

Luís Miguel Neves Ferreira Serra Cruz

SÍNTESE DA 8-VINIL-CATEQUINA



Departamento de Química
Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

QD262
CRUI S
2006

Outubro 2006



FC

Biblioteca
Faculdade de Ciências
Universidade do Porto



D000119349

Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Departamento de Química

SÍNTESE DA 8-VINIL-CATEQUINA

UNIVERSIDADE DO PORTO
BIBLIOTECA
Sala _____
Coloc. <u>PMUP</u> 96
N.º <u>9455</u>
Depart. Química

Tese submetida à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto para a obtenção do grau de Mestre em Química

A Presidente do júri

M. Agostinha Aletos

12.12.2006

Luís Miguel Neves Ferreira Serra Cruz

Outubro 2006

AGRADECIMENTOS

Gostaria de começar por agradecer a todas as pessoas e entidades, que de algum modo, contribuíram directa ou indirectamente para o desenrolar deste trabalho.

Em primeiro lugar ao Professor Doutor Victor de Freitas, orientador desta dissertação, por toda a ajuda, apoio, incentivo e persistência, e por acreditar em mim na realização deste trabalho.

Ao Professor Doutor Nuno Mateus, por todos os conselhos, ensinamentos, boa disposição e disponibilidade que sempre demonstrou.

Ao Professor Doutor Enrique Borges, por toda a colaboração, disponibilidade de material e reagentes para a realização do trabalho.

Ao Professor Doutor Artur Silva do Departamento de Química da Universidade de Aveiro, por todo o apoio e facilidades concedidas nas análises de Ressonância Magnética Nuclear e pela disponibilidade demonstrada desde sempre.

Ao Professor Doutor Celestino Santos-Buelga e ao seu grupo de investigação da Universidade de Salamanca pelos apoios concedidos nas análises de espectrometria de massa.

À Dr^a Adelina Vieira, por ser uma companhia constante no laboratório, pelo apoio na assistência técnica, por estar sempre disposta a ajudar e pela simpatia demonstrada.

À Dr^a Zélia Azevedo por todo o apoio técnico nas injeções de LC/MS.

A todos os meus colegas de laboratório com quem convivi durante estes anos: Maria João, Cláudia, Joana, Carlos, Ana, Elisabete, Óscar, Nicola, Susana (Salamanca), Ana Luísa, Sofia, Virgínia, Roberto, Patrícia, Susana, Jingren He. A todos, o meu obrigado pelo acolhimento, bom ambiente de trabalho e espírito de grupo.

Aos meus amigos da Trofa, da faculdade e todos os outros (eles sabem quem são) pela sincera amizade, por todos os momentos (bons e menos bons) que passamos juntos e por fazerem parte da minha vida pessoal e profissional.

À Susana, por estar sempre presente, por tudo...

A toda a minha família, em especial, aos meus avós, pais, irmã, tia Fátima e prima Francisca, por todo o apoio, incentivo, espírito de sacrifício, e porque sem eles nada disto seria possível.

À Faculdade de Ciências da Universidade do Porto e, em particular, ao Departamento de Química, por me ter recebido enquanto aluno de mestrado.

À Linha 2 do Centro de Investigação em Química (CIQ) pelos apoios logísticos e financeiros concedidos para a realização deste trabalho.

À Universidade de Santiago de Compostela e à Universidade de Aveiro por todas as análises de Ressonância Magnética Nuclear.

À Universidade de Salamanca pelas análises de espectrometria de massa.

*Aos meus Pais
À minha Irmã*

OBJECTIVO

Este trabalho tem como objectivo final a síntese orgânica da 8-vinil-catequina. Este composto está descrito na literatura como sendo intermediário na formação de novos pigmentos derivados de antocianinas (piranoantocianinas). No entanto, o envolvimento da 8-vinil-catequina no mecanismo permanece ainda por esclarecer. A síntese deste composto em grandes quantidades possibilitará, por um lado, a sua utilização na produção de corantes numa perspectiva alimentar e, por outro lado, estudar mais detalhadamente o mecanismo de formação destes novos corantes.

Deste modo, procurou-se desenvolver uma estratégia de síntese, expedita e de fácil execução, que permitisse a obtenção de vários compostos intermediários envolvidos na síntese da 8-vinil-catequina.

Procurou-se inicialmente obter os derivados bromados de catequina-*O*-protegida, efectuando reacções de protecção dos grupos hidroxilo da (+)-catequina para evitar a interferência desses grupos em reacções laterais indesejadas. Em seguida, procuraram-se as melhores condições de bromação da (+)-catequina na posição 8. Na etapa final da síntese da 8-vinil-catequina, foram estudados dois tipos de reacções de acoplamento carbono-carbono que envolveram a substituição nucleófila do vinilo pelo bromo: a reacção de Stille e a reacção de Suzuki.

A química dos compostos polifenólicos é bastante complexa atendendo à sua grande reactividade. O estudo de novos processos de transformação estrutural de polifenóis representa uma grande importância para o conhecimento das suas propriedades químicas e abre caminho para futuras aplicações destes compostos.

RESUMO

A 8-vinil-catequina é um composto que está descrito na literatura como intermediário na síntese de compostos corados derivados das antocianinas com potencial aplicação como corantes alimentares, sendo por isso de grande interesse a sua obtenção em grandes quantidades. Foi desenvolvida uma estratégia de síntese da 8-vinil-catequina que envolveu uma série de etapas e intermediários.

Na primeira etapa começou-se por preparar derivados de (+)-catequina com os grupos hidroxilo protegidos. A protecção desses grupos foi feita através de reacções de benzilação (BnBr/K₂CO₃), acetilação (anidrido acético/piridina/trietilamina) e sililação (TBDMS-Cl/imidazole).

Na segunda etapa procedeu-se à bromação da (+)-catequina-*O*-protegida, preferencialmente na posição 8 do anel A, usando a *N*-bromo-succinimida ou o tribrometo de piridina. Os derivados benzilados e sililados da (+)-catequina (Cat4Bn e Cat5Si) formaram-se com rendimentos aceitáveis, 46% e 63%, respectivamente. Posteriormente efectuou-se a bromação destes compostos no carbono 8 obtendo-se a 8-BrCat4Bn (η =95%) e a 8-BrCat5Si (η =85%). Em relação ao derivado acetilado, obteve-se em primeiro lugar a 8-bromo-catequina desprotegida (8-BrCat, η =94%) e só depois se sintetizou o respectivo derivado acetilado (8-BrCat5Ac, η =80%).

Na terceira etapa foram estudadas duas reacções possíveis para a formação de ligações carbono-carbono e que envolvem a substituição nucleófila do bromo pelo grupo vinilo. As reacções de Stille e de Suzuki, catalizadas pelo paládio, foram realizadas utilizando-se como reagentes o tributílvínilestano e o 4,4,5,5-tetrametil-2-vinil-1,3,2-dioxaborolano, respectivamente. Diversos ensaios foram efectuados testando-se diferentes condições experimentais, tais como, diferentes catalisadores de paládio, fosfinas, aditivos, bases, solventes, temperaturas e tempos de reacção. A partir de uma reacção de Stille foi possível obter a 8-vinil-Cat4Bn (η =21%) e através de uma reacção de Suzuki obteve-se a 8-vinil-Cat5Si (η =16%). Os vários produtos das reacções foram purificados por técnicas cromatográficas e algumas estruturas elucidadas por RMN e MS.

A quarta e última etapa desta estratégia consistiu na remoção dos grupos protectores. A desbenzilação da 8-vinil-Cat4Bn utilizando o BBr₃ e a desililação da 8-vinil-Cat5Si deram origem à 8-vinil-catequina. A estratégia de síntese adoptada parece adequada à

síntese do composto pretendido. No entanto, as condições experimentais de algumas reacções devem ser melhoradas, nomeadamente a reacção de acoplamento C-C e as reacções de remoção dos grupos protectores, no sentido de aumentar os respectivos rendimentos.

ABSTRACT

8-vinyl-catechin is a compound described in literature as an intermediate in the synthesis of colorant compounds derived from anthocyanins with putative application as food colorants, which production in large quantities is currently of great interest. It was developed a synthesis strategy of 8-vinyl-catechin which involved several stages and intermediates.

In the first stage, the derivatives of (+)-catechin were prepared with the hydroxyl groups protected. The protection of these groups was done by benzylation (BnBr/K₂CO₃), acetylation (acetic anhydride/pyridin/triethylamine) and silylation (TBDMS-Cl/imidazol) reactions.

In the second stage, the bromination of (+)-catechin-*O*-protected was carried out, preferentially at the position 8 of ring A, by using *N*-bromo-succinimide or pyridinium tribromide. The benzyl and silyl derivatives of (+)-catechin were formed at a satisfactory yield of 46% and 63%, respectively. The bromination of these compounds was subsequently performed at the carbon 8 to obtain 8-BrCat4Bn (η =95%) and 8-BrCat5Si (η =85%). The acetyl derivative synthesis was preceded by the formation of 8-bromo-catechin deprotected (8-BrCat, η =94%) and then the acetyl compound was obtained (8-BrCat5Ac, η =80%).

In the third stage, two reactions were investigated for the formation of carbon-carbon bonds which involves the nucleofilic substitution of bromide by the vinyl group. The palladium-catalyzed Stille and Suzuki reactions were carried out using the reagents tributylvinyltin and 4,4,5,5-tetramethyl-2-vinyl-1,3,2-dioxaborolane, respectively. Several assays were performed in order to test different experimental conditions such as different palladium catalysts, phosphines, additives, basis, temperatures and reaction times. From a Stille reaction, 8-vinyl-Cat4Bn (η =21%) was obtained, while from a Suzuki reaction, 8-vinyl-Cat5Si (η =16%) was achieved. The different reaction products were purified by chromatographic techniques and some of the structures were determined by RMN and MS.

Finally, in the fourth stage of this methodology, removing protecting groups was aimed. The debenylation of 8-vinyl-Cat4Bn with BBr₃ and the desilylation of 8-vinyl-Cat5Si led to the formation of 8-vinyl-catechin. The adopted synthesis strategy seems to be suitable for the production of the desired compound. The experimental conditions of

some of these reactions should, however, be improved in order to increase the respective yields; in this concern emphasis should be given to the C-C coupling reaction and the reaction of removing protecting groups.

RÉSUMÉ

La 8-vinyl-catéchine est un composé décrit dans la littérature comme un intermédiaire dans la synthèse des composés colorants dérivés des anthocyanes avec l'application putative comme colorants alimentaires, dont la production en grande quantité est actuellement de grand intérêt. C'a été développé une stratégie de la synthèse de la 8-vinyl-catéchine qui a impliqué plusieurs étapes et intermédiaires.

Dans la première étape, les dérivés de (+)-catéchine ont été préparés avec les groupes hydroxyle protégés. La protection de ces groupes a été faite par réactions de benzylation ($\text{BnBr}/\text{K}_2\text{CO}_3$), acétylation (anhydride acétique/pyridine/triéthylamine) et silylation (TBDMS-Cl/imidazole).

Dans la deuxième étape, la bromation de (+)-catéchine-*O*-protégé a été effectuée, préférentiellement à la position 8 de l'anneau A, en employant le bromure de *N*-bromo-succinimide ou tribromure de pyridinium. Les dérivés benzyliques et de silyle de la (+)-catéchine ont été formés à un rendement satisfaisant de 46% et de 63%, respectivement. La bromation de ces composés a été plus tard effectuée au carbone 8 pour obtenir le 8-BrCat4Bn ($\eta=95\%$) et le 8-BrCat5Si ($\eta=85\%$). La synthèse dérivée d'acétyle a été précédée par la formation de la 8-bromo-catéchine déprotégée (8-BrCat, de $\eta=94\%$) et alors le composé d'acétyle a été obtenu (8-BrCat5Ac, $\eta=80\%$).

Dans la troisième étape, deux réactions ont été étudiées pour la formation des liens de carbone-carbone qui implique la substitution nucleophile du bromure par le groupe vinyle. Les réactions de Stille et de Suzuki catalysées par palladium ont été effectuées en utilisant le tributylvinyltin et le 4,4,5,5-tetraméthyl-2-vinyl-1,3,2-dioxaborolane comme réactifs, respectivement. Plusieurs analyses ont été exécutées afin d'examiner différentes conditions expérimentales telles que des différents catalyseurs de palladium, phosphines, additifs, base, différentes températures et temps de réaction. À partir d'une réaction de Stille, la 8-vinyl-Cat4Bn ($\eta=21\%$) a été obtenue, alors que à partir d'une réaction de Suzuki, la 8-vinyl-Cat5Si ($\eta=16\%$) a été obtenue. Les différents produits de réaction ont été purifiés par des techniques chromatographiques et certaines de ces structures ont été déterminées par RMN et MS.

Dans la quatrième et dernière étape de cette méthodologie, l'enlèvement des groupes protecteurs a été visé. La debenzylation de la 8-vinyl-Cat4Bn avec BBr_3 et la desilylation de 8-vinyl-Cat5Si ont mené à la formation de la 8-vinyl-catéchine. La

stratégie adoptée de synthèse semble convenir à la production du composé désiré. Les conditions expérimentales de certaines de ces réactions devraient, cependant, être améliorées afin d'augmenter les rendements respectifs; dans ce souci l'emphase devrait être donnée à la réaction de couplage C-C et à la réaction d'enlever les groupes protecteurs.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	V
ÍNDICE DE TABELAS.....	IX
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	XI
INTRODUÇÃO.....	1
1. Os Polifenóis – generalidades.....	3
2. Principais classes de compostos polifenólicos	4
2.1. Flavanóis	4
2.2. Antocianinas.....	10
2.2.1. Estabilidade da cor das antocianinas	12
2.2.1.1. <i>Efeito do pH</i>	13
2.2.1.2. <i>Efeito do SO₂</i>	14
2.3. Reactividade.....	15
3. Pigmentos derivados de antocianinas.....	16
3.1. Piranoantocianinas em alimentos	16
3.2. Características estruturais e cromáticas das piranoantocianinas	17
3.3. Carboxipiranoantocianinas.....	18
3.4. Piranoantocianinas-flavanóis	19
3.4.1. Formação do aducto 8-vinil-flavanol.....	20
3.5. Vinilpiranoantocianinas-flavanóis	21
4. Reacções de decomposição das catequinas	23
4.1. Protecção dos grupos hidroxilo das catequinas.....	23
5. Bromação das catequinas protegidas.....	24
6. Reacções de acoplamento cruzado	25
6.1. Reacções de Stille	26
6.2. Reacções de Suzuki.....	28
7. Desprotecção dos grupos hidroxilo de funções fenóis	30

DESCRIÇÃO DO TRABALHO.....	33
PARTE EXPERIMENTAL.....	37
1. Reagentes e solventes	39
2. Técnicas cromatográficas e de identificação estrutural	40
2.1. Cromatografia em camada fina (TLC)	40
2.2. Cromatografia líquida em coluna de vidro (CC).....	40
2.3. Cromatografia líquida de alta pressão (HPLC)	41
2.4. Cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massa (LC/MS).....	41
2.5. Ressonância Magnética Nuclear (RMN) mono- e bi-dimensional.....	42
3. Recristalização da <i>N</i> -bromo-succinimida (NBS)	42
4. Síntese da 3',4',5,7-tetra- <i>O</i> -benzil-catequina (Cat4Bn, 3).....	43
5. Síntese da 3',4',5,7-tetra- <i>O</i> -benzil-8-bromo-catequina (8-BrCat4Bn, 5)	44
6. Síntese da 3,3',4',5,7-penta- <i>O</i> -acetil-8-bromo-catequina (8-BrCat5Ac, 8).....	45
6.1. Método A – Acetilação da (+)-catequina seguida de bromação.....	45
6.1.1. Síntese da 3,3',4',5,7-penta- <i>O</i> -acetil-catequina (Cat5Ac, 7).....	45
6.1.2. Bromação da Cat5Ac (7) na posição 8	46
6.2. Método B – Bromação da (+)-catequina seguida de acetilação	47
6.2.1. Síntese da 8-bromo-catequina (8-BrCat, 10)	47
6.2.2. Síntese da 3,3',4',5,7-penta- <i>O</i> -acetil-8-bromo-catequina (8-BrCat5Ac, 8).....	48
7. Síntese da 3,3',4',5,7-penta- <i>O</i> - <i>tert</i> -butildimetilsilil-catequina (Cat5Si, 12)	49
8. Síntese da 3,3',4',5,7-penta- <i>O</i> - <i>tert</i> -butildimetilsilil-8-bromo-catequina (8-BrCat5Si, 13).....	50
9. Síntese da 8-vinil-catequina com os grupos hidroxilo protegidos.....	51
9.1. Reacções de Stille	51
9.1.1. Síntese da 3',4',5,7-tetra- <i>O</i> -benzil-8-vinil-catequina (8-vinil-Cat4Bn, 15)	51
9.1.2. Síntese da 3,3',4',5,7-penta- <i>O</i> -acetil-8-vinil-catequina (8-vinil-Cat5Ac, 16).....	52
9.1.3. Síntese da 3,3',4',5,7-penta- <i>O</i> - <i>tert</i> -butildimetilsilil-8-vinil-catequina (8-vinil-Cat5Si, 17).....	53
9.2. Reacção de Suzuki	54
9.2.1. Síntese da 3,3',4',5,7-penta- <i>O</i> - <i>tert</i> -butildimetilsilil-8-vinil-catequina (8-vinil-Cat5Si, 17).....	54

10. Desprotecção dos grupos hidroxilo da 8-vinil-catequina	55
10.1. Desbenzilações	55
10.1.1. Hidrogenação catalítica da 8-vinil-Cat4Bn (15).....	55
10.1.2. Reacção entre a 8-vinil-Cat4Bn e o tribrometo de boro (BBr ₃).....	56
10.2. Desililações	57
10.2.1. Reacção da 8-vinil-Cat5Si (15) com fluoreto de tetrabutílamónio (TBAF) e ácido fluorídrico (HF).....	57
10.2.2. Reacção da 8-vinilCat5Si com fluoreto de sódio (NaF) e HF	58
10.2.3. Reacção da 8-vinilCat5Si com ácido bromídrico (HBr) e fluoreto de potássio (KF).....	59
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
1. Benzilação e bromação da (+)-catequina.....	63
1.1. Síntese da 3',4',5,7-tetra- <i>O</i> -benzil-catequina (Cat4Bn, 3).....	63
1.2. Síntese da 3',4',5,7-tetra- <i>O</i> -benzil-8-bromo-catequina (8-BrCat4Bn, 5)	65
2. Acetilação e bromação da (+)-catequina	67
2.1. Método A – Tentativa da síntese da 3,3',4',5,7-penta- <i>O</i> -acetil-8-bromo-catequina (8-BrCat5Ac, 8)	67
2.1.1. Síntese da 3,3',4',5,7-penta- <i>O</i> -acetil-catequina (Cat5Ac, 7).....	67
2.1.2. Tentativa de bromação da Cat5Ac (7).....	69
2.2. Método B – Síntese da 3,3',4',5,7-penta- <i>O</i> -acetil-8-bromo-catequina (8-BrCat5Ac, 8).....	69
2.2.1. Bromação da (+)-catequina	69
2.2.1.1. Síntese da 8-bromo-catequina (8-BrCat, 10)	77
2.2.2. Acetilação da 8-BrCat	79
3. Sililação e bromação da (+)-catequina	81
3.1. Síntese da 3,3',4',5,7-penta- <i>O</i> - <i>terc</i> -butildimetilsilil-catequina (Cat5Si, 12)	81
3.2. Síntese da 3,3',4',5,7-penta- <i>O</i> - <i>terc</i> -butildimetilsilil-8-bromo-catequina (8-BrCat5Si, 13)	82
4. Reacções de Stille e de Suzuki	86
4.1. Síntese da 3',4',5,7-tetra- <i>O</i> -benzil-8-vinil-catequina (8-vinil-Cat4Bn, 15).....	86
4.2. Síntese da 3,3',4',5,7-penta- <i>O</i> -acetil-8-vinil-catequina (8-vinil-Cat5Ac, 16)	90
4.3. Síntese da 3,3',4',5,7-penta- <i>O</i> - <i>terc</i> -butildimetilsilil-8-vinil-catequina (8-vinil-Cat5Si, 17)	91

4.4. Descrição sumária da síntese da 8-vinil-catequina- <i>O</i> -protegida.....	97
5. Remoção dos grupos protectores da 8-vinil-catequina.....	99
5.1. Desbenzilações.....	99
5.1.1. Remoção dos grupos benzilos por hidrogenação catalítica	99
5.1.2. Remoção dos grupos benzilos com BBr ₃	102
5.2. Desililações	104
5.2.1. Remoção dos grupos <i>tert</i> -butildimetilsililos com TBAF e HF	104
5.2.2. Remoção dos grupos <i>tert</i> -butildimetilsililos com NaF e KF.....	107
5.2.3. Remoção dos grupos <i>tert</i> -butildimetilsililos com HBr e KF.....	108
5.2.4. Descrição sumária das várias reacções de remoção dos grupos <i>tert</i> -butildimetilsililos da 8-vinil-Cat5Si	110
CONCLUSÕES.....	113
PERSPECTIVAS FUTURAS	119
BIBLIOGRAFIA.....	123
ANEXOS	139

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do núcleo flavânico.....	4
Figura 2. Estrutura geral dos 3-flavanóis.....	5
Figura 3. Estrutura das unidades monoméricas dos 3-flavanóis (catequinas e galhocatequinas).....	5
Figura 4. Estrutura da (-)-epicatequina-3- <i>O</i> -galhato	6
Figura 5. Decomposição das proantocianidinas por aquecimento em meio ácido (Bate-Smith, 1954).....	6
Figura 6. Estrutura das procianidinas diméricas do tipo B	7
Figura 7. Estrutura do dímero B2-3''- <i>O</i> -galhato.....	7
Figura 8. Estrutura da procianidina dimérica do tipo A2	8
Figura 9. Estrutura da procianidina trimérica do tipo C (trímero C1)	8
Figura 10. Estrutura geral das proantocianidinas polimerizadas (Haslam, 1998)	9
Figura 11. Núcleo base das antocianinas (catião flavílio).....	10
Figura 12. Estrutura das 6 antocianidinas 3- <i>O</i> -glucósidos mais comuns na natureza (catião flavílio) e respectivos comprimentos de onda máximos de absorção na região do visível (Giusti <i>et al.</i> , 1999; Harborne, 1984).....	11
Figura 13. Estrutura dos principais ésteres acilados das antocianinas da espécie <i>Vitis vinífera</i> (Harborne, 1964)	12
Figura 14. Formas de equilíbrio das antocianinas em meio aquoso em função do pH (adaptado de Brouillard & Lang, 1990).....	14
Figura 15. Reacção de adição do bissulfito às antocianinas (Timberlake & Bridle, 1966)	15
Figura 16. Posições reactivas dos flavonóides (Fulcrand <i>et al.</i> , 2004).....	15
Figura 17. Estruturas de diversas piranoantocianinas detectadas em vinhos.....	17
Figura 18. Mecanismo proposto para a formação do derivado pirúvico da malvidina-3- <i>O</i> -glucósido (carboximalvidina-3- <i>O</i> -glucósido) (Fulcrand <i>et al.</i> , 1998).....	19
Figura 19. Mecanismo proposto para a formação do pigmento piranoantocianina-flavanol (Francia-Aricha <i>et al.</i> , 1997; Mateus <i>et al.</i> , 2002a)	20
Figura 20. Mecanismo proposto para a formação do aducto 8-vinil-flavanol (Mateus <i>et al.</i> , 2002a,b)	21

Figura 21. Mecanismo proposto para a formação do pigmento vinilpiranoantocianina-flavanol (Portisina) (Mateus <i>et al.</i> , 2003b).....	22
Figura 22. Esquema da degradação da (+)-catequina em meio básico (adaptado de Tarascou, 2005).....	23
Figura 23. Esquema geral da reacção de Stille	26
Figura 24. Representação esquemática do ciclo catalítico para a reacção de Stille.....	27
Figura 25. Esquema geral da reacção de Suzuki	28
Figura 26. Representação esquemática do ciclo catalítico para a reacção de Suzuki.....	29
Figura 27. Esquema da estratégia de síntese adoptada para a obtenção da 8-vinil-catequina	35
Figura 28. Reacção entre a (+)-catequina (1) e o brometo de benzilo (2)	43
Figura 29. Reacção entre a Cat4Bn (3) e a <i>N</i> -bromo-succinimida (4).....	44
Figura 30. Reacção entre a (+)-catequina (1) e o anidrido acético (6) seguida da reacção entre a Cat5Ac (7) e a <i>N</i> -bromo-succinimida (4)	45
Figura 31. Reacção entre a (+)-catequina (1) e o tribrometo de piridina (9) seguida da reacção entre a 8-BrCat (10) e o anidrido acético (6).....	47
Figura 32. Reacção entre a (+)-catequina (1) e o <i>terc</i> -butildimetilclorosilano (11)	49
Figura 33. Reacção entre a Cat5Si (12) e a <i>N</i> -bromo-succinimida (4).....	50
Figura 34. Reacção entre a 8-BrCat4Bn (5) e o tributilvinilestanho (14).....	51
Figura 35. Reacção entre a 8-BrCat5Ac (8) e o tributilvinilestanho (14).....	52
Figura 36. Reacção entre a 8-BrCat5Si (13) e o tributilvinilestanho (14).....	53
Figura 37. Reacção entre a 8-BrCat5Si (13) e o 4,4,5,5-tetrametil-2-vinil-1,3,2-dioxaborolano (18)	54
Figura 38. Hidrogenação catalítica da 8-vinil-Cat5Si (15).....	55
Figura 39. Reacção entre a 8-vinil-Cat4Bn (15) e o BBr ₃	56
Figura 40. Reacção da 8-vinil-Cat5Si (17) com TBAF e HF	57
Figura 41. Reacção da 8-vinil-Cat5Si (17) com NaF e HF	58
Figura 42. Reacção da 8-vinil-Cat5Si (17) com HBr e KF	59
Figura 43. Reacção de síntese da Cat4Bn (3).....	63

Figura 44. Reacção de síntese da 8-BrCat4Bn (5).....	65
Figura 45. Reacção de síntese da Cat5Ac (7).....	67
Figura 46. Cromatograma de HPLC dos produtos da reacção entre a (+)-catequina e o tribrometo de piridina	70
Figura 47. Espectros de massa MS (A) e MS ² (B) dos isómeros 6- e 8-BrCat obtida por LC/MS	76
Figura 48. Espectros de massa MS (A) e MS ² (B) da 6,8-BrCat obtida por LC/MS.....	77
Figura 49. Espectro de massa MS da 5',6,8-BrCat obtida por LC/MS	77
Figura 50. Reacção de síntese da 8-BrCat (10)	78
Figura 51. Cromatograma de HPLC dos produtos de reacção de bromação da (+)-catequina	78
Figura 52. Reacção de síntese da 8-BrCat5Ac (8).....	79
Figura 53. Reacção de síntese da Cat5Si (12)	81
Figura 54. Espectros de massa por análise directa da Cat5Si (A) e da Cat4Si (B).....	81
Figura 55. Reacção de síntese da 8-BrCat5Si (13).....	82
Figura 56. Espectro de massa por análise directa da 8-BrCat5Si (13).....	82
Figura 57. Reacção de síntese da 8-vinil-Cat4Bn (15)	86
Figura 58. Espectro de RMN- ¹ H (expansões da zona dos protões vinílicos e H-2C) da mistura da 8-vinil-Cat4Bn (15) e da 8-BrCat4Bn (5) na proporção 1:1,2	88
Figura 59. Reacção de síntese da 8-vinil-Cat5Ac (16)	90
Figura 60. Reacção de Stille – Síntese da 8-vinil-Cat5Si (17)	91
Figura 61. Reacção de Suzuki – Síntese da 8-vinil-Cat5Si (17).....	92
Figura 62. Espectro de RMN- ¹ H (expansões da zona dos protões vinílicos e H-2C) da mistura da 8-vinil-Cat5Si (17) e da 8-BrCat5Si (13) na proporção 1:1,5	93
Figura 63. Desprotecção dos grupos hidroxilo da 8-vinil-Cat5Si (15) por hidrogenação catalítica	99
Figura 64. Cromatograma de HPLC registado a 280nm da mistura reaccional de hidrogenação da 8-vinil-Cat4Bn (15)	100
Figura 65. Espectros de massa MS (A), MS ² (B) e MS ³ (C) do pico cromatográfico aos 30 min obtidos por LC/MS.....	101

Figura 66. Cromatograma de HPLC registado a 280nm relativo à reacção da 8-vinil-Cat4Bn (15) com o BBr ₃	102
Figura 67. Espectros de massa MS (A), MS ² (B) e MS ³ (C) do pico cromatográfico aos 20 min obtidos por LC/MS	103
Figura 68. Cromatograma de HPLC registado a 280nm relativo à reacção da 8-vinil-Cat5Si (17) com o HF na presença de TBAF	105
Figura 69. Espectros de massa MS (A) e MS ² (B) dos picos cromatográficos aos 38 e 39 min obtidos por LC/MS	105
Figura 70. Cromatograma de LC/MS da reacção da 8-vinilCat5Si (17) com o TBAF e o HF a 5<pH<7 com detector UV (A) e com detector MS após extracção da massa do ião correspondente à 8-vinil-catequina ([M ⁺], m/z = 317) e da massa do ião correspondente à 8-bromo-catequina ([M ⁺], m/z = 369) (B)	106
Figura 71. Cromatograma de HPLC registado a 280nm relativo à reacção da 8-vinil-Cat5Si (17) com o NaF e o HF	107
Figura 72. Cromatograma de LC/MS da reacção da 8-vinilCat5Si (17) com uma mistura de HBr e KF com detector UV (A) e com detector MS após a extracção da massa do ião correspondente à 8-vinil-catequina ([M ⁺], m/z = 317) e da massa do ião correspondente à 8-bromo-catequina ([M ⁺], m/z = 369) (B)	108
Figura 73. Espectros de massa MS (A) e MS ² (B) do pico cromatográfico aos 19 min obtidos por LC/MS	109
Figura 74. Espectros de massa MS (A) e MS ² (B) do pico cromatográfico aos 22 min obtidos por LC/MS	109
Figura 75. Espectros de massa MS (A), MS ² (B), e MS ³ (C) do pico cromatográfico aos 25 min obtidos por LC/MS	109

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Descrição do grau de pureza e marca dos reagentes utilizados.....	39
Tabela 2. Programa de eluição utilizado para a análise por HPLC.....	41
Tabela 3. Programa de eluição utilizado para a análise por LC/MS.....	42
Tabela 4. Dados de RMN- ¹ H (CDCl ₃) da Cat4Bn (3).....	64
Tabela 5. Dados de RMN- ¹ H (CDCl ₃) da 8-BrCat4Bn (5).....	66
Tabela 6. Dados de RMN- ¹ H (CDCl ₃) da Cat5Ac (7).....	68
Tabela 7. Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C (CD ₃ OD) e correlações HMBC e HSQC da 8-BrCat.....	71
Tabela 8. Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C (CD ₃ OD) e correlações HMBC e HSQC da 6-BrCat.....	73
Tabela 9. Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C (CD ₃ OD) e correlações HMBC e HSQC da 6.8-BrCat.....	74
Tabela 10. Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C (CD ₃ OD) e correlações HMBC e HSQC da 5'.6.8-BrCat.....	75
Tabela 11. Dados de RMN- ¹ H (CDCl ₃) da 8-BrCat5Ac (8).....	79
Tabela 12. Dados de RMN- ¹ H e ¹³ C (CDCl ₃) e correlações HMBC e HSQC da 8-BrCat5Si (13).....	83
Tabela 13. Dados de RMN- ¹ H (CDCl ₃) da 8-vinil-Cat4Bn (15).....	87
Tabela 14. Dados de RMN- ¹ H e ¹³ C (CDCl ₃) e correlações HMBC e HSQC da 8-vinil-Cat5Si (17).....	94
Tabela 15. Resumo das condições experimentais e dos resultados obtidos para as reacções de Stille e Suzuki efectuadas.....	97
Tabela 16. Resumo das condições experimentais e dos resultados obtidos para as reacções de desililação efectuadas.....	110

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Abs – Absorvância

AcOH – Ácido acético

AcOEt – Acetato de etilo

BnBr – Brometo de benzilo

bs – “broad” singlete

Cat4Bn – 3',4',5,7-tetra-*O*-benzil-catequina

Cat5Ac – 3,3',4',5,7-penta-*O*-acetil-catequina

Cat5Si – 3,3',4',5,7-penta-*O*-*terc*-butildimetilsilil-catequina

CDCl₃ – Clorofórmio deuterado

CD₃OD – Metanol deuterado

COSY – *Correlation Spectroscopy*

d – duplete

DMAP – 4-dimetilaminopiridina

dd – duplo duplete

DMF – Dimetilformamida

DMSO – Dimetilsulfóxido

eq – equivalentes

Et₂O – Éter etílico

Et₃N – Trietilamina

h – horas

Hex – Hexano

HMBC – *Heteronuclear Multiple Bond Connectivity*

HSQC – *Heteronuclear Single Quantum Connectivity*

HPLC/DAD – *High Performance Liquid Chromatography/Diode Array Detector*

i.d. – diâmetro interno

J – Constante de acoplamento

LC/MS – *Liquid Chromatography/Mass Spectroscopy*

m – multiplete

MeOH – Metanol

min – minutos

MS – Massa do ião principal

MS^2 – Primeiro fragmento do ião principal
 MS^3 – Segundo fragmento do ião principal
 m/z – relação massa/carga (espectrometria de massa)
na – não atribuído
NBS – *N*-bromo-succinimida
NMP – *N*-metil-pirrolidona
NOESY – *Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy*
ppm – partes por milhão
RDA – Retro Diels-Alder
 R_f – *Retention factor*
RMN – Ressonância Magnética Nuclear
s – singleto
 T_{amb} – Temperatura ambiente
TBVE – Tributilvinilestanho
THF – Tetrahidrofurano
TLC – *Thin Layer Chromatography*
TMS - Tetrametilsilano
Tr – Tempo de retenção
TMVDB – 4,4,5,5-tetrametil-2-vinil-1,3,2-dioxaborolano
UV – Ultravioleta
Vis – Visível
 δ – desvio químico em relação ao tetrametilsilano (em ppm)
 η - rendimento
 λ_{max} – comprimento de onda de absorção máximo
5',6,8-BrCat – 5',6,8-tribromo-catequina
6,8-BrCat – 6,8-dibromo-catequina
6-BrCat – 6-bromo-catequina
8-BrCat – 8-bromo-catequina
8-BrCat4Bn – 3',4',5,7-tetra-*O*-benzil-8-bromo-catequina
8-BrCat5Ac – 3,3',4',5,7-penta-*O*-acetil-8-bromo-catequina
8-BrCat5Si – 3,3',4',5,7-penta-*O-terc*-butildimetilsilil-8-bromo-catequina
8-vinil-Cat4Bn – 3',4',5,7-tetra-*O*-benzil-8-vinil-catequina
8-vinil-Cat5Ac – 3,3',4',5,7-penta-*O*-acetil-8-vinil-catequina
8-vinil-Cat5Si – 3,3',4',5,7-penta-*O-terc*-butildimetilsilil-8-vinil-catequina

INTRODUÇÃO

1. Os Polifenóis – generalidades

Os compostos polifenólicos, genericamente designados por polifenóis, estão presentes em todos os seres vivos vegetais superiores e resultam do metabolismo secundário das plantas. Os polifenóis são constituídos por uma grande diversidade de estruturas químicas, complexas e muito heterogêneas. Alguns compostos fenólicos desempenham um papel muito importante na vida das plantas, uma vez que intervêm directamente na pigmentação, crescimento, reprodução e na protecção contra infecções e agentes agressores (Golstein & Swain, 1963; Billot, 1983; Beart *et al.*, 1985). O termo fenólico ou polifenólico descreve os compostos que possuem um anel benzénico substituído por um ou mais grupos hidroxilo (OH), respectivamente.

Os polifenóis podem dividir-se em compostos flavonóides e não-flavonóides. Do primeiro grupo fazem parte os flavanóis (*e.g.* catequinas e proantocianidinas ou taninos condensados), os flavonóis (*e.g.* quercetina), os flavanonóis, as flavonas e as antocianinas, entre outros. Os compostos não-flavonóides compreendem os ácidos fenólicos (benzóicos e cinâmicos) e outros derivados fenólicos como os estilbenos (*e.g.* resveratrol).

Um consumo elevado de compostos fenólicos na dieta alimentar tem sido constantemente correlacionado com uma redução das doenças cardiovasculares (Hertog *et al.*, 1993). Estes compostos fenólicos exibiram uma potente actividade antioxidante em diversos sistemas lipídicos, em particular contra a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) humanas, as quais desempenham um papel crucial no desenvolvimento de lesões ateroscleróticas (Chung *et al.*, 1998; Frankel *et al.*, 1993; Kanner *et al.*, 1994; Steinberg *et al.*, 1989; Teissedre *et al.*, 1996; Porto *et al.*, 2003). Diversos efeitos biológicos foram atribuídos aos polifenóis, nomeadamente, acção antibacteriana, antiviral, anticarcinogénica, antiinflamatória, antialérgica, acção vasoprotectora (Ivanov *et al.*, 2001; Laranjinha & Cadenas, 1999; Santos-Buelga & Scalbert, 2000), entre outras. Mais recentemente os polifenóis parecem estar associados também a potenciais efeitos benéficos no retardamento do envelhecimento celular (Howitz *et al.*, 2003).

Os compostos fenólicos e polifenólicos revestem-se igualmente de grande importância nas características sensoriais dos alimentos, nomeadamente, as antocianinas, responsáveis pela cor, e os taninos que contribuem para o sabor (adstringência).

Em enologia, desempenham um papel fundamental na qualidade dos vinhos, ao nível da cor e do sabor (Ribéreau-Gayon & Glories, 1971; Peynaud, 1975; Haslam, 1980). Durante o envelhecimento de um vinho estes compostos estão sujeitos a diversas transformações químicas devido a reacções de associação, complexação ou oxidação-redução com outros compostos tais como as proteínas, os polissacáridos ou os metais. A grande diversidade destas transformações químicas dá origem a novos pigmentos derivados das antocianinas, mais estáveis e com diferentes características físico-químicas, alterando assim as propriedades organolépticas de um vinho, ligadas à cor e ao sabor.

2. Principais classes de compostos polifenólicos

Como se referiu anteriormente, os polifenóis podem classificar-se em compostos de natureza flavonóide e não-flavonóide. Os flavonóides são compostos que se caracterizam por um esqueleto comum C6-C3-C6. A estrutura base consiste em dois anéis aromáticos (A e B) e um anel central heterocíclico (anel C), que caracterizam o núcleo flavânico (figura 1). Esta classe de polifenóis pode dividir-se em várias famílias que se distinguem pelo estado de oxidação (grau de insaturação) do anel pirânico C.

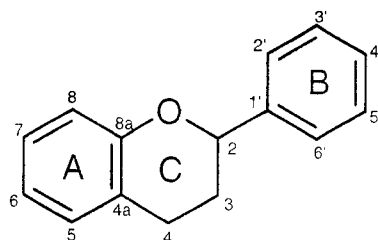


Figura 1. Estrutura do núcleo flavânico

2.1. Flavanóis

De entre os flavanóis salientam-se os 3-flavanóis e os seus derivados - as proantocianidinas (taninos condensados). Estes compostos têm a capacidade de reagir com proteínas formando complexos estáveis que precipitam. A complexação dos taninos com as proteínas salivares na cavidade oral, leva a um aumento do atrito e a uma diminuição da capacidade de lubrificação da saliva, sendo este fenómeno responsável pela sensação de adstringência.

Os 3-flavanóis, unidades monoméricas fundamentais das proantocianidinas, caracterizam-se por possuir o anel C saturado, ao qual se encontra ligado um grupo hidroxilo na posição 3 (figura 2).

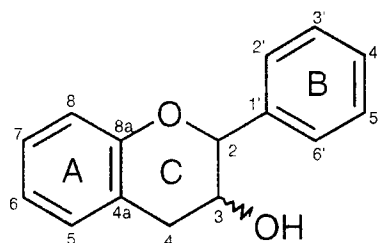
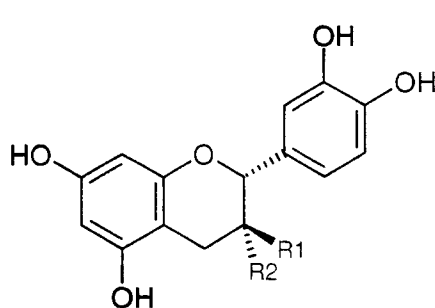


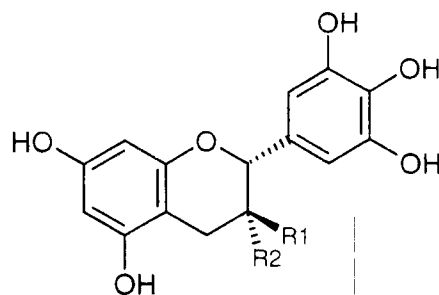
Figura 2. Estrutura geral dos 3-flavanóis

Os 3-flavanóis existentes na natureza diferem entre si na estereoquímica dos carbonos 2 e 3 do anel C (centros assimétricos da molécula) e no grau de hidroxilação dos anéis A e B, resultando numa grande diversidade estrutural.

Os 3-flavanóis mais comuns no reino vegetal, e nomeadamente na espécie *Vitis vinífera*, encontram-se hidroxilados nos carbonos 5 e 7 do anel A e nos carbonos 3' e 4' do anel B. Variando o número de grupos hidroxilo presentes no anel B e a estereoquímica do carbono 3 do anel C, os monómeros dos 3-flavanóis são classificados como catequinas e galhocatequinas (figura 3).



(+)-catequina: R1=OH; R2=H
(-)-epicatequina: R1=H; R2=OH



(+)-galhocatequina: R1=OH; R2=H
(-)-epigalhocatequina: R1=H; R2=OH

Figura 3. Estrutura das unidades monoméricas dos 3-flavanóis (catequinas e galhocatequinas)

Os principais 3-flavanóis presentes nas uvas e nos vinhos são a (+)-catequina e a (-)-epicatequina, que são epímeros no carbono 3. Nas películas das uvas a (+)-catequina é o 3-flavanol mais representativo e a (-)-epicatequina aparece em menores quantidades (Haslam, 1980).

Ao contrário de outros flavonóides, a (+)-catequina e a (-)-epicatequina encontram-se nas uvas no estado livre. Podem encontrar-se ainda ligadas a ácidos, como por exemplo, o ácido gálico esterificado no carbono 3 do anel C da (-)-epicatequina (figura 4).

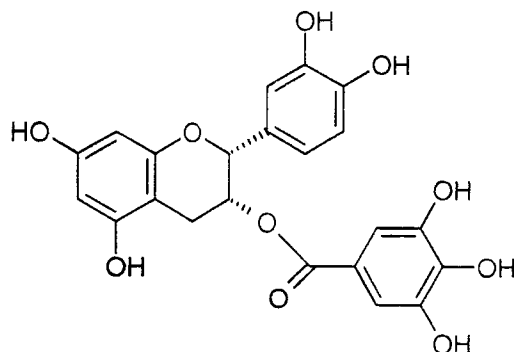


Figura 4. Estrutura da (-)-epicatequina-3-O-galato

As proantocianidinas (taninos condensados) resultam da condensação de duas ou mais unidades monoméricas dos 3-flavanóis através de ligações interflavónicas formando dímeros, trímeros, oligómeros e polímeros, consoante o número de vezes que estas unidades se repetem. As proantocianidinas podem dividir-se em procianidinas (constituídas por unidades de catequinas) e em prodelfinidinas (constituídas por unidades de galhocatequinas). Estes compostos decompõem-se quando sujeitos a aquecimento em meio ácido, de acordo com o mecanismo descrito por Bate-Smith (1954) (figura 5). Consoante se liberte cianidina ou delfinidina, as proantocianidinas são designadas de procianidinas ou prodelfinidinas, respectivamente.

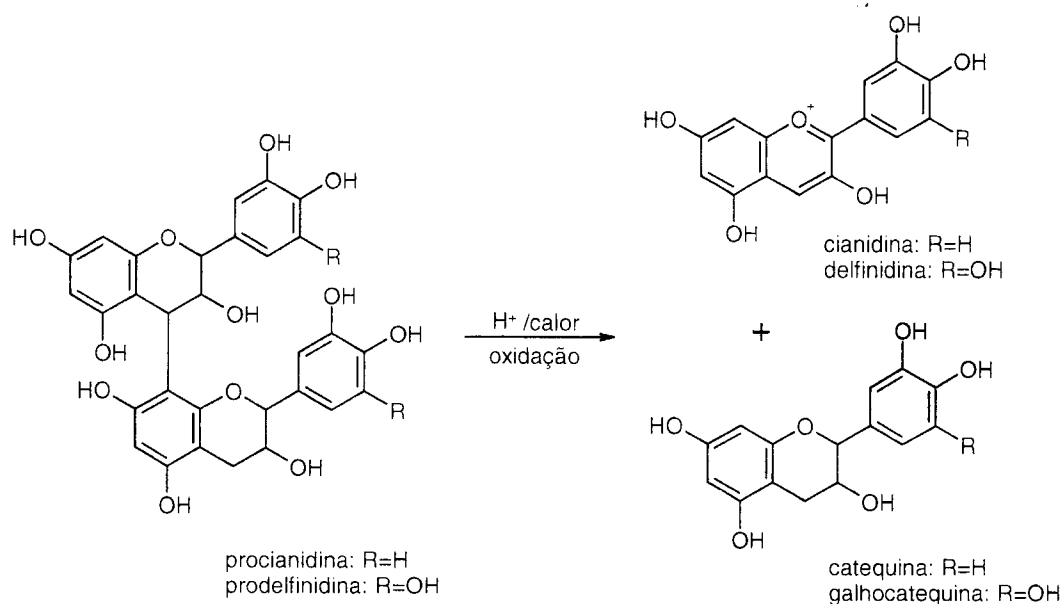


Figura 5. Decomposição das proantocianidinas por aquecimento em meio ácido (Bate-Smith, 1954)

As procianidinas diméricas e triméricas podem ser divididas em diferentes tipos (A, B, C e D) dependendo do tipo de ligação interflavônica entre as unidades monoméricas (Thompson *et al.*, 1972).

As procianidinas diméricas do tipo B (figura 6) resultam da condensação de duas unidades de 3-flavanóis (combinação de (+)-catequina e (-)-epicatequina) estabelecendo-se a ligação interflavônica através do carbono 4 da unidade monomérica superior, e o carbono 6 (C4-C6) ou o carbono 8 da unidade inferior (C4-C8).

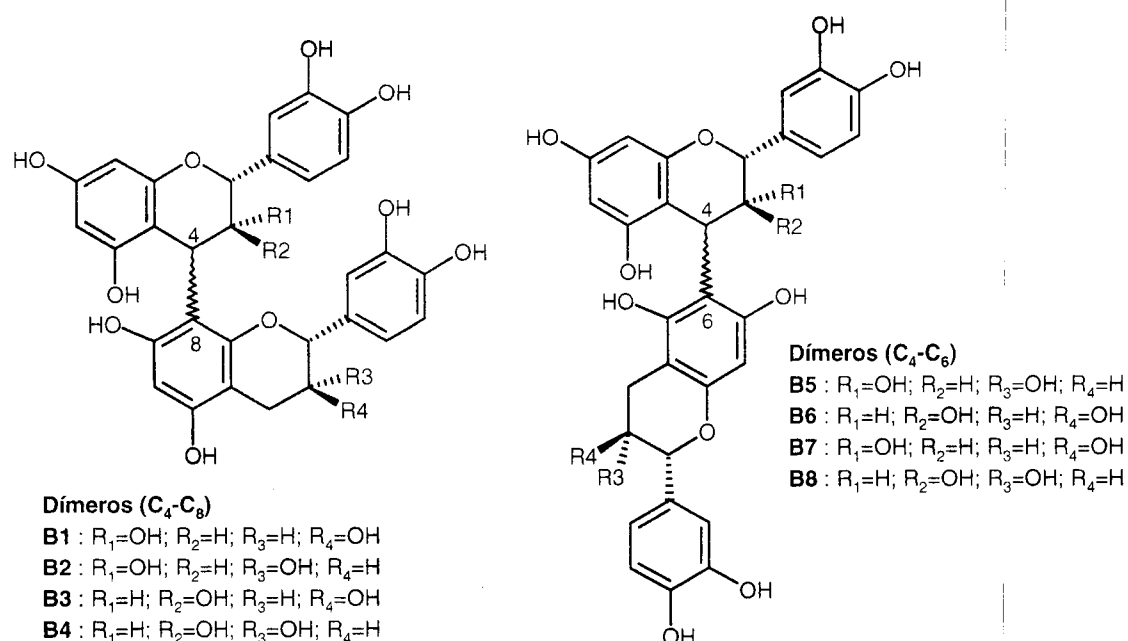


Figura 6. Estrutura das procianidinas diméricas do tipo B

As proantocianidinas também se podem encontrar esterificadas com o ácido gálico no carbono 3 do anel C (figura 7).

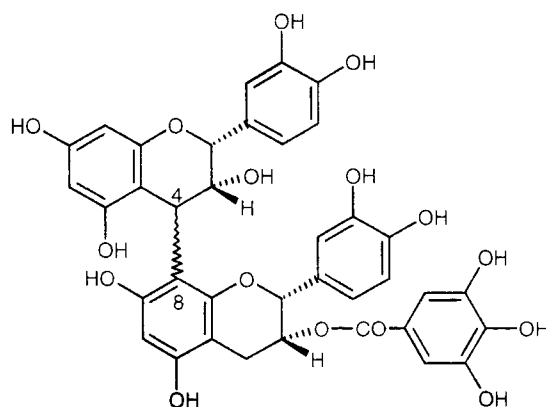


Figura 7. Estrutura do dímero B2-3''-O-galato

As procianidinas diméricas do tipo A (figura 8), além de apresentarem uma ligação interflavônica do tipo B (C4-C8), possuem também uma ligação éter entre o carbono 2 da unidade monomérica superior e o carbono 7 ou o carbono 5 da unidade inferior.

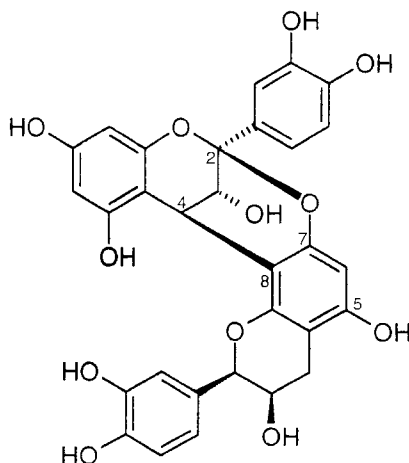


Figura 8. Estrutura da procianidina dimérica do tipo A2

Relativamente às procianidinas triméricas, estas podem ser do tipo D, possuindo uma ligação interflavônica de tipo B e outra do tipo A, e também do tipo C cujas ligações interflavônicas são apenas do tipo B, como por exemplo o trímero C1 (3 unidades de (-)-epicatequina ligadas em C4-C8), representado na figura 9.

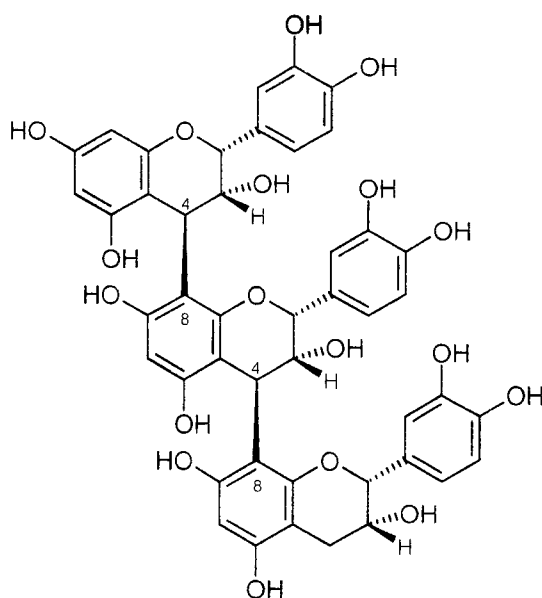


Figura 9. Estrutura da procianidina trimérica do tipo C (trímero C1)

As proantocianidinas apresentam-se na natureza de uma forma geral mais polimerizadas, formando complexos moleculares de maiores dimensões. Encontram-se portanto as procianidinas oligoméricas (PCO), constituídas até 6 unidades monoméricas de 3-flavanóis e os polímeros (mais do que 6 unidades condensadas) (figura 10), cuja ligação interflavónica é do tipo C4-C8 ou C4-C6 (Haslam, 1980; Sun *et al.*, 1996; Jordão, 1999).

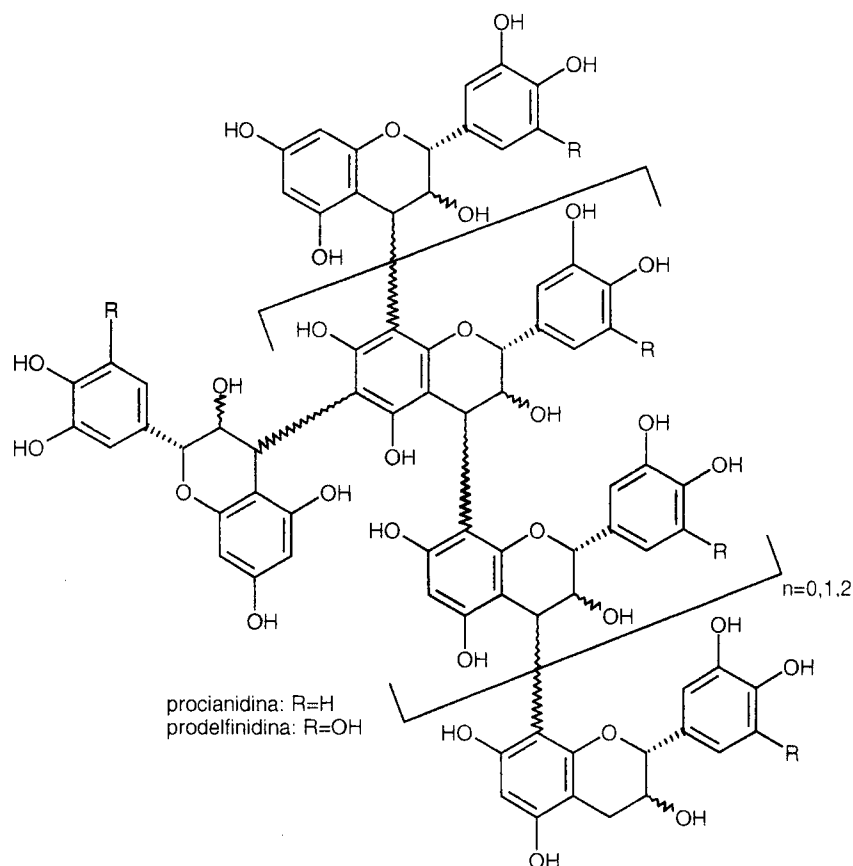


Figura 10. Estrutura geral das proantocianidinas polimerizadas (Haslam, 1998)

Relativamente às suas características espectroscópicas, estes compostos absorvem radiação na região ultra-violeta apresentando um comprimento de onda máximo ($\lambda_{\max}$) cerca dos 280nm. Estes compostos, além de contribuírem para as sensações gustativas dos vinhos, nomeadamente ao nível da adstringência, assumem um papel muito importante na evolução da cor e no aparecimento de novos pigmentos mais estáveis durante o armazenamento e envelhecimento de um vinho, pois estão envolvidos em diversas reacções com as antocianinas (pigmentos vermelhos).

2.2. Antocianinas

As antocianinas constituem uma grande família de flavonóides extensivamente presentes nas plantas. Estes pigmentos são responsáveis pela cor vermelha, violeta e azul de muitas flores e frutos. As antocianinas correspondem a glucósidos de antocianidinas (agliconas).

De um modo geral, estes pigmentos são derivados estruturais do catião 2-fenil-benzopirilo (catião flavílio – figura 11) polihidroxilados e/ou polimetoxilados nos anéis A e B (Brouillard, 1982).

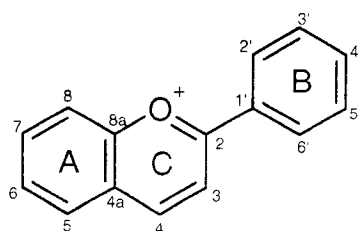


Figura 11. Núcleo base das antocianinas (catião flavílio)

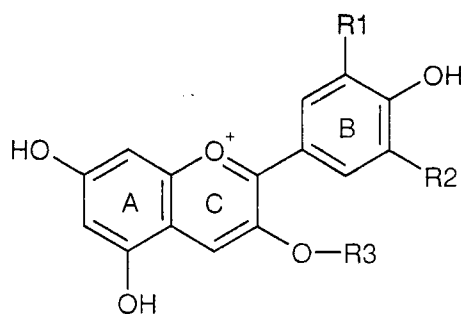
Como resultado da insaturação do anel C, o catião flavílio apresenta várias ligações duplas conjugadas responsáveis pela absorção de radiação na zona visível do espectro (λ_{max} , 520-540nm), conferindo uma gama de cores que pode ir do vermelho ao violeta dependendo da estrutura global da antocianina.

As antocianinas diferenciam-se pelo grau de hidroxilação e metoxilação do anel B, pela natureza, número e posição dos açúcares ligados à molécula, assim como também pela presença e natureza do ácido orgânico esterificado no fragmento de açúcar.

Os açúcares mais comuns ligados às antocianinas são monossacáridos na seguinte ordem decrescente: glucose, ramanose, galactose, arabinose e xilose. Os di- e os trissacáridos mais comuns nas antocianinas são a rutinose, soforose, sambubiose e glucorutinose (Rein, 2005). Na espécie europeia *Vitis vinífera* encontra-se uma molécula de glucose ligada ao grupo hidroxilo do carbono 3 do anel benzopirílico (anel C) enquanto que as espécies americanas *Vitis riparia* e *Vitis rupestris* apresentam uma molécula de glucose na posição 3 e outra na posição 5 do anel A (Ribéreau-Gayon & Stenestreet, 1965). As antocianidinas (agliconas) são instáveis em água e muito menos solúveis do que os respectivos glucósidos (Timberlake & Bridle, 1966), por isso pensa-se que a glicosilação proporcione estabilidade e solubilidade a estes pigmentos. Até hoje

já se identificaram mais de 15 antocianidinas diferentes (Harborne, 1988) embora apenas 6 sejam mais comuns na natureza (figura 12).

Estes compostos diferem entre si pelo número e posição de grupos hidroxilo e metoxilo ligados ao anel B, originando uma vasta gama de cores, que vão desde o laranja-vermelho (pelargonidina) até ao azul-violeta (delfinidina) a pH ácido (Harborne *et al.*, 2001). Em geral, a hidroxilação induz um deslocamento batocrómico do $\lambda_{\max}$, enquanto que a metilação dos grupos hidroxilo revertem esta tendência (Brouillard, 1983).



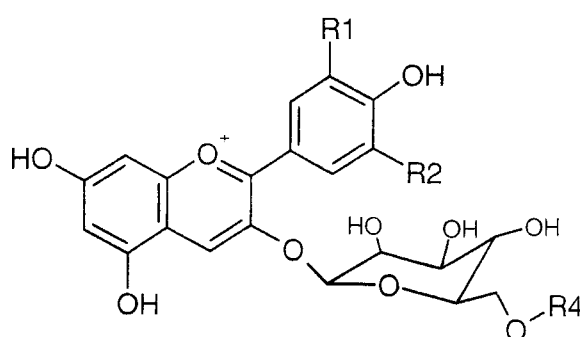
Antocianidina	R1	R2	$\lambda_{\max}$ (nm)*	
			R3=H	R3=glucose
Delfinidina	H	H	546	541
Petunidina	OH	OH	543	540
Malvidina	OH	H	542	538
Cianidina	OCH ₃	OH	535	530
Peonidina	OCH ₃	H	532	528
Pelargonidina	OCH ₃	OCH ₃	520	516

*, em metanol com 0.01% HCl

Figura 12. Estrutura das 6 antocianidinas 3-O-glucósidos mais comuns na natureza (catião flavílio) e respectivos comprimentos de onda máximos de absorção na região do visível (Giusti *et al.*, 1999; Harborne, 1984)

Os açúcares podem encontrar-se acilados com ácidos orgânicos (na posição 6) tais como, ácidos hidroxicinâmicos (ácidos *p*-cumárico, cafeico, ferrúlico e sinápico), ácidos hidroxibenzóicos tal como o ácido gállico e ácidos alifáticos (ácidos acético, malónico, málico, oxálico e sucínico) (Rein, 2005).

Nas antocianinas da espécie *Vitis vinífera* a molécula de glucose encontra-se normalmente esterificada com os ácidos acético, *p*-cumárico e cafeico (figura 13) (Harborne, 1964).



<i>R4</i>	<i>Grupo</i>
	Acetilo
	Cumaroílo
	Cafeoílo

Figura 13. Estrutura dos principais ésteres acilados das antocianinas da espécie *Vitis vinífera* (Harborne, 1964)

2.2.1. Estabilidade da cor das antocianinas

As antocianinas são moléculas muito instáveis em matrizes alimentares e facilmente susceptíveis de serem degradadas. A estabilidade da cor das antocianinas é fortemente afectada por diversos factores, tais como: condições do meio (pH, SO₂), solventes, temperatura, oxigénio, luz, enzimas, ácido ascórbico, açúcares, flavonóides, proteínas, minerais, por efeitos estruturais e de concentração de antocianinas, entre outros.

A cor das antocianinas pode ser estabilizada e realçada por fenómenos de copigmentação, em que os pigmentos antociânicos e outros compostos orgânicos não corados (copigmentos) formam em solução complexos ou associações moleculares (interacções não covalentes do tipo hidrofóbicas e forças de Van-der-Waals). Deste tipo de interacções resulta normalmente um aumento da intensidade de cor (efeito hipsocrómico), e em alguns casos um desvio batocromático ($\Delta\lambda_{\text{max}}$), ou seja, um desvio no comprimento de onda de absorção máximo para valores superiores (Mistry *et al.*, 1991; Mazza & Brouillard, 1990). A auto-associação (formação de complexos de antocianinas com outras moléculas de antocianinas) e a complexação de antocianinas com metais são outro tipo de interacções pelas quais pode ocorrer copigmentação (Goto & Kondo, 1991; Brouillard & Dangles, 1993).

2.2.1.1. Efeito do pH

A cor que as antocianinas exibem em solução varia consoante as condições físico-químicas do meio em que se encontram. De facto, as antocianinas existem em solução sob diversas formas de equilíbrio, apresentando cores diferentes consoante o pH da solução (Brouillard & Lang, 1990). Com base em diversos estudos foi possível conhecer as formas de equilíbrio das antocianinas em solução e os seus mecanismos de formação, que envolvem reacções de transferência de protões, de hidratação e de tautomerização (figura 14) (Brouillard & Dangles, 1993).

Num meio muito ácido ($\text{pH} < 1$), o catião flavílio (AH^+) é a única espécie predominante e a solução apresenta a cor vermelha. À medida que o pH aumenta, ocorre hidratação do catião flavílio, pelo ataque nucleófilo da água no carbono 2 da antocianina, originando o aparecimento da base carbinol incolor B (hemiacetal). A partir de $\text{pH}=2$, começam a surgir as formas chalcona (C) de cor amarela, por abertura do anel C da base carbinol, verificando-se uma diminuição acentuada da concentração do catião flavílio e consequentemente da intensidade de cor vermelha da solução. Para valores de pH entre 3 e 4, encontram-se presentes todas as formas de equilíbrio das antocianinas, predominando a forma de base carbinol incolor (B). Para valores de pH ainda mais elevados (soluções neutras ou alcalinas), ocorre uma desprotonação rápida do catião flavílio dando origem a uma mistura de bases quinonoidais neutras de cor violeta (A) e dos respectivos aniões azuis (A^-), traduzindo-se numa cor azulada da solução.

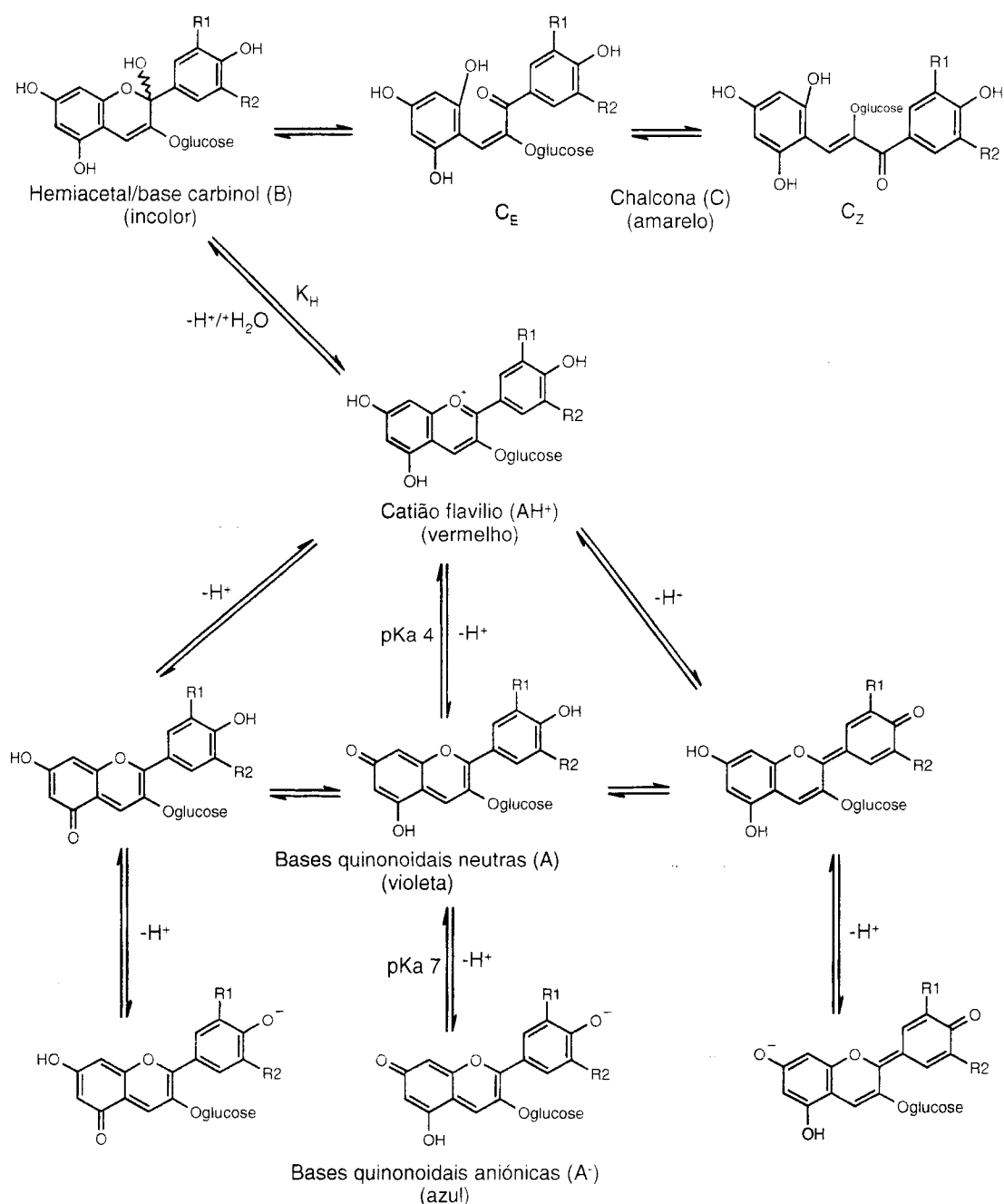


Figura 14. Formas de equilíbrio das antocianinas em meio aquoso em função do pH (adaptado de Brouillard & Lang, 1990)

2.2.1.2. Efeito do SO_2

O uso de dióxido de enxofre (SO_2) na indústria alimentar é uma prática corrente, devido à sua propriedade antioxidante e antimicrobiana. No entanto, as antocianinas são sensíveis ao ataque nucleófilo do SO_2 levando à sua descoloração. O SO_2 em solução aquosa dá origem ao anião bissulfito (HSO_3^-) que se liga rapidamente ao carbono 4 das antocianinas (posição electrófila) formando um aducto incolor (figura 15). O bissulfito

pode também adicionar à posição 2 da antocianina resultando igualmente numa estrutura sem cor. À medida que o SO_2 é removido do sistema (por exemplo, por evaporação) e se as condições do meio se tornarem muito ácidas ($\text{pH}=1$), o equilíbrio desloca-se no sentido da formação do catião flavílio e a solução volta a adquirir a cor vermelha (Timberlake & Bridle, 1966).

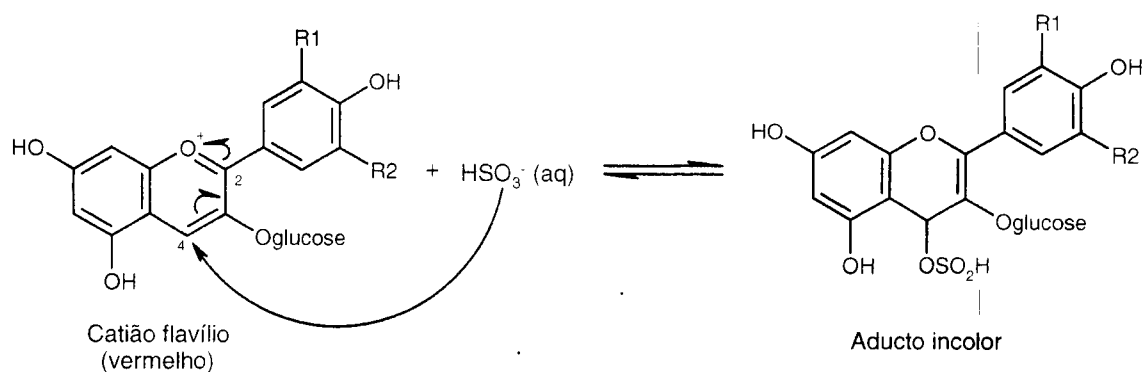


Figura 15. Reacção de adição do bissulfito às antocianinas (Timberlake & Bridle, 1966)

2.3. Reactividade

A reactividade dos polifenóis, em particular dos compostos flavonóides, advém de uma característica estrutural comum a todos eles que é a presença de anéis aromáticos hidroxilados. Os grupos hidroxilo dos flavonóides têm carácter ácido (pK_a 10-18) e cada anel da sua estrutura possui um tipo de reactividade característica (figura 16).

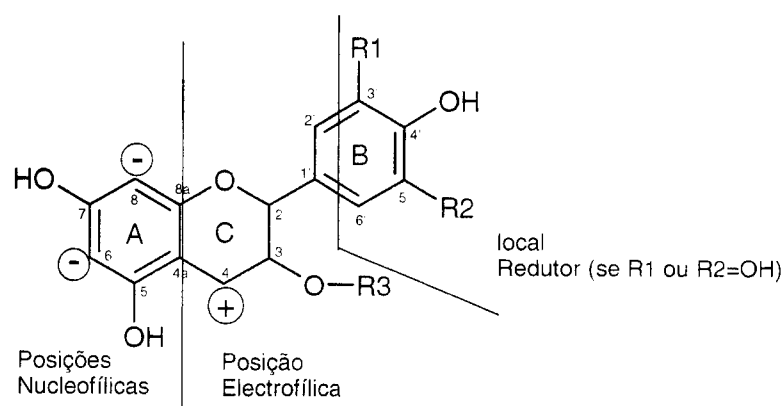


Figura 16. Posições reactivas dos flavonóides (Fulcrand *et al.*, 2004)

O anel A apresenta em geral uma estrutura do tipo floroglucinol possuindo dois locais nucleofílicos (carbonos 6 e 8), que são activados pelos grupos hidroxilo em posição *orto* e *para*. Deste modo, a grande reactividade dos flavanóis, em particular das catequinas, é principalmente devido ao anel A, que actua como um reagente nucleófilo podendo sofrer substituição aromática electrófila nesses carbonos. No caso das antocianinas, o carácter nucleófilo do anel A ocorre apenas na sua forma hidratada (hemiacetal). Quando o anel B possui uma estrutura do tipo catecol (R1 e/ou R2=OH), este núcleo actua principalmente como um agente redutor. Uma vez oxidado, pode sofrer oxidações acopladas ou adições Michael actuando como um poderoso electrófilo.

Nas antocianinas, o anel pirânico central (C) tende a ter naturalmente uma carga positiva, própria da forma de catião flavílio das antocianinas, localizada nos carbonos 2 ou 4 do anel C. A existência do grupo OH no carbono 5 é muito importante para a reactividade das antocianinas com outros compostos, através de reacções de cicloadição envolvendo simultaneamente o grupo OH (nucleófilo) do C5 e o carbono 4 (electrófilo). Nos flavanóis, a carga positiva pode ser formada mediante a ruptura ácida das ligações interflavónicas entre as unidades dos 3-flavanóis que constituem as procianidinas. Por isso, o carbono 4 do anel C das procianidinas pode reagir como um electrófilo sofrendo adições nucleófilas em meio ácido.

A reactividade geral dos anéis A, B e C das antocianinas e dos flavanóis dão origem a um largo número de potenciais produtos em meios complexos, como é o caso dos vinhos que apresenta uma grande diversidade de compostos (Fulcrand *et al.*, 2004).

3. Pigmentos derivados de antocianinas

Na última década, têm sido descritas várias reacções de cicloadição, que ocorrem em soluções modelo ou nos vinhos, entre antocianinas e moléculas com baixo peso molecular (metabolitos das leveduras libertados durante a fermentação), e também entre antocianinas e flavanóis, dando origem a novas famílias de pigmentos derivados de antocianinas, nomeadamente, as piranoantocianinas.

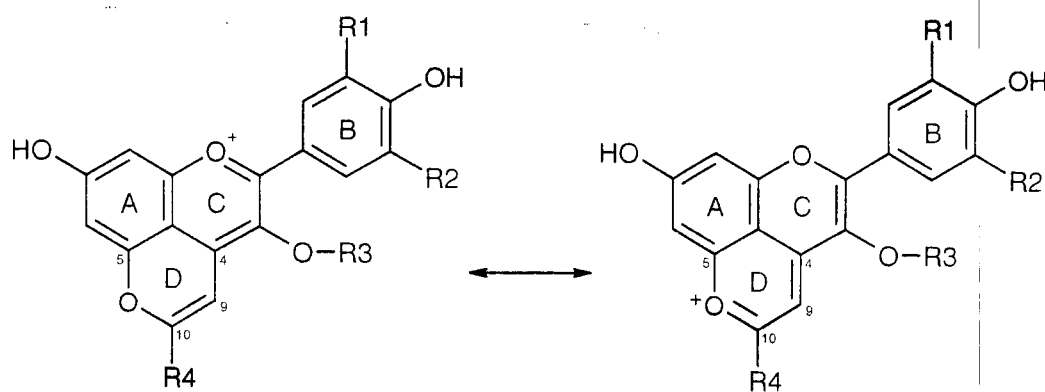
3.1. Piranoantocianinas em alimentos

A maioria das piranoantocianinas conhecidas foram encontradas em vinhos ou obtidas em soluções modelo de vinho. Apenas alguns destes pigmentos foram detectados e

identificados noutros alimentos, como por exemplo, em uvas, em morangos, na cebola vermelha, em sementes de groselha preta, em sumos de cenoura preta e em sumos de laranja vermelha (Sarni-Manchado *et al.*, 1996; Fulcrand *et al.*, 1996; Romero & Bakker, 1999; Salas *et al.*, 2003; Dangles & Elhajji, 1994; Hayasaka & Asenstorfer, 2002; Vivar-Quintana *et al.*, 2002; Schwarz *et al.*, 2003a,b; Alcalde-Eon *et al.*, 2004; Pozo-Bayon *et al.*, 2004; Schwarz *et al.*, 2004; Mateus & De Freitas, 2001; Mateus *et al.*, 2001; Romero & Bakker, 2001; Mateus *et al.*, 2002a; Mateus *et al.*, 2003a; Mateus *et al.*, 2003b; Bakker & Timberlake, 1997b; Revilla *et al.*, 1999; Amico *et al.*, 2004; Andersen *et al.*, 2004; Fossen & Andersen, 2003; Lu *et al.*, 2000; Lu *et al.*, 2002; Schwarz *et al.*, 2004; Hillebrand *et al.*, 2004).

3.2. Características estruturais e cromáticas das piranoantocianinas

A estrutura das piranoantocianinas envolve um quarto anel (D), resultado de um processo de ciclização que envolve o carbono 4 e o grupo hidroxilo ligado ao carbono 5 do anel A da antocianina com várias moléculas (figura 17).



<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>	<i>R4</i>
			H (Bakker & Timberlake, 1997b)
	OMe	glucose	CH ₃ (Lu & Foo, 2001)
OMe	OH	acetilglucose	COOH (Fulcrand <i>et al.</i> , 1998)
OH	H	cumaroilglucose	fenol (Fulcrand <i>et al.</i> , 1996)
		cafeoilglucose	flavanol (Francia-Aricha <i>et al.</i> , 1997)
			vinilflavanol (Mateus <i>et al.</i> , 2003a,b)

Figura 17. Estruturas de diversas piranoantocianinas detectadas em vinhos

O espectro UV-Vis revela que o comprimento de onda máximo de absorção destes compostos se encontra na região do visível entre os 500 e os 512 nm, dependendo do grupo R4, conferindo-lhes uma cor laranja. A carga positiva encontra-se deslocalizada entre os anéis A, C e D, conferindo-lhes uma maior estabilidade comparativamente com as antocianinas (Bakker & Timberlake, 1997b).

As piranoantocianinas exibem uma cor mais estável no intervalo de pH compreendido entre 3,5 e 7, e uma resistência mais elevada à descoloração pelo SO₂ comparativamente com as antocianinas (Sarni-Manchado *et al.*, 1996; Fulcrand *et al.*, 1996; Bakker & Timberlake, 1997b; Francia-Aricha *et al.*, 1997; Fulcrand *et al.*, 1998). Esta maior estabilidade pode ser explicada pelo facto do carbono 4 do anel C das piranoantocianinas se encontrar substituído. Por outro lado, o carbono 2 do anel C que apresenta uma densidade de carga positiva, é pouco reactivo no que diz respeito ao ataque nucleófilo por parte do bissulfito e da água comparativamente às antocianinas. De facto, as antocianinas sofrem facilmente um ataque nucleófilo pelo bissulfito e pela água no C2 e C4 formando aductos incolores.

3.3. Carboxipiranoantocianinas

Na família das piranoantocianinas incluem-se as carboxipiranoantocianinas (Vitisina A e derivados acilados) que foram descobertas pela primeira vez no vinho tinto (Bakker *et al.*, 1997a,b).

Estes pigmentos, de cor laranja, resultam da reacção das antocianinas das uvas com o ácido pirúvico (forma enólica) através de uma reacção de cicloadição, segundo o mecanismo apresentado na figura 18 (Fulcrand *et al.*, 1996; Fulcrand *et al.*, 1998; Mateus *et al.*, 2001; Mateus *et al.*, 2002a).

A antocianina reage através do grupo OH no carbono 5 (nucleófilo) e do carbono 4 (electrófilo) com a ligação dupla do ácido pirúvico na forma enólica. A este passo de cicloadição segue-se uma desidratação, uma oxidação e um processo de rearomatização, que leva à formação do anel D.

O ácido pirúvico é um produto da glicólise das leveduras e forma-se sobretudo durante a fermentação do vinho.

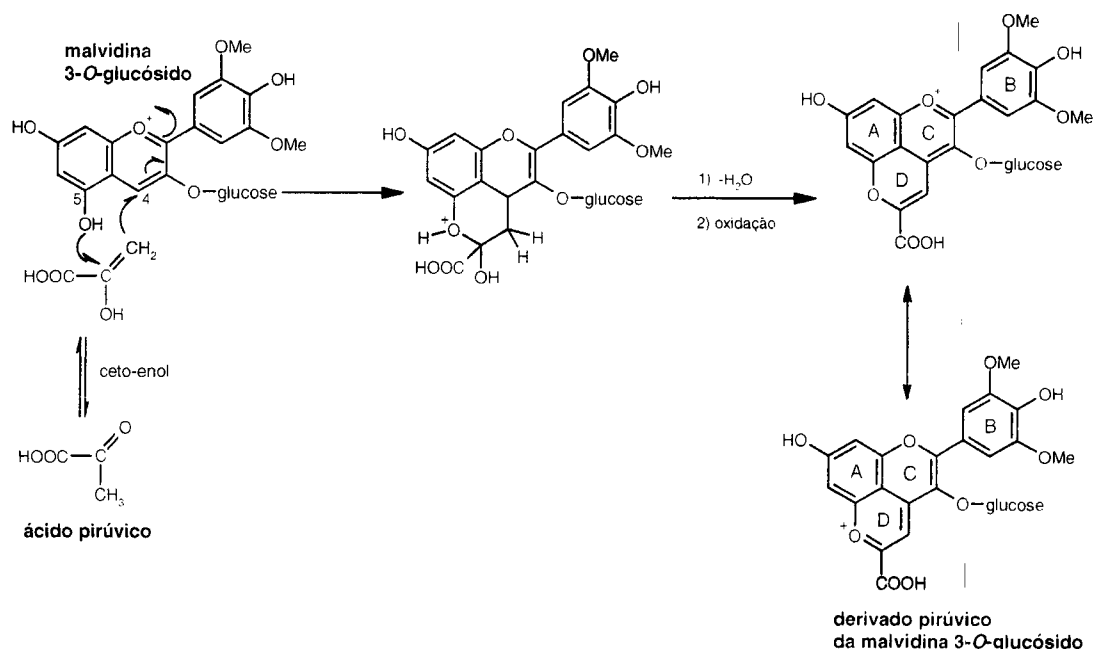


Figura 18. Mecanismo proposto para a formação do derivado pirúvico da malvidina-3-O-glucósido (carboximalvidina-3-O-glucósido) (Fulcrand *et al.*, 1998)

O espectro UV-Vis deste composto é semelhante ao das piranoantocianinas apresentando um deslocamento hipsocromático do $\lambda_{\max}$ relativamente às antocianinas. O derivado pirúvico da malvidina 3-O-glucósido apresenta um $\lambda_{\max} \cong 511\text{nm}$, o que lhe confere uma cor laranja. Tal como as piranoantocianinas, estes pigmentos são resistentes à descoloração pelo dióxido de enxofre e apresentam uma elevada expressão de cor até valores de pH $\cong 7,0$ (Bakker & Timberlake, 1997b).

3.4. Piranoantocianinas-flavanóis

Mais recentemente foram descobertas no vinho tinto aductos de piranoantocianinas ligados directamente a flavanóis e que apresentam uma cor laranja-vermelha (Mateus *et al.*, 2001; Francia-Aricha *et al.*, 1997; Mateus *et al.*, 2002b; Mateus *et al.*, 2003a).

A formação das piranoantocianinas-flavanóis está descrita na literatura como resultante da reacção de cicloadição entre o grupo hidroxilo do anel A, o grupo vinílico de uma unidade de vinil-flavanol e o carbono 4 das antocianinas, segundo o mecanismo proposto por Fulcrand *et al.* (1996) (figura 19).

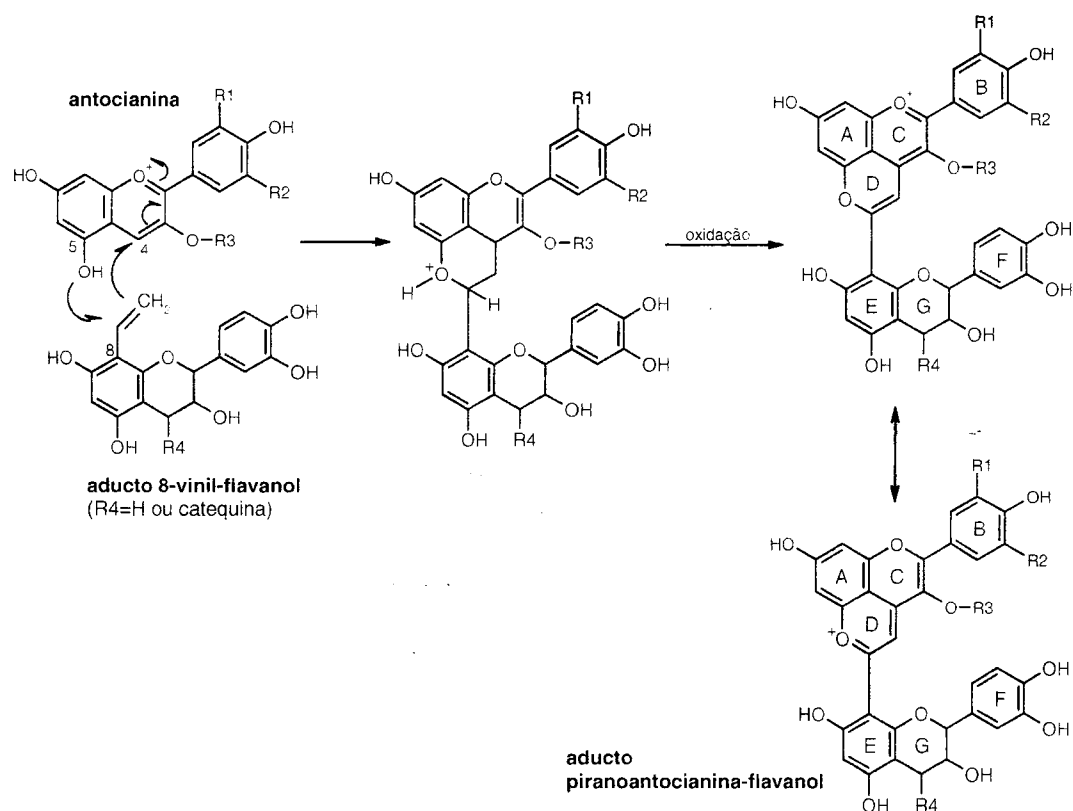


Figura 19. Mecanismo proposto para a formação do pigmento piranoantocianina-flavanol (Francia-Aricha *et al.*, 1997; Mateus *et al.*, 2002a)

Estudos recentes mostraram que o tipo de unidade flavanol pode afectar de um modo significativo a cor dos aductos piranoantocianinas-flavanóis (Mateus *et al.*, 2003a). O máximo de absorção destes pigmentos situa-se perto dos 503nm para compostos em que $R_4=H$, enquanto que pigmentos com $R_4=(+)\text{-catequina}$ possuem um $\lambda_{\max} \cong 512\text{nm}$. Aparentemente, a presença de um flavanol dimérico na estrutura do pigmento promove um desvio batocrómico de 9nm em relação às estruturas que contem uma catequina. Para além disto, estes novos pigmentos apresentam um $\lambda_{\max}$ deslocado hipsocromaticamente (maior absorvância) em relação às antocianinas.

3.4.1. Formação do aducto 8-vinil-flavanol

O aducto 8-vinil-flavanol (*e.g.* 8-vinil-catequina), que não existe inicialmente nas uvas, pode resultar da reacção dos flavanóis com o etanal seguido de uma reacção de desidratação (figura 20). O etanal em meio ácido dá origem a formação de um carbocátion que vai sofrer um ataque nucleófilo nas posições C6 ou C8 (preferencial) do anel A do flavanol que apresentam uma densidade de carga negativa devido à presença de grupos hidroxilo em posição *orto* e *para* (Bendz *et al.*, 1967). A desidratação do

aducto etanol-flavanol dá origem à formação do aducto 8-vinil-flavanol. Um dos objectivos deste trabalho de investigação é sintetizar a 8-vinil-catequina para poder demonstrar este mecanismo. Por outro lado, a 8-vinil-catequina pode ainda ter origem a partir da decomposição dos aductos catequina-etil-catequina e catequina-etil-antocianina que se formam nos vinhos (Es-Safi *et al.*, 1999). No entanto, estes mecanismos ainda estão por demonstrar.

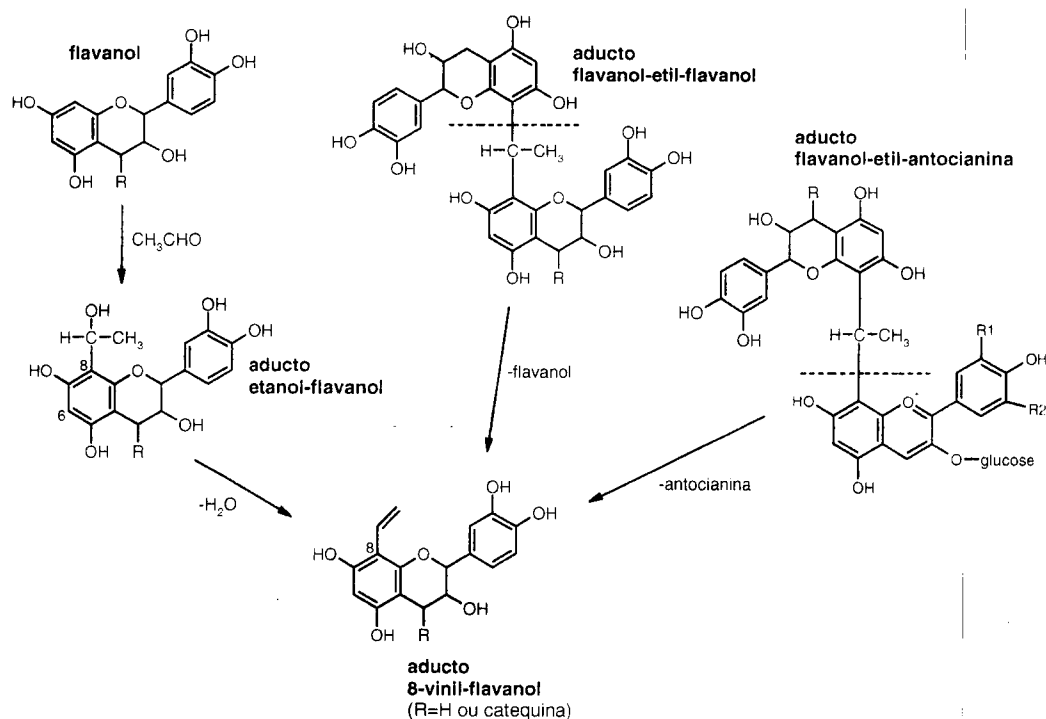


Figura 20. Mecanismo proposto para a formação do aducto 8-vinil-flavanol (Mateus *et al.*, 2002a,b)

3.5. Vinilpiranoantocianinas-flavanóis

Nos últimos anos foi descoberta uma nova família de pigmentos, as vinilpiranoantocianinas-flavanóis, que foram denominados por *Portisinas* por ter sido descobertas pela primeira vez no vinho do Porto (Mateus *et al.*, 2003b; Mateus *et al.*, 2004a).

Estes compostos têm a particularidade de apresentarem uma cor azul mesmo para valores de pH ácidos mantendo esta cor numa gama de pH muito alargada revelando ser mais estável do que as restantes piranoantocianinas.

O mecanismo proposto para a formação destes pigmentos azuis encontra-se apresentado na figura 21 e sugere igualmente a participação do aducto 8-vinil-flavanol como

intermediário. Os derivados pirúvicos das antocianinas sofrem um ataque nucleófilo no carbono 10 através do grupo vinilo do aducto 8-vinil-flavanol seguindo-se a perda de ácido fórmico e finalmente uma oxidação originando a ligação vinílica do novo pigmento.

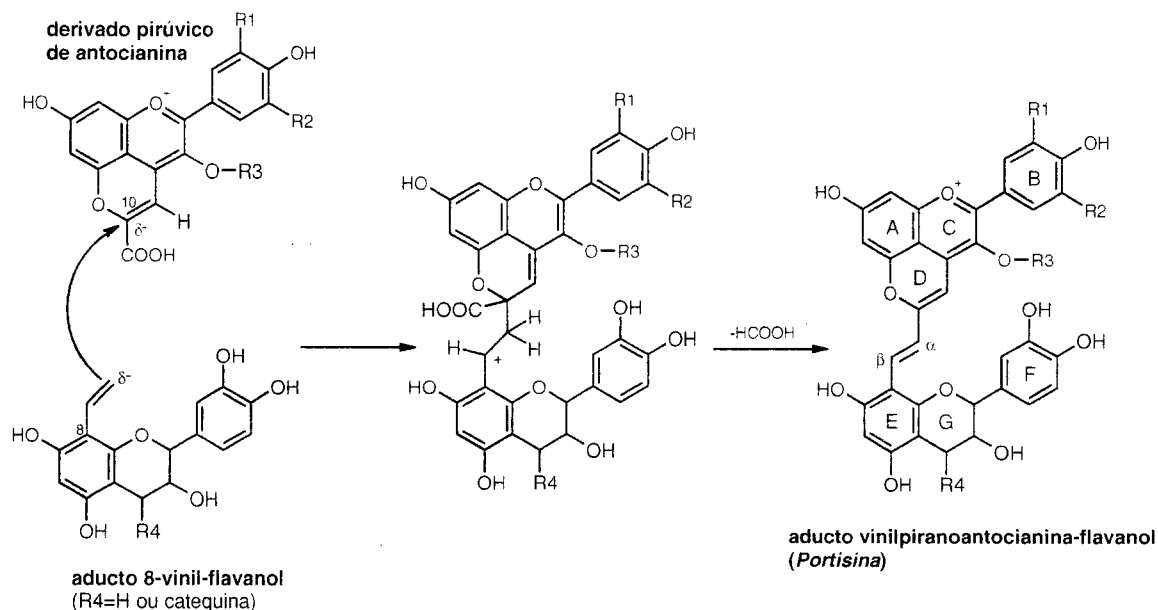


Figura 21. Mecanismo proposto para a formação do pigmento vinilpiranoantocianina-flavanol (*Portisina*) (Mateus *et al.*, 2003b)

A conjugação extensa dos electrões π confere grande estabilidade às *Portisinas* e estão na origem do seu elevado λ_{max} que lhes confere uma cor azul (Mateus *et al.*, 2004a). Se a unidade flavanol for a (+)-catequina ou a (-)-epicatequina (R4=H), o λ_{max} deste novo composto situa-se aproximadamente nos 570nm, enquanto que pigmentos com R4=(+)-catequina possuem um $\lambda_{\text{max}} \cong 583\text{nm}$.

As características cromáticas únicas deste tipo de pigmentos traz expectativas promissoras no que diz respeito ao uso destes compostos na indústria alimentar. De facto, apesar da extensa paleta de cores disponível na natureza, os pigmentos que exibem cores azuis são muito raros. Por exemplo, a cor azul exibida por algumas flores é principalmente devida ao fenómeno de copigmentação. Para além disso, tonalidades azuis podem ser obtidas pela presença de formas quinonoidais de antocianinas a pH alcalinos. Por isso, a produção de corantes azuis naturais para a indústria alimentar reveste-se de grande interesse (Mateus *et al.*, 2004b).

4. Reacções de decomposição das catequinas

As catequinas são compostos instáveis fora da zona de pH 5-8: em meio ácido, ocorrem reacções de polimerização enquanto que, em meio básico ocorre a abertura do anel pirânico C conduzindo à formação de ácido catequínico ou do enantiómero não natural da (-)-epicatequina, obtido após a epimerização da (+)-catequina na posição 2 (figura 22) (Sears *et al.*, 1974; Kiatgrajai *et al.*, 1982; Kennedy *et al.*, 1984).

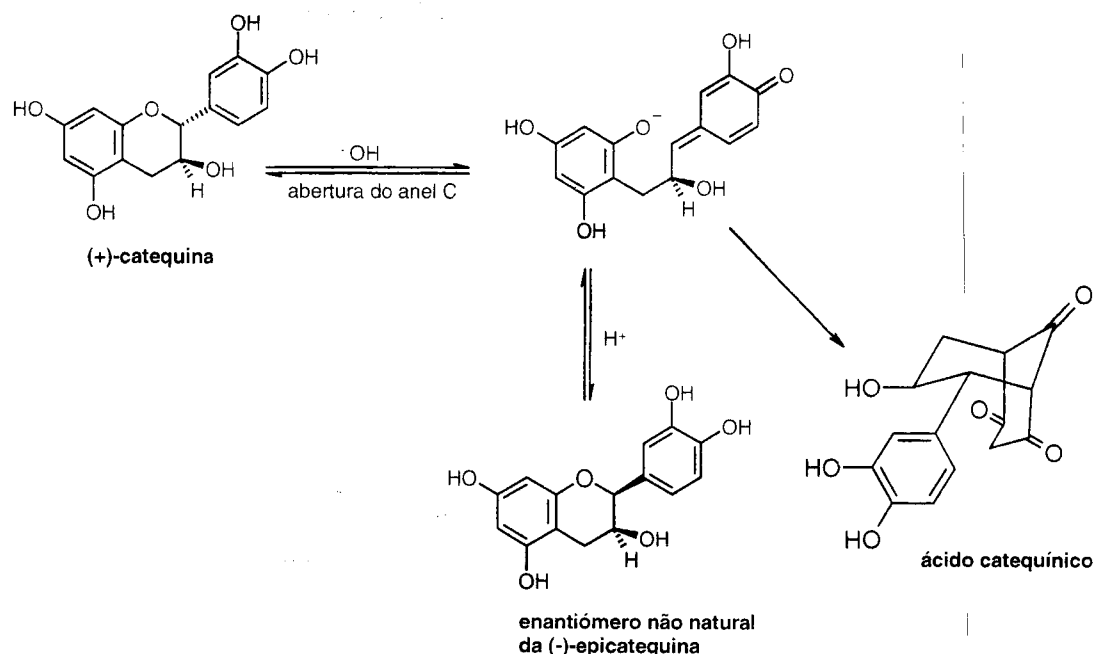


Figura 22. Esquema da degradação da (+)-catequina em meio básico (adaptado de Tarascou, 2005)

Estes monómeros são igualmente sensíveis às reacções de oxidação: assim na presença de oxigénio, as funções dihidroxifenóis são transformadas em quinonas muito reactivas que podem participar em processos complexos de polimerização, conduzindo à formação de pigmentos castanhos (Es-Safi *et al.*, 2000).

4.1. Protecção dos grupos hidroxilo das catequinas

As funções hidroxilo dos flavanóis apresentam carácter nucleofílico, natureza ácida (pK_a 10-18) e têm elevado potencial de oxidação-redução, podendo participar em numerosas transformações mesmo sob condições suaves. Por estas razões, é imperativo que os grupos hidroxilo estejam protegidos no decorrer de uma síntese orgânica de modo a evitar reacções indesejadas.

Na literatura encontram-se diferentes estratégias de protecção de funções fenóis, das quais se destacam:

- Metilação, usando como reagente o diazometano (Sweeny *et al.*, 1979; McGraw *et al.*, 1982; Kolodziej *et al.*, 1984);
- Acetilação, utilizando anidrido acético e piridina (McGraw *et al.*, 1982; Kolodziej *et al.*, 1984; Kiehlman *et al.*, 1988; Kawamoto *et al.*, 1993);
- Benzilação, usando, por exemplo, o brometo de benzilo (Kawamoto *et al.*, 1990; Kawamoto *et al.*, 1991; Buffnoir, 1998);
- Sililação, utilizando reagentes derivados do *terc*-butildimetilsilício, do trimetilsilício e do dimetilisopropilsilício, sendo o primeiro considerado o mais estável (Corey *et al.*, 1972; Kendall *et al.*, 1979).

As catequinas assim protegidas são particularmente estáveis e robustas em meios ácidos-básicos e têm a vantagem dos grupos protectores serem facilmente removidos quando desejável, usando reagentes altamente específicos e condições selectivas para cada grupo.

5. Bromação das catequinas protegidas

Um dos procedimentos para aumentar a reactividade das catequinas em determinadas posições envolve a introdução de átomos ou de grupos funcionais que aumentam o carácter electrófilo ou nucleófilo dessas posições. A bromação tem sido um processo utilizado para aumentar a nucleofilicidade das posições 6 e 8 do anel A das catequinas.

Durante a reacção electrófila de bromação das catequinas protegidas, o bromo liga-se preferencialmente na posição 8 do anel A, pois é o local mais nucleofílico, ou seja, o que apresenta maior densidade de carga negativa, como resultado da presença de hidroxilos protegidos por grupos dadores de electrões nas posições *orto* e *para*.

Na literatura, as reacções de bromação das catequinas protegidas envolvem o NBS (*N*-bromo-succinimida) (Tückmantel *et al.*, 1999) e/ou o tribrometo de piridina (McGraw *et al.*, 1982; Hundt *et al.*, 1981; Engel *et al.*, 1978).

A reacção das catequinas com o NBS são regioselectivas, ligando-se apenas no C-8 com um elevado rendimento.

Os grupos benzilo e *terc*-butildimetilsililo são mais activantes da reacção de bromação da (+)-catequina do que o grupo acetilo. De facto, enquanto que os dois primeiros

exercem um efeito dador de electrões (+M), o grupo acetilo é atraidor dos electrões π por efeito mesómerico negativo (-M), desactivando as posições *orto* e *para* na reacção de substituição electrófila. No caso dos derivados acetilados, deverá proceder-se primeiro à bromação das catequinas (McGraw *et al.*, 1982; Kolodziej *et al.*, 1984) e depois a efectuar respectiva acetilação.

6. Reacções de acoplamento cruzado

As reacções de acoplamento cruzado representam uma ferramenta bastante versátil em síntese orgânica (Heck, 1985; Collman *et al.*, 1987; Trost *et al.*, 1982). De facto, num intervalo alargado de processos orgânicos, a formação de ligações Carbono-Carbono é o passo chave, desde a síntese de produtos naturais (Torssell, 1983; Thomson, 1985) até à química supramolecular e à ciência dos materiais (Roncali, 1992; Yamamura *et al.*, 1989). As reacções de acoplamento cruzado, catalisadas por paládio e níquel, que ocorrem entre haletos orgânicos (electrófilos) e vários nucleófilos (compostos organometálicos), têm mostrado ser altamente eficientes e métodos práticos para a formação de ligações C-C (Tsuji, 1990, 1995).

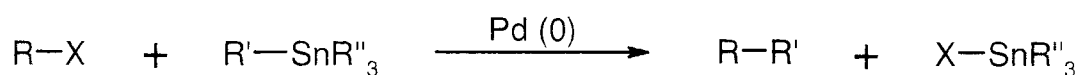
Estas reacções de acoplamento fazem uso de uma variedade de agentes de transmetalacão, tais como, reagentes de organoboro (Miyaura & Suzuki, 1995; Suzuki, 1998), organomagnésio (Yamamura *et al.*, 1975; Tamao *et al.*, 1972; Sekia *et al.*, 1976), organosilício (Hatanaka & Hiyama, 1991), organoestanho (Stille, 1986; Mitchell, 1998) e organozinco (Erdik, 1992).

Numa área relativamente pequena, os acoplamentos, mediados por paládio e níquel, entre haletos de arilo e aminas tem atraído um grande interesse, devido à sua importância em síntese orgânica e na ciência dos materiais (Wolfe *et al.*, 1998; Hartwig, 1997, 1998a, 1998b; Yang *et al.*, 1999).

Nos últimos anos tem-se registado um enorme progresso no desenvolvimento de novos métodos poderosos para a formação de ligações C-C. Este tipo de reacções, particularmente as catalisadas pelo paládio, têm contribuído substancialmente para este progresso (Tsuji, 1995).

6.1. Reacções de Stille

A reacção de Stille é um tipo de reacção de acoplamento cruzado utilizada para a formação eficiente de ligações C-C. Estas reacções, catalisadas pelo paládio, envolvem haletos (e também acetatos e triflatos - OTf) orgânicos, **RX** e um reagente orgânico de estanho, do tipo **R'SnR''₃** (figura 23) (Milstein & Stille, 1978; Stille, 1985, 1986; Mitchell, 1998).



R = aril, vinil, acil

X = Cl, I, Br, OTf (Tf=CF₃SO₂⁻)

R' = aril, alquenil, alquinil, alquil, alil, vinil, benzil

R'' = Me, *n*Bu

Figura 23. Esquema geral da reacção de Stille

Nas reacções de Stille podem ser utilizadas diferentes condições experimentais (Farina *et al.*, 1994; Allred & Liebeskind, 1996; Han *et al.*, 1999; Littke *et al.*, 1999, 2002; Kim *et al.*, 2002; Hillier *et al.*, 2002), das quais se destacam:

- Catalisadores: Pd(PPh₃)₄, Pd₂(dba)₃, Pd(OAc)₂, Pd(PPh₃)₂Cl₂;
- Ligandos de suporte (fosfinas): P(*t*-Bu)₃, PPh₃;
- Aditivos: CuI(I), CuCl(I)/LiCl, CsF;
- Solventes: Dioxano, THF, NMP, DMF, DMSO, entre outros.

O mecanismo aceite para as reacções de Stille catalisadas pelo paládio encontra-se apresentado na figura 24 (Stille, 1986).

No primeiro passo ocorre uma adição oxidativa, em que o composto RX liga-se à espécie cataliticamente activa, estabilizada por dadores de electrões e/ou ligandos volumosos, formando um complexo de paládio (II) *cis* que é rapidamente isomerizado ao complexo *trans*. De seguida, ocorre uma etapa de transmetalção (determinante na velocidade da reacção), entre este complexo de Pd(II) e o reagente de organoestanho (R'SnR''₃), em que o haleto X é removido como XSnR''₃, formando o intermediário divalente RPd(II)L_nR'. Este complexo sofre uma eliminação redutiva, que dá origem ao composto pretendido (RR') e regenera a espécie de paládio(0).

A reactividade dos grupos R' do reagente de estanho, ou seja, a etapa de transmetalção, segue a seguinte ordem: alquinil > alquenil > aril > alil = benzil > alquil.

Assim, uma escolha apropriada de ligandos de suporte pode afectar as etapas de adição oxidação e de eliminação redutiva, pela estabilização preferencial do centro metálico nos diferentes estágios do ciclo catalítico.

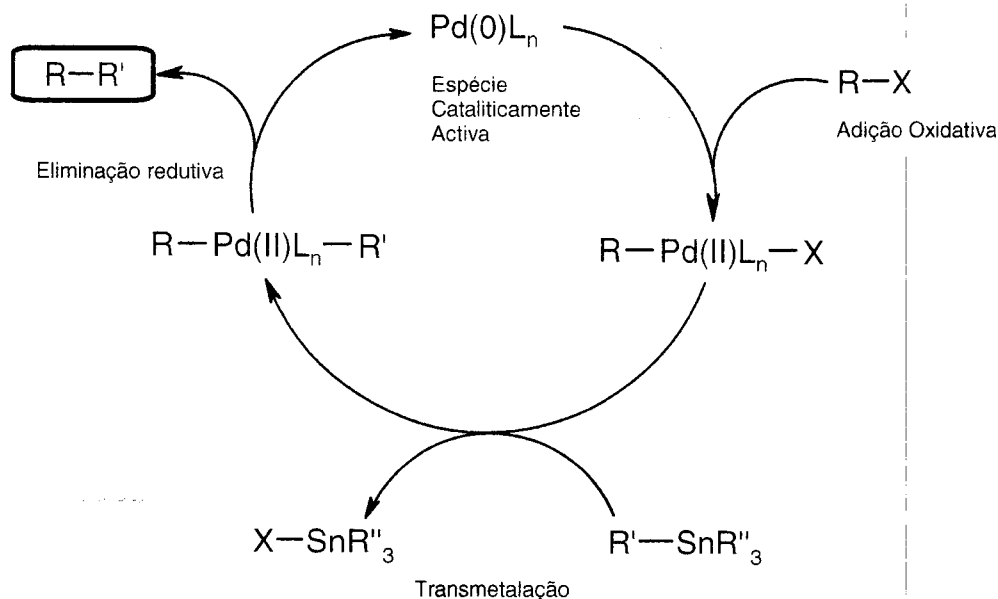


Figura 24. Representação esquemática do ciclo catalítico para a reacção de Stille

As fosfinas terciárias são ligandos de suporte volumosos dadores de electrões, sendo geralmente empregues a sistemas de acoplamento, principalmente, quando o catalisador de paládio utilizado na reacção não contém ligandos dadores de electrões. As fosfinas coordenam-se ao catião metálico pelo seu par de electrões não compartilhados (monodentadas) estabilizando os intermediários reactivos. Embora, estes ligandos ajudem no controlo da reactividade e na selectividade da química organometálica, e na catálise homogénea, usualmente requerem um manuseamento inerte para prevenir a oxidação. Além disso, as fosfinas estão sujeitas à degradação da ligação P—C a elevadas temperaturas, resultando, em certos processos catalíticos, na desactivação da catalisador, sendo assim necessário recorrer a maiores concentrações de fosfina (Hillier *et al.*, 2002).

Os aditivos podem ou não ser adicionados ao sistema. A sua utilização tem como objectivo activar o reagente de estanho, resultando num aumento da sua reactividade e consequentemente da velocidade da reacção. Segundo Han *et al.*, (1999) a aceleração da

reacção de Stille na presença de CuCl(I) , pode ser explicada pela intervenção do respectivo catião (Cu^+) na etapa da transmetalacão (passagem de R'Sn a R'Cu(I)) e na subsequente aceleração do acoplamento do $\text{RPd(II)L}_n\text{X}$ com o intermediário R'Cu(I) . Segundo Littke *et al.*, (1999) os aditivos constituídos por fluoretos fazem acelerar as reacções de Stille, pois facilitam a transmetalacão do estanho para o paládio.

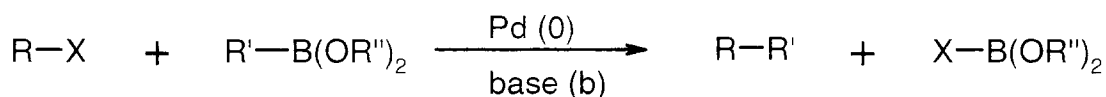
Reacções de Stille efectuadas entre diversos cloretos (e brometos) de arilo e vários compostos de organoestanho demonstraram que o uso do sistema catalítico $\text{Pd}_2(\text{dba})_3/\text{P}(t\text{-Bu})_3$ e do aditivo CsF levava a um acoplamento eficiente e ao maior rendimento da reacção (Littke *et al.*, 1999; Littke *et al.*, 2002).

Em síntese orgânica as reacções de Stille tem encontrado muitas aplicações, devido ao seu espectro de acção alargado contra muitos grupos funcionais. Esta reacção tem sido usada com reagentes em sólidos de suporte (Franzén, 2000), assim como em líquidos iónicos (Handy & Zhang, 2001).

A principal contrapartida das reacções de Stille deve-se à toxicidade dos compostos de estanho usados e a sua baixa polaridade, o que os torna fracamente solúveis em água.

6.2. Reacções de Suzuki

A reacção de Suzuki é outro tipo de reacção de acoplamento cruzado, muito versátil, extensivamente usada na síntese de produtos naturais e é um método poderoso de formação de ligações C-C. Esta reacção, também catalisada pelo paládio, ocorre na presença de uma base, entre haletos (e também triflatos) orgânicos, RX e um reagente orgânico de boro, tipicamente, R'B(OR'')_2 , que pode ser um ácido borónico se R''=H , ou um éster borónico se $\text{R''}\neq\text{H}$ (figura 25) (Miyaura & Suzuki, 1979, 1995; Miyaura *et al.*, 1979; Suzuki, 1998).



R = alquil, vinil, aril

X = Cl, I, Br, OTf

R' = alquil, vinil, aril

Figura 25. Esquema geral da reacção de Suzuki

Tal como nas reacções de Stille, as condições das reacções de Suzuki podem variar (Ishiyama *et al.*, 1991; Littke *et al.*, 1998; Miyaura & Suzuki, 1995; Suzuki, 1999), sendo as mais comuns:

- Catalisadores: $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$;
- Fosfinas: $\text{P}(t\text{-Bu})_3$, PPh_3 , $\text{P}(o\text{-tol})_3$, PCy_3 ;
- Bases: NaOH , Na_2CO_3 , K_2CO_3 , NEt_3 , K_3PO_4 , Cs_2CO_3 ;
- Solventes: Dioxano, THF, NMP, DMF, DMSO, entre outros.

O mecanismo postulado para as reacções de Suzuki catalisadas pelo paládio é muito semelhante ao apresentado para as reacções de Stille (Miyaura & Suzuki, 1995) (figura 26). Na reacção de Suzuki o reagente orgânico de boro tem de ser activado com uma base. A activação do átomo de boro (pelo anião da base) aumenta a polarização do ligando orgânico e facilita a transmetalacão.

Assim, a espécie de paládio(0) sofre uma adição oxidativa com o composto RX para formar o complexo $\text{RPd(II)L}_n\text{X}$ *cis* que, tal como na reacção de Stille, é rapidamente isomerizado ao respectivo complexo *trans*. Segue-se a etapa de transmetalacão entre o complexo $\text{RPd(II)L}_n\text{X}$ e o reagente organoboro activado $\text{R'B}^-(\text{OR}'')_2\text{b}$. O haleto X é removido como $\text{XB}^-(\text{OR}'')_2\text{b}$, formando o intermediário divalente $\text{RPd(II)L}_n\text{R}'$. Este complexo sofre uma eliminação redutiva, que dá origem ao composto pretendido (RR') e regenera a espécie de paládio(0).

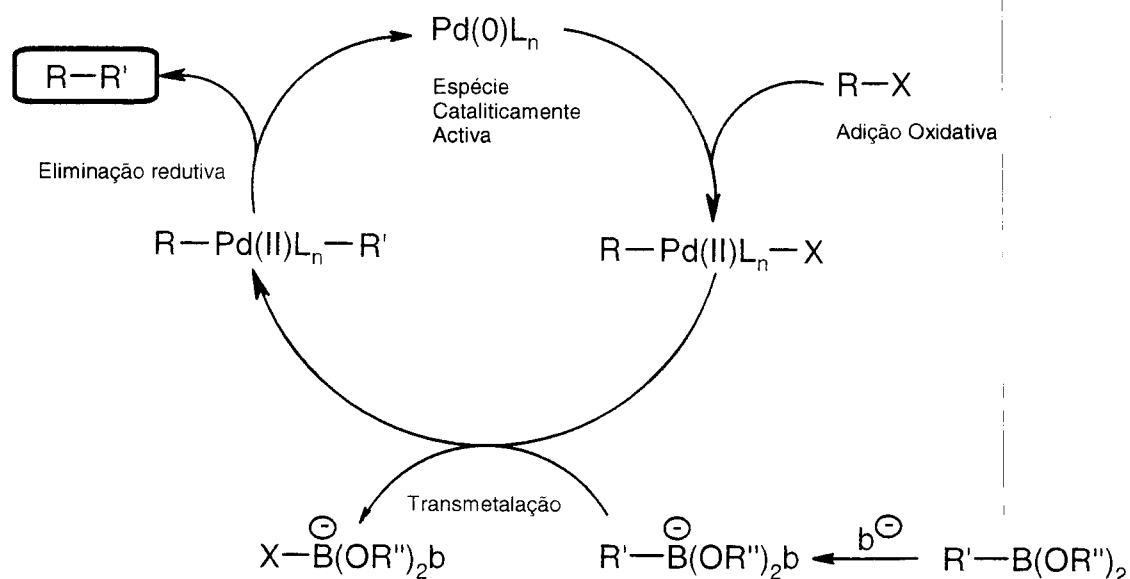


Figura 26. Representação esquemática do ciclo catalítico para a reacção de Suzuki

Igualmente as reacções de Suzuki efectuadas entre diversos cloretos de arilo e vários reagentes de ácido borónico, demonstraram que o uso de $P(t\text{-Bu})_3$ como ligando para o catalisador de paládio $Pd_2(dba)_3$ e o uso de Cs_2CO_3 , para activar o reagente orgânico de boro, revelaram ser a fosfina e a base, respectivamente, mais eficientes no sistema estudado (Littke *et al.*, 1998).

As principais vantagens das reacções de Suzuki são:

- a estabilidade dos reagentes de boro, pelo facto de serem cristalinos, fáceis de manusear, termicamente estáveis, não tóxicos e relativamente inertes à água e ao oxigénio;
- disponibilidade de um grande número de compostos de boro obtidos através de diferentes estratégias de síntese (facilmente preparados e separados do produto desejado);
- tolerância para diferentes grupos funcionais;
- condições experimentais simples;

Por todas as vantagens acima enunciadas, existe actualmente por parte da comunidade científica um grande interesse nas aplicações da reacção de Suzuki, sendo constantemente descritos novos desenvolvimentos e refinamentos.

7. Desprotecção dos grupos hidroxilo de funções fenóis

A desprotecção de grupos hidroxilo de compostos fenólicos deverá ser feita em condições suaves de temperatura e em meio neutro ou ligeiramente ácido, para evitar uma eventual degradação dos produtos polifenólicos resultantes.

Na literatura é possível encontrar vários métodos de desprotecção para diferentes grupos protectores.

Os grupos metilo de álcoois alifáticos e alicíclicos são usualmente removidos por ácidos de Lewis. Os reagentes tipicamente usados incluem:

- TMSI em $CHCl_3$, CH_2Cl_2 (Jung & Lyster, 1988);
- MeCN e o BBr_3 em CH_2Cl_2 (McOmie *et al.*, 1973; Vickery *et al.*, 1979);
- $BF_3 \cdot EtO_2$ na presença de etanoditiol (Node *et al.*, 1976; Grieco *et al.*, 1980);

Relativamente aos grupos benzilos, a maior parte dos métodos de remoção propostos fazem referência às hidrogenações catalíticas. Estas diferenciam-se pela natureza do catalisador, da fonte de hidrogénio, do solvente e da temperatura de reacção. O catalisador de paládio sobre carvão (Pd/C) é muitas vezes utilizado. No entanto, desbenzilação não é total qualquer que seja a fonte de hidrogénio: H₂ (Kawamoto *et al.*, 1990; Kawamoto *et al.*, 1993; Kawamoto *et al.*, 1991; Büchi *et al.*, 1971), 1,4-ciclohexadieno (Felix *et al.*, 1978) e ácido acético (Deme, 1976), e a natureza do solvente: dioxano (Kawamoto *et al.*, 1990), etanol-THF (Yoneda *et al.*, 1997) e metanol. Os melhores resultados foram obtidos utilizando outro tipo de catalisador, o catalisador de Pearlman sobre carvão, Pd(OH)₂/C. Diferentes sistemas de solventes forem utilizados para desproteger procianidinas benziladas sob atmosfera de hidrogénio na presença do catalisador Pd(OH)₂/C: acetato de etilo/metanol (Tückmantel *et al.*, 1999, Kozikowski *et al.*, 2001) e THF/metanol/água (Saito *et al.*, 2002; Kozikowski *et al.*, 2003; Saito *et al.*, 2003; Arnaudinaud *et al.*, 2001) na proporção de 20:20:1.

Outro tipo de métodos de desprotecção dos grupos benzilos descritos na literatura assentam nas seguintes condições:

- BBr₃ em CH₂Cl₂ (McOmie *et al.*, 1973; Punna *et al.*, 2004; Paliakov *et al.*, 2004);
- Na em *t*-BuOH (Loev *et al.*, 1956);
- BF₃.Et₂O em EtSH (Fuji *et al.*, 1979);
- Me₃SiI em CH₃CN (Lott *et al.*, 1979);
- 2-bromo-1,3,2-benzodioxoborolano em CH₂Cl₂ (King *et al.*, 1985).

Em relação aos grupos acetilos, pode-se encontrar na literatura métodos clássicos de desprotecção de acetatos aromáticos que assentam em condições ácidas, básicas ou por hidrogenólise. Alguns desses métodos propostos utilizam os seguintes reagentes:

- NaHCO₃ (aq) em MeOH (Büchi *et al.*, 1971);
- 3N HCl em acetona (Haslam *et al.*, 1964);
- NH₃ (aq) (Haslam *et al.*, 1964);
- Zn em MeOH (González *et al.*, 1981);
- NH₄OAc em MeOH (aq) (Ramesh *et al.*, 2003);
- KOH em MeOH (Khurana *et al.*, 2004).

No que diz respeito aos grupos sililos, encontram-se numerosos métodos para remover estes grupos protectores. A maior parte deles são baseados na remoção por ácido, base e

por fluoreto. Algumas condições empregues para a desprotecção do grupo *terc*-butildimetilsililo (TBDMS) utilizam os seguintes reagentes:

- Ácido acético/água/tetrahidrofurano (3:1:1) (Corey *et al.*, 1972);
- Fluoreto de tetrabutylamónio (TBAF) em THF (Corey *et al.*, 1972);
- HF (aq)/NaF em THF (Kendall *et al.*, 1979);
- BF₃ eterado em clorofórmio (Kelly & Roberts, 1979);
- Ácido fluorsilícico (aq) (Pilcher *et al.*, 1993);
- Hidrogenação por transferência catalítica (Cormier *et al.*, 1991);
- HBr 48% (aq)/KF em DMF (Sinhbabu *et al.*, 1988);
- HBr 33% em ácido acético/KF anidro em DMF anidro (Suleman *et al.*, 2001).

Segundo Suleman *et al.*, (2001), a presença de uma ligação dupla com um grupo hidroxilo em posição *para*, torna este tipo de moléculas (sensíveis à oxidação) particularmente susceptíveis de sofrerem reacções de polimerização catalisadas por ácidos e bases. Este autor defende que as desprotecções deste tipo de compostos realizadas em condições aquosas e com longos tempos de reacção (Sinhbabu *et al.*, 1988) poderão ser determinantes para a rápida polimerização observada. Os iões fluoreto são solvatados pela água e a sua basicidade e reactividade são consideravelmente reduzidas. Assim, uma estratégia lógica seria fazer a reacção em condições não-aquosas.

DESCRIÇÃO DO TRABALHO

Neste trabalho desenvolveu-se uma estratégia de síntese para a obtenção da 8-vinil-catequina. A estratégia adoptada envolveu quatro etapas: primeiro começou-se por proteger os grupos hidroxilo da (+)-catequina, de seguida efectuou-se a reacção de bromação da (+)-catequina protegida na posição 8, posteriormente fez-se a substituição nucleófila do bromo pelo grupo vinilo, através de reacções de Stille e de Suzuki, e por fim procedeu-se à desprotecção dos grupos hidroxilos da (+)-catequina (figura 27).

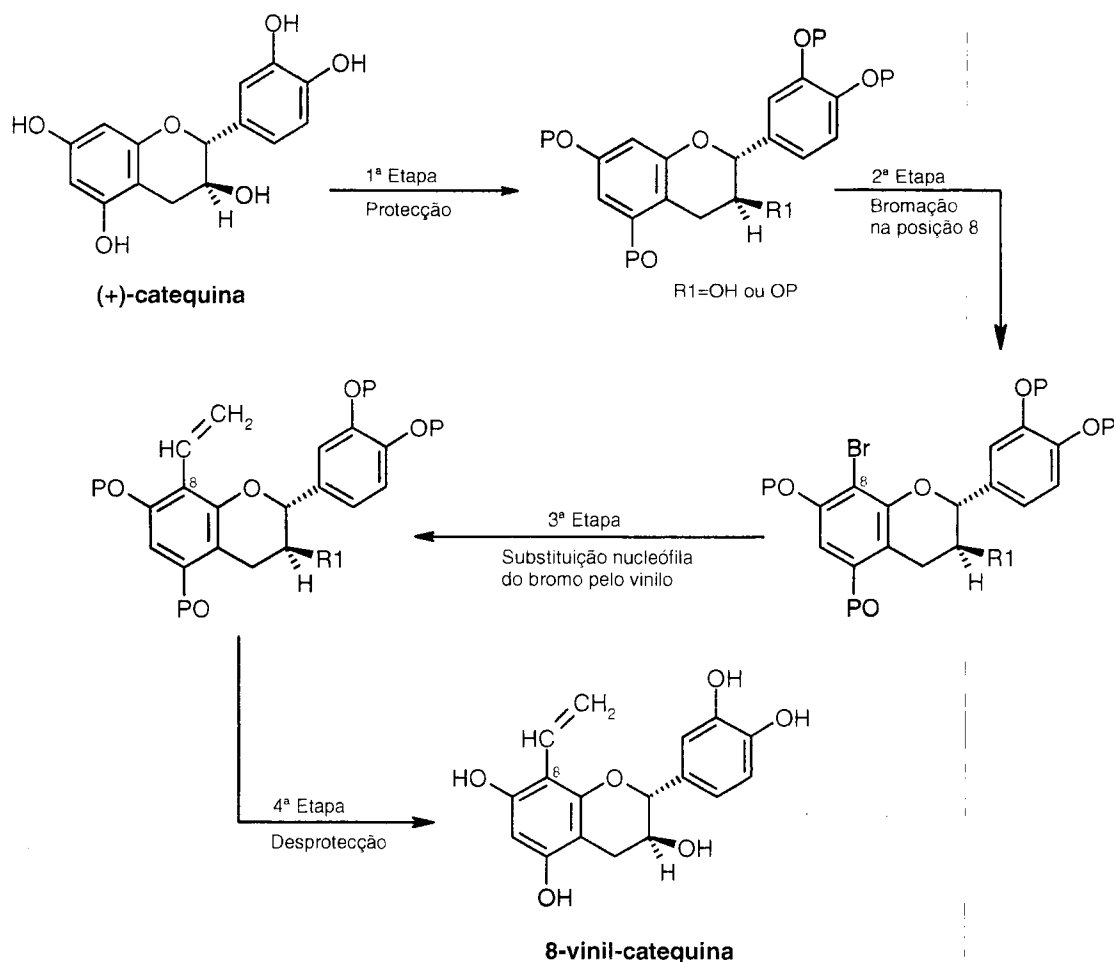


Figura 27. Esquema da estratégia de síntese adoptada para a obtenção da 8-vinil-catequina

PARTE EXPERIMENTAL

1. Reagentes e solventes

Na tabela seguinte apresentam-se todos os reagentes usados na execução do trabalho experimental bem como o respectivo grau de pureza e marca.

Tabela 1. Descrição do grau de pureza e marca dos reagentes utilizados

<i>Reagentes</i>	<i>Grau de pureza (%)</i>	<i>Marca</i>
(+)-Catequina	98	Sigma
K ₂ CO ₃ anidro	≥ 99,0	Fluka
BnBr	98	Aldrich
Anidrido acético	p.a.	Merck
TBDMS-Cl	97	Aldrich
NBS	—	Sigma
TBVE	97	Aldrich
TMVDB	95	Aldrich
CsF	99,9	Aldrich
Pd(OAc) ₂	98	Aldrich
[Pd(PPh ₃) ₄]	99	Aldrich
[Pd ₂ (dba) ₃]	—	Aldrich
P(<i>t</i> -Bu) ₃	90	Aldrich
Cs ₂ CO ₃ anidro	99,9	Aldrich
Pd/C 10%	—	Aldrich
PdCl ₂	99	Aldrich
BBr ₃	≥ 99,0	Fluka
TBAF (aq) 75%	—	Aldrich
HF (aq) 48%	99,99	Aldrich
NaF	—	Merck
KF anidro	99	Aldrich
HBr 33% em AcOH	—	Fluka

Os solventes anidros utilizados nas reacções foram purificados segundo os procedimentos descritos em “*Vogel's textbook of practical organic chemistry 5th ed.*” e secos por destilação sobre um agente secante, em atmosfera de árgon antes de serem usados. Os agentes secantes empregues foram o sódio ou o potássio com benzofenona para o tetrahydrofurano, pentóxido de fósforo para o diclorometano e o acetonitrilo e hidróxido de potássio para a trietilamina e a piridina.

2. Técnicas cromatográficas e de identificação estrutural

2.1. Cromatografia em camada fina (TLC)

Para monitorizar a evolução das reacções e verificar a pureza dos compostos sintetizados recorreu-se à técnica de TLC, utilizando-se placas de alumínio recobertas com gel de sílica (fase reversa) Merck tipo 60 F₂₅₄ e sensíveis à luz ultravioleta (U.V.) no comprimento de onda (λ) de 254nm. Os cromatogramas foram revelados por irradiação com luz UV, λ =de 254nm (lâmpada U.V.: CN-6 da *Vilber Lourmat*) e em câmara com vapores de iodo.

2.2. Cromatografia líquida em coluna de vidro (CC)

Alguns dos compostos sintetizados foram purificados usando a técnica de CC. A fase estacionária utilizada foi gel de sílica chromagel 60 A da SDS (granulometria – 35-70 μ m, pH=7 e superfície mássica – 550m²/g), tendo sido previamente suspensa no eluente (fase móvel) ou na mistura de eluentes a usar. A eluição e recolha de fracções de eluato foram realizadas manualmente.

Os derivados bromados da (+)-catequina sintetizados foram fraccionados recorrendo à técnica de CC (250×25mm i.d.), usando como fase estacionária o gel TSK Toyopearl HW-40(S). A coluna de vidro encontrava-se ligada a uma bomba peristáltica por um sistema de dois pistões (superior e inferior) que faziam circular uma solução metanol/água (65:35 v/v), como eluente, com um fluxo de 0.7-0.8 mL/minuto. O fraccionamento dos derivados bromados da (+)-catequina foi seguido por detecção a 280nm usando um detector UV-Vis (GILSON) ligado a um registador (SUPELCO SP4290 Integrator). Deste modo, recolheram-se separadamente os picos e registou-se os respectivos tempos de retenção. O primeiro pico (impureza) foi recolhido ao fim de 1h de eluição, ao fim de cerca de 3h recolheu-se a (+)-catequina, ao fim de sensivelmente 4h recolheu-se o monobromado de (+)-catequina, ao fim de 5h de eluição recolheu-se o dibromado de (+)-catequina e passadas 9 horas de eluição começou-se a recolher o tribromado de (+)-catequina. O metanol contido nas fracções correspondentes aos picos mono- e di-bromado de (+)-catequina foi evaporado sob pressão reduzida a 35°C num evaporador rotativo *Heidolph LABOROTA 4001*. Adicionou-se água e manteve-se a -18°C até serem liofilizados.

2.3. Cromatografia líquida de alta pressão (HPLC)

Utilizou-se um equipamento de cromatografia líquida de alta pressão *Lachrom Merck Hitachi* (Merck, Darmstadt, Alemanha) constituído por uma interface Merck D-7000, um detector DAD Merck L-7450A, um forno para colunas Merck L-7360, uma bomba Merck L-7100 e um desgaseificador de solventes Merck L-7612. O controlo, aquisição e tratamento de dados cromatográficos foram efectuados através do software *HSM D-7000* (Merck, Darmstadt, Alemanha). Injectou-se directamente 20µL numa coluna Merck, *Lichrospher*, de fase reversa C18 ODS (150×4.6mm i.d.). Os cromatogramas foram obtidos a 280nm. A temperatura do forno encontrava-se a 25°C. Os solventes ou eluentes utilizados nestas análises foram: solvente A – 1% de ácido fórmico em água (v/v) e solvente B - acetonitrilo. A eluição decorreu com um fluxo de 0.5mL/minuto e segundo um gradiente que se apresenta a seguir:

Tabela 2. Programa de eluição utilizado para a análise por HPLC

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Solvente A (%)</i>	<i>Solvente B (%)</i>
0,0	90	10
50,0	65	35

2.4. Cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massa (LC/MS)

Utilizou-se um equipamento de cromatografia líquida da série *Finnigan Surveyor* equipado com um detector de massa *Finnigan LCQ DECA XP MAX* (Finnigan Corp., San José, Calif., USA) e com uma fonte API (*Atmospheric Pressure Ionization*) usando uma interface ESI (*ElectroSpray Ionization*). Foram injectados 20µL de amostra numa coluna de C18 fase reversa (150×4.6mm i.d., 5 µm) *LicroCART[®]*. A temperatura do forno encontrava-se a 25°C. As outras condições de análise seleccionadas foram:

- Temperatura capilar – 275 °C
- Voltagem capilar – 4 V
- Gás auxiliar/*sheath* – mistura de azoto e hélio
- Detecção – os espectros foram obtidos no modo de ião positivo no intervalo de *m/z* entre 120 e 1500; o espectrómetro de massa foi programado para realizar uma série de três scans: uma análise de massa total (MS), um scan com zoom

do íão mais intenso da primeira análise (MS^2), e um scan MS-MS do íão mais intenso usando energias de colisão relativas de 30 e 60% (MS^3).

Os solventes ou eluentes utilizados nestas análises foram: solvente A - 1% de ácido fórmico em água (v/v) e solvente B - acetonitrilo. A eluição decorreu com um fluxo de 0.5mL/minuto e segundo um gradiente que se apresenta a seguir:

Tabela 3. Programa de eluição utilizado para a análise por LC/MS

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Solvente A (%)</i>	<i>Solvente B (%)</i>
0,0	90	10
50,0	65	35

2.5. Ressonância Magnética Nuclear (RMN) mono- e bi-dimensional

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de próton (RMN- ^1H -300MHz) foram registados num aparelho Bruker AMX-300, à temperatura ambiente em clorofórmio deuterado ($CDCl_3$) e usando o sinal do tetrametilsilano (TMS) como padrão interno.

Foram ainda obtidos espectros de RMN de ^1H (500.13 MHz) e de ^{13}C (125.76 MHz) em clorofórmio deuterado ($CDCl_3$) e em metanol deuterado (CD_3OD) num espectrómetro Bruker-AMX500a 303 K e usando TMS como padrão interno. Os desvios químicos de ^1H foram atribuídos usando RMN 1D e 2D (COSY), enquanto que as ressonâncias de ^{13}C foram atribuídos usando técnicas de RMN 2D (HMBC e HSQC).

3. Recristalização da N-bromo-succinimida (NBS)

Para um matraz esmerilado de 100mL foram adicionados 2g de NBS e aproximadamente 10mL de ácido acético (AcOH) glacial. Adaptou-se um condensador de ar ao matraz esmerilado e solubilizou-se o NBS a quente recorrendo a uma lamparina. Deixou-se arrefecer o matraz e manteve-se em repouso até ao dia seguinte. Os cristais amarelos de NBS formados foram filtrados em vácuo utilizando um funil de placa porosa G3, tendo sido lavados com hexano. Recuperaram-se cristais brancos de NBS.

4. Síntese da 3',4',5,7-tetra-*O*-benzil-catequina (Cat4Bn, 3)

Foram realizados diversos ensaios na tentativa de sintetizar o composto pretendido (3), de acordo com o procedimento descrito na literatura (Tarascou, 2005). No entanto, optou-se por descrever apenas o procedimento que levou a melhores resultados no que diz respeito ao rendimento da reacção e ao grau de pureza.

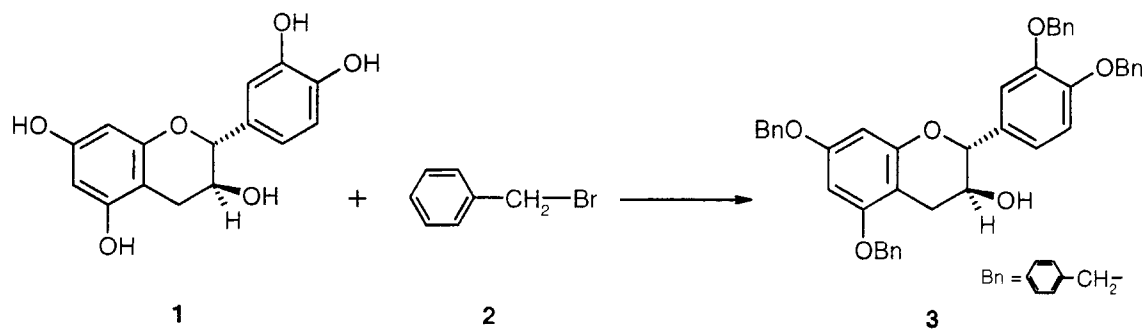


Figura 28. Reacção entre a (+)-catequina (1) e o brometo de benzilo (2)

Para um tubo de Schlenk de 250mL, colocado sob uma corrente de árgon e agitação magnética, foram adicionadas 2g (6,89mmol; 290,3g.mol⁻¹) de (+)-catequina (1) e 35mL de dimetilformamida (DMF) anidro. A esta solução, adicionou-se 5,71g (6eq; 41,3mmol; 138g.mol⁻¹) de carbonato de potássio (K₂CO₃) anidro (em pó) e de seguida 3,7mL (4,5eq; 31mmol; 171,0g.mol⁻¹) de brometo de benzilo (BnBr) (2). A solução foi agitada a 0°C durante 2 horas e depois à temperatura ambiente (T_{amb}) durante 48 horas. A reacção foi acompanhada por TLC usando como eluente o diclorometano (CH₂Cl₂). No final da reacção, foi feito o tratamento da mistura reaccional adicionando-se ao meio 100mL de acetato de etilo (AcOEt). A solução foi transferida para um funil de separação tendo sido lavada e extraída com uma solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) (3×100mL). Após separação das fases, secou-se a fase orgânica com sulfato de magnésio (MgSO₄) anidro, filtrou-se a solução por gravidade usando um filtro de pregas e eliminou-se o solvente num evaporador rotativo sob vácuo. Obteve-se um óleo amarelo escuro (m=4,82g) que correspondia a uma mistura de produtos (verificado por TLC). De seguida, o óleo obtido foi purificado por cromatografia em coluna (CC) de gel de sílica (100g) (eluente – 100% CH₂Cl₂). Recolheram-se as primeiras fracções e isolou-se a mancha mais intensa. Essas fracções foram evaporadas até à secura,

obtendo-se um sólido esbranquiçado ($m=2,04\text{g}$; $\eta=46\%$) que, por análise RMN- ^1H , revelou ser a Cat4Bn (3).

5. Síntese da 3',4',5,7-tetra-*O*-benzil-8-bromo-catequina (8-BrCat4Bn, 5)

Nesta síntese adoptou-se um procedimento descrito na literatura por Tarascou (2005).

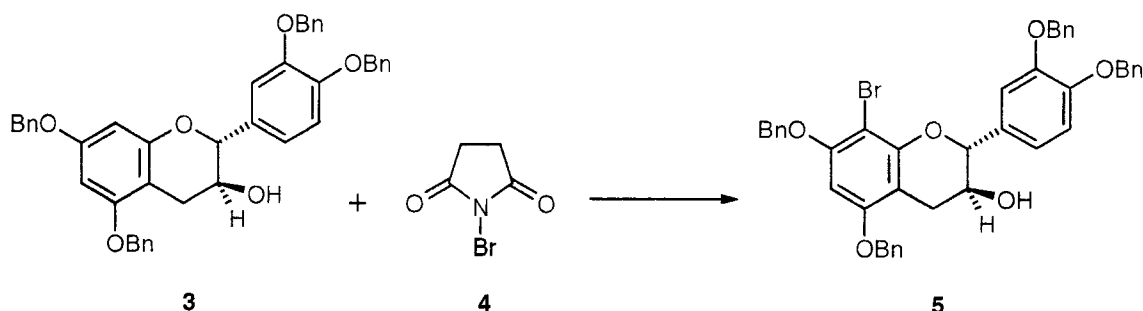


Figura 29. Reacção entre a Cat4Bn (3) e a *N*-bromo-succinimida (4)

Para um balão de 3 tubuladuras (100mL), colocado sob uma corrente de árgon, agitação magnética e num banho a -78°C (acetona e azoto líquido), foram adicionadas 1,39g (2,14mmol; $650,3\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) de Cat4Bn (3) e 15,2mL de CH_2Cl_2 anidro. Em seguida, foram dissolvidos 381,5mg (2,14mmol; $178\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) de NBS (4) recristalizado em 11,4mL de CH_2Cl_2 anidro e adicionados lentamente à solução por meio de uma ampola de adição (5 minutos). A mistura reaccional foi agitada à T_{amb} durante 8 horas. A reacção foi acompanhada por TLC usando como eluente o CH_2Cl_2 . No final da reacção, adicionou-se ao balão 76mL de AcOEt e a mistura reaccional foi lavada e extraída com uma solução saturada de cloreto de sódio ($3\times 76\text{mL}$). Após separação das fases, secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio (Na_2SO_4) anidro e filtrou-se a solução. Verificou-se a presença de apenas uma mancha no TLC. Evaporou-se o solvente até à secura num evaporador rotativo, tendo-se obtido um sólido amarelo claro ($m=1,49\text{g}$; $\eta=95\%$). A análise directa no espectrómetro de massa e posteriormente por espectroscopia RMN- ^1H confirmou tratar-se da 8-BrCat4Bn (5).

6. Síntese da 3,3',4',5,7-penta-*O*-acetil-8-bromo-catequina (8-BrCat5Ac, 8)

De seguida, descrevem-se dois métodos para a tentativa de síntese do derivado bromado pentacetilado da (+)-catequina. Pelo método A (figura 30) não se conseguiu obter o produto em questão, enquanto que o método B (figura 31) revelou ser eficaz na síntese da 8-BrCat5Ac (8).

6.1. Método A – Acetilação da (+)-catequina seguida de bromação

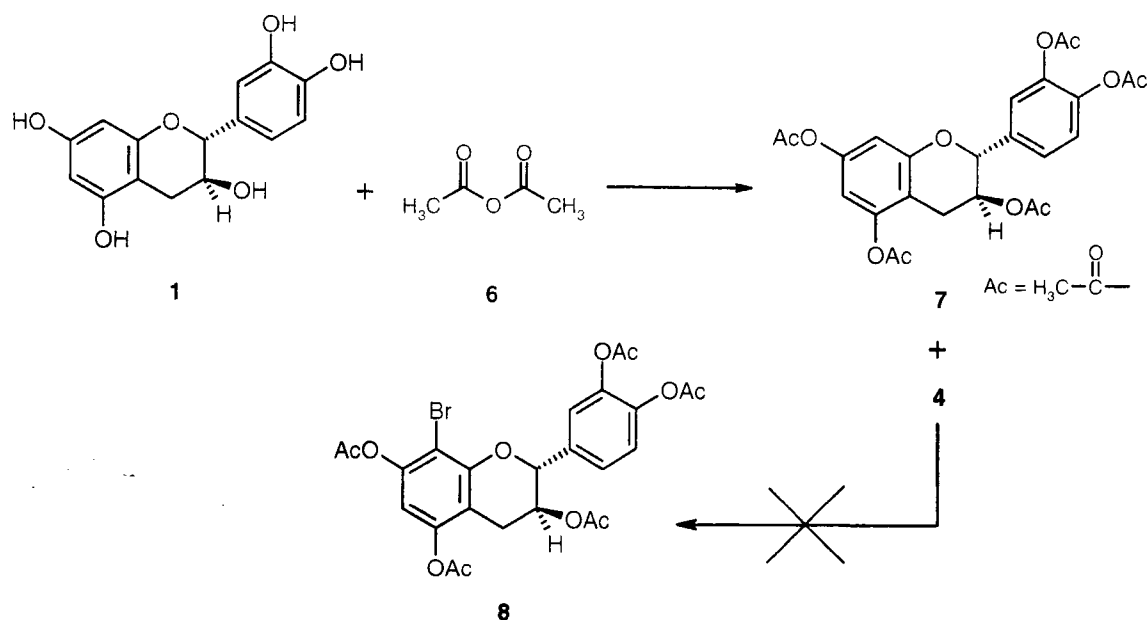


Figura 30. Reacção entre a (+)-catequina (1) e o anidrido acético (6) seguida da reacção entre a Cat5Ac (7) e a *N*-bromo-succinimida (4)

6.1.1. Síntese da 3,3',4',5,7-penta-*O*-acetil-catequina (Cat5Ac, 7)

Para um balão de 3 tubuladuras (100mL), colocado sob uma corrente de árgon e num banho de gelo, foram adicionadas 2g (6.89mmol) de (+)-catequina (1) e 35mL de CH_2Cl_2 anidro, sob agitação magnética. A esta solução, adicionou-se 14.4mL (15eq; 103,4mmol; 79,1g.mol⁻¹) de piridina anidro e uma microespátula de 4-dimetilaminopiridina (DMAP). Em seguida, foi adicionado ao meio reaccional 10mL (15eq; 103,4mmol; 102,1g.mol⁻¹) de anidrido acético (6) gota a gota, através de uma ampola de adição. A solução foi agitada à temperatura ambiente e ao abrigo da luz durante 24 horas. A reacção foi acompanhada por TLC usando como eluente uma mistura de $\text{AcOEt}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1:10. No final da reacção, procedeu-se ao tratamento da

mistura reaccional adicionando-se ao meio 100mL de AcOEt. A solução foi transferida para um funil de separação tendo sido lavada e extraída com água desionizada ($3 \times 100\text{mL}$). Após separação das fases, secou-se a fase orgânica com MgSO_4 anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente sob vácuo. Obteve-se um óleo amarelado, o qual foi ressuspendido em metanol (MeOH). Evaporou-se o solvente à secura num evaporador rotativo e obteve-se um sólido amarelado ($m=2.77\text{g}$; $\eta=80\%$) que, por análise de RMN- ^1H , confirmou ser a Cat5Ac (7). Este procedimento foi adaptado da literatura (McGraw *et al.*, 1982; Kolodziej *et al.*, 1984).

6.1.2. Bromação da Cat5Ac (7) na posição 8

Para um balão de 3 tubuladuras (100mL), colocado sob uma corrente de árgon, agitação magnética e num banho frio a -78°C , foram adicionadas 1,4g (2,80mmol; $500,3\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) de Cat5Ac (7) e 19,9mL de CH_2Cl_2 anidro. Em seguida foram adicionados lentamente à solução, por meio de uma ampola de adição (5 minutos), 499mg (2,80mmol) de NBS (4) recristalizado dissolvido em 14,9mL de CH_2Cl_2 anidro. No final retirou-se o banho frio e a mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 8 horas. A reacção foi acompanhada por TLC usando como eluente uma mistura de AcOEt: CH_2Cl_2 1:10. No final da reacção, adicionou-se ao balão 100mL de AcOEt e a mistura reaccional foi lavada e extraída com uma solução saturada de cloreto de sódio ($3 \times 100\text{mL}$). Após separação das fases, secou-se a fase orgânica com Na_2SO_4 anidro, filtrou-se a solução e evaporou-se o solvente até à secura. O sólido amarelo escuro obtido ($m=1.32\text{g}$) foi analisado por espectroscopia de RMN- ^1H , verificando-se que não se tratava do composto pretendido, ou seja, da 8-BrCat5Ac (8), mas sim do material de partida – Cat5Ac (7). Este método foi adaptado de Tarascou (2005) para a bromação da Cat4Bn.

6.2. Método B – Bromação da (+)-catequina seguida de acetilação

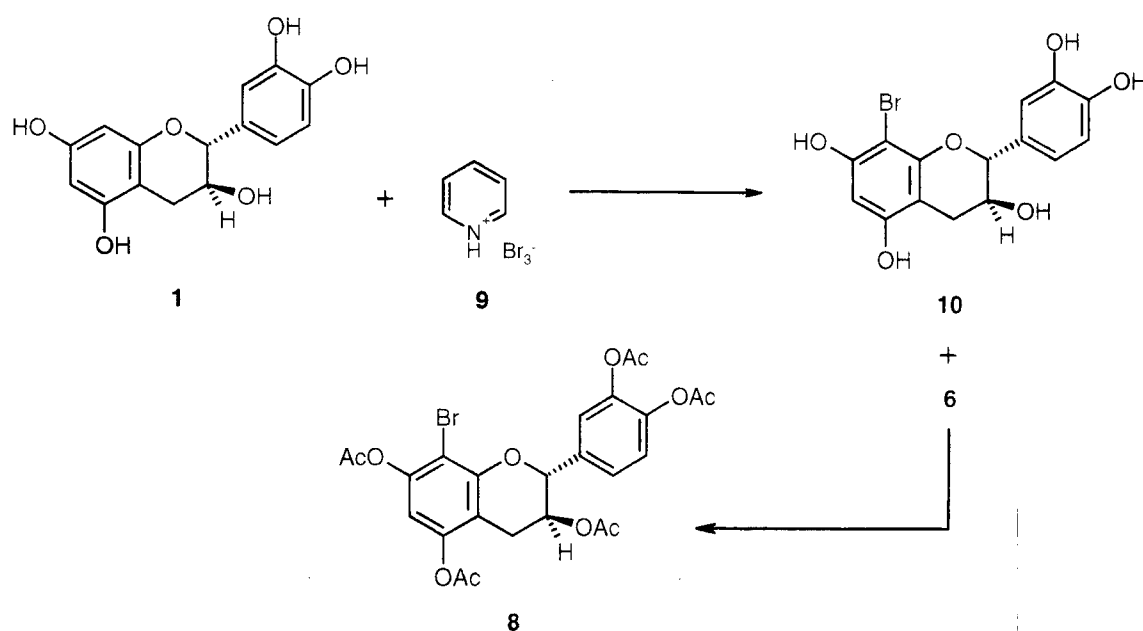


Figura 31. Reacção entre a (+)-catequina (1) e o tribrometo de piridina (9) seguida da reacção entre a 8-BrCat (10) e o anidrido acético (6)

6.2.1. Síntese da 8-bromo-catequina (8-BrCat, 10)

Para um matraz de 100mL, colocado sob uma corrente de argon, agitação magnética e num banho frio a -80°C , foram adicionadas 2g (6,89mmol) de (+)-catequina (1) e 20mL de tetrahydrofurano (THF). De seguida foram adicionadas lentamente à solução, 2,42g (1,1eq; 7,58mmol; $319,8\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) de tribrometo de piridina (9) dissolvido no mínimo volume possível de THF. A mistura reaccional foi agitada a -80°C durante 3 horas. A reacção foi acompanhada por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de díodos (HPLC/DAD). Terminada a reacção, adicionou-se à mistura reaccional 60mL de água desionizada e extraiu-se com AcOEt ($3\times 100\text{mL}$). Após separação das fases, secou-se a fase orgânica com Na_2SO_4 anidro e filtrou-se a solução por gravidade usando um filtro de pregas. Evaporou-se o solvente sob pressão reduzida até à secura. Obteve-se um sólido amarelado ($m=2,80\text{g}$) que revelou corresponder, por HPLC, a uma mistura de (+)-catequina e de 8-BrCat (10) na proporção de 1:7.

6.2.2. Síntese da 3,3',4',5,7-penta-*O*-acetil-8-bromo-catequina (8-BrCat5Ac, 8)

Para um balão de 3 tubuladuras (100mL), colocado sob uma corrente de argon e agitação magnética, foram adicionadas 6,50mmol ($369,2\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) de 8-BrCat (**10**) e 20mL de tetrahidrofurano (THF) anidro. A esta solução, adicionou-se 14,4mL (15eq; 103,4mmol; $101,2\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) de trietilamina (Et_3N) anidro. De seguida, foi adicionado ao meio reaccional 10mL (15eq; 103,4mmol) de anidrido acético (**6**) gota a gota, através de uma ampola de adição. A solução foi agitada à T_{amb} e ao abrigo da luz durante 24 horas. A reacção foi acompanhada por cromatografia em camada fina (TLC – sílica de fase reversa) usando como eluente uma mistura de $\text{AcOEt}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1:10. Finalizada a reacção, evaporou-se a Et_3N e o THF num evaporador rotativo sob vácuo e adicionou-se à mistura reaccional 100mL de água desionizada fria e extraiu-se com AcOEt ($3\times 100\text{mL}$). Após separação das fases, secou-se a fase orgânica com Na_2SO_4 anidro, filtrou-se a solução e eliminou-se o solvente num evaporador rotativo sob vácuo até à secura. Obteve-se um sólido de cor amarela ($m=3,02\text{g}$; $\eta=80\%$). A análise de RMN- ^1H confirmou tratar-se da 8-BrCat5Ac (**8**).

7. Síntese da 3,3',4',5,7-penta-*O*-*tert*-butildimetilsilil-catequina (Cat5Si, 12)

Nesta síntese foram adoptados métodos descritos na literatura para a protecção de outros compostos com o grupo TBDMS (Corey *et al.*, 1972; Kendall *et al.*, 1979).

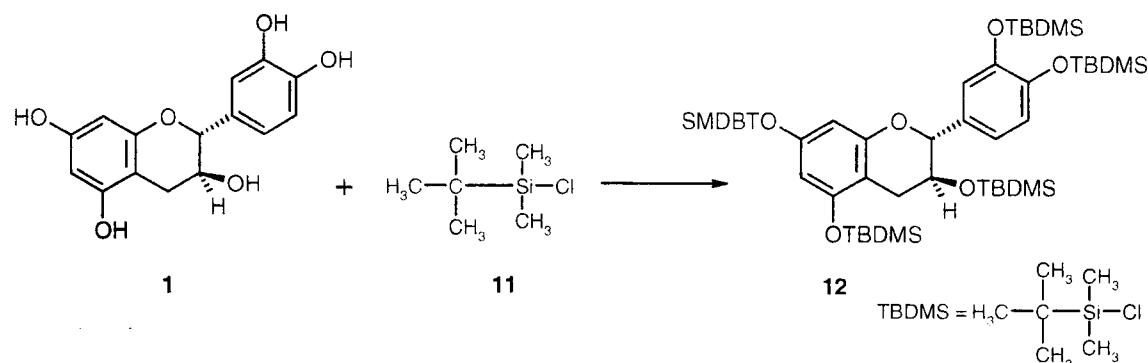


Figura 32. Reacção entre a (+)-catequina (1) e o *tert*-butildimetilclorosilano (11)

Para um balão de 2 tubuladuras (25mL), colocado sob uma corrente de argon e agitação magnética, foram adicionadas 0,5g (1,72mmol) de (+)-catequina (1) e 1,5mL de DMF anidro. A esta solução, adicionou-se 1,5g (12,5eq; 21,5mmol; $68,1\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) de imidazole e de seguida 1,6g (6eq; 10,3mmol; $150,7\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) de *tert*-butildimetilclorosilano (TBDMS-Cl) (11). A solução foi agitada à T_{amb} e ao abrigo da luz durante 24 horas. Adicionou-se um pequeno volume de tetrahidrofurano (THF) para solubilizar um sólido que se formara passado 3h horas da reacção se ter iniciado. A reacção foi acompanhada por TLC usando como eluente uma mistura de AcOEt:hexano 1:10. No final da reacção, a mistura reaccional foi diluída com 10mL de éter etílico (Et_2O). A solução foi transferida para um funil de separação tendo sido lavada e extraída com água desionizada ($3 \times 10\text{mL}$). Após separação das fases, secou-se a fase orgânica com Na_2SO_4 anidro, filtrou-se a solução e eliminou-se o solvente num evaporador rotativo sob pressão reduzida. Obteve-se um óleo de cor amarela escura ($m=1,29\text{g}$), verificando-se que correspondia a dois produtos (confirmado pela presença de duas manchas no TLC). A mistura foi purificada por cromatografia em coluna (CC) de gel de sílica (40g) (eluente – AcOEt:hexano 1:10) e os dois produtos foram isolados. As respectivas fracções foram evaporadas até à secura, obtendo-se sólidos brancos pastosos. Por análise directa no espectrómetro de massa, a mancha superior do TLC, revelou ser a da Cat5Si (12) ($m=927\text{mg}$; $\eta=63\%$), enquanto que o outro composto correspondia à (+)-catequina tetra-*O*-sililada ($m=343\text{mg}$; $\eta=27\%$).

8. Síntese da 3,3',4',5,7-penta-*O*-*tert*-butildimetilsilil-8-bromo-catequina (8-BrCat5Si, 13)

Para esta síntese foi adoptado o procedimento descrito por Tarascou (2005) para a bromação da Cat4Bn.



Figura 33. Reacção entre a Cat5Si (12) e a *N*-bromo-succinimida (4)

Para um balão de 2 tubuladuras (25mL), colocado sob uma corrente de árgon, agitação magnética e num banho frio a -78°C , foram adicionadas 0,927g (1,08mmol; $861,8\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) de Cat5Si (12) e 7,7mL de CH_2Cl_2 anidro. Em seguida, foram adicionados lentamente à solução, por meio de uma ampola de adição (5 minutos), 192,2mg (1,08mmol) de NBS (4) recristalizado dissolvido em 5,7mL de CH_2Cl_2 anidro. A mistura reaccional foi agitada à T_{amb} durante 8 horas. A reacção foi acompanhada por TLC usando como eluente uma mistura de AcOEt:hexano 1:10. No final da reacção, adicionou-se ao balão 45mL de AcOEt e a mistura reaccional foi lavada e extraída com uma solução saturada de NaCl ($3 \times 45\text{mL}$). Após separação das fases, secou-se a fase orgânica com Na_2SO_4 anidro, filtrou-se a solução por gravidade usando um filtro de pregas (verificou-se a presença de apenas uma mancha no TLC). Evaporou-se o solvente num evaporador rotativo até à secura, tendo-se obtido um sólido branco ($m=864\text{mg}$; $\eta=85\%$). A análise directa no espectrómetro de massa e por RMN- ^1H confirmou que o composto obtido foi a 8-BrCat5Si (13).

9. Síntese da 8-vinil-catequina com os grupos hidroxilo protegidos

Neste ponto, descrevem-se os procedimentos seguidos para as reacções de Stille e de Suzuki. Foram efectuadas inúmeras reacções de Stille e de Suzuki usando a 8-bromo-catequina com os grupos OH desprotegidos, mas nenhuma delas revelou os resultados pretendidos. Deste modo, optou-se apenas por se apresentar algumas sínteses realizadas com a 8-bromo-catequina com os grupos hidroxilo protegidos que permitiram obter resultados interessantes.

9.1. Reacções de Stille

Os procedimentos das reacções de Stille que a seguir se descrevem para a tentativa de síntese dos derivados vinílicos da (+)-catequina-*O*-protegida foram adoptados da literatura para outros substratos (Littke *et al.*, 1999, 2002).

9.1.1. Síntese da 3',4',5,7-tetra-*O*-benzil-8-vinil-catequina (8-vinil-Cat4Bn, 15)

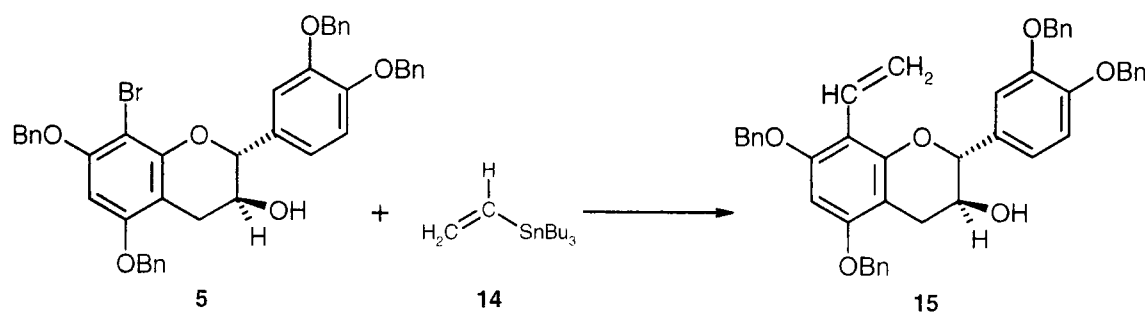


Figura 34. Reacção entre a 8-BrCat4Bn (**5**) e o tributilvinilestanho (**14**)

Para um tubo de Schlenk de 25mL, colocado sob uma corrente de árgon e agitação magnética, foram adicionados 100mg (0,14mmol; 729,2g.mol⁻¹) de 8-BrCat4Bn (**5**), 0,0471g (0,31mmol; 151,9g.mol⁻¹) de CsF, 0,5mg (0,0021mmol; 224,5g.mol⁻¹) de Pd(OAc)₂, 2,4mg (0,0021mmol; 1155,6g.mol⁻¹) de [Pd(PPh₃)₄], 1,9mg (0,0021mmol; 915,7g.mol⁻¹) de [Pd₂(dba)₃] e 170μL (0,0084mmol; 202,3g.mol⁻¹) de uma solução de P(*t*-Bu)₃ em dioxano anidro a 1%. Em seguida, adicionou-se mais 1,12mL de dioxano anidro e 105,3μL (0,35mmol; 317,1g.mol⁻¹) de tributilvinilestanho (TBVE) (**14**). A solução foi agitada a 80-100°C durante 45 horas. A reacção foi acompanhada ao longo do tempo por TLC, usando como eluente o diclorometano. Ao fim de 45 horas de reacção, retirou-se metade do volume da mistura reaccional e purificou-se por

cromatografia em coluna (CC) de gel de sílica (50g) (eluente – CH_2Cl_2). Nas primeiras fracções saiu o reagente de vinilestanho e recolheram-se as fracções que continham o composto pretendido. Evaporou-se o solvente até à secura, obtendo-se um resíduo (31mg) que foi guardado no congelador (-18°C). O restante da mistura reaccional deixou-se a reagir por mais 24h a 130°C . No final da reacção, repetiu-se o mesmo procedimento descrito anteriormente e o produto obtido (38mg) foi armazenado no congelador. Os compostos obtidos foram analisados por RMN- ^1H , obtendo-se espectros que indicavam a presença de material de partida (8-BrCat4Bn) e do produto pretendido – 8-vinilCat4Bn (**15**), numa proporção de 1:1,2.

9.1.2. Síntese da 3,3',4',5,7-penta-*O*-acetil-8-vinil-catequina (8-vinil-Cat5Ac, **16**)

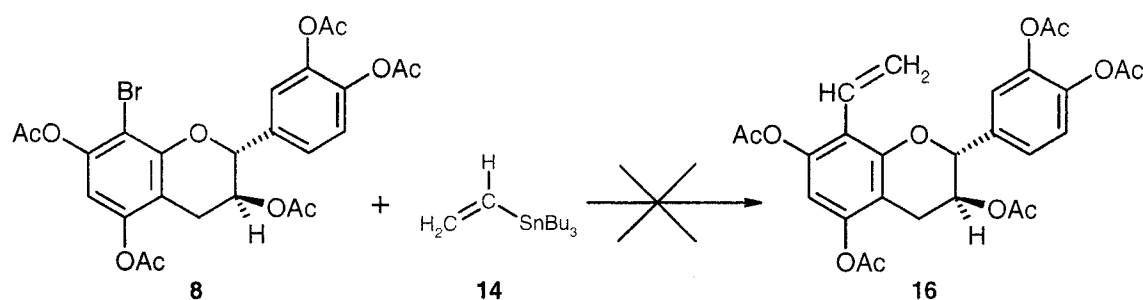


Figura 35. Reacção entre a 8-BrCat5Ac (**8**) e o tributilvinilestanho (**14**)

Para um tubo de Schlenk de 25mL, colocado sob uma corrente de árgon e agitação magnética, foram adicionados 100mg (0,17mmol; $579,3\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) de 8-BrCat5Ac (**8**), 0,0568g (0,37mmol) de CsF, 0,6mg (0,0026mmol) de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, 2,9mg (0,0026mmol) de $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$, 2,3mg (0,0026mmol) de $[\text{Pd}_2(\text{dba})_3]$ e 206 μL (0,0102mmol) de uma solução de $\text{P}(t\text{-Bu})_3$ em dioxano anidro a 1%. Em seguida, adicionou-se mais 1,36mL de dioxano anidro e 128 μL (0,43mmol) de TBVE (**14**). A solução foi agitada à T_{amb} durante 24 horas e a 50°C durante 20 horas. A reacção foi acompanhada ao longo do tempo por TLC, usando como eluente uma mistura de $\text{AcOEt}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1:10. Ao fim de 44 horas de reacção, retirou-se metade do volume da mistura reaccional e purificou-se por cromatografia em coluna (CC) de gel de sílica (50g) (eluente – CH_2Cl_2). Nas primeiras fracções saiu o reagente de vinilestanho e recolheram-se as fracções que continham a mancha mais intensa. Evaporou-se o solvente até à secura, obtendo-se um resíduo (38mg) que foi guardado no congelador (-18°C). O restante da mistura reaccional deixou-se a reagir por mais 24h a 50°C . No final da reacção, repetiu-se o

mesmo procedimento descrito anteriormente e produto obtido (12mg) foi armazenado no congelador. Os compostos recolhidos em cada purificação foram analisados por RMN- ^1H , verificando-se, no entanto, não se tratar do composto pretendido (**16**).

9.1.3. Síntese da 3,3',4',5,7-penta-*O*-*tert*-butildimetilsilil-8-vinil-catequina (8-vinil-Cat5Si, **17**)

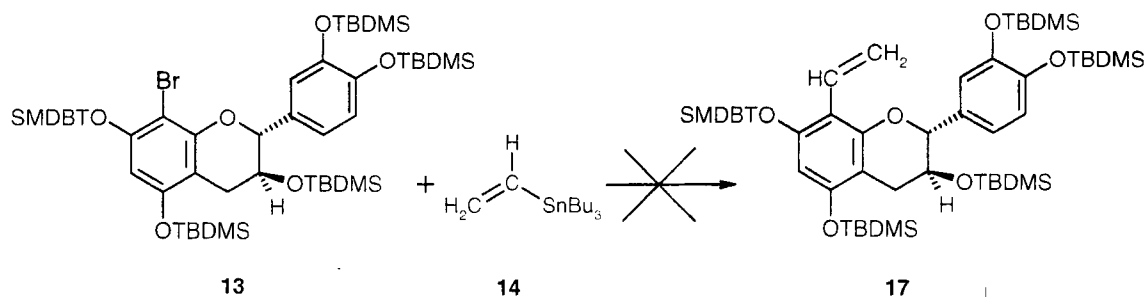


Figura 36. Reacção entre a 8-BrCat5Si (**13**) e o tributilvinilestanho (**14**)

Para um tubo de Schlenk de 25mL, colocado sob uma corrente de árgon e agitação magnética, foram adicionados 100mg (0,11mmol; $940,7\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) de 8-BrCat5Si (**13**), 1,2mg (0,0055mmol) de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, 6mg (0,0055mmol) de $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$, 5mg (0,0055mmol) de $[\text{Pd}_2(\text{dba})_3]$ e 149 μL (0,0066mmol) de uma solução de $\text{P}(t\text{-Bu})_3$ em dioxano anidro a 1%. Em seguida, adicionou-se mais 1 mL de dioxano anidro e 39,7 μL (0,13mmol) de TBVE (**14**). A solução foi agitada 1 hora à T_{amb} , 4 horas a 40°C, 3 horas a 80°C, 16 horas a 100°C e 3 horas a 130°C. A reacção foi acompanhada ao longo do tempo por TLC, usando como eluente uma mistura de CH_2Cl_2 :hexano 1:4. No fim da reacção, a mistura reaccional foi purificada por cromatografia em coluna (CC) de gel de sílica (50g) (eluente – CH_2Cl_2 :hexano 1:4). Juntaram-se as fracções que continham o composto pretendido, evaporou-se o solvente até à secura e obteve-se um resíduo ($m=81\text{mg}$) que foi armazenado no congelador (-18°C). O composto foi analisado por RMN- ^1H , revelando tratar-se do material de partida (8-BrCat5Si).

9.2. Reacção de Suzuki

9.2.1. Síntese da 3,3',4',5,7-penta-*O*-*tert*-butildimetilsilil-8-vinil-catequina (8-vinil-Cat5Si, 17)

O procedimento que a seguir se descreve para a tentativa de síntese da 8-vinil-Cat5Si (figura 37) foi adoptado da literatura para outros substratos (Littke *et al.*, 1998).

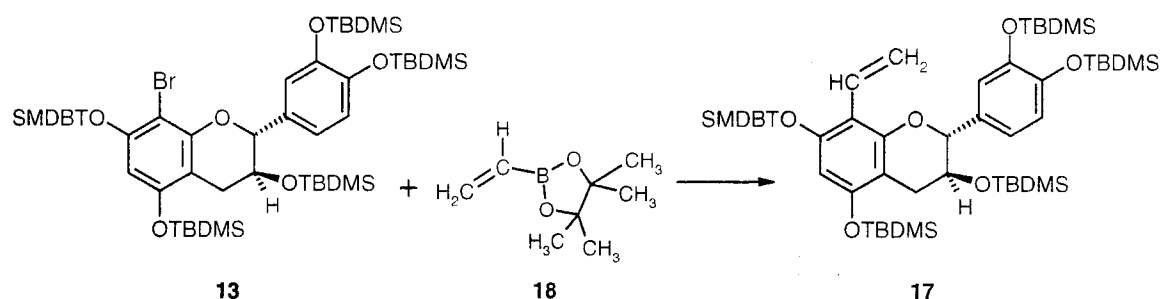


Figura 37. Reacção entre a 8-BrCat5Si (13) e o 4,4,5,5-tetrametil-2-vinil-1,3,2-dioxaborolano (18)

Para um tubo de Schlenk de 25mL, colocado sob uma corrente de árgon e agitação magnética, foram adicionados 0,125g (0,383mmol; $325,8\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) de Cs_2CO_3 , 1,1mg (0,0048mmol) de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, 5,5mg (0,0048mmol) de $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$, 4,4mg (0,0048mmol) de $[\text{Pd}_2(\text{dba})_3]$ e 114 μL (0,638mmol; $154,0\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) de 4,4,5,5-tetrametil-2-vinil-1,3,2-dioxaborolano (TMVDB) (18). Em seguida, adicionou-se ao reactor 1 mL de dioxano anidro e 179 μL (0,0080mmol) de uma solução de $\text{P}(t\text{-Bu})_3$ em dioxano anidro a 1%. Por fim, adicionou-se ao tubo de Schlenk 300mg (0,319mmol) de 8-BrCat5Si (13) dissolvido em 2mL de dioxano anidro. A solução foi agitada a 100°C durante 24 horas. A reacção foi acompanhada ao longo do tempo por TLC, usando como eluente uma mistura de CH_2Cl_2 :hexano 1:4. No fim da reacção, a mistura reaccional foi purificada por cromatografia em coluna (CC) de gel de sílica (50g) (eluente – CH_2Cl_2 :hexano 1:4). O reagente de vinilboro ficou retido na fase estacionária (sílica), recolheram-se as fracções que continham o composto pretendido. evaporou-se o solvente até à secura e armazenou-se a amostra obtida ($m=80\text{mg}$) no congelador (-20°C). A amostra foi analisada por RMN- ^1H , verificando-se que se tratava de uma mistura da 8-BrCat5Si de partida e do composto pretendido – 8-vinilCat5Si (17), numa proporção de 1:1,5.

10. Desprotecção dos grupos hidroxilo da 8-vinil-catequina

A seguir, descrevem-se os diversos métodos de desprotecção realizados para a remoção dos grupos protectores da 8-vinil-catequina.

10.1. Desbenzilações

10.1.1. Hidrogenação catalítica da 8-vinil-Cat4Bn (15)

O procedimento que se descreve a seguir para a tentativa de remoção dos grupos benzilo da 8-vinil-Cat4Bn (figura 38) foi adoptado da literatura (Tarascou, 2005).

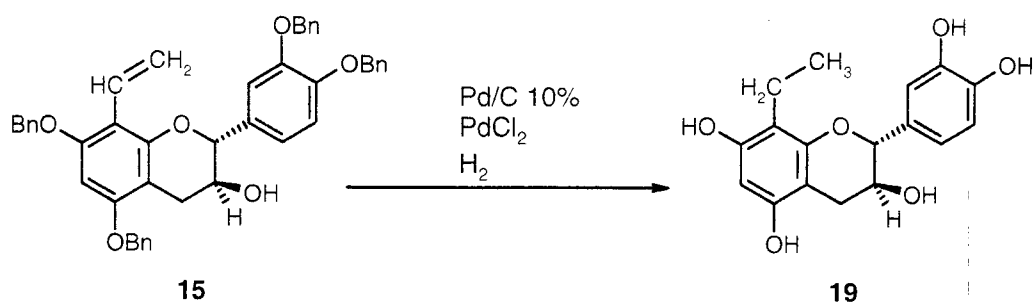


Figura 38. Hidrogenação catalítica da 8-vinil-Cat5Si (15)

Para um reactor de vidro, lavado previamente com uma solução saturada de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) e colocado sob uma corrente de árgon, foram adicionados 15mg (0,022mmol; $676,3\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) de 8-vinil-Cat4Bn (15), 750 μL de THF, 750 μL de MeOH e 37,5 μL de água desionizada. De seguida adicionou-se ao tubo 30mg do catalisador Pd/C 10% e 30mg do catalisador PdCl_2 ($177,3\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$). A solução foi agitada durante 1 hora à T_{amb} sob atmosfera de hidrogénio (H_2). A reacção foi acompanhada por HPLC/DAD. No fim da reacção, a mistura reaccional foi filtrada sobre CELITE e lavada com AcOEt. Evaporou-se o solvente até à secura e obteve-se um produto sob a forma de um resíduo esbranquiçado. A amostra foi armazenada a -18°C tendo sido posteriormente analisada por HPLC/DAD e por cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massa (LC/MS). A análise revelou tratar-se da 8-etil-catequina (19), resultante da hidrogenação dos grupos benzilo e do grupo vinilo.

10.1.2. Reacção entre a 8-vinil-Cat4Bn e o tribrometo de boro (BBr₃)

Tentou-se remover os grupos benzilo da 8-vinil-Cat4Bn por outro método (figura 39), adoptando o procedimento descrito na literatura (McOmie *et al.*, 1973).

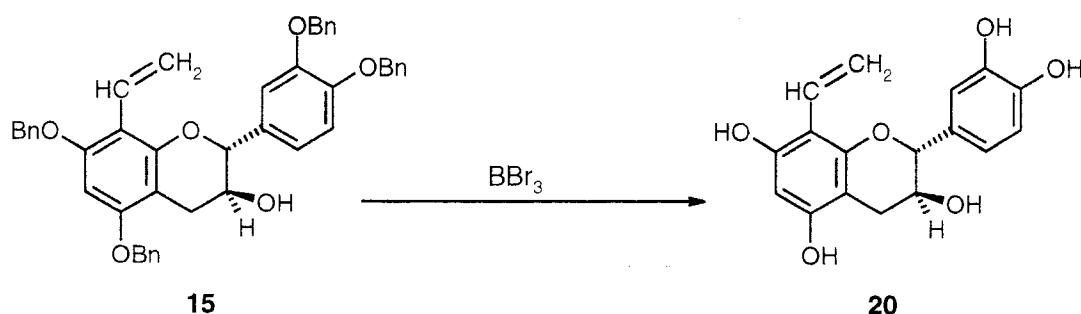


Figura 39. Reacção entre a 8-vinil-Cat4Bn (**15**) e o BBr₃

Para um mini-reactor, foram adicionados 15mg (0,022mmol) de 8-vinilCat4Bn (**15**) dissolvido em 71,4μL de CH₂Cl₂ anidro. Em seguida, baixou-se a temperatura a -80°C, com um banho de acetona e azoto líquido, e adicionou-se cuidadosamente 10,6μL (0,022mmol; 250,5g.mol⁻¹) de BBr₃ em 70μL de CH₂Cl₂ anidro. No final da adição retirou-se o banho e a solução foi agitada durante 2 horas à T_{amb}. A reacção foi acompanhada por HPLC/DAD. No final da reacção, adicionou-se 5mL de água desionizada e a mistura reaccional foi extraída com Et₂O (3x5mL). Após a separação das fases, secou-se a fase orgânica com Na₂SO₄ anidro, filtrou-se a solução por gravidade usando um filtro de pregas e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo sob vácuo. Obteve-se um produto sob a forma de um resíduo amarelado tendo sido armazenado no congelador. A análise por LC/MS revelou a presença da 8-vinil-catequina (**20**).

10.2. Desililações

10.2.1. Reacção da 8-vinil-Cat5Si (15) com fluoreto de tetrabutilamónio (TBAF) e ácido fluorídrico (HF)

O procedimento que se descreve a seguir para a tentativa de remoção dos grupos *tert*-butildimetilsililo da 8-vinil-Cat5Si (figura 40) foi adoptado da literatura (Corey *et al.*, 1972).

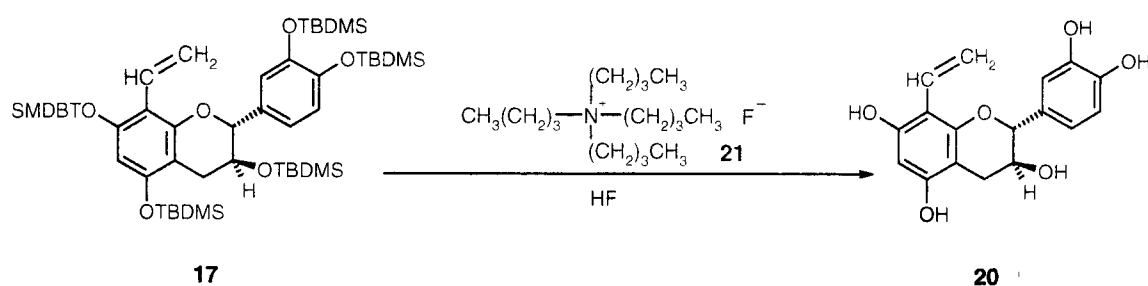


Figura 40. Reacção da 8-vinil-Cat5Si (17) com TBAF e HF

Para um mini-reactor, colocado sob uma corrente de árgon, foram adicionados 5mg (0,0056mmol; 887,7g.mol⁻¹) de 8-vinilCat5Si (17) e 200μL de THF. A esta solução adicionou-se 31μL (0,0845mmol; 261,5g.mol⁻¹) de uma solução aquosa de TBAF (21) a 75% e 3,1μL (0.0845mmol; 20.0g.mol⁻¹) de uma solução aquosa de HF a 48%. De seguida, acertou-se o pH da solução para pH=7 com os reagentes TBAF (aq) a 75% e HF (aq) a 48%. A solução foi agitada durante 3 horas à T_{amb}. A reacção foi acompanhada por HPLC/DAD. No final da reacção, evaporou-se o THF com uma corrente de árgon. Ressuspendeu-se o resíduo obtido em MeOH e injectou-se no HPLC/DAD. Uma vez mais, analisou-se a amostra por LC/MS confirmando a presença da 8-vinil-catequina (20).

10.2.2. Reacção da 8-vinilCat5Si com fluoreto de sódio (NaF) e HF

De seguida descreve-se outro procedimento adoptado para a tentativa de remoção dos grupos *terc*-butildimetilsililo da 8-vinil-Cat5Si (figura 41), segundo o método da literatura (Kendall *et al.*, 1979).

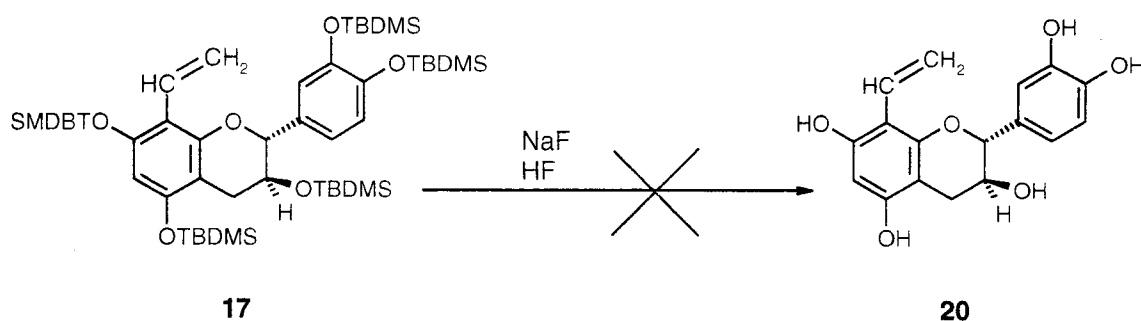


Figura 41. Reacção da 8-vinil-Cat5Si (**17**) com NaF e HF

Preparou-se uma solução tampão de pH=5 por adição de 0,84mL de uma solução aquosa de HF a 48% 0,1M e 29,16mL ($42,0\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) de uma solução aquosa de NaF 0,1M. Pipetou-se 75 μL da referida solução para um mini-reactor e adicionou-se uma solução de 8-vinilCat5Si (**17**) (2,5mg; 0,0028mmol) em 200 μL de THF. A mistura reaccional foi agitada à T_{amb} durante 19 horas. A reacção foi acompanhada por HPLC/DAD. No final da reacção, evaporou-se o THF com uma corrente de árgon. Ressuspendeu-se o resíduo obtido em MeOH e injectou-se no HPLC/DAD, mas não se observou o aparecimento do pico cromatográfico correspondente ao composto pretendido (**20**).

10.2.3. Reacção da 8-vinilCat5Si com ácido bromídrico (HBr) e fluoreto de potássio (KF)

Foi realizada nova tentativa de remoção dos grupos *tert*-butildimetilsililo da 8-vinil-Cat5Si (figura 42), adoptando-se o método descrito na literatura (Suleman *et al.*, 2001).

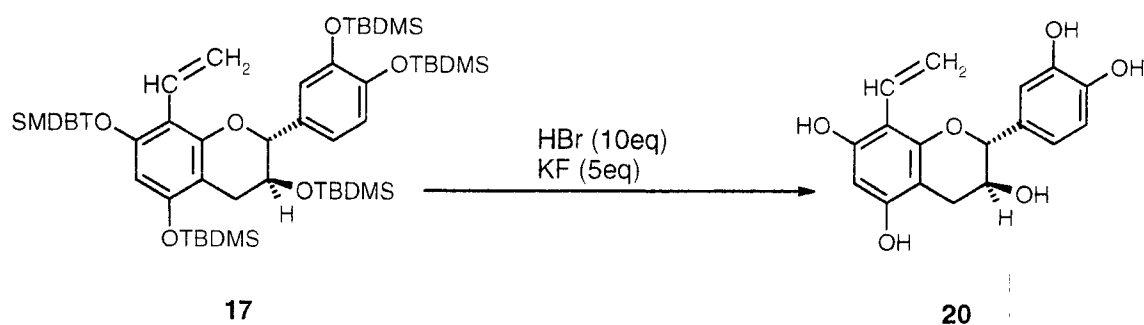


Figura 42. Reacção da 8-vinil-Cat5Si (**17**) com HBr e KF

Para um mini-reactor, colocado sob uma corrente de árgon, foram adicionados 5mg (0,0056mmol) de 8-vinil-Cat5Si (**17**), 0,0033g (0,056mmol; 58,1g.mol⁻¹) de KF anidro, 5μL (0,028mmol; 80,9g.mol⁻¹) de HBr 33% em AcOH. De seguida, adicionou-se 200μL de CH₂Cl₂ anidro e 300μL de DMF anidro. A solução foi agitada à T_{amb} durante 20 horas. A reacção foi acompanhada por HPLC/DAD. No final da reacção, a mistura reaccional foi filtrada para remover o precipitado de acetato de potássio (KOAc) e ao filtrado resultante adicionou-se 2mL de AcOEt. A solução foi lavada e extraída 3 vezes com uma solução saturada de NaCl (2mL). Após separação das fases, secou-se a fase orgânica com MgSO₄ anidro, filtrou-se a solução por gravidade usando um filtro de pregas e evaporou-se o solvente até à secura. Ressuspendeu-se o resíduo obtido em AcOEt e MeOH e injectou-se no HPLC/DAD. Pela análise de LC/MS efectuada verificou-se a presença da 8-vinil-catequina (**20**).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Benzilação e bromação da (+)-catequina

1.1. Síntese da 3',4',5,7-tetra-*O*-benzil-catequina (Cat4Bn, 3)

A síntese da Cat4Bn (3) efectuou-se fazendo reagir (+)-catequina (1) com BnBr na presença de K_2CO_3 anidro em pó (figura 43), adoptando uma estratégia descrita na literatura (Tarascou, 2005).

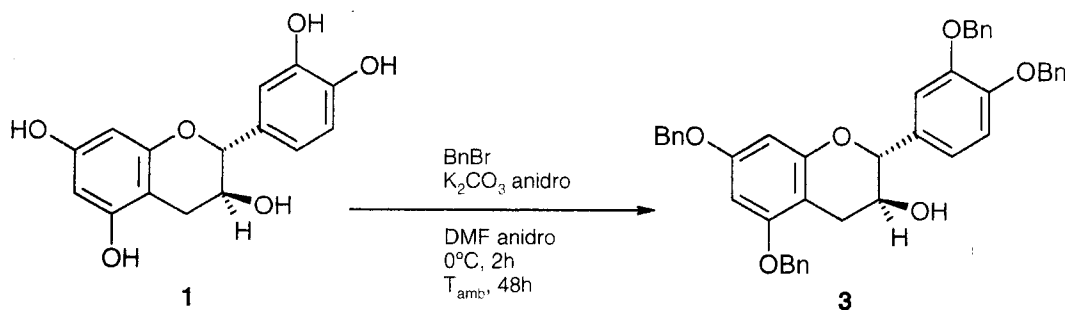


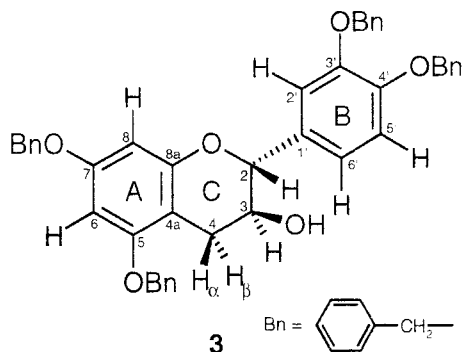
Figura 43. Reacção de síntese da Cat4Bn (3)

Obeve-se o composto pretendido (3), com um rendimento de 46%. A estrutura foi confirmada por RMN- ^1H (tabela 4 e anexo 1). Este rendimento é inferior ao da literatura (81%). Foram realizados diversas tentativas de sintetizar este composto com melhor rendimento, em que se utilizou o K_2CO_3 em forma de grão, sendo no entanto, os rendimentos obtidos inferiores a 10%. Pensa-se que o facto do K_2CO_3 estar sob a forma de grão tenha sido determinante na obtenção de baixos rendimentos, dificultando o seu efeito de catalisador na remoção dos hidrogénios dos grupos fenóis.

Foi feita uma tentativa de sintetizar a 3,3',4',5,7-penta-*O*-benzil-catequina, substituindo o K_2CO_3 pelo hidreto de sódio (NaH) (base mais forte que o K_2CO_3) e mais equivalentes de BnBr. No entanto, esta síntese também não teve sucesso.

Tabela 4. Dados de RMN-¹H (CDCl₃) da Cat4Bn (**3**)

Posição	δ ¹ H (ppm); J (Hz)
Anel C	
2C	4.62; <i>d</i> , 8.4
3C	3.99; <i>m</i> , *
4αC	3.10; <i>dd</i> , 5.55/16.4
4βC	2.64; <i>dd</i> , 9.0/16.4
Anel A	
6A	6.27; <i>d</i> , 2.1
8A	6.21; <i>d</i> , 2.1
Anel B	
2'B	7.02, <i>s</i>
5'B	6.95, <i>s</i>
6'B	6.95, <i>s</i>
Grupo Bn	
H _{aromáticos} (20H)	7.28-7.48, <i>m</i> , *
	5.28, <i>s</i>
—CH ₂ — (8H)	5.17, <i>s</i>
	5.02, <i>s</i>
	4.99, <i>s</i>



*, não definido; *s*, singlete; *d*, duplete; *dd*, duplo duplete; *m*, multipeto

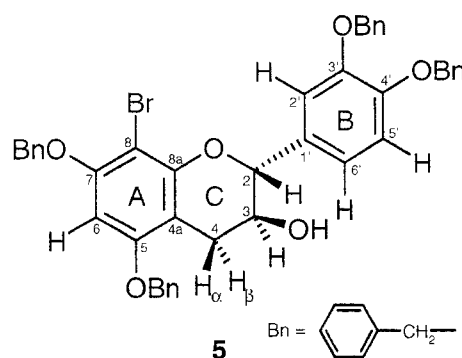
Os prótons H-4β, H-4α, H-3 e H-2 foram facilmente atribuídos através do sistema de spin ABMX característico do anel pirânico C. Deste modo, o duplo duplete detectado 2.64 ppm corresponde ao próton H-4βC, que está acoplado com o próton H-3C ($J_{4\beta 3}=9.0\text{Hz}$) e com o próton H-4αC ($J_{4\beta 4\alpha}=16.4\text{Hz}$). Por seu lado, ao próton H-4αC corresponde o duplo duplete situado a 3.10 ppm, o qual se encontra igualmente acoplado com o próton H-3C com uma constante menor ($J_{4\alpha 3}=5.55\text{Hz}$) e com o H-4βC. O próton H-3C foi atribuído a um multipeto não definido a 3.99 ppm através da correlação com os prótons H-4αC, H-4βC e H-2C. O próton H-2C está correlacionado com o próton H-3C, sendo atribuído ao duplete a 4.62 ppm ($J_{23}=8.4\text{Hz}$). Uma vez que o próton H-2C aparece como um duplete com uma constante de acoplamento no intervalo 6-9 Hz, é possível concluir que a sua estereoquímica é *trans* relativamente ao próton H-3C, característico do anel C da (+)-catequina; no caso da estereoquímica *cis* característica da (-)-epicatequina, o próton H-2C daria origem a um “broad” singlete ou um duplete pequeno (J_{2-3} 0-3 Hz) (Fletcher *et al.*, 1977).

Relativamente ao anel A, detectaram-se dois dupletos, a 6.21 e 6.27 ppm com pequena constante de acoplamento ($J_{68}=2.1\text{Hz}$) e que foram atribuídos aos prótons H-8A e H-6A, respectivamente.

O composto resultante desta síntese foi ainda analisado directamente no espectrómetro de massa, revelando um ião molecular ($[M^+]$, $m/z = 729$) consistente com a estrutura de uma unidade de (+)-catequina ligada a um bromo e a quatro grupos benzilos.

Tabela 5. Dados de RMN- ^1H (CDCl_3) da 8-BrCat4Bn (**5**)

Posição	δ ^1H (ppm); J (Hz)
Anel C	
2C	4.82; <i>d</i> , 7.35
3C	3.98; <i>m</i> , *
4 α C	2.99; <i>dd</i> , 5.33/16.6
4 β C	2.68; <i>dd</i> , 8.09/16.6
Anel A	
6A	6.25; <i>s</i>
Anel B	
2'B	7.04, <i>s</i>
5'B	6.93, <i>s</i>
6'B	6.93, <i>s</i>
Grupo Bn	
H _{aromáticos} (20H)	7.28-7.48, <i>m</i> , *
	5.29, <i>s</i>
—CH ₂ — (8H)	5.16, <i>s</i>
	5.11, <i>s</i>
	4.98, <i>s</i>



*, não definido; *s*, singlete; *d*, duplete; *dd*, duplo duplete; *m*, multiplete

O espectro de RMN- ^1H da 8-BrCat4Bn (**5**) é muito semelhante ao da Cat4Bn (**3**), registando-se apenas a diferença na presença de um singlete a 6.25 ppm que corresponde ao protão H-6 do anel A, comprovando-se assim a existência de um bromo no carbono 8. Os restantes protões da molécula, e os respectivos deslocamentos químicos e constantes de acoplamento, foram facilmente atribuídos por comparação com os protões da Cat4Bn (**3**).

2. Acetilação e bromação da (+)-catequina

2.1. Método A – Tentativa da síntese da 3,3',4',5,7-penta-*O*-acetil-8-bromo-catequina (8-BrCat5Ac, 8)

Neste método, e tal como se tinha procedido anteriormente com a benzilação, tentou-se fazer em primeiro lugar a acetilação da (+)-catequina e posteriormente a respectiva bromação.

2.1.1. Síntese da 3,3',4',5,7-penta-*O*-acetil-catequina (Cat5Ac, 7)

A síntese do composto Cat5Ac (7) foi feita através da reacção da (+)-catequina (1) com anidrido acético e piridina, na presença duma quantidade catalítica de DMAP (figura 45), segundo o método descrito na literatura (McGraw *et al.*, 1982; Kolodziej *et al.*, 1984).

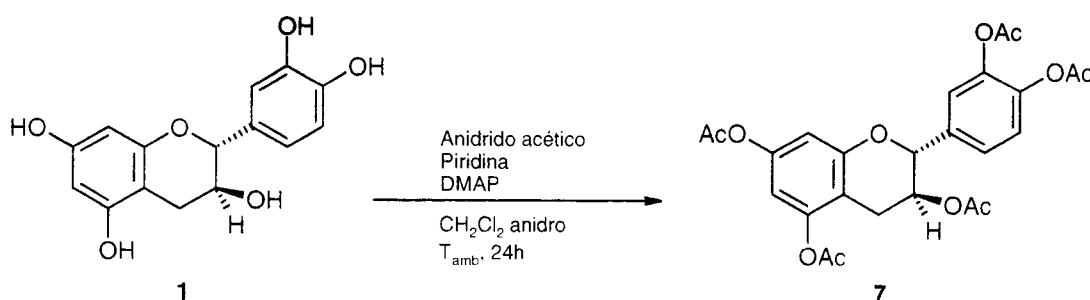


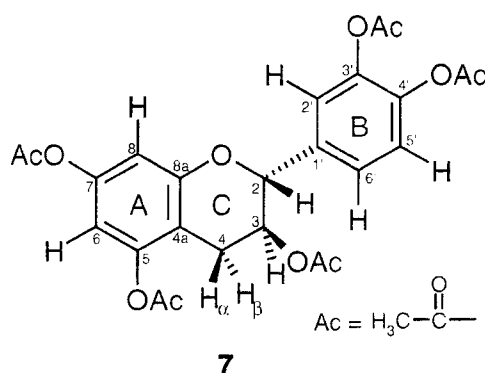
Figura 45. Reacção de síntese da Cat5Ac (7)

Conseguiu-se obter o produto desejado (7) com um rendimento de 80%. A estrutura foi confirmada por RMN- ^1H (tabela 6 e anexo 3).

Tabela 6. Dados de RMN-¹H (CDCl₃) da Cat5Ac (7)

Posição	δ ¹ H (ppm); J (Hz)
Anel C	
2C	5.14; <i>d.</i> 6.21
3C	5.24; <i>m.</i> *
4αC	2.86; <i>dd.</i> 5.07/16.7
4βC	2.66; <i>dd.</i> 6.44/16.7
Anel A	
6A	6.65; <i>d.</i> 2.25
8A	6.59; <i>d.</i> 2.25
Anel B	
2'B	7.16-7.26, *
5'B	7.16-7.26, *
6'B	7.16-7.26, *
Grupo Ac	
CH ₃ — (15H)	2.27, <i>s</i>

*, não definido; *s.*, singletto; *d.*, dupletto; *dd.*, duplo dupletto; *m.*, multipletto



Foram detectados dois duplos dupletos a 2.66 e 2.86 ppm que correspondem aos prótons H-4βC e H-4αC acoplados entre si ($J_{4\beta 4\alpha}=16.7\text{Hz}$). Estes prótons estão por sua vez correlacionados com o próton H-3C ($J_{4\beta 3}=6.44\text{Hz}$ e $J_{4\alpha 3}=5.07\text{Hz}$). O próton H-2C está correlacionado com o próton H-3C, sendo atribuído ao dupletto a 5.14 ppm ($J_{23}=6.21\text{Hz}$). Por outro lado, o próton H-3C, que está correlacionado com os prótons H-4αC, H-4βC e H-2C, foi atribuído ao multipletto não definido detectado a campos magnéticos mais baixos do que o normal (5.24 ppm). Pode-se confirmar que a estereoquímica do próton H-2C é *trans* relativamente ao próton H-3C pois aparece como um dupletto com uma constante de acoplamento no intervalo 6-9 Hz. Os dois dupletos detectados a 6.59 e 6.65 ppm, de pequena constante de acoplamento ($J_{68}=2.25\text{Hz}$), foram atribuídos aos prótons H-8A e H-6A, respectivamente.

Em relação ao anel B os prótons H-2'B, H-5'B e H-6'B foram atribuídos aos sinais não definidos entre 7.16 e 7.26 ppm.

Para o grupo acetilo, detectou-se um singletto a 2.27 ppm que corresponde aos quinze prótons do grupo metilo.

2.1.2. Tentativa de bromação da Cat5Ac (7)

De seguida, tentou-se sintetizar o derivado bromado na posição 8, utilizando o NBS, segundo o procedimento descrito anteriormente para a bromação da Cat4Bn. No entanto, esta reacção não foi bem sucedida.

Foi feita nova tentativa de síntese da 8-BrCat5Ac utilizando o tribrometo de piridina em vez do NBS, mas mais uma vez, o reagente permanecia inalterado.

A redução de densidade de carga na posição C8 do derivado acetilado da (+)-catequina, devido à presença de grupos atraidores de electrões, como são os grupos acetilo, parece inibir a bromação nessa posição. Pelo contrário, a presença de grupos dadores de electrões como os grupos benzilos aumentam a densidade de carga nas posições *orto* e *para* favorecendo o ataque nucleófilo ao bromo do NBS e consequentemente a bromação da Cat4Bn para formar a 8-BrCat4Bn.

Para sintetizar o derivado bromado da (+)-catequina acetilada, optou-se por outra estratégia de síntese que se apresenta a seguir.

2.2. Método B – Síntese da 3,3',4',5,7-penta-*O*-acetil-8-bromo-catequina (8-BrCat5Ac, 8)

No método B, efectuou-se primeiro a bromação (+)-catequina e em seguida fez-se a respectiva acetilação.

2.2.1. Bromação da (+)-catequina

Foram realizadas várias reacções entre a (+)-catequina e o tribrometo de piridina, tendo como referência dois métodos descritos na literatura (Muathen, 1992; Kolodziej *et al.*, 1984), nas quais se experimentaram diferentes solventes, rácios molares e tempos de reacção. A adição do tribrometo de piridina à solução de (+)-catequina foi feita em banho de gelo e depois deixou-se a reagir à T_{amb} . Verificou-se por HPLC/DAD, para todas as sínteses efectuadas, o aparecimento de vários picos cromatográficos ao fim de várias horas de reacção (figura 46), entre os quais, foram identificados e caracterizados (por LC-MS e RMN) os isómeros 6- e 8-monobromado de (+)-catequina (6-BrCat e 8-BrCat), 6,8-dibromado de (+)-catequina (6,8-BrCat) e o 5',6,8-tribromado de (+)-catequina (5',6,8-BrCat). Para além destes compostos, formaram-se outros produtos

(quinonas) resultantes da oxidação da (+)-catequina e dos bromados da (+)-catequina, e que apresentam λ_{max} acima dos 320nm, característico das quinonas.

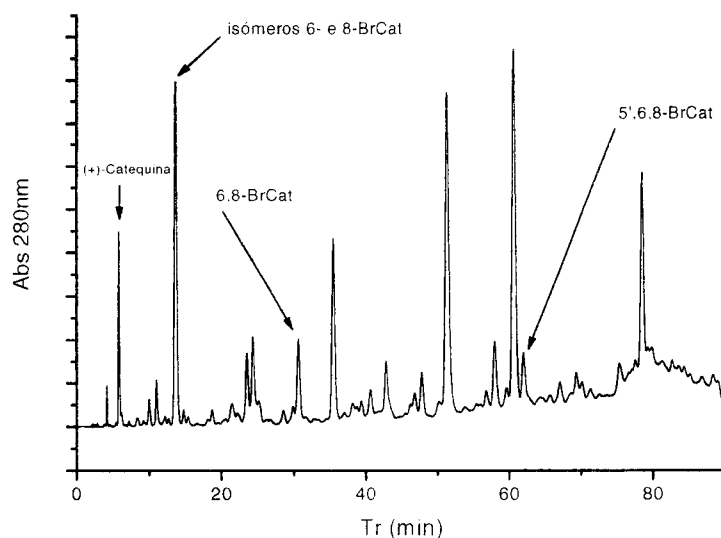
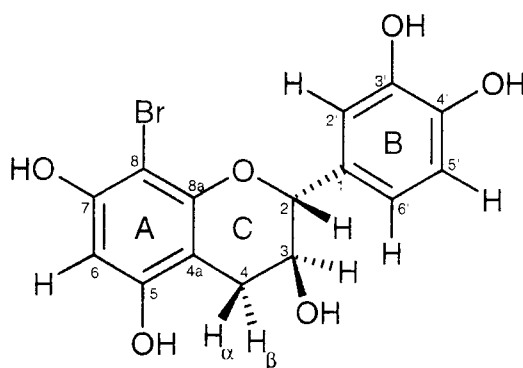


Figura 46. Cromatograma de HPLC dos produtos da reação entre a (+)-catequina e o tribrometo de piridina

Os derivados bromados da (+)-catequina contidos na mistura reaccional foram purificados por cromatografia líquida em coluna de gel TSK Toyopearl HW-40(S). Não foi possível separar o isómero 6-BrCat do 8-BrCat. Estes isómeros foram obtidos com rendimento de 10%. As estruturas dos compostos mono-, di- e tri-bromados de (+)-catequina foram confirmadas por estudos de RMN mono- e bi-dimensional e espectrometria de massa.

Técnicas de RMN 1D e 2D (COSY) foram utilizadas para atribuir os desvios químicos dos prótons, enquanto que os carbonos foram atribuídos através de técnicas 2D (HSQC e HMBC). O espectro de HMBC foi otimizado de modo a visualizar o acoplamento ^1H - ^{13}C de longa distância ($^2J_{\text{C,H}}$ e $^3J_{\text{C,H}}$) com o objectivo de atribuir a maior parte dos carbonos.

As estruturas da 8-BrCat e da 6-BrCat foram elucidadas por estudos de RMN de ^1H e ^{13}C . Os dados referentes à análise destes isómeros em CD_3OD encontram-se apresentados nas tabelas 7 e 8, respectivamente.

Tabela 7. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (CD_3OD) e correlações HMBC e HSQC da 8-BrCat

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	HMBC	HSQC
Anel C				
2C	4.77; <i>d</i> , 7.0	82.1	-	H-2C
3C	4.01; <i>m</i> , *	67.5	-	H-3C
4 α C	2.88; <i>dd</i> , 4.5/16.3	27.0	-	H-4C
4 β C	2.48-2.63; <i>m</i> , *			
Anel A				
4aA	-	101.1	H-3C, H-4 α , β C, H-6A	-
5A	-	155.6	H-4 α , β C, H-6A	-
6A	6.11; <i>s</i>	95.6	-	H-6A
7A	-	153.6	H-6A	-
8A	-	84.4	H-6A	-
8aA	-	152.0	H-2C, H-4 α , β C	-
Anel B				
1'B	-	131.0	H-2C, H-3C, H-2'B, H-5'B, H-6'B	-
2'B	6.83, *	113.9	-	H-2'B
3'B	-	144.0	H-2'B, H-5'B	-
4'B	-	144.0	H-2'B, H-5'B, H-6'B	-
5'B	6.79, *	115.2	-	H-5'B
6'B	6.71, *	118.6	-	H-6'B

*, não definido; *s*, singlete; *d*, duplete; *dd*, duplo duplete; *m*, multiplete

O próton H-4 α C foi atribuído através do sistema de spin ABMX característico do anel pirânico C facilmente perceptível no espectro de COSY. Deste modo, o duplo duplete a cerca de 2.88 ppm corresponde ao próton H-4 α C, que está acoplado com o próton H-3C ($J_{4,3}=4.5\text{Hz}$) e com o próton H-4 β C ($J_{4,4\beta}=16.3\text{Hz}$). Por outro lado, o multiplete não definido situado entre os 2.48-2.63 ppm corresponde ao próton H-4 β C. De igual modo, o próton H-3C foi atribuído a um multiplete não definido a 4.01 ppm através da correlação com os prótons H-4 α , β C. O próton H-3C está também correlacionado com os prótons H-2C, sendo este atribuído ao duplete a 4.77 ppm ($J_{23}=7.0\text{ Hz}$). Uma vez que o

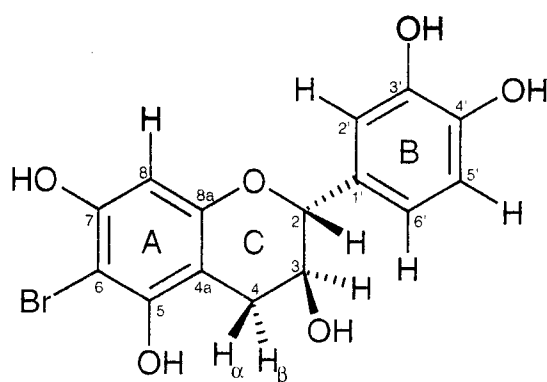
protão H-2C aparece como um duplete com uma constante de acoplamento no intervalo 6-9 Hz, é possível confirmar a sua estereoquímica *trans* relativamente ao protão H-3C, característica da (+)-catequina. O protão H-6A foi atribuído ao singlete a 6.11 ppm. Em relação ao anel B, os protões H-2'B, H-5'B e H-6'B foram atribuídos aos sinais não definidos a 6.83, 6.79 e 6.71 ppm, respectivamente.

No que diz respeito aos carbonos C-2, C-3 e C-4 do anel C, foram atribuídos a 82.1, 67.5 e 27.0 ppm através das suas correlações ^1H - ^{13}C no espectro HSQC.

A correlação directa dos carbonos C-2'B, C-5'B e C-6'B com os respectivos protões (HSQC) permitiu a sua atribuição a 113.9, 115.2 e 118.6 ppm, respectivamente, enquanto que os carbonos C-3'B e C-4'B foram ambos atribuídos a 144.0 ppm por análise do espectro HMBC. O carbono C-1'B foi atribuído a 131.0 ppm a partir da sua correlação ^1H - ^{13}C de longa distância com H-2C, H-3C, H-2'B, H-5'B e H-6'B.

Também por análise do espectro HSQC foi possível determinar o carbono C-6A a 95.6 ppm. O carbono C-4aA foi determinado a 101.1 ppm a partir da correlação ^1H - ^{13}C de longa distância com os protões H-3C, H-4 α , β C, H-6A. Por seu lado, o carbono C-8aA foi atribuído a 152.0 ppm por correlação com os protões H-2C e H-4 α , β C observado no espectro HMBC.

Relativamente aos restantes carbonos do anel A, o carbono C-8A ligado ao bromo foi determinado a 84.4 ppm por correlação com o protão H-6A. O carbono C-5A foi determinado a 155.6 ppm devido à sua correlação com os protões H-4 α , β C e H-6A. Por fim, o carbono C-7A foi determinado por correlação HMBC com o protão H-6A, tendo sido atribuído a 153.6 ppm.

Tabela 8. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (CD_3OD) e correlações HMBC e HSQC da 6-BrCat

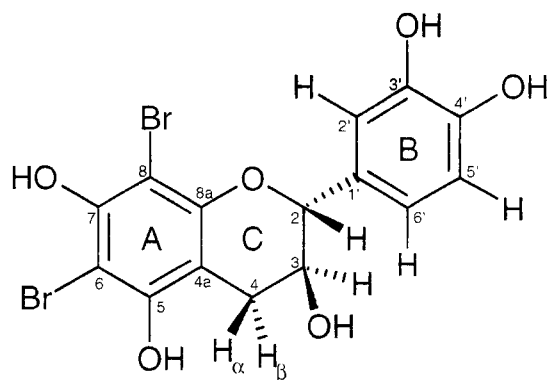
Posição	δ ^1H (ppm); J (Hz)	δ ^{13}C (ppm)	HMBC	HSQC
Anel C				
2C	4.61; <i>d</i> , 6.4	82.1	-	H-2C
3C	4.01; <i>m</i> , *	67.5	-	H-3C
4 α C	2.77; <i>dd</i> , 4.6/16.2	27.0	-	H-4C
4 β C	2.48-2.63; <i>m</i> , *			
Anel A				
4aA	-	101.1	H-3C, H-4 α,β C, H-8A	-
5A	-	155.6	H-4 α,β C	-
6A	-	90.7	H-8A	-
7A	-	153.6	H-8A	-
8A	6.06; <i>s</i>	95.6	-	H-8A
8aA	-	154.1	H-2C, H-4 α,β C, H-8A	-
Anel B				
1'B	-	131.0	H-2C, H-3C, H-2'B, H-5'B, H-6'B	-
2'B	6.81, *	113.9	-	H-2'B
3'B	-	144.0	H-2'B, H-5'B	-
4'B	-	144.0	H-2'B, H-5'B, H-6'B	-
5'B	6.75, *	115.2	-	H-5'B
6'B	6.70, *	118.6	-	H-6'B

*, não definido; *s*, singlete; *d*, duplete; *dd*, duplo duplete; *m*, multiplete

O próton H-8A foi atribuído ao singlete a 6.06 ppm. O respectivo carbono C-8A foi determinado ao mesmo desvio químico (95.6 ppm) do C-6A do isômero 8-BrCat, por análise do espectro HSQC. Relativamente ao carbono C-6A ligado ao bromo foi atribuído a 90.7 ppm devido à sua correlação a longa distância (HMBC) com o próton H-8A.

A estrutura do 6,8-BrCat foi também elucidada por estudos de RMN de ^1H e ^{13}C . Os dados referentes à análise de RMN efectuada a este composto em CD_3OD encontram-se apresentados na tabela 9.

Tabela 9. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (CD_3OD) e correlações HMBC e HSQC da 6,8-BrCat



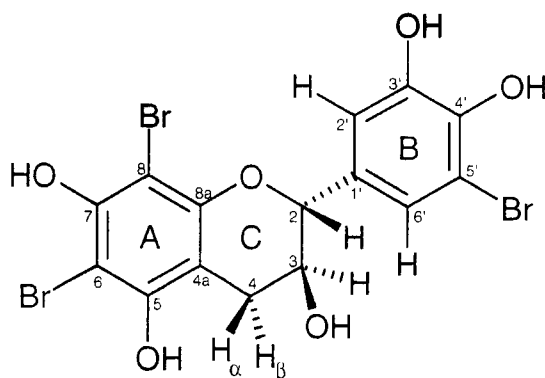
Posição	$\delta\ ^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta\ ^{13}\text{C}$ (ppm)	HMBC	HSQC
Anel C				
2C	4.83; *	82.2	-	H-2C
3C	4.06; <i>m</i> , *	67.1	-	H-3C
4 α C	2.66; <i>dd</i> , 6.8/16.4	27.5	-	H-4C
4 β C	2.82; <i>dd</i> , 4.9/16.4			
Anel A				
4aA	-	102.6	H-3C, H-4 α , β C	-
5A	-	152.1	H-4 α , β C	-
6A	-	91.5	H-4 α , β C	-
7A	-	na	-	-
8A	-	90.3	H-4 α , β C	-
8aA	-	151.1	H-2C, H-4 α , β C	-
Anel B				
1'B	-	130.7	H-2C, H-3C, H-5'B, H-2'B	-
2'B	6.80; <i>bs</i>	113.8	-	H-2'B
3'B	-	145.4	H-2'B, H-5'B	-
4'B	-	145.4	H-2'B, H-5'B, H-6'B	-
5'B	6.76; <i>d</i> , 8.1	115.3	-	H-5'B
6'B	6.69; <i>d</i> , 8.1	118.5	-	H-6'B

*, não definido; *bs*, broad singleto *d*, duplete; *dd*, duplo duplete; *m*, multiplete; na, não atribuído

Não foram detectados os protões H-6 e H-8 do anel A, confirmando a presença de dois bromos ligados aos respectivos carbonos. Pela análise do espectro de HMBC foi possível determinar os carbonos C-6,8A com desvios químicos de 91.5 e 90.3 ppm, respectivamente, por correlação com os protões H-4 α , β C à distância de 4 ligações.

A estrutura da 5',6,8-BrCat foi também elucidada por estudos de RMN de ^1H e ^{13}C . Os dados referentes à análise de RMN efectuada a este composto em CD_3OD encontram-se apresentados na tabela 10.

Tabela 10. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (CD_3OD) e correlações HMBC e HSQC da 5',6,8-BrCat



Posição	δ ^1H (ppm); J (Hz)	δ ^{13}C (ppm)	HMBC	HSQC
Anel C				
2C	4.76; <i>d</i> , 6.8	81.7	-	H-2C
3C	4.01; <i>m</i> , *	67.2	-	H-3C
4aC	2.66; <i>dd</i> , 7.4/16.4	28.0	-	H-4C
4βC	2.85; <i>dd</i> , 5.2/16.4			
Anel A				
4aA	-	102.7	H-3C, H-4α,βC	-
5A	-	152.1	H-4α,βC	-
6A	-	91.9	H-4α,βC	-
7A	-	na	-	-
8A	-	90.3	H-4α,βC	-
8aA	-	150.9	H-2C, H-4α,βC	-
Anel B				
1'B	-	131.6	H-2C, H-3C, H-5'B, H-6'B	-
2'B	6.98; <i>d</i> , 1.9	122.0	-	H-2'B
3'B	-	146.5	H-2'B, H-6'B	-
4'B	-	143.2	H-2'B, H-6'B	-
5'B	-	109.7	H-2'B, H-6'B	-
6'B	6.80; <i>d</i> , 1.9	112.9	-	H-6'B

*, não definido; *d*, duplete; *dd*, duplo duplete; *m*, multiplete; na, não atribuído

Não se detectaram os prótons H-6A, H-8A e H-5'B, confirmando a ligação de três bromos aos respectivos carbonos.

Pela análise do espectro de HMBC foi possível determinar os carbonos C-6,8A com desvios químicos de 91.9 e 90.3 ppm, respectivamente, por correlação com os prótons H-4 α , β C à distância de 4 ligações.

O carbono C-5'B foi atribuído a 109.7 ppm a partir da sua correlação ^1H - ^{13}C de longa distância com H-2'B, H-6'B.

Os dados de massa dos compostos mono-, di- e tri-bromados de (+)-catequina mostram iões moleculares consistentes com a estrutura de uma unidade de (+)-catequina ligada a um bromo ($[\text{M}^+]$, $m/z = 369$ – figura 47A), a dois bromos ($[\text{M}^+]$, $m/z = 447$ – figura 48A) e a três bromos ($[\text{M}^+]$, $m/z = 525$ – figura 49). As fragmentações MS^2 dos isômeros 6- e 8-BrCat e do 6,8-BrCat (figuras 47B e 48B, respectivamente), apresentam um padrão de fragmentação característico de reacções de RDA ($[\text{M}-152]^+$), típico das catequinas. Estas massas foram obtidas com o isótopo 79 do bromo, visto ser o que apresenta maior abundância natural (50,7%). Para os isômeros 6- e 8-BrCat também foi possível identificar o ião molecular ($[\text{M}^+]$, $m/z = 371$) relativo ao isótopo ^{81}Br (49,3%).

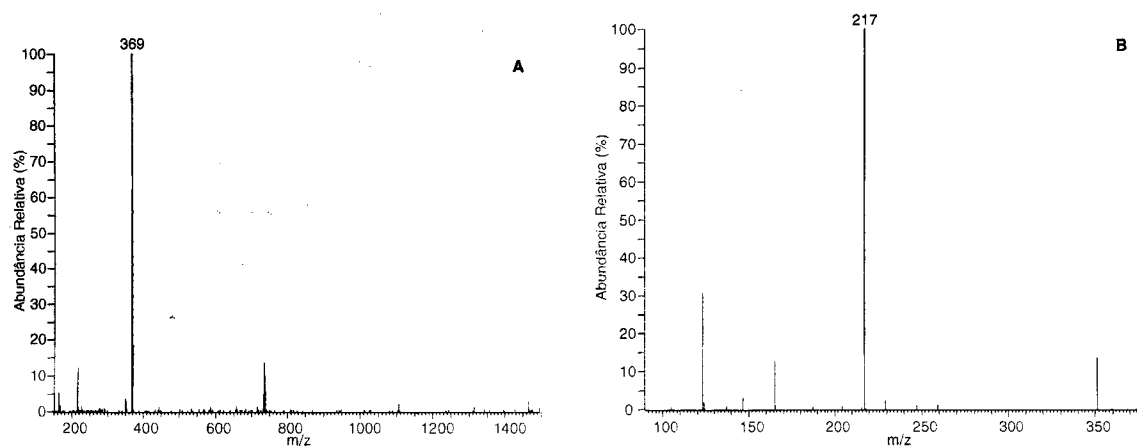


Figura 47. Espectros de massa MS (A) e MS^2 (B) dos isômeros 6- e 8-BrCat obtida por LC/MS

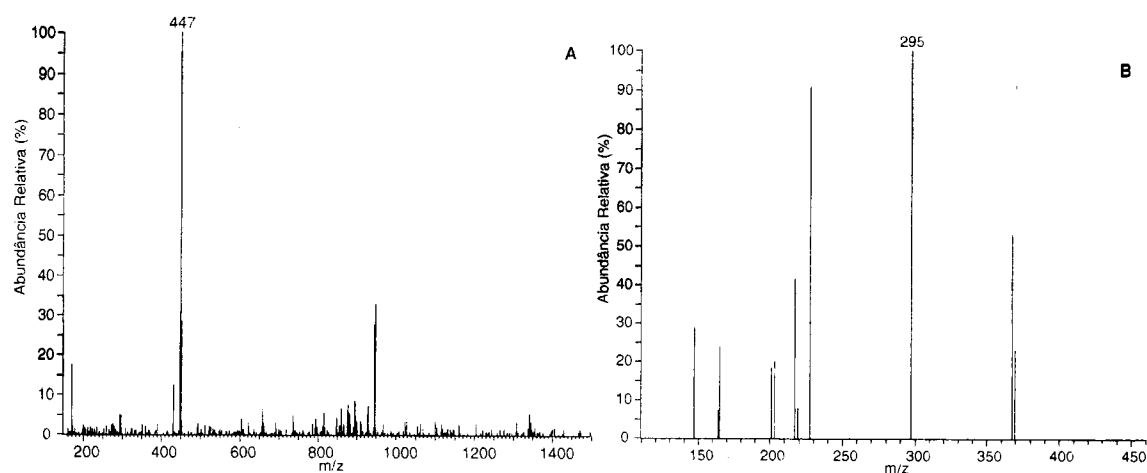


Figura 48. Espectros de massa MS (A) e MS² (B) da 6,8-BrCat obtida por LC/MS

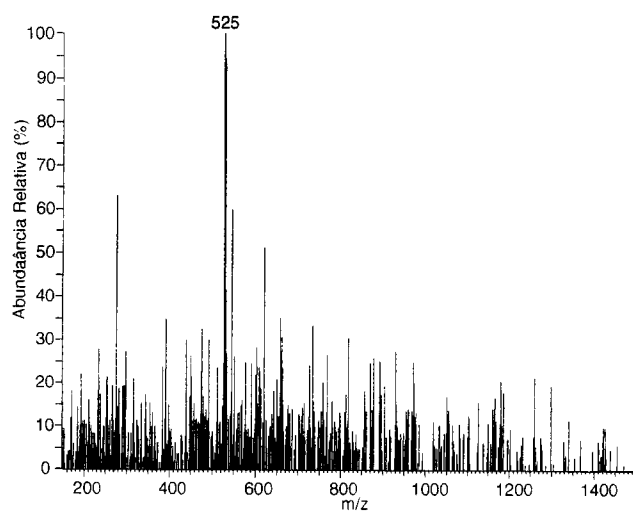


Figura 49. Espectro de massa MS da 5',6,8-BrCat obtida por LC/MS

2.2.1.1. Síntese da 8-bromo-catequina (8-BrCat, 10)

Com o objectivo de tornar a reacção mais selectiva e de formar o derivado bromado da (+)-catequina apenas na posição 8, com melhor rendimento, optimizou-se a reacção de bromação fazendo reagir (+)-catequina (**1**) com tribrometo de piridina, num banho de acetona e azoto líquido a -80°C (figura 50).

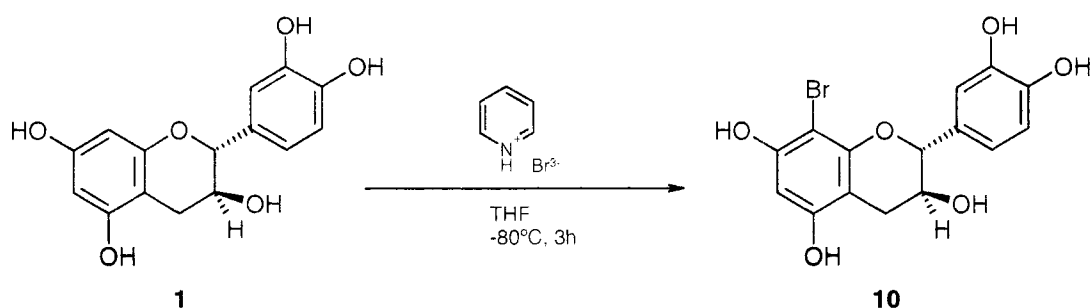


Figura 50. Reacção de síntese da 8-BrCat (**10**)

O produto da reacção revelou tratar-se de uma mistura de (+)-catequina e 8-bromo-catequina numa proporção de 1:7 (figura 51) não se formando o derivado bromado em C6. Nesta condição foi possível sintetizar a 8-BrCat (**10**) com um excelente rendimento (94%), mostrando tratar-se de uma reacção quantitativa e regioselectiva.

No entanto, a reacção não foi total, uma vez que se verificou a presença de (+)-catequina no final da reacção. A realização da síntese a temperaturas muito baixas fez com que a velocidade de reacção diminuísse, ocorrendo a bromação em primeiro lugar no carbono 8 da (+)-catequina, por apresentar maior densidade de carga negativa do que o carbono 6 (Bendz *et al.*, 1967). Segundo Roux *et al.* (1980) inicialmente a bromação da (+)-catequina ocorre exclusivamente na posição C-8 e a reacção na posição C-6 não ocorrerá até que todas as posições C-8 estejam substituídas.

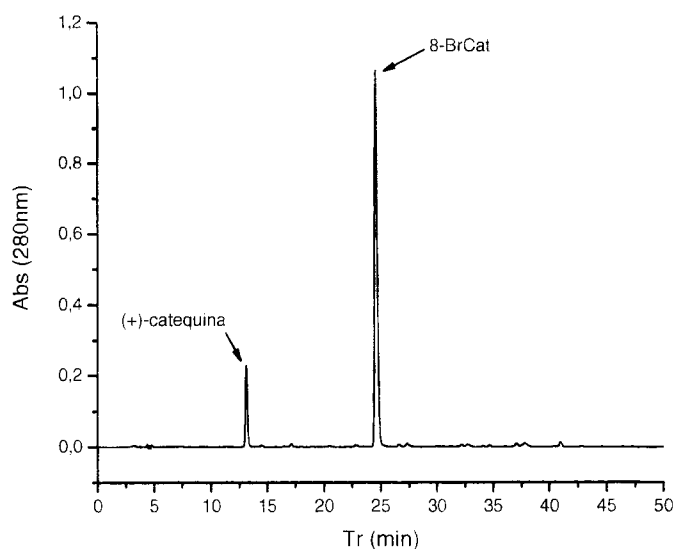


Figura 51. Cromatograma de HPLC dos produtos de reacção de bromação da (+)-catequina

2.2.2. Acetilação da 8-BrCat

De seguida, fez-se a síntese da 8-BrCat5Ac (**8**), efectuando a reacção entre a 8-BrCat (**10**) e o anidrido acético, usando como base a trietilamina (Et_3N) (figura 52).

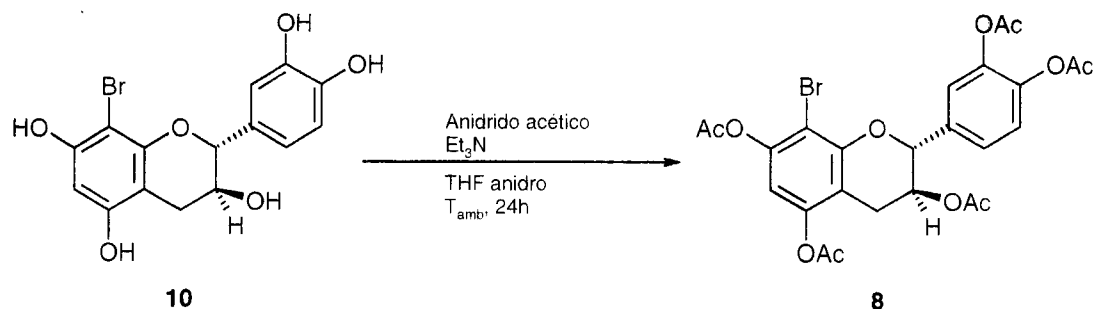
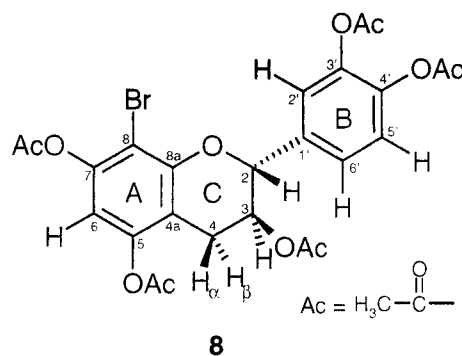


Figura 52. Reacção de síntese da 8-BrCat5Ac (**8**)

A 8-BrCat5Ac foi obtida com um rendimento de 80%. A sua estrutura foi estabelecida por RMN- ^1H (tabela 11 e anexo 4).

Tabela 11. Dados de RMN- ^1H (CDCl_3) da 8-BrCat5Ac (**8**)

Posição	δ ^1H (ppm); J (Hz)
Anel C	
2C	5.20-5.35, *
3C	5.20-5.35, *
4 α C	2.85; <i>dd</i> , 4.75/16.7
4 β C	2.71; <i>dd</i> , 5.63/16.7
Anel A	
6A	6.70; <i>s</i>
Anel B	
2'B	7.15-7.25, *
5'B	7.15-7.25, *
6'B	7.15-7.25, *
Grupo Ac	
CH_3 — (15H)	2.28, <i>s</i>



*, não definido; *s*, singleto; *dd*, duplo dupleto

Foi detectado um sinal não definido entre 5.20 e 5.35 ppm, correspondente aos prótons H-2C e H-3C e que se encontram sobrepostos. O singleto detectado a 6.70 ppm foi atribuído ao próton H-6A.

Os prótons H-2'B, H-5'B e H-6'B foram atribuídos aos sinais não definidos entre 7.15 e 7.25 ppm, tal como se verificou com a Cat5Ac. Os restantes prótons da 8-BrCat5Ac (**8**), e os respectivos deslocamentos químicos e constantes de acoplamento, foram atribuídos por comparação com o espectro de RMN-¹H da Cat5Ac (**7**).

3. Sililação e bromação da (+)-catequina

3.1. Síntese da 3,3',4',5,7-penta-*O*-*tert*-butildimetilsilil-catequina (Cat5Si, 12)

Nesta síntese, fez-se reagir (+)-catequina (1) com TBDMS-Cl, na presença de uma quantidade catalítica de imidazole (figura 53), adoptando métodos descritos na literatura para outros substractos (Corey *et al.*, 1972; Kendall *et al.*, 1979).

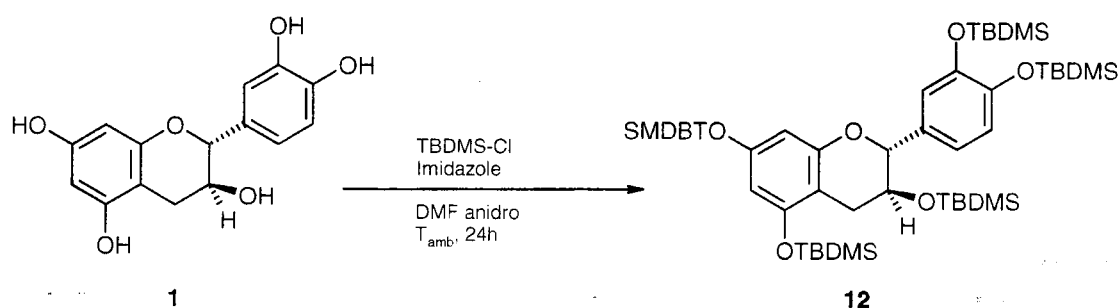


Figura 53. Reacção de síntese da Cat5Si (12)

Esta reacção deu origem a dois produtos, **A** ($\eta=63\%$) e **B** ($\eta=27\%$), que foram isolados por cromatografia em coluna de gel de sílica e caracterizados por espectrometria de massa directa (figura 54). Esta análise revelou que o composto **A** possuía um ião molecular ($[M^+]$, $m/z = 861$) de massa igual ao composto Cat5Si (12), enquanto que o composto **B** apresentava um ião molecular consistente com a estrutura de uma unidade de (+)-catequina ligada a quatro grupos *tert*-butildimetilsililos ($[M^+]$, $m/z = 747$). Estes compostos foram sintetizados pela primeira vez.

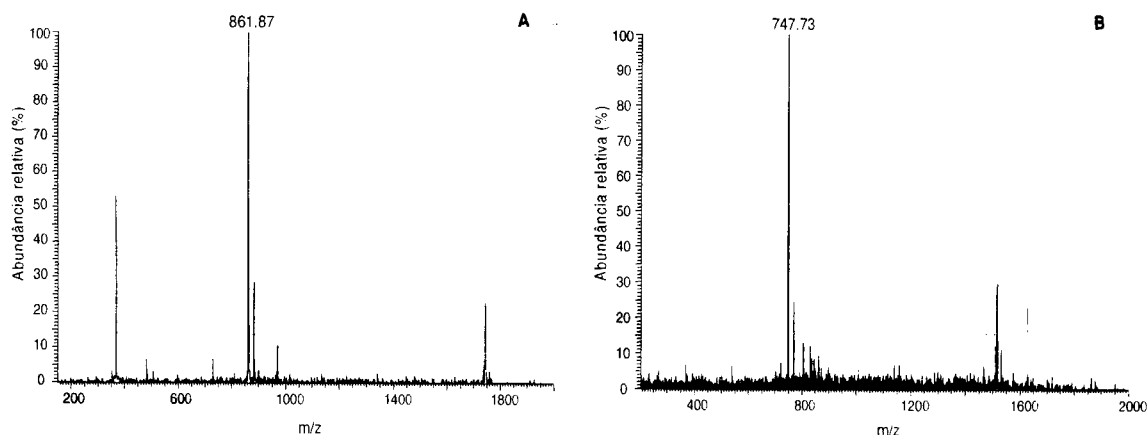


Figura 54. Espectros de massa por análise directa da Cat5Si (A) e da Cat4Si (B)

3.2. Síntese da 3,3',4',5,7-penta-*O*-*tert*-butildimetilsilil-8-bromo-catequina (8-BrCat5Si, 13)

A 8-BrCat5Si (13) foi sintetizada através da reacção entre a Cat5Si (12) e o NBS (figura 55), segundo o procedimento descrito por Tarascou, 2005.

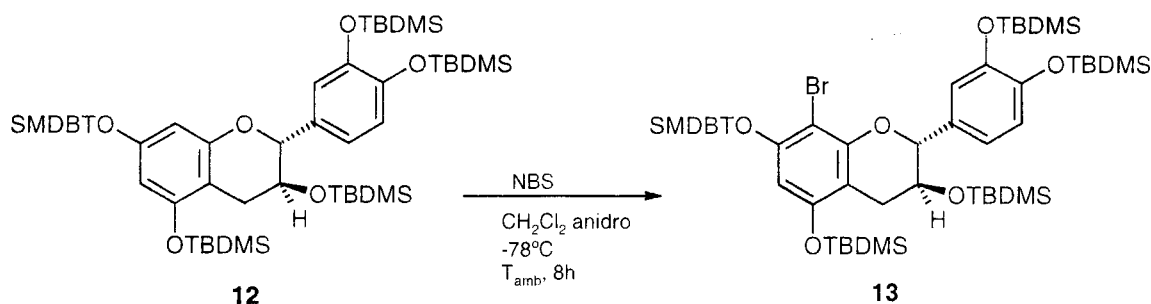


Figura 55. Reacção de síntese da 8-BrCat5Si (13)

Nas condições da reacção, em que se utilizou temperaturas muito baixas, obteve-se a 8-BrCat5Si com um bom rendimento (85%). A bromação ocorreu apenas na posição 8 do material de partida indicando novamente tratar-se de uma reacção regioselectiva à semelhança da síntese da 8-BrCat4Bn. O composto (13), obtido após purificação por cromatografia em coluna de gel de sílica, foi analisado por espectrometria de massa (injecção directa), revelando um ião molecular ($[M^+]$, $m/z = 941$) que corresponde à massa do produto pretendido (figura 56). Tal como a Cat5Si e a Cat4Si também a 8-BrCat5Si foi sintetizada pela primeira vez.

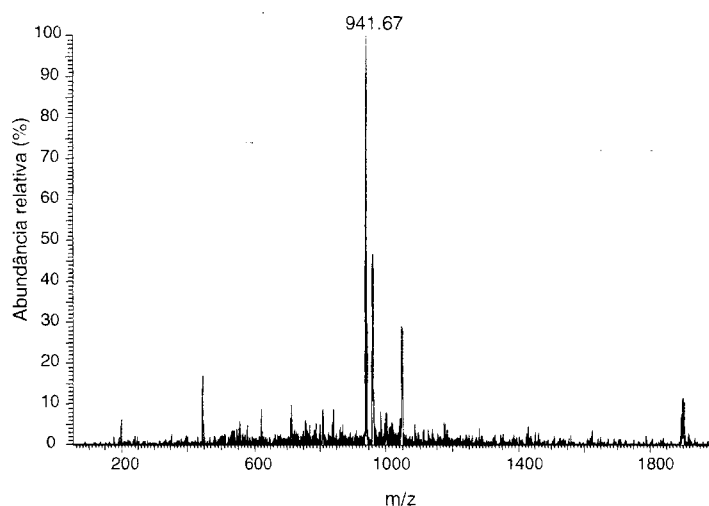
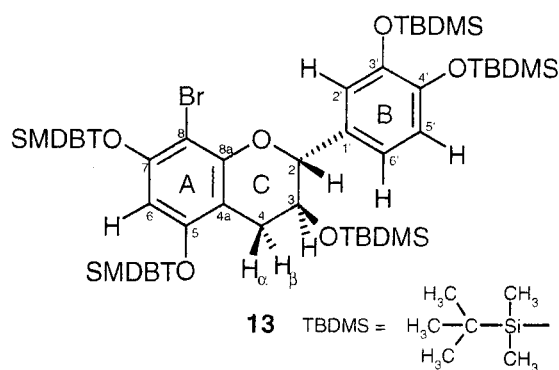


Figura 56. Espectro de massa por análise directa da 8-BrCat5Si (13)

A estrutura da 8-BrCat5Si (**13**) foi confirmada por espectroscopia de RMN de ^1H (anexo 5) e ^{13}C . Os dados referentes à análise deste composto em CDCl_3 encontram-se apresentados na tabela 12. Técnicas de RMN 1D e 2D (COSY) foram utilizadas para atribuir os desvios químicos dos prótons, enquanto que os carbonos foram atribuídos através de técnicas 2D (HSQC e HMBC). O espectro de HMBC foi otimizado de modo a visualizar o acoplamento ^1H - ^{13}C de longa distância ($^2J_{\text{C,H}}$ e $^3J_{\text{C,H}}$) com o objectivo de atribuir a maior parte dos carbonos.

Tabela 12. Dados de RMN- ^1H e ^{13}C (CDCl_3) e correlações HMBC e HSQC da 8-BrCat5Si (**13**)



Posição	δ ^1H (ppm); J (Hz)	δ ^{13}C (ppm)	HMBC	HSQC
Anel C				
2C	4.66; <i>d</i> , 8.29	82.0	-	H-2C
3C	3.80; <i>m</i> , *	69.5	-	H-3C
4 α C	2.98; <i>dd</i> , 5.54/16.1	30.8	-	H-4C
4 β C	2.59; <i>dd</i> , 9.22/16.1			
Anel A				
4aA	-	106.7	H-4 α , β C, H-6A	-
5A	-	152.4	H-4 α , β C, H-6A	-
6A	6.06; <i>s</i>	103.3	-	H-6A
7A	-	151.7	H-6A	-
8A	-	95.9	H-6A	-
8aA	-	152.7	H-2C, H-4 α , β C	-
Anel B				
1'B	-	132.0	H-2C, H-3C, H-2'B, H-5'B, H-6'B	-
2'B	6.96, <i>d</i> , 1.82	119.5	-	H-2'B
3'B	-	146.5	H-2'B, H-5'B	-
4'B	-	146.6	H-2'B, H-5'B, H-6'B	-
5'B	6.79, <i>d</i> , 8.20	121.1	-	H-5'B
6'B	6.83, <i>dd</i> , 1.82/8.21	120.5	-	H-6'B
Grupo TBDMS	-0.40 – 1.60, <i>s</i>	$\cong$ -4, 18, 26	-	-

*, não definido; *s*, singlete; *d*, duplete; *dd*, duplo duplete; *m*, multiplete

Os prótons do anel pirânico C foram facilmente identificados devido ao seu sistema de spin ABMX característico, visível no espectro COSY. Foram detectados dois duplos dupletos a 2.59 e 2.98 ppm que correspondem aos prótons H-4 β C e H-4 α C acoplados entre si ($J_{4\alpha\beta}$ =16.1Hz). Estes prótons estão também correlacionados com o próton H-3C ($J_{4\beta 3}$ =9.22Hz e $J_{4\alpha 3}$ =5.54Hz). O multipletto não definido detectado a 3.80 ppm corresponde ao próton H-3C que está correlacionado com os prótons H-4 α C, H-4 β C e H-2C. O dupletto situado a 4.66 ppm foi atribuído ao próton H-2C que está acoplado com o H-3C (J_{23} =8.29Hz) e cuja constante de acoplamento é indicativa de uma estereoquímica *trans* do H-2C em relação ao H-3C, característico do anel C da (+)-catequina. O próton H-6A foi atribuído ao singletto a 6.06 ppm. Em relação ao anel B, foi detectado um dupletto a 6.79 ppm correspondente ao próton H-5'B e que se encontra acoplado com o próton H-6'B ($J_{5'6'}$ =8.20Hz). Por seu lado, o próton H-6'B foi atribuído ao duplo dupletto situado a 6.83 ppm. Este próton apresenta um pequeno acoplamento (longa distância) com o H-2'B ($J_{6'2'}$ =1.82Hz). Por último, o dupletto detectado a 6.96 ppm foi atribuído ao próton H-2'B, que se encontra acoplado com o próton H-6'B ($J_{2'6'}$ =1.82Hz).

Os prótons do grupo *terc*-butildimetilsililo foram identificados como singletos e encontram-se deslocados para campos altos (baixos desvios químicos) entre -0.40 e 1.60 ppm. Pela linha de integração desses sinais foi possível confirmar a presença dos setenta e cinco prótons que compõem os cinco grupos TBDMS protectores da (+)-catequina bromada.

Pela análise dos espectros de HSQC e HMBC foi possível atribuir os carbonos da 8-BrCat5Si (13).

De acordo com as correlações ^1H - ^{13}C directas observadas no espectro de HSQC, conseguiu-se atribuir os carbonos C-2, C-3 e C-4 do anel C, aos sinais detectados a 82.0, 69.5 e 30.8 ppm, respectivamente. O carbono C-6A foi determinado a 103.3 ppm. Os carbonos C-2'B, C-5'B e C-6'B do anel B foram identificados a 119.5, 121.1 e 120.5 ppm, respectivamente.

Os restantes carbonos foram determinados por correlações ^1H - ^{13}C existentes a longa distância, observadas no espectro de HMBC.

O carbono C-4aA foi determinado a 106.7 ppm, através das correlações com os prótons H-4 α , β C e H-6A. O carbono C-8A ligado ao bromo foi determinado a 95.9 ppm através da correlação com o próton H-6A.

O carbono C-7A foi determinado por correlação com o próton H-6A, tendo sido atribuído a 151.7 ppm. O carbono C-8aA foi atribuído a 152.7 ppm por correlação com os prótons H-2C e H-4 α , β C. O carbono C-5A foi determinado a 152.4 ppm devido à sua correlação com os prótons H-4 α , β C e H-6A.

Relativamente aos carbonos do anel B, foi atribuído o C-1'B a 132.0 ppm, a partir da sua correlação com o H-2C, H-3C, H-2'B, H-5'B e H-6'B. O carbono C-3'B foi atribuído a 146.5 ppm através da correlação com os prótons H-2'B, H-5'B e o C-4'B a 146.6 ppm, por correlação com os prótons H-2'B, H-5'B, H-6'B.

Os carbonos do grupo *tert*-butildimetilsililo correspondem aos sinais presentes na zona dos -4 ppm, 18 ppm e 26 ppm.

4. Reacções de Stille e de Suzuki

4.1. Síntese da 3',4',5,7-tetra-*O*-benzil-8-vinil-catequina (8-vinil-Cat4Bn, 15)

Para a síntese da 8-vinil-Cat4Bn (**15**), optou-se por uma reacção de Stille entre a 8-BrCat4Bn (**5**) e o tributilvinilestanho (TBVE) em dioxano anidro, usando diferentes catalisadores de paládio, uma fosfina e um aditivo (figura 57). Estas condições foram adaptadas de métodos descritos na literatura (Littke *et al.*, 1999; Littke *et al.*, 2002).

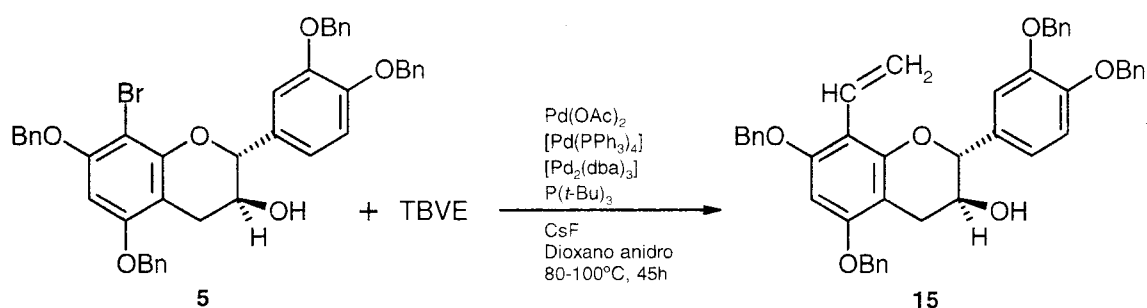


Figura 57. Reacção de síntese da 8-vinil-Cat4Bn (**15**)

Antes de se encontrarem as condições descritas anteriormente que permitiram que a reacção de Stille ocorresse com sucesso, foram realizadas outras reacções nas quais se tentaram diferentes condições experimentais, sem grande sucesso, tais como:

- uso de THF anidro (Kim *et al.*, 2002) e de DMSO anidro (Han *et al.*, 1999) como solventes de reacção;
- uso de apenas um catalisador de paládio;
- uso de LiCl e CuCl como aditivos (Han *et al.*, 1999);
- diferentes tempos de reacção;
- diferentes temperaturas de reacção;
- diferentes rácios molares.

Uma dificuldade adicional nesta síntese era o facto da mancha de TLC do produto apresentar o mesmo R_f (0,6) do reagente (testou-se vários eluentes sem sucesso) e deste modo não permitir seguir a reacção por TLC. Era preciso isolar primeiro os compostos por cromatografia líquida em coluna de gel de sílica para poder analisar por RMN- ^1H e para saber se se tratava do reagente, do produto ou da mistura de ambos. Isto implicou um trabalho adicional muito grande e um maior gasto de reagentes.

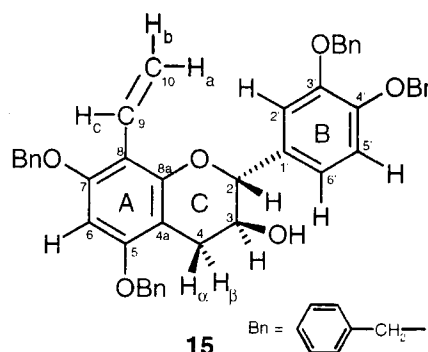
Assim, nas condições experimentais descritas na figura 57 foi possível obter, após isolamento por cromatografia em coluna de gel de sílica, a 8-vinil-Cat4Bn (**15**) que se encontrava misturada com o reagente. A sua estrutura foi elucidada por espectroscopia de RMN- ^1H (tabela 13 e anexo 6). Este composto (**15**) foi obtido pela primeira vez com um rendimento de 21%.

Numa tentativa de aumentar o rendimento da reacção, efectuou-se a reacção por mais tempo (69h), 100°C durante as primeiras 45 horas e 130°C nas últimas 24 horas, embora sem sucesso.

Tabela 13. Dados de RMN- ^1H (CDCl_3) da 8-vinil-Cat4Bn (**15**)

Posição	δ ^1H (ppm); J (Hz)
Anel C	
2C	4.68; <i>d</i> , 7.97
3C	3.97; <i>m</i> , *
4 α C	3.07; <i>dd</i> , 5.73/16.5
4 β C	2.65; <i>dd</i> , 8.75/16.4
Anel A	
6A	6.24; <i>s</i>
Anel B	
2'B	7.05; <i>s</i>
5'B	6.94; <i>s</i>
6'B	6.94; <i>s</i>
Grupo Bn	
H _{aromáticos} (20H)	7.28-7.48; <i>m</i> , *
	5.28; <i>s</i>
—CH ₂ — (8H)	5.16; <i>s</i>
	5.11; <i>s</i>
	4.97; <i>s</i>
Grupo vinilo	
9c	6.7-7.5; *
10a	5.98; <i>dd</i> ; 2.75/18.0
10b	5.22; <i>dd</i> ; 2.75/12.2

*, não definido; *s*, singlete; *d*, duplete; *dd*, duplo duplete; *m*, multiplete



Na figura 58 encontra-se uma expansão do espectro de RMN- ^1H desta fracção. Nessa zona do espectro observou-se claramente sinais que indicam a presença de protões característicos do grupo vinilo da 8-vinil-Cat4Bn e verificou-se que este composto se encontrava misturado com o reagente de partida (**5**) numa proporção de 1:1,2. Esta proporção foi calculada a partir da intensidade do protão H-2C da 8-BrCat5Si e do protão H-2C do respectivo derivado vinílico (figura 58).

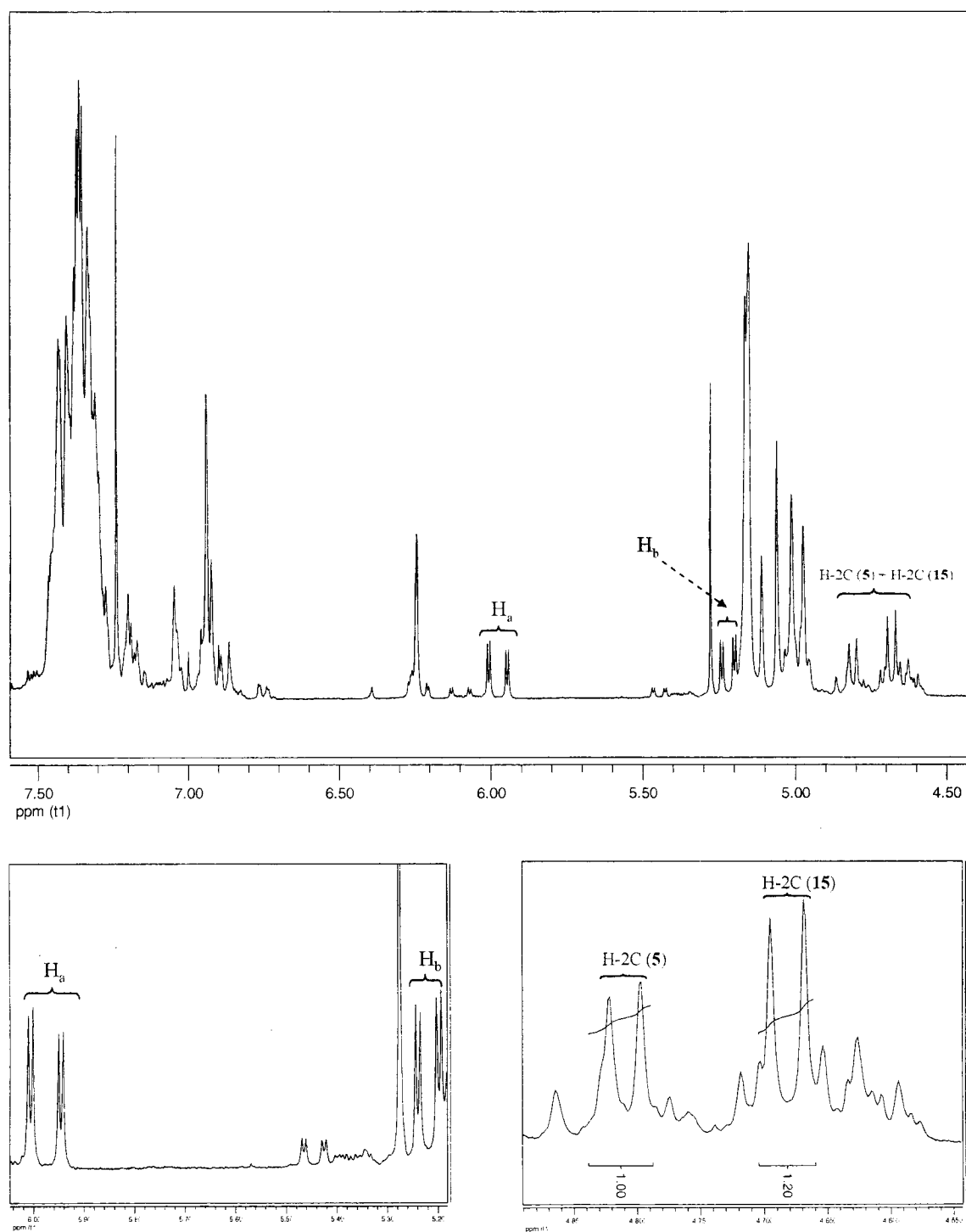


Figura 58. Espectro de RMN- ^1H (expansões da zona dos prótons vinílicos e H-2C) da mistura da 8-vinil-Cat4Bn (**15**) e da 8-BrCat4Bn (**5**) na proporção 1:1,2

Assim, detectou-se um duplo duplete (dd) a 5.22ppm correspondente ao próton H_b que está correlacionado com o próton H_a ($J_{ba}=2.75\text{Hz}$) com uma constante de acoplamento típica dos acoplamentos entre prótons geminais (J_{gem} 0-3.5Hz). O próton H_b está também acoplado com o próton H_c ($J_{bc}=12.2\text{Hz}$), e cuja constante está igualmente

dentro do intervalo esperado para prótons *cis* (J_{cis} 6-14Hz). Por seu lado, o próton H_a foi detectado a 5.98ppm (dd) correlacionado com o próton H_b geminal ($J_{ab}=2.75\text{Hz}$) e com o próton H_c com uma constante de acoplamento de 18.0Hz (J_{ac}), típica de prótons que se encontram em posição *trans* (J_{trans} 11-18Hz). Por último, o próton H_c , que deve apresentar um duplo duplete ($J=12.2/18.0\text{Hz}$), não foi detectado no espectro, provavelmente devido ao facto de se encontrar sobreposto com sinais de outros prótons do composto na zona dos 6.7-7.5ppm. A atribuição dos prótons do grupo vinílico foi também facilitada por comparação com deslocamentos químicos dos mesmos prótons do reagente TBVE.

Os restantes prótons da molécula, e os respectivos deslocamentos químicos e constantes de acoplamento, foram facilmente atribuídos por comparação com os prótons relativos à 8-BrCat4Bn (**5**).

4.2. Síntese da 3,3',4',5,7-penta-*O*-acetil-8-vinil-catequina (8-vinil-Cat5Ac, 16)

Na síntese da 8-vinil-Cat5Ac, optou-se por fazer a reacção de Stille entre a 8-BrCat5Ac (**8**) e o reagente TBVE, nas condições experimentais apresentadas na figura 59 (Littke *et al.*, 1999; Littke *et al.*, 2002), mas sem sucesso.

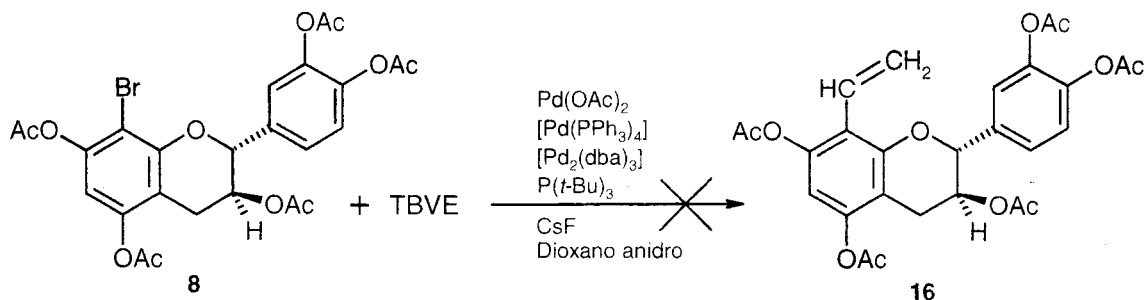


Figura 59. Reacção de síntese da 8-vinil-Cat5Ac (**16**)

Foram feitas outras tentativas de síntese também sem sucesso, fazendo variar as condições experimentais usadas anteriormente, tais como:

- uso de DMF anidro como solvente (Kim *et al.*, 2002);
- uso de LiCl e CuCl como aditivos (Han *et al.*, 1999);
- diferentes tempos de reacção;
- diferentes temperaturas de reacção;
- diferentes rácios molares.

Ao contrário dos grupos benzilo, os grupos acetilo (atraidores de electrões) parecem desfavorecer a reacção de Stille como resultado da diminuição da densidade electrónica do carbono ligado ao bromo. Após várias tentativas, esta síntese foi abandonada.

4.3. Síntese da 3,3',4',5,7-penta-*O*-*tert*-butildimetilsilil-8-vinil-catequina (8-vinil-Cat5Si, 17)

Para sintetizar a 8-vinil-Cat5Si (17), optou-se por efectuar a reacção de Stille entre a 8-BrCat5Si (13) e o TBVE, segundo as condições apresentadas na figura 60 (Littke *et al.*, 1999; Littke *et al.*, 2002).

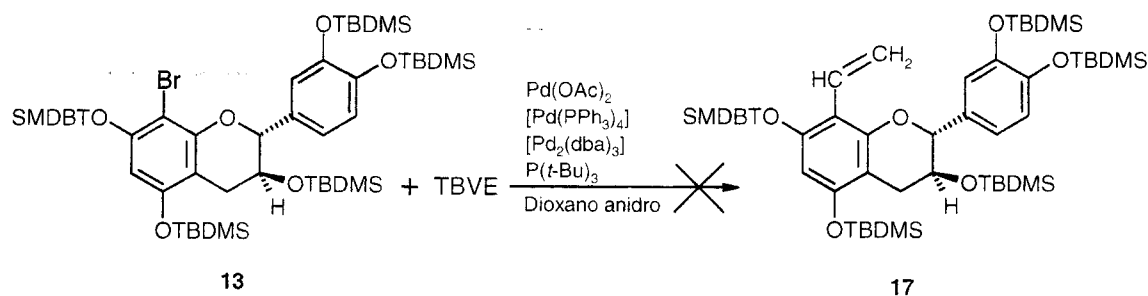


Figura 60. Reacção de Stille – Síntese da 8-vinil-Cat5Si (17)

Foram testadas diferentes condições experimentais:

- I) 1h à T_{amb} , 4h a 40°C, 3h a 80°C, 16h a 100°C e 3h a 130°C;
- II) 17h à T_{amb} , 25h a 150°C e depois mais 23h à T_{amb} ;
- III) e na presença de CsF a 100°C durante 18h.

Nos dois primeiros casos (I e II), os compostos obtidos após purificação por cromatografia em coluna de gel de sílica revelaram tratar-se do material de partida (8-BrCat5Si).

No último caso (III), por TLC não se verificou a presença de qualquer mancha, o que significa que o reagente ou o produto da reacção de Stille terão sido destruídos. Uma possível explicação para esse acontecimento poderá ter a ver com facto do anião fluoreto, do CsF usado, ter atacado e removido os grupos TBDMS da 8-bromocatequina. Assim, os grupos hidroxilo livres poderão ter oxidado com as elevadas temperaturas empregues ao sistema, dando origem a quinonas.

Visto não ser possível sintetizar a 8-vinil-Cat5Si pela reacção de Stille, procurou obter-se este composto através da reacção de Suzuki entre a 8-BrCat5Si (**13**) e o 4,4,5,5-tetrametil-2-vinil-1,3,2-dioxaborolano (TMVDB) em dioxano anidro, usando como base o Cs_2CO_3 (figura 61), segundo um método descrito na literatura (Littke *et al.*, 1998).

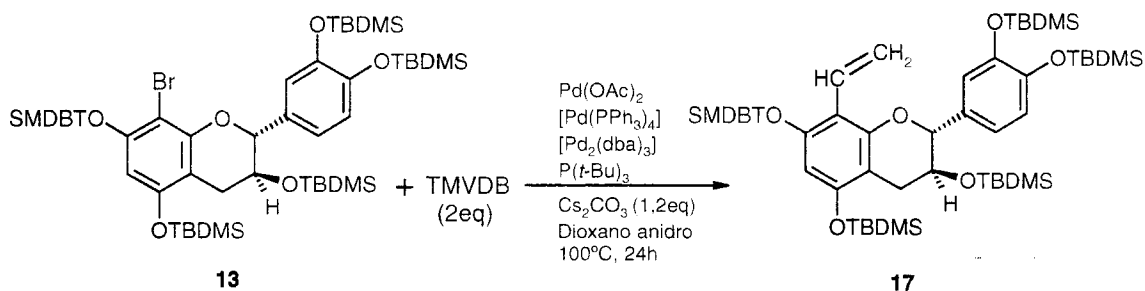


Figura 61. Reacção de Suzuki – Síntese da 8-vinil-Cat5Si (**17**)

Por TLC foi possível obter uma mancha ($R_f = 0,6$). O ou os compostos responsáveis por esta mancha foram isolados por cromatografia líquida. A análise por RMN- ^1H , revelou tratar-se de uma mistura do material de partida (**13**) e do composto pretendido (**17**), numa proporção de 1:1,5 (figura 62 e anexo 7). Pela análise da mesma figura pode-se verificar, a existência de um sistema de spins característico do grupo vinilo, semelhante ao verificado anteriormente para a 8-vinil-Cat4Bn. A 8-vinil-Cat5Si foi também sintetizada pela primeira vez com rendimento de 16%.

Foram feitas várias reacções com diferentes rácios molares de reagente TMVDB e maior tempo de reacção. No entanto, obtiveram-se resultados semelhantes em termos de proporção entre reagente e produto de reacção. À semelhança do que se verificou por TLC, a 8-vinil-Cat5Si é co-eluída com a 8-BrCat5Si, o que torna praticamente impossível a sua separação nas condições usadas.

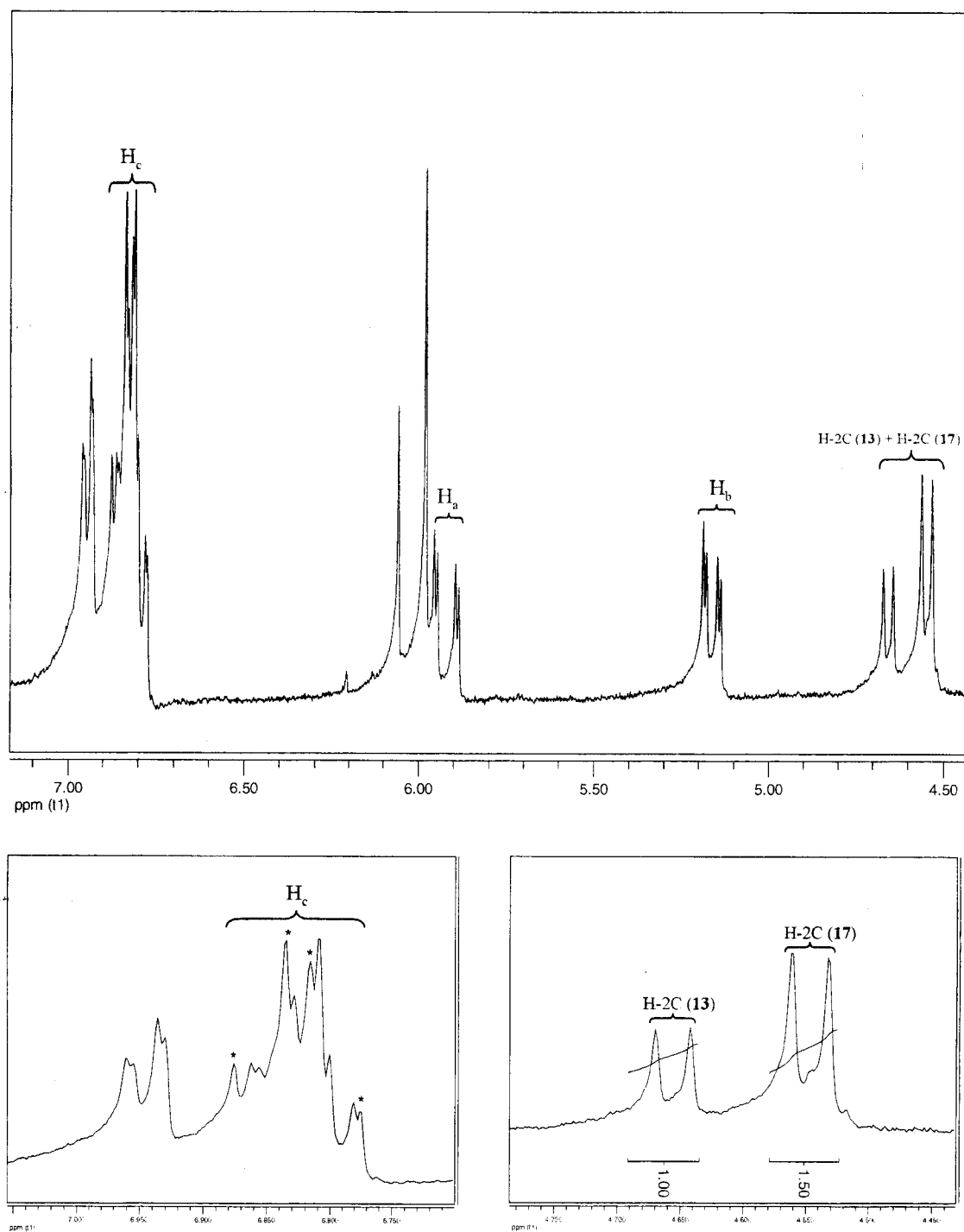
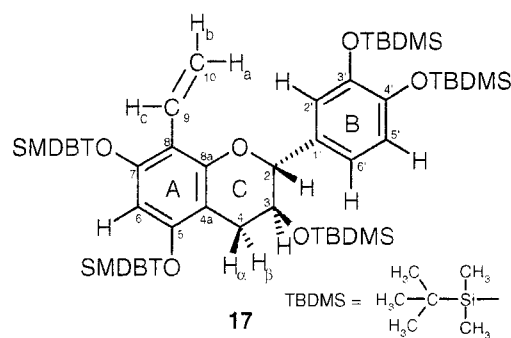


Figura 62. Espectro de RMN- ^1H (expansões da zona dos prótons vinílicos e H-2C) da mistura da 8-vinil-Cat5Si (17) e da 8-BrCat5Si (13) na proporção 1:1,5

A estrutura da 8-vinil-Cat5Si (17) foi confirmada por espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C (tabela 14). Técnicas de RMN 1D e 2D (COSY) foram utilizadas para atribuir os desvios químicos dos prótons, enquanto que os carbonos foram atribuídos através de técnicas 2D (HSQC e HMBC). O espectro de HMBC foi otimizado de modo a visualizar o acoplamento ^1H - ^{13}C de longa distância ($^2J_{\text{C,H}}$ e $^3J_{\text{C,H}}$) com o objectivo de atribuir a maior parte dos carbonos.

Tabela 14. Dados de RMN-¹H e ¹³C (CDCl₃) e correlações HMBC e HSQC da 8-vinil-Cat5Si (17)



Posição	δ ¹ H (ppm); <i>J</i> (Hz)	δ ¹³ C (ppm)	HMBC	HSQC
Anel C				
2C	4.55; <i>d</i> , 8.77	81.8	-	H-2C
3C	3.83; <i>m</i> , *	69.5	-	H-3C
4 α C	3.06; <i>dd</i> , 5.79/16.1	31.5	-	H-4C
4 β C	2.57; <i>dd</i> , 9.73/16.1			
Anel A				
4aA	-	106.0	H-4 α , β C, H-6A	-
5A	-	152.8	H-4 α , β C, H-6A	-
6A	5.98; <i>s</i>	102.8	-	H-6A
7A	-	152.7	H-6A, H-9c	-
8A	-	110.6	H-6A, H-10a, H-10b, H-9c	-
8aA	-	154.6	H-2C, H-4 α , β C, H-9c	-
Anel B				
1'B	-	132.5	H-2C, H-3C, H-2'B, H-5'B, H-6'B	-
2'B	6.94, <i>d</i> , 1.78	119.8	-	H-2'B
3'B	-	146.5	H-2'B, H-5'B	-
4'B	-	146.6	H-2'B, H-5'B, H-6'B	-
5'B	6.80, <i>d</i> , 8.32	121.2	-	H-5'B
6'B	6.85, <i>dd</i> , 1.78/8.32	120.5	-	H-6'B
Grupo TBDMS	-0.40-1.60, <i>s</i>	$\equiv$ -5, 18, 26	-	-
Grupo vinilo				
9c	6.83, <i>dd</i> ; 12.3/18.0	127.7	-	H-9c
10a	5.93, <i>dd</i> ; 2.80/18.0	116.6	-	H-10a
10b	5.17, <i>dd</i> ; 2.80/12.2	116.6	-	H-10b

*, não definido; *s*, singlete; *d*, duplete; *dd*, duplo duplete; *m*, multiplete

Os prótons H-4 α C e H-4 β C da 8-vinil-Cat5Si (17) foram atribuídos através do sistema de spin ABMX característico do anel pirânico C facilmente visível no espectro COSY. Foram detectados dois duplos dupletos a 2.57 ppm e 3.06 ppm que correspondem respectivamente aos prótons H-4 β C e H-4 α C acoplados entre si ($J_{4\alpha\beta}$ =16.1Hz). Estes prótons estão também correlacionados com o próton H-3C ($J_{4\beta 3}$ =9.73Hz e $J_{4\alpha 3}$ =5.79Hz). O multipletto não definido detectado a 3.83 ppm foi atribuído ao próton H-3C, que se encontra correlacionado com os prótons H-4 α,β C e H-2C.

O dupletto de maior intensidade situado a 4.55 ppm corresponde ao próton H-2C da 8-vinilCat5Si, encontrando-se acoplado com o respectivo H-3C (J_{23} =8.77Hz), e cuja constante de acoplamento é indicativa de uma estereoquímica *trans* do H-2C em relação ao H-3C, característico do anel C da (+)-catequina.

O singletto mais intenso detectado a 5.98 ppm foi atribuído ao próton H-6A da 8-vinil-Cat5Si.

Em relação ao anel B, foi detectado um dupletto a 6.80 ppm correspondente ao próton H-5'B e que se encontra acoplado com o próton H-6'B ($J_{5'6'}$ =8.32Hz). Por seu lado, o próton H-6'B foi atribuído ao duplo dupletto situado a 6.85 ppm. Este próton apresenta um pequeno acoplamento (longa distância) com o H-2'B ($J_{6'2'}$ =1.78Hz) e uma constante de acoplamento igual com o próton H-5'B ($J_{6'5'}$ =8.32Hz). O dupletto detectado a 6.94 ppm foi atribuído ao próton H-2'B da 8-vinilCat5Si que se encontra acoplado com o próton H-6'B ($J_{2'6'}$ =1.78Hz).

Relativamente ao grupo vinilo, o próton H_b foi identificado a 5.17 ppm como um duplo dupletto sendo desdobrado pelo H_c em posição *cis* (J_{bc} =12.2Hz) e pelo H_a em posição geminal (J_{ba} =2.80Hz). Da mesma maneira, detectou-se o próton H_a (dd) a 5.93 ppm, acoplado com o H_c em posição *trans* (J_{ac} =18.0Hz) e com o H_b geminal (J_{ab} =2.80Hz). No que diz respeito ao próton H_c, detectou-se um duplo dupletto (6.83ppm), mal resolvido e sobreposto com outros sinais e que está assinalado na respectiva figura 62 com asteriscos. Foi possível a sua atribuição através do acoplamento com os prótons H_a e H_b observado no espectro COSY.

Os prótons dos grupos *terc*-butildimetilsililos foram atribuídos aos singletos situados entre -0.40 e 1.60 ppm.

Pela análise dos espectros de HSQC (correlação ^1H - ^{13}C directa) e HMBC (correlação ^1H - ^{13}C a longa distância) foi possível atribuir os carbonos da 8-vinil-Cat5Si (17).

De acordo com as correlações ^1H - ^{13}C observadas no espectro de HSQC, conseguiu-se atribuir facilmente os carbonos C-2, C-3 e C-4 do anel C, aos sinais detectados a 81.8, 69.5 e 31.5 ppm, respectivamente. O carbono C-6A foi determinado a 102.8 ppm.

Os carbonos C-2'B, C-5'B e C-6'B do anel B foram identificados a 119.8, 121.2 e 120.5 ppm, respectivamente.

Por fim, a correlação directa dos carbonos do grupo vinilo, C-9 e C-10, com os respectivos prótons permitiu a sua atribuição a 127.7 e 116.6 ppm, respectivamente.

Os restantes carbonos foram determinados por correlações ^1H - ^{13}C existentes a longa distância, observadas no espectro de HMBC.

O carbono C-4aA foi determinado a 106.0 ppm, através das correlações com os prótons H-4 α , β C e H-6A. O carbono C-8A ligado ao grupo vinilo foi determinado a 110.6 ppm por correlação com os prótons H-6A, H-10a, H-10b e H-9c.

O carbono C-7A foi determinado por correlação com os prótons H-6A e H-9c, tendo sido atribuído a 152.7 ppm. O carbono C-8aA foi atribuído a 154.6 ppm por correlação com os prótons H-2C, H-4 α , β C e H-9c. O carbono C-5A foi determinado a 152.8 ppm devido à sua correlação com os prótons H-4 α , β C e H-6A.

Relativamente aos carbonos do anel B, foi atribuído o C-1'B a 132.5 ppm, a partir da sua correlação com H-2C, H-3C, H-2'B, H-5'B e H-6'B. O carbono C-3'B foi atribuído a 146.5 ppm através da correlação com os prótons H-2'B, H-5'B e o C-4'B a 146.6 ppm, por correlação com os prótons H-2'B, H-5'B, H-6'B.

Os carbonos dos grupos *terc*-butildimetilsililos correspondem aos sinais presentes na zona dos -5, 18 e 26 ppm.

Pela análise do espectro de NOESY foi possível confirmar a ligação do grupo vinilo ao carbono 8 do anel A da (+)-catequina sililada. A posição da ligação do grupo vinilo no carbono 8A e não no carbono 6A foi confirmada através da correlação HMBC dos prótons do grupo vinilo com o carbono C-8aA. Este carbono foi diferenciado do carbono C-5A, os quais apresentam deslocamentos químicos semelhantes, através da correlação observada no espectro HMBC com o protão 2 do anel pirânico C; por outro lado, no espectro NOESY observou-se uma correlação a longa distância dos prótons do grupo vinilo com os prótons do anel B e com o protão H-2C, o que não aconteceria se estivesse ligado na posição 6.

4.4. Descrição sumária da síntese da 8-vinil-catequina-*O*-protegida

Em seguida, apresenta-se um quadro resumo onde se demonstra as condições experimentais e os resultados para as reacções de síntese dos derivados vinílicos da (+)-catequina.

Tabela 15. Resumo das condições experimentais e dos resultados obtidos para as reacções de Stille e Suzuki efectuadas

Reacção	Reagentes	Catalisadores	Temperatura e Tempo	Produto
Stille	8-BrCat4Bn TBVE	Pd(OAc) ₂ [Pd(PPh ₃) ₄] [Pd ₂ (dba) ₃] P(<i>t</i> -Bu) ₃ CsF	80-100°C 45h	8-vinil-Cat4Bn (η =21%)
	8-BrCat5Ac TBVE	Pd(OAc) ₂ [Pd(PPh ₃) ₄] [Pd ₂ (dba) ₃] P(<i>t</i> -Bu) ₃ CsF	T _{amb} , 24h 50°C, 20h	X
	8-BrCat5Si TBVE	Pd(OAc) ₂ [Pd(PPh ₃) ₄] [Pd ₂ (dba) ₃] P(<i>t</i> -Bu) ₃	T _{amb} , 1h 40°C, 4h 80°C, 3h 100°C, 16h 130°C, 3h	X
Suzuki	8-BrCat5Si TMVDB	Pd(OAc) ₂ [Pd(PPh ₃) ₄] [Pd ₂ (dba) ₃] P(<i>t</i> -Bu) ₃ Cs ₂ CO ₃	100°C 24h	8-vinil-Cat5Si (η =16%)

Os compostos 8-vinil-Cat4Bn e 8-vinil-Cat5Si foram sintetizados nas condições experimentais descritas na tabela 15. Nas reacções de Stille efectuadas, pensa-se que a utilização do CsF fez aumentar a reactividade do reagente de estanho, devido à acção do anião fluoreto na activação do reagente TBVE. No entanto, para o derivado acetilado o uso de CsF não foi preponderante para a obtenção do respectivo derivado vinílico, pois a presença de grupos acetilos desfavoreceu a reacção de Stille. Do mesmo modo, para os derivados sililados não se verificou a formação do produto pretendido: na presença de CsF pode ter ocorrido a destruição do reagente 8-BrCat5Si (remoção dos grupos TBDMS pelo fluoreto) e na ausência de CsF não se obteve o composto desejado. Em

relação à reacção de Suzuki, a base usada foi o Cs_2CO_3 que teve um papel semelhante ao do CsF. O reagente orgânico de boro foi activado pelo anião carbonato formando-se um intermediário que facilitou a etapa de transmetalacão.

Pode-se assim dizer que o CsF e o Cs_2CO_3 foram activadores eficientes dos reagentes de organoestanho e organoboro, respectivamente, e que a utilização destes aditivos foi crucial na aceleração das reacções de acoplamento carbono-carbono efectuadas.

5. Remoção dos grupos protectores da 8-vinil-catequina

5.1. Desbenzilações

5.1.1. Remoção dos grupos benzilos por hidrogenação catalítica

Efectuou-se a remoção dos grupos benzilos da 8-vinil-Cat4Bn (**15**) recorrendo à reacção de hidrogenação catalítica sob atmosfera de hidrogénio, de acordo com o método descrito por Tarascou (2005) para procianidinas benziladas (figura 63).

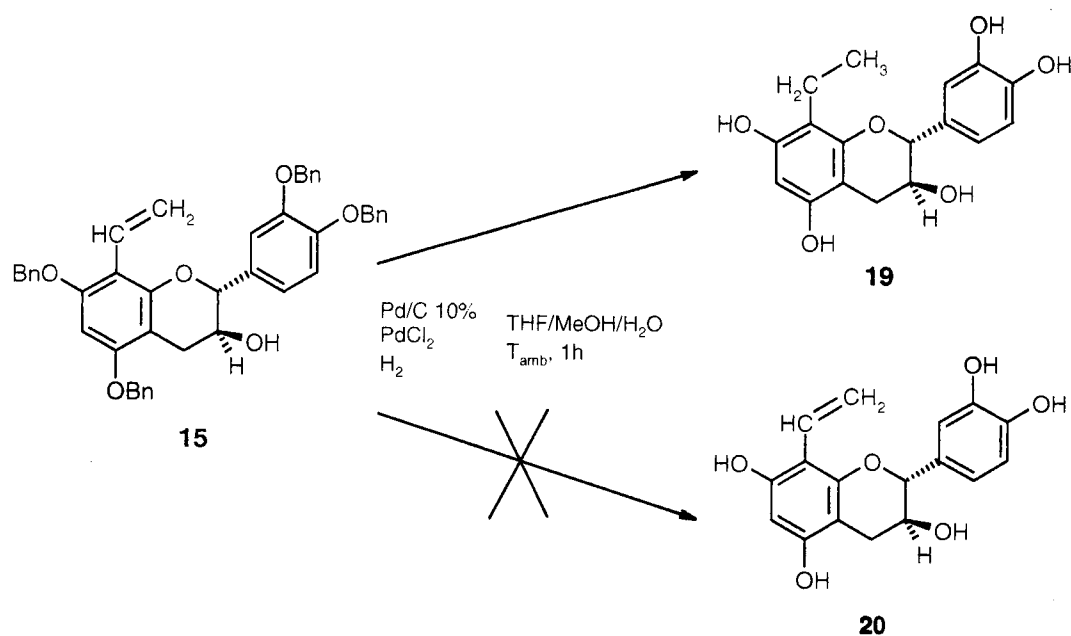


Figura 63. Desprotecção dos grupos hidroxilo da 8-vinil-Cat5Si (**15**) por hidrogenação catalítica

No final da reacção, e depois de realizado o tratamento à mistura reaccional, verificou-se por TLC, o desaparecimento da mancha correspondente ao material de partida (**15**). A amostra obtida foi analisada por HPLC/DAD (figura 64).

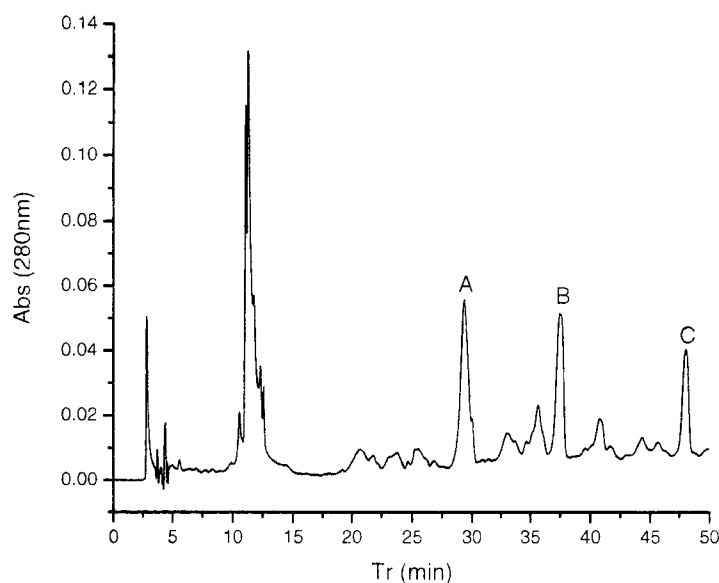


Figura 64. Cromatograma de HPLC registado a 280nm da mistura reaccional de hidrogenação da 8-vinil-Cat4Bn (**15**)

Podemos verificar a presença de vários picos cromatográficos. Para proceder à identificação desses picos, a mesma amostra foi posteriormente analisada por LC/MS. Não foi possível detectar qualquer pico no cromatograma cujo ião molecular correspondesse à massa da 8-vinil-catequina (**20**) ($[M]^+$, $m/z = 317$). No entanto, observou-se que o pico A, que saiu aproximadamente aos 30 min, apresentava um ião molecular consistente com a estrutura de uma unidade de (+)-catequina ligada a um grupo etilo ($[M]^+$, $m/z = 319$ - figura 65A). A respectiva fragmentação MS^2 (figura 65B) apresenta um padrão de fragmentação característico de reacções de RDA ($[M-152]^+$), típico das catequinas. A fragmentação MS^3 (figura 65C) é consistente com a saída do grupo etilo ($[M-152-28]^+$).

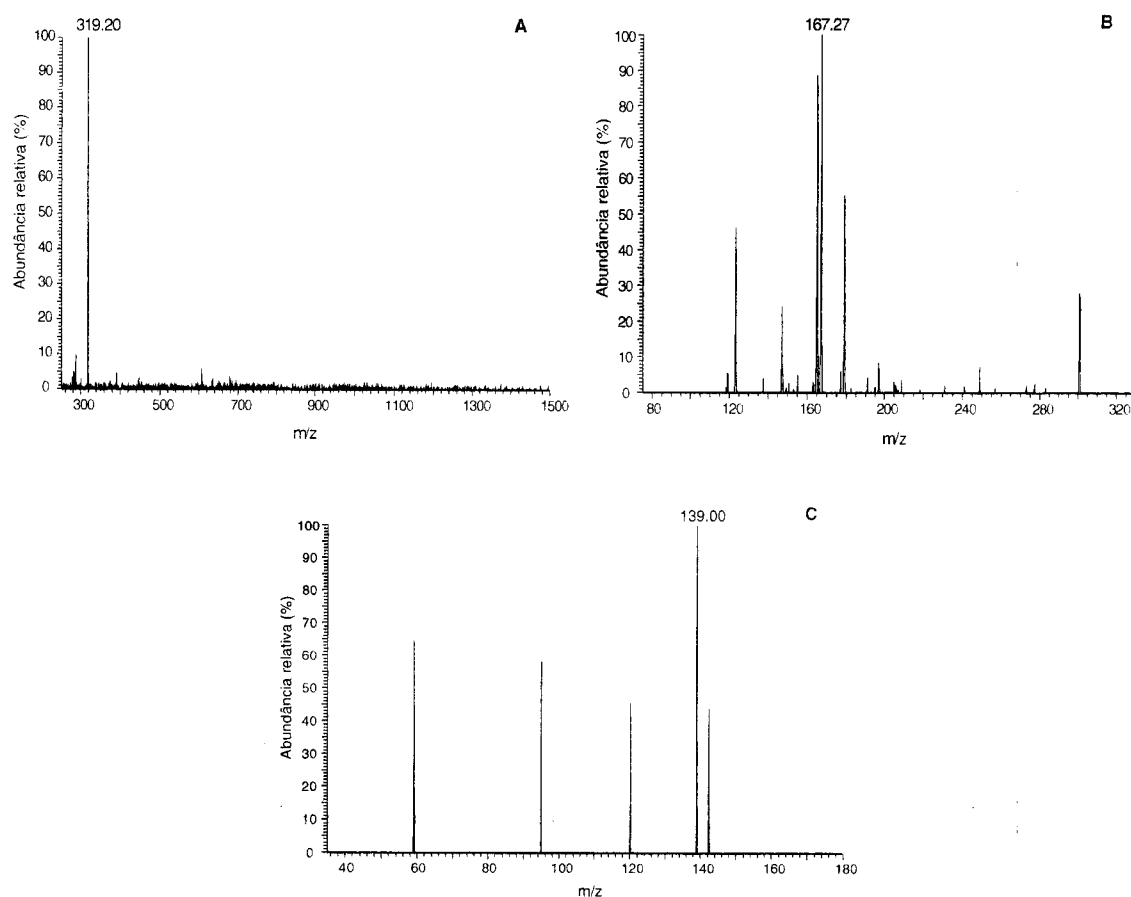


Figura 65. Espectros de massa MS (A), MS² (B) e MS³ (C) do pico cromatográfico aos 30 min obtidos por LC/MS

Os resultados obtidos levam a crer que, embora se tenha conseguido remover os grupos benzilos da 8-vinil-Cat4Bn (**15**), também ocorreu a hidrogenação do grupo vinilo dando assim origem à 8-etil-catequina (**19**). Os restantes picos cromatográficos assinalados na figura 64 (B e C) apresentavam os seguintes iões moleculares: pico B – [M⁺], m/z = 333 e pico C – [M⁺], m/z = 381. As respectivas fragmentações MS² revelaram ser igualmente típicas de reacções RDA ([M-152]⁺). No entanto, pelos dados de massa não possível atribuir a estes compostos uma estrutura compatível.

5.1.2. Remoção dos grupos benzilos com BBr_3

Procurou-se remover os grupos benzilos por outro método, através da reacção entre a 8-vinil-Cat4Bn (**15**) e o BBr_3 .

A reacção foi seguida ao longo do tempo por HPLC/DAD e verificou-se a formação de vários produtos ao fim de 1 hora (figura 66) que desapareceram passadas 3 horas. Constatou-se assim que esta reacção é rápida, originando rapidamente a degradação de compostos formados.

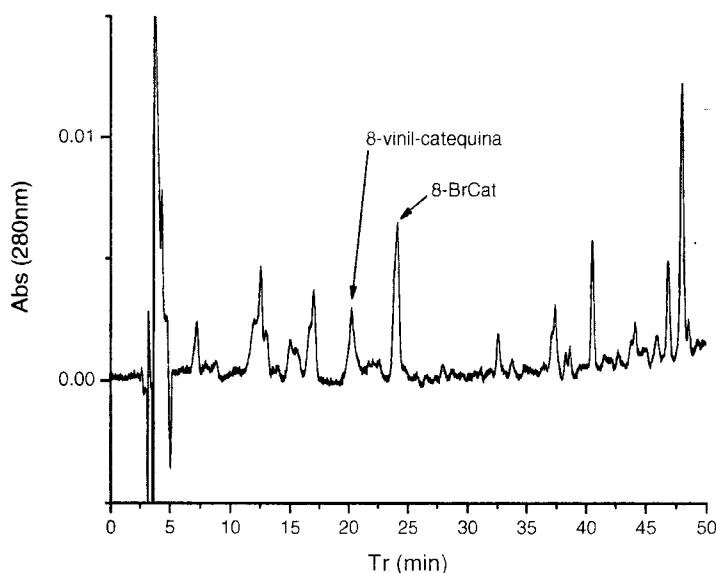


Figura 66. Cromatograma de HPLC registado a 280nm relativo à reacção da 8-vinil-Cat4Bn (**15**) com o BBr_3

A análise por LC/MS da mistura reaccional obtida ao fim de 1 hora, revelou que, o pico detectado aos 20 min no cromatograma de HPLC apresenta um ião molecular consistente com a estrutura de uma unidade de (+)-catequina ligada a um grupo vinilo ($[\text{M}^+]$, $m/z = 317$ - figura 67A). A fragmentação MS^2 (figura 67B) apresenta um padrão de fragmentação típico das catequinas e característico de reacções de RDA ($[\text{M}-152]^+$) enquanto que a fragmentação MS^3 (figura 67C) resulta devido à saída de uma molécula de água ($[\text{M}-152-18]^+$). O pico identificado aproximadamente aos 25 min revelou um ião molecular ($[\text{M}^+]$, $m/z = 369$) consistente com a massa da 8-BrCat.

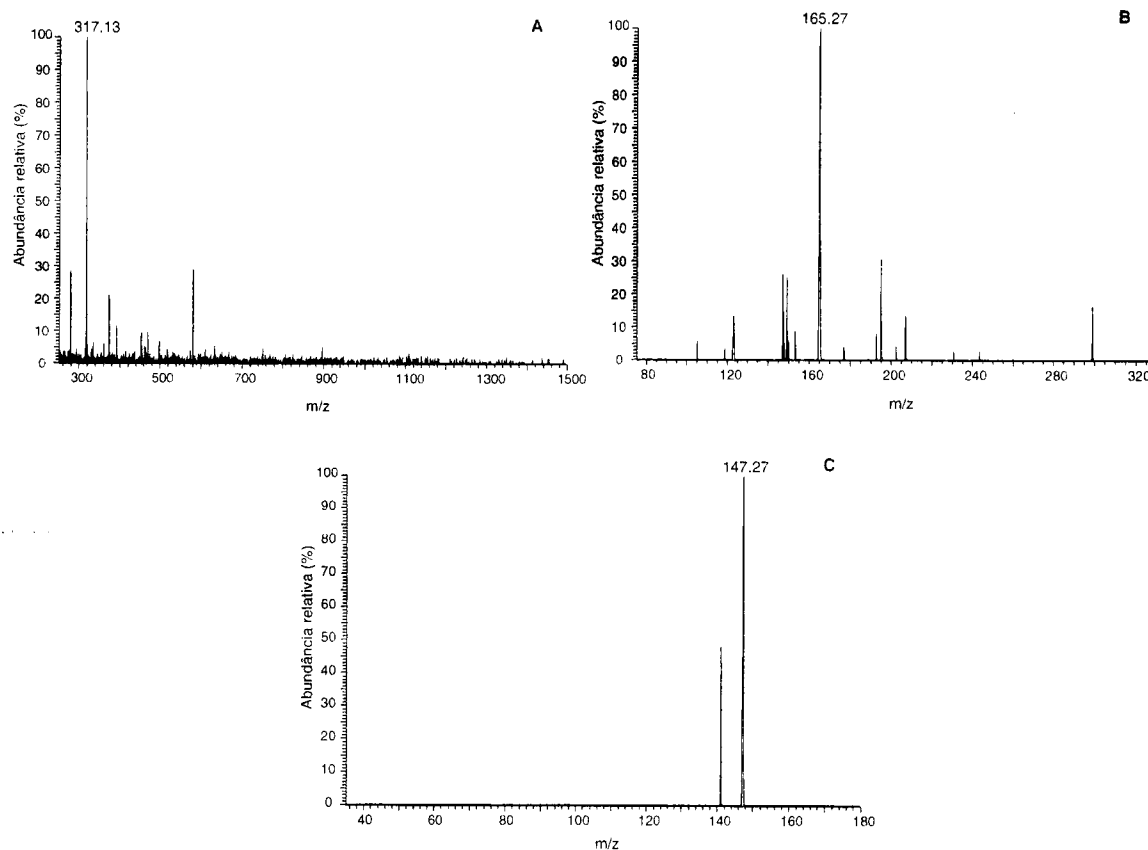


Figura 67. Espectros de massa MS (A), MS² (B) e MS³ (C) do pico cromatográfico aos 20 min obtidos por LC/MS

Este método revelou ser eficaz para a remoção dos grupos benzilos da 8-vinil-Cat4Bn (**15**) relativamente à hidrogenação catalítica, dando origem à 8-vinil-catequina (**20**), a qual foi obtida pela primeira vez. No entanto, esta reacção dá origem à formação de muitos outros compostos contribuindo certamente para o baixo rendimento. Os restantes picos cromatográficos da figura 66 não foram identificados.

5.2. Desililações

Para se obter a 8-vinil-catequina (**20**), foram efectuadas várias reacções de remoção dos grupos *terc*-butildimetilsililos da 8-vinil-Cat5Si (**17**) segundo diferentes condições experimentais, as quais se apresentam de seguida.

5.2.1. Remoção dos grupos *terc*-butildimetilsililos com TBAF e HF

Numa das reacções de desililação usou-se o TBAF. Verificou-se que em poucas horas de reacção a cor da solução ficou muito escura, sendo o pH da reacção muito alcalino ($\text{pH} > 11$). Parou-se a reacção ao fim de 4h30min, baixou-se o pH da mistura reaccional, com uma solução de $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$ até $\text{pH}=4$, e procedeu-se ao tratamento e extracção dos produtos da reacção. A análise por LC/MS desses produtos não revelou a formação do produto procurado (**20**) nem a existência do material de partida (**17**). Isto pode dever-se ao facto do pH da solução ter sido muito elevado, tendo degradado os compostos polifenólicos da mistura reaccional, que são muito susceptíveis de serem oxidados a pH alcalino.

Tendo isto em conta, realizou-se nova reacção na qual se utilizou apenas o HF como reagente de remoção de grupos sililos. Neste caso, o pH da solução era ácido ($\text{pH} < 2$). Após 26 horas de reacção à T_{amb} não se verificou a formação de qualquer pico no HPLC, dando a entender que a reacção não ocorreu. A essa mesma solução foi adicionada uma gota de TBAF, mantendo-se ainda o pH ácido. Passado uma hora, verificou-se por HPLC/DAD, o aparecimento de picos cromatográficos (figura 68).

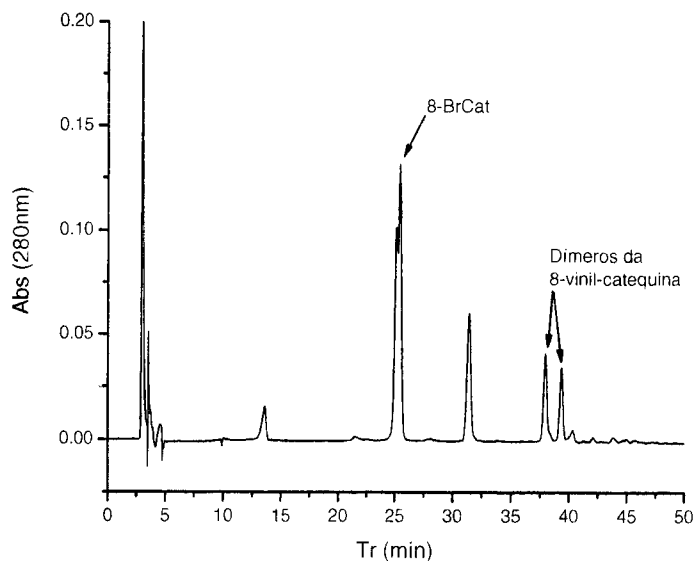


Figura 68. Cromatograma de HPLC registado a 280nm relativo à reacção da 8-vinil-Cat5Si (**17**) com o HF na presença de TBAF

A análise por LC/MS dos produtos da reacção, não revelou a presença da massa da 8-vinil-catequina (**20**). No entanto, verificou-se que os picos cromatográficos detectados a 38 e 39 min possuíam uma massa do ião molecular ($[M]^+$, $m/z = 633$ – figura 69A) que corresponde ao dobro da massa da 8-vinil-catequina. O ião resultante da fragmentação MS^2 (figura 69B) correspondia à perda de uma unidade de vinil-catequina ($[M-316]^+$). A formação destes compostos pode dever-se ao facto do pH da solução ser muito ácido, podendo catalizar a reacção de dimerização da 8-vinil-catequina através dos grupos vinilo.

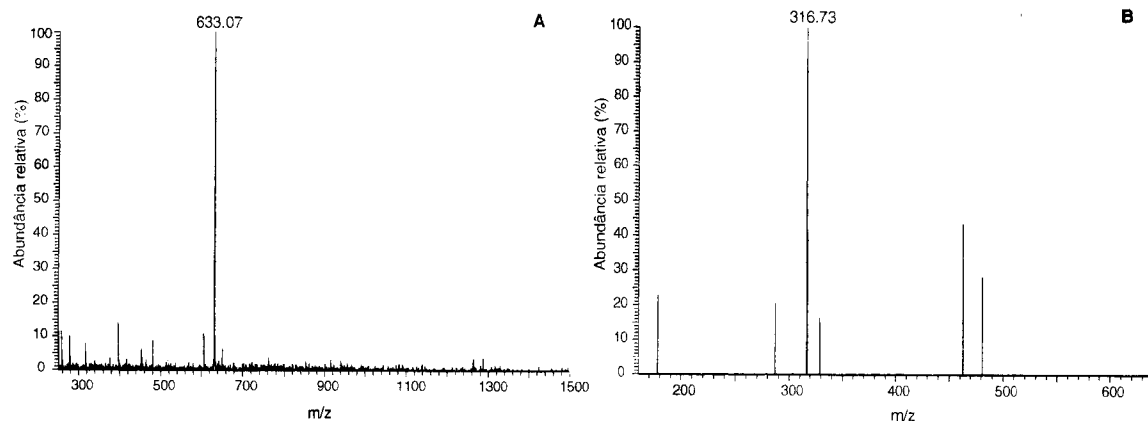


Figura 69. Espectros de massa MS (A) e MS^2 (B) dos picos cromatográficos aos 38 e 39 min obtidos por LC/MS

Posteriormente, efectuou-se a desprotecção dos grupos hidroxilos fazendo reagir a 8-vinil-Cat5Si (**17**) com TBAF e HF mantendo pH da solução neutro ou ligeiramente ácido ($5 < \text{pH} < 7$).

A análise por LC/MS da mistura reaccional encontra-se representada na figura 70.

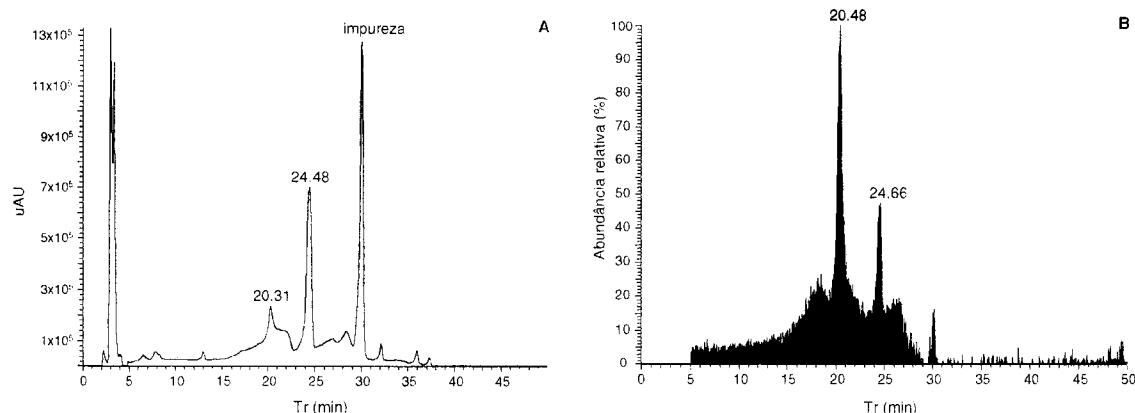


Figura 70. Cromatograma de LC/MS da reacção da 8-vinilCat5Si (**17**) com o TBAF e o HF a $5 < \text{pH} < 7$ com detector UV (A) e com detector MS após extracção da massa do ião correspondente à 8-vinil-catequina ($[\text{M}^+]$, $m/z = 317$) e da massa do ião correspondente à 8-bromo-catequina ($[\text{M}^+]$, $m/z = 369$) (B)

O pico detectado por volta dos 20 min revelou corresponder à 8-vinil-catequina (**20**). Os espectros de massa MS , MS^2 e MS^3 obtidos para o pico em questão apresentam umas fragmentações idênticas às obtidas na reacção da 8-vinil-Cat4Bn (**15**) com o BBr_3 , ou seja, um ião molecular ($[\text{M}^+]$, $m/z = 317$), uma fragmentação correspondente a uma RDA ($[\text{M}-152]^+$) e uma segunda fragmentação devido à saída de H_2O ($[\text{M}-152-18]^+$). Por seu lado, o pico detectado aos 24.5 min parece corresponder à 8-bromo-catequina pelo facto de apresentar um ião molecular ($[\text{M}^+]$, $m/z = 369$) e fragmentações MS^2 ($[\text{M}-152]^+$ e $[\text{M}-152-18]^+$) compatíveis com essa estrutura.

Pode verificar-se, pela figura 70, que a intensidade de absorvância relativa da 8-vinil-catequina comparativamente com a 8-bromo-catequina no UV é bastante menor contrariamente ao que se pode observar no detector de massa. Isto pode dever-se ao facto do coeficiente de absorptividade molar da 8-vinil-catequina ser inferior ao da 8-bromo-catequina, ou, por outro lado, pode ser mais sensível no detector de massa.

5.2.2. Remoção dos grupos *terc*-butildimetilsililos com NaF e KF

Outra reacção de desililação efectuada foi a reacção da 8-vinil-Cat5Si (**17**) com NaF e HF.

Ao fim de 19 horas de reacção, injectou-se no HPLC/DAD e curiosamente verificou-se apenas o aparecimento de um pico cromatográfico referente à 8-bromo-catequina (figura 71), visto que a 8-vinil-Cat5Si (**17**) utilizada nesta reacção se encontrava contaminada com a 8-BrCat5Si.

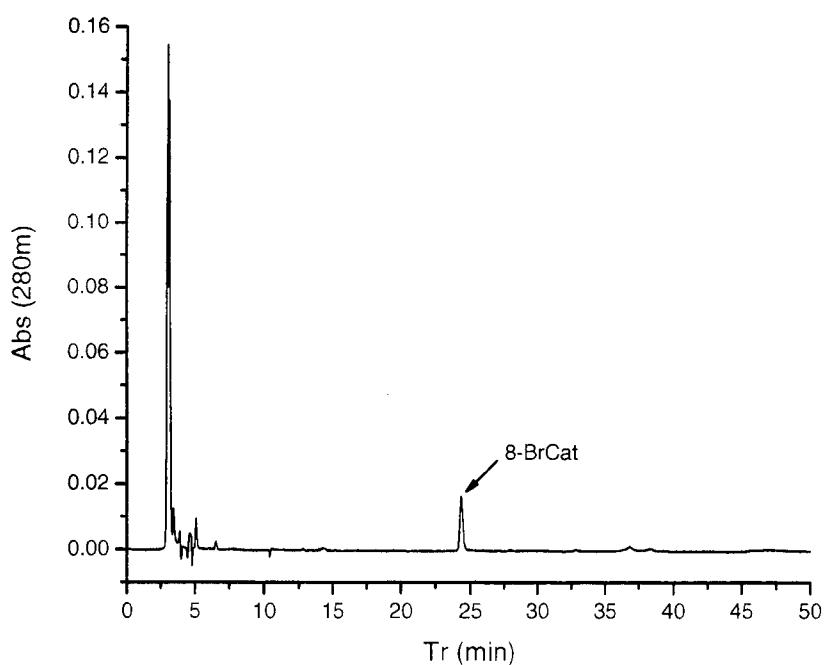


Figura 71. Cromatograma de HPLC registado a 280nm relativo à reacção da 8-vinil-Cat5Si (**17**) com o NaF e o HF

Pode-se assim dizer que este método de desprotecção de grupos hidroxilos não se revelou eficiente na formação da 8-vinil-catequina (**20**).

5.2.3. Remoção dos grupos *terc*-butildimetilsililos com HBr e KF

Foi tentado outro método de desililação, efectuando-se a reacção da 8-vinil-Cat5Si (**17**) com HBr e KF em condições anidras.

No final da reacção (20 horas) e após tratamento da mistura reaccional, obteve-se por HPLC/DAD/MS o cromatograma da figura 72. No cromatograma detectado no UV (A) verificou-se o aparecimento de dois picos cromatográficos principais.

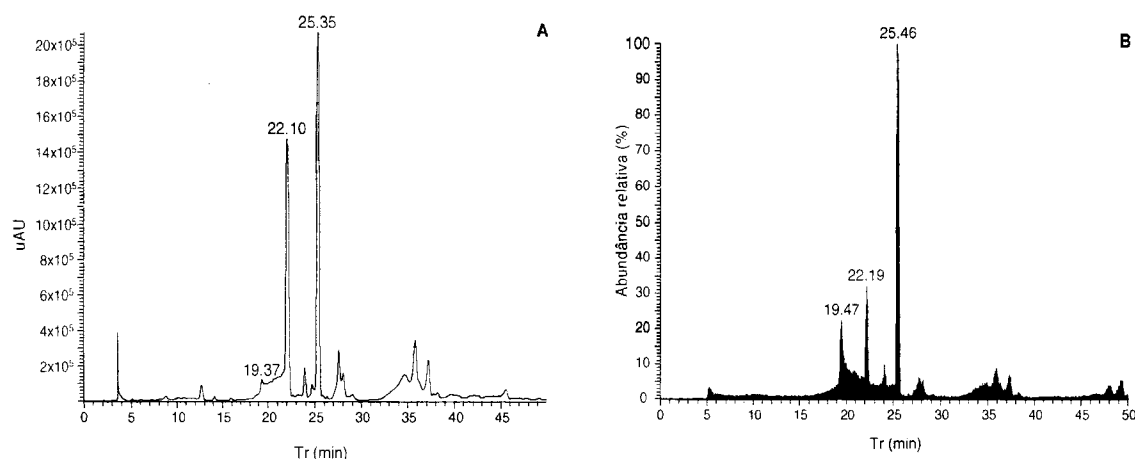


Figura 72. Cromatograma de LC/MS da reacção da 8-vinilCat5Si (**17**) com uma mistura de HBr e KF com detector UV (A) e com detector MS após a extracção da massa do ião correspondente à 8-vinil-catequina ($[M]^+$, $m/z = 317$) e da massa do ião correspondente à 8-bromo-catequina ($[M]^+$, $m/z = 369$) (B)

Os picos aos 25 min e 19 min (menos intenso) revelaram um ião molecular de massa igual à da 8-vinil-catequina ($[M]^+$, $m/z = 317$ – figuras 73A e 75A) enquanto que o pico aos 22 min possui um ião molecular ($[M]^+$, $m/z = 369$ – figura 74A) consistente com a massa da 8-bromo-catequina. As respectivas fragmentações MS^2 (figuras 73B, 74B e 75B) apresentam um padrão de fragmentação típico das catequinas e característico de reacções de RDA ($[M-152]^+$). Registou-se uma fragmentação MS^3 do pico aos 25 min (figura 75C) resultante da saída de uma molécula de água ($[M-152-18]^+$).

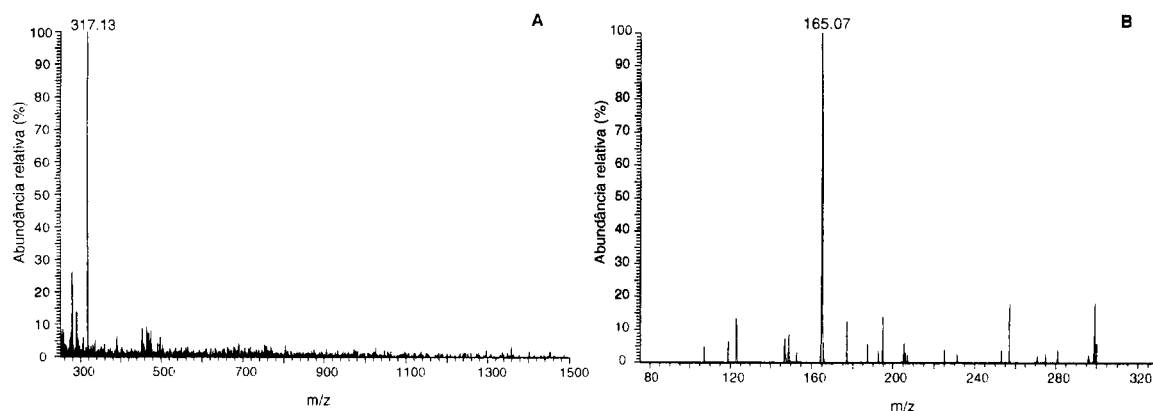


Figura 73. Espectros de massa MS (A) e MS^2 (B) do pico cromatográfico aos 19 min obtidos por LC/MS

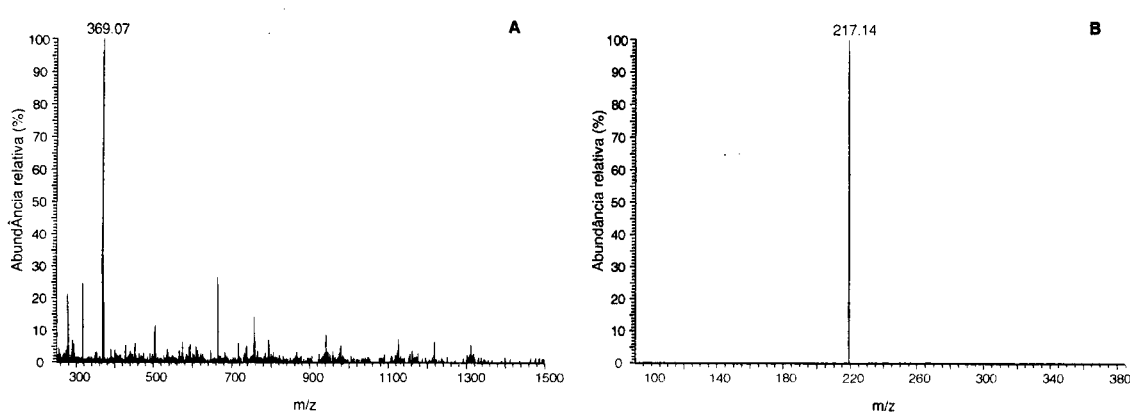


Figura 74. Espectros de massa MS (A) e MS^2 (B) do pico cromatográfico aos 22 min obtidos por LC/MS

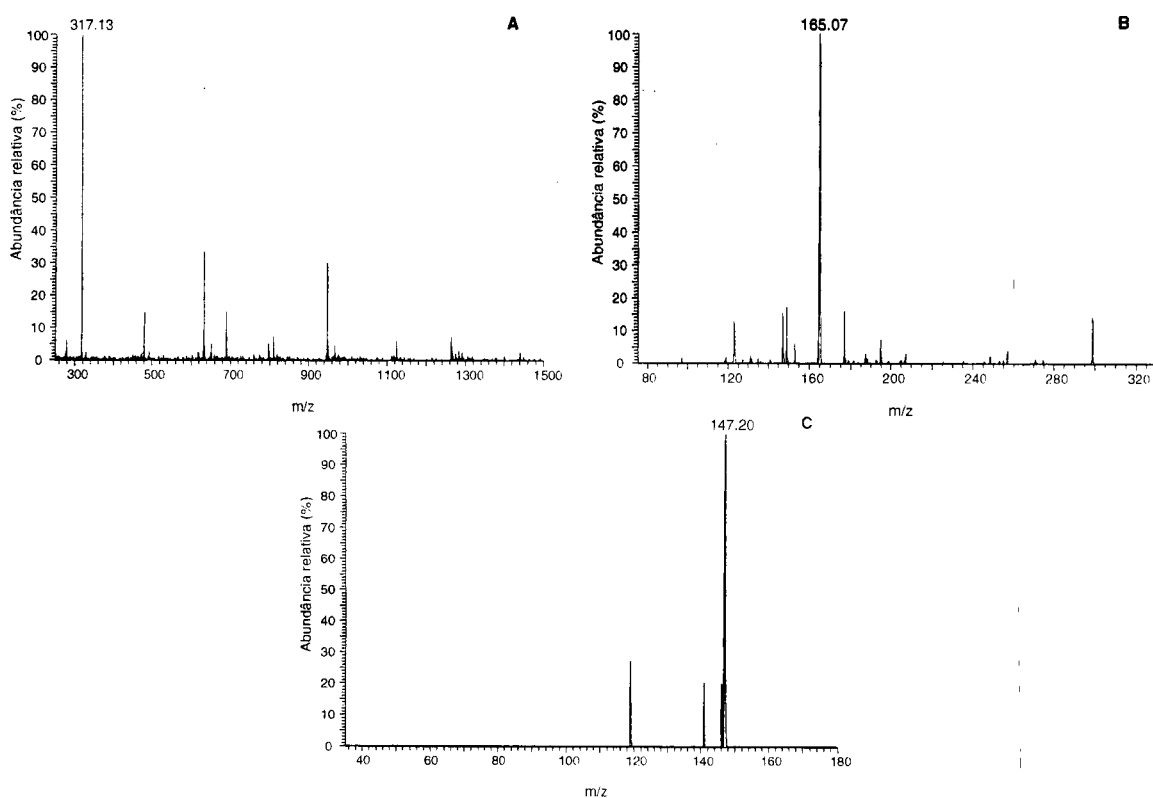


Figura 75. Espectros de massa MS (A), MS^2 (B), e MS^3 (C) do pico cromatográfico aos 25 min obtidos por LC/MS

Por outro lado, o pico aos 19 min apresenta um comprimento de onda de absorção máximo (λ_{max}) igual a 280nm enquanto que o pico aos 25 min revela um λ_{max} (260nm) inferior ao esperado, indicando que provavelmente este pico não deverá tratar-se da 8-vinil-catequina (20). O pico a 22 min revela um λ_{max} próximo do das catequinas (280nm), o que é consistente com a estrutura da 8-bromo-catequina.

5.2.4. Descrição sumária das várias reacções de remoção dos grupos *terc*-butildimetilsililos da 8-vinil-Cat5Si

Em seguida, apresenta-se um quadro resumo onde se demonstra as condições experimentais e os resultados obtidos para cada reacção de desililação efectuada.

Tabela 16. Resumo das condições experimentais e dos resultados obtidos para as reacções de desililação efectuadas

<i>Reagentes</i>	<i>Solvente</i>	<i>Condições</i>	<i>8-vinil-catequina</i>
8-vinil-Cat5Si TBAF	THF	pH>11 4h30min T_{amb}	×
8-vinil-Cat5Si HF TBAF	THF	pH<2 26h, T_{amb} (HF) 1h, T_{amb} (TBAF)	×
8-vinil-Cat5Si HF TBAF	THF	5<pH<7 3h, T_{amb}	✓
8-vinil-Cat5Si NaF HF	THF	pH=5 19h, T_{amb}	×
8-vinil-Cat5Si HBr KF	DMF anidro CH ₂ Cl ₂ anidro	20h, T_{amb}	✓

Conseguiu-se obter a 8-vinil-catequina através de dois métodos diferentes de desprotecção dos grupos hidroxilo da (+)-catequina.

Nas reacções efectuadas em meio aquoso, utilizando como reagentes o TBAF e/ou o HF, a remoção dos grupos TBDMS só ocorreu quando o pH se manteve entre 5 e 7, ou seja, quando a solução era ligeiramente ácida ou neutra. Para soluções muito alcalinas ($\text{pH} > 11$) não se conseguiu obter o composto desejado, devido a ter ocorrido oxidação dos compostos polifenólicos presentes na mistura reaccional, enquanto que para meios muito ácidos ($\text{pH} < 2$) verificou-se a dimerização da 8-vinil-catequina. A reacção de desililação efectuada com os reagentes NaF e HF, igualmente em condições aquosas, mostrou não ser eficiente na formação da 8-vinil-catequina.

Outro método que permitiu a obtenção da 8-vinil-catequina consistiu na reacção realizada em condições anidras, usando os reagentes HBr a 33% em AcOH e KF anidro.

CONCLUSÕES

Durante este trabalho e de acordo com a estratégia de síntese elaborada para a obtenção da 8-vinil-catequina, foram sintetizados diversos compostos derivados da (+)-catequina, purificados e caracterizados por técnicas de espectrometria de massa e/ou RMN mono- e bi-dimensional.

Assim, os compostos de (+)-catequina-*O*-protegida, Cat4Bn (**3**), Cat5Ac (**7**) e a Cat5Si (**12**), foram obtidos com sucesso apresentando rendimentos de 46%, 80% e 63%, respectivamente. Na reacção de sililação também foi possível obter e isolar a catequina tetra-*O*-sililada (Cat4Si), embora em menor quantidade ($\eta=27\%$).

As reacções de bromação da (+)-catequina e das (+)-catequina-*O*-protegidas revelaram ser quantitativas e ocorreram com elevada selectividade no carbono 8 do anel A em detrimento do carbono 6. Esta regioselectividade foi favorecida pelo facto de se terem usado temperaturas muito baixas (-78°C). Obteve-se a 8-BrCat (**10**) com um rendimento de 94% e os derivados bromados das (+)-catequina-*O*-protegidas, 8-BrCat4Bn (**5**), 8-BrCat5Ac (**8**) e a 8-BrCat5Si (**13**), com rendimentos de 95%, 80% e 85%, respectivamente. De notar que, não se conseguiu sintetizar a 8-BrCat5Ac a partir da reacção entre a Cat5Ac e o NBS ou o tribrometo de piridina. De facto, os grupos acetilos são atraidores de electrões contrariamente aos grupos benzilos e sililos, e desse modo reduzem a densidade de carga na posição C8 da Cat5Ac, inibindo assim o ataque nucleófilo ao bromo.

Relativamente às reacções de substituição nucleófila do bromo pelo grupo vinilo na posição C8, conseguiram-se obter a 8-vinil-Cat4Bn (**15**) e a 8-vinil-Cat5Si (**17**), embora em pequena extensão ($\eta=21\%$ e $\eta=16\%$, respectivamente) e misturados com os respectivos reagentes de partida.

A 8-vinil-Cat4Bn foi sintetizada através de uma reacção de Stille efectuada em determinadas condições experimentais, entre as quais se destacam, as temperaturas empregues ao sistema ($80-100^{\circ}\text{C}$), o tempo de reacção (45h) e ainda a presença de CsF (aditivo) que teve um papel fundamental no funcionamento da reacção. O reagente de organoestanho foi activado eficazmente pelo fluoreto resultando numa aceleração da reacção de Stille.

Por seu lado, a 8-vinil-Cat5Si foi obtida a partir de uma reacção de Suzuki efectuada em condições semelhantes da reacção de Stille: 100°C durante 24h e na presença da base

Cs_2CO_3 que revelou ter igualmente um papel crucial na formação do composto pretendido. Do mesmo modo, o composto de organoboro foi activado com sucesso pelo carbonato, aumentando a sua reactividade e por consequência a velocidade da reacção.

Por outro lado, as elevadas temperaturas e os longos tempos de reacção podem ter contribuído para os baixos rendimentos. De facto, os compostos derivados da (+)-catequina (derivados de polifenóis) são susceptíveis de sofrerem degradação quando sujeitos a condições extremas de temperatura. Todas as reacções foram realizadas sob árgon para evitar a ocorrência de reacções de oxidação. Por outro lado, o aquecimento é um factor importante para que as reacções de Stille e de Suzuki ocorram.

Para os derivados acetilados da (+)-catequina não foi possível obter a 8-vinil-Cat5Ac, apesar dos vários ensaios efectuados utilizando diferentes condições experimentais. Uma possível explicação para isto, pode ter a ver com o facto dos grupos acetilo, ao contrário dos grupos benzilo e sililo, serem atraídos de electrões fazendo com que a densidade de carga negativa do carbono ligado ao bromo diminua, dificultando assim o ataque electrófilo do grupo vinilo.

No que diz respeito à desprotecção dos grupos hidroxilo dos compostos vinílicos sintetizados, foram apenas realizados ensaios a pequena escala. Por esta razão a estrutura da 8-vinil-catequina foi tentativamente identificada por LC-MS.

Para o derivado benzilado, a hidrogenação catalítica sob atmosfera de hidrogénio da 8-vinil-Cat4Bn não se revelou eficiente na formação da 8-vinil-catequina, mas deu origem à 8-etil-catequina (**19**), indicando que o grupo vinilo também foi hidrogenado. Todavia, a reacção da 8-vinil-Cat4Bn com o BBr_3 mostrou ser bastante rápida dando origem à 8-vinil-catequina, em menos de 1 hora. No entanto, esta reacção também revelou ser destrutiva para os compostos formados se deixar reagir mais de 3 horas.

Em relação ao derivado vinílico sililado, obteve-se o composto pretendido (**20**) através de duas reacções efectuadas utilizando diferentes condições experimentais. A 8-vinil-catequina foi obtida em meio aquoso a partir da reacção entre a 8-vinil-Cat5Si e uma mistura de TBAF e de HF ao pH entre 5 e 7. Para meios muito alcalinos ($\text{pH} > 11$) constatou-se a degradação/oxidação dos compostos presentes na mistura reaccional e para meios muito ácidos ($\text{pH} < 2$) a dimerização da 8-vinil-catequina. Outro método de desprotecção que não se mostrou eficiente na formação da 8-vinil-catequina foi a reacção entre a 8-vinil-Cat5Si e soluções tampão aquosas de NaF e HF ($\text{pH} = 5$). Também foi possível obter a 8-vinil-catequina através da reacção do derivado sililado

com HBr a 33% em AcOH e KF em condições anidras. Esta reacção de desililação parece ser a que apresenta maiores vantagens para a obtenção do composto pretendido. De facto, este método mostrou ser particularmente eficiente na desprotecção quantitativa de fenóis sililados contendo ligações duplas conjugadas com anéis aromáticos, que são sensíveis à oxidação e que são susceptíveis de sofrerem polimerização catalisada por ácidos e bases.

Como conclusão geral pode dizer-se que a estratégia de síntese desenvolvida com o objectivo de sintetizar a 8-vinil-catequina foi bem sucedida embora surja a necessidade de optimizar as condições experimentais das reacções efectuadas de modo a obter produtos mais puros e em maiores quantidades.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Em trabalhos futuros pretende-se otimizar as condições de todas reacções de síntese efectuadas, em termos de rendimento e pureza dos compostos obtidos.

Surge principalmente a necessidade de efectuar da reacção de Suzuki que deu origem à 8-vinil-catequina-*O*-sililada em maior escala e/ou aumentar o respectivo rendimento, modificando condições experimentais, de modo a obter quantidades significativas deste composto.

Seria também importante sintetizar derivados vinílicos de outros flavanóis, tais como, a (-)-epicatequina e (-)-epicatequina-3-*O*-galhato, procianidinas diméricas tipo B (C4-C8 e C4-C6) e procianidina trimérica C1.

O passo seguinte seria fazer reagir directamente os aductos 8-vinil-flavanóis obtidos com antocianinas e derivados pirúvicos de antocianinas para sintetizar os piranoantocianina-flavanóis e os vinilpiranoantocianina-flavanóis (*Portisinas*), respectivamente.

A obtenção de quantidades significativas destes pigmentos seria importante para proceder à sua caracterização estrutural recorrendo a diferentes técnicas (espectrometria de massa, espectroscopia de infra-vermelho e de ressonância magnética nuclear) e efectuar estudos cromáticos e de estabilidade (pH, temperatura).

A caracterização cromática destes compostos que podem variar entre si na estrutura das unidades de flavanol e no tipo de antocianina, permitirá estabelecer uma relação entre a cor e a estrutura molecular.

Futuramente será de prever a realização de ensaios que permitirão avaliar a potencial aplicação destes pigmentos como corantes alimentares.

BIBLIOGRAFIA

Alcalde-Eon C., Escribano-Bailon M., Santos-Buelga C., Rivas-Gonzalo J.: Separation of pyranoanthocyanins from red wine by column chromatography; *Anal. Chim. Acta*, **2004**, 513, 305-318.

Allred G., Liebeskind L.: Copper-Mediated Cross-Coupling of Organostannanes with Organic Iodides at or below Room Temperature; *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 2748-2749.

Amico V., Napoli E., Renda A., Ruberto G., Spatafora C., Tringali C.: Constituents of grape pomace from the Sicilian cultivar 'Nerello Mascalese'; *Food Chem.*, **2004**, 88, 599-607.

Andersen O., Fossen T., Torskangerpoll K., Fossen A., Hauge U.: Anthocyanin from strawberry (*Fragaria ananassa*) with the novel aglycone, 5-carboxypyranopelargonidin; *Phytochemistry*, **2004**, 65, 405-410.

Arnaudinaud V., Nay B., Nuhrich A., Deffieux G., Mérillon J-M., Monti J-P., Vercauteren J.: Total synthesis of isotopically labelled flavonoids. Part 3: ^{13}C -labelled (-)-procyanidin B3 from 1- ^{13}C -acetic acid; *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 1279-1281.

Bate-Smith E.: Astringency in foods; *Food*, **1954**, 23, 124-127.

Bakker J., Bridle P., Honda T., Kuwano H., Saito N., Terahara N., Timberlake C.: Isolation and identification of a new anthocyanin occurring in some red wines; *Phytochemistry*, **1997a**, 44, 1375-1382.

Bakker J., Timberlake C.: Isolation, identification, and characterization of new color-stable anthocyanins occurring in some red wines; *J. Agric. Food Chem.*, **1997b**, 45, 35-43.

Beart J., Lilley T., Haslam E.: Plant polyphenols-secondary metabolism and chemical defense: some observations; *Phytochemistry*, **1985**, 24, 33-38.

Bendz G., Martensson O., Nilsson E.: Studies of flavylum compounds. I. Some flavylum compounds and their properties; *Arkiv Kemi.*, **1967**, 27, 67-77.

Billot J.: Evolution des composés phénoliques au cours de la maturation de la Poire Passe-Crassane; *Physiol. Veg.*, **1983**, 21, 527-535.

Brouillard R.; Chemical structure of anthocyanins; In: *Anthocyanins as Food Colors*, Pericles Markakis (ed.), Academic Press Inc., New York, **1982**, 1-38.

Brouillard R.; The *in vivo* expression of anthocyanins colour in plants; *Phytochemistry*, **1983**, 22, 1311-1323.

Brouillard R., Lang J.; The hemiacetal-cis-chalcone equilibrium of malvidin, a natural anthocyanin; *Canad. J. Chem.*, **1990**, 68, 755-761.

Brouillard R., Dangles O.; Flavonoids and flower colour. In: The flavonoids. Advances in Research since 1986; ed. J. B. Harborne, *Chapman & Hall*, London, **1993**, 565-588.

Büchi G., Weinreb S.; Total syntheses of aflatoxins M1 and G1 and an improved synthesis of aflatoxin B1; *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, 93, 746-752.

Buffnoir S., *Thèse de l'Université de Paris*, **1998**.

Chung K-T., Wong T., Huang Y-W., Lin Y.; Tannins and human health: a review; *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **1998**, 38, 421-464.

Collman J., Hegedus L., Norton J., Finke R.; Principles and Application of Organotransition Metal Chemistry; University Science Books, Mill Valley, CA, **1987**.

Corey E., Venkateswarlu A.; Protection of Hydroxyl Groups as *tert*-Butyldimethylsilyl Derivatives; *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94, 6190-6191.

Cormier J.; Removal of TBDMS protecting groups from carbohydrates using catalytic transfer hydrogenation; *Tetrahedron Lett.*, **1991**, 32, 187-188.

Dangles O., Elhajji H.; Synthesis of 3-methoxy- and 3-(β -D-glucopyranosyloxy) flavylium ions. Influence of the flavylium substitution pattern on the reactivity of anthocyanins in aqueous solution; *Helv. Chim. Acta*, **1994**, 77, 1595-1610.

Deme E.; Synthesis of authentic tri-O-benzylphloroglucinol; *J. Org. Chem.*, **1976**, 41, 3769-3769.

Engel D., Hattingh M., Hundt H., Roux D.; X-Ray structure, conformation, and absolute configuration of 8-bromotetra-O-methyl-(+)-catechin; *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1978**, 695-696.

Erdik E.; Transition metal catalyzed reactions of organozinc reagents; *Tetrahedron*, **1992**, *48*, 9577-9648.

Es-Safi N., Fulcrand H., Cheynier V., Moutounet M.; Studies on the acetaldehyde-induced condensation of (-)-epicatechin and malvidin 3-O-glucoside in a model solution system; *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, *47*, 2096-2102.

Es-Safi N., Le Guernevé C., Cheynier V., Moutounet M.; New Phenolic Compounds Formed by Evolution of (+)-Catechin and Glyoxylic Acid in Hydroalcoholic Solution and Their Implication in Color Changes of Grape-Derived Foods; *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, *48*, 4233-4240.

Farina V., Kapadia S., Krishnan B., Wang C., Liebeskind L.; On the Nature of the "Copper Effect" in the Stille Cross-Coupling; *J. Org. Chem.*, **1994**, *59*, 5905-5911.

Felix A., Heimer E., Lambros T., Tzougraki C., Meienhofer J.; Rapid removal of protecting groups from peptides by catalytic transfer hydrogenation with 1,4-cyclohexadiene; *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 4194-4196.

Fletcher A., Porter L., Haslam E., Gupta R.; Plant proanthocyanidins. Part 3. Conformational and configurational studies of natural procyanidins; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1977**, *14*, 1628-1637.

Fossen T., Andersen O.; Anthocyanins from red onion, *Allium cepa*, with novel aglycone; *Phytochemistry*, **2003**, *62*, 1217-1220.

Francia-Aricha E., Guerra M., Rivas-Gonzalo J., Santos-Buelga C.; New anthocyanin pigments formed after condensation with flavanols; *J. Agric. Food Chem.*, **1997**, *45*, 2262-2265.

Frankel E., Kanner J., German J., Parks E., Kinsella J.; Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine; *Lancet*, **1993**, *341*, 454-457.

Franzén R.; The Suzuki, the Heck, and the Stille reaction – three versatile methods for the introduction of new C-C bonds on solid support; *Can. J. Chem.*, **2000**, *78*, 957-962.

Fuji K., Ichikawa K., Node M., Fujita E.; Hard acid and soft nucleophile system. New efficient method for removal of benzyl protecting group; *J. Org. Chem.*, **1979**, *44*, 1661-1664.

Fulcrand H., Cameira dos Santos P., Sarni-Manchado P., Cheynier V., Bonvin J.; Structure of a new anthocyanin-derived wine pigment; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1996**, 735-739.

Fulcrand H., Benabdeljali C., Rigaud J., Cheynier V., Moutounet M.; A new class of wine pigments generated by reaction between pyruvic acid and grape anthocyanins; *Phytochemistry*, **1998**, 47, 1401-1407.

Fulcrand H., Atanasova V., Salas E., Cheynier V.; The Fate of Anthocyanins in Wine: Are There Determining Factors?; *ACS Symposium Series* N° 886 Red Wine Color: Revealing the Mysteries. Book Editors: A.L. Waterhouse & J.A. Kennedy, **2004**.

Grieco P., Ferrino S., Vidari G.; Total synthesis of dl-quassin; *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 7586-7587.

Giusti M., Rodriguez-Saona L., Wrolstad R.; Molar absorptivity and color characteristics of acylated and non-acylated pelargonidin-based anthocyanins; *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, 47, 4631-4637.

Goldstein L., Swain T.; Changes in tannins ripening fruits; *Phytochemistry*, **1963**, 2, 371-383.

González A., Jorge Z., Dorta H., Luís F.; Deacylation of aromatic acetates. A new method of selective protection of the hydroxyl function; *Tetrahedron Lett.*, **1981**, 22, 335-336.

Goto T., Kondo T.; Structure and molecular stacking of anthocyanins flower color variation; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1991**, 30, 17-33.

Han X., Stoltz B., Corey E.; Cuprous Chloride Accelerated Stille Reactions. A General and Effective Coupling System for Sterically Congested Substrates and for Enantioselective Synthesis; *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 7600-7605.

Handy S., Zhang X.; Organic Synthesis in Ionic Liquids: The Stille Coupling; *Org. Lett.*, **2001**, 3, 233-236.

Harborne J.; Plant polyphenols. XI. Structure of acylated anthocyanins; *Phytochemistry*, **1964**, 3, 151-160.

Harborne J.; Phytochemical methods; *Chapman & Hall*, 2nd edition, London, **1984**.

Harborne J.; The Flavonoids: Recent Advances in Plant Pigments; *Academic Press*, **1988**, NY, 299-343.

Harborne J., Williams C.; Anthocyanins and other flavonoids; *Nat. Prod. Rep.*, **2001**, *18*, 310-333.

Haslam E., Makinson G., Naumann M., Cunningham J.; Synthesis and properties of some hydroxycinnamoyl esters of quinic acid; *J. Chem. Soc.*, **1964**, 2137-2146.

Haslam E.; In vivo veritas: Oligomeric procyanidins and the ageing of red wines; *Phytochemistry*, **1980**, *19*, 2577-2582.

Haslam E.; Practical Polyphenolics. From structure to molecular recognition and physiological action; *Cambridge University Press*, Cambridge, **1998**.

Hayasaka Y., Asenstorfer R.; Screening for potential pigments derived from anthocyanins in red wine using nano-electrospray tandem mass spectrometry; *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, *50*, 756-761.

Hertog M., Feskens E., Hollman P., Katan M., Kromhout D.; Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary disease; *Lancet*, **1993**, *342*, 1007-1011.

Hillebrand S., Schwarz M., Winterhalter P.; Characterization of anthocyanins and pyranoanthocyanins from blood orange [*Citrus sinensis* (L.) osbeck] juice; *J. Agric. Food Chem.*, **2004**, *52*, 7331-7338.

Hillier A., Grasa G., Viciu M., Lee H., Yang C., Nolan S.; Catalytic cross-coupling reactions mediated by palladium/nucleophilic carbene systems; *J. Organomet. Chem.*, **2002**, *653*, 69-82.

Heck R.; Palladium reagents in organic synthesis; *Academic Press*, New York, **1985**.

Howitz K., Bitterman K., Cohen H., Lamming D., Lavu S., Wood J., Zipkin R., Chung P., Kisielewski A., Zhang L., Scherer B., Sinclair D.; Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan; *Nature*, **2003**, *425*, 191-196.

Hundt H., Roux D.; Synthesis of condensed tannins. Part 3. Chemical shifts for determining the 6- and 8-bonding positions of 'terminal of' (+)-catechin units; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1981**, 1227-1234.

Ishiyama T., Miyaura N., Suzuki A.; Synthesis of Functionalized Organotin Compounds via Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reaction of Aryl or 1-Alkenyl Halides with 9-(ω -Stannylalkyl)-9-borabicyclo[3.3.1]nonanes; *Synlett*, **1991**, 687-688.

Ivanov V., Carr A., Frei B.; Red wine antioxidants bind to human lipoproteins and protect them from metal-dependent and-independent oxidation; *J. Agric. Food Chem.*, **2001**, 49, 4442-4449.

Jordão A.; Caracterização das proantocianidinas dos engaços em *Vitis vinífera* L. Evolução ao longo da maturação das castas Touriga Francesa, Castelão Francês e Viosinho; Tese de Mestrado para obtenção do Grau de Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Técnica de Lisboa, **1999**.

Jung M., Lyster M.; Cleavage of methyl ethers with iodotrimethylsilane: cyclohexanol from cyclohexyl methyl ether; *Org. Synth.*, **1988**, Coll. Vol. 6, 353-358.

Kanner J., Frankel E., Granit R., German B., Kinsella J.; Natural antioxidants in grapes and wines; *J. Agric. Food Chem.*, **1994**, 42, 64-69.

Kawamoto H., Nakatsubo F., Murakami K.; Synthesis of Condensed Tannin Derivatives and Their Protein-Precipitating Capacity; *J. Wood Chem. Technol.*, **1990**, 10, 59-74.

Kawamoto H., Nakatsubo F., Murakami K.; Chemical Structure of Synthetic Condensed Tannin from Benzylated Flavan-3,4-diol; *Mokuzai Gakkaishi*, **1991**, 37, 488-493.

Kawamoto H., Tanaka N., Nakatsubo F., Murakami K.; Stereoselective Synthesis of a Condensed Tannin Using Neighboring Group Participation; *Mokuzai Gakkaishi*, **1993**, 39, 820-824.

Kelly D., Roberts S.; The cleavage of *t*-butyldimethylsilyl ethers with Boron trifluoride etherate; *Synth. Commun.*, **1979**, 9, 295-299.

Kendall P., Johnson J., Cook C.; Synthetic Route to an Aromatic Analogue of Strigol; *J. Org. Chem.*, **1979**, 44, 1421-1424.

Kennedy J., Munro M., Powell H., Porter L., Foo L.; The protonation reactions of catechin, epicatechin and related compounds; *Aust. J. Chem.*, **1984**, 37, 885-892.

Khurana J., Chauhan S., Bansal G.; Facile hydrolysis of esters with KOH-methanol at ambient temperature; *Monatsh. Chem.*, **2004**, 135, 83-87.

Kiatgrajai P., Wellons J., Gollob L., White J.; Kinetics of epimerization of (+)-catechin and its rearrangement to catechinic acid; *J. Org. Chem.*, **1982**, *47*, 2910-2912.

Kiehlmann E., Lehto N., Cherniwchan D.; Iodination and deuteration of catechin derivatives; *Can. J. Chem.*, **1988**, *66*, 2431-2439.

Kim W., Kim H., Cho C.; Regioselective Stille couplings reactions of 3,5-dibromo-2-pyrone with various aryl and vinyl stannanes; *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *43*, 9015-9017.

King P., Stroud S.; Mild homogeneous deblocking employing 2-bromo-1,3,2-benzodioxaborole; *Tetrahedron Lett.*, **1985**, *26*, 1415-1418

Kolodziej H., Ferreira D., Roux D.; Synthesis of Condensed Tannins. Part 12. Direct Access to [4,6]- and [4,8]-all-2,3-cis-Procyanidin Derivatives from (-)-Epicatechin: Assessment of Bonding Positions in Oligomeric Analogues from *Crataegus oxyacantha* L.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1984**, 343-350.

Kozikowski A., Tückmantel W., Hu Y.; Studies in Polyphenol Chemistry and Bioactivity. 3. Stereocontrolled Synthesis of Epicatechin-4 α ,8-epicatechin, an Unnatural Isomer of the B-Type Procyanidins; *J. Org. Chem.*, **2001**, *66*, 1287-1296.

Kozikowski A., Tuckmantel W., Bottcher G., Romanczyk L.; Studies in Polyphenol Chemistry and Bioactivity. 4. Synthesis of Trimeric, Tetrameric, Pentameric, and Higher Oligomeric Epicatechin-Derived Procyanidins Having All-4^b,8-Interflavan Connectivity and Their Inhibition of Cancer Cell Growth through Cell Cycle Arrest; *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 1641-1658.

Hartwig J.; Palladium-Catalyzed Amination of Aryl Halides: Mechanism and Rational Catalyst Design; *Synlett*, **1997**, 329-340.

Hartwig J.; Carbon-Heteroatom Bond-Forming Reductive Eliminations of Amines, Ethers, and Sulfides; *Acc. Chem. Res.*, **1998a**, *31*, 852-860.

Hartwig J.; Transition Metal Catalyzed Synthesis of Arylamines and Aryl Ethers from Aryl Halides and Triflates: Scope and Mechanism; *Angew. Chem. int. ed. Engl.*, **1998b**, *37*, 2046-2067.

Hatanaka Y., Hiyama T.; Highly Selective Cross-Coupling Reactions of Organosilicon Compounds Mediated by Fluoride Ion and a Palladium Catalyst; *Synlett*, **1991**, 845-853.

Laranjinha J., Cadenas E.; Redox cycles of caffeic acid, α -tocopherol and ascorbate: implications for protection of low-density lipoproteins against oxidation; *Life*, **1999**, *48*, 57-65.

Littke A., Fu G.; A Convenient and General Method for Pd-Catalyzed Suzuki Cross-Coupling of Aryl Chlorides and Arylboronic acids; *Angew. Chem. Int.*, **1998**, *37*, 3387-3388.

Littke A., Fu G.; The First General Method for Stille Cross-Couplings of Aryl Chlorides; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1999**, *38*, 2411-2413.

Littke A., Schwarz L., Fu G.; Pd/P(*t*-Bu)₃: A Mild and General Catalyst for Stille Reactions of Aryl Chlorides and Aryl Bromides; *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 6343-6348.

Loev B., Dawson C.; Alkenylphenols Related to the Poison Ivy Principle. An Improved Method of Synthesis Involving the Na-Butanol Cleavage of Benzyl Ethers; *J. Am. Chem. Soc.*, **1956**, *78*, 6095-6098.

Lott R., Chauhan V., Stammer C.; Trimethylsilyl iodide as a peptide deblocking agent; *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1979**, 495-496.

Lu Y., Sun Y., Foo L.; Novel pyranoanthocyanins from black currant seed; *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 5975-5978.

Lu Y., Foo L.; Unusual anthocyanin reaction with acetone leading to pyranoanthocyanin formation; *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 1371-1373.

Lu Y., Foo L., Sun Y.; New pyranoanthocyanins from blackcurrant seeds; *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *43*, 7341-7344.

Mateus N., De Freitas V.; Evolution and stability of anthocyanin-derived pigments during port wine aging; *J. Agric. Food Chem.*, **2001**, *49*, 5217-5222.

Mateus N., Silva A., Vercauteren J., De Freitas V.; Occurrence of anthocyanin-derived pigments in red wines; *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 4836-4840.

Mateus N., Silva A., Rivas-Gonzalo J., Santos-Buelga C., De Freitas V.; Identification of anthocyanin-flavanol pigments in red wines by NMR and mass spectrometry; *J. Agric. Food Chem.*, **2002a**, *50*, 2110-2116.

Mateus N., Pascual-Teresa S., Rivas-Gonzalo J., Santos-Buelga C., De Freitas V.; Structural diversity of anthocyanin-derived pigments in Port wines; *Food Chem.*, **2002b**, 76, 335-342.

Mateus N., Carvalho E., Carvalho A., Melo A., González-Paramás A., Santos-Buelga C., Silva A., De Freitas V.; Isolation and Structural Characterization of New Acylated Anthocyanin-Vinyl-Flavanol Pigments Occurring in Aging Red Wines; *J. Agric. Food Chem.*, **2003a**, 51, 277-282.

Mateus N., Silva A., Rivas-Gonzalo J., Santos-Buelga C., De Freitas V.; A new class of blue anthocyanins-derived pigments isolated from red wines; *J. Agric. Food Chem.*, **2003b**, 51, 1919-1923.

Mateus N., Oliveira J., Santos-Buelga C., Silva A., De Freitas V.; NMR structure characterization of a new vinylpyranoanthocyanin-catechin pigment; *Tetrahedron Lett.*, **2004a**, 45, 3455-3457.

Mateus N., Oliveira J., Haettich-Motta M., De Freitas V., New Family of Bluish Pyranoanthocyanins; *J. Biomed. Biotechnol.*, **2004b**, 5, 299-305.

Mazza G., Brouillard R.; The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions; *Phytochemistry*, **1990**, 29, 1097-1102.

McGraw G., Hemingway R.; Electrophilic Aromatic Substitution of Catechins: Bromination and Benzylation; *J. Chem. Soc., Perkin I*, **1982**, 973-978.

McOmie J., West D.; 3,3'-Dihydroxybiphenyl; *Org. Synth.*, **1973**, Coll. Vol. 5, 412-414.

Milstein D., Stille J.; A general, selective, and facile method for ketone synthesis from acid chlorides and organotin compounds catalyzed by palladium; *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 100, 3636-3638.

Mistry T., Cai Y., Lilley T., Haslam E.; Polyphenol interactions. Part 5 Anthocyanin co-pigmentation; *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1991**, 2, 1287-1296.

Mitchell T., in: F. Diederich, P.J. Stang (Eds.); Metal-Catalyzed Cross-Couplings Reactions; Wiley-VCH, Weinheim, **1998**, 167-202.

Miyaura N., Suzuki A.; Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds; *Chem. Rev.*, **1995**, 95, 2457-2483.

Miyaura N., Yamada K., Suzuki A.; A new stereospecific cross-coupling by the palladium-catalyzed reaction of 1-alkenylboranes with 1-alkenyl or 1-alkynyl halides; *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 20, 3437-3440.

Miyaura N., Suzuki, A.; Stereoselective Synthesis of Arylated (E)-Alkenes by the Reaction of Alk-1-enylboranes with Aryl Halides in the Presence of Palladium Catalyst; *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1979**, 866-867.

Muathen H.; 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene Hydrobromide Perbromide: A New Mild Stable Brominating Agent for Aromatic Compounds; *J. Org. Chem.*, **1992**, 57, 2740-2741.

Node M., Hori H., Fujita E.; Demethylation of aliphatic methyl ethers with a thiol and boron trifluoride; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1976**, 2237-2240.

Paliakov E., Strekowski L.; Boron tribromide mediated debenzoylation of benzylamino and benzyloxy groups; *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 4093-4095.

Peynaud E.; *Connaissance et travail du vin*; Dunod, Paris, **1975**.

Pilcher A., DeShong P.; Improved protocols for the selective deprotection of trialkylsilyl ethers using fluorosilicic acid; *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 5130-5134.

Pozo-Bayon M., Monagas M., Polo M., Gomez-Cordoves C.; Occurrence of pyranoanthocyanins in sparkling wines manufactured with red grape varieties; *J. Agric. Food Chem.*, **2004**, 52, 1300-1306.

Porto P., Laranjinha J., De Freitas V.; Antioxidant protection of low density lipoprotein by procyanidins: structure/activity relationships; *Biochem. Pharmacol.*, **2003**, 66, 947-954.

Punna S., Meunier S., Finn M.; A Hierarchy of Aryloxide Deprotection by Boron Tribromide; *Org. Lett.*, **2004**, 6, 2777-2779.

Ramesh C., Mahender G., Ravindranath N., Das B.; A mild, highly selective and remarkably easy procedure for deprotection of aromatic acetates using ammonium acetate as a neutral catalyst in aqueous medium; *Tetrahedron*, **2003**, 59, 1049-1054.

Rein M.; Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins; *Academic dissertation*, University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology, **2005**.

Revilla I., Perez-Magarin S., Gonzalez-SanJose M., Beltra S.: Identification of anthocyanin derivatives in grape skin extracts and red wines by liquid chromatography with diode array and mass spectrometric detection; *J. Chromatogr. A.*, **1999**, 847, 83-90.

Ribéreau-Gayon P., Stonestreet E.; Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge; *Bull. Soc. Chim.*, **1965**, 9, 2649-2652.

Ribéreau-Gayon P., Glories Y.; Determination de l'état de condensation des tanins du vin rouge; *C. R. Acad. Sci.*, **1971**, 273, 2369-2371.

Romero C., Bakker J.; Interactions between grape anthocyanins and pyruvic acid, with effect of pH and acid concentration on anthocyanin composition and color in model solutions; *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, 47, 3130-3139.

Romero C., Bakker J.; Anthocyanin and color evolution during maturation of four port wines: effect of pyruvic acid addition; *J. Sci. Food Agric.*, **2001**, 81, 252-260.

Roncali J.; Conjugated poly(thiophenes): synthesis, functionalization, and applications; *Chem. Rev.*, **1992**, 92, 711-738.

Roux D., Ferreira D., Botha J.; Structural considerations in predicting the utilization of tannins; *J. Agric. Food Chem.*, **1980**, 28, 216-222.

Saito A., Nakajima N., Tanaka A., Ubukata M.; Synthetic studies of proanthocyanidins. Part 2: Stereoselective gram-scale synthesis of procyanidin-B3; *Tetrahedron*, **2002**, 58, 7829-7837.

Saito A., Nakajima N., Tanaka A., Ubukata M.; Synthetic studies of proanthocyanidins. Part 4. The synthesis of procyanidin B1 and B4: Tmsotf-catalyzed cyclization of catechin and epicatechin condensation; *Heterocycles*, **2003**, 61, 287-298.

Salas E., Fulcrand H., Meudec E., Cheynier V.; Reactions of anthocyanins and tannins in model solutions; *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, 51, 7951-7961.

Santos Buelga C., Scalbert A.; Proanthocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health; *J. Sci. Food Agric.*, **2000**, 80, 1094-1117.

Sarni-Manchado P., Fulcrand H., Souquet J., Cheynier V., Moutounet M.; Stability and color of unreported wine anthocyanin-derived pigments; *J. Food Sci.*, **1996**, *61*, 938-941.

Schwarz M., Winterhalter P.; A novel synthetic route to substituted pyranoanthocyanins with unique color properties; *Tetrahedron Lett.*, **2003a**, *44*, 7583-7587.

Schwarz M., Wabnitz T., Winterhalter P.; Pathway leading to the formation of anthocyanin-vinylphenol adducts and related pigments in red wines; *J. Agric. Food Chem.*, **2003b**, *51*, 3682-3687.

Schwarz M., Wray V., Winterhalter P.; Isolation and identification of novel pyranoanthocyanins from black carrot (*Daucus carota* L.) juice; *J. Agric. Food Chem.*, **2004**, *52*, 5095-5101.

Sears K., Casebier R., Hergert H., Stout G., McCandlish L.; Structure of catechinic acid. Base rearrangement product of catechin; *J. Org. Chem.*, **1974**, *39*, 3244-3247.

Sekia A., Ishikawa N.; The cross-coupling of aryl halides with grignard reagents catalyzed by iodo(phenyl)bis(triphenylphosphine)palladium(II); *J. Organomet. Chem.*, **1976**, *118*, 349-354.

Sinhababu A., Kawase M., Borchardt R.; Desilylation of tert-butyldimethylsilyl ethers of phenols; *Synthesis*, **1988**, 710-712.

Steinberg D., Parthasarathy S., Carew T., Khoo C., Witztum J.; Beyond cholesterol: modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity; *N. Engl. J. Med.*, **1989**, *320*, 915-924.

Stille J.; Palladium catalysed coupling of organotin reagents with organic electrophiles; *Pure & Appl. Chem.*, **1985**, *57*, 1771-1780.

Stille J.; The Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organotin Reagents with Organic Electrophiles [New Synthetic Methods (58)]; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1986**, *25*, 508-524.

Suleman A., Tillekeratne L., Hudson R.; Desilylation of TBDMS Ethers of Phenols Susceptible to Polymerization; *Synth. Commun.*, **2001**, *31*, 3303-3308.

Sun B., Spranger M., Ricardo da Silva J.; Extraction of grape seed procyanidins using different organic solvents; *Polyphenols Communications* **96**, Bordeaux, France, **1996**.

Suzuki A., in: F. Diederich, P.J. Stang (Eds.): Metal-Catalyzed Cross-Couplings Reactions; Wiley-VCH, Weinheim, **1998**, 49-97.

Suzuki A.; Recent advances in the cross-coupling reactions of organoboron derivatives with organic electrophiles; *J. Organomet. Chem.*, **1999**, 576, 147-168.

Sweeny J., Iacobucci G.; Regiospecificity of (+)-catechin methylation; *J. Org. Chem.*, **1979**, 44, 2298-2299.

Tamao K., Kiso Y., Sumitani K., Kumada M.; Alkyl group isomerization in the cross-coupling reaction of secondary alkyl Grignard reagents with organic halides in the presence of nickel-phosphine complexes as catalysts; *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94, 9268-9269.

Tarascou I.; Synthese et caracterisation de procyanidins oligomeres pour l'identification de tanins du raisin et du vin; *Thèse de l'Université Bordeaux I*, **2005**.

Teissedre P., Frankel E., Waterhouse A., Peleg H., German J.; Inhibition of in vitro human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grapes and wines; *J. Sci. Food Agric.*, **1996**, 70, 55-61.

Timberlake C., Bridle P.; Effects of substituents on the ionization of flavylum salts and anthocyanins and their reactions with sulfur dioxide; *Chemistry & Industry*, **1966**, 1965-1966.

Thompson R., Jacques D., Haslam E., Tanner R.; Plant proanthocyanidins. Part I. Introduction: the isolation, structure, and distribution in nature of plant proanthocyanidins; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1972**, 1387-1399.

Thomson R.; The Chemistry of Natural Products; Blackie and Son, Glasgow, **1985**.

Torssell K.; Natural Product Chemistry; Wiley, Chichester, **1983**.

Trost B., Verhoeven T., in: G. Wilkinson, F.G. Stone, E.W. Abel (Eds.); Comprehensive Organometallic Chemistry; vol.8, Pergamon Press, Oxford, **1982**, 799-938.

Tuckmantel W., Kozikowski A., Romanczyk L.: Studies in Polyphenol Chemistry and Bioactivity. 1. Preparation of Building Blocks from (+)-Catechin. Procyanidin Formation. Synthesis of the Cancer Cell Growth Inhibitor, 3-*O*-Galloyl-(2*R*,3*R*)-epicatechin-4^b,8-[3-*O*-galloyl-(2*R*,3*R*)-epicatechin]; *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 12073-12081.

Tsuiji J.; Expanding Industrial Applications of Palladium Catalysts; *Synthesis*, **1990**, 739-749.

Tsuiji J.; Palladium Reagents and Catalysts, Innovations in Organic Synthesis; Wiley: New York, **1995**.

Vickery E., Pahler L., Eisenbraun E.; Selective O-demethylation of catechol ethers. Comparison of boron tribromide and iodotrimethylsilane; *J. Org. Chem.*, **1979**, *44*, 4444-4446.

Vivar-Quintana A., Santos-Buelga C., Rivas-Gonzalo J.; Anthocyanin-derived pigments and color of red wines; *Anal. Chim. Acta*, **2002**, *458*, 147-155.

Wolfe J., Wagaw S., Marcoux J-F., Buchwald S.; Rational Development of Practical Catalysts for Aromatic Carbon-Nitrogen Bond Formation; *Acc. Chem. Res.*, **1998**, *31*, 805-818.

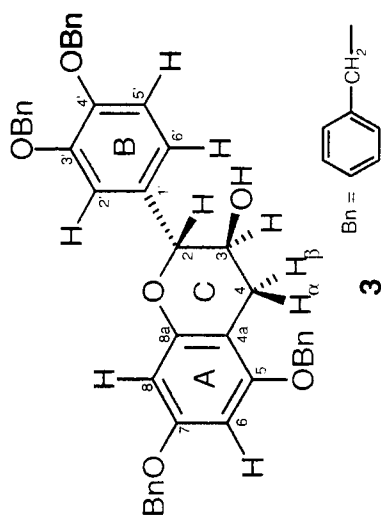
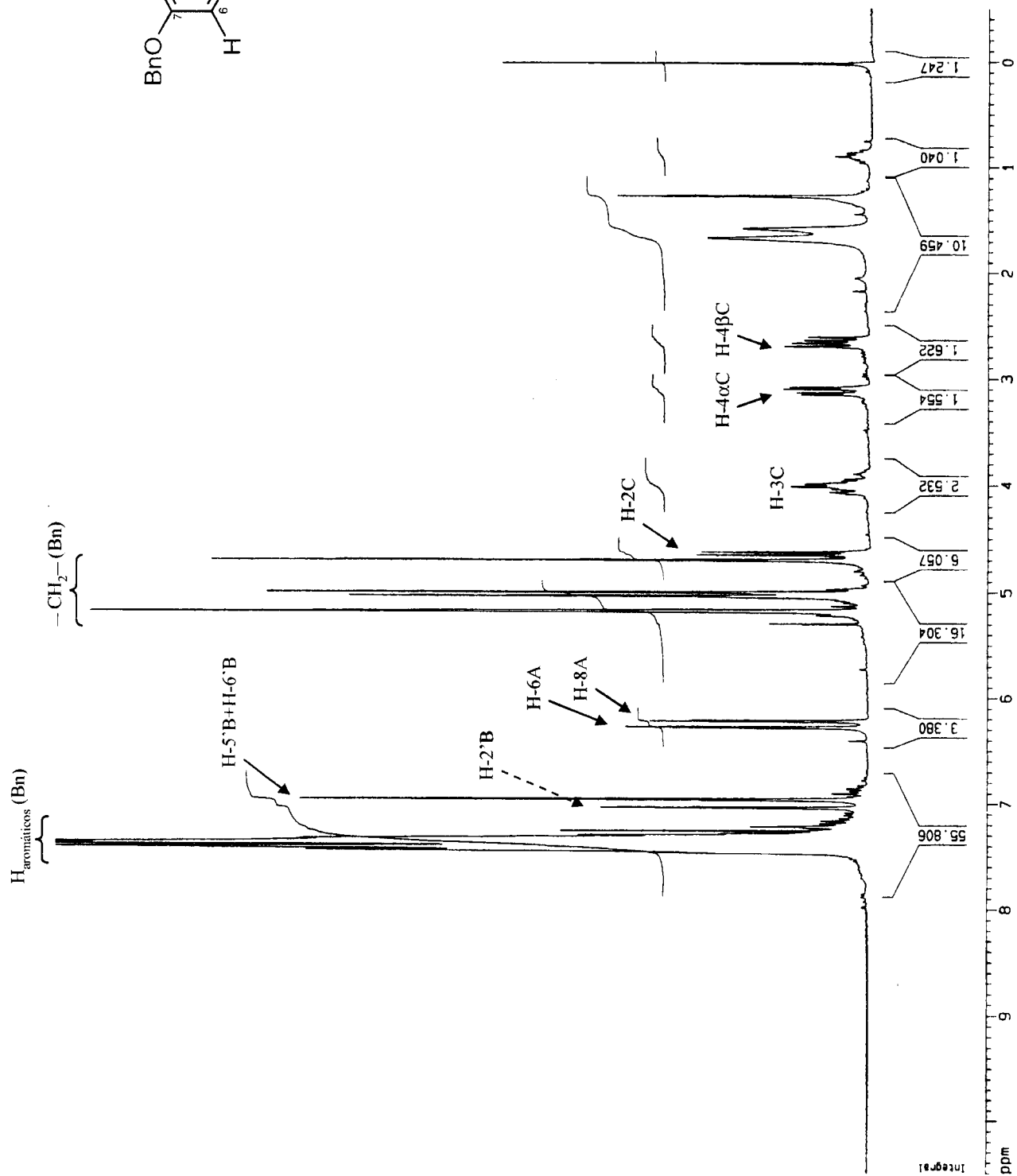
Yamamura M., Moritani I., Murahashi S-I.: The reaction of σ -vinylpalladium complexes with alkyllithiums. Stereospecific syntheses of olefins from vinyl halides and alkyllithiums; *J. Organomet. Chem.*, **1975**, *91*, C39-C42.

Yamamura K., Ono S., Ogoshi H., Masuda H., Kuroda Y.; Chiral Liquid Crystal Mesogens. Synthesis and Determination of Absolute Configuration of Mesogens with 4,4'-Biphenanthryl Cores; *Synlett*, **1989**, 18-19.

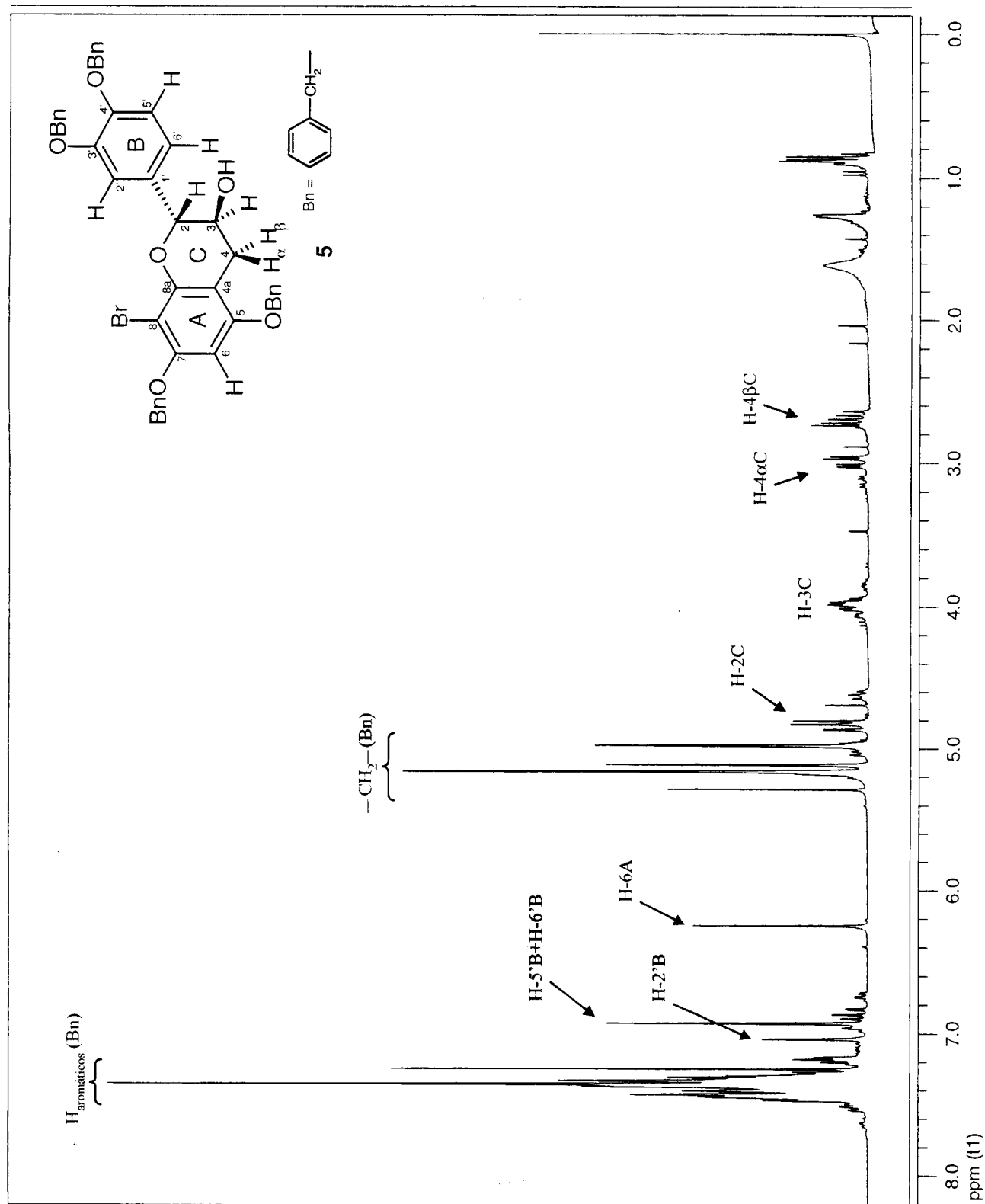
Yang B., Buchwald S.; Palladium-catalyzed amination of aryl halides and sulfonates; *J. Organomet. Chem.*, **1999**, *576*, 125-146.

Yoneda S., Kawamoto H., Nakatsubo F.; Synthesis of high molecular mass condensed tannin by cationic polymerization of flavan 3,4-carbonate; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1997**, 1025-1030.

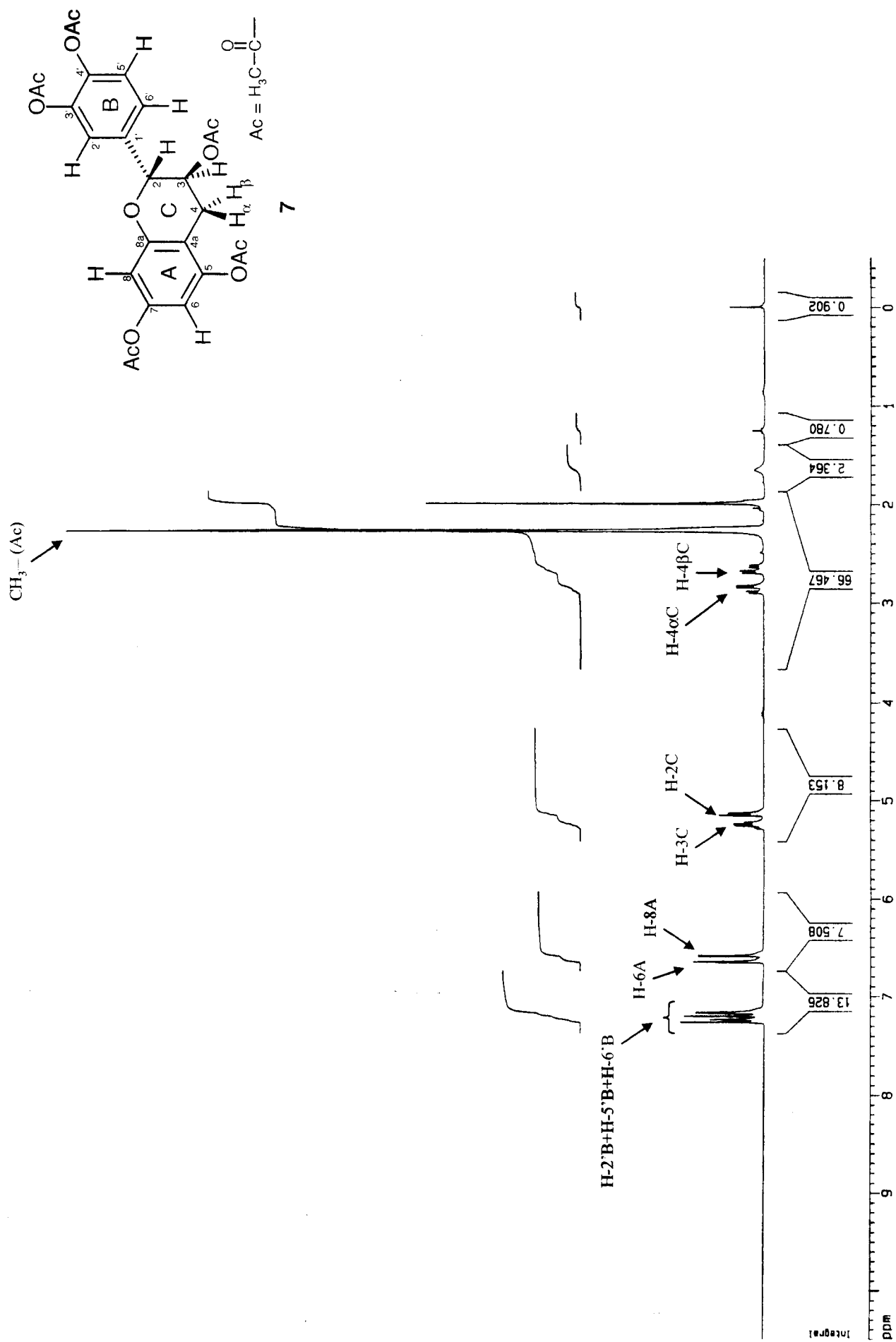
ANEXOS



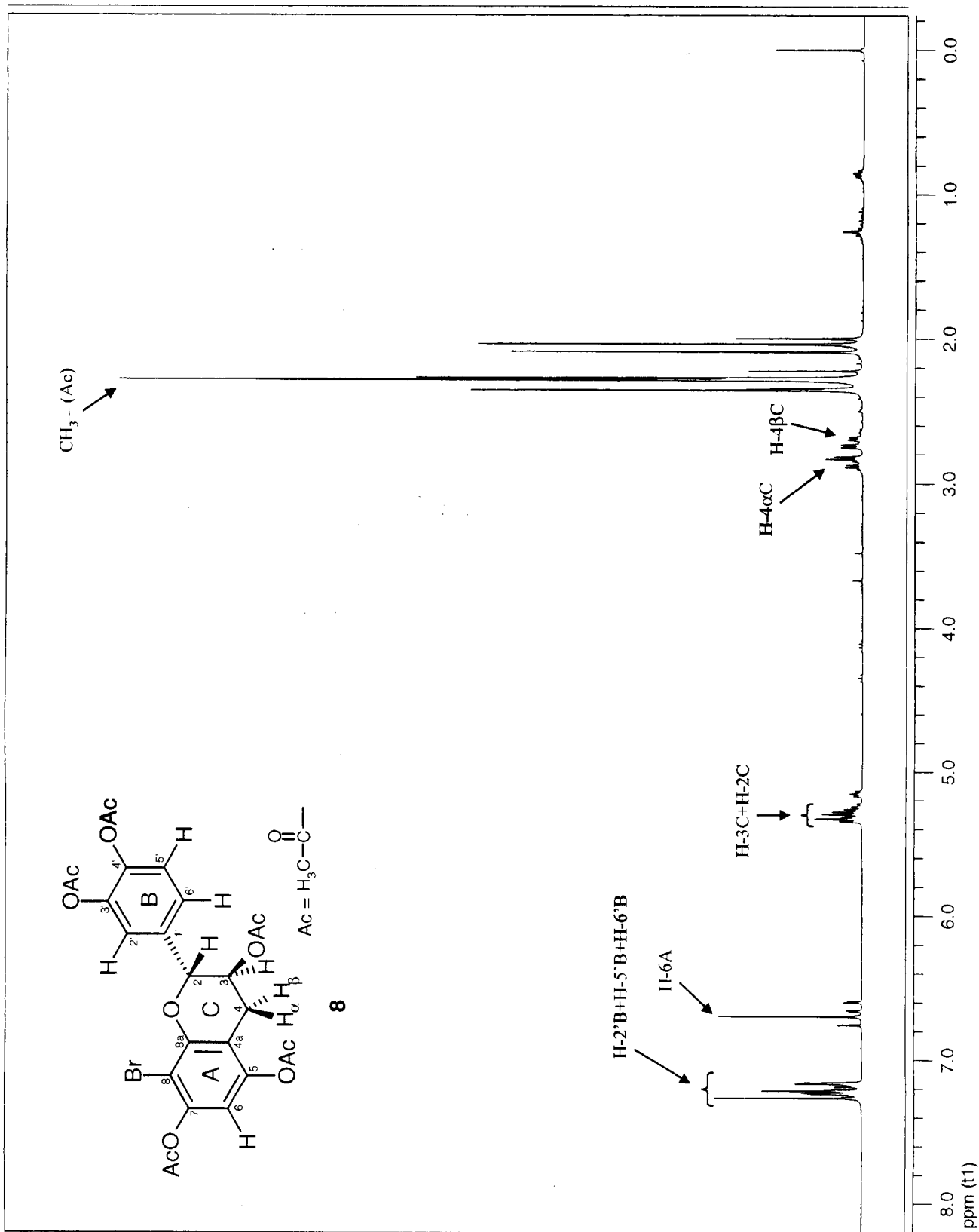
ANEXO 1: Espectro de RMN-¹H da 3',4',5,7-tetra-O-benzil-catequina (**3**)



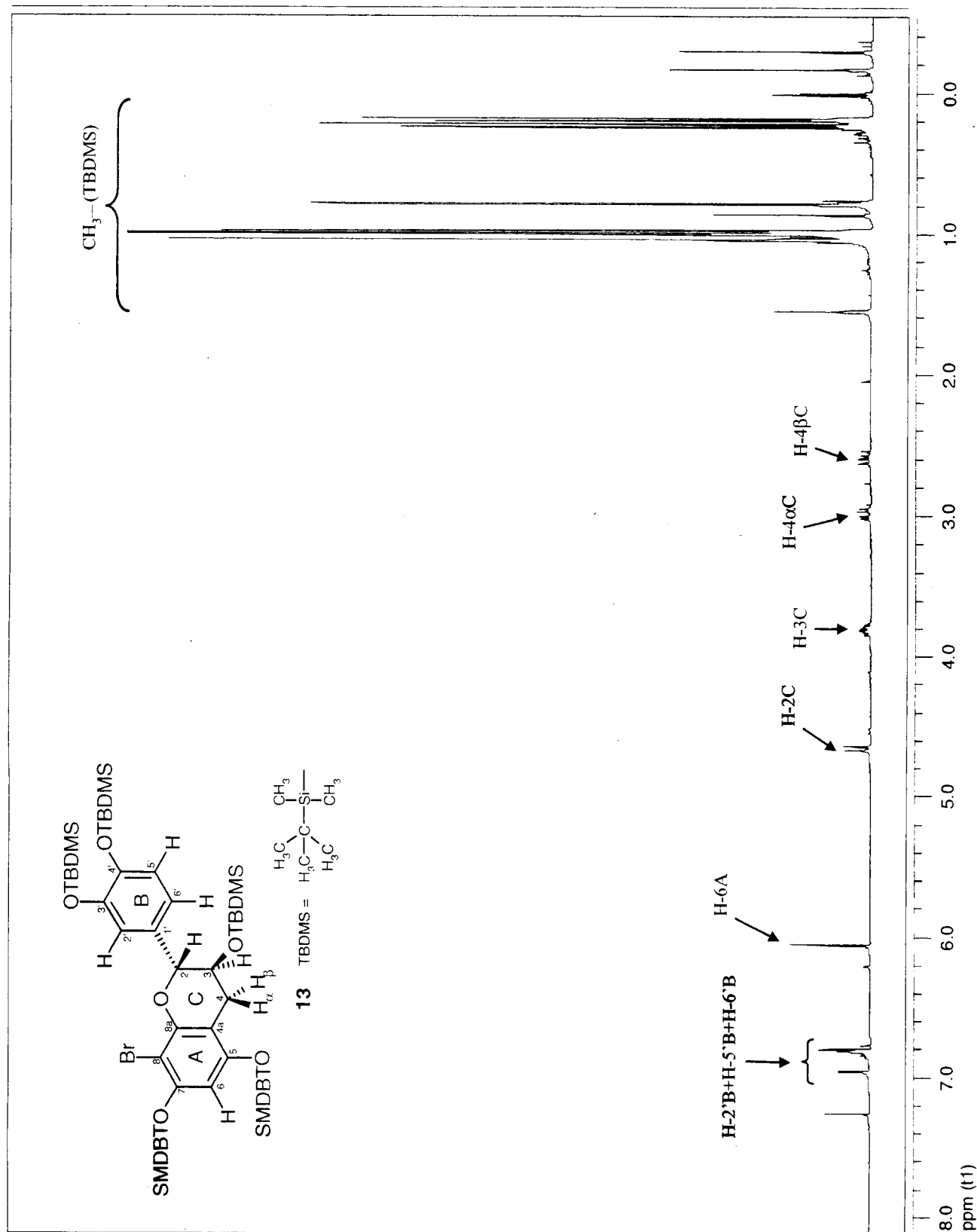
ANEXO 2: Espectro de RMN- ^1H da 3',4',5,7-tetra-*O*-benzil-8-bromo-catequina (**5**)



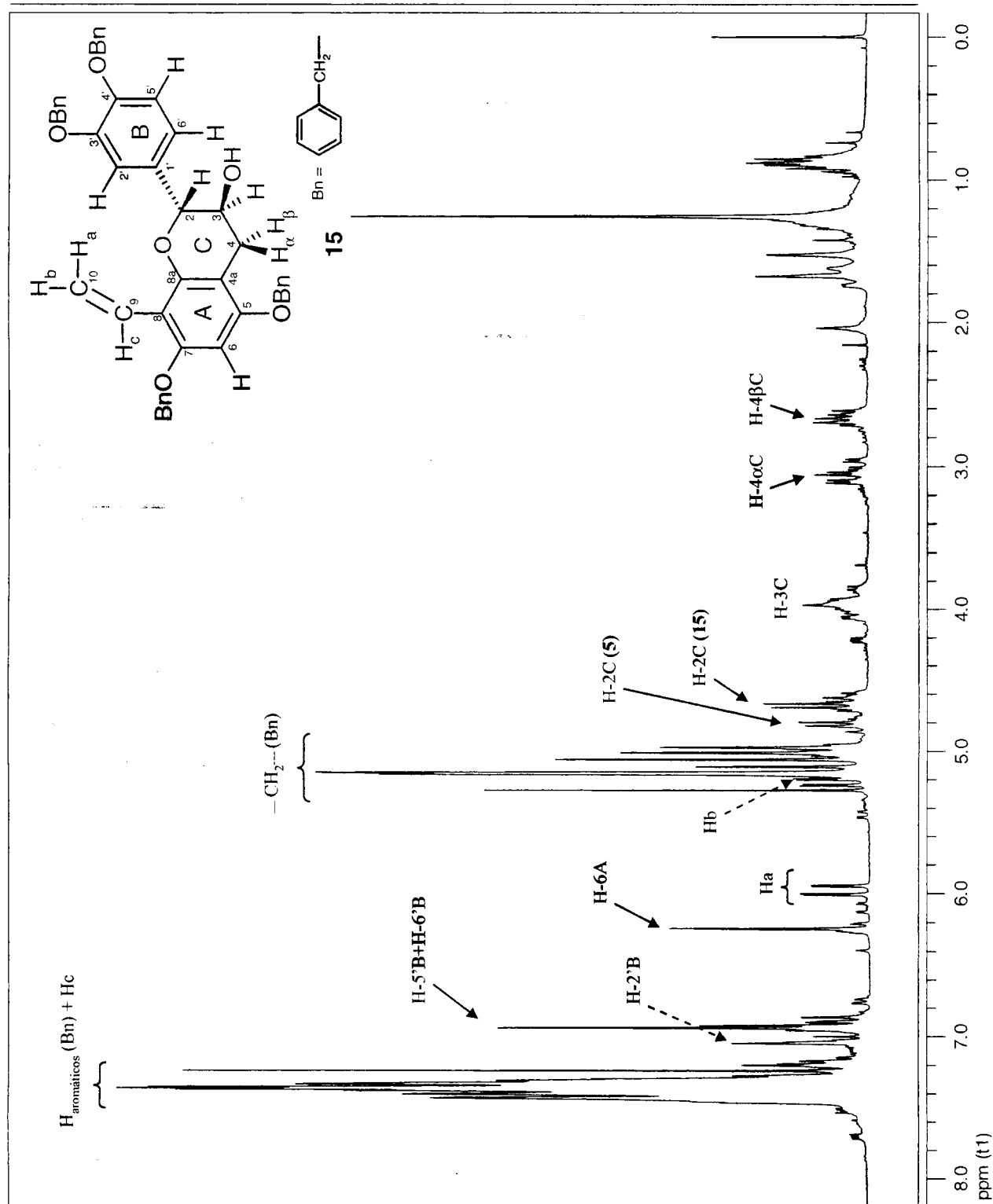
ANEXO 3: Espectro de RMN- ^1H da 3,3',4',5,7-penta-O-acetil-catequina (7)



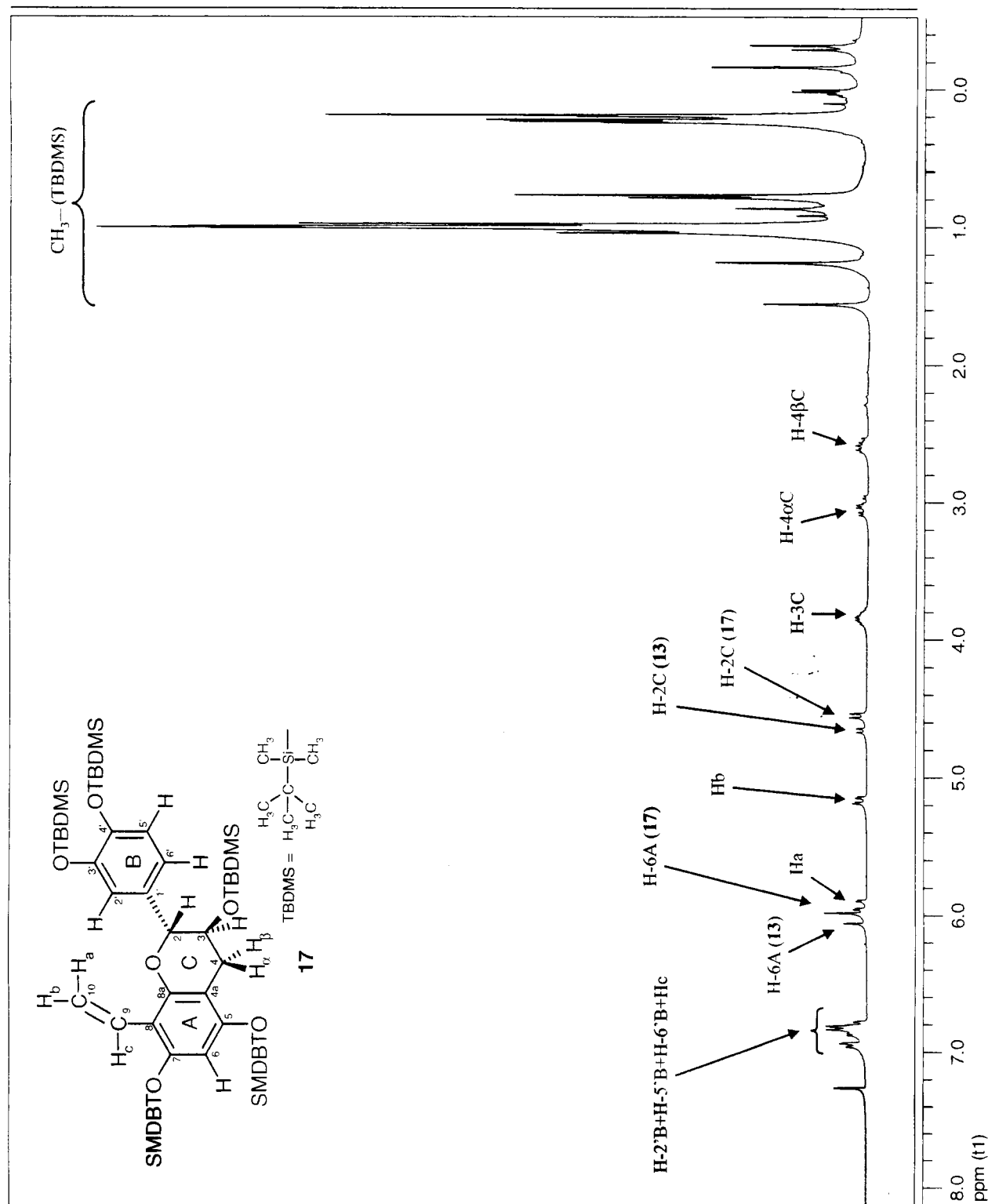
ANEXO 4: Espectro de RMN- ^1H da 3,3',4',5,7-penta-*O*-acetil-8-bromo-catequina (**8**)



ANEXO 5: Espectro de RMN-¹H da 3,3',4',5,7-penta-*O*-*tert*-butildimetilsilil-8-bromo-catequina (**13**)



ANEXO 6: Espectro de RMN-¹H da mistura da 3',4',5,7-tetra-*O*-benzil-8-vinil-catequina (15) e da 3',4',5,7-tetra-*O*-benzil-8-bromo-catequina (5)



ANEXO 7: Espectro de RMN- ^1H da mistura da 3,3',4',5,7-penta-*O-terc*-butildimetilsilil-8-vinil-catequina (**17**) e da 3,3',4',5,7-penta-*O-terc*-butildimetilsilil-8-bromo-catequina (**13**)