

UFSM

TESE DE DOUTORADO

**SÍNTESE E ESTUDO DAS INTERAÇÕES DE 3-(FOSFATO)- E
3-(FOSFONAMIDA)-4,4,4-TRIFLUOR-BUT-1-IL
CARBAMATOS DE ETILA COM A ENZIMA
ACETILCOLINESTERASE E SÍNTESE DE 3-CARBOXIETIL-
E 3-PIRIMIDIN-2-IL-2-OXO-6-TRIFLUORMETIL-
[1,2,3]OXATIAZINANAS**

DEISE MOREIRA BORCHHARDT

SANTA MARIA, RS – BRASIL

2007

**SÍNTESE E ESTUDO DAS INTERAÇÕES DE 3-(FOSFATO)- E
3-(FOSFONAMIDA)-4,4,4-TRIFLUOR-BUT-1-IL
CARBAMATOS DE ETILA COM A ENZIMA
ACETILCOLINESTERASE E SÍNTESE DE 3-CARBOXIETIL-
E 3-PIRIMIDIN-2-IL-2-OXO-6-TRIFLUORMETIL-
[1,2,3]OXATIAZINANAS**

por

Deise Moreira Borchardt

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Química Orgânica, da Universidade Federal de Santa Maria (RS), como requisito parcial para obtenção do grau de DOUTOR EM QUÍMICA

Santa Maria, RS - Brasil

2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

A COMISSÃO EXAMINADORA ABAIXO ASSINADA, APROVA A TESE

SÍNTESE E ESTUDO DAS INTERAÇÕES DE 3-(FOSFATO)- E 3-(FOSFONAMIDA)-4,4,4-TRIFLUOR-BUT-1-IL CARBAMATOS DE ETILA COM A ENZIMA ACETILCOLINESTERASE E SÍNTESE DE 3-CARBOXIETIL- E 3-PIRIMIDIN-2-IL-2-OXO-6-TRIFLUORMETIL-[1,2,3]OXATIAZINANAS

Elaborada por

DEISE MOREIRA BORCHHARDT

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR
EM QUÍMICA

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Nilo Zanatta/UFSM

Prof^ª. Dr^ª. Alana Neto Zoch/UPF

Prof^ª. Dr^ª. Maria Rosa Schetinger/UFSM

Prof. Dr. Alex Fabiani Claro Flores/UFSM

Prof. Dr. Marcos Antônio Pinto Martins/UFSM

Santa Maria, março de 2007.

*“Foi o tempo que perdeste com tua rosa
que fez tua rosa tão importante”*

Antoine de Saint-Exupéry

*Meu agradecimento a todas as pessoas
que são “as rosas” em minha vida
sejam elas adultos ou crianças,
todas a quem dedico meu tempo e atenção
pessoas que são para mim “únicas no mundo”*

*Meu agradecimento ao Prof. Dr. Nilo Zanatta
pela orientação, paciência e respeito
demonstrados nestes quatro anos*

AGRADECIMENTOS

- Ao CNPQ pela concessão da bolsa de pesquisa
- Aos profs. componentes da banca
- Ao prof. Adriano Andricopulo, pela oportunidade que me concedeu de desenvolver parte da tese no IFSC/USP
- Aos funcionários da Coordenação do Curso de Pós-graduação em Química Ademir e Valéria, pela atenção e presteza
- A Maria Angélica Lima pela amizade e colaboração na disposição dos aparelhos de RMN
- As colegas de laboratório Helena Coelho e Adriana Carpes pela amizade e colaboração nos testes biológicos
- A colega de laboratório Simone Amaral pela força e amizade
- Aos colegas de laboratório Leonardo, Rosemário, Tiago, Liana, Kellen, Ana e Patrícia pela agradável convivência
- Aos colegas de doutorado Cleber, Michele, Rogério, Peres, Wilson e Anderson pela amizade e por terem de alguma forma contribuído para a realização deste trabalho
- Aos colegas que deixaram muita saudade Fernando Rigui, Carine Lermen e Renato Zan
- A Darlene Flores, pela atenção e amizade
- A todos os meus amigos e amigas, que tornam a minha vida mais bela
- As pessoas da minha família pelo carinho
- As crianças Natália, Letícia e Michel

RESUMO

Síntese e estudo das interações de 3-(fosfato)- e 3-(fosfonamida)-4,4,4-trifluor-but-1-il-carbamatos de etila com a enzima acetilcolinesterase e síntese de 3-carboxietil- e 3-pirimidin-2-il-2-oxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinanas

Autora: Deise Moreira Borchhardt

Orientador: Prof. Dr. Nilo Zanatta

Uma série de [3-(fosfato)-4,4,4-trifluor-but-1-il]-carbamatos de etila e [3-(fosfonamida)-4,4,4-trifluor-but-1-il]-carbamatos de etila foram obtidos a partir da reação de γ -amino álcoois (4,4,4-trifluor-3-hidróxi-butan-1-il)-carbamatos de etila com oxiclreto de fósforo na presença de base e subsequente reação com álcoois ou aminas.

Este trabalho apresenta também a síntese e caracterização de 3-carboxietil-2-oxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinanas e 3-[pirimidin-2-il]-2-oxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinanas obtidas por reação de ciclização dos γ -amino álcoois (4,4,4-trifluor-3-hidróxi-butan-1-il)-carbamatos de etila e 4-(pirimidin-2-ilamino)-1,1,1-trifluor-butan-2-ols com cloreto de tionila na presença de base.

Os γ -amino álcoois utilizados neste trabalho foram obtidos por rotas sintéticas que tem como precursor as β -alcoxivinil trifluormetil cetonas de fórmula geral $F_3CC(O)CH=C(R)OR^1$, onde R = H, Me, Pr, Bu, Ph, 4-Me-Ph; R^1 = Me, Et. As β -alcoxivinil trifluormetil cetonas utilizadas foram obtidas através de acilação de acetais ou enol éteres com anidrido trifluoracético.

O efeito dos carbamatos contendo grupo fosfato na inibição da enzima acetilcolinesterase foi avaliado. Vários compostos apresentaram inibição significativa dessa enzima e estudos de modelagem molecular foram desenvolvidos para elucidar o modo de interação destes novos inibidores.

As oxatiazinanas foram testadas na inibição do crescimento de microorganismos incluindo leveduras como fungos, bactérias e alga, porém, não apresentaram atividade inibitória.

ABSTRACT

Synthesis and interactions studies of 3-phosphate- and 3-phosphonamide-4,4,4-trifluoro-but-1-yl-carbamic acid ethyl esters with acetylcholinesterase enzyme and synthesis of 3-carboxyethyl- and 3-pyrimidin-2-yl-2-oxo-6-trifluoromethyl-[1,2,3]oxathiazinanes

Author: Deise Moreira Borchhardt
Academic Advisor: Prof. Dr. Nilo Zanatta

A series of [3-(phosphate)-4,4,4-trifluoro-but-1-yl]-carbamic acid ethyl ester and [3-(phosphonamide)-4,4,4-trifluoro-but-1-yl]-carbamic acid ethyl ester obtained from the reaction of γ -amino alcohols (4,4,4-trifluoro-3-hydroxy-butan-1-yl)-carbamic acid ethyl ester with phosphorus oxychloride in the presence of base and subsequent reaction with alcohols or amines.

In addition, this work describes the synthesis and characterization of 3-carboxyethyl-2-oxo-6-trifluoromethyl-[1,2,3]oxathiazinanes and 3-[pyrimidin-2-yl]-2-oxo-6-trifluoromethyl-[1,2,3]oxathiazinanes obtained from the cyclization reaction of the γ -amino alcohols (4,4,4-trifluoro-3-hydroxy-butan-1-yl)-carbamic acid ethyl ester and 4-(pyrimidin-2-ylamino)-1,1,1-trifluoro-butan-2-ols with thionyl chloride in the presence of a base.

The γ -amino alcohols used in this work were obtained from synthetic routes using as precursor β -alkoxyvinyl trifluoromethyl ketones with general formula $F_3CC(O)CH=C(R)OR^1$, where R = H, Me, Pr, Bu, Ph, 4-Me-Ph; R^1 = Me, Et. The β -alkoxyvinyl trifluoromethyl ketones were obtained from the acylation of acetals or enolethers with trifluoroacetic anhydride.

The effect of the carbamates containing phosphate group in the inhibition of acetylcholinesterase enzyme was tested. Several compounds exhibited significant inhibition of this enzyme. Molecular modeling studies were developed to elucidate the interaction mode of these new inhibitors.

The oxathiazinanes were assessed against a panel of microorganisms including yeast like fungi, bacteria and algae, but no activity was found.

FEDERAL UNIVERSITY OF SANTA MARIA
GRADUATE PROGRAM IN CHEMISTRY
Doctor thesis in Chemistry
Santa Maria, march, 2007.

ÍNDICE

1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	6
3. Revisão da Literatura.....	11
3.1 Síntese.....	12
3.1.1 Síntese de enamino cetonas.....	12
3.1.2 Síntese de amino álcoois.....	18
3.1.3 Síntese de fosfatos e fosfonamidas.....	20
3.1.4 Síntese de oxazafosforinanas.....	27
3.1.5 Síntese de oxatiazinanas.....	29
3.2 Técnicas em química medicinal e planejamento de inibidores.....	32
3.3 Acetilcolinesterase: sítio ativo e mecanismo de inibição.....	33
3.4 Inibidores da acetilcolinesterase.....	35
3.4.1 Organofosforados.....	35
3.4.1.1 Gases neurotóxicos.....	35
3.4.1.2 Inseticidas.....	36
3.4.1.3 Uso terapêutico.....	37
3.4.2 Carbamatos.....	37
3.4.2.1 Inseticidas.....	37
3.4.2.2 Uso terapêutico.....	38
4. Apresentação e discussão dos resultados.....	40
4.1 Apresentação dos compostos.....	41
4.2 Síntese dos compostos.....	44
4.2.1 Acilação de enoléteres e acetais – obtenção dos compostos 1a-f	44
4.2.2 Síntese de enamionas – compostos 2a-f	45
4.2.3 Síntese de amino álcoois – compostos 3a-f	47
4.2.4 Síntese de fosfatos e fosfonamidas – compostos 5-19	48
4.2.5 Oxazafosforinanas – compostos 21	50

4.2.6 Síntese de oxatiazinanas – compostos 22a-c, e, f	52
4.2.7 Síntese de dioxo-oxatiazinana – composto 23	54
4.2.8 Síntese de enaminonas – compostos 27-29	55
4.2.9 Síntese de amino álcoois – compostos 30-32	56
4.2.10 Síntese de oxatiazinanas – compostos 34-36	57
4.2.11 Compostos 33 e 37	58
4.2.12 Compostos 41 e 42	59
4.3 Atividade Biológica.....	61
4.3.1 Inibição da enzima acetilcolinesterase.....	62
4.3.2 Estudo das interações com a enzima AChE.....	65
4.3.2.1 Fosfatos.....	66
4.3.2.2 Fosfonamidas.....	69
4.3.3 Atividade Antimicrobiana.....	72
5. Identificação dos compostos.....	73
5.1 Identificação dos compostos 2 e 27-29 por Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C	75
5.2 Identificação dos compostos 3 e 30-32 por Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C	80
5.3 Identificação dos compostos 5-19 por Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C	82
5.4 Identificação dos compostos 5-19 por Espectrometria de Massas.....	85
5.5 Dados de difração de Raios-x para o composto 16	89
5.6 Identificação dos compostos 22 e 34-36 por Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C e Espectroscopia de 2D (cosy H-H).....	90
5.6 Identificação dos compostos 22 e 34-36 por Espectrometria de Massas.....	94
6. Conclusão.....	98
7. Parte experimental.....	101
7.1 Métodos.....	102
7.1.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	102

7.1.2 Espectroscopia de Massas.....	102
7.1.3 Ponto de fusão.....	103
7.1.4 Análise elementar.....	103
7.1.5 Cromatografia em coluna quiral.....	103
7.2 Material Utilizado.....	103
7.2.1 Solventes e reagentes.....	103
7.2.2 Rota-evaporador.....	104
7.3 Compostos sintetizados	104
7.3.1 Procedimento geral para obtenção de 4,4,4-Trifluor-3-oxo-1-buten-1-il-carbamato de etila (2a-f), 4,4,4-Trifluor-3-hidróxi-butan-1-il-carbamato de etila (3a-f), 4-(Pirimidin-2-ilamino)-1,1,1-trifluor-butan-2-ol (30-32) e 4-(Piridin-2-ilamino)- 1,1,1-trifluor-butan-2-ol (40).....	104
7.3.2 Procedimento geral para obtenção de [3-(Fosfato)-4,4,4-trifluor-but-1-il]-carbamato de etila e [3-(Fosfonamida-4,4,4-trifluor-but-1-il]-carbamato de etila (5-19).....	107
7.3.3 Procedimento geral para obtenção de 4-(pirimidin-2-ilamino)-1,1,1-trifluor but-3-en-2-ona (27-29).....	115
7.3.4 Procedimento geral para obtenção de 2-oxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinana-3-carbamato de etila (22a-c, e, f) e 3-(Pirimidin-2-il)-2-oxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinana (34-36).....	116
7.3.5 Procedimento geral para obtenção de 2-dioxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinana-3-carbamato de etila (23).....	121
8. Referências bibliográficas.....	122
9. Anexos.....	133

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Nomenclatura dos compostos sintetizados.....	43
Tabela 2: Condições testadas para obtenção das oxazafosforinanas 21	51
Tabela 3: Condições testadas para obtenção das oxazafosforinanas 33	59
Tabela 4: Condições testadas para obtenção das oxazafosforinanas 41	59
Tabela 5: Condições testadas para obtenção das oxatiazinas 42	60
Tabela 6: Dados da atividade biológica para os fosfatos 5-7	64
Tabela 7: Dados da atividade biológica para os fosfatos 8-10	64
Tabela 8: Dados da atividade biológica para os fosfatos 11-13	64
Tabela 9: Dados cristalográficos e refinamento da estrutura para o composto 16	135
Tabela 10: Coordenadas atômicas ($\times 10^4$) e parâmetros de substituição de equivalência isotrópica ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) para o composto 16	136
Tabela 11: Comprimentos de ligação e ângulos para o composto 16	137
Tabela 12: Parâmetros de substituição anisotrópica ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) para o composto 16	139
Tabela 13: Coordenadas de hidrogênio ($\times 10^4$) e parâmetros de substituição isotrópica ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) para o composto 16	140
Tabela 14: Ligações de hidrogênio para o composto 16	141

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Organofosforados utilizados na medicina.....	3
Figura 2: Compostos utilizados como inseticidas.....	3
Figura 3: Rivastigmina (Elexon).....	4
Figura 4: Estrutura geral dos fosfatos e fosfonamidas.....	20
Figura 5: Estrutura geral de oxatiazinanas e dioxo-oxatiazinanas.....	29
Figura 6: Inibição da acetilcolinesterase por carbamatos.....	34
Figura 7: Gases que atacam o sistema nervoso central.....	35
Figura 8: Alguns exemplos de inseticidas organofosforados.....	36
Figura 9: Ecotiopato e Metrifonato.....	37
Figura 10: Carbamatos utilizados como inseticidas.....	38
Figura 11: Carbamatos utilizados na medicina.....	38
Figura 12: Composto protótipo e derivado utilizado no tratamento da Doença de Alzheimer.....	39
Figura 13: Mecanismo proposto para a síntese dos compostos 2a-f	46
Figura 14: Mecanismo proposto para a síntese dos compostos 5-19	49
Figura 15: Mecanismo proposto para a síntese dos compostos 22a-c, e, f	53
Figura 16: Estrutura tridimensional da enzima AChE.....	65
Figura 17: Aproximação do composto 6 do sítio ativo.....	66
Figura 18: Contato polar do inibidor 6	67
Figura 19: Interações hidrofóbicas do inibidor 6 com os resíduos do sítio periférico.....	68
Figura 20: Aproximação do composto 14 do sítio ativo.....	70
Figura 21: Contatos polares do composto 14	70
Figura 22: Estrutura da AChE representada com a superfície contendo o composto 14	71
Figura 23: Visão lateral da cavidade da AChE contendo o composto 14	71
Figura 24: Numeração das estruturas para atribuição dos sinais dos espectros de RMN.....	74
Figura 25: Numeração das estruturas para atribuição dos sinais dos espectros de RMN.....	75

Figura 26: Espectro de (a) RMN ^1H a 200 MHz em CDCl_3 e espectro de (b) RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100 MHz em CDCl_3 para o composto 5,5,5-trifluor-4-oxo-2-hepten-2-il-carbamato de etila 2e	78
Figura 27: Espectro de (a) RMN ^1H a 200 MHz em CDCl_3 e espectro de (b) RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100 MHz em CDCl_3 para o composto 4-[4-(4-cloro-fenil)-6-fenil-pirimidin-2-ilamino]-1,1,1-trifluor-but-3-en-2-ona 28	79
Figura 28: Espectro de (a) RMN ^1H a 200 MHz em CDCl_3 e espectro de (b) RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 50 MHz em CDCl_3 para o composto 4-[4-(4-cloro-fenil)-6-fenil-pirimidin-2-ilamino]-1,1,1-trifluor-butan-2-ol 31	81
Figura 29: Espectro de (a) RMN ^1H a 200 MHz em CDCl_3 e espectro de (b) RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100 MHz em CDCl_3 para o composto [3-(Dimetoxi-fosfato)-4,4,4-trifluor-but-1-il]-carbamato de etila 5	83
Figura 30: Espectro de (a) RMN ^1H a 200 MHz em CDCl_3 e espectro de (b) RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100 MHz em CDCl_3 para o composto [3-(Dipiperidin-fosfonamida)-4,4,4-trifluor-1-metil-but-1-il]-carbamato de etila 16	84
Figura 31: Fragmentos mais prováveis dos fosfatos.....	85
Figura 32: Fragmentos mais prováveis das fosfonamidas.....	86
Figura 33: Espectro de massas para o composto 5	87
Figura 34: Espectro de massas para o composto 17	88
Figura 35: Ortep do composto 16	89
Figura 36: Estrutura e constantes de acoplamento de RMN de ^1H do composto 22d e estrutura das oxatiazinanas descritas na literatura.....	91
Figura 37: Espectro de (a) RMN ^1H a 200 MHz em CDCl_3 e espectro de (b) RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100 MHz em CDCl_3 para o composto 4-(4-Metil-fenil)-2-Oxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinana-3-carbamato de etila 22e	92
Figura 38: Espectro de (a) RMN ^1H a 200 MHz em CDCl_3 e espectro de (b) RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100 MHz em CDCl_3 para o composto 3-[4-(4-Metoxi-fenil)-6-fenil-pirimidin-2-il]-2-oxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinana 36	93
Figura 39: Fragmentos mais prováveis das oxatiazinanas 22	94
Figura 40: Fragmentos mais prováveis das oxatiazinanas 34-36	95
Figura 41: Espectro de massas para o composto 22f	96

Figura 42: Espectro de massas para o composto 36	97
Figura 43: Espectro de RMN de ^1H a 200MHz em CDCl_3 para o composto 6	143
Figura 44: Espectro de RMN de ^1H a 200MHz em CDCl_3 para o composto 8	144
Figura 45: Espectro de RMN de ^1H a 200MHz em CDCl_3 para o composto 9	145
Figura 46: Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100MHz em CDCl_3 para o composto 9	146
Figura 47: Espectro de RMN de ^1H a 200MHz em CDCl_3 para o composto 11	147
Figura 48: Espectro de RMN de ^1H a 200MHz em CDCl_3 para o composto 12	148
Figura 49: Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100MHz em CDCl_3 para o composto 12	149
Figura 50: Espectro de RMN de ^1H a 200MHz em CDCl_3 para o composto 15	150
Figura 51: Espectro de RMN de ^1H a 200MHz em CDCl_3 para o composto 17	151
Figura 52: Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100MHz em CDCl_3 para o composto 17	152
Figura 53 : Espectro de RMN de ^1H a 200MHz em CDCl_3 para o composto 22a	153
Figura 54: Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100MHz em CDCl_3 para o composto 22a	154
Figura 55: Espectro de RMN de ^1H a 200MHz em CDCl_3 para o composto 22b	155
Figura 56: Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100MHz em CDCl_3 para o composto 22b	156
Figura 57: Espectro de RMN de ^1H a 200MHz em CDCl_3 para o composto 22c	157

Figura 58: Espectro de RMN de ^1H a 400MHz em CDCl_3 para o composto 22f	158
Figura 59: Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100MHz em CDCl_3 para o composto 22f	159
Figura 60: Espectro de 2D COSY H-H em CDCl_3 para o composto 22f	160
Figura 61: Espectro de RMN de ^1H a 200MHz em CDCl_3 para o composto 23	161
Figura 62: Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100MHz em CDCl_3 para o composto 23	162
Figura 63: Espectro de RMN de ^1H a 200MHz em CDCl_3 para o composto 28	163
Figura 64: Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100MHz em CDCl_3 para o composto 28	164
Figura 65: Espectro de RMN de ^1H a 200MHz em CDCl_3 para o composto 31	165
Figura 66: Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 50MHz em CDCl_3 para o composto 31	166
Figura 67: Espectro de RMN de ^1H a 200MHz em DMSO-d_6 para o composto 34	167
Figura 68: Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100MHz em DMSO-d_6 para o composto 34	168
Figura 69: Espectro de massa para o composto 11	170
Figura 70: Espectro de massa para o composto 7	171
Figura 71: Espectro de massa para o composto 12	172
Figura 72: Espectro de massa para o composto 13	173
Figura 73: Espectro de massa para o composto 15	174
Figura 74: Espectro de massa para o composto 19	175
Figura 75: Espectro de massa para o composto 18	176
Figura 76: Espectro de massa para o composto 22a	177
Figura 77: Espectro de massa para o composto 22c	178
Figura 78: Espectro de massa para o composto 22e	179
Figura 79: Espectro de massa para o composto 30	180

Figura 80: Espectro de massa para o composto 34	181
Figura 81: Espectro de massa para o composto 31	182
Figura 82: Espectro de massa para o composto 36	183
Figura 83: Espectro de massa para o composto 32	184

INTRODUÇÃO

1- INTRODUÇÃO

A química medicinal se refere à descoberta, ao desenvolvimento, à identificação e à interpretação do modo de ação de compostos biologicamente ativos, a nível molecular.¹

O desejo de obter moléculas bioativas impulsiona o desenvolvimento de muitas rotas sintéticas.² Diversos grupos tem sido encontrados em moléculas biologicamente ativas, sendo que alguns destacam-se, tornando-se frequentemente incorporados na estrutura de novos compostos devido a suas qualidades desejáveis. Por exemplo, os compostos fluorados tem demonstrado um grande escopo de atividade biológica.^{3,4} Devido ao alto caráter lipofílico, a alta eletronegatividade do flúor,⁵ e ao requisito estérico modesto do grupo trifluormetila se comparado a uma metila, compostos trifluormetilados tem provado ser de importante valor em química medicinal^{6,7} e, durante as últimas décadas, métodos para a síntese destes compostos tem recebido considerável atenção.⁸

As β -alcoxivinil trifluormetil cetonas vêm sendo amplamente utilizadas devido a sua versatilidade como intermediários em síntese orgânica. Sua grande aplicabilidade na síntese de vários compostos pode ser observada através de muitas reações como por exemplo: proteção de amino ácidos,^{9,10} síntese de enamionas¹⁰ e uma variedade de compostos heterociclos de cinco,^{9, 11-34} seis³⁵⁻⁴⁹ e sete⁵⁰⁻⁵² membros, além de outros compostos alifáticos,⁵³⁻⁵⁵ como amino álcoois.⁵⁷ Os compostos obtidos em sua maioria mantêm o grupo trifluormetila na sua estrutura. A introdução de um grupo trifluormetila em moléculas orgânicas confere mudanças químicas, físicas e biológicas significantes em suas propriedades,^{5,58} e em moléculas bioativas, aumenta sua eficácia terapêutica devido ao aumento da lipofilicidade.^{59, 60} Vários heterociclos contendo o grupo trifluormetila têm sido sintetizados com diversas atividades biológicas, tais como fungicidas,⁶¹ antitumorais,⁶² antivirais⁶³ entre outros.

Na pesquisa para o desenvolvimento de novos fármacos assim como os compostos trifluormetilados, a química de compostos organofosforados tem

encontrado lugar importante. Um valioso agente quimioterapêutico organofosforado é a ciclofosfamida,⁶⁴ uma oxazafosforinana com propriedade antitumoral. Outro exemplo de organofosforado (fosfonamida) utilizado na medicina é o ecotiopato, empregado no tratamento do glaucoma,⁶⁵ como mostra a Figura 1.

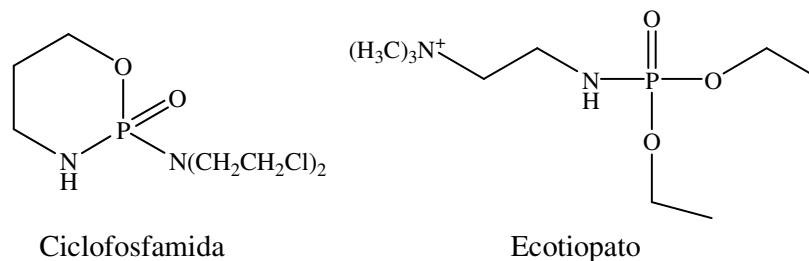


Figura 1: Organofosforados utilizados na medicina

É bem conhecido que agentes organofosforados tem sido usados nos campos da medicina (como fármacos) e da agricultura (como inseticidas) devido a sua ação inibitória sobre a enzima acetilcolinesterase.⁶⁶⁻⁶⁹ Os organofosfatos, os tiofosfatos e os carbamatos são grupos encontrados em inseticidas⁷⁰ e eles são preferidos na agricultura por causa de sua relativa baixa persistência no ambiente.^{71,72} Alguns exemplos de compostos com grupos fosfato ou carbamato com atividade inseticida,^{73,74} estão apresentados na Figura 2.

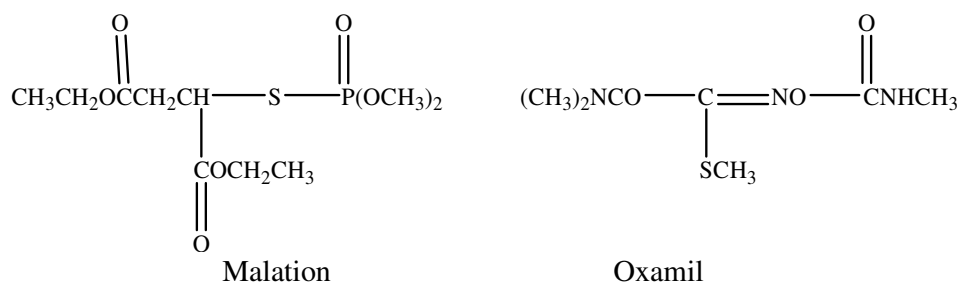


Figura 2: Compostos utilizados como inseticidas

Compostos de fósforo tetracoordenados pentavalentes são amplamente usados como compostos biologicamente ativos.⁷⁵ Além da sua aplicação em química medicinal estes compostos tem sido extensivamente empregados nos campos da indústria, agricultura, e aditivos em polímeros.^{76,77}

Os organofosforados e os carbamatos são ambos inibidores da enzima acetilcolinesterase, contudo, eles diferem na estabilidade do complexo formado

com a enzima. Os organofosforados são hábeis para fosforilar o resíduo de serina da enzima acetilcolinesterase por um mecanismo não-reversível, enquanto que, a carbamoilação do mesmo resíduo de serina é menos estável.⁷⁸ Um exemplo de inibidor reversível da acetilcolinesterase cuja estrutura é mostrada na Figura 3 é a rivastigmina (da Novartis) utilizada no tratamento da doença de Alzheimer.⁷⁹

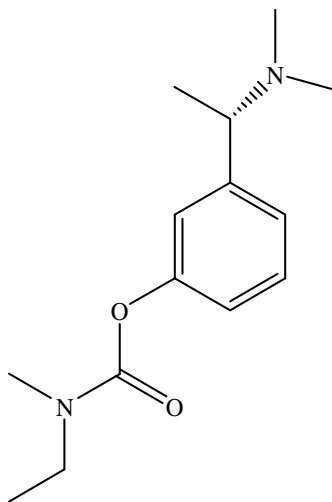


Figura 3: Rivastigmina (Elexon)

Outras classes de compostos com fósforo que tem recebido atenção devido às atividades biológicas são ácidos fosfínicos,⁸⁰ fosfonatos,⁸¹⁻⁸⁴ e fosfonamidas.⁸⁵⁻⁸⁹ As fosfonamidas são bons análogos do estado de transição da hidrólise de ligações peptídicas. Estes compostos não tem sido usados como fármacos porque eles são relativamente instáveis em pHs fisiológicos. A estabilidade de fosfonamidas pode ser aumentada pela redução da basicidade do nitrogênio. Isto tem sido verificado com fosfonodiamidas tendo o grupo trifluormetila na posição β relativa ao fósforo.⁸⁵

A reação de álcoois e aminas com reagentes fosforilantes como fosfonocloridratos é bem conhecida na síntese de fosfatos e fosfonamidas.^{67, 87, 88} Os γ -Amino álcoois, por sua vez, reagem com fosfonocloridratos fornecendo heterociclos de seis membros, as oxazafosforinanas.⁹⁰⁻⁹⁴

Outros heterociclos de seis membros como oxazinanas,⁹⁵ oxazinonas⁵⁷ e oxatiazinanas⁹⁶ podem ser sintetizados através da reação de γ -amino álcoois com outros eletrófilos. As oxatiazinanas, também chamadas de sulfamiditos, são obtidas pela incorporação do grupo sulfóxido ao amino álcool.

Uma grande variedade de moléculas quimicamente e biologicamente importantes tem sido preparadas de sulfamiditos e sulfamidatos cíclicos.⁹⁶ Por exemplo, sulfamidatos cíclicos tem sido usados na síntese de α -amino ácidos γ -substituídos enantiopuros,⁹⁷ na obtenção dos alcalóides manzacidina A e C,⁹⁸ para a geração de uma variedade de derivados de amino ácidos α,α -dissubstituídos,⁹⁹ hidróxi amino ácidos opticamente ativos,¹⁰⁰ e para a síntese de uma variedade de compostos alifáticos através da abertura dos sulfamidatos cíclicos com azidas, cianeto, aminas, fenol, tiofenol, tioisocianetos, e acetato de potássio.¹⁰¹ Além disso, sulfamiditos cíclicos tem sido usados como material de partida para a preparação de sulfinamidas e sulfoximidas enantiomericamente enriquecidas.¹⁰² ¹⁰³ Curiosamente, muitos sulfamiditos de seis membros possuem substituintes volumosos no nitrogênio e na posição α -nitrogênio. Adicionalmente, a carbamoilação do NH aumenta a reatividade eletrofílica destes compostos, na abertura do heterociclo.¹⁰⁴

OBJETIVOS

2 – OBJETIVOS

Considerando que compostos com o grupo trifluormetila tem recebido atenção especial devido ao seu amplo escopo de atividade biológica ⁶ e que compostos com os dois grupos inibidores da enzima acetilcolinesterase não tem sido descritos, planejamos investigar a reatividade de amino álcoois trifluormetilados para a obtenção de um esqueleto estrutural único contendo dois grupos farmacofóricos inibidores da acetilcolinesterase e heterociclos com fósforo ou enxofre (oxazafosforinanas e oxatiazinanas, respectivamente) contendo o grupo trifluormetila.

A incorporação de um átomo de fósforo (ou da porção P=O) nestes amino álcoois pode fornecer compostos de grande interesse como fosfatos, fosfonamidas e oxazafosforinanas. Já os heterociclos como oxatiazinanas tem sido pouco estudados e a obtenção desta classe de compostos com o grupo trifluormetila é inédita.

Em continuidade aos estudos que vem sendo realizados pelo NUQUIMHE na síntese de compostos com potencial atividade biológica utilizando como precursores β -alcoxivinil trifluormetil cetonas os objetivos deste trabalho são:

- Sintetizar compostos contendo dois grupos potencialmente inibidores da enzima acetilcolinesterase através da reação dos amino álcoois (3-hidróxi-4,4,4-trifluorbutil)-carbamatos de etila e 4-(4,6-difenil-pirimidin-2-ilamino)-1,1,1-trifluorbutan-2-ols com oxicloreto de fósforo e álcoois e aminas.

- Substituir o grupo alcóxi das β -alcoxivinil trifluormetil cetonas por amino pirimidinas.

- Estender o método de redução utilizado nas enamino cetonas (4,4,4-trifluor-3-oxo-1-buten-1-il-carbamatos de etila) para as enamino cetonas (4-(4,6-difenil-pirimidin-2-ilamino)-1,1,1-trifluor-but-3-en-2-onas)

- Sintetizar 6-trifluormetil-oxazafosforinanas e 6-trifluormetil-oxatiazinanas *N*- e 4- substituídas através da reação de amino álcoois (3-hidróxi-4,4,4-trifluorbutil)-carbamatos de etila e 4-(4,6-difenil-pirimidin-2-ilamino)-1,1,1-trifluorbutan-2-ols e 4-(piridin-2-ilamino)-1,1,1-trifluorbutan-2-ol com oxicloreto de fósforo e cloreto de tionila.

- Identificar a configuração do átomo de enxofre através da oxidação de oxatiazinana.

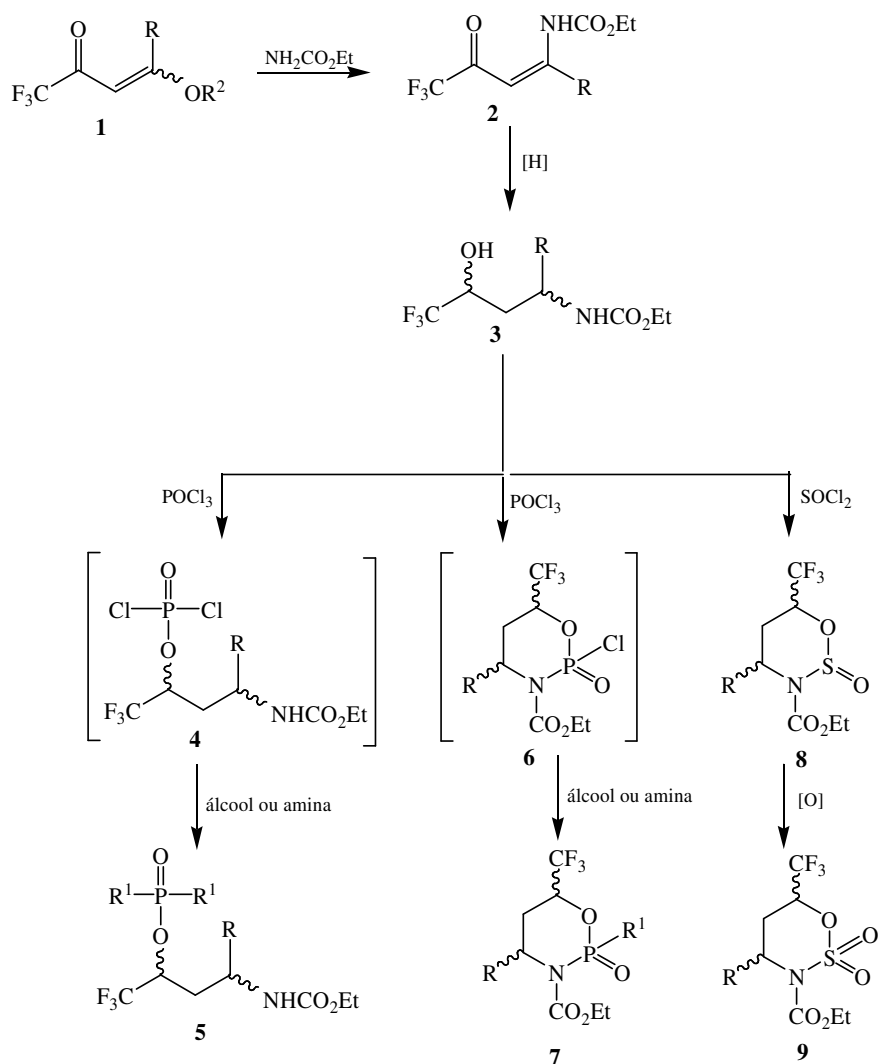
- Testar a atividade dos 3-(fosfato)-4,4,4-trifluor-but-1-il carbamatos de etila na inibição da enzima acetilcolinesterase.

- Verificar as possíveis interações e o modo de ação dos 3-(fosfato)- e 3-(fosfonamida)-4,4,4-trifluor-but-1-il carbamatos de etila através de estudos teóricos com a estrutura da enzima acetilcolinesterase.

- Testar a atividade biológica das oxatiazinanas na inibição do crescimento de microorganismos incluindo leveduras como fungos, bactérias e alga.

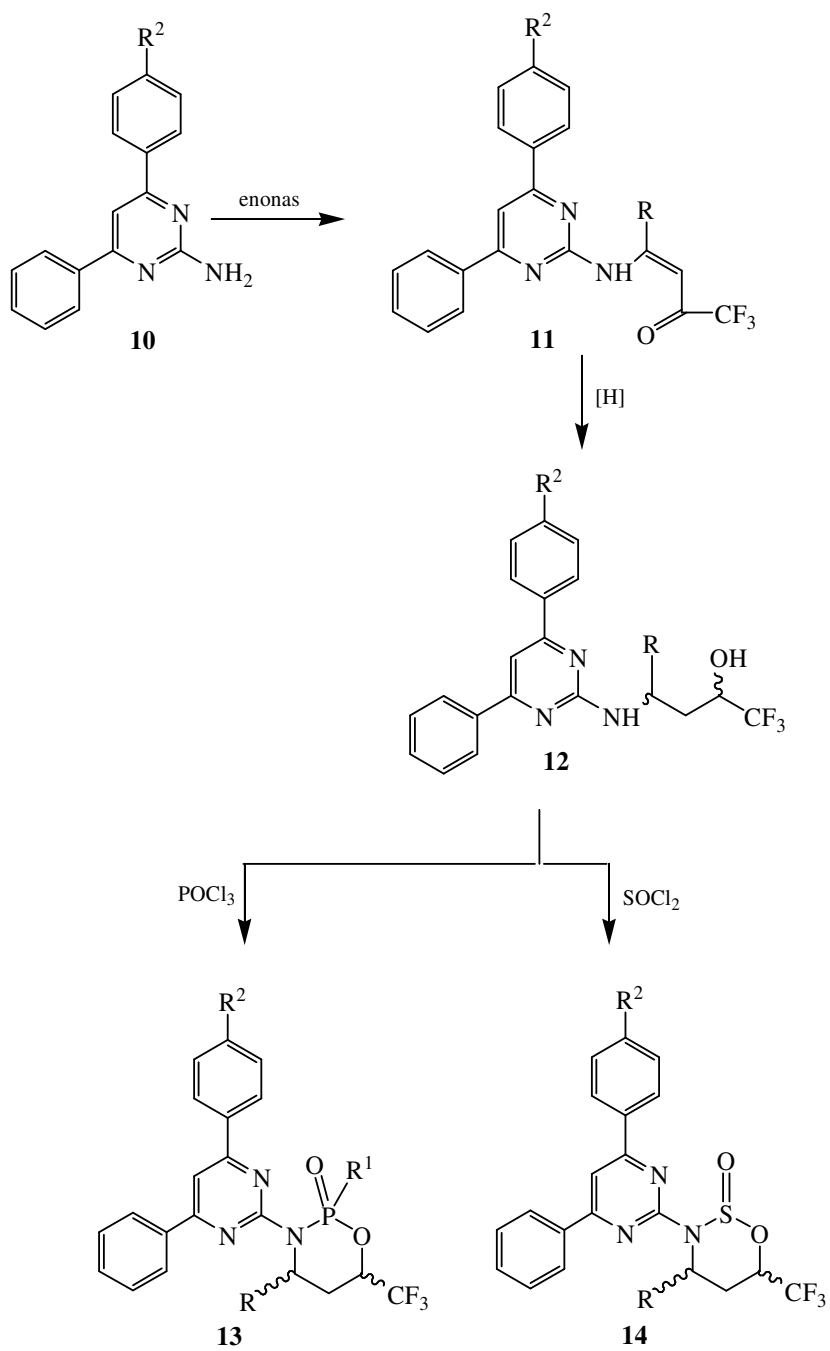
O Esquema 1 mostra a rota de síntese para a obtenção de fosfatos e fosfonamidas, oxazafosforinanas e oxatiazinanas *N*-carbamoiladas.

Esquema 1



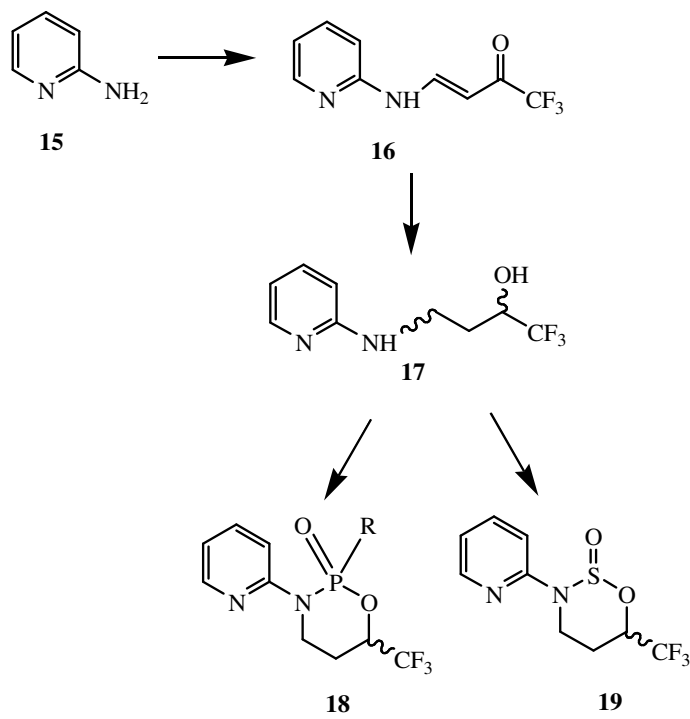
O Esquema 2 mostra a rota de síntese para a obtenção de oxazafosforinanas e oxatiazinas *N*-pirimidinil substituídas.

Esquema 2



O Esquema 3 mostra a rota de síntese para a obtenção de oxazafosforinanas e oxatiazinas *N*-piridinil substituídas.

Esquema 3



REVISÃO DA LITERATURA

3- REVISÃO DA LITERATURA

Para que esta revisão da literatura focalize referências relacionadas ao trabalho desenvolvido, ela encontra-se dividida de modo a mostrar referências ligadas à síntese de enamino cetonas, amino álcoois, compostos organofosforados semelhantes aos fosfatos e fosfonamidas sintetizados neste trabalho, oxazafosforinanas, oxatiazinanas e dioxo-oxatiazinanas (sulfamiditos e sulfamidatos). Esta revisão trata também de assuntos como técnicas em química medicinal, a enzima acetilcolinesterase e classes de inibidores desta enzima. Estes tópicos são relevantes, pois estão relacionados ao trabalho teórico desenvolvido nesta tese.

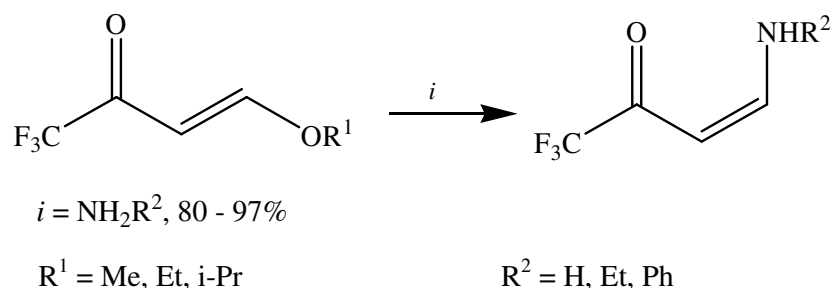
3.1 – SÍNTESE

3.1.1 – SÍNTESE DE ENAMINO CETONAS

Alguns métodos usados para a síntese de enamino cetonas são a aminação de 1,3-dicetonas e a aaminação intermolecular direta de alquenos.¹⁰⁵ Um método bastante aplicado na síntese de enamino cetonas é a substituição do grupo alcóxi das β -alcoxiviniltrifluormetil cetonas por diferentes nucleófilos.

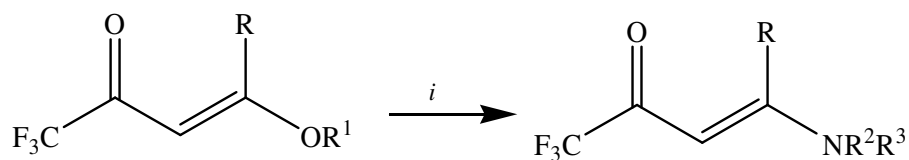
Gerus e col.¹⁰⁶ em 1991 publicaram a síntese de β -amino-vinil-trifluormetil cetonas através de reações de β -alcoxiviniltrifluormetil cetonas com amônia e aminas primárias. Devido a formação de ligações de hidrogênio entre o NH e a carbonila, as enaminoas obtidas apresentaram-se na configuração Z, como mostrado no Esquema 4.

Esquema 4



Hojo e cols. em 1989, obtiveram β -trifluoracetilvinilaminas através da reação de β -trifluoracetilviniléteres em acetonitrila com solução de amônia e aminas à temperatura ambiente ¹⁰⁷ segundo o Esquema 5.

Esquema 5



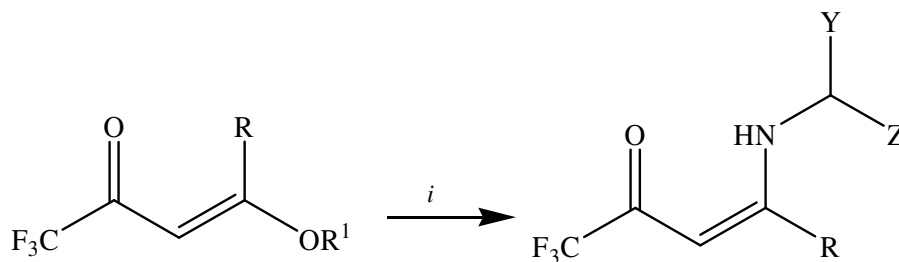
$i = \text{NHR}^2\text{R}^3$, 25°C, 2-5h, MeCN, 56-100%

R^1	R
Et	H
Me	Me
Me	Ph

R^2	R^3	R^2	R^3
H	H	Me	Me
Me	H	Et	Et
Et	H	-(CH ₂) ₄ -	
<i>i</i> -Pr	H	H	H
Ph	H	Me	H
4-MeOC ₆ H ₄	H	<i>i</i> -Pr	H
4-NO ₂ C ₆ H ₄	H	<i>t</i> -Bu	H
		PhCH ₂	PhCH ₂

Hojo e cols. em 1992, investigaram reações de substituição nucleofílica no átomo de carbono olefínico (C- β) dos compostos 4-alcóxi-1,1,1-trifluor-3-alcen-2-onas com alguns aminoácidos, α -aminoacetofenona e aminoacetonitrila, obtendo desta forma os amino ácidos *N*-protegidos¹⁰⁸ como mostrado no Esquema 6.

Esquema 6



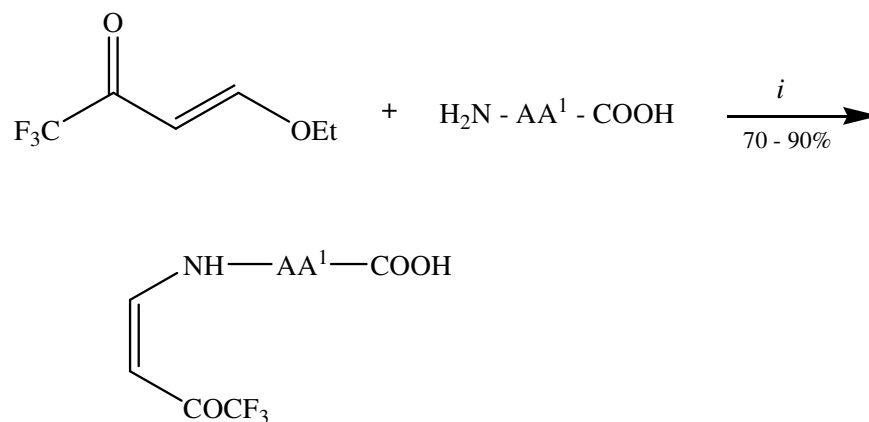
$i = \text{YCH(Z)NH}_2\cdot\text{HCl, Et}_3\text{N, MeCN, 25}^\circ\text{C, 4h, 71 - 100\%}$

R ¹	R
Et	H
Me	Me

Y	Z	Y	Z
CO ₂ Et	H	CO ₂ Et	Ph
CO ₂ Et	Me	COPh	H
CO ₂ Me	CH ₂ CH ₂ SCH ₃	CN	H

Gerus e cols. em 1994 demonstraram a proteção de grupos amino de amino ácidos usando a enona 4-alcóxi-1,1,1-trifluor-3-alcen-2-ona e solução básica. Os *N*- β -trifluoroacetilvinil derivados foram isolados após acidificação da mistura reacional¹⁰⁹ como mostra o Esquema 7.

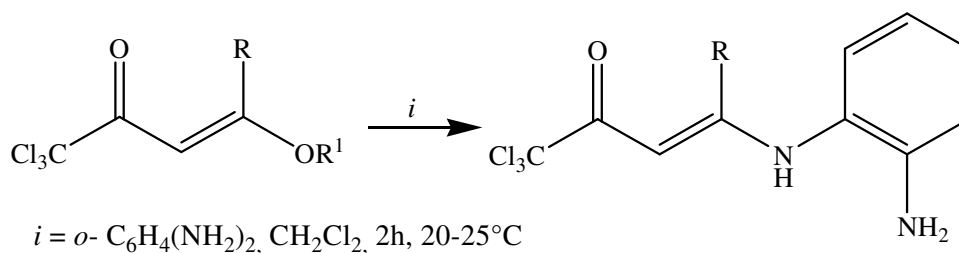
Esquema 7



$\text{AA}^1 = \text{Ala}, \text{Val}, \gamma\text{-Ro-Glu}, \text{Phe}, \text{Pro}$

Bonacorso¹¹⁰ e colaboradores, em 1999 sintetizaram *N*-[1-aryl (alquil)-3-oxo-4,4,4-tricloro-1-buten-1-il]-*o*-fenilenodiaminas a partir de reações de 4-alcóxi-4-aryl (alquil)-1,1,1-tricloro-3-buten-2-onas e *o*-fenilenodiamina, em diclorometano à temperatura ambiente, segundo o Esquema 8.

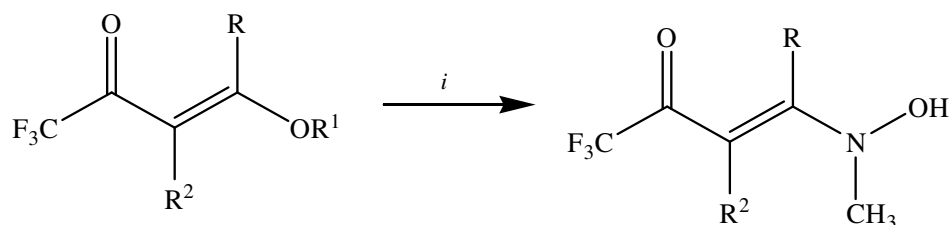
Esquema 8



R	R ¹	R	R ¹
H	Et	4-Br-Ph	Me
Me	Me	4-O ₂ N-Ph	Me
Ph	Me	4-MeO-Ph	Me
4-Me-Ph	Me		

Em 1999, Martins¹¹¹ e colaboradores sintetizaram enamino cetonas através da reação das β -alcovivinil trifluormetil cetonas com N-metilidroxilamina (relação molar de 1:1,2) em metanol, segundo o Esquema 9.

Esquema 9

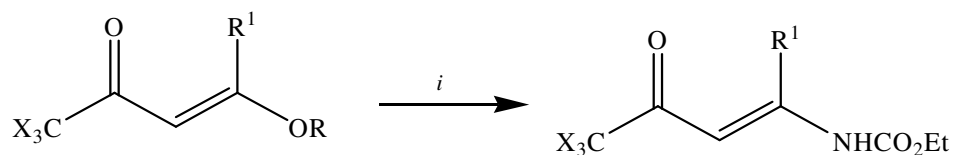


$i = \text{CH}_3\text{NHOH}\cdot\text{HCl}, \text{K}_2\text{CO}_3, \text{MeOH}, 0^\circ\text{C}, 4\text{h}, 80 - 92\%$

R	R ¹	R ²
Me	Me	H
Ph	Me	H
-(CH ₂) ₃ -	Me	
-(CH ₂) ₄ -	Me	
Ph	Me	Me

Em 2006, Zanatta e cols.,⁵⁵ demonstraram a síntese de β -enamino cetonas a partir de 4-alcóxi-1,1,1-trialo-3-alquen-2-onas e carbamatos, utilizando ácido *p*-tolueno sulfônico como catalisador, como mostra o Esquema 10.

Esquema 10

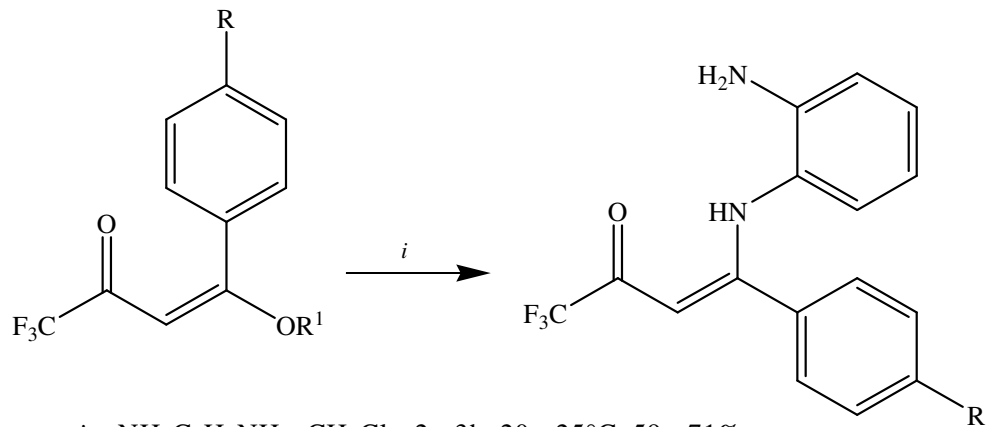


$i = \text{NH}_2\text{CO}_2\text{Et}, \text{CH}_2\text{Cl}_2 \text{ ou } \text{CHCl}_3, \text{refluxo}, 24 - 48\text{h}, 47 - 80\%$

R	R ¹
Et	H
Me	Me
Me	Ph
Me	4-Me-Ph

Em 2002, Bonacorso e cols. sintetizaram N-[1-aryl-3-oxo-4,4,4-trifluor-1-buten-1-il]-*o*-fenilenodiaminas através de reação de β -aryl- β -metoxivinil trifluormetil cetonas com *o*-fenilenodiamina, obtendo bons rendimentos ¹¹² como mostra o Esquema 11.

Esquema 11

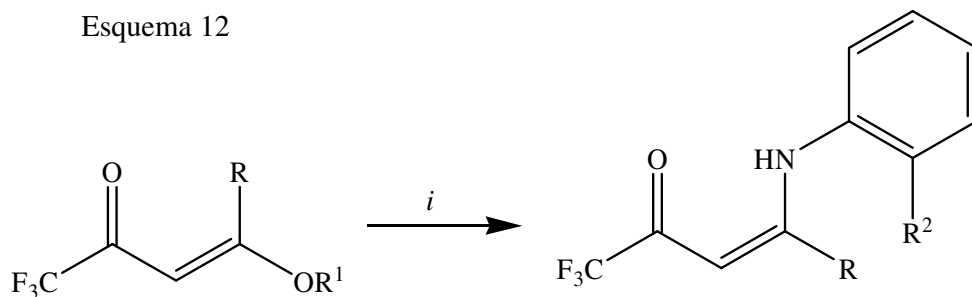


$i = \text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2, \text{CH}_2\text{Cl}_2, 2 - 3\text{h}, 20 - 25^\circ\text{C}, 59 - 71\%$

$\text{R} = \text{H}, \text{Me}, \text{OMe}, \text{Br}, \text{Cl}$

No mesmo ano, Bonacorso ¹¹³ e cols. sintetizaram séries de N-[1-alquil(aril)-3-oxo-4,4,4-tricloro(trifluor)-1-buten-1-il]-*o*-aminofenóis e *o*-fenilenodiaminas a partir de reações entre β -alcoxivinil trialometil cetonas e anilinas e fenóis correspondentes, como mostrado no Esquema 12.

Esquema 12



$i = o\text{-NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{R}^2, \text{EtOH}, 3\text{h}, 80^\circ\text{C} (\text{R}^2 = \text{OH}), \text{CH}_2\text{Cl}_2, 2\text{h}, 25^\circ\text{C} (\text{R}^2 = \text{NH}_2), 60 - 98\%$

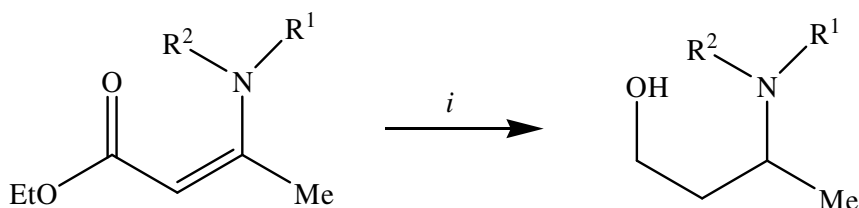
$\text{R} = \text{H}, \text{Me}, \text{Et}, \text{Aril} \quad \text{R}^1 = \text{Me}, \text{Et}$

3.1.2 – SÍNTESE DE AMINO ÁLCOOIS

Os métodos mais comumente usados para a síntese de γ -amino álcoois utilizam reações de redução, como por exemplo, a redução de enamino cetonas,¹¹⁴ ou 4,5-diidroisoxazóis. Na redução de enamino cetonas pode-se utilizar diferentes metodologias, por exemplo, hidrogenação com metais catalisadores ou transferência de hidretos (NaBH_4 , LiAlH_4).

Bartoli e cols.¹¹⁵ em 1994 obtiveram γ -amino álcoois através da redução de enamino ésteres utilizando o sistema $\text{Na}/i\text{-PrOH}/\text{THF}$, segundo o Esquema 13.

Esquema 13

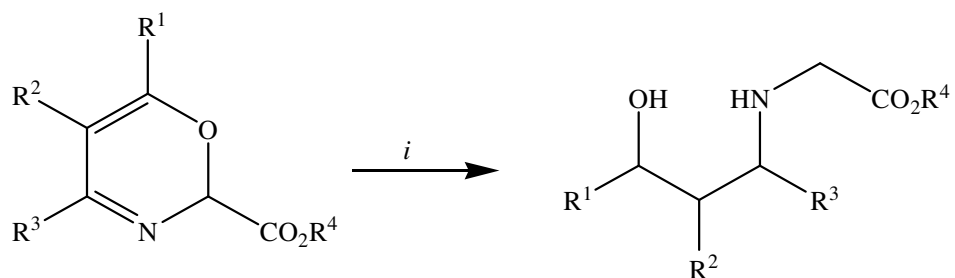


$i = \text{Na}^\circ, i\text{-PrOH}, \text{THF}, 0^\circ\text{C}, 1 - 3\text{h}$

R^1	R^2	R^1	R^2
H	H	H	4-Br-Ph
H	Me	H	4-MeO-Ph
H	Bn	H	4-Me-Ph
H	<i>i</i> -Pr	H	1-naftil
H	C_6H_{11}	$(\text{CH}_2)_4$	$(\text{CH}_2)_4$
H	Ph	$(\text{CH}_2)_5$	$(\text{CH}_2)_5$

Barluenga e cols.¹¹⁶ em 1996 sintetizaram γ -amino álcoois através da abertura do anel de 1,3-oxazinas utilizando cianoborohidreto de sódio em THF/AcOH a $20\text{-}50^\circ\text{C}$ para fornecer, após hidrólise básica, os amino álcoois como um só estereoisômero (syn-syn), como mostra o Esquema 14.

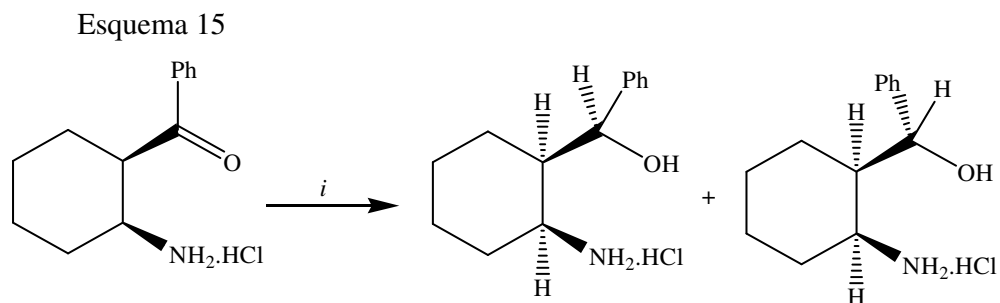
Esquema 14



$i = \text{NaBH}_3\text{CN}, \text{THF}, \text{AcOH}, 20 - 50^\circ\text{C}, \text{H}_2\text{CO}, \text{Et}_2\text{O}, 20^\circ\text{C}$

R ¹	R ²	R ³	R ⁴
Ph	Me	Ph	Et
4-MeO-Ph	Me	2-furil	Et
Ph	H	Ph	Et
Ph	Me	Ph	Me
Ph	alil	4-MeO-Ph	Et
Ph	H	4-MeO-Ph	Et

Em 2001, Csomós e cols. utilizaram borohidreto de sódio na redução de 2-benzoil-ciclohexilaminas, obtendo os respectivos γ -amino álcoois em bom rendimento,¹¹⁷ como mostra o Esquema 15.



$i = \text{NaBH}_4, \text{EtOH}, -10^\circ\text{C} - \text{t.a.}, 3\text{h}$

3.1.3 – SÍNTESE DE FOSFATOS E FOSFONAMIDAS

Há várias classes de compostos organofosforados, como ácidos fosfínicos, ácidos fosfônicos, fosfonatos, fosfatos e fosfonamidas, entre outros. O grupo fosfato está presente na constituição do DNA.¹¹⁸ Compostos com grupos fosfato ou fosfonamida são inibidores de enzimas.^{119, 120} A Figura 4 mostra a estrutura geral de fosfatos e fosfonamidas.

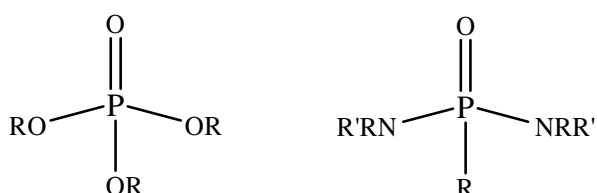
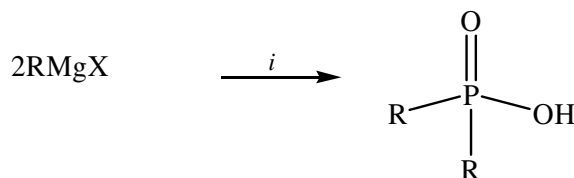


Figura 4: Estrutura geral dos fosfatos e fosfonamidas

Em 1950, Kosolapoff¹²¹ relatou a síntese de ácidos fosfínicos através da adição de uma mistura de oxiclreto de fósforo e piridina ao reagente de Grignard, segundo o Esquema 16.

Esquema 16

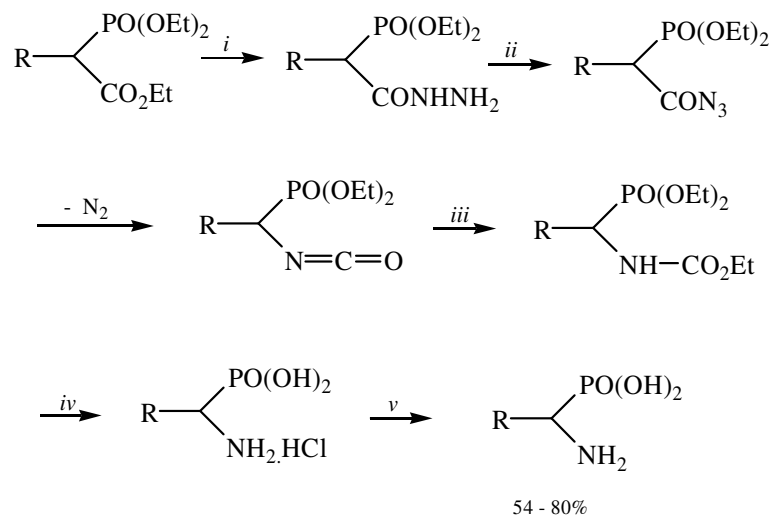


$i = \text{POCl}_3, \text{Py}, \text{éter}, 2\text{h}, \text{H}_2\text{O}, 16 - 47\%$

$\text{R} = \text{n-butil}, \text{n-hexil}$

Em 1962, na síntese de ácidos amino fosfônicos por Chambers¹²² e colaboradores, a rota sintética desenvolvida pelos autores passou por intermediários que continham porções fosfato e carbamato, porém, os intermediários não foram isolados. A síntese parte da condensação de hidrazina com ésteres fosfonoacéticos, como mostra o Esquema 17.

Esquema 17

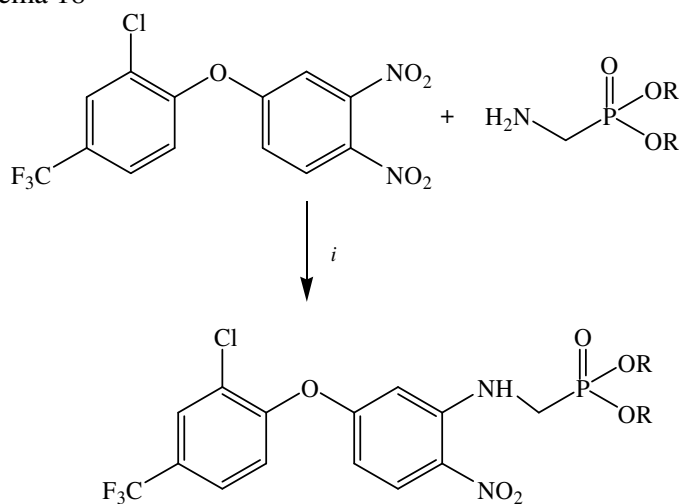


i = H₂NNH₂, 75 °C - t.a., 24h
ii = HONO, H₂O, -10 °C, 10min
iii = EtOH, t.a.
iv = HCl conc, refluxo, 2 dias
v = óxido de propileno, EtOH

R = H, Me, Bn

Em 1991, a síntese e atividade herbicida de organofosforados com o grupo trifluormetila foi descrita por Maier,¹²³ segundo o Esquema 18. Os produtos foram obtidos pela substituição do grupo nitro por aminoalquilfosfonatos.

Esquema 18

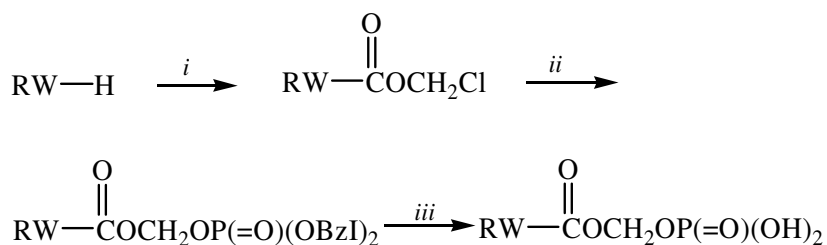


i = tolueno, refluxo, 16h, 52 - 82%
R = H, Et, *i*-Pr

Os métodos usados para a síntese de fosfatos e fosfonamidas envolvem geralmente o uso de fosfonocloridratos ou fosfonodicloridratos com álcoois ou aminas. O uso de monocloridratos é a prática mais comum. Fosfonocloridratos são preparados pela reação de diesteres fosfonato com pentacloreto de fósforo, ou por hidrólise básica de diesteres fosfonato aos monoésteres seguida pela reação com cloreto de tionila.¹²⁴ Alternativamente, ácidos fosfônicos são convertidos com cloreto de oxalila a dicloridrato e subsequentemente com álcool ao monoéster cloridrato.¹²⁵

Compostos contendo fosfato e carbamato são raramente descritos na literatura. Em 1993, fosforiloximetil carbamatos do tipo $R_1R_2NCOOCH_2OPO_3$ foram sintetizados por Safadi e cols.¹²⁶ O agente fosforilante empregado foi dibenzilfosfato de prata, segundo o Esquema 19.

Esquema 19

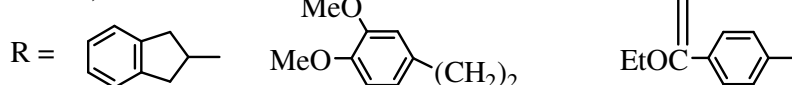


i = $\text{ClCH}_2\text{OCOCl}$, CH_2Cl_2 , $0^\circ\text{C} - 25^\circ\text{C}$, 12h, 80%

ii = $\text{Ag}^+\text{OP(O)(OBz)}_2$, benzeno, refluxo, 12h

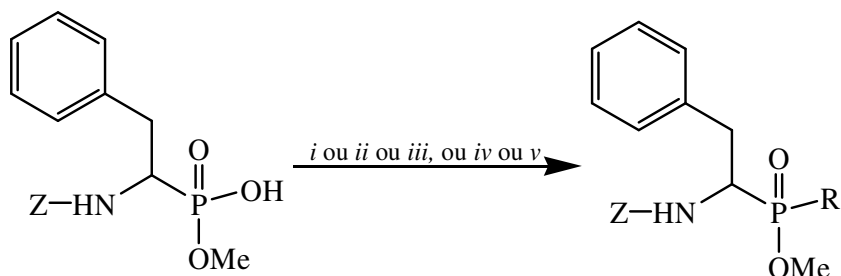
iii = H_2 , 10% Pd/C, acetato de etila, 92%

W = O, NH



Em 1994, Musiol¹²⁵ e cols. publicaram a síntese de peptídeos fosfonamidatos. O intermediário que levou à obtenção do produto desejado foi sintetizado a partir do correspondente difenil fosfonato, como mostra o Esquema 20.

Esquema 20



i = peptídeo, SOCl_2 , DMF, CH_2Cl_2 , 25°C , 2 ou 4h, 50 - 65%

ii = peptídeo, $(\text{COCl})_2$, DMF, CH_2Cl_2 , 25°C , 2h, 65 - 90%

iii = peptídeo, $(\text{COCl})_2$, DMF, HOBT, CH_2Cl_2 , 25°C , 12h, 65%

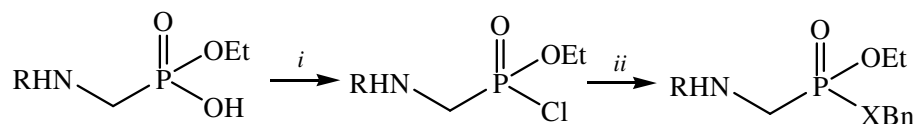
iv = peptídeo, $(\text{COCl})_2$, DMF, HOAt, CH_2Cl_2 , 25°C , 12h, 75%

v = peptídeo, $(\text{COCl})_2$, DMF, benzotriazol, THF, 25°C , 12h, 45%

R = Leu-Phe- NH_2 , Ala-Pro-Phe- OCH_3

Em 1995, Hirschmann e cols.¹²⁴ sintetizaram ésteres fosfonato e fosfonamidas pela preparação do precursor por tratamento do fosfonato com hidrazina seguida por *N*-carbamoilação e subsequente geração do monoéster via tratamento com base. Cloração com cloreto de tionila e posterior reação com álcool ou amina fornece os produtos desejados como mostra o Esquema 21.

Esquema 21



i = SOCl_2

ii = BnOH ou Bn NH_2 , 69 - 77%

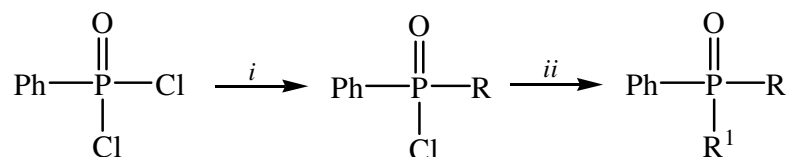
R = Cbz, Fmoc

X = O, NH

Em nosso conhecimento nenhum trabalho com compostos contendo porções fosfonamida e carbamato tem sido descrito. Fosfonamidas com grupos

piperidinil e morfolinil foram sintetizadas, por Endo e cols. em 2001¹²⁷ segundo o Esquema 22.

Esquema 22



i = amina, Et₃N, THF, 0°C

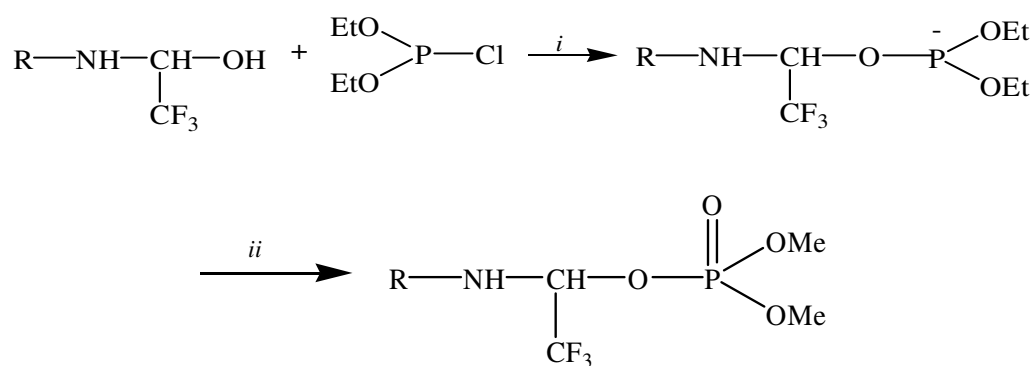
ii = NaH, THF, álcool, 0°C, 69 - 77%

R = N(Et)₂, N(Me)Ph, , 

R¹ = t-Bu, OC(Me)₂Ph, OCH(Me)Ph

Na síntese de fosfonamidas descrita em 2003 por Medina e cols.¹²⁸ o uso de clorofosfito com hemiaminal leva ao intermediário tricoordenado. A adição do intermediário à dimetilfosfonato leva à obtenção do fosfato, como mostra o Esquema 23.

Esquema 23

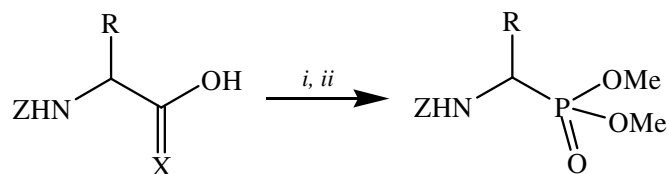


i = dicloroetano, Et₃N, 20 min à 0°C, 12h à 25°C.

ii = dimetilfosfonato

Em 2005, Boto e cols.¹²⁹ sintetizaram α -amino fosfonatos de α -amino ácidos e β -amino álcoois, de acordo com o Esquema 24.

Esquema 24



i = $\text{PhI}(\text{OAc})_2$, I_2 , CH_2Cl_2 , $h\nu$, 25°C ., 3h

ii = $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ ou TMSOTf , $\text{HP}(\text{O})(\text{OMe})_2$ ou $\text{P}(\text{OMe})_3$, $0^\circ\text{C} - 25^\circ\text{C}$., 4h, 26 - 89%

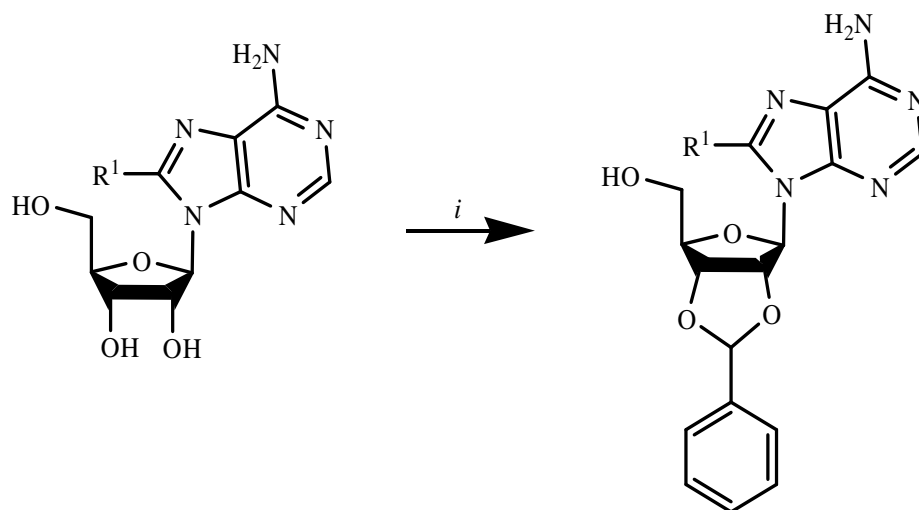
R = alquil, aril

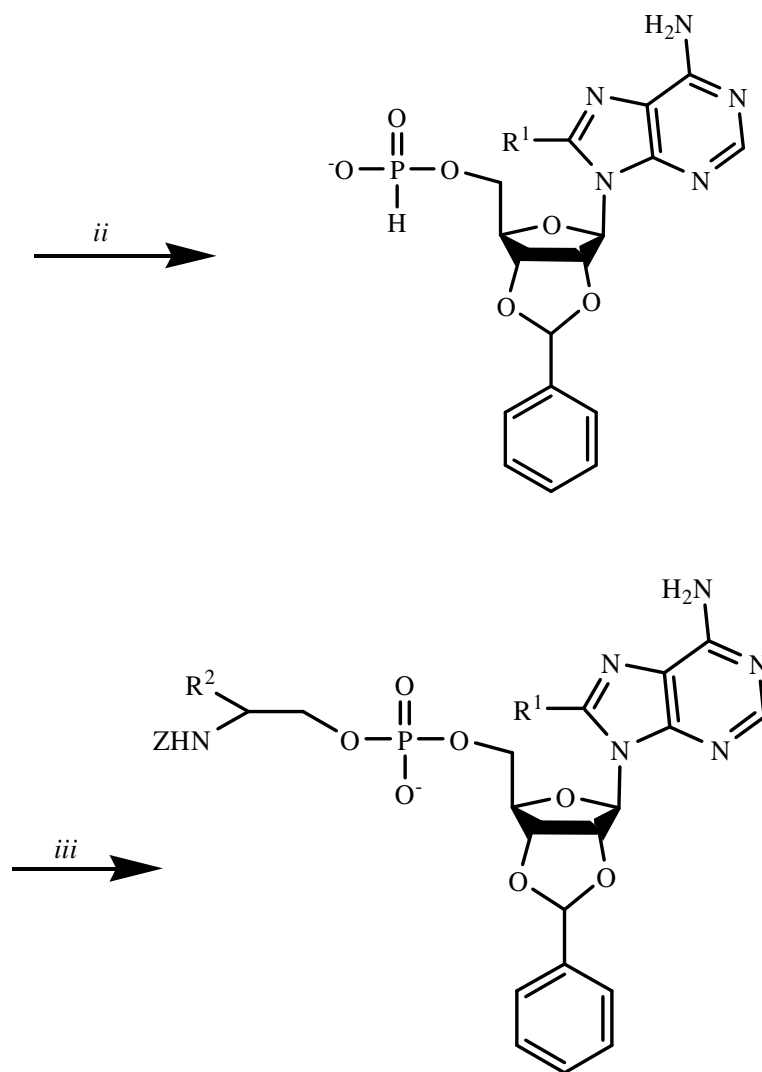
Z = acil, carbamato

X = H,H ou O

Em 2006, Salakdeh e cols.¹²⁰ relataram a síntese de fosfatos inibidores de enzimas utilizando ácido fosfônico, segundo o Esquema 25.

Esquema 25





i = benzaldeído, ZnCl_2 , 66 - 74%

ii = a) ácido fosfônico, cloreto de pivaloila, piridina, 55 - 81%

b) Et_3N - H_2O

iii = amino álcool protegido, bis (2-oxo-3-oxazolidinil)cloreto fosfínico, 86 - 93%

$\text{R}^1 = \text{H}, \text{Br}$

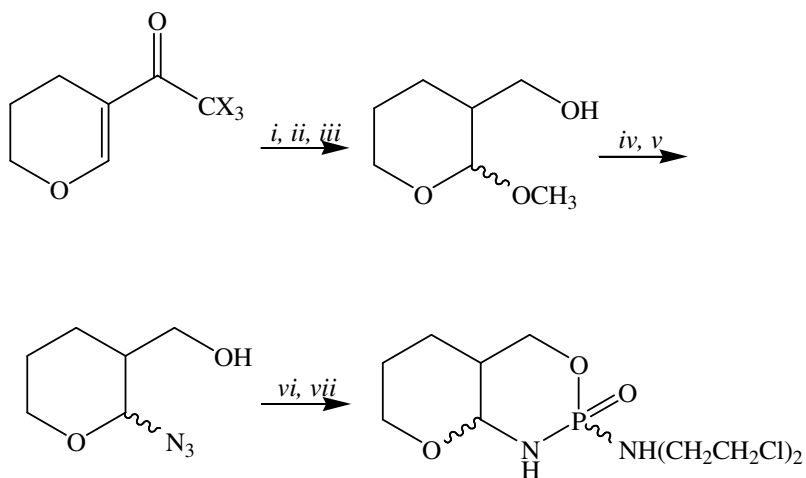
$\text{R}^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}_2(\text{imidazol})$

$\text{Z} = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$

3.1.4-SÍNTESE DE OXAZAFOSFORINANAS

Lilo e cols., em 1990, sintetizaram biclos análogos da ciclofosfamida, como mostrado no Esquema 26.¹³⁰

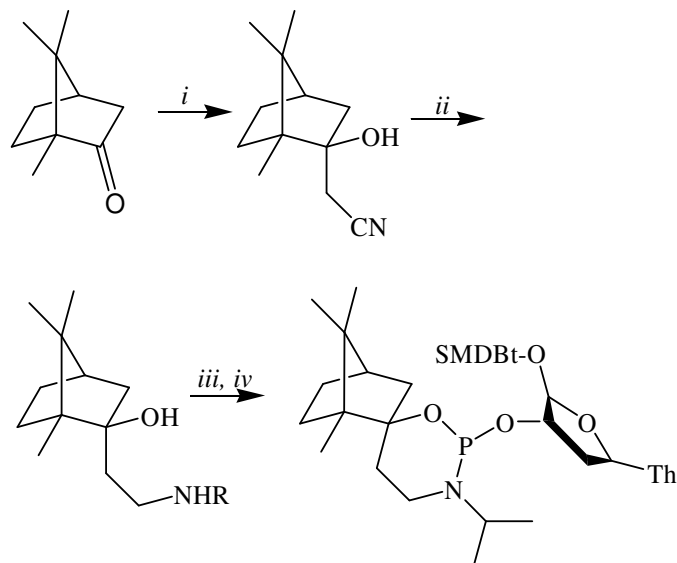
Esquema 26



- i* = NaOH, MeOH
- ii* = H₃O⁺
- iii* = LiAlH₄
- iv* = TMSA, TiCl₄
- v* = H₂O
- vi* = Cl₂P(O)Mu, Et₃N
- vii* = H₂/Pd/C, Et₃N

Oxazafosforinanas estruturalmente diversas, derivadas do colesterol, da cânfora e da D-xilose foram obtidas em 1997, por Marsault e cols.,¹² segundo o Esquema 27.

Esquema 27



i = LiCH_2CN , THF, -78°C

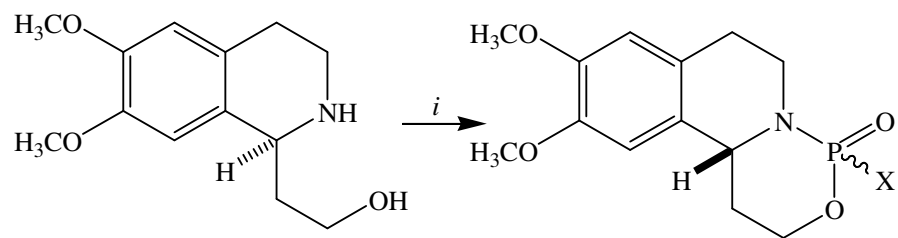
ii = LiAlH_4 , THF

iii = $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$, NaBH_3CN , MeOH, pH 5.5, 63%

iv = a) PCl_3 , 2.2 Et_3N , CHCl_3 ; b) 5'-O-tBDMS, timidina, 1.1 Et_3N , CHCl_3

Em 2000, Fülöp e cols. descreveram a síntese de 1,3,2-oxazafosforino[4,3-*a*]isoquinolinas através de reações de homocalicotomina com derivados diclorofósforos apropriados⁹ como mostra o Esquema 28.

Esquema 28



i = $\text{P}(\text{O})\text{XCl}_2$

3.1.5 – SÍNTESE DE 1,2,3-OXATIAZINANAS

Uma classe de heterociclos pouco estudados são sulfamiditos cíclicos, chamados também de oxatiazinanas. A Figura 5 demonstra a estrutura geral de oxatiazinanas e dioxo-oxatiazinanas (sulfamiditos e sulfamidatos, respectivamente). Estes compostos são sintetizados por reação com cloreto de tionila em presença de base para a introdução do grupo sulfóxido ou por reação com ródio ou cobre para a formação da ligação C – N.

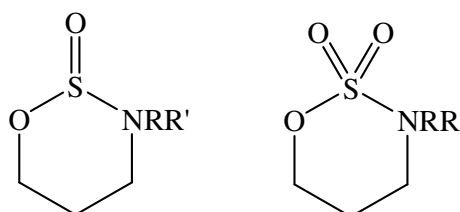
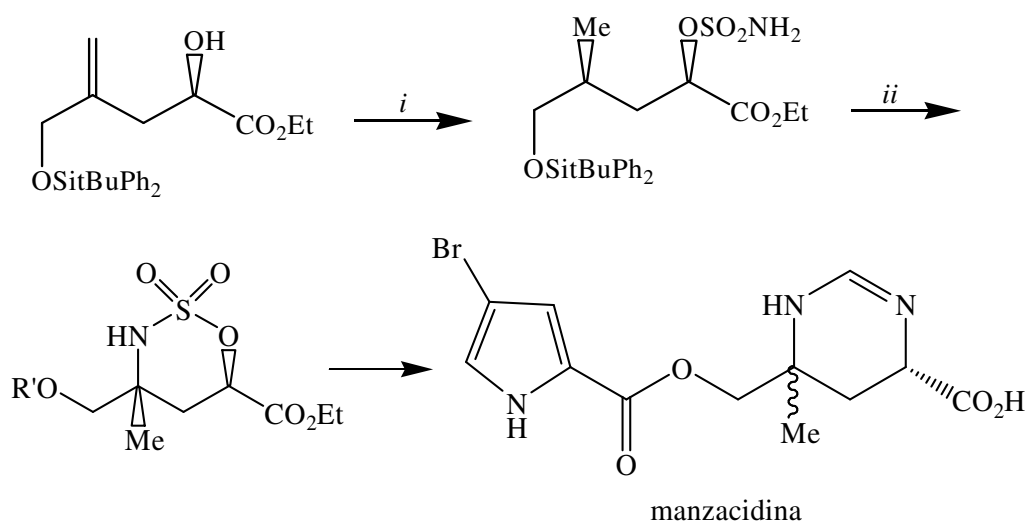


Figura 5: Estrutura geral de oxatiazinanas e dioxo-oxatiazinanas

Em 2002, Bois e cols.,⁹⁸ relataram a síntese do produto natural Manzacidina, onde a oxatiazinana demonstrou ser um precursor viável. Catálise de ródio foi utilizada para formação do heterociclo, segundo o Esquema 29.

Esquema 29

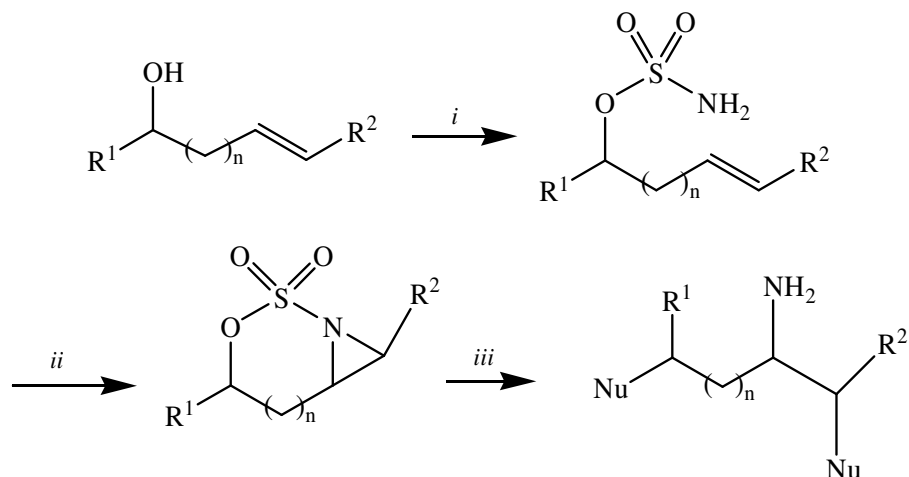


i = CISO₂NCO, HCO₂H, 87%

ii = 2mol% Rh₂(OAc)₄, PhI(OAc)₂, MgO, CH₂Cl₂, 85%

Na tentativa de síntese de aminas polissubstituídas descrita por Dauban e cols. em 2002,¹³¹ sulfamatos cíclicos foram intermediários importantes, e foram obtidos usando um complexo de cobre como catalisador, como o Esquema 30. Para aumentar o caráter eletrofílico destes compostos foi introduzido um grupo retirador de elétrons no nitrogênio.

Esquema 30



i = ClSO₂NH₂

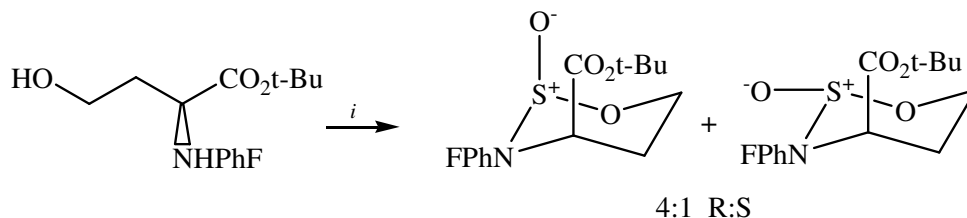
ii = 1.5 eq PhI=O, 10 mol% Cu (CH₃CN)₄PF₆, CH₃CN, peneira molecular, 50 - 94%

iii = Nu (PhSH, MeOH, piperina, morfolina, TMSN₃, BnNH₂)

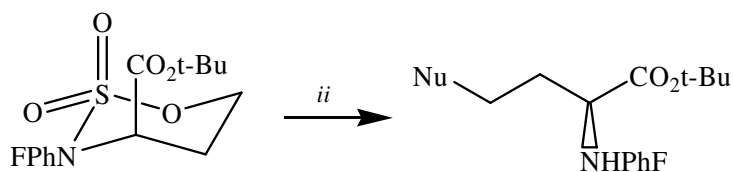
base e solvente apropriado

Em 2001, Lubell e cols.⁹⁷ sintetizaram a oxatiazinana por reação do amino álcool com cloreto de tionila. A oxatiazinana reage efetivamente com nucleófilos N, S, O para a obtenção de α -aminoácidos γ -substituídos como mostrado no Esquema 31.

Esquema 31



i = SOCl₂, Et₃N, imidazol, CH₂Cl₂, 93%

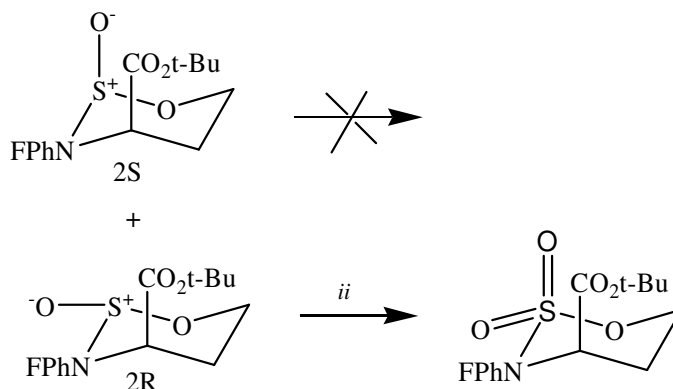


$ii = \text{Nu}, \text{NaH}_2\text{PO}_4, 50 - 95\%$

$\text{Nu} = \text{NaN}_3, \text{RNH}_2, \text{RR}'\text{NH}, \text{ArNH}_2, \text{KSCN}, \text{NaSAr}, \text{NaOAr}$

Há dois métodos para a oxidação de oxatiazinas, em 2001, Lubell e cols. demonstraram a oxidação com tricloreto de rutênio.¹³² Neste caso, somente o diastereoisômero 2R foi oxidado segundo o Esquema 32. No entanto, os autores não fornecem explicação porque somente um isômero oxida.

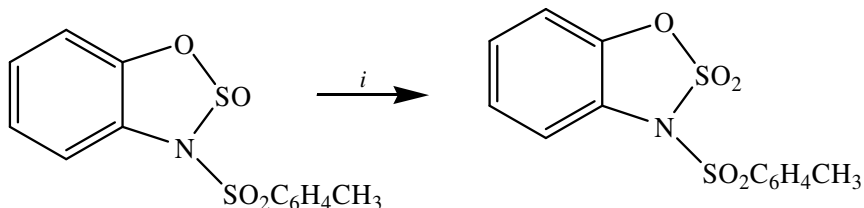
Esquema 32



$ii = \text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}, \text{NaIO}_4, \text{CH}_3\text{CN}, \text{H}_2\text{O}, 0^\circ\text{C}, 89\%$

A oxidação com rutênio é a mais encontrada na literatura,^{99-101, 133, 134} mas oxidação com ácido *meta* cloroperbenzóico também foi efetiva para anéis de cinco membros, desta classe de compostos, como mostra o Esquema 33. Isto foi descrito em 1991 por Andersen e cols.¹³⁵

Esquema 33



$i = \text{MCPBA, CHCl}_3, 11\text{h, } 10^\circ\text{C, } 45\%$

3.2 – TÉCNICAS EM QUÍMICA MEDICINAL E PLANEJAMENTO DE INIBIDORES

O processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos é dividido em duas grandes fases: (i) pré-clínica (descoberta) e (ii) clínica (desenvolvimento). Nos estágios iniciais da fase pré-clínica, as pesquisas se concentram na identificação de moléculas pequenas capazes de modular a atividade de alvos macromoleculares, com elevado potencial de uso terapêutico.¹

Graças a grande evolução das técnicas de biologia estrutural, como a cristalografia de raios-x, um considerável número de alvos moleculares tem suas estruturas tridimensionais disponíveis.¹³⁶ Para estudos que envolvem o conhecimento da estrutura tridimensional do alvo, a modelagem molecular encontra grande aplicação. Os programas de ensaio virtual são muito úteis no estudo das interações intermoleculares predominantes no complexo campo de modelagem, como o acoplamento de ligantes ao sítio de ligação alvo das macromoléculas, sendo esse processo conhecido como docagem molecular (do inglês, *docking*). Existem diversos programas disponíveis de docagem que empregam algoritmos diferentes, com capacidade de processamento variável.¹³⁷ Dentre estes, destaca-se o programa GOLD (*Genetic Optimisation for Ligand Docking*),¹³⁸ que permite a flexibilidade total do ligante e parcial da proteína. Outro programa capaz de realizar muitas das tarefas que o Gold realiza é o FlexX

(Tripos, Inc., USA). Estes programas possibilitam a análise das interações fármaco-receptor de moléculas bioativas candidatas a novos fármacos.¹³⁸

Por outro lado, os métodos de QSAR buscam identificar e quantificar as relações predominantes no amplo campo de modelagem, representadas pelas propriedades da estrutura química e a atividade biológica correspondente.¹³⁹

O conhecimento da estrutura do receptor, os resíduos de aminoácidos que fazem parte dos seus sítios ativos, assim como o mecanismo catalítico da enzima, são informações essenciais uma vez que permite a identificação e quantificação das propriedades físico-químicas essenciais para interação do ligante com seu receptor. A determinação da estrutura cristalográfica de complexos enzima-inibidor facilita a criação de modelos de QSAR.¹⁴⁰

3.3 – A ACETILCOLINESTERASE: SÍTIO ATIVO E MECANISMO DE INIBIÇÃO

As enzimas são proteínas que catalisam todas as transformações químicas em sistemas biológicos.¹⁴⁰

A acetilcolinesterase (AChE) é uma importante enzima regulatória que controla a transmissão do impulso nervoso colinérgico por hidrolisar o neurotransmissor excitatório acetilcolina, tanto nas sinapses colinérgicas cerebrais quanto nas neuromusculares.¹⁴¹

Vários estudos possibilitaram o conhecimento detalhado do sítio ativo dessa enzima.¹⁴²⁻¹⁴⁴ O sítio ativo da AChE situa-se na parte inferior de um estreitamento semelhante a uma garganta (*gorge*), a 20 Å de profundidade, alinhado com resíduos hidrofóbicos, os quais parecem ser importantes na orientação do substrato ao sítio ativo.¹⁴⁵ O sítio compreende um subsítio esterásico, o qual contém uma tríade catalítica com os seguintes aminoácidos: serina, histidina e glutamato e um subsítio aniônico que liga o grupo amônio quaternário da AChE. Na superfície do “*gorge*”, cerca de 14 Å do sítio ativo, situa-se um segundo sítio ligante de grupo amônio quaternário, o sítio aniônico periférico (Peripheral Anionic Site – PAS), o qual é responsável pela inibição por substrato.^{143, 144}

No sítio ativo da AChE o resíduo de serina é um nucleófilo, sendo que a nucleofilicidade do átomo de oxigênio do resíduo de serina é aumentada por um resíduo de histidina vizinho.¹⁴⁶

Os compostos organofosforados e os carbamatos são bem conhecidos como inibidores da AChE, porém eles diferem no seu mecanismo de ação. A Figura 6 mostra o mecanismo de inibição da AChE por carbamatos.

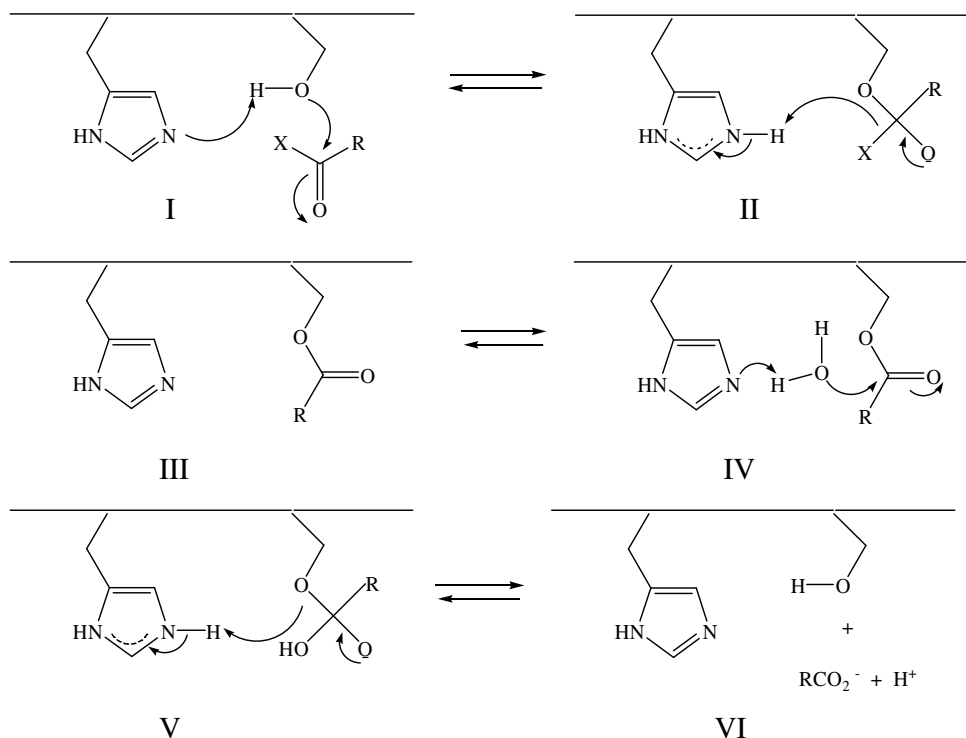


Figura 6: Inibição da acetilcolinesterase por carbamatos

Na primeira etapa o nitrogênio do resíduo de His440 retira o próton ligado ao oxigênio do resíduo Ser 200, este oxigênio atua como um nucleófilo atacando o carbono carbonílico do carbamato. Ocorre uma deslocalização do par de elétrons, formando um intermediário. O par de elétrons volta e regenera a dupla ligação, ocorrendo então a saída de um grupo que retira o próton do resíduo de His440 como pode ser visto na etapa II. Na etapa III ocorre então a carbamoilação da enzima.

A descarbamoilação ocorre quando o nitrogênio da histidina funciona como receptor de próton de uma molécula de água, sendo que o oxigênio da água

ataca o carbono carbonílico, como mostrado na etapa IV, causando novamente uma deslocalização de um par de elétrons e formação de outro intermediário, como pode ser observado na etapa V, levando à descarbamoilação da enzima, como mostrado na etapa VI.

Na inibição da AChE por compostos organofosforados, o resíduo de serina 200 atua como nucleófilo no átomo de fósforo e o mecanismo é o mesmo até a etapa III, quando ocorre a fosforilação da enzima. Esta ligação formada entre o oxigênio da serina e o átomo de fósforo do composto organofosforado é muito estável não ocorrendo a defosforilação como ocorre com a decarbamoilação.

3.4 – INIBIDORES DA ACETILCOLINESTERASE

Esta revisão não mostra todas as classes de inibidores da AChE, apenas os compostos relacionados com este trabalho.

3.4.1 – ORGANOFOSFORADOS

3.4.1.1 – GASES NEUROTÓXICOS

Em 1820, Lassaigne sintetizou o primeiro éster fosforado.¹⁴⁷

O Sarin (isopropil metilfosfofluoridato), Tabun (etil N,N-dimetil fosforamidato), Soman (pinacolil metilfosfofluoridato) e o Ciclosarin (cicloexil metilfosfofluoridato) são os exemplos mais importantes de agentes nervosos utilizados como armas químicas.¹⁴⁸ (Figura 7)

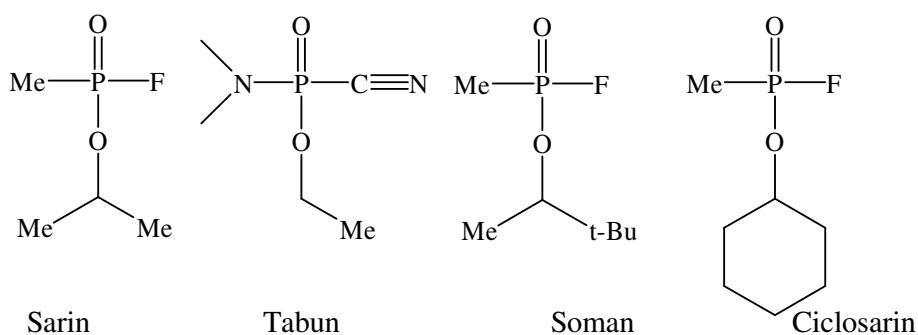


Figura 7: Gases que atacam o sistema nervoso central

3.4.1.2 – INSETICIDAS

Os inseticidas organofosforados de maior interesse comercial são ésteres ou tióis derivados de ácido fosfórico, fosfônico, fosfínico ou fosforamídico.¹⁴⁹

Exemplos de fosfatos pesticidas são: Mevinfós® ou 2-metoxycarbonil-1-metilvinil dimetil fosfato, o Naled® ou 1,2-dibromo-2,2-dicloroetil dimetil fosfato e o Paraoxon® ou dietil-p-nitrofenil fosfato, demonstrados na Figura 8.

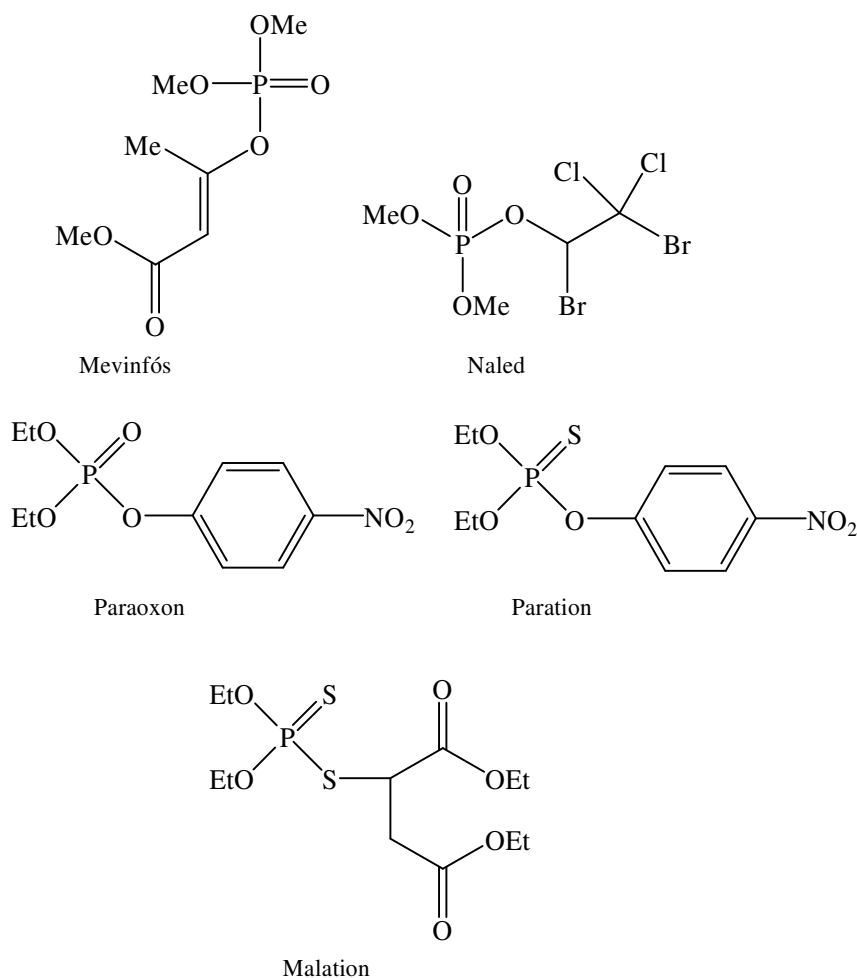


Figura 8: Alguns exemplos de inseticidas organofosforados

Os organofosforados que apresentam enxofre fazendo dupla ligação com o fósforo possuem melhor ação inseticida, pois os insetos são capazes de metabolizar esses compostos por desulfurização oxidativa, diferente dos

humanos.¹⁵⁰ O Parathion® ou *O,O*-dietil *O*-(4-nitrofenil) fosforotioato e o Malation® ou *O,O*-dimetil ditiofosfato de dietil mercaptosuccinato são exemplos de compostos com ação inseticida e toxicidade relativamente baixa para humanos.

3.4.1.3 – USO TERAPÊUTICO

O Ecotiopato ou iodeto de (2-dietoxifosfoniltioetil) trimetilamônio é um fármaco que atua causando a redução da pressão intraocular,¹⁵¹ e o Metrifonato (Figura 9), que inicialmente foi empregado como inseticida e anti-helmíntico, recentemente foi descrito como eficiente no tratamento do déficit cognitivo da Doença de Alzheimer.

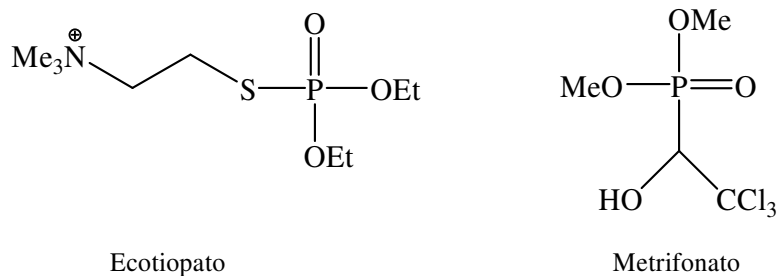


Figura 9: Ecotiopato e Metrifonato

3.4.2 – CARBAMATOS

3.4.2.1 – INSETICIDAS

Exemplos de carbamatos usados como inseticidas são Aldicarb® ou 2-metil-2-(metiltio)propionaldeído *O*- metilcarbamoiloxima, Sevin® ou 1-naftil *N*-metilcarbamato, Carbofuran® ou 2,3-diidro-2,2-dimetilbenzofuran-7-il metilcarbamato e Pirimicarb® ou 2-dimetil-5,6-dimetilpirimidin-4-il *N,N*-dimetilcarbamato.¹⁵² (Figura 10)

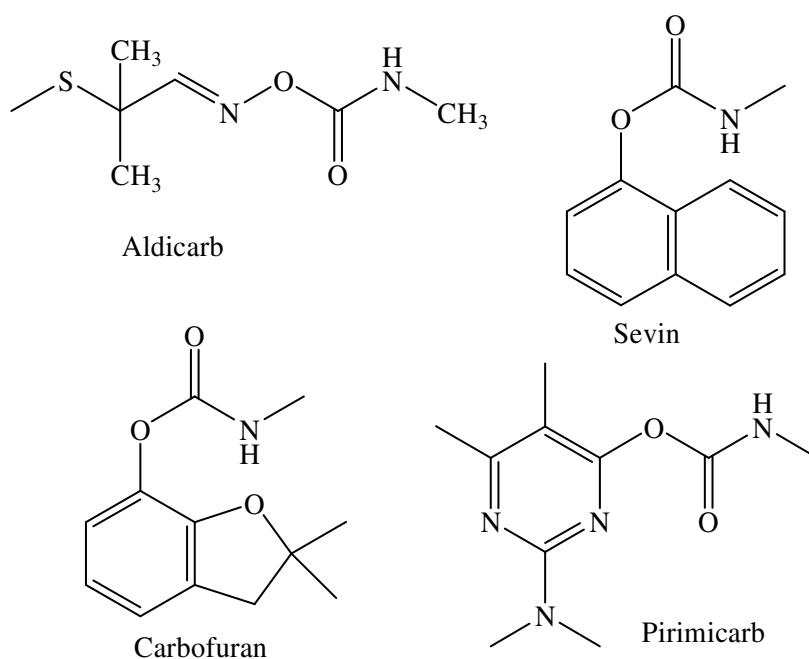


Figura 10: Carbamatos utilizados como inseticidas

3.4.2.2 – USO TERAPÊUTICO

A fisostigmina é um alcalóide natural, foi descoberta em 1864 e em 1925 sua estrutura foi estabelecida. Este carbamato tem uso limitado na medicina pois apresenta ação inibitória rápida e fugaz sobre a atividade da AChE, apresentando efeitos colaterais. Ainda assim, atualmente ela é empregada no tratamento do glaucoma e como antídoto em intoxicações por atropina. A fisostigmina serviu de protótipo para o planejamento e a síntese de análogos mais eficientes e menos tóxicos, a neostigmina e a piridostigmina. (Figura 11)

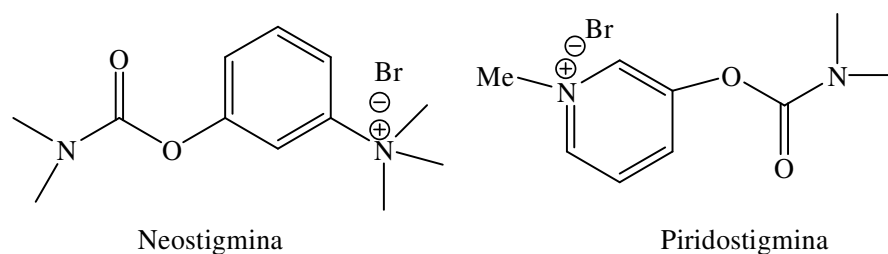


Figura 11: Carbamatos utilizados na medicina

Estes análogos são empregados no tratamento da doença neuromuscular progressiva chamada *miastenia gravis*.¹⁵³

O primeiro carbamato sintético a encontrar aplicação clínica foi a miotina.¹⁵⁴ (Figura 12) Apesar de atualmente estar em desuso, serviu de protótipo para a síntese de novos compostos. O derivado (+)-*S-N*-etil-3-[(1-dimetilamino)etil]-*n*-metil fenilcarbamato, conhecido como rivastigmina (Figura 11) e comercializado com o nome de Elexon® é utilizado no tratamento da doença de Alzheimer.¹⁵⁵⁻¹⁵⁸

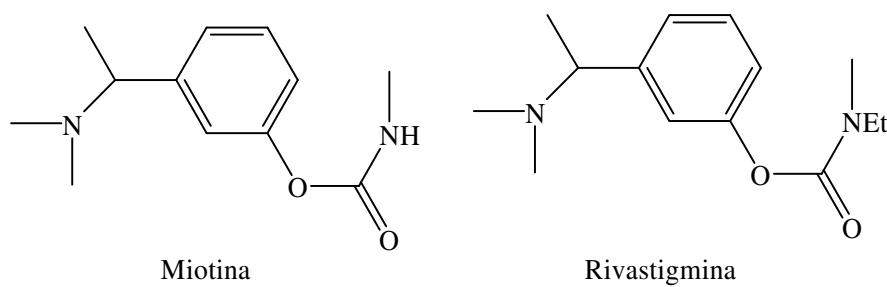


Figura 12: Composto protótipo e derivado utilizado no tratamento da Doença de Alzheimer

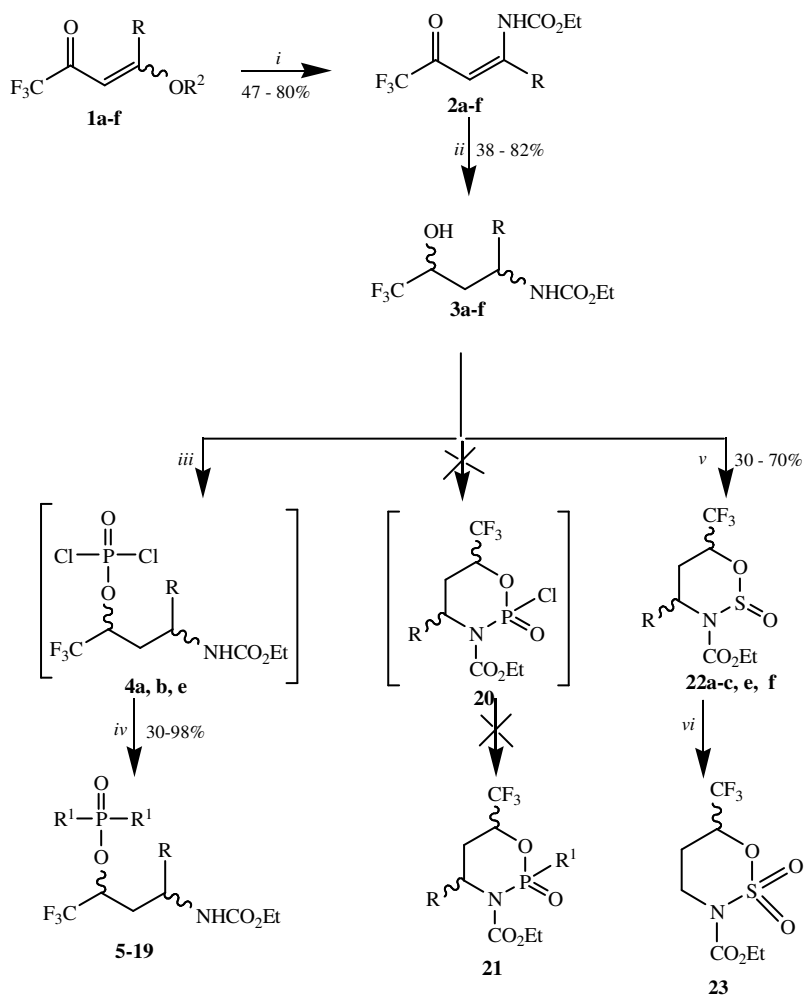
APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4 - APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1 - APRESENTAÇÃO DOS COMPOSTOS

Os Esquemas 34 e 35 apresentam as rotas sintéticas completas propostas com os compostos sintetizados.

Esquema 34



produtos	R	R ¹	produtos 22	R
5	H	OMe	a	H
6	H	OEt	b	Me
7	H	O-aliil	c	Pr
8	Me	OMe	e	Ph
9	Me	OEt	f	4-Me-Ph
10	Me	O-aliil		
11	Ph	OMe		
12	Ph	OEt		
13	Ph	O-aliil		
14	H	piperidinil		
15	H	morfolinil		
16	Me	piperidinil		
17	Me	morfolinil		
18	Ph	piperidinil		
19	Ph	morfolinil		

produtos 2, 3	R
a	H
b	Me
c	Pr
e	Ph
f	4-Me-Ph

i = NH₂CO₂Et, CH₂Cl₂ ou CHCl₃, refluxo, 24 - 48h (ref. 57)

ii = NaBH₄, EtOH, 25°C - 70°C, 5 - 24h (ref. 57)

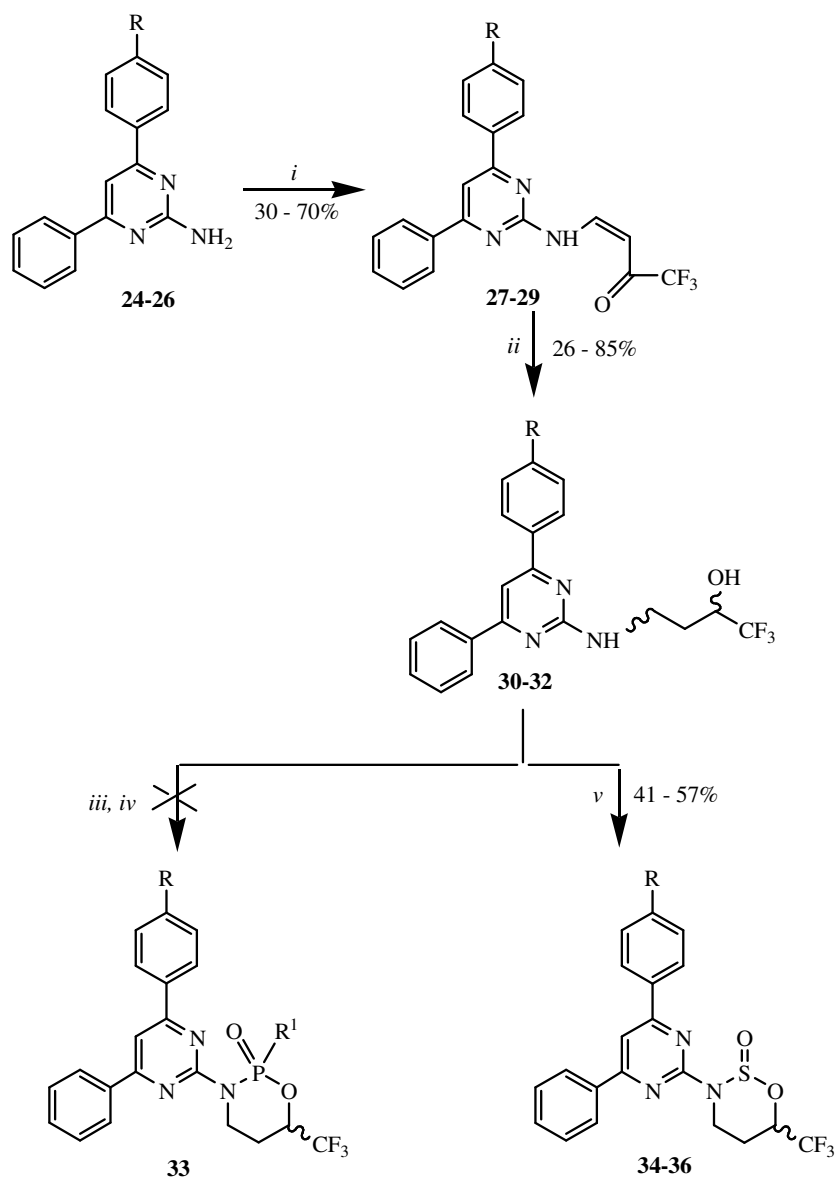
iii = POCl₃, Py, tolueno, 25°C, 5h

iv = Nü (álcool ou amina), 25°C, 0.5h

v = SOCl₂, Py, tolueno, 25°C, 5 - 24h

vi = RuCl₃.2H₂O, KIO₄, CH₃CN, 0°C, 15min

Esquema 35



produtos	R
27, 30, 34	H
28, 31, 35	Cl
29, 32, 36	OMe

i = 4-etoxi-1,1,1-trifluor-but-3-en-2-ona, EtOH, refluxo, 18h

ii = NaBH₄, EtOH, 25°C -70°C, 5 - 24h (ref. 57)

iii = SOCl₂, Py, tolueno, 25°C, 9- 24h

iv = POCl₃, Py, tolueno, 25°C, 5h

v = álcool ou amina, 25°C, 0.5h

Tabela 1: Nomenclatura dos compostos sintetizados

composto	Nomenclatura
1a	4-etóxi-1,1,1-trifluor-3-buten-2-ona
1b	4-metóxi-1,1,1-trifluor-3-penten-2-ona
1c	4-metóxi-1,1,1-trifluor-3-hepten-2-ona
1d	4-metóxi-1,1,1-trifluor-3-octen-2-ona
1e	4-fenil-4-metóxi-1,1,1-trifluor-3-buten-2-ona
1f	(4-metil-fenil)-4-metóxi-1,1,1-trifluor-3-buten-2-ona
2a	4,4,4-trifluor-3-oxo-1-buten-1-il-carbamato de etila
2b	5,5,5-trifluor-4-oxo-2-penten-2-il-carbamato de etila
2c	5,5,5-trifluor-4-oxo-2-hepten-2-il-carbamato de etila
2d	5,5,5-trifluor-4-oxo-2-octen-2-il-carbamato de etila
2e	1-fenil-4,4,4-trifluor-3-oxo-1-buten-1-il-carbamato de etila
2f	4,4,4-trifluor-1-(4-metil-fenil)-3-oxo-1-buten-1-il-carbamato de etila
3a	4,4,4-trifluor-3-hidróxi-butan-1-il-carbamato de etila
3b	5,5,5-trifluor-4-hidróxi-pentan-2-il-carbamato de etila
3c	5,5,5-trifluor-4-hidróxi-heptan-2-il-carbamato de etila
3d	5,5,5-trifluor-4-hidróxi-octan-2-il-carbamato de etila
3e	4,4,4-trifluor-3-hidróxi-1-fenil-butan-1-il-carbamato de etila
3f	4,4,4-trifluor-3-hidróxi-1-(4-metil-fenil)-butan-1-il-carbamato de etila
5	[3-(Dimetóxi-fosfato)-4,4,4-trifluor-but-1-il]-carbamato de etila
6	[3-(Dietóxi-fosfato)-4,4,4-trifluor-but-1-il]-carbamato de etila
7	[3-(<i>Bis</i> -alilóxi-fosfato)-4,4,4-trifluor-but-1-il]-carbamato de etila
8	[3-(Dimetóxi-fosfato)-4,4,4-trifluor-1-metil-but-1-il]-carbamato de etila
9	[3-(Dietóxi-fosfato)-4,4,4-trifluor-1-metil-but-1-il]-carbamato de etila
10	[3-(<i>Bis</i> -alilóxi-fosfato)-4,4,4-trifluor-1-metil-but-1-il]-carbamato de etila
11	[3-(Dimetóxi-fosfato)-1-fenil-4,4,4-trifluor-but-1-il]-carbamato de etila
12	[3-(Dietóxi-fosfato)-1-fenil-4,4,4-trifluor-but-1-il]-carbamato de etila
13	[3-(<i>Bis</i> -alilóxi-fosfato)-1-fenil-4,4,4-trifluor-but-1-il]-carbamato de etila
14	[3-(Dipiperidinfosfonamida)-4,4,4-trifluor-but-1-il]-carbamato de etila
15	[3-(Dimorfolinfosfonamida)-4,4,4-trifluor-but-1-il]-carbamato de etila
16	[3-(Dipiperidinfosfonamida)-4,4,4-trifluor-1-metil-but-1-il]-carbamato de etila
17	[3-(Dimorfolinfosfonamida)-4,4,4-trifluor-1-metil-but-1-il]-carbamato de etila

18	[3-(Dipepiridinfosfonamida)-1-fenil-4,4,4-trifluor-but-1-il]-carbamato de etila
19	[3-(Dimorfolinfosfonamida)-1-fenil-4,4,4-trifluor-but-1-il]-carbamato de etila
22a	2-Oxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinana-3-carbamato de etila
22b	4-Metil-2-oxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinana-3-carbamato de etila
22c	2-Oxo-4-propil-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinana-3-carbamato de etila
22e	4-Fenil-2-oxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinana-3-carbamato de etila
22f	4-(4-Metil-fenil)-2-oxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinana-3-carbamato de etila
23	2-Dioxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinana-3-carbamato de etila
27	4-(4,6-Difenil-pirimidin-2-ilamino)-1,1,1-trifluor-but-3-en-2-ona
28	4-[4-(4-Cloro-fenil)-6-fenil-pirimidin-2-ilamino]-1,1,1-trifluor-but-3-en-2-ona
29	4-[4-(4-Metoxi-fenil)-6-fenil-pirimidin-2-ilamino]-1,1,1-trifluor-but-3-en-2-ona
30	4-(4,6-Difenil-pirimidin-2-ilamino)-1,1,1-trifluor-butan-2-ol
31	4-[4-(4-Cloro-fenil)-6-fenil-pirimidin-2-ilamino]-1,1,1-trifluor-butan-2-ol
32	4-[4-(4-Metoxi-fenil)-6-fenil-pirimidin-2-ilamino]-1,1,1-trifluor-butan-2-ol
34	3-[4,6-Difenil-pirimidin-2-il]-2-oxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinana
35	3-[4-(4-Cloro-fenil)-6-fenil-pirimidin-2-il]-2-oxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinana
36	3-[4-(4-Metoxi-fenil)-6-fenil-pirimidin-2-il]-2-oxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinana
39	4-(Piridin-2-ilamino)-1,1,1-trifluor-but-3-en-2-ona
40	4-(Piridin-2-ilamino)-1,1,1-trifluor-butan-2-ol

4.2 - SÍNTESE DOS COMPOSTOS

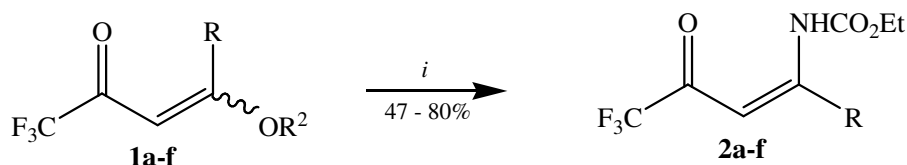
4.2.1 - ACILAÇÃO DE ENOLÉTERES E ACETAIS – OBTENÇÃO DOS COMPOSTOS 1a-f

As 4-alcóxi-1,1,1-trifluor-3-alquen-2-onas (β -alcoxivinil trifluormetil cetonas), utilizadas neste trabalho como reagente de partida, foram obtidas através de acilação de enoléteres e acetais com anidrido trifluoracético, de acordo com os trabalhos publicados por Hojo e cols.^{159, 160} e Martins e cols.¹⁶¹

4.2.2 - SÍNTESE DE ENAMINONAS - COMPOSTOS **2a-f**

É bem conhecido que 4-alcóxi-1,1,1-trifluor-3-alquen-2-onas sofrem, regioespecificamente, a substituição nucleofílica do grupo alcóxi na posição 4 (posição β) por nitrogênios de aminas e recentemente por um nucleófilo mais fraco como o carbamato.⁵⁷ Para a obtenção dos compostos 4,4,4-trifluor-3-oxo-1-buten-1-il-carbamato de etila **2a-f**, utilizou-se procedimentos desenvolvidos anteriormente no nosso grupo de pesquisa. Foram realizadas reações de substituição nucleofílica no C- β das β -alcoxivinil trifluormetil cetonas **1a-f**, com nucleófilo carbamato de etila, segundo o Esquema 36.

Esquema 36



$i = \text{NH}_2\text{CO}_2\text{Et}$, TsOH, CH_2Cl_2 ou CHCl_3 , refluxo, 24 - 48h (ref. 57)

composto	R
2a	H
2b	Me
2c	Pr
2d	Bu
2e	Ph
2f	4-Me-Ph

Os compostos **2a**, **b**, **e**, **f** já foram sintetizados anteriormente.⁵⁷ Os compostos **2c** e **d** que possuem cadeias alquil são novos e foram obtidos utilizando-se o mesmo método, sendo portanto, um bom resultado.

As β -alcoxivinil-trifluormetilcetonas reagiram com carbamato de etila utilizando CH_2Cl_2 (**2a**) ou CHCl_3 (**2b-f**) como solvente em meio ácido, com refluxo por um período de 24 (**2a**) ou 48 horas (**2b-f**). Após o período de reação se completar, neutralizou-se o meio até pH=7,0 e realizou-se extração com CH_2Cl_2 ou CHCl_3 , resultando na obtenção dos produtos desejados (**2a-f**) com um rendimento de 47-80%. Os compostos **2b-f** foram obtidos como óleos e o

composto **2a** foi obtido como sólido. Nas reações com **1b-f** foi usado excesso de carbamato (1.5 equivalentes) que foi retirado dissolvendo-se os produtos em hexano e filtrando-se o sólido.

Os enamino compostos foram purificados através de coluna com florisil utilizando-se como eluente hexano ou coluna cromatográfica de sílica gel utilizando-se como eluente hexano:diclorometano (2:1) ou hexano:clorofórmio (2:1).

O mecanismo proposto para a síntese dos compostos **2a-f** está demonstrado na Figura 13

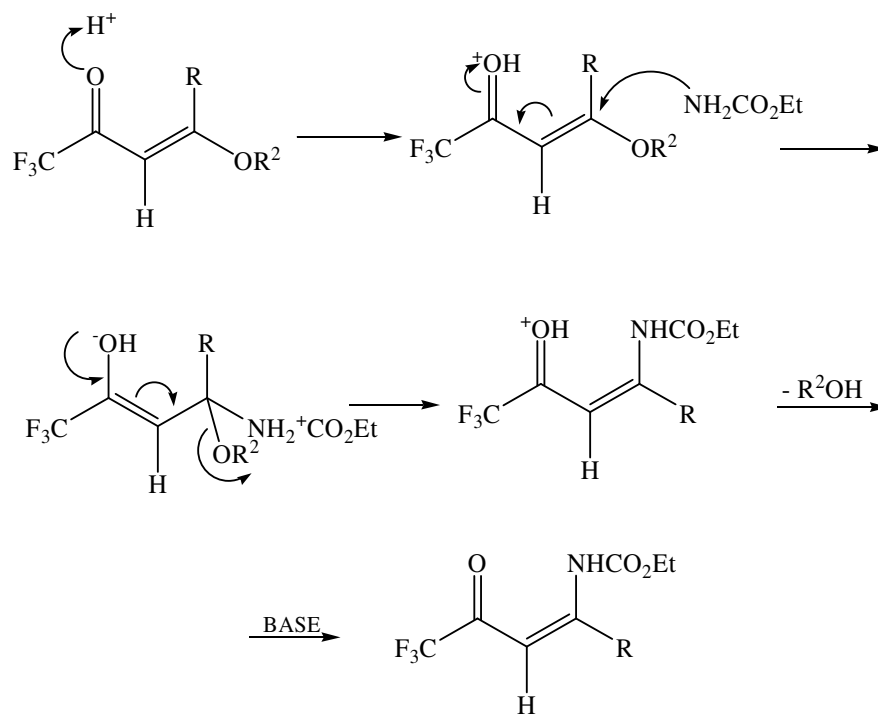


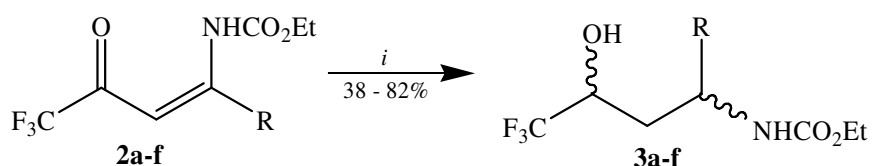
Figura 13: Mecanismo proposto para a síntese dos compostos **2a-f**

O meio ácido utilizado leva à protonação do oxigênio da carbonila, tornando possível a reação de substituição no carbono β das β -alcoxivinil trifluormetil cetonas com um nucleófilo fraco como o carbamato, seguida pela eliminação do grupo 4-alcoxi, levando as correspondentes enamino cetonas.

4.2.3 - SÍNTESE DE AMINO ÁLCOOIS - COMPOSTOS 3a-f

A redução dos enamino compostos **2a-f** foi conduzida em etanol com o uso de NaBH₄ numa proporção de 1:1,2 sob refluxo, por 24h, com redução da carbonila e da dupla ligação obtendo-se os compostos desejados. Após o período de reação se completar, realizou-se extração com CH₂Cl₂, obtendo-se os produtos desejados **3a-f**, como óleos, com rendimentos de 38-82%, como mostra o Esquema 37.

Esquema 37



$i = \text{NaBH}_4, \text{EtOH}, 25 - 70^\circ\text{C}, 5 - 24\text{h (ref. 57)}$

composto	R
3a	H
3b	Me
3c	Pr
3d	Bu
3e	Ph
3f	4-Me-Ph

Os compostos **3a, b, e, f** já foram sintetizados anteriormente.⁵⁷

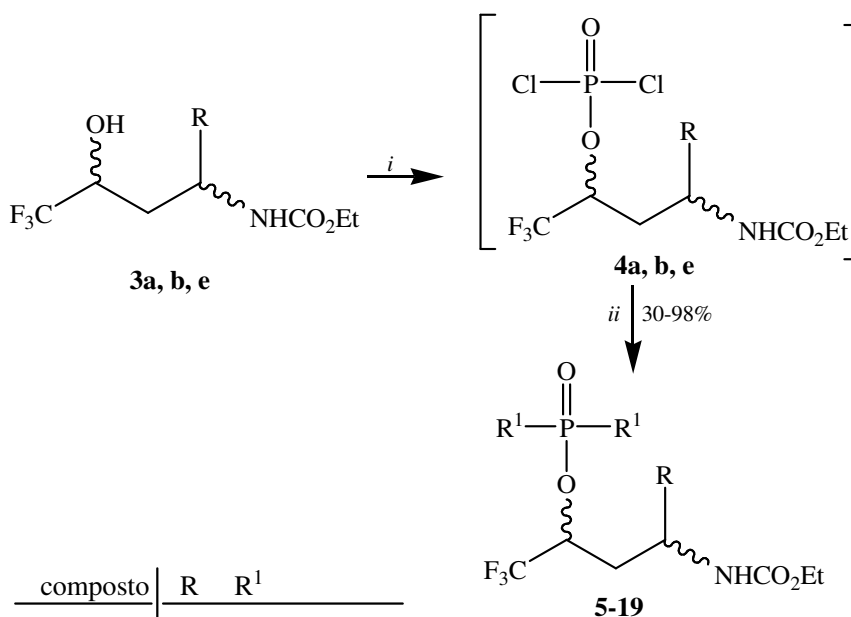
Os amino álcoois foram purificados através de coluna com florisil utilizando-se como eluente hexano ou coluna cromatográfica de sílica gel utilizando-se como eluente diclorometano. Os compostos **3b-d** foram obtidos como mistura de diastereoisômeros, numa proporção de 10:1, 16:1 e 19:1 respectivamente, o que não ocorreu para os demais amino álcoois que foram obtidos como mistura de enantiômeros.

Após purificação para os compostos **3c, d** isolou-se somente um dos diastereoisômeros (que já estava em maior proporção), sendo que o outro não foi recuperado da coluna. Já para o composto **3b** os dois diastereoisômeros eluíram juntos não sendo possível separá-los.

4.2.4 - SÍNTESE DE FOSFATOS E FOSFONAMIDAS -COMPOSTOS 5-19

Os fosfatos **5-13** e as fosfonamidas **14-19** foram obtidos por reação dos amino álcoois (4,4,4-trifluor-3-hidróxi-but-1-il)-carbamato de etila **3a,b,e** com oxiclreto de fósforo em tolueno na presença de base, piridina ou trietilamina, sob atmosfera de argônio, por 5 horas a temperatura ambiente, como mostra o Esquema 38.

Esquema 38



composto	R	R ¹
5	H	OMe
6	H	OEt
7	H	Oalil
8	Me	OMe
9	Me	OEt
10	Me	Oalil
11	Ph	OMe
12	Ph	OEt
13	Ph	Oalil
14	H	piperidinil
15	H	morfolinil
16	Me	piperidinil
17	Me	morfolinil
18	Ph	piperidinil
19	Ph	morfolinil

i = POCl₃, Py, tolueno, 25°C, 5h
ii = Nü (álcool ou amina), 25°C, 0.5h

A proporção dos reagentes utilizada foi 1:2:1 (amino álcool:base:POCl₃). O intermediário dicloreto não foi isolado e a adição de álcool ou amina em excesso promove a substituição dos átomos de cloro. Quando utilizou-se quantidade equivalente de álcool ou amina a reação não se completou e somente o material de partida foi isolado. As reações com metil amina e álcoois mais estericamente impedidos como os álcoois *iso*-propílico, *terc*-butílico e benzílico não forneceram os produtos desejados.

Os compostos **5-16** e **18-19** foram obtidos em forma de óleo, e o composto **17** como sólido com rendimentos de 30-98%. Os compostos foram purificados através de coluna cromatográfica de sílica gel utilizando-se como eluente clorofórmio com 5% de metanol ou por recristalização com hexano.

O mecanismo proposto para a síntese dos compostos **5-19** está demonstrado na Figura 14

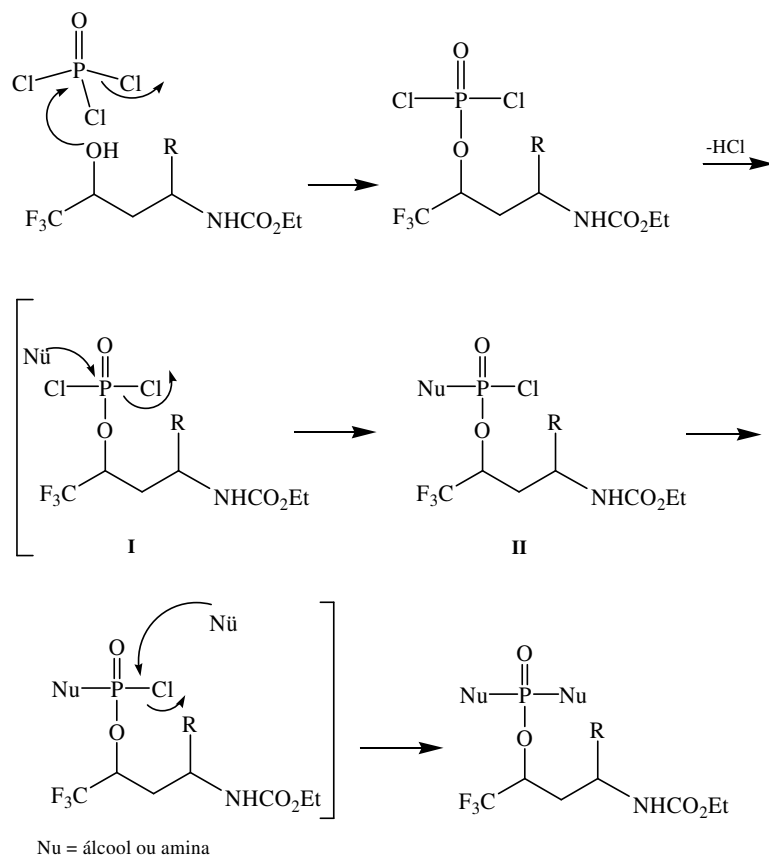


Figura 14: Mecanismo proposto para a síntese dos compostos **5-19**

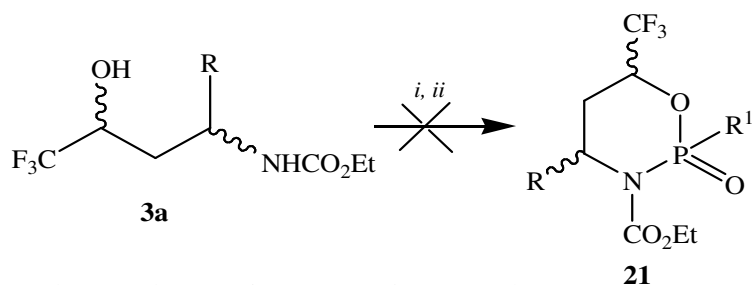
O mecanismo envolvido na síntese dos fosfatos e fosfonamidas começa com o ataque nucleofílico do oxigênio do álcool ao átomo de fósforo e a eliminação de um íon cloreto, numa reação tipo S_N2 . O átomo de cloro carregado negativamente retira o próton, ocorrendo a liberação de ácido clorídrico. O nitrogênio do carbamato é um nucleófilo mais fraco que o OH, não ocorrendo o ataque nucleofílico ao átomo de fósforo. O intermediário **I** sofre ataque do nucleófilo (álcool ou amina) substituindo um átomo de cloro obtendo-se o intermediário cloridrato **II**. O ataque de uma segunda molécula de álcool ou amina leva à substituição do cloreto obtendo-se dois grupos iguais ligados ao fósforo. Os intermediários dicloridrato **I** e monocloridrato **II** não foram isolados.

Reações de substituição de átomos de cloro por álcoois ou aminas em reagentes fosforados tem sido descritas, porém, comumente usa-se dicloridratos ou monocloridratos que precisam ser preparados.^{124,125} O uso de oxicloreto de fósforo ($POCl_3$) não tem sido descrito. Neste trabalho a síntese de fosfatos e fosfonamidas foi desenvolvida através de substituição dos átomos de cloro do $POCl_3$ e, desta forma, foi possível obter-se os produtos desejados de uma maneira mais simples, sem ser preciso isolar e purificar intermediários.

4.2.5 – OXAZAFOSFORINANAS - COMPOSTOS 21

Para a obtenção das oxazafosforinanas, como mostra o Esquema 39, foram testadas várias condições, como mudança de solvente, da base e da temperatura utilizada na reação, mas não obteve-se o produto desejado.

Esquema 39



i = $POCl_3$, Py, tolueno, 25°C ou aquecimento, 24h

ii = Nü (álcool ou amina), 25°C, 0.5h

R = H

R¹ = OMe, morfolinil

O material de partida foi identificado nas reações com um equivalente de MeOH, e quando CH₂Cl₂ e THF foram utilizados como solvente. Quando aquecimento foi utilizado foi obtida uma mistura de produtos não identificados. A Tabela 2 mostra as condições testadas para obtenção das oxazafosforinanas.

Tabela 2: Condições testadas para obtenção das oxazafosforinanas.

Amino álcool	Condições reacionais ^a	Nucleófilo (R ¹)	Produto
3a	Tolueno, py, t.a, 24h	MeOH 1eq	^b
3a	Tolueno, Et ₃ N, t.a, 24h	MeOH 1eq	^b
3a	Tolueno, py, 90°C, 24h	MeOH 1eq	^c
3a	Tolueno, py, t.a, 24h	Morfolina 1eq	^b
3a	Tolueno, Et ₃ N, t.a, 24h	Morfolina 1eq	^d
3a	CH ₂ Cl ₂ , Et ₃ N, t.a, 24h	Morfolina 1eq	^c
3a	THF, Et ₃ N, t.a, 24h	Morfolina 1eq	^b

^a Proporção dos reagentes 1:3:1 (amino álcool:base:POCl₃).

^b Recuperou-se o material de partida

^c Obteve-se uma mistura de compostos não identificados

^d O produto não foi identificado

Na condição de reação mostrada na Tabela 2 onde o produto não foi identificado, observou-se que o espectro de ¹H mostrou sinais com integração referentes ao produto desejado, porém na identificação por CG/MS não aparece o sinal com a massa referente ao composto ciclizado e ao material de partida e o espectro de ¹³C não apresentou todos os sinais necessários para concluir que realmente o produto tivesse sido obtido.

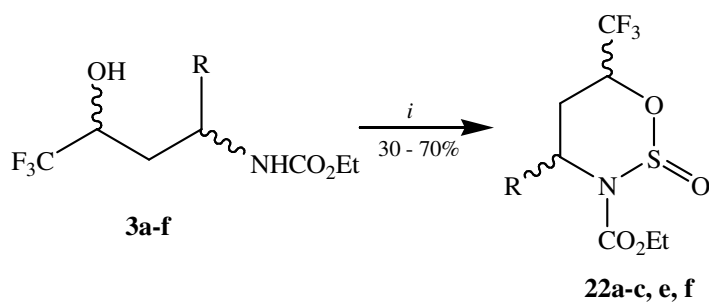
No caso destes amino álcoois (4,4,4-trifluor-3-hidróxi-but-1-il)-carbamatos de etila, o nitrogênio é um nucleófilo fraco devido à ressonância do par de elétrons disponível que pode ocorrer com a carbonila. Deste modo, podia-se pensar que este seria o fator determinante para não ocorrer a ciclização com o oxiclureto de fósforo. No entanto, o impedimento estérico causado pelos átomos de cloro deve ser responsável pela falha na ciclização, não sendo possível a obtenção de

oxazafosforinanas, pois, como demonstrado abaixo, a ciclização torna-se possível com os mesmos amino álcoois e cloreto de tionila, obtendo-se as oxatiazinanas.

4.2.6 - SÍNTESE DE OXATIAZINANAS - COMPOSTOS 22a-c, e, f

As oxatiazinanas (2-oxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinana-3-carbamato de etila) **22a-c, e, f** foram obtidas através de ciclização dos amino álcoois (4,4,4-trifluor-3-hidróxi-but-1-il)-carbamato de etila **3a-c, e, f** com cloreto de tionila em tolueno na presença de piridina, sob atmosfera de argônio, por 9 (**22a**) ou 24 horas (**22b, c, e, f**) a temperatura ambiente, como mostra o Esquema 40. Foi necessário o uso de um excesso de cloreto de tionila para obter melhores rendimentos. Quando um equivalente de cloreto de tionila foi usado, material de partida foi observado especialmente com compostos que possuem grupos volumosos na posição 4 (do heterociclo). A melhor condição foi obtida com o uso de excesso de cloreto de tionila (1.5 equivalentes). Os melhores rendimentos foram obtidos para as oxatiazinanas com grupos menos volumosos.

Esquema 40



composto	R
22a	H
22b	Me
22c	Pr
22e	Ph
22f	4-Me-Ph

As oxatiazinanas não foram obtidas quando as reações foram colocadas sob refluxo, usando-se trietilamina como base, ou quando outros solventes como

CHCl_3 ou CH_2Cl_2 foram utilizados. Tempo de reação mais longo e/ou quantidades maiores de cloreto de tionila não melhoraram os rendimentos dos produtos ciclizados. Quando a reação foi conduzida em THF por 24h, mistura do produto com material de partida na proporção de 10:4 (produto **22**:material de partida **3**) foi obtido. A reação não foi observada para o amino álcool **3d** em nenhuma das condições testadas. As oxatiazinanas **22a-c**, **e** e **f** foram purificadas através de coluna cromatográfica com sílica gel utilizando-se como eluente hexano : diclorometano 1:1, ou por recristalização em etanol.

A síntese de oxatiazinanas através de ciclização de amino álcoois com cloreto de tionila é bem descrita, porém, a obtenção destes heterociclos com o grupo trifluormetil é inédita. Obtivemos um bom resultado, pois demonstramos que é possível estender a metodologia descrita na literatura para obtenção de oxatiazinanas trifluormetiladas.

O mecanismo proposto para a síntese dos compostos **22** está demonstrado na Figura 15.

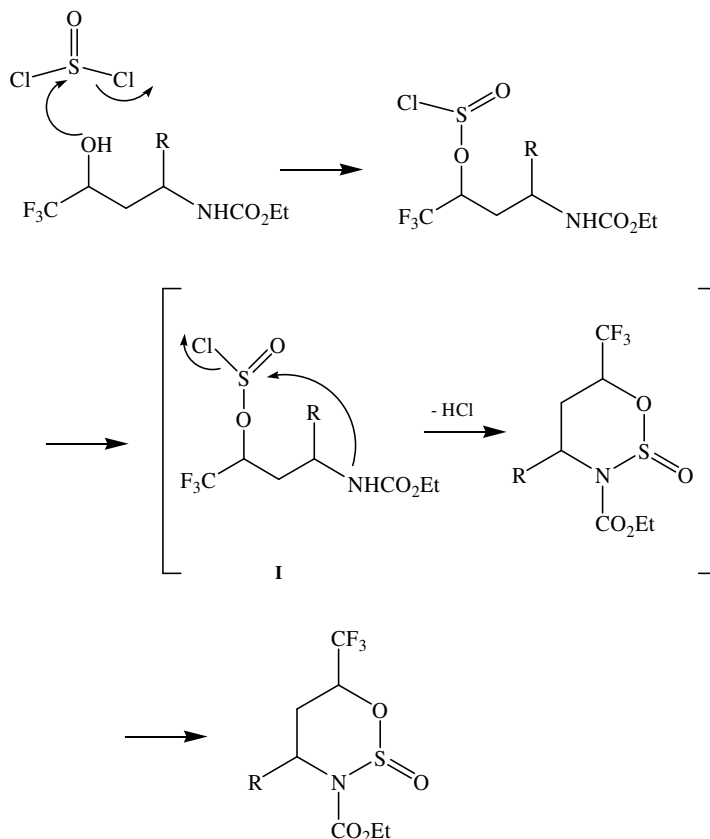


Figura 15: Mecanismo proposto para a síntese dos compostos **22a-c**, **e**, **f**

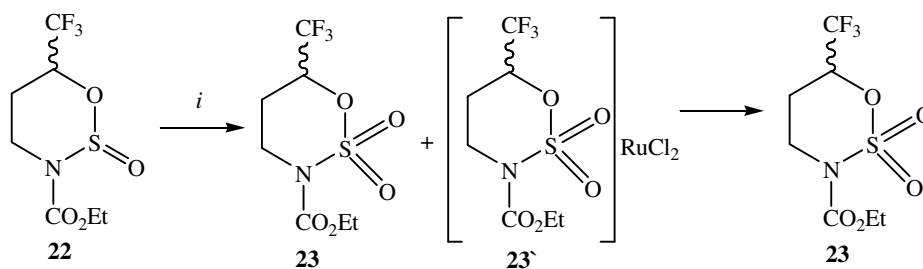
Na síntese das oxatiazinanas o ataque nucleofílico do oxigênio do álcool ao átomo de enxofre é a primeira etapa da reação, com a eliminação de um átomo de cloro (reação S_N2). Após a eliminação de uma molécula de HCl há a formação do intermediário **I**. Subseqüente ataque do nitrogênio do carbamato ao átomo de enxofre leva à obtenção do composto cíclico. Com a eliminação de mais uma molécula de HCl obtém-se os compostos **22**.

Foi descrito na literatura a ciclização da homoserina⁹⁷ por condições reacionais similares, no entanto, a adição de uma grande quantidade de imidazol é necessária para obter-se a correspondente oxatiazinana, sendo que, quando o imidazol é omitido da reação, o produto isolado em maior quantidade foi um sulfito simétrico. Para a reação dos amino álcoois empregados neste trabalho, o uso de imidazol não é requerido para obter as oxatiazinanas **22**.

4.2.7 - SÍNTESE DE DIOXO-OXATIAZINANA - COMPOSTO **23**

A oxidação da 2-oxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinana-3-carbamato de etila **22a** a 2-dioxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinana-3-carbamato de etila **23** foi obtida usando periodato de potássio catalisado por tricloreto de rutênio,¹³² como mostra o Esquema 41. A reação com outro oxidante, cujo procedimento se encontra descrito na literatura,¹³⁵ ácido *m*-cloroperbenzóico não foi efetiva e o material de partida foi recuperado.

Esquema 41



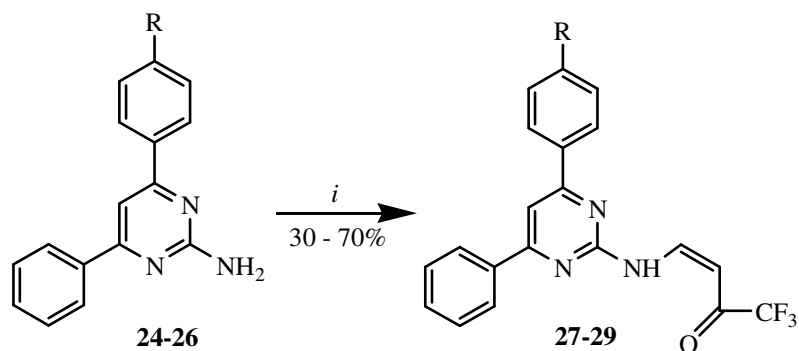
i = RuCl₃ · 2H₂O, KIO₄, CH₃CN, 0°C, 15min

O produto oxidado **23** foi obtido junto com um complexo de rutênio **23'**, dicloreto-sulfamidato que foi analisado por CG-MS. Para o complexo um íon molecular de m/z 448 com picos característicos devido aos isótopos naturais do rutênio foi observado.¹¹⁶ O espectro de massa do produto oxidado e do complexo de rutênio encontram-se no anexo III. Não foi possível hidrolizar o complexo na extração, segundo descrito em procedimento da literatura⁹⁷ sendo possível isolar a 2-dioxo-[1,2,3]oxatiazinana **23** como um composto puro após coluna cromatográfica em sílica gel obtendo-se 50% de rendimento.

4.2.8 - SÍNTESE DE ENAMINONAS - COMPOSTOS 27-29

A síntese dos compostos **27-29** mostrada no Esquema 42, foi conduzida a partir da reação entre as pirimidinas **24-26** cuja síntese foi descrita anteriormente¹⁶ e a β -alcoxivinil trifluormetil cetona não substituída na posição 4. As reações das pirimidin-2-ilamino com 4-etóxi-1,1,1-trifluor-but-3-en-2-ona ($R=H$), foram realizadas em etanol sob refluxo por 18 horas para obter os produtos desejados 1,1,1- trifluor-4-(pirimidin-2-ilamino)but-3-en-2-onas **27-29**.

Esquema 42



$i = 4$ -etóxi-1,1,1-trifluor-but-3-en-2-ona, EtOH, refluxo, 18h
 $R = H, Cl, OMe$

Foi observado que a substituição no carbono β das β -alcoxivinil trifluormetil cetonas torna o ataque das 2-aminopirimidinas mais difícil. Para a reação das β -alcoxivinil trifluormetil cetonas substituídas na posição 4 ($R = Me, Pr, Bu, Ph$)

com 2-aminopirimidina outras condições de reação como a mudança de solvente (CH_2Cl_2 , CHCl_3 , $\text{C}_2\text{H}_5\text{Cl}_2$ e MeOH) e o uso de catálise ácida (HCl , TsOH) foram testadas, mas nenhum resultado positivo foi obtido.

Os compostos **27-29** foram obtidos como sólidos com rendimentos de 30 a 70% e purificados através de recristalização em etanol.

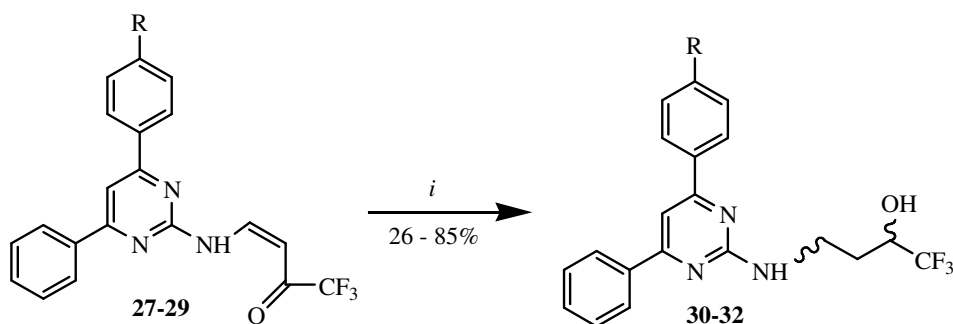
A reação de Michael de adição de alquil e aril aminas a enonas, seguida pela eliminação do grupo 4-alcoxi, levando as correspondentes enamino cetonas tem sido amplamente descrita,¹⁶² mas a reação de nucleófilos fracos de nitrogênio, tais como 2-aminopirimidinas com β -alcoxivinil trifluormetil cetonas (enonas) ainda não tinha sido relatada, porém, neste trabalho foi possível conduzir a substituição desejada e obter essas novas enamino cetonas por um método de síntese simples.

4.2.9 - SÍNTESE DE AMINO ÁLCOOIS - COMPOSTOS 30-32

Os compostos 4-(pirimidin-2-ilamino)-1,1,1-trifluor-butan-2-ols **30-32** foram obtidos com redução simultânea da carbonila e da dupla ligação das 1,1,1-trifluor-4-(pirimidin-2-ilamino)but-3-en-2-onas **27-29**, estendendo o método utilizado na redução dos compostos 4,4,4-trifluor-3-oxo-1-buten-1-il-carbamatos de etila **2a-f**, apresentados anteriormente.

Os compostos foram submetidos à redução com NaBH_4 numa proporção de 1:1,2 utilizando etanol como solvente e refluxo por um período de 24 horas como mostra o Esquema 43. Após o período da reação se completar, realizou-se extração com CH_2Cl_2 .

Esquema 43



$i = \text{NaBH}_4$, EtOH, 25 - 70°C, 5 - 24h (ref. 55)

R = H, Cl, OMe

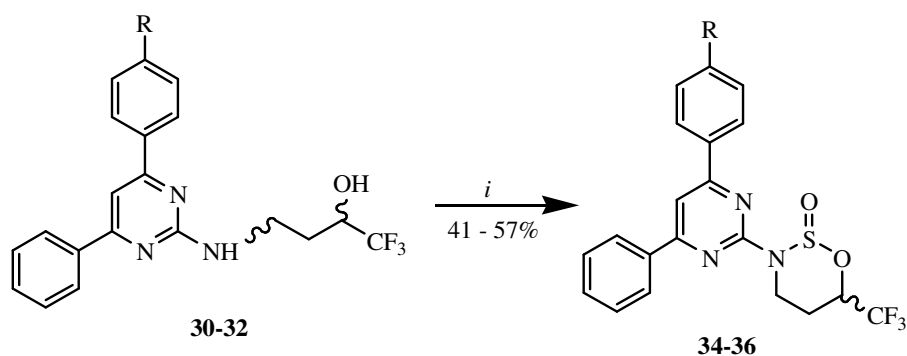
Os amino álcoois **30-32** foram obtidos em forma de sólido, com rendimentos de 26 a 85%. Os compostos foram purificados através de recristalização com etanol.

4.2.10 - SÍNTESE DE OXATIAZINANAS - COMPOSTOS 34-36

As 3-(pirimidin-2-il)-2-oxo-6-trifluormetil-[1,2,3]oxatiazinanas **34-36** foram obtidas através de ciclização dos amino álcoois 4-(pirimidin-2-ilamino)-1,1,1-trifluor-butan-2-ols **30-32** com cloreto de tionila em tolueno na presença de piridina, sob atmosfera de argônio, por 24 horas a temperatura ambiente, como mostra o Esquema 44. Quando um equivalente de cloreto de tionila foi usado, material de partida foi observado. A melhor condição também foi obtida com 1.5 equivalentes de cloreto de tionila.

As oxatiazinanas **34-36** não foram obtidas quando as reações foram colocadas sob refluxo, usando-se trietilamina como base, ou quando outros solventes como CHCl_3 ou CH_2Cl_2 foram utilizados. Tempo de reação mais longo e/ou quantidades maiores de cloreto de tionila não melhoraram os rendimentos dos produtos ciclizados.

Esquema 44



$i = \text{SOCl}_2, \text{Py}, \text{tolueno}, 25^\circ\text{C}, 24\text{h}$
 $\text{R} = \text{H}, \text{Cl}, \text{OCH}_3$

As oxatiazinas **34-36** foram obtidas em forma de sólidos, com rendimentos de 41 a 57%. Os compostos foram purificados através de coluna cromatográfica em sílica gel utilizando-se como eluente hexano:diclorometano 1:1 e/ou recristalização em etanol.

4.2.11 – COMPOSTOS 33 E 37

As reações de tentativa de obtenção das oxazafosforinanas partindo do amino álcool **32** não levaram à obtenção dos produtos desejados. O amino álcool **32** foi escolhido para os testes por ser o mais reativo, pois o grupo metóxi pode causar uma deslocalização de elétrons da fenila e da pirimidina, tornando o nitrogênio do amino álcool mais nucleofílico. As condições testadas para obtenção das oxazafosforinanas encontram-se descritas na Tabela 3. A obtenção de oxazafosforinanas não foi detectada. Já o fosfato acíclico **37** foi identificado pelo espectro de massa, porém, em pouca quantidade, com mistura de outros produtos não identificados, segundo o Esquema 45.

Esquema 45

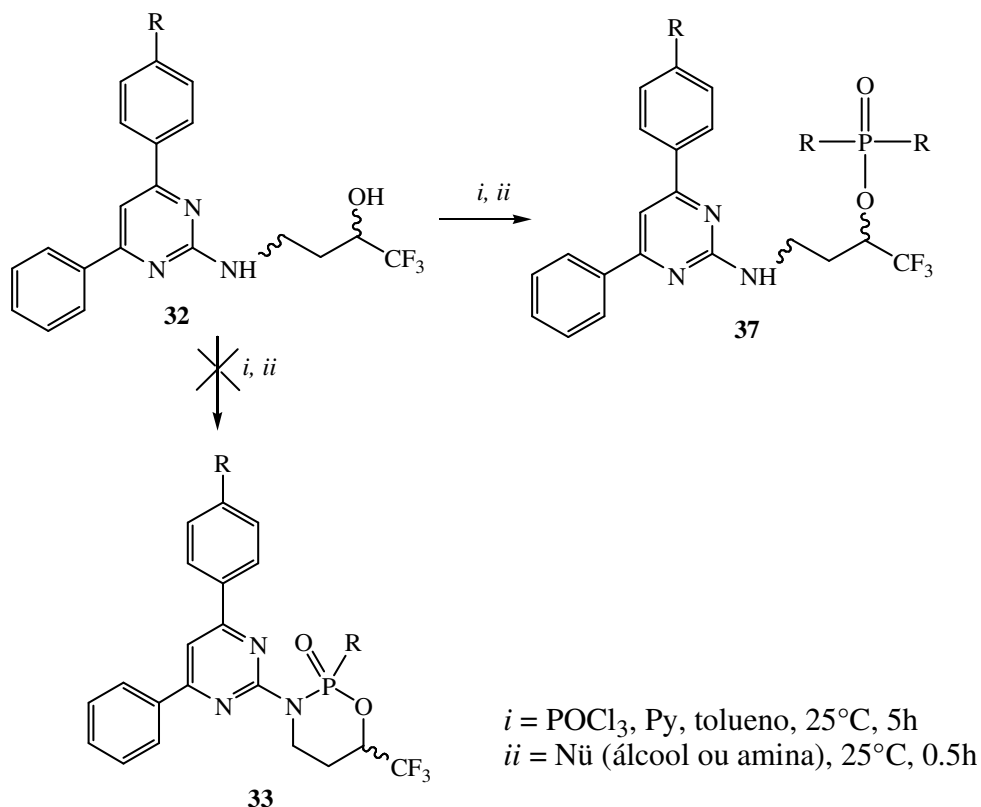


Tabela 3: Condições testadas para a obtenção das oxazafosforinanas.

Amino álcool	Condições reacionais ^a	Nucleófilo (última etapa)	Produto
32	Tolueno, py, 25°C, 24h	MeOH exc.	37 + mistura de compostos não identificados
32	Tolueno, Et ₃ N, 25°C, 24h	MeOH exc.	37 + mistura de compostos não identificados
32	Tolueno, py, 25°C, 24h	Morfolina 1eq	Material de partida

^a Proporção dos reagentes 1:3:1 (amino álcool:base:POCl₃).

4.2.12 – COMPOSTOS 41 e 42

Com o objetivo de aumentar o escopo dos heterociclos com enxofre (oxatiazinanas) e obter heterociclos com fósforo (oxazafosforinanas) fez-se a tentativa de obtenção destes heterociclos partindo de outros amino álcoois. Para isso, foi então necessário partir de outros precursores.

A enamionona **39** sintetizada anteriormente em nosso grupo de pesquisa ¹⁶³ foi submetida à redução com NaBH₄ e refluxo em etanol, com redução da carbonila e da dupla ligação, estendendo o método utilizado na redução dos compostos 4,4,4-trifluor-3-oxo-1-buten-1-il-carbamatos de etila **2a-f**, obtendo-se o amino álcool **40**, mas os produtos ciclizados não foram obtidos, como mostra o Esquema 46.

As Tabelas 4 e 5 mostram as condições testadas na tentativa de obtenção das oxatiazinanas e oxazafosforinanas.

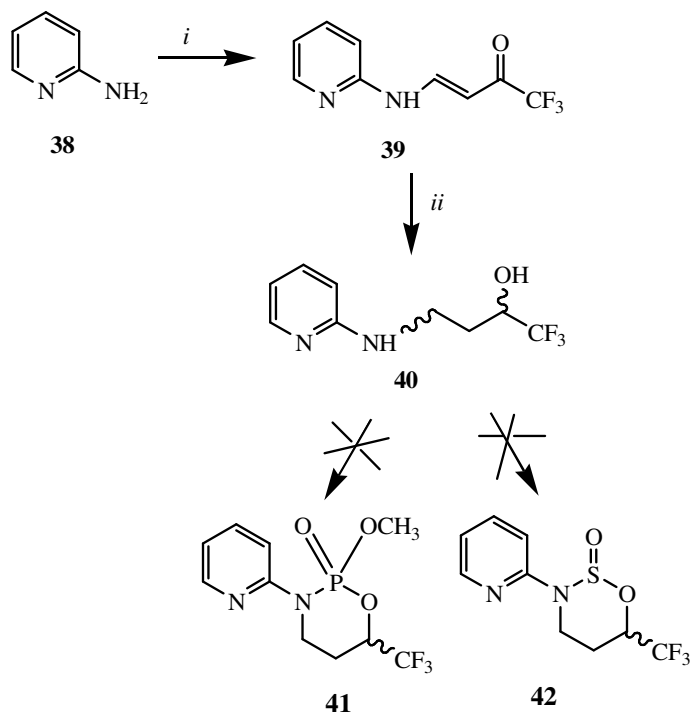
Tabela 4: Condições testadas para obtenção das oxazafosforinanas **41**

Amino álcool	Condições reacionais ^a	Nucleófilo (última etapa)	Produto
40	Tolueno, Py, 25°C, 24h	MeOH ^b	^c
40	Tolueno, Et ₃ N, 25°C, 24h	MeOH	^c
40	THF, Py, 25°C, 24h	MeOH	^c
40	THF, Et ₃ N, 25°C, 24h	MeOH	^c

^a Proporção dos reagentes 1:3:1 (amino álcool:base:POCl₃).

^b em excesso ^c foi isolado material de partida

Esquema 46



i = 4-etoxi-1,1,1-trifluor-but-3-en-2-ona, CH₂Cl₂, 25°C, 2h
ii = NaBH₄, EtOH, 25 - 70°C, 5 - 24h (ref. 57)

Tabela 5: Condições testadas para obtenção das oxatiazinanas **42**

Amino álcool	Condições reacionais ^a	Produto
40	Tolueno, Py, 25°C, 24h	^c
40	Tolueno, Et ₃ N, 25°C, 24h	^c
40	THF, Py, 25°C, 24h	^c
40	THF, Et ₃ N, 25°C, 24h	^c

^a Proporção dos reagentes 1:2:1,5 (amino álcool : base : SOCl₂).

^c foi isolado material de partida

ATIVIDADE BIOLÓGICA

4.3 - ATIVIDADE BIOLÓGICA

4.3.1 - INIBIÇÃO DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE

Os testes de atividade foram realizados no laboratório de bioquímica da UFSM, sob responsabilidade da doutoranda Adriana Carpes e sob supervisão da Profa. Maria Rosa Schetinger.

Os compostos **5-13** foram testados a fim de avaliar seu efeito inibitório na atividade da enzima AChE. Os compostos **5, 8 e 11** foram solubilizados em MeOH, os compostos **6, 9 e 12** em EtOH e os compostos **7, 10 e 13** em álcool alílico. Os solventes foram escolhidos para solubilizar os compostos de acordo com o grupo R¹ ligado ao átomo de fósforo.

O ensaio enzimático da AChE foi determinado por uma modificação do método espectrofotométrico de Ellman¹⁶⁴ como previamente descrito.¹⁶⁵ A mistura (volume final de 2 mL) foi composta de 100 mM K⁺-fosfato tampão, pH 7.5 e 1 mM 5,5'-ácido ditiobisnitrobenzóico (DTNB). O método é baseado na formação do ânion amarelo, 4,4'-ditio-bis-ácido-nitrobenzóico medido por absorbância a 412 nm durante 2-min de incubação a 25°C. A enzima purificada (solução contendo 0.001 U/μl) foi pré-incubada com concentrações diferentes dos compostos **5-13** (0.001, 0.01, 0.1, 1 e 10mM) por 2 min. A reação foi iniciada pela adição de iodeto de acetiltiocolina 0.8 mM (ACSch). Todas as amostras foram feitas em duplicata ou triplicata e a atividade da enzima foi expressa em U/mL. Uma unidade é definida como capaz de hidrolizar 1 μmol de substrato por minuto.

Os dados foram analisados usando uma análise de variância (one-way) seguida pelo post hoc de Duncan para amostras múltiplas. Diferenças entre grupos foram consideradas significantes quando p<0.05. Todos os dados foram expressos como média ± desvio padrão.

Os resultados obtidos com os fosfatos **5-13** estão apresentados nos gráficos 1, 2 e 3 e nas tabelas 6, 7 e 8. Foi observado que os compostos com grupo dietóxi ligados diretamente no átomo de fósforo mostraram os melhores efeitos inibitórios na atividade da AChE em todas as concentrações testadas. A variação dos diferentes substituintes ligados ao carbono vizinho ao carbamato (C-4) não

afetaram a atividade da AChE como a variação do substituinte ligado ao fósforo. Isto pode ser observado para os compostos **5**, **8** e **11**, que mostraram efeitos significantes somente nas maiores concentrações (1 e 10 mM).

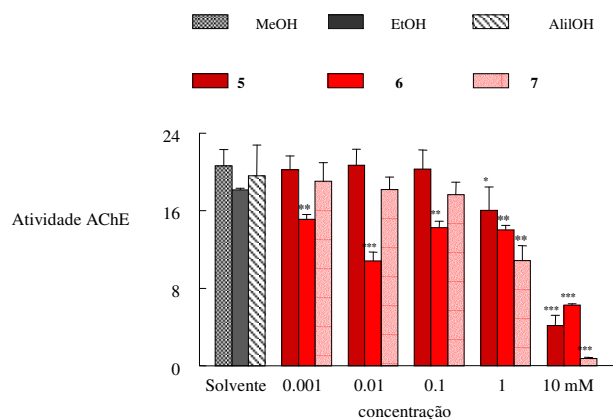


Gráfico 1. Efeito dos compostos **5**, **6** e **7** na atividade AChE. Dados são determinados como média \pm desvio padrão para dois ou mais experimentos (n=4). Diferença do controle a * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ e *** $p < 0.001$. A atividade da enzima foi expressa em U/mL.

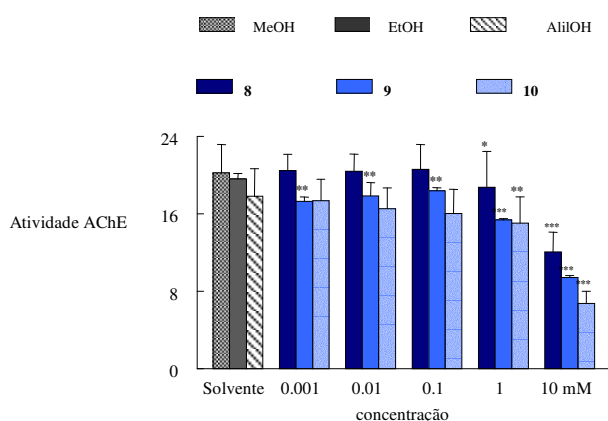


Gráfico 2. Efeito dos compostos **8**, **9** e **10** na atividade AChE. Dados são determinados como média \pm desvio padrão para dois ou mais experimentos (n=4). Diferença do controle a * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ e *** $p < 0.001$. A atividade da enzima foi expressa em U/mL.

Porém, para os compostos com o grupo dietóxi ligado ao fósforo, independente dos substituintes no C-4 o efeito inibitório na AChE foi altamente significativo. Para os compostos **6**, **9** e **12** o post hoc de Duncan mostrou diferenças significantes entre todos os grupos testados (0.001, 0.01, 0.1, 1 e 10mM) e o grupo controle (solventes usados para preparar as soluções dos compostos).

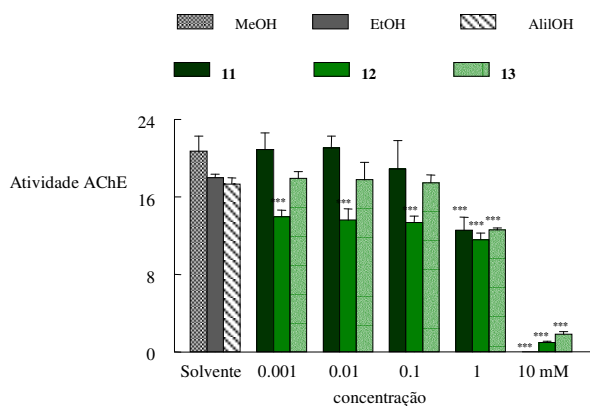


Gráfico 3. Efeito dos compostos **11**, **12** e **13** na atividade AChE. Dados são determinados como média \pm desvio padrão para dois ou mais experimentos ($n=4$). Diferença do controle a * $p<0.05$, ** $p<0.01$ e *** $p<0.001$. A atividade da enzima foi expressa em U/mL.

Tabela 6: Dados da atividade para os compostos **5**, **6** e **7**

	Composto 5	Composto 6	Composto 7
Controle s/ solvente	24.77 \pm 2.27	20.03 \pm 0.37	21.56 \pm 1.56
Controle c/ solvente	24.66 \pm 2.02	18.14 \pm 0.17	19.60 \pm 4.19
0.001mM	24.30 \pm 1.71	15.12 \pm 0.48	19.02 \pm 1.94
0.01mM	24.85 \pm 1.98	10.81 \pm 0.91	18.19 \pm 1.29
0.1mM	24.34 \pm 2.39	14.42 \pm 0.34	17.68 \pm 1.26
1mM	19.24 \pm 2.89	14.03 \pm 0.47	10.85 \pm 1.53
10mM	5.01 \pm 1.25	6.26 \pm 0.13	0.76 \pm 0.10

Tabela 7: Dados da atividade para os compostos **8**, **9** e **10**

	Composto 8	Composto 9	Composto 10
Controle s/ solvente	24.26 \pm 3.50	19.59 \pm 0.55	21.56 \pm 2.19
Controle c/ solvente	24.93 \pm 1.94	17.87 \pm 0.53	17.79 \pm 2.86
0.001mM	24.57 \pm 2.01	17.24 \pm 0.48	17.32 \pm 2.24
0.01mM	24.42 \pm 2.17	17.83 \pm 1.36	16.49 \pm 2.17
0.1mM	24.69 \pm 3.06	18.38 \pm 0.31	16.02 \pm 2.48
1mM	22.46 \pm 2.46	15.36 \pm 0.13	15.01 \pm 2.75
10mM	14.46 \pm 2.47	9.40 \pm 0.20	6.74 \pm 1.28

Tabela 8: Dados da atividade para os compostos **11**, **12** e **13**

	Composto 11	Composto 12	Composto 13
Controle s/ solvente	20.69 \pm 1.58	17.99 \pm 0.35	20.73 \pm 1.30
Controle c/ solvente	21.20 \pm 1.80	16.61 \pm 0.41	17.32 \pm 0.69
0.001mM	20.88 \pm 1.72	13.94 \pm 0.698	17.91 \pm 0.69
0.01mM	21.04 \pm 1.22	13.60 \pm 1.16	17.75 \pm 1.81
0.1mM	18.89 \pm 2.91	13.36 \pm 0.66	17.44 \pm 0.83
1mM	12.54 \pm 1.36	11.60 \pm 0.68	12.58 \pm 0.27
10mM	0.00 \pm 0.00	0.95 \pm 0.16	1.84 \pm 0.65

4.3.2 – ESTUDOS DAS INTERAÇÕES COM A ENZIMA ACETILCOLINESTERASE

A investigação do modo de ação dos compostos sintetizados neste trabalho é muito atrativa pois estes novos inibidores possuem um esqueleto estrutural único contendo dois grupos potencialmente ativos.

Com o programa FlexX foi realizado um estudo de modelagem molecular empregando os inibidores sintetizados e a estrutura cristalográfica da AChE de código PDB (*Protein Data Bank*) 1VXR. Esta estrutura cristalográfica contém um inibidor fosfato ligado ao resíduo de Ser200 e foi escolhida para realizar o *docking*. Para realizar o *docking* o primeiro passo é a preparação da estrutura, que envolve as seguintes etapas: remoção do ligante do sítio ativo, remoção das moléculas de água e adição dos átomos de hidrogênio usando o módulo Biopolymer como implementado no SYBYL 7.2.

A Figura 16 mostra a estrutura tridimensional da enzima AChE.

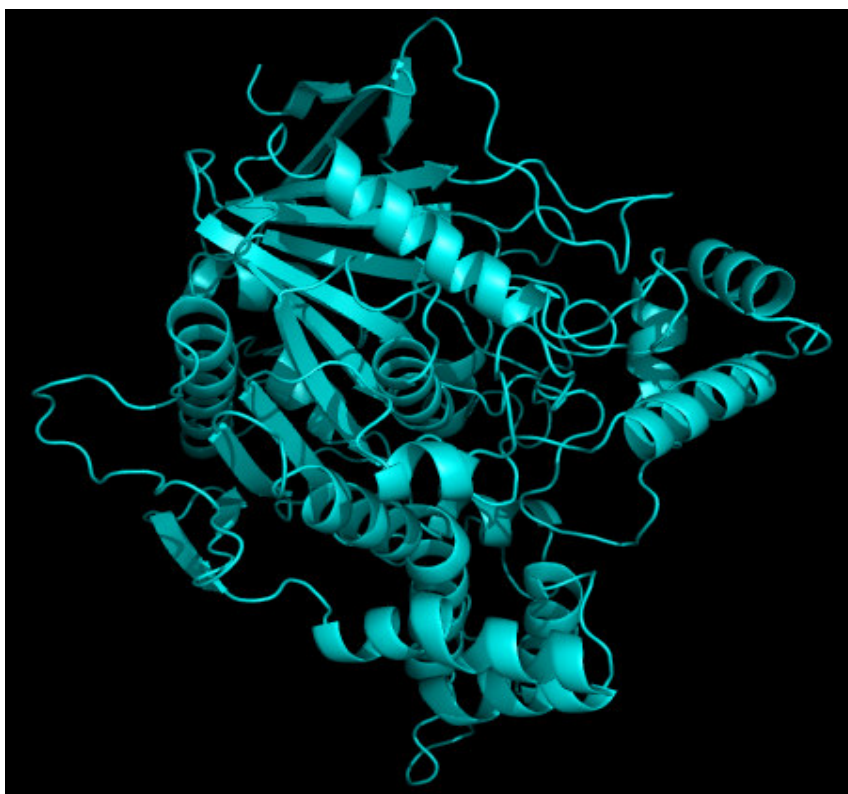


Figura 16: Estrutura tridimensional da enzima AChE

4.3.2.1 – FOSFATOS 5-13

Análise de modelagem, cálculos e visualizações para o docking foram conduzidas usando o programa SYBYL 7.2 (Tripos Inc., St. Louis, USA) em estações de trabalho Red Hat Enterprise Linux. A conformação de cada molécula (fosfatos **5-13**) foi energeticamente minimizada empregando campo de força Tripos e cargas Gasteiger-Huckel. O valor da energia é dado em cal/mol.

Nas tentativas de *docking* foram utilizadas diferentes distâncias em relação ao ligante e ao resíduo de Ser200 para criação do sítio ativo e de um subsítio de ligação no programa FlexX, sendo que o resultado satisfatório foi obtido com 9Å em relação ao ligante (sítio) e 4Å em relação a serina (subsítio).

A Figura 17 mostra a aproximação do grupo fosfato do inibidor **6** o mais potente da série (colorido em pink). Os resíduos coloridos em verde são os resíduos componentes do sítio ativo (Ser, His e Glu).

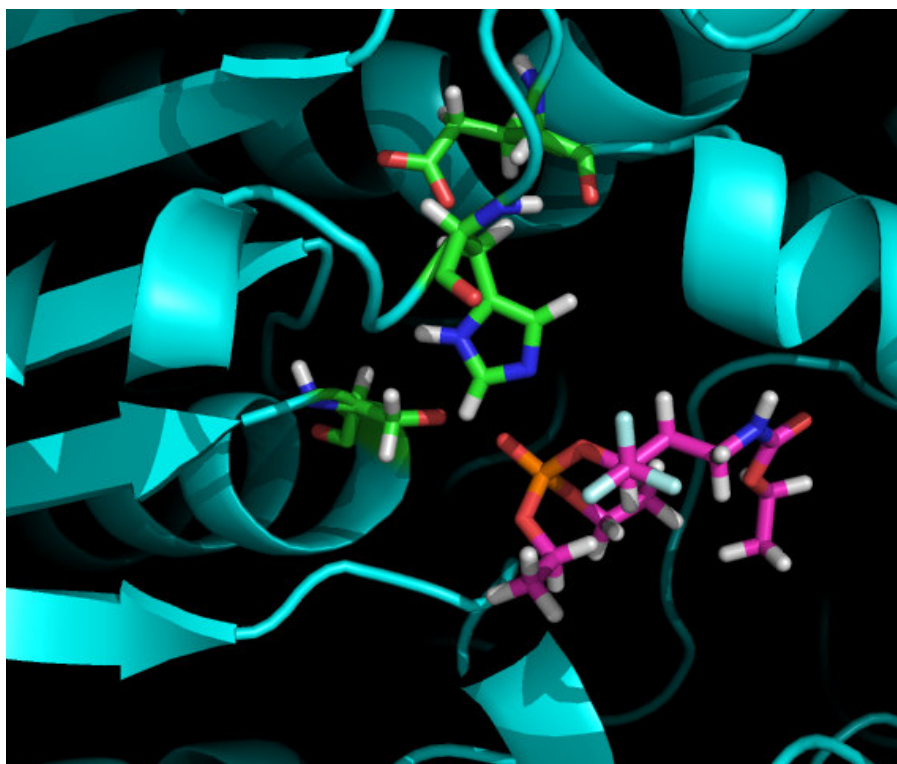


Figura 17: Aproximação do composto **6** do sítio ativo

Pode-se observar que o grupo fosfato para esta série de inibidores é o grupo responsável pela atividade inibitória demonstrada nos testes biológicos.

Por outro lado, para os inibidores **5** e **6** pode ser observada a interação do grupo carbamato com o oxigênio do resíduo Phe330 através de uma ligação de hidrogênio (Figura 18). Para o inibidor mais potente (**6**) as interações hidrofóbicas com alguns resíduos do sítio periférico (resíduos coloridos em violeta) principalmente Trp279 e Phe290, são responsáveis pela estabilização do complexo enzima-inibidor (Figura 19). Pode-se observar a proximidade de 1,76 Å entre a metila do grupo etóxi ligado ao fósforo e o resíduo Trp279 e 2,99Å entre a metila do grupo etóxi do carbamato e o resíduo Phe290.

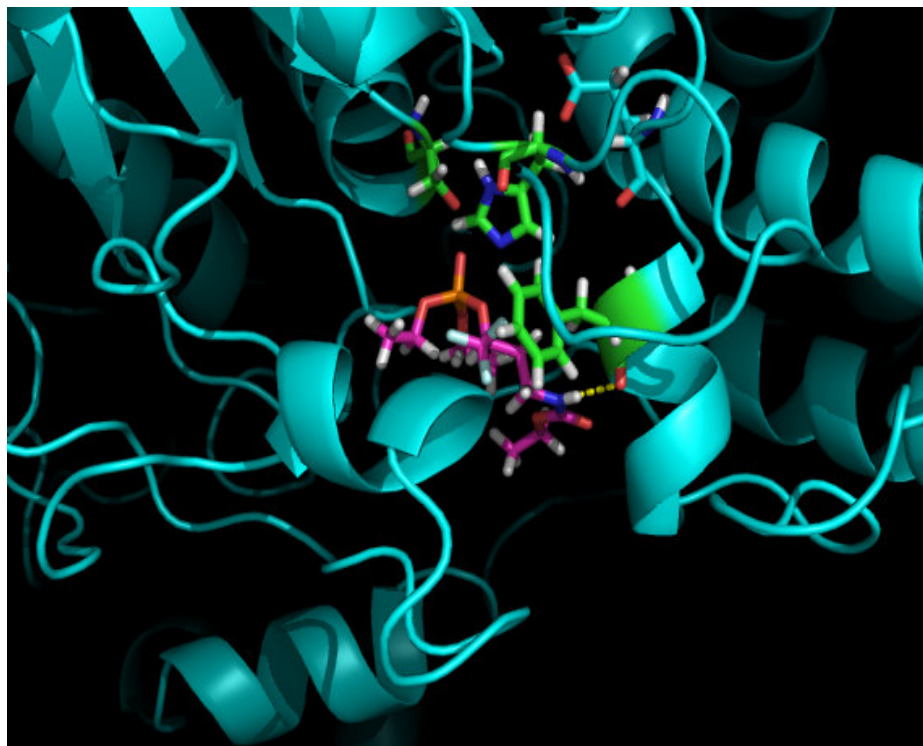


Figura 18: Contato polar do inibidor **6**

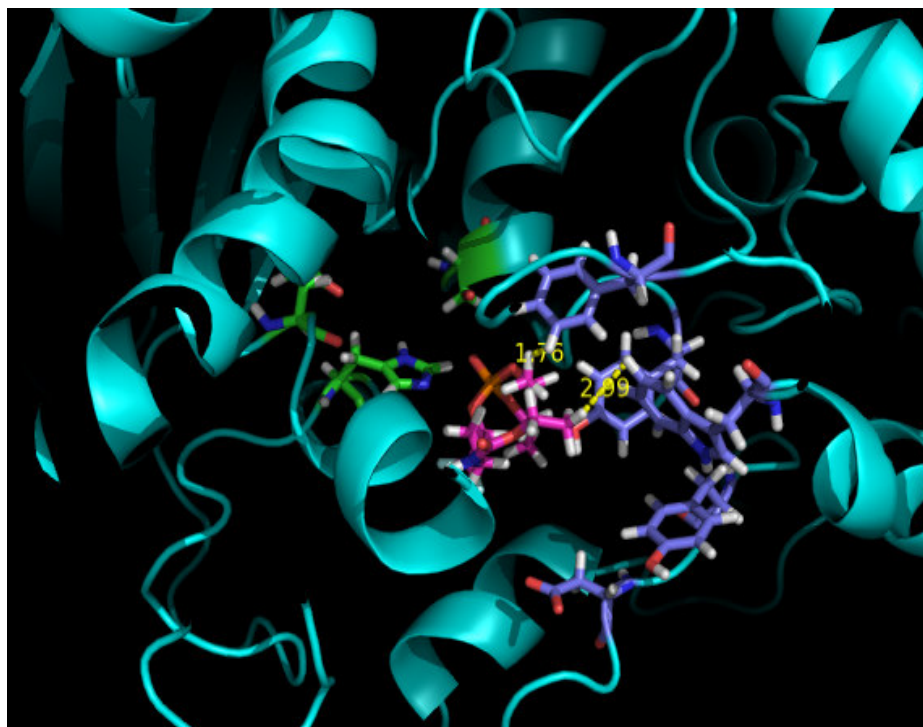


Figura 19: Interações hidrofóbicas do inibidor **6** com os resíduos do sítio periférico

Os compostos **10** e **13** não mostraram resultado satisfatório e o composto **12** falhou no resultado do docking no programa FlexX. Para uma comparação, o protocolo de docking como implementado no GOLD 2.1 (Cambridge Crystallographic Data Centre, Cambridge, UK) foi empregado para estudo dos mesmos ligantes. Dados cristalográficos para a AChE usados nessas simulações foram obtidos do *Protein Data Bank* (código PDB: 1EA5). As moléculas de água foram removidas e átomos de hidrogênio foram acrescentados usando-se o módulo Biopolymer como implementado no SYBYL 7.2. Esta estrutura cristalográfica não contém inibidor ligado ao sítio ativo da mesma. A complementariedade das estruturas cristalográficas 1VXR e 1EA5 foram observadas através da sobreposição das mesmas no programa Pymol 0.99 (DeLano Scientific, San Carlos, USA), onde pode-se ver que são idênticas. O sítio ativo foi centrado pelas coordenadas em torno do átomo de fósforo do inibidor

ligado à estrutura de código 1VXR e um raio de 10 Å foi considerado a partir deste ponto para o procedimento de *docking*.

Os resultados indicam a aproximação do fosfato, sendo que o composto **12** falhou novamente, ou seja, nenhum dos dois programas foi capaz de encontrar uma posição favorável de interação do **12** mostrando a aproximação do fosfato ou do carbamato ao sítio ativo da enzima.

4.3.2.2 – FOSFONAMIDAS 14-19

Os compostos **14-19** ainda não foram testados para a inibição da acetilcolinesterase, portanto, o *docking* é uma importante contribuição a fim de saber previamente se esta classe de organofosforado demonstrará inibição e se neste caso o grupo com fósforo ainda será o responsável pela atividade ou se a preferência de aproximação ao resíduo de serina será do carbamato.

A conformação de cada molécula (fosfonamidas **14-19**) foi energeticamente minimizada empregando campo de força Tripos e cargas Gasteiger-Huckel. O valor da energia é dado em cal/mol.

O *docking* foi obtido com bom resultado no programa FlexX com a estrutura da acetilcolinesterase 1VXR (código *Protein Data Bank*) e as mesmas distâncias utilizadas para os fosfatos **5-13**, 9Å em relação ao ligante (sítio) e 4Å em relação a serina (subsítio), porém, o resultado obtido foi diferente. Para as fosfonamidas o grupo que mostra aproximação do resíduo Ser200 é o carbamato.

A Figura 20 mostra a aproximação do grupo carbamato da fosfonamida **14** (colorida em azul). Os resíduos coloridos em verde são resíduos componentes do sítio ativo (Ser200, His440).

Para os compostos **14** e **16** pode ser observada a interação do grupo carbamato com o oxigênio do resíduo Glu199 através de uma ligação de hidrogênio (Figura 21). Os resíduos coloridos em amarelo são Glu199 e Ser 122. Para o composto **14** observa-se uma interação polar entre o nitrogênio das piperidinas com o oxigênio do resíduo Ser122. As interações hidrofóbicas com os resíduos do sítio periférico não foram observadas para estes compostos.

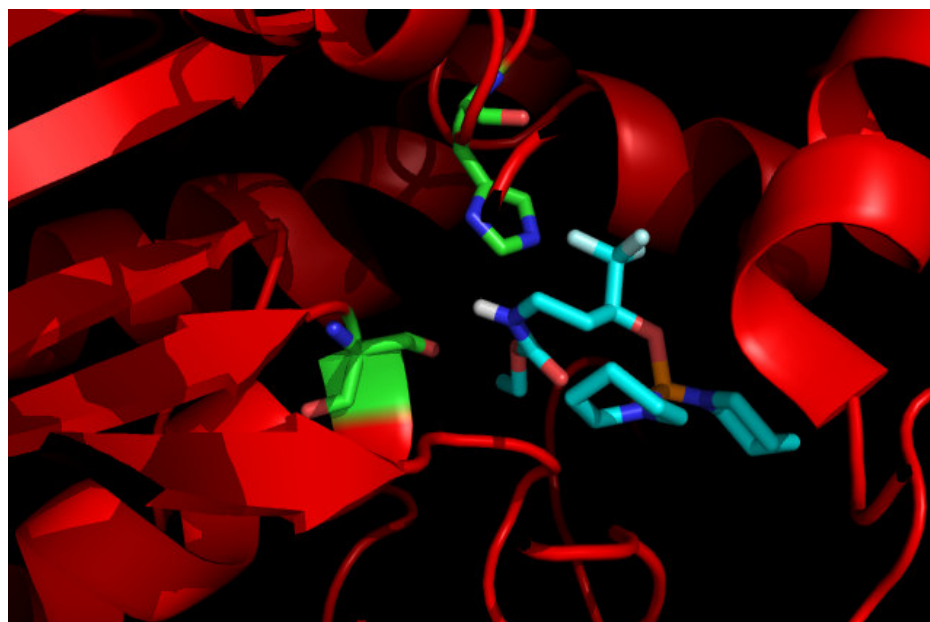


Figura 20: Aproximação do composto **14** do sítio ativo

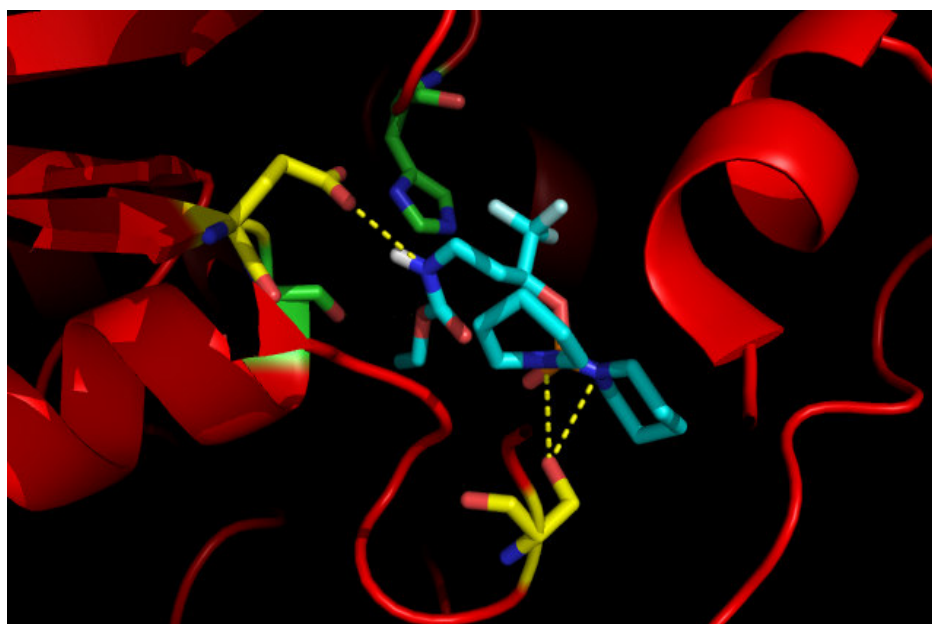


Figura 21: Contatos polares do composto **14**

A estrutura da AChE visualizada com a superfície mostra claramente a entrada, ou cavidade que leva aos resíduos do sítio ativo da enzima. As Figuras 22 e 23 mostram o composto **14** após o *docking* dentro da cavidade da AChE (complexo enzima-inibidor) representada com a superfície.

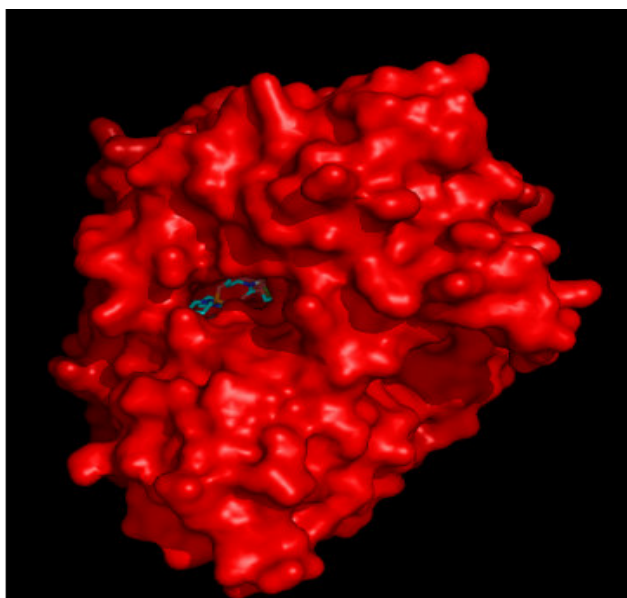


Figura 22: Estrutura da AChE representada com a superfície contendo o composto

14

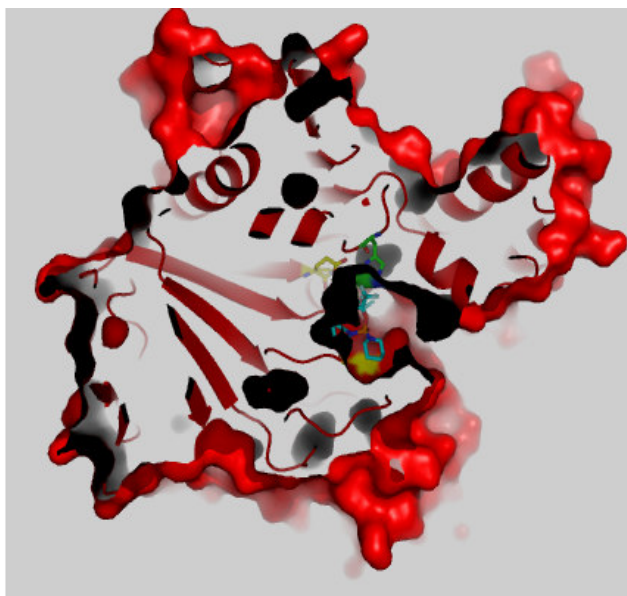


Figura 23: Visão lateral da cavidade da AChE contendo o composto **14**

4.3.3– ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

As oxatiazinanas **22** e **34-36** foram testadas contra microorganismos incluindo fungos, bacterias e algas mas não foi observada atividade.

Os microorganismos utilizados nos testes foram os seguintes: *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Criptococcus neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*, *Prototheca zopfii*.

IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS

5 – IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS

2, 3, 5-19, 22, 23, 27-32, 34-36, 39 e 40

A identificação dos compostos sintetizados neste trabalho foi realizada por diferentes técnicas, entre elas, ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P , espectroscopia de 2D (COSY H-H), difração de raios-X, espectrometria de massas acoplada a cromatografia gasosa, cromatografia gasosa em coluna quiral e análise elementar. Para cada composto ou série foram utilizadas as técnicas mais adequadas para uma melhor identificação.

A numeração colocada nas estruturas mostradas nas Figuras 24 e 25 é somente para atribuição dos sinais dos espectros de RMN.

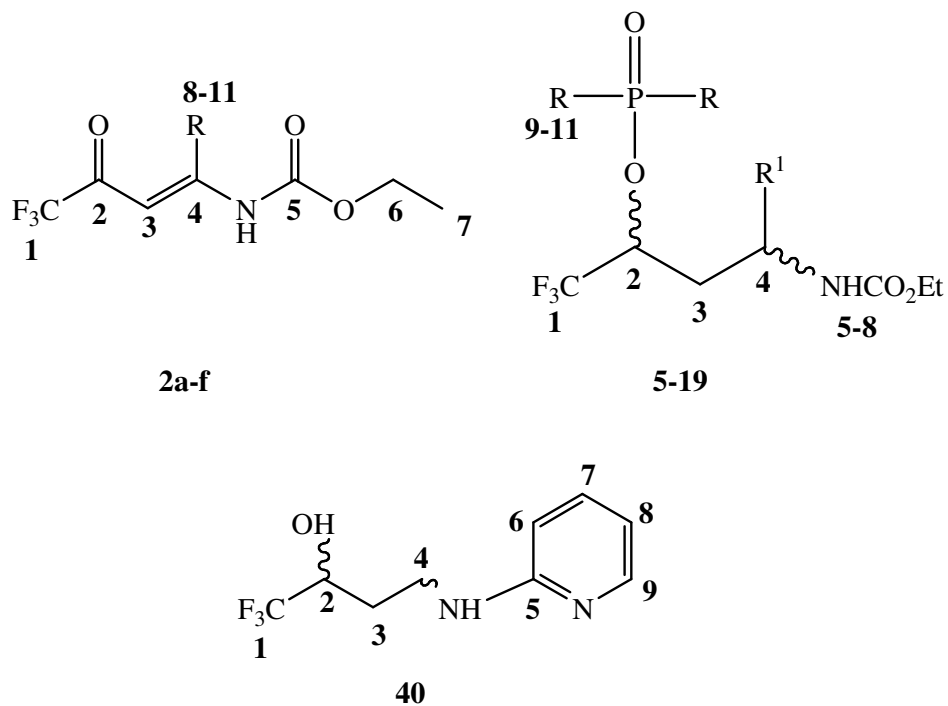


Figura 24: Numeração das estruturas para a atribuição dos sinais dos espectros de RMN

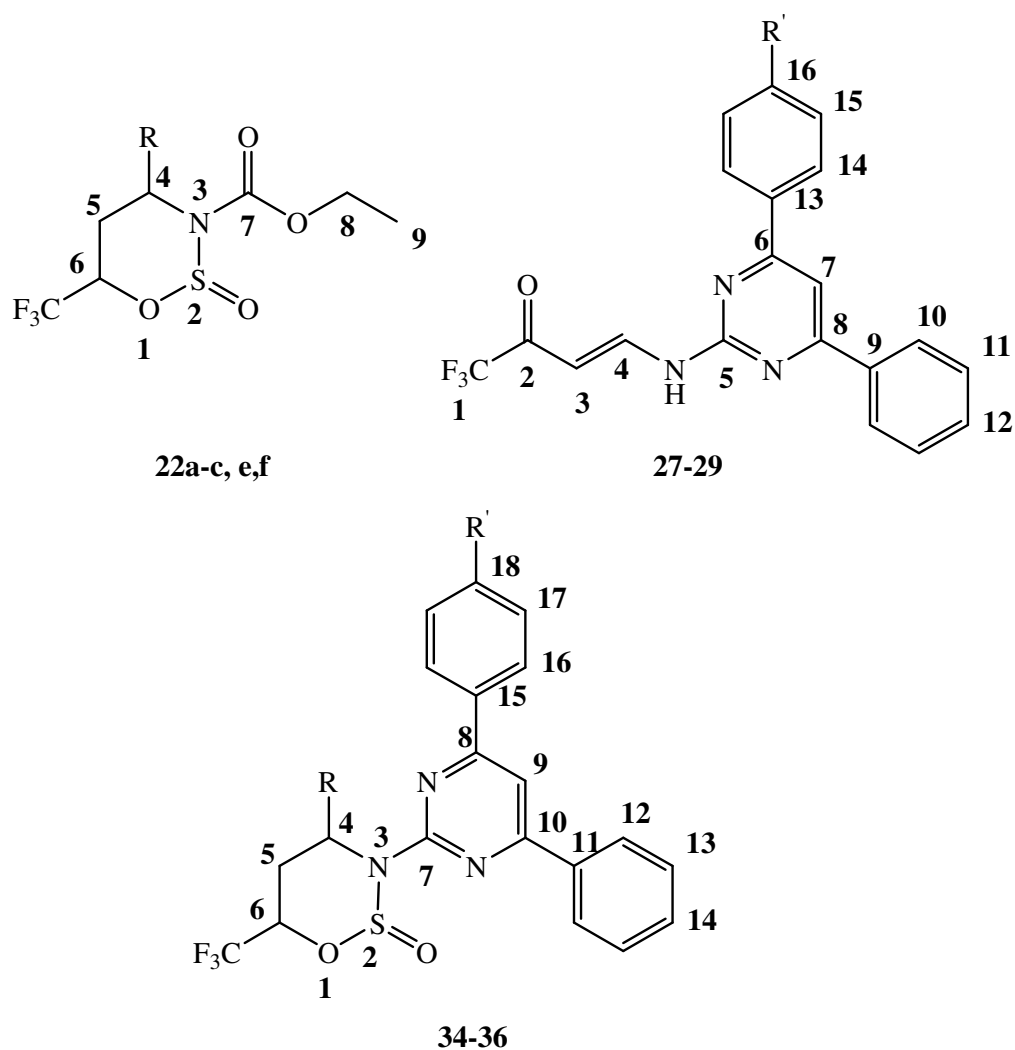


Figura 25: Numeração das estruturas para a atribuição dos sinais dos espectros de RMN

5.1 - IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS 2 E 27-29 POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹H E ¹³C

Os espectros foram registrados em clorofórmio-d₁ ou DMSO-d₆ utilizando o tetrametilsilano como referência interna. Os parâmetros de aquisição dos espectros e os dados de RMN dos compostos estão apresentados na parte experimental.

Foi observado nos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C para os compostos da série **2** e **27-29** os sinais característicos desta classe de compostos.

Acompanhando a numeração dada aos compostos apresentados nos espectros, observa-se que os sinais tem pequena variação, por esta razão discutiremos os sinais mais relevantes para a identificação de dois compostos com diferentes grupos ligados ao nitrogênio da enamino cetona, um com o grupo carbamato e outro com o heterociclo pirimidina. Os dados espectrais dos demais compostos estão descritos na parte experimental.

Para o composto **2c** observa-se em 1,32 ppm um sinal que se refere ao hidrogênio da metila H-7 em forma de triplete devido ao acoplamento com o hidrogênio H-6 do CH_2 vizinho. Na região de 4,23 ppm aparece um sinal que se refere ao hidrogênio H-6 em forma de quarteto devido ao acoplamento com o hidrogênio H-7 vizinho. O sinal que observa-se em 5,65 ppm se refere ao hidrogênio vinílico H-3 α -carbonílico em forma de singlete, pois na posição do H-4 existe o grupo propil ligado ao mesmo carbono. Os demais sinais deste espectro referem-se aos prótons H-8, H-9 e H-10 do grupo propil.

Para o composto **28** observa-se em 7,77 ppm um sinal que se refere ao hidrogênio pirimidínico. O hidrogênio vinílico H-3 α -carbonílico aparece em 5,79 ppm em forma de duplete devido ao acoplamento com o outro hidrogênio vinílico H-4. Outro sinal característico dos enamino compostos, referente ao hidrogênio vinílico H-4 β -carbonílico que aparece em 8,51 ppm como um duplete de dupletos, devido ao acoplamento deste com o hidrogênio vinílico H-3 e também com o hidrogênio ligado ao átomo de nitrogênio do grupo amino. O acoplamento de 8 Hz entre os hidrogênios vinílicos é característico de configuração *Z*. O NH aparece em 11,5 ppm em forma de duplete devido ao acoplamento com o H-4. Adicionalmente, têm-se ainda os sinais dos hidrogênios das fenilas na região de 7,0 – 8,3 ppm.

Para o composto **27** o acoplamento dos hidrogênios vinílicos é de 12,0 Hz apresentando, portanto, configuração *E*. A configuração *E* da dupla é geralmente observada quando espectros de β -enamino cetonas são registrados em DMSO-d_6 , como neste caso. O espectro foi registrado em DMSO-d_6 porque o composto **27** não foi solúvel em CDCl_3 .

Nos espectros de RMN de ^{13}C totalmente desacoplados, também os sinais para todos os enamino compostos obtidos são muito semelhantes.

Para o composto **2c** em 14,1 ppm aparece um sinal referente ao C-7 da metila do carbamato e em 62,5 ppm aparece o outro sinal do carbamato referente ao C-6. Na região de 95,7 ppm aparece um sinal referente ao carbono vinílico C-3, α -carbonila. Em 116,4 ppm aparece um sinal sob a forma de quarteto referente ao C-1 ligado a três átomos de flúor. O carbono C-4 que é o carbono vinílico β -carbonila mostra um sinal na região de 151,7 ppm. O carbono carbonílico C-2 mostra um sinal em 179,9 ppm sob forma de quarteto devido ao acoplamento com o CF_3 . Os demais carbonos referem-se ao grupo propil ligado ao carbono 4. A Figura 26 apresenta os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto **2c** onde podem ser observadas as regiões características dos sinais dos compostos **2**.

Para o composto **28** na região de 92,2 ppm aparece um sinal referente ao carbono vinílico C-3, α -carbonila. Em 107,9 ppm observa-se o sinal referente ao C-7 do anel pirimidínico. Em 116,5 ppm aparece um sinal sob a forma de quarteto referente ao C-1 ligado a três átomos de flúor. O carbono C-4 que é o carbono vinílico β -carbonila mostra um sinal na região de 147,5 ppm. O carbono carbonílico C-2 mostra um sinal em 180,8 ppm sob forma de quarteto devido ao acoplamento com o CF_3 . Os demais carbonos referem-se ao anel pirimidínico e as fenilas ligadas a este heterociclo.

A Figura 27 apresenta os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto **28** respectivamente, onde podem ser observadas as regiões características dos sinais dos compostos **27-29**.

A numeração colocada nas estruturas mostradas nos espectros é utilizada somente para fins de atribuição dos sinais.

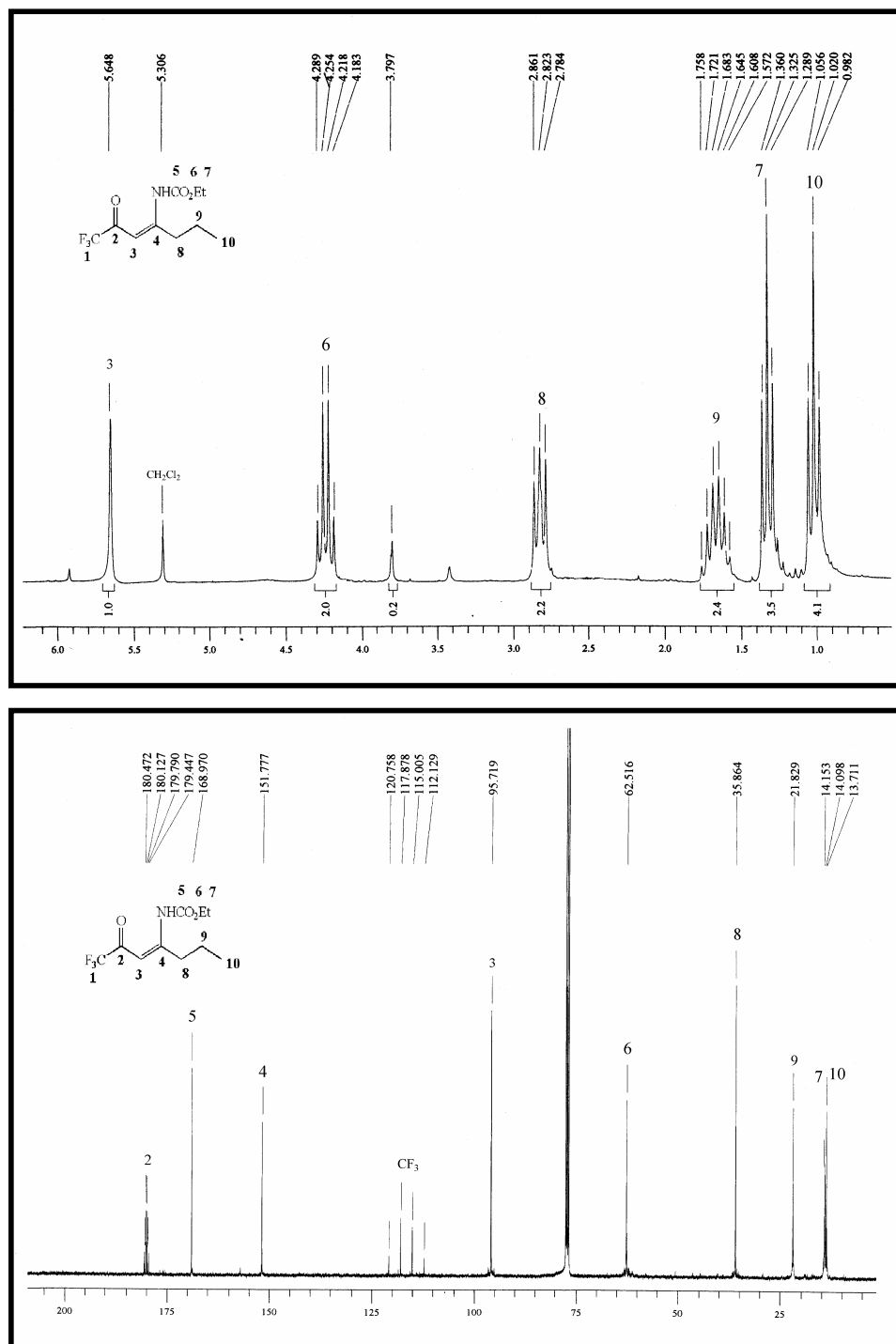


Figura 26: Espectro de (a) RMN ^1H a 200 MHz em CDCl_3 e espectro de (b) RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100 MHz em CDCl_3 para o composto 5,5,5-trifluoro-4-oxo-2-hepten-2-il-carbamato de etila **2c**

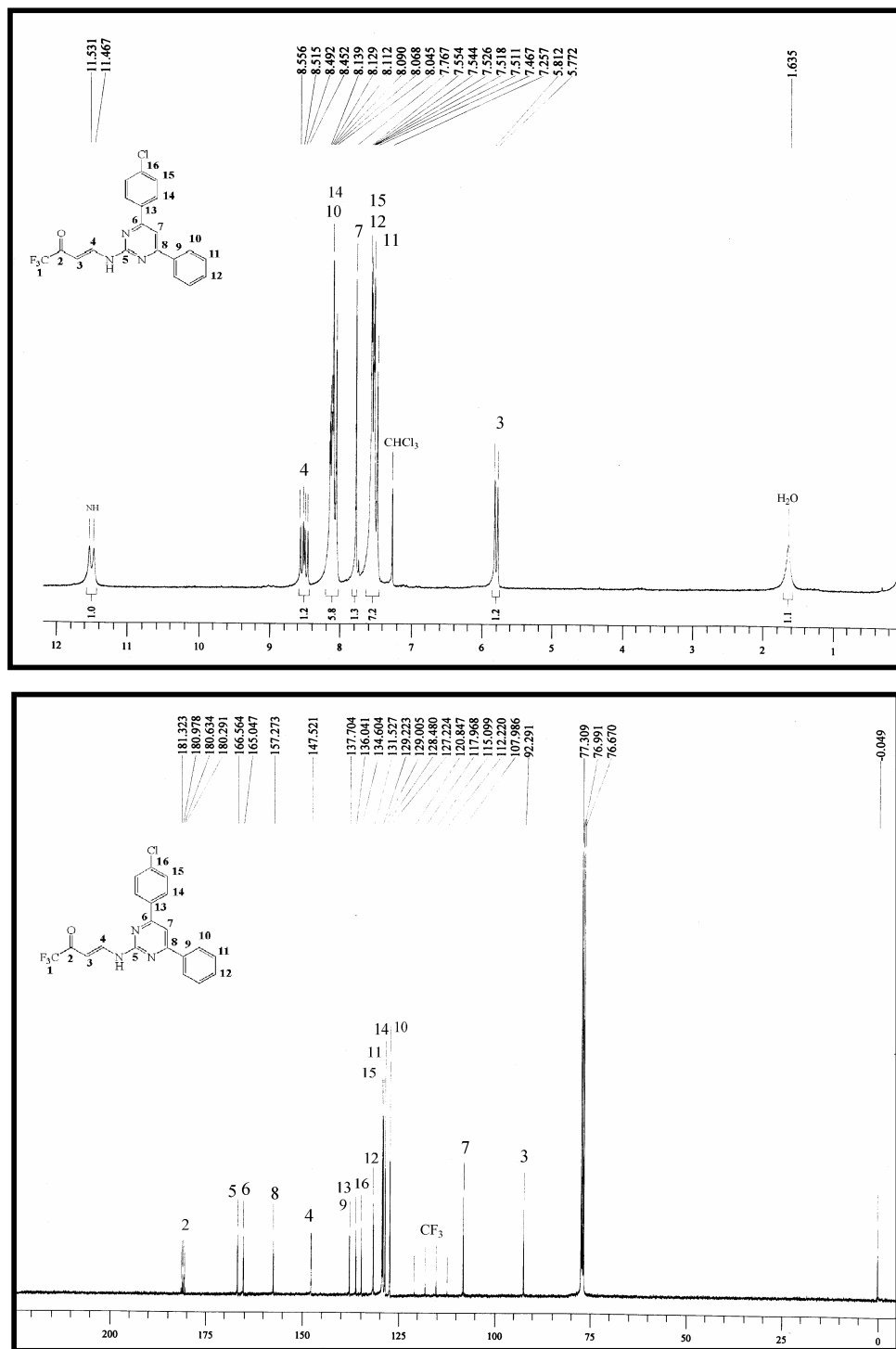


Figura 27: Espectro de (a) RMN ^1H a 200 MHz em CDCl_3 e espectro de (b) RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100 MHz em CDCl_3 para o composto 4-[4-(4-cloro-fenil)-6-fenil-pirimidin-2-ilamino]-1,1,1-trifluor-but-3-en-2-ona **28**

5.2 – IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS 3 E 30-32 POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H E ^{13}C

Mantendo-se a numeração atribuída às estruturas dos compostos **2a-f** e **27-29** podemos notar o surgimento de um sinal com multiplicidade complexa na região de 3,3-4,2 ppm referente ao hidrogênio H-2, hidrogênio presente nos compostos **3** e **30-32** devido a redução da carbonila dos compostos **2** e **27-29** para álcool. O H-3 para os enamino compostos **2** aparece como singlete na região de 5,6 ppm, e após redução, os dois hidrogênios passam para a região de 1,4-1,9 ppm como multipletos devido ao acoplamento com o H-2 e com o H-4. Já para os compostos **27-29** o H-3 aparece como duplete na região entre 5,7-6,24 ppm, e após redução, os dois hidrogênios passam para a região de 1,7-2,1 ppm como multipletos devido ao acoplamento com o H-2 e com os dois H-4. Outra mudança após redução é o H-4. Para os compostos **3** este hidrogênio mostra um sinal em 3,6-3,8 ppm em forma de multiplete. Para os compostos **27-29**, o H-4 que antes da redução aparecia na região de 8,5 ppm em forma de duplete de dupletos, aparece como um multiplete entre 3,6-3,8 ppm na mesma região dos compostos **3**. Os demais sinais dos compostos sofrem pequenas variações de deslocamentos em relação aos seus precursores. A Figura 28 apresenta o espectro de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto **31**.

Pelos espectros totalmente desacoplados de RMN de ^{13}C também ocorrem mudanças características que confirmam a redução dos compostos **2** e **27-29**. Três carbonos comprovam a redução total dos compostos, o carbono carbonílico que aparece na região entre 178-180 ppm para os compostos **2** e **27-29**, passa para a região de 66,4-68,7 ppm para os compostos **3** e **30-32**. Os carbonos da dupla ligação C-3 e C-4 também apresentam mudança significativa de deslocamento. O C-3 passa da região de 92,2-101 ppm para a região entre 29,3-36,9 ppm e o C-4 da região de 147,5-157,5 ppm para a região entre 36,6-48,8 ppm confirmando a redução da dupla ligação.

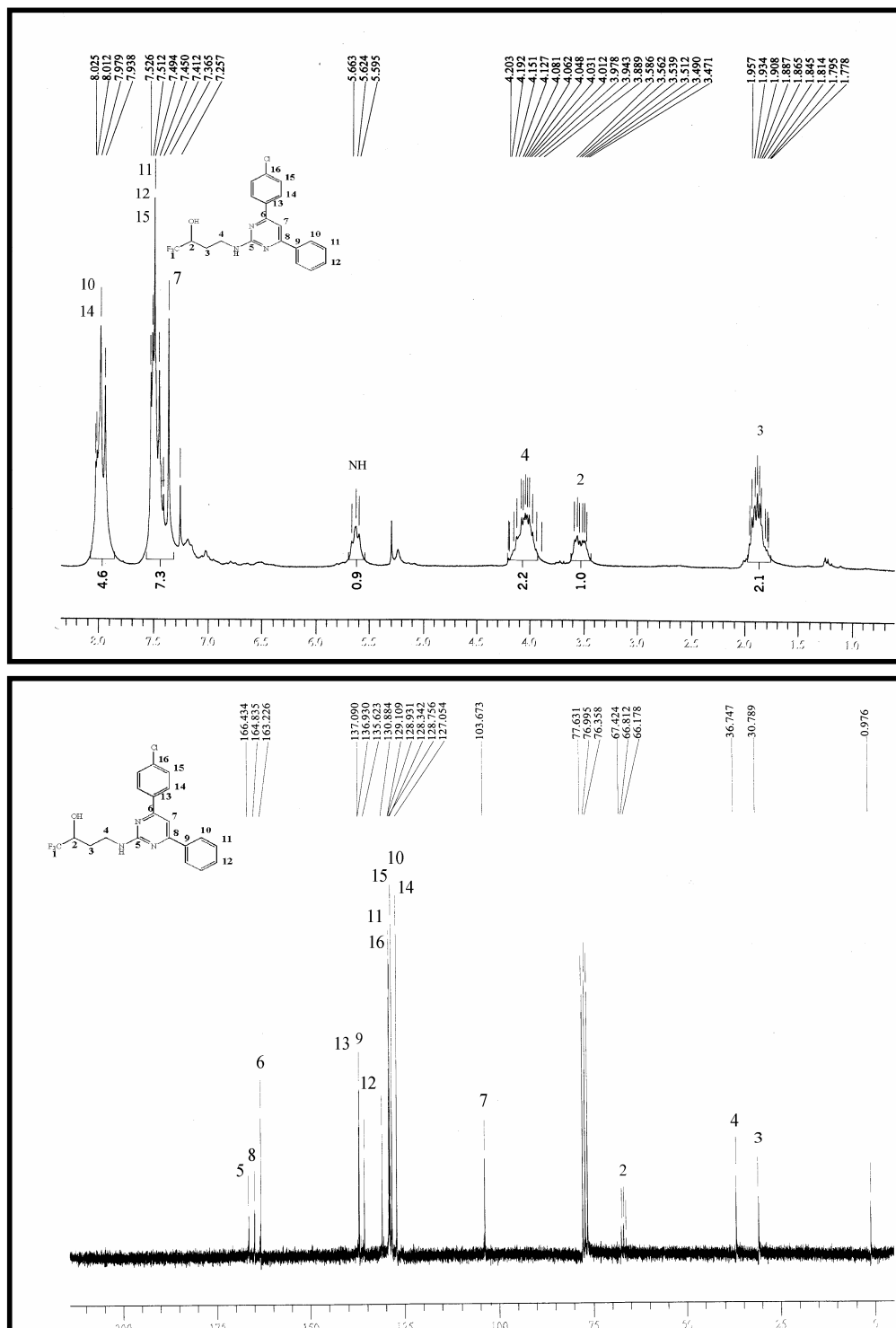


Figura 28: Espectro de (a) RMN ^1H a 200 MHz em CDCl_3 e espectro de (b) RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 50 MHz em CDCl_3 para o composto 4-[4-(4-cloro-fenil)-6-fenil-pirimidin-2-ilamino]-1,1,1-trifluor-butan-2-ol **31**

5.3 - IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS 5-19 POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H E ^{13}C

Os fosfatos e fosfonamidas **5-19** foram obtidos através de reação dos amino álcoois com oxiclureto de fósforo e álcoois ou aminas, ou seja, a adição de um grupo fosforado na molécula e um grupo alcóxi ou amina, por isso, os espectros de RMN de ^1H demonstram algumas variações de deslocamentos para os sinais em relação aos amino álcoois e o surgimento de novos sinais.

A evidência para a formação de produtos fosfato com o grupo OCH_3 é o aparecimento de dupletos no espectro de RMN de ^1H com deslocamento de 3,7–3,8 ppm e constantes de acoplamento entre 10,8–11,6 Hz. A formação de produtos fosfato com grupos OCH_2CH_3 e $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ pode ser confirmada no espectro de RMN de ^1H por observar-se o aumento da integração do grupo etoxila que se encontra sobreposto ao grupo etoxila do carbamato, e o aparecimento de sinais de deslocamentos químicos 4,4–4,6; 5,1–5,4; 5,8–6,0 ppm relativos aos prótons do grupo alil.

A formação das fosfonamidas pode ser confirmada no espectro de RMN de ^1H por observar-se o aparecimento de multipletos em 1,5 e 3,0 ppm relativos a piperidina e os multipletos em 3,1 e 3,6 ppm relativos a morfolina. O espectro de RMN de ^{13}C confirma a formação dos produtos fosfato e fosfonamida devido a observação da multiplicidade de carbonos vizinhos a duas e três ligações do átomo de fósforo. Adicionalmente, o espectro de RMN de ^{13}C mostra acoplamento do carbono do grupo trifluormetil C-1 e o carbono C-2 com o átomo de fósforo, mostrando-se como duplete de dupletos. Como exemplo serão mostrados os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C para dois compostos, um fosfato e uma fosfonamida (Figuras 29 e 30, respectivamente) e os dados espectrais para os demais compostos, dessas duas séries, estão descritos na parte experimental.

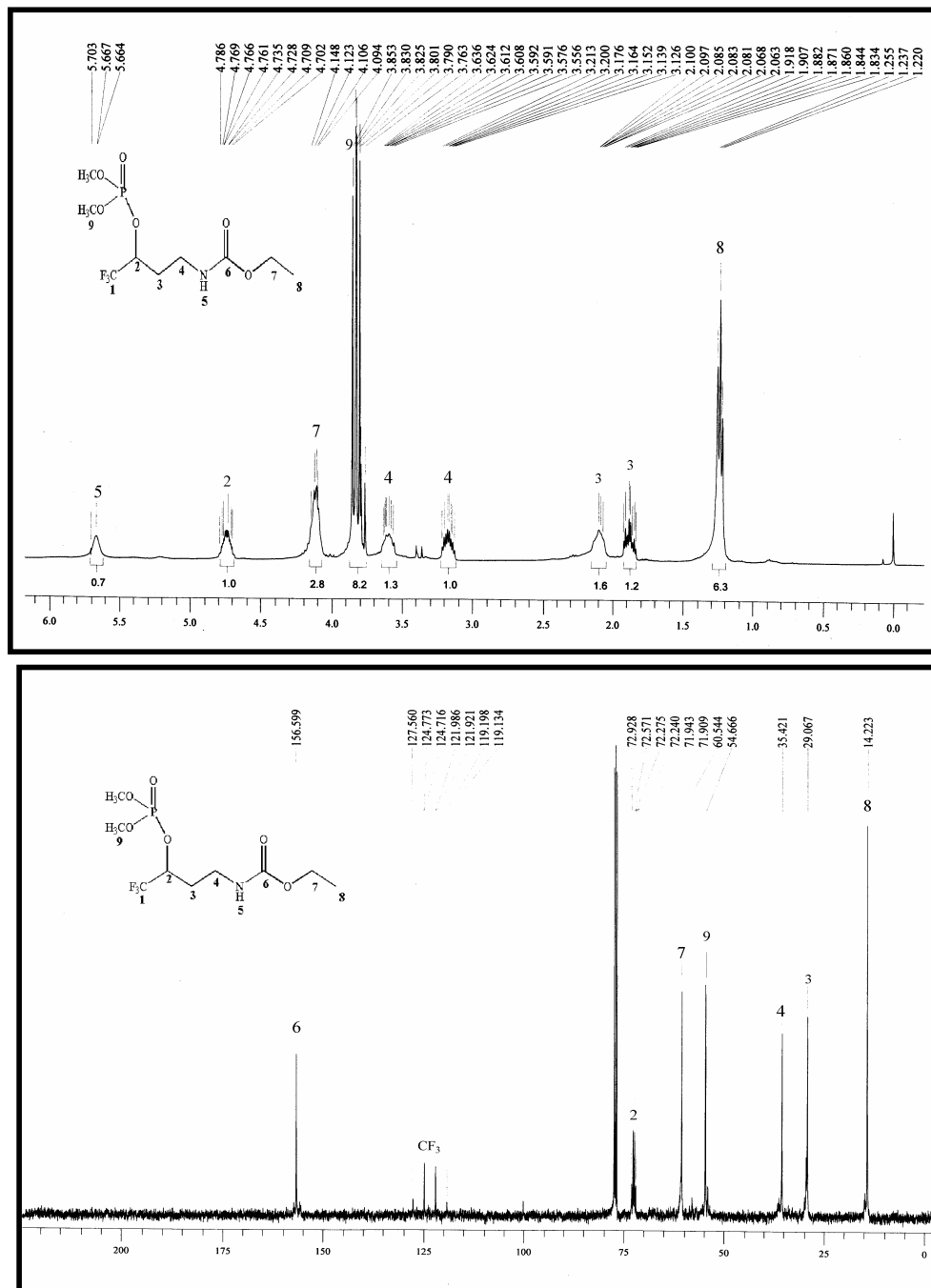


Figura 29: Espectro de (a) RMN ^1H a 200 MHz em CDCl_3 e espectro de (b) RMN ^{13}C { ^1H } a 100 MHz em CDCl_3 para o composto [3-(Dimetoxi-fosfato)-4,4,4-trifluor-but-1-il]-carbamato de etila **5**