

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

CLEONICE ANDRADE HOLANDA

SÍNTESE DE DERIVADOS AMÍNICOS E N-METILAMÔNICOS
PLANEJADOS A PARTIR DO CARDANOL E AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA
EM *Sporothrix brasiliensis*

BRASÍLIA

2021

CLEONICE ANDRADE HOLANDA

SÍNTESE DE DERIVADOS AMÍNICOS E N-METILAMÔNICOS
PLANEJADOS A PARTIR DO CARDANOL E AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA
EM *Sporothrix brasiliensis*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Núcleo de Medicina Tropical, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical.

Orientador: Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro

BRASÍLIA

2021

Autorizo a reprodução e divulgação apenas do resumo deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de ensino, estudo ou pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação

AA757s Andrade Holanda, cleonice
 SÍNTESE DE DERIVADOS AMÍNICOS E N-METILAMÔNICOS
 PLANEJADOS A PARTIR DO CARDANOL E AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA EM
 Sporothrix brasiliensis / cleonice Andrade Holanda;
 orientador Luiz Antonio Soares Romeiro. -- Brasília, 2021.
 163 p.

 Dissertação (Mestrado - Mestrado em Medicina Tropical) --
 Universidade de Brasília, 2021.

 1. zoonose. 2. Sporothrix. 3. esporotricose . 4. LCC. 5.
 cardanol. I. Antonio Soares Romeiro, Luiz, orient. II.
 Título.

CLEONICE ANDRADE HOLANDA

SÍNTESE DE DERIVADOS AMÍNICOS E N-METILAMÔNICOS PLANEJADOS A PARTIR DO CARDANOL E AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA EM *Sporothrix brasiliensis*. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical.

Aprovado em

Banca Examinadora

Prof. Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro

Universidade de Brasília – UnB

Prof. Dr. Ricardo Menegatti

Universidade Federal de Goiás – UFG

Profª Drª. Yanna Karla de Medeiros Nóbrega

Universidade de Brasília – UnB

Profª Drª. Patrícia Albuquerque de Andrade Nicola

Universidade de Brasília – UnB

Brasília

2021

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho à minha família que me apoiou durante todo meu Mestrado.

Agradeço especialmente ao meu orientador, professor Dr. Luiz Romeiro, que acreditou na minha capacidade e me ofereceu a oportunidade de ampliar meus conhecimentos. Serei sempre grata por ter me acolhido. #VAI/FERRÃO!!!

Agradeço à equipe do LDT, em especial, à Andressa de Souza Oliveira e à Luciana Camargo e à Priscilla Souza Alves pela cooperação, sororidade, paciência, afeição e respeito. Natalia e Anna; Mara, Igor e Iza, *tamo junto nessa!*

Agradeço ao Laboratório do CEMM, em especial à professora Raimunda Sâmia Nogueira Brilhante, ao Vandbergue Santos Pereira e ao Jonathas Sales de Oliveira pela orientação e realização dos ensaios biológicos.

Agradeço ao Prof. Edilberto Silveira do Centro Nordestino de Aplicação e Uso de Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará pela concessão de espectros RMN de ^1H e RMN de ^{13}C .

À Capes pela concessão da bolsa de estudos.

À banca examinadora por aceitar o convite, e desde já pelas críticas e contribuições no enriquecimento do trabalho.

RESUMO

A esporotricose apresenta-se como uma epidemia zoonótica emergente na saúde pública brasileira. Devido aos casos de resistência ao tratamento e à baixa oferta de quimioterápicos é necessário o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos. Dentre as estratégias para encontrar novos fármacos, o uso de compostos bioativos para fins terapêuticos encontra-se como uma alternativa promissora. Descrevemos neste trabalho os resultados referentes ao planejamento, à síntese e a caracterização de novos derivados amínicos neutros e protonáveis e *N*-metilamônicos, concebidos a partir do cardanol e avaliações *in vitro* quanto à atividade fungicida e fungistática frente à forma filamentosa de fungos do gênero *Sporothrix*. Na série amínica, o derivado LDT247 (**17**) apresentou atividade antifúngica frente a formas filamentosas de *S. brasiliensis* em células planctônicas (CIM₅₀ 4 µg/mL e CIM₁₀₀ 8 µg/mL) e citotoxicidade (CC₅₀) em células RAW 564.7 na concentração de 16,2 µg/mL. Na série *N*-metilamônica, o derivado LDT310 (**24**) apresentou atividade antifúngica em células planctônicas (CIM₅₀ 2 µg/mL e CIM₁₀₀ 4 µg/mL) e inibiu a formação do biofilme com redução da atividade metabólica da forma filamentosa(conídios) com percentuais superiores a 50 % e 90 % nas respectivas concentrações de 4 µg/mL (9 µM) e de 16 µg/mL (37 µM). Adicionalmente, nos estudos de citotoxicidade em células RAW 264.7 foi observada a redução da viabilidade celular em 50%, após exposição por 24 horas, na concentração de 5,38 µg/mL.

Palavras chave: Zoonose, esporotricose, *Sporothrix*, *S.brasiliensis*, LCC, cardanol, derivados anfifílicos, surfactantes

ABSTRACT

Sporotrichosis presents itself as an emerging zoonotic epidemic in Brazilian public health. Due to the cases of resistance to treatment and the low supply of chemotherapeutic drugs, it is necessary to develop new antifungal agents. Among the strategies to find new drugs, the use of bioactive compounds for therapeutic purposes is a promising alternative. We describe in this work the results related to planning, synthesis and characterization of new neutral and protonable and *N*-methylamonic amine derivatives, conceived from cardanol and in vitro evaluations regarding the fungicidal and fungistatic activity against the filamentous form of fungi of the genus *Sporothrix*. In the amine series, the LDT247 derivative (**17**) showed antifungal activity against filamentous forms of *S. brasiliensis* in planktonic cells (MIC₅₀ 4 µg/mL and MIC₁₀₀ 8 µg/mL) and cytotoxicity (CC₅₀) in RAW 564.7 cells at a concentration of 16,2 µg/mL. In the *N*-methylamonic series, the LDT310 derivative (**24**) showed antifungal activity both in planktonic cells (MIC₅₀ 2 µg/mL and MIC₁₀₀ 4 µg/mL) and inhibited biofilm formation with reduced metabolic activity in the filamentous form (conidia) with percentages greater than 50 % and 90 % at the respective concentrations of 4 µg/mL (9 µM) and 16 µg/mL (37 µM). Additionally, in cytotoxicity studies in RAW 264.7 cells, a reduction in cell viability by 50% was observed after exposure for 24 hours at a concentration of 5,38 µg/mL.

Keywords: Epizootics, sporotrichosis, *Sporothrix*, *S.brasiliensis*, CNSL, cardanol, amphiphilic derivatives.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA1: Formas clínicas da esporotricose em humanos.	6
FIGURA2: Formas clínicas da esporotricose em felinos.	7
FIGURA3: Padrões de distribuição do <i>Sporothrix</i> spp. No Brasil.	8
FIGURA4: Evolução espaço-temporal de casos de esporotricose felina no Brasil (1998–2016).	10
FIGURA5: Chave de identificação para espécies de interesse clínico de <i>Sporothrix</i> , com base em testes morfológicos e fenotípicos.	11
FIGURA6: Micromorfologia do <i>Sporothrix Schenckii</i> .	12
FIGURA7: Rotas de transmissão na esporotricose humana e animal.	13
FIGURA8: Resposta imune do hospedeiro humano contra <i>Sporothrix</i> spp.	16
FIGURA9: Fatores de virulência do complexo <i>Sporothrix schenckii</i> .	17
FIGURA10: Etapas de desenvolvimento do biofilme.	18
FIGURA11: Biofilmes de <i>Sporothrix brasiliensis</i>	19
FIGURA12: Imagens em MEV de biofilmes formados de <i>Sporothrix brasiliensis</i> em fragmentos de unha de gato.	20
FIGURA13: Quimioterápicos para Esporotricose.	21
FIGURA14: Fórmula estrutural da Miltefosina.	23
FIGURA15: Fórmula estrutural do TCAN26.	24
FIGURA16: Representação esquemática dos compostos anfifílicos catiônicos	25
FIGURA17: Representação esquemática da interação entre proteína e os compostos anfifílicos	25

- FIGURA18:** Representação esquemática do 'modelo de carpete' de anfifílicos faciais catônicos. **26**
- FIGURA19:** Lipídeos fenólicos do líquido da casca da castanha de caju (LCC) **27**
- FIGURA20:** Sítios reacionais do composto cardanol triinsaturado (8C) **28**
- FIGURA21:** Planejamento baseado nos lipídeos fenólicos do LCC **31**
- FIGURA22:** Espectros de RMN de hidrogênio e de carbono 13 para os grupos metilenos a e b para o derivado LDT117 (11) **37**
- FIGURA23:** Espectros de RMN de hidrogênio e de carbono 13 para os grupos metilenos a e b para o derivado LDT137 (21) **38**
- FIGURA24:** Espectros de RMN de hidrogênio e de carbono 13 para os grupos metilenos a e b para o derivado LDT138 (22) **38**
- FIGURA25:** O efeito dos compostos LDT310 (24) na viabilidade celular em células RAW264.7 expostas por 24 h. **45**
- FIGURA27:** Atributos dipolares e iônicos para os derivados 13-15 e 17 neutros **52**
- FIGURA28:** Atributos dipolares e iônicos para os derivados 13-15 e 17 catiônicos **53**
- FIGURA29:** Atributos dipolares e iônicos para os derivados 24-27 catiônicos **54**
- FIGURA30:** Derivados catiônicos 13 e 24 **56**
- FIGURA31:** Mapas de potenciais eletrostáticos para os derivados catiônicos 13 e 24 **57**
- FIGURA32:** Numeração e legendas nos assinalamentos em RMN de ^1H e de ^{13}C **64**

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1: Metodologia sintética geral para obtenção dos derivados-alvo	29
--	-----------

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1. Dados de caracterização dos derivados LDT117 (11), LDT137 (21) e LDT138 (22)	39
Tabela 2. Dados de caracterização dos derivados amínicos terciários 12-20	40
Tabela 3. Principais assinalamentos de RMN de ^1H e de ^{13}C dos derivados 12-20	41
Tabela 4. Dados de caracterização dos derivados amônio quaternários 23-29	42
Tabela 5. Principais assinalamentos de RMN de ^1H e de ^{13}C dos derivados 23-29	43
Tabela 6. Sensibilidade in vitro dos derivados-alvo frente ao <i>Sporothrix brasiliensis</i> .	47
Tabela 7. Dados teóricos de pK_aH , percentuais de espécies neutras e catiônicas, LogD, LogS e IC_{50} para os derivados 13-15 e 17 e Miltefosina (5)	50
Tabela 8. Dados teóricos de pK_aH , LogD, LogS e IC_{50} para 13, 24 e Miltefosina (5)	55
Quadro 1. Origem e capacidade de formação de biofilmes das cepas de espécies de <i>Sporothrix brasiliensis</i> utilizadas neste estudo.	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ALH – Aceptor de Ligação de Hidrogênio
- Boc – *tert*-Butiloxicarbonila
- CC₅₀ – Concentração do composto (μg / mL) necessário para redução da viabilidade celular em 50 %
- CCD – Cromatografia em Camada Delgada
- CDCl₃ – Clorofórmio Deuterado
- CIM – Concentração Inibitória Mínima
- CMC – Concentração Micelar Crítica
- 5-DAS – Ácido 5-Doxilesteárico
- DMSO – Dimetilsulfóxido
- DCM – Diclorometano
- DLH – Doador de Ligação de Hidrogênio
- ECV – Ponto de corte epidemiológico (*Epidemiologic cutoff values*)
- Hz – Hertz
- IC₅₀ – Concentração Inibitória de 50 %
- IFN- γ – Interferon-gama
- IL-10 – Interleucina 10
- IL-2 – Interleucina 2
- IL-17 – Interleucina 17
- IL-1[®] – Interleucina 1[®]
- LCC – Líquido da Casca da Castanha de Caju
- LDT – Laboratório de Desenvolvimento de Inovações Terapêuticas
- LogS – Coeficiente de solubilidade
- LogD – Coeficiente de distribuição
- MeCN – Acetonitrila
- MOPS- Ácido 3-(N-morfolina) propanossulfônico
- MTT – (3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazólio)
- PBS – Tampão fosfato alcalino
- pK_{aH} – Constante de basicidade baseada no ácido conjugado

p.f. – Ponto de fusão
ppm – Parte por milhão
REA – Relação Estrutura-Atividade
R.f. – Fator de Retenção
RMN de ^1H – Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
RMN de ^{13}C – Ressonância Magnética Nuclear de carbono-13
 $\text{S}_{\text{N}}2$ – Substituição Nucleofílica Molecular
SUS – Sistema Único de Saúde
TEA – Trietilamina
Th1 – Linfócitos T *helper*
Th17 – Linfócitos T 17
Treg – Linfócitos T reguladores
T CD4 – Linfócitos T CD4
T CD8 – Linfócitos T CD8
THF – Tetraidrofurano
TMS – Tetrametilsilano
TNF- α – Fator de Necrose Tumoral- alfa
TLR-2 – Receptor *toll like 2*
TLR-4 – Receptor *toll like 4*
UFC – Universidade Federal do Ceará
UV – Ultravioleta
XTT – 2,3-bis(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazólio-5-carboxanilida

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	4
2. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	5
4. OBJETIVOS	33
4.1 OBJETIVO GERAL	33
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
5. PLANEJAMENTO SINTÉTICO	35
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
6.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS	37
6.1.1. Obtenção e caracterização dos derivados LDT117 (11), LDT137 (21) e LDT138 (22)	37
6.1.2. Obtenção e caracterização dos derivados amínicos 12-20	39
6.1.3. Obtenção e caracterização dos derivados <i>N</i> -metilamônicos 23-29	41
6.2 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA <i>in vitro</i>	44
6.2.1. Avaliação da citotoxicidade em células RAW264.7 dos compostos LDT247 (17) e LDT310 (24)	44
6.2.2. Atividade antifúngica frente à <i>Sporothrix brasiliensis</i>	46
6.2.3. Efeito do derivado LDT310 (24) sobre a formação do biofilme fúngico	48
6.2.4. Relação Estrutura/Propriedade-Atividade antifúngica para os compostos amínicos 13-15 e 17	49
6.2.4.1 Propriedades físico-químicas: pK _{aH} , LogD _{7,0} , LogS _{7,0} , ASPT	50
6.2.4.2. Atributos dipolares e iônicos para reconhecimento molecular	51
6.2.4.3. Propriedades físico-químicas: pK _{aH} , LogD _{7,0} , LogS _{7,0} , ASPT	55
6.2.4.4. Atributos dipolares e iônicos para reconhecimento molecular	56
7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	59
7.1. Conclusões	59
7.2. Perspectivas	61

8. PARTE EXPERIMENTAL	63
8.1 GENERALIDADES, MATERIAIS E MÉTODOS	63
8.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS	65
8.2.1. Obtenção do derivado 1-(2-bromoetóxi)-3-pentadecilbenzeno (11, LDT117)	65
8.2.2. Procedimento Geral para obtenção dos derivados amínicos 12-20	66
8.2.3 Obtenção do derivado 1-(2-Azidoetóxi)-3-pentadecilbenzeno (21, LDT137)	71
8.2.4. Obtenção do derivado 2-(3-pentadecilfenóxi)etan-1-amina (22, LDT138)	72
8.2.5. Procedimento geral de obtenção dos derivados N-metilamônicos 23-29	73
8.3 ESTUDOS TEÓRICOS <i>in silico</i>	78
8.3.1 Cálculo das propriedades físico-químicas	78
8.3.1 Obtenção dos mapas de potenciais eletrostáticos	78
8.4. AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA <i>in vitro</i>	79
8.4.1. Microrganismos	79
8.4.2. Teste de sensibilidade antifúngica planctônica (conídios)	80
8.4.3. Efeito dos compostos sobre a formação do biofilme fúngico	81
8.5. Avaliação da citotoxicidade em células RAW 264.7	81
8.6. Análise estatística	82
9. REFERÊNCIAS	84
ANEXOS	99

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma micose negligenciada estabelecida por um complexo de espécies fúngicas dimórficas, o *Sporothrix schenckii*.¹ A infecção ocorre por inoculação traumática do fungo, através de manipulação de matéria orgânica ou de arranhaduras e mordeduras de animais infectados, sendo o gato o animal mais comum.²

A forma clínica comumente observada em humanos é a linfo-cutânea, mas a doença pode se apresentar nas formas cutânea fixa, comprometendo a pele, na forma extracutânea que afeta os órgãos e na forma sistêmica, em imunocomprometidos. Em felinos, é comum a presença de lesões na mucosa nasal acompanhada de sinais respiratórios.³

A micose tem distribuição universal, sendo mais frequente em países tropicais de clima quente e úmido. As variáveis gênero, faixa etária não constituem fator de risco para adquirir a micose. Estudos, entretanto, trazem associação com ocupação profissional e saneamento básico precário.⁴ No Brasil, a doença caracteriza-se como uma epidemia emergente sendo a classe social mais afetada as que estão em condições de pobreza. A falta de atendimento veterinário gratuito, avaliação médica especializada e diagnóstico correto, levam ao agravamento das lesões, abandono e ao sacrifício de animais e, no caso de pacientes humanos, ao afastamento de atividades, com estigmatização e reclusão social.^{2,3}

A resolução da esporotricose de forma espontânea é rara, sendo necessário tratamento para maior parte dos pacientes.⁵ Os métodos terapêuticos utilizados são uso de fármacos, no caso o iodeto de potássio, itraconazol, terbinafina ou anfotericina B. Entretanto, o tratamento clínico oferecido, por ser de longa duração e elevada toxicidade, acarreta em complicações que vão desde náuseas até danos hepáticos, tanto para humanos quanto para os felinos.⁶⁻⁹ Além disso, estudos de susceptibilidade antifúngica e genotipagem relataram um aumento no número de cepas insensíveis a anfotericina B e ao itraconazol, alertando a preocupação da

dispersão dessas cepas pelo país. A emergência no surgimento de cepas resistentes é fato importante para encorajar o descobrimento de novos agentes antifúngicos para o tratamento da esporotricose.¹⁰⁻¹²

2. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

Aspectos gerais da Esporotricose

A esporotricose é uma micose subcutânea estabelecida por complexo de espécies fúngicas termordimórficas, crípticas¹ patogênicas primárias, denominado *Sporothrix schenckii* que afeta humanos e animais.^{1,13} Por ser uma micose com invasibilidade limitada, é necessário que o hospedeiro apresente lesão traumática para a enfermidade acontecer.¹ A fonte de transmissão são plantas em decomposição, classificando-a como sapronose² ou por meio de mordidas ou arranhões de animais infectados, como cães ou gatos, caracterizando-a como zoonose.¹⁴ Esses fungos possuem a capacidade de alternar entre bolor e levedura, em resposta a estímulos térmicos e outras condições ambientais. No meio ambiente, eles crescem como fungos que produzem conídios ou esporos infecciosos que, quando transmitidos a humanos ou outros hospedeiros mamíferos suscetíveis, são capazes de se converter em leveduras patogênicas que causam infecções graves.¹⁵ Apesar de supostamente ser um agravo controlável, sua disseminação para órgãos internos já foi observada tanto em humanos quanto nos felinos¹⁴ e, para pacientes imunocomprometidos, essa infecção pode ser fatal.^{16,17}

¹ Crípticas: Espécies do mesmo gênero morfologicamente indistintas, mas geneticamente diferentes (novas espécies)

² Saponose: Do Grego *SAPRÓS*, "podre, material decomposto", mais *NOSOS*, "doença". São doenças humanas transmissíveis do ambiente abiótico (solo, água, plantas em decomposição ou cadáveres de animais, excrementos e outros substratos).

As principais formas clínicas, que apresentam nódulos ulcerados, são a linfocutânea e a cutânea fixa; enquanto que as formas extracutânea e a disseminada mostram comprometimento visceral e/ou osteoarticular (Figura 1). Essa diversidade clínica faz da esporotricose diagnóstico diferencial para outras infecções como leishmaniose tegumentar, sífilis e tuberculose pulmonar e, por essa razão, pode ser diagnosticada e tratada incorretamente, levando a falhas no tratamento e a rápida difusão da micose.^{18,19}

Figura 1: Formas clínicas da esporotricose em humanos: **A, B:** Linfocutânea; **C:** Cutânea fixa; **D, E, F:** Disseminada.



Fonte: Adaptada de COSTA *et al.*, (2017)²⁰

Em felinos (Figura 2) as formas clínicas se apresentam simultaneamente, podendo apresentar lesões cutâneas acompanhado de manifestações respiratórias, por exemplo, o que torna difícil a sua classificação e ao prognóstico favorável.²¹

Figura 2: Formas clínicas da esporotricose em felinos. presença de lesões na orelha, plano nasal e membros.

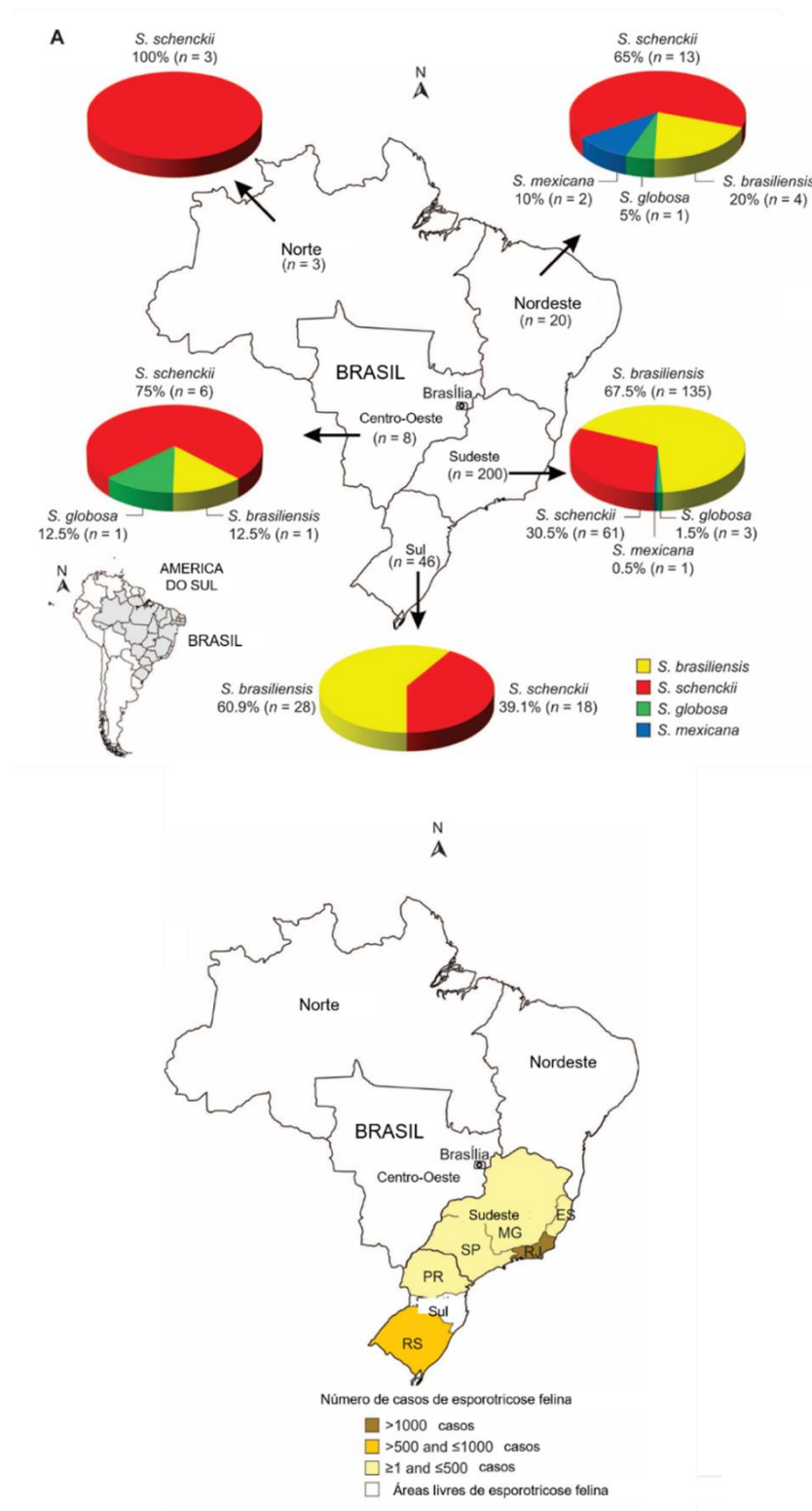


Fonte: Adaptada de BAZZI *et al.*, (2016) ²²

Dados epidemiológicos e distribuição geográfica

A esporotricose é uma doença tropical negligenciada que ocorre mundialmente.²³ Relatos de surtos na China, Índia, Japão, Irã e Austrália, estão ligados a trabalhos no campo descritos como “doença do jardineiro”.²⁴⁻²⁶ Na Europa, a doença é observada na França e conhecida como “*maladie de vacance*”,^{9,27} enquanto que na América Latina é considerada a micose subcutânea mais frequente com importância epidemiológica no México, Colômbia e Peru.^{9,28} No Brasil, desde a década de 90, relatos de casos e surtos da doença têm sido descritos e observados nos Estados do Rio de Janeiro,^{4,29} São Paulo¹⁴ e Rio Grande do Sul^{30,31} (Figura 3).

Figura 3: Padrões de distribuição do *Sporothrix* spp. No Brasil. **A:** Distribuição de isolados de *Sporothrix* no Brasil. **B:** Distribuição da esporotricose felina no Brasil.



Fonte: Adaptada de RODRIGUES *et al.*, (2014).³²

A característica epidemiológica da doença envolve a ausência de saneamento básico e de programa de controle de animais sinantrópicos³ – mais especificamente de roedores – que associada ao hábito da população, devido à negligência dos governos locais, tem utilizado o gato como controle biológico. Gatos são altamente susceptíveis à infecção por *Sporothrix*, apresentando lesões múltiplas com alta carga fúngica. Além disso, eles possuem mais liberdade ao peridomicílio⁴, e esses gatos, domesticados e que possuem íntimo contato com seu proprietário, mantêm interações com felinos de comportamento feral, se contaminado e tornando hospedeiro potencial na transmissão do patógeno.³³

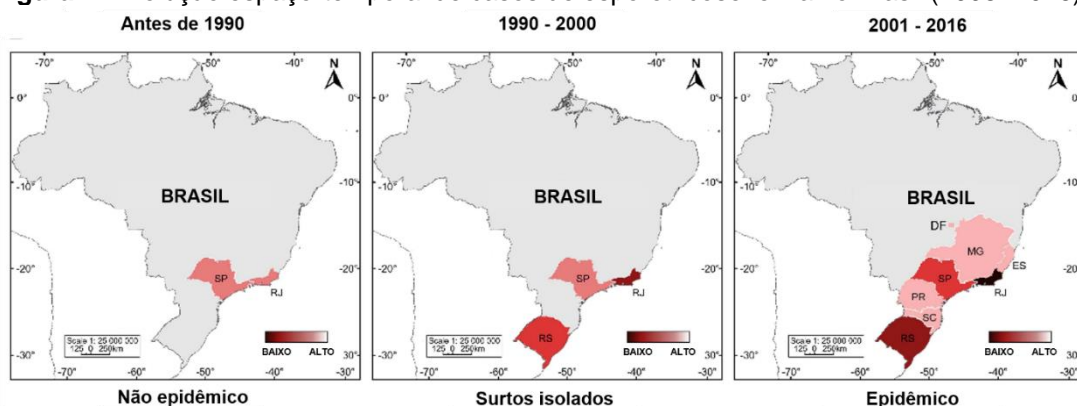
A dificuldade de acesso ao serviço veterinário e de atenção básica, além da falta de orientação para guarda responsável e o abandono de animais doentes mantêm a incidência da doença, contribuindo para dispersão do agente para outros estados. Devido ao avanço da epidemia zoonótica pelo país, a esporotricose tornou-se de notificação compulsória nos estados do Rio de Janeiro – maior coorte de esporotricose humana e animal no mundo^{10,24-}, São Paulo, Pernambuco, Paraíba, Bahia e Minas Gerais.³⁴⁻⁴⁰ Em 2020, a esporotricose foi incluída na Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública.⁴¹

A Figura 4 mostra a evolução espaço-temporal de casos de esporotricose felina no Brasil.

³ Sinantrópicos: do Grego *SYN*, "junto", mais *ANTHROPÍKÓS*, "humano", de *ANÉR*, "ser humano". O sufixo *-IKOS* expressa a ideia de "portador de certas características de". Espécies sinantrópicas são aquelas que colonizam habitações humanas e seus arredores retirando vantagens em matéria de abrigo, acesso a alimentos e a água.

⁴ Peridomicílio é definido como a área externa de uma residência, em um raio não superior a cem metros.

Figura 4: Evolução espaço-temporal de casos de esporotricose felina no Brasil (1998–2016).



Fonte: Adaptada de GREMIÃO *et al.*, (2017).¹⁰

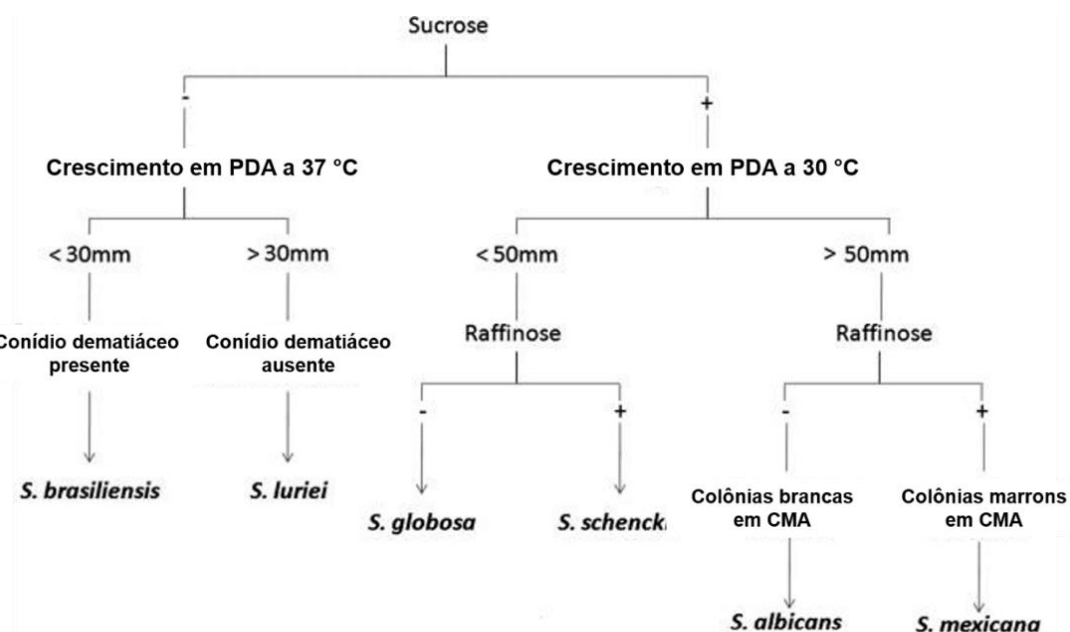
Caracterização e ciclo de vida: agentes etiológicos

Após análise fenotípica e genotípica de diversos isolados fúngicos obtidos em diferentes países, foi proposta a divisão do agente *Sporothrix schenckii* em um complexo composto por diferentes espécies patogênicas.

As espécies crípticas (ordem Ophiostomatales) são semelhantes macroscopicamente, mas seus termodimorfismos⁵ possuem singularidades em relação à temperatura, pH e presença de açúcar no meio – o que ajuda na identificação das espécies de interesse clínico (Figura 5).

⁵ Termodimorfismo: do Grego *THERMOS*, “calor”, *DI-*, “dois”, mais *MORPHÉ*, “forma, aspecto, aspecto exterior”. É a qualidade do que tem ou toma duas formas diferentes. Neste caso, formas morfológicas diferentes a depender da temperatura. Em fungos as duas formas são as de filamento ou de levedura.

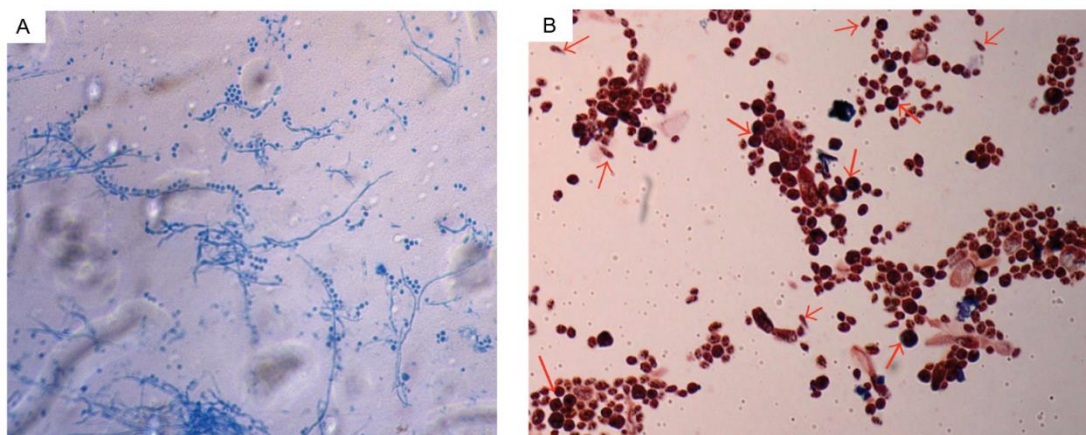
Figura 5: Chave de identificação para espécies de interesse clínico de *Sporothrix*, com base em testes morfológicos e fenotípicos. PDA, ágar de dextrose de batata; CMA, ágar de farinha de milho.



Fonte: Adaptada de DE LIMA BARROS, M. B. *et al.*, (2011).⁴²

Filamentoso no meio ambiente, se torna leveduriforme (fase parasitária) no hospedeiro. Nestas condições, as células apresentam-se nas formas arredondadas ou ovóides. Microscopicamente, os micélios exibem delgadas hifas septadas, ramificadas, com aglomerados de conídios (2 a 6 micrômetros de diâmetro), surgindo de conidióforos. Algumas linhagens produzem macrosporo de *Sporothrix* spp, o que é considerado característico do microrganismo como representado na Figura 6.

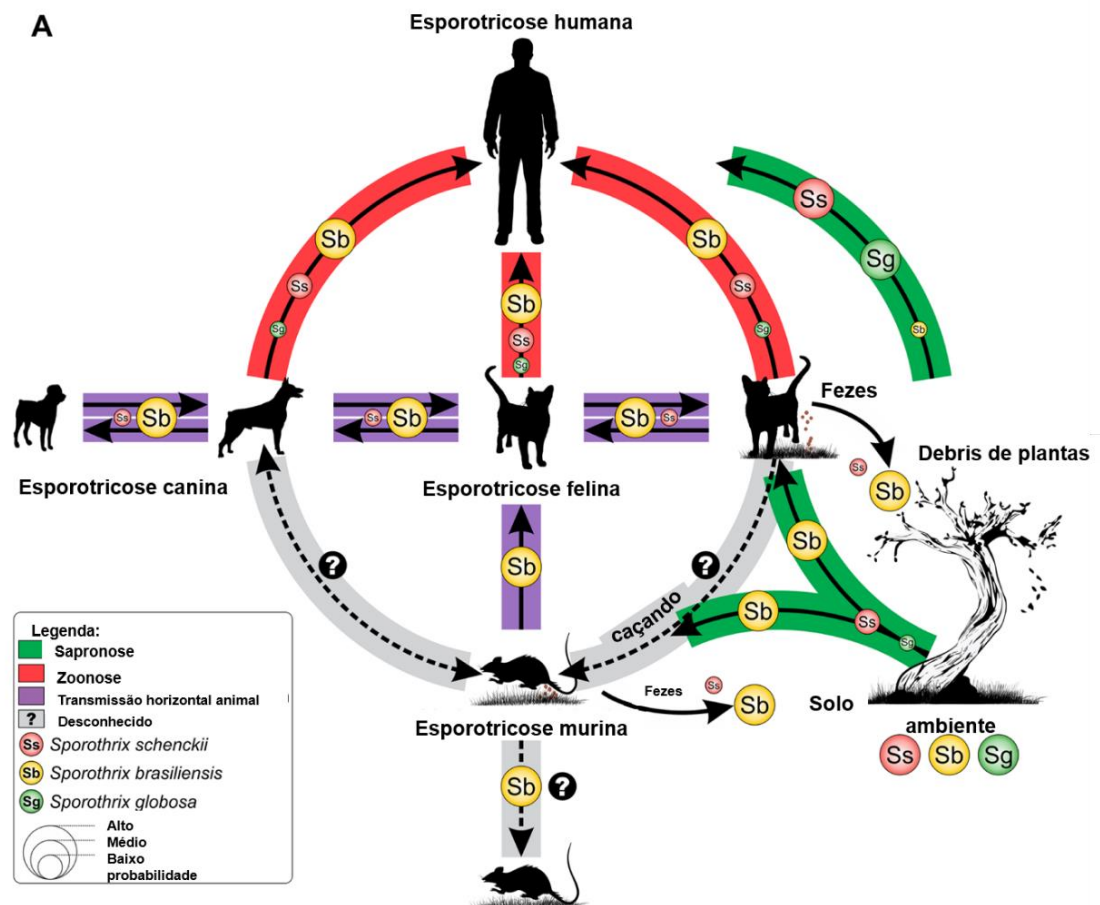
Figura 6: Micromorfologia do *Sporothrix Schenckii*. **A.** filamento: delicada ramificação com conídios piriformes em um arranjo característico em forma de flor. Coloração com Lactofenol Azul Algodão. **B.** levedura: Células de levedura brotando (setas longas) e células de levedura em forma de charuto (setas curtas) intercaladas entre esporos. Coloração de Gram.



Fonte: Adaptada de MAHAJAN, V. K. (2014) ⁴³

A maioria dos casos observados no Brasil está relacionado à *S. brasiliensis*. Considerada por estudos fenotípicos como a espécie mais virulenta,⁴⁴⁻⁴⁶ era desconhecida até 2007 quando emergiu a partir da mudança de hospedeiros passando da planta para o rato e deste para o gato (Figura 7). Os gatos possuem comportamento de lambedura facilitando a ingestão do fungo provenientes do solo. Adicionalmente, as condições da saliva dos felinos – pH variando de 7,5 a 8,0, e a temperatura corporal de 37,7 °C a 39,1 °C – são requisitos ideais para a conversão de filamento em levedura.^{10,23}

Figura 7: Rotas de transmissão na esporotricose humana e animal.



Fonte: Adaptada de RODRIGUES *et al.*, (2018).⁴⁷

Respostas imunológicas na Esporotricose

A infecção por *Sporothrix* ocorre pela inoculação traumática de leveduras, conídios ou hifas como esquematizado na Figura 8. Uma vez que o fungo atravessa a pele, Padrões Moleculares Associados a Patógenos (PAMPs) da superfície da parede celular do fungo acionam a resposta imune inata, sendo reconhecida pelos receptores *Toll like 2* e *4* (TLR-2, TLR-4). Esse reconhecimento facilita a fagocitose e a produção de citocinas como TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-10, IFN- γ , IL-17, ativando a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio pelos monócitos, bem como a diferenciação das células

Th0 em Th1, Th17 e Treg. Desta forma, Th1 produz mais IFN- γ e TNF- α e ativa as células T CD4 e CD8, o que induz a morte do parasito. Para macrófagos, há o aumento na produção de óxido nítrico (NO) e a morte de parasitos intracelulares. Por sua vez, Th17 promove o controle do fungo, reparo e ativação tecidual, enquanto a Treg regula a resposta imune evitando o desenvolvimento da inflamação crônica.¹⁹

A severidade da infecção diferencia-se pela estimulação e repostas destas três células.⁴⁸ Um estudo mostrou que estímulo mais fraco gerado ao sistema imune inato pelo o *S. brasiliensis* induzia uma doença mais severa e disseminada que o *S. schenckii*, devido a uma elevada resposta Treg, causando um efeito inibitório da Th1 e uma estimulação exagerada da Th17, com consequências imunossupressoras, resultando em uma infecção mais disseminada e duradoura, além de maior dano tecidual.⁴⁹ A razão da estimulação diferente nas espécies está na parede celular. Ambas as espécies contêm os mesmos componentes da parede celular, mas em proporções diferentes. Como o perfil de citocinas estimulado por *S. schenckii* é mais pró-inflamatório do que o produzido pelo *S. brasiliensis*, as lesões geradas por *S. schenckii* são autolimitantes e facilmente controladas pelo organismo infectado, enquanto que *S. brasiliensis* induz lesões graves, não autolimitantes, podendo levar à morte.⁵⁰

Além dos receptores tipo Toll, foi observado a ativação da dectina-1 e do receptor de manose (MR). Quando *S. schenckii* e *S. brasiliensis* está em forma de conídio, a produção de IL-10 é totalmente dependente da sinalização de dectina-1 por parte dos monócitos humanos. Quando *S. schenckii* se diferencia para levedura, monócitos humanos reconhecem o fungo principalmente por dectina-1 e TLR-2. No caso do MR, presente principalmente na superfície de macrófagos, sua importância está na ligação e fagocitose de conídios opsonizados⁵¹, no reconhecimento das leveduras de *S. brasiliensis* e na produção de TNF α e IL-6, sendo também essencial para estimulação de IL-1 β ⁵⁰.

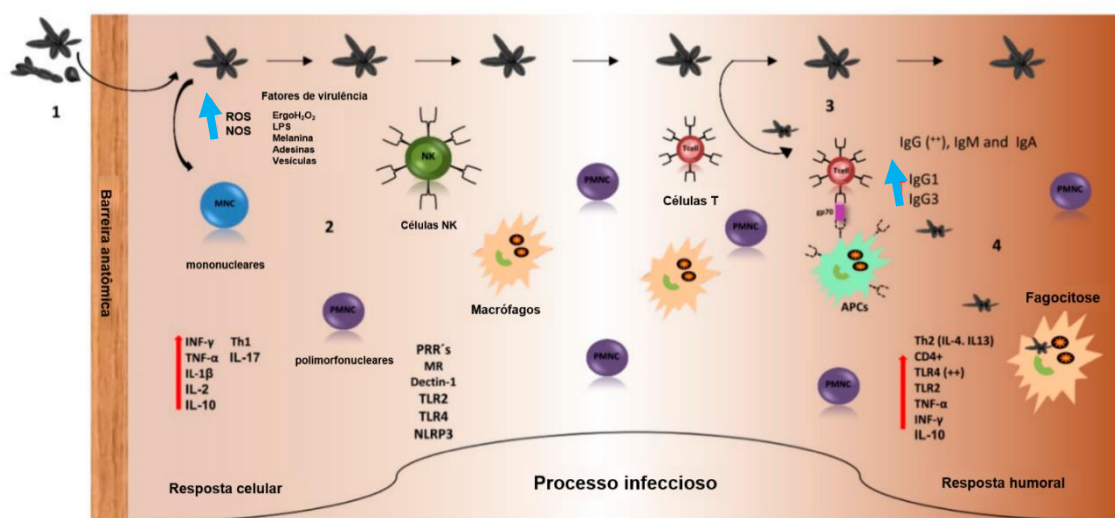
Outro receptor de reconhecimento padrão identificado na infecção e importante na produção de IL-1 β é o NLRP3. Um estudo traz a informação de

que a produção dessa citocina depende exclusivamente do inflamassoma NLRP3. Essa citocina é importante na indução de IL-17 e IL-23, afetando a resposta adaptativa de células Th1 e Th17 durante a infecção por *S. schenckii*⁵².

Em relação a resposta humoral, antes acreditava-se que não havia importância no controle da esporotricose, mas estudos recentes apontam o contrário. Com a caracterização de componentes (via análise imunoproteômica) da parede celular tanto do filamento quanto da levedura, uma glicoproteína, presente em todas as espécies clínicas⁵³, a proteína de 70 kDa, que se acredita ser Gp70 (uma adesina), se mostrou não só ser a principal molécula antigênica, promovendo altos níveis de IFN- γ , IL-17A, IFN- β , e IL-1 β , ativando células TCD4, mas também a responsável pela produção de IgG1 e IgG3. Esses anticorpos são encarregados pela opsonização e neutralização de leveduras do *Sporothrix*, melhorando a competência dos macrófagos, reduzindo as unidades formadoras de colônias (UFCs) nos órgãos. A hipótese trazida pelo estudo é de que resolução da doença independe da capacidade do hospedeiro de eliminar o patógeno, mas sim de uma imunidade adquirida desenvolvida com o tempo^{48,54}.

Nos gatos o desequilíbrio entre TCD4 e TCD8 está associado com as condições clínicas. Animais que possuem melhor resposta no controle da infecção, apresentam aumento dos níveis de células CD4+. Já aqueles com quadro clínico que apresentam lesões disseminadas e alta carga fúngica, há o aumento dos níveis de células CD8+ bem como da expressão de CD8baixo.⁵⁵

Figura 8: Resposta imune do hospedeiro humano contra *Sporothrix* spp. **1 e 2.** Imunidade inata: A infecção com *Sporothrix* ocorre pela inoculação traumática de leveduras, conídios ou hifas. Uma vez que o fungo atravessa as barreiras primárias do sistema imunológico, componentes do patógeno desencadeiam a resposta imune inata, incluindo células e moléculas para atacar o invasor. **3.** Reconhecimento e ativação de células T **4.** Resposta humoral. MNC: células mononucleares. PMNC: Células polimorfonucleares. NK: Células assassinas naturais. Setas pretas: sequência de infecção. Setas vermelhas: aumento da produção e participação durante a infecção. Seta azul: aumento durante a infecção.

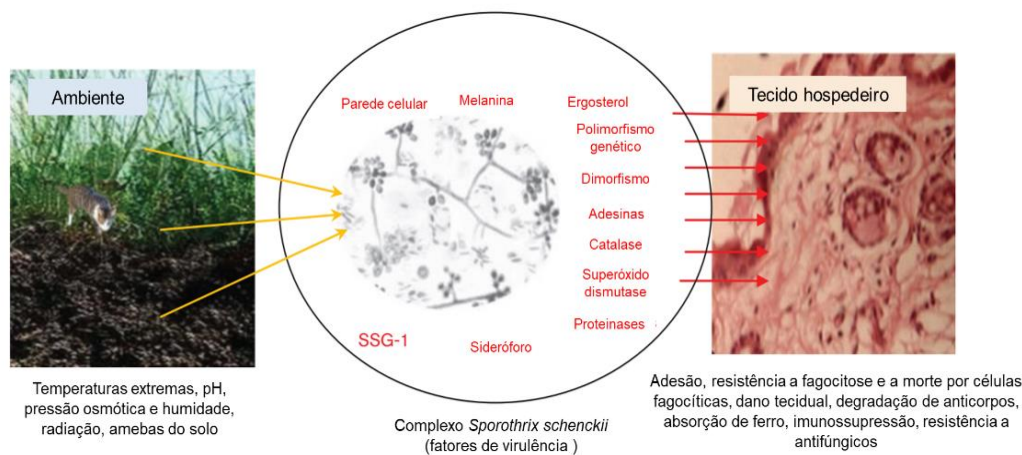


Fonte: Adaptada de GARCÍA CARNERO *et al.*, (2018).⁴⁸

Fatores de virulência

Os fatores de virulência são fatores que intensificam a patogenicidade do microrganismo, isto é, que os tornam mais resistentes, agressivos ao tecido do hospedeiro, agravando a doença.⁵⁶ Em fungos patogênicos, os fatores mais comumente encontrados são a parede celular que promove resistência a componentes do sistema imune; a termotolerância que permite o seu crescimento dentro do hospedeiro; a produção de enzimas e de toxinas que promovem dano direto às células do hospedeiro; e a formação de biofilmes que promovem adesão e translocação das barreiras epiteliais.⁵⁷ A Figura 11 traz exemplos desses fatores no complexo *Sporothrix schenckii*.⁵⁸

Figura 9: Fatores de virulência do complexo *Sporothrix schenckii*. A origem da virulência está relacionada às interações do patógeno com diferentes adversidades presentes no ambiente e no hospedeiro. Essas mudanças adaptativas permitem que a capacidade de sobrevivência seja adquirida, tendendo a uma maior virulência.



Fonte: Adaptada De M. D. TÉLLEZ *et al.*, (2014).⁵⁸

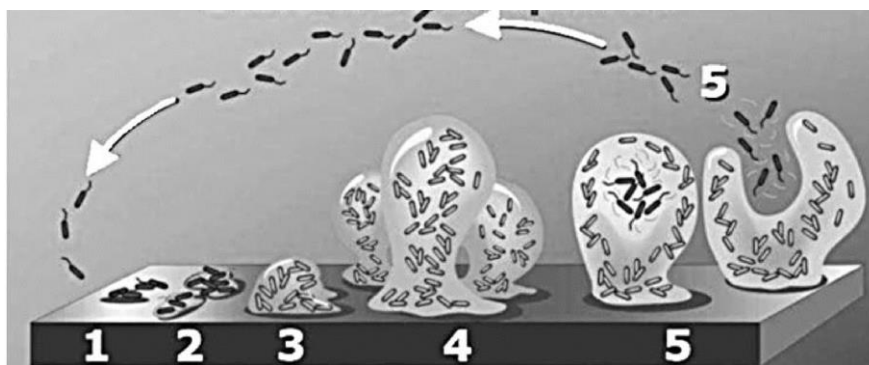
Desde a década de 90, houve a gradativa percepção da importância da formação de biofilmes pelos fungos. Hoje, inúmeras publicações trazem informações sobre biofilmes em infecções oportunistas causadas por *Candida albicans*, *Malassezia pachydermatis*, *Histoplasma capsulatum* e *Cryptococcus neoformans*. Os fungos patogênicos são capazes de formar biofilmes dentro dos pacientes, provocando infecções fúngicas invasivas e resistentes a antifúngicos.⁵⁹

Biofilme: definição e características

O Biofilme é definido como um conjunto diverso de microcolônias ou células únicas incorporadas à matriz exopolissacarídica que aderem entre si e em superfícies, tanto abióticas quanto bióticas, e se assemelham a tecido de células eucarióticas. A formação do biofilme ocorre em cinco etapas (Figura 10). **Etapa 1:** Formação do filme condicionante e fixação reversível. Nesta etapa as células planctônicas que se aproximam da superfície por fluido ou por motilidade se aderindo a ela. **Etapa 2:** Fixação irreversível. Esta etapa

é marcada pela secreção da Matriz extracelular polimérica (MEC), que facilita a adesão do fungo à superfície. **Etapa 3:** Replicação/Multiplicação. As células adsorvidas à superfície se multiplicam formando microcolônias. **Etapa 4:** Amadurecimento. A comunidade cresce em uma estrutura tridimensional e amadurece. As células de um biofilme maduro ficam aderidas pela MEC e resistem a tensões mecânicas e ao deslocamento da comunidade a partir da superfície do substrato. **Etapa 5:** Dispersão. Algumas células se desprendem e podem adsorver-se a outras superfícies e formar novos biofilmes. Esta etapa é muito importante para a propagação e auto renovação da comunidade^{59,60}.

Figura 10: Etapas de desenvolvimento do biofilme. **Etapa 1:** fixação inicial das células à superfície. **Etapa 2:** produção de MEC resultando em células mais firmemente aderidas. **Etapa 3:** desenvolvimento inicial da arquitetura do biofilme. **Etapa 4:** maturação da arquitetura do biofilme. Etapa 5: dispersão de células planctônicas do biofilme.



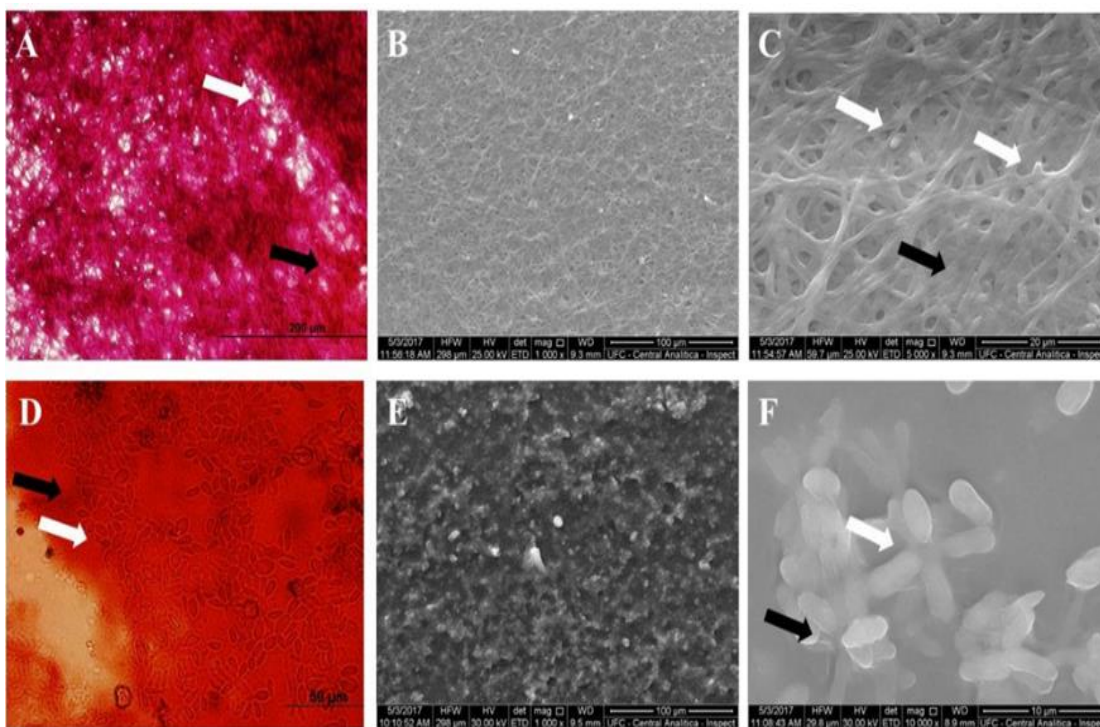
Fonte: STOODLEY, P *et al.*, (2002).⁶¹

A presença de homeostase e sistema circulatório primitivo, matriz e a justaposição de células – fornecendo proteção às condições ambientais adversas e aos agentes biológicos e químicos – acarreta na característica mais perigosa do biofilme: o aumento da resistência a fármacos.^{62,63}

Estudos de susceptibilidade de espécies do gênero *Sporothrix* aos antifúngicos usados no tratamento demonstraram aumento na resistência à anfotericina B, imidazóis, triazóis e equinocandinas na presença de biofilmes. A capacidade de formar biofilme deste complexo de espécies foi então especulada, testada e validada, evidenciando que as cepas de *S. brasiliensis*,

S. schenckii sensu stricto, *S. globosa* e *S. mexicana* são produtoras de biofilme.⁶⁴ A Figura 11 traz imagens de biofilmes de *S. brasiliensis* nas formas de filamento e levedura.

Figura 11: Biofilmes de *Sporothrix brasiliensis*, corados através da técnica de vermelho Congo e observado ao microscópio óptico (**A e D**) e analisados em microscopia eletrônica de varredura (MEV) (**B, C, E e F**). **A** - Biofilme filamentosos, 400X, com hifas entrelaçadas (seta branca) e matriz extracelular (seta preta); **D** - Biofilme leveduriforme, 1000X, mostra as células em formato ovalado (seta branca) e a matriz extracelular (seta preta). **B** - Biofilme filamentosos, 1000X. **C** - Biofilme filamentosos, 5000X, seta branca indica a formação do biofilme com hifas e conídios, a seta preta mostra a matriz extracelular envolva das estruturas. **E** - Biofilme leveduriforme, 1000X. **F** - Biofilme leveduriforme, 10000X, a seta branca indica os blastoconídios em brotamento, com formato em charuto, a seta preta mostra as células envolva por matriz extracelular.

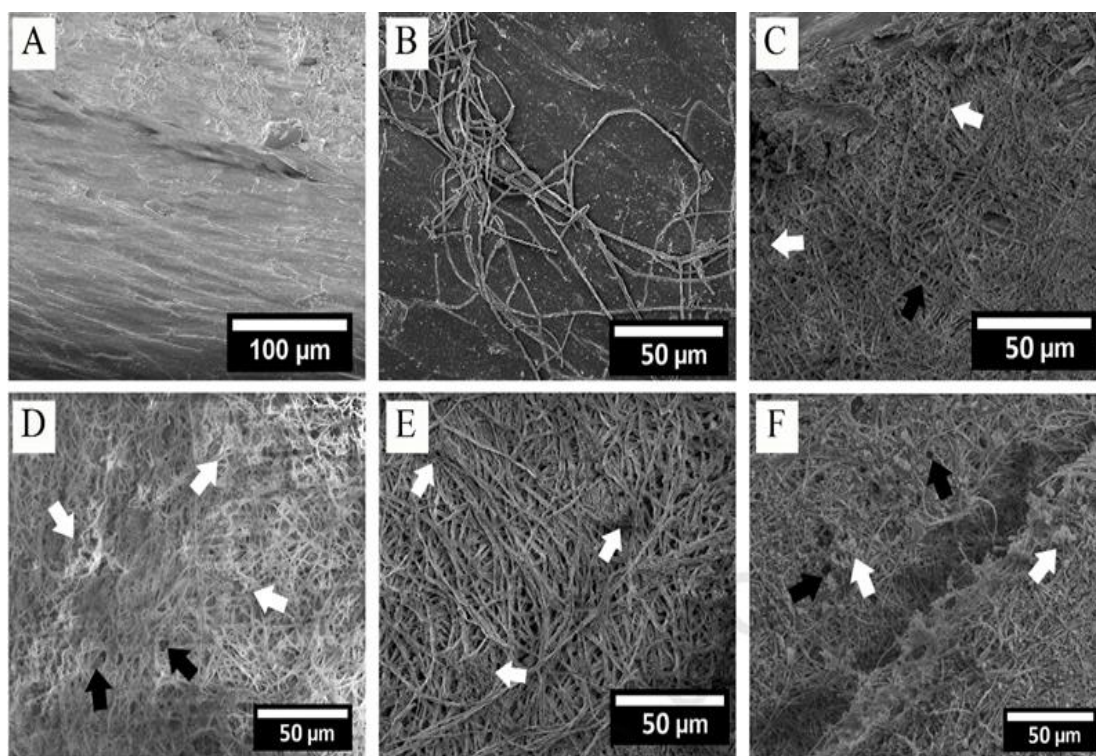


Fonte: SILVA, M. L. Q. (2017).⁶⁵

Apesar de apenas provado *in vitro*, estudos *ex vivo* em unhas de gatos (figura 12) trazem uma hipótese de que os biofilmes podem se formar no animal e facilitar a manutenção da transmissão e a dificuldade na erradicação do microorganismo.⁶⁶ Arranhões causados por gatos são uma importante fonte de transmissão de esporotricose e *Sporothrix* spp. foram isolados das unhas desses animais.⁶⁷ Considerando a relevância do conceito atual de “One

Health”⁶, essa observação pode ser de grande importância para o desenvolvimento de medidas profiláticas e de tratamento da esporotricose.⁶⁷

Figura 12: Imagens em MEV de biofilmes formados de *Sporothrix brasiliensis* em fragmentos de unha de gato. **A.** Controle negativo, superfície da unha de um gato sem crescimento de fungos em aumento de 1.000 x. **B.** Filamento inicial após 24 h de incubação com ampliação de 2.000 x. **C.** Biofilme formado após 72 h (3 dias) de incubação em ampliação de 2.000 x. Observe que o biofilme já possui matriz e canais de água. **D.** Biofilme formado após 168 h (7 dias) de incubação em ampliação de 2.000 x. **E.** Biofilme formado após 240 h (10 dias) de incubação em ampliação de 2.000 x. **F.** Biofilme formado após 360 h (15 dias) de incubação em ampliação de 2.000 x. Observe a grande concentração de conídios. As imagens C a F mostram agregados de hifas circundados por matriz extracelular (setas brancas). Em alguns pontos, canais de água (setas pretas) podem ser observados.



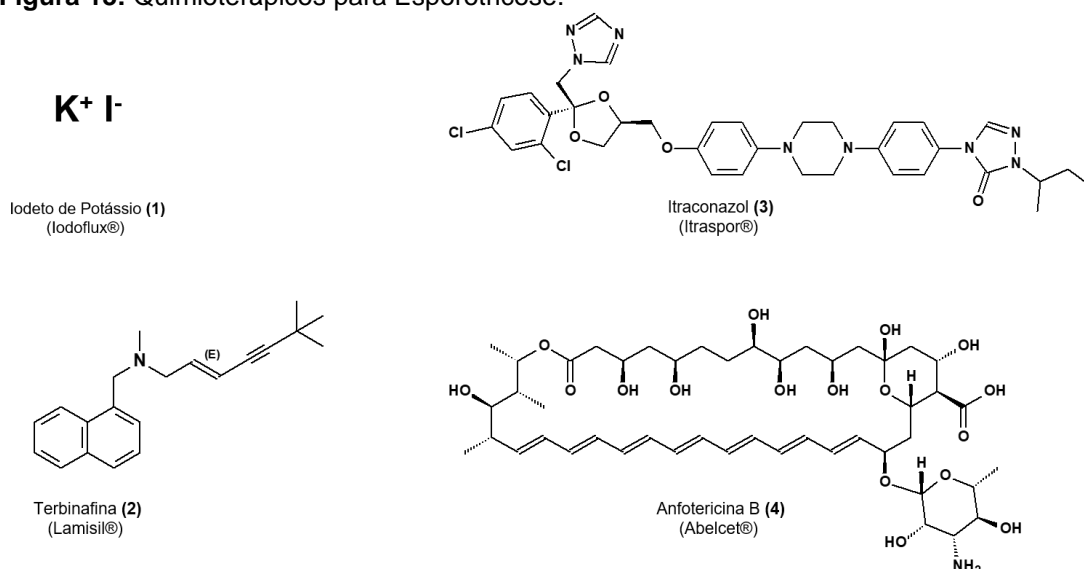
Fonte: BRILHANTE, R. S. N. *et al.*, (2021).⁶⁶

⁶ One Health: uma abordagem que reconhece que a saúde das pessoas está intimamente ligada à saúde dos animais e ao nosso ambiente compartilhado.

Quimioterapia da Esporotricose

Os agentes antifúngicos utilizados para o tratamento da esporotricose humana são iodeto de potássio (1), terbinafina (2), itraconazol (3) e o complexo lipídico de anfotericina B (4), para as formas graves disseminadas (Figura 13). O Sistema Único de Saúde (SUS), através da Secretaria de Vigilância em Saúde, oferece gratuitamente itraconazol e o complexo lipídico de anfotericina B para o tratamento da esporotricose humana.²³

Figura 13: Quimioterápicos para Esporotricose.



O iodeto de potássio (1), ainda no século 19, foi indicado como primeiro tratamento para esporotricose, no entanto seu mecanismo de ação ainda não está completamente esclarecido. Acredita-se que atue na resposta imune com destruição de granulomas, na quimiotaxia de neutrófilos e na fagocitose das células *Sporothrix*.²⁰ As altas doses prescritas e uso prolongado fazem o paciente interromper o tratamento em função da toxicidade.^{68,69} O uso do iodeto de potássio (1) aparece satisfatório para esporotricose cutânea e linfocutânea. Nos casos de esporotricose disseminada não se recomenda devido ao sistema imune do paciente está comprometido.⁷⁰

No caso de gatos, eles geralmente rejeitam medicação oral, especialmente em solução. Ademais, felinos são muito sensíveis ao iodeto de potássio e podem apresentar espasmos musculares, vômito, anorexia, hipotermia e depressão com certa frequência.^{7,71}

A terbinafina (**2**), apesar de pouca atividade *in vitro* contra leveduras,⁷² é uma alternativa terapêutica recomendada para pacientes com esporotricose cutânea ou linfocutânea que não podem usar nem o iodeto de potássio ou itraconazol devido a interações medicamentosas ou efeitos adversos.⁷³

O agente azol itraconazol (**3**) é o medicamento de escolha para o tratamento da esporotricose cutânea, mas por possuir efeito fungistático não é recomendado para o tratamento de infecções fúngicas invasivas.⁷²

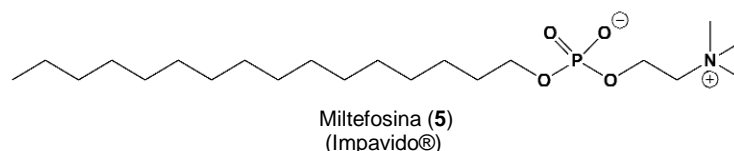
O composto orgânico poliinsaturado anfotericina B (**4**), produzido por *Streptomyces nodosus*, é um potente antifúngico usado no tratamento de infecções fúngicas sistêmicas e o único dos quimioterápicos que possui ação fungicida, sendo prescrito para forma disseminada da esporotricose. Esse poliênico possui 10 vezes mais afinidade ao ergosterol – esterol predominante nas membranas fúngicas – apresentando atividade antifúngica seletiva. Apesar da sua seletividade, **4** possui pouca solubilidade em água e interage, em menor grau, com o colesterol de mamíferos. Neste contexto, **4** é pouco absorvido pelo trato gastrointestinal e, portanto, deve ser administrado por via parenteral, o que pode levar à toxicidade infusional, nefrotoxicidade e hipocalcemia.^{72,74,75}

Diante do exposto, embora esses medicamentos sejam clinicamente úteis, além de possuírem limitações a depender da forma clínica e apresentam toxicidade que interfere no curso do tratamento, já é descrito na literatura cepas de *S.brasiliensis* mais virulentas e resistentes aos medicamentos utilizados no tratamento⁸⁰, o que leva a urgência do descobrimento de fármacos . Dentre as formas de descobrimento, uma alternativa é o reposicionamento de fármacos já existentes no mercado.

Reposicionamento de Fármacos: Miltefosina

A hexadecilfosfocolina miltefosina (**5**) (Figura **14**) foi desenvolvida no começo da década de 80 como agente citostático. Esse fármaco não foi bem sucedido na oncologia, mas seu potencial antiparasitário para o tratamento da Leishmaniose humana e canina reacendeu o interesse da comunidade científica pelo medicamento.^{76,77}

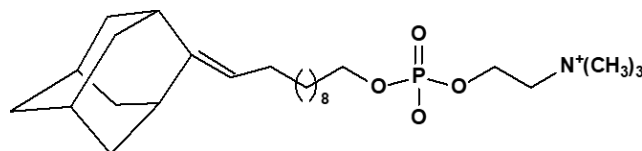
Figura 14: Fórmula estrutural da Miltefosina.



Em fungos a miltefosina (**5**) foi testada em leveduras trazendo resultados semelhantes aos observados em Leishmanias, com a morte celular do organismo por apoptose⁷⁸. Em relação à esporotricose, **5** foi testada *in vitro* contra cepas resistentes aos antifúngicos e apresentou resultado considerável^{79,80} contra o biofilme de *Sporothrix* spp com redução da atividade metabólica do biofilme em 67,7 % na forma filamentosa e 51,6 % na forma de levedura.⁷⁹

Entretanto, os testes *in vivo* em gatos demonstraram aumento das lesões e não levou à remissão clínica da esporotricose refratária ao tratamento convencional com itraconazol.⁸¹ Antes deste teste, novos análogos da miltefosina foram sintetizados visando a diminuição de sua citotoxicidade e melhoria do perfil antifúngico. Entre os análogos desenvolvidos está o derivado TCAN26 (Figura **15**) que foi avaliado para *S. schenckii*, demonstrando maior seletividade e menor toxicidade que a miltefosina.⁸²

Figura 15: Fórmula estrutural do TCAN26.



Fonte: Adaptada de BORBA-SANTOS *et al.*, (2016)⁸²

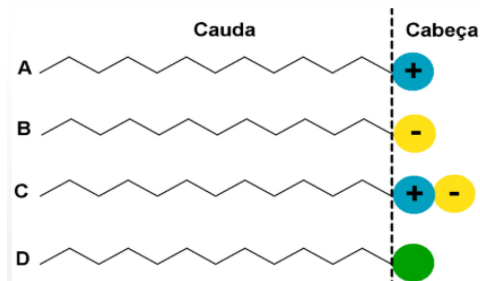
Estudos com a Miltefosina que envolvam a inibição da formação do biofilme de *Sporothrix* spp ainda não são relatados na literatura, apenas para *Candida albicans*.⁸³ Esses estudos tem o intuito de propor medidas profiláticas no avanço ou formação do biofilme para impedir infecções nosocomiais⁷.

Derivados anfílicos faciais (surfactantes)

Compostos anfílicos são aqueles que apresentam em sua estrutura subunidades polares (hidrofílica) e apolar (hidrofóbica). A subunidade apolar, também denominada de cauda, é constituída por uma ou duas cadeias carbônicas, enquanto a subunidade polar ou cabeça, pode apresentar grupos iônicos (cátions ou ânions e/ou zwitterions), não iônicos ou anfóteros, que se comportam como ácido ou base dependendo do pH do meio (Figura 16).⁸⁴

⁷ Infecções nosocomiais: infecções adquiridas no hospital, durante a internação, relacionado ao uso de sondas, cateteres ou intubação.

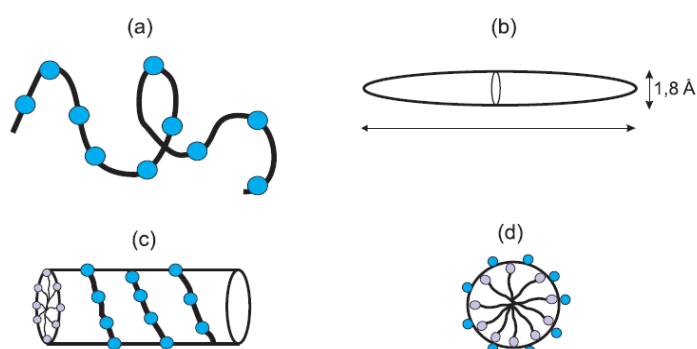
Figura 16: Representação esquemática dos compostos anfifílicos catiônicos (**A**), aniônicos (**B**), zwitterions (**C**) e não iônicos (**D**). A cauda corresponde à subunidade apolar e a cabeça à subunidade polar



Fonte: LORENA DE OLIVEIRA *et al.*, (2017).⁸⁴

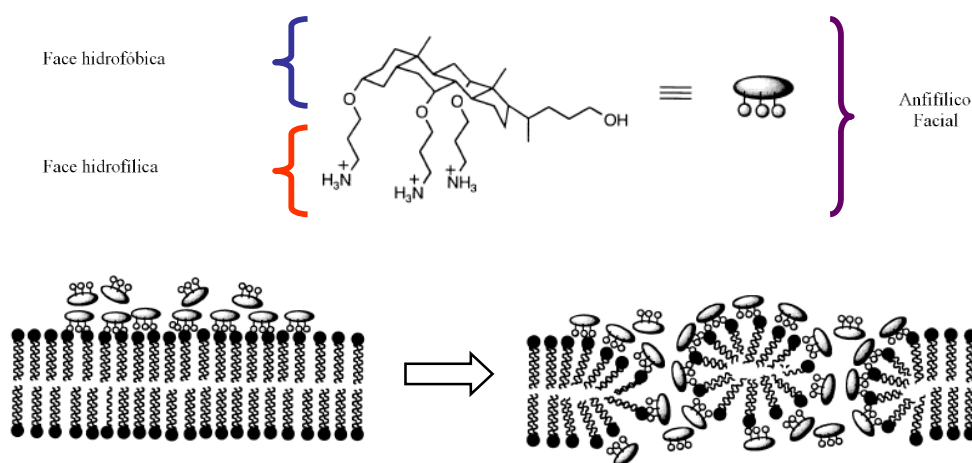
A capacidade desses compostos de alterar a permeabilidade da membrana está associada a possíveis mecanismos como a interação com proteína de membrana em concentrações acima da concentração micelar crítica (CMC), atuando como desnaturantes, desenovelando e descaracterizando suas estruturas terciárias. No entanto, em baixas concentrações podem interagir a proteínas mantendo sua estrutura terciária intacta ou causar dissociação e/ou desnaturação.⁸⁵ Alguns modelos de interação entre o composto anfifílico e proteínas estão representados nas Figura 17 e 18.

Figura 17: Representação esquemática da interação entre proteína e os compostos anfifílicos: (a) modelo “colar de pérolas”; (b) elipsóide prolato; (c) e (d) vista lateral e frontal, respectivamente, do modelo “hélice flexível”



Fonte: adaptada de TURRO *et al.*, (1995).⁸⁶

Figura 18: Representação esquemática do 'modelo de carpete' de anfífilos faciais catônicos.



Fonte: Adaptada de SAVAGE *et al.*, (2002).⁸⁷

As presenças de longa cadeia hidrofóbica com 15 carbonos e subunidade polar, representada pelo grupo fosfocolínico, classifica a miltefosina (**5**) como derivado zwitterion que pode interagir facilmente com as membranas lipídicas dos parasitos, sendo este um dos possíveis mecanismos de ação relacionados à sua atividade antileishmania. Estas características zwitterionicas da miltefosina (**5**) – que apresentou atividade antifúngica ao *Sporothrix brasiliensis* na forma filamentosa (MIC: 2 a 4 $\mu\text{g/mL}$)⁷⁹ – são parcialmente observadas nos lipídeos fenólicos presentes no líquido da casca da castanha do caju (LCC).

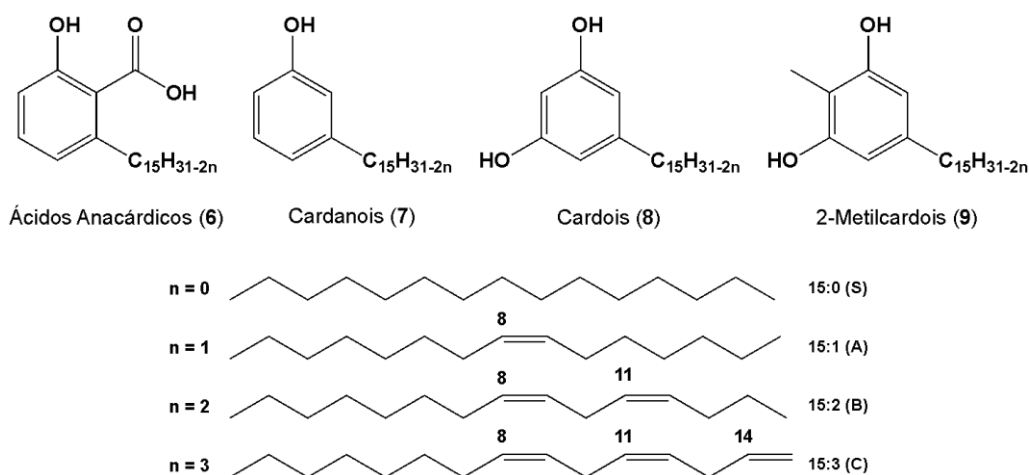
O líquido da casca da castanha do caju (LCC)

Os lipídeos fenólicos do líquido da casca da castanha de caju (LCC) estão presentes nas cascas das castanhas de caju do gênero *Anacardium*. O LCC, produzido no mesocarpo da castanha, é um óleo viscoso e castanho escuro que compreende 25-30 % do peso do fruto *in natura*, sendo uma das

fontes mais ricas de misturas de lipídeos fenólicos não-isoprenoides, e.g. ácidos anacárdico (71-82 %), cardanois (2-9 %), cardois (13-20 %) e metilcardois (1-4 %) (Figura 19). Já o LCC técnico – obtido por processo termomecânico à temperaturas de 185-195 °C – apresenta a conversão da mistura de ácidos anacárdicos na mistura de cardanois via descarboxilação, tornando-se o componente majoritário (67-95 %).

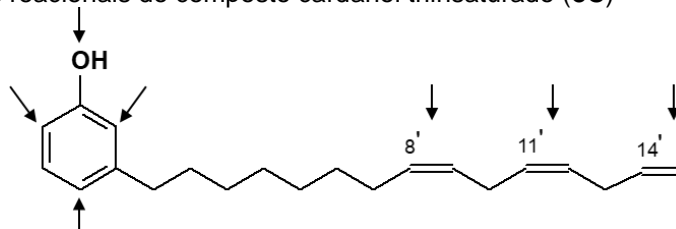
Estes compostos apresentam cadeia lateral com 15 carbonos na posição *meta* em relação à hidroxila, contendo de zero a três insaturações localizadas em C-8' (monoeno), C-8' e C-11' (dieno) e C-8', C-11' e C-14' (trieno).⁸⁸⁻⁹⁰

Figura 19: Lipídeos fenólicos do líquido da casca da castanha de caju (LCC)



Do ponto de vista químico, os lipídeos fenólicos do LCC são uma matéria-prima versátil para transformações químicas em seus grupos funcionais polares no anel aromático e múltiplas insaturações na cadeia alifática em C-8', C-11' e C-14, exemplificadas para o cardanol triinsaturado na Figura 20.

Figura 20: Sítios reacionais do composto cardanol triinsaturado (**8C**)



Fonte: Adaptada de MAZZETTO *et al.*, (2009).⁹¹

Do ponto de vista bioeconômico, o LCC é uma matéria-prima abundante, obtido de fonte renovável e de baixo custo, sendo estratégico ao desenvolvimento de candidatos a fármacos sustentáveis. As características eletrônicas e hidrofóbicas bem como a possibilidade de funcionalização confere a estes derivados atributos estruturais relevantes ao reconhecimento molecular por diferentes alvos terapêuticos. Neste contexto, o planejamento, síntese e avaliação de compostos anfifílicos neutros e catiônicos a partir do LCC, semelhante aos derivados fosfolínicos, é uma das estratégias a ser explorada para o estudo e desenvolvimento de derivados antifúngicos para o tratamento da esporotricose.

Justificativa

3. JUSTIFICATIVA

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) afetam principalmente populações pobres nas regiões mais vulneráveis, muitas vezes miseráveis, do planeta, levando a graves consequências sociais e econômicas. O aumento drástico no número de infecções fúngicas em países em desenvolvimento aliado à crise econômica, ao alto custo de medicamentos, ao acesso deficiente ao tratamento médico e farmacêutico e o aumento de pacientes imunocomprometidos com quadros clínicos de esporotricose disseminada urge o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes.

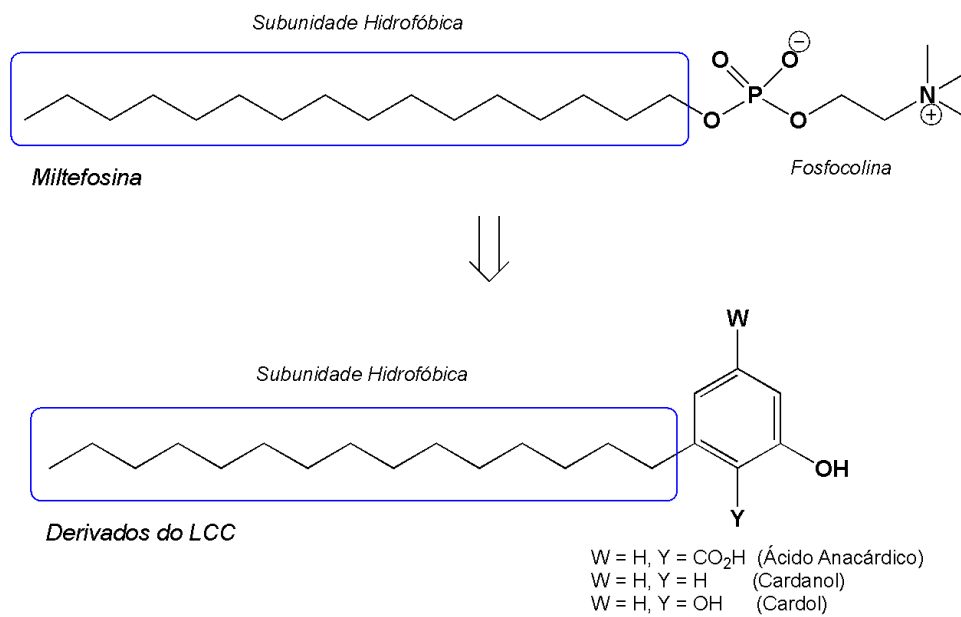
Por ser uma doença emergente, negligenciada e devido ao seu histórico de doença branda, o investimento em novos fármacos para a esporotricose tem sido limitado aos antifúngicos existentes. Entretanto, o Brasil está lidando com uma nova espécie, mais virulenta, mais patogênica com interação parasita-hospedeiro sofisticada que agrava a infecção sendo, adicionalmente, mais resistente aos tratamentos atualmente utilizados alertando à necessidade de novos agentes terapêuticos.

Desde as origens, o homem utiliza de produtos naturais para o tratamento de enfermidades. A diversidade de compostos químicos em espécies abundantes associadas à sustentabilidade e baixos custos permitem o isolamento e planejamento para desenvolvimento de novos candidatos a fármacos. O Brasil possui grande diversidade de fontes renováveis com produtos naturais em abundância como é o caso do LCC. A utilização desta matéria-prima obtida como resíduo industrial, favorece e fortalece a manutenção da cajucultura em seus aspectos sociais e econômicos. Essa vertente representa a promoção do desenvolvimento sustentável suportada por autonomia tecnológica e pela obtenção de produtos de alto valor agregado aos derivados do LCC.

Baseados na similaridade estrutural entre a miltefosina (5) e os derivados saturados do LCC, este trabalho está compreendido entre as estratégias de planejamento de novos candidatos a agentes terapêuticos a partir dos lipídeos fenólicos do LCC (Figura 21) para medidas profiláticas

visando a prevenção da instalação da infecção ou de tratamento de infecções fúngicas em consonância à necessidade de novos fármacos para o tratamento da esporotricose.

Figura 21: Planejamento baseado nos lipídeos fenólicos do LCC



Objetivos

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Planejar e Sintetizar novos derivados amínicos (**12-20**) e *N*-metilamônicos (**23-29**) a partir do cardanol saturado e avaliar *in vitro* o perfil de atividade frente a fungos da espécie *Sporothrix brasiliensis*.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar e caracterizar intermediários e produtos finais amínicos(**12-20**) e *N*-metilamônicos (**23-29**) a partir do cardanol saturado;
- Determinar o efeito dos derivados-alvo (**12-29**) sintetizados sobre a viabilidade celular de macrófagos da linhagem 264.7
- Avaliar a atividade antifúngica *in vitro* dos derivados-alvo (**12-29**) sintetizados por meio da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da inibição da formação de biofilme de *Sporothrix brasiliensis*.
- Estabelecer relações estrutura/propriedade-atividade

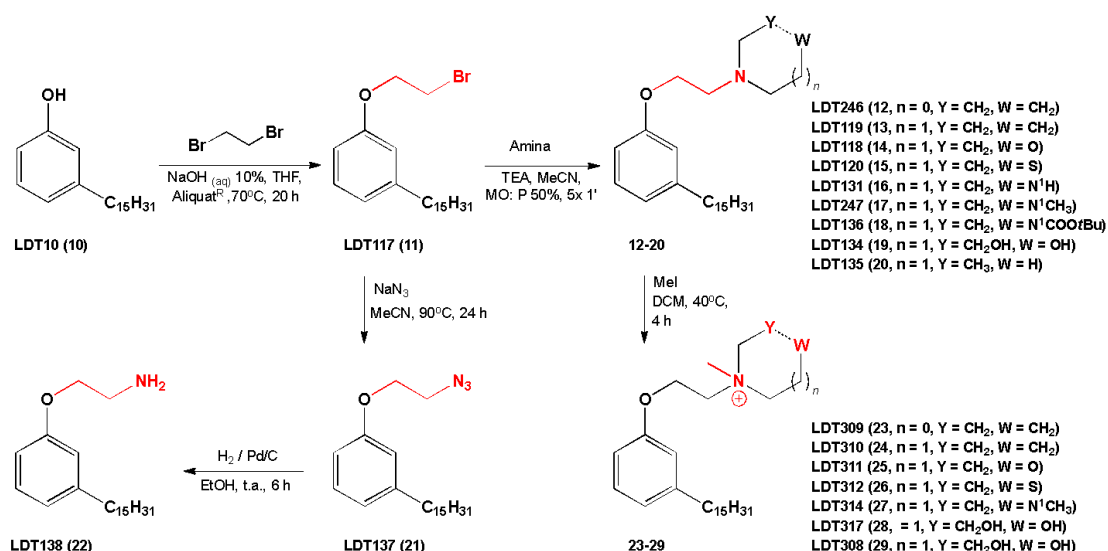
Planejamento Sintético

5. PLANEJAMENTO SINTÉTICO

O planejamento sintético para a obtenção dos derivados-alvo **12-29** compreendeu a exploração de procedimentos clássicos e.g. O-alkilação e substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) de acordo com o trabalho desenvolvido por Santos⁵² (Esquema 1).

Neste sentido, 3-pentadecilfenol (**10**), adquirido da Sigma-Aldrich, foi submetido à reação com 1,2-dibromoetano para obtenção do intermediário bromado LDT117 (**11**), o qual foi convertido às aminas terciárias **12-19** por reação assistida em refluxo em acetonitrila. Para obtenção da amina primária, **11** foi convertido no intermediário azida LDT137 (**20**), o qual foi reduzido à amina-alvo (**21**). Em seguida, as aminas terciárias foram submetidas à reação de *N*-metilação com iodeto de metila levando aos respectivos sais *N*-metilamônio **23-29**.

Esquema 1: Método sintético geral para obtenção dos derivados-alvo (12-29)



Resultados e Discussão

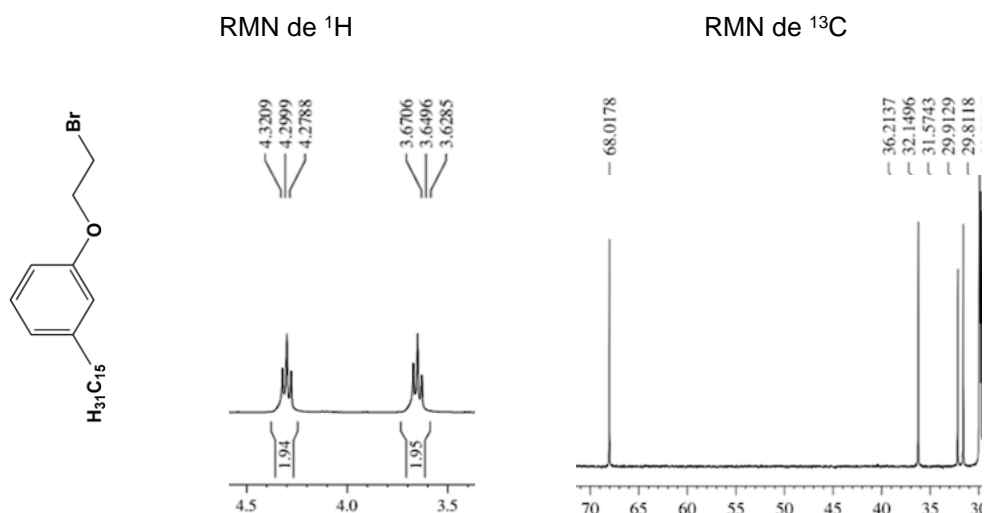
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

6.1.1. Obtenção e caracterização dos derivados LDT117 (**11**), LDT137 (**21**) e LDT138 (**22**)

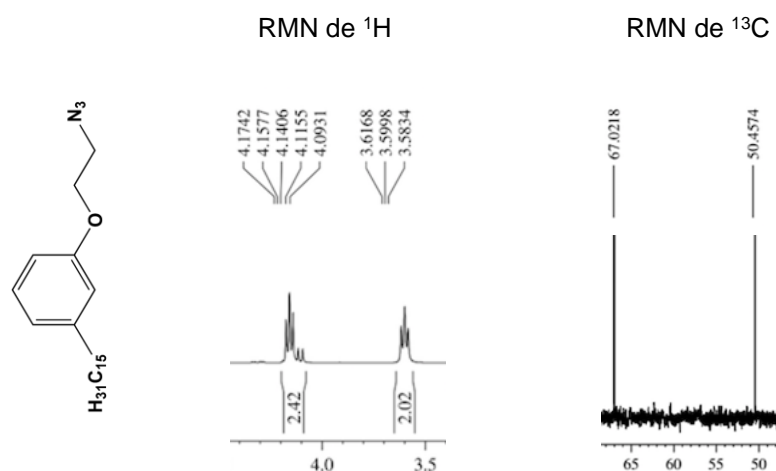
O intermediário LDT117 (**11**) foi obtido em rendimento de 43 % pela reação do fenol **10** com 1,2-dibromoetano na presença de solução de NaOH a 10 %, THF e Aliquat®. **11** foi caracterizado por espectroscopia de RMN de ^1H pela presença de dois tripletos em 4,30 ppm (**a**) e 3,65 ppm (**b**) referentes aos grupos metilenos ligados aos átomos de oxigênio e bromo, respectivamente, corroborados pelos deslocamentos químicos em 68,0 ppm (**a**) e 29,9 ppm (**b**) em RMN de ^{13}C (Figura 22).

Figura 22: Espectros de RMN de hidrogênio e de carbono 13 para os grupos metilenos a e b para o derivado LDT117 (**11**)



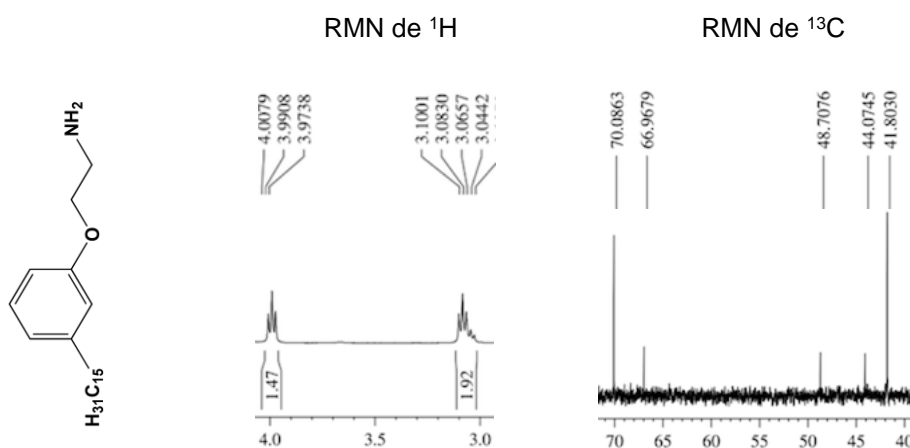
O intermediário **11** foi convertido à azida LDT137 (**21**) em rendimento de 36 % explorando a substituição do átomo de bromo pela azida em acetonitrila sob refluxo a 90 °C por 24 horas. Os grupos metilenos de **21** foram caracterizados como tripletos em 4,16 ppm (**a**) e 3,60 ppm (**b**) em RMN de ^1H e confirmados em 67,0 ppm (**a**) e 50,5 ppm (**b**) em RMN de ^{13}C (Figura 23).

Figura 23: Espectros de RMN de hidrogênio e de carbono 13 para os grupos metilenos **a** e **b** para o derivado LDT137 (**21**)

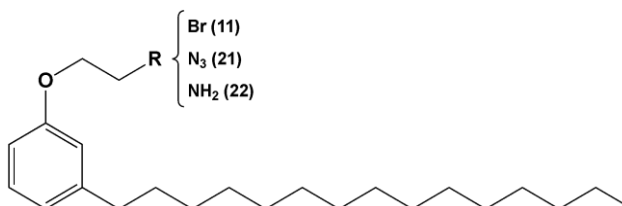


O derivado **21** foi reduzido à amina primária LDT138 (**22**) por meio da reação de hidrogenação catalítica catalisada por Pd/C a 10 % em hidrogenador Paar em rendimento de 44 %. Os grupos metilenos de **21** foram caracterizados como tripletos em 3,99 ppm (**a**) e 3,01 ppm (**b**) em RMN de ^1H e confirmados em 41,8 ppm (**b**) e 70,1 ppm (**a**) em RMN de ^{13}C (Figura 24).

Figura 24: Espectros de RMN de hidrogênio e de carbono 13 para os grupos metilenos **a** e **b** para o derivado LDT138 (**22**)



Dados físico-químicos e de rendimento para os derivados LDT117 (**11**), LDT137 (**21**) e LDT138 (**22**) estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Dados de caracterização dos derivados LDT117 (**11**), LDT137 (**21**) e LDT138 (**22**)

Derivado	Rendimento (%)	Ponto de Fusão (°C)	Fator de Retenção (Rf)	Massa Molar (g mol ⁻¹)
LDT117 (11)	43	34,0-36,0	0,6 ^a	411,468
LDT137 (21)	36	32,2-36,7	0,3 ^a	373,575
LDT138 (22)	44	34,9-37,0	0,6 ^b	347,587

a. C₆H₁₄; b. CHCl₃:EtOH 20 %;

6.1.2. Obtenção e caracterização dos derivados amínicos **12-20**

As aminas terciárias β-fenoxissubstituídas foram obtidas a partir do intermediário LDT117 (**11**) na presença de TEA e acetonitrila em refluxo a 60 °C com tempo reacional variando de 6 h a 13 h. As aminas foram evidenciadas por CCD como único produto com Rf menor que o **11** em função de grupamentos polares das aminas.

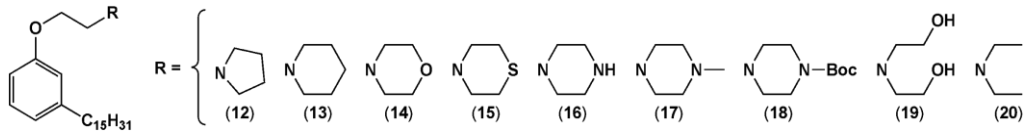
Os compostos derivados de aminas cíclicas LDT246 (**12**, pirrolidina), LDT119 (**13**, piperidina), LDT118 (**14**, morfolina), LDT120 (**15**, tiomorfolina), LDT131 (**16**, piperazina), LDT247 (**17**, metilpiperazina), LDT136 (**18**, Boc-piperazina) e os derivados acíclicos LDT134 (**19**, dietanolamina) e LDT135 (**20**, dietanolamina) foram obtidos como óleos ou sólidos em rendimentos que variaram de 61 % a 89 %.

Visando estabelecer relações entre as propriedades físico-químicas e a atividade dos compostos **12-20**, dados teóricos sobre basicidade (pK_aH) bem como os coeficientes de distribuição (LogD_{7,0}) e de solubilidade (LogS_{7,0}) em pH 7,0 foram realizados no programa Percepta/ACD Labs, versão 2014, os quais juntamente com rendimentos estão apresentados na Tabela **2**.

Os derivados-alvo **12-20** foram imediatamente transformados em seus respectivos cloridratos, visando evitar a oxidação do nitrogênio a N-óxido bem

como aumentar a solubilidade para execução dos testes *in vitro* em meio aquoso.

Tabela 2. Dados de caracterização dos derivados amínicos terciários **12-20**

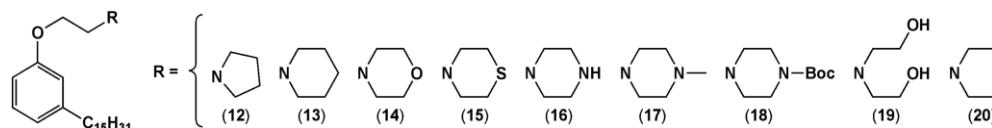


Derivado	Rend. (%)	p.f. (°C)	Rf	Massa Molar (g mol ⁻¹)	pK _a H	LogD (pH 7,0)	LogS (pH 7,0)
LDT246 (12)	61	--	0,4 ^e	401,668	9,7	7,5	-6,0
LDT119 (13)	81	--	0,6 ^a	415,695	8,7	8,6	-7,2
LDT118 (14)	89	35,6-36,4	0,3 ^b	417,668	6,5	9,3	-8,4
LDT120 (15)	83	43,0-44,7	0,6 ^c	433,733	6,8	9,9	-8,6
LDT131 (16)	75	53,8-56,0	0,3 ^f	416,683	9,1	7,2	-5,6
LDT247 (17)	69	--	0,5 ^g	430,709	7,6	8,5	-7,1
LDT136 (18)	69	70,7-74,0	0,5 ^g	516,799	6,4	10,2	-8,8
LDT134 (19)	56	44,0-45,8	0,4 ^d	435,683	7,6	7,6	-7,1
LDT135 (20)	42	--	0,5 ^f	403,695	9,7	7,7	-6,1

^a CHCl₃:MeOH 5%; ^b CHCl₃:EtOH 1%; ^c CHCl₃:EtOH 2%; ^d CHCl₃:EtOH 3%; ^e CHCl₃:EtOH 8%; ^f CH₂Cl₂:MeOH 5 % ; ^g CHCl₃:EtOH 5%

Os derivados **12-20** foram caracterizados por RMN de hidrogênio e carbono 13. Os assinalamentos dos grupos metilenos da subunidade aminoetilenoxila (**a** e **b**) bem como das aminas (**c**, **d** e **e**) estão apresentados na Tabela 3.

Para o derivado LDT247 (**17**), o grupo *N*¹-metila foi assinalado em 2,36 ppm (RMN de ¹H) e 45,8 ppm (RMN de ¹³C); enquanto o *t*-butilcarbamato (Boc) no derivado LDT136 (**18**) foi caracterizado pelos deslocamentos químicos em 1,47 ppm (RMN de ¹H) e 28,6 ppm e 79,9 ppm (RMN de ¹³C) para o grupo *t*-butila bem como 154,9 ppm para a carbonila.

Tabela 3. Principais assinalamentos de RMN de ^1H e de ^{13}C dos derivados **12-20**

RM N	Derivado s	RMN de ^1H / RMN de ^{13}C (ppm, CDCl_3)				
		a	b	c	d	e
^1H	12	4,11	2,91	2,64	1,83	--
^{13}C		67,1	55,4	54,9	23,7	--
^1H	13	4,17	2,88	2,54-2,59	1,57-1,73	1,48-1,52
^{13}C		65,3	57,9	55,0	25,5	23,9
^1H	14	4,12	2,81	2,55-2,61	3,75	--
^{13}C		65,8	57,9	54,3	67,1	--
^1H	15	4,09	2,87-2,88	2,87-2,88	2,72	--
^{13}C		65,7	58,2	55,5	28,1	--
^1H	16	4,10	2,79	2,65	2,92	--
^{13}C		65,7	58,1	55,1	46,2	--
^1H	17	4,10	2,83	2,53-2,57	2,70	--
^{13}C		65,9	57,3	54,9	53,2	--
^1H	18	4,12	2,86	2,54-2,60	3,49	--
^{13}C		65,7	57,5	53,5	53,5	--
^1H	19	4,04	2,79	2,99	3,65	--
^{13}C		66,5	53,8	57,2	59,9	--
^1H	20	4,17	2,82	3,03	1,18	
^{13}C		65,4	51,7	47,9	11,2	

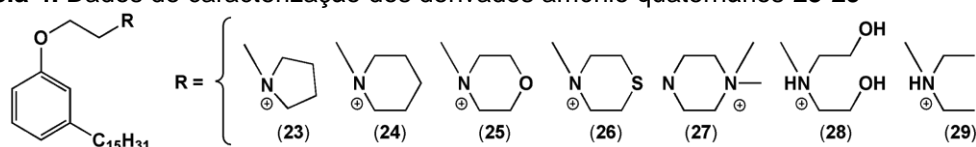
6.1.3. Obtenção e caracterização dos derivados *N*-metilamônicos **23-29**

Os derivados amínicos **20-28** foram submetidos à reação de *N*-metilação com excesso de iodeto de metila (2-3 eqv), à temperatura ambiente ou sob refluxo com diclorometano, visando a obtenção do sal de amônio quaternário. O excesso de iodeto de metila e o solvente foram evaporados à pressão reduzida levando aos derivados alvos em rendimentos que variaram de 71 % a 94 %.

Assim como obtidos para os compostos amínicos, dados teóricos sobre basicidade (pK_{aH}) bem como os coeficientes de distribuição ($\text{LogD}_{7,0}$) e de solubilidade ($\text{LogS}_{7,0}$) em pH 7,0 foram gerados no programa Percepta/ACD

Labs, versão 2014, os quais juntamente com rendimentos estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Dados de caracterização dos derivados amônio quaternários **23-29**



Derivado	Rend. (%)	p.f (°C)	Rf	Massa Molar (g mol ⁻¹)	pK _a H	LogD (pH 7,0)	LogS (pH 7,0)
LDT309 (23)	68	49,6-52,7	0,4 ^a	416,714	--	5,7	-8,1
LDT310 (24)	71	31,3-32,0	0,4 ^b	430,741	--	5,9	-8,1
LDT311 (25)	66	69,1-71,6	0,4 ^c	432,713	--	4,9	-7,7
LDT312 (26)	71	69,5-70,6	0,4 ^a	448,774	--	5,6	-8,2
LDT314 (27)	94	107,1-108,0	0,5 ^d	445,756	3,4 ^f	5,1	-7,4
LDT317 (28)	85	30,0	0,5 ^c	450,728	--	3,6	-7,2
LDT308 (29)	69	--	0,3 ^e	418,730	--	5,2	-8,1

a. CHCl₃: EtOH 5 %; b. CHCl₃: EtOH 8 %; c. CHCl₃: EtOH 10 %; d. CHCl₃: EtOH 20 %; e. CH₂Cl₂: MeOH 5%; f. *N*^f

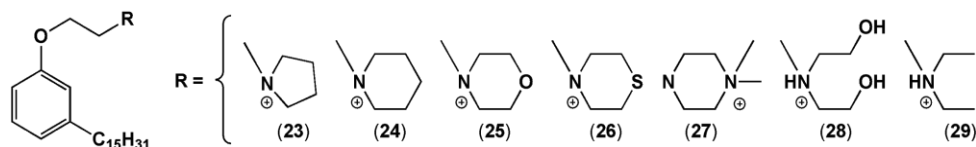
A *N*-metilação das aminas foi caracterizada pela presença de simpletos entre 3,39 ppm a 3,69 ppm em RMN de ¹H corroborados pelos deslocamentos químicos entre 48,9 ppm a 52,3 ppm em RMN de ¹³C.

De maneira geral, a presença do cátion sobre o nitrogênio levou à desproteção dos metilenos **b** e **c** com alteração dos deslocamentos químicos para campo baixo observados tanto para os RMN de ¹H quanto para os de ¹³C; enquanto os metilenos **a** e **d** foram desprotegidos para os núcleos de hidrogênio e protegidos para os núcleos de carbono-13. Vale destacar que a *N*-metilação do derivado metilpiperazínico LDT247 (**17**) ocorreu no nitrogênio 1, ligado aos metilenos **d** e à metila, e não no nitrogênio 4 ligado aos metilenos **b** e **c** no derivado LDT314 (**27**).

A análise dos espectros identificou os grupos metila – original e adicionado – em 3,56 ppm (RMN de ¹H) e 52,3 ppm (RMN de ¹³C) bem como a manutenção dos deslocamentos químicos para os metilenos **a** e **b** quando comparados a **17**. Os metilenos **c** apresentaram desproteção para ¹H e

proteção para ^{13}C diferentemente dos metilenos **d** que foram desprotegidos para ambos os núcleos. Os assinalamentos dos grupos metilenos da subunidade aminoetilenoxila (**a** e **b**), as aminas (**c**, **d** e **e**) e o grupo *N*-metila (*N*-Me) estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Principais assinalamentos de RMN de ^1H e de ^{13}C dos derivados **23-29**



RM N	Derivado s	RMN de ^1H / RMN de ^{13}C (ppm, CDCl_3)					
		a	b	c	d	e	<i>N</i> -Me
^1H	23	4,26	4,44	3,88- 4,01	2,31- 2,34	--	3,39
^{13}C		62,6	62,9	66,2	21,7	--	49,7
^1H	24	4,24- 4,25	4,46- 4,47	3,73- 3,90	1,99- 2,02	1,81- 1,83	3,47
^{13}C		61,9	62,1	62,7	20,5	20,7	49,9
^1H	25	4,45- 4,46	4,52- 4,53	3,83- 3,98	4,13	--	3,69
^{13}C		63,2	61,9	61,4	60,9	--	49,8
^1H	26	4,36	4,50	4,05	3,15	--	3,60
^{13}C		62,4	61,9	62,9	21,9	--	50,5
^1H	27	4,07	2,94-3,0`	2,94- 3,01	3,66- 3,70	--	3,56
^{13}C		66,0	56,2	47,1	62,7	--	52,3
^1H	28	4,11	4,42	4,22	3,89	--	3,44
^{13}C		63,3	62,2	65,5	56,1	--	51,8
^1H	29	4,15	4,46	3,72	1,48	--	3,39
^{13}C		62,1	60,3	58,3	8,8	--	48,9

6.2 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA *in vitro*

6.2.1. Avaliação da citotoxicidade em células RAW264.7 dos compostos LDT247 (17) e LDT310 (24)

Uma vez sintetizados e caracterizados por RMN de hidrogênio e carbono-13, os derivados amínicos (**12-20**), transformados nos seus respectivos cloridratos, e *N*-metilamônicos (**23-29**) foram encaminhados para ensaios biológicos *in vitro* de atividade antifúngica na forma filamentosa, viabilidade celular do biofilme e citotoxicidade em células RAW 264.7 realizados no Laboratório de Patógenos Emergentes e Reemergentes (LAPERRE) do Centro Especializado de Micologia Médica (CEMM) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

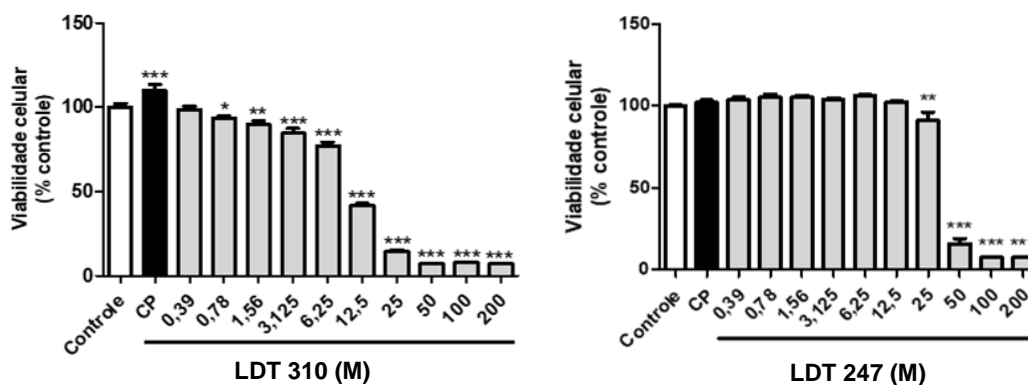
Em função da pandemia COVID-19 a avaliação *in vitro* do perfil antifúngico – sensibilidade planctônica e em biofilme – em espécies do complexo *Sporothrix* bem como a toxicidade da maioria dos 19 derivados não foram finalizadas pelo grupo da Profa. Sâmia Brilhante da UFC. Neste sentido, serão apresentados os resultados preliminares disponíveis até o presente momento.

A resposta imune inata é importante para limitar o desenvolvimento da doença, e macrófagos são células efetoras da resposta no controle do *Sporothrix*^{92,93}, sendo descrito a presença do fungo no interior dos macrófagos em tecidos humanos afetados pela esporotricose⁹⁴.

A citotoxicidade é um parâmetro a ser considerado nos tratamentos, pois os fármacos precisam entrar na célula, principalmente nas células de defesa como os macrófagos, para alcançar e matar os patógenos.⁹⁵

No presente trabalho, os dois compostos, do ponto de vista estatístico, demonstraram uma diminuição da viabilidade celular de macrófagos a partir da concentração de 0,78 μM (0,34 $\mu\text{g/mL}$) a 200 μM (86,1 $\mu\text{g/mL}$), para o LDT310 e de 25 μM (6,6 $\mu\text{g/mL}$) a 200 μM (86,1 $\mu\text{g/mL}$) para o LDT247(Figura 25).

Figura 25. O efeito dos compostos LDT310 (24) na viabilidade celular em células RAW264.7 expostas por 24 h. Os valores são expressos como média±SEM de três determinações independentes. CP = controle positivo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs. controle (ANOVA, seguido pelo Teste de Student-Newman-Keuls).



Assim, com base nos resultados para esses dois compostos, LDT 310 e LDT 247, obtiveram-se índices de citotoxicidade (CC_{50}), que se referem à perda da viabilidade de 50% da população celular de macrófagos, correspondentes à 5,38 $\mu\text{g/mL}$ e 16,2 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Na literatura, a título de comparação, a anfotericina B foi testada obtendo resultado de CC_{50} 0,16 $\mu\text{g/mL}$ para a mesma linhagem de macrófagos utilizada na pesquisa⁹⁶.

Com esses resultados, pode-se inferir que os análogos são menos tóxicos que o único fármaco prescrito para esporotricose disseminada, a forma mais grave da doença, possibilitando a utilização de concentrações maiores dos compostos com menores riscos associados.

Do ponto de vista químico, os resultados de citotoxicidade são relevantes para identificar grupos toxicofóricos nos compostos, cuja melhor compreensão destas características será possível após a finalização dos estudos com todos os compostos.

6.2.2. Atividade antifúngica frente à *Sporothrix brasiliensis*

No Brasil, é possível ter acesso a norma CLSI pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), pois ela possui os direitos autorais em língua portuguesa e suas atualizações, além da permissão de distribuir o manual pelos laboratórios do país.⁹⁷

Em relação ao *Sporothrix*, o protocolo traz a metodologia de cultivo, de teste, e de resultados em relação a forma filamentosa (conídios) das concentrações plasmáticas alcançáveis dos fármacos atualmente utilizados para o tratamento. Até o presente momento, não há um protocolo, por parte do CLSI, para forma leveduriforme do fungo aqui testado.⁹⁷

Na literatura, os principais estudos trazem dados de CIM para definição dos valores de corte epidemiológico para espécies de *Sporothrix* na sua forma filamentosa e foram feitos seguindo os métodos do CSLI.⁹⁸

A atividade antifúngica frente aos conídios de *S. brasiliensis* foi determinada pelo método de microdiluição conforme os documentos M38-A2 do CLSI.⁹⁹ As porcentagens de conídios viáveis foram obtidas pela comparação de poços que possuíam o fungo, meio e composto, com concentrações finais que variaram de 0,125 a 64µg/mL, com poços que possuíam apenas o fungo e meio.

As percentagens observadas, de acordo com protocolo atualizado,⁹⁹ foram de 50%, 80% e 100 %, variando conforme a concentração final utilizada em cada poço, e serviram para a determinação da CIM. Dos 16 compostos finais amínicos (**12-20**), *N*-metilamônicos (**23-29**) e 3 intermediários (**11**, **21** e **22**) encaminhados para avaliação antifúngica, somente o intermediário **11** (LDT117), as aminas **13** (LDT119), **14** (LDT118), **15** (LDT120) e **17** (LDT247), e o derivado *N*-metilamônico **24** (LDT310) foram testados (Tabela 6).

Tabela 6. Sensibilidade in vitro dos derivados-alvo frente ao *Sporothrix brasiliensis*. O teste de sensibilidade foi realizado utilizando o método de microdiluição em caldo, seguindo o protocolo estabelecido pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute*.

	<i>S. brasiliensis</i> CEMM 05-3-050			<i>S. brasiliensis</i> CEMM 05-3-075		
	CIM (µg/mL)			CIM (µg/mL)		
	50 %	80 %	100 %	50 %	80 %	100 %
Intermediários						
LDT117 (11)	>64	-	-	>64	-	-
Amínicos						
LDT119 (13)	>64	-	-	>64	-	-
LDT118 (14)	>64	-	-	>64	-	-
LDT120 (15)	>64	-	-	>64	-	-
LDT247 (17)	4	-	8	4	-	8
N-Metilamônicos						
LDT310 (24)	2	-	4	2	-	4
Miltefosina (5)	0,25	0,5	1	0,125	0,25	0,5

CIM: concentração inibitória mínima

Considerando os testes de sensibilidade em células planctônicas (conídios) foram determinadas as CIM₅₀ e CIM₁₀₀ apenas para os compostos **17** (4 µg/mL e 8 µg/mL) e **24** (2 µg/mL e 4 µg/mL). Para os demais compostos as CIMs não foram obtidas, devido às mesmas mais altas que a maior concentração testada (>64 µg/mL). Por sua vez, a miltefosina (**5**) apresentou CIM₅₀ e CIM₁₀₀ de 0,25 e 1 µg/mL para CEMM 05-3-050, e 0,125 µg/mL e 0,5 µg/mL CEMM 05-3-075.

Comparando com a miltefosina, esta apresentou uma CIM menor para as cepas testadas, entretanto, outros compostos da série de análogos, obtidos com o uso de matéria prima sustentável e nacional, ainda precisam ser analisados e mais cepas precisam ser incluídas no estudo para que as conclusões futuras passem a ter poder de inferência.

Em relação ao protocolo CLSI, é assinalado que valores maiores de 8 µg/mL para o itraconazol estão relacionados com a resistência clínica, o que diverge dos resultados desse trabalho, onde promissoramente foram encontrados valores de CIM entre 4 e 8 µg/mL para 100% de inibição⁹⁷.

Se observarmos os resultados de CIM dos compostos e dos

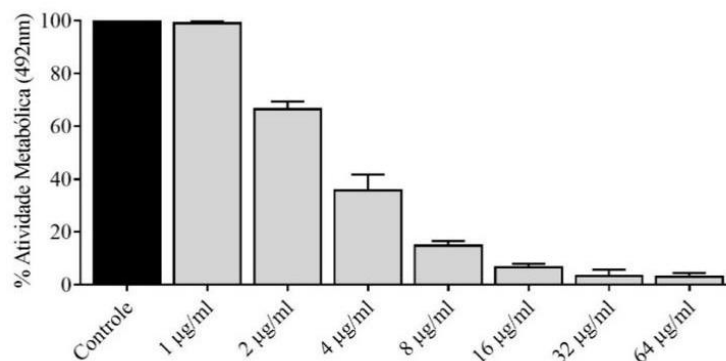
fármacos de escolha para o tratamento, presente nos estudos de corte epidemiológico, o derivado **24** (LDT 310) ($CIM_{100} \leq 4 \mu\text{g}/\text{mL}$) apresentou resultados que é suspeito de que o mesmo pode promover uma atividade similar a fármacos de referência como a anfotericina B ($4 \mu\text{g}/\text{mL}$) e o itraconazol ($2 \mu\text{g}/\text{mL}$)⁹⁸. Os valores encontrados norteiam a necessidade de prosseguimento dos estudos.

6.2.3. Efeito do derivado LDT310 (**24**) sobre a formação do biofilme fúngico

Neste experimento, as células fúngicas foram adicionadas aos poços por 24 horas apenas para adesão celular. Após esse período os compostos foram adicionados. As placas foram incubadas por mais 96 horas, nas mesmas condições, garantindo o tempo necessário de maturação do biofilme. após 96 h foi feita a leitura da atividade metabólica utilizando o teste de redução do XTT. Poços contendo apenas o biofilme inicial foram utilizados como controle de crescimento.

Quanto ao efeito sobre a formação de biofilme fúngicos de *S. brasiliensis*, o derivado LDT310 (**24**) impediu a formação de biofilme com percentuais superiores a 50 % e 90 % nas respectivas concentrações de $4 \mu\text{g}/\text{mL}$ ($9 \mu\text{M}$) e de $16 \mu\text{g}/\text{mL}$ ($37 \mu\text{M}$) (Figura **26**). Não foram encontrados trabalhos que testaram a Miltefosina em estágios iniciais da formação de biofilme de *Sporothrix*, no entanto, estudos da miltefosina em *Candida albicans* demonstram que o fármaco inibe a formação de 90% do biofilme na concentração de $4 \mu\text{g}/\text{mL}$.⁸³ Esses estudos têm por objetivo planejar o desenvolvimento de novas medidas de prevenção associadas a estratégias para minimizar as infecções fúngicas hospitalares – em especial as relacionadas a dispositivos médico-terapêuticos. Tratando-se da esporotricose, a perspectiva com esse resultado pode ser na inovação de métodos de controle da transmissão, visto que o *Sporothrix brasiliensis* é inoculado via mordida ou arranhões, que são os locais de possível formação dos biofilmes.^{66,67}

Figura 26. Sensibilidade de biofilme em formação de *Sporothrix brasiliensis* ao derivado LDT310 (**24**). O controle representa o biofilme sem adição do composto. Os resultados estão expressos em porcentagem de atividade metabólica, sendo estabelecido o controle como 100 % de atividade metabólica.



6.2.4. Relação Estrutura/Propriedade-Atividade antifúngica para os compostos amínicos **13-15** e **17**

Uma vez que as diferenças nas atividades antifúngicas foram inexistentes ou pequenas para os compostos avaliados, as discussões sobre as relações estrutura-atividade de ensaios fenotípicos buscam compreender a influência de propriedades físico-químicas e atributos moleculares visando racionalizar os resultados sem conceber alvos macromoleculares.

As aminas heterocíclicas **13-15** e **17** – transformadas em cloridratos visando o aumento de solubilidade em água – apresentaram resultados distintos. As aminas **13** (piperidina), **14** (morfolina) e **15** (tiomorfolina), que são bioisómeros clássicos divalentes, exibiram a mesma atividade antifúngica com valor maior que 64 µg/mL. Por sua vez, o derivado **17** (*N*⁴-metilpiperazina) mostrou melhora significativa⁸ do perfil antifúngico de 16 vezes quando comparado aos derivados **13-15** (Tabela 6).

⁸ Significativa: comparação da atividade entre compostos cuja razão (maior atividade/menor atividade) é maior que dez vezes.

6.2.4.1 Propriedades físico-químicas: pK_{aH}, LogD_{7,0}, LogS_{7,0}, ASPT

As aminas bioisósteras **13-15** e **17** são classificadas como bases fracas pela presença de pelo menos um átomo de nitrogênio protonável⁹. Esta característica, dependente do pH do meio, faz com que estas aminas exibam equilíbrio entre a forma neutra, cujo o par de elétrons não ligantes do nitrogênio está livre, e a catiônica, na qual o par de elétrons do nitrogênio está protonado. A partir dos dados teóricos de pK_{aH} e do pH, dos experimentos, igual a 7,0, foram calculados os percentuais das formas neutra e protonadas para cada um dos compostos a partir da fórmula de percentual de ionização de bases

$$\%I_{Base} = \frac{100}{1 + 10^{pH - pK_{aH}}}$$

Adicionalmente, com base no mesmo pH, foram calculados os valores de LogD e LogS (Tabela 7).

Tabela 7. Dados teóricos de pK_{aH}, percentuais de espécies neutras e catiônicas, LogD, LogS e IC₅₀ para os derivados **13-15** e **17** e Miltefosina (**5**)

Derivado	pK _{aH}	Formas		LogD (pH 7,0)	LogS (pH 7,0)	IC ₅₀ (µg/mL)
		Neutra	Catiônica			
LDT119 (13)	8,7	2,0	98,0	8,6	-7,2	> 64
LDT247 (17)	7,6	20,1	79,9	8,5	-7,1	4
LDT120 (15)	6,8	61,3	38,7	9,9	-8,6	> 64
LDT118 (14)	6,5	76,0	24,0	9,3	-8,4	> 64
Miltefosina (5)	--	--	--	2,8	-1-1	0,25 ^a
						0,125 ^b

a. *S. brasiliensis* CEMM 05-3-050; b. *S. brasiliensis* CEMM 05-3-075

⁹ Protonável: que pode receber um próton (H⁺) do meio, tornando-se positivo.

A análise dos dados revela que não há correlação entre os diferentes equilíbrios das formas neutras e catiônicas das aminas **13-15** e **17** quando relacionadas às atividades antifúngicas para células planctônicas; ou seja, os derivados **13** e **14** que apresentam os maiores e menores percentuais das formas neutras e catiônicas apresentam a mesma atividade > 64 µg/mL.

Por sua vez, a análise dos dados teóricos dos coeficientes de distribuição (LogD) e de solubilidade (LogS) em pH 7,0 revela possível correlação parabólica com a atividade antifúngica e sugere, para os dados disponíveis, a existência de valores ótimos ou limites de 8,5 para o LogD_{7,0} e de -7,1 para o LogS_{7,0}, encontrados para o composto **17** como o melhor da série, a partir do qual o aumento da lipofilicidade e diminuição da solubilidade reduz a atividade. Esta observação é reforçada pela atividade encontrada para o composto de referência miltefosina (**5**) que apresenta valores de LogD_{7,0} 2,8 e LogS_{7,0} -1,1 menores que os valores limites supracitados.

6.2.4.2. Atributos dipolares e iônicos para reconhecimento molecular

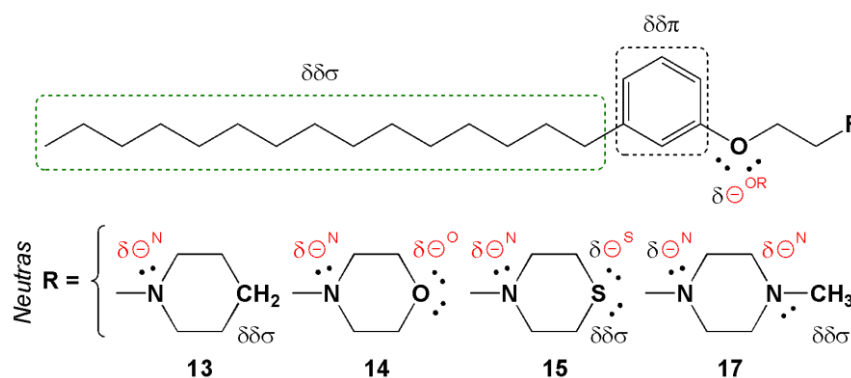
As moléculas, como bioligantes, são reconhecidas por biorreceptores¹⁰ por meio de interações a partir de seus atributos dipolares apolares (dipolos transientes) e polares (dipolos permanentes) bem como iônicos (cátions e ânions). Estes atributos são características de grupos funcionais, neutros ou dependentes de pH, que distribuídos espacialmente permitem estabelecer o mapa de pontos contactofóricos que compreendem os grupos farmacofórico e auxofóricos relacionados ao perfil de atividade e suas modulações.

Como já mencionado, as aminas **13-15** e **17** apresentam equilíbrio entre suas formas neutra e catiônica, as quais possuem diferentes atributos para interação com alvos moleculares e estruturas biológicas como a membrana lipídica de organismos eucariotos como os fungos.

¹⁰ Biorreceptores: Biomacromolécula complexa, geralmente de natureza proteica, capaz de reconhecer estereoespecificamente um determinado ligante.

De maneira geral, os derivados **13-15** e **17** são estruturalmente similares pela presença da cadeia lateral com 15 átomos de carbono e o anel aromático dissubstituído do tipo fenileno – que conferem atributos hidrofóbicos – bem como a presença do oxigênio fenólico – atributo hidrofílico como acceptor de ligação de hidrogênio (ALH) – ligado a espaçador hidrofóbico com duas unidades metilênicas (CH_2CH_2). Particularmente, estas aminas diferem na posição 4 de seus anéis heterocíclicos cujas trocas bioisostéricas clássicas conferem atributos hidrofóbicos $\delta\delta\sigma$ para **13** e **15** (CH_2 e **S** – enxofre podendo ser hidrofílico dependendo da polaridade do meio) e hidrofílicos para **14** e **17** pelos respectivos dipolos negativos de oxigênio e nitrogênio (**O** e **N**) que atuam como ALHs. As características das aminas neutras estão apresentadas na Figura 27.

Figura 27: Atributos dipolares e iônicos para os derivados **13-15** e **17** neutros



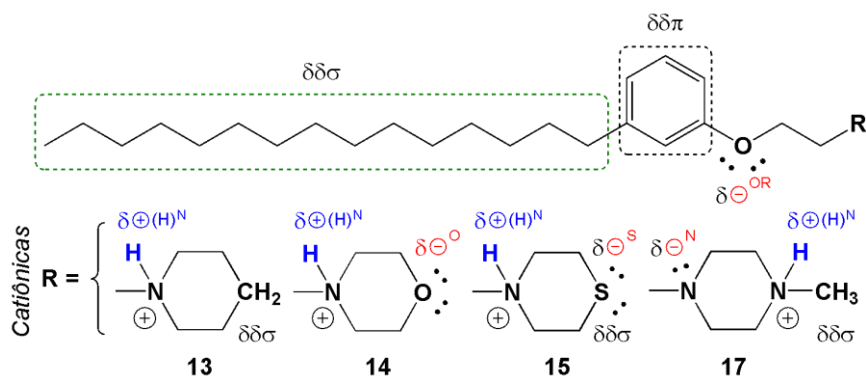
A análise da relação estrutura-atividade (REA) para as aminas neutras e catiônicas baseada nos atributos não é simples, uma vez que não podemos afirmar qual espécie seria mais relevante para a atividade, tampouco se a coexistência teórica de ambas em pH 7,0 estaria relacionada efeitos convergentes ou divergentes. Adicionalmente, o percentual das duas formas em pH 7,0 não permite comparação entre os compostos, de forma que o estabelecimento da REA é uma tentativa-exercício de correlacionar atributos estruturais com a atividade antifúngica observada.

Considerando a posição 4 no anel heterocíclico das moléculas neutras, os resultados mostram que tanto os dipolos transientes do grupo metileno na piperidina de **13** e do átomo de enxofre na tiomorfolina de **15**, quanto o dipolo negativo do átomo de oxigênio no anel morfolínico de **14** contribuem da mesma forma para o perfil observado. Diferentemente, o derivado **17**, que conta com a presença do dipolo negativo no átomo de nitrogênio (N^4) – exibiu melhora da atividade em 16 vezes.

Analisando os compostos **14** e **17** que possuem respectivas sequência de atributos ALH(O)-ALH(N^1)-ALH(O) e ALH(O)-ALH(N^1)-ALH(N^4) em suas regiões hidrofílicas (Figura 21), a troca dos grupos ALH(O) de **14** por ALH(N^4) em **17**, ainda que faça de **17** o derivado mais hidrofílico da série – confirmado pelos dados teóricos dos coeficientes de distribuição (LogD) e solubilidade (LogS) –, parece ser insuficiente para justificar a diferença entre os perfis antifúngicos.

Analisando os sítios de protonação, os compostos mononitrogenados **13-15** têm a formação de seus cátions no nitrogênio 1 (N^1) enquanto que para o derivado piperazínico dinitrogenado **17** a protonação ocorre no nitrogênio 4 (N^4). As características das aminas catiônicas estão apresentadas na Figura 28.

Figura 28: Atributos dipolares e iônicos para os derivados **13-15** e **17** catiônicos



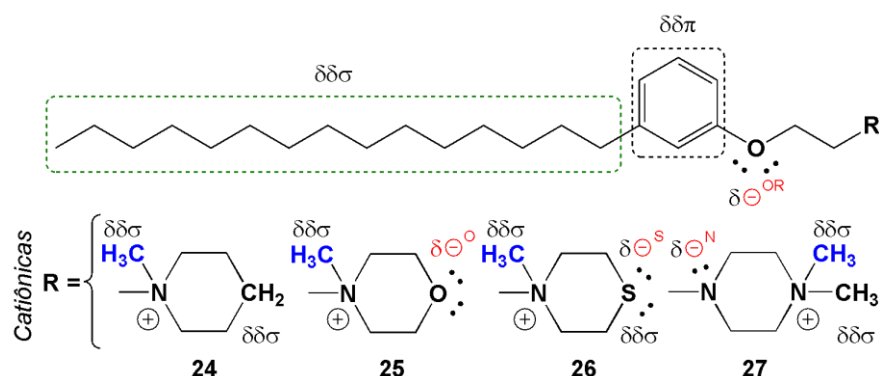
Por sua vez, a comparação dos mesmos compostos, **14** e **17**, em suas formas protonadas, ou seja, catiônicas, revela a distribuição distinta do

atributo hidrofílico, com deslocamento do cátion de nitrogênio na sequência. Neste sentido, temos que a região mais hidrofílica para **14** apresenta a sequência ALH(O)-Cátion(N⁺)-ALH(O) enquanto que para **17** esta aparece como ALH(O)-ALH(N)-Cátion(N⁺). Esta diferença no mapa de pontos farmacofóricos pode ser relevante para explicar os perfis destes compostos.

6.2.5. Relação Estrutura/Propriedade-Atividade antifúngica para os derivados *N*-metilamônicos

Os derivados *N*-metilamônicos são formados pela adição de grupo metila ao nitrogênio básico das aminas terciárias levando ao nitrogênio quaternário, caracterizado pela presença de cátion permanente e independente do pH do meio. Desta forma, estes compostos apresentam somente a forma catiônica e, portanto, diferem dos derivados amínicos **13-15** e **17** que exibem formas neutras e protonadas em diferentes percentuais de acordo com cada pK_aH e o pH do meio. A Figura **29** mostra os compostos *N*-metilamônicos catiônicos **24-27**, análogos aos derivados amínicos **13-15** e **17**.

Figura 29: Atributos dipolares e iônicos para os derivados **24-27** catiônicos



Entre os compostos *N*-metilamônicos sintetizados, apenas o derivado **24** (LDT310) foi avaliado até o momento, não sendo possível estabelecer as relações propriedade/estrutura-atividade antifúngica dentro da série. Desta forma, a análise entre os análogos catiônicos **13** e **24** será apresentada visando compreender as propriedades que relacionadas aos perfis observados, utilizando ainda o melhor composto da série amínica LDT247 (**17**) para comparação.

6.2.4.3. Propriedades físico-químicas: pK_{aH}, LogD_{7,0}, LogS_{7,0}, ASPT

Para correlação entre as propriedades físico-químicas e os perfis antifúngicos dos derivados catiônicos **13** e **24** foram analisados os dados teóricos de coeficientes de distribuição (LogD) e de solubilidade (LogS) em pH 7,0. Estes descritores foram comparados aos do melhor composto da série amínica, LDT247 (**17**), pela possibilidade de haver valores ótimos ou limites de 8,5 e -7,1 para LogD e LogS, respectivamente.

Tabela 8. Dados teóricos de pK_{aH}, LogD, LogS e IC₅₀ para **13**, **24** e Miltefosina (**5**)

Derivado	pK _{aH}	Formas		LogD (pH 7,0)	LogS (pH 7,0)	IC ₅₀ (μ g/mL)
		Neutra	Catiônica			
LDT119 (13)	8,7	2,0	98,0	8,6	-7,2	> 64
LDT310 (24)	--	--	--	5,9	-8,1	2
Milttefosina (5)	--	--	--	2,8	-1-1	0,25 ^a
						0,125 ^b

a. *S. brasiliensis* CEMM 05-3-050; b. *S. brasiliensis* CEMM 05-3-075

Considerando inicialmente o perfil antifúngico, temos que os derivados *N*-metilamônico **24** (IC₅₀ 2 μ g/mL) e amínico **17** (IC₅₀ 4 μ g/mL) – nas formas neutra e protonada – exibem a mesma atividade cuja diferença não é significativa pois estão na mesma ordem de grandeza.

Comparando os dados teóricos dos coeficientes de distribuição (LogD) destes compostos, **24** apresenta menor LogD **17** sendo, portanto, mais

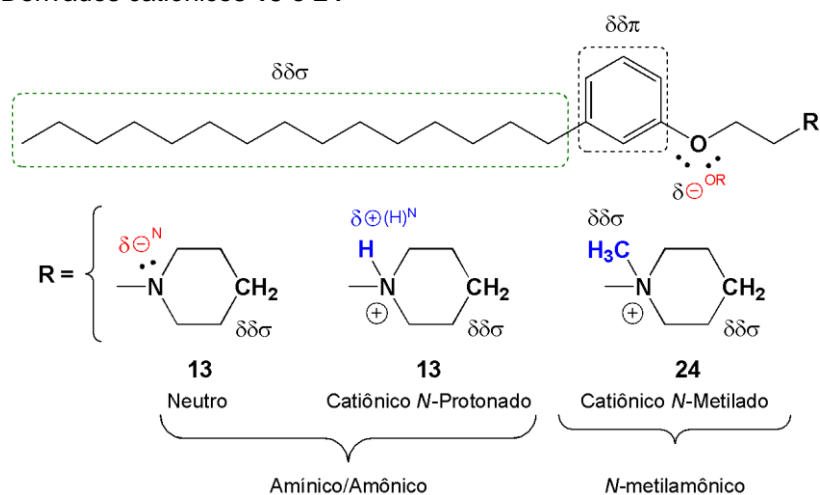
hidrofílico porque 100 % de suas moléculas estão na forma catiônica. Por outro lado, a adição do grupo metila ao nitrogênio contribui para a hidrofobicidade da molécula, por meio do atributo hidrofóbico ($\delta\delta\sigma$), diminuindo seu coeficiente de solubilidade (LogS).

Estes resultados relacionados aos parâmetros físico-químicos revelam a maior relevância do coeficiente de distribuição – responsável pela habilidade de interação com estruturas lipídicas – em relação ao coeficiente de solubilidade e apontam para possível mecanismo de ação destes compostos anfífilos catiônicos. Vale destacar que **17** e **24** apresentam estruturas e atributos distintos, de forma que esta análise visou correlacionar as atividades dos melhores compostos em cada série com descritores físico-químicos comuns às espécies catiônicas.

6.2.4.4. Atributos dipolares e iônicos para reconhecimento molecular

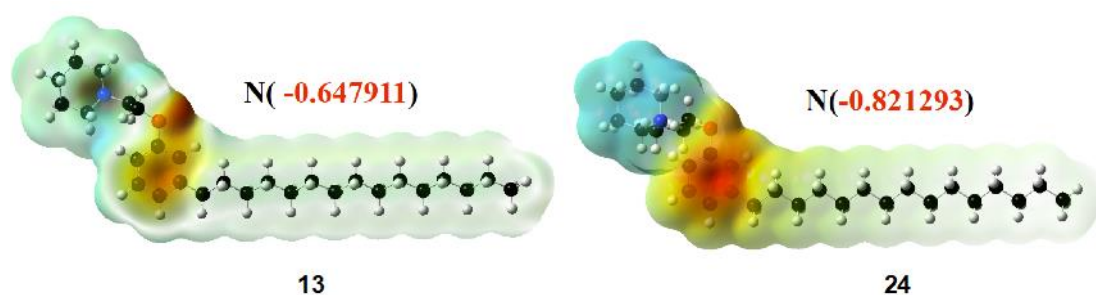
Por sua vez, a análise baseada em atributos é possível entre os derivados **13** – majoritariamente catiônico em pH 7,0 – e **24** que apresentam como única diferença o átomo de hidrogênio e o grupo metila adicionados ao nitrogênio em suas formas catiônicas.

Figura 30: Derivados catiônicos **13** e **24**



No tocante à atividade antifúngica, o derivado **24** (IC_{50} 2 μ g/mL) apresenta perfil antifúngico 32 vezes maior que **13** (IC_{50} >64 μ g/mL). Visando racionalizar estes resultados foram obtidos os mapas de potenciais eletrostáticos para ambos os compostos com indicação da densidade de carga nos respectivos átomos de nitrogênio (Figura 31). Nestes mapas o valor da densidade de carga para o nitrogênio de **13** é menor que o de **24**, o que significa que a densidade de carga positiva ao redor destes átomos é maior para **24**, sendo, portanto, mais positivo.

Figura 31: Mapas de potenciais eletrostáticos para os derivados catiônicos **13** e **24**



Conclusões e Perspectivas

7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

7.1. CONCLUSÕES

Este trabalho compreendeu estudos referentes ao planejamento, à síntese e caracterização de novos derivados amínicos, protonáveis e metilcatiônicos, planejados racionalmente a partir do 3-pentadecilfenol (**10**) e avaliações da atividade antifúngica *in vitro* em células planctônicas do fungo *Sporothrix brasiliensis* – cepas CEMM 05-3-050 e CEMM 05-3-075 – da coleção do Centro Especializado em Micologia Médica (CEMM), da Universidade Federal do Ceará (UFC).

Os métodos sintéticos mostraram-se eficazes para a obtenção dos derivados a partir do 3-pentadecilfenol saturado comercial (LDT10, **10**), as quais compreenderam procedimentos clássicos de conversão de grupos funcionais, tais como O-haloquilação com 1,2-dibromoetano, azidação, aminação e N-alquilação, estas últimas explorando reações de substituição nucleofílica bimolecular à temperatura ambiente, sob aquecimento assistido por micro-ondas doméstico ou brando em banho de óleo. Neste sentido foram sintetizados três intermediários e 16 compostos-alvo em rendimentos que variaram de 36 % a 94 %, os quais foram caracterizados por análise de espectros de RMN de hidrogênio e de carbono 13.

Dos 16 compostos finais amínicos (**12-20**), N-metilamônicos (**23-29**) e 3 intermediários (**11**, **21** e **22**) sintetizados somente o intermediário **11** (LDT117) a amins **13** (LDT119), **14** (LDT118), **15** (LDT120) e **17** (LDT247), e o derivado N-metilamônico **24** (LDT310) foram avaliados para determinação do perfil antifúngico e de toxicidade com destaque para um composto em cada uma das séries planejadas.

Na série amínica, o derivado LDT247 (**17**) apresentou atividade antifúngica frente a formas filamentosas de *S. brasiliensis* em células planctônicas (CIM₅₀ 4 µg/mL e CIM₁₀₀ 8 µg/mL) e citotoxicidade em células RAW 264.7 nas concentrações de 25 µM (6,6 µg/mL) a 200 µM (86,1 µg/mL).

A concentração que apresentou toxicidade para o composto foi de 16,2 µg/ml, sendo essa a concentração considerada capaz de reduzir em 50% a atividade metabólica das células RAW.

Na série metilamônica, o derivado LDT310 (**24**) apresentou atividade antifúngica em células planctônicas (CIM₅₀ 2 µg/mL e CIM₁₀₀ 4 µg/mL) com prevenção da formação do biofilme em percentuais superiores a 50 % e 90 % nas respectivas concentrações de 4 µg/mL (9 µM) e de 16 µg/mL (37 µM). Adicionalmente, nos estudos de citotoxicidade em células RAW 264.7, foi observada a redução da viabilidade celular após exposição por 24 horas nas concentrações de 0,78 µM (0,34 µg/mL) a 200 µM (86,1 µg/mL). A concentração que apresentou toxicidade para o composto foi de 5,38 µg/ml, sendo essa a concentração considerada capaz de reduzir em 50% a atividade metabólica das células RAW.

Ambos apresentaram valores de citotoxicidade acima do único fármaco prescrito para esporotricose disseminada, a anfotericina B, obtendo resultado de CC₅₀ 0,16 µg/mL para mesma linhagem de células. Já com relação ao valor de CIM para *S.brasiliensis* na forma filamentosa, apesar de os análogos apresentarem resultados superiores à Miltefosina seu ponto de vista promissor não pode ser desprezado principalmente devido ao tamanho amostral utilizado e aos outros análogos que ainda precisam ser analisados.

Em conclusão, o LDT 310 e o LDT 247 são compostos com potencial para o desenvolvimento de novos antifúngicos, visto os resultados de CIM e CC₅₀ para ambos os análogos, que além da promissora atividade, devido às necessidades de baixas concentrações para a obtenção de uma atividade satisfatória, possuem também a baixa toxicidade associada aos compostos, que trazem a perspectiva da utilização de concentrações mais elevadas com margem de segurança em contextos de necessidade.

Ademais, a capacidade dos compostos de inibição da formação de biofilme traz a possibilidade da aplicação dos mesmos na produção de futuros fármacos com ação de prevenção.

Os estudos para estabelecimento de Relações Propriedade-Atividade (RPA) foram realizados de forma preliminar a partir dos dados teóricos de

descritores físico-químicos bem como dos perfis antifúngicos disponibilizados até o momento. Estes estudos sugeriram que as atividades podem estar relacionadas ao aumento do coeficiente de distribuição (LogD) responsável pela habilidade de interação com estruturas lipídicas. Por sua vez, as Relações Estrutura-Atividade (REA) foram baseadas nos atributos moleculares e apontaram para a distribuição de pontos farmacofóricos favorecida para a sequência ALH(O)-ALH(N)-Cátion(N⁺) encontrada para o melhor composto da série amínica LDT247 (**17**) na sua forma protonada. Considerando o único composto testado da série de derivados metilamônicos, LDT310 (**24**), este particularmente difere de seu análogo piperidínico catiônico protonado LDT119 (**13**) pela maior densidade de carga negativa no átomo de nitrogênio descrita em seus mapas de potencial eletrostáticos que revela maior densidade de carga positiva na periferia do nitrogênio, e, portanto, maior carga positiva.

7.2. PERSPECTIVAS

Compreendem as perspectivas deste trabalho a finalização dos estudos de sensibilidade antifúngica em células planctônicas, assim como avaliar a cinética dos compostos junto ao biofilme maduro para observar a intensidade da ação dos mesmos ao longo do tempo. São necessários também a continuidade dos estudos de toxicidade em células RAW 264.7 e complementares em células LLC-MK2 bem para cálculos do índice de seletividade (IS), assim como estudos *in vivo* utilizando a lagarta *Galleria mellonella* visando a racionalização dos resultados e planejamento de novas séries contendo os arca-bouços moleculares desenvolvidos neste trabalho.

Os resultados aqui demonstrados, se futuramente associados a uma estatística descritiva com um tamanho amostral maior, e, juntamente com uma análise estatística não paramétrica, podem gerar maior robustez analítica e também indicar valores discrepantes que podem distorcer a análise.

Parte Experimental

8. PARTE EXPERIMENTAL

8.1 GENERALIDADES, MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais em Síntese Orgânica foram realizados no Laboratório de Desenvolvimento de Inovações Terapêuticas (LDT) do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília no período de janeiro de 2018 a outubro de 2019.

Os reagentes e solventes químicos utilizados neste trabalho foram adquiridos das indústrias Sigma-Aldrich® (EUA) e Tedia® (EUA). Diclorometano (DCM), acetonitrila (MeCN) e trietilamina (TEA) foram previamente tratados com hidreto de cálcio e destilados antes do uso.

As reações – realizadas sob agitação magnética, à temperatura ambiente ou em aquecimento em banho de óleo – foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando cromatofolhas (5,0 x 1,5 cm) de sílica Kieselgel 60 F254 suportada em alumínio com espessura de 0,25 mm (SILICYCLE®) visualizadas em lâmpada de UV (254-365 nm), que permitiu o cálculo dos fatores de retenção (Rf). Quando necessário, os produtos foram revelados com solução alcoólica de ninidrina a fim de evidenciar a presença das aminas. Para a purificação dos compostos foi utilizada cromatografia em coluna com fase fixa de gel de sílica G60 (70-230 mesh, SILICYCLE®).

A hidrogenação catalítica foi realizada em aparelho Paar, modelo 3911, à temperatura ambiente.

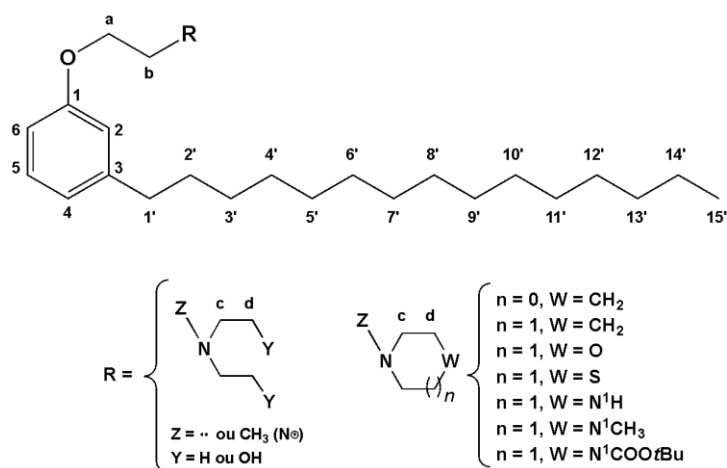
Os solventes foram evaporados à pressão reduzida utilizando evaporador rotatório Tecnal® TE-211, conectado ao sistema de alto-vácuo com pressão variando entre 10 e 0,1 mmHg. Os pontos de fusão, não corrigidos, foram determinados em aparelho digital de fusão MQAPF302.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H – 300 MHz ou 500 MHz) e carbono-13 (RMN de ^{13}C – 75 MHz ou 125 MHz) foram obtidos em aparelho Bruker Avance DRX300 e DRX500 do

Centro Nordestino de Aplicação da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade Federal do Ceará (UFC), utilizando CDCl_3 como solvente e tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Os valores de deslocamento químico (δ) são referidos em parte por milhão (ppm) em relação ao TMS e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). As áreas dos sinais foram obtidas por integração eletrônica e suas multiplicidades descritas como: simpleto (s); sinal largo (sl); duplete (d); duplo-duplete (dd); tripleto (t); quinteto (qi) e multiplete (m).

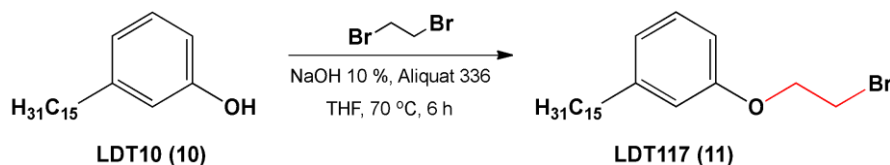
A Figura 28 apresenta as estruturas Markush e numerações padronizadas visando facilitar a análise dos espectros.

Figura 32: Numeração e legendas nos assinalamentos em RMN de ^1H e de ^{13}C



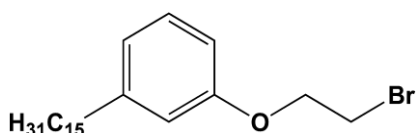
8.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

8.2.1. Obtenção do derivado 1-(2-bromoetóxi)-3-pentadecilbenzeno (**11**, LDT117)



A um balão de 100 mL foram adicionados 4,0 g de LDT10 (**10**) (13,14 mmol), solução de hidróxido de sódio a 10 % (10,0 mL), 12 gotas de Aliquat® e tetraidrofurano (THF) (5,0 mL). A mistura foi submetida à agitação magnética durante 25 minutos, visando favorecer a formação do íon fenolato, seguida da adição de 6,8 mL de 1,2-dibromoetano (52,54 mmol). A mistura reacional foi submetida a refluxo à 70 °C, sob agitação magnética, por aproximadamente 6 horas. Após este período, foi resfriada em banho de água/gelo e acidificada com de ácido clorídrico a 50 % (2,0 mL) até atingir pH 1,0. Em seguida a mistura foi extraída com clorofórmio (3 x 40,0 mL) e as frações orgânicas reunidas lavadas com solução salina (40,0 mL) e seca sob sulfato de sódio. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e o resíduo purificado em coluna sinterizada contendo gel de sílica (70-230 mesh) e eluída com hexanos, fornecendo 2,3 g do derivado LDT117.

1-(2-bromoetóxi)-3-pentadecilbenzeno (**11**, LDT117)



Rendimento: 43 %.

R_f = 0,6 (C₆H₁₄).

Massa molar: 411,468 g mol⁻¹

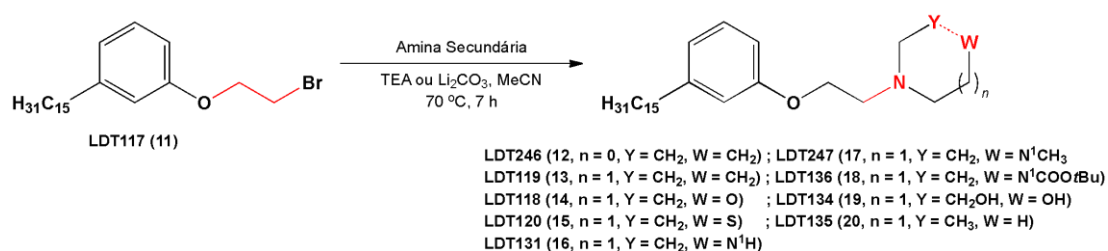
Fórmula molecular: C₂₃H₃₉BrO;

p.f.: 34,0-36,0 °C

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,90 (t, *J* = 6,5 | 14'); 1,60 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H, 2'); 2,59 (t, *J* = 7,9 Hz, 2H, 1'); 3,65 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H, b); 4,30 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H, a); 6,73-6,76 (m, 2H, 2 e 6); 6,83 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, 4); 7,21 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H, 5).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 14,3 (CH_3 , 15'); 22,9 (CH_2 , 14'); 29,4-29,8 (CH_2 , 3'-12'); 29,9 (CH_2 , b); 31,6 (CH_2 , 2'); 32,2 (CH_2 , 13'); 36,2 (CH_2 , 1'); 68,0 (CH_2 , a); 111,9 (CH , 6); 115,3 (CH , 2); 121,9 (CH , 4); 129,5 (CH , 5); 145,1 (C, 3); 158,3 (C, 1).

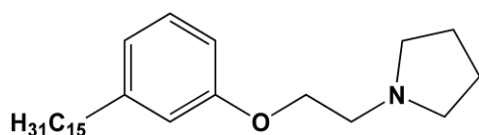
8.2.2. Procedimento Geral para obtenção dos derivados amínicos 12-20



Em um balão de 10 mL foram adicionados 0,4 g de LDT117 (19) (0,97 mmol), a respectiva amina (2,5 equiv), trietilamina (2,5 equiv.) ou carbonato de lítio (1 equiv.) e acetonitrila (4 mL). A mistura reacional foi submetida a refluxo à 60 °C, sob agitação magnética, por aproximadamente 7 horas. A mistura foi transferida para coluna cromatográfica sinterizada contendo de gel de sílica (70-230 mesh) e eluída com mistura clorofórmio-etanol, aumentando o gradiente de etanol de acordo com a polaridade de cada produto, fornecendo os derivados-alvo 12-20.

Após purificação e caracterização por métodos espectroscópicos, os derivados-alvo foram transformados nos respectivos cloridratos (sais de amônio) – por meio da geração de ácido clorídrico gasoso em aparelho Kipp por gotejamento de ácido sulfúrico concentrado em ácido clorídrico concentrado – em solução das aminas em diclorometano anidro (DCM), visando proteger o nitrogênio da oxidação ao *N*-óxido e favorecer a solubilidade.

1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]pirrolidina (**12**, LDT246):

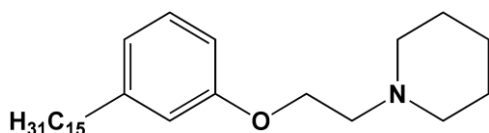


Rendimento: 61 %
 Óleo amarelo
 Rf: 0,4 (CHCl₃ 92%: EtOH 8%);
 Massa molar de 401,679 g mol⁻¹
 Fórmula molecular: C₂₇H₄₇NO

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,89 (t, *J* = 6,6 Hz, 3H, 15'); 1,27-1,32 (m, 24H, 3'-14'); 1,61 (qi, *J* = 6,8 Hz, 2H, 2'); 1,83 (qi, *J* = 3,3 Hz, 4H, d); 2,57 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, 1'); 2,64 (qi, *J* = 3,3 Hz, 4H, c); 2,91 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, b); 4,11 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, a); 6,73-6,78 (m, 3H, 2, 4 e 6); 7,18 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H, 5).

RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 14,3 (CH₃, 15'); 22,9 (CH₂, 14'); 23,7 (CH₂, d); 29,6-29,9 (CH₂, 3'-12'); 31,6 (CH₂, 2'); 32,1 (CH₂, 13'); 36,2 (CH₂, 1'); 54,9 (CH₂, c); 55,4 (CH₂, b); 67,1 (CH₂, a); 111,7 (CH, 6); 115,1 (CH, 2); 121,1 (CH, 4); 129,3 (CH, 5); 144,8 (C, 3); 159,0 (C, 1).

1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperidina (**13**, LDT119):



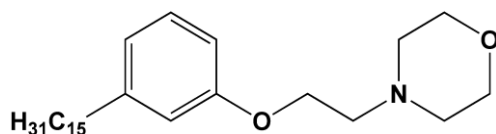
Rendimento: 81 %
 Óleo amarelo
 Rf: 0,6 (CHCl₃ 95%: MeOH 5%)
 Massa molar: 415,706 g mol⁻¹
 Fórmula molecular: C₂₈H₄₉NO

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 0,91 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H, 15'); 1,26-1,31 (m, 24H, 3'-14'); 1,48-1,52 (m, 2H, e); 1,57-1,73 (m, 6H, 2', d); 2,54-2,59 (m, 6H, 1', c); 2,88 (t, *J* = 5,8 Hz, 2H, b); 4,17 (t, *J* = 5,8 Hz, 2H, a); 6,70-6,73 (m, 2H, 2 e 6); 6,77 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, 6); 7,17 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H, 5).

RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 14,3 (CH₃, 15'); 22,9 (CH₂, 14'); 23,9 (CH₂, e); 25,5 (CH₂, d); 29,5-29,9 (CH₂, 3'-12'); 31,6 (CH₂, 2'); 32,1 (CH₂, 13'); 36,2

(CH₂, 1'); 55,0 (CH₂, c); 57,9 (CH₂, b); 65,3 (CH₂, a); 111,7 (CH, 6); 114,9 (CH, 2); 121,3 (CH, 4); 129,3 (CH, 5); 144,9 (C, 3); 158,7 (C, 1).

4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]morfolina (14, LDT118):

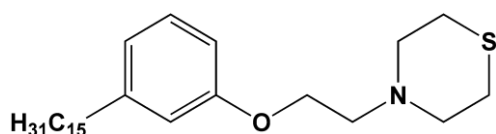


Rendimento: 89 %
Sólido branco
Rf: 0,3 (CHCl₃ 99 %: EtOH 1 %)
Massa molar: 417,678 g mol⁻¹
Fórmula molecular: C₂₇H₄₇NO₂
p.f.: 35,6-36,4 °C

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 0,89 (t, *J* = 6,5 Hz, 3H, 15'); 1,27-1,31 (m, 24H, 3'-14'); 1,61 (qi, *J* = 6,9 Hz, 2H, 2'); 2,55-2,61 (m, 6H, 1' e c); 2,81 (t, *J* = 5,7 Hz, 2H, b); 3,75 (t, *J* = 4,7 Hz, 4H, d); 4,12 (t, *J* = 5,7 Hz, 2H, a); 6,70-6,74 (m, 2H, 2 e 6); 6,78 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, 4); 7,18 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H, 5).

RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 14,3 (CH₃, 15'); 22,9 (CH₂, 14'); 29,5-29,9 (CH₂, 3'-12'); 31,6 (CH₂, 2'); 32,1 (CH₂, 13'); 36,2 (CH₂, 1'); 54,3 (CH₂, c); 57,9 (CH₂, b); 65,8 (CH₂, a); 67,1 (CH₂, d); 111,7 (CH, 6); 115,1 (CH, 2); 121,3 (CH, 4); 129,3 (CH,); 144,9 (C, 3); 158,9 (C, 1).

4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]tiomorfolina (15, LDT120)

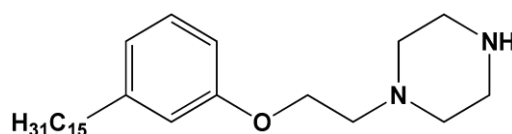


Rendimento: 83 %
Sólido branco
Rf: 0,6 (CHCl₃ 98 %: EtOH 2 %);
Massa molar de 433,739 g mol⁻¹
Fórmula molecular: C₂₇H₄₇NSO;
p.f.: 43,0-44,7 °C

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 0,89 (t, *J* = 6,6 Hz, 3H, 15'); 1,27 (sl, 24H, 3'-14'); 1,60 (sl, 2H, 2'); 2,57 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H, H1'); 2,72 (sl, 4H, d); 2,87-2,88 (m, 6H, b e c); 4,09 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H, a); 6,71-6,73 (m, 2H, 2 e 6); 6,78 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, 4); 7,18 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H, H5).

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 14,3 (CH_3 , 15'); 22,9 (CH_2 , 14'); 28,1 (CH_2 , d); 29,5-29,9 (CH_2 , 3'-12'); 31,6 (CH_2 , 2'); 32,1 (CH_2 , 13'); 36,2 (CH_2 , 1'); 55,5 (CH_2 , c); 58,2 (CH_2 , b); 65,7 (CH_2 , a); 111,7 (CH , 6); 115,1 (CH , 2); 121,3 (CH , 4); 129,3 (CH , 5); 144,9 (C, 3); 158,8 (C, 1).

1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperazina (16, LDT131)

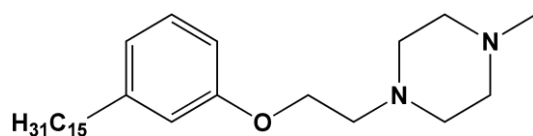


Rendimento: 75 %
Sólido branco
Rf: 0,3 (CH_2Cl_2 95%: MeOH 5%)
Massa molar: 416,694 g mol^{-1}
Fórmula molecular: $\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}$
p.f.: 53,8-56,0 $^\circ\text{C}$

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 0,88 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H, 15'); 1,25-1,31 (m, 24H, 3'-14'); 1,59 (qi, $J = 7,3$ Hz, 2H, 2'); 2,56 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, 1'); 2,65 (sl, 4H, c); 2,79 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H, b); 2,92 (t, $J = 4,9$ Hz, 4H, d); 4,10 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H, a); 6,70-6,74 (m, 2H, 2 e 6); 6,77 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, 6); 7,17 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H, H5).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 14,3 (CH_3 , 15'); 22,9 (CH_2 , 14'); 29,6-29,9 (CH_2 , 3'-12'); 31,6 (CH_2 , 2'); 32,1 (CH_2 , 13'); 36,2 (CH_2 , 1'); 46,2 (CH_2 , d); 55,1 (CH_2 , c); 58,1 (CH_2 , b); 65,7 (CH_2 , a); 111,7 (CH , 6); 115,1 (CH , 2); 121,2 (CH , 4); 129,3 (CH , 5); 144,8 (C, 3); 158,9 (C, 1).

1-Metil-4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperazina (17, LDT247)

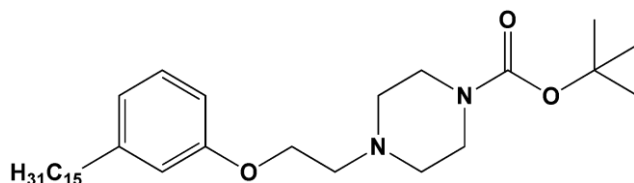


Rendimento: 69 %
Óleo incolor
Rf: 0,5 (CHCl_3 95%: EtOH 5%)
Massa molar: 430,721 g mol^{-1}
Fórmula Molecular: $\text{C}_{28}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}$

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 0,88 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H, 15'); 1,25 (sl, 24H, 3'-14'); 1,57 (sl, 2H, 2'); 2,36 (s, 3H, N^1CH_3); 2,53-2,57 (m, 6H, c e 1'); 2,70 (sl, 4H, d); 2,83 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H, b); 4,10 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H, a); 6,70-6,72 (m, 2H, 2 e 6); 6,76 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, 4); 7,17 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H, 5).

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 14,3 (CH_3 , 15'); 22,9 (CH_2 , 14'); 29,5-29,9 (CH_2 , 3'-12'); 31,6 (CH_2 , 2'); 32,1 (CH_2 , 13'); 36,2 (CH_2 , 1'); 45,8 (CH_3 ; N¹); 53,2 (CH_2 , d); 54,9 (CH_2 , c); 57,3 (CH_2 , b); 65,9 (CH_2 , a); 111,7 (CH , 6); 115,1 (CH , 2); 121,3 (CH , 4); 129,3 (CH , 5); 144,8 (C , 3); 158,9 (C , 1).

Tert-butil 4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperazina-1-carboxilato (18, LDT136)

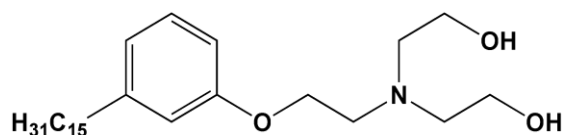


Rendimento: 69 %
 Sólido branco
 Rf: 0,5 (CHCl_3 95 %: EtOH 5 %);
 Massa molar: 516,811 g mol^{-1}
 Fórmula molecular: $\text{C}_{32}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_3$
 p.f.: 70,7-74,0 °C

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 0,88 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H, 15'); 1,26 (sl, 24H, 3'-14'); 1,47 (s, 9H, *t*-butil); 1,60 (qi, $J = 7,3$ Hz, 2H, 2'); 2,54-2,60 (m, 6H, 1' e c); 2,86 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H, b); 3,49 ($J = 4,8$ Hz, 2H, d); 4,12 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H, a); 6,70-6,71 (m, 2H, 2 e 6); 6,77 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, 4); 7,18 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H, 5).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 14,3 (CH_3 , 15'); 22,9 (CH_2 , 14'); 28,6 (3 CH_3 , *t*-Butila); 29,6-29,9 (CH_2 , 3'-12'); 31,6 (CH_2 , 2'); 32,1 (CH_2 , 13'); 36,2 (CH_2 , 1'); 53,5 (CH_2 , c e d); 57,5 (CH_2 , b); 65,7 (CH_2 , a); 79,9 (C , *Boc*); 111,7 (CH , 6); 115,1 (CH , 2); 121,4 (CH , 4); 129,4 (CH , 5); 144,9 (CH , 3); 154,9 (CO , *Boc*); 158,8 (C , 1).

2-[(2-hidróxi)etil][(2-(3-pentadecilfenóxi)etil)amino]etanol (19, LDT 134)



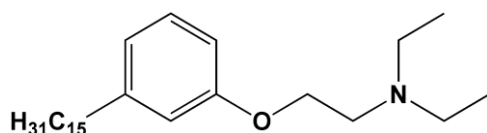
Rendimento: 56 %
 Sólido branco
 Rf: 0,4 (CHCl_3 97 %: EtOH 3 %)
 Massa molar: 435,693 g mol^{-1}
 Fórmula molecular: $\text{C}_{27}\text{H}_{49}\text{NO}_3$
 p.f.: 44,0-45,8 °C

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 0,89 (t, $J = 6,5$ Hz, 3H, 15'); 1,26-1,30 (m, 24H, 3'-14'); 1,60 (qi, $J = 7,1$ Hz, 2H, H2'); 2,56 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H, H1'); 2,79 (t, $J = 5,2$ Hz, 4H, b); 2,99 (t, $J = 5,3$ Hz, 2H, c); 3,65 (t, $J = 5,2$ Hz, 4H, d); 4,04

(t, $J = 5,3$ Hz, 2H, a); 6,71-6,74 (m, 2H, 2 e 6); 6,79 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H, 4); 7,18 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H, 5).

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 14,3 (CH_3 , 15'); 22,9 (CH_2 , 14'); 29,6-29,9 (CH_2 , 3'-12'); 31,7 (CH_2 , 2'); 32,1 (CH_2 , 13'); 36,2 (CH_2 , 1'); 53,8 (CH_2 , b); 57,2 (CH_2 , c); 59,9 (CH_2 , d); 66,5 (CH_2 , a); 111,6 (CH, 6); 115,0 (CH, 2); 121,5 (CH, 4); 129,4 (CH, 5); 145,0 (C, 3); 158,6 (C, 1).

Dietil [2-(3-pentadecilfenóxi)etil]amina (**20**, LDT 135)

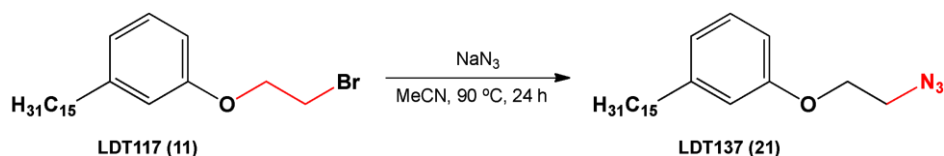


Rendimento: 42 %
Sólido amarelado
Rf: 0,5 (CH_2Cl_2 95 %: MeOH 5 %)
Massa molar: 403,695 g mol $^{-1}$
Fórmula molecular: $\text{C}_{27}\text{H}_{49}\text{NO}$

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): τ^m 0,89 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H, 15'); 1,18 (t, $J = 7,2$ Hz, 6H, d); 1,26-1,31 (m, 24H, 3'-14'); 1,60 (qi, $J = 7,1$ Hz, 2H, 2'); 2,57 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H, 1'); 2,82 (q, $J = 7,2$ Hz, 4H, b); 3,03 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H, c); 4,17 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H, a); 6,71-6,73 (m, 3H, 2 e 6); 6,78 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H, 4); 7,18 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H, 5).

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): τ^m 11,2 (2 CH_3 , d) 14,3 (CH_3 , 15'); 22,9 (CH_2 , 14'); 29,5-29,9 (CH_2 , 3'-12'); 31,6 (CH_2 , 2'); 32,1 (CH_2 , 13'); 36,2 (CH_2 , 1'); 47,9 (2 CH_2 , c); 51,7 (CH_2 , b); 65,4 (CH_2 , a); 111,6 (CH, 6); 114,9 (CH, 2); 121,4 (CH, 4); 129,4 (CH, 5); 144,9 (C, 3); 158,6 (C, 1).

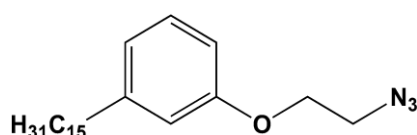
8.2.3 Obtenção do derivado 1-(2-Azidoetóxi)-3-pentadecilbenzeno (**21**, LDT137)



A um balão de 25 mL foram adicionados 0,3 g de LDT117 (**11**) (0,72 mmol), azida de sódio (9 equiv.) e acetonitrila (5,0 mL). A reação foi submetida

a refluxo à 90 °C por 24 horas. Em seguida, a mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 30,0 mL), bicarbonato de sódio (3 x 30,0 mL) e as frações orgânicas reunidas lavadas com solução salina (40,0 mL) e seca sob sulfato de sódio. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e o resíduo purificado em coluna cromatográfica sinterizada contendo gel de sílica (70-230 mesh) e eluída com gradiente de mistura hexano-diclorometano fornecendo o derivado-alvo.

1-(2-Azidoetóxi)-3-pentadecilbenzeno (**21**, LDT137)

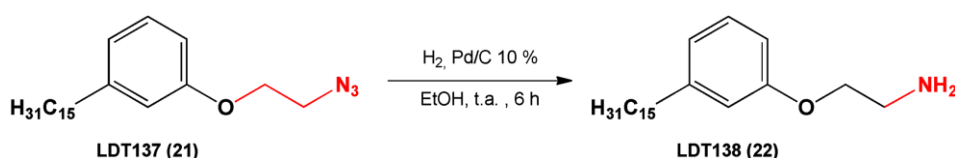


Rendimento: 36 %
 Sólido branco
 Rf: 0,3 (C₆H₁₄)
 Massa molar: 373,575 g mol⁻¹
 Fórmula Molecular: C₂₃H₃₉N₃
 p.f.: 34,2-36,7 °C

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 0,89 (t, *J* = 6,6 Hz, 3H, 15'); 1,27-1,31 (m, 24H, 3'-14'); 1,59-1,61 (sl, 2H, 2'); 2,59 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, 1'); 3,60 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H, b); 4,16 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, a); 6,73-6,76 (m, 2H, 2 e 6); 6,82 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, 6); 7,21 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H, 5).

RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 14,3 (CH₃, 15'); 22,9 (CH₂, 14'); 29,6-29,9 (CH₂, 3'-12'); 31,6 (CH₂, 2'); 32,1 (CH₂, 13'); 36,2 (CH₂, 1'); 50,5 (CH₂, b); 67,0 (CH₂, a); 111,6 (CH, 6); 115,1 (CH, 2); 121,8 (CH, 4); 129,4 (CH, 5); 145,0 (C, 3); 158,4 (C, 1).

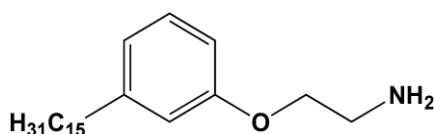
8.2.4. Obtenção do derivado 2-(3-pentadecilfenóxi)etan-1-amina (**22**, LDT138)



A um frasco de hidrogenação catalítica de 250 mL foram adicionados 0,3 g de LDT 137 (0,80 mmol), carvão paládio (0,5 equiv.) e etanol (20,0 mL).

O sistema de hidrogenação foi submetido a pressão de 60 psi de hidrogênio em reator Paar à temperatura ambiente por 6 horas. Após esse período a mistura foi filtrada em funil sinterizado e o solvente evaporado à pressão reduzida. O resíduo foi transferido para coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída com mistura clorofórmio-etanol, fornecendo o derivado-alvo.

2-(3-pentadecilfenóxi)etan-1-amina (**22**, LDT138)

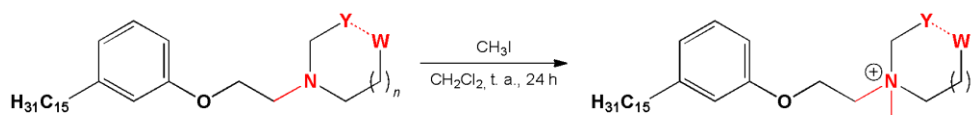


Rendimento: 44 %
 Sólido Branco
 Rf: 0,6 (CHCl₃ 80%:EtOH 20 %)
 Massa molar: 347,587 g mol⁻¹
 Fórmula molecular: C₂₃H₄₁NO
 p.f.: 34,9-37,0 °C

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 0,89 (t, *J* = 6,7 Hz, 3H, 15'); 1,26-1,30 (m, 24H, 3'-14'); 1,60 (qt, *J* = 7,1 Hz, 2H, 2'); 1,94 (sl, NH₂); 2,58 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, 1'); 3,08 (t, *J* = 4,85 Hz, 2H, b); 3,99 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H, a); 6,72-6,75 (m, 2H, 2 e 6); 6,78 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H, 4); 7,18 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H, 5).

RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 14,3 (CH₃, 15'); 22,9 (CH₂, 14'); 29,6-29,9 (CH₂, 3'-12'); 31,6 (CH₂, 2'); 32,1 (CH₂, 13'); 36,2 (CH₂, 1'); 41,8 (CH₂, b); 70,1 (CH₂, a); 111,6 (CH, 6); 115,0 (CH, 2); 121,3 (CH, 4); 129,4 (CH, 5); 144,9 (C, 3); 159,0 (C, 1).

8.2.5. Procedimento geral de obtenção dos derivados *N*-metilamônicos **23-29**

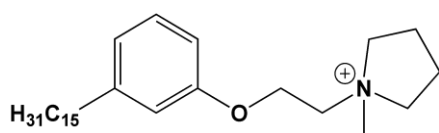


LDT246 (12, n = 0, Y = CH₂, W = CH₂)
 LDT119 (13, n = 1, Y = CH₂, W = CH₂)
 LDT118 (14, n = 1, Y = CH₂, W = O)
 LDT120 (15, n = 1, Y = CH₂, W = S)
 LDT131 (16, n = 1, Y = CH₂, W = N¹H)
 LDT247 (17, n = 1, Y = CH₂, W = N¹CH₃)
 LDT136 (18, n = 1, Y = CH₂, W = N¹COO*t*Bu)
 LDT134 (19, n = 1, Y = CH₂OH, W = OH)
 LDT135 (20, n = 1, Y = CH₃, W = H)

LDT309 (23, n = 0, Y = CH₂, W = CH₂)
 LDT310 (24, n = 1, Y = CH₂, W = CH₂)
 LDT311 (25, n = 1, Y = CH₂, W = O)
 LDT312 (26, n = 1, Y = CH₂, W = S)
 LDT314 (27, n = 1, Y = CH₂, W = N¹(CH₃)₂)
 LDT317 (28, n = 1, Y = CH₂OH, W = OH)
 LDT308 (29, n = 1, Y = CH₃, W = H)

A um balão de 10 mL, foram adicionados 0,15 g da respectiva amina, iodeto de metila (2 eqv) e diclorometano anidro destilado (4,0 mL). O sistema reacional permaneceu sob agitação magnética, em temperatura ambiente por 24 horas. Após este período o solvente foi evaporado à vácuo e o resíduo purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída com mistura clorofórmio-etanol, fornecendo os respectivos derivado-alvos.

1-Metil-1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]pirrolidínio (23, LDT309)

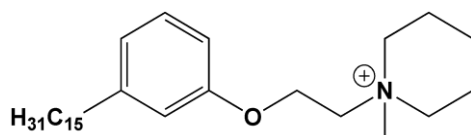


Rendimento: 68 %
Sólido amarelo
Rf: 0,4 (CHCl₃:EtOH 5 %)
Massa molar: 416,714 g mol⁻¹
Fórmula molecular: C₂₈H₅₀NO
p.f.: 49,6-52,7 °C

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 0,86 (t, *J* = 6,5 Hz, 3H, 15'); 1,27 (sl, 24H, 3'-14'); 1,55 (qi, *J* = 7,2 Hz, 2H, 2'); 2,31-2,34 (m, 4H, d); 2,55 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, 1'); 3,39 (s, 3H, *N*-CH₃); 3,88-4,00 (m, 4H, c); 4,26 (t, *J* = 4,3 Hz, 2H, a); 4,44 (t, *J* = 4,3 Hz, 2H, b); 6,71-7,3 (m, 2H, 2 e 6); 6,82 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H, 4); 7,18 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, 5).

RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 14,2 (CH₃, 15'); 21,7 (CH₂, d); 22,8 (CH₂, 14'); 29,5-29,8 (CH₂, 3'-12'); 31,6 (CH₂, 2'); 32,0 (CH₂, 13'); 36,1 (CH₂, 1'); 49,7 (*N*-CH₃); 62,6 (CH₂, a); 62,9 (CH₂, b); 66,2 (CH₂, c); 111,5 (CH, 6); 114,8 (CH, 2); 122,5 (CH, 4); 129,7 (CH, 5); 145,4 (C, 3); 157,1 (C, 1).

1-Metil-1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperidínio (24, LDT310)



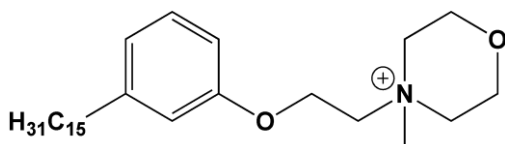
Rendimento: 71 %
Sólido amarelo
Rf: 0,4 (CHCl₃:EtOH 8 %)
Massa molar: 430,741 g mol⁻¹
Fórmula molecular: C₂₉H₅₂NO
p.f.: 31,3-32,0 °C

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 0,86 (t, *J* = 6,2 Hz, 3H, 15'); 1,23 (sl, 24H, 3'-14'); 1,57 (5qi, *J* = 6,9 Hz, 2H, 2'); 1,81-1,83 (m, 2H, e); 1,99-2,02 (m, 4H, d); 2,55 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H, 1'); 3,47 (s, 3H, *N*-CH₃); 3,73-3,90 (m, 4H, c); 4,24-4,25

(m, 2H, a); 4,46-4,47 (m, 2H, b); 6,71-6,73 (m, 2H, 2 e 6); 6,82 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H, 4); 7,18 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, 5).

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 14,2 (CH_3 , 15'); 20,5 (CH_2 , d); 20,7 (CH_2 , e); 22,8 (CH_2 , 14'); 29,5-29,8 (CH_2 , 3'-12'); 31,5 (CH_2 , 2'); 32,0 (CH_2 , 13'); 36,1 (CH_2 , 1'); 49,9 ($N\text{-CH}_3$); 61,9⁸ (CH_2 , b); 62,1 (CH_2 , a); 62,7 (CH_2 , c); 111,6 (CH, 6); 114,8 (CH, 2); 122,5 (CH, 4); 129,7 (CH, 5); 145,4 (C, 3); 157,1 (C, 1).

4-Metil-4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]morfolínio (25, LDT311)

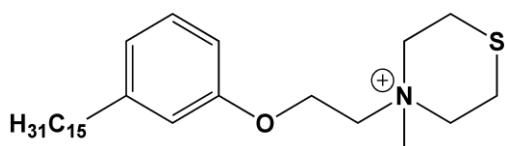


Rendimento: 66 %
 Sólido amarelo
 Rf: 0,4 (CHCl_3 :EtOH 10 %)
 Massa molar: 432,713 g mol⁻¹
 Fórmula molecular: $\text{C}_{28}\text{H}_{50}\text{NO}_2$
 p.f.: 69,1-71,6 °C

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 0,87 (t, $J = 6,2$ Hz, 3H, 15'); 1,25-1,30 (m, 24H, 3'-14'); 1,57 (qi, $J = 6,9$ Hz, 2H, 2'); 2,56 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H, 1'); 3,69 (s, 3H, $N\text{-CH}_3$); 3,83-3,98 (m, 4H, c); 4,13 (t, $J = 4,3$ Hz, 4H, d); 4,45-4,46 (m, 2H, a); 4,52-4,53 (m, 2H, b); 6,73-6,76 (m, 2H, 2 e 6); 6,83 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H, 6); 7,20 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H, 5).

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 14,3 (CH_3 , 15'); 22,8 (CH_2 , 14'); 29,5-29,8 (CH_2 , 3'-12'); 31,6 (CH_2 , 2'); 32,0 (CH_2 , 13'); 36,1 (CH_2 , 1'); 49,8 ($N\text{-CH}_3$); 60,9 (CH_2 , d); 61,4 (CH_2 , c); 61,9 (CH_2 , b); 63,2 (CH_2 , a); 111,6 (CH, 6); 114,9 (CH, 2); 122,7 (CH, 4); 129,7 (CH, 5); 145,4 (C, 3); 157,0 (C, 1).

4-Metil-4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]tiomorfolínio (26, LDT312)

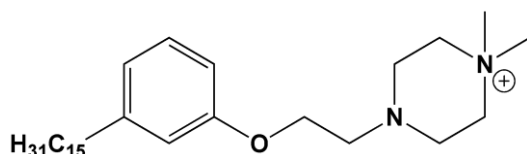


Rendimento: 71 %
 Sólido branco
 Rf: 0,4 (CHCl_3 :EtOH 5 %)
 Massa molar: 448,774 g mol⁻¹
 Fórmula molecular: $\text{C}_{28}\text{H}_{50}\text{NOS}$
 p.f.: 69,5-70,6 °C

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 0,86 (sl, 3H, 15'); 1,24 (sl, 24H, 3'-14'); 1,57 (sl, 2H, 2'); 2,54 (sl, 2H, 1'); 3,15 (sl, 4H, d); 3,60 (s, 3H, $N\text{-CH}_3$); 4,05 (sl, 4H, c); 4,36 (sl, 2H, a); 4,50 (sl, 2H, b); 6,72-6,76 (m, 2H, 2 e 6); 6,82 (t, $J = 6,7$ Hz, 1H, 6); 7,19 (sl, 1H, 5).

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 14,2 (CH_3 , 15'); 21,9 (CH_2 , d); 22,8 (CH_2 , 14'); 29,5-29,8 (CH_2 , 3'-12'); 31,6 (CH_2 , 2'); 32,0 (CH_2 , 13'); 36,1 (CH_2 , 1'); 50,5 ($N\text{-CH}_3$); 61,9 (CH_2 , b); 62,4 (CH_2 , a); 62,9 (CH_2 , c); 111,6 (CH , 6); 114,9 (CH , 2); 122,6 (CH , 4); 129,7 (CH , 5); 145,4 (C, 3); 157,0 (C, 1).

1,1-Dimetil-4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperazínio (27, LDT314)

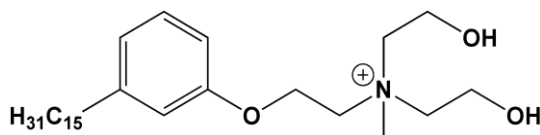


Rendimento: 94 %
 Sólido amarelo
 Rf: 0,5 (CHCl_3 :EtOH 20 %)
 Massa molar: 445,756 g mol^{-1}
 Fórmula molecular: $\text{C}_{29}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}$
 p.f.: 107,1-108,0 $^\circ\text{C}$

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 0,87 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H, 15'); 1,24-1,28 (m, 24H, 3'-14'); 1,58 (qi, $J = 7,1$ Hz, 2H, 2'); 2,55 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H, 1'); 2,94-3,01 (m, 4H, b e c); 3,56 (s, 6H, $N^4\text{-(CH}_3)_2$); 3,66-3,70 (m, 4H, d); 4,07 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H, a); 6,68-6,70 (m, 2H, 2 e 6); 6,77 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, 2); 7,17 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, 5).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 14,2 (CH_3 , 15'); 22,8 (CH_2 , 14'); 29,5-29,8 (CH_2 , 3'-12'); 31,6 (CH_2 , 2'); 32,0 (CH_2 , 13'); 36,2 (CH_2 , 1'); 47,1 (CH_2 , c); 52,3 ($\text{N(CH}_3)_2$); 56,2 (CH_2 , b); 62,7 (CH_2 , d); 66,0 (CH_2 , a); 111,6 (CH , 6); 115,0 (CH , 2); 121,5 (CH , 4); 129,4 (CH , 5); 145,0 (C, 3); 158,5 (C, 1).

2-hidróxi-N-(2-hidróxietyl)-N-metil-N-(2-(3-pentadecilfenóxi)etanamínio (28, LDT134Me)

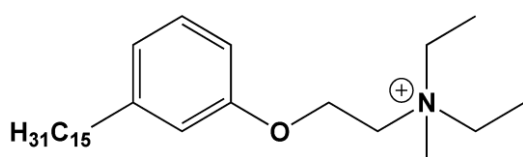


Rendimento: 85 %
 Sólido branco
 Rf: 0,5 (CHCl₃:EtOH 10 %)
 Massa molar: 450,728 g mol⁻¹
 Fórmula molecular: C₂₈H₅₂NO₃
 p.f.: 30,0 °C

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,88 (t, *J* = 6,2 Hz, 3H, 15'); 1,25 (sl, 24H, 3'-14'); 1,57 (sl, 2H, 2'); 2,55 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H, 1'); 3,44 (s, 3H, *N*-CH₃); 3,89 (sl, 4H, d); 4,11 (sl, 4H, a); 4,22 (sl, 2H, c); 4,42 (sl, 2H, b); 6,75-6,81 (m, 3H, 2, 4 e 6); 7,18 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H, 5).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 14,3 (CH₃, 15'); 22,9 (CH₂, 14'); 29,5-29,9 (CH₂, 3'-12'); 31,7 (CH₂, 2'); 32,1 (CH₂, 13'); 36,2 (CH₂, 1'); 51,8 (*N*-CH₃); 56,1 (CH₂, d); 62,2 (CH₂, b); 63,3(CH₂, a); 65,5 (CH₂, c); 111,7 (CH, 6); 115,1 (CH, 2); 122,5 (CH, 4); 129,7 (CH, 5); 145,4 (C, 3); 157,2 (C, 1).

***N,N*-Dietil-N-metil-N-(2-(3-pentadecilfenóxi)etanamínio (29, LDT308)**



Rendimento: 69 %
 Sólido branco
 Rf: 0,3 (CH₂Cl₂:MeOH 5 %)
 Massa molar: 418,730 g mol⁻¹
 Fórmula molecular: C₂₈H₅₂NO

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,87 (t, *J* = 6,5 Hz, 3H, 15'); 1,18 (t, *J* = 7,2 Hz, 6H, d); 1,25-1,29 (m, 24H, 3'-14'); 1,48 (t, *J* = 7,2 Hz, 6H, d); 1,54-1,58 (m, 2H, 2'); 2,57 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, 1'); 3,39 (s, 3H, *N*-CH₃); 3,72 (q, *J* = 7,2 Hz, 4H, c); 4,15 (t, *J* = 4,1 Hz, 2H, a); 4,46 (t, *J* = 3,8 Hz, 2H, b); 6,72-6,74 (m, 3H, 2 e 6); 6,84 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, 4); 7,20 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H, 5).

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 8,8 (2 CH_3 , d) 14,3 (CH_3 , 15'); 22,9 (CH_2 , 14'); 29,5-29,9 (CH_2 , 3'-12'); 31,6 (CH_2 , 2'); 32,1 (CH_2 , 13'); 36,2 (CH_2 , 1'); 48,9 ($N\text{-CH}_3$) 58,3 (2 CH_2 , c); 60,3 (CH_2 , b); 62,1 (CH_2 , a); 111,5 (CH, 6); 114,7 (CH, 2); 122,6 (CH, 4); 129,8 (CH, 5); 145,5 (C, 3); 157,1 (C, 1).

8.3 ESTUDOS TEÓRICOS *in silico*

8.3.1 Cálculo das propriedades físico-químicas

As moléculas foram desenhadas o programa ACD/ChemSketch. As previsões teóricas das constantes de acidez (pK_a) e basicidade (pK_{aH}), lipofilicidade pelo coeficiente de distribuição (LogD) e solubilidade pelo coeficiente de solubilidade (LogS) foram calculadas no módulo de propriedades físico-químicas do programa Percepta/ACD Labs, versão 2014.

8.3.1 Obtenção dos mapas de potenciais eletrostáticos

Os compostos tiveram suas geometrias otimizadas no software Gaussian,¹⁰³ usando o nível de cálculo B3LYP e funções de base 6-31+G(d,p). O potencial eletrostático para os compostos foram calculados no Gaussian e gerados no GaussView, onde o potencial eletrostático em um ponto qualquer (x,y,z) é dado pela energia potencial eletrostática entre o íon imaginário carregado positivamente, situado nesse ponto, e o composto. Se este íon for repelido pelo composto entende-se que naquele ponto o potencial é positivo e se for atraído esse potencial é negativo. Considerando que o íon possui carga +1, ele é repelido para regiões pobres em elétrons e atraído por regiões ricas em elétrons; assim, regiões pobres em elétrons tem potenciais positivos, e a região rica em elétrons tem potencial negativo. Regiões onde o potencial é positivo foram representadas na cor azul e, potenciais negativos pela cor vermelha. Já o potencial intermediário segue a escala de cores de acordo com

o espectro: vermelho < laranja < amarelo < verde < azul. Os mapas de potenciais eletrostáticos-MEPs são importantes no entendimento e orientação das interações que estes compostos possam fazer em contato com regiões de outras moléculas, além de possibilitar a compreensão das regiões mais ou menos favoráveis a realizar essas interações.

8.4. AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA *in vitro*

As pesquisas foram realizadas nos laboratórios do Centro Especializado em Micologia Médica (CEMM), da Universidade Federal do Ceará (UFC).

Uma vez sintetizados e caracterizados por RMN, os intermediários e produtos finais foram submetidos a ensaios de atividade antifúngica pelo teste de sensibilidade em células planctônicas (conídios) e em biofilme inicial.

8.4.1. Microrganismos

Nesse estudo, foram utilizadas 2 cepas da espécie *S. brasiliensis*, pertencentes à Micoteca do CEMM. As cepas foram mantidas em ágar batata-dextrose até o momento de uso e foram utilizadas na sua forma filamentosa (Quadro 1).

Quadro 1. Origem e capacidade de formação de biofilmes das cepas de espécies de *Sporothrix brasiliensis* utilizadas neste estudo.

Cepas	Espécies	Origem*
CEMM 05-3-050	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Gato
CEMM 05-3-075	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Gato

CEMM: Centro Especializado em Micologia Médica. *Fonte: PEREIRA, V. S. (2017)¹⁰⁰

Para o experimento com a forma filamentosa, cultivos foram realizados em ágar batata - dextrose (PDA) (Himedia, Índia) e incubados a 35 °C, durante 5 dias. Foram utilizadas as cepas *Candida parapsilosis* ATCC 22019 e *Candida krusei* ATCC 6258 como controles nos experimentos de sensibilidade antifúngica.

8.4.2. Teste de sensibilidade antifúngica planctônica (conídios)

Os testes de sensibilidade foram realizados em microplacas de 96 poços, utilizando-se a técnica de microdiluição em caldo, conforme os documentos M38-A2 (forma filamentosa) do CLSI¹⁰⁰. Os compostos sintetizados foram testados em concentrações finais de 0,125 a 64 µg/mL. O inóculo foi preparado a partir da adição de um 1 mL de solução salina estéril a 0,9% ao tubo contendo a colônia do fungo, que foi então raspada suavemente sobre a superfície da colônia. O inóculo contendo conídios foi então transferido para um tubo de ensaio estéril, adicionado 4 ml de solução salina 0,9%, e em seguida a turbidez foi ajustada para uma concentração final dentro da faixa de $0,4-5 \times 10^4$ UFC/mL em meio RPMI 1640 (Sigma, St Louis, MO, USA), tamponado a pH 7,0 com 0,165M de Ácido 3-(N-morfolina) propanossulfônico (MOPS) (Sigma, St Louis, MO, USA). Alíquotas de 100 µL do inóculo final foram adicionadas às placas já contendo 100 µL de RPMI-1640 suplementado dos compostos.

As microplacas foram incubadas a 35 °C por 72 horas. A concentração inibitória mínima (CIM) dos compostos foram definidas como a menor concentração capaz de inibir 100 %, 80 % e 50 % do crescimento fúngico em comparação com o crescimento fúngico nos poços sem a presença dos compostos. *Candida parapsilosis* ATCC 22019 e *Candida krusei* ATCC 6258 foram utilizadas como controles de qualidade dos experimentos. Os experimentos foram conduzidos em duplicata em dois momentos distintos.

8.4.3. Efeito dos compostos sobre a formação do biofilme fúngico

Uma alíquota de 200 μL de suspensão fúngica a 1×10^6 conídios/mL, preparada em meio RPMI 1640, foi adicionada a microplacas de 96 poços e incubada em estufa a 35 °C por 24 horas para adesão celular. Após esse período os poços foram lavados com PBS e preenchidos com 200 μL de meio RPMI e os compostos. Poços contendo apenas o biofilme inicial foram utilizados como controle de crescimento. As placas foram incubadas por mais 96 horas, nas mesmas condições, na tentativa de maturação do biofilme. Após o período de incubação para cada biofilme, os poços foram lavados e alíquotas de 100 μL do sal de tetrazólio 2,3-bis(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil) - 2H-tetrazólio-5-carboxanilida [0,1 mg / mL XTT, menadiona 1 μM (Sigma Chemical Co., EUA)] foram adicionadas a cada poço e as placas foram incubadas no escuro por 2 h a 37 °C, seguido por leituras espectrofotométricas a 492 nm com um leitor de placa de microtitulação (Brilhante *et al.*, 2016).¹⁰¹

8.5. AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS RAW 264.7

Para se avaliar a citotoxicidade das amostras, foi utilizado o ensaio colorimétrico de redução do MTT (3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazólio), o qual é convertido em formazan, por células metabolicamente ativas, possibilitando a quantificação da percentagem de células vivas (Mosmann, 1983).¹⁰² As células RAW 264.7 foram plaqueadas na concentração de $2,5 \times 10^5$ células/mL em placas de 96 poços e mantidas por 18 h. As células foram tratadas com LDT247 (**17**) ou LDT310 (**24**) (0,39 – 200 μM). Após 24 horas, o MTT foi adicionado para uma concentração final de 1 mg/mL no poço. Após 3 horas, o meio foi retirado e 150 μL de DMSO foram adicionados para posterior leitura da absorbância a 570 nm (Biochrom® Asys UVM340, Cambourne, Cambridge, UK). Para o grupo controle foi adicionado meio de cultura com veículo (1 % DMSO), enquanto no controle positivo (CP) foi adicionado apenas meio de cultura, sem o veículo. A

viabilidade celular foi calculada como porcentagem de células viáveis nos grupos tratados versus do grupo controle não-tratado.

8.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para os testes de citotoxicidade, todos os valores são expressos como média \pm SEM de três determinações independentes. A análise estatística foi realizada com análise de variância (ANOVA), seguido pelo Teste de Student-Newman-Keuls, através do programa GraphPad Prism (versão 7.0)

Referências

9. REFERÊNCIAS

1. Andrade, D. & Andrade Jr, D. Tratado de Infectologia. in *Amebíase. In: Veronesi R, Focaccia R.* 1149 (Atheneu, 1996).
2. Gonçalves, J., Gremião, I., Kölling, G., Duval, A. & Ribeiro, P. ESPOROTRICOSE, O GATO E A COMUNIDADE. *Enciclopédia Biosfera.* v. **16**, 769–787 (2019).
3. Pires, R. S., Peter, J. R., & Andrade, F. C. (2016). A ESPOROTRICOSE E SEU IMPACTO SOCIAL. *VITTALLE - Revista De Ciências Da Saúde*, 28(1), 110–113. Recuperado de <https://periodicos.furg.br/vittalle/article/view/6215>
4. SILVA, Margarete Bernardo Tavares da et al . Esporotricose urbana: epidemia negligenciada no Rio de Janeiro, Brasil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro , v. 28, n. 10, p. 1867-1880, Oct. 2012 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2012001000006&lng=en&nrm=iso>. access on 17 May 2021. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2012001000006.5>. Kauffman, C. A., Bustamante, B., Chapman, S. W. & Pappas, P. G. IDSA Guidelines for Management of Sporotrichosis • CID. 1255 (2007). doi:10.1086/522765
6. ANTUNES, Tatiana de Ávila et al . Esporotricose cutânea experimental: Avaliação in vivo do itraconazol e terbinafina. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, Uberaba , v. 42, n. 6, p. 706-710, Dec. 2009 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822009000600018&lng=en&nrm=iso>. access on 17 May 2021. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822009000600018.7>. Pereira, S. A., Schubach T.M.P., Gremião I.D.F., Silva D.T., Figueiredo F.B., A. N. V. & P. S. R. L. Aspectos Terapêuticos da esporotricose felina. *Acta Sci. Vet.* **37**, 311–321 (2009).
8. STERLING, J. B.; HEYMANN, W. R. Potassium iodide in dermatology: a 19th century drug for the 21st century-uses, pharmacology, adverse effects, and contraindications. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 43, n. 4, p. 691–697, 2000.
9. ERGODERMATÓSICA, A. E. C.-S. EM et al. Carlos Eduardo LARSSON. Disponível em: <<https://www.revistas.usp.br/bjvras/article/download/34389/37127/>>. Acesso em: 17 may. 2021.
10. GREMIÃO, I. D. F. et al. Zoonotic epidemic of sporotrichosis: Cat to human transmission. *PLoS pathogens*, v. 13, n. 1, p. e1006077, 2017..
11. RODRIGUES, A. M. et al. Genetic diversity and antifungal susceptibility profiles in causative agents of sporotrichosis. *BMC infectious diseases*, v. 14, n. 1, p. 219, 2014. doi:10.1186/1471-2334-14-219
12. BORBA-SANTOS, L. P. et al. Susceptibility of *Sporothrix brasiliensis* isolates to amphotericin B, azoles, and terbinafina. *Medical mycology: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology*, v. 53, n. 2, p. 178–188, 2015.

- <https://doi.org/10.1093/mmy/myu056>
13. MARIMON, R. et al. Molecular phylogeny of *Sporothrix schenckii*. *Journal of clinical microbiology*, v. 44, n. 9, p. 3251–3256, 2006. doi: 10.1128/JCM.00081-06.
 14. MONTENEGRO, H. et al. Feline sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis*: an emerging animal infection in São Paulo, Brazil. **BMC veterinary research**, v. 10, n. 1, p. 269, 2014. doi: 10.1186/s12917-014-0269-5.
 15. KLEIN, B. S.; TEBBETS, B. Dimorphism and virulence in fungi. **Current opinion in microbiology**, v. 10, n. 4, p. 314–319, 2007. doi: 10.1016/j.mib.2007.04.002.
 16. López-Romero, E. et al. *Sporothrix schenckii* complex and sporotrichosis, an emerging health problem. *Future Microbiol.* **6**, 85–102 (2011).
 17. FREITAS, D. F. S. et al. Sporotrichosis in HIV-infected patients: report of 21 cases of endemic sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. **Medical mycology: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology**, v. 50, n. 2, p. 170–178, 2012.
 18. MAHMOUDI, S.; ZAINI, F. Sporotrichosis in Iran: A mini review of reported cases in patients suspected to cutaneous leishmaniasis. **Current medical mycology**, v. 1, n. 2, p. 39–45, 2015. doi: 10.18869/acadpub.cmm.1.2.39.
 19. CONCEIÇÃO-SILVA, F.; MORGADO, F. N. Immunopathogenesis of human sporotrichosis: What we already know. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 4, n. 3, p. 89, 2018. doi: 10.3390/jof4030089.
 20. OROFINO-COSTA, Rosane et al. Sporotrichosis: an update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. *An. Bras. Dermatol.*, Rio de Janeiro, v. 92, n. 5, p. 606-620, Oct. 2017. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962017000500606&lng=en&nrm=iso>. access on 17 May 2021. <http://dx.doi.org/10.1590/abd1806-4841.2017279>.
 21. Rocha, R. F. D. B. Tratamento da esporotricose felina refratária com a associação de iodeto de potássio e itraconazol oral. 2014. 62 f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas) - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas. Rio de Janeiro, RJ, 2014.
 22. BAZZI, Talissa et al. Características clínico-epidemiológicas, histomorfológicas e histoquímicas da esporotricose felina. *Pesq. Vet. Bras.*, Rio de Janeiro, v. 36, n. 4, p. 303-311, Apr. 2016. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2016000400303&lng=en&nrm=iso>. access on 17 May 2021. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2016000400009>.
 23. QUEIROZ-TELLES, F. et al. Neglected Endemic Mycoses. **The Lancet infectious diseases**, v. 17, n. 11, p. e367–e377, 2017.
 24. LOPES-BEZERRA, L. M. et al. Sporotrichosis between 1898 and 2017: The evolution of knowledge on a changeable disease and on emerging

- etiological agents. **Medical mycology: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology**, v. 56, n. suppl_1, p. 126–143, 2018. doi: 10.1093/mmy/myx103.
25. CHAKRABARTI, A. et al. Global epidemiology of sporotrichosis. **Medical mycology: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology**, v. 53, n. 1, p. 3–14, 2015. doi: 10.1093/mmy/myu062.
 26. MCGUINNESS, S. L. et al. Epidemiological investigation of an outbreak of cutaneous sporotrichosis, Northern Territory, Australia. **BMC infectious diseases**, v. 16, n. 1, p. 16, 2016.
 27. Larsabal M, Gabriel F, Pajaniapadeatchy E, Rougeron A, Accoceberry I, Garcia-Hermoso D, Saunier A. Sporotrichose en France [Sporotrichosis in France]. *Med Mal Infect.* 2018 Jun;48(4):298-300. French. doi: 10.1016/j.medmal.2018.02.006. Epub 2018 Mar 16. PMID: 29555122.
 28. PAPPAS, P. G. et al. Sporotrichosis in Peru: description of an area of hyperendemicity. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 30, n. 1, p. 65–70, 2000.
 29. PEREIRA, Sandro Antonio et al . The epidemiological scenario of feline sporotrichosis in Rio de Janeiro, State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop., Uberaba* , v. 47, n. 3, p. 392-393, June 2014 . Available from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822014000300392&lng=en&nrm=iso. access on 17 May 2021. <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0092-2013>.
 30. DA ROSA, A. C. M. et al. Epidemiology of sporotrichosis: a study of 304 cases in Brazil. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 52, n. 3 Pt 1, p. 451–459, 2005.
 31. MADRID, I. M. et al. Epidemiological findings and laboratory evaluation of sporotrichosis: a description of 103 cases in cats and dogs in southern Brazil. **Mycopathologia**, v. 173, n. 4, p. 265–273, 2012.
 32. RODRIGUES, A. M. et al. Emerging sporotrichosis is driven by clonal and recombinant *Sporothrix* species. **Emerging microbes & infections**, v. 3, n. 5, p. e32, 2014b.
 33. SANCHOTENE, K. O. et al. *Sporothrix brasiliensis* outbreaks and the rapid emergence of feline sporotrichosis. **Mycoses**, v. 58, n. 11, p. 652–658, 2015.
 35. Esporotricose agora é doença de notificação compulsória em Guarulhos - Click Guarulhos. Available at: <https://www.clickguarulhos.com.br/2016/08/30/esporeticose-agora-e-doenca-de-notificacao-compulsoria-em-guarulhos/>. (Accessed: 15th November 2019)
 36. Prefeitura Do Município De São Paulo Secretaria Municipal Da Saúde - Sms Coordenação De Vigilância Em Saúde-Covisa Gerencia Do Centro De Controle De Zoonoses Informe Técnico : Esporeticose Em Animais – 2015. 8918 (2015).

37. Santos, tailia tavares alves de almeida; talitha emanuelle B. G. de L. *Nota informativa N° 01/2019 - NDTA/GOVE/GEVS/SES-PB.* (2019).
38. Resende, A. M., Ferreira De Faria, B. W., Cecília De Freitas, C., Célia, E., Starling, C. D., Ferretti, C., ... Gráfi, P. (n.d.). Belo Horizonte 2018 *Elaboração e revisão Alexandre Moura.*
39. *Resolução SES N° 674 DE 12/07/2013.*
40. cristianecardoso. *SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DIRETORIA DE VIGILÂNCIA DA SAÚDE.* (2017).
41. Portaria n.º 264, de 17 de fevereiro de 2020. *Ministério da Saúde. Diário da República, 1.ª série — N.º 96 de 18 de maio de 2018 I,* (2020).
42. BARROS, M. B. DE L.; DE ALMEIDA PAES, R.; SCHUBACH, A. O. *Sporothrix schenckii and sporotrichosis. Clinical microbiology reviews,* v. 24, n. 4, p. 633–654, 2011. <https://doi.org/10.1128/CMR.00007-11>
43. MAHAJAN, V. K. *Sporotrichosis: an overview and therapeutic options. Dermatology research and practice,* v. 2014, p. 272376, 2014.
44. ARRILLAGA-MONCRIEFF, I. et al. Different virulence levels of the species of *Sporothrix* in a murine model. **Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 15, n. 7, p. 651–655, 2009.
45. CLAVIJO-GIRALDO, D. M. et al. Analysis of *Sporothrix schenckii sensu stricto* and *Sporothrix brasiliensis* virulence in *Galleria mellonella*. **Journal of microbiological methods**, v. 122, p. 73–77, 2016.
46. FERNANDES, G. F. et al. Characterization of virulence profile, protein secretion and immunogenicity of different *Sporothrix schenckii sensu stricto* isolates compared with *S. globosa* and *S. brasiliensis* species. **Virulence**, v. 4, n. 3, p. 241–249, 2013.
47. RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G. S.; DE CAMARGO, Z. P. *Sporothrix* species causing outbreaks in animals and humans driven by animal-animal transmission. **PLoS pathogens**, v. 12, n. 7, p. e1005638, 2016.
48. GARCÍA CARNERO, L. C. et al. Immunity and treatment of sporotrichosis. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 4, n. 3, p. 100, 2018.
49. BATISTA-DUHARTE, A. et al. *Sporothrix brasiliensis* induces a more severe disease associated with sustained Th17 and regulatory T cells responses than *Sporothrix schenckii sensu stricto* in mice. **Fungal biology**, v. 122, n. 12, p. 1163–1170, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2018.08.004>
50. MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, J. A. et al. *Sporothrix schenckii sensu stricto* and *Sporothrix brasiliensis* Are Differentially Recognized by Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 843, 2017.
51. GUZMAN-BELTRAN, S. et al. Phagocytic receptors on macrophages distinguish between different *Sporothrix schenckii* morphotypes. **Microbes and infection**, v. 14, n. 12, p. 1093–1101,

2012. doi: 10.1016/j.micinf.2012.06.001.
52. GONÇALVES, A. C. et al. The NLRP3 inflammasome contributes to host protection during *Sporothrix schenckii* infection. **Immunology**, v. 151, n. 2, p. 154–166, 2017. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/imm.12719>
 53. RODRIGUES, A. M. et al. Immunoproteomic analysis reveals a convergent humoral response signature in the *Sporothrix schenckii* complex. **Journal of proteomics**, v. 115, p. 8–22, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2014.11.013>
 54. NASCIMENTO, R. C.; ALMEIDA, S. R. Humoral immune response against soluble and fractionate antigens in experimental sporotrichosis. **FEMS immunology and medical microbiology**, v. 43, n. 2, p. 241–247, 2005.
 55. MIRANDA, Luisa H. M. et al. Severe feline sporotrichosis associated with an increased population of CD8low cells and a decrease in CD4+ cells. **Medical Mycology**, v. 54, n. 1, p. 29-39, 2016. <https://doi.org/10.1093/mmy/myv079>
 56. KUROKAWA, Cilmary Suemi; SUGIZAKI, Maria Fátima; PERACOLI, Maria Terezinha Serrão. Virulence Factors IN Fungi OF Systemic Mycoses. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, São Paulo*, v. 40, n. 3, p. 125-136, May 1998. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46651998000300001&lng=en&nrm=iso>. access on 17 May 2021. <https://doi.org/10.1590/S0036-46651998000300001>.
 57. BRUNKE, S. et al. Virulence factors in fungal pathogens of man. **Current opinion in microbiology**, v. 32, p. 89–95, 2016.
 58. TÉLLEZ, M. D. et al. *Sporothrix schenckii* complex biology: environment and fungal pathogenicity. **Microbiology (Reading, England)**, v. 160, n. Pt 11, p. 2352–2365, 2014. <https://doi.org/10.1099/mic.0.081794-0>
 59. VILA, T. V. M.; ROZENTAL, S. Biofilm formation as a pathogenicity factor of medically important fungi. In: SULTAN, S. (Ed.). **Fungal Pathogenicity**. London, England: InTech, 2016. <https://doi.org/10.5772/62768>
 60. Oliveira, Dalila Kênia. Cardoso, A. M. (2018). Biofilmes Microbianos: Um Desafio Para a Saúde. *Revista News Lab*, 25.
 61. STOODLEY, P. et al. Biofilms as complex differentiated communities. **Annual review of microbiology**, v. 56, n. 1, p. 187–209, 2002. doi: 10.1146/annurev.micro.56.012302.160705.
 62. ROILIDES, E. et al. How biofilms evade host defenses. **Microbiology spectrum**, v. 3, n. 3, 2015.
 63. Jiang, X. & Pace, J. L. Microbial biofilms. in *Biofilms, Infection, and Antimicrobial Therapy* 3–19 (2005). doi:10.4324/9781315120119-1
 64. BRILHANTE, R. S. N. et al. Antifungal susceptibility of *Sporothrix schenckii* complex biofilms. **Medical mycology: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology**, v. 56, n. 3, p. 297–306, 2018.
 65. SILVA, M. L. Q. Efeito inibitório, in vitro, do iodeto de potássio e da

- miltefosina frente a cepas do complexo *Sporothrix schenckii* em biofilme nas formas filamentosa e leveduriforme. 2017. 101 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Médica) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.
66. BRILHANTE, R. S. N. et al. Biofilm formation on cat claws by *Sporothrix* species: An ex vivo model. **Microbial pathogenesis**, v. 150, n. 104670, p. 104670, 2021.
 67. MACÊDO-SALES, P. A. et al. Domestic feline contribution in the transmission of *Sporothrix* in Rio de Janeiro State, Brazil: a comparison between infected and non-infected populations. **BMC veterinary research**, v. 14, n. 1, p. 19, 2018. DOI 10.1186/s12917-018-1340-4
 68. WHO Model Prescribing Information: Drugs Used in Skin Diseases: Antifungal drugs: Potassium iodide. Available at: <https://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Jh2918e/24.12.html#Jh2918e.24.12>. (Accessed: 23rd November 2019)
 69. MACEDO, P. M. et al. New posology of potassium iodide for the treatment of cutaneous sporotrichosis: study of efficacy and safety in 102 patients. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology: JEADV**, v. 29, n. 4, p. 719–724, 2015.
 70. COSTA, Rosane Orofino et al. Use of potassium iodide in Dermatology: updates on an old drug. *An. Bras. Dermatol.*, Rio de Janeiro, v. 88, n. 3, p. 396-402, June 2013. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962013000300396&lng=en&nrm=iso>. access on 17 May 2021. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20132377>.
 71. REIS, É. G. et al. Potassium iodide capsule treatment of feline sporotrichosis. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 14, n. 6, p. 399–404, 2012.
 72. BICKERS, D. R. Antifungal therapy: potential interactions with other classes of drugs. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 31, n. 3 Pt 2, p. S87-90, 1994.
 73. ALMEIDA-PAES, R. et al. Melanins Protect *Sporothrix brasiliensis* and *Sporothrix schenckii* from the Antifungal Effects of Terbinafine. **PLoS one**, v. 11, n. 3, p. e0152796, 2016.
 74. KATHIRAVAN, M. K. et al. The biology and chemistry of antifungal agents: a review. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 20, n. 19, p. 5678–5698, 2012.
 75. CAFFREY, P. et al. Amphotericin biosynthesis in *Streptomyces nodosus*: deductions from analysis of polyketide synthase and late genes. **Chemistry & biology**, v. 8, n. 7, p. 713–723, 2001.
 76. VERHAAR, A. P. et al. Repurposing miltefosine for the treatment of immune-mediated disease? **The journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 350, n. 2, p. 189–195, 2014.
 77. VETSMART. Milteforan™ - O único produto aprovado para tratamento da Leishmaniose Visceral Canina no Brasil. (2016). Available at: <https://www.vetsmart.com.br/cg/estudo/13418/milteforan-o-unico-produto-aprovado-para-tratamento-da-leishmaniose-visceral-canina->

- no-brasil. (Accessed: 24th March 2021)
78. ZUO, X. et al. Miltefosine induces apoptosis-like cell death in yeast via Cox9p in cytochrome c oxidase. **Molecular pharmacology**, v. 80, n. 3, p. 476–485, 2011.
 79. BRILHANTE, R. S. N. et al. Potassium iodide and miltefosine inhibit biofilms of *Sporothrix schenckii* species complex in yeast and filamentous forms. **Medical mycology: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology**, v. 57, n. 6, p. 764–772, 2019.
 80. BORBA-SANTOS, Luana Pereira; GAGINI, Thalita; ISHIDA, Kelly; SOUZA, Wanderley de; ROZENTAL, Sonia. Miltefosine is active against *Sporothrix brasiliensis* isolates with in vitro low susceptibility to amphotericin B or itraconazole. *Journal of Medical Microbiology*, Edinburg, v. 64, p. 415-422, 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.000041> > DOI: 10.1099/jmm.0.000041.
 81. DOS SANTOS SILVA, F. et al. Miltefosine administration in cats with refractory sporotrichosis. **Acta scientiae veterinariae**, v. 46, n. 1, p. 7, 2018.
 82. BORBA-SANTOS, L. P. et al. Adamantylidene-substituted alkylphosphocholine TCAN26 is more active against *Sporothrix schenckii* than miltefosine. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 111, n. 8, p. 523–527, 2016.
 83. VILA, T. V. M. et al. In vitro activity of miltefosine against *Candida albicans* under planktonic and biofilm growth conditions and in vivo efficacy in a Murine model of oral candidiasis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, v. 59, n. 12, p. 7611–7620, 2015. <https://doi.org/10.1128/AAC.01890-15>
 84. Lorena de Oliveira, F. & Sandra de Cássia, D. Surfactantes sintéticos e biossurfactantes: vantagens e desvantagens. *Química Nova na Esc.* **39**, 228–236 (2017).
 85. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Morgan D, Raff M, Roberts K, et al. Analisando células, moléculas e sistemas. *Biologia Molecular da Célula*. 2017. 463–483 p.
 86. TURRO, N. J. et al. Spectroscopic probe analysis of protein-surfactant interactions: The BSA/SDS system. **Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids**, v. 11, n. 7, p. 2525–2533, 1995.
 87. SAVAGE, P. B. et al. Antibacterial properties of cationic steroid antibiotics. **FEMS microbiology letters**, v. 217, n. 1, p. 1–7, 2002.
 88. SHOBHA, S. V.; KRISHNASWAMY, P. R.; RAVINDRANATH, B. Phenolic lipid composition during development of cashew. **Phytochemistry**, v. 31, n. 7, p. 2295–2297, 1992. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)83267-3](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)83267-3)
 89. KUBO, I.; KOMATSU, S.; OCHI, M. Molluscicides from the cashew *Anacardium occidentale* and their large-scale isolation. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 34, n. 6, p. 970–973, 1986.
 90. TYMAN, J. H. P. et al. The extraction of natural cashew nut-shell liquid from the cashew nut (*Anacardium occidentale*). **Journal of the**

- American Oil Chemists' Society**, v. 66, n. 4, p. 553–557, 1989.
91. MAZZETTO, Selma Elaine; LOMONACO, Diego; MELE, Giuseppe. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. *Quím. Nova*, São Paulo, v.32, n.3, p.732-741, 2009 Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010040422009000300017&lng=en&nrm=iso>. access on 17 May 2021. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300017>.
 92. SHIRAISHI, A.; NAKAGAKI, K.; ARAI, T. Role of cell-mediated immunity in the resistance to experimental sporotrichosis in mice. ***Mycopathologia***, v. 120, n. 1, p. 15–21, 1992.
 93. GUZMAN-BELTRAN, S. et al. Phagocytic receptors on macrophages distinguish between different *Sporothrix schenckii* morphotypes. ***Microbes and infection***, v. 14, n. 12, p. 1093–1101, 2012.
 94. HIRUMA, M. et al. Tissue response in sporotrichosis: light and electron microscopy studies: Gewebereaktion bei Sporotrichose: Beobachtungen unter dem Licht- und Elektronenmikroskop. ***Mycoses***, v. 35, n. 1–2, p. 35–41, 1992. doi: 10.1111/j.1439-0507.1992.tb00816.x.
 95. DA GAMA BITENCOURT, J. J. et al. Miltefosine-loaded lipid nanoparticles: Improving miltefosine stability and reducing its hemolytic potential toward erythrocytes and its cytotoxic effect on macrophages. ***Biophysical chemistry***, v. 217, p. 20–31, 2016.
 96. DAS, A. et al. Evaluation of the antileishmanial potency, toxicity and phytochemical constituents of methanol bark extract of *Sterculia villosa*. ***Pharmaceutical biology***, v. 55, n. 1, p. 998–1009, 2017. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1285946>
 97. CLSI. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras. 22, (2002).
 98. ESPINEL-INGROFF, A. et al. Multicenter, international study of MIC/MEC distributions for definition of epidemiological cutoff values for *Sporothrix* species identified by molecular methods. ***Antimicrobial agents and chemotherapy***, v. 61, n. 10, 2017. doi: 10.1128/AAC.01057-17.
 99. CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard—Second Edition. CLSI document M38-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
 100. PEREIRA, V. S. Drogas leishmanicidas: atividade antimicrobiana da pentamidina sobre o complexo *Sporothrix schenckii* e antagonismo do antimoniato de meglumina com antifúngicos clássicos. 2017. 96 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Médica) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.
 101. BRILHANTE, R. S. N. et al. *Candida tropicalis* from veterinary and human sources shows similar in vitro hemolytic activity, antifungal biofilm susceptibility and pathogenesis against *Caenorhabditis*

- elegans. **Veterinary microbiology**, v. 192, p. 213–219, 2016.
102. MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65, n. 1–2, p. 55–63, 1983.
103. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Jr. Montgomery, T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, J. A. Pople, Gaussian09, Inc., Wallingford, CT, USA, Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2009.

Anexos

ANEXO I – Espectro de RMN ¹H, 300 MHz, CDCl₃
1- (2 bromoetoxi)-3-pentadecilbenzeno (LDT 117,11)

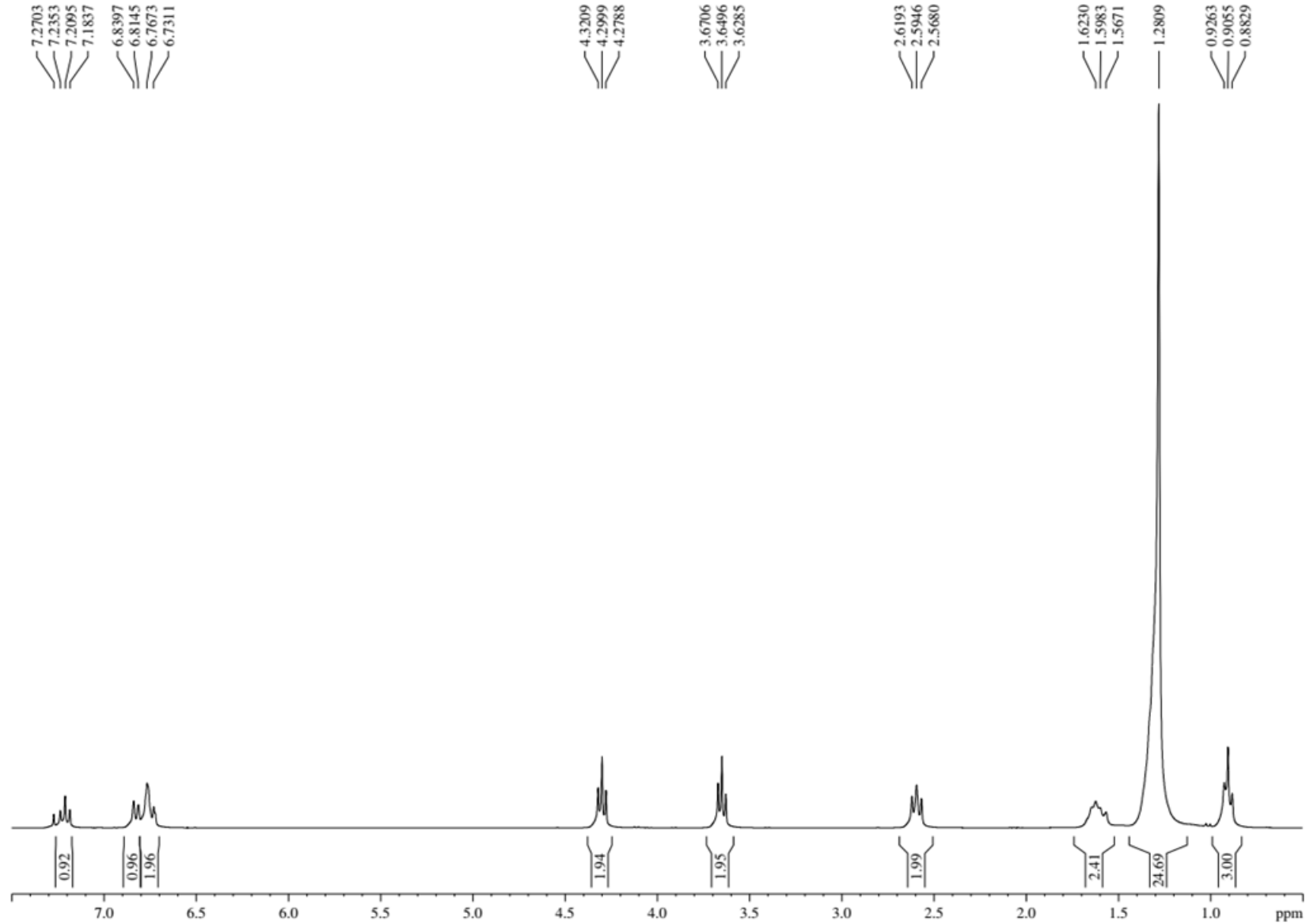
CAH21 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [¹H/CDCl₃/303K] Operador Debora 04.09.2019

Current Data Parameters
 NAME CAH21
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20190904
 Time 19.04
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 32
 DS 0
 SWH 6172.839 Hz
 FIDRES 0.094190 Hz
 AQ 5.3084660 sec
 RG 57
 DW 81.000 usec
 DE 6.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 1.00000000 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 11.16 usec
 PL1 3.00 dB
 SFO1 300.1318534 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 300.1300120 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00



ANEXO II – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3
1- (2 bromoetoxi)-3-pentadecilbenzeno (LDT 117,11)

CAH21 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [13FC/CDCl3/303K] Operador Debora 04.09.2019

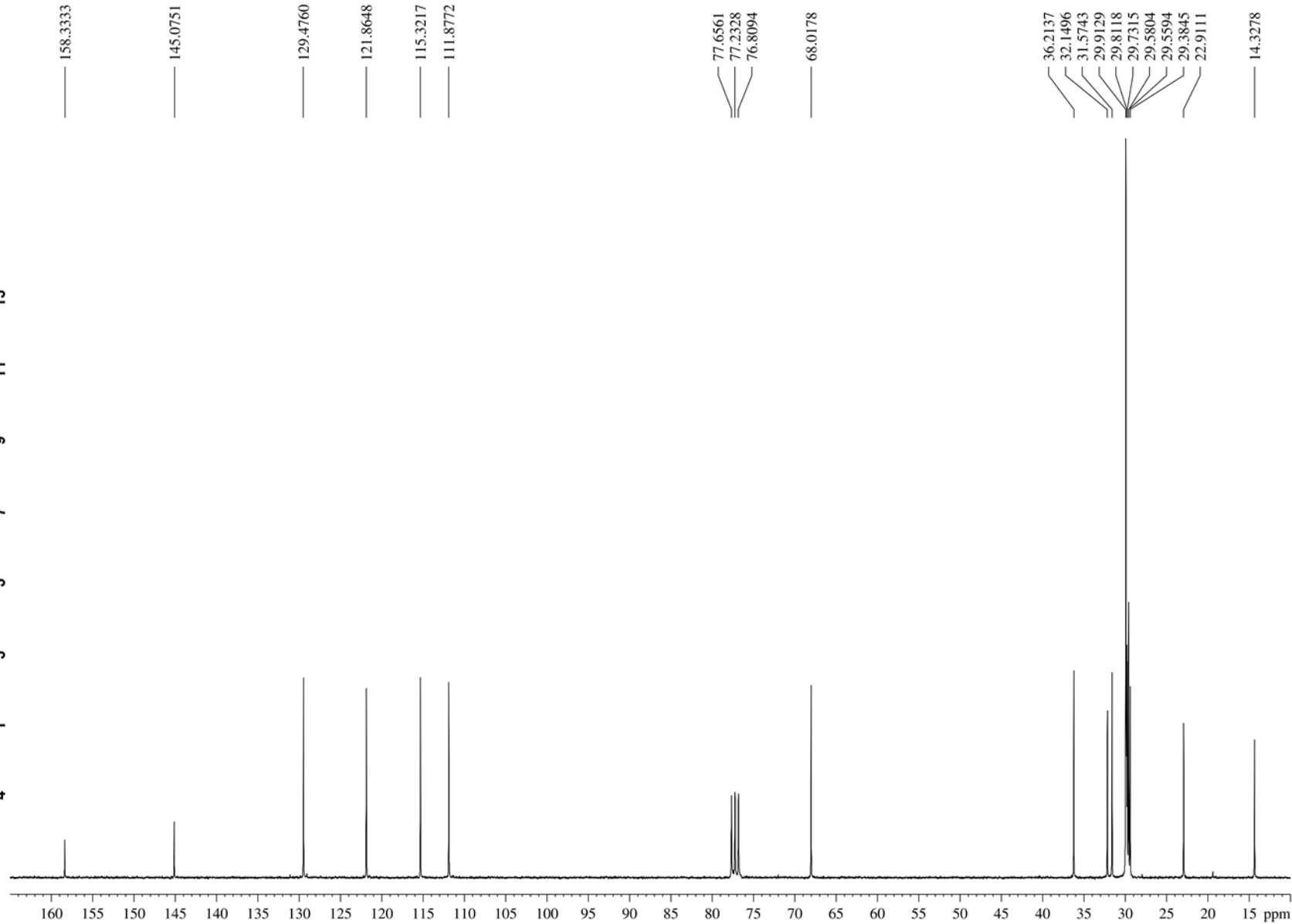
Current Data Parameters
 NAME CAH21
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20190904
 Time 22.24
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zgpg
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 3072
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 32768
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 2.00000000 sec
 d11 0.03000000 sec
 DELTA 1.89999998 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 PL13 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677355 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO III – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)
1- (2 bromoetoxi)-3-pentadecilbenzeno (LDT 117,11)

CAH21 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [DEPT135/ CDCl_3 /303K] Operador Debora 04.09.2019

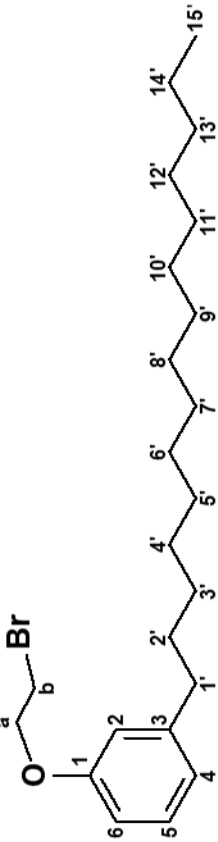
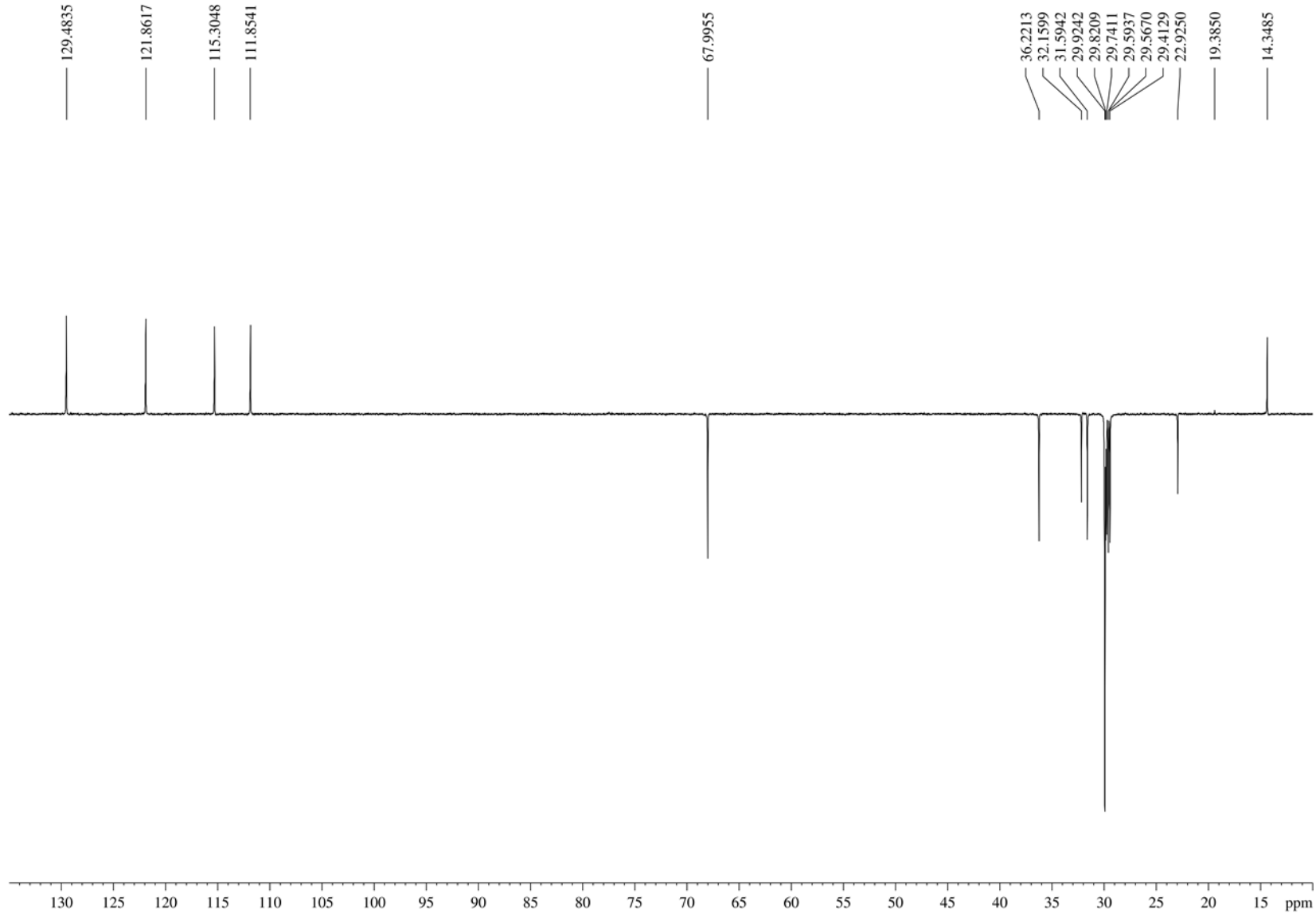
Current Data Parameters
 NAME CAH21
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20190905
 Time 0.36
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 2048
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 16384
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 300.0 K
 CNST2 145.0000000
 D1 2.00000000 sec
 d2 0.00344828 sec
 d12 0.00002000 sec
 DELTA 0.00001496 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 p2 23.50 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 P3 13.20 usec
 p4 26.40 usec
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677355 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO IV – Espectro de RMN ¹H, 300 MHz, CDCl₃

1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]pirrolidina (LDT 246,12)

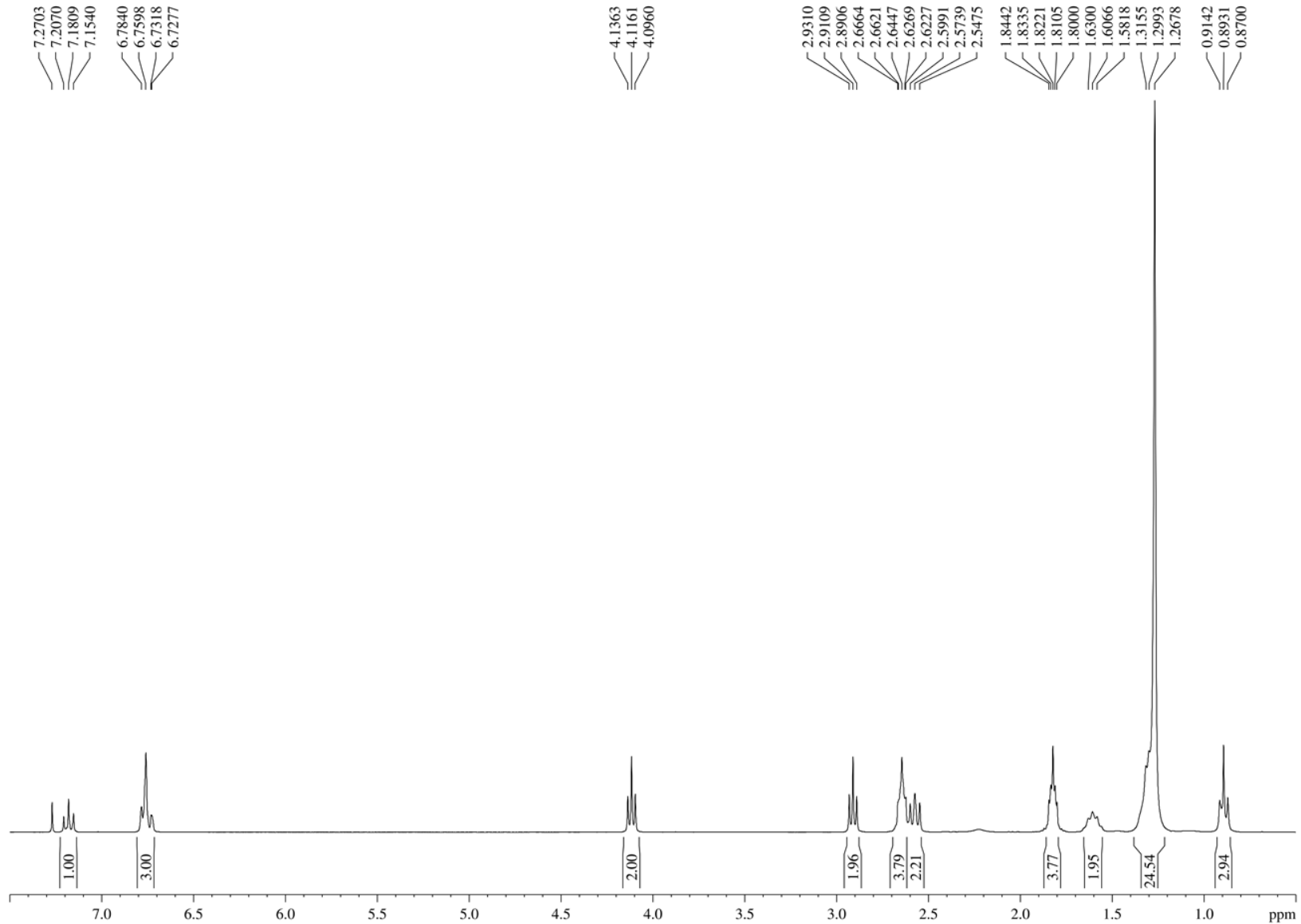
CAH37 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [¹H/CDCl₃/303K] Operador Debora 06.11.2019

Current Data Parameters
NAME CAH37
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
Date_ 20191106
Time 17.38
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual 13C/
PULPROG zg30
TD 65536
SOLVENT CDCl₃
NS 16
DS 0
SWH 6172.839 Hz
FIDRES 0.094190 Hz
AQ 5.3084660 sec
RG 114
DW 81.000 usec
DE 6.00 usec
TE 299.1 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 ¹H
P1 11.16 usec
PL1 3.00 dB
SFO1 300.1318534 MHz

F2 – Processing parameters
SI 32768
SF 300.1300124 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



ANEXO V – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]pirrolidina (LDT 246, 12)

CAH37 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^{13}\text{C}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Debora 06.11.2019

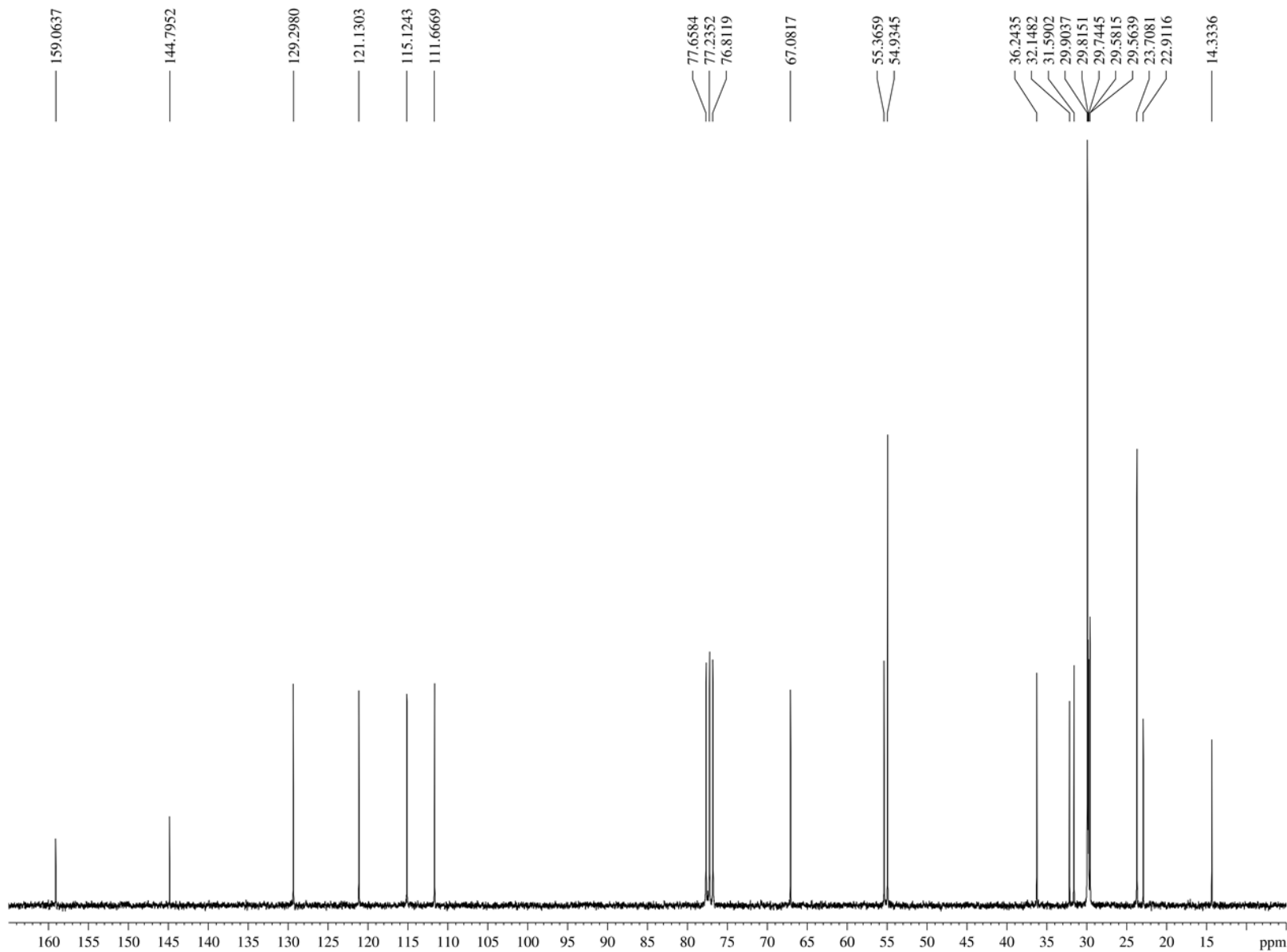
Current Data Parameters
NAME CAH37
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
Date_ 20191106
Time 18.11
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual $^{13}\text{C}/$
PULPROG zgpg
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 512
DS 4
SWH 17985.611 Hz
FIDRES 0.274439 Hz
AQ 1.8219508 sec
RG 32768
DW 27.800 usec
DE 6.00 usec
TE 300.3 K
D1 2.0000000 sec
d11 0.0300000 sec
DELTA 1.89999998 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 ^{13}C
P1 11.75 usec
PL1 -3.00 dB
SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 ^1H
PCPD2 80.00 usec
PL2 3.00 dB
PL12 18.65 dB
PL13 18.65 dB
SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
SI 32768
SF 75.4677354 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



ANEXO VI – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)
1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]pirrolidina (LDT 246,12)

CAH37 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [DEPT135/CDC13/303K] Operador Debora 06.11.2019

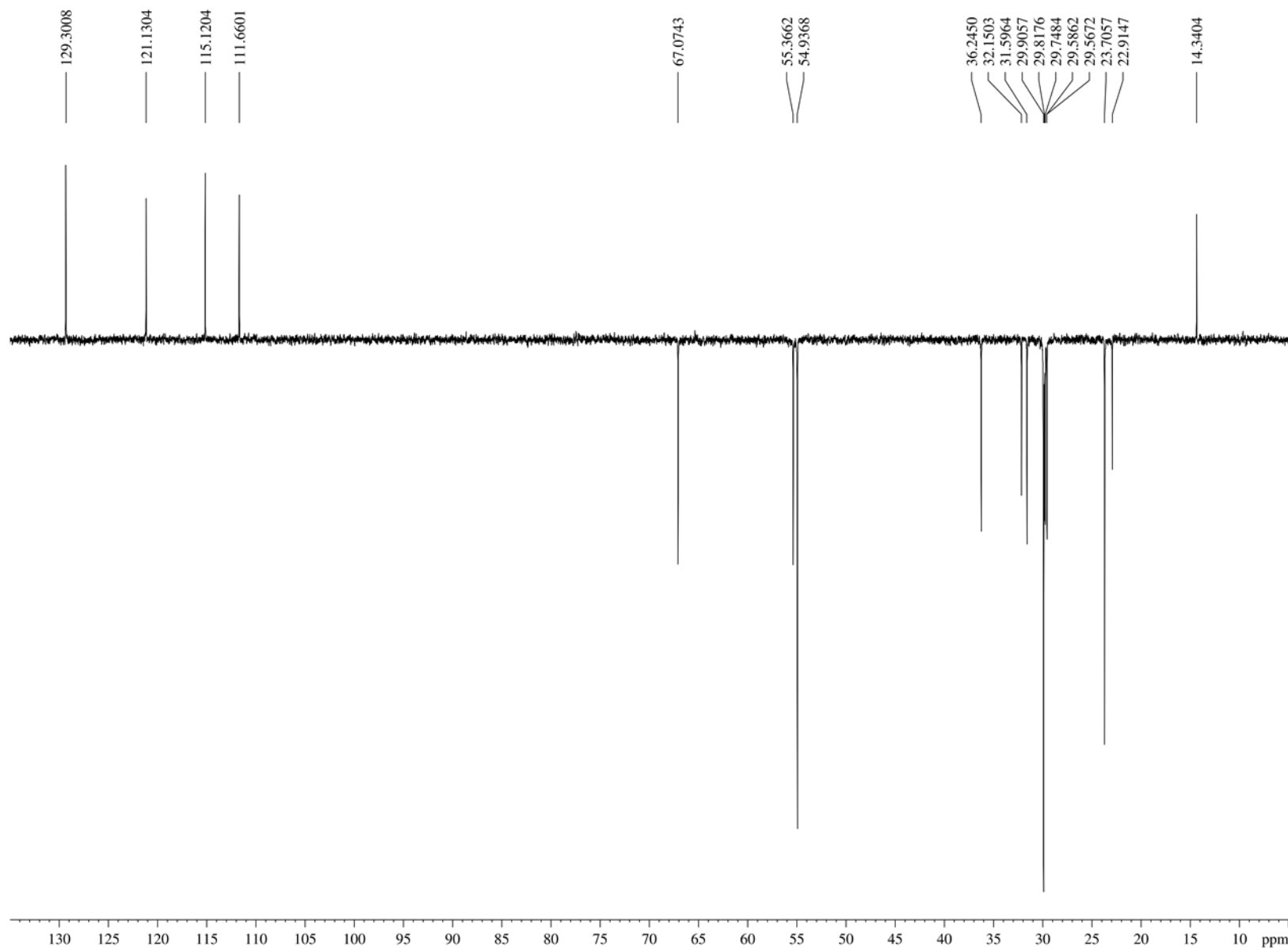
Current Data Parameters
 NAME CAH37
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191106
 Time 18.28
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT CDC13
 NS 256
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 16384
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 299.6 K
 CNST2 145.0000000
 D1 2.0000000 sec
 d2 0.00344828 sec
 d12 0.00002000 sec
 DELTA 0.00001496 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 p2 23.50 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 P3 13.20 usec
 p4 26.40 usec
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677354 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO VII – Espectro de RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3

1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperidina (LDT 119,13)

CAH23 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^1\text{H}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Debora 20.11.2019

Current Data Parameters
 NAME CAH23
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191120
 Time 16.29
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 16
 DS 0
 SWH 6172.839 Hz
 FIDRES 0.094190 Hz
 AQ 5.3084660 sec
 RG 114
 DW 81.000 usec
 DE 6.00 usec
 TE 298.3 K
 D1 1.00000000 sec
 TD0 1

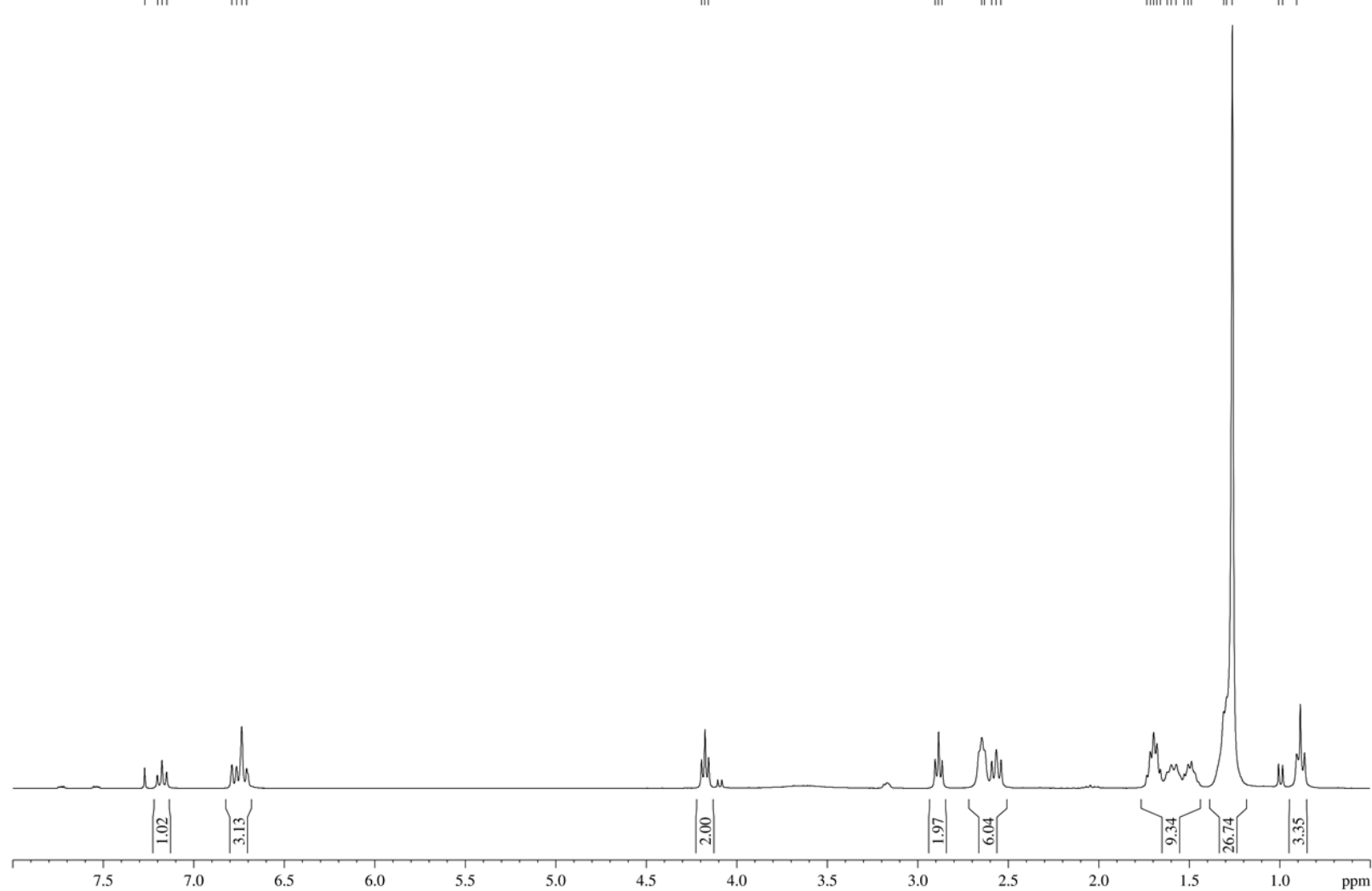
===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^1H
 P1 11.16 usec
 PL1 3.00 dB
 SFO1 300.1318534 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 300.1300125 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

7.2703
7.1998
7.1743
7.1488
6.7881
6.7626
6.7337
6.7065

4.1951
4.1757
4.1563

2.9044
2.8851
2.8657
2.6462
2.6305
2.5915
2.5663
2.5400
1.7345
1.7152
1.6968
1.6788
1.6599
1.6219
1.5992
1.5720
1.5274
1.5062
1.4878
1.3091
1.2927
1.2619
1.0067
0.9843
0.9067



ANEXO VIII – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperidina (LDT 119,13)

CAH23 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^{13}\text{C}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Debora 20.11.2019

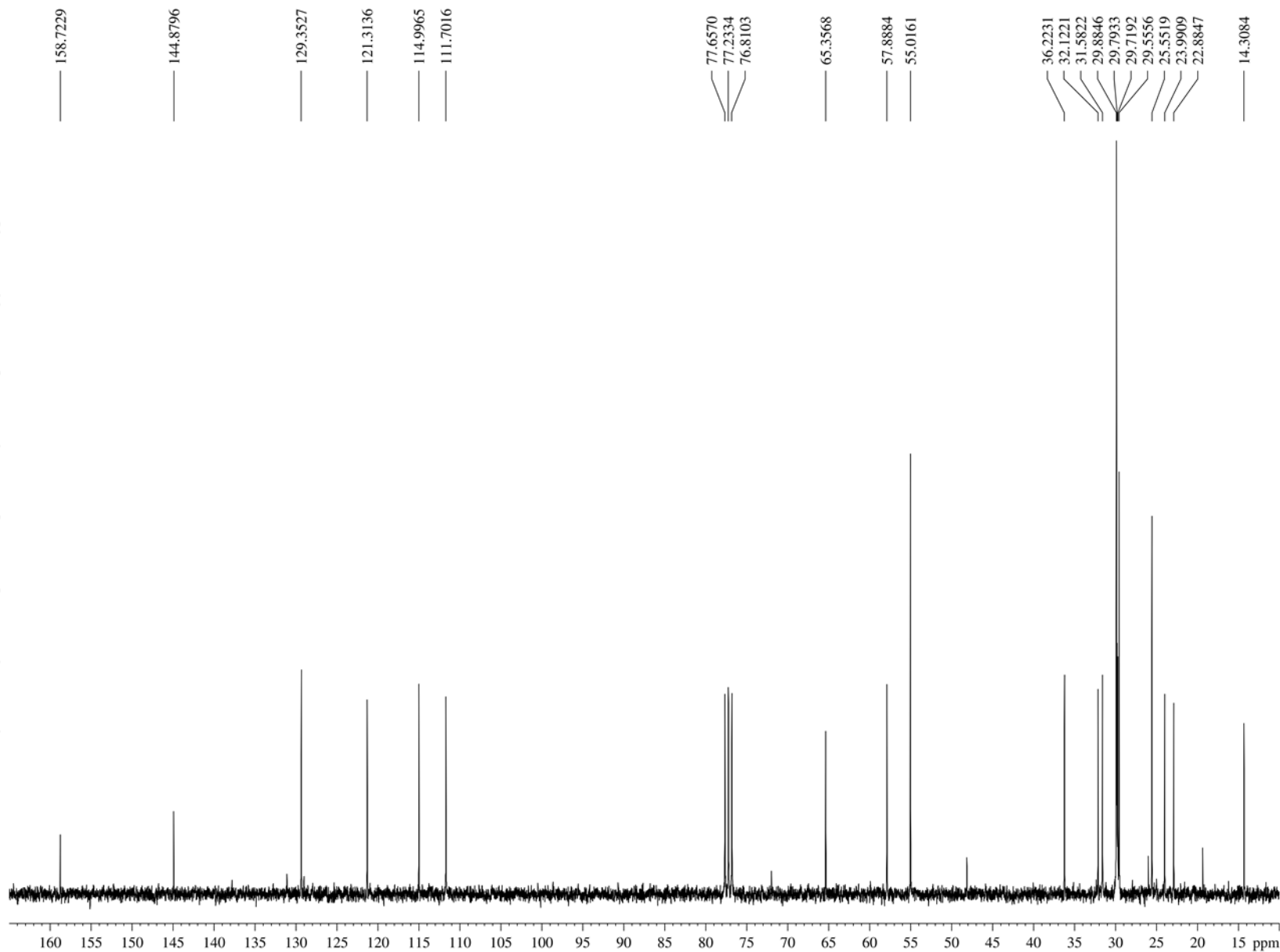
Current Data Parameters
NAME CAH23
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
Date_ 20191120
Time 16.33
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual $^{13}\text{C}/$
PULPROG zgpg
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 92
DS 4
SWH 17985.611 Hz
FIDRES 0.274439 Hz
AQ 1.8219508 sec
RG 32768
DW 27.800 usec
DE 6.00 usec
TE 299.2 K
D1 2.00000000 sec
d11 0.03000000 sec
DELTA 1.89999998 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 ^{13}C
P1 11.75 usec
PL1 -3.00 dB
SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 ^1H
PCPD2 80.00 usec
PL2 3.00 dB
PL12 18.65 dB
PL13 18.65 dB
SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
SI 32768
SF 75.4677365 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



ANEXO IX – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)

1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperidina (LDT 119,13)

CAH23 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [DEPT135/ CDCl_3 /303K] Operador Debora 20.11.2019

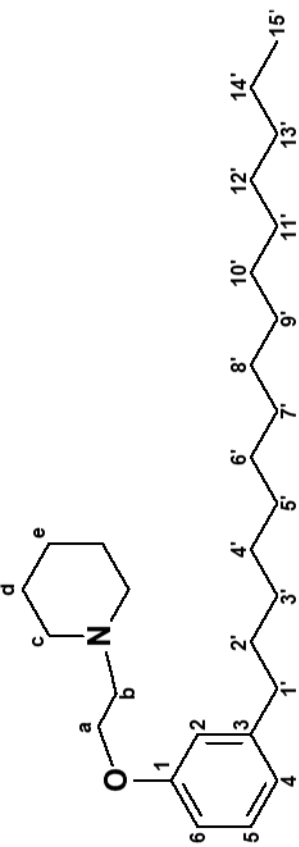
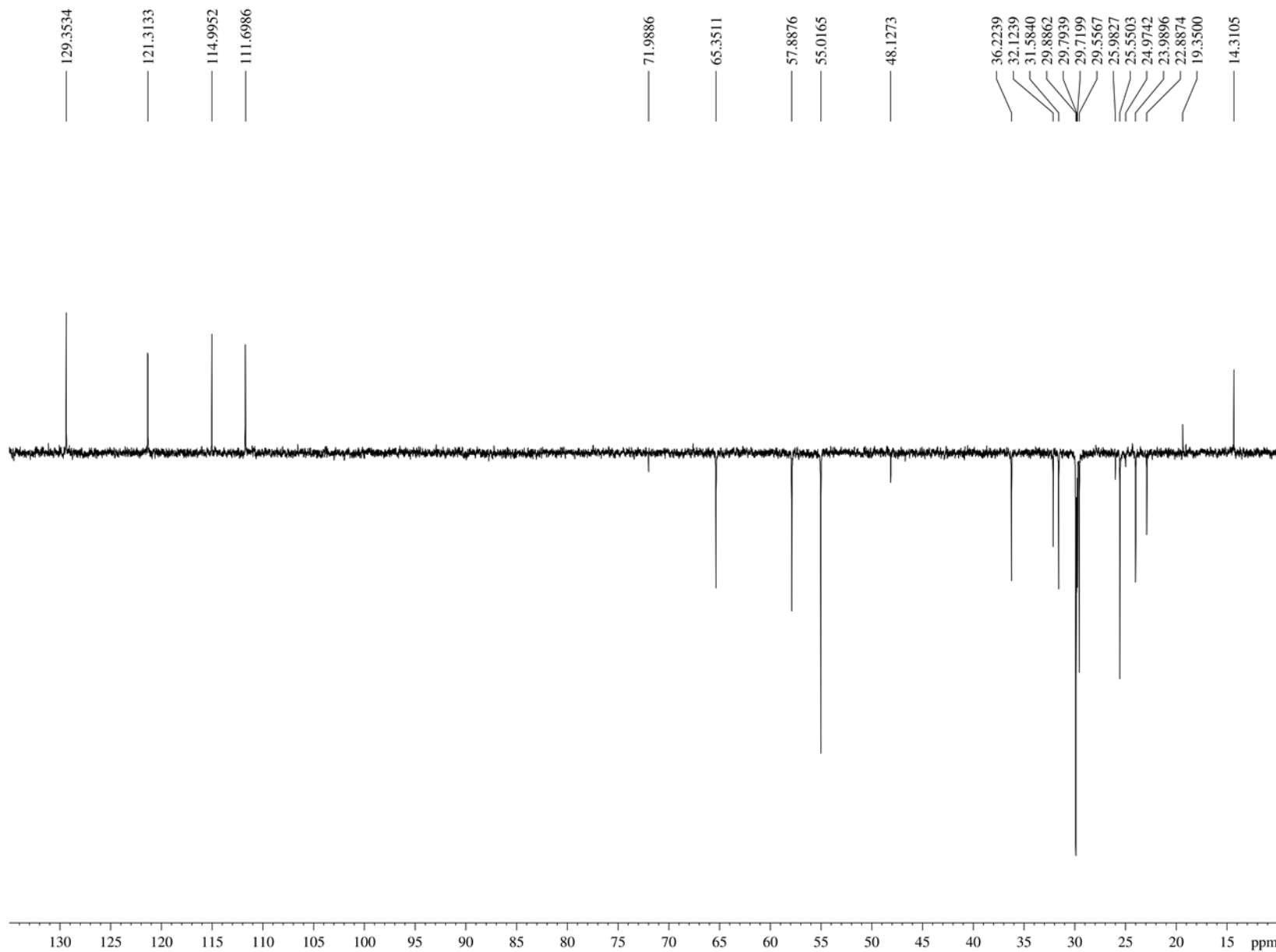
Current Data Parameters
 NAME CAH23
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191120
 Time 16.38
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 128
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 16384
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 298.9 K
 CNST2 145.0000000
 D1 2.00000000 sec
 d2 0.00344828 sec
 d12 0.00002000 sec
 DELTA 0.00001496 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 p2 23.50 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 P3 13.20 usec
 p4 26.40 usec
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677365 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO X – Espectro de RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3
4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]morfolina (LDT 118,14)

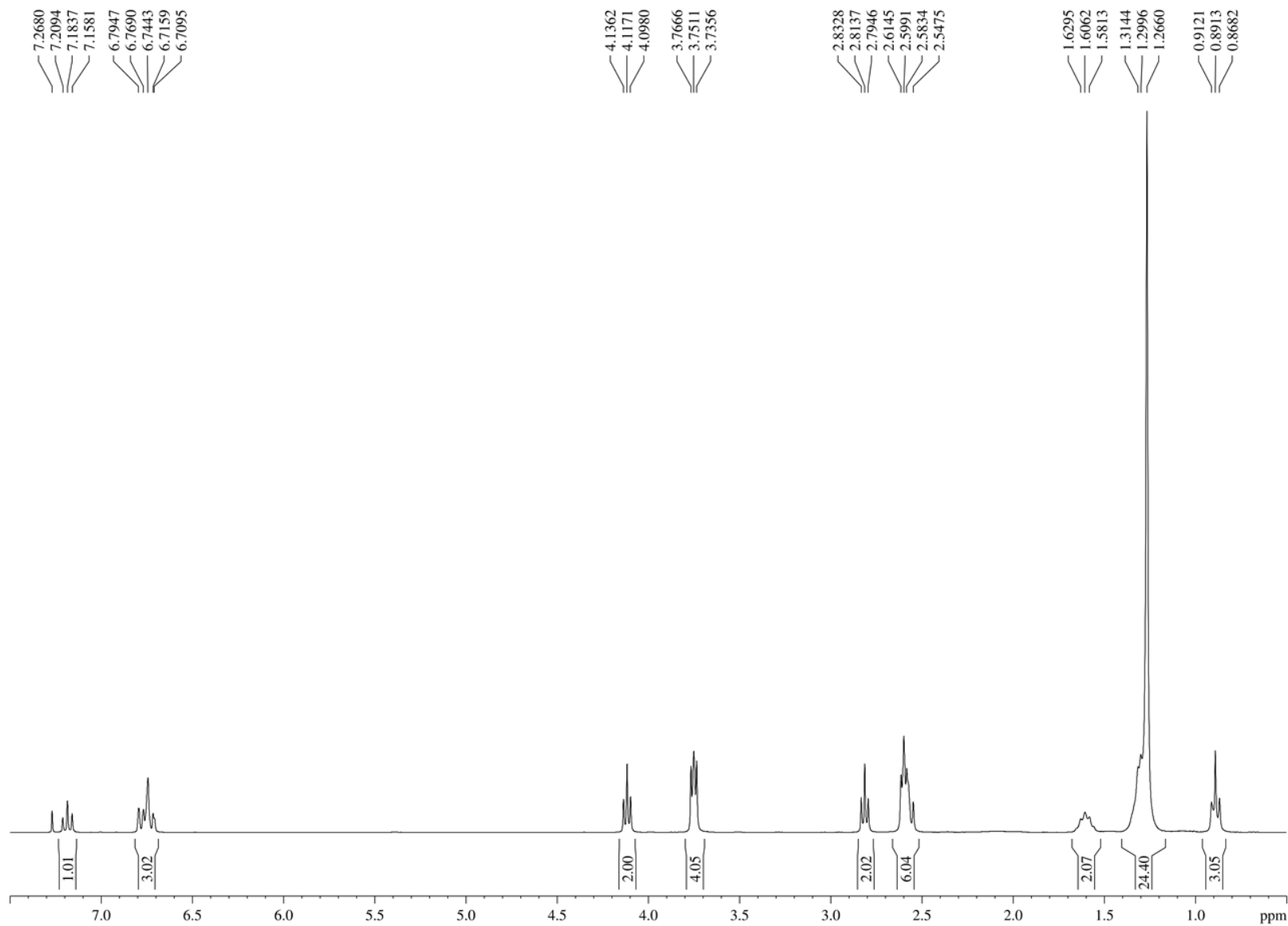
CAH47 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^1\text{H}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Debora 20.11.2019

Current Data Parameters
 NAME CAH47
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191120
 Time 11.04
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 8
 DS 0
 SWH 6172.839 Hz
 FIDRES 0.094190 Hz
 AQ 5.3084660 sec
 RG 114
 DW 81.000 usec
 DE 6.00 usec
 TE 298.7 K
 D1 1.0000000 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^1H
 P1 11.16 usec
 PL1 3.00 dB
 SFO1 300.1318534 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 300.1300131 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00



ANEXO XI – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]morfolina (LDT 118,14)

CAH47 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [13C/CDC13/303K] Operador Debora 20.11.2019

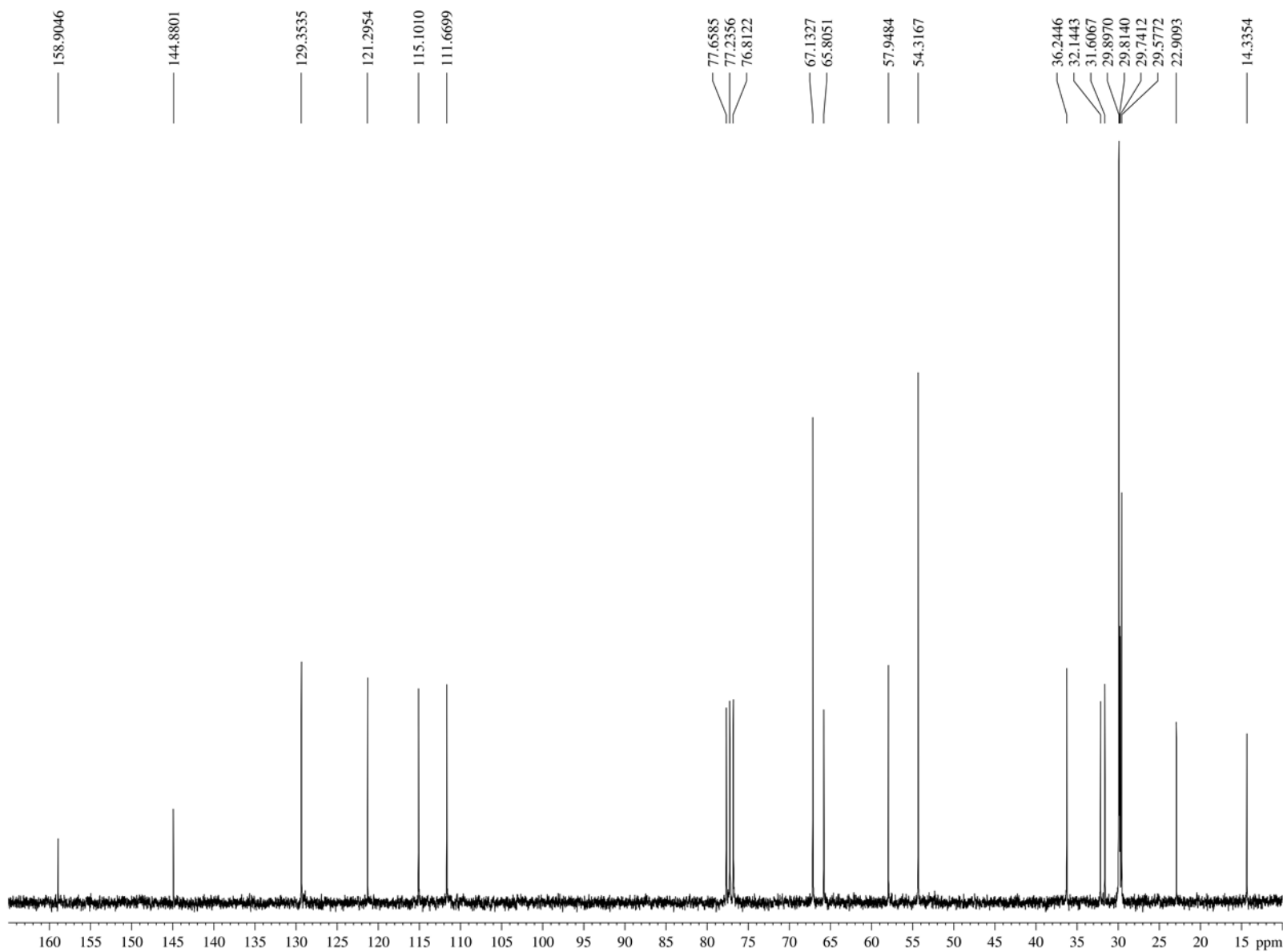
Current Data Parameters
NAME CAH47
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
Date_ 20191120
Time 11.12
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual 13C/
PULPROG zgpg
TD 65536
SOLVENT CDC13
NS 128
DS 4
SWH 17985.611 Hz
FIDRES 0.274439 Hz
AQ 1.8219508 sec
RG 32768
DW 27.800 usec
DE 6.00 usec
TE 299.7 K
D1 2.0000000 sec
d11 0.0300000 sec
DELTA 1.89999998 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 11.75 usec
PL1 -3.00 dB
SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 80.00 usec
PL2 3.00 dB
PL12 18.65 dB
PL13 18.65 dB
SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
SI 32768
SF 75.4677355 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



ANEXO XII – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)
4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]morfolina (LDT 118,14)

CAH47 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [DEPT135/ CDCl_3 /303K] Operador Debora 20.11.2019

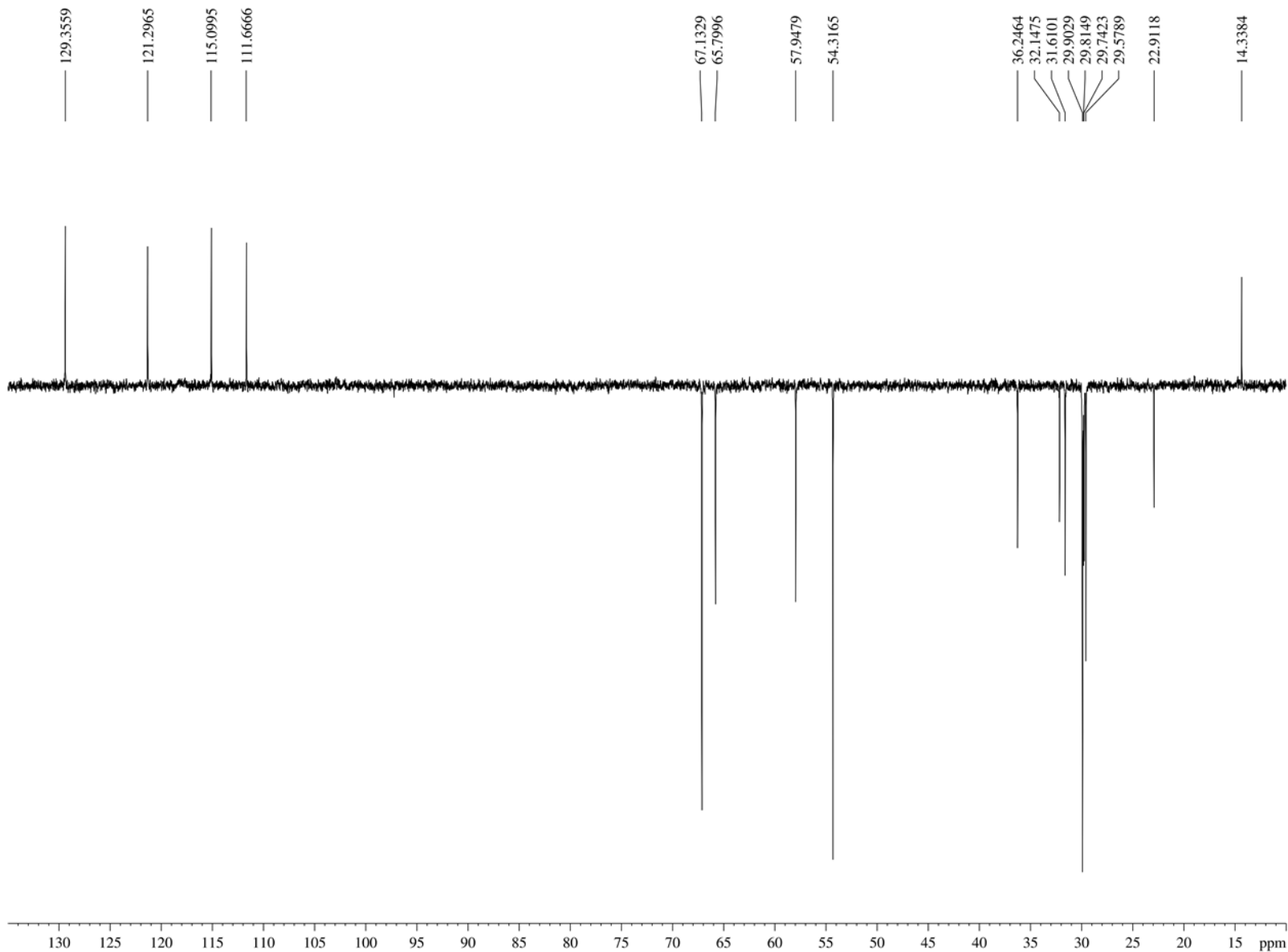
Current Data Parameters
 NAME CAH47
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191120
 Time 11.21
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual $^{13}\text{C}/$
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 128
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 16384
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 299.2 K
 CNST2 145.0000000
 D1 2.0000000 sec
 d2 0.00344828 sec
 d12 0.00002000 sec
 DELTA 0.00001496 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 p2 23.50 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 P3 13.20 usec
 p4 26.40 usec
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677355 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO XIII – Espectro de RMN ¹H, 300 MHz, CDCl₃

4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]tiomorfolina (LDT 120,15)

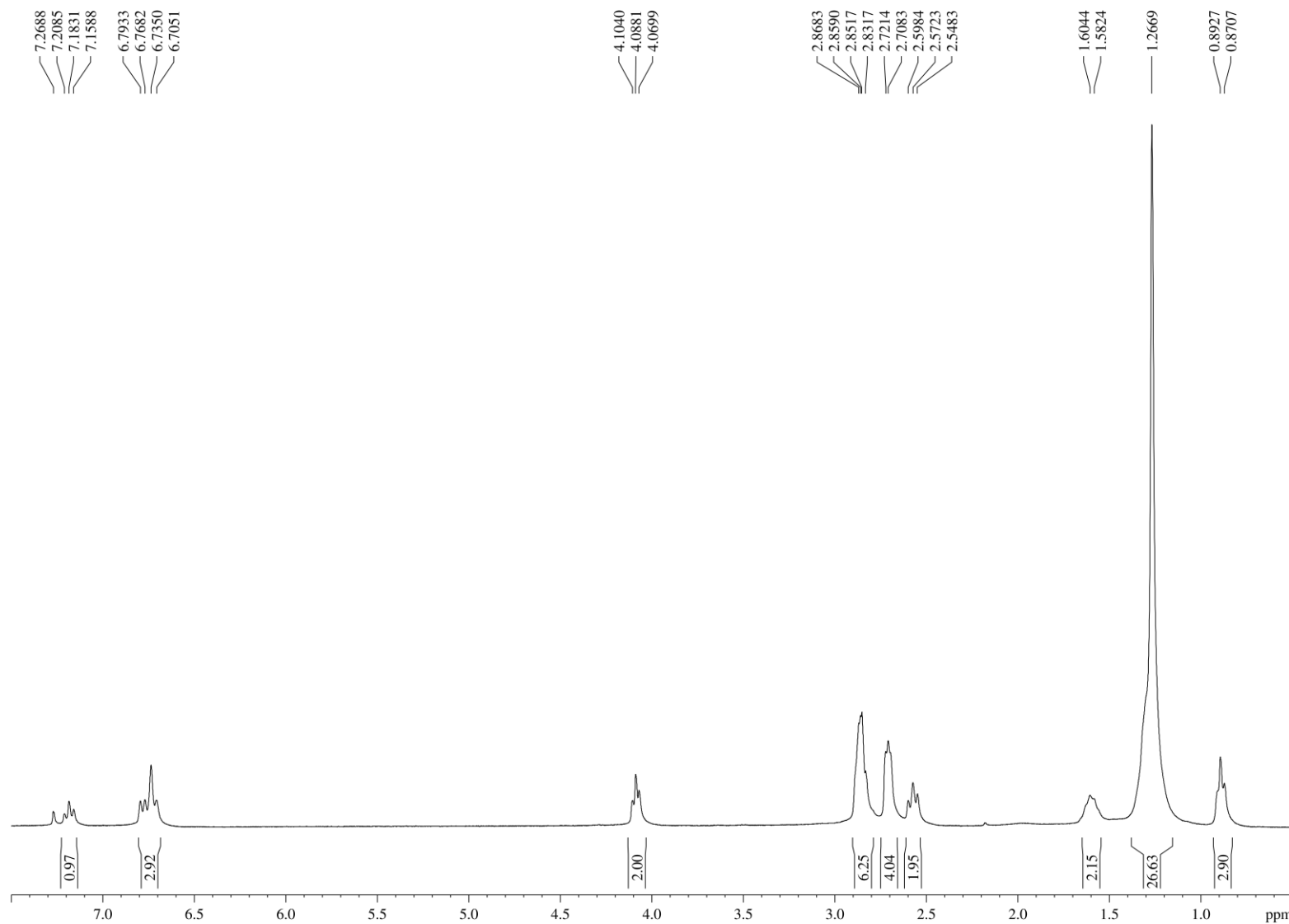
CAH41 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [¹H/CDCl₃/303K] Operador Debora 13.11.2019

Current Data Parameters
NAME CAH41
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20191113
Time 14.38
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual 13C/
PULPROG zg30
TD 65536
SOLVENT CDCl3
NS 1
DS 0
SWH 6172.839 Hz
FIDRES 0.094190 Hz
AQ 5.3084660 sec
RG 114
DW 81.000 usec
DE 6.00 usec
TE 682.5 K
D1 1.00000000 sec
TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 1H
P1 11.16 usec
PL1 3.00 dB
SFO1 300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 300.1300141 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



ANEXO XIV – Espectro de RMN ¹³C, 75 MHz, CDCl₃ 4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]tiomorfolina (LDT 120,15)

CAH41 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [13C/CDCl3/303K] Operador Debora 13.11.2019

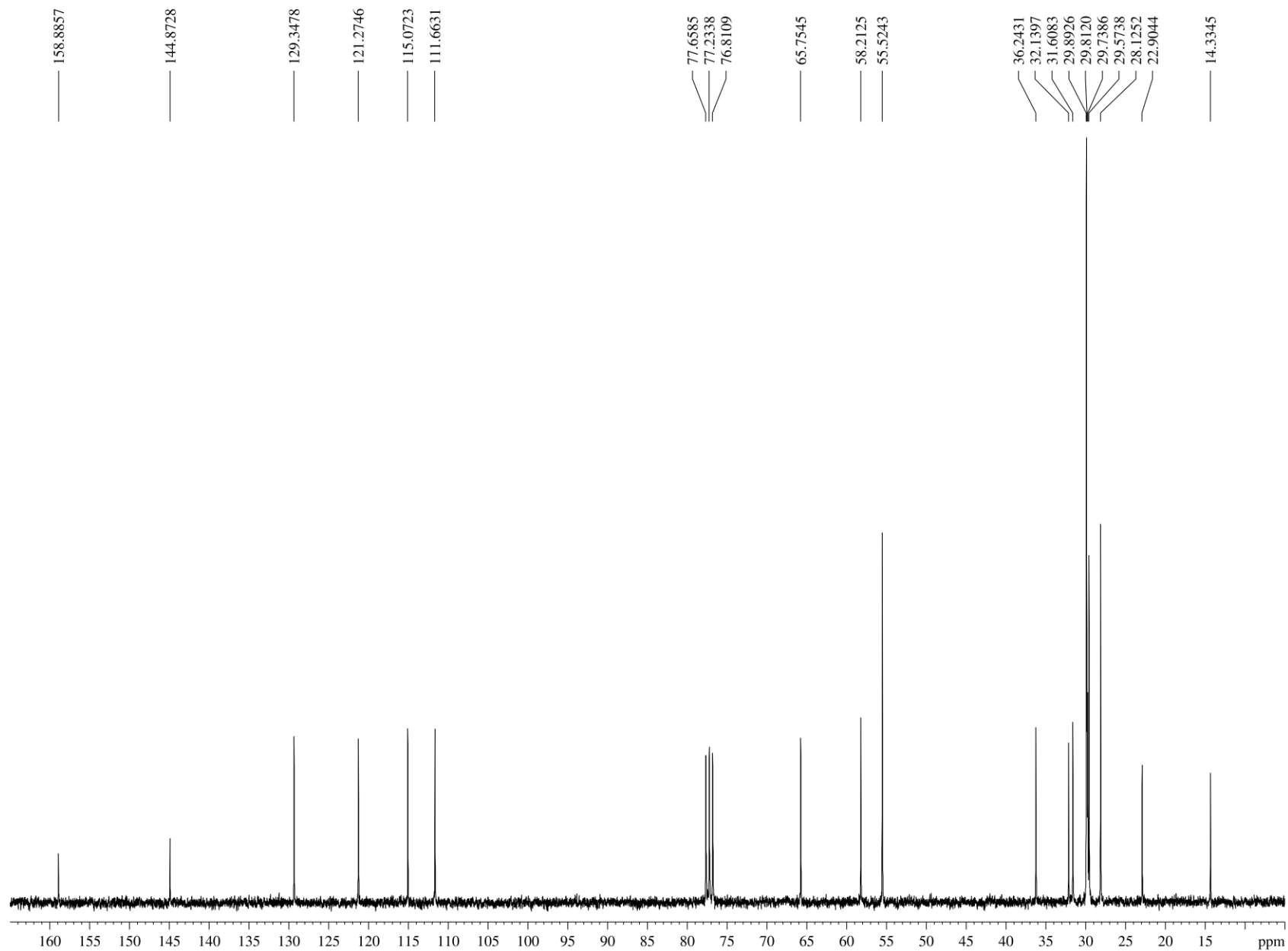
Current Data Parameters
NAME CAH41
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
Date_ 20191113
Time 16.21
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual 13C/
PULPROG zgpg
TD 65536
SOLVENT CDCl3
NS 256
DS 4
SWH 17985.611 Hz
FIDRES 0.274439 Hz
AQ 1.8219508 sec
RG 32768
DW 27.800 usec
DE 6.00 usec
TE 682.5 K
D1 2.00000000 sec
d11 0.03000000 sec
DELTA 1.89999998 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 11.75 usec
PL1 -3.00 dB
SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 80.00 usec
PL2 3.00 dB
PL12 18.65 dB
PL13 18.65 dB
SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
SI 32768
SF 75.4677361 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



ANEXO XV – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)

4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]tiomorfolina (LDT 120,15)

CAH41 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [DEPT135/ CDCl_3 /303K] Operador Debora 13.11.2019

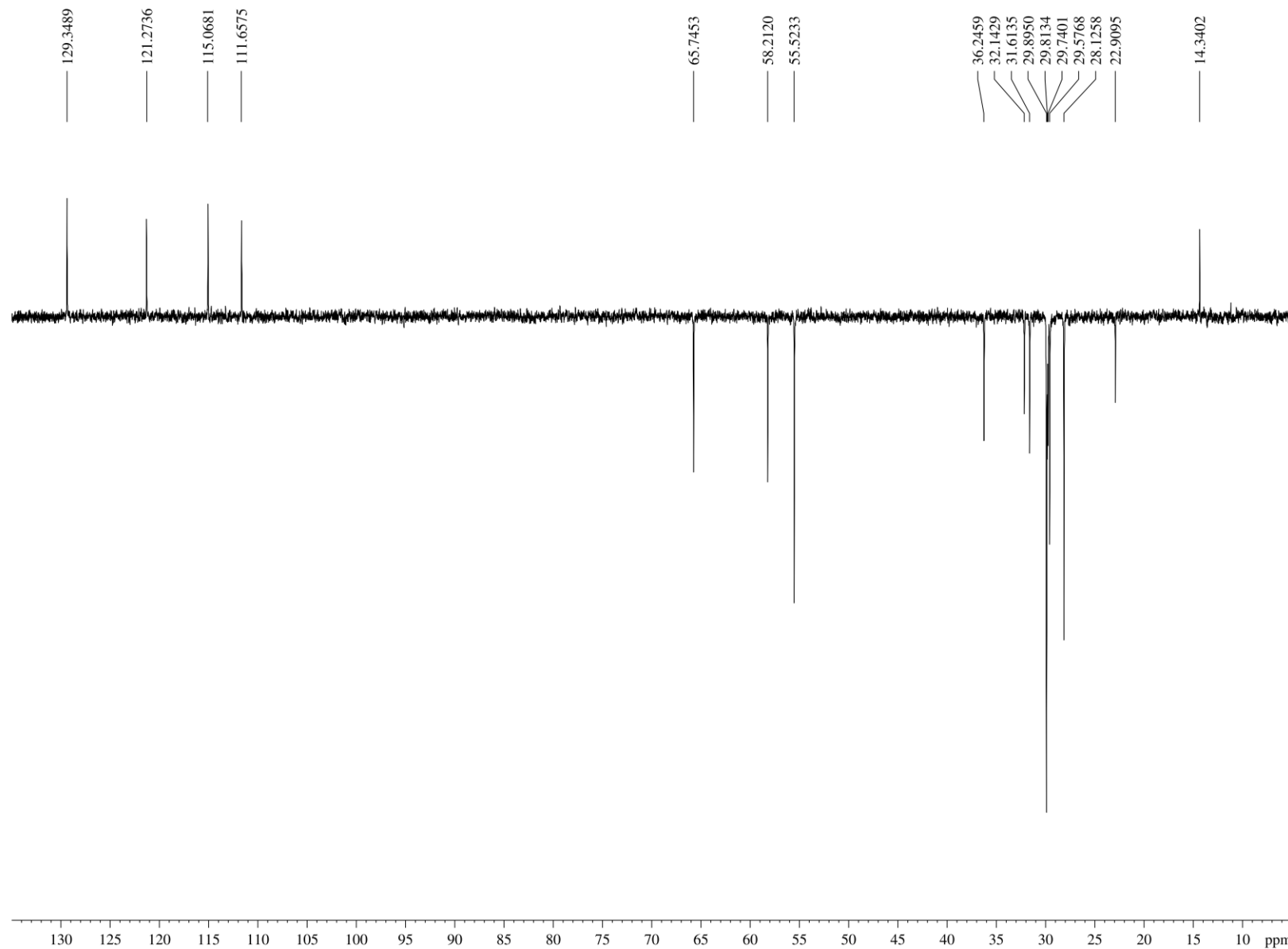
Current Data Parameters
NAME CAH41
EXPNO 3
PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
Date_ 20191113
Time 16.44
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual 13C/
PULPROG dept135
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 130
DS 4
SWH 17985.611 Hz
FIDRES 0.274439 Hz
AQ 1.8219508 sec
RG 16384
DW 27.800 usec
DE 6.00 usec
TE 682.5 K
CNST2 145.0000000
D1 2.00000000 sec
d2 0.00344828 sec
d12 0.00002000 sec
DELTA 0.00001496 sec
TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 ^{13}C
P1 11.75 usec
p2 23.50 usec
PL1 -3.00 dB
SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 ^1H
P3 13.20 usec
p4 26.40 usec
PCPD2 80.00 usec
PL2 3.00 dB
PL12 18.65 dB
SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
SI 32768
SF 75.4677361 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



ANEXO XVI – Espectro de RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3

1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperazina (LDT 131, 16)

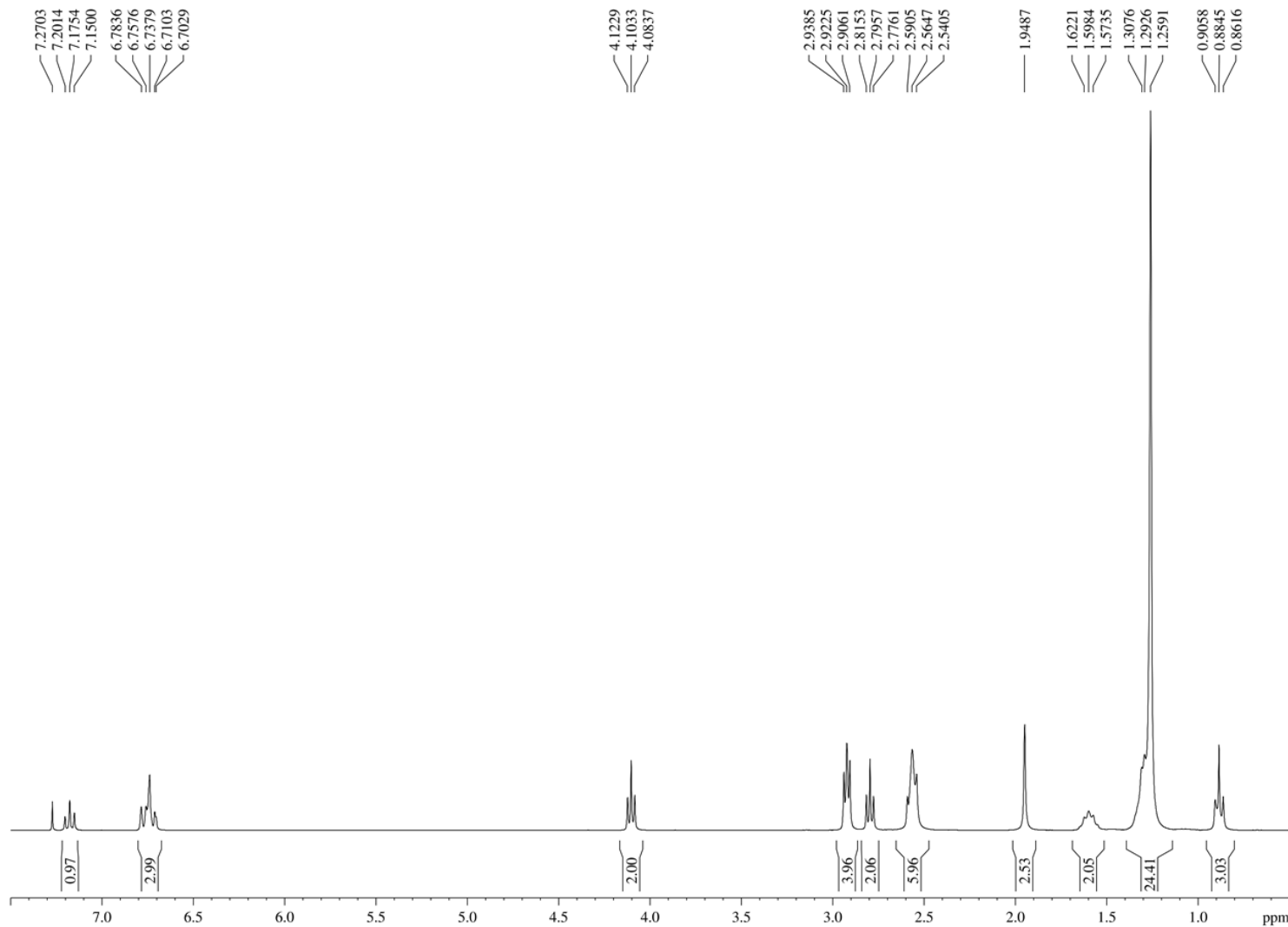
CAH 62 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [1H/CDCl3/303K] Operador Débora 27.11.2019

Current Data Parameters
 NAME CAH 62
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191127
 Time 15.22
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 8
 DS 0
 SWH 7183.908 Hz
 FIDRES 0.109618 Hz
 AQ 4.5613556 sec
 RG 181
 DW 69.600 usec
 DE 10.00 usec
 TE 301.2 K
 D1 1.00000000 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 10.88 usec
 PL1 3.00 dB
 SFO1 300.1324010 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 300.1300123 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 FC 1.00



ANEXO XVII – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperazina (LDT 131,16)

CAH 62 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [13C/CDCl3/303K] Operador Débora 27.11.2019

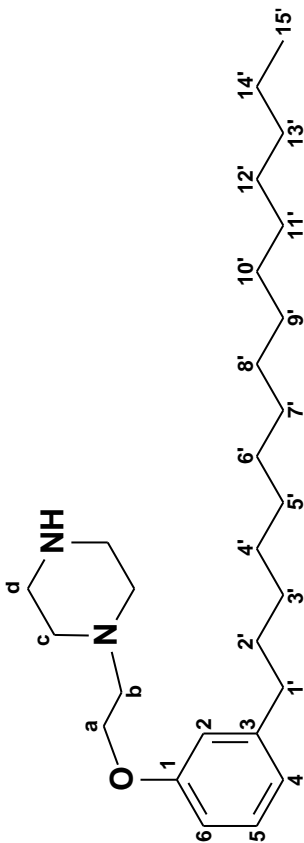
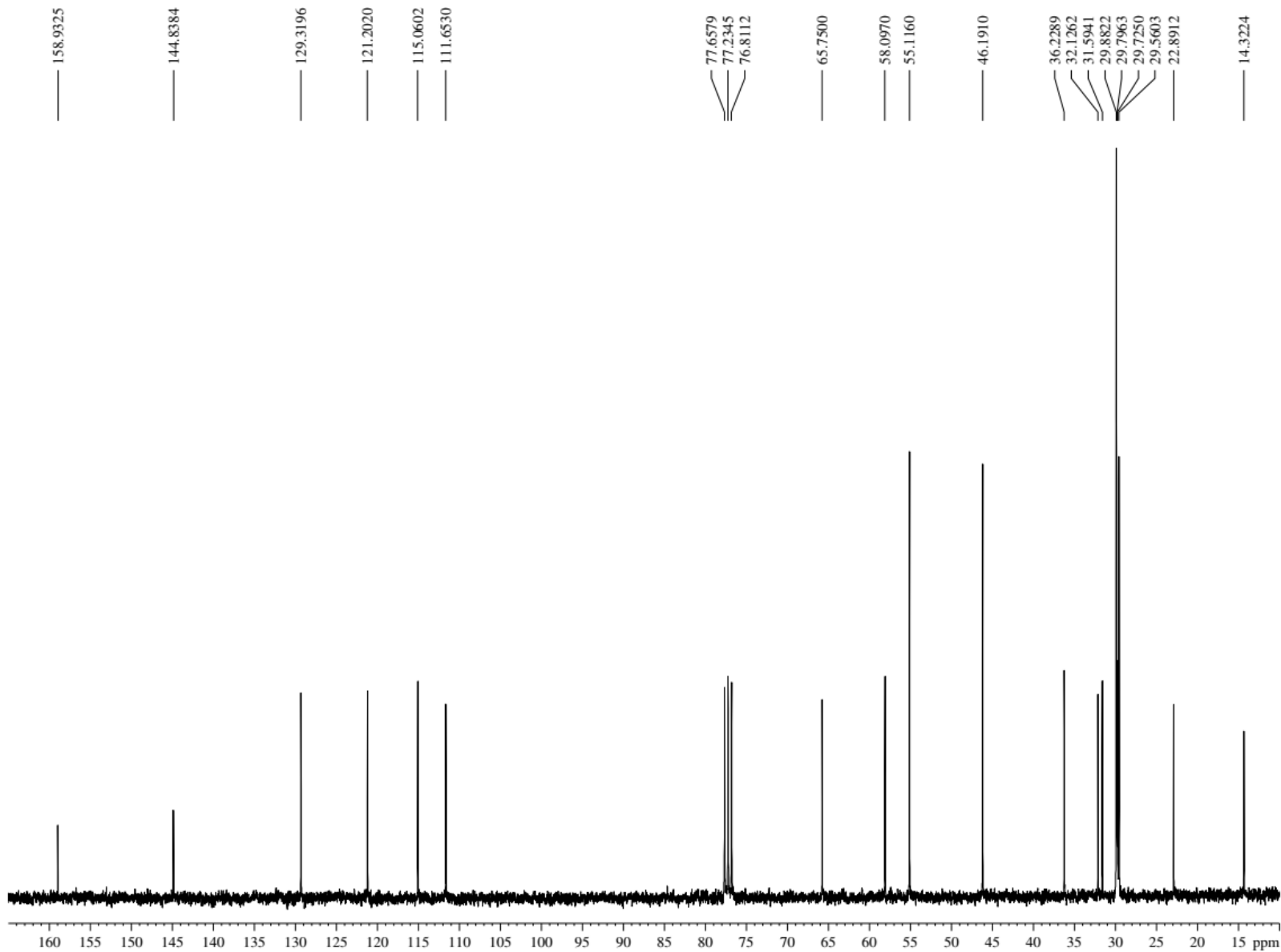
Current Data Parameters
NAME CAH 62
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20191127
Time 15.30
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual 13C/
PULPROG zgpg
TD 65536
SOLVENT CDCl3
NS 128
DS 4
SWH 17985.611 Hz
FIDRES 0.274439 Hz
AQ 1.8219508 sec
RG 203.2
DW 27.800 usec
DE 6.00 usec
TE 302.5 K
D1 2.0000000 sec
d11 0.0300000 sec
DELTA 1.89999998 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 11.75 usec
PL1 -3.00 dB
SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 80.00 usec
PL2 3.00 dB
PL12 18.65 dB
PL13 18.65 dB
SFO2 300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4677365 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



ANEXO XVIII – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)
1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperazina (LDT 131,16)

CAH 62 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [DEPT135/ CDCl_3 /303K] Operador Débora 27.11.2019

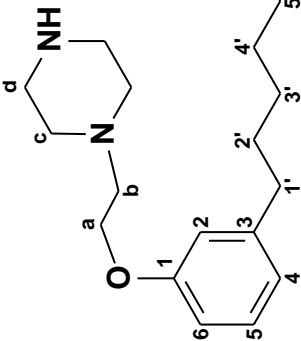
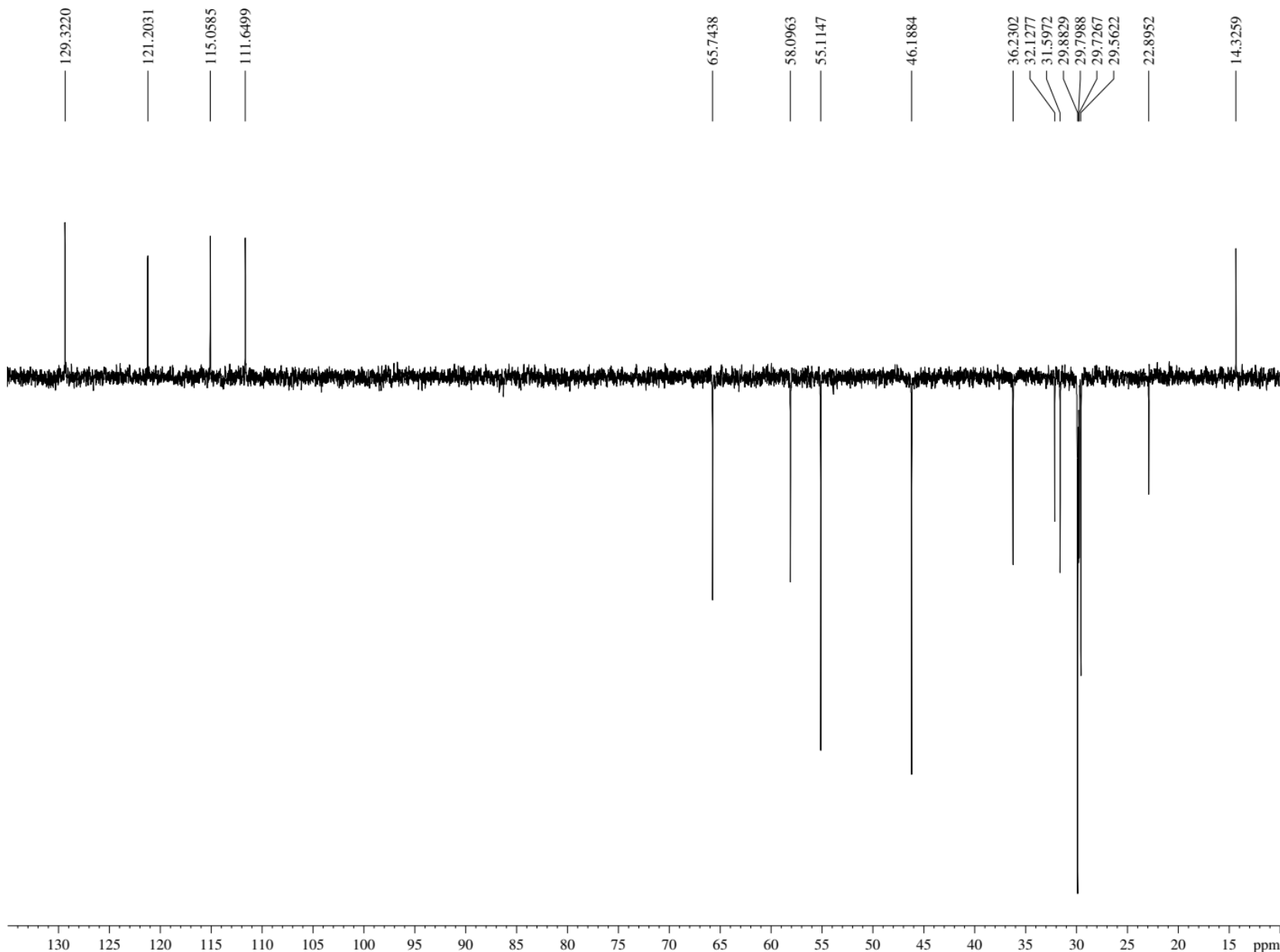
Current Data Parameters
NAME CAH 62
EXPNO 3
PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
Date_ 20191127
Time 15.35
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual 13C/
PULPROG dept135
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 64
DS 4
SWH 17985.611 Hz
FIDRES 0.274439 Hz
AQ 1.8219508 sec
RG 16384
DW 27.800 usec
DE 6.00 usec
TE 302.1 K
CNST2 145.000000
D1 2.0000000 sec
d2 0.00344828 sec
d12 0.00002000 sec
DELTA 0.00001496 sec
TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 ^{13}C
P1 11.75 usec
p2 23.50 usec
PL1 -3.00 dB
SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 ^1H
P3 13.20 usec
p4 26.40 usec
PCPD2 80.00 usec
PL2 3.00 dB
PL12 18.65 dB
SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
SI 32768
SF 75.4677365 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



ANEXO XIV – Espectro de RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3 1-Metil-4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperazina (LDT247,17)

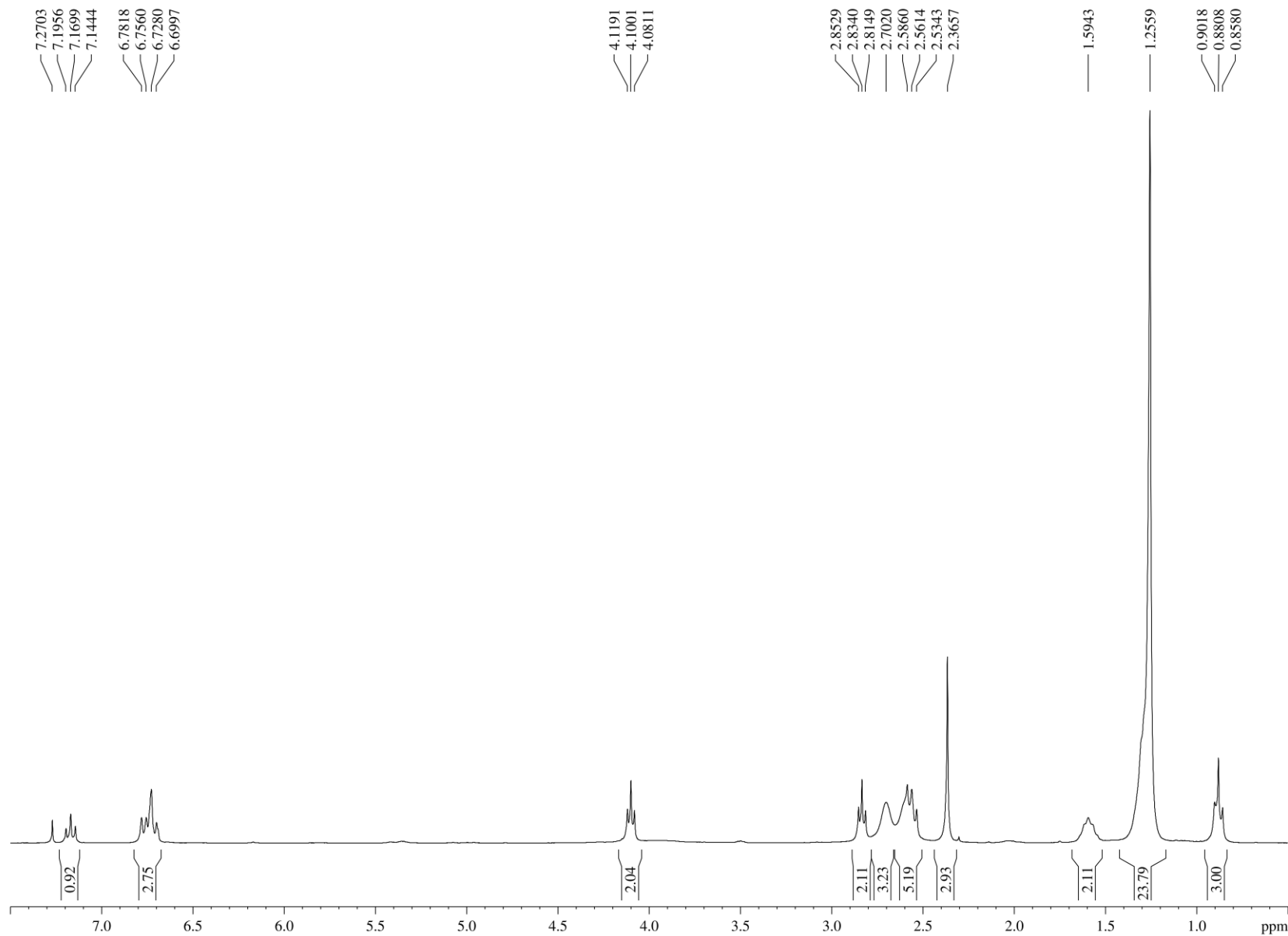
CAH36 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^1\text{H}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Debora 11.09.2019

Current Data Parameters
NAME CAH36
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
Date_ 20190911
Time 14:23
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual 1
PULPROG zg30
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 16
DS 0
SWH 6172.839 Hz
FIDRES 0.094190 Hz
AQ 5.3084660 sec
RG 71.8
DW 81.000 usec
DE 6.00 usec
TE 300.0 K
D1 1.00000000 sec
TDO 1

===== CHANNEL f1
NUC1 ^1H
P1 11.16 usec
PL1 3.00 dB
SFO1 300.1318534 MHz

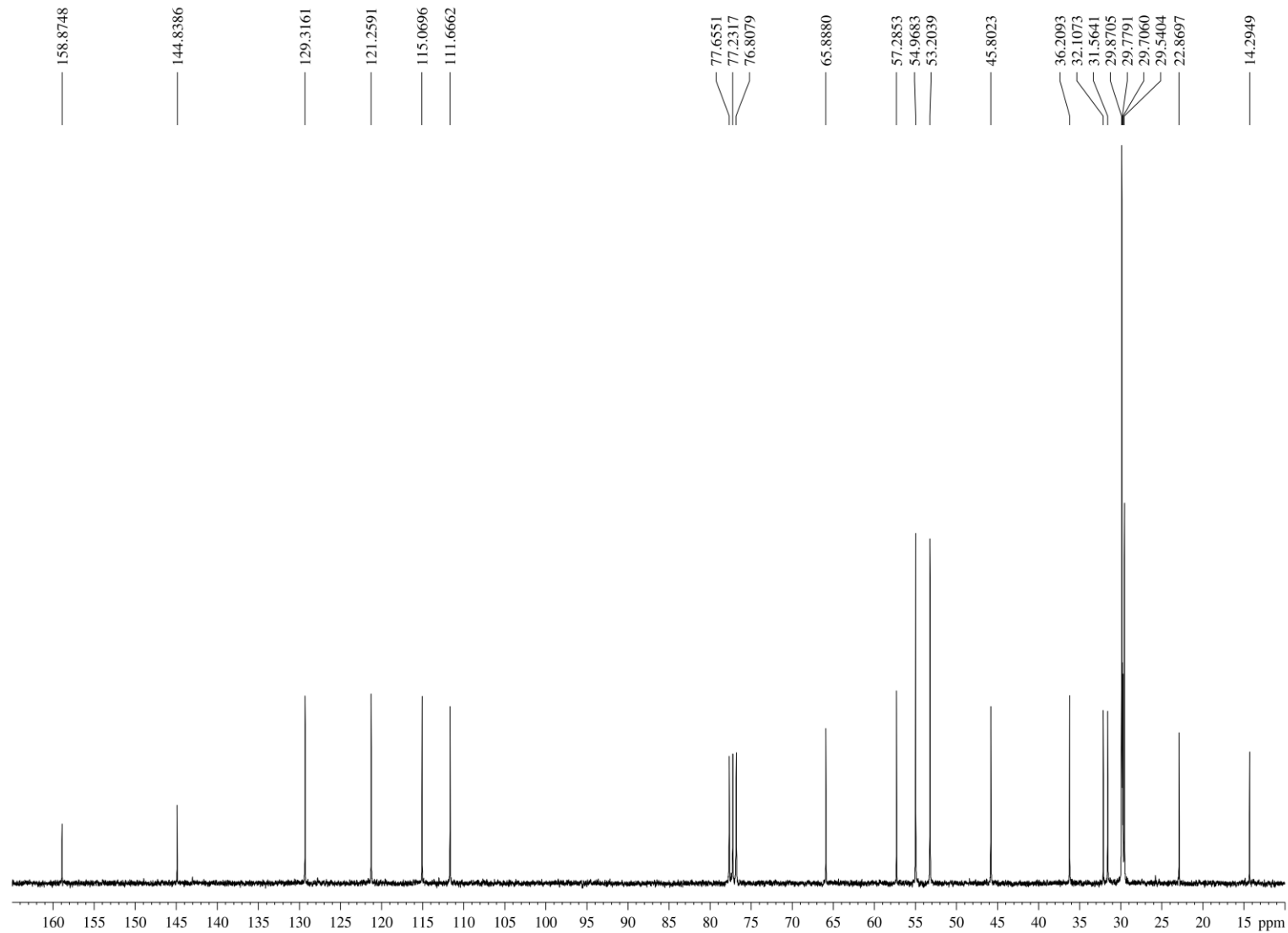
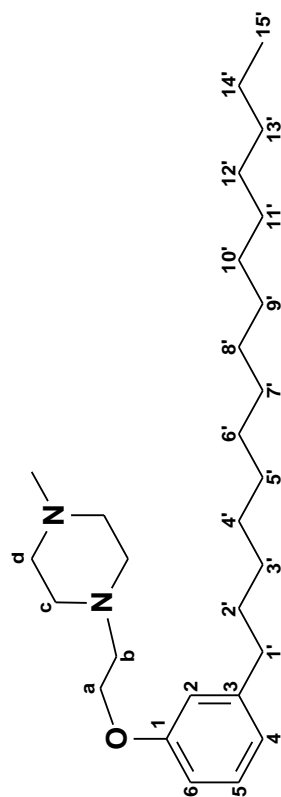
F2 – Processing parameters
SI 32768
SF 300.1300122 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



ANEXO XX – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3

1-Metil-4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperazina

CAH36 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [13C/CDCl3/303K] Operador Debora 11.09.2019



Current Data Parameters
 NAME CAH36
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20190911
 Time 14.55
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zgpg
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 512
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 32768
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 2.00000000 sec
 d11 0.03000000 sec
 DELTA 1.89999998 sec
 TDO 1

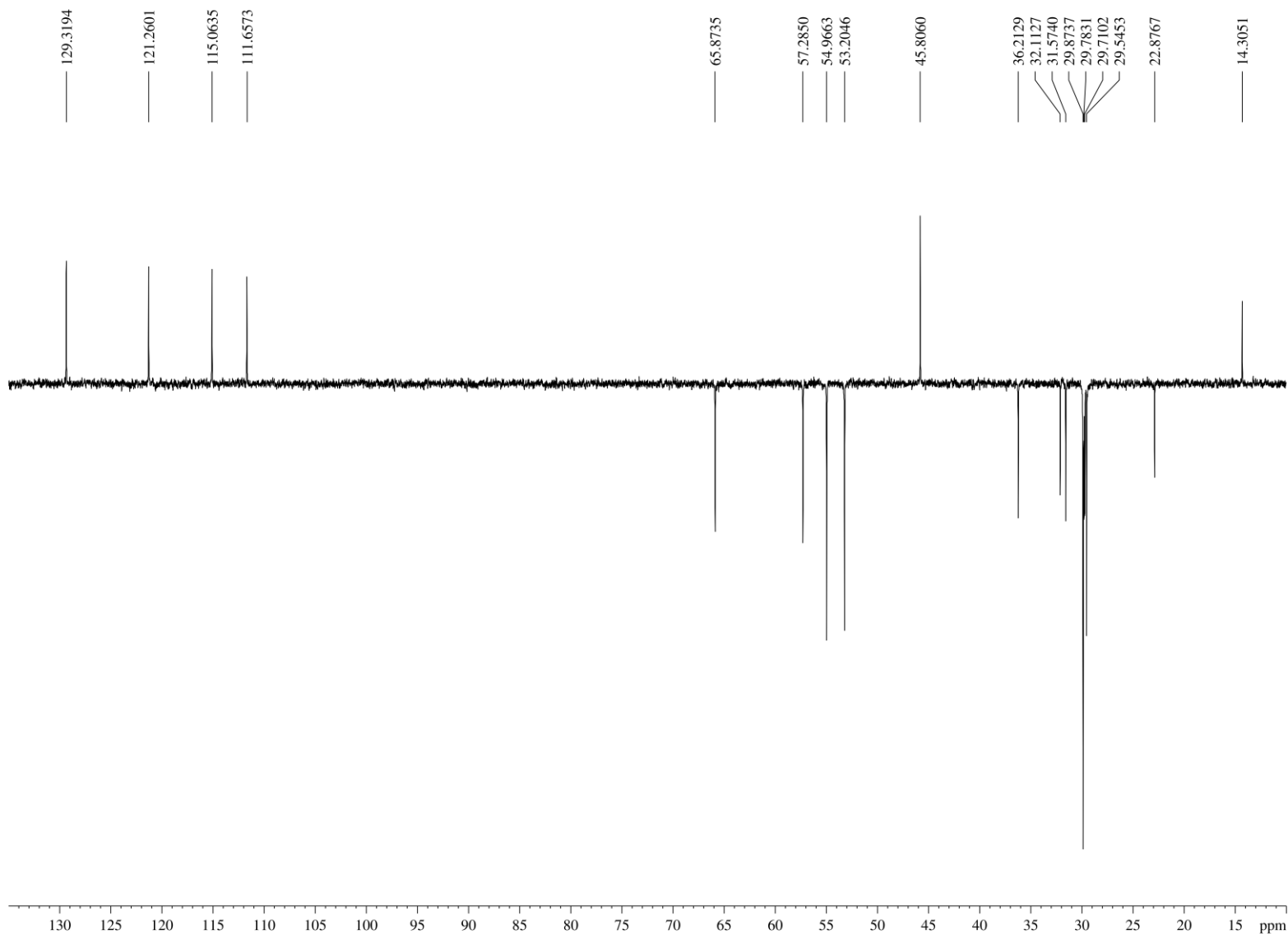
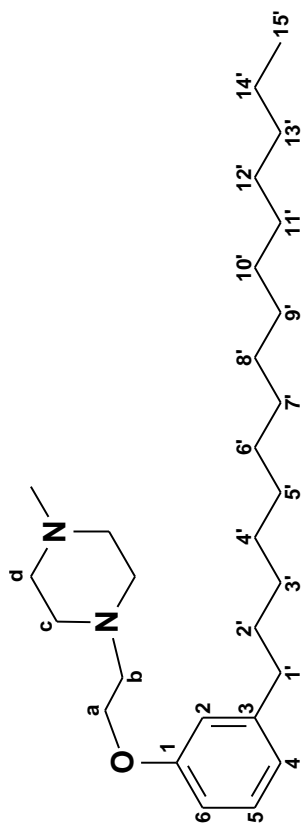
===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 13C
 P1 11.75 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 1H
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 PL13 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677370 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

ANEXO XXI – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)

CAH36 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [DEPT135/ CDCl_3 /303K] Operador Debora 11.09.2019



Current Data Parameters
NAME CAH36
EXPNO 3
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20190911
Time 15.06
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual 13C/
PULPROG dept135
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 141
DS 4
SWH 17985.611 Hz
FIDRES 0.274439 Hz
AQ 1.8219508 sec
RG 4096
DW 27.800 usec
DE 6.00 usec
TE 300.0 K
CNST2 145.000000
D1 2.0000000 sec
d2 0.00344828 sec
d12 0.00002000 sec
DELTA 0.00001496 sec
TD0 1

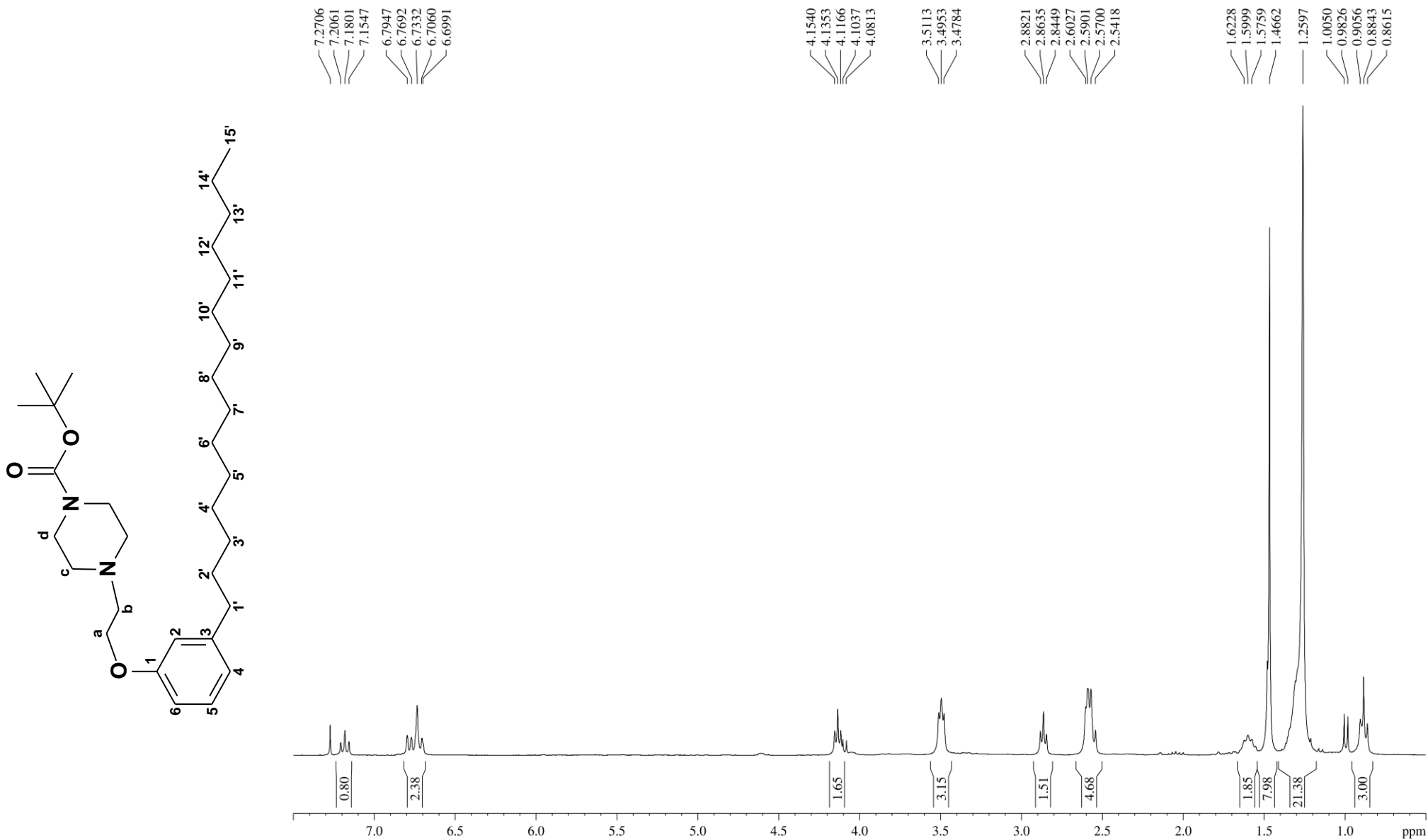
===== CHANNEL f1 =====
NUC1 ^{13}C
P1 11.75 usec
p2 23.50 usec
PL1 -3.00 dB
SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 ^1H
P3 13.20 usec
p4 26.40 usec
PCPD2 80.00 usec
PL2 3.00 dB
PL12 18.65 dB
SFO2 300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4677370 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

ANEXO XXII– Espectro de RMN ¹H, 300 MHz, CDCl₃ Tert-butil 4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperazina-1-carboxilato

CAH28 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade [LDT136,18]) [LDT136,18] B03K] Operador Debora 11.09.2019



Current Data Parameters
NAME CAH28
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20190911
Time 12.24
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual 13C/
PULPROG zg30
TD 65536
SOLVENT CDCl3
NS 16
DS 0
SWH 6172.839 Hz
FIDRES 0.094190 Hz
AQ 5.3084660 sec
RG 718
DW 81.000 usec
DE 6.00 usec
TE 300.0 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 1H
P1 11.16 usec
PL1 3.00 dB
SFO1 300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 300.1300120 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

ANEXO XXIII – Espectro de RMN ¹³C, 75 MHz, CDCl₃
Tert-butil 4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperazina-1-carboxilato
(LDT136,18)

CAH28 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [13C/CDCl3/303K] Operador Debora 11.09.2019

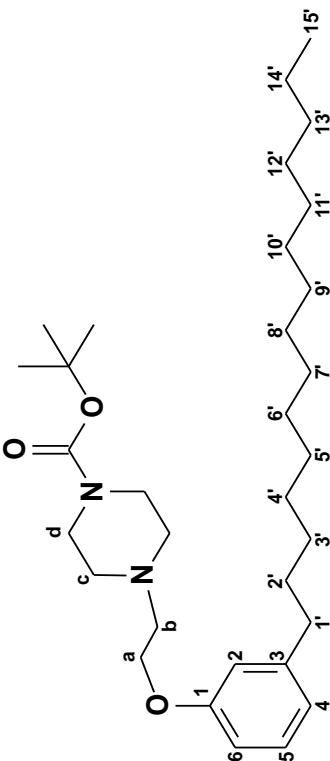
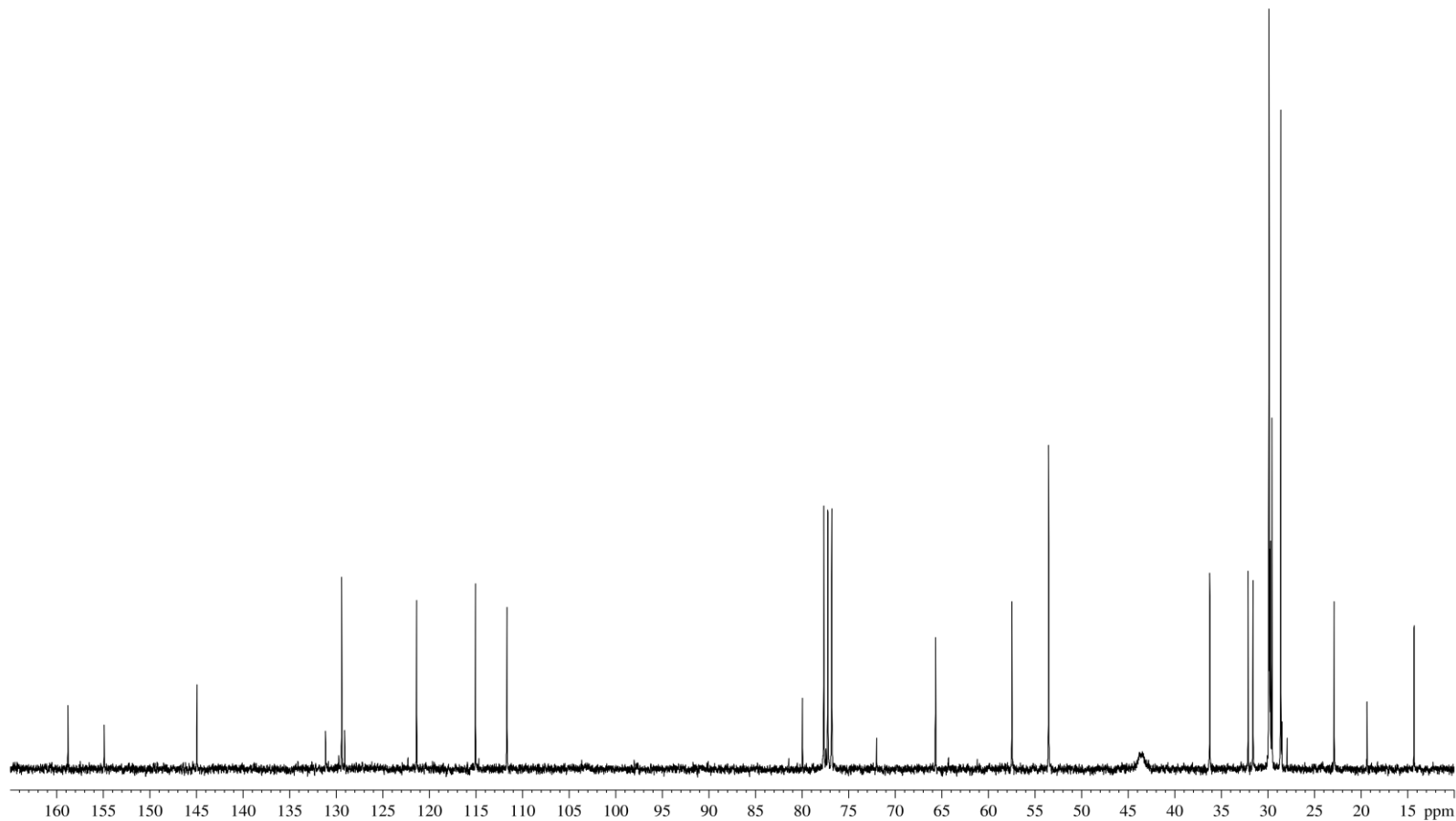
Current Data Parameters
 NAME CAH28
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20190911
 Time 12.58
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zgpg
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 DS 4
 NS 512
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 32768
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 2.00000000 sec
 d11 0.03000000 sec
 DELTA 1.89999998 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ¹³C
 P1 11.75 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ¹H
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 PL13 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677359 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO XXIV – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)
Tert-butil 4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperazina-1-carboxilato (LDT136,18)

CAH28 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^1\text{H}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Debora 11.09.2019

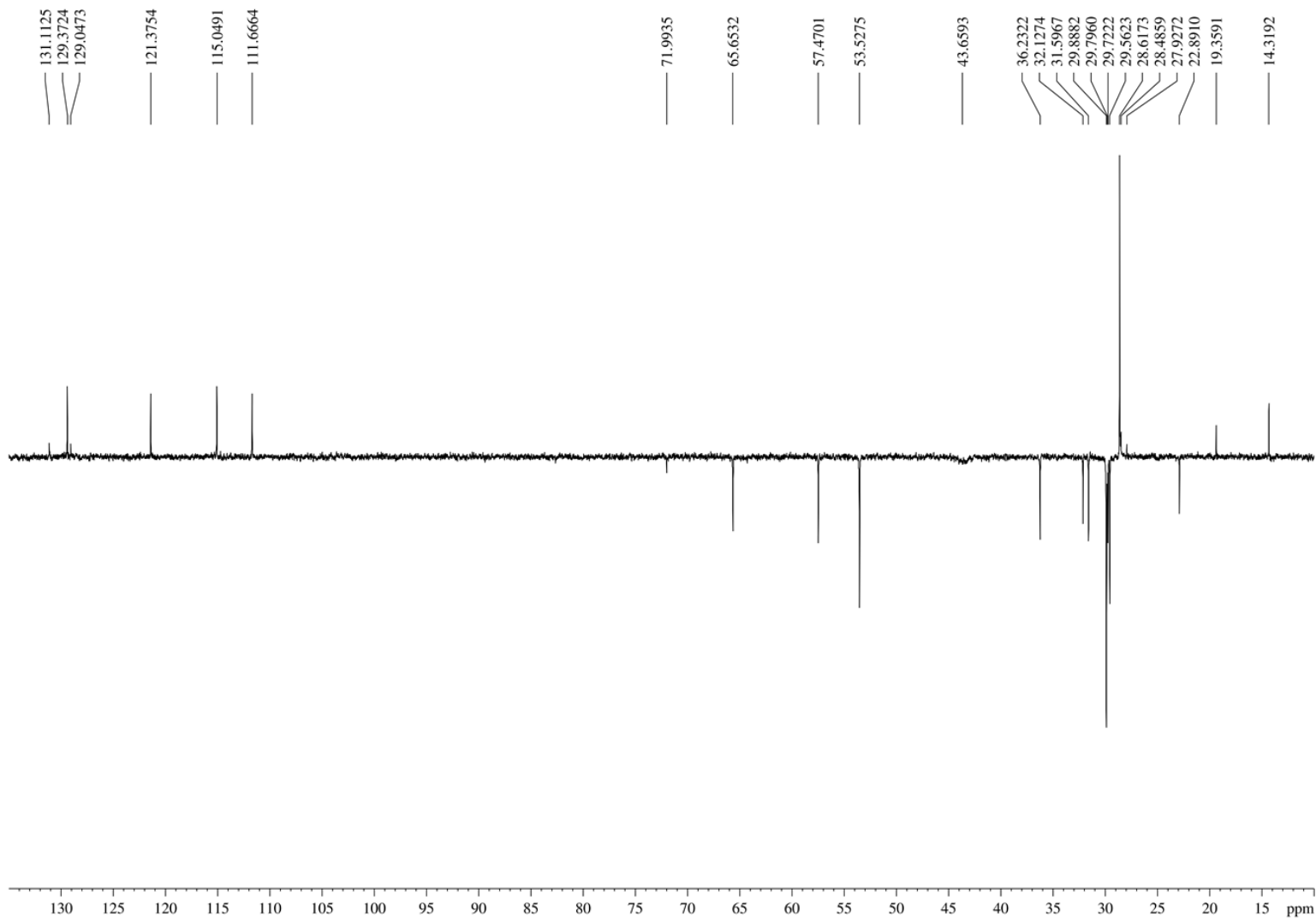
Current Data Parameters
 NAME CAH28
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20190911
 Time 13.05
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 256
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 16384
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 300.0 K
 CNST2 145.0000000
 D1 2.0000000 sec
 d2 0.00344828 sec
 d12 0.00002000 sec
 DELTA 0.00001496 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 p2 23.50 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 P3 13.20 usec
 p4 26.40 usec
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 ST 32768
 SF 75.4677359 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO XXV – Espectro de RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3
2-[(2-hidróxietil)[(2-(3-pentadecilfenóxietil)amino)etanol] (LDT134,19)

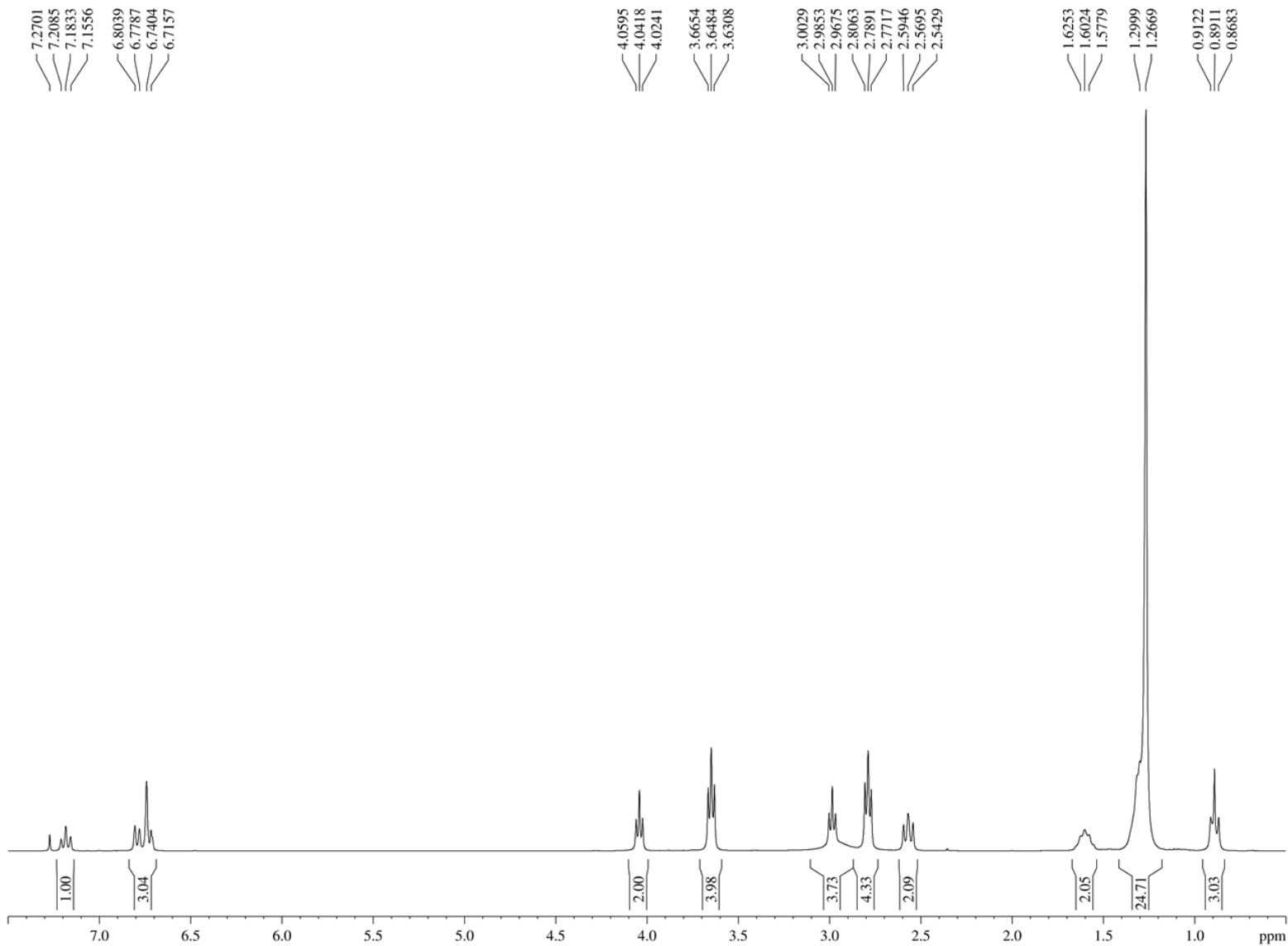
CAH44 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^1\text{H}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Debora 20.11.2019

Current Data Parameters
 NAME CAH44
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191120
 Time 10.08
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 16
 DS 0
 SWH 6172.839 Hz
 FIDRES 0.094190 Hz
 AQ 5.3084660 sec
 RG 114
 DW 81.000 usec
 DE 6.00 usec
 TE 298.8 K
 D1 1.00000000 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^1H
 P1 11.16 usec
 PL1 3.00 dB
 SFO1 300.1318534 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 300.1300121 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00



ANEXO XXVI – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3
2-[(2-hidróxi)etil][(2-(3-pentadecilfenóxi)etil)amino]etanol (LDT134,19)

CAH44 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^{13}\text{C}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Debora 20.11.2019

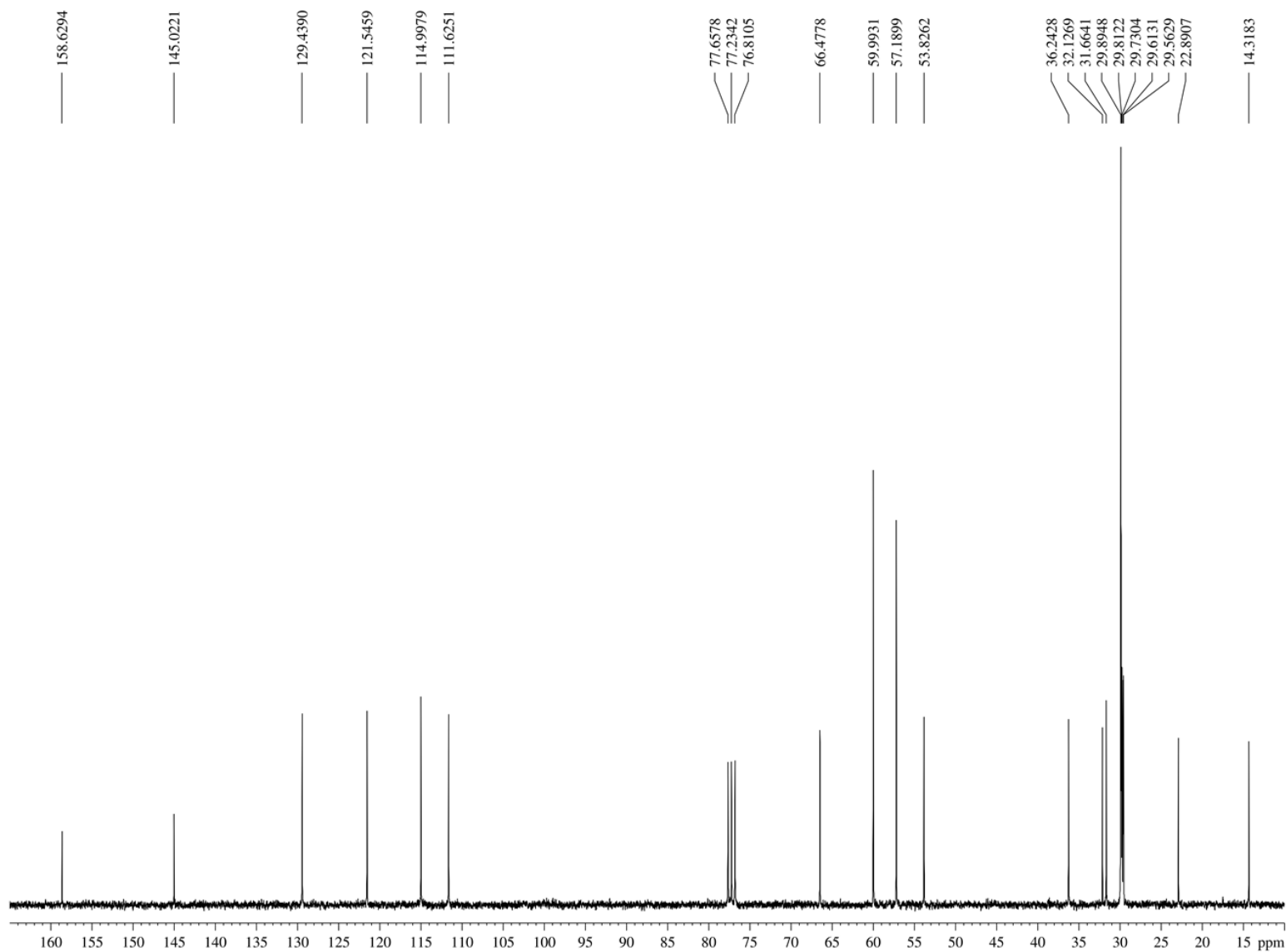
Current Data Parameters
 NAME CAH44
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191120
 Time 10.09
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual $^{13}\text{C}/$
 PULPROG zgpg
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 180
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 32768
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 299.0 K
 D1 2.0000000 sec
 d11 0.0300000 sec
 DELTA 1.89999998 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 PL13 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677369 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO XXVII – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)
2-[(2-hidróxiel) [(2-(3-pentadecilfenóxiel)amino)etanol (LDT134,19)

CAH44 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [DEPT135/CDCl3/303K] Operador Debora 20.11.2019

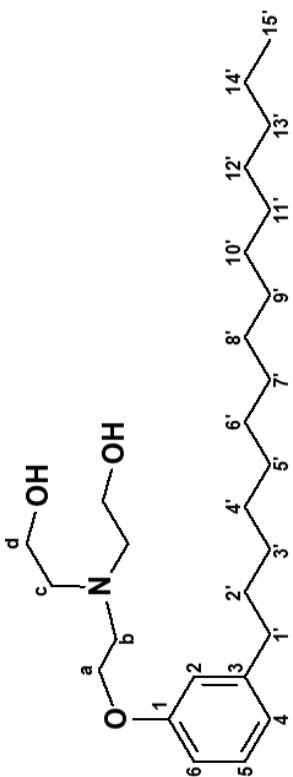
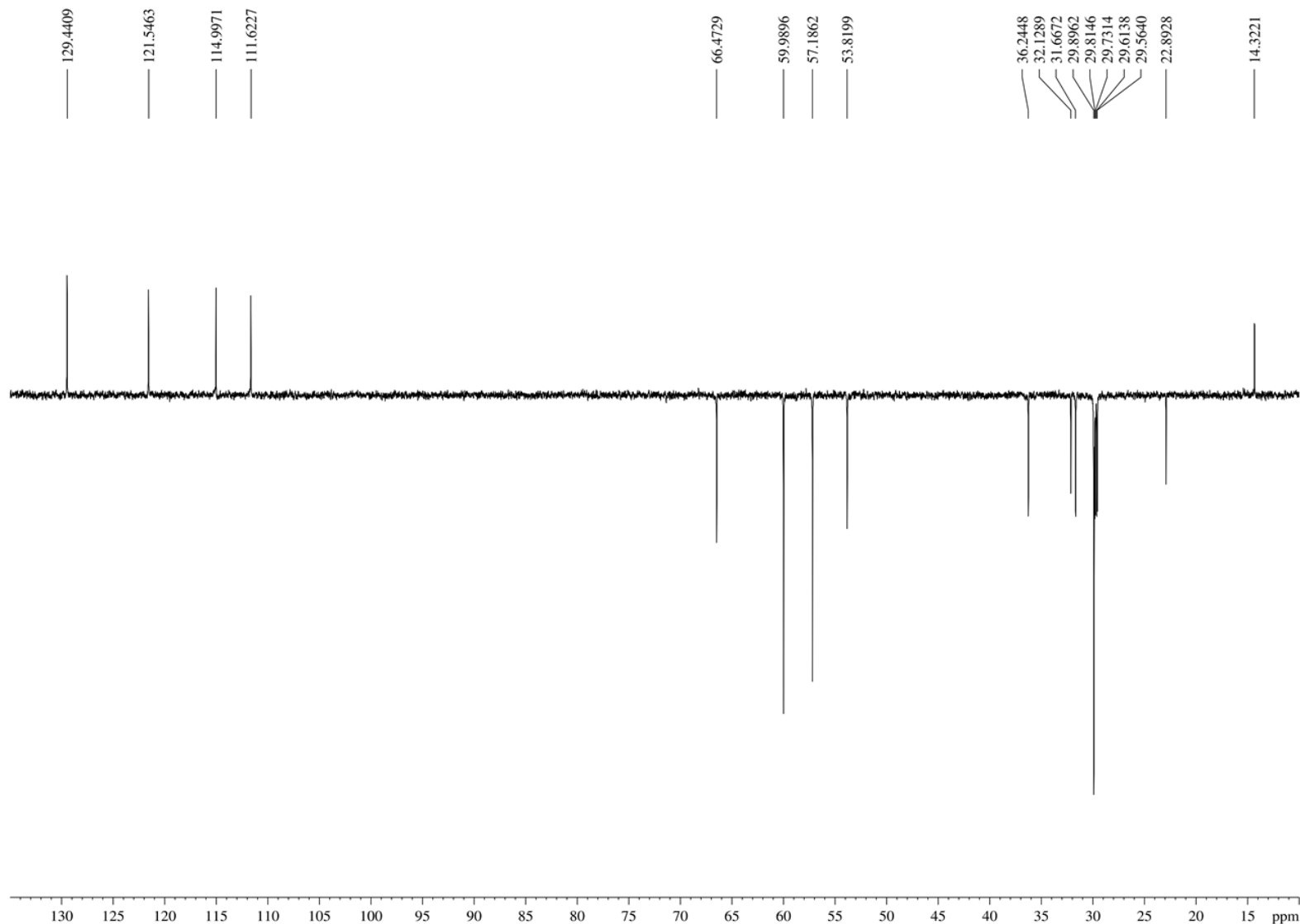
Current Data Parameters
 NAME CAH44
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191120
 Time 10.26
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 86
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 16384
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 299.3 K
 CNST2 145.000000
 D1 2.00000000 sec
 d2 0.00344828 sec
 d12 0.00002000 sec
 DELTA 0.00001496 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 13C
 P1 11.75 usec
 p2 23.50 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 1H
 P3 13.20 usec
 p4 26.40 usec
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677369 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO XXVIII – Espectro de RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3
Dietil [2-(3-pentadecilfenóxi)etil]etila (LDT135,20)

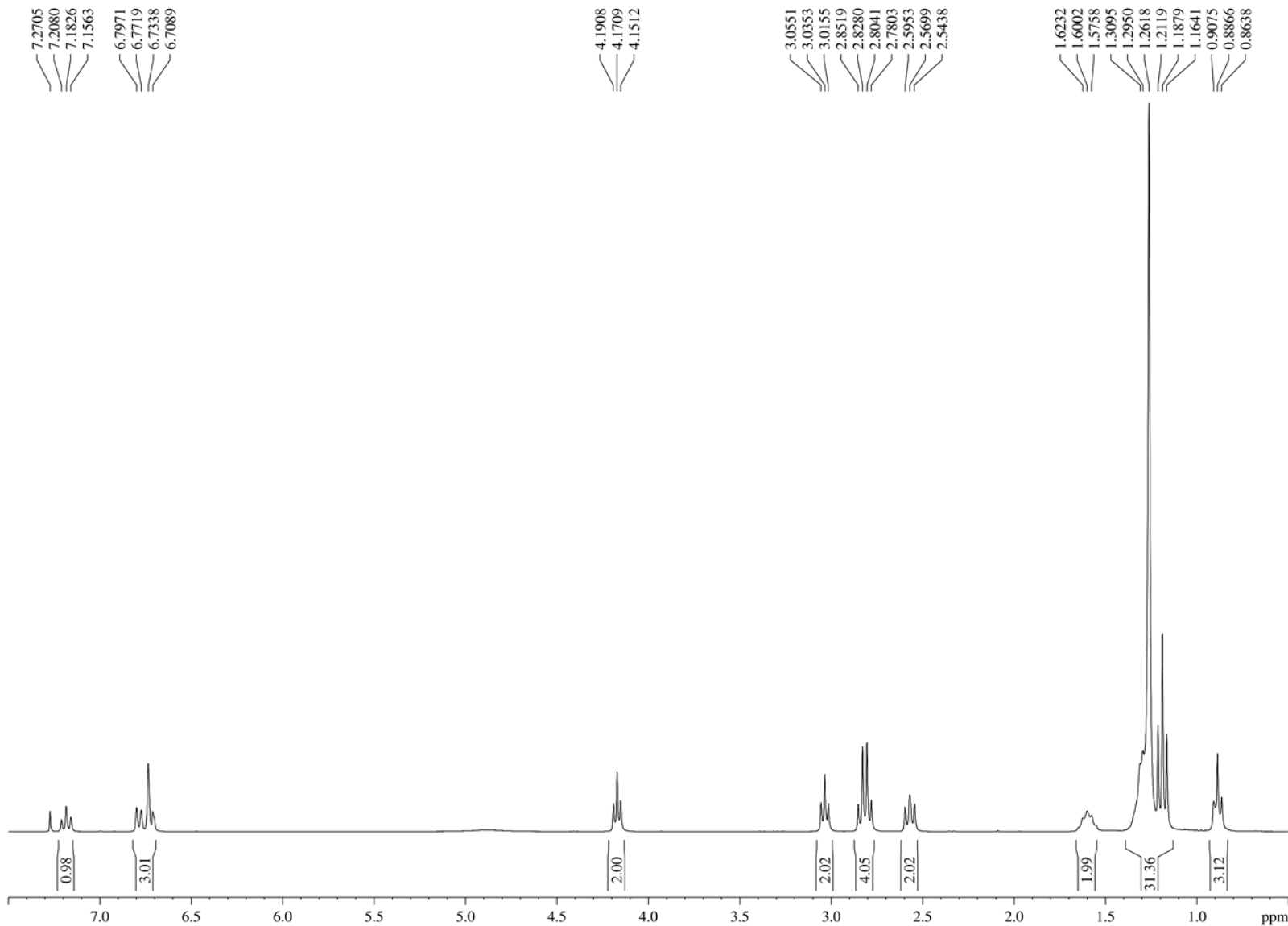
CAH 63 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^1\text{H}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Débora 27.11.2019

Current Data Parameters
 NAME CAH 63
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191127
 Time 15.46
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 8
 DS 0
 SWH 7183.908 Hz
 FIDRES 0.109618 Hz
 AQ 4.5613556 sec
 RG 181
 DW 69.600 usec
 DE 10.00 usec
 TE 301.7 K
 D1 1.00000000 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^1H
 P1 10.88 usec
 PL1 3.00 dB
 SFO1 300.1324010 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 300.1090049 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00



ANEXO XXIX – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 Diethyl [2-(3-pentadecilfenóxi)etil]etila (LDT135,20)

CAH 63 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^{13}\text{C}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Débora 27.11.2019

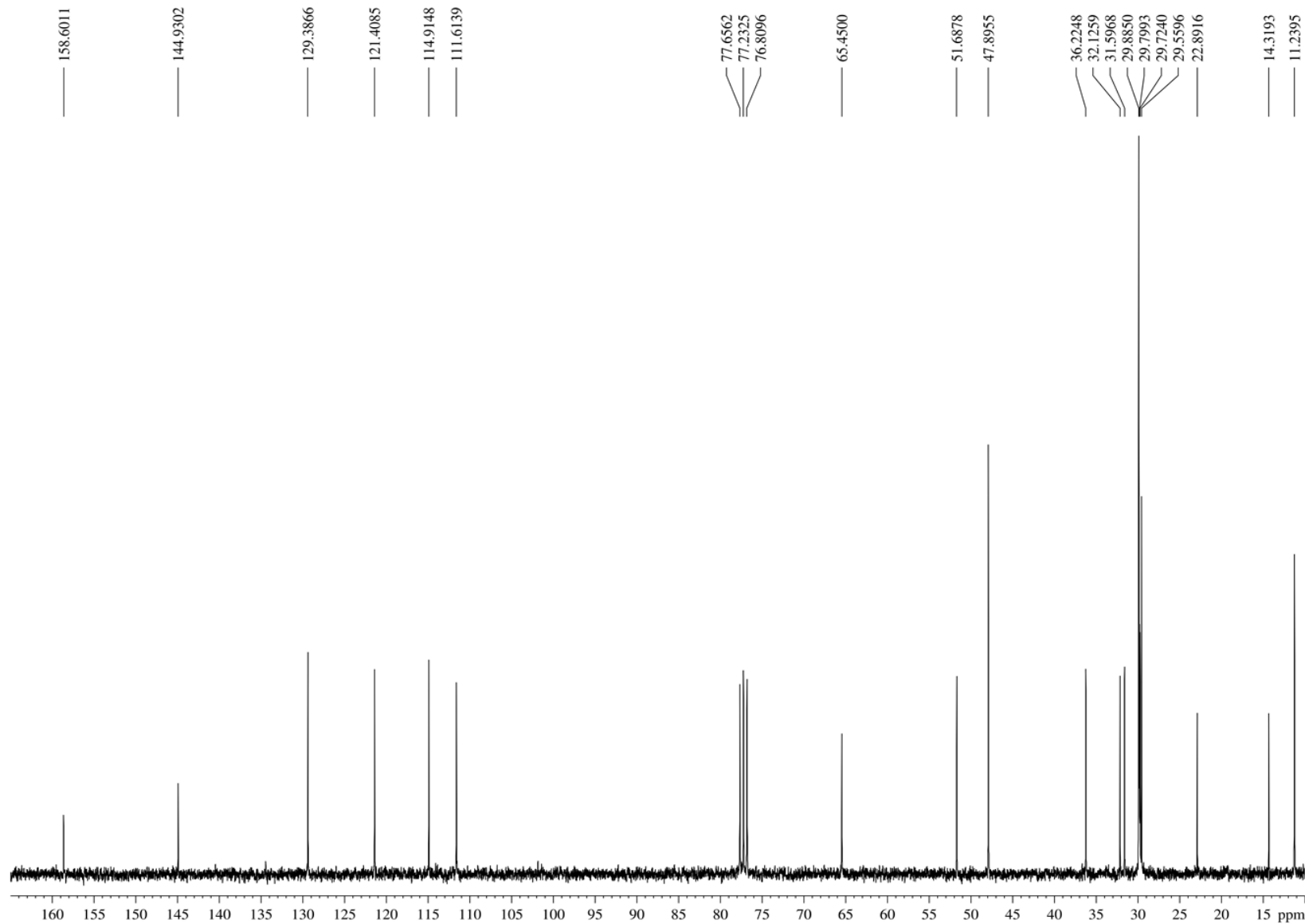
Current Data Parameters
NAME CAH 63
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
Date_ 20191127
Time 15.57
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual $^{13}\text{C}/$
PULPROG zgpg
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 128
DS 4
SWH 17985.611 Hz
FIDRES 0.274439 Hz
AQ 1.8219508 sec
RG 32768
DW 27.800 usec
DE 6.00 usec
TE 302.8 K
D1 2.0000000 sec
d11 0.0300000 sec
DELTA 1.8999998 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 ^{13}C
P1 11.75 usec
PL1 -3.00 dB
SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 ^1H
PCPD2 80.00 usec
PL2 3.00 dB
PL12 18.65 dB
PL13 18.65 dB
SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
SI 32768
SF 75.4677367 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



ANEXO XXX – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)
Dietil [2-(3-pentadecilfenóxi)etil]etilaмина (LDT135,20)

CAH 63 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [DEPT135/ CDCl_3 /303K] Operador Débora 27.11.2019

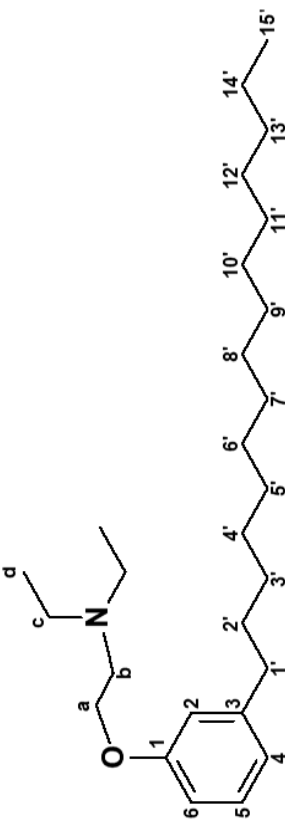
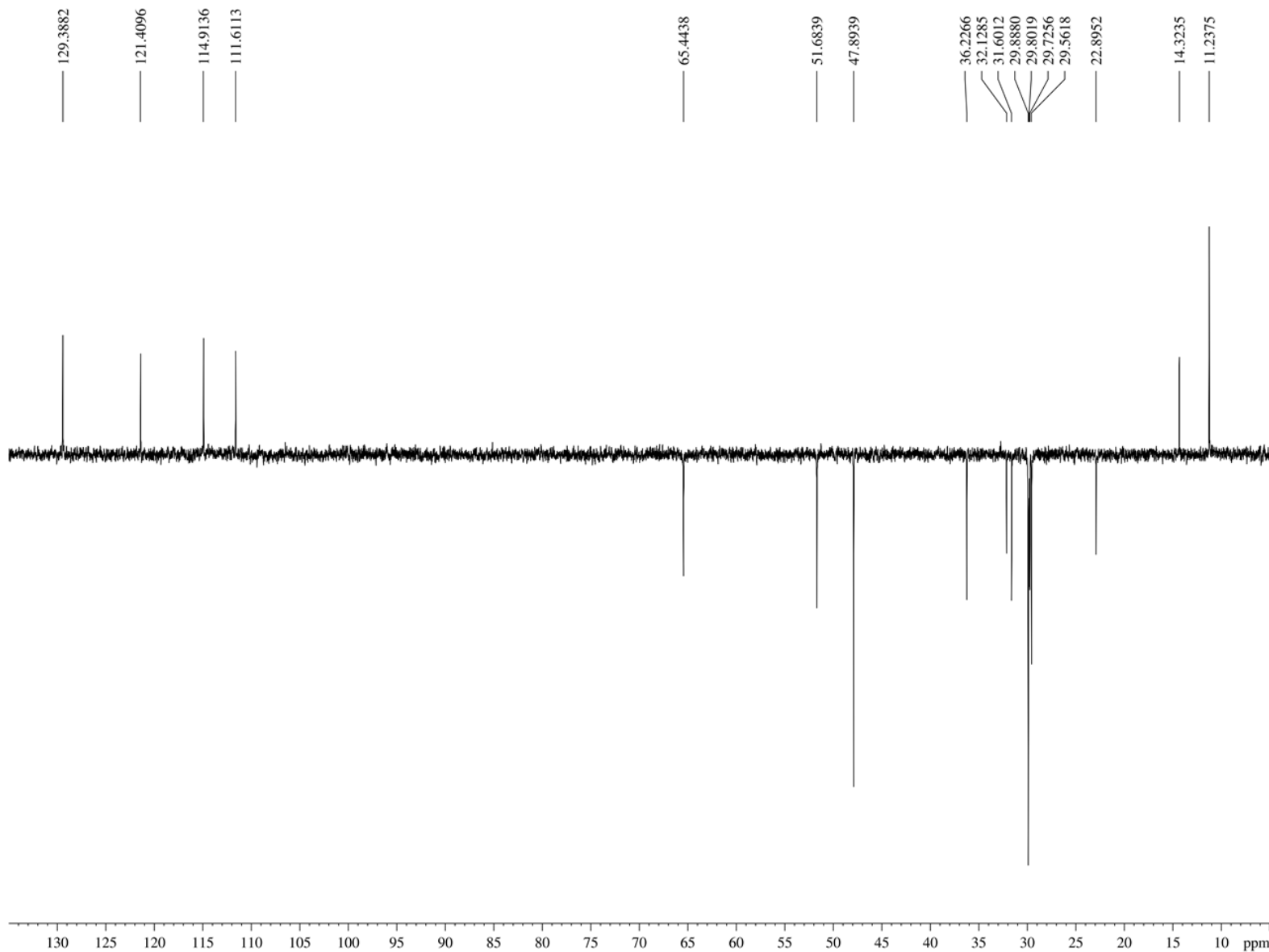
Current Data Parameters
 NAME CAH 63
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191127
 Time 16.01
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 64
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 16384
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 302.4 K
 CNST2 145.0000000
 D1 2.00000000 sec
 d2 0.00344828 sec
 d12 0.0002000 sec
 DELTA 0.00001496 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 p2 23.50 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 P3 13.20 usec
 p4 26.40 usec
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677367 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO XXXI – Espectro de RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3
1-(2-Azidoetóxi)-3-pentadecilbenzeno (LDT137,21)

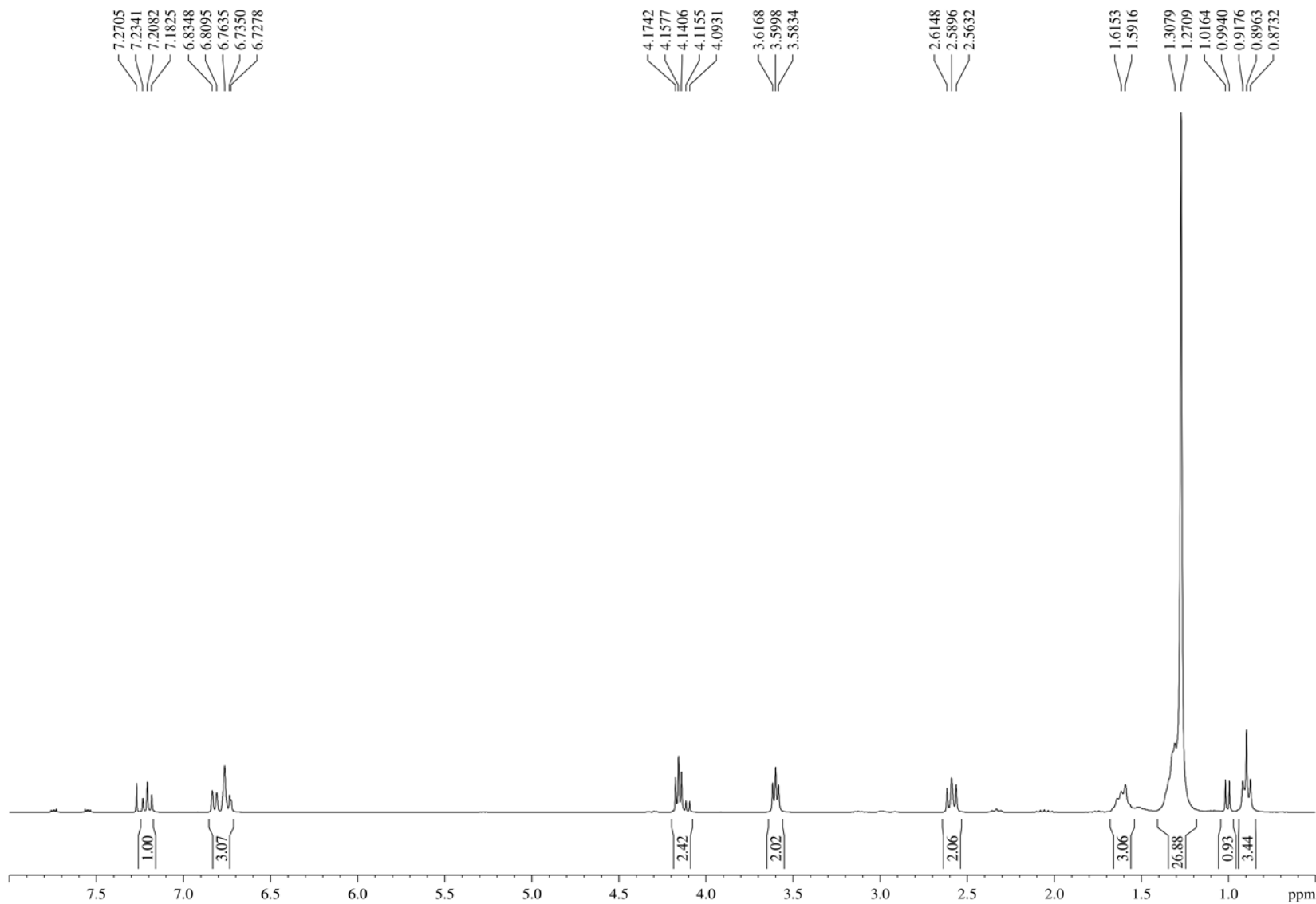
CAH 56 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^1\text{H}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Débora 27.11.2019

Current Data Parameters
 NAME CAH56
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20191127
 Time 14.36
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT D2O
 NS 8
 DS 0
 SWH 7183.908 Hz
 FIDRES 0.109618 Hz
 AQ 4.5613556 sec
 RG 181
 DW 69.600 usec
 DE 10.00 usec
 TE 298.9 K
 D1 1.00000000 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^1H
 P1 10.88 usec
 PL1 3.00 dB
 SFO1 300.1324010 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 300.1300122 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00



ANEXO XXXII – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3
1-(2-Azidoetóxi)-3-pentadecilbenzeno (LDT137,21)

CAH 56 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^{13}\text{C}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Débora 27.11.2019

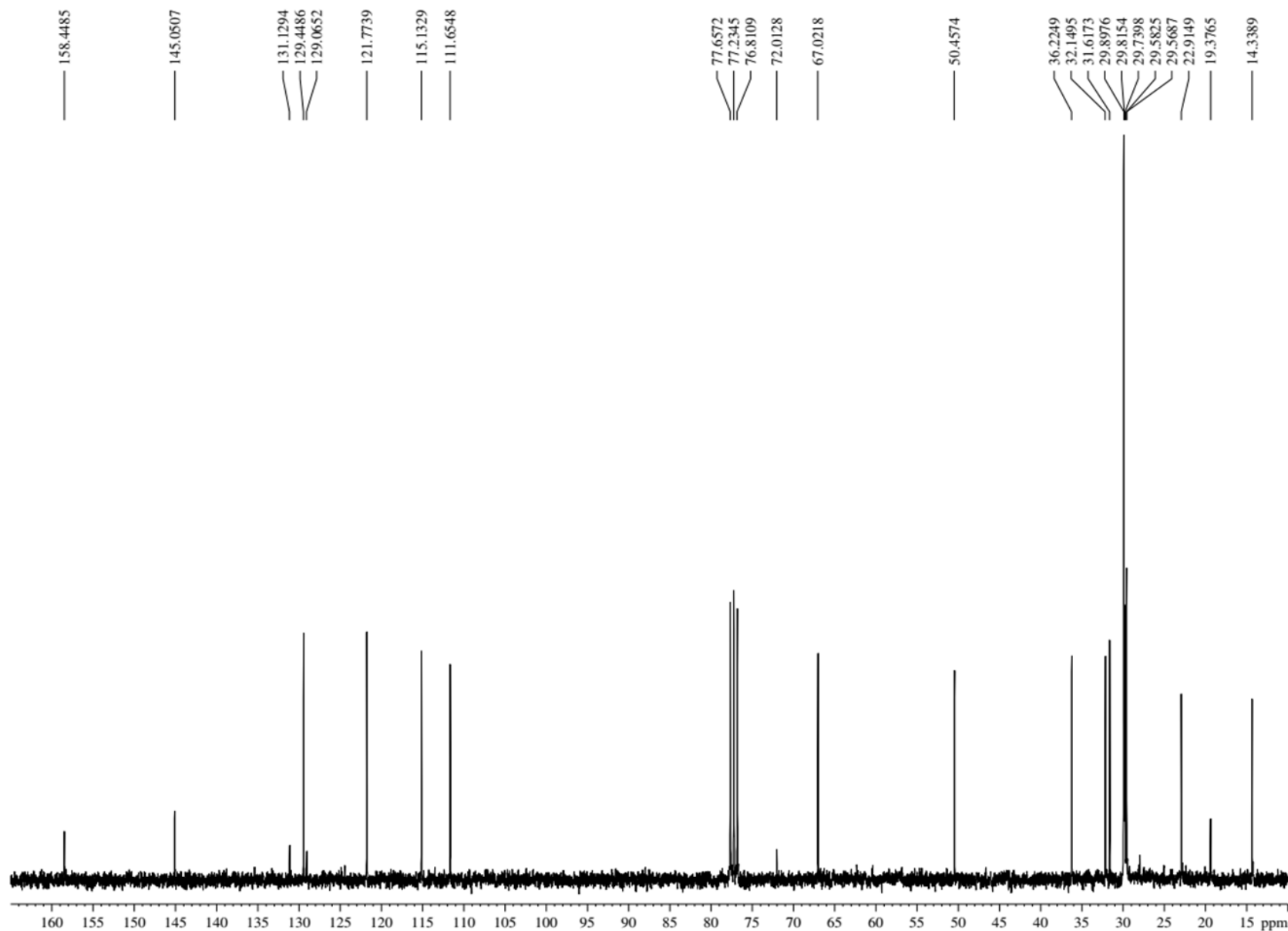
Current Data Parameters
 NAME CAH56
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191127
 Time 14.37
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual $^{13}\text{C}/$
 PULPROG zgpg
 TD 65536
 SOLVENT D2O
 NS 128
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 32768
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 299.4 K
 D1 2.00000000 sec
 d11 0.03000000 sec
 DELTA 1.89999998 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 PL13 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677354 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO XXXIII – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)
1-(2-Azidoetóxi)-3-pentadecilbenzeno (LDT137,21)

CAH 56 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [DEPT135/ CDCl_3 /303K] Operador Débora 27.11.2019

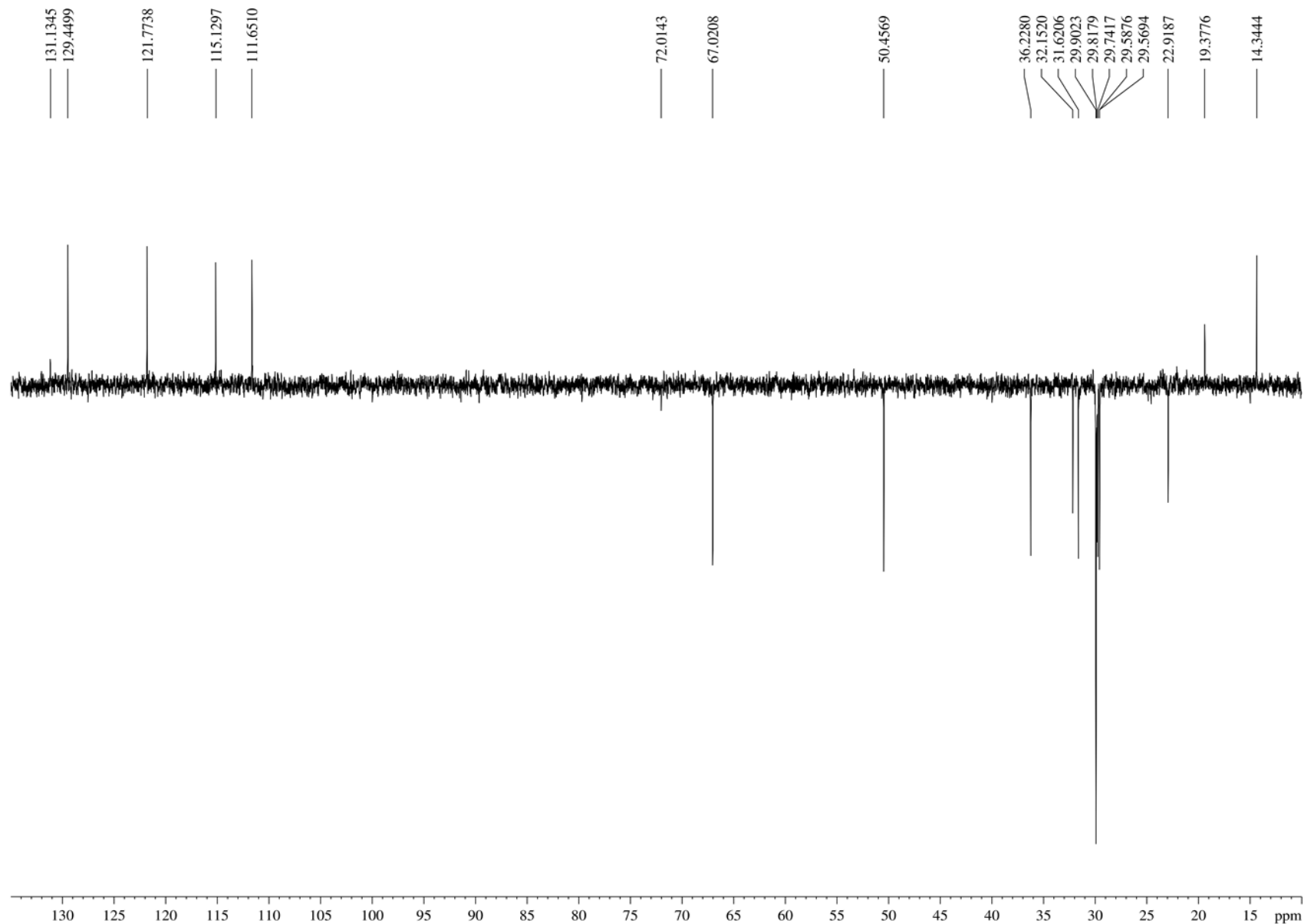
Current Data Parameters
 NAME CAH56
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191127
 Time 14.49
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual $^{13}\text{C}/$
 PULPROG dept135/
 TD 65536
 SOLVENT D2O
 NS 56
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 16384
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 300.3 K
 CNST2 145.0000000
 D1 2.00000000 sec
 d2 0.00344828 sec
 d12 0.00002000 sec
 DELTA 0.00001496 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 p2 23.50 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 P3 13.20 usec
 p4 26.40 usec
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677354 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO LXI– Espectro de RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3
2-(3-pentadecilfenóxi)etan-1-amina (LDT138,22)

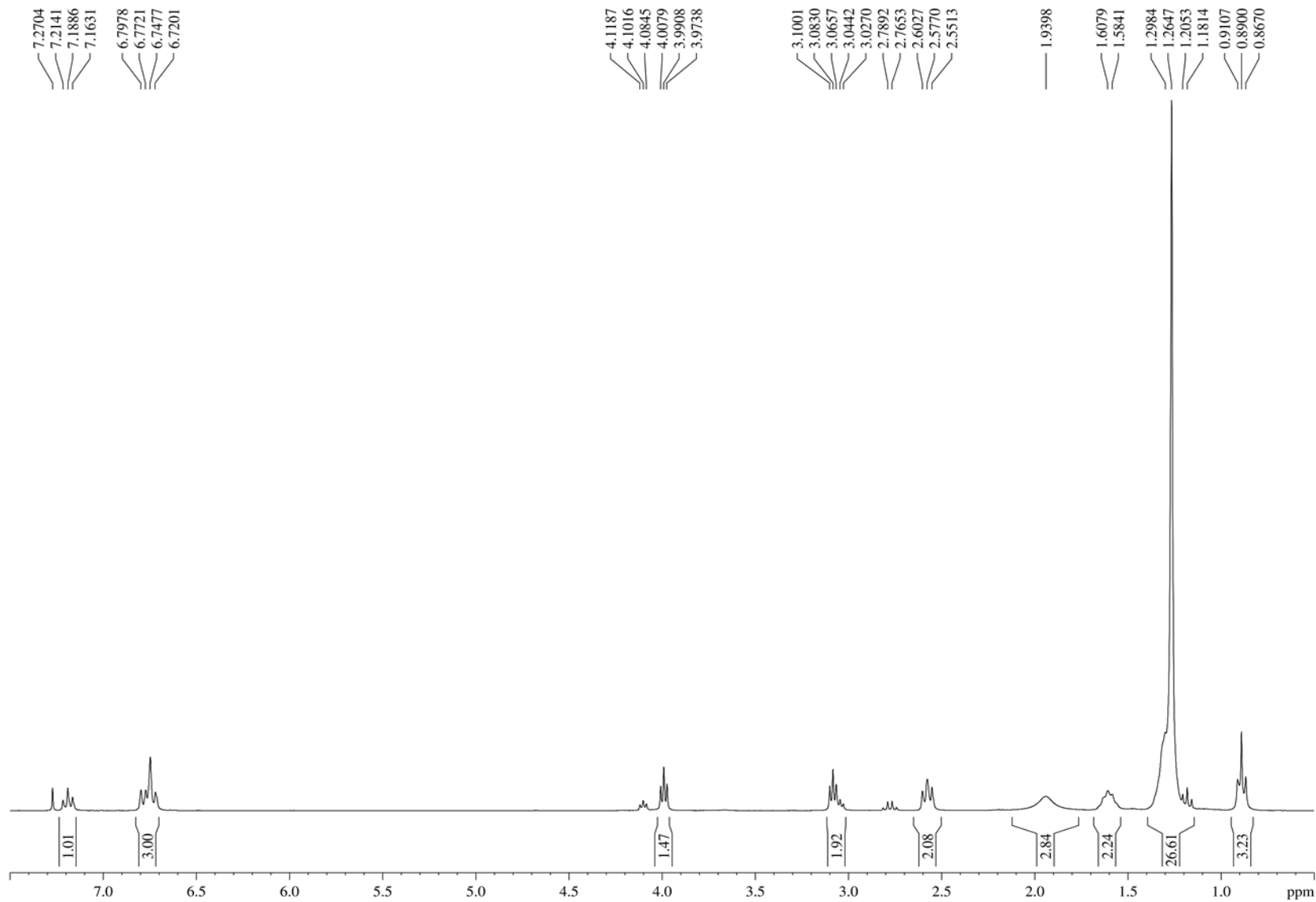
CAH 61 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^1\text{H}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Débora 27.11.2019

Current Data Parameters
 NAME CAH 61
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191127
 Time 14.57
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 8
 DS 0
 SWH 7183.908 Hz
 FIDRES 0.109618 Hz
 AQ 4.5613556 sec
 RG 181
 DW 69.600 usec
 DE 10.00 usec
 TE 300.2 K
 D1 1.0000000 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^1H
 P1 10.88 usec
 PL1 3.00 dB
 SFO1 300.1324010 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 300.1300123 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00



ANEXO LXII – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3
2-(3-pentadecilfenóxi)etan-1-amina (LDT138,22)

CAH 61 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^{13}\text{C}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Débora 27.11.2019

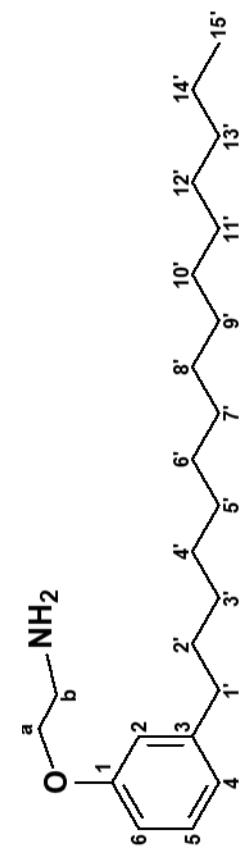
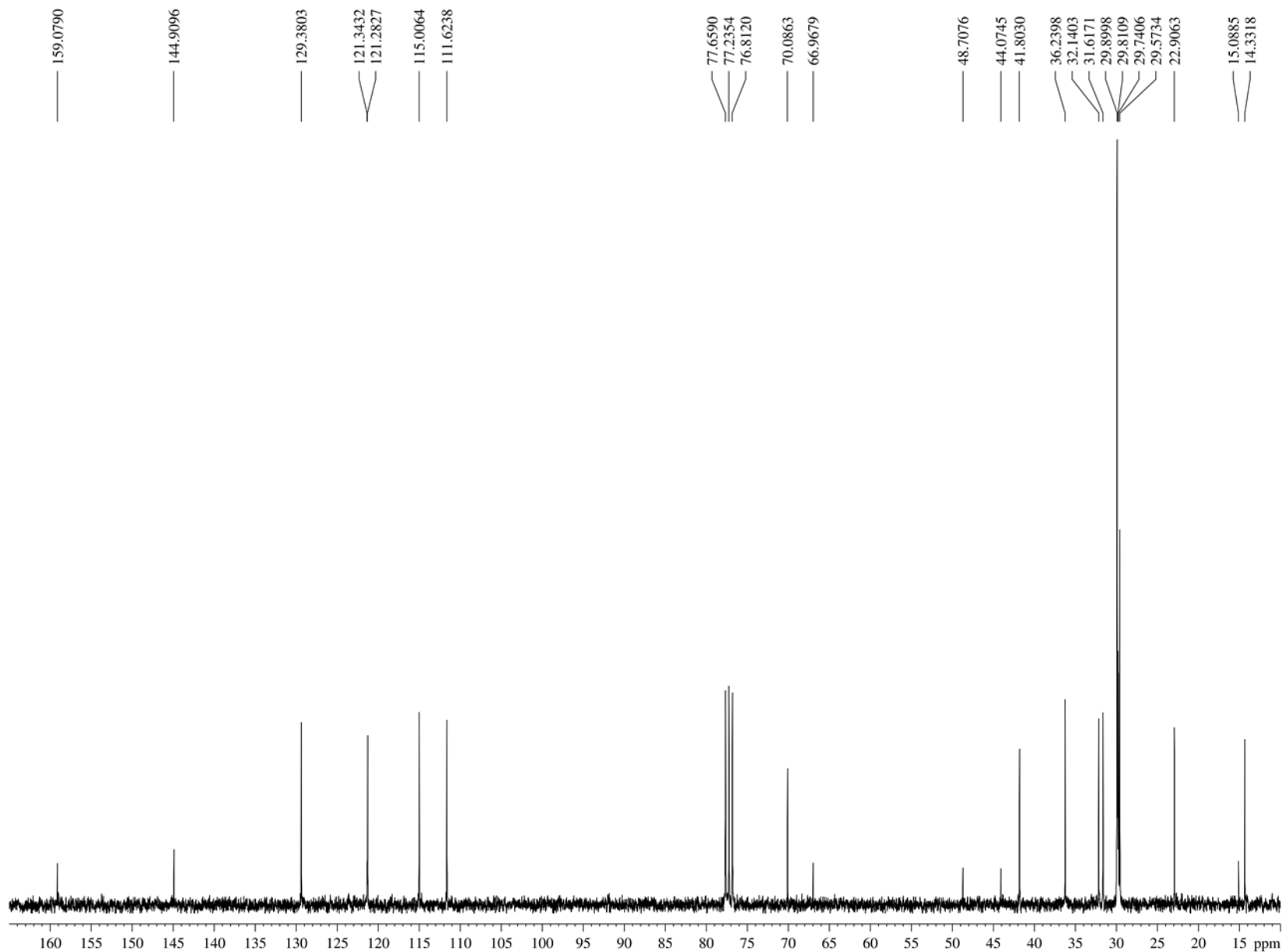
Current Data Parameters
 NAME CAH 61
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191127
 Time 15.06
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual $^{13}\text{C}/$
 PULPROG zgpg
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 128
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 32768
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 301.8 K
 D1 2.00000000 sec
 d11 0.03000000 sec
 DELTA 1.89999998 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 PL13 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677357 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO LXIII– Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)
2-(3-pentadecilfenóxi)etan-1-amina (LDT138,22)

CAH 61 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [DEPT135/CDCl₃/303K] Operador Débora 27.11.2019

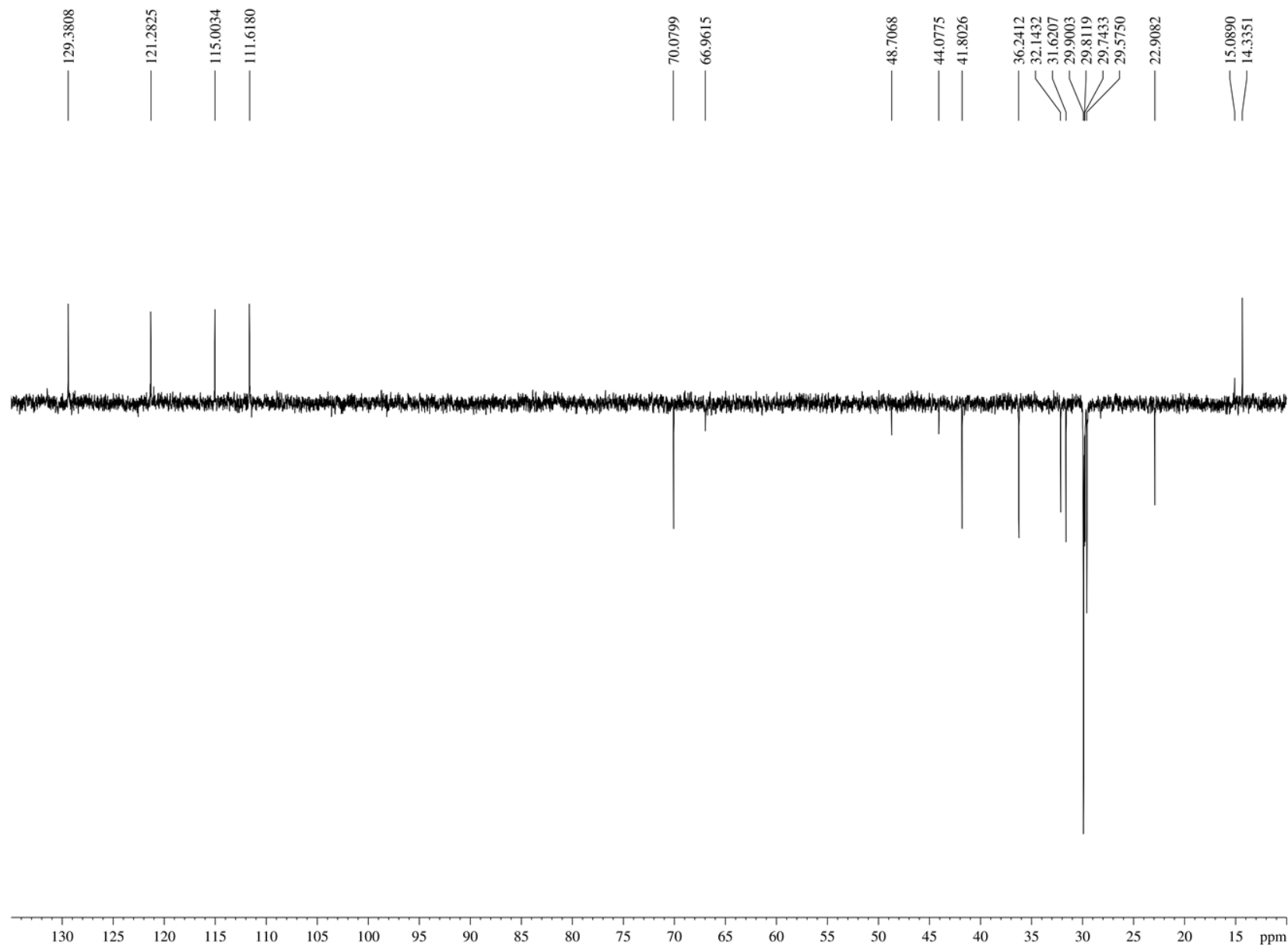
Current Data Parameters
 NAME CAH 61
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191127
 Time 15.10
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT CDCl₃
 NS 56
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 16384
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 301.4 K
 CNST2 145.0000000
 D1 2.00000000 sec
 d2 0.00344828 sec
 d12 0.00002000 sec
 DELTA 0.00001496 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 p2 23.50 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 P3 13.20 usec
 p4 26.40 usec
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677357 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO XXXIV – Espectro de RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3
1-Metil-1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]pirrolidínio (LDT309, 23)

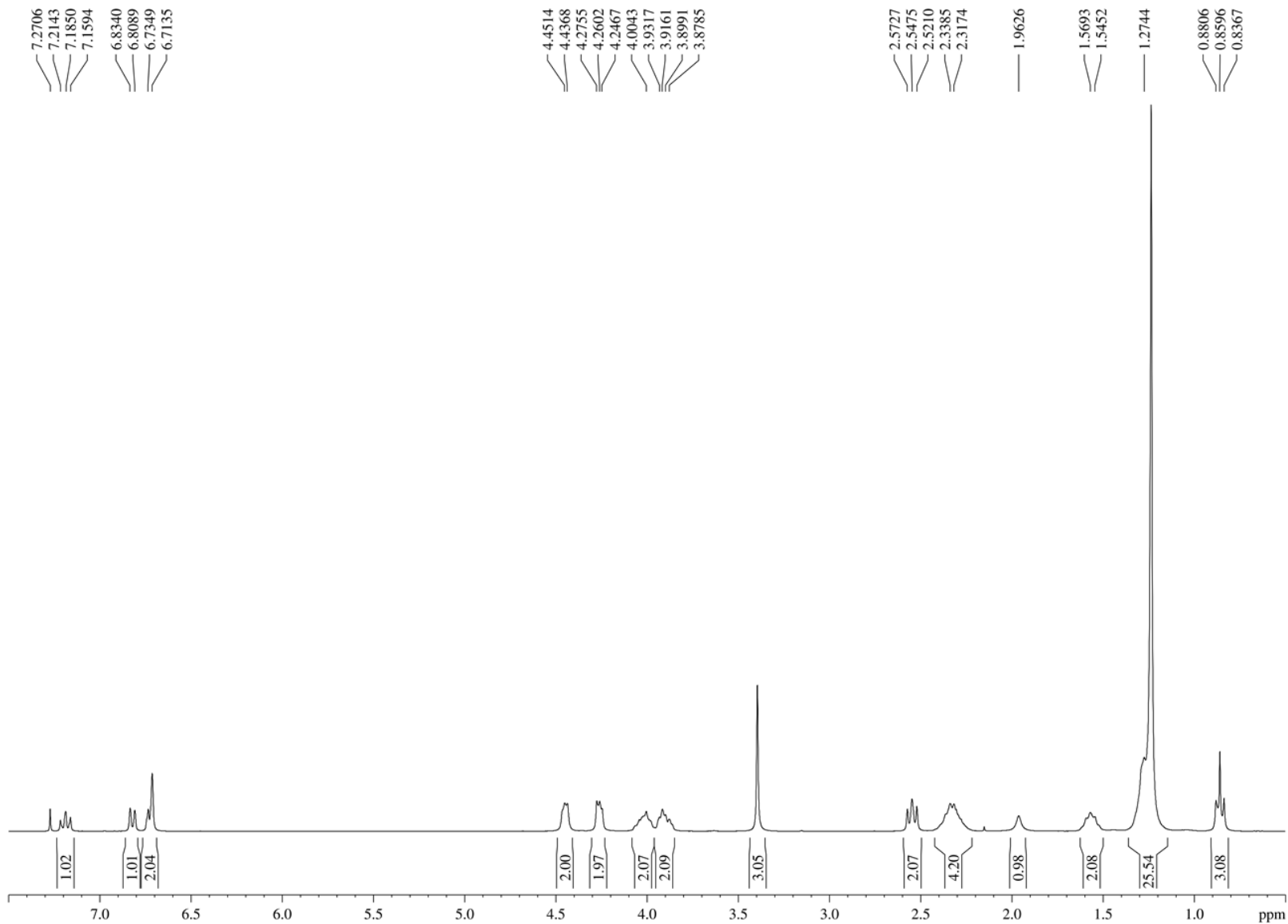
CAH38 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^1\text{H}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Debora 13.11.2019

Current Data Parameters
 NAME CAH38
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191113
 Time 11.23
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 16
 DS 0
 SWH 6172.839 Hz
 FIDRES 0.094190 Hz
 AQ 5.3084660 sec
 RG 114
 DW 81.000 usec
 DE 6.00 usec
 TE 299.0 K
 D1 1.0000000 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^1H
 P1 11.16 usec
 PL1 3.00 dB
 SFO1 300.1318534 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 300.1300125 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00



ANEXO XXXV – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3
1-Metil-1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]pirrolidínio (LDT309,23)

CAH38 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [13C/CDC13/303K] Operador Debora 13.11.2019

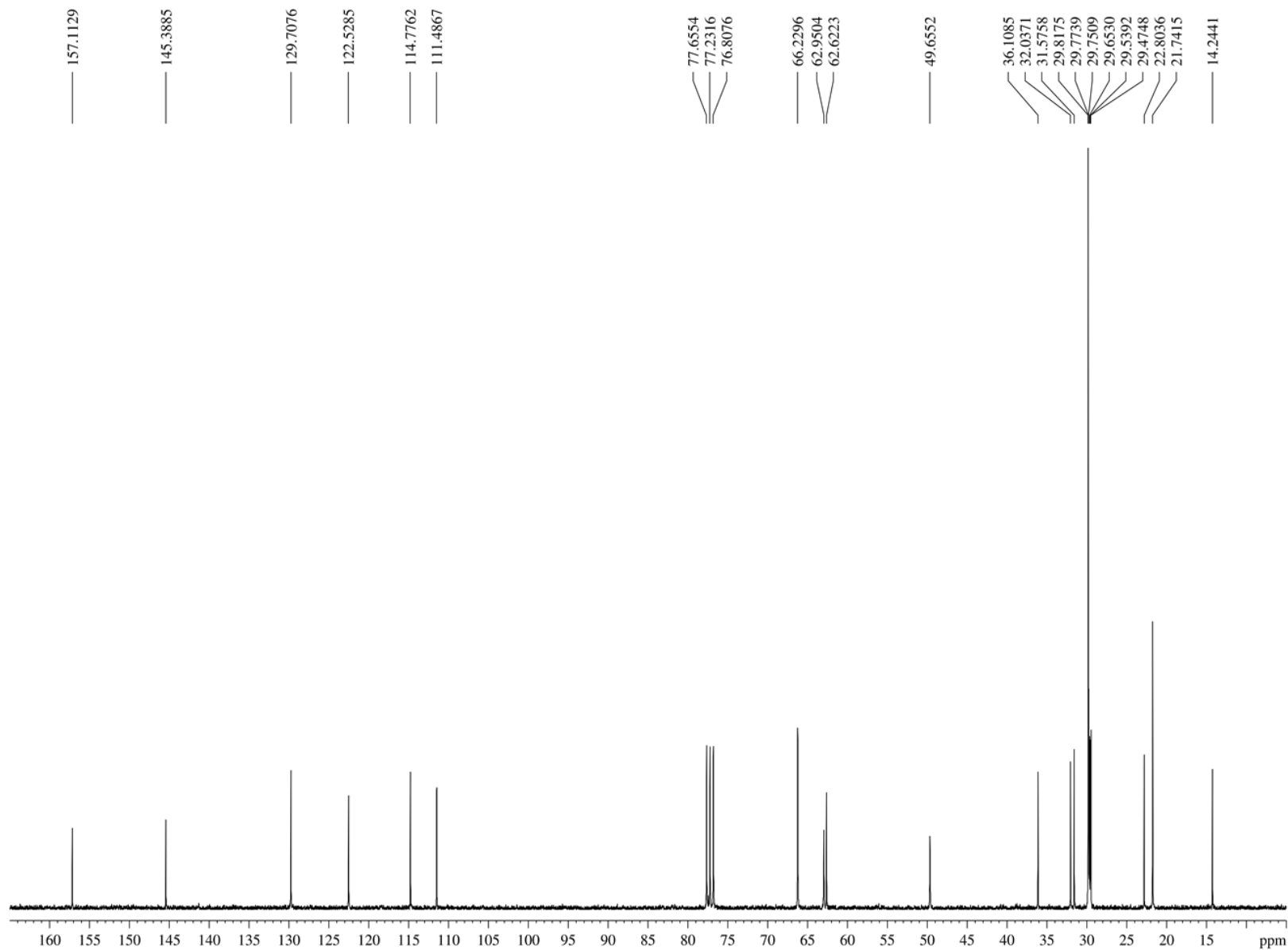
Current Data Parameters
 NAME CAH38
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191113
 Time 11.57
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zgpg
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 512
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 32768
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 300.9 K
 D1 2.0000000 sec
 d11 0.03000000 sec
 DELTA 1.89999998 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 PL13 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677414 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO XXXVI – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)
1-Metil-1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]pirrolidínio (LDT309,23)

CAH38 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) $^{1}\text{H}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$ Operador Debora 13.11.2019

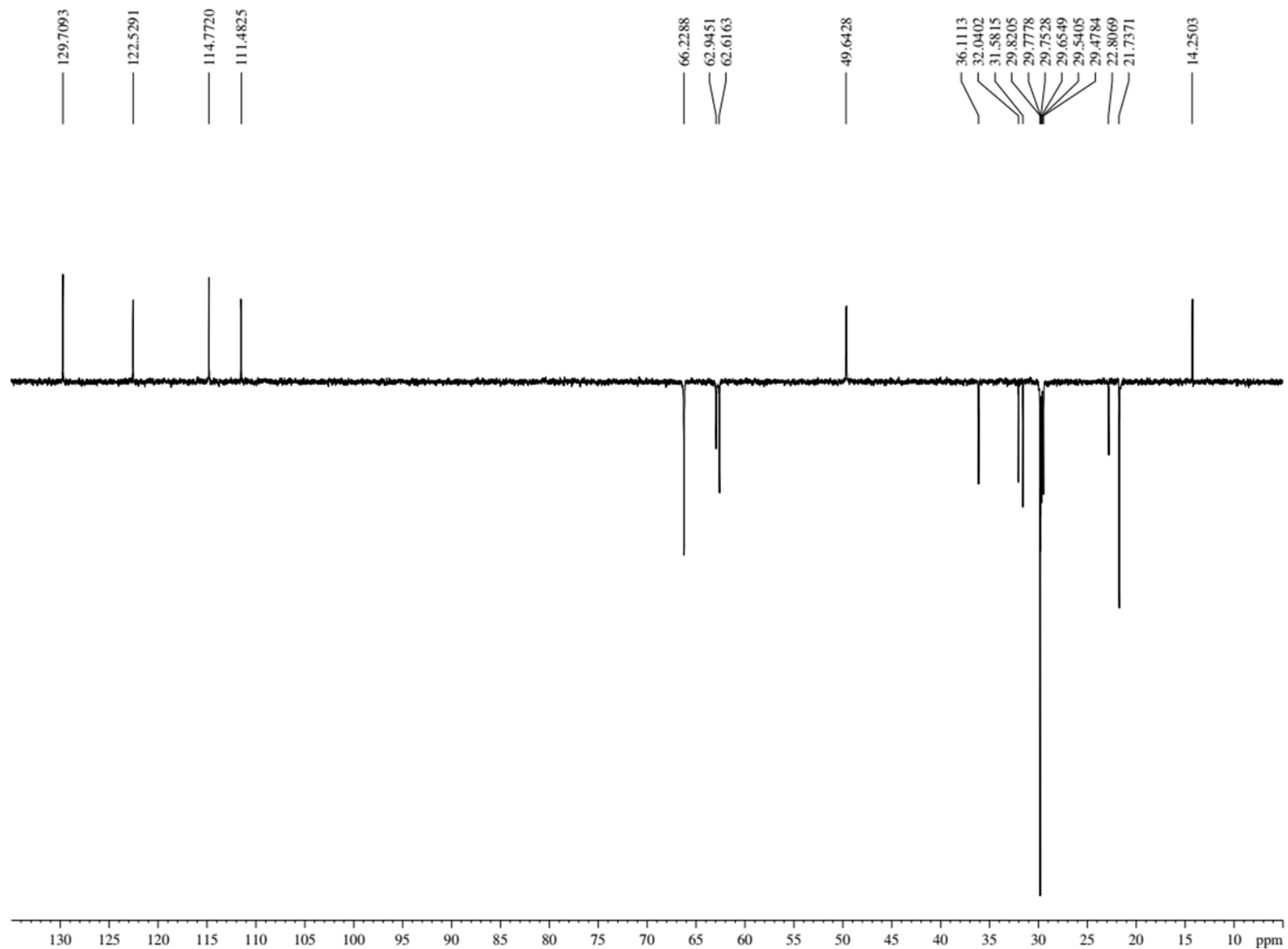
Current Data Parameters
 NAME CAH38
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20191113
 Time 12.11
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 256
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 16384
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 301.1 K
 CNST2 145.0000000
 D1 2.00000000 sec
 d2 0.00344828 sec
 dI2 0.00002000 sec
 DELTA 0.00001496 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 p2 23.50 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 P3 13.20 usec
 p4 26.40 usec
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677414 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



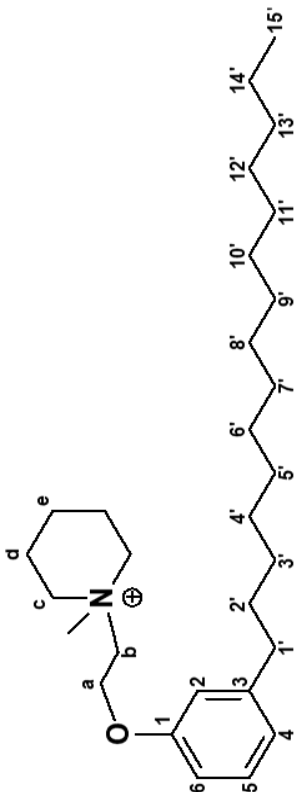
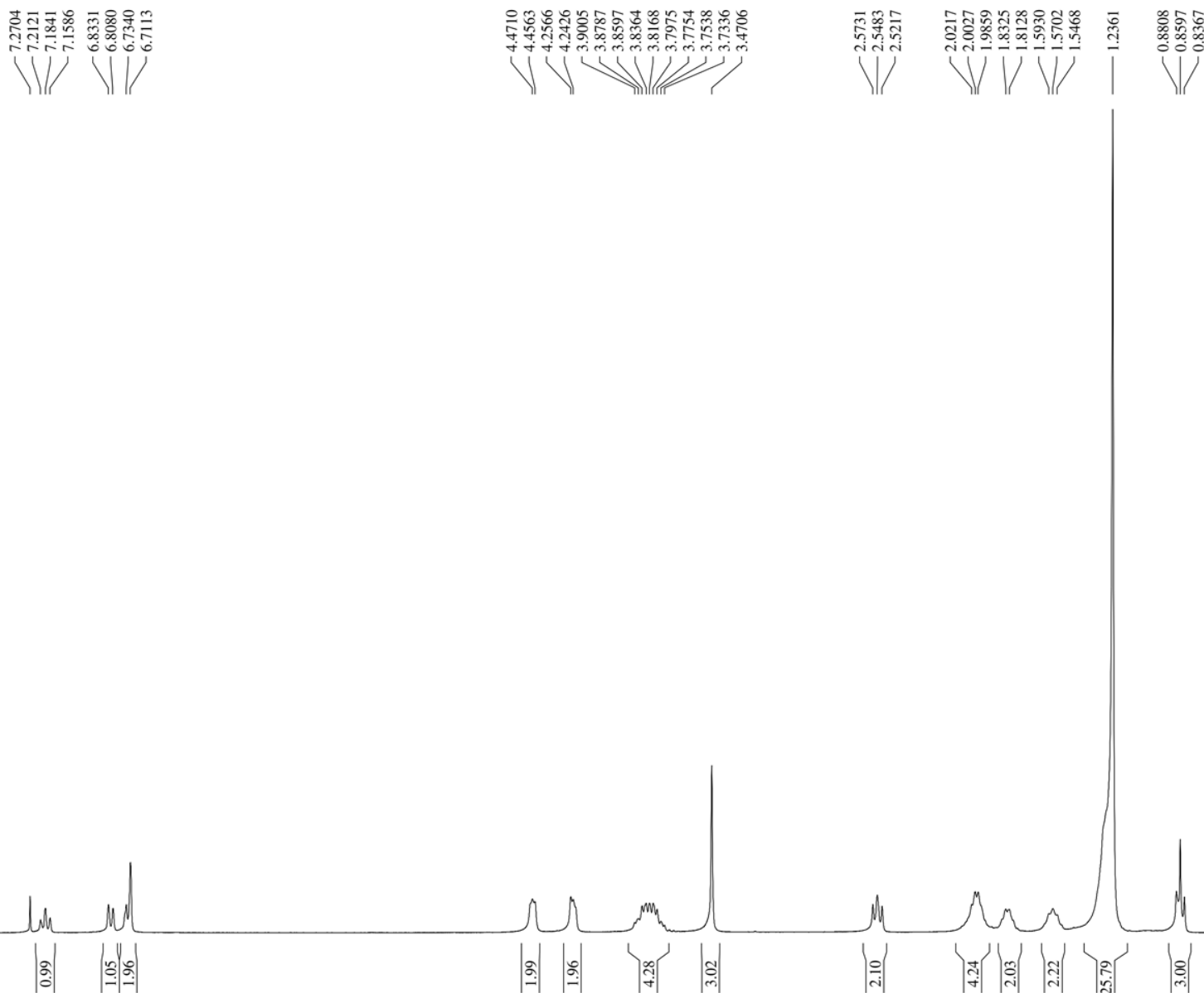
ANEXO XXXVII – Espectro de RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3 CAH 29 (Luiz Romeiro/ Cleonice – UnB) [$^1\text{H}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Chagas

Current Data Parameters
 NAME Luiz Romeiro – Cleonice
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20190812
 Time 17.52
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 8
 DS 0
 SWH 7183.908 Hz
 FIDRES 0.109618 Hz
 AQ 4.5613556 sec
 RG 71.8
 DW 69.600 usec
 DE 10.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 1.0000000 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^1H
 P1 10.88 usec
 PL1 3.00 dB
 SFO1 300.1324010 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 300.1300125 MHz
 WDW no
 SSB 0
 LB 0.00 Hz
 GB 0
 PC 1.00



ANEXO XXXV – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3
1-Metil-1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperidínio (LDT310,24)

CAH 29 (Luiz Romeiro/ Cleonice – UnB) [13C/CDCl3/303K] Chagas

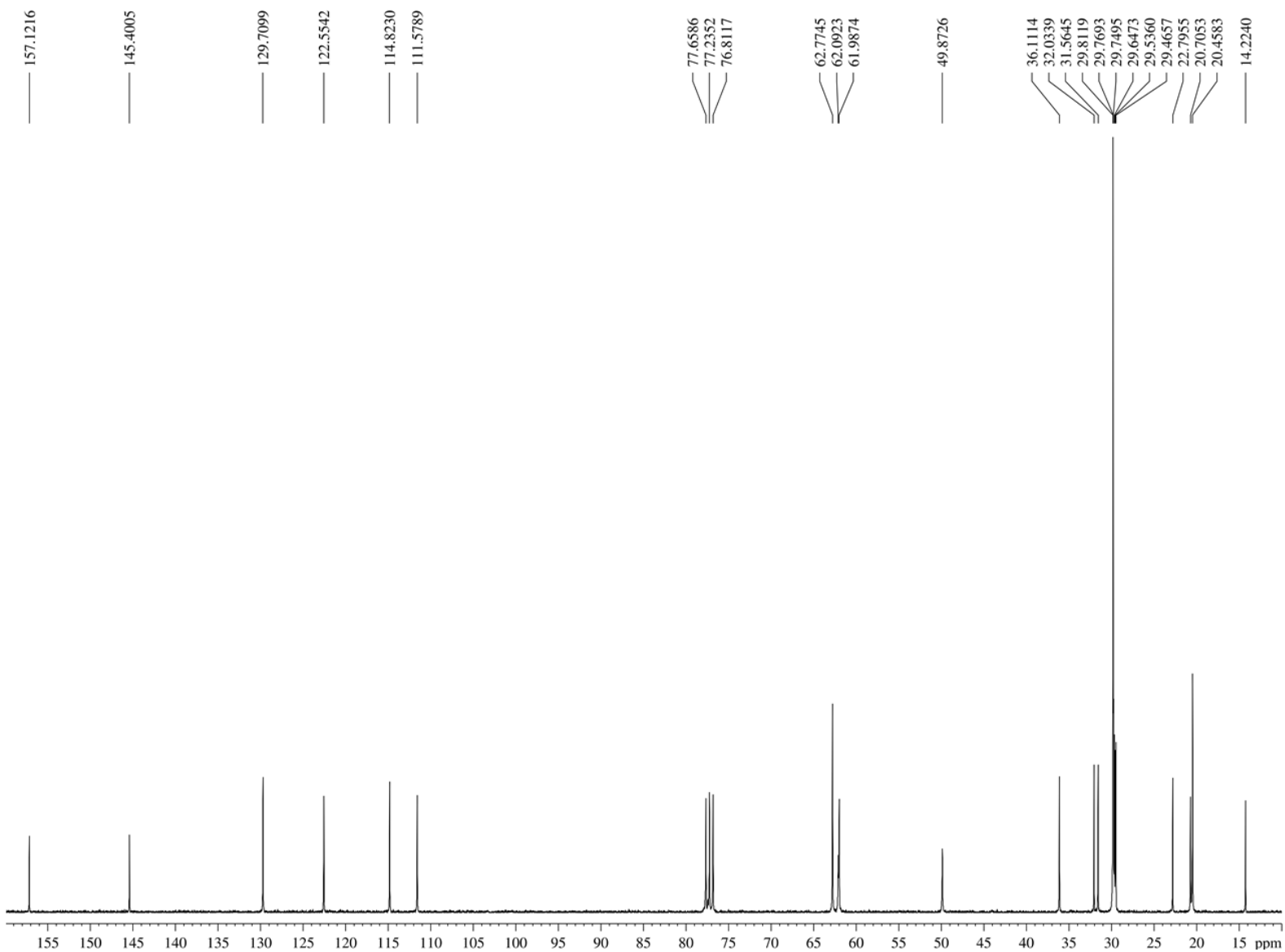
Current Data Parameters
 NAME Luiz Romeiro – Cleonice
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20190812
 Time 20.05
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zgpg
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 2048
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 32768
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 2.00000000 sec
 d11 0.03000000 sec
 DELTA 1.89999998 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 PL13 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677404 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO XXXIX – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (APT)
1-Metil-1-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperidínio (LDT310, 24)

CAH 29 (Luiz Romeiro/ Cleonice – UnB) [Dept135/CDC13/303K] Chagas

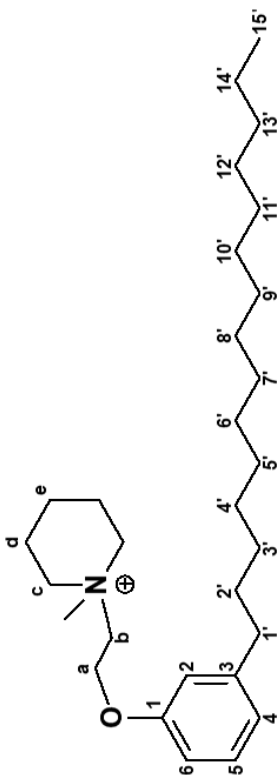
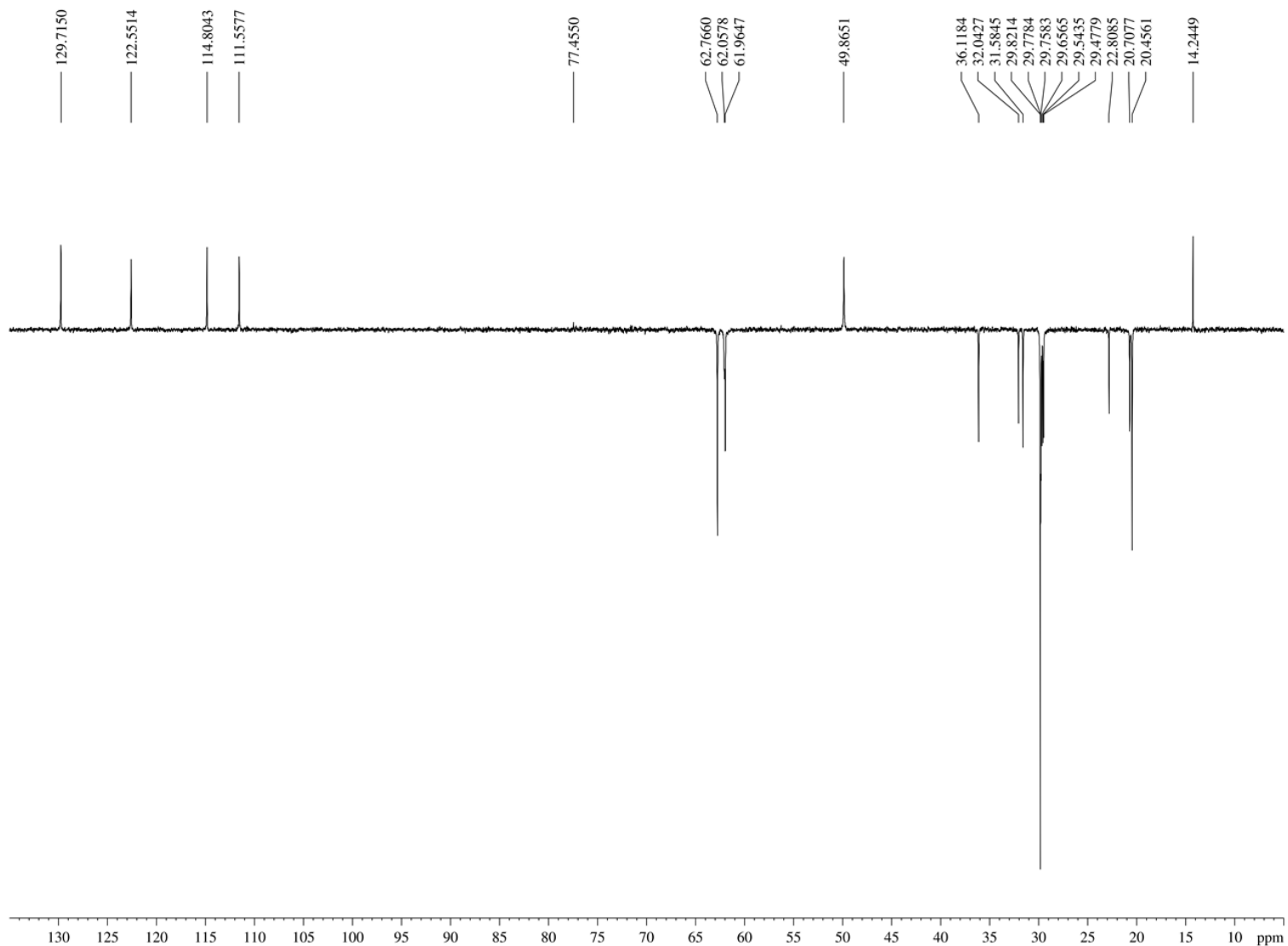
Current Data Parameters
 NAME Luiz Romeiro – Cleonice
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20190812
 Time 21.12
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 1024
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 16384
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 300.0 K
 CNST2 145.000000
 D1 2.0000000 sec
 d2 0.00344828 sec
 dI2 0.00002000 sec
 DELTA 0.00001496 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 p2 23.50 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 P3 13.20 usec
 p4 26.40 usec
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677404 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO XL – Espectro de RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3 4-Metil-4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]morfolínio (LDT311,25)

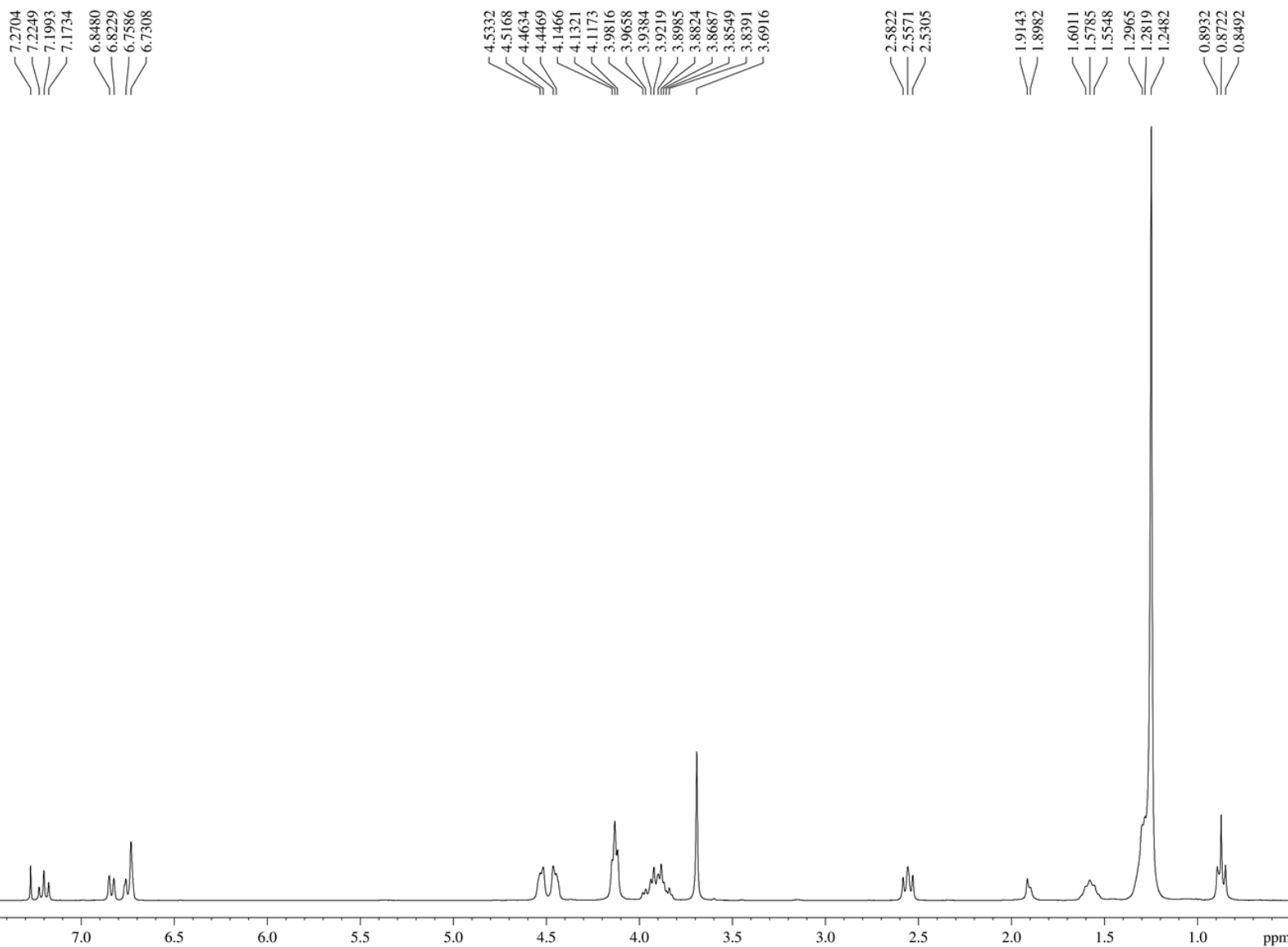
CAH48 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^1\text{H}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Debora 20.11.2019

Current Data Parameters
NAME CAH48
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
Date_ 20191120
Time 15.32
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual 13C/
PULPROG zg30
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 16
DS 0
SWH 6172.839 Hz
FIDRES 0.094190 Hz
AQ 5.3084660 sec
RG 114
DW 81.000 usec
DE 6.00 usec
TE 298.3 K
D1 1.0000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 ^1H
P1 11.16 usec
PL1 3.00 dB
SFO1 300.1318534 MHz

F2 – Processing parameters
SI 32768
SF 300.1300125 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



ANEXO XLI – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 4-Metil-4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]morfolínio (LDT311, 25)

CAH48 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^{13}\text{C}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Debora 20.11.2019

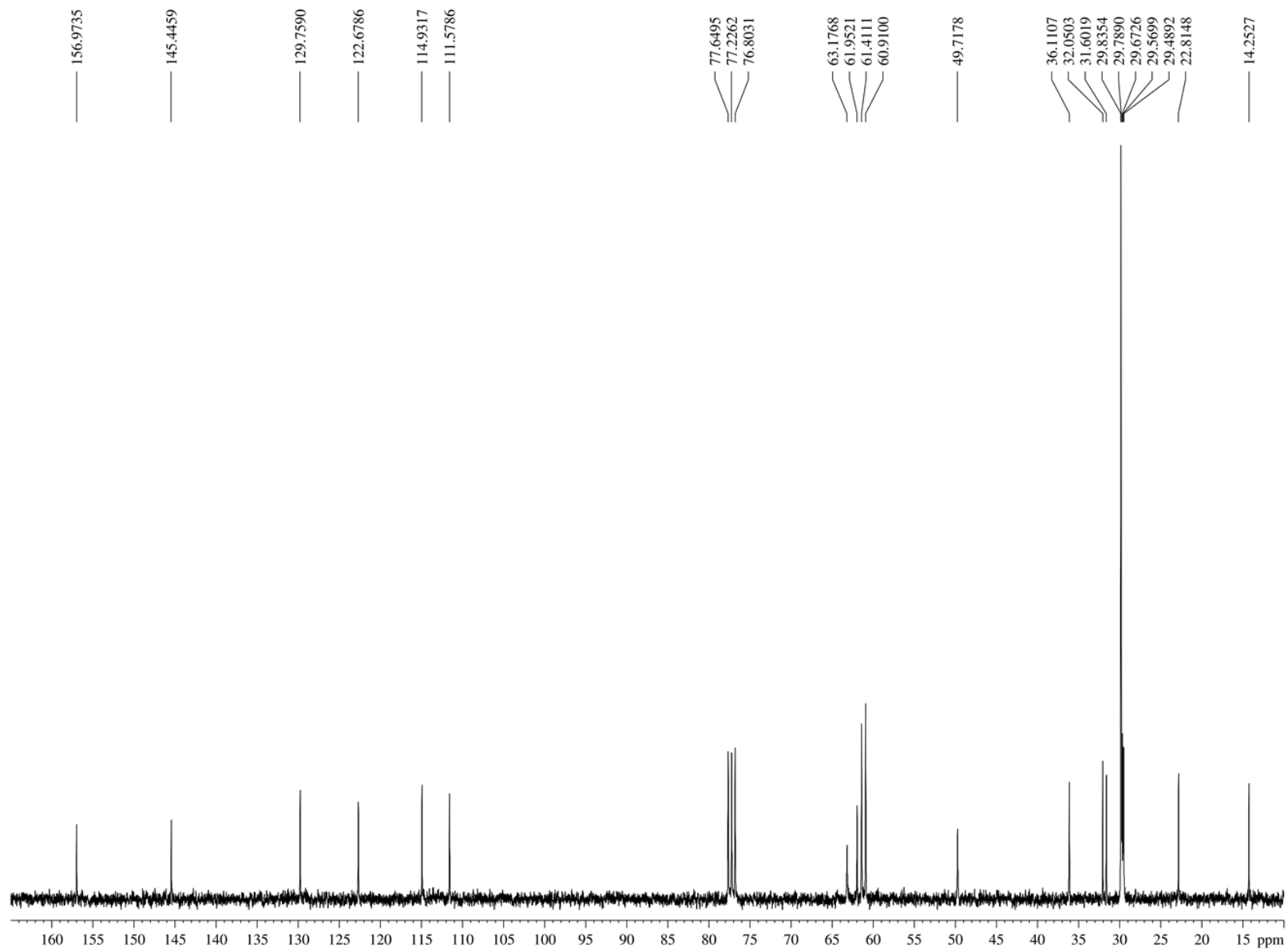
Current Data Parameters
NAME CAH48
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
Date_ 20191120
Time 11.42
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual $^{13}\text{C}/$
PULPROG zgpg
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 128
DS 4
SWH 17985.611 Hz
FIDRES 0.274439 Hz
AQ 1.8219508 sec
RG 32768
DW 27.800 usec
DE 6.00 usec
TE 299.7 K
D1 2.0000000 sec
d11 0.0300000 sec
DELTA 1.8999998 sec
TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 ^{13}C
P1 11.75 usec
PL1 -3.00 dB
SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 ^1H
PCPD2 80.00 usec
PL2 3.00 dB
PL12 18.65 dB
PL13 18.65 dB
SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
SI 32768
SF 75.4677407 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



ANEXO XLII – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)
4-Metil-4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]morfolínio (LDT311,25)

CAH48 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [DEPT135/ CDCl_3 /303K] Operador Debora 20.11.2019

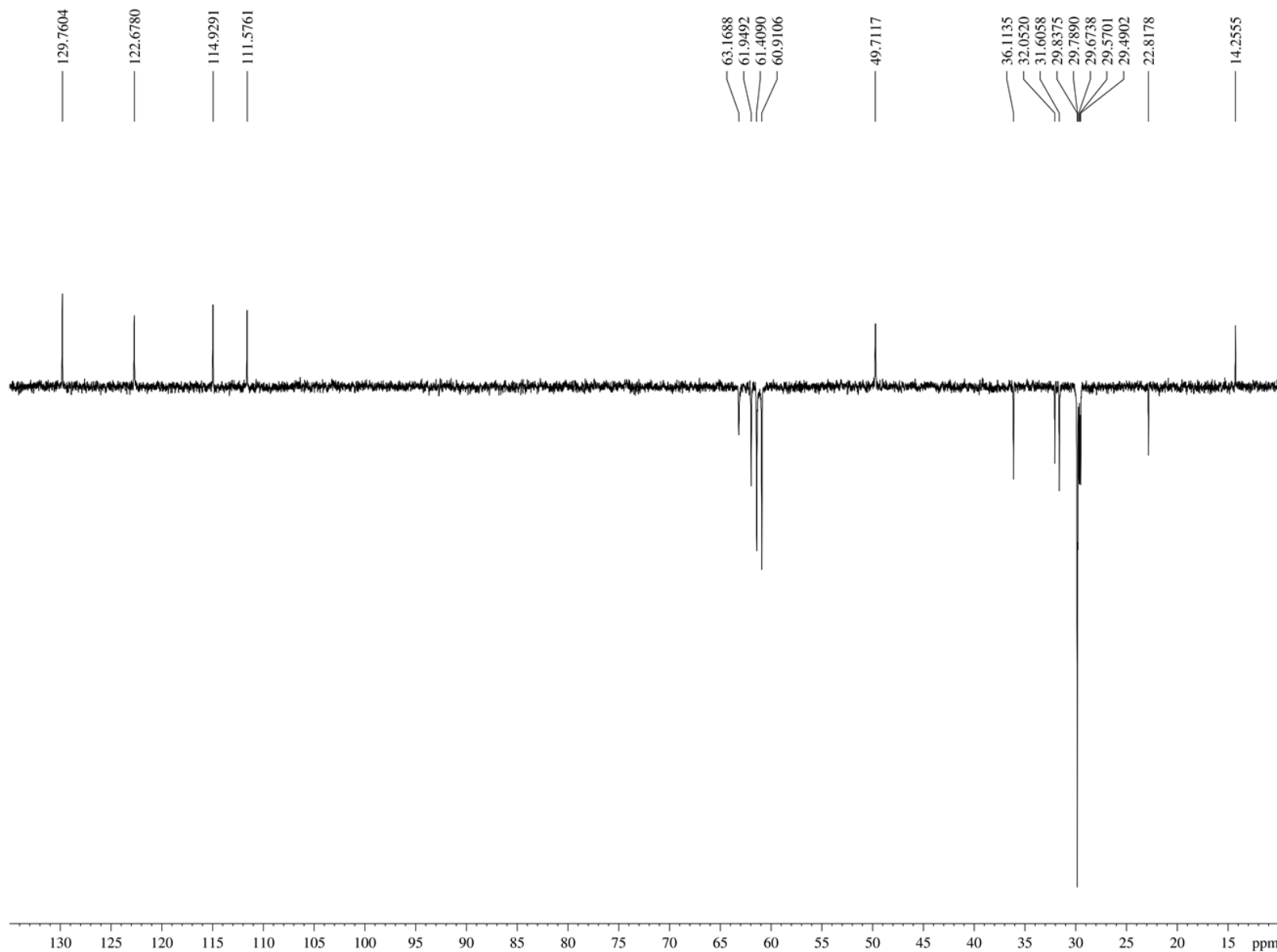
Current Data Parameters
 NAME CAH48
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191120
 Time 11.51
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 128
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 16384
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 299.3 K
 CNST2 145.000000
 D1 2.0000000 sec
 d2 0.00344828 sec
 d12 0.00002000 sec
 DELTA 0.00001496 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 p2 23.50 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 P3 13.20 usec
 p4 26.40 usec
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677407 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO XLIII– Espectro de RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3
4-Metil-4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]tiomorfolínio (LDT312,26)

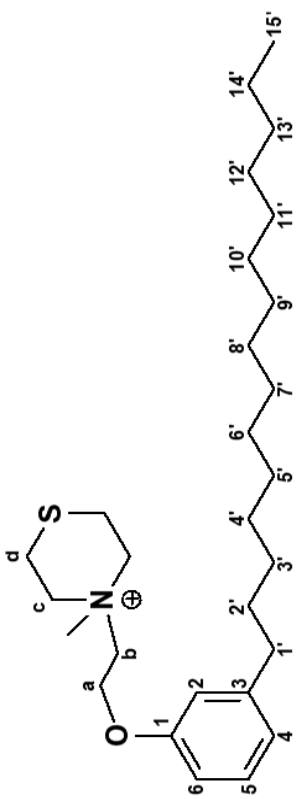
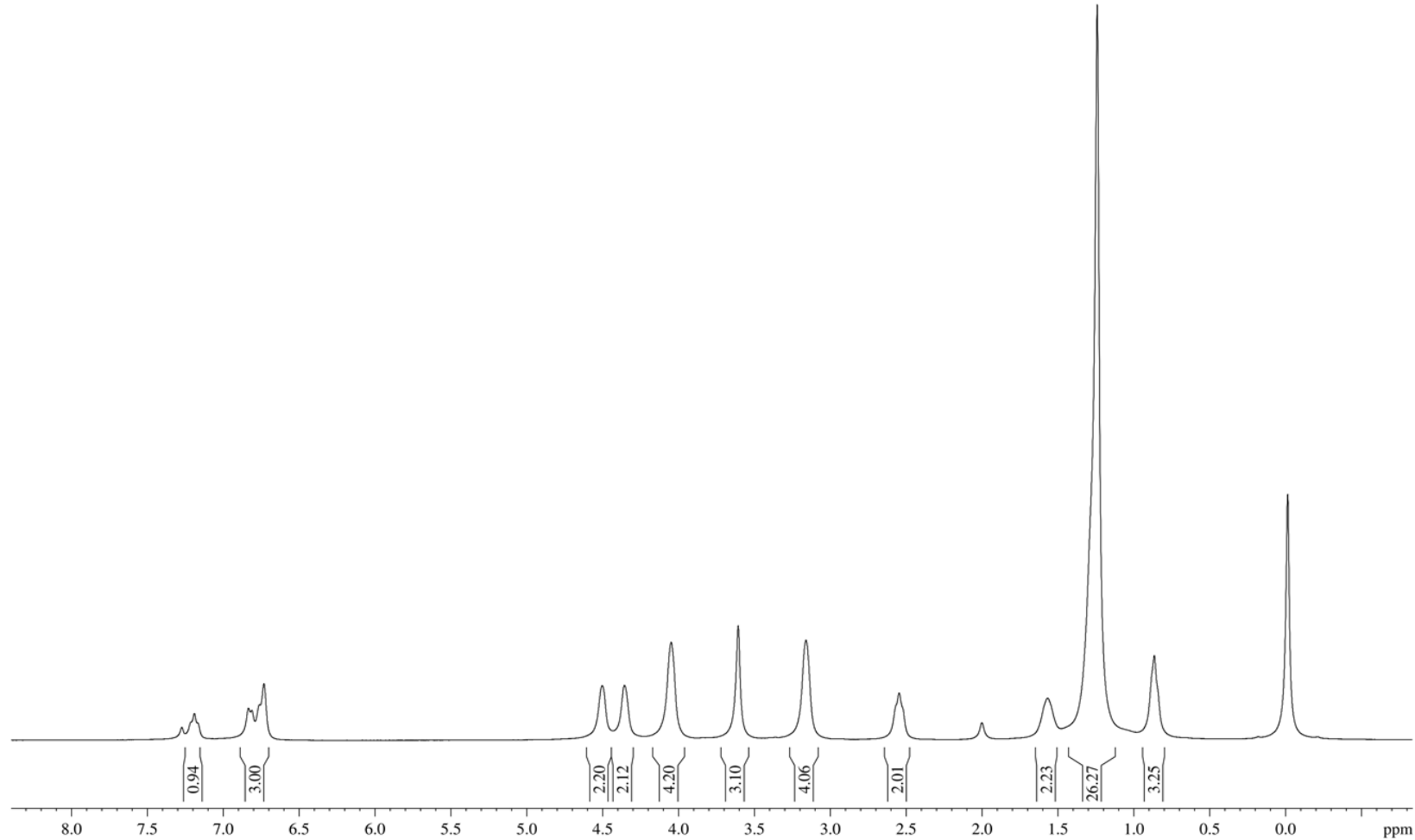
CAH45 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^1\text{H}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Debora 20.11.2019

Current Data Parameters
 NAME CAH45
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191120
 Time 10.36
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 16
 DS 0
 SWH 6172.839 Hz
 FIDRES 0.094190 Hz
 AQ 5.3084660 sec
 RG 114
 DW 81.000 usec
 DE 6.00 usec
 TE 298.7 K
 D1 1.00000000 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^1H
 P1 11.16 usec
 PL1 3.00 dB
 SFO1 300.1318534 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 300.1300124 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00



ANEXO XLIV – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 4-Metil-4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]tiomorfolínio (LDT312,26)

CAH45 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [13C/CDCl3/303K] Operador Debora 20.11.2019

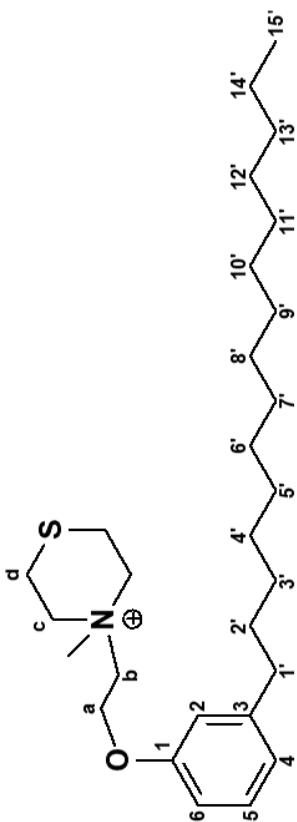
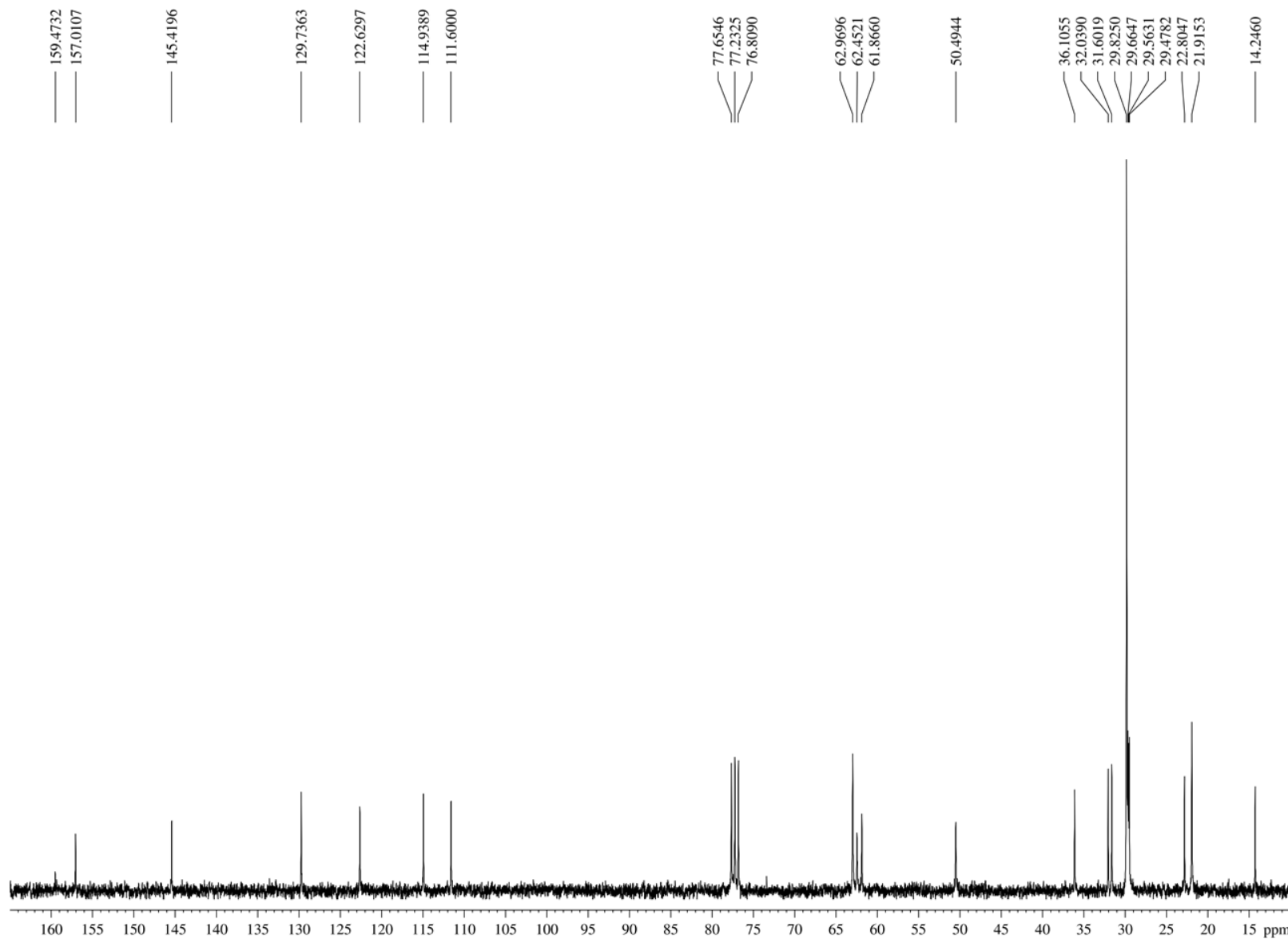
Current Data Parameters
NAME CAH45
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
Date_ 20191120
Time 10.45
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual 13C/
PULPROG zgpg
TD 65536
SOLVENT CDCl3
NS 128
DS 4
SWH 17985.611 Hz
FIDRES 0.274439 Hz
AQ 1.8219508 sec
RG 32768
DW 27.800 usec
DE 6.00 usec
TE 299.7 K
D1 2.00000000 sec
d11 0.03000000 sec
DELTA 1.89999998 sec
TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 11.75 usec
PL1 -3.00 dB
SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 80.00 usec
PL2 3.00 dB
PL12 18.65 dB
PL13 18.65 dB
SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
SI 32768
SF 75.4677417 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



ANEXO XLV – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)
4-Metil-4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]tiomorfolínio (LDT312, 26)

CAH45 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [DEPT135/ CDCl_3 /303K] Operador Debora 20.11.2019

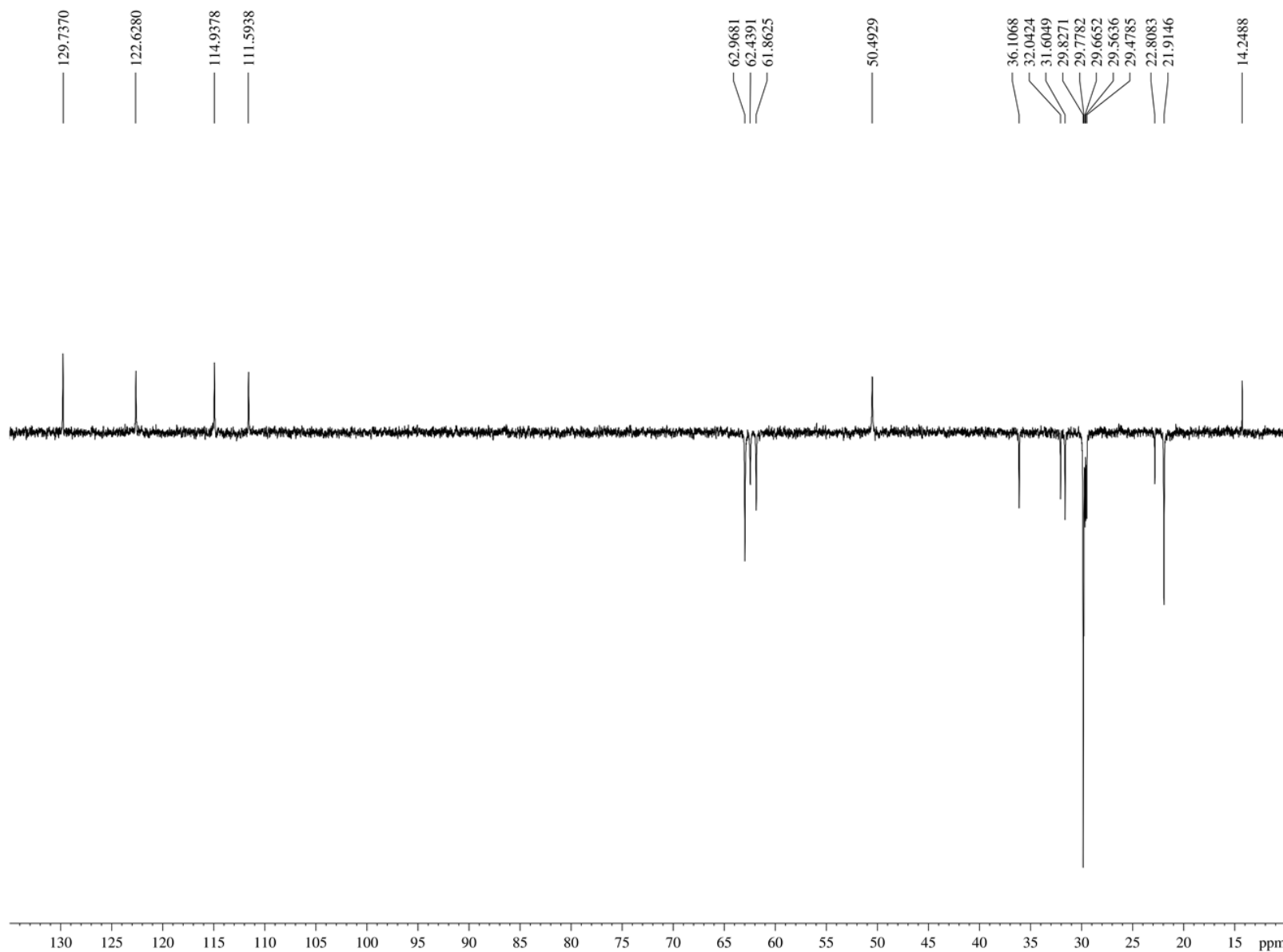
Current Data Parameters
 NAME CAH45
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191120
 Time 10.54
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 128
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 16384
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 299.3 K
 CNST2 145.000000
 D1 2.00000000 sec
 d2 0.00344828 sec
 d12 0.00002000 sec
 DELTA 0.00001496 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 p2 23.50 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 P3 13.20 usec
 p4 26.40 usec
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677417 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO XLIX– Espectro de RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3 1,1-Dimetil-4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperazínio (LDT314,27)

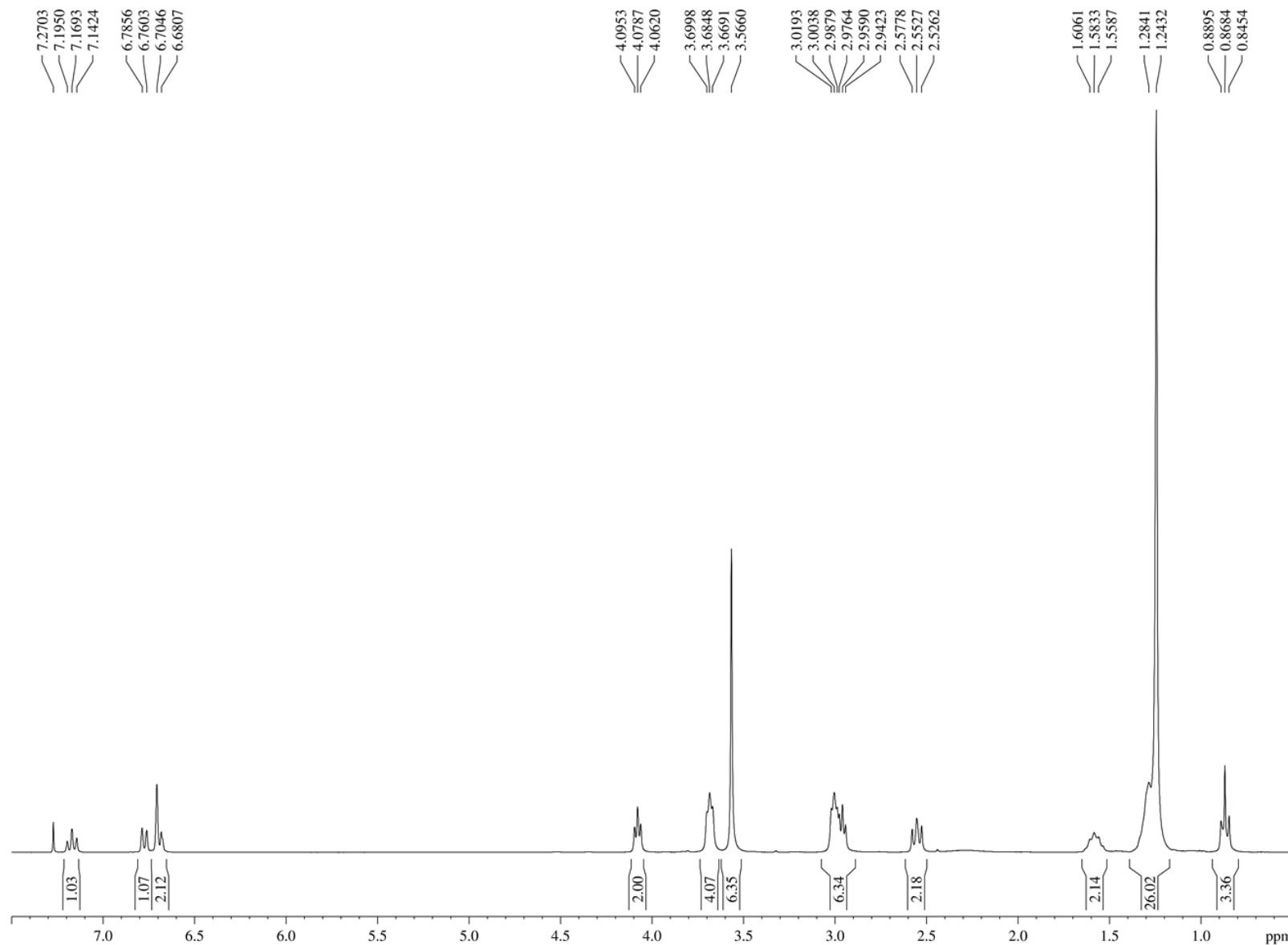
CAH52 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^1\text{H}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Debora 20.11.2019

Current Data Parameters
NAME CAH52
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
Date_ 20191120
Time 12.31
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual 13C/
PULPROG zg30
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 8
DS 0
SWH 6172.839 Hz
FIDRES 0.094190 Hz
AQ 5.3084660 sec
RG 114
DW 81.000 usec
DE 6.00 usec
TE 298.6 K
D1 1.0000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 ^1H
P1 11.16 usec
PL1 3.00 dB
SFO1 300.1318534 MHz

F2 – Processing parameters
SI 32768
SF 300.1300126 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



ANEXO L – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3
1,1-Dimetil-4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperazínio (LDT314,27)

CAH52 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^{13}\text{C}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Debora 20.11.2019

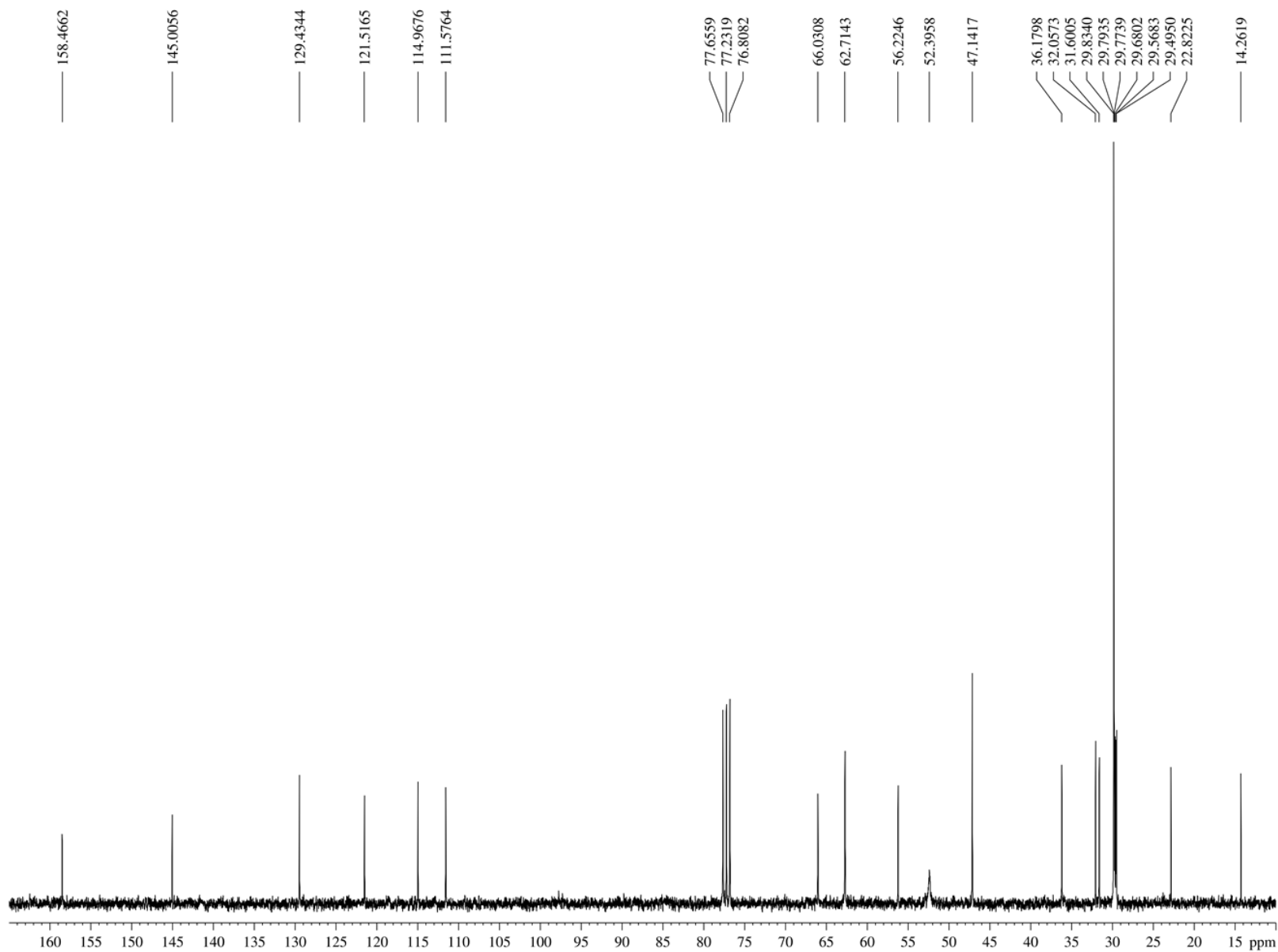
Current Data Parameters
 NAME CAH52
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191120
 Time 12.33
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual $^{13}\text{C}/$
 PULPROG zgpg
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 128
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 32768
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 299.1 K
 D1 2.00000000 sec
 d11 0.03000000 sec
 DELTA 1.89999998 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 PL13 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677402 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO LI– Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)
1,1-Dimetil-4-[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]piperazínio (LDT314,27)

CAH52 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [DEPT135/ CDCl_3 /303K] Operador Debora 20.11.2019

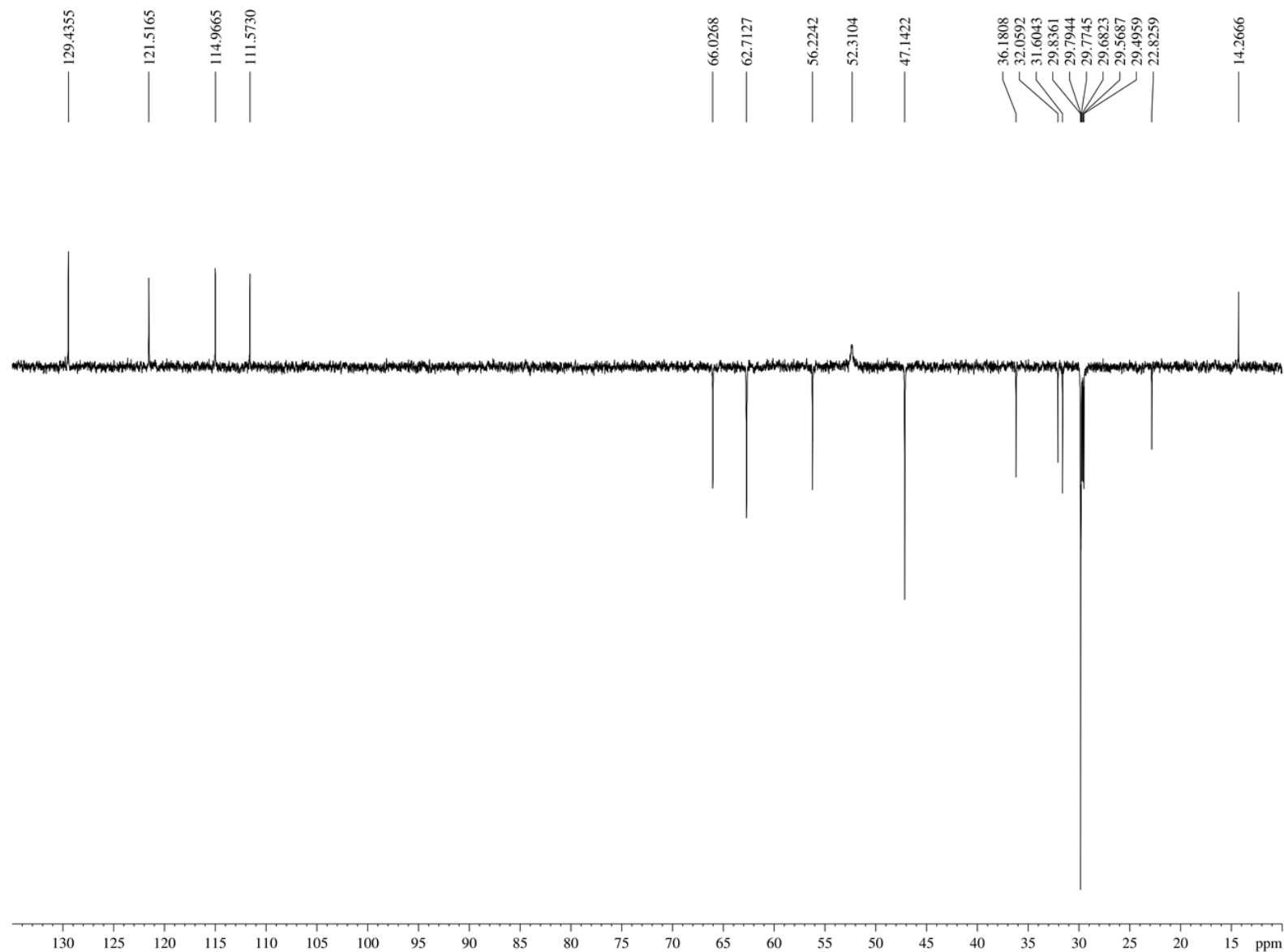
Current Data Parameters
 NAME CAH52
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191120
 Time 12.49
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT CDCl_3
 NS 128
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 16384
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 299.1 K
 CNST2 145.000000
 D1 2.00000000 sec
 d2 0.00344828 sec
 d12 0.00002000 sec
 DELTA 0.00001496 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 P2 23.50 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 P3 13.20 usec
 P4 26.40 usec
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677402 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



**ANEXO LII– Espectro de RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3
bis(2-hidróxietil)(metil)[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]azanio (LDT317,28)**

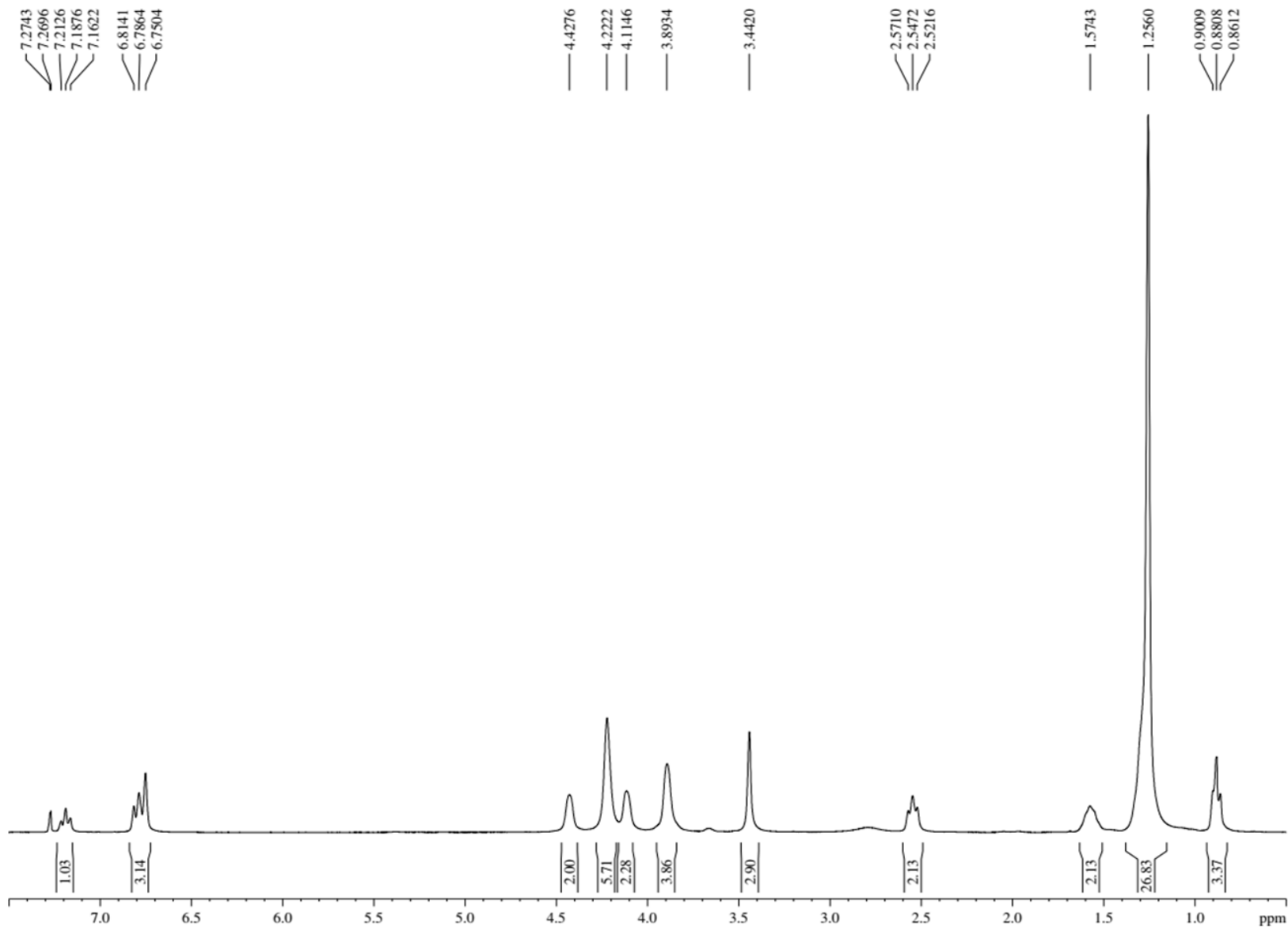
CAH51 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^1\text{H}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Debora 20.11.2019

Current Data Parameters
NAME CAH51
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
Date_ 20191120
Time 12.01
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual 13C/
PULPROG zg30
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 8
DS 0
SWH 6172.839 Hz
FIDRES 0.094190 Hz
AQ 5.3084660 sec
RG 114
DW 81.000 usec
DE 6.00 usec
TE 298.7 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 ^1H
P1 11.16 usec
PL1 3.00 dB
SFO1 300.1318534 MHz

F2 – Processing parameters
SI 32768
SF 300.1300118 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



ANEXO LIII – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3
bis(2-hidróxi)etil(metil)[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]azanio (LDT317,28)

CAH51 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [13C/CDCl3/303K] Operador Debora 20.11.2019

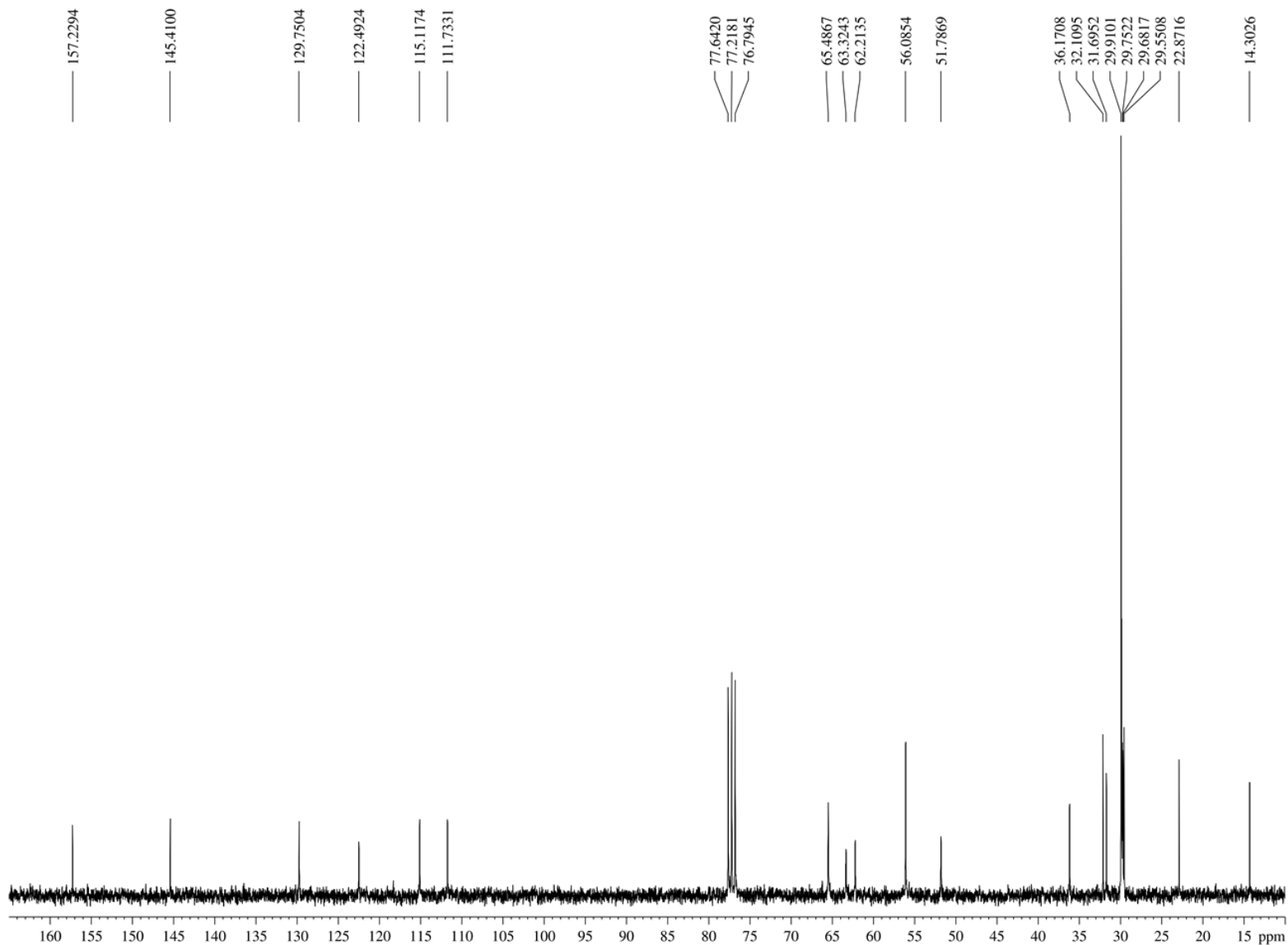
Current Data Parameters
 NAME CAH51
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191120
 Time 12.10
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zgpg
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 128
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 32768
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 299.7 K
 D1 2.0000000 sec
 d11 0.03000000 sec
 DELTA 1.89999998 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 PL13 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677378 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



**ANEXO LIV– Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)
bis(2-hidróxi)etil(metil)[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]azanio (LDT317, **28**)**

CAH51 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [DEPT135/ CDCl_3 /303K] Operador Debora 20.11.2019

Current Data Parameters
NAME CAH51
EXPNO 3
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20191120
Time 12.15
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual 13C/
PULPROG dept135
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 128
DS 4
SWH 17985.611 Hz
FIDRES 0.274439 Hz
AQ 1.8219508 sec
RG 16384
DW 27.800 usec
DE 6.00 usec
TE 299.2 K
CNST2 145.000000
D1 2.00000000 sec
d2 0.00344828 sec
d12 0.00002000 sec
DELTA 0.00001496 sec
TD0 1

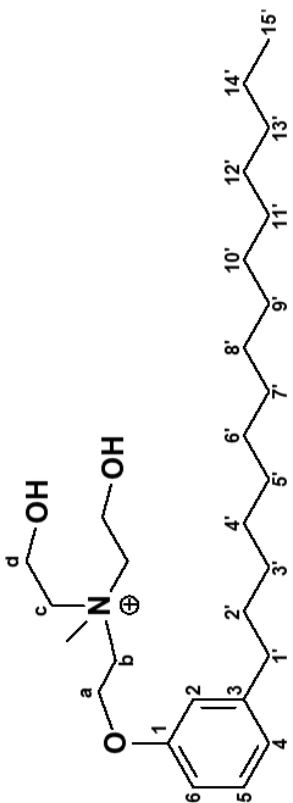
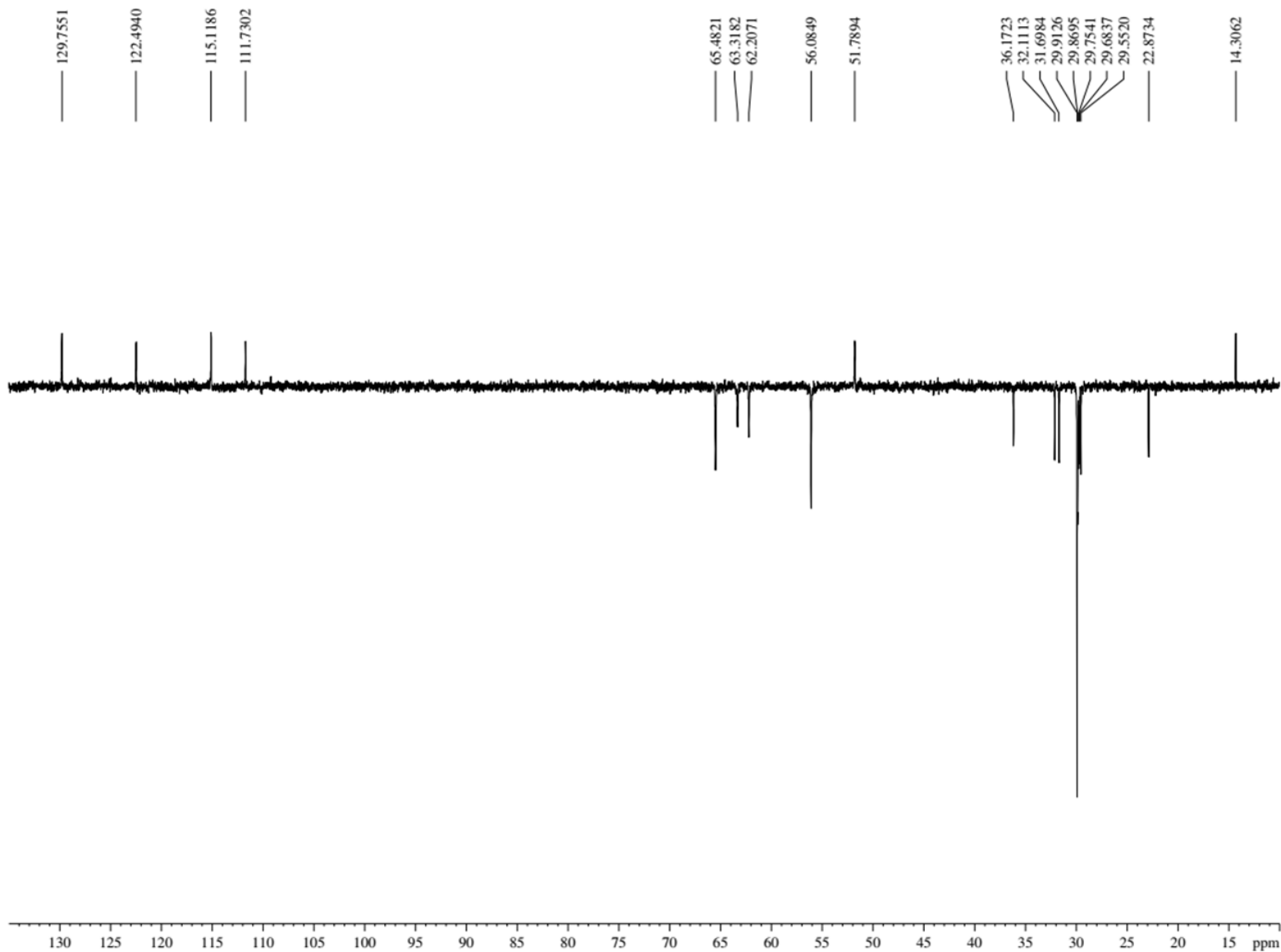
===== CHANNEL f1 =====

NUC1 ^{13}C
P1 11.75 usec
p2 23.50 usec
PL1 -3.00 dB
SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====

CPDPRG2 waltz16
NUC2 ^1H
P3 13.20 usec
p4 26.40 usec
PCPD2 80.00 usec
PL2 3.00 dB
PL12 18.65 dB
SFO2 300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4677378 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



**ANEXO LV– Espectro de RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3
Dietil(metil)[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]azanio (LDT308,29)**

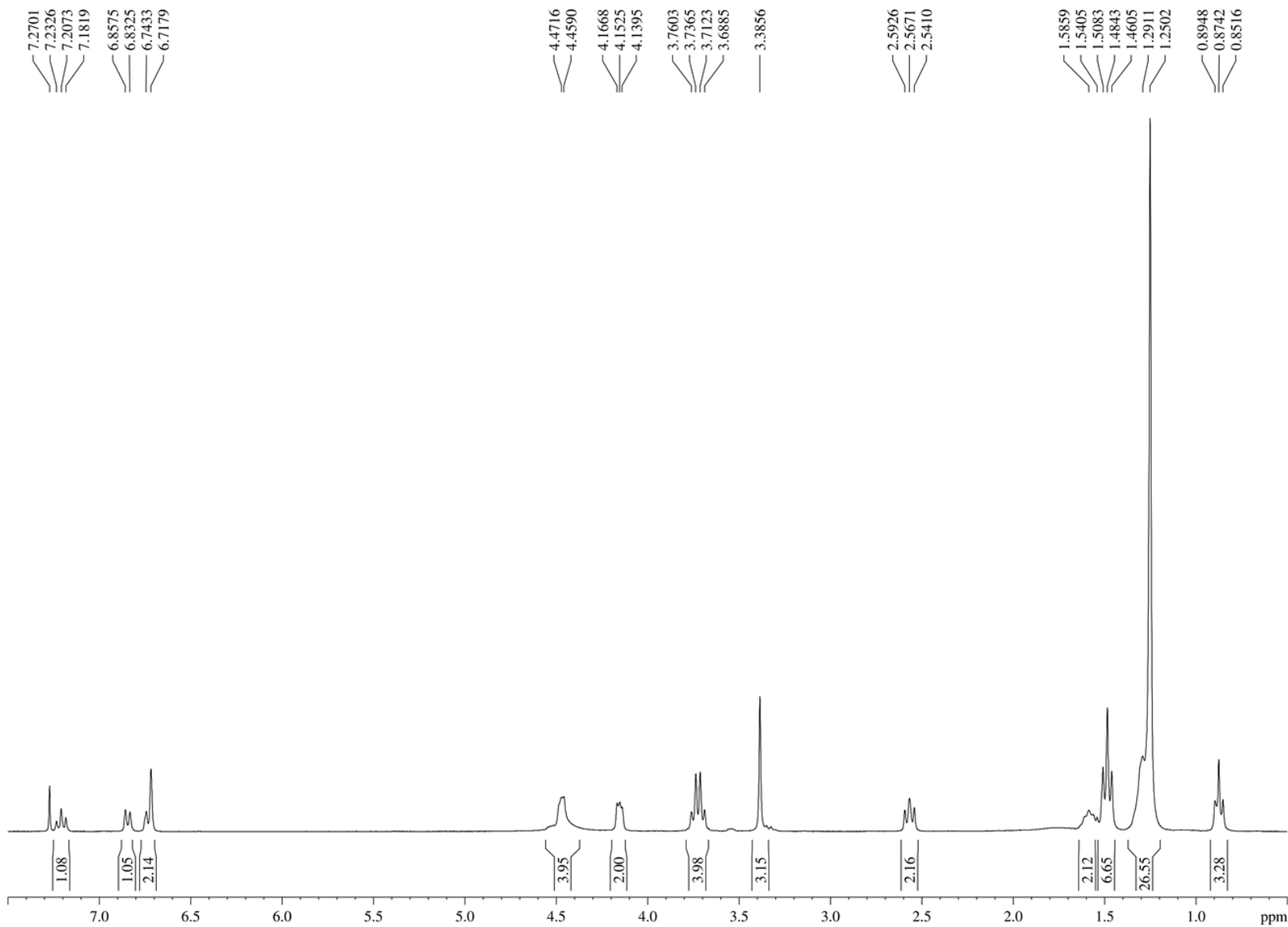
CAH 65 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [$^1\text{H}/\text{CDCl}_3/303\text{K}$] Operador Débora 27.11.2019

Current Data Parameters
NAME CAH 65
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
Date_ 20191127
Time 16.39
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual 13C/
PULPROG zg30
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 8
DS 0
SWH 7183.908 Hz
FIDRES 0.109618 Hz
AQ 4.5613556 sec
RG 181
DW 69.600 usec
DE 10.00 usec
TE 302.2 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 ^1H
P1 10.88 usec
PL1 3.00 dB
SFO1 300.1324010 MHz

F2 – Processing parameters
SI 32768
SF 300.1300124 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



ANEXO LVI – Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3
Dietil(metil)[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]azanio (LDT308,29)

CAH 65 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [13C/CDCl3/303K] Operador Débora 27.11.2019

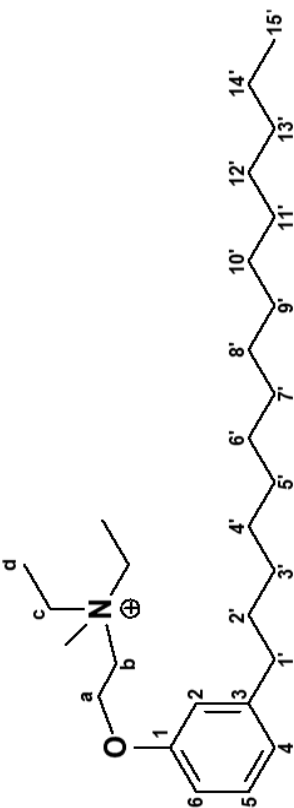
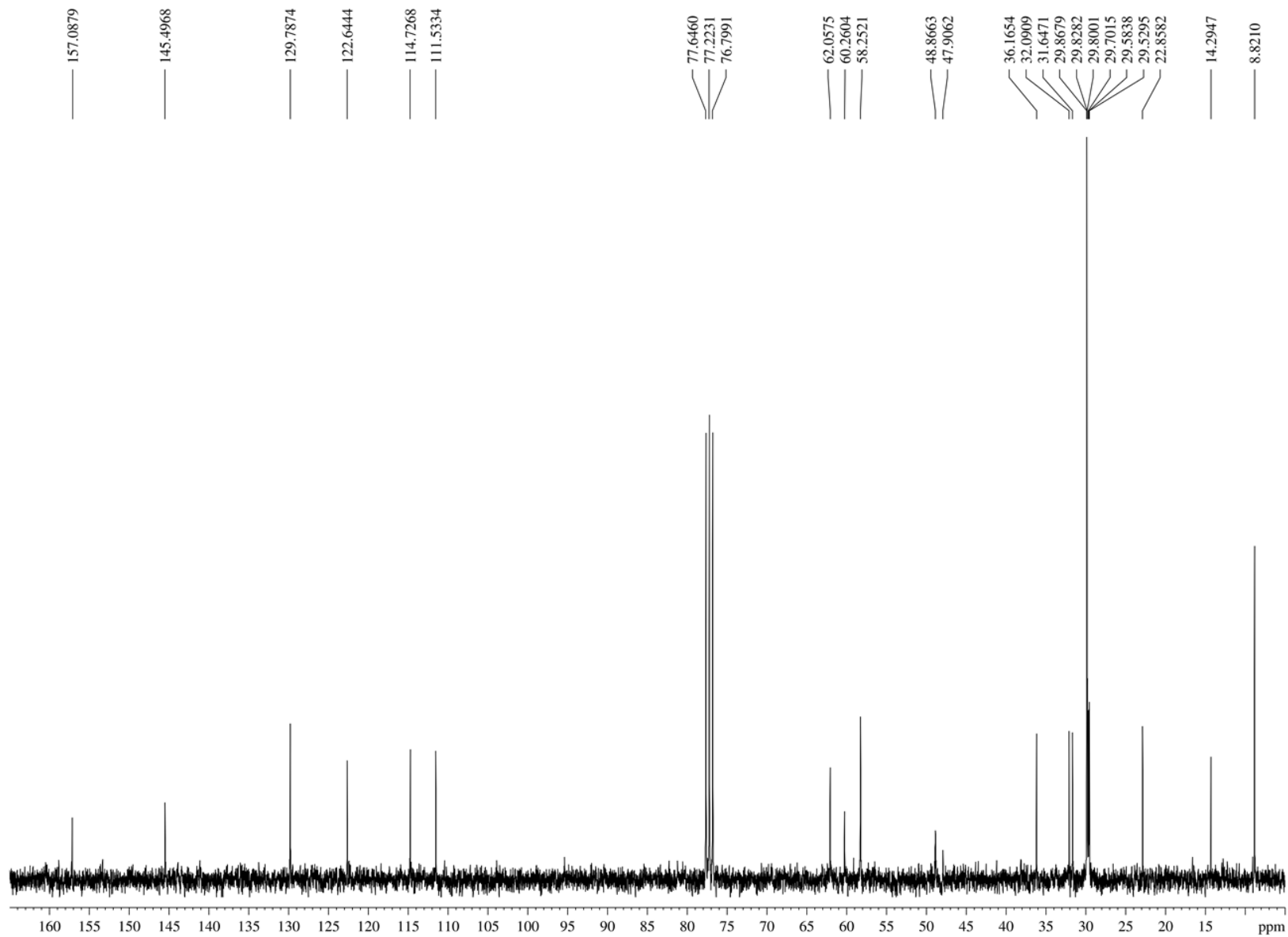
Current Data Parameters
 NAME CAH 65
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191127
 Time 16.47
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG zgpg
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 128
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 32768
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 303.3 K
 D1 2.00000000 sec
 d11 0.03000000 sec
 DELTA 1.89999998 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 PL13 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677384 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40



ANEXO LVII– Espectro de RMN ^{13}C , 75 MHz, CDCl_3 (DEPT135)
Dietil(metil)[2-(3-pentadecilfenóxi)etil]azanio (LDT308,29)

CAH 65 (Luiz Romeiro / Cleonice Andrade – UnB) [DEPT135/CDCl3/303K] Operador Débora 27.11.2019

Current Data Parameters
 NAME CAH 65
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 – Acquisition Parameters
 Date_ 20191127
 Time 16.52
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C/
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 64
 DS 4
 SWH 17985.611 Hz
 FIDRES 0.274439 Hz
 AQ 1.8219508 sec
 RG 16384
 DW 27.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 302.8 K
 CNST2 145.000000
 D1 2.00000000 sec
 d2 0.00344828 sec
 d12 0.00002000 sec
 DELTA 0.00001496 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 ^{13}C
 P1 11.75 usec
 p2 23.50 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 75.4752953 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 ^1H
 P3 13.20 usec
 p4 26.40 usec
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 3.00 dB
 PL12 18.65 dB
 SFO2 300.1312005 MHz

F2 – Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4677384 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

