

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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**SÍNTESE DE NOVAS FOSFORILIDRAZONAS HETEROCÍCLICAS PARA
CONTROLE DE PATÓGENOS PÓS-COLHEITA DE MAMÃO (*CARICA PAPAYA L.*)**

Henriqueta Talita Guimarães Barboza

2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

547.593

B238s

T

Barboza, Henriqueta Talita
Guimarães, 1978-

Síntese de novas
fosforilidrazonas heterocíclicas
para controle de patógenos pós-
colheita de mamão (*Carica papaya*
L.)/ Henriqueta Talita Guimarães
Barboza - 2010.

220 f.: il.

Orientador: João Batista
Neves da Costa.

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

Inclui bibliografia.

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



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

**SÍNTESE DE NOVAS FOSFORILIDRAZONAS
HETEROCÍCLICAS PARA CONTROLE DE PATÓGENOS PÓS-
COLHEITA DE MAMÃO (*CARICA PAPAYA L.*)**

HENRIQUETA TALITA GUIMARÃES BARBOZA

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

*e Co-orientação do Professor Dr.
Antônio Gomes Soares*

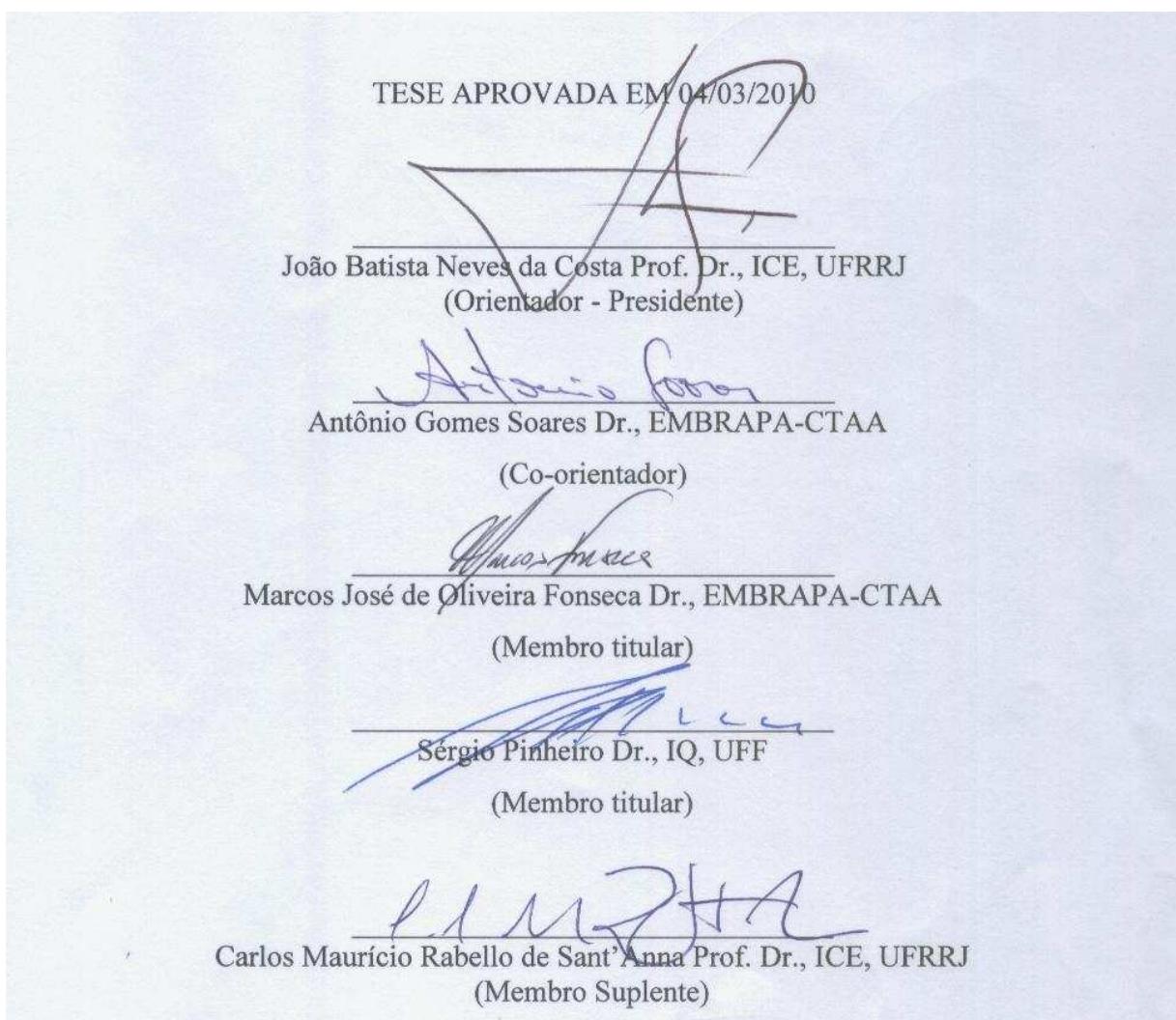
Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências, no Curso de Pós-
Graduação em Química Orgânica, Área
de Concentração em Síntese Orgânica.

Seropédica, RJ
Março de 2010

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

HENRIQUETA TALITA GUIMARÃES BARBOZA

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



Dedico este trabalho aos meus pais, ao meu irmão e ao meu namorado pelo suporte, pela compreensão, por estarem sempre ao meu lado mesmo nos momentos em que eu não pude estar ao lado deles.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar dias abençoados e por me conceder vitórias. Aos meus pais, pelo modelo que são de virtude, força, garra e perseverança.

Ao meu chefe, co-orientador e amigo Antônio Gomes Soares por me permitir concluir este projeto me suprindo de tudo o que era necessário para a finalização desse trabalho.

Ao meu orientador João Batista Neves daCosta pelo tempo, atenção e compreensão que a mim foi dispensada.

Ao pesquisador Marcos José de Oliveira Fonseca, pela ajuda, apoio e compreensão.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela oportunidade de realizar esse trabalho em meio a tantos obstáculos.

Aos professores Rosane Nora Castro, Carlos Mauricio Rabello de Sant'Anna e Vitor Marcos Rumjanek e a todos os professores da PPGQ pelo auxílio dado e pela compreensão.

Aos amigos do laboratório 53, Andrea Janaina, Jorge Fábio, Letícia e Vinícius por todo esforço, carinho e amizade.

Aos técnicos da UFRRJ, pelos espectros gerados, principalmente o Maurício e Vitor pela paciência e pela ajuda essencial na reta final.

À EMBRAPA - CTAA pela capacitação e pelo meu crescimento profissional.

À Fundação Oswaldo Cruz pelas cepas cedidos para conclusão deste trabalho.

Ao Ivan Alcântara, um amigo que fez a diferença para que tudo começasse a acontecer.

Aos meus colegas de laboratório Marco Antunes de Jesus Carvalho, Mario Ferreira Lima, Agnelli e Jorge Potxci pelas orações, compreensão e ajuda.

À amiga Andressa Moreira, pela ajuda, apoio e contribuição.

Aos estagiários Maria Cláudia, Thayana, Adriana, Andréa, Débora e Augusto pela ajuda em todos momentos que precisei.

Aos meus amigos que em meio a tanta correria e falta de tempo ficaram um pouco esquecidos.

A todos vocês o meu agradecimento sincero.

RESUMO

Barboza, Henriqueta Talita Guimarães. **Síntese de novas fosforilidrazonas heterocíclicas para controle de patógenos pós-colheita de mamão (*Carica papaya* L.).** 2010. Tese (Mestrado em Química Orgânica, Síntese Orgânica). Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

Neste trabalho foram sintetizadas doze (12) novas dialquilfosforilidrazonas heterocíclicas. Esses compostos foram obtidos utilizando-se três etapas de reação. A primeira etapa consiste na síntese de diferentes fosfonatos de dialquila, obtidos por meio da reação do tricloreto de fósforo (PCl_3) com três mols do álcool correspondente. A segunda etapa ocorre por meio da reação dos fosfonatos de dialquila sintetizados com a hidrazina, formando as dialquilfosforilidrazinas. A terceira e última etapa é a condensação destas dialquilfosforilidrazinas com diferentes aldeídos heterocíclicos. A análise dos espectros de RMN- ^1H indica a formação de diastereoisômeros, *E* e *Z*, com predominância do diastereoisômero *E*.

Todos os compostos obtidos foram caracterizados por RMN de H^1 e C^{13} e P^{31} , IV, análises de massas. Em seguida foram realizados testes *in vitro* para verificar se os mesmos possuem atividade fungicida sobre os fungos *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp. e *Fusarium solani*, conhecidos por serem patógenos da cultura de mamão (*Carica papaya* L.).

O composto 6 B foi o que apresentou o melhor efeito fungicida sobre o crescimento de todos os fungos.

Finalmente foram realizados testes com a enzima acetilcolinesterase a fim de observar a toxicidade dos compostos sintetizados frente a esta enzima.

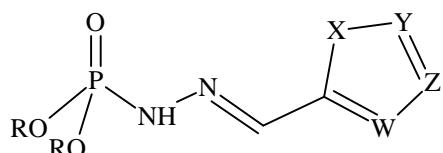


Figura 1- Estrutura genérica das dialquilfosforilidrazonas heterocíclicas sintetizadas.

R – Etil; propil; isopropil e isobutil.

X = O, Y, Z e W = CH;
X = S, Y, Z e W = CH;
X = NH, Y, Z e W = CH;
X = NH, Y= CH, Z=CH e W = N;
X = CH, Y= N, Z=CH e W = N.

Palavras chave: hidrazonas, organofosforados, dialquilfosforilidrazonas, atividade fungicida, *Carica papaya* L., mamão.

ABSTRACT

Barboza, Henriqueta Talita Guimarães. **Synthesis of new Heterocyclic phosphorylhydrazones to control Post-Harvest pathogens in papaya (*Carica papaya* L.).** Seropédica, UFRRJ, 2010. (Master thesis, Master in Science, Organic Chemistry).

Twelve heterocyclic dialkylphosphorylhydrazones compounds were synthesized in this work. Dialkylphosphorylhydrazones were obtained through 3 steps of reaction. The first step consists on the synthesis of different dialkylphosphonates obtained by reaction of triethyl phosphate (PCl_3) with 3 mols of the corresponding alcohol. The second step occurs by the reaction with dialkylphosphonates synthesized and hydrazine, producing dialkylphosphorylhydrazines. The third and last step is the condensation reaction of these dialkylphosphorylhydrazines with different heterocycle substituted aromatic aldehydes.

The analysis of the ^1H NMR spectra allowed to observe the stereoisomers *E* and *Z*, with the formation of *E* diastereoisomer preferentially. All the compounds were characterized by ^1H , ^{13}C and ^{31}P NMR, IR and mass spectroscopy. Tests *in vitro* with, *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp. e *Fusarium solani*, known as patogenic in papaya (*Carica papaya* L.) were performed in order to confirm if the compounds showed fungicide activity.

The substance 6 B was the one with the best performance in the inhibition of all fungal growths. Finally, tests with acetylcholinesterase enzyme indicated that all substances did not inhibit this enzyme.

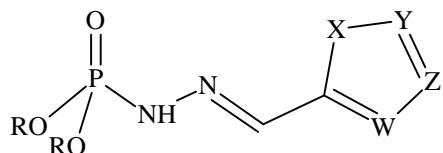


Figure 2 - General structures of dialkylphosphorylhydrazones synthesized.

R – Ethyl; propyl; isopropyl e isobutyl.

X = O, Y, Z e W = CH;
X = S, Y, Z e W = CH;
X = NH, Y, Z e W = CH;
X = NH, Y = CH, Z = CH e W = N;
X = CH, Y = N, Z = CH e W = N;

Key words: organophosphorus hydrazones, dialkylphosphorilhydrazones, biological activity, fungicide activity, *Carica papaya* L., papaya.

Índice de figuras

Figura 1- Estrutura genérica das dialquilfosforilidrazonas heterocíclicas sintetizadas.....	VI
Figura 2 - General structures of dialkylphosphoryhidrazones synthesized.....	VII
Figura 3-Inseticidas Octametilpirofosforamida (Scharadan) e Tetraetilpirofosfato (Bladan).	18
Figura 4 - Fungicidas comerciais atualmente utilizados.....	19
Figura 5 - Estruturas dos fungicidas utilizados em frutas e vegetais.....	21
Figura 6- Endoxan, utilizado como agente antitumoral.....	23
Figura 7- Reação de hidrólise da acetilcolina	24
Figura 8 - Destrução interna dos tecidos pelo ataque de patógenos em mamão.....	30
Figura 9 - Antracnose em mamões causados por patógenos.....	31
Figura 10 - Podridão causada pelo fungo <i>Alternaria alternata</i>	32
Figura 11 - Acetylcolina	32
Figura 12 - Estrutura do procloraz, princípio ativo do fungicida comercial Sportak ®	56
Figura 13 - Fungos cedidos pela micoteca da Fundação Oswaldo Cruz.	56
Figura 14 - Inoculação dos fungos nas placas de petri.....	57
Figura 15 - Adição das diferentes concentrações da substância 6 B.	58
Figura 16 - Aplicação dos compostos, do solvente e do padrão seguido do borriço da placa com as soluções (3) + (4).	59
Figura 17 - Principais absorções dos fosfonatos de dialquila no infravermelho.....	62
Figura 18 - Dados de RMN- ¹ H dos fosfonatos de dialquila.....	63
Figura 19 - Principais absorções das dialquilfosforilidrazinas no IV.	66
Figura 20 - Dados de RMN- ¹ H da diisobutilfosforilidrazina (8).....	68
Figura 21 - Dados de RMN- ¹³ C da diisobutilfosforilidrazina.	69
Figura 22 - Hidrogênio amínico e imídico.....	75
Figura 23 - Padrão de acoplamento dos hidrogênios metínicos das dipropilfosforilidrazonas.	75
Figura 24 - Padrões de multiplicidade dos hidrogênios metilênicos dos grupos alcóxidos acoplados com o fósforo.	76
Figura 25 - Tautômeros dos compostos a base de 4 (5)-imidazolcarboxialdeído.....	76
Figura 26 - Espectros de ³¹ P em CDCl ₃ e DMSO do composto 6 D.	77
Figura 27 - Espectro de hidrogênio do Composto 6 D em DMSO.	78
Figura 28 - Irradiação do H amídico e H vinílico, respectivamente.	78
Figura 29 - Espectros de NOESY dos hidrogênios aromáticos do composto 6 D em DMSO.	79
Figura 30 - Estrutura do composto 6 D.....	79
Figura 31 - Bioensaios realizados com o fungo <i>Alternaria sp</i>	88
Figura 32 - Crescimento do fungo <i>Alternaria sp</i> . por bioensaio.	92
Figura 33 - Bioensaios realizados com o fungo <i>Colletotrichum sp.</i>	94
Figura 34 - Crescimento do fungo <i>Colletotrichum sp.</i> por bioensaio.....	98
Figura 35 - Tratamentos realizados com o fungo do gênero <i>Fusarium sp</i> por semana.	100
Figura 36 - Crescimento do fungo <i>Fusarium sp.</i> por bioensaio.....	104
Figura 37 - Tratamentos realizados com o fungo do gênero <i>Fusarium solani</i> por semana.....	106
Figura 38 - Crescimento do fungo <i>Fusarium solani</i> por bioensaio.....	110
Figura 39 - Teste de inibição da enzima acetilcolinesterase.....	113
Figura 40 - Infravermelho do fosfonato de dietila (1) em célula de NaCl.....	132
Figura 41 - Espectro de RMN- ¹ H do fosfonato de dietila (1) em CDCl ₃ - 200MHz.....	133
Figura 42 - Infravermelho do fosfonato de dipropila (2) em célula de NaCl.....	134
Figura 43 - Espectro de RMN- ¹ H do fosfonato de dipropila (2) em CDCl ₃ - 400MHz.....	135
Figura 44 - Infravermelho do fosfonato de diisopropila (3) em célula de NaCl.	136
Figura 45 - Espectro de RMN- ¹ H do fosfonato de diisopropila (3) em CDCl ₃ - 200MHz.	137
Figura 46 - Infravermelho do fosfonato de isobutila (4) em célula de NaCl.	138
Figura 47 - Espectro de RMN- ¹ H do fosfonato de diisobutila (4) em CDCl ₃ - 200MHz.	139
Figura 48 - Infravermelho da dietilfosforilidrazina (5) em célula de NaCl.	140
Figura 49 - Espectro de massas da dietilfosforilidrazina (5).	141
Figura 50 - Espectro de RMN- ¹ H do dietilfosforilidrazina (5) em CDCl ₃ - 400MHz.	143
Figura 51 - Espectro de RMN- ¹³ C do dietilfosforilidrazina (5) em CDCl ₃ - 100MHz.	143

<i>Figura 52 - Infravermelho do dipropilfosforilidrazina (6) em célula de NaCl.....</i>	144
<i>Figura 53 - Espectro de massas do dipropilfosforilidrazina (6).....</i>	145
<i>Figura 54 - Espectro de RMN-¹H do dipropilfosforilidrazina (6) em CDCl₃ - 200MHz.....</i>	146
<i>Figura 55 - Espectro de RMN-¹³C do dipropilfosforilidrazina (6) em CDCl₃ - 50MHz.....</i>	147
<i>Figura 56 - Infravermelho da diisopropilfosforilidrazina (7) em célula de NaCl</i>	148
<i>Figura 57 - Espectro de massas da diisopropilfosforilidrazina (7)</i>	149
<i>Figura 58 - Espectro de RMN-¹H da diisopropilfosforilidrazina (7) em CDCl₃ - 200MHz</i>	150
<i>Figura 59 - Espectro de RMN-¹³C da diisopropilfosforilidrazina (7) em CDCl₃ - 50MHz</i>	151
<i>Figura 60 - Infravermelho da diisobutilfosforilidrazina (8) em célula de NaCl</i>	152
<i>Figura 61 - Espectro de massas da diisobutilfosforilidrazina (8)</i>	153
<i>Figura 62 - Espectro de RMN-¹H da diisobutilfosforilidrazina (8) em CDCl₃ - 200MHz</i>	154
<i>Figura 63 - Espectro de RMN-¹³C da diisobutilfosforilidrazina (8) em CDCl₃ - 50MHz</i>	155
<i>Figura 64 - Infravermelho do Ácido N'-[(1 E)-2- furanilmetíleno] dietiléster fosforilhidrazínico (5A) em célula de NaCl</i>	156
<i>Figura 65 - Espectro de massas do Ácido N'-[(1 E)-2- furanilmetíleno] dietiléster fosforilhidrazínico (5A).....</i>	157
<i>Figura 66 - Espectro RMN-¹H do Ácido N'-[(1 E)-2- furanilmetíleno] dietiléster fosforilhidrazínico (5A) em CDCl₃ - 400MHz</i>	158
<i>Figura 67 - Espectro RMN-¹³C do Ácido N'-[(1 E)-2- furanilmetíleno] dietiléster fosforilhidrazínico (5A) em CDCl₃ - 100MHz</i>	159
<i>Figura 68 - Espectro RMN-³¹P do Ácido N'-[(1 E)-2- furanilmetíleno] dietiléster fosforilhidrazínico (5A) em CDCl₃ - 162MHz</i>	160
<i>Figura 69 - Infravermelho do Ácido N'-[(1 E)-1H-pirrol-2-ilmetíleno] dietiléster fosforilhidrazínico (5B) em célula de NaCl</i>	161
<i>Figura 70 - Espectro de massas do Ácido N'-[(1 E)-1H-pirrol-2-ilmetíleno] dietiléster fosforilhidrazínico (5B) ..</i>	162
<i>Figura 71 - Espectro RMN-¹H do Ácido N'-[(1 E)-1H-pirrol-2-ilmetíleno] dietiléster fosforilhidrazínico (5B) em CDCl₃ - 400MHz</i>	163
<i>Figura 72 - Espectro RMN-¹³C do Ácido N'-[(1 E)-1H-pirrol-2-ilmetíleno] dietiléster fosforilhidrazínico (5B) em CDCl₃ - 100MHz</i>	164
<i>Figura 73 - Espectro RMN-³¹P do Ácido N'-[(1 E)-1H-pirrol-2-ilmetíleno] dietiléster fosforilhidrazínico (5B) em CDCl₃ - 162MHz</i>	165
<i>Figura 74 - Infravermelho do Ácido N'-[(1 E)-2- furanilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6A) em célula de NaCl</i>	166
<i>Figura 75 - Espectro de massas do Ácido N'-[(1 E)-2- furanilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6A)....</i>	167
<i>Figura 76 - Espectro RMN-¹H do Ácido N'-[(1 E)-2- furanilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6A) em CDCl₃ - 400MHz</i>	168
<i>Figura 77 - Espectro RMN-¹³C do Ácido N'-[(1 E)-2- furanilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6A) em CDCl₃ - 100MHz</i>	169
<i>Figura 78 - Espectro RMN-³¹P do Ácido N'-[(1 E)-2- furanilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6A) em CDCl₃ - 162MHz</i>	170
<i>Figura 79 - Infravermelho do Ácido N'-[(1 E)-2- tienilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6B) em célula de NaCl</i>	171
<i>Figura 80 - Espectro de massas do Ácido N'-[(1 E)-2- tienilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6B) ..</i>	172
<i>Figura 81 - Espectro de RMN-¹H do Ácido N'-[(1 E)-2- tienilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6B) em CDCl₃ - 400MHz</i>	173
<i>Figura 82- Espectro de RMN-¹H do Ácido N'-[(1 E)-2- tienilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6B) em DMSO - 400MHz</i>	174
<i>Figura 83 - Espectro de RMN-¹³C do Ácido N'-[(1 E)-2- tienilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6B) em CDCl₃ - 100MHz</i>	175
<i>Figura 84 - Espectro de RMN-³¹P do Ácido N'-[(1 E)-2- tienilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6B) em CDCl₃ - 162MHz</i>	176
<i>Figura 85 - Infravermelho do Ácido N'-[(1 E)- 1H-pirrol-2-ilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6C) em célula de NaCl</i>	177
<i>Figura 86 - Espectro de massas do Ácido N'-[(1 E)- 1H-pirrol-2-ilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6C)</i>	178
<i>Figura 87 - Espectro de RMN-¹H do Ácido N'-[(1 E)- 1H-pirrol-2-ilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6C) em CDCl₃ - 400MHz</i>	179

Figura 88 - Espectro de RMN- ¹³ C do Ácido N'-(1 E)- 1H-pirrol-2-ilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6C) em CDCl ₃ - 100MHz.....	180
Figura 89 - Espectro de RMN- ³¹ P do Ácido N'-(1 E)- 1H-pirrol-2-ilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6C) em CDCl ₃ - 162MHz.....	181
Figura 90 - Infravermelho do Ácido N'-(1 E)-4 H- imidazol-5-ilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6D) em célula de NaCl.....	182
Figura 91 - Espectro de massas do Ácido N'-(1 E)-4 H- imidazol-5-ilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6D).....	184
Figura 92 - Espectro de RMN- ¹ H do Ácido N'-(1 E)-4 H- imidazol-5-ilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6D) em CDCl ₃ - 400MHz	186
Figura 93 - Espectro de RMN- ¹ H do Ácido N'-(1 E)-4 H- imidazol-5-ilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6D) em DMSO - 400MHz	187
Figura 94 - Espectro de RMN- ¹³ C do Ácido N'-(1 E)-4 H- imidazol-5-ilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6D) em CDCl ₃ - 100MHz	188
Figura 95 - Espectro de RMN- ¹³ C do Ácido N'-(1 E)-4 H- imidazol-5-ilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6D) em DMSO - 100MHz.....	189
Figura 96 - Espectro de RMN- ³¹ P do Ácido N'-(1 E)-4 H- imidazol-5-ilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6D) em CDCl ₃ - 162MHz	191
Figura 97 - Espectro de RMN- ³¹ P do Ácido N'-(1 E)-4 H- imidazol-5-ilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6D) em DMSO - 162MHz	192
Figura 98 - Infravermelho do Ácido N'-(1 E)-2- furanilmetíleno] diisopropiléster fosforilhidrazínico (7A) em célula de NaCl.....	193
Figura 99 - Espectro de massas do Ácido N'-(1 E)-2- furanilmetíleno] diisopropiléster fosforilhidrazínico (7A).	194
Figura 100 - Espectro de RMN- ¹ H do Ácido N'-(1 E)-2- furanilmetíleno] diisopropiléster fosforilhidrazínico (7A) em CDCl ₃ - 400MHz.....	195
Figura 101 - Espectro de RMN- ¹³ C do Ácido N'-(1 E)-2- furanilmetíleno] diisopropiléster fosforilhidrazínico (7A) em CDCl ₃ - 100MHz.....	196
Figura 102 - Espectro de RMN- ³¹ P do Ácido N'-(1 E)-2- furanilmetíleno] diisopropiléster fosforilhidrazínico (7A) em CDCl ₃ -162MHz.....	197
Figura 103 – Infravermelho do Ácido N'-(1 E)-2- furanilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8A) em célula de NaCl.....	198
Figura 104 - Espectro de massas do Ácido N'-(1 E)-2- furanilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8A).	199
Figura 105 - Espectro de RMN- ¹ H do Ácido N'-(1 E)-2- furanilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8A) em CDCl ₃ - 400MHz.....	200
Figura 106 - Espectro de RMN- ¹³ C do Ácido N'-(1 E)-2- furanilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8A) em CDCl ₃ - 100MHz.....	201
Figura 107 - Espectro de RMN- ³¹ P do Ácido N'-(1 E)-2- furanilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8A) em CDCl ₃ - 162MHz.....	202
Figura 108 - Infravermelho do Ácido N'-(1 E)-2- tienilmetíleno]- diisobutilléster fosforilhidrazínico (8B) em célula de NaCl	204
Figura 109 - Espectro de massas do Ácido N'-(1 E)-2- tienilmetíleno]- diisobutilléster fosforilhidrazínico (8B). 205	
Figura 110 - Espectro de RMN- ¹ H do Ácido N'-(1 E)-2- tienilmetíleno]- diisobutilléster fosforilhidrazínico (8B) em CDCl ₃ - 400MHz.....	206
Figura 111 - Espectro de RMN- ¹ H do Ácido N'-(1 E)-2- tienilmetíleno]- diisobutilléster fosforilhidrazínico (8B) em DMSO-400MHz.....	208
Figura 112 - Espectro de RMN- ¹³ C do Ácido N'-(1 E)-2- tienilmetíleno]- diisobutilléster fosforilhidrazínico (8B) em CDCl ₃ -100MHz.....	208
Figura 113 - Espectro de RMN- ³¹ P do Ácido N'-(1 E)-2- tienilmetíleno]- diisobutilléster fosforilhidrazínico (8B) em CDCl ₃ -162MHz.....	210
Figura 114 - Infravermelho do Ácido N'-(1 E)-1H-pirrol-2-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8C) em célula de NaCl	211
Figura 115 - Espectro de massas do Ácido N'-(1 E)-1H-pirrol-2-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8C).	212
Figura 116 - Espectro de RMN- ¹ H do Ácido N'-(1 E)-1H-pirrol-2-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8C) em CDCl ₃ -400MHz	213

<i>Figura 117 - Espectro de RMN-¹³C do Ácido N’-[(1 E)-1H-pirrol-2-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8C) em CDCl₃-100MHz.</i>	214
<i>Figura 118 - Espectro de RMN-³¹P do Ácido N’-[(1 E)-1H-pirrol-2-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8C) em CDCl₃-162MHz.</i>	215
<i>Figura 119 - Infravermelho do Ácido N’-[(1 E)-1 H- imidazol-2-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8D) em célula de NaCl.</i>	216
<i>Figura 120 - Espectro de massas do Ácido N’-[(1 E)-1 H- imidazol-2-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8D).</i>	217
<i>Figura 121 - Espectro de RMN-¹H do Ácido N’-[(1 E)-1 H- imidazol-2-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8D) em CDCl₃-400MHz.</i>	218
<i>Figura 122 - Espectro de RMN-¹H do Ácido N’-[(1 E)-1 H- imidazol-2-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8D) em DMSO-400MHz.</i>	219
<i>Figura 123 - Espectro de RMN-¹³C do Ácido N’-[(1 E)-1 H- imidazol-2-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8D) em CDCl₃-100MHz.</i>	220
<i>Figura 124 - Espectro de RMN-³¹P do Ácido N’-[(1 E)-1 H- imidazol-2-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8D) em CDCl₃-162MHz.</i>	221
<i>Figura 125 - Infravermelho do Ácido N’-[(1 E)- 4 H-imidazol-5-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8E) em célula de NaCl.</i>	222
<i>Figura 126 - Espectro de massas do Ácido N’-[(1 E)- 4 H-imidazol-5-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8E).</i>	223
<i>Figura 127 - Espectro de RMN-¹H do Ácido N’-[(1 E)- 4 H-imidazol-5-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8E) em CDCl₃-400MHz.</i>	224
<i>Figura 128 - Espectro de RMN-¹H do Ácido N’-[(1 E)- 4 H-imidazol-5-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8E) em DMSO-400MHz.</i>	225
<i>Figura 129 - Espectro de RMN-¹³C do Ácido N’-[(1 E)- 4 H-imidazol-5-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8E) em CDCl₃-100MHz.</i>	226
<i>Figura 130 - Espectro de RMN-³¹P do Ácido N’-[(1 E)- 4 H-imidazol-5-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8E) em CDCl₃-162MHz.</i>	227

Índice de Esquemas

<i>Esquema 1 - Reação de cloretos de fósforo com aminas.</i>	22
<i>Esquema 2-Síntese de fosforoamidas a partir de fosfito de cloridrato de dialquila.....</i>	23
<i>Esquema 3-Fosforilação de aminas em sistema bifásico com fosfonato de dialquila e CCl₄.....</i>	23
<i>Esquema 4 - Mecanismo de Inibição da acetilcolinesterase por inseticidas organofosforados.....</i>	25
<i>Esquema 5 - Fragmento triatômico mínimo que caracteriza as hidrazonas.</i>	26
<i>Esquema 6 - Síntese regioseletiva de pirazóis substituídos a partir de nitroolefinas e hidrazonas.</i>	27
<i>Esquema 7 - Síntese de oxazóis a partir de acilidrazone e isocianatos.</i>	27
<i>Esquema 8 - Rota de síntese das dialquilfosforilidrazonas.....</i>	60
<i>Esquema 9 - Síntese dos fosfonatos de dialquila.....</i>	60
<i>Esquema 10 - Mecanismo para obtenção dos fosfonatos de dialquila.</i>	61
<i>Esquema 11 - Síntese das dialquilfosforilidrazinas.</i>	65
<i>Esquema 12 - Provável mecanismo da reação de síntese das dialquilfosforilidrazinas.</i>	65
<i>Esquema 13 - Proposta de fragmentação dos principais picos da diisobutilfosforilidrazina.....</i>	67
<i>Esquema 14 - Proposta de fragmentação para o diisobutilfosforilidrazona (Continua).</i>	73
<i>Esquema 15 - Continuação.</i>	74
<i>Esquema 16 - Reação da enzima acetilcolinesterase.</i>	114

Índice de Tabela

<i>Tabela 1 - Rendimentos dos fosfonatos de dialquinas obtidos.....</i>	62
<i>Tabela 2 - Dados de IV das principais bandas de absorção dos fosfonatos de dialquinas.</i>	62
<i>Tabela 3 - Dados de RMN-¹H dos fosfonatos de dialquila.</i>	64
<i>Tabela 4 - Rendimentos das dialquilfosforilidrazinas.</i>	66
<i>Tabela 5 - Principais bandas de absorção de IV das dialquilfosforilidrazinas (cm⁻¹).</i>	67
<i>Tabela 6-Deslocamentos químicos (ppm), multiplicidade e constantes de acoplamento (Hz).</i>	68
<i>Tabela 7 - Dados de RMN-¹³C das dialquilfosforilidrazinas.</i>	69
<i>Tabela 8 - Dados dos compostos sintetizados.</i>	70
<i>Tabela 9 - Principais absorções das dialquilfosforilidrazonas no IV em célula de NaCl.....</i>	71
<i>Tabela 10 - Dados de RMN-¹H das dialquilfosforilidrazonas (Continua).</i>	80
<i>Tabela 11 - Continuação.....</i>	81
<i>Tabela 12 - Dados de RMN-¹³C das dialquilfosforilidrazonas.</i>	84
<i>Tabela 13 - Dados de RMN-³¹P das dialquilfosforilidrazonas.</i>	85
<i>Tabela 14 - Inibição de crescimento fúngico com os fungos testados.....</i>	87
<i>Tabela 15 - Área (cm²) e σ do crescimento do fungo do gênero Alternaria sp. por semana.....</i>	90
<i>Tabela 16 - Crescimento do fungo do gênero Alternaria sp. por semana.</i>	91
<i>Tabela 17 - Equação da reta dos tratamentos testados no fungo Alternaria sp. por semana.....</i>	93
<i>Tabela 18 - Área (cm²) e σ do crescimento do fungo do gênero Colletotrichum sp. por semana.</i>	96
<i>Tabela 19 - Crescimento do fungo do gênero Colletotrichum sp. por semana.....</i>	97
<i>Tabela 20 - Equação da reta dos tratamentos testados no fungo Colletotrichum sp. por semana.</i>	99
<i>Tabela 21 - Área (cm²) e σ do crescimento do fungo do gênero Fusarium sp.</i>	102
<i>Tabela 22 - Crescimento do fungo do gênero Fusarium sp. por semana.</i>	103
<i>Tabela 23 - Equação da reta dos tratamentos testados no fungo Fusarium sp. por semana.</i>	105
<i>Tabela 24 - Área (cm²) e σ do crescimento do fungo do gênero Fusarium solani por semana.</i>	108
<i>Tabela 25 - Crescimento do fungo do gênero Fusarium solani. por semana.....</i>	109
<i>Tabela 26 - Equação da reta dos tratamentos testados no fungo Fusarium solani por semana.</i>	111
<i>Tabela 27 - Área (cm²) de crescimento e σ do fungo Alternaria sp. p=0,51.</i>	112
<i>Tabela 28 - Área (cm²) de crescimento e σ do fungo Colletotrichum sp. p=0,39.</i>	112
<i>Tabela 29 - Área (cm²) de crescimento e σ do fungo Fusarium sp. p=0,44.</i>	113
<i>Tabela 30 - Área (cm²) de crescimento e σ do fungo Fusarium solani p=0,59.</i>	113

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ACh	Aceticolina
°C	Graus Celsius
CMI	Concentração mínima inibitória
d	duplo
dd	duplo duplo
DMSO	Dimetilsulfóxido
DTNB	Ácido 5,5-ditiobis (2-nitrobenzóico)
dq	duplo quarteto
dquint	duplo quinteto
dt	duplo triplo
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
M	Molar
m	multiplo
ppm	partes por milhão
RMN- ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN- ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN- ³¹ P	Ressonância Magnética Nuclear de Fósforo 31
s	simpleto
T	Temperatura
t	Tripleto
δ	Deslocamento químico (na análise pela espectrometria de RMN)
Δ	Aquecimento
t.a.	temperatura ambiente
σ	desvio padrão

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1. REVISÃO DA LITERATURA.....	20
1.1.1. <i>Defensivos agrícolas</i>	20
1.1.2. <i>Compostos Organofosforados</i>	21
1.1.3. <i>Hidrazonas</i>	25
1.1.4. <i>Mamão (Carica papaya L.)</i>	27
1.1.5. <i>Doenças Pós- Colheita</i>	29
1.1.6. <i>Acetilcolina</i>	32
2. OBJETIVO	34
3. MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	35
3.2. SÍNTESE DOS FOSFONATOS DE DIALQUILA (KOSALOPOFF & MAIER, 1973).	36
3.2.1 <i>Síntese do fosfonato de dietila (1)</i>	36
3.2.2. <i>Síntese do fosfonato de dipropila (2)</i>	37
3.2.3. <i>Síntese do fosfonato de diisopropila (3)</i>	37
3.2.4. <i>Síntese do fosfonato de diisobutila (4)</i>	37
3.3. SÍNTESE DAS DIALQUILFOSFORILIDRAZINAS (ZHAO ET AL.; 1988).	38
3.3.1 <i>Síntese da dietilfosforilidrazina (5)</i>	38
3.3.2 <i>Síntese da dipropilfosforilidrazina (6)</i>	39
3.3.3 <i>Síntese da diisopropilfosforilidrazina (7)</i>	39
3.3.4 <i>Síntese da diisobutilfosforilidrazina (8) - Reação do fosfonato de diisobutila com a hidrazina.</i>	40
3.4. SÍNTESE DAS DIALQUILFOSFORILIDRAZONAS.....	41
3.4.1 <i>Reação do furfural com dietilfosforilidrazina-Ácido N'-[(1 E)-2- furanilmetíleno] dietiléster fosforilidrazínico (5A)</i>	41
3.4.3 Reação do furfural com dipropilfosforilidrazina- Ácido N'-(1 E)-2- furanilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6A).....	43
3.4.5 Reação do tiofurfural com dipropilfosforilidrazina - Ácido N'-(1 E)-2- tienilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6B).....	44
3.4.7 Reação do 4 (5) imidazolcarboxialdeído com dipropilfosforilidrazina- Ácido N'- [(1 E)-4 H- imidazol-5-ilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6D).	47
3.4.8. Reação do Furfural com diisopropilfosforilidrazina- Ácido N'-(1 E)-2- furanilmetíleno] diisopropiléster fosforilhidrazínico (7A).	48
3.5 ENSAIO BIOLÓGICO	56
3.6. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA DO CRESCIMENTO FÚNGICO.	58
3.7. TESTE DE INIBIÇÃO PARA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE.	58
3.7.1. <i>Ensaio em cromatografia de camada delgada (CCD)</i>	58
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	60
4.1 OBTENÇÃO DAS DIALQUILFOSFORILIDRAZONAS	60
4.1.1 Síntese dos fosfonatos de dialquila	60
4.1.2. Determinação estrutural dos fosfonatos de dialquila	62
4.1.2.1 Análise por espectrometria de infravermelho	62
4.1.2.2. Análise por espectrometria de RMN- ¹ H.....	63
4.1.3. Síntese das dialquilfosforilidrazinas.	65
4.1.4. Determinação estrutural das dialquilfosforilidrazinas.....	66
4.1.4.1. Análise por espectrometria de infravermelho.....	66
4.1.4.2. Análise por espectrometria de massas.....	67
4.1.4.3. Análise por espectrometria de RMN- ¹ H.....	68
4.1.4.4. Análise por espectrometria de RMN- ¹³ C	68
4.1.5 Síntese das dialquilfosforilidrazonas.	69
4.1.6. Determinação estrutural das dialquilfosforilidrazonas.....	71
4.1.6.1. Análise por espectrometria de infravermelho.....	71

<i>4.1.6.2. Análise por espectrometria de massas.</i>	72
<i>4.1.6.3. Análise por espectrometria de RMN-¹H</i>	74
<i>4.1.6.4. Análise por espectrometria de RMN-¹³C</i>	83
<i>4.1.6.5. Análise por espectrometria de RMN-³¹P</i>	85
<i>4.2. ENSAIOS BIOLÓGICOS.....</i>	86
<i>4.2.1. Avaliação da atividade fungicida.....</i>	86
<i>4.2.2. Resultados dos compostos ao fungo do gênero <i>Alternaria sp.</i>.....</i>	88
<i>4.2.3. Resultados dos compostos ao fungo do gênero <i>Colletotrichum sp.</i>.....</i>	94
<i>4.2.4. Resultados das substâncias ao fungo do gênero <i>Fusarium sp.</i>.....</i>	100
<i>4.2.5. Resultados dos compostos ao fungo do gênero <i>Fusarium solani</i>.....</i>	106
<i>4.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA DO CRESCIMENTO FÚNGICO.....</i>	112
<i>4.4 ENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DE INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE.</i>	113
<i>4.4.1. Avaliação da inibição da acetilcolinesterase.....</i>	113
5. CONCLUSÃO.....	115
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	116

1. INTRODUÇÃO

A história da humanidade é marcada por uma quantidade inacreditável de prejuízos causados por pragas agrícolas. Relatos bíblicos descrevem grandes períodos de escassez causados por invasões de gafanhotos. Na Irlanda, por volta de 1845, milhares de pessoas morreram de fome em consequência da requeimada-batata, doença que dizimou a cultura de batata daquela região, causada pelo fungo *Phytophthora infestans* (TURK, 1989). Em Bengala, na Índia, a fome foi causa da morte de inúmeras pessoas devido à doença causada por fungo, que infestou mais de 50% das lavouras de arroz. Em 1870, no Sri Lanka, a cultura de café foi devastada pela ferrugem e teve que ser substituída pela de chá. O Brasil, na década de 20, sofreu consequências do vírus do mosaico da cana de açúcar. A disseminação do vírus foi rápida, a redução do porte dos canaviais, marcante (MAFFIA & MIZUBUTI, 1999). O Brasil também presenciou a devastação da cultura de cacau pela vassoura-de-bruxa na região de Itabuna e Ilhéus, na Bahia. Esta doença, além de consequências econômicas, ocasionou sérios problemas sociais como o êxodo rural e o desemprego, assim como ecológicos, como a destruição de partes da Mata Atlântica (ZAMBOLIM, 1999).

A cada dia o homem vem modificando o meio em que vive e o desenvolvimento de novas tecnologias possibilitaram a ampliação de sua influência sobre a natureza. O homem utiliza o meio ambiente como fonte de matéria e de energia necessárias a sua vida ou como receptáculo de seus produtos e resíduos (MOTA, 1981).

Os impactos ambientais agravam-se à medida que a população humana aumenta. Como consequência, aumenta a necessidade de uma crescente produção alimentar que leva a produção agrícola intensificada (RUDNICK, 2004). Entretanto, a prática da agricultura intensiva requer, além do emprego adequado dos fertilizantes, proteção das plantas contra insetos, fungos e ervas daninhas (FELLENBERG, 1980). Para este fim, são utilizados compostos químicos denominados agrotóxicos ou pesticidas (SANTOS, 1996).

Há muito tempo já se utilizavam produtos químicos no controle de pragas da agricultura para que não haja diminuição da produtividade agrícola. No início, utilizava-se apenas um pequeno número de compostos inorgânicos, principalmente aqueles baseados em formulações envolvendo os elementos químicos como cobre e arsênio (VEIGA *et al.*; 2006)

Para combater essas pragas agrícolas, como também as que surgiram na pecuária, e encontrar um novo equilíbrio ecológico, foi introduzido o uso de certos produtos químicos, cujos número e eficácia não pararam de aumentar (SENENT, 1979).

Esses produtos, conhecidos como pesticidas, são substâncias usadas na agropecuária e na saúde pública e abrangem os inseticidas, os herbicidas e os fungicidas (TORRES, 1998).

Existem vários produtos químicos que são utilizados no controle de pragas. Mais de 300 princípios ativos distribuídos em mais de 2.000 formulações são empregados nas mais variadas culturas, finalidades e modalidades de uso. Dos compostos usados em grande escala, encontram-se, inicialmente, os organofosforados, carbamatos, piretróides e toda série de derivados de triazinas, dentre outros (LARA & BATISTA, 1992).

Suas funções básicas na agricultura incluem a elevação da produção com aumento da produtividade, a melhoria da qualidade dos produtos e a redução do trabalho e dos gastos com energia (COUTINHO *et al.*, 2005).

A descoberta das propriedades inseticidas do DDT (1940) e do HCH (1940-1942) deu grande impulso no combate aos insetos, de modo que, a partir da década de 1940, os inseticidas organoclorados foram amplamente utilizados na agricultura, na indústria pecuária, nos programas de combate a insetos transmissores de doenças e nas campanhas de saúde pública (BUOSI *et al.*, 2004).

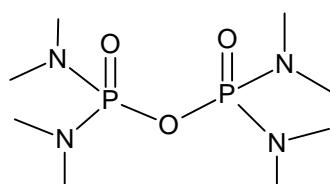
Este notável progresso em relação à redução de perda de vidas humanas e animais e o aumento de rendimentos das culturas, teve êxitos comerciais imediatos nos Estados Unidos da

América e na Europa. Sempre que se manifestava uma escassez de mão de obra ou a mesma era muito dispendiosa, o uso de herbicidas poupava o trabalho fatigante de controle das ervas daninhas (infestantes). A partir de então, os pesticidas têm sido vastamente aceitos como sendo essenciais na produção de alimentos para uma população global em expansão (BOLAND *et al.*, 2005).

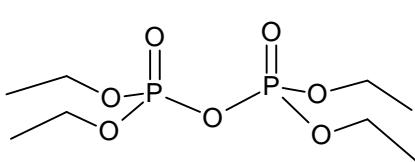
Mais tarde, quando a comunidade científica passou a conhecer melhor os mecanismos de atuação dos agrotóxicos organoclorados no meio ambiente e seus efeitos à saúde humana, foi que a utilização dos mesmos começou a ser substituída por outros que não fossem inibidores da enzima acetilcolinesterase. Esta enzima é responsável pela hidrólise da acetiltiocolina em colina e ácido acético nas sinapses colinérgicas de vertebrados e invertebrados. Quando é inibida ocorre acumulação de acetiltiocolina na fenda sináptica causando disruptão da função nervosa que pode ter consequências letais para o organismo (MAYER *et al.*; 1992). Os compostos organoclorados são caracterizados pela persistência no meio ambiente e pela tendência de acumulação na cadeia trófica (NEMR & ABD-ALLAH, 2004).

Com essa evolução científica, os agrotóxicos organoclorados que até então cumpriam um papel fundamental no controle de pragas, foram gradativamente substituídos por compostos organofosforados e carbamatos (VEIGA *et al.*, 2006). Estes últimos, apresentam a vantagem de serem mais biodegradáveis e terem menos persistência no ambiente (PEHKONEN & ZHANG, 2002).

A aplicação industrial e comercial de compostos organofosforados na agricultura começou com Schrader e colaboradores, que descobriram, em 1941, o inseticida octametilpirofosforamida, Figura 3, que foi chamado de Scharadan. Depois deste, grande número de inseticidas ésteres organofosforados também foram descobertos, incluindo o primeiro com práticas inseticidas, o tetraetilpirofosfato chamado de Bladan ou TEEP, Figura 3, preparado na Alemanha em 1944. A síntese do tetraetilpirofosfato foi realizada pela primeira vez por Moschine e então por De Clemont em 1854 sendo repetida por vários autores, incluindo Nilén em 1930. Contudo, o TEEP causava perturbações como náuseas e dificuldades supertóxicas e apesar disso foi muito usado na Alemanha, como substituto da nicotina para matar pulgões (SANTOS *et al.*, 2007).



Octametilpirofosforamida (Scharadan)



Tetraetilpirofosfato -TEEP (Bladan).

Figura 3-Inseticidas Octametilpirofosforamida (Scharadan) e Tetraetilpirofosfato (Bladan).

Nos anos 80 e 90 a evolução dos produtos químicos foi muito rápida. Nessas duas décadas apareceram os produtos de segunda geração como os fosforados sistêmicos, carbamatos sistêmicos, sulforados e piretróides, os produtos de terceira geração como os microbianos metharhizium, bacillus e baculovirus, os produtos de quarta e quinta geração como os hormônios juvenis e anti-hormônios, respectivamente. A evolução dos agroquímicos tem sido constante, procurando sempre minimizar os riscos da contaminação aos seres humanos e ao meio ambiente. Ao analisar-se a evolução das doses de recomendação dos defensivos agrícolas atuais comparando com os defensivos utilizados nos anos 60 e 70, verifica-se uma

redução das doses de aplicação em cerca de 80%. Quando aplicados de forma inadequada na lavoura, essas substâncias podem contaminar cursos de água, além de gerarem resíduos em produtos agrícolas. Animais que ingerem água ou alimentos contendo essas substâncias podem depositá-las na gordura e músculos inclusive no leite. A presença de resíduos de pesticidas nesse produto e em seus derivados é muito comum em todo mundo, sendo esses compostos considerados potenciais perigos à saúde pública (NERO *et al.*; 2007).

No Brasil, o consumo de agrotóxicos cresceu bastante nas últimas décadas. As conquistas do agronegócio resultam do avanço tecnológico que se verificou na agricultura brasileira. Os sucessivos aumentos na produtividade agrícola brasileira não teriam sido alcançados sem a correta e segura utilização dos defensivos agrícolas, setor que vem crescendo muito no País. O segmento vem apresentando faturamento crescente nos últimos anos, atingindo US\$ 7,1 bilhão em 2008, com alta de 30% em relação a 2007 (US\$ 5,4 bilhão). Os números colocam o Brasil na liderança no consumo mundial de agroquímicos, posição antes ocupada pelos Estados Unidos (ABIFINA¹, 2009).

Desde o início da química dos organofosforados e das hidrazonas há mais de 100 anos, até os dias de hoje foram sintetizados uma ampla gama de compostos com diferentes substituintes, compreendendo as mais diversas estruturas. Apesar de quimicamente distintos, esses compostos possuem um amplo e semelhante espectro de aplicações. Esta afirmativa pode ser atribuída ao fato de ambos serem utilizados em áreas variadas, compreendendo desde o ramo agrícola, como pesticidas, passando pelo setor industrial, como, por exemplo, antioxidantes, até a aplicação na medicina (TOY, 1977; KITAEV *et al.*; 1970).

Na área medicinal, tanto os compostos organofosforados quanto as hidrazonas têm sido destaque nas últimas décadas, apresentando ação contra as mais variadas patologias. Como exemplo, pode-se citar os bisfosfonatos, que têm sido utilizados com sucesso no tratamento de doenças ósseas (NUGENT *et al.*; 1994; LANÇAS *et al.*; 2005), assim como alguns fosforamidatos e fosfatos, que têm apresentado ação eficaz como antiretrovirais (DE CLERCQ, 2001; UCKUN *et al.*; 2005). Já as hidrazonas têm sido relatadas como substâncias com potencial atividade analgésica, antimicrobiana, antitumoral, dentre outras (BARREIRO *et al.*; 2000; BARREIRO *et al.*; 2002).

Em função do potencial dos compostos organofosforados e das hidrazonas para atividade inseticida e em virtude da ampla versatilidade e aplicabilidade destes compostos, decidiu-se sintetizar e investigar a atividade fungicidas de novas dialquilafosforilhidrazonas derivados de alguns compostos heterocíclicos, através da reação de Todd-Atherton modificada (ZHAO *et al.*; 1988), combinando as potencialidades dessas três classes de compostos e com base nos fungicidas comerciais Imazalil (1), Procloraz (2) e Tebupirinfós (3), Figura 4, por apresentarem certa similaridade.

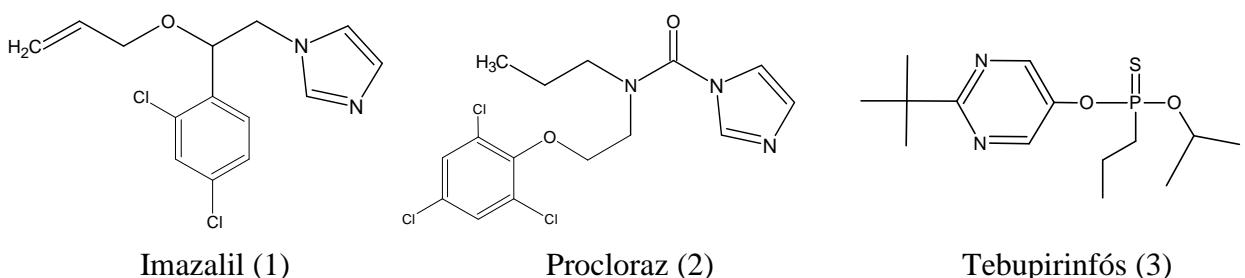


Figura 4 - Fungicidas comerciais atualmente utilizados.

¹ ABIFINA – Associação Brasileira das Indústrias de Química Fina.

1.1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1.1. *Defensivos agrícolas*

São produtos destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens e na proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas. Também são usados em ambientes urbanos, hídricos e industriais, com a finalidade de alterar a composição da flora e da fauna, de modo a preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como de substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores do crescimento. Exclui-se da definição de defensivo agrícola os fertilizantes e os produtos químicos administrados a animais para estimular crescimento ou modificar comportamento reprodutivo (ABIFINA, 2009).

Estudos e experiências exaustivas e contínuas no campo da agronomia, saúde, meio ambiente e manuseio tem comprovado a eficiência e segurança dos defensivos agrícolas quando usados corretamente e adequadamente. (SANTOS, 2005).

Defensivos agrícolas são chamados também de produtos agroquímicos ou, preconceituosamente, de agrotóxicos - este último, inclusive, é o termo bastante utilizado no Brasil em função da definição equivocadamente dada em legislação nacional (ABIFINA, 2009).

Os pesticidas podem ser classificados em herbicidas, empregados no combate de ervas daninhas, em fungicidas, utilizados no controle de fungos patogênicos, em nematocidas, aplicados para matar nematódios parasitas e em inseticidas, usados no controle de insetos (MELLANBY, 1980).

As conquistas do agronegócio resultam do avanço tecnológico que se verificou na agricultura brasileira. Os sucessivos aumentos na produtividade agrícola brasileira não teriam sido alcançados sem a correta e segura utilização dos defensivos agrícolas, setor que vem crescendo muito no País (ABIFINA, 2009).

Producir sem usar defensivos agrícolas em 8 importantes culturas como arroz, milho, batata, soja, algodão, café, trigo e cevada, significa perdas de até 70% de produtividade causadas pela incidência de insetos, doenças e plantas daninhas.

O uso de pesticidas tornou-se parte integrante da agricultura moderna sendo necessários para assegurar boas colheitas garantindo aumento da produção e da produtividade. Segundo WILSON e TISDELL, (2001) o consumo mundial de pesticidas tem chegado a 2,6 milhões de toneladas. Deste total, 85% são utilizados na agricultura. No Brasil, o consumo ultrapassa 80 mil toneladas por ano (RUDNICK, C. A. M., 2004).

Os pesticidas podem combater as pragas e microorganismos prejudiciais por meio do contato direto ou de outros tipos de exposição durante as fases de crescimento da cultura. A produção da planta pode ser protegida durante as fases de conservação, armazenamento, transporte, distribuição e processamento. Os produtos podem ser as culturas, os produtos agrícolas (depois da colheita), mercadorias agrícolas ou rações animais (BOLAND *et al*, 2005).

Originalmente, os defensivos químicos possuíam baixa solubilidade e tinham um forte poder de adesão ao solo. Com a evolução tecnológica, os defensivos químicos passaram a ser mais solúveis em água, possuir baixa capacidade de adesão e ser mais voláteis. Essas inovações tecnológicas criaram defensivos químicos cada vez mais potentes, persistentes e eficientes para combater as pragas (VEIGA *et al*, 2006). Na Figura 5 pode-se observar a estrutura dos

fungicidas mais utilizados em frutas e vegetais, como o carbendazim, muito utilizado no Brasil (COUTINHO *et al*; 2005).

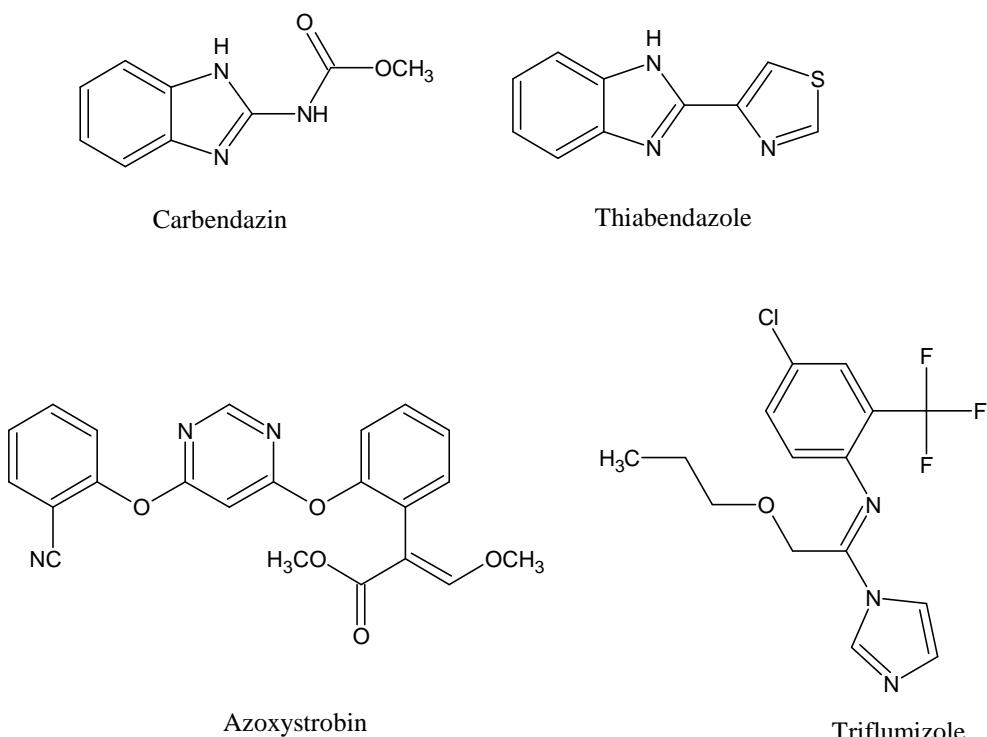


Figura 5 - Estruturas dos fungicidas utilizados em frutas e vegetais.

1.1.2. Compostos Organofosforados

O início da química dos compostos organofosforados remonta ao final do século XIX. O fundador da química dos organofosforados foi A. Michaelis, que explorou a nucleofilicidade do átomo de fósforo em fosfonatos de dialquila e fosfonatos de trialquila, descobrindo duas importantes reações, que se constituem até os dias atuais nas rotas de síntese para a obtenção de fosfonatos de dialquila. Estas reações são, respectivamente, a reação de Michaelis-Becker, que data de 1897 e a reação de Michaelis-Arbuzov, estudada entre 1898 e 1906 (CADOGAN & HODGSON, 1987).

Os compostos de fósforos são alguns dos precursores necessários à vida e assim estão presentes na natureza desde os primórdios. No entanto, o estudo de sua química é relativamente recente. Os compostos orgânicos de fósforo são os constituintes essenciais do protoplasma, tecidos nervosos e ossos e são de fundamental importância para a manutenção da vida, como por exemplo, ácidos nucléicos, coenzimas nucleotídeos, intermediários metabólicos e fosfatídeos (KIRK-OTHMER, 1951).

O fósforo (P) é crucial no metabolismo das plantas, desempenhando papel importante na transferência de energia da célula, na respiração e na fotossíntese. As limitações na disponibilidade de P no início do ciclo vegetativo podem resultar em restrições no desenvolvimento, das quais a planta não se recupera posteriormente, mesmo aumentando o suprimento de P a níveis adequados. (GRANT *et al.*; 2001).

Muitos compostos organofosforados são produzidos artificialmente para usos práticos como lubrificantes, plastificantes, estabilizantes, aditivos para combustíveis, antioxidantes, agentes de flotação de minério, fertilizantes e pesticidas (FISHER *et al*, 1961)

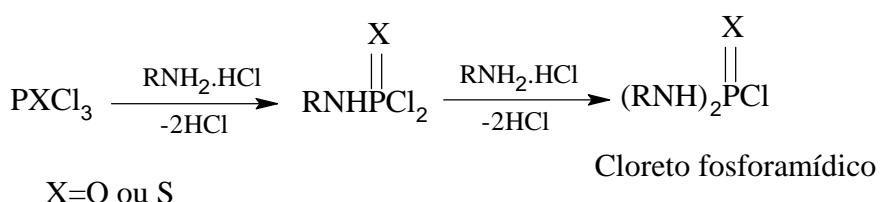
Os primeiros compostos organofosforados foram preparados por alquimistas na Idade Média, mas seu estudo sistemático teve início no século XIX, por Lassaigne em 1820, com a esterificação de ácido fosfórico. Vinte cinco anos mais tarde, uma série de derivados de fosfinas foi preparada por Thinard e colaboradores. A partir destes trabalhos o progresso da investigação dos compostos de fósforo foi rápido. A descoberta das propriedades tóxicas e inseticidas de alguns compostos de fósforo por Shrader e colaboradores, em 1930, criou novos compostos organofosforados nas indústrias. A química destes compostos foi estudada, em 1949, por G. M. Kosolapoff e trabalhos mais recentes de revisão podem ser encontrados na literatura de Coffey (DaCOSTA *et al*, 2007).

Michaelis executou muitos trabalhos e forneceu um alicerce para este campo, particularmente para a química de compostos contendo a ligação P-N (MICHAELIS, 1903).

A utilidade de reagentes organofosforados, em síntese orgânica geral, baseia-se na facilidade com que é possível progredir de um número de coordenação mais baixo para um número de coordenação mais elevado [P(III) → P(IV) → P(V) → P(VI)] e, ocasionalmente, retornar [P(VI) → P(V)]. Isto se deve a alguns fatores: (a) a elevada nucleofilicidade de compostos contendo fósforo trivalente para uma ampla classe de eletrófilos; (b) as fortes ligações que o átomo de fósforo forma com o oxigênio (particularmente P=O e P-O), enxofre, nitrogênio, halogênio e carbono; (c) e a capacidade do átomo de fósforo estabilizar ânions adjacentes (CADOGAN, 1979).

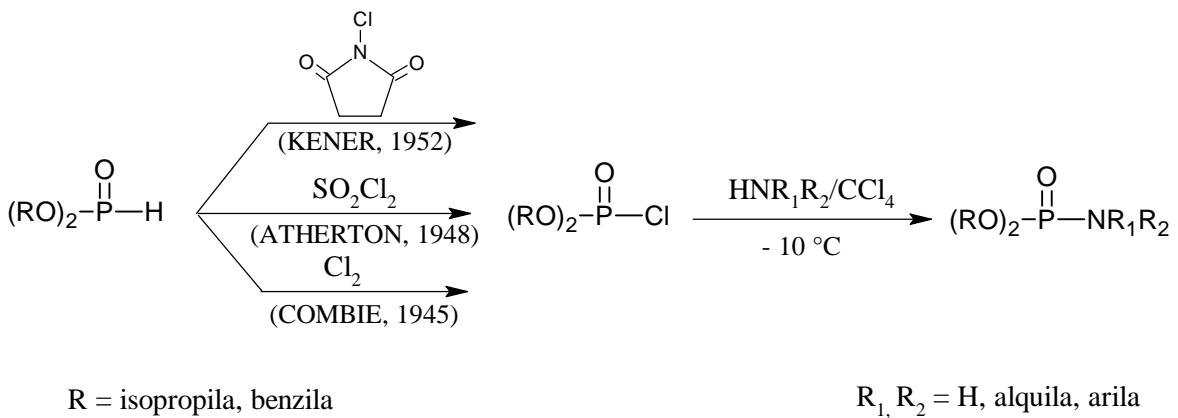
Dentre os compostos de fósforo, o tricloreto de fósforo (PCl_3) se apresenta como o reagente fosforado mais utilizado na síntese de compostos organofosforados e demais outros compostos por ser extremamente reativo, possuindo diversas aplicações sintéticas (COTTON, 1988).

A ligação P-N, que caracteriza as fosforamidas, alvo do nosso trabalho, é geralmente formada por reações de cloretos de fósforo (PCl_3), cloreto de fosforila ou compostos trivalentes de fósforo com diferentes aminas ou amônia (TOY, 1976; FISHER & VAN WAZER, 1961), Esquema 1.



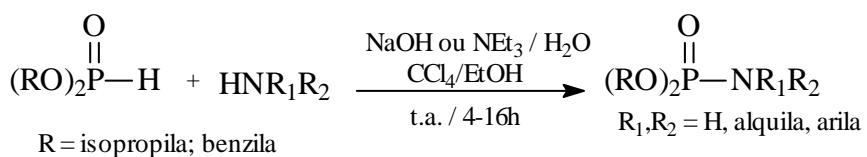
Esquema 1 - Reação de cloretos de fósforo com aminas.

Os métodos de síntese de fosforamidas foram descritos a partir de 1945 com uma série de trabalhos realizados por ATHERTON *et al.*(1945). Nas publicações iniciais eram usados fosforilcloridratos de dialquila como agentes de fosforilação em meio anidro, conforme descrito no Esquema 2.



Esquema 2-Síntese de fosforoamidas a partir de fosfito de cloridrato de dialquila.

Posteriormente descobriram que os fosfonatos de dialquila reagiam diretamente com aminas e tetracloreto de carbono em meio básico, de modo mais brando e com resultados igualmente satisfatórios (ATHERTON *et al.*;1945). Foi desenvolvida, com pequenas modificações nos métodos de ATHERTON *et al.*(1945) uma nova reação de fosforilação de aminas, Esquema 3. Estas modificações melhoraram, principalmente, os rendimentos das reações com aminoácidos e com aminas insolúveis em tetracloreto de carbono (ZHAO *et al.* (1984;1988)).



Esquema 3-Fosforilação de aminas em sistema bifásico com fosfonato de dialquila e CCl_4 .

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

Os compostos organofosforados também se destacam na bioquímica e medicina, como o ciclofosfamida (Endoxan) mostrado na Figura 6, ativo como agente antitumoral (ARNOLD *et al.*; 1961).

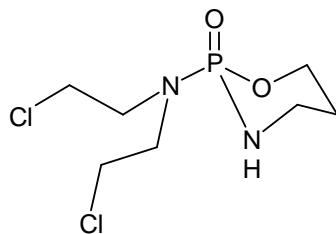


Figura 6- Endoxan, utilizado como agente antitumoral.

Os organofosforados possuem vasta gama de aplicações, dentre as quais pode ser destacada a ação como pesticidas (inseticidas, acaricidas, herbicidas, nematicidas e fungicidas), plastificantes, estabilizantes, antioxidantes e fertilizantes. Além disso, estes compostos são

constituientes do sistema biológico, como por exemplo, o ATP (trifosfato de adenosina). No entanto, além deste universo de aplicações, aquela que têm despertado nos últimos anos interesse maior na química dos compostos de fósforo é a ação farmacológica. YUDELEVICH e colaboradores classificam, dentre os compostos de fósforo, especificamente os compostos organofosforados em diferentes categorias, dentre as quais se têm os compostos com atividade anticolinesterásica; compostos com atividade antiglaucoma; compostos para o tratamento e profilaxia de doenças cardiovasculares; compostos com atividade fungicida; compostos com atividade antiblastoma; compostos com atividade neurotrópica; compostos com atividade anti-helmíntica; compostos com atividade antiviral; compostos com atividade antiarteroesclerose; compostos com atividade antibacteriana; compostos com atividade analgésica; compostos com atividade antiartrite; compostos com atividade anti-hipoglicêmica; compostos com atividade antialérgica; compostos com ação contra anemias, e ainda há os compostos de fósforo que são classificados como vitaminas e análogos a estas (YUDELEVICH *et al.*, 1986; LANÇAS *et al.*, 2005; DOS SANTOS *et al.*, 2007).

Quanto aos efeitos toxicológicos, os organofosforados são considerados inibidores da enzima acetilcolinesterase. Esta enzima é necessária para o controle normal da transmissão de impulsos nervosos de fibras nervosas para os músculos e células glandulares e também para células nervosas em gânglios do sistema nervoso autônomo e no cérebro.

A acetilcolinesterase (AChE) possui a atividade enzimática de catalisar a hidrólise da acetilcolina em colina e ácido acético, Figura 7. A acetilcolina permite a propagação bioquímica do potencial de ação entre os neurônios e entre esses e as placas motoras, sendo, logo após à transmissão do estímulo, degradada pela AChE. A inibição da AChE pelos compostos organofosforados é a principal causa das anormalidades relacionadas à transmissão neuromuscular, sendo os sinais e sintomas da intoxicação proporcionais ao nível de atividade da enzima (RUDNICK, 2004).

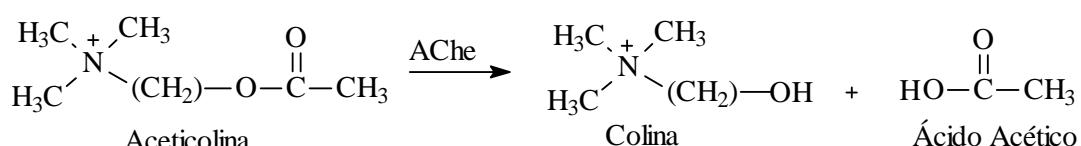
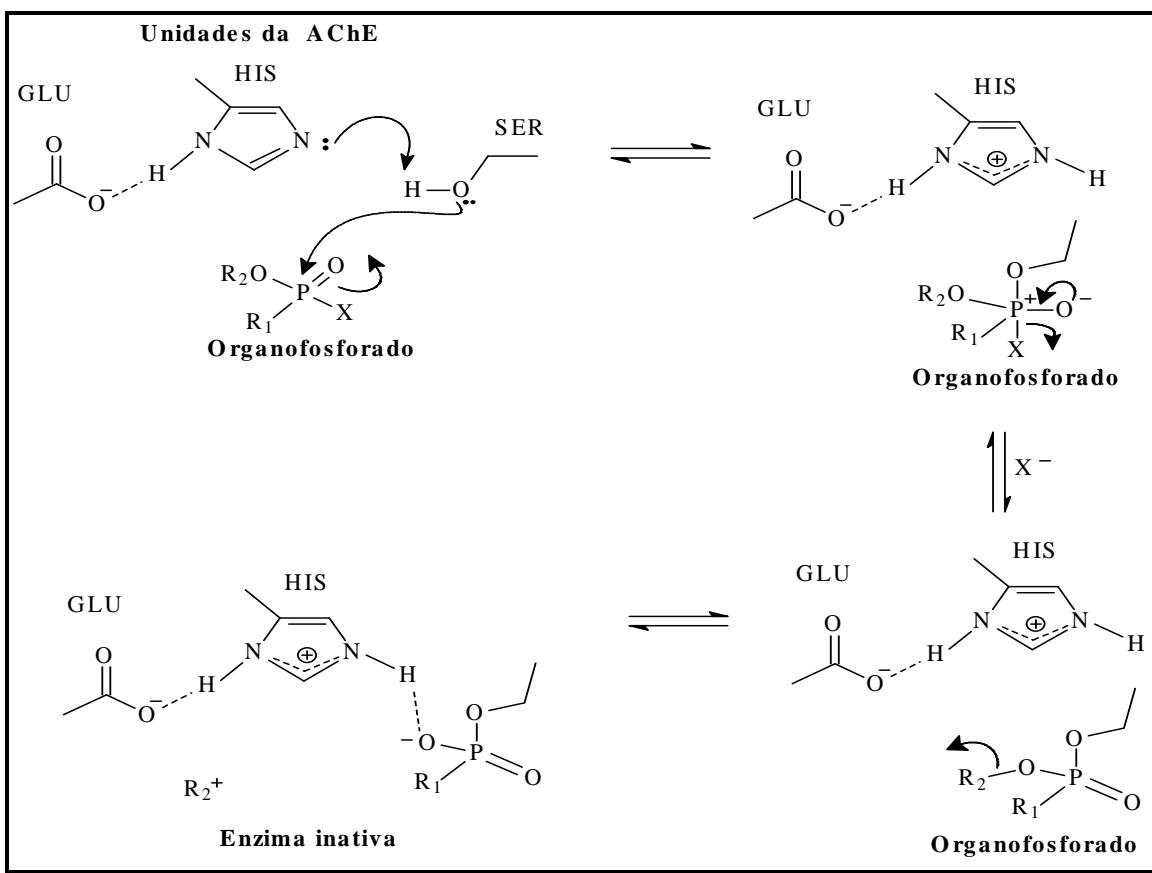


Figura 7- Reacão de hidrólise da acetilcolina

Os compostos organofosforados inativam a acetilcolinesterase pela fosforilação no sítio ativo da enzima (NATH & KUMAR, 1999). O processo de inibição da AChE depende muito da estrutura química do organofosforado inibidor (STORM et al.; 2000; SOGORB & VILANOVA, 2002), conforme descrito no Esquema 4. A interação entre a acetilcolinesterase e seu inibidor organofosforado parece envolver somente o sítio esterásico, formando um complexo bastante estável, sendo esta estabilidade relacionada fundamentalmente com a estrutura química do inibidor. A inibição da acetilcolinesterase é irreversível, desta forma a acetilcolina é impedida de reagir com o sítio esterásico, ocorrendo acúmulo da mesma onde é normalmente liberada, resultando em consequência, toda a sintomatologia da intoxicação por compostos organofosforados (KOZAKI, 2001; SHI et al.; 2001).



Esquema 4 - Mecanismo de Inibição da acetilcolinesterase por inseticidas organofosforados

Além do amplo emprego como pesticidas, alguns organofosforados têm potencial medicamentoso, com ações que os tornariam passíveis de serem utilizados no tratamento do glaucoma e da miastenia gravis, embora sejam subutilizados, por serem medicamentos de risco, tendo sua dose tóxica próxima à dose terapêutica. Estes compostos são ainda utilizados em saúde pública no controle de vetores como o da malária e vetores de outras doenças, como a dengue (CARLTON *et al.*, 1998).

1.1.3. Hidrazonas

Como esta classe de substância faz parte de uma porção dos compostos sintetizados neste trabalho, far-se-á uma breve introdução mostrando algumas aplicações desta classe de compostos.

Diversas substâncias contendo as funções hidrazida e hidrazone são descritas na literatura, apresentando inúmeras e pronunciadas atividades biológicas. A funcionalidade hidrazone consiste no grupo farmacofórico de várias substâncias, induzindo às atividades analgésica, antiinflamatória, anticonvulsivante (LIMA, *et al.*; 2000).

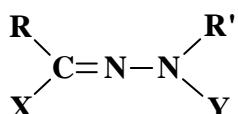
As Hidrazonas, em geral, possuem diversas atividades biológicas, como antiinflamatória, antitrombótica e analgésica (BARREIRO *et al.*; 2002). Compostos do tipo nitrofurfural hidrazone têm apresentado atividade antiparasitária e antimicrobiana *in vivo*. A literatura técnica indica que algumas oximas e seus complexos exibem atividade antiviral e citotóxica. As hidrazidas e seus complexos podem atuar como agentes fungicidas e antibacterianos (DODOFF *et al.*, 1995).

As hidrazonas foram descobertas por Emil Fischer em 1883, quando este estava sintetizando um derivado indólico a partir da reação de fenilidrazina com propanona. Inicialmente, Fischer atribui ao intermediário da reação, a hidrona, uma estrutura cíclica, formada por um anel de três átomos envolvendo os dois átomos de nitrogênio e o átomo de carbono. Porém, em 1888 a estrutura correta das hidrazonas foi elucidada (COSTA *et al.*; 2003).

As hidrazonas são iminas derivadas da hidrazina. O nitrogênio iminico possui hibridização sp^2 e pode ocorrer isomeria em torno da ligação dupla carbono-nitrogênio. Há um crescente interesse por esses compostos em função de suas diversas aplicações. Em síntese orgânica, são empregados na análise qualitativa de grupamentos carbonila, em química analítica podem ser usados na elaboração de padrões para espectrofotometria. Na indústria são empregadas como plastificantes, estabilizadores de polímeros e iniciadores de polimerização (PACANSKY *et al.* 1990). Biologicamente atuam como herbicidas, inseticidas e estimulantes de crescimento de plantas (ROBINSON, 1963).

As hidrazonas são compostos derivados da condensação de hidrazinas com compostos carbonílicos, aldeídos e cetonas. As hidrazonas são conhecidas por sua ação quelante. Estes compostos podem mostrar efeitos antituberculose baseado na tendência que possui de formar quelatos com os íons metálicos de transição (SELEEM *et al.*, 2006)

Compostos cujas moléculas contêm a função hidrona pertencem à classe das azometinas, na qual também estão as iminas e oximas e se diferenciam destas pela presença de dois átomos de nitrogênio interligados. Na literatura as hidrazonas não são discutidas separadamente, mas citadas como derivados de compostos carbonílicos ou como identificador de aldeídos e cetonas (KITAEV *et al.*; 1970). São consideradas hidrazonas todas as moléculas contendo o fragmento triatômico N-N=C, Esquema 5, no qual o nitrogênio aminico e o carbono podem formar um heterociclo não aromático.

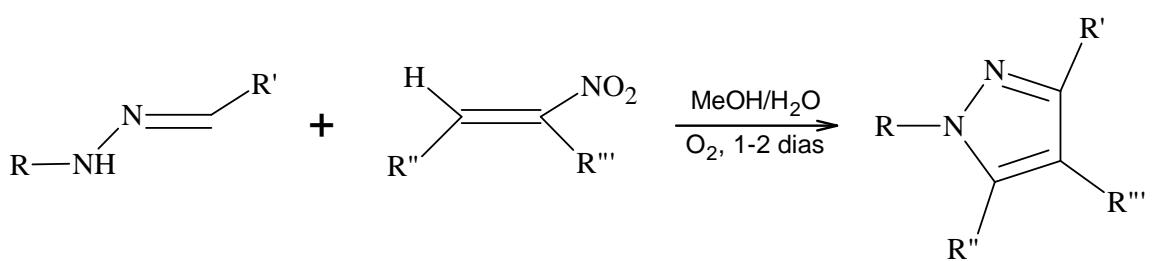


R e R' = H, alquila, arila, acila, heterociclo;
Y = H, alquila, arila, heterociclo, acila, -P(O)(OR)₂;
X = H, alquila, arila, acila, heterociclo, halogênio, OR'', SR, CN,
SO₂R, NO₂, NHNR''R'', NHNHR'', N=NR'', COOR'', CONR''R''.

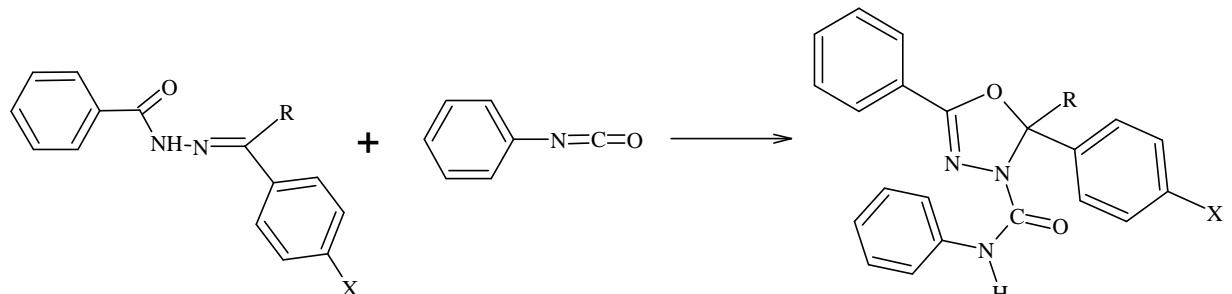
Esquema 5 - Fragmento triatômico mínimo que caracteriza as hidrazonas.

As hidrazonas têm uma larga aplicação na síntese de moléculas com as mais variadas estruturas. São aplicadas como plastificantes e estabilizadores para polímeros, iniciadores de polimerização e até mesmo antioxidantes. Porém, a mais valiosa propriedade das hidrazonas é a sua grande atividade fisiológica, entre elas, reguladores de crescimento de plantas, como atividade farmacofórica, hipotensiva, antileucemia, antisarcomas e outros neoplasmas malignos. São investigadas as ações farmacofórica para tratamento de esquizofrenia, hanseníase e outras doenças (BARREIRO *et al.*; 2002; KITAEV & BUZYKIN, 1972).

Uma importante aplicação das hidrazonas é a síntese de heterociclos, como pirazóis sintetizados a partir de hidrazonas monosubstituídas e nitroolefinas e oxazóis a partir de acilidrazonas e isocianatos (AWADALLAH, 2006), como apresentado no Esquema 6 e 7.



Esquema 6 - Síntese regioseletiva de pirazóis substituídos a partir de nitroolefinas e hidrazonas.



X=H, Me e Cl

R=H e Me

Esquema 7 - Síntese de oxazóis a partir de acilidrazona e isocianatos.

1.1.4. Mamão (*Carica papaya L.*)

Como o foco principal deste trabalho é a síntese de novas dialquilfosforilidrazonas que possa apresentar potencial fungicida para aplicação em cultura de mamão, será feita breve descrição do problema que afeta produtores e que causa grande prejuízo para o país.

Dentre as mais importantes frutas tropicais atualmente cultivadas no mundo, o mamão ocupa, evidentemente, um lugar de destaque.

O mamoeiro (*Carica papaya L.*), originário da América Central, é uma planta cultivada em regiões tropicais e subtropicais estando disseminado praticamente em todo o território nacional, onde existem milhares de hectares propícios ao seu desenvolvimento. (OLIVEIRA *et al.*; 2004). Ele pertence à família Caricaceae, da qual fazem parte 31 espécies, compreendidas em quatro gêneros, sendo o *Carica* o mais conhecido, destacando-se o *Carica papaya L.*, o único de valor comercial (VIEIRA *et al.*; 2003).

O mamoeiro é uma das fruteiras mais comuns em quase todos os países da América tropical, amplamente conhecido no Oriente já no inicio do século XVII, sendo agora largamente cultivado na Índia, Sri Lanka, Arquipélago Malaio e em muitos países da América do Sul, América Central e Antilhas, bem como na África tropical, Havaí e Austrália (SILVA *et al.*; 2007) . É usado para abastecer os mercados locais e de exportação de fruta fresca e também como fonte importante de papaína, enzima proteolítica de ação semelhante a da pepsina, empregada para os mais variados usos nas indústrias têxteis, farmacêuticas, de alimentos e de cosméticos.

Responsável por 47,5% da produção mundial de mamão, o Brasil se destaca entre os três maiores exportadores desta fruta, com 3,3 milhões de toneladas/ano. Os países que ocupam os primeiros lugares são Nigéria e Índia, respectivamente (TATAGIBA *et al.*; 2007).

A produção concentra-se fortemente no extremo Sul do estado da Bahia e no Norte do estado do Espírito Santo. Estas duas regiões são as principais produtoras de mamão do mundo. Os dois Estados produzem, em conjunto, mais de 85% de todo o mamão brasileiro (ONO *et al.*; 2004).

No Estado do Espírito Santo, o mamão é uma das principais culturas produzindo cerca de 330.000 ton.ano⁻¹, gerando renda bruta de R\$ 50 milhões/ano e empregando cerca de 9.000 pessoas no processo de produção e comercialização (RUGGIERO *et al.*; 2003).

Os frutos frescos são parte essencial de uma dieta humana balanceada. São ricos em vitamina C, carotenóides (provitamina A), sais minerais e carboidratos e, apreciados por suas excelentes propriedades sensoriais, em particular por sua cor, aroma e sabor (SANTANA *et al.*, 2004).

O mamão é um fornecedor de ácido ascórbico, variando de 40 a 90 mg por 100 g de polpa. O ácido ascórbico, ou vitamina C, é uma substância muito importante para o organismo humano com diversas ações benéficas, tais como: participação na formação de colágeno, na absorção do ferro inorgânico, atuando na manutenção do sistema imunológico e reagindo com radicais livres (oxigênio singuleto e outros) (WILLS *et al.*; 1984).

Em 2006, o Brasil produziu 1.573.819 t de mamão numa área de 32.559,00 ha. obtendo rendimento médio de 48.337 t . ha⁻¹ (CAMPOS *et al.*, 2007).

Apesar de ser o segundo maior produtor, o estado do Espírito Santo apresenta a maior produtividade da cultura, 66,12 t ha⁻¹ e é um dos principais fornecedores de mamão ao mercado interno (MARINHO *et al.*; 2007).

Embora o Brasil seja o 1.^º maior produtor mundial, exporta menos de 1% de sua produção, que correspondeu a 11% do comércio internacional de mamão, em 1999. Um dos principais fatores limitantes à exportação de mamão são as doenças pós-colheita, principalmente a antracnose causada por *Colletotrichum gloeosporioides* e a podridão peduncular, causada por diversos fungos, principalmente por *C. gloeosporioides* e *Phoma caricae-papayae* (Tar) Punith. (= Ascochyta caricae Pat.).

As perdas que ocorrem na fase pós-colheita de frutos em função do aparecimento de podridões, normalmente oriundas do campo, são um dos principais problemas enfrentados pelos produtores de frutas e hortaliças.

No Brasil, as perdas pós-colheita de frutos tropicais como o mamão, são muito variáveis, dependendo do clima, época do ano e de infestação de pragas e doenças nos frutos comercializados. Essas perdas são da ordem de 30% dos produtos comercializados conforme estudo feito na cidade de São Paulo, considerando apenas o processo de comercialização em quitandas, supermercados e feiras livres (NERY-SILVA, 1999).

Em geral, os agentes causadores de podridões pós-colheita apresentam uma característica comum, que é a capacidade de se estabelecerem no fruto imaturo e permanecerem em estado latente, sem o aparecimento de sintomas, até que haja condições para que o processo de infecção tenha lugar. A podridão peduncular também apresenta essa característica e os sintomas normalmente aparecem com o amadurecimento do fruto, fato que parece ocorrer com todos os patógenos associados a essa doença.

O mamão é um fruto que se caracteriza por uma vida pós-colheita relativamente curta, completando o seu amadurecimento em aproximadamente uma semana sob condições ambientais. No entanto, vários fatores de pré e pós-colheita como patógenos ou fatores abióticos podem reduzir a sua vida pós-colheita. Esses fatores podem se manifestar nos frutos isoladamente ou em conjunto, proporcionando perdas quantitativas e/ou qualitativas nas diferentes fases da comercialização (COSTA *et al.*; 2002).

Dentre as doenças de pós-colheita, aquelas que ocorrem no mamão são responsáveis por perdas significativas durante o armazenamento, transporte e comercialização. Prejuízos de 10 a 40% em embarques terrestres e de 5 a 30% em embarques aéreos são comuns, porém, tais perdas podem variar de 1 a 93% dependendo do manejo de pós-colheita e dos processos de acondicionamento dos frutos. (RIBEIRO *et al.*; 1999).

A antracnose do mamão é causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, que é o mais importante agente causal de doenças pós-colheita em frutos. O patógeno, além de infectar frutos maduros, pode também infectar frutos imaturos pela penetração direta da cutícula (TAVARES & SOUZA, 2004).

O desenvolvimento do *C. gloeosporioides* é favorecido por temperatura e umidade relativa elevadas. Seus conídios são liberados e disseminados quando os acérculos se encontram úmidos. Eles podem ser disseminados por respingo das chuvas, vento, insetos, ferramentas, etc. Os conídios germinam na presença de água; após a germinação, produzem o apressório e iniciam a penetração no tecido do hospedeiro.

As hifas crescem muito rapidamente, tanto de forma intercelular como intracelular, mas ocorre pouco ou nenhum sintoma nos tecidos. A doença é mais severa quando os frutos começam a amadurecer (AGRIOS, 1998). O fungo sobrevive em pecíolos e folhas velhas, de onde se dissemina pela chuva ou pelo vento para as flores e frutos novos e permanece latente até a maturação dos frutos. Por ser a antracnose uma doença em que os sintomas são percebidos na fase avançada de maturação dos frutos, recomenda-se que o controle seja efetuado antes da fase de maturação. O principal tratamento indicado para o controle de doenças pós-colheita, no caso de mamão, é o tratamento hidrotérmico (48-49°C/ 20 minutos, em seguida 10°C/20 minutos) de acordo com Ventura *et al.* (2003). Mas, concomitantemente ao uso desse tratamento, recomenda-se a aplicação de ceras e fungicidas para garantir uma maior sobrevida ao fruto.

Na exportação do mamão brasileiro para fins quarentenários, o tratamento fitossanitário pós-colheita visa à limpeza e o controle da antracnose (*Colletotrichum gloesporioides*) e de outras doenças que ocorrem nesta fase e, principalmente, à eliminação de ovos da mosca-das-frutas. Esse procedimento irá depender das exigências impostas pelos países importadores dessas frutas (TATAGIBA *et al.*; 2000).

1.1.5. Doenças Pós- Colheita

O Ataque por microorganismos tais como fungos, bactérias e, em menor extensão, vírus, é provavelmente uma das causas mais sérias de perdas pós-colheitas dos produtos perecíveis (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

Nas duas últimas décadas, dentre as mudanças que acompanharam a modernização da agricultura destacam-se na irrigação, na mecanização, na aplicação de fertilizantes e no uso de agroquímicos destinados a combater pragas, doenças e ervas daninha. A nocividade destes últimos é muito grande, pois há estimativas de que 20 a 30% da produção agrícola brasileira são consumidas por pragas. A falta de técnicas alternativas que sejam seguras para a produtividade da maioria das culturas e a necessidade de expansão da produção agrícola permite concluir que haverá uma dependência do uso de agroquímicos por longo tempo. (ZAVATTI & ABAKERLI, 1999).

O mamoeiro pode ser afetado por diversas doenças, que constituem o principal fator limitante da cultura, exigindo medidas adequadas de controle, sem as quais podem ocorrer grandes danos na produção e na comercialização (QUIMIO, 1973). Os níveis de incidência e

severidade são usualmente tão altos que o controle das doenças é imprescindível para se obter produções rentáveis e aceitáveis pelo mercado (BOLKAN *et al.*; 1976).

Em frutos de mamão, Figura 8, esses fitopatógenos causam consideráveis perdas pós-colheita, podendo atingir 75% na fase de comercialização do mamão (PAULL *et al.*; 1997), estando associadas a efeitos físicos ou danos mecânicos, a causas de origem fisiológica e bioquímica e a ação de agentes microbianos (DANTAS *et al.*; 2003).



Figura 8 - Destruição interna dos tecidos pelo ataque de patógenos em mamão.

As doenças pós-colheita podem iniciar no campo e ficarem latentes, manifestando-se somente após a colheita em condições ambientais favoráveis (GOMES, 1996). A penetração do hospedeiro pelo patógeno pode ocorrer diretamente via epiderme, pela cutícula intacta, bem como por ferimentos ou aberturas naturais na superfície dos frutos, como as lenticelas (ECKERT, 1980; ZAMBOLIM *et al.*; 2002). O padrão de ataque, usualmente, é uma infecção inicial por um ou vários patógenos, o qual pode subsequentemente, ser potencializado por uma infecção secundária, decorrente do ataque de microorganismos saprófitas não específicos. Estes, embora sejam fracamente patogênicos, podem sobreviver no tecido doente ou morto, aí se instalando desde a infecção primária; aumentando os danos aos tecidos (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

As infecções latentes podem iniciar em qualquer estádio do fruto na planta, ocorrendo a inibição do desenvolvimento do patógeno através de condições fisiológicas impostas pelo hospedeiro até que o estádio de maturação do fruto tenha sido alcançado e/ou iniciada a respiração climatérica (PRUSKY, 1996).

Os patógenos em geral diferem em suas respostas ao hospedeiro, ao ambiente, às várias medidas de controle, no tempo e forma de infecção. Portanto, o sucesso do controle fitossanitário depende do conhecimento desses fatores, em cada situação em particular. O crescimento de fungos produz um número variável de efeitos deteriorativos que incluem descoloração, produção de odores desagradáveis e redução na qualidade do produto. Mesmo os produtos consideráveis “duráveis” podem reabsorver umidade da atmosfera e sofrer o ataque de patógenos, a menos que sejam armazenados em ambientes selados. As perdas por ataque fúngico são usualmente mais comuns nos trópicos, onde o crescimento é também estimulado pelas elevadas temperaturas e umidades relativas (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

Doenças fúngicas podem provocar a podridão interna dos frutos e são prevenidas com a aplicação de fungicidas, com tratamentos que se iniciam na época da floração dos frutos e durante o período de armazenamento e maturação (FAY *et al.*; 2005).

Por se tratar de uma doença em que os sintomas nem sempre são percebidos até a fase avançada de maturação dos frutos, é recomendado que o controle, nesse caso, seja efetuado antes da fase de maturação desses frutos (NERY-SILVA, 1999).

As doenças de pós-colheita, principalmente a antracnose, a mancha-chocolate e a podridão-peduncular são responsáveis por maiores danos. Na ausência de medidas de controle,

a incidência pode chegar a 91% de antracnose e 100% de podridão peduncular, em frutos após a colheita (LIBERATO & COSTA, 1997).

A antracnose constitui-se na mais importante doença incidente sobre frutos maduros em regiões produtoras do mundo, Figura 9. Sendo problema tanto em frutos não refrigerados para o comércio interno, como em frutos refrigerados para exportação. Sua nocividade para a economia é grande, pois os frutos atacados pela antracnose tornam-se imprestáveis para a comercialização e consumo. Ainda que estes não apresentem os sintomas quando colhidos, a doença se manifesta posteriormente na fase de embalagem, transporte e amadurecimento e comercialização, causando grandes perdas (DICKMAN, 1994).



Figura 9 - Antracnose em mamões causados por patógenos.

As podridões pedunculares ocorrem quando a região do pedúnculo é afetada e nela ocorre o sintoma da podridão. São atribuídas a fungos dos gêneros *Colletotrichum*, *Phomopsis*, *Fusarium* e *Phoma*, entre outros (ALVAREZ *et al.*; 1987). A doença ocorre quando esses fungos invadem o fruto, após a colheita, através do pedúnculo cortado. Já foi constatada incidência de 68,5% a 100% de antracnose e podridão-peduncular, respectivamente, em frutos após a colheita (LIBERATO *et al.*; 2002) quando na ausência de quaisquer medidas de controle. Essas doenças são as causas principais pelos danos durante o armazenamento e transporte do fruto, principalmente quando destinado à exportação (ALVAREZ *et al.*; 1987).

O mamão se desenvolve durante aproximadamente cinco a seis meses, sendo, na maior parte desse tempo, susceptível a *Colletotrichum gloeosporioides*, que pode afetar frutos fisiologicamente imaturos e permanecer no estado quiescente até o fruto atingir a fase climatérica. Assim, a infecção que ocorreu no campo dificilmente é detectada até a colheita, pois os sintomas da antracnose normalmente surgem durante ou após o transporte dos frutos para os mercados consumidores (TAVARES & SOUZA, 2004; DURÁN *et al.*; 1999).

O estabelecimento do fungo nos frutos verdes se dá através da penetração pela cutícula. A infecção permanece latente, mostrando atividade apenas sobre os pecíolos e folhas que apresentam ferimentos e frutos no período de maturação. Os frutos jovens quando atacados cessam o seu desenvolvimento, mumificam e caem (DICKMAN & ALVAREZ, 1983; OLIVEIRA, 1994).

Com o aumento da precipitação e da umidade relativa, aparecem na casca dos frutos pequenos pontos pretos que aumentam de tamanho formando manchas deprimidas, que podem medir até 5 cm de diâmetro. Em torno das manchas, forma-se um halo de tecido aquoso, com coloração diferente da parte central. Quando em grande quantidade, as manchas coalescem, espalham-se pela superfície do fruto, penetram e aprofundam-se na polpa, ocasionando podridão-mole.

A contaminação fúngica em mamão pode ser causada por várias espécies que colonizam os tecidos e causam perdas significativas, destacam-se, entre outros, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Cladosporium cladosporioides*. *Colletotrichum gloeosporioides* é o principal

agente causador de perdas em pós-colheita de mamão, seja na forma de podridão peduncular, seja na forma de antracnose na casca, alcançando até a polpa do fruto (VIEIRA, et al, 2006).

Outras doenças, como a podridão causada pelo fungo *Alternaria alternata*, Figura 10, pode ser um problema em áreas secas como Israel e parte do Havaí. Os sintomas são lesões redondas e elipsoidais pretas no fruto seguidas pela podridão dos tecidos subjacentes. Se os mamões forem comercializados poucos dias após a colheita, a podridão por *Alternaria* não é problema. No entanto, quando o armazenamento refrigerado é utilizado para aumentar a vida pós-colheita do fruto, este se torna muito mais suscetível ao ataque (ALVAREZ et al.; 1977).

A podridão causada pelo fungo *Fusarium* sp. foi relatada em Israel, Índia, Filipinas e Havaí. Várias espécies podem causar esta perda, dentre elas o *Fusarium solani* (Mart.) Saac. Tantos os frutos novos quanto os fisiologicamente maduros são resistentes à infecção desde que o fruto não apresente injúrias. Durante o armazenamento, frutas *in natura* podem, eventualmente, se tornarem suscetíveis à contaminação através da penetração direta de fungos. Os tratamentos hidrotérmicos podem dar bons resultados no controle desta doença (PATHAK et al.; 1976).



Figura 10 - Podridão causada pelo fungo *Alternaria alternata*.

1.1.6. Acetylcolina

A acetilcolina (ACh) foi o primeiro neurotransmissor descoberto, Figura 11. É uma amina produzida no citoplasma das terminações nervosas. Sua precursora é uma vitamina pertencente ao complexo B, a colina que é obtida a partir da alimentação ou da própria degradação da acetilcolina por uma enzima específica (acetilcolinesterase).

A acetilcolina é o mediador químico necessário para a transmissão do impulso nervoso nas fibras pré-ganglionares do sistema nervoso autônomo (SNA), nas fibras parassimpáticas pós-ganglionares e algumas do sistema nervoso simpático, na junção neuromuscular e em algumas sinapses interneuronais do sistema nervoso central (SNC).

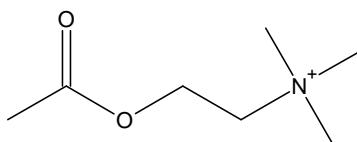


Figura 11 - Acetylcolina.

Para que haja transmissão sináptica é necessário que a acetilcolina seja libertada na fenda sináptica e se ligue a receptores pós-sinápticos. Mas esta transmissão tem que ser controlada, tendo a acetilcolinesterase um papel fundamental neste controle, pois impede acumulação de acetilcolina na fenda sináptica, impedindo assim a hiperestimulação dos receptores da

acetilcolina. Para que exerça sua função corretamente, a acetilcolina deve ser removida ou inativada de acordo com as demandas de tempo para cada resposta sináptica específica pretendida. A enzima acetilcolinesterase atua nesse processo catalisando a hidrólise da acetilcolina, liberando colina no líquido extracelular, que pode ser reaproveitada para os processos de síntese neuronais, Figura 16. Dessa forma, essa enzima é capaz de modular a intensidade da resposta sináptica. (GOODMAN, L. S. & GILMAN, A., 1996). A toxicidade provocada pelos organofosforados deve-se essencialmente à inibição da enzima acetilcolinesterase (síndrome colinérgico) sendo esta a ação mais relevante e que trás consequências mais nefastas para o organismo. A síndrome colinérgica deve-se a uma estimulação excessiva dos receptores da acetilcolina.

2. OBJETIVO

Síntese de novas dialquilfoforilidrazonas com potencial fungicida para controle de podridões pós-colheita, em mamão, que minimizem os danos a saúde do homem e ao meio ambiente.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Nas sínteses das dialquilfosforilidrazonas e seus intermediários, os solventes utilizados nas reações e nos métodos de purificação foram previamente destilados, quando necessário.

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

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

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

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

Os aparelhos utilizados para a caracterização dos compostos foram:

1. Cromatógrafo de fase gasosa acoplado a espectrômetro de massas, modelo Saturn 2000-Varian. As condições de análise foram: coluna VF-5ms (30 x 0,25 x 0,25mm); temperatura 150-180°C/1'-10°C/min – 290°C/10'; injetor 270°C; EM trap 220°C, manifold 60°C trxline 250°C ionização EI (70eV) e Cromatógrafo de fase gasosa acoplado a espectrômetro de massas Agilent 6890 acoplado a detector seletivo de massas 5973N. As condições de análise foram: coluna capilar HP5-MS (30m X 0,25mm X 0,25μm), operando com programação de temperatura de 60 a 240°C a 3°C/min, usando hélio (1,0mL/min) como gás carreador, tempo inicial zero (0) min e tempo final 10 min; injetor com divisão de fluxo (split) de 1:20; 250°C. Os espectros de massas foram obtidos no modo ionização eletrônica com fonte operando em 70eV.

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

3. Espectrômetro de infravermelho Perkin-Elmer modelo 1600 FT e espectrômetro de Infravermelho FT-IR spectrometer VARIAN 640 IR. 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}).

No ensaio biológico, para realizar as medidas de área de crescimento dos fungos analizados utilizou-se Sacnner HP 3100 series, um laptop HP, COREL DRAW 10 e o programa SIARCS 3.0 da EMBRAPA.

Os valores observados de cada variável foram submetidos a análise de variância (ANOVA). Para o ensaio biológico *in vitro* foram realizadas cinco replicatas, onde as substâncias foram comparadas entre si e com o meio de cultura e meio de cultura/DMSO para cada semana. Foram realizados testes de regressão linear de primeira ordem com análise de variância (ANOVA) da regressão para avaliar diferenças significativas entre todos os tratamentos também para cada semana. O crescimento de cada fungo foi realizado separadamente avaliando a eficiência de inibição do crescimento fúngico de todas as substâncias.

A determinação da concentração inibitória foi realizada somente com a substância que apresentou melhor eficiência na inibição do crescimento micelial dos fungos testados.

As comparações entre as médias dos tratamentos, para cada fungo, foram realizadas utilizando-se o teste de FISHER (Least Significance Difference – LSD) ao nível de 5% de probabilidade. Toda análise estatística foi realizada usando o software STATISTICA versão 7.0, edição de 2004 da StatSoft Inc, USA.

3.2. SÍNTESE DOS FOSFONATOS DE DIALQUILA (KOSALOPOFF & MAIER, 1973).

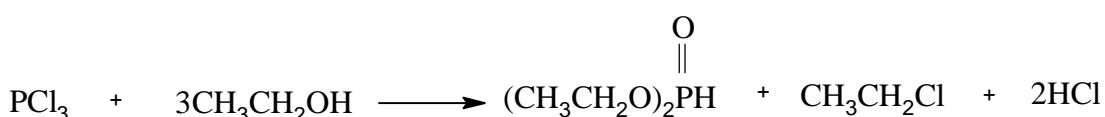
Procedimento Geral

Em um balão bitubulado de 200 mL, equipado com um funil de adição contínua, condensador de refluxo e munido de um borbulhador, capaz de impedir a entrada de umidade e ao mesmo tempo permitir a saída do ácido clorídrico (HCl) liberado na reação, adiciona-se o álcool correspondente. Em seguida, através de funil de adição, goteja-se cuidadosamente o tricloreto de fósforo (PCl_3) recém destilado, sob agitação magnética, mantendo-se a mistura reacional a uma temperatura em torno de 0°C. Quando cerca da metade do PCl_3 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 residual e cloreto de alquila formado.

O manuseio do 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).

3.2.1 Síntese do fosfonato de dietila (I)

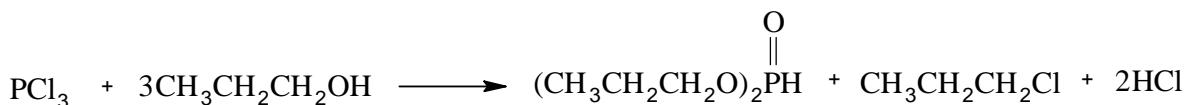


Foram utilizados 27,0 mL (21,5 g – $4,8 \times 10^{-1}$ mol) de álcool etílico e 13,5 mL (21,3 g – $1,6 \times 10^{-1}$ mol) de tricloreto de fósforo. Após a retirada dos subprodutos, 15,0 g do produto puro foram obtidos, correspondendo a um rendimento de 65%.

Caracterização:

- ‡ Aspecto: líquido incolor
- ‡ IV (Célula de NaCl): 3459 (vOH); 2987, 2937, 2913 (v CH_2CH_3); 2431 (vP-H); 1480 (vC-O); 1395 (δ as CH_3) 1252 (vP=O); 1046 (vP-O), 982 (δ asP-H).
- ‡ RMN ^1H (CDCl_3): 1,3 [$t(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-, J_{\text{HH}} = 7,1 \text{ Hz}, 6\text{H})$]; 4,1 [$d/q(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-, J_{\text{HH}} = 7,6 \text{ Hz}, J_{\text{HP}} = 7,6 \text{ Hz}, 4\text{H})$]; 6,7 [$d(\text{P-H}, J_{\text{PH}} = 694 \text{ Hz}, 1\text{H})$].

3.2.2. Síntese do fosfonato de dipropila (2)

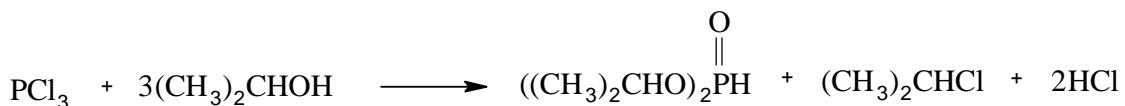


Utilizou-se 52 mL (42,12 g- 0,702 mol) de álcool propílico e 20,5 mL (32,23 g- 0,234 mol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se 35,41 g do produto, correspondendo ao rendimento de 91 %.

Caracterização:

- ⊕ Aspecto: líquido incolor.
- ⊕ IV (Célula de NaCl): 3486 (vOH); 2970, 2886 (v CH₂,CH₃); 2426 (vP-H); 1465 (vC-O); 1390 (δasCH₃); 1260 (vP=O); 1068 (vP-O); 976 (δasP-H).
- ⊕ RMN de ¹H (CDCl₃): 0,91 [t, (CH₃(CH₂)₂OP), J_{HH} = 7 Hz, 6H]; 1,66 [sex, (CH₂CH₂OP), J_{HH} = 7 Hz, 4H]; 3,97 [dt, (CH₂OP), J_{HH} = 7 Hz, J_{HP} = 8 Hz, 4H]; 6,74 [d, (P-H), J_{HP} = 696 Hz, 1H];

3.2.3. Síntese do fosfonato de diisopropila (3).

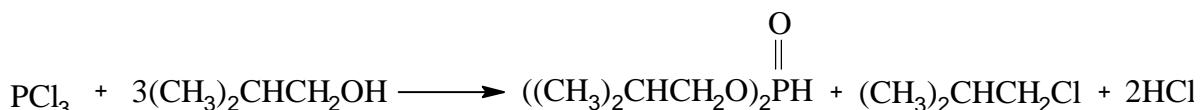


Utilizou-se 54 mL (42,12 g -0,702 mol) de álcool isopropílico e 20,5 mL (32,23 g- 0,234 mol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se 36,58 g do produto, correspondendo ao rendimento de 94 %.

Caracterização:

- ⊕ Aspecto: líquido incolor.
- ⊕ IV (Célula de NaCl): 2984, 2936 (v CH₂,CH₃); 2434 (vP-H); 1464; (vC-O); 1384 (δasCH₃); 1223 (vP=O); 1107 (vP-O); 975 (δasP-H).
- ⊕ RMN de ¹H (CDCl₃): 1,30 [d, ((CH₃)₂CHOP), J_{HH}=8 Hz, 12H]; 4,68 [hd, (CH₂OP), J_{HH} = 6 Hz, J_{HP} = 8 Hz, 2H]; 6,54 [d, (P-H), J_{HP} = 695 Hz, 1H];

3.2.4. Síntese do fosfonato de diisobutila (4).



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

Caracterização:

- ⊕ Aspecto: líquido incolor.
- ⊕ p.e.: 56-57 °C (2mmHg).
- ⊕ IV (NaCl): 3353 (vOH); 2965, 2881 (vCH₂ e CH₃); 2431 (vP-H); 1470 (δas.CH, CH₂ e CH₃); 1395 e 1372 (δsim. CH, CH₂ e CH₃); 1245 (vP=O); 1038 (vP-O); 985 (δas.P-H).
- ⊕ RMN ¹H (CDCl₃): 0,95 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), 12H]; 1,93 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 2H]; 3,84 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4H]; 6,81 [d(P-H), PHJ = 692,3Hz, 1H].

3.3. SÍNTSE DAS DIALQUILFOSFORILIDRAZINAS (ZHAO ET AL.; 1988).

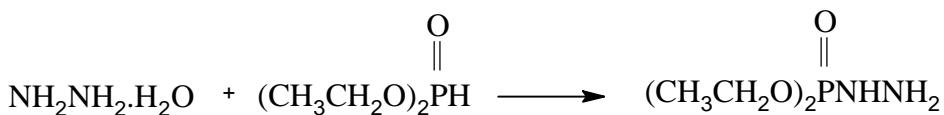
Procedimento Geral

Em um balão bitubulado de 100 mL, munido de condensador de refluxo e funil de adição contínua, adiciona-se quantidades estequiometricamente calculadas de hidrazina e hidróxido de sódio dissolvida em volumes iguais de água destilada e álcool etílico.

No funil de adição é colocado o respectivo fosfonato de dialquila e tetracloreto de carbono com excesso de 40%. Com o balão imerso em banho de gelo e sob agitação magnética, começa-se a adição, gota a gota, do conteúdo do funil. Ao funil da adição, deixa-se a mistura reacional sob agitação até que o banho atinja a temperatura ambiente e em seguida por mais 1 hora a 50 °C.

Ao término da reação, adiciona-se ao balão cloreto de metileno (CH₂Cl₂) e igual volume de água destilada. Transfere-se todo o conteúdo do balão para um funil de separação de tamanho adequado. A fase orgânica é então separada da fase aquosa. Este procedimento de extração é repetido por mais duas vezes. Finalmente, adiciona-se à fase orgânica sulfato de magnésio (MgSO₄) anidro, agita-se por alguns segundos, filtrando em seguida e evaporando o solvente através de um rotavapor.

3.3.1 Síntese da dietilfosforilidrazina (5)



Montou-se a aparelhagem. Com o funil de adição gotejou-se a metade do CCl₄, aproximadamente 3,9 mL (0,029 mol) e 8g do fosfonato de dietila (0,058 mol) dentro do balão de fundo redondo contendo a outra metade do CCl₄ (0,029 mol), H₂O, 1,85g (0,058) hidrazina (0,024 mol), o NaOH (0,058 mol), o etanol e o agitador magnético. O balão foi conectado ao condensador e a um bolhômetro. Manteve-se a mistura sob a agitação e banho de gelo a uma temperatura de aproximadamente 0°C. Quando acabou a adição, aqueceu-se a mistura a 50 °C por 2 horas e 30 minutos.

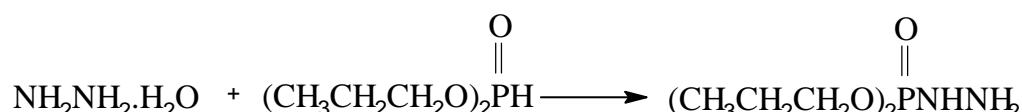
Lavou-se o produto obtido com diclorometano adicionando-se 50 mL de diclorometano, a amostra e 50 mL de água em funil de extração. Homogeneizou-se e coletou-se a amostra em diclorometano (fase inferior), adicionou-se mais 50 mL de dicloro metano, NaCl P.A., homogeneizou novamente e recolheu outra fração de diclorometano. A esta adicionou alguns

gramas de MgSO₄ para retirada de água e filtrou-se em algodão, evaporando-se em seguida no rotavapor. O rendimento da dietilfosforilidrazina foi de 65%.

Caracterização:

- ⊕ Aspecto: Líquido incolor.
- ⊕ IV (Célula de NaCl): 3355,6 (st NH); 1635,4 (δ NH); 2985,3 e 2915,9 (δ CH₂, CH₃); 1224,6 (st P=O); 1029,8 (st P-N); 972,0 (st P-O-C).
- ⊕ m/z (%): 168,1 (12,5 %), 153,1 (<1), 140,1 (20%), 126,1 (4 %), 121,1 (<1), 112,1 (100%), 98,0 (6 %), 91,0 (%), 82,0 (26%), 81,1 (15 %), 79,1(<1), 65,1 (17,5%), 45,1 (4 %).
- ⊕ RMN de ¹H (CDCl₃): 1,32 [dT (-CH₃CH₂OP), J_{HH} = 7,06 Hz, 6H], 4,10 [q (CH₂OP), J_{HH} = 7,69 Hz, 4H]; 4,04 [s (NHNH₂), 2H]; 4,98 [s (NHNH₂), 1H].
- ⊕ RMN de ¹³C (CDCl₃): 15,50 [d, (CH₃(CH₂)OP), 2C]; 62,31 [d, (CH₂OP), J_{CP} = 5,1 Hz, 2C].

3.3.2 Síntese da dipropilfosforilidrazina (6)

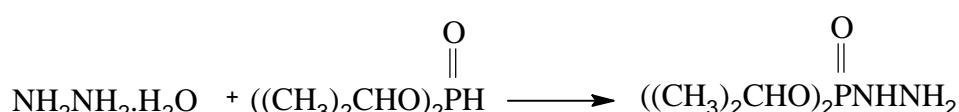


Utilizou-se 52 mL (42,12g – 0,702 mol) de álcool propílico e 20,5 mL (32,23g – 0,234 mol) de tricloreto de fósforo. Obteve-se 35,41g do produto. O rendimento da dipropilfosforilidrazina foi de 91%.

Caracterização:

- ⊕ Aspecto: óleo incolor.
- ⊕ IV (Célula de NaCl): 3349,3 (st NH); 2969,5 e 2887,0 (δ CH₂, CH₃); 1633,6 (δ NH); 1215,3 (st P=O); 1062,2 (st P-N); 1004,9 (st P-O-C).
- ⊕ m/z (%): 81 (55 %), 111 (100 %), 123 (8 %), 135 (58 %), 152 (73 %), 153 (58 %), 165 (8 %), 195 (13 %).
- ⊕ RMN de ¹H (CDCl₃): 0,92 [t, (CH₃(CH₂)₂OP), J_{HH} = 6 Hz, 6H]; 1,68 [sex, (CH₂CH₂OP), J_{HH} = 6 Hz, 4H]; 3,59 [s, (NH), 3H]; 3,96 [dt, (CH₂OP), J_{HH} = 8 Hz, 4H].
- ⊕ RMN de ¹³C (CDCl₃): 9,8 [(CH₃(CH₂)₂OP), 2C]; 23,45 [d, (CH₂CH₂OP), J_{CP} = 6,5 Hz, 2C] 68,12 [d, (CH₂OP), J_{CP} = 6,5 Hz, 2C].

3.3.3 Síntese da diisopropilfosforilidrazina (7)



Montou-se a aparelhagem. Com o funil de adição gotejou a metade do CCl₄, aproximadamente 1,65 mL (0,012 mol) e 4,1 mL do fosfonato de diisopropila (0,025 mol) dentro do balão de fundo redondo contendo a outra metade do CCl₄ (0,012 mol), H₂O, a hidrazina (0,024 mol), o NaOH (0,025 mol), o etanol e o agitador magnético. O balão foi

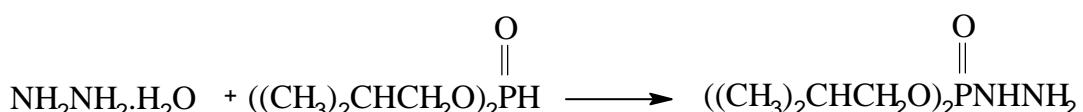
conectado ao condensador e a um bolhômetro. Manteve-se a mistura sob a agitação e banho de gelo a uma temperatura de aproximadamente 0°C. Quando acabou a adição, aqueceu-se a mistura a 50°C por 2 horas e 30 minutos.

Lavou-se o produto obtido com diclorometano adicionando-se 50 mL de diclorometano, a amostra e 50 mL de água em funil de extração. Homogeneizou-se e coletou-se a amostra em diclorometano (fase inferior), adicionou-se mais 50 mL de diclorometano, NaCl P.A., homogeneizou novamente e recolheu outra fração de diclorometano. A esta adicionou algumas gramas de MgSO₄ para retirada de água e filtrou-se em algodão, evaporando-se em seguida no rotavapor. O rendimento da diisopropilfosforilidrazina foi de 85%.

Caracterização:

- ⊕ Aspecto: óleo incolor.
- ⊕ IV (Célula de NaCl): 3352,6 (st NH); 1634,8 (δ NH); 2981,3 e 2934,6 (δ CH₂, CH₃); 1226,5 (st P=O); 996,0 (st P-O-C).
- ⊕ RMN de ¹H (CDCl₃): 1,30 [d, ((CH₃)₂CHOP), J_{HH} = 8 Hz, 12H]; 3,67 [s, (NH), 3H]; 4,61 [hd, (CH₃OP), J_{HH} = 8 Hz, 2H].
- ⊕ RMN de ¹³C (CDCl₃): 23,46 [d, ((CH₃)₂CHOP) 4C J_{CP} = 10 Hz]; 71,12 [d, (CH₃OP), J_{CP} = 12 Hz, 2C].
- ⊕ m/z (%): 72 (33 %), 81 (70 %), 111 (100 %), 123 (3 %), 135 (18 %), 152 (35 %), 179 (20 %), 195 (98 %).

3.3.4 Síntese da diisobutylfosforilidrazina (8) - Reação do fosfonato de diisobutila com a hidrazina.



Utilizou-se 10,0 g (5,15 x 10⁻² mol) do fosfonato de diisobutila, 11,1 g (7,21 x 10⁻² mol) de tetracloreto de carbono, 2,60 g (5,20 x 10⁻² mol) de hidrazina monoidratada, 2,1g (5,15 x 10⁻² mol) de hidróxido de sódio, 10 mL de água destilada e 10 mL de etanol. Obteve-se, após evaporação a pressão reduzida, 10,2g do produto com pureza adequada à sua utilização posterior. O rendimento da diisobutylfosforilidrazina foi de 90%.

Caracterização:

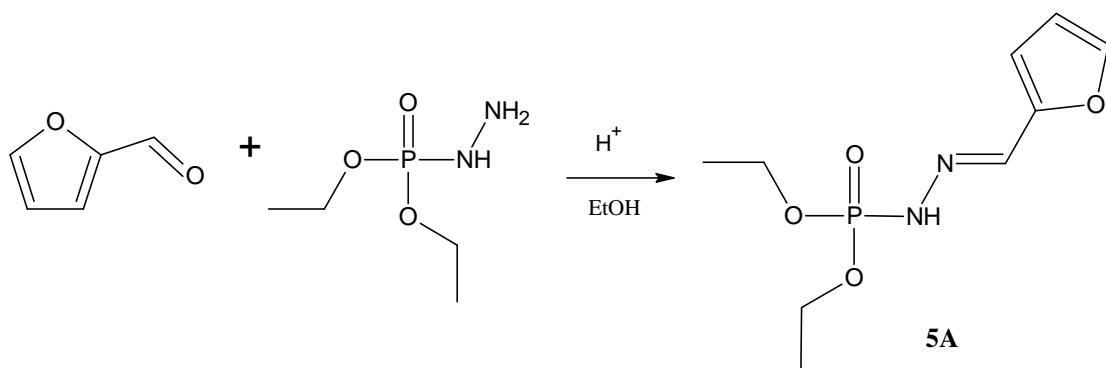
- ⊕ Aspecto: Líquido viscoso incolor.
- ⊕ IV (NaCl): 3351 (vNH); 2961, 2878 e (vCH₂, CH₃ e CH); 1230 (vP=O); 1023 (vP-O-C); 1166 (vP-N); 1468 (δ as.CH₂ e CH₃); 1395 (δ sim.CH₃).
- ⊕ RMN ¹H (CDCl₃): 0,90 [dd ((CH₃)₂CHCH₂O-), PHJ=7,02, 12H]; 1,89 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), PHJ=7,89, 2H]; 3,75 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), PHJ=7,27, 4H]; 4,82 [(NHNH₂), 1H]; 3,98 [(NHNH₂), 2H].
- ⊕ RMN ¹³C (CDCl₃): 18,13 [d (CH₃)₂CHCH₂O-), 4C]; 28,52 [d (CH₃)₂CHCH₂O-), 2C]; 72,21 [(CH₃)₂CHCH₂O-), PCJ = 5,87 Hz, 2C]
- ⊕ m/Z : 225(60), 1931, 169(17), 153(3), 139(2,5), 125(2,5), 112(100), 98(2,5), 82(5), 73(2,5), 65(5), 57(5), 47(2,5).

3.4. SÍNTESE DAS DIALQUILFOSFORILIDRAZONAS.

Procedimento Geral

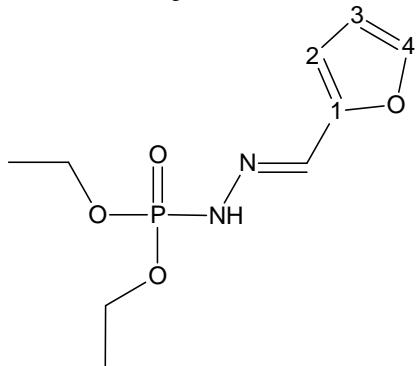
Em um balão monotubulado de 50 mL adiciona-se a fosforilidrazina solubilizada em 3 mL de EtOH, o aldeído correspondente previamente dissolvido em 3 mL de EtOH seguidos de duas 2 gotas de HCl 37%. Mantém a mistura reacional sob agitação a temperatura ambiente. Terminado o tempo de reação, o meio reacional é vertido em água destilada gelada e deixada em banho de gelo por meia hora, depois filtrado a vácuo e seco ao ar.

3.4.1 Reação do furfural com dietilfosforilidrazina-Ácido N'-[(1 E)-2-furanilmetíleno] dietilester fosforilidrazínico (5A).



Pesou-se 0,4792 g (5 mmol) de furfural em balão de fundo redondo e solubilizou em etanol. Adicionou 2 a 3 gotas de HCl e 0,8386 g (5 mmol) da dietilfosforilidrazina. Colocou o agitador magnético e fechou-se o balão deixando o líquido de coloração castanho claro reagir por 1h. Verteu-se a mistura em um bécher com pouca água e algumas pedras de gelo, deixando-se por 30 minutos. Houve a formação de precipitado preto. Filtrou-se o precipitado.

Caracterização:



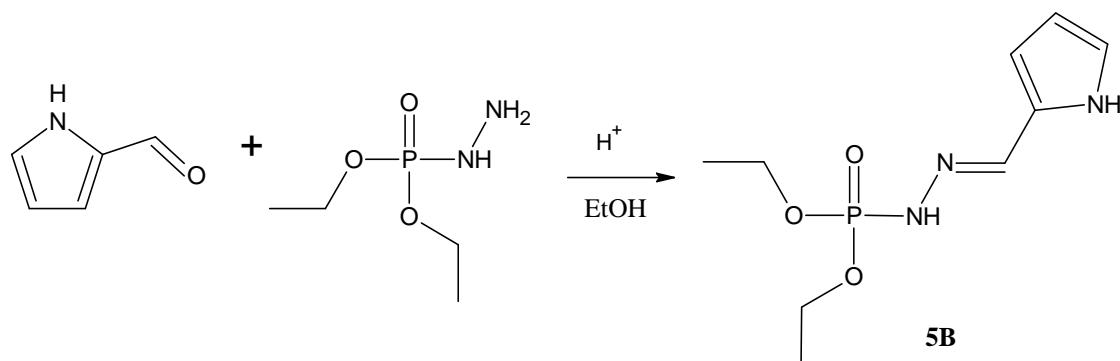
- ‡ Aspecto: Sólido preto.
- ‡ IV (NaCl): 3128,0 (vNH); 2981,4 e 2908,2 (vCH₂, CH₃ e CH); 1228,4 (vP=O); 1035,6 (vP-O-C); 1166,7 (vP-N); 1598,7 (δas.CH₂ e CH₃); 1400,1 (δsim.CH₃).
- ‡ m/Z (%): 247,0 (100), 246,2 (12,5), 153,0 (10), 126,0 (47,5), 109,0 (5), 98,0 (25), 81,1 (17,5), 80,2 (7,5), 52,1 (10).

‡ RMN ^1H (CDCl_3): 1,33-1,37 [m ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$), $J_{\text{PH}} = 7,03\text{Hz}$, 6H]; 4,17-4,28 [m ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$), $J_{\text{PH}} = 7,27\text{Hz}$, 4H]; 7,72; [s (-N=CH), 1H]; 8,71 [d (P-NH-), $J_{\text{PNH}} = 29,62\text{ Hz}$, 1H]; 6,44-6,53 (H3), 6,59-6,64 (H2) e 7,46-7,57 (H4) [m (arom.), 2H e 1H].

‡ RMN de ^{13}C (CDCl_3): 15,79 [d, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$] $J_{\text{CP}} = 6,6\text{ Hz}$, 2C], 63,29 [d, ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 5,87\text{ Hz}$, 2C]; 111,08 [d (C2 e C3), $J_{\text{CP}} = 19,08\text{ Hz}$, 2C]; 134,93 [d (C4), $J_{\text{CP}} = 19,08\text{ Hz}$, 1C]; 143,40 [s (C1), 1C]; 149,18 [s (-N=CH), 1C].

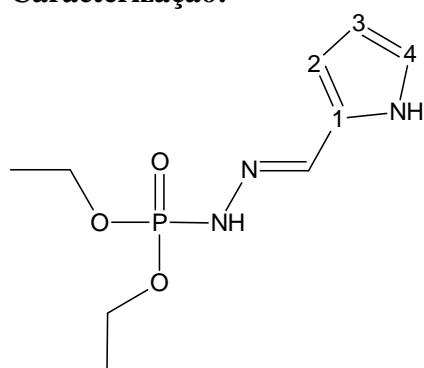
‡ RMN ^{31}P (CDCl_3): 1,57 dd e 0,19 d (acoplado).

3.4.2 Reação do 2-pirrolcarboxialdeído com dietilfosforilidrazina- Ácido N'- [(1 E)- 1H-pirrol-2-ilmetíleno] dietilester fosforilhidrazínico (**5B**).



Pesou - se 0,4014 g (4,2 mmol) de 2-pirrolcarboxialdeído em balão de fundo redondo e solubilizou em etanol. Adicionou 2 a 3 gotas de HCl e 0,7098 g (4,2 mmol) da dietilfosforilhidrazina Colocou o agitador magnético e fechou o balão deixando o líquido de coloração castanho claro reagir por 4h. Verteu-se a mistura em um bêcher com pouca água e algumas pedras de gelo, deixando por 30 minutos. Não houve a formação de precipitado. Extraiu-se o produto com diclorometano, separou a fase aquosa e adicionou-se MgSO_4 na fase contendo diclorometano . Filtrou em algodão e evaporou o solvente no rotavapor, obtendo um líquido viscoso de tom vinho. Esta reação teve um rendimento de 57,5%.

Caracterização:



‡ Aspecto: Líquido viscoso vinho.

‡ IV (NaCl): 3143,5 (vNH); 2983,4 e 2908,2 (vCH₂, CH₃ e CH); 1232,3 (vP=O); 1031,7 (vP-O-C); 1103,1 (vP-N); 1490,7 ($\delta_{\text{as}}\text{CH}_2$ e CH₃); 1394,3 ($\delta_{\text{sim}}\text{CH}_3$).

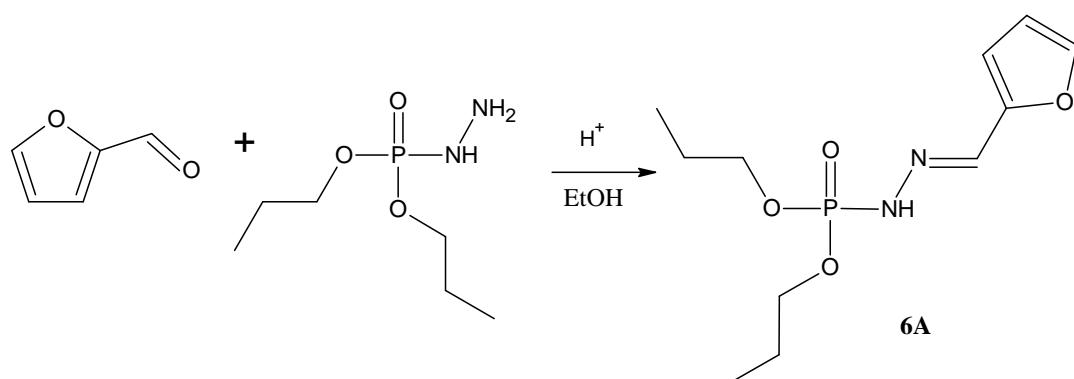
⊕ m/Z (%): 246,1 (100), 245,3 (47,5), 247,0 (10), 126,0 (30), 98 (10), 81,1 (10), 79,1 (20), 52,0 (12,5).

⊕ RMN ^1H (CDCl_3): 1,34 [dt ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$), $J_{\text{PH}} = 7,28\text{Hz}$, 6H]; 4,14 [m ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$), $J_{\text{PH}} = 7,03\text{Hz}$, 4H]; 7,68 [s (-N=CH), 1H]; 7,62 [d (P-NH-), $J_{\text{PH}} = 24,34$, 1H]; 6,20 (H3), 6,33 (H2) e 6,83 (H4) [m (arom.), 2H e 1H]; 9,15 [s (NH), 1H].

⊕ RMN de ^{13}C (CDCl_3): 16,42 [d, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$] $J_{\text{CP}} = 6,60$ Hz, 2C], 63,50 [d, ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), $J_{\text{CP}} = 5,13$ Hz, 2C]; 109,87 e 112,48 [s (C2 e C3) 2C]; 121,03 [s (C4), 1C]; 127,78 [s (C1), 1C]; 137,57 [s (-N=CH), 1C].

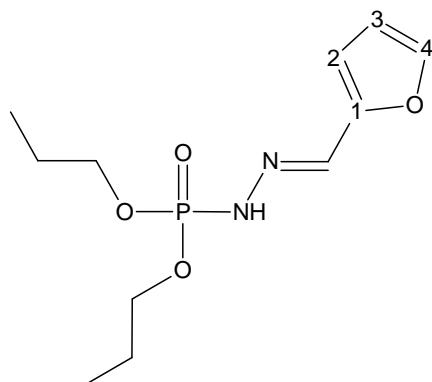
⊕ RMN ^{31}P (CDCl_3): 2,77 dd (acoplado).

3.4.3 Reação do furfural com dipropilfosforilidrazina- Ácido N'-(*I* - *E*-2-furanilmetíleno) dipropiléster fosforilhidrazínico (**6A**).



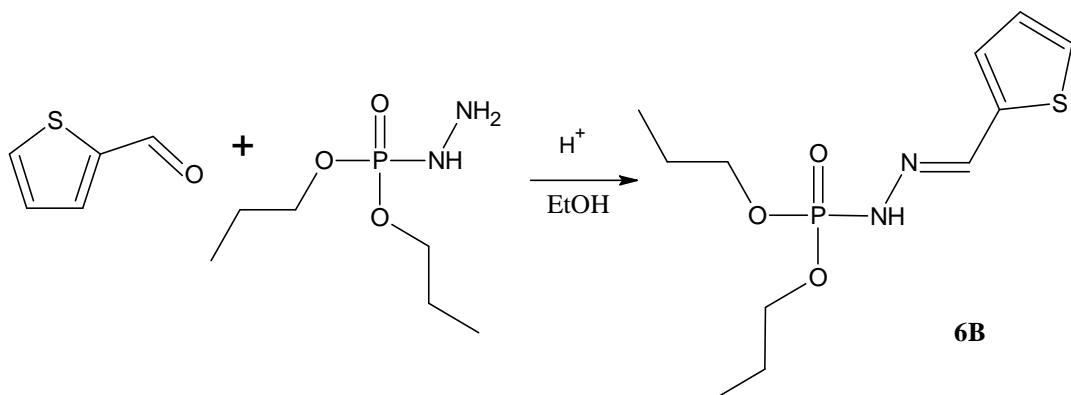
Pesou-se 2,14 g (22 mmol) de furfural em balão de fundo redondo e solubilizou em etanol. Adicionou 2 a 3 gotas de HCl e 4,4 g (22 mmol) da dipropilfosforilidrazina. Colocou-se o agitador magnético e fechou o balão deixando o líquido de coloração castanha avermelhada intensa reagir por 1h. Verteu-se a mistura em um bécher com pouca água e algumas pedras de gelo, deixando por 30 minutos. Houve a formação de um líquido oleoso que precipitou. Filtrou-se o precipitado e guardou-se o líquido. Esta reação teve um rendimento de 85,9%.

Caracterização:



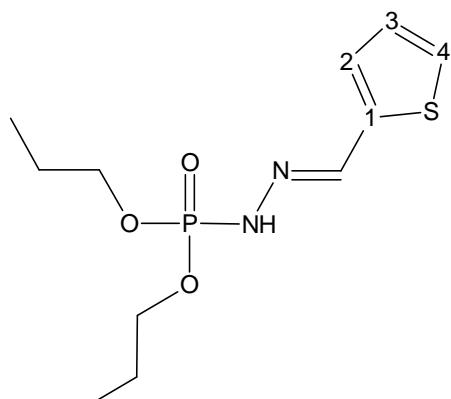
- ⊕ Aspecto: Sólido marrom.
- ⊕ IV (NaCl): 3361,4 (vNH); 2966,0 e 2898,5 (vCH₂, CH₃ e CH); 1236,2 (vP=O); 1012,5 (vP-O-C); 1157,1 (vP-N); 1498,4 (δ as.CH₂ e CH₃); 1392,4 (δ sim.CH₃).
- ⊕ m/Z (%): 275,1 (100), 274,1 (20), 140,0 (22,5), 123,9 (5), 98 (32,5), 81,1 (7,5), 52,1 (7,5).
- ⊕ RMN ¹H (CDCl₃): 0,96 [t (CH₃CH₂CH₂O-), J_{PH} = 7,53Hz, 6H]; 1,75 [m (CH₃CH₂CH₂O-), J_{PH} = 6,77Hz, 4H]; 4,09 [m (CH₃CH₂CH₂O-), J_{PH} = 7,27Hz, 4H]; 7,72 [s (-N=CH), 1H]; 8,25 [d (P-NH-), J_{PNH} = 28,87 Hz, 1H]; 6,44 (H3), 6,59 (H2) e 7,45 (H4) [m (arom.), 2H e 1H].
- ⊕ RMN de ¹³C (CDCl₃): 10,02 [s, CH₃CH₂CH₂O-) 2C], 23,60 [d, (CH₃CH₂CH₂OP), J_{CP} = 7,33 Hz, 2C]; 68,94 [d, (CH₃CH₂CH₂OP), J_{CP} = 5,87 Hz, 2C] 110,94 e 111,21 [s (C2 e C3) 2C]; 135,02 [d (C4), J_{CP} = 19,81 Hz, 1C]; 143,71 [s (C1), 1C]; 149,75 [s (-N=CH), 1C].
- ⊕ RMN ³¹P (CDCl₃): 1,84 dd (acoplado).

3.4.5 Reação do tiofurfural com dipropilfosforilidrazina - Ácido N'-(1 E)-2-tienilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6B).



Pesou-se 2,5 g (22 mmol) de tiofurfural em balão de fundo redondo e solubilizou em etanol. Adicionou 2 a 3 gotas de HCl e 4,4 g (22 mmol) do dipropilforforilidrazina. Colocou-se o agitador magnético e fechou o balão deixando o líquido de coloração castanha reagir por 1h. A mistura ficou turva. Verteu-se a mistura em um bêcher com pouca água e algumas pedras de gelo, deixando-a em repouso por 30 minutos. Houve a formação de precipitado de cor amarelo. Filtrou-se o precipitado. Esta reação teve um rendimento de 92,3%.

Caracterização:



‡ Aspecto: Sólido Amarelo.

‡ IV (NaCl): 3355,6 (vNH); 2964,1 e 2937,1 (vCH₂, CH₃ e CH); 1236,2 (vP=O); 1012,5 (vP-O-C); 1072,2 (vP-N); 1525,4 (δ as.CH₂ e CH₃); 1484,9 (δ sim.CH3).

‡ m/Z (%): 291,0 (92,5), 290 (22,5), 249,2 (7,5), 140,0 (72,5), 123,9 (12,5), 98 (100), 97,2 (10), 70,2 (7,5), 41,0 (17,5).

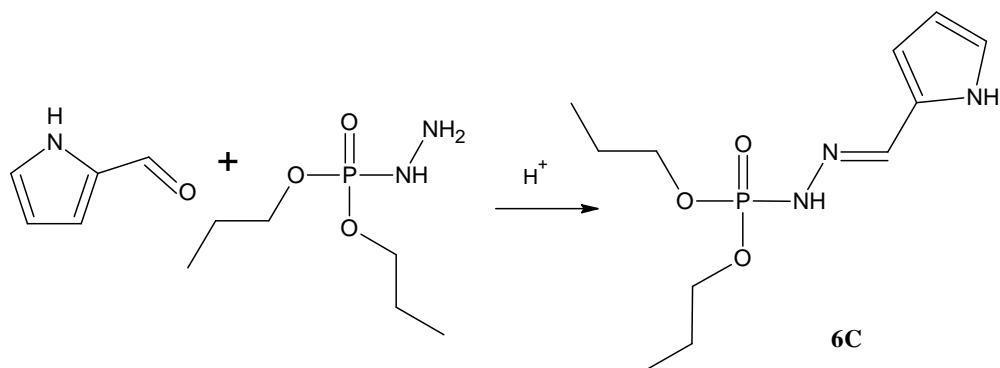
‡ RMN ¹H (CDCl₃): 0,99 [t (CH₃CH₂CH₂O-), J_{PH} = 7,28Hz, 6H]; 1,75 [m (CH₃CH₂CH₂O-), J_{PH} = 7,53Hz, 4H]; 4,10 [m (CH₃CH₂CH₂O-), J_{PH} = 6,77Hz, 4H]; 8,01 [s (-N=CH), 1H]; 8,25 [d (P-NH-), J_{PNH} = 27,86 Hz, 1H]; 7,03 (H3), 7,15 (H2) e 7,29 (H4) [m (arom.), 2H e 1H].

‡ RMN ¹H (DMSO): 0,88 [t (CH₃CH₂CH₂O-), J_{PH} = 7,28Hz, 6H]; 1,60 [m (CH₃CH₂CH₂O), J_{PH} = 7,02Hz, 4H]; 3,91 [m (CH₃CH₂CH₂O-), J_{PH} = 7,53Hz, 4H]; 8,07 [s (-N=CH), 1H]; 9,51 [d (P-NH-), J_{PNH} = 27,60 Hz, 1H]; 7,05-7,25 e 7,50 [m (arom.), 2H e 1H].

‡ RMN de ¹³C (CDCl₃): 10,07 [s, CH₃CH₂CH₂O-) 2C], 23,62 [d, (CH₃CH₂CH₂OP), J_{CP} = 7,34 Hz, 2C]; 69,05 [d, (CH₃CH₂CH₂OP), J_{CP} = 5,87 Hz, 2C] 126,87 e 127,17 [s (C2 e C3) 2C]; 128,01 [s (C4), 1C]; 139,32 [s (C1), 1C]; 139,35 [d (-N=CH), 1C].

‡ RMN ³¹P (CDCl₃): 1,37 dt (acoplado).

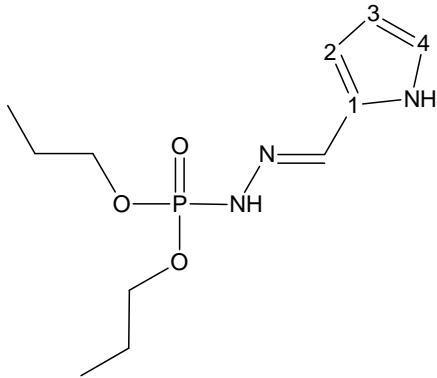
3.4.6 Reação do 2-pirrolcarboxialdeído com dipropilfosforilhidrazina-Ácido N'-(1 E)-1H-pirrol-2-ilmetileno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6C).



Pesou-se 0,3003g (3,2 mmol) de 2-pirrolcarboxialdeído em balão de fundo redondo e solubilizou em etanol. Adicionou 2 a 3 gotas de HCl e 0,7113 g (3,2 mmol) do dipropilforforilidrazina. Colocou o agitador magnético e fechou o balão deixando o líquido de

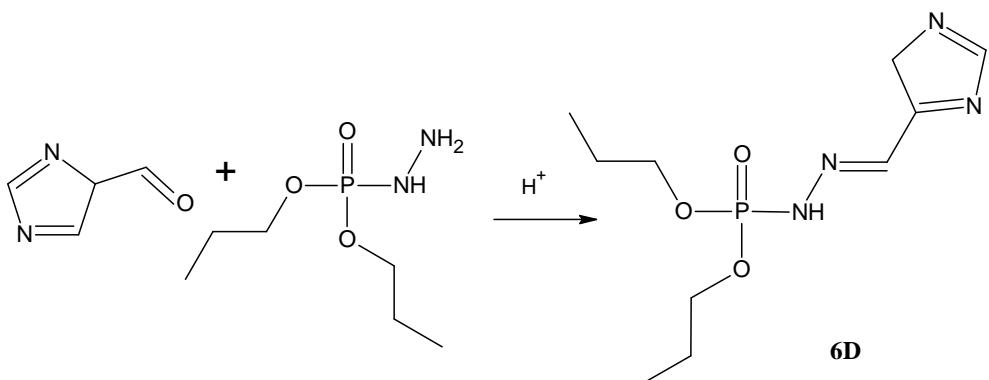
coloração castanha avermelhada intensa reagir por 1h. Verteu-se a mistura em um bécher com pouca água e algumas pedras de gelo, deixando por 30 minutos. Houve a formação de um líquido viscoso.

Caracterização:



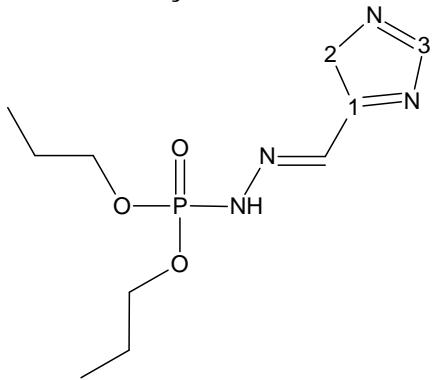
- ⊕ Aspecto: Líquido viscoso preto.
- ⊕ IV (NaCl): 3399,9 (vNH); 2968,0 e 2879,2 (vCH₂, CH₃ e CH); 1236,2 (vP=O); 1008,6 (vP-O-C); 1232,3 (vP-N); 1618,0 (δas.CH₂ e CH₃); 1469,5 (δsim.CH3).
- ⊕ m/Z (%): 273,1 (100), 275,1 (10), 274,0 (70), 140,0 (42,5), 123,9 (7,5), 108,0 (10), 109,0 (27,5), 98 (100), 81,1 (22,5), 79,0 (65) 52,1 (30), 41 (17,5).
- ⊕ RMN ¹H (CDCl₃): 0,96 [t (CH₃CH₂CH₂O-), J_{PH} = 7,53Hz, 6H]; 1,75 [m (CH₃CH₂CH₂O-), J_{PH} = 7,28Hz, 4H]; 4,04 [m (CH₃CH₂CH₂O-), J_{PH} = 7,03Hz, 4H]; 7,67 [s (-N=CH), 1H]; 7,40 [d (P-NH-), J_{PNH} = 26,86 Hz, 1H]; 6,21 (H3) 6,34 (H2) e 6,85 (H4) [m (arom.), 2H e 1H], 9,15 [s (NH), 1H].
- ⊕ RMN de ¹³C (CDCl₃): 10,05 [s,CH₃CH₂CH₂O-) 2C], 23,56 [d, (CH₃CH₂ CH₂OP), J_{CP} = 6,60 Hz, 2C]; 68,68 [d, (CH₃ CH₂ CH₂ OP), J_{CP} = 5,86 Hz, 2C]; 109,53 e 112,06 [s (C2 e C3) 2C]; 120,71 [(C4), 1C]; 127,50 [s (C1), 1C]; 137,13 [d (-N=CH), J_{CP} = 19,81 Hz, 1C].
- ⊕ RMN ³¹P (CDCl₃): 2,47dt (acoplado).

3.4.7 Reação do 4 (5) imidazolcarboxialdeído com dipropilfosforilidrazina- Ácido N'-(1 E)-4 H- imidazol-5-ilmetileno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6D).



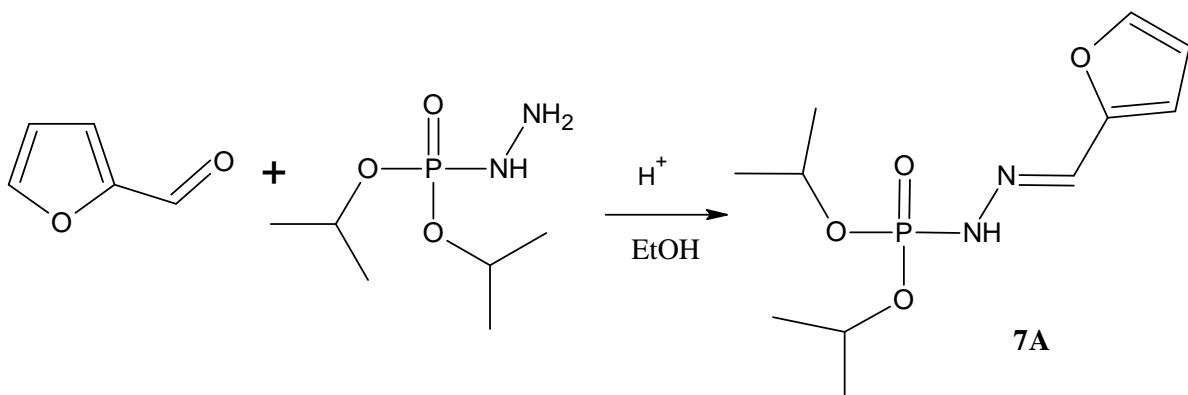
Pesou-se 0,6545g (7 mmol) de 4 (5) imidazolcarboxialdeído em balão de fundo redondo e solubilizou em etanol. Adicionou-se 2 a 3 gotas de HCl e 1,3351 g (7 mmol) do dipropilfosforilidrazina. Colocou-se o agitador magnético e fechou-se o balão deixando o líquido de coloração castanha avermelhada intensa reagir por 2h. Verteu-se a mistura em um bêcher com pouca água e algumas pedras de gelo, deixando-se por 30 minutos. Houve a formação de um precipitado branco. Esta reação teve um rendimento de 21%.

Caracterização:



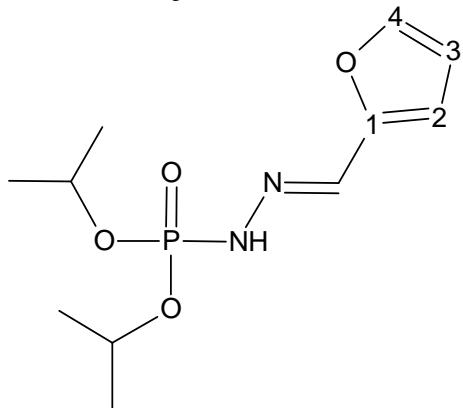
- ⊕ Aspecto: Sólido branco.
- ⊕ IV (NaCl): 3158,9 (vNH); 2964,1 e 2890,8 (vCH₂, CH₃ e CH); 1222,7 (vP=O); 1004,7 (vP-O-C); 1290,2 (vP-N); 1625,7 (δas.CH₂ e CH₃); 1477,2 (δsim.CH₃).
- ⊕ m/Z (%): 275,0 (1,5), 263,1 (15), 233,0 (3), 221,0 (33), 205,0 (13,5), 191,0 (16), 179,0 (100), 161,0 (38), 145,0 (3,6), 123,1 (1,5), 99,0 (20,5), 81,0 (3), 43,2 (11,5).
- ⊕ RMN ¹H (CDCl₃): 0,96 [t (CH₃CH₂CH₂O-), J_{PH} = 7,28Hz, 6H]; 1,72 [m (CH₃CH₂CH₂O-), J_{PH} = 7,28Hz, 4H]; 4,03 [m (CH₃CH₂CH₂O-), J_{PH} = 7,02Hz, 4H]; 7,74 [s (-N=CH), 1H]; 11,73 [d (P-NH-), J_{PNH} = 32,63 Hz, 1H]; 2,78 (H2) 7,23 (H3) [m (anel), 2H e 1H].
- ⊕ RMN ¹H (DMSO): 0,87 [t (CH₃CH₂CH₂O-), J_{PH} = 7,28Hz, 6H]; 1,59 [m (CH₃CH₂CH₂O-), J_{PH} = 6,78Hz, 4H]; 3,89 [m (CH₃CH₂CH₂O-), J_{PH} = 8,03Hz, 4H]; 7,84 [s (-N=CH), 1H]; 9,24 [d (P-NH-), J_{PNH} = 27,36 Hz, 1H]; 7,26-7,66 [m (anel), 2H].
- ⊕ RMN de ¹³C (CDCl₃): 10,03 [s, CH₃CH₂CH₂O-) 2C], 23,58 [d, (CH₃CH₂CH₂O)P], J_{CP} = 6,61 Hz, 2C]; 68,72 [d, (CH₃CH₂CH₂O)P], J_{CP} = 5,87 Hz, 2C]; 118,74 e 133,47 [s (C2 e C3) 2C]; 135,04 [s (C1), 1C]; 136,72 [d (-N=CH), J_{CP} = 19,81 Hz, 1C].
- ⊕ RMN de ¹³C (DMSO): 10,05 [s, CH₃CH₂CH₂O-) 2C], 23,20 [d, (CH₃CH₂CH₂O)P], J_{CP} = 6,61 Hz, 2C]; 67,67 [d, (CH₃CH₂CH₂O)P], J_{CP} = 5,14 Hz, 2C]; 136,72 [s (-N=CH), 1C].
- ⊕ RMN ³¹P (CDCl₃): 0,70 dd, 1,98 dd, 3,19 dd e 5,63 dd (acoplado).
- ⊕ RMN ³¹P (DMSO): 2,83 dquint (acoplado).

3.4.8. Reação do Furfural com diisopropilfosforilidrazina- Ácido N'-(1-E)-2-furanilmetíleno] diisopropiléster fosforilhidrazínico (7A).



Pesou - se 0,6 g (6,25 mmol) de furfural em balão de fundo redondo e solubilizou em etanol. Adicionou 2 a 3 gotas de HCl e 1,2 g (6,25 mmol) do diisopropilforilidrazina. Colocou o agitador magnético e fechou o balão deixando reagir. Com 30 minutos de reação houve a formação de um precipitado branco. Deixou - se a mistura reagindo por mais 30 minutos totalizando 1h. Em seguida verteu-se o produto (precipitado branco) em um bêcher com pouca água e algumas pedras de gelo, deixando por 30 minutos. Filtrou-se o precipitado. Esta reação teve um rendimento de 70,2%.

Caracterização:



‡ Aspecto: Sólido marrom.

‡ IV (NaCl): 3122,2 (vNH); 2983,4 e 2941,0 (vCH₂, CH₃ e CH); 1270,9(vP=O); 1020,2 (vP-O-C); 1224,6 (vP-N); 1556,3 (δas.CH₂ e CH₃); 1498,4 (δsim.CH₃).

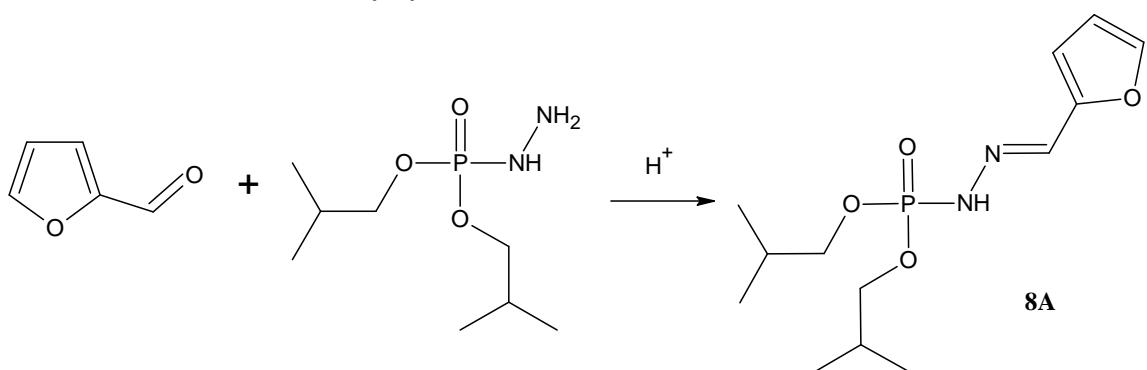
‡ m/Z (%): 275,0 (100), 275,9 (17,5), 234,2 (12,5), 233,2 (62,5), 217,1 (20), 190,0 (10), 191,0 (22,5), 173,0(7,5), 140,0 (47,5), 139,0 (22,5), 137,0 (5), 123,0 (10), 110,0 (65), 109,0 (25), 107,9 (12,5), 98,0 (80), 97,1 (47,5), 93,2 (20), 81,1 (37,5), 50 (17,5), 43,1 (45), 41,0 (37,5), 42,1 (5).

‡ RMN ¹H (CDCl₃): 1,32-1,37 [d ((CH₃)₂CHO-), J_{PH} = 6,03Hz, 12H]; 4,70 [m ((CH₃)₂CHO-), J_{HP} = 6,27, 2H]; 7,71 [s (-N=CH), 1H]; 8,02 [d (P-NH-), J_{PNH} = 27,36 Hz, 1H]; 6,42 (H3), 6,56 (H2) e 7,43 (H4) [m (arom.), 2H e 1H], 9,17 [s (NH), 1H].

‡ RMN de ¹³C (CDCl₃): 23,85 [d, ((CH₃)₂CHO-), J_{CP} = 4,40 Hz, 4C], 72,28 [d, ((CH₃)₂CHO-), J_{CP} = 5,14 Hz, 2C]; 110,57 e 111,47 [s (C2 e C3) 2C]; 143,49 [(C4), 1C]; 149,97 [s (C1), 1C]; 143,49 [d (-N=CH), J_{CP} = 19,80 Hz, 1C].

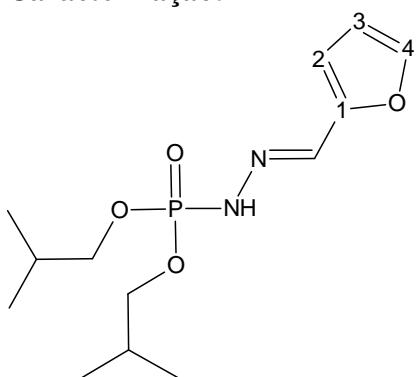
‡ RMN ³¹P (CDCl₃): -0,47 dd (acoplado).

3.4.9 Reação do Furfural com diisobutilfosforilidrazina- Ácido N'-(1 E)-2-furanilmetíleno] diisobutíllerester fosforilhidrazínico (8A).



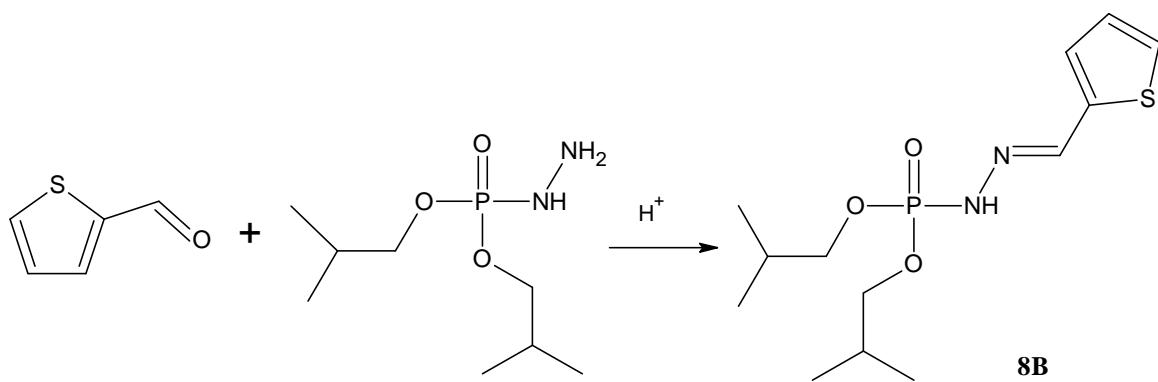
Pesou - se 2,1 g (22 mmol) de furfural em balão de fundo redondo e solubilizou em etanol. Adicionou 2 a 3 gotas de HCl e 5 g do diisobutilforforilidrazina (22 mmol). Em seguida submeteu-se a mistura sob agitatação magnética e fechou o balão deixando a mistura de coloração alaranjada reagir por 2 horas e 15 minutos. Em seguida verteu-se o produto (precipitado amarelo) em um bécher com pouca água e algumas pedras de gelo, deixando por 30 minutos. Filtrou-se o precipitado. Esta reação teve um rendimento de 84%.

Caracterização:



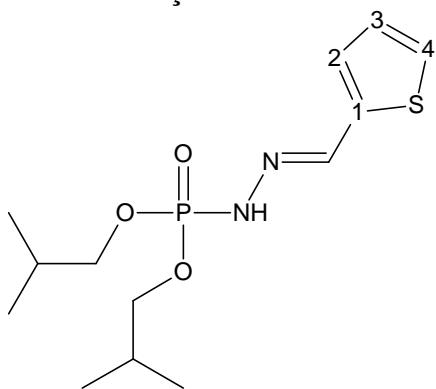
- ‡ Aspecto: sólido amarelo.
- ‡ IV (NaCl): 3372,9 (vNH); 2960,2 e 2912,0 (vCH₂, CH₃ e CH); 1236,2 (vP=O); 1014,4 (vP-O-C); 1153,2 (vP-N); 1496,0 (δ as.CH₂ e CH₃); 1471,4 (δ sim.CH₃).
- ‡ m/Z (%): 303 (47,5), 279 (<1), 274 (15), 231 (5), 203 (2,5), 191 (10), 173 (5), 154 (7,5), 138 (7,5), 123 (<1), 110 (7,5), 98 (100), 80 (12,5), 52 (5).
- ‡ RMN ¹H (CDCl₃): 0,94 [dd ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{HP} = 6,77 Hz, 12H]; 1,99 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{HP} = 6,53 Hz, 2H]; 3,87 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{HP} = 6,77 Hz, 4H]; 7,63 [s (-N=CH), 1H]; 6,81 [d (P-NH-), J_{PNH} = 28,11 Hz, 1H]; 6,44(H3), 6,59 (H2) e 7,45 (H4) [m (arom.), 2H e 1H].
- ‡ RMN de ¹³C (CDCl₃): 18,71 [s, ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4C], 29,03 [d, ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{CP} = 7,34 Hz, 2C]; 73,32 [d, ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{CP} = 5,87 Hz, 2C]; 110,74 e 111,50 [s (C2 e C3) 2C]; 143,57 [(C4), 1C]; 149,85 [s (C1), 1C]; 134,94 [d (-N=CH), J_{CP} = 19,08 Hz, 1C].
- ‡ RMN ³¹P (CDCl₃): 0,57 dd (acoplado).

3.4.10. Reação do tiofurfural com diisobutilfosforilhidrazina- Ácido N'-(1 E)-2-tienilmetíleno]- diisobutilléster fosforilhidrazínico (8B).



Pesou-se 2,5 g (22 mmol) de tiofurfural em balão de fundo redondo e solubilizou-se em etanol. Adicionou-se 2 a 3 gotas de HCl e 5 g (22 mmol) do isobutilfosforilidrazina. Em seguida submeteu-se a mistura sob agitação. Formou-se um precipitado de coloração amarelo no momento da adição da diisobutilfosforilidrazina. A mistura permaneceu reagindo por 20 minutos. Verteu-se em um bêcher com pouca água e algumas pedras de gelo, deixando em repouso por 30 minutos. Filtrou-se o precipitado. Esta reação teve um rendimento de 81,3%.

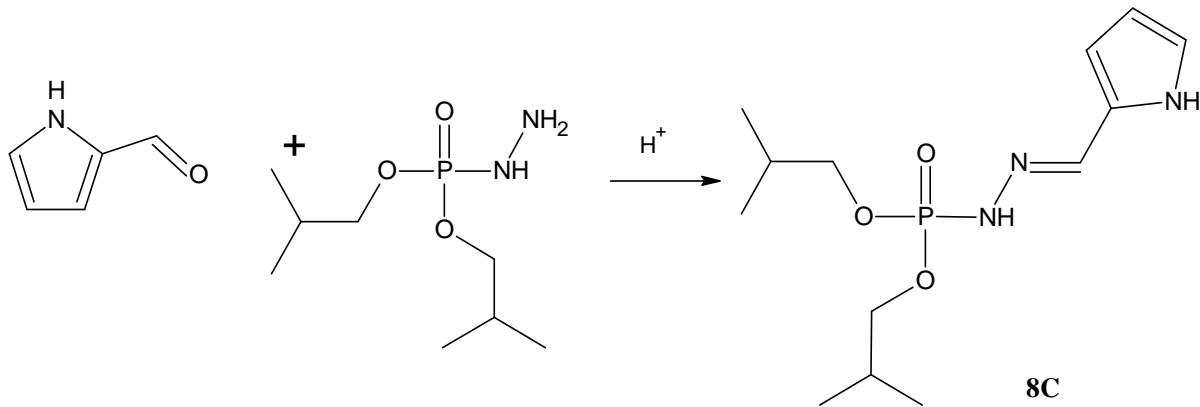
Caracterização:



⊕ Aspecto: Sólido amarelo.

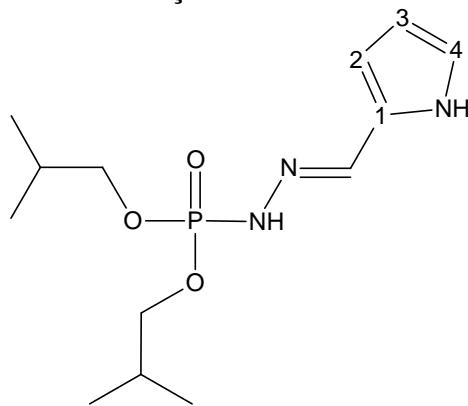
- ⊕ IV (NaCl): 3363,3 (vNH); 2962,2 e 2890,8 (vCH₂, CH₃ e CH); 1238,1 (vP=O); 1018,2 (vP-O-C); 1220,7 (vP-N); 1525,4 (δ as.CH₂ e CH₃); 1477,2 (δ sim.CH3).
- ⊕ m/Z (%): 319 (100), 264 (5), 219 (<1), 207 (<1), 191 (<1), 167 (<1), 154 (<1), 138 (<1), 127 (<1), 109 (<1), 98(12,5), 80 (<1), 69 (<1), 57 (<1), 45 (<1).
- ⊕ RMN ¹H (CDCl₃): 0,94 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{HP} = 6,77 Hz, 12H]; 1,99 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{PH} = 6,53Hz, 2H]; 3,87 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{PH} = 6,53Hz, 4H]; 7,97 [s (-N=CH), 1H]; 8,14[d (P-NH-), J_{PNH} = 28,11 Hz, 1H]; 6,99 (H3) 7,12 (H2) e 7,26 (H4)[m (arom.), 2H e 1H].
- ⊕ RMN ¹H (DMSO): 0,87 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{HP} = 6,78 Hz, 12H]; 1,87 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{HP} = 6,66 Hz, 2H]; 3,74 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{HP} = 6,90 Hz, 4H]; 8,06 [s (-N=CH), 1H]; 9,54 [d (P-NH-), J_{PNH} = 27,73 Hz, 1H]; 7,05 (H3), 7,25 (H2) e 7,50 (H4) [m (arom.), 2H e 1H].
- ⊕ RMN de ¹³C (DMSO): 18,72 [d, ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{CP} = 5,87 Hz, 4C], 29,03 [d, ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{CP} = 7,34 Hz, 2C]; 73,50 [d, ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{CP} = 6,60 Hz, 2C]; 126,91 e 127,95 [s (C2 e C3) 2C]; 138,95 [(C4), 1C]; 139,61 [s (C1), 1C]; 139,14 [d (-N=CH), J_{CP} = 19,08 Hz, 1C].
- ⊕ RMN ³¹P (CDCl₃): 1,09 dd (acoplado).

3.4.11. Reação do 2-pirrolcarboxialdeído com diisobutilfosforilidrazina- Ácido N'- [(1E)-1H-pirrol-2-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8C).



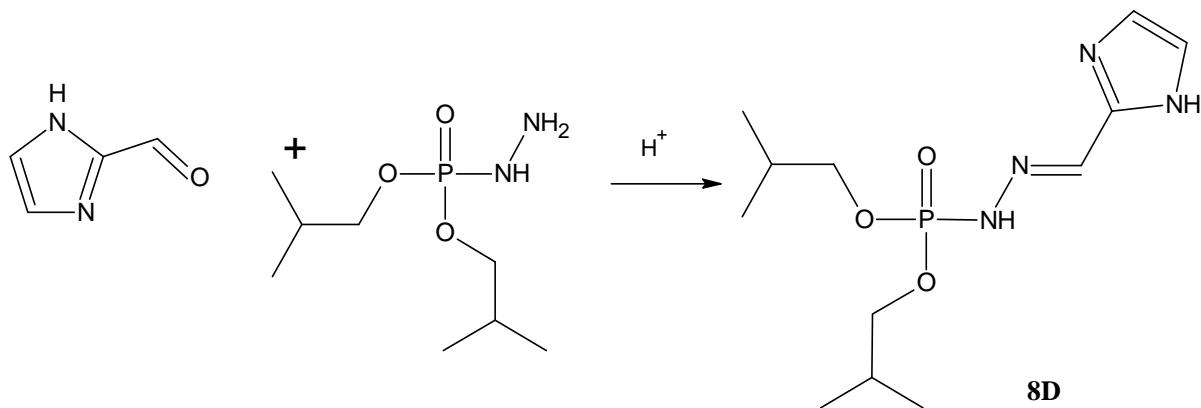
Pesou-se 0,3064g (32 mmol) de 2-pirrolcarboxialdeído em balão de fundo redondo e solubilizou-se em etanol. Adicionou-se 2 a 3 gotas de HCl e 0,7103 g (32 mmol) do diisobutilfosforilidrazina. Colocou-se o agitador magnético e fechou-se o balão deixando o líquido de coloração castanho avermelhada intensa reagir por 1h. Verteu-se a mistura em um bêcher com pouca água e algumas pedras de gelo, deixando por 30 minutos. Houve a formação de um líquido viscoso.

Caracterização:



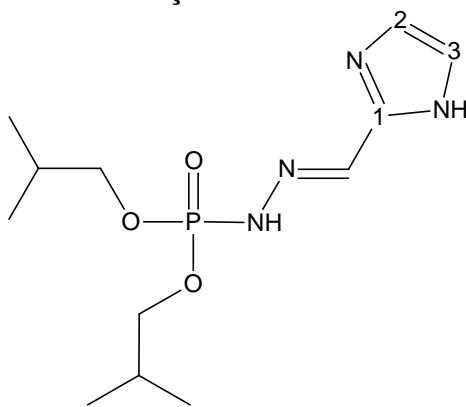
- ⊕ Aspecto: Líquido viscoso preto.
- ⊕ IV (NaCl): 3293,9 (vNH); 2960,2 e 2875,4 (vCH₂, CH₃ e CH); 1313,3 (vP=O); 1014,4 (vP-O-C); 1232,3 (vP-N); 1618,0 (δas.CH₂ e CH₃); 1492,7 (δsim.CH₃).
- ⊕ m/Z (%): 303,1 (5), 302,1 (42,5), 301,2 (67,5), 245,2 (37,5), 190,0 (27,5), 189,0 (52,5), 154 (10), 137,9 (5), 110,0 (22,5), 81,1 (20), 79,0 (47,5), 52,1 (25), 43,1 (5).
- ⊕ RMN ¹H (CDCl₃): 0,94 -0,96 [d ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{PH} = 6,77Hz, 12H]; 1,97 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{PH} = 6,77Hz, 2H]; 3,84 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{PH} = 6,53Hz, 4H]; 7,68 [s (-N=CH), 1H]; 7,36 [d (P-NH-), J_{PNH} = 26,60 Hz, 1H]; 6,19 (H3) 6,32 (H2) e 6,83 (H4) [m (arom.), 2H e 1H], 9,10 [s (NH), 1H].
- ⊕ RMN de ¹³C (CDCl₃): 18,83 [s, ((CH₃)₂CHCH₂O-), 4C], 29,05 [d, ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{CP} = 7,33 Hz, 2C]; 73,13 [d, ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{CP} = 5,87 Hz, 2C]; 109,55 e 112,01 [s (C2 e C3) 2C]; 120,70 [(C4), 1C]; 127,61 [s (C1), 1C]; 136,96 [d (-N=CH), J_{CP} = 19,08 Hz, 1C].
- ⊕ RMN ³¹P (CDCl₃): 2,50 dd (acoplado).

3.4.12. Reação do 2-imidazolcarboxialdeído com diisobutilfosforilidrazina- Ácido N'-(1 E)-1 H- imidazol-2-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8D).



Pesou-se 0,3001g (3 mmol) de 2-imidazolcarboxialdeído em balão de fundo redondo e solubilizou-se em etanol. Adicionou-se 2 a 3 gotas de HCl e 0,7039 g (3 mmol) do diisobutilforforilidrazina. Colocou-se o agitador magnético e fechou-se o balão deixando o líquido incolor reagir por 4h. Verteu-se a mistura em um bécher com pouca água e algumas pedras de gelo, deixando por 30 minutos. Houve a formação de um precipitado branco. Esta reação teve um rendimento de 31%.

Caracterização:



⊕ Aspecto: Sólido branco.

⊕ IV (NaCl): 3137,7 (vNH); 2960,2 e 2875,4 (vCH₂, CH₃ e CH); 1303,7 (vP=O); 1016,3 (vP-O-C); 1272,7 (vP-N); 1637,3 (δas.CH₂ e CH₃); 1498,4 (δsim.CH3).

⊕ m/Z (%): 303,1 (17,5), 247,1 (30), 191,0 (27,5), 172,0 (10), 110,0 (22,5), 109 (100), 98 (100), 81,1 (95), 80,2 (10), 57,1 (5), 54,1 (35), 41,0 (12,5).

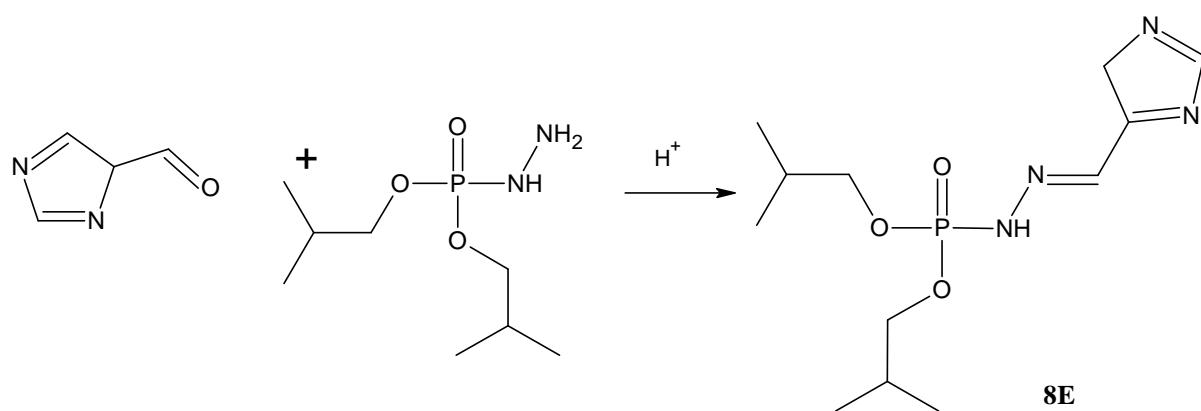
⊕ RMN ¹H (CDCl₃): 0,91 [dt ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{PH} = 6,52Hz, 12H]; 1,95 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{PH} = 6,53 Hz, 2H]; 3,84 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{PH} = 6,77Hz, 4H]; 7,94 [s (-N=CH), 1H]; 7,94 [d (P-NH-), J_{PNH} = 26,86 Hz, 1H]; 7,14 [s (arom.), 2H], 12,11 [d (NH), J_{PNH} = 32,87, 1H)].

⊕ RMN ¹H (DMSO): 0,88 [dt ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{PH} = 6,78Hz, 12H]; 1,88 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{PH} = 6,78Hz, 2H]; 3,75 [m ((CH₃)₂CHCH₂O-), J_{PH} = 6,78Hz, 4H]; 7,84 [s (-N=CH), 1H]; 9,57 [d (P-NH-), J_{PNH} = 27,85 Hz, 1H]; 7,07 [s (arom.), 2H].

⊕ RMN de ^{13}C (CDCl_3): 18,68 [s ($(\underline{\text{CH}_3})_2\text{CHCH}_2\text{O}-$) 4C], 29,01 [d, ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{O}-$), $J_{\text{CP}} = 7,33$ Hz, 2C]; 73,55 [d, ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{O}-$), $J_{\text{CP}} = 6,60$ Hz, 4C]; 136,22 e 136,42 [s (C2 e C3) 2C]; 141,95 [s (C1), 1C]; 142,93 [s (-N=CH), 1C].

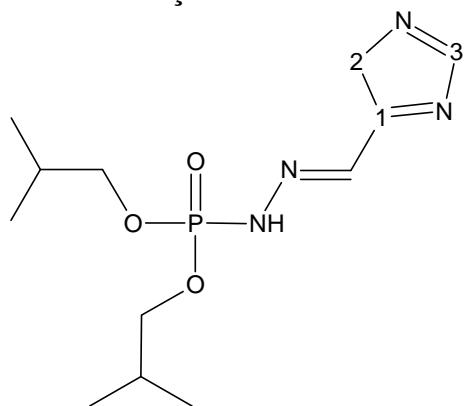
⊕ RMN ^{31}P (CDCl_3): 1,61 dquint, 2,64 dquint e 5,72 dquint (acoplado).

*3.4.13. Reação do 4 (5)-imidazolcarboxialdeído com diisobutilfosforilidrazina- Ácido N’-[(*1 E*)- 4 H-imidazol-5-ilmetíleno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8E).*



Pesou-se 0,3002g (3 mmol) de 4 (5)-imidazolcarboxialdeído em balão de fundo redondo e solubilizou-se em etanol. Adicionou-se 2 a 3 gotas de HCl e 0,7004 g (3 mmol) do diisobutilfosforilidrazina. Colocou-se o agitador magnético e fechou-se o balão deixando o líquido incolor reagir por 4h. A solução estava turva, apresentando um sólido fino e branco. Verteu-se a mistura em um bêcher com pouca água e algumas pedras de gelo, deixando por 30 minutos. Filtrou-se e deixou o filtrado no freezer, repetindo esse procedimento por 4 vezes. Houve a formação de um precipitado branco. Esta reação teve um rendimento de 21,7%.

Caracterização:



⊕ Aspecto: Sólido branco.

⊕ IV (NaCl): 3145,4 (vNH); 2960,2 e 2931,3 (vCH₂, CH₃ e CH); 1294,0 (vP=O); 1018,2 (vP-O-C); 1230,4 (vP-N); 1525,4 (δ as.CH₂ e CH₃); 1471,4 (δ sim.CH3).

⊕ m/Z (%): 303,2 (20), 247,0 (27,5), 246,1 (20), 191,0 (42,5), 190,0 (52,5), 172,1 (17,5), 150,1 (7,5), 111,1 (40), 110,0 (100), 109 (25), 98 (82,5), 94,1 (25), 83,2 (10), 80,2 (42,5), 57,1 (20), 54,1 (42,5), 41,1 (27,5), 40,1 (7,5).

⊕ RMN ^1H (CDCl_3): 0,94 [m ((CH_3) $_2\text{CHCH}_2\text{O}$ -), $J_{\text{PH}} = 6,77\text{Hz}$, 12H]; 1,98 [m ((CH_3) $_2\text{CHCH}_2\text{O}$ -), $J_{\text{PH}} = 6,52\text{Hz}$, 2H]; 3,86 [m ((CH_3) $_2\text{CHCH}_2\text{O}$ -), $J_{\text{PH}} = 6,52\text{Hz}$, 4H]; 7,76 [d (-N=CH), 1H]; 7,16[d (P-NH-), $J_{\text{PNH}} = 28,11\text{ Hz}$, 1H]; 2,18 (H2) e 7,22 (H3) [s (anel), 2H e 1 H], 11,68 [d (NH), $J_{\text{PNH}} = 33,13$, 1H)].

⊕ RMN ^1H (DMSO): 0,87 [dt ((CH_3) $_2\text{CHCH}_2\text{O}$ -), $J_{\text{PH}} = 6,77\text{Hz}$, 12H]; 1,87 [m ((CH_3) $_2\text{CHCH}_2\text{O}$ -), $J_{\text{PH}} = 6,78\text{Hz}$, 2H]; 3,73 [m ((CH_3) $_2\text{CHCH}_2\text{O}$ -), $J_{\text{PH}} = 6,78\text{Hz}$, 4H]; 7,84 [s (-N=CH), 1H]; 9,24 [d (P-NH-), $J_{\text{PNH}} = 27,86\text{ Hz}$, 1H]; 7,25 e 7,64[s (arom.), 2H].

⊕ RMN de ^{13}C (CDCl_3): 18,70 [d ((CH_3) $_2\text{CHCH}_2\text{O}$ -), $J_{\text{CP}} = 8,07\text{ Hz}$, 4C], 29,12 [d, ((CH_3) $_2\text{CHCH}_2\text{O}$ -), $J_{\text{CP}} = 6,60\text{ Hz}$, 2C]; 73,21 [d, ((CH_3) $_2\text{CHCH}_2\text{O}$ -), $J_{\text{CP}} = 5,87\text{ Hz}$, 4C]; 96,12 e 118,14 [s (C2 e C3) 2C]; 132,92 [s (C1), 1C]; 134,82 [s (-N=CH), 1C].

⊕ RMN ^{31}P (CDCl_3): 1,75 dd - 2,99 dd e 5,49 dd (acoplado).

3.5 ENSAIO BIOLÓGICO

Foram realizados testes para avaliar, *in vitro*, o efeito fungistático dos compostos obtidos, quando utilizados contra fitopatógenos *Alternaria sp.*, *Colletotrichum sp.*, *Fusarium solani*, *Fusarium* sp., comumente encontrados na pós-colheita do mamão em comparação com o produto comercial Sportak ® 450 EC que tem como princípio ativo o procloraz ($C_{15}H_{16}Cl_3N_3O_2$) utilizado com a concentração de 367 mg.L^{-1} , Figura 12.

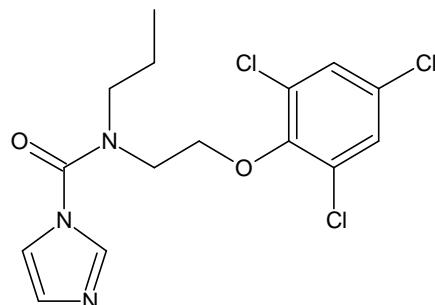


Figura 12 - Estrutura do procloraz, princípio ativo do fungicida comercial Sportak ®.

Para avaliar o desenvolvimento fúngico, foram utilizadas placas de Petri contendo os fungos *Fusarium* sp., *Fusarium solani*, *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp., adquiridos na micoteca da Fundação Oswaldo Cruz, Figura 13. O meio de cultura utilizado foi o Ágar Sabouraud glicose 4% que é recomendado para o cultivo, isolamento e identificação de fungos patogênicos e leveduras. O ótimo crescimento dos fungos se deve às altas concentrações de carboidratos.



Alternaria sp.

Colletotrichum sp.

Fusarium sp.

Fusarium solani.

Figura 13 - Fungos cedidos pela micoteca da Fundação Oswaldo Cruz.

3.5.1. Preparo das soluções e Inoculação dos fungos.

O bioensaio foi realizado incorporando-se os compostos ao meio de cultura, adotando-se a técnica descrita por EDGINGTON *et al.* (1971), modificada por MENTEN *et al.* (1976). A técnica consiste em dissolver a amostra em 5 mL de DMSO obtendo-se uma solução de 50.000 mg.L^{-1} da amostra. A partir da solução procedeu-se à diluição, de tal maneira a obter a concentração final de 500 mg.L^{-1} da amostra no meio Ágar Sabouraud glicose 4% (45°C - 50°C).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com 12 tratamentos e 5 repetições. Os tratamentos foram constituídos pelos compostos sintetizadas

com concentração de 500 mg.L⁻¹, o fungicida comercial Sportak ® na concentração de 337 mg.L⁻¹, o Meio de cultura/DMSO contendo 1,0% de DMSO e o meio de cultura.

O ensaio biológico foi constituído por placas identificadas como Meio de cultura, Meio de cultura/DMSO, compostos e fungicida. Cada tratamento era constituído por cinco repetições. A diluição dos tratamentos no meio de cultura foi realizada alguns instantes antes de serem vertidos nos meios de cultura e posteriormente sobre as placas de petri de 9 cm de diâmetro. O meio de cultura foi previamente preparado (Ágar Sabouraud glicose 4%) e somente após estar a uma temperatura aproximada de 60 °C os tratamentos foram adicionados, homogeneizados e então vertidos nas placas de petri correspondentes.

As soluções foram preparadas com concentração de 50.000 mg.L⁻¹ de cada substância sintetizada, em dimetilsulfóxido (DMSO). Foi adicionado 3 mL dessa solução a 300 mL de meio de cultura Ágar Sabouraud glicose 4% obtendo um concentração final da substância testada de 500 mg.L⁻¹. Este meio de cultura foi distribuído em 15 placas. Destas, 5 placas foram inoculadas com um disco de micélio do fungo *Fusarium* sp., outras foram inoculadas com um disco de micélio do fungo *Fusarium solani*, 5 placas inoculadas com um disco de micélio do fungo *Colletotrichum* sp. e as outras 5 placas restantes foram inoculadas com um disco de micélio do fungo *Alternaria* sp, Figura 14.

O Meio de cultura/DMSO foi feito substituindo a substância sintetizada por DMSO, para isto adicionou-se 3,0 mL de DMSO a 300 mL de meio de cultura Ágar Sabouraud glicose 4%, obtendo concentração final de 1,0%.

Utilizou-se o fungicida comercial que recebeu o mesmo tratamento substituindo a substância sintetizada por Sportak® (Procloraz) 450g.L⁻¹. Para isto, adicionou 225 µL da substância a 300 mL de meio de cultura Ágar Sabouraud glicose 4%, obtendo uma concentração final de 337 mg.L⁻¹.

Meio de cultura sem adição de nenhum tratamento foi realizado contendo somente Ágar Sabouraud glicose 4%.

Todas as placas foram lacradas com filme plástico e acondicionadas em câmara com 25 °C ± 1°C.

Foram avaliadas 12 compostos em 3 semanas, distribuídas da seguinte forma:

1.º semana - Meio de cultura, Meio de cultura/DMSO, Fungicida comercial e 4 compostos;

2.º semana - Meio de cultura, Meio de cultura/DMSO, Fungicida comercial e 5 e compostos.

3.º semanas - Meio de cultura, Meio de cultura/DMSO, Fungicida comercial e 3 compostos.



Figura 14 - Inoculação dos fungos nas placas de petri.

3.6. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA DO CRESCIMENTO FÚNGICO.

O ensaio foi constituído por placas contendo 6 concentrações diferentes do composto 6 B o qual obteve melhor resultado de inibição de cada fungo, a saber 1000 mg.L^{-1} , 500 mg.L^{-1} , 250 mg.L^{-1} , 125 mg.L^{-1} , $62,5\text{ mg.L}^{-1}$ e $31,25\text{ mg.L}^{-1}$. Cada concentração era constituída por cinco repetições. O meio de cultura foi previamente preparado (ÁGAR SABOURAUD GLICOSE 4%) e somente após a solidificação do mesmo foi adicionado discos de micélio de cada fungo com diâmetro de 0,43 cm, possuindo estruturas propagativas em capela de fluxo laminar. Com auxílio de um pipeta automática adicionou-se as diferentes concentrações da substância 6 B diretamente sobre os discos de micélios. O volume adicionado foi o suficiente para cobrir o disco. As placas então foram lacradas com filme plástico e acondicionadas em câmara com $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, Figura 15.



Figura 15 - Adição das diferentes concentrações da substância 6 B.

3.7. TESTE DE INIBIÇÃO PARA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE.

Este ensaio visa observar se os compostos sintetizados inibem a enzima acetilcolinesterase.

Como os compostos não são solúveis em água, somente os compostos incolores puderam ser analisados, uma vez que a metodologia utilizada envolve alteração de cor, variando da coloração amarelada, quando não há inibição da enzima a incolor, quando há inibição da enzima.

3.7.1. Ensaio em cromatografia de camada delgada (CCD).

As seguintes soluções foram preparadas:

Prepararam-se as seguintes soluções: (1) 50mM Tris/HCl pH 8; (2) 50mM Tris/HCl pH 8, contendo 0,1% de albumina sérica bovina (BSA) fração V; (3) 1,0mM de ácido 5,5'-ditiobis-[2-nitrobenzoíco](DTNB ou reagente de Ellman), (4) 1,0mM de iodeto deacetilcolina(ACTI); (5) 0.22U/mL da enzima acetilcolinesterase.

A enzima AChE liofilizada foi dissolvida na solução tampão (1) para fazer uma solução estoque 1000 U/mL, deixando-se na solução por 20 min, depois sob agitação por mais um período de 10-15 min, para obtenção de uma solução homogênea. Para as diluições posteriores, utilizou-se a solução tampão (2) (TREVISAN, 2003).

Aplicou-se os compostos (1,5 - 2,5 μL) em CCD, DC-Alufolien,Silicagel 60 F254, 0,2 mm Merck. Borrifou-se a placa com as soluções (3) + (4), deixando 3 min, Figura 16. Após secar,

borrifou-se a enzima 3U/mL e em 10 min, apareceu a coloração amarela, porém onde houve inibição da enzima, observou-se um halo branco (RHEE *et al*, 2001). Em 20 - 30 min a coloração desapareceu.



Figura 16 - Aplicação dos compostos, do solvente e do padrão seguido do borrifo da placa com as soluções (3) + (4).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

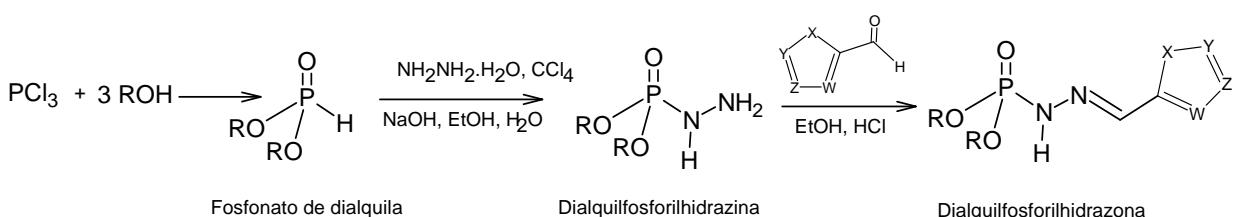
Este capítulo está estruturado em três tópicos. O primeiro tópico descreve todas as etapas necessárias para a síntese das dialquilfosforilidrazonas, apresentando a determinação estrutural de todos os compostos sintetizados.

O segundo tópico apresenta os estudos de avaliação da atividade fungicida das dialquilfosforilidrazonas sobre os fungos, *Altenaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp.e *Fusarium solani*.

O terceiro tópico apresenta os resultados da atividade de inibição da enzima acetilcolinesterase realizado em cromatografia de camada delgada (CCD).

4.1 OBTENÇÃO DAS DIALQUILFOSFORILIDRAZONAS

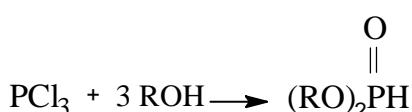
As dialquilfosforilidrazonas foram obtidas a partir da rota sintética apresentada no Esquema 8.



Esquema 8 - Rota de síntese das dialquilfosforilidrazonas

4.1.1 Síntese dos fosfonatos de dialquila

Um dos principais intermediários para a síntese das dialquilfosforilidrazonas é o fosfonato de dialquila e sua síntese foi realizada de acordo com o Esquema 9.

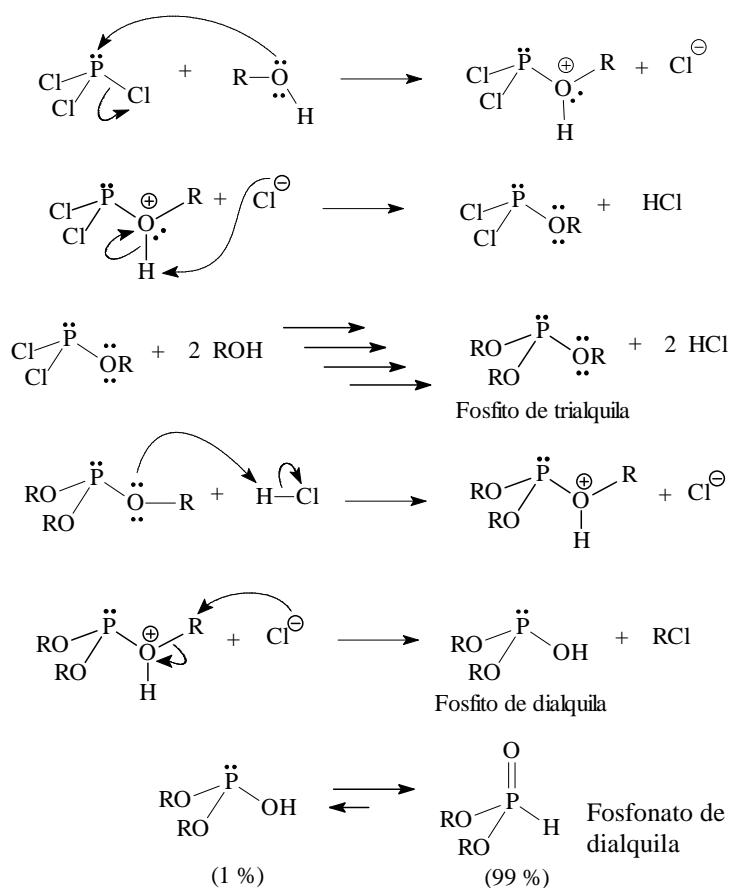


(1) R= Etil, (2) R= Propil, (3) R=Isopropil, (4) R=Isobutil.

Esquema 9 - Síntese dos fosfonatos de dialquila.

Esta síntese tem como matéria prima principal o tricloreto de fósforo (PCl_3), o qual reage com três mols do álcool correspondente, para formar o fosfonato de trialquila liberando dois mols de ácido clorídrico e um mol de cloreto de alquila, eliminado através de destilação a pressão reduzida em evaporador rotatório.

A formação dos fosfonatos de dialquila envolve um sistema de reações do tipo SN_2 (KOSALOPOFF & MAIER, 1973), conforme é mostrado no Esquema 10. 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 monovalente, que é então atacado pelo cloreto no carbono do grupo alquila, formando o fosfonato de dialquila e o cloreto de alquila correspondente. A síntese dos fosfonatos de dialquila envolve reações do tipo SN_2 (TODD-ATHERTON *et al.*; 1945; 1948).

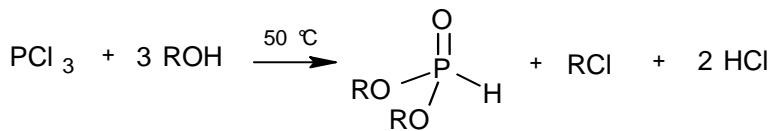


Esquema 10 - Mecanismo para obtenção dos fosfonatos de dialquila.

Os fosfonatos de dialquila apresentam-se sob duas formas de equilíbrio, porém a forma na qual o átomo de fósforo está no estado tetracoordenado é a preferencial (COOK *et al.*; 1949; KOSALOPOFF & MAIER, 1973).

Os fosfonatos de dialquila foram utilizados sem a necessidade de destilação, pois apresentaram grau de pureza satisfatório para seu uso subsequente. A destilação desses fosfonatos só é necessária quando a cadeia alquilica lateral é maior que 3 átomos de carbono, pois o respectivo cloreto de alquila formado não é facilmente retirado por evaporação a pressão reduzida. Neste caso a destilação a pressão reduzida deve ser conduzida com cuidado de forma a se evitar a formação de polifosfatos que é observado pelo aumento gradativo da viscosidade do conteúdo do balão levando à redução do rendimento da reação. A Tabela 1 mostra os rendimentos dos fosfonatos de dialquila simétricos após 4 horas no evaporador rotatório.

Tabela 1 - Rendimentos dos fosfonatos de dialquinas obtidos.



Compostos Nº	R	Rendimento (%)
1	-CH ₂ CH ₃	65
2	-CH ₂ CH ₂ CH ₃	91
3	-CH(CH ₃) ₂	94
4	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	79

4.1.2. Determinação estrutural dos fosfonatos de dialquila

Os espectros de IV, RMN ¹H dos fosfonatos de dialquila se encontram no apêndice A.

4.1.2.1 Análise por espectrometria de infravermelho

Os fosfonatos de dialquila apresentam bandas de absorções características, as quais estão presentes em aproximadamente 2431 cm⁻¹, 1245 cm⁻¹ e 1038 cm⁻¹, que são, respectivamente, vibrações de deformações axiais das ligações P-H, P=O e P-O (THOMAS, 1974). É também possível observar uma banda de absorção fraca em torno de 3353 cm⁻¹, que é atribuída à hidroxila, evidenciando o equilíbrio entre as duas formas de equilíbrio dos fosfonatos, já mostrado no Esquema 10. A Tabela 2 mostra as principais bandas de absorção dos fosfonatos de dialquila sintetizados. A Figura 17 mostra as principais absorções dessas substâncias.

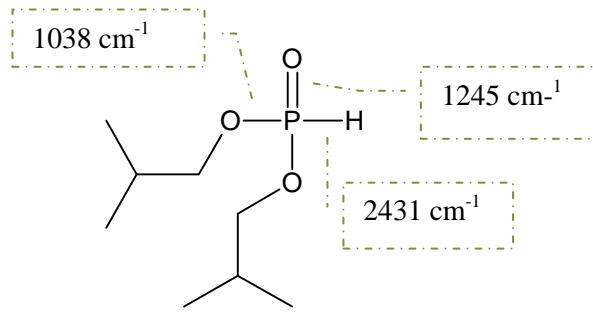


Figura 17 - Principais absorções dos fosfonatos de dialquila no infravermelho.

Tabela 2 - Dados de IV das principais bandas de absorção dos fosfonatos de dialquilas.

Comp. Nº	Absorções expressas em cm ⁻¹				
	v(OH)	v(P-H)	v(C-O)	v(P=O)	v(P-O)
1	3459	2431	1480	1252	1046
2	3486	2426	1465	1260	1068
3	-	2434	1464	1223	1107
4	3353	2431	1470	1245	1038

4.1.2.2. Análise por espectrometria de RMN-¹H

Nos espectros de RMN-¹H dos fosfonatos de dialquila, observa-se sempre sinais em duas regiões características, uma em torno de 4,0 ppm, correspondente aos hidrogênios do carbono ligado aos oxigênios do grupo fosforila e a outra, um dupletos referente ao hidrogênio ligado diretamente ao átomo de fósforo em, aproximadamente, 7,0 ppm com uma constante de acoplamento P-H elevada, em torno de 690 Hz. Pode-se também encontrar acoplamento de fósforo-hidrogênio a uma distância de até 4 ligações.

Na Tabela 3 estão apresentados os dados referentes aos deslocamentos químicos, as multiplicidades para todos os hidrogênios presentes nos fosfonatos de dialquila, assim como os valores para das constantes de acoplamento P-H.

Na Figura 18 estão apresentados os dados referentes aos deslocamentos químicos, as multiplicidades para todos os hidrogênios presentes nos fosfatos de dialquila, assim como os valores para das constantes de acoplamento P-H.

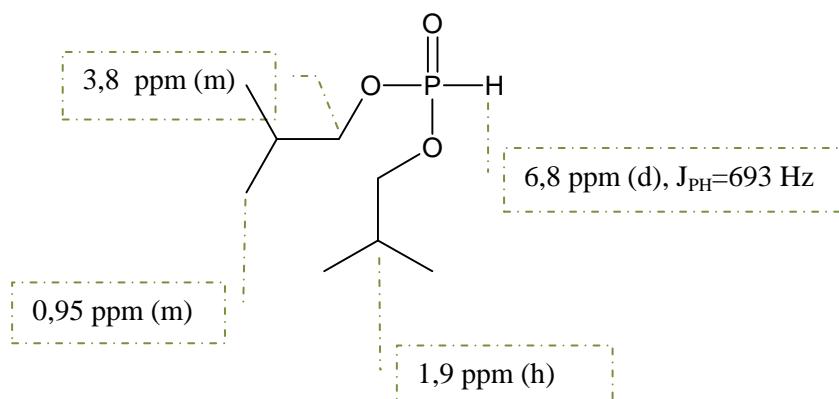


Figura 18 - Dados de RMN-¹H dos fosfonatos de dialquila.

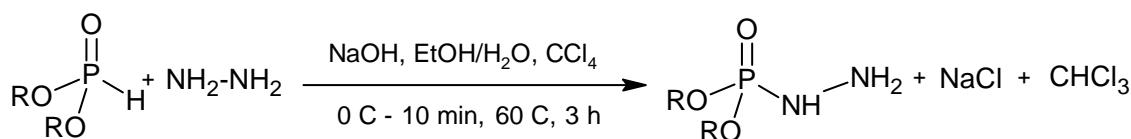
Tabela 3 - Dados de RMN-¹H dos fosfonatos de dialquila.

Comp N°	P-H	RMN- ¹ H					
		CH _n OP	CH _n CH ₂ OP	CH _n (CH ₂) _x OP	(CH ₃) ₂ CHOP	CH ₃ (CH ₂) ₃ OP	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ OP
1	6,7(d)/1H J _{P-H} =694 Hz	4,1(d/q)/4H n=2	1,3(t)/6H n=3	-	-	-	-
2	6,7(d)/1H J _{P-H} =696 Hz	4,0(dt)/4H n=2	1,7(sex)/4H n=2	0,9(t)/6H n=3; x=2	-	-	-
3	6,5 (d)/1H J _{P-H} =693 Hz	4,7(d/t)/2H n=1	-	-	1,3 (d)/12H	-	-
4	6,8 (d)/1H J _{P-H} =693 Hz	3,8 (m)/2H n=2	1,9(h)/1H n=1	-	-	-	0,95 (m)/12H

*Todos os espectros foram obtidos em CDCl₃.

4.1.3. Síntese das dialquilfosforilidrazinas.

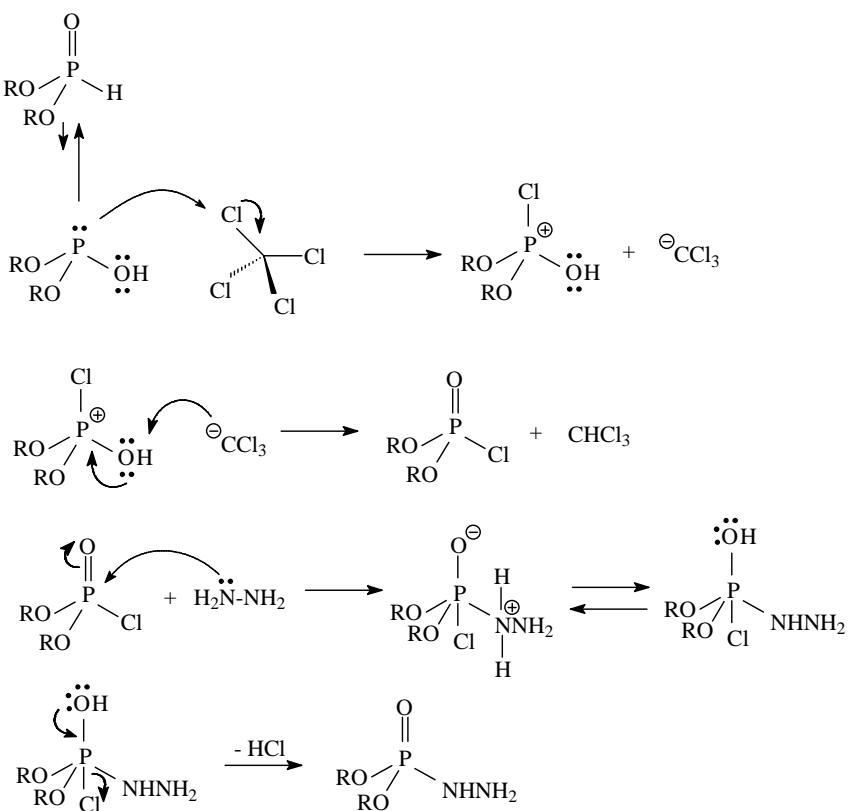
A síntese das dialquilfosforilidrazinas, também denominadas ácido fosforoidrazídico éster de dialquila, ocorreu segundo a reação de Todd-Atherton modificada (TODD & ATHERTON, 1945; TODD & ATHERTON, 1947; TODD & ATHERTON, 1948; ZHAO *et al.*; 1984; ZHAO *et al.*; 1988). As sínteses destes compostos envolvem um sistema bifásico onde são utilizados tetracloreto de carbono, água e etanol em meio alcalino, segundo a reação de Todd-Atherton modificada, conforme o Esquema 11. A água e o etanol funcionam como solventes, já que a hidrazina é solúvel em ambos os solventes e o tetracloreto de carbono é o eletrófilo.



R = Etil, propil, isopropil e isobutil.

Esquema 11 - Síntese das dialquilfosforilidrazinas.

Apesar do equilíbrio, mostrado no Esquema 10, estar somente 1% deslocado para a forma trivalente do fosfonato de dialquila, o par de elétrons do fósforo ataca o átomo de cloro da molécula de CCl_4 levando ao correspondente cátion tetravalente de fósforo, que por sua vez ataca a hidrazina ou a base presente no meio reacional. O mecanismo simplificado provável é mostrado no Esquema 12.



Esquema 12 - Provável mecanismo da reação de síntese das dialquilfosforilidrazinas.

A Tabela 4 mostra os rendimentos das dialquilfosforilidrazinas obtidas.

Tabela 4 - Rendimentos das dialquilfosforilidrazinas.

Compostos Nº	R	Rendimento (%)
5	-CH ₂ CH ₃	65
6	-CH ₂ CH ₂ CH ₃	91
7	-CH(CH ₃) ₂	85
8	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	90

4.1.4. Determinação estrutural das dialquilfosforilidrazinas.

Os espectros de IV, Massas, RMN ¹H e RMN ¹³C dos fosfonatos de dialquila estão no apêndice A.

4.1.4.1. Análise por espectrometria de infravermelho.

Uma absorção importante na confirmação da obtenção das dialquilfosforilidrazinas é a referente ao estiramento P-N, em 1166 cm⁻¹, também são características às bandas em 3351 cm⁻¹ referentes as bandas de estiramento axial N-H. As absorções em 1230 cm⁻¹ e 1023 cm⁻¹ também encontradas são referentes a P=O e P-O, respectivamente.

A Tabela 5 mostra as principais bandas de absorção referentes a estas substâncias. A figura 19 mostra as principais bandas de absorção referente a esta substância.

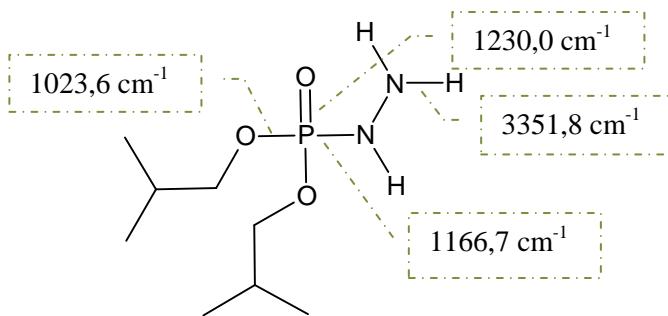


Figura 19 - Principais absorções das dialquilfosforilidrazinas no IV.

Tabela 5 - Principais bandas de absorção de IV das dialquilfosforilidrazinas (cm^{-1}).

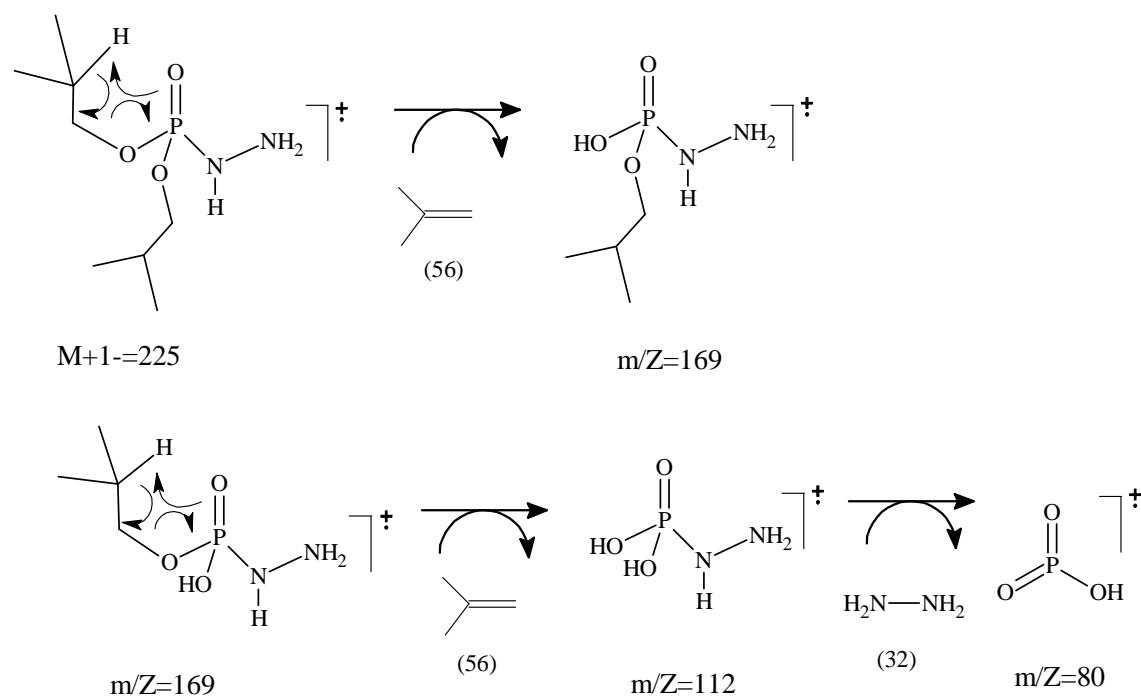
(RO) ₂ P(O)N(H)NH ₂				
Composto	P=O	P-O-C	P-N	N-H
5	1224,6 (st)	972,0 (st)	1029,8 (st)	3355,6 (st)
6	1215,3 (st)	1004,9 (st)	1062,2 (st)	3349,3 (st)
7	1126, 5 (st)	996,0 (st)	1109,0 (st)	3352,6 (st)
8	1230,0 (st)	1023,6 (st)	1166,7 (st)	3351,8 (st)

Nos espectros de IV dos compostos acima, não foi verificada a presença de bandas de absorção na região de 2425 cm^{-1} , o que evidencia a ausência de ligação P-H, característica dos fosfonatos de dialquila. Observa-se também as bandas referentes as absorções de P=O que aparece em torno de 1230 cm^{-1} e de P-O em torno de 1000 cm^{-1} .

4.1.4.2. Análise por espectrometria de massas.

Na análise de espectrometria de massas dos compostos 5, 6, 7 e 8, o fragmento que corresponde ao pico base é o m/z=112. Um segundo fragmento característico de ambos os compostos é o m/z=82. No espectro de massas do composto 8 temos como pico base o pico m/z 112 e o segundo de maior abundância o M + 1.

Na análise dos espectros de massas dos compostos 5, 6, 7 e 8, pode-se observar um padrão único, característicos dos 4 compostos, onde através de rearranjo de McLafferty, verifica-se o mesmo comportamento desses compostos, como pode ser observado no Esquema 13, que apresenta a proposta de fragmentação para o composto 8.



Esquema 13 - Proposta de fragmentação dos principais picos da diisobutilfosforilidrazina.

4.1.4.3. Análise por espectrometria de RMN-¹H.

No espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da diisobutilfosforilidrazina pode-se observar dois simples largos referentes aos hidrogênios hidrazínicos e os hidrogênios metilênicos e metílicos da cadeia alcoxídica.

Compostos contendo hidrogênio ligado a nitrogênio às vezes, devido à troca dos hidrogênios com o solvente, pode-se não se observar o acoplamento desses com hidrogênios adjacentes, assim o sinal é um simpleto.

Na Tabela 6 estão apresentados os dados referentes aos deslocamentos químicos (δ), as multiplicidades e as constantes de acoplamento das dialquilfosforilidrazinas sintetizadas. A Figura 20 apresenta os dados referentes aos deslocamentos químicos, as multiplicidades e as constantes de acoplamento da diisobutilfosforilidrazina sintetizada utilizada como modelo.

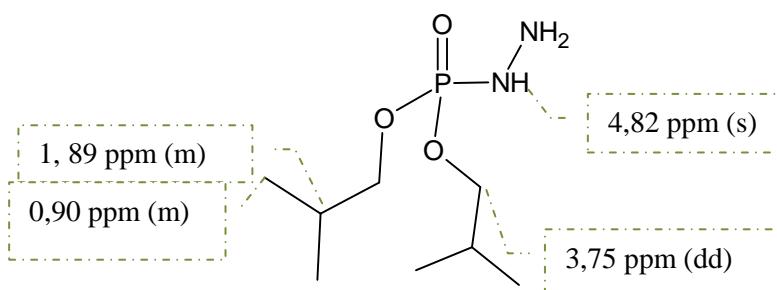


Figura 20 - Dados de RMN-¹H da diisobutilfosforilidrazina (8).

Tabela 6-Deslocamentos químicos (ppm), multiplicidade e constantes de acoplamento (Hz).

Composto	δ em ppm (multiplicidade)						
	CH ₃	CH	CH ₂ CH ₂ O	CH ₂ O	N-H	NH ₂	
5	1,32 (dt)/6H $J_{HH}= 7,06$ Hz	-	-	4,10 (q)/4H $J_{HH}= 7,69$ Hz	4,98 (d)/1H	4,04 (s)/2H	
6	0,92 (t)/6H $J_{HH}= 6$ Hz	-	1,68 (sex)/4H $J_{HH}= 6$ Hz	3,96 (dt)/4H $J_{HH}= 8$ Hz	3,58 (d)/3H	-	
7	1,30 (d)/12H $J_{HH}= 8$ Hz	4,61 (hd)/2H $J_{HH}= 8$ Hz	-	-	3,67 (d)/3H	-	
8	0,90 (m)/12H $J_{HH}= 7,02$ Hz	1,89 (m)/2H $J_{HH}= 7,89$ Hz	-	3,75 (dd) $J_{HH}= 7,27$ Hz	4,82 (d)/1H	3,98 (s)/2H	

4.1.4.4. Análise por espectrometria de RMN-¹³C.

Os espectros de RMN-¹³C das dialquilfosforilidrazinas são extremamente simples uma vez que estes compostos só possuem os carbonos da cadeia alcoxídica que são simétricas, logo o espectro da diisobutilfosforilidrazina apresenta 3 sinais de deslocamento químico de carbono.

Na Tabela 7 estão apresentados os dados referentes aos deslocamentos químicos, as multiplicidades e as constantes de acoplamento das dialquilfosforilidrazinas sintetizadas. A

figura 21 apresenta os dados referentes aos deslocamentos químicos, as multiplicidades e as constantes de acoplamento da diisobutylfosforilidrazina sintetizada.

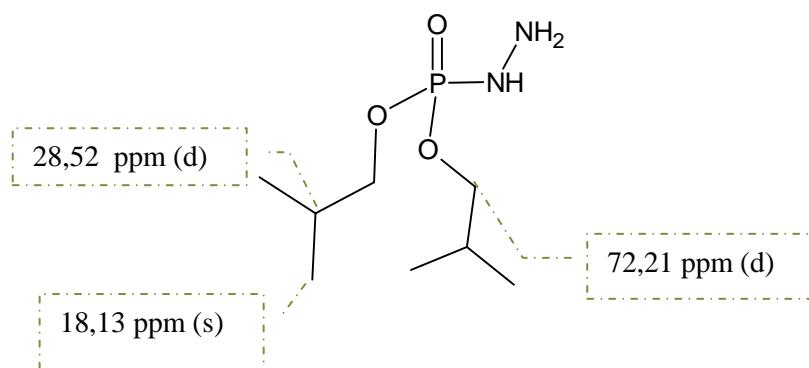


Figura 21 - Dados de RMN-¹³C da diisobutylfosforilidrazina.

Tabela 7 - Dados de RMN-¹³C das dialquilfosforilidrazinas.

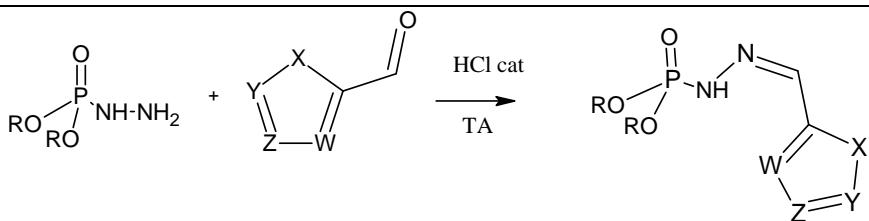
Composto	δ em ppm (multiplicidade)			
	<u>CH₃</u>	<u>CH</u>	<u>CH₂CH₂O</u>	<u>CH₂O</u>
5	15,50 (d)	-	-	62,31 (d)
6	9,80 (s)	-	23,45 (d)	68,12 (d)
7	23,46 (d)	71,12 (d)	-	-
8	18,13 (d)	28,52 (d)	-	72,21 (d)

4.1.5 Síntese das dialquilfosforilidrazonas.

A partir do intermediário chave (dialquilfosforilidrazinas) os derivados fosforilidrazônicos foram obtidos explorando a clássica condensação catalisada por ácido com os respectivos aldeídos, à temperatura ambiente.

Na Tabela 8 estão os rendimentos, as massas moleculares, os pontos de fusão e aspectos físicos das dialquilfosforilidrazonas sintetizadas neste trabalho.

Tabela 8 - Dados dos compostos sintetizados.



R = Etil (5), propil (6), isopropil (7), isobutil (8).

X = O, S, NH, 2 NH, 4 (5) NH

R = etil (5) - X= O (5A), etil (5) - X= NH (5B).

R = propil (6) - X= O (6A), propil (6) - X= S (6B), propil (6) - X= NH (6C), propil (6) - Y=N, W=N (6D).

R = isopropil (7) - X= O (7A).

R = isobutil (8) - X= O (8A), isobutil (8) - X= S (8B), isobutil (8) - X= NH (8C),

R = isobutil (8) - X= NH, W = N (8D), isobutil (8) - Y=N, W=N (8E).

N. ^o	Massa	Rend.(%)	P.F.(⁰ C)	Aspecto físico
5A	246	-	-	Sólido preto
5B	245	57,5	-	Líquido viscoso vinho
6A	274	85,9	58-61	Sólido marrom
6B	290	92,3	71-73	Sólido amarelo
6C	273	-	-	Líquido viscoso preto
6D	274	21,0	133-135	Sólido castanho
7A	274	70,2	144-146	Sólido marrom
8A	302	84,0	79-81	Sólido amarelo
8B	318	81,3	92-94	Sólido amarelo
8C	301	-	-	Líquido viscoso preto
8D	302	31,7	160-162	Sólido Branco
8E	302	35,7	166-168	Sólido Branco

A reação de formação das dialquilfosforilidrazonas ocorre a partir do ataque nucleofílico do nitrogênio hidrazídico à carbonila do aldeído aromático, levando em consideração que quanto menor a densidade eletrônica sobre o carbono carbonílico, mais favorecida será a reação e, consequentemente, a formação dos produtos.

4.1.6. Determinação estrutural das dialquilfosforilidrazonas

Os espectros de IV, Massas, RMN de ^1H , RMN de ^{13}C e RMN de ^{31}P das dialquilfosforilidrazonas estão no apêndice A.

4.1.6.1. Análise por espectrometria de infravermelho.

Os espectros de infravermelho dos compostos sintetizados apresentam as bandas de absorção características das dialquilfosforilidrazonas. Como principais bandas de absorção temos 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 dois 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 $^{-1}$ (CAMPUS & CASTELLS, 1980). A presença da ligação C=N confirma a reação entre as dialquilfosforilidrazinas e os aldeídos aromáticos, formando as dialquilfosforilidrazonas.

As absorções referentes às funções das dialquilfosforilidrazonas sintetizadas são bem definidas e podem ser observadas nos espectros analisados, como mostrado resumidamente na Tabela 9.

Tabela 9 - Principais absorções das dialquilfosforilidrazonas no IV em célula de NaCl.

N. ^o Comp.	X/Y/Z/W	P=O	P-O-C	NH		P-N
5A	O/C/C/C	1228,4	1035,6	3128,0		1166,7
5B	NH/C/C/C	1232,3	1031,7	3143,5		1103,1
6A	O/C/C/C	1236,2	1012,5	3361,4		1157,1
6B	S/C/C/C	1236,2	1012,5	3355,6		1072,2
6C	NH/C/C/C	1236,2	1008,6	3399,9		1232,3
6D	N/C/N/C	1222,7	1004,7	3158,9		1290,2

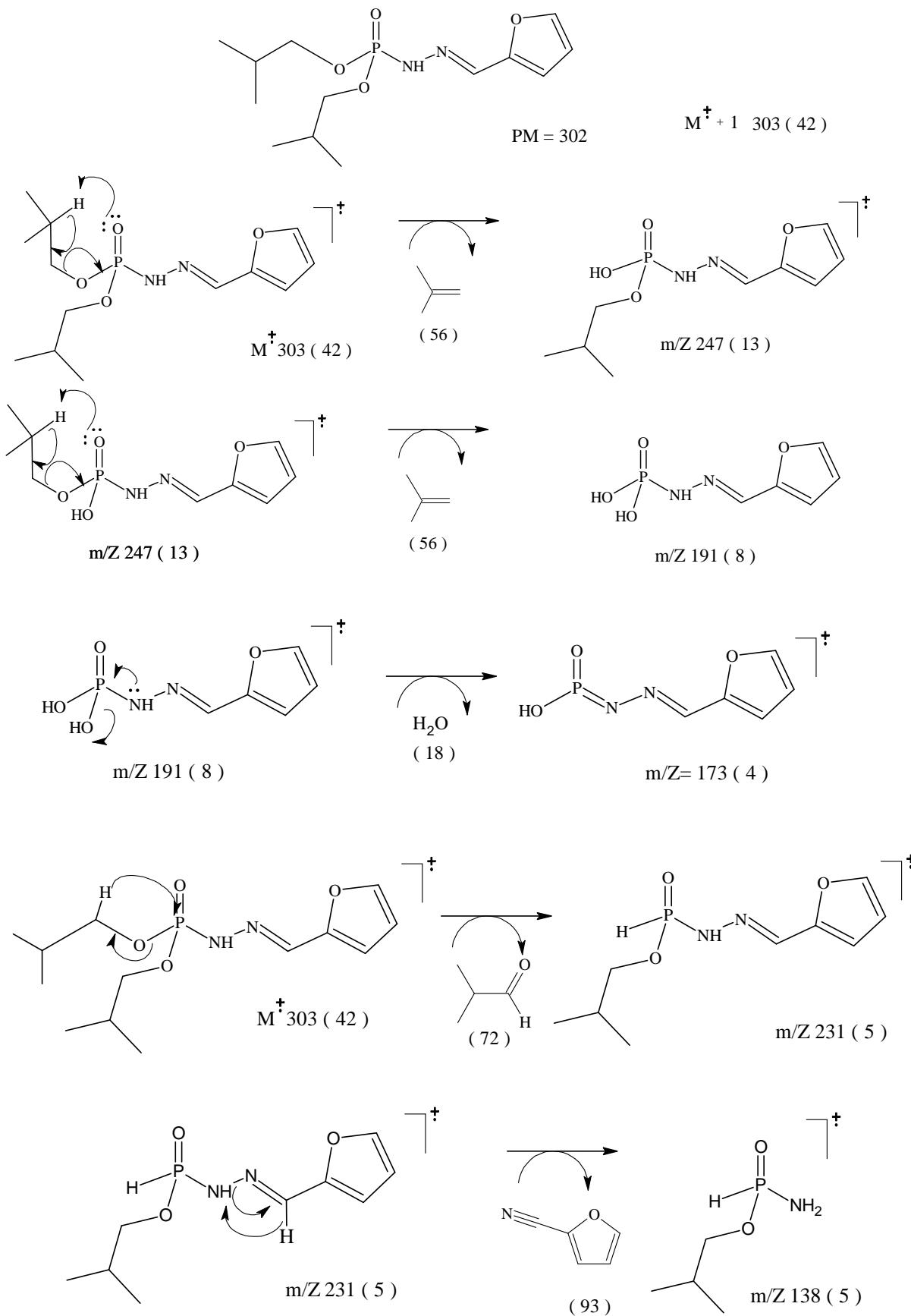
N. ^o Comp.	X/Y/Z/W	P=O	P-O-C	NH	P-N
					7A 8A 8B 8C 8D 8E
7A	O/C/C/C	1270,9	1020,2	3122,2	1224,6
8A	O/C/C/C	1236,2	1014,4	3372,9	1153,2
8B	S/C/C/C	1238,1	1018,2	3363,2	1220,7
8C	NH/C/C/C	1313,3	1014,4	3293,9	1232,3
8D	N/C/C/N	1303,7	1016,3	3137,7	1272,7
8E	N/C/N/C	1294,0	1018,2	3145,4	1230,4

Absorções expressas em cm^{-1}

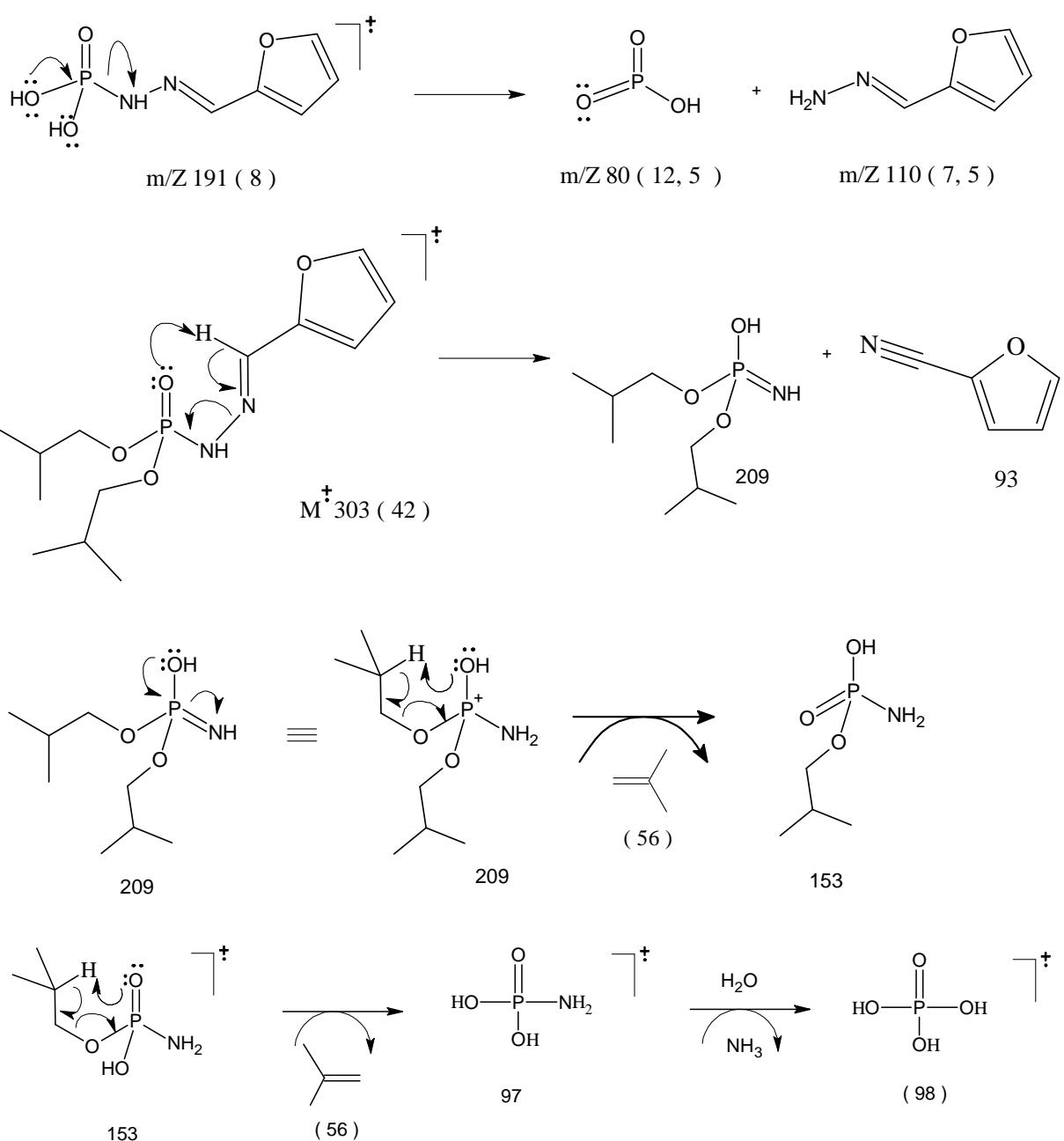
4.1.6.2. Análise por espectrometria de massas.

No espectro de massas da dialquilfosforilidrazonas o pico base apresenta uma relação m/Z = 98. O aparecimento no espectro de massas do pico do M + 1 em detrimento do M (íon molecular) ocorre usualmente com moléculas que têm heteroátomos em sua estrutura devido à protonação. Estes íons M + 1 obtidos por ionização química têm freqüentemente alta intensidade (SILVERSTEIN *et al.*; 1994; WATSON, 1997).

Os Esquemas 14 e 15 apresentam a proposta de fragmentação para a dialquilfosforilidrazonas.



Esquema 14 - Proposta de fragmentação para o diisobutylfosforilidrazone (Continua).



Esquema 15 - Continuação.

4.1.6.3. Análise por espectrometria de RMN-¹H

Essa série de compostos sintetizada apresenta como característica básica um duplet centrado em torno de 9 ppm referente ao hidrogênio ligado ao nitrogênio vizinho ao fósforo (Ha). Este hidrogênio apresenta-se como um duplet, pois acopla com o átomo de fósforo a duas ligações com constante de acoplamento (*J*) que varia de 26,60Hz à 29,62Hz, o que está de acordo com a literatura que registra que este acoplamento ocorre na faixa de 23 Hz a 53 Hz (THOMAS, 1974). Há também um simpleto com deslocamento químico em 9,10 ppm à 12,07 ppm referente ao hidrogênio imídico (Hb), Figura 22.

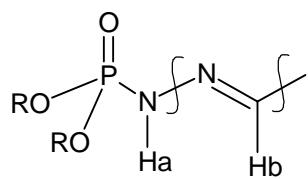


Figura 22 - Hidrogênio amínico e imídico.

Podemos observar também acoplamentos característicos dos hidrogênios metínicos, tanto da isopropila quanto da isobutila de porção alquílica desse grupo de moléculas, conforme ilustrado na Figura 23.

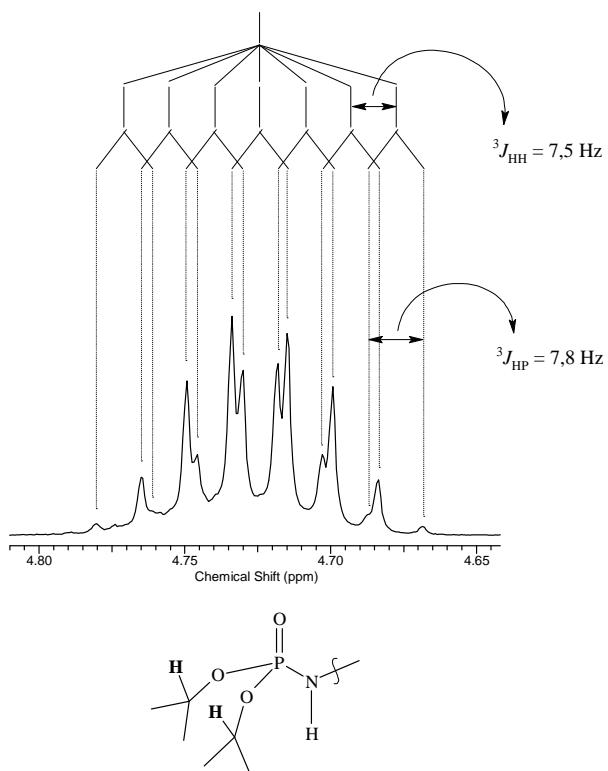


Figura 23 - Padrão de acoplamento dos hidrogênios metínicos das dipropilfosforilidrazonas.

Os hidrogênios metilênicos (CH_2O) das cadeias propílicas de algumas dipropilfosforilidrazonas, acoplam também com o átomo de fósforo e com os hidrogênios metilênicos ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) que estão em posição α a eles.

As constantes de acoplamento entre hidrogênio-hidrogênio vicinais e hidrogênio-fósforo, ambas a três ligações, são praticamente as mesmas e na medição dessas constantes um erro de aproximadamente $\pm 0,5 \text{ Hz}$ pode ser encontrado (DAVID *et al.*; 1962), Figura 24.

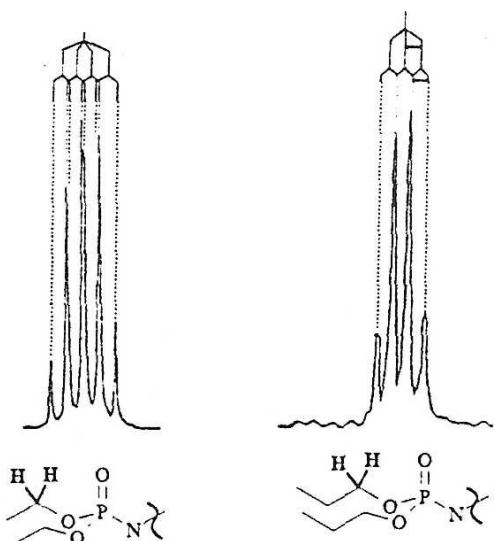


Figura 24 - Padrões de multiplicidade dos hidrogênios metilênicos dos grupos alcóxidos acoplados com o fósforo.

A análise dos espectros de RMN das dialquilfosforilidrazonas mostra a coexistência dos dois possíveis diastereoisômeros *E* e *Z*. No sistema para obtenção das dialquilfosforilidrazonas o ataque do par de elétrons do nitrogênio da fosforilidrazina se dá pelas duas faces da carbonila aldeídica, levando, a princípio, a um par de diastereoisômeros, que por sua vez, em cada diastereoisômero, elimina água para gerar a hidrazone correspondente. Apesar dos aldeídos tenderem a formar, preferencialmente, hidrazonas com configuração *E*, que é termodinamicamente a mais estável (COSTA *et al.*; 2003), em geral o isômero *Z* também é formado, como um produto minoritário.

Nos compostos onde se utilizou o 4 (5)-imidazolcarboxialdeído como intermediário para obtenção das dialquilfosforilhidrazonas, 6 D e 8 E, pode-se notar a formação de tautômeros através do espectro de RMN ¹H em CDCl₃, facilmente visualizado no espectro do composto 6 D. Neste, encontra-se um sinal em 2,84 ppm referente a um CH₂ e um sinal em 7,23 ppm, referente ao hidrogênio localizado entre os dois nitrogênios do anel, mostrando a contribuição do tautômero **2**, representada na Figura 25. Percebe-se também a contribuição do tautômero **1** ou **3** através do sinal referente a um hidrogênio com deslocamento em 7,23 ppm, provavelmente do hidrogênio assinalado em negrito. Há, em 1,28 ppm um duplo triplo referente, provavelmente, ao hidrogênio assinalado com o asterisco, mostrando a contribuição do tautômero **4**.

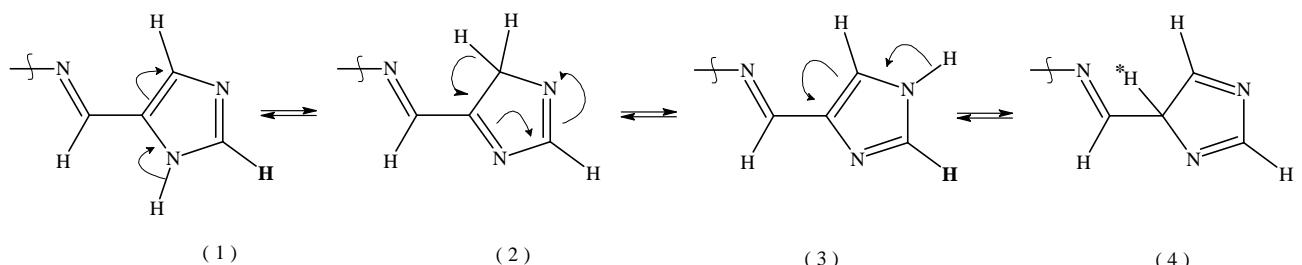


Figura 25 - Tautômeros dos compostos a base de 4 (5)-imidazolcarboxialdeído.

Quando o espectro é repetido em DMSO, somente um tautômero é observado, o tautômero 1 ou 3, onde os dois hidrogênios do anel apresentam deslocamento químico em 7,26 ppm e 7,66 ppm. O sinal do hidrogênio ligado ao nitrogênio que em CDCl_3 que estava em 11,23 ppm apareceu em DMSO em 9,24 ppm. Neste espectro somente um tautômero é percebido, o tautômero 1 ou 3, onde os dois hidrogênios do anel apresentam deslocamento químico em 7,26 ppm e 7,66 ppm.

Através do espectro de ^{31}P em CDCl_3 observa-se, também, a presença dos diferentes tautômeros como pode ser visto na Figura 26a. Quando este mesmo composto é obtido em DMSO, Figura 26b verifica-se a presença de somente um dos tautômeros, ou seja, o mais estável, que provavelmente trata-se do tautômero 1 ou 3.

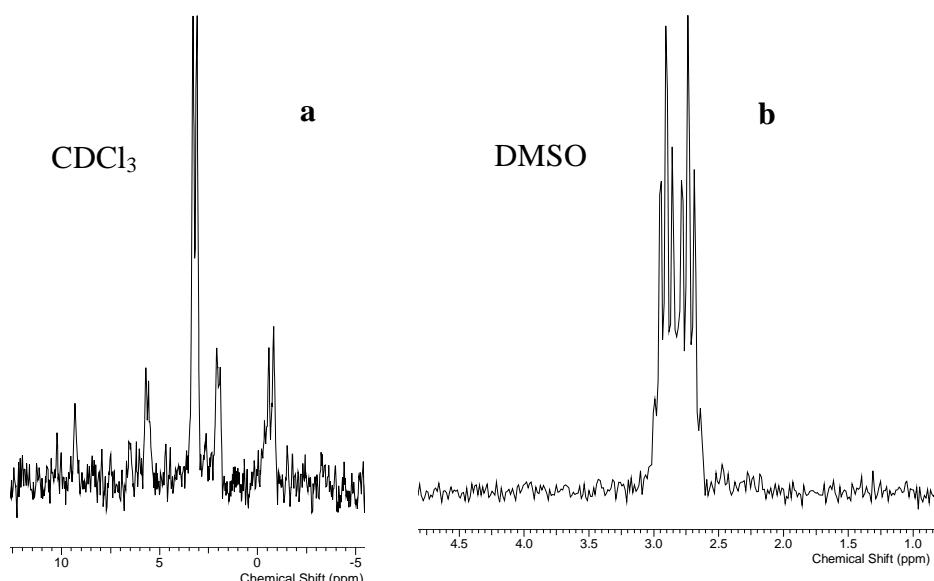


Figura 26 - Espectros de ^{31}P em CDCl_3 e DMSO do composto 6 D.

Nota-se ainda que em todos os compostos cujo grupo alquil utilizado era o isobutil e o aldeído o imidazol, compostos 8 D e 8 E, com o aparecimento de dois dupletos, ambos acoplando com o fósforo, um deles em campo baixo, variando entre 12,07 ppm e 11,68 ppm e outro em campo alto, entre 7,92 ppm e 7,16 ppm, o que sugere novamente a contribuição das formas tautoméricas.

Observa-se, também, a formação de mistura nos compostos contendo o oxigênio como heteroátomo. O mesmo não ocorreu quando o heteroátomo diferente de oxigênio, onde houve uma maior formação do diastereoisômero E. O diastereoisômero E é percebido porque os compostos apresentam deslocamento químico do hidrogênio amídico variando de 7,40 ppm a 9,51 ppm, o que indica que não há formação ligação hidrogênio intramolecular entre este hidrogênio e o heteroátomo. Para confirmar a preferência pela formação do diastereoisômero E, um espectro de NOESY foi feito. Na Figura 27 vê-se o espectro de RMN - ^1H do composto 6 D.

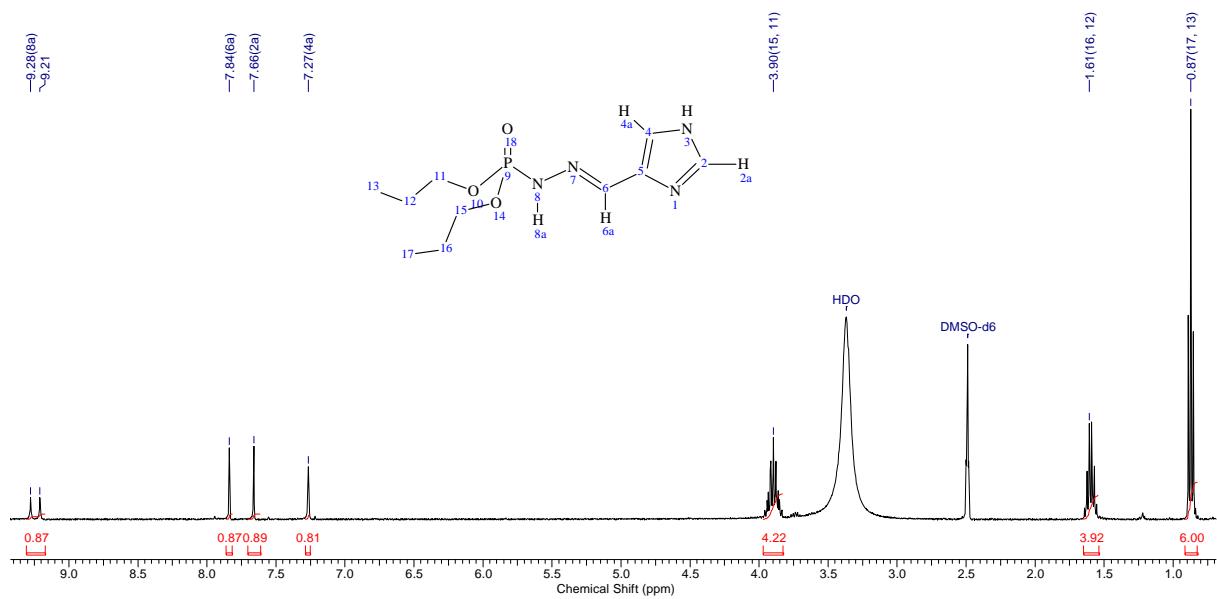


Figura 27 - Espectro de hidrogênio do Composto 6 D em DMSO.

Ao irradiar o hidrogênio amídico **8a**, observa-se um percentual de 5% de NOE no hidrogênio vinílico **6a**. Observa-se ainda que ao se irradiar o hidrogênio vinílico, além do NOE no hidrogênio amídico há NOE, com percentual inferior a 1%, no hidrogênio aromático (**4a**), Figura 28 . Ao irradiar o hidrogênio **4a**, observa-se NOE somente no hidrogênio vinílico, já com o hidrogênio **2a**, que está desblindado e tem deslocamento químico em 7,68 ppm não observa-se NOE em nenhum outro, Figura 29.

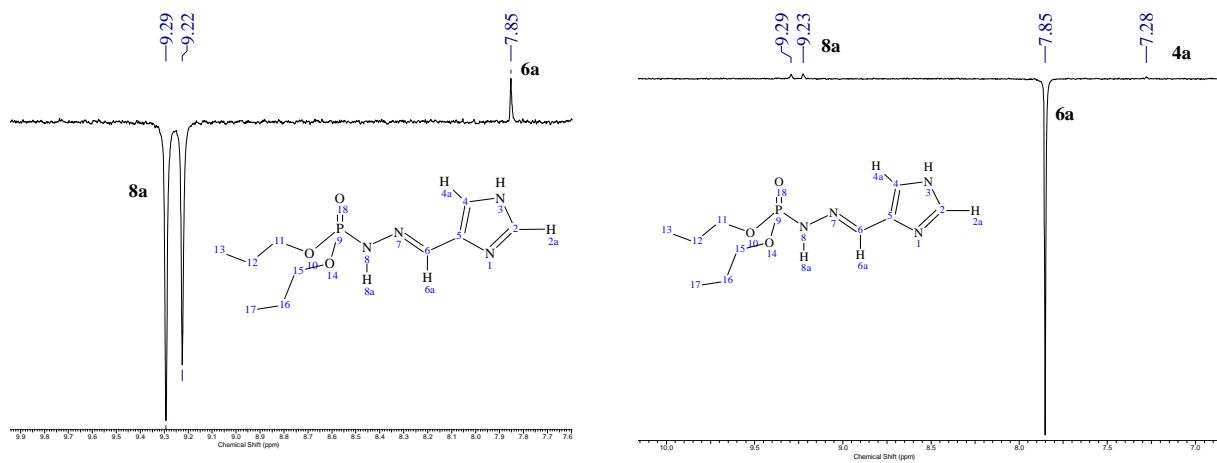


Figura 28 - Irradiação do H amídico e H vinílico, respectivamente.

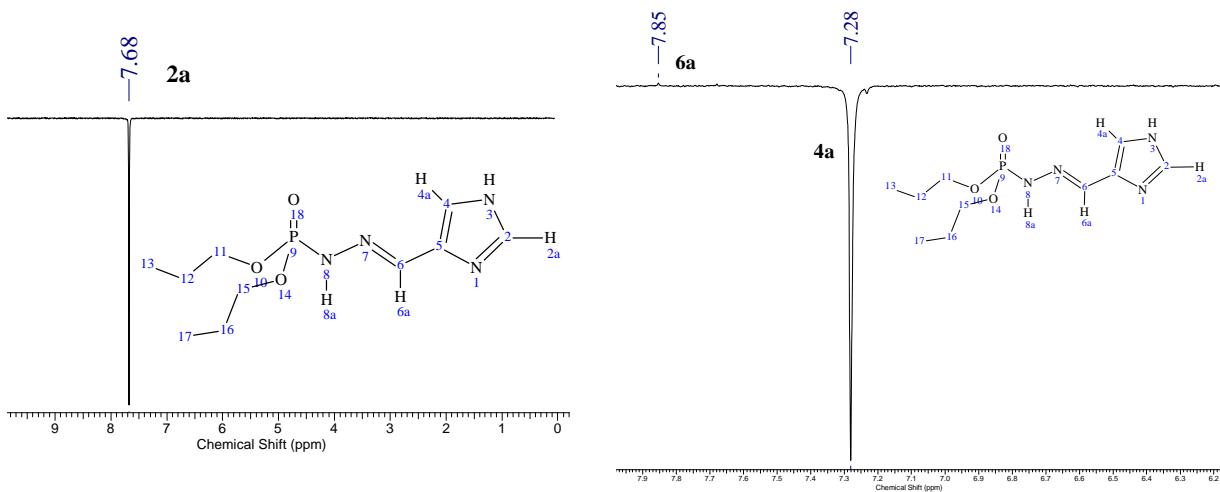


Figura 29 - Espectros de NOESY dos hidrogênios aromáticos do composto 6 D em DMSO.

Estas considerações nos permite concluir que a conformação preferencial é o diastereoisômero *E*, Figura 30.

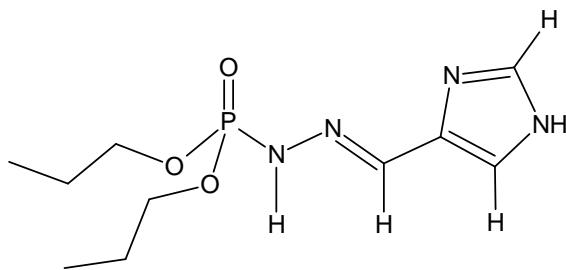
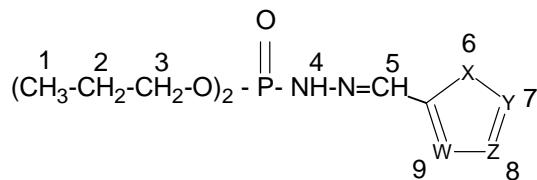


Figura 30 - Estrutura do composto 6 D.

A Tabela 10 e 11 apresentam os dados referentes aos deslocamentos químicos e as multiplicidades dos hidrogênios.

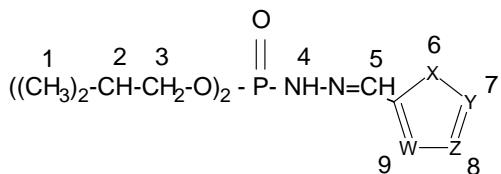
Tabela 10 - Dados de RMN-¹H das dialquilfosforilidrazonas (Continua).



N. ^o	X/Y/Z/W	H ₁	H ₂	H ₃	H _{4/J}	H ₅	H ₆	Aromáticos
5A	O/C/C/C	1,33-1,37 (m) 7,03Hz	-	4,17-4,28 (m) 7,27Hz	8,71 (d)/29,62Hz	7,72 (s)	-	6,44-6,53/6,59-6,64 (m) H _{8,9} - 7,46/7,57 (m) H ₇
5B	NH/C/C/C	1,34 (dt) 7,28Hz	-	4,14 (m) 7,03Hz	7,62 (d)/24,34Hz	7,68 (s)	9,15 (s)	6,20-6,33 (m) H _{8,9} - 6,83 (m) H ₇
6A	O/C/C/C	0,96 (t) 7,53Hz	1,75 (m) 6,77Hz	4,09 (m) 7,27Hz	8,25 (d)/28,87 Hz	7,74 (s)	-	6,44-6,59 (m) H _{8,9} - 7,45 (m) H ₇
6B	S/C/C/C	0,99 (t) 7,28Hz	1,75 (m) 7,53Hz	4,10 (m) 6,77Hz	8,25 (d)/27,86 Hz	8,01 (s)	-	7,03-7,15 (d) H _{8,9} - 7,29 (m) H ₇
6B*	S/C/C/C	0,88 (t) 7,28Hz	1,60 (m) 7,02Hz	3,91 (m) 7,53Hz	9,51 (d)/27,60 Hz	8,07 (s)	-	7,05-7,25 (d) H _{8,9} - 7,50 (m) H ₇
6C	NH/C/C/C	0,96 (t) 7,53Hz	1,75 (m) 7,28Hz	4,04 (m) 7,03Hz	7,40 (d)/26,86 Hz	7,67 (s)	9,15 (s)	6,21-6,34 (d) H _{8,9} - 6,85 (t) H ₇
6D	N/C/N/C	0,95 (t) 7,28Hz	1,72 (m) 7,28Hz	4,03 (m) 7,02Hz	11,73 (d)/32,63 Hz	7,74 (s)	-	2,78(s) H ₈ - 7,23(s) H ₇
6D*	N/C/N/C	0,87 (t) 7,28Hz	1,59 (m) 6,78Hz	3,89 (m) 8,03Hz	9,25 (d)/27,36 Hz	7,84 (s)	-	7,26-7,66 (d) H _{9,7}

*Espectro em DMSO

Tabela 11 - Continuação.



N. ^o	X/Y/Z/W	H ₁	H ₂	H ₃	H _{4/J}	H ₅	H _{6/J}	Aromáticos
7A	O/C/C/C	1,32-1,37 (d) 6,03Hz	-	4,70 (m) 6,27Hz	8,02 (d)/ 27,36Hz	7,71 (s)	-	6,42 - 6,56(m) H _{8/9} - 7,43 (dd) H ₇
8A	O/C/C/C	0,94 (dd) 6,77Hz	1,99 (m) 6,53Hz	3,87 (m) 6,77Hz	6,81(d)/28,11Hz	7,63 (s)	-	6,44/6,59 (m) H _{8/9} - 7,45(dd) H ₇
8B	S/C/C/C	0,94 (d) 6,77Hz	1,99 (m) 6,53Hz	3,87 (m) 6,53Hz	8,14(d)/28,11Hz	7,97 (s)	-	6,99-7,12 (m) H _{8/9} - 7,26(dd) H ₇
8B*	S/C/C/C	0,87 (d) 6,78Hz	1,87 (m) 6,66Hz	3,74 (m) 6,90Hz	9,54(d)/27,73Hz	8,06 (s)	-	7,05/7,25 (m) H _{8/9} - 7,50(dd) H ₇
8C	NH/C/C/C	0,94-0,96 (d) 6,77Hz	1,97 (m) 6,77Hz	3,84 (m) 6,53Hz	7,36(d)/26,60Hz	7,68 (s)	9,10 (s)	6,19/6,32 (m) H _{8/9} - 6,83(dd) H ₇
8D	NH/C/C/N	0,91 (dt) 6,52Hz	1,95 (m) 6,53Hz	3,84 (m) 6,77Hz	7,94(d)/26,86Hz	7,94 (s)	12,11 (d)/32,87	7,14 (s) H ₇₋₈
8D*	NH/C/C/N	0,88 (dt) 6,78Hz	1,88 (m) 6,78Hz	3,75 (m) 6,78Hz	9,57(d)/27,85Hz	7,84 (s)	-	7,07(s) H ₇₋₈
8E	N/C/N/C	0,94 (dd) 6,77Hz	1,98 (m) 6,52Hz	3,86 (m) 6,52Hz	7,16(d)/28,11Hz	7,76 (d)	11,68 (d)/33,13	2,18 (s) - 7,22 (m) H ₉₋₇
8E*	N/C/N/C	0,87 (dd) 6,77Hz	1,87 (m) 6,78Hz	3,73(m) 6,78Hz	9,24(d)/27,86Hz	7,84 (d)	-	7,25(s) - 7,64 (m) H ₉₋₇

*Espectro em DMSO

4.1.6.4. Análise por espectrometria de RMN-¹³C

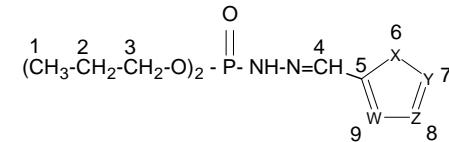
No espectro de RMN de ¹³C das dialquilfosforilidrazonas, o sinal característico da obtenção destes compostos é referente ao carbono imínico, que possui deslocamento químico na faixa de 134,66 a 149,75 ppm e se apresenta na forma de dupletos, uma vez que acopla com o átomo de fósforo a três ligações com constante de acoplamento na faixa de 19,08 Hz a 19,80 Hz. Na tabela 12 estão apresentados os dados referentes aos deslocamentos químicos, as multiplicidades e as constantes de acoplamento das dialquilfosforilidrazonas sintetizadas.

Verifica-se que no espectro de carbono para o composto 6 D em DMSO, não são observados os sinais referentes aos carbonos aromáticos, o que pode ser constatado em trabalhos com esse tipo de sistema imidazólico. A princípio, estes sinais podem ser visto com a realização de experimento de RMN-¹³C, ou com aumento de temperatura ou alquilação em um dos nitrogênios do anel afim de interromper o efeito tautomérico (FIGUEROA VILLAR & MOTTA, 2000).

Tabela 12 - Dados de RMN-¹³C das dialquilfosforilidrazonas.

N. ^o	X/Y/Z/W	Aromáticos						
		C ₁ /J	C ₂ /J	C ₃ /J	C ₄	C ₅		
5A	O/C/C/C	15,79 (d)/6,6Hz	-	63,29 (d)/5,87Hz	149,18 (s)	143,40 (s)	111,08 C _{8/9} – 134,93 C ₇	
5B	NH/C/C/C	16,42 (d)/6,60Hz	-	63,50 (d)/5,13Hz	137,57 (s)	127,78 (s)	109,87/112,48 C _{9/8} – 121,03 C ₇	
6A	O/C/C/C	10,02 (s)	23,60 (d)/7,33Hz	68,94 (d)/5,87Hz	149,71 (s)	143,59 (s)	110,94 /111,21 C _{9/8} – 135,02 C ₇	
6B	S/C/C/C	10,07 (s)	23,62 (d)/ 7,34Hz	69,05 (d)/5,87 Hz	139,32(s)	139,35(s)	126,87/127,17 C _{9/8} –128,01 C ₇	
6C	NH/C/C/C	10,05 (s)	23,56 (d)/ 6,60Hz	68,68(d)/5,86 Hz	137,13 (s)	127,50(s)	109,53/112,06 C _{9/8} –120,71 C ₇	
6D	N/C/N/C	10,03 (d)/ Hz	23,58 (d)/ 6,61Hz	68,86 (d)/ 5,87Hz	136,38 (s)	135,04(s)	118,74 C ₉ –133,47C ₇	
6D*	N/C/N/C	10,05 (d)/ Hz	23,20 (d)/ 6,61Hz	67,67 (d)/ 5,14Hz	136,72 (s)	-	-	

*Espectro em DMSO



N. ^o	X/Y/Z/W	Aromáticos						
		C ₁	C ₂	C ₃	C ₄ /J	C ₅		
7A	O/C/C/C	23,85(d)/4,40 Hz	72,28(d)/ 5,14Hz	-	143,49 (d)/19,80Hz	149,97(s)	110,57/111,47C _{9/8} –134,67 C ₇	
8A	O/C/C/C	18,71(s)	29,03(d)/ 7,34Hz	73,32 (d)/5,87 Hz	143,53 (d)/19,08Hz	149,81(s)	110,70/111,46C _{9/8} –134,94 C ₇	
8B	S/C/C/C	18,72(d)/5,87 Hz	29,04 (d)/7,34 Hz	73,50 (d)/6,60 Hz	139,14 (d)/19,08Hz	139,61(s)	126,91/127,95C _{9/8} –138,95C ₇	
8C	NH/C/C/C	18,83 (s)	29,05 (d)/7,33 Hz	73,13(d)/5,87 Hz	136,96 (d)/19,08Hz	127,61(s)	109,55/112,01C _{9/8} –120,70C ₇	
8D	NH/C/C/N	18,68(s)	29,01 (d)/ 7,33Hz	73,55 (d)/ 6,60Hz	142,93 (s)	141,95 (s)	136,22/136,42 C _{7/8}	
8E	N/C/N/C	18,70(d)/8,07 Hz	29,12 (d)/ 6,60Hz	73,21(d)/5,87 Hz	134,82 (s)	132,92 (s)	96,12/118,14C _{7/8}	

4.1.6.5. Análise por espectrometria de RMN-³¹P

Todos os compostos sintetizados apresentam deslocamento químico na faixa de -0,47 a 2,90dd. A tabela 13 apresenta os deslocamentos químicos (δ) obtidos na análise de RMN de ³¹P.

Tabela 13 - Dados de RMN-³¹P das dialquilfosforilidrazonas.

Composto N.^o	P
5A	1,57 dd/0,19 dd
5B	2,77 dd
6A	1,84 dd
6B	1,37 dt
6C	2,47 dt
6D	0,70dd/1,98dd/3,19 dd/5,63 dd
6D*	2,83 dquint
Composto N.^o	P
7A	-0,47 dd
8A	0,57 dd
8B	1,09 dd
8C	2,50 dd
8D	1,61 dquint - 2,64 dquint - 5,72 dquint
8E	1,75dd - 2,99 dd - 5,49 dd

4.2. ENSAIOS BIOLÓGICOS

4.2.1. Avaliação da atividade fungicida

Foi observado que os fungos dos gêneros *Fusarium* sp. e *Fusarium solani* tiveram um crescimento maior nos tratamentos contendo meio de cultura/DMSO em comparação com o tratamento contendo só o meio de cultura, Tabela 14.

SOUZA *et al* (2006) obteve óleos fixos das cascas do caule de *Croton Cajucara* e avaliou o desenvolvimento *in vitro* dos fungos fitopatogênicos *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. Ele observou que óleos fixos seguido de fracionamento em coluna cromatográfica apresentou efeito fungistático no controle micelial dos fungos testados, sendo que o gênero de fungo *Fusarium oxysporum* foi o que sofreu efeito inibitório mais estável. Ele observou também que os fungos *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*, apresentaram sensibilidade à presença do DMSO no meio de cultura.

Tabela 14 - Inibição de crescimento fúngico com os fungos testados.

Substância	<i>Alternaria</i> sp. (% de inibição)	<i>Colletotrichum</i> sp. (% de inibição)	<i>Fusarium</i> sp. (% de inibição)	<i>Fusarium solani</i> (% de inibição)
Meio de cultura/DMSO	25,6	26,7	0	0,4
6 A	43,1	42,2	1,7	20,1
6 B	62,1	66,5	32,0	43,8
7 A	19,9	35,6	9,5	14,8
8 B	34,8	51,7	0	15,7
Meio de cultura/DMSO	6,5	42,6	0	38,5
5 A	23,2	37,8	0	11,8
5 B	32,9	44,2	0	14,9
6 C	26,4	33,2	0	11,8
8 A	22,4	38,1	19,2	34,1
8 C	49,2	63,4	0	39,6
Meio de cultura/DMSO	8,1	18,8	0	0
6 D	16,8	36,1	0	0
8 D	<i>41,0</i>	<i>51,0</i>	0	0
8 E	18,8	43,2	0	0

Resultados em negrito expressam tratamento com maior efeito fungicida; resultados em negrito e itálico expressam 2.º tratamento com maior efeito fungicida e resultados em itálico indicam 3.º tratamento com maior efeito fungicida.

4.2.2. Resultados dos compostos ao fungo do gênero *Alternaria* sp.

Houve maior inibição do crescimento fúngico, Tabela 14, pelo composto 6 B, 62,1% ($p < 0,001$) quando comparado com o tratamento contendo o meio de cultura, Figura 31. A inibição do solvente DMSO nesta semana foi de 25,6%. SANDSCAR & MAGALHÃES (1994) relataram toxicidade do DMSO sobre fungos, todavia este fato parece ser dependente da concentração.



Figura 31 - Bioensaios realizados com o fungo *Alternaria* sp..

O composto 8 C obteve 49,2% em relação ao tratamento contendo somente o meio de cultura. Observa-se que a contribuição do DMSO como inibidor é de somente 6,5%. O composto 8 D obteve uma inibição aproximada de 41,0% ($p < 0,001$) em relação ao tratamento contendo o meio de cultura. Novamente observa-se uma baixa contribuição do solvente DMSO na inibição, em torno de 8,1%. RAND-LUBY *et al* (1996) relatam que devido a intensa capacidade de penetração do DMSO, muitas substâncias quando associadas a ele podem ser carreadas através das membranas.

BALBI-PEÑA *et al.* (2006) avaliou a fungitotoxicidade *in vitro* dos extratos de cúrcuma e da curcumina contra *Alternaria solani*. Foram utilizados extratos brutos aquosos (EB) de rizomas de cúrcuma (esterilizados por autoclavagem) nas concentrações de 0, 1, 5, 10 e 20% e curcumina nas concentrações de 0, 50, 100, 200 e 400 mgL⁻¹.

OLIVEIRA *et al.* (2003), ao estudar o efeito “*in vitro*” dos fungicidas Propiconazole e Azoxystrobin sobre os fungos *Alternaria* sp. e *Sclerotinia* sp. em três doses: Propiconazole - 150, 300 e 450 mg.L⁻¹ e Azoxystrobin - 62,5, 125 e 187,5 mg.L⁻¹, observou inibição eficiente do fungicida Propiconazole, nas três concentrações testadas sobre os dois fungos. No caso do Azoxystrobin, somente a concentração mais alta (187,5 mg.L⁻¹) foi eficiente na inibição de *Alternaria* sp.; no caso de *Sclerotinia* sp., a concentração de 187,5 mg.L⁻¹ apresentou pequena eficiência quando comparada com as demais concentrações.

DOMINGUES *et al.* (2009), preparou extratos hexânicos e etanólicos das folhas de *Hibiscus rosa-sinensis*, *Allamanda cathartica*, *Coffea arabica*, *Ruta graveolens*, *Lavandula augustifolia*, *Ricinus communis*, *Impatiens walleriana* e bulbilhos de *Allium sativum*. Foi verificado a ação de extratos etanólicos e hexânicos sobre inibição de crescimento micelial dos fitopatógenos *Alternaria solani* e *Colletotrichum acutatum*. Para *A. solani*, os cinco extratos selecionados inibiram totalmente o seu crescimento micelial na concentração de 10.000 mg.ml⁻¹. *R. graveolens* não diferiu estatisticamente de *A. cathartica* e de *A. Sativum* a 1.000 mg.ml⁻¹. A 100 mg.ml⁻¹, *A. sativum* foi superior a *R. graveolens* e *I. walleriana*, sendo semelhante a *A. cathartica* e *L. augustofolia*. O patógeno não foi inibido por nenhum extrato na concentração de 10 µg/mL.

Com relação a *C. acutatum* DOMINGUES et al. (2009) verificaram inibição total do crescimento micelial para os cinco melhores extratos quando testados na concentração de 10.000 mg.ml⁻¹. A 1.000 mg.ml⁻¹ *R. graveolens* foi o extrato no qual o patógeno conseguiu crescer menos. *R. graveolens* não diferiu estatisticamente de *I. Walleriana* e *A. sativum* na concentração de 100 mg.ml⁻¹ e apenas de *A. sativum* a 10 mg.ml⁻¹.

Na Tabela 15 apode-se observar a área indicando o crescimento fúngico durante os 7 dias de análise com seus respectivos desvios padrão (σ).

Tabela 15 - Área (cm²) e σ do crescimento do fungo do gênero *Alternaria* sp. por semana.

Tratamentos/Dias¹	0	3	4	5	6	7
Meio de cultura	0,43±0,00	6,44±0,54	10,95±0,55	17,11±0,62	22,33±0,95	29,31±1,83
Meio de cultura/DMSO	0,43±0,00	5,84±0,39	7,52±1,00	13,81±0,68	17,28±1,81	21,80±2,98
Fungicida Comercial	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00
6 A	0,43±0,00	3,71±0,50	4,93±0,76	9,83±0,75	13,18±0,99	16,66±1,42
6 B	0,43±0,00	1,99±0,58	3,32±0,33	6,29±0,93	8,69±1,56	11,12±1,47
7 A	0,43±0,00	4,95±0,91	7,87±1,10	13,24±1,30	17,19±1,53	23,47±2,49
8 B	0,43±0,00	3,67±1,01	6,49±1,38	11,62±2,13	15,25±2,57	19,13±3,43
Tratamentos/Dias²	0	3	4	5	6	7
Meio de cultura	0,43±0,00	7,79±0,32	12,44±0,34	16,46±1,44	22,14±2,19	28,63±3,49
Meio de cultura/DMSO	0,43±0,00	5,71±0,49	10,45±0,64	15,22±1,00	21,18±1,66	26,78±2,80
Fungicida comercial	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00
5 A	0,43±0,00	5,91±0,34	10,15±0,51	15,34±0,90	20,21±1,67	24,67±2,47
5 B	0,43±0,00	4,34±0,62	7,84±0,54	11,84±0,92	16,54±1,66	19,20±2,03
6 C	0,43±0,00	5,15±0,55	8,06±0,58	11,88±0,92	17,04±1,84	21,07±2,58
8 A	0,43±0,00	5,32±0,37	8,69±0,33	12,67±0,69	17,26±0,85	22,23±1,58
8 C	0,43±0,00	2,99±0,16	4,52±0,29	7,27±0,32	10,46±0,61	14,54±1,09
Tratamentos/Dias³	0	3	4	5	6	7
Meio de cultura	0,43±0,00	7,54±0,34	12,02±0,50	16,29±0,89	23,78±1,56	25,16±3,08
Meio de cultura/DMSO	0,43±0,00	5,99±0,25	9,65±0,26	13,57±0,47	18,25±0,91	23,12±1,53
Fungicida comercial	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00
6 D	0,43±0,00	5,25±0,24	8,60±0,29	12,06±0,43	16,32±0,44	20,92±0,63
8 D	0,43±0,00	3,66±0,26	6,19±0,43	8,97±0,46	11,86±0,67	14,85±1,17
8 E	0,43±0,00	4,65±0,22	8,09±0,22	11,59±0,64	15,86±1,04	20,43±2,19

¹ Resultados obtidos no 1.^º bioensaio.

² Resultados obtidos no 2.^º bioensaio.

³ Resultados obtidos no 3.^º bioensaio.

Tabela 16 - Crescimento do fungo do gênero *Alternaria* sp. por semana.

Tratamentos ¹	Área (cm ²)
Meio de Cultura	29,31a
Meio de cultura/DMSO	21,80bc
Fungicida Comercial	0,43f
6 A	16,66d
6 B	11,12e
7 A	23,47b
8 B	19,13cd

Tratamentos ²	Área (cm ²)
Meio de Cultura	28,64a
Meio de cultura/DMSO	26,78ab
Fungicida Comercial	0,43g
5 A	24,66bc
5 B	19,20e
6 C	21,06de
8 A	22,22cd
8 C	14,54f

Tratamentos ³	Área (cm ²)
Meio de Cultura	25,16a
Meio de cultura/DMSO	23,12ab
Fungicida Comercial	0,43f
6 D	20,92bc
8 D	14,85e
8 E	20,43c

¹ Resultados obtidos no 1.º bioensaio.

² Resultados obtidos no 2.º bioensaio.

³ Resultados obtidos no 3.º bioensaio.

Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não difere entre si pelo teste de Fisher a 5% de probabilidade.

Na Figura 32 e na Tabela 17 observa-se que, quando o coeficiente angular da reta é menor, há menor crescimento fúngico. Esses dados também confirmam a maior eficiência do composto 6 B evidenciando o potencial fungicida do mesmo comparado com os demais.

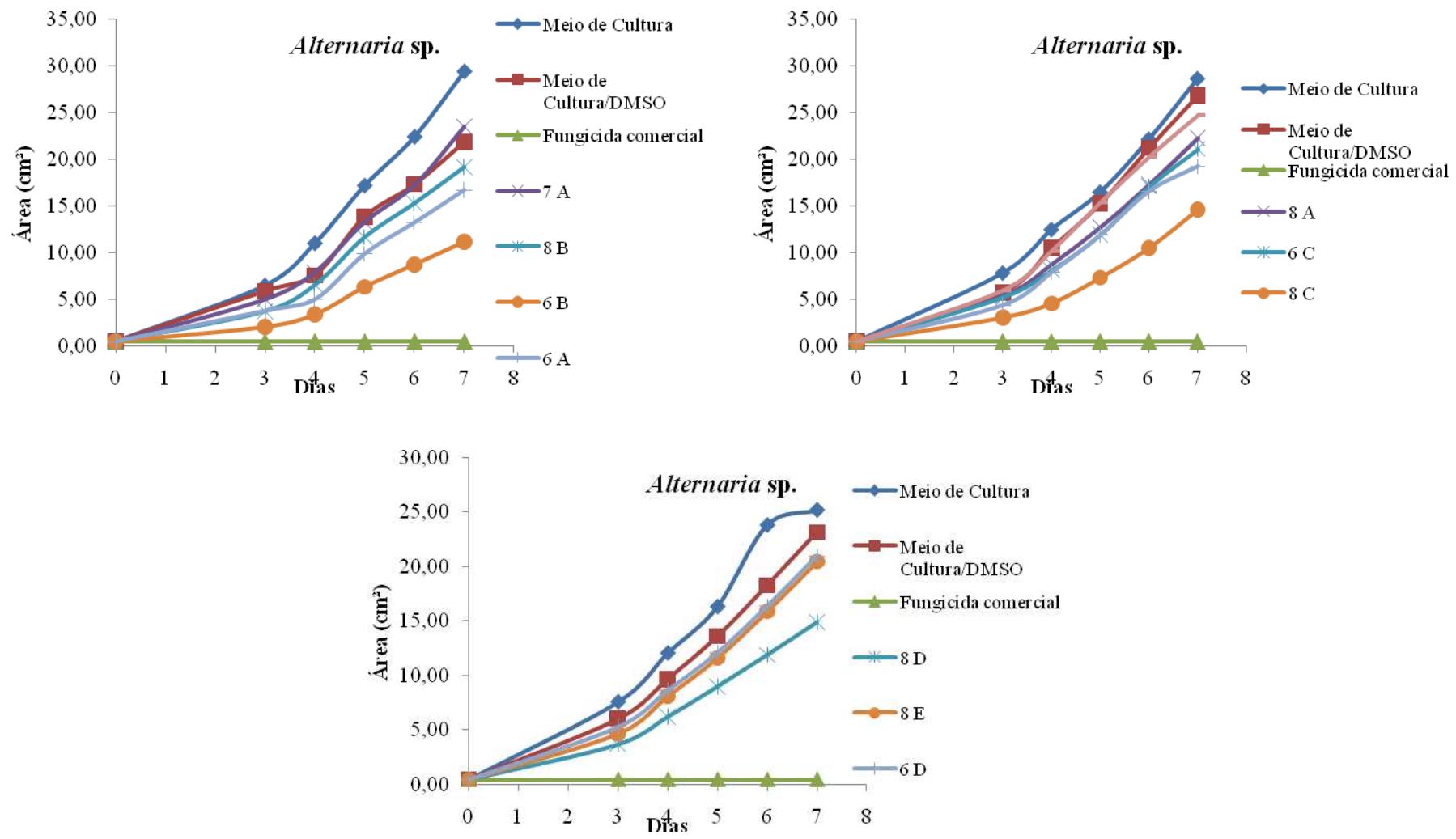


Figura 32 - Crescimento do fungo *Alternaria* sp. por bioensaio.

Tabela 17 - Equação da reta dos tratamentos testados no fungo *Alternaria* sp. por semana.

Tratamento ¹	Equação da reta ($y=ax+b$)	
	a	b
Meio de cultura	4,122	-2,749
Meio de cultura/DMSO	3,084	- 1,737
Fungicida Comercial	0,43	0
6 A	2,335	- 1,688
6 B	1,556	- 1,180
7 A	3,248	- 2,346
8 B	2,746	- 2,010
Tratamento ²	Equação da reta ($y=ax+b$)	
	a	b
Meio de cultura	3,972	- 1,9011
Meio de cultura/DMSO	3,8011	- 2,5434
Fungicida comercial	0,43	0
5 A	3,5465	- 1,993
5 B	2,8034	- 1,6487
6 C	2,9739	- 1,7858
8 A	3,1048	- 1,8375
8 C	1,9592	- 1,462
Tratamento ³	Equação da reta ($y=ax+b$)	
	a	b
Meio de cultura	3,7573	- 1,4529
Meio de cultura/DMSO	3,2396	- 1,6628
Fungicida comercial	0,43	0
6 D	2,9961	- 1,7319
8 D	1,8868	- 0,6065
8 E	2,5796	- 1,3268

¹ Resultados obtidos no 1.º bioensaio.

² Resultados obtidos no 2.º bioensaio.

³ Resultados obtidos no 3.º bioensaio.

4.2.3. Resultados dos compostos ao fungo do gênero *Colletotrichum* sp.

Na Figura 33 pode-se observar que o procloraz apresentou maior eficiência para inibir o crescimento do fungo. Estatisticamente foi o que apresentou maior inibição para este fungo e para os demais ($p < 0,001$), Tabela 19.



Figura 33 - Bioensaios realizados com o fungo *Colletotrichum* sp..

Segundo TAVARES & SOUZA (2004), o procloraz é recomendado para o tratamento pós-colheita do mamão. A eficiência comparativa de procloraz em baixas concentrações sobre o crescimento micelial de *C. Gloeosporioides* foi demonstrada anteriormente por SILVA *et al.* (2001). Os resultados confirmam a eficiência do ingrediente ativo em baixas concentrações, principalmente. Procloraz mostrou alta eficiência no controle do fungo, apresentando uma concentração mínima de inibição (CMI) entre 1-10 mg.L⁻¹. Neste trabalho a concentração utilizada foi a especificada, de 337 mg.L⁻¹. Segundo COSTA, 2001, o Procloraz é utilizado no controle de doenças de frutas cítricas na pós-colheita, porém aproximadamente, 30% do resíduo encontrado na laranja “in natura” também foi encontrado no suco, indicando níveis residuais altos.

Pode-se observar que o composto 6 B, obteve resultados de inibição semelhantes ao ocorrido com o fungo do gênero *Alternaria* sp. por volta de 66,4 % ($p < 0,001$), quando comparado com o tratamento contendo o meio de cultura, Tabela 14. A inibição do solvente DMSO nesta semana foi de 26,7%. A extrema capacidade de penetração e difusão do DMSO há muito tempo é motivo de sua inclusão como veículo componente de defensivos agrícolas (ROSENBAUM, 1965).

O composto 8 C obteve 63,3% em relação ao tratamento contendo somente o meio de cultura. A contribuição do DMSO como inibidor foi de 42,6%, muito acima das outras semanas. SILVA *et al* (2008) observou-se que o solvente orgânico DMSO inibiu o crescimento do fungo *Colletotrichum* na concentração de 1%.

Através desses resultados pode-se perceber que compostos contendo radical menor, como o radical propil aliado ao enxofre, oriundo do tiofurfural, obteve maior poder de inibição. Novamente a diferença de inibição do DMSO ocorrido pode sugerir a ocorrência de alguma anormalidade neste tratamento em relação ao fungo do gênero *Colletotrichum* sp., apesar da toxicidade do DMSO ser reconhecidamente baixa, de acordo com BRAYTON (1986) e STONE (1993).

SILVA *et al* (2008) percebeu que extrato de folhas de *Plectranthus barbatus* (“boldo-da-terra”) reduziu o crescimento micelial de fitopatogênicos do gênero *Colletotrichum gloeosporioides* (isolado de mamão) de 49%.

De acordo com SALUSTIANO *et al.* (2006) que estudou o efeito dos fungicidas triadimenol e oxicloreto de cobre, recomendados para o controle da ferrugem do cafeeiro,

houve redução da antracnose em frutos de 45% e 34% pelo oxicloreto de cobre e triadimenol, respectivamente, quando comparados à testemunha.

ZOCCOLI *et al.* (2002) relataram o efeito de fungicidas no crescimento micelial de 12 isolados de *Colletotrichum* sp. do cafeeiro em Minas Gerais. Os fungicidas que apresentaram maior taxa de inibição foram hidróxido de cobre e Mancozeb em todas as concentrações utilizadas.

O fungicida Mancozeb, assim como o composto B, apresenta enxofre em sua estrutura, fazendo parte do grupo químico dos alquilenobis (ditiocarbamato). O fungicida Metiram é eficiente no controle de antracnose quando comparado ao Captan e Mancozeb, que são tradicionalmente utilizados no controle da mesma. O Metiram, utilizado no controle da antracnose da mangueira foi estatisticamente igual ao padrão mancozeb, com 86,2% de controle (BERTAN *et al.*; 2003).

Na Tabela 18 podemos acompanhar o desenvolvimento do crescimento fúngico do *Colletotrichum* sp. nos tratamentos testados.

Tabela 18 - Área (cm²) e σ do crescimento do fungo do gênero *Colletotrichum* sp. por semana.

Tratamentos/Dias ¹	0	3	4	5	6	7
Meio de cultura	0,43±0,00	4,16±0,37	7,61±0,73	12,00±1,10	15,83±2,03	21,49±3,11
Meio de cultura/DMSO	0,43±0,00	3,66±0,19	5,20±0,34	9,00±0,91	11,36±1,44	15,75±2,27
Fungicida Comercial	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00
6 A	0,43±0,00	2,59±0,13	4,15±0,16	6,73±0,87	8,95±0,27	12,43±0,71
6 B	0,43±0,00	1,43±0,12	2,65±0,25	4,40±0,65	5,30±0,66	7,20±0,90
7 A	0,43±0,00	2,06±0,28	5,07±0,54	7,78±0,80	10,34±0,95	13,83±1,41
8 B	0,43±0,00	1,95±0,45	4,77±0,55	5,85±0,95	8,05±0,64	10,38±1,40
Tratamentos/Dias ²	0	3	4	5	6	7
Meio de cultura	0,43±0,00	5,03±0,84	8,45±0,64	12,68±0,65	18,38±1,58	24,28±2,25
Meio de cultura/DMSO	0,43±0,00	3,47±0,50	5,65±0,65	8,23±1,01	11,53±1,64	13,93±1,93
Fungicida comercial	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00
5 A	0,43±0,00	2,84±0,61	4,93±1,05	7,31±1,01	10,69±1,35	15,11±1,71
5 B	0,43±0,00	2,84±0,10	4,82±0,28	7,58±0,61	10,27±0,86	13,55±1,32
6 C	0,43±0,00	3,33±0,16	5,22±0,37	7,97±0,27	11,73±0,56	16,21±0,73
8 A	0,43±0,00	2,80±0,48	4,59±0,56	6,68±0,41	8,98±0,89	15,04±2,33
8 C	0,43±0,00	2,08±0,23	3,14±0,20	4,92±0,05	6,59±0,50	8,90±0,26
Tratamentos/Dias ³	0	3	4	5	6	7
Meio de cultura	0,43±0,00	4,47±0,56	8,61±0,42	12,60±1,05	17,68±1,49	22,60±3,36
Meio de cultura/DMSO	0,43±0,00	3,35±0,31	8,60±0,38	9,86±0,57	13,68±1,09	18,35±0,89
Fungicida comercial	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00
6 D	0,43±0,00	2,58±0,33	5,01±0,42	7,47±0,82	10,38±0,60	14,45±0,96
8 D	0,43±0,00	2,39±0,26	4,33±0,13	6,48±0,60	8,51±0,71	11,07±0,74
8 E	0,43±0,00	2,65±0,30	4,75±0,43	7,28±0,50	9,61±0,88	12,84±1,40

¹ Resultados obtidos no 1.º bioensaio.

² Resultados obtidos no 2.º bioensaio.

³ Resultados obtidos no 3.º bioensaio.

Tabela 19 - Crescimento do fungo do gênero *Colletotrichum* sp. por semana.

Tratamentos ¹	Área (cm ²)
Meio de cultura	21,49a
Meio de cultura/DMSO	15,75b
Fungicida Comercial	0,43f
6 A	12,43cd
6 B	7,20e
7 A	13,83bc
8 B	10,38d

Tratamentos ²	Área (cm ²)
Meio de cultura	24,28a
Meio de cultura/DMSO	13,93c
Fungicida comercial	0,43e
5 A	15,11bc
5 B	13,55c
6 C	16,21b
8 A	15,04bc
8 C	8,90d

Tratamentos ³	Área (cm ²)
Meio de cultura	22,60a
Meio de cultura/DMSO	18,35b
Fungicida comercial	0,43f
6 D	14,45c
8 D	11,07d
8 E	12,84cd

¹ Resultados obtidos no 1.º bioensaio.

² Resultados obtidos no 2.º bioensaio.

³ Resultados obtidos no 3.º bioensaio.

Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não difere entre si pelo teste de Fisher a 5% de probabilidade.

Mais uma vez o menor coeficiente angular, Figura 34 e Tabela 20, comprova a eficiência do composto contendo enxofre em sua estrutura, 6 B, que possuem o coeficiente angular de 0,9687. Em seguida, verifica-se que a substância 8 C apresenta o segundo menor coeficiente angular de 1,5262, cuja eficácia é maior do que a exibida frente ao fungo *Alternaria* sp..

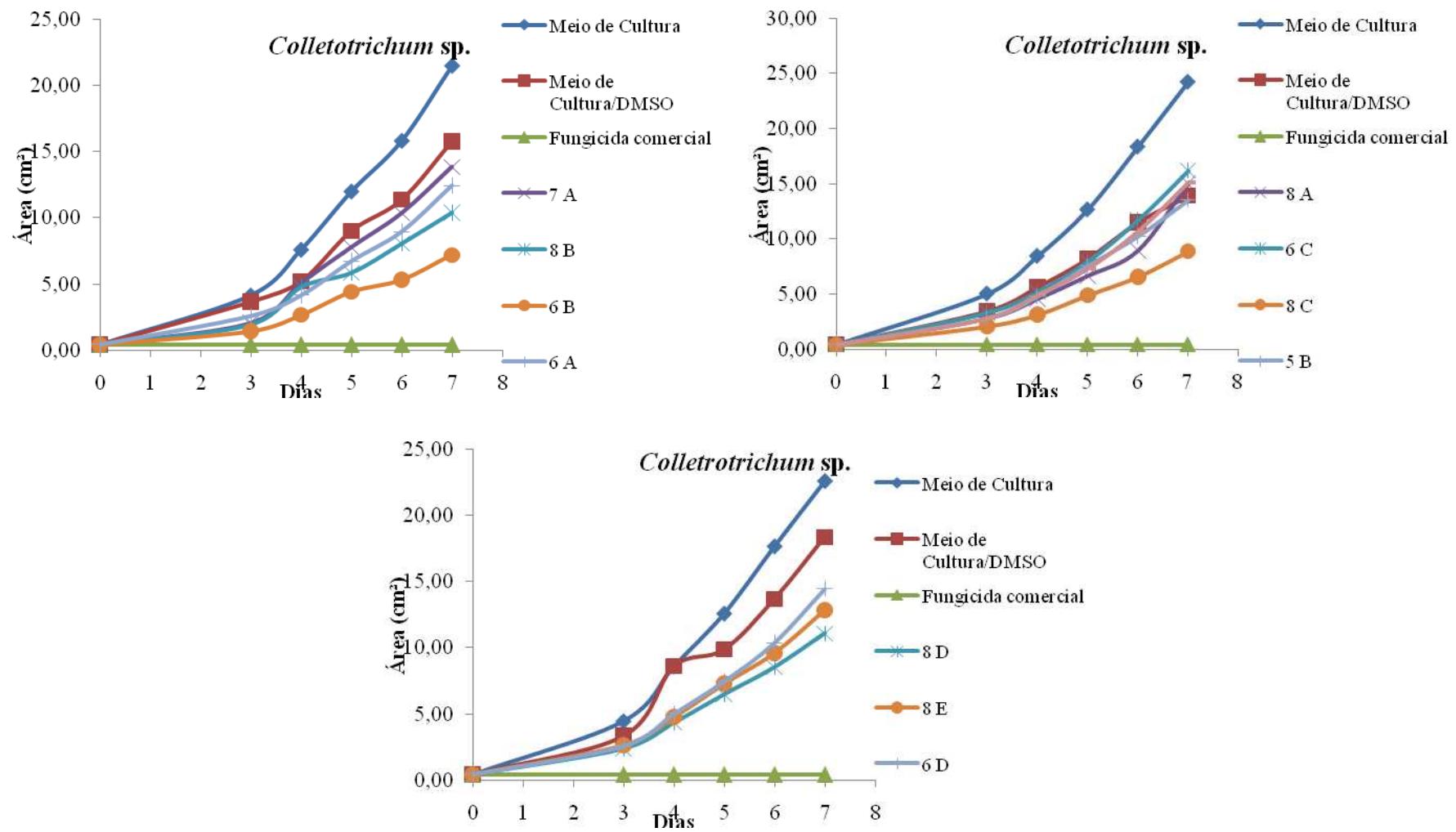


Figura 34 - Crescimento do fungo *Colletotrichum* sp. por bioensaio.

Tabela 20 - Equação da reta dos tratamentos testados no fungo *Colletotrichum* sp. por semana.

Tratamento ¹	Equação da reta ($y=ax+b$)	
	a	b
Meio de cultura	2,9836	- 2,178
Meio de cultura/DMSO	2,1414	- 1,3556
Fungicida Comercial	0,43	0
6 A	1,6776	- 1,1096
6 B	0,9687	- 0,4675
7 A	1,933	- 1,4673
8 B	1,4327	- 0,7315
Tratamento ²	Equação da reta ($y=ax+b$)	
	a	b
Meio de cultura	3,3724	- 2,5089
Meio de cultura/DMSO	1,9679	- 0,9941
Fungicida comercial	0,43	0
5 A	2,0295	- 1,5714
5 B	1,8688	- 1,2059
6 C	2,1898	- 1,6452
8 A	1,9072	- 1,5275
8 C	1,1883	- 0,6082
Tratamento ³	Equação da reta ($y=ax+b$)	
	a	b
Meio de cultura	3,1948	- 2,2465
Meio de cultura/DMSO	2,5347	- 1,5162
Fungicida comercial	0,43	0
6 D	1,9635	- 1,4637
8 D	1,5262	- 0,8244
8 E	1,7642	- 1,0903

¹ Resultados obtidos no 1.º bioensaio.

² Resultados obtidos no 2.º bioensaio.

³ Resultados obtidos no 3.º bioensaio.

4.2.4. Resultados das substâncias ao fungo do gênero *Fusarium* sp.

Na Figura 35 pode-se observar que o composto 6 B obteve resultados de inibição maior que os demais, porém pouco significativo com somente 32,0% de inibição quando comparado com o tratamento contendo só o meio de cultura. Entretanto, verifica-se que há cerca de 50,8% de inibição quando comparado ao tratamento contendo meio de cultura/DMSO. Já a o tratamento contendo o composto 8 A apresentou redução de 19,2% em relação ao meio de cultura e 20,6% em relação ao meio de cultura/DMSO, Tabela 14.



Figura 35 - Tratamentos realizados com o fungo do gênero *Fusarium* sp por semana.

Verifica-se que o crescimento do fungo no tratamento contendo o meio de cultura/DMSO foi superior ao do tratamento contendo meio de cultura somente. Isto pode ser um indicativo de que o solvente DMSO teve influência no crescimento do fungo, cerca de 27,7% na 1.^º semana e 40,2% na 3.^º, Tabela 14.

De Acordo com Campos *et al* (2004), DMSO é um dos reagentes utilizados como crioprotetor na conservação de fungos. Ele observou discos com 4 mm de diâmetro contendo o fungo *Monacrosporium appendiculatum* criopreservado em DMSO 10%v/v teve menor crescimento quando comparado com água e glicerol.

Os demais compostos não apresentaram efeitos de inibição em relação ao fungo do gênero *Fusarium* sp.. Verifica-se outrossim que há maior crescimento deste fungo do que inibição. O tratamento contendo o composto 5 A não inibiu o crescimento deste fungo e sim facilitou o seu crescimento, cerca de 44,0% numa semana cuja a contribuição do solvente foi de apenas 1,8%. De acordo com FURLAN *et al* (1986), o Carboxin, um fungicida contendo enxofre em sua estrutura, , não diferiu significativamente do testemunho frente ao fungo *Fusarium* sp. O presente trabalho parece indicar que os compostos sintetizados, aparentemente, apresentaram pouco efeito sobre este fungo.

ARAÚJO *et al* (2004) ao testar o efeito biocida dos novos complexos sobre culturas do fungo *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp. e *Fusarium cubense* comprovou que os ácidos R-(-)- e S-(+)-mandélico não mostraram eficácia frente ao mesmos, apresentando baixo poder inibidor do crescimento micelial do fungo.

PEREIRA *et al* (2006) ao avaliar os efeitos inibitórios, *in vitro*, de óleos essenciais dos condimentos, alecrim, cebola, manjericão, menta e orégano sobre o desenvolvimento dos fungos *Fusarium* sp.; *Aspergillus ochraceus* Wilhelm.; *Aspergillus flavus* Link e *Aspergillus niger* van Tieghem notou que somente nas concentrações de 1500 mg.mL⁻¹ e 2000 mg.mL⁻¹ tiveram o seu desenvolvimento micelial afetado. CANDIDO e SILVA *et al* (2007) notaram que resíduos citronela, torta de babaçu, bagaço de cana e casca de mandiocam proporcionaram inibição do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp. *Vasinfecum* e quando comparados aos outros resíduos, o extrato de bagaço de cana apresentou maior crescimento micelial, que pode ser explicado pela alta concentração CN⁻¹

presente no resíduo, entretanto a concentração 2 % apresentou maior inibição, havendo uma relação da ação do resíduo sobre a severidade da doença.

BATISTA *et al* (2002) executaram testes de fungitocidade *in vitro* contra dois isolados de *Fusarium oxysporum* f sp.*passiflorae*, com objetivo de selecionar fungicidas para o controle dessa doença. Os fungicidas w as doses utilizadas foram: benomil (0,5 g i.a.L⁻¹), tiofanato metílico (1,4 g i.a.L⁻¹), procloraz (0,67 g i.a.L⁻¹) e carbendazim (0,5 g i.a.L⁻¹). Os fungicidas procloraz, benomil e carbendazim apresentaram níveis elevados de resolução do crescimento micelial e esporulação dos iaolados fitopatógeno, enquanto o tiofenato metílico não apresentou efeito satisfatório.

REID *et al.* (2002) testaram o fungicida benomil e fludioxonil em experimentos em casa de vegetação contra *Fusarium oxysporum*, fusarium sp. *Asparagi*. Os resultados mostraram que o fungicida fludioxonil limitou a morte de plantas, mesmos em níveis elevados de inóculo.

No trabalho realizado por NEL *et al.* (2007), fungicidas foram avaliados *in vitro* e *in vivo* quanto a sua eficácia contra o patógeno *Fusarium oxysporum* f sp. *Cubense*. Os fungicidas procloraz e propiconazole, em conceteações de 1 e 5µg ml⁻¹, inibiram significativamente o crescimento micelial do patógeno. Já o benomil mostrou redução de 80,6% na severidade da doença causada por *Fusarium oxysporum* f sp. *Cubense*.

Os resultados da Tabela 22 e da Figura 36 indicam que os compostos que se apresentam mais eficientes no controle do crescimento micelial do fungo *Fusarium* sp. foram o 6 B e 8 A. Na terceira semana verificou-se que o DMSO favoreceu o crescimento fúngico. Desta forma, todas os compostos sintetizados apresentaram valores de crescimento micelial deste fungo acima do meio de cultura. Tal fato fica evidenciado na Tabela 21 onde pode ser verificar os valores durante os sete dias de crescimento do fungo *in vitro*.

Tabela 21 - Área (cm^2) e σ do crescimento do fungo do gênero *Fusarium* sp.

Tratamentos/ Dias ¹	0	3	4	5	6	7
Meio de cultura	0,43±0,00	5,21±0,24	8,74±0,27	12,89±0,64	13,61±0,60	16,06±1,05
Meio de cultura/DMSO	0,43±0,00	6,88±0,53	10,68±0,65	16,34±1,63	18,67±1,70	22,23±2,10
Fungicida Comercial	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00
6 A	0,43±0,00	5,23±0,35	8,30±0,84	11,28±1,00	12,56±1,03	15,79±1,88
6 B	0,43±0,00	3,42±0,32	4,77±0,41	6,99±0,66	8,49±0,65	10,92±0,91
7 A	0,43±0,00	5,25±0,63	7,06±0,97	10,30±1,37	11,86±1,47	14,54±2,07
8 B	0,43±0,00	5,07±0,48	7,62±0,43	11,54±1,04	13,32±1,07	16,50±1,78
Tratamentos/ Dias ²	0	3	4	5	6	7
Meio de cultura	0,43±0,00	5,36±0,60	8,69±0,72	10,85±1,88	14,23±3,19	17,43±3,80
Meio de cultura/DMSO	0,43±0,00	3,82±0,49	7,06±0,36	10,45±0,80	14,13±1,39	17,74±1,417
Fungicida comercial	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00
5 A	0,43±0,00	5,66±0,63	10,10±0,64	14,05±0,82	20,65±1,90	25,10±2,93
5 B	0,43±0,00	4,54±0,28	7,74±0,36	11,05±0,56	15,57±0,64	19,57±1,30
6 C	0,43±0,00	6,31±0,17	9,87±0,49	13,74±0,67	18,27±1,41	23,84±1,72
8 A	0,43±0,00	4,40±0,39	6,37±0,45	8,49±0,81	11,02±1,21	14,08±1,67
8 C	0,43±0,00	4,79±0,30	7,92±0,29	11,19±0,47	16,21±0,68	21,21±1,43
Tratamentos/ Dias ³	0	3	4	5	6	7
Meio de cultura	0,43±0,00	4,89±0,50	7,31±0,50	9,39±0,69	11,87±0,89	14,15±1,09
Meio de cultura/DMSO	0,43±0,00	7,45±0,52	11,50±0,78	15,26±1,40	19,63±1,27	23,68±1,73
Fungicida comercial	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00
6 D	0,43±0,00	5,76±0,41	9,22±0,27	12,28±0,64	15,56±0,67	19,27±1,01
8 D	0,43±0,00	5,63±0,64	8,84±1,27	11,02±0,66	14,21±1,08	17,46±1,51
8 E	0,43±0,00	5,63±0,46	8,90±0,57	11,91±1,05	15,25±1,56	19,42±2,21

¹ Resultados obtidos no 1.^º bioensaio.

² Resultados obtidos no 2.^º bioensaio.

³ Resultados obtidos no 3.^º bioensaio.

Tabela 22 - Crescimento do fungo do gênero *Fusarium* sp. por semana.

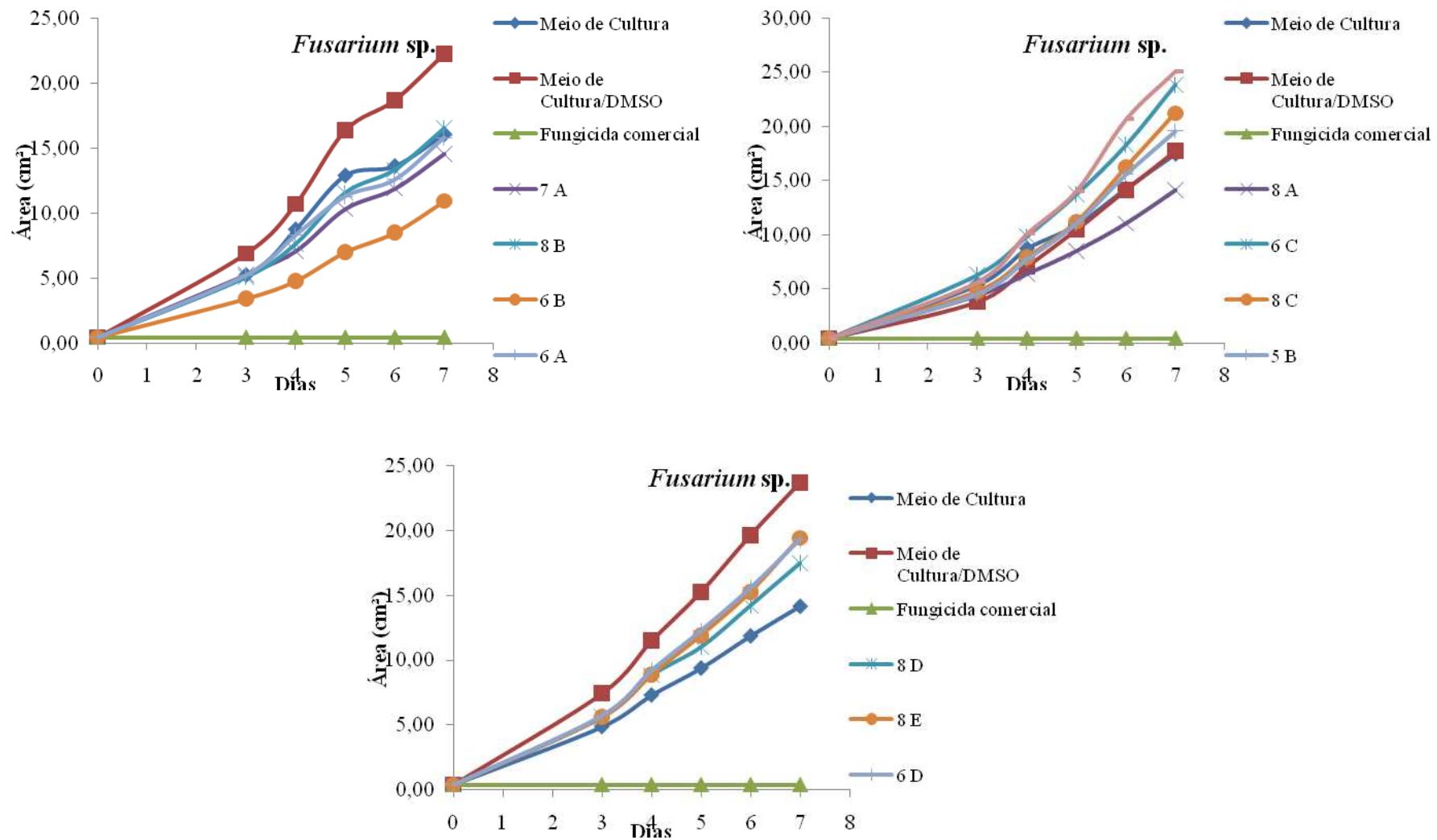
Tratamentos ¹	Área (cm ²)
Meio de cultura	16,064a
Meio de cultura/DMSO	22,234b
Fungicida Comercial	0,43d
6 A	15,786b
6 B	10,916c
7 A	14,544b
8 B	16,496b
Tratamentos ²	Área (cm ²)
Meio de cultura	17,43d
Meio de cultura/DMSO	17,74d
Fungicida comercial	0,43f
5 A	25,10a
5 B	19,57cd
6 C	23,84ab
8 A	14,08e
8 C	21,21bc
Tratamentos ³	Área (cm ²)
Meio de cultura/DMSO	23,68a
Fungicida comercial	0,43f
6 D	19,27bc
8 D	17,46cd
8 E	19,42b

¹ Resultados obtidos no 1.º bioensaio.

² Resultados obtidos no 2.º bioensaio.

³ Resultados obtidos no 3.º bioensaio.

Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não difere entre si pelo teste de Fisher a 5% de probabilidade.



Na Tabela 23 observa-se o menor coeficiente angular para os compostos 6 B e 8 A, os únicos que possuem diferença significativa. Estes resultados corroboram os apresentados na Figura 41.

Tabela 23 - Equação da reta dos tratamentos testados no fungo *Fusarium* sp. por semana.

Tratamento ¹	Equação da reta ($y=ax+b$)	
	a	b
Meio de cultura	2,3315	- 0,2255
Meio de cultura/DMSO	3,2189	- 0,8723
Fungicida Comercial	0,43	0
6 A	2,2012	- 0,2415
6 B	1,4833	- 0,3442
7 A	2,0252	- 0,1969
8 B	2,3283	- 0,6217
Tratamento ²	Equação da reta ($y=ax+b$)	
	a	b
Meio de cultura	2,4331	- 0,639
Meio de cultura/DMSO	2,512	- 1,5265
Fungicida comercial	0,43	0
5 A	3,5869	- 2,2818
5 B	2,7511	- 1,6457
6 C	3,2984	- 1,6664
8 A	1,9195	- 0,5334
8 C	2,9329	- 1,9298
Tratamento ³	Equação da reta ($y=ax+b$)	
	a	b
Meio de cultura	1,9766	- 0,2317
Meio de cultura/DMSO	3,3535	- 0,9826
Fungicida comercial	0,43	0
6 D	2,7022	- 0,8399
8 D	2,4286	- 0,5197
8 E	2,6936	- 0,9671

¹ Resultados obtidos no 1.^º bioensaio.

² Resultados obtidos no 2.^º bioensaio.

³ Resultados obtidos no 3.^º bioensaio.

4.2.5. Resultados dos compostos ao fungo do gênero *Fusarium solani*.

Na Figura 37 pode-se observar que o composto 6 B obteve resultados de inibição maior que as demais, 43,8% de inibição do crescimento fúngico em comparação ao tratamento contendo somente meio de cultura ($p < 0,001$).

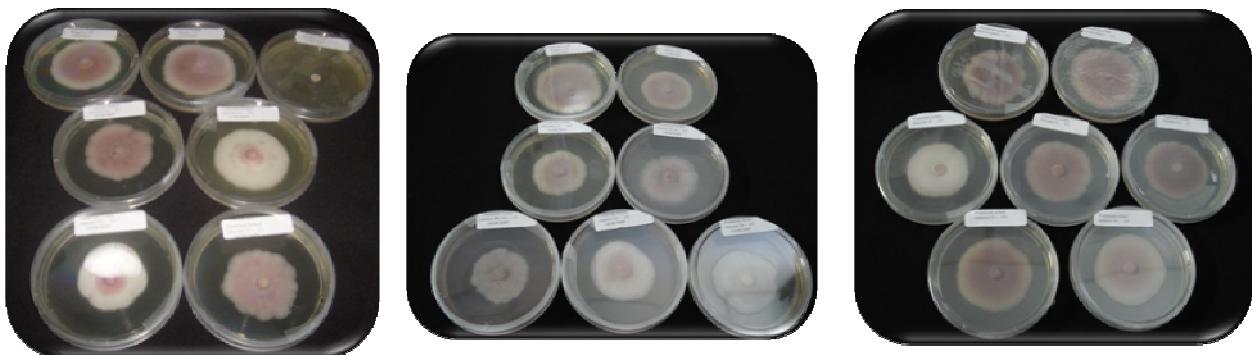


Figura 37 - Tratamentos realizados com o fungo do gênero *Fusarium solani* por semana.

A contribuição do solvente nas 3 semanas de testes foi completamente diferente. Não há diferença significativa ($p > 0,05$) para o tratamento contendo meio de cultura na primeira semana. Há influência na inibição pelo DMSO na segunda semana, em torno de 38,5% e influência no crescimento do fungo em torno de 38,6% na terceira semana, Tabelas 14 e 26. Na terceira semana, nenhuma dos compostos sintetizados e testados apresentou inibição significativa ($p > 0,05$) do crescimento fúngico.

Apesar do composto 8 C apresentar 39,6% de inibição, a mesma não diferiu significativamente do tratamento contendo meio de cultura/DMSO ($p > 0,05$). Portanto, o único composto a apresentar efeito fungicida foi o 6 B (Tabela 26).

De acordo com MICHEREFF & BARROS (2001), fungicidas à base de enxofre são recomendados em caso de contaminação por *Oidium caricae*, responsável pelo Oídio em mamão.

Segundo OLIVEIRA *et al* (2008), que avaliou a atividade de extratos orgânicos de folha de *Byrsonima* sp.contra o crescimento micelial de *Fusarium solani*, notou que o mesmo foi insensível ao extrato.

OLIVEIRA *et al* (2007) ao estudar a atividade antioxidante e a atividade antifúngica de extratos de laranja, limão, maçã, banana, batata, berinjela, arroz e trigo verificou que os extratos fenólicos apresentaram inibição sobre o crescimento fúngico e a produção de aflatoxina B1 pelo fungo *Aspergillus fl avus*, exceto na presença do extrato da polpa da batata.

GARCIA JÚNIOR *et al* (2008) avaliaram o efeito do tratamento químico na incidência de *Fusarium graminearum*, germinação, emergência e altura de plântulas em sementes de trigo com os fungicidas (i.a./ 100 kg de sementes) captana (150,0 g), tiofanato metílico (75,0 mL), triflumizole (45,0 g), triticonazole (45,0 mL), triadimenol (13,5 mL), tolyfluanida (75,0 g), tebuconazole (5,0 mL), fludioxonil (5,0 mL), difeconazole (30,0 mL) e thiabendazole (30,0 mL).Triflumizol, triadimenol, triticonazole, thiabendazole e tiofanato metílico reduziram significativamente a incidência de *F.graminearum* nas sementes em relação à testemunha.

Thiabendazole e tiofanato metílico foram superiores ao triflumizol e triadimenol, os demais fungicidas comportaram-se de maneira semelhantes à testemunha. O estudo corrobora

que fungicidas contendo enxofre em sua estrutura apresentam maior atividade anti-fungica, como é o caso dos fungicidas thiabendazole e tiofanato metílico, pertencentes ao grupo químico benzimidazol. O fungicida triflumizol, um imidazol, obteve bons resultados. Ele apresenta a ligação N=C como todas os compostos sintetizados neste trabalho.

DANTAS *et al* (2009) avaliaram a inibição do crescimento micelial do fungo *Lasiodiplodia theobromae*, responsável por doenças importantes em mangueira (*Mangifera indica L.*), coqueiro (*Cocos nucifera L.*), cajueiro (*Anacardium occidentale L.*), *Spondias* spp., dentre outras. Foram testados o cardanol e os outros produtos sintetizados, em concentrações de 200, 500, 800, 1100 e 1400g.mL⁻¹. Foi verificado que tanto o cardanol, como os demais produtos sintetizados não apresentaram atividade fungicida nas concentrações testadas sobre o fungo *L. theobromae*. Porém o acetilcardanol apresentou uma maior disposição para produção de uma droga, inibindo em até 40,9% do crescimento fúngico.

CAMILI *et al* (2007) relata o controle de patógenos em uvas de mesa, principalmente, à ocorrência do mofo cinzento (*Botrytis cinerea* Pers.:Fr.) feitos com dióxido de enxofre, o que mais uma vez evidencia a atividade do enxofre como fungicida.

Na Tabela 24 observa-se a área mostrando o crescimento fúngico durante os 7 dias de análise. Verifica-se nesta tabela que o composto 6 B apresenta sistematicamente um efeito inibitório sobre o crescimento deste fungo, apresentando sempre os valores mais baixos de crescimento do fungo.

Na Tabela 25 pode-se verificar os valores finais de crescimento na qual percebe-se que a substância 6 B foi aquela que inibiu o crescimento micelial deste fungo com inibição do crescimento fúngico de aproximadamente 44%.

Tabela 24 - Área (cm^2) e σ do crescimento do fungo do gênero *Fusarium solani* por semana.

Tratamentos/Dias ¹	0	3	4	5	6	7
Meio de cultura	0,43±0,00	6,87±0,46	10,72±0,79	15,66±1,07	18,37±2,08	23,75±1,10
Meio de cultura/DMSO	0,43±0,00	6,83±0,21	10,36±0,80	15,60±0,96	18,80±1,80	23,67±2,25
Fungicida Comercial	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00
6 A	0,43±0,00	5,57±0,42	8,48±0,68	12,25±1,33	14,84±1,72	18,98±2,17
6 B	0,43±0,00	4,14±0,39	6,18±0,27	8,70±0,24	10,35±0,15	13,34±0,59
7 A	0,43±0,00	6,07±0,57	9,63±1,01	12,96±1,33	16,10±1,96	20,25±2,79
8 B	0,43±0,00	5,38±0,37	8,09±0,41	12,81±0,75	15,92±0,72	20,03±1,43
Tratamentos/Dias ²	0	3	4	5	6	7
Meio de cultura	0,43±0,00	7,46±0,75	10,56±0,86	14,09±1,80	19,16±2,63	22,46±3,72
Meio de cultura/DMSO	0,43±0,00	5,00±0,41	7,06±0,67	9,06±1,20	11,37±1,51	13,82±1,70
Fungicida comercial	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00
5 A	0,43±0,00	5,89±0,12	8,95±0,44	11,94±0,60	16,24±0,79	19,82±0,89
5 B	0,43±0,00	5,48±0,42	8,51±0,72	11,26±1,19	15,46±1,74	19,12±2,11
6 C	0,43±0,00	5,59±0,33	8,38±0,51	11,58±0,94	15,79±1,17	19,81±1,63
8 A	0,43±0,00	4,78±0,31	6,95±0,47	9,31±0,73	12,25±0,74	14,80±1,08
8 C	0,43±0,00	4,06±0,22	5,89±0,36	7,71±0,53	10,57±0,81	13,57±1,37
Tratamentos/Dias ³	0	3	4	5	6	7
Meio de cultura	0,43±0,00	6,62±0,47	9,57±0,82	12,38±1,03	15,83±1,35	19,66±1,60
Meio de cultura/DMSO	0,43±0,00	7,46±0,42	11,73±0,64	17,81±0,90	22,06±1,03	27,26±1,49
Fungicida comercial	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00	0,43±0,00
6 D	0,43±0,00	6,96±0,33	10,69±0,43	14,72±0,88	19,29±1,29	24,03±1,88
8 D	0,43±0,00	6,54±0,50	10,26±0,91	14,36±1,14	19,02±19,02	23,96±2,27
8 E	0,43±0,00	6,38±0,30	10,47±0,88	14,16±1,15	18,79±1,82	23,35±1,92

¹ Resultados obtidos no 1.^º bioensaio.

² Resultados obtidos no 2.^º bioensaio.

³ Resultados obtidos no 3.^º bioensaio..

Tabela 25 - Crescimento do fungo do gênero *Fusarium solani*. por semana.

Tratamentos ¹	Área (cm ²)
Meio de cultura	23,75a
Meio de cultura/DMSO	23,67a
Fungicida Comercial	0,43d
6 A	18,98b
6 B	13,34c
7 A	20,25b
8 B	20,03b
Tratamentos ²	Área (cm ²)
Meio de cultura	22,46a
Meio de cultura/DMSO	13,82c
Fungicida comercial	0,43d
5 A	19,82b
5 B	19,12b
6 C	19,81b
8 A	14,80c
8 C	13,57c
Tratamentos ³	Área (cm ²)
Meio de cultura	19,66c
Meio de cultura/DMSO³	27,26a
Fungicida comercial³	0,43d
6 D³	24,03b
8 D³	23,96b
8 E³	23,35b

¹ Resultados obtidos no 1.^º bioensaio.

² Resultados obtidos no 2.^º bioensaio.

³ Resultados obtidos no 3.^º bioensaio.

Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não difere entre si pelo teste de Fisher a 5% de probabilidade.

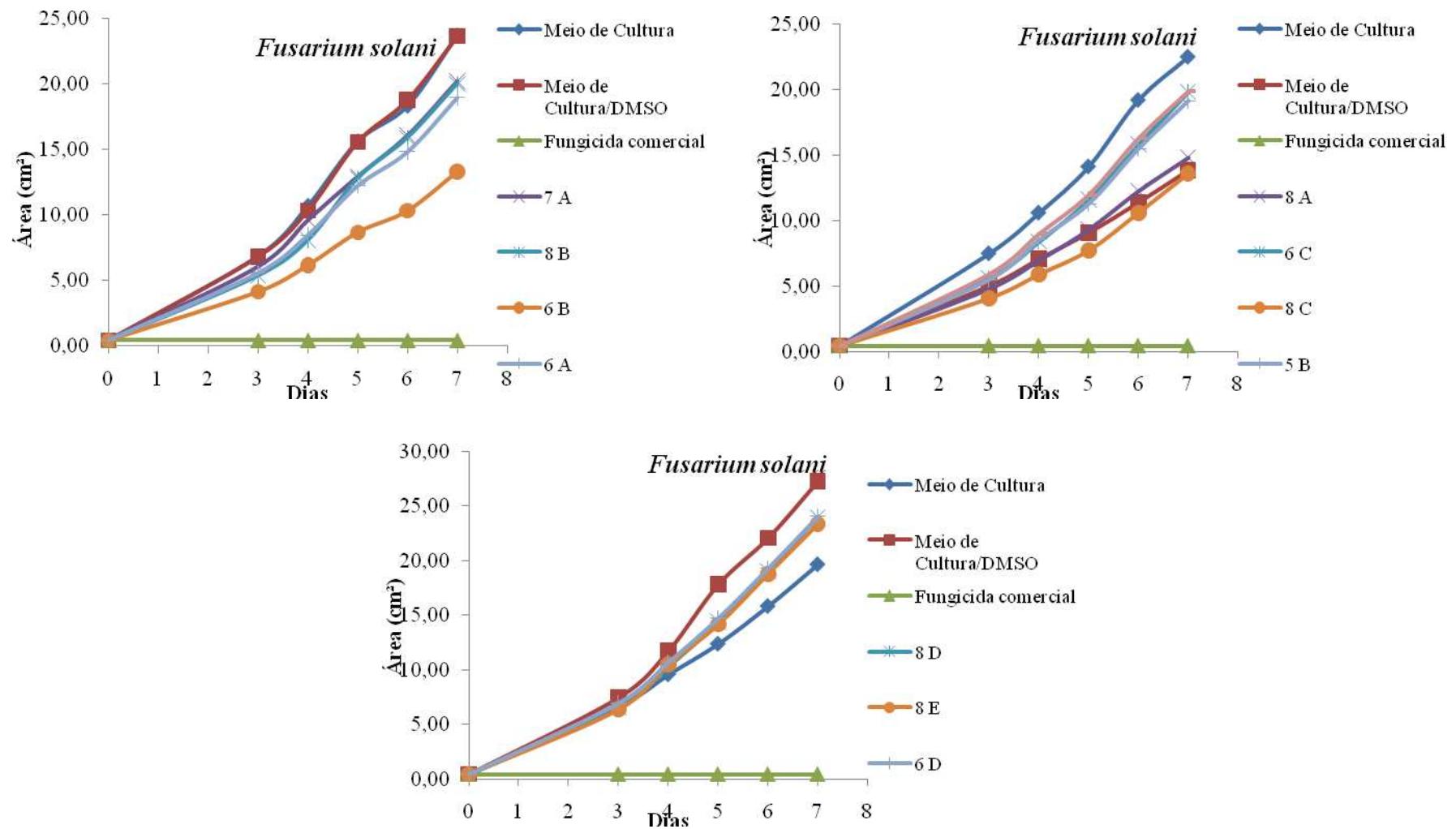


Figura 38 - Crescimento do fungo *Fusarium solani* por bioensaio.

A Tabela 26 e a Figura 38 apresentam as equações da reta e as curvas de crescimento dos fungos para todos os tratamentos. Observa-se que o menor coeficiente angular comprova a eficiência do composto contendo enxofre em sua estrutura. A substância 6 B possui o coeficiente angular de 1,6718. Esse resultado corrobora o fato de que das substâncias testadas somente o tratamento contendo o composto 6 B teve efeito inibitório no crescimento micelial do fungo *Fusarium solani*.

Tabela 26 - Equação da reta dos tratamentos testados no fungo *Fusarium solani* por semana.

Tratamento ¹	Equação da reta ($y=ax+b$)	
	a	b
Meio de cultura	3,0478	- 0,5642
Meio de cultura/DMSO	3,0882	- 0,7133
Fungicida Comercial	0,43	0
6 A	2,4186	- 0,3906
6 B	1,6718	- 0,0596
7 A	2,6157	- 0,3778
8 B	2,5758	- 0,7467
Tratamento ²	Equação da reta ($y=ax+b$)	
	a	b
Meio de cultura	3,1869	- 0,9182
Meio de cultura/DMSO	1,9046	- 0,1467
Fungicida comercial	0,43	0
5 A	2,7807	- 1,0386
5 B	2,6683	- 1,0761
6 C	2,7573	- 1,2265
8 A	2,0635	- 0,5095
8 C	1,8401	- 0,6298
Tratamento ³	Equação da reta ($y=ax+b$)	
	a	b
Meio de cultura	2,7225	- 0,5954
Meio de cultura/DMSO	3,8939	- 1,7686
Fungicida comercial	0,43	0
6 D	3,3735	- 1,3701
8 D	3,3603	- 1,5734
8 E	3,2892	- 1,4405

¹ Resultados obtidos no 1.^º bioensaio.

² Resultados obtidos no 2.^º bioensaio.

³ Resultados obtidos no 3.^º bioensaio.

4.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA DO CRESCIMENTO FÚNGICO.

Não há diferença significativa ($p > 0,05$) entre as concentrações utilizadas para cada fungo avaliado. Ao final de sete dias, tanto a concentração de 1000 mg.L^{-1} quanto a concentração de $32,25 \text{ mg.L}^{-1}$ inibiu o crescimento fúngico.

Analizando as Tabelas 27, 28, 29 e 30, comparando-se o crescimento dos quatro fungos, que o composto 6 B foi mais eficiente na inibição do crescimento micelial do fungo *Fusarium* sp ($p < 0,05$). Não existe diferenças significativas ($p > 0,05$) entre o crescimento dos fungos *Colletotrichum* sp. e *Fusarium solani*. O composto 6 B parece apresentar menor efeito inibitório sobre o fungo *Alternaria* sp., uma vez que foi neste onde houve o maior crescimento micelial. No ensaio biológico o composto 6 B foi misturado, assim como as demais, ao meio de cultura que facilitou o crescimento dos fungos. Neste experimento o composto foi aplicado diretamente sobre o fungo, mostrando que sem o meio de cultura o fungo não apresenta crescimento satisfatório.

MARQUES, MONTEIRO & PEREIRA (2004) realizaram trabalho utilizando metodologia semelhante à utilizada neste trabalho (BAKER *et al.*, 1970). Eles verificaram que o óleo de nim afetou o crescimento e a esporulação de *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *P. farinosus*. Entretanto, não foi verificado efeito sobre a viabilidade dos conídios destes fungos.

Tabela 27 - Área (cm^2) de crescimento e σ do fungo *Alternaria* sp. $p=0,51$.

<i>Alternaria</i> sp.						
Amostra/Dia	3	4	5	6	7	
1000 mg.L ⁻¹	4,95±0,43	9,18±0,90	13,91±1,27	20,13±2,57	27,13±3,17	
500 mg.L ⁻¹	4,77±0,96	8,92±1,21	13,53±1,78	20,09±2,57	25,49±2,85	
250 mg.L ⁻¹	4,90±1,04	8,46±0,90	14,14±1,26	20,50±1,53	27,79±1,75	
125 mg.L ⁻¹	5,57±0,80	9,53±1,18	15,03±1,56	21,88±2,26	28,28±3,00	
62,5 mg.L ⁻¹	4,38±0,33	8,37±0,49	12,91±0,61	19,17±1,69	24,85±2,77	
31,25 mg.L ⁻¹	5,45±0,60	9,49±0,94	15,06±1,39	20,05±1,93	26,67±3,66	

Tabela 28 - Área (cm^2) de crescimento e σ do fungo *Colletotrichum* sp. $p=0,39$.

<i>Colletotrichum</i> sp.						
Amostra/Dia	3	4	5	6	7	
1000 mg.L ⁻¹	3,62±0,38	5,92±0,58	9,62±0,78	15,25±1,59	19,77±2,34	
500 mg.L ⁻¹	4,46±1,14	7,13±1,47	10,18±1,06	15,95±1,60	20,18±1,45	
250 mg.L ⁻¹	4,84±0,71	7,84±1,13	11,10±1,02	16,16±1,71	19,79±2,52	
125 mg.L ⁻¹	4,63±0,53	6,57±0,53	9,79±1,33	14,30±1,86	18,30±2,97	
62,5 mg.L ⁻¹	4,30±0,70	6,35±1,44	9,79±1,35	13,74±1,51	18,23±1,26	
31,25 mg.L ⁻¹	3,97±0,44	5,85±0,32	9,48±0,50	13,48±1,90	17,26±2,50	

Tabela 29 - Área (cm^2) de crescimento e σ do fungo *Fusarium* sp. $p=0,44$.

Amostra/Dia	<i>Fusarium</i> sp.				
	3	4	5	6	7
1000 mg.L ⁻¹	5,24±0,22	7,61±0,53	10,83±0,83	13,81±1,29	15,09±1,69
500 mg.L ⁻¹	5,26±0,15	7,85±0,64	10,45±1,00	12,87±0,91	15,45±0,93
250 mg.L ⁻¹	5,74±0,49	8,63±0,85	10,93±0,82	13,92±1,02	16,14±1,76
125 mg.L ⁻¹	5,48±0,45	8,01±0,38	10,99±0,50	13,66±1,21	16,18±1,29
62,5 mg.L ⁻¹	6,01±0,59	8,30±0,56	11,86±0,85	14,62±0,37	16,92±0,58
31,25 mg.L ⁻¹	5,04±0,33	7,70±0,61	10,97±0,77	13,71±0,58	16,44±1,41

Tabela 30 - Área (cm^2) de crescimento e σ do fungo *Fusarium solani* $p=0,59$.

Amostra/Dia	<i>Fusarium solani</i>				
	3	4	5	6	7
1000 mg.L ⁻¹	6,41±0,48	9,64±0,82	13,17±0,82	18,05±1,24	21,65±1,82
500 mg.L ⁻¹	6,07±0,32	9,72±0,77	13,06±0,58	18,33±1,49	21,58±1,41
250 mg.L ⁻¹	5,85±0,18	10,02±1,16	13,31±1,95	19,85±2,00	23,59±2,62
125 mg.L ⁻¹	6,04±0,16	9,51±0,19	13,01±0,38	16,89±1,37	21,65±1,18
62,5 mg.L ⁻¹	6,50±0,53	10,41±0,64	13,70±1,21	18,26±1,93	21,85±2,25
31,25 mg.L ⁻¹	6,03±0,37	10,35±0,75	13,31±0,87	18,60±1,67	22,65±1,44

4.4 ENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DE INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE.

4.4.1. Avaliação da inibição da acetilcolinesterase.

Dentre os compostos sintetizados, nenhum inibiu a enzima acetilcolinesterase. Isto pode ser facilmente observado pela não formação do halo branco, Figura 39.

EtOH P 8 A 7 A 8 B 7 B 6 B 6 A 8 D 8 E

Figura 39 - Teste de inibição da enzima acetilcolinesterase.

O composto 6 B apresentou inibição para os quatro fungos. Este resultado é importante uma vez que este composto não inibe a acetilcolinesterase.

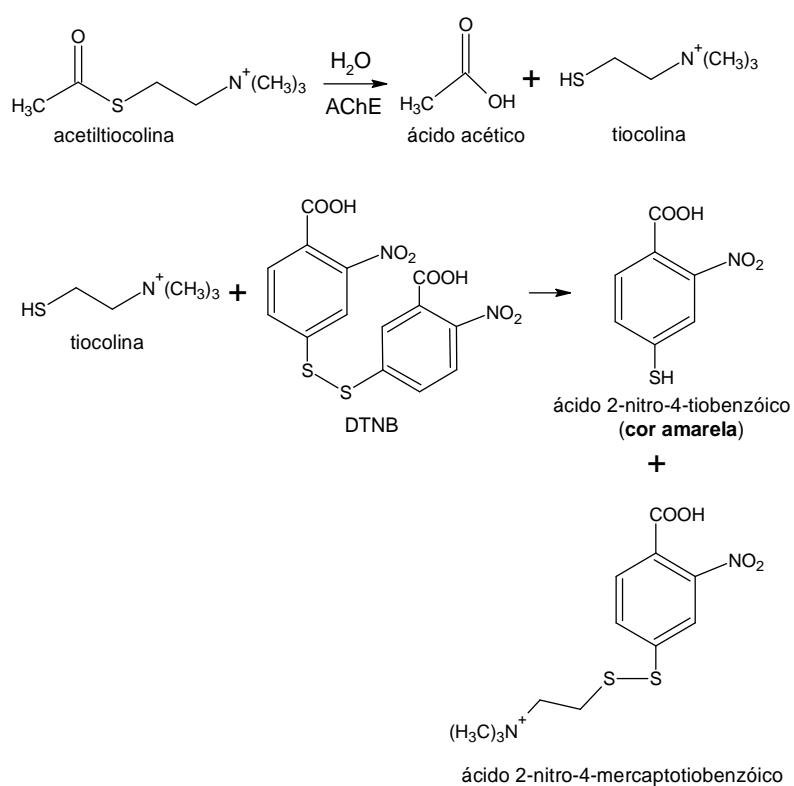
A acetilcolinesterase é responsável pela degradação do neurotransmissor acetilcolina das sinapses colinérgicas (NIGG E KNAAK, 2000). O acúmulo de acetilcolina no espaço sináptico, por sua vez, pode acarretar no desenvolvimento de uma situação de superestimulação colinérgica tanto ao nível do sistema nervoso central (SNC) quanto ao nível das junções neuromusculares periféricas (WOREK *et al.*, 2007). Como resultado de uma superestimulação colinérgica ocorre uma massiva disfunção de inúmeras funções fisiológicas

relacionadas à funcionalidade do sistema colinérgico e eventualmente a morte por falência respiratória (EDDLESTON *et al.*, 2006).

De acordo com SABELGO (2005), herbicidas organofosforados e carbamatos são inibidores potentes da enzima acetilcolinesterase (AChE), causando hiperestimulação dos receptores de acetilcolina, o que impede a contração muscular normal (NASCIMENTO *et al.*, 2006). Os compostos sintetizados, ao contrário, não provocaram a inibição da mesma.

Entre os parâmetros utilizados para avaliar a toxicidade de pesticidas e herbicidas, a medida da atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) é muito utilizada (SANCHO *et al.*, 2000; DUTTA & ARENDS, 2003).

A enzima hidrolisa o substrato acetiltiocolina, gerando como produto a tiocolina, que reage com o DTNB ou reagente de Ellman, produzindo 2-nitrobenzoato-5- mercaptotiocolina e o ácido 2-nitro-4-tiobenzóico facilmente identificado pela coloração amarela, Esquema 16.



Esquema 16 - Reação da enzima acetilcolinesterase.

5. CONCLUSÃO

- ⇒ As dialquilfosforilidrazonas sintetizadas são inéditas e facilmente obtidas. Os rendimentos foram variados, sendo relativamente altos quando o aldeído utilizado foi o furfural ou tiofurfural.
- ⇒ Houve formação dos dois possíveis diastereoisômeros (*E/Z*), principalmente quando foi utilizado furfural. Já com o tiofurfural os compostos obtidos eram praticamente puros. Nos demais, havia um excesso enanciomérico com preferência pelo diastereoisômero *E*.
- ⇒ As dialquilfosforidrazonas a base de tiofurfural apresentaram purezas superiores a 81%.
- ⇒ O composto 6 B foi o que melhor apresentou atividade fungicida, inibindo o crescimento de todos os fungos testados.
- ⇒ Os resultados mais expressivos do composto 6 B foram em relação aos fungos *Alternaria* sp e *Colletotrichum* sp. com 62,1% e 66,5%, respectivamente.
- ⇒ Todas as dialquilfosforidrazonas sintetizadas não inibem a enzima acetilcolinesterase.



6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIFINA, <http://www.abifina.org.br/noticiaSecao.asp?secao=1¬icia=76>, Acesso em 19 de novembro de 2009.

AGRIOS, G. N. Plant pathology. Florida: Academic Pressol, 1998. v. 4, p. 817-820.

ALVAREZ, A.M.; NISHIJIMA, W.T. Postharvest diseases of papaya. Plant Disease, Saint Paul, v.71, n. 8, p.681-686, 1987.

ALVAREZ, A.M, HYLEN J. W. & OGATA J. N. (1977). Post-harvest diseases of papaya reduced by biweekly orchard sprays. Plant Disease Reporter 61, 731-735.

ARAUJO, A. J. de, LIMA, J. S. de, MOREIRA, J. C. et al. Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. Ciênc. saúde coletiva, jan./mar. 2007, vol.12, no.1, p.115-130. ISSN 1413-8123.

ARAÚJO, Edelcio T. de; MELO, Walclée de C.; GUERREIRO, Mário C.; BARBIÉRI, Roberto S.; ABREU, Celeste Maria P. d. Efeito biocida de mandelatos organoestânicos sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 28, n. 1, p. 34-41, 2004.

ARAUJO, A. J. de, LIMA, J. S. de, MOREIRA, J. C. Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. Ciênc. saúde coletiva. vol.12, n.º.1, p.115-130. 2007

AKAMINE, E.K.; ARISUMI, T. Control of post-harvest storage decay of fruits of papaya (*Caricae papaya* L.) with special reference to their effect of hot water. Proceeding American Society Horticultural Science, v.61, p.270-274, 1953.

ALVAREZ, A.M.; NISHIJIMA, W.T. Postharvest diseases of papaya. Plant Disease, St. Paul, v.71, n.7, p.681-686, July 1987.

ARNOLD, H.; BOURSEAUX, F. & BROCK, N.; 1961. Arzneim Forsch. 11:143.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of AOAC International. AOAC International 17^a ed. Arlington, Virginia, USA, 2000.

ATHERTON, F. R. & TODD, A. R. 1948. Studies on phosphorylation 4. Further studies on the use of dibenzyl chlorophosphonate and the examination of certain alternative. Journal Chemistry Society.1106, 1948.

ATHERTON, F. R.; TODD, A. R.; OPENSHAW, H. T. Journal Organic Chemistry, p. 674, 1947.

ATHERTON, F. R. TODD, A. R.; OPENSHAW, H. T. , Journal Organic Chemistry, p. 660 - 663, 1945.

AWADALLAH, A.M. The Islamic University Journal (Series of Natural Studies and Engineering). 14 (1),129-133, 2006. (<http://www.iugzaza.edu.ps/ara/research/>).

BAKER, F.J. Manual de técnica bacteriológica. Saragoza: Acribia, 1970. 510p.

BALBI-PEÑA, M. I.; BECKER, A.; STANGARLIN, J.R.; FRANZENER, G.; LOPES, M.C.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Controle de Alternaria solani em tomateiro por extratos de Curcuma longa e curcumina: I. avaliação in vitro. *Fitopatol. bras.* [online]. vol.31, n.3, pp. 310-314, 2006.

BARREIRO, E.J.; MIRANDA, A.L.P.; LIMA, P.C.; LIMA, L.M.; da SILVA, K.C.M.; LÉDA, P.H.O.; FRAGA, C.A.M. Synthesis and Analgesic Activities of Novel N-Acylarylhydrazones and Isosters, Derived from Natural Safrole. *European Journal of Medicinal Chemistry*. v. 35, p. 187-203, 2000.

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

BATISTA, D. C.; OLIVEIRA, S.M.A.; TAVARES, S.C.C.H.; LARANJEIRA, D.; NEVES, R.A.F.; SILVA, R;L;X. Efeitos de fungicidas inibindo o crescimento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f sp.*passiflorae* e interferência com *Trichoderma* spp. *Summa Phytopathologica*, Recife – PE, v.28, n.º 4, p. 305-309, 2002.

BENATO, E. A. Controle de doenças pós-colheita em frutas tropicais. *Summa Phytopathologica*, Jaboticabal, v.25, n.1, p. 90-93, 1999.

BERTAN, R.; VENANCIO, W. S. RODRÍGUEZ, M. A; T. Avaliação da eficiência de fungicidas no controle de antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) na cultura da manga (*Mangifera indica* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 36., 2003. Uberlândia. Palestras e Resumos... Uberlândia: SBF, p. S336,. 2003.

BRAYTON, C.F. Dimethyl sulfoxide (DMSO): a review. *Cornell Veterinarian*, v.76, n.01,p.76-90, 1986.

BOLAND, J.; KOOMEN, I.; JEUDE,J. V. L. DE; OUDEJANS, J. Pesticidas: compostos, usos e perigos. Agrodock 29. Fundação Agromisa, Wageningen, 116p, 1.º edição, 2005.

BOLKAN, H.A.; CUPERTINO, F.P.; DIANESE, J.C.; TAKATSU, A. Fungi associated with pre-and postharvest fruit rots of papaya and their control in Central Brazil. *Plant Disease Repórter*, Saint Paul, v.60, n. 7, p.605-609, 1976.

BOOTH, R.H. & BURDEN, O.J. Pérdidas de postcosacha. In: The Commonwealth Mycological Institute (Eds.) Manual para patólogos vegetales. Kew. CAB/FAO. 1986. pp.162-179.

BUOSI. D.; FELFILEI, J.M.; Recuperação de áreas contaminadas por pesticidas organoclorados na cidade dos meninos, município de Duque de Caxias, RJ. Revista Árvore, Viçosa-MG, v.28, n.3, p. 465-470, 2004.

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

CAIXEIRO, J. M. R. Dialquilfosforilidrazonas e *N,N'*-bis (diisobutilfosforiltioamida) diaminas: Síntese, Caracterização, Modelagem Molecular e Estudo da Atividade Biológica. 2007. Tese de Doutorado.

CAMILI, E. C.; BENATO, E. A.; PASCHOLATI, S. F. and CIA, P.. Avaliação de quitosana, aplicada em pós-colheita, na proteção de uva 'Itália' contra *Botrytis cinerea*, vol.33, n.3, pp. 215-221, 2007.

CAMPOS, A. K. ; MOTA, M. A.; ARAÚJO, J. V.; CECON, P. R. Atividade predatória, crescimento radial e esporulação de fungos predadores de nematóides *Monacrosporium* spp, submetidos à criopreservação. Ciência Rural, v.34, n.º 2, p 465-469, Santa Maria, 2004.

CAMPOS, W. F., PEREIRA, M. G., VITÓRIA, A. P. VALIDAÇÃO DE DNA FINGERPRINT PARA GENÓTIPOS ELITE DE MAMOEIRO (*Carica papaya L.*) Papaya Brasil, 2007. Espírito Santo, p. 273-275, 2007.

CAMPS, F.; CASTELLS, J. Tablas para la Elucidación Estructural de Compuestos Orgánicos por Métodos Espectroscópicos. *Alhambra S. A.* 1^a Ed. Versão Espanhola. 1980.

CANDIDO E SILVA, E. K.; RODRIGUES, A. A. C.; VERAS, M. DE S. Efeito de resíduos orgânicos na supressão de *Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum* em quiabeiros.

CARLTON, F.B.; SIMPSON, W.M. & HADDAD, L.M. The Organophosphate and Other Insecticides. In: Haddad, L.M., Shannon, M.W., Winchester, J.F. *Clinical Management of Poisoning and Drug Overdose*, Philadelphia, Pensylvania, USA. WB Saunders Company, 3^a ed. 1998, p. 836-850

CAVALIERE, M. J., CALORE, E. E., PEREZ, N. M. E PUGA, F. R. Miotoxicidade por organofosforados Organophosphate myotoxicity. Revista de Saúde Pública. Rev. Saúde Pública vol.30 n.º.3. São Paulo, Junho 1996, ISSN 0034-8910.

CHITARRA, M.I.F. & CHITARRA, A.B. Pós-colheita de frutos e hortaliças – fisiologia e manuseio, 2.^o Ed atualizada e ampliada. Lavras. ESAL/FAEPE. 2005.

CHITARRA, M.I.F. & CHITARRA, A.B. Pós-colheita de frutos e hortaliças – fisiologia e manuseio. Lavras. ESAL/FAEPE. 1990.

COLIN, M.E.; BELZUNCES, L.P. Evidence of synergy between Prochloraz and Deltamethrin in *Apis mellifera L.*: a convenient biological approach. Pesticide Science,

v.36, p.115-119, Disponível em: <<http://www3.interscience.wiley.com/journal/117935712/group/home.html>>. Doi: 10.1002/p.2780360206, 1992.

COSTA, H.; VENTURA, J.A.; RODRIGUES, C.H.; TATAGIBA, J.S. Ocorrência e patogenicidade de *Glomerella cingulata* em mamão no Norte do Estado do Espírito Santo. Fitopatologia Brasileira, Fortaleza, v.26, n. 2, p.328, 2001. (Resumo).

COSTA, A. de F. S. da; BALBINO, J. M. de S. Características da fruta para exportação e normas de qualidade. In: FOLEGATTI, M. I. da S.; MATSUURA, F. C. A. U. Mamão: Pós-colheita. EMBRAPA: Mandioca e Fruticultura. Brasília. Frutas do Brasil, 21. 2002. 59p.

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

COTTON, F. A. & SCHUNN, P. A.; 1963. J. Am. Chem. Soc. 85:2394

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

COUTINHO, C. F. B.; TANIMOTO, S. T.; GALLI, A.; GARBELLINI, G. S.; TAKAYAMA, M.; AMARAL, R. B.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. Pesticidas: Mecanismo de ação, degradação e toxidez. Curitiba, v. 15, jan./dez. 2005

DaCOSTA, J. B. N.; SANTOS, V. M. R. ; SANT'ANNA, C. M. R.; CHAABAN, A. ; CORTES, W. S.; MOYA-BORJA, G. E . New bisphosphorothioates and bisphosphoroamidates: Synthesis, molecular modeling and determination of insecticide and toxicological profile. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 35, p. 68-81, 2007.

DaCOSTA, J.B.N.; RODRIGUES, J.M.; DONNICI, C.L.; SANTOS dos, V.M.R. Compostos Organofosforados Pentavalentes: Histórico, Métodos Sintéticos de Preparação e Aplicações como Inseticidas e Agentes Antitumorais. *Química Nova*. v. 30, n. 1, p. 159-170, 2007.

DAVID, H., MARTIN, G., MAVEL, G., STURTS, G., Mémoires Présentés a la Société Chimique, N.º 272, 1616, 1962.

DE CLERCQ, E. New Developments in Anti-HIV Chemotherapy. *Current Medicinal Chemistry*. v. 8, p. 1543-1572, 2001.

DANTAS, J. D'ARC P.; CASTRO, R. A. de O.; GUEDES, M. I. F.; ALVES, C. R. Síntese do acetato de 3-pentadecil fenol hidrogenado e atividade fúngica frente ao *Lasiodiplodia theobromae*. 3.º Congresso Norte-Nordeste de Química, 2009.

DANTAS, S. A. F., OLIVEIRA, S. M. A., MICHEREFF, S. J. et al. Doenças fúngicas pós-colheita em mamões e laranjas comercializados na Central de Abastecimento do Recife. Fitopatologia brasileira., vol.28, no.5, p.528-533, 2003.

Defensivos agrícolas. Disponível em:
<http://www.abifina.org.br/noticiaSecao.asp?secao=1¬icia=76> . Acesso em: 25 dez.2009.

DICKMAM, M. B. Papaya diseases caused by fungi-Anthracnose. In: PLOETZ, R. C. et al Ed.). Compendium of tropical fruit disease. 2. ed. St. Paul: APS Press, 1994, p. 58-64.

DODOFF, N.; GRANHAROV, K.; SPASSOVSKA N.; *Journal of Inorganic Biochemistry*, 1995, 60, 257.

DOMINGUES, R.J., SOUZA; J.D.F. DE; TÖFOLI, J.G., MATHEUS D.R. Ação “in vitro” de extratos vegetais sobre *Colletotrichum acutatum*, *Alternaria solani* e *Sclerotium rolfsii*. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.76, n.4, p.643-649, 2009.

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 Bisphosphoroamides: Synthesis, Molecular Modeling and Determination of Insecticide and Toxicological Profile. *Bioorganic Chemistry*. v. 35, n.1, p. 68-81, 2007.

DURÁN, A., MORA, D. & CHAVARRÍA, E. Determinación de la edad susceptible del fruto de la papaya (*Carica papaya* L.) a la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.). *Agronomía Mesoamericana* 10:1-6. 1999.

DUARTE, M. L. R., Embrapa Amazônia Oriental - Sistemas de Produção, 01, ISSN 1809-4325, Versão Eletrônica Dez./2005.

ECKERT, J.W. Post-harvest diseases of citrus fruits. *Agriculture Outlook* 54:225-232. 1993.

EDDLESTON, M.; MOHAMED, F.; DAVIES, J.O.J.; EYER, P.; WOREK, F.; SHERIFF, M.H.R.; BUCKLEY, N.A. Respiratory failure in acute organophosphorus pesticide selfpoisoning. *Q. J. Med.*, 99:513–22; 2006.

EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazoles compounds, hytopathology, Saint Paul, v. 61, p. 42-44, 1971.

FAO. FAOSTAT – Agricultural statistics database. Rome. World Agricultural Information Center. 2002. (<http://apps.fao.org.> – versão 28/03/2002).

FAY, E. F, ABAKERLI, R. B., TATAGIBA, R. G. J. da S. , GALVÃO, T. D. L., MARTINS, D. dos S., YAMANISHI, O. K., MEDINA, V. M., SOUZA, D. C. de, ROSA,

M. A., RODRIGUES, N. R., RODRIGUES, E. G. R., TOLEDO, H. H. B. de, BONIFÁCIO, A. Resíduos de Mancozebe e etu em mamão: Efeito do Tratamento hidrotérmico pós-colheita. Papaya Brasil, p.620-623, 2005.

FELLENBERG, G.; Introdução aos Problemas da Poluição Ambiental; Editora Pedagógica e Universitária; São Paulo; 1980.

FERRACINI, J.R.; COSTA, A . T.G. Inibição da atividade fagocitária por metabólitos de fungos demáceos. Associação Pontagrossense de Farmacêuticos. Capturado em 25 de mar. 2005. Online. Disponível na Internet <http://www.asponfar.org.br/trabalhos/analisemicologia4.htm>.

FIGUEROA VILLAR, J. D.; MOTTA, M. A. Synthesis of 6-Alkyl- and Arylamino-9-(tetrahydro-2-pyranyl)purines via 6-Methylsulfonylpurine. Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids, USA, v. 19, n. 5&6, p. 1005-1015, 2000.

FISHER, E. B. & VAN WAZER, J. R., 1961. Uses of organic phosphorus compounds, in Phosphorus and Its Compounds. Vol.II. Ed. Interscience, New York,1897.

FLORES, A. V., RIBEIRO, J. N., NEVES, A. A. *et al.* Organoclorados: um problema de saúde pública. Ambient. soc., jul./dez. 2004, vol.7, no.2, p.111-124. ISSN 1414-753X.

GARCIA JÚNIOR, D., VECCHIATO, M. H., MENTEN, J. O.M. Efeito de fungicidas no controle de *Fusarium graminearum*, germinação, emergência e altura de plântulas em sementes de trigo. *Summa Phytopathologica*, v.34, n.3, p.280-283, 2008.

GARCIA, G.; ALMEIDA, W. F. Exposição dos trabalhadores rurais aos agrotóxicos no Brasil – Revista Brasileira de Saúde ocupacional, 72 – Vol. 19 – Jan, Fev, Mar, 1991.

GOMES, M.S.O. Conservação pós-colheita:frutas e hortaliças. Brasília. Embrapa-SPI. 1996. 134 p.

GOODMAN, L. S. & GILMAN, A. As bases farmacológicas da terapêutica. 9.º edição, 1996.

GRANT, C.A., FLATEN D.N., TOMASIEWICZ, D.J., SHEPPARD, S. C. Informações Agronômicas N.º 95, Setembro, 2001.

GULLINO, M.L. Lotta biologica a funghi agenti di marciume della frutta in post-raccolta. Informatore Fitopatologico 4:5-13. 1994.

KATIANE S. S., TIYOKO N. H. R., ODAIR L. L., MARINÊS P. B., BOMFIM,A. A., ESQUIVEL, G. L. BARRETO, A. P. P., SÃO JOSÉ, A.R., DIAS, N. O., TAVARES, G; M. Patogenicidade causada pelo Fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) em diferentes espécies frutíferas. Revista Brasileira de Fruticultura, abril 2006, vol 28, nº 1, p 131-133. ISSN 0100 2945.

KENNER, G. W.; TODD, A. R. & WEY MOUTH, F. J. NUCLEOTIDES 16 RIBONUCLEOSIDES – 5' PHOSPHITES – A new method for the preparation on mixed secondary phosphites. *Journal Chemistry Society*. 3669, 1952.

KERTESZ, M. A.; COOK, A.M. & LEISINGER, T.; 1994. *Microbiology Reviews* 15: 195-215.

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

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

KITAEV, Yu.P.; BUZYKIN, B.I.; TROEPOL'SKAYA, T.V. The Structure of Hydrazones. *Russian Chemical Reviews*. v. 39, n. 6, p. 441-456, 1970.

KOSAKI, T.; SHONO, T.; TAZASHI, T. & KONO, Y. Fenitroson insensitive acetylcholinesterase of the housefly, *Musca domestica* associated with point mutations. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 31:991-997, 2001.

KOSOLAPOFF, G. M; MAIER, L.; *Organic Phosphorus Compounds*. Wiley-Interscience, vol, 3, pp 186-339, New York 1973.

KWON-CHUNG K.J.; BENNETT JE - *Medical Mycology*. Philadelphia: ed Lea & Febiger, 1992.

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.

LARA, W.H. & BATISTA, G. C., Pesticidas. *Química Nova*, v.15, p.161-166, 1992.

LIBERATO, J.R. & COSTA, H. Incidência de antracnose e podridão peduncular em frutos de mamoeiro em Linhares - ES. *Fitopatologia Brasileira* 22:276. 1997 (Resumo).

LIBERATO, J.R.; ZAMBOLIM, L. Controle das doenças causadas por fungos, bactérias e nematóides em mamoeiro. In: Zambolim, L.; Vale, F.X.R. do; Monteriro, A.J.A.; Costa, H. (Ed.). *Controle de doenças de plantas: fruteiras*. Viçosa: Suprema Gráfica e Editora, 2002. v.2, p.1023-1138.

LIMA, P. C.; BARREIRO, E. J.; ET. ALL. *EUR. J. MED. CHEM.* 2000, 35, 187.

LUNA, A J; SALES, L. T e SILVA, R. F. AGROTÓXICOS: Responsabilidade de Todos" (Uma abordagem da questão dentro do paradigma do desenvolvimento sustentável).

MAFFIA, L.A. & MIZUBUTI, E.S.G., Fitopatologia x sociedade. Ação Ambiental.v.2, p.9-12, 1999.

MARINHO, A. B. BERNARDO, S., SOUSA, E. F. de, DAHER, R. F., PEREIRA, M. G., POSSE, R. P., POSSE, S.C. P. Produtividade do mamoeiro híbrido UENF/CALIMAN 01 em função de diferentes lâminas de irrigação e doses de potássio. Papaya Brasil. P 435-438, 2007.

MARQUES, R. P.; MONTEIRO A. C.; PEREIRA, G. T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*). Revista Ciência Rural, v.34, n.6, p.1675-1680, 2004.

MARTINS, D. dos S. Exportação de mamão ‘Solo’ para os Estados Unidos-Procedimentos. In: RITZINGER, C. H. S. P.; SOUZA, J. da S. Mamão: Fitossanidade. EMBRAPA: Mandioca e Fruticultura. Brasília. Frutas do Brasil, 11. 2000. 91p.

MASSARANI, E., et al, J. Med. Chem., 1971, 14, 633.

MAYER F.L., VERSTEEG D.J., MCKEE M.J., FOLMAR L.C., GRANEY R.L., MCCUME D.C., RATTNER B.A. Physiological and non-specific biomarkers. In: Hugget R.J., Kimerle R.A., Mehrle Jr. P.M. & Bergman H.L., Biomarkers: biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress, Lewis Publishers, USA, pp. 5-85, 1992.

MC COMBIE, H.; SAUNDERS, B.C.; SHKEY, G.J. Esters Containing Phosphorus Journal of American Chemical Society. p. 380, 1945.

MELLANBY, K. Biologia da poluição. 2. ed. São Paulo: EPU, 1980. p. 89

MENTEN, J. O. M. et al. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial da *Macrophomina phaseolina* in vitro. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 1, p. 57-66, 1976.

MORAES, A. C. L. de. Contribuição para o estudo das intoxicações por carbamatos: o caso do chumbinho no Rio de Janeiro. [Mestrado] Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública; 1999. 111 p.

MOTA, S. Planejamento urbano e preservação ambiental. Fortaleza: UFC, 1981. 241 p.

NASCIMENTO, I.A.; PEREIRA, S.A. & LEITE, M.B.. Biomarcadores como instrumentos preventivos de poluição. Pp. 413-431. In: P.A Zagatto & E. Bertoletti. (eds.). Ecotoxicologia Aquática- Princípios e Aplicações. São Paulo. 478p., 2006.

NATH, B.S & KUMAR, R.P.S. Toxic impact of Organophosphorus Insecticides on Acetylcholinesterase Activity in the Silkworm, *Bombyx mori* L. Ecotoxicology and Environmental Safety. 42:744, 1999.

NEL, B.; STEINBERG, C.; LABUSHAGNE, N; VILJOEN, A. Evaluation of fungicides and sterilants for potential application in the management of fusroum wilt of banana. *Crop Protection*, Dijon, v.26, n.4, p. 697-705, 2007).

NEMR, A. E.; ABD-ALLAH, A. M. A. Organochlorine contamination in some marketable fish in Egypt. *Chemosphere*, Oxon, v. 54, p. 1401-1406, 2004.

NERO, L. A. MATTOS M. R de; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; NETTO, D. P.; FRANCO, B. D. G. de M. Organofosforados e carbamatos no leite produzido em quatro regiões leiteiras no Brasil: ocorrência e ação sobre *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp.. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* [online]. 2007, vol.27, n.1, pp. 201-204. ISSN 0101-2061.

NERY-SILVA, F.A. Aspectos patogênicos e controle químico da podridão peduncular de mamão (*Carica papaya* L.). 1999. 62 f. Dissertação - (Mestre em Agronomia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

NIGG, H.N.; KNAAK, J.B. Blood cholinesterases as human biomarkers of organophosphorus pesticide exposure. *Rev. Environm. Contam. Toxicol.*, 163:29-111; 2000.

NUGENT, R.A.; SCHLACHTER, S.T.; MURPHY, M.; DUNN, C.J.; STAITE, N.D.; GALINET, L.A.; SHIELDS, S.K.; WU, H.; ASPAR, D.G.; RICHARD, K.A. Carbonyl-Containing Bisphosphonate Esters as Novel Antiinflamatory and Antiarthritic Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*. v. 37, p. 4449-4454, 1994.

OLIVEIRA, G. A. P. de; SILVA, M. S.; RABELLO, A. R.; ALVES, R. S.; ESPÍNDOLA, L. S.; PAULA, J. E. de; VIEIRA, E. A.; LIMA, T. R.; ANJOS, J. de R. N. dos. Tecido foliar de “murici” nativo do Cerrado (*Byrsonima* sp.; família Malpighiaceae) possue princípio antimicrobiano contra crescimento micelial in vitro de fungos patogênicos de soja.II Simpósio Internacional Savanas Tropicais. Brasilia, 2008.

OLIVEIRA, M. S. ; DORS, Giniani Carla ; SOUZA-SOARES, L. A. ; BADIALE-FURLONG, Eliana . Atividade antioxidante e antifúngica de extratos vegetais. *Alimentos e Nutrição* (UNESP), v. 18, p. 253-262, 2007.

OLIVEIRA, A. M. G. e CALDAS & Ranulfo Correa. Produção do mamoeiro em função de adubação com nitrogênio, fósforo e potássio. *Rev. Bras. Frutic.*, vol.26, no.1, p.160-163. ISSN 0100-2945, 2004.

OLIVEIRA, C.F. de; SOUZA, L.S A. De; MARTINS, A. N. Sensibilidade ‘In Vitro’ dos Fungos *Alternaria* sp. e *Sclerotinia* sp. A Fungicidas Sistêmicos. *Revista Científica eletrônica de Agronomia*, ano II, edição n. 3, 2003.

ONO, E. O., GRANA JÚNIOR, J. F. e RODRIGUES, J. D. Reguladores vegetais na quebra da dominância apical de mamoeiro (*Carica papaya* L.). *Rev. Bras. Frutic.*, Ago 2004, vol.26, no.2, p.348-350. ISSN 0100-2945.

PACANSKY, J.,MCLEAN, A. D., et al, *J. Phys. Chem.*, 1990, 94, 90.

PANTASTICO, E. B. Importância do manuseio pós-colheita e armazenamento de frutas. In: INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. Curso de pós-colheita e armazenamento de frutas. Campinas: ITAL, 1981. p. 35-41.

PAULL, R. E.; NISHIJIMA, W.; REYES, M.; CAVALETTO, C. Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.). Postharvest Biology and Technology. v. 11, p. 165-179, 1997. (Review).

PATHAK,V. N., GOYAL J. P. & BHATNAGAR L. G. Effect of chemicals and hot water treatment on Fusarium and Rhizopus rots of papaya. Indian Phitopathology 29, 210-211.

PEHKONEN,S. O.; ZHANG, Q. The degradation of organophosphorus pesticides in natural waters: a critical review. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, Boca Raton, v. 32, n. 1, p. 17-72, 2002.

PEREIRA, M. C.; VILELA, G. R.; COSTA, L. M. A. S. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. Ciência Agropecuária, 30 (4): 731-733.2006.

PERES, A.P.; SILVA-MANN, R.; VIEIRA, M.G.G.C.; MACHADO, J.C. Variabilidade morfocultural e genética de fungos associados à podridão peduncular do mamão. Ciências Agrotécnicas, Lavras, v.27, n.5, p.1053-1062, set./out. 2003.

PINCELLI, T. P.H.; BRANDT, H.R.C.; MOTTA, A. L.; MACIEL, F. V. R.; CRIADO, P. R. Fusariose em paciente imunocomprometido: sucesso terapeutico com voriconazol. Anais Brasileiros de Dermatologia, 2008; 83(4):331-4.

PINHEIRO, E. B. Avaliação dos riscos de impacto ambiental com agrotóxicos usados na produção convencional e integrada de mamão. Tese de mestrado, Vitória, 2007.

PRUSKY, D. Pathogen quiescence in postharvest diseases. Annual Review of Phytopathology 34:413-434. 1996.

QUIMIO, T.H. Temperature as factor for growth and sporulation of anthracnose organism of papaya. Philippine Agriculturist, Manilha, v.57, n. 3, p.245-253, 1973.

RAND-LUBY, L., POMMIER, R.F., WILLIAMS, S.T. et al. Improved outcome of surgical flaps treated with topical dimethylsulfoxide. Ann. Surg. v.224, n.4, p.583-590, 1996.

REZENDE, J. A. M.; FANCELLI, M. I. Doenças do mamoneiro (*Carica papaya* L.). In: KIMATI et al. Manual de Fitopatologia. 3 ed. São Paulo: Ceres. 1997, v.2, cap. 46, p. 486-496.

RHEE, I. K.; MEENT, M.; INGKANINAN, K.; VERPOORTE, R.; J. Chromatogr., A, 915, 217, 2001.

RIBEIRO, L. F.; BEDENDO, I. P.. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* - agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. *Scientia Agricola*, vol.56, n.4, supl, p.1267-1271, 1999.

RIED, T.C.; HAUSBECK, M.K.; LIZILKAYA, K. Use of fungicides and biological controls in the suppression of *Fusarium* crown and root rot os asparagus under greenhouse and growth chamber conditions. *Plant Disease*, East Lansing, v.86, n.5, p. 493-498, 2002.

RISSATO, S. R., LIBÂNIO, M., GIAFFERIS, G. P., GERENUTTI, M. Determinação de Pesticidas organoclorados em água de manancial, água potável e solo na região de Bauru. *Quim. Nova*, Vol. 27, No. 5, 739-743, 2004

ROBINSON, B., *CHEM. REV.*, 1963, 63, 373.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. A Guide to Carotenoid analysis in Foods. Washington: Ilisi, 2001,64p.

ROSENBAUM, E.E., HERSCHLER, R.J., JACOB, S.W. Dimethyl sulfoxide in musculoskeletal disordens. *J. Am. Med. Assoc.* v.192, p.309-313, 1965.

RUDNICK, C. A. M., Análise qualitativa e quantitativa das hispatológiias causadas pelo organofosforado Azodrin® 400 sobre o tecido branquial do peixe de água doce *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG, 1887) após exposição subletal. Tese de mestrado, Curitiba, 2004.

RUGGIERO, C; DURIGAN, J. F.; GOES, A.; NATALE, W.; BENASSI, A. C.; Panorama da cultura do mamão no Brasil e no mundo: Situação atual e tendências. In: Papaya Brasil; Qualidade do mamão para o mercado interno, Vitória_ES, Incaper, V.1. 728p-2003. (Anais 1.º Simpósio Papaya Brasil).

SALUSTIANO, M. E; OROZCO, M. E; ABREU, M. S. E.; POZZA, E. A. Efeito de fungicidas recomendados para o controle de ferrugem do cafeeiro sobre *Colletotrichum* spp. In: CONGRESSO DE PÓS GRADUAÇÃO, 2002, Lavras, MG. Anais... Lavras: UFLA, 2002.

SANDSCAR, B.; MAGALHAES, B. Cryopreservation of *Zoophthora radicans* Zygomycetes, Entomophthorales) in liquid nitrogen. *Cryobiology*, Oxford v.31, p.206-213, 1994.

SANTANA, L.R.R., MATSURA, F.C.A.U. e CARDOSO, R.L. Genótipos melhorados de mamão (*Carica papaya* L.): avaliação sensorial e físico-química dos frutos. *Ciência Tecnologia Alimentos*, abr./jun., vol.24, n.2, p.217-222, 2004.

SANTOS, J. M. F. Aspectos críticos na aplicação de defensivos agrícolas, Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, p 108-128, 2005.

SANTOS, R. V. A racionalidade dos agrotóxicos e seus efeitos deletérios à saúde. *Caderno Informativo de Prevenção de Acidentes*, São Paulo, n. 200, p. 59-65, 1996.

SCHRADER, G. 1961. Angew. Chem. 73:331.

SELEEM, H.S., EL-INANY, G. A., EID, M. F., MOUSA, M. & HANAFY, F. I. Complexation of some Hydrazones Bearing the Quinoline Ring. Potentiometric Studies. J. Braz. Chem. Soc., Vol. 17, No. 4, 723-729, 2006

SENENT, J.. A poluição. Rio de Janeiro: Salvat, 1979.

SHI, A.M.; YAN, J. Z.; WU, J.; ZHUANG, P.J.; WU, X.F. & TANG, Z. H. Kinect Analysis of Acetylcholinesterase in Propxur-Resistance Strain of Housefly (*Musca domestica*) from Shanghai, China. Pesticide Biochemistry and Physiology. 72:72-0, 2001.

SIDRIM, J.J.C.; ROCHA, M.F.G. Micologia médica à luz de autores contemporâneos. RIO DE JANEIRO: GUANABARA KOOGAN S.A., 2004.

SILVA, M.B.; NICOLI, A.; COSTA, A.S.V.; BRASILEIRO, B.G.; JAMAL, C.M.; SILVA, C.A.; PAULA JÚNIOR,T.J.; TEIXEIRA, H. Ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies fitopatogênicas de fungos do gênero *Colletotrichum*. Revista Brasileira. PI. Med., Botucatu, v.10, n.3, p.57-60, 2008.

SILVA, A. A.; CAETANO, E. ; JESUS JUNIOR, N. S.; CUNHA NETO, F. R.; STURIAO, W. P.; Produção de Mudas de Mamoeiro 'TAINUNG 01' em Diferentes Substratos. In: Papaya Brasil - III Simpósio do Papaya Brasileiro, 2007, Vitória. Papaya Brasil: Manejo, Qualidade e Mercado do Mamão. Vitória: Free Publicidade e Propaganda, v. III. p. 330-333, 2007.

SILVA, F. F. da, PEREIRA, M. G., PEREIRA, T. N. S., DAMASCENO JUNIOR, P. C., VIANA, A. P., FERREGUETTI, G. A. Determinação das taxas de reversão sexual e deformação floral em plantas hermafroditas de uma população segregante (RC_1F_1) de mamoeiro (*Carica papaya* L.) no inverno e no verão da Região norte do Espírito Santo. 2004.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRIL, T.C.; 1994. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 5^a ed., Ed. Guanabara Koogan, RJ/RJ.

SNOWDON, A L. A Colour Atlas of post-harvest: diseases & disorders of fruits & vegetables. London: Wolfe Scientific, v.1,1991.

SOGORB, M.A. & VILANOVA, E. Enzymes involved in the Detoxification of organophosphorus, carbamate Compounds. pp. 1-10. US Department of Interior, Fish and Wildlife Service, Washington D.C., 2002.

SOUZA, M. A. A.; SOUZA, S. R.; JR,V. F. V., CORTEZ, J. K.P.C.; LEAL R. de S., DANTAS, T. N. C., MACIEL, M. A. M. Composição química do óleo fí xo de *Croton cajucara* e determinação das suas propriedades fungicidas. Revista Brasileira de Farmacognosia, 16(Supl.): 599-610, 2006.

STONE,R.W. Clinical uptates on the use of dimethyl silfoxide. Canine Practice.v.18, p.16-19, 1993.

STORM, J. E; ROZMAN, K.K. & DOULL, J, J. Occupational exposure limits for 30 organophosphate pesticides based on inhibition of Red Blood Cell acetylcholinesterase. *Toxicology*, 150: 1-29, 2000.

TAVARES, G. M.; SOUZA, P. E.; Controle químico e hidrotérmico da antracnose em frutos de mamoeiro (*Carica papaya L.*) na pós-colheita. Dissertação (mestrado em fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2004. 55p

TATAGIBA, J. da S.; OLIVEIRA, A. A. R. Tratamentos pós-colheita. In: RITZINGER, C. H. S. P.; SOUZA, J. da S. Mamão. Fitossanidade. EMBRAPA: Mandioca e Fruticultura. Brasília. Frutas do Brasil;11. 2000. 91p.

TATAGIBA, J. da S.; LIBERATO, J. R., ZAMBOLIM, L. Controle e condições climáticas favoráveis à antracnose do mamoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, mar./abr., vol.27, n.2, p.186-192, 2002.

TATAGIBA, J. S.; CARON, E.S.; FERRAÇO, M ; IMBERTI, J. ; RAMOS, L.B. Efeito da aplicação do Fitofos K Plus e do Fitamin Cab na cultura do mamão. *Papaya Brasil*, 2007. Espírito Santo, p.402-404, 2007.

TITI, A; BOLLER, E.F; GENDRIER, J.P (eds.). Producción Integrada: Principios y Directrices Técnicas. IOBC/WPRS Bulletin, vol.18 (1,1), 1995. 22p.

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

TORRES, J.P.M. Ocorrência de micropoluentes orgânicos (organoclorados e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos) em sedimentos fluviais e solos tropicais. Tese de Doutorado, Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1998.

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

TREVISAN, M. T. S., MACEDO, F. V. V.; Seleção de plantas com atividade anticolinesterase pra tratamento da doença de Alzheimer. *Química Nova*, Vol. 26, N.^o 3, 301-304, 2003.

TSUDA, T.; AOKI, S.; KOJIMA, M.; HARADA, H. Bioconcentration and excretion of diazinon, IBP, malathion and fenitrothion by carp. Comparative Biochemistry Physiology C Comparative Pharmacology and Toxicology, Oxford, v. 96C, n. 1, p. 23-26, 1990.

TURK, J. Introduction to environmental studies. 3.ed. New York: Saunders College, 1989.

UCKUN, F.M.; QAZI, S.; SAMUEL, P.; VENKATACHALAM, T.K. Effect of Change in Nucleoside Structure on the Activation and Antiviral Activity of Phosphoramidate Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. v. 13, p. 5408-5423, 2005.

VEIGA, M. M.; SILVA, D.M.; VEIGA, L. B. E.; FARIA, M.V.de C.; Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 22(11):2391-2399, nov, 2006.

VENTURA, J. A.; COSTA, H.; TATAGIBA, J. S. Manejo das doenças do mamoeiro. In.: A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção. Vitória, ES: Incaper, 2003. p. 231-267.

VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; SIMÕES, C. M. O.; SCHENCKEL, E. P.; GOSMAN, G.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R., Farmacognosia: da planta ao Medicamento; eds.; 1^a ed.; UFSC e UFRGS: Florianópolis/Porto Alegre, 1999.

VIEIRA, A.; RUGGIERO, C.; MARIN, S. L. D.. Fitotoxicidade de fungicidas, acaricidas e inseticidas sobre o mamoeiro (*Carica papaya L.*) cultivar sunrise solo improved line 72/12. Revista Brasileira de Fruticultura, abr., vol.25, n.1, p.175-178, 2003.

VIEIRA, D.G.; DA SILVA, R.M.; SILVA, O.F.; FONSECA, M.J.O.; SOARES, A.G.; COSTA, R.A. Crescimento *in vitro* de fungos (*Colletotrichum gloeosporioides* e *Cladosporium cladosporioides*) isolados de frutos do mamoeiro, sob atmosfera controlada e refrigeração. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal – SP, v.28, n.3, p. 387-390, 2006.

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

WILLS, R. B. H.; WIMALASIRI, P.; GREENFIELD, H.; Dehydroascorbic acid levels in fresh fruit an vegetables in relation to total vitamin C activity. *J. Agric. Foos Chem.* 32:836-838, 1984.

WILSON, C.; TISDELL, C. Why farmers continue to use pesticides despite environmental, health and sustainability costs. *Ecological Economics*, Amsterdam, v. 39, n. 3, p. 449-462, 2001.

WOREK, F.; AURBEK, N.; KOLLER, M.; BECKER, C.; EYER, P.; THIERMANN, H. Kinetic analysis of reactivation and aging of human acetylcholinesterase inhibited by different phosphoramidates. *Biochem. Pharmacol.*, 73(11):1807-1817; 2007.

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

ZOCCOLI, D. M.; JULIATTI, F. C.; TAKATSU, A. Efeito de fungicidas no crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. do cafeeiro.. In: XXXV CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 2002, Recife. Fitopatologia Brasileira. Anais... Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, v. 27. p. 180-1802002.

ZAITZ, C.; CAMPBELL, I; MARQUES, S.A.; RUIZ, L.R.B.; SOUZA, V.M. Compêndio de Micologia Médica. Editora Médica e Científica Ltda, Rio de Janeiro. 1998.

ZAMBOLIM, L. Fungicidas: benefícios x riscos. *Ação Ambiental*, v.2, p.24-27, 1999.

ZAMBOLIM, L., COSTA, H., VENTURA, J.A. & VALE, F.X.R. Controle de doenças em pós-colheita de frutas tropicais. In: Zambolim, L. (Ed.) Manejo integrado:fruteiras tropicais – doenças e pragas. Viçosa. UFV. 2002. pp.443-511.

ZAVATTI, L.M.S.; ABAKERLI; R.B. Resíduos de agrotóxicos em frutos de tomate. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.34, p.473-480, 1999.

ZHAO, Y. F.; XIL, S. K.; SONG, A. T.; JI, G. J.; Journal Organic Chemistry , v.49, p. 4549, 1984.

ZHAO, Y. F.; XUE, C. B.; ZENG, J. N. & JI, G. J. Synthesis of N-(diisopropoxyphosphoryl) amino acid and peptides. Synthesis-Sttugart. v.6 p. 444, 1988.

Apêndice A

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

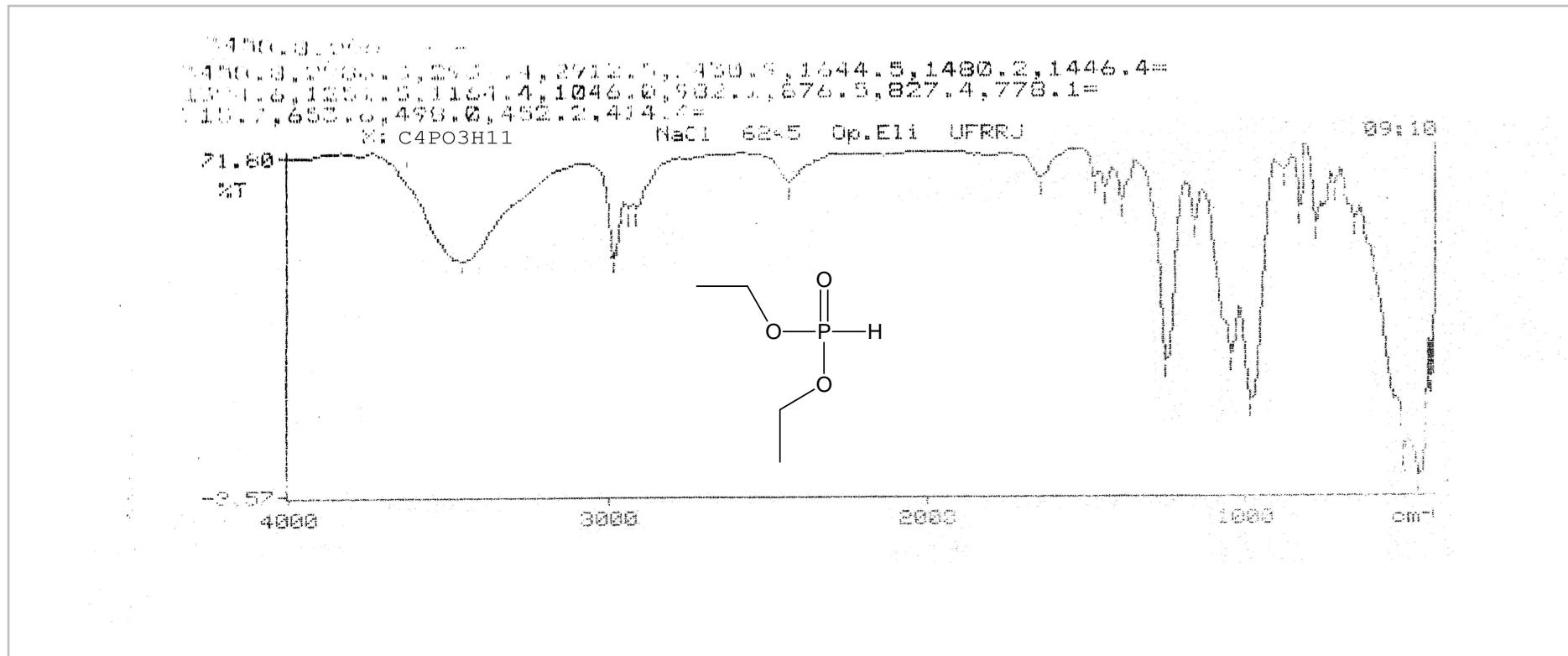


Figura 40 - Infravermelho do fosfonato de dietila (1) em célula de NaCl.

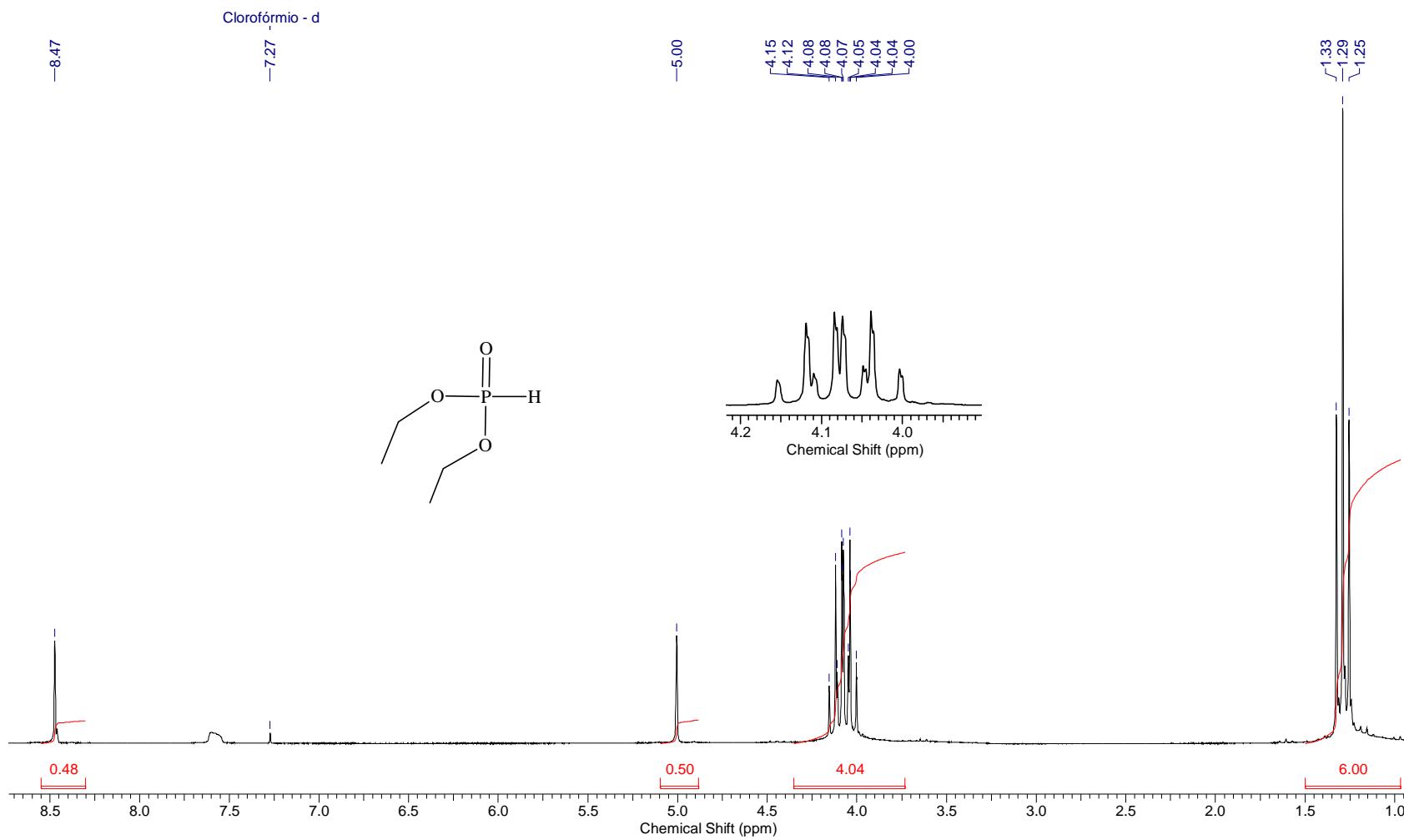


Figura 41 - Espectro de RMN-¹H do fosfonato de dietila (1) em CDCl₃ - 200MHz.

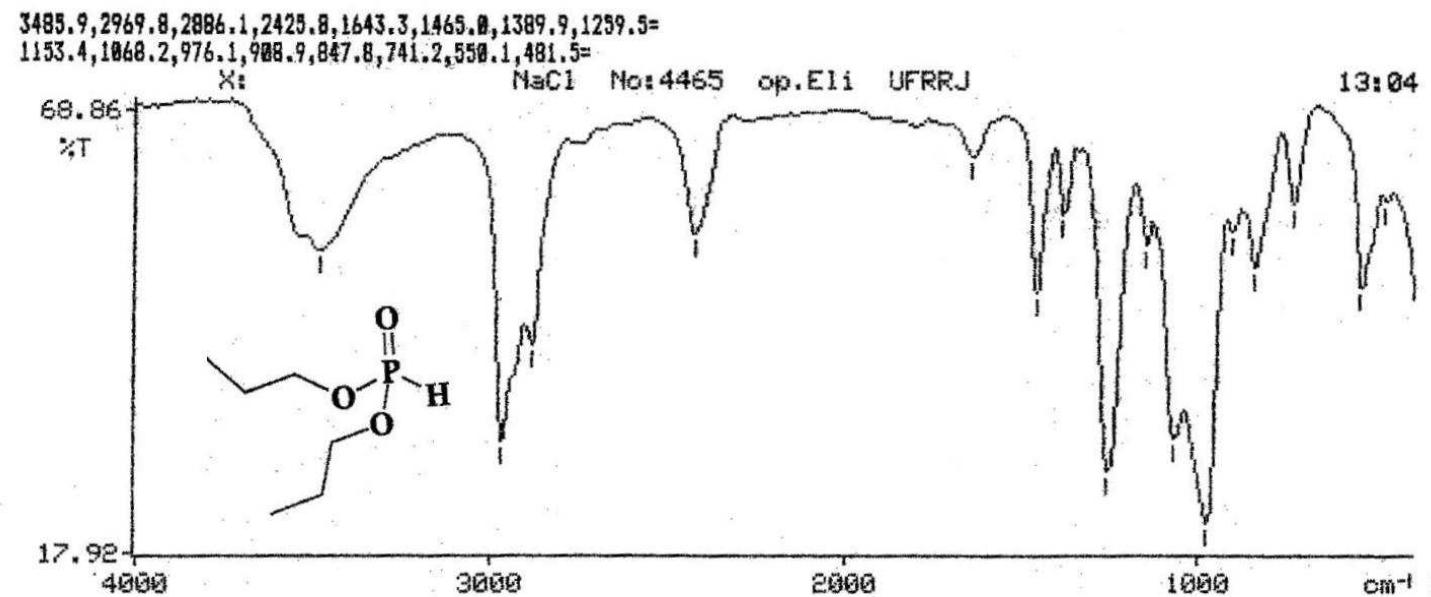


Figura 42 - Infravermelho do fosfonato de dipropila (2) em célula de NaCl.

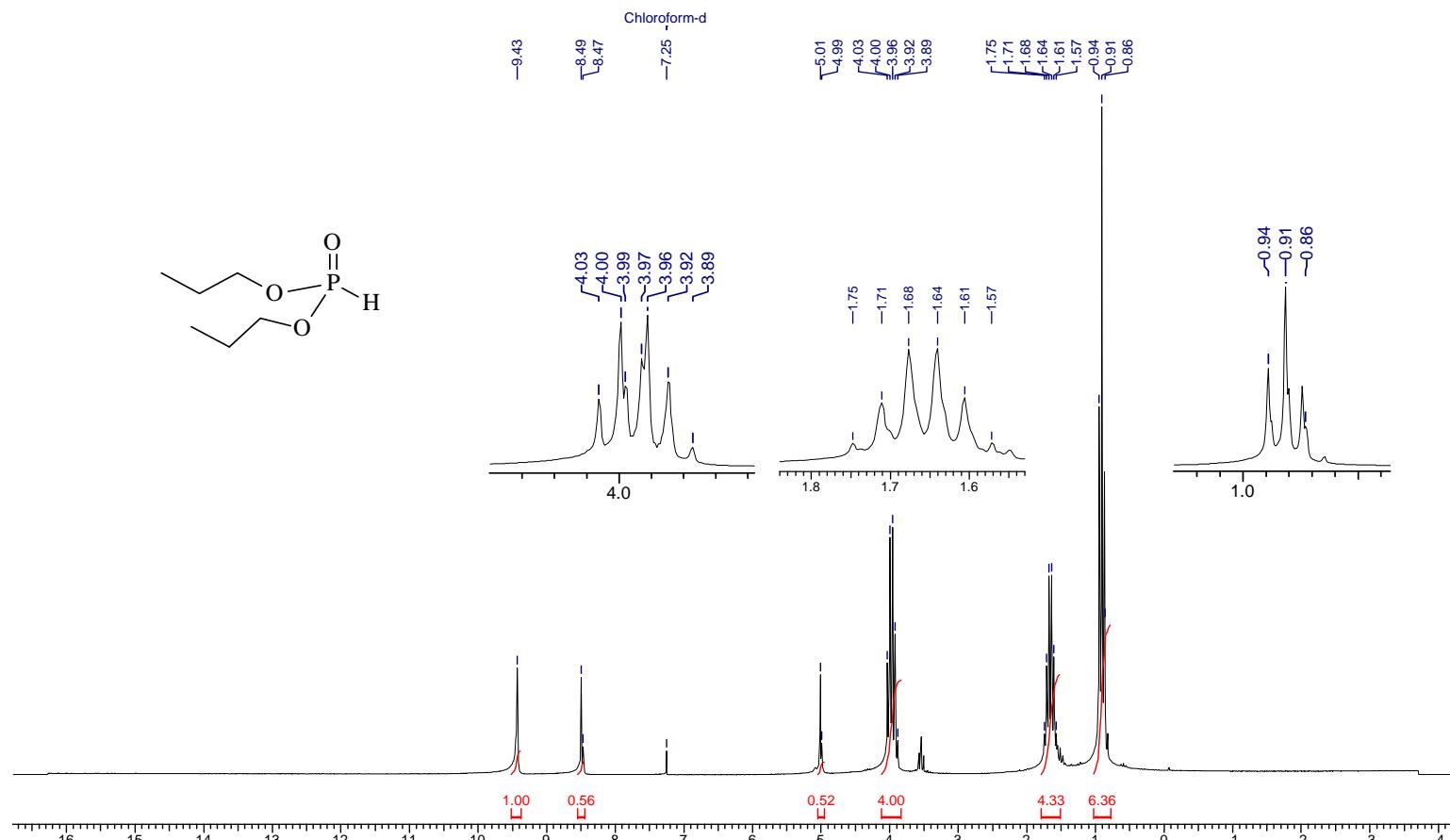


Figura 43 - Espectro de RMN-¹H do fosfonato de dipropila (2) em CDCl₃ - 400MHz.

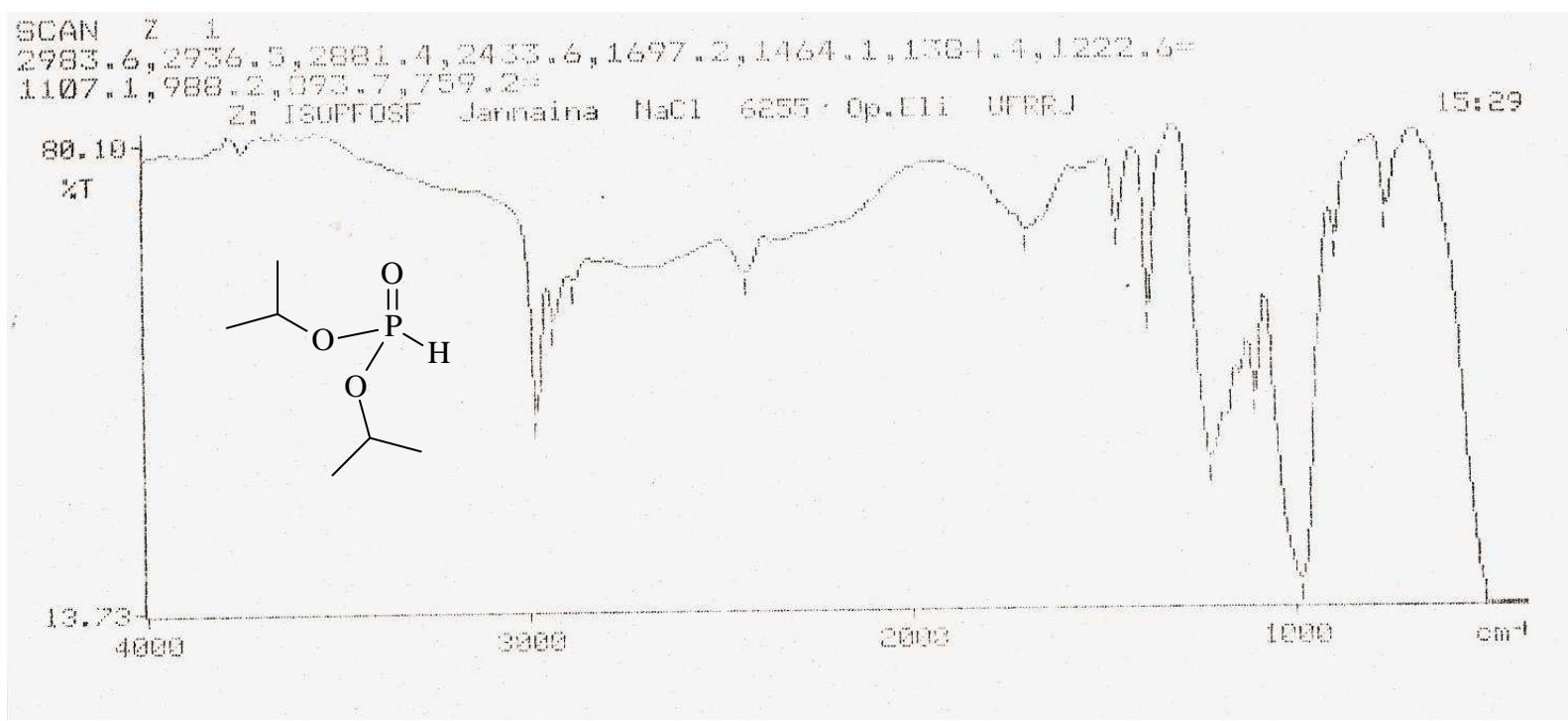


Figura 44 - Infravermelho do fosfonato de diisopropila (3) em célula de NaCl.

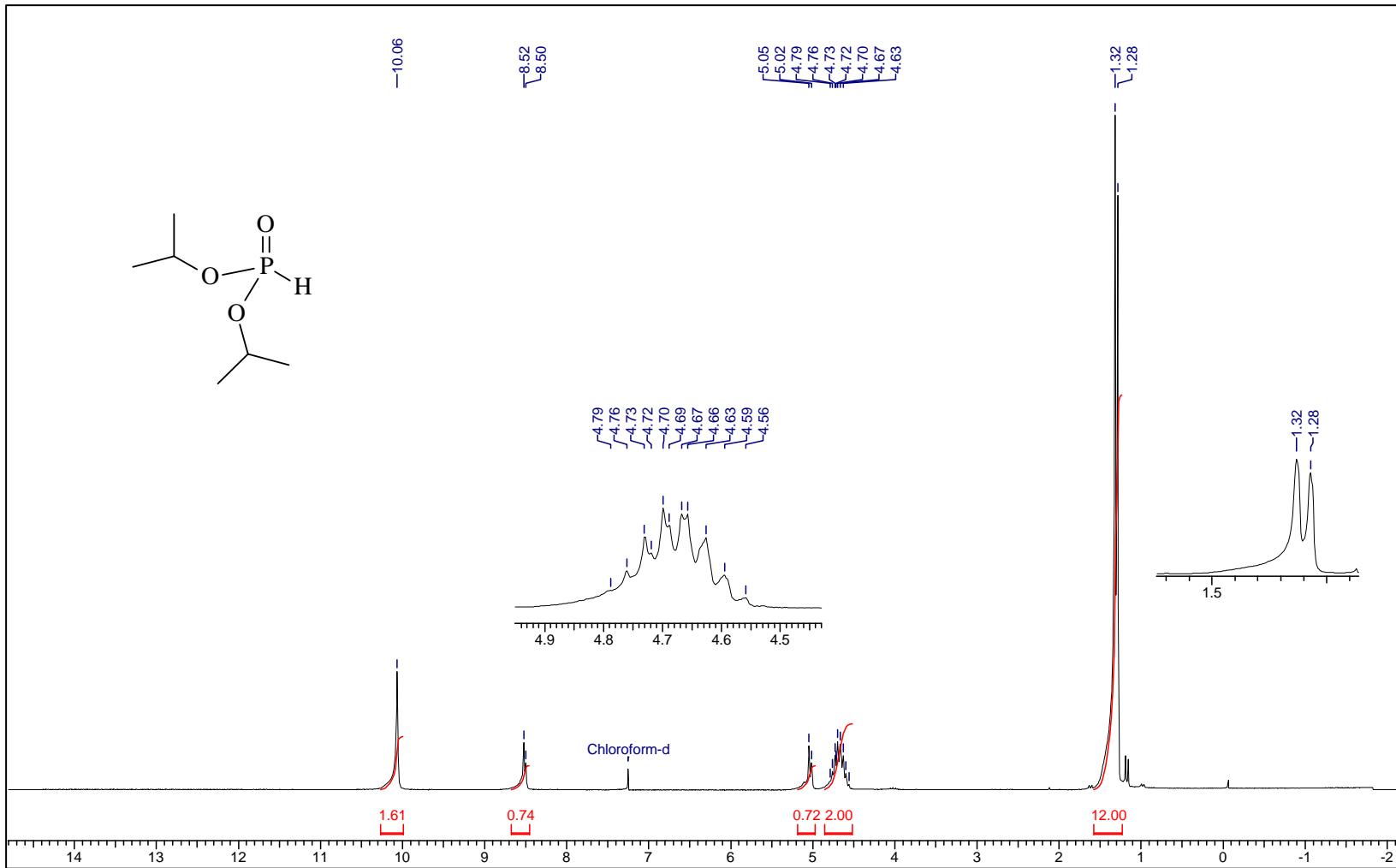


Figura 45 - Espectro de RMN- ^1H do fosfonato de diisopropila (3) em CDCl_3 - 200MHz.

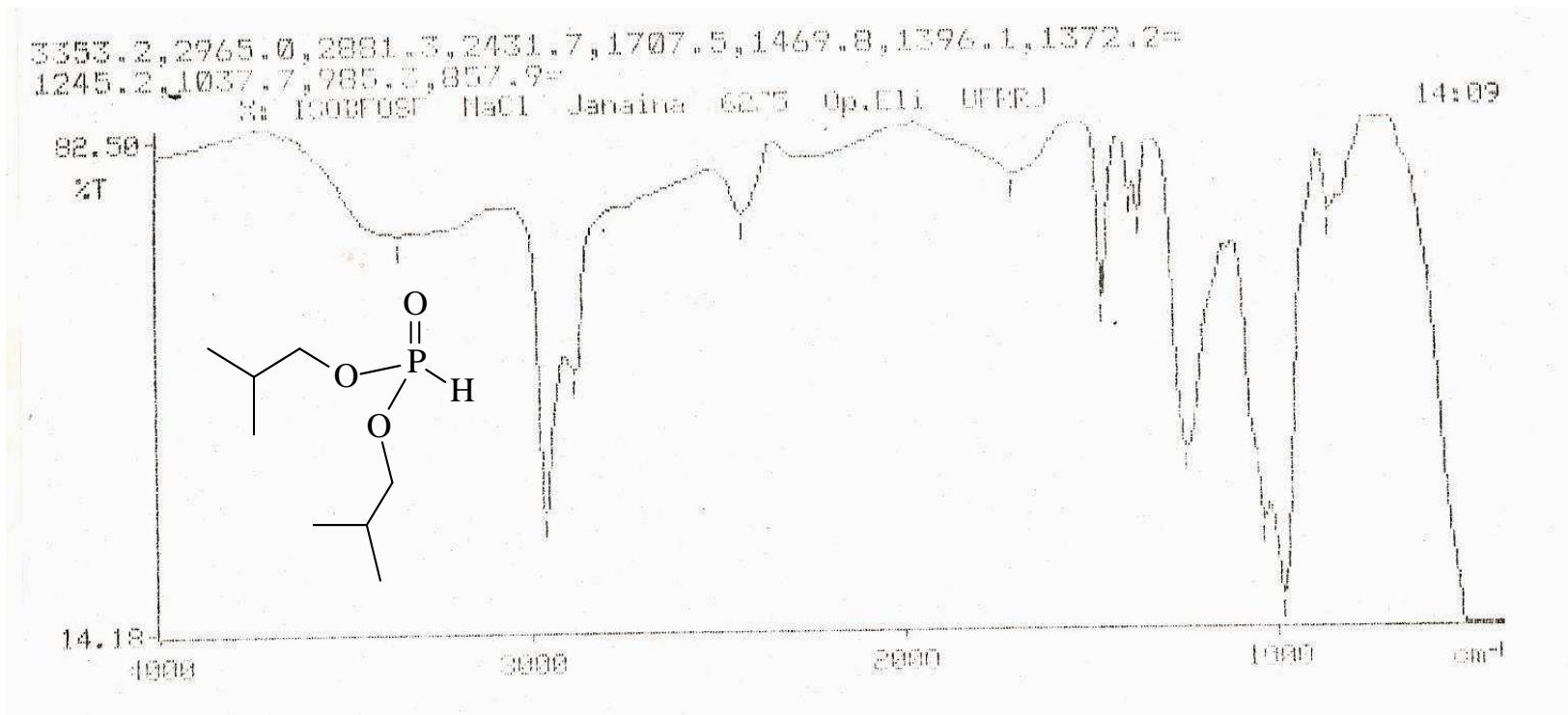


Figura 46 - Infravermelho do fosfonato de isobutila (4) em célula de NaCl.

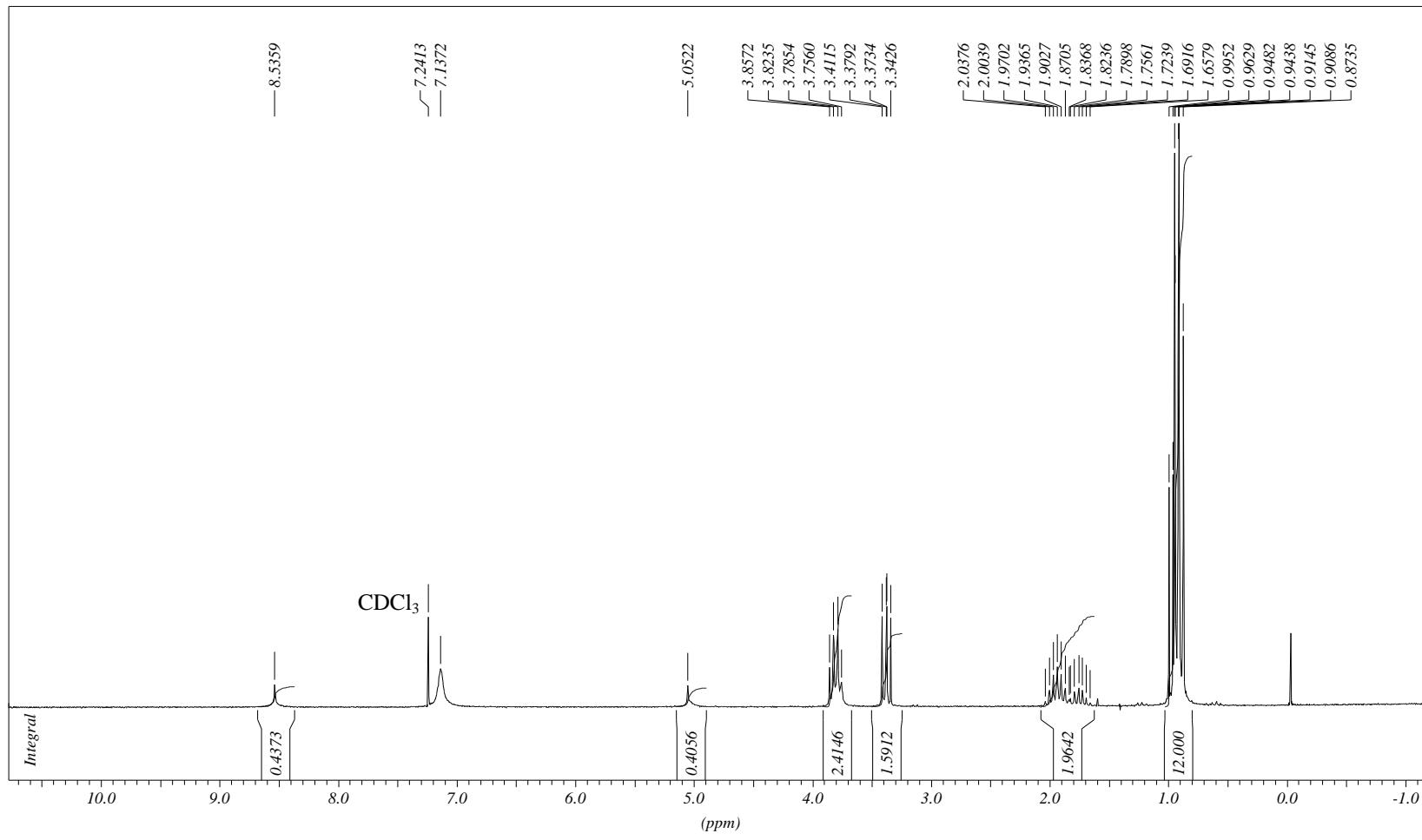


Figura 47 - Espectro de RMN-¹H do fosfonato de diisobutila (4) em CDCl₃ - 200MHz.



Figura 48 - Infravermelho da dietilfosforilidrazina (5) em célula de NaCl.

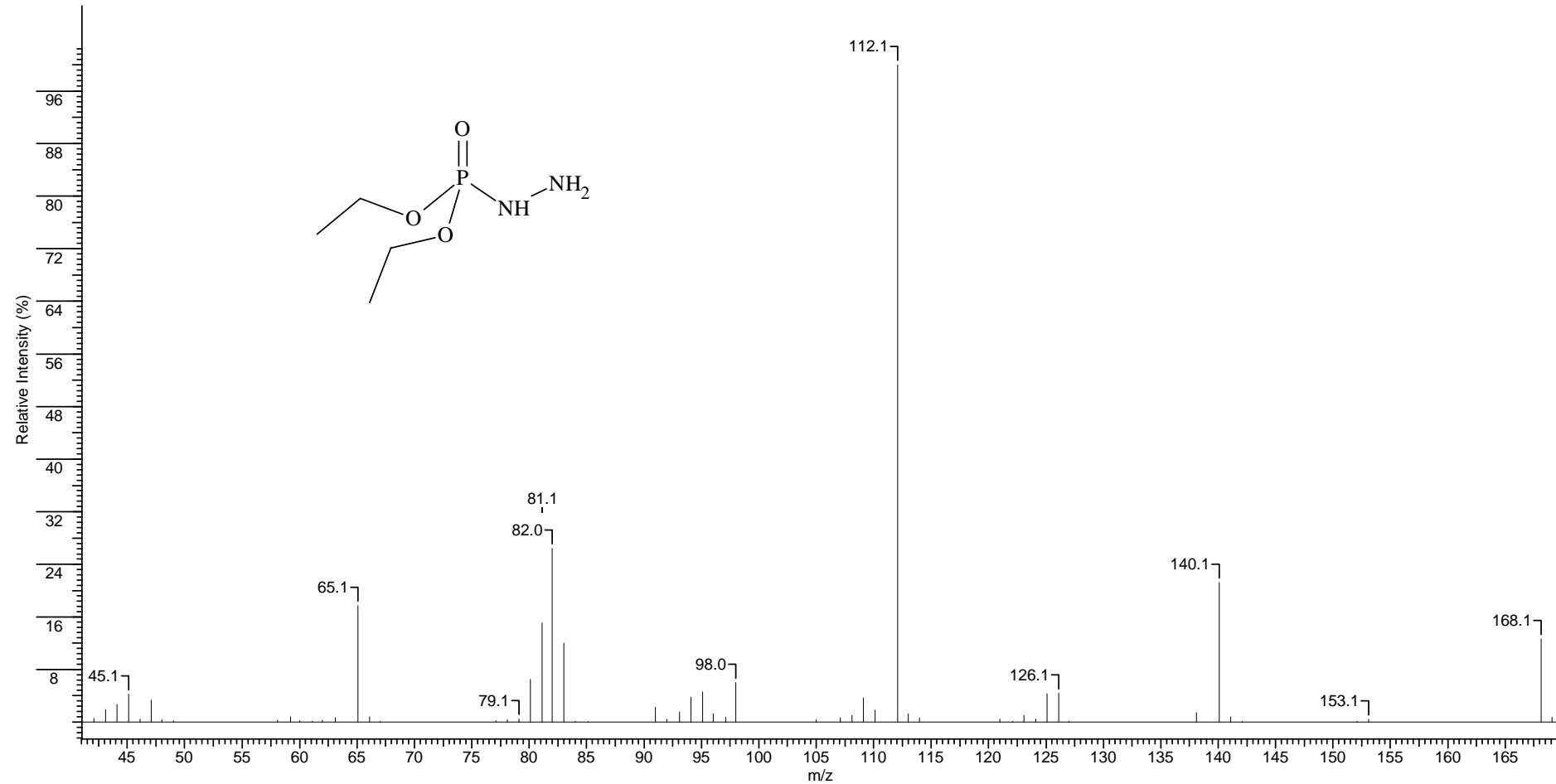


Figura 49 - Espectro de massas da dietilfosforilidrazina (5).

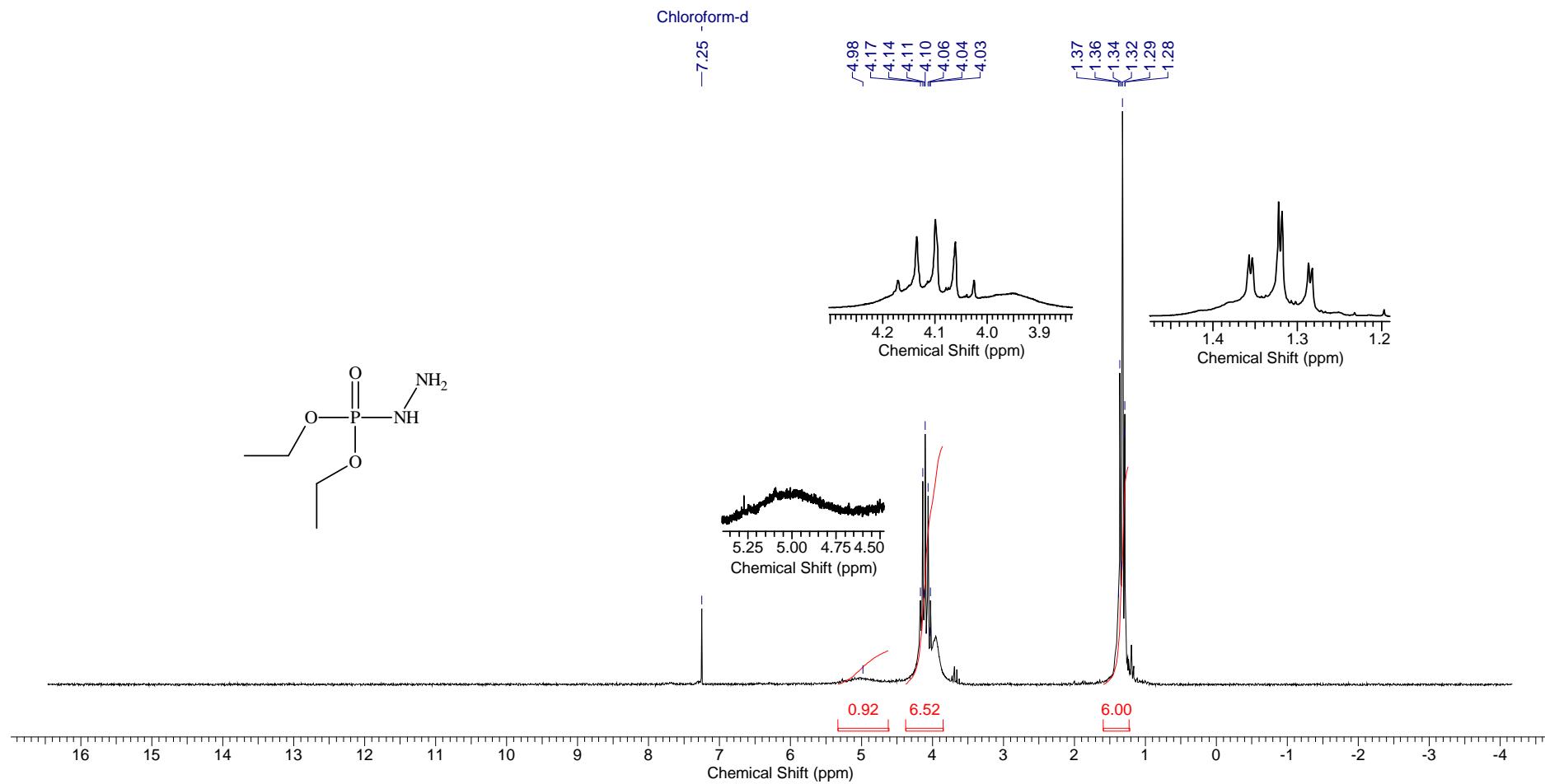


Figura 50 - Espectro de RMN-¹H do dietilfosforilidrazina (5) em CDCl₃ - 400MHz.

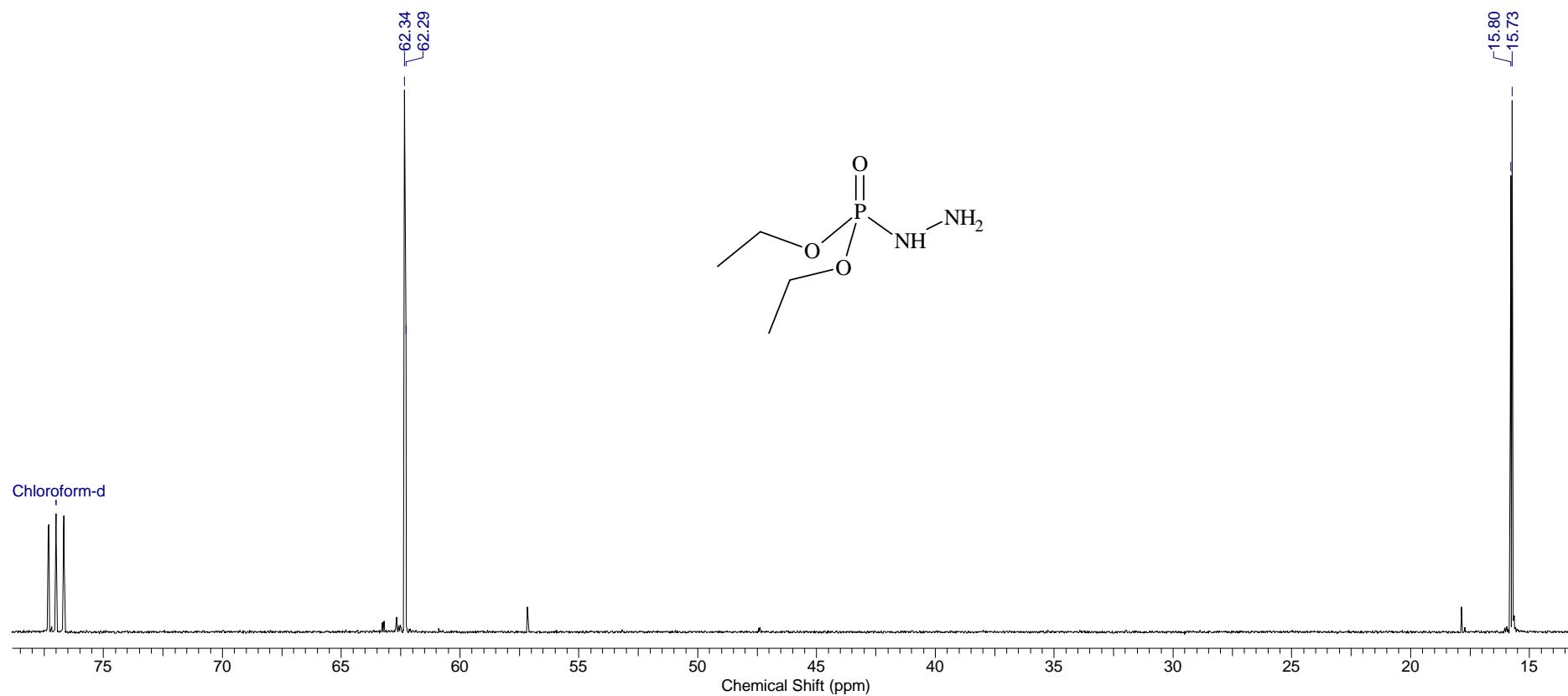


Figura 51 - Espectro de RMN-¹³C do dietilfosforilidrazina (5) em CDCl₃ - 100MHz.

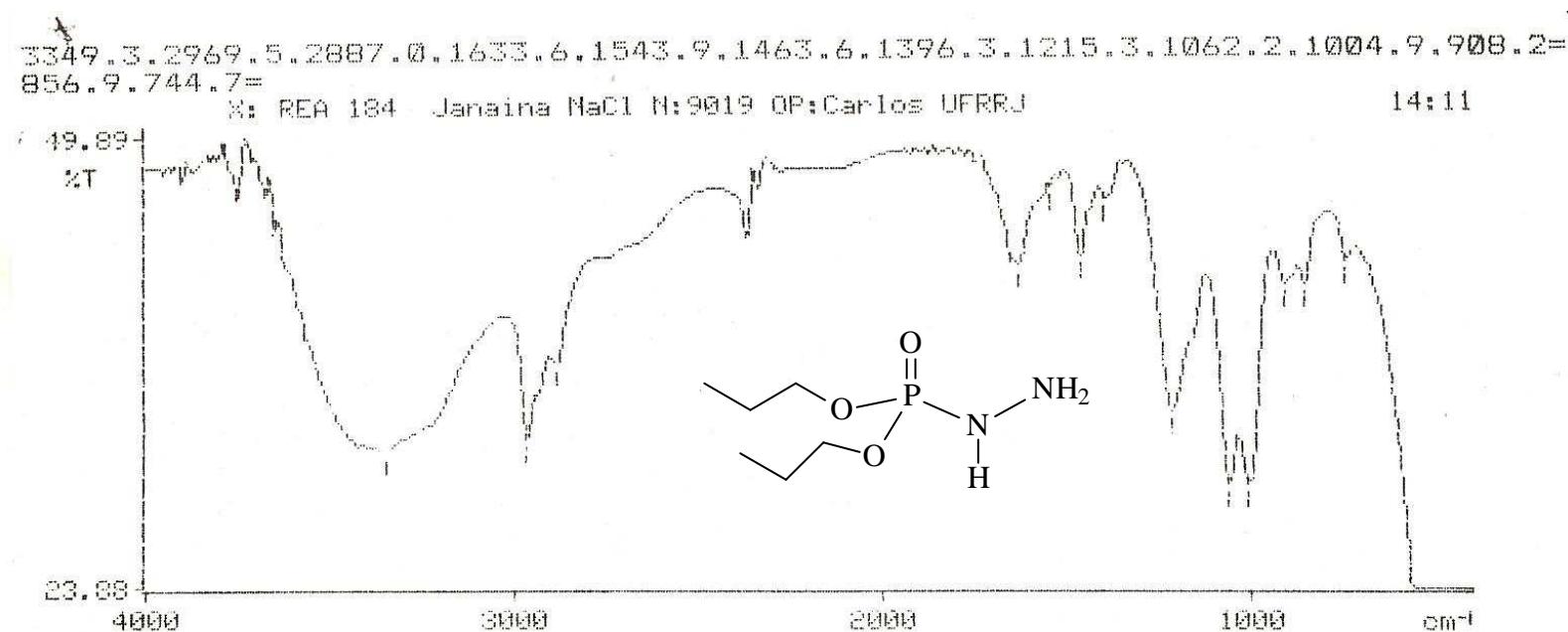


Figura 52 - Infravermelho do dipropilfosforilidrazina (6) em célula de NaCl.

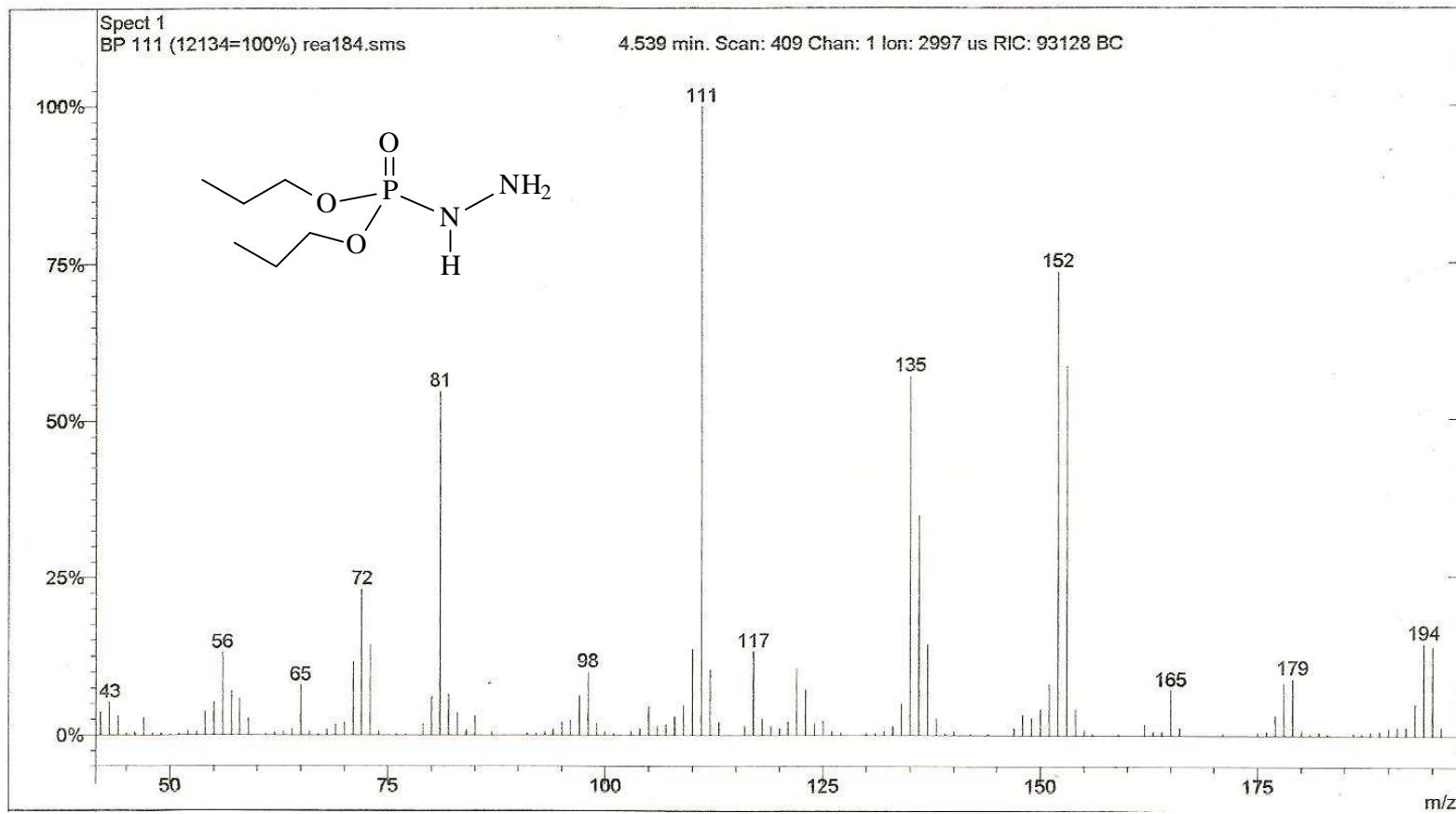


Figura 53 - Espectro de massas do dipropilfosforilidazina (6).

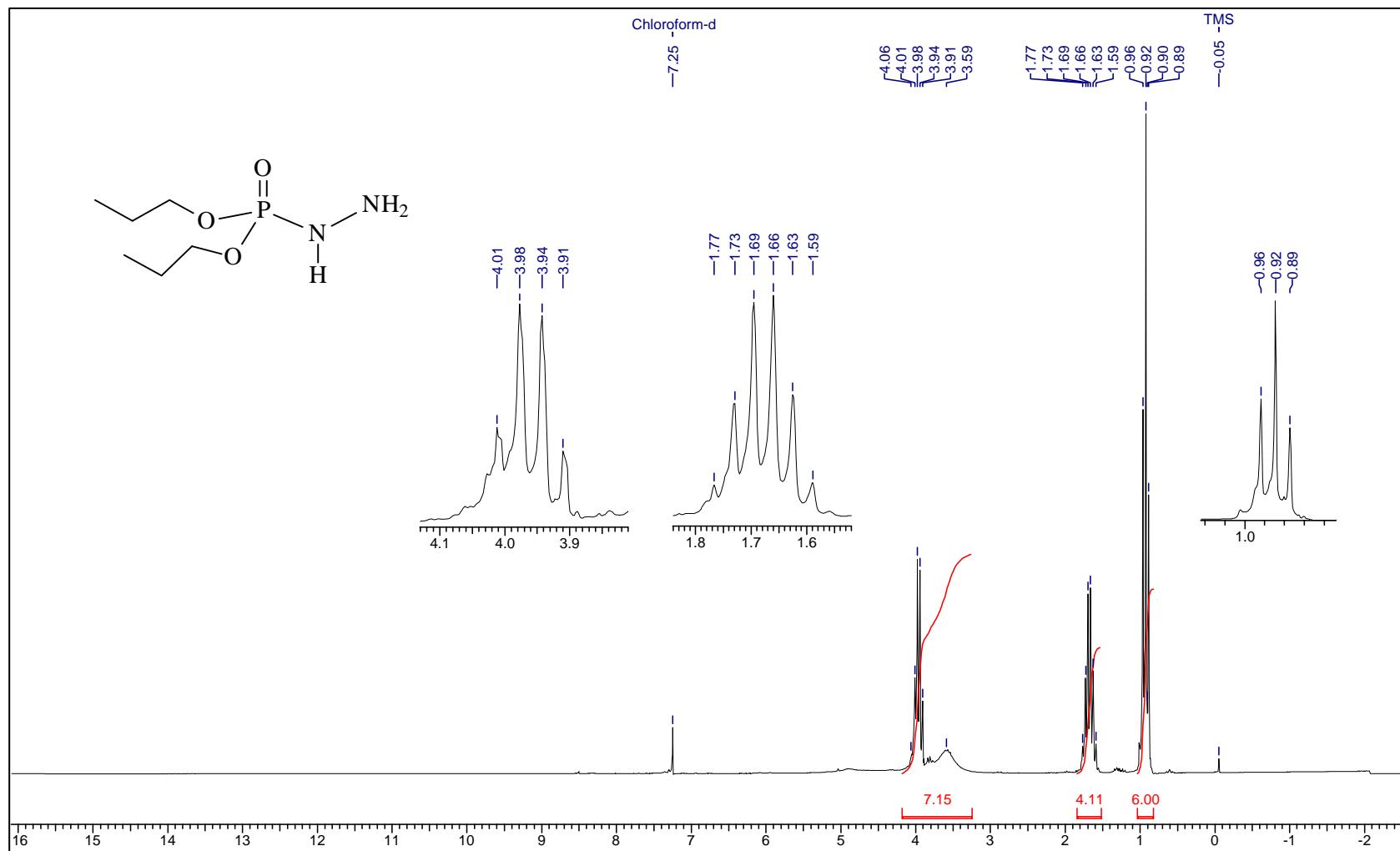


Figura 54 - Espectro de RMN-¹H do dipropilfosforidazina (6) em CDCl₃ - 200MHz.

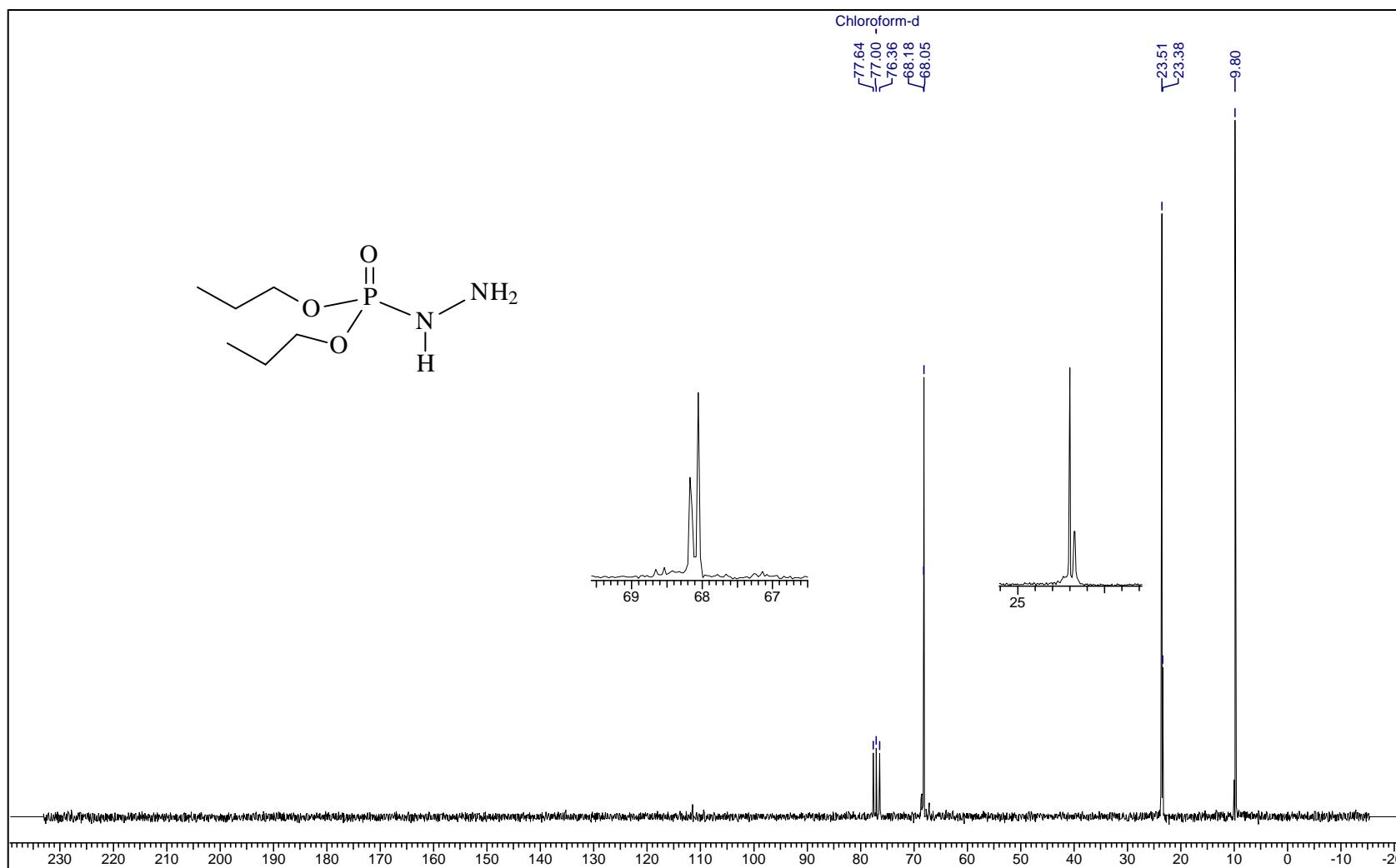


Figura 55 - Espectro de RMN-¹³C do dipropilfosforilidrazina (6) em CDCl₃ - 50MHz.

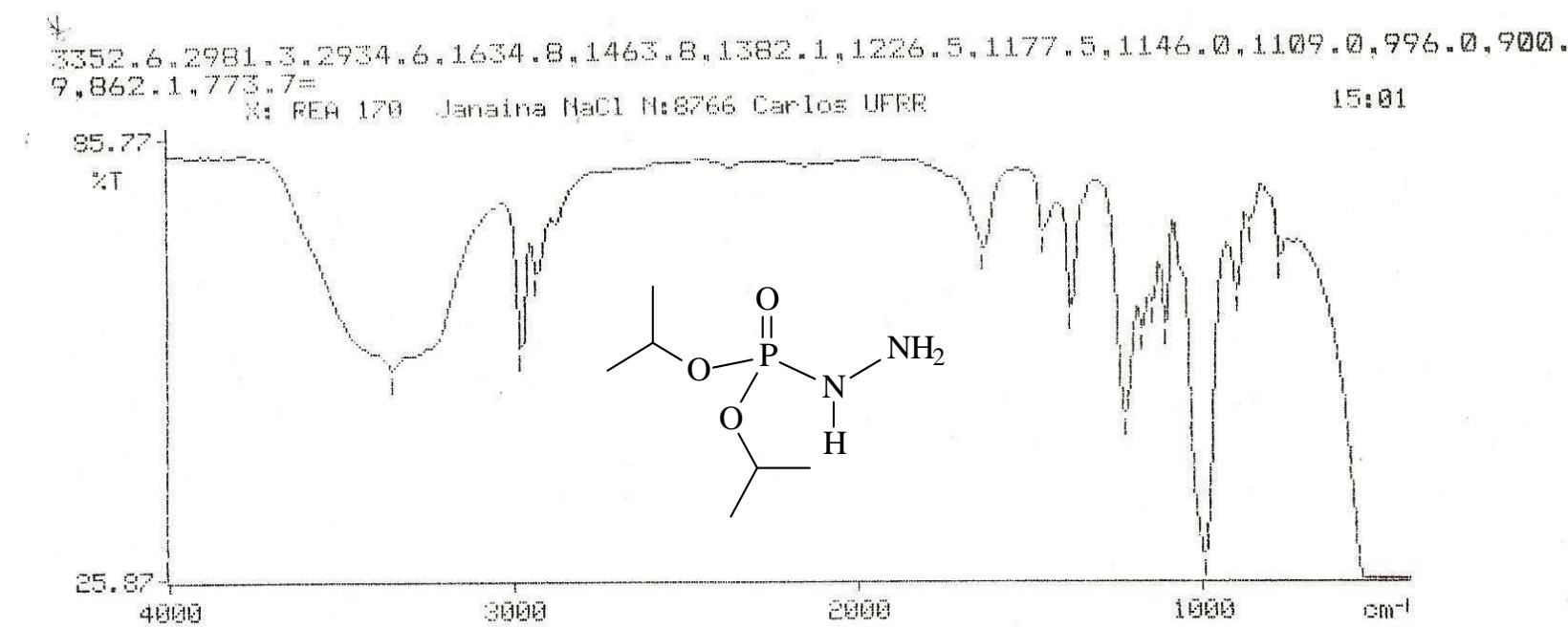


Figura 56 - Infravermelho do diisopropilfosforilidrazina (7) em célula de NaCl.

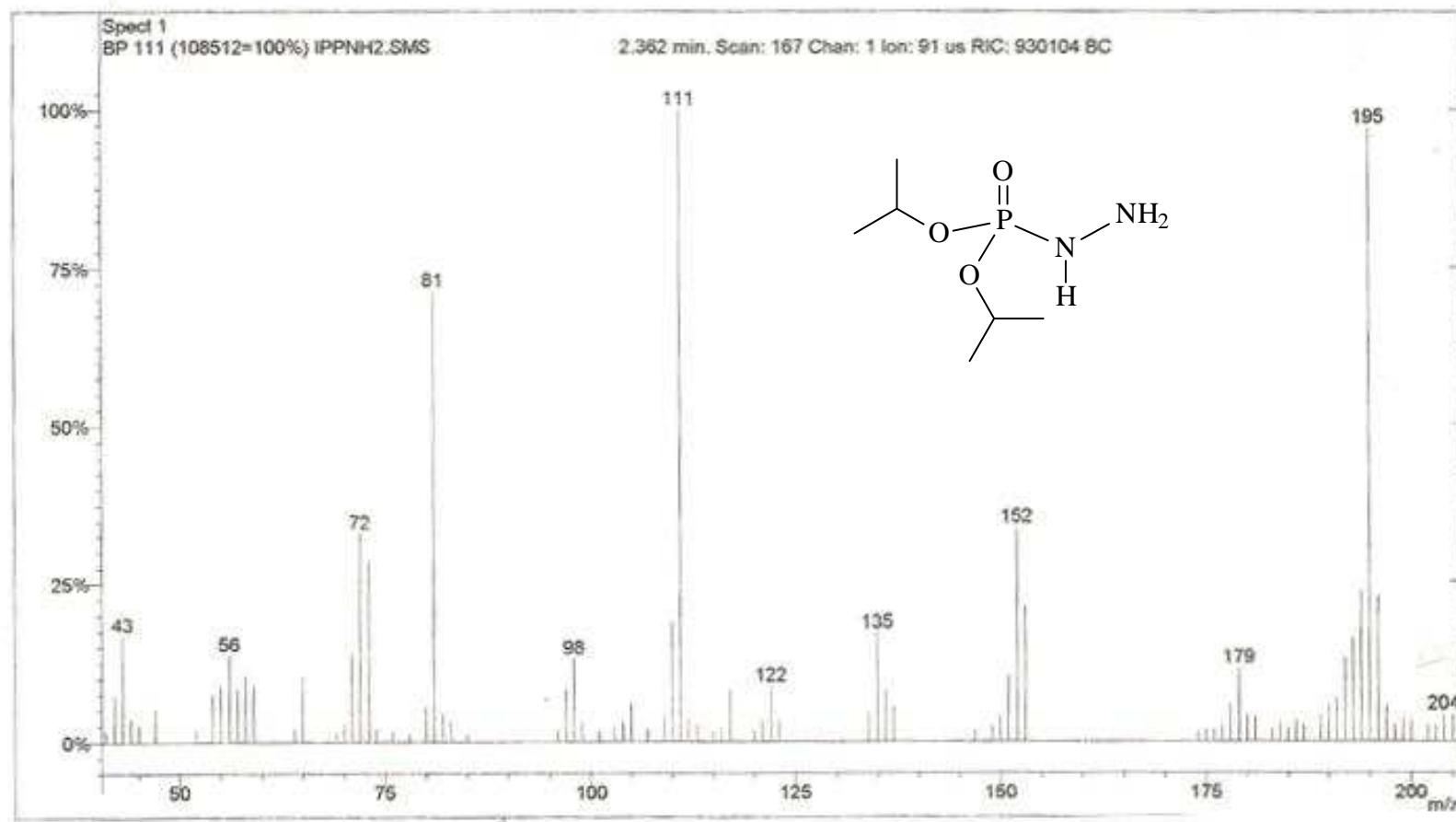


Figura 57 - Espectro de massas do diisopropilfosforilidrazina (7).

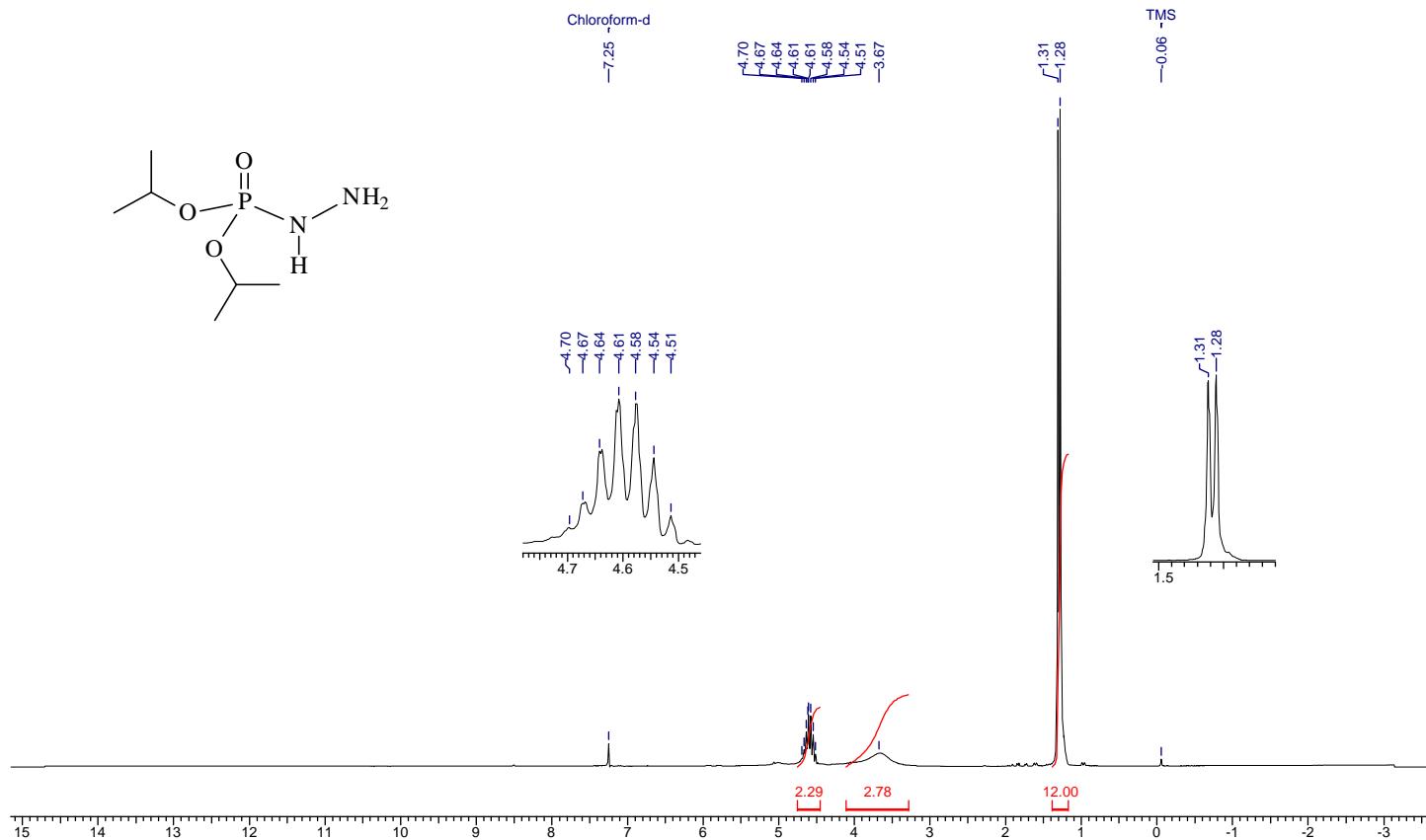


Figura 58 - Espectro de RMN-¹H do diisopropilfosforilidrazina (7) em CDCl₃ - 200MHz.

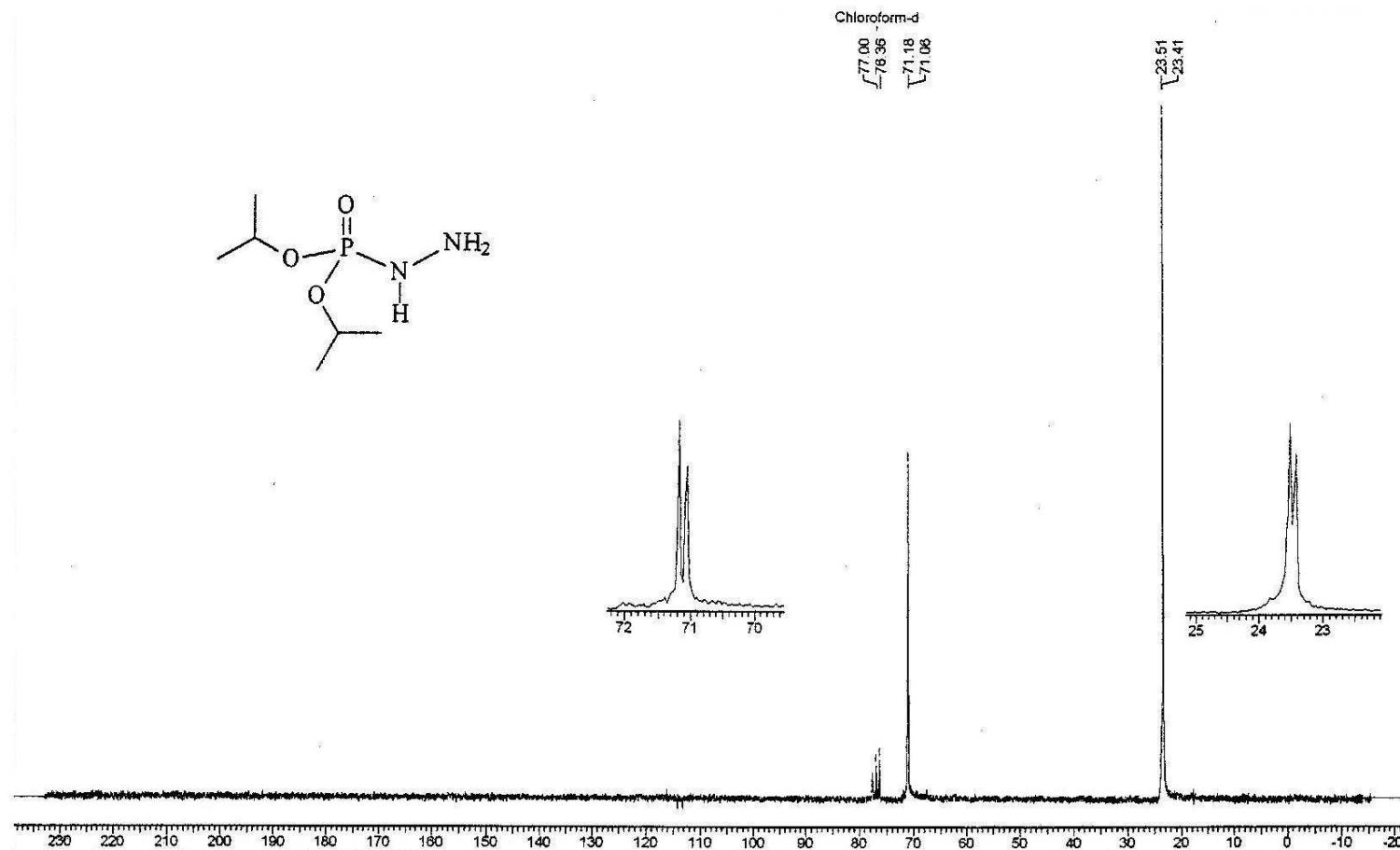


Figura 59 - Espectro de RMN-¹³C do diisopropilfosforilidrazina (7) em CDCl₃ - 50MHz.

3351.8,2961.1,2878.3,2385.9,2197.5,1932.9,1632.9,1468.0,1375.4,1371.7,1230.0=

1166.7,1023.6,962.2,871.9=

825.1=

825.1

Andrea/Joao(AM 021) KBr N:9127 OP:Carlos UFRRJ

10:33

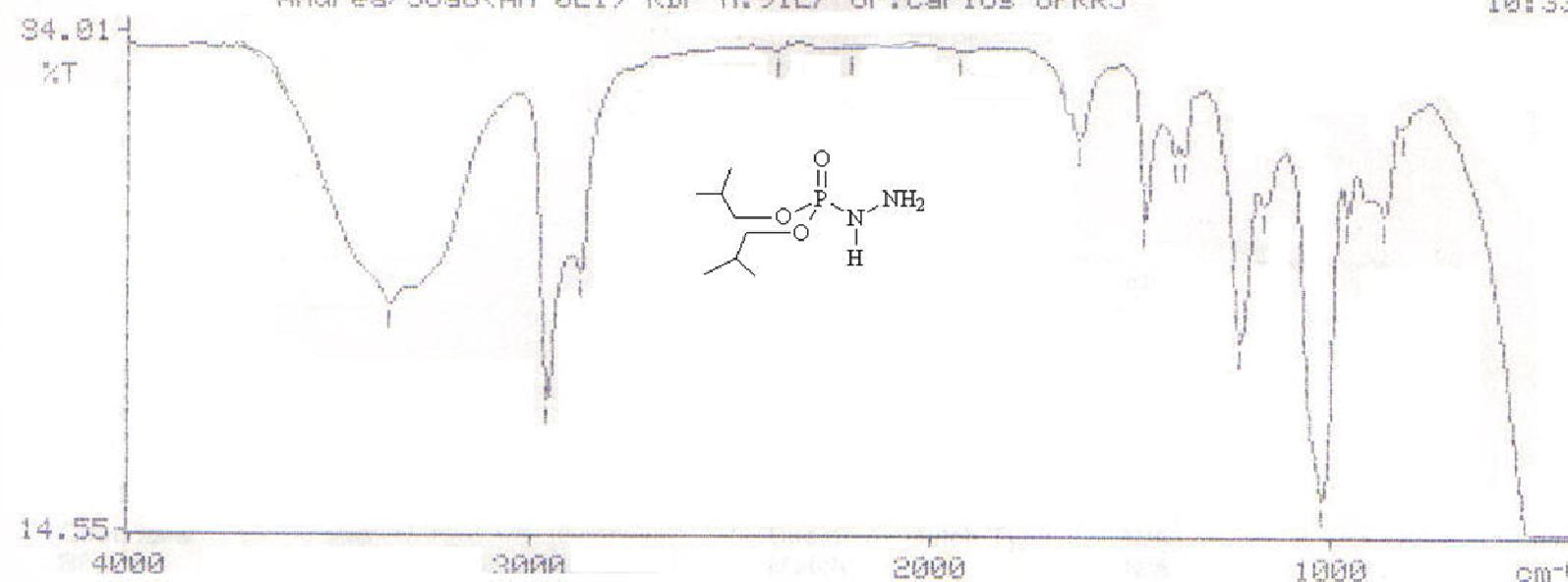


Figura 60 - Infravermelho da diisobutylfosforilidrazina (8) em célula de NaCl.

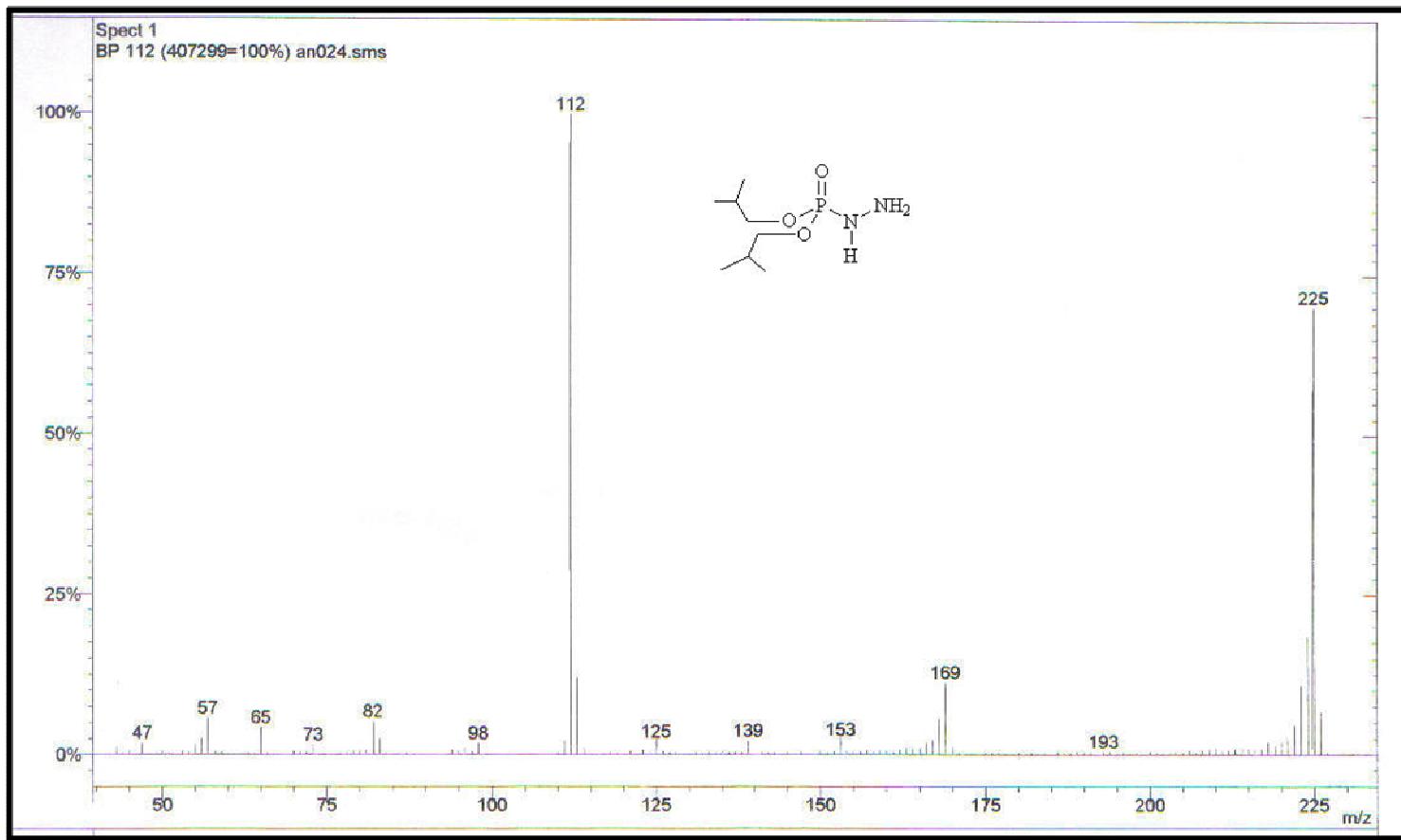


Figura 61 - Espectro de massas da diisobutylfosforilidrazina (8).

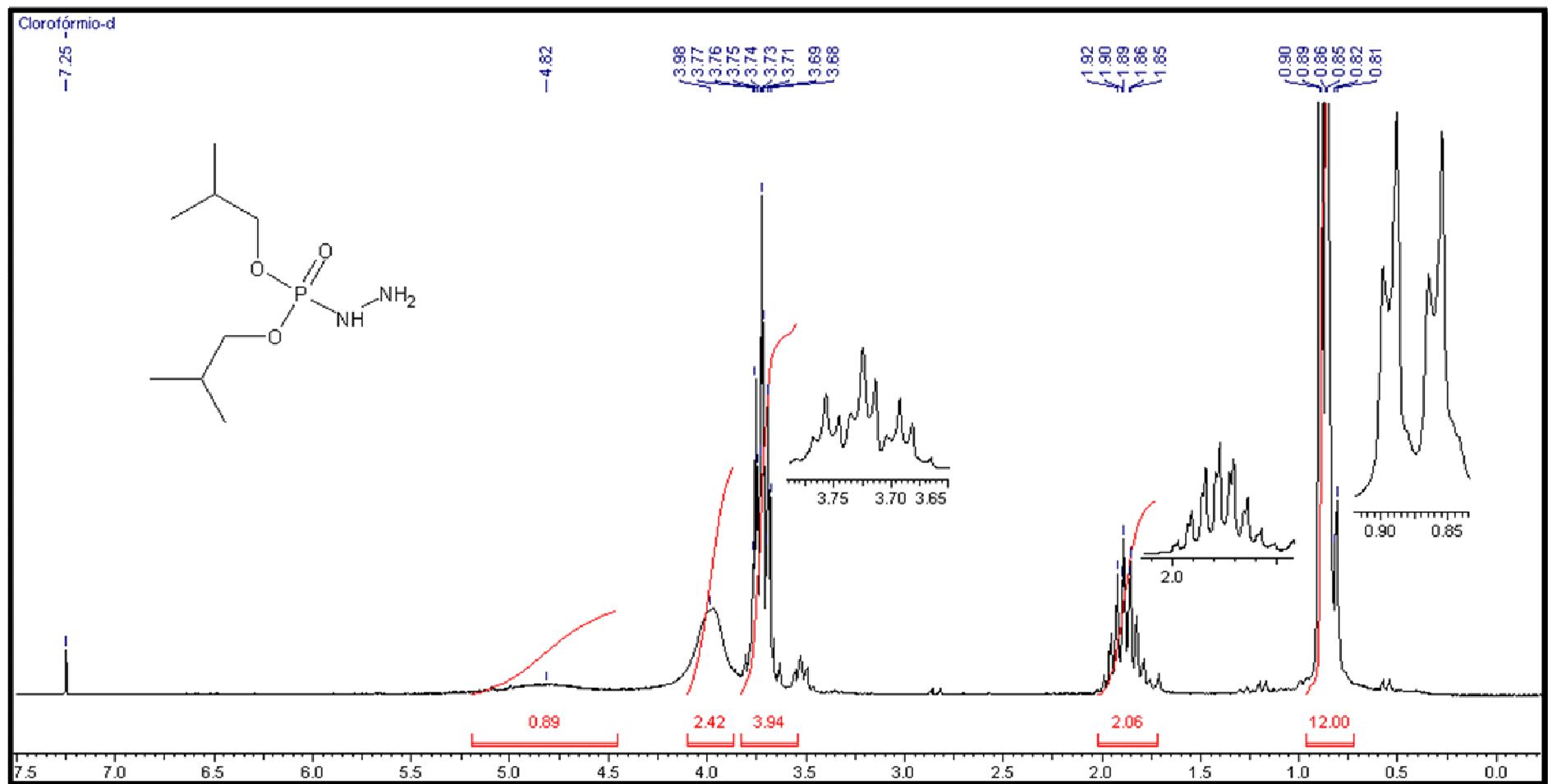


Figura 62 - Espectro de RMN-¹H da diisobutylfosforilidrazina (8) em CDCl₃ - 200MHz.

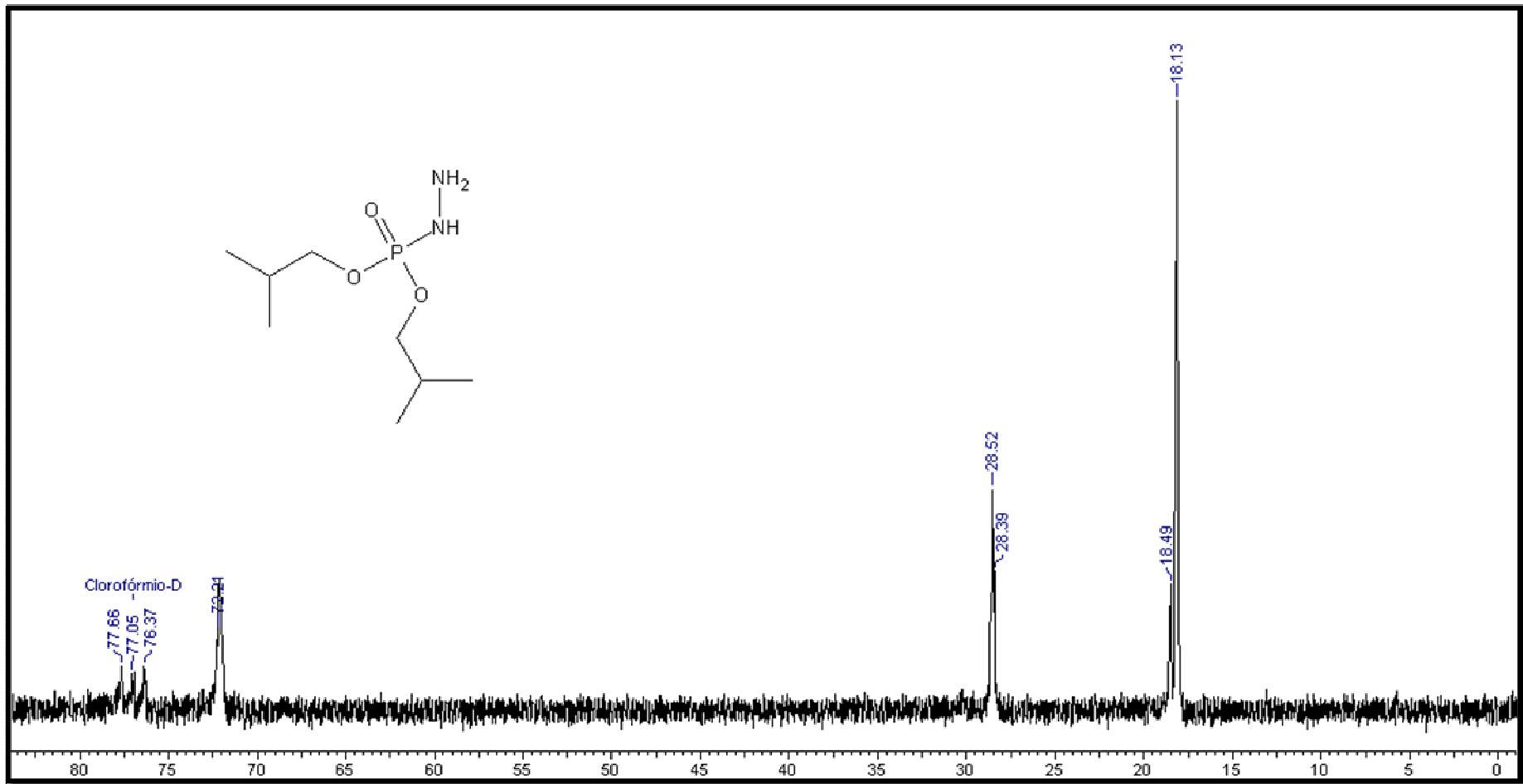


Figura 63 - Espectro de RMN- ^{13}C da diisobutilfosforilidrazina (8) em CDCl_3 - 50MHz.

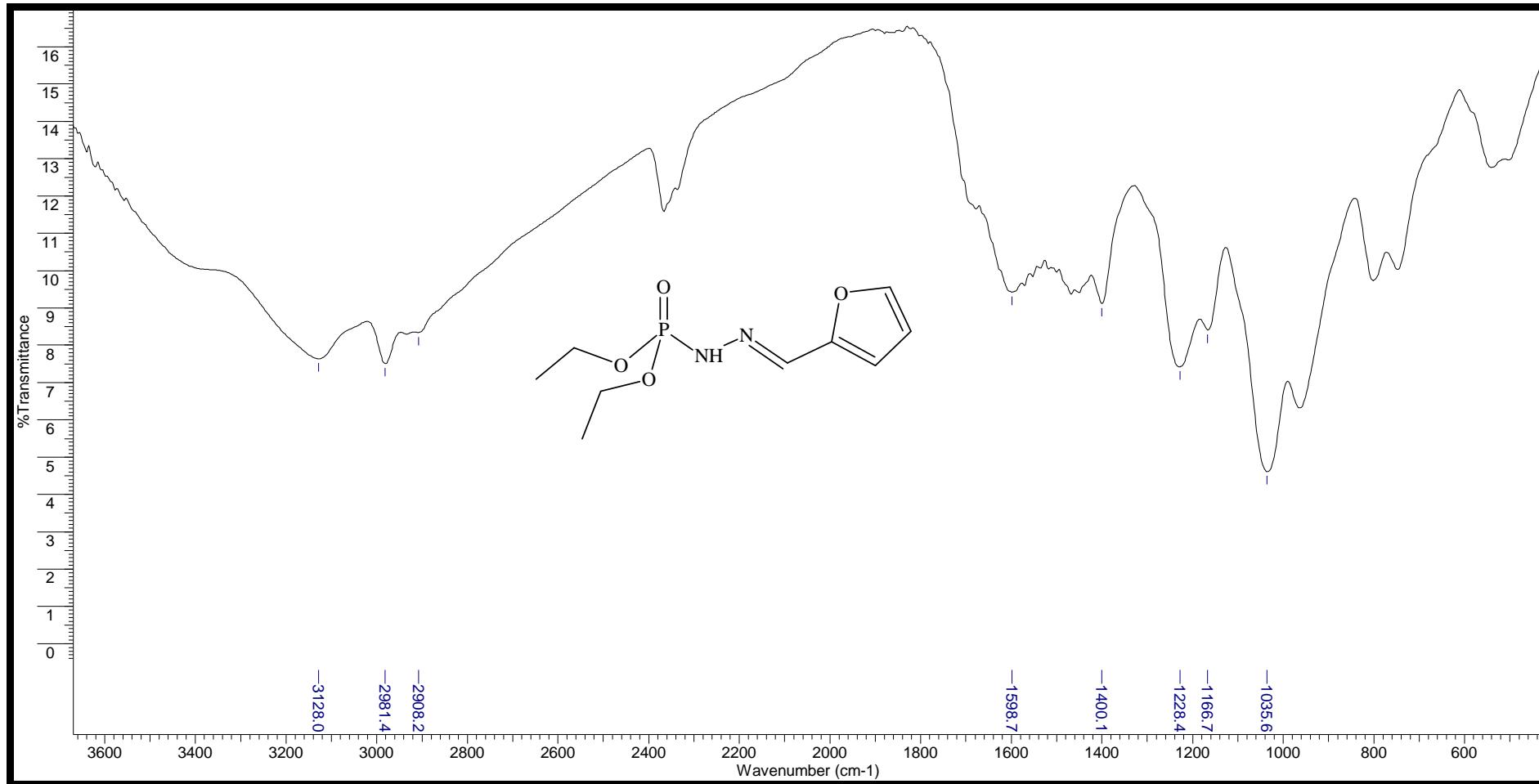


Figura 64 - Infravermelho do Ácido N'-(1 *E*)-2- furanilmetheno] dietilester fosforilhidrazínico (5A) em célula de NaCl.

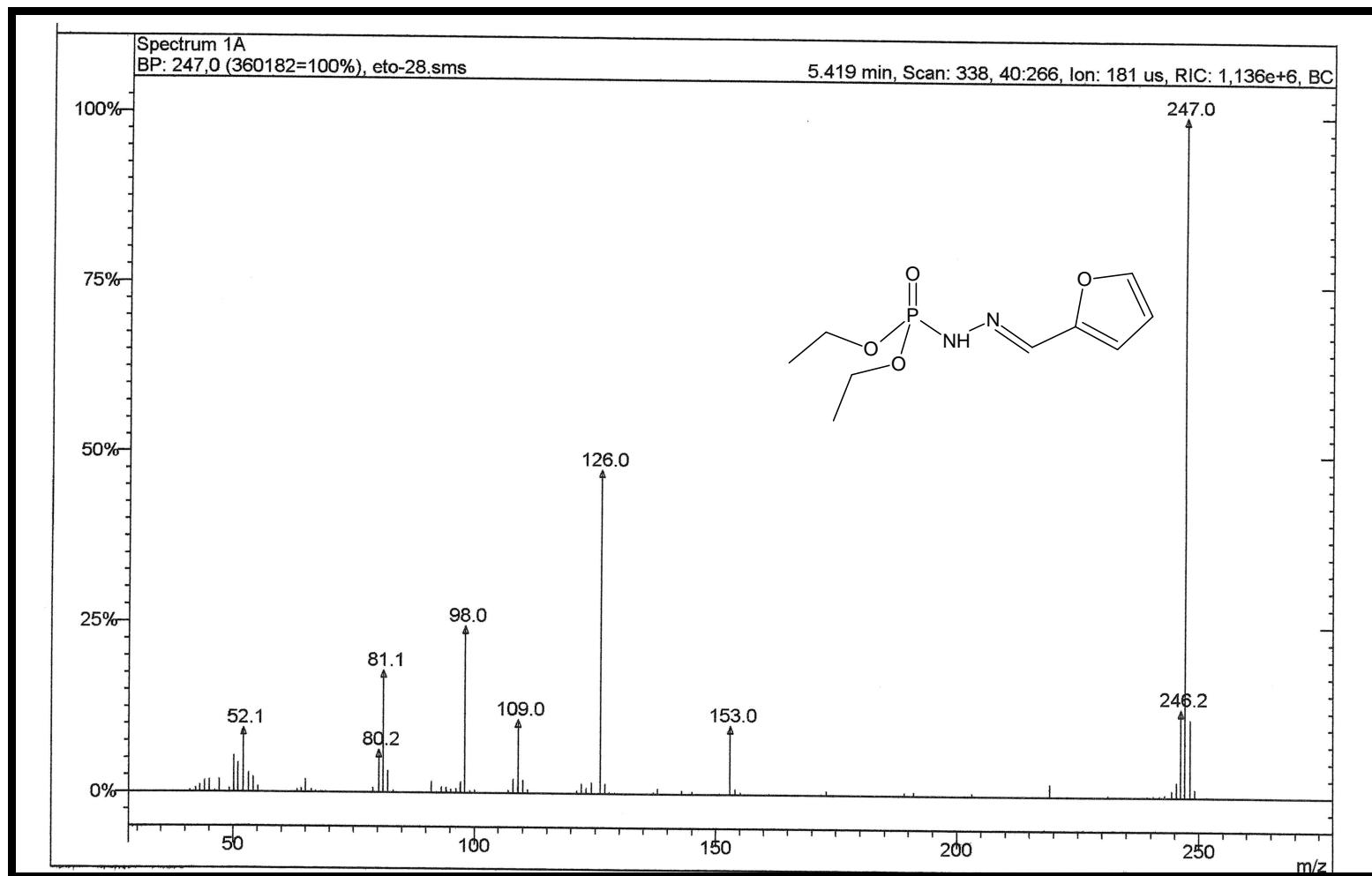


Figura 65 - Espectro de massas do Ácido N'-(1 *E*)-2- furanilmetíleno] dietilester fosforilhidrazínico (5A).

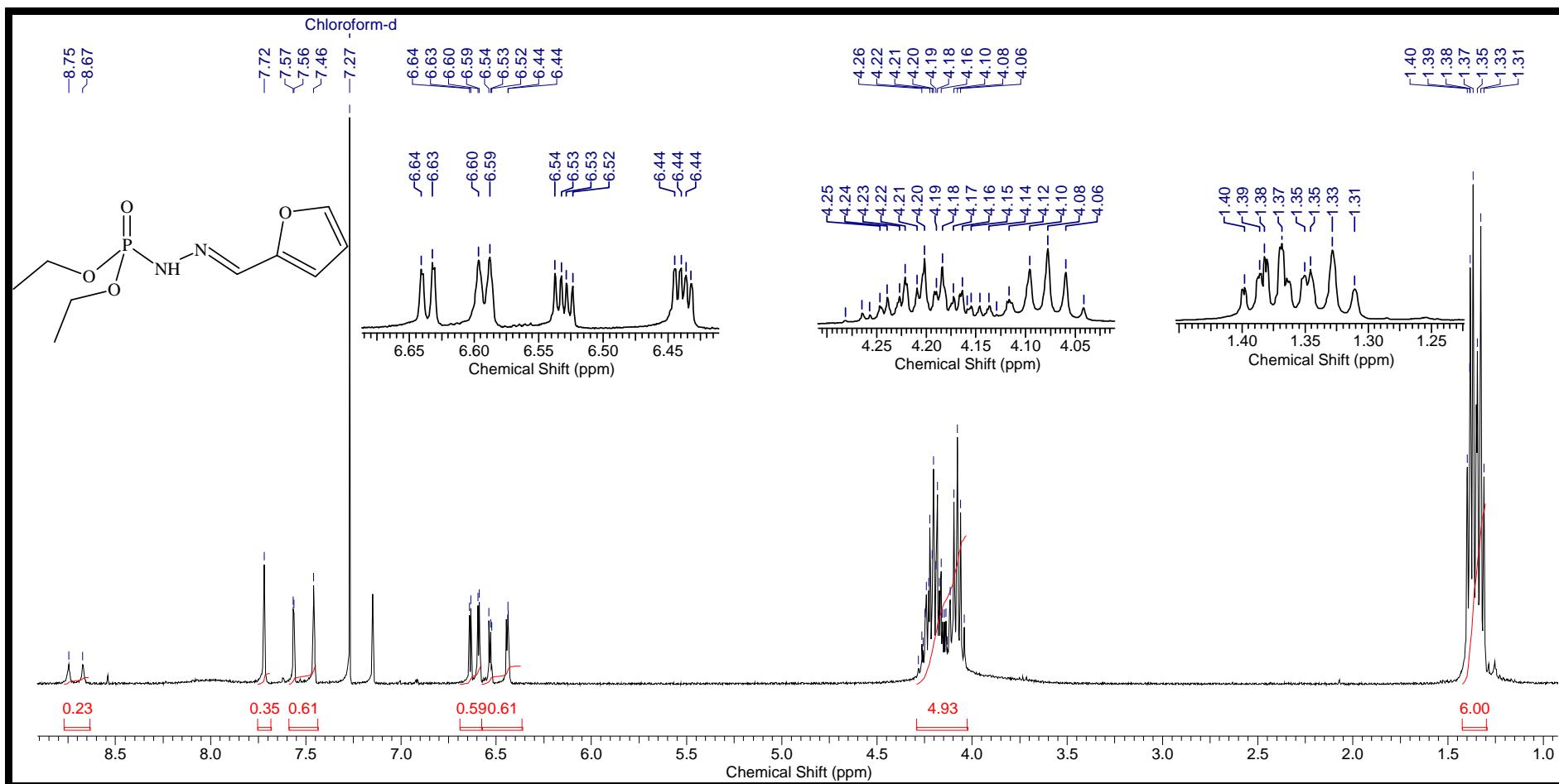


Figura 66 - Espectro RMN- ^1H do Ácido N'-[(1 E)-2- furanilmetíleno] dietilester fosforilhidrazínico (5A) em CDCl_3 - 400MHz.

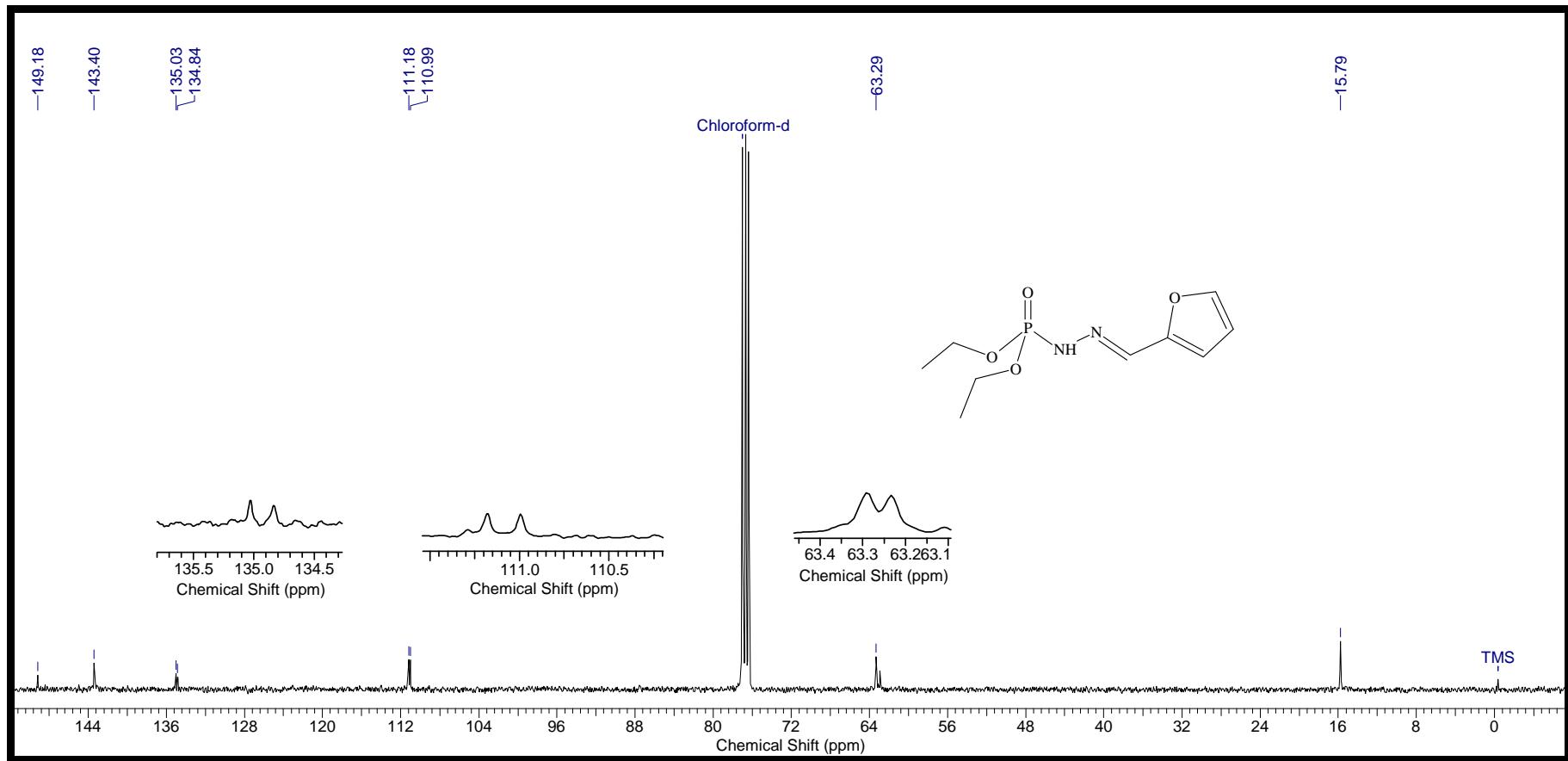


Figura 67 - Espectro RMN- ^{13}C do Ácido N'-(*(1 E)-2-furanilmetileno*) dietiléster fosforilhidrazínico (5A) em CDCl_3 - 100MHz.

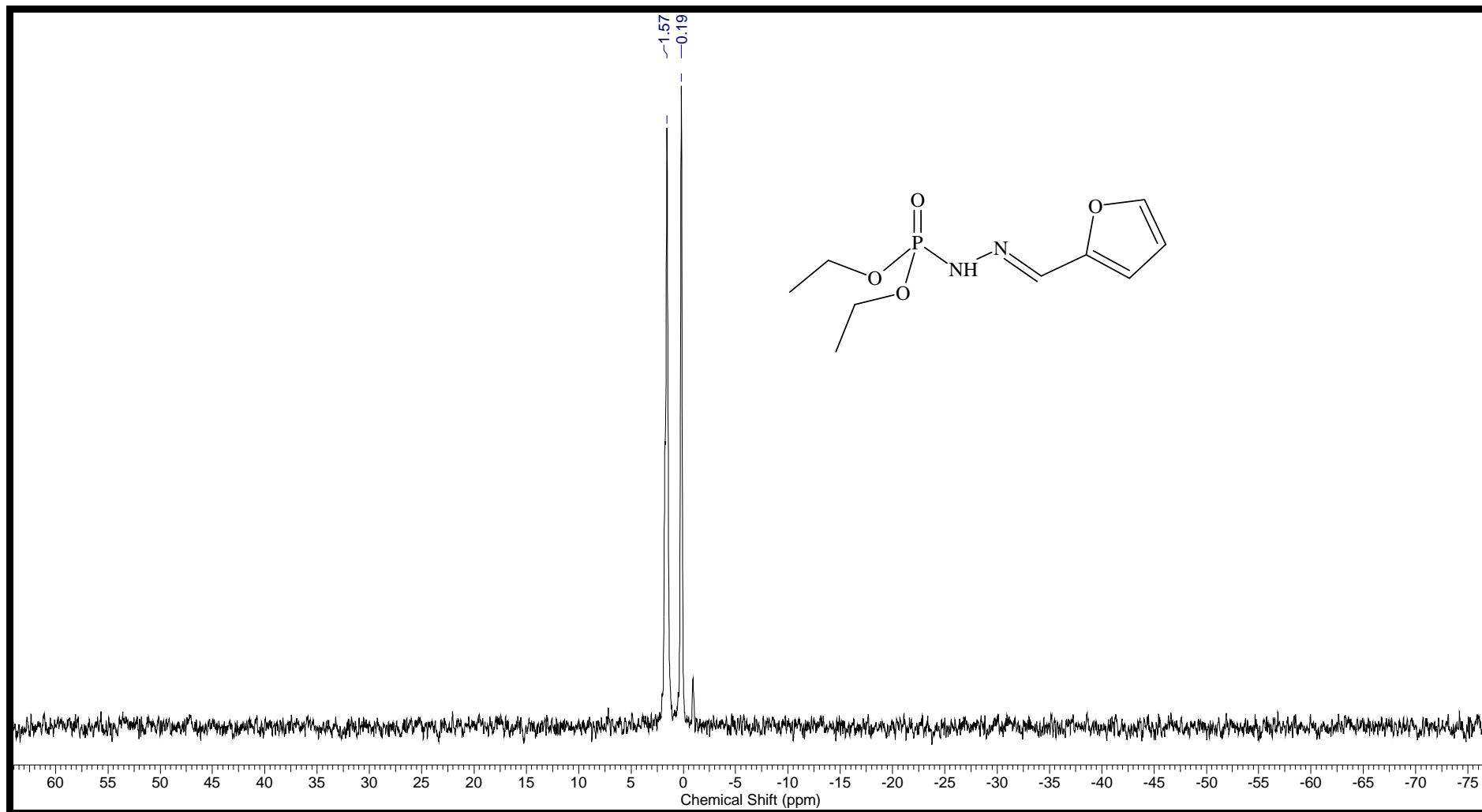


Figura 68 - Espectro RMN- ${}^{31}\text{P}$ do Ácido N' -[(1 *E*) -2- furanilmetíleno] dietiléster fosforilhidrazínico (5A) em CDCl_3 - 162MHz.

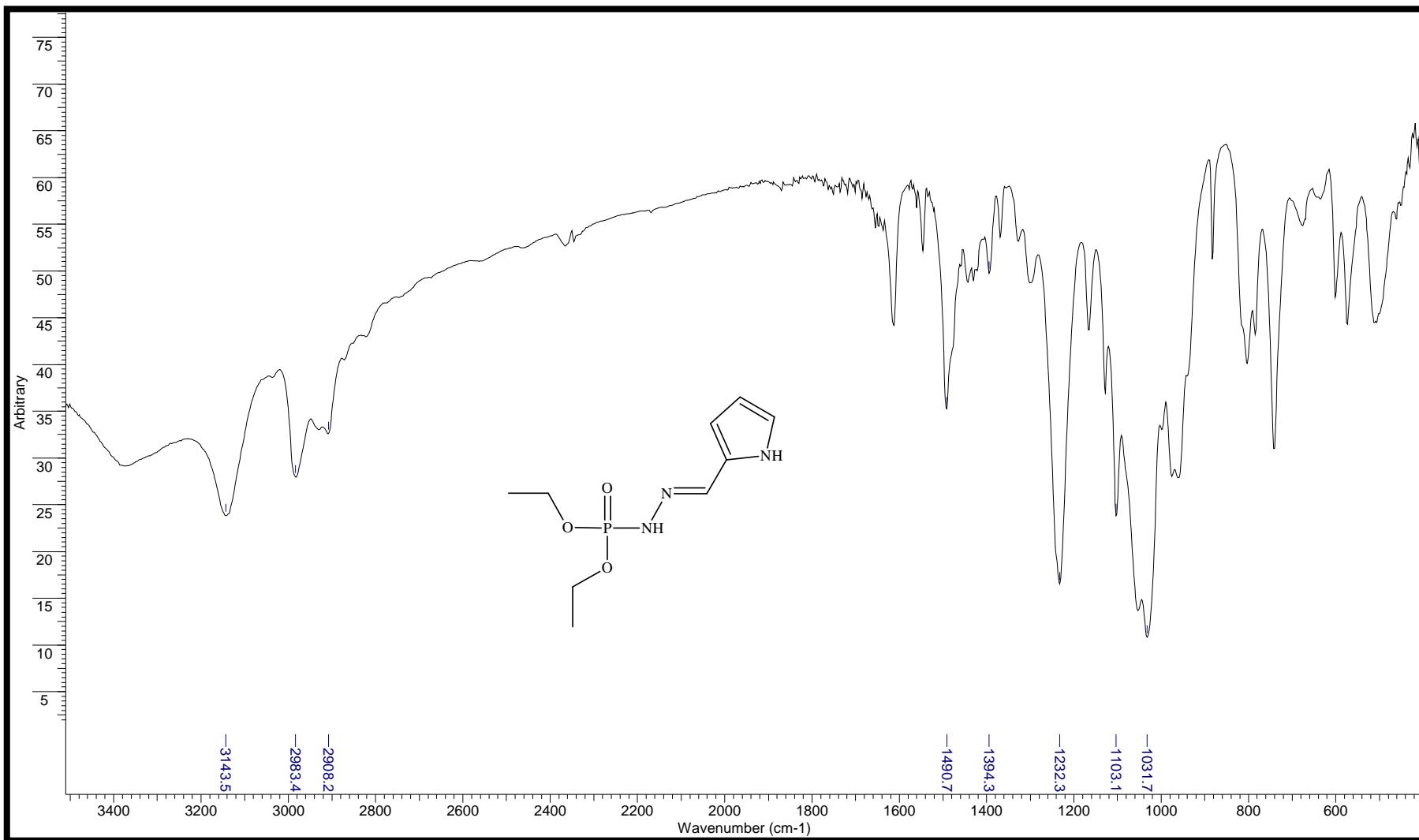


Figura 69 - Infravermelho do Ácido N'-(1 *E*)-1H-pirrol-2-ilmetileno] dietilester fosforilhidrazínico (5B) em célula de NaCl.

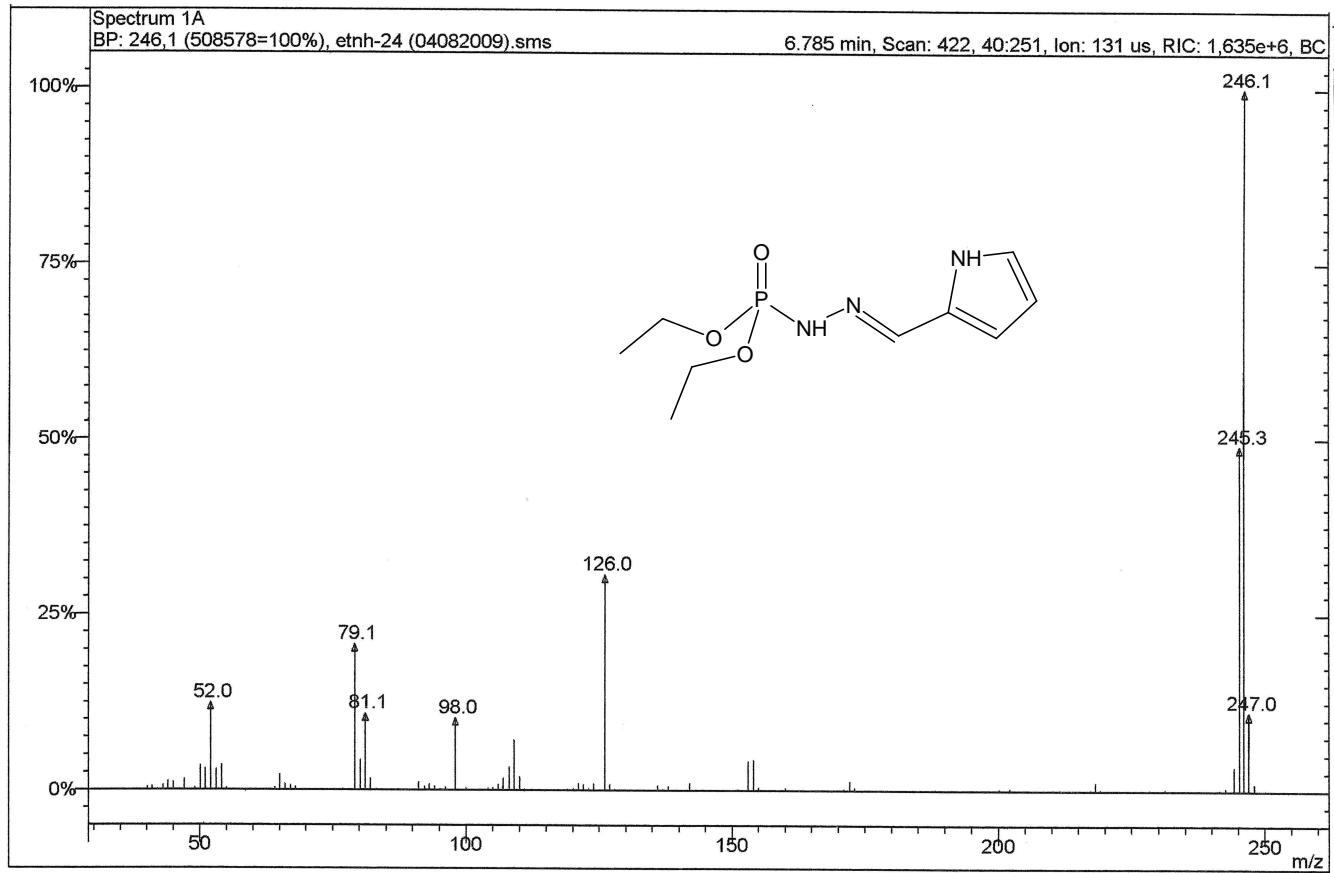


Figura 70 - Espectro de massas do Ácido N'-(*1 E*-1H-pirrol-2-ilmetileno) dietiléster fosforilhidrazínico (5B).

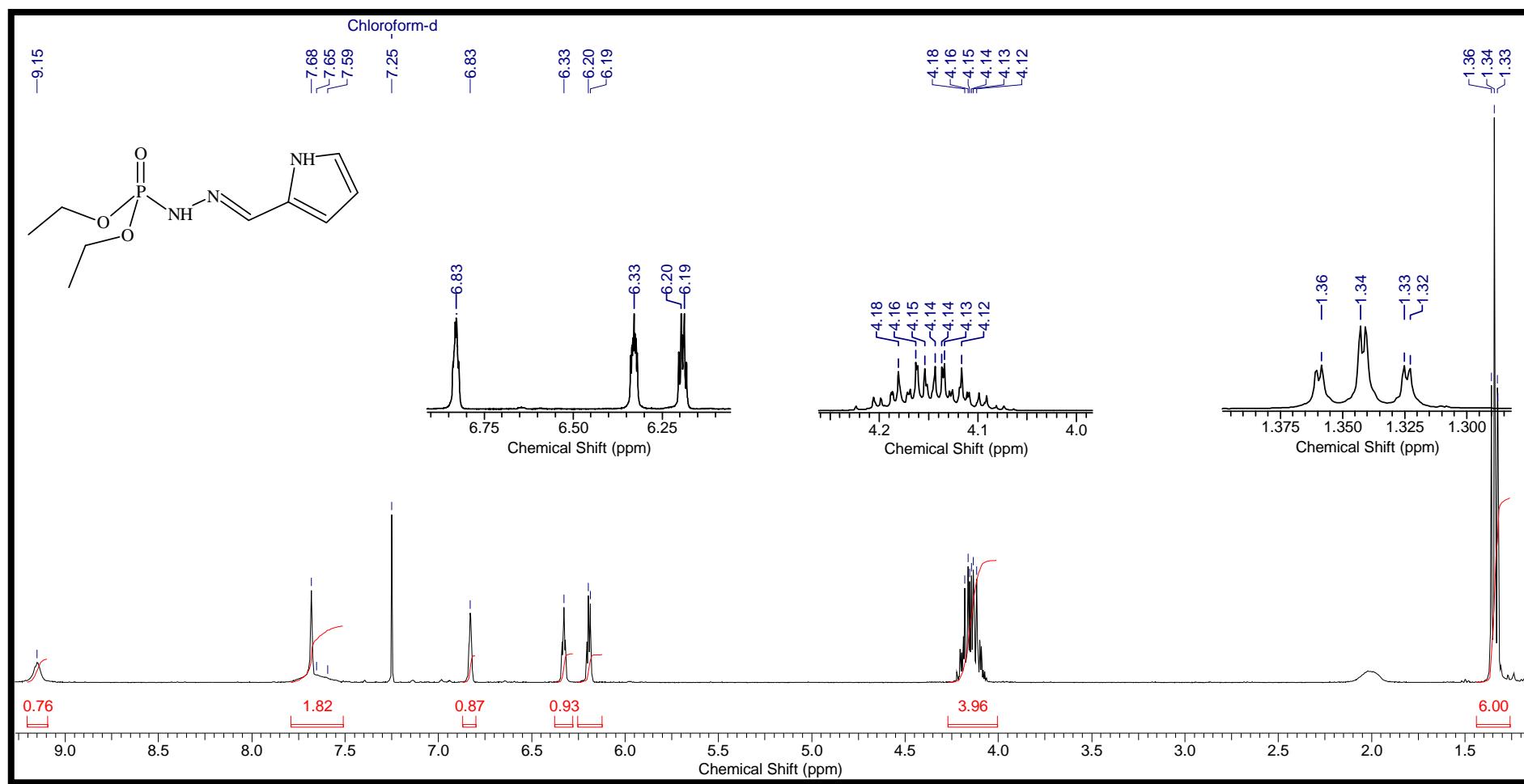


Figura 71 - Espectro RMN-¹H do Ácido N'-(1*E*)-1H-pirrol-2-ilmetíleno) dietiléster fosforilhidrazínico (5B) em CDCl₃ - 400MHz.

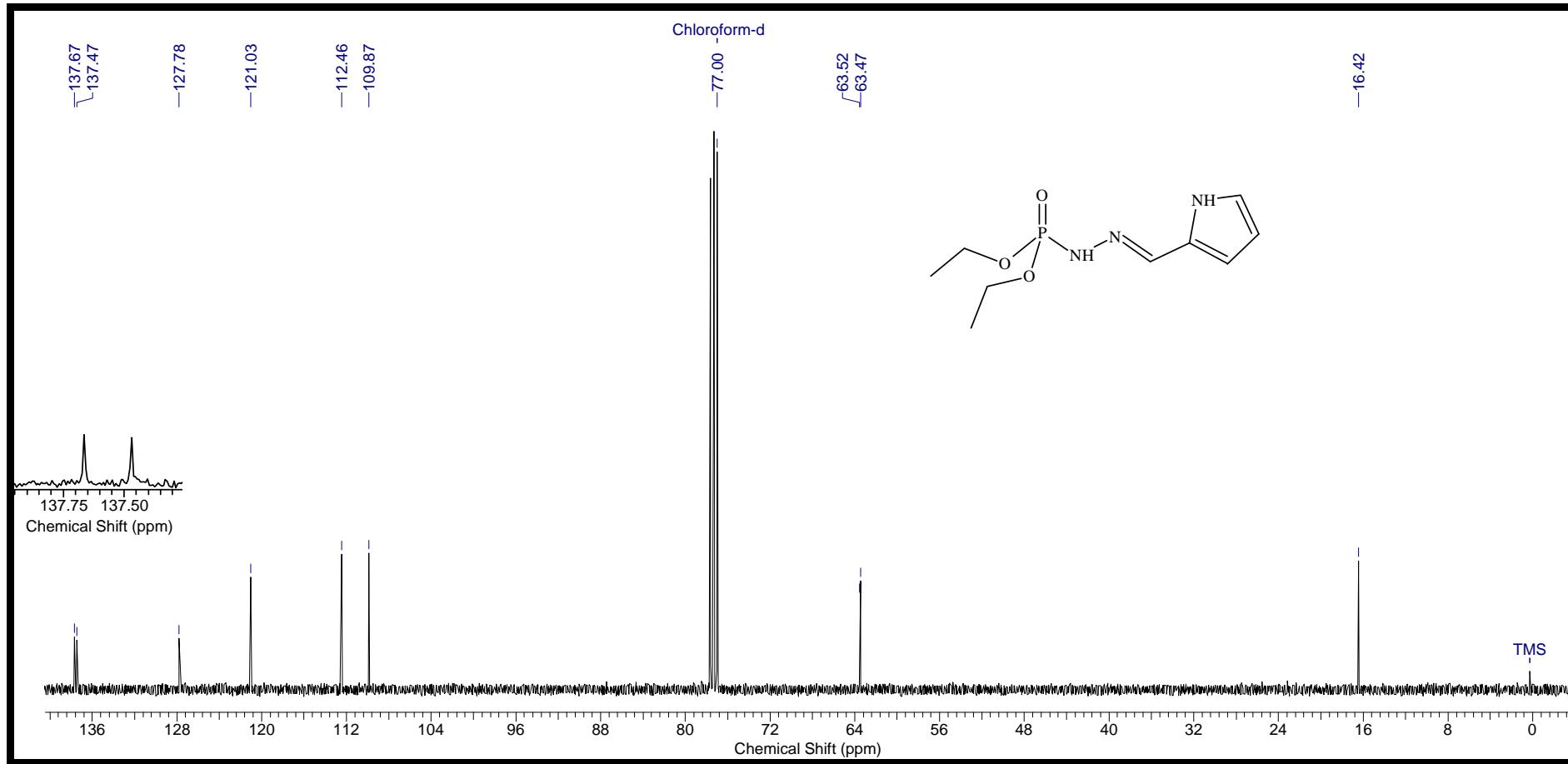


Figura 72 - Espectro RMN-¹³C do Ácido N' -[(1 *E*)-1H-pirrol-2-ilmetíleno] dietilester fosforilhidrazínico (5B) em CDCl₃ - 100MHz.

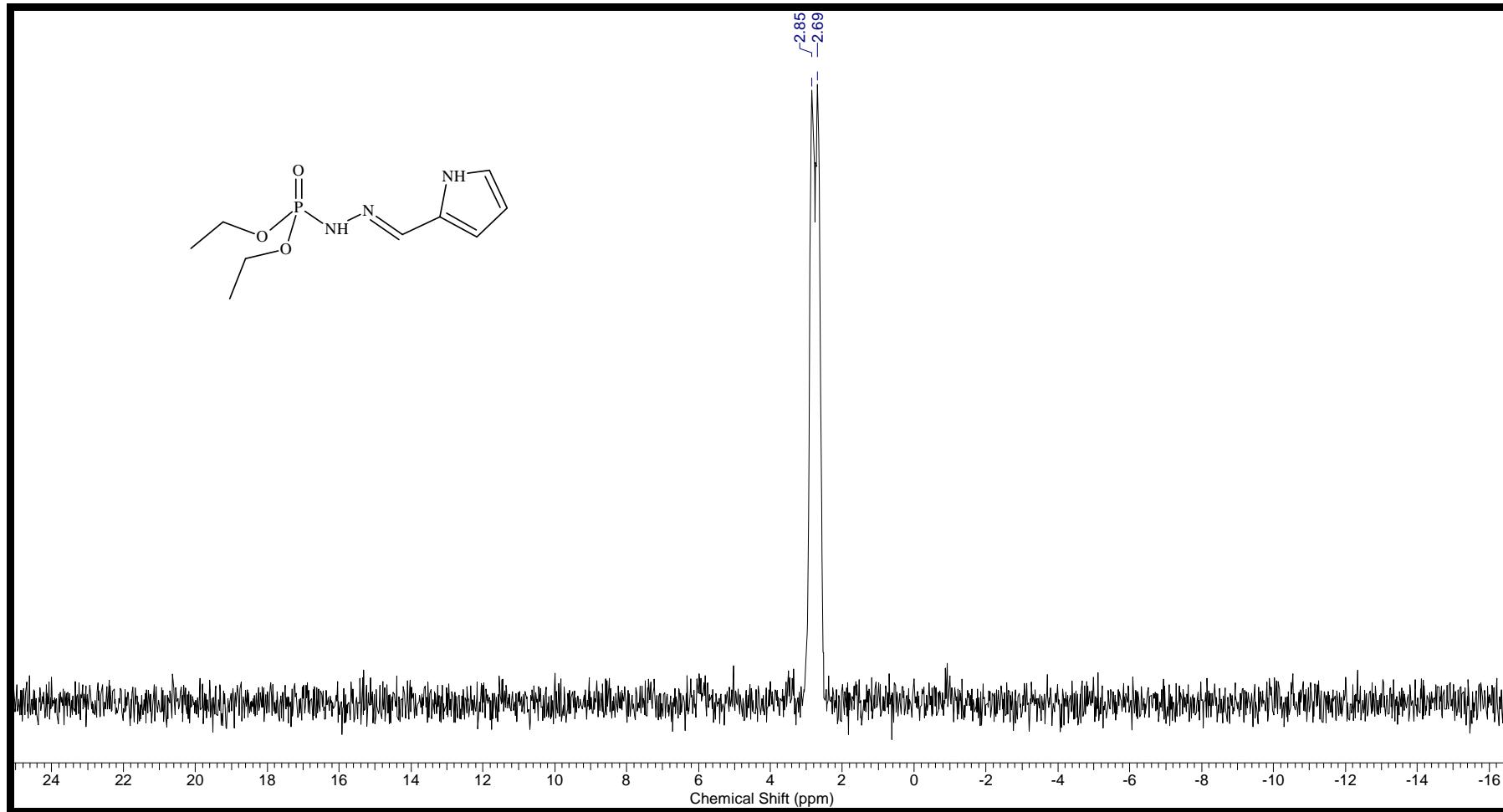


Figura 73 - Espectro RMN- ^{31}P do Ácido N'-[(1 *E*)-1H-pirrol-2-ilmetíleno] dietiléster fosforilhidrazínico (5B) em CDCl_3 - 162MHz.

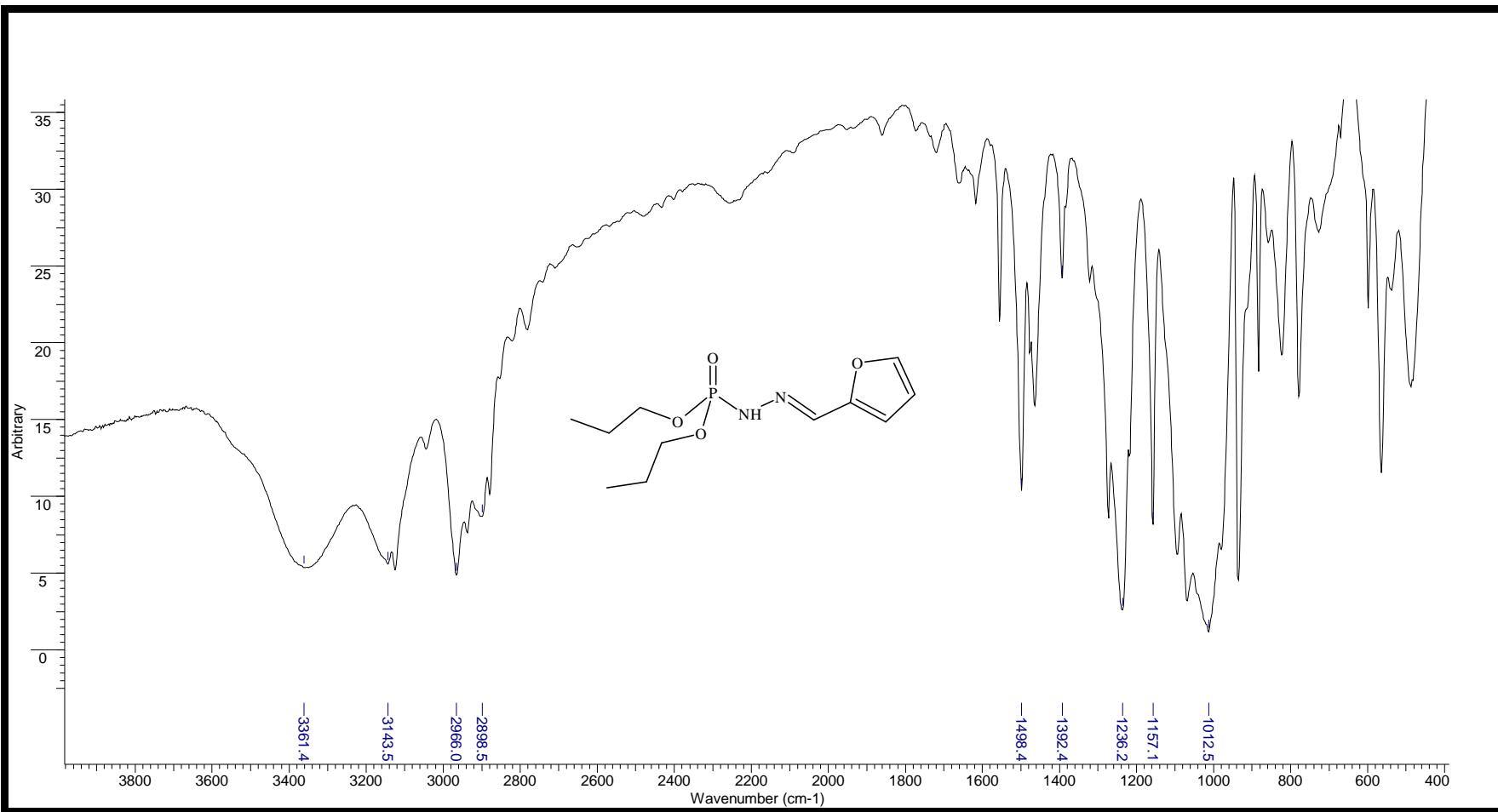


Figura 74 - Infravermelho do Ácido N'-(1 *E*-2-furanilmetileno) dipropiléster fosforilhidrazínico (6A) em célula de NaCl.

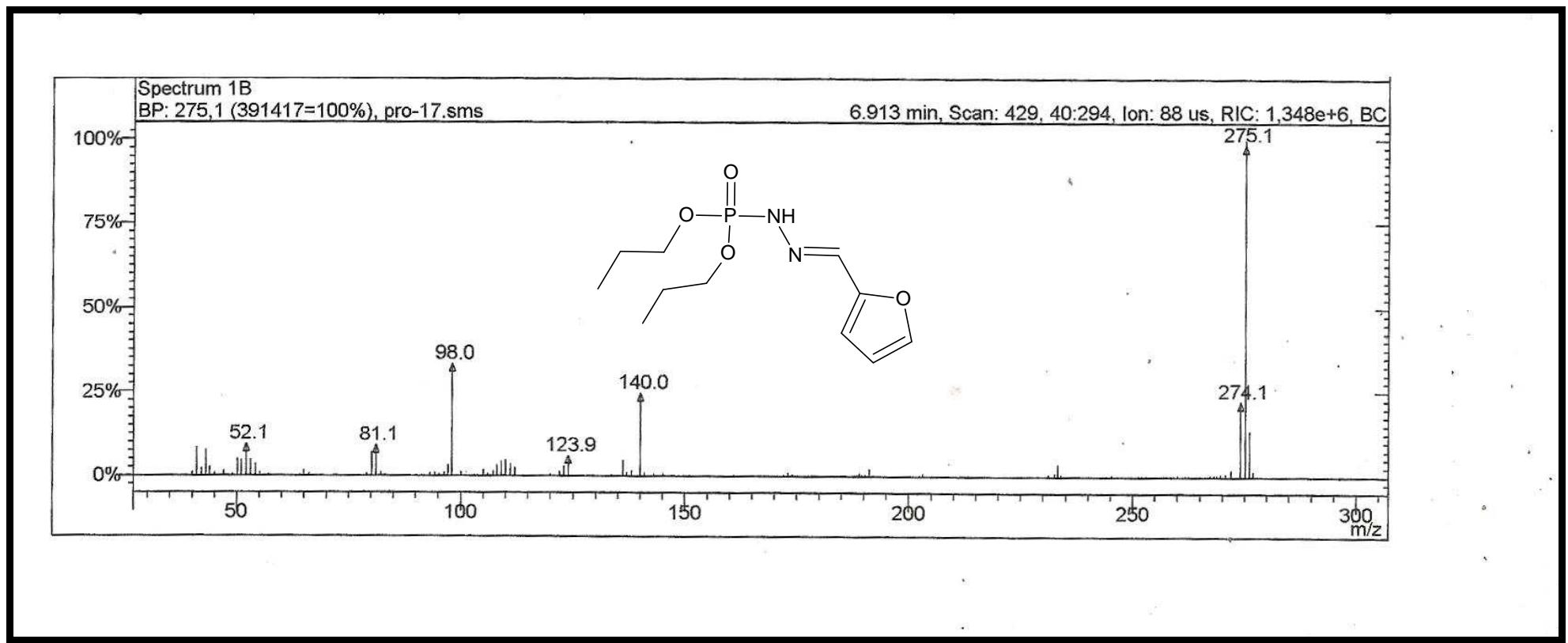


Figura 75 - Espectro de massas do Ácido N'-(1 *E*)-2- furanilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6A).

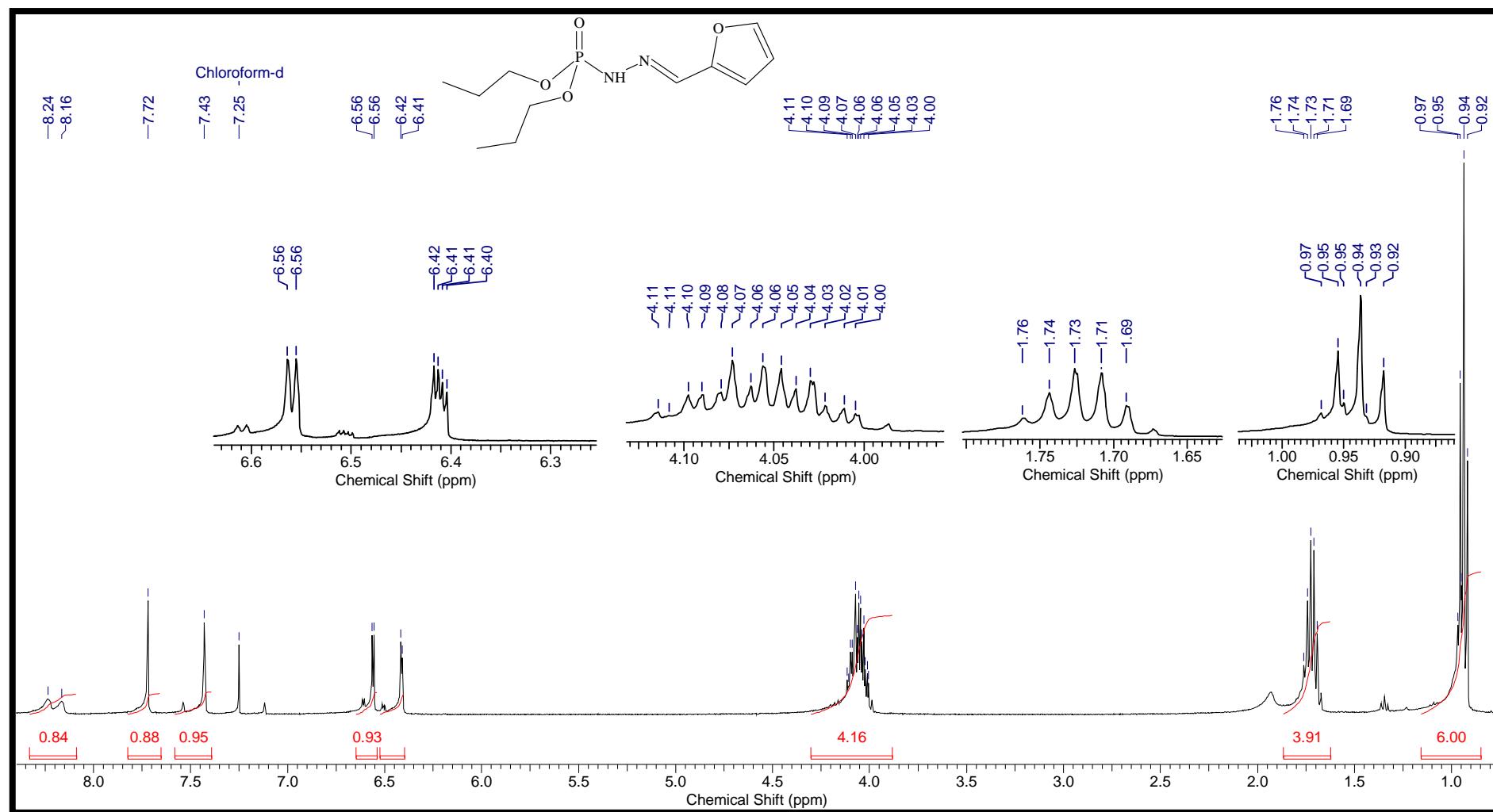


Figura 76 - Espectro RMN-¹H do Ácido N'-(1 E)-2- furanilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6A) em CDCl₃ - 400MHz.

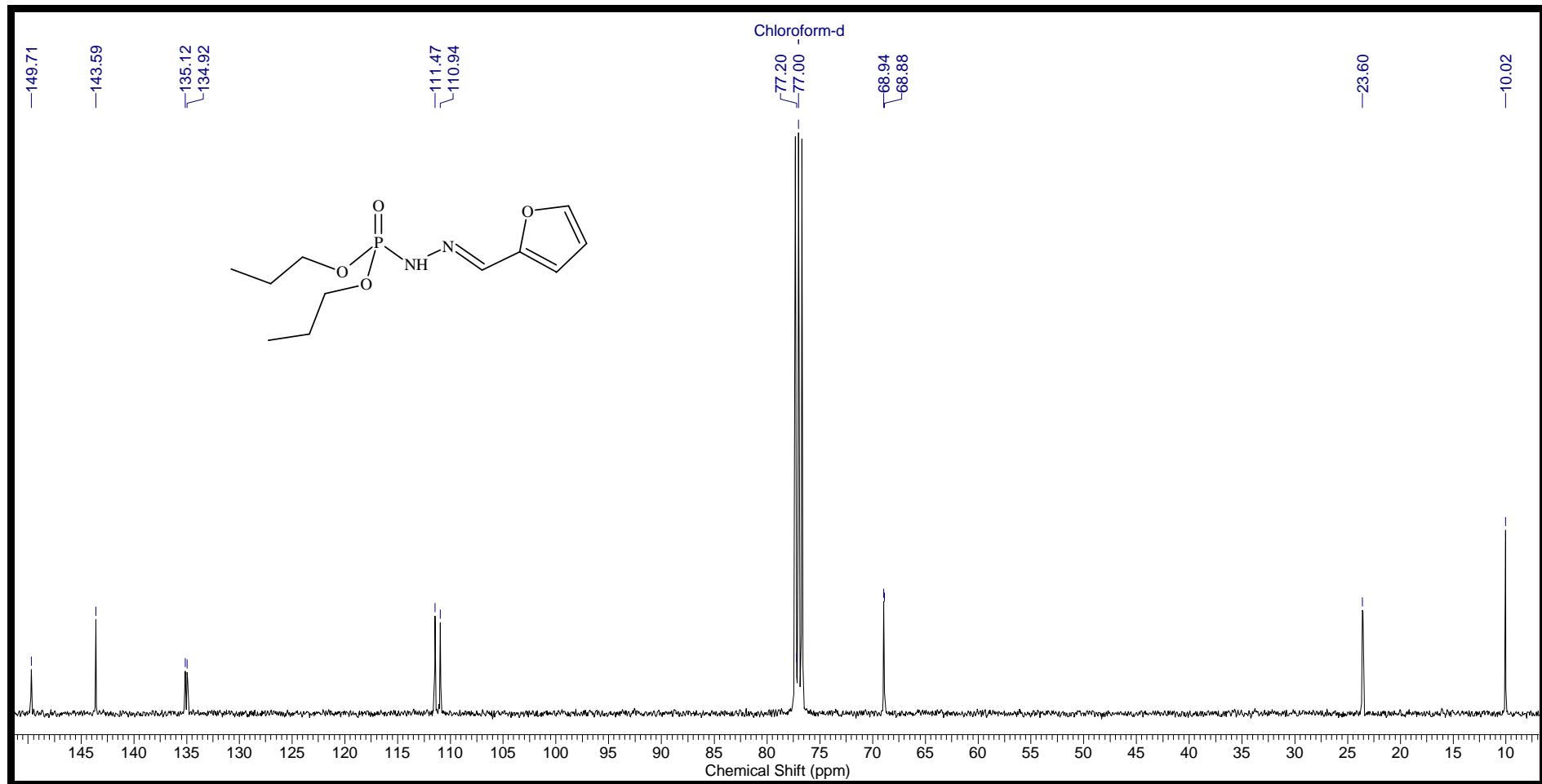


Figura 77 - Espectro RMN- ^{13}C do Ácido $\text{N}'\text{-}[(1\text{ }E)\text{-2-furanilmetileno}]$ dipropiléster fosforilhidrazínico (6A) em CDCl_3 - 100MHz.

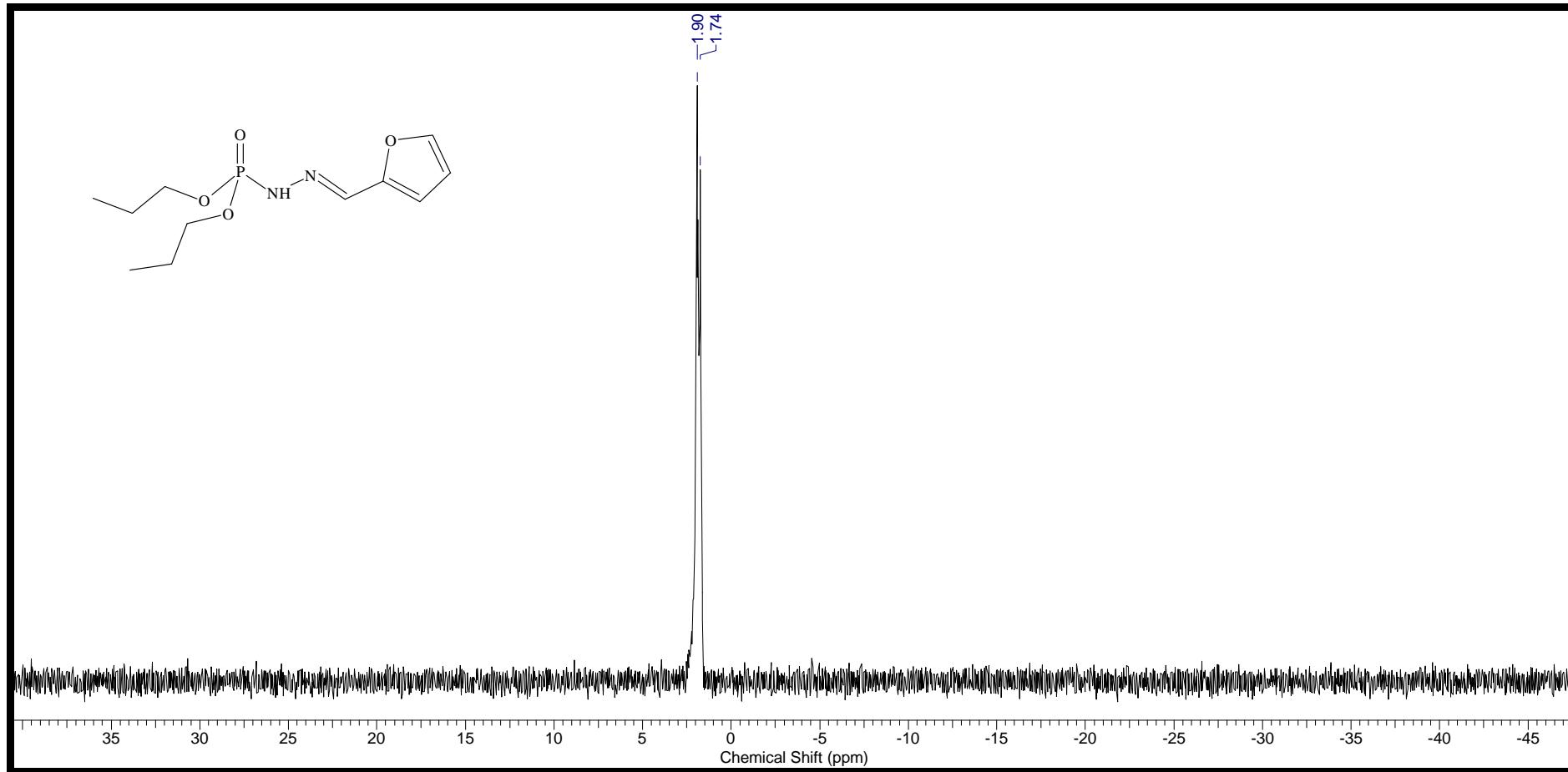


Figura 78 - Espectro RMN- ^{31}P do Ácido $\text{N}^{\prime}\text{-}[(1\text{ }E)\text{-}2\text{-furanilmetileno}]$ dipropiléster fosforilhidrazínico (6A) em CDCl_3 - 162MHz.

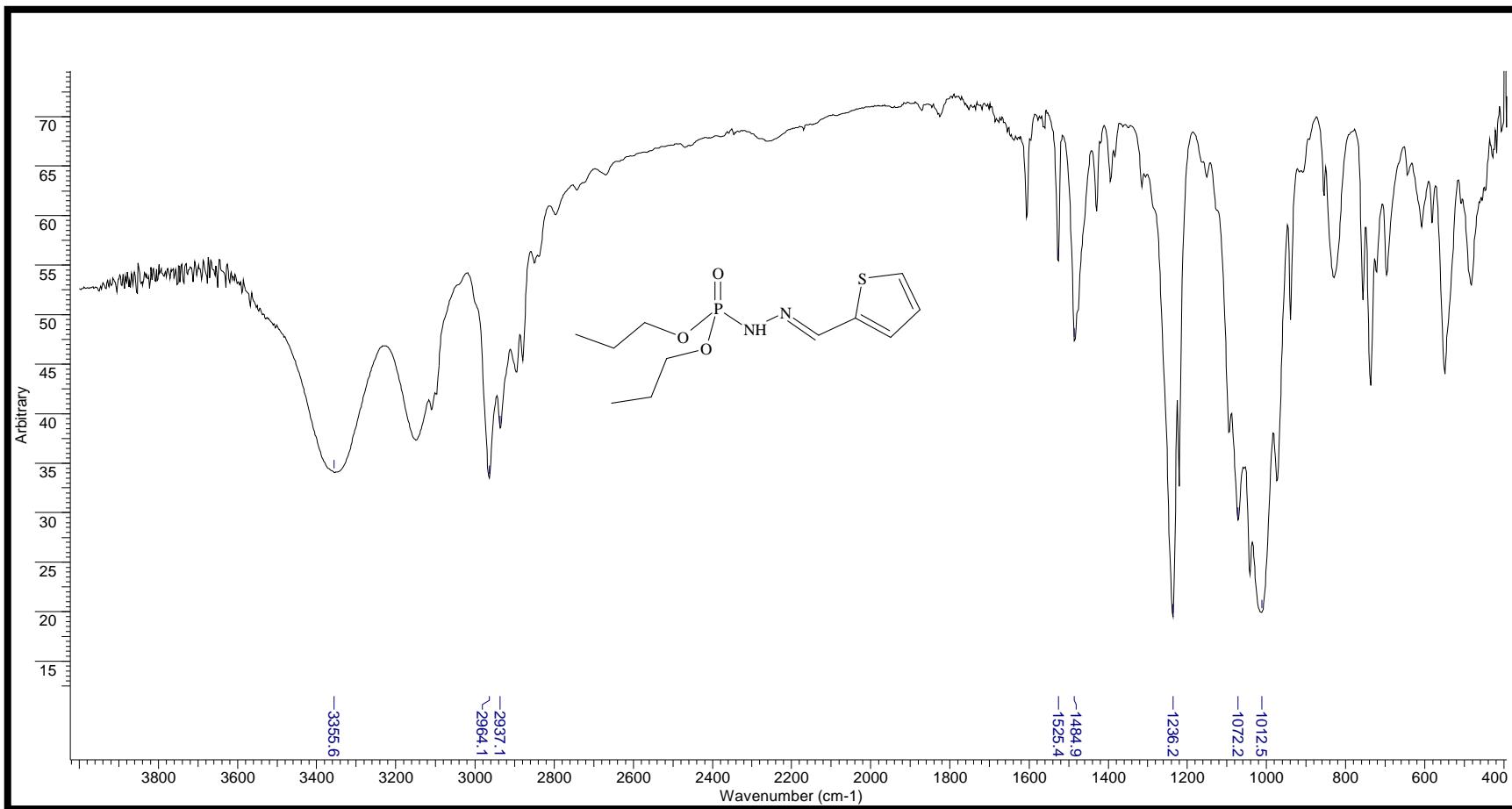


Figura 79 - Infravermelho do Ácido N'-(1 *E*)-2- tienilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6B) em célula de NaCl.

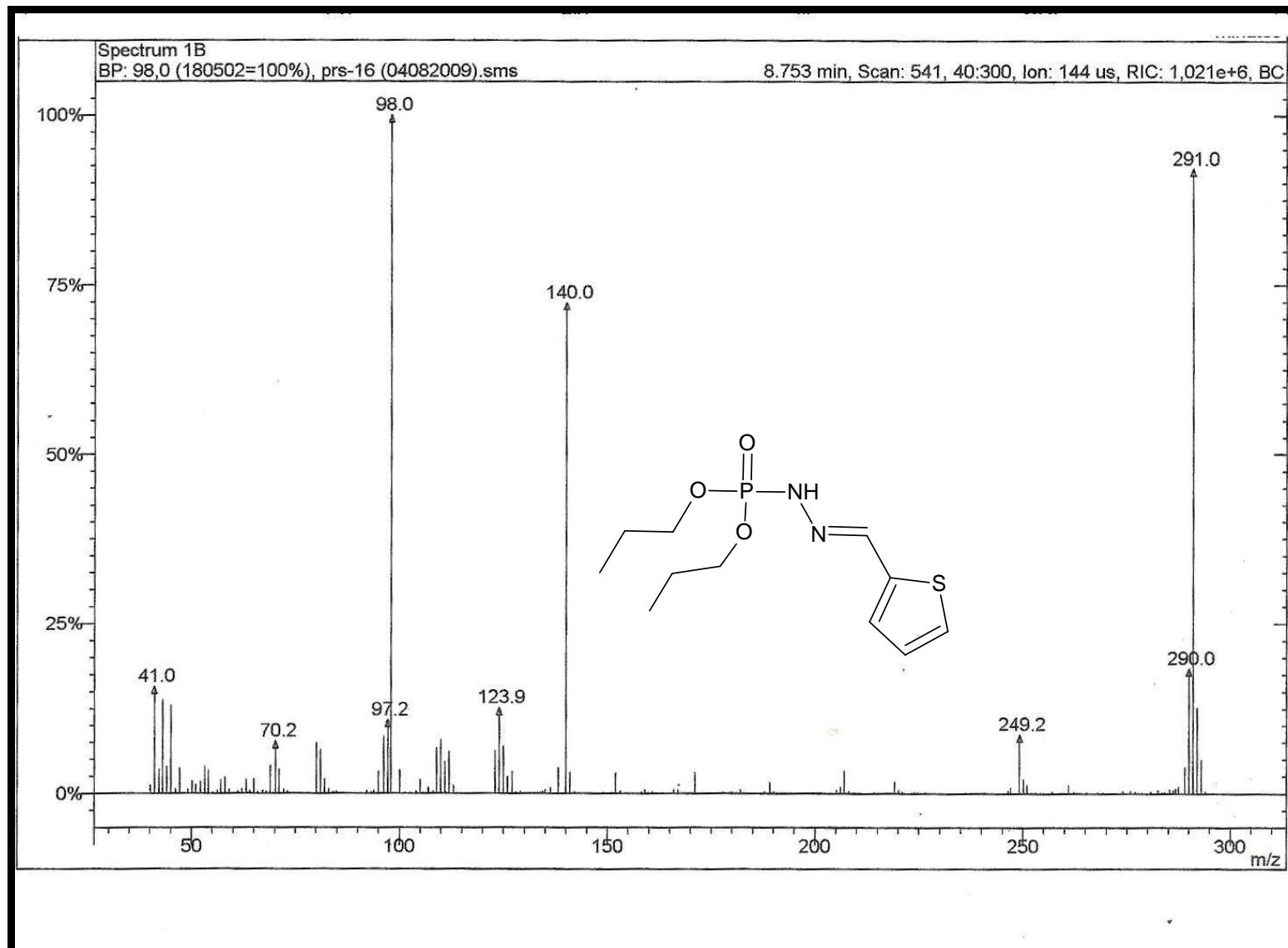


Figura 80 - Espectro de massas do Ácido N'-(1 *E*-2- tienilmetíleno) dipropiléster fosforilhidrazínico (6B).

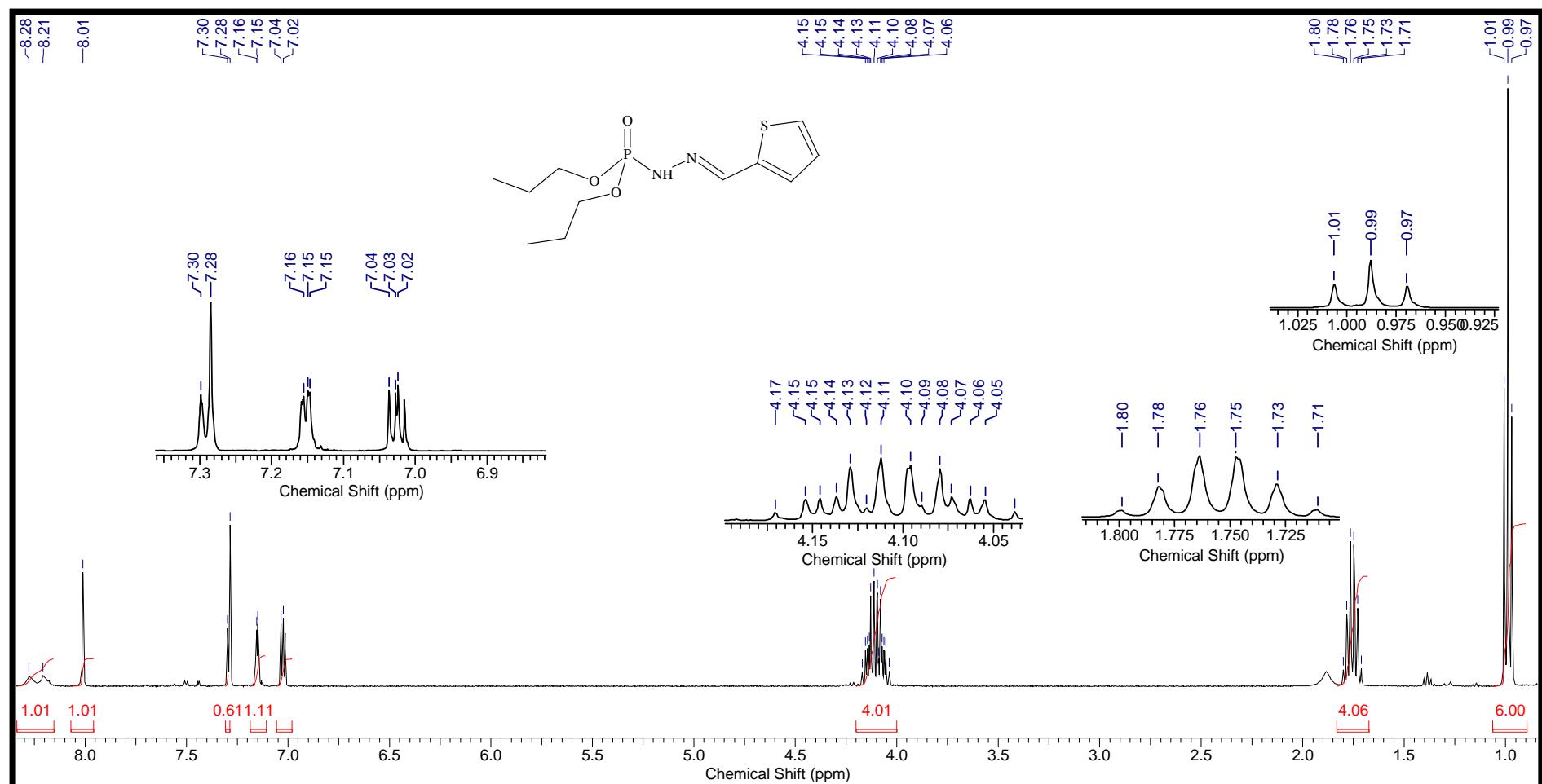


Figura 81 - Espectro de RMN- ^1H do Ácido N'-(1 *E*)-2- tienilmetileno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6B) em CDCl_3 - 400MHz.

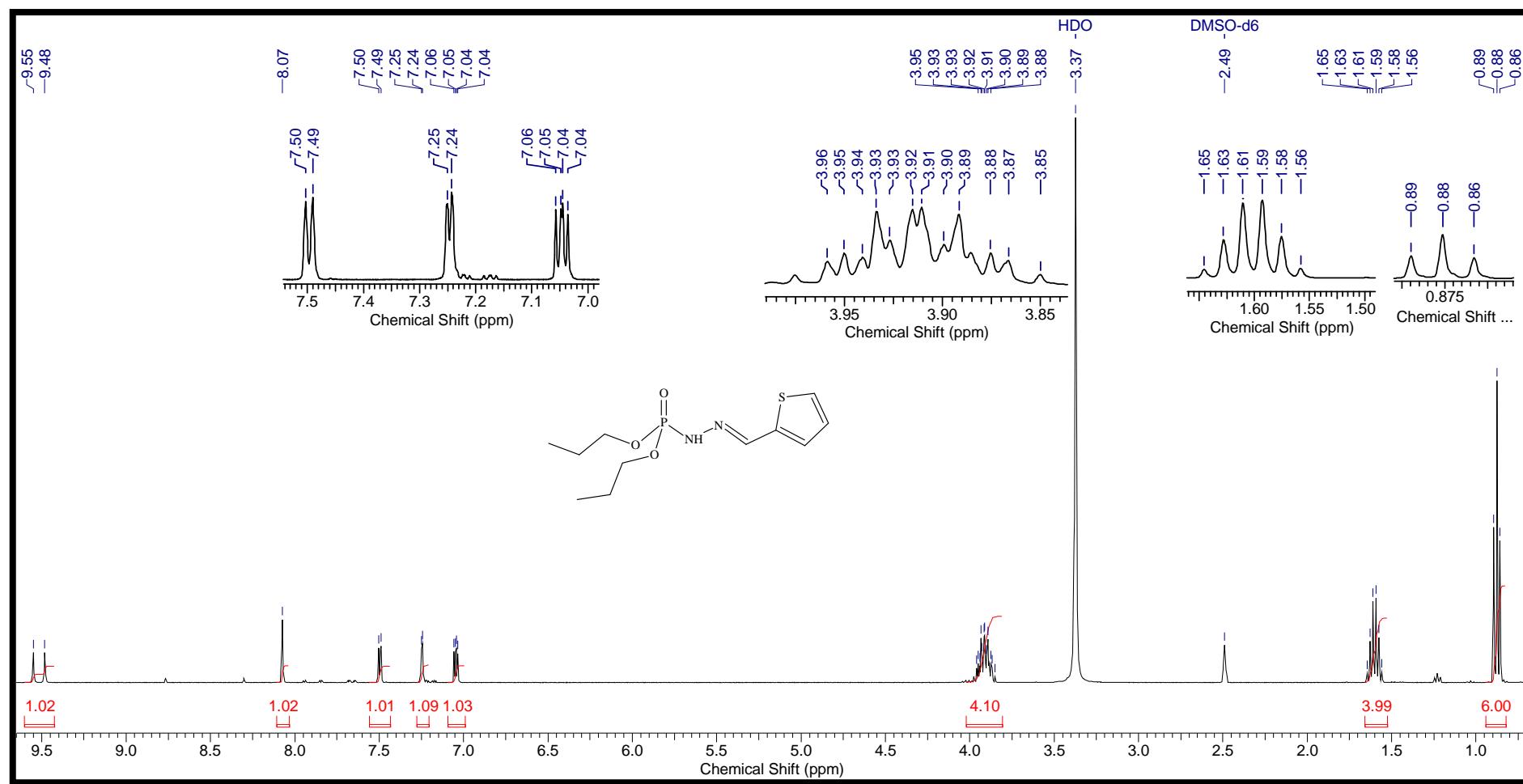


Figura 82- Espectro de RMN-¹H do Ácido N'-(1 *E*-2- tienilmetíleno) dipropiléster fosforilhidrazínico (6B) em DMSO - 400MHz.

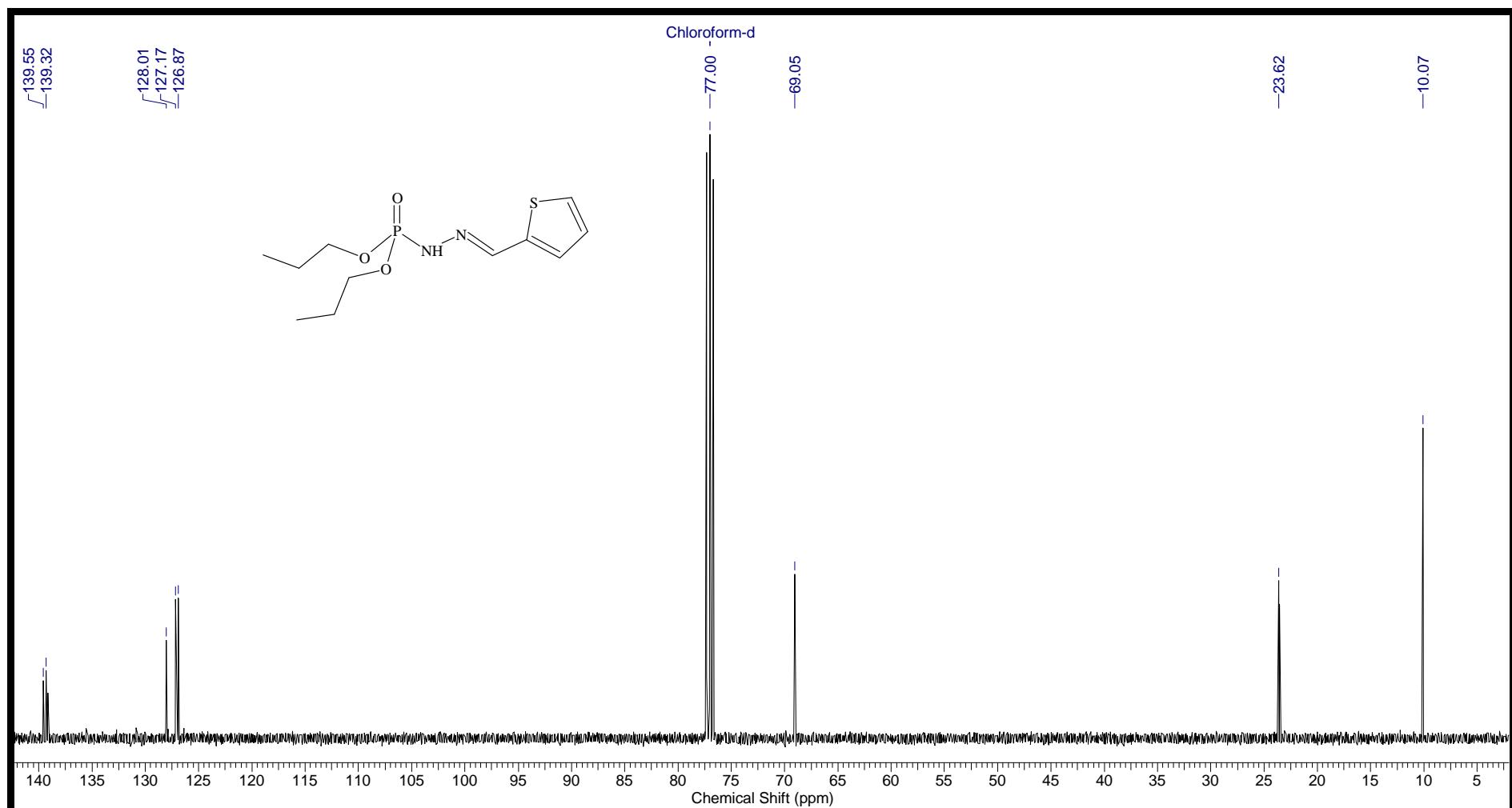


Figura 83 - Espectro de RMN- ^{13}C do Ácido N'-($(1\text{ }E)$ -2- tienilmetíleno) dipropiléster fosforilhidrazínico (6B) em CDCl_3 - 100MHz.



Figura 84 - Espectro de RMN- ^{31}P do Ácido N'-(1 *E*)-2- tienilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6B) em CDCl_3 - 162MHz.

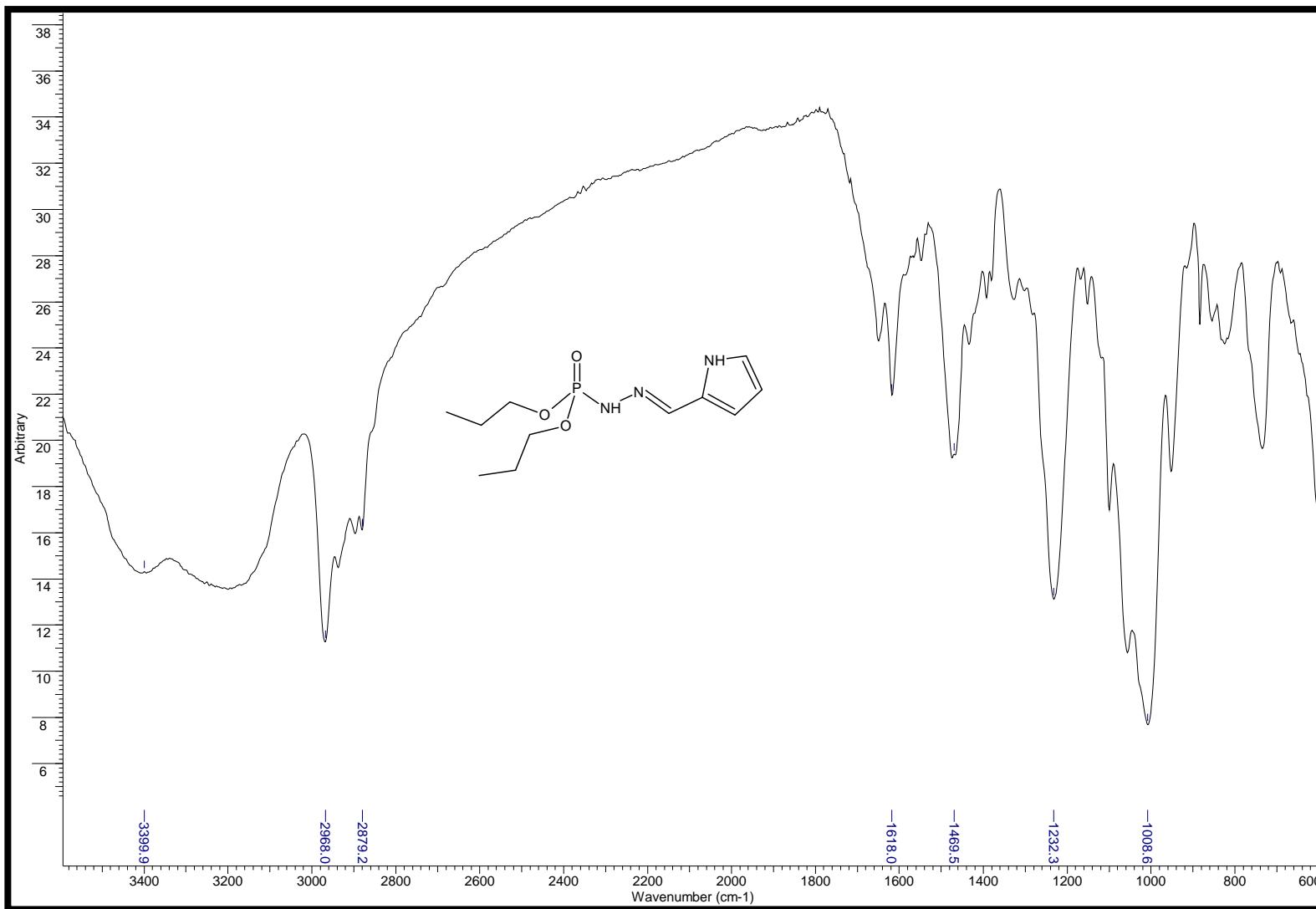


Figura 85 - Infravermelho do Ácido N'-(1 *E*- 1H-pirrol-2-ilmetileno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6C) em célula de NaCl.

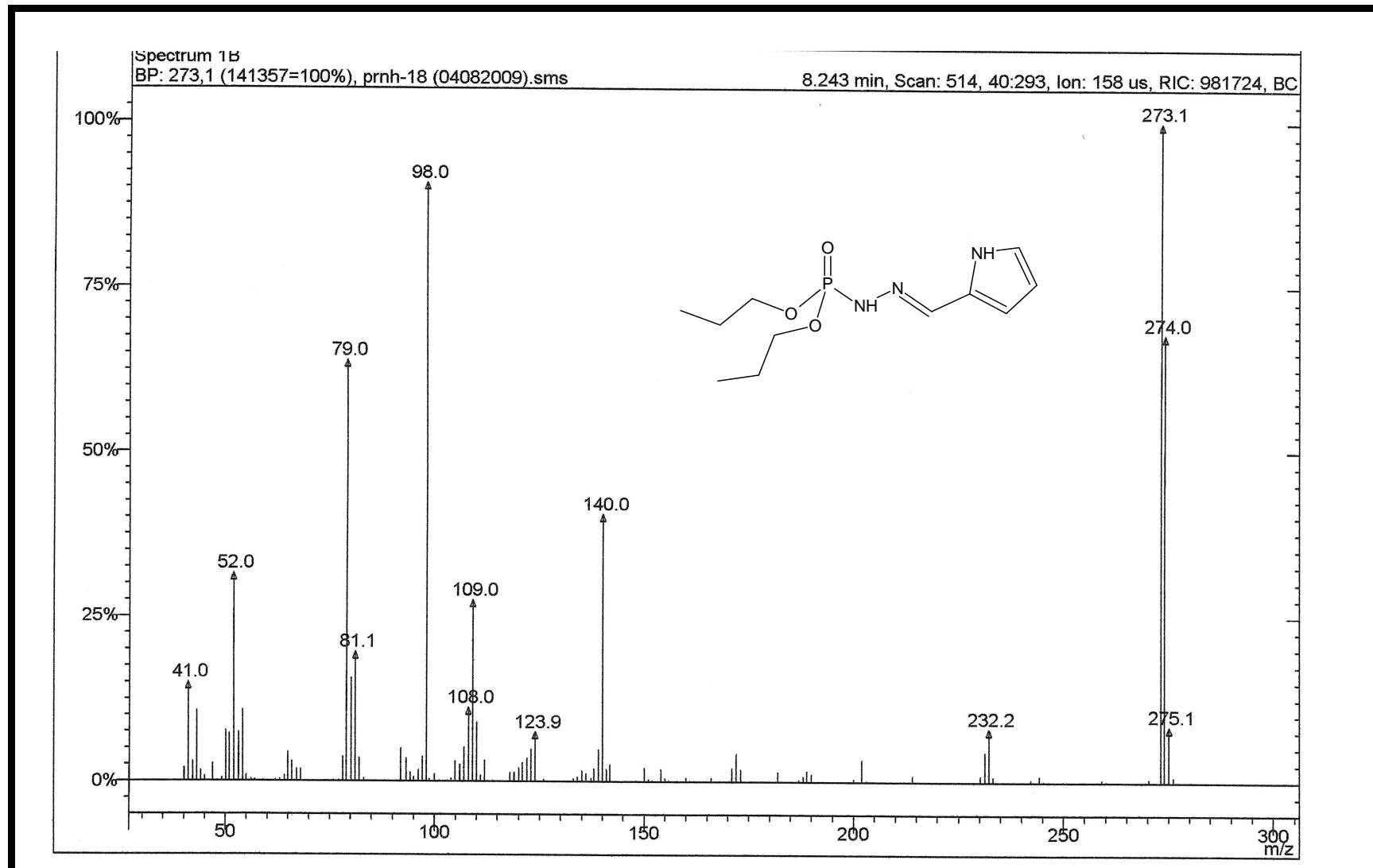


Figura 86 - Espectro de massas do Ácido N'-(1 E)- 1H-pirrol-2-ilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6C).

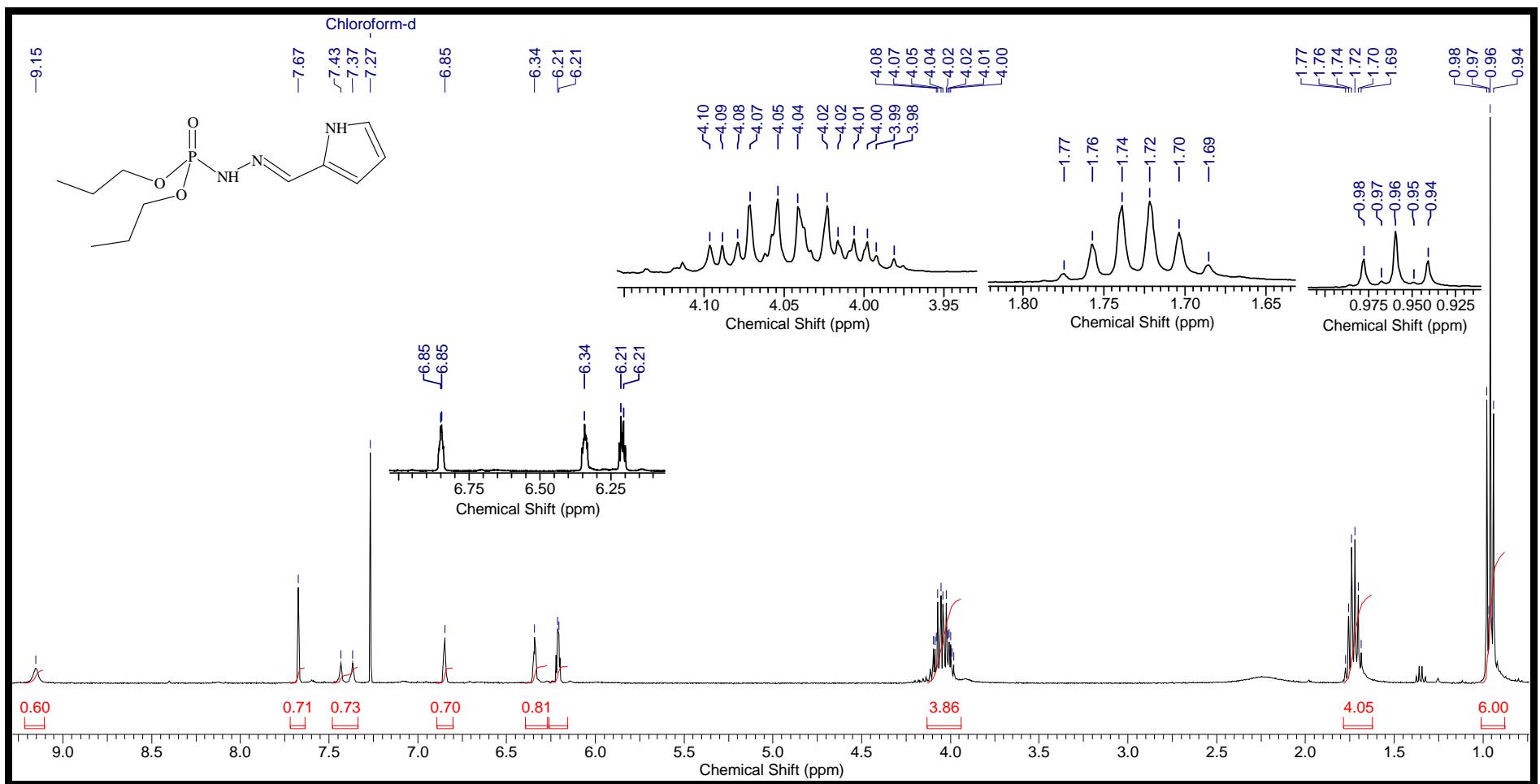


Figura 87 - Espectro de RMN-¹H do Ácido N'-(1 E)- 1H-pirrol-2-ilmetileno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6C) em CDCl₃ - 400MHz.

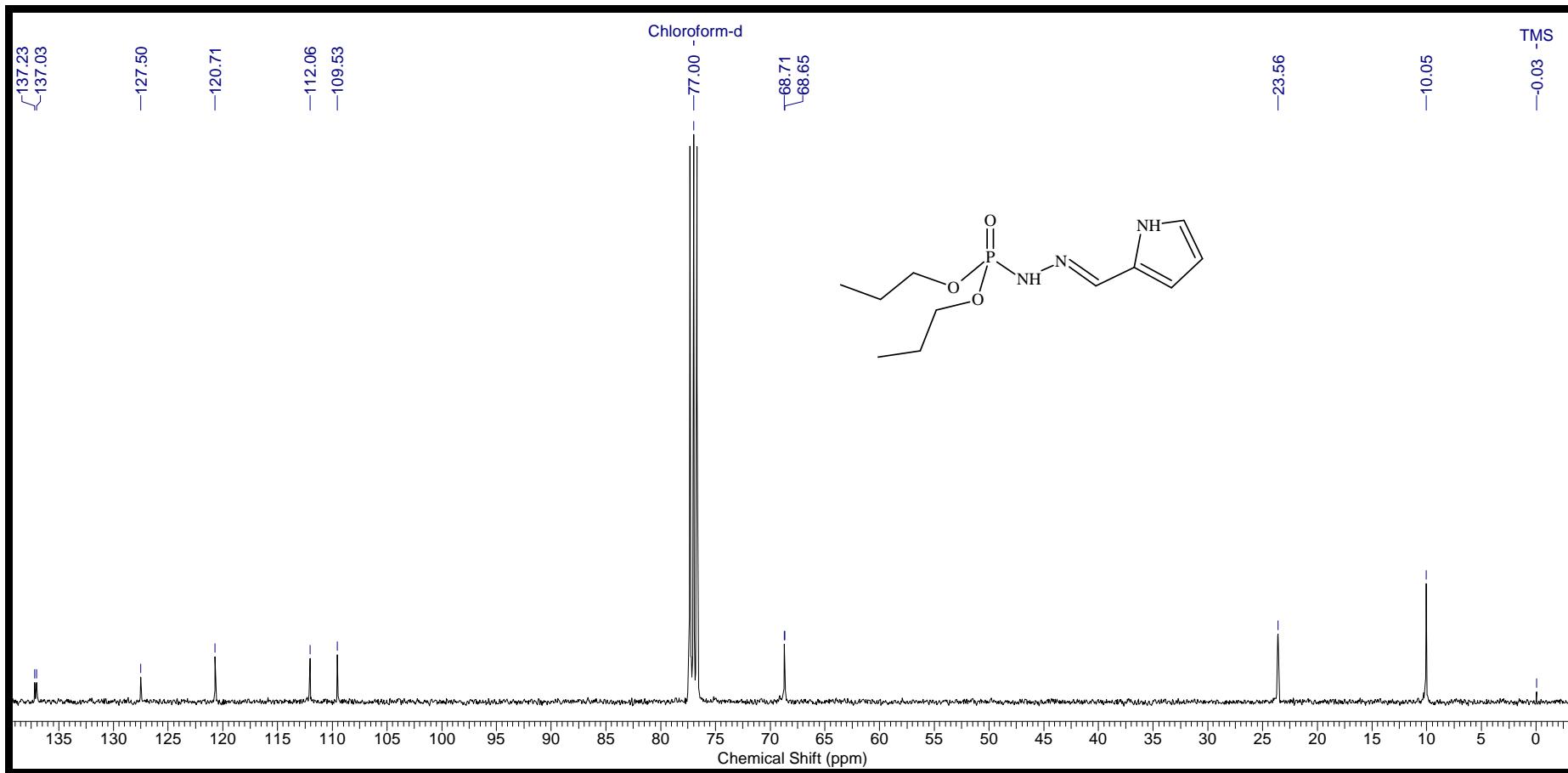


Figura 88 - Espectro de RMN-¹³C do Ácido N'-[(1 E)- 1H-pirrol-2-ilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6C) em CDCl₃ - 100MHz.

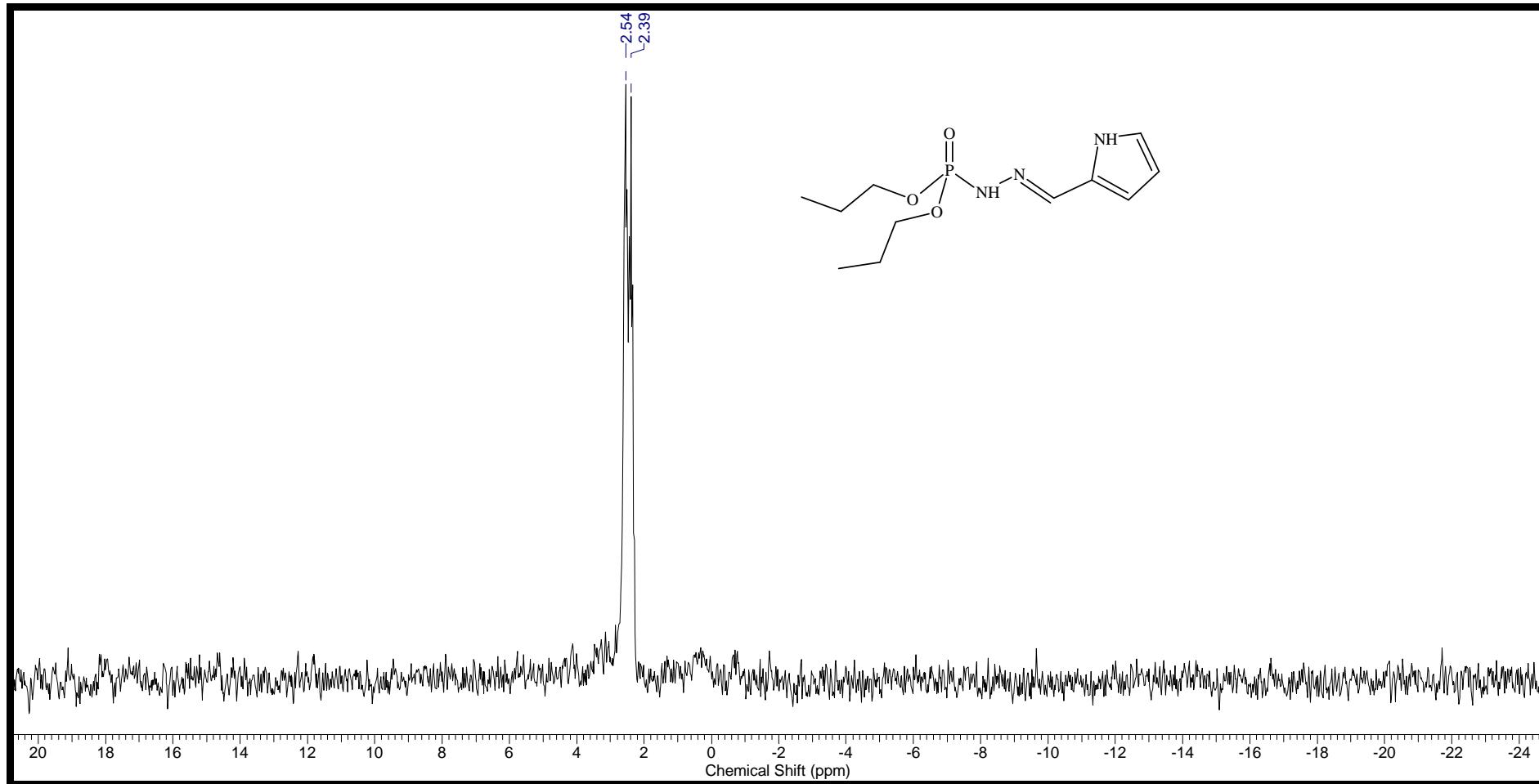


Figura 89 - Espectro de RMN- ^{31}P do Ácido N' -[($1E$)- 1H-pirrol-2-ilmetíleno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6C) em CDCl_3 - 162MHz.

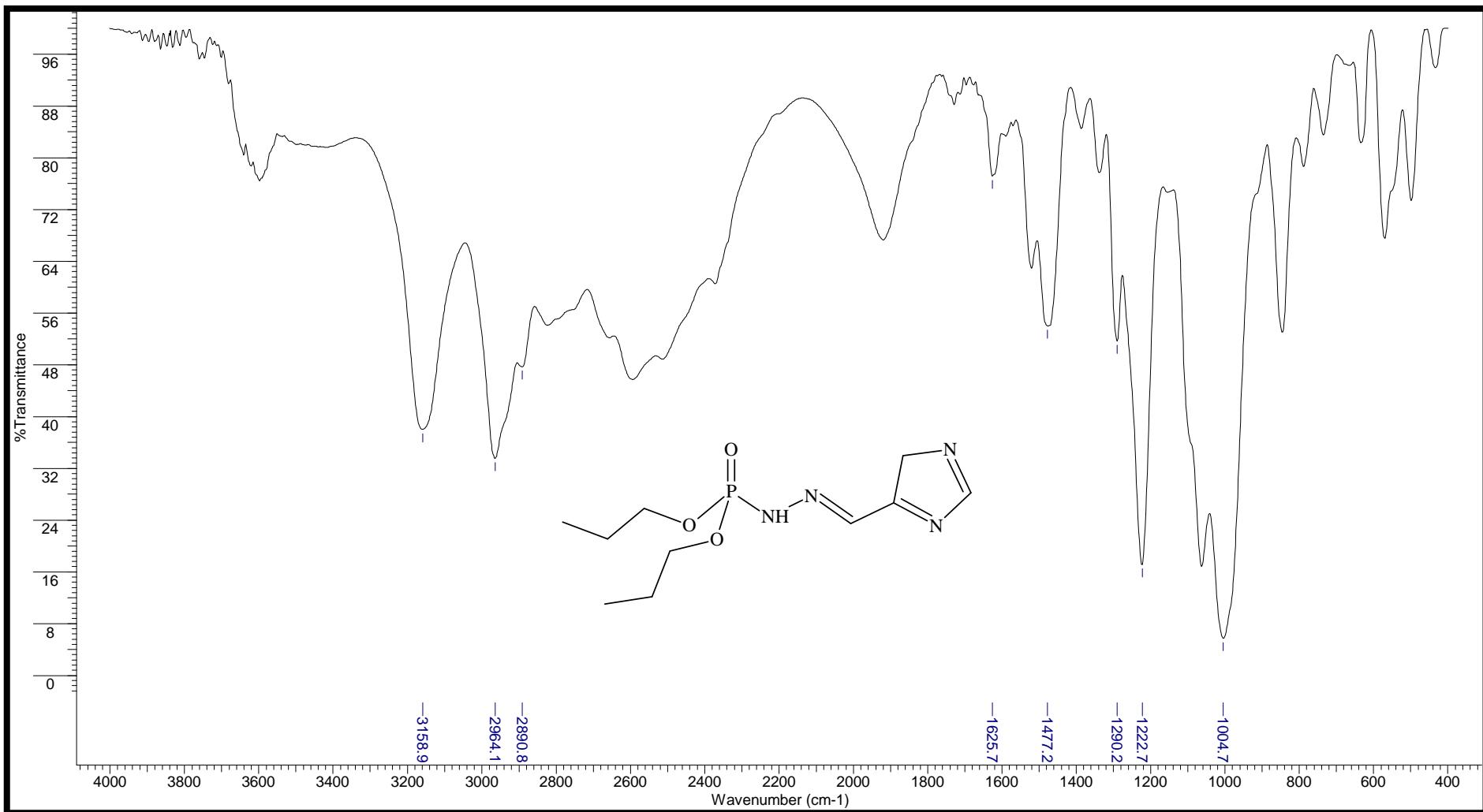


Figura 90 - Infravermelho do Ácido N'-(1 *E*)-4 H- imidazol-5-ilmetileno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6D) em célula de NaCl.

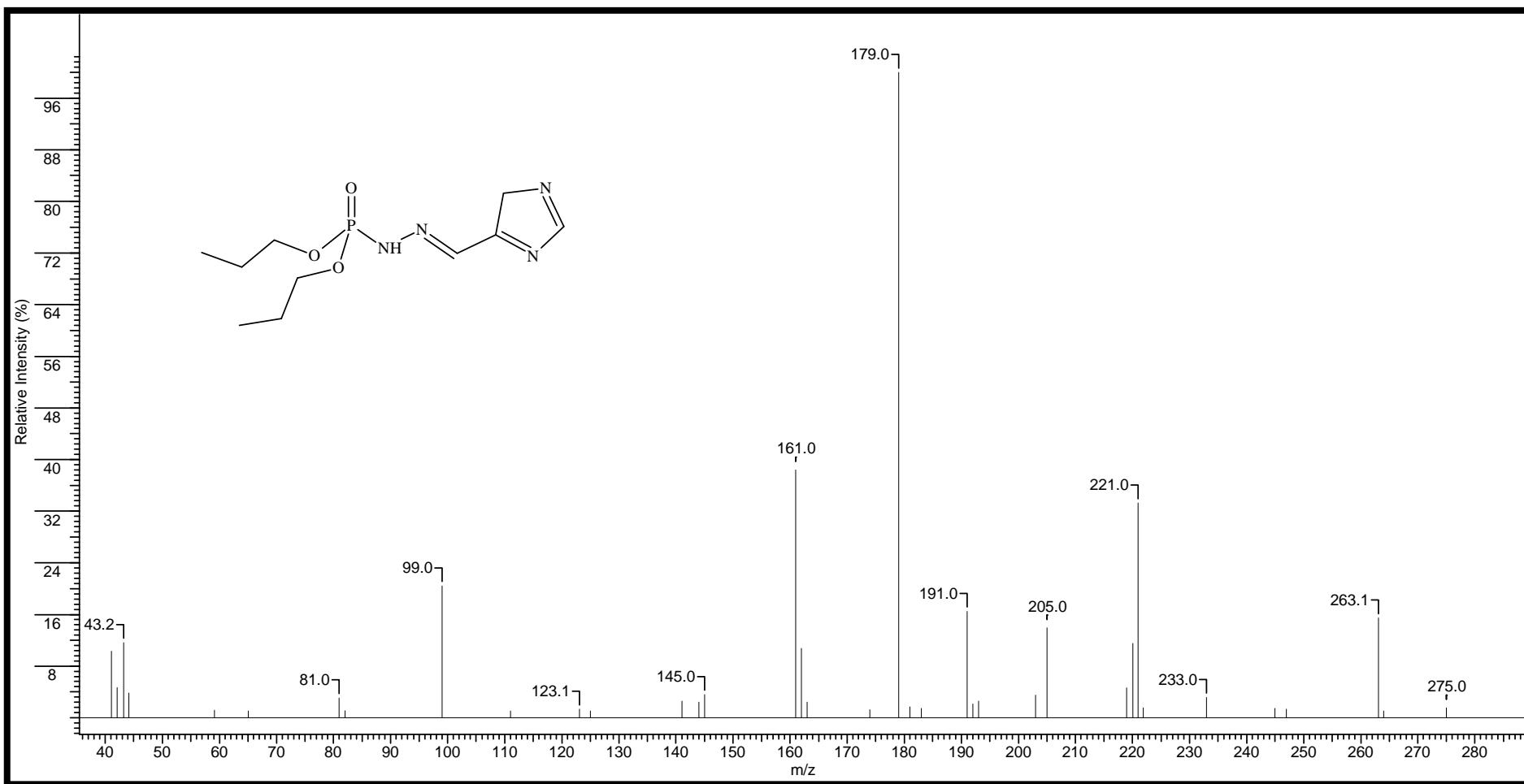


Figura 91 - Espectro de massas do Ácido N' -[(1 *E*)-4 H- imidazol-5-ilmetileno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6D).

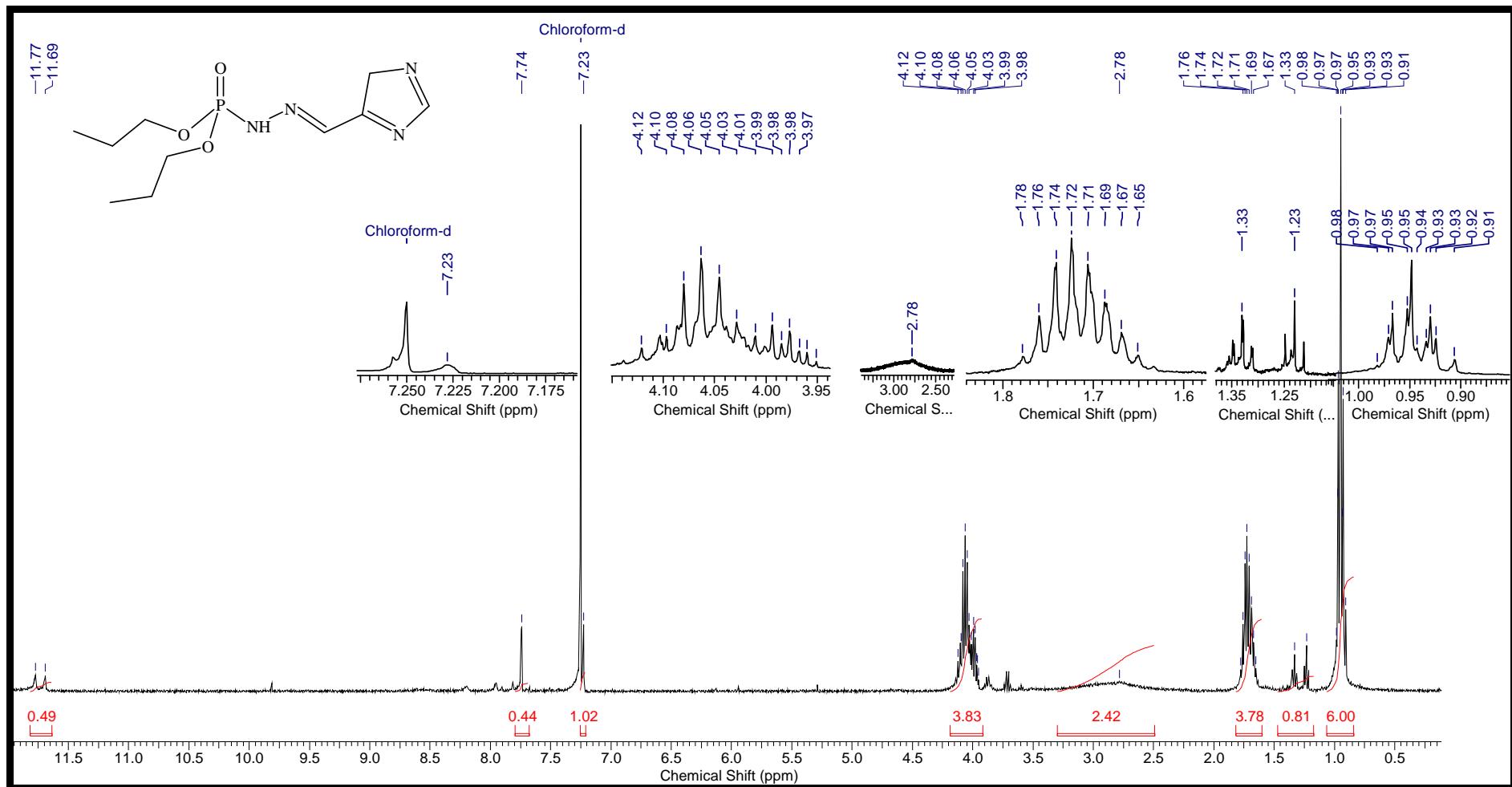


Figura 92 - Espectro de RMN-¹H do Ácido N'-(1 E)-4 H- imidazol-5-ilmetileno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6D) em CDCl₃ - 400MHz.

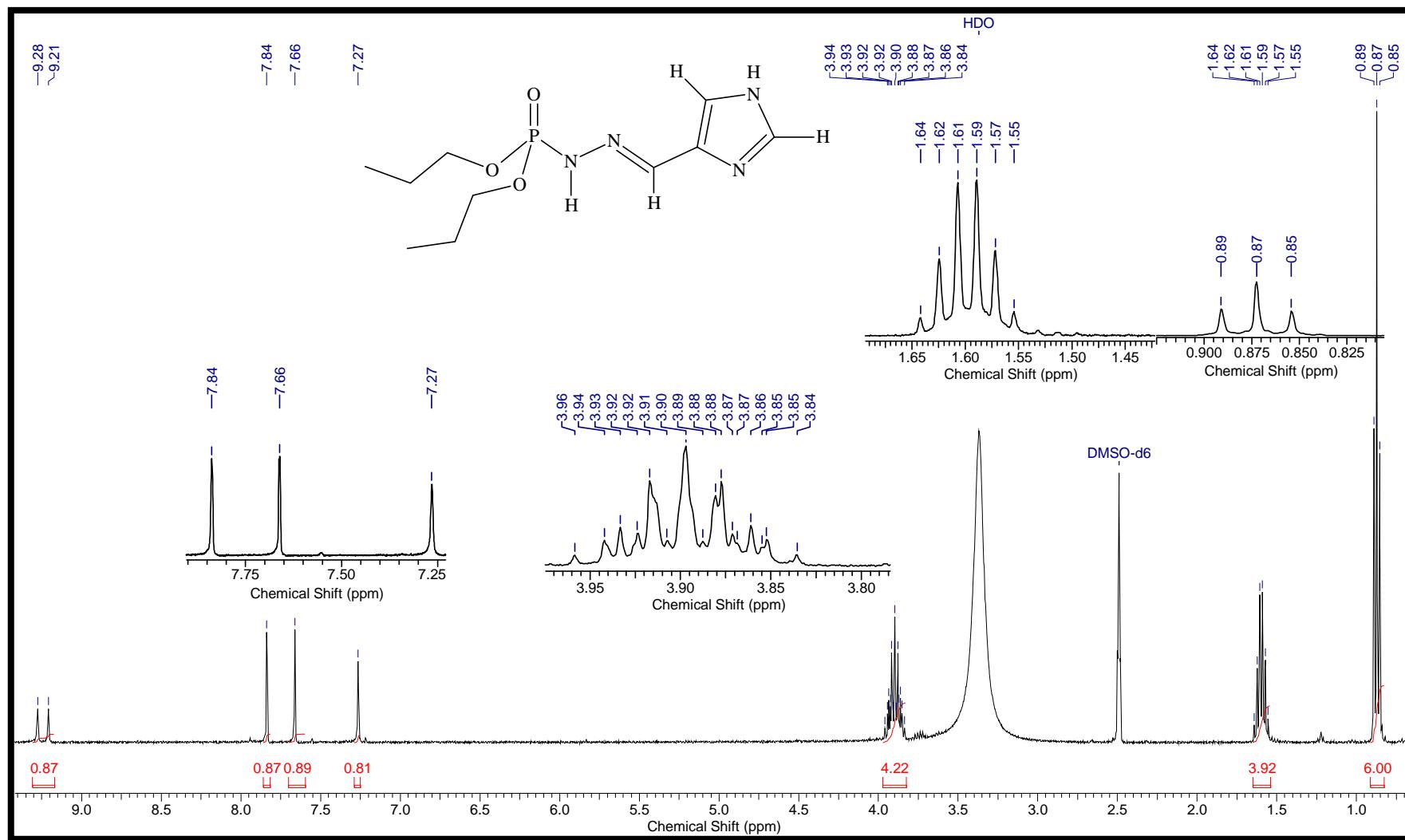


Figura 93 - Espectro de RMN-¹H do Ácido N'-(1 E)-4 H- imidazol-5-ilmetileno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6D) em DMSO - 400MHz.

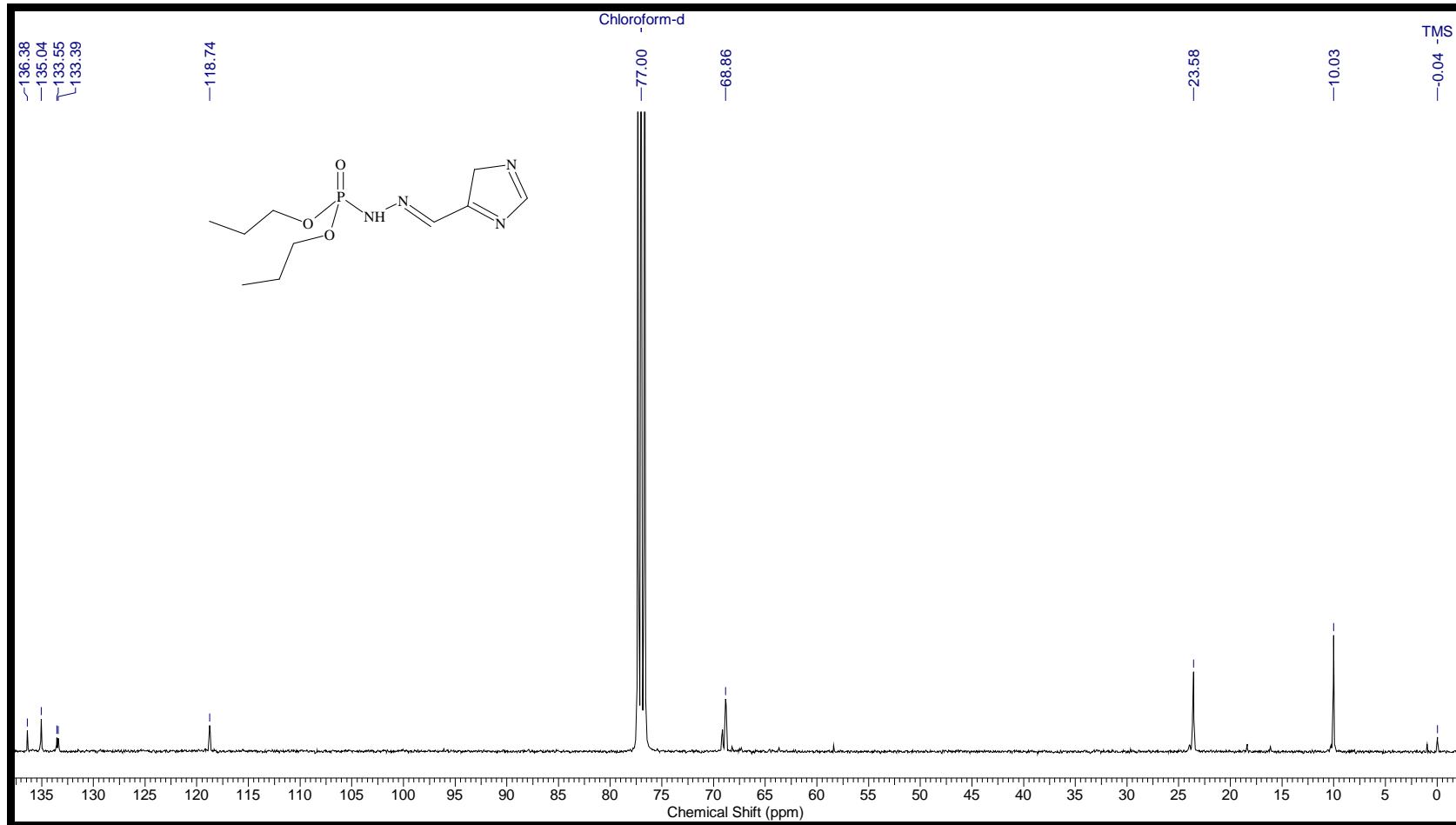


Figura 94 - Espectro de RMN-¹³C do Ácido N'-(*1 E*-4 H- imidazol-5-ilmetíleno) dipropiléster fosforilhidrazínico (6D) em CDCl₃ - 100MHz.

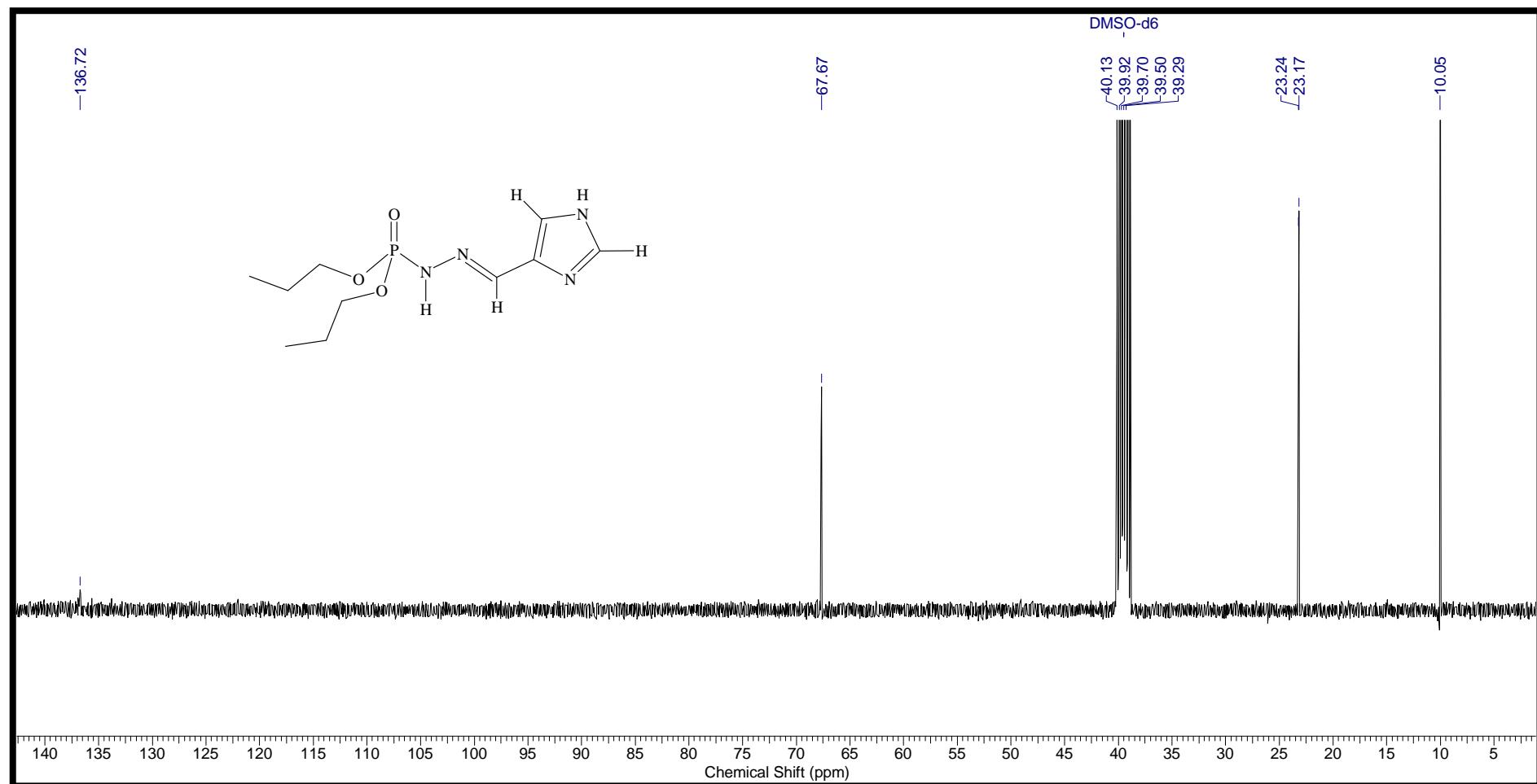


Figura 95 - Espectro de RMN- ^{13}C do Ácido N'-(*1 E*-4 H- imidazol-5-ilmetíleno) dipropiléster fosforilhidrazínico (6D) em DMSO - 100MHz.

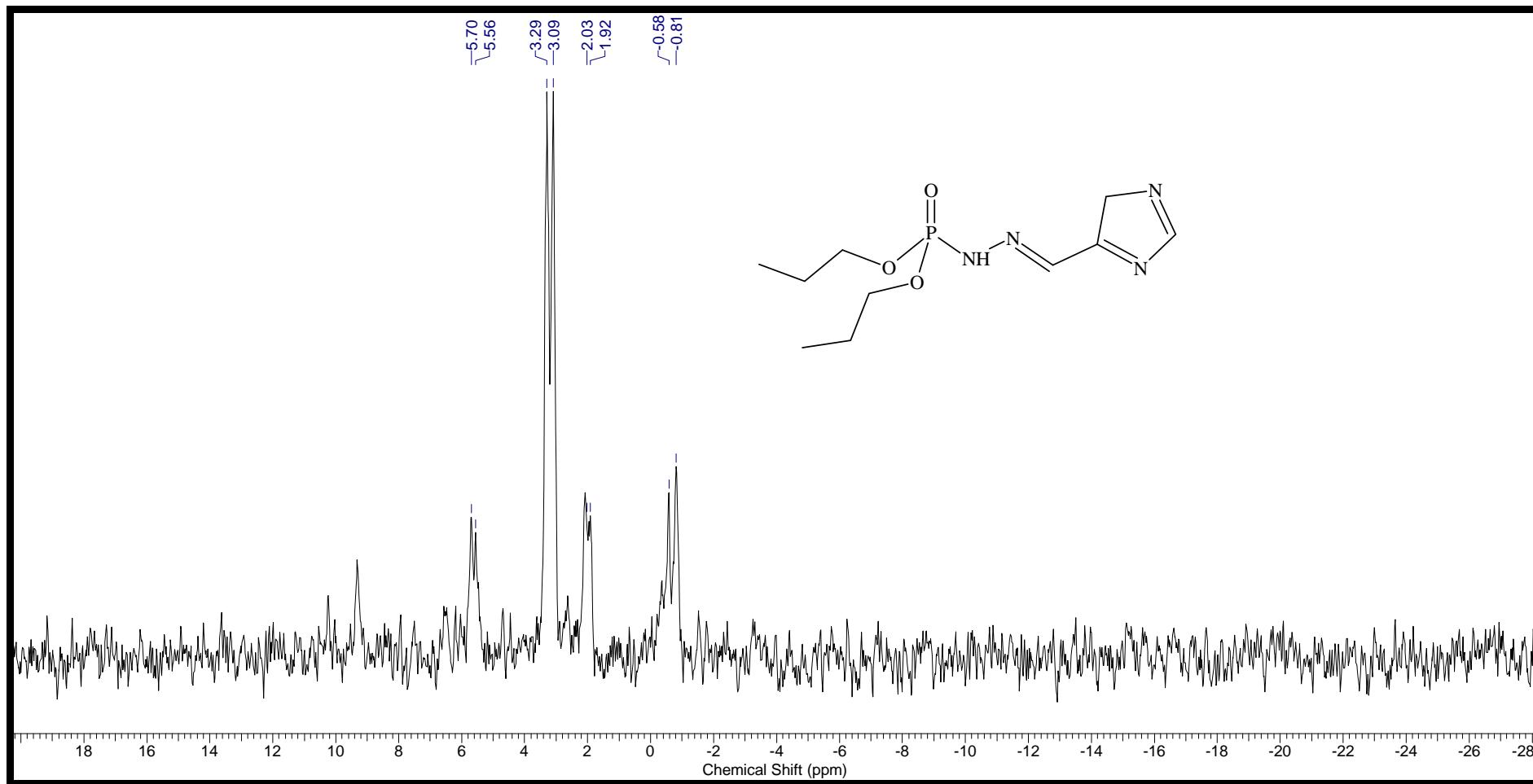


Figura 96 - Espectro de RMN-³¹P do Ácido N’-[(*1 E*-4 H- imidazol-5-ilmetileno] dipropiléster fosforilhidrazínico (6D) em CDCl₃ - 162MHz.

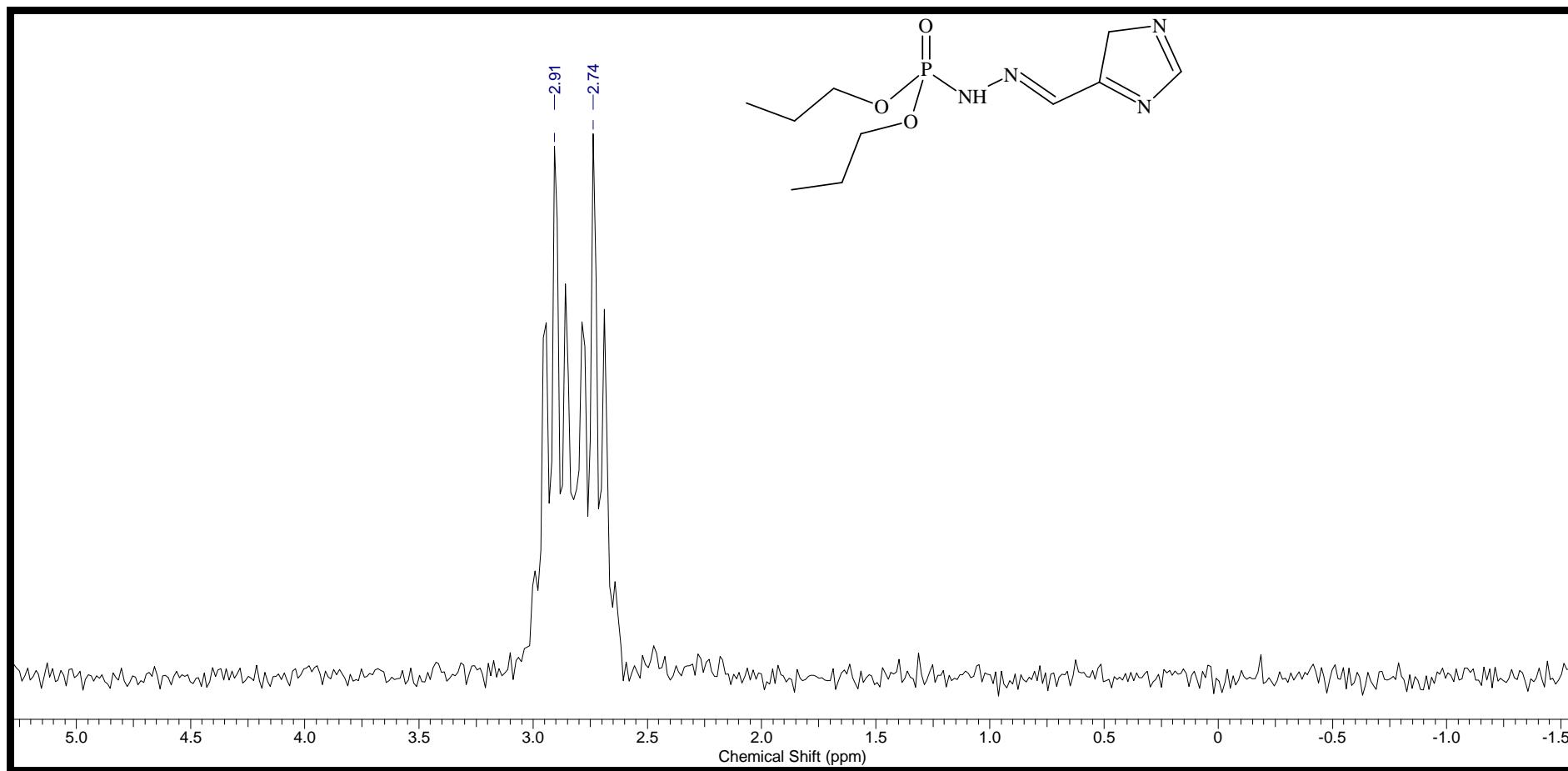


Figura 97 - Espectro de RMN- ^{31}P do Ácido N'-(1 *E*-4 H- imidazol-5-ilmetileno) dipropiléster fosforilhidrazínico (6D) em DMSO - 162MHz.

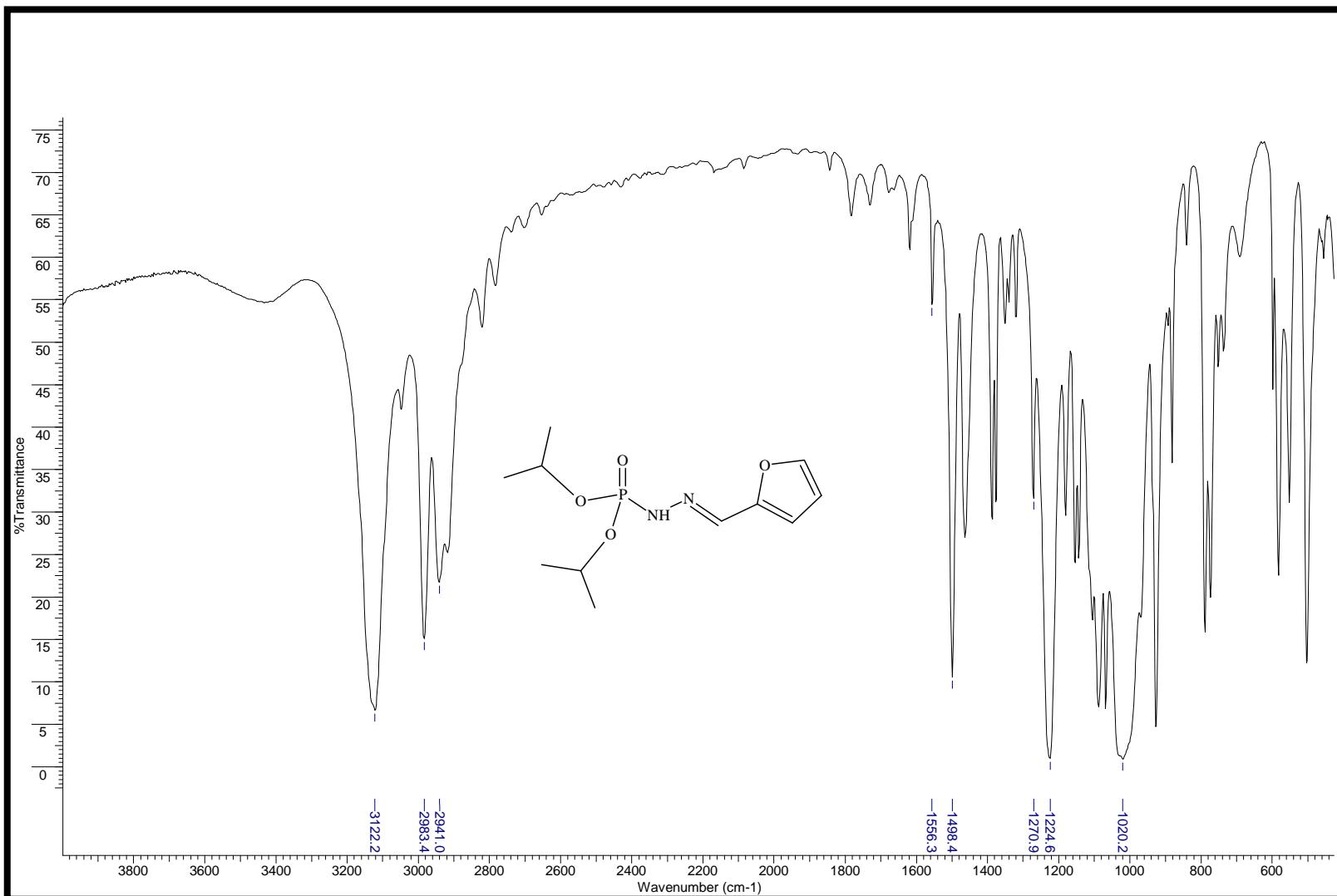


Figura 98 - Infravermelho do Ácido N'-(*1 E*-2-furanilmetileno) diisopropiléster fosforilhidrazínico (7A) em célula de NaCl.

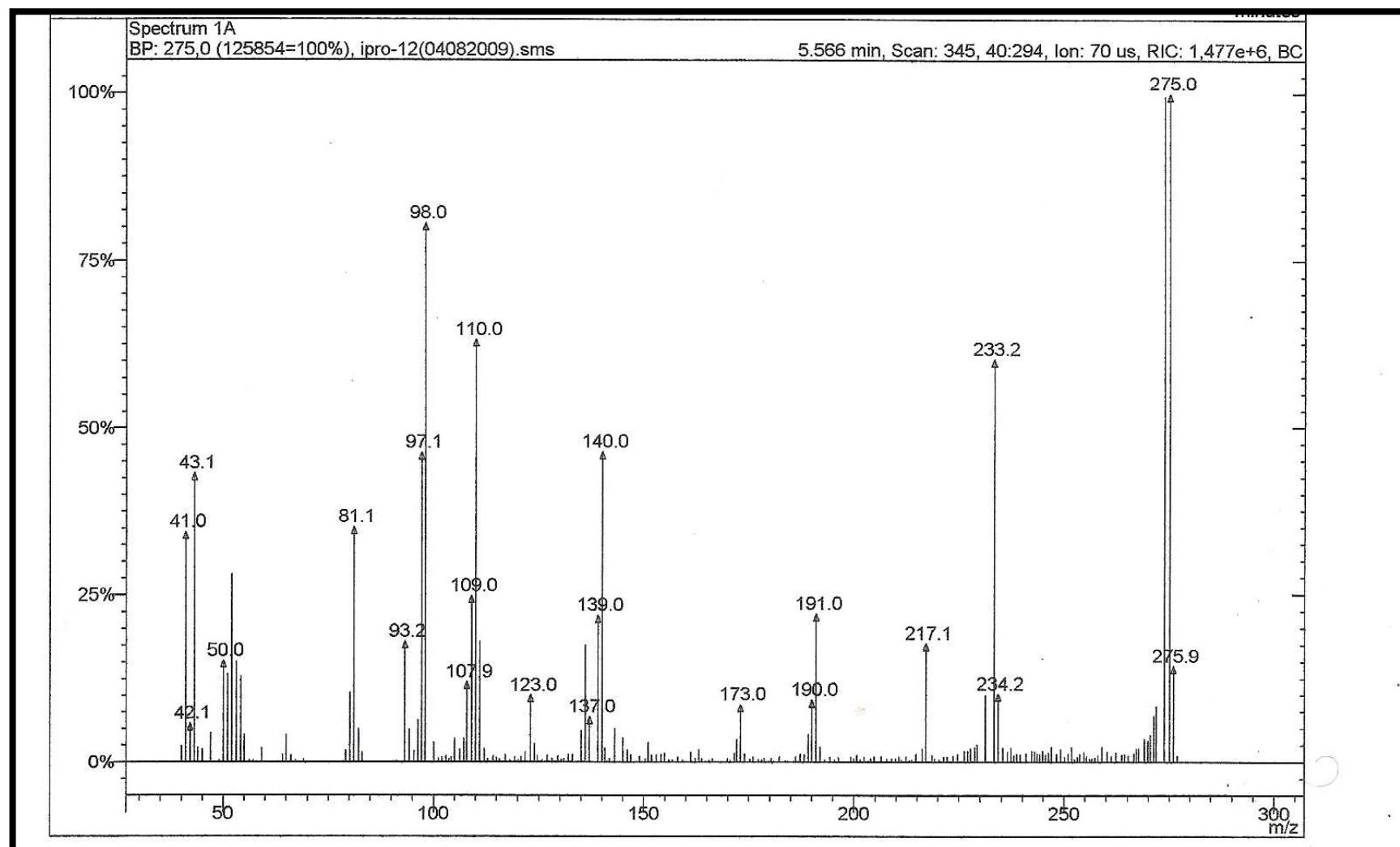


Figura 99 - Espectro de massas do Ácido N'-(1 *E*-2-furanilmetíleno) diisopropiléster fosforilhidrazínico (7A).

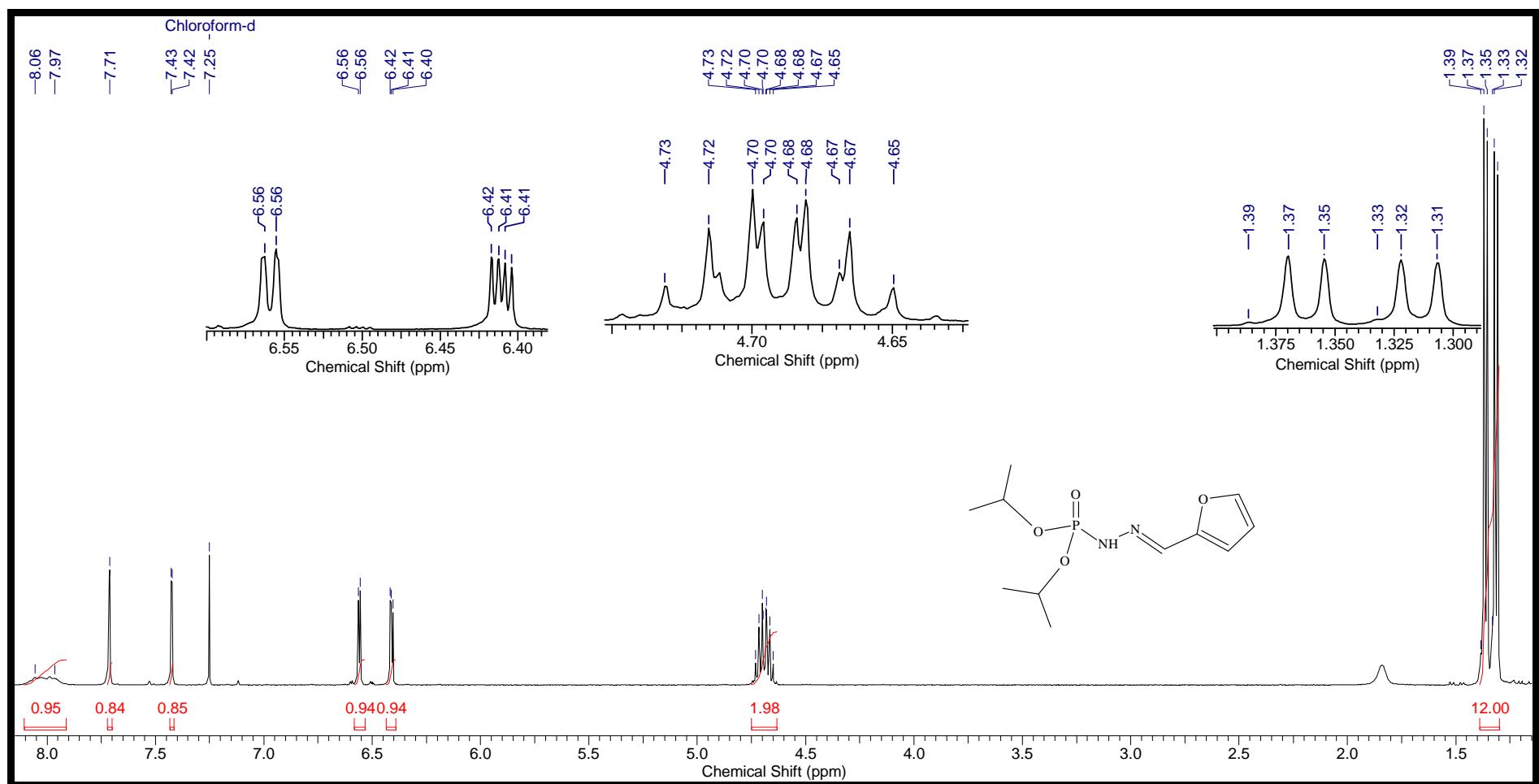


Figura 100 - Espectro de RMN-¹H do Ácido N'-(1 *E*)-2- furanilmetíleno] diisopropiléster fosforilhidrazínico (7A) em CDCl₃ - 400MHz.

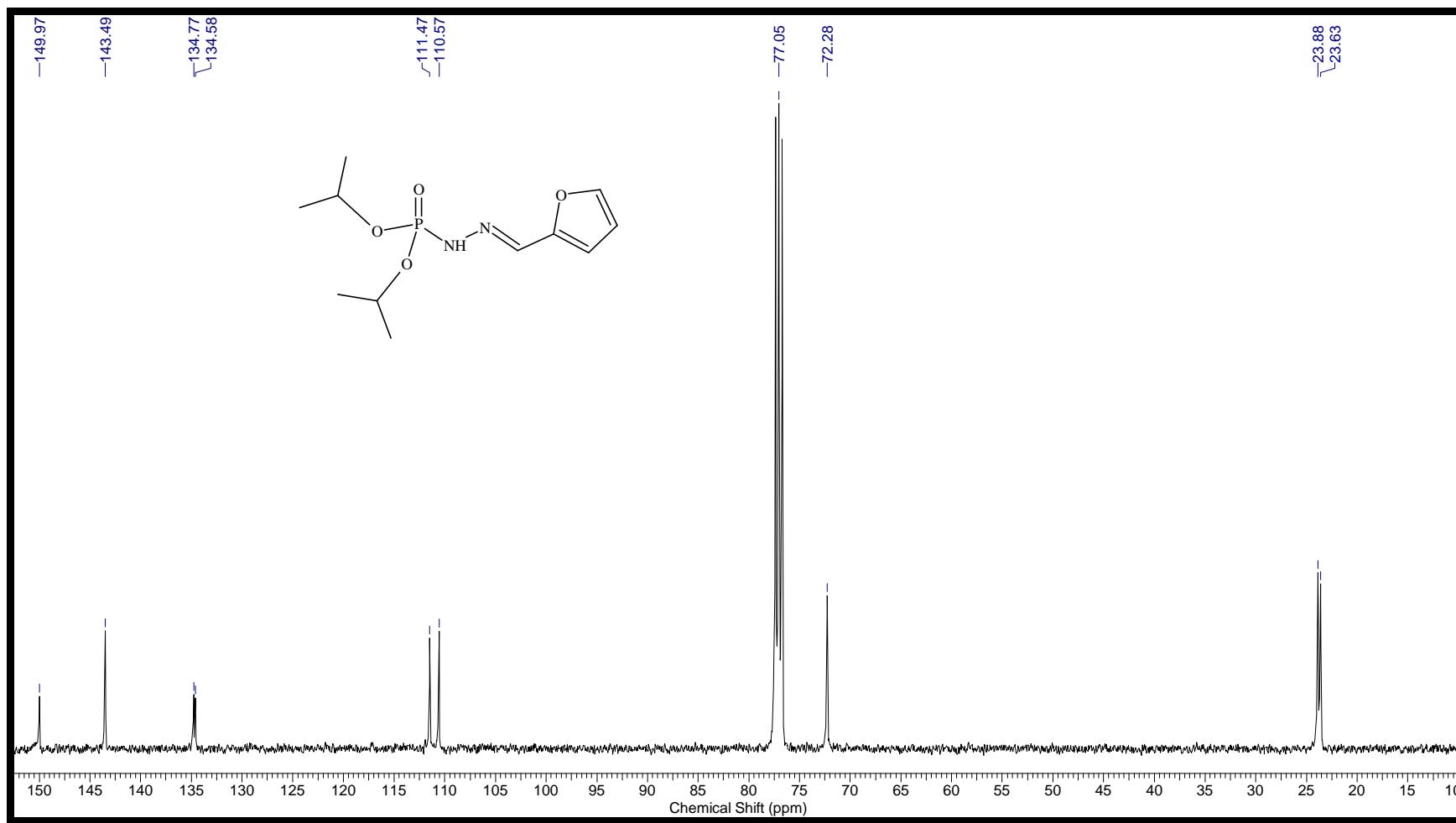


Figura 101 - Espectro de RMN- ^{13}C do Ácido $\text{N}'\text{-}[(1\text{ }E)\text{-2-furanilmetileno}]$ diisopropiléster fosforilhidrazínico (7A) em CDCl_3 - 100MHz.

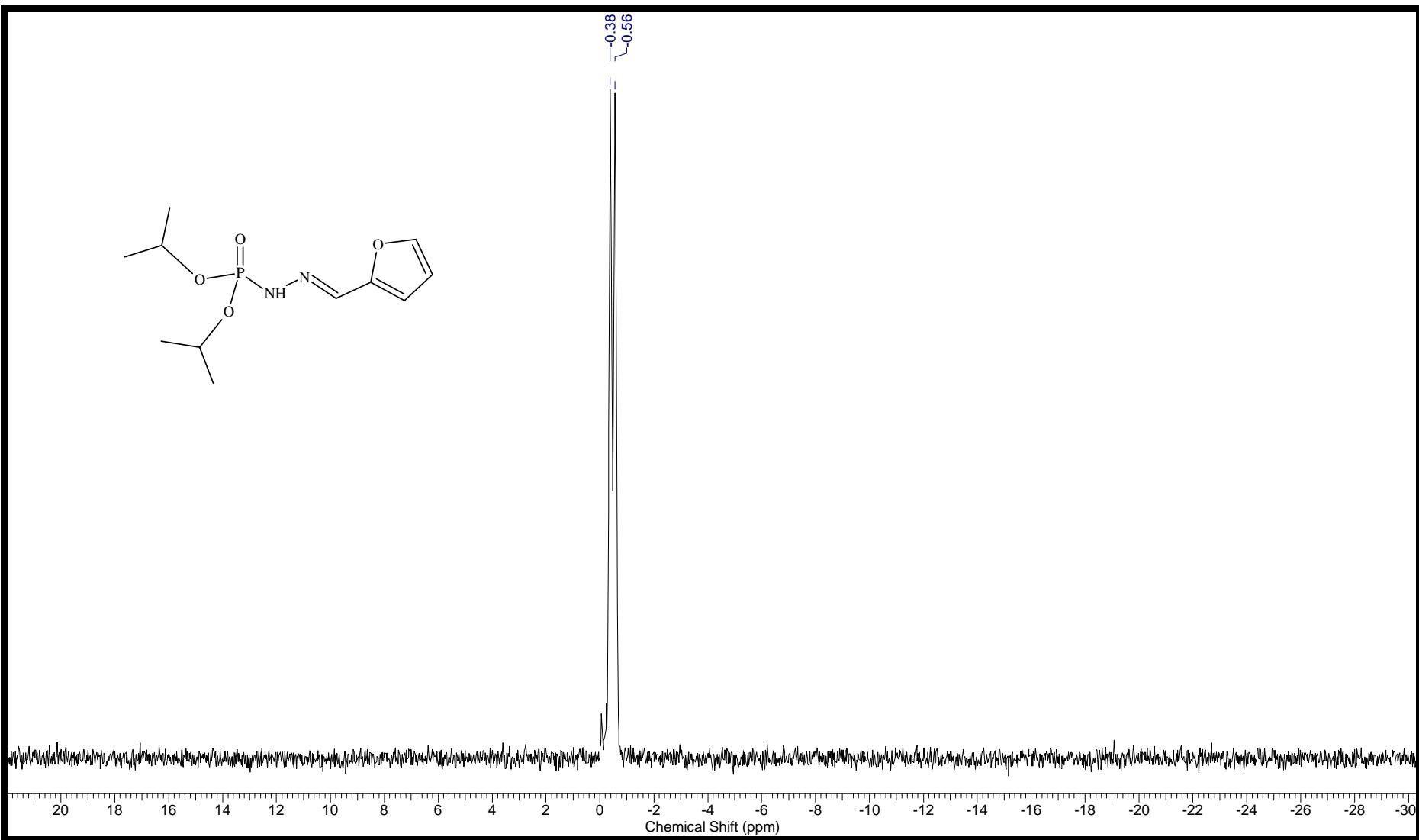


Figura 102 - Espectro de RMN- ^{31}P do Ácido $\text{N}'-(1\text{ }E)-2\text{-furanilmetileno]\ diisopropil\'ester fosforilhidraz\'inico}$ (7A) em CDCl_3 -162MHz.

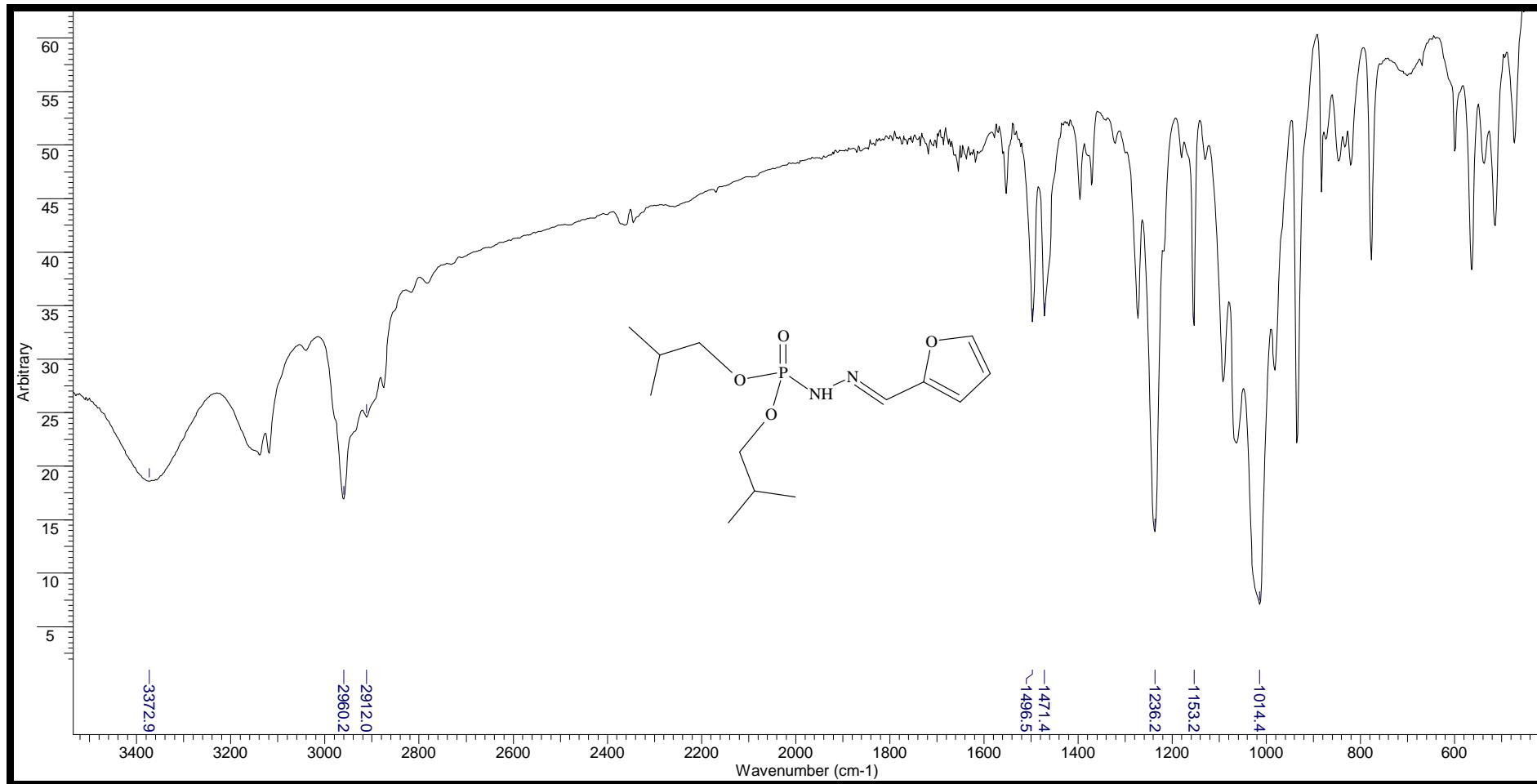


Figura 103 – Infravermelho do Ácido N’-[(*1 E*)-2- furanilmetíleno] diisobutiléster fosforilhidrazínico (8A) em célula de NaCl.

File: c:\cg-ms (rotina)\data\joao\henriqueta\ibuo-11.sms

Sample: IBuO-11

Scan Range: 1 - 1871 Time Range: 0.00 - 16.20 min.

Operator: Frances

Date: 10/29/07 11:12 AM

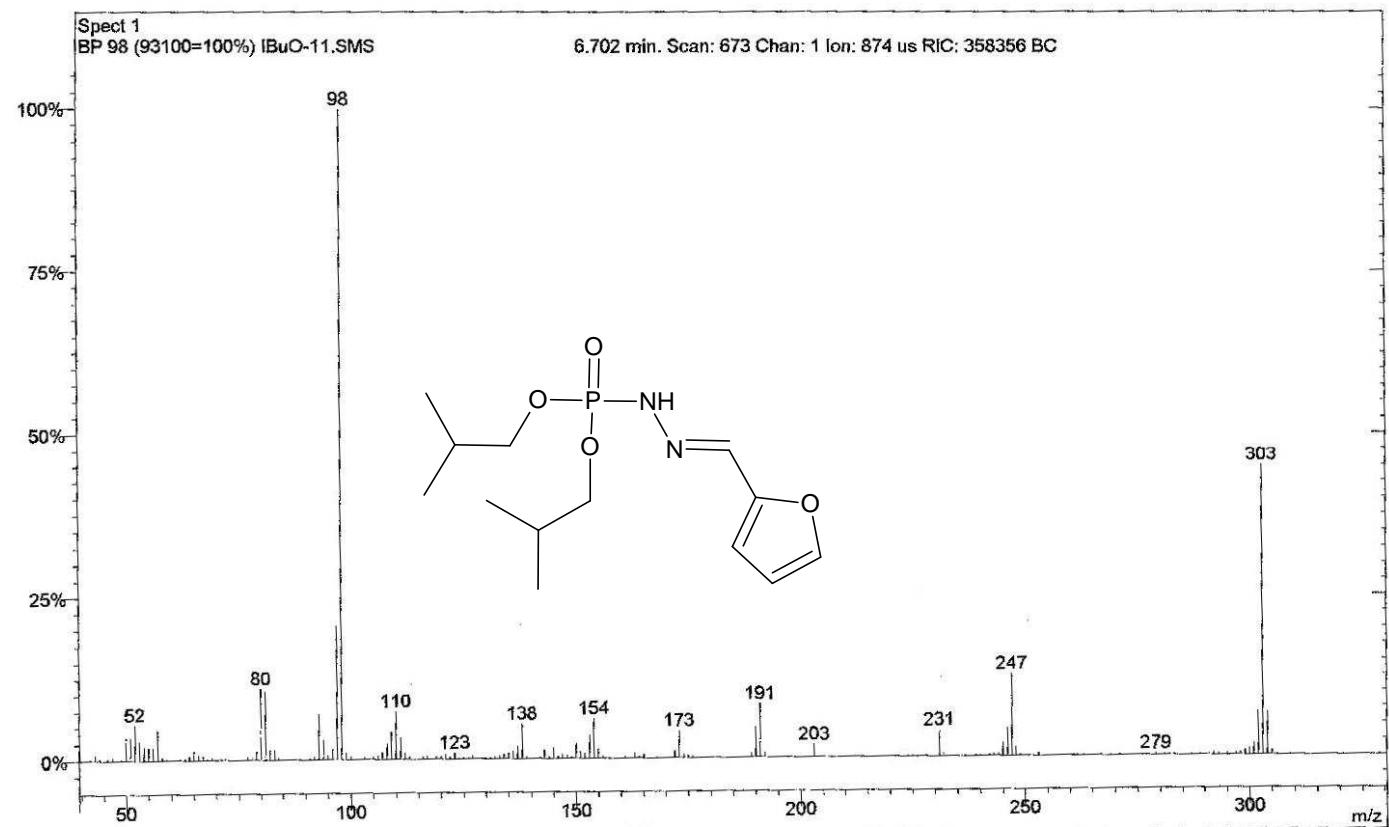


Figura 104 - Espectro de massas do Ácido N'-(*1 E*)-2- furanilmetíleno] diisobutiléster fosforihidrazínico (8A).

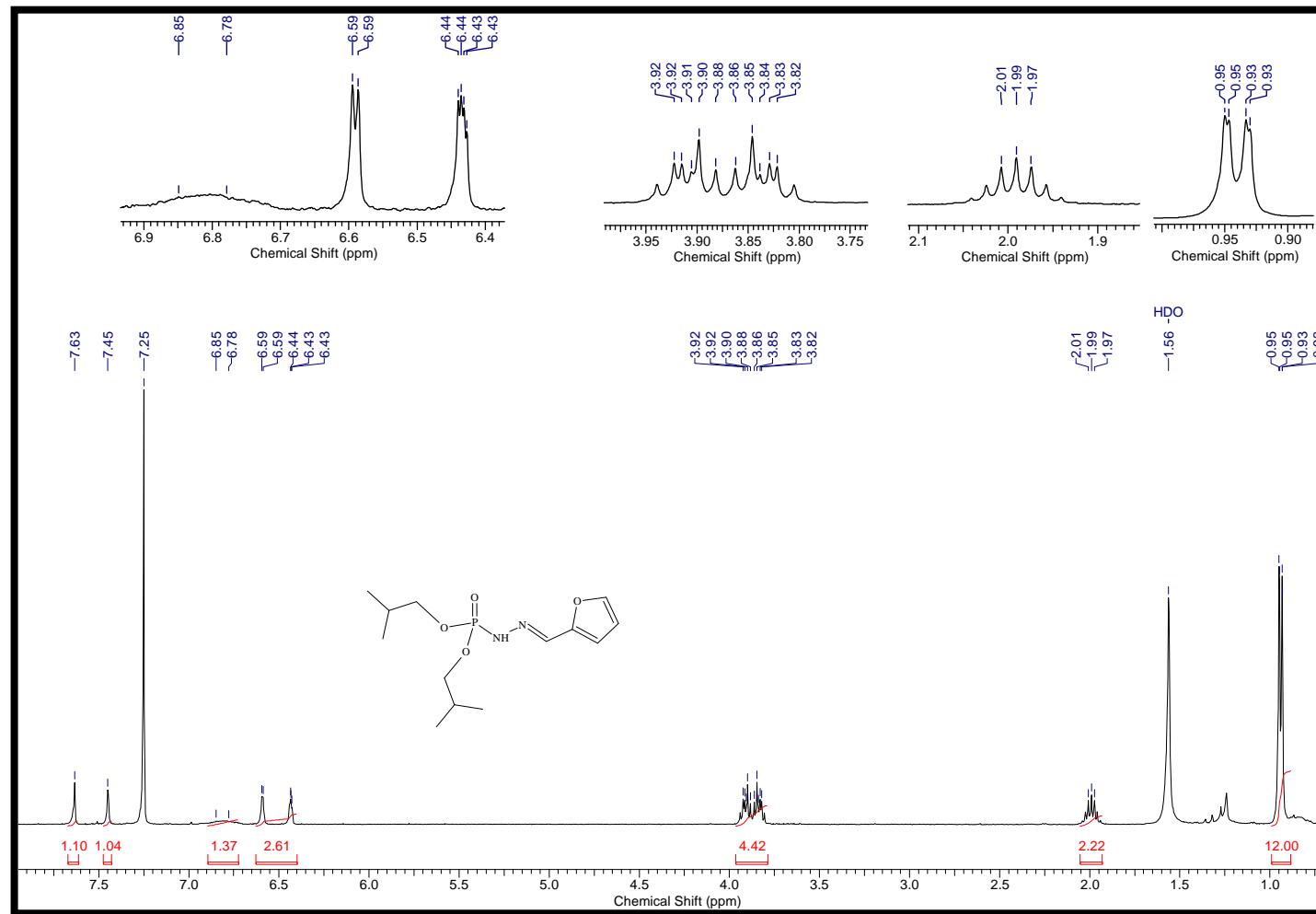


Figura 105 - Espectro de RMN-¹H do Ácido N'-(1*E*)-2-furanilmetileno diisobutilléster fosforilhidrazínico (8A) em CDCl₃ - 400MHz.

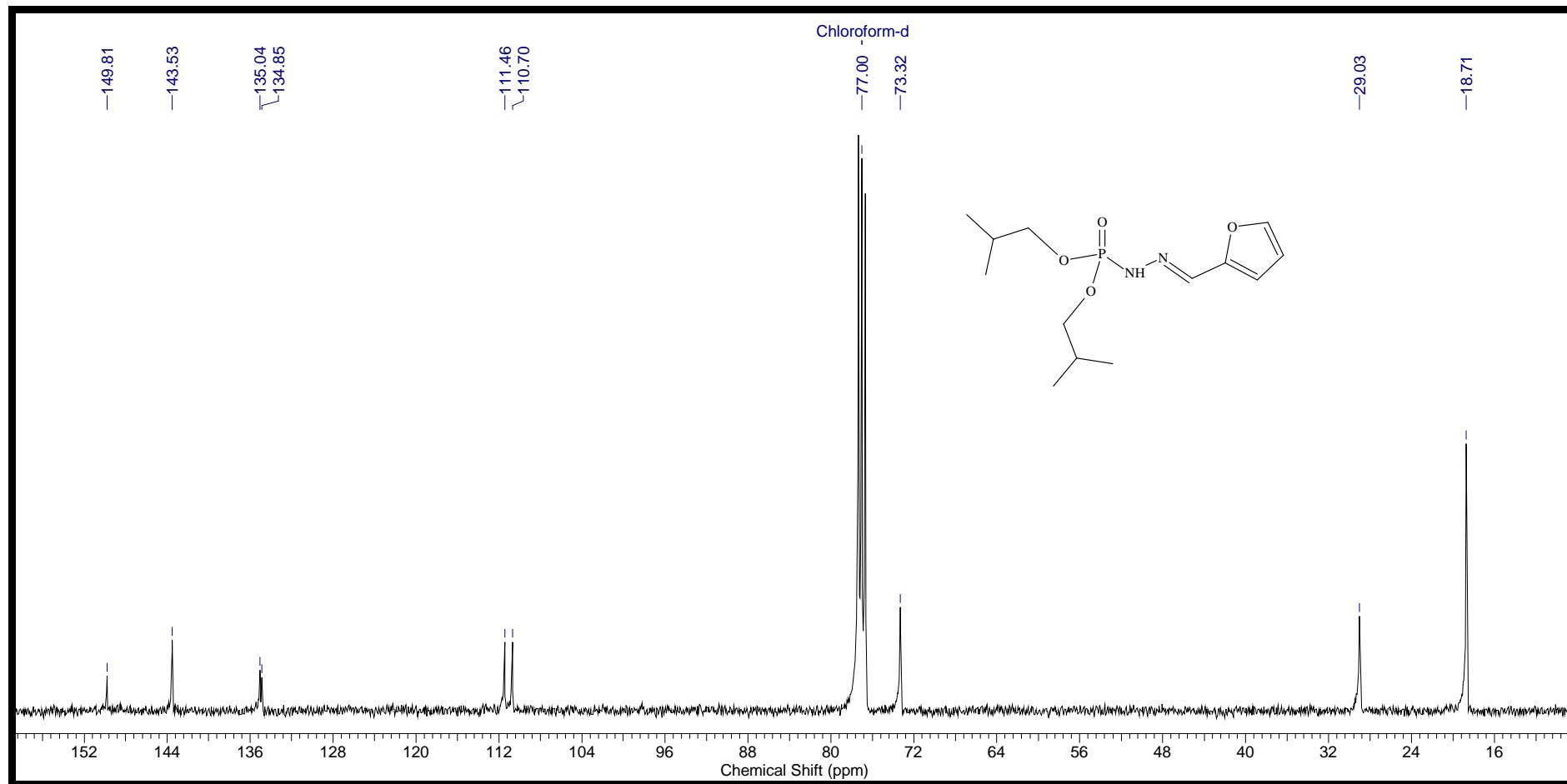


Figura 106 - Espectro de RMN-¹³C do Ácido N'-(1 *E*)-2- furanilmetíleno] diisobutiléster fosforilhidrazínico (8A) em CDCl₃ - 100MHz.

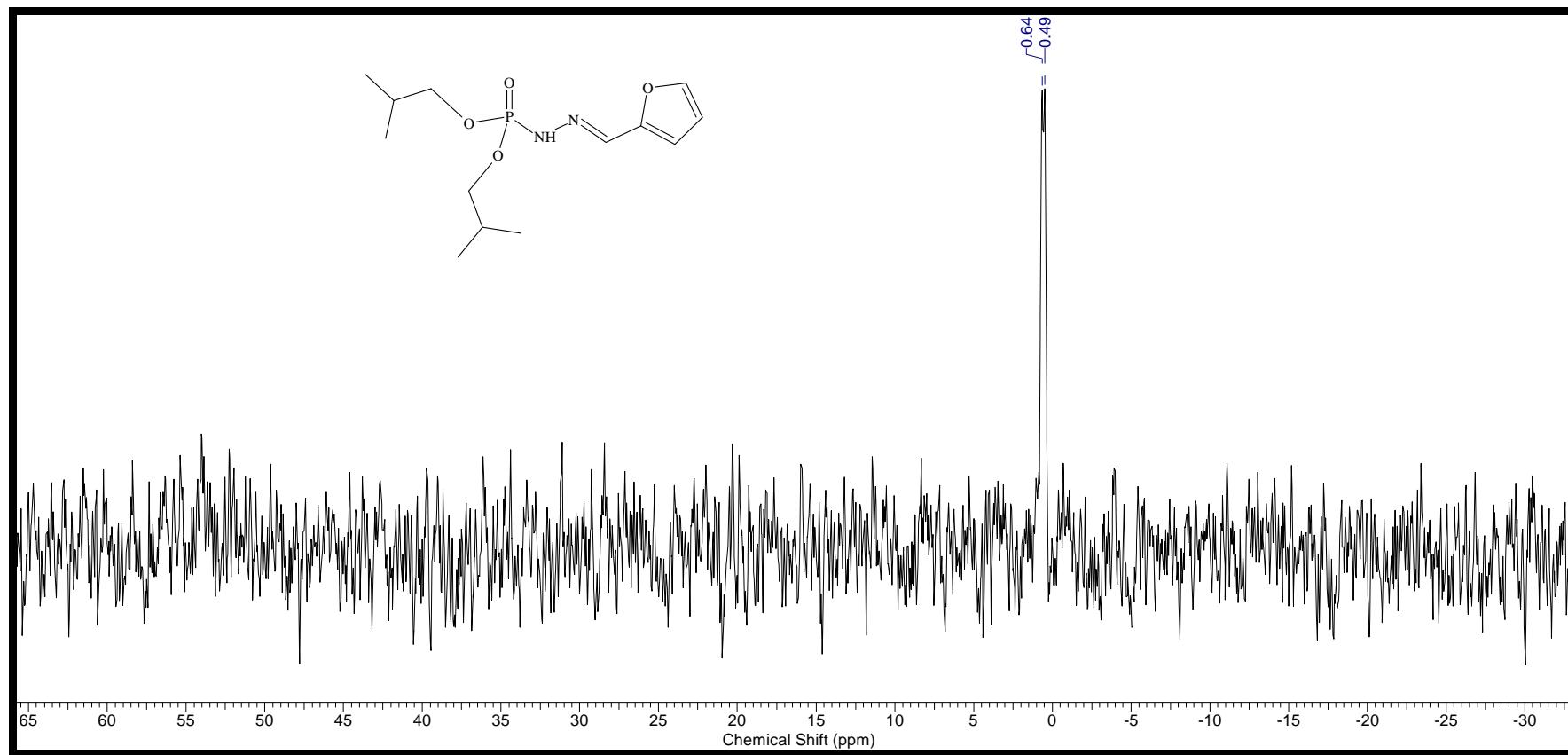


Figura 107 - Espectro de RMN- ^{31}P do Ácido N'-(1 *E*)-2- furanilmetíleno] diisobutiléster fosforilhidrazínico (8A) em CDCl_3 - 162MHz.

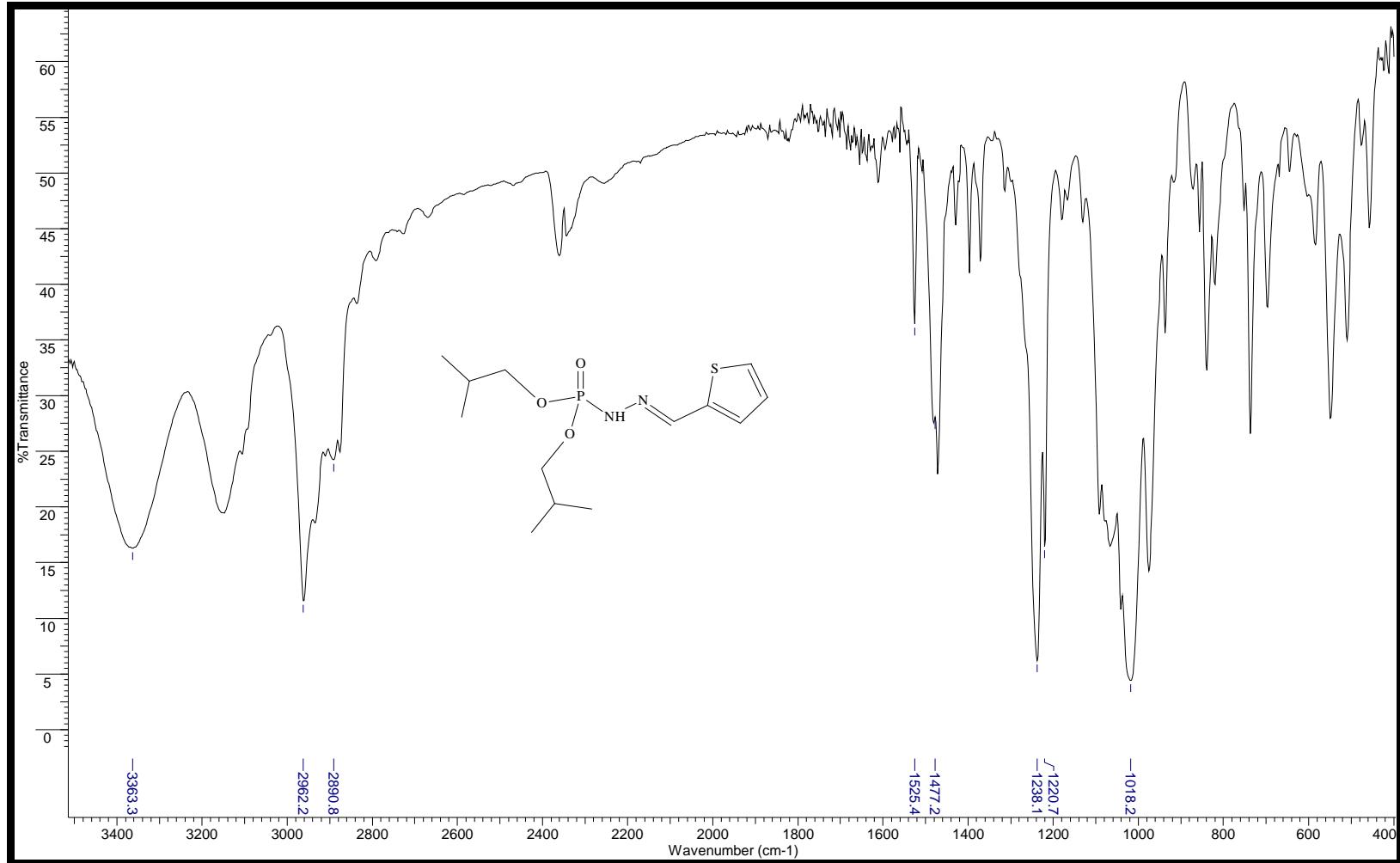


Figura 108 - Infravermelho do Ácido N'-(1 *E*-2- tienilmetíleno)- diisobutilléster fosforilhidrazínico (8B) em célula de NaCl.

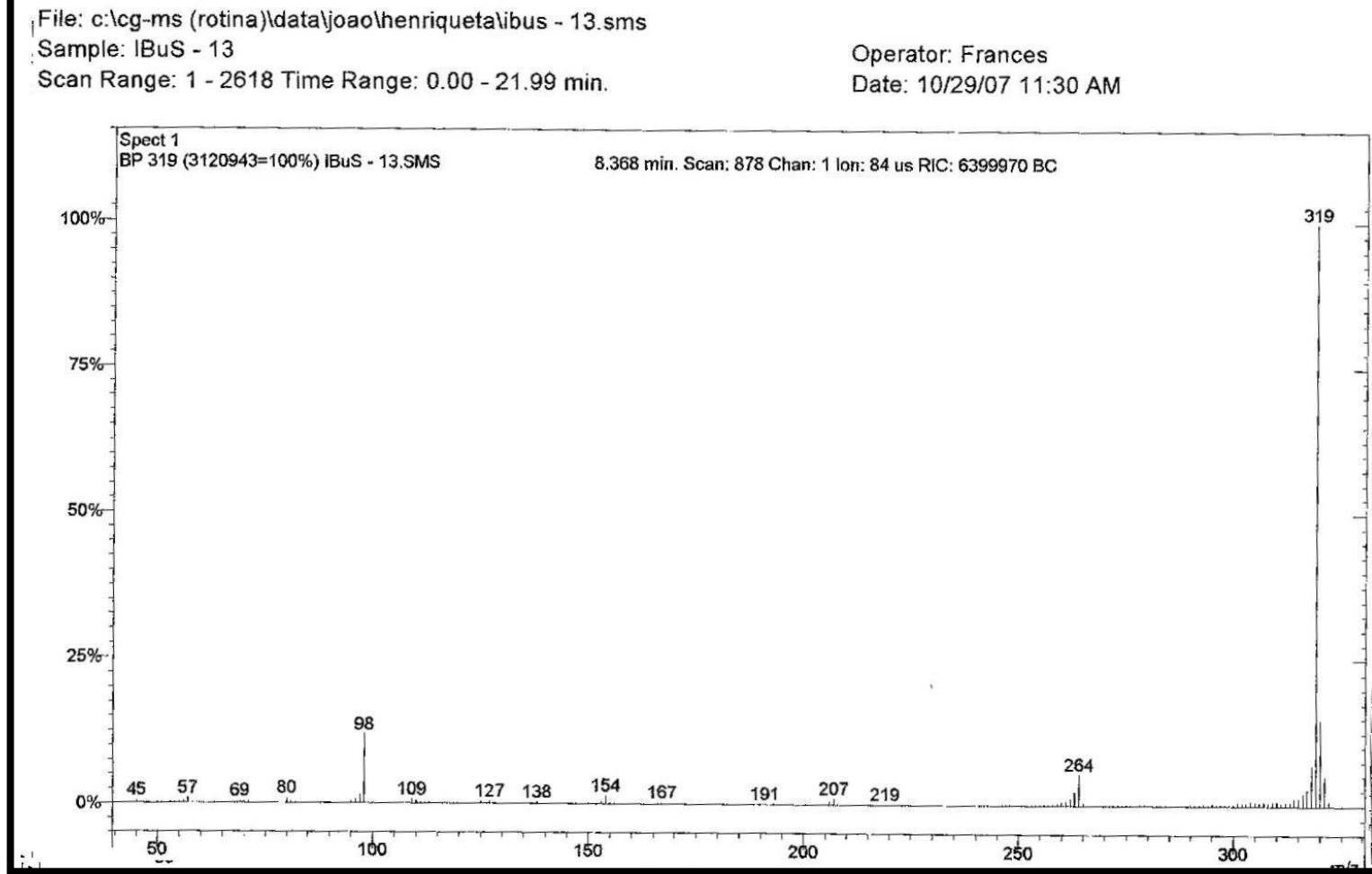


Figura 109 - Espectro de massas do Ácido N'-(*(1 E)-2- tienilmetíleno*)- diisobutilléster fosforilhidrazínico (8B).

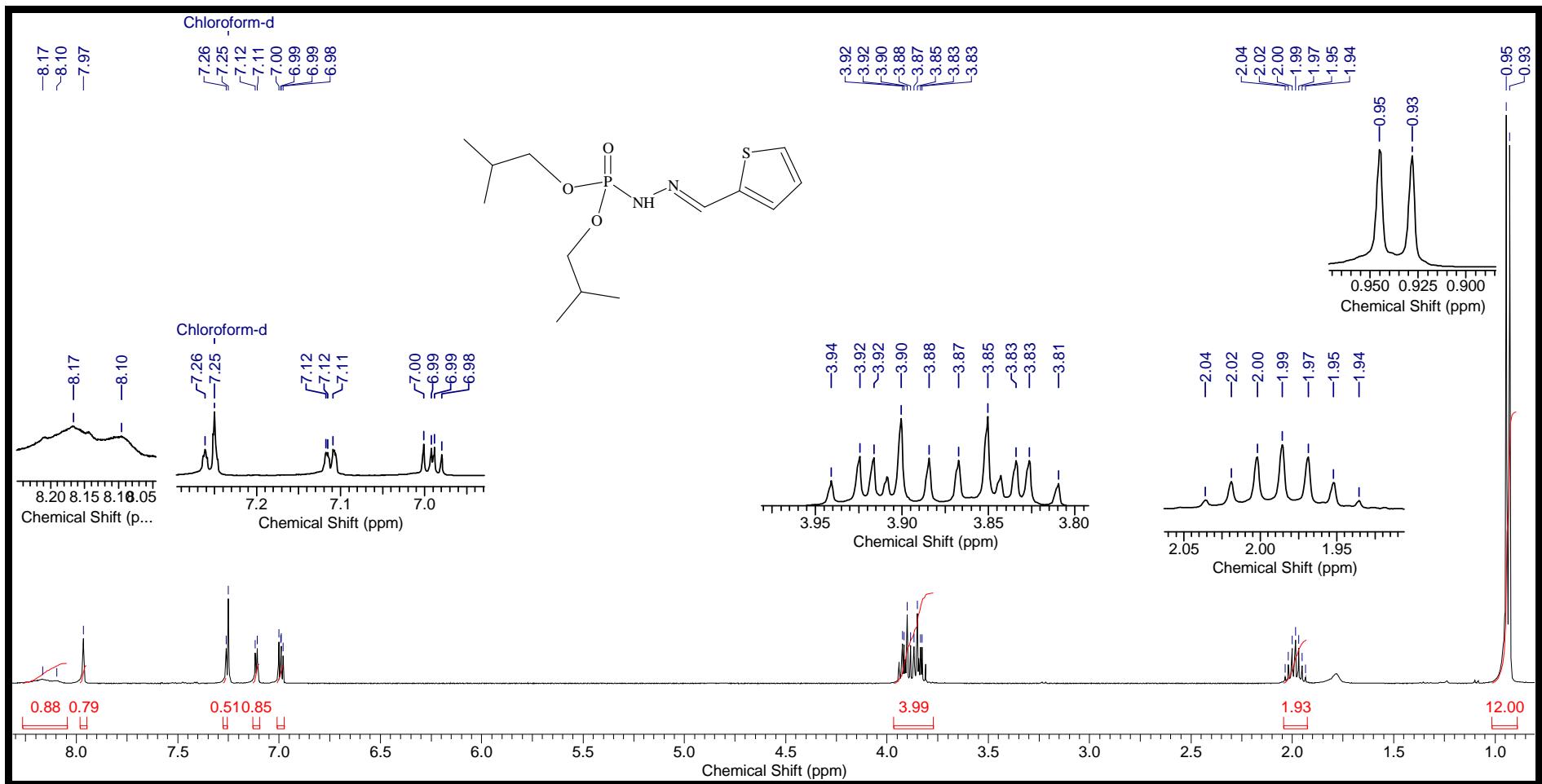


Figura 110 - Espectro de RMN-¹H do Ácido N'-(1 E)-2- tienilmetíleno- diisobutilléster fosforilhidrazínico (8B) em CDCl₃ - 400MHz.

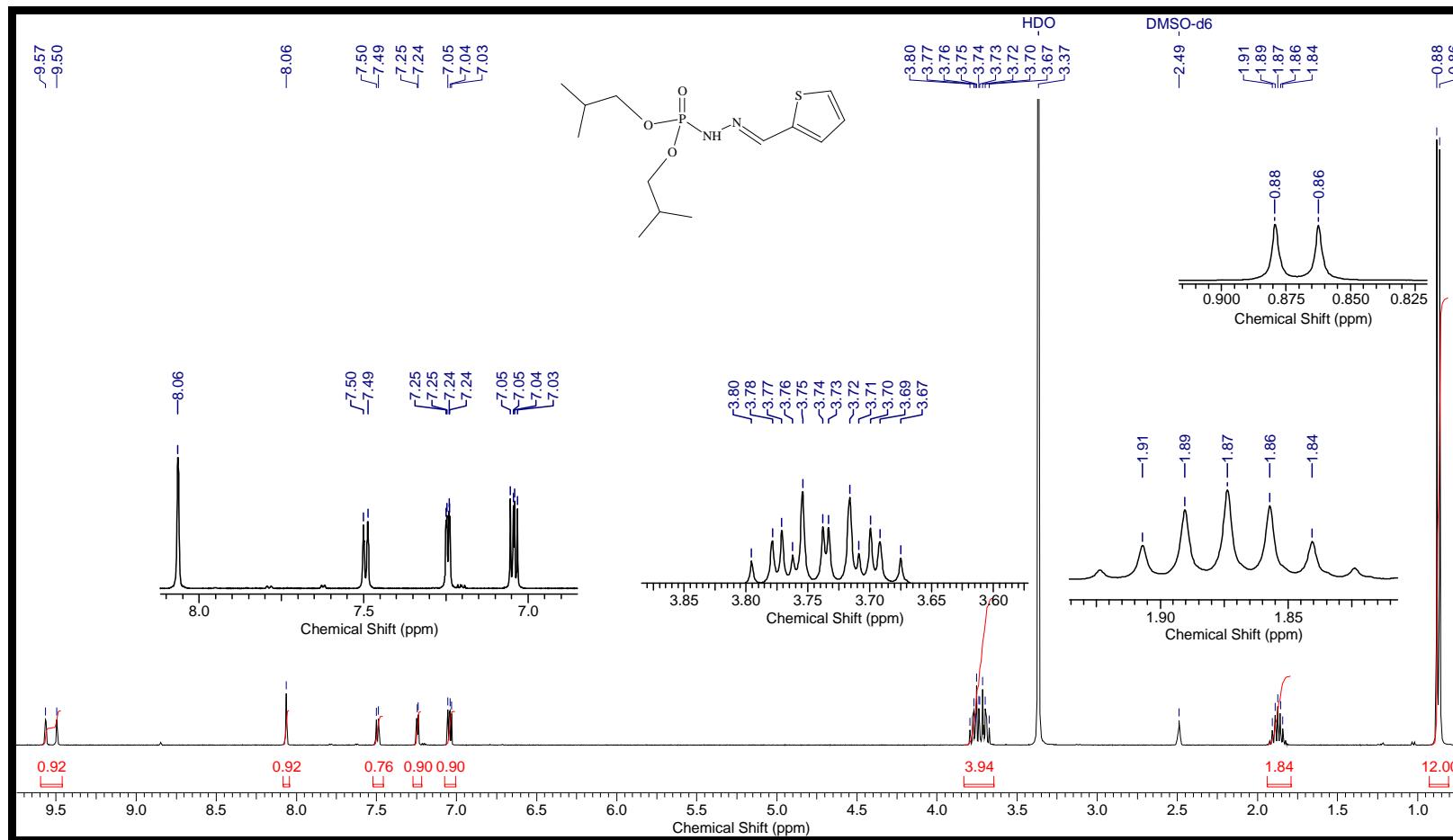


Figura 111 - Espectro de RMN-¹H do Ácido N’-[*(1 E)*-2- tienilmetíleno]- diisobutilléster fosforilhidrazínico (8B) em DMSO-400MHz.

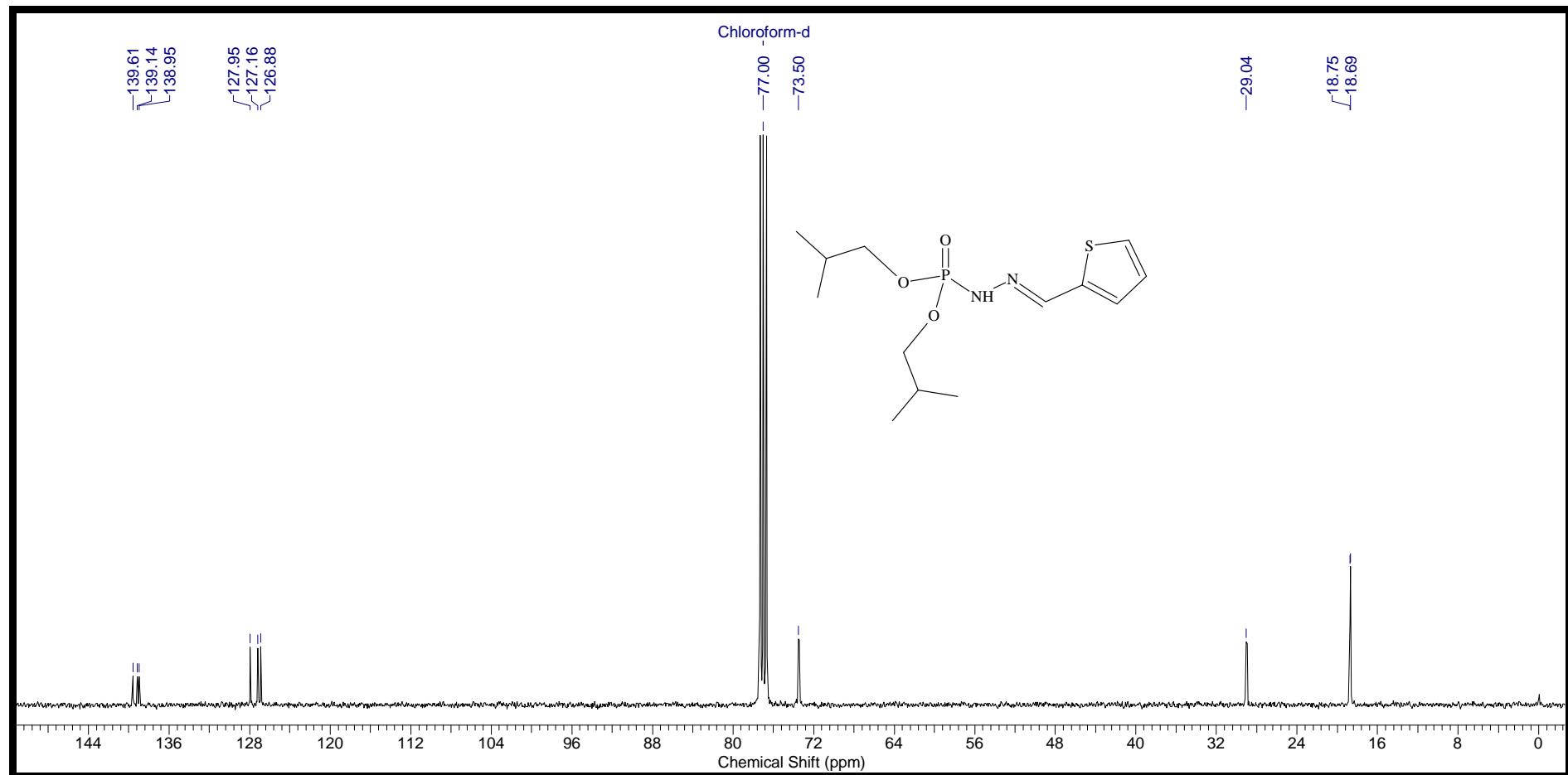


Figura 112 - Espectro de RMN-¹³C do Ácido N’-[*(1 E)*-2- tienilmetíleno]- diisobutilléster fosforilhidrazínico (8B) em CDCl₃-100MHz.

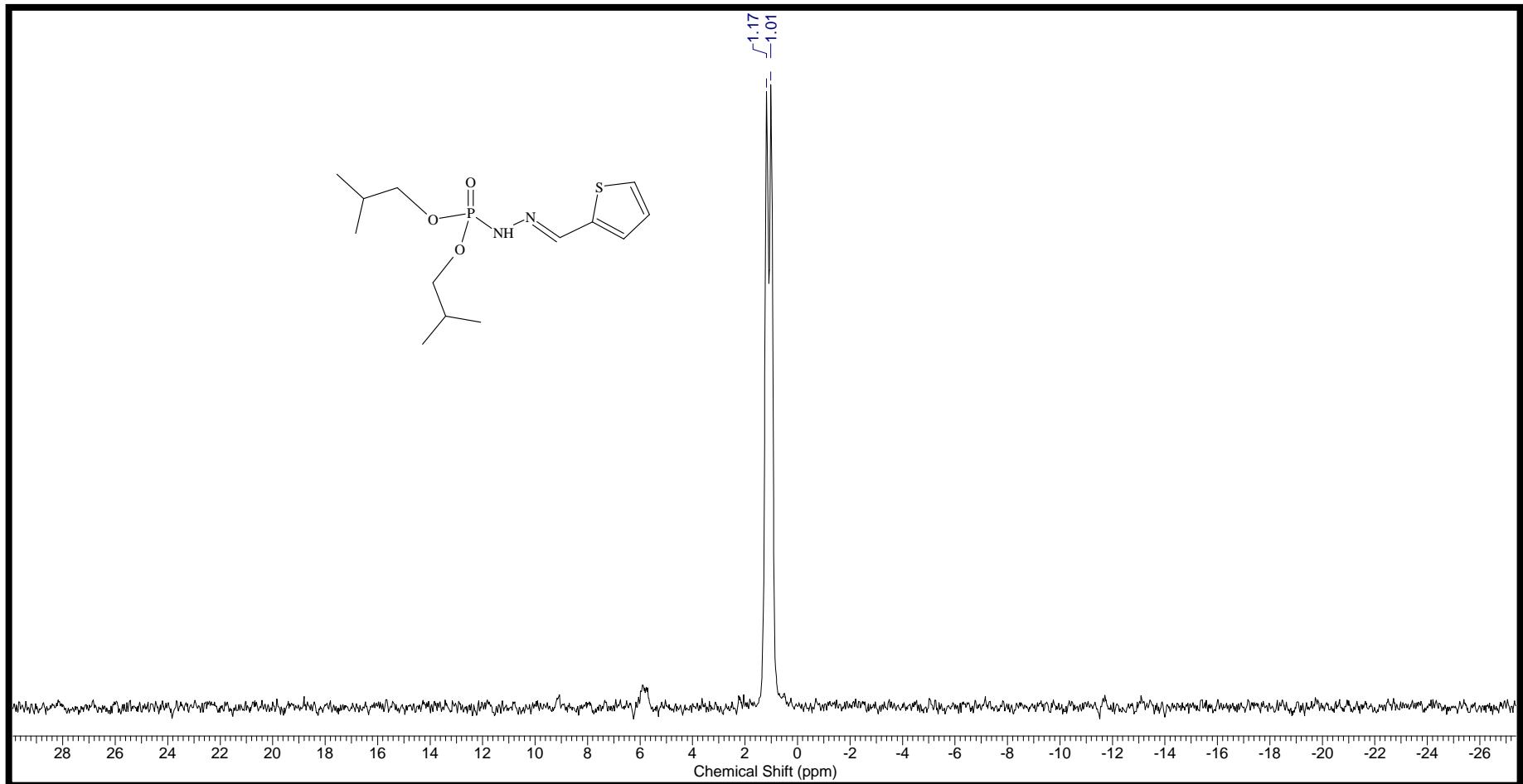


Figura 113 - Espectro de RMN-³¹P do Ácido N'-(1 E)-2- tienilmetíleno]- diisobutiléster fosforilhidrazínico (8B) em CDCl₃ -162MHz.

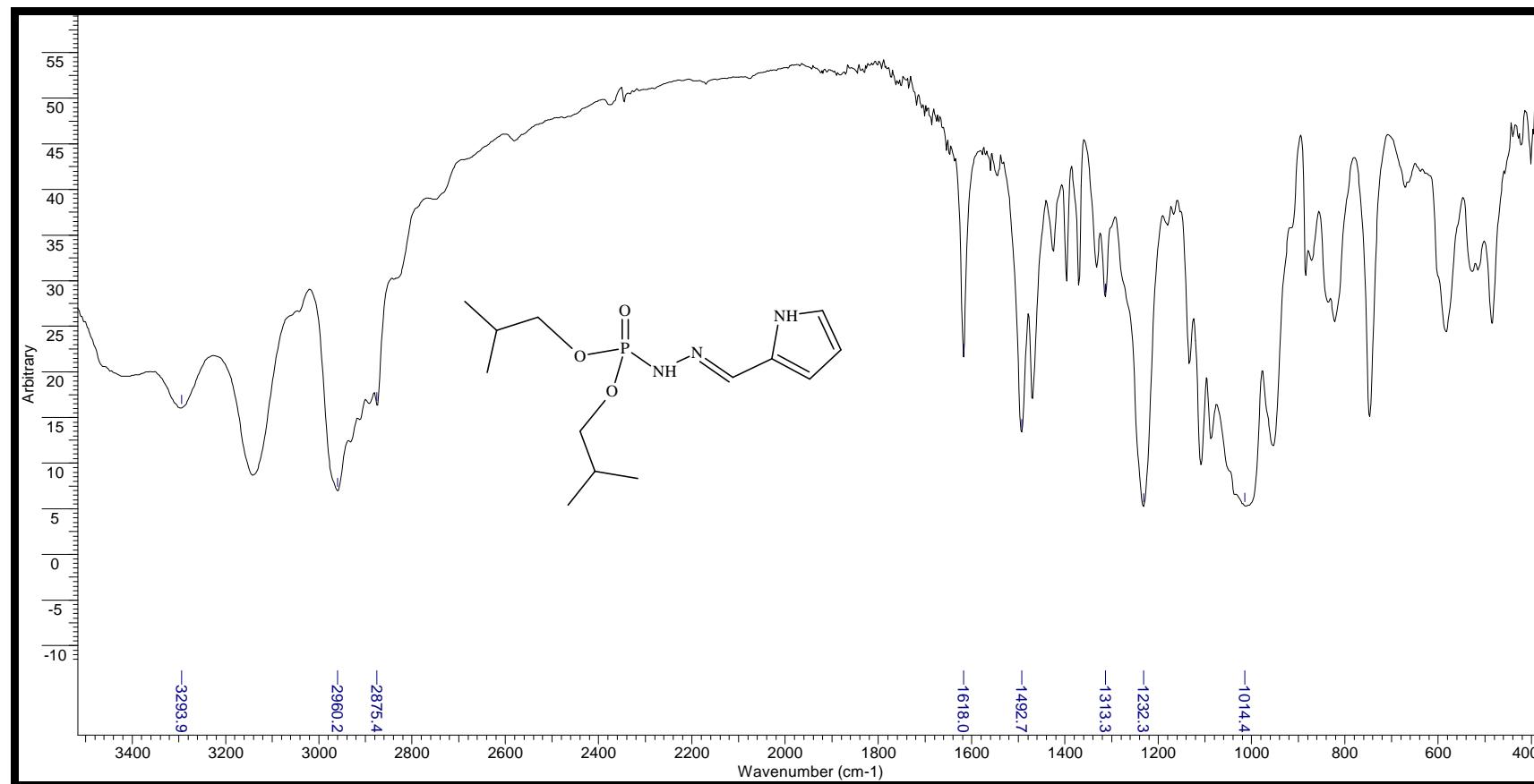


Figura 114 - Infravermelho do Ácido N'-(1 *E*-1H-pirrol-2-ilmetíleno) diisobutiléster fosforilhidrazínico (8C) em célula de NaCl.

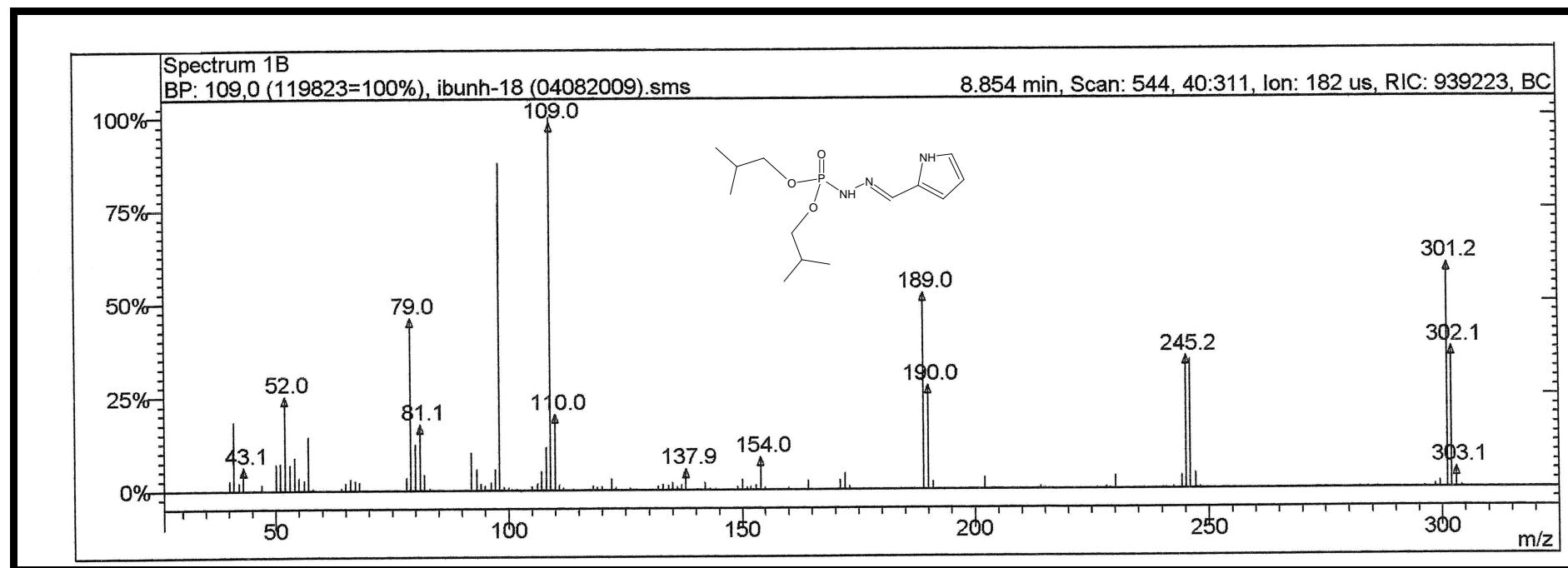


Figura 115 - Espectro de massas do Ácido N'-(1 *E*)-1H-pirrol-2-ilmetíleno] diisobutiléster fosforilhidrazínico (8C).

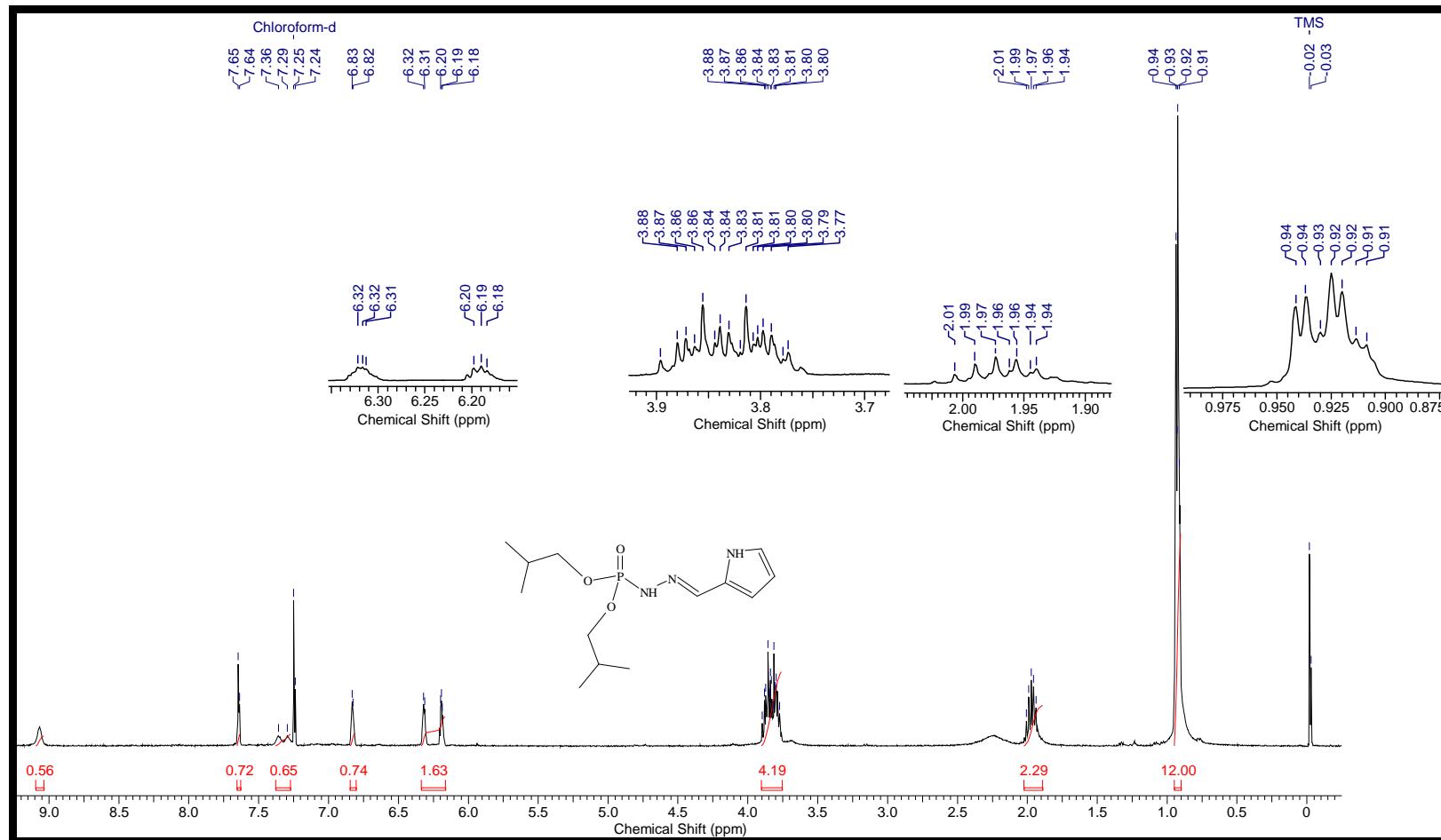


Figura 116 - Espectro de RMN-¹H do Ácido N'-[(1 E)-1H-pirrol-2-ilmetíleno] diisobutiléster fosforilhidrazínico (8C) em CDCl₃-400MHz.

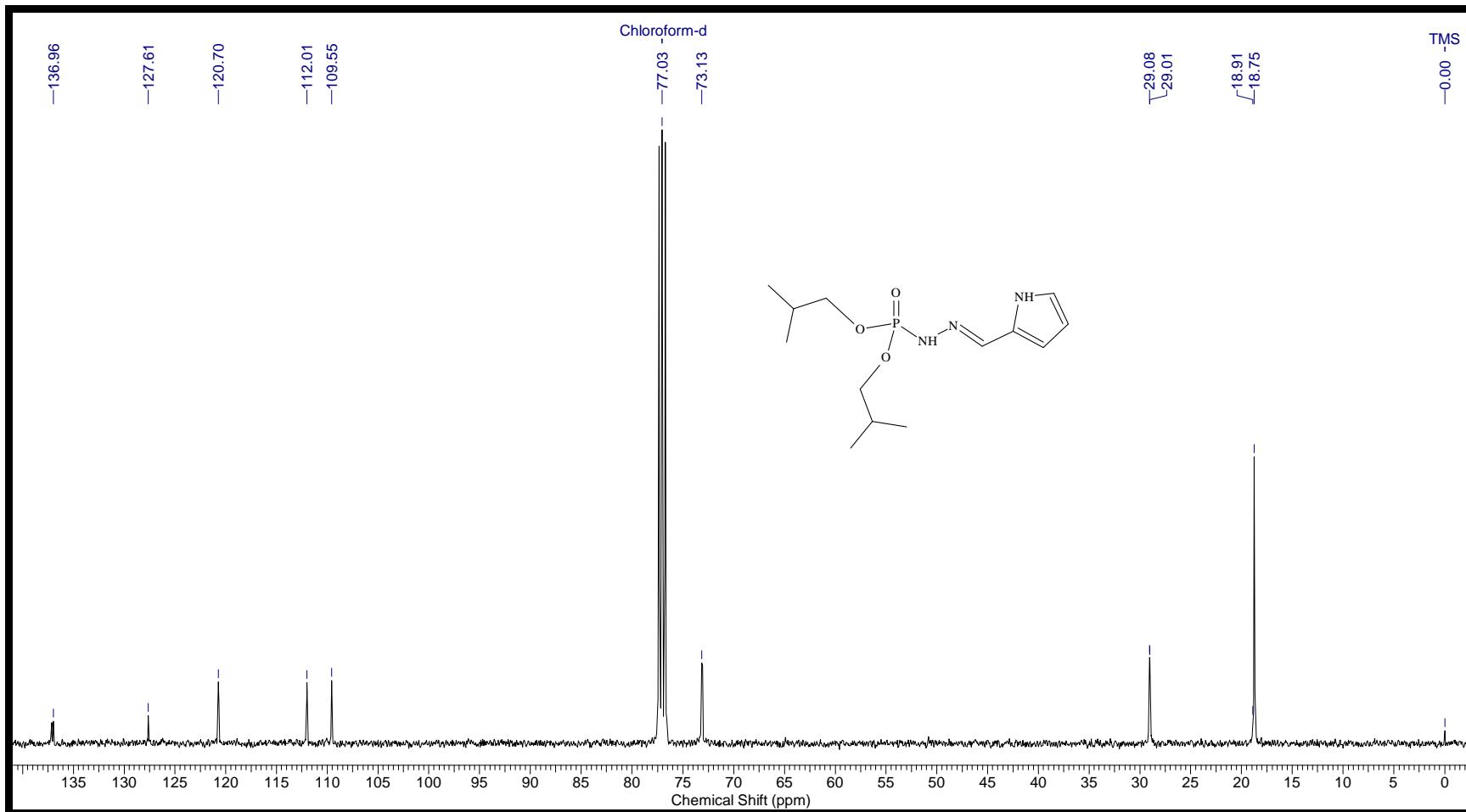


Figura 117 - Espectro de RMN- ^{13}C do Ácido N'-(1 *E*)-1H-pirrol-2-ilmetíleno diisobutiléster fosforilhidrazínico (8C) em CDCl_3 - 100MHz.

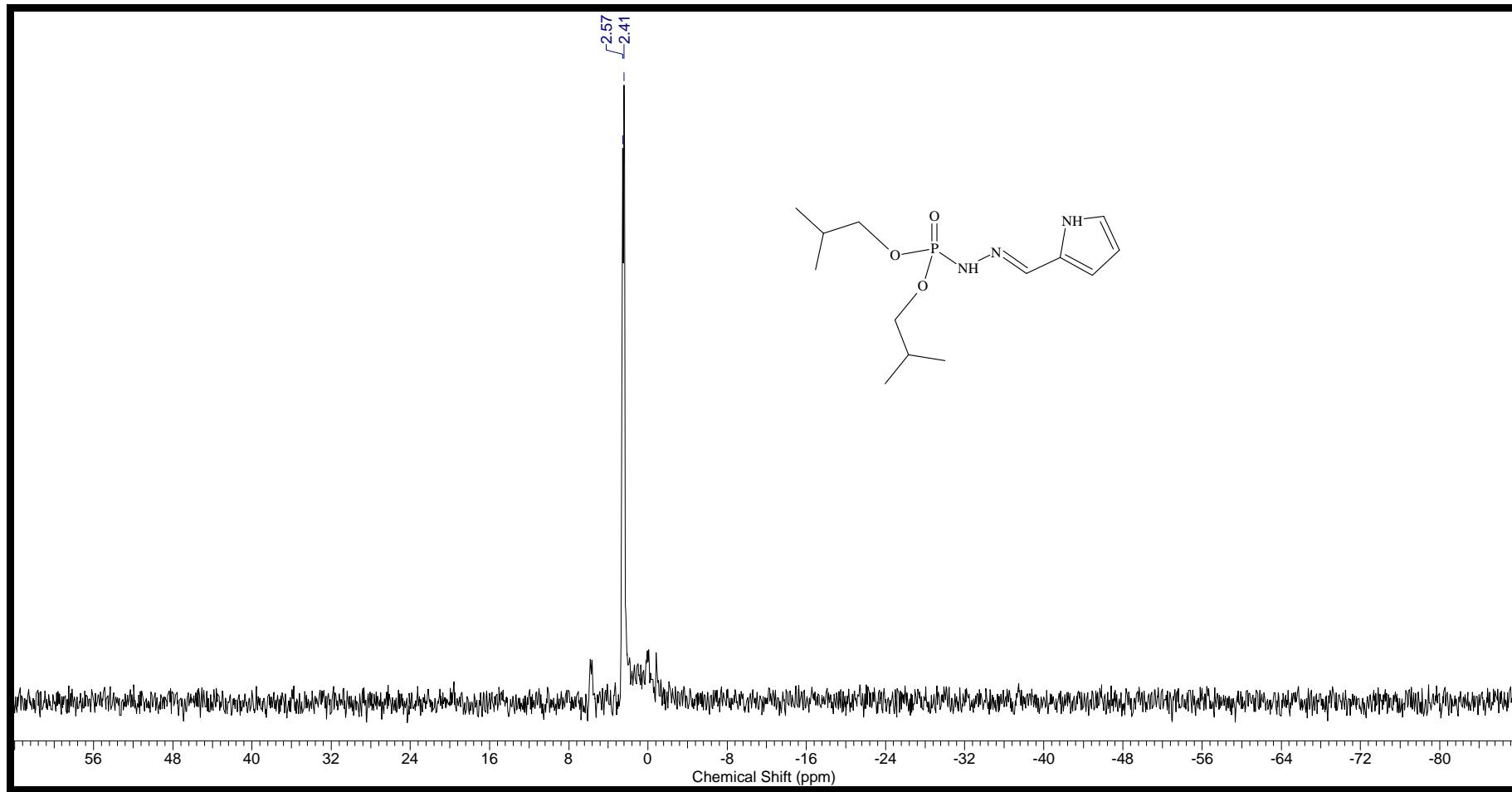


Figura 118 - Espectro de RMN- ^{31}P do Ácido N'-[(*E*)-1H-pirrol-2-ilmetileno] diisobutiléster fosforilhidrazínico (8C) em CDCl_3 -162MHz.

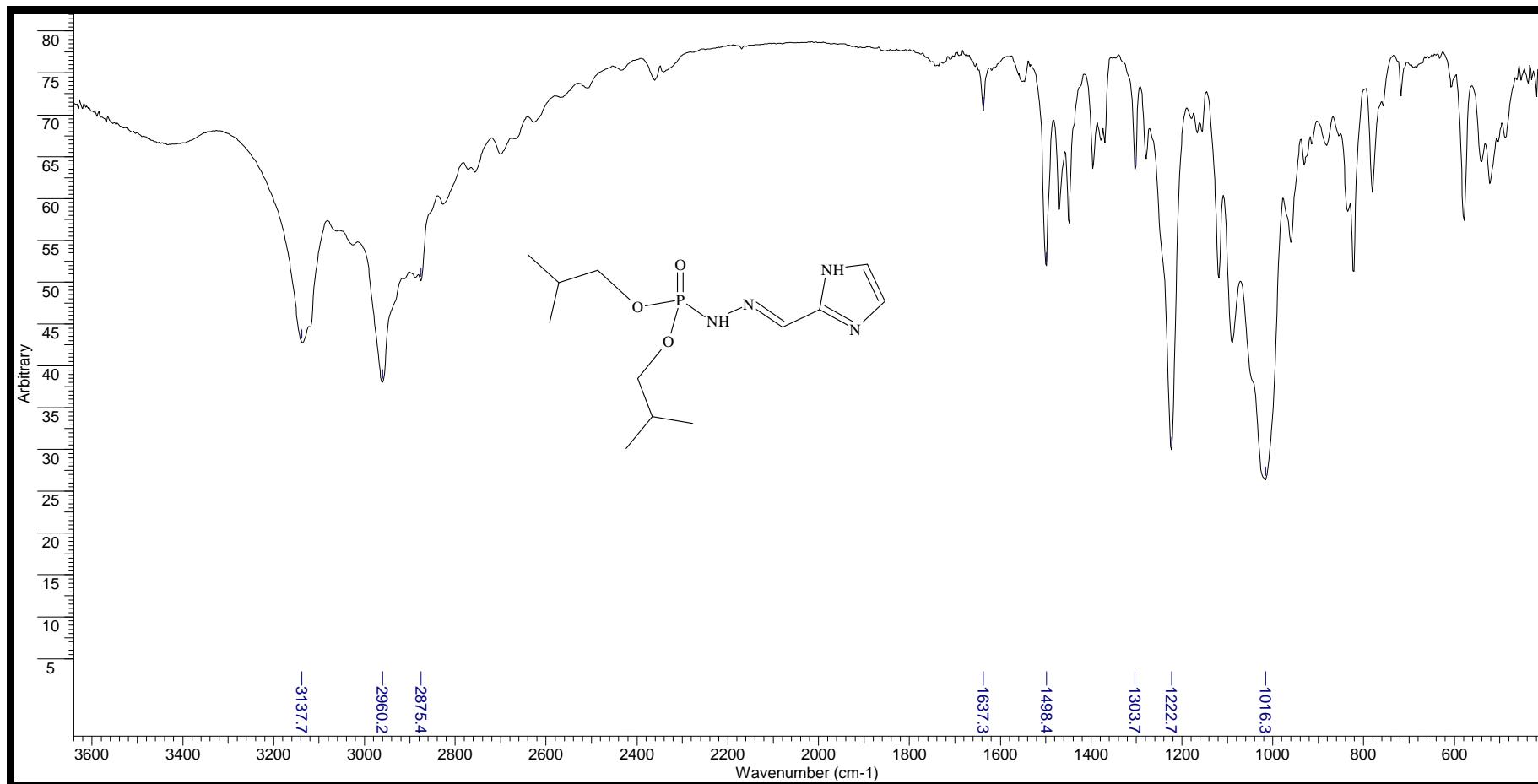


Figura 119 - Infravermelho do Ácido N'-(1 E)-1 H- imidazol-2-ilmetileno] diisobutiléster fosforilhidrazínico (8D) em célula de NaCl.

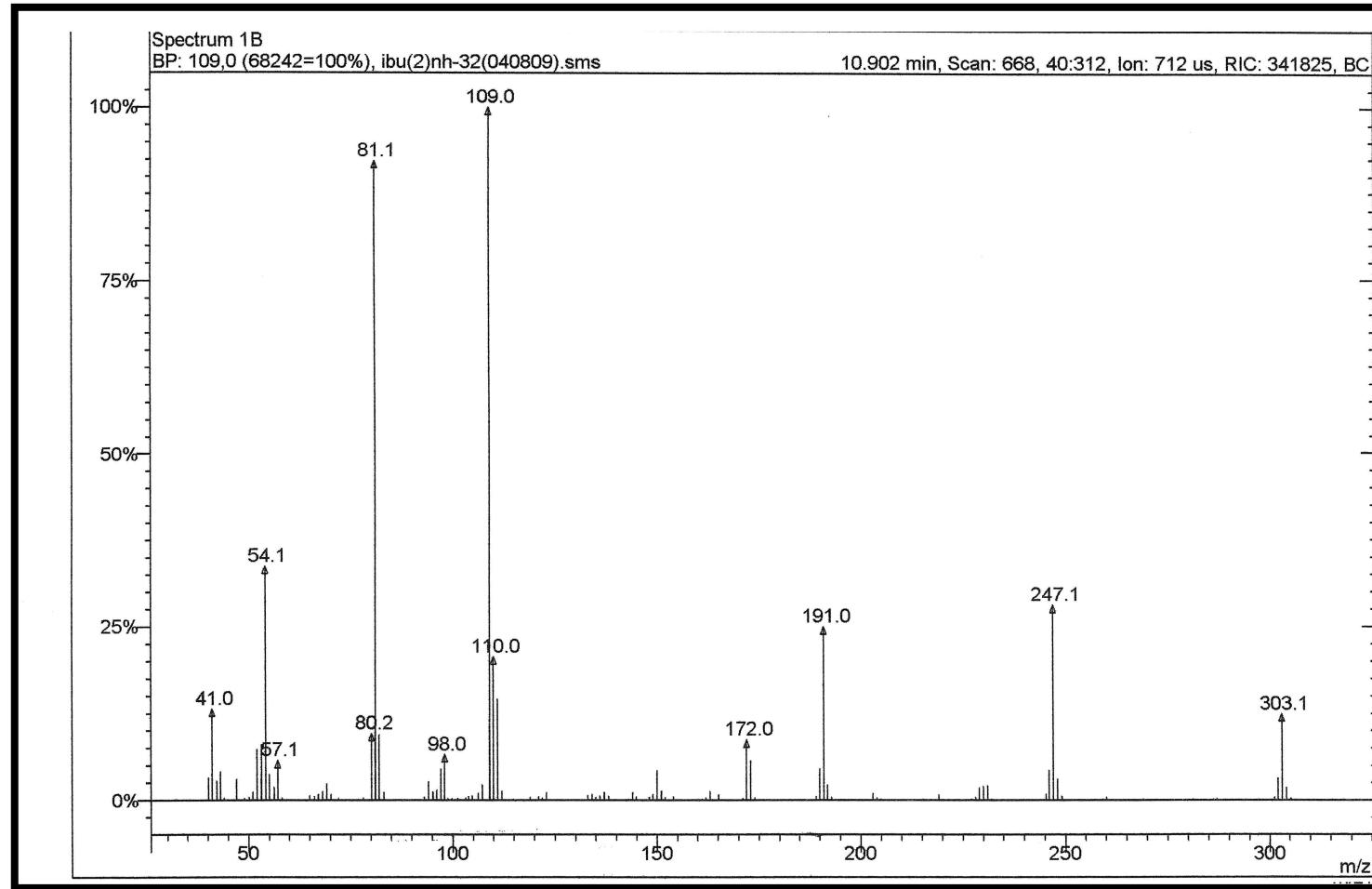


Figura 120 - Espectro de massas do Ácido N'-[*(1 E)-1 H- imidazol-2-ilmetileno*] diisobutiléster fosforilhidrazínico (8D).

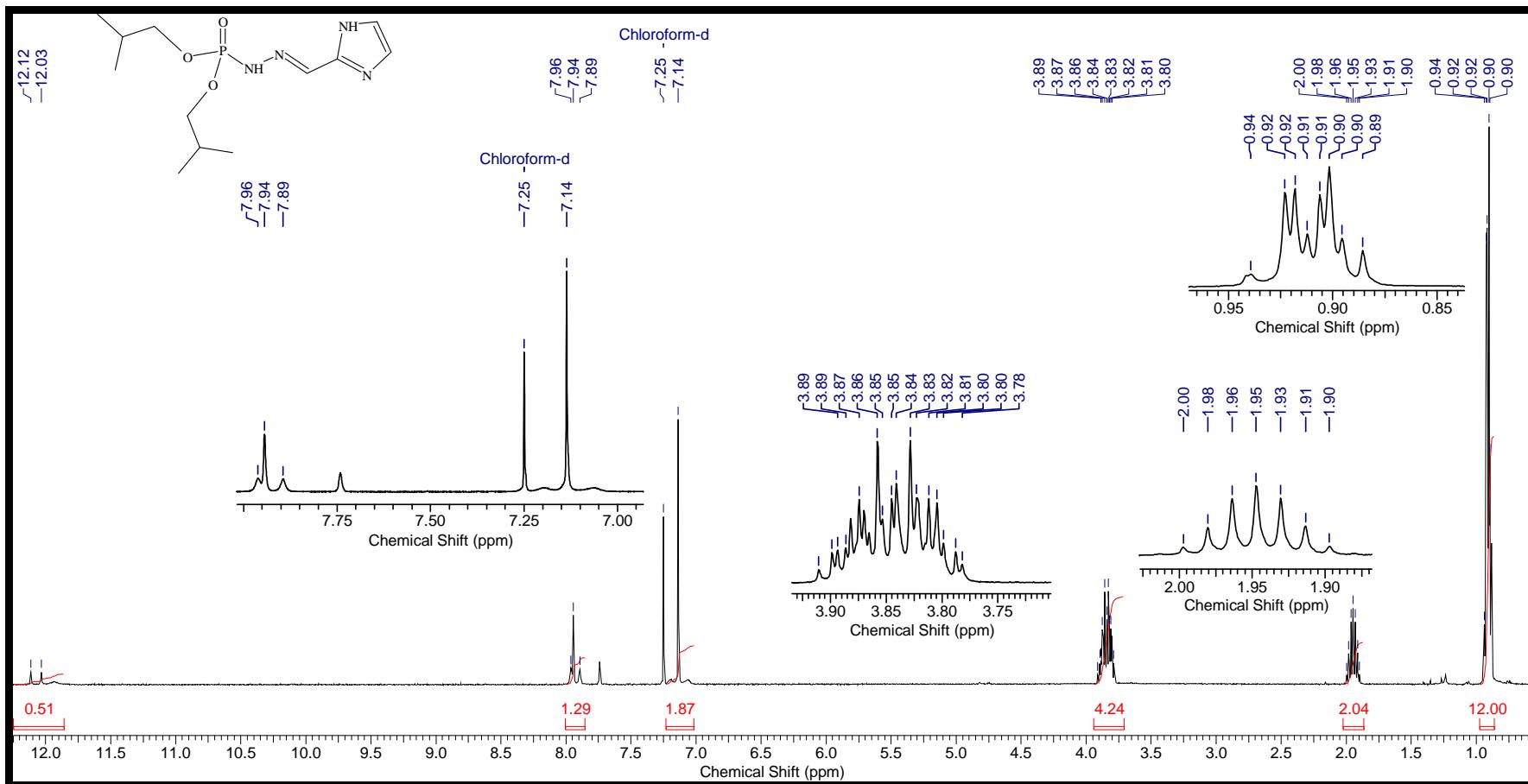


Figura 121 - Espectro de RMN- ^1H do Ácido N'-(1 *E*-1 H- imidazol-2-ilmetileno) diisobutiléster fosforilhidrazínico (8D) em CDCl_3 - 400MHz.

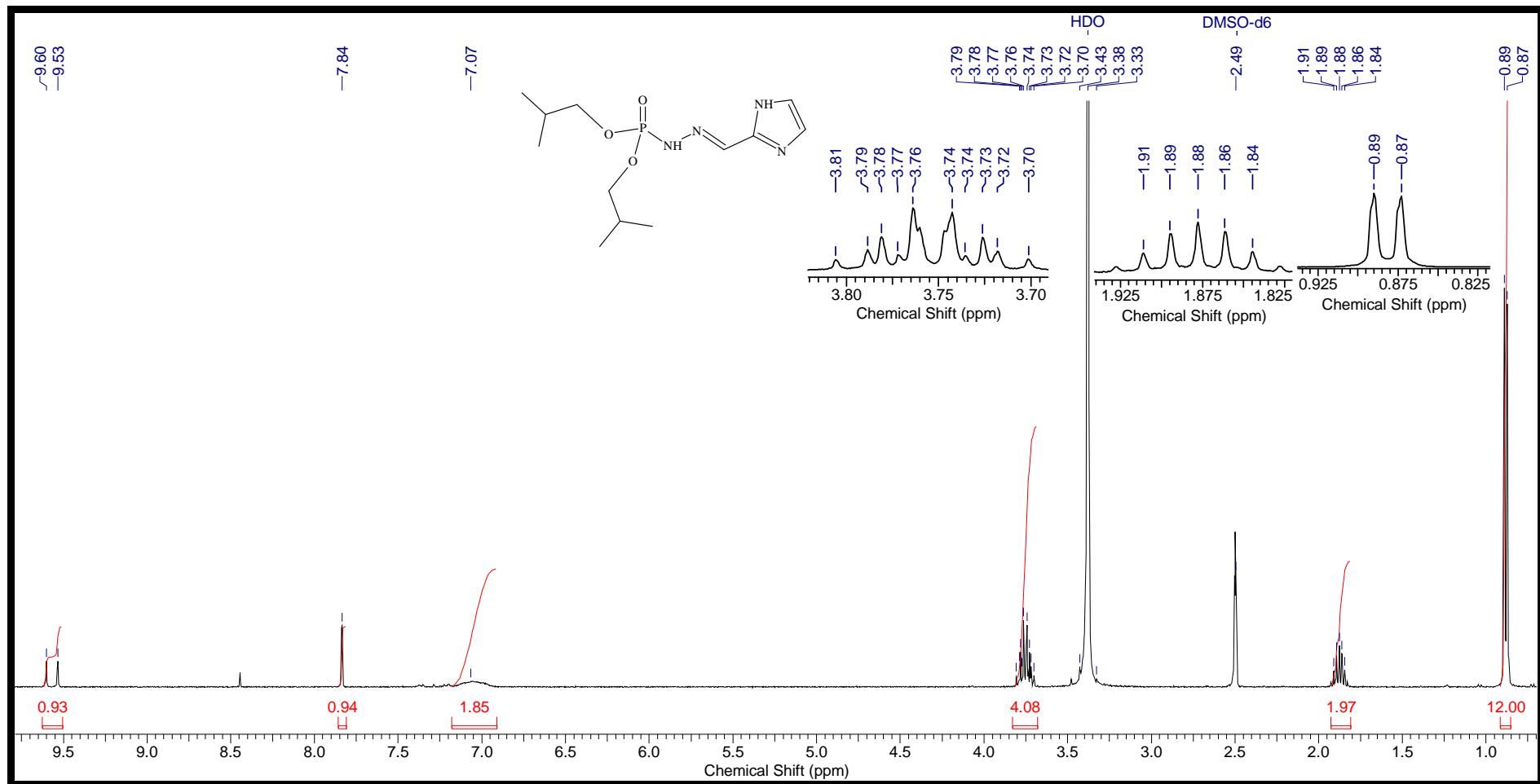


Figura 122 - Espectro de RMN- ^1H do Ácido N'-[(1 E)-1 H- imidazol-2-ilmetileno] diisobutiléster fosforilhidrazínico (8D) em DMSO-400MHz.

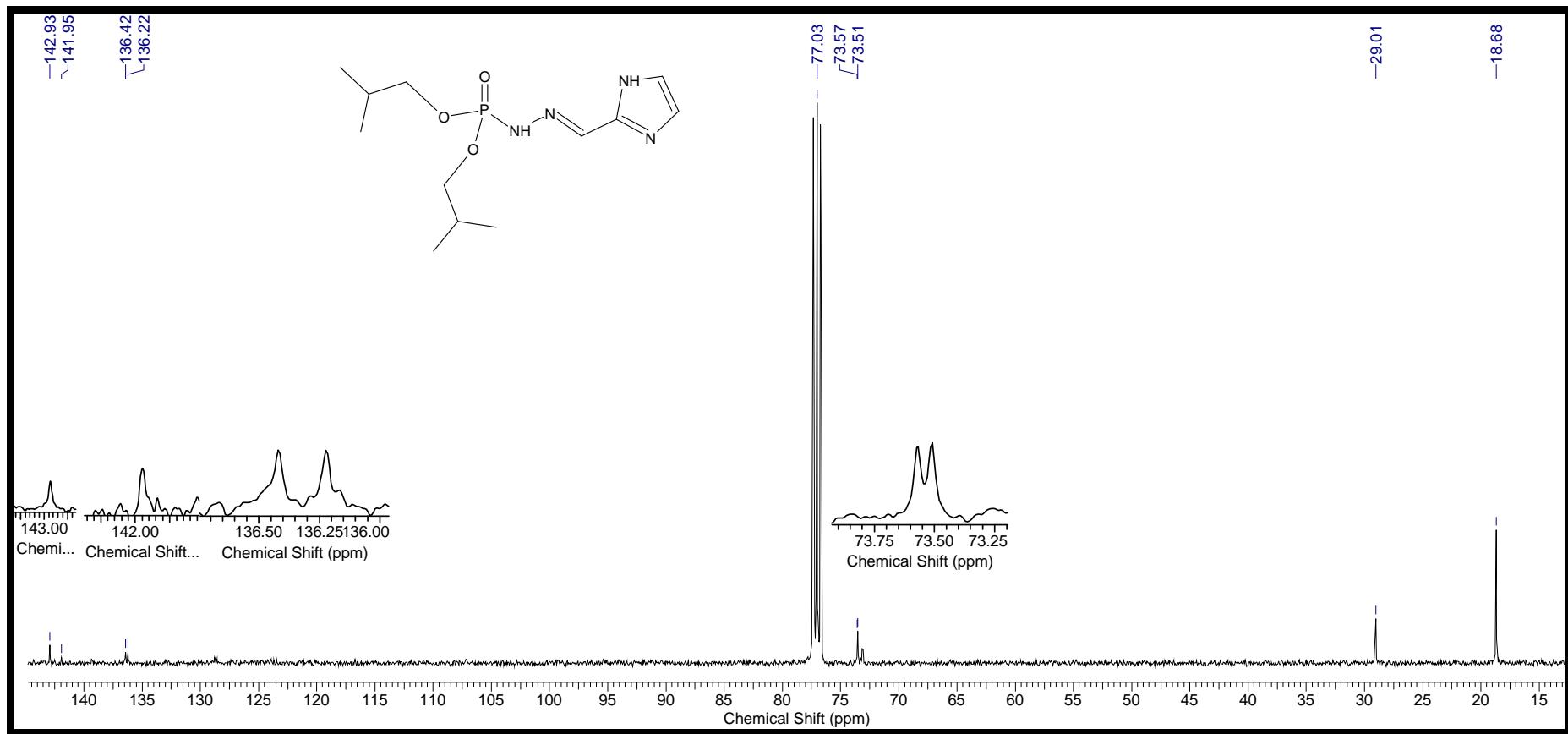


Figura 123 - Espectro de RMN- ^{13}C do Ácido N'-[(1 *E*)-1 H- imidazol-2-ilmetileno] diisobutiléster fosforilhidrazínico (8D) em CDCl_3 -100MHz.

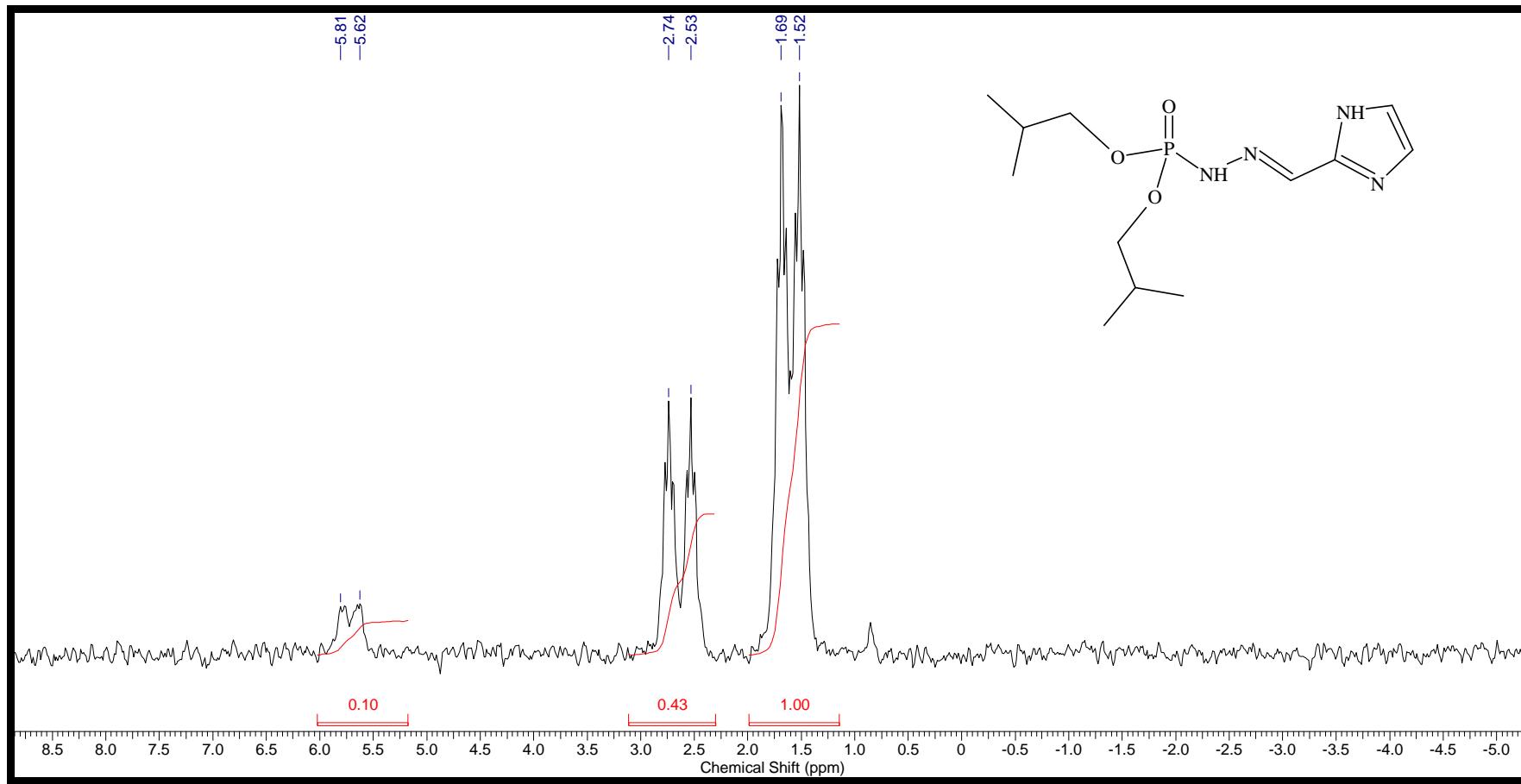


Figura 124 - Espectro de RMN- ^{31}P do Ácido N'-(1 *E*-1 H- imidazol-2-ilmetileno) diisobutiléster fosforilhidrazínico (8D) em CDCl_3 -162MHz.

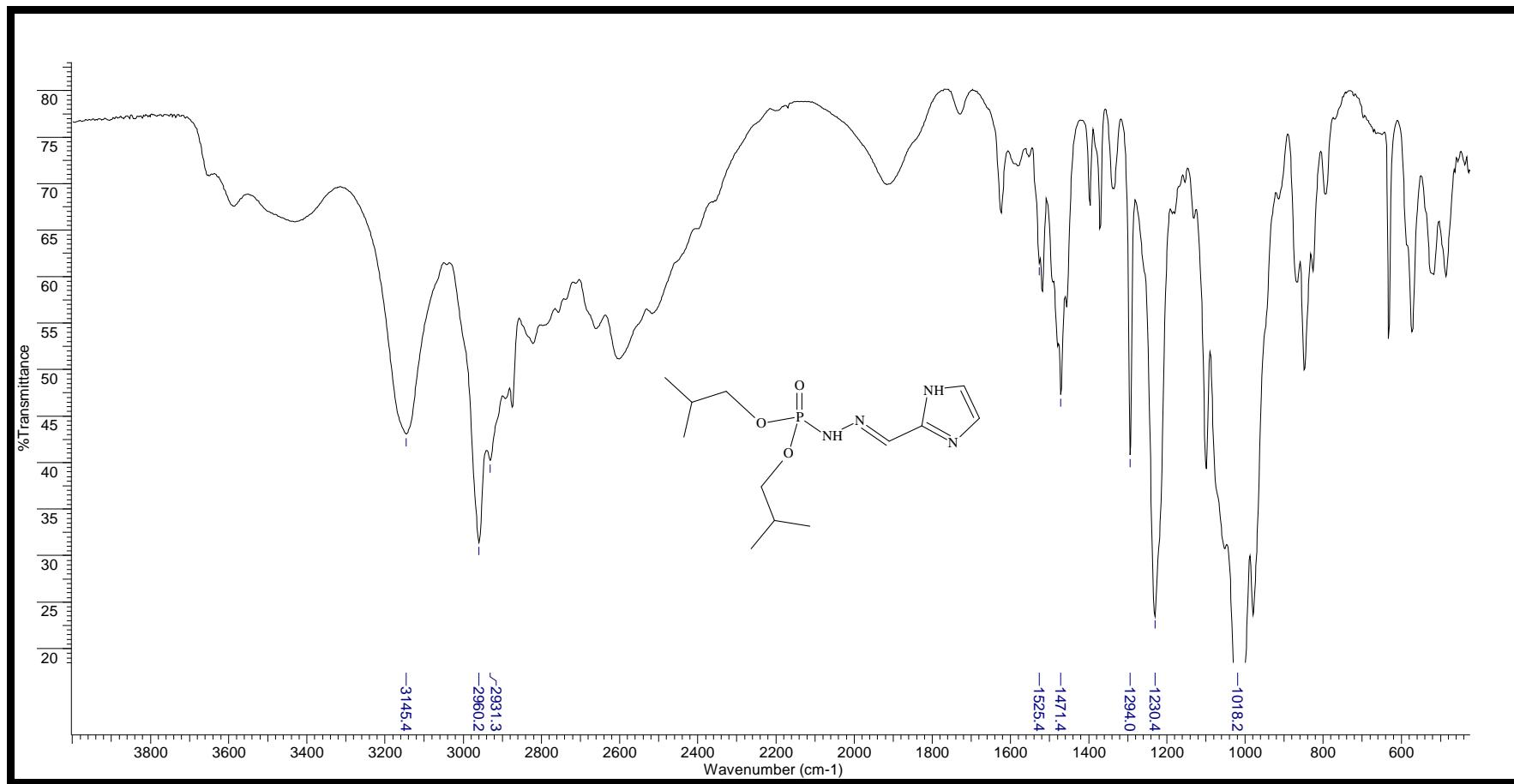


Figura 125 - Infravermelho do Ácido N'-(1 E)- 4 H-imidazol-5-ilmetileno] diisobutiléster fosforilhidrazínico (8E) em célula de NaCl.

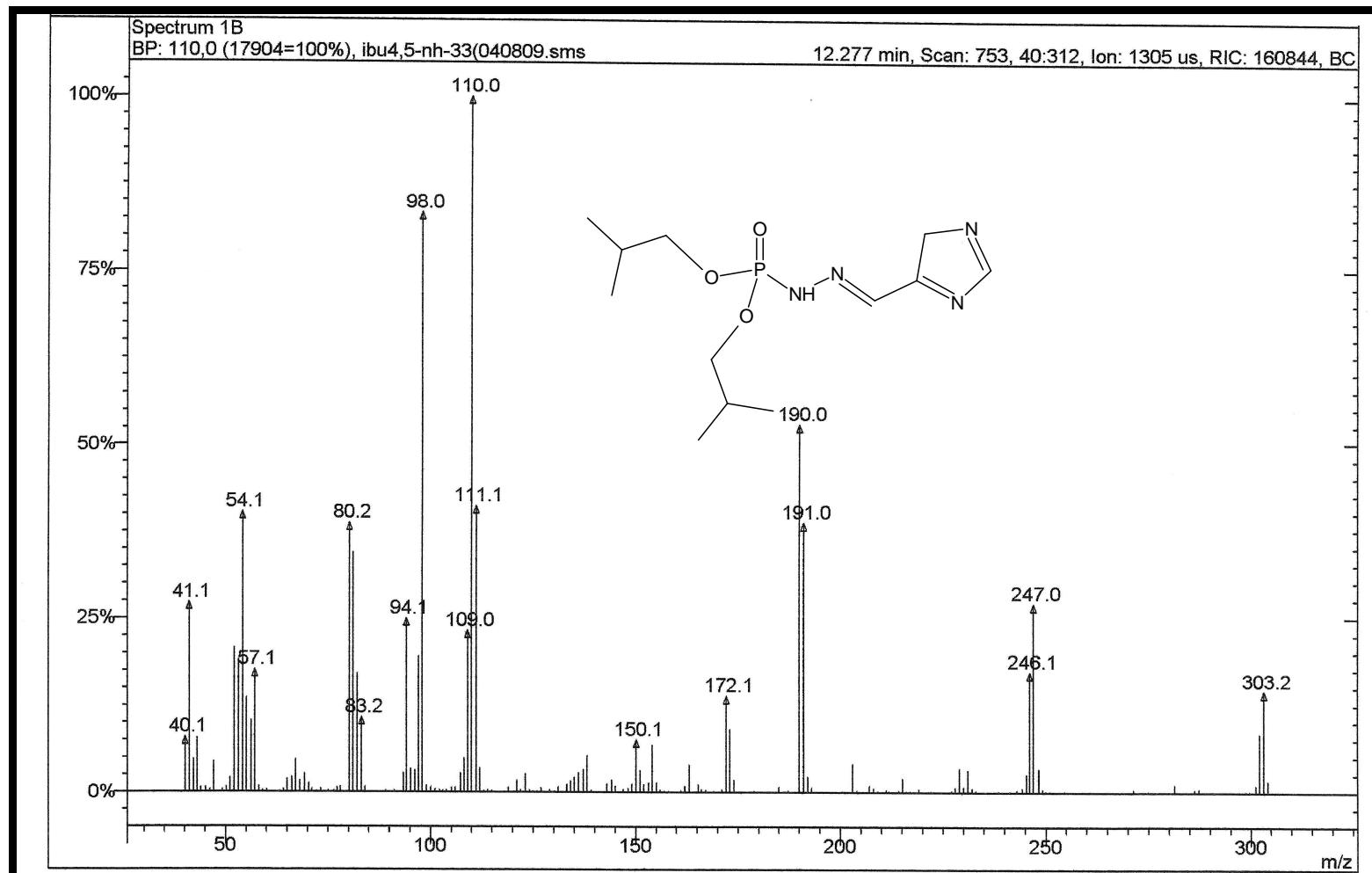


Figura 126 - Espectro de massas do Ácido N'-(1 *E*)- 4 H-imidazol-5-ilmetileno] diisobutiléster fosforilhidrazínico (8E).

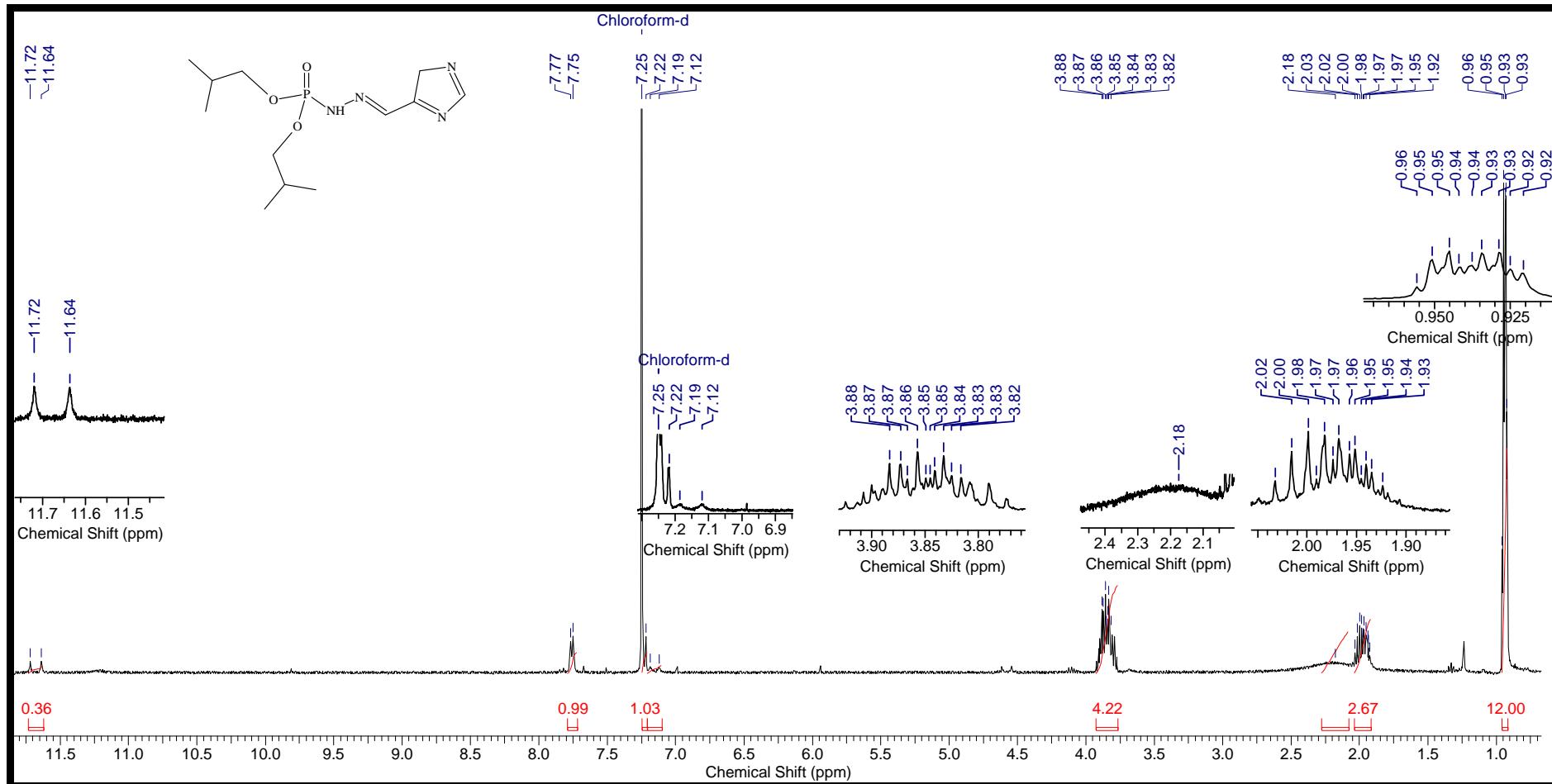


Figura 127 - Espectro de RMN-¹H do Ácido N'-(1 E)- 4 H-imidazol-5-ilmetíleno] diisobutiléster fosforilhidrazínico (8E) em CDCl₃-400MHz.

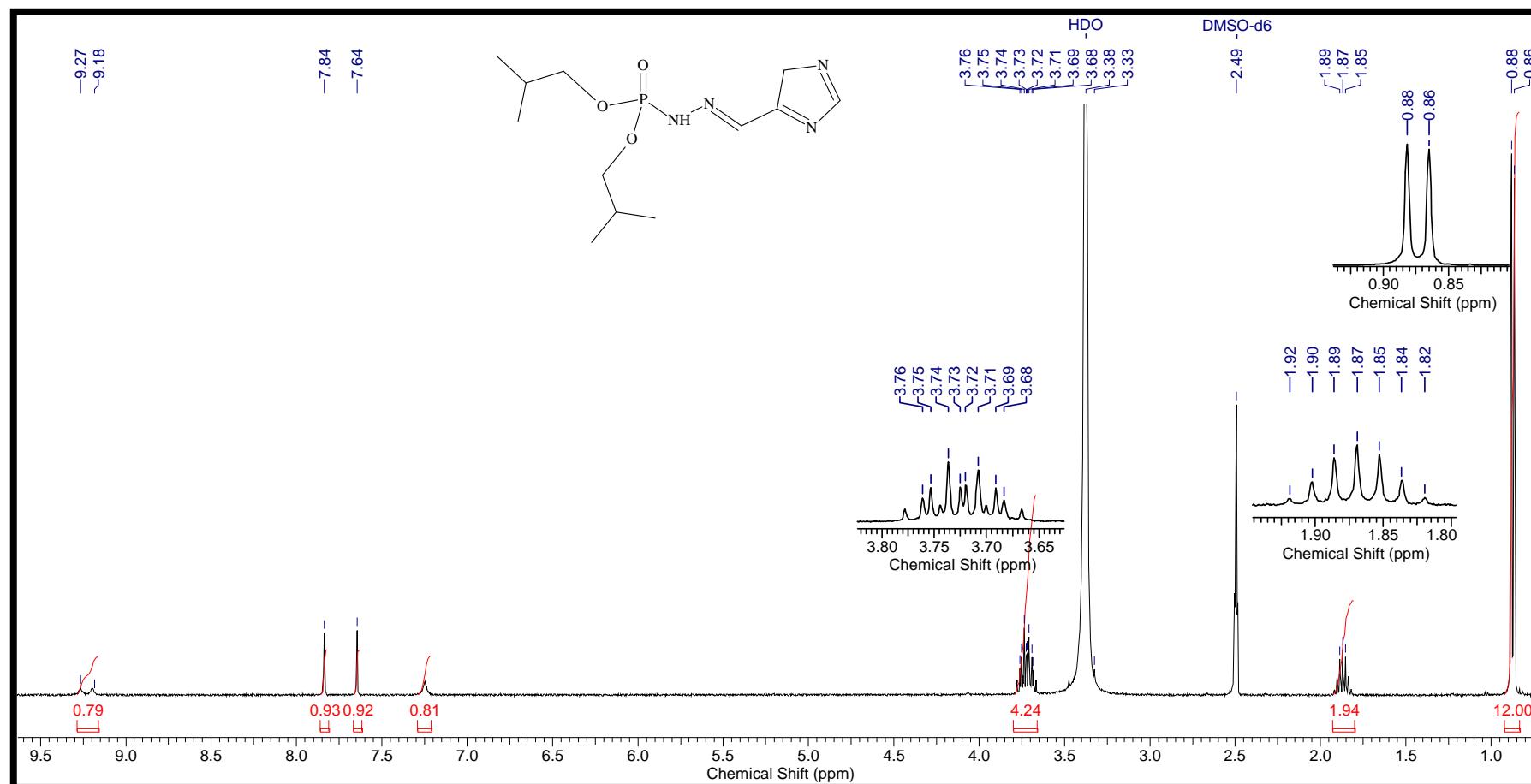


Figura 128 - Espectro de RMN- ^1H do Ácido N'-[(1 E)- 4 H-imidazol-5-ilmetileno] diisobutilléster fosforilhidrazínico (8E) em DMSO-400MHz.

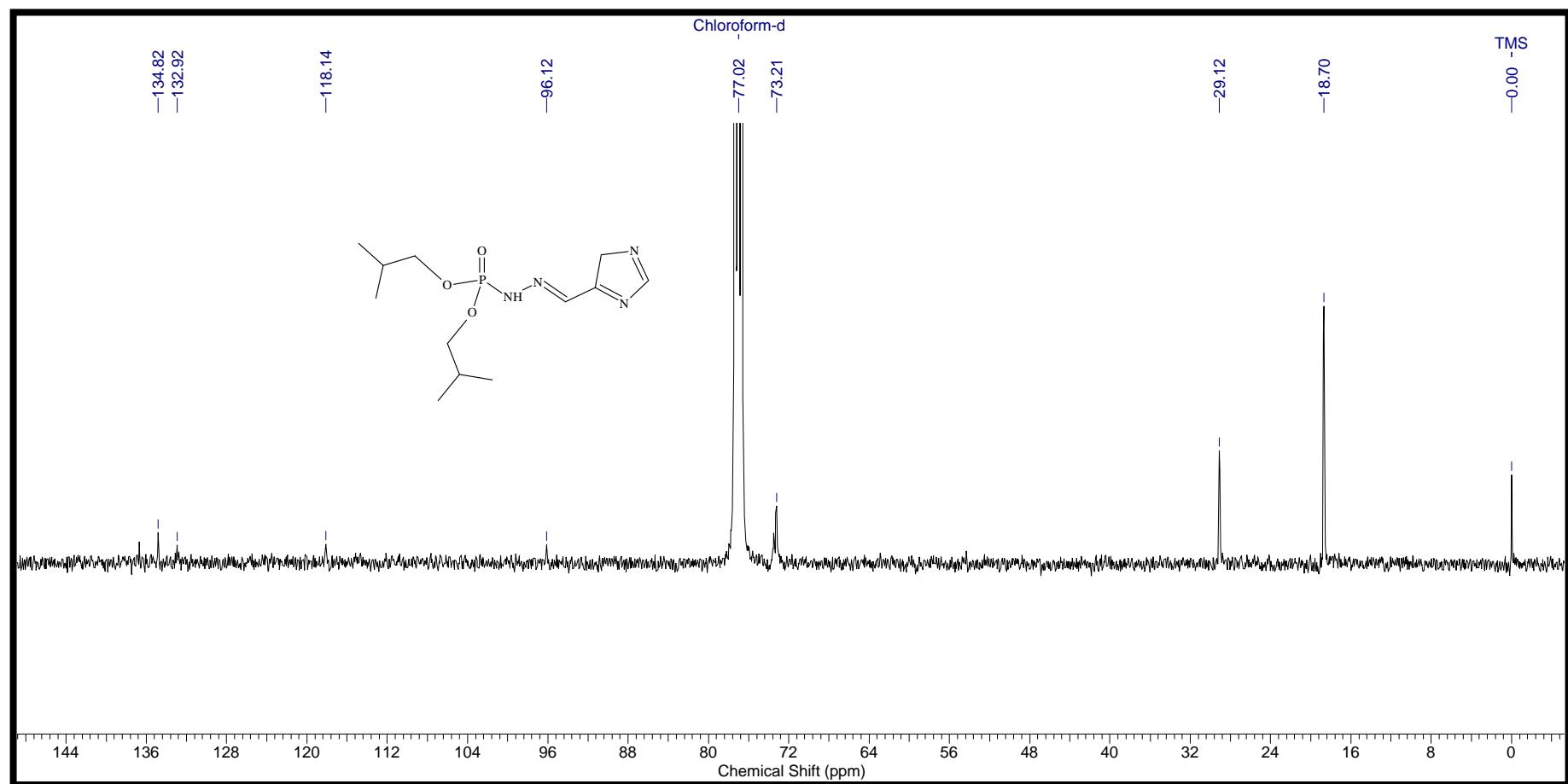


Figura 129 - Espectro de RMN-¹³C do Ácido N'-(1 E)- 4 H-imidazol-5-ilmetíleno] diisobutiléster fosforilhidrazínico (8E) em CDCl₃- 100MHz.

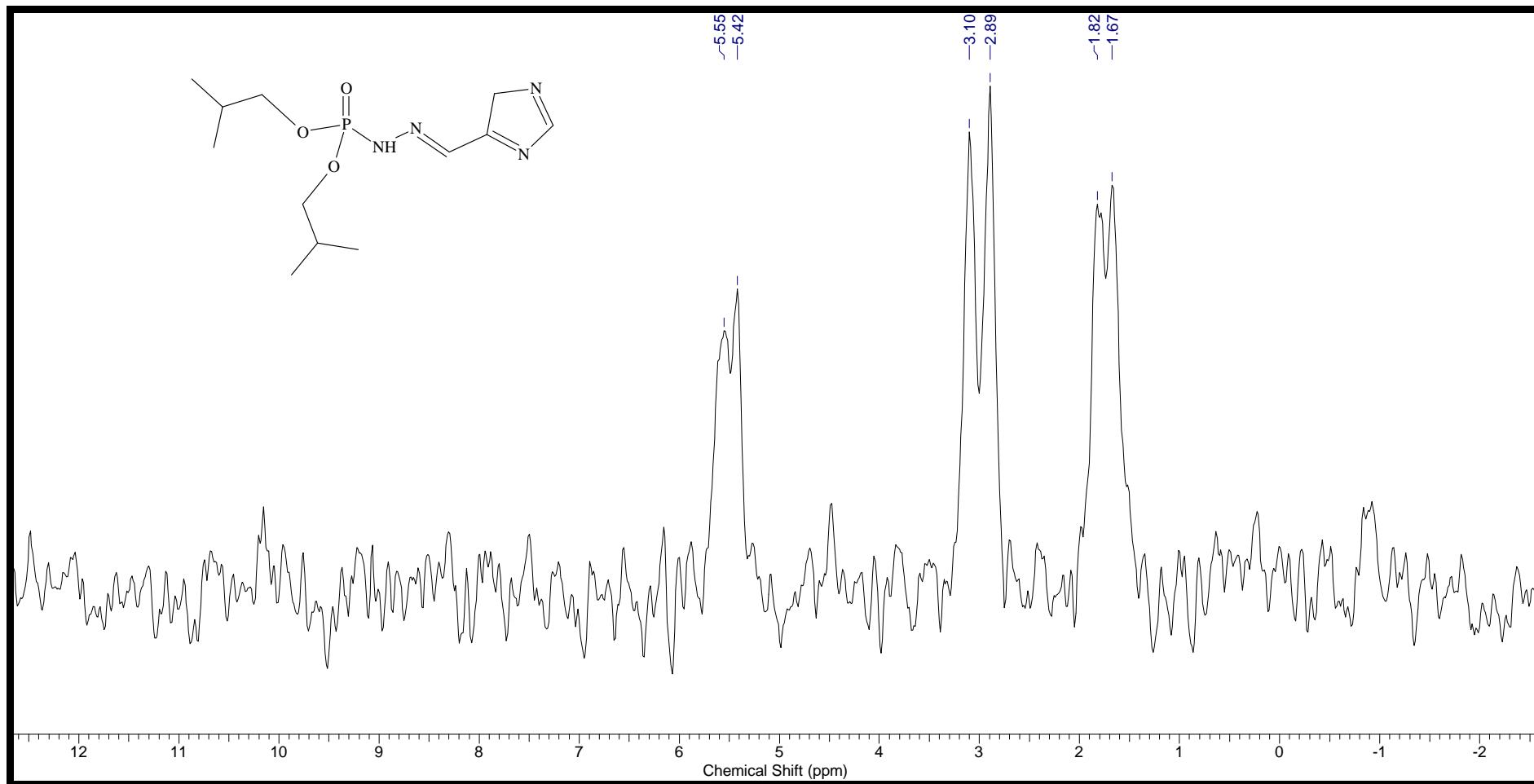


Figura 130 - Espectro de RMN- ^{31}P do Ácido N'-[(1 *E*)-4 H-imidazol-5-ilmetileno] diisobutiléster fosforilhidrazínico (8E) em CDCl_3 -162MHz.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)

[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)

[Baixar livros de Literatura Infantil](#)

[Baixar livros de Matemática](#)

[Baixar livros de Medicina](#)

[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)

[Baixar livros de Meio Ambiente](#)

[Baixar livros de Meteorologia](#)

[Baixar Monografias e TCC](#)

[Baixar livros Multidisciplinar](#)

[Baixar livros de Música](#)

[Baixar livros de Psicologia](#)

[Baixar livros de Química](#)

[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)

[Baixar livros de Serviço Social](#)

[Baixar livros de Sociologia](#)

[Baixar livros de Teologia](#)

[Baixar livros de Trabalho](#)

[Baixar livros de Turismo](#)