

## COMPOSTOS ORGANOFOSFORADOS PENTAVALENTES: HISTÓRICO, MÉTODOS SINTÉTICOS DE PREPARAÇÃO E APLICAÇÕES COMO INSETICIDAS E AGENTES ANTITUMORAIS

Viviane Martins Rebello dos Santos e Claudio Luis Donnici

Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antonio Carlos, 6627, 31270-901 Belo Horizonte - MG, Brasil

João Batista Neves DaCosta\* e Janaína Marques Rodrigues Caixeiro

Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Br-465, km 7, 23890-000 Seropédica - RJ, Brasil

Recebido em 24/6/05; aceito em 13/2/06; publicado na web em 28/11/06

ORGANOPHOSPHORUS PENTAVALENT COMPOUNDS: HISTORY, SYNTHETIC METHODS OF PREPARATION AND APPLICATION AS INSECTICIDES AND ANTITUMOR AGENTS. This paper is a review of the history, synthesis and application of organophosphorus compounds, especially of those of pentavalent phosphorus, such as phosphoramidates, phosphorothioates, phosphonates and phosphonic acids with insecticide and anticancer activities. The organophosphorus compounds with agrochemical applications show great structural variety, They include not only insecticides, but also fungicides, herbicides, and others. The large variety of commercially available organophosphorus pesticides is remarkable. Even more interesting is the high efficiency of some organophosphorus compounds as anticancer agents such as cyclophosphamide and its derivatives.

Keywords: organophosphorus compounds; insecticides; anticancer agents.

### INTRODUÇÃO

Os primeiros compostos organofosforados foram preparados por alquimistas na Idade Média, mas seu estudo sistemático teve início no século XIX, por Lassaigne em 1820, com a esterificação de ácido fosfórico. Vinte cinco anos mais tarde, uma série de derivados de fosfinas foi preparada por Thinnard e colaboradores e a partir destes trabalhos o progresso da investigação dos compostos de fósforo foi rápido<sup>1</sup>. Seu desenvolvimento, a partir da segunda metade do século XIX, foi dominado por Michaelis, sendo sucedido por A. E. Arbuzov e, mais tarde, pelo seu filho B. A. Arbuzov, além de pesquisadores britânicos e alemães<sup>1</sup>. A descoberta das propriedades tóxicas e inseticidas de alguns compostos de fósforo por Shrader e colaboradores, em 1930, criou novos compostos organofosforados nas indústrias<sup>2</sup>. A química dos compostos organofosforados foi estudada, em 1949, por G. M. Kosolapoff<sup>3</sup> e trabalhos mais recentes de revisão podem ser encontrados na literatura de Coffey<sup>4</sup>.

O átomo de fósforo é polarizável, de baixa a média eletro-negatividade, usualmente tem número de coordenação igual a três, enquanto o pentavalente possui três átomos ligados por ligação simples e uma ligação dupla com o átomo de oxigênio ou com outros átomos bivalentes. Existem algumas exceções que incluem os sais fosfônicos quartenários ( $R_4P^+X^-$ ) e as fosforanas ou ilídeos. Os compostos de fósforo trivalentes são bons agentes redutores por causa da forte reatividade dos pares de elétrons não ligantes e da facilidade de formação da ligação P=O e, por isto, os compostos fosforados são rapidamente oxidados por oxigênio, ozônio, peróxidos e outros agentes oxidantes. A força da ligação carbono-fósforo é similar à da ligação carbono-carbono e muito resistente para oxidação e hidrólise<sup>5</sup>. As diferentes atividades dos compostos organofosforados estão relacionadas, evidentemente, com características estruturais, tais como o tipo de heteroátomo ou grupo funcional ligado ao átomo de fósforo e seu estado de oxidação.

Estudos a respeito da conversão de compostos carbonílicos em alcenos por Wittig<sup>2,6</sup> e o uso de catálise homogênea abriram novas áreas no uso de compostos de fósforo em síntese orgânica. Mais recentemente, a preparação de compostos pentavalentes de fósforo estáveis e as discussões de processos de pseudorotações por Westheimer e outros conduziram a um maior progresso nesta área<sup>2</sup>.

Atualmente, vários compostos de fósforo usados comercialmente são inorgânicos, mas compostos de fósforo orgânicos estão se tornando bastante importantes. Eles são usados como anti-oxidantes e estabilizantes para plásticos e óleos industriais, e em diversas áreas de aplicação, assim como resistência à corrosão, extração e complexação e como agroquímicos (inseticidas, fungicidas, herbicidas)<sup>7</sup>. Entre as diversas aplicações industriais pode ser citado o uso como reagente de flotação, matéria-prima na síntese de plásticos não inflamáveis, antioxidantes, plastificantes, aditivo para óleos lubrificantes e combustíveis hidrocarbônicos, solventes aplicados em extrações seletivas e, principalmente, como inseticidas<sup>1,4,5</sup> e agentes antitumorais<sup>8,9</sup>. As aplicações industriais, junto com o aumento do uso de compostos de fósforo em síntese orgânica e na química de compostos organometálicos, têm adquirido um rápido aumento na literatura da química de organofosforados.

Os compostos de fósforo estão entre os precursores necessários à vida e estão presentes na natureza há muito tempo. São os constituintes essenciais do protoplasma e possuem um papel importante para a manutenção da vida, por ex., como ácidos nucleicos, coenzimas nucleotídeos, intermediários metabólicos e fosfatídeos. No entanto, o estudo da reatividade e da síntese destes compostos é relativamente recente.

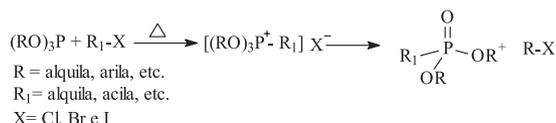
### MÉTODOS SINTÉTICOS PARA OBTENÇÃO DE COMPOSTOS ORGANOFOSFORADOS

Como já mencionado, o fundador da química dos compostos organofosforados foi A. Michaelis que, no final do século XIX,

\*e-mail: dacosta@ufrj.br

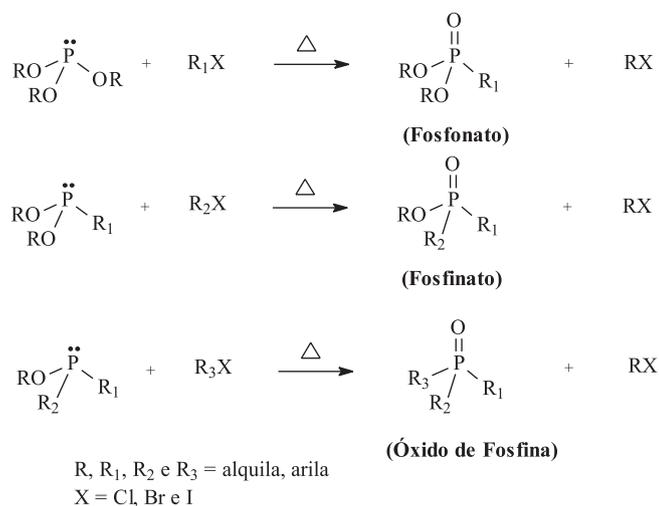
explorou a nucleofilia do fósforo<sup>10</sup>, que foi estudada em detalhes por Arbuzov<sup>11</sup> e vários outros cientistas subsequentes<sup>12</sup>.

Uma das mais valiosas contribuições de Arbuzov e Michaelis para o estudo de compostos organofosforados é a reação chamada de Michaelis-Arbuzov, mais comumente conhecida como transformação de Arbuzov ou rearranjo de Arbuzov. É um dos caminhos mais versáteis para formação da ligação carbono-fósforo, que envolve a reação de um fosfito de trialquila com um halogeneto de alquila<sup>2,4,11</sup>(Esquema 1).



**Esquema 1.** Reação de Michaelis-Arbuzov ou rearranjo de Arbuzov

Esse rearranjo é um dos mais investigados dentre as reações de compostos organofosforados e é amplamente empregado para a síntese de fosfonatos, fosfinatos e óxidos de fosfinas<sup>13</sup>. Durante a transformação, o fósforo trivalente é convertido em fósforo pentavalente. Em geral, o grupo alquila do halogeneto liga-se ao fósforo e um grupo alquila do fósforo é combinado com o halogênio para formar um novo halogeneto de alquila (Esquema 2).

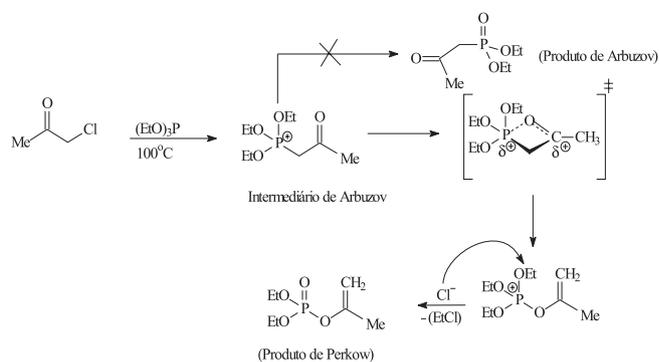


**Esquema 2.** Obtenção do fosfonato, fosfinato e óxido de fosfina a partir do rearranjo de Arbuzov

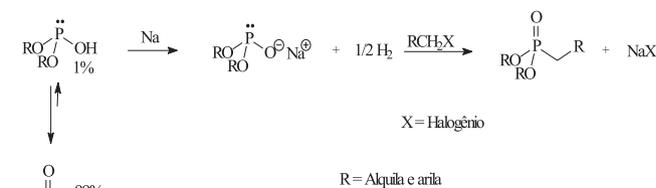
A literatura registra que a conversão de P-O-C para P(=O)-C (P<sup>III</sup> → P<sup>V</sup>) envolve um ganho líquido de energia em torno de 32-65 kcal/mol na estabilização total da ligação e, portanto, age como força diretora do rearranjo<sup>14</sup>.

A reação de Michaelis-Arbuzov não é empregada com sucesso na síntese de β-cetofosfonatos provenientes de compostos carbonilados, aldeídos e cetonas, α-halogenados. Neste caso, o que ocorre é a reação de Perkow<sup>15</sup>, obtendo-se como produto o fosfato de dialquilvinila, conhecido como produto de Perkow, pois a ligação P-O é formada em detrimento à ligação P-C<sup>16,17</sup>(Esquema 3).

Outra reação comumente utilizada na química de compostos organofosforados é a reação de Michaelis-Becker<sup>18</sup>, que envolve a síntese de fosfonatos de dialquila, através do deslocamento nucleofílico entre o ânion formado pela reação de fosfito de dialquila em presença de base forte com um halogeneto de dialquila (Esquema 4).

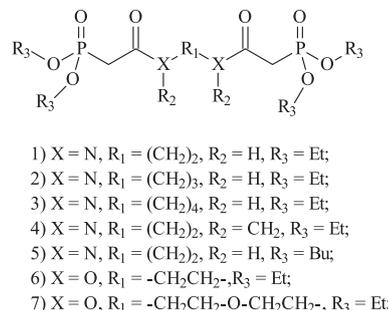


**Esquema 3.** Formação do produto de Perkow



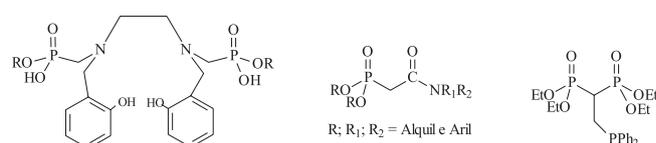
**Esquema 4.** Reação de Michaelis-Becker

As reações de Michaelis-Arbuzov e Michaelis-Becker foram utilizadas por Rodrigues *et al.*<sup>19</sup>, para síntese de sete novos compostos bisfosfonatos (Figura 1) com potencial capacidade de complexação com diferentes metais<sup>13,19-21</sup>. Os compostos foram preparados através da transesterificação de fosfonoacetato de trietila.



**Figura 1.** Novos bisfosfonatos sintetizados a partir das reações de Michaelis-Arbuzov e Michaelis-Becker

Compostos análogos aos sintetizados por Rodrigues *et al.* (Figura 2) apresentam uma forte capacidade de complexação com diversos metais de transição e também são largamente empregados em diagnóstico e tratamento de diversas doenças<sup>22</sup>.



**Figura 2.** Compostos análogos aos bisfosfonatos com forte atividade complexante

Os bisfosfonatos (BPs) formam uma classe de substâncias químicas que apresentam uma ligação P-C-P e que vêm se destacando, atualmente, por agirem como inibidores de reabsorção óssea,

mediada pelos osteoclastos, Figura 3. Estes compostos são extensivamente utilizados no tratamento de várias doenças ósseas, destacando-se a doença de Paget, a hipercalemia maligna, a osteoporose e a doença metastática e osteolítica<sup>23</sup>.

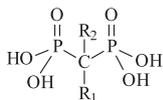
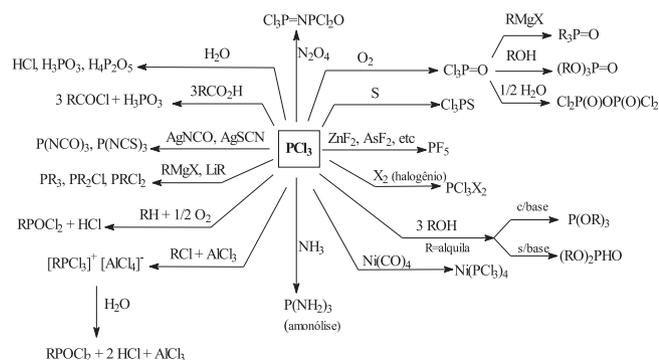


Figura 3. Estrutura química geral dos BP's

Na verdade, dentre os compostos de fósforo trivalente, o tricloreto de fósforo,  $\text{PCl}_3$ , é o reagente mais utilizado na síntese de compostos organofosforados e demais compostos, por ser extremamente reativo, possuindo diversas aplicações sintéticas. O manuseio de  $\text{PCl}_3$  deve ser extremamente cuidadoso, pois é instável, uma vez que é facilmente hidrolisado, devido ao alto poder eletrofílico do átomo de fósforo, ligado a três átomos de cloro. Os reagentes de Grignard são utilizados para obtenção de diversas fosfinas terciárias, que podem ser importantes ligantes para a síntese de complexos com várias aplicações<sup>24</sup> (Esquema 5).



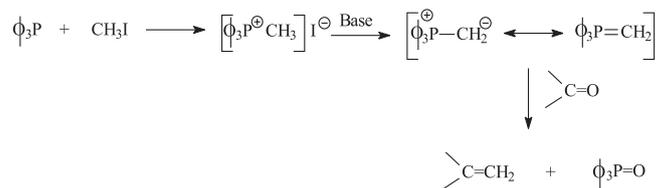
Esquema 5. Diferentes aplicações sintéticas de tricloreto de fósforo

Os reagentes de fósforo-P(III) podem ser usados para a síntese de grande variedade de compostos. Estes reagentes possuem fórmula geral  $(\text{PR}_3)$ , onde R pode ser o grupamento alquila, arila, alcóxila, ariloxila, halogeneto, tioalquila, amino, alquilamino, ou arilamino. Nestes compostos, o átomo de fósforo possui um par de elétrons livres, o qual confere caráter básico e nucleofílico às respectivas moléculas. Quando R é o grupamento alquila ou arila têm-se as fosfinas, que se comparadas às aminas, são bases mais fracas, porém são nucleófilos mais fortes<sup>11</sup>. Neste trabalho, contudo, a atenção será voltada para os derivados análogos a fosfonatos, como os fosforoamidatos e fosforoditioatos.

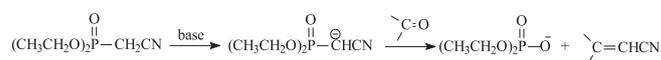
Os fosfitos, assim como as fosfinas, estão envolvidos em uma ampla gama de reações, porque o par de elétrons não-ligantes, presente nestes compostos, age como nucleófilo, atacando o átomo de carbono saturado ou insaturado, ou os átomos de oxigênio, enxofre, halogênio, ou nitrogênio produzindo intermediários que originam diferentes tipos de compostos orgânicos, como por ex., as olefinas. A obtenção de olefinas através da reação de íldeos de fósforo com aldeídos ou cetonas foi uma das mais importantes descobertas da história da Química, sendo comumente conhecida como reação de Wittig<sup>25</sup>. O íldeo de Wittig, que também é conhecido como íldeo de fósforo, é obtido através da reação de uma fosfina, geralmente fosfina de trifenila, com um haleto de alquila (Esquema 6).

Uma modificação da reação de Wittig é a reação de Horner-Emmons (Esquema 7), onde um íldeo é preparado a partir de um

fosfonato, o qual deve possuir um grupo retirador de elétrons ligado ao carbono metilênico<sup>26-29</sup>. Esta reação se torna interessante por possibilitar a síntese de olefinas importantes em reações que envolvem adições de Michael.

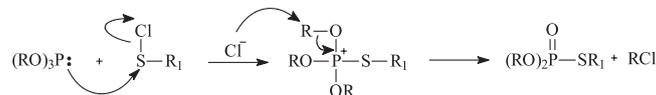


Esquema 6. Obtenção de olefinas através da reação de Wittig



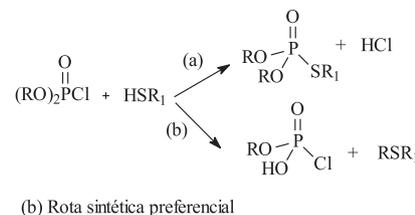
Esquema 7. Obtenção de olefinas através da reação de Horner-Emmons

Os fosfitos de trialquila são agentes nucleofílicos ativos e realizam substituição em átomo de enxofre bivalente ligado a um bom grupo de saída, como os cloretos de sulfenila alquílicos ou acílicos para fornecerem os correspondentes fosforotioatos com bons rendimentos<sup>30</sup>, provavelmente, através de um mecanismo análogo ao de Michaelis-Arbuzov (Esquema 8).



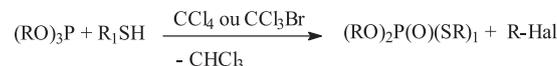
Esquema 8. Mecanismo da reação de fosfito de trialquila com compostos de enxofre

A reação de fosforocloridatos com mercaptanas (Esquema 9) é raramente aplicada à preparação direta de fosforotioatos, pois a fosforilação direta por compostos tiois não é adequada, uma vez que a base (íon mercapteto) prefere atacar o átomo de carbono do grupo alquil-éster em vez do átomo de fósforo<sup>30</sup>.



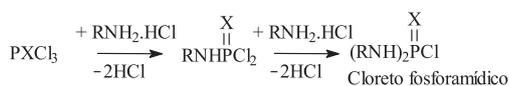
Esquema 9. Reação de cloridrato de dialquila com mercaptanas

A reação de fosfitos de trialquila com tiois e tiofenóis na presença de  $\text{CCl}_4$  ou  $\text{CCl}_3\text{Br}$  conduz à formação de O,O,S-trialquil ou dialquil-S-aril fosforotioatos<sup>31-35</sup> (Esquema 10).



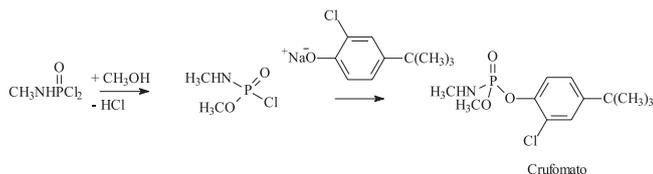
Esquema 10. Preparação de fosforotioatos de O,O,S-trialquil ou dialquil-S-aril

A ligação P-N é geralmente formada por reações de cloretos de fósforo ( $\text{PCl}_3$ ) ou compostos trivalentes de fósforo com diferentes aminas. As ditas fosforamidas são preparadas, muitas vezes, pela reação de cloretos de fósforo com aminas ou amônia<sup>25</sup> (Esquema 11).



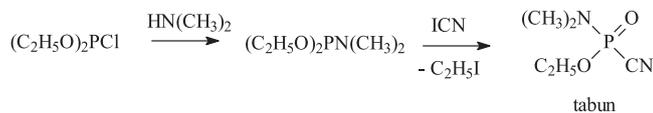
**Esquema 11.** Reação de cloretos de fósforo com aminas

A partir de cloretos fosforamídicos, uma variedade de pesticidas tipo fósforo-alcóxi e fósforo-amido-ésteres pode ser produzida, como por ex., a preparação do pesticida crufomato<sup>7</sup> (Esquema 12).



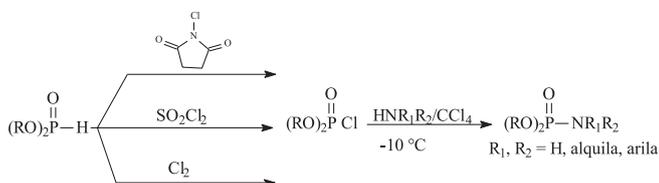
**Esquema 12.** Preparação do inseticida crufomato

Os fosforilcloridretos de dialquila reagem com aminas para preparação dos correspondentes amidetos (Esquema 13) como mostra a preparação do tabun, conhecido como gás do nervo utilizado na II Guerra Mundial por agir no sistema nervoso e, assim, interagir com a AchE de vertebrados e invertebrados, que foi sintetizado por Saunders<sup>29</sup>, em 1957.



**Esquema 13.** Reação de fosforilcloridretos de dialquila com compostos de nitrogênio

Os métodos de síntese de fosforamidas foram descritos a partir de 1945 com uma série de trabalhos realizados por Atherton *et al.*<sup>36</sup>. Nos trabalhos iniciais, fosforilcloridatos de dialquila formados intermediariamente eram usados como agentes de fosforilação, em meio anidro (Esquema 14).

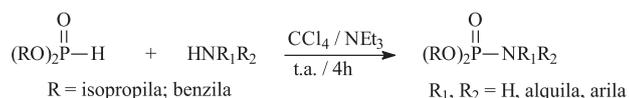


R = isopropila; benzila

**Esquema 14.** Síntese de fosforamidas a partir de fosfito de dialquila

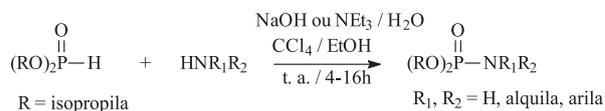
Posteriormente, descobriram que fosfitos de dialquila reagem diretamente com aminas e tetracloreto de carbono em meio básico, de modo mais brando e com resultados igualmente satisfatórios. Os fosfitos de dialquila reagem suavemente com aminas primárias, secundárias ou amônia em tetracloreto de carbono para fornecer fosforoamidatos de dialquila em excelentes rendimentos<sup>36</sup> (Esquema 15).

Com pequenas modificações dos métodos de Atherton *et al.*<sup>36</sup>, e



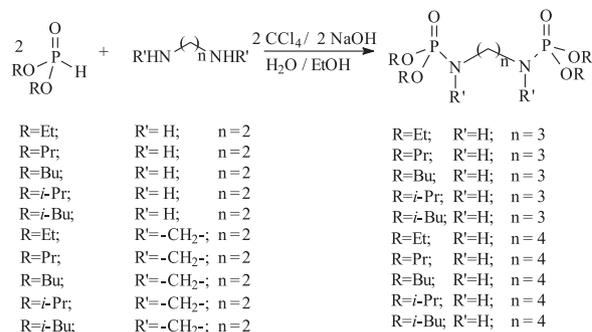
**Esquema 15.** Reações de fosfitos de dialquila com aminas

Zhao *et al.*<sup>37-39</sup> desenvolveram uma nova reação de fosforilação de aminas, que utiliza meio aquoso em reação bifásica com fosfito de diisopropila e tetracloreto de carbono (Esquema 16). Estas modificações melhoram principalmente os rendimentos das reações com aminoácidos e com aminas insolúveis em tetracloreto de carbono.



**Esquema 16.** Fosforilação de aminas em sistemas bifásicos com fosfito de diisopropila e tetracloreto de carbono

Recentemente, Dos Santos e colaboradores<sup>40</sup>, prepararam uma série de vinte novos N,N'-bis(dialquilfosforil)diaminas que foram sintetizadas pela reação de Todd-Atherton modificada, onde fosfitos de dialquila reagem com diferentes diaminas simétricas em um sistema bifásico com rendimentos razoáveis (50-80%) (Esquema 17).



**Esquema 17.** Fosforilação de diferentes aminas em sistemas bifásicos com fosfitos de dialquila para síntese de bisfosforoamidatos

## ATIVIDADE INSETICIDA DE ORGANOFOSFORADOS

Todo este crescente interesse na síntese de novos organofosforados, particularmente os derivados pentavalentes tipo fosforoamidatos e fosforotioatos, é devido à sua aplicabilidade como agrotóxico.

O mercado de produtos químicos para defesa agrícola é avaliado em US\$ 2,5 bilhões somente no Brasil, segundo levantamento do Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG)<sup>41</sup>. Os segmentos-líderes são os herbicidas, com 52% das vendas, e os inseticidas, com 27,5% (Tabela 1).

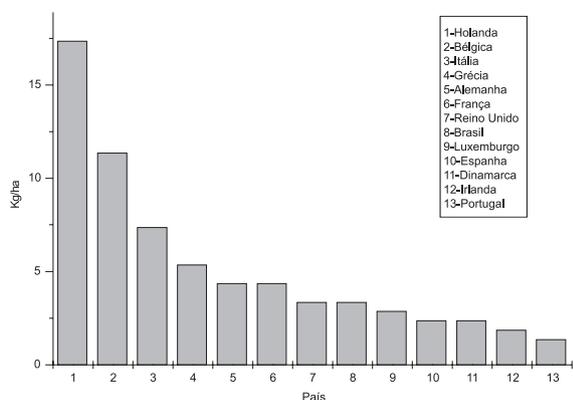
Apesar dos números expressivos que colocam o Brasil como terceiro mercado do mundo para defensivos, ao lado do Japão e atrás dos Estados Unidos e da Comunidade Européia, eles encontram um potencial ainda maior a partir de 2000 (Figura 4). Em termos de aplicação de produtos por hectare cultivado, o Brasil está na décima posição, com 3,2 kg/ha, uma vez que a produção anual de 100 milhões de t de grãos é irrisória para o potencial das terras brasileiras. Outras avaliações dão conta ainda dos aspectos lucrativos decorrentes do uso de agrotóxicos. Uma destas estimativas sugere que nos EUA, no ano de 1997, para cada dólar investido em agrotóxicos os retornos auferidos foram da ordem de 4 dólares; desta forma, os US\$ 6,5 bilhões destinados ao uso de agrotóxicos podem ter representado uma economia de cerca de US\$ 26 bilhões.

A toxidez de uma substância química em insetos não a qualifica necessariamente como inseticida. Diversas propriedades devem estar associadas à atividade, tais como eficácia mesmo em baixas concentrações, ausência de toxidez frente a mamíferos e animais superiores, ausência de fitotoxicidade, fácil obtenção, manipulação e aplicação,

**Tabela 1.** Evolução de vendas das classes de pesticidas

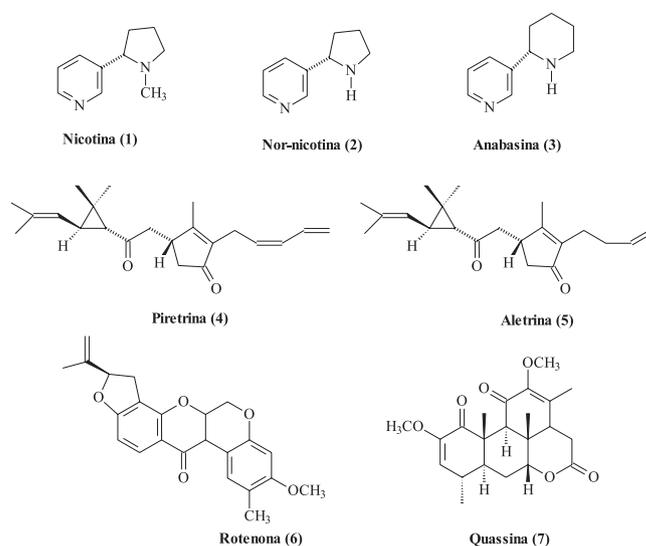
Total	Evolução das vendas de agroquímicos no Brasil				
	1996	1997	1998	1999	2000
	1.792.671	2.180.791	2.557.849	2.329.067	2.499.958
Herbicidas	1.005.112	1.214.818	1.368.723	1.175.933	1.300.515
Fungicidas	276.331	356.304	436.235	422.476	380.418
Inseticidas	375.548	464.796	581.693	596.051	689.953
Acaricidas	92.237	86.714	105.619	78.726	65.560
Outros(*)	43.443	58.159	65.579	55.881	63.512

(\*) antibrotantes, reguladores de crescimento, fito-hormônios e espelhantes adesivos.

**Figura 4.** Consumo mundial de defensivos agrícolas em 2000

viabilidade econômica e não ser cumulativo no tecido adiposo de seres humanos e de animais domésticos. Fica evidente que as características citadas referem-se àquele inseticida tido como ideal, o que raramente será o caso. Dentro da classificação de inseticidas são incluídas, também, substâncias que repelem e que atraem insetos<sup>42-45</sup>. A utilização generalizada de inseticidas sintéticos pode ser vista no séc. XX. Na primeira metade predominaram os inseticidas naturais de origem orgânica ou inorgânica. Os inseticidas inorgânicos mais utilizados foram arseniatos de cálcio e chumbo (verde Paris), cupratos (calda bordalesa), enxofre em pó, vários sulfatos, cal, fluorsilicato, de bário, aminoselenossulfato de potássio (criolite) e óleos minerais. Entre estes, os arseniatos mostravam-se extremamente tóxicos ao homem, animais superiores e ao meio ambiente como um todo<sup>46</sup>. Dentre os inseticidas orgânicos de origem natural foram muito utilizados, nicotina (1), nor-nicotina (2), anabasina (3), piretrinas (4) e aletrina (5), rotenóides como a rotenona (6) e, em menor escala, alguns quassinóides como a quassina (7) (Figura 5). Um inseticida conhecido desde o primeiro século da era cristã era o piretro, constituído basicamente de piretrinas, extraído das folhas do *Chrysanthemum cinerariaefolium*. Até a II Guerra Mundial, o piretro, a rotenona (6) e a nicotina (1) eram os principais produtos orgânicos de origem vegetal mais utilizados no controle de insetos<sup>46</sup>.

Nas décadas de 50 a 70, ocorreu uma explosão no desenvolvimento da síntese orgânica, inclusive de produtos com atividade inseticida que se mostraram mais potentes e mais específicos, substituindo rapidamente o inseticida de origem natural. Passaram a ser utilizados o (8) DDT ([1,1-bis-(4-clorofenil)-2,2,2-tricloroetano]), (9) HCH (hexacloroetano), (10) aldrin, (11) dieldrin e (12) clordano<sup>46</sup> (Figura 6). Contudo, os organoclorados estão nos primeiros lugares em várias listas de poluentes na Europa, devido à sua grande persistência no meio ambiente e fácil acumulação<sup>47,48</sup>. Em função de sua persistência têm sido responsabilizados como poluidores do meio ambiente. Acumulam-se nos tecidos gordurosos do homem, causam redução de fertilidade em animais e

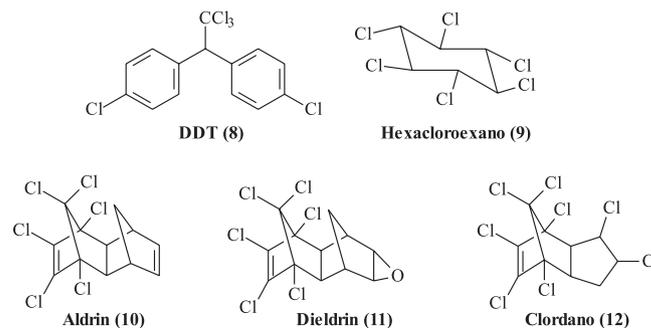
**Figura 5.** Inseticidas orgânicos de origem vegetal

desequilíbrio biológicos na natureza, ressaltando que muitas espécies de insetos se tornaram resistentes aos organoclorados<sup>49</sup>.

Hoje, historicamente, postula-se que os pesticidas organofosforados surgiram na década de 40, mas os principais representantes desta classe foram introduzidos na década de 60 e 80 e mesmo com a implantação de outras classes de pesticidas e de novas metodologias de controle de pragas, 40% do mercado mundial de pesticidas em 1999 era representado por organofosforados.

A principal razão para o sucesso dos compostos organofosforados como inseticidas é sua forte atividade biológica acoplada com sua relativa instabilidade na biosfera, que se traduz em uma meia-vida em plantas da ordem de 2 até 10 dias.

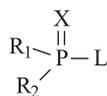
Deve-se notar que durante os últimos 30 anos, inseticidas organofosforados têm sido amplamente usados como alternativa

**Figura 6.** Primeiros inseticidas sintéticos

para substituir compostos organoclorados no controle de insetos; são os mais utilizados devido ao baixo custo, à síntese fácil e baixa toxicidade para muitos organismos tratados<sup>49</sup>.

A continuidade do interesse por esta classe deve-se à facilidade de síntese de novos derivados, à possibilidade de síntese de pró-inseticidas, que sofrem ativação preferencial em insetos e não em mamíferos, e à maior biodegradabilidade em comparação com os organoclorados. Os organofosforados apresentam baixa ação residual, com pouca estabilidade no meio ambiente e acumulação limitada em organismos vivos, sendo que 80 a 90% dos compostos são eliminados após 48 h do contato. Os inseticidas organofosforados são importantes não somente pela proteção agrícola que oferecem mas, também, pelos propósitos industriais, domiciliares e ambientais<sup>50</sup>.

Os inseticidas organofosforados são a classe de maior interesse comercial e toxicológico, são ésteres ou tiois derivados de ácidos fosfóricos, fosfônico, fosfínico ou fosforamídico e usualmente têm a estrutura geral descrita na Figura 7. Usualmente, R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> são grupos arilas ou alquilas que são ligados diretamente ao átomo de fósforo, formando fosfinatos, ou através de um átomo de oxigênio ou de enxofre, formando fosfatos e fosforotioatos. Em outros casos, R<sub>1</sub> está diretamente ligado ao átomo de fósforo e R<sub>2</sub> está ligado por um átomo de oxigênio ou de enxofre, formando fosfonatos ou tiofosfonatos. Os fosforamidatos apresentam no mínimo um grupo -NH<sub>2</sub> na molécula; os grupos amino dos fosforamidatos podem ser não-substituídos, mono ou di-substituídos, os átomos que podem formar ligação dupla com o fósforo podem ser oxigênio, enxofre ou selênio. Finalmente, o grupo L pode pertencer a uma variedade de grupos, tais como halogênios, alquila, arila ou heterocíclicos. O grupo -L, ligado através de um oxigênio ou átomo de enxofre ligados ao átomo de fósforo, é chamado de grupo de saída, que é liberado pelo átomo de fósforo quando o mesmo é hidrolisado pela fosfotriesterase (PTE), ou pela interação com o sítio da proteína (AChE)<sup>51,52</sup>.



X = O, S e Se

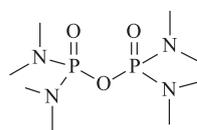
R<sub>1</sub>; R<sub>2</sub> = alquil, SR', OR' ou NHR'

L = halogênios; alquil, aril ou heterocíclicos

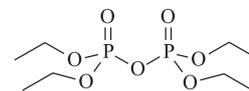
Figura 7. Estrutura química básica de inseticidas organofosforados

A aplicação industrial e comercial de compostos organofosforados na agricultura começou com Schrader e colaboradores, que descobriram, em 1941, o inseticida octametilpirofosforamida (13) (Figura 8), que foi chamado de Scharadan. Depois deste, um grande número de inseticidas ésteres organofosforados também foram descobertos, incluindo o primeiro com práticas inseticidas chamado de Bladan, que continha tetraetilpirofosfato, ou TEEP (14) (Figura 8), preparado na Alemanha em 1944. Na verdade, a síntese do tetraetilpirofosfato foi realizada pela primeira vez por Moschine, e então por De Clemont em 1854 e foi repetida por vários autores, incluindo Nilén em 1930. Contudo, o TEEP causava perturbações como náuseas e dificuldades supertóxicas, apesar de que foi muito usado na Alemanha, como substituto da nicotina para matar pulgões.

O grande avanço dos inseticidas organofosforados na agricultura e de seu conhecimento científico na relação estrutura-atividade deu-se pela descoberta do composto parathion (15) por Schrader em 1944, primeiro produto de novo grupo de inseticidas revolucionários usados até hoje. Apesar de sua toxicidade relativa, outros inseticidas menos tóxicos tinham sido desenvolvidos com poucas modificações



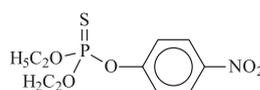
Scharadan (13)



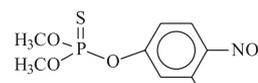
Tetraetilpirofosfato (TEEP) (14)

Figura 8. Os primeiros inseticidas organofosforados sintetizados

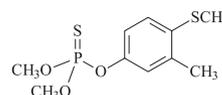
estruturais; por ex., clorhion (16), fenthion (17) e fenitrothion (18)<sup>53</sup>, Figura 9. Foram desenvolvidos outros compostos importantes com toxicidade ainda baixa, como é o caso do malation (19), que tem o grupo éster carboxílico e o demeton-S (20), conforme a Figura 9. Estes dois compostos, por possuírem um grupo tioéter, apresentam alta atividade inseticida.



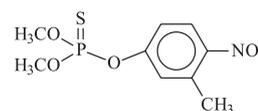
Parathion (15)



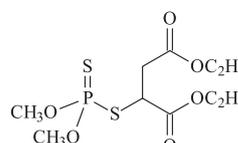
Chlorhion (16)



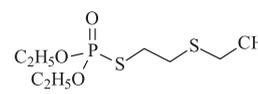
Fenthion (17)



Fenitrothion (18)



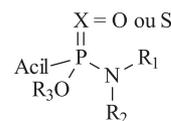
Malathion (19)



Demeton-S (20)

Figura 9. Inseticidas organofosforados responsáveis pelo grande avanço de pesticidas na agricultura

Outra classe de organofosforados menos estudada é a dos fosforoamidatos e tiofosforados. Na verdade, Schrader e seus colaboradores já observaram, em 1937, atividade inseticida em alguns organofosforados da classe fosforamidato, de fórmula geral mostrada na Figura 10<sup>30</sup>.



R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> = alquila, arila

Figura 10. Fórmula geral de alguns inseticidas organofosforados da classe fosforamidatos

Embora os derivados de ácido fosforoamídico tenham sido ativamente investigados desde o início do desenvolvimento da química dos compostos organofosforados, inclusive como pesticidas, somente um pequeno número de compostos desta classe foi desenvolvido com práticas inseticidas, provavelmente devido à dificuldade na síntese desses compostos e pela sua forte toxicidade para mamíferos. Pesquisas, no entanto, têm superado alguns destes problemas e revelado uma grande possibilidade de utilização dos fosforamidatos como pesticidas<sup>30</sup>. Os fosforamidatos derivados de aminas secundárias e terciárias são geralmente menos ativos como inseticidas que os derivados a partir de aminas primárias e amônia.

Alguns exemplos de inseticidas do tipo fosforoamidatos estão mostrados na Figura 11.

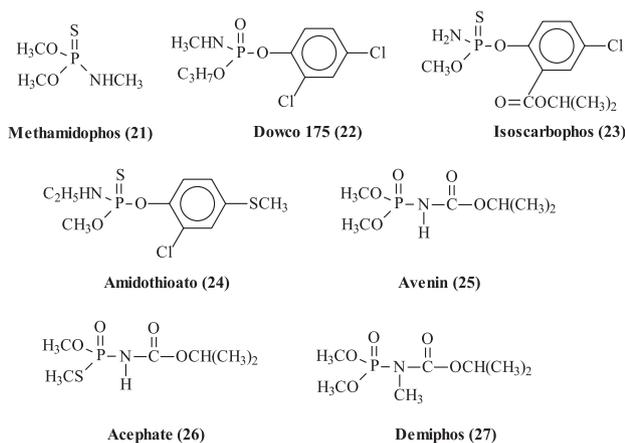


Figura 11. Alguns inseticidas fosforamidatos

Visando a menor toxicidade, é crescente o número de pesquisas buscando a obtenção de novos agentes pesticidas, que sejam cada vez inibidores mais fracos da acetilcolinesterase (AChE) para mamíferos, como é o caso de fosforamidatos sintetizados por Hudson<sup>54</sup>, em 1995 (Figura 12).

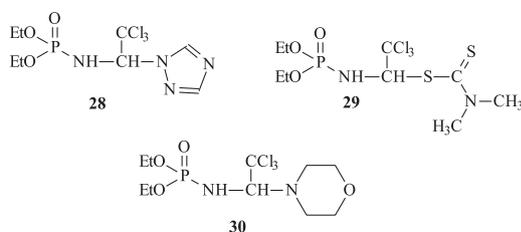


Figura 12. Pesticidas fracos inibidores da acetilcolinesterase para mamíferos

Os organofosforotioatos são os compostos mais usados dentro da classe de inseticidas organofosforados para controle de pragas presentes em produção agrícola, higiene municipal e no controle de vetores de doenças<sup>55,56</sup>. Muitos destes inseticidas são fósforo tioésteres, com limitada solubilidade aquosa, em que o grupo de saída está preso ao átomo de fósforo através de um átomo de enxofre (Figura 13).

Os inseticidas fosforotioatos geralmente são potentes agentes fosforilantes e inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChE) por bioativação oxidativa. Estudos com perácidos oxidantes sugerem que os fosforotioatos sulfóxidos podem ser a espécie reativa<sup>57-60</sup>. Em geral, os ésteres fosforotioatos são mais ativos quimicamente e bioquimicamente que seus correspondentes ésteres fosfato.

Os organofosforados, como os carbamatos, são largamente usados como inseticidas, inibindo a enzima acetilcolinesterase nos sistemas nervosos de vertebrados e de invertebrados<sup>61-64</sup>. O principal sítio de ação dos inseticidas organofosforados<sup>65-70</sup> é o sistema nervoso na junção neuromuscular, interagindo com a acetilcolinesterase, cuja função é catalisar a hidrólise da acetilcolina (ACh) em ácido acético e colina (Esquema 18) interrompendo a transmissão dos impulsos nervosos nas sinapses dos neurônios colinérgicos dos sistemas nervosos central e periférico<sup>71-78</sup>. A acetilcolina é um mediador químico, necessário para transmissão dos impulsos nervosos, presente nos mamíferos e insetos e quando a AChE é inibida, acontece paralisia e morte dos insetos<sup>79,80</sup>.

O mecanismo de hidrólise catalisado pela AChE depende da adição de um resíduo de serina à carbonila do substrato ACh (Es-

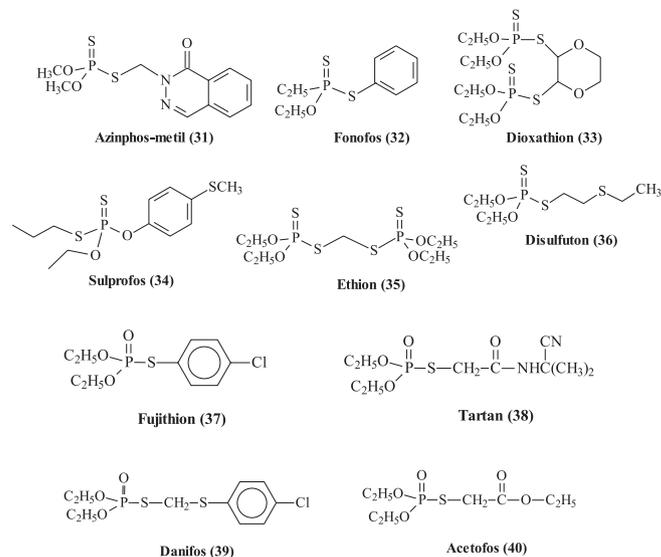
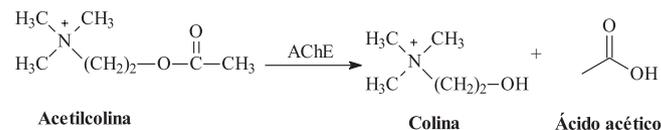


Figura 13. Compostos inseticidas tiofosforados

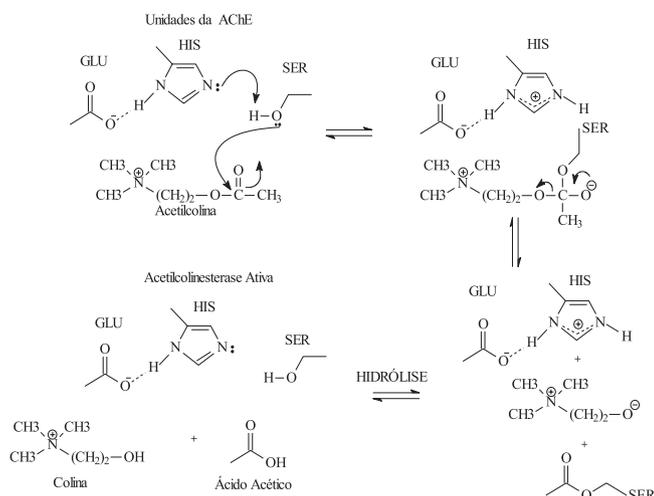


Esquema 18. Reação de hidrólise da acetilcolina

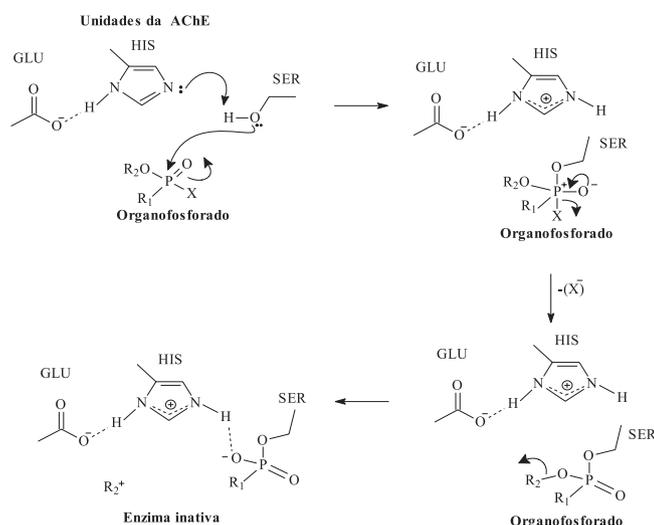
quema 19). Na presença de organofosforados, este resíduo é prontamente fosforilado<sup>81</sup> (Esquema 20). Ao contrário da enzima acetilada, a enzima fosforilada reage lentamente com água, o que permite a desalquilação do substituinte alcóxila ligado ao átomo de P (processo conhecido como “envelhecimento”). Os compostos organofosforados inativam a acetilcolinesterase pela fosforilação no sítio ativo da enzima<sup>82</sup>. O resultado é o surgimento de uma forte ligação entre um resíduo da histidina protonada do sítio catalítico e o átomo de oxigênio negativamente carregado do inibidor. A histidina protonada não pode funcionar como um catalisador básico geral para a hidrólise da enzima fosforilada, necessária para a reativação da AChE. Evidências experimentais para a inserção da ligação P-O<sup>-</sup> no sítio ativo de adutos “envelhecidos” entre AChE e organofosforados foram obtidas por espectroscopia de RMN<sup>31</sup>P<sup>83</sup>.

O processo de inibição da AChE depende muito da estrutura química do organofosforado inibidor<sup>84-86</sup>. A interação entre a acetilcolinesterase e seu inibidor organofosforado parece envolver somente o sítio esterásico, formando um complexo bastante estável, sendo esta estabilidade relacionada fundamentalmente com a estrutura química do inibidor. A inibição da acetilcolinesterase é irreversível; desta forma, a acetilcolina é impedida de reagir com o sítio esterásico, ocorrendo um acúmulo da mesma onde é normalmente liberada, resultando, toda a sintomatologia da intoxicação por acetilcolina ocasionada por compostos organofosforados<sup>87-90</sup> (Esquema 20).

De modo geral, as principais classes de substâncias químicas usadas no controle de pragas têm sido os organofosforados, os organoclorados e os piretróides. Todas estas classes apresentam como alvo em comum o sistema nervoso dos insetos: os organofosforados e os carbamatos atuam como inibidores da acetilcolinesterase AChE, e os piretróides e os organoclorados têm como alvo os canais de sódio dependentes de voltagem<sup>91-93</sup> (Figura



Esquema 19. Mecanismo de hidrólise da Acetilcolina



Esquema 20. Mecanismo clássico de inibição da acetilcolinesterase por inseticidas organofosforados

14). Atualmente, os inseticidas mais desenvolvidos são os compostos organofosforados, carbamatos e piretróides, que são biodegradáveis. Os compostos destas três famílias são espontaneamente hidrolisados, especialmente em pH alto e sofrem degradação por hidrolases. As enzimas com capacidade para hidrolisar estes compostos não são bem caracterizadas, e ainda não está claro se as enzimas que degradam os inseticidas destas três famílias estão interrelacionadas<sup>94</sup>.

A aplicação intensiva de inseticidas de largo espectro no controle de insetos-praga tem causado impacto negativo nos agroecossistemas<sup>95</sup>, além do crescente aumento de casos de resis-

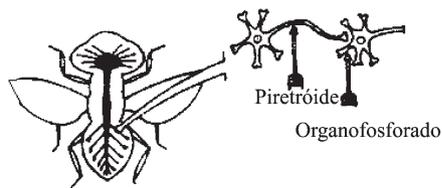


Figura 14. Regiões de atuação dos inseticidas

tência a pesticidas<sup>96</sup>. Estudos de impactos ou efeitos de inseticidas sobre inimigos naturais de pragas são de grande importância econômica e ambiental. O uso de inseticidas seletivos é um fator preponderante dentro do manejo integrado de praga.

Após o uso intensivo de inseticidas no controle de pragas, muitas espécies de insetos têm desenvolvido resistência a inseticidas através de uma variedade de mecanismos<sup>95</sup>. As espécies de insetos utilizam diferentes mecanismos de resistência para se adaptarem à pressão seletiva imposta pelo mesmo inseticida<sup>96</sup>. Um dos mecanismos de resistência desenvolvidos por insetos é a modificação da proteína alvo do inseticida<sup>97,98</sup>.

Apesar de neste trabalho se ressaltar apenas a utilização de inseticidas organofosforados do tipo éster, ou amida, ou tioéster derivados do ácido fosfônico é interessante mostrar a grande aplicação do herbicida organofosforado, glifosato (N-(fosfometil)glicina), que atualmente faz parte do mercado mundial de pesticidas, representando 60% do mercado mundial de herbicidas não seletivos, contabilizando um total de US\$ 1,2 bilhão/ano com vendas somente deste produto<sup>99,100</sup>. O glifosato é efetivamente forte contra 90 tipos de ervas-daninhas e praticamente não apresenta toxicidade para mamíferos, peixes e pássaros, mostrando não haver bioacumulação nos alimentos e ser biodegradado em produtos naturais, Figura 15.

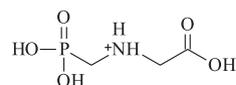


Figura 15. Estrutura química do herbicida glifosato

Novas substâncias são necessárias para efetivo controle de pragas, oferecendo maior segurança, seletividade, biodegradabilidade, viabilidade econômica e aplicabilidade em programas integrados de controle de insetos e baixo impacto ambiental. Assim, os inseticidas modernos estão sendo concebidos para prevenir a infestação excessiva de pragas e, conseqüentemente, elevar o rendimento da produção agrícola ou pecuária e a qualidade das colheitas, com menos toxicidade e em doses menores com efeito mais seletivo sobre certas pragas.

## ATIVIDADE ANTITUMORAL DE COMPOSTOS ORGANOFOSFORADOS

Alguns compostos de fósforo apresentam grande importância na medicina, uma vez que pesquisas relatam que determinados compostos organofosforados são utilizados como antitumorais ou antineoplásicos. O termo neoplasia é uma definição científica de câncer, sendo uma doença caracterizada pelo crescimento descontrolado de células transformadas, existindo em quase duzentos tipos que correspondem aos vários sistemas de células do corpo, os quais se diferenciam pela capacidade de invadir tecidos e órgãos vizinhos ou distantes<sup>8</sup>.

Os organofosforados utilizados mais comumente na oncologia como antitumorais estão incluídos na classe dos agentes alquilantes. Os agentes alquilantes são largamente empregados como quimioterápicos para o combate ao câncer<sup>101</sup>. São compostos reativos que agem no DNA, RNA e em certas enzimas<sup>102</sup>.

Seus usos originais foram observados durante a I Guerra Mundial, onde indivíduos eram asfixiados com o gás mostarda, bis (2-cloroetil) sulfeto (41) (Figura 16) e como consequência tinham a medula óssea e o tecido linfocítico danificado<sup>8,103</sup>.

Estudos em animais durante a II Guerra Mundial demonstraram que a forte exposição à mostarda nitrogenada análoga ao com-

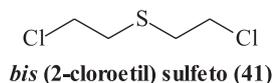


Figura 16. O primeiro agente alquilante empregado como quimioterápico

posto **41** -bis (2-cloroetil) amino, a mecloretamina (**43**), destrói os tecidos linfócitos. Decidiu-se então pelo uso cauteloso deste composto químico para tratamento de pacientes com câncer do tecido linfócito, assim como das doenças linfossarcoma e Hodgkin's. Apesar de ter sido bem sucedida em tumores cancerígenos, também danificou a medula óssea normal e a eventual danificação durante o tratamento impossibilita a continuação com a terapia. Contudo, muitos derivados de mostardas nitrogenadas vêm sendo sintetizados com vários aperfeiçoamentos<sup>103,104</sup>. Estes agentes são resistentes para reagir com a posição 7 da guanidina em cada dupla fita de DNA<sup>105</sup>, causando cruzamento do elo que interfere com a separação do cordão e impede mitoses.

Alguns membros deste grupo de drogas são absorvidos depois da administração oral, mas também requerem uso intravenoso. Suas atividades espalham-se rapidamente pelo sangue, usualmente entre 2 a 15 min. São distribuídos em todos os tecidos, exceto no sistema nervoso central. Todos são tóxicos para a medula óssea, causam imunodeficiência, são carcinogênicos<sup>106</sup> e mutagênicos.

O composto organofosforado conhecido como "Tio-TEPA"<sup>107</sup> ou tioetilenotiofosforamida (**42**) tem efeito similar ao da mecloroetamina (**43**), que é um dos agentes tumorais clínicos mais empregados e em uso atualmente (Figura 17). Tio-TEPA é largamente usado em câncer de bexiga, sendo aplicado uma vez na bexiga durante 4 semanas.

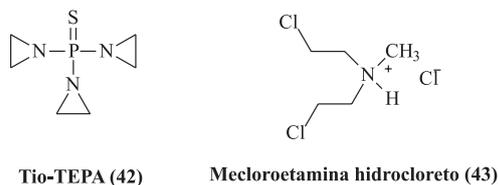


Figura 17. Agentes alquilantes antitumorais

A ciclofosfamida (**44**), ou 2-[bis(2-cloroetil)amino]-2-oxo-1,3,2-oxazafosforinana (Figura 18) é outro composto organofosforado largamente usado como agente antineoplásico<sup>8,102,108</sup> que foi sintetizado acreditando-se que poderia ser inativo no corpo até que a estrutura de seus anéis fosse quebrada por uma enzima mais comum em células cancerígenas que em células normais. Assim, pensou-se que a ciclofosfamida poderia ser inerte até que dentro da célula cancerígena poderia ser convertida para o derivado ativo(**45**), então danificando a célula cancerígena com maior seletividade.

A ciclofosfamida estava entre os primeiros agentes reconhecidos, embora requeira ativação metabólica culminante em modificação biomolecular. Desde sua descoberta, em 1958, tem se tornado o

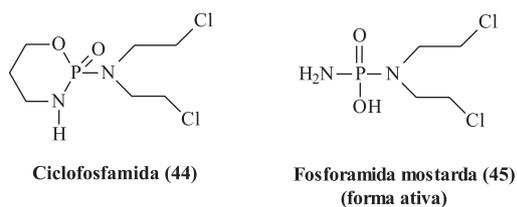
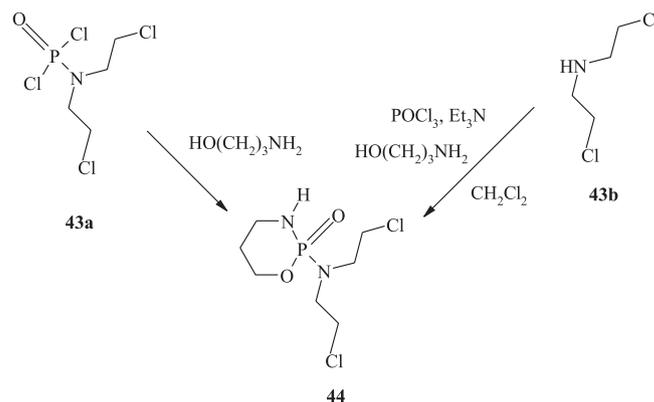
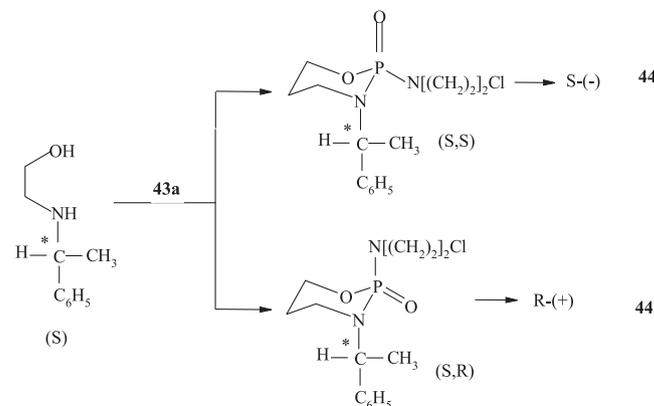


Figura 18. Ciclofosfamida e sua forma ativa

quimioterápico mais amplamente usado na classe dos agentes alquilantes<sup>8,102</sup>. Sua síntese é baseada, principalmente, na via de condensação de derivados aminoálcoois a partir de fosforoamidodichloridato **43a**<sup>109,110</sup> formado, na verdade, pela fosforilação *in situ* de mecloretamina **45** ou o análogo dela, formado também durante o processo de obtenção<sup>111</sup> (Esquema 21). Cabe ressaltar que somente alguns autores postulam que um dos enantiômeros da ciclofosfamida, o derivado S(-)<sup>112-114</sup>, é terapeuticamente mais ativo, pois o enantiômero R-(+) é mais lentamente metabolizado<sup>112,113</sup>, sendo mais ativo contra tumores de rato do tipo PC6<sup>114</sup>. Alguns pesquisadores fizeram a resolução enantiomérica do derivado S(-) da ciclofosfamida<sup>115</sup> e de outros derivados<sup>116</sup> e Flader e colaboradores<sup>117</sup> efetuaram a síntese enantiosseletiva da S(-) da ciclofosfamida (Esquema 22). Nos artigos e revisões sobre a ação antineoplásica da ciclofosfamida não há geralmente qualquer citação sobre esta problemática estereoquímica tão importante.



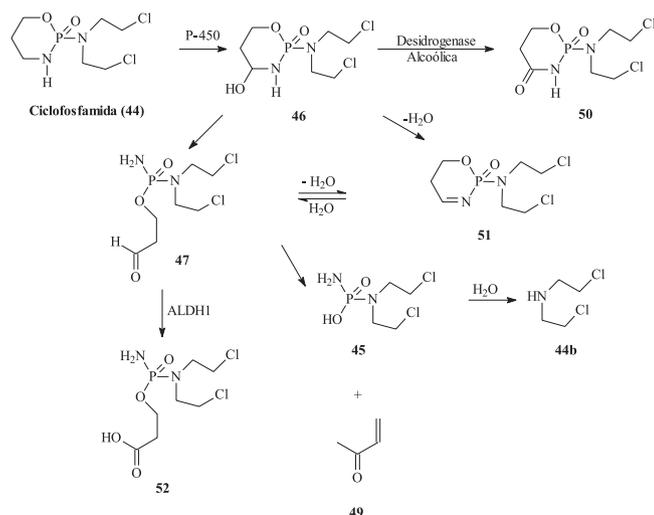
Esquema 21. Rotas conhecidas para síntese de ciclofosfamida



Esquema 22. Rota enantiosseletiva para obtenção de S(-)-44

A ciclofosfamida e outras oxazafosforinas relacionadas sofrem oxidação no carbono de posição 4 (adjacente ao nitrogênio cíclico) para fornecerem o correspondente 4-hidrociclofosfamida **46**, que espontaneamente sofre reversibilidade com abertura do anel para fornecer a aldofosfamida **47**<sup>8,107</sup>. O intermediário gerado **46** pode sofrer diferentes transformações. A desidrogenase alcoólica mediante a oxidação de **46** pode fornecer a amida **50** e tem mostrado ser um meio pelo qual a alquilação do DNA é fechada para baixo. A oxidação (via aldeído hidrogenase ALDH1) de **47** para o correspondente ácido **52** também representa um modelo de metabólico não produtivo. Alternativamente, a eliminação do fosforil a partir do aldeído fornece a mistura de acroleína **49** e fosforamida mostar-

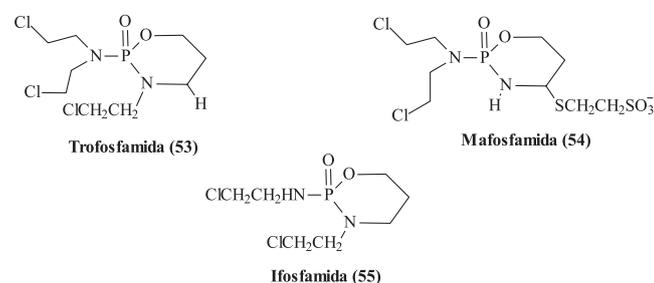
da **45**. A hidrólise da fosforamida mostarda resulta na amina secundária versão de mecloroetamina (Esquema 23).



**Esquema 23.** Mecanismo de degradação oxidativa de ciclofosfamida no DNA para formação de metabólitos reativos ciclofosfamida e sua forma ativa

No organismo a ciclofosfamida é convertida para o composto ativo, principalmente no fígado do que no tumor<sup>106</sup>, visto que a ciclofosfamida deve ser oxidada enzimaticamente com a clivagem da ligação P-N para formar o metabólito ativo, que não é ativo *in vitro*. A ciclofosfamida é convertida para 4-hidroxíciclofosfamida e aldofosfamida. A aldofosfamida é quimicamente instável, sofrendo conversão para acroleína (**49**) e fosforamida mostarda (**45**) (Esquema 23).

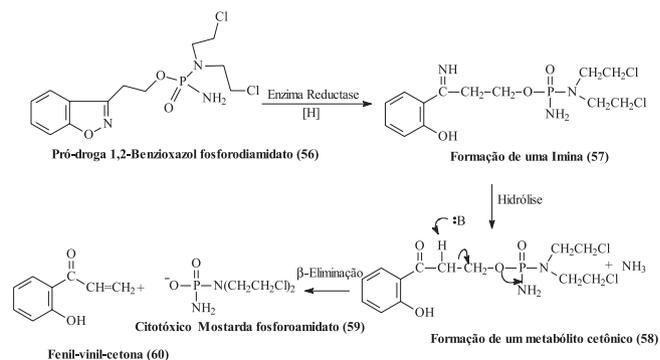
Atualmente, além da ciclofosfamida há os seus derivados trofosfamida (**53**), mafosfamida (**54**) e ifosfamida (**55**) (Figura 19), que são alguns dos agentes quimioterápicos anticâncer mais empregados. O anel de seis membros 1,3,2-oxazafosforinas é a estrutura comum presente nestes compostos<sup>113,114</sup>.



**Figura 19.** Derivados da ciclofosfamida

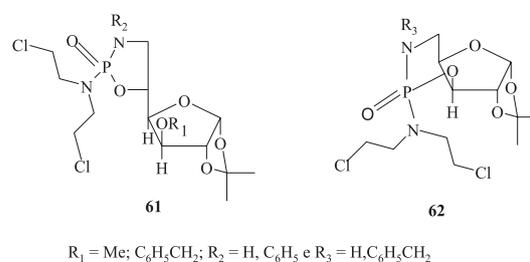
A ciclofosfamida é superior a outros agentes alquilantes. É freqüentemente usada para tratamento de doença de Hodkin's e também em câncer de seio, de ovário e de pulmão. A ciclofosfamida pode ser usada por meses, embora a absorção seja incompleta; no entanto, observa-se freqüentemente que, se usada via intravenosa, se tem maior eficiência. Pode causar queda de cabelo, esterilidade, atrofiamento testicular, fibrose ovariana e supressão da menstruação. Cisto hemorrágico não ocorre a menos que a ciclofosfamida seja co-administrada com N-acetilcisteína ou 2-mercaptoetanossulfonato. Ambos são tióis que neutralizam a acroleína, forma ativa da ciclofosfamida, fator causador. A droga é teratogênica e em dose maior causa necrose no miocárdio<sup>115</sup>.

Novas pró-drogas anticâncer da classe fosfordiamidatos estão sendo desenvolvidas, como é o caso de compostos 1,2-benzioxazol fosfordiamidato (**56**), que sofrem bioeduções enzimáticas, depois uma hidrólise do grupamento imina (**57**) formado como intermediário (**58**) e, em seguida, uma  $\beta$ -eliminação que acarreta a formação da citotóxica mostarda fosforoamido (**59**), responsável pelo efeito quimioterápico e o composto fenil-venil-cetona (**60**)<sup>116</sup> (Esquema 24).



**Esquema 24.** Bioedução de 1,2benzioxazolofosfordiamidato para formação do citotóxico mostarda fosforoamido

Amino-açúcares são usados como agentes funcionalizantes para síntese de ciclofosfamida glicosil (**61**) e xilosil-derivadas (**62**). De fato, estes derivados de açúcares apresentaram excelente atividade biológica, possuindo excelente afinidade com os diferentes órgãos<sup>117</sup> (Figura 20).



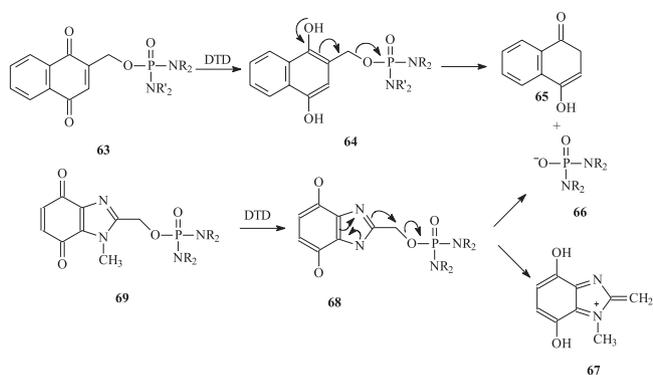
$R_1 = \text{Me}$ ;  $R_2 = \text{H}$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5$  e  $R_3 = \text{H}$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$

**Figura 20.** Derivados da ciclofosfamida funcionalizados com grupos glicosila e xilosila

Ainda dentro da classe de pró-drogas anticâncer tipo fosfordiamidatos tem-se uma série de naftoquinonas e benzaimidazolquinonas fosfordiamidatos que estão sendo sintetizadas e estudadas como potenciais pró-drogas citotóxicas ativadas por DT-diaforase, que conduzem à formação do composto citotóxico ativo ânion fosfordiamidato. As análogas benzaimidazolquinonas são menos citotóxicas que as análogas naftoquinonas, a redução química da naftoquinona conduz à formação imediata do ânion citotóxico fosfordiamidato, ao contrário da redução da benzaimidazolquinona que leva à formação de um produto de redução estável<sup>117</sup> (Esquema 25).

## CONCLUSÕES

Os compostos organofosforados podem ser obtidos por diversos métodos de preparação, simples e eficientes. Estes compostos apresentam um largo campo de aplicações, uma vez que sua estrutura química permite diversos modos de ação, sendo bastante



Esquema 25. Bioativação de novas pró-drogas quinonas fosforodiamidatos

empregados como potentes inseticidas, cuja função principal é a inibição e interação com a enzima AChE de insetos, causando inativação da mesma. Adicionalmente, há a importante aplicação de compostos organofosforados, como a ciclofosfamida e seus derivados, na medicina oncológica, como excelentes agentes antineoplásicos de amplo espectro e de relativo baixo nível, também, de toxidez. Destacou-se, que geralmente não se discute o aspecto químico da formação de enantiômeros da ciclofosfamida.

## REFERÊNCIAS

- Toy, D. F.; *Phosphorus Chemistry in Everyday Living*, American Chemical Society: Washington, D. C., 1976.
- Stoddart, J. F.; *Comprehensive Organic Chemistry: The synthesis and reaction of organic compounds*. 6<sup>th</sup> ed., Oxford, C1979.
- Kosolapoff, G. M.; Maier, L.; *Organic Phosphorus Compounds*, Wiley-Interscience: New York, 1972-1974.
- Coffey, S.; *Rood's Chemistry of Carbon Compounds*, 2<sup>nd</sup> ed., Elsevier Publishing Company: London, 1965.
- Fisher, E. B.; van Wazer, R. J. R.; *Use of Organic in phosphorus compounds and its compounds*, Interscience: New York, 1897, vol. 2, p. 1961.
- Dacosta, J. B. N.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil, 1996.
- Rajski, R. S.; Williams, R. M.; *Chem. Rev.* **1998**, 98, 2733.
- Teicher, B. A.; Sotomayor, E. A. Em *Cancer Chemotherapeutic Agents*; Foye, W. O., ed.; American Chemical Society: Washington, D.C., 1994.
- Michaelis, A. E.; Kaehne, R.; *Chem. Ber. Stsch. Ges.* **1998**, 31, 1048.
- Arbuzov, A. E.; *Phys. Chem. Soc.* **1906**, 38, 687.
- Ford Moore, A. H.; Perry, B. J.; *Org. Syn. Coll.* **1963**, 4, 955.
- Bhattacharya, A. K.; Thyaragajan, G.; *Chem. Rev.* **1981**, 81, 415.
- Mark, V.; *Mech. Mol. Migr.* **1969**, 2, 319.
- Perkow, W.; Ullrich, K.; Meyer, F.; *Naturwiss* **1952**, 39, 353.
- Ramirez, F.; Madan, O. P.; Smith, C. P.; *Tetrahedron* **1966**, 22, 567.
- Perkow, W.; *Chem. Ber.* **1954**, 87, 755.
- Borowitz, I. T.; Ansel, M.; Readio, P. D.; *J. Org. Chem.* **1971**, 39, 553.
- Michaelis, A.; Becker, T.; *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1897**, 30, 1003.
- Rodrigues J. M.; DaCosta, J. B. N.; *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2002**, 177, 137.
- Sidall, T. H.; *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1963**, 25, 883.
- Licata, A. A.; *Am. J. Med. Sci.* **1997**, 313, 17.
- Fleisch, H.; *Recent Results Cancer Res.* **1989**, 116, 1.
- Fernandes, C.; Leite, R. S.; Lanças, F. M.; *Quim. Nova* **2005**, 28, 274.
- Coe, D. G.; Perry, B. J.; Brown, R. K.; *J. Chem. Soc.* **1957**, 3604; Grushin, V. V.; *Chem. Rev.* **2004**, 104, 1629; Bader, A.; Lindner, E.; *Coord. Chem. Rev.* **1991**, 108, 27; Slone, C. S.; Weinberger, D. A.; Mirkin, C. A.; *Prog. Inorg. Chem.* **1999**, 48, 233; Braunstein, P.; Naud, F.; *Angew Chem., Int. Ed.* **2001**, 40, 681; Burrows, A. D.; *Sci. Prog.* **2002**, 85, 199.
- Wittig, G.; Geissler, G.; *Liebigs Ann. Chem.* **1953**, 44, 580.
- Horner, L.; Hoffman, H.; Wippel, G.; *Chem. Ber. Stsch. Ges.* **1958**, 91, 61.
- Horner, L.; Hoffman, H.; Wippel, G.; *Chem. Ber. Stsch. Ges.* **1959**, 92, 2499.
- Wadsworth, W. S.; Emmons, W. D.; *J. Am. Chem.* **1961**, 83, 1733.
- Saunders, B.; *Some Aspects of the Chemistry and Toxic Action of Organic Compounds Containing Phosphorus and fluorine*, Cambridge University Press: London, 1957.
- Eto, M.; *Organophosphorus Pesticides: Organic and Biological Chemistry*, 1<sup>st</sup> ed., CRC Press: Fukuoka, Japan, 1974.
- Atkinson, R. E.; Cadogan, J. I. G.; Sharp, J. T.; *J. Chem. Soc. B-Phys. Organ.* **1969**, 2, 138.
- Bunyan, P. J.; Cadogan, J. I. G.; *J. Chem. Soc.* **1962**, 2953.
- Cadogan, J. I.; Foster, W. R.; *J. Chem. Soc.* **1961**, 3071.
- Cadogan, J. I. G.; *Adv. Free-Radical Chem.* **1967**, 2, 203.
- Morrison, D. C.; *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 181.
- Atherton, F. R.; Openshaw, H. T.; Todd, A. R.; *J. Chem. Soc.* **1945**, 660.
- Zhao, Y. F.; Xil, S. K.; Song, A. T.; Ji, G. J.; *J. Org. Chem.* **1984**, 49, 4549.
- Zhao, Y. F.; Xi, S. K.; Song, A. T.; Tian, Y. F.; *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 1617.
- Zhao, Y. F.; Xue, C. B.; Zeng, J. N.; Ji, G. J.; *Syntheses* **1988**, 6, 444.
- Dos Santos, V. M. R.; DaCosta, J. B. N.; Sant'Anna, C. M. R.; De Oliveira, M. C. C.; *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2004**, 179, 173.
- <http://www.sindag.gov.br>, acessada em Novembro 2003.
- Sakkas, V. A.; Lambropoulou, D. A.; Sakellarides, T. M.; Albanis, T. A.; *Analytica Chimica* **2002**, 467, 233.
- Nath, B. S.; Kumar, R. P. S.; *Ecotoxicol. Environ. Safety* **1999**, 42, 157.
- Addor, R. W. Em *Agrochemical from Natural Products*; Godfrey, C. R. A., ed.; Marcel Dekker Inc.: New York, 1994.
- De Macêdo, J. A. B.; *Introdução a Química Ambiental*, 1<sup>a</sup> ed., Jorge Macêdo: Juiz de Fora, 2002, p. 487.
- Corbett, J. R.; Wright, K.; Baille, A. C.; *The Biochemical Mode of Action of Pesticides*, 2<sup>nd</sup> ed., Academic Press: New York, 1984.
- Mariconi, F. A. M.; *Inseticidas e seu Emprego no Combate às Pragas*, 5<sup>a</sup> ed., Nobel: São Paulo, 1981.
- Westin, J.; *Int. J.; Health Serv.* **1993**, 23, 397.
- Vieira, P. C.; Fernandes, J. B. Em *Farmacognosia: da planta ao medicamento*; Simões, C. M. O.; Schenckel, E. P.; Gosman, G.; De Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R., eds.; 1<sup>a</sup> ed.; UFSC e UFRGS: Florianópolis/Porto Alegre, 1999.
- Klocher, J. A.; Hu, M. Y.; Chiu, S. F.; Kubo, I.; *Phytochemistry* **1991**, 30, 1800.
- Hollingworth, R. M. Em *Insecticides biochemistry and physiology*; Wilkinson, C. F., ed.; New York: Plenum, 1976, p. 431.
- Chambers, J. E.; Carr, R. L.; *Toxicology* **1995**, 105, 291.
- Nishizawa, Y.; *Bull. Agric. Chem. Soc. Jpn.* 1960, 24, 744.
- Hudson, H. R.; Mavrmatis, C. N.; Pianka, M.; *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1995**, 108, 141.
- Clothier, B.; Johnson, M. K.; Reiner, E.; *Biochim. Biophys Acta* **1981**, 660, 306.
- Kaihua, L.; Stolowich, N. J.; Wild, J. R.; *Arch. Biochem. Biophys.* **1995**, 318, 59.
- Claudianos, C.; Russel, R. J.; Oakeshott, J. G.; *Insect Biochem. Mol. Biol.* **1999**, 26, 675.
- Chen, Z.; Newcomb, R.; Forbes, E.; McKenzie, J.; Batterham, P.; *Insect. Biochem. Mol. Biol.* **2001**, 31, 805.
- Morton, R. A.; *Genome* **1993**, 36, 7.
- Sogorb, M. A.; Villanova, E.; *Toxicology Lett.* **2002**, 128, 215.
- Fournier, D. E.; Muter, A.; *Comp. Biochem. Physiol., Part C: Toxicol. Pharmacol.* **1994**, 108, 19.
- Jokanovic M.; *Toxicology* **2001**, 166, 139.
- Segall, Y.; Casida, J. E.; *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 139.
- Whu, S.; Toya, R.F.; Casida, J. E.; *Tetrahedron Lett.* **1991**, 35, 4427.
- Holmstedt, B. Em *Structure Activity relationships of the organophosphorus anticholinesterase agents, in Cholinesterases and Anticholinesterases Agents*; Koelle, G. B., ed.; Springer-Verlag, 1936, p. 428.
- Smith, G. J. Em *Pesticide Use and Toxicology in Relation to Wildlife: Organophosphorus and Carbamate Compounds*; U.S. Department of Interior, Fish and Wildlife Service: Washington, DC., 1987, p. 1.
- Ware, G. Em *The Pesticide Book*; Thomson Publications: Fresno, CA, 1989, p. 340.
- Eyer, P.; *Human Exp. Toxicol.*, **1995**, 14, 857.
- Steenland, K.; *J. Medical* **1996**, 312, 1312.
- Aspelin, A. L.; *Pesticides Industry sales and Usage*, U. S. Environmental Protection Agency: Washington, DC., 1997.
- Silver, A.; *The biology of cholinesterase*, Elsevier: Amsterdam, Oxford, 1974.
- Murdock, L. L.; Hopikins, T. L.; *J. Agric. Food Chem.*, **1968**, 16, 954.
- Gallo, M. A.; Lawryk, N. J. Em *The Handbook of Pesticide Toxicology*; W. J. Jr.; Laws, E. R. Jr., eds.; Academic Press: San Diego, CA, 1990, p. 920.
- Chambers, J. E.; Chambers, H. W. J.; *Biochem. Toxicol.* **1989**, 4, 201.
- Forsyth, C. S.; Chambers, J. E.; *Biochem. Pharmacol.* **1989**, 38, 1597.
- Marrs, T. C.; *Pharmacol. Ther.* **1993**, 58, 51.
- ALdrige, W. N.; Reiner, E. Em *Frontiers of biology*; Neuberger, A.; Tatum, E. L.; eds.; North-Holland: Amsterdam, 1972, p. 26.

78. O'Brien, R. D.; *Toxic phosphorus esters*, Academica: New York, 1960, p. 434.
79. Padilha, S.; Wilson, V. Z.; Bushnell, P. J.; *Toxicol.* **1994**, *92*, 11.
80. Karczmar, A.; *Neurochem. Int.* **1998**, *32*, 401.
81. Mileson, B. E.; Chambers, J. E.; Chen, W. L.; Ehrich, M.; Eldefrawi, A. L.; Gaylor, D. W.; Harmenick; Hodgson, E.; Karczmar, A. G.; Padilha, S.; Pope, C. N.; Richardson, R. J.; Saunders, D. R.; Sheets, L. P.; Sultatos, L. G.; Wallace, K. B.; *Toxicol. Sci.* **1998**, *4*, 8.
82. Lin, W. O.; Souza, M. C.; Da Costa, J. B. N. ; *Quim. Nova* **1995**, *18*, 5.
83. Liu, J.; Ollivier, K.; Pope, N. C.; *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1999**, *158*, 186.
84. Rosenberry, T. L.; *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* **1995**, *43*, 103.
85. Qian, N.; Kovach, I. M.; *FEBS Lett.* **1993**, *336*, 263.
86. Sultatos, L. G.; *J. Toxicol. Environ. Health.* **1994**, *43*, 271.
87. Segall, Y.; Casida, J. E.; *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1983**, *18*, 209.
88. Lotti, M.; *Crit. Rev. Toxicol.* **1992**, *21*, 465.
89. Ecobichon, D. J.; *Toxic effects of pesticides*, 5<sup>th</sup> ed., D. Klaussen: New York, 1996, p. 643.
90. Seanaayake, N. W.; Karalliede, L.; *J. Med. Chem.* **1987**, *316*, 761.
91. Hirata, R. ; *Quim. Nova* **1995**, *18*, 368.
92. Savage, E. P.; Keef, T. J.; Mounce, L. M.; Heaton, R. K.; Lewis, S. J. A.; Burcar, P. J.; *Arch. Environ. Health* **1988**, *43*, 38.
93. Rosenstock, L. ; Keifer, M.; Daniell, W. E.; McConnel, R.; Claypoole, K.; *Lancet* **1991**, *338*, 223.
94. Storm, J. E.; Rozman, K. K.; Doull, J.; *Toxicol.* **2000**, *150*, 1.
95. Jamal, A. G.; Hansen, S.; Julu, P. O. O.; *Toxicol.* **2002**, *23*, 181.
96. Key, B. P.; Futon, H. M.; *Pestic. Biochem. Physiol.* **2002**, *72*, 186.
97. Burchenal, J. H.; Burchenal, J. R.; *Chemistry* **1977**, *50*, 6.
98. Amarante, J. O. P.; Dos Santos, T. C. R.; Brito, N. M.; Ribeiro, L. M.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 589.
99. Smith, E. A.; Oehme, F. W.; *Veter. Hum. Toxicol.*, **1992**, *34*, 531.
100. Stark, P. A.; Thrall, B. D.; Meadows, G. G.; Abdel-Monem, M. M.; *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 4264.
101. Obe Spence, R. A. J.; Jonhston, P. G. M.; *Oncology*, University Press: New York, 2001.
102. Prakash, A. S.; Denny, W. A.; Gourdie, T. A.; Value, K. K.; Woodgate, P. D.; Wakelin, L. P. G.; *Biochemistry* **1990**, *29*, 2799.
103. Kuh, E.; Seeger, D. R.; *U.S. pat 2,670,347* **1954**; Saijo S.; Endo, M.; *Jap. Pat 218* **1955**.
104. Hill, D. L.; *Review of Cyclophosphamide*, Charles C. Thomas: Springfield, 1975.
105. Leitão, A.; Reina, L. D. C. B.; Lopes, M. T. P.; Montanari, C. A.; Donnici, C. L.; *Quim. Nova*, **2004**, *27*, 118.
106. Struck, R. F. Em *Cancer Chemoterapeutic Agents*; American Chemical Society: Washington, DC, 1995, p. 114.
107. Colvin, O. M.; *Curr. Pharm. Des.* **1999**, *5*, 555.
108. Yamashita, M.; Takahashi, C.; Seo, K.; *Heterocycles* **1993**, *36*, 651.
109. Sato, T.; Ueda, H.; Nakagava, K.; Bodor, N.; *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 98.
110. Hatanaka, K.; *Chem. Ind.* **1988**, *42*, 1404.
111. Valceanu, N.; Valceanu, R.; Neda, I.; *Rom 85761*, **1984** (CA: 104: P109954); Niemyer, U.; Niegel, H.; Kutscher, B.; Neda, I.; *US pat. 6,187,941* **2001** (CA 136:6147); Romanova, O. B.; Sorokina, I. K.; Kritsova, I. Yu.; Goizman, M. S.; Granik, V. G.; *Russ 2196775* **2003** (CA 139:180189).
112. Brigitte, F. S.; Tang, W-C.; Eisenbrand, G.; Lieth, V. D. C-W.; Hull, W. E.; *Magn. Reson. Chem.*, **1992**, *30*, 1224.
113. Smith, S. M.; Ludeman, S. M.; Wilson, L. R.; Springer, J. B.; Gandhi, M. C.; Dolan, M. E.; *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2003**, *52*, 291.
114. Niculescu, D. I.; Scanlon, I.; Niculescu, D.; Friedlos, F.; Martin, J.; Marais, R.; Springer, C. J.; *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2651.
115. McClure, M.T.; Stupans, I.; *Biochem. Pharm.* **1992**, *43*, 2655.
116. Jain, M.; Kwon, C-H.; *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5428.
117. Flader, C.; Liu, J.; Borch, R. F.; *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3157.