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (28).



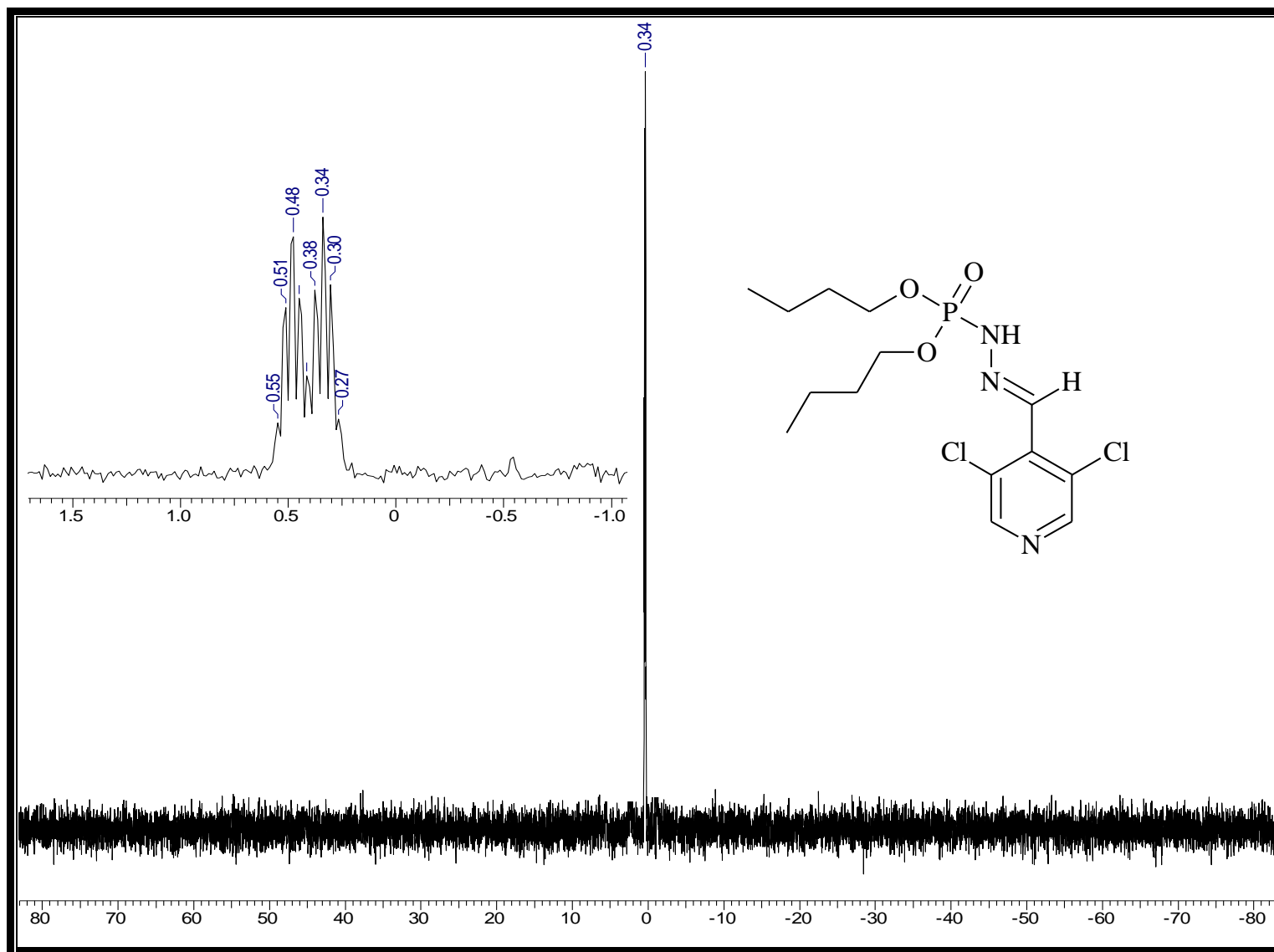
Espectro 160: Espectro de IV do éster di-*sec*butílico, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (28).



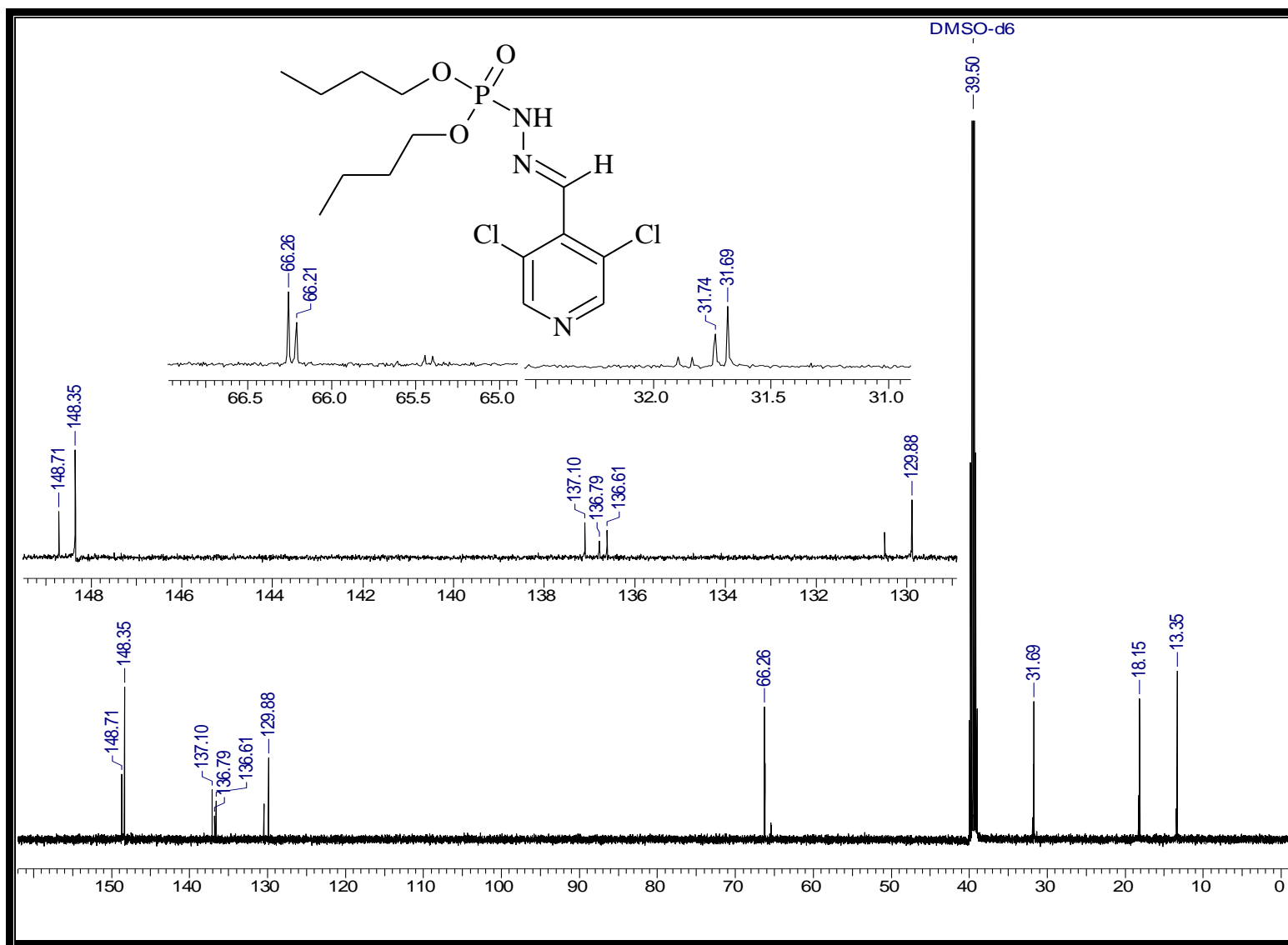
Espectro 161: Espectro de massas do éster di-*sec*butílico, *N'*- [3-cloro-3-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (28).



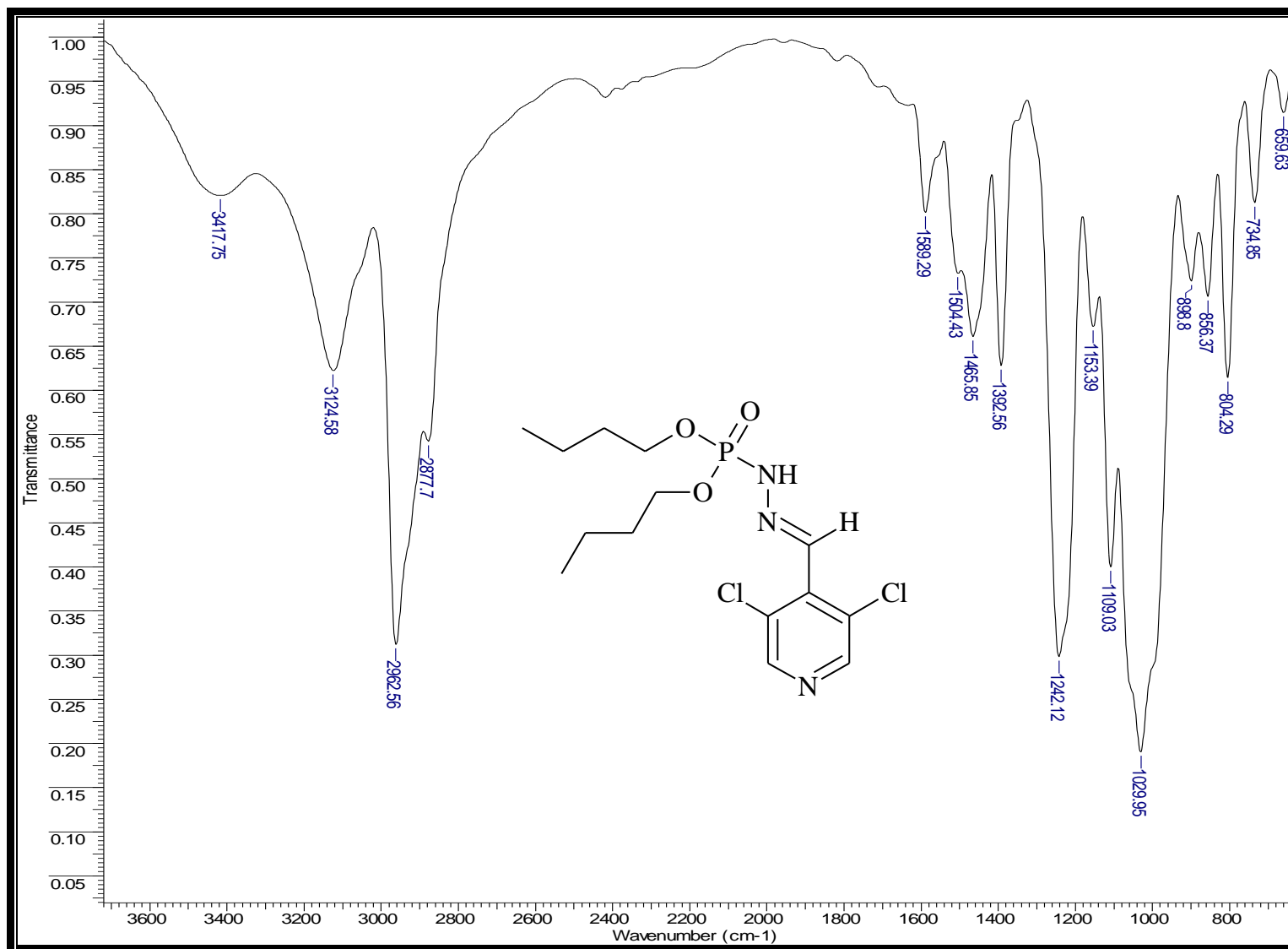
Espectro 162: Espectro de RMN- 1H do éster dibutílico, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (29).



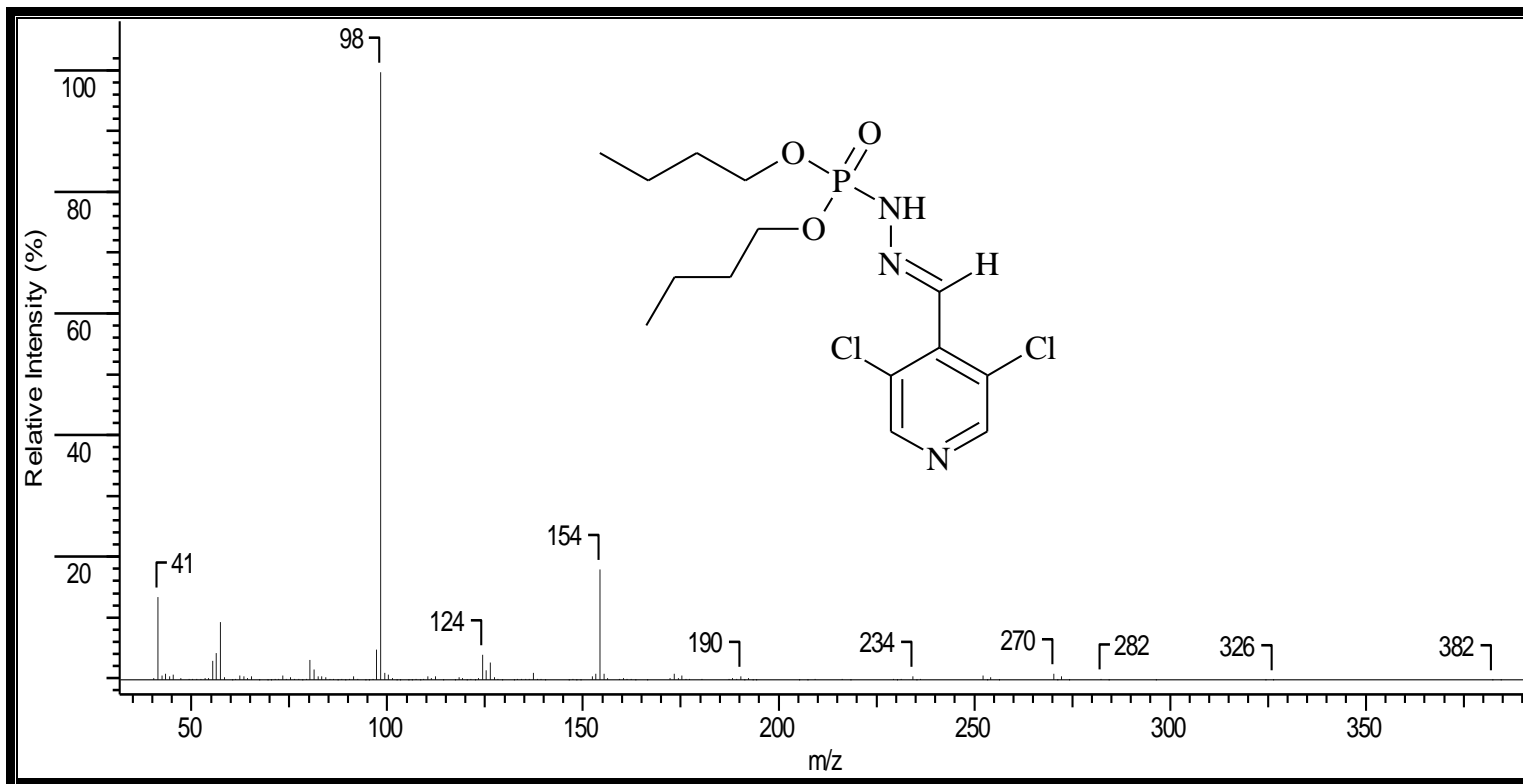
Espectro 163: Espectro de RMN- ^{31}P do éster dibutílico, N' - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (29).



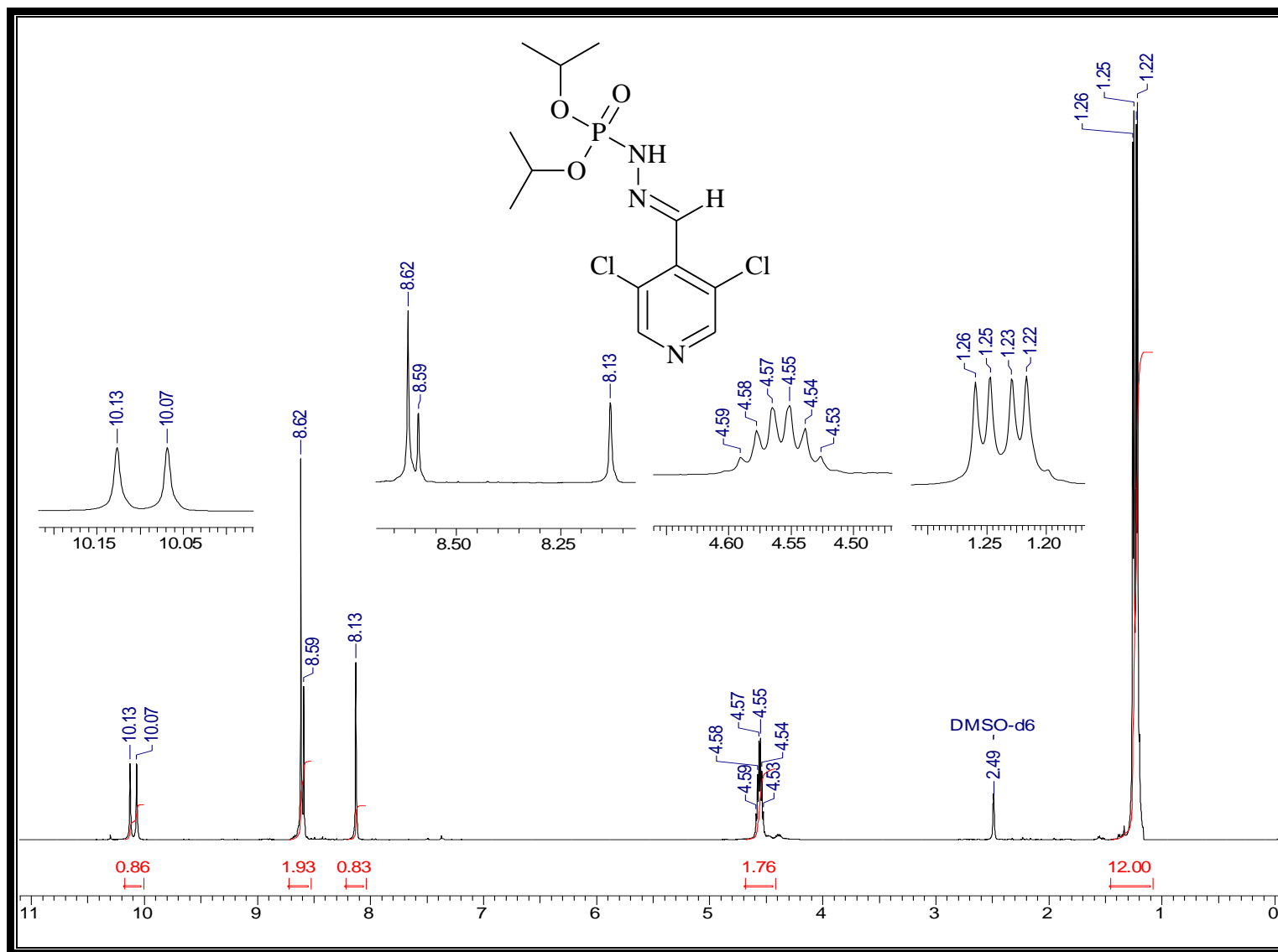
Espectro 164: Espectro de RMN- ¹³C do éster dibutílico, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (29).



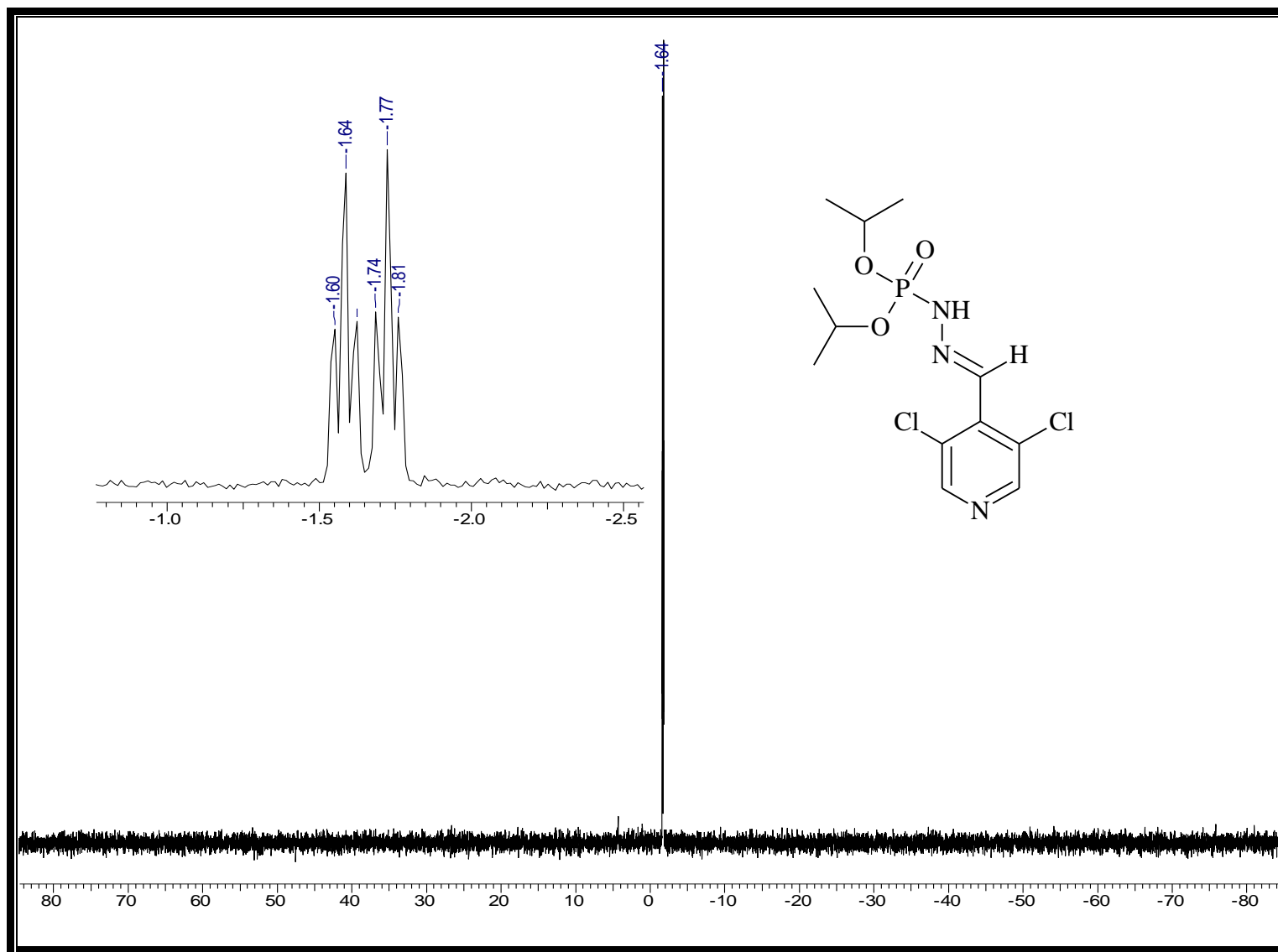
Espectro 165: Espectro de IV do éster dibutílico, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (29).



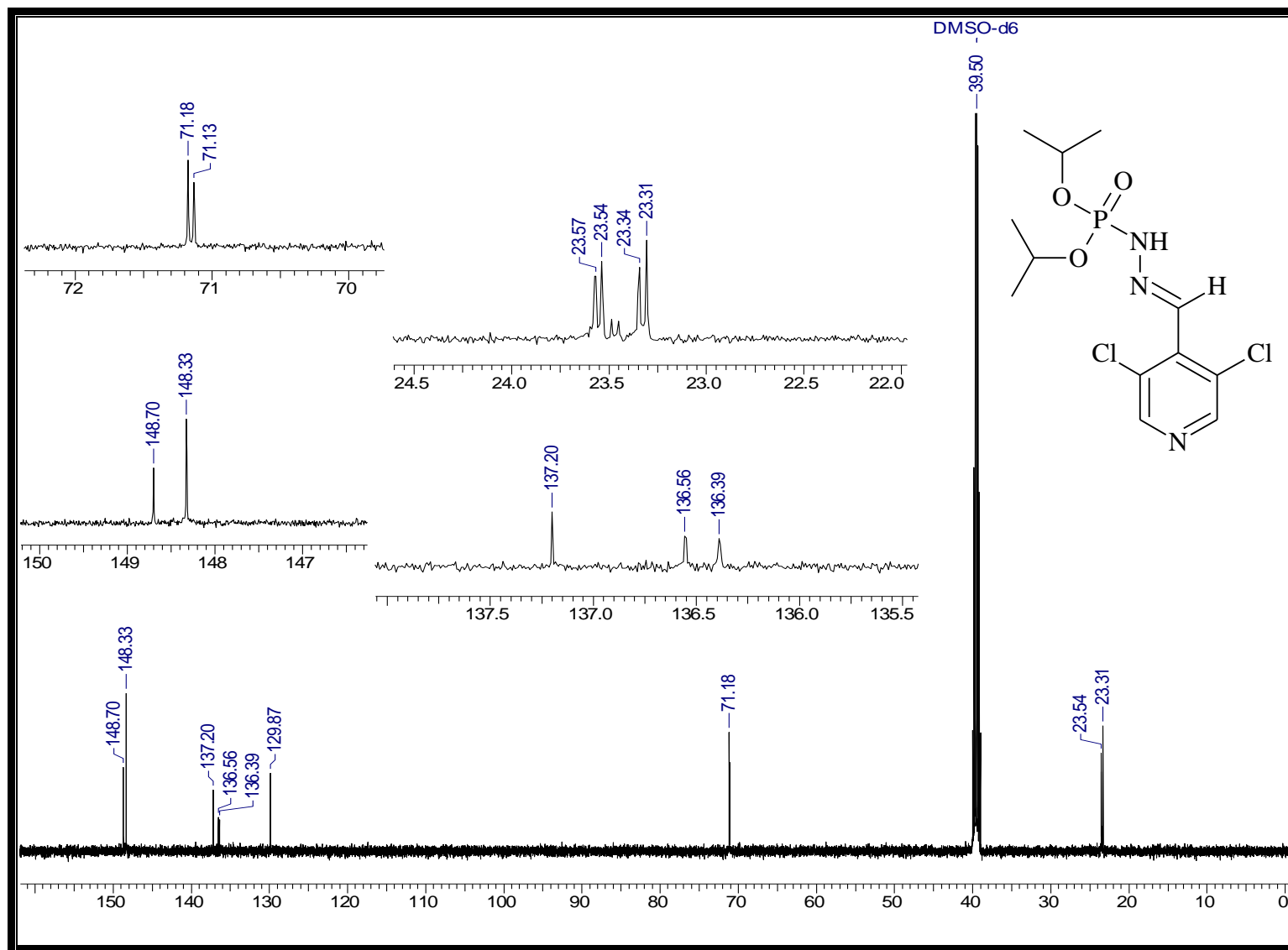
Espectro 166: Espectro de massas do éster dibutílico, *N'*-[3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (29).



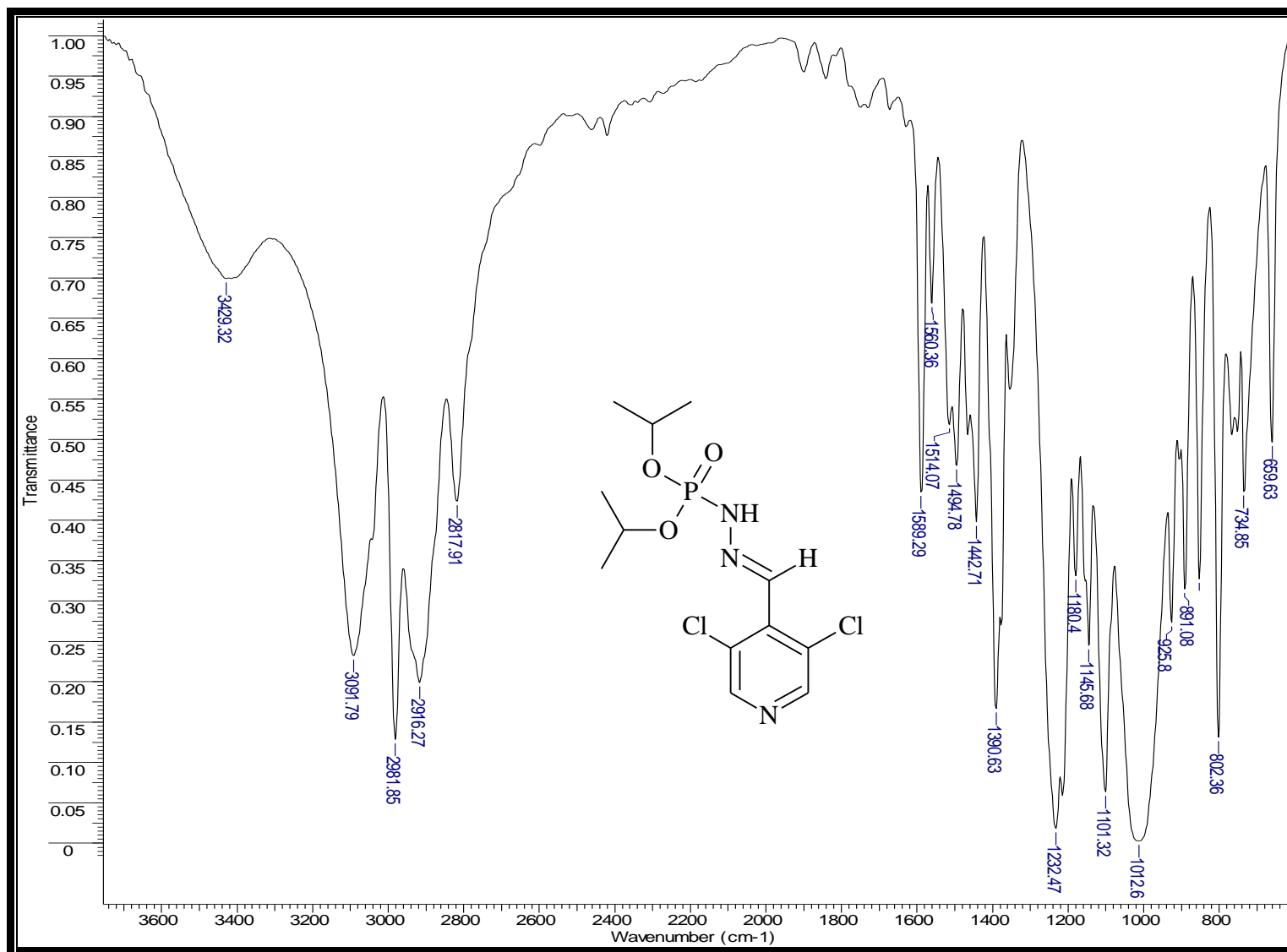
Espectro 167: Espectro de RMN- 1H do éster di-*isopropílico*, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (30).



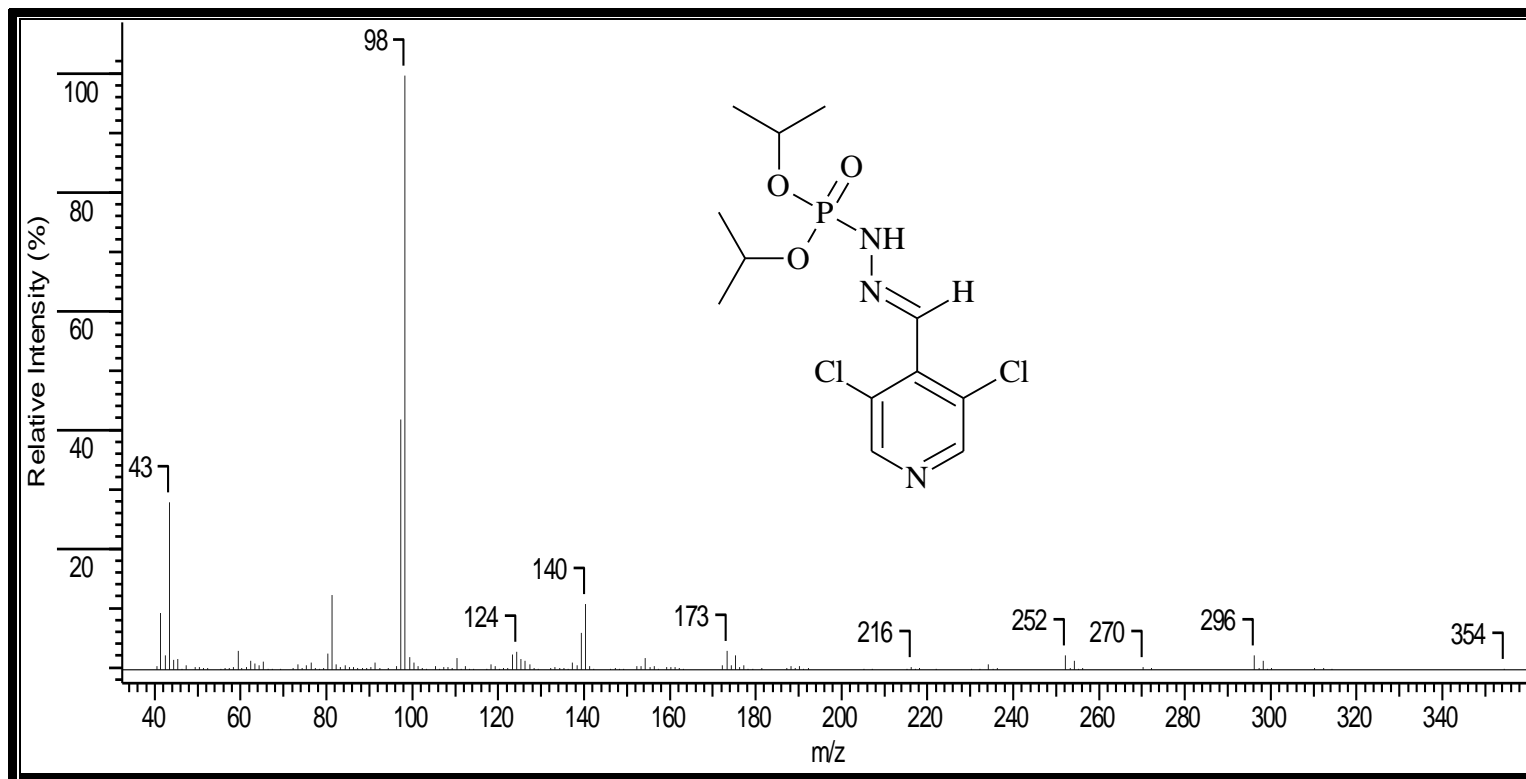
Espectro 168: Espectro de RMN- ^{31}P do éster di-*isopropílico*, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (30).



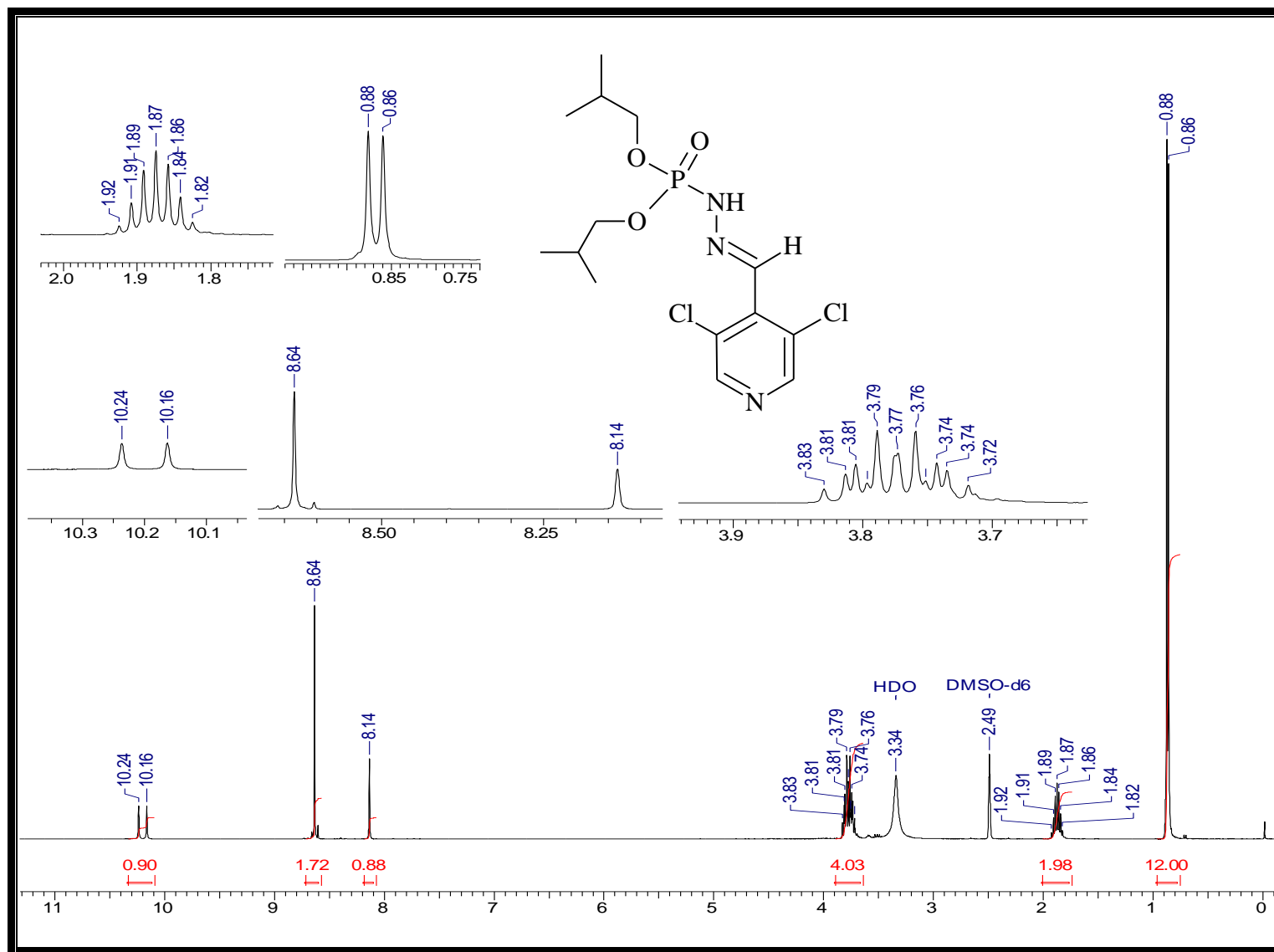
Espectro 169: Espectro de RMN- ¹³C do éster di-*isopropílico*, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (30).



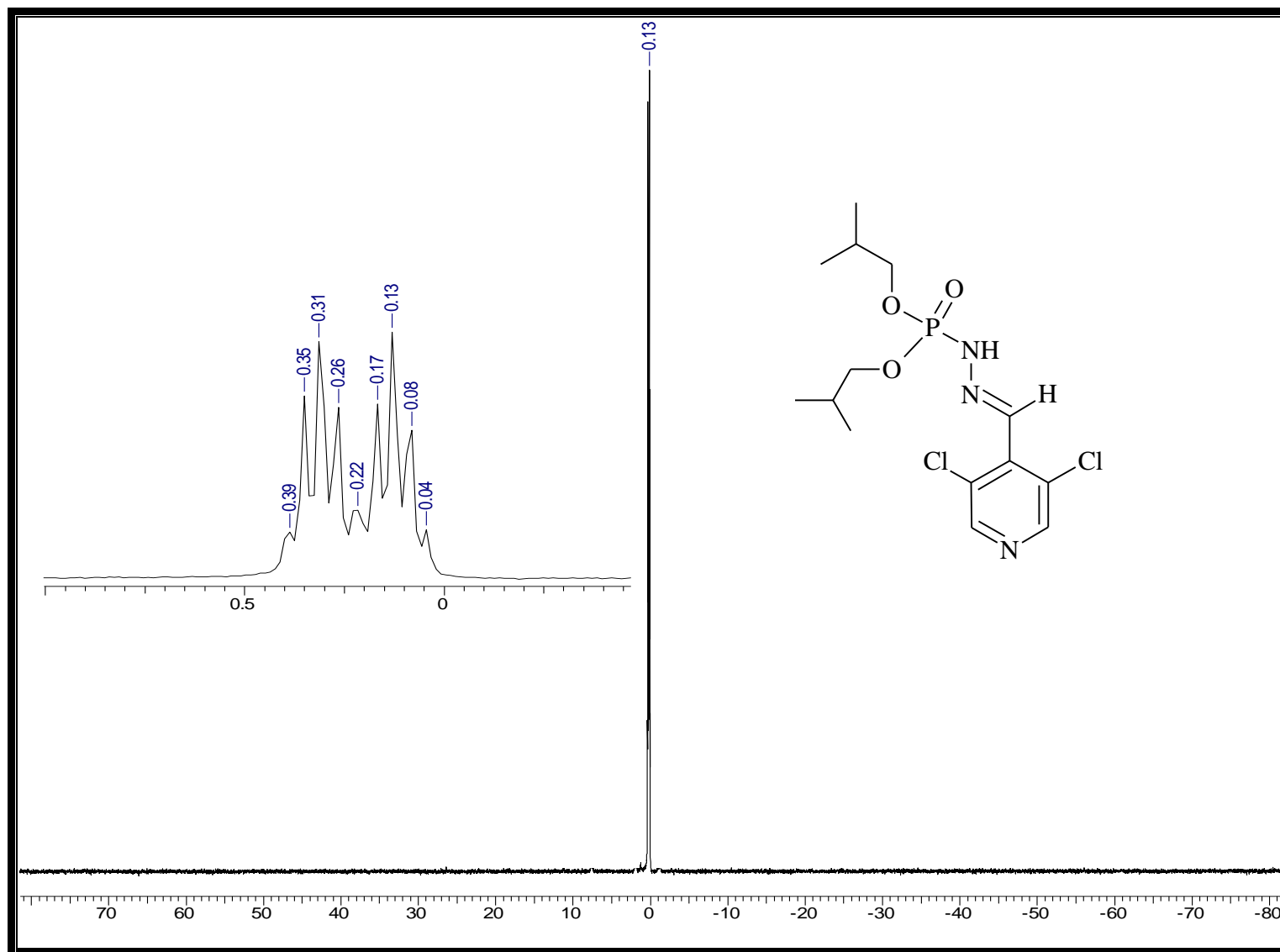
Espectro 170: Espectro de IV do éster di-*isopropílico*, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (30).



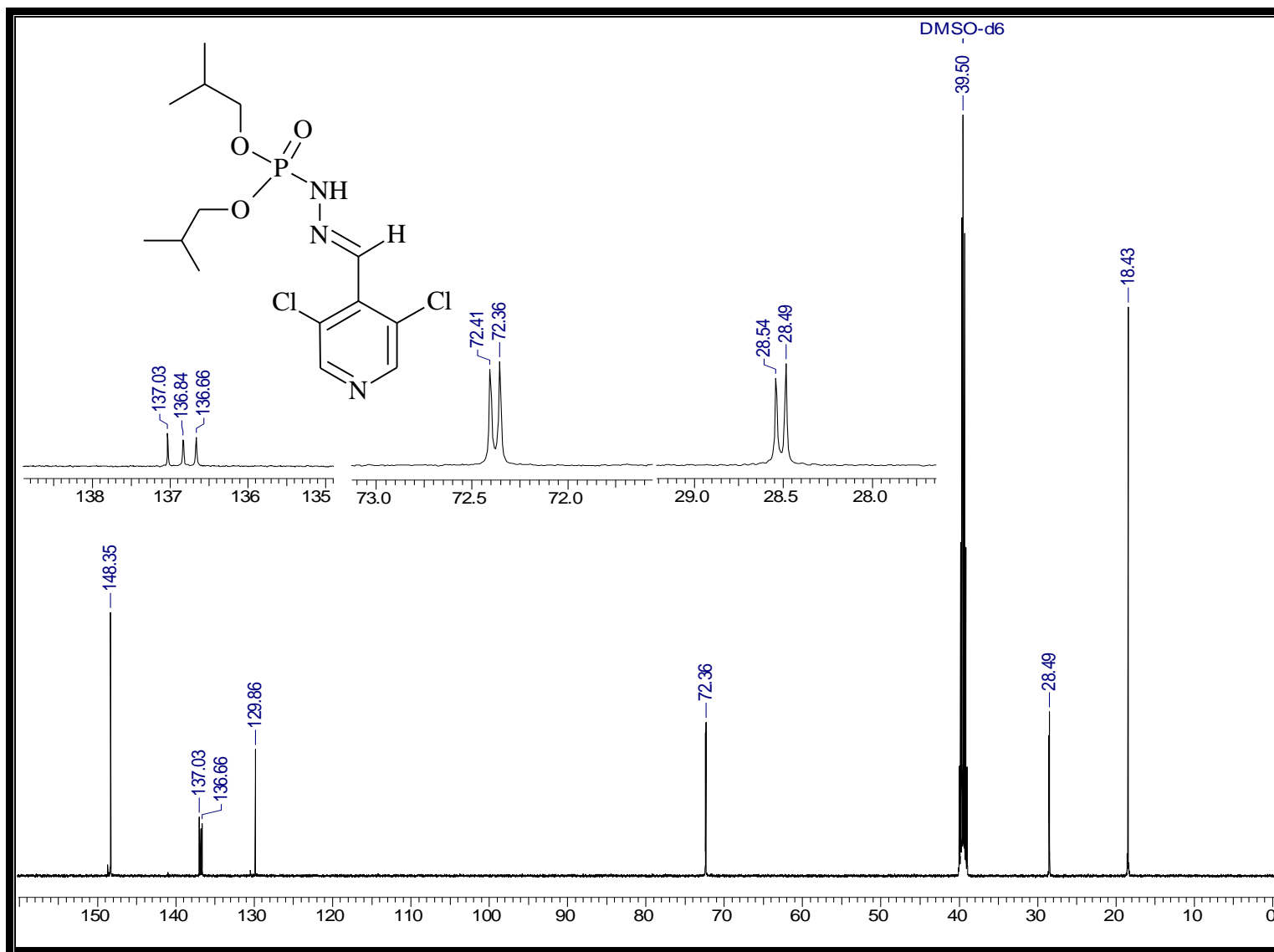
Espectro 171: Espectro de massas do éster di-*isopropílico*, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (30).



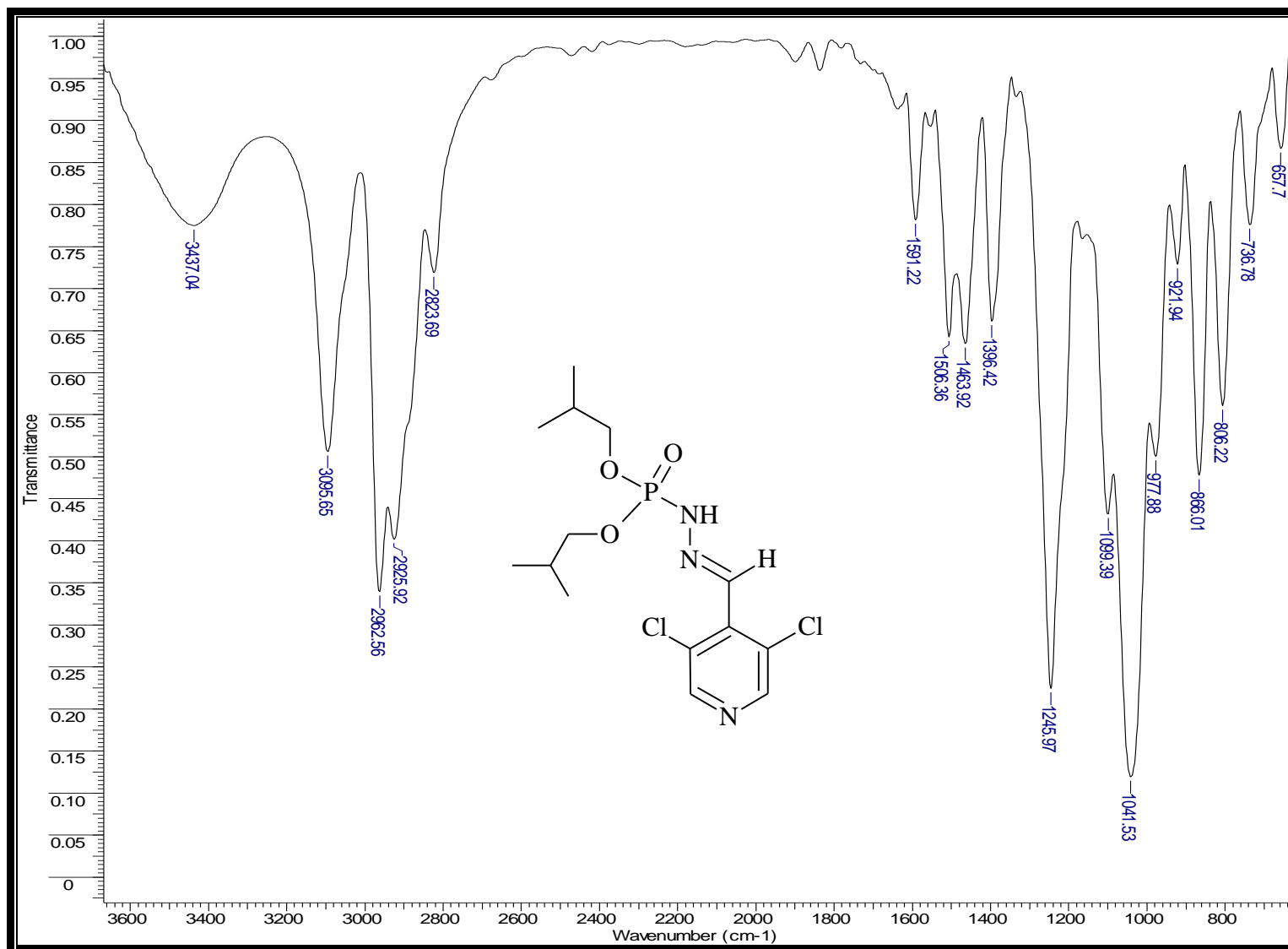
Espectro 172: Espectro de RMN- 1H do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (31).



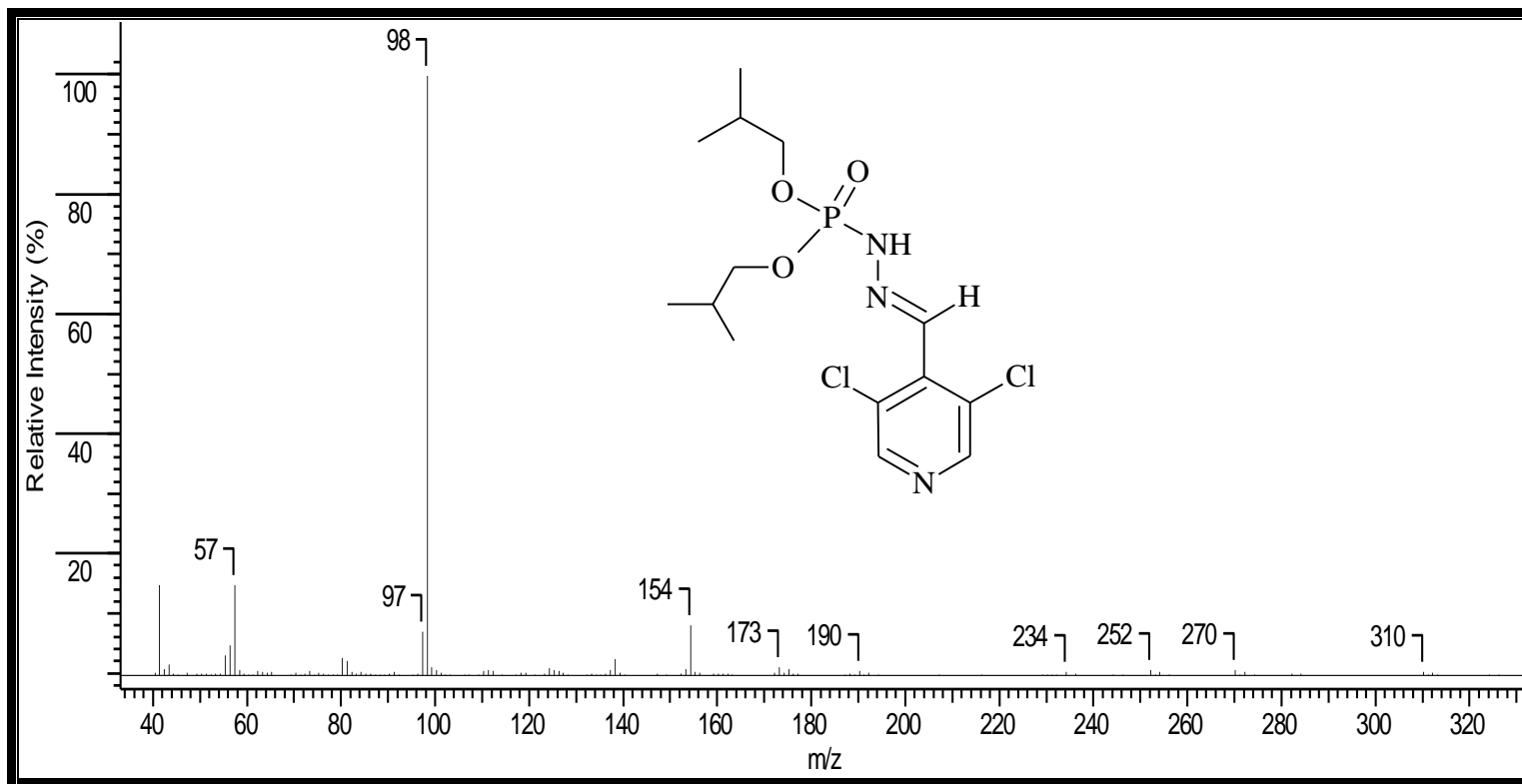
Espectro 173: Espectro de RMN- ^{31}P do éster di-*isobutílico*, N' - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (31).



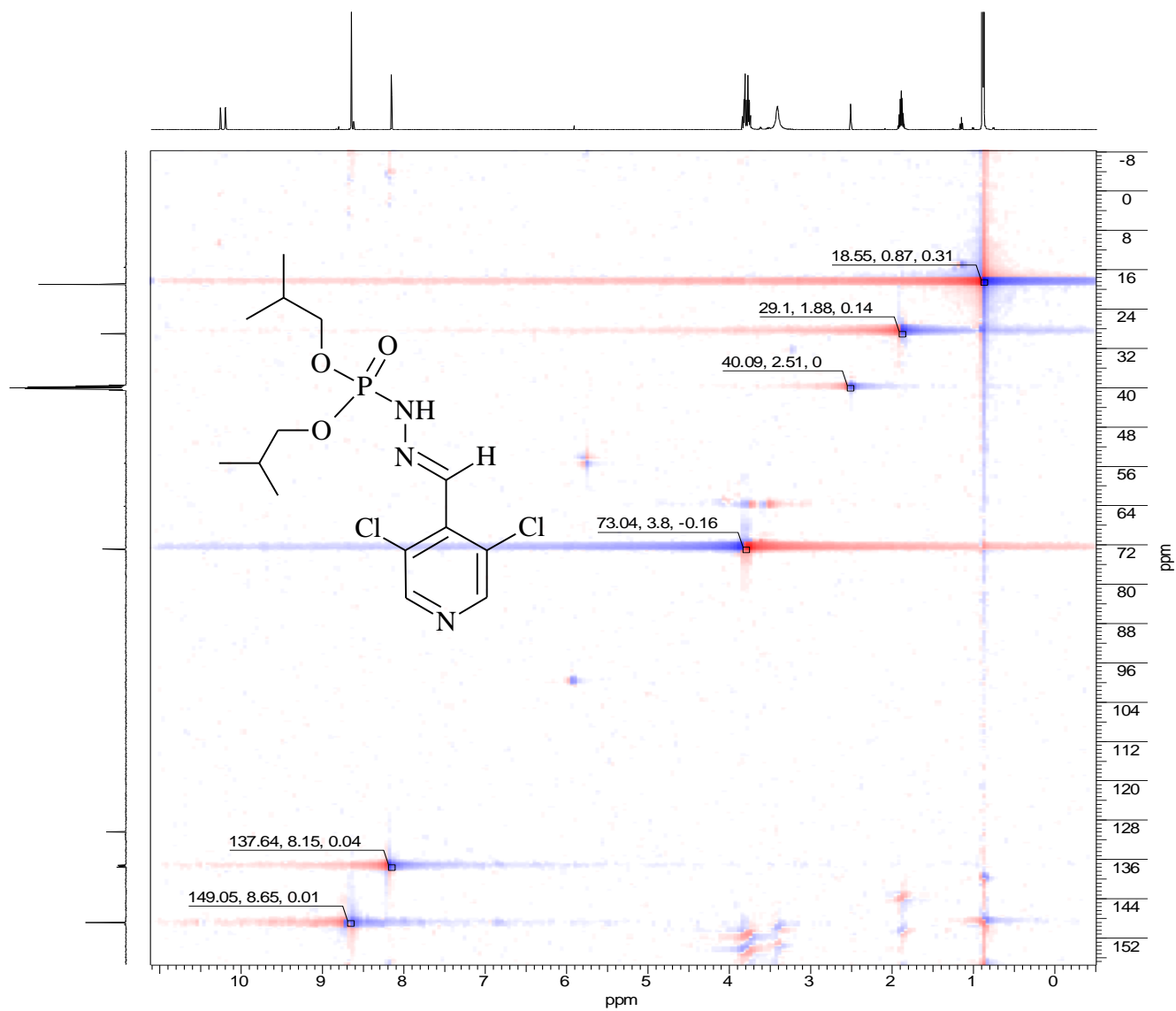
Espectro 174: Espectro de RMN- 13C do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (31).



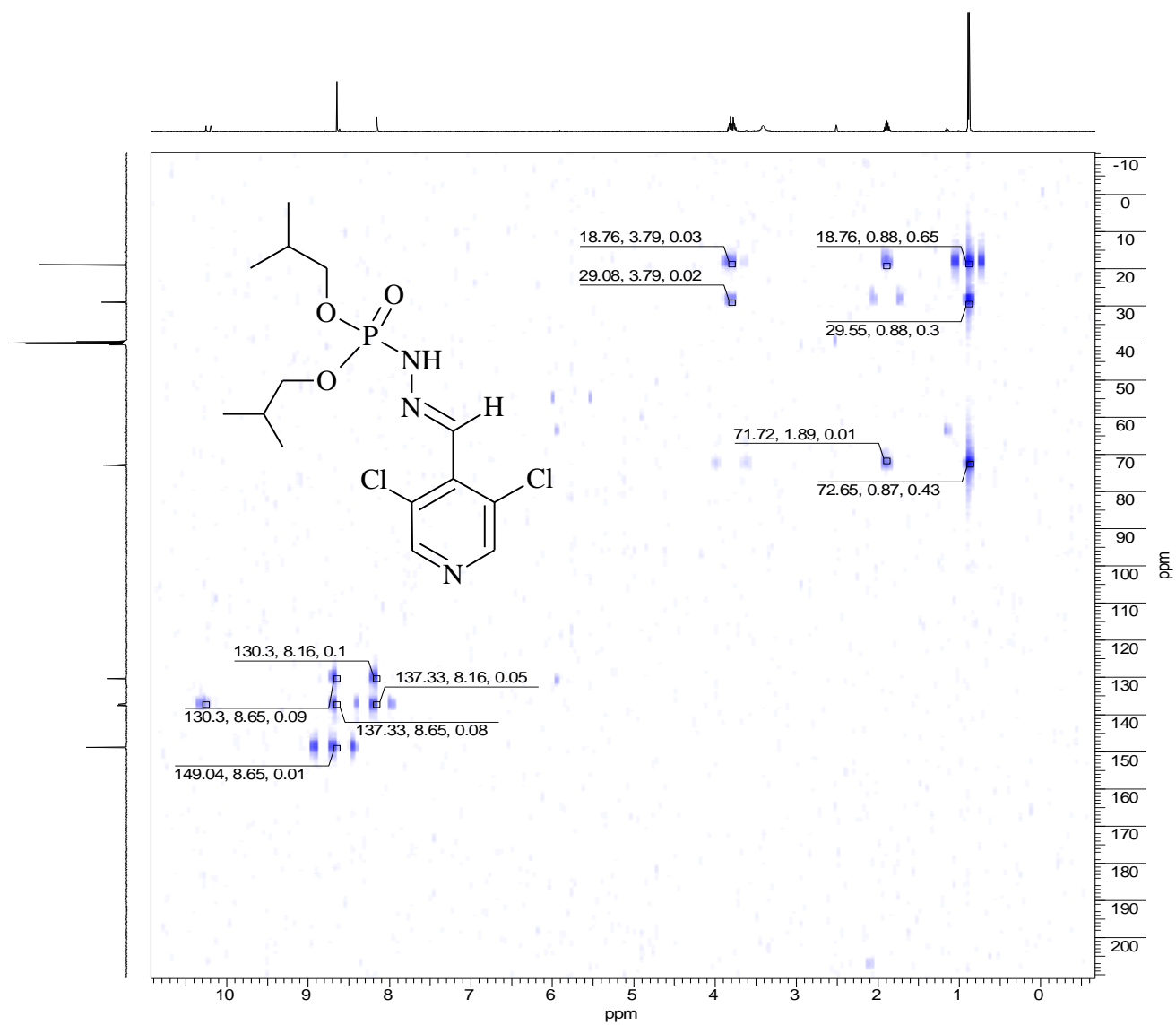
Espectro 175: Espectro de IV do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosfoídrazídico (31).



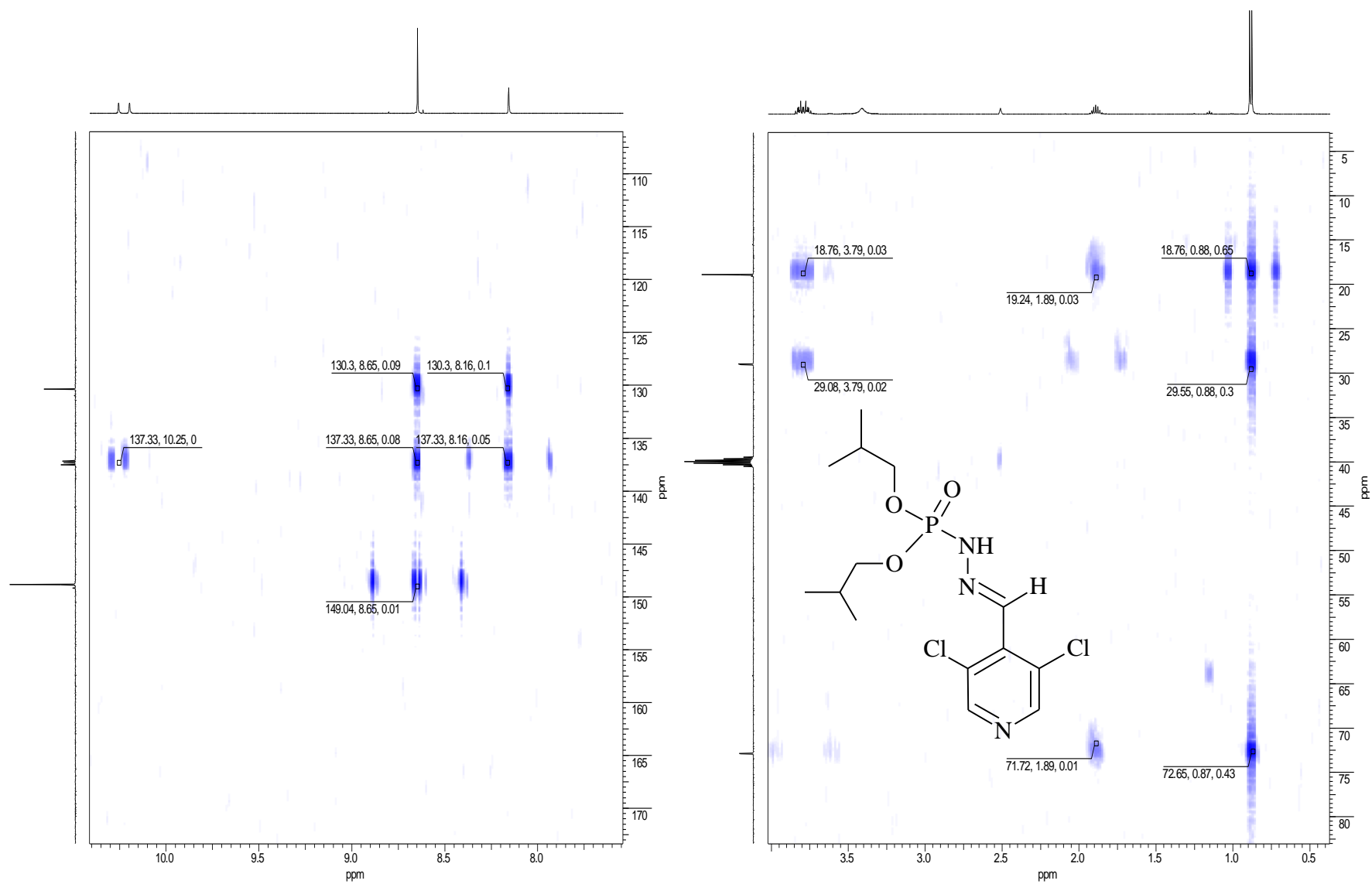
Espectro 176: Espectro de massas do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (31).



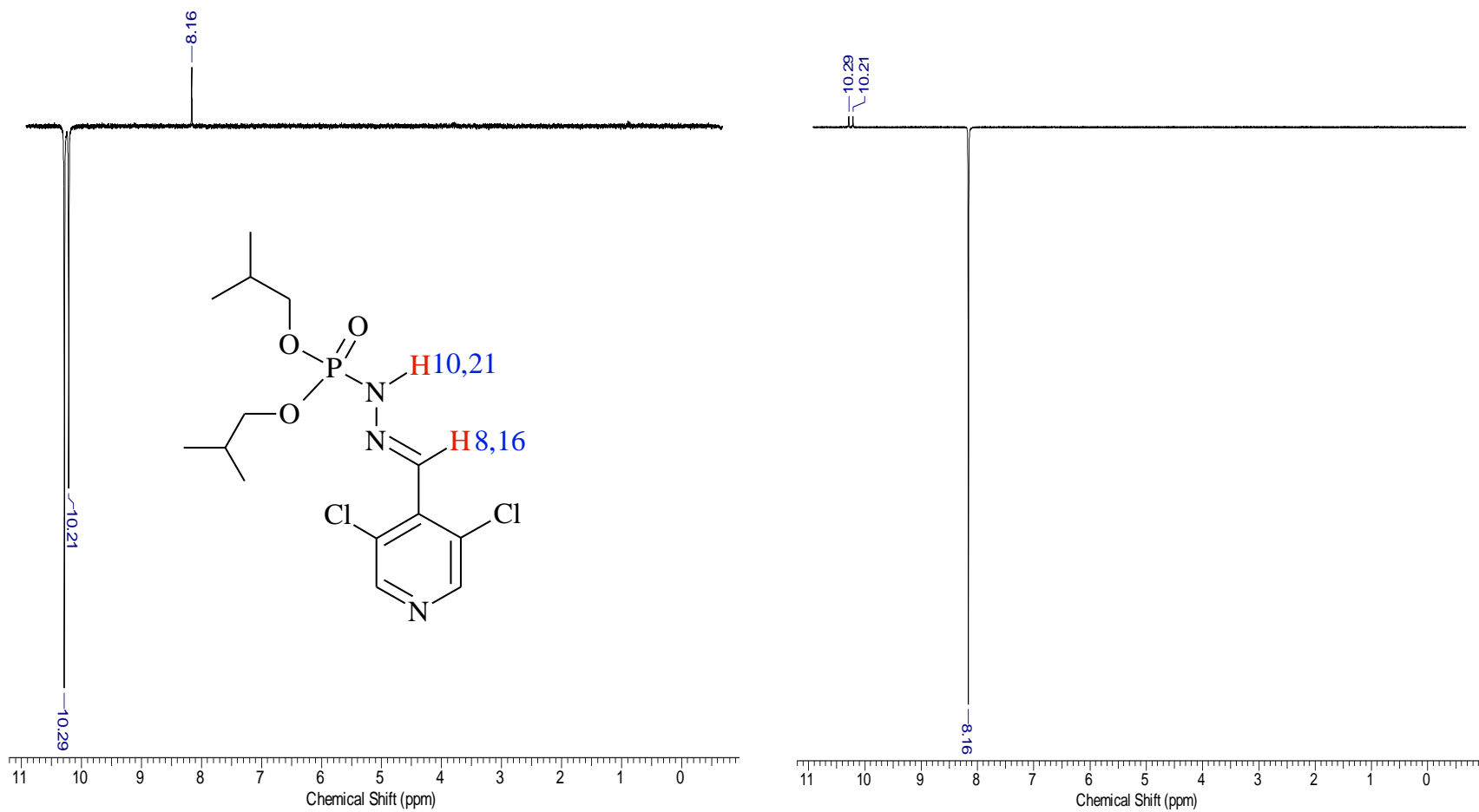
Espectro 177: Espectro de HSQC do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (31).



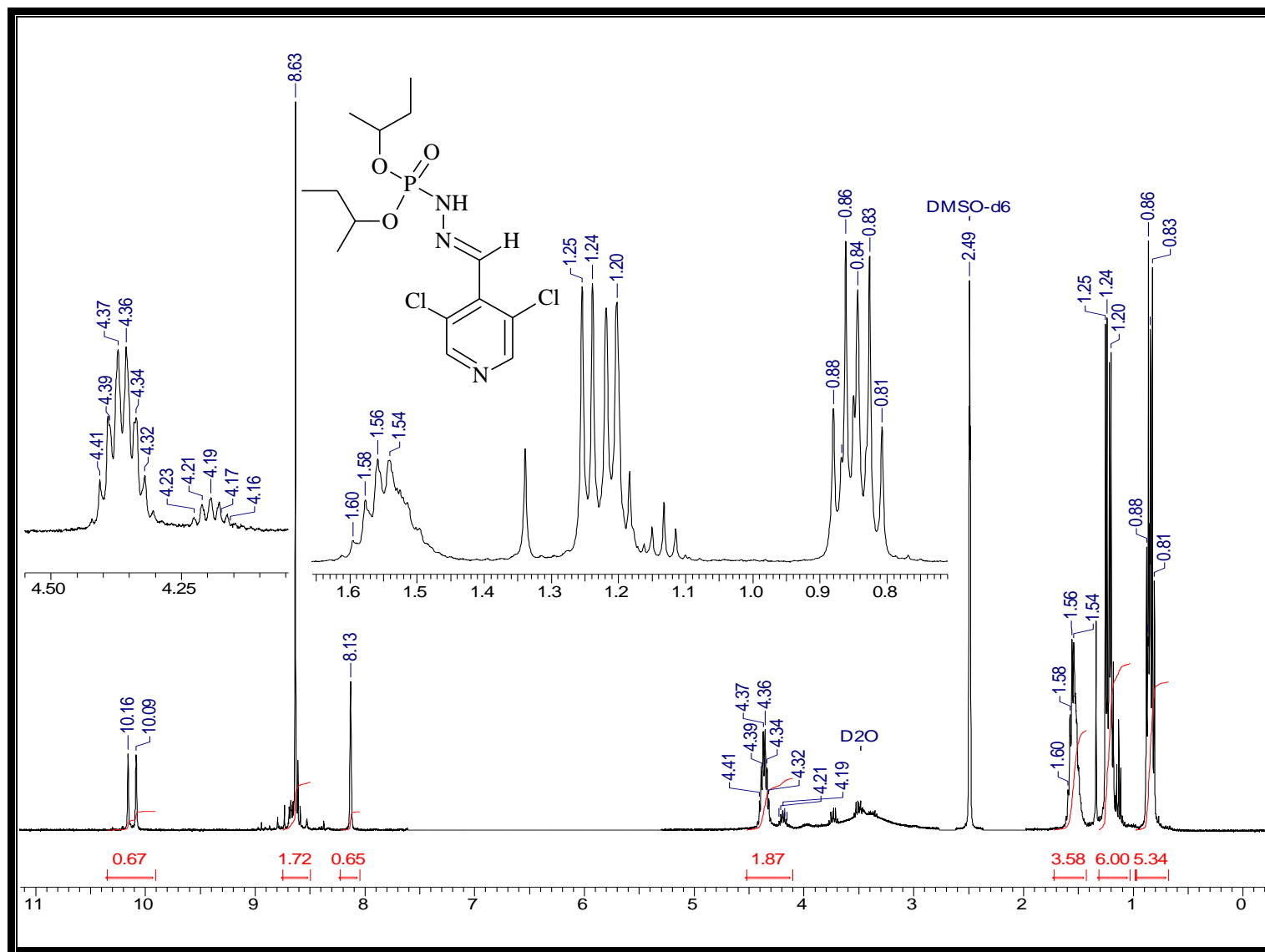
Espectro 178: Espectro de HMBC do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (31).



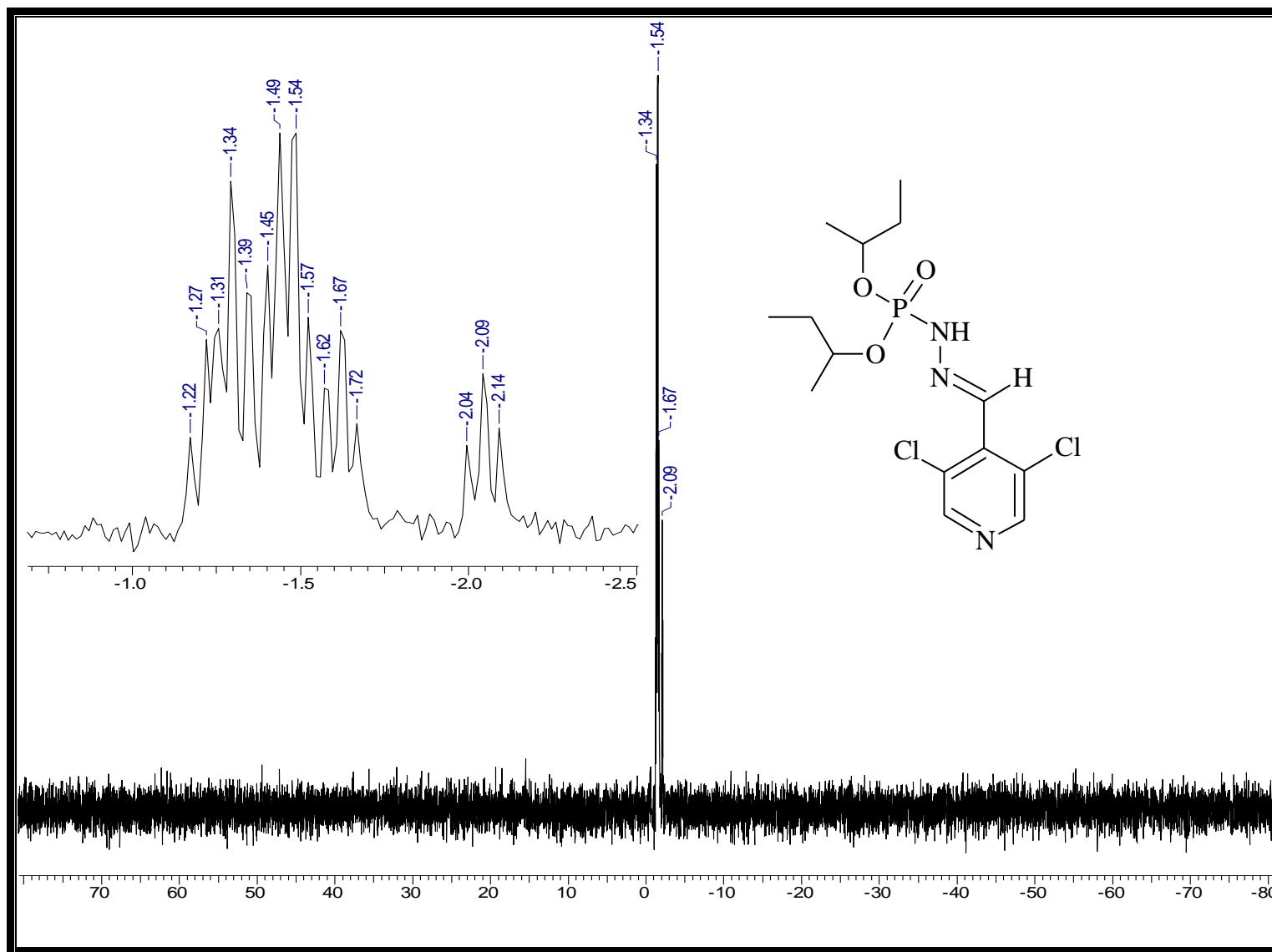
Espectro 179: Espectro de HMBC expandido do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (31).



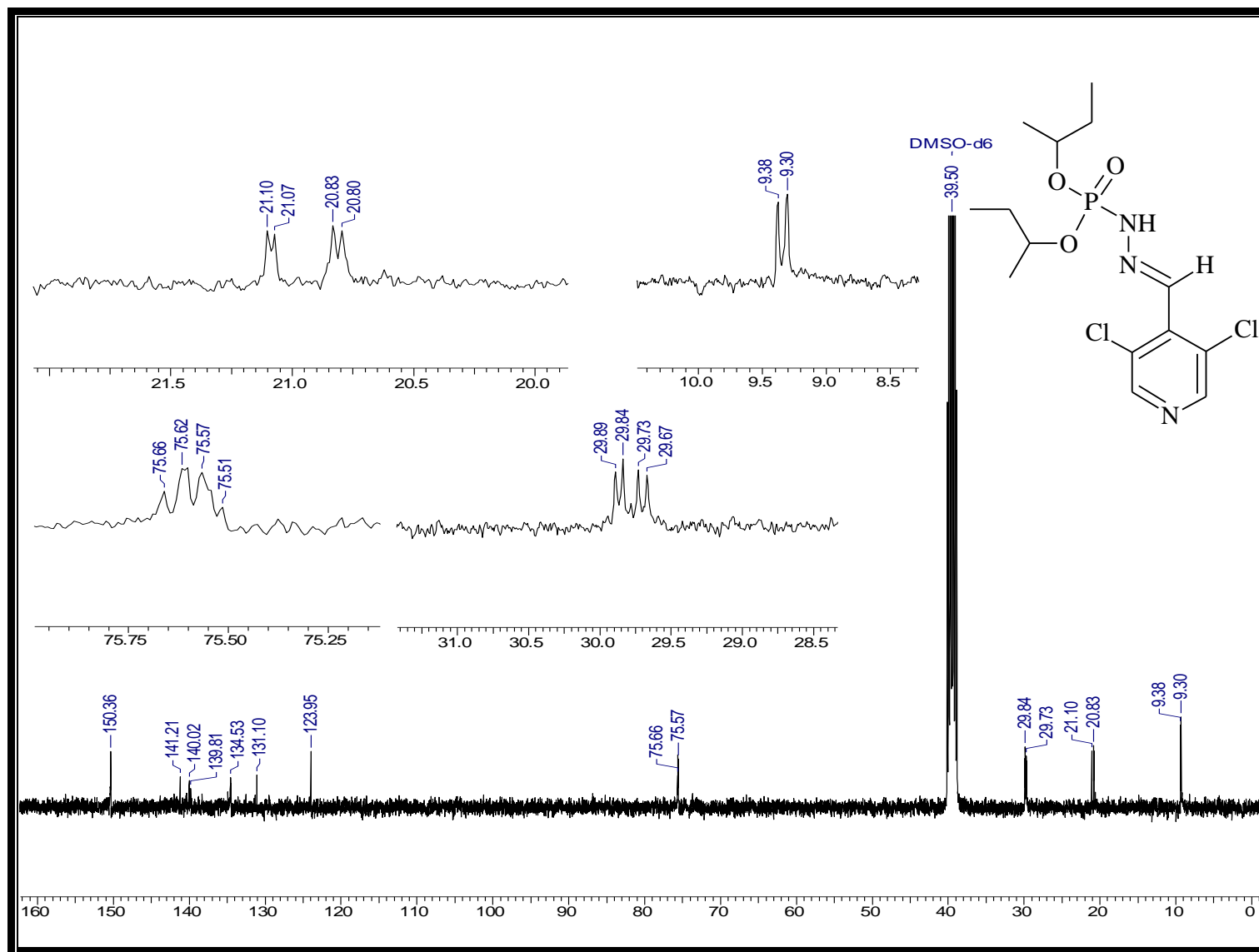
Espectro 180: Espectro de NOE do éster di-*isobutílico*, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforodrazídico (31).



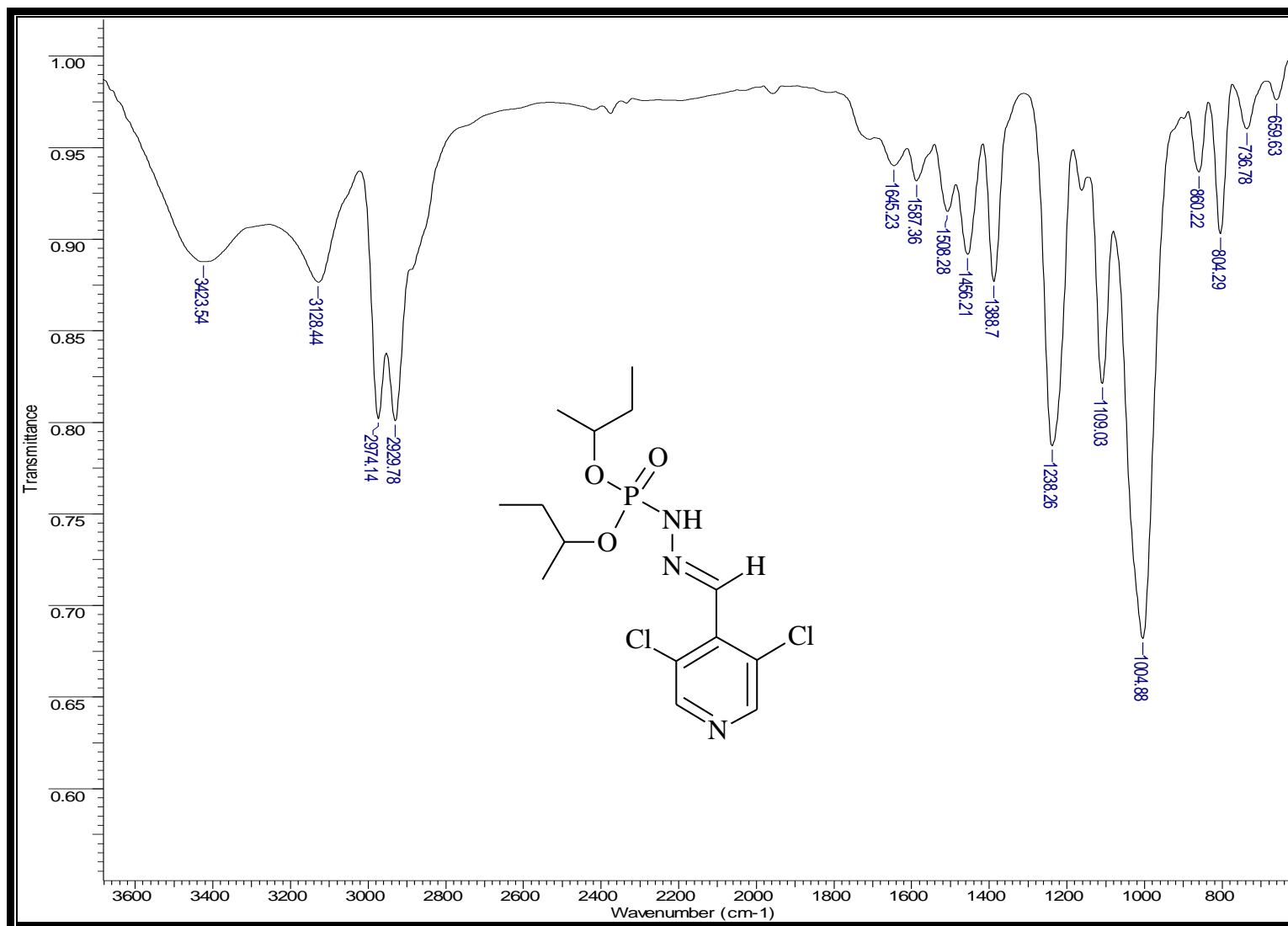
Espectro 181: Espectro de RMN- 1H do éster di-*sec*butílico, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (32).



Espectro 182: Espectro de RMN- ^{31}P do éster di-*sec*butílico, N' - [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (32).



Espectro 183: Espectro de RMN- 13C do éster di-*sec*butílico, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforidrazídico (32).



Espectro 184: Espectro de IV do éster di-*sec*butílico, *N'*- [3,5-dicloro-4-metilenopiridina], do ácido fosforoidrazídico (32).

