



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**SÍNTESIS DE RESVERATROL.
CUANTIFICACIÓN DE FENOLES TOTALES EN VINOS.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

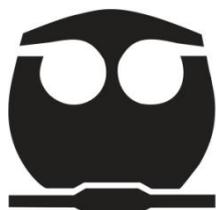
QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTA:

ARMANDO ZÚÑIGA MARTÍNEZ

MÉXICO, D.F.

AÑO 2014





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Dr. Gustavo Alberto García de la Mora
VOCAL: M. en C. Ricardo Jorge Cárdenas Pérez
SECRETARIO: Dra. María del Pilar Cañizares Macías
1er. SUPLENTE: Dra. Martha Patricia García Camacho
2do. SUPLENTE: QFB. Carolina Flores Ávila

La presente tesis se desarrollo en el laboratorio 2-8 del Departamento de Productos Naturales del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

M. en C. Ricardo Jorge Cárdenas Pérez

Asesor

Dr. José Antonio Morales Serna

Supervisor técnico

Armando Zúñiga Martínez

Sustentante

Agradecimientos

Llegado este momento hay muchas personas a las cuales debo agradecer que la tesis de licenciatura haya podido realizarse.

Al M. en C. Ricardo Jorge Cárdenas Pérez, por brindarme su apoyo incondicional, asesoría y paciencia, durante el desarrollo del proyecto.

Dr. José Antonio Morales Serna, por creer en mí y darme la oportunidad de trabajar en el grupo, enseñarme a trabajar, apoyarme y brindarme su amistad y palabras de aliento, así como llamarme la atención cuando fue necesario.

Al personal Técnico del Instituto de Química de la UNAM: Dr. Rubén Luis Gaviño Ramírez, Q. Erendirá García Ríos, M. en C. Lucía del Carmen Márquez por todo el apoyo que me brindaron en áreas de su especialidad.

Dr. Manuel de Jesús Salmón Salazar por todo su apoyo y otorgarme la beca del Sistema Nacional de Investigadores (SNI).

La presente tesis se realizó con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con número de proyecto 154867.

A las profesoras Lourdes Osnaya, Zoila Nieto, Lucía Cornejo, Patricia Severiano, Aleida Mina, por facilitarme una beca que salía de su salario para que pudiera seguir estudiando, lo cual me ayudo mucho para poder terminar mis materias y avanzar, a la profesora Lourdes Gómez, por la beca alimentaría que me otorgo, valoro enormemente todo su apoyo.

A la M. en C. Lucía Cornejo Barrera un agradecimiento muy especial por su apoyo incondicional, por siempre ayudarme con palabras de aliento, sus consejos, y apoyo económico que me ayudo a seguir con el camino que me propuse seguir hace algunos años.

Dra. Patricia Severiano Pérez, agradecer su amistad, su guía, consejos, apoyo cuando trabaje en el área, experiencia y conocimiento del área de análisis sensorial.

Adrian Téllez (hermanito), gracias por esas conversaciones, donde no solo se hablo de ciencia, también de ser mejores seres humanos, de tratar de entender porque a veces tienen que pasar ciertos eventos en nuestras vidas para crecer y ser más fuertes.

Alejandro Segura, Isabel; Jessica Ramírez, por todas las platicas que hemos tenido no solo de química, también para divertirnos y ponernos a reflexionar; Nancy, Mayra, Elizabeth, Demetrio, a todos y cada uno de mis amigos, me han ayudado con sus consejos, palabras de aliento y no me han dejado darme por vencido en el camino, a todos aquellos que no mencione, pero ustedes saben que han formado parte importante en mi vida.

A mis amigos y colegas del laboratorio 2-8 y 1-6: Alicia, Rosa Elia, Olivia, Nidia, Pavel, Diego, Gaby, Valeria, Joaquín, Jorge, Miguel Lanfray, Itzel, Alejandro, Sandra, Miguel Vasconcelos, Marcos Martínez, por la ayuda en el laboratorio y la convivencia sana que siempre tuvimos.

Raúl, Alejandro Sánchez Velázquez, a la señora Socorro Velázquez, y Violeta gracias por ser mi segunda familia, por apoyarme dándome trabajo, por sus consejos, por las alegrías y las tristezas que compartimos, por estar en los momentos difíciles de la vida y por todo su apoyo.

A mis padres Ansberto Zúñiga y Lourdes Martínez, gracias por todo su cariño, su apoyo incondicional, por darme lecciones de vida que he podido aprender y practicar a lo largo de mi vida, se que el camino no ha sido fácil, gracias por aguantarme tantos años, y permitirme hacer este sueño realidad, sin su ayuda no hubiera sido posible.

Mis hermanas Paula, Concepción y Fabiola, sin olvidar a mis sobrinos: Brayan, Brandon, Angelo, Jazmín, Melany e Ingrid, gracias por todas las alegrías, y la convivencia sana que hemos llevado durante todos estos años.

INDICE

Objetivos y justificación	1
Capítulo I. Introducción	
1.1. Diagrama de bloques	3
1.2. Definición de vino	4
1.3. Historia del vino	4
1.4. Componentes de la uva	5
1.5. Componentes químicos del vino	6
1.6. Importancia de la calidad de los vinos	13
1.7. Fenoles totales	15
1.8. Síntesis de resveratrol	18
Capítulo II. Resultados y conclusión	
2.1. Resultados y discusión: Síntesis de resveratrol	22
2.2. Caracterización por resonancia magnética nuclear	29
2.2.1. Caracterización por resonancia magnética nuclear ^1H	29
2.2.2. Caracterización por resonancia magnética nuclear ^{13}C	30
2.2.3. Caracterización por resonancia magnética nuclear ^{13}C DEPT 90	31
2.3. Resultados y discusión: Determinación de fenoles totales	33
2.4. Conclusiones	37
Capítulo III. Parte experimental	
3.1. Síntesis de Resveratrol	39
3.2. Determinación fenoles totales en vinos.	48

Justificación y Objetivos

Justificación y Objetivos

El Resveratrol es un polihidroxi-estilbeno que ha sido identificado en muchas plantas y existe en las pieles de las uvas como una fitoalexina (antibiótico de la planta). Es parte del mecanismo de defensa en contra del hongo *Botrytis cinerea*. Está presente en pequeñas cantidades en *Vitis vinifera*, y la cantidad depende de la condición de estrés de la planta. Por esta razón no puede obtenerse en grandes concentraciones por procesos de extracción. El diseño de una ruta de síntesis de fácil acceso para el resveratrol, ofrecerá una alternativa para la obtención de estándares de interés industrial.

Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos hidroxilo unidos a anillos aromáticos, siendo los flavonoides el grupo mejor definido entre los polifenoles de la dieta humana. Los polifenoles son importantes para la fisiología de las plantas, pues contribuyen a la resistencia a microorganismos e insectos y ayudan a preservar su integridad por su continua exposición a estresantes ambientales, incluyendo radiaciones ultravioletas y altas temperaturas.

La síntesis de resveratrol se ha llevado a cabo usando la reacción de Wittig por la formación del enlace C-C. La reacción de Wittig se utiliza para preparar una gran variedad de alquenos mono, di y trisustituidos a partir del derivado de fósforo y el aldehído o cetona apropiados. El acoplamiento C-C catalizado con paladio entre halogenuros de arilo o halogenuros de vinilo y alquenos activados, en presencia de una base, se conoce como la reacción de Heck. Desarrollos recientes en los catalizadores, así como en las condiciones de reacción han dado como resultado una variedad muy grande de donadores y aceptores que resultan ser apropiados para la reacción de Heck.

Hipótesis: A partir de reacciones mediadas por paladio, es factible sintetizar resveratrol.

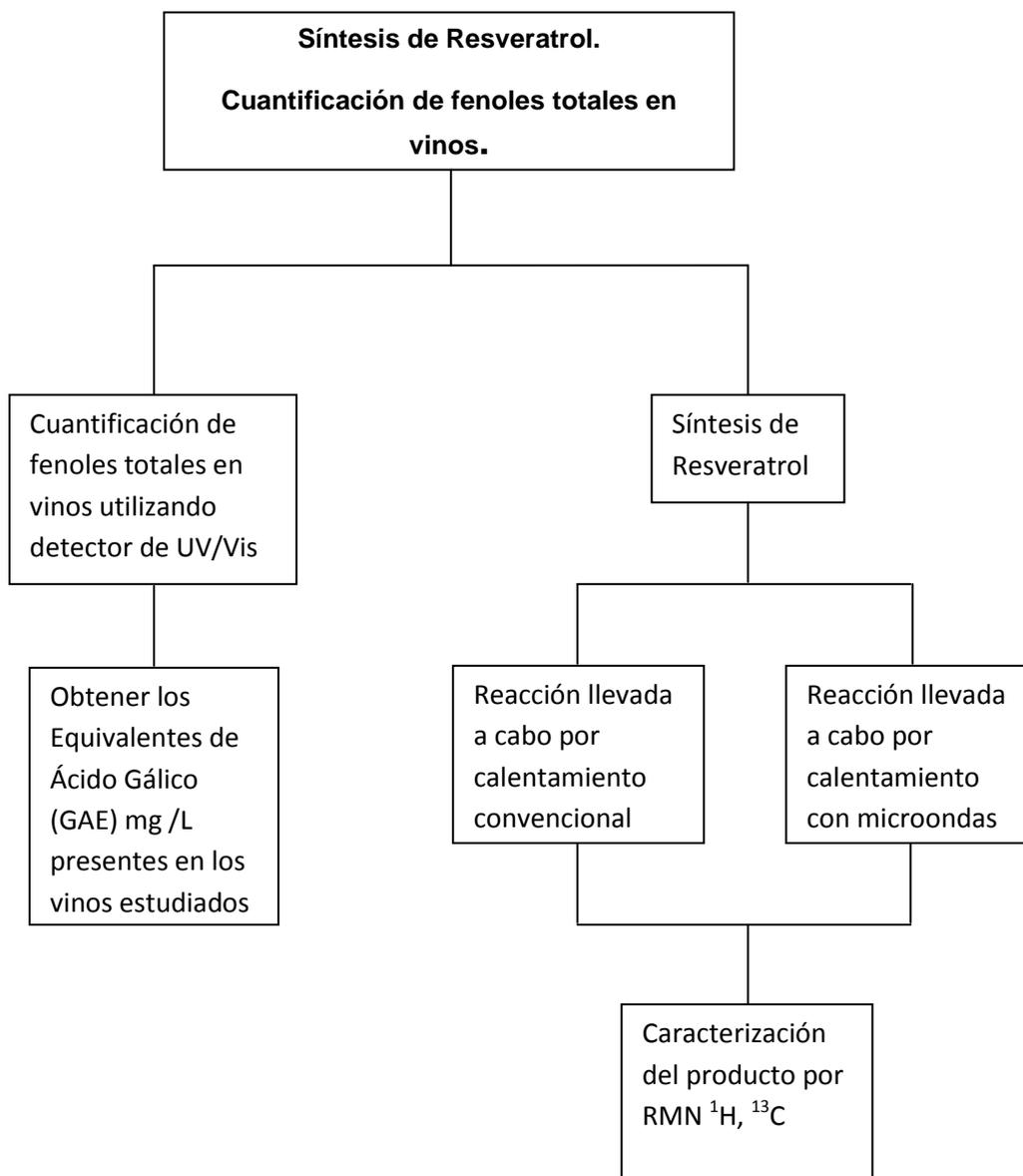
Los Objetivos planteados para la realización de este proyecto son:

- Estudiar la reacción de Wittig para la obtención de estilbenos.
- Estudiar la reacción de Heck para la obtención del resveratrol.
- Cuantificar fenoles totales en vinos mexicanos.

Capítulo I

Introducción

1.1. Diagrama de bloques



INTRODUCCIÓN

1.2. Definición de vino

El vino (del latín *vinum*) es una bebida obtenida de la uva (variedad *Vitis vinifera*) mediante la fermentación alcohólica de su mosto o zumo. La fermentación se produce por la acción metabólica de levaduras que transforman los azúcares del fruto en alcohol etílico y gas en forma de dióxido de carbono. El azúcar y los ácidos que posee la fruta *Vitis vinifera* hace que sean suficientes para el desarrollo de la fermentación. No obstante, el vino es una suma de un conjunto de factores ambientales: clima, latitud, altitud, horas de luz, etc.

1.3. Historia del vino

Los primeros cultivos de la uva (*Vitis vinifera*) ocurrieron en la edad de bronce 1300-1201 a.C., en lugares cercanos al Oriente Próximo, Sumeria y Antiguo Egipto alrededor del tercer milenio a. C.

La viticultura debe su mayor desarrollo a la propagación del cristianismo, por ser el vino necesario para la celebración de la misa. Los monasterios, con sus propios métodos de elaboración y extracción, fueron los precursores de la viticultura, dejando huellas tan claras como los vinos priorato.

Las uvas son el elemento esencial por el cual se elabora finalmente el vino. La uva que produce el vino pertenece a la familia biológica conocida como *vitaceae*, que son una clasificación de plantas con tendencia a trepar por las superficies fijas. Esta familia posee once géneros diferentes, pero tan sólo la *Vitis* es interesante como fruta vitivinícola. Dentro del género *Vitis* existen 60 especies, pero tan sólo la *vinifera* es la que proporciona vino.

La vid se ha ido extendiendo gracias a sus características adaptativas desde la especie euroasiática *Vitis vinifera* L. subsp. *sylvestris*, ha requerido pocos cambios genéticos para adaptarse a su cultivo a las diferentes zonas, posee un bajo requerimiento de agua y minerales, crece en tierras donde otros frutos no crecerían, gracias a su capacidad regenerativa permite una recolección intensiva. Esta adaptabilidad fue una de las claves de su expansión a lo largo de Europa, así como en la mayoría de los climas templados de la tierra. Uno de los mayores cambios que sufrió la vid fue cuando, en la antigüedad, se convirtió de una variedad "salvaje" (de

sexualidad dioica en su mayoría) a una "domesticada" (hermafrodita), se desconoce en la actualidad las razones de este cambio.

A lo largo de la historia del cultivo de la especie *vitis vinifera*, el hombre ha dado lugar a una gran infinidad de diversas variedades con el objeto de obtener aromas, sabores, etc. De esta forma se tienen los vinos elaborados con uvas de diferentes variedades dentro de la especie *vitis vinifera*, como pueden ser por ejemplo: malbec, verdejo, cabernet sauvignon, carménère, merlot, chardonnay, gewürtztraminer, etc. Todas ellas aportan un carácter especial a los vinos.

1.4. Componentes de la uva

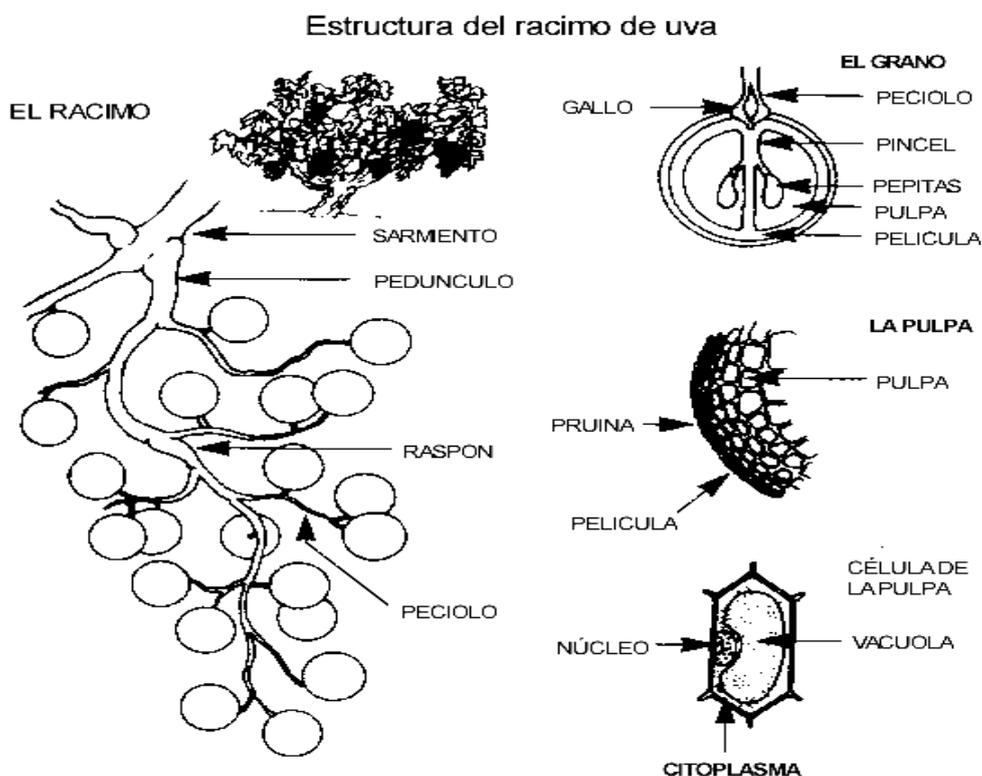


Figura 1. Estructura del racimo de uva.

Las uvas se hayan agrupadas en racimo, unidas al raspón por peciolo individuales. El raspón y los granos son los componentes fundamentales del racimo. Gracias al raspón podemos saber qué sustancias se podrán incorporar al vino posteriormente,

durante la fermentación. Respecto a la uva, hay que señalar que sus granos están compuestos por pieles, pulpa y semillas o pepitas. (Figura 1)

Los aromas de la uva están almacenados en sus hollejos. Por eso la estructura de la epidermis influye en la concentración aromática del vino. Las características del aroma y su intensidad pueden ser muy diferentes y son los que señalan diferencias de todos y cada uno de los vinos, las semillas o pepitas aportan una pequeña proporción de taninos (sustancias que dan carácter al vino y permite su conservación). En lo referente al color podemos decir que cada variedad de cepa tiene un color característico localizado en la piel y hollejos, que se extrae durante la fermentación alcohólica. (Figura 2)

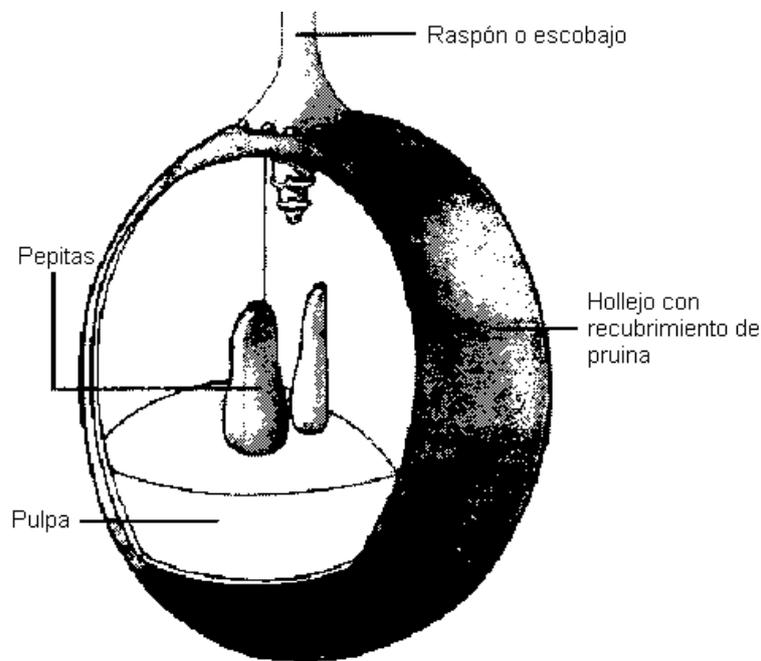


Figura 2. Estructura de la uva.

La luz y la temperatura influyen notablemente en esta coloración, pudiéndose apreciar diferencias entre los granos que han madurado a la sombra y los que lo han hecho expuestos al sol; Por lo tanto, todos estos factores integran el llamado "carácter varietal" del vino, es decir, el estilo propio de cada variedad.

1.5. Componentes químicos del vino

Los polifenoles son responsables del color de los vinos tintos, de la astringencia, dan cuerpo y estructura al vino y ocasionalmente producen gustos amargos. Se

encuentran en todos los órganos de las plantas en variadas formas de estructuras químicas y juegan un papel importante en la calidad. Cada cepaje tiene una composición polifenólica determinada, pero esto está fuertemente condicionado por factores agronómicos o ambientales.^{1,2}

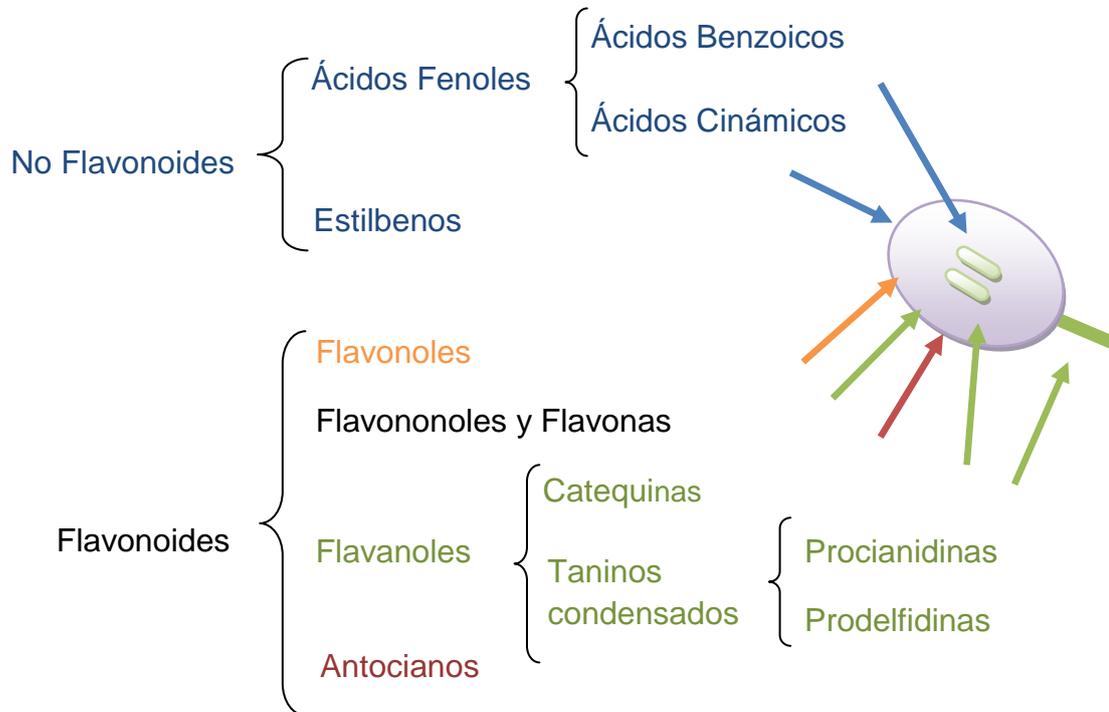


Figura 3. Clasificación de los compuestos fenólicos.

La cepa y sobre todo la baya de uva sintetizan polifenoles en respuesta a una situación de estrés como puede ser el ataque de un hongo, falta de agua (estrés hídrico), radiaciones ultravioleta o variaciones de temperatura.³ La manera por la cual estas sustancias son transformadas durante la vinificación influye sobre las características de los vinos. Muchas investigaciones del campo de la enología estudian los compuestos fenólicos con el propósito de mejorar la calidad de los vinos y conocer las propiedades de interés nutricional y farmacológico. Desde el punto de vista químico, los compuestos fenólicos se caracterizan por presentar un núcleo aromático acompañado de uno o varios grupos hidroxilo. Su clasificación está basada en la distinción entre compuestos no flavonoides y flavonoides. La uva contiene compuestos no flavonoides en la pulpa, piel, semilla y raspón. Mientras que los compuestos flavonoides se encuentran fundamentalmente en piel, semilla y raspón.

¹ Carbonneau, A.; Casteran, P.; Leclair, Ph. *Ann. Amelior Plants*. **1978**, 28, 195-221.

² Cheynier, V.; Moutoumet, M.; Sarni-Manchado, P. *C. Flanz.* **1998**, 124-164.

³ Delorie, A.; Kracva, E.; Dai, G-H.; Renault, A-S.; Rochard, J.; Chatelain, C.; Carbonneau, A.; Andary, C. *Phytoma*. **1996**, 510, 46-51.

Estos últimos de gran influencia en el color, estructura y capacidad de crianza del vino. (Figura 3)

No flavonoides

Esta denominación abarca los ácidos fenólicos, que se dividen en: ácidos benzoicos, ácidos cinámicos, y estilbenos.

Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos se pueden encontrar tanto en forma libre como esterificados con el ácido tartárico u otros componentes del vino. Estos compuestos no afectan directamente el color del vino tinto, aunque si pueden participar en el color mediante fenómenos de copigmentación. Desde el punto de vista organoléptico no parece tener impacto sobre el sabor del vino tinto. Sin embargo la degradación de los ácidos fenólicos da lugar a fenoles volátiles que pueden provocar defectos en el vino a nivel olfativo.⁴ (Figura 4)

Los ácidos benzoicos están compuestos por un núcleo bencénico con sustituciones en C₃, C₄ y C₅. En el vino están presentes mayoritariamente en forma de ácido p-hidroxibenzoico (C₄) (R₁=H, R₂= H), ácido siríngico (R₁=OCH₃, R₂= OCH₃) y ácido gálico (R₁=OH, R₂=OH). El ácido gálico en su forma dimérica, ácido eláxico, forma parte de los vinos de crianza y provenientes mayoritariamente de la madera.

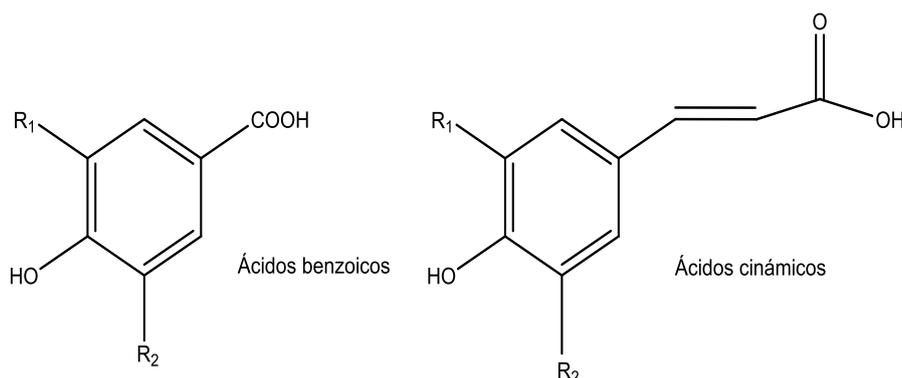


Figura 4. Estructura química de los ácidos fenólicos.

Los ácidos cinámicos, están compuestos por un núcleo bencénico con una cadena lateral insaturada y sustituciones en los carbonos C₅-C₃. Están principalmente en el

⁴ Zamora, F. *AMV Ed. Madrid. 2003*, 3-46.

vino el ácido p-cumarico ($R_1=H$, $R_2=H$), ácido ferúlico ($R_1=OCH_3$, $R_2=H$) y el ácido cafeico ($R_1=OH$, $R_2=H$). Este último en su forma esterificada es el no flavonoide que se encuentra en mayor concentración en los vinos jóvenes poco oxidados, derivándose en nuevos compuestos al exponerse a la oxidación.⁵

Estilbenos

Los estilbenos se encuentran mayoritariamente en la piel de la uva, aunque se han encontrado concentraciones de hasta 43 $\mu\text{g/g}$ en semillas.⁶ Estos compuestos están formados por 2 anillos bencénicos unidos por una cadena etileno. (Figura 5)

Los estilbenos no interfieren ni en el color ni en el sabor del vino, sin embargo, es muy conocido y estudiado el estilbeno denominado resveratrol, por su importancia en la salud humana (protector del aparato circulatorio, antioxidante y anticancerígeno). Este se encuentra en la vid formando numerosos oligómeros que participan en la respuesta a ataques fúngicos.⁷

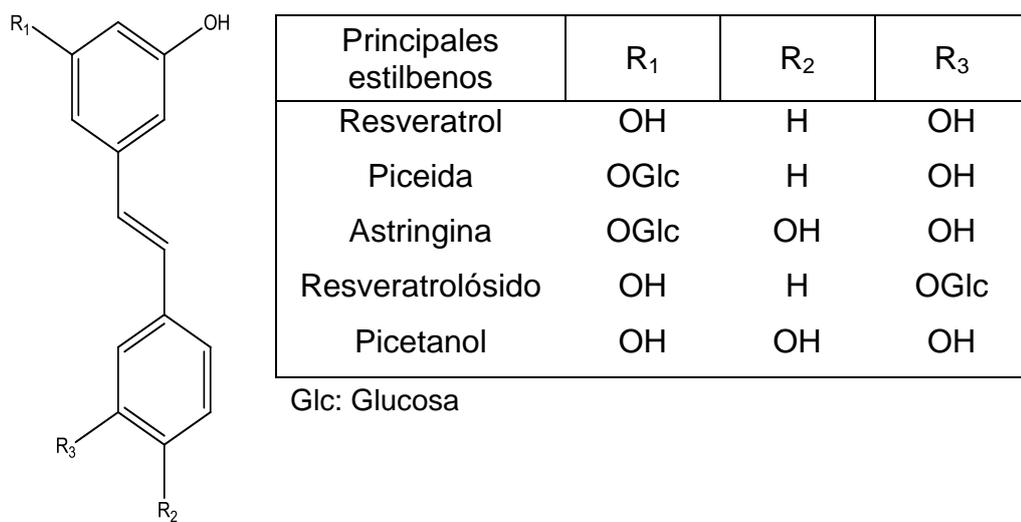


Figura 5. Estructura química de estilbenos.

Los Flavonoides

Los flavonoides están caracterizados por un esqueleto con base de 15 átomos de carbono ($C_6-C_3-C_6$) de tipo 2-fenil benzopirona. Para su estudio se dividen en 4 familias: los Flavonoles, que incluyen a los taninos condensados o procianidinas, los

⁵ Cheynier, V. F.; Trouslade, E.; Singleton, V.L.; Salgues, M.; Wilde, R. *J. Agric. Food Chem.* **1986**, *34*, 217-221.

⁶ Ector, B.J.; Mage, J.B.; Hegwood, C.P.; Coig, M.J. *Am. J. Enol. Vitic.* **1996**, *47*, 57-62.

⁷ Langcake, J.L.; Price, R.J. *Physiol. Plant Pathol.* **1976**, *9*, 77-86.

Flavononoles, Flavonas; y por último los Antocianos. Los Flavonoles son sustancias de color amarillo que se encuentran en la piel de la uva, tanto en forma de eterósidos como de agliconas. (Figura 6) No contribuyen de modo importante en el color de los vinos tintos, si bien, influyen levemente en la componente amarilla. Los flavonoles que están presentes en los vinos es el kampfrol ($R_1=H$, $R_2= H$) y la quercitina ($R_1=OH$, $R_2= H$), la miricetina ($R_1=OH$, $R_2=OH$) y la isoramnetina ($R_1=OCH_3$, $R_2= H$).

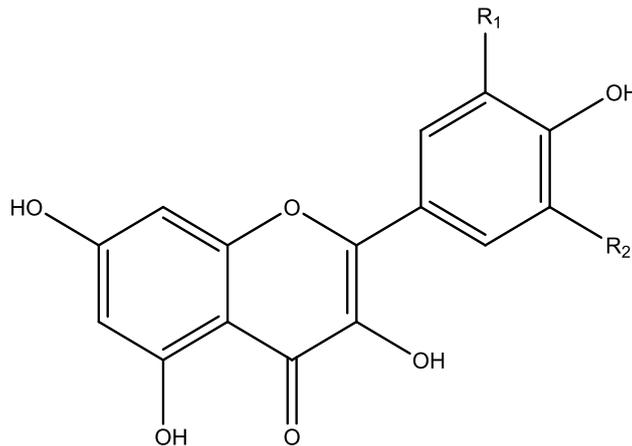


Figura 6. Estructura química de los flavonoles.

Flavononoles y Flavonas

Los flavononoles y las flavonas son compuestos muy similares a las flavonoles, diferenciándose de estos en que no poseen el doble enlace del heterociclo.⁸

Flavanoles

Los flavanoles constituyen una compleja familia dentro de los compuestos fenólicos. Se encuentran en elevadas concentraciones en la uva y juegan un papel muy importante en propiedades organolépticas del vino como son el color, la sensación de cuerpo, estructura en boca y astringencia.

Los flavanoles están compuestos por las formas isoméricas de la catequina y sus polímeros, los taninos. La estructura básica de la catequina presenta 2 carbonos asimétricos por lo que existen 4 isómeros (+)/(-) catequina y (+)/(-) epicatequina. Además puede presentar un tercer grupo OH en el anillo aromático externo que da

⁸ Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Marjean, A.; Dubourdieu, D. *Química del vino, estabilización y tratamientos*. Ed. Mundiprensa. **2003**, 177-247.

lugar a las correspondientes (+)/(-) galocatequinas y (+)/(-) epigalocatequinas. (Figura 7)

También puede encontrarse sustituido el grupo OH de la posición 3 del heterociclo por una molécula de ácido gálico, dando lugar a los 3-galatos de (+)/(-) (galo) catequina y de (+)/(-) epi(galo)catequina. En la uva, los monómeros de flavonol aparecen únicamente en una pequeña proporción ya que la mayor parte están en forma de polímeros. Los taninos condensados están presentes en la uva y son un grupo heterogéneo formado por la condensación de 2 o más unidades de diversos monómeros de flavonoles unidos por enlaces C₄-C₆ ó C₄-C₈ (enlaces tipo B) o con una unión suplementaria tipo éter entre en C₃ y los C₅ y C₇ (enlace tipo A).⁹

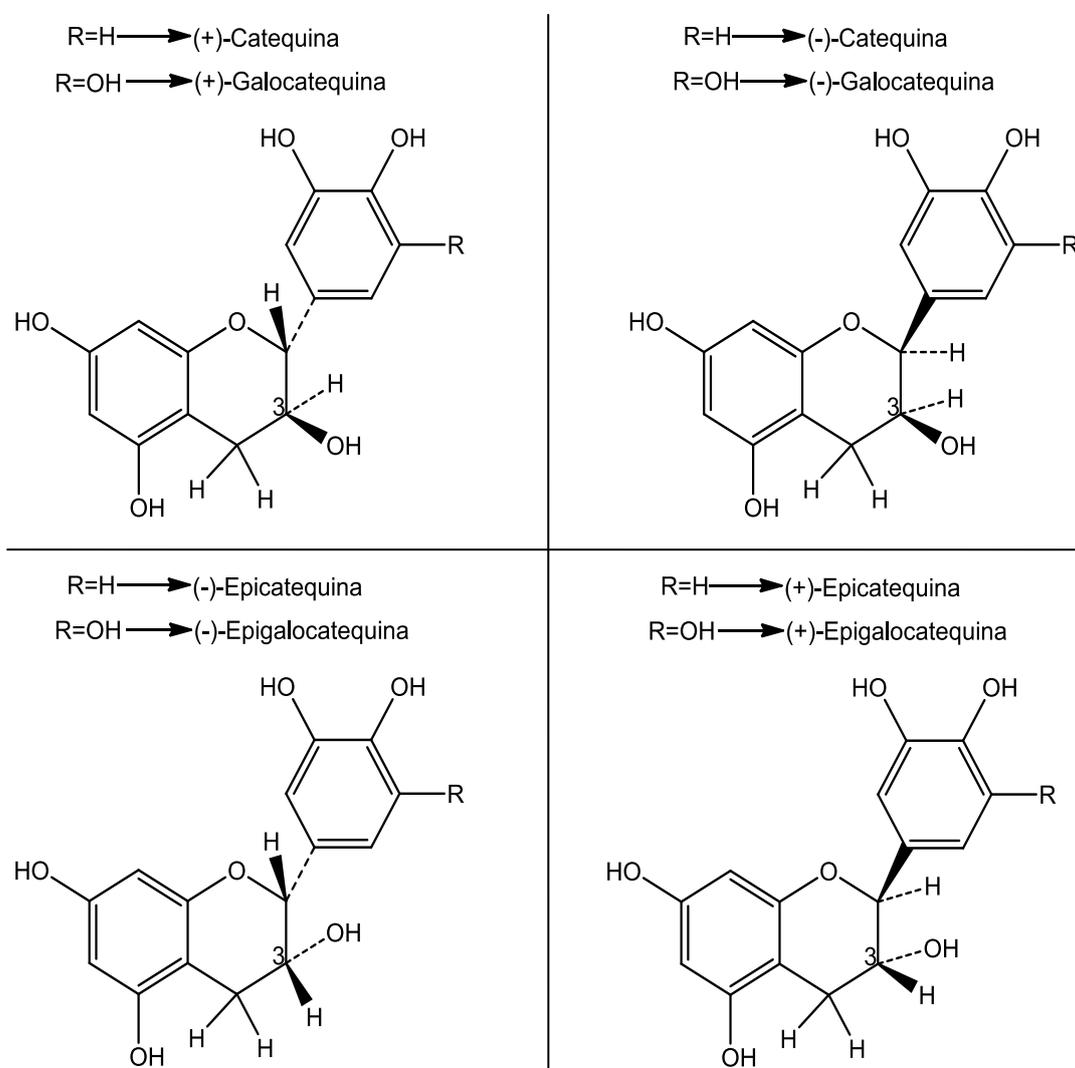


Figura 7. Estructura química de los monómeros de flavanol.

⁹ Xie, D. Y.; Dixon, R.A. *Phytochem.* **2005**, 66, 2127-2144.

Antocianos

Los antocianos (del griego *anthos* flor y *kyanos* azul) son compuestos solubles en agua, responsables del color de frutas, vegetales y flores, están presentes en la piel de las uvas tintas y otorgan el color a los vinos tintos y rosados. Su estructura comprende dos anillos bencénicos unidos por un heterociclo oxigenado, insaturado y catiónico, el catión flavilio, que deriva del núcleo 2-fenilbenzopirilio.⁸ (Figura 8)

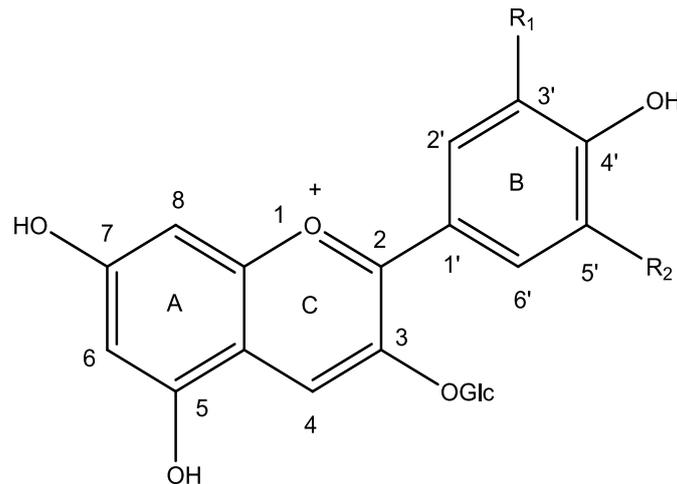


Figura 8. Estructura química de los antocianos.

Se distinguen en la uva y el vino, según la sustitución del núcleo lateral, cinco moléculas definidas con dos o tres sustituyentes (OH y OCH₃). Estas agliconas son la Cianidina, la Peonidina, la Delfidina, la Petunidina y la Malvidina. (Tabla 1)

Los antocianos presentan el color y se encuentran solo en la piel de la uva, excepto en las variedades tintoreras que aparecen también en la pulpa del grano de uva. En *Vitis vinifera* los encontramos en forma de monoglucósidos en la posición C₃. Generalmente la malvidina es el antociano mayoritario en la uva. La glucosa puede encontrarse acilada, es decir esterificada en posición C₆ con otros ácidos, principalmente acético, p-cumárico, y cafeico.

Al pH del vino tinto (3.5-4.1) podemos decir que existe un equilibrio entre las formas rojas, incoloras y azules de los antocianos, contribuyendo al color entre un 20-30% de los antocianos. No obstante, la estabilidad de los antocianos no solo está amenazada por los cambios de pH y temperatura, sino también depende de la estructura y concentración de los mismos, así como, de la presencia de agentes con los que

puedan combinarse.¹⁰ Básicamente hay tres fenómenos que modifican este equilibrio: la copigmentación, la existencia de antocianos oligoméricos y las combinaciones de los antocianos con los flavonoles, estos modificarán la intensidad y tonalidad de los vinos tintos.

Tabla 1. Antocianos presentes en la uva y el vino.						
Principales agliconas	R ¹	R ²	3-Monoglucósidos	Ésteres de ácidos		
				Acético	Cumárico	Cafeíco
Cianidina	OH	H	Presentes en Vitis			No
Peonidina	OCH ₃	H	Presentes en Vitis			
Delfinidina	OH	OH	Presentes en Vitis			No
Petudina	OCH ₃	OH	Presentes en Vitis			No
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃	Presentes en Vitis			

1.6. Importancia de la calidad de los vinos tintos

El mercado actual de vino tinto de alta calidad demanda vinos de gran intensidad de color y alta concentración tánica, sin que estos sean excesivamente astringentes. No es fácil producir este tipo de vinos ya que la uva requiere presentar los niveles de madurez y calidad necesarios. El color es la carta de presentación de un vino tinto.

Observándolo obtenemos información sobre su edad y estado de conservación. La intensidad color, no es aun un criterio absoluto de calidad, nos revela detalles de la estructura, cuerpo del vino y sabor en boca. El color va unido a sensaciones gustativas y táctiles.¹¹

Factores que influyen en la calidad.

Los factores que influyen en la calidad y el estilo de los vinos son muy concretos y localizables; de ahí que nunca se puede decir que dos vinos son iguales. Dichos factores son:

- Variedad de la uva.
- Localización del viñedo (suelo, clima, altitud).
- Métodos del cultivo.

¹⁰ Bakowska, A.; Kurcharska, A.Z.; Oszmianski, J. *Food Chem.* **2003**, *81*, 349-355.

¹¹ Cacho Palmar, J.F. www.unizar.es 1 de Abril 2014. **2003**.

- Sistemas de elaboración y crianza.
- Diferencias producidas por la añada.

El Clima

El Clima influye en las cualidades del vino, en zonas con mucho sol sus vinos serán más ricos en azúcar, en zonas frías serán ácidos y secos. Los climas templados son los mejores para el desarrollo de la vid, la vid vinífera. Una planta mediterránea no puede cultivarse en climas extremos. Las áreas del cultivo de la vid se concentran en dos franjas comprendidas entre los 30° y 50° de latitud en ambos hemisferios.

La Cepa

Uno de los factores que intervienen en la calidad de los vinos es la cepa. Según sea la cepa (variedad) determinará la elaboración de vinos diferentes, aunque sean viñedos cultivados en las mismas regiones y suelos. Resulta decisiva la influencia del suelo en la vida de la cepa, en terrenos arenosos y silíceos los vinos serán finos, de poco cuerpo, mientras queramos vinos robustos de más cuerpo las tierras serán arcillosas y calcáreas. (Tabla 2)¹²

Tabla 2. Relación entre la calidad del suelo y el vino	
Tipos de suelo	Calidad de vino
Arena Caliza	Vino alcohólicos y secos
Caliza	Vinos de gran cuerpo
Arenas	Vino suaves y poco alcohólicos
Arcilla caliza	Vinos finos, no muy alcohólicos con bouquet
Arcillas	Vinos poco finos
Arcillas ferruginosas	Vinos alcohólicos y de fuerte color
Suelos fértiles y compactos	Vinos poco finos
Suelos húmedos o de regadío	Vinos de baja calidad
Humíferos	La vid no crece ni se desarrolla

¹² Laudy, F.M. del C. Tesis de Docotorado. *La universitat Rovira i Virgili*, Tarragona-Catalunya, España. 2007, 1-67.

1.7. Fenoles totales

La cuantificación e identificación de los compuestos fenólicos en vino ha despertado un gran interés, por lo cual se han desarrollado técnicas analíticas que permiten conocer los fenoles presentes en el vino, lo que ha hecho que cada día sean más los datos que podemos encontrar en la bibliografía científica. Estas técnicas analíticas son: la cromatografía en capa fina (TLC), la cromatografía de gases (CG), y la cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC), y también se encuentran las técnicas espectrofotométricas.¹³ Destacan el ensayo de la vainillina para la determinación de compuestos flavan-3-ol, dihidrochalconas y proantocianidinas que tienen una unión simple en las posiciones 2,3 y poseen grupos hidroxilos en la posición meta del anillo B¹⁴ y el ensayo de Folin-Ciocalteu para la cuantificación de fenoles totales, esta técnica ha llegado a ser la más utilizada para determinar de manera cuantitativa los fenoles totales.¹³ Este método consiste en generar color adicionando el reactivo de Folin-Ciocalteu en un medio alcalino^{15, 16}.

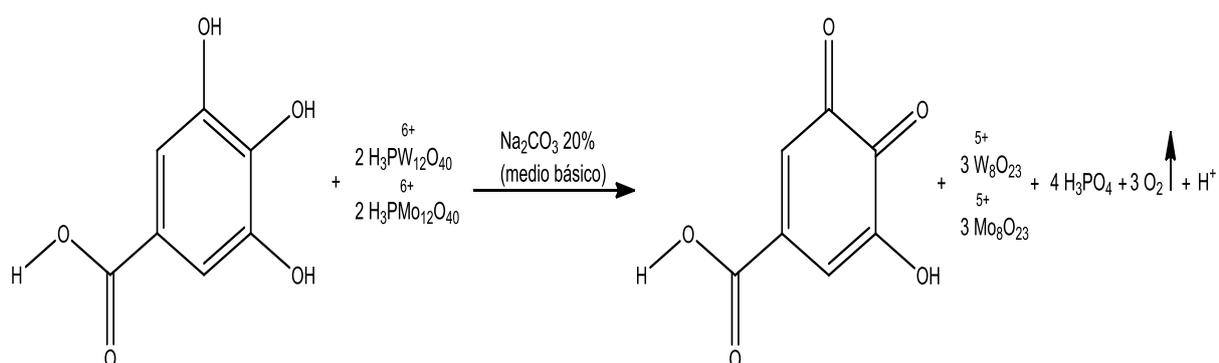


Figura 9: Reacción propuesta para la determinación de fenoles totales.

El reactivo de Folin-Ciocalteu constituido por una mezcla de ácido fosfotúngstico ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) y ácido fosfomolibdico ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) que se reduce por la oxidación de los fenoles, en una mezcla de óxidos azules de tungsteno (W_8O_{23}) y de molibdeno (Mo_8O_{23}). (Figura 9) La coloración producida genera una absorción máxima en 750 nm, que es proporcional al porcentaje de compuestos fenólicos. La concentración de fenoles totales del vino varía entre 1.80 y 1.06 g/L, para el vino tinto y entre 0.16 y 0.30 g/L para el blanco.

¹³ Martínez Vázquez, J.B. Tesis de Licenciatura. *Universidad Tecnológica de la Mixteca*. **2007**, 7-20.

¹⁴ Martínez-Valverde, I.; Periago, M.J.; Ros, G. *Arch. Latinoamer. Nutr.* **2000**, 50, 5-18.

¹⁵ Hosu, A.; Cristea, V.M.; Cimpoi, C. *Food Chem.* **2014**, 150, 113-118.

¹⁶ Tourtoglou, Ch.; Nenadis, N.; Paraskevopoulou, A. *J. Food Comp. Anal.* **2014**, 33, 166-174.

El contenido de fenoles totales se correlaciona muy fuertemente con su actividad antioxidante, un vaso de vino tinto (150 mL) equivale a 12 de vino blanco, o 2 tazas de té, 4 manzanas, 5 porciones de cebolla, 3.5 vasos de cerveza, 7 de jugo de naranja o 20 de manzanas; sin embargo, la concentración y variedad de los compuestos fenólicos en el vino depende de numerosos factores: clima, terreno, una cosecha temprana o tardía, los diferentes procedimientos del procesado de la uva y del tiempo de fermentación del mosto.

Los principales compuestos fenólicos en vinos son: el ácido cafeico, epicatequina, catequina, ácido gálico, cianidina, malvidina-3-glucosido, rutina, miricetina, quercetina, resveratrol. Estos fenoles además de contribuir a las características sensoriales del vino, poseen en mayor o menor grado propiedades antioxidantes.

El papel de los compuestos fenólicos en las variedades de uva es determinante para la calidad del vino, especialmente cuando se destina a la crianza en bodega. El contenido de compuestos fenólicos depende de la variedad de uva, el rendimiento de la cosecha, así como de los factores antes mencionados. La mayor parte de estos compuestos presentes en el vino provienen de la uva, sin embargo, algunos de ellos pueden ser adquiridos por la madera durante la estancia en bodega.

1.7.1. Importancia Biológica

Los polifenoles pueden reducir la peroxidación de los lípidos de las LDL barriendo radicales libres, o provocando quelación de metales de transición, de efectos oxidantes reconocidos (Cu^+ , Fe^{++}), o economizando la vitamina E y carotenoides que son los antioxidantes asociados con estas lipoproteínas.

El efecto vasodilatador dependiente del endotelio (para que se lleve a cabo tal efecto depende de óxido nítrico), específicamente vinos producidos “en bodega”, posiblemente debido a su alto contenido de sustancias polifenólicas, por lo cual no se puede tener una visión única de los efectos de cualquier tipo de vino tinto. Se ha señalado que el efecto benéfico del vino tinto sobre el infarto del miocardio se debe en gran parte a sus propiedades vasodilatadoras. Algunos de los compuestos polifenólicos del vino reducen el crecimiento tumoral y la carcinogénesis por medio de mecanismos que incluyen la inhibición de la fosfolipasa A_2 , cicloxigenasa, fosfodiesterasa y varias proteínas quinasa vinculadas a la señalización celular. El vino

tinto es una de las fuentes importantes de flavonoides, los cuales son excretados por la orina, donde protegen a las células de la vejiga de carcinógenos particularmente en sujetos fumadores. Los flavonoides que tienen propiedad cardioprotectora son el resveratrol y la quercitina, con propiedades antioxidentes más potentes que el alfatocoferol.

Uno de los estilbenos más estudiados en el vino es el resveratrol, que es una fitoalexina con varias propiedades biológicas y farmacológicas.^{17,18} *In vitro* el resveratrol ha demostrado ser un fuerte antioxidante, un fitoestrógeno, un inhibidor de la tumorigénesis, un vaso relajador, un inhibidor de la agregación plaquetaria, un inhibidor de la ciclooxigenasa-2 y de los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos. *In vivo* también se ha comprobado su efecto antioxidante con los lípidos de baja densidad (LDL) de mujeres posmenopáusicas,¹⁹ el efecto antiinflamatorio y antiaterogénico al inhibir la expresión de moléculas de adhesión al endotelio en un modelo experimental murino (ratas y ratones). Tiene un efecto citostático sobre células tumorales del colon a través de una inhibición de la ciclooxigenasa-2 y un efecto como antiagregante plaquetario en conejos hipercolesterolémicos y voluntarios humanos sanos.

Dentro de la bibliografía se han encontrado datos inconsistentes en estudios con humanos, algunos de ellos como el hecho de que no se ha llegado a una conclusión sobre la biodisponibilidad y absorción de los polifenoles del vino. En algunos casos se ha requerido de la administración intravenosa de polifenoles a altas concentraciones, que probablemente no se alcancen con la dieta ni con los suplementos dietéticos hoy disponibles, han abierto la interrogante de si la reducción de la mortalidad por enfermedades cardiovasculares observada en bebedores moderados pueda deberse a fitoquímicos del vino, al propio etanol o a la dieta de los consumidores del vino.

¹⁷ Rodríguez-Delgado, M.A.; González, G.; Pérez-Trujillo, J.P.; García-Montelongo, F.J. *Food Chem.* **2002**, 76, 371-375.

¹⁸ Lyons, M.M.; Yu Ch.; Toma, R.B.; Cho, S.Y.; Reiboldt, W.; Lee, J.; van Breemen, R.B. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 5867-5870.

¹⁹ Đekić, S.; Milosavljević, S.; Petrović, A.; Nikićević, N.; Manojlović, V.; Nedović, V.; Tešević, V. *J. Serb. Chem. Soc.* **2008**, 73, 1027-1037.

Algunos ensayos no han encontrado diferencias entre distintas bebidas alcohólicas consumidas (vino, cerveza, licores) en relación con su efecto protector del sistema cardiovascular.^{20,21,22,23}

1.8. Síntesis de resveratrol

En los últimos años, los derivados de estilbenos han atraído la atención debido a su amplia gama de actividad biológica y valor terapéutico. El resveratrol es quizás el polihidroxi estilbeno más reconocido (de origen natural), ya que se encuentra fácilmente en la corteza de la vid, hojas, uvas y otras plantas. El resveratrol se sintetiza en las uvas en respuesta a infecciones microbianas o estrés. Sin embargo, también se produce después de la exposición a tratamientos químicos tales como herbicidas y luz UV. Se ha pensado recientemente que el resveratrol es el agente implicado en la “Paradoja Francesa” y la molécula responsable por el efecto de la dieta mediterránea en la que el consumo alto en grasa, junto con un consumo moderado de vino conduce a tasas anormalmente bajas de enfermedades del corazón y cáncer que en Norteamérica o en regiones de Europa del Norte donde no se bebe regularmente vino.²⁴

La formación del enlace doble carbono-carbono (Figura 10) es el paso clave en la síntesis de (Z) y (E) estilbenos. Los principales métodos para la síntesis de estos productos son los llevados a cabo por la reacción de Wittig para el isómero Z y la reacción de Wittig-Horner para el isómero E. Otras estrategias utilizadas en la síntesis de estilbenos son las reacciones catalizadas con paladio (reacción de Heck) y la reacción de acoplamiento de Suzuki. Además se han utilizado: metátesis catalizada con rutenio, reacción de Perkin, la reacción de Ramberg-Bäcklund y litiación.^{25, 26, 27} (Figura 10)

²⁰ Córdoba, C.V. *Serie Fisiología vegetal*. **2010**, 2, 1-17.

²¹ Rodríguez Delgado, M. A.; Gonzales Hernández, G.; García Montelongo, M.J.; Pérez Trujillo, J.P. *Jornadas técnicas vitivinícolas Canarias*. 87-96.

²² Gonzalez-Neves, G.; Barreiro, L.; Gil, G.; Charamelo, D.; Balado, J.; Bochichio, R.; Gatto, G.; Tessore, A. *Enología*. **2007**, 4, 1-12.

²³ Gutiérrez, A. M. *Rev. Cub. Alimen. Nutr.* **2002**, 16, 134-41.

²⁴ Rodríguez-Delgado, M.A.; González, G.; Pérez-Trujillo, J.P.; García-Montelongo, F.J. *Food Chem.* **2002**, 76, 371-375.

²⁵ Guiso, M.; Marra, C.; Ferranti, C. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 597-598.

²⁶ Farina, A.; Ferranti, C.; Marra, C. *Nat. Prod. Res.* **2006**, 20, 247-252.

²⁷ Learmonth, D. A. *Bioconjugate Chem.* **2003**, 14, 262-267.

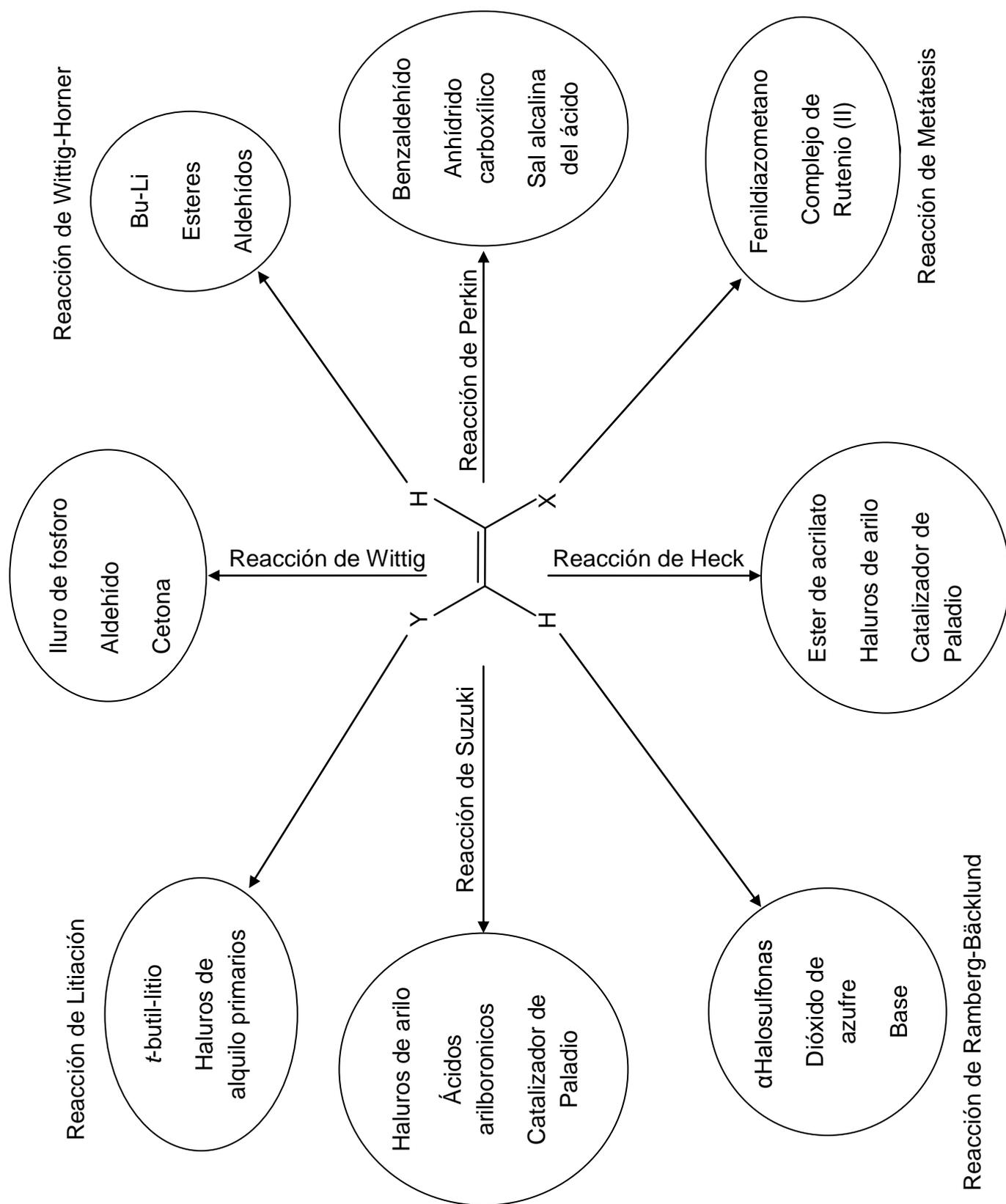


Figura 10: Obtención del doble enlace carbono-carbono con diferentes metodologías.

1.8.1. Determinación de Resveratrol

La determinación de resveratrol se realiza en vinos blancos o tintos por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) en fase reversa con detector ultravioleta visible. El incremento de la sensibilidad y de la selectividad del detector permite cuantificar este compuesto después de una etapa de preconcentración usando un cartucho de extracción en fase sólida C-18.²⁸

La cromatografía en fase reversa permite separar moléculas en base a su polaridad. El principio de la cromatografía en fase reversa es semejante al de la cromatografía en capa fina, sin embargo, aquí la fase estacionaria es de partículas de sílica químicamente modificadas con hidrocarburos saturados, insaturados o aromáticos de diferentes tipos. Esto convierte a la fase estacionaria en una matriz apolar. Por lo que, para este tipo de cromatografía se emplean mezclas de solventes polares, tales como agua, acetonitrilo, acetato de etilo, acetona y alcoholes alifáticos. Las moléculas se retienen en virtud de las interacciones que establece la sílica modificada, las interacciones hidrofóbicas son bastante débiles y muy numerosas y para eluir las moléculas es necesario disminuir la polaridad del disolvente; para ello se puede substituir en agua de la fase móvil con un solvente orgánico cuya concentración aumenta gradualmente.²⁹

El detector de UV/VIS se clasifica como detector de absorbancia. Es fácil de operar y proporciona una buena estabilidad, la muestra pasa a través de una celda de vidrio claro sin color, llamada celda de flujo, cuando la luz UV pasa a través de la celda de flujo, la muestra absorbe parte de la luz UV; la intensidad de la luz UV observada para la fase móvil (es decir, sin muestra) y la muestra que contiene eluyente será diferente. La medición de esta diferencia, puede determinar la cantidad de muestra. Puesto que la absorbancia de UV también difiere, dependerá de que longitud de onda se utilice, es importante elegir una longitud de onda entre 195 a 370 nm.³⁰

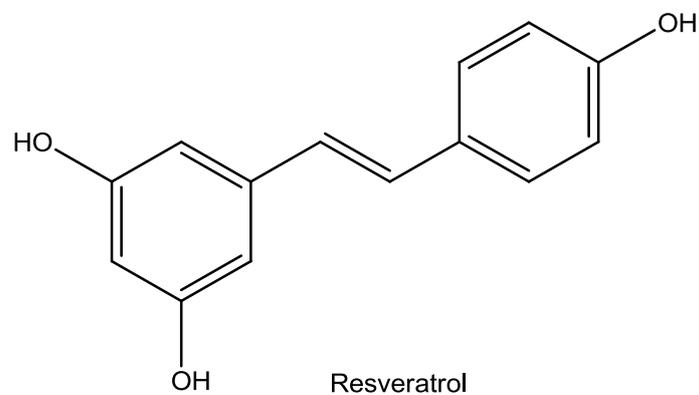
²⁸ Tovar-Reyes, J.R.; Franco-Mora, O.; Morales-Rosales, E.J.; Cruz-Castillo, J.G. *Rev. FCA. UNCuyo*. **2009**, 2, 127-137.

²⁹ <http://www.depa.fquim.unam.mx/proteinas/estructura/EPrpc.htm>. 1 de Abril **2014**.

³⁰ <http://www.shodex.net/index.php?lang=3&applic=1485>. 1 de Abril **2014**.

Capítulo II

Resultados



2.1. Resultados y discusión: Síntesis de Resveratrol

La presente tesis tiene como objetivo contribuir con el enriquecimiento de las estrategias para la síntesis de resveratrol, utilizando el complejo fosfinito de paladio (II) que presenta estabilidad en condiciones ambientales (Figura 11). Como parte del interés en la preparación y aplicación de este complejo, hemos demostrado recientemente que el complejo fosfinito de paladio (II) es útil en el acoplamiento de Heck de haluros de arilo con alcoholes alílicos primarios y secundarios³¹ y en la arilación de Heck de alquenos deficientes y ricos en electrones.³² El complejo fosfinito de paladio (II) se sintetizó por primera vez en 1971 por Dixon,³³ tiempo después, la estructura cristalina fue descrita por varios grupos de investigación, haciendo experimentos como la metoxicarbonilación de yodobenceno y el acoplamiento cruzado de bromobenceno con acrilato de butilo. Se han sintetizado compuestos similares que contienen platino y paladio con hidrógeno ligado a P-O-H-O-P y se han utilizado en la síntesis de amidas y en la hidrofosforilación de alquinos.

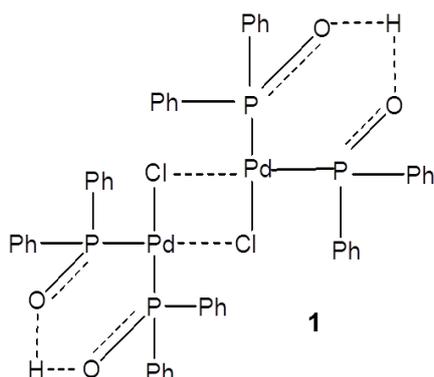


Figura 11: Complejo fosfinito de paladio (II)

Con este telón de fondo que canaliza los esfuerzos para demostrar que el complejo fosfinito de paladio (II) puede ser de utilizado como catalizador altamente quimio-, regio-, y estereoselectivo en la síntesis de derivados de trans-estilbenos. Se estudio el uso del complejo fosfinito de paladio (II) en la reacción de Heck que ocurre entre el yodobenceno (**2a**) y estireno (**3**) y se comparan los rendimientos obtenidos realizando las reacciones en condiciones estándar y utilizando un reactor de microondas.

³¹Sauza, A.; Morales-Serna, J. A.; García-Molina, M.; Gaviño, R.; Cárdenas, J. *Synthesis* **2012**, *44*, 272-282.

³²Jiménez-Bülle, J.; Gaviño, R. *Catal. Commun.* **2008**, *9*, 826-830.

³³Dixon, K. R.; Rattray, A. D. *Can. J. Chem.* **1971**, *49*, 3997-4004.

Después de evaluar varios disolventes, se determinó que el acetonitrilo es el mejor disolvente (Tabla 3 experimentos 7-9). Adicionando 1.0% mol de fosfinito de paladio (II) fue suficiente para obtener un rendimiento cuantitativo de trans-estilbeno en 12 horas (**4a**). Desafortunadamente los intentos para disminuir la cantidad de catalizador de 1 a 0.1 o 0.01% en moles se refleja en rendimientos más bajos (experimentos 10 y 11). Además el rendimiento fue menor cuando se utilizó acetato de sodio como base (experimentos 1, 4 y 7). En ambos procedimientos, el isómero E se observó como único producto.

Tabla 3: Reacción de Heck entre Yodobenceno y Estireno^a

Experimento	1% mol	Base	Disolvente	Rendimiento ^b (%)	
				A ^c	B ^d
1	1	NaOAc	Tolueno	20	22
2	1	Et ₃ N	Tolueno	85	87
3	1	K ₂ CO ₃	Tolueno	85	90
4	1	NaOAc	DMF	20	25
5	1	Et ₃ N	DMF	76	80
6	1	K ₂ CO ₃	DMF	78	80
7	1	NaOAc	MeCN	32	38
8	1	Et ₃ N	MeCN	90	95
9	1	K ₂ CO ₃	MeCN	90	95
10	0.1	K ₂ CO ₃	MeCN	70	70
11	0.01	K ₂ CO ₃	MeCN	55	57

^a Condiciones de reacción: **2a** (1mmol), **3** (1.2 mmol), base (2mmol).

^b Rendimiento de producto aislado después de purificarlo por cromatografía en columna.

^c Calentamiento convencional 80°C, atmósfera de argón, 12 h.

^d Calentamiento con microondas 200°C, 20 min.

El complejo fosfinito de paladio (II) ha demostrado estabilidad durante un mínimo de dos años almacenado a temperatura ambiente sin condiciones especiales.³⁴ La resonancia magnética nuclear de fósforo 31 mostró, que el complejo es estable en presencia de agua o metanol durante 5 o 10 horas, respectivamente. Sin embargo, cuando las reacciones se realizaron con estireno, fue necesario usar una atmósfera de argón para evitar la polimerización del estireno.

Usando las condiciones de reacción optimizadas, el siguiente paso a examinar para la aplicación del complejo fosfinito de paladio (II) es el acoplamiento cruzado de una variedad de haluros de arilo (**2**) y estireno (**3**) usando una cantidad menor al 1% mol de catalizador (Tabla 4). Los resultados indican que el complejo fosfinito de paladio (II) constituye un sencillo, pero eficaz sistema catalizador para las reacciones de Heck con haluros de arilo. Tanto los compuestos ricos en electrones (experimentos 1-4) y los pobres de electrones (experimentos 5, 7, y 8), yoduros y bromuros de arilo se transforman eficientemente en los productos deseados **4b-e** con altos rendimientos. Sin embargo, cuando la reacción se llevó a cabo con cloruros de arilo, los productos deseados no se observaron (experimentos 6 y 9). La reacción es compatible con una variedad de grupos funcionales obteniéndose los productos correspondientes **4f-h** con excelentes rendimientos (experimentos 10-12). Además, cuando las reacciones se realizaron utilizando el reactor de microondas, los rendimientos obtenidos son comparables con las condiciones estándar, requiriendo menores tiempos de reacción (Tabla 6), Sin embargo, cuando la reacción se realizó con 2- y 3-bromopiridinas, el complejo fosfinito de paladio (II) solo fue activo con 3-bromopiridina (experimento 13).

³⁴ Jeffery, T.; Ferber, B. *Tetrahedron Lett.* **2003.** *44*, 193-197.

Tabla 4: Alcance de fosfito de paladio (II) en la reacción de Heck con haluros de arilo^a.

Experi- mento	Ar- X		Estil- bena	Rendi- miento ^b %		
				A ^c	B ^d	
1	2b		4b		85	88
2	2c		4c		86	89
3	2d		4b		75	80
4	2e		4c		77	82
5	2f		4d		90	95
6	2g		-	-	-	-
7	2h		4e		90	95

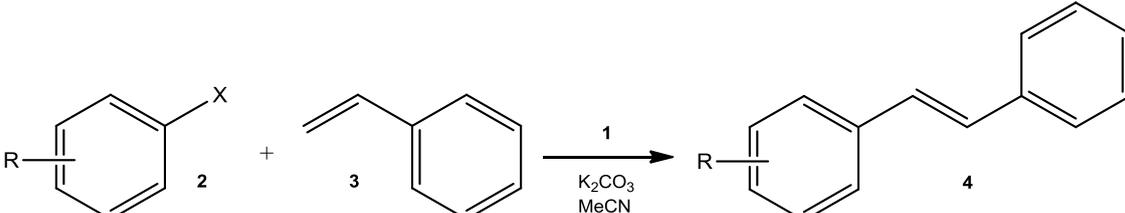
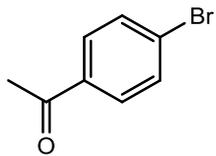
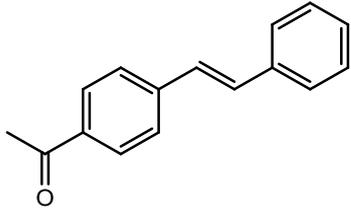
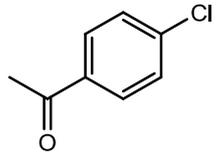
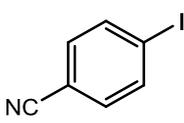
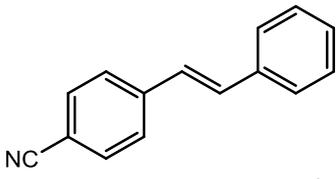
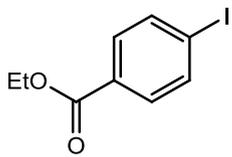
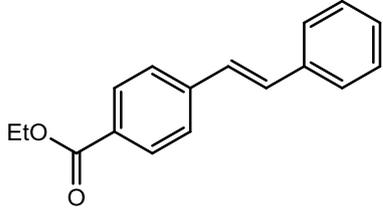
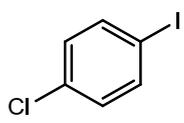
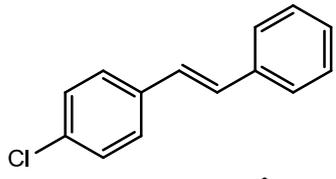
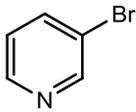
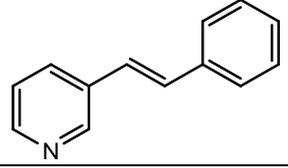
^a Condiciones de reacción: 2 (1mmol), 3 (1.2 mmol), 1(1% mol). K₂CO₃ (2 mmol).

^b Rendimiento de producto aislado después de eliminar el grupo protector y la purificación por cromatografía.

^c Calentamiento convencional 80°C, atmósfera de Argón, 12 h.

^d Calentamiento por microondas 200°C, 20 min.

Tabla 4: Alcance de fosfito de paladio (II) en la reacción de Heck con haluros de arilo^a.

					
Experi- mento	Ar- X		Estil- bena	Rendi- miento ^b %	
				A ^c	B ^d
8	2i		4e		87 95
9	2j		-	-	- -
10	2k		4f		90 95
11	2l		4g		90 95
12	2m		4h		88 90
13	2n		4i		90 95

^a Condiciones de reacción: 2 (1 mmol), 3 (1.2 mmol), 1 (1% mol). K₂CO₃ (2 mmol).

^b Rendimiento de producto aislado después de eliminar el grupo protector y la purificación por cromatografía.

^c Calentamiento convencional 80°C, atmósfera de Argón, 12 h.

^d Calentamiento por microondas 200°C, 20 min.

El mecanismo para la reacción de Heck propuesto es la adición oxidativa del paladio al compuesto 5-yodobenceno-1-3-diol, generando una unión del paladio con el carbono 5 del anillo aromático y el yodo, después el paladio se coordina con el metileno terminal del metoxiestireno promoviendo así su inserción con el carbono 5 del anillo que tiene los dos hidroxilos en las posiciones 1 y 3 lo que ocurre en el siguiente paso es una β -eliminación del paladio unido al yodo y a un hidrógeno del metileno terminal, formándose el enlace doble para formar el compuesto 3,5-dihidroxiestilbeno-4'oxometilo, el último paso es la eliminación reductiva del yodo y el hidrógeno, para que el paladio; se regenere volviendo al ciclo catalítico. (Figura 12)

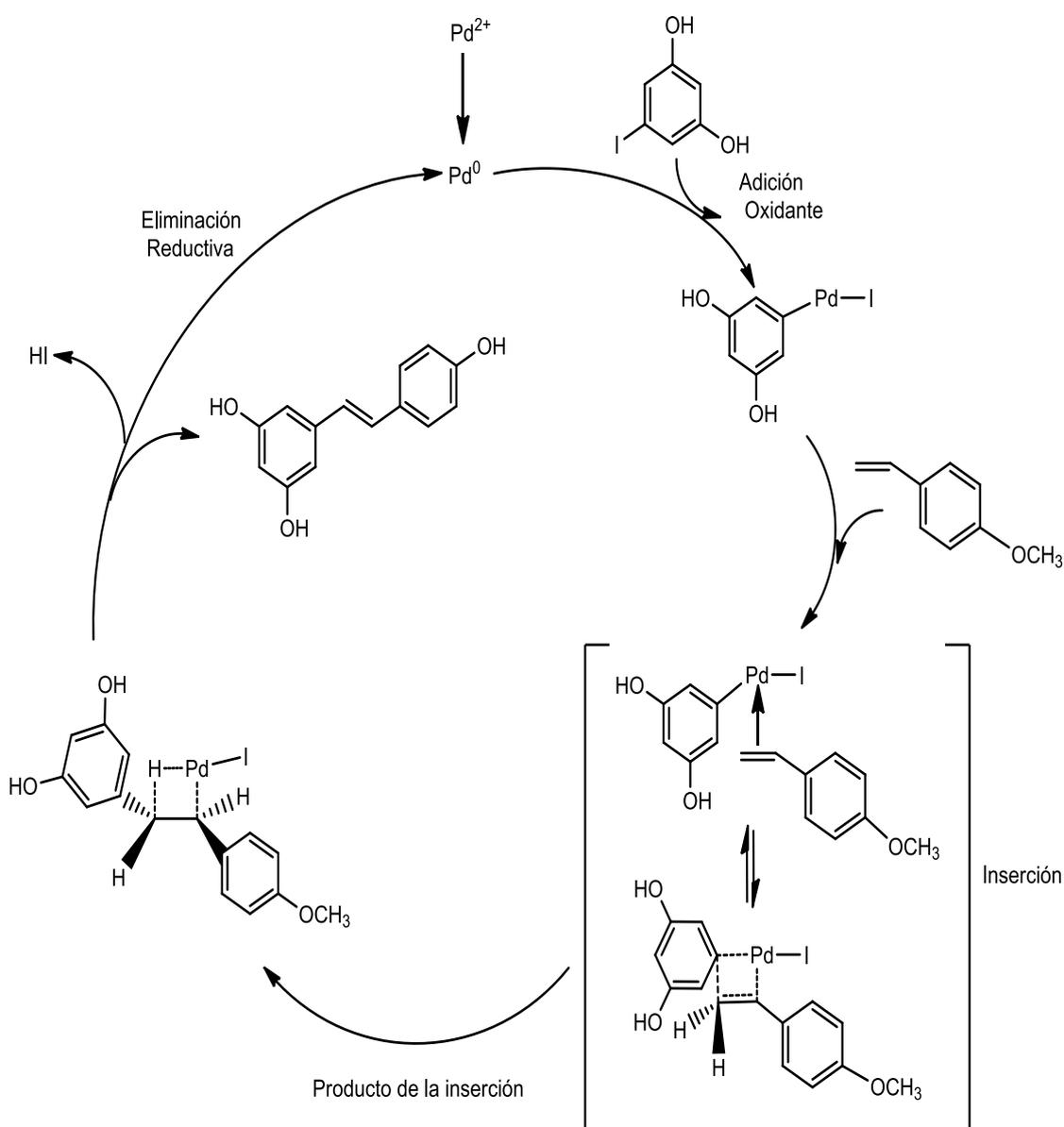


Figura 12. Mecanismo de reacción propuesto para la síntesis de resveratrol a través de la reacción de Heck.

Para ilustrar el potencial y la eficiencia de la metodología descrita, se llevó a cabo la síntesis de resveratrol. Como se muestra en la figura 13. Se dio tratamiento a florogucinol comercial (**6**) con una solución de hidróxido de amonio a la cual se le burbujeo gas amoniac, ³⁵ seguido por la nitrosación de la amina para formar la sal de diazonio correspondiente por la reacción de Sandmeyer, ³⁶ dando como resultado yodo-difenol (75% de rendimiento).

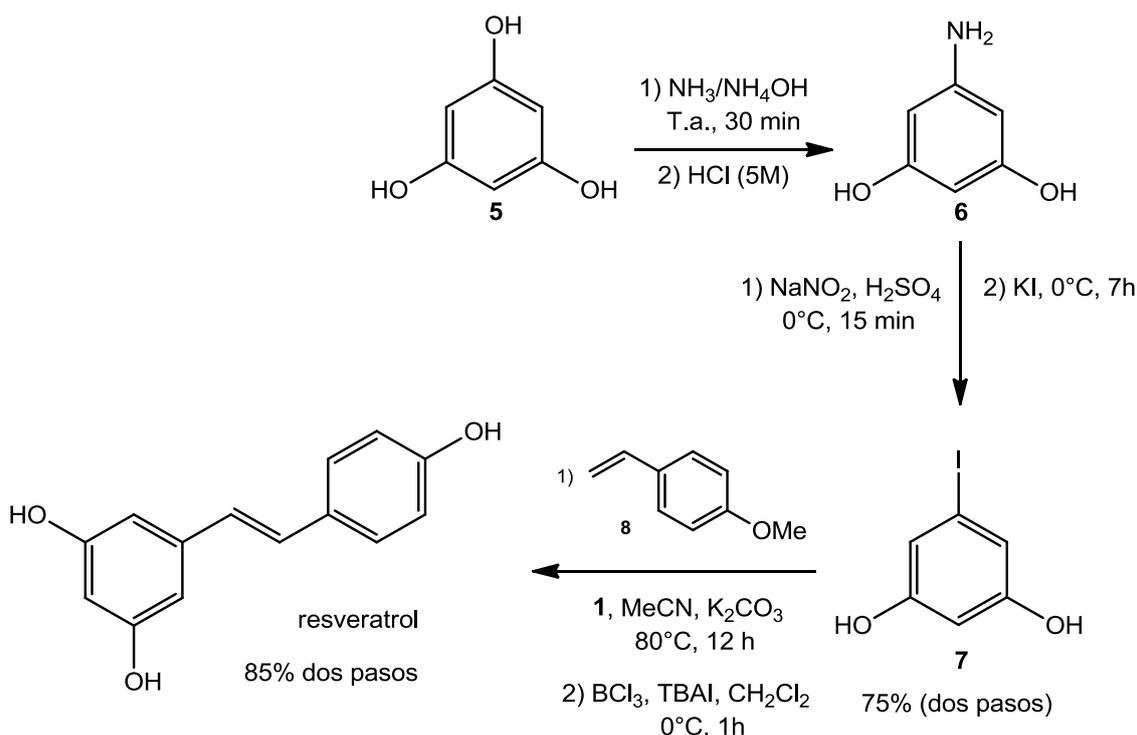


Figura 13. Síntesis de resveratrol

A continuación se realizó la reacción de acoplamiento cruzado entre yodo-difenol **7** y metoxiestireno **8**. Esta reacción se llevó a cabo en condiciones estándar y calentamiento en microondas usando trietilamina, acetato de sodio, o carbonato de potasio como base, y usando como disolvente tolueno o acetonitrilo. Como se muestra en la tabla 7 (experimento 6), se obtiene un mayor rendimiento de resveratrol (85%). La reacción se realizó en presencia de carbonato de potasio, usando tolueno como disolvente y calentamiento en microondas y después de la desmetilación³⁷ con tricloruro de boro/ yoduro de tetrabutilamonio. Cuando la reacción se realizó con acetato de sodio como base, solo se recuperó la materia prima (experimentos 1 y 4), y

³⁵ Thorn, M. A.; Denny, G. H.; Babson, R. D. *J. Org. Chem.* **1975**, *40*,1556-1558.

³⁶ Mao, W.; Wang, T.; Zeng, H.; Wang, Z.; Chen, J.; Shen, J. *Biorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 570-4573.

³⁷ Jeffery, T.; Ferber, B. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 193-197.

con un tiempo de reacción más largo, se observa la descomposición en el crudo de reacción. Rendimientos similares se obtuvieron cuando la reacción de Heck se realizó con calentamiento en microondas en tiempos cortos (ver tabla 5). Finalmente, con estos resultados, podemos afirmar que este procedimiento proporciona una síntesis eficiente para resveratrol con una completa regioselectividad, sin el uso de grupos protectores en el haluro de arilo **7**, que es una ventaja importante en la síntesis orgánica.

Tabla 5: Reacción de Heck entre Yododifenol y Estireno para dar Resveratrol^a				
Experimento	Base	Disolvente	Rendimiento ^b (%)	
			A ^c	B ^d
1	NaOAc	Tolueno	-	-
2	Et ₃ N	Tolueno	50	60
3	K ₂ CO ₃	Tolueno	60	62
4	NaOAc	MeCN	-	-
5	Et ₃ N	MeCN	60	80
6	K ₂ CO ₃	MeCN	75	85

^a Condiciones de reacción: **7** (1 mmol), **8** (1.2 mmol), **1** (1% mol). Base (2 mmol).

^b Rendimiento de producto aislado después de eliminar el grupo protector y la purificación por cromatografía.

^c Calentamiento convencional 80°C, atmosfera de Argón, 12 h.

^d Calentamiento por microondas 200°C, 20 min.

2.2. Caracterización por resonancia magnética nuclear de resveratrol

2.2.1. Caracterización por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ¹H

El espectro de RMN de ¹H (Figura 14), de resveratrol. Se observa un sistema AA'BB' de un sistema aromático 1-4 disustituido en δ 7.24 y 6.39, que se asigna a los protones 2', 6' y 3',5', respectivamente. Un sistema AB en 6.81 y 6.70 (d, $J = 16.2$ Hz), que se asigna a los protones de un sistema vinílico disustituido con una disposición trans de los protones, que se asignaron al de campo bajo H-8 y el de campo alto al H-7, de un trans estilbeno. La señal en 6.39 ppm (d, $J = 2.1$ Hz, 2H) se asigna a los protones H-2 y H-6, así con la señal triple en 6.19 ppm (t, $J = 2.1$ Hz, 1H) se asigna al H-4. Se nota que la línea base no es totalmente recta si no que tiene una elevación lo cual se debe a los 2 hidroxilos restantes que se pueden asignar a los hidroxilos 3 y 5, se asigna al hidroxilo en la posición 4' la señal en 7.43.

IQ.1.tid
 Instituto de Química UNAM RG
 M. en C. J. Cardenas - Armando
 Clave: Resv
 No registro : 480
 Experimento: 1H
 Disolvente: CDCl3 + DMSO
 Bruker Avance (F) 300 MHz
 21-03-2014

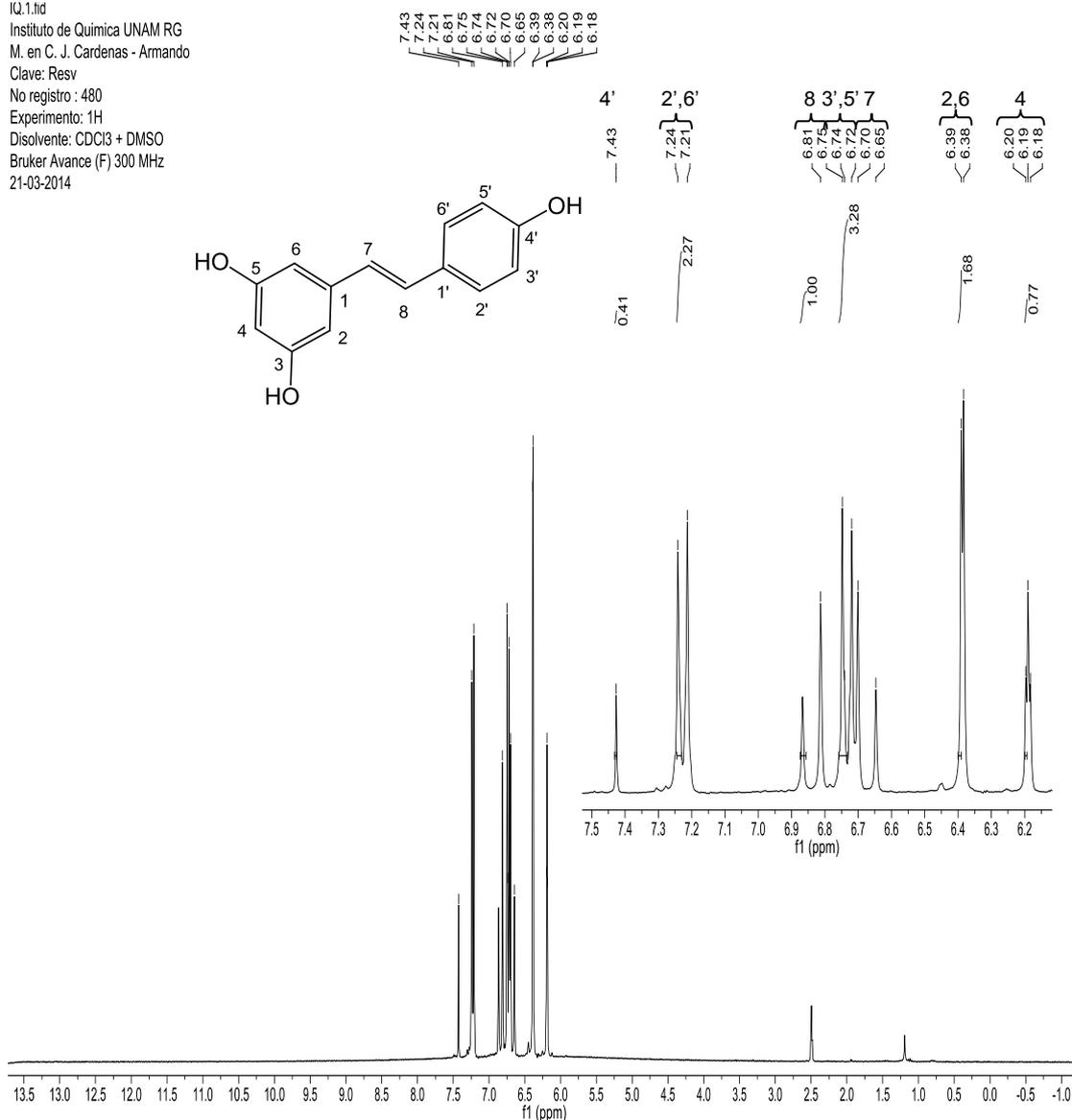


Figura 14: Espectro de resonancia magnética nuclear ¹H

2.2.2. Caracterización por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ¹³C

En el espectro de RMN de ¹³C (Figura 15) se observan diez señales esperadas para el compuesto resveratrol, de las cuales cuatro corresponden al anillo aromático que tiene dos grupos hidroxilo unidos, dos pertenecen al enlace doble de los carbonos 7 y 8, cuatro al anillo aromático que tiene solo un grupo hidroxilo unido. Los desplazamientos asignados para el anillo aromático que tiene unido a dos grupos hidroxilo son: 157.91 ppm para los carbonos 3 y 5; 139.02 ppm para el carbono 1; 104.36 ppm para los carbonos 2 y 6 y 101.77 ppm para el carbono 4. Desplazamientos pertenecientes a los carbonos unidos por la ligadura doble 127.61 ppm para el carbono 8 y 125.50 ppm para el carbono 7. En el anillo aromático que

tiene unido un grupo hidroxilo, los desplazamientos: 156.61 ppm se asigna al carbono 4' que tiene unido el hidroxilo; 128.19 ppm al carbono 1'; 127.03 ppm a los carbonos 2' y 6' y 115.20 ppm a los carbonos 3' y 5'. Los carbonos 3 y 5, 2 y 6, 2' y 6', 3' y 5', estos carbonos son equivalentes, están contenidos en el mismo desplazamiento, por lo que la señal es más alta en comparación con los desplazamientos que solo tienen un átomo de carbono. Este efecto se observa mejor en el experimento DEPT 90.

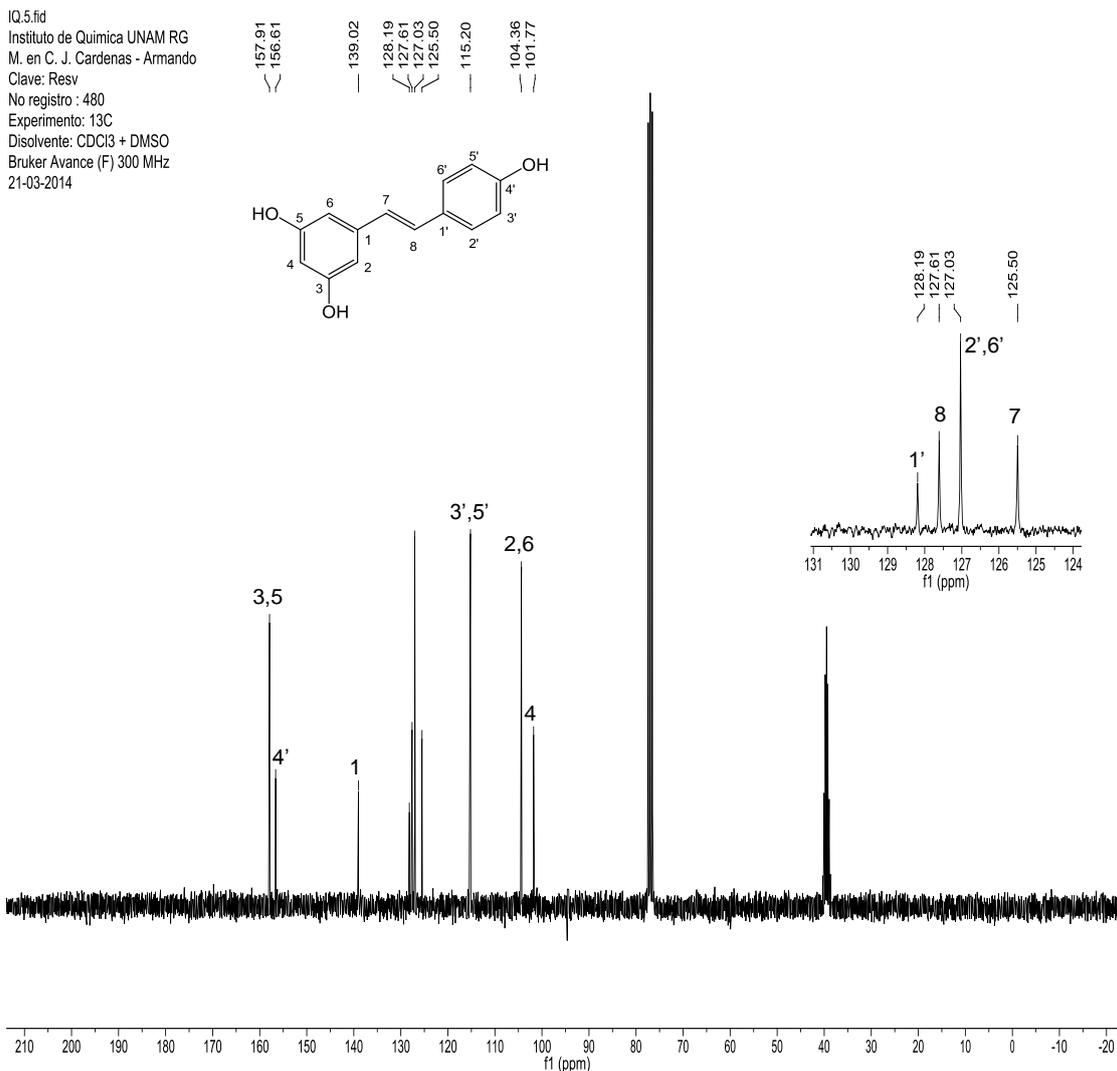


Figura 15: Espectro de resonancia magnética nuclear ¹³C

2.2.3. Caracterización por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ¹³C; DEPT 90

Otro método utilizado dentro de la resonancia magnética nuclear de carbono 13 es el DEPT 90 (Figura 16), el cual nos permite identificar el grupo metino en la molécula de resveratrol y suprime los otros grupos que conforman la molécula,

siendo seis desplazamientos químicos que se pueden apreciar en el espectro de resonancia DEPT 90 presentado a continuación; el desplazamiento de 127.61 ppm corresponde al carbono en posición 8 del doble enlace; 127.03 ppm es correspondiente a los carbonos 2' y 6'; 125.49 ppm se asigna al carbono 7 del doble enlace; 115.20 ppm correspondiente a los carbonos 3' y 5'; el desplazamiento que corresponde a 104.38 ppm pertenece a los carbonos 2 y 6 por último el desplazamiento en 101.77 ppm se asigna al carbono 4. Los desplazamientos químicos 127.03 ppm, 115.20 ppm, 104.38 ppm la señal es más alta debido a que están contenidos dos átomos de carbono en la misma señal, porque son equivalentes.

IQ.3.nd
 Instituto de Química UNAM RG
 M. en C. J. Cardenas - Armando
 Clave: Resv
 No registro : 480
 Experimento: 13C - DEPT90
 Disolvente: CDCl3 + DMSO
 Bruker Avance (F) 300 MHz
 21-03-2014

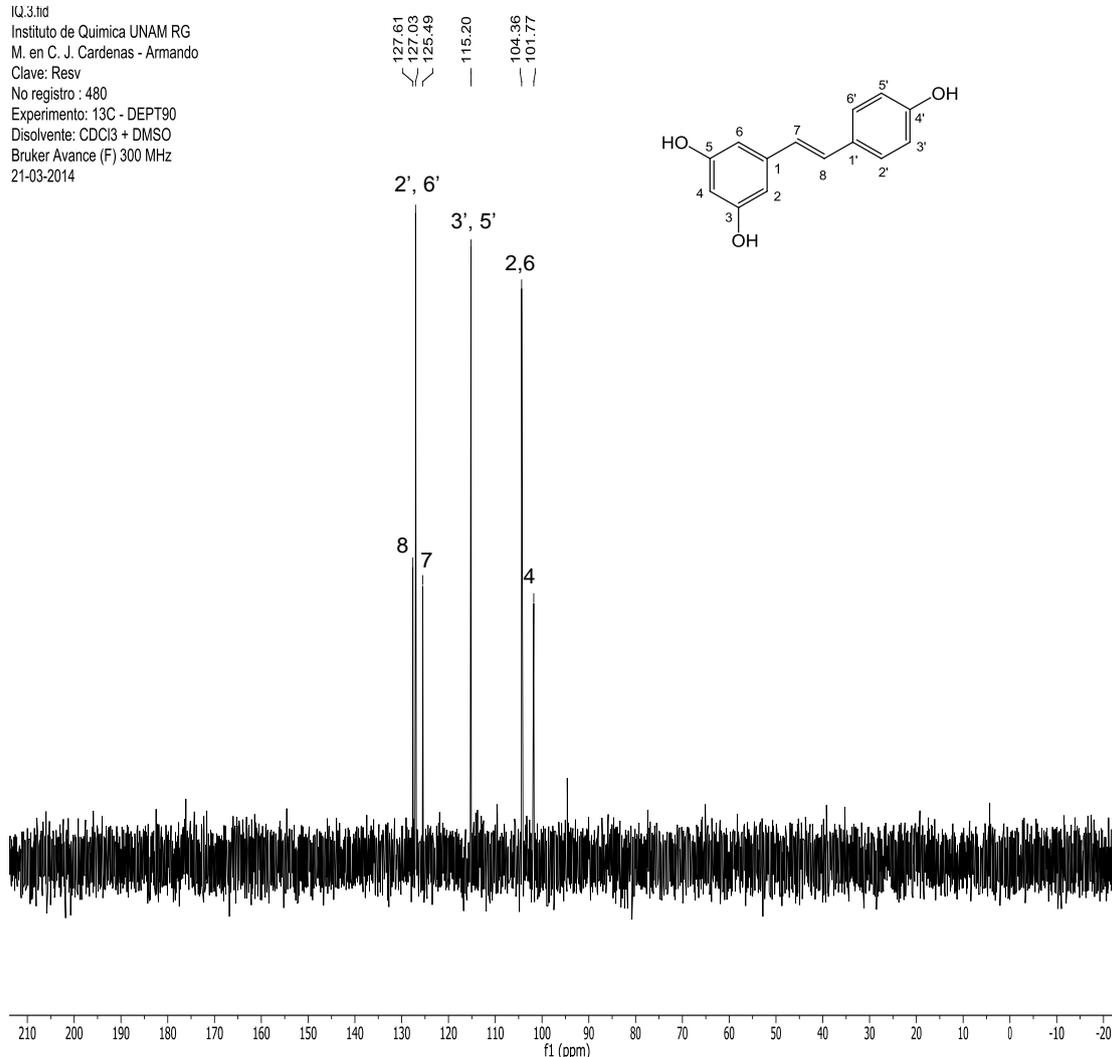


Figura 16: Espectro de resonancia magnética nuclear ^{13}C -DEPT 90.

2.3. Resultados y discusión: Determinación de fenoles totales

El análisis para la determinación de fenoles totales en vinos se realizó por análisis espectrofotométrico, realizando la curva patrón de ácido gálico para determinar la concentración de fenoles totales en vinos. Las barras de error se calcularon al 5% con Origen 8.1 para Windows.

mg ácido gálico/mL	Absorbancia
0.02	0.219
0.025	0.272
0.03	0.313
0.05	0.53
0.06	0.709
0.075	0.875
0.09	0.98
0.1	1.066
0.12	1.313

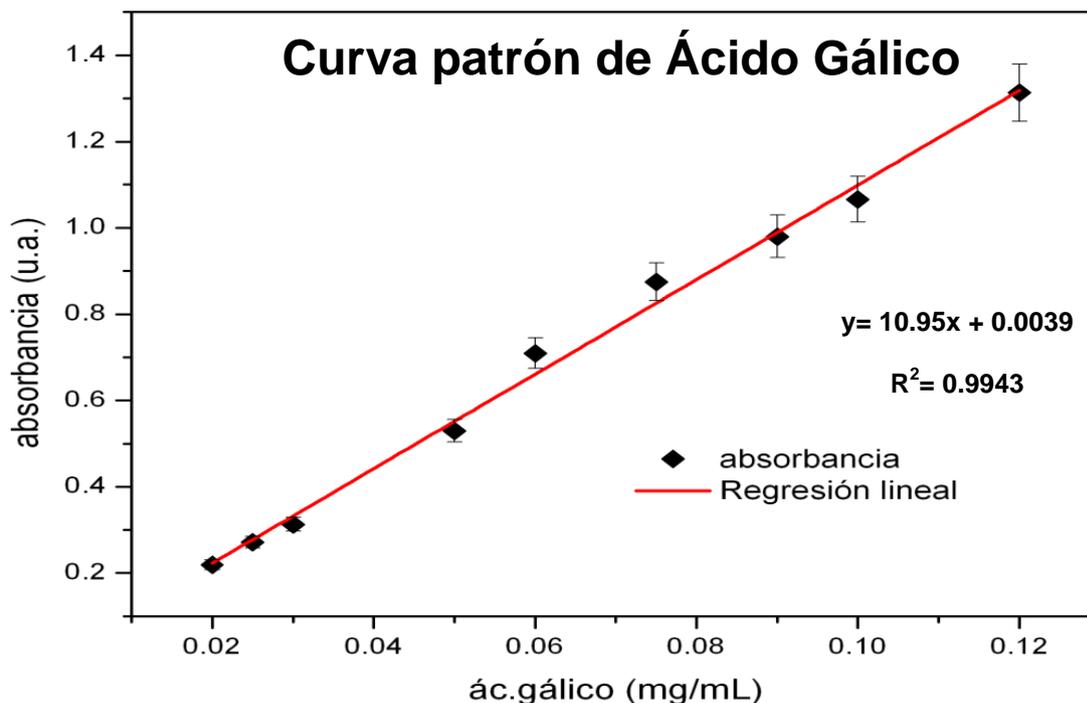


Figura 17: Gráfico de absorción vs concentración de ácido gálico (mg/mL).

Las concentraciones enlistadas en la tabla 6 se utilizaron para construir la gráfica de la curva patrón de ácido gálico (Figura 17) se tomaron 9 puntos para realizar la curva patrón la cual tiene una $r^2= 0.9943$, los puntos muestran una linealidad aceptable por la cual se decidió utilizar esta curva para determinar la concentración de fenoles totales en vinos.

Tabla 7: Concentración de fenoles totales expresada en miligramos equivalentes de ácido gálico por litro (GAE mg/L)					
Uva/Año	Región	Vino	Contenido de alcohol %	Lote	GAE mg/L
Sauvignon Blanc	Valle Central; Chile	Blanco	13.5	No Especifica	111.1
Sin especificación	Aguascalientes	Blanco	12	L314101006	198.6
Sin especificación	Aguascalientes	Tinto	12	350101008	649
Cabernet Sauvignon/ 2007	Valle de Guadalupe; Baja California	Tinto	13	cc507	861.4
Cabernet Sauvignon/ 2008	Ensenada Baja California	Tinto	13.5	No Especifica	952.4
Cabernet Sauvignon	Valle de Parras; Coahuila	Tinto	12.6	110241	966.3
Sin especificación	Chile	Tinto	11.8	123179	724.6

La concentración de fenoles totales del vino varía entre 1.80 y 1.06 g/L, para el vino tinto y entre 0.16 y 0.30 g/L para el blanco.²³ En la tabla se observa que los vinos tintos con una concentración en el rango de 649-966.3 mg GAE/L tienen una mayor concentración de fenoles totales que los vinos blancos cuya concentración se encuentra en el rango 111.1-198.6 mg GAE/L, el vino que se encuentran dentro del intervalo informado en la bibliografía es el vino elaborado en Aguascalientes con

198.6 mg GAE/L. El vino blanco elaborado en el Valle Central de Chile tiene un menor contenido de fenoles totales que el descrito en la bibliografía con 111.1 mg GAE/L.

La razón por la cual el vino tinto tiene una mayor concentración de fenoles totales que los vinos blancos, es porque en la obtención del mosto de los vinos blancos se somete a la uva a presiones moderadas y pequeñas durante tiempos determinados, con el menor roce posible entre las partes sólidas del racimo con las superficies de presión. En los vinos tintos la obtención del mosto se realiza con el mayor contacto entre la piel y las superficies de presión, lo que hace que se liberen mayor cantidad de compuestos fenólicos. Esta técnica llevada a cabo en el proceso de vinificación de los vinos hace la diferencia entre la obtención de un vino blanco y un tinto. La concentración de fenoles totales en los vinos cuantificados: Valle de Parras-Coahuila > Ensenada-Baja California > Valle de Guadalupe-Baja California > Chile > Aguascalientes (tinto), Aguascalientes (blanco) > Valle Central-Chile. Solo cuatro vinos especifican la uva que utilizaron para su elaboración, la uva más utilizada es Cabernet Sauvignon y la segunda uva informada es Sauvignon Blanc, dos vinos mencionan el año en que la uva fue recolectada y elaborado, ambos vienen de la zona de Baja California.

El primero es elaborado en el año 2007 en Valle de Guadalupe, el segundo proviene de Ensenada elaborado en 2008; el vino elaborado en 2007 tiene una concentración de fenoles totales de 861.4 mg GAE/L el vino de 2008 tiene 952.4 mg GAE/L este vino contiene 91 mg GAE/L más que el vino elaborado en 2007, sin embargo no se puede comparar por añada los vinos, porque no corresponden a la misma casa, aunque se elaboran en la misma región, el tipo de suelo puede tener una concentración de nutrientes distinta entre regiones cercanas, y otros factores que las casas vinícolas toman en cuenta para obtener la calidad que ellos consideran que deben tener los vinos. El tercer vino no especifica el año de elaboración, se elaboró con Cabernet Sauvignon y tiene 966.3 mg GAE/L, proviene del Valle de Parras Coahuila como ya se mencionó, este es el vino que tiene mayor concentración de fenoles totales; estos tres vinos tienen en común haber sido elaborados con Cabernet Sauvignon, pero la concentración de fenoles totales varía, se esperaría que si se trata de la misma uva, tuviera una concentración de fenoles totales igual, como se puede observar no depende únicamente de la uva, sino del conjunto de los factores ambientales, lo que favorece el desarrollo de fenoles, de ahí radica la complejidad del

vino y que un vino nunca es igual aunque lo elabore la misma casa vinícola. Todos los factores juegan un papel importante para que el vino tenga una calidad superior; el cuarto vino estudiado fue elaborado con Sauvignon Blanc y tiene 111.1 mg GAE/L de la zona del Valle Central-Chile, esta es la concentración más baja que presentan los vinos estudiados.

El porcentaje de alcohol se encuentra desde 11.8-13.5%, este contenido es independiente de la concentración de fenoles totales, por lo que una alta o baja concentración de alcohol no es un indicativo de que tenga una alta o baja concentración de fenoles totales. Los tres vinos tintos elaborados con Cabernet Sauvignon tienen una concentración de alcohol en el intervalo de 12.6-13.5%, la diferencia de concentración es de 0.9% lo que nos indica que la concentración de alcohol depende de la uva utilizada y del conjunto de factores ambientales. Dos vinos elaborados en la misma región (Aguascalientes), por la misma casa vinícola son un blanco y un tinto los cuales indican un 12% de alcohol, para este caso las condiciones ambientales son las mismas ya que los vinos provienen de las misma casa, aunque no sabemos la uva con la cual se elaboraron los vinos; con un 13.5% de alcohol se encuentra el vino blanco elaborado en Valle Central-Chile, la uva utilizada es Sauvignon Blanc, esta uva produce la misma concentración de alcohol en el vino que Cabernet Sauvignon. El vino que tiene la concentración más baja de alcohol es el vino tinto elaborado en Chile con un 11.8%. No especifica la uva con la que se elaboró, pero este vino tiene una concentración de fenoles totales de 724.6 mg GAE/L tiene 75.6 mg GAE/L más que el vino que tiene un 12% de alcohol y que tiene 649 mg GAE/L de fenoles totales, este ejemplo indica que la concentración de alcohol es independiente de la concentración de fenoles totales.

2.4. Conclusiones

- ❖ El complejo fosfinito de paladio (II) tiene una gran eficiencia en la síntesis quimio-, regio-, y estereoselectiva de resveratrol.
- ❖ La síntesis de resveratrol ofrece un 85% de rendimiento.
- ❖ El uso de un reactor de microondas reduce significativamente el tiempo de reacción.
- ❖ Es un método eficiente para la síntesis de estilbenos polimetoxilados de interés biológico.
- ❖ La importancia de cuantificar fenoles totales, se debe a la actividad antioxidante que presentan relacionada con su estructura química, compuestos con un alto número de grupos hidroxilo tienen una mayor actividad antioxidante.
- ❖ La actividad antioxidante de los vinos depende de la cantidad de fenoles totales presentes; entre ellos se encuentra el resveratrol, que es parte de numerosos estudios sobre los efectos benéficos en seres humanos.
- ❖ En México, se debe dar mayor divulgación a las publicaciones que indican el valor terapéutico que presentan los vinos, lo cual podría ayudar al incremento del consumo de vino mexicano.

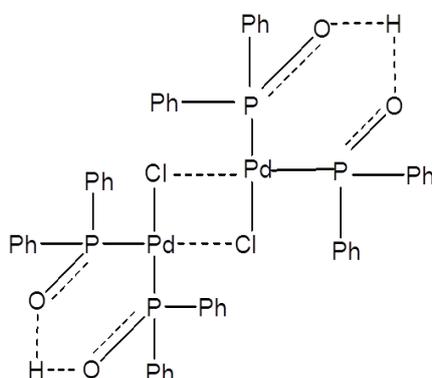
Capítulo III

Parte Experimental

3.1. Síntesis de resveratrol

Todos los productos químicos se adquirieron en Química Sigma Aldrich, se utilizaron sin purificación adicional a menos que se indique lo contrario. Los rendimientos descritos se refieren a los productos homogéneos obtenidos mediante la cromatografía y espectroscopia (^1H y ^{13}C) a menos que se indique lo contrario. Toda la cristalería utilizada se seco con pistola de aire caliente antes de su uso. Las reacciones fueron monitoreadas por cromatografía en capa fina en placas de silica gel de 0.25 mm Macherey Nagel, revelando las placas con sulfato cérico ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$) bajo calentamiento y se visualizaron bajo una lámpara UV de onda corta. La cromatografía en columna se realizó usando silica gel (230-400 mallas) utilizando un disolvente o mezcla de disolventes de polaridad relacionada con la movilidad de la cromatografía en capa fina. Las reacciones realizadas en el reactor de microondas se llevaron a cabo en un equipo Anton Paar Monowave 300 en recipientes sellados. La caracterización de los productos por resonancia magnética nuclear se realizaron en un equipo Bruker Avance 300 MHz usando CDCl_3 (99.9% D) como estándar interno CHCl_3 (^1H , $\delta = 7.26$ ppm; ^{13}C , $\delta = 77.0$) y TMS como referencia interna ($\delta = 0.00$ ppm).

3.1.1. Complejo fosfinito de paladio (II) 1



A una solución de Ph_2PCl (0.75 mL, 4.05 mmol) en THF (5 mL) se añadió gota a gota con agitación en un matraz Schlenk una solución de $[\text{PdCl}_2(\text{PhCN})_2]$ (0.76 g, 2.0 mmol) en THF (10 mL) a temperatura ambiente. Cuando se formó el complejo Diclorofosfano completamente, se confirmó espectroscópicamente por resonancia magnética nuclear de fósforo 31 ($\delta = 87$ ppm), H_2O (0.5 mL) se añadió a la mezcla y se agitó a temperatura ambiente. Después de 48 horas se tomó una alícuota y se realizó una resonancia magnética nuclear de fósforo 31 mostrando exclusivamente

una señal en $\delta = 78.6$ ppm. El disolvente se eliminó al vacío para dar el complejo fosfinito de paladio (II) (1g, 92%) como un polvo cristalino amarillo, p.f. 113-116°C.

IR: 3441 (m) (O-H-O). 1435 (Ph), 1479 (w), 1023 cm^{-1} (m) (P-O).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.2-7.7$ (Ph).

RMN ^{31}P (121.4 MHz, CDCl_3): $\delta = 78.6$.

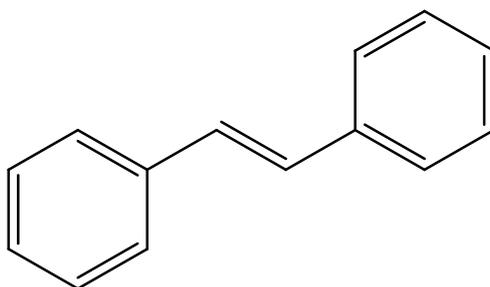
3.1. 2. Método A: Reacción Catalítica

En todas las reacciones de Heck: haluro de arilo (1 mmol), estireno (1.0 mmol), base (2 mmol), y catalizador fosfinito de paladio (II) (1 % mol) en MeCN (3 mL) se calentó en un baño de aceite 80°C equipado con un sistema de condensación por 12 h. Cuando terminó la reacción, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con AcOEt (15 mL), se lavó con salmuera (10x3 mL), se secó sobre Na_2SO_4 , se filtro y se concentró a vacío. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna flash (silica gel, 25x2.5 cm, AcOEt-Hexano, 30:70).

3.1.3. Método B: Reacción asistida por Microondas

Las mezclas de reacción se colocaron en recipientes sellados en un reactor de microondas Anton Paar Monowave 300 el sistema se calienta a 200°C/ 27 bares durante 20 min.

3.1.4. Trans-Estilbeno (4 a)



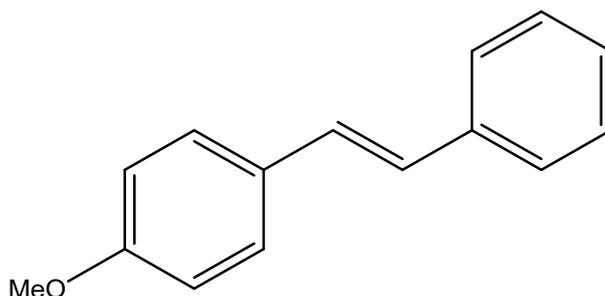
Siguiendo el procedimiento general, las reacciones de Heck se llevaron a cabo con (200 mg, 0.098 mmol), (122mg, 1.176 mmol), K_2CO_3 (270 mg, 1.961 mmol), y fosfinito de paladio (II) (10 mg, 1% mol). Rendimiento: 159 mg (90%, método A), 168 mg (95%, método B).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.11 (s, 2H), 7.23-7.27 (m, 2H), 7.36 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 7.51 (d, J = 7.7 Hz, 4H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ = 126.7, 127.8, 128.8, 128.9, 137.5.

Anal. Calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{12}$: C, 93.29; H, 6.71. Encontrado: C, 93.22; H, 6.69.

3.1.5. Trans-4-Metoxiestilbeno (4b)



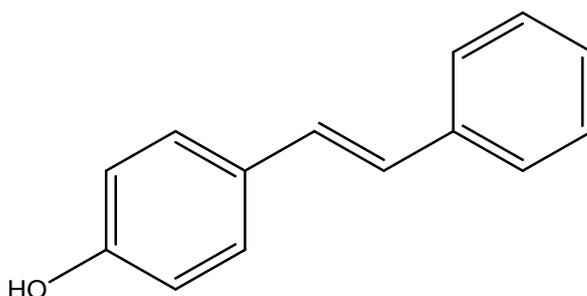
Siguiendo el procedimiento general, las reacciones de Heck se llevaron a cabo con (200 mg, 0.855 mmol), (107mg, 1.026 mmol), K_2CO_3 (236 mg, 1.709 mmol) y fosfinito de paladio (II) (9 mg, 1% mol). Rendimiento: 153 mg (85% método A), 158 mg (88% método B).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ = 3.83 (s, 3H), 6.90 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.98 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 7.08 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 7.23 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 7.34 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.44-7.50 (m, 4H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ = 55.5, 114.3, 126.4, 126.8, 127.3, 127.9, 128.4, 128.8, 130.3, 137.8, 159.5.

Anal. Calc. para $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}$: C, 85.68; H, 6.71. Encontrado: C, 85.61; H, 6.68.

3.1.6. Trans-4-Hidroxiestilbeno (4c)



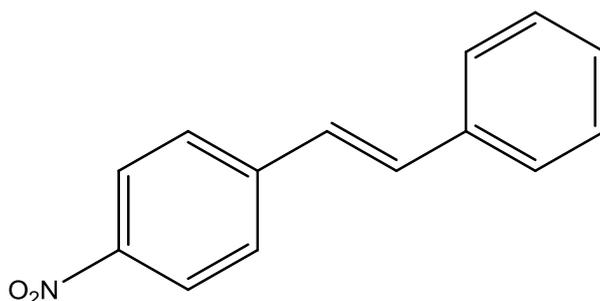
Siguiendo el procedimiento general, las reacciones de Heck se llevaron a cabo con (200 mg, 0.909 mmol), (113mg, 1.091 mmol), K_2CO_3 (251 mg, 1.818 mmol) y fosfinito de paladio (II) (10 mg, 1% mol). Rendimiento: 153 mg (86% método A), 159 mg (89% método B).

RMN 1H (300 MHz, acetona- d_6): δ = 6.85 (d, J = 7.7 Hz, 2H), 7.05 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 7.16 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 7.19-7.21 (m, 1H), 7.34 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.45 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 7.55 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 8.44 (s, 1H).

RMN ^{13}C (75 MHz, acetona- d_6): δ = 116.5, 126.5, 127.0, 127.8, 128.8, 129.4, 129.5, 130.0, 138.9, 158.3.

Anal. Calc. para $C_{14}H_{12}O$: C, 85.68; H, 6.16. Encontrado: C, 85.65; H, 6.12.

3.1.7. Trans-4-Nitroestilbeno (4d)



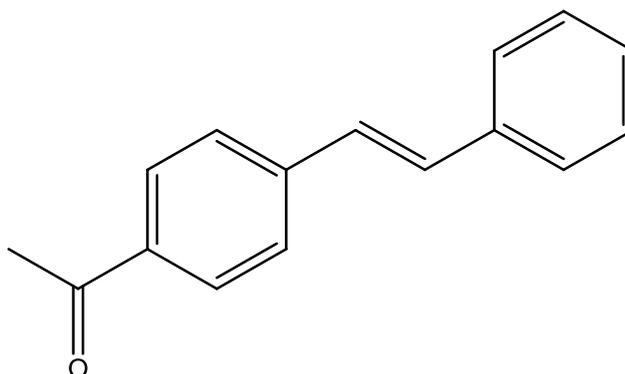
Siguiendo el procedimiento general, las reacciones de Heck se llevaron a cabo con (200 mg, 0.909 mmol), (124mg, 1.188 mmol), K_2CO_3 (273 mg, 1.980 mmol) y fosfinito de paladio (II) (11 mg, 1% mol). Rendimiento: 200 mg (90% método A), 212 mg (95% método B).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.14 (d, J = 16.5 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 16.5 Hz, 1H), 7.33-7.43 (m, 3H), 7.55 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.64 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 8.22 (d, J = 8.8 Hz, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, acetona- d_6): δ = 124.3, 126.5, 127.0, 129.0, 129.1, 133.5, 136.4, 144.0, 147.0.

Anal. Calc. para $C_{14}H_{11}NO_2$: C, 74.65; H, 4.92; N, 6.22. Encontrado: C, 74.60; H, 4.88; N, 6.20.

3.1.8. Trans-4-Acetilestilbeno (4e)



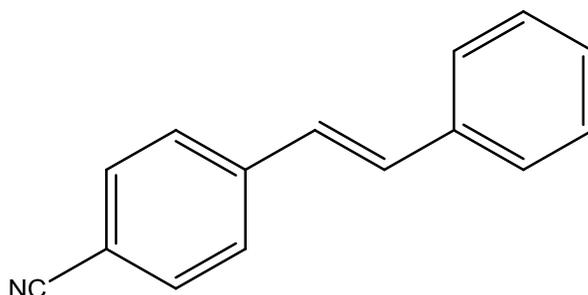
Siguiendo el procedimiento general, las reacciones de Heck se llevaron a cabo con (200 mg, 0.813 mmol), (101mg, 0.976 mmol), K_2CO_3 (224 mg, 1.626 mmol) y fosfinito de paladio (II) (9 mg, 1% mol). Rendimiento: 157 mg (87% método A), 171 mg (95% método B).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 2.61 (s, 3H), 7.14 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 7.22 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 7.25-7.38 (m, 3H), 7.55 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.59 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.95 (d, J = 8.4 Hz, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 26.7, 126.6, 126.9, 127.6, 128.4, 128.9, 129.0, 131.6, 136.1, 136.8, 142.1, 197.6.

Anal. Calc. para $C_{16}H_{14}O$: C, 86.45; H, 6.35. Encontrado: C, 86.42; H, 6.32.

3.1.9. Trans-4-Cianoestilbeno (4f)



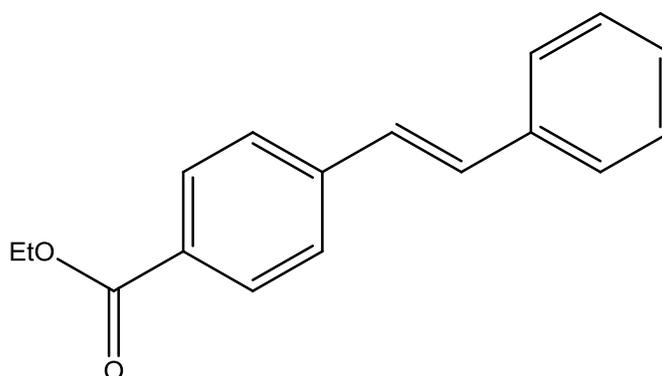
Siguiendo el procedimiento general, las reacciones de Heck se llevaron a cabo con (200 mg, 0.873 mmol), (109 mg, 1.048 mmol), K_2CO_3 (241 mg, 1.747 mmol), y fosfinito de paladio (II) (9 mg, 1% mol). Rendimiento: 161 mg (90%, método A), 170 mg (95%, método B).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.08 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 7.20 (d, J = 16.3 Hz, 1H), 7.31-7.40 (m, 3H), 7.51-7.64 (m, 6H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ = 110.6, 119.1, 126.8, 126.9, 127.0, 128.7, 128.9, 132.5, 132.5, 136.4, 141.9.

Anal. Calc. para $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{N}$: C, 87.77; H, 5.40; N, 6.82. Encontrado: C, 87.73; H, 5.36; N, 6.80.

3.1.10. Trans-estilbeno-4-carboxilato de etilo (4g)



Siguiendo el procedimiento general, las reacciones de Heck se llevaron a cabo con (200 mg, 0.725 mmol), (90 mg, 0.870 mmol), K_2CO_3 (200 mg, 1.449 mmol), y fosfinito de paladio (II) (8 mg, 1% mol). Rendimiento: 164 mg (90%, método A), 173 mg (95%, método B).

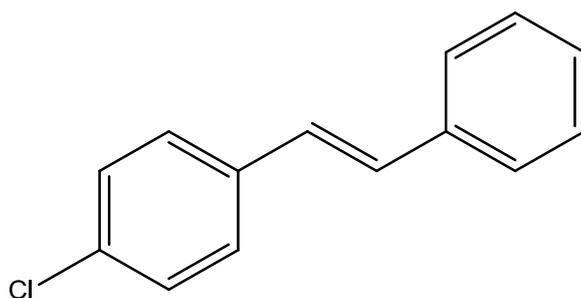
RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.41 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 4.39 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 7.12 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 7.23 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 7.29-7.33 (m, 1H), 7.34-7.43 (m, 2H), 7.53-7.59 (m, 4 H), 8.03 (d, J = 8.4 Hz, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ = 14.8, 60.9, 126.2, 126.7, 127.6, 128.2, 128.7, 129.3, 129.9, 131.1, 136.7, 141.7, 166.3.

Anal. Calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_2$: C, 80.93; H, 6.39; N, 6.82. Encontrado: C, 80.89; H, 6.35.

3.1.11. Trans-4-Cloroestilbeno (4h)

Siguiendo el procedimiento general, las reacciones de Heck se llevaron a cabo con (200 mg, 0.840 mmol), (105 mg, 1.008 mmol), K_2CO_3 (232 mg, 1.681 mmol), y fosfinito de paladio (II) (9 mg, 1% mol). Rendimiento: 158 mg (88%, método A), 162 mg (90%, método B).

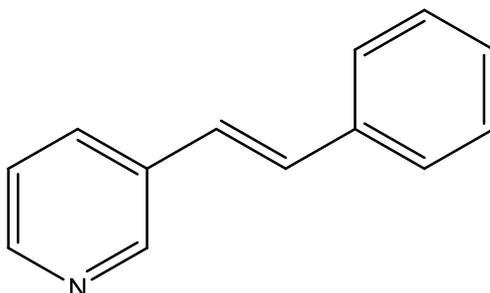


RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.07 (s, 2 H), 7.26-7.41 (m, 5 H), 7.44 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.50 (d, J = 7.4 Hz, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ = 126.5, 127.3, 127.6, 127.8, 128.7, 128.8, 129.3, 133.1, 135.8, 136.9.

Anal. Calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{Cl}$: C, 78.32; H, 5.16. Encontrado: C, 78.29; H, 5.12.

3.1.12. Trans-3-estirilpiridina (4i)



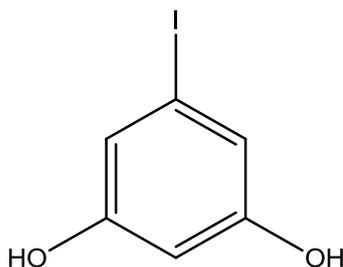
Siguiendo el procedimiento general, las reacciones de Heck se llevaron a cabo con (200 mg, 1.266 mmol), (158 mg, 1.519 mmol), K_2CO_3 (349 mg, 2.532 mmol), y fosfito de paladio (II) (14 mg, 1% mol). Rendimiento: 206 mg (90%, método A), 218 mg (95%, método B).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.06 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 7.16 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 7.26-7.40 (m, 4H), 7.53 (m, 2H), 7.85 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 8.48 (m, 1H), 8.72 (s, 1 H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ = 123.5, 124.9, 126.7, 128.2, 128.4, 128.8, 130.8, 132.6, 133.0, 136.7, 148.6.

Anal. Calc. para $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}$: C, 86.15; H, 6.12; N, 7.73. Encontrado: C, 86.12; H, 6.09; N, 7.70.

3.1.13. Preparación de 5-yodobenceno-1-3-diol (7)



A una solución concentrada de NH_4OH (30 mL) a 0°C se añadió florogucinol (5 g, 39.68 mmol). Al término de la adición se burbujeó NH_3 en la mezcla durante 1 h. Se retiró el baño de enfriamiento y se continuó la agitación durante 72 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío, de la solución se obtuvo un sólido color marrón claro, al que se añadió HCl 5M (20 mL), y la mezcla se concentró a vacío para proporcionar un sólido color amarillo. Este sólido se usó directamente en el siguiente paso.

En un baño de hielo-sal se enfrió una solución del clorhidrato de 5-aminoresorcinol (4 g, 24.84 mmol) en H_2O (50 mL) se añadió H_2SO_4 concentrado (5 mL). Después se adicionó una solución de NaNO_2 (4.85 g, 69.8 mmol) en H_2O (20 mL) la mezcla se agitó durante 15 min a 0°C , se adiciona acetato de etilo (25 mL). Se adiciona una solución de KI (15 g, 90 mmol) en H_2O (15 mL) lentamente para controlar la evolución de N_2 . Después de 7 horas se separan las fases, la fase acuosa se lava con acetato de etilo (3x30 mL). La fase orgánica se lavó con una solución de Na_2SO_3 al 25% (3x25 mL), HCl 1 M (3x25 mL), y salmuera (3x25 mL), luego se seco con MgSO_4 , se filtró, y se concentró hasta obtener un aceite de color marrón. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna (silica gel, gradiente acetato de etilo-hexano) para dar un rendimiento de 5-yodobenceno-1-3-diol como un sólido blanco (4.3 g, 75%).

RMN ^1H (300 MHz, acetona- d_6): δ = 6.72 (s, 1H), 6.33 (s, 2H), 8.40 (br s, 2 OH), 7.51.

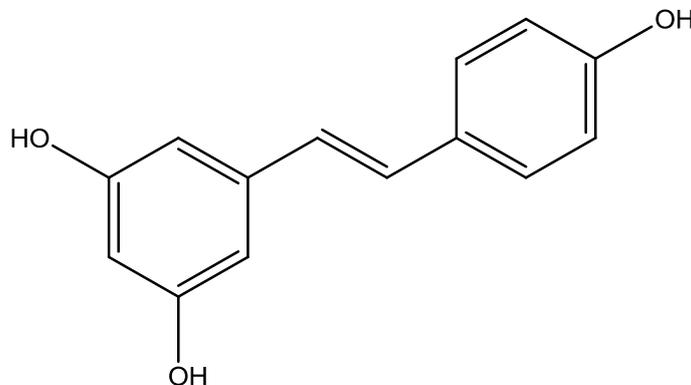
RMN ^{13}C (75 MHz, acetona- d_6): δ = 93.8, 106.8, 116.3, 159.3.

Anal. Calc. para $\text{C}_6\text{H}_5\text{IO}$: C, 30.53; H, 2.14. Encontrado: C, 30.50; H, 2.12.

3.1.14. Resveratrol

Siguiendo el procedimiento general, las reacciones de Heck se llevaron a cabo con 5-yodobenceno-1-3-diol (100 mg, 0.423 mmol), (68 mg, 0.508 mmol), K_2CO_3 (116 mg,

0.846 mmol), y fosfito de paladio (II) (4 mg, 1% mol). El crudo de reacción se utilizó directamente en la siguiente etapa.



Se mezcla el crudo de reacción y TBAI (936 mg, 2.538 mmol) en diclorometano anhidro (4 mL), se adiciona gota a gota BCl_3 1M en diclorometano (2.5 mL) a 0°C bajo atmósfera de argón. Se agita durante 7 horas, mientras la mezcla alcanza la temperatura ambiente. Entonces se añade una solución saturada de NaHCO_3 (5 mL) gota a gota a 0°C , la suspensión resultante se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente se hizo la extracción con acetato de etilo (3x15 mL).

La fase orgánica se secó sobre MgSO_4 , y se filtró. El disolvente se eliminó a presión reducida y el producto se purificó mediante columna cromatográfica tipo flash (silica gel, gradiente AcOEt-hexano) para obtener el resveratrol que es un sólido blanco. Rendimiento: 72 mg (75%, método A), 81 mg (85%, método B).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 + DMSO): δ = 7.24 (d, J = 8.4 Hz), 6.81 (d, J_{trans} = 16.2 Hz), 6.70 (d, J = 8.4 Hz), 6.65 (d, J_{trans} = 16.2 Hz), 6.39 (d, J = 2.1 Hz, 2H), 6.19 (t, J = 2 Hz).

RMN ^{13}C (300 MHz, CDCl_3 + DMSO): δ = 157.91, 156.61, 139.02, 128.19, 127.61, 127.03, 125.50, 115.20, 104.36, 101.77.

Anal. Calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_3$: C, 73.67; H, 5.30. Encontrado: C, 73.63; H, 5.28.

RMN ^{13}C -DEPT 90 (300 MHz, CDCl_3 + DMSO): δ = 127.61, 127.03, 125.49, 115.20, 104.38, 101.77.

3.2. Determinación de Fenoles totales en vinos

Materiales y métodos

La determinación de fenoles totales en vino se realizó por el método descrito por Singleton, Orthofer y Lamuela-Raventos (1999). El reactivo de Folin-Ciocalteu usado en este análisis es de marca comercial.

Preparación de la curva estándar de ácido gálico

Se pesaron 50.1 mg de ácido gálico en balanza analítica Sartorius, se adicionaron 10 mL de etanol grado HPLC y se llevaron al aforo a 100 mL con agua desionizada. Se tomaron alícuotas para preparar las concentraciones: 0.02, 0.025, 0.03, 0.05, 0.06, 0.075, 0.09, 0.1, 0.12 mg/mL.

A 1 mL de la disolución de ácido gálico se adicionó 0.5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu, 3 mL de carbonato de sodio al 20% y se llevó al aforo a 10 mL, se dejó que ocurriera la reacción durante 2 horas a temperatura ambiente. Pasado el tiempo de reacción se midió la absorbancia a 750 nm en un espectrofotómetro de UV-Vis (modelo UV/60 marca Shimadzu), se utilizaron para la lectura de absorbancias celdas de cuarzo de 1 cm, como blanco se utilizó una mezcla de agua y los demás reactivos, excepto ácido gálico.

Con las lecturas de las absorbancias obtenidas se trazó el gráfico de concentración de ácido gálico vs absorbancia, para calcular la concentración de fenoles totales en miligramos equivalentes de ácido gálico por litro de vino (GAE mg/L). (Figura 17)

Para la determinación de fenoles totales en vino se tomó una alícuota de 1 mL y se siguió la metodología de la curva patrón, en algunos casos fue necesario hacer diluciones para ajustar las absorbancias al intervalo de linealidad de la curva patrón, los datos obtenidos fueron comparados con la curva patrón de ácido gálico (Figura 17) para determinar la concentración de fenoles totales en miligramos equivalentes de ácido gálico por litro de vino (GAE mg/L).

Nota: las concentraciones de ácido gálico para elaborar la curva patrón, así como el tratamiento que se dio a los vinos se realizaron por triplicado.