



**UnB - UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**IQ – INSTITUTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Síntese, Estudos Fotofísicos e Imageamento Celular de  
Peptóides-Cumarínicos Fluorescentes baseados em  
Reações de Ugi.**

**SAULO DE TARSO ALVES DOS PASSOS**

**ORIENTADOR: Dr. WENDER ALVES DA SILVA**

**BRASÍLIA, 2016**

**UnB - UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**IQ – INSTITUTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**



**LABORATÓRIO DE PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE PRODUTOS  
ATIVOS**

**Síntese, Estudos Fotofísicos e Imageamento Celular de  
Peptóides-Cumarínicos Fluorescentes baseados em  
Reações de Ugi.**

**SAULO DE TARSO ALVES DOS PASSOS**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Química como pré-requisito para obtenção  
do título de Mestre**

**BRASÍLIA, 2016**

“Um passo à frente e  
você não está mais no  
mesmo lugar.”

Chico Science (1966-1997)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha avó Alda, por toda sua sabedoria e amor, pelos conselhos e ensinamentos. Por ser a melhor pessoa do mundo. Obrigado por existir e ser parte fundamental da minha vida.

À minha mãe Magdalena por ser meu porto seguro, pelo carinho nos momentos mais difíceis, pelo amor incondicional. Te amo, mãe!

Ao meu pai Saulo, por sempre estar disposto a ajudar, por sempre me fazer acreditar na minha capacidade e sempre me ensinar o caminho correto.

Ao meu irmão João por sempre me apoiar, me amar e sempre chegar com uma piada que me faça gargalhar, principalmente nos momentos mais sérios.

Ao Matias, pela força, pelas lições de vida e ensinamentos que com certeza me fez uma pessoa melhor.

Ao meu amigo e orientador, Wender, por me aceitar no LAPSCA, pela orientação, paciência, carinho e por compartilhar seus grandes conhecimentos. Valeu!

Ao Ângelo, Paterno, Peter, Brenno e Marcelo Cabra por terem engradecidos meus conhecimentos científicos, sempre disponíveis para discussões.

Aos meus amigos de UnB: Amigão, Daniel, Pink (também pela ajuda no projeto), Elias Cabritinha, Flávio, Bahia, Cuia, Ítalo, Jorge, Índio, Mamá, Harry, Nathan, Paulinho, Pepe, Pavonaldo, Cavinati, D2, Alemão Nareba (também pelos espectros de massa), Arílson.

Aos meus amigos do colégio: Renato, João Pedro e Henrique.

Aos amigos do LAPSCA/LAQMOS/LAQUIMET/LITMO: Paula, Lennine, Najla, Mathur, Emma, Angélica, Gisele, Tatá, Jean, Lucilia, Nichollas, George, Kadu, Giovanni, Baiano, Saulo, Joãozinho, Giselle, Haline, Mixaria, Betinho, Alberto e Thyago.

Ao professor José Raimundo pela parte do imageamento celular.

Aos membros da banca.

À CAPES e FAPDF pelo apoio financeiro.

## RESUMO

Reações multicomponentes (RMC`s) são amplamente conhecidas como processos em que três ou mais substratos são combinados de forma direta, ou seja, sem a necessidade de isolamento de intermediários, para a preparação de uma única estrutura. A reação de Ugi multicomponente é considerada a mais importante reação multicomponente baseada em isocianetos existente, pela sua versatilidade e pela simplicidade experimental em formar uma molécula relativamente complexa e pela economia de átomos.

Cumarinas são consideradas uma das mais importantes moléculas heterocíclicas existentes por causa da sua versatilidade de aplicações em vários segmentos da ciência e tecnologia, devido às suas características fluorescentes, sua ótima solubilidade e sua razoável estabilidade, além da sua fácil preparação.

Ao longo do projeto, foi possível sintetizar e caracterizar um acervo de quatorze peptóides fluorescentes utilizando cumarinas substituídas como substrato da reação. Estudo metodológico de síntese de isocianetos, um substrato essencial para que ocorra reação, também foi realizado através de uma síntese alternativa, mais rápida e simples quando comparadas com as usuais. Estudos das propriedades também foram feitos a fim de se elucidar efeitos solvatocrômicos desses peptóides, bem como seus mecanismos de estabilização no seu estado excitado. Por último, alguns peptóides foram utilizados como marcadores em células vivas, a fim de compreender como esses produtos se comportam no interior dessas células. Um dos peptóides se mostrou um excelente marcador específico para mitocôndrias.

Palavras-chave: Peptóides, Cumarinas, Reação de Ugi, Propriedades Fotofísicas.

## ***ABSTRACT***

Multicomponent Reactions (RMC`s) are widely known as processes in which three or more substrates are combined directly, without isolation of intermediates, for preparing a single structure. The Ugi reaction is considered the most important multicomponent reaction based on isocyanides by their versatility, the experimental simplicity to form a relatively complex molecule and atoms efficiency.

Coumarins are considered one of the most important existing heterocyclic molecules for their versatility of application in various segments of science and technology due to their fluorescent characteristics, optimal solubility and reasonable stability, in addition to easy preparation.

Throughout the project, it was possible to synthesize and characterize a collection of fourteen fluorescent peptoids using substituted coumarins as reaction substrates. Methodological study of isocyanides synthesis, essential substrates for reactions to occur, was also accomplished through an alternate, quicker and simpler synthesis when compared to usual. Procedures of the optical properties were also made to elucidate solvatochromic effects of peptoids as well their stabilization mechanisms in the excited state. Finally, some peptoids were used as markers in living cells in order to understand how these products behave within these cells. One of peptoids showed an excellent specific marker for mitochondria.

Keywords: Peptoids, coumarin, Ugi reaction, photophysical properties.

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS .....	iv
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
LISTA DE ESQUEMAS .....	viii
LISTA DE FIGURAS .....	x
LISTA DE TABELAS.....	xii
LISTA DE SIMBOLOS, NOMECLATURAS E ABREVIACOES.....	xiii
1. INTRODUÇÃO. ....	1
1.1. Reações multicomponentes baseada em Isocianetos (RMCI).....	3
1.2. Reações multicomponentes de Ugi (U-4CR). ....	6
1.2.1. Mecanismos da U-4CR.....	9
1.2.2. Aplicações recentes da U-4CR.....	11
1.3. O fenmeno da fluorescência e suas propriedades básicas. ....	15
1.4. Cumarinas e derivados fluorescentes.....	16
1.4.1. Métodos de preparação de derivados de cumarinas .....	18
1.4.2. Recentes aplicações de U-4CR utilizando derivados de cumarinas. ....	21
2. OBJETIVOS .....	23
2.1. Gerais .....	23
2.2. Específicos.....	23
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES. ....	24
3.1. Síntese de isocianetos.....	25
3.2. Síntese de derivados de cumarinas. ....	31
3.3. Síntese de peptoides fluorescentes.....	40
3.4. Análise fotofísica. ....	51
3.5. Imageamento Celular .....	57
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	61
5. CONCLUSÕES E PESPECTIVAS. ....	76
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS. ....	77
7. ANEXOS.....	79

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>ESQUEMA 1.</b> Mecanismo concertado da P-3CR. ....	5
<b>ESQUEMA 2.</b> Mecanismo concertado da P-3CR com a participação de uma molécula extra de ácido carboxílico .....	5
<b>ESQUEMA 3.</b> Reação clássica U-4CR.....	7
<b>ESQUEMA 4.</b> Formação do íon imínio.....	7
<b>ESQUEMA 5.</b> Propostas mecanísticas da U-4CR.....	9
<b>ESQUEMA 6.</b> Preparação de derivados de pyrrolo[2,3-b]quinolinas através de U-4CR e ciclização amida/arila.....	11
<b>ESQUEMA 7.</b> Rotas sintéticas dos derivados de benzodiazepinonas enantiopuras. ....	12
<b>ESQUEMA 8.</b> U-4CR na preparação de derivados de tetrazoliltetrahydroquinolinas. ....	12
<b>ESQUEMA 9.</b> Rota sintética dos anéis fundidos com cetopiperazinas. ....	13
<b>ESQUEMA 10.</b> Reação U-4CR utilizando DES como solvente da reação. ....	14
<b>ESQUEMA 11.</b> Rota sintética de produtos de Ugi de derivados de quinolina como substratos da reação. ....	14
<b>ESQUEMA 12.</b> Transformação do composto fluorescente para o composto não-fluorescente e em seguida se tornando fluorescente. ....	17
<b>ESQUEMA 13.</b> Mecanismo da reação de Peachmann na preparação de derivados de cumarinas.....	18
<b>ESQUEMA 14.</b> Mecanismo simplificado da reação de Knoevenagel na preparação de derivados de cumarinas. ....	19
<b>ESQUEMA 15.</b> Reação de Perkin na preparação de derivados de cumarinas. ....	20
<b>ESQUEMA 16.</b> Rota sintética baseada em seis componentes one-pot para a preparação de produtos de Ugi.....	21
<b>ESQUEMA 17.</b> Reação U-4CR utilizando 3 ácido carboxílico-cumarina como reagente. .	21
<b>ESQUEMA 18.</b> Rota sintética para a preparação de derivados de cromeno[3,4c]pirrol-3,4-dionas. ....	22
<b>ESQUEMA 19.</b> Rotas sintéticas propostas no projeto de pesquisa. ....	24
<b>ESQUEMA 20.</b> Mecanismo da reação de Hofmann.....	25
<b>ESQUEMA 21.</b> Isocianetos sintetizados.....	26
<b>ESQUEMA 22.</b> Síntese do ácido de Meldrum. ....	31
<b>ESQUEMA 23.</b> Preparação de derivados de cumarinas utilizadas no projeto de pesquisa.	34
<b>ESQUEMA 24.</b> Mecanismo da reação de Knoevenagel de derivados de cumarinas utilizando salicilaldeídos e ácido de Meldrum. ....	34
<b>ESQUEMA 25.</b> Deslocalização da carga na estrutura do derivado 104b .....	37
<b>ESQUEMA 26.</b> Primeira tentativa de preparação do peptóide com auxílio de micro-ondas .....	40



<b>ESQUEMA 27.</b> Segunda tentativa de preparação do peptóide com auxílio de micro-ondas .....	40
<b>ESQUEMA 28.</b> Tentativas de preparação de peptóides utilizando o método convencional de síntese. ....	41
<b>ESQUEMA 29.</b> Tentativas de preparação de peptóides utilizando líquido iônico como solvente.....	42
<b>ESQUEMA 30.</b> Peptóides sintetizados e caracterizados.....	43

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> Ilustração de uma síntese <i>one-pot</i> .....	1
<b>FIGURA 2.</b> Modelo de Síntese ideal proposta por Ugi e Domling.....	2
<b>FIGURA 3.</b> Síntese de isocianetos pelas metodologia de Lieke, Meyer e Hoffman..	3
<b>FIGURA 4.</b> Orbitais de fronteira da isonitrila e nitrila.....	3
<b>FIGURA 5.</b> Fármacos sintetizadas através de reações multicomponentes baseada em isocianetos..	6
<b>FIGURA 6.</b> Perfil energético do Rearranjo de Mumm para os compostos <b>42</b> e <b>32</b> utilizando metanol como solvente da reação.....	10
<b>FIGURA 7.</b> ORTEP dos compostos 63a e 65a.....	13
<b>FIGURA 8.</b> Estrutura da Rodamina B e Quinina.....	15
<b>FIGURA 9.</b> Diagrama de Jablonski simplificado.....	15
<b>FIGURA 10.</b> Estrutura da cumarina.....	16
<b>FIGURA 11.</b> Sistema push-pull da cumarina.....	17
<b>FIGURA 12.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ 600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do isocianeto de butila.....	27
<b>FIGURA 13.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ 150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do isocianeto de butila.....	28
<b>FIGURA 14.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ 600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do ( <i>R</i> )-isocianoetilbenzeno.....	29
<b>FIGURA 15.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ 150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do ( <i>R</i> )-isocianoetilbenzeno.....	30
<b>FIGURA 16.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ 600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do ácido de Meldrum.....	32
<b>FIGURA 17.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ 150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do ácido de Meldrum.....	33
<b>FIGURA 18.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ 600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) da 3-ácido carboxílico cumarina.....	35
<b>FIGURA 19.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ 150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) da 3 ácido carboxílico-cumarina.....	36
<b>FIGURA 20.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ 600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) de 7-(dietilamino)-cumarina-3-ácido carboxílico.....	37
<b>FIGURA 21.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ 150 MHz de 7-(dietilamino)-cumarina-3-ácido carboxílico.....	39
<b>FIGURA 22.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ 600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do composto 110B.....	44
<b>FIGURA 23.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ 150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do composto 110B.....	45
<b>FIGURA 24.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ 600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do composto 110E.....	46
<b>FIGURA 25.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ 150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do composto 110E.....	46
<b>FIGURA 26.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ 600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do composto 110I.....	47
<b>FIGURA 27.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ 150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do composto 110I.....	48
<b>FIGURA 28.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ 600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do composto 110N.....	49
<b>FIGURA 29.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ 150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do composto 110N.....	50
<b>FIGURA 30.</b> Espectros de absorção e emissão dos compostos 110I-N.....	53
<b>FIGURA 31.</b> Gráficos de Lippert-Mataga (Deslocamento de Stokes vs. Parâmetro de polaridade do solvente) dos compostos 110I-N.....	55

**FIGURA 32.** Perfil de fluorescência de células MCF-7 (linhagem celular de adenocarcinoma da mamária humana) incubadas com peptídeos **110L** (superior esquerdo), **110N** (superior direito) e **110I** (inferior). As Imagens A e C são amostras de células vivas e fixas, respectivamente. As imagens B e D mostram os aspectos morfológicos normais das amostras através de microscopia de contraste de fase. Setas amarelas indicam o padrão de coloração fluorescente (azul) com propagação através do citoplasma da célula com o acúmulo perto do núcleo. Nenhum sinal fluorescente pode ser detectado dentro dos núcleos celulares "N" .....57

**FIGURA 33.** Perfil de fluorescência de células MCF-7 incubadas com peptídeos **110K**. As Imagens A e C são amostras de células vivas e fixas, respectivamente. As imagens B e D mostram os aspectos morfológicos normais das amostras através de microscopia de contraste de fase. Setas amarelas indicam o padrão de coloração fluorescente (azul) com propagação através do citoplasma da célula com o acúmulo perto do núcleo. Nenhum sinal fluorescente pode ser detectado dentro dos núcleos celulares "N". .....58

**FIGURA 34.** Perfil de fluorescência de células MCF-7 incubadas com peptídeo **110K** e Mitotracker<sup>TM</sup>. Imagens de A e C mostram padrão de fluorescência de células incubadas com o peptídeo **110K** e Mitotracker<sup>TM</sup> respectivamente. As setas amarelas indicam o acúmulo na região do citoplasma em ambos os marcadores. A imagem D foi produzida pela sobreposição das imagens de fluorescência azul e vermelha, a cor púrpura clara produzida demonstra que há uma sobreposição de coloração no citoplasma da célula da célula. A imagem B mostra os aspectos morfológicos das amostras por microscopia de contraste de fase. Os núcleos são identificados pela letra "N" .....59

**FIGURA 35.** Viabilidade celular após 24 horas de incubação com péptoides **110L**, **110N**, **m** e **110K** em 500 ng / mL. Nenhum efeito citotóxico pode ser observado nas amostras testadas. CN = controle negativo, DMSO = dimetilsulfóxido.....60

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1.</b> Efeito do solvente, temperatura e aditivo da síntese. ....	8
<b>TABELA 2.</b> Hidrogênios correspondentes ao isocianeto de butila .....	27
<b>TABELA 3.</b> Carbonos correspondentes ao isocianeto de butila.....	28
<b>TABELA 4.</b> Hidrogênios correspondentes ao ( <i>R</i> )-isocianoetilbenzeno.....	29
<b>TABELA 5.</b> Carbonos correspondentes ao ( <i>R</i> )-isocianoetilbenzeno.....	30
<b>TABELA 6.</b> Hidrogênios correspondentes ao ácido de Meldrum .....	32
<b>TABELA 7.</b> Carbonos correspondentes ao ácido de Meldrum .....	33
<b>TABELA 8</b> Hidrogênios correspondentes a à 3-ácido carboxílico cumarina .....	36
<b>TABELA 9</b> Carbonos correspondentes a à 3-ácido carboxílico cumarina .....	36
<b>TABELA 10.</b> Hidrogênios correspondentes à 3-ácido carboxílico cumarina .....	38
<b>TABELA 11.</b> Carbonos correspondentes a 7-(dietilamino)-cumarina- 3-ácido carboxílico..	39
<b>TABELA 12.</b> Dados fotofísicos de absorção e emissão máxima e deslocamento de Stokes.	51
<b>TABELA 13.</b> Parâmetro de polarização de Reichardt utilizados nas aquisições dos gráficos de Lippert-Mataga.....	55
<b>TABELA 14.</b> Valores de $R^2$ dos compostos 110I-N .....	56

## LISTA DE SÍMBOLOS, NOMENCLATURAS E ABREVIACÕES.

**Ar** - Aromático

**[bmim]BF<sub>4</sub>** - Tetrafluoro borato de 1-Butil 3-metilimidazólio

**[bmim]NTf<sub>2</sub>** - Imidato de 1-Butil 3-metilimidazólio bis(trifluorometanosulfonil)

**C<sup>II</sup>** - Carbono secundário

**C<sup>IV</sup>** - Carbono quaternário

**CCD**- Cromatografia de camada delgada

**ChCl** - Cloreto de colina

**CSA** - Ácido clorosulfônico

**DES** - *Deep Eutetic Solvent*

**DMF** - Dimetilformamida

**D- $\pi$ -A** - Doador-conjugação  $\pi$ -acceptor.

**ESI/MS** - Espectrometria de massa com ionização eletrospray

**GRE** - Grupo retirador de elétrons

**HIV** - *Human Immunodeficiency Virus*

**HOMO** - Orbital molecular ocupado de mais alta energia

**Hz** - Hertz

**ICT** - Transferência de carga intramolecular

**MAI.Cl** - Cloreto de 1-metil-3-carboximetilimidazólio

**MCF-7**- Linhagem celular de adenocarcinoma da mamária humana

**MTT**- 3- [4, 5-dimetiltiazol-2-il] -2, 5- difeniltetrazólio

**ORTEP**- *Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot*

**P-3CR** - Reação três componentes de Passerini

**PBS**- Tampão fosfato salino

**ppm** - Parte por milhão

**R<sup>2</sup>** - Regressão linear

**RMC** - Reação multicomponente

**RMCI** - Reação multicomponente de isocianetos

**RMN <sup>1</sup>H** - Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

**RMN <sup>13</sup>C** - Ressonância magnética nuclear de carbono

**S<sub>0</sub>** -Estado singlete fundamental

**S<sub>1</sub>** - Primeiro estado singlete excitado

**S<sub>2</sub>** - Segundo estado singleto excitado

**t.a** - Temperatura ambiente

**TEA** - Trietilamina

**TFA** - Ácido trifluoro acético

**TFE** - 2,2,2 trifluoroetanol

**TMS** - Trimetilsilano

**T3P** - Anidrido propilfosfônico

**U-4CR** - Reação quatro componentes de Ugi

**λ** - Comprimento de onda

# 1. INTRODUÇÃO

Reações multicomponentes (RMC`s) são amplamente conhecidas como processos em que três ou mais substratos são combinados de forma direta, ou seja, sem a necessidade de isolamento de intermediários, para a preparação de uma única estrutura, Figura 1. Esse produto final das RMC`s quase sempre contém todos ou grande parte dos átomos dos substratos envolvidos, em outras palavras, os produtos concebidos a partir das RMC`s incorporam características dos reagentes envolvidos.<sup>1</sup>

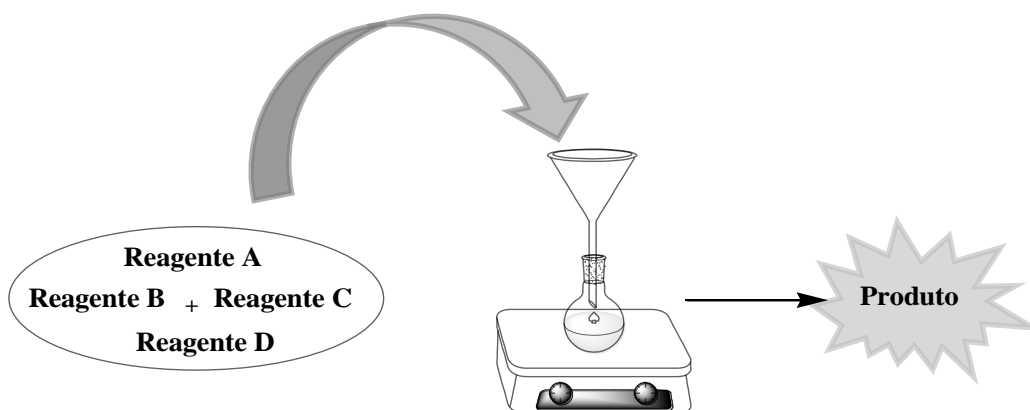


Figura 1. Ilustração de uma síntese *one-pot*.

Atualmente, a preservação do meio ambiente é um assunto muito discutido em vários ramos da ciência, na Síntese Orgânica não poderia ser diferente. A necessidade de se fazer uma síntese eficiente, ou seja, com um alto índice de conversão dos produtos e diminuindo a utilização de solventes voláteis nocivos é um desafio. As RMC`s são bastante atrativas por serem ecologicamente amigáveis, pois não se faz necessário o uso de grandes quantidades de solventes para a purificação de intermediários, como acontece em sínteses orgânicas convencionais. O nível de conversão dos reagentes em produtos é bastante alto quando se trata de RMC`s, já que seus reagentes envolvidos são transformados rapidamente em produtos.<sup>2</sup> Outra característica fundamental que justifica a eficácia das RMC`s é que o nível de toxicidade dos subprodutos formados nessas reações é extremamente baixos (muitas vezes tem-se como subproduto das RMC`s apenas água), seguindo assim um dos princípios da Química Verde.<sup>2</sup>

As aplicações sintéticas das RMC`s são inúmeras, pelo fato de se formar uma molécula relativamente complexa de forma convergente, onde só é necessária, geralmente, uma única etapa de purificação (extração, coluna cromatográfica, cristalização, etc) e que

seus produtos, devido à sua versatilidade estrutural, são ótimos candidatos a possuírem algum tipo de ação farmacológica ou biológica, imprescindível para os avanços da Química Medicinal.<sup>3</sup>

De acordo com Ugi e Dömling,<sup>3</sup> as sínteses orgânicas podem ser otimizadas por alguns fatores, tais como: diminuição do número de etapas necessária para formação do produto, tempo reacional, simplicidade, custo da reação e o rendimento global. Ainda de acordo com os autores, quanto maior for o número de etapas reacionais, mais complexo será o isolamento dos seus intermediários e com isso menor o rendimento global, maior a quantidade de subprodutos, maior o custo e, obviamente, um tempo reacional mais elevado. Com isso em mente, Ugi e Dömling propuseram um modelo de síntese ideal (Figura 2) em um artigo de revisão no ano de 2000.<sup>3</sup> Nota-se que praticamente todas essas características de uma síntese ideal se encontram também nas reações multicomponentes.

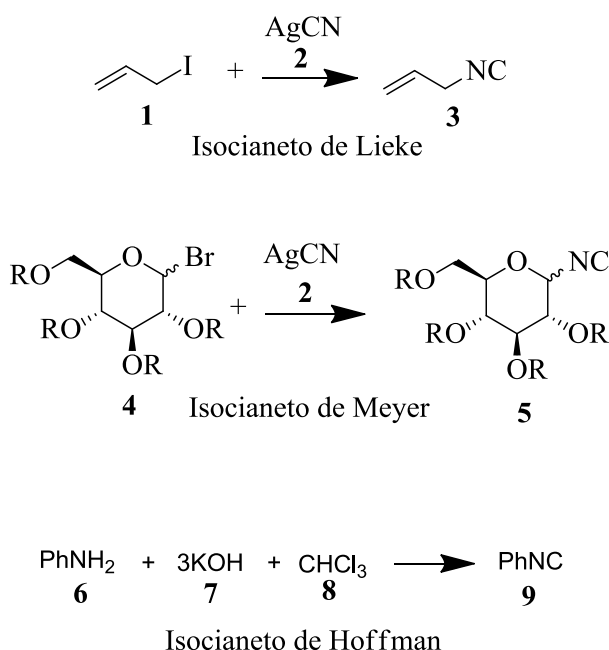


**Figura 2.** Modelo de Síntese ideal proposta por Ugi e Domling.<sup>3</sup>



### 1.1. Reações multicomponentes baseada em Isocianetos (RMCI)

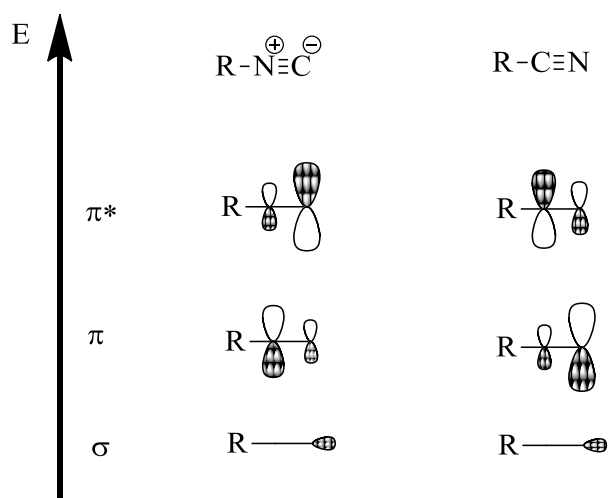
Isocianetos são compostos orgânicos estáveis que contém um grupo funcional com um carbono divalente, e que, em reações exotérmicas esse carbono secundário pode oxidar e formar um carbono tetravalente (isocianato).<sup>4</sup> A primeira preparação de tais compostos começou com Lieke,<sup>5</sup> no ano de 1859. Ele preparou isocianetos alílicos a partir de iodeto de alila e cianeto de prata. Mais tarde, isocianetos alquílicos foram sintetizados por Meyer<sup>6</sup> e tal síntese foi reproduzida por Gautier.<sup>7</sup> Hoffman<sup>8</sup> introduziu um método muito diferente na preparação de tais compostos, qual consistia em reagir aminas primárias alílicas e aromáticas na presença de clorofórmio em meio básico concentrado para a formação das isonitrilas. Os baixos rendimentos e o odor desagradável fizeram com que a química dos isocianetos se tornasse cada vez menos estudada.<sup>4</sup>



**Figura 3.** Síntese de isocianetos pelas metodologias de Lieke, Meyer e Hofmann.<sup>3</sup>

A mais importante propriedade sintética de isocianetos são as reações com nucleófilo e eletrófilos no átomo de carbono do grupo isocianeto. A maioria dos outros grupos funcionais se comportam como nucleófilos e eletrófilos em centros diferentes, apenas carbenos e o monóxido de carbono compartilham dessa propriedade.<sup>3</sup>

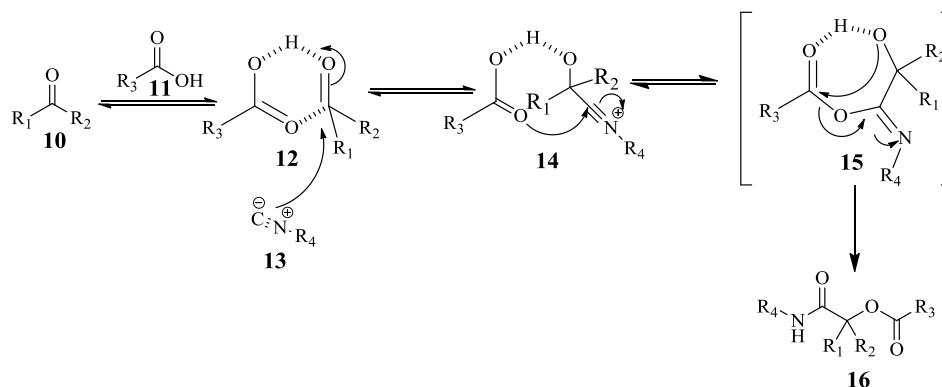
A Figura 3 mostra a comparação qualitativa dos orbitais de fronteira dos grupos isocianeto e nitrila.<sup>3</sup> Nota-se que o coeficiente do átomo de carbono do orbital  $\pi^*$  da isonitrila é maior, fazendo com que o ataque nucleofílico se conduza no átomo de carbono, característica semelhante à nitrila.<sup>3</sup> Além disso, interações eletrofílicas ocorrem no orbital  $\sigma$  (responsável pelo seu caráter nucleofílico) do grupo isonitrila, portanto também no átomo de carbono. As nitrilas sofrem ataques nucleofílicos também no átomo de carbono (orbital  $\pi^*$  maior), entretanto reagem com eletrófilos no átomo de nitrogênio, onde o coeficiente orbitalar  $\pi$  é maior e responsável pelo seu caráter nucleofílico.<sup>3</sup>



**Figura 4.** Orbitais de fronteira da isonitrila e nitrila.<sup>3</sup>

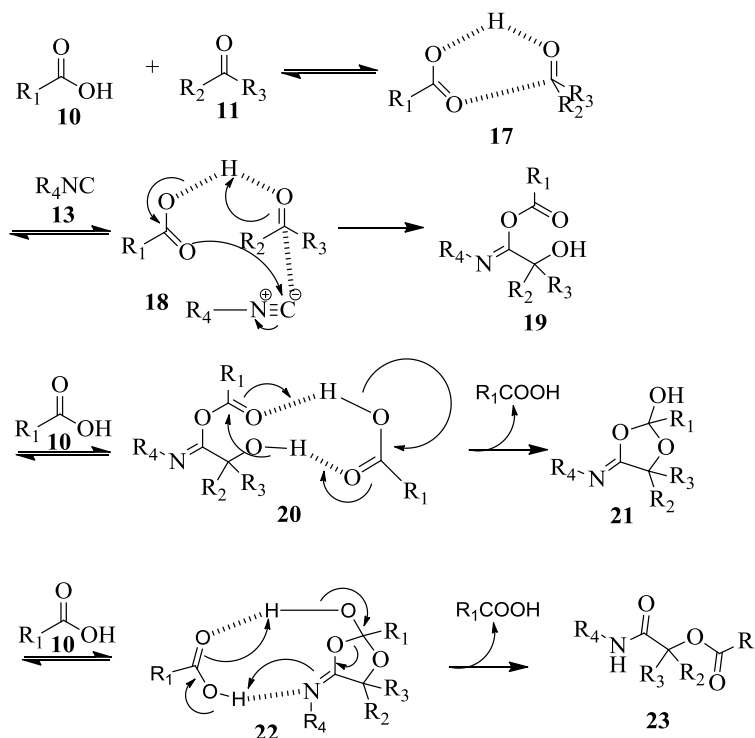
A primeira reação multicomponente baseada em isocianetos (RMCI) foi feita em 1921 pelo italiano Mario Passerini.<sup>9</sup> A reação de Passerini (P-3CR) é composta por três substratos, o isocianeto, um oxo composto (aldeído ou cetona) e um ácido carboxílico, visando à formação de um composto  $\alpha$ -aciloxi carboxiamida. Solventes apróticos são utilizados nas P-3CR, o que sugere que a reação se processe através de um mecanismo não iônico,<sup>10</sup> diferentemente das reações multicomponentes de Ugi, que serão discutidas mais adiante.

O mecanismo da reação (Esquema 1) inicia-se com uma interação do ácido carboxílico e o grupo carbonilado, em seguida ocorre a adição- $\alpha$  do carbono do grupo isonitrila no carbono da carbonila, (bastante eletrofílico), e posteriormente o ataque do oxigênio do grupo carboxilado no carbono do grupo isonitrila, ocorrendo a formação de um intermediário cíclico de sete membros. O último passo da reação é o rearranjo do grupo acila para formação do produto  $\alpha$ -aciloxi carboxiamida.<sup>11</sup>



**Esquema 1.** Mecanismo concertado da P-3CR.

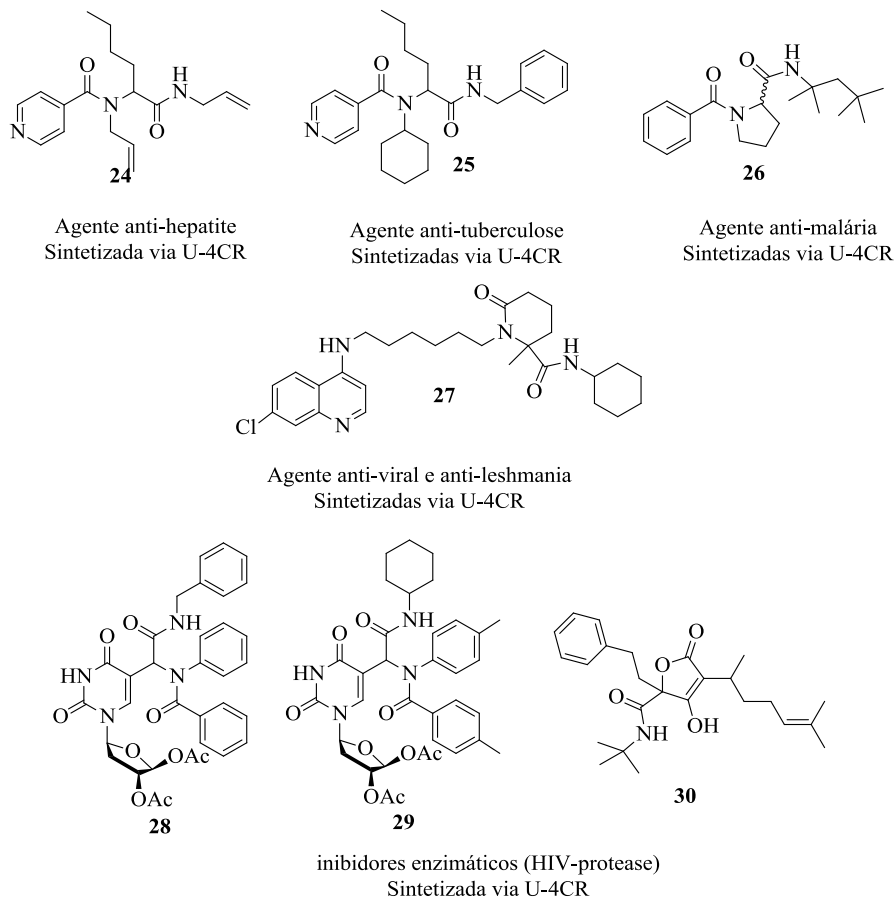
Em 2011 Morokuma e colaboradores,<sup>12</sup> por meio de cálculos de teoria da funcional da densidade, propuseram um novo mecanismo para P-3CR, onde uma molécula adicional de ácido carboxílico participa diretamente da reação. Essa contribuição de uma molécula extra de ácido carboxílico diminui drasticamente as barreiras energéticas dos estados de transição dos seus intermediários além de facilitar o processo de rearranjo para a formação da molécula final.



**Esquema 2.** Mecanismo da P-3CR com a participação de uma molécula extra de ácido carboxílico.<sup>12</sup>

O campo das RMCIs vem apresentando um grande crescimento devido às novas descobertas de variações das clássicas P-3CR e reações de Ugi (U-4CR). Além disso, as

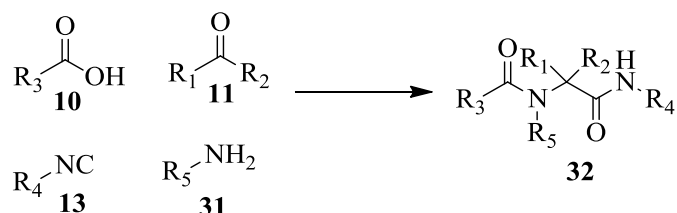
combinações das RMCIs com outras reações proporciona uma maior diversidade estrutural, principalmente na síntese de novas drogas, como agentes anti-virais, inibidores enzimáticos (HIV-protease), agentes anti-malária, anti-leshmaniose e anti-hepáticos,<sup>13</sup> Figura 5.



**Figura 5.** Fármacos sintetizados através de reações multicomponentes baseada em isocianetos.<sup>13</sup>

## 1.2. Reações multicomponentes de Ugi (U-4CR).

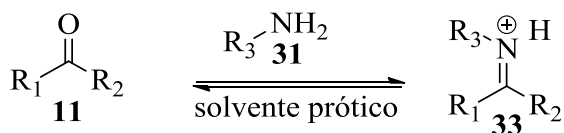
Em 1959, Ugi e colaboradores<sup>14</sup> descreveram pela primeira vez uma das mais importantes condensações com quatro componentes, a reação quatro componente de Ugi (U-4CR). A clássica reação de Ugi<sup>3</sup> (Esquema 3) envolve uma amina primária, um oxocomposto (aldeído ou cetona), um ácido carboxílico e um isocianeto, para a formação do produto  $\alpha$ -acilamidoamida.



Esquema 3. Reação clássica U-4CR.<sup>14</sup>

A reação de Ugi é considerada a mais importante reação multicomponente baseada em isocianetos existente, pela sua versatilidade, pela simplicidade experimental de formar uma molécula relativamente complexa e pela economia de átomos,<sup>15</sup> fundamental para a redução de resíduos na preparação de produtos químicos.<sup>16</sup>

Solventes polares próticos, com baixa massa molecular, tais como: o metanol, etanol e o TFE são frequentemente utilizados nas U-4CR.<sup>17</sup> A justificativa da aplicação do solvente prótico na U-4CR se dá pelo fato do mecanismo da reação ser iônico, onde a transferência de hidrogênio do solvente leva à formação do íon imínio entre a cetona/aldeído e a amina (Esquema 4) que é fundamental para que a reação proceda.<sup>18</sup>



Esquema 4. Formação do íon imínio.

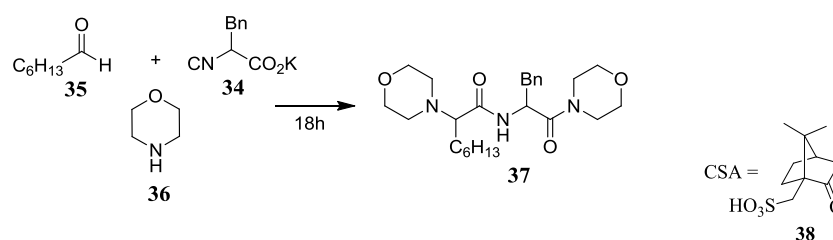
Mas, em alguns casos, a U-4CR pode se feita em solventes apróticos, já que esses solventes podem estabilizar intermediários não carregados, através de um mecanismo concertado não iônico.<sup>19</sup> As diferenças mecanísticas serão discutidas mais adiante.

Zhu e colaboradores<sup>17</sup> demonstraram o efeito do solvente, da temperatura e da utilização de aditivos em reações multicomponentes de Ugi (Tabela 1). O dipeptídeo **37** foi

isolado com 90% de rendimento quando utilizado tolueno como solvente aprótico e NH<sub>4</sub>Cl como aditivo da reação. Sem o aditivo, a reação procedeu de forma mais lenta com apenas 17% de conversão. Os autores reportaram ainda que, tanto o reagente **34** quanto o cloreto de amônio são parcialmente solúveis em tolueno, mas tal fato não afetou no progresso da reação, já que ao longo do tempo reacional o isocianeto **34**, foi gradualmente dissolvido, demonstrando que o mesmo estava sendo consumido.

Outros aditivos também se mostraram menos eficientes que o cloreto de amônio.<sup>17</sup> Os autores informaram que o uso de cloreto de amônio, promove a formação mais rápida do íon imínio intermediário. Entretanto, o uso de um ácido de Bronsted (CSA) forte afeta a conversão da reação, pois o ácido forte pode ceder um próton à amina, tendo como consequência um sal de amônio inerte.

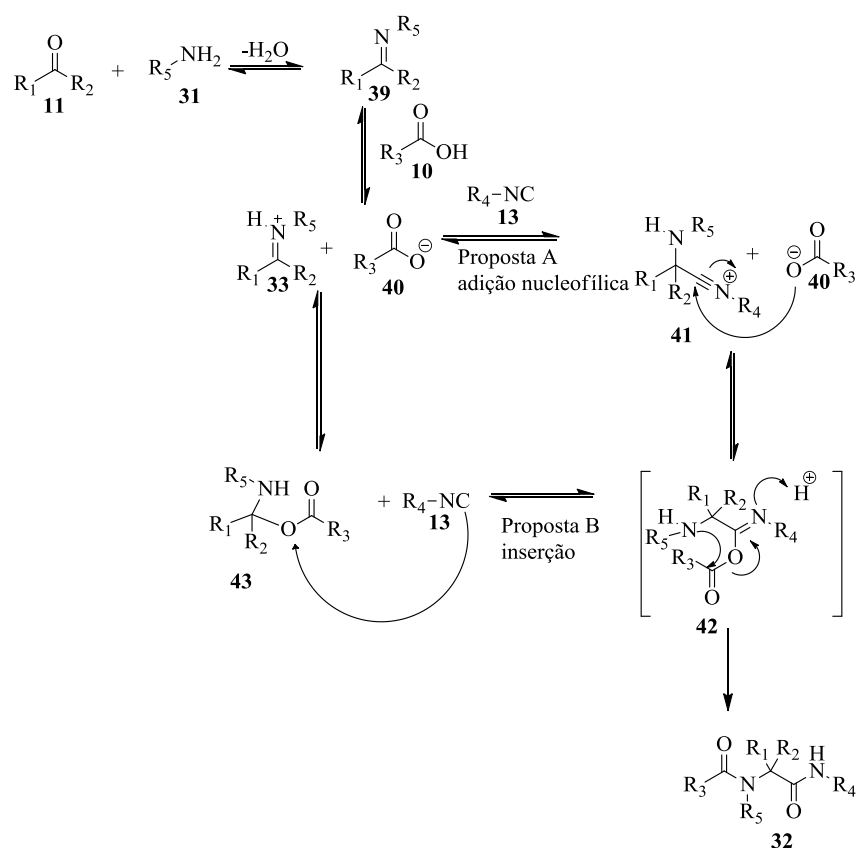
**Tabela 1.** Efeito do solvente, temperatura e aditivo da síntese.<sup>17</sup>



Entrada	Solvente	Aditivo (1,5 eq.)	T(°C)	Rendimento(%)
1	tolueno	NH <sub>4</sub> Cl	t.a	90
2	tolueno	-	t.a	17
3	tolueno	LiBr	t.a	16
4	tolueno	CSA	t.a	44
5	EtOH	NH <sub>4</sub> Cl	t.a	30
6	tolueno	NH <sub>4</sub> Cl	60	83

### 1.2.1. Mecanismos da U-4CR

Como dito anteriormente, a formação dos produtos da U-4CR pode ser justificada através de dois mecanismos plausíveis, um mecanismo iônico e outro mecanismo não iônico. Neto e colaboradores<sup>18</sup> estudaram os dois caminhos utilizando ESI/MS. Além disso, também foi empregado líquido iônico (MAI.Cl), como etiqueta para a marcação de carga para favorecer a detecção no espectrômetro de massa. O resultado foi favorável à adição nucleofílica do isocianeto, mostrando que o caminho iônico é o mais provável de ocorrer, o que foi corroborado pelos experimentos de ESI/MS.

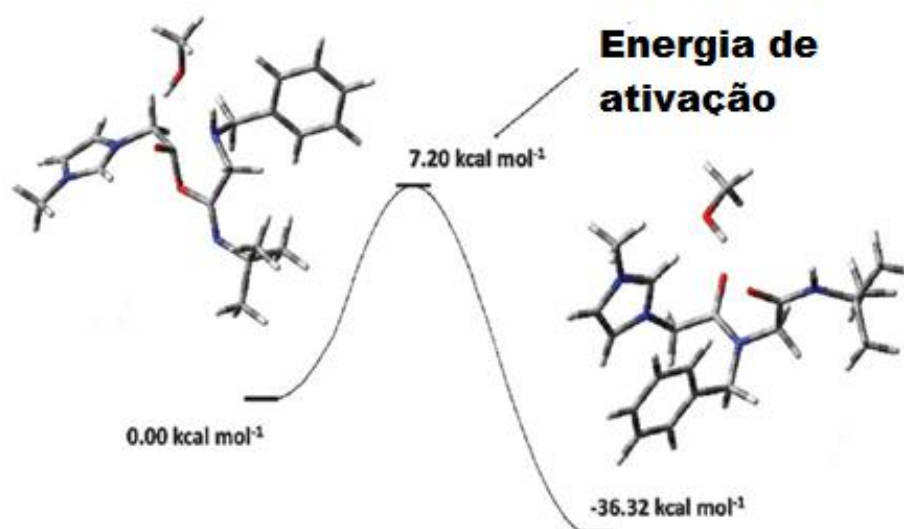


Esquema 5. Propostas mecanísticas da U-4CR.<sup>18</sup>

O primeiro passo do mecanismo se dá pela formação da imina, como já discutido anteriormente. Em seguida, acontece uma transferência de hidrogênio do grupo carboxílico para o nitrogênio da imina, formando assim o íon imínio e o composto carboxilato. A proposta mecanística **A** diz que ocorre o ataque nucleofílico do grupo isocianeto no carbono do íon imínio e posteriormente o ataque do grupo carboxilato no carbono sp, vizinho ao nitrogênio carregado positivamente. A proposta mecanística **B** se dá primeiramente pelo ataque do grupo carboxilato no carbono eletrofílico do íon imínio, e

em seguida, inserção do grupo isocianeto. A etapa final do mecanismo é o rearranjo do grupo acila, conhecido como rearranjo de Mumm.<sup>3,16,20,21,18</sup>

Cálculos teóricos realizados por Neto e colaboradores<sup>18</sup> indicaram a influência do solvente prótico, no caso MeOH, para o rearranjo de Mumm. Na ausência de solvente, o rearranjo não seria muito eficiente devido à transferência de hidrogênio do solvente para a estrutura em um arranjo energético baixo. Já na presença de metanol, o rearranjo de Mumm é altamente favorável, pois a energia de ativação para esse rearranjo seria de apenas  $7,20 \text{ kcal mol}^{-1}$ , como é mostrado na figura a seguir.



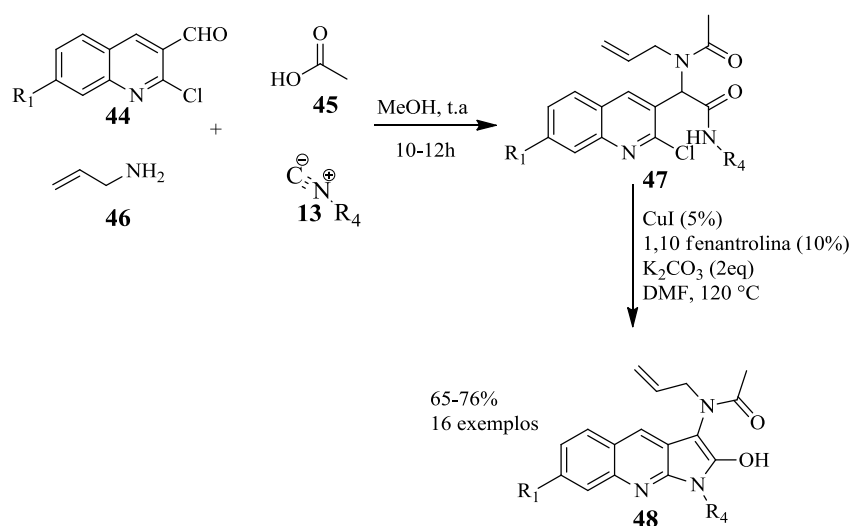
**Figura 6.** Perfil energético do Rearranjo de Mumm para os compostos **42** e **32** utilizando metanol como solvente da reação.<sup>18</sup>



### 1.2.2. Aplicações recentes da U-4CR

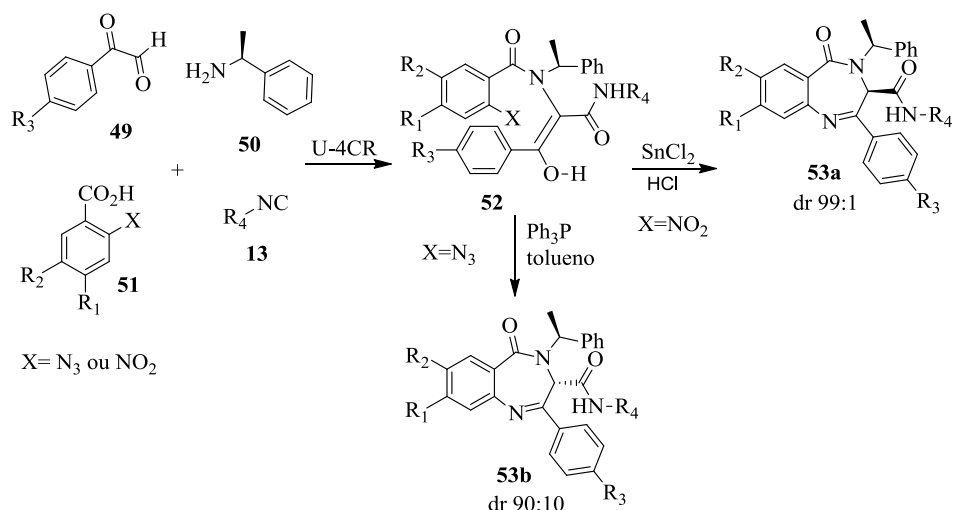
Pela sua simplicidade experimental, a U-4CR vem sendo uma importante ferramenta para a produção de novas estruturas. Sua versatilidade permite a síntese de um acervo infinito de produtos, por exemplo: com 40 reagentes diferentes, 2.560.000 produtos de U-4CR podem ser formados.<sup>22</sup>

Singh e colaboradores<sup>23</sup> reportaram a síntese *one-pot* de um acervo de 1*H*-pirrolo[2,3-*b*]quinolinas funcionalizadas via U-4CR seguida por ciclização da amida/arila através de catálise com Cu<sup>1+</sup> (Esquema 5). Os derivados de pirrolo[2,3-*b*]quinolinas tem atividades biológicas interessantes, como: atividades analgésicas, anticonvulsivas, e anti-inflamatórias.<sup>23</sup>



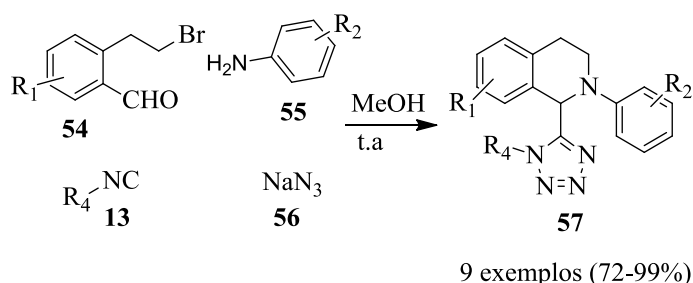
**Esquema 6.** Preparação de derivados de pirrolo[2,3-*b*]quinolinas através de U-4CR e ciclização amida/arila.<sup>23</sup>

Já Valverde e colaboradores,<sup>24</sup> prepararam pseudopeptídeos derivados de benzodiazepinonas enantiopuras, uma classe de compostos interessantes pelas suas atividades psicotrópicas (sedativas e anti-convulsivantes). Os autores prepararam a classe de compostos através de U-4CR e em seguida ciclização usando duas metodologias distintas, a primeira ciclização usando a reação de Staudinger seguida por Aza-Wittig e a segunda usando cloreto de estanho como agente redutor (Esquema7). Os autores não explicaram o motivo da maior quantidade de produto **53A** quando utilizados SnCl<sub>2</sub> e HCl, nem a maior quantidade de produto **53B** quando usado trifetilfosfina. Mas acredita-se que o excesso diastereoisomérico, na metodologia de SnCl<sub>2</sub> e HCl, se dá pelo fato de haver equilíbrio termodinâmico na formação do produto **53A**.



**Esquema 7.** Rotas sintéticas dos derivados de benzodiazepinonas enantiopuras.<sup>24</sup>

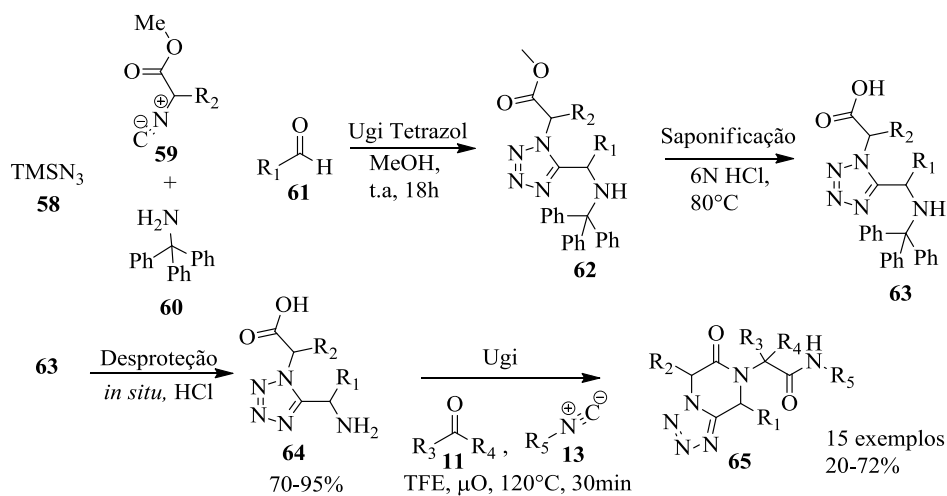
Outro exemplo importante no que tange à versatilidade da reação de Ugi é o trabalho de Sharada e colaboradores.<sup>25</sup> Os autores prepararam derivados de tetrazolil-tetrahydroquinolinas. A reação envolve a clássica U-4CR seguida por uma substituição bimolecular interna entre o haleto pelo íon imínio formado *in situ* e, posteriormente, a reação Ugi-azida (Esquema 8). As reações se processaram sem adição de catalisadores e com ótimos rendimentos (72-99%).



**Esquema 8.** U-4CR na preparação de derivados de tetrazolil-tetrahydroquinolinas.<sup>25</sup>

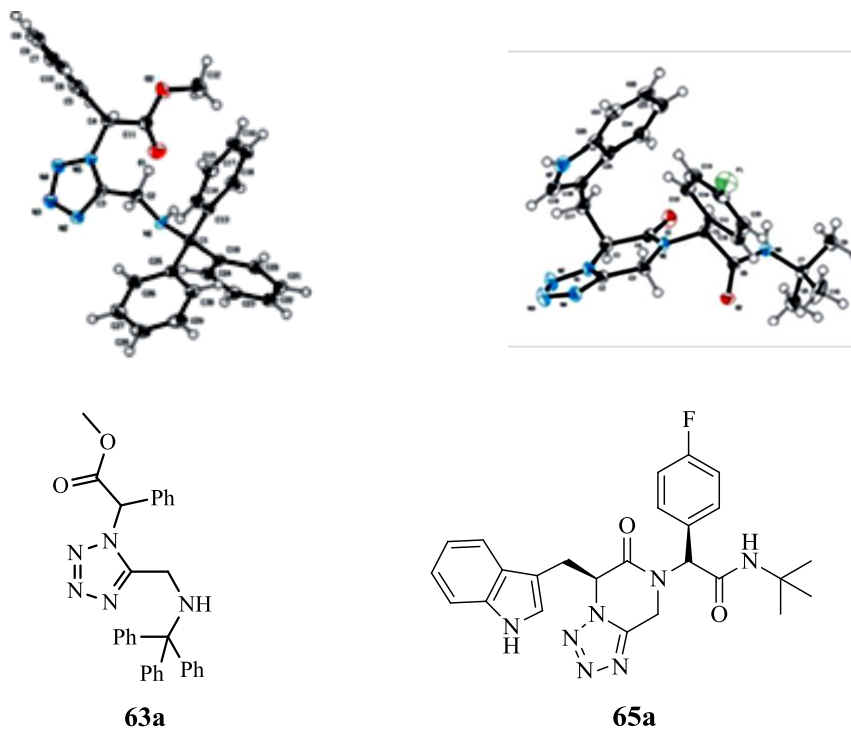
Dömling e colaboradores<sup>26</sup> elaboraram a síntese concisa de anéis tetrazólicos fundidos com cetopiperazinas. Para preparar tais estruturas, os autores utilizaram a reação de Ugi-azida, na síntese do composto **62**, seguida por uma reação de saponificação, para a transformação do éster metílico em ácido carboxílico da estrutura **63**. Posteriormente realizou-se uma desproteção para retirar o grupo trifenilmetila e formar uma amina primária, estrutura **64**. Após esse processo, realizou-se uma segunda U-4CR, desta vez intramolecular, para a formação dos anéis fundidos **65**. Os rendimentos das reações foram

variados (20-71%). A reação se procedeu tanto com aldeídos/cetonas alifáticas quanto aromáticas.



**Esquema 9.** Rota sintética dos anéis fundidos com cetopiperazinas.<sup>26</sup>

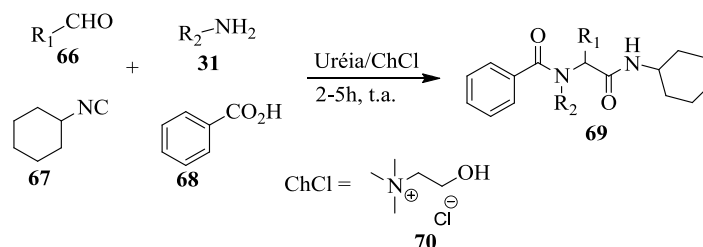
A reação se mostrou diastereosseletiva, onde a maioria dos produtos exibiram grande preferência por apenas um diastereoisômero. Um exemplo é a estrutura de raio-x do composto **65A** (e.d = 9:1).



**Figura 7.** ORTEP dos compostos **63A** e **65A**.<sup>26</sup>

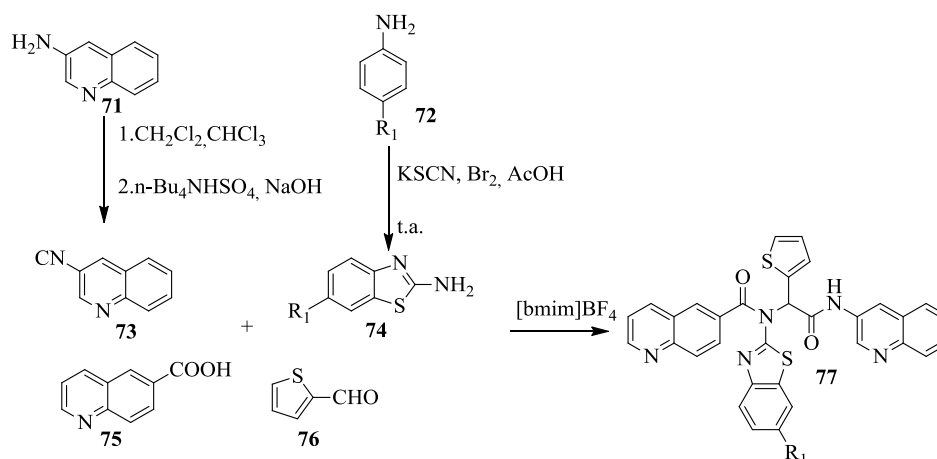
Hashemi e colaboradores<sup>27</sup> prepararam produtos de U-4CR na presença de cloreto de colina (ChCl) e uréia (*Deep Eutetic Solvent-DES*), uma mistura de sais fundidos que se comporta como líquidos iônicos (Esquema 10). Os autores descreveram uma rápida

formação dos produtos (2-5 h) e com um alto rendimento. Outra vantagem do uso de DES que os autores relataram no trabalho foi a alta eficiência no estudo de reciclo do solvente (quatro ciclos de 90%, 90%, 88% e 80%).



**Esquema 10.** Reação U-4CR utilizando DES como solvente da reação.<sup>27</sup>

Outro trabalho interessante de U-4CR utilizando líquido iônico como solvente da reação é descrito por Park e colaboradores.<sup>28</sup> no qual foi feito um acervo de adutos de Ugi bioativos (Esquema 11). Os autores usaram derivados de quinolinas e cumarinas (como o isocianeto e o ácido carboxílico da U-4CR), aminas aromáticas ou benzotiazóis e furanos como aldeído da reação. Nos testes farmacológicos, o produto que mais apresentou atividade biológica foi a estrutura que possuía flúor como substituinte, que apresentou concentração de inibição mínima de 6,25  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  para cepas Gram-positivas de *S. aureus* e *B. cereus*, comprovando que tal composto apresenta forte ação anti-bacteriana.

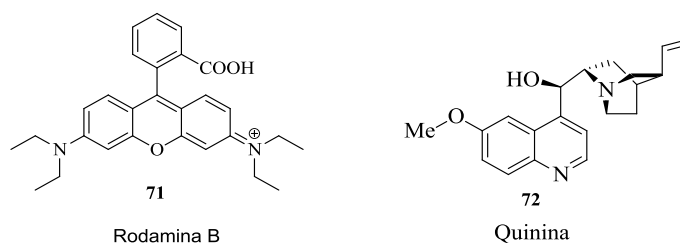


**Esquema 11.** Rota sintética de produtos de Ugi de derivados de quinolina como substratos da reação.<sup>28</sup>

### 1.3. O fenômeno da fluorescência e suas propriedades básicas.

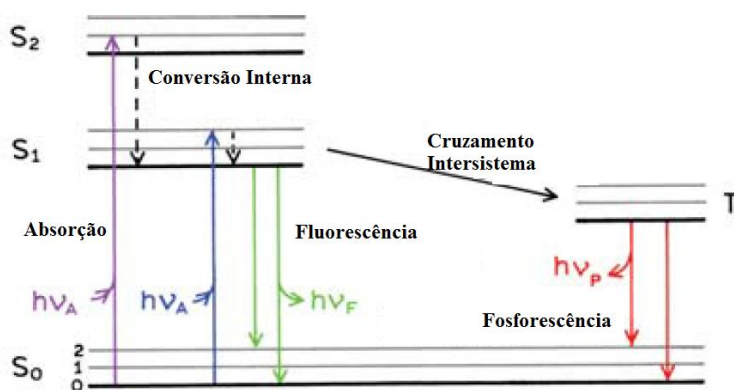
De acordo com Lakowicz, fluorescência é a emissão de luz de um estado singlete excitado, onde o elétron está desemparelhado. O fenômeno da fluorescência acontece pela transição permitida do primeiro nível do estado singlete excitado para seu estado fundamental, liberando um fóton de energia.<sup>29</sup>

Os fluoróforos são substâncias com grupos que favorecem o fenômeno da fluorescência. Estes absorvem energia em um determinado comprimento de onda e emitem em um comprimento de onda maior. Em estruturas orgânicas, a fluorescência geralmente ocorre em compostos com conjugação  $\pi$ , tais como: Quinina e a Rodamina B.<sup>29</sup>



**Figura 8.** Estrutura da Rodamina B e Quinina.

Os processos que ocorrem entre a absorção e emissão da luz podem ser vistos através do diagrama de Jablonski, que ilustra perfeitamente as transições envolvidas não só para o fenômeno de fluorescência, mas também mostra a fosforescência, a conversão interna e o cruzamento intersistema. A Figura 9 mostra o diagrama de Jablonski de maneira simplificada, onde  $S_0$ ,  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $T_1$  são respectivamente: o estado singlete fundamental, o primeiro estado excitado singlete, o segundo estado singlete excitado e o primeiro estado tripleto excitado. A transição  $S_1 \rightarrow S_0$  é o fenômeno da fluorescência.<sup>29</sup>



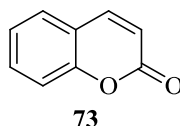
**Figura 9.** Diagrama de Jablonski simplificado.<sup>29</sup>

Uma característica importante do fenômeno da fluorescência é a energia de emissão ser sempre menor que a energia de absorção (como pode ser visto no diagrama de Jablonski), essa diferença de energia é chamada de deslocamento de Stokes que é a adaptação das estruturas moleculares excitadas através de processos de solvatação. O deslocamento de Stokes é importante para evitar a sobreposição de bandas de emissão e absorção no espectro de fluorescência. Outros fatores podem mudar o deslocamento de Stokes, tais como: formação de complexo, mudanças conformacionais e transferência de energia.<sup>29</sup>

Outra característica que é importante citar e que se observa na fluorescência é o rendimento quântico, que é a razão entre a quantidade de fótons emitidos sobre a quantidade de fótons absorvidos, essa característica ilustra a eficácia da fluorescência de determinado fluoróforo.<sup>29</sup>

#### 1.4. Cumarinas e derivados fluorescentes.

Cumarinas são consideradas uma das mais importantes moléculas heterocíclicas existentes, por causa da sua versatilidade de aplicações em vários segmentos da ciência e tecnologia, devido as suas características fluorescentes, sua ótima solubilidade em solventes polares e sua razoável estabilidade, além da sua fácil preparação.<sup>30</sup>

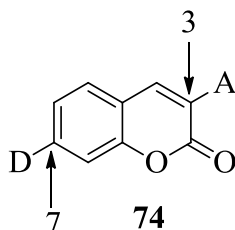


**Figura 10.** Estrutura da cumarina.

As propriedades fluorescentes das cumarinas e derivados é o principal motivo de estudos frequentes dessas moléculas.<sup>31</sup> A fluorescência de derivados de cumarinas depende das substituições moleculares, sendo influenciada pela transferência de carga interna (ICT).<sup>31</sup> As interações de carga interna são descritas como mecanismos de estabilização molecular interna onde pares de elétrons provenientes do grupo doador se deslocizam para os grupos aceptores; fenômeno chamado de *push-pull*.<sup>31</sup>

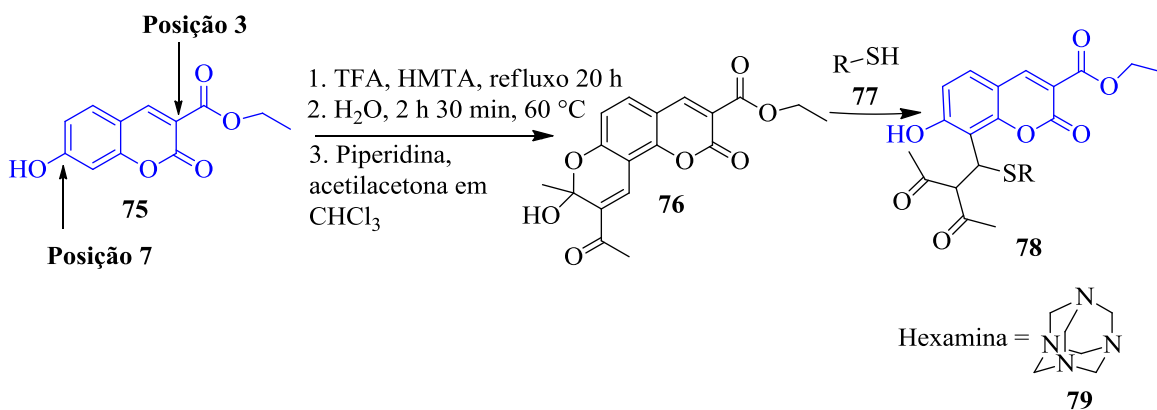
Moléculas *push-pull* ou D- $\pi$ -A são sistemas conjugados onde as substituições no anel benzênico são constituídas por grupos doadores de elétrons (D) e grupos aceptores de elétrons (A) que estão conectados através da conjugação  $\pi$ .<sup>32,33</sup> O sistema *push-pull* junto

com as influências de transferência de carga interna explicam a fluorescência das cumarinas.



**Figura 11.** Sistema push-pull da cumarina.

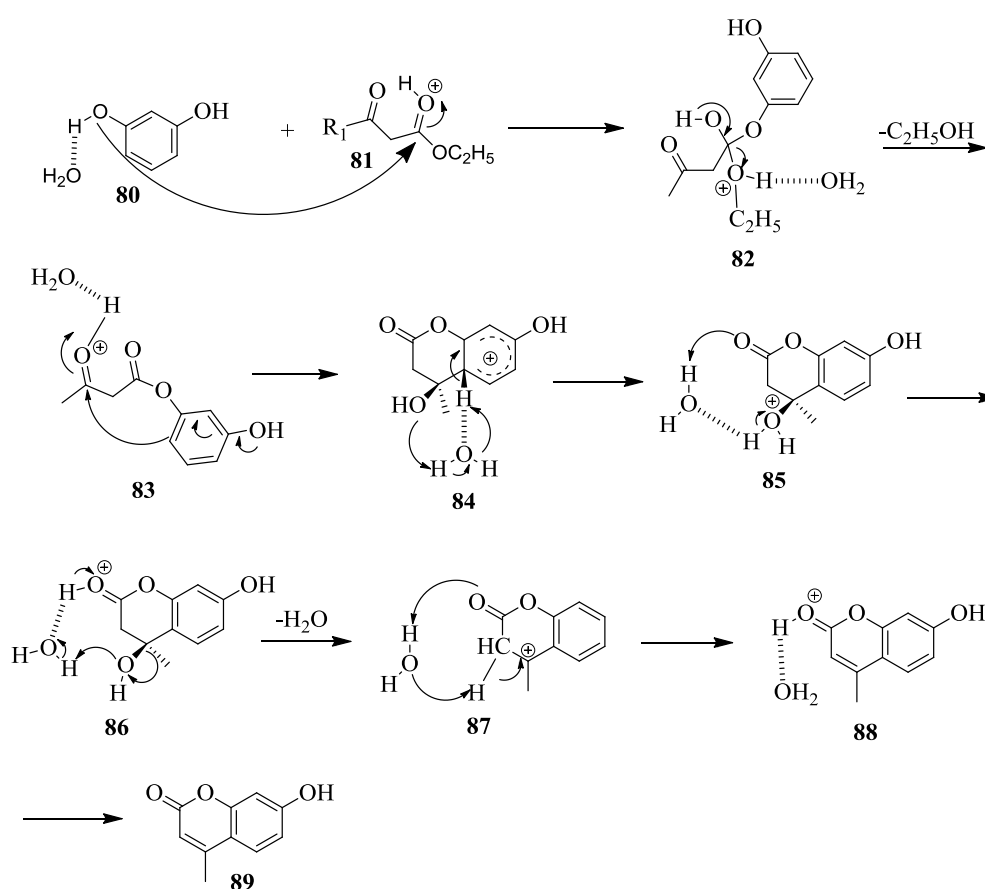
Por exemplo, os grupos doadores de elétrons na posição **7** e grupos retiradores de elétrons na posição **3** contribuem para a alta fluorescência dos derivados de cumarinas.<sup>31</sup> Já um substituinte na posição **8** e retirador de elétrons pode inibir a fluorescência do derivado de cumarina, entretanto pode-se ter um substituinte na posição **8**, contanto que se tenha um grupo doador na posição **7**. O trabalho de Zhang e colaboradores<sup>34</sup> elucidou perfeitamente essas transformações e o modelo push-pull:



**Esquema 12.** Transformação do composto fluorescente para o composto não-fluorescente e em seguida se tornando fluorescente.<sup>34</sup>

### 1.4.1. Métodos de preparação de derivados de cumarinas.

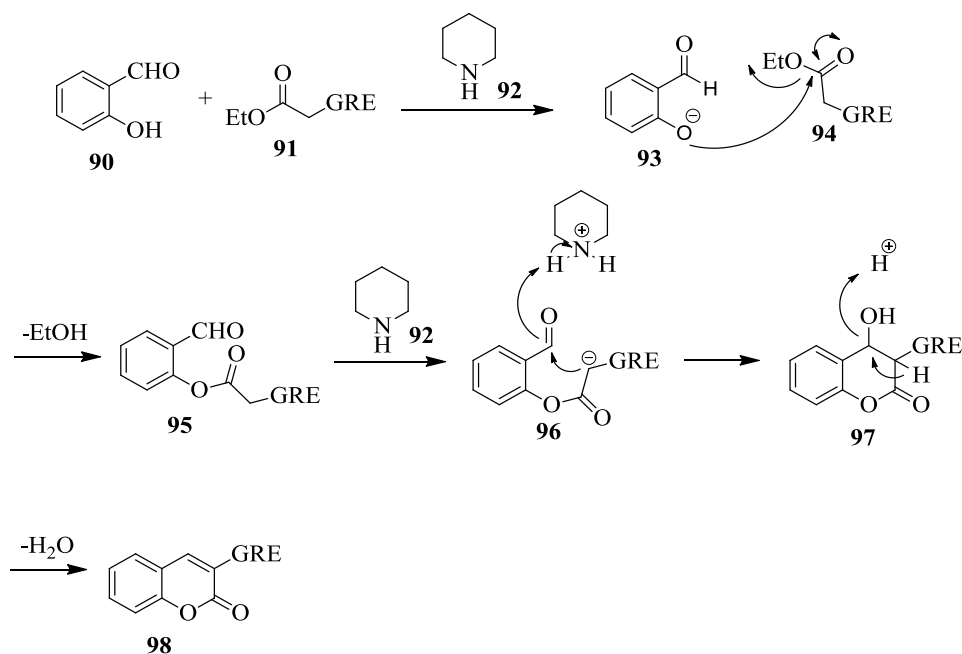
Os derivados de cumarinas são, geralmente, sintetizados através de procedimentos clássicos, utilizando algumas metodologias que valem a pena destacar, como as reações de Pechmann, Knoevenagel e Perkins.<sup>35</sup> A metodologia mais comum utiliza a reação de Pechmann. Essa reação envolve a condensação de fenóis com  $\beta$ -ceto ésteres na presença de ácido de Lewis. Uma das alternativas mecanísticas, de acordo com cálculos teóricos de Stirling e Daru,<sup>36</sup> envolve uma transesterificação e em seguida a ciclização do anel na posição *orto* e finalmente uma desidratação.<sup>36</sup>



**Esquema 13.** Mecanismo da reação de Pechmann na preparação de derivados de cumarinas.<sup>36</sup>

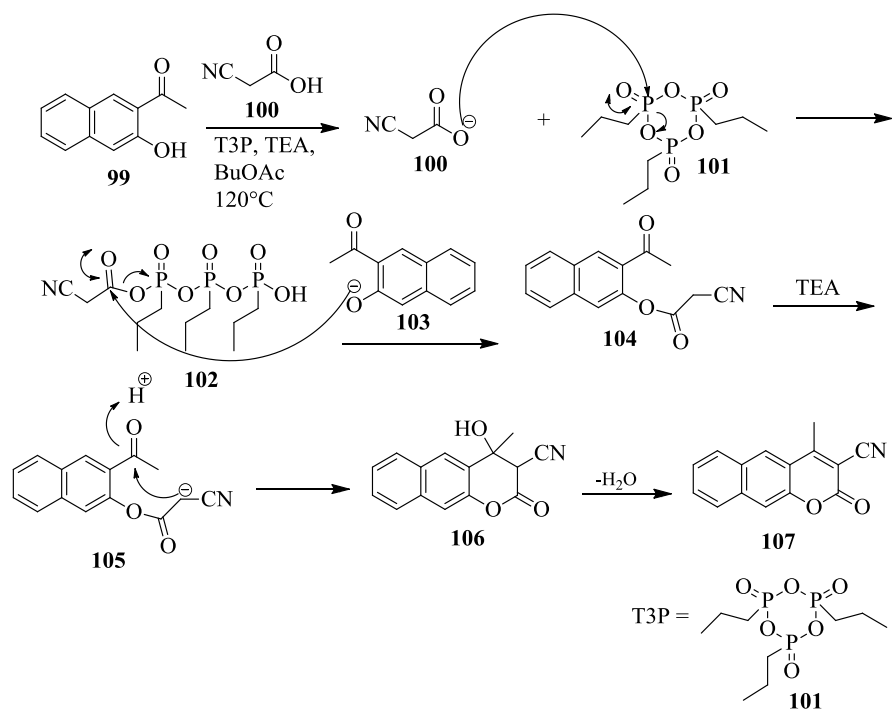


Cumarinas também podem ser preparadas através da condensação de Knoevenagel. Essa reação é feita através da mistura entre derivados de salicilaldeído e compostos  $\beta$ -dicarbonilados<sup>35</sup> O mecanismo da reação de Knoevenagel é bem similar ao da reação de Pechmann, a principal diferença está no ataque nucleofílico do grupo hidroxila do salicilaldeído no composto  $\beta$ -dicarbonilado, seguido da transesterificação e da desidratação já discutida anteriormente.<sup>37,38</sup> Outra diferença é no uso do catalisador da reação, enquanto na reação de Pechmann o uso de ácidos de Lewis é bastante comum, na reação de Knoevenagel a catálise geralmente é feita a partir da piperidina, mas outros catalisadores podem ser usados, como acetato de sódio<sup>39</sup> ou anidrido acético.<sup>40</sup>



**Esquema 14.** Mecanismo simplificado da reação de Knoevenagel na preparação de derivados de cumarinas.<sup>35</sup>

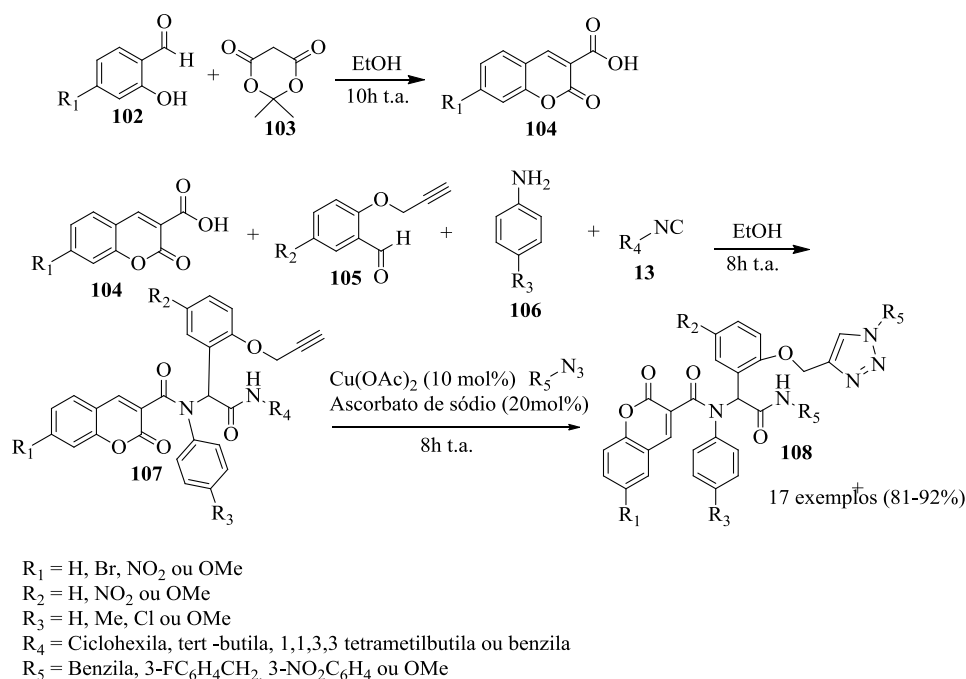
A reação de Perkin é semelhante à reação de Knoevenagel, a principal diferença é o uso de uma cetona como substrato e não um aldeído. Como a cetona é menos reativa que o aldeído, uma condição reacional mais severa é imprescindível para que haja formação de produto.<sup>35 41</sup>



**Esquema 15 .** Reação de Perkin na preparação de derivados de cumarinas.<sup>35 41</sup>

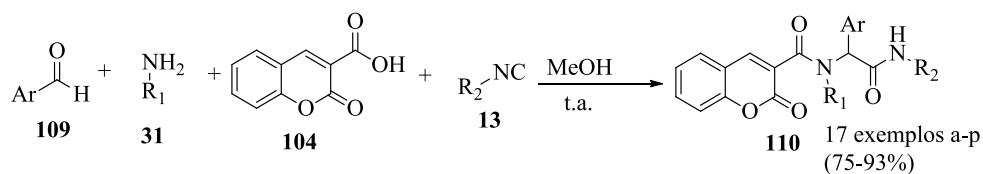
### 1.4.2. Recentes aplicações de U-4CR utilizando derivados de cumarinas.

Recentemente, Ng e colaboradores<sup>42</sup> realizaram a síntese de adutos de Ugi contendo derivados de cumarinas em sua estrutura. A sequência sintética proposta foi Knoevenagel/Ugi/Click no mesmo pote reacional e baseado em seis componentes. Os autores conseguiram preparar um grande acervo desses produtos (17 exemplos) com grande apelo farmacológico, de maneira fácil, e com ótimos rendimentos.



**Esquema 16.** Rota sintética baseada em seis componentes one-pot para a preparação de produtos de Ugi.<sup>42</sup>

Outro trabalho importante de se citar é o de Moghaddam e colaboradores.<sup>43</sup> Os autores prepararam um vasto acervo de produtos de Ugi utilizando um derivado de cumarina (3-ácido carboxílico-cumarina), anilina, derivados de benzaldeído e isocianetos como substratos da reação, a temperatura ambiente, fornecendo os respectivos produtos em altos rendimentos. Alguns desses compostos produzidos apresentaram fluorescência na faixa de 535-547 nm em clorofórmio.



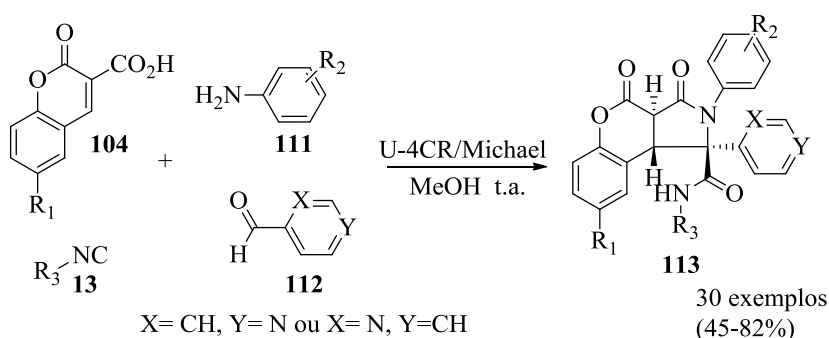
Ar = Ph, 2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, 4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, 4,5,6-(MeO)<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>-, 4-Me-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, 4-*i*-pr-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, 2,4,6-(Me)<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>-, 2-O<sub>2</sub>N-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, 3-O<sub>2</sub>N-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, 4-O<sub>2</sub>N-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>- ou 2-(prop-2-ynyloxy)-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-

R<sub>1</sub> = Ph, 4-Cl-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>- ou 2,4-(Cl)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>-

R<sub>2</sub> = butila, tert-butila ou ciclohexila

**Esquema 17.** Reação U-4CR utilizando 3 ácido carboxílico-cumarina como reagente.<sup>43</sup>

Yang e colaboradores<sup>44</sup> sintetizaram um grande acervo dos derivados de cromeno[3,4-*c*]pirrol-3,4-dionas através de U-4CR e posterior adição intramolecular de Michael em um mesmo pote reacional em bons rendimentos com apenas nitrogênios nas posições *orto* e *para*. Utilizando um nitrogênio na posição *meta* a adição de Michael não ocorria e, portanto, não aconteceria ciclização do intermediário. Inicialmente eles pensaram que a forte tendência de formar enolatos com o nitrogênio nas posições *orto* e *para* explicava a formação do produto ciclizado, ao passo que com nitrogênio na posição *meta* essa tendência era prejudicada. Então houve a permuta dos aldeídos com nitrogênios *orto* e *para* por 2-nitrofenil-aldeído e 4-nitrofenil-aldeído, mas não houve formação de produtos sob várias condições reacionais, concluindo que esse efeito não é o principal fator da ciclização.



**Esquema 18.** Rota sintética para a preparação de derivados de cromeno[3,4-*c*]pirrol-3,4-dionas.<sup>44</sup>

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. GERAIS**

Os objetivos gerais do projeto baseiam-se na síntese e estudos fotofísicos e de imageamento celular dos peptóides fluorescentes sintetizados via reação multicomponente de Ugi (U-4CR).

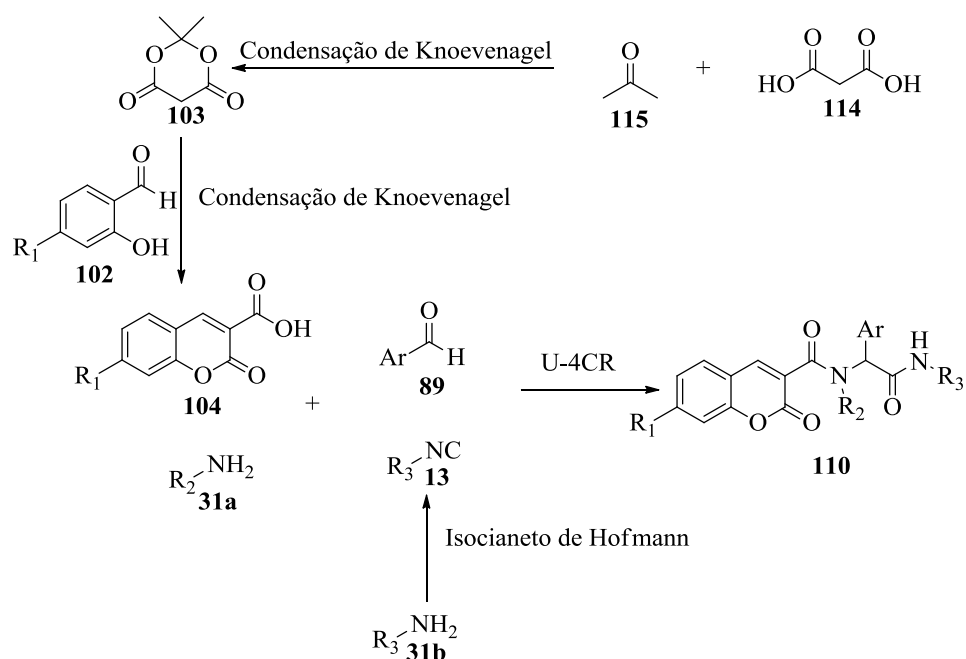
### **2.2. ESPECÍFICOS**

1. Síntese e caracterização de isocianetos por vias alternativas ao uso de derivados fosforados, que serão usados como substratos da reação de Ugi.
2. Síntese e caracterização de derivados de cumarinas que serão utilizados como o ácido carboxílico da reação de Ugi.
3. Síntese e caracterização de peptóides via U-4CR.
4. Análise fotofísica dos produtos de Ugi sintetizados.
5. Testes de imageamento celular utilizando alguns dos compostos sintetizados.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A proposta inicial da pesquisa foi seguir as características de uma síntese ideal proposta por Ugi e Domling. Além de seguir esses conceitos de síntese ideal, já discutido anteriormente, outro argumento que motivou essa pesquisa foi o fato de haver poucos artigos que mostravam a reação multicomponente de Ugi utilizando derivados de cumarinas. E por último, e talvez a mais importante, é a potencial atividade biológica dos derivados de cumarinas além do grande poder exploratório das reações baseadas em isocianetos, especialmente a reação de Ugi.

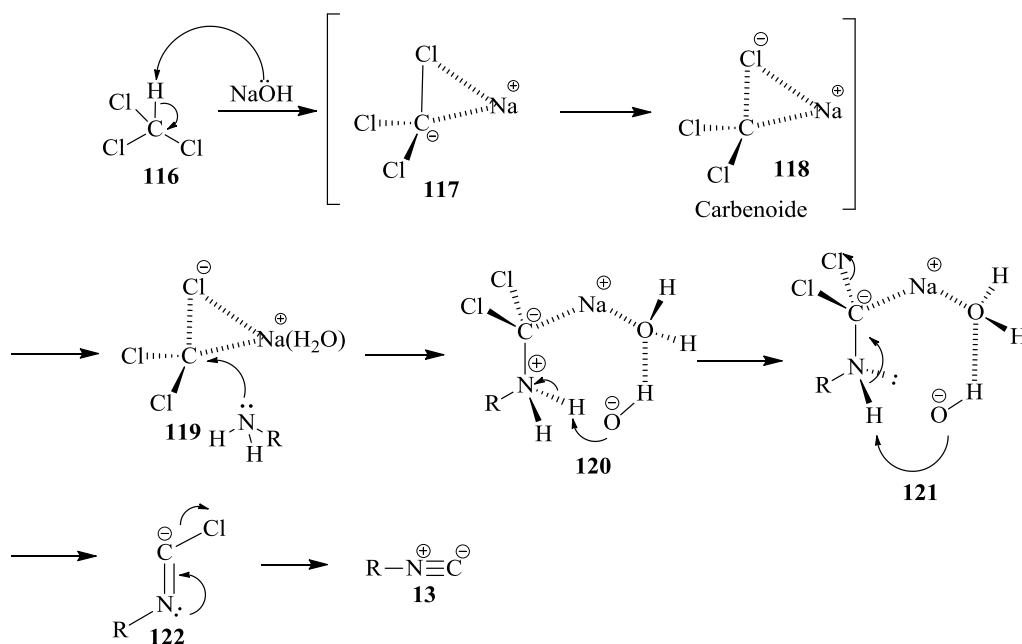
Com essas motivações em mente, um acervo considerável de peptóides fluorescentes foi preparado através de U-4CR. Além disso, foi necessária a síntese de alguns isocianetos, fundamental para que ocorresse a reação, e a preparação de derivados de cumarinas como componente ácido carboxílico na U-4CR:



**Esquema 19.** Rotas sintéticas propostas para a síntese de peptóides.

### 3.1 Síntese de isocianetos.

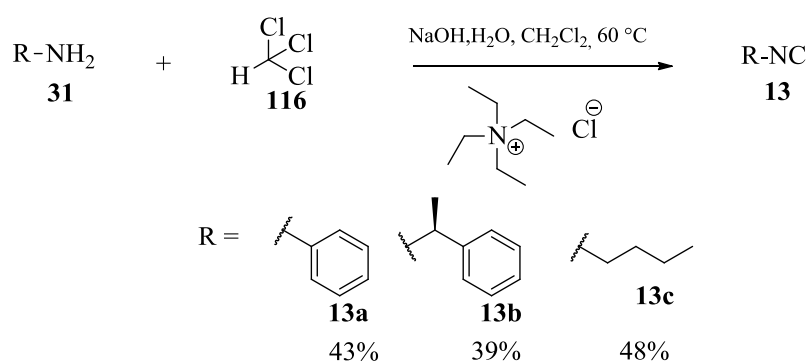
A síntese de isocianetos se mostrou necessária, já que os custos da compra desses reagentes são elevados. Com isso foi feita a busca de métodos alternativos para tal síntese, pois os isocianetos sintetizados a partir da desidratação de formamidas, apresenta um tempo reacional elevado. Encontrou-se, então, um artigo de Weber e colaboradores,<sup>45</sup> onde se utiliza a metodologia de carbilamina de Hoffman, uma síntese *one-pot*, que leva apenas algumas horas para ser feita. Essa reação envolve uma amina e clorofórmio (materiais facilmente encontrados no laboratório) como reagentes da síntese, além de um meio extremamente básico. O primeiro passo do mecanismo é a formação do carbenóide,<sup>46</sup> através de uma  $\alpha$ -eliminação de um átomo de hidrogênio do clorofórmio, essa etapa é feita com auxílio de um catalisador de transferência de fase, que funciona como facilitador da migração dos íons hidróxidos, que estão na fase aquosa, para a fase orgânica. Em seguida, há o ataque da amina primária nesse carbenóide, e finalmente a saída dos outros dois átomos de cloro para a formação do grupo isonitrila.



Esquema 20. Mecanismo proposto da reação de Hofmann.<sup>46</sup>

Alguns isocianetos foram preparados através da metodologia de Hofmann: isocianeto de butila, isocianobenzeno e (*R*)-isocianoetilbenzeno. O odor extremamente desagradável era um ótimo indicio que os isocianetos estavam sendo formados. Tais isocianetos foram purificados via coluna cromatográfica utilizando diclorometano como eluente e caracterizados através de ressonância magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$ .

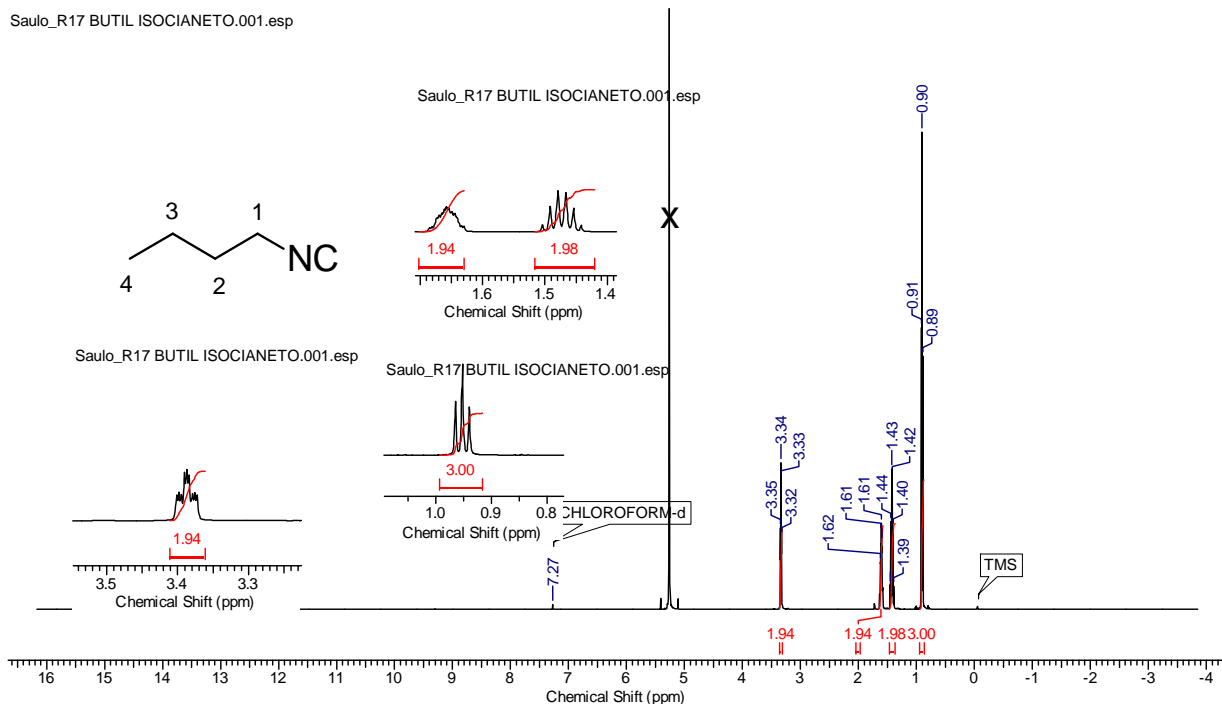
Algumas desvantagens na preparação desses isocianetos foram observadas, tais como: baixos rendimentos depois da purificação e a retirada parcial do solvente utilizado na purificação. A destilação com coluna de *Vigreux* ou o uso de evaporador rotatório não se mostraram efetivos na tentativa de remoção do solvente. Então foi decidido utilizar os isocianetos em excesso para reações posteriores.



**Esquema 21.** Isocianetos sintetizados

Para o composto **13C**, Pelo espectro de RMN  $^1\text{H}$ , pode-se observar a presença de três multipletos, onde o triplo triplete ( $J_1= 6,7\text{Hz}$  e  $J_2= 1,9\text{Hz}$ ) com deslocamento químico 3,39 ppm se refere aos dois hidrogênios vizinhos ao grupo isonitrila, já o multiplete em 1,66 e o sexteto ( $J= 15,1\text{Hz}$ ) em 1,47 ppm representam os quatro hidrogênios  $\alpha$  e  $\beta$  da cadeia. E por último, tem-se um triplete ( $J= 7,3\text{Hz}$ ) em 0,90 ppm que são os três hidrogênios terminais da cadeia.





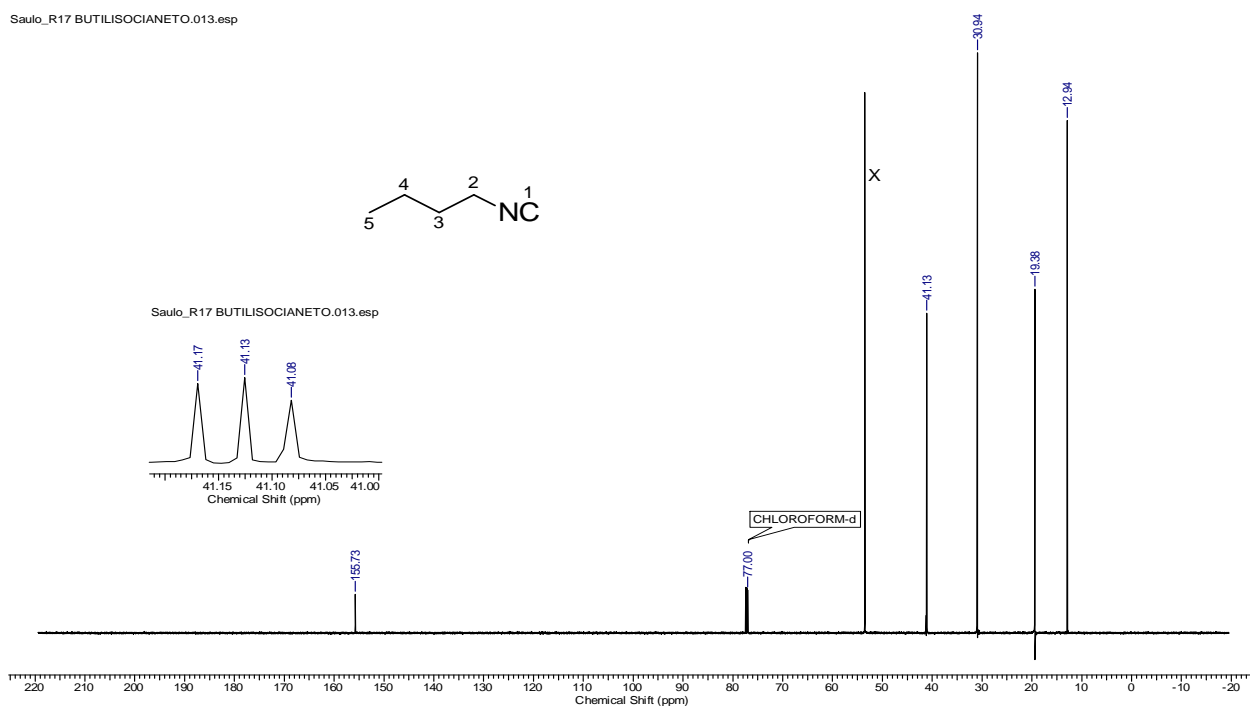
**Figura 12.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do isocianeto de butila.

**Tabela 2.** Hidrogênios correspondentes ao isocianeto de butila.

$\delta$ (ppm)	Integração	Multiplicidade	Hidrogênios Correspondentes	$J$ (Hz)
3,39	2	Triplo tripleto	1	6,7;1,9
1,66	2	Multipletto	2	-
1,47	2	Sexteto	3	15,1
0,9	3	Tripleto	4	7,3

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  se tornou necessário para uma melhor caracterização, Agora se pode ter certeza da formação do grupo isonitrila justamente por causa do carbono em 155,6 ppm referente ao carbono do grupo isonitrila e os sinais 12,7 ppm, 19,2 ppm, 30,7 ppm e 40,9 ppm são os carbonos carbono terminal,  $\gamma$ ,  $\beta$ ,  $\alpha$ , , respectivamente. Nota-se

um fato interessante, no espectro de carbono desse isocianeto. A presença de um tripleto na faixa de 40,9 ppm, que talvez corresponda ao acoplamento  $^{13}\text{C}$ - $^{14}\text{N}$ .



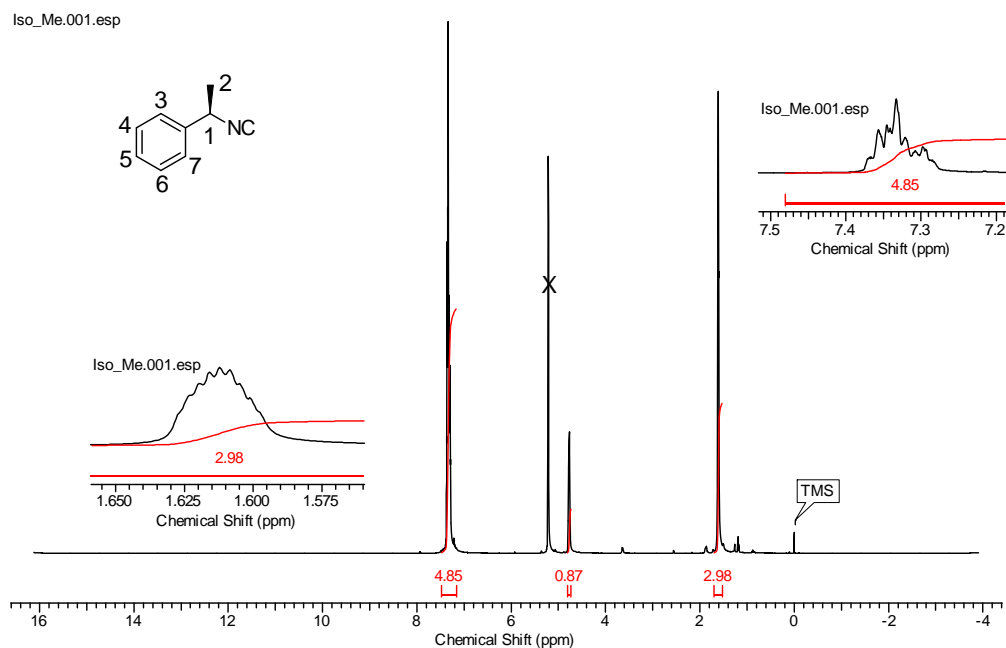
**Figura 13.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do isocianeto de butila.

**Tabela 3.** Carbonos correspondentes ao isocianeto de butila.

$\delta$ (ppm)	Multiplicidade	Carbonos Correspondentes
155,6	Singleto	1
40,9	Tripleto	2
30,7	Singleto	3
19,2	Singleto	4
12,7	Singleto	5

Outra caracterização interessante de se citar é a do (*R*)-isocianoetilbenzeno. Pelo RMN  $^1\text{H}$  foi possível encontrar todos os hidrogênios presentes na molécula. O multiplete

na faixa de 7,33 ppm representa os cinco hidrogênios aromáticos. O sinal em 4,77 ppm é o hidrogênio do centro estereogênico e o pico em 1,61 ppm do grupo metila.

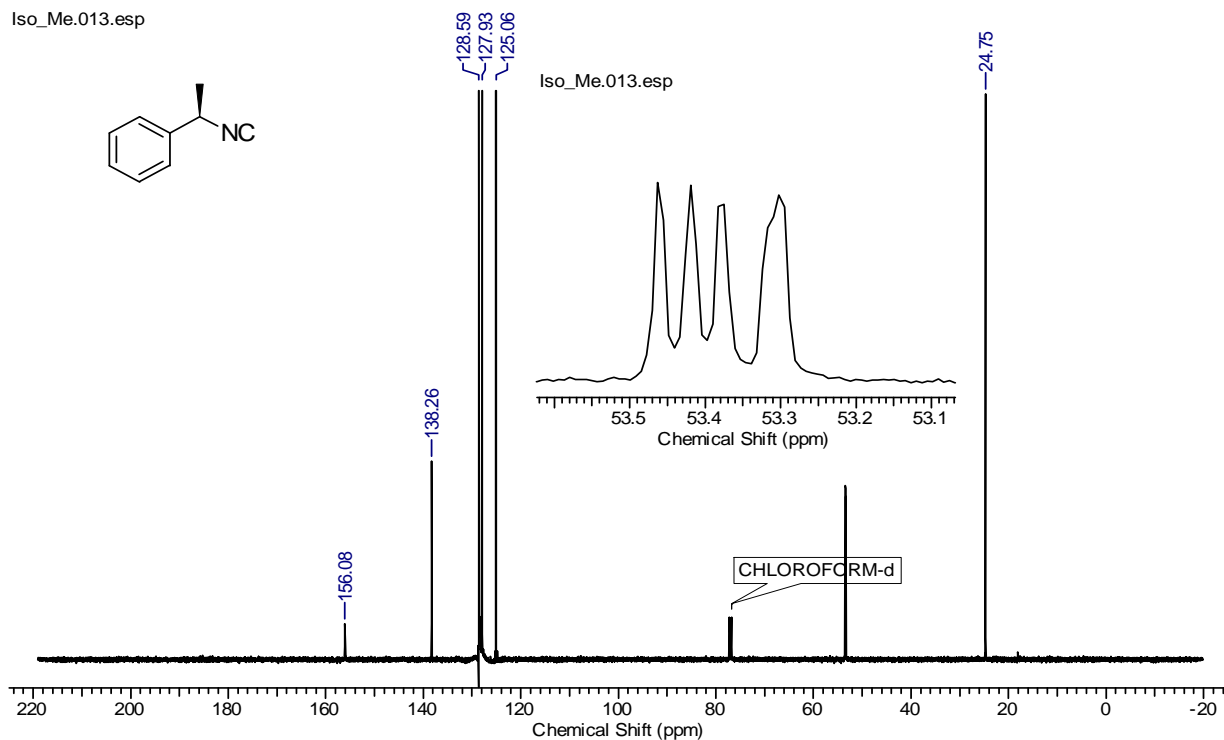


**Figura 14.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do (*R*)-isocianoetilbenzeno.

**Tabela 4.** Hidrogênios correspondentes ao (*R*)-isocianoetilbenzeno.

$\delta$ (ppm)	Integração	Multiplicidade	Hidrogênios Correspondentes
7,33	5	Multipleteo	Aromáticos
4,77	1	Multipleteo	Centro estereogênico
1,61	3	Multipleteo	Metila

Novamente a técnica de RMN  $^{13}\text{C}$  se fez necessário para se ter a plena certeza do desempenho da síntese. Pelo espectro do produto chegou-se a conclusão, que de fato, era um grupo isonitrila, já que o sinal em 156 ppm representa tal grupo.



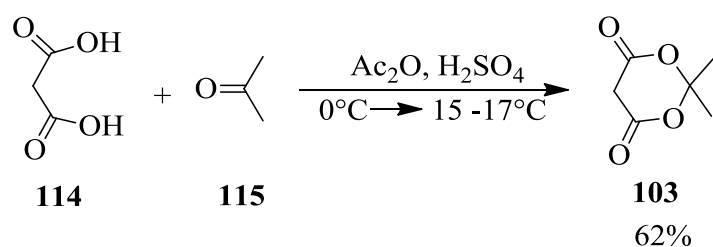
**Figura 15.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do (*R*)-isocianoetilbenzeno.

**Tabela 5.** Carbonos correspondentes ao (*R*)-isocianoetilbenzeno.

$\delta$ (ppm)	Multiplicidade	Carbonos Correspondentes
156	Singleto	Isonitrila
138,2	Singleto	Aromático
128,6	Singleto	Aromático
127,9	Singleto	Aromático
125	Singleto	Aromático
53,4	Quarteto	Centro estereogênico
24,7	Singleto	Metila

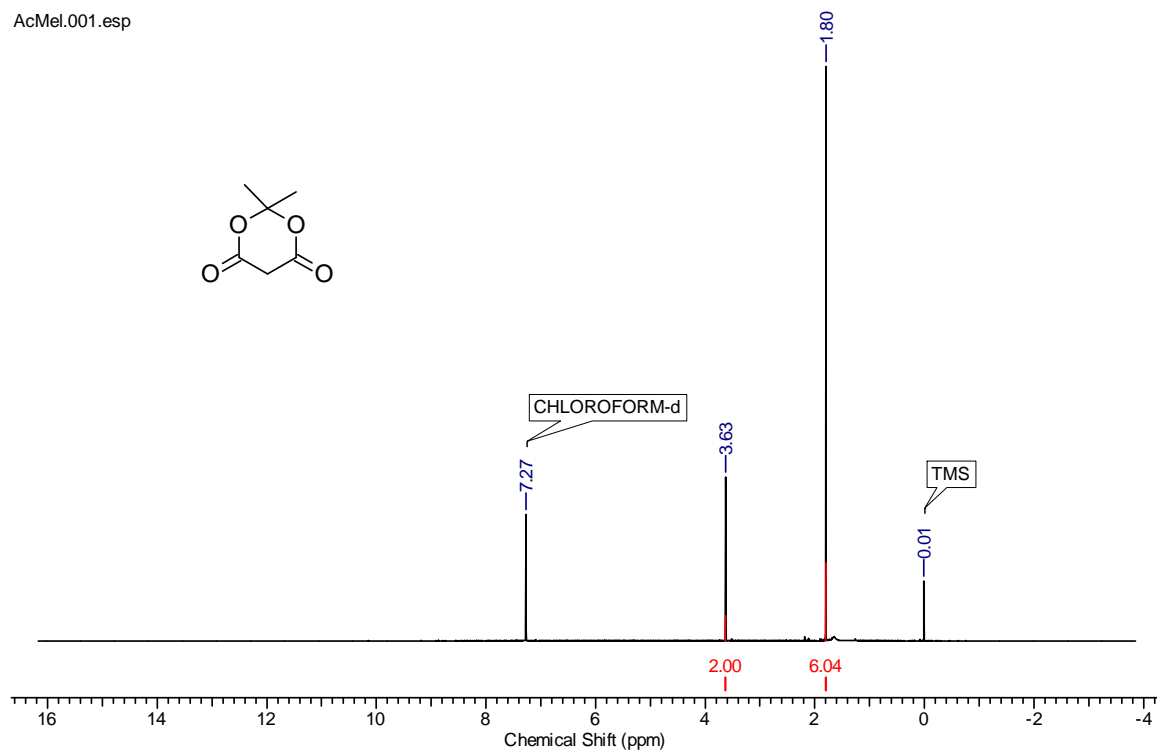
### 3.2 Síntese de derivados de cumarinas.

Para a preparação dos derivados de cumarinas foi necessário primeiramente a obtenção do ácido de Meldrum, um composto bastante atrativo em síntese orgânica, devido à sua alta acidez, rigidez estrutural e sua capacidade de eliminar acetona na presença de calor e formar ceteno. Esse reagente foi preparado através da condensação de ácido malônico e acetona, na presença de anidrido acético, além de catálise ácida.<sup>47</sup> O rendimento da síntese foi satisfatório com 62%.



Esquema 22. Síntese do ácido de Meldrum.<sup>47</sup>

A caracterização foi feita através de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, e análise é bastante simples já que a molécula apresenta simetria e, por isso, há poucos sinais no espectro. Pelo espectro RMN de <sup>1</sup>H pode-se referenciar todos os hidrogênios presentes na molécula: O singleto em 1,8 ppm representa os seis hidrogênios das duas metilas presentes na molécula e o singleto em 3,63 ppm são os dois hidrogênios do carbono entre as duas carbonilas. Já no espectro de carbono, os sinais correspondentes ao ácido de Meldrum são: O pico em 27,5 ppm que representa os dois carbonos das duas metilas, o pico em 36,2 ppm que representa o carbono CH<sub>2</sub> entre as duas carbonilas, o pico em 106,3 ppm que representa o carbono quaternário do composto e por último o pico em 163,1 ppm que referencia as duas carbonilas.



**Figura 16.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H 600 MHz (CDCl<sub>3</sub>) do ácido de Meldrum.

**Tabela 6.** Hidrogênios correspondentes ao ácido de Meldrum.

$\delta$ (ppm)	Integração	Multiplicidade	Hidrogênios Correspondentes
1,80	6	Singleto	Metilas
4,77	2	Singleto	$\alpha$ -carboxilas

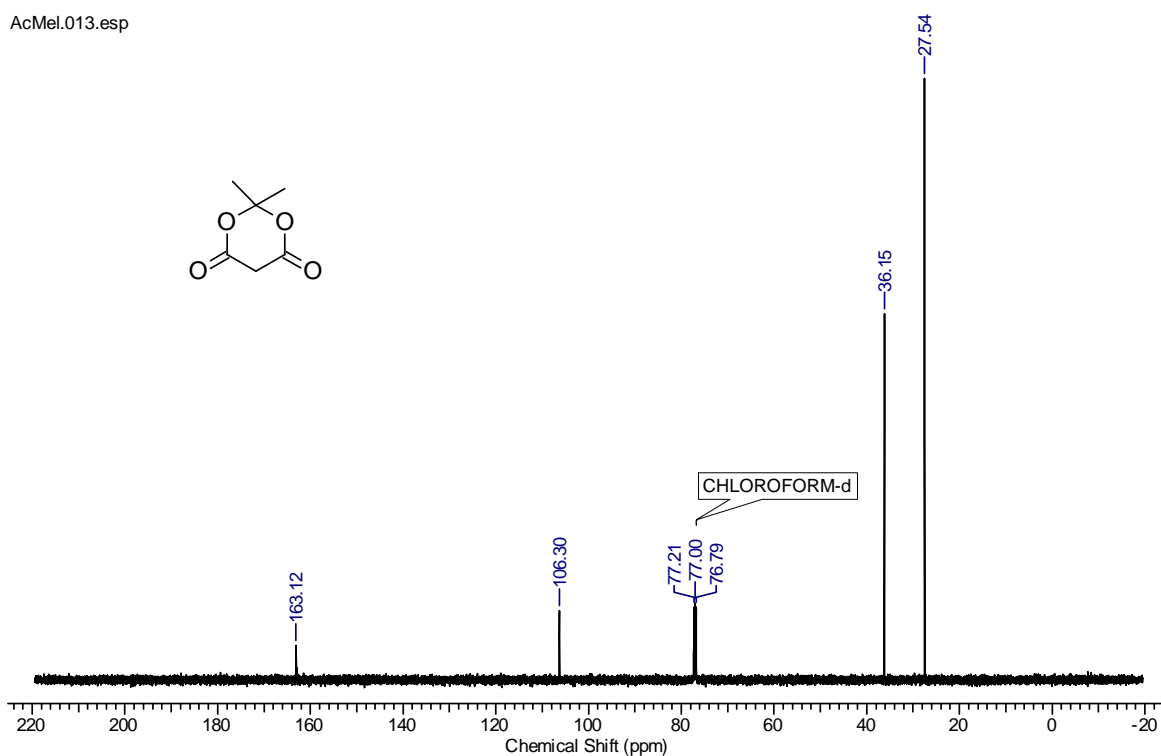


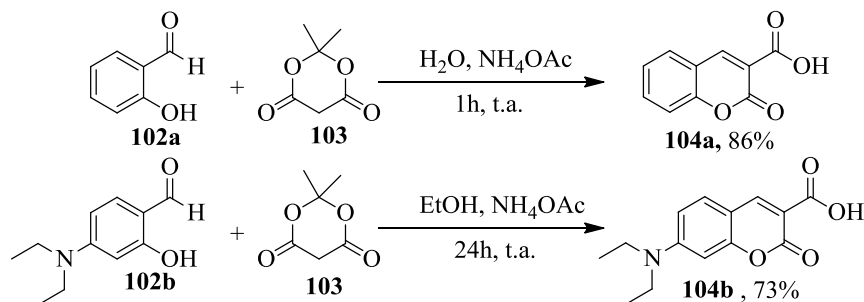
Figura 17. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do ácido de Meldrum.

Tabela 7. Carbonos correspondentes ao ácido de Meldrum.

$\delta$ (ppm)	Carbonos Correspondentes
163,12	Carboxilas
106,3	Quaternário
36,1	$\alpha$ -carboxilas
27,5	Metilas

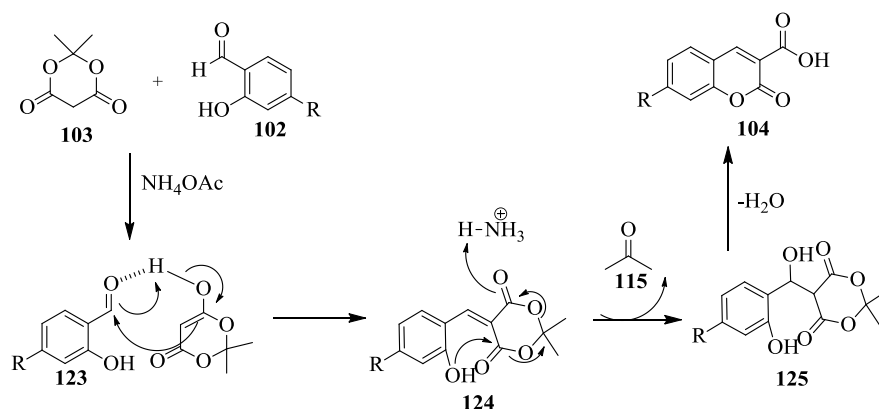
Para a síntese de derivados de cumarinas foi utilizada a reação de Knoevenagel. Essas estruturas foram facilmente preparadas utilizando o salicilaldeído (10 mmols) ou o seu derivado 4-*N,N*-dietilaminosubstituído e um excesso de ácido de Meldrum (12 mmols) em  $\text{H}_2\text{O}$ , no caso do composto **102A** e EtOH no caso de **102B**, já que o salicilaldeído análogo não é solúvel em água.

Outro fato importante citar é o tempo reacional na preparação dos dois compostos, enquanto a estrutura **104A** tem um tempo de preparação de apenas uma hora o composto **104B** precisou de 24h para um rendimento aceitável. Essa diferença talvez possa ser explicada pelo grupo substituinte utilizado no composto **102B**, sendo ele um grupo doador de elétrons o mesmo deixa o derivado de salicilaldeído menos reativo, necessitando um tempo consideravelmente maior.



**Esquema 23.** Preparação de derivados de cumarinas utilizadas no projeto de pesquisa.<sup>48</sup>

O mecanismo da formação do derivado de cumarina se dá pela condensação de Knoevenagel e pode ser visto logo abaixo. O primeiro passo do mecanismo é a perda de um próton do carbono  $\alpha$  do ácido de Meldrum. Em seguida, há a adição do enolato na carbonila do salicilaldeído e a desidratação do intermediário. O último passo do mecanismo é a ciclização da estrutura proveniente da perda de uma molécula de acetona para formar o derivado de cumarina.<sup>49</sup>

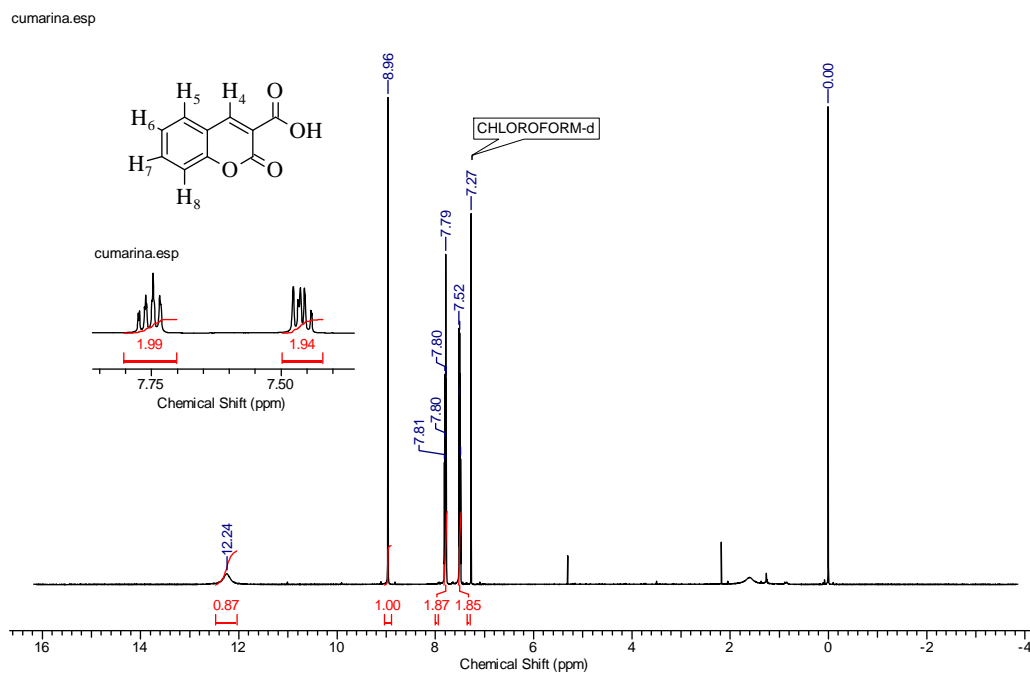


**Esquema 24.** Mecanismo da reação de Knoevenagel para a preparação de derivados de cumarinas utilizando salicilaldeídos e ácido de Meldrum.<sup>49</sup>

Os derivados foram obtidos com ótimo grau de pureza e caracterizados via RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . No espectro de hidrogênio do derivado de cumarina sem substituição no anel aromático é possível observar um singlete em 8,96 ppm, sinal mais importante do espectro,



pois representa o único hidrogênio da insaturação, na posição 4 da cumarina. A presença desse sinal mostra que ocorreu a formação do produto. Os multipletos entre 7,52 e 7,48 ppm e entre 7,82 e 7,77 ppm representam os quatro hidrogênios aromáticos da molécula e o singlete largo em 12,2 ppm é o hidrogênio do ácido carboxílico.

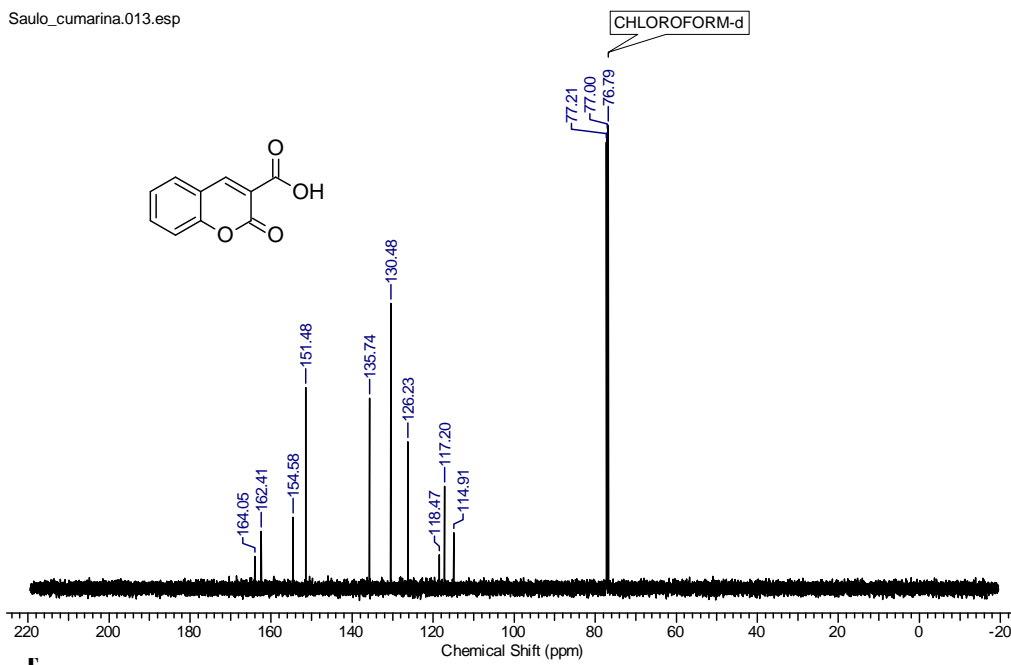


**Figura 18.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  300 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) da 3-ácido carboxílico cumarina

**Tabela 8.** Hidrogênios correspondentes à 3-ácido carboxílico cumarina

$\delta$ (ppm)	Integração	Multiplicidade	Hidrogênios Correspondentes
12,24	1	Singlete	ácido carboxílico
8,96	1	Singlete	H <sub>4</sub>
7,79	2	Multiplete	H <sub>5</sub> e H <sub>7</sub>
7,49	2	Multiplete	H <sub>6</sub> e H <sub>8</sub>

Já no espectro de  $^{13}\text{C}$  os sinais em 164,0 e em 162,4 ppm correspondem aos grupos carbonila do ácido e da lactona respectivamente, o que corrobora com a formação do produto. Os picos restantes foram atribuídos aos demais carbonos da estrutura.

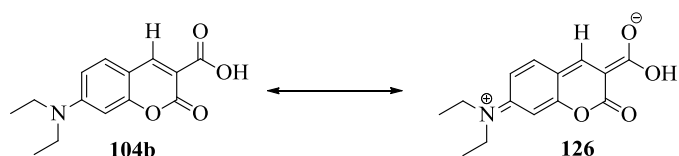


**Figura 19.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  75 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) da 3 ácido carboxílico-cumarina.

**Tabela 9.** Carbonos correspondentes à 3-ácido carboxílico cumarina

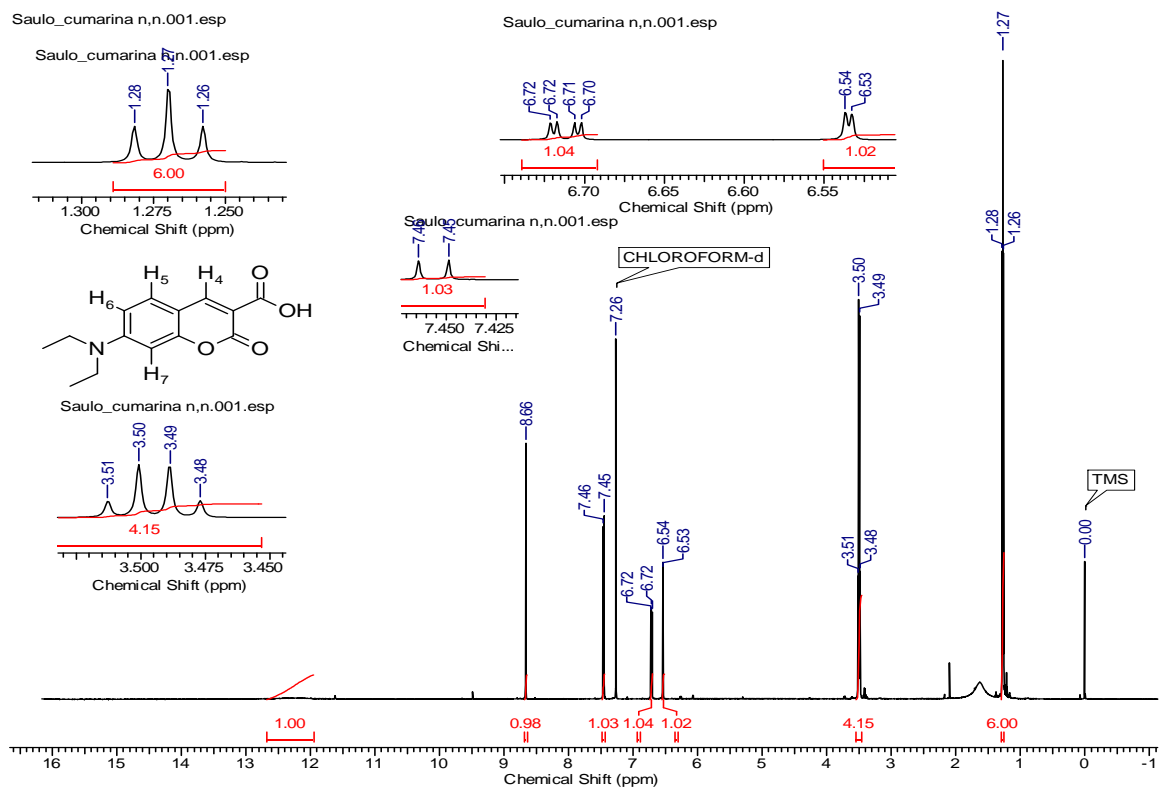
$\delta$ (ppm)	Carbonos Correspondentes
164,0	Ácido Carboxílico
162,0	Lactona
154,5	Aromático
151,5	Aromático
136,7	Aromático
130,4	Aromático
126,6	Aromático
118,4	Aromático
117,2	Aromático
114,9	Aromático

Nota-se, pelo espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 3-ácido carboxílico-7-dietilamino - cumarina, que o sinal antes em 8,96 ppm visto anteriormente está agora mais blindado, na faixa de 8,68 ppm, esta blindagem pode ser explicada pela presença do grupo doador de elétrons da molécula, que deslocaliza os elétrons e blindam o hidrogênio.



**Esquema 25.** Deslocalização da carga na estrutura do derivado **104b**.

O tripleto ( $J=7,2\text{Hz}$ ) entre 1,27 ppm são atribuídos aos seis hidrogênios terminais do grupo dietilamino. Já o quarteto ( $J=7,1\text{Hz}$ ) em 3,50 ppm representa os quatro hidrogênios vizinhos ao nitrogênio do grupo dietilamino. O duplo dubleto ( $J_1=9,2\text{Hz}$  e  $J_2=2,6\text{Hz}$ ) em 6,71 ppm, o dubleto ( $J=9,2\text{Hz}$ ) em 7,46 ppm, o dubleto ( $J=2,6\text{Hz}$ ) em 6,53 ppm são os hidrogênios aromáticos do derivado. O singlete em 12,23 representa o hidrogênio do ácido carboxílico da estrutura.

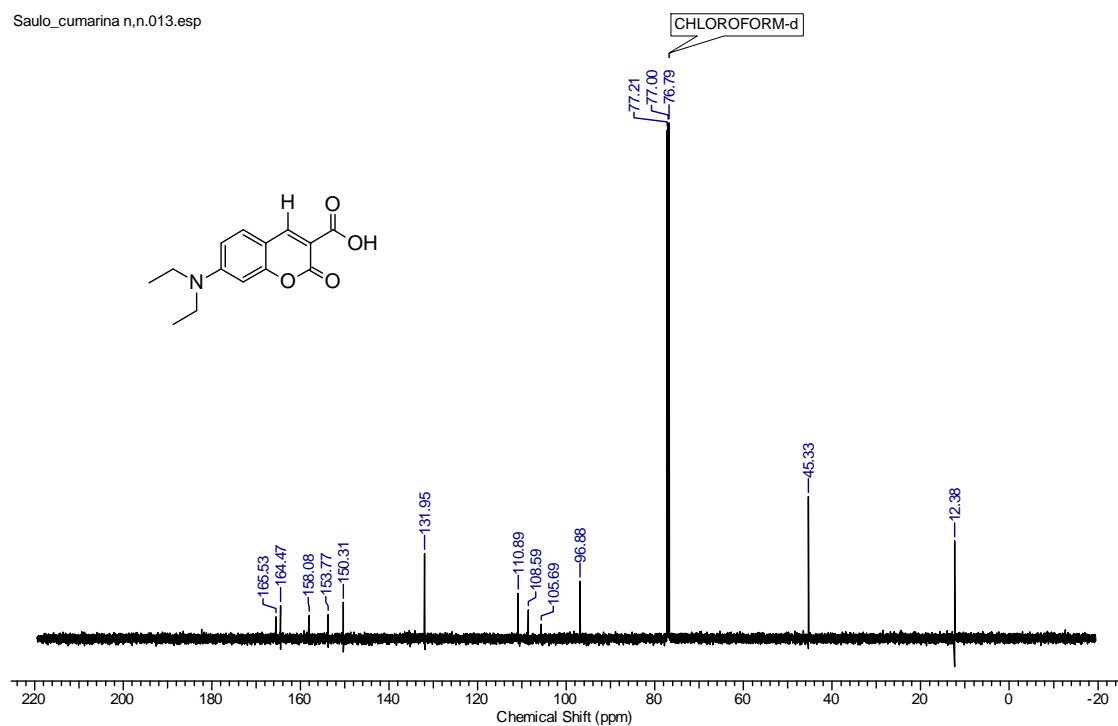


**Figura 20.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) de 7-(dietilamino)-cumarina- 3-ácido carboxílico.

**Tabela 10.** Hidrogênios correspondente à 7-(dietilamino)-cumarina- 3-ácido carboxílico

$\delta$ (ppm)	Integração	Multiplicidade	Hidrogênios Correspondentes	$J$ (Hz)
12,23	1	Singleto	Ácido Carboxílico	-
8,66	1	Singleto	H <sub>4</sub>	-
7,46	1	Dubleto	H <sub>5</sub>	9,2
6,71	1	Duplo dubleto	H <sub>6</sub>	$J_1=9,2$ e $J_2=2,6$
6,53	1	Dubleto	H <sub>7</sub>	2,6
3,50	4	Quarteto	$\alpha$ -nitrogênio	7,1
1,27	6	Tripleto	$\beta$ -nitrogênio	7,2

No espectro de  $^{13}\text{C}$  os picos que demonstram a formação do composto são os que se referem as carboxilas do ácido carboxílico e da lactona, que são, respectivamente, o sinal em 165,5 ppm e o sinal em 164,5 ppm. Os picos em 45,3 ppm e 12,4 ppm são dos grupos etilas presentes e os demais são caracterizados pelos carbonos aromáticos.



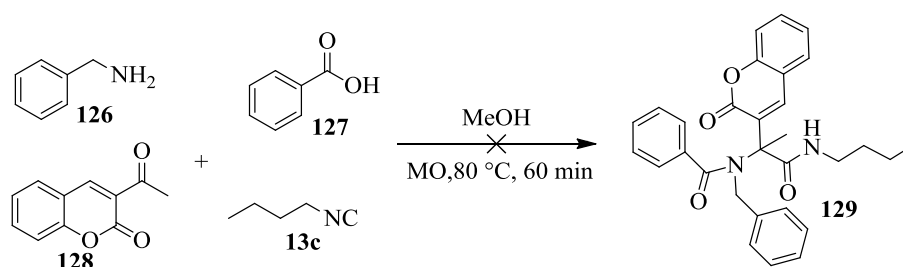
**Figura 21.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) da e 7-(dietilamino)-cumarina- 3-ácido carboxílico.

**Tabela 11.** Carbonos correspondente à 7-(dietilamino)-cumarina- 3-ácido carboxílico

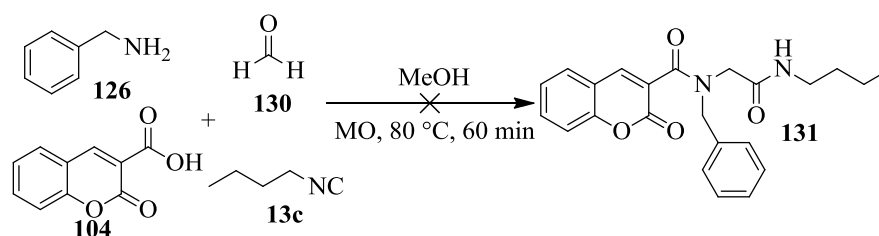
$\delta$ (ppm)	Carbonos Correspondentes
165.5	Acido carboxílico
164.4	Lactona
158	Aromático
153,7	Aromático
150,3	Aromático
131,9	Aromático
110,8	Aromático
108,5	Aromático
105,9	Aromático
96,9	Aromático
45,3	$\alpha$ -nitrogênio
12,4	$\beta$ -nitrogênio

### 3.3 Síntese de peptóides fluorescentes.

As primeiras tentativas de obtenção dos peptóides foram feitas com o auxílio de um equipamento de micro-ondas. Nessas sínteses foram testados dois derivados de cumarina, a 3-acetil cumarina, como componente cetona na U-4CR, já preparada anteriormente pelo grupo de pesquisa, e a 3-ácido carboxílico cumarina, para atuar como componente ácido carboxílico da reação. Foram utilizados também isocianeto de n-butila e a benzilamina como reagentes para a síntese. Essas primeiras tentativas foram frustradas, já que, com 60 minutos de irradiação de micro-ondas, nenhum reagente tinha sido consumido, comprovado por cromatografia de camada delgada.



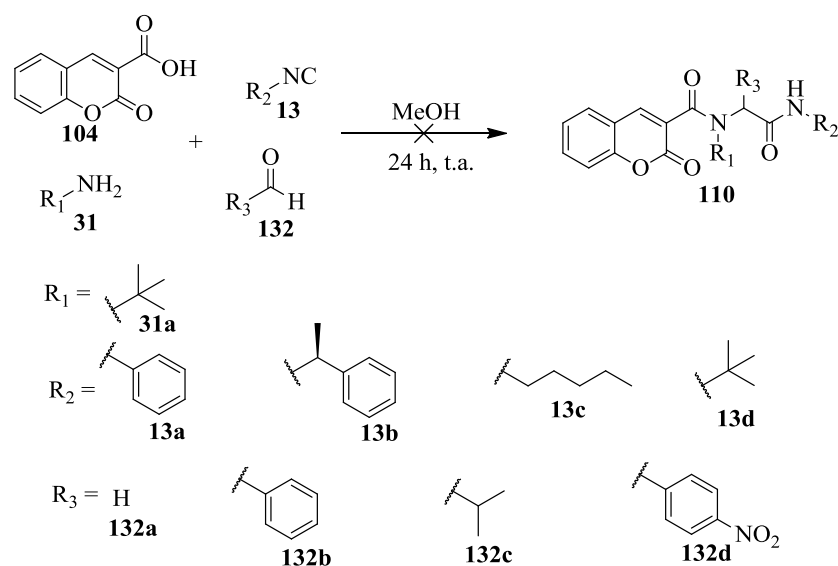
**Esquema 26.** Primeira tentativa de preparação do peptóide com o auxílio de micro-ondas.



**Esquema 27.** Segunda tentativa de preparação do peptóide com o auxílio de micro-ondas.

Diante dessas tentativas de preparação frustradas foi optado pela não utilização da 3-acetil-cumarina nos testes de reação, e foram usados aldeídos, pois os mesmos são mais reativos que cetonas. Também foi testada uma amina diferente (*tert*-butilamina) e diferentes isocianetos preparados anteriormente.

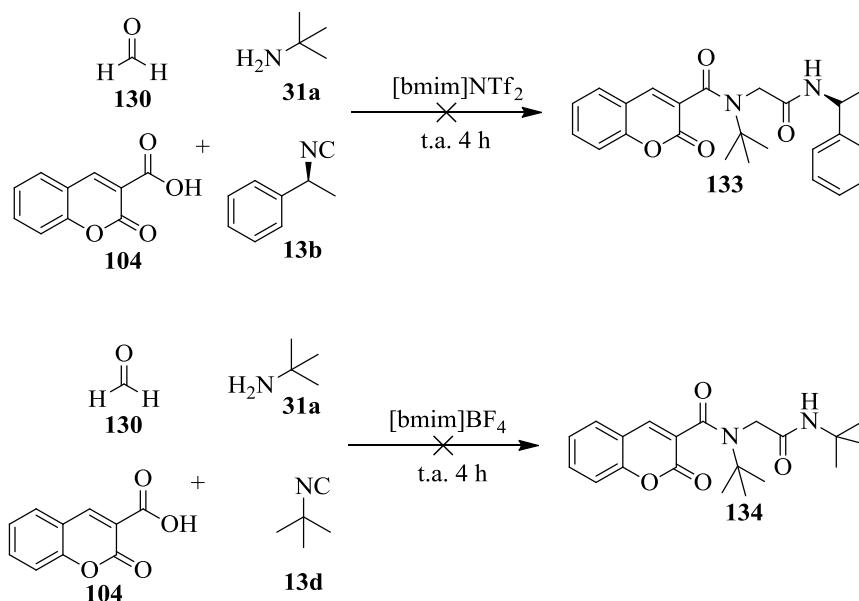
A metodologia convencional da reação de U-4CR consiste em reagir primeiramente o aldeído ou cetona com a amina para a formação da imina e depois fazer adição dos outros reagentes. Mas, em muitos casos não foi efetivo, não ocorrendo formação dos produtos. Alguns exemplos dessas tentativas frustradas podem ser vistas abaixo:



**Esquema 28.** Tentativas de preparação de peptóides utilizando o método convencional de síntese.

Resolveu-se então testar as sínteses em outro solvente, no caso os líquidos iônicos [bmim]BF<sub>4</sub> e [bmim]NTf<sub>2</sub>. Esses líquidos iônicos imidazólicos possuem características únicas: são ótimos solventes, funcionam bem como catalisadores, não são inflamáveis, tem uma pressão de vapor desprezível e talvez a mais importante, a sua capacidade de organização estrutural, formando canais iônicos através de ligações de hidrogênio e interações coulômbicas, muito importante para reação de Ugi, onde seu mecanismo é puramente iônico.<sup>50</sup>

Com tantas características positivas dos líquidos iônicos como solventes/catalisadores, era necessário testar para as sínteses trabalhadas. Com isso vieram alguns problemas: alguns reagentes sólidos usados nas reações de U-4CR não eram solúveis no líquido iônico, além disso, a grande viscosidade do líquido iônico atrapalhava constantemente a agitação magnética. Então, mais uma metodologia na tentativa de formação do produto foi descartada.

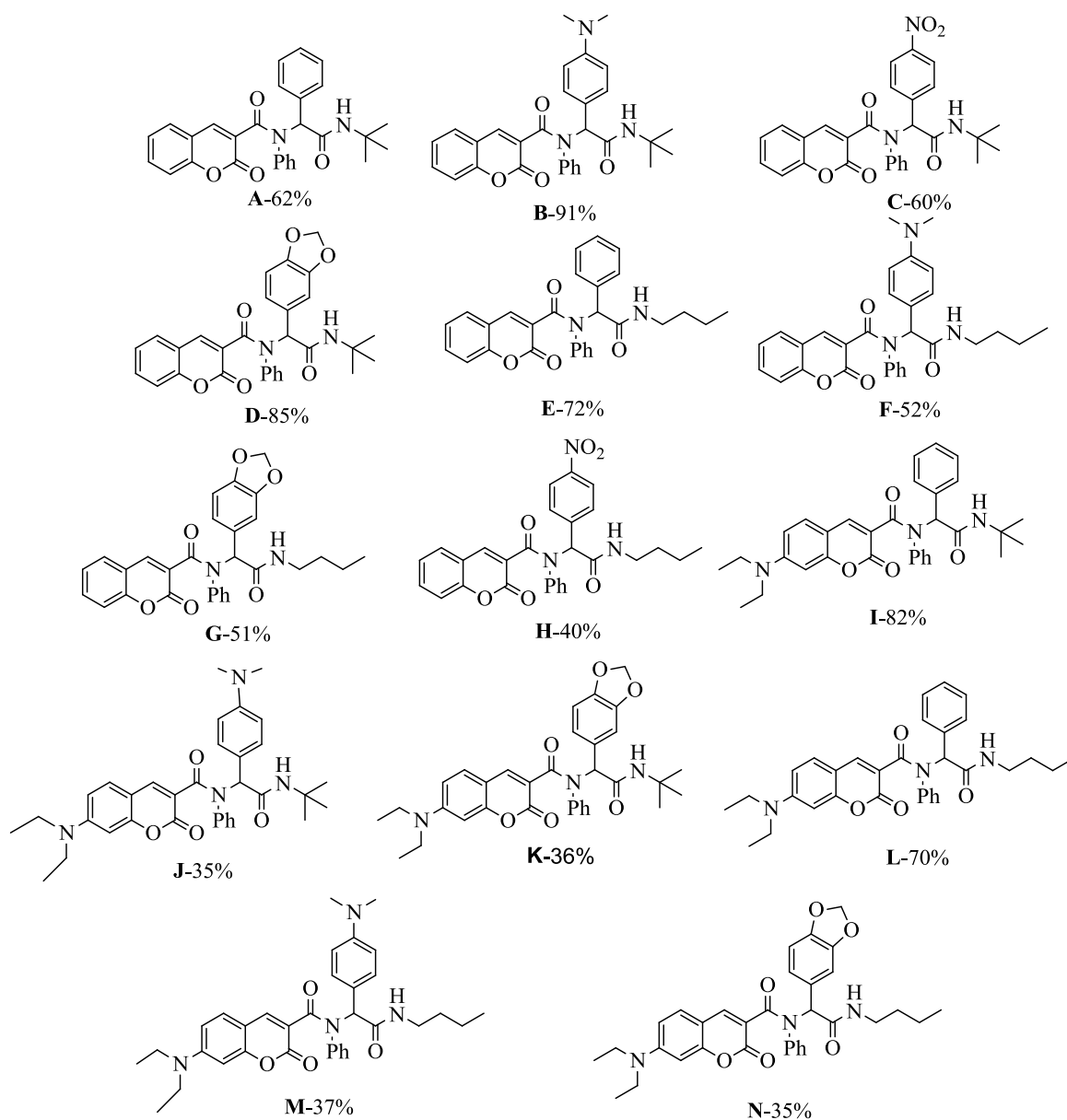
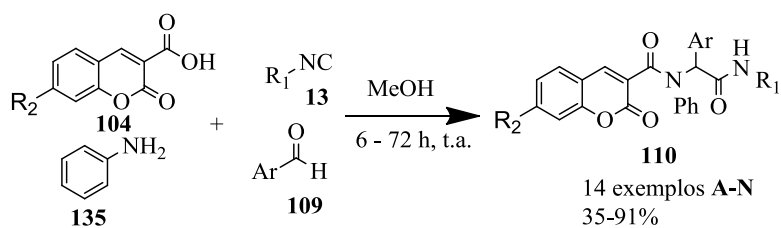


**Esquema 29.** Tentativas de preparação de peptídeos utilizando líquidos iônicos como solvente

Diante das várias tantas tentativas sem êxito, foi resolvido novamente fazer a permuta do grupo amina, anteriormente foi utilizado a *tert*-butilamina, a benzilamina e a *n*-butilamina no procedimento convencional. Foi constatado empiricamente que essas três aminas não foram bons substratos para a U-4CR. Foi decidido apenas utilizar anilina como amina da reação.

Com a anilina destilada em mãos, foi preferido o uso de aldeídos aromáticos, para garantir a rigidez dos produtos, também se optou pelo emprego de isocianetos alquílicos, no caso o isocianeto de *tert*-butila e o isocianeto de *n*-butila, além dos dois derivados de cumarinas já sintetizados e caracterizados. Com isso foi possível a preparação de 14 compostos inéditos na literatura através da U-4CR. Foram eles:





**Esquema 30.** Peptóides sintetizados e caracterizados.

A metodologia para a preparação desses produtos consistia em, primeiramente, adicionar 1,0 mmol da amina em uma solução de 1,0 mmol do aldeído em 20 ml de metanol sem prévio tratamento, por uma hora, já que era necessária primeiramente a formação da imina. Em seguida foram adicionados 1,0 mmol do derivado de cumarina e, depois de 15 minutos, foi realizada a adição de 2,0 mmol do isocianeto correspondente. A

mistura foi agitada vigorosamente entre 6 e 72h. Em alguns casos foi necessário um maior tempo de reação, por exemplo quando foi utilizado a cumarina **104B**. Em muitos casos o método de purificação consistia em uma simples recristalização em acetona/água, mas em outros foi preciso usar a técnica de coluna cromatográfica (40% acetato/diclorometano) para separar o produto e a sobra de derivado de cumarina que não reagiu.

Os peptídeos foram caracterizados utilizando técnicas de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . O principal sinal no espectro de hidrogênio seria um singlete entre 6,5 e 6,0 ppm no qual é representado pelo hidrogênio do centro estereogênico formado na reação.

Pode-se notar no espectro de hidrogênio do composto **110B** os sinais característicos da formação do produto, o singlete em 6,07 ppm é atribuído ao hidrogênio do centro estereogênico. Além disso, é possível perceber os singletos intensos em 1,47 ppm e 2,89 ppm, que são respectivamente os nove hidrogênios do grupo *tert*-butila (proveniente do isocianeto) e os seis hidrogênios das duas metilas do grupo dimetilamino. Os demais sinais são provenientes dos hidrogênios aromáticos (14 hidrogênios entre 7,74 e 6,51 ppm).

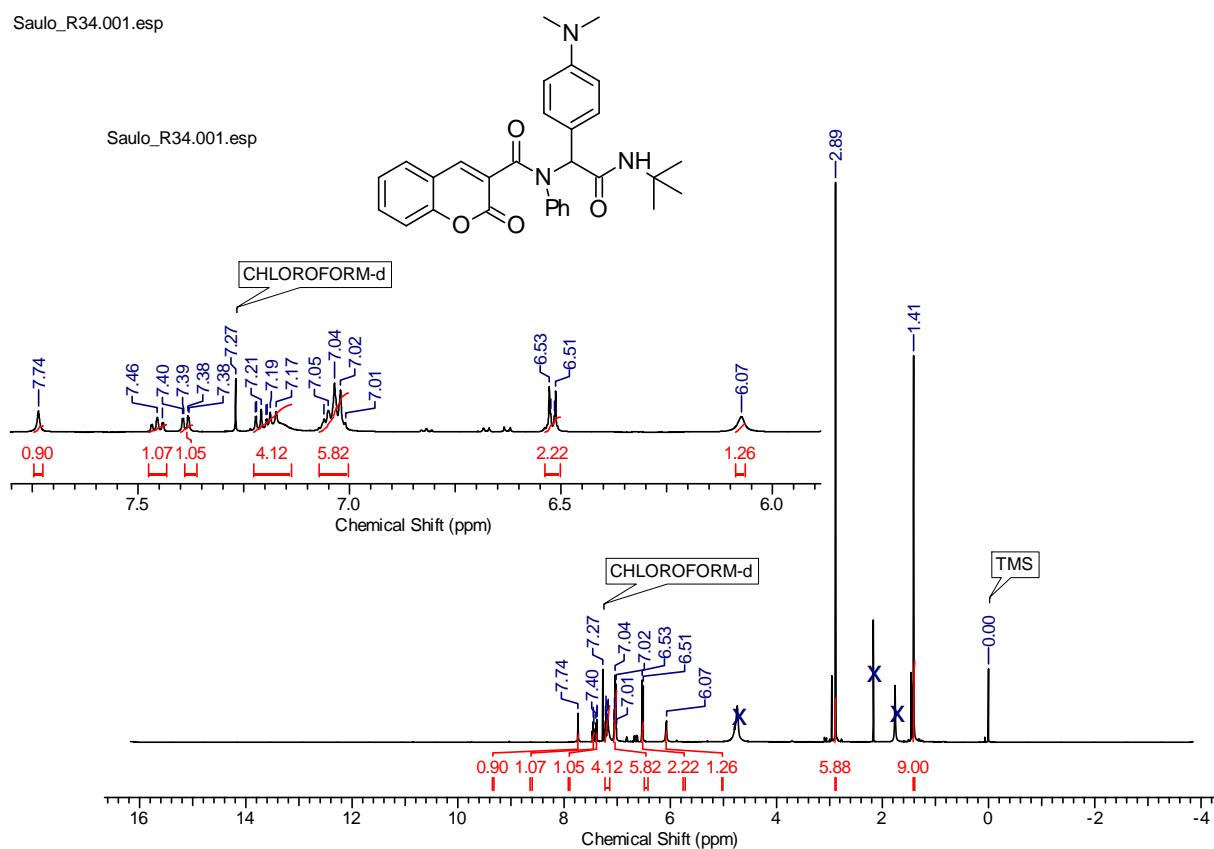


Figura 22. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do composto **110B**.

Também é importante comentar sobre o espectro de carbono do composto **110B**. Os principais sinais que caracterizam a formação do produto são os das duas carbonilas das amidas (166,8 e 165,2 ppm), o sinal em 66,0 ppm que representa o carbono do centro estereogênico e, por fim, o sinal em 51,7 ppm que representa a ligação C-N, também ligado ao grupo *terc*-butila. Os demais picos são referentes aos anéis aromáticos do composto.

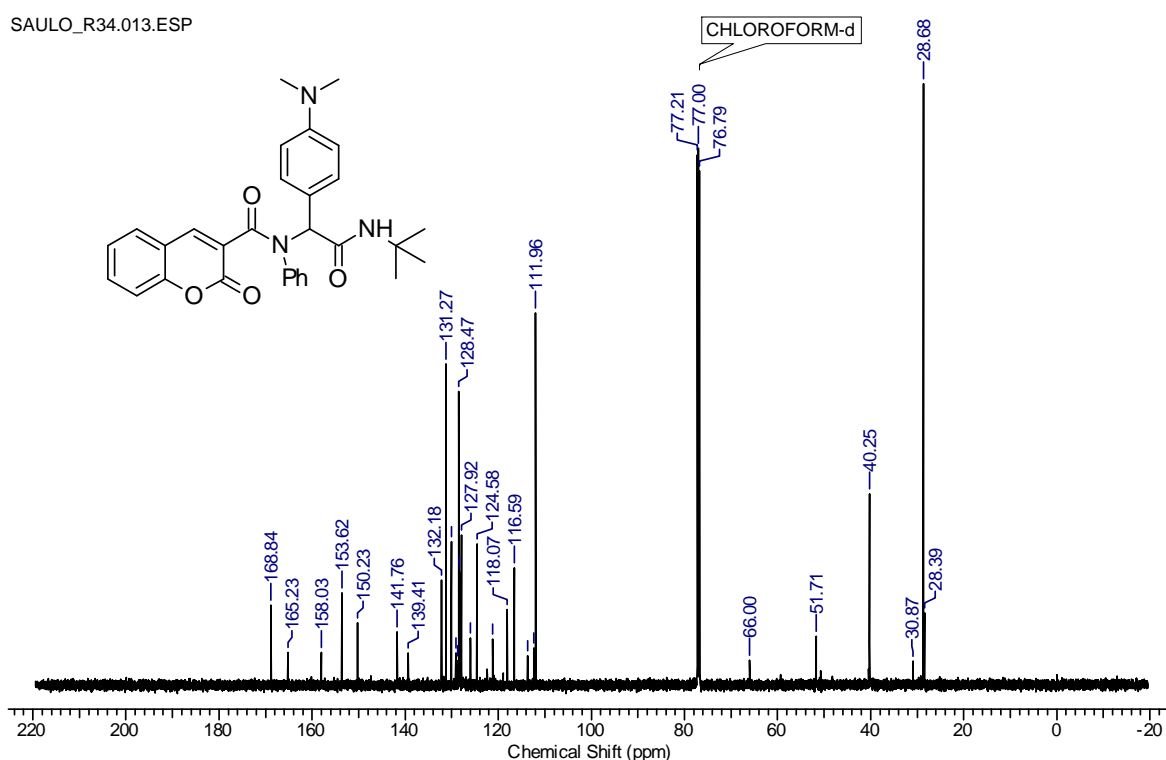


Figura 23. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do composto **110B**.

Na caracterização do composto **110E**, o espectro de hidrogênio mostra algumas diferenças, por exemplo, a presença de um quarteto entre 3,43 e 3,40 ppm, um quinteto em 1,62 e 1,57 ppm e um sexteto 1,40 e 1,36 ppm e também a presença de um tripleto entre 0,95 e 0,92 ppm que são os nove hidrogênios do grupo butila (Nota-se que no espectro anterior esses nove hidrogênios são representados por apenas um singletto intenso). Outra característica peculiar desse composto é o sinal do centro estereogênico se apresentar mais desblindado, na faixa de 6,31 ppm e ainda a presença de um singletto largo em 6,76 ppm que talvez possa ser o hidrogênio da ligação N-H da substância, não sendo visto anteriormente. No espectro de carbono a presença do sinal em 65,9 ppm confirma a formação do produto pois esse é o hidrogênio do centro estereogênico.

Saulo\_R35.001.esp

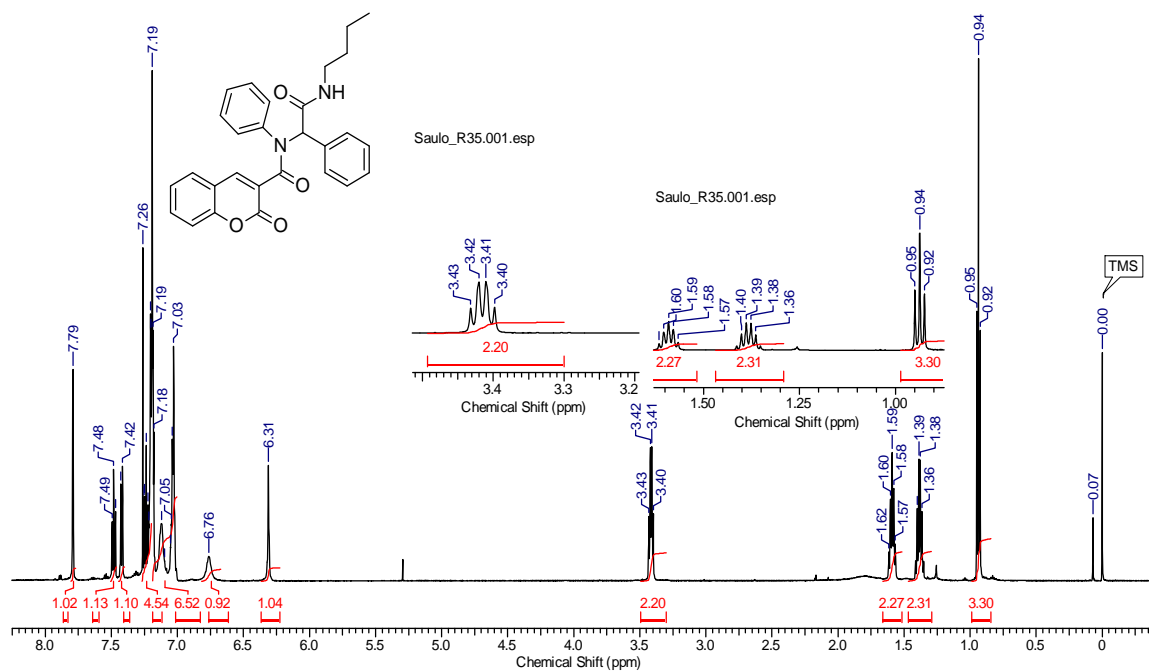


Figura 24. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do composto 110E.

Saulo\_R35.013.esp

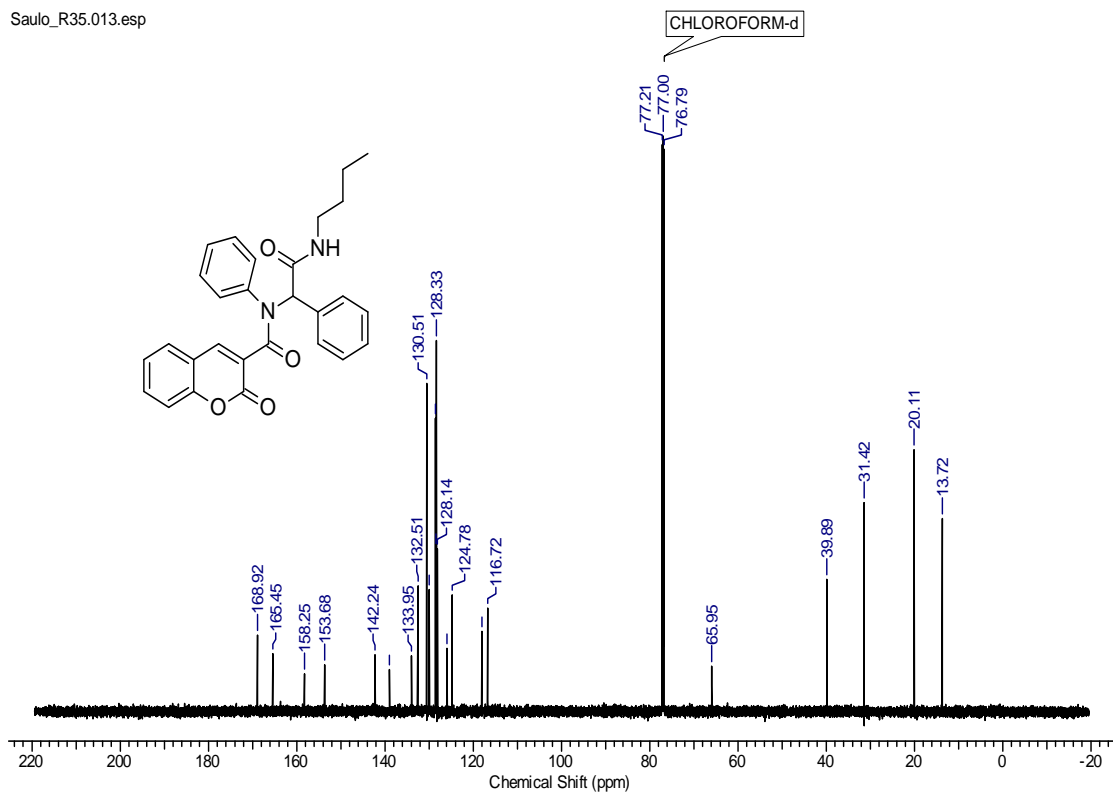
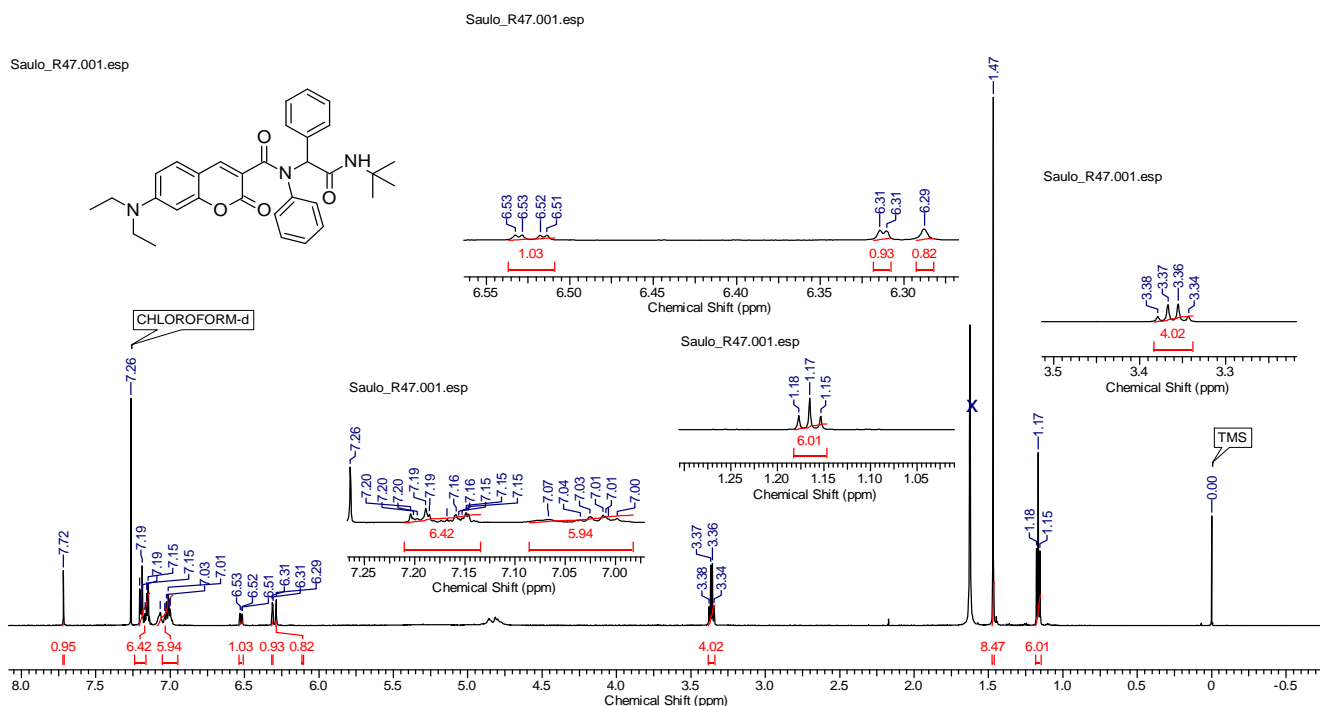


Figura 25. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do composto 110E.

A Figura 26 mostra o espectro de hidrogênio do peptóide **110I** e pode-se observar um singlete em 1,47 ppm que representa os nove hidrogênios do grupo *terc*-butila e um tripleto 1,17 ppm que são os seis hidrogênios terminais do grupo dietilamino substituído. Ainda na Figura 26 nota-se um quarteto em 3,36 ppm que é proveniente dos quatro hidrogênios restantes dos grupo *N,N*-dietilamino substituído. O hidrogênio do centro estereogênico está na faixa de 6,29 ppm e os demais sinais são os hidrogênios aromáticos do composto **110I**.

Já no espectro de  $^{13}\text{C}$ , o sinal do centro estereogênico fica na faixa de 66,2 ppm e os sinais das três carbonilas têm ressonância em 168,5 ppm, 167,4 ppm e 159,2 ppm. Os sinais são atribuídos aos carbonos aromáticos e aos carbonos alifáticos provenientes do grupo *terc*-butila e *N,N*-dietilamino substituído.



**Figura 26.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do composto **110I**

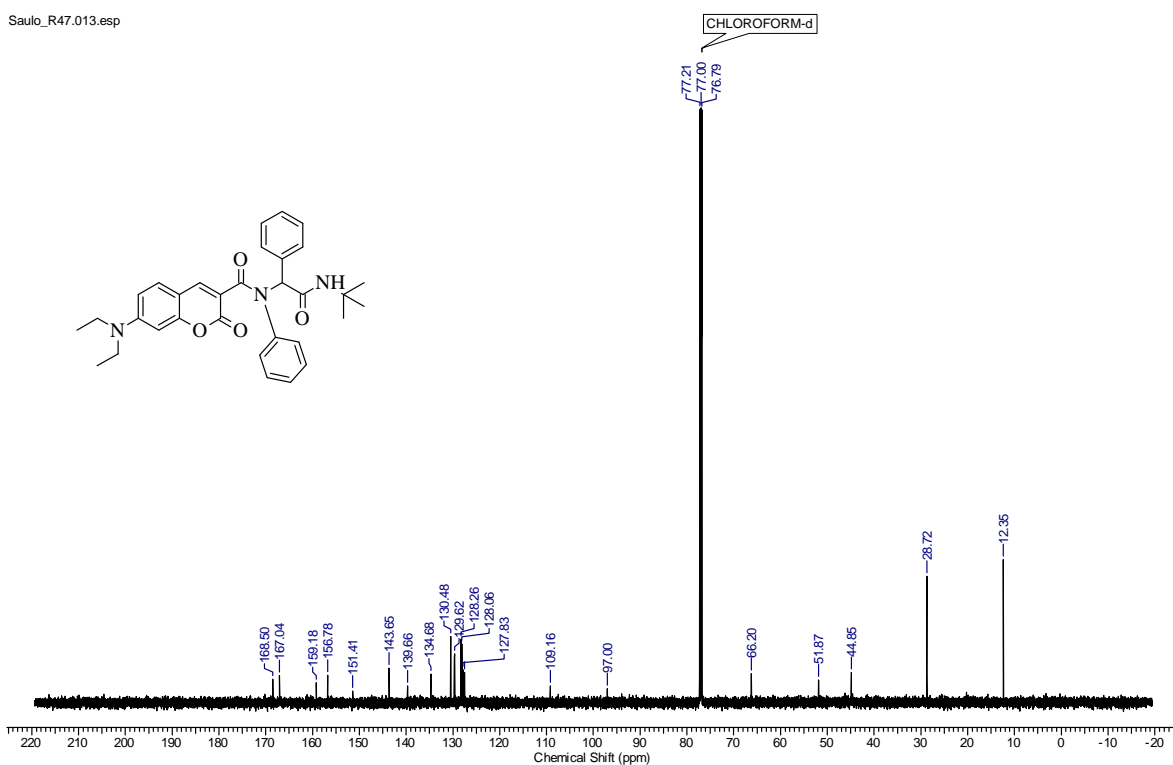
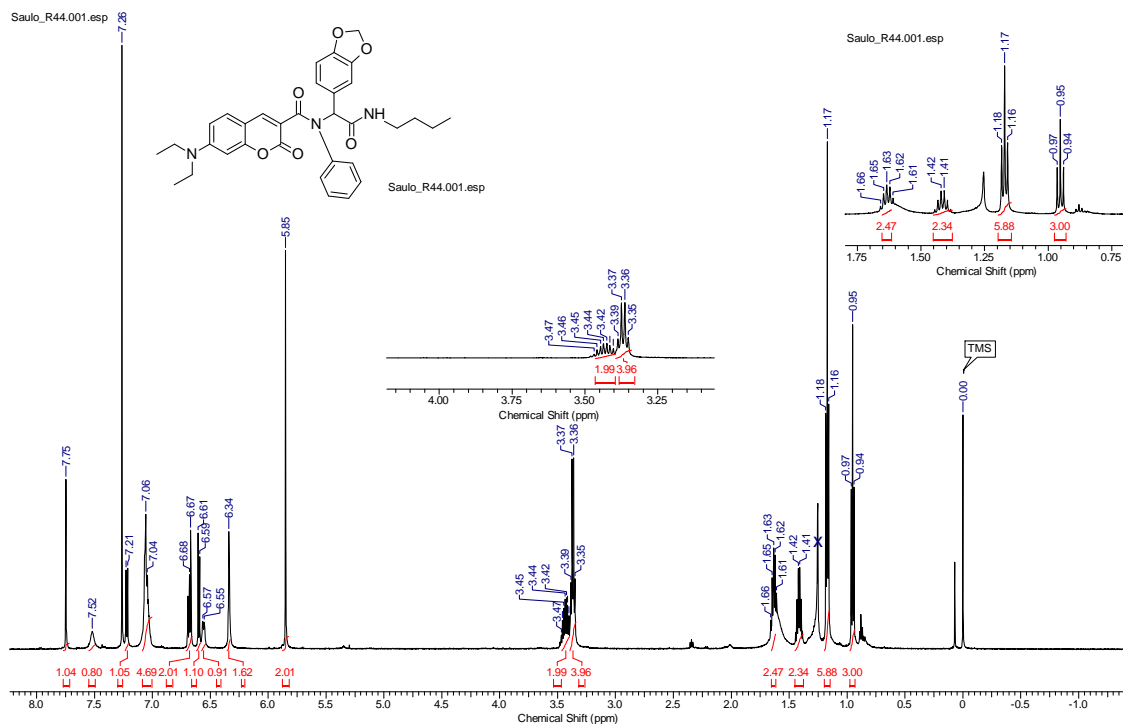


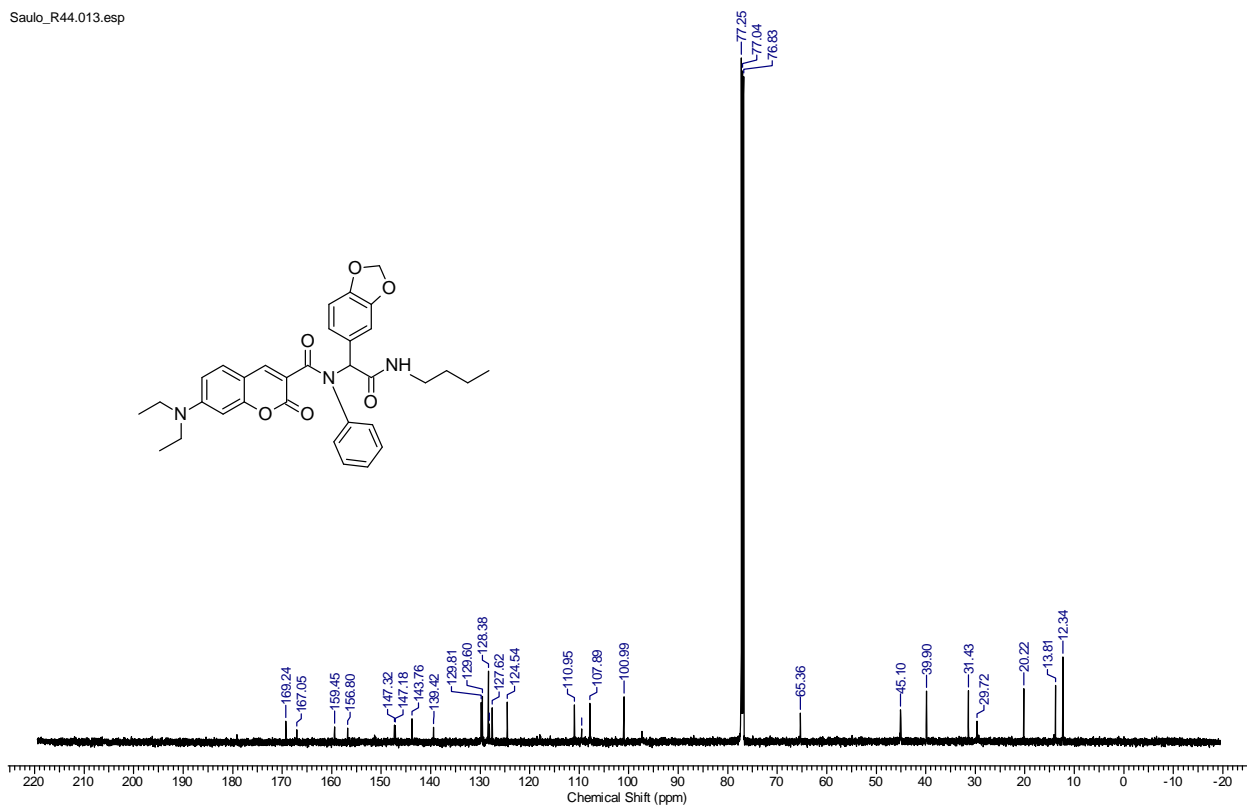
Figura 27. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do composto **110I**.

E por último, a caracterização do composto **110N**, onde o hidrogênio do centro estereogênico agora está na faixa de 6,34 ppm, além de um singlete em 5,82 ppm que representa os dois hidrogênios do grupo  $\text{CH}_2$  ligado aos dois oxigênios do grupo piperonal. Outros sinais importantes são os multipletos em 3,44 ppm que são os sinais referentes a dois hidrogênios do grupo butila e em 3,37 ppm que são os quatro hidrogênios do grupo *N,N*-dietilamino substituído. Pode-se notar ainda o hidrogênio N-H da amida representado por um singlete largo em 7,52 ppm onde anteriormente não era possível observar.



**Figura 28.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do composto **110N**.

A Figura 29 mostra o espectro de carbono do composto **110N**, no qual o sinal do estereocentro está em 65,3 ppm e o  $\text{CH}_2$  do grupo piperonal em 100,1 ppm, a comprovação da formação da molécula também se dá pelos picos em 169,3 ppm e 167,0 ppm que são as carbonilas das amidas da substância. O restante dos picos são carbonos aromáticos e alifáticos provenientes dos grupos butila e *N,N*-dietilamino substituído.



**Figura 29.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do composto **110N**.



### 3.4 Análise Fotofísica.

As propriedades fotofísicas de seis compostos (**110 I-N**) foram analisadas através de técnicas de espectrofotometria de absorção molecular UV-VIS e espectrofluorimetria de emissão molecular. Oito solventes com diferentes polaridades (acetato de etila, acetonitrila, clorofórmio, diclorometano, etanol, hexano, metanol, tolueno) foram utilizados para a investigação dos efeitos solvatocrômicos.

Para as leituras de absorção e emissão, foram feitas soluções estoques de  $10^{-2}$  mol  $L^{-1}$  em diclorometano, alíquotas de 3  $\mu L$  dessas soluções eram retiradas com auxílio de micropipeta (1-5 $\mu L$ ) e colocadas em uma cubeta, em seguida 3 mL do solvente eram colocados na mesma cubeta, obtendo-se uma solução final de  $10^{-5}$  mol  $L^{-1}$ . Os dados fotofísicos podem ser observados na Tabela 12.

**Tabela 12.** Dados fotofísicos de absorção e emissão máxima e deslocamento de Stokes.

Peptóide	Solvente	$\lambda_{\max}(\text{abs})$ (nm)	Log $\epsilon$ ( $\epsilon$ )	$\lambda_{\max}(\text{emi})$ (nm)	Deslocamento de Stokes (nm)	Rendimento Quântico ( $\phi$ )
<b>110I</b>	Acetato de etila	396	4,5548 (35880)	455	59	0,12
	Acetonitrila	405	3,9956 (9900)	464	59	
	Clorofórmio	408	4,3736 (23640)	452	44	
	Diclorometano	409	4,3741 (23670)	459	50	
	Etanol	404	4,0591 (11460)	467	63	
	Hexano	388	3,7596 (5750)	418	30	
	Metanol	406	4,5294 (33840)	470	64	
	Tolueno	399	4,3771 (23830)	444	45	
<b>110J</b>	Acetato de etila	391	5,4189 (262380)	452	61	0,20
	Acetonitrila	403	4,6493 (44600)	463	60	
	Clorofórmio	404	4,6501 (44680)	448	44	
	Diclorometano	406	4,7557 (56990)	453	47	
	Etanol	404	5,2393 (173530)	463	59	
	Hexano	386	3,8366 (6865)	417	31	
	Metanol	401	5,4582 (287250)	470	69	
	Tolueno	396	4,4620 (28980)	440	44	
	Acetato de etila	396	4,6712 (46910)	453	57	
	Acetonitrila	405	4,6962 (49690)	467	62	
	Clorofórmio	407	4,5631 (36570)	454	47	

<b>110K</b>	Diclorometano	409	4,7376 (54660)	457	48	0,67
	Etanol	404	4,3615 (22990)	465	61	
	Hexano	388	4,6390 (43560)	418	30	
	Metanol	406	4,6342 (43080)	470	64	
	Tolueno	398	4,4630 (28980)	445	47	
	Acetato de etila	397	4,0021 (10050)	455	58	
	Acetonitrila	405	3,9576 (9070)	465	60	
	Clorofórmio	411	3,7134 (5170)	453	42	
<b>110L</b>	Diclorometano	412	3,8932 (7820)	460	48	0,20
	Etanol	405	3,7965 (6260)	465	60	
	Hexano	388	4,3544 (22620)	418	30	
	Metanol	407	3,8555 (7170)	469	67	
	Tolueno	399	3,7908 (6180)	441	42	
	Acetato de etila	397	5,2711 (186700)	456	59	
	Acetonitrila	404	5,4320 (270430)	467	63	
	Clorofórmio	406	5,2321 (170670)	458	52	
<b>110M</b>	Diclorometano	408	5,4489 (281180)	465	57	0,27
	Etanol	406	5,2730 (187500)	459	53	
	Hexano	388	3,8555 (7170)	419	31	
	Metanol	405	4,8765 (75260)	460	55	
	Tolueno	398	4,5788 (37920)	447	49	
	Acetato de etila	396	3,6954 (4960)	453	57	
	Acetonitrila	403	3,9552 (9020)	464	61	
	Clorofórmio	411	3,4830 (3041)	454	43	
<b>110N</b>	Diclorometano	410	4,1714 (14840)	460	50	0,27
	Etanol	405	3,9024 (7988)	467	62	
	Hexano	388	4,1357 (13670)	417	29	
	Metanol	407	3,9111 (8150)	472	65	
	Tolueno	400	3,7283 (5350)	444	44	

Para o cálculo de rendimento quântico utilizou-se uma solução  $10^{-2}$  mol.L<sup>-1</sup> de sulfato de quinina em ácido sulfúrico 1 M. Sabe-se que o rendimento padrão do sulfato de quinina, quando excitado em 366 nm, equivale a 0,53.<sup>51</sup>

Com isso, as áreas do sinal do sulfato de quinina em solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e dos fluoróforos em acetonitrila (esse solvente foi escolhido porque possui o mesmo índice de refração da solução ácida) foram comparadas e os rendimentos quânticos dos produtos foram calculados.

$$\Phi = \Phi_{\text{ref}} \frac{I}{I_{\text{ref}}} \frac{n^2}{n_{\text{ref}}^2}$$

Como  $n^2$  e  $n_{\text{ref}}^2$  são iguais:

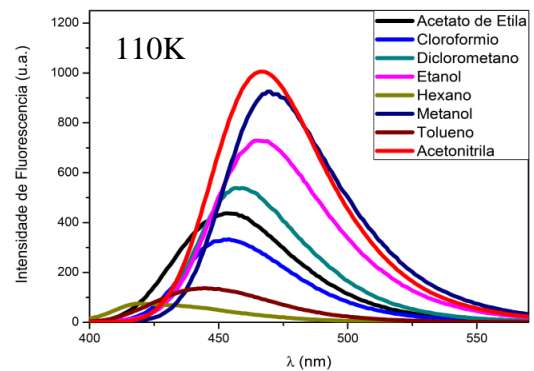
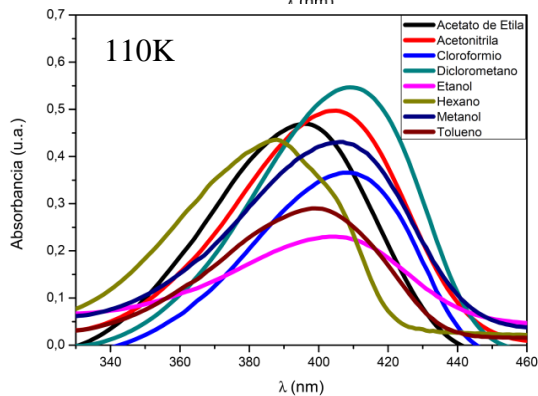
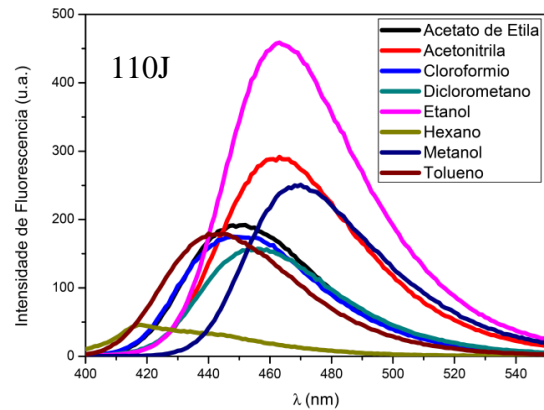
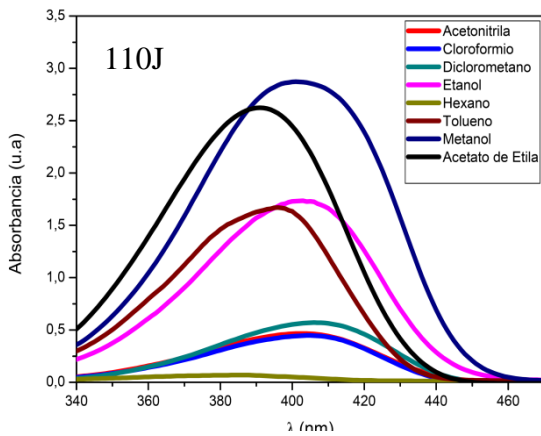
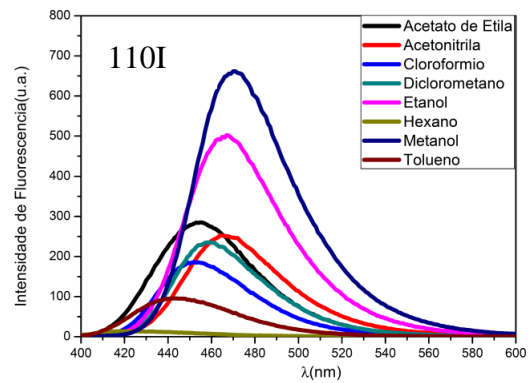
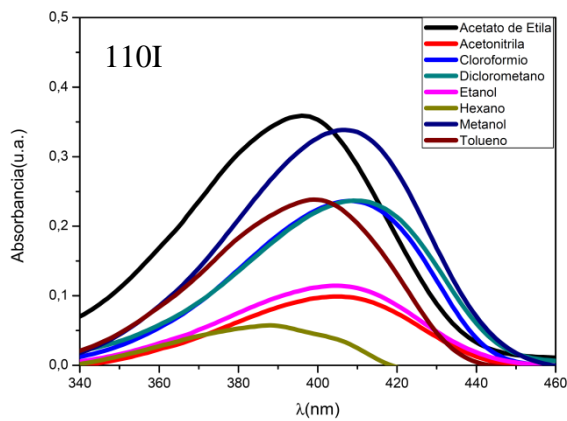
$$\Phi = \Phi_{ref} \frac{I}{I_{ref}}$$

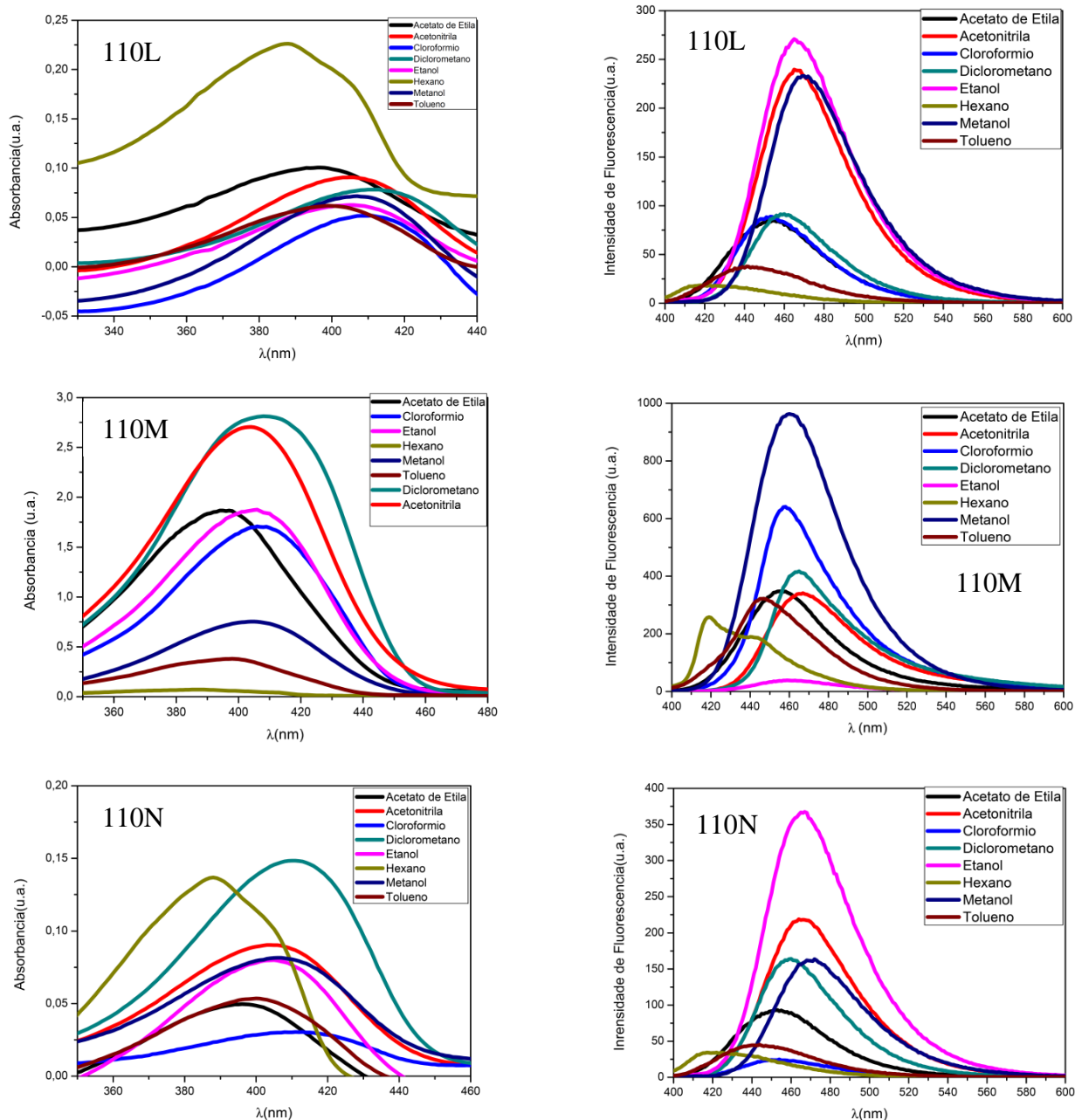
$\Phi$  = rendimento quântico a ser calculado;

$\Phi_{ref}$  = rendimento quântico da referência;

$I$  e  $I_{ref}$  = áreas dos sinais da fluorescência do fluoróforo e da referência.

Pode-se notar que o deslocamento de Stokes é mais pronunciado quando os peptóides são solubilizados em solventes mais polares, no caso metanol, etanol e acetonitrila. Esse aumento de deslocamento deve-se ao fato dos peptóides estarem melhores estabilizados no seu estado excitado nesses solventes por ligações de hidrogênio e por interações dipolo-dipolo.



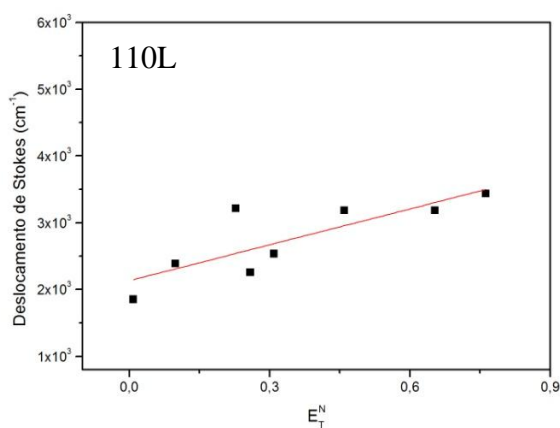
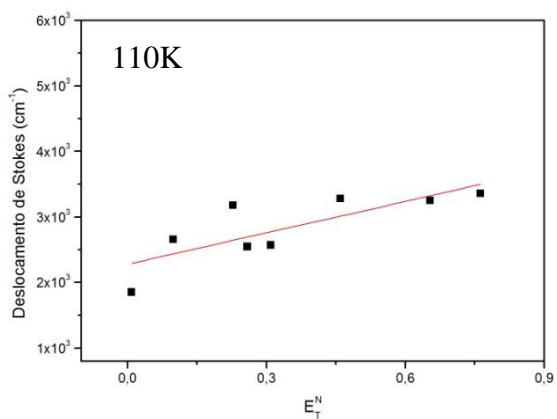
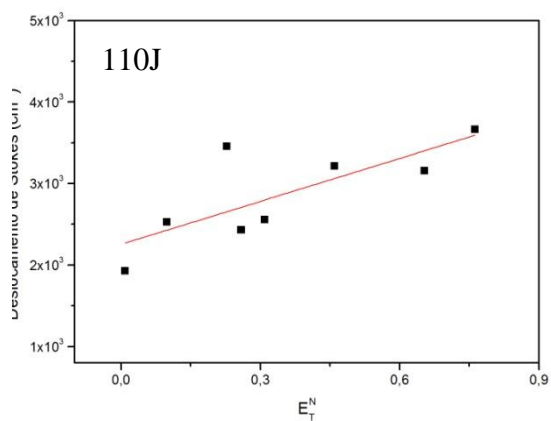
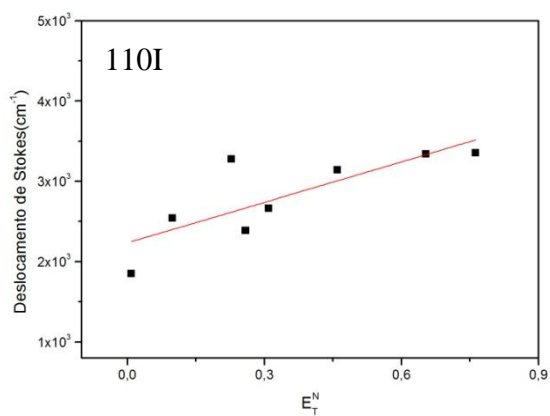


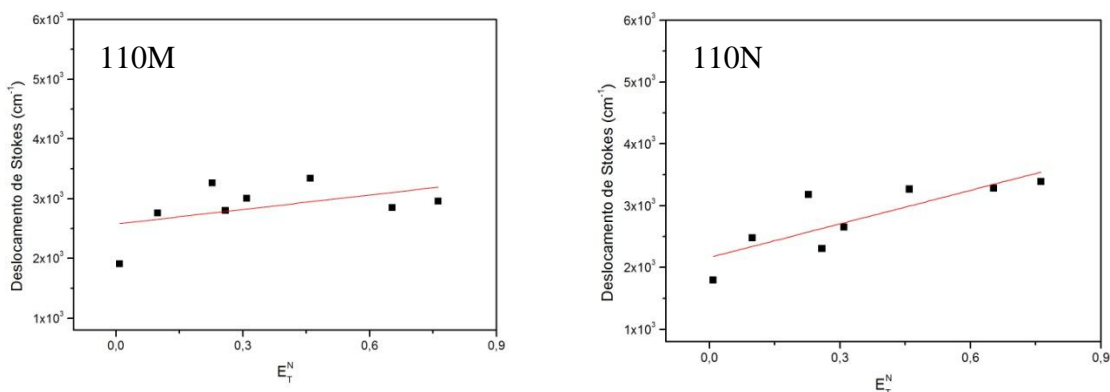
**Figura 30.** Espectros de absorção (esquerda) e emissão (direita) dos compostos 110I-N.

Todas as análises tiveram como resultados deslocamento de Stokes entre 30 e 69 nm, não se podendo concluir ainda que a estabilidade dos compostos possa ser devida ao processo de transferência de carga interna (ICT). Para se chegar a um resultado mais confiável, foram traçados gráficos de Lippert-Mataga,<sup>52</sup> onde o deslocamento de Stokes está no eixo y e o eixo x é o parâmetro de polaridade de Reichardt ( $E_t^n$ ).<sup>53</sup> Esse gráfico prediz efeitos físico-químicos entre os solventes e os compostos excitados e mede sua sensibilidade em relação à polaridade do solvente.<sup>54</sup>

**Tabela 13.** Parâmetro de polarização de Reichardt utilizados nas aquisições dos gráficos de Lippert-Mataga.

Solvente	$E_T^n$
Acetato de etila	0,228
Acetonitrila	0,460
Clorofórmio	0,259
Diclorometano	0,309
Etanol	0,654
Hexano	0,009
Metanol	0,762
Tolueno	0,099





**Figura 31.** Gráficos de Lippert-Mataga (Deslocamento de Stokes *vs.* Parâmetro de polaridade do solvente) dos compostos 110I-N.

Os fluoróforos mais estabilizados por ICT são os que menos apresentam variações no seu momento dipolo.<sup>55</sup> Em aspectos práticos, são os fluoróforos que apresentam uma maior valor de  $R^2$  nos gráficos de Lippert-Mataga, pois tal valor elucida uma tendência dos fluoróforos interagirem com os solventes em questão.

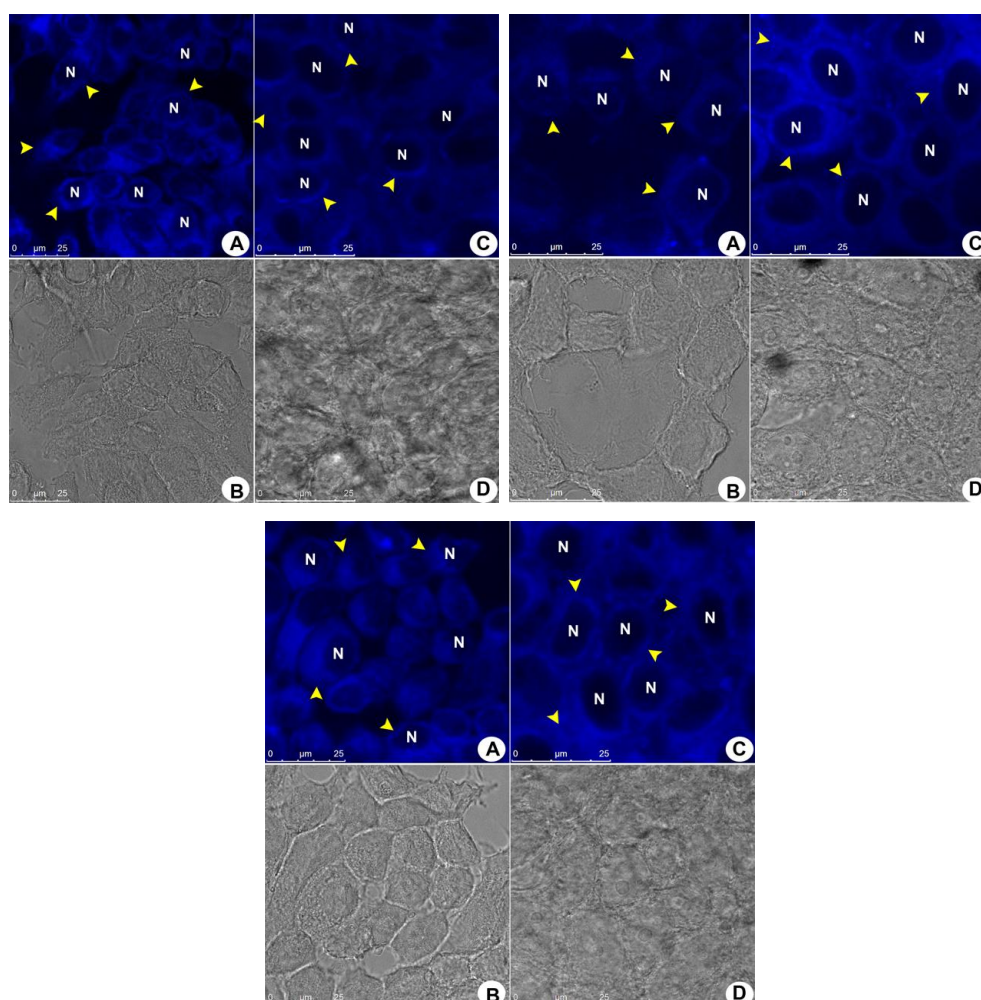
**Tabela 14.** Valores de  $R^2$  dos compostos 110I-N.

Peptóide	$R^2$
<b>110I</b>	0,59
<b>110J</b>	0,53
<b>110K</b>	0,58
<b>110L</b>	0,65
<b>110M</b>	0,11
<b>110N</b>	0,63

As estruturas analisadas apresentaram valores razoáveis de  $R^2$ , entretanto na literatura, não foi encontrado um valor mínimo de  $R^2$  que institua o processo de estabilização do fluoróforo ser por transferência de carga intramolecular. Mas valores de  $R^2$  acima de 0,7 indicam ótimas estabilizações por tal mecanismo.<sup>56</sup> Com isso se pode concluir que o processo de ICT é coerente para os fluoróforos estudados. Entretanto, o processo pode não ser o principal mecanismo de estabilização, pois, provavelmente, existam significativas interações dos fluoróforos com os solventes estudados. Valores de  $R^2$  apenas razoáveis indicam algum tipo de variação significativa da geometria no seu estado excitado, como consequência da sua modificação do momento dipolar.

### 3.5 Imageamento Celular.

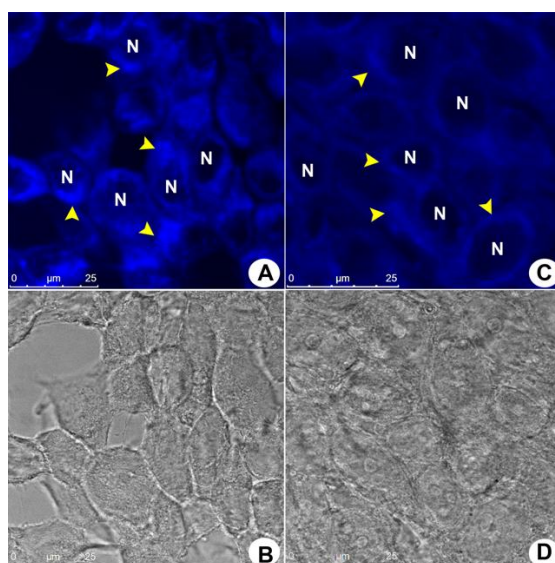
Todos os peptídeos produziram sinais de fluorescência na faixa do azul e os melhores resultados foram obtidos em comprimentos de onda de emissão entre 420-460 nm.\* Para todos os peptídeos testados, nenhuma fotodegradação foi detectada nas condições de operação normais durante o processo de aquisição das imagens. O sinal de fluorescência produzido pelos peptídeos **110I**, **110L** e **110N** foi distribuídos por todo o citoplasma, concluindo-se que há uma tendência destes marcadores se acumularem na região perinuclear, como se observa na Figura 32 marcados pelas setas amarelas (imagens A e C). As células em todas as amostras testadas mostram aspectos morfológicos normais como foi observado por microscopia de contraste de fase, imagens B e D, o que sugere não haver efeitos citotóxicos produzidos pela incubação das células com os peptídeos.



**Figura 32.** Perfil de fluorescência de células MCF-7 ( linhagem celular de adenocarcinoma da mamária humana) incubadas com peptídeos **110L** (superior esquerdo), **110N** (superior direito) e **110I** (inferior). As Imagens A e C são amostras de células vivas e fixas, respectivamente. As imagens B e D mostram os aspectos morfológicos normais das amostras através de microscopia de contraste de fase. Setas amarelas indicam o padrão de coloração fluorescente (azul) com propagação através do citoplasma da célula com o acúmulo perto do núcleo. Nenhum sinal fluorescente pode ser detectado dentro dos núcleos celulares “N”.



O peptídeo **110K** contém características fluorescentes distintas. Esta molécula produziu maior intensidade de fluorescência que foi acumulada perto dos núcleos de células em uma região definida acentuada (Figura 33, setas amarelas da imagem A) . Este padrão de fluorescência foi consistente em todos os ensaios e demonstrou uma coloração específica para as mitocôndrias. Nenhuma coloração foi detectada dentro dos núcleos das células. Embora os peptídeos tenham dimensões que permitam a passagem dos mesmos através de poros nucleares nenhuma das quatro moléculas testadas se comportaram desta forma. Este resultado sugere que não há afinidade entre os peptídeos testados e moléculas no interior dos núcleos.

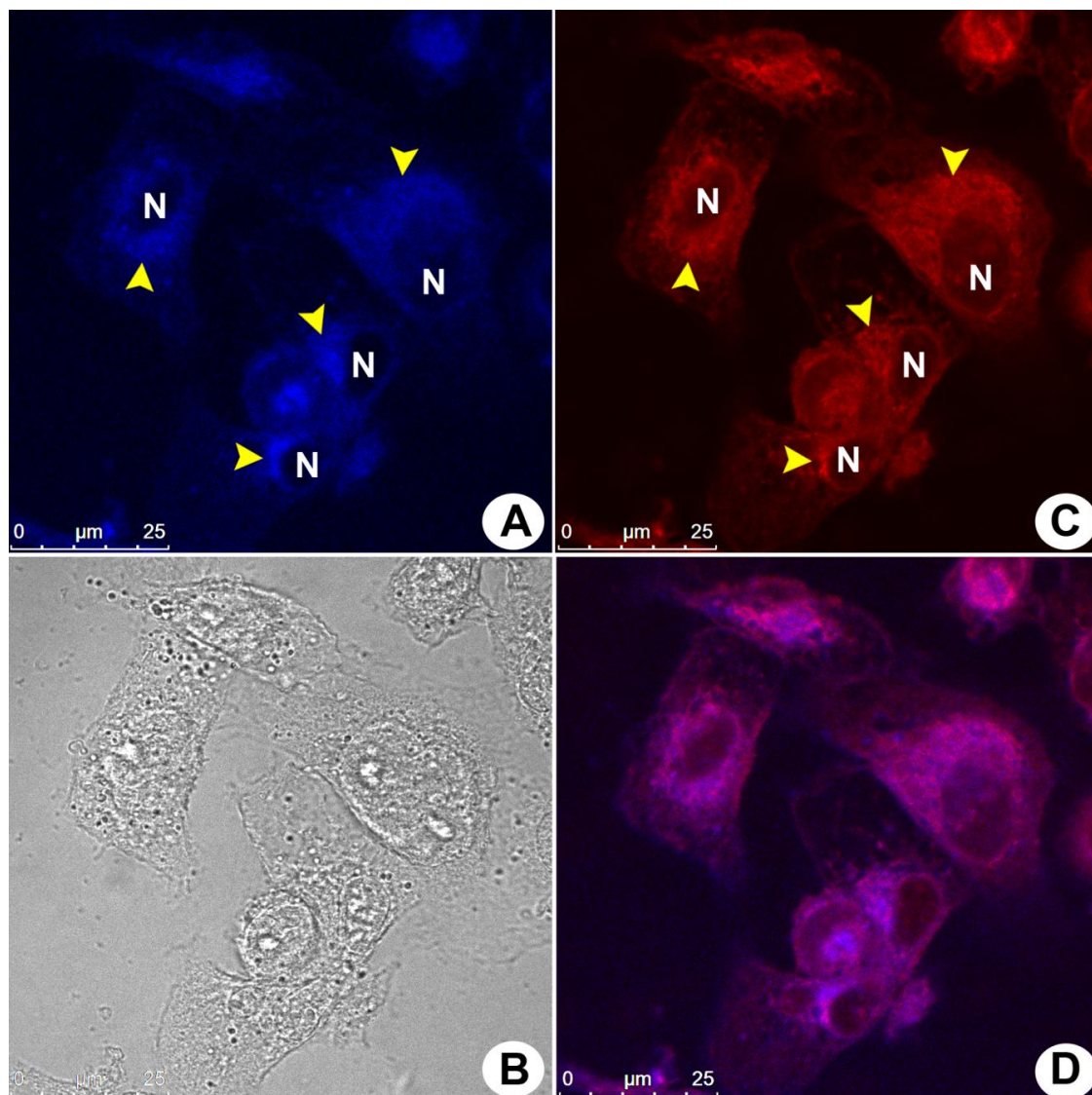


**Figura 33.** Perfil de fluorescência de células MCF-7 incubadas com peptídeos **110K**. As Imagens A e C são amostras de células vivas e fixas, respectivamente. As imagens B e D mostram os aspectos morfológicos normais das amostras através de microscopia de contraste de fase. Setas amarelas indicam o padrão de coloração fluorescente (azul) com propagação através do citoplasma da célula com o acúmulo perto do núcleo . Nenhum sinal fluorescente pode ser detectado dentro dos núcleos celulares “N”.

O padrão de fluorescência observado nas células de mamíferos a partir de péptido **110K** é idêntico ao padrão de fluorescência obtido a partir de ensaios de coloração do marcador comercial **Mitotracker™**. Tanto com o peptídeo **110K** quanto para **Mitotracker™** se observaram acúmulos de coloração perto dos núcleos e ligeira coloração no citoplasma, ocorrendo uma distribuição mitocondrial típica desta linhagem celular. Os resultados obtidos pelo marcador **Mitotracker™** confirmaram a expectativa de que o peptídeo **110K** poderia marcar mitocôndrias seletivamente. A Figura 34 (imagens A e C) mostra a distribuição de fluorescência no citoplasma quando corado com peptídeo **110K** (azul) e **Mitotracker™** (vermelho), respectivamente. A imagem D mostra a sobreposição de canal de fluorescência de ambos os compostos. As setas amarelas são indicações de

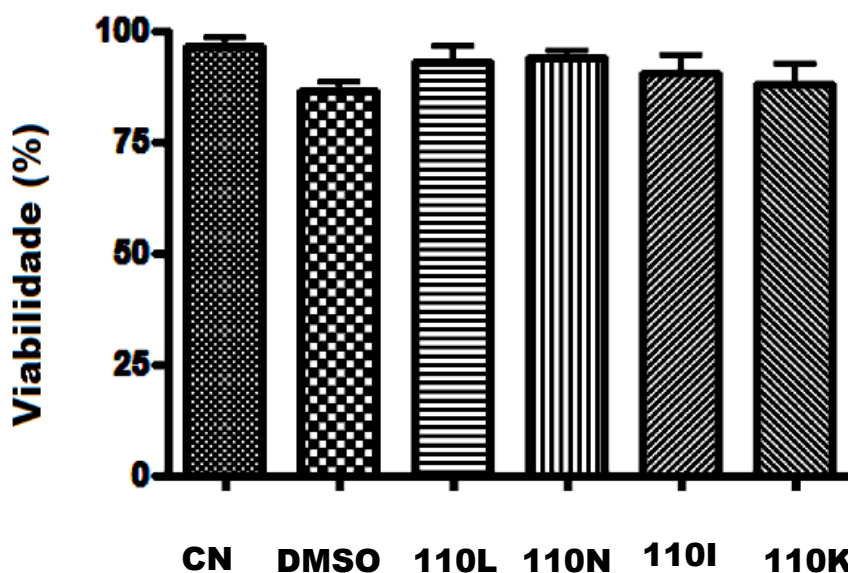
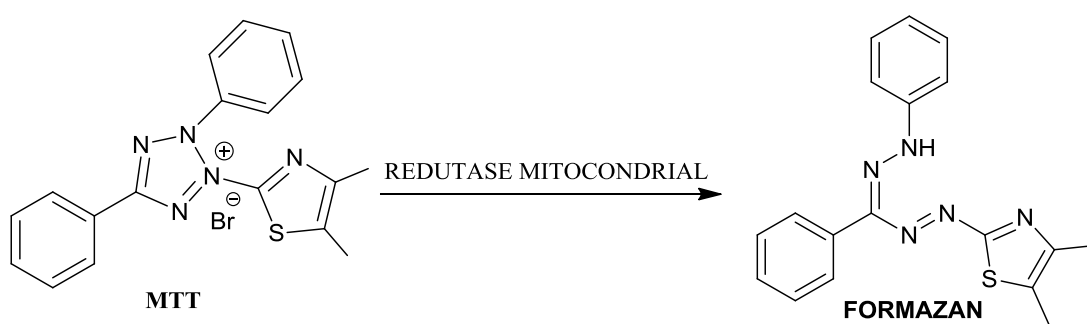


acúmulo de coloração na região do citoplasma das células, a mesma região observada quando utilizado o **Mitotracker**<sup>TM</sup>. A distribuição da fluorescência foi idêntica em ambos os marcadores, as imagens dos dois marcadores foram sobrepostas e, como resultado, obteve-se uma cor púrpura clara. Estes resultados demonstram que o peptídeo **110K** eleva-se como um inédito e potente marcador mitocondrial permeável para a membrana celular. Foram feitas imagens de contraste de fase para todas as amostras (imagem B) geradas para verificar aspectos morfológicos das células e não foi observada alteração nas células MCF-7.



**Figura 34.** Perfil de fluorescência de células MCF-7 incubadas com peptídeo **110K** e **Mitotracker**<sup>TM</sup>. Imagens de A e C mostram padrão de fluorescência de células incubadas com o peptídeo **110K** e **Mitotracker**<sup>TM</sup> respectivamente. As setas amarelas indicam o acúmulo na região do citoplasma em ambos os marcadores. A imagem D foi produzida pela sobreposição das imagens de fluorescência azul e vermelha, a cor púrpura clara produzida demonstra que há uma sobreposição de coloração no citoplasma da célula. A imagem B mostra os aspectos morfológicos das amostras por microscopia de contraste de fase. Os núcleos são identificados pela letra "N".

O ensaio de viabilidade celular não apresentou nenhum efeito citotóxico em células MCF-7 para os peptóides testados. Nenhum efeito nocivo às células foi observado mesmo quando essas foram incubadas numa solução altamente concentrada, dez vezes mais concentradas em comparação aos ensaios de coloração. A ausência de citotoxicidade foi concluída por meio de um ensaio MTT (Figura 35), um ensaio colorimétrico, onde as moléculas de MTT sofrem redutase mitocondrial e precipitam como cristais de Formazam. A quantidade de Formazam formado é diretamente proporcional ao número de células viáveis, sendo quantizados por espectrofotometria de absorção.



**Figura 35.** Viabilidade celular após 24 horas de incubação com peptóides **110L**, **110N**, **110I** e **110K** em 500 ng / mL. Nenhum efeito citotóxico pode ser observado nas amostras testadas. CN = controle negativo, DMSO = dimetilsulfóxido.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

- **RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ :** Os espectros de RMN foram obtidos em espectrômetro *Bruker Ascend* (600 MHz para  $^1\text{H}$  e 150 MHz para  $^{13}\text{C}$ ) e *Varian Mercury Plus* (300 MHz para  $^1\text{H}$  e 75 MHz para  $^{13}\text{C}$ ). Foi utilizado TMS (trimetilsilano) como referência interna. As abreviações das multiplicidades dos sinais nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  foram utilizadas segundo a convenção: s (singleto), sl (singleto largo), d (dubleto), t (tripleto), q (quadrupleto), qt (quintupleto), st (sextupleto), m (multiplete), dd (duplo dubleto), ddd (duplo duplo dubleto) e tt (triplo tripleto)
- **Pontos de Fusão:** Foram medidos com um aparelho IA9000 Eletrotermal.
- **Espectrofotômetro de absorção:** Os espectros de absorção foram obtidos em um espectrofotômetro *CaryWin 50 Varian*.
- **Espectrofotômetro de fluorescência:** Os espectros de emissão foram obtidos em um espectrofotômetro *Cary Eclipse Spectrophotometer Varian*. As medidas foram realizadas com slit de excitação e emissão 5 e 2,5 (para a análise do peptóide **110M** em etanol).
- **Solventes:** Apenas diclorometano, acetato de etila e hexano foram destilados previamente. Outros solventes foram utilizados sem prévio tratamento.
- **Reagentes líquidos:** Todos os reagentes líquidos foram destilados antes do uso.
- **Métodos cromatográficos:** Foram utilizadas placas de cromatofolhas de alumínio revestidas com sílica gel 60 F254 *Merck*, no acompanhamento das reações por cromatografia em camada delgada. Quando necessária a purificação dos compostos, foi utilizada cromatografia de adsorção e coluna, sendo a fase estacionária sílica gel (70-230 mesh) e a fase móvel descrita posteriormente.
- **Cultura de células:** O MCF-7 (células de adenocarcinoma mamário humano) foi mantido em meio de cultura apropriado, tal como recomendado pela ATCC (*American Type Culture Collection*), suplementado com 10% de soro fetal bovino acrescido de 100 U.I./ mL de penicilina e 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de estreptomicina a  $37^\circ\text{C}$ , em 5% atmosfera de  $\text{CO}_2$ .

- **Ensaio de fluorescência:** As células foram semeadas em lâminas de vidro redondas de 13 mm na parte inferior de uma placa de 24 cavidades e deixadas para adsorção durante a noite. Lavou-se três vezes com meio isento de soro para a remoção das células não aderentes. Depois de atingir a confluência, as células foram separadas em duas amostras (amostras vivas e amostras fixas). As amostras vivas foram incubadas durante 30 minutos em 50 ng/mL com um dos peptídeos identificados como solução **110L**, **110N**, **110I** e **110K** a 37°C. Estas amostras foram lavadas três vezes com tampão fosfato salino (pH 7,4) à temperatura ambiente e fixados em formaldeído a 3,7% durante 30 minutos. As amostras foram novamente lavadas três vezes com tampão (pH 7,4) à temperatura ambiente e as lâminas foram montadas sobre lâminas de vidro usando *ProLong Gold Antifade* (Invitrogen, OR, EUA). As amostras fixadas foram lavadas três vezes em PBS (pH 7,4) e, em seguida, 3,7% de formaldeído durante 30 minutos. Após o procedimento, as amostras foram lavadas três vezes em PBS (pH 7,4) à temperatura ambiente e incubadas durante 30 minutos em 50 ng/mL com uma solução de peptídeos, à temperatura ambiente. As amostras foram lavadas três vezes em PBS (pH 7,4) à temperatura ambiente e as lâminas foram montadas sobre lâmina de vidro usando *ProLong Gold Antifade* (Invitrogen, OR, EUA). O controle negativo foi realizado por incubação de amostras em 1% de DMSO (dimetil sulfoxido), usado como solvente. As amostras foram analisadas usando uma Leica SP5 microscopia confocal TCS e excitado usando comprimento de onda de 405 nm. Todos os ensaios foram realizados em triplicata e foram feitas três repetições para cada amostra celular e condição experimental.

- **Ensaio de viabilidade celular:** As células MCF-7, foram incubadas com o péptido **110K** a 50 ng / ml durante 24 horas e analisadas por ensaio com padrão de MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio), seguindo as recomendações do fabricante (R & D System Inc, MN, EUA). Resumidamente,  $3 \times 10^3$  células foram semeadas em placa de 96 cavidades e mantidas durante a noite a 37 °C. Estas amostras teste foram incubadas em solução 500 ng/mL de peptídeos **110I**, **110L**, **110N** e **110K** durante 24 horas. As células incubadas com DMSO nas mesmas condições e células mantidas apenas em meio de cultura foram utilizadas como controle positivo e negativo, respectivamente. As amostras foram incubadas com 150 µL de solução de MTT (0,5 mg/mL) em meio de cultura de células durante 4 horas, no escuro, a 37 °C. MTT é reduzido por células metabolicamente ativas para cristais roxos de Formazan insolúveis que foram acumulados no interior do

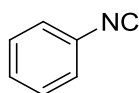
citoplasma das células. A solução de MTT foi removida e foram adicionados 200 µL de DMSO em todas as amostras, a fim de solubilizar os cristais de Formazan. A placa foi colocada no espectrofotômetro Spectramax M5 (Molecular Devices, CA, EUA) e o comprimento de onda ótimo para a absorbância foi de 570 nm. O ensaio de MTT foi realizado em triplicata e foram feitos três ensaios independentes. A inibição da viabilidade celular foi determinada por avaliação do resultado de MTT obtidos para as amostras de teste, em comparação com as amostras de controle nas mesmas condições, após a expressão [Sobrevivência% = [(Amostra testada - Branco) / (Amostra Controle - Branco)] x 100. Os resultados foram submetidos à ANOVA com pós-teste de Bonferroni utilizando GraphPad Prism versão 5.00 para Windows, GraphPad Software, (San Diego CA, EUA).

- **Ensaio de sobreposição do peptídeo 110K e Mitotracker<sup>TM</sup>:** A fim de confirmar a evidência morfológica de que o peptídeo **110K** é acumulado nas mitocôndrias, foi realizado um ensaio de sobreposição com **110K** e o marcador de mitocôndrias comercial **Mitotracker<sup>TM</sup>** (ThermoFisher Scientific, Nova Iorque, EUA). Resumidamente, 3 x 10<sup>5</sup> células MCF-7 foram semeadas em lâminas de vidro redondas de 13mm sobre o fundo de uma placa de 24 cavidades, deixou-se aderir durante a noite e lavou-se três vezes com meio isento de soro para a remoção de células não aderentes. Depois de atingir a confluência, as amostras foram incubadas durante 30 minutos a 37 °C com 10 ng/mL de **110K** mais 100 nM de **Mitotracker<sup>TM</sup>**. As amostras foram lavadas três vezes em PBS (Tampão de fosfato salino), pH 7,4 a 37 °C e as células foram fixadas em solução de formaldeído a 3,7% durante 30 minutos à temperatura ambiente. As amostras foram lavadas três vezes em PBS e as lâminas foram montadas sobre lâminas de vidro usando *ProLong Antifade* (Invitrogen, OR, EUA). O controle negativo foi realizado por incubação de amostras em 2% de DMSO. As amostras foram analisadas usando uma Leica SP5 microscopia confocal TCS. Todos os ensaios foram realizados em triplicata e foram feitos em três repetições independentes.

• **Procedimento geral para a síntese de isocianetos:**

Em um balão de 500 mL contendo 30 mL de H<sub>2</sub>O, adicionou-se 0,75 mols de NaOH sob agitação magnética. Uma mistura de 0,2 mols da amina, 0,1 mols de clorofórmio e 0,90 mmols de cloreto de tetraetilamônio em 30 mL de diclorometano foi adicionada à solução gota a gota com auxílio de um funil de adição. A mistura foi colocada sob refluxo durante 2 h e mais 1 h sob agitação magnética. A reação foi diluída em 80 mL de água gelada. A fase orgânica foi separada e retida, enquanto que a fase aquosa foi extraída com 10 mL de diclorometano (três vezes) e depois lavada com 10 mL de água e 10 mL de *brine*. Posteriormente, a fase extraída foi seca com sulfato de sódio e o agente de secagem foi removido por filtração. Os produtos foram purificados via coluna cromatográfica, sendo a fase móvel diclorometano.

**Isocianobenzeno (13A)**

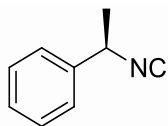


Obteve-se o isocianeto **13A**, seguindo o procedimento geral para síntese de isocianetos, utilizando-se anilina (0,2 mols). O composto **13A** foi obtido em 43% de rendimento, após purificação em coluna cromatográfica (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). como um líquido amarelo

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 7,40 a 7,36 [m, 5H]

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 163,7; 146,3; 129,3; 129,1; 128,3; 118,4; 115,0.

**(R)-isocianoetilbenzeno (13B)**

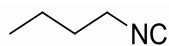


Obteve-se o isocianeto **13B**, seguindo o procedimento geral para síntese de isocianetos, utilizando-se (*R*)-(-)- $\alpha$ -metilbenzilamina (0,2 mols). O composto **13B** foi obtido em 39% de rendimento, obteve-se líquido amarelo após purificação em coluna cromatográfica (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 7,44 a 7,35 [m, 5H]; 4,84 [sl, 1H]; 1,69 a 1,65 [m, 3H].

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 156,0; 138,2; 128,6; 127,9; 125,0; 118,4; 24,7.

### Isocianeto de butila (13C)

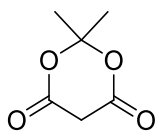


Obteve-se o isocianeto **13C**, seguindo o procedimento geral para síntese de isocianetos, utilizando-se butilamina (0,2 mols). O composto **13C** foi obtido em 48% de rendimento, obteve-se um líquido incolor após purificação em coluna cromatográfica ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3,39 [tt, 2H, 6,7 e 1,9 Hz]; 1,69 a 1,63 [m, 2H]; 1,50 a 1,44 [sx, 2H]; 0,95 [t, 3H,  $J= 7,3$  Hz]

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  155,7; 41,2; 31,0; 19,3; 12,9

#### • Procedimento para a síntese do ácido de Meldrum:



Em um balão de 500 mL foram adicionados 0,5 mol de ácido malônico e 80 mL de anidrido acético. A suspensão foi resfriada a 0 °C e adicionou-se 1,5 mL de ácido sulfúrico sob forte agitação magnética. A temperatura foi elevada entre 15 e 17 °C e então foram colocados 38 mL de acetona gota a gota. A mistura foi colocada em repouso no freezer durante 16 h. Os cristais obtidos foram filtrados sob vácuo e lavados com acetona e água gelada. O filtrado foi novamente levado ao freezer durante 8 h e foram tratados com o mesmo procedimento. O produto foi purificado via recristalização em acetona e foram obtidos cristais incolores (p.f.= 92 a 96 °C) em 62% de rendimento.

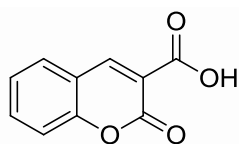
#### • Procedimento geral para a síntese dos derivados de cumarina:

Em um balão de 50 mL contendo uma suspensão de 1 mmol do salicilaldeído correspondente em 10 mL de água foram adicionados 1,2 mmol do ácido de Meldrum e 0,20 mmol de acetato de amônio. A mistura foi agitada em temperatura ambiente entre 1 h e 24 h, dependente do substituinte do salicilaldeído. O precipitado formado foi seco a vácuo e lavado com água e etanol gelado. Quando necessário, a purificação foi feita utilizando a técnica de recristalização em metanol.

• **Procedimento geral para a reação de Ugi:**

Em um balão de 50 mL contendo uma solução de 1,0 mmol da amina em 20 mL de metanol foi adicionado 1,0 mmol do aldeído correspondente, agitando-se a mistura durante 1 h em temperatura ambiente. Após esse tempo, 1,0 mmol do derivado de cumarina foi adicionado e, após 15 min. Foi adicionado 1,0 mmol do isocianeto. A mistura foi agitada em temperatura ambiente entre 6 h e 72 h. A mistura foi concentrada sob vácuo e purificada via recristalização em água/acetona. Quando pertinente, a técnica de cromatografia em coluna foi utilizada, gerando os respectivos peptídeos puros.

**3-ácido carboxílico-cumarina (104A)**

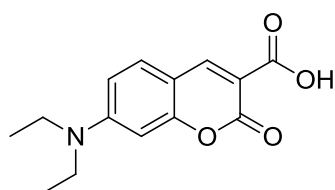


Obteve-se o derivado **104A**, seguindo o procedimento geral para síntese de derivados de cumarinas, utilizando-se o aldeído **103A** (1,0 mmol). Após 1h sob agitação em temperatura ambiente um sólido branco (p.f.= 190 a 194°C) foi obtido com 86% de rendimento, não sendo necessário purificação.

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 12,24 [sl, 1H]; 8,96 [s, 1H]; 7,82 a 7,77 [m, 2H]; 7,52 a 7,48 [m, 2H];

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 164,0; 162,4; 154,6; 151,5; 135,7; 130,5; 126,2; 118,5; 117,2; 114,9.

**7-(dietilamino)-cumarina- 3-ácido carboxílico (104B)**



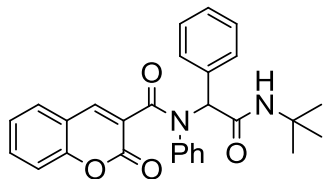
Obteve-se o derivado **104B**, seguindo o procedimento geral para síntese de derivados de cumarinas, utilizando-se o aldeído **103B** (1,0 mmol). Após 24 h sob agitação em temperatura ambiente um sólido laranja (p.f.= 220 a 224°C) foi obtido com 73% de rendimento após recristalização com metanol.



RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  12,24 [sl, 1H]; 8,66 [s, 1H]; 7,46 [d, 1H,  $J= 9,2$  Hz]; 6,72 [dd, 1H,  $J= 9,2$  e 2,6 Hz]; 6,54 [d, 1H,  $J= 2,6$  Hz]; 3,50 [q, 4H,  $J= 7,1$  Hz]; 1,28 [t, 6H,  $J= 7,2$  Hz].

RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  165,5; 164,4; 158,0; 153,7; 150,3; 131,9; 110,9; 108,6; 105,7; 96,9; 45,3; 12,4.

### Peptóide 110A

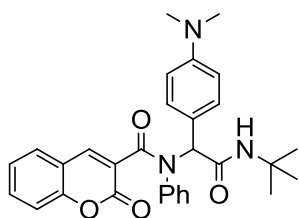


Obteve-se o peptóide **110A**, seguindo o procedimento geral para a reação de Ugi, utilizando-se benzaldeído (1,0 mmol), anilina (1,0 mmol), derivado de cumarina **104a** (1,0 mmol) e isocianeto de *tert*-butila (1,0 mmol). Após 6h sob agitação em temperatura ambiente um sólido branco (p.f.= 135 a 141°C) foi obtido com 62% de rendimento após recristalização com água/acetona.

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,76 [s, 1H]; 7,49 a 7,46 [m, 1H]; 7,41 [dd, 1H,  $J= 7,7$  e 1,5 Hz]; 7,24 a 7,18 [m, 8H]; 7,13 [sl, 2H]; 7,05 a 7,03 [m, 3H]; 6,37 [s, 1H]; 6,19 [s, 1H]; 1,44 [s, 9H].

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  168,1; 165,4; 158,0; 153,7; 142,0; 139,1; 134,2; 132,4; 130,4; 129,9; 128,6; 128,4; 128,3; 128,2; 128,1; 125,9; 124,7; 118,0; 116,7; 66,4; 51,9; 28,7.

### Peptóide 110B

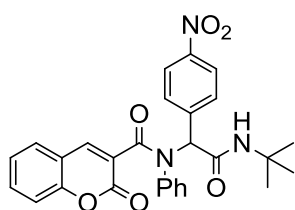


Obteve-se o peptóide **110B**, seguindo o procedimento geral para a reação de Ugi, utilizando-se *N,N*-dimetil benzaldeído (1,0 mmol), anilina (1,0 mmol), derivado de cumarina **104A** (1,0 mmol) e isocianeto de *tert*-butila (1,0 mmol). Após 24h sob agitação em temperatura ambiente um sólido amarelo (p.f.= 165 a 169°C) foi obtido com 91% de rendimento após recristalização com água/acetona.

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 7,74 [s, 1H]; 7,47 a 7,44 [m, 1H]; 7,39 [dd, 1H, *J*= 7,7 e 1,5 Hz]; 7,22 a 7,17 [m, 4H]; 7,06 a 7,01 [m, 6H]; 6,53 a 6,51 [m, 2H]; 6,07 [s, 1H]; 2,89 [s, 6H]; 1,41 [s, 9H].

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 168,8; 165,2; 158,0; 153,6; 150,2; 141,7; 139,4; 132,2; 131,2; 130,1; 129,1; 128,8; 128,4; 128,3; 128,2; 127,9; 126,0; 124,6; 121,2; 118,0; 116,6; 113,7; 112,3; 111,9; 66,0; 51,7; 40,2; 28,7.

### Peptóide 110C

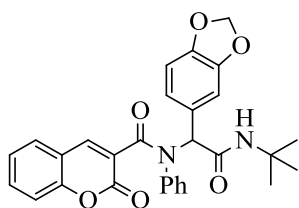


Obteve-se o peptóide **110C**, seguindo o procedimento geral para a reação de Ugi, utilizando-se *para*-nitrobenzaldeído (1,0 mmol), anilina (1,0 mmol), derivado de cumarina **104A** (1,0 mmol) e isocianeto de *terc*-butila (1,0 mmol). Após 6h sob agitação em temperatura ambiente um sólido amarelo (p.f.= 198 a 200°C) foi obtido com 60% de rendimento após recristalização com água/acetona.

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 8,06 a 8,04 [m, 2H]; 7,85 [s, 1H]; 7,52 [ddd, 1H, *J*= 8,4; 7,2 e 1,7 Hz] 7,46 [dd, *J*= 1H, 7,7 e 1,5 Hz]; 7,42 [d, 2H, 8,4 Hz]; 7,28 [dd, 1H, *J*= 7,5 e 0,9 Hz]; 7,22 [d, 1H, *J*= 8,4 Hz]; 7,09 [m, 6H]; 6,32 [s, 1H]; 1,50 [s, 9H].

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 166,9; 165,7; 158,2; 147,4; 142,9; 141,6; 138,6; 133,0; 131,5; 129,4; 129,1; 128,7; 128,6; 125,3; 125,0; 123,2; 117,9; 116,9; 65,4; 52,4; 30,9; 28,7.

### Peptóide 110D

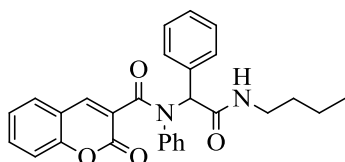


Obteve-se o peptóide **110D**, seguindo o procedimento geral para a reação de Ugi, utilizando-se piperonal (1,0 mmol), anilina (1,0 mmol), derivado de cumarina **104A** (1,0 mmol) e isocianeto de *terc*-butila (1,0 mmol). Após 6h sob agitação em temperatura ambiente um sólido branco (p.f.= 110 a 113°C) foi obtido com 85% de rendimento após recristalização com água/acetona.

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 7,76 [s, 1H]; 7,49 a 7,41 [m, 2H] 7,24 a 7,07 [m, 7H]; 6,71 a 6,63 [m, 3H]; 6,41 [sl, 1H]; 6,08 [s, 1H]; 5,88 [s, 2H]; 1,44 [s, 9H].

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 168,2; 165,4; 161,3; 147,5; 142,1; 139,0; 132,5; 130,0; 128,7; 124,7; 124,5; 118,0; 116,7; 113,8; 110,7; 108,0; 101,1; 66,0; 52,0; 28,7.

### Peptóide 110E

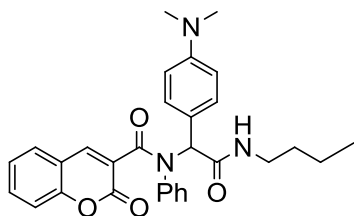


Obteve-se o peptóide **110E**, seguindo o procedimento geral para a reação de Ugi, utilizando-se benzaldeído (1,0 mmol), anilina (1,0 mmol), derivado de cumarina **104A** (1,0 mmol) e isocianeto de butila (2,0 mmol). Após 6h sob agitação em temperatura ambiente um sólido branco (p.f.= 202 a 205°C) foi obtido com 85% de rendimento após recristalização com água/acetona.

RMN <sup>1</sup>H (600 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 7,79 [s, 1H]; 7,50 a 7,47 [m, 1H]; 7,42 [dd, 1H, *J*= 7,7 e 1,1 Hz]; 7,25 a 7,20 [m, 5H]; 7,19 a 7,03 [m, 7H]; 6,76 [sl, 1H]; 6,31 [s, 1H]; 3,43 a 3,40 [m, 2H]; 1,59 [qt, 2H, *J*= 7,3Hz]; 1,41 a 1,35 [m, 2H]; 0,93 [t, 3H, *J*= 7,5 Hz].

RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  168,9; 165,4; 158,2; 153,7; 142,2; 139,0; 133,9; 132,5; 130,5; 128,6; 128,4; 128,3; 128,1; 125,9; 124,7; 118,0; 116,7; 66,0; 39,9; 31,4; 20,1; 13,7

### Peptóide 110F

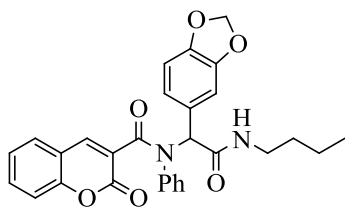


Obteve-se o peptóide **110F**, seguindo o procedimento geral para a reação de Ugi, utilizando-se N,N dimetil benzaldeído (1,0 mmol), anilina (1,0 mmol), derivado de cumarina **104A** (1,0 mmol) e isocianeto de butila (2,0 mmol). Após 24h sob agitação em temperatura ambiente um sólido amarelo (p.f.= 155 a 159°C) foi obtido com 52% de rendimento após recristalização com água/acetona.

RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,76 [s, 1H]; 7,49 a 7,45 [m, 1H]; 7,40 [d, 1H,  $J=7,7$  Hz]; 7,24 a 7,14 [m, 4H]; 7,04 [t, 5H,  $J=7,9$  Hz]; 6,55 [s, 2H]; 6,36 [s, 1H]; 6,18 [s, 1H]; 3,37 [t, 2H,  $J=6,2$  Hz] 2,89 [s, 6H]; 1,58 a 1,52 [m, 2H]; 1,39 a 1,33 [m, 2H]; 0,93 a 0,91 [m, 3H].

RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  169,7; 165,3; 158,1; 153,7; 142,0; 139,4; 132,3; 131,4; 130,1; 128,5; 128,4; 128,0; 128,1; 126,1; 124,7; 118,1; 116,7; 65,7; 40,4; 39,8; 31,5; 20,1; 13,7.

### Peptóide 110G

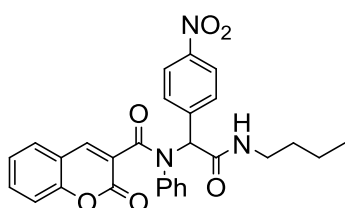


Obteve-se o peptóide **110G**, seguindo o procedimento geral para a reação de Ugi, utilizando-se piperonal (1,0 mmol), anilina (1,0 mmol), derivado de cumarina **104A** (1,0 mmol) e isocianeto de butila (2,0 mmol). Após 24h sob agitação em temperatura ambiente um sólido branco (p.f.= 164 a 168°C) foi obtido com 51% de rendimento após recristalização com água/acetona.

RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,79 [s, 1H]; 7,50 a 7,42 [m, 2H]; 7,25 a 7,07 [m, 7H]; 6,78 a 6,62 [m, 4H]; 6,20 [s, 1H]; 6,55 [s, 2H]; 5,88 [s, 2H]; 6,18 [s, 1H]; 3,42 a 3,39 [m, 2H]; 1,62 a 1,58 [m, 2H]; 1,41 a 1,37 [m, 2H]; 0,94 [t, 3H,  $J=7,3$  Hz].

RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  168,9; 165,4; 153,7; 147,5; 142,2; 138,9; 132,5; 130,0; 128,7; 128,4; 128,2; 127,5; 125,8; 124,8; 124,5; 118,0; 116,7; 110,7; 65,6; 40,0; 31,4; 20,1; 13,7.

### Peptóide **110H**

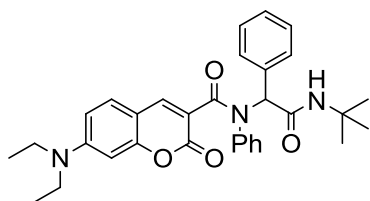


Obteve-se o peptóide **110H**, seguindo o procedimento geral para a reação de Ugi, utilizando-se *para*-nitrobenzaldeído (1,0 mmol), anilina (1,0 mmol), derivado de cumarina **104A** (1,0 mmol) e isocianeto de butila (2,0 mmol). Após 24h sob agitação em temperatura ambiente um sólido branco (p.f.= 158 a 161°C) foi obtido com 40% de rendimento após recristalização com água/acetona.

RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,04 a 8,03[m, 2H]; 7,88 [s, 1H]; 7,53 [ddd, 2H,  $J=8,5$  7,2 e 1,5 Hz]; 7,47 [dd, 1H,  $J=7,9$  e 1,3 Hz]; 7,43 a 7,41 [m, 2H]; 7,30 a 7,27 [m, 2H]; 7,22 [d, 1H,  $J=8,4$  Hz]; 7,10 a 7,08 [m, 4H]; 6,44 [s, 1H]; 3,48 a 3,45 [m, 2H]; 1,68 a 1,63 [m, 2H]; 1,46 a 1,40 [m, 2H]; 0,97 [t, 3H,  $J=7,3$  Hz].

RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  167,6; 165,6; 158,5; 153,7; 147,4; 143,1; 141,4; 138,5; 133,0; 131,5; 129,4; 129,3; 129,1; 128,7; 125,3; 125,1; 124,0; 123,2; 121,0; 117,8; 116,8; 65,0; 40,0; 31,3; 20,1; 13,7.

### Peptóide 110I



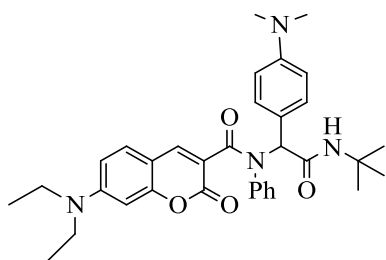
Obteve-se o peptóide **110I**, seguindo o procedimento geral para a reação de Ugi, utilizando-se benzaldeído (0,5 mmol), anilina (0,5 mmol), derivado de cumarina **104B** (0,5 mmol) e isocianeto de *terc*-butila (0,5 mmol). Após 24h sob agitação em temperatura ambiente um sólido verde (p.f.= 209 a 213°C) foi obtido com 82% de rendimento após recristalização com água/acetona.

RMN <sup>1</sup>H (600 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 7,72 [s, 1H]; 7,20 a 7,15 [m, 7H]; 7,07 a 7,00 [m, 6H]; 6,52 [dd, 1H, *J*= 9 e 2,4 Hz]; 6,31 [d, 1H, *J*= 2,6 Hz]; 6,29 [s, 1H]; 3,36 [q, 4H, *J*= 7,3 Hz]; 1,47 [s, 9H]; 1,17 [t, 6H, *J*= 7,2 Hz].

RMN <sup>13</sup>C (150 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 168,5; 167,0; 159,1; 156,8; 151,4; 143,6; 139,6; 134,7; 130,5; 129,7; 129,6; 128,2; 128,0; 127,8; 127,4; 109,1; 97,0; 66,2; 51,9; 44,8; 28,7; 12,3.

EMAR (ISE) *m/z*: calculado para [M+H]<sup>+</sup> C<sub>32</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>: 526,2700; encontrado: 526,2706.

### Peptóide 110J

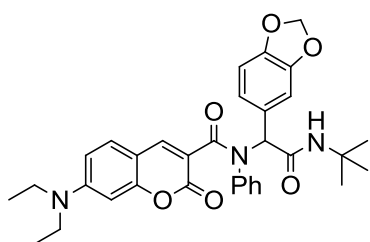


Obteve-se o peptóide **110J**, seguindo o procedimento geral para a reação de Ugi, utilizando-se *N,N* dimetil benzaldeído (0,5 mmol), anilina (0,5 mmol), derivado de cumarina **104B** (0,5mmol) e isocianeto de *terc*-butila (0,5mmol). Após 72h sob agitação em temperatura ambiente um sólido amarelo (p.f.= 102 a 105°C) foi obtido com 35% de rendimento após coluna cromatográfica (40% AcOEt/DCM).

RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,64 [s, 1H]; 7,16 [d, 1H, 9,2 Hz]; 7,05 a 7,00 [m, 6H]; 6,67 [d, 1H, 8,1 Hz]; 6,62 [d, 1H, 8,4 Hz]; 6,52 a 6,48 [m, 3H]; 6,31 [d, 1H,  $J= 2,2$  Hz]; 6,13 [s, 1H]; 3,35 [q, 4H, 7,0 Hz]; 2,86 [s, 6H]; 1,43 [s, 9H]; 1,16 [t, 6H,  $J= 7,0$  Hz].

RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  169,1; 166,7; 143,2; 131,3; 129,9; 129,5; 128,2; 127,4; 112,4; 112,0; 109,0; 107,5; 97,0; 66,0; 51,7; 44,8; 40,4; 28,8; 12,4.

### Peptóide 110K



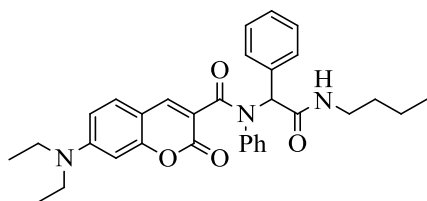
Obteve-se o peptóide **110K**, seguindo o procedimento geral para a reação de Ugi, utilizando-se piperonal (0,5 mmol), anilina (0,5 mmol), derivado de cumarina **104B** (0,5 mmol) e isocianeto de *tert*-butila (0,5 mmol). Após 72h sob agitação em temperatura ambiente um sólido amarelo (p.f.= 225 a 230°C) foi obtido com 36% de rendimento após coluna cromatográfica (40% AcOEt/DCM).

RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,70 [s, 1H]; 7,19 [d, 1H,  $J= 8,8$  Hz]; 7,07 a 7,02 [m, 6H]; 6,70 a 6,67 [m, 2H]; 6,60 [d, 1H,  $J= 8,8$  Hz]; 6,52 [dd, 1H,  $J= 9,0$  e 2,4 Hz]; 6,31 [d, 1H, 2,2 Hz]; 6,20 [s, 1H]; 5,85 [q, 2H,  $J= 1,5$  Hz]; 3,36 [q, 4H,  $J= 7,0$  Hz]; 1,47 [s, 9H]; 1,16 [t, 6H,  $J= 7,2$  Hz].

RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  168,5; 167,0; 159,2; 156,8; 151,5; 147, 3; 143,6; 129,7; 128,4; 127,6; 124,5; 117,9; 110,9; 109,2; 107,9; 101,0; 97,0; 65,9; 51,9; 44,9; 28,7; 12,4.

EMAR (ISE)  $m/z$ : calculado para  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $\text{C}_{33}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_6$ : 570,2599; encontrado: 570,2593.

### Peptóide 110L



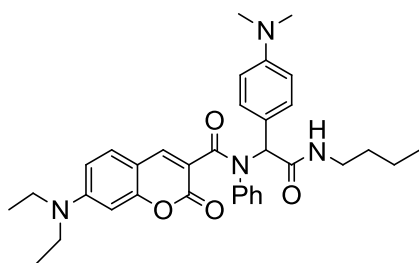
Obteve-se o peptóide **110L**, seguindo o procedimento geral para a reação de Ugi, utilizando-se benzaldeído (0,5 mmol), anilina (0,5mmol), derivado de cumarina **104B** (0,5 mmol) e isocianeto de butila (1,0 mmol). Após 24h sob agitação em temperatura ambiente um sólido verde (p.f.= 197 a 199°C) foi obtido com 70% de rendimento após recristalização em água/acetona.

RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,75 [s, 1H]; 7,50 [s, 1H]; 7,22 a 7,13 [m, 6H]; 7,05 a 6,99 [m, 5H]; 6,53 [dd, 1H,  $J=9$  e 2,4 Hz]; 6,42 [s, 1H]; 6,20 [s, 1H]; 3,49 a 3,41 [m, 2H]; 3,36 [q, 4H,  $J=7,0$  Hz]; 1,41 a 1,38 [m, 2H]; 1,17 [t, 6H,  $J=7,0$  Hz]; 0,96 [t, 3H,  $J=7,3$  Hz].

RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  169,3; 167,0; 159,4; 156,8; 151,5; 143,8; 139,5; 134,5; 130,5; 129,8; 129,6; 128,3; 128,1; 127,9; 127,5; 109,5; 97,2; 65,8; 45,0; 39,8; 31,4; 20,2; 13,8; 12,3.

EMAR (ISE)  $m/z$ : calculado para  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_4$ : 526,2700; encontrado: 526,2699.

### Peptóide 110M



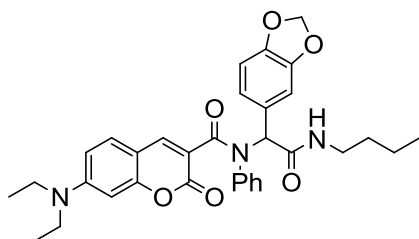
Obteve-se o peptóide **110M**, seguindo o procedimento geral para a reação de Ugi, utilizando-se *N,N* dimetil benzaldeído (0,5mmol), anilina (0,5 mmol), derivado de cumarina **104B** (0,5 mmol) e isocianeto de butila (1,0 mmol). Após 24h sob agitação em temperatura ambiente um sólido amarelo (p.f.= 170 a 176°C) foi obtido com 37% de rendimento após coluna cromatográfica (40% AcOEt/DCM).



RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,68 [s, 1H]; 7,46 [d, 1H, 9,2 Hz]; 7,18 [d, 1H, 8,8 Hz]; 7,13 a 7,07 [m, 2H]; 7,05 a 7,00 [m, 5H]; 6,52 a 6,50 [m, 3H]; 6,31 [d, 1H,  $J= 2,2$  Hz]; 6,26 [s, 1H]; 3,40 a 3,38 [m, 2H]; 3,36 [m, 4H]; 2,87 [s, 6H]; 1,61 a 1,58 [m, 2H]; 1,40 a 1,36 [m, 2H]; 1,16 [t, 6H,  $J= 7,0$  Hz]; 0,93 [t, 3H,  $J= 7,5$  Hz].

RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  169,9; 166,9; 159,3; 158,1; 156,7; 153,8; 151,3; 150,3; 143,4; 134,5; 132,0; 131,4; 129,8; 129,7; 128,3; 128,2; 127,4; 110,9; 109,1; 107,5; 97,0; 65,6; 45,3; 44,8; 39,8; 31,5; 20,2; 13,8; 12,4.

### Peptóide 110N



Obteve-se o peptóide **110N**, seguindo o procedimento geral para a reação de Ugi, utilizando-se piperonal (0,5 mmol), anilina (0,5 mmol), derivado de cumarina **104B** (0,5 mmol) e isocianeto de butila (1,0 mmol). Após 24h sob agitação em temperatura ambiente um sólido amarelo (p.f.= 200-202°C) foi obtido com 35% de rendimento após coluna cromatográfica (40% AcOEt/DCM).

RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,68 [s, 1H]; 7,46 [d, 1H, 9,2 Hz]; 7,18 [d, 1H,  $J= 8,8$  Hz]; 7,13 a 7,07 [m, 2H]; 7,05 a 7,00 [m, 5H]; 6,52 a 6,50 [m, 3H]; 6,31 [d, 1H,  $J= 2,2$  Hz]; 6,26 [s, 1H]; 3,40 a 3,38 [m, 2H]; 3,36 [m, 4H]; 2,87 [s, 6H]; 1,61 a 1,58 [m, 2H]; 1,40 a 1,36 [m, 2H]; 1,16 [t, 6H,  $J= 7,0$  Hz]; 0,93 [t, 3H,  $J= 7,5$  Hz].

RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  169,2; 167,0; 159,4; 156,8; 147,3; 147,2; 143,7; 139,4; 129,8; 129,6; 128,4; 128,2; 127,6 124,5; 110,9; 107,8; 101,0; 65,3; 45,1; 39,9; 31,4; 20,2; 13,8; 12,3.

EMAR (ISE)  $m/z$ : calculado para  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $\text{C}_{33}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_6$ : 570,2599; encontrado: 570,2598.

## 5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Um acervo considerável de catorze peptóides, foram preparados através de uma síntese relativamente simples e limpa. Todos os produtos sintetizados são inéditos na literatura até o presente momento.

Também foram realizados estudos fotofísicos a fim de determinar parâmetros de fluorescência, bem como entender as estabilizações dos compostos em seu estado excitado, como por exemplo o mecanismo de transferência de carga intramolecular (ICT). As estruturas analisadas apresentaram valores razoáveis de  $R^2$ , entretanto na literatura não foi encontrado um valor mínimo de  $R^2$  que institua o processo de estabilização do fluoróforo ser por transferência de carga intramolecular. Mas valores de  $R^2$  acima de 0,7 indicam ótimas estabilizações por tal mecanismo. Com isso se pode concluir que o processo de ICT é coerente para os fluoróforos estudados. Entretanto, o processo pode não ser o principal mecanismo de estabilização, pois provavelmente exista significativas interações dos fluoróforos com os solventes estudados.

Para finalizar o projeto, estudos de imageamento celular com alguns peptóides preparados foram feitos em parceria com o professor Dr. José Raimundo Corrêa. Os testes superaram as expectativas, já que o peptóide **110K** se mostrou um excelente marcador seletivo para mitocôndrias, além de não apresentar citotoxicidade.

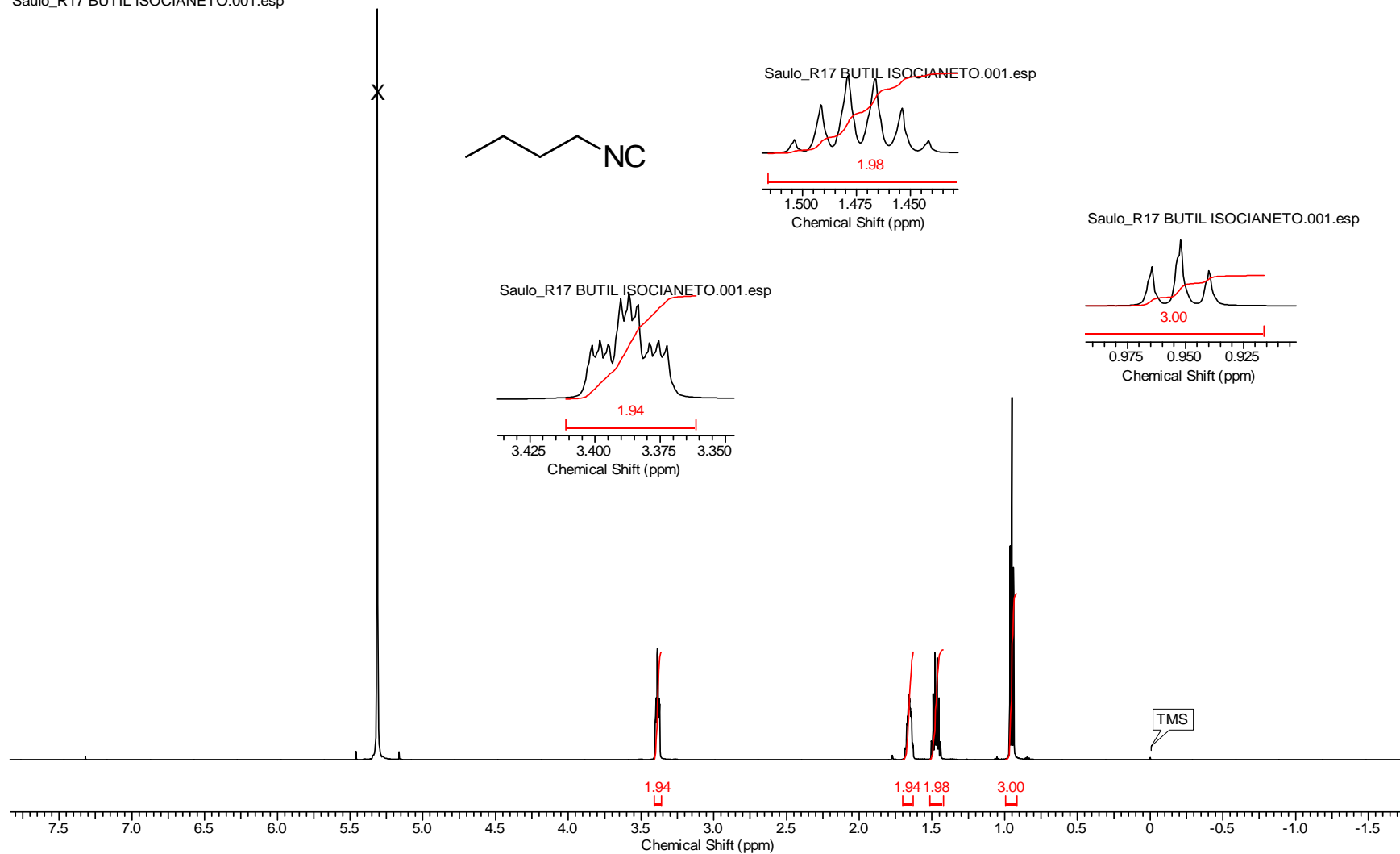
As perspectivas do projeto será comprovar o mecanismo de ICT através de cálculos teóricos de DFT. Além da publicação dos resultados.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA.

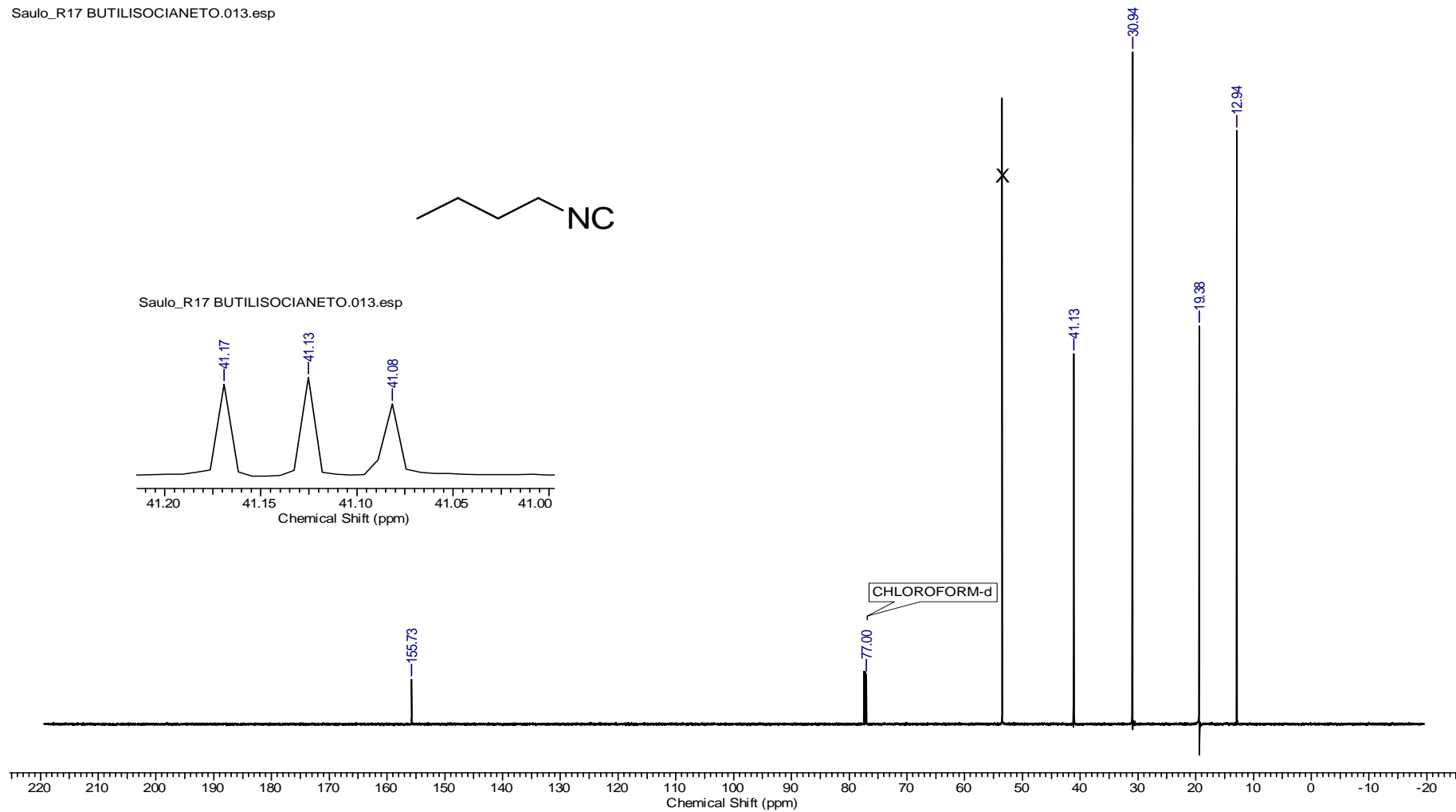
- (1) Banfi, L.; Riva, R.; Basso, A. *Synlett* **2010**, 23.
- (2) Cioc, R. C.; Ruijter, E.; Orru, R. V. A. *Green Chem.* **2014**, *16*, 2958.
- (3) Domling, A.; Ugi, I. *Angew. Chem.-Int. Edit.* **2000**, *39*, 3169.
- (4) Ugi, I.; Heck, S. *Comb. Chem. High Throughput Screen* **2001**, *4*, 1.
- (5) Lieke, W. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1859**, *112*, 316.
- (6) Meyer, E. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1866**, 67.
- (7) Gautier, A. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1867**, *142*, 289.
- (8) Hofmann, A. W. B. *Dtsch. Chem. Ges.* **1870**, *3*, 653
- (9) Passerini, M. S., L. *Gazz. Chim. Ital.* **1921**, *51*, 126.
- (10) Koopmanschap, G.; Ruijter, E.; Orru, R. V. A. *Beilstein J. Org. Chem.* **2014**, *10*, 544.
- (11) Alvim, H. G. O.; da Silva, E. N.; Neto, B. A. D. *Rsc Advances* **2014**, *4*, 54282.
- (12) Maeda, S.; Komagawa, S.; Uchiyama, M.; Morokuma, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 644.
- (13) Akritopoulou-Zanze, I. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, *12*, 324.
- (14) Ugi, I. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1959**, *71*, 386.
- (15) Tron, G. C. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 1849.
- (16) El Kaim, L.; Grimaud, L. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 7749.
- (17) Bonne, D.; Dekhane, M.; Zhu, J. P. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4771.
- (18) Medeiros, G. A.; da Silva, W. A.; Bataglion, G. A.; Ferreira, D. A. C.; de Oliveira, H. C. B.; Eberlin, M. N.; Neto, B. A. D. *Chem. Comm.* **2014**, *50*, 338.
- (19) Cheron, N.; El Kaim, L.; Grimaud, L.; Fleurat-Lessard, P. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 14929.
- (20) Cheron, N.; Ramozzi, R.; El Kaim, L.; Grimaud, L.; Fleurat-Lessard, P. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 1361.
- (21) Iacobucci, C.; Reale, S.; Gal, J. F.; De Angelis, F. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 7087.
- (22) Hulme, C.; Gore, V. *Curr. Med. Chem.* **2003**, *10*, 51.
- (23) Asthana, M.; Kumar, R.; Gupta, T.; Singh, R. M. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 907.
- (24) Pertejo, P.; Corres, N.; Torroba, T.; Garcia-Valverde, M. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 612.
- (25) Shinde, A. H.; Archith, N.; Srilaxmi, M.; Sharada, D. S. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 6821.
- (26) Zarganes-Tzitzikas, T.; Patil, P.; Khoury, K.; Herdtweck, E.; Domling, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 51.
- (27) Azizi, N.; Dezfooli, S.; Hashemi, M. M. *C. R. Chim.* **2013**, *16*, 1098.
- (28) Patel, R. V.; Chikhalia, K. H.; Nile, S. H.; Park, S. W. *Curr. Org. Chem.* **2013**, *17*, 1125.
- (29) Lakowicz, J. R. *Principles of fluorescence spectroscopy*; Springer: New York, 2006.
- (30) Ghouili, A.; Dusek, M.; Petricek, V.; Ben Ayed, T.; Ben Hassen, R. *J. Phy. Chem. Solids* **2014**, *75*, 188.

- (31) Setsukinai, K.; Urano, Y.; Kikuchi, K.; Higuchi, T.; Nagano, T. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **2000**, 2453.
- (32) Kivala, M.; Diederich, F. *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 235.
- (33) Alvim, H. G. O.; Fagg, E. L.; de Oliveira, A. L.; de Oliveira, H. C. B.; Freitas, S. M.; Xavier, M.-A. E.; Soares, T. A.; Gomes, A. F.; Gozzo, F. C.; Silva, W. A.; Neto, B. A. D. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 4764.
- (34) Long, L.; Zhou, L.; Wang, L.; Meng, S.; Gong, A.; Du, F.; Zhang, C. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 8214.
- (35) Tasiór, M.; Kim, D.; Singha, S.; Krzeszewski, M.; Ahn, K. H.; Gryko, D. T. *J. Mater. Chem. C* **2015**, *3*, 1421.
- (36) Daru, J.; Stirling, A. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 8749.
- (37) Bednarz, S.; Bogdal, D. *Int. J. Chem. Kinet.* **2009**, *41*, 589.
- (38) Bogdal, D. *J. Chem. Res. S* **1998**, 468.
- (39) Patel, K. P. *Arkivoc* **2013**, 14.
- (40) Shachan-Tov, S.; Frimer, A. A. *J. Heterocycl. Chem.* **2012**, *49*, 905.
- (41) Augustine, J. K.; Bombrun, A.; Ramappa, B.; Boodappa, C. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 4422.
- (42) Shaabani, S.; Shaabani, A.; Ng, S. W. *ACS Comb. Sci.* **2014**, *16*, 176.
- (43) Sheikhhosseini, E.; Balalaie, S.; Bigdeli, M. A.; Habibi, A.; Moghaddam, H. *P. J. Korean Chem. Soc.* **2014**, *58*, 186.
- (44) Che, C.; Li, S.; Jiang, X. L.; Quan, J. M.; Lin, S.; Yang, Z. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 4682.
- (45) Gokel, G. W.; Widera, R. P.; Weber, W. P. *Org. Synth., Coll.6* **1988**, 232.
- (46) Yamabe, S.; Fukuda, T. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 5109.
- (47) Ivanov, A. S. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 789.
- (48) Maggi, R.; Bigi, F.; Carloni, S.; Mazzacani, A.; Sartori, G. *Green Chem.* **2001**, *3*, 173.
- (49) Karami, B.; Farahi, M.; Khodabakhshi, S. *Helv. Chim. Acta* **2012**, *95*, 455.
- (50) Dupont, J. *J. Braz. Chem. Soc.* **2004**, *15*, 341.
- (51) Adams, M. J.; Highfield, J. G.; Kirkbright, G. F. *Anal. Chem.* **1977**, *49*, 1850.
- (52) Mataga, N.; Torihashi, Y.; Ezumi, K. *Theor. Chim. Acta* **1964**, *2*, 158.
- (53) Reichardt, C. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2319.
- (54) Ji, S.; Yang, J.; Yang, Q.; Liu, S.; Chen, M.; Zhao, J. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 4855.
- (55) Filarowski, A.; Kluba, M.; Cieslik-Boczula, K.; Koll, A.; Kochel, A.; Pandey, L.; De Borggraeve, W. M.; Van der Auweraer, M.; Catalan, J.; Boens, N. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2010**, *9*, 996.
- (56) Carvalho, P. H. P. R., Universidade de Brasília, *Arquitetura molecular de derivados Benzotiadiazolas para a marcação de mitocôndrias*, 2014, 76f, Dissertação (Mestrado de Química) - Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília.

Saulo\_R17 BUTIL ISOCIANETO.001.esp

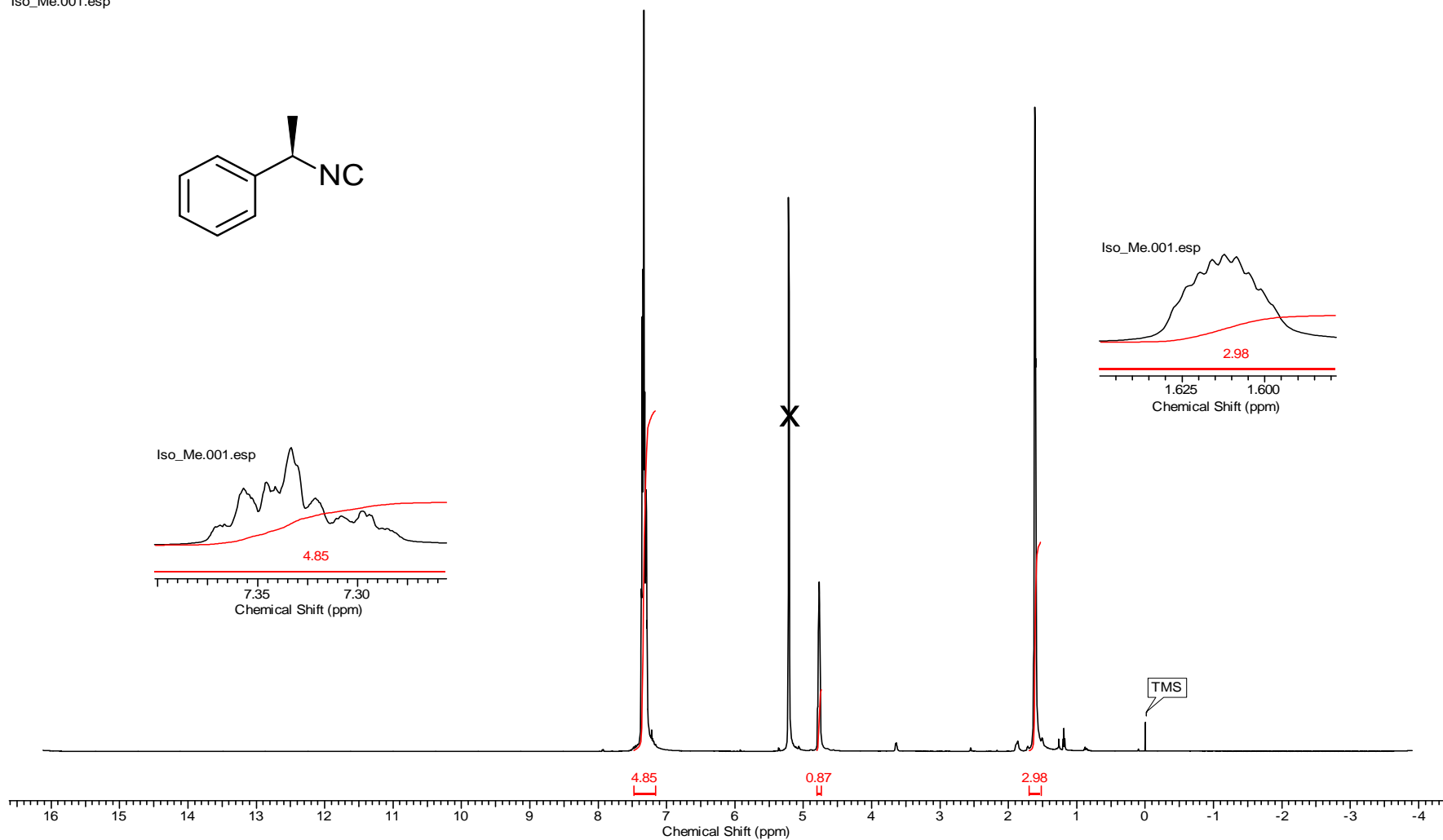


Anexo 1. RMN  $^1\text{H}$  600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do isocianeto de butila

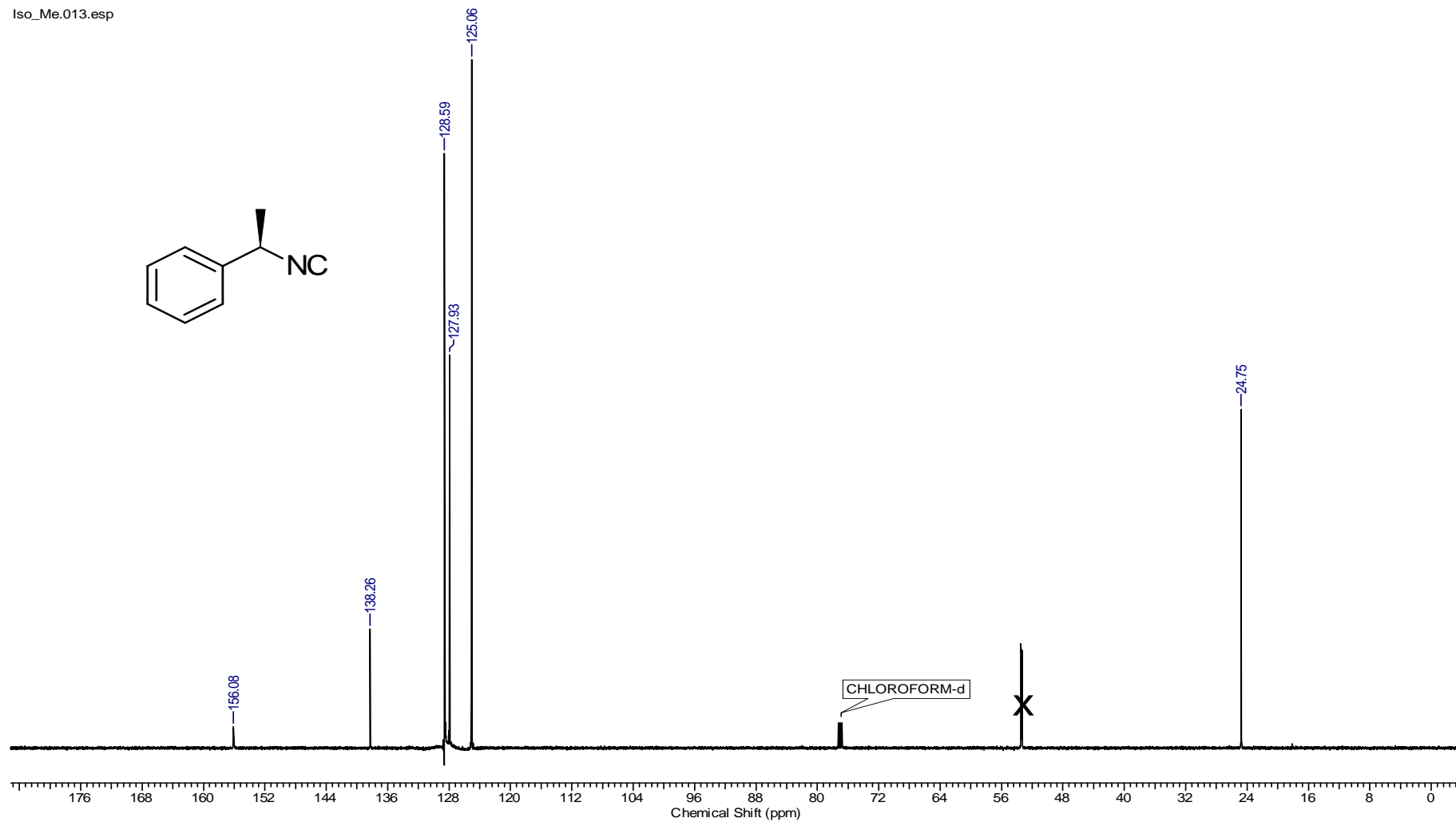


Anexo 2. RMN  $^{13}\text{C}$  150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do isocianeto de butila

Iso\_Me.001.esp



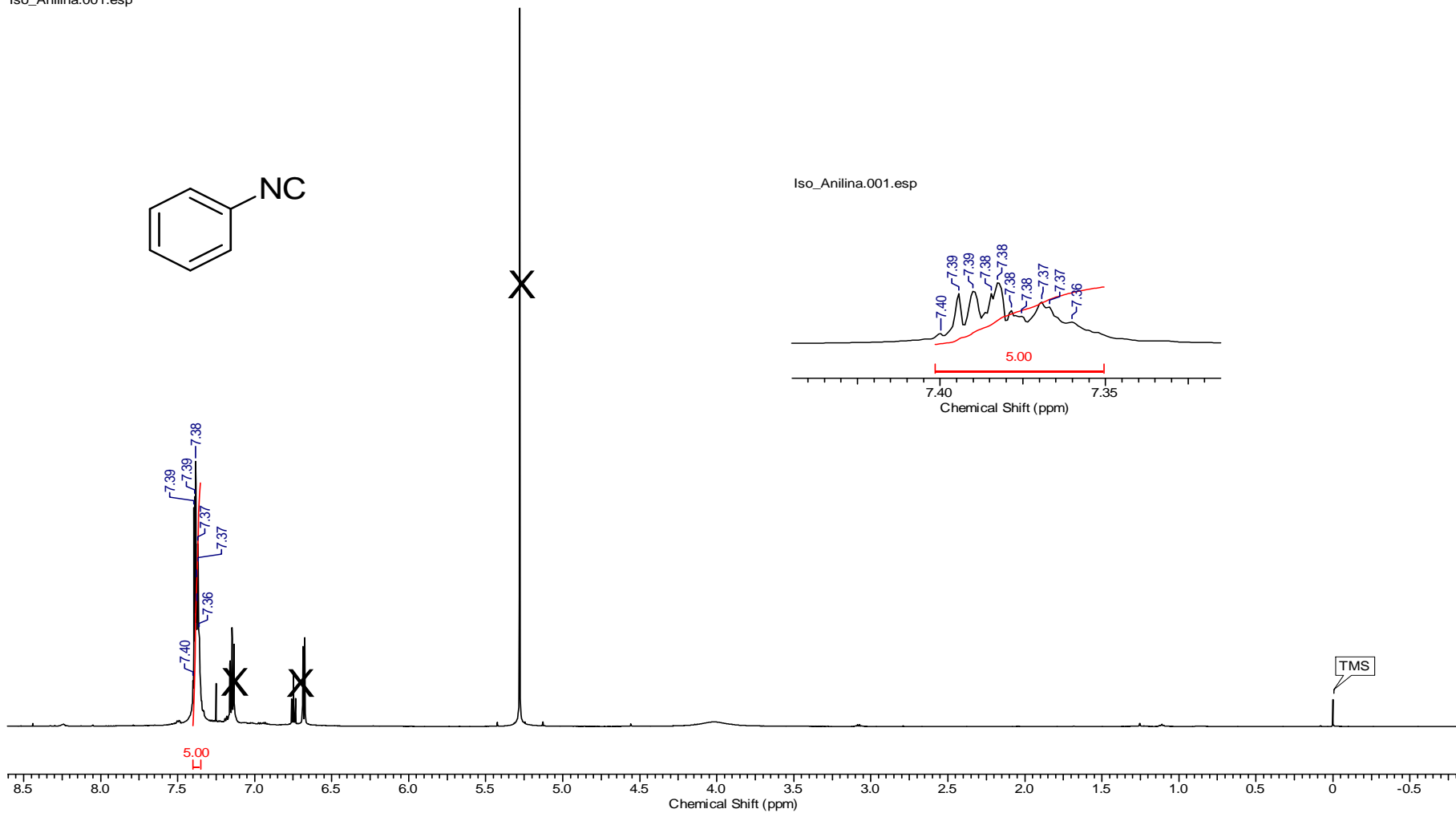
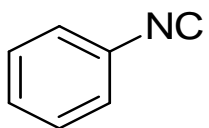
Anexo 3. RMN  $^1\text{H}$  300 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do *(R)*-isocianoetilbenzeno.



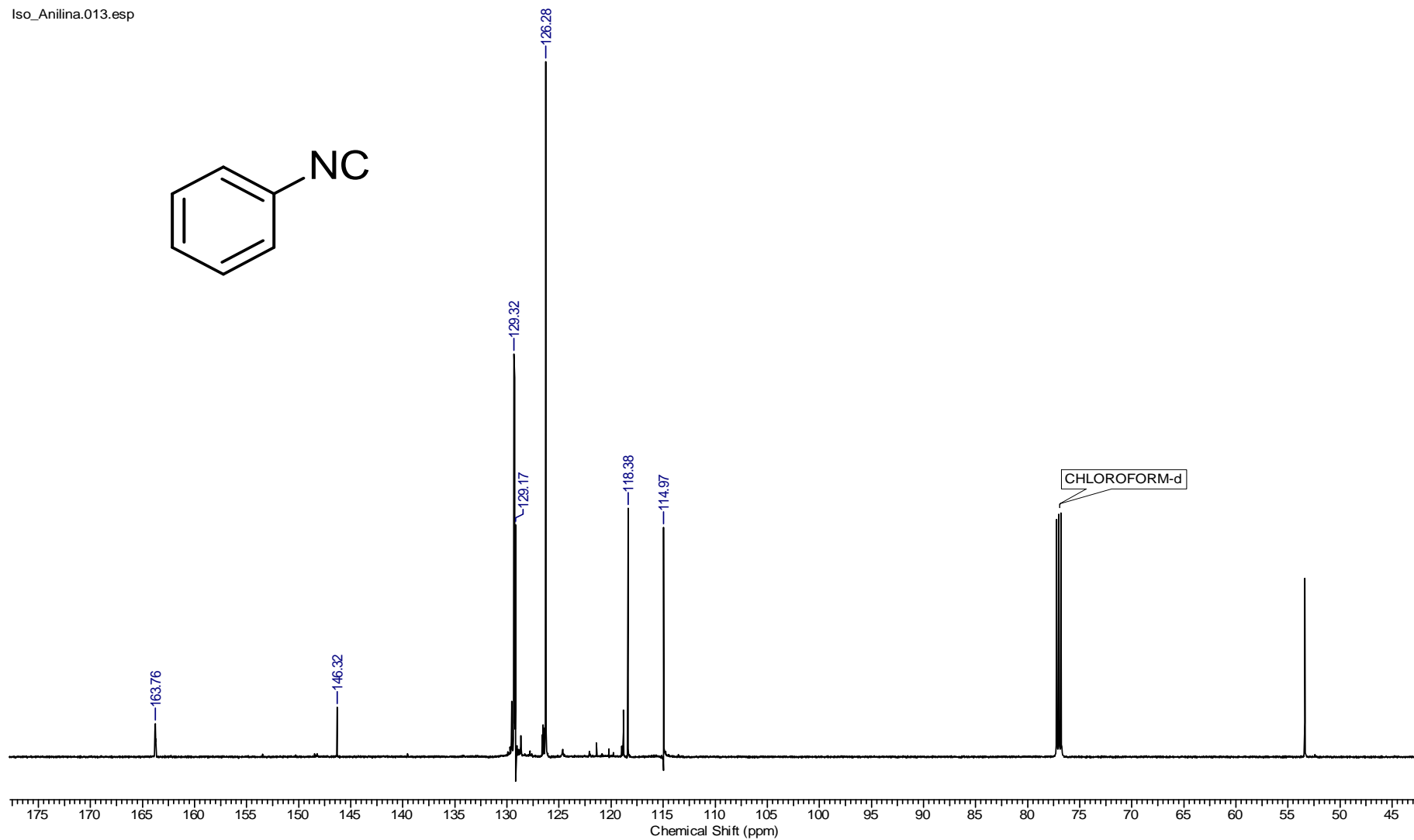
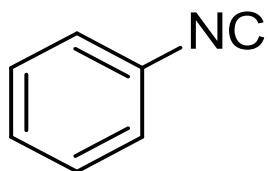
**Anexo 4.** RMN  $^{13}\text{C}$  150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do *(R)*-isocianoetilbenzeno.



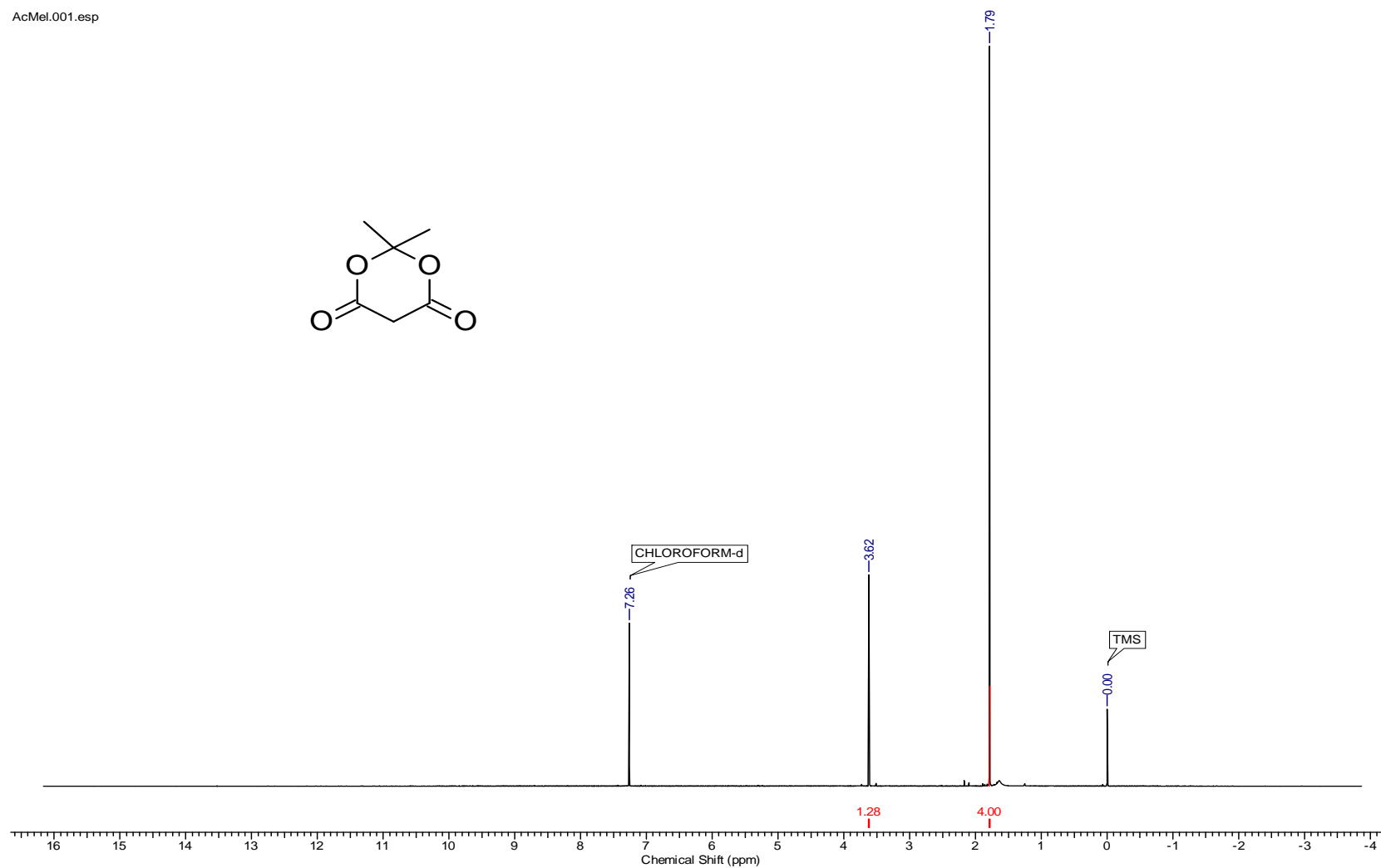
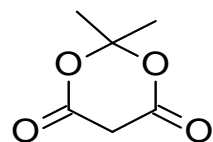
Iso\_Anilina.001.esp



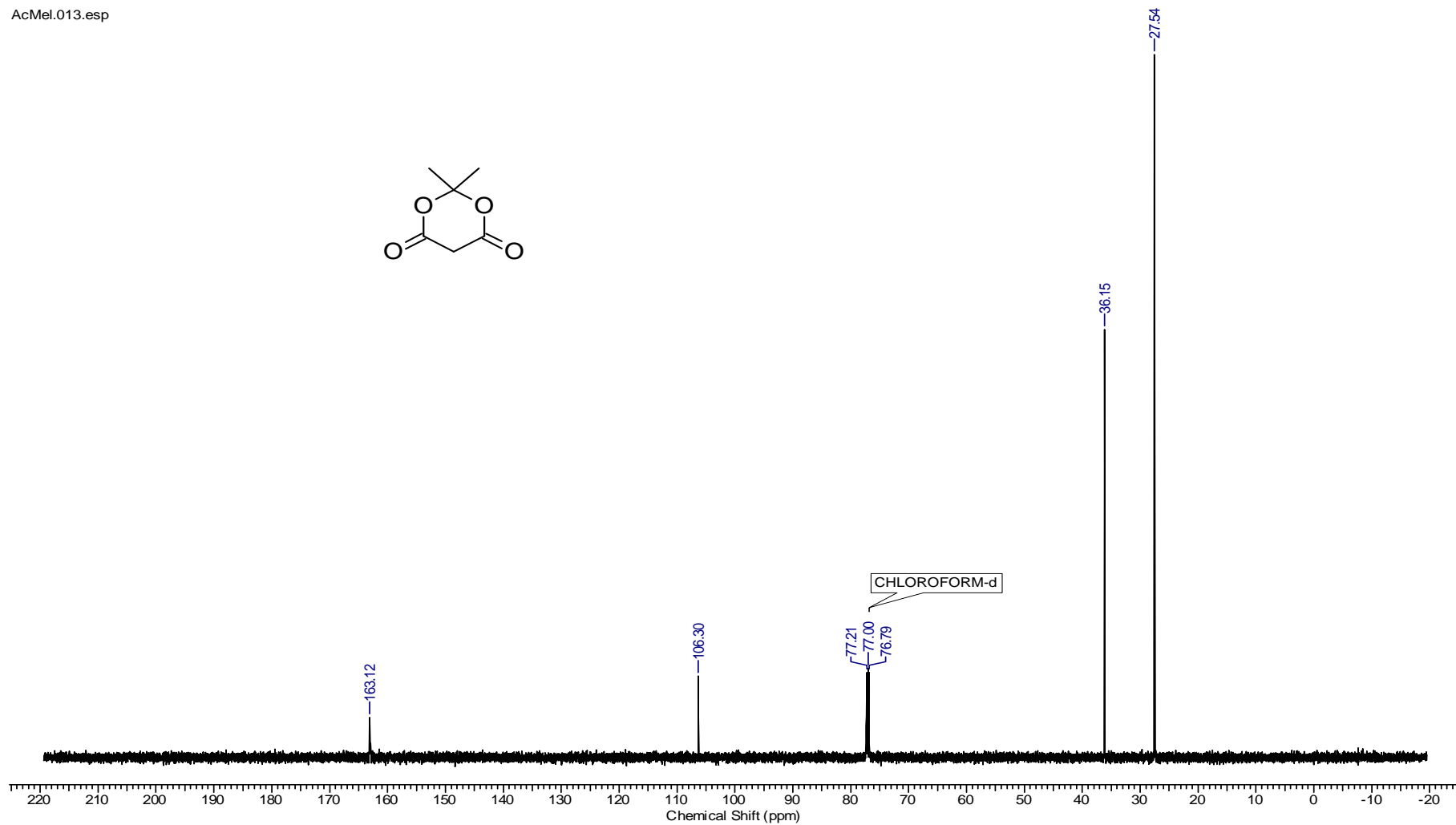
Anexo 5. RMN <sup>1</sup>H 300 MHz (CDCl<sub>3</sub>) do isocianobenzeno.



Anexo 6. RMN  $^{13}\text{C}$  75 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do isocianobenzeno.

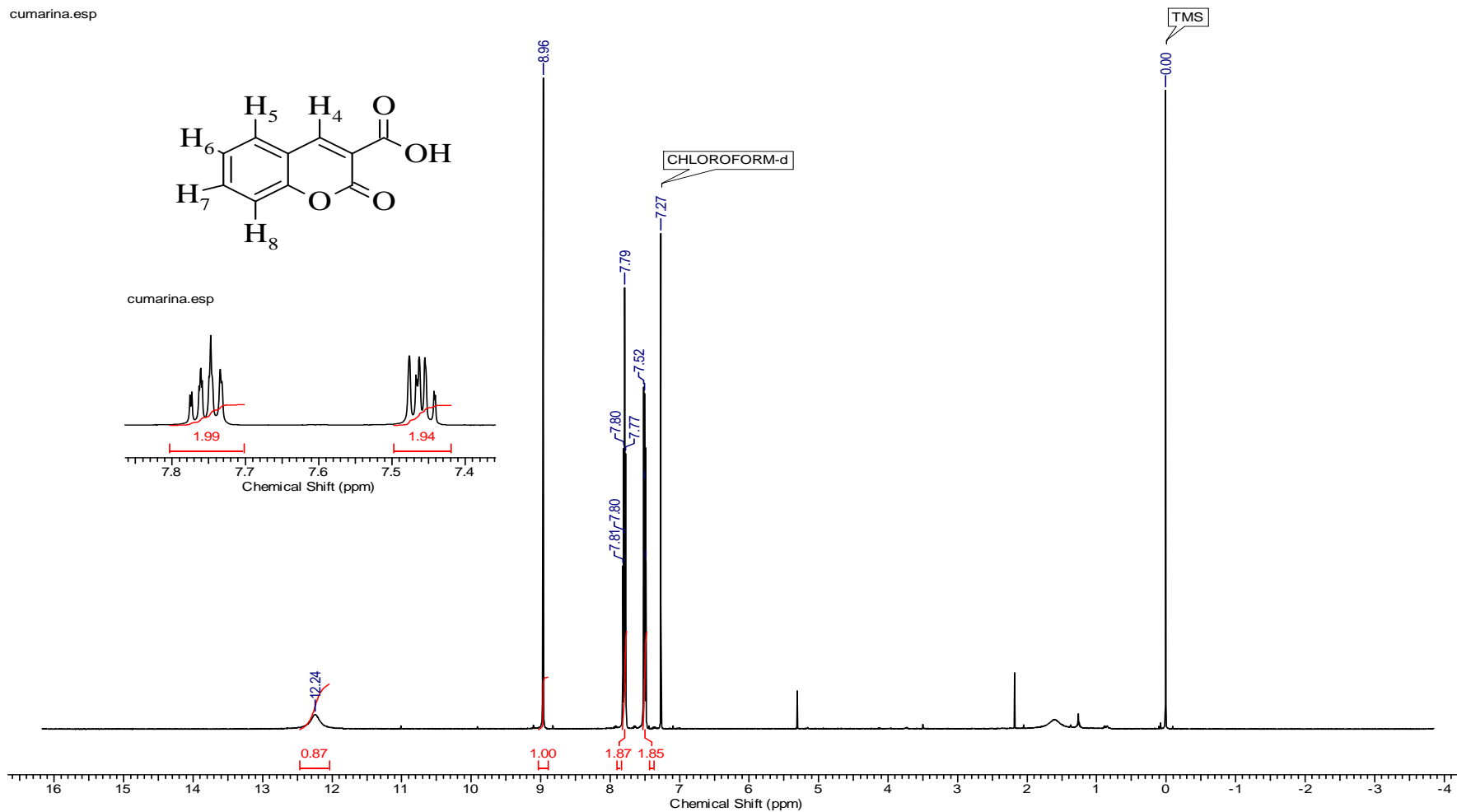
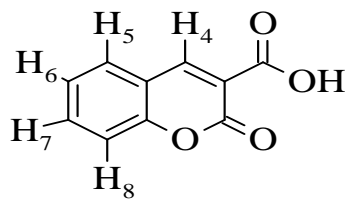


**Anexo 7.** RMN <sup>1</sup>H 600 MHz (CDCl<sub>3</sub>) do ácido de Meldrum.

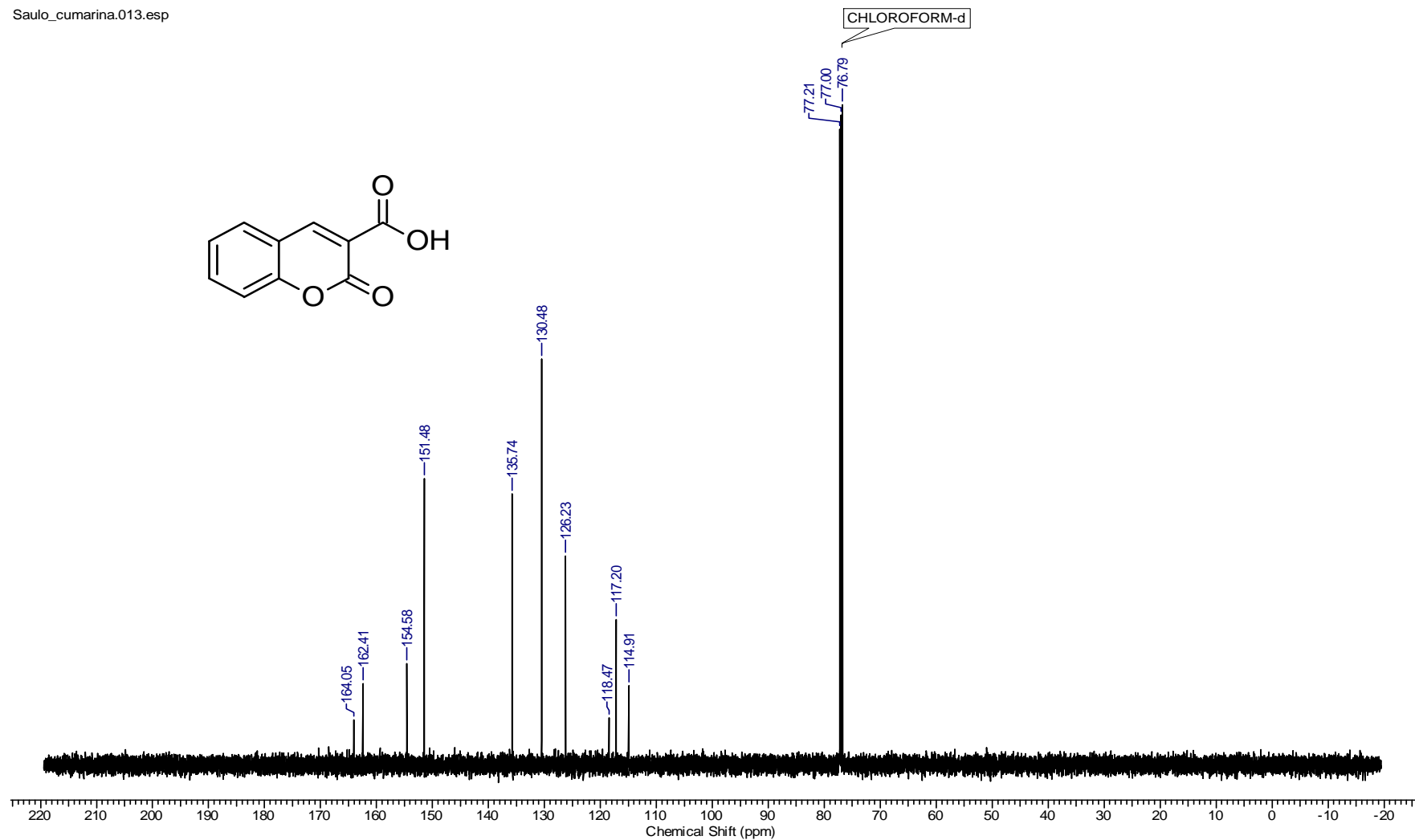


Anexo 8. RMN <sup>13</sup>C 150 MHz (CDCl<sub>3</sub>) do ácido de Meldrum.

cumarina.esp

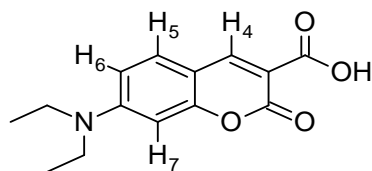
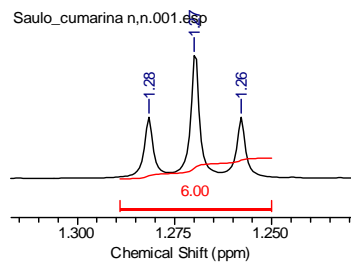


Anexo 9. RMN <sup>1</sup>H 600 MHz (CDCl<sub>3</sub>) da 3-ácido carboxílico cumarina.

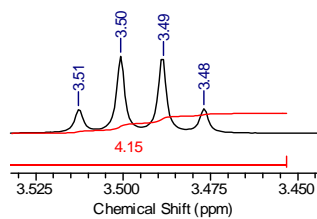


Anexo 10. RMN <sup>13</sup>C 150 MHz (CDCl<sub>3</sub>) da 3-ácido carboxílico cumarina.

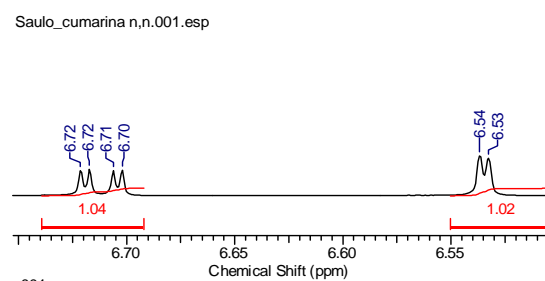
Saulo\_cumarina n,n.001.esp



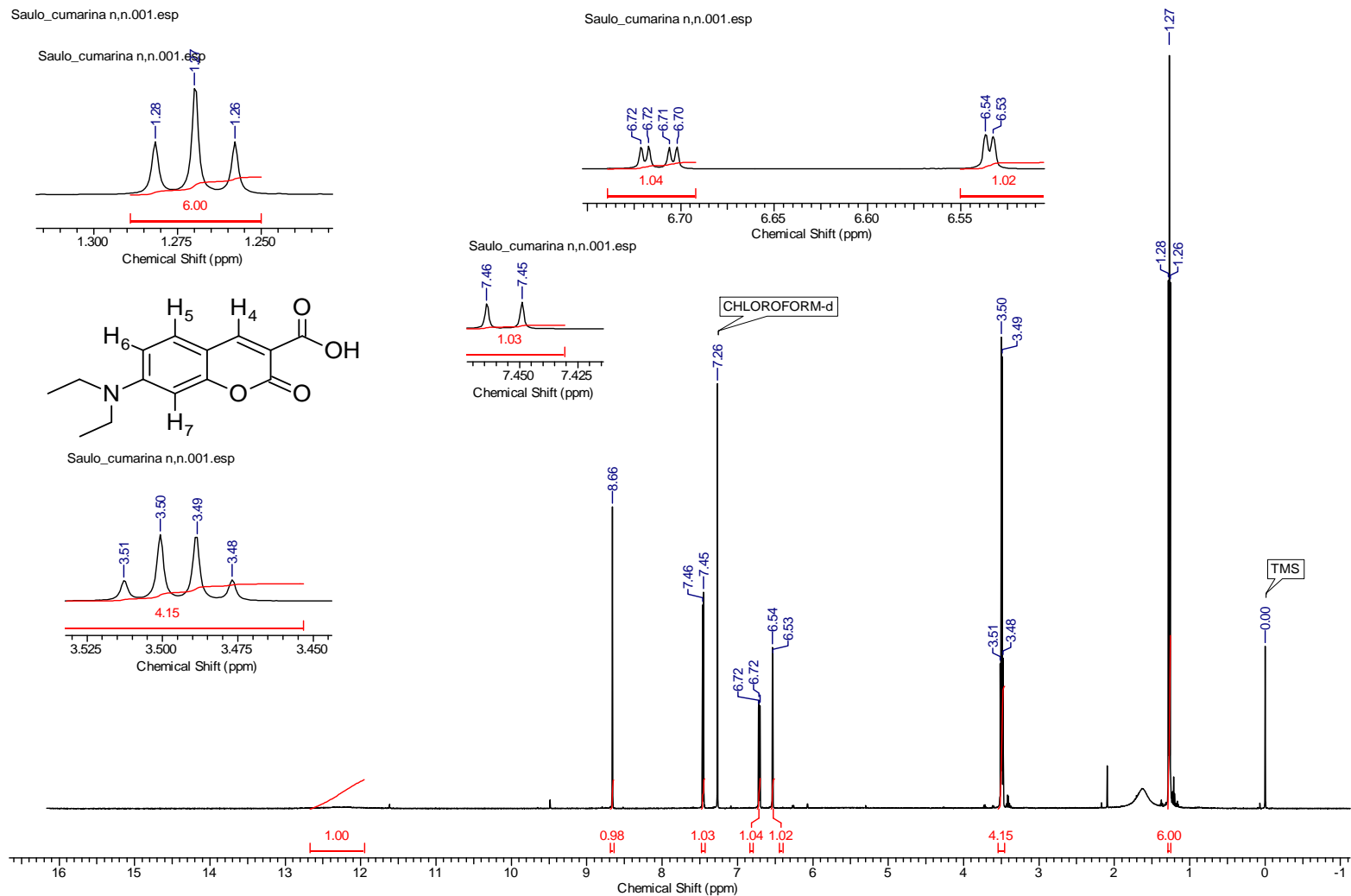
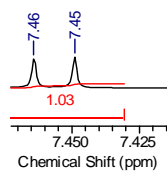
Saulo\_cumarina n,n.001.esp



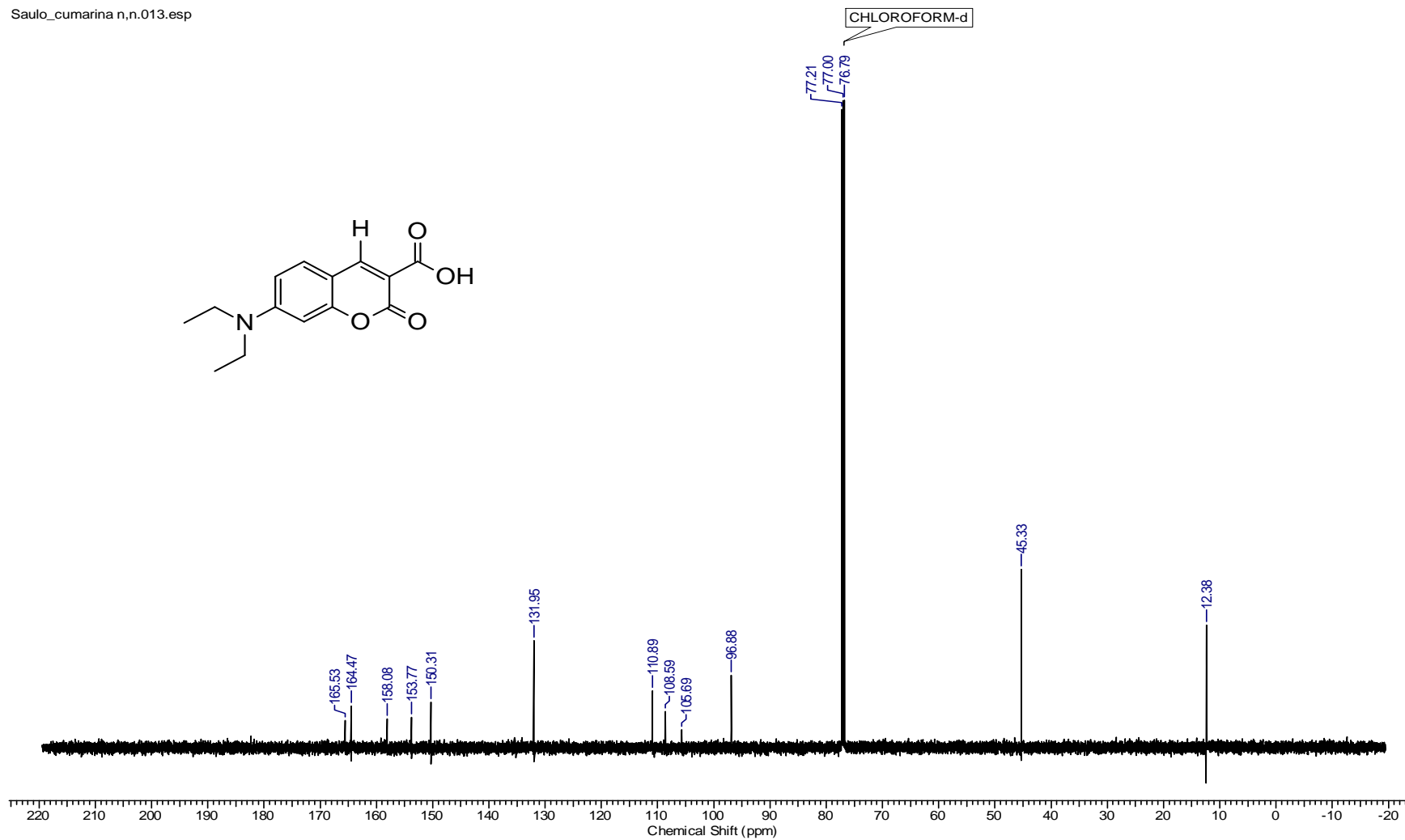
Saulo\_cumarina n,n.001.esp



Saulo\_cumarina n,n.001.esp

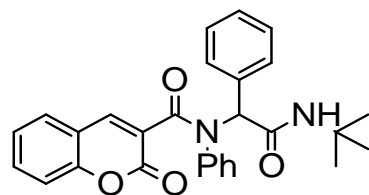


**Anexo 11.** RMN  $^1\text{H}$  600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) da 7-(dietilamino)-cumarina- 3-ácido carboxílico.

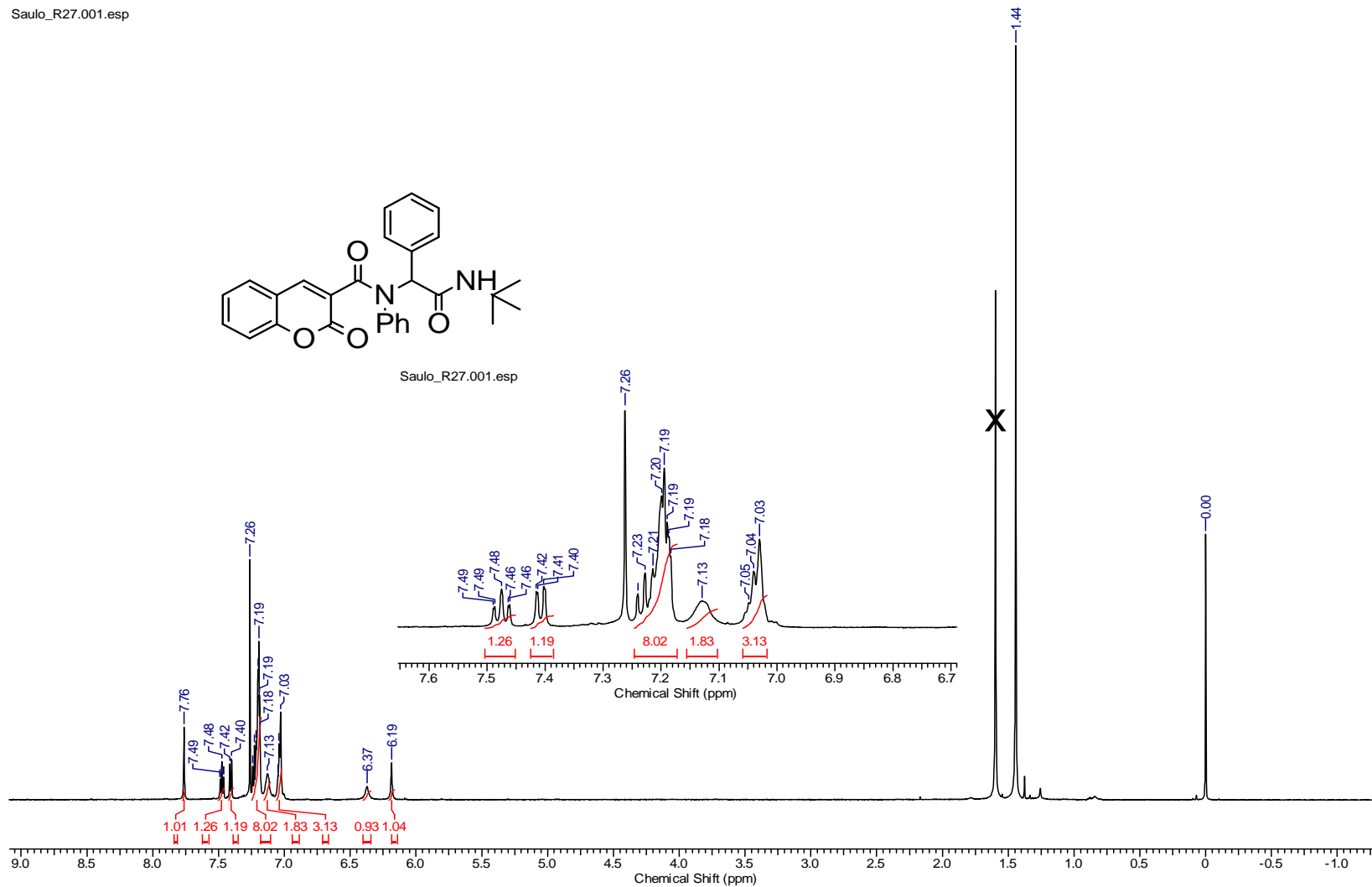


Anexo 12. RMN <sup>13</sup>C 150 MHz (CDCl<sub>3</sub>) da 7-(dietilamino)-cumarina- 3-ácido carboxílico.

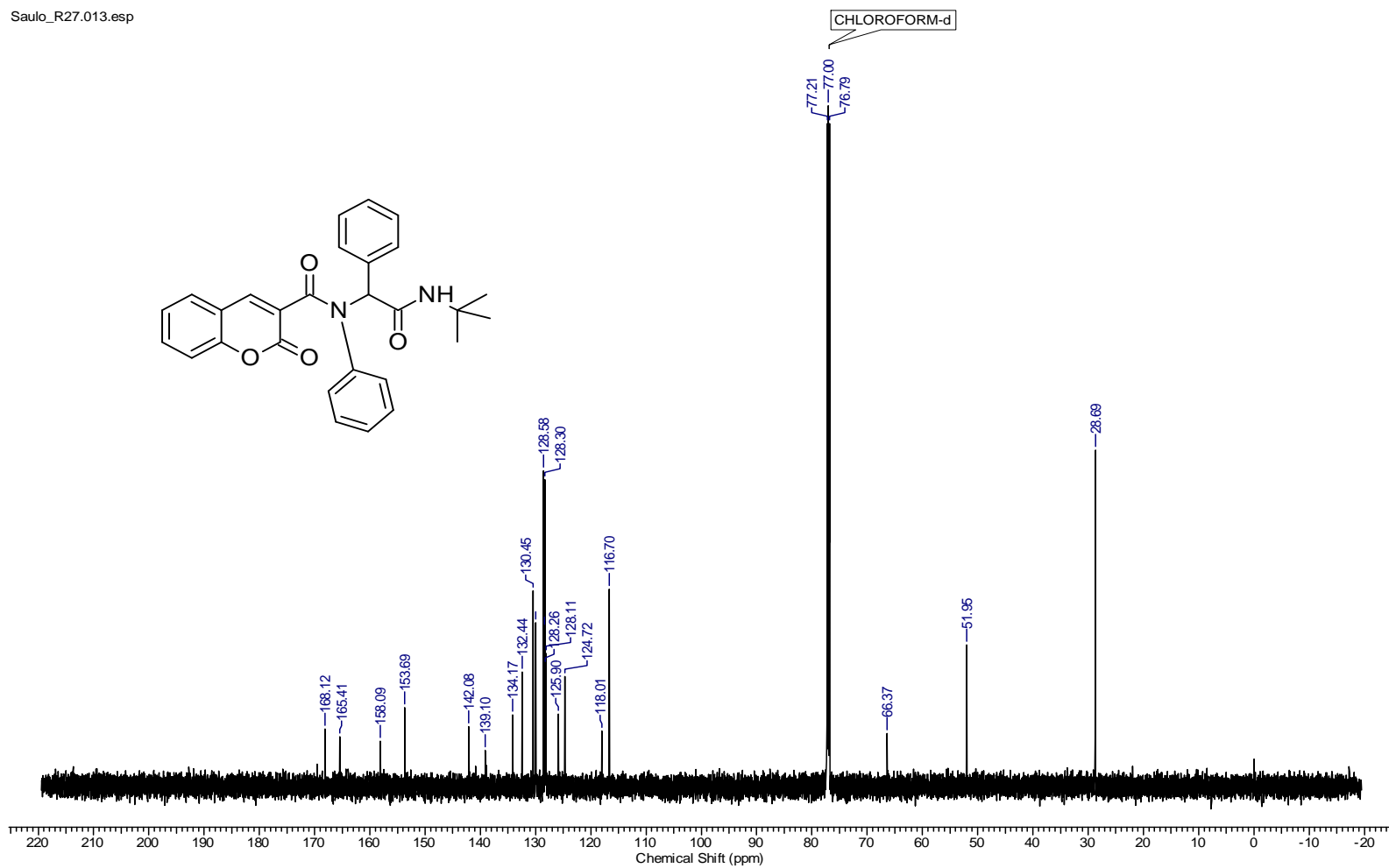




Saulo\_R27.001.esp



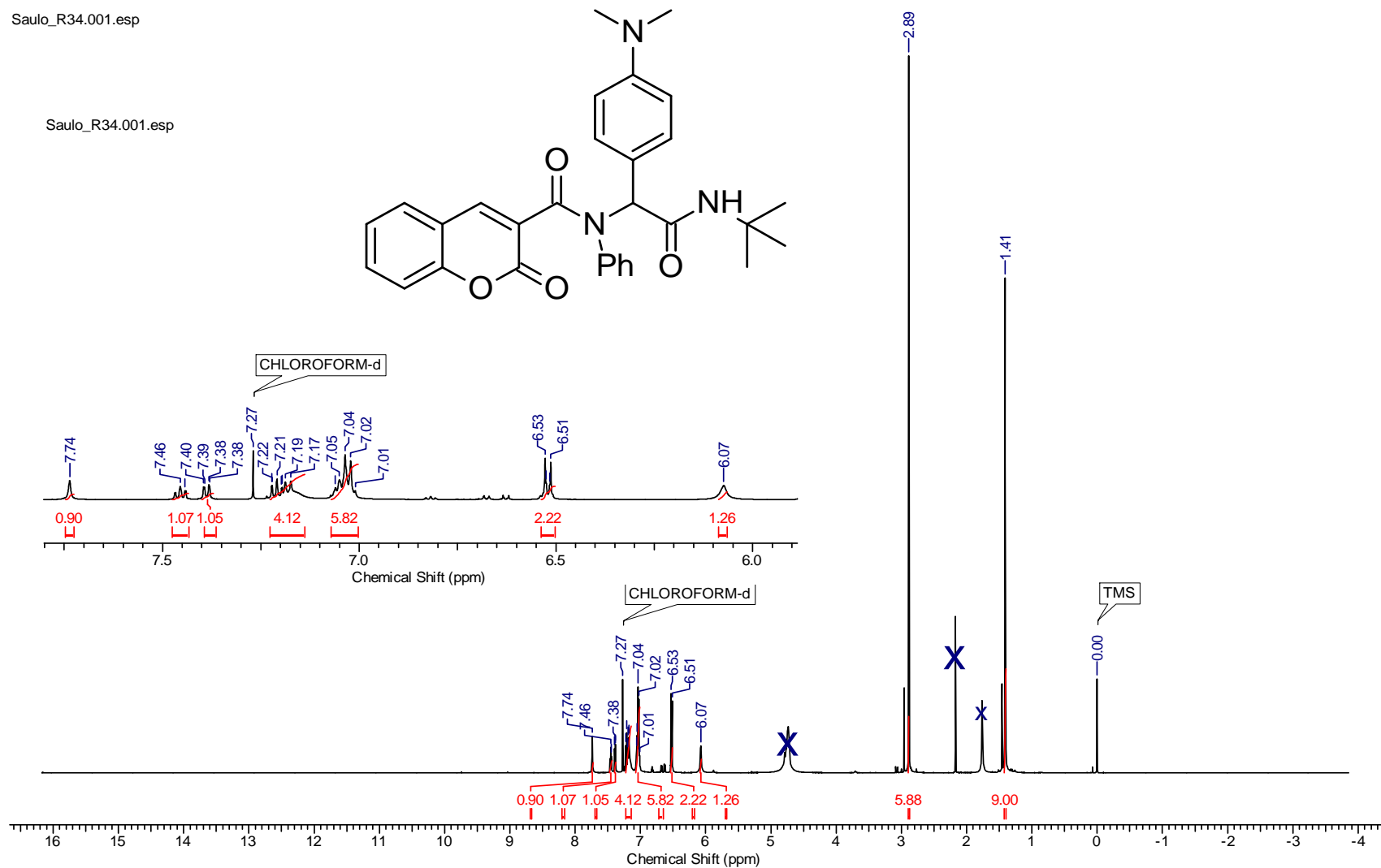
Anexo 13. RMN  $^1\text{H}$  300 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do peptóide 110A.



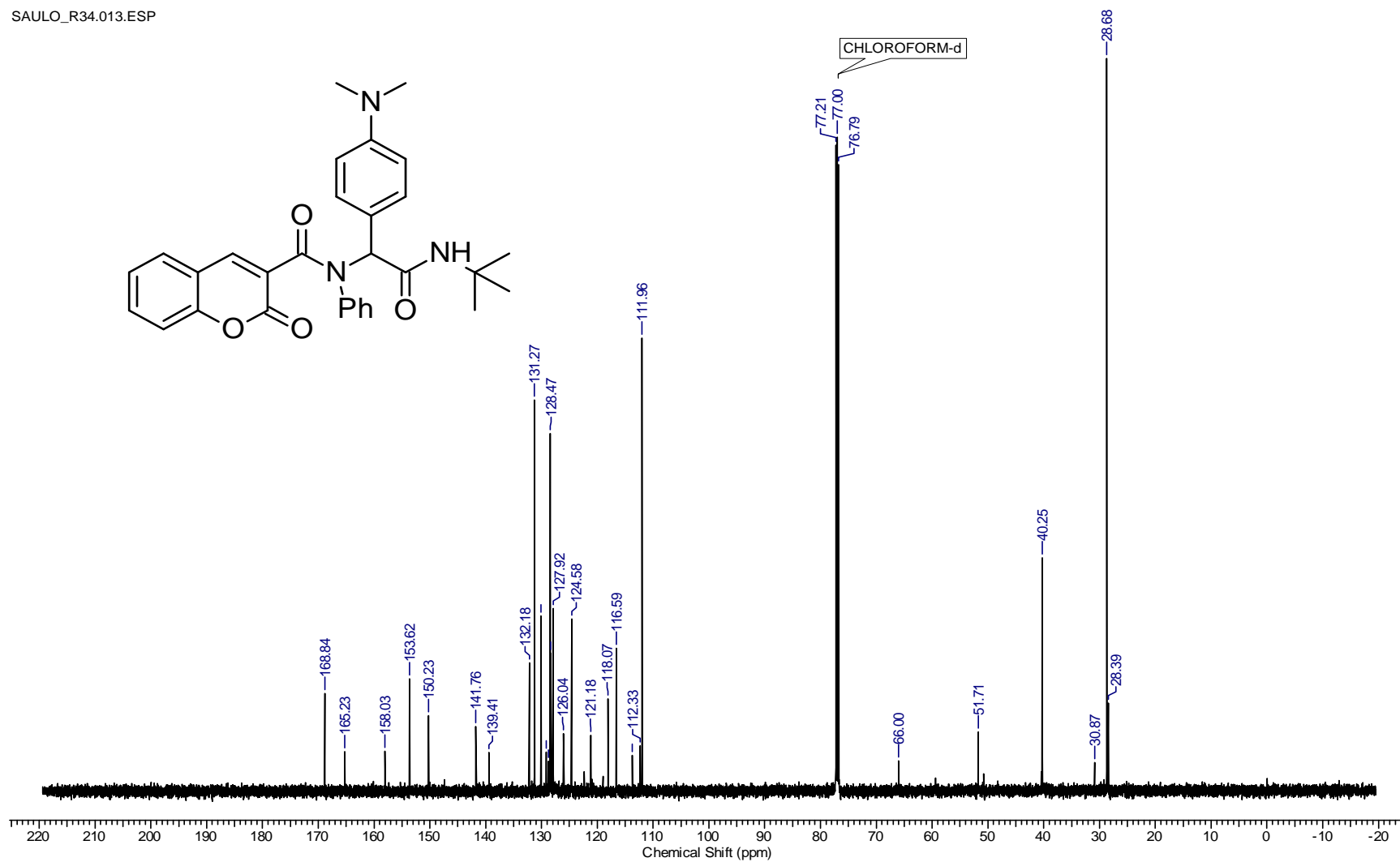
Anexo 14. RMN <sup>13</sup>C 75 MHz (CDCl<sub>3</sub>) do peptóide 110A.

Saulo\_R34.001.esp

Saulo\_R34.001.esp

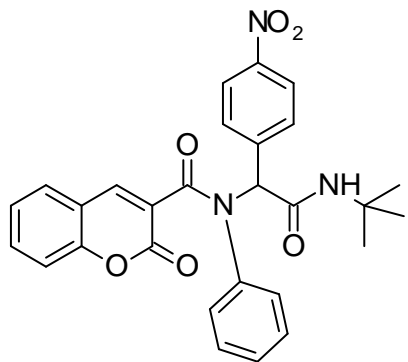


Anexo 15. RMN <sup>1</sup>H 300 MHz (CDCl<sub>3</sub>) do peptóide 110B.

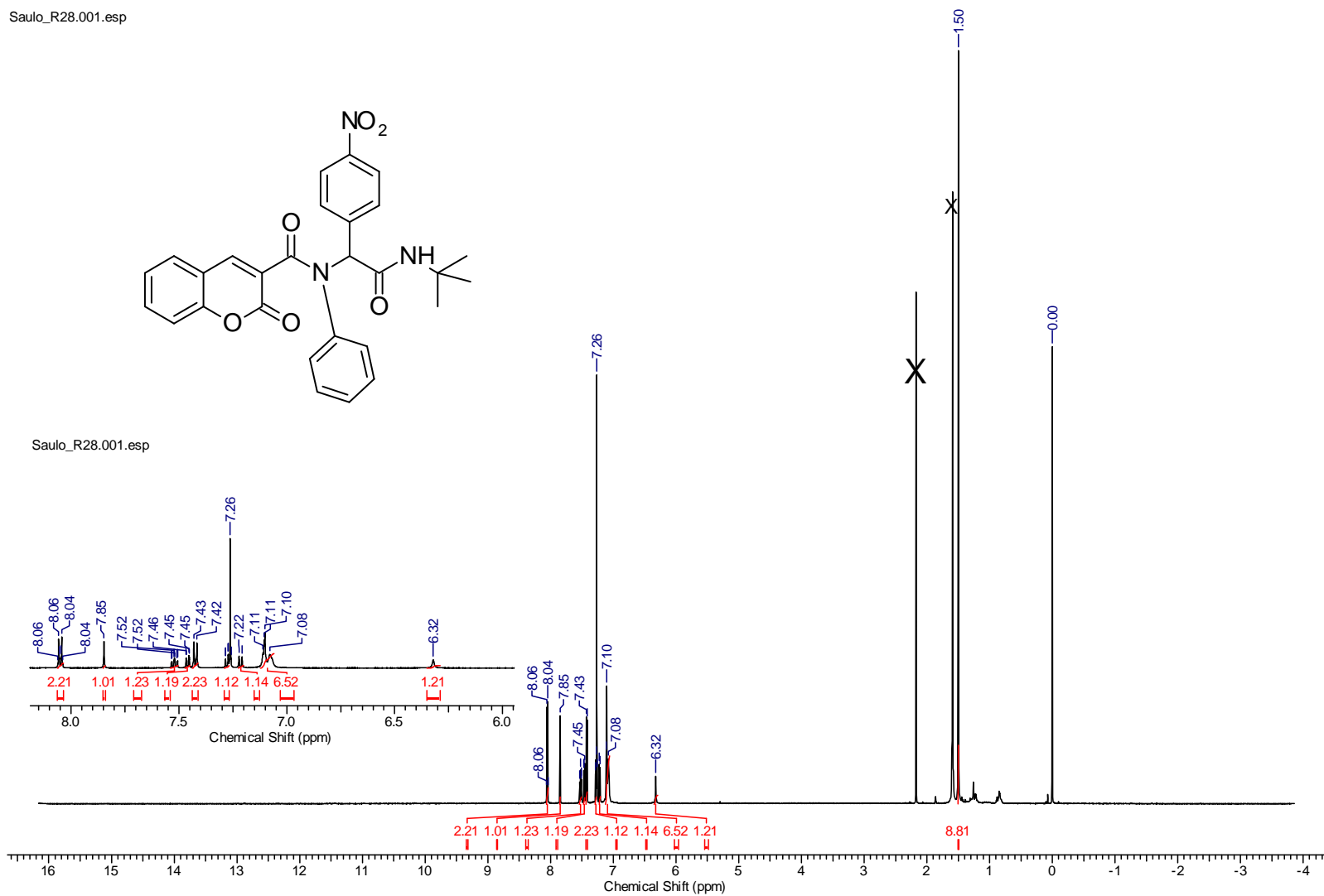


Anexo 16. RMN  $^{13}\text{C}$  75 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do peptóide 110B.

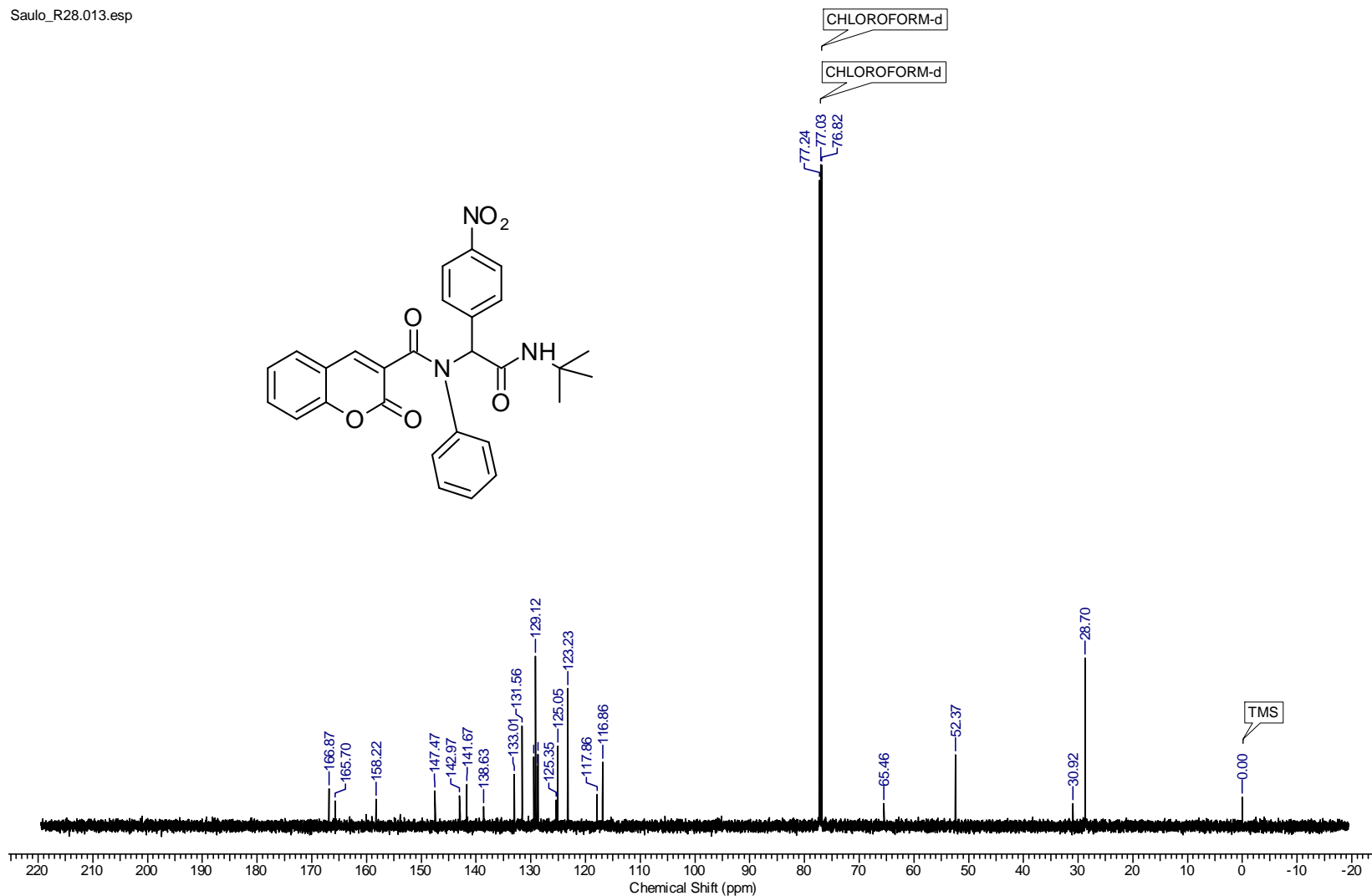
Saulo\_R28.001.esp



Saulo\_R28.001.esp

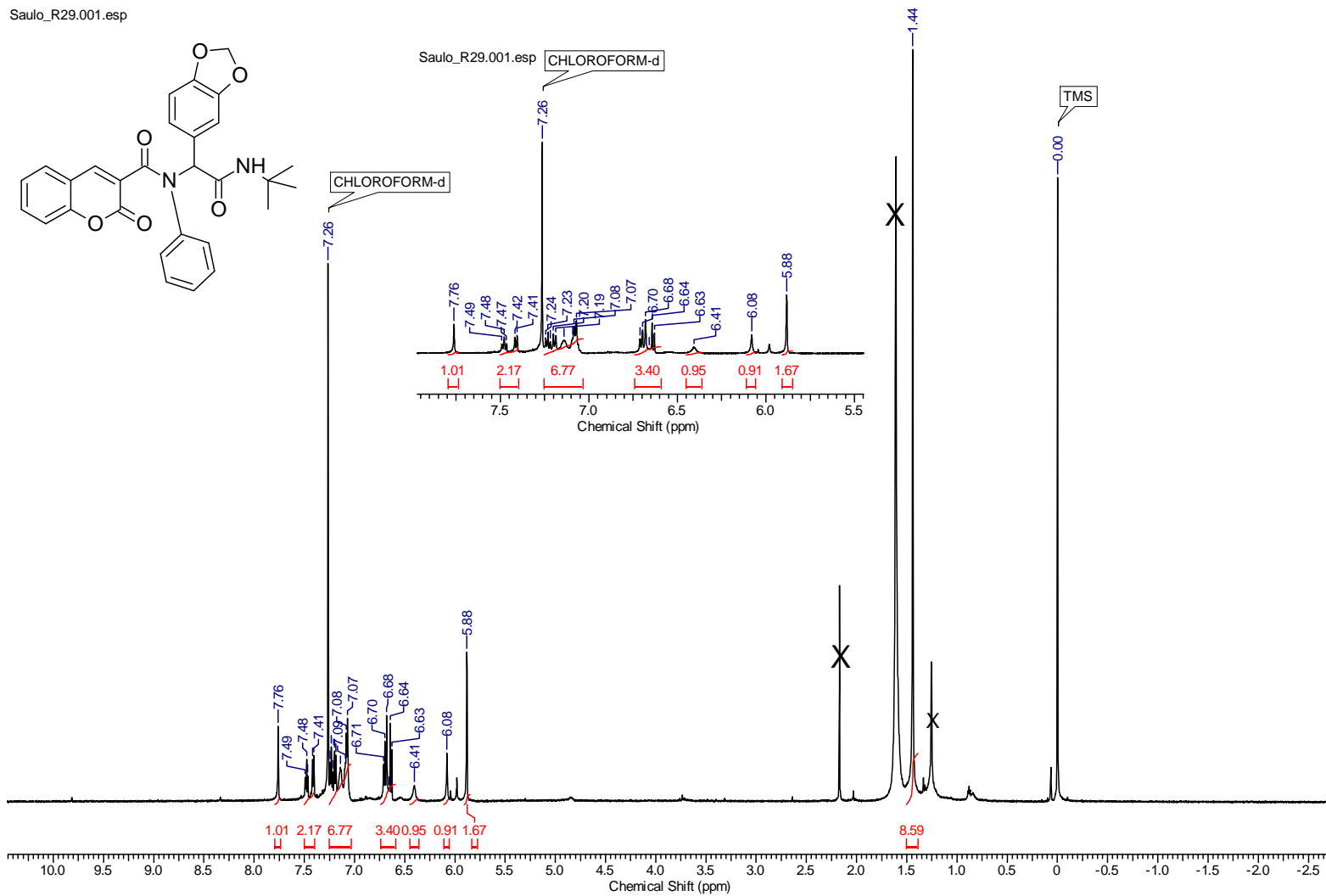


Anexo 17. RMN  $^1\text{H}$  300 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do peptíde **110C**.

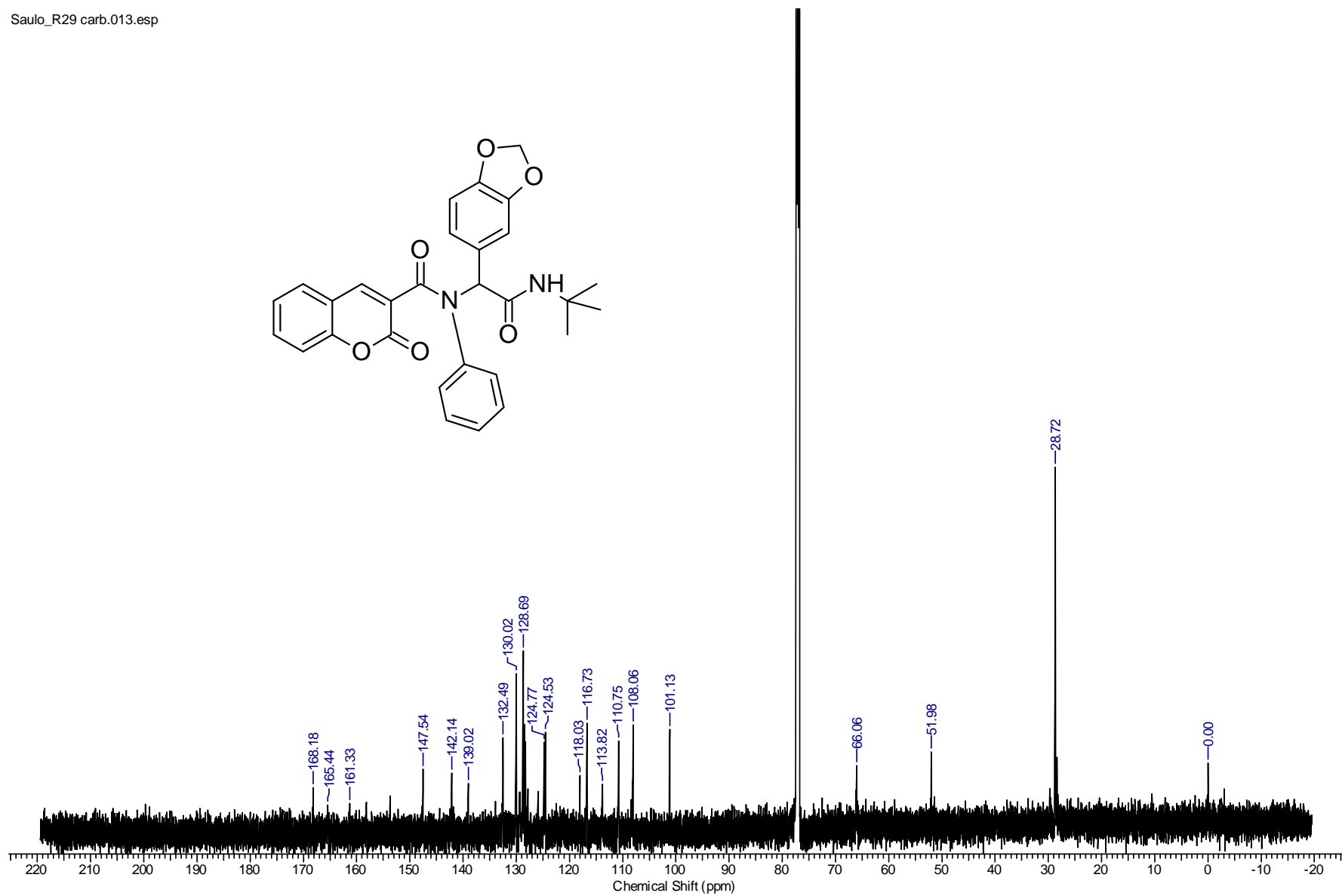


Anexo 18. RMN  $^{13}\text{C}$  75 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do peptóide 110C.

Saulo\_R29.001.esp



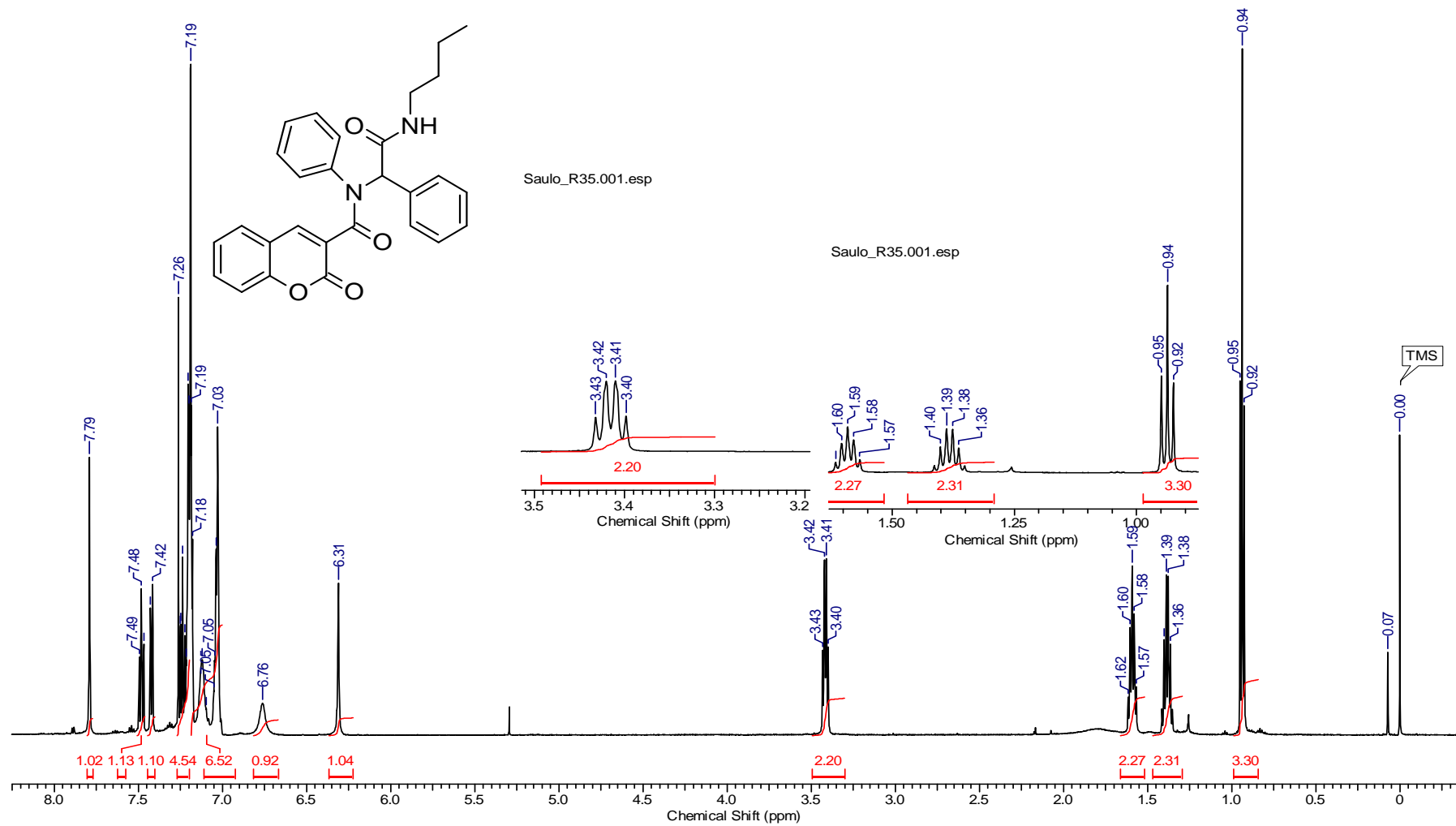
Anexo 19. RMN  $^1\text{H}$  300 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do peptóide 110D.



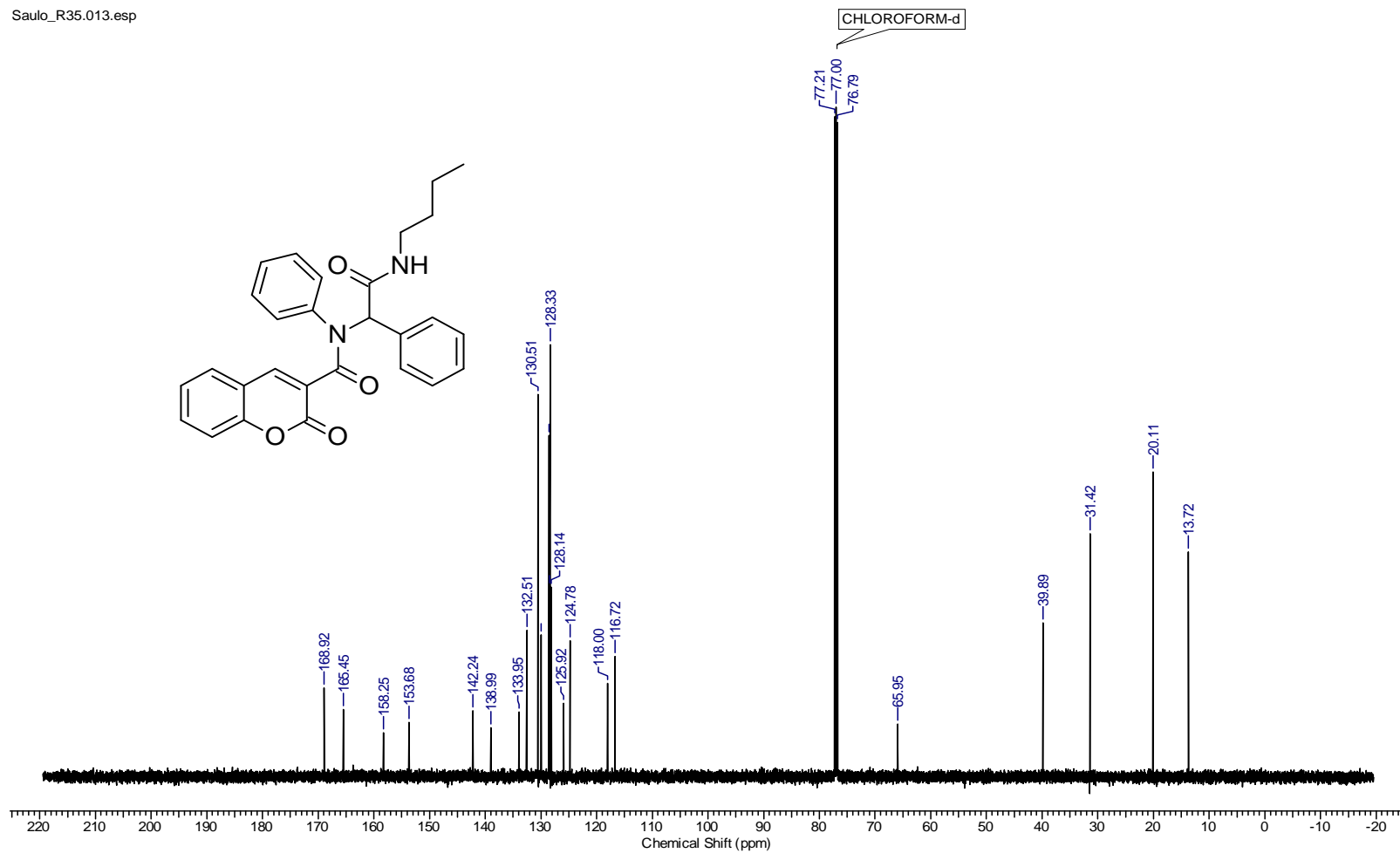
Anexo 20. RMN  $^{13}\text{C}$  75 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do peptóide 110D.



Saulo\_R35.001.esp

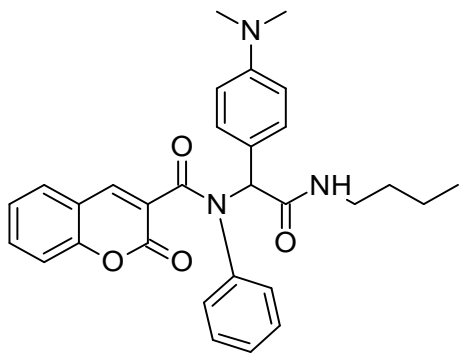


Anexo 21. RMN  $^1\text{H}$  600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do peptíde 110E.

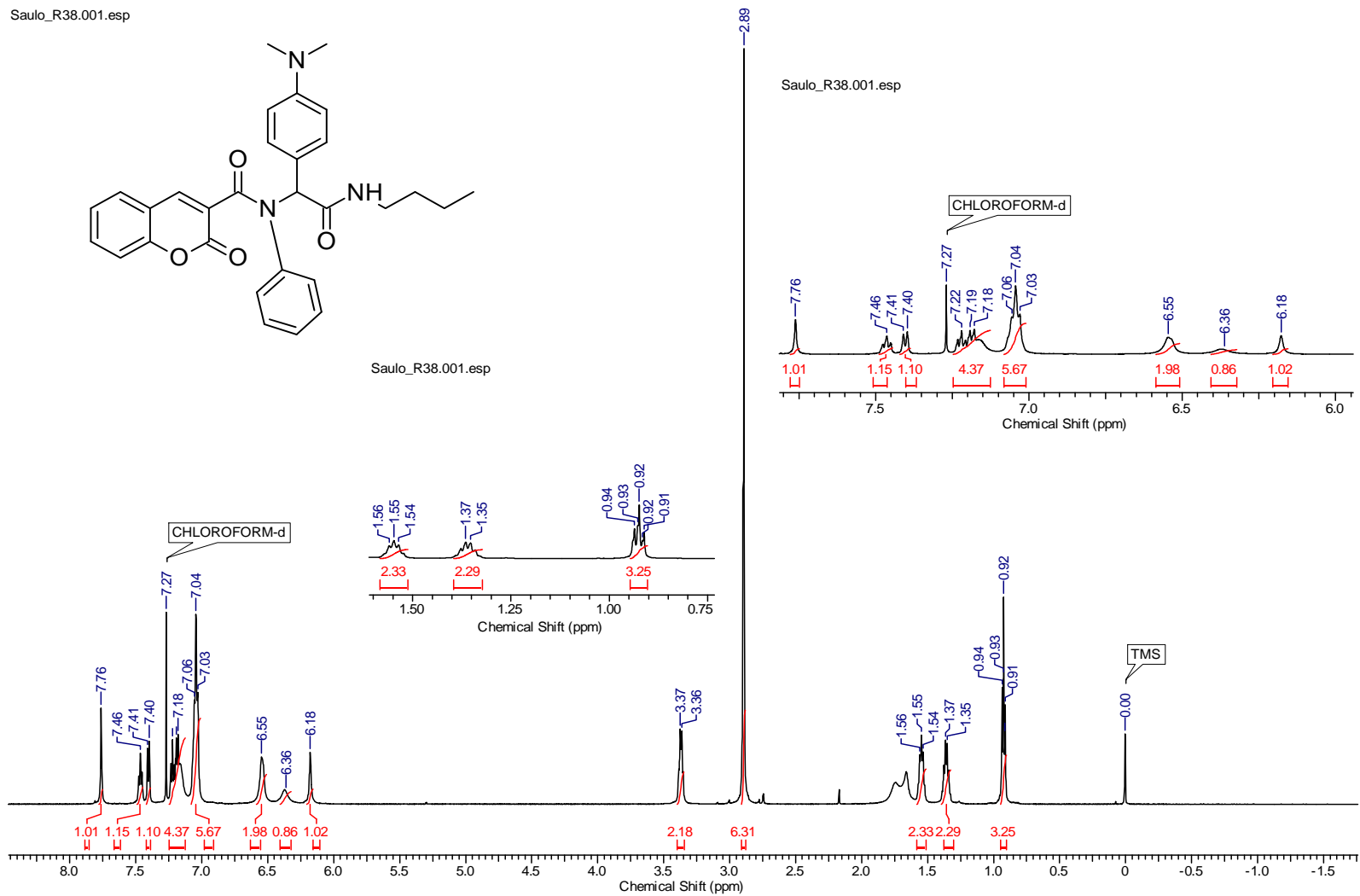


Anexo 22. RMN  $^{13}\text{C}$  150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do peptóide **110E**.

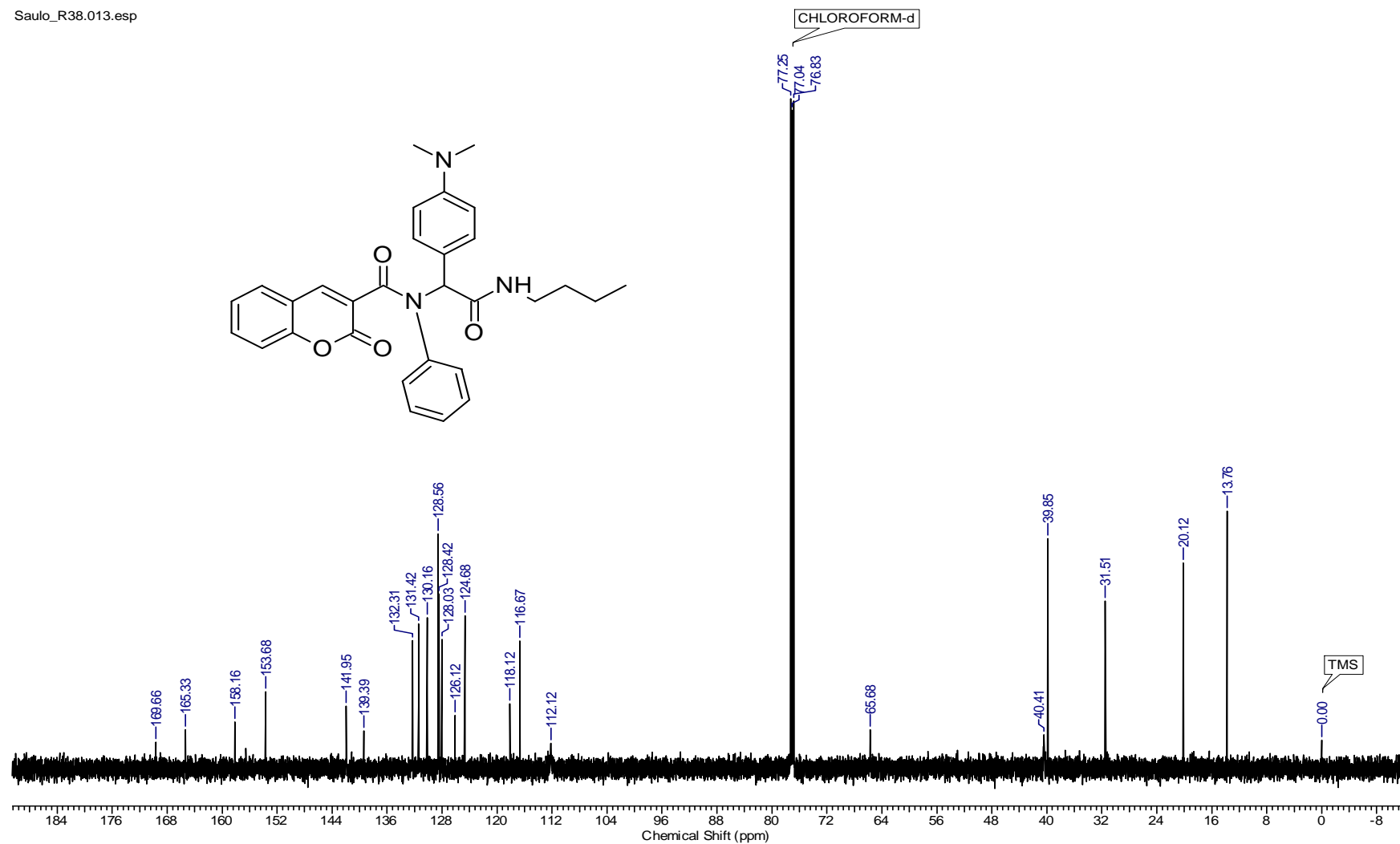
Saulo\_R38.001.esp



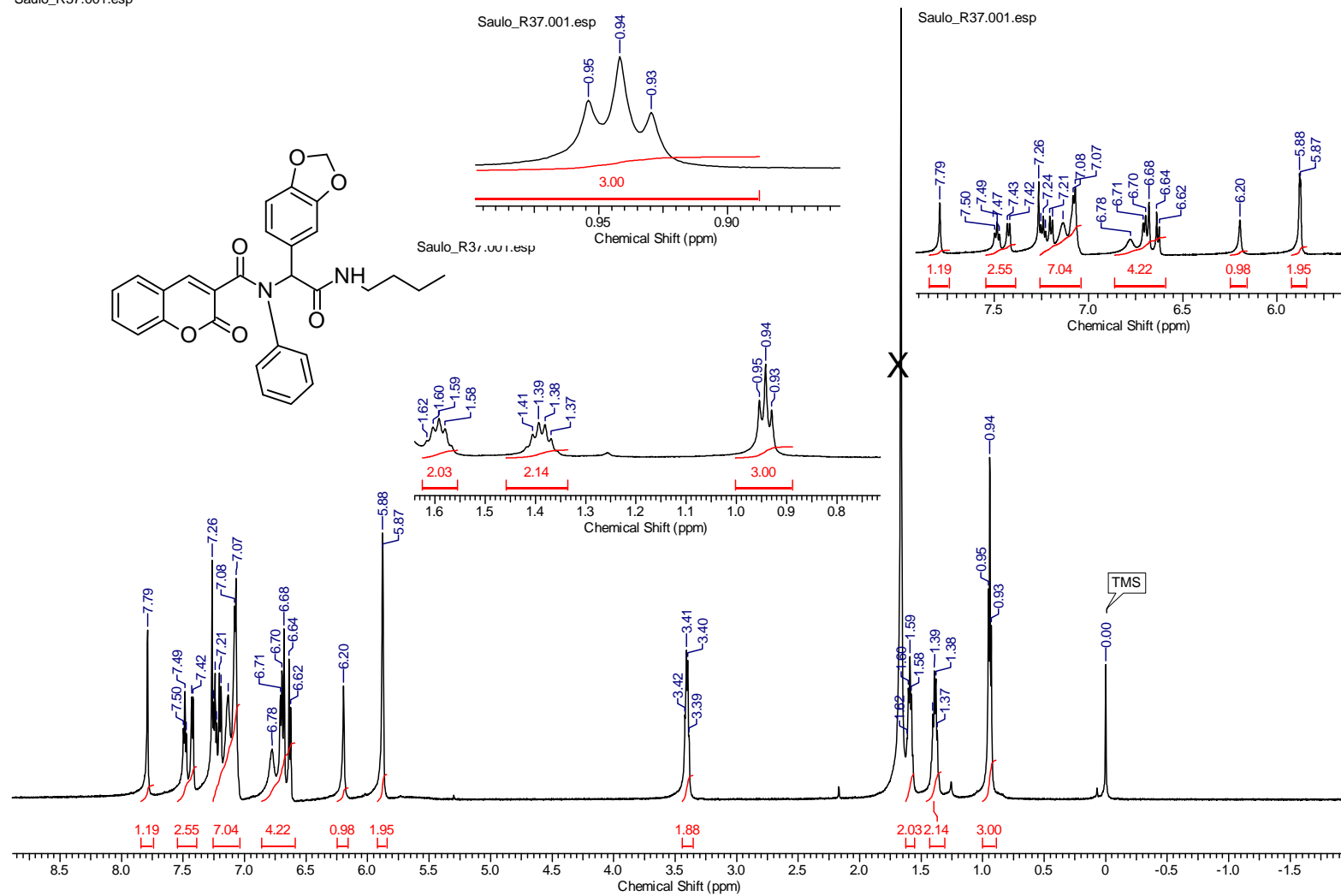
Saulo\_R38.001.esp



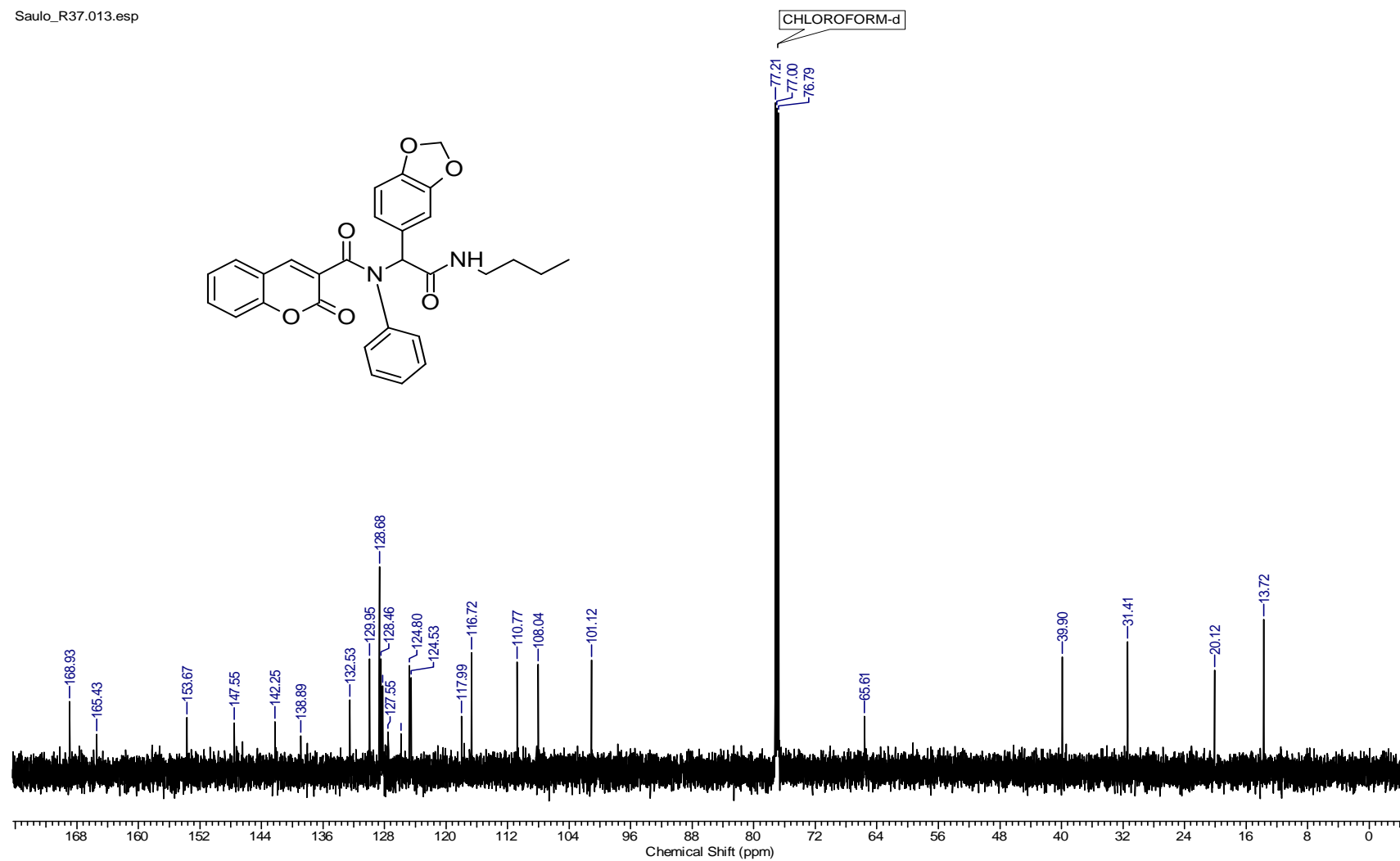
Anexo 23. RMN  $^1\text{H}$  600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do peptíde **110F**.



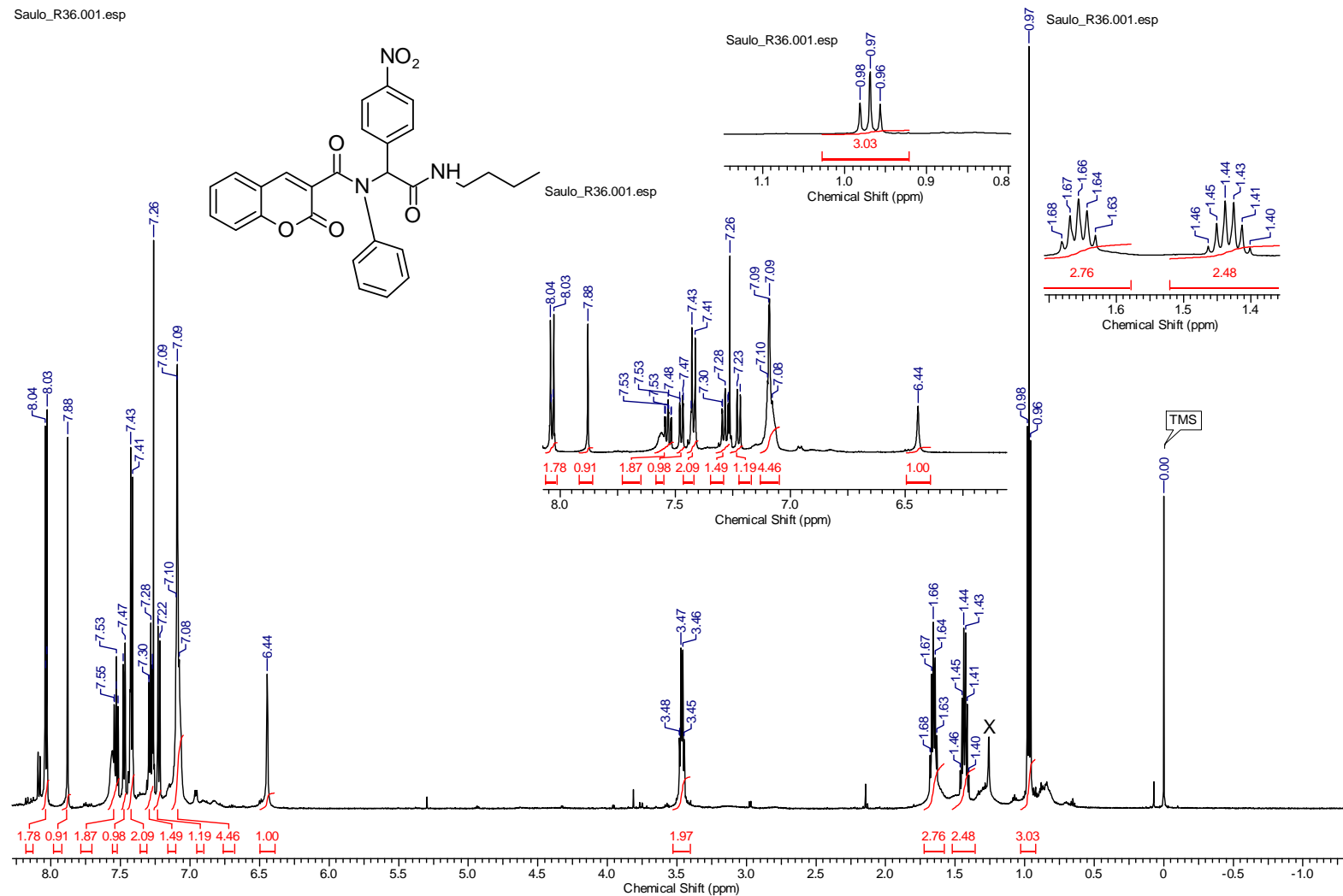
Anexo 24. RMN  $^{13}\text{C}$  150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do peptíde **110F**.



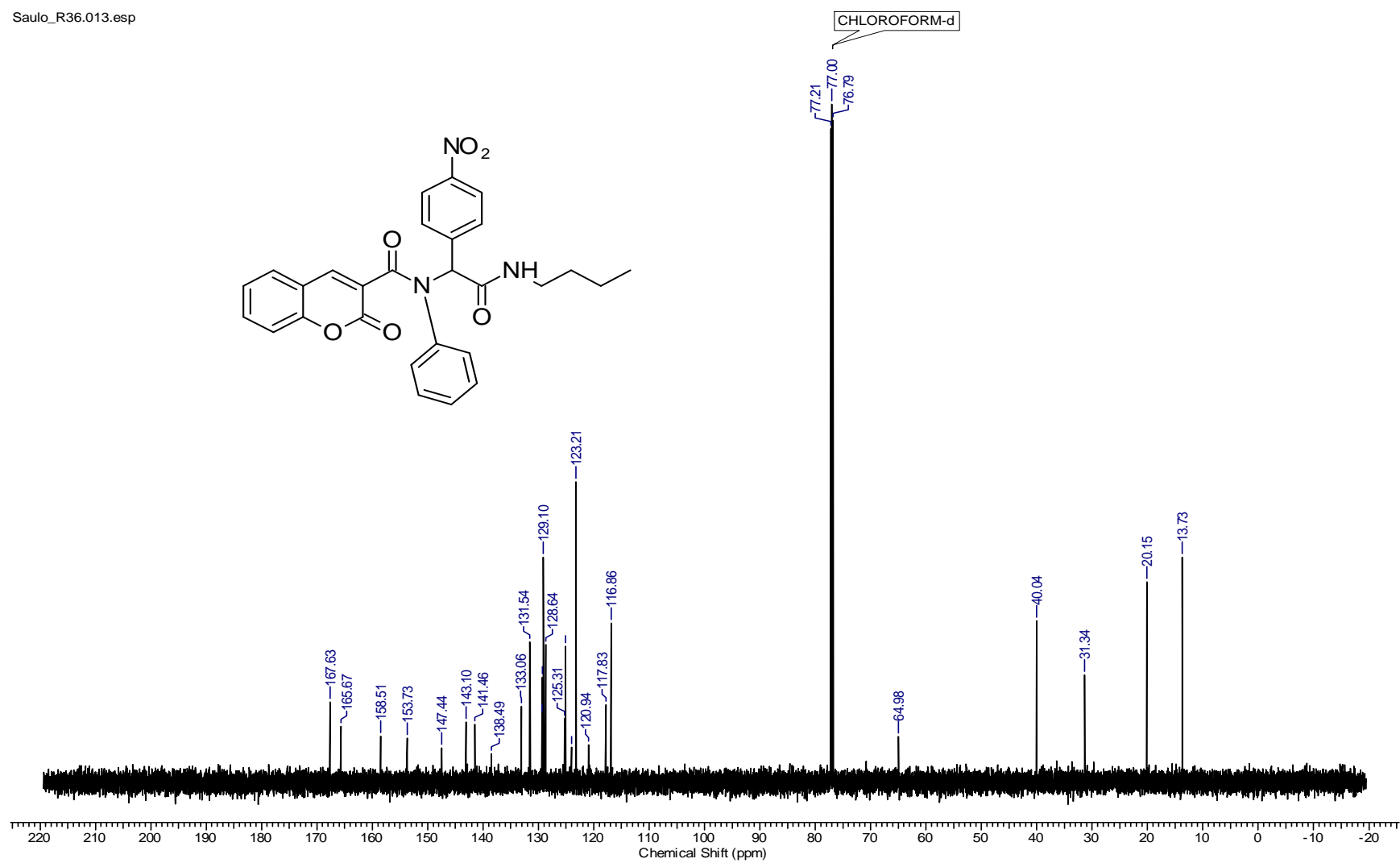
Anexo 25. RMN <sup>1</sup>H 600 MHz (CDCl<sub>3</sub>) do peptóide 110G.



Anexo 26. RMN  $^{13}\text{C}$  150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do peptídeo 110G.



Anexo 27. RMN <sup>1</sup>H 600 MHz (CDCl<sub>3</sub>) do peptóide 110H.

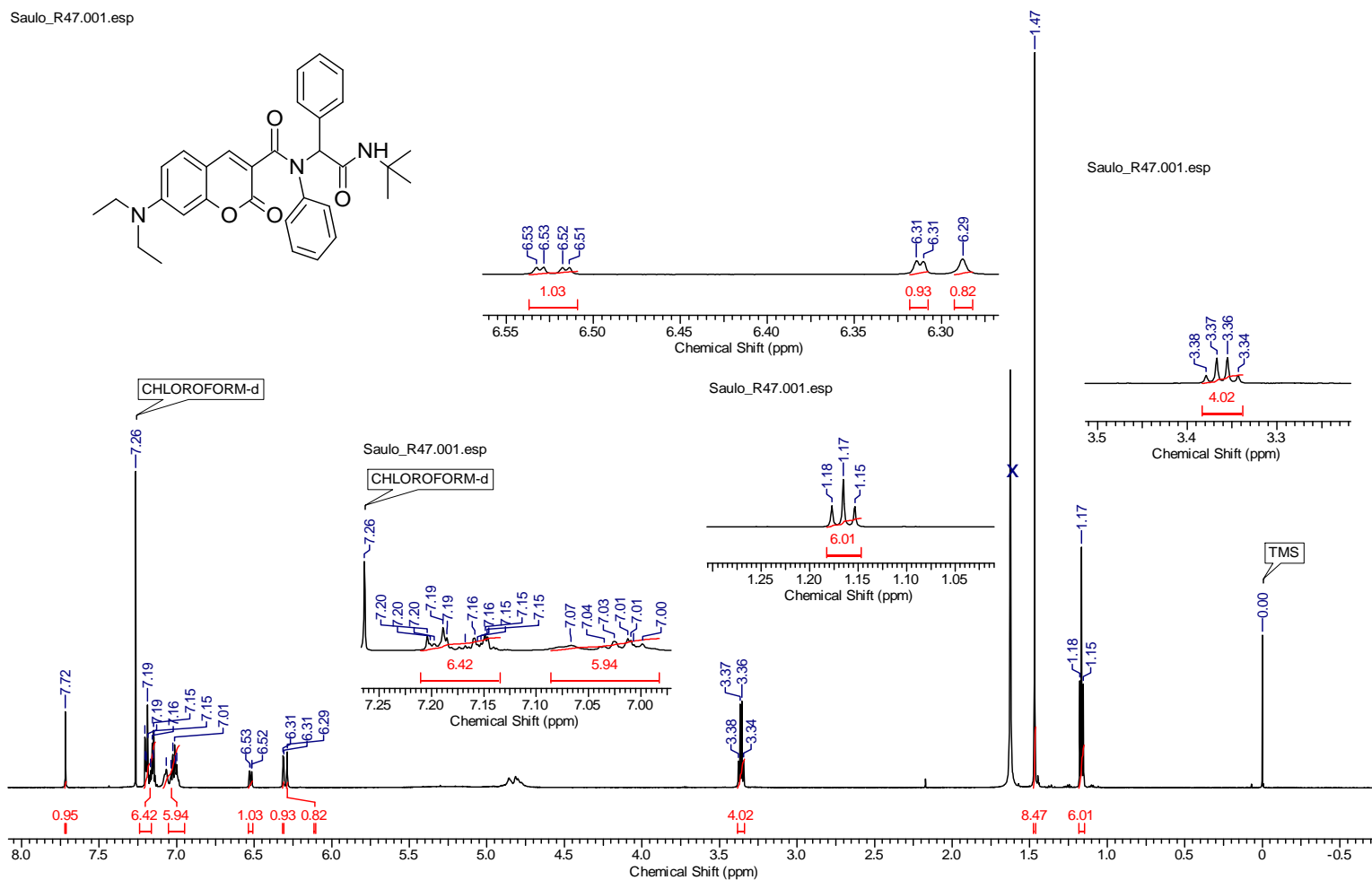


Anexo 28. RMN  $^{13}\text{C}$  150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do peptóide 110H.

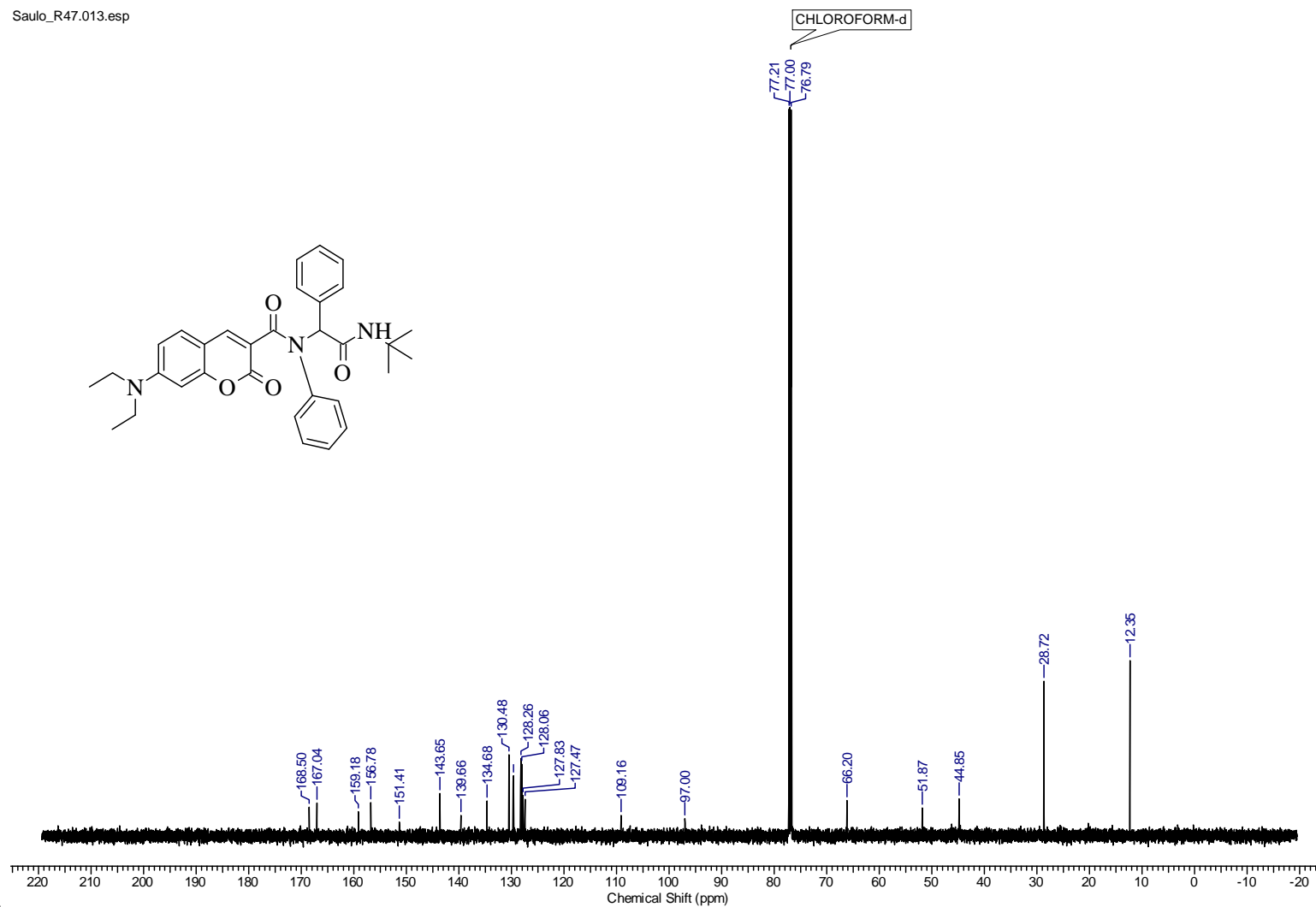


Saulo\_R47.001.esp

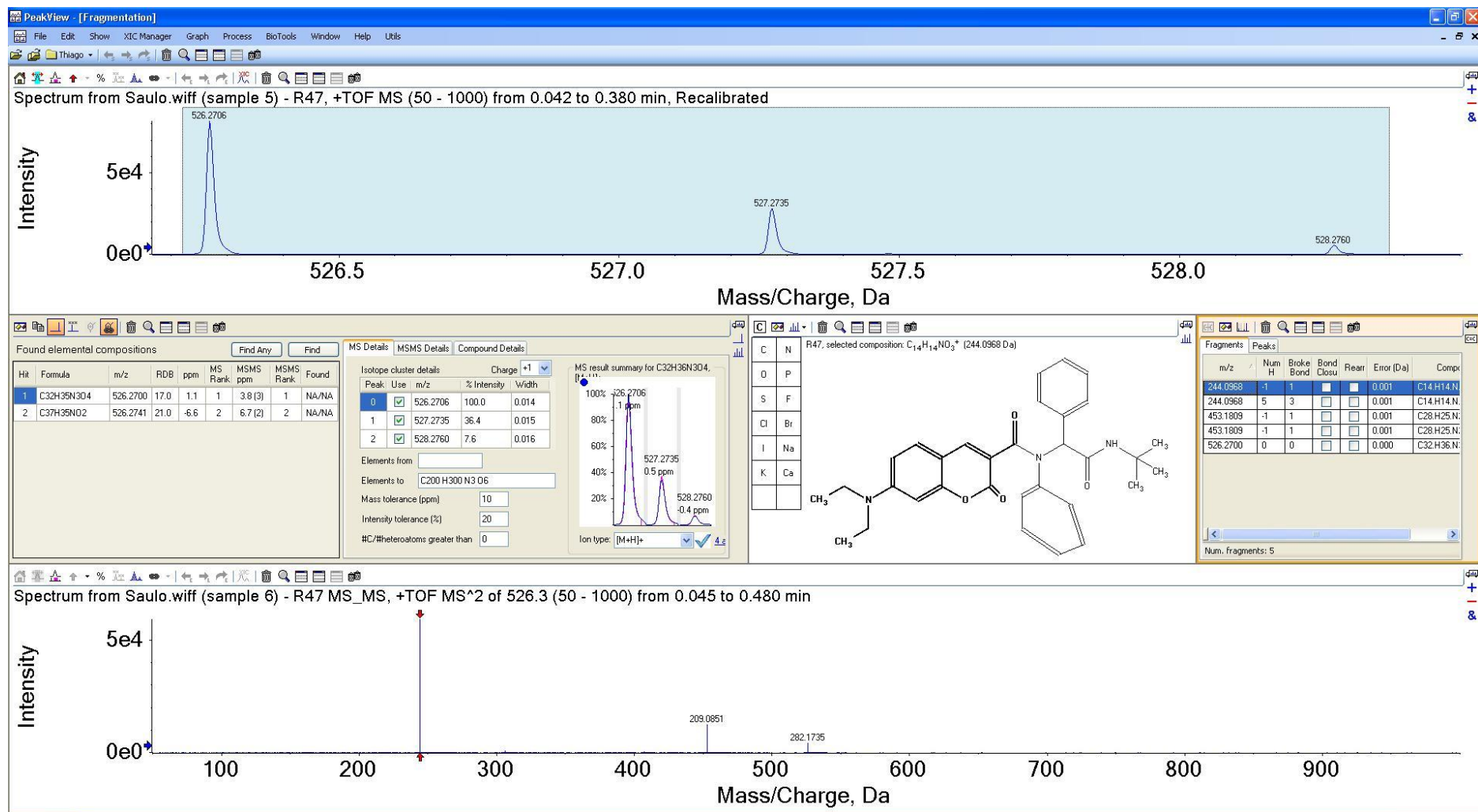
Saulo\_R47.001.esp



Anexo 29. RMN  $^1\text{H}$  600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do peptídeo 110I.

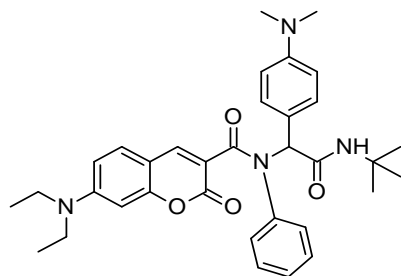


Anexo 30. RMN <sup>13</sup>C 150 MHz (CDCl<sub>3</sub>) do peptídeo 110I.

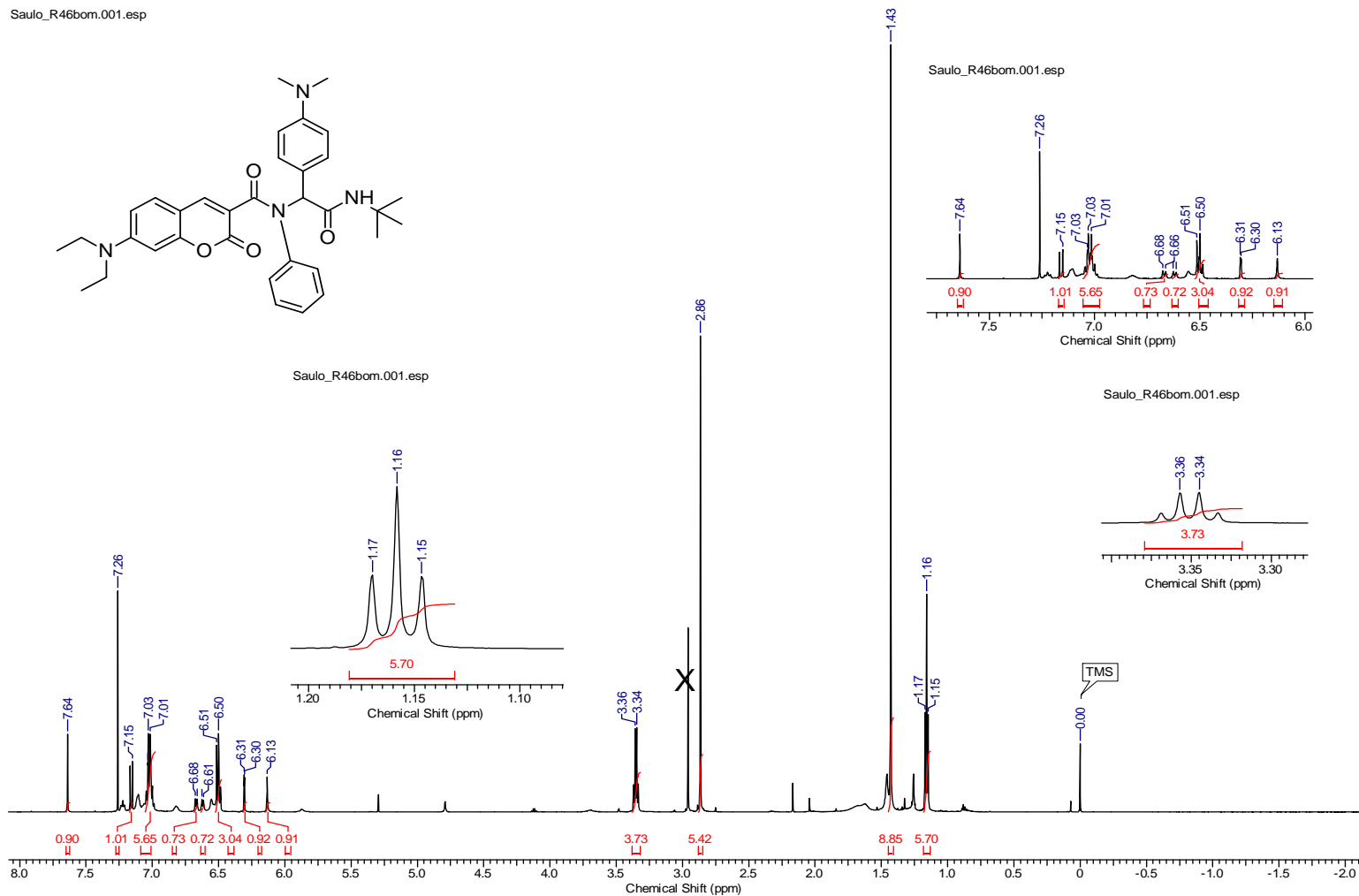


Anexo 31. EMAR (ISE) e EM/EM do peptóide 110I.

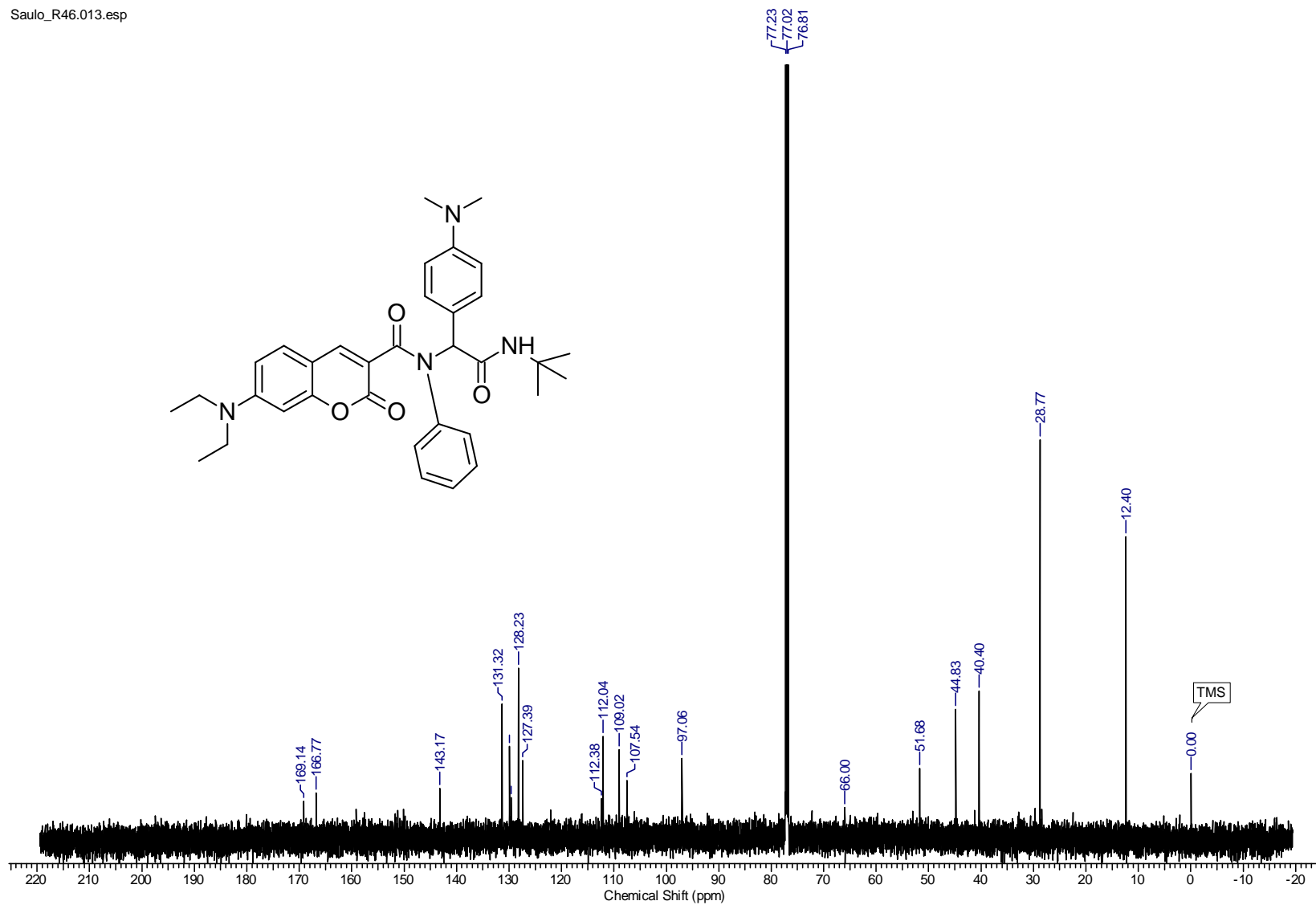
Saulo\_R46bom.001.esp



Saulo\_R46bom.001.esp

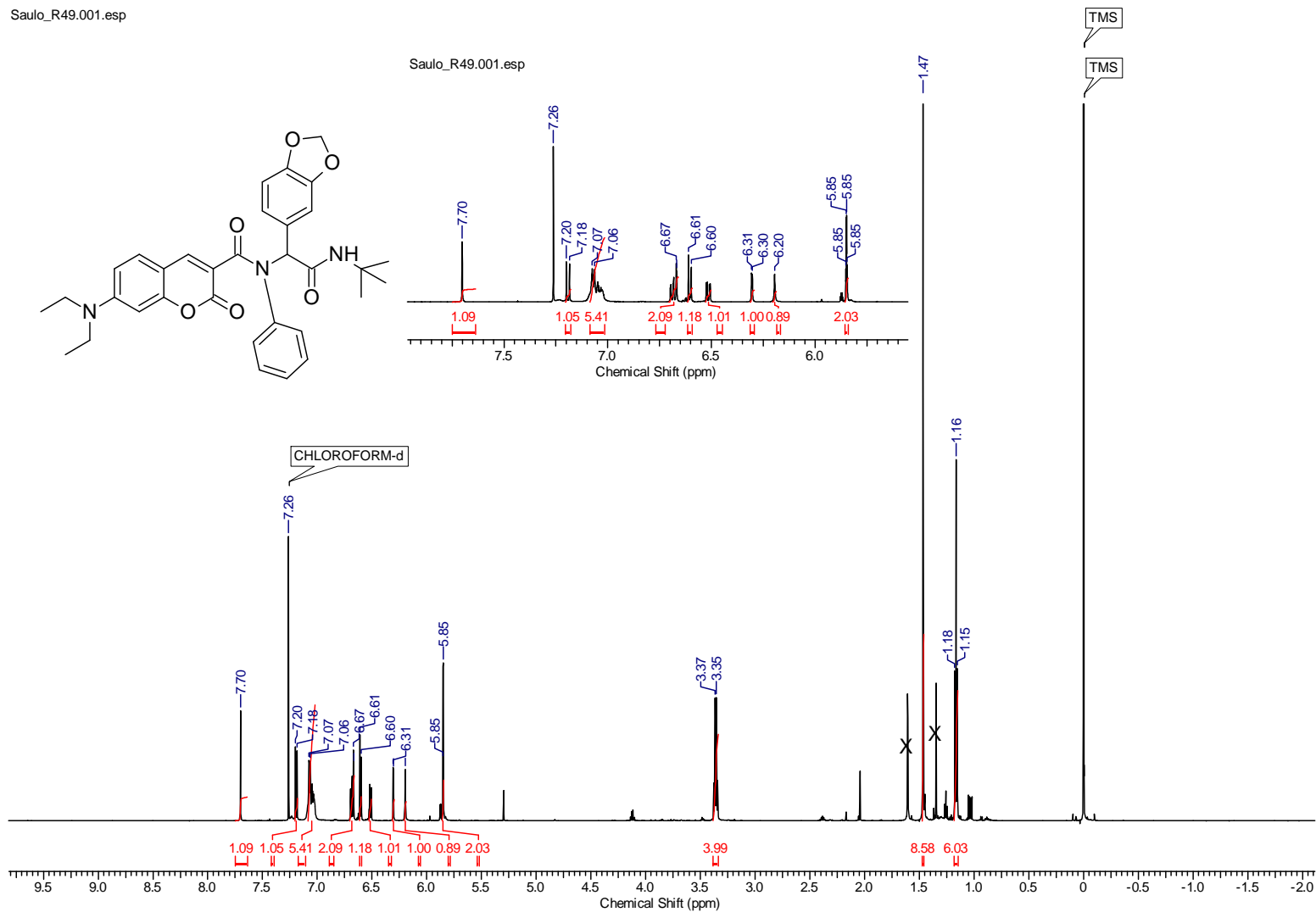


Anexo 32. RMN  $^1\text{H}$  600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do peptóide 110J.

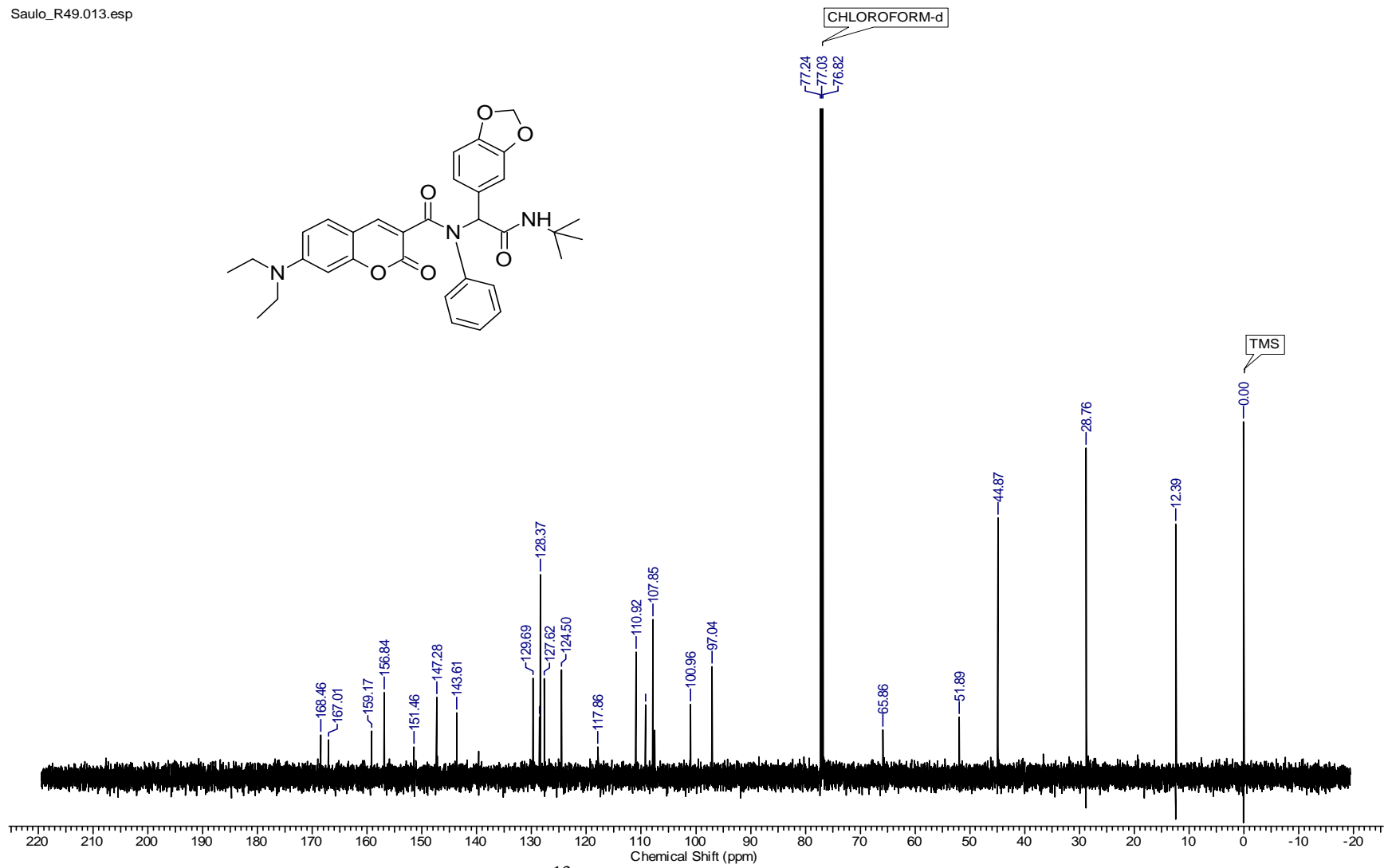


Anexo 33. RMN <sup>13</sup>C 150 MHz (CDCl<sub>3</sub>) do peptídeo 110J.

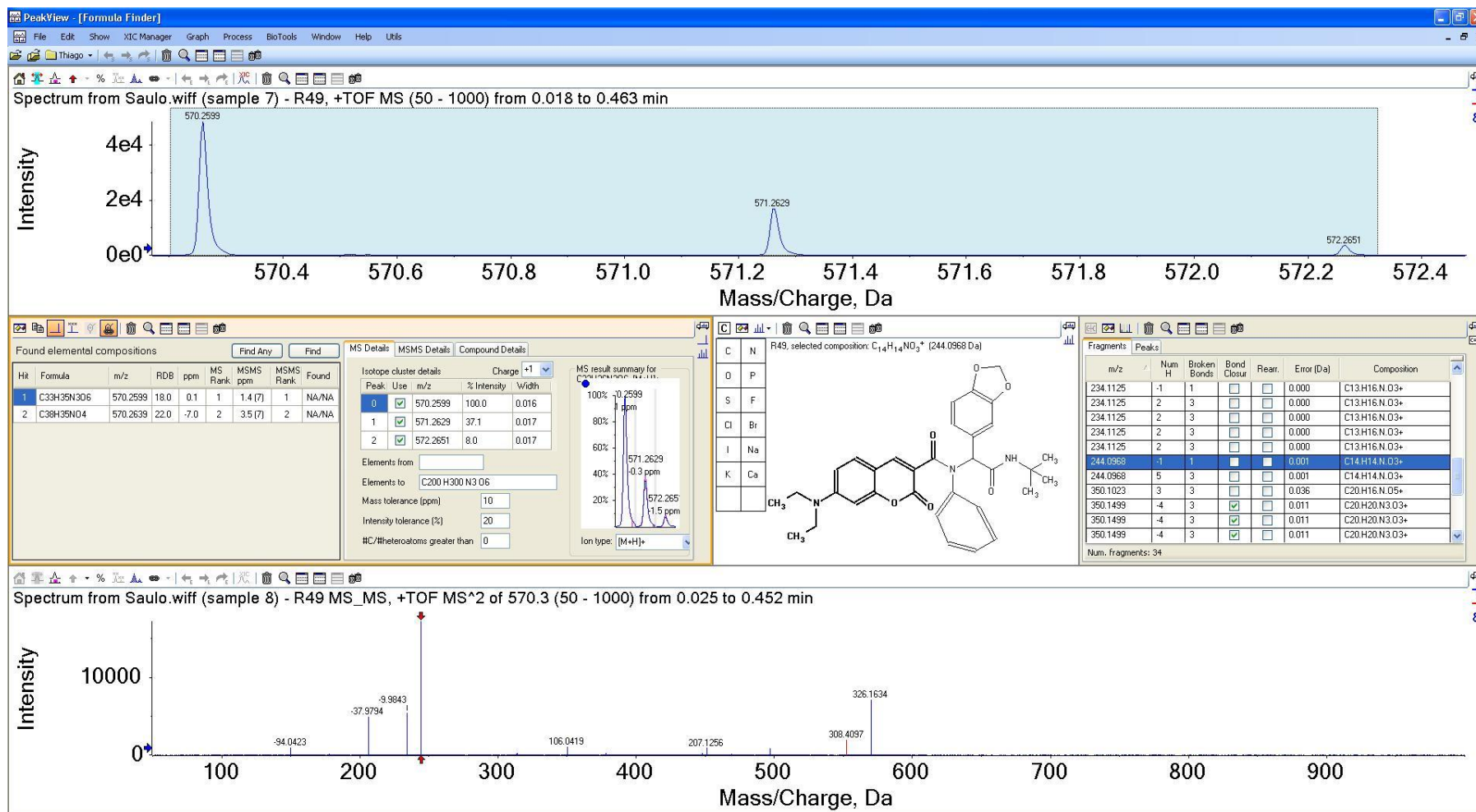
Saulo\_R49.001.esp



Anexo 34. RMN  $^1\text{H}$  600 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do peptíde 110K.



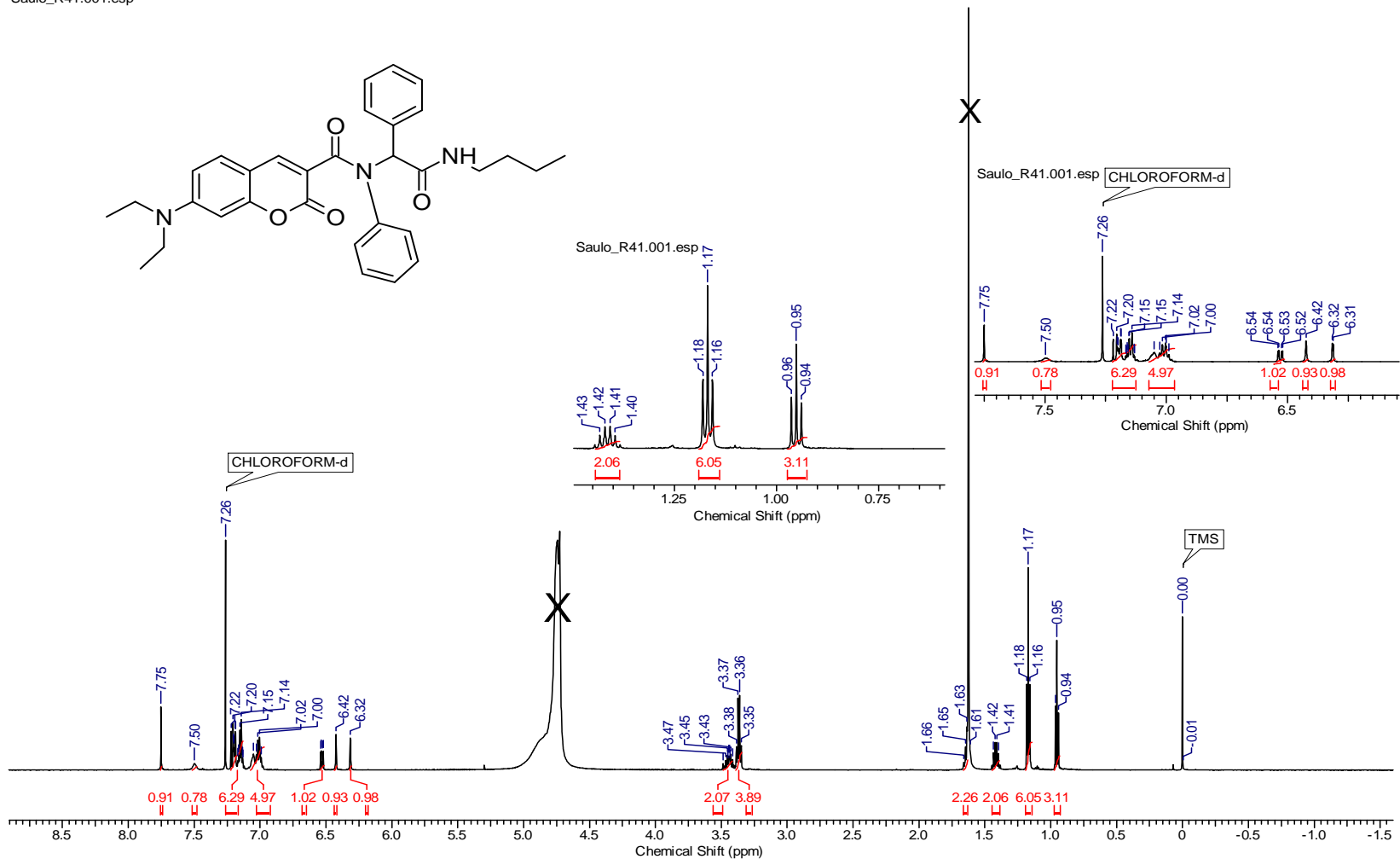
Anexo 35. RMN  $^{13}\text{C}$  150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do peptóide 110K.



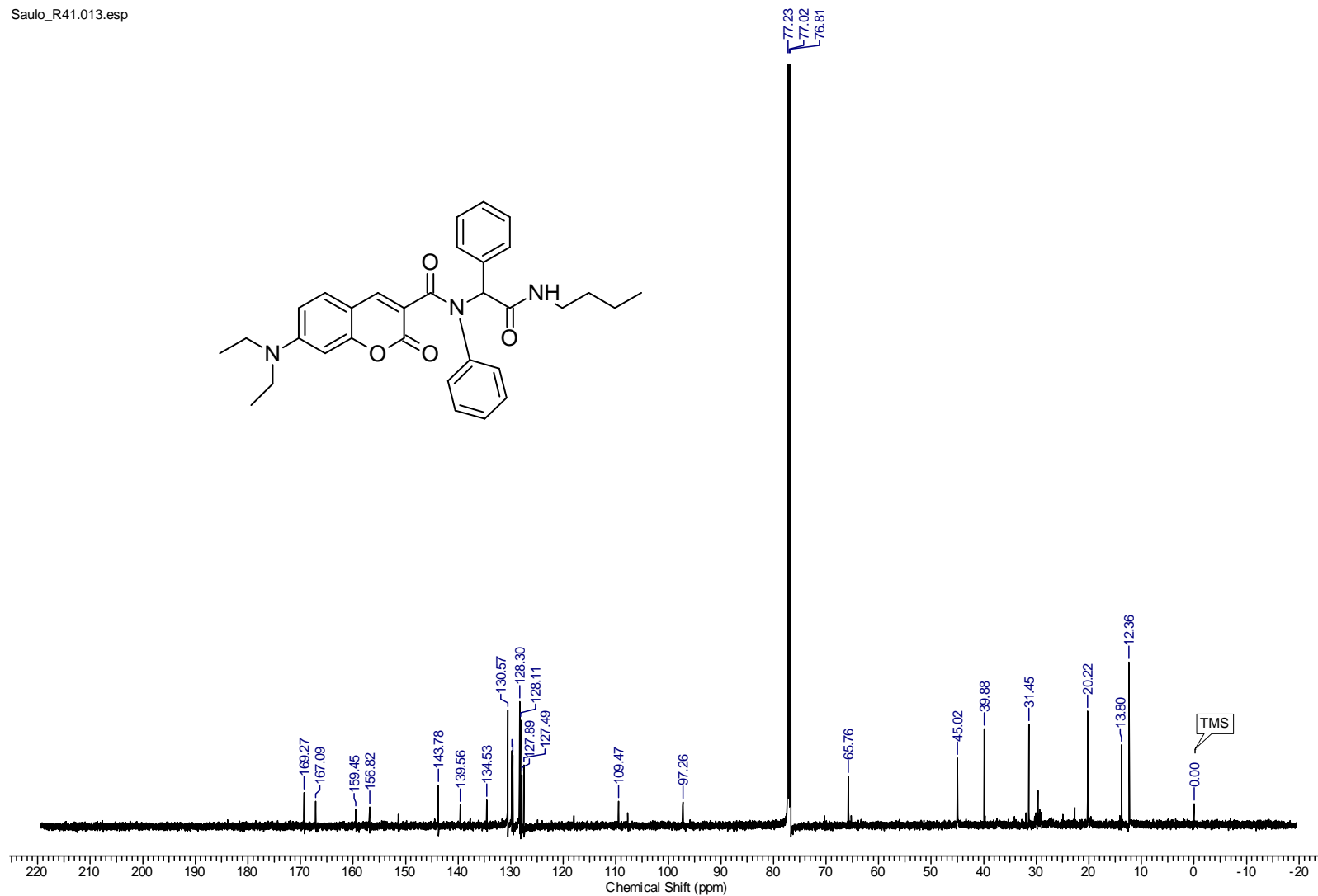
Anexo 36. EMAR (ISE) e EM/EM do peptóide 110K.



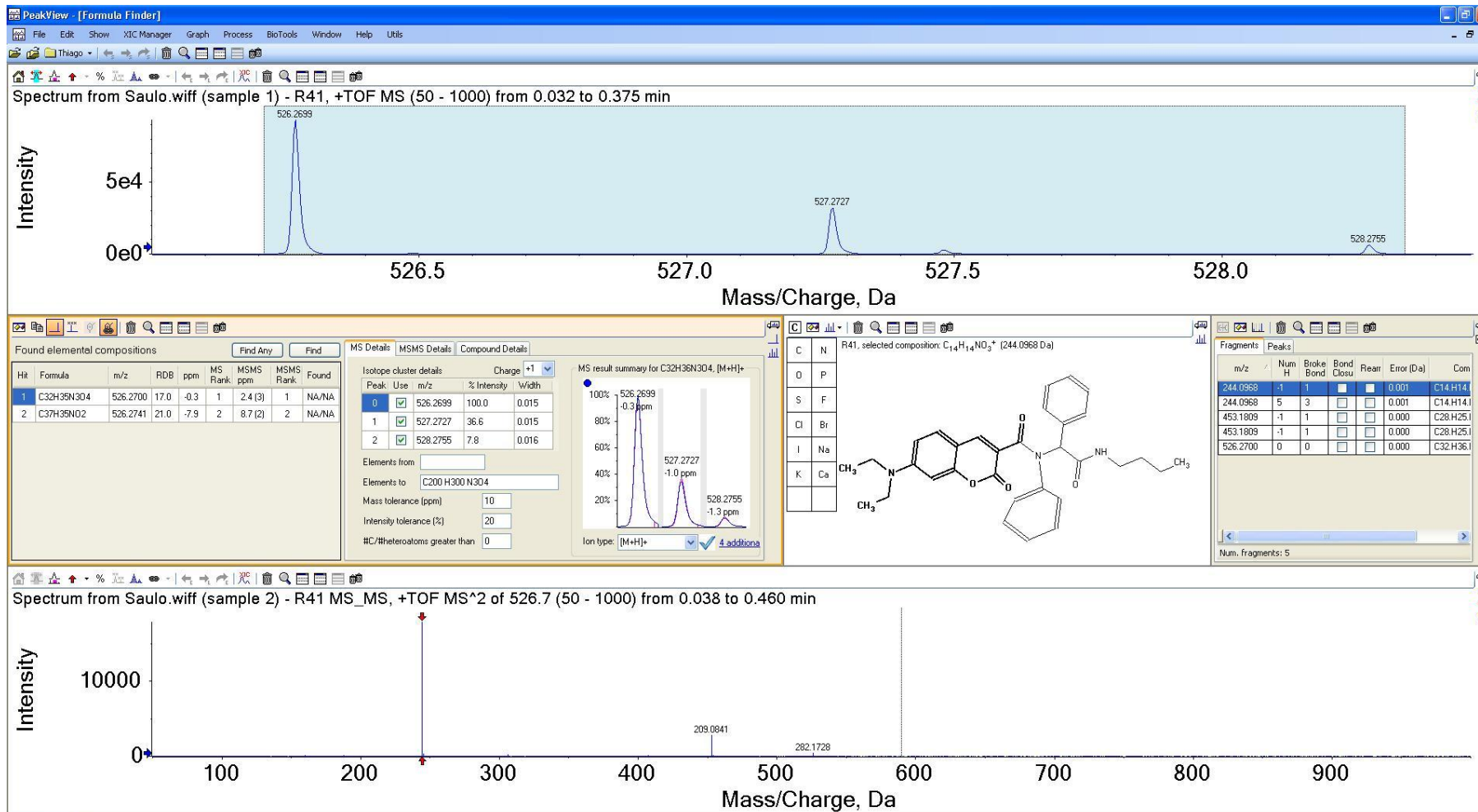
Saulo\_R41.001.esp



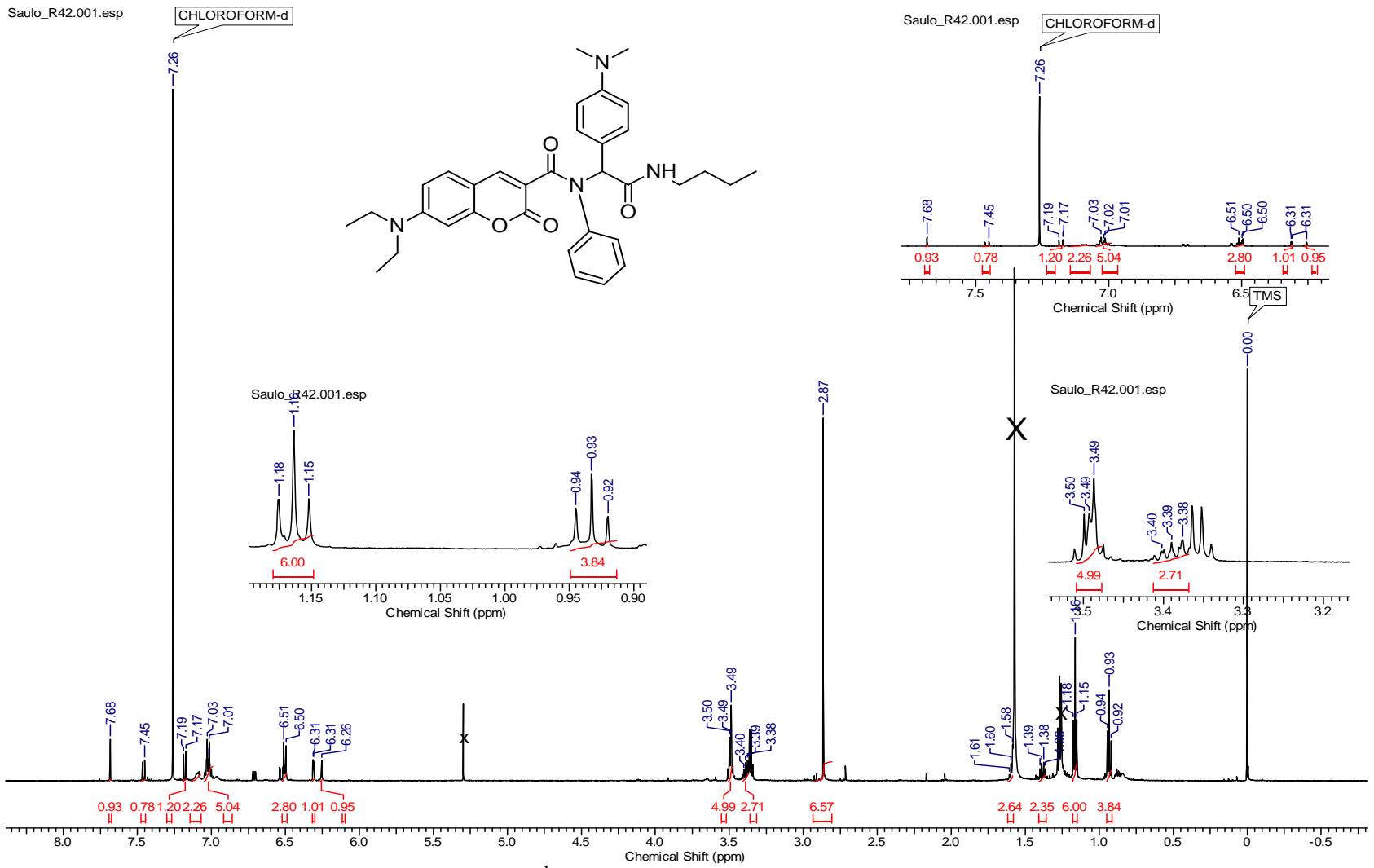
Anexo 37. RMN <sup>1</sup>H 600 MHz (CDCl<sub>3</sub>) do peptóide 110L.



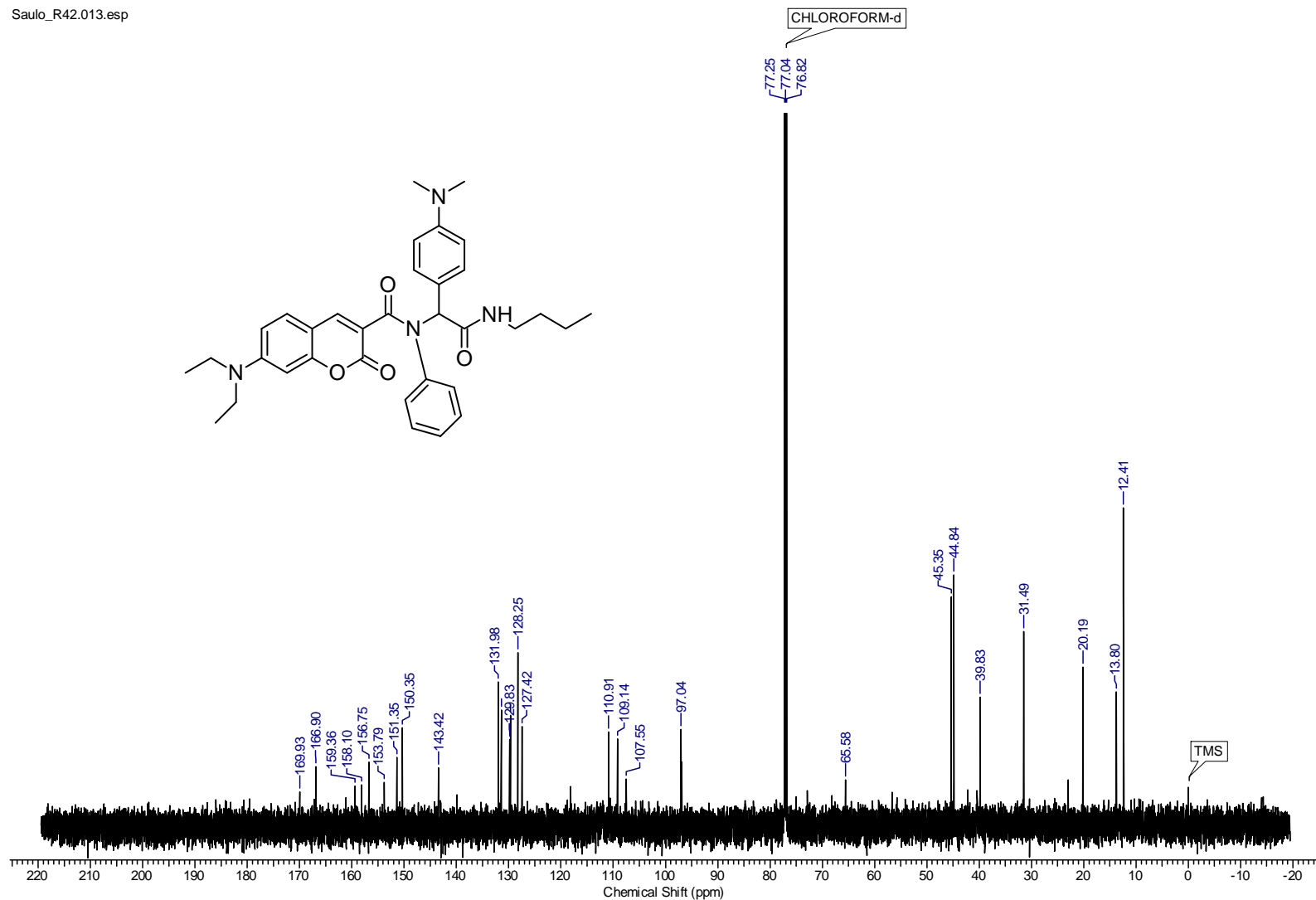
Anexo 38. RMN <sup>13</sup>C 150 MHz (CDCl<sub>3</sub>) do peptóide 110L.



Anexo 39. EMAR (ISE) e EM/EM do peptóide 110L.

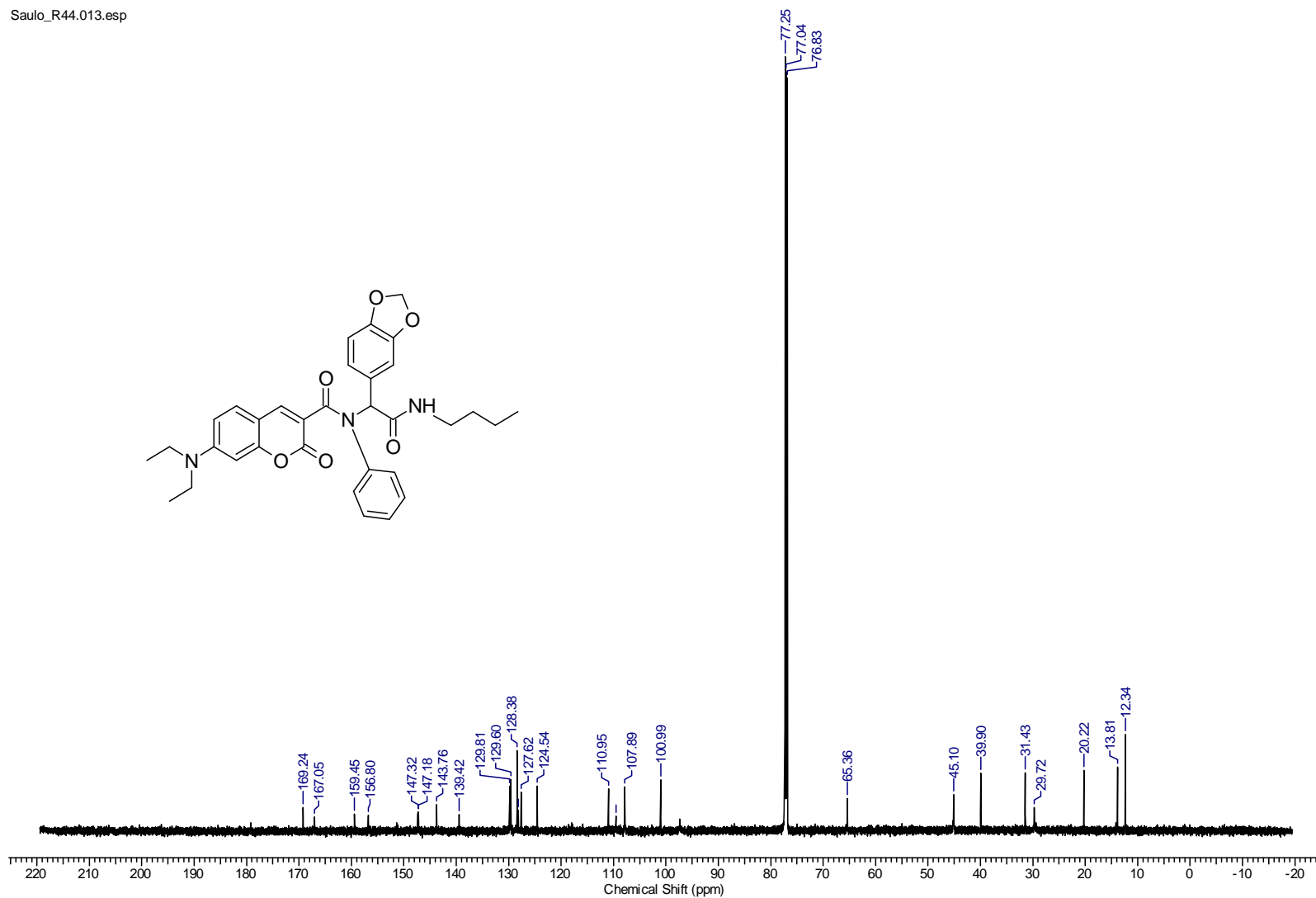


Anexo 40. RMN <sup>1</sup>H 600 MHz (CDCl<sub>3</sub>) do peptóide 110M.

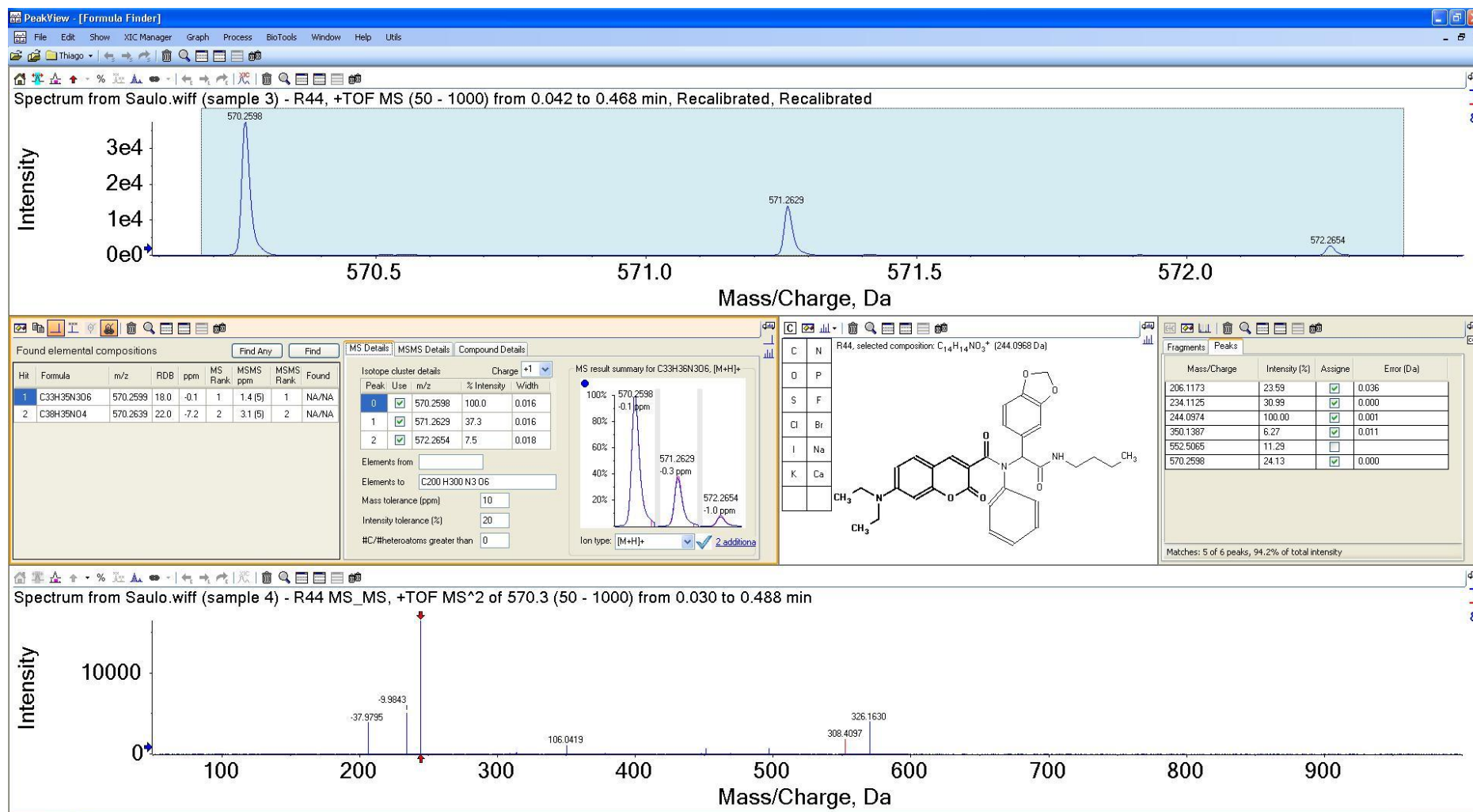


Anexo 41. RMN  $^{13}\text{C}$  150 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) do peptíde **110M**.





Anexo 43. RMN <sup>13</sup>C 150 MHz (CDCl<sub>3</sub>) do peptíde 110N.



Anexo 44. EMAR (ISE) e EM/EM do peptóide 110N.



