



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

Estudio de la reactividad de la quercetina

Alumno: Enrique Gámez Herrera

Julio, 2014



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de ciencias experimentales

GRADO EN QUÍMICA
Trabajo Fin de Grado

Estudio de la Reactividad de la quercetina

Alumno: Enrique Gámez Herrera
Firma:

Julio, 2014

ÍNDICE

1. ABSTRACT	1
2. INTRODUCCIÓN	1
3. OBJETIVOS	4
4. ANTECEDENTES	5
4.1 Reacciones de protección de los hidroxilos fenólicos	5
4.1.1 Metilación	5
4.1.2. Bencilación	7
4.1.3. Acetilación	7
4.2. Reacciones de reducción de quercetina	8
5. MATERIAL Y MÉTODOS.....	11
5.1. Generalidades e instrumentación	11
5.1.1. Técnicas cromatográficas.....	12
5.1.2. Técnicas analíticas y espectroscópicas.....	12
5.1.3. Disolventes y reactivos	13
5.2. Protección de los grupos hidroxilo presentes en quercetina (1)	14
5.2.1. Metilación de quercetina (1)	14
5.2.2. Bencilación de quercetina (1)	17
5.3. Hidrogenación de quercetina (1) y 3,5,7,3',4'-penta-O-bencilquercetina (3).....	20
5.3.1 Hidrogenación de quercetina (1)	21
5.3.2. Hidrogenación de ,5,7,3',4'-penta-O-bencilquercetina (3)	23
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
6.1. Protección de los grupos hidroxilo presentes en quercetina (1)	26
6.1.1. Metilación de quercetina (1)	26
6.1.2. Bencilación de quercetina.....	28
6.2. Hidrogenación de quercetina (1) y 3,5,7,3',4'-penta-O-bencilquercetina (3).....	31
6.2.1. Hidrogenación de quercetina (1)	31
6.2.2. Hidrogenación de 3,5,7,3',4'-penta-O-bencilquercetina (3)	38
7. CONCLUSIONES.....	38
8. BIBLIOGRAFÍA.....	39
9. ANEXOS	41

1. ABSTRACT

The polyphenol compound named quercetin (**1**) (2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4*H*-chromen-4-one) is a secondary plant metabolite of the flavonoids family, which is present in a wide variety of food, and especially in fruit and vegetables. Due to the high scientific and commercial value of quercetin and quercetin derivatives, in this work the study of quercetin reactivity, with reactions of protection for hydroxyl group and reduction of the C ring, has been developed. Three quercetin derivatives have been synthesized using methylation and benzylation reactions: 3,7,3',4'-tetra-*O*-methylquercetin (**2**), 3,5,7,3',4'-penta-*O*-benzylquercetin (**3**), and 3,7,3',4'-tetra-*O*-benzylquercetin (**4**). The reduction of quercetin and quercetin derivatives with H₂ and palladium catalysts have been carried out, the dimeric compound **6** being isolated and characterized by ¹H-NMR, ¹³C-NMR and 2D-NMR. A proposed mechanism for the synthesis of **6** is shown.

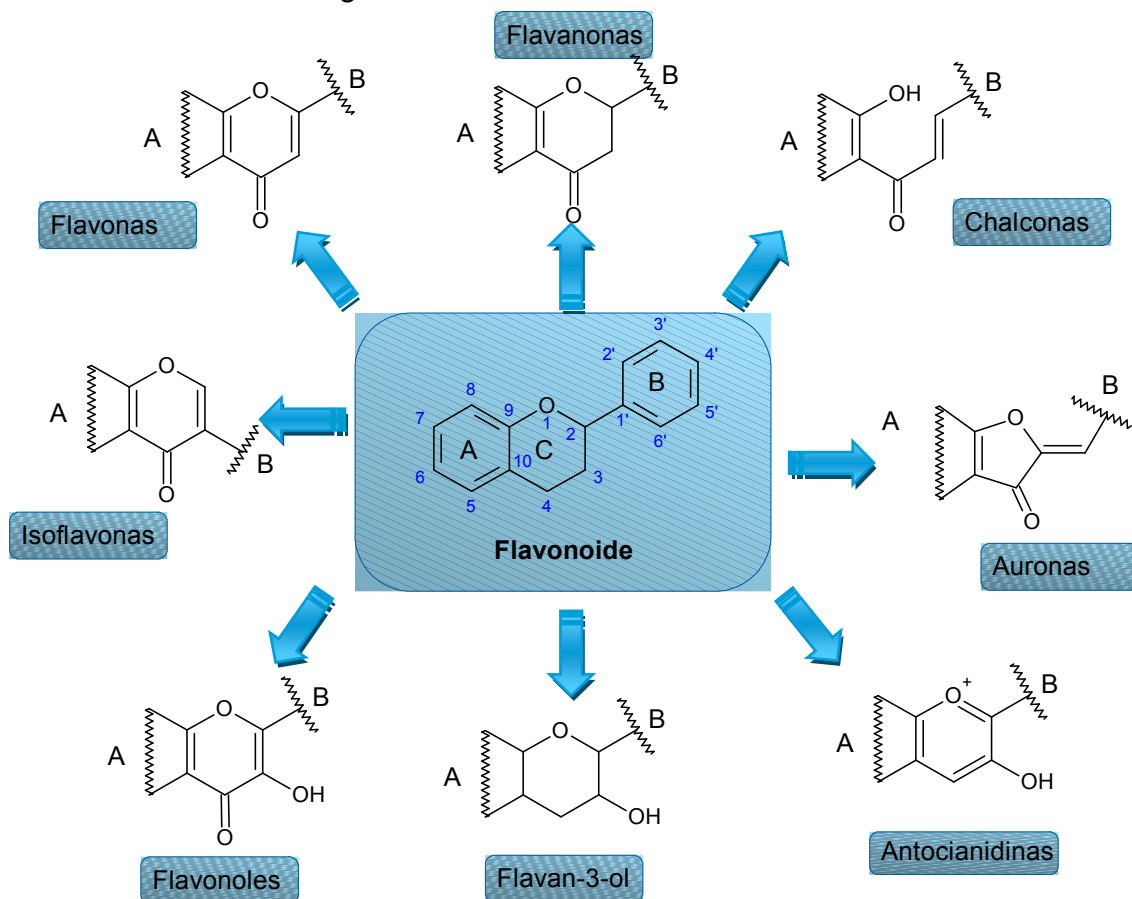
El compuesto polifenólico conocido como quercetina (**1**) (2-(3,4-dihidroxifenil)-3,5,7-trihidroxi-4*H*-cromen-4-ona) es un metabolito secundario que se ha identificado en plantas y numerosos alimentos, especialmente en frutas y verduras, el cual pertenece a la familia de productos naturales denominada flavonoides. Dado el interés científico y comercial de la quercetina y sus derivados, en este Trabajo Fin de Grado se aborda el estudio de la reactividad de quercetina, llevándose a cabo, en concreto, reacciones de protección de los hidroxilos fenólicos y reacciones de reducción en el anillo C. Se han preparado tres derivados de quercetina: 3,7,3',4'-tetra-*O*-metilquercetina (**2**), 3,5,7,3',4'-penta-*O*-bencilquercetina (**3**) y 3,7,3',4'-tetra-*O*-bencilquercetina (**4**), mediante reacciones de metilación y bencilación. En las reacciones de reducción de **1** con H₂ y catalizadores de Pd se obtuvo y caracterizó mediante RMN-¹H, RMN-¹³C y RMN-2D un dímero (**6**), para el que se propone un posible mecanismo de formación.

2. INTRODUCCIÓN

El compuesto polifenólico conocido como quercetina (2-(3,4-dihidroxifenil)-3,5,7-trihidroxi-4*H*-cromen-4-ona) es un producto natural que se ha identificado en numerosos alimentos, especialmente frutas y verduras (Bouktaibet *et al.*, 2002) y plantas como *Sophorajaponica* (Zhou *et al.*, 2010) y pertenece a la familia de

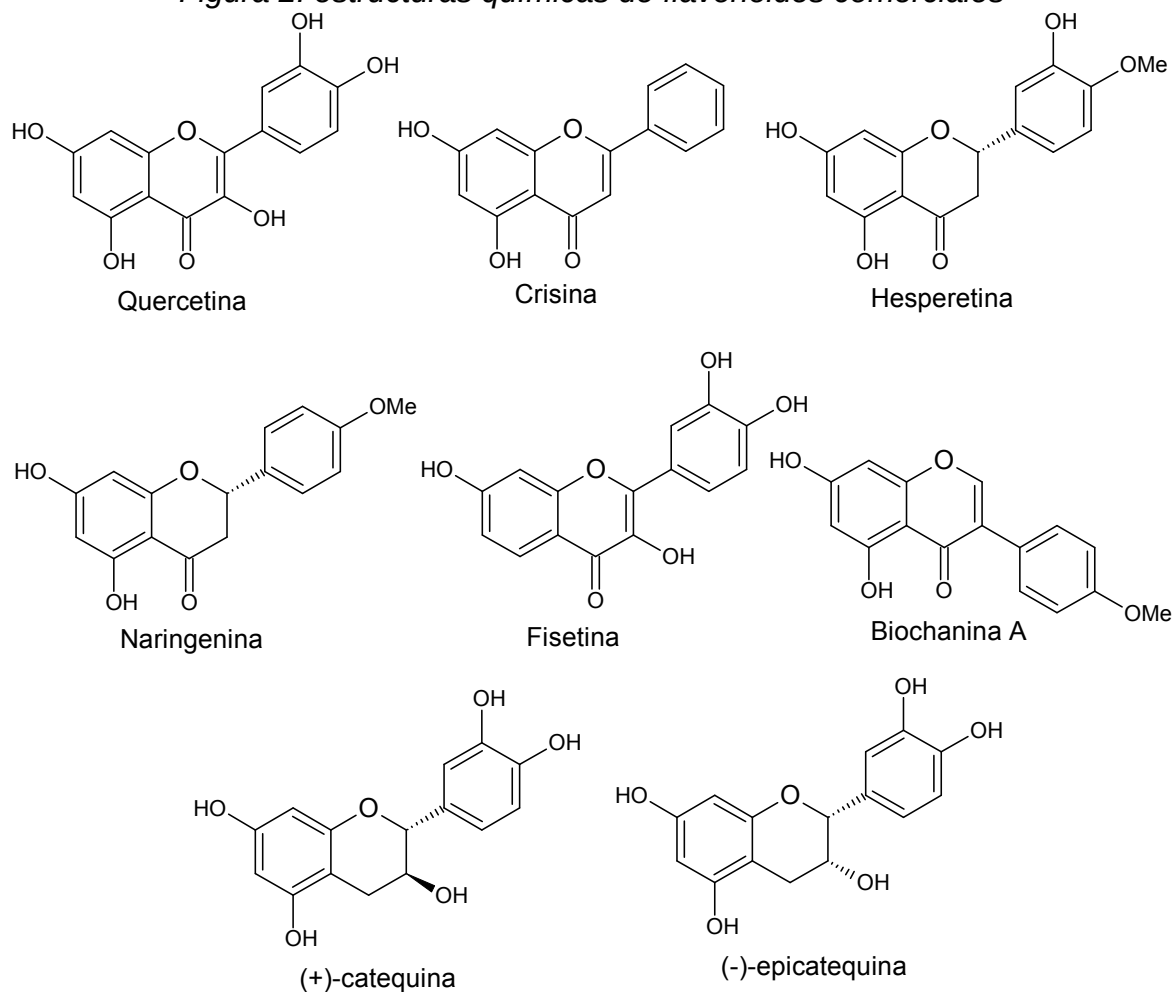
productos naturales denominada flavonoides. La estructura química de los flavonoides está basada en un esqueleto carbonado, $C_6-C_3-C_6$, compuesto por dos anillos aromáticos (A y B) unidos por un fragmento de tres carbonos (Gil-Ruiz, 2002) (figura 1)

Figura 1: clasificación de flavonoides



La molécula de quercetina es un flavonol que posee, además del grupo hidroxilo en la posición 3, típico de los flavonoles, cuatro grupos hidroxilo adicionales, en las posiciones 5, 7, 3' y 4', que le confieren polaridad al compuesto. La presencia de un grupo carbonilo α - β -insaturado en el anillo C resulta de interés en el estudio de reacciones de adición y reducción sobre este sistema. Esta molécula es bastante asequible desde el punto de vista económico (35,80 €/10 g, Sigma Aldrich, 2014) frente a otros flavonoides cuyo precio puede ser diez veces superior. Por lo tanto, resulta de interés poder optimizar procesos de transformación de quercetina en otros derivados estructuralmente relacionados, tratando así de abrir la posibilidad de su comercialización y de ampliar los estudios biológicos llevados a cabo con estas moléculas.

Figura 2: estructuras químicas de flavonoides comerciales



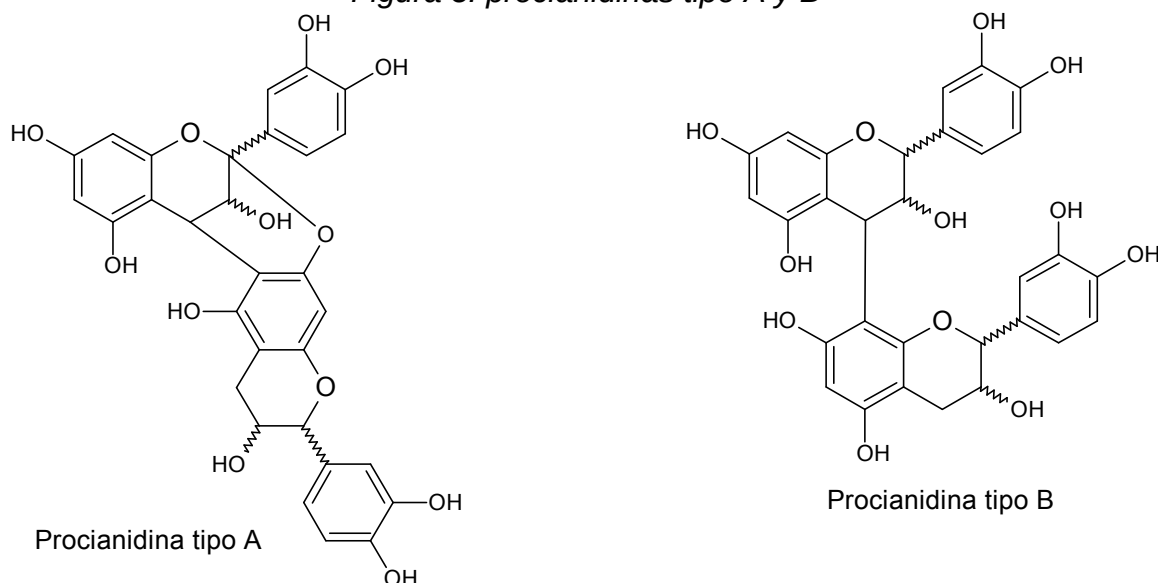
Además del interés económico, hay que tener en cuenta las numerosas actividades biológicas descritas para diferentes flavonoides, como anti-cancerígena, anti-carcinogénica, antibacteriana, antiinflamatoria y antialérgica, entre otras (Zhou *et al.*, 2010). Recientemente, se ha demostrado una importante actividad inhibitoria de la enzima *Helicobacter pylori* ureasa en compuestos de reducción de quercetina (ver apartado *Antecedentes*) (Xiao *et al.*, 2013).

Siguiendo con el interés biológico de los flavonoides y sus derivados, se ha demostrado que 7,8-benzoflavona es un potente inhibidor de la proteína BCRP (Breast Cancer Resistance Protein), también conocida como ABCG2. Esta proteína se ha comprobado que es una de las causas de la resistencia de células tumorales, por lo que la investigación y desarrollo de moléculas relacionadas estructuralmente con la 7,8-benzoflavona puede ser de interés en los tratamientos contra el cáncer.

Por último, comentar que el grupo de investigación en que se lleva a cabo este TFG está interesado en desarrollar métodos de síntesis de oligómeros de flavan-3-ol,

denominados procianidinas, de tipo A y B (figura 3) y el estudio de la reactividad de quercetina podría contribuir a esta investigación.

Figura 3: procianidinas tipo A y B



Dado el interés científico y comercial de los compuestos derivados de quercetina, en este Trabajo Fin de Grado (TFG) se aborda el estudio de la reactividad de quercetina, llevándose a cabo, en concreto, reacciones de protección de los hidroxilos fenólicos y reacciones de reducción en el anillo C. En la presente memoria del TFG, después de esta breve introducción al tema de estudio y de exponer los objetivos a conseguir, se recoge, en el apartado de “Antecedentes”, una revisión bibliográfica de protección de los grupos hidroxilo presentes en quercetina y reacciones de reducción. Posteriormente se describe en el apartado de “Material y métodos” la manera de operar y toda la experimentación llevada a cabo. En el apartado “Resultados y discusión” se comentan los resultados a los que se ha llegado a través de la experimentación. A continuación, en el apartado “Conclusiones” se sintetizan los resultados obtenidos. Por último, en los apartados “Bibliografía” y “Anexos” se relacionan los artículos y trabajos científicos consultados y los espectros generados durante la realización de este TFG, respectivamente.

3. OBJETIVOS

El objetivo general del presente TFG ya ha quedado recogido en el apartado anterior y consiste en estudiar la reactividad de quercetina en reacciones de protección de los hidroxilos fenólicos y reacciones de reducción en el anillo C. Para alcanzar este

objetivo, se ha organizado el trabajo procurando cubrir los siguientes objetivos específicos:

- I. Realizar una revisión bibliográfica acerca de la reactividad de quercetina.
- II. Purificar mediante destilación los disolventes necesarios para realizar las transformaciones químicas.
- III. Llevar a cabo reacciones de protección de grupos hidroxilo y reacciones de hidrogenación a partir de quercetina
- IV. Analizar mediante las técnicas de HPLC y CCF los crudos de reacción para controlar la evolución de las reacciones y conocer el número de productos que se forman.
- V. Purificar los productos de reacción mediante cromatografía en columna.
- VI. Determinar la estructura química de las moléculas sintetizadas mediante el empleo de técnicas espectroscópicas usuales en Química Orgánica.

4. ANTECEDENTES

De acuerdo con los objetivos específicos que se han planteado para este TFG, ha sido necesario llevar a cabo, en primer lugar, una revisión bibliográfica sobre los dos tipos de reacciones que se van a desarrollar en el laboratorio: reacciones de protección de los hidroxilos fenólicos y reacciones de reducción en el anillo C del flavonoide denominado quercetina.

4.1. Reacciones de protección de los hidroxilos fenólicos

La mayoría de las transformaciones realizadas sobre flavonoides son poco compatibles con funciones fenólicas libres. Otras propiedades de los funciones fenólicas libres, como su difícil extracción, hacen que se encuentren problemas para manejarlos. Por estas razones, la protección de las funciones fenólicas antes de realizar el resto de transformaciones sintéticas es un paso imprescindible. Las formas más comunes de protección de estas funciones son mediante metilación, bencilación o acetilación de estas funciones fenólicas (Sharma *et al.*, 2007).

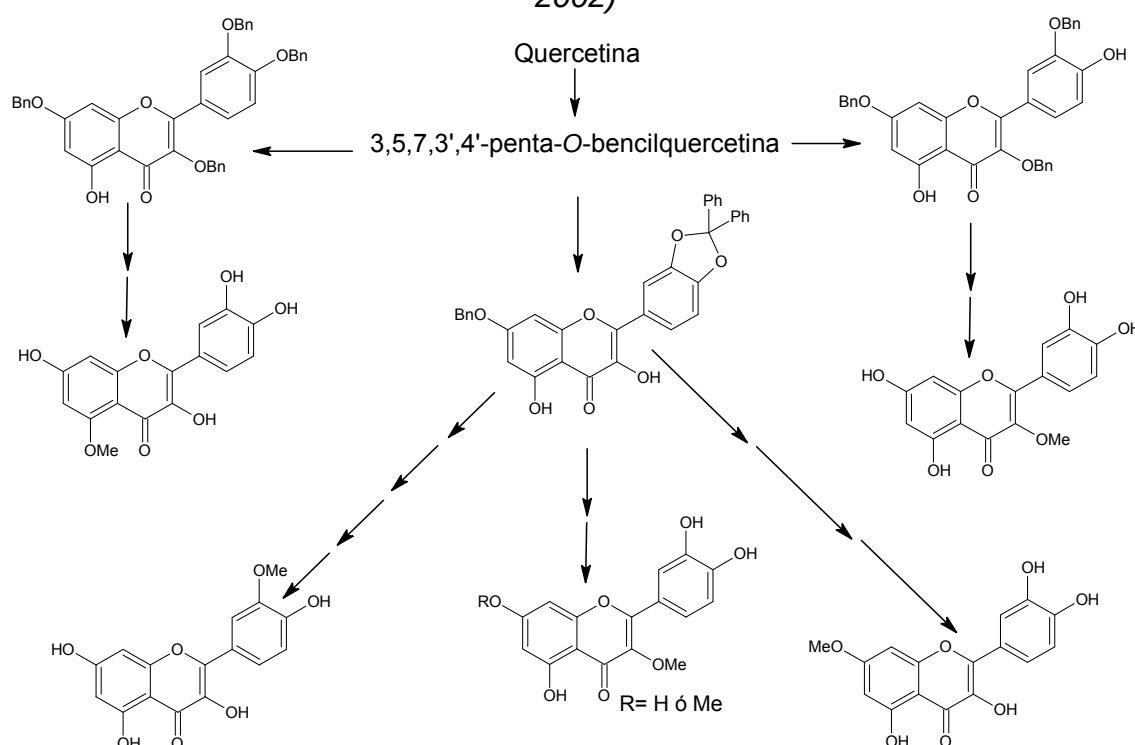
4.1.1. Metilación

La reacción de metilación de quercetina recogida en bibliografía aborda dos objetivos diferentes, uno de ellos es el descrito con anterioridad, la obtención de

quercetina con los cinco hidroxilos protegidos (3,5,7,3',4'-penta-O-metilquercetina), y un segundo objetivo es conseguir la síntesis de diferentes derivados de quercetina parcialmente metilados, de acuerdo con el interés despertado hacia estos compuestos, debido a las importantes actividades biológicas que han presentado. Por ejemplo, 3-O-metilquercetina posee actividad antiviral, antiinflamatoria y antioxidante mientras que 5-O-metilquercetina (azaleatina) se emplea para aliviar la tos acompañada de mucosidad y los trastornos cardiovasculares (Zhou *et al.*, 2010). Para la síntesis de 3,5,7,3',4'-penta-O-metilquercetina, recientemente se ha descrito un procedimiento que emplea yoduro de metilo como reactivo electrofílico y carbonato potásico como base para generar el fenóxido, con un rendimiento del 85% (Juvalet *et al.*, 2013).

En cuanto a la obtención de derivados de quercetina parcialmente metilados, la estrategia sintética descrita consiste en formar primero 3,5,7,3',4'-penta-O-bencilquercetina y posteriormente desproteger selectivamente la posición que se pretende metilar y realizar las transformaciones necesarias en esa posición sin modificar el resto. Finalmente, para eliminar los grupos bencilo se emplea una etapa de hidrogenación con catalizadores metálicos (Bouktaib *et al.*, 2002) (esquema 1).

Esquema 1: síntesis de derivados monometilados de quercetina (Bouktaib et al., 2002)



De forma análoga, en bibliografía se recoge otro método para sintetizar 5-O-metilquercetina, 3'-O-metilquercetina, 7-O-metilquercetina o 4'-O-metilquercetina,

empleando un complejo de boro como grupo protector en reacciones *one-pot* y usando radiación microondas (Zhou *et al.*, 2010) (esquema 2).

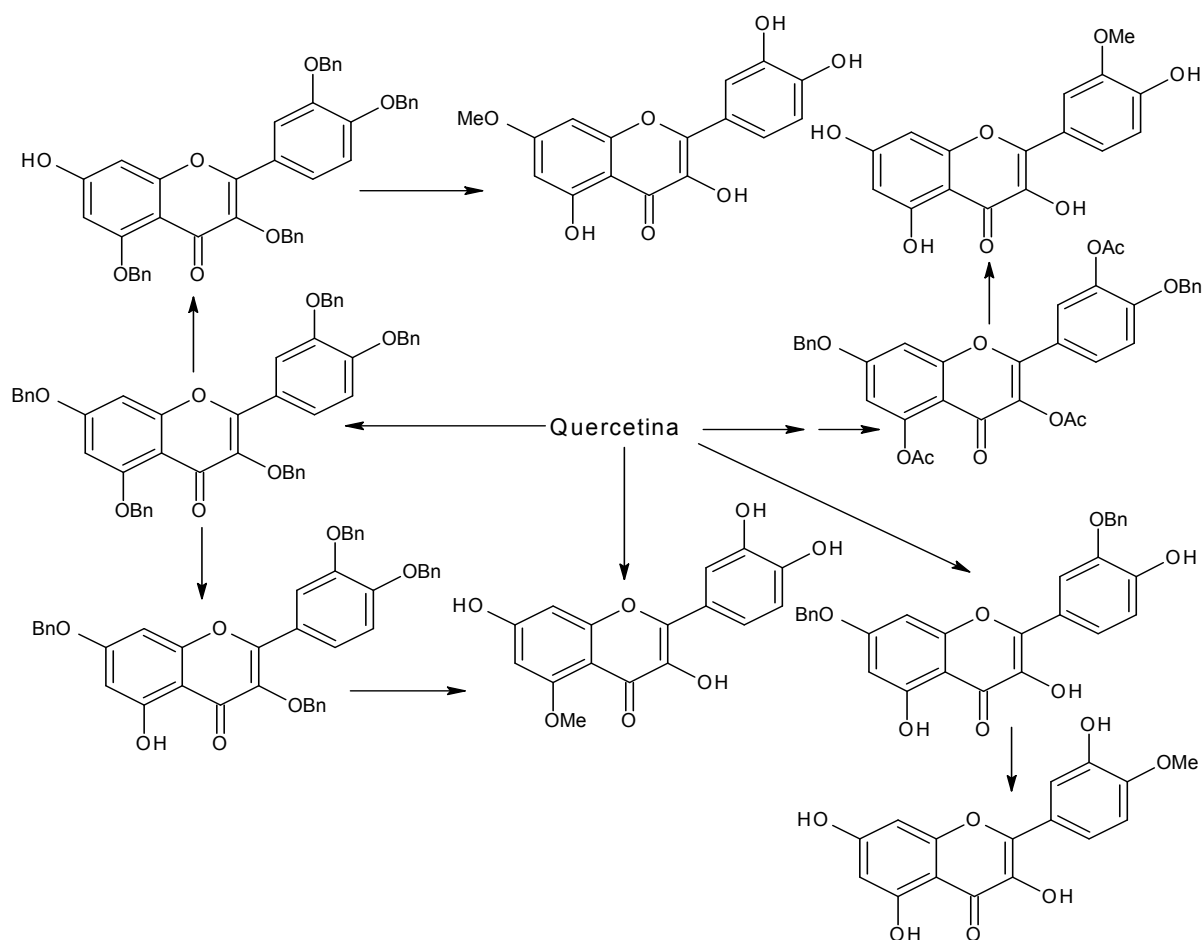
4.1.2. Bencilación

Para la síntesis de 3,5,7,3',4'-penta-*O*-bencilquercetina, el último procedimiento descrito emplea bromuro de bencilo como reactivo electrofílico, carbonato potásico como base para generar el fenóxido y un catalizador de transferencia de fase que es una sal de amonio cuaternaria. Este procedimiento tiene un rendimiento del 95% (Zhou *et al.*, 2013).

4.1.3. Acetilación

Para la síntesis de 3,5,7,3',4'-penta-*O*-acetilquercetina, se encuentran descritos en bibliografía dos métodos. El primero de ellos emplea yodo como catalizador para conseguir la acetilación empleando anhídrido acético y condiciones de microondas, obteniendo un rendimiento del 94% (Deka *et al.*, 2001). El segundo y más reciente método publicado emplea una disolución de anhídrido acético y quercetina en piridina con un rendimiento del 54% (Kim *et al.*, 2010).

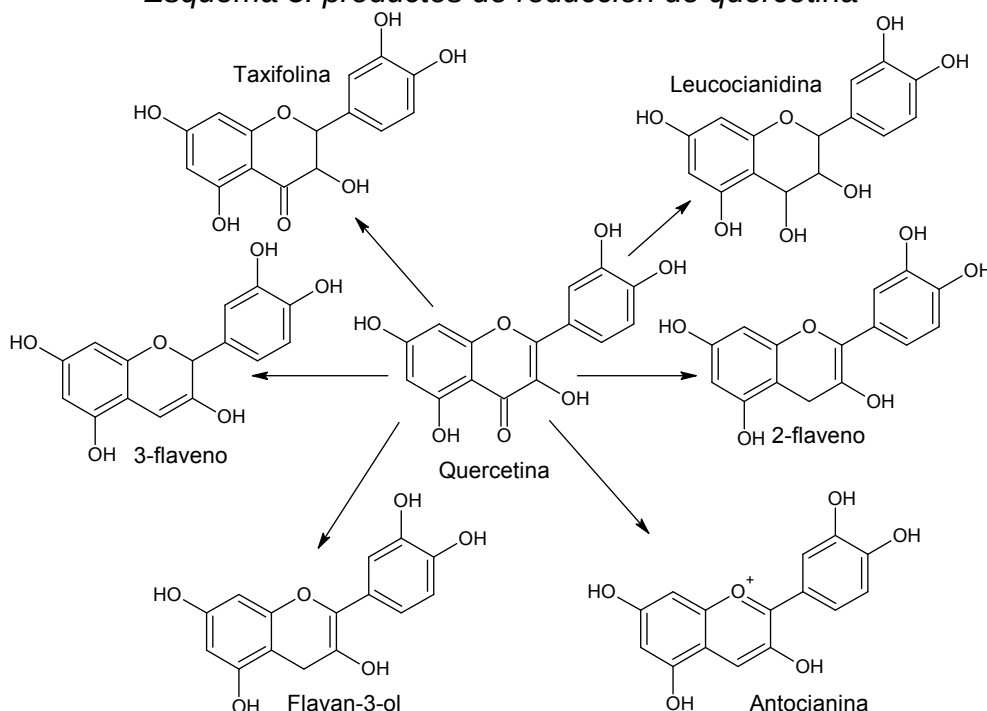
Esquema 2: síntesis de derivados monometilados de quercetina (Zhou et al., 2010)



4.2. Reacciones de reducción de quercetina

La molécula de quercetina ha servido como producto de partida para la obtención de otros flavonoides cuyo anillo C presenta diferentes grados de reducción, tales como taxifolina (Xiao *et al.*, 2013), leucocianidina (Xiao *et al.*, 2012), 2-flaveno, 3-flaveno (Dugar *et al.*, 2012), flavan-3-ol (Dugar *et al.*, 2012) y antocianidina (Iacobucci *et al.*, 1983) (esquema 3)

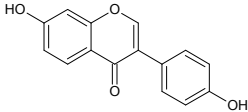
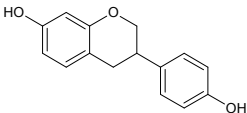
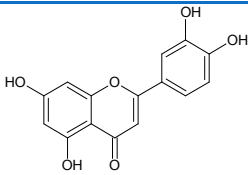
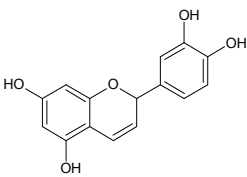
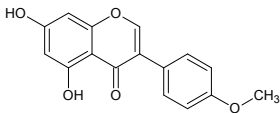
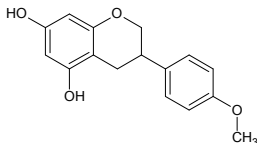
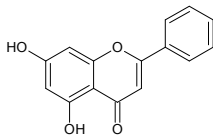
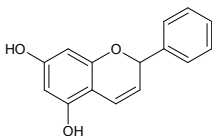
Esquema 3: productos de reducción de quercetina



Recientemente, se ha demostrado una importante actividad inhibitoria de la enzima *Helicobacter pylori* ureasa en compuestos de reducción de quercetina (Xiao *et al.*, 2013). Esta enzima cataliza la hidrólisis de urea a amoníaco en microorganismos que emplean esta molécula como fuente de nitrógeno para su crecimiento. Esto incrementa el pH del estómago, lo que permite a dicho microorganismo crecer, derivando en úlceras y otras enfermedades tales como el coma hepático.

La actividad inhibitoria se expresa mediante el parámetro IC_{50} , que es la concentración de sustancia necesaria (expresada en μM) para reducir en un 50% la actividad medida. Por lo tanto, una molécula tendrá una actividad mayor que otra siempre que su valor de IC_{50} sea menor. Una comparación entre la actividad de algunos flavonoides y sus productos de reducción se muestra en la tabla 1.

Tabla 1: actividad biológica de distintos flavonoides

Flavonoide	Producto de reducción	IC ₅₀ del flavonoide (μM)	IC ₅₀ del producto de reducción (μM)	Incremento de la actividad inhibidora
 Daidceína		556±31	92,9±8,7	600%
 Luteolina		35,4±2,0	4,42±0,31	800%
 Formononetina		2003±115	358±31	560%
 Crisina		302±37	33,2±1,8	900%

Reducción de quercetina a taxifolina

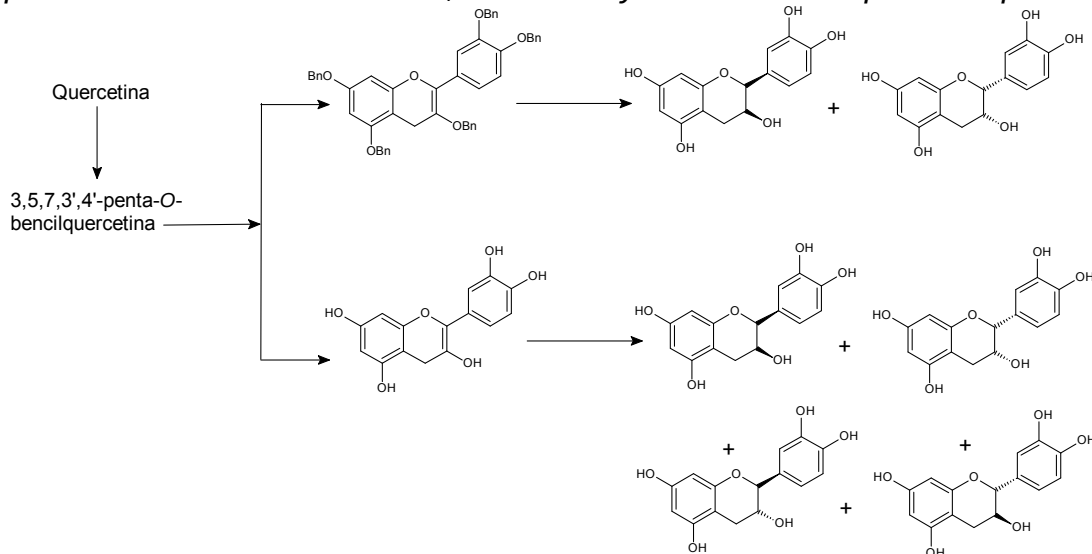
La reducción de quercetina empleando hidrógeno (H_2) y catalizadores metálicos conduce hasta la formación de taxifolina (Xiao *et al.*, 2013), aunque no se dejan claras las condiciones de reacción. Los dos catalizadores más utilizados en la reducción de flavonoides son paladio adsorbido sobre carbón activo (Pd/C 10%) e hidróxido de paladio ($Pd(OH)_2$).

Reducción de quercetina a 2-flavenos, 3-flavenos y flavan-3-oles

La reducción de quercetina hasta una mezcla de 2-flaveno y 3-flaveno implica una etapa de protección y la posterior reducción empleando hidruros metálicos y un catalizador de Lewis, llevándose a cabo la reacción en un amplio rango de temperaturas.

Tras esta etapa, a partir del 2-flaveno se puede sintetizar ($\pm$)-epicatequina mediante hidrogenación con catalizadores metálicos a alta temperatura. Por otro lado si se parte del 3-flaveno la hidrogenación en las mismas condiciones se obtiene una mezcla de ($\pm$)-catequina y ($\pm$)-epicatequina (Dugar *et al.*, 2012) (esquema 4).

Esquema 4: síntesis de 2-flavenos, 3-flavenos y flavan-3-oles a partir de quercetina



Reducción de quercetina a leucocianidinas

Otros productos de reducción de quercetina son la familia de las leucocianidinas, que estructuralmente son flavan-3,4-dioles. Estos compuestos son unos importantes precursores biosintéticos de las antocianidinas, que componen pigmentos coloreados de flores. Aunque las leucocianidinas están ampliamente distribuidas en la naturaleza, en bibliografía se recoge la dificultad de su aislamiento y purificación, ya que estos compuestos son sensibles al medio ácido (Kikuchi *et al.*, 2003).

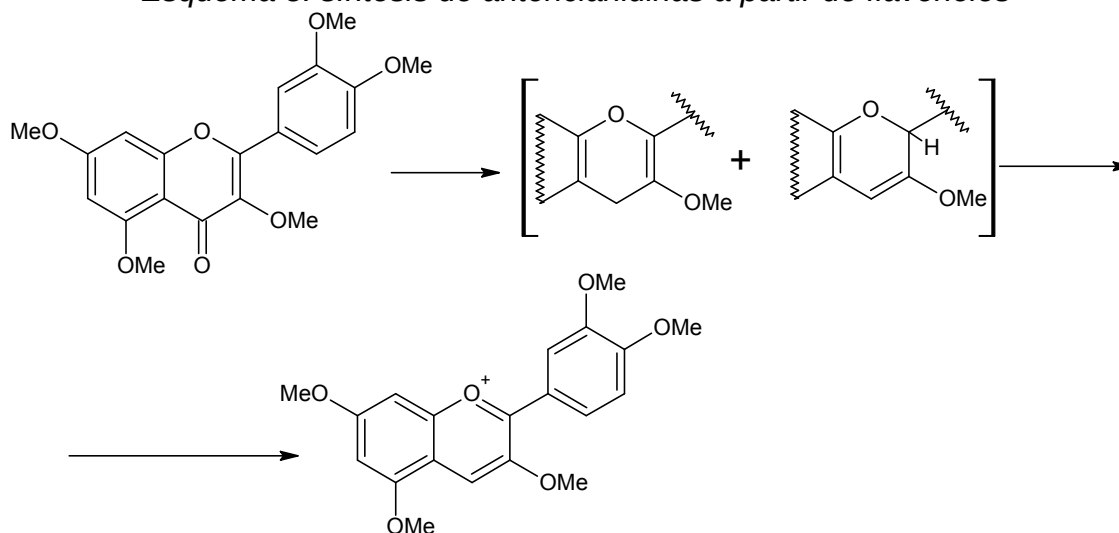
La síntesis de leucocianidina a partir de taxifolina se lleva a cabo empleando borohidruro de sodio (NaBH_4) a pH ácido (Porter *et al.*, 1982). Este procedimiento conduce a (2*R*, 3*S*, 4*R*)-(+)-3,4,5,7,3',4'-hexahidroxiflavano.

Reducción de quercetina a antoncianidinas

Las antoncianidinas constituyen el grupo más numeroso de flavonoides. La mayor parte se encuentran presentes en forma de glucósido en el anillo A y las diferentes antoncianidinas vienen definidas por la posición de los grupos hidroxilo y metoxilo del anillo B (Gil-Ruiz, 2002). Se encuentran en numerosas fuentes naturales, ya que son los principales pigmentos en las plantas, proporcionando una gama de colores desde el rosa hasta el azul oscuro pasando por el rojo y el violeta (Daayf y Lattanzio, 2008).

La síntesis de antoncianidina a partir de quercetina comienza con una etapa de protección por metilación de los grupos hidroxilo. Posteriormente, la molécula se reduce empleando hidruro de aluminio y litio, lo que produce una mezcla del 2-flaveno y el 3-flaveno, que empleando benzoquinona como oxidante produce la antoncianidina (Iacobucci *et al.*, 1983). Este procedimiento viene descrito en el esquema 5.

Esquema 5: síntesis de antoncianidinas a partir de flavonoles



5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Generalidades e instrumentación

5.1.1. Técnicas cromatográficas

Cromatografía en capa fina analítica (CCF)

Se emplean cromatofolios comerciales Merck 60 F₂₅₄ de 0,25 mm de espesor de gel de sílice y en soporte de aluminio. Como eluyentes se emplean mezclas de hexano y acetato de etilo y hexano y éter dietílico en proporciones variables, acidificadas (en caso necesario) con ácido fórmico. La visualización de las manchas se consigue bajo luz natural, luz ultravioleta a 254 nm o luz ultravioleta a 365 nm.

Cromatografía en columna (CC)

Se emplea gel de sílice Merck 60 con tamaño de partícula de 0,035-0,070 mm hasta rellenar una columna con una altura de entre 15 y 20 cm de sílice. La columna se empaqueta con una papilla formada por el gel de sílice empleado y el humectante indicado en cada caso. La muestra se introduce adsorbida sobre gel de sílice Merck 60 con tamaño de partícula de 0,063-0,200 mm, empleando doble cantidad de sílice que de muestra a cromatografiar. La elución se realiza en gradiente creciente de polaridad siguiendo la separación mediante cromatografía en capa fina analítica (CCF) y a través de la pesada de fracciones tras haber retirado el eluyente, a presión reducida mediante un rotavapor.

Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Los análisis mediante HPLC se realizan en un cromatógrafo equipado con bomba cuaternaria Waters 600E, degasificador con He, inyector manual Reodyne 7725, columna analítica de fase reversa C 18 Waters Spherisorb[®] S5 ODS2 (3 x 150 mm, 5 µm), detector de diodos en serie Waters 1996 Photodiode Array Detector (DAD) y controlador Waters 600 Controller. Las muestras inyectadas se disuelven en metanol a una concentración de 5 mg/mL y se inyectan en el equipo en volúmenes de 2 µL. Se trabaja en gradiente de concentración, empleando metanol (disolvente A) y agua (disolvente B) como disolventes, estabilizados con una concentración del 0,2% de ácido acético glacial, a un flujo de 0,7 mL/min. El método de elución consiste en el aumento lineal desde 10 % de A hasta 100 % de A en 40 min, volviendo a las condiciones iniciales de 10 % de A en 5 min. El tiempo total de análisis es de 45 min, excluyendo el tiempo necesario para equilibrar el sistema.

5.1.2. Técnicas analíticas y espectroscópicas

Medida del punto de fusión

El punto de fusión fue determinado en un aparato *Electrothermal 9100* y está sin corregir. En cada compuesto al que se le ha realizado esta medida se indica, junto

con el valor del punto de fusión, el disolvente en el que se llevó a cabo la recristalización del producto.

Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN)

Los datos de RMN-¹H, RMN-¹³C y RMN-2D se realizaron en un espectrómetro *Brucker DPX 400*, a una frecuencia de 400 MHz, empleando CD₃CO₂D (MeOD-*d*₄) ó CDCl₃ como disolventes, y tetrametilsilano (TMS, 0,00 ppm) como referencia interna en RMN-¹H y ajustando la escala en RMN-¹³C al pico central del heptuplete del CD₃OD (49,00 ppm) ó al triplete del CDCl₃ (77,00 ppm) según el disolvente empleado en cada caso. El grado de sustitución de los carbonos se establece con ayuda de la secuencia multipulso DEPT-135. Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (*J*) expresan en hertzios (Hz). La multiplicidad de las señales se expresa con las abreviaturas habituales (*s*: singlete, *d*: doblete, *dd*: doble doblete, *m*: multiplete, etc.). La muestra se prepara en un tubo convencional para RMN.

5.1.3. Disolventes y reactivos

Los disolventes empleados durante la realización de este TFG se purifican siguiendo el procedimiento descrito por Armarego y Chai (Armarego y Chai, 2003) y se destilan, antes de su uso, mediante destilación fraccionada, empleando una columna Vigreux, (acetato de etilo, hexano y metanol) o bajo atmósfera inerte en un destilador en continuo (tetrahidrofurano y dimetilformamida). Además, a los siguientes disolventes se les aplica un proceso de destilación adicional:

Acetona

Se seca durante una noche sobre sulfato de calcio anhidro (CaSO₄), se filtra y se destila, almacenándose sobre tamices moleculares de 4 Å.

Tetrahidrofurano (THF)

Se destila empleando un destilador en continuo sobre sodio hilado en atmósfera inerte empleando como indicador benzofenona.

Dimetilformamida (DMF)

Se destila empleando un destilador en continuo sobre hidruro cálcico (CaH₂) en atmósfera inerte.

Metanol absoluto

Primero se prepara el metóxido de magnesio a partir de metanol absoluto (75 mL), magnesio en virutas (5 g) y yodo (0,5 g). Posteriormente se añade el metanol a

secar (1 L), mantiene a reflujo durante 2-3 h y se destila, almacenándose sobre tamices moleculares de 4 Å.

Los reactivos empleados fueron los siguientes: carbonato de potasio (99%, Panreac), cloruro de bencilo (99%, Sigma Aldrich), cloruro de *N*-metiltrioctilamonio (Fluka), hexametilfosforamida (99%, Sigma Aldric), hidróxido de paladio (20%, Sigma Aldrich), paladio (0) adsorbido sobre carbono (10%, Sigma Aldrich), quercetina (90% pureza, Extrasynthese) y yoduro de metilo (99%, Sigma Aldrich). Los datos espectroscópicos de RMN-¹H y RMN-¹³C del sustrato de partida, quercetina, coinciden con los datos bibliográficos (Khalloukiet *al.*, 1997; Miyazawaet *al.*, 2003, respectivamente) y se detallan a continuación:

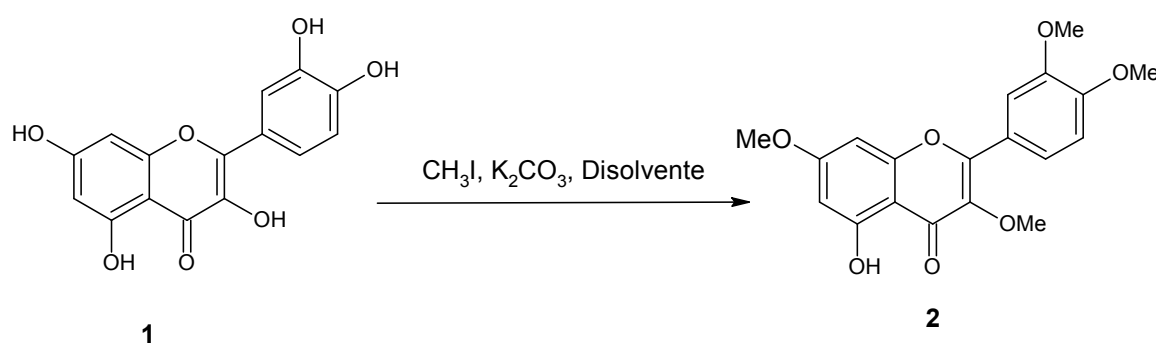
Quercetina (Acetona-*d*₆):

RMN-¹³C δ (ppm): 176,54 (C-4); 164,93 (C-7); 162,32 (C-5*); 157,76 (C-9*); 148,29 (C-2); 145,77 (C-4'); 136,73 (C-3'); 123,77 (C-3); 121,44 (C-1'); 116,20 (C-6'); 115,75 (C-2'); 104,14 (C-5'); 99,13 (C-6#); 94,42 (C-8#).

RMN-¹H δ (ppm): 12,11 (s, 1H, H-O-C5); 7,78 (*d*, 1H, C-2'); 7,65 (*dd*, 1H, C-6'); 6,95 (*d*, 1H, C-5'); 6,47 (*d*, 1H, C-8); 6,22 (*d*, 1H, C-6).

5.2. Protección de los grupos hidroxilo presentes en quercetina (1)

5.2.1. Metilación de quercetina (1)



Procedimiento general

En un matraz de fondo redondo equipado con un agitador magnético y un refrigerante con una torre de CaCl₂ se introducen **1**, K₂CO₃ y el disolvente empleado en cada caso (tabla 2). Se inicia la agitación y se añade yoduro de metilo (CH₃I). Se mantiene 3 días a reflujo a la temperatura del disolvente.

Transcurrido este tiempo se elimina el disolvente a presión reducida y el crudo de reacción resultante se disuelve en 100 mL de acetato de etilo. La fase orgánica se

lava empleando una disolución saturada de cloruro amónico (NH_4Cl , 2 x 50 mL) y posteriormente con una disolución saturada de cloruro sódico (NaCl , 2 x 50 mL). La fase acuosa se desecha y la fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4). Se filtra la fase orgánica para retirar el Na_2SO_4 y se elimina el disolvente a presión reducida, quedando un sólido amarillento, mezcla de **1** y de **2**.

Experimentos realizados

Tabla 2: obtención de 3,7,3',4'-tetra-O-metilquercetina

Experimento	1 (mmol)	CH_3I (mmol)	Disolvente (mL)	K_2CO_3 (mmol)	Temperatura de reflujo	Crudo recuperado (mg) tras 3 días de reacción
1	0,705	26,504	Acetona (10 mL)	2,070	56°C	267
2	0,334	13,091	THF (2 mL)	1,020	65°C	124

Purificación

Los dos crudos resultantes se analizan mediante CCF (hexano:AcOEt:ácido fórmico 5:5:0,2) y se juntan (391 mg) para realizar una CC.

Una columna cromatográfica de 3 cm de diámetro se rellena hasta 15 cm de altura con 51,809 g de gel de sílice flash (0,035-0,070 mm) humectada con hexano:AcOEt 8:2. El volumen muerto es de 100 mL. Los crudos de reacción se introducen adsorbidos sobre 570 mg de sílice gruesa (0,06-0,02 mm) y la elución se realiza con mezclas de hexano:AcOEt de polaridad creciente, recogándose fracciones de 50 mL, que son analizadas mediante CCF (hexano:AcOEt 5:5). Se obtienen 15 mg de **4** (4% de rendimiento)

3,5,7,3',4'-tetra-O-metilquercetina (**2**)

- Aspecto: sólido amarillo claro
- Punto de fusión: 156 °C (Etanol)
- R_f : 0,44 (H:AcOEt:ácido fórmico 5:5:0,2)
- RMN

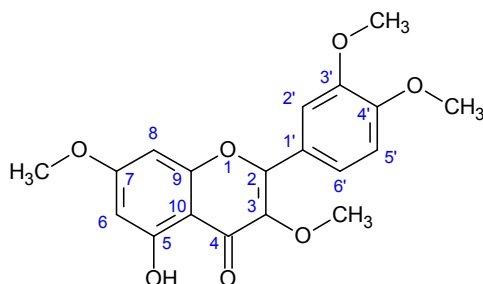


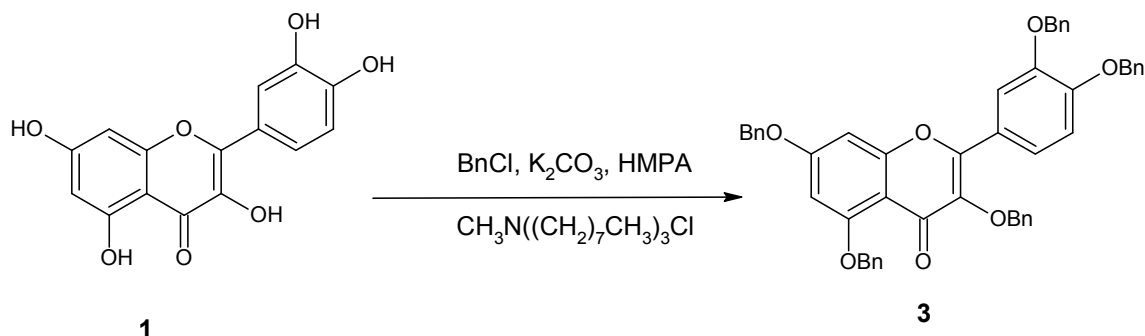
Tabla 3: datos de RMN-¹H, RMN-¹³C y RMN-2D en CDCl₃
3,5,7,3',4'-tetra-O-metilquercetina (2) δ(ppm)

Posición ^a	¹ H	¹³ C ^b	HMBC
1	-	-	-
2	-	(155,81)	-
3	-	(138,94)	-
4	-	(178,74)	-
5	-	(162,06) [#]	-
6	6,34* (1H, <i>d</i>)	97,78*	92,21; 162,04
7	-	(165,28)	-
8	6,43* (1H, <i>d</i>)	92,21*	97,78; 106,04; 156,73
9	-	(156,73) [#]	-
10	-	(106,04)	-
1'	-	(122,94)	-
2'	7,68 (1H, <i>d</i>)	111,31	122,17; 151,40; 155,81
3'	-	(148,78)	-
4'	-	(151,40)	-
5'	6,97 (1H, <i>d</i>)	110,87	122,94; 148,78
6'	7,71 (1H, <i>dd</i>)	122,17	111,31; 151,40; 155,81
5-OH	12,62		162,06
3-O-CH ₃	3,85 (3H, <i>s</i>)	55,80 ⁺	138,94
7-O-CH ₃	3,86 (3H, <i>s</i>)	55,99 ⁺	148,77
3'-O-CH ₃	3,95 (3H, <i>s</i>)	56,06 ⁺	110,87
4'-O-CH ₃	3,96 (3H, <i>s</i>)	60,18 ⁺	151,40
^a La numeración de los carbonos es la que le corresponde a una estructura típica de flavonoide. ^b Los valores entre paréntesis			

corresponden a los carbonos cuaternarios. *Señales intercambiables entre dos H. #Señales intercambiables entre dos C. *Señales intercambiables entre cuatro C. Constantes de acoplamiento, J (Hz): $J_{6,8} = 2,27$; $J_{2',6'} = 2,07$; $J_{5',6'} = 8,68$.

5.2.2. Bencilación de quercetina (1)

Experimento 1: obtención de 3,5,7,3',4'-penta-O-bencilquercetina (3)



En un matraz de fondo redondo de 50 mL equipado con un agitador magnético y un refrigerante con una torre de CaCl_2 se introduce **1** (1,089 g, 3,6 mmol), BnCl (3,81 mL, 33,1 mmol), HMPA (5,07 mL, 33,1 mmol), K_2CO_3 (3,258 g, 23,5 mmol) y $\text{CH}_3\text{N}((\text{CH}_2)_7\text{CH}_3)_3\text{Cl}$ (60 mg, 0,148 mmol). Se hace pasar una corriente de Ar, se introduce en un baño termostatzado a 40°C y se mantiene en agitación durante un día. Transcurrido ese tiempo se lava el crudo de reacción con agua (3 x 100 mL), se filtra y el sólido recuperado se recrystaliza en AcOEt. Se obtienen 1,926 g de **2** (71,02% de rendimiento).

3,5,7,3',4'-penta-O-bencilquercetina (3)

- Aspecto: sólido blanquecino
- Punto de fusión: $163,5^\circ\text{C}$ (AcOEt)
- R_f : 0,6 (Hexano:AcOEt 5:5)
- RMN

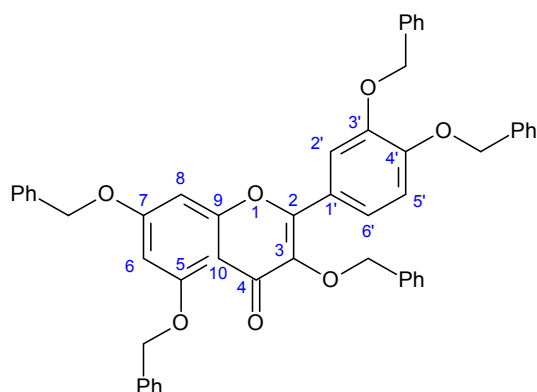
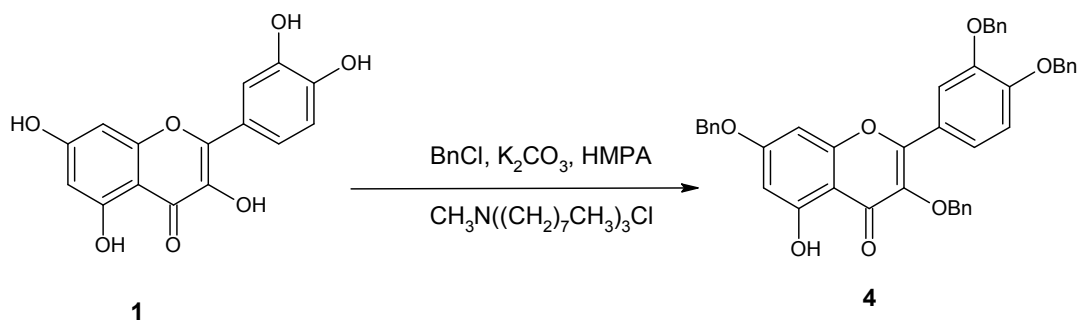


Tabla 4: datos de RMN-¹H, RMN-¹³C y RMN-2D en CDCl₃

3,5,7,3',4'-penta-O-bencilquercetina (3) δ(ppm)				
Posición ^a	¹ H	COSY	¹³ C, HSQC ^b	HMBC
1	-	-	-	-
2	-	-	(153,17)	-
3	-	-	(139,77)	-
4	-	-	(173,76)	-
5	-	-	(159,7)	-
6	6,29 (1H, <i>d</i>)	-	98,04	83,84; 109,99
7	-	-	(162,64)	-
8	6,37 (1H, <i>d</i>)	-	83,84	98,04; 109,99
9	-	-	(158,59)	-
10	-	-	(109,99)	-
1'	-	-	(123,09)	-
2'	7,59 (1H, <i>d</i>)	-	115,16	122,03; 150,46; 153,17
3'	-	-	(148,17)	-
4'	-	-	(150,46)	-
5'	6,79 (1H, <i>d</i>)	7,39	113,11	123,09; 148,17
6'	7,39 (1H, <i>dd</i>)	6,79	122,03	115,16; 150,46; 153,17
3-O-CH ₂ -Ph	4,96 (2H, <i>s</i>)	-	74,02	139,77
5-O-CH ₂ -Ph	5,10 (2H, <i>s</i>)	-	70,72	159,7
7-O-CH ₂ -Ph	4,92 (2H, <i>s</i>)	-	70,39	162,64
3'-O-CH ₂ -Ph	4,80 (2H, <i>s</i>)	-	70,97	148,17
4'-O-CH ₂ -Ph	5,06 (2H, <i>s</i>)	-	70,82	150,46
^a La numeración de los carbonos es la que le corresponde a una estructura típica de flavonoide. ^b Los valores entre paréntesis corresponden a los carbonos cuaternarios. Constantes de acoplamiento, <i>J</i> (Hz): <i>J</i> _{6,8} = 1,9; <i>J</i> _{2',6'} = 2,1; <i>J</i> _{5',6'} = 8,5				

Experimento 2: obtención de 3,7,3',4'-tetra-O-bencilquercetina (4)



En un matraz de fondo redondo de 50 mL equipado con un agitador magnético y un refrigerante con una torre de CaCl_2 se introduce **1** (1,089 g, 3,6 mmol), BnCl (3,81 mL, 33,1 mmol), HMPA (5,07 mL, 33,1 mmol), K_2CO_3 (3,258 g, 23,5 mmol) y $\text{CH}_3\text{N}((\text{CH}_2)_7\text{CH}_3)_3\text{Cl}$ (40 mg, 0,040 mmol). Se hace pasar una corriente de Ar, se introduce en un baño termostatzado a 40°C y se mantiene en agitación durante cinco días. Transcurrido ese tiempo se lava el crudo de reacción con agua (3 x 100 mL), se filtra y el sólido recuperado se recrystaliza en AcOEt. Se obtienen 519 mg de **2** (23,67% de rendimiento).

3,5,7,3',4'-tetra-O-bencilquercetina (4)

- Aspecto: sólido amarillento
- Punto de fusión: 136°C (AcOEt)
- R_f : 0,67 (H:AcOEt 5:5)
- RMN

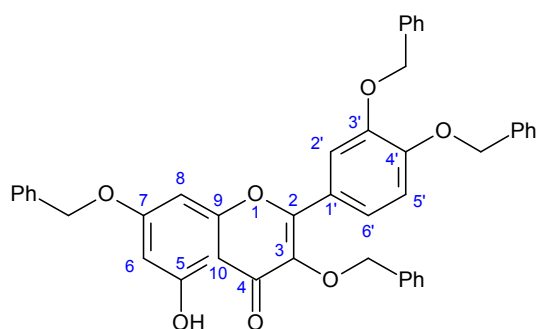


Tabla 5: datos de $\text{RMN-}^1\text{H}$ y $\text{RMN-}^{13}\text{C}$ en CDCl_3

3,7,3',4'-tetra-O-bencilquercetina (4) $\delta(\text{ppm})$		
Posición ^a	^1H	$^{13}\text{C}^b$
1	-	-
2	-	(156,24)
3	-	(137,44)
4	-	(178,75)
5	-	(162,04)
6	6,44 (1H,d)	98,52
7	-	(164,42)
8	6,46 (1H,d)	93,00
9	-	(156,64)
10	-	(106,12)
1'	-	(123,42)
2'	7,7 (1H,d)	(115,27)
3'	-	(148,22)

4'	-	(151,08)
5'	6,96 (1H, <i>d</i>)	(113,66)
6'	7,55 (1H, <i>dd</i>)	(122,58)
3-O-CH ₂ -Ph	5,13 (2H, <i>s</i>)	74,30
7-O-CH ₂ -Ph	5,25 (2H, <i>s</i>)	70,39
3'-O-CH ₂ -Ph	4,99 (2H, <i>s</i>)	71,06
4'-O-CH ₂ -Ph	5,04 (2H, <i>s</i>)	70,83
^a La numeración de los carbonos es la que le corresponde a una estructura típica de flavonoide. ^b Los valores entre paréntesis corresponden a los carbonos cuaternarios. Constantes de acoplamiento, <i>J</i> (Hz): <i>J</i> _{6,8} = 2,27; <i>J</i> _{2',6'} = 2,07; <i>J</i> _{5',6'} = 8,68		

5.3. Hidrogenación de quercetina (1) y 3,5,7,3',4'-penta-O-bencilquercetina (3)

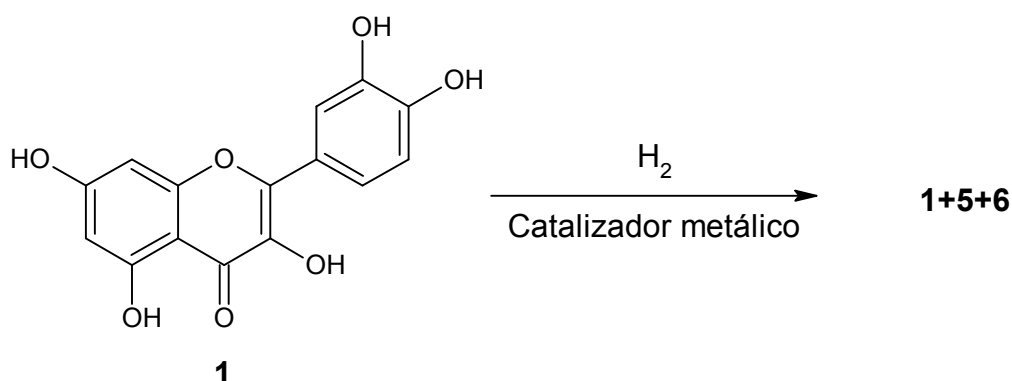
Procedimiento general de hidrogenación

Los experimentos a una presión mayor de 1 atm. se han realizado en un aparato *PARR 3916EF*. En un vaso adecuado se introducen el producto de partida, el catalizador metálico y el disolvente empleados en cada caso. Se disuelve todo lo posible el producto de partida mediante agitación manual y se coloca el vaso en el dispositivo agitador del hidrogenador. Tras recambiar la atmósfera se ajusta la presión de H₂ y se conecta la agitación. Se mantiene en agitación en atmósfera de H₂ durante el tiempo indicado en cada caso. La reacción se sigue mediante CCF y HPLC.

En caso de realizar experimentos a 1 atm., el producto de partida, el catalizador y el disolvente se colocan en un matraz de fondo redondo equipado con un agitador magnético y un septum. La atmósfera de H₂ se crea acoplando al montaje un globo relleno de H₂.

Según este procedimiento general se han realizado diez experimentos empleando como sustrato tanto **1** como **3**.

5.3.1. Hidrogenación de quercetina (**1**)



En la tabla 7 se recogen los resultados obtenidos de los experimentos realizados con diferentes catalizadores, disolventes y presiones de hidrógeno empleando como sustrato **1**.

La purificación del crudo del experimento 7 se ha realizado mediante cromatografía en columna. En primer lugar se filtra el crudo de reacción para eliminar el catalizador (Pd/C 10%) y el disolvente (THF) se elimina en rotavapor, recuperándose 208 mg de producto. Una columna cromatográfica de 3 cm de diámetro se rellena hasta 15 cm de altura con 47,756 g de gel de sílice flash (0,035-0,070 mm) humectada con hexano:Et₂O:ácido fórmico 6:4:0,1. El volumen muerto es de 100 mL. El crudo de reacción (208 mg de masa total) se introduce adsorbido sobre 420 mg de sílice gruesa (0,06-0,02 mm) y la elución se realiza con mezclas de hexano:Et₂O:ácido fórmico de polaridad creciente y manteniendo constante la cantidad de ácido, recogiendo fracciones de 50 mL, que son analizadas mediante CCF (hexano:Et₂O:ácido fórmico 2:8:0,2). Se obtienen 26 mg de **6** (13,2 % de rendimiento).

*2-(3,4-dihidroxifenil)-2,3,5,7-tetrol-2H-cromeno-(4 → 8)-(2-(3,4-dihidroxifenil)-3,5-dihidroxi-7H-cromen-7-ona) (**6**)*

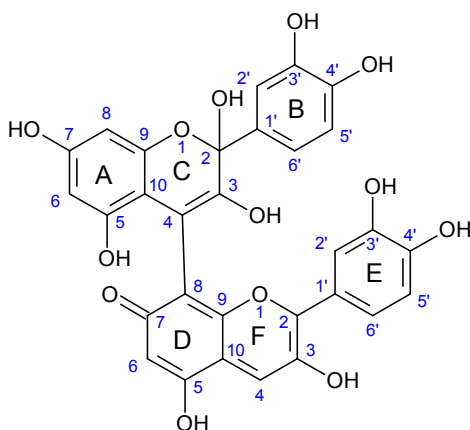
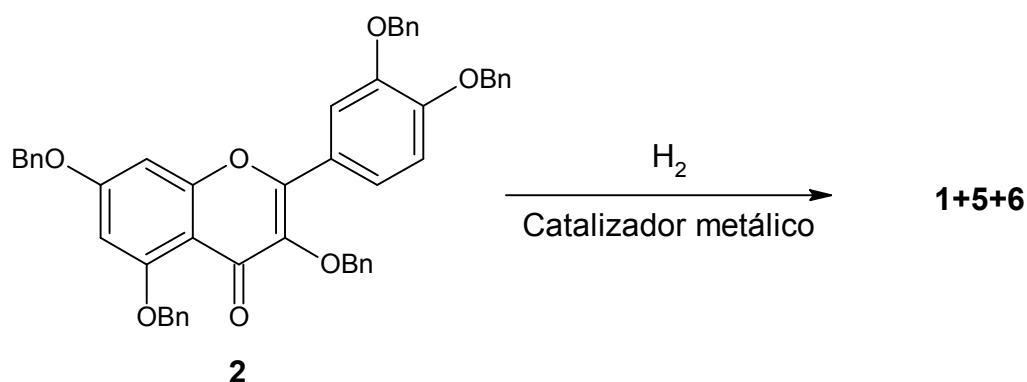


Tabla 6: datos de RMN-¹H, RMN-¹³C y RMN-2D en CD₃OD
2-(3,4-dihidroxifenil)-2,3,5,7-tetrol-2H-cromeno-(4→8)-(2-(3,4-dihidroxifenil)-3,5-dihidroxi-7H-cromen-7-ona) (6)

Anillo	Posición ^a	¹ H	COSY	¹³ C, HSQC ^b	HMBC
C	1	-	-	-	-
	2	-	-	(102,05)	-
	3	-	-	(142,25)	-
	4	-	-	91,91	-
A	5	-	-	(162,54)	-
	6	6,19, (1H, <i>d</i>)	-	99,38	94,56; 104,61; 162,54
	7	-	-	(165,82)	-
	8	6,40 (1H, <i>d</i>)	-	94,56	99,38; 104,61; 158,29; 165,82
	9	-	-	(158,29)	-
	10	-	-	(104,61)	-
B	1'	-	-	(126,82)	-
	2'	7,25 (1H, <i>d</i>)	-	116,78	121,27; 145,79; 148,01
	3'	-	-	(145,79)	-
	4'	-	-	(148,01)	-
	5'	6,70 (1H, <i>d</i>)	7,08	115,46	126,82; 145,79
	6'	7,08 (1H, <i>dd</i>)	6,70	121,27	116,78; 148,01
F	1	-	-	-	-
	2	-	-	(146,39)	-
	3	-	-	(143,95)	-
	4	5,95 (1H, <i>m</i>)	-	97,34	101,30; 161,16; 169,64
D	5	-	-	(161,16)	-

	6	5,95, (1H, <i>m</i>)	-	97,97	101,30; 161,16; 169,64
	7	-	-	(169,64)	-
	8	-	-	99,3	-
	9	-	-	(165,39)	-
	10	-	-	(101,30)	-
E	1'	-	-	(127,34)	-
	2'	7,88 (1H, <i>d</i>)	-	118,17	123,41, 143,50; 146,39
	3'	-	-	(142,25)	-
	4'	-	-	(143,50)	-
	5'	7,17 (1H, <i>d</i>)	7,90	118,20	127,34; 142,25
	6'	7,90 (1H, <i>d</i>)	7,17	123,41	118,17; 143,50
^a La numeración de los carbonos es la que le corresponde a una estructura típica de flavonoide. ^b Los valores entre paréntesis corresponden a los carbonos cuaternarios. Constantes de acoplamiento, Anillos A, B y C: <i>J</i> (Hz): <i>J</i> _{6,8} = 1,68; <i>J</i> _{2',6'} = 2,28; <i>J</i> _{5',6'} = 8,44; anillos D, E y F: <i>J</i> (Hz): <i>J</i> _{6,8} = 1,80; <i>J</i> _{2',6'} = 2,27; <i>J</i> _{5',6'} = 8,48					

5.3.2. Hidrogenación de 3,5,7,3',4'-penta-O-bencilquercetina (**3**)



Se han realizado cuatro experimentos variando tanto el disolvente empleado (DMF, MeOH ó THF) como la presión de hidrógeno siendo **3** el sustrato de partida. Los resultados de estos experimentos se recogen en la tabla 8.

Tabla 7: hidrogenación de quercetina

Experimento	1 (mmol)	Disolvente (mL)	Catalizador (mmol)	Presión H ₂ (atm)	Tiempo de reacción	Productos de reacción (%)*		
						5	1	6
1	0,156 mmol	DMF (2 mL)	Pd/C 10% (0,338 mmol)	3,5 atm.	5 h	6,3 %	53,5 %	37,4 %
2	0,175 mmol	THF (2 mL)	Pd/C 10% (0,376 mmol)	3,5 atm.	5 h	28,6 %	17,8 %	47,8 %
3	0,162 mmol	MeOH (2 mL)	Pd/C 10% (0,329 mmol)	3,5 atm.	5 h	21,7 %	52,9 %	25,5 %
4	0,156 mmol	DMF (2 mL)	Pd(OH) ₂ (0,307 mmol)	3,5 atm.	5 h	-	46,8 %	37,4 %
5	0,156 mmol	THF (2 mL)	Pd/C 10% (0,150 mmol)	2,1 atm.	7 h 30min	3,2 %	66,5 %	28,8 %
6	0,156 mmol	THF (2 mL)	Pd/C 10% (0,150 mmol)	1 atm.	5 h	1,3 %	98,6 %	-
7	0,679 mmol	THF (10 mL)	Pd/C 10% (2,190 mmol)	3,5 atm.	22 h	8,4 %	16,4 %	62,3 %
*Los porcentajes de cada producto han sido calculados mediante análisis por HPLC del crudo de cada reacción. Los tiempos de retención de los productos en HPLC son: 1 (15,6 min), 5 (25 min), 6 (30,1 min)								

Tabla 8: hidrogenación de 3

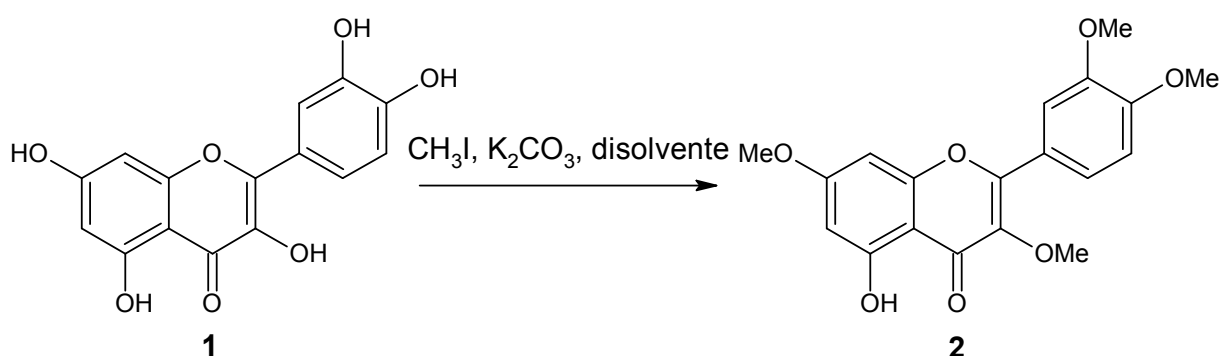
Experimento	2 (mmol)	Disolvente (mL)	Pd/C 10% (mmol)	Presión H ₂ (atm)	Tiempo de reacción	Productos de reacción (%)*		
						5	1	6
8	0.066 mmol	THF (2 mL)	0,075 mmol	3,5 atm	12 h	2,4 %	32,7 %	60,9 %
9	0,062 mmol	MeOH (2 mL)	0,075 mmol	3,5 atm	12 h	12,3 %	75, 3 %	12,4 %
10	0,066 mmol	THF (2 mL)	0,066 mmol	1 atm	6 h	-	100 %	-
*Los porcentajes de cada producto han sido calculados mediante análisis por HPLC del crudo de cada reacción. Los tiempos de retención de los productos en HPLC son: 1 (15,6 min), 5 (25 min), 6 (30,1 min)								

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Protección de los grupos hidroxilo presentes en quercetina (1)

En las transformaciones de compuestos orgánicos polares es frecuente el empleo de grupos protectores que reducen la polaridad de la molécula, son resistentes a reacciones posteriores y se retiran en el último paso de la síntesis. Así, en el presente TFG se ha ensayado la protección de los grupos hidroxilo de quercetina mediante dos de los métodos descritos en bibliografía, metilación y bencilación. No se ha llevado a cabo el tercer método de protección recogido en los antecedentes de este TFG, la acetilación, por no ser un grupo protector adecuado para reacciones posteriores de reducción, que es otro de los objetivos.

6.1.1. Metilación de quercetina (1)



La reacción se llevó a cabo tal como se describe en bibliografía (Juvale *et al.*, 2013), empleando yoduro de metilo, en presencia de una base (K_2CO_3) y con acetona como disolvente. La reacción se mantiene a reflujo ($56\text{ }^\circ\text{C}$) durante 3 días, sin conseguir completar la reacción, según CCF. Con la finalidad de aumentar la conversión de la transformación se repite la reacción empleando THF como disolvente. La quercetina es más soluble en tetrahidrofurano que en acetona y la temperatura de reflujo es ligeramente superior ($65\text{ }^\circ\text{C}$). Tras comprobar por CCF que la composición de ambos crudos de reacción es similar, se juntan y se purifica el producto de reacción mediante cromatografía en columna, obteniéndose **2** en un 4% de rendimiento, y recuperándose un 85 % de producto de partida (**1**). Este rendimiento es inferior al recogido en bibliografía (82 %).

La elucidación estructural de la molécula **2** se llevó a cabo mediante la técnica de resonancia magnética nuclear, utilizando tanto espectros monodimensionales (RMN-

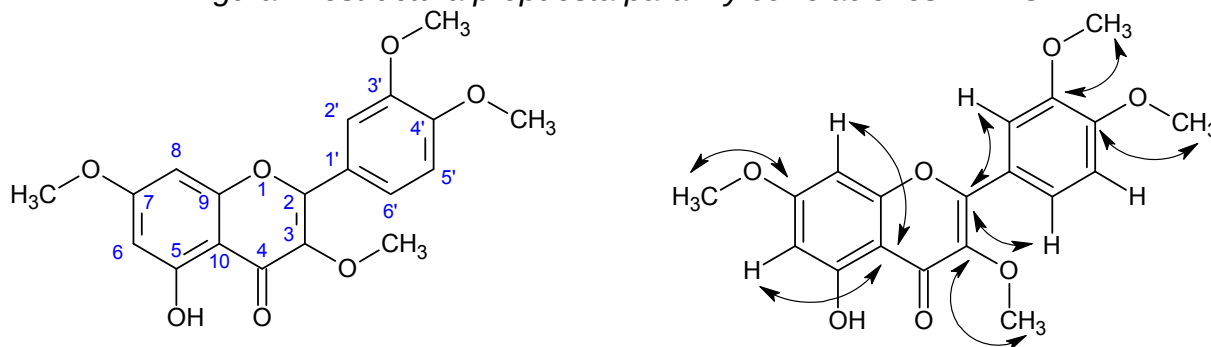
^1H , RMN $^{13}\text{-C}$ y Dept-135) como bidimensionales (HSQC, HMBC y COSY). Los datos espectroscópicos de **2** coinciden con los descritos en bibliografía (Juvale *et al.*, 2013) y la discusión espectroscópica se detalla a continuación.

3,7,3',4'-tetra-O-metilquercetina (2)

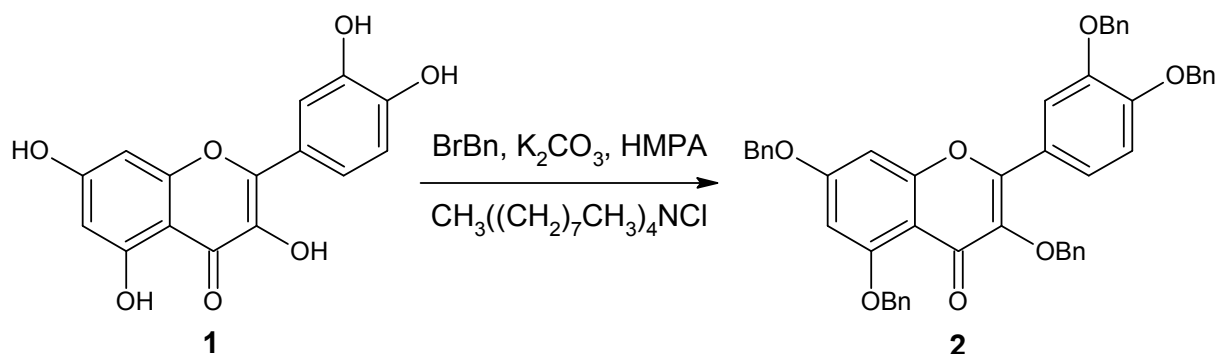
El compuesto **2** presenta en el espectro de RMN- ^1H dos señales dobletes ($J = 2,27$ Hz) correspondientes a dos protones aromáticos a 6,34 ppm y 6,43 ppm (son dos señales intercambiables que se corresponden con los protones 6 y 8), lo cual es indicativo de dos protones aromáticos en disposición relativa *meta*, con constante de acoplamiento alílica pequeña, asignables a un anillo aromático 1,2,3,5-tetrasustituido (anillo A). Se observan tres señales más de protones aromáticos, un doblete ($J = 2,07$ Hz) a 7,68 ppm, otro doblete ($J = 8,68$ Hz) a 6,97 ppm y un doble doblete a 7,71 ppm ($J = 8,68$; $2,07$ Hz). Ese conjunto de tres señales podrían formar parte de un sistema de espín ABX propio de un anillo aromático 1,3,4-trisustituido (anillo B). Además se observan cuatro señales singlete a 3,85; 3,86; 3,95 y 3,96 ppm que integran cada una por 3 H y que se corresponden con 4 metilos oxigenados. También se observa una señal muy desapantallada, a 12,62 ppm que se corresponde con el protón del grupo hidroxilo en posición 5, que debe encontrarse formando un enlace de hidrógeno con el oxígeno del carbonilo la posición 4.

En el espectro de RMN- ^{13}C se observa la presencia de una señal de carbonilo a 178,74 ppm además de siete señales de carbonos oxigenados cuaternarios a 138,94 ppm (C-3), 148,78 ppm (C-3'), 151,40 ppm (C-4'), 155,81 ppm (C-2), 156,76 ppm (C-5 ó C-9), 162,06 ppm (C-5 ó C-9) y 165,28 ppm (C-7). Las señales correspondientes a los carbonos 5 y 9 son intercambiables ya que no se han encontrado correlaciones en espectros bidimensionales que permitan asignar estas señales de manera inequívoca. También se observan 2 señales de metino a 92,21 ppm y 97,78 ppm, asignables al anillo A pero intercambiables entre si y 3 señales de metino a 110,87, 111,31y 122,17 ppm asignables a los protones 5', 2' y 6' del anillo B, respectivamente. La confirmación de la estructura propuesta y de las asignaciones hechas, se llevó a cabo mediante técnicas de RMN-bidimensional. Las correlaciones observadas en HMBC y que aportan más información se recogen en la figura 4.

Figura 4: estructura propuesta para **2** y correlaciones HMBC



6.1.2. Bencilación de quercetina



Dado el bajo rendimiento y el no conseguir el derivado pentametilado se decidió cambiar el grupo protector empleado. Por esto se decidió proteger los grupos hidroxilo en forma de O-bencilo.

La reacción se llevó a cabo tal como se describe en bibliografía (Zhou *et al.*, 2010) empleando cloruro de bencilo en presencia de una base (K_2CO_3) en acetona como disolvente y empleando una sal de amonio cuaternaria (cloruro de *N*-metiltrioctilamonio). La reacción se mantiene a 40 °C en atmósfera inerte durante 24 h.

La alta viscosidad que presenta el catalizador de transferencia de fase conlleva un difícil manejo en la operación de pesada del mismo, de manera que en los dos ensayos llevados a cabo no se consiguió añadir la misma cantidad, a pesar de ser iguales las cantidades de los demás reactivos en ambos ensayos. En ambos experimentos el transcurso de la reacción se siguió por CCF y el final de reacción para el experimento 1 se estableció después de 24 h y para el experimento 2 después de 5 días de reacción. Tras purificación de ambos crudos de reacción mediante cromatografía en columna se obtuvo 3,5,7,3',4'-penta-O-bencilquercetina (**3**) y 3,7,3',4'-tetra-O-bencilquercetina (**4**) con un rendimiento del 71 % y 24 %, respectivamente. La obtención de **3** se ha conseguido con un rendimiento algo

inferior al descrito en bibliografía (95%). El compuesto **4** se ha obtenido con un rendimiento moderado-bajo, sin embargo su preparación requiere una única etapa de reacción, a diferencia de lo recogido en bibliografía, donde se necesitan dos o tres etapas para su síntesis (Zhou *et al.*, 2010, Bouktaib *et al.*, 2002).

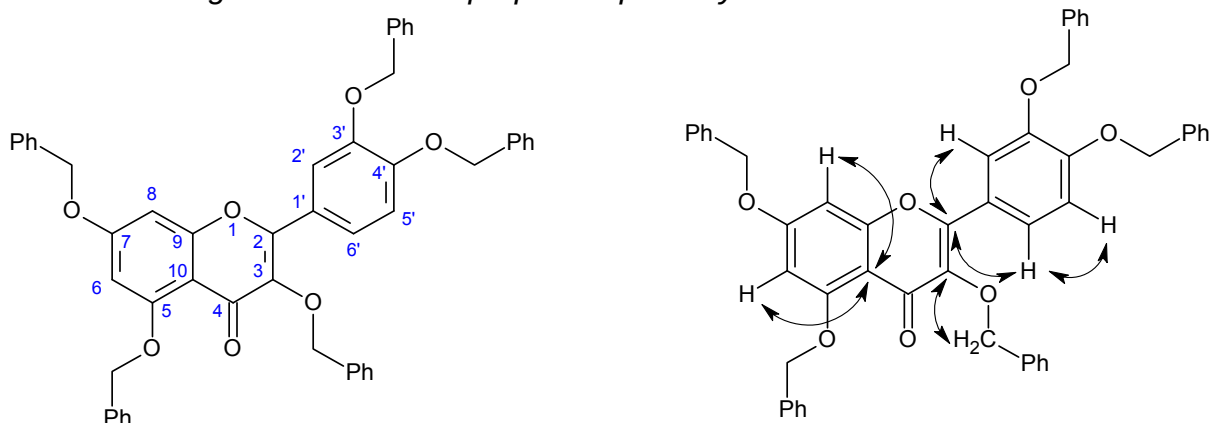
La elucidación estructural de la moléculas **3** y **4** se llevó a cabo mediante la técnica de resonancia magnética nuclear, utilizando tanto espectros monodimensionales (RMN-¹H, RMN-¹³C y Dept-135, para ambas moléculas) como bidimensionales (HSQC, HMBC y COSY para **3**). Los datos espectroscópicos coinciden con los bibliográficos (Zhou *et al.*, 2010) y la discusión espectroscópica se detalla a continuación.

3,5,7,3',4'-penta-O-bencilquercetina (3)

El compuesto **3** presenta en el espectro de RMN-¹H dos señales dobletes ($J = 1,9$ Hz) correspondientes a dos protones aromáticos a 6,29 y 6,37 ppm lo cual es indicativo de dos protones aromáticos en disposición relativa *meta*, con constante de acoplamiento alílica pequeña, asignables a un anillo aromático 1,2,3,5-tetrasustituido (anillo A), y que se corresponden con los protones en posición 6 y 8 respectivamente. Se observan tres señales más de protones aromáticos, un doblete ($J = 2,1$ Hz) a 7,59 ppm, otro doblete ($J = 8,5$ Hz) a 6,79 ppm y un doblete a 7,39 ppm ($J = 8,5; 2,1$ Hz). Este conjunto de tres señales podrían formar parte de un sistema de espín ABX propio de un anillo aromático 1,3,4-trisustituido (anillo B). Además se observan cinco señales singlete a 4,80, 4,92, 4,96, 5,06 y 5,10 ppm que integran cada una por 2 H y que se corresponden con los cinco metinos de otros tantos grupos bencilo.

En el espectro de RMN-¹³C se observa la presencia de una señal de carbonilo a 173,76 ppm además de siete señales de carbonos oxigenados cuaternarios a 139,77 ppm (C-3), 148,17 ppm (C-3'), 150,46 ppm (C-4'), 153,17 ppm (C-2), 158,59 ppm (C-9), 159,70 ppm (C-5) y 162,64 ppm (C-7). También se observan 2 señales de metino a 83,84 y 98,04 ppm, asignables al anillo A y 3 señales de metino a 113,11, 115,16 y 122,03 ppm asignables a los protones 5', 2' y 6' respectivamente. La confirmación de la estructura propuesta y de las asignaciones hechas se llevó a cabo mediante técnicas de RMN-bidimensional. Las correlaciones observadas en HMBC y que aportan más información se recogen en la figura 5.

Figura 5: estructura propuesta para **3** y correlaciones HMBC



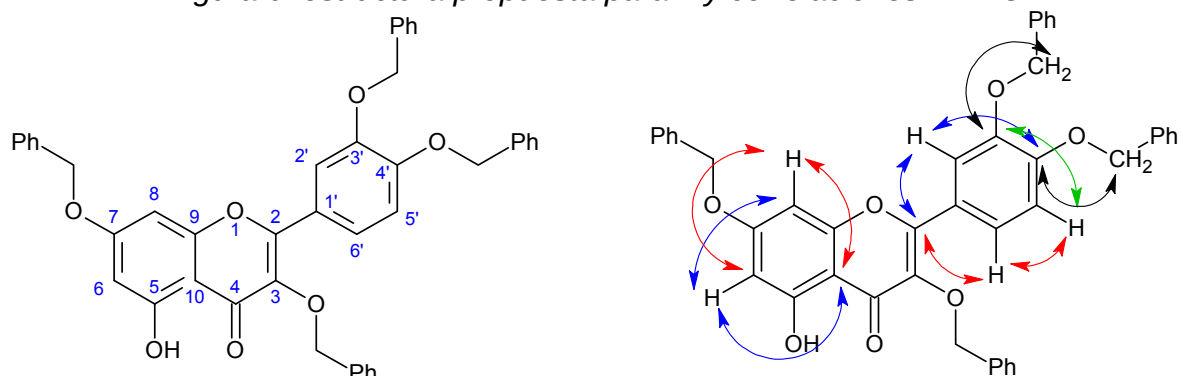
3,7,3',4'-tetra-O-benzilquercetina (4)

El compuesto **4** presenta en el espectro de RMN-¹H dos señales dobletes ($J = 2,27$ Hz) correspondientes a dos protones aromáticos a 6,44 y 6,46 ppm lo cual es indicativo de dos protones aromáticos en disposición relativa *meta*, con constante de acoplamiento alílica pequeña, asignables a un anillo aromático 1,2,3,5-tetrasustituido (anillo A), y que se corresponden con los protones en posición 6 y 8 (al ser señales intercambiables no se pueden asignar con total certeza). Se observan tres señales más de protones aromáticos, un doblete ($J = 2,07$ Hz) a 7,60 ppm, otro doblete ($J = 8,68$ Hz) a 6,84 ppm y un doble doblete a 7,44 ppm ($J = 8,68; 2,07$ Hz) Este conjunto de tres señales podrían formar parte de un sistema de espín ABX de un anillo aromático 1,3,4-trisustituido (anillo B). Además se observan cuatro señales singlete a 4,87, 4,93, 5,00 y 5,12 ppm que integran cada una por 2 H y que se corresponden con cuatro metinos de los grupos bencilo. También, se observa un multiplete entre 7,11 y 7,35 ppm que integra por 21 protones en el que están incluidos todos los protones aromáticos de los 4 grupos bencilo y la señal del disolvente (CDCl₃). Finalmente aparece una señal a 12,58 ppm correspondiente al enlace de hidrógeno que se establece entre el carbonilo en posición 4 y el protón del grupo hidroxilo en posición 5.

En el espectro de RMN-¹³C se observa la presencia de una señal de carbonilo a 178,75 ppm además de siete señales de carbonos oxigenados cuaternarios a 137,44 ppm (C-3), 148,22 ppm (C-3'), 151,08 ppm (C-4'), 156,24 ppm (C-2), 156,64 ppm (C-9), 162,04 ppm (C-5) y 162,42 ppm (C-7). También se observan 2 señales de metino a 93,00 y 98,52 ppm, asignables al anillo A y 3 señales de metino a 113,66; 115,27 y 122,58 ppm asignables a las posiciones 5', 2' y 6' respectivamente. Las asignaciones propuestas para esta molécula se realizaron en base a la molécula **3**,

debido a las similitudes entre ambas. La estructura propuesta para la molécula se refleja en la figura 6.

Figura 6: estructura propuesta para 4 y correlaciones HMBC



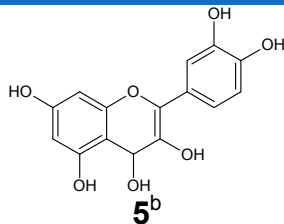
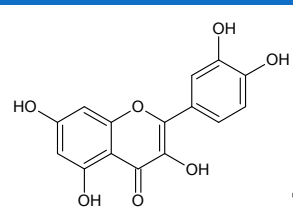
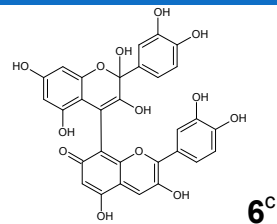
6.2. Hidrogenación de quercetina (1) y 3,5,7,3',4'-penta-O-bencilquercetina (3)

La hidrogenación de substratos empleando H_2 y catalizadores metálicos es un procedimiento interesante para la reducción de los mismos, tanto por su facilidad operativa como por las condiciones suaves de reacción en las que tiene lugar. Simplemente hay que poner en contacto el substrato, disuelto en el disolvente, con el catalizador adecuado y poner el sistema en una atmósfera de H_2 . La presión del gas se varía para tener una relación mayor o menor entre el substrato y el reactivo (H_2) en función de los resultados. Para procesar el crudo de reacción resultante simplemente hay que filtrar el catalizador y eliminar el disolvente por destilación a presión reducida empleando para ello un rotavapor.

6.2.1. Hidrogenación de quercetina (1)

Se han realizado siete experimentos para determinar la influencia las condiciones de reacción en los productos de hidrogenación obtenidos. Para ello se ha variado tanto el catalizador empleado (hidróxido de paladio, $Pd(OH)_2$, o paladio (0) adsorbido sobre carbono, Pd/C 10%) como el disolvente (DMF, MeOH absoluto y THF) y la presión de H_2 . En la tabla 9 se recogen los resultados obtenidos de estos ensayos.

Tabla 9: hidrogenación de **1**

Experimento	Catalizador, Presión H ₂ , disolvente, tiempo de reacción	Productos de reacción (%) ^a		
		 5^b	 1	 6^c
1	Pd/C 10%, 3,5 atm., DMF, 5 h	6,3 %	53,5 %	37,4 %
2	Pd/C 10%, 3,5 atm., THF, 5 h	28,6 %	17,8 %	47,8 %
3	Pd/C 10%, 3,5 atm., MeOH, 5 h	21,7 %	52,9 %	25,5 %
4	Pd(OH) ₂ , 3,5 atm., DMF, 5 h	-	46,8 %	37,4 %
5	Pd/C 10%, 2,1 atm., THF, 7 h 30 min	3,2 %	66,5 %	28,8 %
6	Pd/C 10%, 1 atm., THF, 5 h	1,3 %	98,6 %	-
7	Pd/C 10%, 3,5 atm., THF, 22 h	8,4 %	16,4 %	62,3 %
^a Porcentajes estimados mediante HPLC. ^b Estructura propuesta de acuerdo con el mecanismo. ^c Producto caracterizado mediante RMN- ¹ H, RMN- ¹³ C y RMN-2D				

Los experimentos 1 y 2 se han llevado a cabo a temperatura ambiente con Pd/C 10 % y disolventes polares apróticos, tales como DMF y THF, respectivamente. La presión de H₂ se estableció en 3,5 atm. y a las 5 h de reacción se hizo un análisis mediante HPLC para conocer la evolución de la hidrogenación. En ambos experimentos queda quercetina sin reaccionar y se han formados dos productos de reacción, los compuestos **5** y **6**. Los tiempos de retención y espectros de UV de **5** y **6** no coinciden con los correspondientes a dihidroquercetina. Dihidroquercetina es el producto de reducción que se obtiene en bibliografía, en condiciones de reacción análogas, aunque no se describe la presión de H₂ del experimento (Xiao *et al.*, 2013). La evolución de la reacción es mayor en el experimento 2, con THF como disolvente, quedando un 17,8 % de quercetina sin reaccionar frente a un 53,5 % que queda en el experimento 1, con DMF como disolvente.

En el experimento 3 se repitió la reacción en las mismas condiciones que los experimentos 1 y 2, pero empleando un disolvente polar y prótico (MeOH). En el cromatograma del correspondiente crudo de reacción se observó una menor proporción del compuesto **6** (25,5 %) frente al 37,4 % (experimento 1) y 47,8 % (experimento 2).

Con la finalidad de estudiar la posible influencia del catalizador empleado, en el experimento 4 las condiciones de reacción son idénticas a las del experimento 1, pero se empleó un catalizador de Pd que aportara un pH básico al medio de reacción, tal como ocurre con Pd(OH)₂/C. En el cromatograma del crudo de reacción no se observaron diferencias importantes con el resultado del experimento 1: los porcentajes de **1** y **6** son similares aunque **5** sólo se detectó en el experimento 1. Sin embargo, en bibliografía se describen diferentes resultados de hidrogenación al tratar los flavonoides targeretina y formononetinametilada con Pd/C o con Pd(OH)₂/C (Xiao *et al.*, 2013).

Para estudiar la influencia de la presión de H₂ del proceso se llevaron a cabo dos experimentos más, los experimentos 5 y 6, y en las mismas condiciones de reacción que el experimento 2 pero a 2,1 y 1 atm. de presión de H₂, respectivamente. Los resultados indican una menor conversión de quercetina, quedando sin reaccionar un 66,5% y 98,6%, respectivamente. Incluso en el experimento 6 no se observa formación del compuesto **6**.

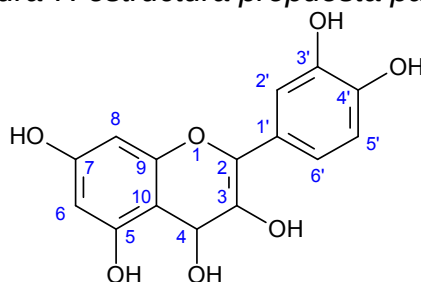
Por último, se aumentó el tiempo de reacción hasta 22 h en el experimento 7, siendo el resto de variables idénticas al experimento 2. Los resultados apuntan hacia una

menor presencia de **5** y un aumento del porcentaje de **6**. En estos dos experimentos, experimento 2 y 7, se observó la mayor conversión de quercetina, quedando sin reaccionar un 17,8 y 16,4 %, respectivamente, y se obtuvieron los mayores porcentajes de formación de **6**, 47,8 y 62,3 %, respectivamente. En ninguno de los experimentos llevados a cabo se consiguió un porcentaje de **5** superior al 28,5 %.

La separación cromatográfica sobre gel de sílice del crudo de reacción del experimento 7 permitió obtener el compuesto **6** con un rendimiento del 13,2 %.

Debido a que no se consiguió aislar, la propuesta para la estructura de la molécula **5** se llevó a cabo mediante el análisis del espectro UV de la misma. Esta molécula presenta un máximo de absorción a una longitud de onda (λ) de 290 nm, resultado que coincide con los resultados obtenidos en un Trabajo Fin de Máster no publicado (Alejo, 2012). Por tanto, de acuerdo con esta observación y con el mecanismo propuesto para la reacción, la estructura propuesta para **5** se recoge en la figura 7.

Figura 7: estructura propuesta para 5



La elucidación estructural de la molécula **6** se llevó a cabo mediante la técnica de resonancia magnética nuclear, utilizando tanto espectros monodimensionales (RMN- ^1H , RMN- ^{13}C y Dept-135) como bidimensionales (HSQC, HMBC y COSY). Esta molécula no se encuentra descrita en bibliografía y la discusión espectroscópica se detalla a continuación.

*2-(3,4-dihidroxifenil)-2,3,5,7-tetrol-2H-cromeno-(4 $\rightarrow$ 8)-(2-(3,4-dihidroxifenil)-3,5-dihidroxi-7H-cromen-7-ona) (**6**)*

El compuesto **6** presenta dos grupos de señales relacionadas entre sí pertenecientes a cada una de las subunidades que forman la molécula.

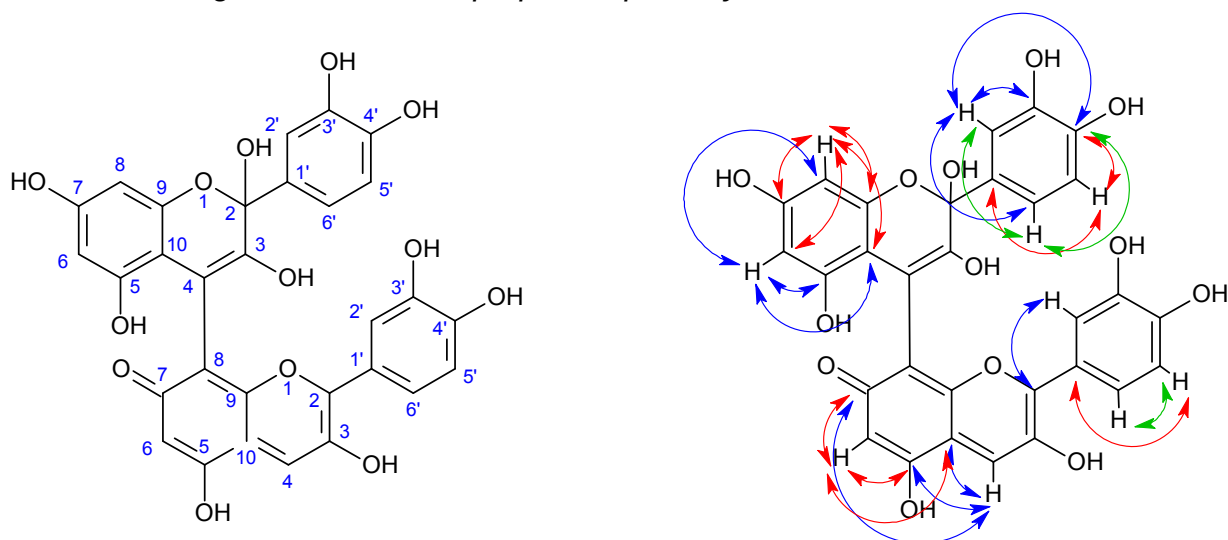
Para la subunidad superior (anillos A, B y C), el espectro de RMN- ^1H presenta dos señales dobletes ($J = 1,68 \text{ Hz}$) correspondientes a dos protones aromáticos a 6,19 y 6,40 ppm lo cual es indicativo de dos protones aromáticos en disposición relativa *meta*, con constante de acoplamiento alílica pequeña, asignables a un anillo aromático 1,2,3,5-tetrasustituido (anillo A), y que se corresponden con los protones en posición 6 y 8 respectivamente. Se observan tres señales más de protones

aromáticos, un doblete ($J = 2,28$ Hz) a 7,25 ppm, otro doblete ($J = 8,44$ Hz) a 6,70 ppm y un doble doblete a 7,08 ppm ($J = 8,44; 2,28$ Hz). Ese conjunto de tres señales podrían formar parte de un sistema de espín ABX de un anillo aromático 1,3,4-trisustituido (anillo B). En el espectro de RMN- ^{13}C se observa la presencia de seis señales de carbonos sp^2 oxigenados a 142,25 ppm (C-3), 145,79 ppm (C-3'), 148,01 ppm (C-4'), 158,26 ppm (C-9), 162,54 ppm (C-5) y 165,82 ppm (C-7). También se observan 2 señales de metino a 94,56 y 99,38 ppm, asignables al anillo A, además de otras cuatro señales de carbonos cuaternarios a 91,91 ppm (C-4), 102,05 ppm (C-2), 104,61 ppm (C-10) y 126,82 ppm (C-1'). Finalmente se observan 3 señales de metino a 115,46, 116,78 y 121,27 ppm asignables a los protones 5', 2' y 6' respectivamente.

Para la subunidad inferior (anillos D, E y F), el espectro de RMN- ^1H presenta dos singletes a 5,94 y 5,95 ppm que se corresponden con los protones de las posiciones 4 y 6 de esta subunidad. Se observan tres señales de protones aromáticos, un doblete ($J = 1,80$ Hz) a 7,88 ppm, otro doblete ($J = 9,10$ Hz) a 7,17 ppm y un tercer doblete ($J = 1,10$ Hz) a 7,90 ppm. Ese conjunto de tres señales podrían formar parte de un sistema de espín ABX 1,3,4-trisustituido (anillo E). En el espectro de RMN- ^{13}C se observa la presencia de un carbono de carbonilo a 169,64 ppm (C-7) y de seis señales de carbonos oxigenados cuaternarios a 142,25 ppm (C-3'), 143,50 ppm (C-4'), 143,95 ppm (C-3), 146,39 ppm (C-2), 161,16 ppm (C-5) y 165,39 ppm (C-9). También se observan 2 señales de metino a 97,34 ppm y 97,97 ppm, asignables a las posiciones 4 y 6 del anillo A y 3 señales de metino a 118,17, 118,20 y 123,41 ppm asignables a los carbonos 2', 5' y 6' respectivamente. La confirmación de la estructura propuesta y de las asignaciones hechas, se llevó a cabo mediante técnicas de RMN-bidimensional. Las correlaciones observadas en HMBC y que aportan más información se recogen en la figura 8.

De acuerdo con la estructura asignada para la molécula **6** y con los resultados obtenidos en los diferentes experimentos de hidrogenación, el mecanismo que se propone para su formación se recoge en el esquema 6.

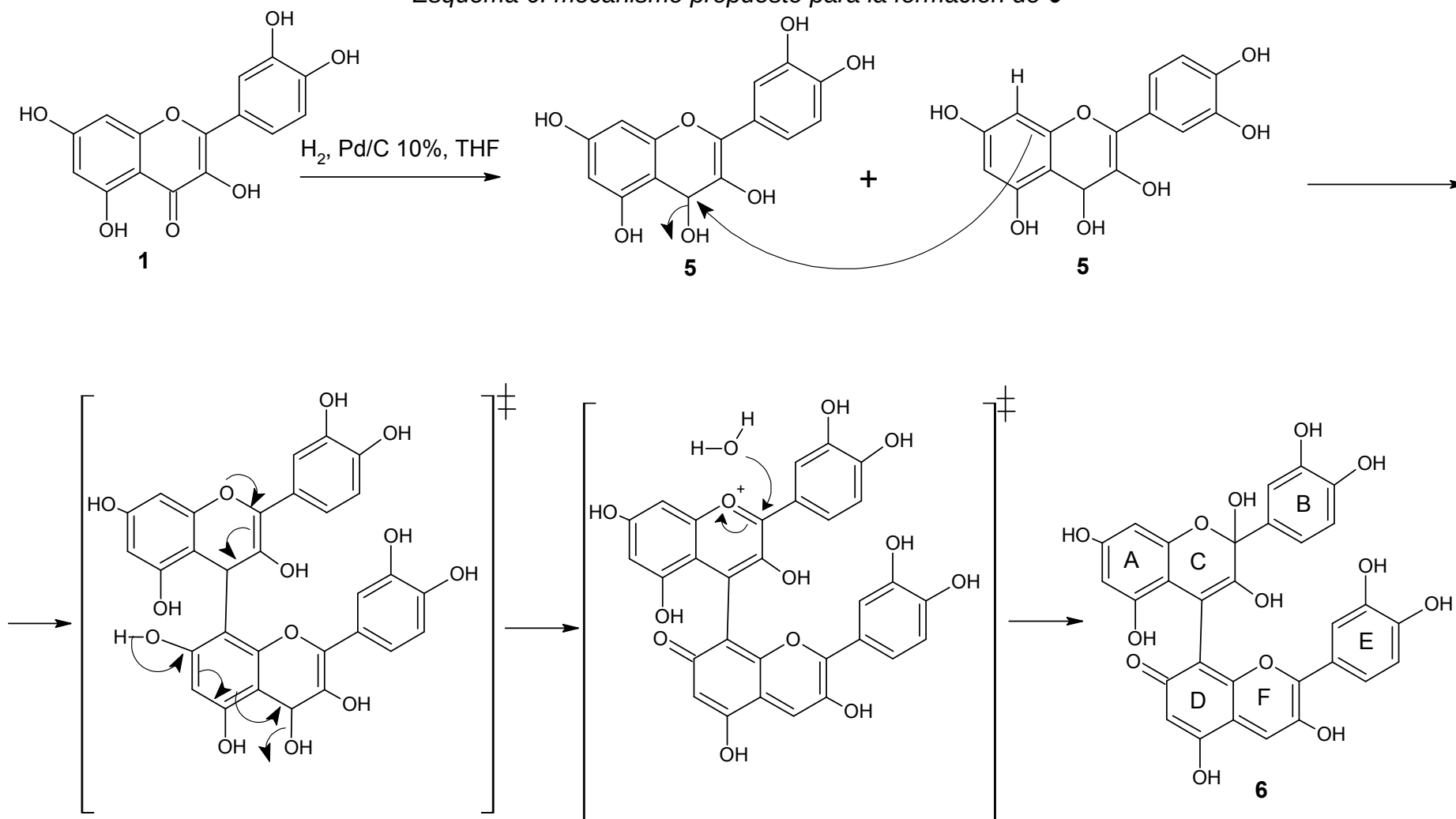
Figura 8: estructura propuesta para **6** y correlaciones HMBC



Toda la bibliografía existente sobre formación del enlace interflavanoide C-C, entre dos monómeros, plantea la actuación de la unidad superior como electrófilo, reaccionando por el C-4, y la unidad inferior como nucleófilo, reaccionando a través del C-8. En el mecanismo propuesto, un intermedio **5** con función hidroxilo en C-4 podría dimerizar de forma similar a como lo hacen en bibliografía análogos estructurales de **5** (Hemingway *et al.*, 1983). La presencia de un grupo hidroxilo en C-4 de la unidad inferior favorece la formación de quinona con salida de aquél. Además, la oxidación de flavenos y falvan-3,4-dioles a antocianidinas se ve favorecida por la presencia de quinonas (Jurd, 1966). En el mecanismo propuesto sería la unidad superior la que se oxidaría a antocianidina y la entrada de agua en el C-2 conduciría finalmente al compuesto **6**. Esta última transformación está bien documentada en bibliografía (Castañeda *et al.*, 2009).

Los resultados de los experimentos 1, 2 y 3, que apuntan a una mayor formación de **6** en disolventes apróticos (DMF y THF) que en disolventes próticos (MeOH), están en consonancia con el mecanismo propuesto. También se justifica la ausencia del intermedio **5** cuando se emplea el catalizador básico de $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (experimento 4). Por último, en el experimento 7, el mayor tiempo de reacción permite comprobar la mayor transformación del intermedio **5** en **6**.

Esquema 6: mecanismo propuesto para la formación de **6**



6.2.2. Hidrogenación de 3,5,7,3',4'-penta-O-bencilquercetina (**3**)

De acuerdo con los resultados obtenidos en el apartado anterior, se planteó la posibilidad de llevar a cabo la hidrogenación sobre 3,5,7,3',4'-penta-O-bencilquercetina (**3**) para evitar la participación de la forma quinona, la cual se puede formar cuando hay hidroxilos libres en la molécula, según el mecanismo anteriormente propuesto. Así, se llevaron a cabo tres experimentos más de hidrogenación (tabla 10). Los ensayos 8 y 9 con **3** se han realizado en condiciones de reacción análogos a los experimentos 2 y 3 con quercetina (ver tabla 9) y los resultados indicaron que el proceso de desbencilación tiene lugar, en estas condiciones de reacción, previamente al proceso de reducción. Así el experimento 10 se repitió disminuyendo la presión de H₂ hasta 1 atm., pero sin embargo sólo se obtiene quercetina totalmente desbencilada (**1**).

Tabla 10: hidrogenación de **3**

Experimento	Catalizador, Presión H ₂ , disolvente, tiempo de reacción	Productos de reacción (%) ^a		
		5 ^b	1	6 ^c
8	Pd/C 10%, 3,5 atm., THF, 12 h	2,4 %	32,7 %	60,9 %
9	Pd/C 10%, 3,5 atm., MeOH, 12 h	12,3 %	75,3 %	12,4 %
10	Pd/C 10%, 1 atm., THF, 6 h	-	100 %	-
^a Porcentajes estimados mediante HPLC. ^b Estructura propuesta de acuerdo con el mecanismo. ^c Producto caracterizado mediante RMN- ¹ H, RMN- ¹³ C y RMN-2D				

7. CONCLUSIONES

Primera. La protección de los 5 hidroxilos fenólicos de quercetina (**1**) con grupos metilo se consigue obtener sólo parcialmente y con bajo rendimiento de **2** (4%), empleando yoduro de metilo en presencia de K₂CO₃.

Segunda. La protección de los hidroxilos fenólicos de quercetina (**1**) con grupos bencilo se consigue con buen rendimiento (71,0%) con cloruro de bencilo en un

disolvente polar aprótico (HMPA), en presencia de K_2CO_3 y una sal de amonio cuaternaria.

Tercera. El derivado de quercetina parcialmente bencilado⁴ se obtiene con un rendimiento moderado (23,7%) disminuyendo la cantidad de sal de amonio cuaternaria adicionada.

Cuarta. La reducción de quercetina (**1**) con H_2 y catalizadores de Pd, a presiones superiores a la presión atmosférica conduce a la formación de dos productos, uno de reducción del carbonilo (**5**) y otro de dimerización del compuesto **5** y posterior oxidación (**6**).

Quinta. La desbencilación de 3,5,7,3',4'-penta-O-bencilquercetina (**3**) tiene lugar por hidrogenación a presión atmosférica y con Pd/C 10% como catalizador metálico.

Sexta. El mecanismo de formación propuesto para⁶ se inicia con una dimerización entre dos moléculas de reducción de quercetina (**5**), seguida de formación de una quinona y oxidación.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Alejo, A. Contribución a la síntesis de procianidinas diméricas tipos A y B. **2012**. Trabajo Fin de Máster. Universidad Nacional de Educación a Distancia.
- Armarego, W.L.F.; Chai, C.L.L. **2003**. Purification of Laboratory Chemicals, Buuterworth Heinemann, Burington.
- Bouktaib, M.; Lebrun, S.; Atmani A.; Rolando C. Hemisynthesis of all the O-monomethylated analogues of quercetin including the major metabolites, through selective protection of phenolic functions. *Tetrahedron*. **2002**, 58, 10001-10009.
- Castañeda-Ovando, A.; Pacheco-Hernández, M.L.; Páez-Hernández, M.E.; Rodríguez, J.A.; Galán-Vidal, C.A. Chemical studies of antocyanidins: A review. *Food Chemistry*. **2009**, 113, 859-871.
- Daayf, F.; Lattanzio, V. **2008**. Recent Advances in Polyphenol Researc. Wiley-Blackwell, Oxford.
- Deka, N.; Mariotte, A.M.; Boumendjel, A. Microwave mediated solvent-free acetylation of deactivates and hindered phenols. *Green Chemistry*. **2001**, 3, 263-264.

- Dugar, S.; Mahajan, D.; Giannousis, P.P.; Singh, V.; Poor, K.K. A novel process for synthesis of polyphenols. *PCT Int. Appl.* **2012**, WO 2012/101652 A2.
- Gil-Ruiz, P. **2002**. Productos naturales. Universidad Pública de Navarra, Pamplona.
- Hemingway, R.W.; Foo, L.P. Condensed Tannins: quinine methide intermediates in procyanidin synthesis. *Journal of Chemical Society, Chemical Communications.* **1983**, 1035-1036.
- Iacobucci G.A.; Sweeny J.G. The chemistry of anthocyanins, anthocyanidins and related flavylum salts. *Tetrahedron.* **1983**, 39 (19), 3005-3098.
- Jurd, L. Quinone oxidation of flavones and flavan-3,4-diols. *Chemistry and Industry.* **1966**, October 1, 1683.
- Juvalle, K.; Stefan, K.; Wiese, M. Synthesis and biological evaluation of flavones and benzoflavones as inhibitors of BCRP/ABCG2. *European Journal of Medicinal Chemistry.* **2013**, 57, 5843-5852.
- Khallouki, F.; Haubner, R.; Hull, W.E.; Erben G.; Siegelhalder B.; Bartsch, H.; Owen, R.W. Isolation, purification and identification of ellagic acid derivatives, catechins and procyanidins from the root bark of *Anisophyllea dichostyla* R. Br. *Food and Chemical Toxicology.* **2007**, 45, 472-485.
- Kikuchi, T.; Nishimura, M.; Hoshino, A.; Morita, Y.; Iida, S.; Saito, N.; Honda, T. An efficient conversion of catechine into 3,4-trans-leucocyanidin. *Heterocycles.* **2003**, 60 (6), 1469-1475.
- Kim, M.K.; Park, K.S.; Lee, C.; Parik, H.R.; Choo, H.; Chong Y. Enhanced Stability and Intracellular Accumulation of Quercetin by Protection of the Chemically or Metabolically Susceptible Hydroxyl Groups with a Pivaloxymethyl (POM) Promoiety. *Journal of Medicinal Chemistry.* **2010**, 53, 8597-8607.
- Miyazawa, M.; Hisama, M. Antimutagenic Activity of Flavonoids from *Chrysanthemum morifolium*. *Bios., Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2003**, 67, 2091-2099.
- Porter, L.J.; Foo, L.Y. Leucocyanidin: synthesis and properties of (2R,3S,4R)-(+)-3,4,5,7,3',4'-hexahydroxylflavan. *Phytochemistry.* **1982**, 21 (12), 2947-2952.
- Sharma, P.K.; Kolchinski, A.; Shea, H.A.; Nair, J.J.; Gou, Y.; Romanczyk, L.J.; Scmitz, H.H. Scale-up syntheses of two naturally occurring procyanidins: (-)-epicatechin-(4 β ,8)-(+)-catechin and (-)-Epicatechin-3-O-galloyl-(4 β ,8)-(-)-

epicatechin-3-O-gallate. *Organic Process Research & Development*. **2007**, *11*, 422-430.

- Xiao, Z.P.; Peng, Z.Y.; Dong, J.J.; He, J.; Ouyang, H.; Feng, Y.T.; Lu C.L.; Lin W.Q.; Wang, J.X.; Xiang, Y.P.; Zhu, H.L. Synthesis, structure-activity relationship analysis and kinetics study of reductive derivatives of flavonoids as *Helicobacter pylori* urease inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2013**, *63*, 685-695.
- Xiao, Z.P.; Teng, Z.; Liao, M.; Yi, L.; Xhang, B. Flavonols and isoflavonol as urease inhibitors and ther preparation, pharmaceutical compositions and use in the treatment of diseases. *European Patent Office*. **2012**, CN1025093922 (A).
- Zhou, Z.; Fang, Z; Jin, H.; Chen, Y.; He, L. Selective Monomethylation of Quercetin. *Synthesis*. **2010**, *23*, 3980-3986.

9. ANEXOS

A continuación se adjuntan los espectros de RMN-¹H, RMN-¹³C y Dept-135 para las moléculas **2**, **3**, **4** y **6** (figuras 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 y 16).

Figura 9: espectro de RMN-¹H de 3, 7, 3', 4'-tetra-O-metilquercetina (**2**)

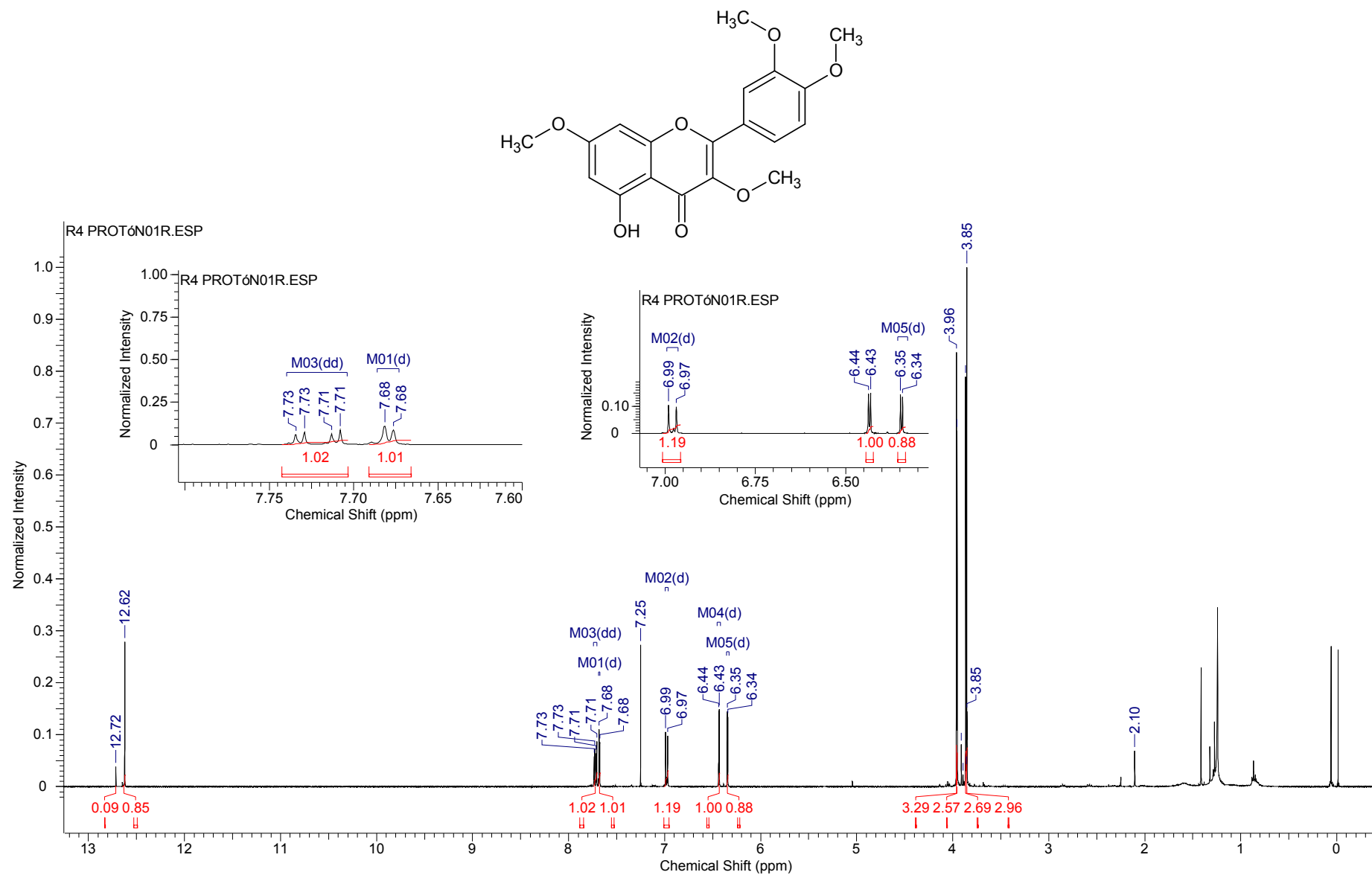


Figura 10: espectro de RMN- ^{13}C de 3, 7, 3', 4'-tetra-O-metilquercetina (**2**)

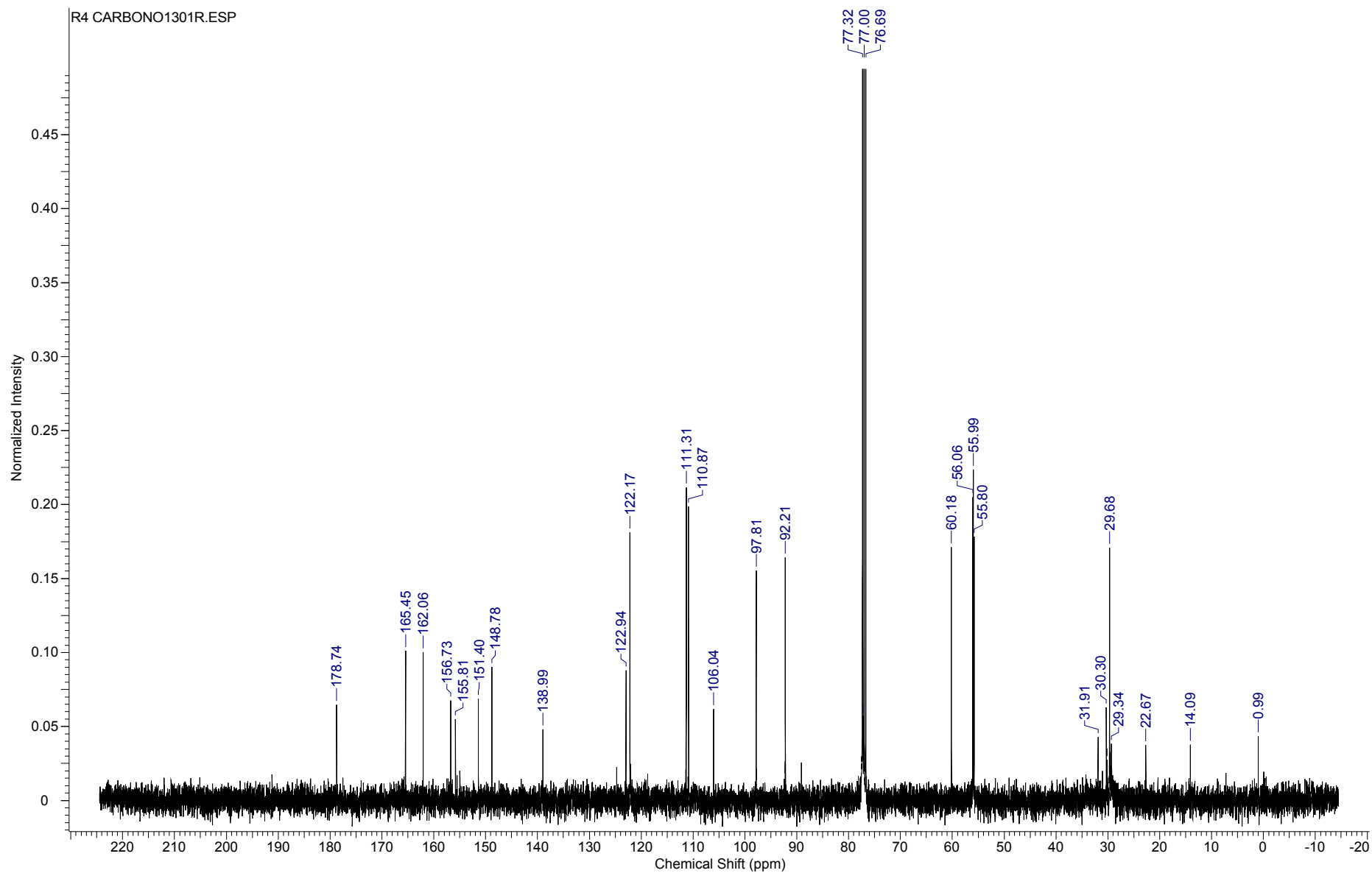


Figura 11: espectro de RMN-¹H de 3,5,7,3',5'-penta-O-bencilquercetina (**3**)

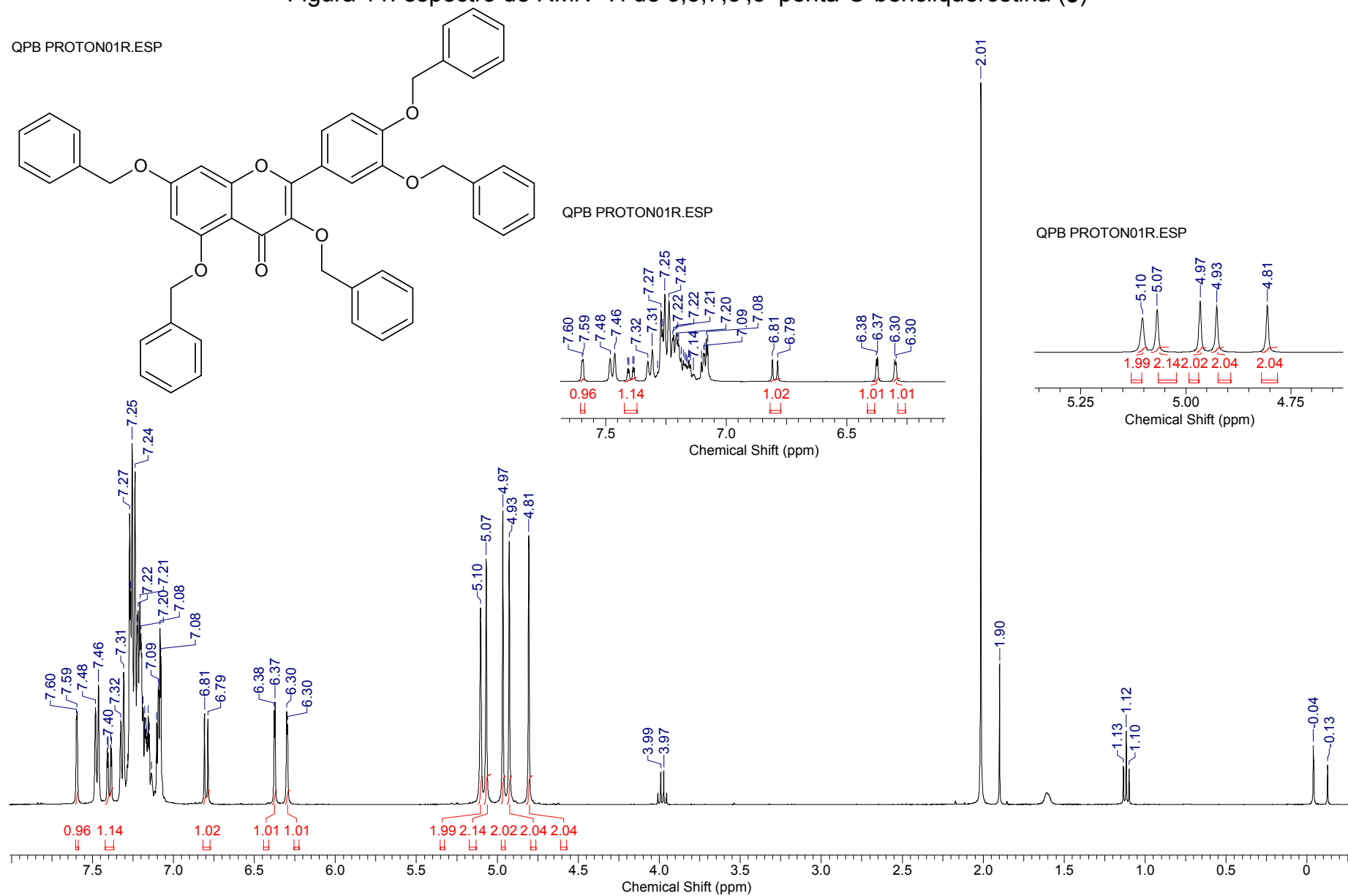


Figura 12: espectro de RMN- ^{13}C de 3,5,7,3',5'-penta-O-bencilquercetina (**3**)

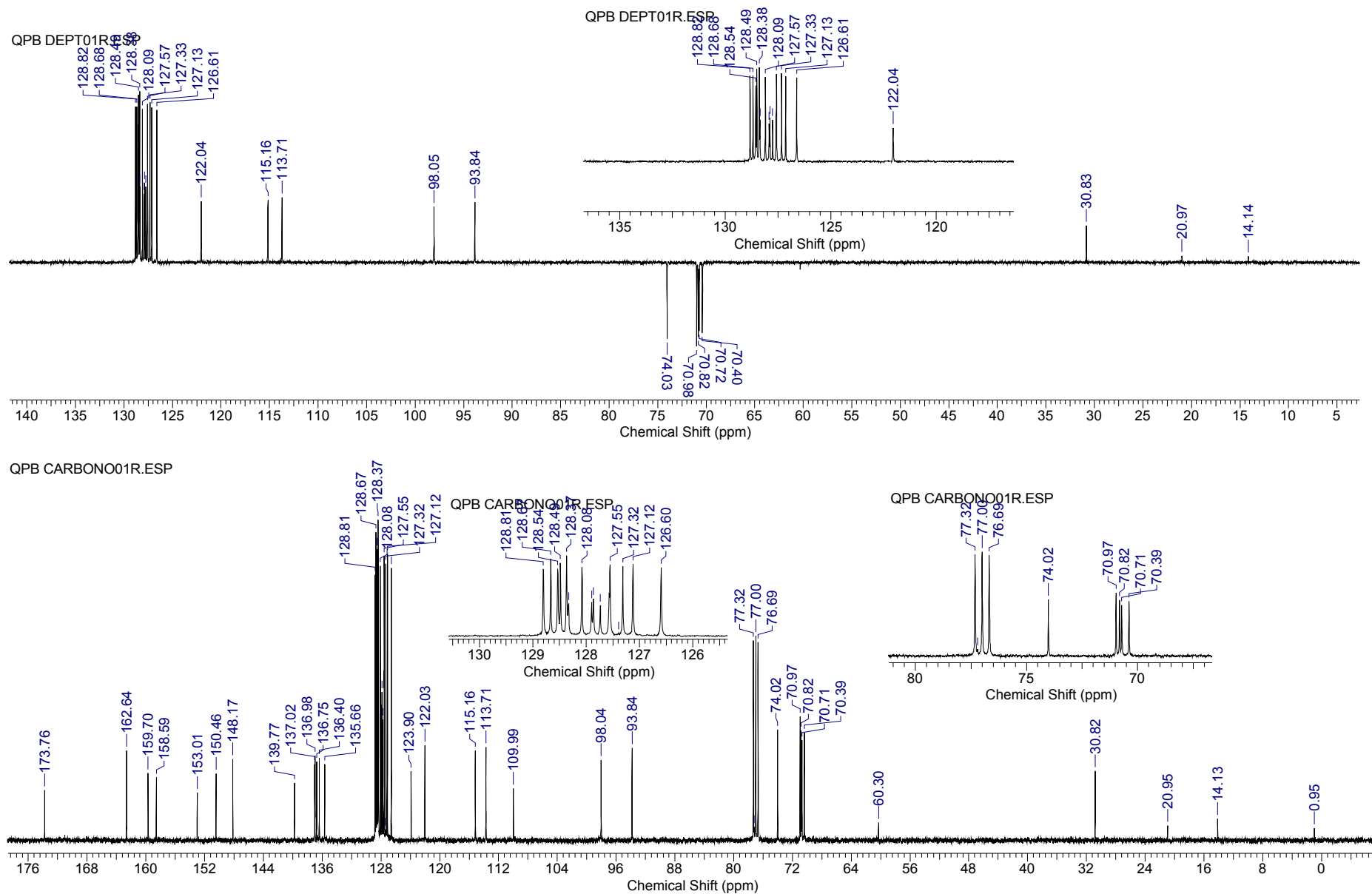


Figura 13: espectro de RMN-¹H de 3,7,3',4'-tetra-O-bencilquercetina (**4**)

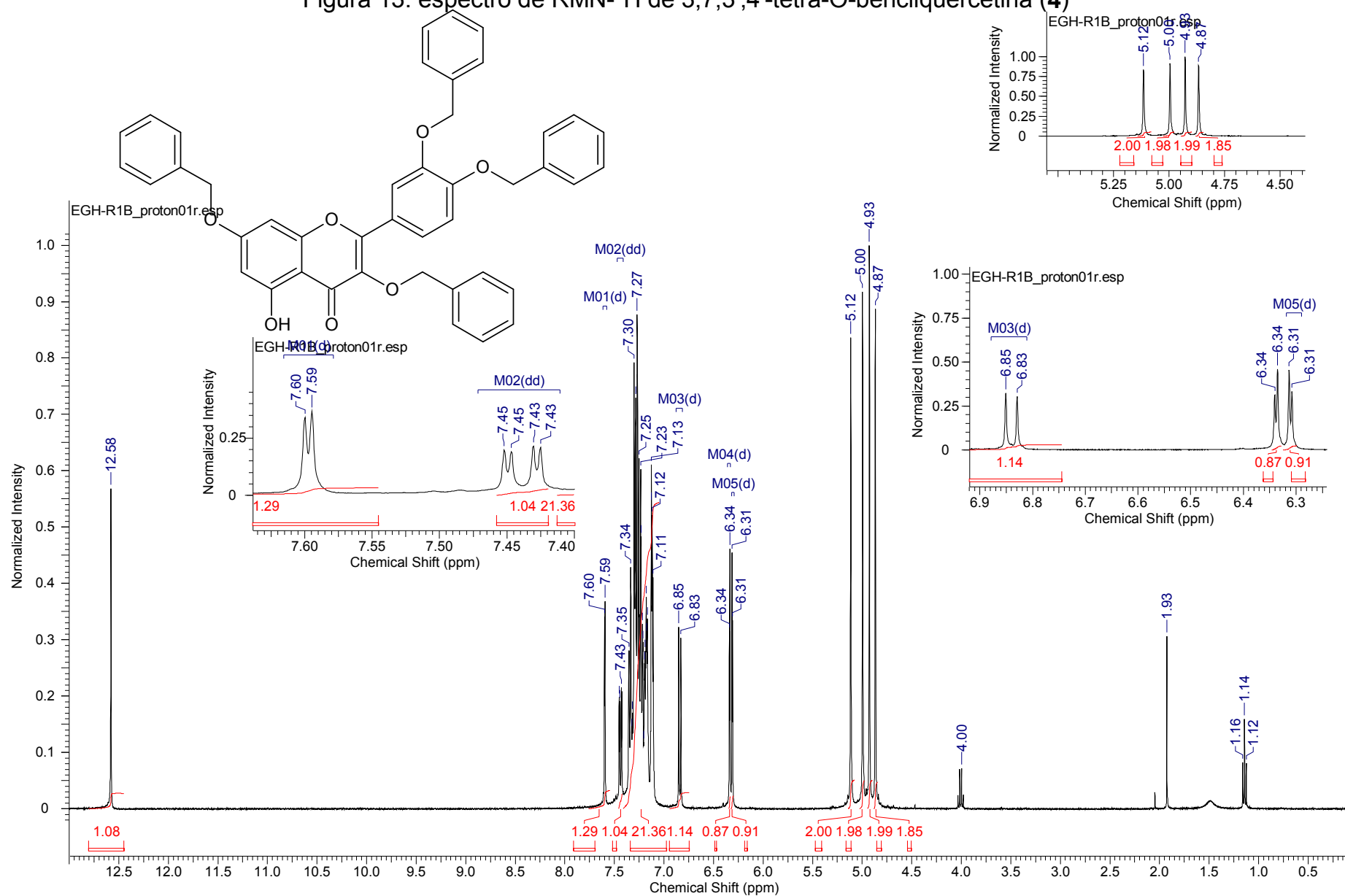


Figura 14: espectro de RMN- ^{13}C de 3,7,3',4'-tetra-O-bencilquercetina (4)

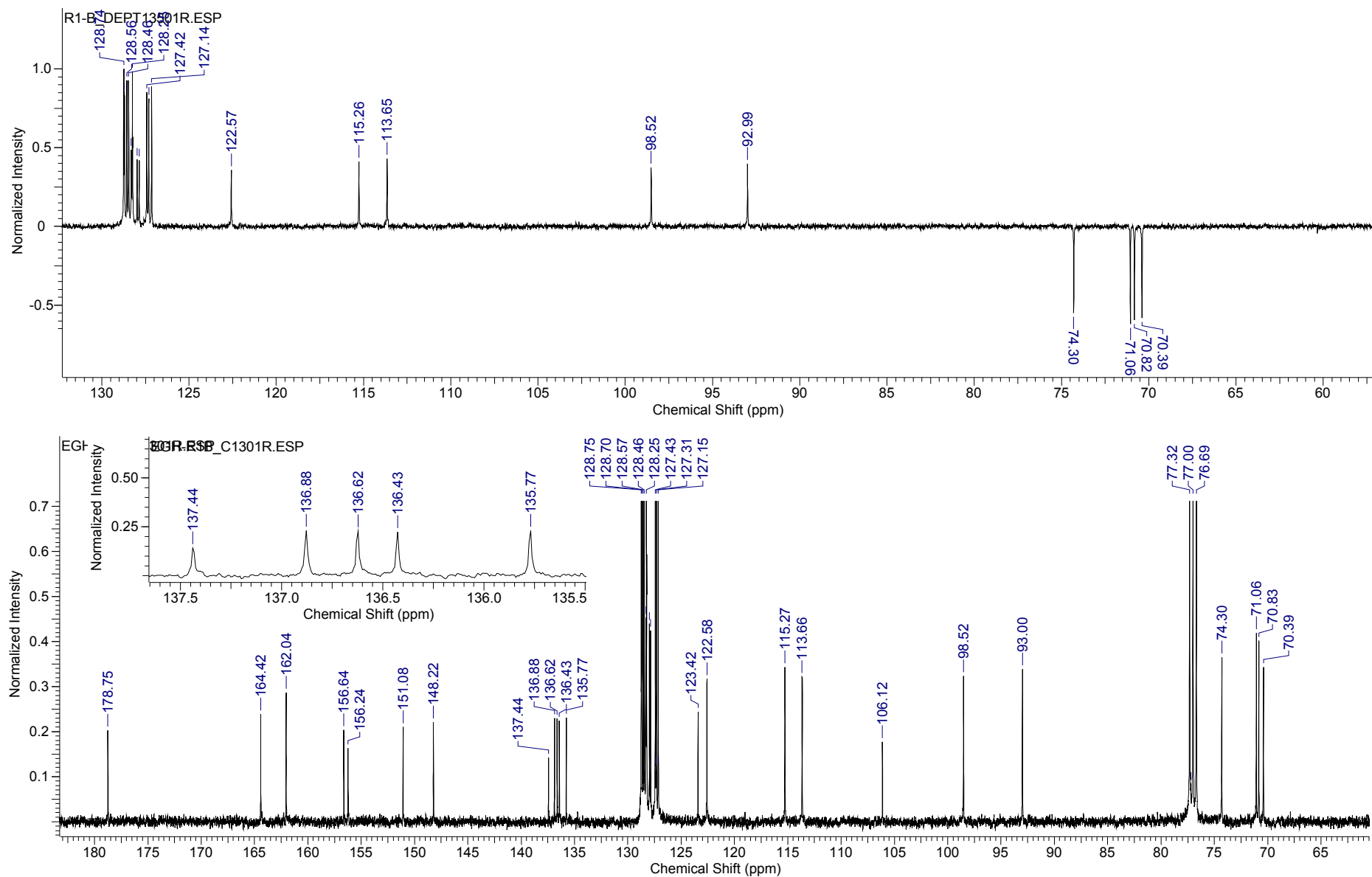


Figura 15: espectro de RMN-¹H de

2-(3,4-dihidroxifenil)-2,3,5,7-tetrol-2*H*-cromeno-(4'→8)-(2-(3,4-dihidroxifenil)-3,5-dihidroxi-7*H*-cromen-7-ona) (**6**)

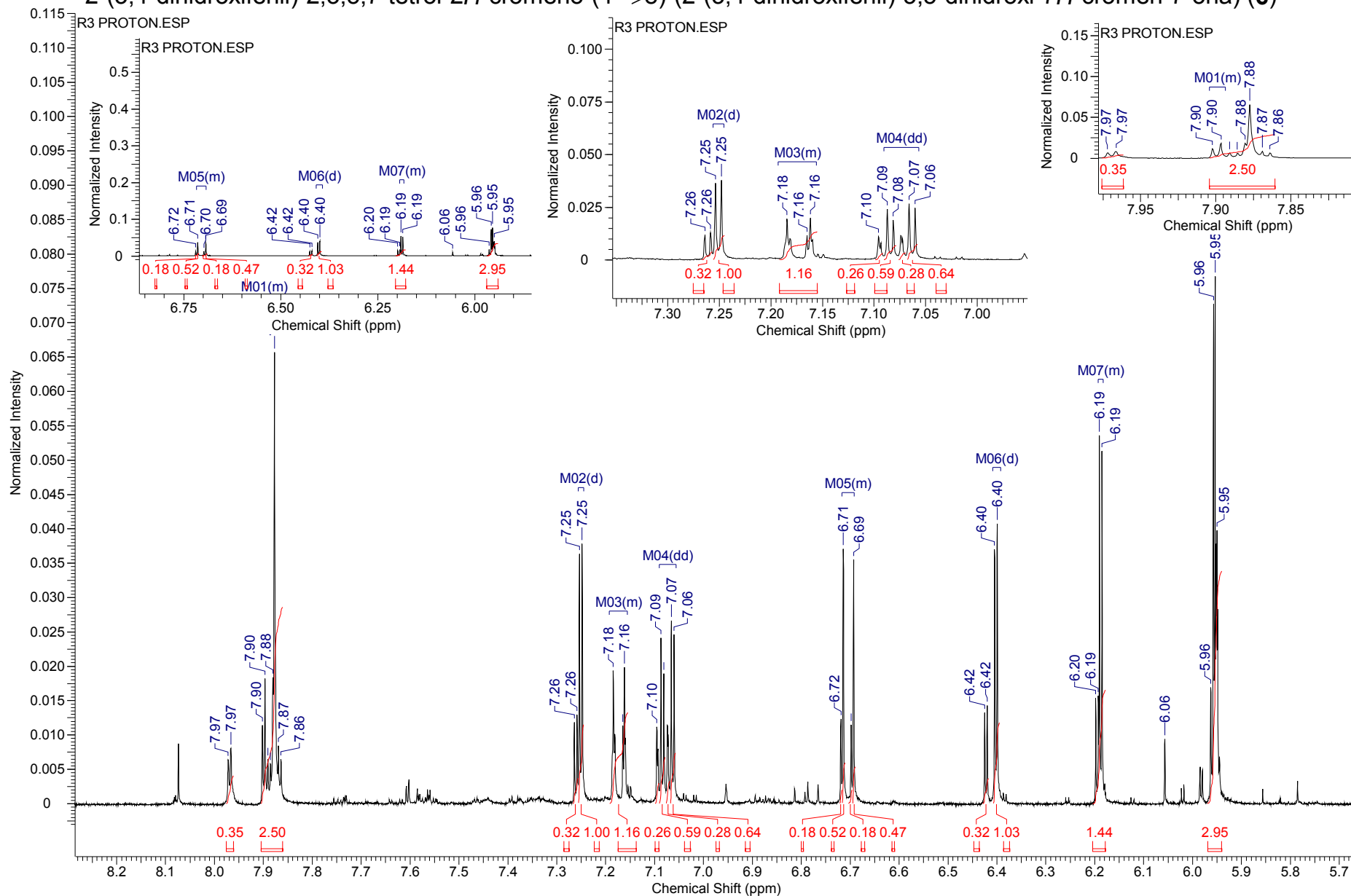


Figura 16: espectro de RMN- ^{13}C de
2-(3,4-dihidroxifenil)-2,3,5,7-tetrol-2*H*-cromeno-(4'->8)-(2-(3,4-dihidroxifenil)-3,5-dihidroxi-7*H*-cromen-7-ona) (**6**)

