

FABRÍCIO MARQUES DE OLIVEIRA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA DE
NOVOS FOSFORAMIDATOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

O48s
2008

Oliveira, Fabrício Marques, 1983-

Síntese e avaliação da atividade inseticida de novos
fosforamidatos / Fabrício Marques de Oliveira. – Viçosa,
MG, 2008.

xii, 86f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Inclui anexos.

Orientador: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa

Referência bibliográficas: f. 69-74.

1. Compostos organofosforados. 2. Compostos.
Organofosforados - Síntese. 3. Inseticidas - Ação.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 547.07

FABRICIO MARQUES DE OLIVEIRA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA DE
NOVOS FOSFORAMIDATOS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como parte
das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agroquímica, para obtenção do
título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 15 de dezembro de 2008.

Prof. Marcelo Coutinho Picanço
(Coorientador)

Prof. Róbson Ricardo Teixeira
(Coorientador)

Prof. Antônio Jacinto Demuner

Prof. Sérgio Antônio Fernandes

Prof^a. Célia Regina Álvares Maltha
(Presidente da Banca)

Não há saber mais ou menos. Há saberes diferentes.

(Paulo Freire)

*Se o conhecimento pode criar problemas, não é através
da ignorância que podemos solucioná-los.*

(Isaac Asimov)

*O gênio consiste em um por cento de inspiração e noventa e
nove por cento de transpiração.*

(Thomas A. Edison)

*Pesquisa é o processo de entrar em vielas para ver se
elas são becos sem saída.*

(Marston Bates)

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela vida e pela saúde!

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química, pela oportunidade de realização deste trabalho de pesquisa.

Ao professor Luiz Cláudio de Almeida Barbosa, pela amizade e orientação segura e competente.

Aos professores Célia Regina Álvares Maltha e Antônio Jacinto Demuner, pela amizade, pela disponibilidade, pelo estímulo e pela ajuda imprescindíveis à realização deste trabalho.

Aos técnicos José Luiz Pereira, Eduardo Rezende, Onesina e Márcio Alvarenga, pela colaboração na realização deste trabalho e pelos bons momentos de convívio.

Aos meus pais Neli Marques de Oliveira e Anides de Oliveira Filho, pelo apoio incondicional e pela presença constante.

Aos meus irmãos Evandro Marques de Oliveira e Rodrigo Marques de Oliveira, pelos momentos de alegria e estímulo.

À minha sobrinha Ângela Quinelato Oliveira e à sua mãe Rosângela Aparecida Quinelato Oliveira, pelo carinho.

A toda a minha família, em especial aos tios Carlos Monteiro de Almeida e Maria das Graças Silva Almeida e aos primos Vinícius Silva Monteiro e Vanessa Silva Monteiro, sempre presentes, e que me ofereceram condições para que eu progredisse na minha caminhada.

Aos amigos de república Guilherme Carvalho Geraldo, Filipe Pires de Faria, Raphael Campus Cusati e Paulo César Monteiro, pelos bons momentos, pela amizade e pelo apoio.

Ao amigo e Coorientador Róbson Teixeira, pelo apoio nos momentos mais difíceis no laboratório, pela paciência e pelos conselhos durante as etapas do trabalho.

Ao Coorientador Marcelo Coutinho Picanço, pelo apoio na realização dos ensaios biológicos.

Aos amigos e companheiros de laboratório Ulisses, Flaviano, Fred, Leonardo, Raphael, Guilherme, Filipe, Cleiton, Jodieh, Vanderlúcia, Maria Miranda, Eduardo, Keylla, Karla, Patrícia, Vânia, Katalin, Ricardo Montanari e Meire.

Aos demais colegas do DEQ, pelos momentos de alegria.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas, do Departamento de Biologia Animal - UFV, pela convivência durante o período de realização dos ensaios biológicos.

Ao Rodrigo Corrêa, da USP de São Carlos, pela colaboração com os experimentos de difração de raios X.

À pequena Guidoal-MG, pelo calor humano e pelas lições de humildade.

A todos que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

FABRÍCIO MARQUES DE OLIVEIRA, filho de Anides de Oliveira Filho e Neli Marques de Oliveira, nasceu em Ubá, Minas Gerais, em 14 de julho de 1983.

Em março de 2002, iniciou o Curso de Licenciatura e Bacharelado em Química na Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em março de 2007.

Durante esse período, foi bolsista por três anos do programa de bolsas da FAPEMIG, onde desenvolveu pesquisas na área de Síntese Orgânica.

Participou de congressos regionais e nacionais, apresentando trabalhos científicos, e recebeu Menção Honrosa como melhor trabalho do DEQ-UFV no XVI Simpósio de Iniciação Científica, sob orientação do Prof. Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.

Em março de 2007, ingressou no programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração Química Orgânica, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, MG, submetendo-se à defesa de dissertação em dezembro de 2008.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1. Histórico dos Inseticidas	2
1.2. Justificativa e proposta de trabalho	5
2. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FOSFORAMIDATOS	8
2.1. MATERIAL E MÉTODOS	8
2.1.1. Generalidades Metodológicas.....	8
2.1.2. Procedimentos sintéticos	10
2.1.2.1. Síntese da lactona furan-2(5H)-ona [6]	10
2.1.2.2. Síntese do furan-2-il N,N,N',N'-tetraetildiamido fosfato [3]	11
2.1.2.3. Síntese do furan-2-il N,N'-dicicloexilamidofosfato [7]	14
2.1.2.4. Síntese do furan-2-il dipiperidin-1-ilfosfinato [8]	16
2.1.2.5. Síntese do furan-2-il N,N-diisopropilamidoclorofosfato [10]	19
2.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
2.2.1. Síntese da lactona furan-2(5H)-ona [6]	20
2.2.2 Síntese do furan-2-il N,N,N',N'-tetraetildiamidofosfato [3]	21
2.2.3. Síntese do furan-2-il N,N'-dicicloexilamidofosfato [7]	22
2.2.4. Síntese do furan-2-il dipiperidin-1-ilfosfinato [8]	32
2.2.5. Síntese do furan-2-il N,N-diisopropilamidoclorofosfato [10]	42
2.3. CONCLUSÕES	48
3. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA	49
3.1. INTRODUÇÃO	49
3.1.1. Compostos Organofosfatos	49
3.1.2. Espécies de Interesse Econômico	53
3.1.3. Espécies Predadoras e Polinizadores.....	56

3.2. MATERIAL E MÉTODOS	57
3.2.1. Obtenção dos Insetos	57
3.2.2. Toxicidade dos Compostos Sintetizados	58
3.2.3. Curvas de Dose-mortalidade	60
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
3.3.1. Toxicidade dos Compostos Sintetizados	60
3.3.2. Curva de dose-mortalidade	64
3.3.2.1. Espécie-praga	64
3.3.1.2. Predador e Polinizador	65
3.4. CONCLUSÕES	66
CONCLUSÕES GERAIS	68
REFERÊNCIAS.....	69
ANEXO	75

LISTA DE ABREVIATURAS

CCD	Cromatografia em camada delgada
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
D	Dupleto
Dd	Duplo dupleto
Ddd	Duplo duplo dupleto
Dt	Duplo tripleto
δ	Deslocamento químico
DCM	Diclorometano
Et ₂ O	Éter etílico
EtOAc	Acetato de etila
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
m	Multiplete
MHz	Megahertz
m/v	Massa/volume
ppm	Partes por milhão
R _f	Fator de retenção
RMN de ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN de ¹ H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	Simpleto
t	Tripleto
t.a.	Temperatura ambiente
T _f	Temperatura de fusão
v/v	Volume/volume

RESUMO

OLIVEIRA, Fabrício Marques de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2008. **Síntese e avaliação da atividade inseticida de novos fosforamidatos**. Orientador: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa. Coorientadores: Róbson Ricardo Teixeira e Marcelo Coutinho Picanço.

Os fosforamidatos são uma classe de compostos que apresentam pelo menos um grupo $-NR_1R_2$ (R_1 e R_2 = alquila, arila) em suas estruturas. Relatos na literatura evidenciam a atividade inseticida dessa classe de compostos. O presente trabalho teve por objetivo sintetizar novos fosforamidatos, visando à avaliação de suas atividades biológicas. Além disso, outros fosforamidatos, previamente descritos na literatura, tiveram suas atividades biológicas avaliadas mais detalhadamente. A síntese de novos fosforamidatos usou como material de partida a lactona furan-2(5H)-ona, um composto facilmente obtido a partir do furfuraldeído. O tratamento desta lactona com cloreto de fosforila na presença de trietilamina forneceu o composto furan-2-il dicloridrato de fósforo, que não foi isolado. A subsequente reação deste furano com aminas pertinentes na presença de quantidades catalíticas de DMAP resultou na formação do furan-2-il *N,N*-diisopropilamidoclorofosfato, furan-2-il *N,N'*-dícicloexilamidofosfato, furan-2-il dipiperidin-1-ilfosfinato e difuran-2-il piperidin-1-ilfosfonato. A toxicidade dos organofosfatos foi avaliada por aplicação tópica em quatro espécies de importância econômica [*Diaphania nitidalis* (L.) e *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Crambidae), *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) e *Ascia monuste orseis* (Latr.) (Lepidoptera: Pieridae)], bem como sobre um predador [*Solenopsis saevissima* (F. Smith) (Hymenoptera: Formicidae)] e sobre um agente polinizador [*Tetragonisca angustula* (Latr.) (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae)]. Todos os ensaios biológicos foram conduzidos com

dose de 1 µg de composto/mg de inseto. Entre os compostos avaliados, os melhores resultados foram obtidos com os quatro novos organofosfatos sintetizados. Os compostos furan-2-il *N,N*-diisopropilamidoclorofosfato e difuran-2-il piperidin-1-ilfosfonato apresentaram atividade contra *A. monuste* (intervalo de mortalidade superior a 87,50%) comparável com a de metilcloropirifós, utilizado como padrão de eficiência.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Fabrício Marques de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, december, 2008. **Synthesis and insecticidal activity of new phosphoramidates.** Adviser: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa. Co-advisers: Róbson Ricardo Teixeira and Marcelo Coutinho Picanço.

The compounds known as phosphoramidates are characterized for possessing at least one $-NR_1R_2$ group (R_1 and R_2 = alkyl, aryl) in their structures. Several reports in the literature have described the insecticidal activity of this class of organophosphates. In the present investigation, a series of four phosphoramidates were synthesized and biologically evaluated with regard to their potential insecticidal activity. In addition, other fifteen phosphoramidates, previously described in the literature, had their insecticidal activity profile re-evaluated in further details. The synthesis of the new phosphoramidates used as the starting material the lactone furan-2(5*H*)-one, a compound readily available from furfuraldehyde. Treatment of this lactone with phosphorylchloride in the presence of triethyl amine afforded the compound furan-2-yl phosphorodichloridrate, which was not isolated. Subsequent reaction of this furane with pertinent amines in the presence of catalytic amounts of DMAP resulted in the formation of furan-2-yl *N,N*-diisopropylamidochlorophosphate, furan-2-yl *N,N'*-dicyclohexylamido-phosphate, furan-2-yl dipiperidin-1-ylphosphinate, and difuran-2-yl piperidin-1-ylphosphonate. The contact toxicity of the organophosphates was evaluated on four insect species of economic importance [*Diaphania nitidalis* (L.) (Lepidoptera: Crambidae), *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Crambidae), *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) e *Ascia monuste orseis* (Latr.) (Lepidoptera: Pieridae)] as well as on a predator [*Solenopsis saevissima* (F. Smith) (Hymenoptera: Formicidae)] and on a polinizator agent [*Tetragonisca angustula* (Latr.) (Hymenoptera: Apidae):

Meliponinae)]. All the biological assays were conducted at a dose of 1 μ g of compound/mg of insect. Among the evaluated compounds, the best results were achieved with the four new organophosphates synthesized. In this case, the compounds furan-2-yl *N,N*-diisopropylamidochlorophosphate and difuran-2-yl piperidin-1-ylphosphonate displayed activity against *A. monuste* (mortality range higher than 87.50%) comparable with methylchlorpiriphos used as control.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Segundo a FAO (Food and Agriculture Organization), estima-se que a população mundial deverá dobrar até 2040. Dessa forma, há necessidade de aumentar a produção de alimentos a fim de se atender à demanda sem que, entretanto, esse fato implique aumento da área cultivada, uma vez que em muitos países as áreas agricultáveis ainda não ocupadas são praticamente inexistentes (FAO, 2006). Por essa razão, o desafio global é garantir a alta qualidade e produtividade, e a melhoria nas estratégias de controle de pragas representa um método para gerar maior qualidade e quantidade de produtos agrícolas (NICHOLSON, 2007).

Diante das perdas de produtividade provocadas pelo ataque de pragas, os insetos e ácaros fitófagos são uma grande ameaça para a produção alimentar destinada ao consumo humano. Somente em 2001, um total de 7,56 bilhões de dólares foi gasto para proteger as culturas contra danos por espécies de pragas de invertebrados fitófagos (NICHOLSON, 2007). Assim, o produtor agrícola depara-se com a necessidade de recorrer a diferentes métodos de controle, como o químico, genético, biológico ou mecânico (NORDBLOM, 2003; SKOURAS, 2007).

O controle químico de insetos, feito com utilização de agroquímicos, apresenta como vantagens eficiência, baixo custo e facilidade de uso (BARBOSA, 2004). Todavia, o contínuo uso de agroquímicos não-seletivos, sem a rotação de produtos, pode causar desequilíbrios devido à eliminação de insetos benéficos, explosões populacionais de pragas e, principalmente, a perda de eficácia de inseticidas mediante a seleção natural de linhagens de insetos resistentes a esses compostos químicos (KHALIQ, 2007). Acrescentem-se ainda aspectos negativos relativos à contaminação do meio

ambiente (solo, água, atmosfera e seres vivos) e danos acidentais ocasionados pela má utilização de agroquímicos (GASPARIN, 2005).

As vendas de defensivos agrícolas no Brasil em 2007 totalizaram R\$10,069 bilhões, de acordo com dados do Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG). Os segmentos líderes foram os herbicidas, com 43% das vendas, e os inseticidas, com 30% (Figura 1).

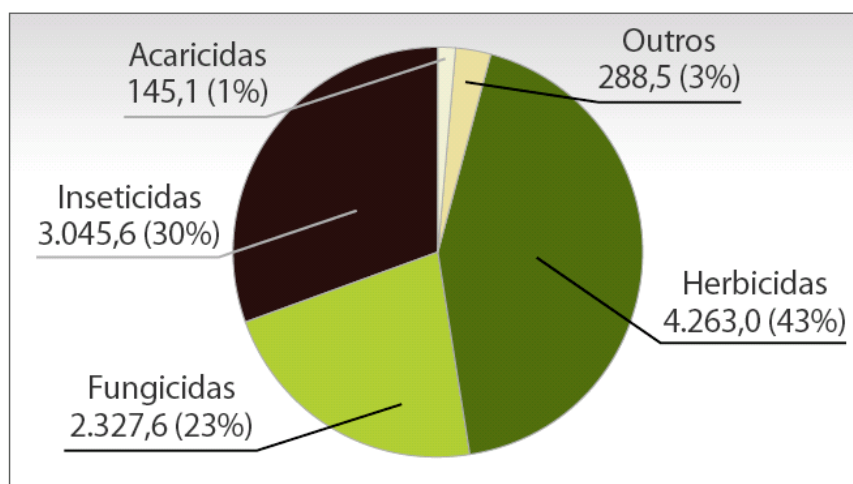


Figura 1 - Vendas de defensivos agrícolas em 2007 (em milhões de reais).

1.1. Histórico dos Inseticidas

O uso de substâncias químicas orgânicas ou inorgânicas no controle dos problemas decorrentes dos ataques de insetos na agricultura remontam à antiguidade clássica. Escritos de romanos e gregos mencionavam o uso de certos produtos, como o arsênico e o enxofre, para controle de insetos nos primórdios da agricultura (BARBOSA, 2004; WARE, 2000).

Compostos orgânicos naturais, como a piretrina, obtida das flores de crisântemos (*Chrysanthemum sp.*), eram utilizados como inseticidas na região do Cáucaso e norte do Irã ainda no século XVII (CORRÊA, 2007). Há relatos de que o piretro era utilizado desde 1800, na Pérsia e na antiga Iugoslávia, e a partir de 1828 passou a ser processado comercialmente para controle de insetos. Em 1939, os EUA chegaram a importar cerca de 7 mil toneladas de piretro por ano, o qual contém aproximadamente 50% de piretrinas, que são os componentes inseticidas do extrato (Figura 2) (CHEN, 1996; JUNIOR, 2003; CORRÊA, 2007).

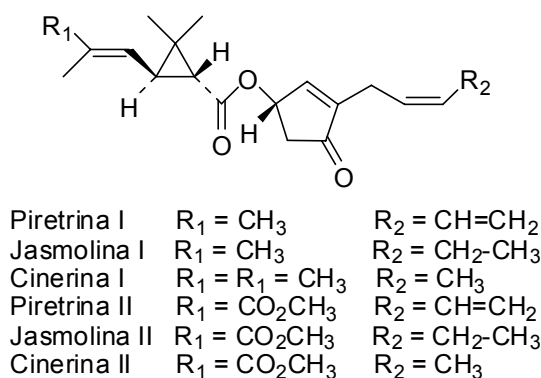


Figura 2 - Piretrinas presentes no extrato das flores de *Chrysanthemum sp.*

Outros compostos orgânicos oriundos de plantas, como a nicotina, derivada do tabaco, e a rotenona, extraída de raízes do timbó (*Derris chinensis*), há muito já são conhecidos por suas propriedades inseticidas. Em 1690, na França, extratos aquosos de tabaco eram usados para matar insetos sugadores de plantas de jardim, mas a identificação do princípio ativo só ocorreu em 1890. A partir de então, a nicotina, alcaloide extraído por processos químicos das folhas de *Nicotiana tabacum* e *Nicotiana rustica* (Solanaceae), passou a ser usada na forma de sulfato de nicotina como inseticida agrícola. Os rotenoides, compostos estruturalmente relacionados com a rotenona, também têm sido usados como inseticidas desde 1848, quando foram aplicados no controle de lagartas fitófagas (Figura 3); no entanto, eles têm sido utilizados há séculos (desde 1649) na América do Sul para paralisar peixes, levando-os à superfície (WARE, 2000; MORRIS, 2004; CORRÊA, 2007).

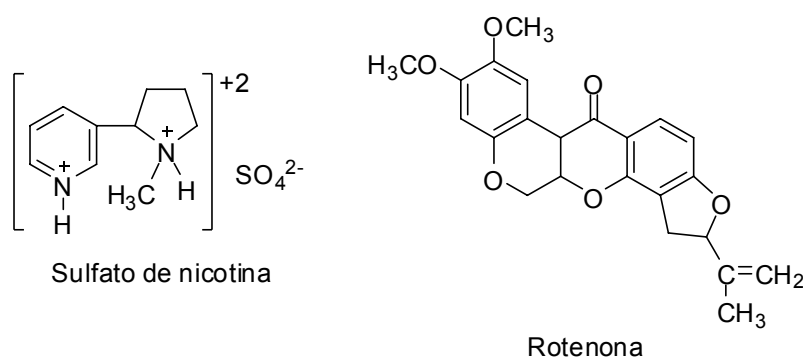


Figura 3 - Compostos orgânicos de origem vegetal usados como inseticidas.

Com relação aos compostos inorgânicos, que predominaram do século XVI até fins do século XIX, os mais utilizados foram os arseniatos de cálcio e chumbo (verde Paris), cupratos (calda bordalesa), enxofre em pó, vários

sulfatos, cal, fluorossilicato de bário, aminosselenossulfito de potássio (criolite) e óleos minerais. Esses compostos vieram compor a chamada “primeira geração de agrotóxicos”. A maioria dessas substâncias não é mais utilizada, dada sua toxicidade para os animais e o meio ambiente, principalmente no caso dos arseniats, além da baixa seletividade apresentada por eles (BARBOSA, 2004; NARDI, 2006; NICHOLSON, 2007; JUNIOR, 2003).

Durante a Segunda Guerra Mundial (1939-1945), a primeira geração de inseticidas foi suplantada pelos inseticidas sintéticos, com a descoberta do extraordinário poder inseticida do composto organoclorado DDT (diclorodifeniltricloroetano) e do organofosfato Sharadam. Este último foi utilizado como arma química durante a segunda grande guerra, dando início à grande disseminação do uso dessas substâncias na agricultura. Com a introdução de novos organofosfatos e carbamatos (Figura 4) na década de 1960, deu-se um grande incentivo à ampla produção de pesticidas para controle de insetos (BARBOSA, 2004; NARDI, 2006; NICHOLSON, 2007). Essas duas classes de inseticidas são inibidoras das colinesterases, sendo absorvidas pela pele, por ingestão ou por inalação (SUNGUR, 2001).

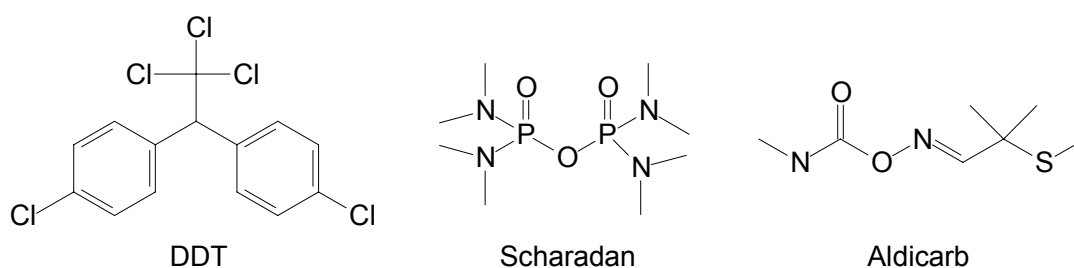


Figura 4 - Exemplos de inseticidas organoclorados, organofosfatos e carbamatos.

Os inseticidas organofosfatos são a classe de maior interesse comercial e toxicológico (SINGH, 2006). Eles são ésteres ou tióis derivados de ácidos fosfórico, fosfônico, fosfínico ou fosforamídico e possuem a estrutura geral descrita na Figura 5 (SANTOS, 2007).

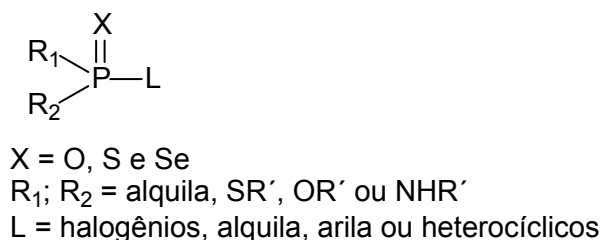


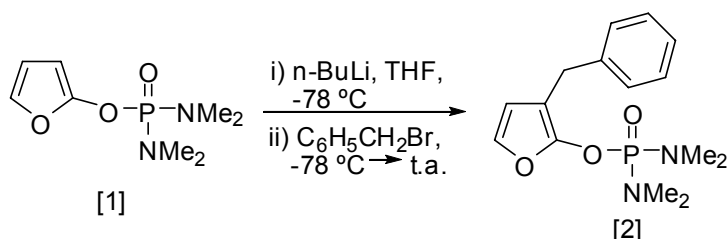
Figura 5 - Estrutura química básica de inseticidas organofosfatos.

A principal razão para o sucesso dos compostos organofosfatos (OFs) como inseticidas é sua forte atividade biológica, aliada à sua relativa instabilidade na biosfera, à facilidade de síntese de novos derivados, à possibilidade de síntese de pró-inseticidas, que sofrem ativação preferencial em insetos e não em mamíferos, e à maior biodegradabilidade em comparação com os organoclorados (SANTOS, 2007).

Embora menos agressivos ao ambiente que os inseticidas organoclorados, os OFs demonstraram ser tóxicos a humanos e animais (vertebrados e invertebrados), sendo rapidamente absorvidos pela pele e pelas mucosas do trato gastrointestinal e do trato respiratório (VALE, 1998). Seus principais efeitos tóxicos são causados pela inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE). A função da AChE é hidrolisar a acetilcolina (ACh), liberada na fenda sináptica do sistema nervoso autônomo, central e na junção neuromuscular, em ácido acético e colina. Dessa forma, há uma interrupção da transmissão dos impulsos nervosos nas sinapses dos neurônios colinérgicos dos sistemas nervoso central e periférico. A acetilcolina é um mediador químico, necessário para transmissão dos impulsos nervosos, presente nos mamíferos e insetos; quando a AChE é inibida, ocorre paralisia e morte dos insetos (SANTOS, 2007; NARDI, 2006).

1.2. Justificativa e proposta de trabalho

Barbosa et al. (2006) descreveram, recentemente, a síntese de alguns compostos análogos aos produtos naturais nostoclídeos a partir do furan-2-il *N,N,N',N'*-tetrametildiamidofosfato [**1**]. A metodologia sintética empregada fornecia o intermediário **2** (Esquema 1) após o tratamento de **1** com butilítio e brometo de benzila.



Esquema 1 - Intermediário **2** obtido na rota sintética descrita por Barbosa et al. (2006).

A literatura relata a atividade inseticida de compostos que contêm anéis heterocíclicos e ligações P-N (WARE, 2000). Com base nessas informações e considerando a estrutura do intermediário **2**, acreditava-se na possibilidade de derivados estruturalmente similares a esse furano também apresentarem atividade inseticida. Nesse contexto, Paula et al. (2008) sintetizaram e avaliaram, do ponto de vista biológico, vários organofosfatos similares à substância **2**. Entre uma série de substâncias avaliadas, os compostos **3**, **4** e **5** (Figura 6) causaram 90, 100 e 97,5% de mortalidade, respectivamente, sobre *Ascia monuste orseis* (uma praga-chave de brássicas) após 72h de exposição, comparados ao inseticida comercial metilcloropirifós, usado como controle positivo (100% de mortalidade).

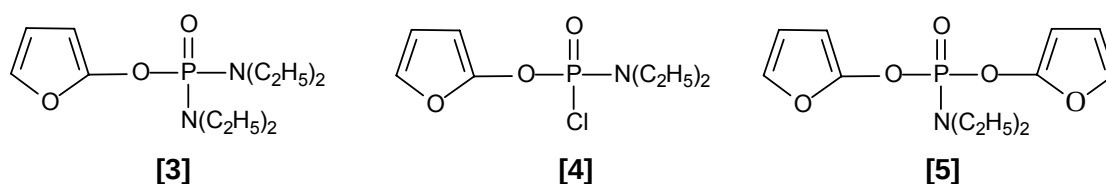


Figura 6 - Compostos organofosfatos com atividade inseticida descritos por Paula et al.

Esses compostos pertencem à classe dos fosforamidatos e caracterizam-se por apresentarem pelo menos um grupo $\text{-NR}_1\text{R}_2$ (R_1 e R_2 = alquila, arila) na estrutura. Na verdade, em 1937, Schrader e seus colaboradores já haviam descrito a atividade inseticida de alguns compostos pertencentes à classe dos fosforamidatos, de fórmula geral mostrada na Figura 7 (SANTOS, 2007):

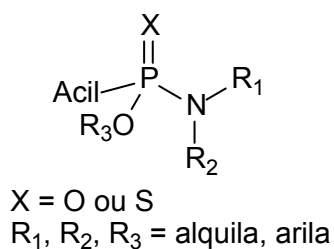
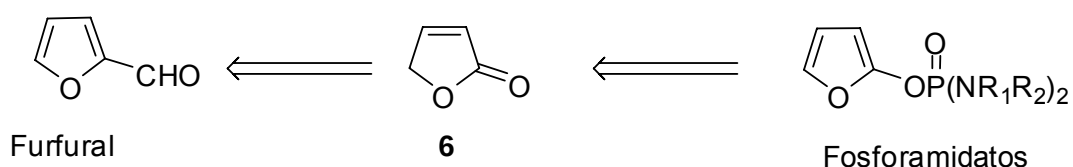


Figura 7 - Fórmula geral de alguns inseticidas pertencentes à classe dos fosforamidatos.

Embora esses estudos sejam importantes no tocante à exploração da potencial atividade biológica desses fosforamidatos, muito ainda pode ser feito para melhor entendimento da atividade inseticida desses compostos. No presente trabalho, ensaios biológicos foram realizados com os compostos descritos por Paula et al. (2008) sobre outras espécies de inseto que atacam culturas de interesse econômico. Diante dos bons resultados encontrados, novos fosforamidatos foram sintetizados, conforme análise retrosintética mostrada no Esquema 2.



Esquema 2 - Metodologia sintética empregada na síntese dos fosforamidatos.

Os compostos foram caracterizados do ponto de vista químico e, subsequentemente, avaliados com respeito à potencial atividade inseticida.

CAPÍTULO 2

2. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FOSFORAMIDATOS

2.1. MATERIAL E MÉTODOS

2.1.1. Generalidades Metodológicas

Os solventes utilizados nas reações foram de grau P.A., devidamente secos. De modo geral, foram secos por refluxo sobre um agente secante, destilados e armazenados sobre peneira molecular, sendo mantidos sob atmosfera de nitrogênio, de acordo com os procedimentos descritos por Perrin e Armarego (1994).

Foram utilizadas placas de sílica-gel com 0,25 mm de espessura, para cromatografia em camada delgada (CCD), preparadas com uma mistura de sílica e água destilada 1:2 m/v (sílica-gel 60 G – F254 contendo indicador de fluorescência). Os solventes utilizados como eluente foram previamente destilados.

As placas CCD foram reveladas com solução alcoólica de ácido fosfomolibdico (12 g de $2\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 20\text{MoO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ /250 mL de etanol) e, ou, solução aquosa de KMnO_4 (3 g de KMnO_4 , 20 g de K_2CO_3 , 5 mL de NaOH 5%/300 mL de água) (CASEY et al., 1990), após terem sido observadas sob lâmpada ultravioleta ($\lambda = 254$ e 365 nm).

As separações cromatográficas em coluna foram feitas utilizando-se sílica-gel (70-230 mesh ou 230-400 mesh) como fase estacionária.

As temperaturas de fusão foram determinadas em aparelho MQAPF-301 e não foram corrigidas.

Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos em espectrofotômetro PERKIM ELMER SPECTRUM 1000 na faixa de 500 a 4.000 cm^{-1} . As amostras sólidas foram analisadas em pastilhas de KBr, e as oleosas, em células de KBr, NaCl ou CsI.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H , 300 e 400 MHz) e de carbono (RMN de ^{13}C , 75 e 100 MHz) foram obtidos em espectrômetros VARIAN MERCURY 300 (Departamento de Química – UFV) e BRUKER AVANCE DRX 400 (Departamento de Química – UFMG). Utilizou-se como solvente clorofórmio deuterado (CDCl_3) e o cloreto de tetrametilsilano (δ_{H} 0) ou o sinal do CHCl_3 (δ_{H} 7,26) como padrão de referência interna. As constantes de acoplamento escalar (J) foram expressas em Hertz (Hz).

Os espectros de massas, por impacto eletrônico, foram registrados em equipamento CG-EM SHIMADZU GCMS-QP5050A.

Nas purificações por recristalização utilizaram-se os métodos convencional, descrito por Shriner et al. (1980), e por pares de solventes, descrito por Gonçalves et al. (1988). Por este método, solubiliza-se o composto em um solvente no qual ele seja solúvel a frio, adicionando-se a seguir, a quente, um outro no qual ele seja muito pouco solúvel. A mistura é então resfriada até a recristalização e, por filtração ou decantação, separam-se os cristais da água-mãe.

Os monocristais empregados nas análises por difração de raios X foram obtidos segundo metodologia descrita por Cunha (2008), que se baseia na evaporação lenta do solvente da solução do sólido em estudo, com saturação lenta desta solução.

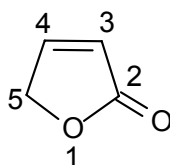
Os dados cristalográficos foram coletados a 293 K, em um difratômetro Enraf-Nonius Kappa-CCD, utilizando-se como fonte de radiação um tubo selado de $\text{Mo K}\alpha = 0,71073 \text{ \AA}$ (monocromador de grafite). Os experimentos foram realizados no Instituto de Física da Universidade de São Paulo, em São Carlos (IFSC). Os parâmetros finais das celas unitárias foram baseados em todas as reflexões. Os dados foram coletados empregando-se o programa COLLECT¹. O tratamento dos dados foi conduzido empregando-se o pacote de

¹ Enraf-Nonius COLLECT. Nonius BV, Delft, The Netherlands, 1997-2000.

programas da WinGX (FARRUGIA, 1999) e enCIFer (ALLEN et al., 2004). As estruturas foram resolvidas por métodos diretos, usando o programa *SHELXS-97* (SHELDERICK, 1997b), e os refinamentos das estruturas cristalinas foram feitos empregando o método dos mínimos quadrados de matriz completa em F^2 , com o programa *SHELXL-97* (SHELDERICK, 1997a). O programa MERCURY (BRUNO et al., 2002) foi utilizado para gerar a representação gráfica para a substância 7.

2.1.2. Procedimentos sintéticos

2.1.2.1. Síntese da lactona furan-2(5H)-ona [6]



A um balão bitubulado de 500 mL, adaptado a um condensador e a um funil de adição, adicionaram-se 33,0 g (343 mmol) de 2-furaldeído (furfural), previamente purificado conforme descrito por Perrin e Armarego (1994), juntamente com 140 mL de DCM. A adição de 14,7 g de sulfato de sódio foi seguida, imediatamente, da adição de 10,3 g (0,091 mol) de *N,N*-dietiletanolamina. Em seguida, 31,6 g de ácido fórmico foram adicionados à mistura, cuidadosamente, por dois minutos. Após esse tempo, 6,9 mL de peróxido de hidrogênio 30% v/v foram adicionados à mistura, que foi então vigorosamente agitada, e 55 mL de peróxido de hidrogênio 30% v/v foram adicionados gota a gota por cinco horas. Ao final da adição, a mistura foi mantida sob agitação e refluxo por 18 horas. A fase orgânica foi separada e a fase aquosa, extraída com DCM (3 x 15 mL). Os extratos orgânicos foram combinados, e a fase orgânica resultante foi lavada com solução saturada de tiosulfato de sódio (2 x 10 mL). Em seguida, a fase orgânica foi seca com MgSO_4 e filtrada. A fase orgânica resultante desse procedimento foi testada, para verificar a possível presença de peróxido de hidrogênio. Dois tubos de ensaio foram empregados na realização do teste. Em cada tubo adicionaram-

se 5 mL de solução de sulfato ferroso amoniacal (1% m/v), 0,5 mL de solução de H_2SO_4 ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) e 0,5 mL de uma solução aquosa $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tiocianato de potássio. A um dos tubos adicionaram-se 5 mL de fase orgânica. Este tubo foi agitado vigorosamente. A ausência de peróxido foi evidenciada pelo não-aparecimento de uma coloração marrom-avermelhada. Após a realização do teste, a fase orgânica foi concentrada sob pressão reduzida e o líquido amarelado resultante foi fracionado em coluna de sílica-gel eluída com hexano-EtOAc 1:1 v/v. Esse procedimento resultou na obtenção de 14,04 g ($0,167 \text{ mol}$) da lactona **6** com 49% de rendimento.

Característica: óleo amarelado.

CCD: $R_f = 0,35$ (hexano-EtOAc 1:1 v/v).

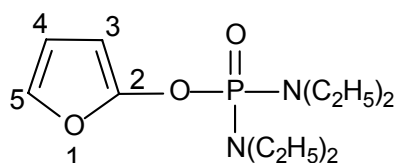
IV (filme, NaCl, $\bar{\nu}_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3099; 2935; 1775; 1741; 1590; 1446; 883; 811.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, J/Hz, número de hidrogênios, atribuição): 4,89 (dd, $J_{5,3} = 2,3$; $J_{5,4} = 1,7$; 2H; H-5); 6,18 (dt, $J_{3,4} = 5,8$; $J_{3,5} = 2,3$; 1H; H-3); 7,58 (dt, $J_{4,3} = 5,8$; $J_{4,5} = 1,7$; 1H; H-4).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 72,07 (C-5); 121,37 (C-3); 152,89 (C-4); 173,64 (C-2).

EM, m/z (%): 84, $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_2$ [M^+], (32); 55 (100); 39 (31); 29 (25,7).

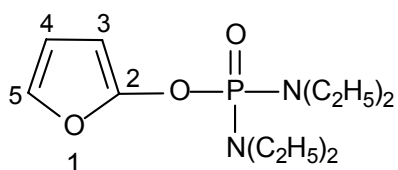
2.1.2.2. Síntese do furan-2-il *N,N,N',N'*-tetraetildiamido fosfato [**3**]



A um balão de fundo redondo bitubulado (25 mL), conectado a um tubo de cloreto de cálcio, adicionaram-se furan-2(5*H*)-ona [**6**] (2,0 g; 23,8 mmol) e 5,0 mL de DCM anidro. Em seguida, cloreto de fosforila (POCl_3) (2,2 mL; 24

mmol) foi adicionado à mistura de uma só vez. Trietilamina (4,8 mL; 36 mmol) dissolvida em 4,0 mL de DCM anidro foi adicionada à mistura reagente, gota a gota, ao longo de um período de uma hora. Após essa adição, a mistura resultante foi agitada por 18 horas. Decorrido esse período, adicionou-se mais 0,8 mL (6,0 mmol) de trietilamina. Agitou-se a mistura por mais 24 horas. O solvente foi, então, removido num evaporador rotatório. Ao resíduo resultante adicionaram-se, cuidadosamente, 12 mL de éter dietílico anidro seguido de 6,0 mL de pentano. O frasco foi selado e a mistura foi agitada por dois minutos à temperatura ambiente. O precipitado formado foi removido por filtração a vácuo. O filtrado foi imediatamente lavado com 6 mL de éter dietílico e 12 mL de pentano. O frasco contendo o filtrado foi hermeticamente fechado e a mistura foi mantida num refrigerador por 12 horas. Após esse tempo, a solução sobrenadante foi transferida para um balão tritubulado de 100 mL. O solvente foi cuidadosamente removido sob pressão reduzida. O material resultante não foi purificado. Adicionaram-se 10 mL de éter dietílico anidro a esse material. Ao balão tritubulado adaptou-se um tubo de cloreto de cálcio e um funil de adição. O balão contendo a mistura reagente foi resfriado numa mistura de gelo e sal. Carregou-se o funil de adição com dietilamina (18 mL; 180 mmol), que foi adicionada lentamente à mistura reagente por um período de uma hora. Terminada a adição, permitiu-se que a temperatura da mistura se igualasse à temperatura ambiente e fosse elevada a 35 °C. A agitação da mistura, a esta temperatura, foi continuada por 24 horas. O precipitado formado na reação foi removido por filtração a vácuo, sendo lavado várias vezes com éter dietílico anidro. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida, resultando num material de coloração marrom. O material foi fracionado em coluna de sílica-gel eluída com hexano-EtOAc 3:1; 2:1; 1:1 v/v, resultando no isolamento da substância **5** com rendimento de 6,2% (0,37 g; 1,3 mmol) e do composto **3** com rendimento de 46% (3,01 g; 11,0 mmol).

- Dados referentes ao composto **3**



Característica: óleo amarelado.

CCD: $R_f = 0,29$ (hexano-EtOAc 1:1 v/v).

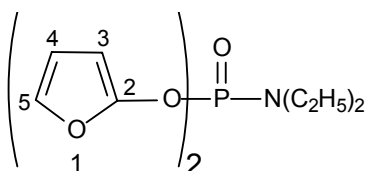
IV (filme, NaCl, $\bar{\nu}_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3145; 3117; 2974; 2935; 2876; 1605; 1516; 1466; 1248; 1213; 1199; 1171; 1102; 1066; 1029; 962; 847; 792.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, J/Hz , número de hidrogênios, atribuição): 1,11 (t, $J = 7,0$; 12H; CH_3); 3,06-3,19 (m, 8H; NCH_2); 5,86 (sinal largo, 1H; H-3); 6,27-6,29 (m, 1H; H-4); 6,94 (sinal largo, 1H; H-5).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, J/Hz , atribuição): 13,71 (s; CH_3); 39,76 (d, $J_{\text{C,P}} = 4,5$; NCH_2); 88,78 (d, $^3J_{\text{C,P}} = 3,2$; C-3); 111,13 (d, $^4J_{\text{C,P}} = 1,2$; C-4); 134,02 (s; C-5); 152,58 (d, $J_{\text{C,P}} = 3,8$; C-2).

EM, m/z (%): 274 ($\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_3\text{P}$ [M^+], (3,1); 191 (100); 163 (7,5); 83 (7,7); 72 (51,3); 44 (29).

- Dados referentes ao composto 5



Característica: óleo amarelado.

CCD: $R_f = 0,17$ (hexano-EtOAc 6:1 v/v).

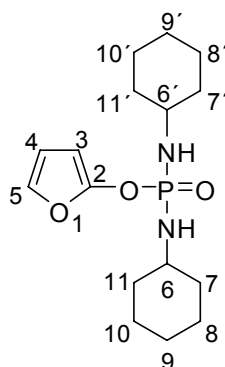
IV (filme, NaCl, $\bar{\nu}_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3140; 2978; 2937; 2895; 1604; 1511, 1467; 1385; 1287; 1238; 1212; 1173; 1102; 1064; 1040; 965.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, J/Hz , número de hidrogênios, atribuição): 1,10 (t, $J = 3,4$; 6H; CH_3); 3,19-3,39 (m, 4H; NCH_2); 5,75 (m, 2H; H-3); 6,30-6,33 (m, 2H; H-4); 6,98 (sinal largo, 2H; H-5).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, J/Hz, atribuição): 13,64 (s; $\underline{\text{CH}_3}$); 40,14 (d, $J_{\text{C-P}} = 4,6$; $\underline{\text{CH}_2}$); 89,76 (d, $^3J_{\text{C,P}} = 3,7$; C-3); 111,28 (s; C-4); 135,10 (s; C-5); 150,35 (d, $J_{\text{C,P}} = 4,6$; C-2).

EM, m/z (%): 285 ($\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{NO}_5\text{P}$ [M^+], (<1); 202 (4,8); 174 (40,3); 150 (73,8); 120 (20,4); 83 (100); 55 (42,7); 39 (23,6)

2.1.2.3. Síntese do furan-2-il N,N' -dícicloexilamidofosfato [7]



A um balão de fundo redondo de 25 mL, conectado a um tubo de cloreto de cálcio, adicionaram-se furan-2(5*H*)-ona [6] (501 mg; 6,0 mmol) e 4,0 mL de DCM anidro. Em seguida, cloreto de fosforila (POCl_3) (0,6 mL; 6,6 mmol) foi adicionado à mistura de uma só vez. Trietilamina (1,2 mL; 9,0 mmol) dissolvida em 2,0 mL de DCM anidro foi adicionada à mistura reagente, gota a gota, ao longo de um período de 15 minutos. Após essa adição, a mistura resultante foi agitada por 24 horas à temperatura ambiente. Decorrido esse período, adicionou-se 0,2 mL (2,2 mmol) de cloreto de fosforila (POCl_3) seguido de 0,2 mL (1,5 mmol) de trietilamina. Agitou-se a mistura por mais 24 horas à temperatura ambiente. O solvente foi, então, removido num evaporador rotatório. Ao resíduo resultante adicionaram-se, cuidadosamente, 6 mL de éter dietílico anidro seguido de 3 mL de pentano. O frasco foi selado e a mistura agitada por dois minutos à temperatura ambiente. O precipitado formado foi cuidadosamente removido (filtração a vácuo). O filtrado foi imediatamente lavado com 3 mL de éter dietílico e 6 mL de pentano. O frasco contendo o filtrado foi hermeticamente fechado, e a mistura foi mantida num refrigerador por 18 horas. Após esse tempo, a solução sobrenadante foi decantada, sendo recolhida num balão bitubulado de 25 mL. O solvente foi cuidadosamente

removido sob pressão reduzida. O material resultante não foi posteriormente purificado. Adicionaram-se 5 mol % de DMAP (36,7 mg; 0,3 mmol) dissolvido em 3 mL de éter dietílico anidro a esse material. Ao balão bitubulado adaptou-se um tubo de cloreto de cálcio. O balão contendo a mistura reagente foi resfriado numa mistura de gelo e sal. Posteriormente, trietilamina (1,6 mL; 12 mmol) foi gotejada lentamente à mistura por um período de 15 minutos. Na sequência, cicloexilamina (1,7 mL; 18 mmol) foi gotejada lentamente à mistura reagente por um período de 10 minutos. Terminada a adição, permitiu-se que a temperatura da mistura se igualasse à temperatura ambiente. A agitação da mistura, a esta temperatura, foi continuada por 18 horas. O precipitado formado na reação foi cuidadosamente removido por filtração a vácuo, sendo lavado várias vezes com éter dietílico anidro. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida, resultando num material de coloração marrom. A análise desse material por cromatografia em camada delgada revelou a presença de vários produtos, de difícil separação. A substância furan-2-il *N,N'*-dicicloexilamidofosfato [7] foi separada por cromatografia em coluna de sílica-gel, empregando-se um gradiente de eluição de hexano-EtOAc 8:1; 6:1; 4:1; 2:1; 1:1 v/v. O composto **7** foi obtido em 10,3% de rendimento (202 mg; 0,61 mmol).

Característica: sólido branco cristalino.

T_f: 133,2 – 134,3 °C.

CCD: R_f = 0,32 (hexano-EtOAc 1:1 v/v).

IV (filme, KBr, $\bar{\nu}_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3444; 3294; 3221; 2931; 2850; 1603; 1514; 1455; 1445; 1428; 1385; 1243; 1219; 1187; 1150; 1114; 1083; 1004; 956; 920; 884; 823; 718; 688; 604; 546; 501.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade, J/Hz, número de hidrogênios, atribuição): 1,05-1,96 (m, 20H; H-7/ H-7'/H-8/ H-8'/H-9/H-9'/H-10/H-10'/H-11/H-11'); 2,64 (t, $J_{\text{NH,P}} \approx J_{\text{NH,6}} \approx 10,0$; 2H; -NH); 3,03-3,18 (m, 2H; H-6); 5,66

(ddd, $J_{3,4} = 3,3$; $J_{3,P} = 2,2$; $J_{3,5} = 1,2$; 1H; H-3); 6,27 (ddd, $J_{4,3} = 3,3$; $J_{4,5} = 2,2$; $J_{4,P} = 0,6$; 1H; H-4); 6,94 (ddd, $J_{5,4} = 2,2$; $J_{5,3} = 1,2$; $J_{5,P} = 0,6$; 1H; H-5).

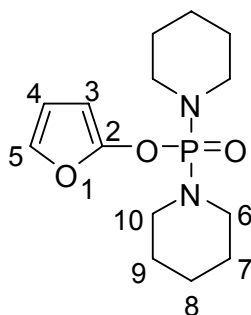
RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, J/Hz, atribuição): 25,26 (C-9/C-9')*; 25,58 (C-8 e C-8'/C-10 e C-10')*; 35,99 (d, $J = 5,70$; C-11/C-11')**; 36,07 (d, $J = 5,17$; C-7/C-7')**; 50,97 (C-6); 89,13 (d, $^3J_{C,P} = 3,45$; C-3); 111,44 (d, $^4J_{C,P} = 1,43$; C-4); 134,63 (d, $^5J_{C,P} = 1,2$; C-5); 152,03 (d, $J_{C,P} = 5,2$; C-2)

* Essas atribuições podem estar invertidas.

** Essas atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%): 326 ($[\text{M}]^{+}$, $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_3\text{P}$, 7); 244 (13); 243 (92); 162 (7); 161 (100); 144 (9); 98 (7); 84 (6); 83 (13); 81 (29); 79 (51); 64 (7); 56 (15); 55 (48); 54 (6).

2.1.2.4. Síntese do furan-2-il dipiperidin-1-ilfosfinato [8]



A síntese do composto **8** ocorreu segundo as mesmas condições descritas em 2.1.2.3, razão pela qual não serão descritas novamente. A análise da mistura por cromatografia em camada delgada revelou a presença de vários produtos; a substância furan-2-il dipiperidin-1-ilfosfinato [8] foi separada por cromatografia em coluna de sílica-gel, empregando-se um gradiente de eluição de hexano-EtOAc 6:1; 4:1; 2:1; 1:1 v/v. O composto **8** foi obtido na forma de mistura (403 mg) com parte do material de partida (composto **6**) que não foi completamente consumido durante a reação. Por meio dos valores de integração no espectro de RMN de ^1H , notou-se que os compostos **6** e **8** encontram-se na proporção de 1:3. Logo, estima-se que aproximadamente 300 mg corresponde ao produto **8**, o que forneceria um rendimento de 21,1% (300 mg; 1,01 mmol). Durante a coluna cromatográfica foi possível isolar ainda o

composto difuran-2-il piperidin-1-ilfosfonato [9] em 6,37% de rendimento (45 mg; 0,15 mmol).

- Dados referentes ao composto 8

Característica: óleo amarelado.

CCD: $R_f = 0,40$ (hexano-EtOAc 1:1 v/v).

IV (filme, KBr, $\bar{\nu}_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 2934; 2851; 1603; 1513; 1465; 1451; 1443; 1380; 1341; 1245; 1206; 1165; 1113; 1077; 1028; 959; 884; 846; 735; 561; 499; 479. *

* Bandas relativas à lactona 6 também foram observadas.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, J/Hz, número de hidrogênios, atribuição): 1,50-1,59 (m, 10H, H-7/H-8/H-9); 3,09-3,15 (m, 8H, H-6/H-10); 5,66 (ddd, $J_{3,4} = 3,3$; $J_{3,P} = 2,1$; $J_{3,5} = 1,2$; 1H; H-3); 6,27 (ddd, $J_{4,3} = 3,3$; $J_{4,5} = 2,1$; $J_{4,P} = 0,6$; 1H; H-4); 6,94 (ddd, $J_{5,4} = 2,1$; $J_{5,3} = 1,2$; $J_{5,P} = 0,6$; 1H; H-5).*

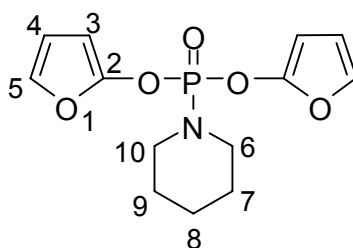
* Foram ainda observados alguns sinais extras no espectro, que são correspondentes à lactona 6 que não foi completamente consumida durante a reação.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, J/Hz, atribuição): 24,67 (C-8); 26,17 (d, $J_{C,P} = 5,10$; C-7/C-9); 45,79 (d, $J_{C,P} = 2,25$; C-6/C-10); 89,08 (d, $^3J_{C,P} = 3,23$; C-3); 111,46 (d, $^4J_{C,P} = 1,13$; C-4); 134,48 (s, C-5); 152,07 (d, $J_{C,P} = 4,13$; C-2)*

* Foram ainda observados alguns sinais extras no espectro, que são correspondentes à lactona 6 que não foi completamente consumida durante a reação.

EM, m/z (%): 298 ($[\text{M}]^{+}$, $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_3\text{P}$, 10); 216 (24); 215 (100); 159 (3); 151 (3); 132 (9); 130 (5); 86 (3); 85 (5); 84 (73); 83 (5); 82 (9); 76 (6); 70 (3); 67 (4); 56 (23); 55 (38); 54 (7); 53 (3); 51 (4).

- Dados referentes ao composto **9**



Característica: óleo amarelado.

CCD: $R_f = 0,64$ (hexano-EtOAc 1:1 v/v).

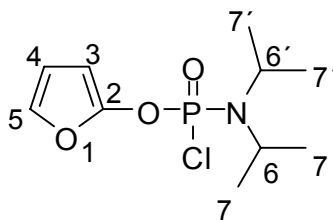
IV (filme, Csl, $\bar{\nu}_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3137; 2939; 2858; 1603; 1510; 1453; 1382; 1347; 1288; 1252; 1238; 1168; 1113; 1081; 1063; 1010; 967; 893; 867; 790; 718; 670; 599; 544.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, J/Hz , número de hidrogênios, atribuição): 1,42-1,61 (m, 5H, H-7/H-8/H-9); 3,20-3,27 (m, 4H, H-6/H-10); 5,75 (ddd, $J_{3,4} = 3,3$; $J_{3,P} = 2,1$; $J_{3,5} = 0,9$; 2H; H-3); 6,31 (ddd, $J_{4,3} = 3,3$; $J_{4,5} = 2,1$; $J_{4,P} = 0,6$; 2H; H-4); 6,99 (ddd, $J_{5,4} = 2,1$; $J_{5,P} = 1,2$; $J_{5,3} = 0,9$; 2H; H-5)*.

* Estes valores de J são aproximados, uma vez que o sinal era de baixa resolução.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, J/Hz , número de hidrogênios, atribuição): 24,24 (C-8); 25,77 (d, $^3J_{C,P} = 3,98$; C-7/C-9); 45,90 (d, $J_{C,P} = 2,25$; C-6/C-10); 89,95 (d, $^3J_{C,P} = 3,38$; C-3); 111,53 (d, $^4J_{C,P} = 1,73$; C-4); 135,37 (d, $^5J_{C,P} = 1,13$; C-5); 150,50 (d, $J_{C,P} = 4,6$; C-2)

EM, m/z (%): 297 ($[\text{M}]^{+}$, $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{NO}_5\text{P}$, 2); 214 (4); 187 (4); 186 (4); 168 (3); 158 (3); 150 (61); 132 (18); 122 (7); 94 (4); 88 (4); 86 (23); 84 (54); 83 (100); 78 (8); 76 (4); 63 (9); 56 (6); 55 (34); 51 (27); 50 (4).

2.1.2.5. Síntese do furan-2-il *N,N*-diisopropilamidoclorofosfato [10]

A síntese do composto **10** ocorreu segundo as mesmas condições descritas em 2.1.2.3, de forma que não serão descritas novamente. A análise da mistura por cromatografia em camada delgada revelou a presença de vários produtos, de difícil separação. A substância furan-2-il *N,N*-diisopropilamidoclorofosfato [10] foi isolada por cromatografia em coluna de sílica-gel, empregando-se um gradiente de eluição de hexano-EtOAc 7:1; 6:1; 4:1; 2:1; 1:1 v/v. O composto **10** foi obtido em 14% de rendimento (222 mg; 0,84 mmol)

Característica: sólido branco cristalino.

T_f: 50,6 - 51,3 °C

CCD: R_f = 0,54 (hexano-EtOAc 4:1 v/v).

IV (filme, KBr, $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ cm⁻¹): 2971; 2939; 2834; 2808; 2755; 2737; 2676; 2600; 2490; 2475; 2414; 2080; 1579; 1474; 1433; 1398; 1383; 1170; 1151; 1035; 849; 804.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade, J/Hz, número de hidrogênios, atribuição): 1,31 (dd, $J_{7,P} = 19,2$; $J_{7,6} = 6,9$; 12 H; H-7/H-7'); 3,55-3,76 (m, 2H, H-6/H-6'); 5,85 (ddd, $J_{3,4} = 3,3$; $J_{3,P} = 2,4$; $J_{3,5} = 0,9$; 1H; H-3); 6,33 (ddd, $J_{4,3} = 3,3$; $J_{4,5} = 2,4$; $J_{4,P} = 0,6$; 1H; H-4); 7,01 (ddd, $J_{5,4} = 2,4$; $J_{5,3} = 1,2$; $J_{5,P} = 0,6$; 1H; H-5).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade, J/Hz, atribuição): 21,35 (d, $^3J_{C,P} = 1,43$; C-7 ou C-7'); 22,50 (d, $^3J_{C,P} = 2,93$; C-7 ou C-7'); 48,13 (d, $J_{C,P} = 4,58$;

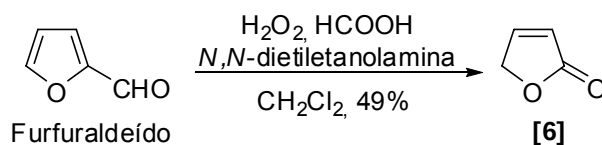
C-6/C-6'); 91,26 (d, $^3J_{C,P}$ = 3,98; C-3); 111,61 (d, $^4J_{C,P}$ = 2,33; C-4); 135,68 (d, $^5J_{C,P}$ = 1,73; C-5); 149,67 (d, $J_{C,P}$ = 6,3; C-2)

EM, m/z (%): 267 ($[M+2]^+$, $C_{10}H_{17}ClNO_3P$, 6); 265 ($[M]^+$, $C_{10}H_{17}ClNO_3P$, 17); 208 (6); 184 (13); 182 (39); 146 (8); 142 (19); 140 (56); 124 (9); 110 (10); 104 (12); 98 (11); 86 (46); 85 (5); 84 (79); 83 (20); 82 (7); 70 (4); 58 (36); 56 (13); 55 (27); 51 (100); 50 (14).

2.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

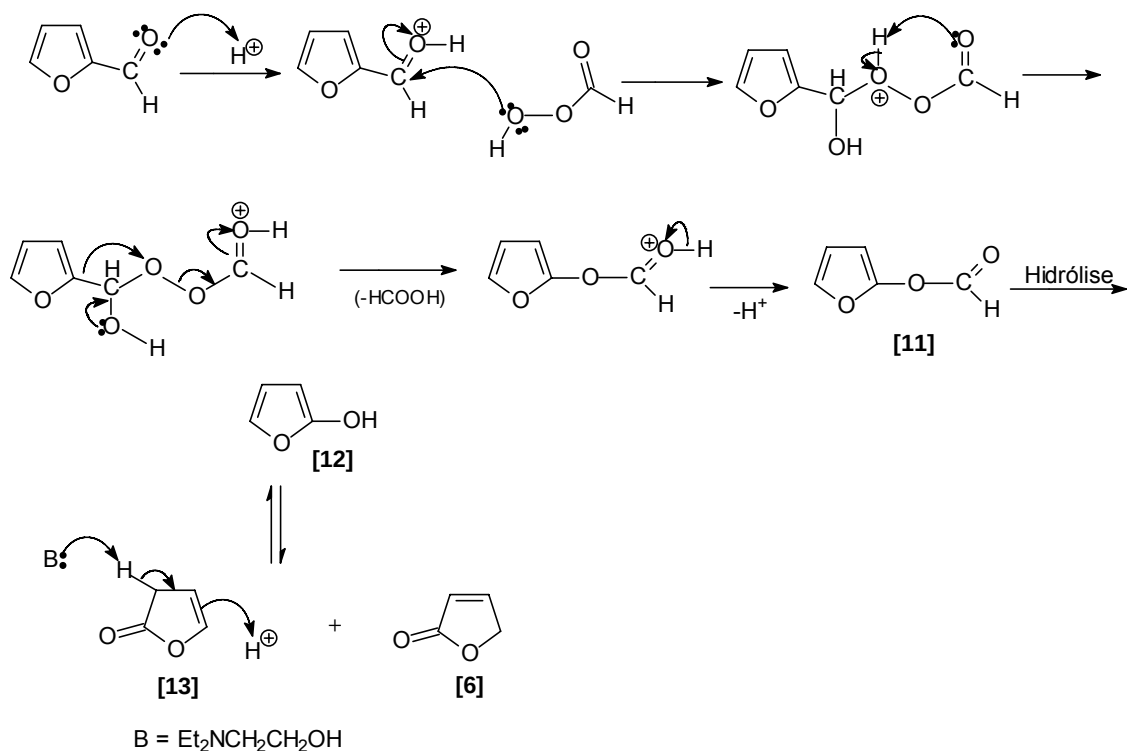
2.2.1. Síntese da lactona furan-2(5H)-ona [6]

A síntese da lactona **6** foi realizada empregando-se como material de partida 2-furfuraldeído (furfural), segundo as condições mostradas no Esquema 1.



Esquema 1 - Síntese da furan-2(5H)ona **[6]** a partir do furfuraldeído.

A reação de oxidação de Bayer Villiger do furfuraldeído com ácido per fórmico, gerado *in situ* pela reação do peróxido de hidrogênio com ácido fórmico, produziu o éster **11**, que, sob as condições de reação, sofreu hidrólise, originando o enol **12** (Esquema 2). Este, por sua vez, sofreu tautomerização, resultando na formação das substâncias **6** e, possivelmente, **13**. Embora esse último composto não tenha sido isolado, a formação dele não pode ser desconsiderada (DE SOUZA, 2005). Nas condições de reação, a lactona **13** pode sofrer isomerização, na presença da base *N,N*-dietiletanolamina, originando a lactona furan-2(5H)-ona **[6]**. A utilização desse procedimento resultou na obtenção desta lactona com rendimento de 49%, similar àquele documentado na literatura (NÄSMAN, 1990).

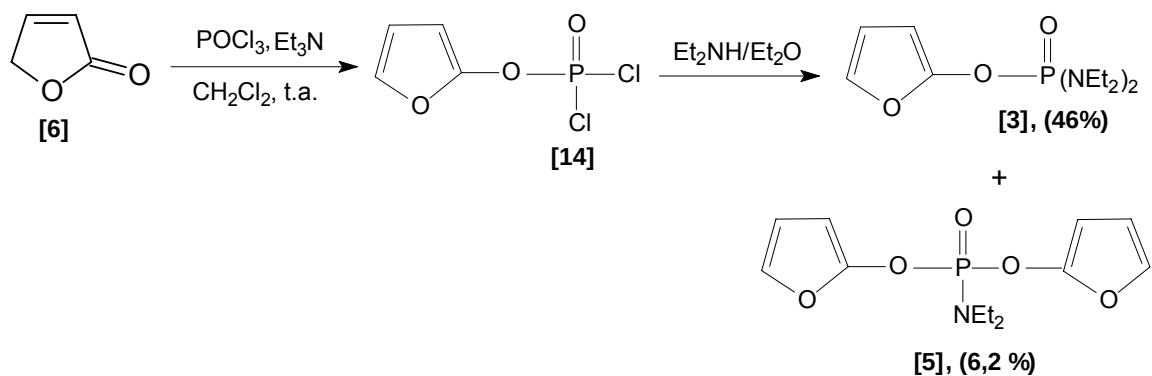


Esquema 2 - Proposta mecanística para a formação da lactona **6** (TEIXEIRA, 2008).

Os dados espectroscópicos da lactona **6** encontram-se descritos na literatura (TEIXEIRA, 2008). Os espectros no infravermelho, de RMN de ¹H e de ¹³C, bem como o espectro de massas, encontram-se em anexo.

2.2.2 Síntese do furan-2-il *N,N,N',N'*-tetraetildiamidofosfato [3]

A sequência de etapas empregada no preparo do composto **3** (Esquema 3) consistiu numa adaptação da rota sintética descrita por Näsman (1990), conforme Esquema 3.



Esquema 3 - Reação para a síntese do composto **3**, a partir da lactona **6**.

Empregando a lactona **6** como material de partida, obteve-se o composto **3** com rendimento de 46%. O intermediário **14** não foi isolado após o tratamento de **6** com cloreto de fosforila (POCl_3), sendo imediatamente submetido à reação de substituição nucleofílica com *N,N*-dietilamina. Depois do fracionamento em coluna de sílica-gel, usando-se como eluente hexano-EtOAc em gradiente de concentração (3:1; 2:1; 1:1 v/v), foram isolados os compostos **3** e **5**.

Os dados espectroscópicos correspondentes aos compostos **3** e **5** estão de acordo com a literatura (TEIXEIRA, 2008). Os espectros no infravermelho, de RMN de ^1H e de ^{13}C , bem como o espectro de massas, encontram-se em anexo.

2.2.3. Síntese do furan-2-il *N,N'*-dicicloexilamidofosfato [7]

A utilização da rota sintética para obtenção de **7**, a partir da lactona **6**, seguindo as mesmas condições descritas em 2.1.2.2, forneceu uma mistura complexa de produtos de difícil purificação. O composto **7** foi isolado, após sucessivas separações cromatográficas em coluna, em 6% de rendimento.

Em razão dos resultados encontrados na primeira tentativa de síntese do composto furan-2-il *N,N'*-dicicloexilamidofosfato [7], decidiu-se alterar as quantidades dos reagentes na tentativa de otimizar as condições da reação.

Os resultados dos diferentes experimentos realizados para otimização das condições de reação estão descritos sucintamente na Tabela 1.

Tabela 1 - Resultados experimentais obtidos na tentativa de síntese do composto **7**

Experimento	Condições	Resultado
1	(i) lactona 6 (2,4 mmol; 1,0 equiv.), POCl_3 (2,6 mmol; 1,1 equiv.), Et_3N (3,75 mmol; 1,6 equiv.); (ii) Cicloexilamina (2,6 mmol; 1,1 equiv.)	Mistura complexa de difícil purificação. O composto 7 foi obtido em 6% de rendimento. Os demais produtos não foram isolados, permanecendo adsorvidos à sílica da coluna**.

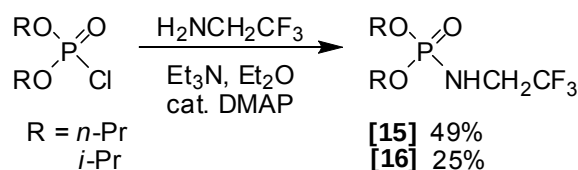
2*	(i) lactona 6 (3,6 mmol; 1,0 equiv.), POCl ₃ (3,9 mmol; 1,1 equiv.), Et ₃ N (6,9 mmol; 1,9 equiv.); (ii) Cicloexilamina (15,3 mmol; 4,25 equiv.)	Mistura complexa de difícil purificação. Nenhum produto foi isolado do fracionamento em coluna de sílica-gel, uma vez que ficaram adsorvidos à sílica da coluna**.
3*	(i) lactona 6 (2,4 mmol; 1,0 equiv.), POCl ₃ (3,6 mmol; 1,5 equiv.), Et ₃ N (3,1 mmol; 1,3 equiv.); (ii) Cicloexilamina (10,0 mmol; 4,2 equiv.)	Mistura complexa de difícil purificação. Nenhum produto foi isolado do fracionamento em coluna de sílica-gel, uma vez que ficaram adsorvidos à sílica da coluna**.

* Adição de 0,3 equiv. de Et₃N ocorreu 24h após a primeira adição.

** Metanol foi usado como eluente ao final da coluna e, mesmo assim, a massa de material recuperado foi inferior (< 50%) à massa do material adicionado à coluna.

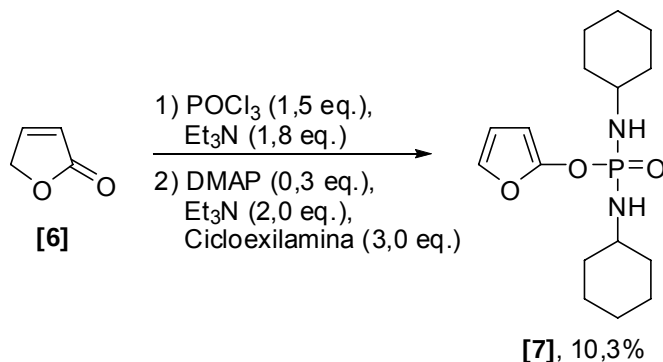
Uma vez que os resultados encontrados não foram satisfatórios, buscou-se na literatura informações que pudessem auxiliar na otimização da metodologia para o preparo de **7**.

Timperley (2005) mostrou que a síntese dos compostos dialquil *N*-fluoroalquilfosforamidatos **15** e **16** foi possível somente quando submetidos às condições descritas no Esquema 4 na presença do catalisador 4-dimetilaminopiridina (DMAP) e, mesmo assim, com rendimentos moderados.



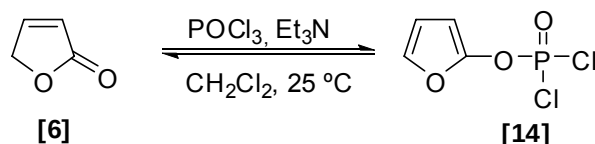
Esquema 4 - Síntese dos dialquil *N*-fluoroalquilfosforamidatos **15** e **16**.

Assim, optou-se pela utilização desse catalisador na tentativa de obter melhores resultados na preparação da substância **7**. A lactona **6** foi então submetida às condições descritas no Esquema 5.



Esquema 5 - Condições reacionais para síntese do composto **7**.

Como pode ser observado no esquema anterior, foi utilizada maior quantidade de cloreto de fosforila (POCl_3), visto que a etapa de formação do intermediário **14** corresponde a um equilíbrio (Esquema 6), e, pelo incremento desse reagente, esperava-se deslocar o equilíbrio para a formação do intermediário **14** desejado. Por esse procedimento, tentou-se aumentar o rendimento dessa etapa de formação do composto **14**, uma vez que Näsman (1990) isolou esse intermediário com rendimento de 60-65%.



Esquema 6 - Etapa de formação do intermediário **14**.

A adição do catalisador DMAP (5 mol%) ocorreu via seringa, dissolvido em DCM. Na sequência, dois equivalentes de trietilamina foram então adicionados de forma a promover o ataque nucleofílico à ligação $\text{P}=\text{O}$ e, conseqüente deslocamento dos átomos de cloro, conforme descrito por Timperley (2005). Só então procedeu-se à adição da cicloexilamina, em excesso (três equivalentes). Observou-se, por meio da análise da mistura reagente por CCD, a formação de vários compostos. Após o fracionamento em coluna de sílica-gel, usando-se como eluente hexano-EtOAc em gradiente de concentração (3:1; 2:1; 1:1 v/v), o composto **7** foi isolado em 10,3% de rendimento. Os demais produtos não foram isolados, uma vez que permaneceram adsorvidos na coluna.

Situação semelhante à descrita foi observada por Timperley (2005) ao tratar vários dicloretos fosforados com dois equivalentes de 2,2,2-trifluoroetilamina e trietilamina, levando à obtenção de misturas de produtos de difícil purificação. Além disso, as instabilidades dos compostos formados dificultaram ainda mais a etapa de purificação.

Essa substância teve sua estrutura confirmada utilizando-se as análises espectroscópicas no infravermelho, RMN de ^1H e de ^{13}C e espectrometria de massas.

A ausência das bandas em 1775 cm^{-1} e 1741 cm^{-1} no espectro no IV do composto **7** (Figura 1), correspondentes aos estiramentos do grupo carbonila de lactona α,β -insaturada, confirmou o consumo do material de partida da

reação. A banda de estiramento de -NH apresentou-se alargada em 3444 cm^{-1} devido à formação de ligações de hidrogênio intermoleculares. Segundo Pretsch (1989), o estiramento de ligação P-N-C pode aparecer como duas bandas em $1110\text{-}930$ e $770\text{-}680\text{ cm}^{-1}$, de modo que é razoável atribuir as bandas em 1083 e 718 cm^{-1} a esse estiramento.

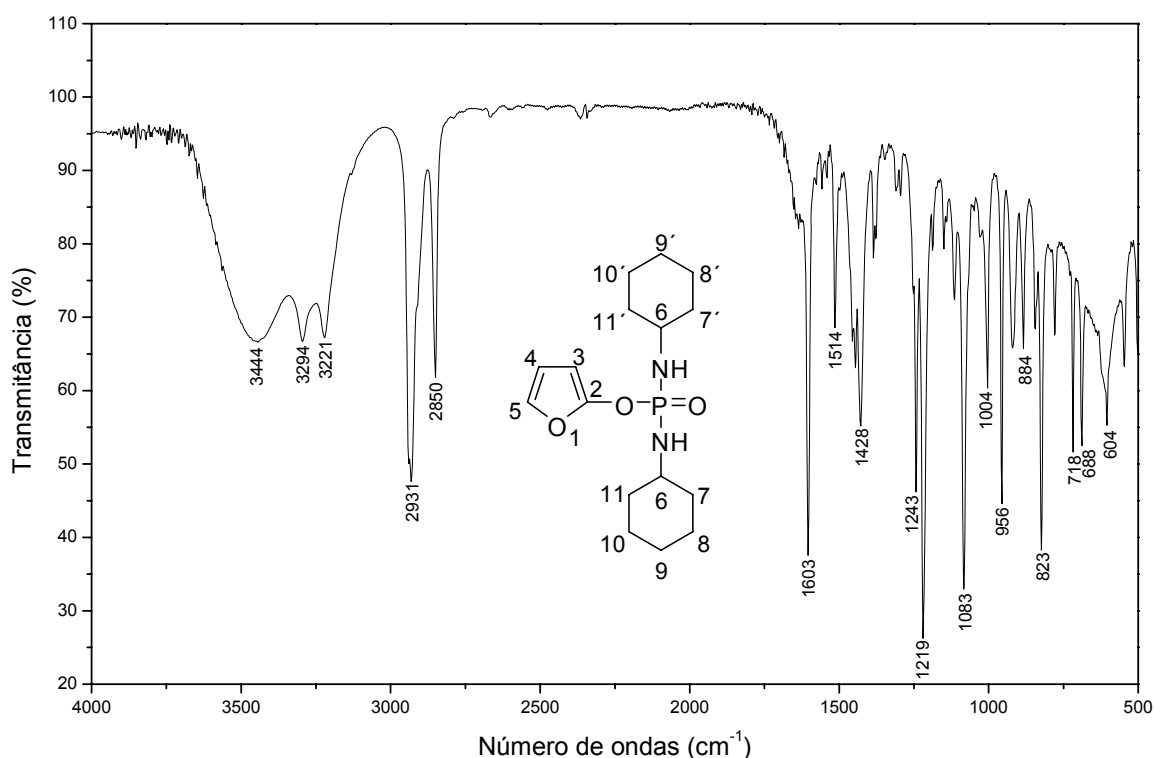


Figura 1 - Espectro no IV (filme, KBr) do composto 7.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 2) o multipeto em δ_{H} 1,05-1,96, integrado para 20 hidrogênios, é referente aos átomos de hidrogênio metilênicos dos anéis do grupo cicloexila. O sinal em δ_{H} 2,64, um tripleto integrado para dois átomos de hidrogênio, refere-se aos átomos de hidrogênio do grupo amino (-NH), e o sinal em δ_{H} 3,03-3,18, multipeto integrado para dois átomos de hidrogênio, corresponde aos átomos de hidrogênio -CH dos anéis cicloexila. Observaram-se ainda sinais em δ_{H} 5,66, δ_{H} 6,27 e δ_{H} 6,94, referentes aos hidrogênios (H-3), (H-4) e (H-5), respectivamente, do anel furânico. Experimentos de dupla radiação auxiliaram nas atribuições dos valores de J .

Similarmente ao que foi descrito para os compostos 3 e 5, alguns sinais no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 3) encontraram-se desdobrados devido aos

acoplamentos C-P. Os carbonos C-8/C-8'/C-9/C-9'/C-10/C-10' apresentaram-se como simpletos em δ_C 25,26 e 25,58, o que está de acordo com os valores de deslocamento químico descritos na literatura para um grupo cicloexila ligado ao átomo de nitrogênio (PRETSCH, 1989). Em razão da proximidade dos deslocamentos químicos, as atribuições referentes a esses carbonos podem estar invertidas. Os sinais em δ_C 35,99 e 36,07 são referentes aos átomos de carbono metilênicos C-7/C-7'/C-11/C-11'. Estes sinais apresentaram-se como um aparente tripleto, provavelmente devido à sobreposição dos sinais referentes a dois dupletos. Pelo fato de a substância possuir dois anéis de seis membros, embora exista aparente simetria entre eles, pode haver algum arranjo diferenciando-os ligeiramente, o que justificaria a formação desses dupletos. Os sinais em δ_C 25,26, 25,58 e 36,11 foram confirmados como sendo grupos -CH₂ por meio do experimento DEPT (Figura 4). Observaram-se ainda sinais em δ_C 89,13, referente ao átomo de carbono C-3 (d, $^3J_{C-P} = 3,45$ Hz); em δ_C 111,44, referente ao C-4 (d; $^4J_{C-P} = 1,43$ Hz); em δ_C 134,63, referente ao átomo C-5 (d; $^5J_{C-P} = 1,2$ Hz); e em δ_C 152,03 referente ao átomo C-2 (d, $J_{C-P} = 5,2$ Hz). No caso do átomo de carbono C-6, este foi observado como um simpleto alargado em δ_C 50,97 (C-6), fato este que pode estar relacionado ao momento de quadrupolo do N-15, que alarga o sinal dos núcleos ligados a ele e pode ter mascarado o acoplamento com o átomo de fósforo. Apenas os principais sinais foram ampliados no espectro da Figura 3, a fim de garantir melhor visualização.

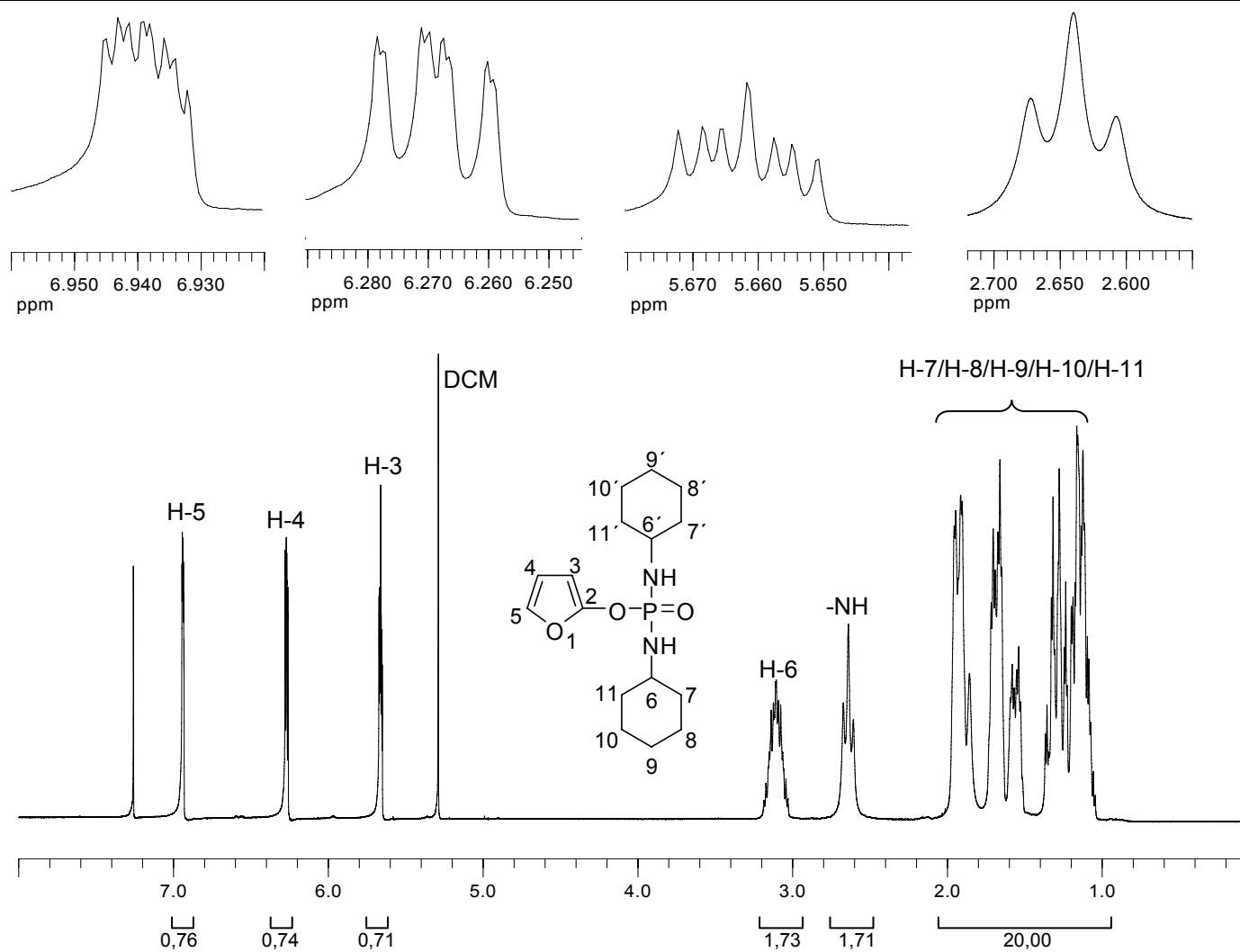


Figura 2 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 7.

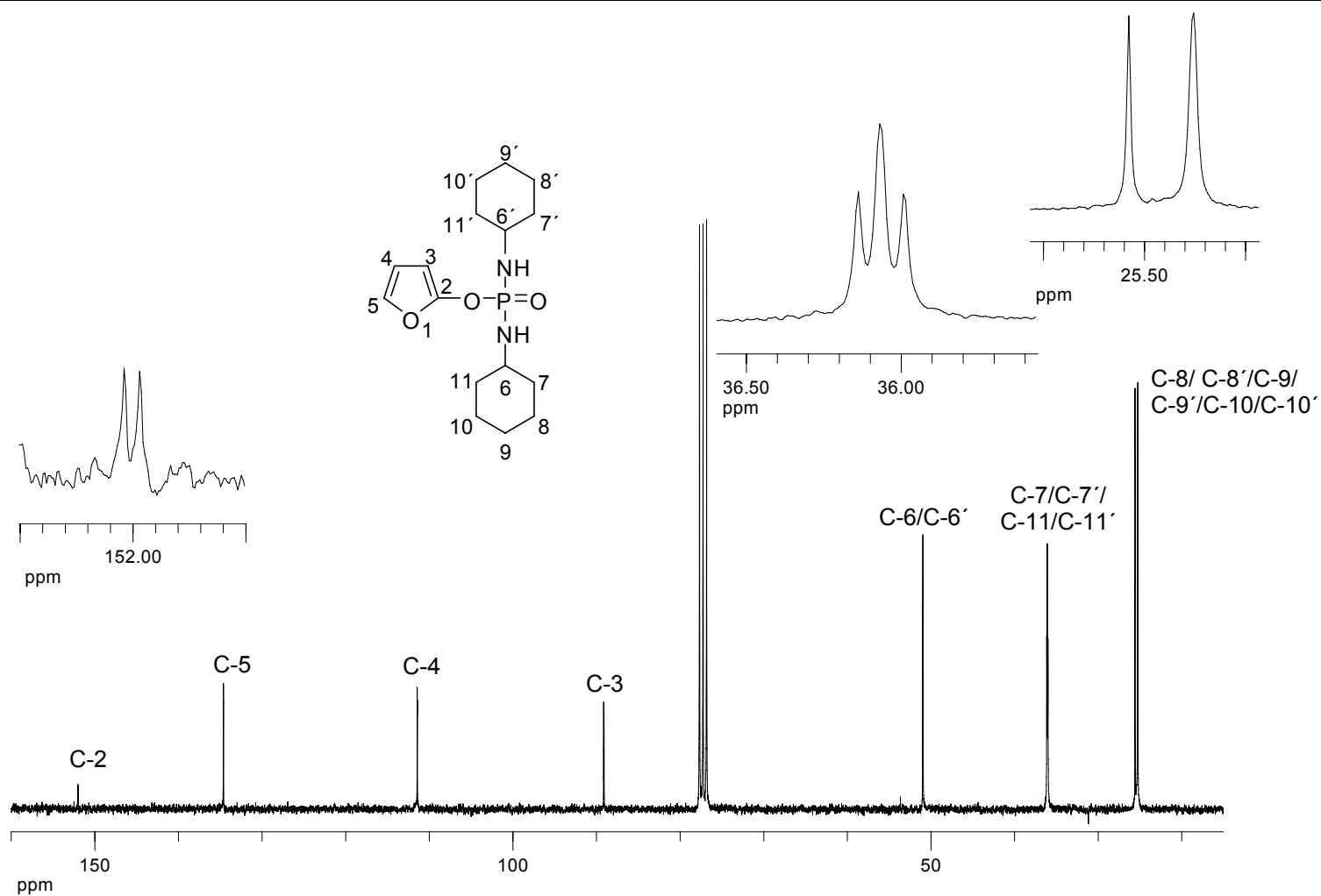


Figura 3 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 7.

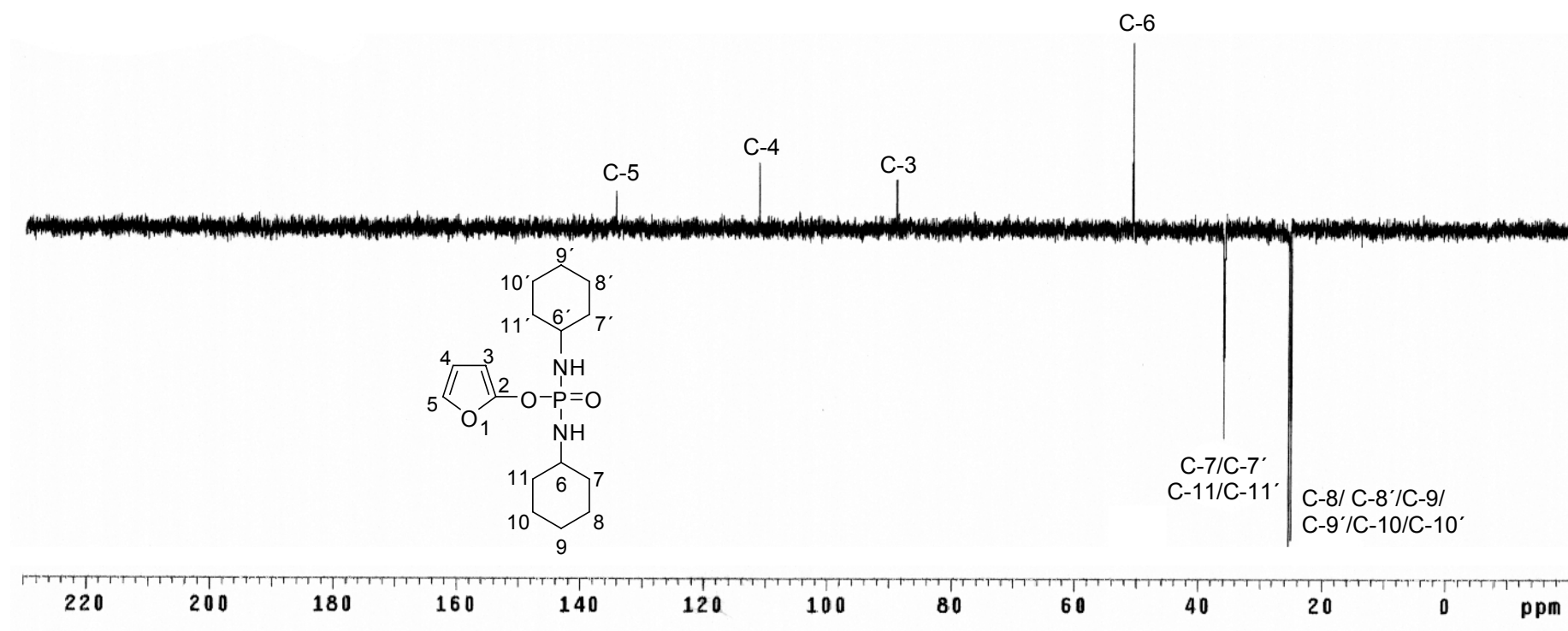


Figura 4 - Espectro DEPT do composto 7.

Ainda com relação ao composto **7**, isolado em 10,3% de rendimento, observou-se em seu espectro de massas a presença de um pequeno pico de valor m/z 326, que corresponde ao pico do íon molecular. Foram observados ainda picos de valor m/z 243 (92) e 161 (100), cujas propostas de fragmentação são descritas na Figura 5.

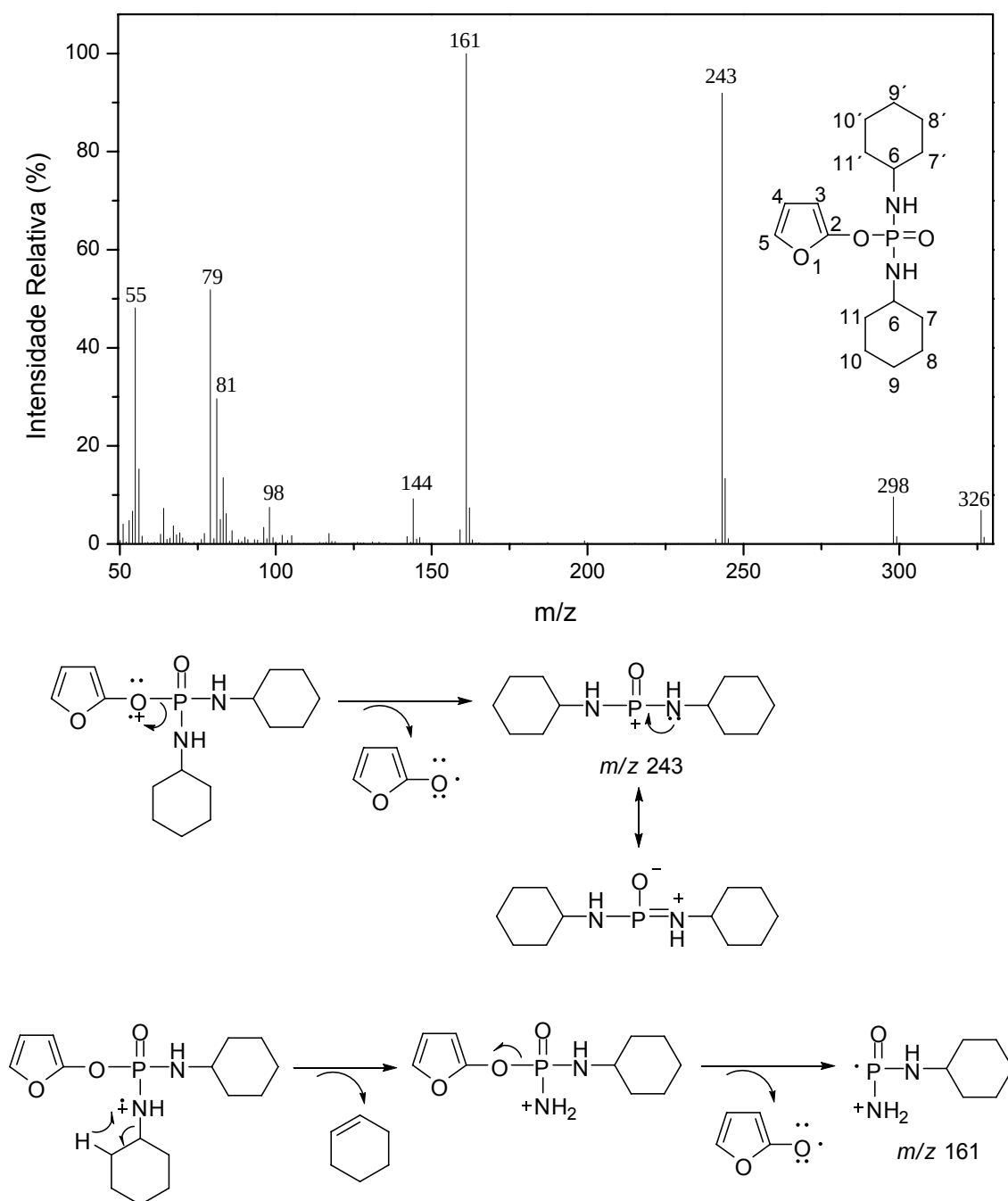


Figura 5 - Espectro de massas e processos de fragmentação mais importantes do composto **7**.

Por fim, a estrutura do composto **7** foi confirmada por meio de experimentos de difração de raios X. A representação ORTEP do composto **7** é mostrada na Figura 6, e os dados cristalográficos estão descritos na Tabela 2.

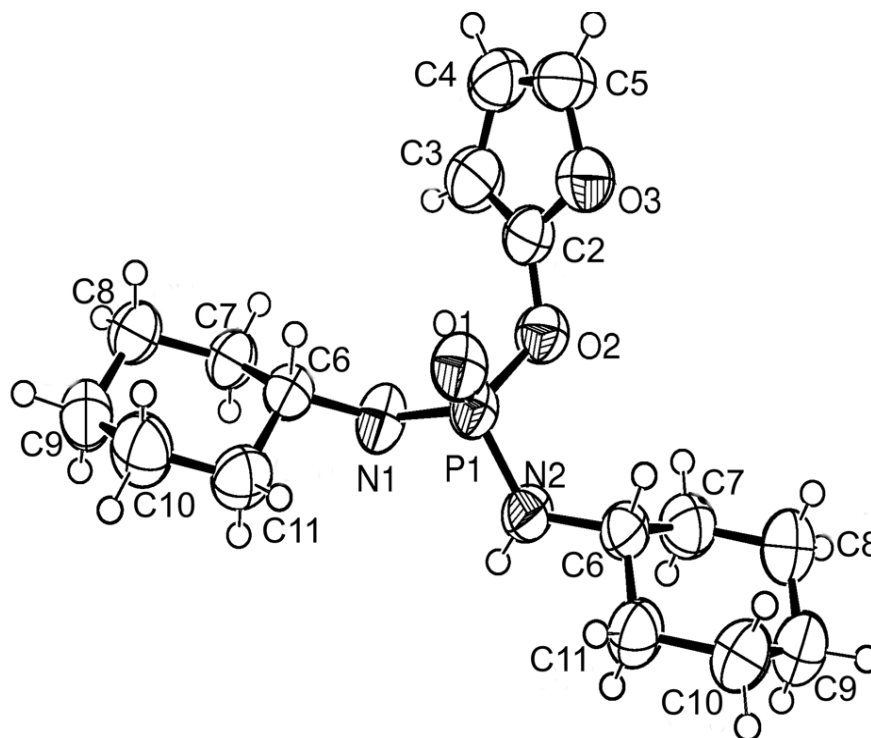


Figura 6 - Representação ORTEP da estrutura da substância **7**.

Tabela 2 - Dados cristalográficos do composto **7**

Fórmula Empírica	C ₁₆ H ₂₇ N ₂ O ₃ P
Massa Molecular	326,27
Sistema Cristalino	Ortorrômbico
	a=11.8810(5) Å
	b=8.9415(3) Å
	c=32.8469(14) Å
Dimensões da cela unitária	α=β=γ=90°
Volume da cela unitária (Å ³)	3489.5(2)
Z	8
Densidade calculada	1,242 mg/m ³
Coeficiente de absorção	0.171 mm ⁻¹
F (000)	1408
Tamanho do cristal	0,19 x 0,23 x 0,26 mm ³

θ -Máximo	3,02 a 25,00°
Reflexões coletadas	3493
Reflexões independentes	15738 / 3041 [R(int) = 0.0892]
Integralidade até $\theta_{\max}$	98,6
Dados/restrições/parâmetros	3041/0/199
Qualidade do ajuste em F^2	1,088
Índices R Finais [$I > 2\sigma(I)$]	R1 = 0,0489, wR2 = 0,1212
Índices R (todos os dados)	R1 = 0,0893 wR2 = 0,1407
$\Delta\rho_{\max}$ e $\Delta\rho_{\min}$ (e.Å ⁻³)	0.231 e -0.216

Ligações de hidrogênio intermoleculares, conforme mostrado na Figura 7, são importantes para a estabilização da rede cristalina.

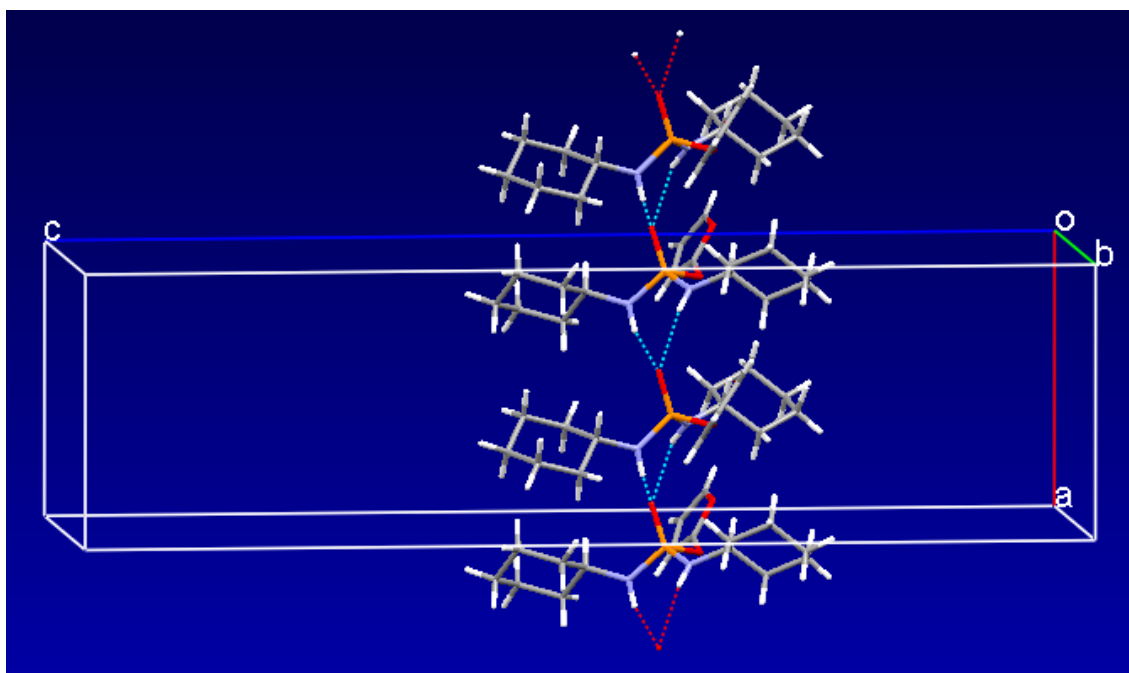


Figura 7 - Ligações de hidrogênio intermoleculares para o composto 7.

2.2.4. Síntese do furan-2-il dipiperidin-1-ilfosfinato [8]

Na tentativa de sintetizar o composto **8**, empregaram inicialmente as mesmas condições descritas em 2.1.2.2, correspondente à adaptação da rota sintética proposta por Näsman (1990). Entretanto, essa metodologia mostrou-se não-satisfatória, fornecendo uma mistura complexa de produtos de difícil purificação; a substância **8** não foi isolada a partir desta mistura. Diante da similaridade com a situação descrita para síntese do composto **7**, optou-se por empregar a metodologia descrita por Timperley (2005), utilizando-se 5 mol% do catalisador DMAP, conforme mostrado na Tabela 3.

Tabela 3 - Experimentos realizados para síntese do composto **8**

Experimento	Condições	Resultado
1*	(i) lactona 6 (3,6 mmol; 1,0 equiv.), POCl ₃ (5,4 mmol; 1,5 equiv.), Et ₃ N (5,4 mmol; 1,5 equiv); (ii) Piperidina (15,0 mmol; 4,2 equiv.)	Mistura complexa de difícil purificação. Nenhum produto foi isolado do fracionamento em coluna de sílica-gel, uma vez que ficaram aderidos ao material de preenchimento.
2*	(i) lactona 6 (6,0 mmol; 1,0 equiv.), POCl ₃ (6,6 mmol; 1,1 equiv.), Et ₃ N (9,0 mmol; 1,5 equiv); (ii) POCl ₃ (2,2 mmol; 0,4 equiv.), Et ₃ N (1,5 mmol; 0,25 equiv); (iii) DMAP (0,3 mmol; 5 mol%); Et ₃ N (12 mmol; 2,0 equiv.), piperidina (18,0 mmol; 3,0 equiv.)	O composto 8 foi obtido em 21,1% de rendimento na forma de mistura (contaminada com parte da lactona 6 que não foi consumida). O subproduto 9 foi isolado em 5,1% de rendimento.

* Adição de 0,4 equiv. de Et₃N ocorreu 24h após a primeira adição.

Observou-se, via análise por CCD uma mistura de vários compostos, e, após o fracionamento em coluna de sílica-gel, usando como eluente hexano-EtOAc em gradiente de concentração (6:1; 4:1; 2:1; 1:1 v/v), uma fração contendo dois produtos foi isolada. Devido à proximidade dos valores de R_f (R_f = 0,40 e 0,36, tendo como eluente hexano-EtOAc 1:1 v/v), os pontos referentes a esses compostos foram observados como uma mancha um pouco estendida. Tentativas de separação desses compostos por CCD, usando diferentes misturas de eluentes (hexano-EtOAc 3:1; hexano-Et₂O 1:1, hexano-Et₂O 1:3; hexano-DCM 1:1; hexano-DCM 1:3 v/v), foram infrutíferas. Concluiu-se que não seria possível separar os compostos assim mencionados por cromatografia em coluna. Durante a identificação dos compostos da mistura, concluiu-se que o primeiro deles correspondia ao produto **8** desejado, contaminado com uma quantidade da lactona **6** de partida, que, neste caso, não foi completamente consumida. Para efeito do cálculo do rendimento, consideraram-se os valores das curvas de integração no espectro de RMN de ¹H, que mostrou a lactona **6** e o furano **8** presentes na mistura na razão de 1:3. Assim, estimou-se que aproximadamente 100 mg da lactona não foram consumidos. O subproduto **9** foi ainda isolado, na forma de um óleo amarelado, com rendimento de 5,1%. A completa caracterização dos compostos foi feita utilizando-se as análises espectroscópicas no infravermelho, de RMN de ¹H e de ¹³C e espectrometria de massas.

No espectro no infravermelho da mistura contendo o composto **8** (Figura 8), observaram-se duas bandas correspondentes ao estiramento do grupo carbonila da lactona **6**, em 1773 cm^{-1} e 1743 cm^{-1} , assim como no espectro da lactona, evidenciando a presença de parte da lactona que não foi consumida. Entretanto, as bandas intensas observadas em 1245 e 1200 cm^{-1} podem ser atribuídas ao estiramento da ligação $\text{P}=\text{O}$, e as bandas em 1077 e 958 cm^{-1} , às vibrações do grupo $\text{P}-\text{N}$, evidenciando a formação do produto.

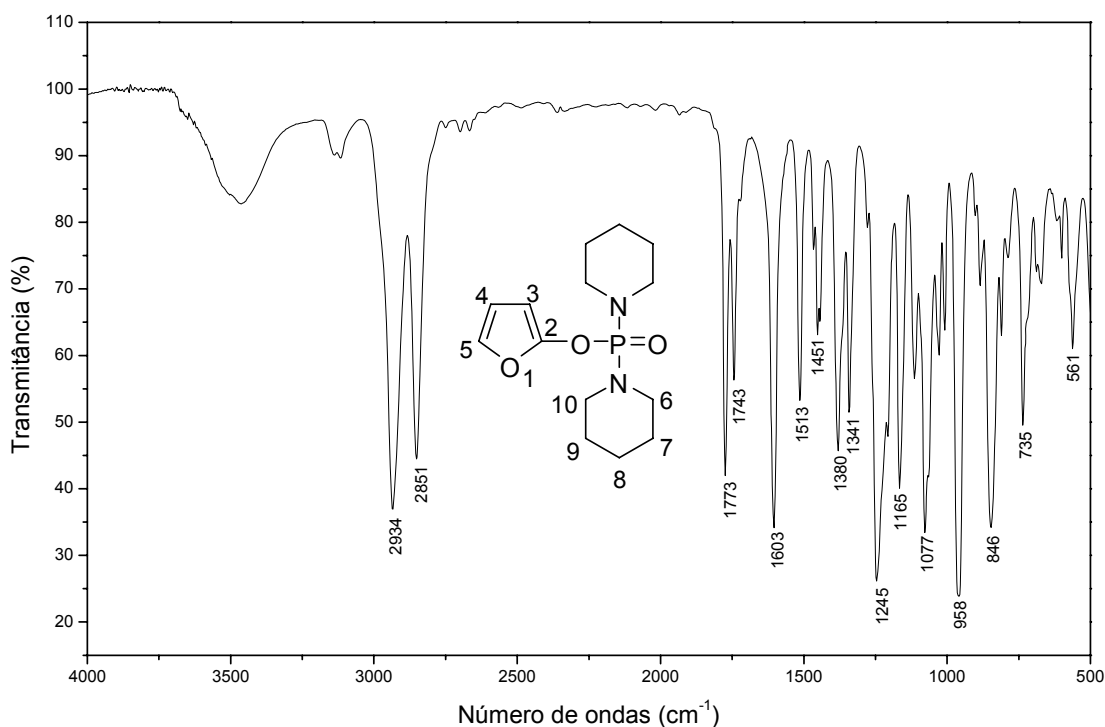
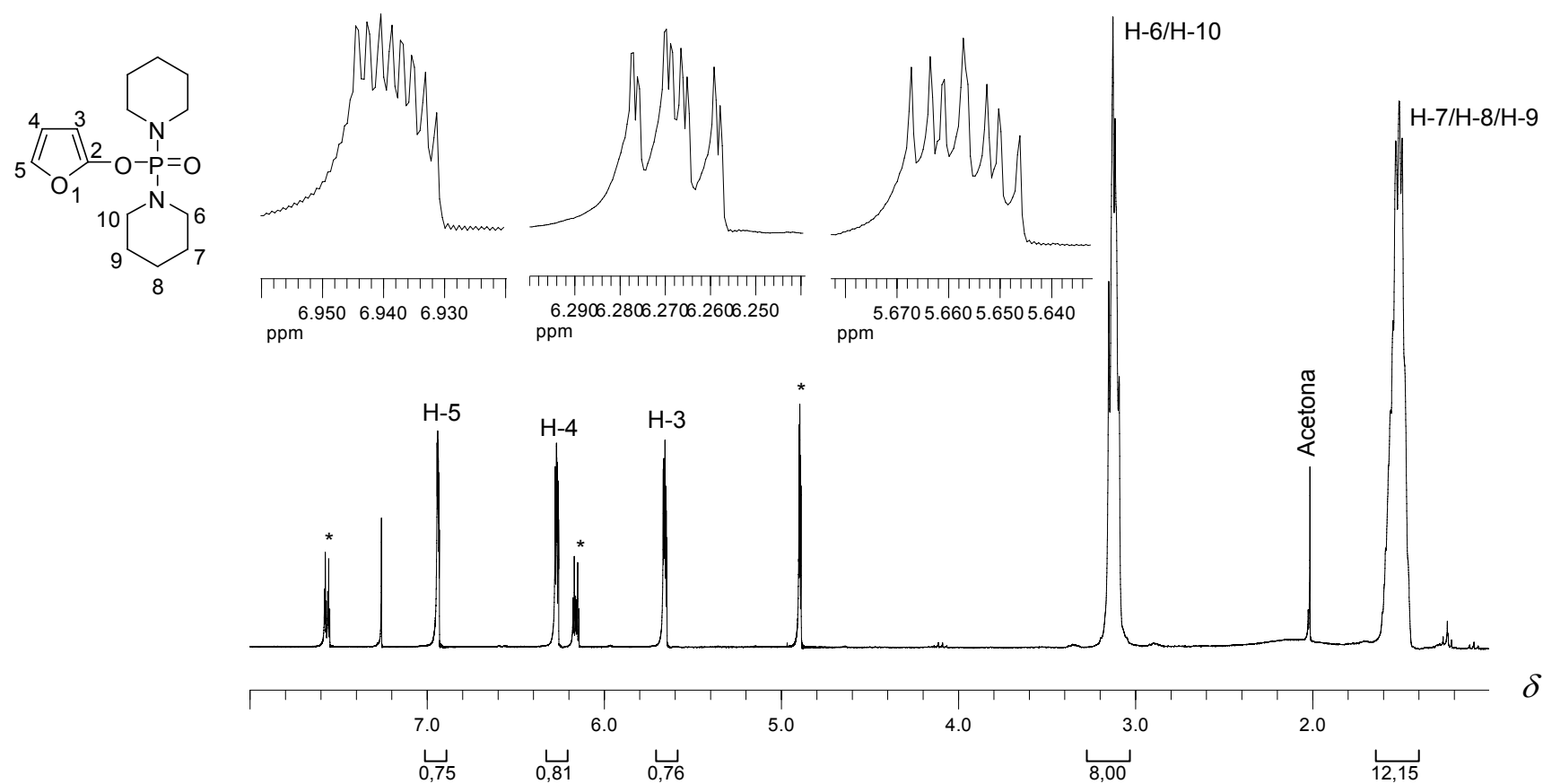


Figura 8 - Espectro no IV (filme, KBr) do composto **8** (contaminado com a lactona **6**).

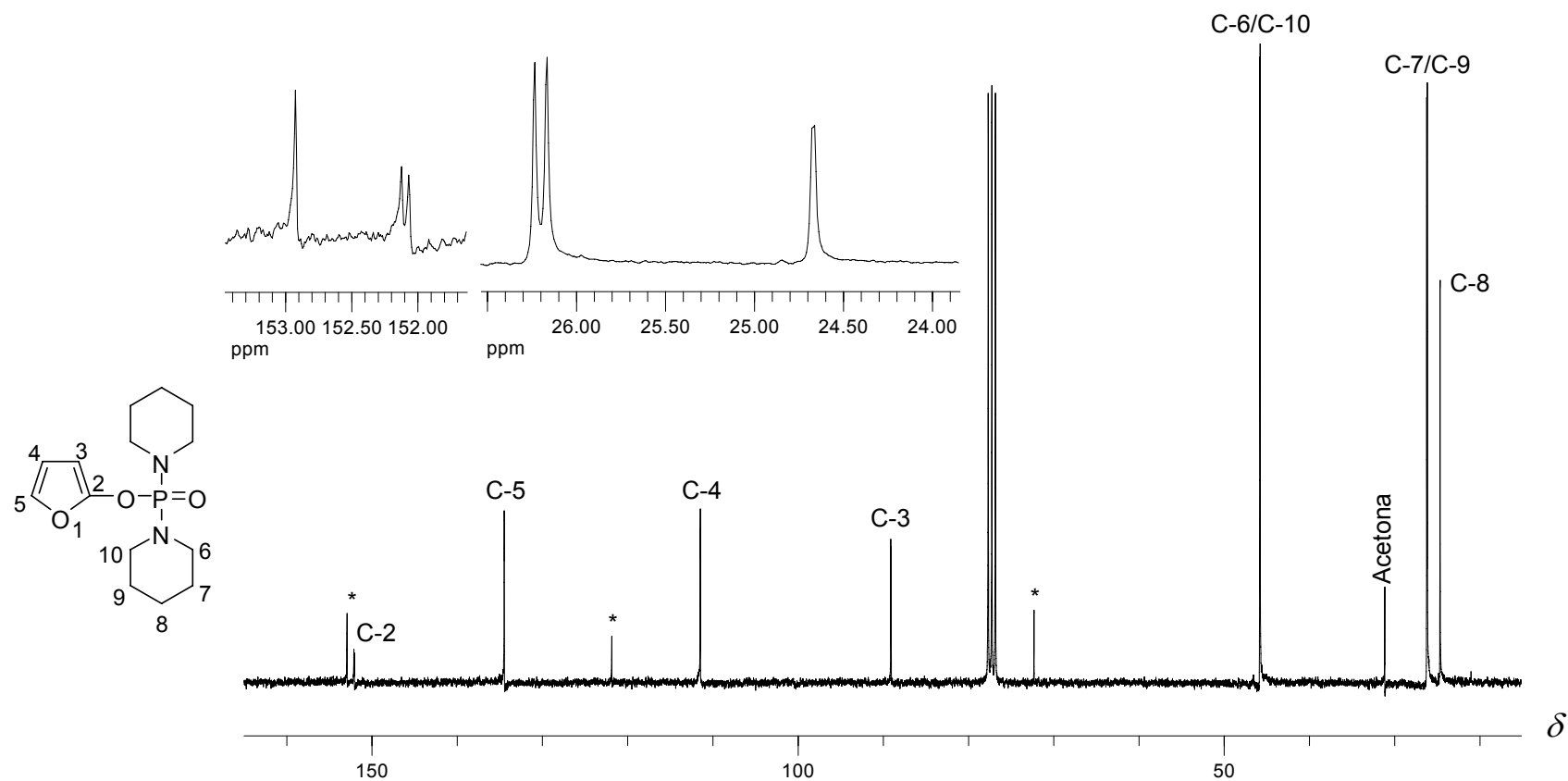
No espectro de RMN de ^1H (Figura 9) foram observados dois multipletos: em δ_{H} 1,50-1,59, integrado para 10 hidrogênios, e em δ_{H} 3,09-3,15, integrado para oito hidrogênios. Estes multipletos são referentes aos hidrogênios metilênicos $\text{H}-7/\text{H}-8/\text{H}-9$ e $\text{H}-6/\text{H}-10$, respectivamente. Os sinais em δ_{H} 5,66, δ_{H} 6,27 e δ_{H} 6,94 correspondem aos hidrogênios ($\text{H}-3$), ($\text{H}-4$) e ($\text{H}-5$), respectivamente, do anel furânico. Cabe ainda destacar a presença no espectro dos sinais em δ_{H} 4,91, δ_{H} 6,17 e δ_{H} 7,56, referentes aos hidrogênios $\text{H}-5$, $\text{H}-3$ e $\text{H}-4$, respectivamente, da lactona **6**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 10), os átomos de carbono C-8 e C-5 do composto **8** apresentaram-se como simpletos em δ_{C} 24,67 e 134,48, respectivamente. Os demais sinais apresentaram-se desdobrados devido aos acoplamentos C-P: δ_{C} 26,17 (d, $J_{\text{C-P}} = 5,10$; C-7/C-10); δ_{C} 45,79 (d, $J_{\text{C-P}} = 2,25$; C-6/C10). Os demais carbonos do anel furânico foram observados em δ 89,08, referente a C-3 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 3,23$); em δ_{C} 111,46, referente a C-4 (d; $^4J_{\text{C-P}} = 1,13$); e em δ_{C} 152,07, referente a C-2 (d, $J_{\text{C-P}} = 4,13$). Conforme mostrado na Figura 21, ainda há sinais em δ_{C} 72,32, 121,86 e 152,93, referentes aos átomos de carbono C-5, C-3 e C-4, respectivamente, da lactona **6**. O sinal correspondente ao carbono C-2 da lactona não foi observado. Isso se deve ao fato de ser um carbono não-hidrogenado, apresentando maior tempo de relaxação. Apenas os principais sinais foram ampliados no espectro.



* Sinais correspondentes à lactona **6** que não foi completamente consumida. As atribuições encontram-se discutidas em 2.2.4

Figura 9 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **8**.



* Sinais correspondentes à lactona **6** que não foi completamente consumida. As atribuições encontram-se discutidas em 2.2.4

Figura 10 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **8**.

Ainda com relação ao composto **8**, obtido na forma de mistura com a lactona **6** de partida, pôde-se observar em seu espectro de massas (Figura 11) a presença de um pequeno pico em m/z 298, correspondente ao pico do íon molecular. Além disso, picos em m/z 215 (100%) e 84 (73%) foram observados. Propostas de fragmentações que procuram explicar esses picos são descritas na Figura 11.

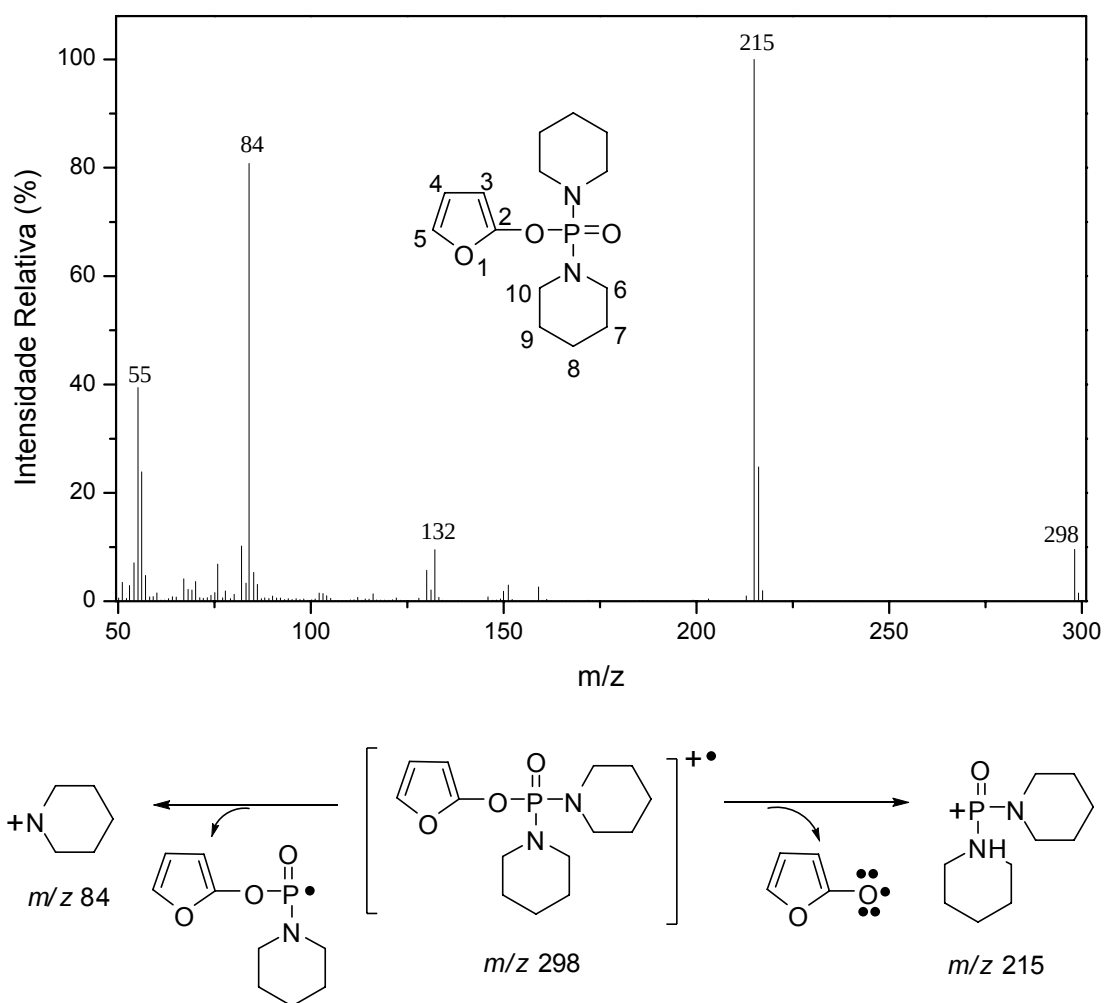


Figura 11 - Espectro de massas e processos de fragmentação mais importantes do composto **8**.

O subproduto **9**, isolado na forma de um óleo amarelado, com rendimento de 5,1%, também teve sua completa caracterização realizada utilizando-se as análises espectroscópicas no infravermelho, RMN de ^1H e de ^{13}C e espectrometria de massas.

Bandas correspondentes ao estiramento da ligação P=O foram observadas em 1238 e 1168 cm^{-1} , bem como as bandas em 1081 e 967 cm^{-1} , atribuídas às vibrações do grupo P-N (Figura 12).

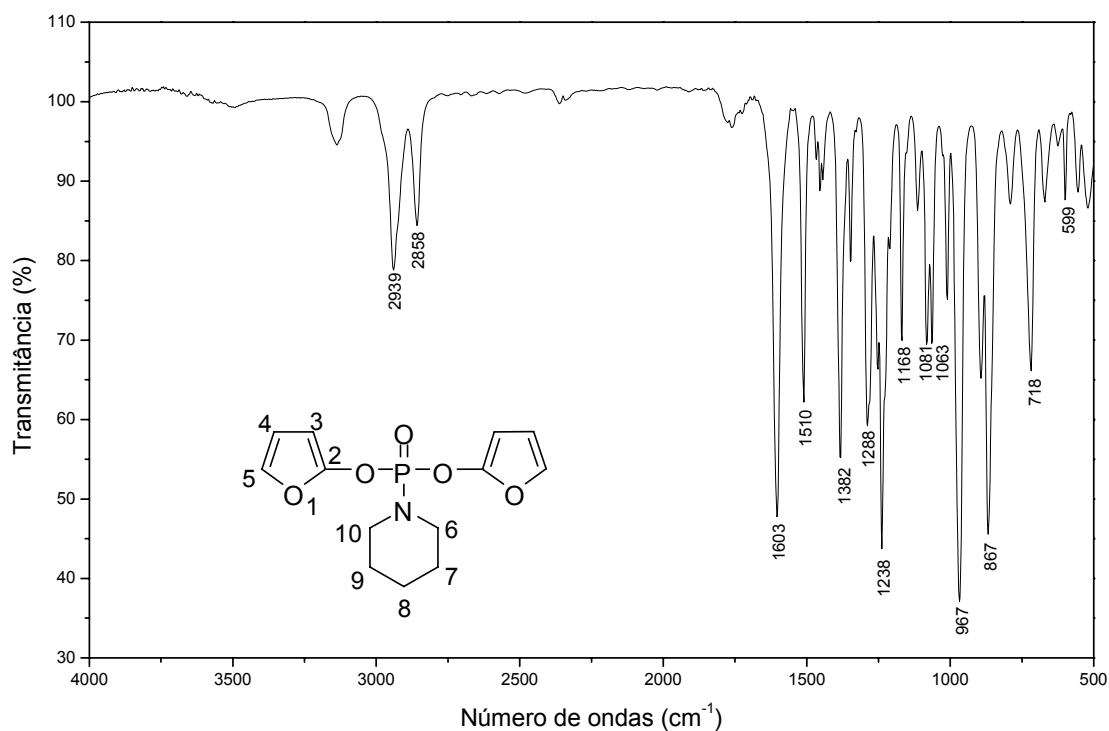


Figura 12 - Espectro no IV (filme, CsI) do composto **9**.

Os espectros de RMN de ^1H (Figura 13) e de RMN de ^{13}C (Figura 14) apresentaram-se muito semelhantes aos demais compostos, de forma que as atribuições não serão discutidas, embora estejam descritas em 2.1.2.4.

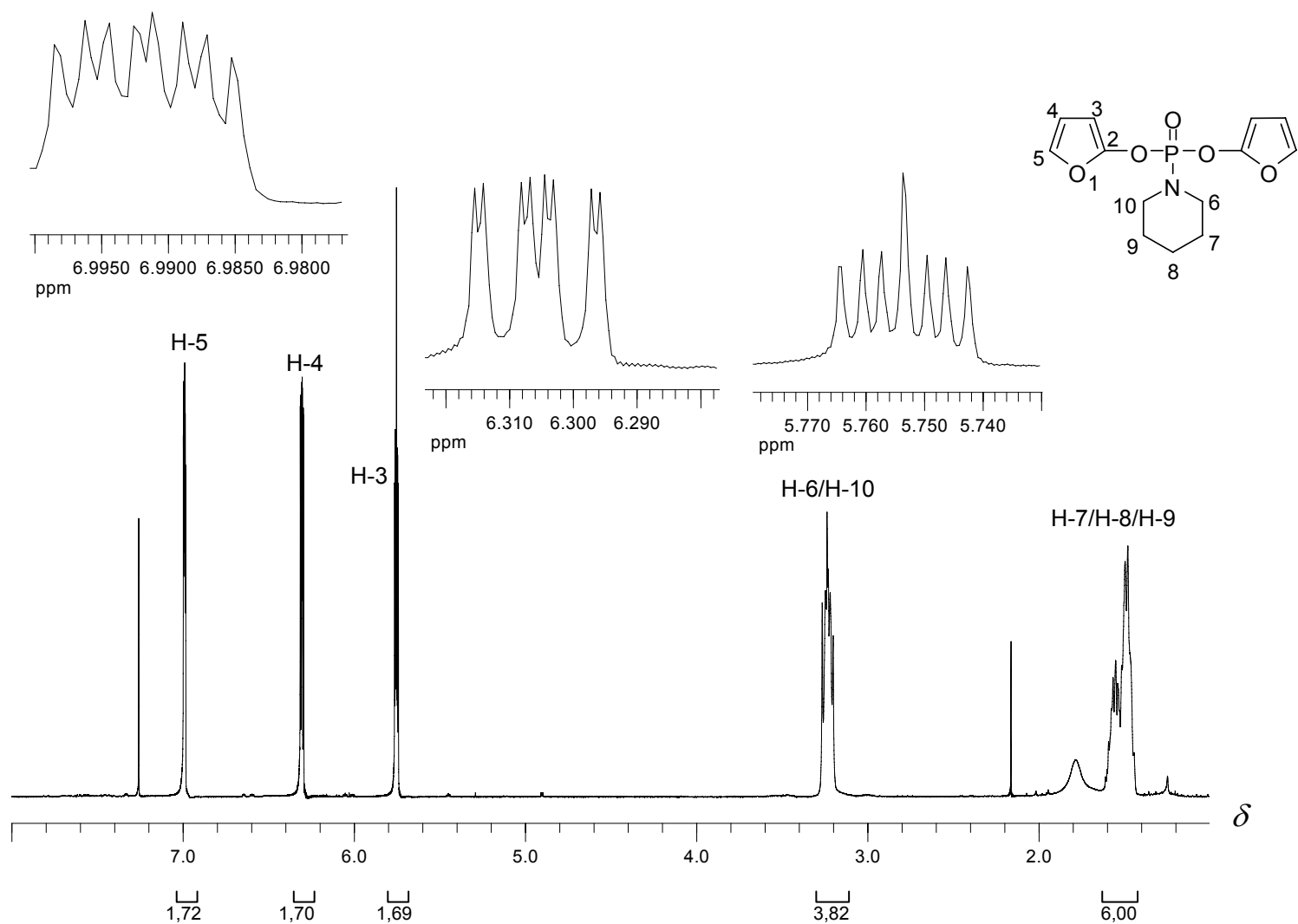


Figura 13 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **9**.

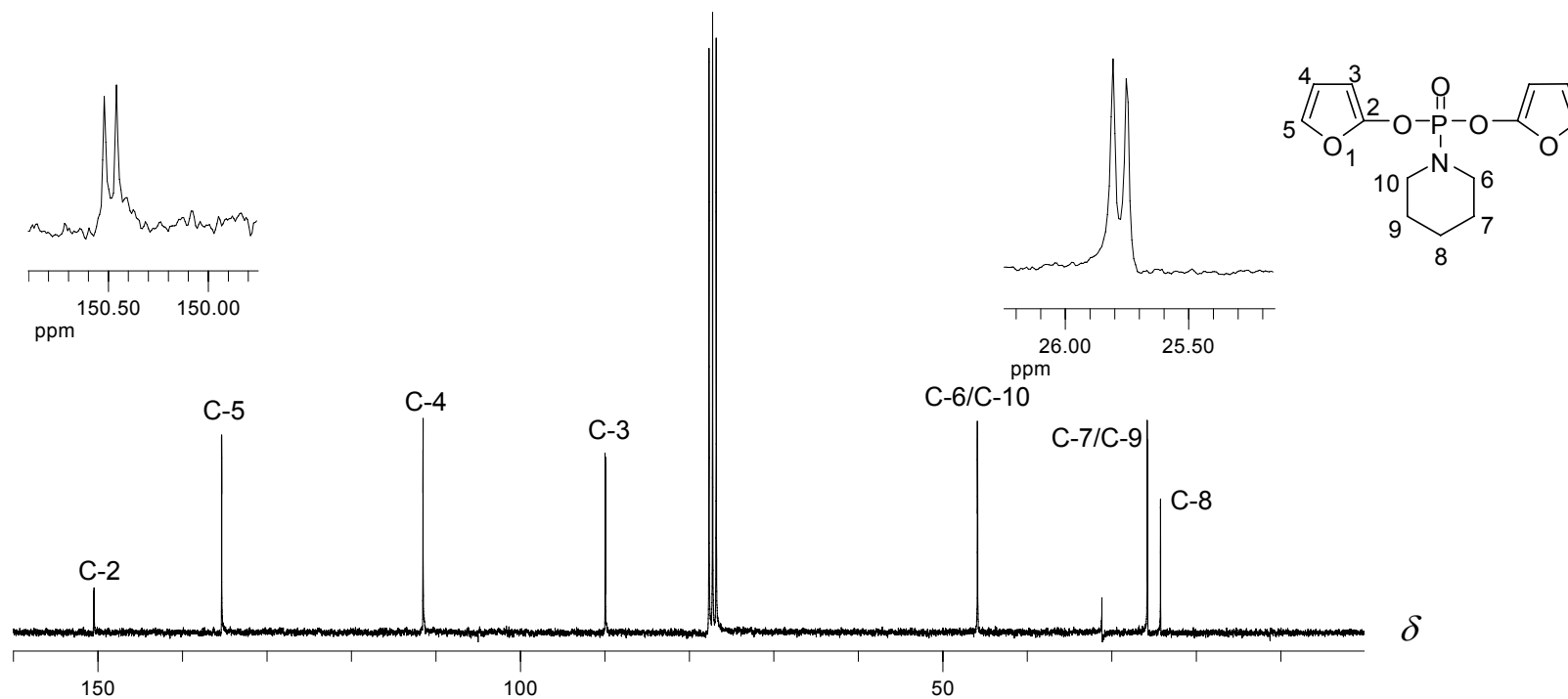


Figura 14 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **9**.

Ainda com relação ao composto **9**, pôde-se observar em seu espectro de massas (Figura 15) a presença de um pequeno pico de valor m/z 297, correspondente ao pico do íon molecular. Notou-se, ainda, que o pico de valor m/z 83 apresentou intensidade igual a 100%, o que é justificado, uma vez que há dois anéis furânicos na estrutura do composto, e o valor m/z 83 poderia ser atribuído a um anel furânico mais um átomo de oxigênio.

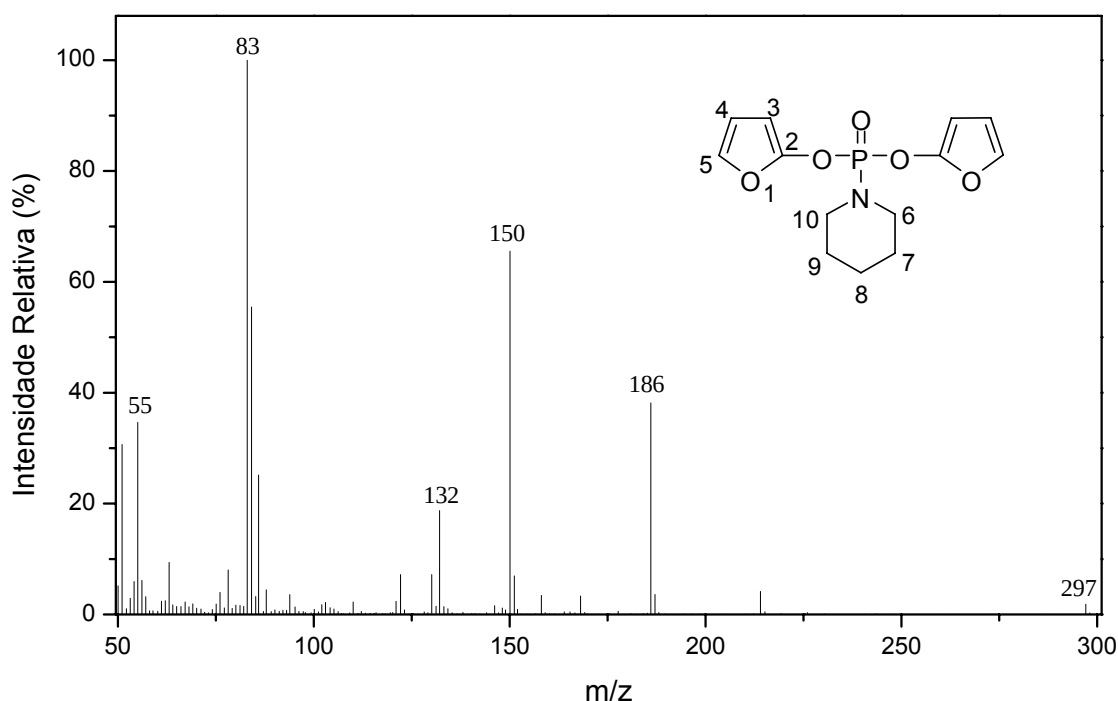
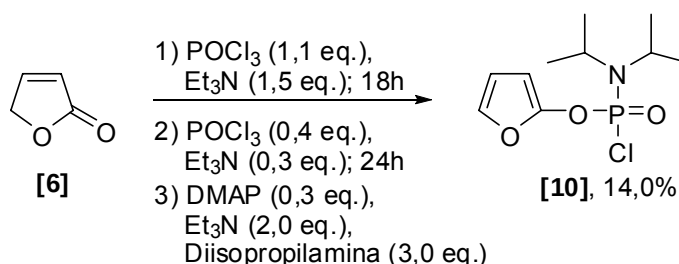


Figura 15 - Espectro de massas do composto **9**.

2.2.5. Síntese do furan-2-il *N,N*-diisopropilamidoclorofosfato [**10**]

A síntese do composto **10** foi realizada empregando-se a metodologia descrita por Timperley (2005), utilizando 5 mol% do catalisador DMAP. A lactona **6** foi então submetida às seguintes condições de reação (Esquema 7).



Esquema 7 - Condições reacionais para síntese do composto **10**.

Observou-se via análise por CCD uma mistura de vários compostos, e, após o fracionamento em coluna de sílica-gel, usando como eluente hexano-EtOAc em gradiente de concentração (7:1; 6:1; 4:1; 2:1; 1:1 v/v) o composto **10** foi isolado em 14,0% de rendimento (0,84 mmol). A completa caracterização do composto foi realizada utilizando-se as análises espectroscópicas no infravermelho, de RMN de ^1H e de ^{13}C e espectrometria de massas.

No espectro no infravermelho do composto **9** (Figura 16) observou-se a ausência das bandas correspondentes ao estiramento do grupo carbonila da lactona **6**, em 1773 cm^{-1} e 1743 cm^{-1} , e a presença de uma banda desdobrada em 1151 cm^{-1} e 1170 cm^{-1} , correspondentes aos estiramentos de $-\text{CH}_3$ dos grupos isopropila, o que está de acordo com a literatura (PRETSCH, 1989).

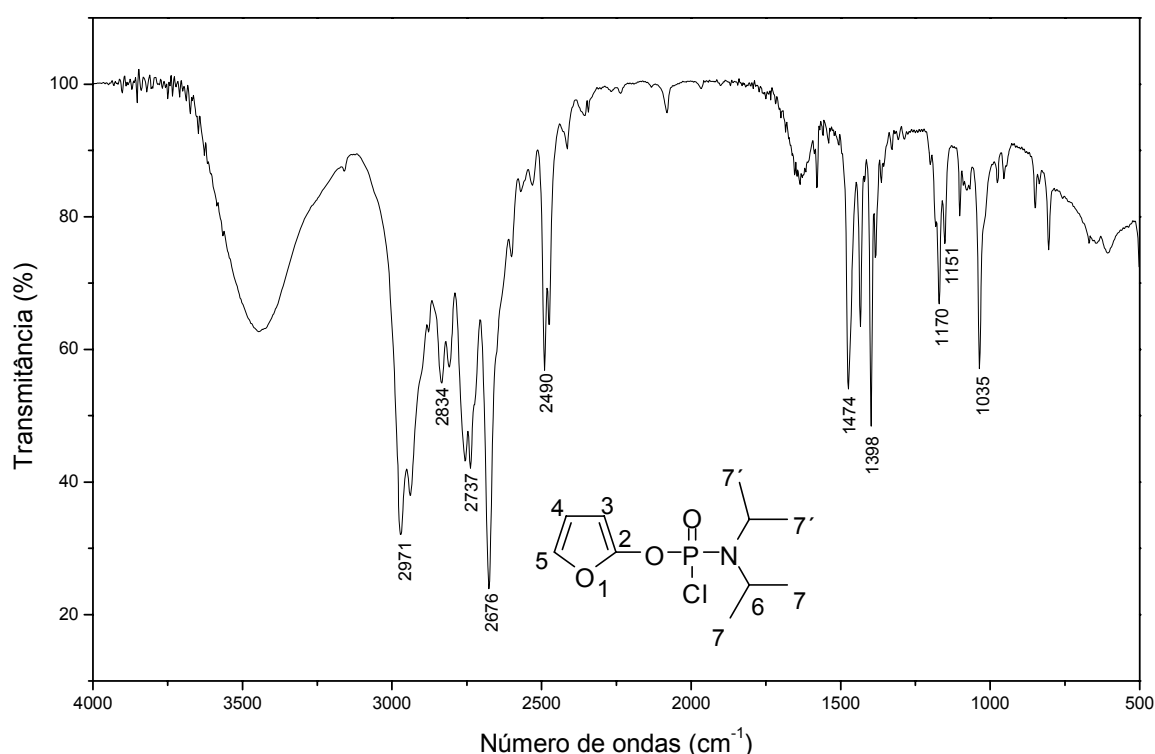
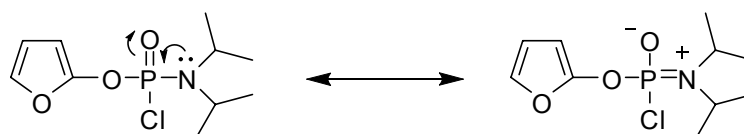


Figura 16 - Espectro no IV (filme, KBr) do composto **10**.

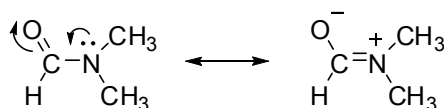
No espectro de RMN de ^1H (Figura 17) foi observado um duplo duplete em δ_{H} 1,31, integrado para 12 hidrogênios, referente aos hidrogênios- CH_3 dos grupos isopropila. Observou-se um multiplete em δ_{H} 3,55-3,76, integrado para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios H-6, e sinais em δ_{H} 5,85, δ_{H} 6,33 e δ_{H} 7,01, referentes aos hidrogênios (H-3), (H-4) e (H-5), respectivamente, do anel furânico.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 18) do produto **10**, os sinais dos átomos de carbono C-7 e C-7' apresentaram deslocamentos químicos ligeiramente diferentes. Esse fato pode ser explicado levando-se em conta a deslocalização de elétrons entre o par de elétrons não ligantes do nitrogênio e o átomo de fósforo (Esquema 8). Assim, a ligação P-N apresentaria um caráter parcial de dupla ligação, e isso faz com que os sinais de $-\text{CH}_3$ do grupo isopropila sejam observados com frequências de ressonância diferentes.



Esquema 8 - Deslocalização dos elétrons no composto **10**.

Fato similar é descrito na literatura para a dimetilformamida (SILVERSTEIN, 2006), conforme o esquema 9.



Esquema 9 - Deslocalização dos elétrons na dimetilformamida.

O sinal em δ_{C} 48,13 é referente ao carbono C-6, que, pelo fato de estar ligado a um elemento eletronegativo (N), encontra-se mais desblindado. Os sinais observados em δ_{C} 91,26 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 3,98$; C-3), δ_{C} 111,61 (d, $^4J_{\text{C-P}} = 2,33$; C-4), δ_{C} 135,68 (d, $^5J_{\text{C-P}} = 1,73$; C-5) e δ_{C} 149,67 (d, $J_{\text{C-P}} = 6,3$; C-2) apresentaram-se desdobrados devido ao acoplamento com o fósforo. Apenas os principais sinais foram ampliados no espectro.

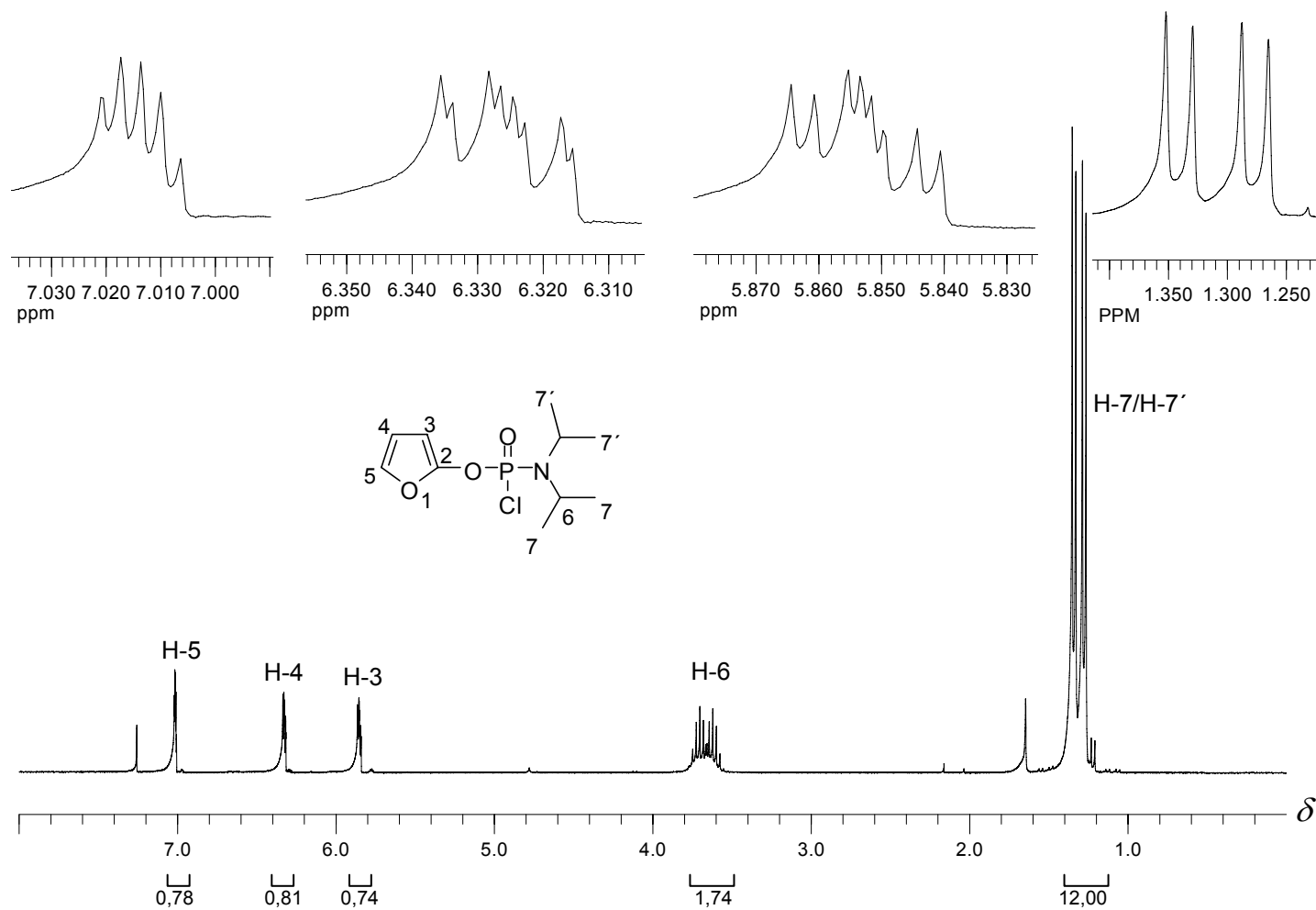


Figura 17 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **10**.

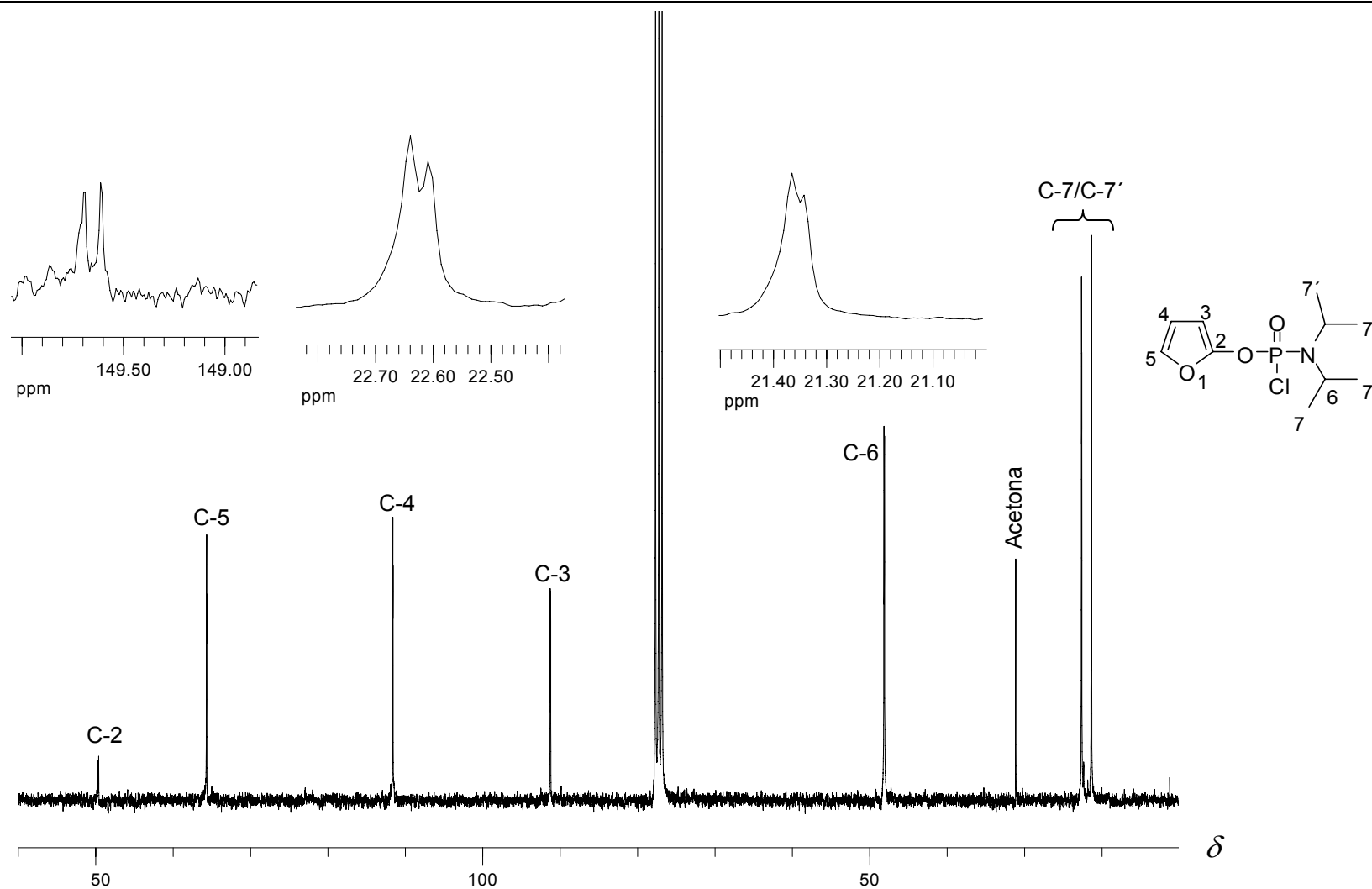


Figura 18 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **10**.

A análise do espectro de massas (Figura 19) do composto **10** confirmou a presença do átomo de cloro na estrutura. Observou-se a presença do pico m/z 265, correspondente ao pico do íon molecular, e um outro em m/z 267, com intensidade relativa igual a um terço do valor do íon molecular, confirmando a presença do átomo de cloro (SILVERSTEIN, 2006). Foram observados ainda picos com m/z 51 (100), 84 (79), 140 (56) e 182 (39), cujas fragmentações estão representadas na Figura 19.

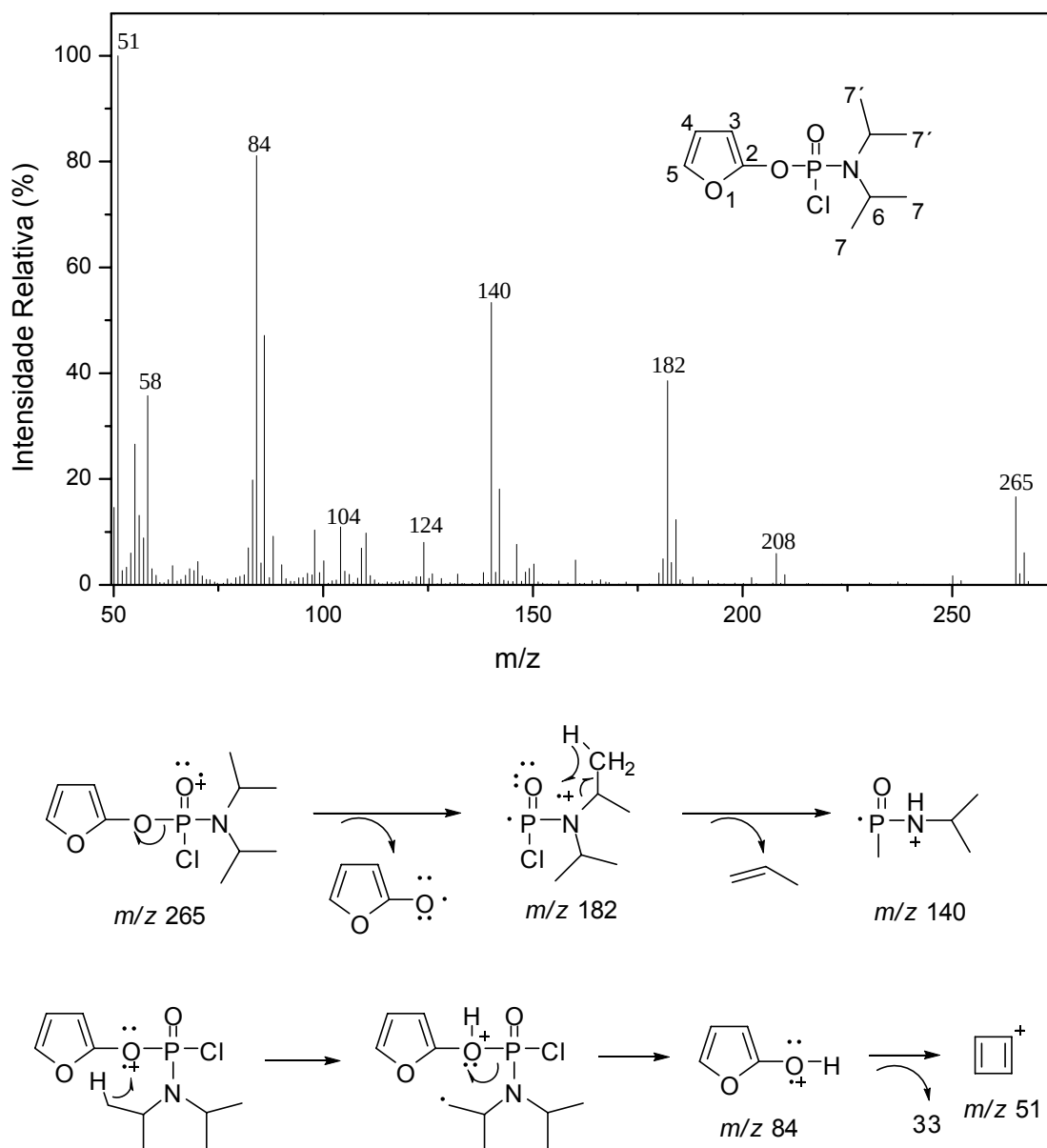


Figura 19 - Espectro de massas e processos de fragmentação mais importantes do composto **10**.

2.3. CONCLUSÕES

A sequência sintética empregada neste trabalho permitiu a síntese de quatro fosforamidatos inéditos em três etapas. A partir da oxidação de Bayer Villiger do furfuraldeído com ácido perfórmico, gerado *in situ* pela reação do peróxido de hidrogênio com ácido fórmico, obteve-se a lactona furan-2(5*H*)-ona **[6]**. O tratamento do composto **6** com cloreto de fosforila (POCl_3) levou à obtenção do intermediário diclorado **14**, não-isolado, que foi imediatamente submetido à reação de substituição nucleofílica com diferentes aminas, segundo condições adaptadas de Tymperley (2005), resultando nos produtos desejados.

Um trabalho de otimização deve ser realizado a fim de melhorar os rendimentos das reações (6,4 a 46,0%), embora esses valores sejam bastante similares aos descritos na literatura.

CAPÍTULO 3

3. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA

3.1. INTRODUÇÃO

3.1.1. Compostos Organofosfatos

Quimicamente, inseticidas organofosfatos são ésteres ou tióis derivados de ácidos fosfóricos, fosfônico, fosfínico ou fosforamídico (SANTOS, 2007), podendo ser subdivididos em diferentes classes: fosfatos, fosfonatos, fosforotioatos, fosforoditioatos, fosforotiolatos e fosforoamidatos (Figura 1) (WARE, 2000).



Fosfato



Fosfonato



Fosforotioato



Fosforotiolato



Fosforoditioato



Fosforoamidato

Figura 1 - Classes de inseticidas organofosfatos.

Os compostos conhecidos como organofosfatos surgiram da tecnologia química utilizada para produzir os “gases de nervos” durante a Segunda Guerra Mundial; esta denominação é genérica, referindo-se a todos os inseticidas que contêm fósforo em sua estrutura (WARE, 2000).

Embora diversos organofosfatos tenham sido sintetizados no século XIX, o desenvolvimento desta classe de compostos como inseticidas iniciou-se no final dos anos 1930 e início dos anos 1940 (GASPARIN, 2005). O primeiro inseticida organofosfato comercializado foi o Bladan, que continha como princípio ativo o tetraetilpirofosfato (TEPP), sintetizado na Alemanha em 1944 pelo químico Gerhard Scharder. Atribui-se a Scharder, ainda, a síntese do inseticida octametilpirofosforamida, que foi chamado de Scharadan (SANTOS, 2007).

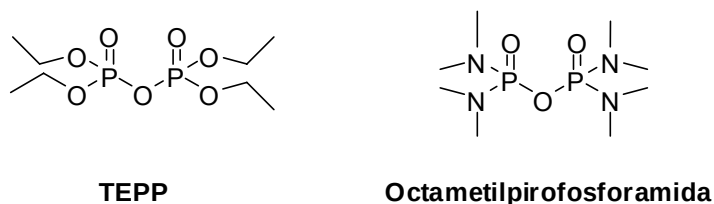


Figura 2 - Estrutura dos princípios ativos dos inseticidas Bladan e Scharadan.

Desde então, uma grande variedade de organofosfatos tem sido sintetizada e comercializada. Alguns deles são mostrados na Figura 3 (SANTOS, 2007).

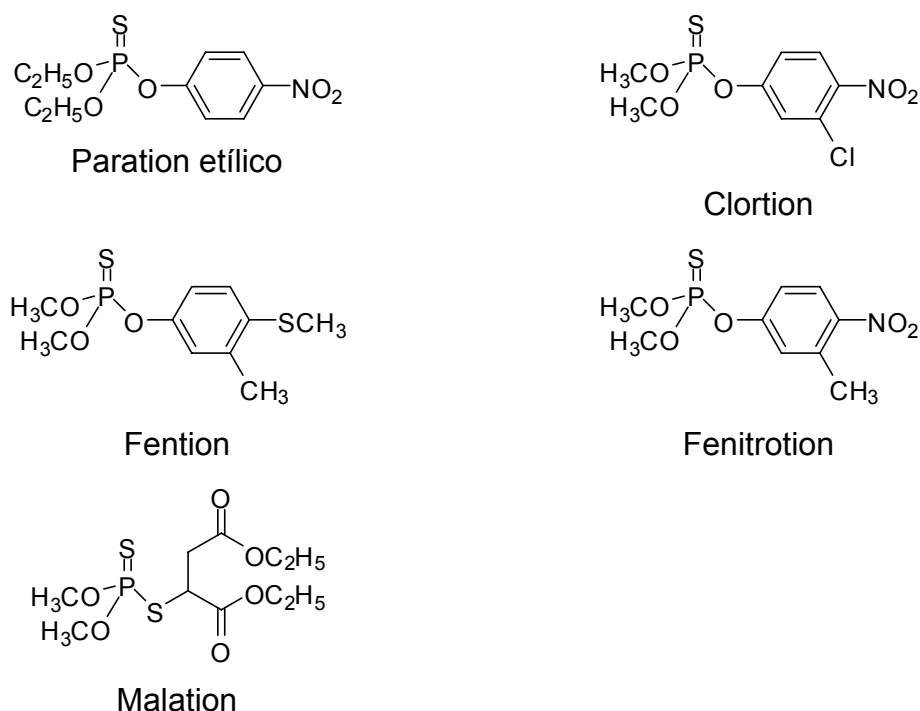


Figura 3 - Inseticidas organofosfatos que possuem um grupo tioéster.

Os compostos organofosfatados foram a primeira classe de compostos a substituir os representantes do grupo dos organoclorados, devido a problemas causados por estes, sobretudo de bioacumulação, biomagnificação, e efeitos carcinogênico e teratogênico. De modo geral os organofosfatos são mais tóxicos do que os inseticidas organoclorados; entretanto, são mais instáveis quimicamente, degradando-se rapidamente e não se acumulando nos tecidos gordurosos. Essa é a principal característica que levou à sua utilização generalizada na agricultura, em substituição aos organoclorados (GASPARIN, 2005).

Na busca por compostos com maior atividade biológica e menor toxidez aos mamíferos, um grande número de compostos da classe dos fosforamidatos tem sido sintetizado (Figura 4). Na verdade, Schrader e colaboradores já haviam observado a atividade inseticida de alguns compostos dessa classe em 1937 (SANTOS, 2007).

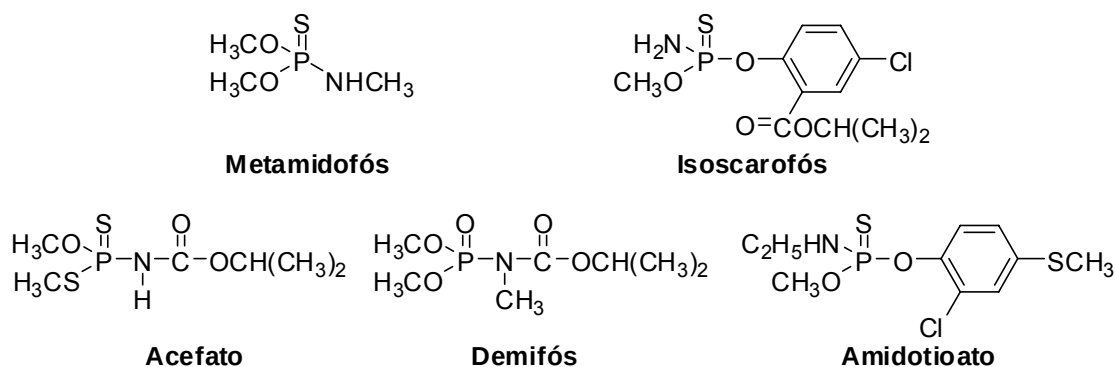


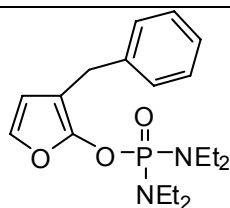
Figura 4 - Alguns inseticidas fosforamidatos.

Tendo em vista todo esse conhecimento no tocante à ação inseticida dos organofosfatos, decidiu-se avaliar a toxicidade dos compostos **3-6** e **17-27**, previamente descritos por Paula et al. (2008), sobre outras espécies de inseto que atacam culturas de interesse econômico: *Diaphania nitidalis* (L.) e *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Crambidae), *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) e *Ascia monuste orseis* (Latr.) (Lepidoptera: Pieridae). Essa avaliação é importante, uma vez que a indústria agroquímica busca compostos que sejam seletivos, apresentando-se ativos sobre espécies específicas (CORRÊA, 2007). Além da atividade sobre as pragas agrícolas, é interessante avaliar ainda a toxicidade dos compostos sobre predadores e polinizadores, de forma que as atividades possam ser comparadas. Assim,

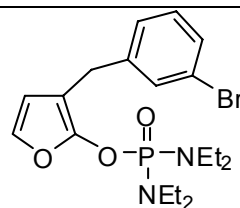
optou-se por realizar os ensaios sobre o predador *Solenopsis saevissima* (F. Smith) (Hymenoptera: Formicidae) e o polinizador *Tetragonisca angustula* (Latr.) (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae). A potencial atividade inseticida dos compostos furan-2-il *N,N'*-dícicloexilamidofosfato [7], furan-2-il dipiperidin-1-ilfosfinato [8], difuran-2-il piperidin-1-ilfosfonato [9] e furan-2-il *N,N*-diisopropilamidoclorofosfato [10] também foi avaliada (Tabela 1).

Tabela 1 - Compostos avaliados neste trabalho

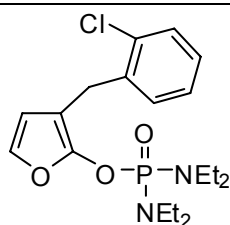
[3]	[4]
[5]	[6]
[7]	[8]
[9]	[10]
[17]	[18]



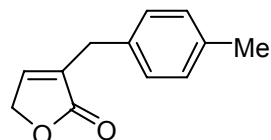
[19]



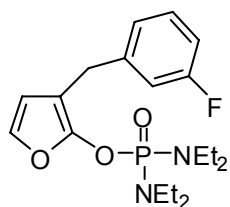
[20]



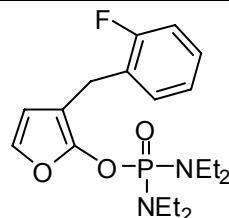
[21]



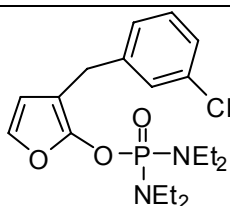
[22]



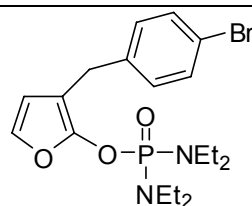
[23]



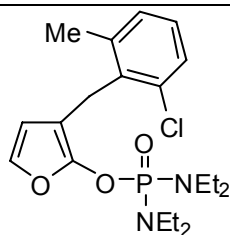
[24]



[25]



[26]



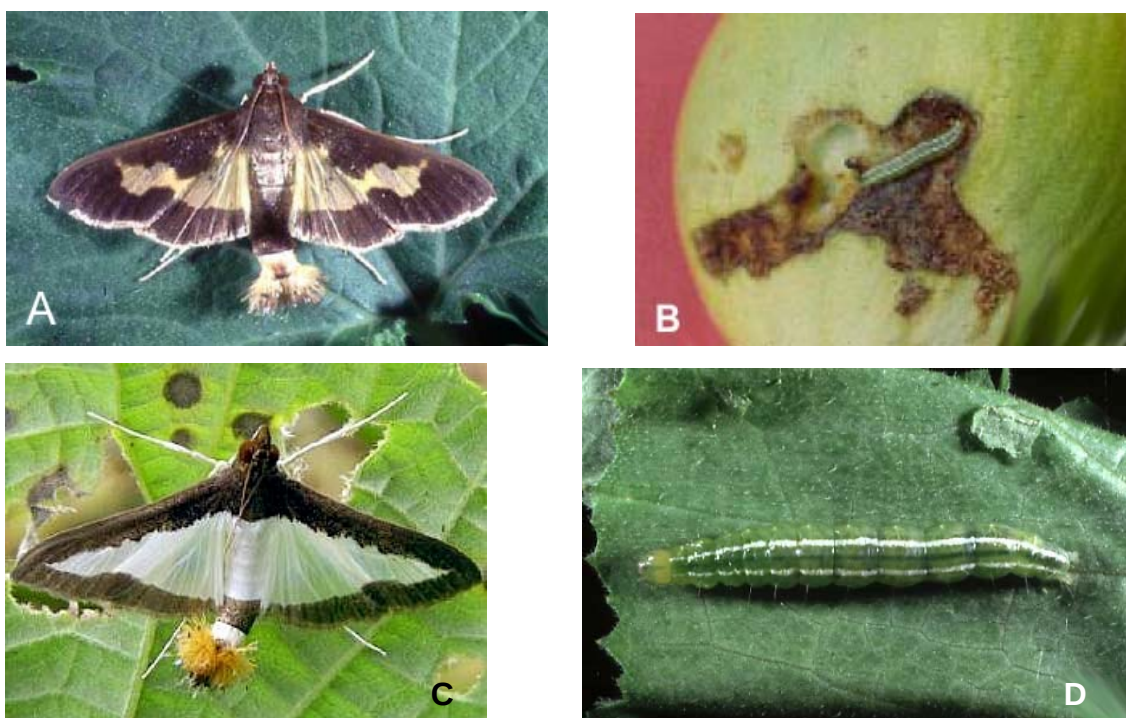
[27]

3.1.2. Espécies de Interesse Econômico

A demanda por novos produtos para o manejo de pragas em hortaliças é especialmente importante pelo fato de essas culturas serem frequentemente atacadas por diversas pragas em densidades que causam danos econômicos. Entre essas pragas, as brocas-das-cucurbitáceas *D. nitidalis* (BRITO et al.,

2004) e *D. hyalinata* (MELO et al., 2007), a traça-das-crucíferas *P. xylostella* (ATTIQUE, 2006; SILVA et al., 2003) e o curuquerê-da-couve *A. monuste orseis* (PEREIRA et al., 2003; PRATISSOLI et al., 2007; PICANÇO et al., 2000) são pragas-chave de cucurbitáceas, crucíferas e brássicas, respectivamente.

D. nitidalis e *D. hyalinata* (Figura 5) estão entre as principais pragas que atacam abóbora (*Curcubita pepo*), pepino (*Cucumis sativus*), melão (*Cucumis melo*), morango (*Fragaria vesca*) e melancia (*Citrullus vulgaris*). As larvas atacam folhas, brotos novos, ramos e, principalmente, frutos. Os brotos novos atacados secam e os ramos ficam com as folhas secas. Contudo, os maiores danos ocorrem na fase reprodutiva da cultura, quando as larvas penetram nos frutos, alimentando-se da polpa e tornando-os impróprios para o consumo, podendo promover perdas de até 100% da produção (BRITO et al., 2004; MELO et al., 2007; GONRING, 2007).



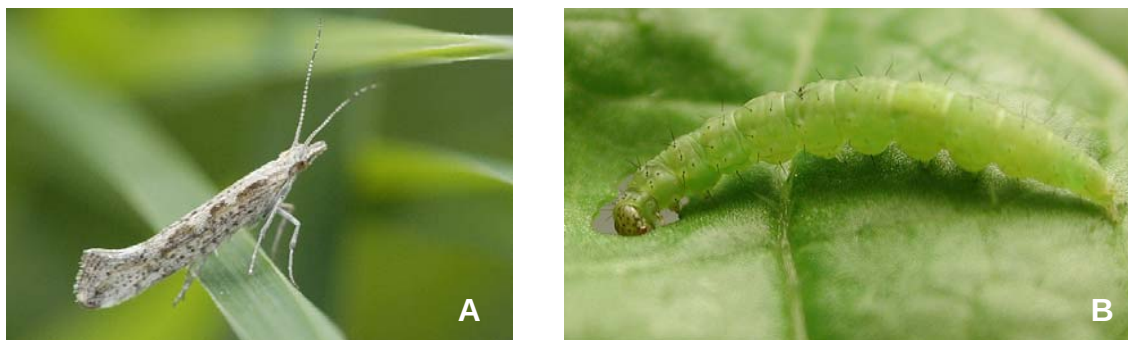
Fonte: A e B - <http://creatures.ifas.ufl.edu/>;

C - <http://mothphotographersgroup.msstate.edu/Files/Live/BP/BP5204.jpg>

D - <http://creatures.ifas.ufl.edu/veg/leaf/melonworm03.htm>

Figura 5 - Broca-das-cucurbitáceas. A – adulto de *D. nitidalis*. B – danos de *D. nitidalis* no fruto. C – adulto de *D. hyalinata*. D – danos de *D. hyalinata* no fruto.

P. xylostella (Figura 6) é uma praga cosmopolita. Ela é encontrada em mais de 80 países, causadora de elevados prejuízos em cultivos de crucíferas como repolho, couve, couve-flor, brócolis e mostarda, uma vez que se alimentam das folhas (ATTIQUE, 2006; SILVA et al., 2003). Algumas das dificuldades observadas no controle dessa praga se devem ao fato de as áreas de cultivo coexistirem durante o ano todo, proporcionando à praga quantidade abundante e contínua de alimento; o uso indiscriminado de inseticidas em múltiplas gerações de *P. xylostella* por ano e o alto potencial migratório desta espécie resultando no desenvolvimento de resistência a grupos de inseticidas (ATTIQUE, 2006).



Fonte: A - <http://www.gen.unimaas.nl/> ; B - <http://www.geocities.com/jarmoholopainen/>

Figura 6 - Traça-das-crucíferas. A – adulto de *P. xylostella*. B – larva de *P. xylostella*.

A. monuste orseis (Figura 7) constitui praga-chave de brássicas, podendo ocasionar prejuízos de até 100% na produção devido à intensa desfolha que provoca na cultura (PEREIRA et al., 2003). É uma praga que ocorre no Brasil e em diversos países, desfolhando não apenas couve, mas também outras crucíferas, como repolho, couve-flor, couve-chinesa, brócolis, mostarda e agrião (PEREIRA et al., 2003; PRATISSOLI et al., 2007; PICANÇO et al., 2000).



Fonte: A - <http://www.dallasbutterflies.com/> ; B - <http://www.westford.com>

Figura 7 - Lagarta-da-couve. A – adulto de *A. monuste orseis*. B – larva de *A. monuste orseis*.

3.1.3. Espécies Predadoras e Polinizadores

Além da eficiência contra insetos-praga, é desejável que os compostos com atividade inseticida apresentem seletividade em favor de inimigos naturais e polinizadores. Nos agroecossistemas formados por hortaliças, frequentemente se observa a ação benéfica do predador *Solenopsis saevissima* (F. Smith) (Hymenoptera: Formicidae) e do polinizador *Tetragonisca angustula* (Latr.) (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae).

As formigas (Figura 8) estão entre os insetos mais bem adaptados, ocupando, além dos ambientes naturais, aqueles modificados pela ação antrópica. Essa dominância deve-se à forma com que esses organismos têm colonizado o meio terrestre, ocupando os nichos disponíveis, exercendo diversas funções ecológicas e mantendo estreitas associações com outros organismos (BATTIROLA et al., 2005). Entre as funções desempenhadas pelas formigas dentro das comunidades de artrópodes, destaca-se a sua atividade como predadores (FLOREN et al., 2002), sendo sua manutenção fundamental em programas de manejo integrado de pragas.



Fonte: <http://tolweb.org/Solenopsidini/22438>

Figura 8 - Formiga-lava-pés (*Solenopsis saevissima*).

A abelha *Tetragonisca angustula* (Figura 9), conhecida como abelha sem ferrão ou abelha “jataí”, é encontrada em regiões tropicais e subtropicais e exerce significativa importância para os ecossistemas devido à eficiência como agente polinizador (PRONI, 2004; SAWAYA, 2006). O processo de polinização realizado pelas abelhas diminui o isolamento reprodutivo vegetal, resultando em aumento da biodiversidade (PRONI, 2004).



Fonte: <http://www.myrmecos.net/insects/Tetragonisca2.html>

Figura 9 - Abelha sem ferrão (*Tetragonisca angustula*).

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Obtenção dos Insetos

Nos bioensaios foram utilizadas lagartas de segundo ínstar de *D. nitidalis*, *D. hyalinata*, *P. xylostella* e *A. monuste orseris* e adultos de *S.*

saevissima e *T. angustula*. Todas as lagartas foram obtidas de criações do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas da UFV, conforme metodologia adaptada de Miranda et al. (1998).

Na realização dos bioensaios com *S. saevissima*, adultos foram coletados em ninhos localizados no campus da UFV. Com o auxílio de uma pá-de-corte, parte do formigueiro, juntamente com o solo, foi retirado e transportado para o laboratório em potes plásticos, onde foi mantida até a realização dos ensaios.

Os adultos de *T. angustula* foram coletados em ninhos mantidos no Apiário da UFV. As coletas foram realizadas com o auxílio de um frasco plástico, de boca larga, posicionado em frente à entrada da colmeia, de modo que as operárias que saíram da colônia passaram diretamente para o interior do referido frasco.

3.2.2. Toxicidade dos Compostos Sintetizados

Os bioensaios de determinação da toxicidade dos compostos sintetizados foram conduzidos no Laboratório de Manejo de Pragas do Departamento de Biologia Animal da UFV.

Inicialmente, os bioensaios foram realizados considerando-se um tempo de exposição aos compostos de 12, 24, 48 e 72 horas para a espécie *D. nitidalis*, na concentração de 10 µg de composto/mg de inseto. Observou-se que os níveis de mortalidade apresentaram pequena variação ao longo do tempo. Por questões práticas, a fim de facilitar os períodos de avaliação, optou-se por desconsiderar então o período de 12 horas. A mortalidade na testemunha foi aceitável até o período de 72 horas (10,00%), o que viabilizou a realização do experimento no período de tempo citado. Assim, nos ensaios posteriores, as avaliações foram feitas considerando-se os tempos de exposição de 24, 48 e 72 horas. A mortalidade, para a maioria dos compostos, foi elevada, de tal modo que se resolveu padronizar a concentração no valor de 1 µg de composto/mg de inseto para os demais testes.

Grupos de 20 insetos foram transferidos para placas de Petri de vidro, e a massa desses 20 insetos foi medida através de balança analítica, a fim de determinar a massa média de cada inseto. Os compostos sintetizados foram

aplicados topicamente sobre os insetos individualmente, via microseringa Hamilton, 0,5 μL da solução do composto, dissolvido em acetona, correspondendo a uma dose de 1 μg de composto por mg do inseto. Como controle positivo foi empregado metilcloropirifós (96% de pureza, adquirido da Dow AgrowSciences). Antes da aplicação dos tratamentos, os adultos de *T. angustula* foram mantidos sob refrigeração por aproximadamente um minuto, tempo suficiente para anestesiá-los, para facilitar a aplicação tópica.

Após a aplicação das substâncias, grupos de 10 insetos foram acondicionados em placas de Petri de vidro (9 cm de diâmetro por 2 cm de altura), e alimento apropriado foi fornecido a cada uma das espécies: discos de folha de chuchu para *D. hyalinata* e *D. nitidalis*; discos de couve para *A. monuste orseis* e *P. xylostella*; uma mistura de açúcar (85%) e mel (15%) colocada em um frasco de plástico para *S. saevissima* e *T. angustula*. Água foi fornecida aos insetos adultos para garantir a sua sobrevivência durante o tempo decorrido dos experimentos (Figura 10). Em todos os testes foram utilizados grupos controles, nos quais foi aplicado unicamente o diluente (0,5 μL de acetona sobre cada inseto). As placas de Petri foram mantidas em uma incubadora a $25\pm0,5$ °C, $75\pm5\%$ de umidade relativa, com fotoperíodo de 12 horas, exceto no caso de *S. saevissima*, a qual permaneceu no escuro durante todo o experimento. Avaliaram-se as mortalidades dos insetos 12, 24, 48 e 72 horas após a aplicação dos experimentos.

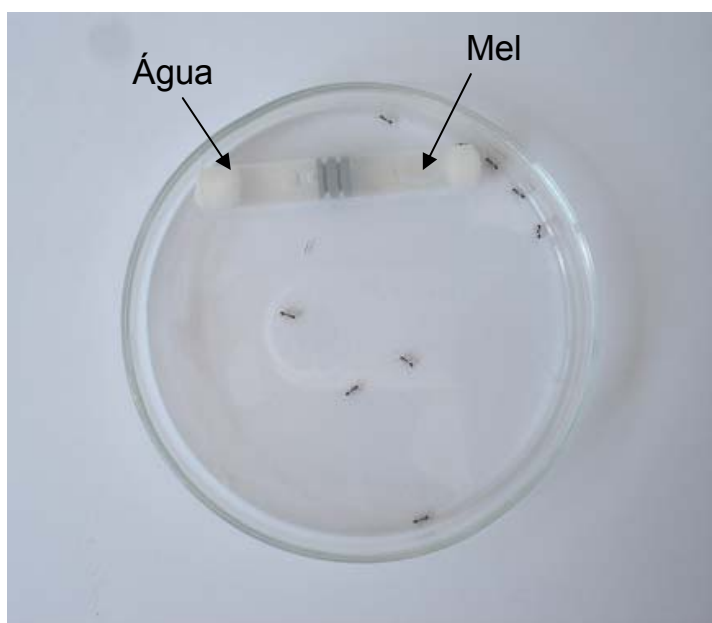


Figura 10 - Experimento realizado com *S. saevissima*.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados de mortalidade observados foram submetidos à análise de variância, e as médias dos tratamentos foram comparados pelo teste de Scott-Knott a $p < 0,05$. Em todas as avaliações, os insetos foram considerados mortos quando se apresentaram imóveis.

3.2.3. Curvas de Dose-mortalidade

Para as substâncias que apresentaram as maiores mortalidades às espécies-praga foram estimadas curvas de concentração-mortalidade. A metodologia utilizada foi aplicação tópica, segundo as mesmas condições descritas no item 3.2.2. Foram estabelecidas seis concentrações de cada composto selecionado para cada espécie-praga para determinação de curvas de dose-mortalidade.

Os resultados foram corrigidos em relação à mortalidade ocorrida na testemunha, onde somente foi aplicado o diluente, usando-se a fórmula de Abbott (1925). As curvas de dose-mortalidade para os compostos 4 e 5 foram submetidas à análise de próbite, cuja probabilidade de aceitação da hipótese de nulidade (de que os dados possuem distribuição de Próbite) pelo teste χ^2 foi maior que 0,05 (YOUNG, 1998). As concentrações (μg da substância/ mg de inseto) utilizadas na determinação da curva de dose-mortalidade contra *A. monuste* foram: 0,05; 0,10; 0,30; 0,60; 1,00; e 2,00.

Por meio dessas curvas, foram estimadas as doses letais para 50% (DL_{50}) e 90% das populações (DL_{90}). A DL_{50} foi estimada por proporcionar alta confiabilidade nas comparações, e a DL_{90} , por representar uma dose cuja mortalidade obtida é desejável em termos de controle dos insetos-praga.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Toxicidade dos Compostos Sintetizados

As mortalidades causadas pelos compostos que tiveram suas atividades biológicas avaliadas inicialmente sobre *D. nitidalis* na concentração de 10 μg de composto/mg de inseto estão mostradas na Tabela 2.

Tabela 2 - Mortalidade média de lagartas de *Diaphania nitidalis* na concentração de 10 μg de composto/mg de inseto

Compostos	Mortalidade (%) ¹			
	12h	24h	48h	72h
3	92,50 A	92,50 A	92,50 A	92,50 A
4	85,00 A	85,00 A	85,00 A	87,50 A
5	100,00 A	100,00 A	100,00 A	100,00 A
6	92,50 A	95,00 A	95,00 A	95,00 A
17	85,00 A	90,00 A	92,50 A	92,50 A
18	65,00 B	67,50 B	70,00 B	70,00 B
19	87,50 A	92,50 A	92,50 A	92,50 A
20	77,50 B	77,50 B	77,50 B	77,50 B
21	65,00 B	67,50 B	72,50 B	75,00 B
22	90,00 A	95,00 A	95,00 A	95,00 A
23	62,50 B	67,50 B	75,00 B	75,00 B
25	82,50 A	85,00 A	85,00 A	87,50 A
26	62,50 B	62,50 B	65,00 B	65,00 B
27	90,00 A	90,00 A	90,00 A	90,00 A
Testemunha	5,00 C	7,50 C	7,50 C	10,00 C
Metilcloropirifós	100,00 A	100,00 A	100,00 A	100,00 A

¹ As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a $p < 0,05$.

Não se observou variação na mortalidade ao longo do tempo; assim, passou-se a avaliar os experimentos nos períodos de 24, 48 e 72 horas. Como os valores de mortalidade foram elevados (acima de 80% para diversos compostos), a dose foi reduzida em 10 vezes, sendo padronizada a concentração no valor de 1 μg de composto/mg de inseto, que foi então empregada nos demais testes, conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 - Mortalidade média¹ de lagartas de *Diaphania nitidalis*, *Ascia monuste*, *Plutella xylostella* e *Diaphania hyalinata* na concentração de 1 µg de composto/mg de inseto

Compostos	<i>Ascia monuste</i>			<i>Diaphania hyalinata</i>			<i>Diaphania nitidalis</i>			<i>Plutella xylostella</i>		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
3	2,50 aE	10,00 aD	12,50 aD	-	-	-	50,00 aC	55,00 aB	62,50 aB	7,50 aC	10,00 aC	22,50 aC
4	65,00 aC	72,50 aB	77,50 aB	-	-	-	85,00 aB	85,00 aA	87,50 aA	12,50 aC	22,50 aC	30,00 aC
5	62,50 aC	65,00 aB	67,50 aB	-	-	-	47,50 aC	47,50 aB	50,00 aB	17,50 bB	20,00 bC	30,00 aC
6	12,50 aD	22,50 aC	25,00 aC	-	-	-	5,00 aE	7,50 aD	10,00 aD	27,50 aB	27,50 aB	32,50 aC
7	70,00 aC	70,00 aB	70,00 aB	0,00 aB	12,50 aB	12,50 aB	-	-	-	-	-	-
6+8	70,00 aC	75,00 aB	75,00 aB	7,50 aB	7,50 aB	10,00 aB	-	-	-	-	-	-
9	87,50 aB	87,50 aA	90,00 aA	2,50 aB	5,00 aB	10,00 aB	-	-	-	-	-	-
10	85,00 aB	95,00 aA	95,00 aA	7,50 aB	17,50 aB	17,50 aB	-	-	-	-	-	-
17	5,00 aE	15,00 aD	17,50 aD	-	-	-	30,00 aD	37,50 aC	45,00 aC	7,50 aC	20,00 aC	32,50 aC
18	7,50 aE	12,50 aD	12,50 aD	-	-	-	15,00 bE	35,00 aC	42,50 aC	22,50 bB	40,00 aB	45,00 aB
19	22,50 aD	27,50 aC	25,00 aC	-	-	-	5,00 bE	17,50 aD	20,00 aD	25,00 bB	30,00 bB	45,00 aB
20	2,50 aE	7,50 aD	10,00 aD	-	-	-	0,00 aE	7,50 aD	17,50 aD	27,50 aB	32,50 aB	47,50 aB
21	5,00 aE	5,00 aD	5,00 aD	-	-	-	7,50 aE	12,50 aD	22,50 aD	20,00 bB	32,50 bB	45,00 aB
22	5,00 aE	12,50 aD	17,50 aD	-	-	-	5,00 bE	17,50 bD	37,50 aC	12,50 cC	17,50 aC	25,00 aC
23	5,00 aE	17,50 aC	15,00 aD	-	-	-	15,00 cE	35,00 bC	52,50 aB	30,00 bB	42,50 aB	52,50 aB
24	22,50 aD	27,50 aC	32,50 aC	-	-	-	55,00 aC	60,00 aB	62,50 aB	12,50 bC	22,50 bC	35,00 aC
25	0,00 aE	7,50 aD	12,50 aD	-	-	-	32,50 aD	35,00 aC	35,00 aC	5,00 aC	22,50 aC	37,50 aB
26	2,50 aE	5,00 aD	7,50 aD	-	-	-	0,00 bE	2,50 bD	15,00 aD	20,00 aB	25,00 aC	32,50 aC
27	5,00 aE	15,00 aD	20,00 aC	-	-	-	25,00 aD	30,00 aC	40,00 aC	5,00 bC	20,00 bC	37,50 aB
Testemunha	2,50 aE	7,50 aD	7,50 aD	2,50 aB	7,50 aB	7,50 aB	2,50 aE	5,00 aD	5,00 aD	2,50 aC	5,00 aC	5,00 aD
Metilclorpirifos	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA

¹ As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna, ou minúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a $p < 0,05$.

Produtos que proporcionem controle rápido dos insetos-praga são desejáveis pela indústria agroquímica (WARE, 2000). Os compostos que se apresentaram mais ativos expressaram sua atividade logo no período inicial de 24 horas. Os compostos menos ativos mostraram variação da atividade em função do tempo (Tabela 3).

Observou-se que os compostos apresentaram maior atividade sobre *D. nitidalis*. No período de 24 e 48 horas, o composto **4** foi o único que mostrou atividade semelhante à do composto comercial utilizado como padrão de eficiência (metilcloropirifós, 96% de pureza). Este composto, até mesmo no período de avaliação igual a 24 horas, apresentou mortalidade superior a 80%, valor este exigido para registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2008). Os compostos **3**, **5** e **24** apresentaram atividades biológicas semelhantes entre si nos três períodos de tempo avaliados, variando de 47,5 a 55,0% (Tabela 3).

Para *A. monuste*, os compostos **9** e **10**, sintetizados neste trabalho, apresentaram atividade inseticida comparada à do composto empregado como padrão de eficiência (metilcloropirifós) para os períodos de 48 e 72 horas. Até mesmo no período de 24 horas, os compostos **9** e **10** mostraram atividade superior a 80%. Os compostos **4**, **5** e **7** destacaram-se também, apresentando atividades variando entre 62,5 e 75,0% nesse mesmo período. Estudos mais avançados devem ser ainda realizados com relação ao efeito sinérgico que pode estar ocorrendo na mistura de compostos **6+8**. Os compostos **3** e **24**, ativos para *D. nitidalis*, apresentaram baixo potencial inseticida sobre *A. monuste* (2,5 a 32,5%) (Tabela 3).

P. xylostella apresentou menos sensibilidade aos compostos. As maiores mortalidades foram observadas nos compostos **18**, **19**, **20**, **21**, **23** e **25** (37,5 a 52,5%) no período de 72 horas. Entretanto, estes valores de mortalidade são baixos quando comparados aos do composto comercial, metilcloropirifós, que causou 100% de mortalidade na mesma concentração em um período de tempo três vezes menor: 24 horas. Nesse período de avaliação, os compostos **3**, **4**, **17**, **22**, **24**, **25** e **27** apresentaram mortalidade semelhante à da testemunha.

Com relação a *D. hyalinata*, apenas os compostos **7**, **6+8**, **9** e **10** foram testados (Tabela 3). Paula et al. (2008) descrevem a atividade inseticida dos

demais compostos sobre essa espécie na concentração de 10 μg de composto/mg de inseto. Os compostos **5** e **18** apresentaram, naquele experimento, eficiência comparada à do composto comercial (mortalidade de 90,0 e 82,5%, respectivamente, no período de 24 horas). Entretanto, comparando este trabalho com o de Paula et al. (2008), percebe-se que em uma concentração 10 vezes menor o composto comercial ainda provoca mortalidade de 100% das espécies. Logo, a eficiência dos compostos testados naquele trabalho, na concentração de 10 μg de composto/mg de inseto, não pode ser comparada à do composto comercial. O experimento na concentração de 1 μg de composto/mg de inseto, para comprovar esse fato, não foi realizado neste trabalho, uma vez que houve limitação quanto ao número de insetos.

3.3.2. Curva de dose-mortalidade

3.3.2.1. Espécie-praga

Uma vez realizado o experimento para determinação das curvas de dose-mortalidade para os compostos **4** e **5** sobre *A. monuste*, pôde-se determinar os valores de DL_{50} e DL_{90} , conforme mostrado na Tabela 4.

Tabela 4 - Equações, DL_{50} e DL_{90} , qui-quadrado (χ^2), graus de liberdade (GL) e probabilidade das curvas de dose-mortalidade em 48 horas após a aplicação tópica das substâncias **4** e **5** em lagartas de *A. monuste*. $25 \pm 0,5$ °C, UR= 75 $\pm$ 5% fotoperíodo de 12 horas

	Composto 4	Composto 5
N ⁽¹⁾	240	240
Equações ⁽²⁾	A	0,714
	b (Média $\pm$ EPM)	0,569 $\pm$ 0,059
DL_{50} ($\mu\text{g/g}$) ⁽³⁾	0,609 (0,503 - 0,715)	0,487 (0,361 - 0,612)
DL_{90} ($\mu\text{g/g}$) ⁽³⁾	1,318 (1,072 - 1,854)	1,463 (1,134 - 2,127)
χ^2	6,899	1,553
GL	5	5
Probabilidade	0,141	0,817

⁽¹⁾ N = número de insetos usados no testes. ⁽²⁾ Y = mortalidade (proporção); X = logaritmo da dose (μg de substância/mg de massa do inseto); EPM = erro-padrão da média. ⁽³⁾ Os valores entre parênteses correspondem aos intervalos de confiança a 95% de probabilidade.

Verificou-se que as curvas de dose-mortalidade para *A. monuste* das substâncias **4** e **5** apresentaram inclinações semelhantes, de forma que erros nas doses durante a aplicação desses compostos refletem de forma praticamente igual na mortalidade da praga (Figura 11).

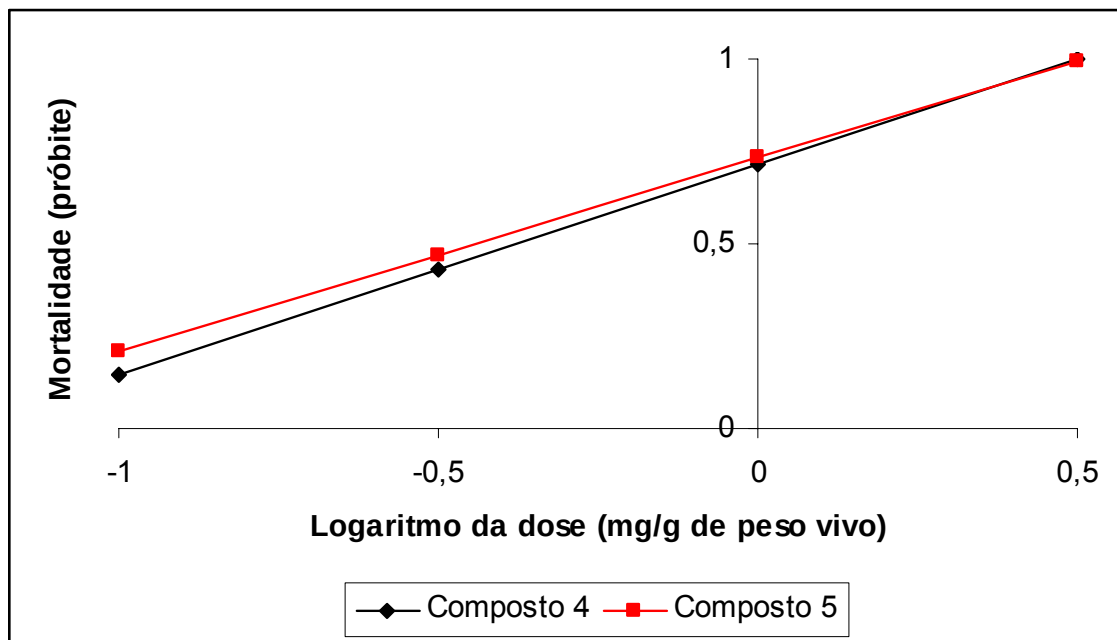


Figura 11 - Mortalidade em função do logaritmo da dose para os compostos.

Os compostos **22**, **23**, **24** e **25**, que apresentaram excelente toxicidade sobre *A. monuste*, não tiveram seus valores de DL_{50} ainda determinados, mas novos experimentos encontram-se em andamento.

Os compostos **3**, **4**, **5** e **24** terão suas DL_{50} e DL_{90} determinadas para a espécie *D. nitidalis*, visto que apresentaram potencial atividade inseticida.

3.3.1.2. Predador e Polinizador

A metodologia de aplicação tópica seguiu as mesmas condições descritas no item 3.2.2. Adicionaram-se as doses correspondentes às DL_{50} de cada composto para *A. monuste* no tempo de 48 horas após a aplicação sobre o predador e o polinizador.

A toxicidade dos compostos **4** e **5** para *S. saevissima* foi avaliada nos períodos de 24, 48 e 72 horas (Tabela 5). Não houve diferença de mortalidade ao longo do tempo para os compostos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 5 - Mortalidade média de adultos de *S. saevissima*, nas concentrações de 0,61 e 0,49 µg de composto/mg de inseto, para os compostos 4 e 5, respectivamente

Compostos	Mortalidade (%) ¹		
	24h	48h	72h
4	7,50 aA	10,00 aB	10,00 aB
5	12,50 aA	20,00 aA	25,00 aA
Testemunha	2,50 aA	5,00 aB	5,00 aB

¹ As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna, ou minúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a $p < 0,05$.

As mortalidades causadas pelas substâncias 4 ($t = 7,35$ e $p = 0,026$) e 5 ($t = 9,80$ e $p = 0,011$) 48 horas após a exposição ao predador *S. saevissima* foram menores do que 50% (mortalidade causada por essas doses a *A. monuste*), fato este que indica que essas duas substâncias são seletivas em favor do predador.

Quando se realizou o experimento com *T. angustula*, a testemunha apresentou elevada mortalidade (acima de 30%), o que obrigou a descartar os resultados, uma vez que os dados tornaram-se não-confiáveis. Antes da aplicação dos tratamentos, os adultos de *T. angustula* foram mantidos sob refrigeração por aproximadamente um minuto, para facilitar a aplicação tópica. Embora essa metodologia já esteja descrita na literatura (MORENO, 2007), acredita-se que este tenha sido o principal motivo responsável pela mortalidade dos polinizadores. Assim, novos experimentos precisam ser delineados e a metodologia otimizada, caso necessário, a fim de verificar a toxicidade desses compostos para esse polinizador.

3.4. CONCLUSÕES

Os compostos 3, 4, 5, 6, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 e 27, descritos na literatura (PAULA et al., 2008), bem como os compostos 7, 8, 9 e 10, sintetizados neste trabalho, foram avaliados com respeito à sua potencial atividade inseticida sobre quatro espécies de interesse econômico: *A. monuste*,

D. hyalinata, *D. nitidalis* e *P. xylostella*. Foram traçadas as curvas de dose-mortalidade para as substâncias mais ativas (**4** e **5**) contra *A. monuste*, sendo os valores de DL_{50} ($\mu\text{g/g}$) iguais a 0,609 (0,503 - 0,715) e 0,487 (0,361 - 0,612), respectivamente.

Os fosforamidatos **9** e **10** apresentam atividade biológica comparável à do composto utilizado como padrão de eficiência (metilcloropirifós) na concentração de 1 μg de composto/mg de inseto contra *A. monuste*. Os compostos **4** e **5** são seletivos em favor do predador *S. saevissima*.

CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados obtidos neste estudo certamente contribuirão para a compilação de dados sobre a atividade biológica de compostos fosforamidatos, uma vez que 19 compostos tiveram suas atividades inseticidas avaliadas sobre espécies de interesse econômico; quatro desses fosforamidatos não haviam sido previamente sintetizados.

Os compostos apresentados são uma rica fonte de informações para o desenvolvimento de novos compostos com potencial atividade biológica.

A metodologia sintética utilizada na síntese dos fosforamidatos necessita de otimização, uma vez que os rendimentos obtidos na síntese desses compostos foram baixos (6,4 a 46,0%).

As substâncias sintetizadas neste trabalho (**7**, **8**, **9** e **10**) destacam-se entre os fosforamidatos avaliados no tocante à espécie *A. monuste*. A substância **19**, cuja síntese foi descrita por Paula et al., também apresenta elevada atividade inseticida; os compostos **9** e **10** apresentam atividade biológica comparável à do inseticida comercial metilcloropirifós. As substâncias **4** e **5** são, ainda, seletivas em favor do predador *S. saevissima*.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, p. 265-266, 1925.
- ALLEN, F.H.; JOHNSON, O.; SHIELDS, G.P.; SMITH, B.R.; TOWLER, M. CIF applications. XV. enCIFer: a program for viewing, editing and visualizing CIFs. **Journal of Applied Crystallography**, v. 37, p. 335-338, 2004.
- ATTIQUE, M.N.R.; KHALIQ, A.; SAYYED, A.H. Could resistance to insecticides in *Plutella xylostella* (Lep., Plutellidae) be overcome by insecticide mixtures? **Journal Applied Entomology**, v. 130, p.122–127, 2006.
- BARBOSA, L.C.A., **Os pesticidas, o homem e o meio ambiente**. Viçosa: Editora UFV, 2004, 215p.
- BARBOSA, L.C.A.; DEMUNER, A.J.; ALVARENGA, E.S. de; OLIVEIRA, A.; KING-DIAZ, B.; LOTINA-HENNSSEN, B.. Phytogrowth- and photosynthesis-inhibiting properties of nostoclide analogues. **Pest Management Science**, v. 62, p. 214-222, 2006.
- BATTIROLA, L.D.; MARQUES, M.I.; ADIS, J.; DELABIE, J.H.C. Composição da comunidade de Formicidae (Insecta, Hymenoptera) em copas de *Attalea phalerata* Mart. (Arecaceae), no Pantanal de Poconé, Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 49, p. 107-117, 2005.
- BRITO, G.G.; COSTA, E.C.; MAZIERO, H.; BRITO, A.B.; DORR, F.A. Preferência da broca-das-cucurbitáceas [*Diaphania nitidalis* Cramer, 1782 (Lepidoptera: Crambidae)] por cultivares de pepineiro em ambiente protegido. **Ciência Rural**, v. 34, p. 577-579, 2004.

BRUNO, I.J.; COLE, J.C.; EDINGTON, P.R.; KESSLER, M.K.; MACRAE, C.F.; McCABE, P.; PEARSON, J.; TAYLOR, R. New software for searching the Cambridge Structural Data Base and visualizing crystal structures. **Acta Crystallography**, v. 58, p. 389-397, 2002.

CASEY, M.; LEONARD, J.; LYGO, B. **Advanced practical organic chemistry**. New York: Chapman and Hall, 1990, 264 p.

CHEN, Z.; WANG, Y. Chromatographic methods for the determination of pyrethrin and pyrethroid pesticide residues in crops, foods and environmental samples. **Journal of Chromatography A**, v. 754, p. 367-395, 1996.

CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C., **Produtos naturais no controle de insetos – (Série de textos da Escola de Verão em Química, vol. III)**. 2 ed., São Carlos: EdUFSCar, 2007, 150 p.

CUNHA, S. Métodos simples de formação de monocristal de substância orgânica para estudo estrutural por difração de raios X. **Química Nova**, v. 31, p. 906-909, 2008.

DE SOUZA, M.V.N. The furan-2(5*H*)-ones: Recent synthetic methodologies and its application in total synthesis of natural products. **Mini-Reviews in Organic Chemistry**, v. 2, p. 139-145, 2005.

FAO: **Food and Agriculture Organization**. Disponível em: <<http://www.fao.org/>>. Acesso em: 08 de setembro de 2008.

FARRUGIA, L.J. WinGX suite for small-molecule single-crystal crystallography, **Journal of Applied Crystallography**, v. 32, p. 837-838, 1999.

FLOREN, A.; BIUN, A.; LINSENMAIR, K.E. Arboreal ants as key predators in tropical lowland forest trees. **Oecologia**, v. 131, p. 137-144, 2002.

GASPARIN, D.C. **Defensivos agrícolas e seus impactos sobre o meio ambiente**. Curitiba-PR: Dissertação (Conclusão de Curso: Engenharia Ambiental) - Pontifícia Universidade Católica do Paraná, PUC-PR, 2005, 108p.

GONÇALVES, D.; WAL, E.; ALMEIDA, R.R. **Química Orgânica Experimental**. São Paulo: Mcgraw-Hill, 1988, 269p.

GONRING, A.H.R. **Controle natural de *Diaphania hyalinata* e *Diaphania nitidalis* em pepino**. Viçosa-MG: Dissertação UFV (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, 2007.

JUNIOR, C.V., Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, p. 390-400, 2003.

KHALIQ, A.; ATTIQUE, M.N.R.; SAYYED, A.H. Evidence for resistance to pyrethroids and organophosphates in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: *Plutellidae*) from Pakistan. **Bulletin of Entomological Research**, v. 97, p. 191–200, 2007.

MAPA, **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 20 de outubro de 2008.

MELO, R.L., PRATISSOLI, D., POLANCZYK, R.A., MELO, D.F., BARROS, R., MILANEZ, A.M., Biologia e Exigências Térmicas de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em Ovos de *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Crambidae). **Neotropical Entomology**, v. 36, p. 431-435, 2007.

MIRANDA, M.M.M.; PICANÇO, M.C.; ZANUNCIO, J.C.; GUEDES, R.N.C. Ecological life table of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) **Biocontrol Science and Technology**, v. 8, p.597-606, 1998.

MORENO, S. C., **Toxicidade de novos piretróides a lepidópteros-praga de hortaliças e hymenópteros predadores e polinizador**. Viçosa-MG: Dissertação UFV (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, 2007, 42 p.

MORRIS, B., **Insects and human life**. 1nd ed., New York: Berg Publishers, 2004, 317 p.

- NARDI, F.; CARAPELLI, A.; VONTAS, J.G.; DALLAI, R.; RODERICK, G.K.; FRATI, F. Geographical distribution and evolutionary history of organophosphate-resistant Ace alleles in the olive fly (*Bactrocera oleae*). **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 36, p. 593–602, 2006.
- NÄSMAN, J.H. 3-methyl-2(5H)-furanone. **Organic Syntheses**, v. 68, p. 162, 1990.
- NICHOLSON, G.M. Fighting the global pest problem: Preface to the special Toxicon issue on insecticidal toxins and their potential for insect pest control. **Toxicon**, v. 49, p. 413–422, 2007.
- NORDBLOM, T.L.; JONES, R.E.; WEDD, R.W. Economics of factor adjusted herbicide doses: a simulation analysis of best efficacy targeting strategies (BETS). **Agricultural Systems**, v. 76, p. 863–882, 2003.
- PAULA, V.F.; BARBOSA L.C.A.; TEIXEIRA, R.R.; COUTINHO, M.P.; SILVA, G.A. Synthesis and insecticidal activity of new 3-benzylfuran-2-yl *N,N,N',N'*-tetraethyldiamidophosphate derivatives. **Pest Management Science**, v. 64, p. 863–872, 2008.
- PEREIRA, T.; PASINI, A.O.; ÉMERSON, D.M. Biologia e preferência alimentar de *Ascia monuste orseis* (Latreille) (Lepidoptera: Pieridae) na planta invasora *Raphanus raphanistrum* L.. **Neotropical Entomology**, v. 32, p. 725–727, 2003.
- PERRIM, D.D. & ARMAREGO, W. L. F. **Purification of laboratory chemicals**. 3ed. Oxford: Pergation Press, 1994, 340p.
- PICANÇO, M.C.; GUSMÃO, M.R.; GALVAN, T.L. **Manejo integrado de pragas de hortaliças**. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). Manejo integrado de doenças, pragas e ervas daninhas. Viçosa, MG: UFV, v. 2, p. 275–324, 2000.
- PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; DALVI, L.P.; COCHETO, J.G.; MELO, D.F. Ocorrência de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae) danificando mudas de *Crataeva tapia*. **Ciência Rural**, v. 37, p. 874–875, 2007.

PRETSCH, E.; SIMON, W.; SEIBL, J.; CLERC, T. **Tables of Spectral data for structure determination of organic compounds**. 2nd ed., Berlin: Springer-Verlag, 1989.

PRONI, E.P.; MACIEIRA, O.J.D., Ritmo circadiano da taxa respiratória de *Tetragonisca angustula fiebrigi* (Schwarz), *T. a. angustula* (Latreille) e *Trigona spinipes* (Fabricius) (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, p. 987–993, 2004.

SANTOS, V.M.R.; DONNICI, C.L.; DACOSTA, J.B.N.; CAIXEIRO, J.M.R. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. **Química Nova**, v. 30, p. 159-170, 2007.

SAWAYA, A.C.H.F.; CUNHA, I.B.S.; MARCUCCI, M.C.; RODRIGUES, R.F.O.; EBERLIN, M.N. Brazilian Propolis of *Tetragonisca angustula* and *Apis mellifera*. **Apidologie**, v. 37, p. 398–407, 2006.

SHELDERICK, G. M.; SHELXL-97. **Program for crystal structure analysis**. Germany: University of Göttingen, 1997a.

SHELDERICK, G.M.; SHELXS-97. **Program for crystal structure resolution**. Germany: University of Göttingen, 1997b.

SHRINER, R.L.; FUSON, R.C.; CURTIN, D.Y.; MORRILL, T.C. **The systematic identification of organic compounds**. 6ed. New York: John Wiley & Sons, 1980, 604p.

SILVA, V.C.A.; BARROS, R.; MARQUES, E.J.; TORES, J.B. Suscetibilidade de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) aos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Neotropical Entomology**, v. 32, p. 653-658, 2003.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X.; KIEMLE, D.J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**, 7. ed., Rio de Janeiro: LTC, 2006, 490 p.

SINDAG. **Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola**. Disponível em: <<http://www.sindag.org.br/>>. Acesso em: 10 de setembro de 2008.

SINGH, B.K. e WALKER, A. Microbial degradation of organophosphorus compounds. **FEMS Microbiological Reviews**, v. 30, p. 428–471, 2006.

SKOURAS, P.J.; MARGARITOPOULOS, J.T.; SERAPHIDES, N.A.; IOANNIDES, I.M.; KAKANI, E.G.; MATHIOPOULOS, K.D.; TSITSIPIS, J.A. Organophosphate resistance in olive fruit fly, *Bactrocera oleae*, populations in Greece and Cyprus. **Pest Management Science**, v. 63, p. 42–48, 2007.

SUNGUR, M. e GUVEN, M. Intensive care management of organophosphate insecticide poisoning. **Critical Care**, v. 5, p. 211–215, 2001.

TEIXEIRA, R. R. **Síntese e avaliação das atividades fitotóxica e citotóxica de compostos análogos aos nostoclídeos**. Belo Horizonte-MG: UFMG, Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, 2008.

TIMPERLEY, C.M; WATERS, M. Fluorinated phosphorus compounds Part 11. The reactions of some fluorinated amines with dialkyl and bis(fluoroalkyl) phosphorochloridates. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 126, p. 1144–1149, 2005.

VALE, J.A., Toxicokinetic and toxicodynamic aspects of organophosphorus OP.insecticide poisoning. **Toxicology Letters**, v. 102-03, p. 649-652, 1998.

WARE, G.W. **The pesticide book**. Fresno: Thomson Publications, 2000, 418p.

YOUNG, L.J.; YOUNG, J.H. **Statistical ecology - A population perspective**. Boston: Kluwer, 1998, 565p.

ANEXO

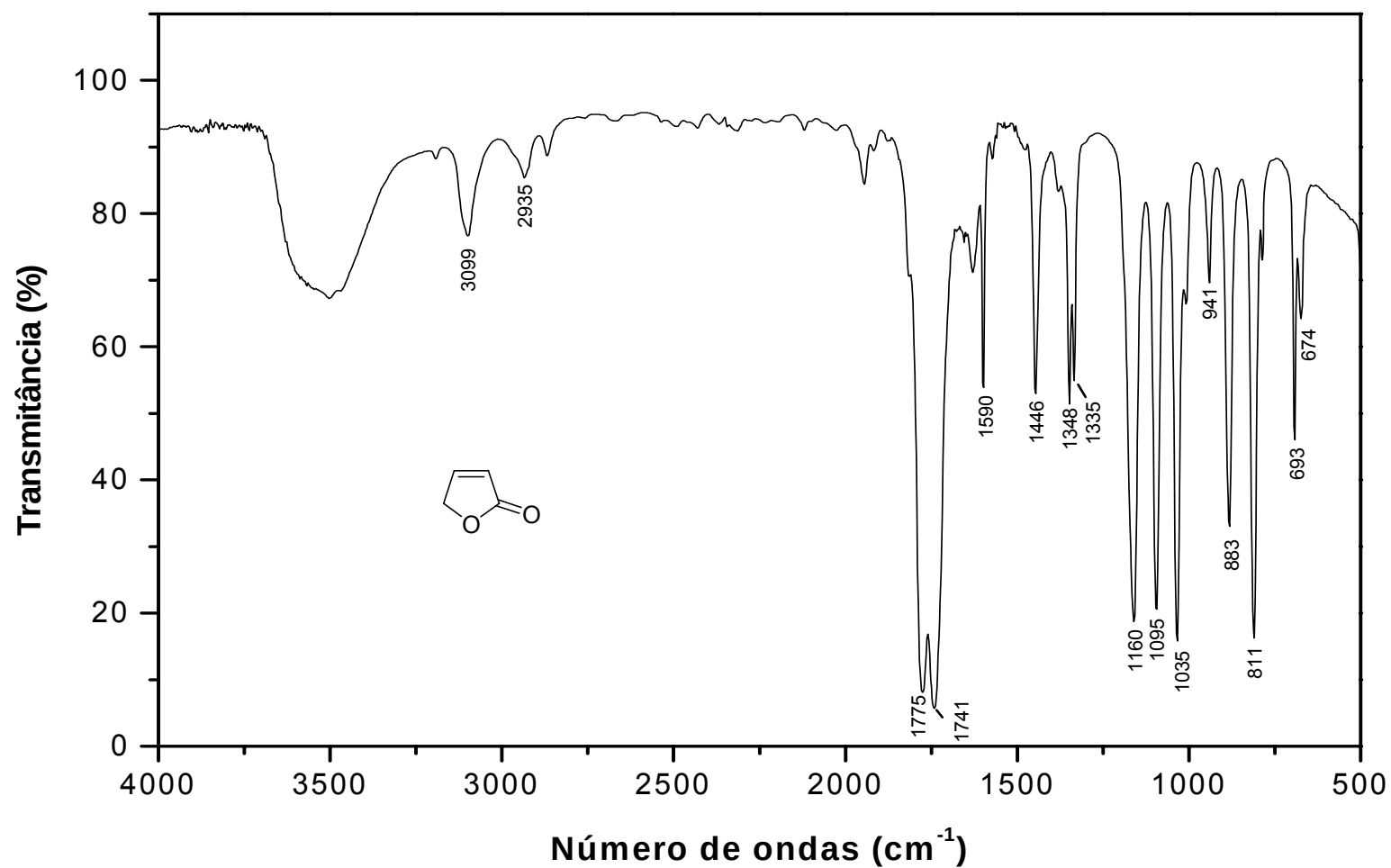


Figura 1 - Espectro no IV (filme, NaCl) da lactona 6.

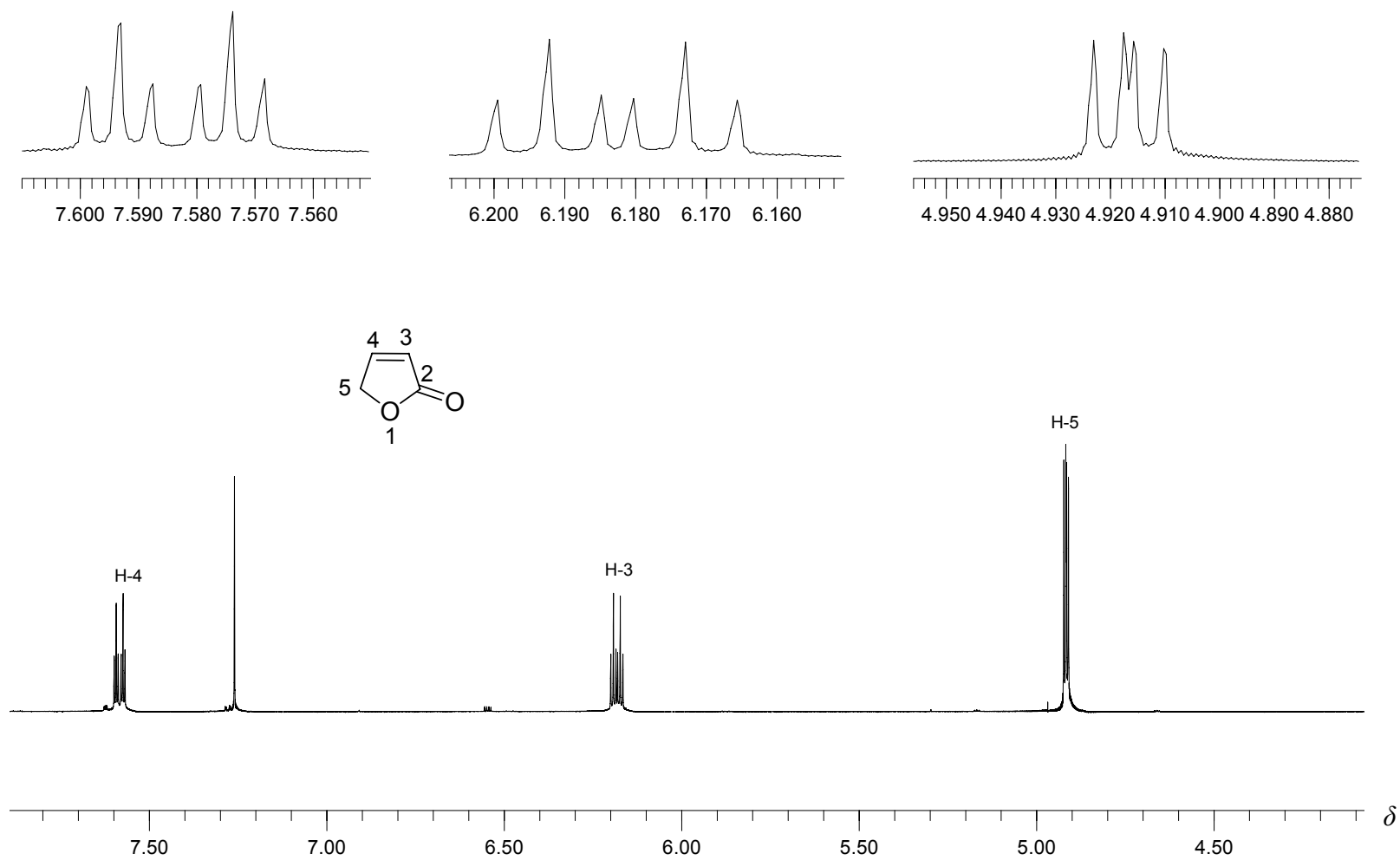


Figura 2 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da lactona **6**.

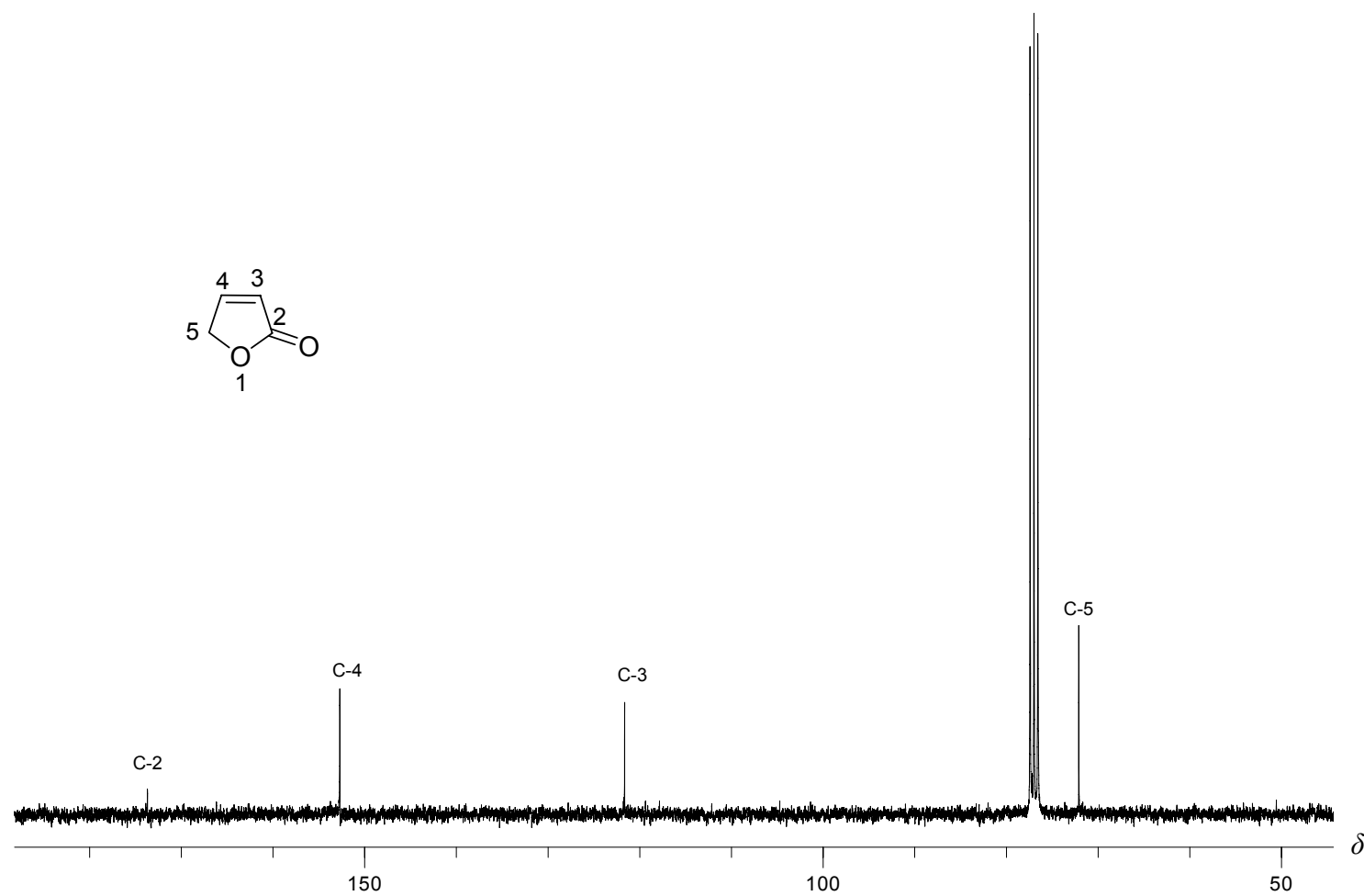


Figura 3 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da lactona **6**.

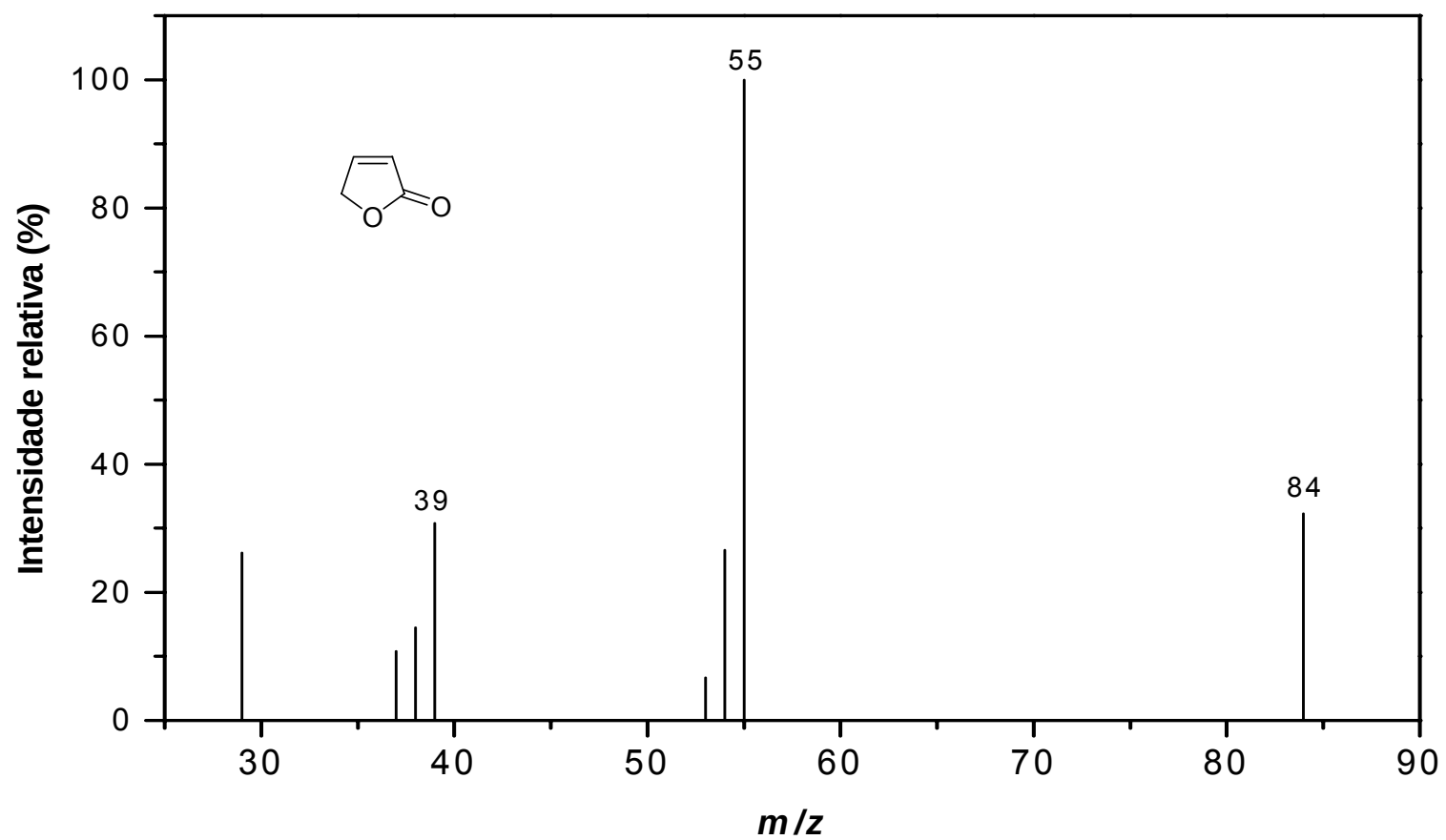


Figura 4 - Espectro de massas da lactona 6.

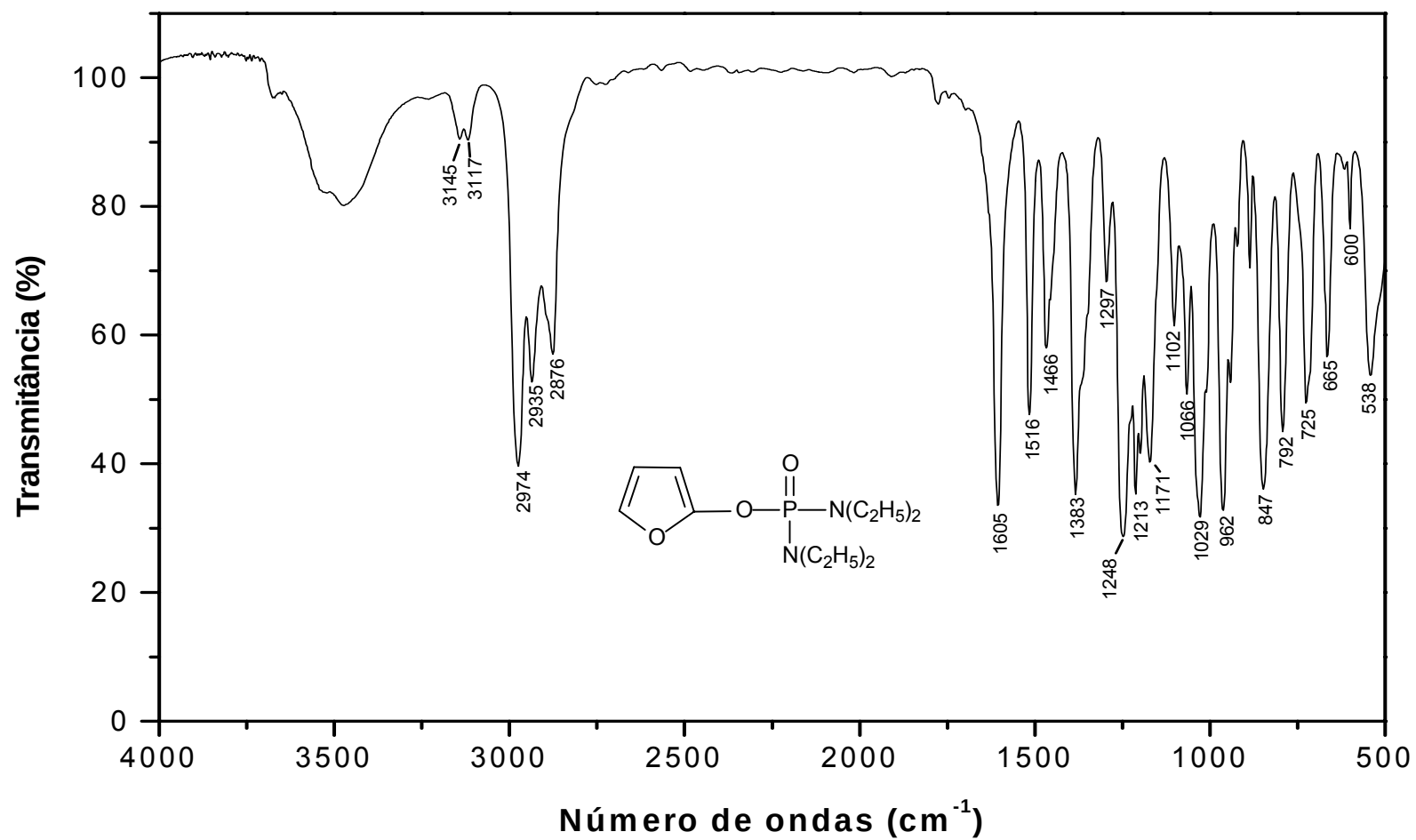


Figura 5 - Espectro no IV (filme, NaCl) do furano 3.

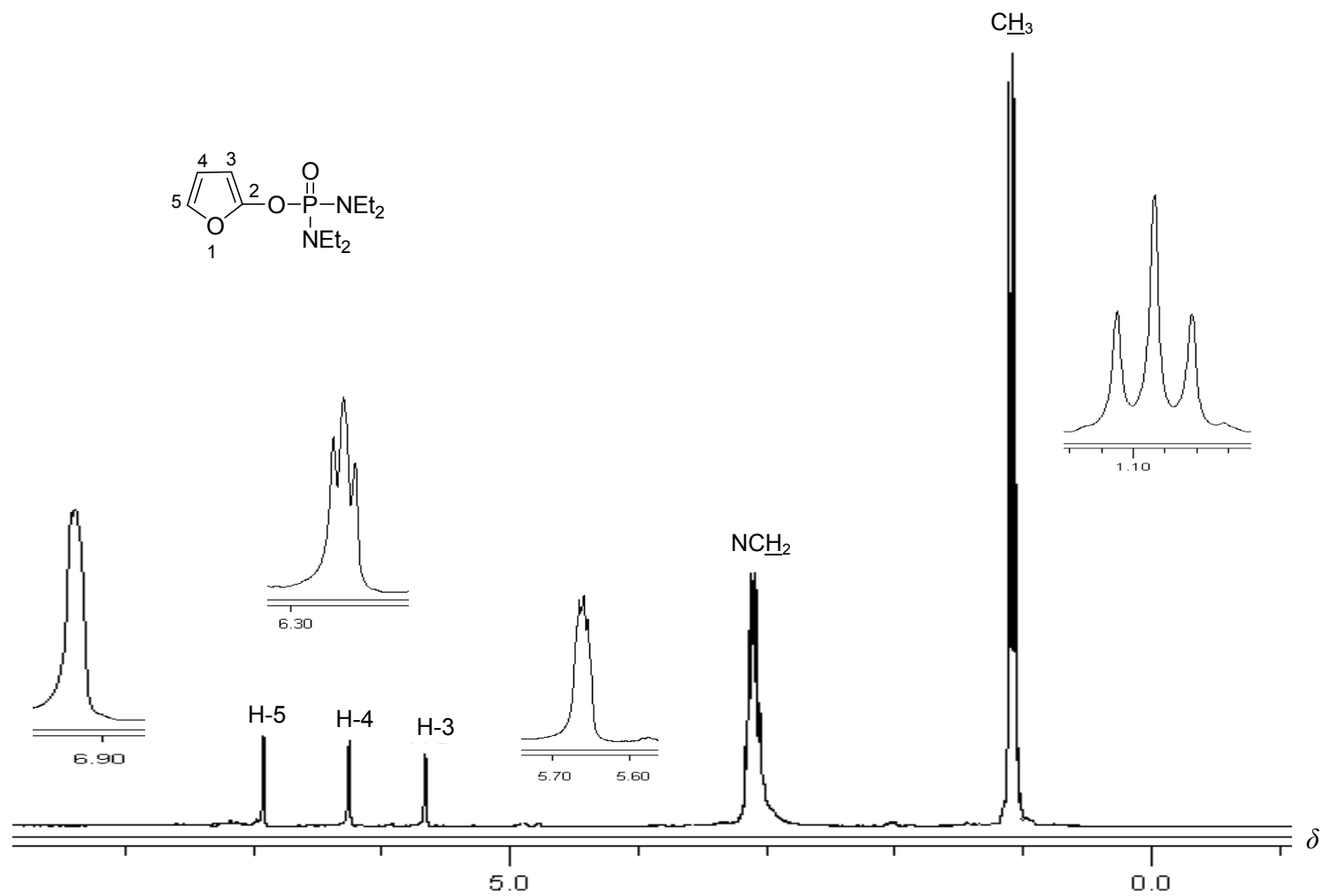


Figura 6 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância **3**.

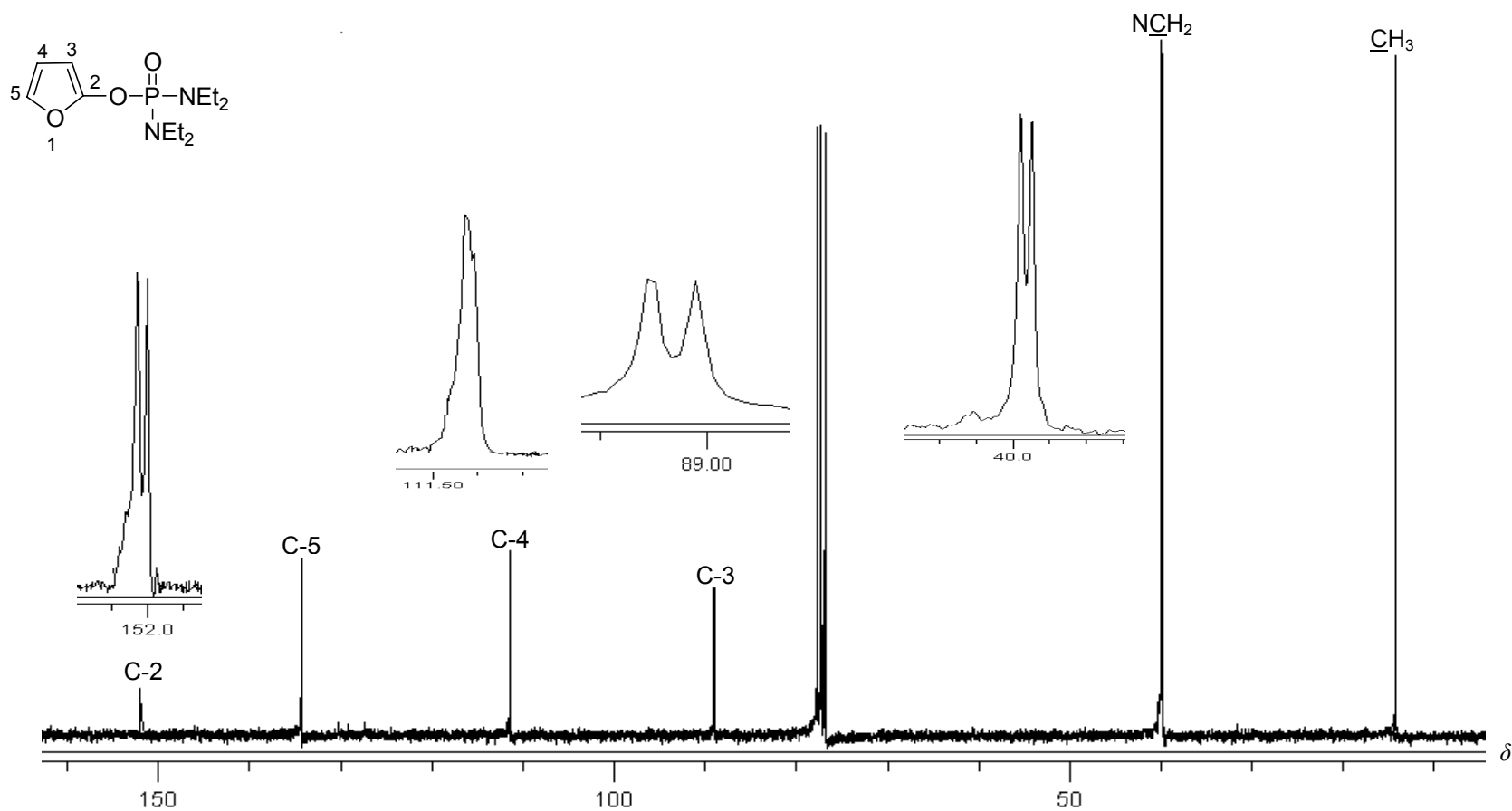


Figura 7 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da substância **3**.

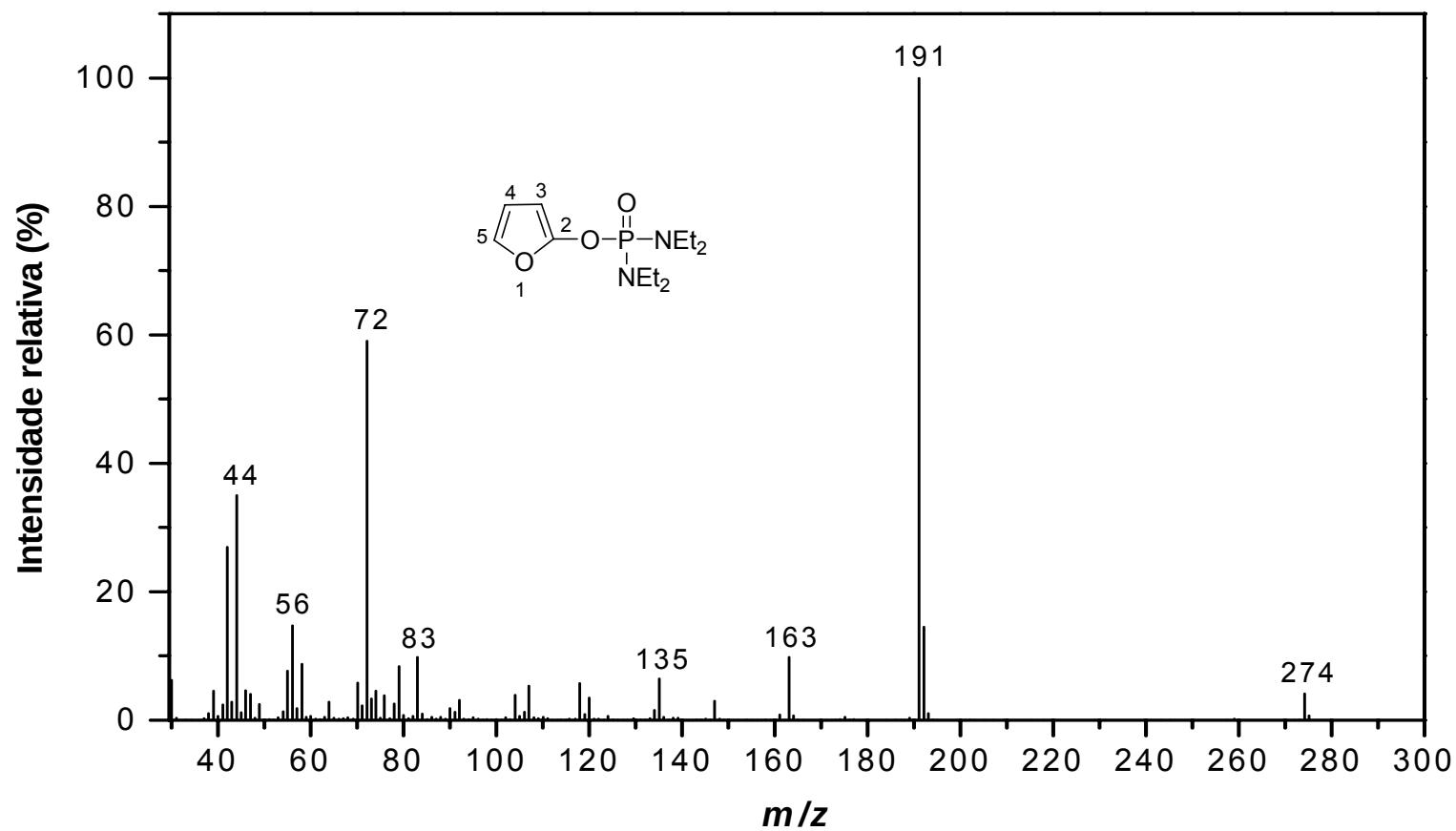


Figura 8 - Espectro de massas do composto 3.

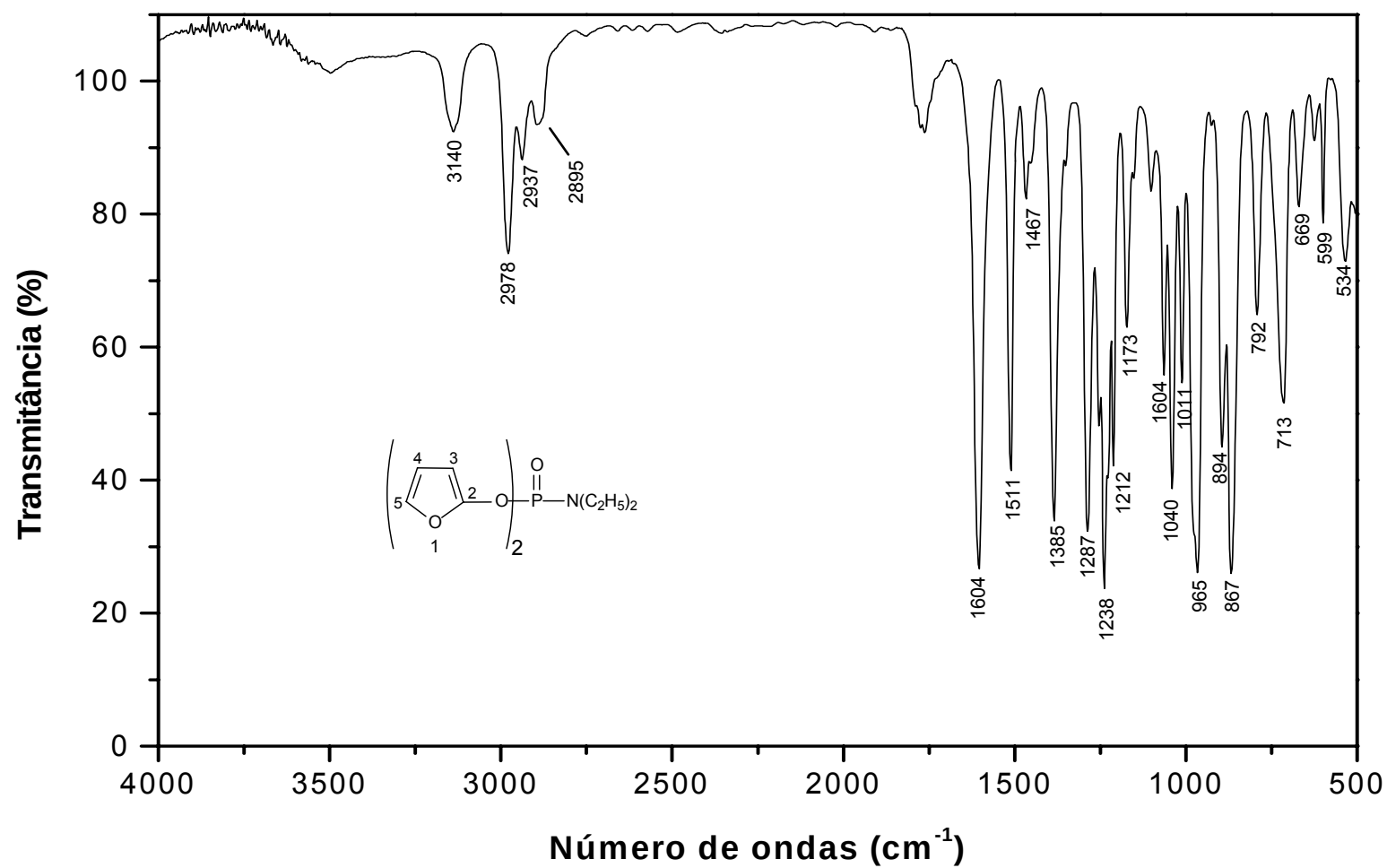
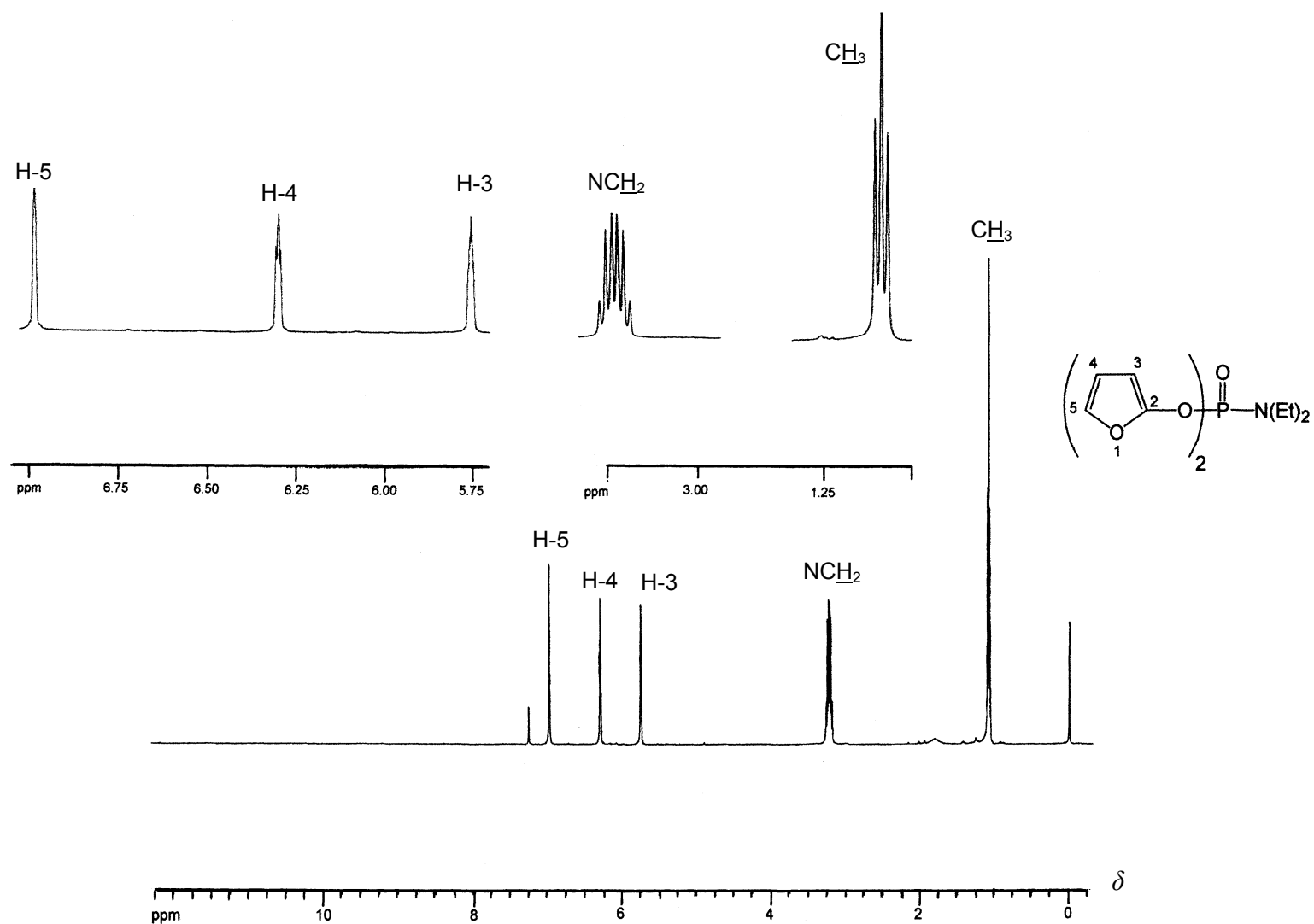


Figura 9 - Espectro no IV (filme, NaCl) do composto 5.

Figura 10 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 5.

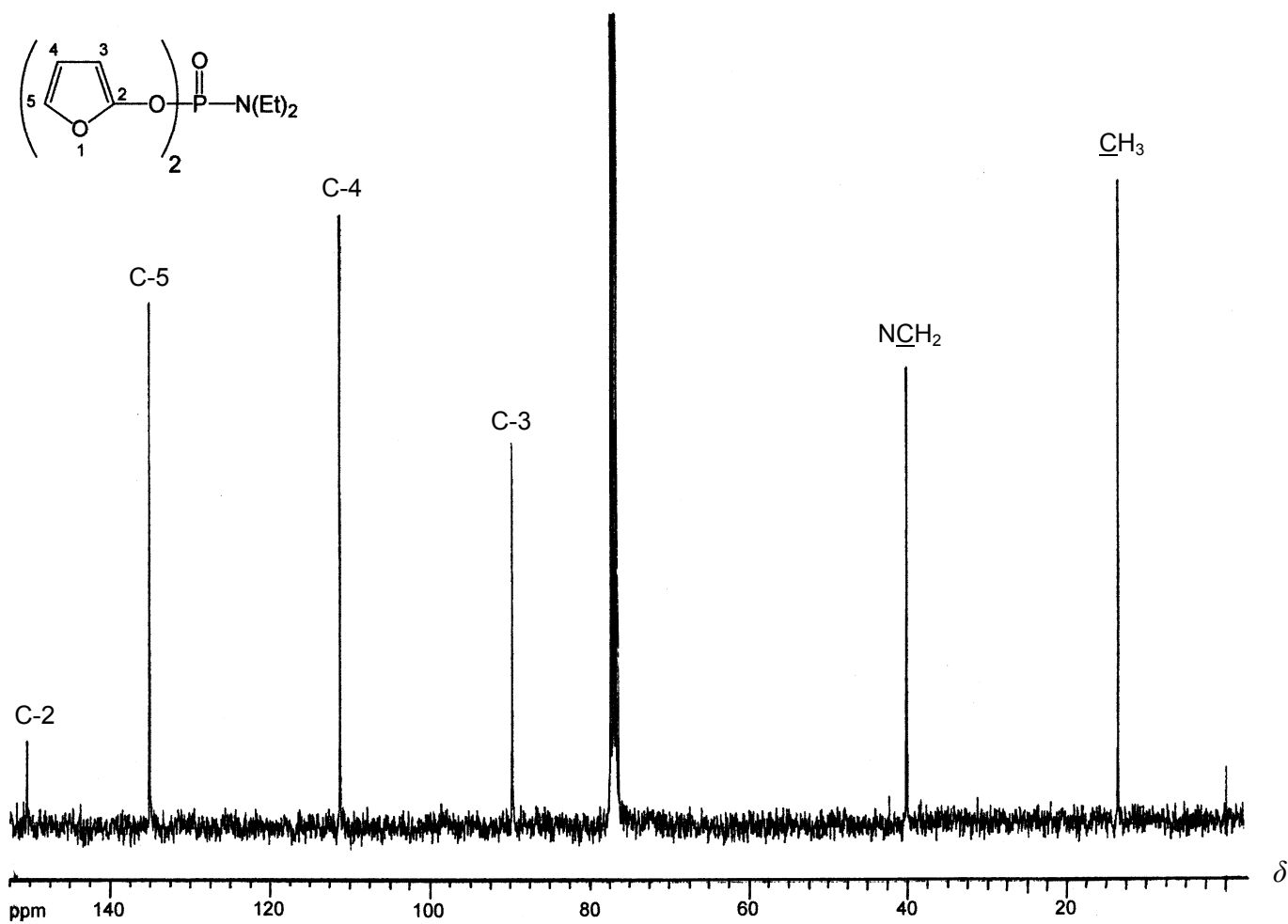


Figura 11 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 5.

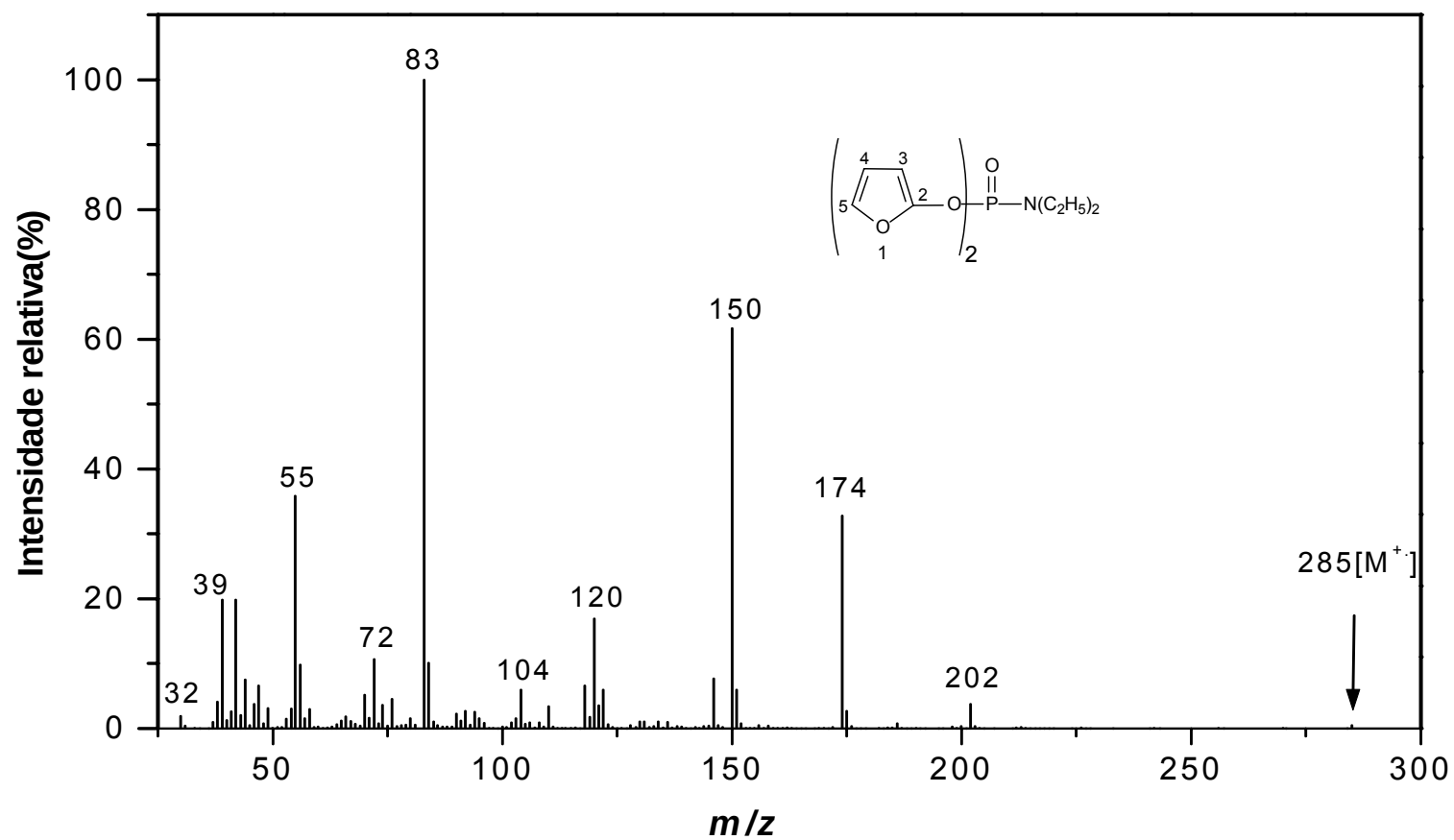


Figura 12 - Espectro de massas do composto 5.