



Universidade de Aveiro Departamento de Química
2011

**Frederico Ribeiro
Baptista**

Síntese de (*E*)-2-Estirilcromonas C-Preniladas



Universidade de Aveiro Departamento de Química
2011

**Frederico Ribeiro
Baptista**

Síntese de (*E*)-2-Estirilcromonas C-Preniladas

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Química, especialidade em Química Orgânica e Produtos Naturais, realizada sob a orientação científica do Doutor Artur Manuel Soares da Silva, Professor Catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Apoio financeiro da FCT e do FSE no âmbito do III Quadro Comunitário de Apoio.
Ref. SFRH/BI/33956/2009

Aos meus pais

o júri

presidente

Prof. Doutor Artur Manuel Soares da Silva (Orientador)
Professor catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Doutora Diana Cláudia Gouveia Alves Pinto
Professora auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Doutora Clementina Maria Moreira dos Santos
Professora adjunta do Departamento de Produção e Tecnologia Vegetal do Instituto Politécnico de Bragança

agradecimentos

Ao Professor Doutor Artur Silva, orientador deste trabalho, o meu sincero reconhecimento pelos preciosos ensinamentos que me transmitiu, encorajamento, dispensando-me uma amizade constante ao longo de todo o desenvolvimento deste trabalho.

À Doutora Diana Pinto agradeço a imprescindível colaboração, a disponibilidade e as sugestões que contribuíram, de forma inequívoca para o meu enriquecimento científico, bem como a amizade que dela sempre pude receber.

Ao Professor Doutor José Cavaleiro, Professor Catedrático do grupo de disciplinas de Química Orgânica, do Departamento de Química da Universidade de Aveiro, desejo agradecer pelo apoio prestado ao longo da realização deste trabalho.

Ao Lic. Hilário Tavares agradeço a disponibilidade que mostrou na obtenção de espectros de RMN.

A todos os meus amigos e colegas de laboratório, agradeço a ajuda e amizade demonstrada durante este período de convivência, bem como pelo bom ambiente e pelos bons momentos passados.

Por fim mas não menos importante quero agradecer aos meus pais e à minha irmã que sempre me apoiaram e estimularam no sentido de levar a cabo a concretização deste trabalho.

palavras-chave

Floroacetofenona, método de Baker-Venkataraman, (*E*)-2-estirilcromonas, C-prenilação, RMN.

resumo

As flavonas preniladas constituem uma classe importante de compostos polifenólicos naturais às quais são reconhecidas várias atividades biológicas, tais como atividade antioxidante e anti-inflamatória. Existem vários métodos de síntese de C-prenilflavonas, mas não são conhecidos até à data métodos de síntese de prenil-2-estirilcromonas.

Nesta dissertação apresenta-se a rota de síntese de (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-di-hidropirano[2,3-*h*]cromona através do método de Baker-Venkataraman e usando 3'-prenilfloroacetofenona como reagente de partida. Descrevem-se também os estudos efetuados sobre a C-prenilação direta da floroacetofenona e O-prenilação de 5,7-di-hidroxi-2-estirilcromonas.

Na caracterização estrutural dos compostos sintetizados recorreu-se a técnicas analíticas actuais, especialmente a vários estudos de espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), os quais incluíram sobretudo o estudo de espectros de ^1H , ^{13}C e estudos bidimensionais de correlação espectroscópica heteronuclear assim como espectrometria de massa (EM).

keywords

Phloroacetophenone, Baker-Venkataraman method, (*E*)-2-styrylchromones, C-prenylation, NMR.

abstract

Prenylflavones are important naturally occurring polyphenolic compounds possessing important biological properties, from which one can point out the antioxidant and anti-inflammatory activities. There are several methods for the synthesis of C-prenylflavones, but as far as we know there are no reports on the synthesis of prenyl-2-styrylchromones.

In this work it is presented a new synthetic methodology for the synthesis of (*E*)-2-styryl-5-hydroxy-8,8-dimethyl-9,10-di-hydropyran[2,3-*h*]chromones, using the Baker-Venkataraman approach and starting with 3'-prenylphloroacetophenone. It is also reported studies on the direct C-prenylation of phloroacetophenone and O-prenylation of 5,7-di-hydroxy-2-styrylchromones.

All synthesized compounds were characterized using modern analytical techniques, with special emphasis on exhaustive nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy (^1H , ^{13}C and 2D heteronuclear correlation spectroscopy, but also mass spectroscopy.

Abreviaturas

Ac₂O	Anidrido acético
ADN	Ácido desoxirribonucleico
Aq.	Aquoso
ARN	Ácido ribonucleico
COX-1	Ciclooxigenase-1
COX-2	Ciclooxigenase-2
δ	Desvio químico em relação ao tetrametilsilano (ppm)
d	Dupleto
DBU	1,8-Diazabicyclo [5.4.0] -undec-7-eno
DCC	<i>N,N</i> -diciclo-hexilcarbodiimida
dd	Duplo dupleto
DEAD	Azodicarboxilato dietílico
DMSO	Dimetilsulfóxido
EM	Espectrometria de massa
Equiv.	Equivalentes molares
ESI	Ionização por electrospray
Eu(fod)₃	Tris(6,6,7,7,8,8,8-heptafluoro-2,2-dimetil-3,5-octanedionato)europio (III)
h	Horas
HMBC	Correlação espectroscópica heteronuclear a longa distância, bidimensional, em RMN (deteção inversa)
HSQC	Correlação espectroscópica heteronuclear, bidimensional, em RMN (deteção inversa)
iNOS	Indução de síntase de óxido nítrico
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
<i>J</i>	Constante de acoplamento (em Hz)
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
LiHMDS	Lítio bis(trimetilsilil)amida
Lit.	Literatura
LOX	Lipooxigenase
m	Multiplete

m/z	Razão massa carga em espectrometria de massa
MeOH	Metanol
min.	Minutos
OMe	Metoxilo
4-ppy	4-Pirrolidinopiridina
p. f.	Ponto de fusão
PPh₃	Trifenilfosfina
ppm	Partes por milhão
Py	Piridina
RMN de ¹H	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de próton
RMN de ¹³C	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono-13
RNS	Espécies reativas de azoto
ROS	Espécies reativas de oxigénio
s	Singuleto
Sc(OTf)₃	Triflato de escândio
t	Tripleto
Temp. amb.	Temperatura ambiente
TBS	<i>tert</i> -butildimetilsililo
THF	Tetra-hidrofurano
tlc	Cromatografia de camada fina
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta

Índice

1. Introdução.....	1
1.1 Flavonóides.....	1
1.2 Atividade biológica de flavonóides.....	3
1.2.1 Atividade antioxidante de flavonóides.....	4
1.2.2. Atividade anti-inflamatória dos flavonóides.....	6
1.3. 2-Estirilcromonas.....	7
1.4. Métodos de síntese de 2-estirilcromonas.....	9
1.4.1 Método de Allan-Robinson.....	9
1.4.2. Reação de Wittig.....	10
1.4.3. Condensação aldólica/ciclização oxidativa.....	10
1.4.4. Método de Baker-Venkataraman.....	11
2. Flavonóides prenilados.....	13
2.1. Flavonóides C-prenilados.....	13
2.2. Atividade biológica dos flavonóides C-prenilados.....	15
2.2.1. Atividade antioxidante dos flavonóides C-prenilados.....	15
2.2.2. Atividade anti-inflamatória de flavonóides C-prenilados.....	17
2.3. Métodos de síntese de flavonóides C-prenilados.....	18
2.3.1. Rearranjo de Claisen.....	18
2.3.2. C-Prenilação direta de flavonóides.....	20
2. Objetivos.....	25
3. Síntese de 2-estirilcromonas C-preniladas.....	29
3.1. Síntese da 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona.....	30
3.2. Síntese de 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona.....	32
3.3. Síntese da 5-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)pent-4-eno-1,3-diona/ 5-fenil-3-hidroxi-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)penta-2,4-dien-1-ona.....	33
3.4. Síntese da (E)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona.....	34

3.5. Síntese da (<i>E</i>)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-di-hidropirano[2,3- <i>h</i>]cromona	35
3.6. Síntese de (<i>E</i>)-5-hidroxipolimetoxi-2-estirilcromonas	38
4. Caracterização estrutural	45
4.1. Caracterização estrutural de 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona ...	45
4.2. Caracterização estrutural de 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona	50
4.3. Caracterização estrutural de 5-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)pent-4-eno-1,3-diona/5-fenil-3-hidroxi-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)penta-2,4-dien-1-ona	55
4.4. Caracterização estrutural da (<i>E</i>)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona	60
4.5. Caracterização estrutural da (<i>E</i>)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-di-hidropirano[2,3- <i>h</i>]cromona	65
5. Procedimento experimental	73
5.1. Reagentes, solventes, sílicas e equipamentos utilizados	73
5.2. Síntese dos compostos obtidos	74
5.2.1. Síntese da 2',4',6'-tri-hidroxi-3'-prenil-acetofenona 35	74
5.2.2. Síntese da 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona 41	75
5.2.3. Síntese de 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona 42	75
5.2.4. Síntese da 5-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)pent-4-eno-1,3-diona 43a/ 5-fenil-3-hidroxi-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)penta-2,4-dien-1-ona 43b	77
5.2.5. Síntese (<i>E</i>)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona 44	78
5.2.6. Síntese da (<i>E</i>)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-di-hidropirano[2,3- <i>h</i>]cromona 46	79
5.2.7. Síntese das polimetoxi-2-estirilcromonas	80
5.2.8. Síntese das (<i>E</i>)-5-hidroxipolimetoxi-2-estirilcromonas 40	80
6. Conclusões e trabalho futuro	85
7. Bibliografia	89

CAPÍTULO I

Introdução

1. Introdução

1.1 Flavonóides

Os flavonóides são uma classe de produtos naturais descobertos por Szent-Györgyi, em 1930, prémio Nobel da Medicina em 1937, que extraiu a citrina da casca do limão. Esta substância possui capacidade de regulação da permeabilidade dos vasos capilares. Assim, esta classe de produtos naturais foi inicialmente denominada como vitamina P e também como vitamina C₂, uma vez que algumas das substâncias pertencentes a esta classe apresentavam características semelhantes às da vitamina C. Porém, estas substâncias não foram confirmadas como vitaminas, sendo esta designação abandonada em 1950.¹

Os flavonóides encontram-se amplamente distribuídos no reino vegetal e o do crescente interesse no estudo destes compostos resulta das várias propriedades biológicas relacionadas com a saúde humana que estes apresentam.² Contudo, os flavonóides desempenham também um papel importante nas próprias plantas principalmente como pigmentos e agentes de defesa.^{3,4} De facto, a classe dos flavonóides é muito abrangente, dependendo da posição da ligação do anel aromático ao grupo benzopirano, este grupo dos flavonóides pode ser dividido, de acordo com alguns autores, em quatro classes, os flavonóides superiores, isoflavonóides, neoflavonóides e flavonóides inferiores.⁵

Ao contrário dos alcalóides e terpenóides, que apresentam uma grande variedade de estruturas, os flavonóides apresentam um limitado tipo de esqueleto que é constituído por quinze átomos de carbono em que dois grupos fenilo estão ligados por uma cadeia de três carbonos. A diversidade destes compostos depende também do tipo de substituição que os vários tipos de flavonóides podem experimentar, como hidroxilação, metoxilação, glicosilação e prenilação, entre outros. Todos estes grupos de flavonóides partilham como precursor comum a 2'-hidroxicalcona **2** e, por conseguinte, estão biogenética e estruturalmente relacionados.⁶

As calconas são compostos do tipo flavonóide de cadeia aberta em que os dois anéis aromáticos estão unidos por uma cadeia de três carbonos que constitui um sistema carbonílico α,β -insaturado (C₆-C₃-C₆) (Figura 1.1).⁷ Após isomerização pela enzima

calcona flavanona isomerase, o sistema calcona/flavanona origina a maior parte dos compostos que pertencem à classe dos flavonóides.⁸ Também a nível sintético, as 2'-hidroxicalconas são intermediários na síntese da maioria dos compostos flavonóides.

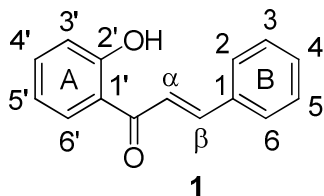


Figura 1.1. Estrutura e sistema de numeração da 2'-hidroxicalcona 2.

A numeração do núcleo calcona é diferente do apresentado para os outros flavonóides, ou seja, o anel A é numerado de 1' a 6' e o anel B é numerado de 1 a 6 (Figura 1.2). Este sistema de numeração e a designação de calcona é ainda aceite pela IUPAC.⁹

As cromonas naturais são uma das maiores classes de compostos polifenólicos heterocíclicos que se encontram amplamente distribuídas na natureza. Das cromonas (4*H*-1-benzopiran-4-onas) fazem parte todos os compostos heterocíclicos que são constituídos por um núcleo cromona 2, que resulta da fusão entre um anel benzénico e um anel γ -pirona (Figura 1.2)

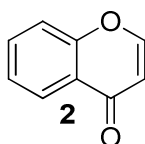


Figura 1.2. Estrutura do núcleo cromona.

As flavonas representam o subgrupo mais numeroso dos flavonóides naturais, tendo já sido identificados cerca de 9000 estruturas, encontrando-se em diversas partes das plantas como folhas, raízes, flores e frutas, entre outras. Na natureza podem ser encontradas na sua forma não substituída mas a maioria delas apresenta diversos grupos substituintes. A maior parte das flavonas naturais está ligada a um açúcar formando uma glicosilflavona.¹⁰

A numeração do núcleo flavona **3**, é feita do mesmo modo que a maioria dos outros tipos de flavonóides com exceção das calconas, isto é, os anéis A e C são numerados de 1 a 8, começando no átomo de oxigênio; o anel B é numerado de 1' a 6', tal como recomendado pela IUPAC (Figura 1.3).⁹

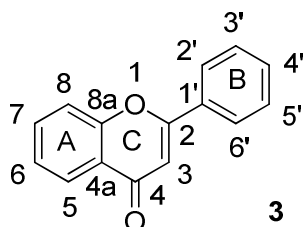


Figura 1.3. Estrutura e sistema de numeração da flavona 3.

1.2 Atividade biológica de flavonóides

Os flavonóides são uma importante classe de metabolitos secundários das plantas, que podem ser isolados a partir de uma vasta gama de plantas.¹⁰ A nenhuma outra classe de metabolitos secundários foram creditadas tantas ou tão diversas funções chave no crescimento de plantas e no seu desenvolvimento. Além disso, muitas destas tarefas são vitais para a sua sobrevivência, em que se pode destacar uma importante ação de atração de polinizadores.

Outra função atribuída aos flavonóides é a sua capacidade de funcionarem como filtros de proteção contra radiação UV que poderiam provocar lesões no tecido fotossintético localizado no interior da planta. Por esta razão e apesar da sua existência por toda a planta, a maior concentração destes compostos situa-se nas camadas epidérmicas superiores das pétalas e das folhas.^{11,12}

Podem ainda ser atribuídas aos flavonóides outras funções ao nível protetor da planta contra agentes nocivos, como sejam fungos, bactérias e vírus. Esta propriedade não envolve unicamente a sua função como agentes constituintes das plantas, mas também a sua acumulação como fitoalexinas quando ocorre contaminação, ou seja, ocorre a síntese e acumulação destes compostos nos tecidos afectados como resposta aos ataques dos vários agentes nocivos para as plantas.^{11,13} Também lhes é reconhecido o efeito regulador do crescimento, visto que controlam alguns processos biológicos

enzimáticos, nomeadamente a produção de hormonas.^{11,12,13} Estas interações com os processos biológicos nas células sugere a sua potencial aplicação na medicina.¹⁴

Os compostos polifenólicos têm sido objeto de inúmeros estudos científicos, devido às inúmeras propriedades biológicas que apresentam, tais como atividade antioxidante, antiviral, anti-inflamatória e anticarcinogénica.¹⁵ De entre as potenciais aplicações que lhes podem ser atribuídas, salientam-se a atividade antioxidante e a atividade anti-inflamatória. Nos últimos anos, o grupo de investigação de Química Orgânica da Universidade de Aveiro tem desenvolvido novas rotas de síntese de xantonas¹⁶ e cromonas¹⁷ e mais recentemente novas rotas de síntese de derivados adequados com potencial atividade antioxidante¹⁸ e anti-inflamatória¹⁹.

1.2.1 Atividade antioxidante de flavonóides

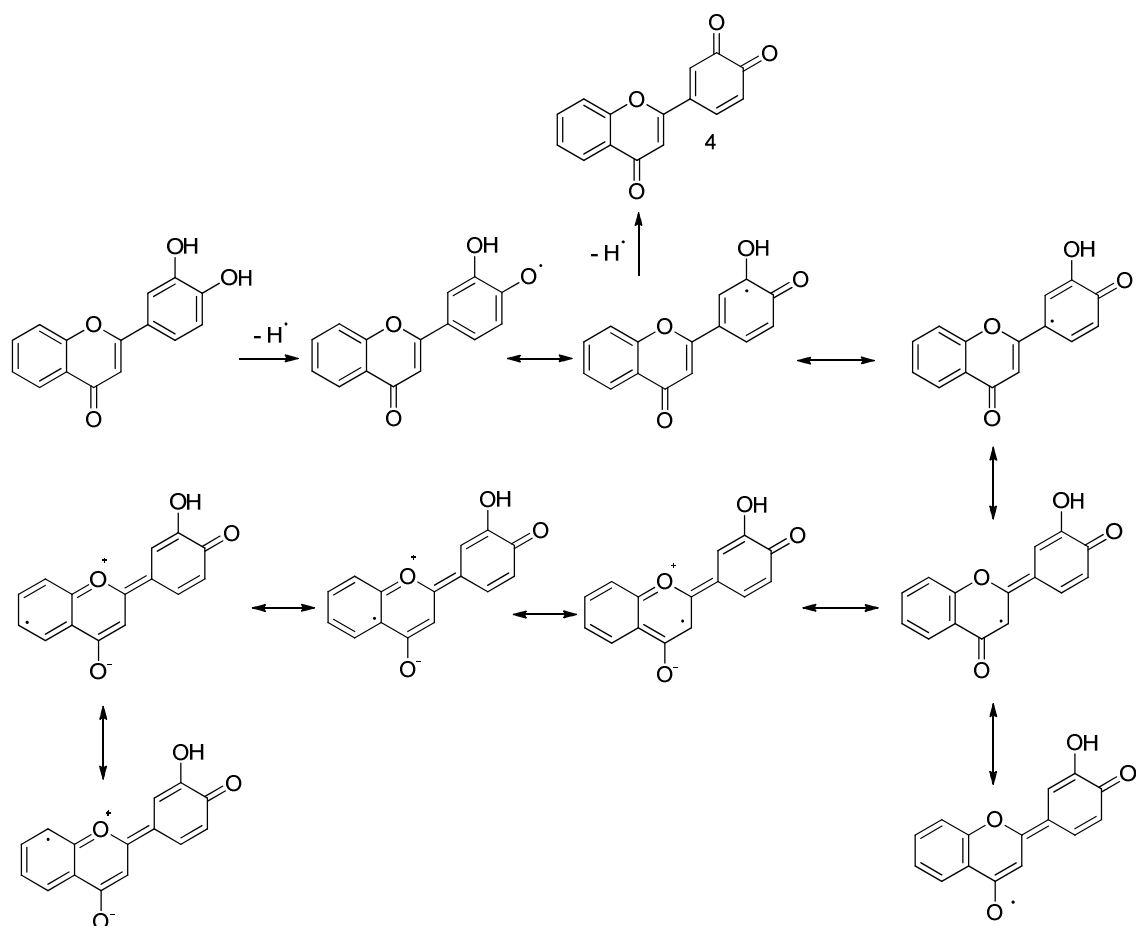
Uma das propriedades biológicas mais divulgadas dos flavonóides e, por conseguinte, das suas propriedades medicinais e fisiológicas, é a sua capacidade de captar espécies reativas de oxigénio (ROS) e de azoto (RNS). Esta capacidade dos flavonóides tem ganho notoriedade nos últimos tempos devido ao impacto que as ROS têm nos seres humanos, bem como na fisiologia e no metabolismo das plantas.²⁰ As espécies ROS, como oxigénio singuleto ($^1\text{O}_2$), o anião radical superóxido (O_2^-), o radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), assim como as RNS, como o radical dióxido de azoto ($\text{NO}_2\cdot$), estão implicadas na degradação oxidativa de proteínas e ADN, na oxidação de pigmentos, na redução da atividade fotossintética, respiração e na senescência e morte celular.^{21,22}

A atividade antioxidante destes compostos permite ainda desativar o oxigénio singuleto e absorver radiações UV. Outro dos mecanismos de defesa em que participam os flavonóides consiste na transformação de radicais livres em compostos estáveis não radicalares. Esta capacidade dos flavonóides atuarem como antioxidantes depende da sua estrutura molecular e estão relacionadas com: (i) a presença de uma unidade catecol, resultando na estabilização de espécies radicalares; (ii) a presença de um grupo carbonilo no anel C em conjugação com a insaturação entre C-2 e C-3; (iii) a presença de grupos hidroxilo ou outros grupos funcionais na posição C-3 e, em certos casos, a presença de grupos hidroxilos em C-5 e/ou C-7 do anel A,¹⁴ que em conjugação com (ii)

favorece a complexação de íons metálicos e previne a catálise de reações radicalares.⁵ A estabilidade radicalar e o potencial de oxidação-redução são as principais características dos flavonóides no desempenho da sua atividade antioxidante.

Os flavonóides agem como agentes antioxidantes perdendo um átomo de hidrogénio, permitindo a redução de radicais livres. São compostos dotados de uma ótima capacidade de estabilização radicalar resultante da deslocalização dos eletrões desemparelhados com formação de radicais fenoxilo. Assim o radical livre que é formado é estabilizado por ressonância evitando a reação com outras moléculas e consequente formação e propagação de novas espécies radicalares. Um outro modo de estabilização destes radicais é através da reação de término, em que a reação termina com a perda do átomo de hidrogénio do radical flavonóide para formar uma *orto*-quinona **4** (Esquema 1.1).²³

A capacidade dos flavonóides para complexar íons metálicos (especialmente cobre e ferro) tem recebido grande atenção, uma vez que são conhecidos como catalisadores de processos radicalares degenerativos. Estes metais na sua forma reduzida podem promover a formação de radicais hidroxilo através da reação de Fenton.²⁴ O cobre em particular, é um importante metal associado à degradação oxidativa endógena que provavelmente envolve uma redução inicial do Cu(II) a Cu(I) através de uma variedade de mecanismos.²⁵



Esquema 1.1. Mecanismo da atividade antioxidante dos flavonóides e a estabilização dos radicais formados.

1.2.2. Atividade anti-inflamatória dos flavonóides

Usualmente o processo anti-inflamatório é uma resposta fisiológica complexa que pode ser causada por uma infecção bacteriana, lesão, trauma ou irradiação com luz ultravioleta, entre outros factores que podem causar este tipo de resposta. A inflamação tem vindo a merecer uma atenção especial, pois é frequentemente associada a outras doenças, quer como agente iniciador ou como um forte contribuinte para a sua manutenção ou agravamento de várias doenças degenerativas como a arteriosclerose, Alzheimer, artrite, entre outras.^{26,27}

As propriedades anti-inflamatórias dos flavonóides são devidas à sua capacidade de inibição da atividade de enzimas que são responsáveis pela propagação

da infecção e pela sua capacidade de captar radicais livres evitando a oxidação dos sistemas biológicos.¹⁴

O processo anti-inflamatório envolve um aumento da permeabilidade vascular e a libertação de autacóides derivados dos lípidos, sintetizados pelas enzimas lipoxigenase (LOX), ciclooxigenase-1 (COX-1) e ciclooxigenase-2 (COX-2), bem como outras biomoléculas. Existem outros factores que têm um papel central neste processo, destacando-se o fluxo oxidativo que acompanha a fagocitose, que leva à produção excessiva de ROS, e a indução de síntese de óxido nítrico (iNOS), que origina uma produção sustentada de RNS. De facto, devido à sua capacidade para destruir agentes patogénicos microbianos, as ROS e RNS produzidas têm um papel importante nos mecanismos de defesa do hospedeiro, mas por outro lado se essas espécies suplantam os sistemas de defesas do hospedeiro, poderão ocorrer lesões graves nos tecidos inflamados contribuindo para o desenvolvimento de doenças crónicas.²⁷ Para controlar essas doenças devem usar-se agentes anti-inflamatórios, que além do seu efeito inibitório sobre a produção de eicosanóides devem ter também propriedades antioxidantes.

1.3. 2-Estirilcromonas

As 2-estirilcromonas são um tipo de cromonas pouco abundantes na natureza, conhecendo-se apenas três derivados naturais, sendo dois deles isolados a partir de extratos da alga marinha *Chrysophaeum taylori*^{29,30} nos anos 80, a hormotamniona **5a** e a 6-desmetoxi-hormotamniona **5b**, e mais recentemente e posteriormente à sua síntese ter sido descrita,³¹ a 5-hidroxi-2-estirilcromona **5c** isolada a partir da planta *Imperata cylindrica*³² (Figura 1.4).

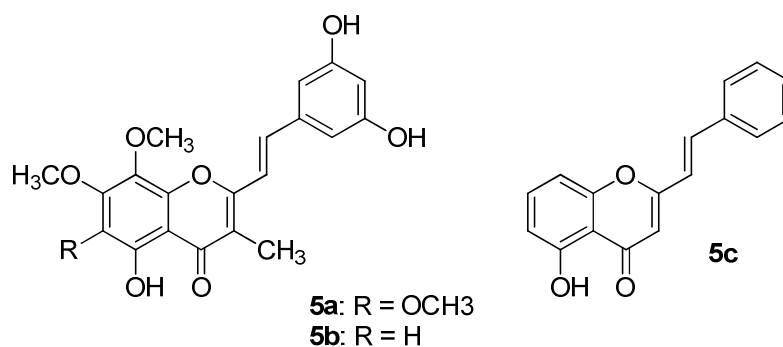


Figura 1.4. Estrutura das 2-estirilcromonas de ocorrência natural.

A numeração da estrutura de 2-estirilcromonas é feita do mesmo modo que os flavonóides com excepção das calconas, isto é, os anéis A e C são numerados de 1 a 8, começando no átomo de oxigénio, o anel B é numerado de 1' a 6', (Figura 1.5). A denominação de 2-estirilcromonas resulta do facto de possuírem um núcleo cromona ao qual está ligado um grupo estirilo na posição C-2.

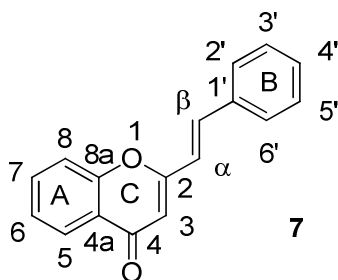


Figura 1.5. Estrutura da 2-estirilcromona e correspondente sistema de numeração.

Embora as 2-estirilcromonas **7** sejam um dos grupos mais restritos das cromonas naturais, vários estudos científicos mostraram possuir importante atividade biológica, como atividade citotóxica contra células leucémicas humanas P338 e inibição seletiva na síntese de ARN no caso da hormotamniona **5a**.²⁹ A 6-desmetoxi-hormotamniona **5b** mostrou possuir atividade antitumoral contra vários tipos de células cancerosas.³³ Devido às importantes actividades biológicas que estes compostos demonstraram possuir em conjunto com a dificuldade em se conseguir obter estes compostos puros em quantidades apetecíveis foram preparados vários derivados sintéticos de 2-estirilcromonas.

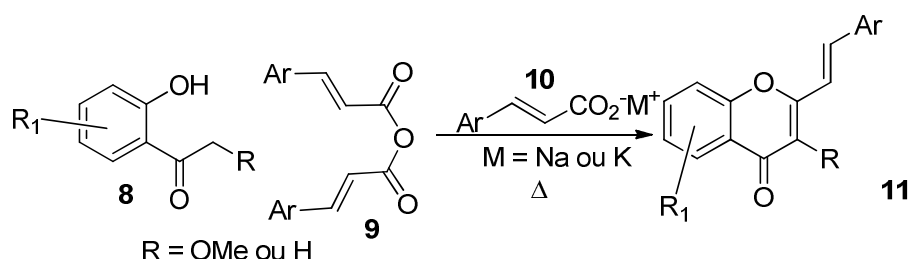
Estudos de atividade biológica de derivados sintéticos de 2-estirilcromonas revelaram que estes possuem atividade anti-alérgica, anticancerígena³⁴ anti-enzimática³⁵ e antiviral.³⁶ Demonstrou-se também que as poli-hidroxi-2-estirilcromonas apresentam importante atividade antioxidante^{37,38,39,40} e anti-inflamatória.⁴¹ Estas duas atividades acabam por estar relacionadas entre si e constituem as propriedades dos flavonóides mais estudadas.

1.4. Métodos de síntese de 2-estirilcromonas

De modo a se poder obter novos derivados de 2-estirilcromonas bioativas são necessários métodos eficientes de síntese, nos quais é importante que seja fácil a produção de moléculas com diversidade estrutural. Existem descritos na literatura diferentes métodos de síntese de 2-estirilcromonas, entre os quais se podem destacar o método de Allan-Robinson, a reação de Wittig, a condensação aldólica/ciclização oxidativa e o método de Baker-Venkataraman.⁴²

1.4.1 Método de Allan-Robinson

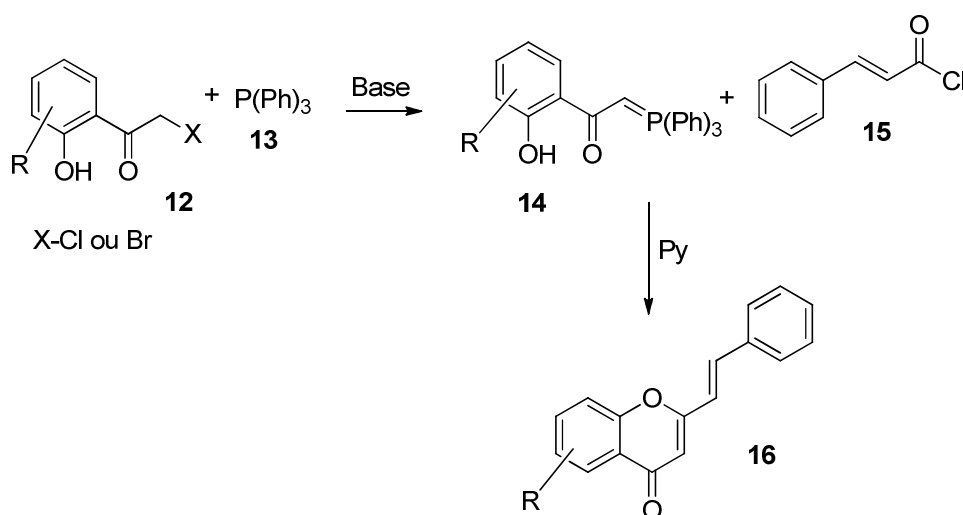
O método de Allan-Robinson envolve a condensação de um anidrido cinâmico **9** com uma 2'-hidroxiacetofenona **8** poli-hidroxilada ou poli-metoxilada, na presença do correspondente cinamato de sódio ou de potássio **10** (Esquema 1.2).⁴³



Esquema 1.2. Método de Allan-Robinson para a síntese de 2-estirilcromonas.

1.4.2. Reação de Wittig

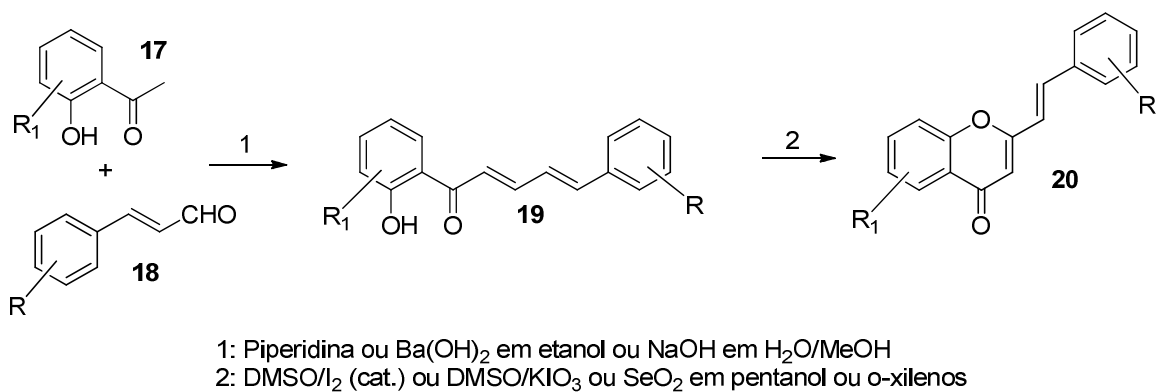
Neste método de síntese de 2-estirilcromonas usam-se íletos de fósforo, como reagentes de Wittig, na condensação com cloretos de ácido. Nesta reação ocorre uma substituição nucleofílica bimolecular entre um haleto de alquilo **12** e a trifenilfosfina **13**, que posteriormente por adição de uma base origina o íleto de fósforo. Este, por sua vez, vai reagir com cloreto de cinamoílo **15** em piridina originando as 2-estirilcromonas **16** pretendidas. Este tipo de reação pode ser realizada num vasto número de solventes, normalmente são usados a piridina, o tetra-hidrofurano (THF) ou o dimetilsulfóxido (DMSO). A principal característica da reação de Wittig é a sua regioseletividade, a localização da dupla ligação nunca está em dúvida (Esquema 1.3).⁴⁴



Esquema 1.3. Reação de Wittig para a síntese de 2-estirilcromonas.

1.4.3. Condensação aldólica/ciclização oxidativa

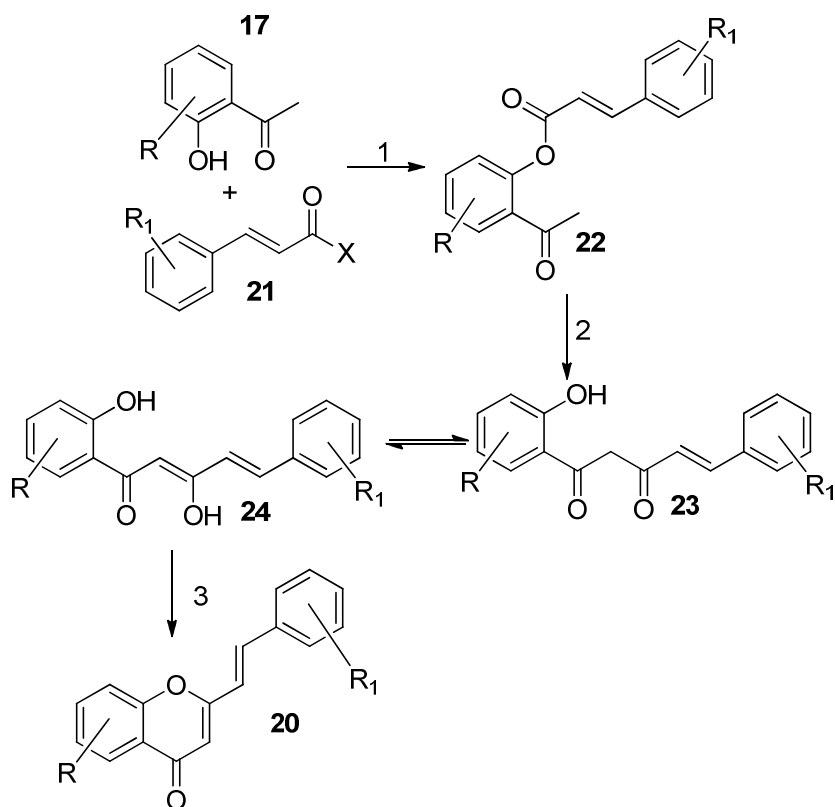
A condensação aldólica de cinamaldeídos **18** com 2'-hidroxiacetofenonas **17** em meio alcalino origina as 2'-hidroxicinamilidenoacetofenonas **19**. A ciclização oxidativa destas em DMSO e na presença de iodo como catalisador, dióxido de selênio ou iodato de potássio dá origem às 2-estirilcromonas **20** (Esquema 1.4).³⁴



Esquema 1. 4. Método da condensação aldólica/ciclização oxidativa para a síntese de 2-estirilcromonas.

1.4.4. Método de Baker-Venkataraman

O método de Baker-Venkataraman é uma das rotas sintéticas mais usadas na síntese de 2-estirilcromonas e para o qual existem várias modificações, as quais têm por objetivo alcançar melhores condições de reação uma vez que é um método que envolve várias etapas e que pode ser aplicado a uma grande variedade de compostos. O método consiste no tratamento de uma 2'-hidroxiacetofenona **17** com um ácido cinâmico **21** ou derivado, dando origem à 2'-cinamoiloxiacetofenona **22** correspondente. Esta por transposição do grupo cinamoílo em meio básico origina a β-dicetona [5-aryl-1-(2-hidroxifenil)-pent-4-eno-1,3-diona] **23** (Esquema 1.5). A ciclização pode ser efectuada usando várias metodologias, sendo as mais comuns aquelas em que se usa um meio ácido forte como misturas de ácido acético e ácido clorídrico ou ácido acético e ácido sulfúrico e as que usam ácido *p*-toluenossulfônico ou iodo em DMSO.³⁴



- 1: X = OH, POCl₃, Py, ou DCC, 4-ppy, CH₂Cl₂
 X = Cl, Py
 2: KOH, DMSO
 3: ácido *p*-toluenossulfônico, DMSO ou I₂, DMSO

Esquema 1.5. Representação geral do método de Baker-Venkataraman.

2. Flavonóides prenilados

Dentro da família dos flavonóides encontra-se o grupo dos flavonóides prenilados. Estes flavonóides encontram-se distribuídos por várias famílias de plantas, principalmente as pertencentes à família das *Leguminosae* e *Moraceae*.⁴⁵ Os flavonóides prenilados são encontrados na natureza como metabolitos secundários menores que possuem na sua estrutura identidades químicas como o grupo isoprenilo (3,3-dimetilalilo), o grupo geranilo (3,7-dimetil-2,6-octadieno), 1,1-dimetilalilo e/ou o grupo lavandulilo (5-metil-2-isopropenil-4-hexeno). A introdução de grupos prenilo na estrutura dos flavonóides traz um aumento de lipofilicidade e conseqüentemente um aumento da afinidade para membranas biológicas.

2.1. Flavonóides C-prenilados

As calconas C-preniladas são uma classe abundante de flavonóides que estão amplamente distribuídas na natureza.⁴⁶ Membros da classe das C-calconas preniladas estão associadas a uma enorme variedade de atividades biológicas, como seja a atividade antioxidante,⁴⁷ anti-inflamatória,⁴⁸ antifúngica,⁴⁹ antibacteriana,⁵⁰ antidiabética,⁵¹ entre outras. Como exemplos de C-prenilcalconas de ocorrência natural, temos o xanto-humol **25**, desmetilxanto-humol **26**, 4'-*O*-metilxanto-humol **27** e o xanto-humol E **28**, que foram isolados a partir da *Humulus lupulus* (Figura 1.6).⁵²

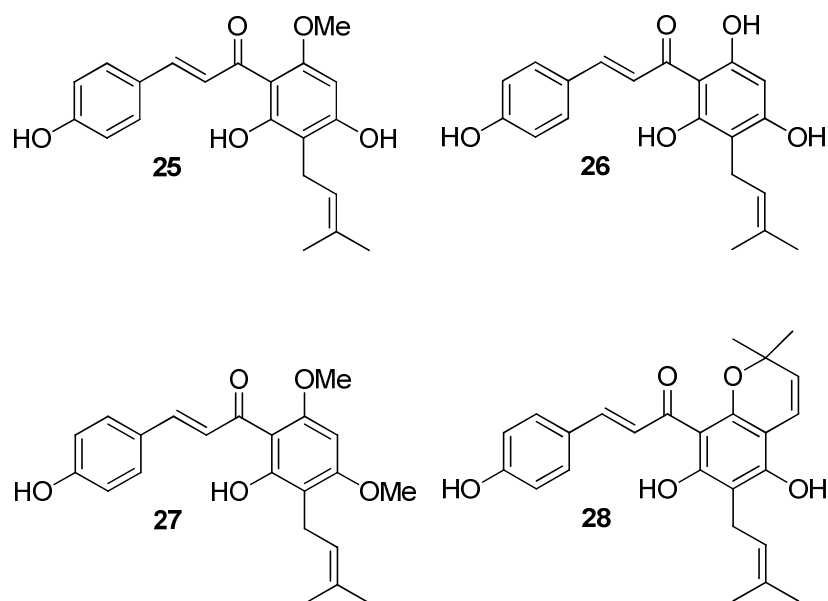


Figura 1.6. Estruturas de calconas C-preniladas de ocorrência natural.

Estudos sobre a afinidade de ligação mostraram que a atividade biológica está diretamente relacionada com o tamanho da cadeia alquílica. Como exemplo desta relação entre a cadeia alquílica e a atividade biológica, temos o aumento considerável da atividade antioxidante do desmetilxanto-humol **26** ou do seu análogo com uma cadeia geranilo possuem quando comparados com a atividade antioxidante da 2',4,4',6'-tetra-hidroxicalcona, composto análogo sem qualquer cadeia alquílica.⁵³ Assim pode dizer-se que das calconas C-alkiladas, principalmente as C-preniladas naturais possuem vantagens relativamente aos seus análogos O-prenilados, devido ao facto de deixarem livres os grupos hidroxilo permitindo que estes desempenhem um papel em possíveis interações de afinidade.⁵⁴

As flavonas C-preniladas substituídas linearmente possuem uma tendência para a prenilação ocorrer preferencialmente nas posições C-3, C-6 e C-8 da molécula de flavonóide, a prenilação na posição C-3' do anel B ocorre ocasionalmente. O resíduo C-prenilo que se liga à molécula do flavonóide é predominantemente o resíduo 3,3-dimetilalilo ou o seu equivalente ligado aos grupos hidroxilo, já as flavonas preniladas com o resíduo 1,1-dimetilalilo são raras, o mesmo se passa com as geranilflavonas. Como exemplo de uma flavona prenilada pode referir-se a artelastina **29**, isolada a partir da espécie *Arocarpus elasticus* (Figura 1.7).⁵⁵

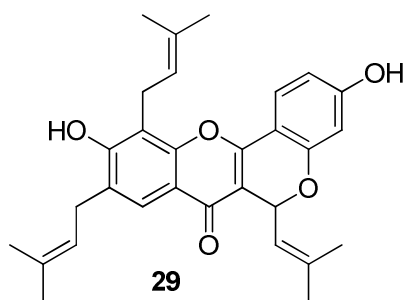


Figura 1.7. Estrutura química da artelastina 29.

2.2. Atividade biológica dos flavonóides C-prenilados

A estes compostos estão associadas uma vasta gama de atividades biológicas. Certos derivados revelaram ser potenciais agentes anti-proliferativos⁵⁵ e quimiopreventivos contra o cancro,⁵⁶ nomeadamente no tratamento do cancro da mama e da próstata. Outros derivados evidenciaram ter utilidade terapêutica, devido à sua atividade hormonal no tratamento da osteoporose,⁵⁶ e a atividade antioxidante no tratamento da arteriosclerose.⁵⁷ A estes compostos também lhes é reconhecido uma atividade anti-inflamatória e antimutagénica significativa.⁴⁵

Das várias atividades que estes compostos possuem, a atividade antioxidante e anti-inflamatória são aquelas que mais se destacam por estarem relacionadas entre si e são das propriedades dos flavonóides mais estudadas. Estas atividades irão ser descritas mais detalhadamente nas secções seguintes (secção 2.2.1 e 2.2.2).

2.2.1. Atividade antioxidante dos flavonóides C-prenilados

A atividade antioxidante dos flavonóides, como já foi referido anteriormente (secção 1.2.1), está relacionada com a sua capacidade de complexar iões metálicos e captar espécies reativas de oxigénio e azoto, como sejam o oxigénio singuleto, radical superóxido, radical hidroxilo, radical peróxido e radical peroxinitrito, assim como, pode envolver a captação de radicais lipídicos peróxido resultando na inibição da propagação de peroxidação nas lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Estas espécies podem

reagir com componentes celulares como ADN, lípidos e proteínas, conduzindo a lesões nos tecidos e contribuindo desta forma para o aparecimento de doenças crónicas.

Nos últimos anos flavonóides com cadeias laterais prenilo ou geranilo como calconas e flavanonas foram identificados em cereais e cerveja.⁵² Isoxanto-humol, xanto-humol e 6-prenilnaringerina são os principais flavonóides prenilados encontrados na cerveja.⁵⁸ Estes flavonóides, como compostos polifenólicos podem ser responsáveis pela capacidade antioxidante que a cerveja apresenta, que é superior à apresentada pelo chá verde e vinho tinto.⁵⁹ Uma das formas de avaliar a atividade antioxidante dos flavonóides prenilados, é através da medição da sua capacidade para inibir a oxidação mediada pelo ião Cu^{2+} das LDL.

É no ambiente lipofílico das LDL que a peroxidação de ácidos gordos ocorre, e é onde a proteção dos flavonóides prenilados contra a peroxidação é mais efectiva. A complexação do cobre(II) tem sido proposto como um possível mecanismo da atividade antioxidante de alguns flavonóides,⁶⁰ principalmente daqueles que possuem uma unidade catecol no anel B, que é importante na formação de complexos com cobre(II).

Estudos efetuados demonstraram que o grupo prenilo desempenha um papel importante na atividade antioxidante.⁵³ Foi observado que certos flavonóides sem este grupo na sua estrutura promoviam a oxidação em vez de atuarem como antioxidantes e reduzirem a formação de radicais fenoxilo formados durante a oxidação das LDL mediada pelo cobre(II). Também demonstraram que a presença do grupo prenilo em calconas hidroxiladas leva a um aumento da sua capacidade antioxidante quando comparado com as calconas análogas sem o grupo prenilo.

Como no caso de outros flavonóides, também as calconas e flavanonas C-preniladas contêm grupos hidroxilos livres que atuam como dadores de átomos de hidrogénio na captação de radicais livres. A prova da capacidade das calconas C-preniladas em captar radicais peroxilo é dada pela capacidade em inibir a peroxidação lipídica induzida pelo radical gerador.⁶¹ Em resumo, podemos dizer que os flavonóides C-prenilados podem reduzir a concentração de radicais peroxilo através da doação de hidrogénios dos grupos fenólicos livres.

2.2.2. Atividade anti-inflamatória de flavonóides C-prenilados

Como já foi referido anteriormente os flavonóides prenilados estão distribuídos na natureza de uma forma limitada, principalmente em plantas pertencentes à família *Moraceae*. Muitas destas plantas têm sido usadas como agentes anti-inflamatórios na medicina chinesa. O grupo prenilo confere-lhes maior hidrofobicidade quando comparados com os flavonóides convencionais, sugerindo uma penetração mais fácil através da membrana celular e através da pele quando usados topicamente. Deste modo, C-prenilflavonóides podem apresentar vantagens para uso externo como agentes anti-inflamatórios, se apresentarem atividade inibitória das enzimas LOX e COX.

Os flavonóides C-prenilados inibem as enzimas COX e LOX, sendo que os diferentes níveis de inibição dependem da sua estrutura química. A relação estrutura-atividade destes flavonóides sugere que flavonóides C-prenilados com um substituinte lavandulilo na posição C-8 do anel A, são fortes inibidores da enzima COX-1, demonstrando a importância do grupo lavandulilo nesta posição. No entanto, que flavonóides com um grupo isoprenilo nesta posição são menos ativos na inibição desta enzima. Já foi descrito que a presença de um grupo prenilo na posição C-3 em conjunto com a presença de uma unidade 2',4'-di-hidroxibenzoílo no anel B é essencial na inibição da enzima COX-1.⁶² Em contraste este género de flavonóides prenilados não mostram qualquer tipo de inibição para a enzima COX-2.⁶³

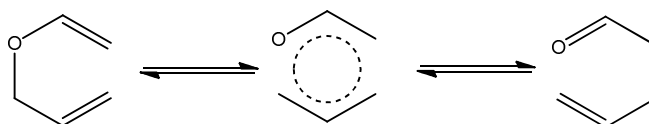
Os flavonóides prenilados que inibem a enzima COX-2 possuem como unidade comum um grupo isoprenilo na posição C-3 do anel C, contudo não se observa qualquer tipo de seletividade para a enzima COX-2 em vez da enzima COX-1. A introdução de um grupo isoprenilo ou geranilo na posição C-6 do anel A do flavonóide reduz em grande parte a atividade inibitória para com a enzima COX-1 e COX-2, em contrapartida são bons inibidores da enzima LOX. Em resumo, podemos dizer que os flavonóides C-prenilados inibem a atividade das enzimas COX e LOX dependendo da posição e da natureza do substituinte prenilo.

2.3. Métodos de síntese de flavonóides C-prenilados

As propriedades biológicas apresentadas por flavonóides C-prenilados fizeram com que tivessem surgido vários métodos de síntese para este tipo de compostos. Assim, na literatura estão reportados alguns métodos, tais como o método de rearranjo de Claisen e prenilação direta.

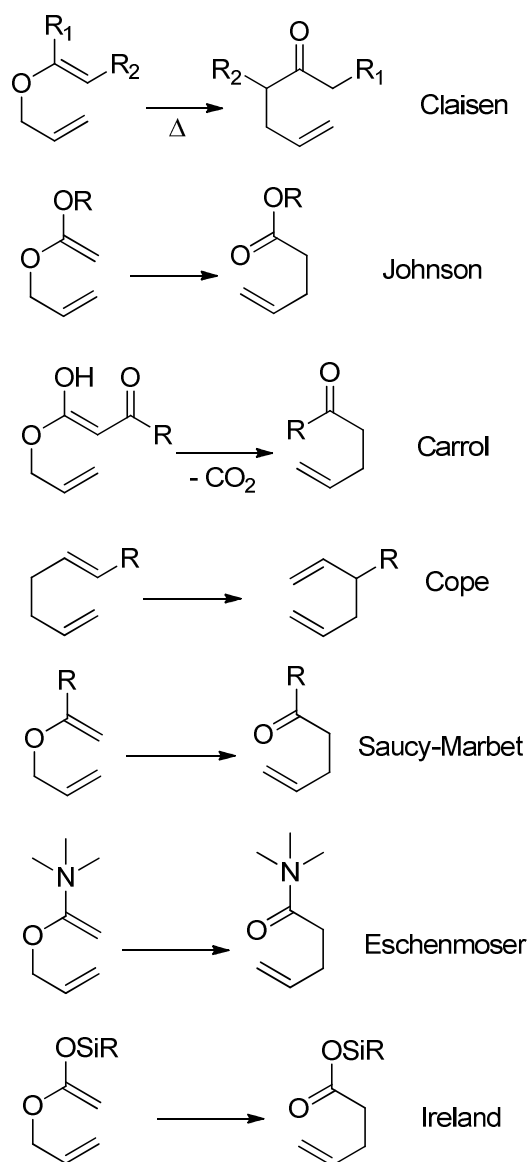
2.3.1. Rearranjo de Claisen

O rearranjo de Claisen,⁶⁴ é um dos métodos mais usados na síntese de flavonóides C-prenilados e para o qual existem várias modificações. Estas modificações têm como objetivo alcançar melhores condições de reação uma vez que é um método que envolve várias etapas. Este rearranjo é um exemplo de um rearranjo sigmatrópico, o qual é caracterizado por um estado de transição em que uma ligação σ desloca-se de uma extremidade de um sistema conjugado de electrões π para a outra extremidade, (Esquema 1.6).⁶⁵



Esquema 1.6. Esquema geral de um rearranjo sigmatrópico [3,3]

Estudos efectuados demonstraram que, do ponto de vista cinético, o estado de transição deste rearranjo prefere a conformação em cadeira em vez da conformação em barco,^{66,67} o que torna possível a previsão da estereoquímica das reacções.⁶⁸ Dependendo dos reagentes de partida, existem várias modificações deste rearranjo (Esquema 1.7).⁶⁹

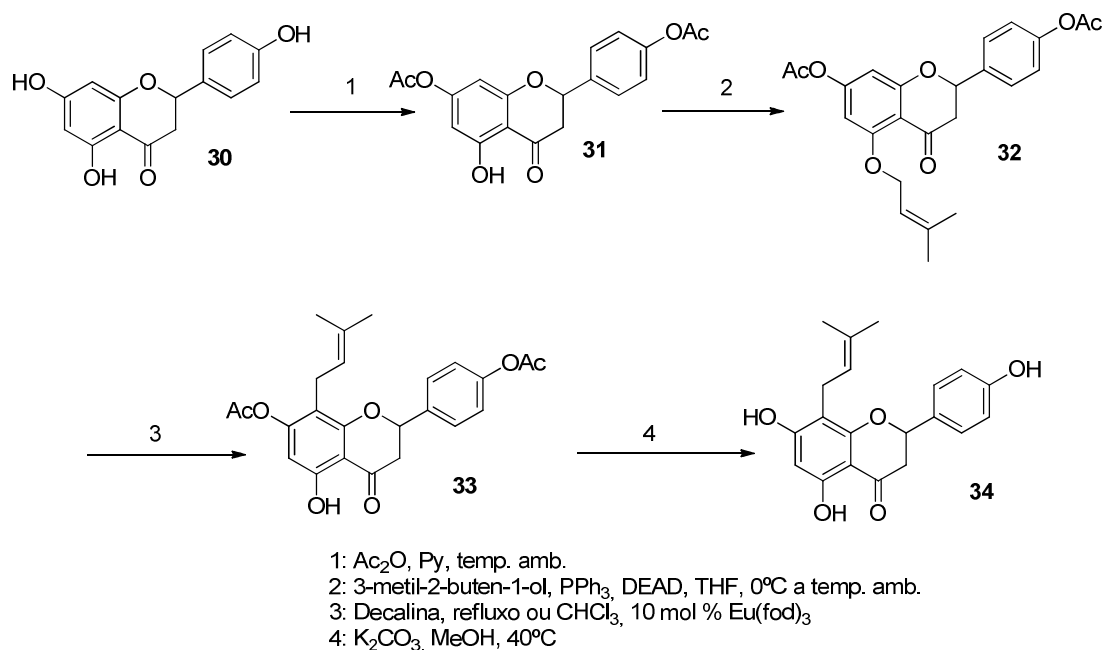


Esquema 1.7. Representação esquemática das várias variantes do rearranjo de Claisen.

As temperaturas de reação para estas variantes ao rearranjo de Claisen podem variar desde a temperatura ambiente (rearranjo de Ireland) até cerca de 200 °C (rearranjo de Carrol).

Para exemplificar este método na síntese de *C*-prenilflavonóides, descreve-se a síntese da 5,7,4'-tri-hidroxi-8-prenilflavona **34** (Esquema 1.8).⁷⁰ Num primeiro passo procede-se à acetilação seletiva dos grupos hidroxilo C-7 e C-4' da flavanona **30**, que vai permitir a entrada do grupo prenilo na posição C-5, obtendo-se assim a flavanona *O*-prenilada **32**, usando as condições da reação de Mitsunobu.⁷¹ Em seguida, é feito o

rearranjo de Claisen catalisado por quantidades catalíticas de $\text{Eu}(\text{fod})_3$ de modo a transpor o *O*-prenilo da posição C-5 para o *C*-prenilo na posição C-8.

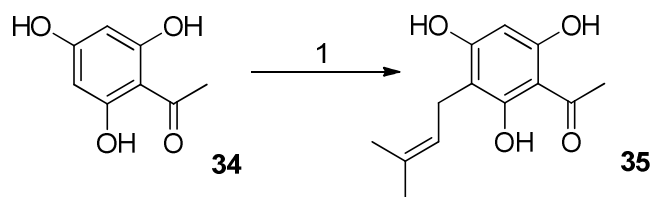


Esquema 1.8. Síntese de 5,7,4'-tri-hidroxi-8-prenilflavanona envolvendo um rearranjo de Claisen.

2.3.2. *C*-Prenilação direta de flavonóides

Outro dos métodos de preparar *C*-prenilflavonóides consiste na prenilação direta da floroacetofenona **34**, que ao contrário do anterior é feita num só passo. Em geral a prenilação direta de flavonóides é difícil de atingir, por ser difícil de controlar em termos de seletividade química (*C*- vs *O*-prenilação), regioquímica e o número de grupos prenilo introduzidos. Contudo, apresenta a vantagem de reduzir o número de passos de síntese quando comparado com a *O*-prenilação seguida do rearranjo de Claisen. Assim, o desenvolvimento de uma estratégia de entrada de grupos prenilo nas posições C-6 e C-8 do flavonóide a partir de um precursor comum, a floroacetofenona **34**, é um grande desenvolvimento na síntese deste tipo de compostos. Após a *C*-prenilação da floroacetofenona **34** procede-se à construção do flavonóide prenilado correspondente. O passo fundamental neste método é a prenilação da floroacetofenona

34 com brometo de prenilo na presença de DBU, como base para promover a *C*-prenilação (Esquema 1.9).⁷²

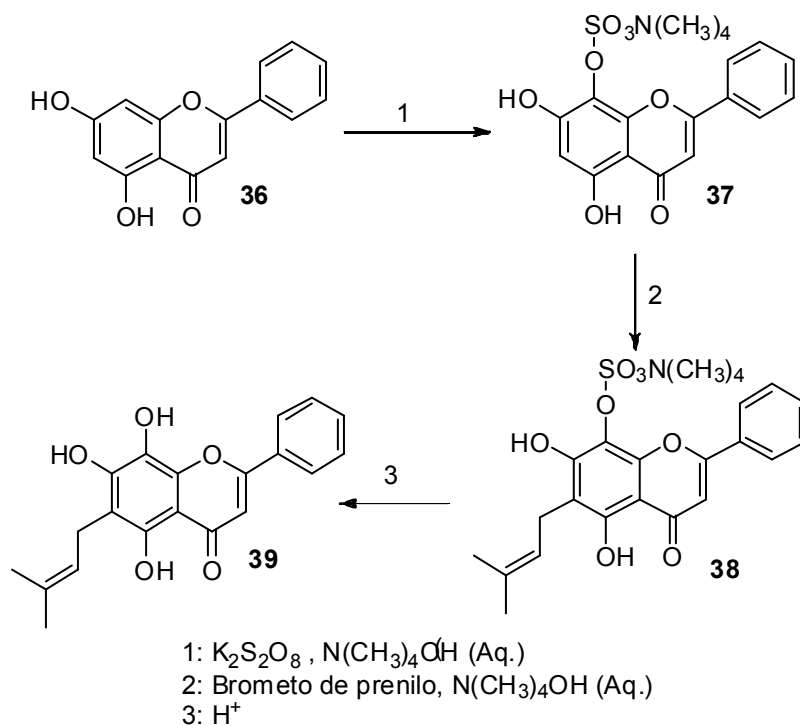


1: Brometo de prenilo, DBU, THF, 48 h, temp. amb.

Esquema 1.9. Prenilação direta da floroacetofenona **34**.

A prenilação direta pode ser realizada também com brometo de prenilo na presença de uma base como o hidróxido de potássio⁷³ ou carbonato de potássio.⁷⁴

O método de *C*-prenilação direta também pode ser usado para introduzir o grupo prenilo diretamente na estrutura do flavonóide. Tome-se como exemplo a *C*-prenilação direta da 5, 7, 8-tri-hidroxiflavona **39**. No primeiro passo ocorre a oxidação da 5,7-di-hidroxiflavona **36** com persulfato de potássio para dar origem à 5,7,8-tri-hidroxiflavona **37** com o grupo hidroxilo na posição C-8 protegido. Seguidamente este composto é prenilado com brometo de prenilo numa solução aquosa de hidróxido de tetrametilamónio. Por fim ocorre uma hidrólise ácida do grupo protector em C-8 à temperatura ambiente e obtém-se a flavona prenilada em C-6 **39** (Esquema 1.10).⁷⁵



Esquema 1.10. Síntese da 4,7,8-tri-hidroxi-6-prenilflavona 39 através de C-prenilação.

CAPÍTULO II

Objetivos

2. Objetivos

Tendo em conta as importantes propriedades biológicas presentes nos flavonóides *C*-prenilados em conjunto com os promissores resultados obtidos pelo nosso grupo na síntese de 2-estirilcromonas com significativa atividade antioxidante^{37,38,39,40} e anti-inflamatória,⁴¹ os objetivos deste trabalho são:

1) O desenvolvimento de novas rotas de síntese de novos derivados de poli-hidroxi-*C*-prenil-2-estirilcromonas, por prenilação da 2',4',6'-tri-hidroxiacetofenona **34** e construção em seguida da núcleo 2-estirilcromona ou por prenilação da (*E*)-2-estirilcromona correspondente **40** (Figura 2.1).

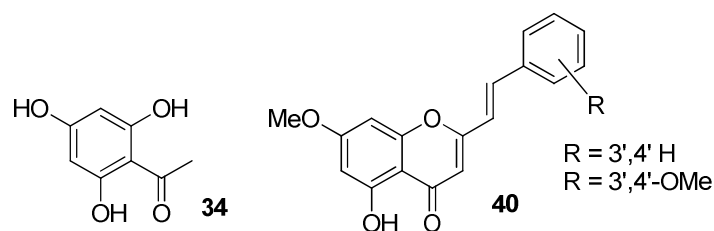


Figura 2.1. Precursores para a síntese de 2-estirilcromonas *C*-preniladas.

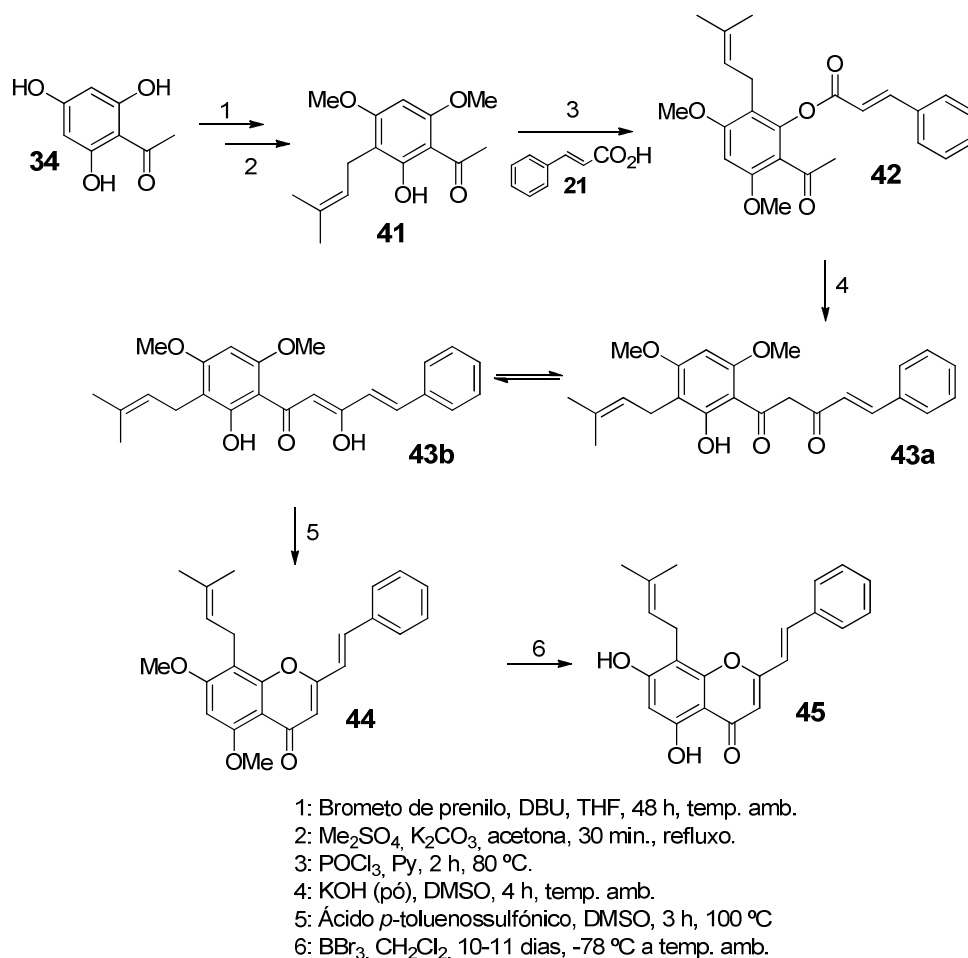
2) Caracterizar estruturalmente os compostos sintetizados.

CAPÍTULO III

Síntese de 2-estirilcromonas C-preniladas

3. Síntese de 2-estirilcromonas C-preniladas

Este trabalho tem como principal objetivo a síntese de poli-hidroxi-2-estirilcromonas C-preniladas com potencial atividade antioxidante e anti-inflamatória, através de duas abordagens distintas. A primeira delas envolve a C-prenilação da floroacetofenona **34** seguindo-se a sua transformação em 2-estirilcromonas preniladas utilizando o método de Baker-Venkataraman (Esquema 3.1).



Esquema 3.1. Projeto geral da síntese da (*E*)-5,7-di-hidroxi-8-prenil-2-estirilcromona **44**.

Inicialmente fez-se a C-prenilação direta da floroacetofenona **34**, seguindo-se a metilação de dois dos grupos hidroxilo desta, obtendo-se a 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **41**. O passo seguinte e primeiro do método de Baker –Venkataraman consiste na formação do éster cinâmico **42**, seguindo-se a síntese da β-dicetona **43**,

realizada por transposição do grupo cinamóilo da posição 2' para a posição 2 da acetofenona, em meio básico. A ciclização da β -dicetona **43** efetua-se em meio ácido fraco e usando DMSO como solvente. Por fim ocorre a remoção dos grupos protetores da 5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona **44** usando BBr₃, um método já utilizado pelo grupo de investigação de química orgânica de modo a se poder obter a (*E*)-5,7-dihidroxi-8-prenil-2-estirilcromona **45**, em vez desta obteve-se a (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-di-hidropirano[2,3-*h*]cromona **54** com um rendimento global ao longo dos vários passos de reação de 2,5 %.

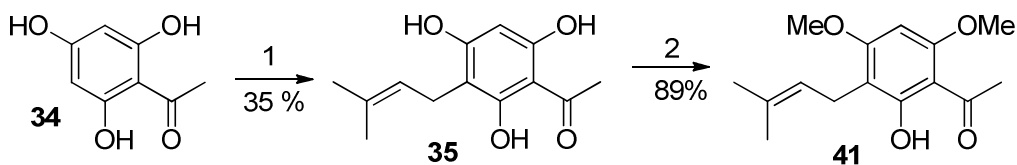
3.1. Síntese da 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona

A acetofenona prenilada **35** foi sintetizada através da *C*-prenilação direta com brometo de prenilo, catalisada por uma base, DBU, e usando THF como solvente, de acordo com o procedimento utilizado por Lee *et al.*⁷². Estudou-se esta transformação alterando várias das condições reacionais, tendo a acetofenona prenilada **35** sido obtida em rendimentos moderados a baixos em que as melhores condições reacionais permitiram obter a acetofenona **35** com rendimento de 35 % (Esquema 3.2).

Na segunda reação ocorre a proteção seletiva de dois grupos hidroxilo da flooroacetofenona *C*-prenilada **35**, permitindo obter a 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **41**. A escolha do grupo protetor considera a facilidade e seletividade da sua introdução bem como a facilidade da sua clivagem final, para além de ter de ser resistente às condições reacionais presentes ao longo dos vários passos da síntese. Entre os vários grupos protetores que podem ser usados na proteção de grupos hidroxilo, os mais usados são os grupos metilo, benzilo e o grupo *tert*-butildimetilsililo (TBS).⁷⁶ Escolheu-se o grupo metilo por ser um grupo pequeno e que não interfere nos passos seguintes da síntese para além da vasta experiência do nosso grupo na remoção destes grupos.⁷⁷

A reação de proteção é levada a cabo na presença de um ligeiro excesso de agente alquilante, sulfato de dimetilo, e na presença de um excesso de base, carbonato de potássio anidro, usando acetona como solvente (Esquema 3.2). O composto esperado é purificado facilmente por cromatografia em coluna de sílica gel seguido de

crystalização em etanol, obtendo-se o composto puro na forma de cristais brancos em bons rendimentos (89 %).

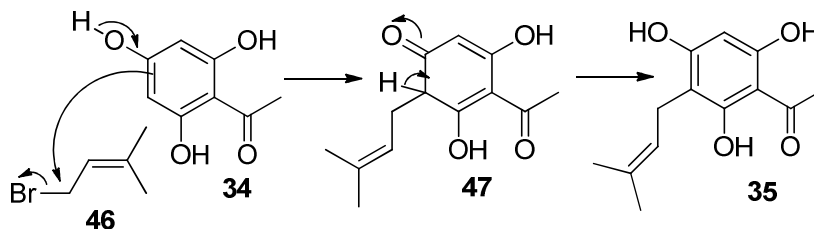


1: Brometo de prenilo (1 equiv.), DBU (1,1 equiv.), THF, 48 h, temp. amb.
2: Me₂SO₄ (2.2 equiv.), K₂CO₃ (6 equiv.), acetona refluxo, 30 min.

Esquema 3.2. Síntese da 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona 41.

Esta transformação é uma reação regioseletiva em que ocorre a metilação seletiva dos grupos hidroxilos das posições C-4' e C-6' da floroacetofenona prenilada 35. Em primeiro lugar ocorre a metilação do grupo hidroxilo da posição C-4', seguindo-se a metilação do grupo hidroxilo na posição C-6'. A metilação do grupo hidroxilo da posição C-2' não é favorável que ocorra devido à ligação de hidrogénio entre este e o grupo carbonilo. O rendimento global das duas transformações, C-prenilação e metilação é de 31 %.

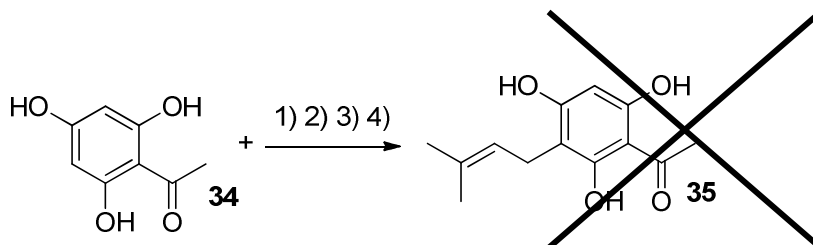
O mecanismo da reação da C-prenilação direta da floroacetofenona 34 ocorre através de um mecanismo de substituição nucleofílica S_N2, em que o nucleófilo, o anel da floroacetofenona 34, substitui o átomo de bromo do carbono com hibridização sp³ do brometo de prenilo 46, levando à formação da ligação C-C entre a floroacetofenona 34 e o grupo prenilo (Esquema 3.3).



Esquema 3.3. Mecanismo proposto para a C-prenilação direta da floroacetofenona 34.

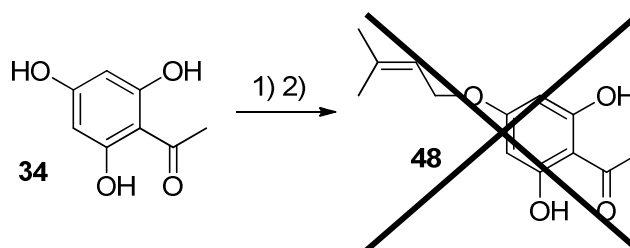
Como o rendimento para a C-prenilação direta da floroacetofenona 34 é baixo (35 %), tentou-se levar a cabo tanto a C-prenilação direta (Esquema 3.4) como a

O-prenilação (Esquema 3.5) da 2',4',6'-tri-hidroxiacetofenona **34** recorrendo a diferentes condições experimentais por forma a se obter um melhor rendimento para a flooroacetofenona prenilada **35**. Conforme se apresenta nos Esquemas 3.4 e 3.5, os resultados pretendidos, na *C*-prenilação e *O*-prenilação não foram os desejados.



- 1: Brometo de prenilo (2 equiv.), Sc(OTf₃) (0,1 equiv.), THF, refluxo, 72 h.
- 2: Brometo de prenilo (1,05 equiv.), Cs₂CO₃ (0,1 equiv.), THF, temp. amb., 48 h.
- 3: 3-metil-2-buten-1-ol (1 equiv.), DBU (1 equiv.), THF, refluxo, 48 h.
- 4: 3-metil-2-buten-1-ol (1 equiv.), DBU (1 equiv.), THF, temp. amb., 72 h.

Esquema 3.4. *C*-Prenilação da flooroacetofenona **34.**



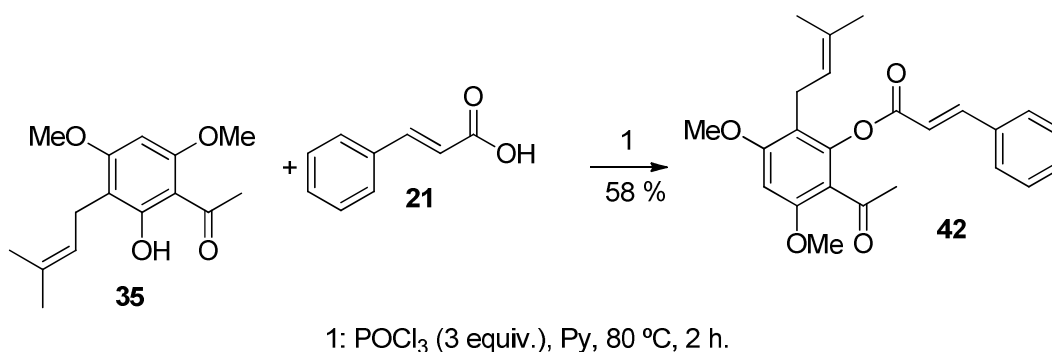
- 1: 3-metil-2-buten-1-ol (1,05 equiv.), K₂CO₃ (3 equiv.), acetona, refluxo, 48 h.
- 2: 3-metil-2-buten-1-ol (1,05 equiv.), K₂CO₃ (3 equiv.), acetona, temp. amb., 48 h.

Esquema 3.5. *O*-Prenilação da flooroacetofenona **34.**

3.2. Síntese de 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona

A síntese da 2-estirilcromona prenilada é feita segundo o método de Baker-Venkataraman, o qual envolve em primeiro lugar a cinamoílação de uma 2'-hidroxiacetofenona como já foi referido anteriormente. Como se pretende proceder à monocinamoílação, foi necessário proteger dois dos grupos hidroxilo da flooroacetofenona prenilada como descrito na secção 3.1.

Assim sendo procedeu-se à síntese 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **42**, através da cinamoilação da acetofenona **35** com cloreto de cinamoílo preparado *in situ*, a partir de ácido cinâmico **21** e cloreto de fosforilo (Esquema 3.6).



Esquema 3.6. Síntese de 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **42.**

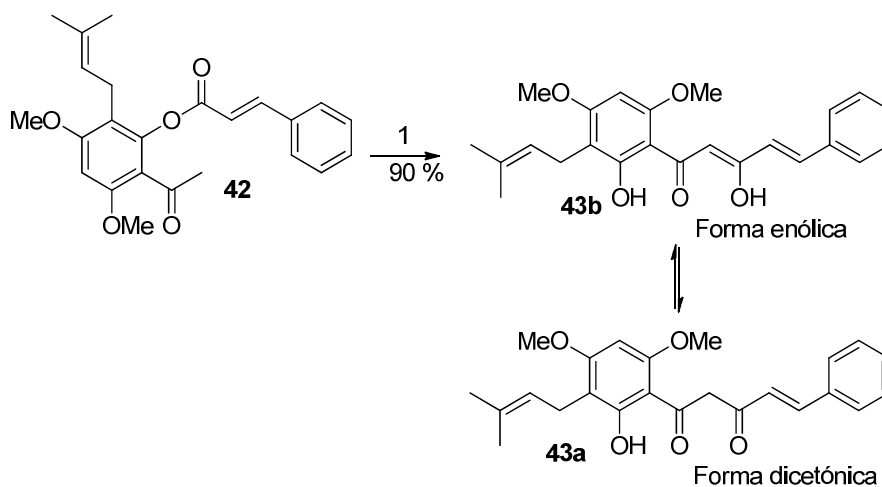
A reação foi mantida em agitação durante duas horas a 80 °C, sob atmosfera de azoto. Esta transformação permitiu obter o composto desejado sob a forma de óleo após purificação por cromatografia de sílica gel que depois de ser dissolvido em hexano cristaliza sob a forma de cristais brancos em rendimentos moderados (58 %).

Para além deste método, também se tentou proceder à esterificação recorrendo a um método alternativo, e que envolve o uso de *N,N*-diciclohexilcarboiimida (DCC), 4-pirrolidinopiridina (4-ppy) como catalisador e diclorometano como solvente.³¹ Contudo não se obteve o produto esperado devido provavelmente ao impedimento estéreo que o grupo prenil provoca.

3.3. Síntese da 5-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)pent-4-eno-1,3-diona/ 5-fenil-3-hidroxi-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)penta-2,4-dien-1-ona

O segundo passo da síntese de 2-estirilcromonas *C*-preniladas através do método de Baker-Venkataraman consiste na síntese de 5-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)pent-4-eno-1,3-diona **43a**/ 5-fenil-3-hidroxi-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)penta-2,4-dien-1-ona **43b** por tratamento da 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **42** com meio alcalino forte, em DMSO à

temperatura ambiente, durante quatro horas sob atmosfera de azoto (Esquema 3.7). Esta transformação permitiu a obtenção do composto desejado em bom rendimento (90 %).



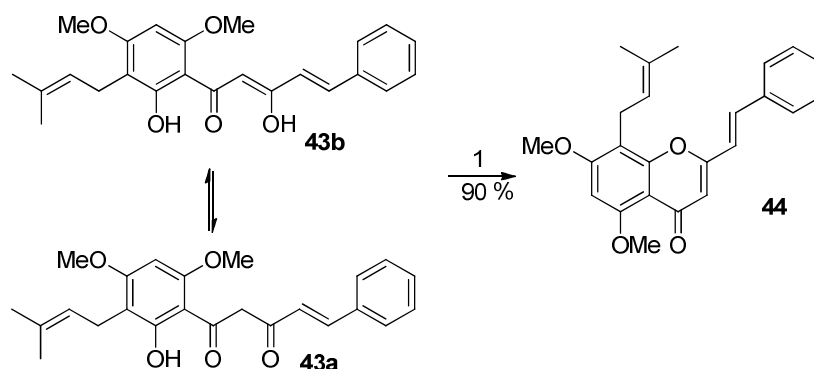
Esquema 3.7. Formação de 5-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)pent-4-eno-1,3-diona 43a/ 5-fenil-3-hidroxi-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)penta-2,4-dien-1-ona 43b.

Esta transformação tem a designação de rearranjo de Baker-Venkataraman e é o que dá o nome a este método de síntese. A 5-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)pent-4-eno-1,3-diona **43a** em solução de clorofórmio deuterado está em equilíbrio com a sua forma enólica **43b**, como indicado no Esquema 3.7. Na maioria dos solventes orgânicos a forma predominante é a forma enólica **43b** porque existe uma conjugação electrónica em toda a estrutura do composto.

3.4. Síntese da (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona

O último passo do método de Baker-Venkataraman na síntese de 2-estirilcromona *C*-prenilada consiste na ciclização e desidratação da 5-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)pent-4-eno-1,3-diona **43a**/ 5-fenil-3-hidroxi-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)penta-2,4-dien-1-ona **43b** (Esquema 3.8). A solução do composto **43a**↔**43b** e ácido *p*-toluenossulfónico em DMSO foi aquecida durante 3

horas a 100 °C, sob ambiente de azoto. O sólido obtido foi cristalizado em etanol obtendo-se um sólido amarelo em bom rendimento (90 %).



1: Ácido *p*-toluenossulfónico (2 equiv.), DMSO, 3 h, 100 °C

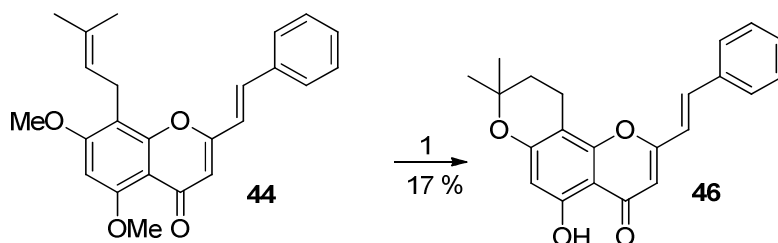
Esquema 3.8. Formação da de (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona 44.

Este passo do método de Baker-Venkataraman consiste numa reação de desidratação catalisada por ácido, onde inicialmente ocorre um ataque nucleofílico do oxigénio do grupo 2'-hidroxilo ao grupo carbonílico da forma enólica **43b**, seguido de eliminação de uma molécula de água e subsequente formação da ligação dupla C2=C3.

3.5. Síntese da (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-dihidropirano[2,3-*h*]cromona

A desproteção da (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona **44** foi realizada usando o método do BBr₃, método de clivagem de grupos metoxilos bastante utilizado por este grupo de investigação e que se tem mostrado bastante eficiente.^{39,78} Este é um método de remoção dos grupos metilos que requer alguns cuidados experimentais devido ao uso de BBr₃, sendo necessário ter conta que as reacções em que este reagente participa são exotérmicas e que se decompõe em contacto com água levando à libertação de ácido bromídrico. Deste modo, o material de vidro, assim como o composto a desmetilar devem estar completamente secos e o solvente usado deve ser destilado recentemente para que esteja bem seco.

A reacção de desmetilação do composto **44** consiste no tratamento com BBr_3 (1 M) em diclorometano (2,5 equiv. por grupo a remover) com agitação magnética, a $-78\text{ }^\circ\text{C}$ e em atmosfera de azoto (Esquema 3.9).

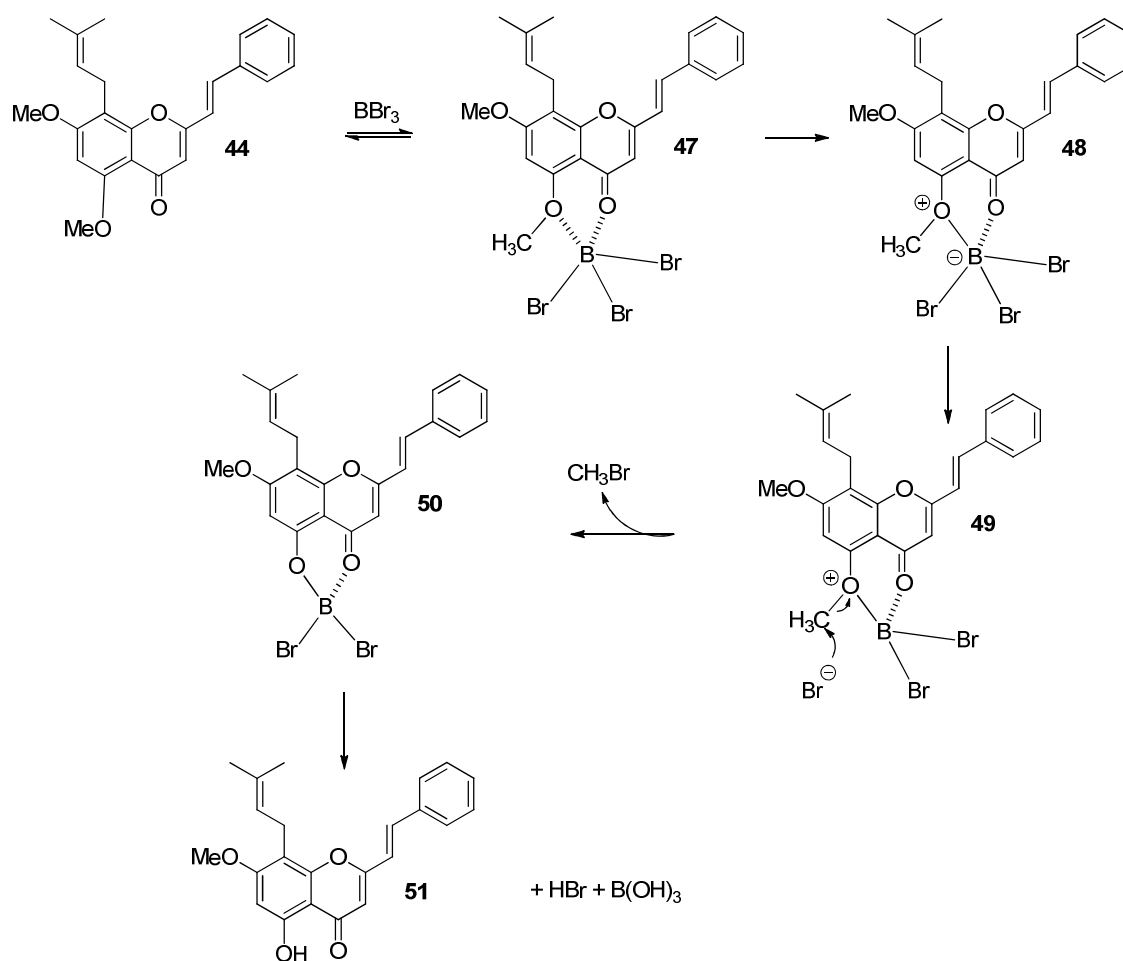


1: $\text{BBr}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 1 M (2.5 equiv. por OMe), $-78\text{ }^\circ\text{C}$ a temp. amb., 11 dias

Esquema 3.9. Desproteção da (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona **44**.

Após a adição do reagente, a mistura reacional foi retirada do banho frio e foi colocada à temperatura ambiente em agitação durante um período de 11 dias. Ao fim deste período de tempo adicionou-se água à mistura reacional, ficando em agitação magnética até se formar um óleo. O óleo obtido é extraído com diclorometano, sendo a solução orgânica lavada com água, seca através de sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado à secura. O resíduo obtido é purificado em cromatografia de coluna e a (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-di-hidropirano[2,3-*h*]cromona **46** é obtida com rendimento de 17 %.

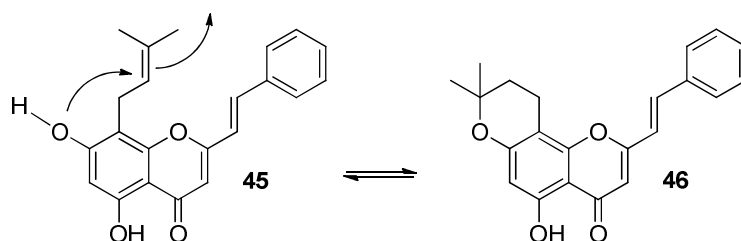
A seletividade deste tipo de reacção, e visto que neste caso os grupos a remover são da mesma natureza química, vai depender das suas posições na estrutura do composto a desmetilar. O grupo metilo mais fácil a remover é o que se encontra na posição 5 da (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona **44** devido à sua proximidade ao grupo carbonilo que vai facilitar a complexação do grupo metoxilo desta posição com o átomo de boro do BBr_3 promovendo a sua remoção. Ao contrário da remoção de grupo metilo da posição 5, a remoção do grupo metilo da posição 7 é mais difícil e bastante mais morosa. Esta dificuldade deve-se ao facto deste grupo se encontrar em posição *para* relativamente ao grupo carbonilo, cujo efeito sacador e consequente deslocalização electrónica leva a que a remoção do grupo metilo da posição 7 seja bastante mais difícil (Esquema 3.10).



Esquema 3.10. Mecanismo da clivagem do grupo metilo da posição 5 da (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona **44.**

O mecanismo da clivagem dos grupos metilo da (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona **44** consiste no ataque do par de elétrons desemparelhados do oxigénio do grupo metoxilo ao átomo de boro do agente desprotetor, formando-se um íleto **48**. A perda de um ião brometo origina o intermediário catiónico **49** que sofre um ataque nucleofílico por parte do ião brometo formando o intermediário **50** e conseqüente perda de brometo de metilo. Por último e após a adição de água, no final da reação, ocorre a hidrólise do intermediário **50** formando-se o composto hidroxilado **51**.

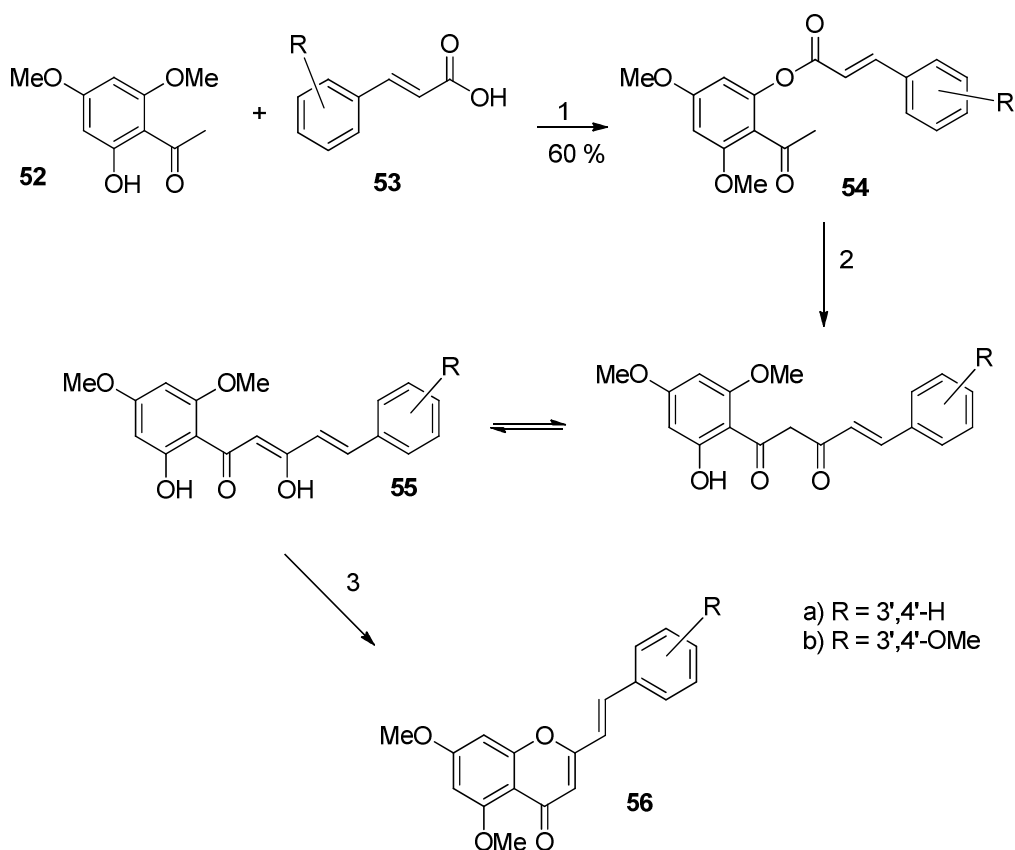
Após o final da reação de remoção dos grupos metilos das posições 5 e 7, ocorreu a ciclização do grupo prenilo devido ao ataque do grupo hidroxilo da posição 7 dando origem a um anel dimetilpirano fundido ao núcleo cromona, obtendo-se a (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-di-hidropirano[2,3-*h*]cromona **46** (Esquema 3.11).



Esquema 3.11. Mecanismo da ciclização do grupo prenilo em torno do grupo hidroxilo da posição 7.

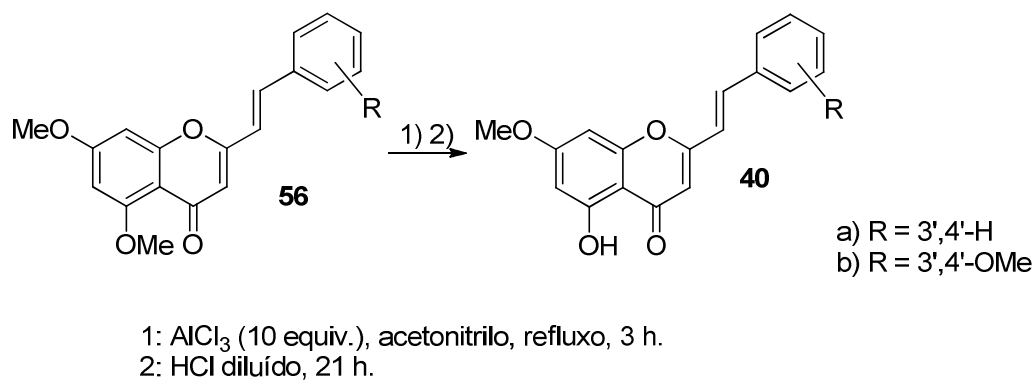
3.6. Síntese de (*E*)-5-hidroxipolimetoxi-2-estirilcromonas

Outro dos objetivos deste trabalho consiste na preparação da (*E*)-2-estirilcromona **40** através do método de Baker-Venkataraman para posterior prenilação. Na síntese do núcleo 2-estirilcromona recorreu-se a métodos já descritos na literatura.^{31,79} Este método consistiu na cinamoílação da 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxiacetofenona **52** por tratamento com o ácido cinâmico apropriado **53**, envolvendo o uso de DCC, 4-ppy como catalisador e diclorometano como solvente. Permanecendo a mistura reacional em agitação à temperatura ambiente durante um período de 7 dias. Após a formação do éster cinâmico **54** procedeu-se à síntese de (*E*)-estirilcromonas pelo método de Baker-Venkataraman (Esquema 3.12).³¹



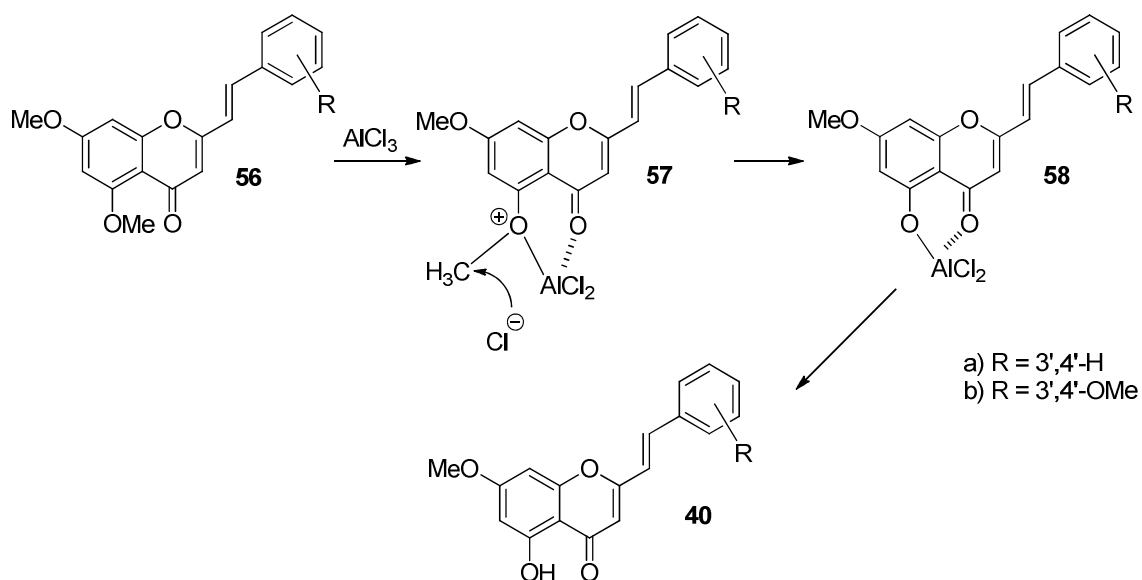
Esquema 3.12. Síntese das (*E*)-polimetoxi-2-estirilcromonas 56.

Por fim efetuou-se a clivagem do grupo metilo da posição 5 de modo a se obter as (*E*)-5-hidroxipolimetoxi-2-estirilcromonas **40** através da adição de 10 equivalentes molares de AlCl₃ em refluxo de acetonitrilo. Após 3 horas de reação adicionou-se uma solução de ácido clorídrico diluído, permanecendo em refluxo até perfazer um total de 24 horas após o início da reação (Esquema 3.13). A reação é terminada sobre gelo e água e o sólido formado é filtrado e dissolvido em diclorometano. Os compostos **40** foram obtidos após cristalização em etanol em rendimentos moderados a bons (90 %, R = 3',4'-OMe e 35 %, R = 3',4'-H).



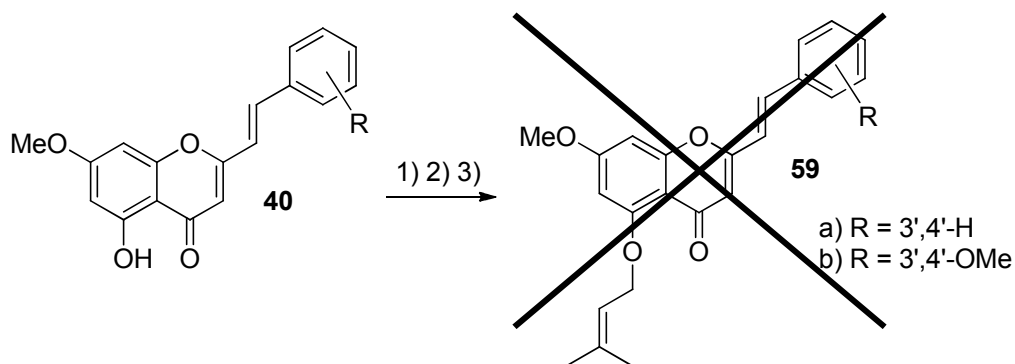
Esquema 3.13. Síntese das (*E*)-5-hidroxipolimetoxi-2-estirilcromonas 40.

O grupo metilo mais fácil a remover é o que se encontra na posição 5 das (*E*)-polimetoxi-2-estirilcromonas **56**, devido à sua proximidade ao grupo carbonilo que vai facilitar a complexação do grupo metoxilo desta posição com o agente desmetilante, promovendo a sua remoção (Esquema 3.14). Deste modo, são usadas condições mais suaves do que as utilizadas para a obtenção da (*E*)-5,7-di-hidroxi-8-prenil-2-estirilcromona **45**.



Esquema 3.14. Mecanismo clivagem do grupo metilo da posição 5 das (*E*)-polimetoxi-2-estirilcromonas 56.

Após a obtenção das (*E*)-5-hidroxi-2-metoxipolimetoxi-2-estirilcromonas **40** procedeu-se à *O*-prenilação desta na posição 5 para posterior transposição do grupo prenilo para a posição 8 do composto **40** através de um rearranjo de Claisen. Para promover a *O*-prenilação foram usadas várias bases como K₂CO₃, NaH e a base de lítio LiHMDS (Esquema 3.15).



- 1: Brometo de prenilo (1,1 equiv.), K₂CO₃ (3 equiv.), acetona, refluxo, 24 h.
- 2: Brometo de prenilo (1,5 equiv.), NaH (1,1 equiv.), THF, temp. amb., 48 h.
- 3: Brometo de prenilo (3 equiv.), LiHMDS (1,25 equiv.), THF, - 78 °C a temp. amb., 24 h.

Esquema 3.15. Tentativas de *O*-prenilação das (*E*)-5-hidroxi-2-metoxipolimetoxi-2-estirilcromonas **40.**

Este método, ao contrário do que seria de esperar, não permitiu com estas metodologias obter as 2-estirilcromonas *O*-preniladas **59**. Como forma de ultrapassar este contratempo deverá-se usar uma base ainda mais forte.

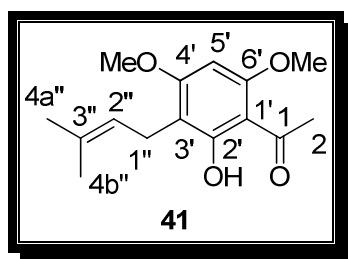
CAPÍTULO IV

Caracterização estrutural

4. Caracterização estrutural

A Caracterização estrutural dos vários compostos sintetizados foi feita recorrendo à técnica de ressonância magnética nuclear (RMN) mais concretamente através da análise de espectros de protão (^1H) e de carbono-13 (^{13}C) e espectros bidimensionais HSQC e HMBC.

4.1. Caracterização estrutural de 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona



A Caracterização estrutural da 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **41** foi realizada recorrendo à análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , assim como de espectros bidimensionais HSQC e HMBC (Figura 4.1). Através da análise do espectro de RMN de ^1H deste composto foi possível identificar os sinais característicos:

- A $\delta = 14,07$ ppm o sinal em forma de singuleto correspondente à ressonância do protão do grupo hidroxilo 2'-OH. O desvio químico deste protão é bastante elevado devido ao facto de estar diretamente ligado a um átomo eletronegativo assim como estar em ligação de hidrogénio com o oxigénio do grupo carbonilo.
- A $\delta = 6,28$ ppm o sinal em forma de singuleto correspondente à ressonância do protão H-5'. O desvio químico deste protão aromático surge a baixos valores de frequência devido à proteção que os grupos metoxilos exercem nas posições *orto* e *para* e o grupo hidroxilo na posição *para*.

- A $\delta = 5,17$ ppm o sinal em forma de tripleto correspondente à ressonância do próton H-2'', com constante de acoplamento de $J = 5,0$ Hz.
- A $\delta = 3,99$ e $3,96$ ppm os dois sinais em forma de singuleto, correspondentes às ressonâncias dos prótons dos grupos metoxilos das posições C-6' e C-4'.
- A $\delta = 3,24$ ppm o sinal em forma de duplete correspondente à ressonância dos prótons H-1'', com constante de acoplamento de $J = 5,0$ Hz.
- A $\delta = 2,59$ ppm o sinal em forma de singuleto, correspondente à ressonância dos prótons do grupo metilo da posição C-2. O desvio químico destes prótons é um pouco elevado para este tipo de prótons devido à proximidade do grupo carbonilo (posição α).
- A $\delta = 1,75$ e $1,63$ ppm os sinais na forma de singuleto que correspondem à ressonância dos prótons dos dois metilos do grupo prenilo.

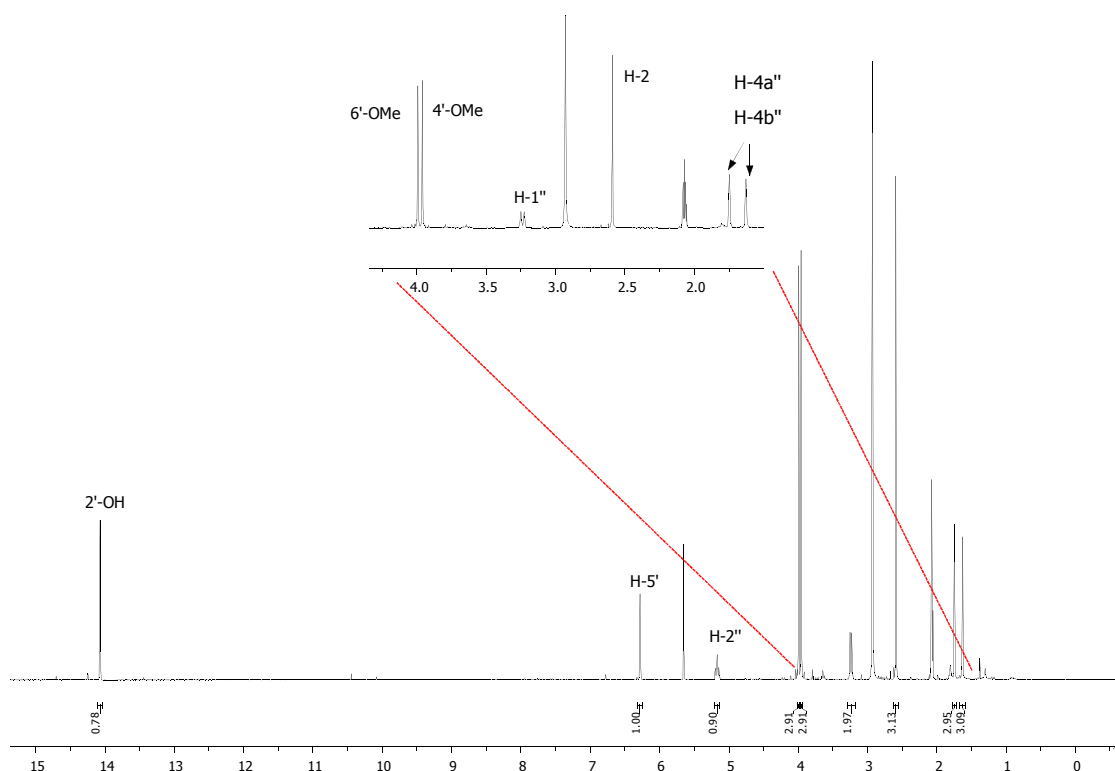


Figura 4.1 Espetro de RMN de ¹H da 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona 41.

As principais características do espectro de RMN de ^1H deste composto **41** são: i) a presença de um só sinal na zona aromática em forma de singuleto a δ 6,28 ppm, correspondente à ressonância do próton H-5', que nos indica a formação da ligação C-C entre o anel benzênico e o grupo prenil na posição C-3'; ii) três sinais na zona alifática em forma de tripleto, duplete e dois singuletos a δ 5,17, 3,24, 1,75 e 1,63 ppm, respetivamente, correspondentes às ressonâncias dos prótons do grupo prenil.

A identificação inequívoca das ressonâncias dos carbonos do composto **41** foi obtida através da análise do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 4.2) juntamente com análise dos espectros de correlação heteronuclear $^1J_{\text{C/H}}$ HSQC (Figura 4.3) e de correlação heteronuclear a longa distância HMBC.

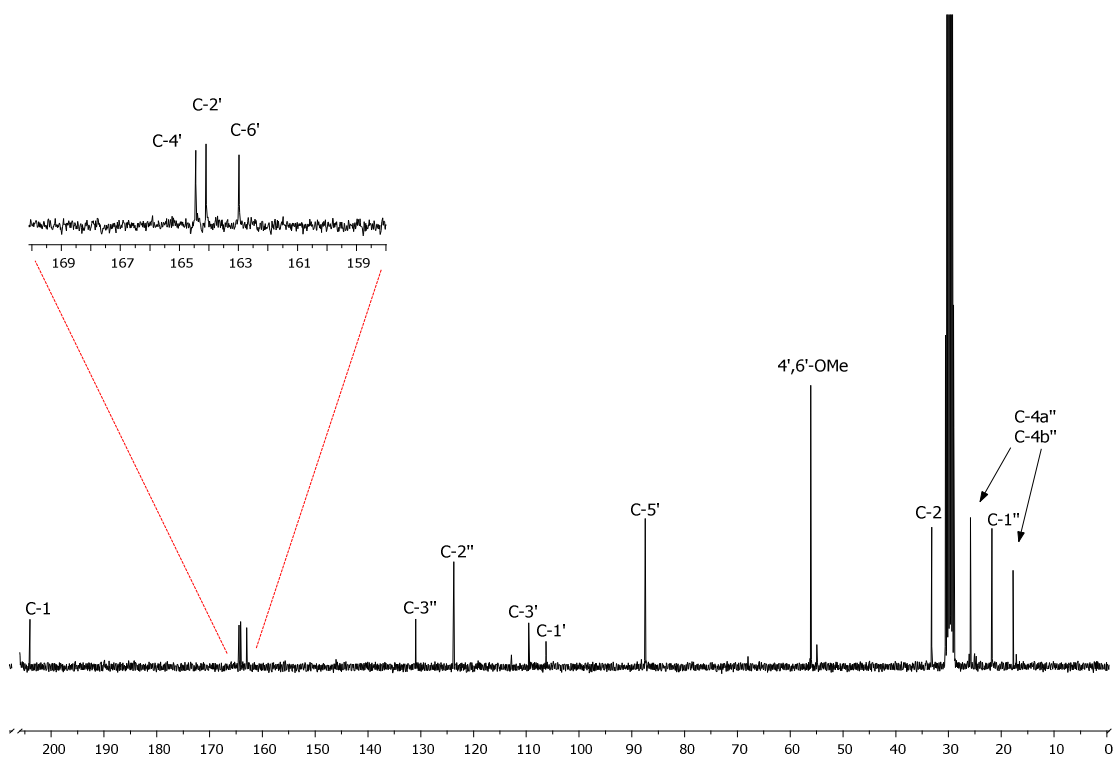


Figura4.2. Espectro de RMN de ^{13}C da 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **41**.

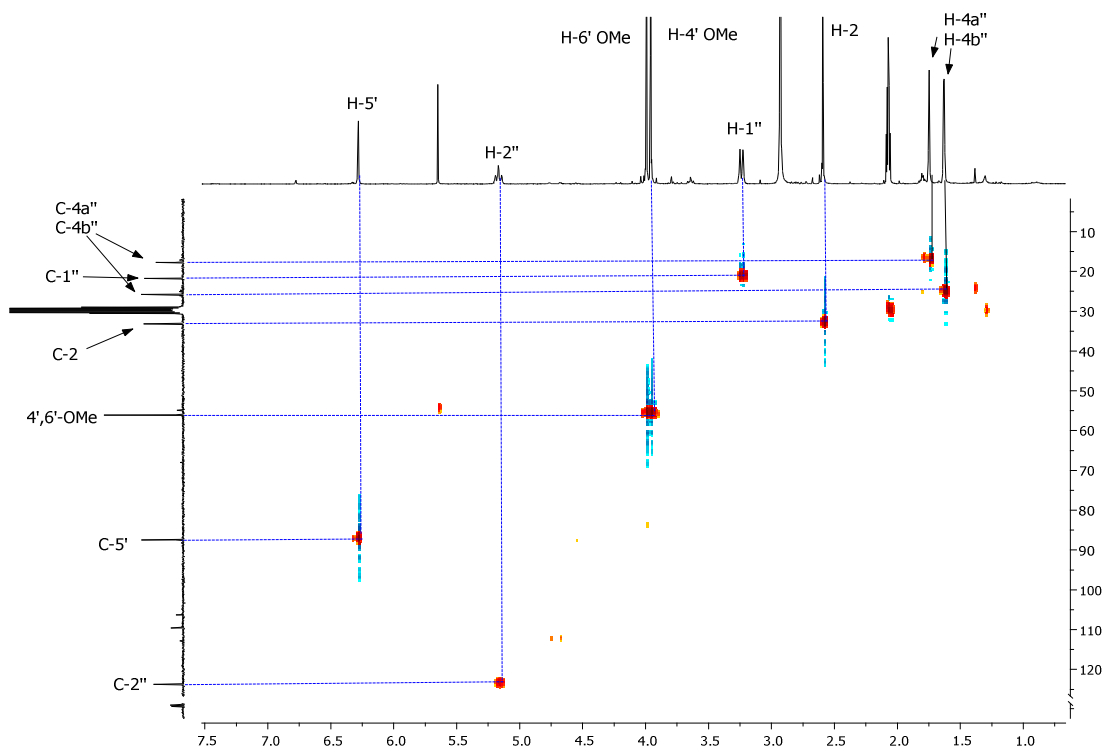


Figura 4.3. Espectro de HSQC de 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona 41.

A distinção entre as ressonâncias relativas dos carbonos C-4' e C-6' só foi possível através da análise do espectro de HMBC, devido ao facto do carbono C-4' se correlacionar a longa distância com os protões H-1'', enquanto que o carbono C-6' não se correlaciona com estes protões, permitindo deste modo a sua diferenciação. Do mesmo modo a distinção entre as ressonâncias relativas dos carbonos C-3' e C-1' só é possível com recurso ao espectro de HMBC e apesar destes dois carbonos se correlacionarem a longa distância com os protões H-5' e 2'-OH, o carbono C-3' correlaciona-se a longa distância com os protões H-1'', já o carbono C-1' correlaciona-se a longa distância com os protões H-2 (Figura 4.4). Quanto aos sinais dos carbonos dos metilos do grupo prenilo não é possível diferenciá-los entre si.

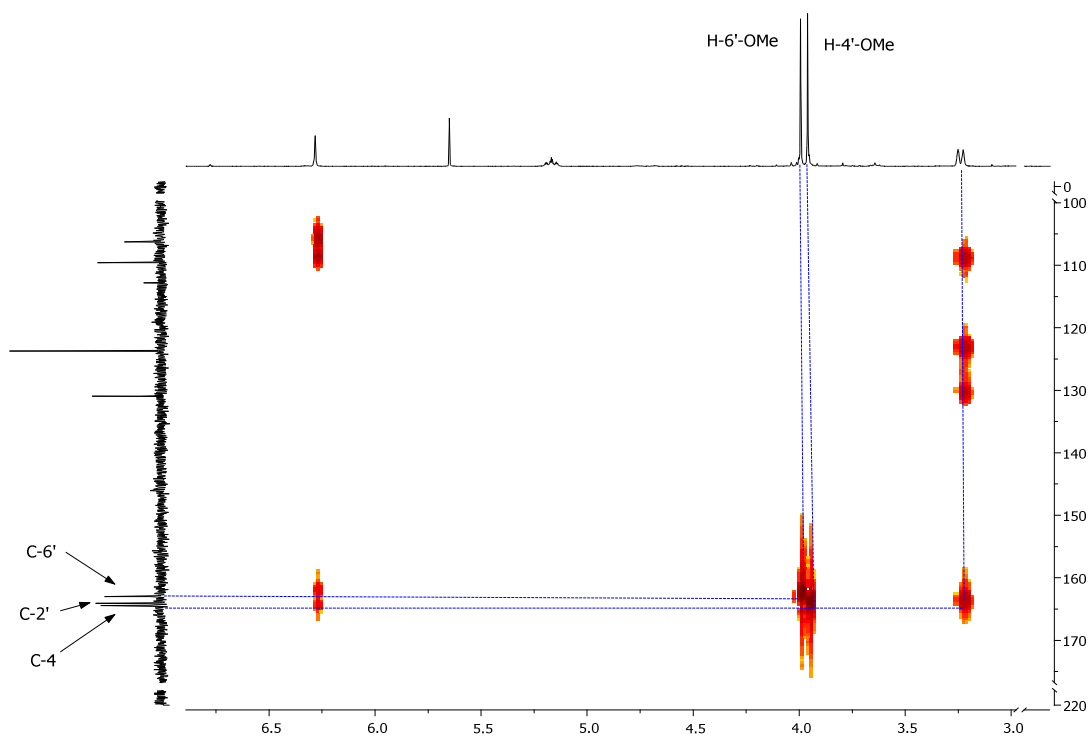


Figura 4.4. Expansão do espectro de HMBC de 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona 41.

As atribuições dos restantes sinais foram suportadas pelo espectro de HMBC, apresentando-se na figura seguinte as principais conetividades observadas a duas e três ligações (Figura 4.5).

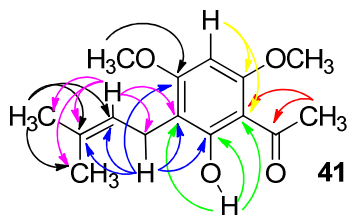
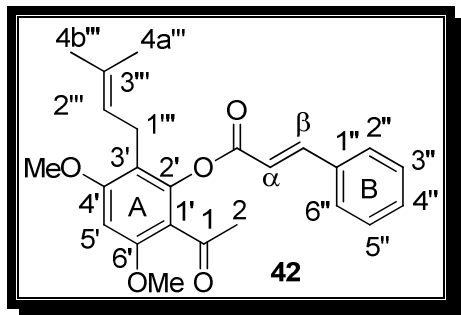


Figura 4.5. Conetividades presentes no espectro de HMBC de 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona 41.

4.2. Caracterização estrutural de 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona



A Caracterização estrutural da 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **41** foi realizada recorrendo à análise dos espetros de RMN de próton e carbono-13, assim como dos espetros bidimensionais HSQC e HMBC. Através da análise do espetro de RMN de ^1H deste composto foi possível identificar os seus sinais caraterísticos (Figura 4.6):

- A $\delta = 7,83$ e $6,60$ ppm dois sinais na forma de dupletos que correspondem à ressonância dos prótons vinílicos H- β e H- α , com constante de acoplamento de $J = 16,0$ Hz, configuração *trans*. O próton H- β surge a maiores valores de frequência devido ao efeito mesomérico desprotetor do grupo carbonilo.
- Em relação aos prótons do anel B do éster é possível identificar dois sinais na forma de multipletos a $\delta = 7,58-7,55$ e $7,41-7,39$ ppm que correspondem às ressonâncias dos prótons H-2'',6'' e H-3'',4'',5'' respectivamente.
- A $\delta = 6,34$ ppm o sinal em forma de singuleto correspondente à ressonância do próton H-5'. O aparecimento desta ressonância a baixos valores de frequência deve-se à proteção que os grupos metoxilos exercem nas posições *orto*.
- A $\delta = 5,08$ ppm surge um sinal na forma de tripleto correspondente à ressonância do próton H-2''', com constante de acoplamento de $J = 4,2$ Hz.

- A $\delta = 3,88$ ppm o sinal em forma de singuleto correspondente à ressonância dos prótons dos grupos metoxilos das posições C-4' e C-6'.
- A $\delta = 3,20$ ppm o sinal em forma de duplete correspondente à ressonância dos prótons H-1''', com constante de acoplamento de $J = 4,2$ Hz.
- A $\delta = 2,49$ ppm aparece um sinal em forma de singuleto correspondente à ressonância dos prótons do grupo metilo da posição C-2. O desvio químico destes prótons é um pouco elevado para este tipo de prótons devido à proximidade do grupo carbonilo (posição α).
- A $\delta = 1,66$ e $1,62$ ppm surgem dois sinais em forma de singuleto que correspondem à ressonância dos prótons metílicos do grupo prenil.

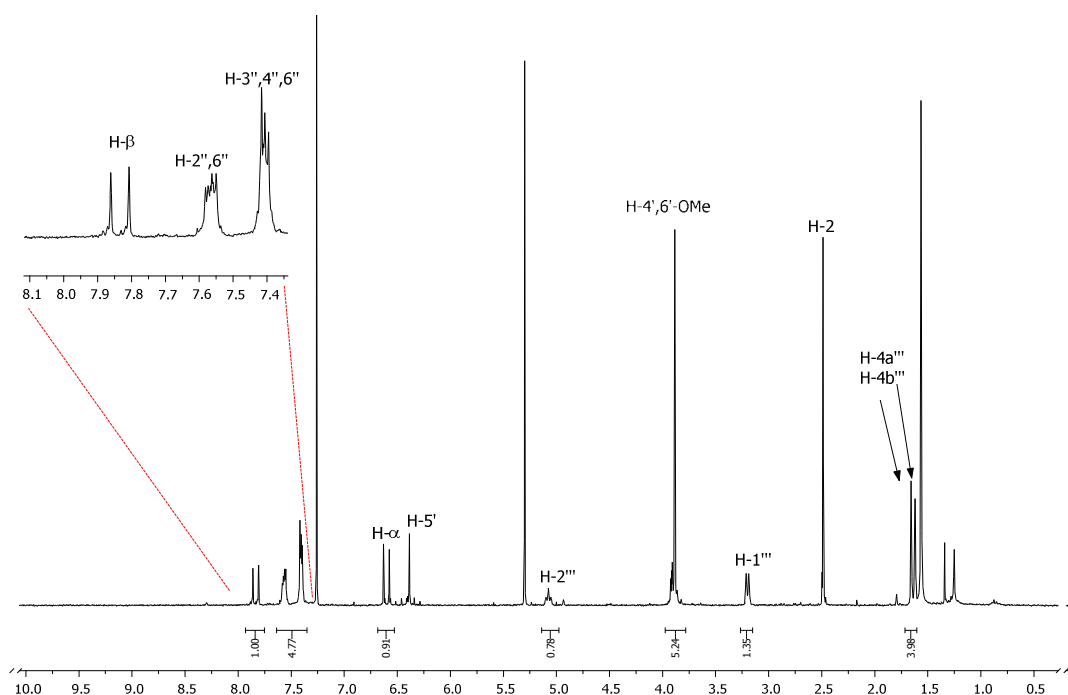


Figura 4.6. Espectro de RMN de ^1H de 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **42**.

A principal característica do espectro de RMN de ^1H da 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **42** é o desaparecimento do sinal em forma de singuleto a δ 14,07 ppm da acetofenona de partida **41** (Figura 4.1), indicando a formação do éster

42. A identificação inequívoca dos carbonos do composto **42** (Figura 4.7) foi possível pela interpretação conjunta dos espectros HSQC (Figura 4.8) e HMBC. O espectro de RMN de ^{13}C confirma a semelhança estrutural existente entre a parte da 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **41** e o composto **42**, mais concretamente no que diz respeito às ressonâncias dos carbonos.

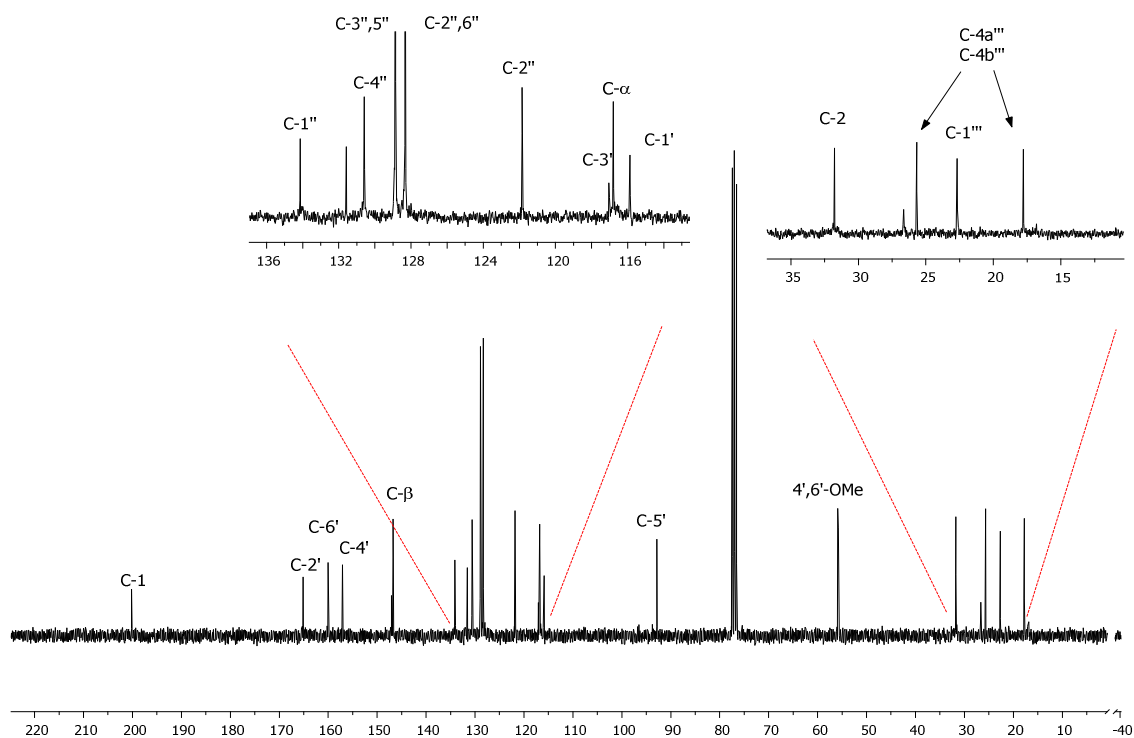


Figura 4.7. Espectro de RMN de ^{13}C de 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **42**.

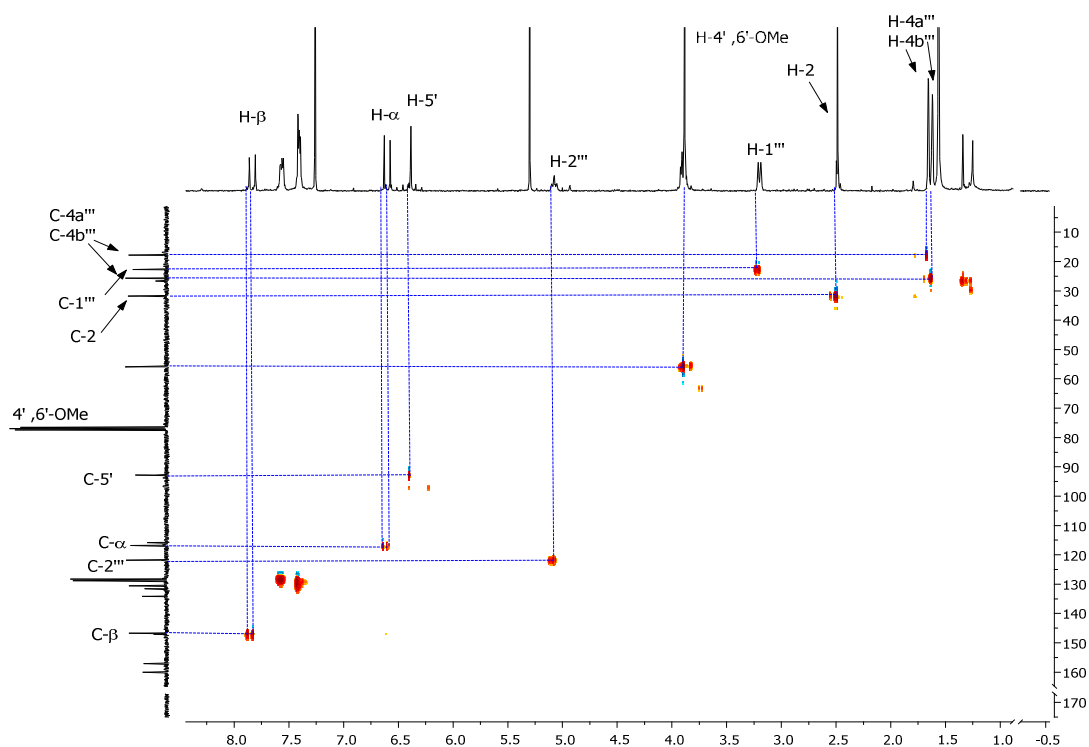


Figura 4.8. Espectro de HSQC de 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona 42.

A identificação inequívoca dos carbonos pertencentes ao anel B e do carbono carbonílico do éster **42** apenas foi possível através da análise do espectro de HMBC (Figura 4.9), através do qual é possível identificar o carbono C-1'' devido ao facto deste carbono se correlacionar a longa distância com os protões H- α e H-3'',4'',5''. Também é possível identificar os carbonos C-2'',6'' por se correlacionarem a longa distância com os protões H- β e H-3'',4'',5'', do mesmo modo é possível identificar os sinais correspondentes aos carbonos C-4'' e C-3'',5'' pelo facto de se correlacionarem a longa distância com os protões H-2'',6'' e H-4''. Foi através deste espectro que foi possível distinguir as ressonâncias dos carbonos C-4' e C-6' devido à correlação a longa distância que C-4' possui com o protão H-1'''. Quanto à identificação do carbono carbonílico, esta foi possibilitada pela correlação a longa distância deste carbono com os protões H- α e H- β .

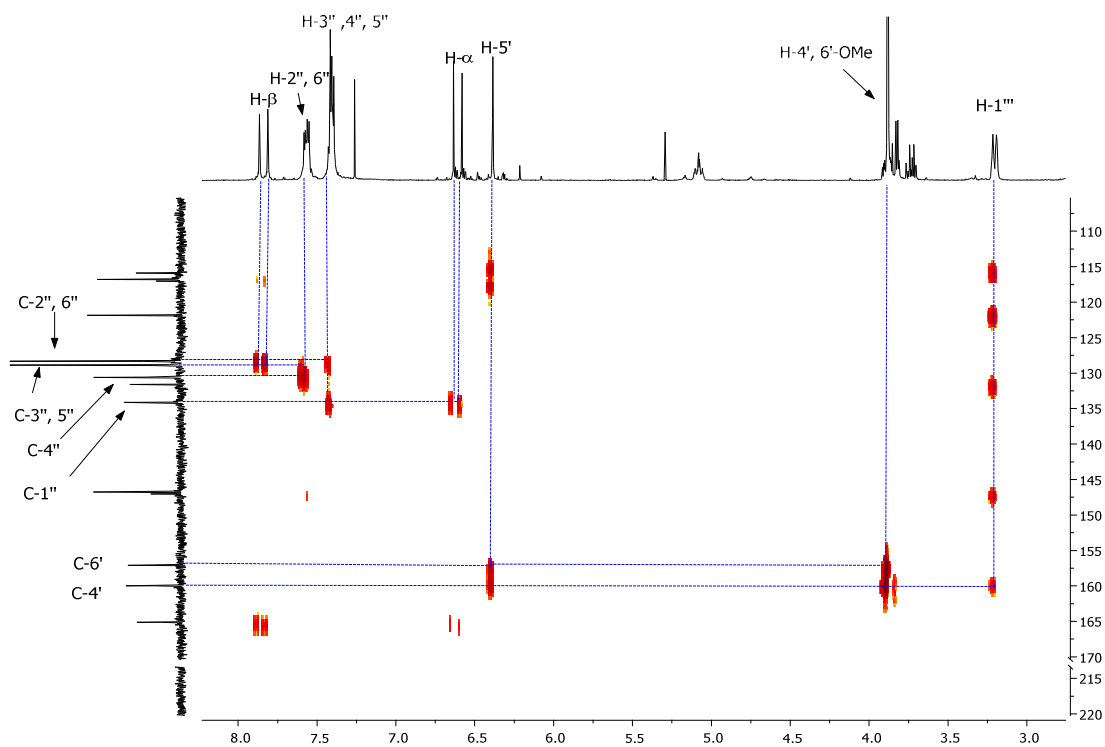


Figura 4.9. Espectro de HMBC de 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona 42.

As atribuições dos sinais foram suportadas pelo espectro de HMBC, através do qual é possível identificar as conectividades observadas a duas e três ligações (Figura 4.10).

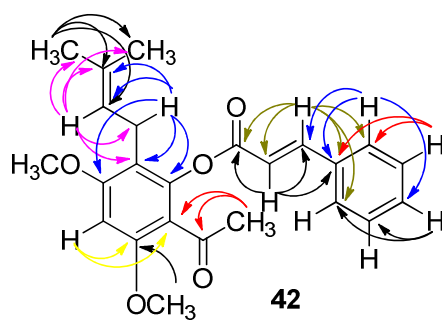
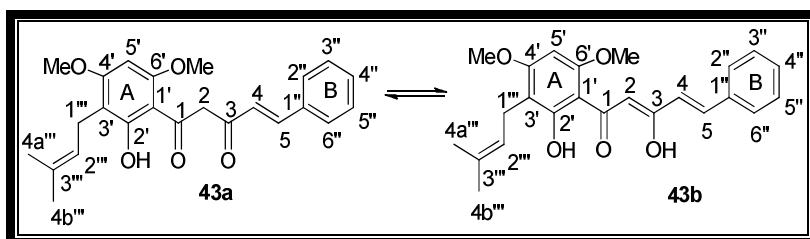


Figura 4.10. Conectividades presentes no espectro de HMBC de 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona 42.

4.3. Caracterização estrutural de 5-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)pent-4-eno-1,3-diona/5-fenil-3-hidroxi-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)penta-2,4-dien-1-ona



A principal característica do espectro de RMN de ^1H deste composto é a presença de uma mistura tautomérica entre a forma enólica, **43b**, e a forma dicetônica, **43a**, deste composto, isto é demonstrado pelo aparecimento no espectro de RMN de ^1H de dois singletos a valores de frequência elevados correspondentes aos prótons do grupo hidroxilo 2'-OH da forma dicetônica e enólica, para além dos dois sinais em forma de singuleto a valores de frequência distintos, referentes às ressonâncias dos prótons H-2 destes dois tautômeros. Sendo a forma enólica **43b** a forma mais abundante com 70 % e a forma dicetônica **43a** presente em 30 % da mistura tautomérica. A $\delta = 14,77$ ppm o sinal em forma de singuleto correspondente à ressonância do próton do grupo hidroxilo 3-OH da forma enólica. A $\delta = 13,64$ e $13,41$ ppm dois sinais em forma de singuleto correspondente à ressonância dos prótons do grupo hidroxilo 2'-OH da forma dicetônica e enólica respetivamente.

Através da análise do espectro de RMN de ^1H de 5-fenil-3-hidroxi-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)penta-2,4-dien-1-ona **43** foi possível identificar os seus sinais característicos (Figura 4.11):

- Em relação aos prótons do anel B é possível identificar dois sinais em forma de multipletos a $\delta = 7,62-7,54$ e $7,42-7,32$ ppm correspondentes às ressonâncias dos prótons H-2'',6'' e H-3'',4'',5'' respetivamente.
- Relativamente aos prótons vinílicos é possível identificar um sinal em forma de duplo duplete a $\delta = 6,57$ ppm correspondente à ressonância do próton H- α com constante de acoplamento $J = 16,0$ e $1,2$ Hz e um sinal em forma de duplete a δ

= 7,57 ppm correspondente à ressonância do próton H-β com constante de acoplamento $J = 16,0$ Hz.

- A $\delta = 6,75$ e $4,26$ ppm dois sinais em forma de singuleto correspondentes à ressonância dos prótons H-2 da forma enólica e dicetónica respetivamente.
- A $\delta = 6,00$ ppm o sinal em forma de singuleto correspondente à ressonância do próton H-5'. O aparecimento desta ressonância a baixos valores de frequência deve-se à proteção que os grupos metoxilos exercem nas posições *orto* e *para*.
- A $\delta = 5,19$ ppm o sinal em forma de tripleto correspondente à ressonância do próton H-2''', com constante de acoplamento $J = 6,7$ Hz.
- A $\delta = 3,93$ e $3,89$ ppm dois sinais em forma de singuleto correspondentes às ressonâncias dos prótons dos grupos metoxilos C-4' e C-6'.
- A $\delta = 3,29$ ppm o sinal em forma de duplete correspondente à ressonância dos prótons H-1''', com constante de acoplamento $J = 6,7$ Hz.
- A $\delta = 1,78$ e $1,67$ ppm dois sinais em forma de singuleto que correspondem à ressonância dos prótons metílicos do grupo prenilo.

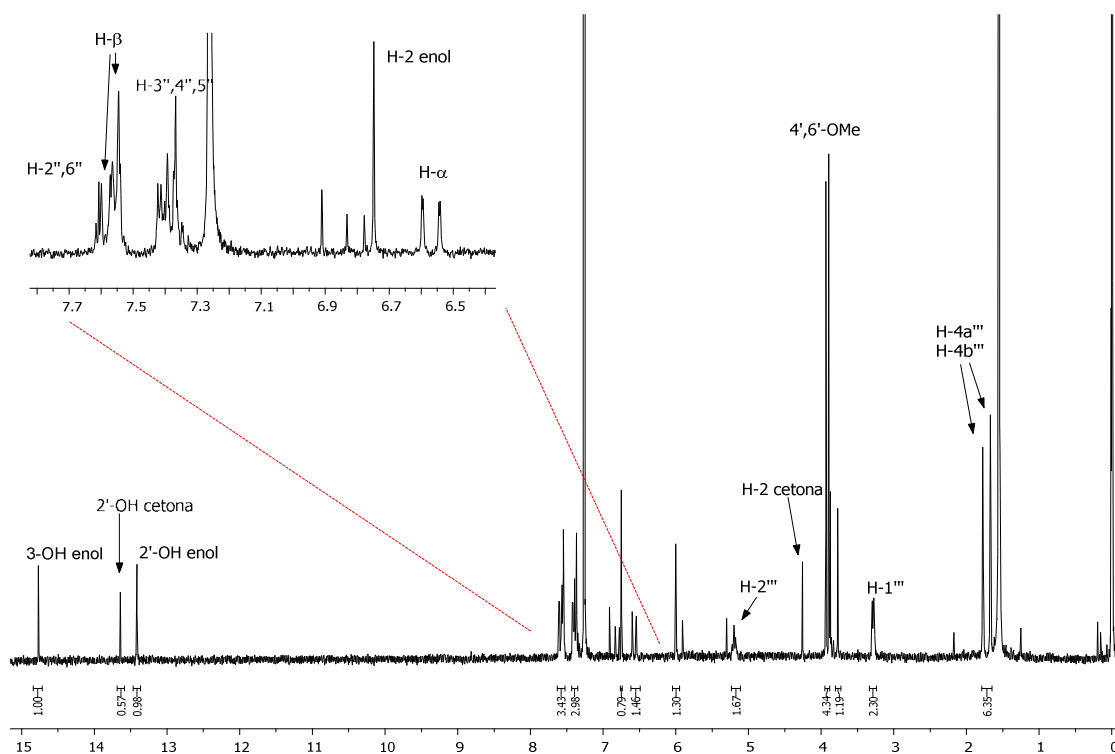


Figura 4.11. Espectro de RMN de ^1H da 5-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)pent-4-eno-1,3-diona **43a**/ 5-fenil-3-hidroxi-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)penta-2,4-dien-1-ona **43b**.

A identificação das ressonâncias dos carbonos do composto **43** foi obtida através da análise do espectro de RMN ^{13}C (Figura 4.12), juntamente com a análise dos espectros de correlação heteronuclear HSQC (Figura 4.13) e de correlação heteronuclear a longa distância HMBC.

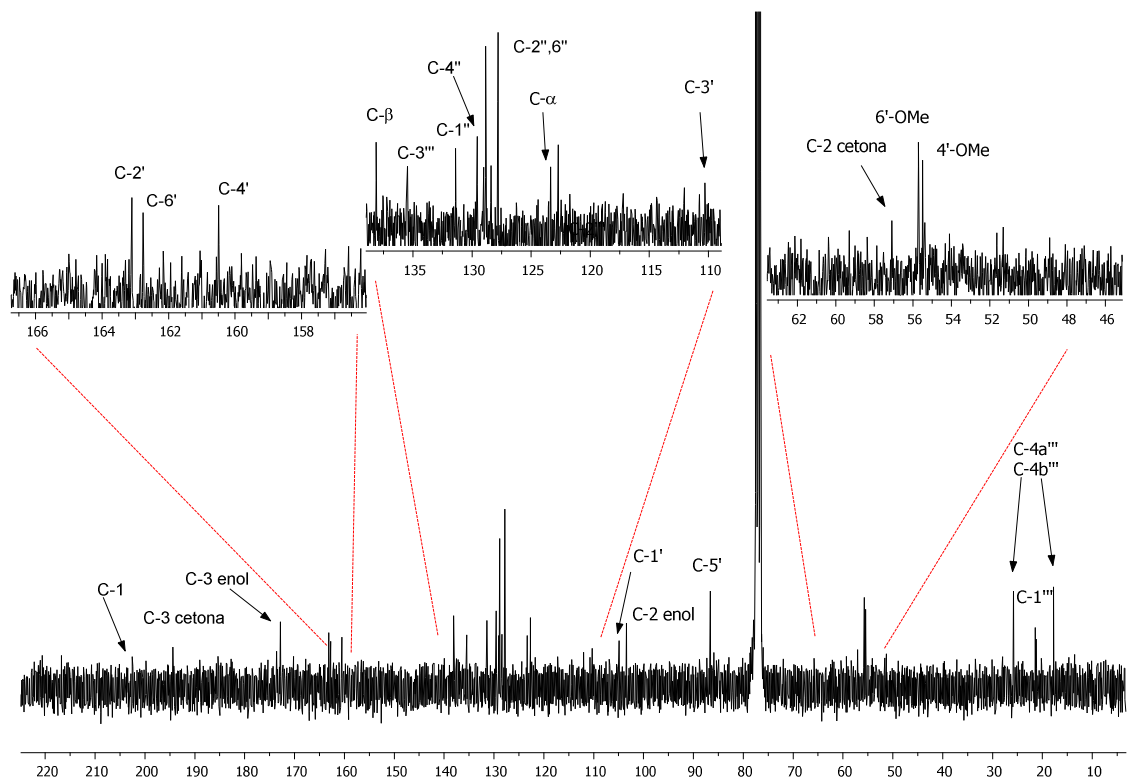


Figura 4.12. Espectro de RMN de ^{13}C da 5-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)pent-4-eno-1,3-diona 43a/ 5-fenil-3-hidroxi-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)penta-2,4-dien-1-ona 43b.

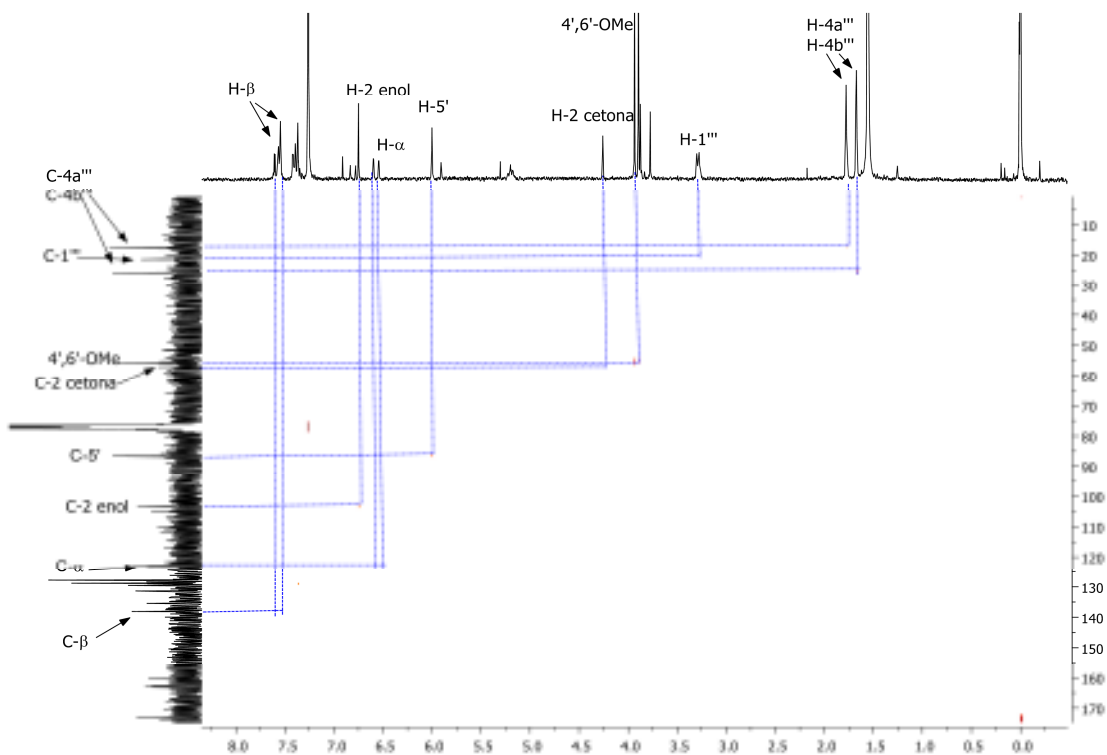


Figura 4.13. Espectro de HSQC da 5-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)pent-4-eno-1,3-diona 43a/ 5-fenil-3-hidroxi-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)penta-2,4-dien-1-ona 43b.

As atribuições dos sinais foram suportadas pelo espectro de HMBC, através do qual é possível identificar as conectividades observadas a duas e três ligações (Figura 4.14).

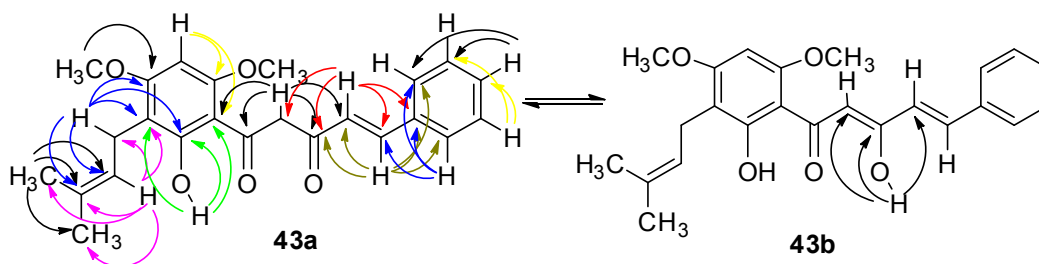
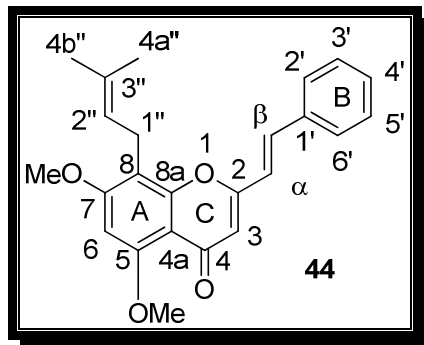


Figura 4.14. Conectividades presentes no espectro de HMBC de 5-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)pent-4-eno-1,3-diona 43a/ 5-fenil-3-hidroxi-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)penta-2,4-dien-1-ona 43b.

4.4. Caracterização estrutural da (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona



A Caracterização estrutural da (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona **44** foi possível recorrendo aos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , HSQC e HMBC. Através da análise do espectro de ^1H do composto **44** foi possível identificar os sinais característicos (Figura 4.15):

- Relativamente aos prótons do anel B do composto **44** aparece a $\delta = 7,54$ ppm, o sinal em forma de duplo duplete relativo à ressonância dos prótons H-2',6' com constante de acoplamento $J = 7,2$ e $1,7$ Hz. A $\delta = 7,41-7,36$ ppm surge o sinal em forma de multipeto correspondendo à ressonância dos prótons H-3',4',5'.
- A $\delta = 7,50$ e $6,23$ ppm dois sinais em forma de dupletos que correspondem à ressonância dos prótons olefinícos H- β e H- α respetivamente, com constante de acoplamento de $J = 15,9$ Hz. Esta constante de acoplamento permite-nos confirmar a configuração *trans* deste sistema vinílico.
- A $\delta = 6,18$ e $6,41$ ppm dois sinais em forma de singuleto correspondentes às ressonâncias dos prótons H-3 e H-6, respetivamente.
- A $\delta = 5,26$ ppm o sinal em forma de tripleto correspondente à ressonância do próton H-2'', com constante de acoplamento de $J = 4,1$ Hz.

- A $\delta = 3,99$ e $3,96$ ppm dois sinais em forma de singletos correspondentes às ressonâncias dos prótons dos grupos metoxilos das posições C-5 e C-7 respectivamente.
- A $\delta = 3,57$ ppm o sinal em forma de dupletos correspondente à ressonância dos prótons H-1'', com constante de acoplamento de $J = 4,1$ Hz.
- A $\delta = 1,87$ e $1,71$ ppm os dois sinais em forma de singletos que correspondem à ressonância dos prótons metílicos do grupo prenilo.

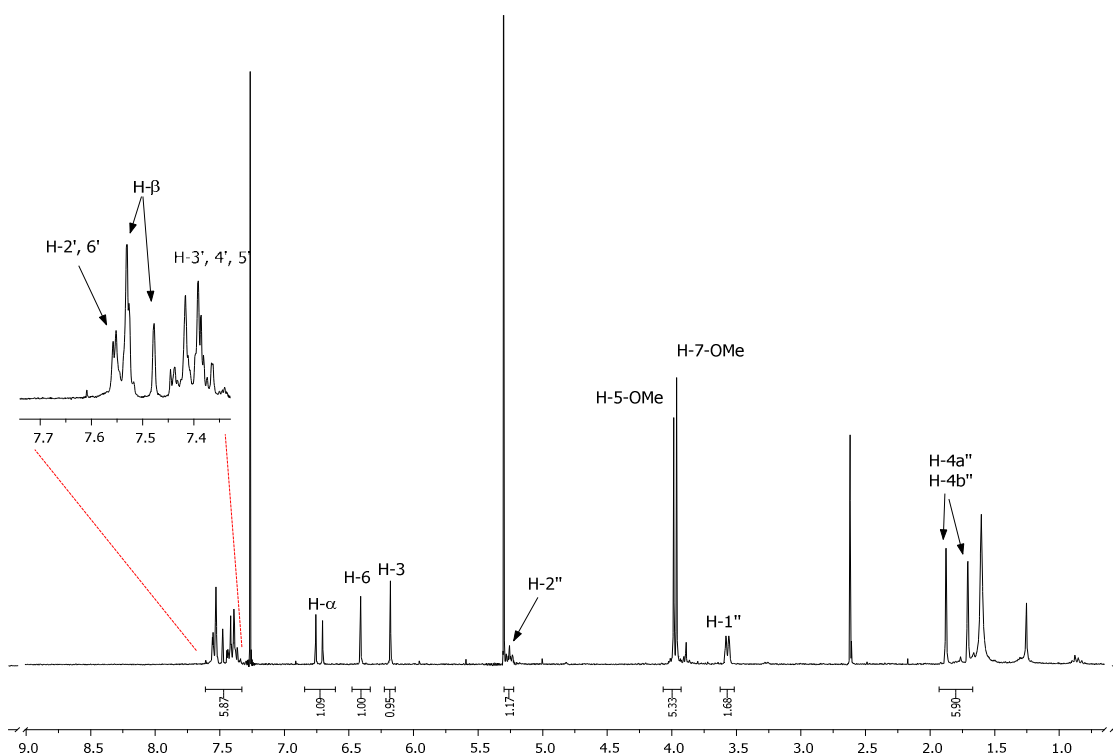


Figura 4.15. Espectro de RMN de ^1H de (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona 44.

A principal característica deste espectro é a presença dos sinais correspondentes às ressonâncias dos prótons do grupo prenilo na zona alifática, para além do sinal referente à ressonância dos prótons dos grupos metoxilos. Outros sinais importantes são os correspondentes à ressonância dos prótons olefinicos H- α e H- β , cuja diferença dos desvios químicos é devido ao efeito mesomérico desprotetor do grupo carbonilo,, levando a que o próton H- β se encontre mais desprotegido e conseqüentemente surja a maiores valores de frequência que o de H- α . A constante de acoplamento $J = 15,9$ Hz, é indicativa da configuração *trans* deste sistema vinílico.

A identificação inequívoca das ressonâncias dos carbonos do (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona **44** foi obtida através da análise do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 4.16) juntamente com os de correlação heteronuclear HSQC e HMBC.

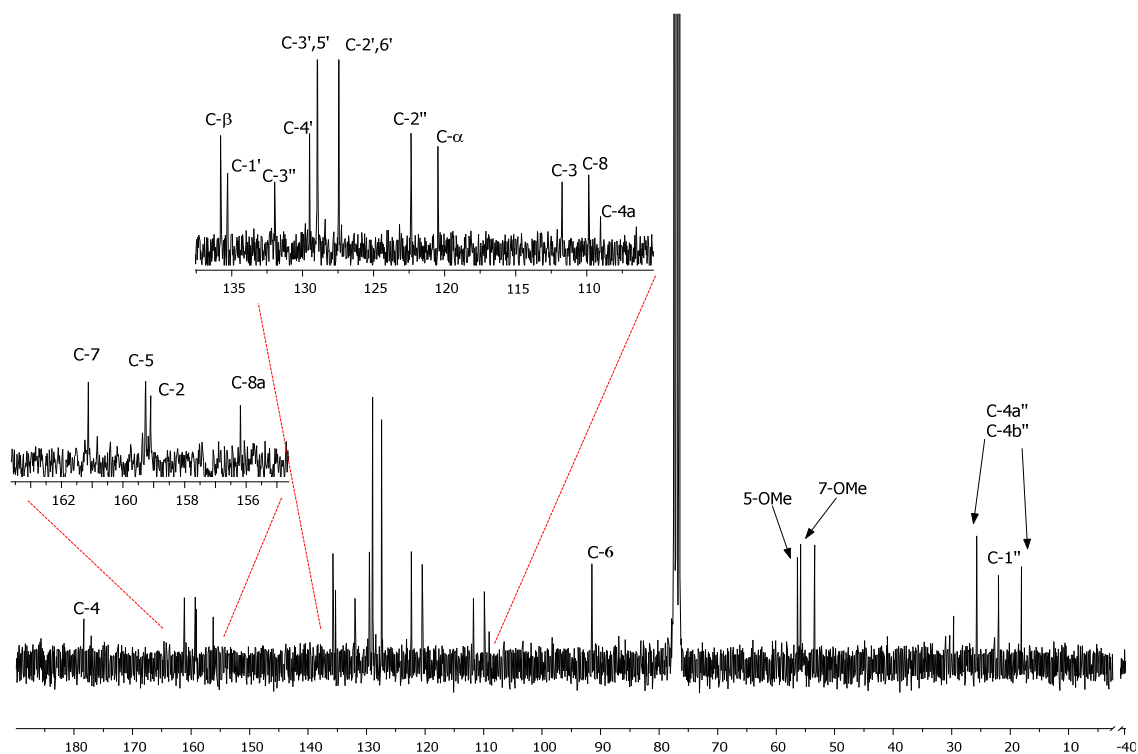


Figura 4.16. Espectro de RMN de ^{13}C de (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona **44**.

O espectro de RMN de ^{13}C desta 2-estirilcromona *C*-prenilada **44** revela uma semelhança estrutural com os compostos **41**, **42** e **43**, nomeadamente no que diz respeito aos sinais correspondentes às ressonâncias dos carbonos do grupo prenilo. Os sinais correspondentes às ressonâncias dos carbonos ligados a hidrogénios do anel aromático A e do anel C foram identificados através da análise do espectro de HSQC (Figura 4.17 e 4.18). A identificação inequívoca dos carbonos quaternários, bem como dos carbonos ligados a hidrogénios do anel aromático B foram identificados com recurso à análise do espectro de HMBC (Figura 4.19).

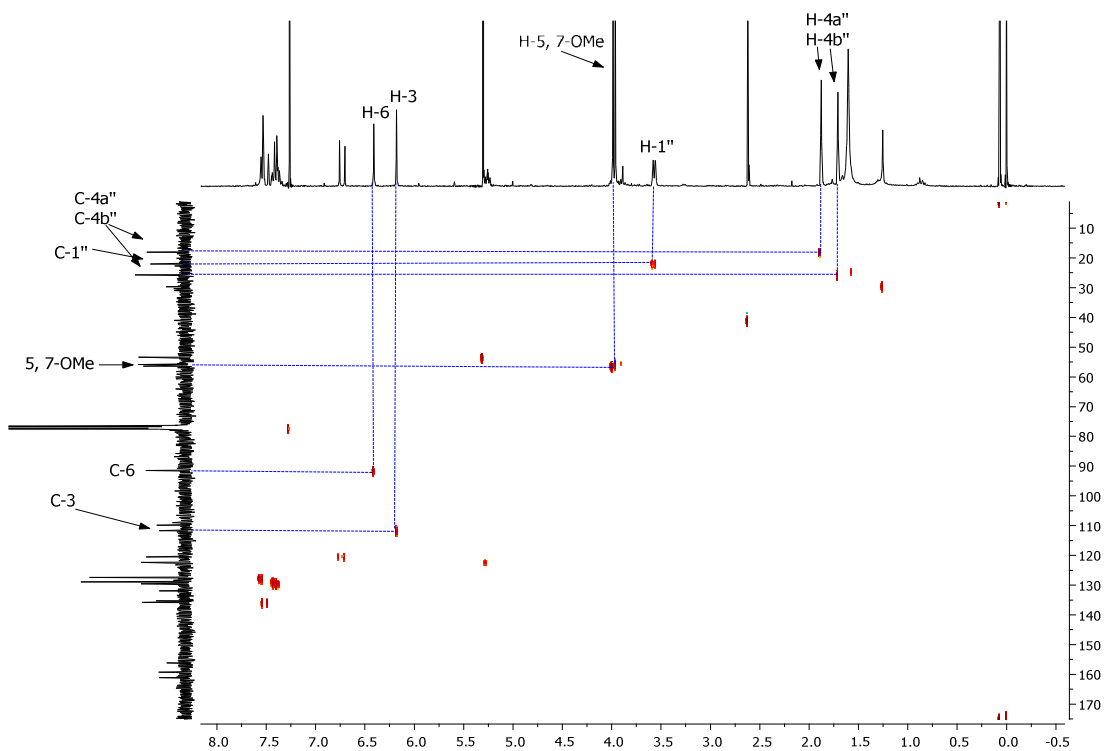


Figura 4.17. Espectro de HSQC de (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilchromona 44.

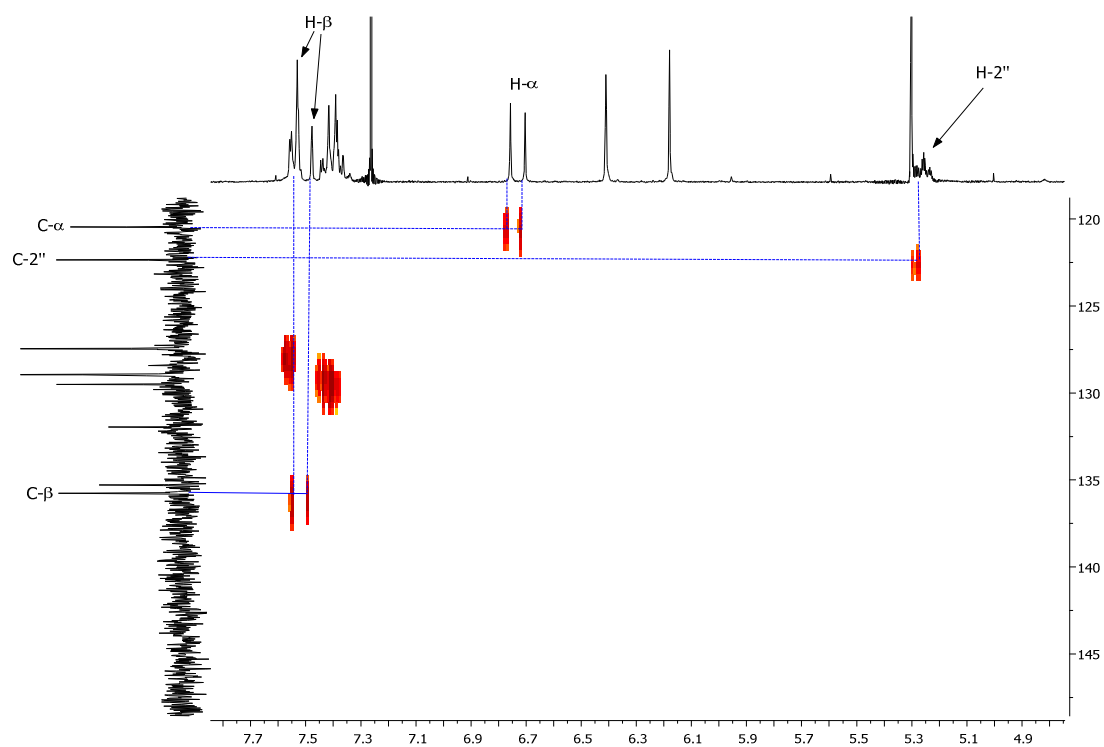


Figura 4.18. Expansão do espectro de HSQC de (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilchromona 44.

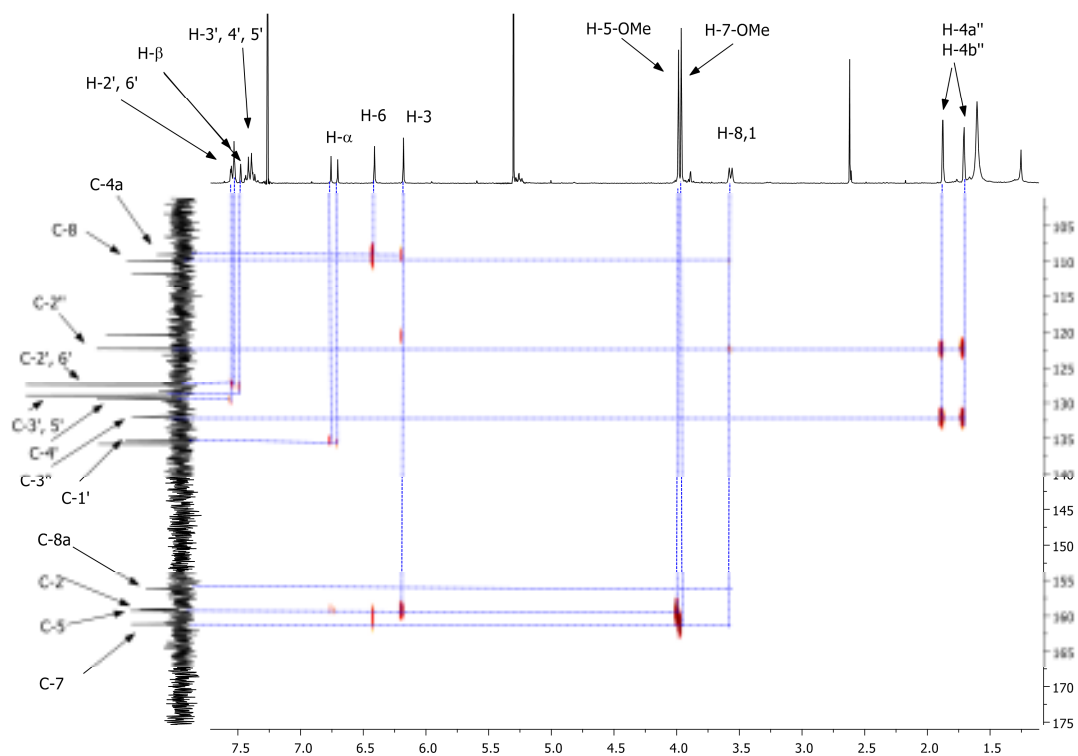


Figura 4.19. Expansão do espectro de HMBC de (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona 44.

As atribuições dos sinais foram suportadas pelo espectro de HMBC, através do qual é possível identificar as conectividades observadas a duas e três ligações (Figura 4.20).

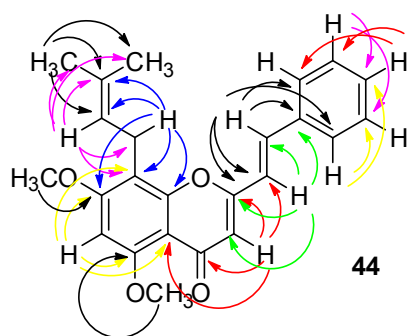
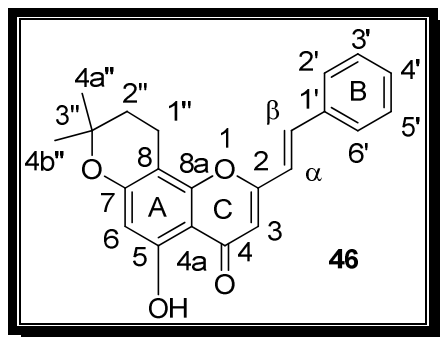


Figura 4.20. Conectividades presentes no espectro de HMBC de (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona 44.

4.5. Caracterização estrutural da (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-di-hidropirano[2,3-*h*]cromona



A caracterização estrutural da (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-di-hidropirano[2,3-*h*]cromona **46** foi possível através da análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , assim como através dos espectros bidimensionais HSQC e HMBC. Através do espectro de ^1H (Figura 4.22) foi possível identificar os sinais característicos:

- A $\delta = 12,48$ ppm o sinal em forma de singuleto correspondente à ressonância do próton do grupo hidroxilo 5-OH. Este próton surge a elevados valores de frequência devido a estar ligado diretamente a um átomo eletronegativo assim como estar em ligação de hidrogénio com o oxigénio do grupo carbonilo.
- Em relação aos prótons do anel B é possível identificar dois sinais em forma de multipletos a $\delta = 7,61-7,57$ e $7,43-7,41$ ppm correspondentes às ressonâncias dos prótons H-2'',6'' e H-3'',4'',5'' respetivamente.
- A $\delta = 7,54$ e $6,78$ ppm dois sinais em forma de dupletos correspondentes à ressonância dos prótons vinílicos H- β e H- α respetivamente, com constante de acoplamento de $J = 16$ Hz. Esta diferença de desvios químicos resulta do efeito mesomérico desprotetor do grupo carbonilo.
- A $\delta = 6,25$ e $6,20$ ppm surgem dois sinais em forma de singuleto correspondentes à ressonância dos prótons H-6 e H-3, respetivamente.

- A $\delta = 2,91$ ppm o sinal em forma de tripleto correspondente à ressonância dos prótons H-2'', com constante de acoplamento de $J = 6,8$ Hz.
- A $\delta = 1,91$ ppm o sinal em forma de tripleto correspondente à ressonância dos prótons H-1'', com constante de acoplamento de $J = 6,8$ Hz.
- A $\delta = 1,39$ e $1,25$ ppm os dois sinais em forma de singletos que correspondem à ressonância dos prótons metílicos do grupo prenilo.

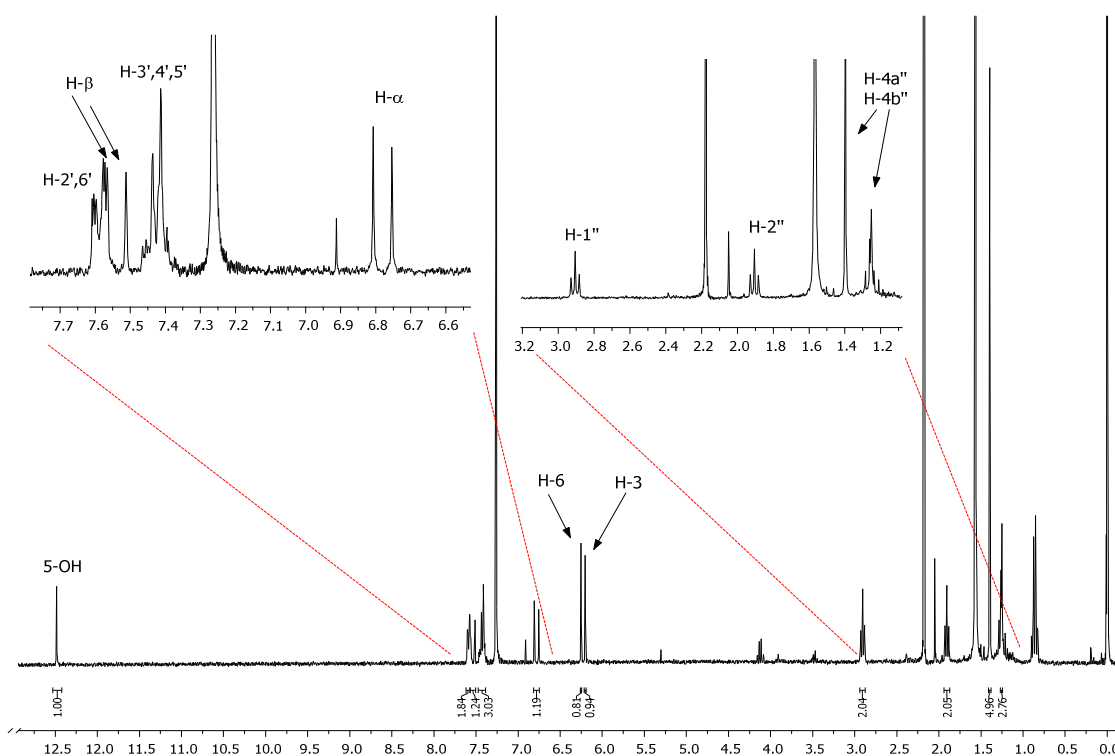


Figura 4.22. Espectro de RMN de ^1H da (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-dihidropirano[2,3-*h*]cromona **46**

A característica mais importante do espectro de RMN de ^1H (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-dihidropirano[2,3-*h*]cromona **46** é a substituição do sinal em forma de duplete correspondente à ressonância dos prótons H-1'' da (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona **44** por o sinal em forma de tripleto correspondente à ressonância destes prótons. Esta característica, em conjunto com a presença de um só sinal correspondente ao grupo hidroxila da posição 5, em vez dos dois sinais esperados, permite demonstrar que durante a reação de clivagem dos grupos metilo, o grupo prenilo cicliza num anel de seis lados em torno do grupo hidroxila da posição 7.

A identificação inequívoca das ressonâncias dos carbonos da (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-di-hidropirano[2,3-*h*]cromona **46** foi obtida através da análise do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 4.23) juntamente com os de correlação heteronuclear HSQC e HMBC.

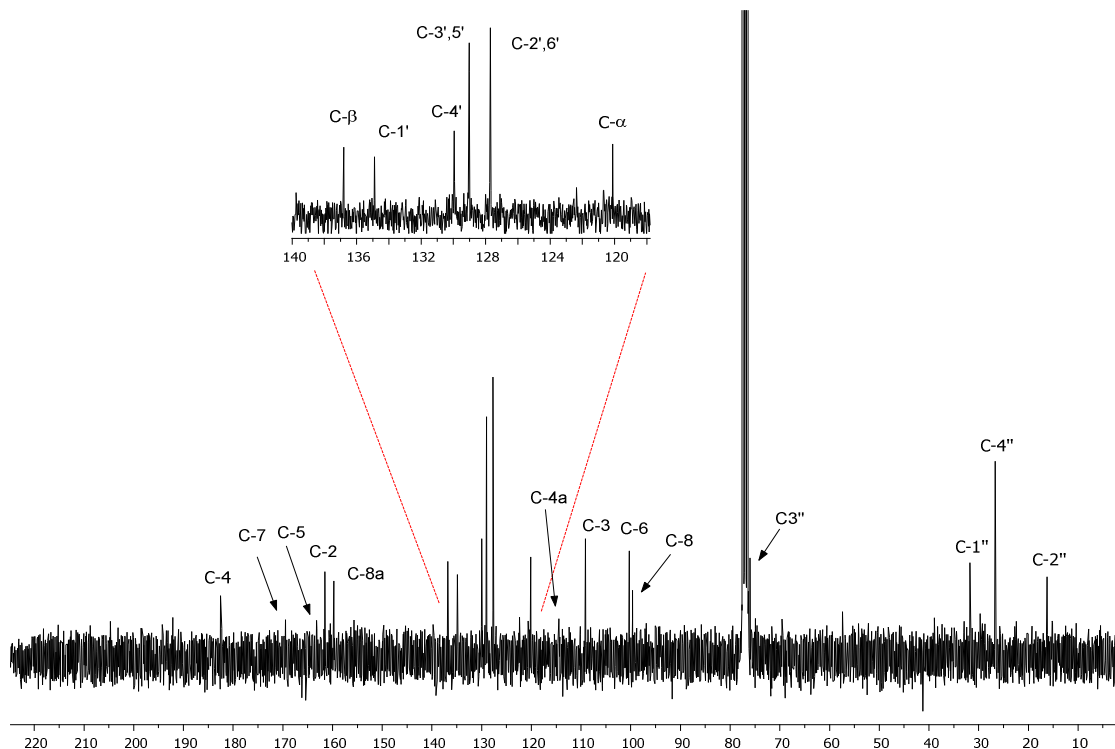


Figura 4.23. Espectro de RMN de ^{13}C da (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-di-hidropirano[2,3-*h*]cromona **46**.

O espectro de RMN de ^{13}C da (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-di-hidropirano[2,3-*h*]cromona **46** revela em relação ao espectro de RMN de ^{13}C do composto **44** o desaparecimento dos sinais correspondentes aos sinais dos carbonos dos grupos metoxilo da posição 5 e 7. Outra das características deste espectro é o aparecimento do sinal do C-2'' do grupo prenilo a menores valores de frequência (31,0 ppm).

A identificação inequívoca dos carbonos da (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-di-hidropirano[2,3-*h*]cromona **46** foi auxiliada pelo estudo do espectro de HSQC (Figura 4.24) e através do espectro de HMBC (Figura 4.25).

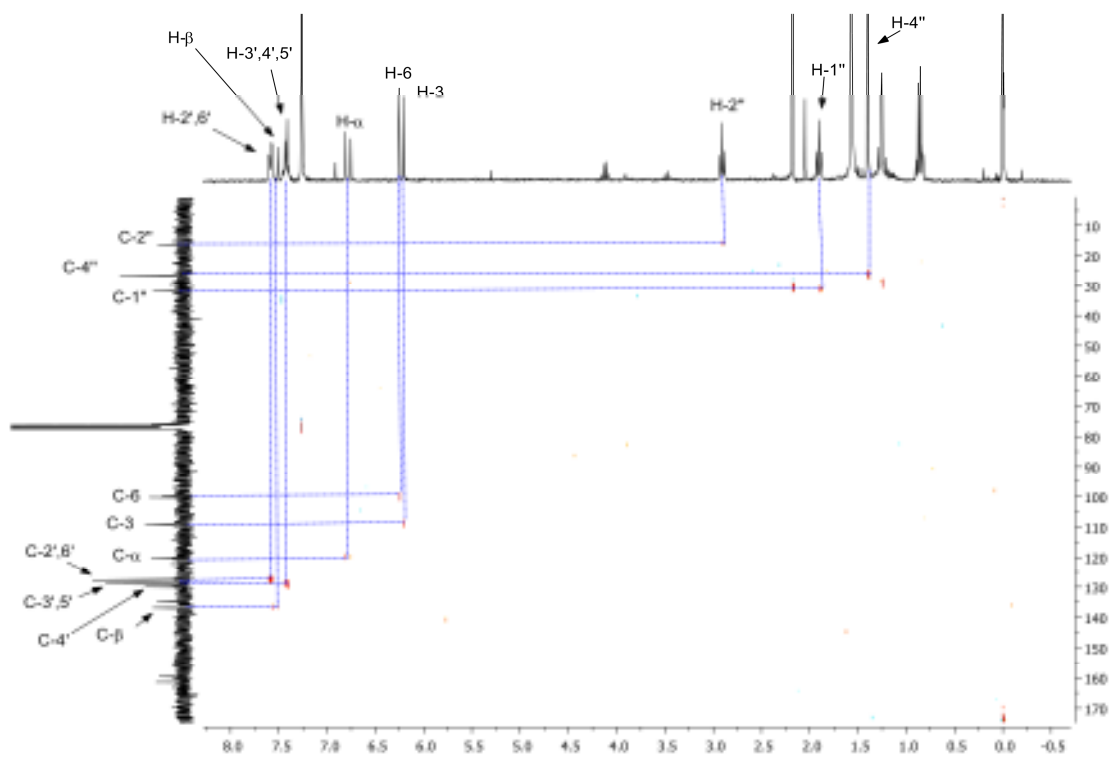


Figura 4.24. Espetro de HSQC da (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-dihidropirano[2,3-*h*]cromona 46.

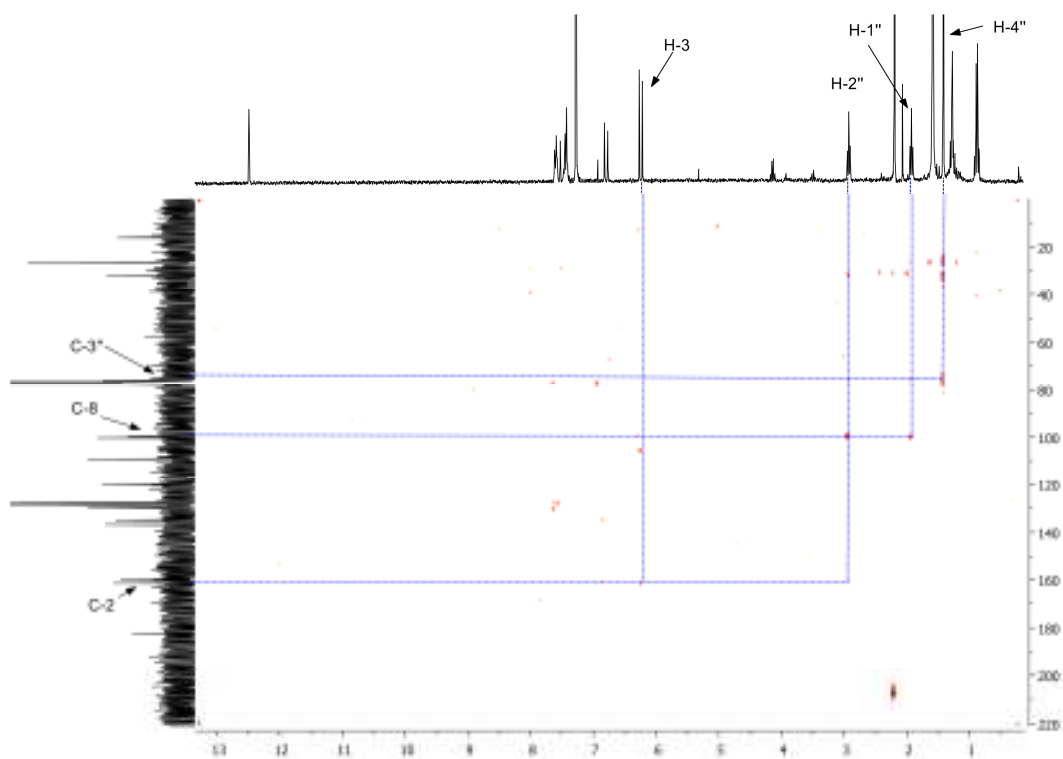


Figura 4.24. Espetro de HMBC da (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-dihidropirano[2,3-*h*]cromona 46.

Todas as atribuições dos sinais foram suportadas pelo espectro de HMBC, através do qual é possível identificar as conectividades observadas a duas e três ligações (Figura 4.25).

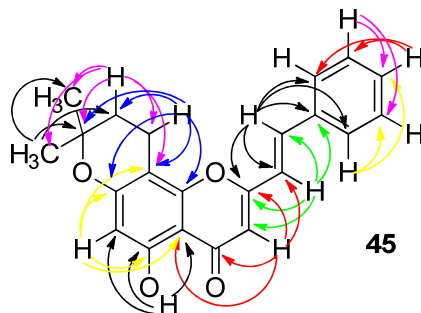


Figura 4.25. Conetividades presentes no espectro de HMBC (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-di-hidropirano[2,3-*h*]cromona 46.

CAPÍTULO V

Procedimento experimental

5. Procedimento experimental

5.1. Reagentes, solventes, sílicas e equipamentos utilizados

Os reagentes comerciais utilizados nas transformações estudadas foram usados sem qualquer purificação prévia, assim como os solventes utilizados nestas transformações eram analiticamente puros ou quando necessário foram purificados por destilação:

- A piridina foi seca, a refluxo sobre hidróxido de sódio e destilada em seguida por destilação fracionada.
- O diclorometano foi seco, a refluxo sobre carbonato de cálcio e destilado em seguida por destilação fracionada.

Os solventes usados na purificação dos compostos foram previamente destilados, assim como na cristalização dos compostos foram usados solventes de pureza analítica. A evolução das reacções foi seguida por cromatografia de camada fina (tlc), em folhas plastificadas, revestidas de sílica gel 60F₂₅₄ da Merck. As placas foram observadas na lâmpada de luz ultravioleta a comprimentos de onda $\lambda = 254$ e 366 nm. As purificações realizadas por cromatografia em coluna foram realizadas em colunas de sílica gel 60 da Merck com granulometria entre os 0,063-0,2 mm.

Os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C foram obtidos num espectrómetro Avance 300 operando a uma frequência de 300,13 e 75,47 MHz, respetivamente. Como padrão interno foi utilizado o tetrametilsilano (TMS) e usou-se geralmente o clorofórmio deuterado (CDCl₃) como solvente dos compostos a analisar. Nos espectros de RMN dos compostos analisados são indicados o desvio químico, multiplicidade e respetivas constantes de acoplamento.

Os pontos de fusão dos compostos sintetizados foram determinados num aparelho de medição de pontos de fusão Büchi Melting Point B-540 e não foram corrigidos.

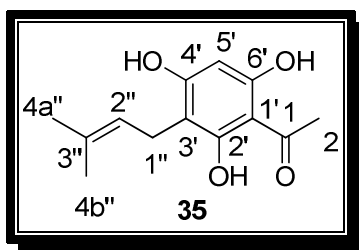
Os espectros de massa foram efectuados num espectrómetro Micromass Q-Tof-2TM, recorrendo-se a técnica de electrospray como fonte de ionização operando com o cone a 30 V.

Os espectros de massa de alta resolução foram realizados num espectrómetro APEX-Qe, na Universidade de Vigo.

5.2. Síntese dos compostos obtidos

5.2.1. Síntese da 2',4',6'-tri-hidroxi-3'-prenil-acetofenona 35

A uma solução de 2',4',6'-tri-hidroxiacetofenona **34** (0,5 g; 2,97 mmol) em THF (20 ml), adicionou-se brometo de prenilo **46** (0,357 ml; 2,97 mmol) e DBU (0,419 ml; 2,97 mmol). A mistura reacional esteve em agitação magnética à temperatura ambiente durante 48 h, sob atmosfera de azoto. Após este período a mistura reacional foi vertida sobre gelo (50 g) e água (100 ml) óleo obtido é extraído com acetato de etilo (3×50 ml) e fase orgânica seca através de sulfato de sódio anidro e evaporou-se o solvente até à secura. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia em coluna usando uma mistura hexano/acetato de etilo (5:1) como eluente.

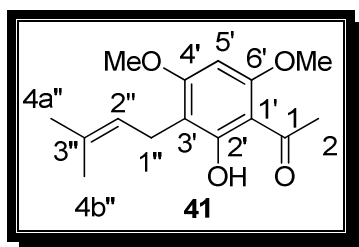


2',4',6'-tri-hidroxi-3'-prenil-acetofenona 35, sólido amarelo, $\eta = 35$ % p.f. 170-171 °C (Lit. 166-167 °C)⁷²

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃COCD₃): δ 13,96 (s, 1H, 2'-OH), δ 9,52 (s, 1H, 6'-OH), δ 9,12 (s, 1H, 4'-OH), δ 6,08 (s, 1H, H-5'), δ 5,23 (t, 1H, $J = 5,0$ Hz, H-2''), δ 3,25 (d, 2H, $J = 5,0$ Hz, H-1''), δ 2,62 (s, 3H, H-2), δ 1,75 e 1,63 (2s, 2×CH₃, H-4'') ppm.

5.2.2. Síntese da 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **41**

A uma solução de 2',4',6'-tri-hidroxi-3'-prenil-acetofenona **35** (0,2457 g; 1.04 mmol) e K_2CO_3 (0,8637 g; 6,24 mmol) em acetona (50 ml), adicionou-se $(CH_3)_2SO_4$ (0,217 ml; 2,29 mmol). Manteve-se a mistura reacional em refluxo durante 30 min, sob agitação magnética e atmosfera de azoto. Após este período, deixou-se arrefecer a mistura reacional, removeu-se o K_2CO_3 por filtração e evaporou-se o solvente até à secura. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia em coluna usando uma mistura de diclorometano/éter de petróleo (1:1) como eluente. O composto 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **41** foi obtido por cristalização em etanol.



2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **41**, sólido branco, $\eta = 89\%$, p.f. 115-116 °C (Lit. 107-108 °C).⁷²

RMN de 1H (300 MHz, CD_3COCD_3): δ 14,07 (s, 1H, 2'-OH), δ 6,28 (s, 1H, H-5'), 5,17 (t, 1H, $J = 5,0$ Hz, H-2''), δ 3,99 (s, 3H, 6'-OCH₃), δ 3,96 (s, 3H, 4'-OCH₃), δ 3,24 (d, 2H, $J = 5,0$ Hz, H-1''), δ 2,59 (s, 3H, H-2), δ 1,75 e 1,63 (2s 2 \times CH₃, H-4'') ppm.

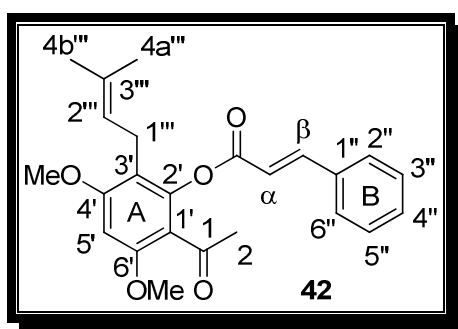
RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3COCD_3): δ 204,0 (C-1), δ 164,4 (C-4'), δ 164,1 (C-2'), δ 163,0 (C-6'), δ 131,0 (C-3''), δ 123,7 (C-2''), δ 109,6 (C-3'), δ 106,3 (C-1'), δ 87,5 (C-5'), δ 56,1 (4',6'-OCH₃), δ 33,2 (C-2), δ 25,8 e 17,7 (C-4''), δ 21,8 (C-1'') ppm.

EM/ESI (m/z %): 265 ($[M+H]^+$, 8), 287 ($[M+Na]^+$, 100).

5.2.3. Síntese de 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **42**

A uma solução do 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **41** (0,150 g; 0,567 mmol) e ácido cinâmico **21** (0,1009 g; 0,681 mmol) em piridina seca (3

ml) adicionou-se POCl_3 (0,016 ml; 1,70 mmol). A mistura reacional esteve sob agitação magnética durante 2 h, a 80 °C e sob atmosfera de azoto. Após este período, deixou-se arrefecer a mistura e verteu-se sobre água (100 ml) e gelo (50 g), acidificou-se com ácido clorídrico diluído até pH 4. O precipitado obtido foi removido por filtração e dissolveu-se com diclorometano. A fase orgânica foi lavada com água (3×50 ml), seca através de sulfato de sódio anidro e evaporou-se o solvente até à secura. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia em coluna usando diclorometano como eluente. O composto 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **42** foi obtido por cristalização em hexano.



2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **42**, sólido branco, $\eta = 59\%$, p.f. 102-103 °C.

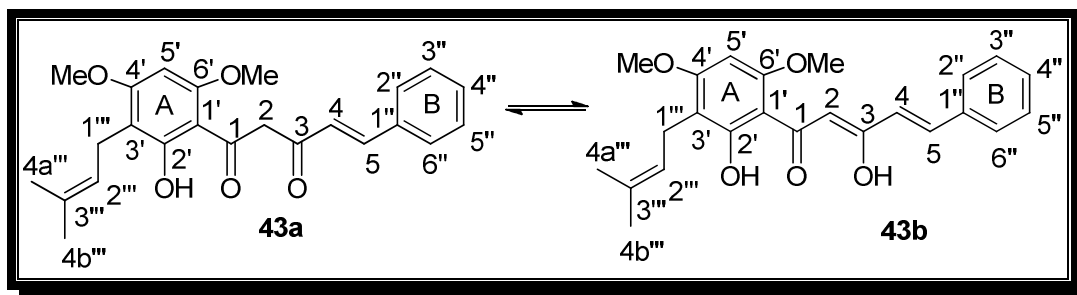
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 7,83 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz, H- β), δ 7,58-7,55 (m, 2H, H-2'',6''), δ 7,41-7,39 (m, 3H, H-3'',4'',5''), δ 6,60 (d, 2H, $J = 16,0$ Hz, H- α), δ 6,39 (s, 1H, H-5'), δ 5,08 (t, 1H, $J = 4,2$ Hz, H-2'''), δ 3,88 (s, 6H, 4',6'- OCH_3), δ 3,20 (d, 2H, $J = 4,2$ Hz, H-1'''), δ 2,49 (s, 3H, H-2), δ 1,66 e 1,62 (2s, 2× CH_3 , H-4''''H) ppm.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 200,2 (C-1), δ 165,1 (C-2'), δ 160,0 (C-4'), δ 157,1 (C-6'), δ 146,7 (C- β), δ 134,1 (C-1''), δ 130,6 (C-4''), δ 128,9 (C-3'',5''), δ 128,3 (C-2''-6''), δ 121,8 (C-3'2), δ 117,0 (C-3'), δ 116,8 (C- α), δ 115,9 (C-1'), δ 92,9 (C-5'), δ 55,9 (4',6'- OCH_3), δ 31,8 (C-2), δ 25, 7 e 17,8 (C-4''''), δ 22,7 (C-2''') ppm.

EM/ESI (m/z %): 395 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 53), 417 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, 73), 433 ($[\text{M}+\text{K}]^+$, 36), 811 ($[\text{2M}+\text{Na}]^+$, 100).

5.2.4. Síntese da 5-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)pent-4-eno-1,3-diona **43a**/ 5-fenil-3-hidroxi-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)penta-2,4-dien-1-ona **43b**

A uma solução de 2'-cinamoíloxi-4',6'-dimetoxi-3'-prenil-acetofenona **42** (0,1326 g, 0,35 mmol) em DMSO (15 ml), adicionou-se KOH em pó (0,094g, 1,68 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética durante 4 h à temperatura ambiente sob atmosfera de azoto. Após este período foi vertida sobre gelo (50 g) e água (100 ml) e acidificou-se com ácido clorídrico diluído até pH 3. O sólido obtido foi removido por filtração e dissolvido em clorofórmio. O resíduo obtido foi lavado com água (3×50 ml) e a fase orgânica seca através de sulfato de sódio anidro e evaporou-se até à secura. A mistura 5-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)pent-4-eno-1,3-diona **43a**/ 5-fenil-3-hidroxi-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)penta-2,4-dien-1-ona **43b** foi obtida por cristalização em etanol.



5-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)pent-4-eno-1,3-diona **43a**/ 5-fenil-3-hidroxi-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)penta-2,4-dien-1-ona **43b**, sólido amarelo, $\eta = 90 \%$, p.f. 139,5-140,5 °C.

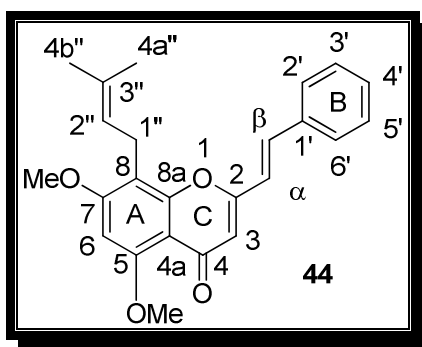
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 14,77 (s, 1H, 3-OH enol), δ 13,64 (s, 1H, 2'-OH cetona) δ 13,41 (s, 1H, 2'-OH enol) δ 7,62-7,54 (m, 2H, H-2'',6''), δ 7,42-7,32 (m, 3H, H-3'',4'',5''), δ 7,57 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz, H- β), δ 6,75 (s, 1H, H-2 enol), δ 6,57 (dd, 1H, $J = 16,0; 1,9$ Hz, H- α), δ 6,00 (s, 1H, H-5'), δ 5,19 (t, 1H, $J = 6,7$ Hz, H-2'''), δ 4,26 (s, 2H, H-2 cetona) δ 3,93 (s, 3H, 6'-OCH₃), δ 3,89 (s, 3H, 4'-OCH₃), δ 3,29 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-1'''), δ 1,78 e 1,67 (2s, 2×CH₃, H-4''') ppm. **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3):** δ 202,5 (C-1), δ 194,4 (C-3 cetona), δ 173,6 (C-3 enol), δ 163,1 (C-2'), 162,8,

(C-6'), δ 160,5 (C-4'), δ 138,1 (C- β), δ 135,4 (C-3'''), δ 131,4 (C-1''), δ 129,6 (C-4'''), δ 129,0 (C-3'',5''), δ 127,8 (C-2'',6''), δ 123,4 (C- α), δ 122,7 (C-2'''), δ 110,3 (C-3'), δ 104,9 (C-1'), δ 103,3 (C-2 enol) δ 88,6 (C-5'), δ 57,1 (C-2 cetona), δ 55,7 (6'-OCH₃), δ 55,5 (4'-OCH₃), δ 25,9 e 17,7 (C-4'''), 21,3 (C-1''') ppm.

EM/ESI (m/z %): 395 ([M+H]⁺, 53), 417 ([M+Na]⁺, 73), 433 ([M+K]⁺, 36), 811 ([2M+Na]⁺, 100).

5.2.5. Síntese (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona 44

A uma mistura de 5-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)pent-4-eno-1,3-diona **43a**/ 5-fenil-3-hidroxi-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-prenilfenil)penta-2,4-dien-1-ona **43b** (0,1193 g; 0,30 mmol) em DMSO (15 ml) adicionou-se ácido *p*-toluenossulfônico mono-hidratado (0,1151 g; 0,60 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética durante 3 h a 100 °C, sob atmosfera de azoto. Após este período, a mistura foi vertida sobre gelo (50 g) e água (100 ml), o sólido obtido foi removido por filtração e dissolvido em diclorometano. A fase orgânica foi lavada com água e seca através de sulfato de sódio anidro, evaporou-se o solvente à securo. O composto (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona **44**, foi cristalizado em etanol.



(*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona **44**, sólido amarelo, η = 90 %, p.f. 216-217 °C.

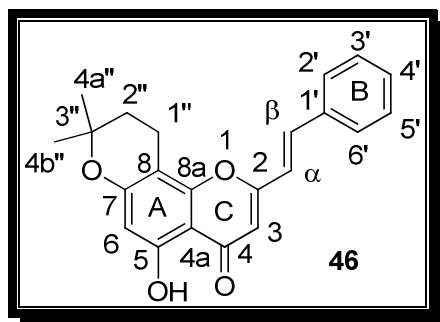
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7,55 (dd, 2H, J = 7,22; 1,7 Hz, H-2',6'), δ 7,50 (d, 1H, J = 15,9 Hz, H- β), δ 7,41-7,36 (m, 3H, H-3',4',5'), δ 6,23 (d, 2H, J = 15,9 Hz, H-

α), δ 6,41 (s, 1H, H-6), δ 6,18 (s, 1H, H-3), δ 5,26 (t, 1H, $J = 4,1$ Hz, H-2''), δ 3,99 (s, 3H, 5-OCH₃), δ 3,96 (s, 3H, 7-OCH₃), δ 3,57 (d, 2H, $J = 4,1$ Hz, H-1''), δ 1,87 e 1,71 (2s, 2 \times CH₃, H-4'') ppm. **RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃):** δ 178,3 (C-4), δ 161,2 (C-7), δ 159,3 (C-5), δ 159,1 (C-2), δ 156,2 (C-8a), 135,8 (C- β), δ 135,3 (C-1'), δ 132,0 (C-3''), δ 129,5 (C-4'), δ 129,0 (C-3',5'), δ 127,5 (C-2',6'), δ 122,4 (C-2''), δ 120,5 (C- α), δ 111,7 (C-3), δ 109,9 (C-8) δ 109,1 (C-4a), δ 91,5 (C-6), δ 56,4 (5-OCH₃), δ 55,8 (7-OCH₃), δ 25,8 e 18,1 (C-4''), δ 22,0 (C-1'') ppm.

EM/ESI (m/z %): 377 ([M+H]⁺, 100).

5.2.6. Síntese da (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-dihidropirano[2,3-*h*]cromona 46

Uma solução de (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona 44 (0,976 g; 0,25 mmol) em diclorometano recentemente destilado (20 ml), foi arrefecida até -78 °C (num banho criostático de 2-propanol). Adicionou-se uma solução de tribrometo de boro em diclorometano (1,3 ml; 1,29 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética durante 11 dias à temperatura ambiente, sob atmosfera de azoto. Após este período adicionou-se água (40 ml) e deixou-se em agitação vigorosa até se formar um óleo. Este foi extraído com diclorometano (3 \times 50 ml) e lavado com água (3 \times 50 ml). A fase orgânica foi seca através de sulfato de sódio anidro e evaporou-se o solvente à securo. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia em coluna usando diclorometano como eluente. O composto (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-dihidropirano[2,3-*h*]cromona 46 foi cristalizado em etanol.



(E)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-di-hidropirano[2,3-*h*]cromona 46, sólido amarelo, $\eta = 17 \%$, p.f. 164-166 °C

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 12,48 (s, 1H, 5-OH), δ 7,54 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz, H- β), δ 7,61-7,57 (m, 2H, H-2',6'), δ 7,43-7,41 (m, 3H, H-3',4',5'), δ 6,78 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz, H- α), δ 6,25 (s, 1H, H-6), δ 6,20 (s, 1H, H-3), δ 2,91 (t, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-2''), δ 1,91 (s, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-1''), δ 1,40 (s, 2 \times CH₃, H-4'') ppm. **RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3):** δ 182,5 (C-4), δ 169,3 (C-7), 163,1 (C-5), δ 161,5 (C-2), δ 159,7 (C-8a), δ 136,8 (C- β), δ 134,9 (C-1'), δ 129,9 (C-4'), δ 129,0 (C-3',5'), δ 127,7 (C-2',6'), δ 120,1 (C- α), δ 114,6 (C-4a), δ 109,1 (C-3), δ 100,3 (C-6), δ 99,6 (C-8), δ 76,0 (C-3''), δ 31,7 (C-1''), δ 26,7 (C-4''), δ 16,3 (C-2'') ppm.

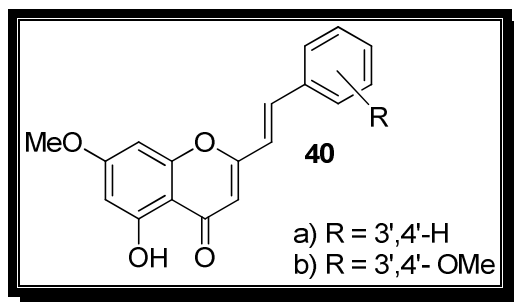
EMAR/ESI m/z %: C₂₂H₂₁O₄, esperado 349,14344 [M+H]⁺, obtido 349,14342.

5.2.7. Síntese das polimetoxi-2-estirilcromonas

A síntese dos compostos **52**, **54**, **55** e **56** foi feita segundo descrito na literatura e as suas propriedades físico-químicas estão de acordo com o que está reportado.^{31,79}

5.2.8. Síntese das (E)-5-hidroxipolimetoxi-2-estirilcromonas **40**

A uma solução de (E)-polimetoxi-2-estirilcromona **56a** e **56b** (6,5 mmol) em acetonitrilo em refluxo, adicionou-se AlCl₃ (65 mmol). A mistura permaneceu em agitação magnética e em atmosfera de azoto durante 3 h. Após este período adicionou-se um solução diluída de HCl a 18% (10 ml) e deixou-se em agitação em refluxo durante 21 h. Para terminar a reação adicionou-se água (100 ml) e gelo (50g) e agitou-se vigorosamente até à formação de um precipitado que foi filtrado e dissolvido em clorofórmio. O resíduo obtido foi recristalizado em etanol, obtendo-se a (E)-5-hidroxi-7-metoxi-2-estirilcromona **40a** e a (E)-5-hidroxi-3',4',7-trimetoxi-2-estirilcromona **40b**.



(E)-5-hidroxi-7-metoxi-2-estirilcromona 40a, sólido amarelo, $\eta = 35 \%$, p.f. 184-185 °C

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 12,76 (s, 1H, 5-OH), δ 7,59 (d, 1H, $J = 16,1$ Hz, H- β), δ 7,61-7,57 (m, 2H, H-2',4'), δ 7,43-7,38 (m, 3H, H-3',4',5'), δ 6,75 (d, 1H, $J = 16,1$ Hz, H- α), δ 6,49 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz, H-8), δ 6,36 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz, H-6), δ 6,19 (s, 1H, H-3), 3,89 (s, 3H, 7-OCH₃) ppm.

(E)-5-hidroxi-3',4',7-trimetoxi-2-estirilcromona 40b, sólido amarelo, $\eta = 90 \%$, p.f. 168-169 °C

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 12,81 (s, 1H, 5-OH), δ 7,53 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, H- β), δ 7,16 (dd, 1H, $J = 8,3$ e $1,9$ Hz, H-6'), δ 7,09 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-2'), δ 6,91 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz, H-5'), δ 6,60 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, H- α), δ 6,47 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, H-8), δ 6,35 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, H-6), δ 6,16 (s, 1H, H-3), δ 3,96 (s, 3H, 7-OCH₃), δ 3,94 (s, 3H, 4'-OCH₃), δ 3,86 (s, 3H, 3'-OCH₃) ppm.

CAPÍTULO VI

Conclusões e trabalho futuro

6. Conclusões e trabalho futuro

Estudou-se o método de síntese de (*E*)-2-estirilcromonas *C*-preniladas através da *C*-prenilação da floroacetofenona **34** e posterior construção do núcleo 2-estirilcromona segundo o método de Baker-Venkataraman. Na *C*-prenilação da floroacetofenona e posterior construção do núcleo (*E*)-2-estirilcromona foram encontradas condições de síntese dos vários intermediários que permitiram obtê-los em bons rendimentos com exceção dos passos de síntese onde ocorre a *C*-prenilação direta da floroacetofenona **34** e clivagem dos grupos metoxilo da (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona **44**, tendo sido os rendimentos obtidos para estes dois passos de síntese moderados a baixos. É de salientar que no processo de clivagem dos grupos metilos, o grupo prenilo sofreu ataque do grupo 7-hidroxilo dando origem a um anel dimetilpirano fundido ao núcleo cromona. Não se obteve a pretendida (*E*)-5,7-di-hidroxi-8-prenil-2-estirilcromona **45** mas sim a (*E*)-2-estiril-5-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-di-hidropirano[2,3-*h*]cromona **46**.

O outro objetivo deste trabalho, a prenilação do núcleo (*E*)-2-estirilcromona **7**, não foi atingido uma vez que, e apesar de se ter obtido o núcleo (*E*)-2-estirilcromona **7** em bons rendimentos seguindo condições de síntese já descritas na literatura^{29,77} não foi possível obter a (*E*)-2-estirilcromona *O*-prenilada **59** utilizando as condições reacionais estudadas neste trabalho.

Como trabalho futuro no âmbito deste projeto, está naturalmente a otimização dos passos reacionais da *C*-prenilação direta da floroacetofenona **34** e de clivagem dos grupos metilo da (*E*)-5,7-dimetoxi-8-prenil-2-estirilcromona **44**. A utilização de outras condições reacionais de modo a se obter (*E*)-2-estirilcromona *O*-prenilada **59**, nomeadamente o uso de bases mais fortes que não foram testadas neste trabalho, deverá igualmente merecer especial atenção.

Devido à potencial atividade antioxidante e anti-inflamatória das (*E*)-2-estirilcromona *C*-preniladas é também objetivo futuro realizar estudos de avaliação destas atividades para os compostos obtidos desta família.

CAPÍTULO VII

Bibliografía

7. Bibliografia

- [1] Martínez-Flores, S.; Gonzaález-Gallego, J.; Cullebra, J. M.; Tuñon, M. J.; *Nutr. Hosp.*, **2002**, 17, 271.
- [2] Dixon, R. A.; *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **2004**, 55, 225.
- [3] Dixon, R. A.; Paiva, N. L.; *Plant. Cell*, **1995**, 7, 1085.
- [4] Yedidia, I.; Shores, M.; Kerem, Z.; Benhamou, N.; *Appl. Environ. Microbiol.*, **2003**, 69, 7343.
- [5] Ververidis, F.; Trantas, E.; Douglas, C.; Vollmer, G.; Kretschmar, G.; Panopoulos, N.; *Biotechnol. J.*, **2007**, 2, 1214.
- [6] Maras, J.; Devours, B.; Dixon, R.; Ferreira, D.; “*The Science of Flavonoids*”, Springer, New York, **2006**.
- [7] Dhar, D. N.; “*The Chemistry of Chalcones and Related Compounds*”, John Wiley & Sons, New York, **1981**.
- [8] Bohm, B. A.; “*The Flavonoids – Advances in Research Since 1986*”, Ed. J. B. Harbone, Chapman & Hall, London, **1994**.
- [9] Rigandy, J.; Kleny S. P.; “*Nomenclature of Organic Chemistry – IUPAC*”, Pergamon Press, Oxford, **1979**.
- [10] Andersen, Ø, M.; Markham, K. R.; “*Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications*”, Taylor & Francis Ltd, London, **2006**.
- [11] Harbone, J. B.; “*The Flavonoids*” Ed. J. B. Harbone, Chapman & Hall, London, **1975**.
- [12] Harbone, J. B.; “*Secondary Plant Products*” Ed. E. A. Bell & B. V. Verlag, Springer-Verlag, New York, **1980**.
- [13] Harbone, J. B.; Williams, C. A. *Phytochemistry*, **2000**, 55, 481.
- [14] Middleton Jr., E.; Kandaswami, C.; Theoharides, T. C.; *Pharmacol. Rev.* **2000**, 52, 673.
- [15] Arai, M. A.; Sato, M.; Sawada, K.; Hosoya, T.; Ishibashi, M.; *Chem. Asian J.*, **2008**, 3, 2056.
- [16] Santos, C. M. M.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2009**, 16, 2642.
- [17] Seixas, R. S. G. R.; Pinto, D. C. G. A.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; *Aust. J. Chemistry*, **2008**, 61, 718.

- [18] Santos, C. M. M.; Silva, A. M. S.; Filipe, P.; Santus, R.; Patterson, L. K.; Mazière, J. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Morlière, P.; *Org. Biomol. Chem.*, **2011**, 9, 3965.
- [19] Filipe, P.; Silva, A. M. S.; Seixas, R. S. G. R.; Pinto, D. C. G. A.; Santos, A.; Patterson, L. K.; Silva, J. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Freitas, J. P.; Mazière, J. C.; Santus, R.; Morlière, P.; *Biochem. Pharmacol.*, **2009**, 77, 957.
- [20] Reddy, A. M.; Reddy, V. S.; Scheffler, B. E.; Wienand, U.; *Metab. Eng.*, **2007**, 9, 95.
- [21] Williams, R. J.; Spencer, J. P.; Rice-Evans, C.; *Free Rad. Biol. Med.*, **2004**, 36, 838.
- [22] Potapovich, A. I.; Kostyuk, V. A.; *Biochem.*, **2003**, 68, 514.
- [23] Seyoum, A.; Asres, K.; El-Fiky, F. K.; *Phytochemistry.*, **2006**, 67, 2058.
- [24] Kehrer, J. P.; *Crit. Rev. Toxicol.*, **1993**, 23, 21.
- [25] Proudfoot, J. M.; Croft, K. D.; Puddey, I.; B.; Beilin, L. J.; *Free Radic. Biol. Med.*, **1997**, 23, 720.
- [26] Brod, S. A.; *Inflamm. Res.*, **2000**, 49, 561.
- [27] O'Byrne, K. J.; Dalgeish, A. G.; *Br. J. Cancer*, **2001**, 85, 473.
- [28] Gomes, A.; Fernandes, E.; Lima, J. L.; Mira, L.; Corvo, M. L.; *Curr. Med. Chem.*, **2008**, 15, 1586.
- [29] Gerwick, W. H.; Lopez, A.; Van Dyne, G. D.; Clardy, J.; Ortiz, W.; Baez, A.; *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 1979.
- [30] Gerwick, W. H.; *J. Nat. Prod.*, **1989**, 52, 252.
- [31] Pinto, D. C. G. A.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; *New J. Chem.* **2000**, 24, 85.
- [32] Yoon, Y. S.; Lee, M. K.; Sung, S. H.; Kim, Y. C.; *J. Nat. Prod.*, **2006**, 69, 290.
- [33] Brion, D.; Le Baut, G.; Zammattio, F.; Pierre, A.; Atassi, G.; Belachim, L.; European Patent Application EP 454,587, **1991**, *Chem. Abst.*, **116**, 106092k.
- [34] Price, W. A.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; *Heterocycles*, **1993**, 36, 2601.
- [35] Peixoto, F.; Barros, A. I. R. N. A.; Silva, A. M. S.; *J. Biochem. & Mol. Toxicol.*, **2002**, 16, 220.
- [36] Desideri, N.; Conti, C.; Mastromarino, P.; Mastropaolo, F.; *Antiviral Chem. & Chemother.* **2000**, 11, 373.
- [37] Filipe, P.; Silva, A. M. S.; Morlière, P.; Brito, C. M.; Patterson, L. K.; Hug, G. L.; Silva, J. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Mazière, J. C.; Freitas, J. P.; Santus, R.; *Biochem. Pharmacol.*, **2004**, 67, 2207.

- [38] Fernandes, E.; Carvalho, F.; Silva, A. M. S.; Santos, C. M. M.; Pinto, D. C. G. A.; Cavaleiro, J. A. S.; Bastos, M. L.; *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **2002**, 17, 45.
- [39] Gomes, A.; Neuwirth, O.; Freitas, M.; Couto, D.; Ribeiro, D.; Figueiredo, A. G. P. R.; Silva, A. M. S.; Seixas, R. S. G. R.; Pinto, D. C. G. A.; Tomé, A. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Fernandes, E.; Lima, J. L. F. C.; *Bioorg. Med Chem*, **2009**, 17, 7218.
- [40] Gomes, A.; Fernandes, E.; Silva, A. M. S.; Santos, C. M. M.; Pinto, D. C. G. A.; Cavaleiro, J. A. S.; Lima, J. L.; *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, 15, 6027.
- [41] Gomes, A.; Fernandes, E.; Silva, A. M. S.; Pinto, D. C. G. A.; Santos, C. M. M.; Cavaleiro, J. A. S.; Lima, J. L.; *Biochem. Pharmacol.*, **2009**, 78, 171.
- [42] Silva, A. M. S.; Pinto, D. C. G. A.; Cavaleiro, J. A. S.; Lévai, A.; Patonay, T.; *ARKIVOC* **2004**, vii, 106.
- [43] Allan, J.; Robinson, R.; *J. Chem Soc.*, **1924**, 125, 2192.
- [44] Hercouet, A.; Le Corre, M.; Le Floc'h, Y.; *Synthesis*, **1982**, 597.
- [45] Dao, T. T.; Oh, J. W.; Chi, Y. S.; Kim, H. P.; Sin, K. S.; Park, H.; *Arch. Pharm. Res.*, **2003**, 26, 581.
- [46] Shimidzu, K.; Kondo, R.; Sakai, K.; Buabarn, S.; Dilok-Kunanant, U.; *Phytochemistry*, **2000**, 54, 737.
- [47] Haraguchi, H.; Ishikawa, H.; Mizutani, K.; Tamura, Y.; Kinoshita, T.; *Bioorg. Med. Chem.*, **1998**, 6,339.
- [48] Hsieh, H. K.; Lee, T. H.; Wang, J. J.; Lin, C. N.; *Pharm. Res.*, **1998**, 15, 39.
- [49] Jayasinghe, L.; Balasooriya, B. A. I. S.; Padmini, W. C.; Hara, N.; Fujimoto, Y.; *Phytochemistry*, **2004**, 65, 1287.
- [50] Yin, S.; Fan, C. Q.; Wang, Y.; Dong, L.; Yue, J. M.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, 12, 4387.
- [51] Enoki, T.; Ohnogi, H.; Nagamine, K.; Kudo, Y.; Sugiyama, K.; Tanabe, M.; Kobayashi, E.; Sagawa, H.; Kato, I.; *J. Agric. Food Chem.*, **2007**, 55, 6013.
- [52] Stevens, J. F.; Ivancic, M.; Hsu, V. L.; Deinzer, M. L.; *Phytochemistry*, **1997**, 44, 1575.
- [53] Miranda, C. L.; Stevens, J. F.; Ivanov, V.; McCall, M.; Frei, B.; Deinzer, M. L.; Buhler, D. R.; *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, 48, 3876.
- [54] Boumendjel, A.; Di Pietro, A.; Dumontet, C.; Barron, D.; *Med. Res. Rev.*, **2002**, 22, 512.
- [55] Kijjoa, A.; Cidade, H.; Pinto, M.; Gonzalez, M.; Anantachoke, C.; Gedris, T.; *Phytochemistry*, **1996**, 43, 691.

- [56] Miranda, C. L.; Stevens, J. F.; Helmrich, A.; Henderson, M. C.; Rodriguez, R. J.; Yang, Y. H.; Deinzer, M. L.; Barnes, D. W.; Buhler, D. R.; *Food Chem. Toxicol.*, **1999**, 37, 271.
- [57] Miranda C. L.; Alponso, G. L. M.; Stevens, J. F.; Deinzer, M. L.; Buhler, D. R.; *Cancer Lett.*, **2000**, 149, 21.
- [58] Stevens, J. F.; Taylor, A. W.; Deinzer, M. L.; *J. Chromatogr.*, **1999**, 832, 97.
- [59] Vinson, J. A.; Jang, J.; Yang, J.; Dabbagh, Y. A.; Liang, X.; Serry, M.; Proch, J.; Cai, S.; *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, 47, 2502.
- [60] Afanas'ev, I. B.; Dorozkho, A. I.; Brodskii, A. V.; Kostyuk, V. A.; Potapovitch, A. I.; *Biochem. Pharmacol.*, **1989**, 38, 1763.
- [61] Rodriguez, R. J.; Miranda, C. L.; Kingkeohoi, S.; Stevens, J. F.; Deinzer, M. L.; Buhler, D. R.; *Toxicologist*, **1999**, 48, 923.
- [62] Kimura, Y.; Okuda, H.; Nomura, T.; Fukai, T.; Arichi, S.; *Chem. Pharm. Bull*, **1986**, 34, 1223.
- [63] Yeon, S. C.; Hyon, G. J.; Kun, H. S.; Hyeon, W. C.; Sam, S. K.; Hyun, P. K.; *Biochem. Pharmacol.*, **2001**, 62, 1185.
- [64] Claisen, L.; *Chem. Ber.*, **1912**, 45, 3157.
- [65] Nowicki, J.; *Molecules*, **2000**, 5, 1033.
- [66] Doering, W. V. E.; Roth, W. R.; *Tetrahedron*, **1962**, 18, 67.
- [67] Frater, G.; Habich, A.; Hansen, H. J.; Schmid, H.; *Helv. Chim. Acta*, **1969**, 52, 335.
- [68] Hansen, H. J.; Schmidt, J.; *Tetrahedron Lett.*, **1974**, 30, 1959.
- [69] Ziegler, F. E.; *Acc. Chem. Res.*, **1977**, 10, 227.
- [70] Gester, S.; Metz, P.; Zierau, O.; Vollmer, G.; *Tetrahedron*, **2001**, 57, 1015.
- [71] Mitsunobu, O.; *Synthesis*, **1981**, 1.
- [72] Lee, Y. R.; Li, X.; Lee, S. W.; Yong, C. S.; Hwang, M.; Lyoo, W. S.; *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2008**, 29, 1205.
- [73] Zyl, J. J. V.; Rall, G. J. H.; Roux, D. G.; *J. Chem. Res. (S)*, **1979**, 97.
- [74] Bu, X.; Zhao, L.; Li, Y.; *Synthesis* **1997**, 11, 1246.
- [75] Barron, D.; Jolivet, S.; Crouzet, J-M.; Mariotte, A-M.; *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33, 7137.
- [76] Kocienski, P.J.; "Protecting Groups", Thieme, New York, **2005**.
- [77] Santos, C. M. M.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; *Synlett.*, **2007**, 3113.
- [78] Rocha-Pereira, J.; Cunha, R.; Pinto, D. C. G. A.; Silva, A. M. S.; Nascimento, M. S. J.; *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, 18, 4195.

[79] Pinto, D. C. G. A.; Silva, A. M. S.; Almeida, L. M. P. M.; Cavaleiro, J. A. S.; Lévai, A.; Patonay, T.; *J. Heterocycl Chem.*, **1998**, 35, 217.