

**VINÍCIUS VIANA MARTO**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO FOTOFÍSICA E ESPECIAÇÃO  
DE SAIS DE FLAVÍLIO E PIRANOFLAVÍLIO INSPIRADOS NAS  
ANTOCIANINAS NATURAIS**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Viçosa como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Vânia Maria Teixeira Carneiro

Coorientador: Elson Santiago de Alvarenga

**VIÇOSA – MINAS GERAIS  
2020**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da  
Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

M387s  
2020

Marto, Vinícius Viana, 1993-  
Síntese, caracterização fotofísica e especiação de sais de flavílio e  
piranoflavílio inspirados nas antocianinas naturais / Vinícius Viana  
Martó. - Viçosa, MG, 2020.  
183 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.  
Orientador: Vânia Maria Teixeira Carneiro.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Referências bibliográficas: f.173-183.

1. Antocianinas. 2. Espectrofotometria. 3. Especiação (Química).  
4. Fotoluminescência. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento  
de Química. Programa de Pós-Graduação em Agroquímica. II. Título.

CDD 22 ed. 543.55

VINÍCIUS VIANA MARTO

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO FOTOFÍSICA E ESPECIAÇÃO  
DE SAIS DE FLAVÍLIO E PIRANOFLAVÍLIO INSPIRADOS NAS  
ANTOCIANINAS NATURAIS**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Viçosa como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 20 de fevereiro de 2020.

Assentimento:



Vinícius Viana Marto

Autor



Vânia Maria Teixeira Carneiro

Orientador

## DEDICATÓRIA

*Primeiramente, dedico este trabalho ao meu grande professor e amigo, Jesus Cristo, aos meus pais amados e maravilhosos, Irineu (In Memoriam) e Adelaide e aos meus irmãos, Cristiano, Thalia e Luciano.*

*Essa conquista é de vocês.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me mantido de pé, me ajudado e ter sido meu professor, melhor amigo, psicólogo e Pai, em todos os momentos.

Ao meu pai, Irineu, que nunca mediu esforços para realizar meus sonhos, e mesmo não estando presente fisicamente, sempre me dá forças para continuar. A minha mãe, Adelaide, que luta constantemente, com um sorriso no rosto, para me proporcionar a melhor educação que alguém pode ter. Se hoje sou quem eu sou, devo a vocês. Também os meus irmãos Cristiano, Thalia e Luciano, por todo o carinho e por me aturarem nos momentos.

Aos meus familiares, de perto ou longe, que sempre me apoiaram e deram forças para prosseguir. Em especial, aos meus avós José, Raimundo e Maria, por todo cuidado.

A todos professores e funcionários do LASA em especial aos técnicos Jose Luis, Cristiane e Marcio.

Agradeço em especial a professora Vânia por todos os momentos de conversas e orientações. Sua dedicação e ensinamentos contribuíram grandemente para o profissional que estou me tornando. Grande inspiração e exemplo de professora, pesquisadora e orientadora. Obrigado por toda confiança e por mostrar o quanto vale a pena lutar pela educação e ser um professor exemplar.

Sou grato ao professor Frank Quina e aos seus alunos, Cassio e Karen, por todo apoio, aprendizado e amizade durante o período que estive realizando experimentos no IQ-USP.

Aos professores Lidervan, Elson, Deusanilde e Sergio por aceitarem fazer parte desta banca como efetivos ou suplentes.

Aos meus amigos (SBS-QUI, FNODP e ESQUERDA) por ajudarem nos momentos de tensão e dividirem os momentos de alegrias e desesperos; aos amigos de fora da UFV por me apoiarem sempre em tudo que precisei; a todos os amigos do LASA pelas conversas, trocas de experiência e auxílio em experimentos, em especial aos orientados e ex-orientados da professora Vânia (Fabiana, Tassia, Diana, Bryan, Renan, Isabel e Larissa).

A mais linda, a melhor e mais querida Universidade do Brasil, a UFV, ao Departamento de Química – UFV e ao Programa de Pós-graduação em Agroquímica

por me proporcionarem não só o melhor estudo, mas a oportunidade de conhecer pessoas incríveis e contribuir para o conhecimento científico.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

*“Quanto mais a Química me permite conhecer a complexidade dos minúsculos corpos, mais eu aprendo a admirar a imensidão de Deus.”*

*(Guilherme Rodrigues Figueiredo)*

## RESUMO

MARTO, Vinícius Viana, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2020. **Síntese, caracterização fotofísica e especiação de sais de flavílio e piranoflavílio inspirados nas antocianinas naturais.** Orientador: Vânia Maria Teixeira Carneiro. Coorientador: Elson Santiago de Alvarenga.

Sais de flavílio e piranoflavílio são, respectivamente, a forma sintética das antocianinas, compostos encontrados em vegetais, e das piranoantocianinas, compostos encontrados em vinhos. Por apresentarem estrutura química semelhante aos compostos naturais, as moléculas de flavílio e piranoflavílio são modelos interessantes para estudos de propriedades fotofísicas e de estabilidade. Estes estudos são justificados pela instabilidade das espécies naturais frente a diversos fatores como luz, variação de pH e temperatura, limitando assim a sua utilização como corantes e fármacos. Desta forma, neste trabalho foi realizada a síntese e a caracterização fotofísica de sais de flavílio e piranoflavílio contendo monosubstituição na posição C4' do anel B. Quatro sais de flavílio [cloreto de 5,7-diidroxí-2-(4'-metoxifenil)-4-metilflavílio, cloreto de 5,7-diidroxí-4-metil-2-(*p*-toluil)flavílio, cloreto de 5,7-diidroxí-4'-fluoro-4-metilflavílio, cloreto de 2-(4'-bromofenil)-5,7-diidroxí-4-metilflavílio] foram sintetizados por meio da reação de Claisen entre uma benzoilacetona contendo o substituinte desejado e o fluoroglucinol, os quais apresentaram rendimentos que variaram de 56 a 82%. Quatro sais de piranoflavílio [cloreto de 5-(4-(dimetilamino)fenil)-8-hidroxí-2-(4'-metoxifenil)pirano[4,3,2-*de*]cromen-1-íleo, cloreto de 5-(4-(dimetilamino)fenil)-8-hidroxí-2-(*p*-toluil)pirano[4,3,2-*de*]cromen-1-íleo, cloreto de 5-(4-(dimetilamino)fenil)-2-(4'-fluorofenil)-8-hidroxípirano[4,3,2-*de*]cromen-1-íleo e cloreto de 2-(4'-bromofenil)-5-(4-(dimetilamino)fenil)-8-hidroxípirano[4,3,2-*de*]cromen-1-íleo] foram produzidos por meio do acoplamento entre os flavílios supracitados e o 4-dimetilaminobenzaldeído, com rendimentos que variaram entre 60 e 67%. As propriedades fotofísicas dos compostos sintetizados foram determinadas por meio da análise dos espectros de absorção de UV-Vis, fluorescência e fosforescência, sendo os dois primeiros realizados em soluções acidificadas de acetonitrila (MeCN), metanol (MeOH) e isopropanol (iPrOH) e o último realizado em iPrOH vítreo. Também foram realizados experimentos para a determinação do rendimento quântico dos sais de piranoflavílio, cujos valores variaram entre 0,11 e 2,0%, indicando que a fotofísica das espécies estudadas está sendo determinada principalmente por processos não radiativos. Maiores valores de rendimento quântico foram alcançados empregando o solvente de menor polaridade (iPrOH) e o piranoflavílio contendo grupo metila em C4'. Os espectros de absorção no UV-Vis mostraram a presença de três espécies em equilíbrio para os sais de flavílio quando houve variação de pH, sendo elas o cátion flavílio

protonado ( $FVH_2^+$ ), a base quinoidal neutra (FVH) e a base quinoidal ionizada ( $FV^-$ ), apresentando dois valores de pKa, estando o  $pK_{a1}$  entre 3,81 e 4,74 e o  $pK_{a2}$  entre 7,35 e 7,78. Os espectros de absorção dos sais de piranoflavílio demonstraram a presença de duas espécies em solução, o cátion piranoflavílio ( $PRH^+$ ) e a base quinoidal (PR), sendo o valor de pKa encontrado variando de 3,55 a 4,57, indicando uma maior estabilidade dos piranoflavílios em relação aos flavílios na faixa de pH avaliada.

Palavras-chave: Antocianinas. Flavílios. Piranoflavílios. Fotofísica. Especificação.

## ABSTRACT

MARTO, Vinicius Viana, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2020. **Synthesis, photophysical characterization and speciation of natural anthocyanin-inspired flavylum and pyranoflavylum salts.** Adviser: Vânia Maria Teixeira Carneiro. Co-adviser: Elson Santiago de Alvarenga.

Flavylum and pyranoflavylum salts are, respectively, the synthetic form of anthocyanins, compounds found in vegetables, and pyranoanthocyanins, compounds found in wines. For present chemical structure similar to natural compounds, the molecules of flavylum and pyranoflavylum salts are interesting models for studies of photophysical properties and stability. These studies are justified by the instability of natural species in the face of several factors such as light, pH and temperature variation, limiting their use as dyes and drugs. Thus, in this work, were performed the synthesis and photophysical characterization of flavylum and pyranoflavylum salts containing C4'-monosubstitution in the ring B. Four flavylum salts [5,7-dihydroxy-2-(4'-methoxyphenyl)-4-methylflavylum chloride, 5,7-dihydroxy-4-methyl-2-(*p*-tolyl)flavylum chloride, 2-(4'-fluorophenyl)-5,7-dihydroxy-4-methylflavylum chloride, 2-(4'-bromophenyl)-5,7-dihydroxy-4-methylflavylum chloride] were synthesized by Claisen reaction between *para*-substituted benzoylacetones and fluoroglucynol, showing yields from 56 to 82%. Four pyranoflavylum salts [5-(4-(dimethylamino)phenyl)-8-hydroxy-2-(4'-methoxyphenyl)pyrano[4,3,2-*de*]chromen-1-ium chloride, 5-(4-(dimethylamino)phenyl)-8-hydroxy-2-(*p*-tolyl)pyrano[4,3,2-*de*]chromen-1-ium chloride, 5-(4-(dimethylamino)phenyl)-2-(4'-fluorophenyl)-8-hydroxypyrano[4,3,2-*de*]chromen-1-ium chloride, 2-(4'-bromophenyl)-5-(4-(dimethylamino)phenyl)-8-hydroxypyrano[4,3,2-*de*]chromen-1-ium chloride] were produced through the coupling between the flavylum salts above and 4-dimethylaminobenzaldehyde, with yields from 60 to 67%. The photophysical properties of the synthesized compounds were determined by analyzing the absorption spectra of UV-Vis, fluorescence and phosphorescence, the first two being carried out in acid solutions of acetonitrile (MeCN), methanol (MeOH) and isopropanol (iPrOH) and the last one performed in glassy iPrOH. Experiments were also carried out to determine the quantum yield of the pyranoflavylum salts, with values between 0.11 and 2.0%, indicating that the photophysics of the studied species is being determined mainly by non-radioactive processes. Higher values of quantum yield were achieved using the solvent with less polarity (iPrOH) and C4'-methyl substituted pyranoflavylum. The absorption spectra in the UV-Vis showed the presence of three species in equilibrium for the flavylum salts when there was a pH variation, namely protonated flavylum cation (FVH<sub>2</sub><sup>+</sup>), neutral quinoidal base (FVH) and the ionized quinoidal base (FV<sup>-</sup>), with two

pKa values, with pKa<sub>1</sub> between 3.81 and 4.74 and pKa<sub>2</sub> between 7.35 and 7.78. The absorption spectra of the pyranoflavylum salts demonstrated the presence of two species in solution, the pyranoflavylum cation (PRH<sup>+</sup>) and the quinoidal base (PR), with the pKa value from 3.55 to 4.57, indicating a greater stability of pyranoflavylum in relation to flavylum in the pH range evaluated.

Keywords: Anthocyanins. Flavylum. Pyranoflavylum. Photophysical properties. Speciation.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Estrutura dos sais de flavílio que serão sintetizados .....	25
<b>Figura 2</b> - Estrutura dos sais de piranoflavílio que serão sintetizados.....	25
<b>Figura 3</b> – Estrutura básica das antocianidinas.....	27
<b>Figura 4</b> – Estrutura das antocianidinas mais comuns. ....	28
<b>Figura 5</b> – Estrutura básica do íon flavílio (2-fenilbenzopirílio).....	30
<b>Figura 6</b> – Estrutura básica de uma piranoantocianina. ....	33
<b>Figura 7</b> – Estrutura e equilíbrio tautomérico da 4'-Metoxibenzoilacetona .....	38
<b>Figura 8</b> – Estrutura e equilíbrio tautomérico da 4'-Metilbenzoilacetona .....	39
<b>Figura 9</b> – Estrutura e equilíbrio tautomérico da 4'-Fluorobenzoilacetona .....	40
<b>Figura 10</b> – Estrutura e equilíbrio tautomérico da 4'-Bromobenzoilacetona.....	41
<b>Figura 11</b> – Estrutura do Cloreto de 5,7-diidroxí-2-(4'-metoxifenil)-4-metilflavílio..	43
<b>Figura 12</b> – Estrutura do Cloreto de 5,7-diidroxí-4-metil-2-(p-toluil)flavílio. ....	44
<b>Figura 13</b> – Estrutura do Cloreto de 5,7-diidroxí-4'-fluoro-4-metilflavílio.....	45
<b>Figura 14</b> – Estrutura do Cloreto de 2-(4'-bromofenil)-5,7-diiidroxí-4-metilflavílio	46
<b>Figura 15</b> – Estrutura do Cloreto de 5-(4-(dimetilamino)fenil)-8-hidroxi-2-(4'-metoxifenil)pirano[4,3,2-de]cromen-1-íleo .....	48
<b>Figura 16</b> – Estrutura do Cloreto de 5-(4-(dimetilamino)fenil)-8-hidroxi-2-(p-toluil)pirano[4,3,2-de]cromen-1-íleo .....	49
<b>Figura 17</b> – Estrutura do Cloreto de 5-(4-(dimetilamino)fenil)-2-(4'-fluorofenil)-8-hidroxípirano[4,3,2-de]cromen-1-íleo .....	50
<b>Figura 18</b> – Estrutura do Cloreto de 2-(4'-bromofenil)-5-(4-(dimetilamino)fenil)-8-hidroxípirano[4,3,2-de]cromen-1-íleo .....	51
<b>Figura 19</b> – Espectro no infravermelho (ATR) da benzoilacetona <b>2a</b> .....	55
<b>Figura 20</b> – Espectro de massas da benzoilacetona <b>2a</b> .....	56
<b>Figura 21</b> - Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da benzoilacetona <b>2a</b> (Clorofórmio-d <sub>1</sub> , 200MHz). .....	59
<b>Figura 22</b> - Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da benzoilacetona <b>2a</b> (Clorofórmio-d <sub>1</sub> , 50MHz). .....	60
<b>Figura 23</b> - Espectro no infravermelho (ATR) do flavílio <b>3a</b> .....	63
<b>Figura 24</b> – Espectro de Massas de <b>3a</b> .....	64
<b>Figura 25</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do flavílio <b>3a</b> (Metanol-d <sub>4</sub> , 200MHz).....	67
<b>Figura 26</b> – Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do flavílio <b>3a</b> (Metanol-d <sub>4</sub> , 50MHz).....	68

<b>Figura 27</b> – Espectro de infravermelho (ATR) do piroflavílio <b>4a</b> .....	71
<b>Figura 28</b> – Espectro de massas do piranoflavílio <b>4a</b> .....	72
<b>Figura 29</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do piranoflavílio <b>4a</b> (Acetonitrila-d <sub>3</sub> , 500MHz).74	
<b>Figura 30</b> – Estrutura de alguns traçadores agrícolas. ....	81
<b>Figura 31</b> – Espectro de absorção do flavílio <b>3b</b> (Acetonitrila). ....	86
<b>Figura 32</b> – Espectro de absorção do piranoflavílio <b>4b</b> (Acetonitrila). ....	86
<b>Figura 33</b> – Espectro de emissão de fluorescência do flavílio <b>3b</b> (Acetonitrila). ....	90
<b>Figura 34</b> – Espectro de emissão de fluorescência do piranoflavílio <b>4b</b> (Acetonitrila).90	
<b>Figura 35</b> – Espectro de emissão/ fosforescência do piranoflavílio <b>4b</b> (Isopropanol).93	
<b>Figura 36</b> – Espectro de absorção de <b>3b</b> entre pH 2,41 e 5,59 a 25 °C.....	103
<b>Figura 37</b> – Espectro de absorção de <b>3b</b> entre pH 5,99 e 7,99 a 25 °C.....	104
<b>Figura 38</b> – Espectro de absorção de <b>4b</b> entre pH 3,02 e 7,52 a 25 °C.....	104
<b>Figura 39</b> – Variação da fração molar do cátion flavílio protonado (FVH <sub>2</sub> <sup>+</sup> ) e da base quinoidal neutra (FVH) para <b>3b</b> em função do pH, a 25 °C.....	106
<b>Figura 40</b> – Variação da fração molar da base quinoidal neutra (FVH) e da base quinoidal ionizada (FV <sup>-</sup> ) para <b>3b</b> em função do pH, a 25 °C. ....	106
<b>Figura 41</b> – Espectro no infravermelho (ATR) da benzoilacetona <b>2b</b> .....	111
<b>Figura 42</b> – Espectro de massas da benzoilacetona <b>2b</b> .....	112
<b>Figura 43</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H benzoilacetona <b>2b</b> (Clorofórmio-d <sub>1</sub> , 200MHz).113	
<b>Figura 44</b> – Espectro de RMN de <sup>13</sup> C benzoilacetona <b>2b</b> (Clorofórmio-d <sub>1</sub> , 50MHz).114	
<b>Figura 45</b> – Espectro no infravermelho (ATR) da benzoilacetona <b>2c</b> . ....	115
<b>Figura 46</b> – Espectro de massas da benzoilacetona <b>2c</b> . ....	116
<b>Figura 47</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H benzoilacetona <b>2c</b> (Clorofórmio-d <sub>1</sub> , 200MHz).117	
<b>Figura 48</b> – Espectro de RMN de <sup>13</sup> C benzoilacetona <b>2c</b> (Clorofórmio-d <sub>1</sub> , 50MHz).118	
<b>Figura 49</b> – Espectro no infravermelho (ATR) da benzoilacetona <b>2d</b> .....	119
<b>Figura 50</b> –Espectro de massas da benzoilacetona <b>2d</b> .....	120
<b>Figura 51</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H benzoilacetona <b>2d</b> (Clorofórmio-d <sub>1</sub> , 200MHz).121	
<b>Figura 52</b> – Espectro de RMN de <sup>13</sup> C benzoilacetona <b>2d</b> (Clorofórmio-d <sub>1</sub> , 50MHz).122	
<b>Figura 53</b> – Espectro no infravermelho (ATR) do flavílio <b>3b</b> . ....	123
<b>Figura 54</b> – Espectro de massas do flavílio <b>3b</b> .....	124
<b>Figura 55</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do flavílio <b>3b</b> (Metanol-d <sub>4</sub> , 200MHz). ....	125
<b>Figura 56</b> – Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do flavílio <b>3b</b> (Metanol-d <sub>4</sub> , 50MHz). ....	126
<b>Figura 57</b> – Espectro no infravermelho (ATR) do flavílio <b>3c</b> .....	127
<b>Figura 58</b> – Espectro de massas do flavílio <b>3c</b> . ....	128

<b>Figura 59</b> – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do flavílio <b>3c</b> (Metanol- $\text{d}_4$ , 200MHz). .....	129
<b>Figura 60</b> – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do flavílio <b>3c</b> (Metanol- $\text{d}_4$ , 50MHz). .....	130
<b>Figura 61</b> – Espectro no infravermelho (ATR) do flavílio <b>3d</b> . .....	131
<b>Figura 62</b> – Espectro de massas do flavílio <b>3d</b> . .....	131
<b>Figura 63</b> – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do flavílio <b>3d</b> (Metanol- $\text{d}_4$ , 200MHz). .....	133
<b>Figura 64</b> – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do flavílio <b>3d</b> (Metanol- $\text{d}_4$ , 50MHz). .....	134
<b>Figura 65</b> – Espectro no infravermelho (ATR) do piranoflavílio <b>4b</b> . .....	135
<b>Figura 66</b> – Espectro de massas do piranoflavílio <b>4b</b> . .....	136
<b>Figura 67</b> – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do piranoflavílio <b>4b</b> (Metanol- $\text{d}_4$ , 400MHz). ..	137
<b>Figura 68</b> – Espectro no infravermelho (ATR) do piranoflavílio <b>4c</b> . .....	138
<b>Figura 69</b> – Espectro de massas do piranoflavílio <b>4c</b> . .....	139
<b>Figura 70</b> – Espectro no infravermelho (ATR) do piranoflavílio <b>4d</b> . .....	140
<b>Figura 71</b> – Espectro de massas do piranoflavílio <b>4d</b> . .....	141
<b>Figura 72</b> – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do piranoflavílio <b>4d</b> (Metanol- $\text{d}_4$ , 400MHz). ..	142
<b>Figura 73</b> – Espectro de absorção do flavílio <b>3b</b> (Metanol). .....	144
<b>Figura 74</b> – Espectro de emissão/ fluorescência do flavílio <b>3b</b> (Metanol). .....	144
<b>Figura 75</b> – Espectro de absorção do flavílio <b>3b</b> (Isopropanol). .....	145
<b>Figura 76</b> – Espectro de emissão/ fluorescência do flavílio <b>3b</b> (Isopropanol). .....	145
<b>Figura 77</b> – Espectro de absorção do flavílio <b>3c</b> (Acetonitrila). .....	146
<b>Figura 78</b> – Espectro de emissão/ fluorescência do flavílio <b>3c</b> (Acetonitrila). .....	146
<b>Figura 79</b> – Espectro de absorção do flavílio <b>3c</b> (Metanol). .....	147
<b>Figura 80</b> – Espectro de emissão/ fluorescência do flavílio <b>3c</b> (Metanol). .....	147
<b>Figura 81</b> – Espectro de absorção do flavílio <b>3c</b> (Isopropanol). .....	148
<b>Figura 82</b> – Espectro de emissão/ fluorescência do flavílio <b>3c</b> (Isopropanol). .....	148
<b>Figura 83</b> – Espectro de absorção do flavílio <b>3d</b> (Acetonitrila). .....	149
<b>Figura 84</b> – Espectro de emissão/ fluorescência do flavílio <b>3d</b> (Acetonitrila). .....	149
<b>Figura 85</b> – Espectro de absorção do flavílio <b>3d</b> (Metanol). .....	150
<b>Figura 86</b> – Espectro de emissão/ fluorescência do flavílio <b>3d</b> (Metanol). .....	150
<b>Figura 87</b> – Espectro de absorção do flavílio <b>3d</b> (Isopropanol). .....	151
<b>Figura 88</b> – Espectro de emissão/ fluorescência do flavílio <b>3d</b> (Isopropanol). .....	151
<b>Figura 89</b> – Espectro de absorção do piranoflavílio <b>4b</b> (Metanol). .....	152
<b>Figura 90</b> – Espectro de emissão/ fluorescência do piranoflavílio <b>4b</b> (Metanol). .....	152
<b>Figura 91</b> – Espectro de absorção do piranoflavílio <b>4b</b> (Isopropanol). .....	153
<b>Figura 92</b> – Espectro de emissão/ fluorescência do piranoflavílio <b>4b</b> (Isopropanol). .....	153

<b>Figura 93</b> – Espectro de absorção do piranoflavílio <b>4c</b> (Acetonitrila).....	154
<b>Figura 94</b> – Espectro de emissão/ fluorescência do piranoflavílio <b>4c</b> (Acetonitrila).154	
<b>Figura 95</b> – Espectro de absorção do piranoflavílio <b>4c</b> (Metanol). ....	155
<b>Figura 96</b> – Espectro de emissão/ fluorescência do piranoflavílio <b>4c</b> (Metanol).....	155
<b>Figura 97</b> – Espectro de absorção do piranoflavílio <b>4c</b> (Isopropanol).....	156
<b>Figura 98</b> – Espectro de emissão/ fluorescência do piranoflavílio <b>4c</b> (Isopropanol).156	
<b>Figura 99</b> – Espectro de emissão/ fosforescência do piranoflavílio <b>4c</b> .....	157
<b>Figura 100</b> – Espectro de absorção do piranoflavílio <b>4d</b> (Acetonitrila). ....	158
<b>Figura 101</b> – Espectro de emissão/ fluorescência do piranoflavílio <b>4d</b> (Acetonitrila).158	
<b>Figura 102</b> – Espectro de absorção do piranoflavílio <b>4d</b> (Metanol).....	159
<b>Figura 103</b> – Espectro de emissão/ fluorescência do piranoflavílio <b>4d</b> (Metanol)....	159
<b>Figura 104</b> – Espectro de absorção do piranoflavílio <b>4d</b> (Isopropanol). ....	160
<b>Figura 105</b> – Espectro de emissão/ fluorescência do piranoflavílio <b>4d</b> (Isopropanol).160	
<b>Figura 106</b> – Espectro de emissão/ fosforescência do piranoflavílio <b>4d</b> . ....	161
<b>Figura 107</b> – Espectro de absorção de <b>3a</b> entre pH 2,58 e 5,44 a 25 °C. ....	163
<b>Figura 108</b> – Espectro de absorção de <b>3a</b> entre pH 5,93 e 7,58 a 25 °C.....	163
<b>Figura 109</b> – Variação da fração molar do cátion flavílio protonado (FVH <sub>2</sub> <sup>+</sup> ) e da base quinoidal neutra (FVH) para <b>3a</b> em função do pH, a 25 °C.....	164
<b>Figura 110</b> – Variação da fração molar da base quinoidal neutra (FVH) e da base quinoidal ionizada (FV <sup>-</sup> ) para <b>3a</b> em função do pH, a 25 °C .....	164
<b>Figura 111</b> – Espectro de absorção de <b>3c</b> entre pH 2,41 e 5,49 a 25 °C. ....	165
<b>Figura 112</b> – Espectro de absorção de <b>3c</b> entre pH 5,99 e 7,99 a 25 °C. ....	165
<b>Figura 113</b> – Variação da fração molar do cátion flavílio protonado (FVH <sub>2</sub> <sup>+</sup> ) e da base quinoidal neutra (FVH) para <b>3c</b> em função do pH, a 25 °C. ....	166
<b>Figura 114</b> – Variação da fração molar da base quinoidal neutra (FVH) e da base quinoidal ionizada (FV <sup>-</sup> ) para <b>3c</b> em função do pH, a 25 °C.....	166
<b>Figura 115</b> – Espectro de absorção de <b>3d</b> entre pH 2,02 e 5,49 a 25 °C.....	167
<b>Figura 116</b> – Espectro de absorção de <b>3d</b> entre pH 5,99 e 7,99 a 25 °C.....	167
<b>Figura 117</b> – Variação da fração molar do cátion flavílio protonado (FVH <sub>2</sub> <sup>+</sup> ) e da base quinoidal neutra (FVH) para <b>3d</b> em função do pH, a 25 °C.....	168
<b>Figura 118</b> – Variação da fração molar da base quinoidal neutra (FVH) e da base quinoidal ionizada (FV <sup>-</sup> ) para <b>3d</b> em função do pH, a 25 °C .....	168
<b>Figura 119</b> – Espectro de absorção de <b>4a</b> entre pH 3,02 e 7,05 a 25 °C. ....	169

<b>Figura 120</b> – Variação da fração molar do cátion piranoflavílio (PRH <sup>+</sup> ) e da base quinoidal (PR) para <b>4a</b> em função do pH, a 25 °C. ....	169
<b>Figura 121</b> – Variação da fração molar do cátion piranoflavílio (PRH <sup>+</sup> ) e da base quinoidal (PR) para <b>4b</b> em função do pH, a 25 °C. ....	170
<b>Figura 122</b> – Espectro de absorção de <b>4c</b> entre pH 3,02 e 7,99 a 25 °C. ....	171
<b>Figura 123</b> – Variação da fração molar do cátion piranoflavílio (PRH <sup>+</sup> ) e da base quinoidal (PR) para <b>4c</b> em função do pH, a 25 °C. ....	171
<b>Figura 124</b> – Espectro de absorção de <b>4d</b> entre pH 3,02 e 7,52 a 25 °C. ....	172
<b>Figura 125</b> – Variação da fração molar do cátion piranoflavílio (PRH <sup>+</sup> ) e da base quinoidal (PR) para <b>4d</b> em função do pH, a 25 °C. ....	172

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1</b> – Rota sintética descrita por (A) Chassaing et al. (2015a); (B) Da Silva et al. (2018). .....	34
<b>Esquema 2</b> – Rota sintética descrita por Oliveira et al. (2016). .....	34
<b>Esquema 3</b> – Rota sintética descrita por Cruz et al. (2017). .....	35
<b>Esquema 4</b> - Reação de formação das benzoilacetonas ( <b>2a-2d</b> ). .....	37
<b>Esquema 5</b> - Reação de formação dos sais de flavílio ( <b>3a-3d</b> ). .....	42
<b>Esquema 6</b> - Reação de formação dos sais de piranoflavílio ( <b>4a-4d</b> ). .....	47
<b>Esquema 7</b> – Rota sintética e rendimentos obtidos para síntese dos benzoilacetonas ( <b>2a-2d</b> ).....	52
<b>Esquema 8</b> – Proposta de mecanismo para a formação de <b>2a-2d</b> . .....	53
<b>Esquema 9</b> – Equilíbrio tautomérico para a benzoilacetona <b>2b</b> . .....	54
<b>Esquema 10</b> – Propostas de fragmentações correspondentes a benzoilacetona <b>2a</b> . ....	57
<b>Esquema 11</b> – Rota sintética e rendimentos obtidos para síntese dos sais de flavílio ( <b>3a-3d</b> ).....	61
<b>Esquema 12</b> - Proposta de mecanismo para a formação de <b>3a-3d</b> . .....	62
<b>Esquema 13</b> – Propostas de fragmentação correspondente ao flavílio <b>3a</b> . .....	64
<b>Esquema 14</b> – Esquema de troca de hidrogênios por deutério pelos sais de flavílio ( <b>3a-3d</b> ).....	66
<b>Esquema 15</b> – Rota sintética e rendimentos obtidos para síntese de <b>4a-4d</b> .....	69
<b>Esquema 16</b> – Proposta de mecanismo para a formação de <b>4a-4d</b> . .....	70
<b>Esquema 17</b> – Propostas de fragmentações correspondentes ao piranoflavílio <b>4a</b> . ....	72
<b>Esquema 18</b> – Diagrama de Jablonski. .....	77
<b>Esquema 19</b> – Equilíbrio das antocianinas em solução aquosa.....	98
<b>Esquema 20</b> – Espécies presentes em equilíbrio com a variação do pH ( <b>3a-3d</b> ).....	102
<b>Esquema 21</b> – Espécies presentes em equilíbrio com a variação do pH ( <b>4a-4d</b> ).....	102

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Esquemas reacionais para síntese de sais de flavílio. ....	30
<b>Tabela 2</b> – Valores de comprimento de onda máximo de absorção ( $\lambda_{\text{abs}}$ ) e absortividade molar ( $\epsilon_{\text{max}}$ ) dos flavílios e piranoflavílios nos diferentes solventes. ....	87
<b>Tabela 3</b> – Valores de comprimento de onda máximo de emissão de fluorescência dos flavílios e piranoflavílios nos diferentes solventes. ....	91
<b>Tabela 4</b> – Valores de Deslocamento de Stokes ( $\Delta\nu$ ) dos flavílios e piranoflavílios nos diferentes solventes. ....	92
<b>Tabela 5</b> – Valores de rendimento quântico ( $\Phi$ ) dos piranoflavílios nos diferentes solventes. ....	92
<b>Tabela 6</b> – Comprimentos de onda máximo de absorção de cada espécie presente em solução. ....	101
<b>Tabela 7</b> – Valores de pKa encontrados para cada sal de flavílio e piranoflavílio. ....	105

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AcOEt – Acetato de etila

HCl – Cloreto de Hidrogênio

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – Ácido Sulfúrico

NaCl – Cloreto de sódio

EtOH – Etanol

THF – Tetraidrofurano

TFA – Ácido trifluoroacético (do inglês, *Trifluoroacetic acid*)

Et<sub>2</sub>O – Éter dietílico

MeCN – Acetonitrila

MeOH – Metanol

iPrOH – Isopropanol

ATR – Reflectância Total Atenuada (do inglês, *Attenuated Total Reflectance*)

EM – Espectrometria de Massas

Hz – Hertz

IV – Infravermelho

UV-Vis – Ultravioleta no visível

*m/z* – Relação massa/carga

m - Multiplete

d - Duplete

s - Simpleto

ppm – Partes por milhão

δ – Deslocamento químico

*J* – Constante de acoplamento

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

RMN de  $^{13}\text{C}$  – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

RMN de  $^1\text{H}$  – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

$S_0$ : Estado simpleto fundamental

$S_1, S_2$ : Estados simpletos excitados

$T_1$ : Estado tripletos excitado

IC: Conversão Interna (do inglês, *internal conversion*)

ISC: Cruzamento Intersistema (do inglês, *intersystem crossing*)

$\lambda_{\text{abs}}$ : Comprimento de onda de absorção

$\lambda_{\text{max}}$ : Comprimento de onda de absorção máximo

$\pi$ : Orbital pi ligante

$\pi^*$ : Orbital pi antiligante

$\epsilon$ : Absortividade molar

$\lambda_{\text{Ems}}^{\text{Fluor}}$ : Comprimento de onda de fluorescência

$\Phi$ : Rendimento quântico de fluorescência

$\Delta\nu$ : Deslocamento de Stokes

$\lambda_{\text{Ems}}^{\text{Fosf}}$ : Comprimento de onda de fosforescência

$\text{FVH}_2^+$ : Cátion flavílio protonado

FVH: Base quinoidal neutra

$\text{FV}^-$ : Base quinoidal ionizada

$\text{PRH}^+$ : Cátion piranoflavílio

PR: Base quinoidal do piranoflavílio

## SUMÁRIO

Introdução Geral.....	23
Objetivos .....	25
Capítulo 1 .....	27
Síntese e caracterização de sais de flavílio e piranoflavílio.....	27
1. Introdução.....	27
1.1. Antocianinas e Antocianidinas.....	27
1.1.1. Extração de antocianinas e síntese de sais de flavílio.....	29
1.1.2. Estabilidade .....	31
1.1.3. Co-pigmentação: uma alternativa a instabilidade das antocianinas .....	31
1.2. Piranoantocininas.....	32
2. Procedimentos de síntese.....	36
2.1. Generalidades metodológicas.....	36
2.2. Síntese das benzoilacetonas (2a-2d) .....	37
2.2.1. Dados referentes às Benzoilacetonas (2a-2d) .....	38
2.2.1.1. 4'-Metoxilbenzoilacetona (2a) .....	38
2.2.1.2. 4'-Metilbenzoilacetona (2b).....	39
2.2.1.3. 4'-Fluorobenzoilacetona (2c).....	40
2.2.1.4. 4'-Bromobenzoilacetona (2d) .....	41
2.3. Síntese dos sais de flavílio (3a-3d) .....	42
2.3.1. Dados referentes aos sais de flavílio (3a-3d).....	43
2.3.1.1. Cloreto de 5,7-diidroxil-2-(4'-metoxifenil)-4-metilflavílio (3a).....	43
2.3.1.2. Cloreto de 5,7-diidroxil-4-metil-2-( <i>p</i> -toluil)flavílio (3b).....	44
2.3.1.3. Cloreto de 5,7-diidroxil-4'-fluoro-4-metilflavílio (3c).....	45
2.3.1.4. Cloreto de 2-(4'-bromofenil)-5,7-diidroxil-4-metilflavílio (3d) .....	46
2.4. Síntese dos sais de piranoflavílio (4a-4d) .....	47

2.4.1.1.	Cloreto de 5-(4-(dimetilamino)fenil)-8-hidróxi-2-(4'-metoxifenil)pirano[4,3,2- <i>de</i> ]cromen-1-íleo (4a).....	48
2.4.1.2.	Cloreto de 5-(4-(dimetilamino)fenil)-8-hidróxi-2-( <i>p</i> -toluil)pirano[4,3,2- <i>de</i> ]cromen-1-íleo (4b).....	49
2.4.1.3.	Cloreto de 5-(4-(dimetilamino)fenil)-2-(4'-fluorofenil)-8-hidroxipirano[4,3,2- <i>de</i> ]cromen-1-íleo (4c).....	50
2.4.2.	Cloreto de 2-(4'-bromofenil)-5-(4-(dimetilamino)fenil)-8-hidroxipirano[4,3,2- <i>de</i> ]cromen-1-íleo (4d) .....	51
3.	Resultados e discussão .....	52
3.1.	Síntese e caracterização das séries de compostos.....	52
3.1.1.	Benzoilacetonas (2a-2d).....	52
3.1.2.	Sais de flavílio (3a-3d).....	61
3.1.3.	Sais de piranoflavílio (4a-4d) .....	69
4.	Conclusão .....	75
	Capítulo 2 .....	76
	Caracterização fotofísica DOS SAIS DE flavílio e piranoflavílio .....	76
1.	Introdução .....	76
1.1.	Aspectos gerais da espectroscopia UV-Vis e fotoluminescência.....	76
1.2.	Antocianinas e a indústria de corantes.....	79
1.3.	Corantes na agricultura .....	80
1.4.	Sondas solvatocrômicas .....	81
2.	Materiais e métodos .....	83
2.1.	Medidas de UV-Vis .....	83
2.2.	Medidas de fluorescência.....	83
2.3.	Rendimento quântico de fluorescência .....	84
2.4.	Medidas de Fosforescência .....	84
3.	Resultado e discussão.....	85
3.1.	Absorção e Absortividade molar .....	85

3.2. Fluorescência e Fosforescência .....	88
4. Conclusão .....	94
Capítulo 3 .....	95
Especiação dos sais de flavílio e piranoflavílio.....	95
1. Introdução .....	95
1.1. Efeito do pH sobre as antocianinas.....	96
2. Materiais e métodos .....	100
3. Resultados e discussão .....	101
4. Conclusão .....	108
Conclusão Geral e Perspectivas.....	109
APÊNDICE A – Espectros de IV, MASSAS E RMN dos compostos sintetizados. .....	110
APÊNDICE B – Espectros UV, Fluorescência dos compostos 3b-3d e 4b-4d e espectros de Fosforescência de 4b-4d. ....	143
APÊNDICE C – Espectros de Absorção e Gráficos de Fração Molar <i>versus</i> pH dos compostos 3a-3d e 4a-4d.....	162
Referências Bibliográficas .....	173

## INTRODUÇÃO GERAL

A cor dos alimentos tem dentre várias funções a de promover a atração do consumidor pelo produto. Produtos mais coloridos e vistosos são tidos como melhores e mais saborosos, o que ocasiona uma maior aceitabilidade por parte do cliente (PRADO; GODOY, 2007). Diante disso, a indústria alimentícia desenvolve diversos corantes afim de manter a qualidade visual do produto que está sendo vendido, podendo os mesmos serem sintetizados ou extraídos de fontes naturais. Entretanto, a preocupação com a toxicidade de corantes artificiais faz com que o número destes permitido por lei seja muito pequeno. Logo, estudos visando a produção de corantes naturais vem crescendo (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2010; DEKIC *et al.*, 2017).

Diversos compostos tem ganhado destaque como corantes naturais, sendo os principais urucum, carmim de cochonilha, curcumina, antocianinas, carotenóides e betalainas (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2010; DEKIC *et al.*, 2017). Dentre esses, as antocianinas serão o enfoque deste trabalho.

As antocianinas tem ganhado evidência como compostos passíveis de serem utilizados como corantes naturais devido a gama de cores produzidas por elas que abrangem do vermelho ao azul (DEKIC *et al.*, 2017; WEBER; BOCH; SCHIEBER, 2017). Entretanto, sua instabilidade frente a fatores como temperatura, pH, luz, entre outros, tem sido uma barreira para a indústria alimentícia, sendo as mesmas indicadas para produtos que não sejam processados com uso de altas temperaturas, e que possuam proteção em sua embalagem contra luz, umidade e oxigênio (SILVA *et al.*, 2010; DEKIC *et al.*, 2017; QIAN *et al.*, 2017).

A variação de pH destaca-se como principal fator responsável pela instabilidade das antocianinas, sendo esse parâmetro responsável por ocasionar a formação de várias espécies em equilíbrio quando as moléculas destes flavonoides se encontram em meio aquoso (LOPES *et al.*, 2007; CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009)

Além disso, processos utilizados na extração e purificação das antocianinas podem contribuir para a sua degradação, sendo mais uma dificuldade enfrentada para utilização da mesma. Uma alternativa a isso é a síntese de sais de flavílio que possuem estrutura e propriedades químicas semelhantes as antocianinas naturais (MORA-

SOUMILLE *et al.*, 2013; WEBER; BOCH; SCHIEBER, 2017; DA FONSECA MACHADO *et al.*, 2018).

Uma nova classe de compostos derivados das antocianinas que vem ganhando destaque são as piranoantocianinas. Elas estão presentes em frutas e produtos fermentados como o vinho, sendo o primeiro trabalho a reportar essas moléculas datado do ano de 1996 por Cameira-dos-Santos *et al.* (1996). Elas diferenciam-se das antocianinas tradicionais por possuírem um anel pirano extra. Além dessa divergência estrutural, estes compostos tem sido alvo de estudos por apresentarem maior estabilidade frente aos diversos fatores que causam a instabilidade das antocianinas, sendo o principal a variação de pH (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009; ZHU *et al.*, 2015; GOMES *et al.*, 2019).

Logo, com o intuito de conhecer melhor as propriedades físicas e químicas dessas moléculas e compreender como os fatores supracitados interferem no comportamento das mesmas a fim de tornar mais viável sua utilização, diversos estudos fotoquímicos tem sido desenvolvidos (SINOPOLI; CALOGERO; BARTOLOTTA, 2019).

## OBJETIVOS

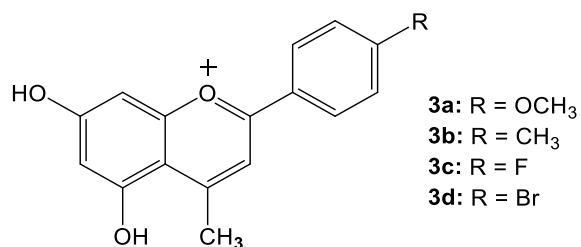
### Objetivos Gerais

Sintetizar e caracterizar sais de flavílio e piranoflavílios, além de realizar a caracterização fotofísica e especiação destes compostos.

### Objetivos específicos

- Preparar quatro sais de flavílio **3a-3d** contendo um variado padrão de substituição no anel B, cujas estruturas são mostradas na Figura 1.

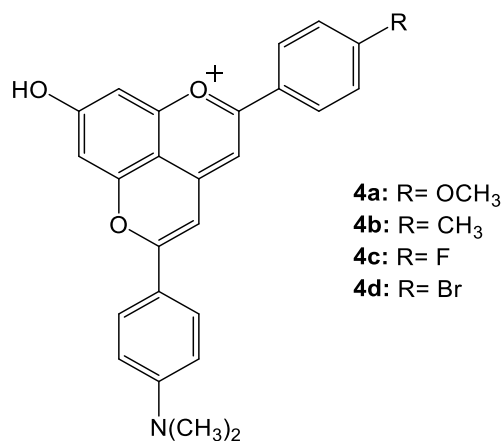
**Figura 1** – Estrutura dos sais de flavílio que serão sintetizados



**Fonte:** O Autor.

- Sintetizar piranoflavílios **4a-4d** contendo diferentes substituintes no anel B (**Figura 2**).

**Figura 2** - Estrutura dos sais de piranoflavílio que serão sintetizados.



**Fonte:** O Autor.

- Estudar as propriedades fotofísicas dos sais de flavílio e piranoflavílio por meio da análise de espectros de absorção, fluorescência e fosforescência (para os piranoflavílio);
- Estudar a estabilidade dos compostos frente a variação de pH das moléculas sintetizadas por meio do estudo dos espectros de absorção em diferentes valores de pH.

## CAPÍTULO 1

### SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE SAIS DE FLAVÍLIO E PIRANOFLAVÍLIO

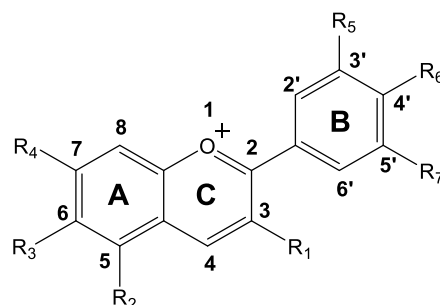
#### 1. INTRODUÇÃO

##### 1.1. Antocianinas e Antocianidinas

Do grego (*anthos*, flor, e *kyanos*, azul) originou-se a palavra antocianina (LOPES *et al.*, 2007). Sendo parte dos compostos fitoquímicos fenólicos (KHOO *et al.*, 2017), elas são responsáveis pela gama de cores presentes em flores e frutos e seus derivados (PATRAS *et al.*, 2010; FERNANDES *et al.*, 2013; ALI; ALMAGRIBI; AL-RASHIDI, 2016; DA FONSECA MACHADO *et al.*, 2018). São um dos pigmentos de maior destaque no reino vegetal (LOPES *et al.*, 2007; MORA-SOUMILLE *et al.*, 2013; ALGARRA *et al.*, 2014), estando presentes em maior quantidade nas angiospermas (LOPES *et al.*, 2007).

Antocianinas são a forma glicosilada das antocianidinas (ou agliconas) (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009). Elas são caracterizadas por uma estrutura policíclica contendo quinze carbonos (LOPES *et al.*, 2007) em que um anel heterocíclico (C) contendo um átomo de oxigênio, está ligado a um anel aromático (A) e por meio de uma ligação carbono-carbono a outro anel aromático (B) (DEKIC *et al.*, 2017) (Figura 3).

**Figura 3** – Estrutura básica das antocianidinas.



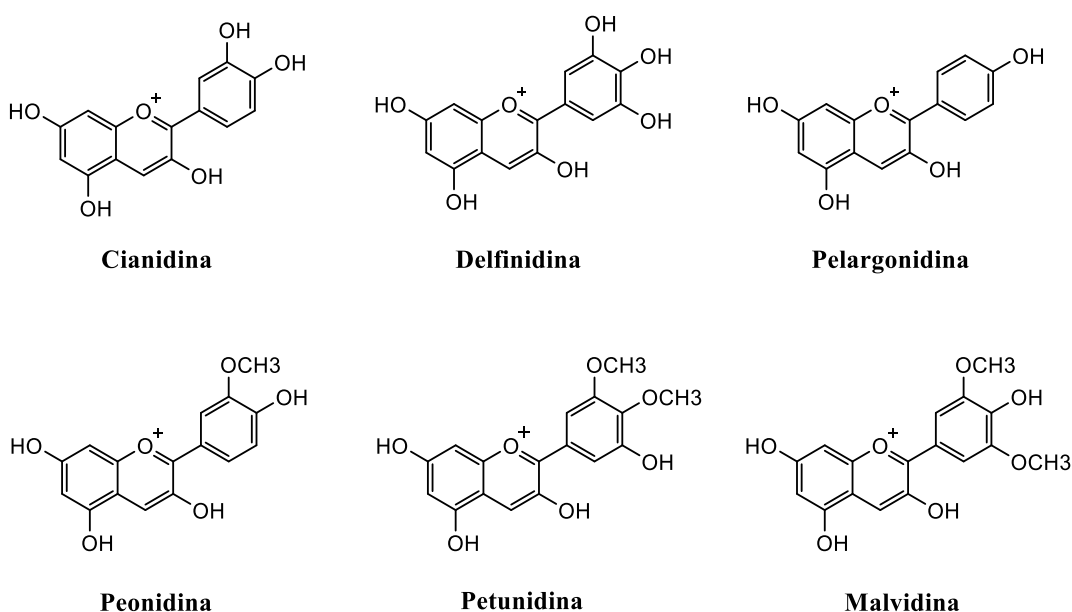
**Fonte:** LOPES *et al.*, 2007, p. 292.

São consideradas flavonoides que apresentam uma carga positiva no oxigênio do anel C da estrutura básica desse grupo de compostos. Também são conhecidas como íon flavílio (2-fenilbenzopirílio) (KHOO *et al.*, 2017), que é a forma mais

estável das antocianinas. Ele é favorecido pela acidificação do meio (WEBER; BOCH; SCHIEBER, 2017).

Na natureza existe uma grande variedade de antocianinas (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009; COKLAR; AKBULUT, 2017), sendo esta diversidade ocasionada pelas variações de substituição, como o número de grupos hidroxilas, metoxilas e açúcares, na estrutura desses compostos. Além disso, os carboxilatos aromáticos ou alifáticos ligados aos açúcares, também influenciam em qual antocianina será formada (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009; CHUNG *et al.*, 2017; COKLAR; AKBULUT, 2017). Dentre as várias antocianidinas, destacam-se como principais a cianidina, delphinidina, pelargonidina, peonidina, petunidina, e malvidina (Figura 4) (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009; ALGARRA *et al.*, 2014; FERNANDES *et al.*, 2013; ZHU *et al.*, 2015; ALI; ALMAGRIBI; AL-RASHIDI, 2016) (Figura 2), das quais as três primeiras, são as mais comumente encontradas na natureza em sua forma glicosilada (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009).

**Figura 4** – Estrutura das antocianidinas mais comuns.



**Fonte:** O Autor.

As antocianinas estão muito presentes no cotidiano destacando-se como os principais polifenóis encontrados em vegetais, como frutas e seus derivados, repolho roxo, cenoura roxa, berinjela, batata doce (MORA-SOUMILLE *et al.*, 2013; CHUNG *et al.*, 2017). Além disso, elas apresentam contribuições benéficas a saúde, como por exemplo, propriedade antioxidante (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009); redução

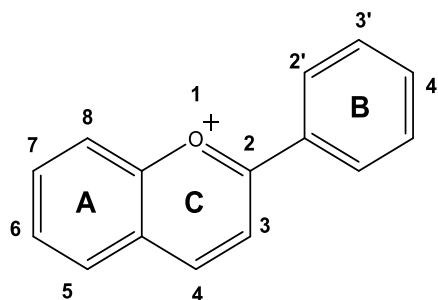
do risco de doença cardíaca coronária, diminuição do risco de acidente vascular cerebral, propriedades antitumorais (ALGARRA *et al.*, 2014); inibição do acúmulo de colesterol no sangue, prevenção de diabetes (OLIVEIRA, *et al.*, 2018), entre outros.

### **1.1.1. Extração de antocianinas e síntese de sais de flavílio**

A obtenção de antocianinas a partir dos frutos e vegetais em que elas estão presentes ocorre por meio de um processo que conta com as etapas de extração, concentração e secagem (WEBER; BOCH; SCHIEBER, 2017). A extração é a etapa primordial do processo, uma vez que, a mesma condiciona o sucesso ou fracasso na obtenção dos compostos. A extração pode ser feita de várias maneiras, as quais incluem, extração assistida por ultrassom ou micro-ondas, extração de fluido supercrítico e extração com solvente, sendo esta última a mais utilizada (COKLAR; AKBULUT, 2017). Dentre os solventes utilizados para extração, destacam-se misturas aquosas de acetona, metanol ou etanol (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009). No que tange a secagem, destaca-se a secagem por pulverização (WEBER; BOCH; SCHIEBER, 2017).

Apesar de bastante utilizados, os processos necessários para obter antocianinas a partir dos vegetais podem acabar comprometendo sua estabilidade (WEBER; BOCH; SCHIEBER, 2017; DA FONSECA MACHADO *et al.*, 2018), além disso, pode haver dificuldade para extrair e purificar as matrizes onde as antocianinas estão contidas (MORA-SOUMILLE *et al.*, 2013). Diante disso, a síntese de sais de flavílio se tornou uma alternativa interessante para investigação das propriedades de antocianinas (MONCADA; MOURA; JOA, 2003).

Os sais de flavílio são estáveis em baixos valores de pH e são a forma mais estável das antocianinas (WEBER; BOCH; SCHIEBER, 2017). Eles apresentam estrutura similar e o mesmo comportamento químico das antocianinas naturais, o que possibilita que sejam usados como modelos para os estudos das propriedades químicas (MONCADA; MOURA; JOA, 2003).

**Figura 5** – Estrutura básica do íon flavílio (2-fenilbenzopirílio).

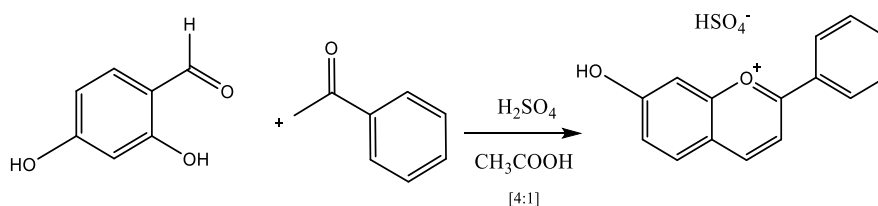
Fonte: O Autor.

Na literatura estão descritas diversas metodologias para síntese desses sais. Ali; Almagribi; Al-Rashidi (2016), borbulhou HCl gasoso em uma solução contendo um aldeído e uma acetofenona. Roque *et al.* (2003), realizou a síntese de flavílios condensando uma acetofenona com um aldeído em presença de ácido tetrafluorobórico; Aguilar-Castillo *et al.* (2018) utilizou a mesma metodologia, substituindo o ácido tetrafluorobórico por uma mistura de ácido acético com ácido sulfúrico numa proporção molar de [4: 1] v / v; Moghaddam *et al.* (2014) utilizou acetofenona, aldeído e ácido perclórico imobilizado em sílica gel para realizar a síntese desses sais. Os esquemas reacionais das metodologias estão dispostos na Tabela 1.

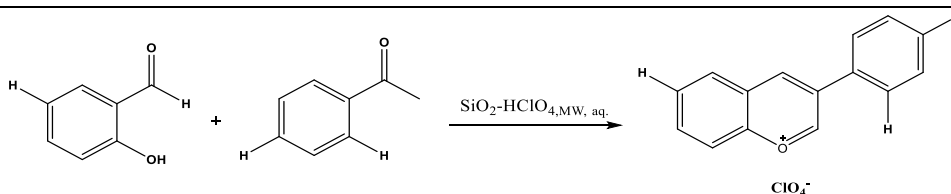
**Tabela 1** – Esquemas reacionais para síntese de sais de flavílio.

Metodologia Sintética	
Ali; Almagribi; Al-Rashidi (2016)	
Roque <i>et al.</i> (2003)	

Aguilar-  
Castillo *et al.* (2018)



Moghadda  
m *et al.* (2014)



Fonte: O Autor.

### 1.1.2. Estabilidade

Devido sua alta reatividade, antocianinas são suscetíveis a reações de degradação ocasionadas por fatores como o pH, temperatura, luz entre outros, afetando, dessa maneira, sua estabilidade e cor (FERNANDES *et al.*, 2013; DEKIC *et al.*, 2017). Além disso, durante os processos de extração e armazenamento dos alimentos em que elas estão contidas ou processamento dos mesmos, pode ocorrer a degradação das antocianinas (FERNANDES *et al.*, 2013). Aspectos relacionados a cor e instabilidade das antocianinas frente as variações de pH serão abordados nos capítulos 2 e 3, respectivamente.

### 1.1.3. Co-pigmentação: uma alternativa a instabilidade das antocianinas

A instabilidade das antocianinas frente a parâmetros como pH e temperatura afeta sua coloração e dificulta sua utilização (DEKIC *et al.*, 2017; QIAN *et al.*, 2017). Entretanto, a estabilização das antocianinas pode ser alcançada por meio da co-pigmentação (DEKIC *et al.*, 2017). Estudos apontaram este mecanismo como sendo o principal por manter a cor estável nestes compostos (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009).

No fenômeno da co-pigmentação, a coloração é intensificada por meio das associações moleculares ou por complexação, formadas entre os pigmentos e outros compostos moleculares ou íons metálicos. No que tange a maior estabilidade, Weber; Boch; Schieber (2017) comprovaram uma diminuição na perda de antocianinas em

amostras nas quais foram incorporados co-pigmentos quando comparadas com amostras em qual não havia co-pigmentação.

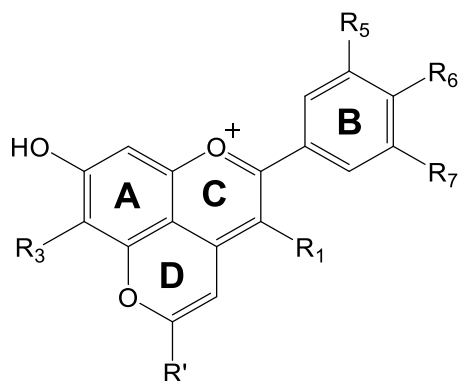
O mecanismo pelo qual a co-pigmentação ocorrerá depende das espécies envolvidas. Quando há associação entre duas antocianinas, tem-se uma auto-associação ou co-pigmentação intermolecular; por outro lado, quando uma antocianina e um íon metálico se associam, fazem isso por meio da complexação; quando a antocianina se associar a um pigmento com pares de elétrons livres, isso será feito através da co-pigmentação intermolecular (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009). Por meio da complexação com íons metálicos, por exemplo, são formados produtos insolúveis, os quais contribuem para aumentar a estabilidade das antocianinas diante de fatores como variação de pH, temperatura e oxigênio (LOPES *et al.*, 2007). Além disso, estudos demonstram que a cor azul na maioria das flores se deve a formação de complexos entre antocianinas e metais como, ferro, alumínio, magnésio, estanho e cobre (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009; MORA-SOUMILLE *et al.*, 2013).

Existem diversos compostos que podem interagir com as antocianinas no mecanismo de co-pigmentação, estes incluem, ácido gálico (QIAN *et al.*, 2017), ácido ferulico (QIAN *et al.*, 2017; WEBER; BOCH; SCHIEBER, 2017), polifenóis e saponinas (CHUNG *et al.*, 2016), rutina (WEBER; BOCH; SCHIEBER, 2017), aminoácidos e peptídeos (CHUNG *et al.*, 2017), entre outros.

## **1.2. Piranoantocininas**

Derivados das antocianinas, os piranoantocininas são encontradas naturalmente em vinhos (ZHU *et al.*, 2015; GOMES *et al.*, 2019). Elas são formadas a partir da cicloadição entre o C4 e a hidroxila em C5 das antocianinas e um composto ceto enolizável, dando origem ao anel pirano (D) (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009; GOMES *et al.*, 2019). Tais reações ocorrem durante o processamento dos alimentos em que as antocianinas estão contidas (GOMES *et al.*, 2019).

**Figura 6** – Estrutura básica de uma piranoantocianina.

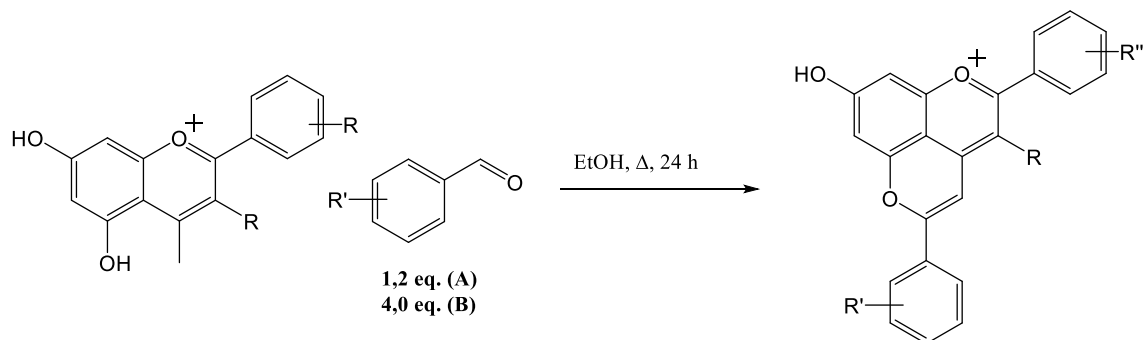


**Fonte:** O Autor.

Uma das principais características que diferenciam piranoantocianinas de antocianinas, é sua maior estabilidade frente as mudanças de pH (GOMES *et al.*, 2019). Esta estabilidade é proporcionada pelo anel pirano, que impede que as antocianinas sofram hidratação (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009; ZHU *et al.*, 2015; GOMES *et al.*, 2019).

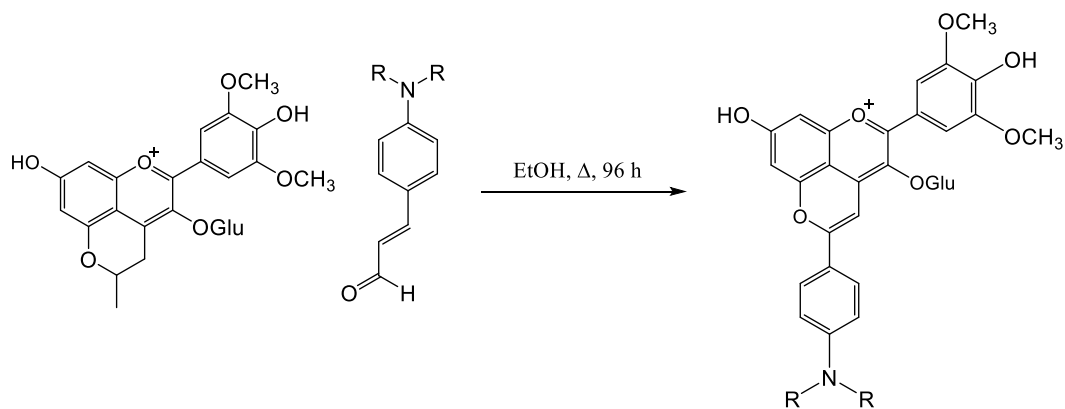
Existem variadas rotas sintéticas para a formação das piranoantocianinas. Chassaing *et al.* (2015a) realizaram a síntese de piranoflavílios reagindo sais de flavílio com diferentes substituintes em derivados do benzaldeído. O mesmo procedimento foi realizado por Da Silva *et al.* (2018), sendo neste caso, também utilizados derivados do benzaldeído contendo grupos retiradores de densidade eletrônica (Esquema 1); Oliveira *et al.* (2016) reagiram metilpiranomalvidina-3-*o*-glucosídio com 4-(dimetilamino) e 4-(dietilamino)-cinamaldeído para formar um novo composto (Esquema 2); Cruz e colaboradores (2017) sintetizaram piranoluteolinidinas a partir da reação entre a luteolinidina e três diferentes ácidos carboxílicos, ácido 1,3-acetonadicarboxílico (50 equiv.), ácido cafeico (10 equiv.) e ácido 4- (dimetilamino)cinâmico (10 equiv.) (Esquema 3).

**Esquema 1** – Rota sintética descrita por (A) Chassaing *et al.* (2015a); (B) Da Silva *et al.* (2018).

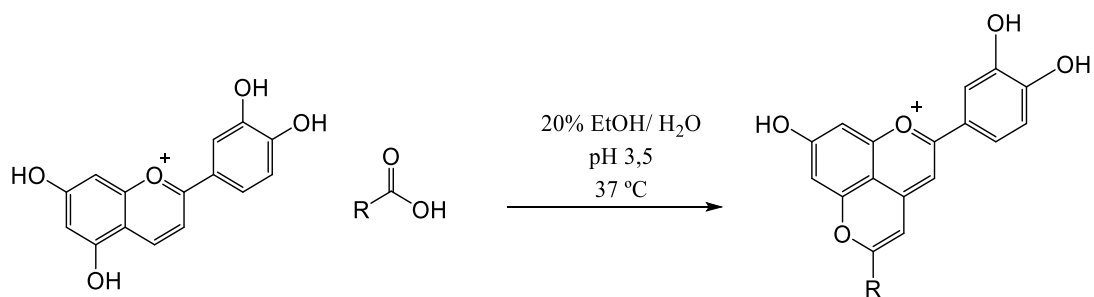


**Fonte:** Adaptado de CHASSAING *et al.*, 2015, p. 3070.

**Esquema 2** – Rota sintética descrita por Oliveira *et al.* (2016).



**Fonte:** OLIVEIRA *et al.*, 2016, p. 2460.

**Esquema 3** – Rota sintética descrita por Cruz *et al.* (2017).

**Fonte:** Adaptado de CRUZ *et al.*, 2017, p. 160.

As aplicações das piranoantocianinas envolvem a utilização em corantes, fotossensibilizadores para aplicações em células solares, sensores pH para embalagens inteligente em alimentos (GOMES *et al.*, 2019), entre outros.

## 2. PROCEDIMENTOS DE SÍNTESE

### 2.1. Generalidades metodológicas

#### 2.1.1. Técnicas Espectroscópicas

##### 2.1.1.1. Espectroscopia no Infravermelho (IV)

Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos em um espectrômetro PERKIN ELMER SPECTRUM 1000 do Departamento de Química da UFV. As análises das amostras sólidas e oleosas foram feitas por meio do método de Reflectância Total Atenuada (ATR).

##### 2.1.1.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram obtidos em espectrômetro AVANCE DPX 200 do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear de Alta Resolução (LAREMAR) do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Utilizou-se como solventes clorofórmio- $d_1$  [ $\delta$  77,0 ppm ( $^{13}\text{C}$ ) e 7,26 ppm ( $^1\text{H}$ )], metanol- $d_4$  [ $\delta$  49,0 ppm ( $^{13}\text{C}$ ) e 3,31 ppm ( $^1\text{H}$ )] e acetonitrila- $d_3$  [ $\delta$  1,39 ppm ( $^{13}\text{C}$ ) e 1,94 ppm ( $^1\text{H}$ )]. As constantes de acoplamento escalar ( $J$ ) foram expressas em Hertz (Hz).

##### 2.1.1.3. Espectrometria de Massas (EM)

Os espectros de massas foram obtidos em um espectrômetro de massas CG – EM SHIMADZU CGMS-QP5050A, do Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa (UFV), por meio de inserção direta.

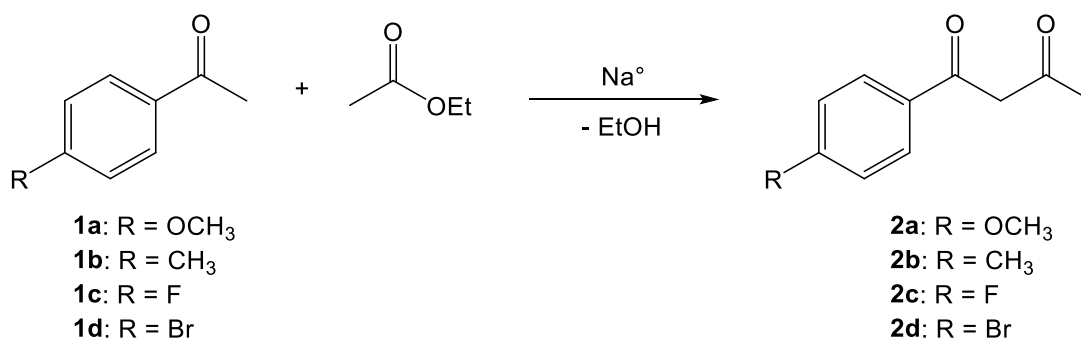
#### 2.1.2. Tratamento de solventes e reagentes

##### 2.1.2.1. Secagem de acetato de etila e etanol

O acetato de etila e o etanol foram mantidos sob peneira molecular 4 Å por no mínimo 3 e 7 dias, respectivamente. Após esse período o solvente foi utilizado.

## 2.2. Síntese das benzoilacetonas (2a-2d)

**Esquema 4** - Reação de formação das benzoilacetonas (**2a-2d**).



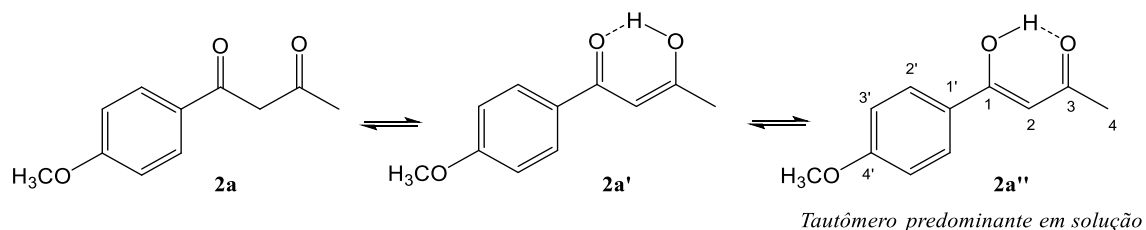
**Fonte:** O Autor.

A uma solução da acetofenona (**1a-1d**) adequada (1 mmol) em acetato de etila (AcOEt) seco (5 mL) a 0 °C, foi adicionado lentamente sódio metálico (4 mmol). A mistura reacional foi mantida sob refluxo por 2,5 h e depois foi vertida em água gelada (10 mL). Posteriormente, adicionou-se solução aquosa de HCl (1 mol.L<sup>-1</sup>) até pH próximo de 6 e extraiu-se com AcOEt (4 x 15 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com sulfato de sódio, filtradas e concentradas em evaporador rotatório sob vácuo, obtendo-se as benzoilacetonas (**2a-2d**), as quais foram utilizadas para síntese dos sais de flavílio (**3a-3d**) sem purificação prévia.

## 2.2.1. Dados referentes às Benzoilacetonas (2a-2d)

### 2.2.1.1. 4'-Metoxibenzoilacetona (2a)

Figura 7 – Estrutura e equilíbrio tautomérico da 4'-Metoxibenzoilacetona



Fonte: O Autor.

**Fórmula Molecular:** C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>

**Massa Molar (g.mol<sup>-1</sup>):** 192,21

**Característica:** Sólido amarelo

**Rendimento:** 78%

**IV (ATR/  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 2958; 1598; 1248; 1172; 1017; 836.

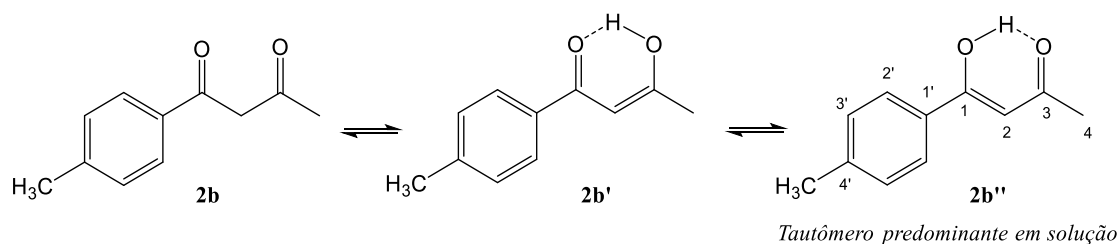
**EM m/z (%):** 192 ([M]<sup>+</sup>, 42); 177 (31); 135 (100); 161 (8); 107 (14).

**RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, Clorofórmio-*d*<sub>1</sub>) -  $\delta$ :** 16,32 (s; 1H; OH); 7,86 (d; *J* = 8,9 Hz; 2H; H2'); 6,94 (d; *J* = 8,9 Hz; 2H; H3'); 6,11 (s; 1H; H2); 3,86 (s; 3H; OCH<sub>3</sub>); 2,17 (s; 3H; H4).

**RMN de <sup>13</sup>C (50 MHz, Clorofórmio-*d*<sub>1</sub>) -  $\delta$  (atribuição):** 191,7 (C3); 184,2 (C1); 163,2 (C4'); 131,2 (C1'); 129,2 (C2'); 114,0 (C3'); 95,9 (C2); 55,5 (4'-OCH<sub>3</sub>); 25,4 (C4).

### 2.2.1.2. 4'-Metilbenzoilacetona (2b)

**Figura 8** – Estrutura e equilíbrio tautomérico da 4'-Metilbenzoilacetona



**Fonte:** O Autor.

**Fórmula Molecular:** C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>

**Massa Molar (g.mol<sup>-1</sup>):** 176,21

**Característica:** Óleo amarelo

**Rendimento:** 89%

**IV (ATR/  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 2965; 1583; 1156; 839.

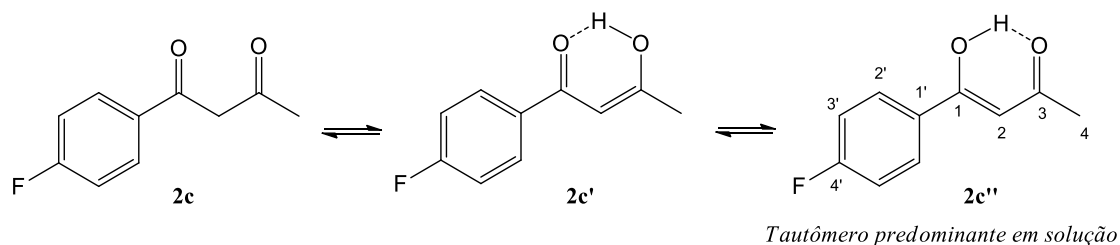
**EM  $m/z$  (%):** 176 ([M]<sup>+</sup>, 61); 161 (77); 119 (100); 91 (73).

**RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, Clorofórmio-*d*<sub>1</sub>)  $\delta$ :** 16,13 (s; 1H; OH); 7,70 (d;  $J = 8,0$  Hz; 2H; H2'); 7,16 (d;  $J = 8,0$  Hz; 2H; H3'); 6,07 (s; 1H; H2); 2,32 (s; 3H; 4'-CH<sub>3</sub>); 2,10 (s; 3H; H4).

**RMN de <sup>13</sup>C (50 MHz, Clorofórmio-*d*<sub>1</sub>)  $\delta$ :** 193,2 (C3); 183,8 (C1); 143,1 (C4'); 132,3 (C1'); 129,4 (C2'); 127,20 (C3'); 96,4 (C2); 25,8 (4'-CH<sub>3</sub>); 21,7 (C4).

### 2.2.1.3. 4'-Fluorobenzoilacetona (2c)

**Figura 9** – Estrutura e equilíbrio tautomérico da 4'-Fluorobenzoilacetona



**Fonte:** O Autor.

**Fórmula Molecular:** C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>FO<sub>2</sub>

**Massa Molar (g.mol<sup>-1</sup>):** 180,18

**Característica:** Sólido amarelo

**Rendimento:** 89%

**IV (ATR/  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 2951; 1596; 1152; 839.

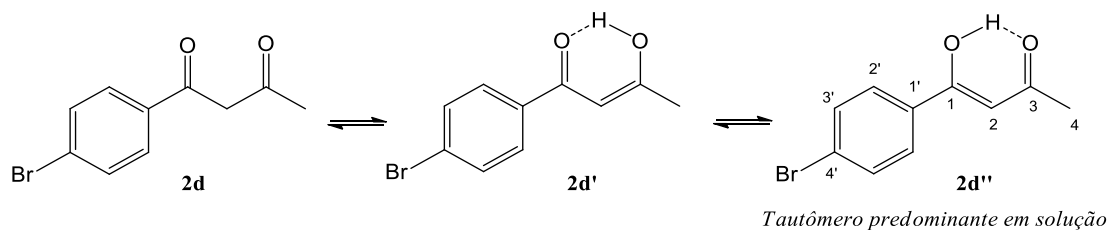
**EM  $m/z$  (%):** 180 ( [M]<sup>+</sup>, 42); 165 (43); 123 (100); 95 (58).

**RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, Clorofórmio-*d*<sub>1</sub>)  $\delta$ :** 16,15 (s; 1H; OH); 7,93–7,85 (m; 2H; H2'); 7,17–7,07 (m; 2H; H3'); 6,13 (s; 1H; H2); 2,19 (s; 3H; H4).

**RMN de <sup>13</sup>C (50 MHz, Clorofórmio-*d*<sub>1</sub>)  $\delta$ :** 193,0 (C3); 183,1 (C1); 165,4 (d, <sup>1</sup>J<sub>C-F</sub> = 253,1 Hz, C4'); 131,4 (d, <sup>4</sup>J<sub>C-F</sub> = 2,6 Hz, C1'); 129,6 (d, <sup>3</sup>J<sub>C-F</sub> = 9,1 Hz, C2'), 115,9 (d, <sup>2</sup>J<sub>C-F</sub> = 21,9 Hz, C3'); 96,5 (C2); 25,7 (C4).

### 2.2.1.4. 4'-Bromobenzoilacetona (2d)

Figura 10 – Estrutura e equilíbrio tautomérico da 4'-Bromobenzoilacetona



Fonte: O Autor.

**Fórmula Molecular:** C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>BrO<sub>2</sub>

**Massa Molar (g.mol<sup>-1</sup>):** 241,08

**Característica:** Sólido amarelo

**Rendimento:** 67%

**IV (ATR/  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 2927; 1583; 1156; 839.

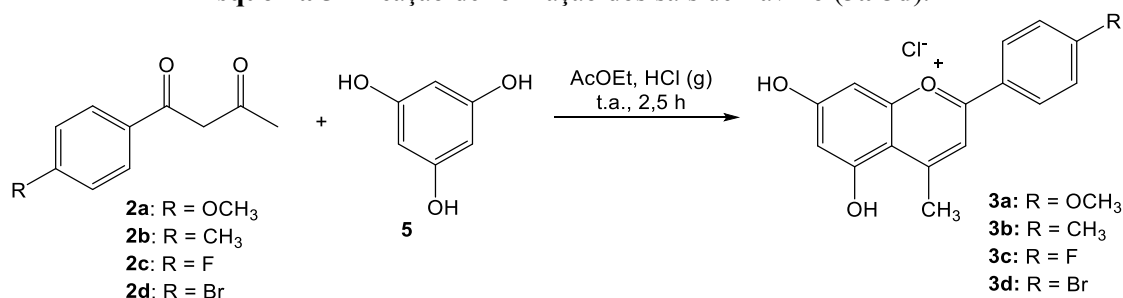
**EM m/z (%):** 242 ([M + 2]<sup>+</sup>, 17); 240 ([M]<sup>+</sup>, 11); 227 (19); 225 (20); 185 (34); 183 (35); 161 (29); 157 (16); 155 (16); 69 (81); 43 (100).

**RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, Clorofórmio-*d*<sub>1</sub>)  $\delta$ :** 16,08 (s; 1H; OH); 7,74 (d; *J* = 8,6 Hz; 2H; H2'); 7,58 (d; *J* = 8,6 Hz; 2H; H3'); 6,14 (s; 1H; H2); 2,20 (s; 3H; H4).

**RMN de <sup>13</sup>C (50 MHz, Clorofórmio-*d*<sub>1</sub>)  $\delta$ :** 194,0 (C3); 182,3 (C1); 133,9 (C1'); 132,0 (C3'); 128,6 (C2'); 127,2 (C4'); 96,7 (C2); 25,9 (C4).

### 2.3. Síntese dos sais de flavílio (3a-3d)

Esquema 5 - Reação de formação dos sais de flavílio (3a-3d).



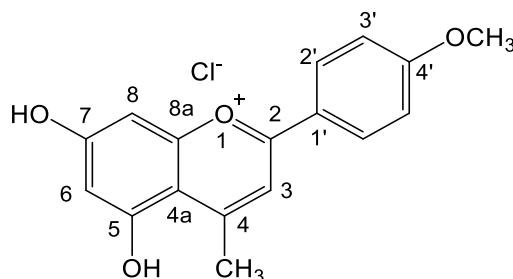
Fonte: O Autor.

Em um reator contendo uma solução equimolar (1 mmol) da benzoilcetona correspondente (**2a-2d**) e fluoroglucinol (**5**) em AcOEt ( 5 mL), foi borbulhado HCl gasoso (gerado pela adição de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 98% ao cloreto de sódio (NaCl) sólido) por 2,5 h. Após esse tempo, o reator foi coberto com papel alumínio e deixado sob repouso durante a noite. Posteriormente, a solução foi mantida em congelador por 24 h. O sólido obtido foi então filtrado a vácuo, lavado com AcOEt e/ou tetraidrofurano (THF) previamente resfriados e seco em dessecador ao abrigo de luz, para dar origem aos sais de flavílio desejados (**3a-3d**).

### 2.3.1. Dados referentes aos sais de flavílio (3a-3d)

#### 2.3.1.1. Cloreto de 5,7-diidroxi-2-(4'-metoxifenil)-4-metilflavílio (3a)

Figura 11 – Estrutura do Cloreto de 5,7-diidroxi-2-(4'-metoxifenil)-4-metilflavílio



Fonte: O Autor.

**Fórmula Molecular:** C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>ClO<sub>4</sub>

**Massa Molar (g.mol<sup>-1</sup>):** 318,80

**Característica:** Sólido alaranjado

**Rendimento:** 72%

**IV (ATR)  $\bar{\nu}$  /cm<sup>-1</sup>:** 3360; 2917; 1680; 1407; 1268; 1014; 830; 640

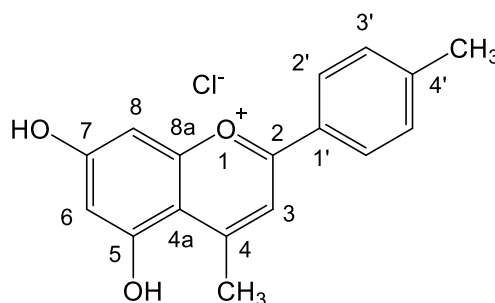
**EM  $m/z$  (%):** 283 ([M - Cl]<sup>+</sup>, 19); 282 (100).

**RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, Metanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$ :** 9,93 (d; *J* = 9,0 Hz; 2H; H2'); 9,56 (s; 1H, H3); 8,80 (d; *J* = 9,0 Hz; 2H; H3'); 8,51 (d; *J* = 2,2 Hz; 1H; H8); 8,24 (d; *J* = 2,2 Hz; 1H; H6); 5,54 (s; 3H; OCH<sub>3</sub>).

**RMN de <sup>13</sup>C (50 MHz, Metanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$ :** 171,1 (C4); 170,8 (C2); 169,6 (C4'); 167,6 (C7); 162,8 (C5); 159,9 (C8a); 132,4 (C2'); 122,3 (C1'); 116,1 (C3 e C3'); 114,2 (C4a); 103,9 (C6); 96,5 (C8); 56,6 (OCH<sub>3</sub>)

### 2.3.1.2. Cloreto de 5,7-diidroxi-4-metil-2-(*p*-toluil)flavílio (3b)

Figura 12 – Estrutura do Cloreto de 5,7-diidroxi-4-metil-2-(*p*-toluil)flavílio.



Fonte: O Autor.

**Fórmula Molecular:**  $C_{17}H_{15}ClO_3$

**Massa Molar (g.mol<sup>-1</sup>):** 302,30

**Característica:** Sólido alaranjado

**Rendimento:** 56%

**IV (ATR)  $\bar{\nu}$  /cm<sup>-1</sup>:** 3360; 2917; 1680; 1407; 1268; 1014; 830; 640.

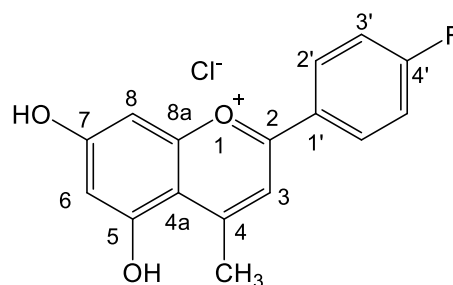
**EM  $m/z$  (%):** 267 ( $[M - Cl]^+$ , 18); 266 (100).

**RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, Metanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$ :** 8,23 (d;  $J = 8,3$  Hz; 2H; H2'); 8,05 (s; 1H; H3); 7,50 (d;  $J = 8,3$  Hz; 2H; H3'); 6,95 (d;  $J = 2,2$  Hz; 1H; H8); 6,69 (d;  $J = 2,2$  Hz; 1H; H6); 2,50 (s; 3H; 4'-CH<sub>3</sub>).

**RMN de <sup>13</sup>C (50 MHz, Metanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$ :** 172,1 (C4); 171,5 (C2); 169,4 (C7); 163,0 (C5); 160,2 (C8a); 148,5 (C4'); 131,8 (C2'); 129,7 (C3'); 127,5 (C1'); 114,8 (C3 e C4a); 104,1 (C6); 96,6 (C8); 21,9 (4'-CH<sub>3</sub>).

### 2.3.1.3. Cloreto de 5,7-diidroxi-4'-fluoro-4-metilflavílio (3c)

Figura 13 – Estrutura do Cloreto de 5,7-diidroxi-4'-fluoro-4-metilflavílio



Fonte: O Autor.

**Fórmula Molecular:** C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>ClFO<sub>3</sub>

**Massa Molar (gmol<sup>-1</sup>):** 306,58

**Característica:** Sólido alaranjado

**Rendimento:** 82%

**IV (ATR)  $\bar{\nu}$  /cm<sup>-1</sup>:** 3374;2824; 1631; 1348; 1253; 1026; 832; 676.

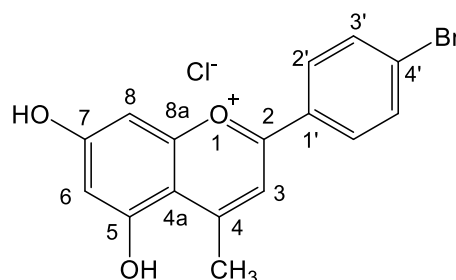
**EM  $m/z$  (%):** 271 ([M – Cl]<sup>+</sup>, 21); 270 (100).

**RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, Metanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$ :** 10,09 – 9,86 (m, 1H; H2'), 9,64 (s, 1H; H3), 9,05 – 8,96 (m, 1H; H3'), 8,56 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H; H8), 8,28 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H; H6).

**RMN de <sup>13</sup>C (50 MHz, Metanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$ :** 172,4 (C4); 171,9 (C2); 170,7-165,6 (d; <sup>1</sup>J<sub>C-F</sub> = 255,4; C4'); 167,8 (C7); 163,1 (C5); 160,2 (C8a); 131,5 (d; <sup>3</sup>J<sub>C-F</sub> = 9,7; C2'); 126,6 (d; <sup>4</sup>J<sub>C-F</sub> = 2,8; C1'); 118,2 (d; <sup>2</sup>J<sub>C-F</sub> = 22,4; C3'); 114,8 (C3); 114,1 (C4a); 104,2 (C6); 96,6 (C8).

### 2.3.1.4. Cloreto de 2-(4'-bromofenil)-5,7-diidroxi-4-metilflavílio (3d)

Figura 14 – Estrutura do Cloreto de 2-(4'-bromofenil)-5,7-diidroxi-4-metilflavílio



Fonte: O Autor.

**Fórmula Molecular:**  $C_{16}H_{12}BrClO_3$

**Massa Molar (g.mol<sup>-1</sup>):** 367,67

**Característica:** Sólido alaranjado

**Rendimento:** 81%

**IV (ATR)  $\bar{\nu}$  /cm<sup>-1</sup>:** 3605; 3099; 1630; 1350; 1222; 1039; 831; 673.

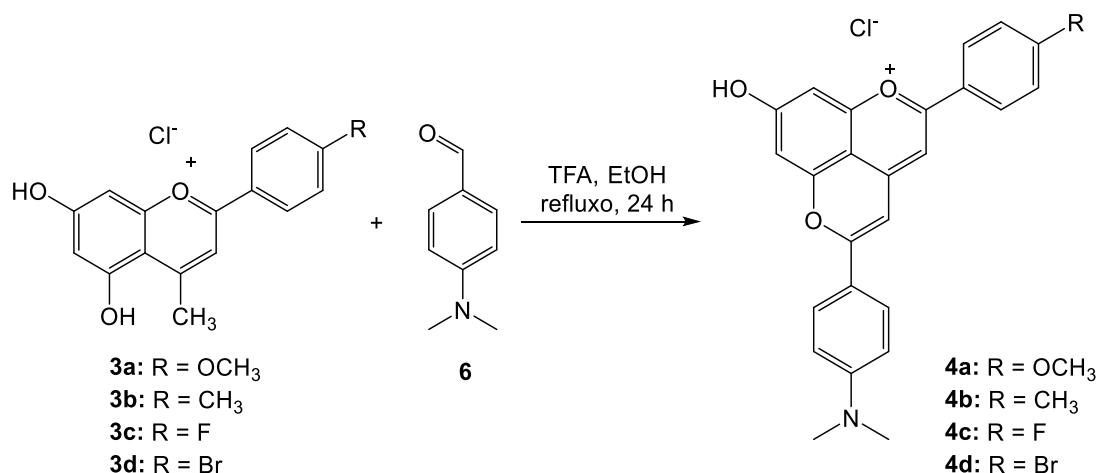
**EM  $m/z$  (%):** 334 ( $[M+2 - Cl]^+$ , 2); 333 (2); 332 ( $[M - Cl]^+$ , 14); 331 (100).

**RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, Metanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$ :** 9,82 (d;  $J = 8,8$  Hz; 2H; H2'); 9,69 (s; 1H; H3); 9,44 (d;  $J = 8,8$  Hz; 2H; H3'); 8,57 (d;  $J = 2,2$  Hz; 1H; H8); 8,29 (d;  $J = 2,2$  Hz; 1H; H6).

**RMN de <sup>13</sup>C (50 MHz, Metanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$ :** 172,8 (C4); 172,2 (C2); 168,0 (C7); 163,4 (C5); 160,5 (C8a); 134,3 (C3'); 131,3 (C1'); 131,0 (C2'); 129,5 (C4'); 115,3 (C3); 114,7 (C4a); 104,3 (C6); 96,7 (C8).

## 2.4. Síntese dos sais de piranoflavílio (4a-4d)

**Esquema 6** - Reação de formação dos sais de piranoflavílio (4a-4d).



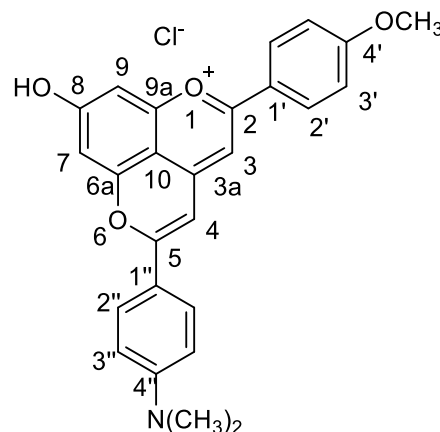
**Fonte:** O Autor.

A uma solução do flavílio correspondente (0,5 mmol) em etanol (EtOH) (100 mL), contendo ácido trifluoroacético (TFA) na concentração de 1 mM, foi adicionado 4-dimetilaminobenzaldeído (**6**, 2 mmol). A solução resultante foi deixada sob refluxo em atmosfera inerte (N<sub>2</sub>) por 2 h e o frasco de reação foi aberto para proporcionar contato da mistura reacional com a atmosfera. Quando a conversão completa foi observada (geralmente após 24 horas de refluxo), a mistura reacional foi resfriada até temperatura ambiente e o EtOH foi removido em evaporador rotatório sob vácuo. O sólido resultante foi lavado com éter dietílico (Et<sub>2</sub>O) previamente resfriado para dar origem aos sais de piranoflavílio desejados (**4a-4d**).

### 2.4.1. Dados referentes aos Sais de piranoflavílio (4a-4d)

#### 2.4.1.1. Cloreto de 5-(4-(dimetilamino)fenil)-8-hidroxi-2-(4'-metoxifenil)pirano[4,3,2-*de*]cromen-1-íleo (4a)

**Figura 15** – Estrutura do Cloreto de 5-(4-(dimetilamino)fenil)-8-hidroxi-2-(4'-metoxifenil)pirano[4,3,2-*de*]cromen-1-íleo



Fonte: O Autor.

**Fórmula Molecular:** C<sub>26</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>4</sub>

**Massa Molar (g.mol<sup>-1</sup>):** 447,12

**Característica:** Sólido púrpura / Solução púrpura

**Rendimento:** 60%

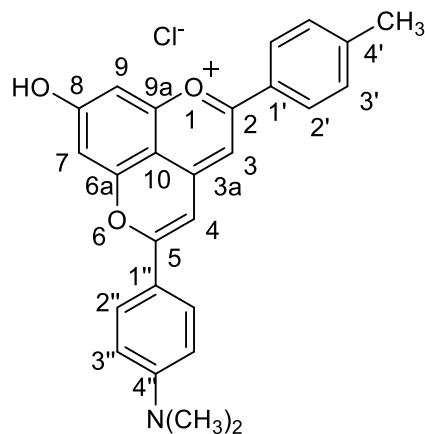
**IV (ATR)  $\bar{\nu}$  /cm<sup>-1</sup>:** 3397; 1594; 1375; 1261; 1155; 819.

**EM  $m/z$  (%):** 412 ([M – Cl]<sup>+</sup>, 82); 411 (100); 399 (58); 269 (51); 121 (60).

**RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, Acetonitrila-*d*<sub>3</sub>)  $\delta$ :** 8,02 – 8,04 (m; 2H; H2'); 7,94 – 7,96 (m; 2H, H2''); 7,15 (br,s; 2H; H3 e H4); 7,11 – 7,13 (m; 2H; H3'); 7,06-7,09 (m; 3H; H7, H9, H3''); 3,91 (s; 3H; OCH<sub>3</sub>); 3,11 (s; 6H; N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). Os dados de RMN de <sup>1</sup>H estão de acordo com os dados da literatura (CHASSAING *et al.*, 2015b).

**2.4.1.2. Cloreto de 5-(4-(dimetilamino)fenil)-8-hidroxi-2-(*p*-toluil)pirano[4,3,2-*de*]cromen-1-íleo (4b)**

**Figura 16** – Estrutura do Cloreto de 5-(4-(dimetilamino)fenil)-8-hidroxi-2-(*p*-toluil)pirano[4,3,2-*de*]cromen-1-íleo



Fonte: O Autor.

**Fórmula Molecular:** C<sub>26</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>3</sub>

**Massa Molar (g.mol<sup>-1</sup>):** 431,97

**Característica:** Sólido púrpura / Solução púrpura

**Rendimento:** 66%

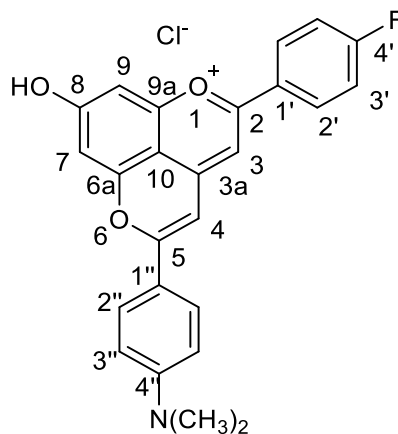
**IV (ATR)  $\bar{\nu}$  /cm<sup>-1</sup>:** 3380; 1590; 1371; 814.

**EM  $m/z$  (%):** 396 ([M – Cl]<sup>+</sup>, 100); 395 (93); 367 (67); 366 (86); 277 (92); 253 (77); 134 (62); 121 (56).

**RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, Metanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$ :** 7,82 (d;  $J = 7,8$  Hz; 2H; H2'); 7,74 (d;  $J = 8,7$ , Hz; 2H; H2''); 7,31 (d;  $J = 7,8$  Hz; 2H; H3'); 7,20 (s; 1H; H3); 7,15 (s; 1H; H4); 6,88 (s; 1H; H9); 6,82 (s; 1H; H7); 6,59 (d;  $J = 8,7$  Hz; 2H; H3''); 3,00 (s; 6H; N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 2,40 (s; 3H; CH<sub>3</sub>).

**2.4.1.3. Cloreto de 5-(4-(dimetilamino)fenil)-2-(4'-fluorofenil)-8-hidroxi-*de*pirano[4,3,2-]cromen-1-íleo (4c)**

**Figura 17** – Estrutura do Cloreto de 5-(4-(dimetilamino)fenil)-2-(4'-fluorofenil)-8-hidroxi-*de*pirano[4,3,2-]cromen-1-íleo



**Fonte:** O Autor.

**Fórmula Molecular:** C<sub>25</sub>H<sub>19</sub>ClFNO<sub>3</sub>

**Massa Molar (g.mol<sup>-1</sup>):** 435,93

**Característica:** Sólido cinza escuro / Solução púrpura

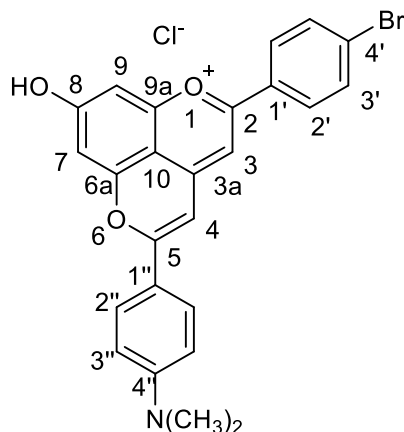
**Rendimento:** 67%

**IV (ATR)  $\bar{\nu}$  /cm<sup>-1</sup>:** 3387; 1594; 1203; 1377; 823.

**EM  $m/z$  (%):** 400 ([M - Cl]<sup>+</sup>, 100); 399 (93); 254 (23); 200 (27).

**2.4.2. Cloreto de 2-(4'-bromofenil)-5-(4-(dimetilamino)fenil)-8-hidroxi-*de*pirano[4,3,2-]cromen-1-íleo (4d)**

**Figura 18** – Estrutura do Cloreto de 2-(4'-bromofenil)-5-(4-(dimetilamino)fenil)-8-hidroxi-*de*pirano[4,3,2-]cromen-1-íleo



Fonte: O Autor.

**Fórmula Molecular:** C<sub>25</sub>H<sub>19</sub>BrClNO<sub>3</sub>

**Massa Molar (g.mol<sup>-1</sup>):** 496,83

**Característica:** Sólido azul marinho

**Rendimento:** 65%

**IV (ATR)  $\bar{\nu}$  /cm<sup>-1</sup>:** 3404; 1597; 1373; 1159; 823.

**EM  $m/z$  (%):** 461 ([M - Cl]<sup>+</sup>, 100); 459 (93); 381(38); 120 (74); 81 (86).

**RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, Metanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$ :** 7,93 (d;  $J$  = 9,3 Hz; 2H; H2''); 7,92 (d;  $J$  = 8,8 Hz; 2H; H2'); 7,72 (d;  $J$  = 8,8 Hz; 2H; H3'); 7,39 (s; 1H; H3); 7,34 (s; 1H; H4); 6,98 (d;  $J$  = 1,8 Hz; 1H; H9); 6,94 (d;  $J$  = 1,8 Hz; 1H; H7); 6,77 (d;  $J$  = 9,3 Hz; 2H; H3''); 3,16 (s; 6H; N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

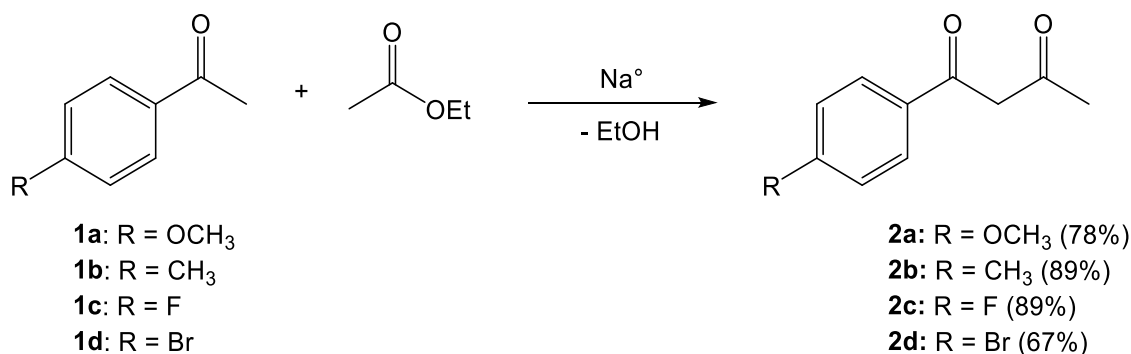
#### 3.1. Síntese e caracterização das séries de compostos

A caracterização dos compostos foi feita por meio das análises dos espectros IV, EM e RMN. Devido às semelhanças estruturais apresentadas pelos compostos de uma mesma série, optou-se por discutir apenas os dados referentes ao **2a** (série das benzoilacetonas), **3a** (série dos sais de flavílio) e **4a** (série dos sais de piranoflavílio).

As atribuições dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  foram feitas empregando dados da literatura e atribuições previamente realizadas pelo grupo de pesquisa baseadas em cálculos teóricos.

##### 3.1.1. Benzoilacetonas (**2a-2d**)

**Esquema 7** – Rota sintética e rendimentos obtidos para síntese dos benzoilacetonas (**2a-2d**).

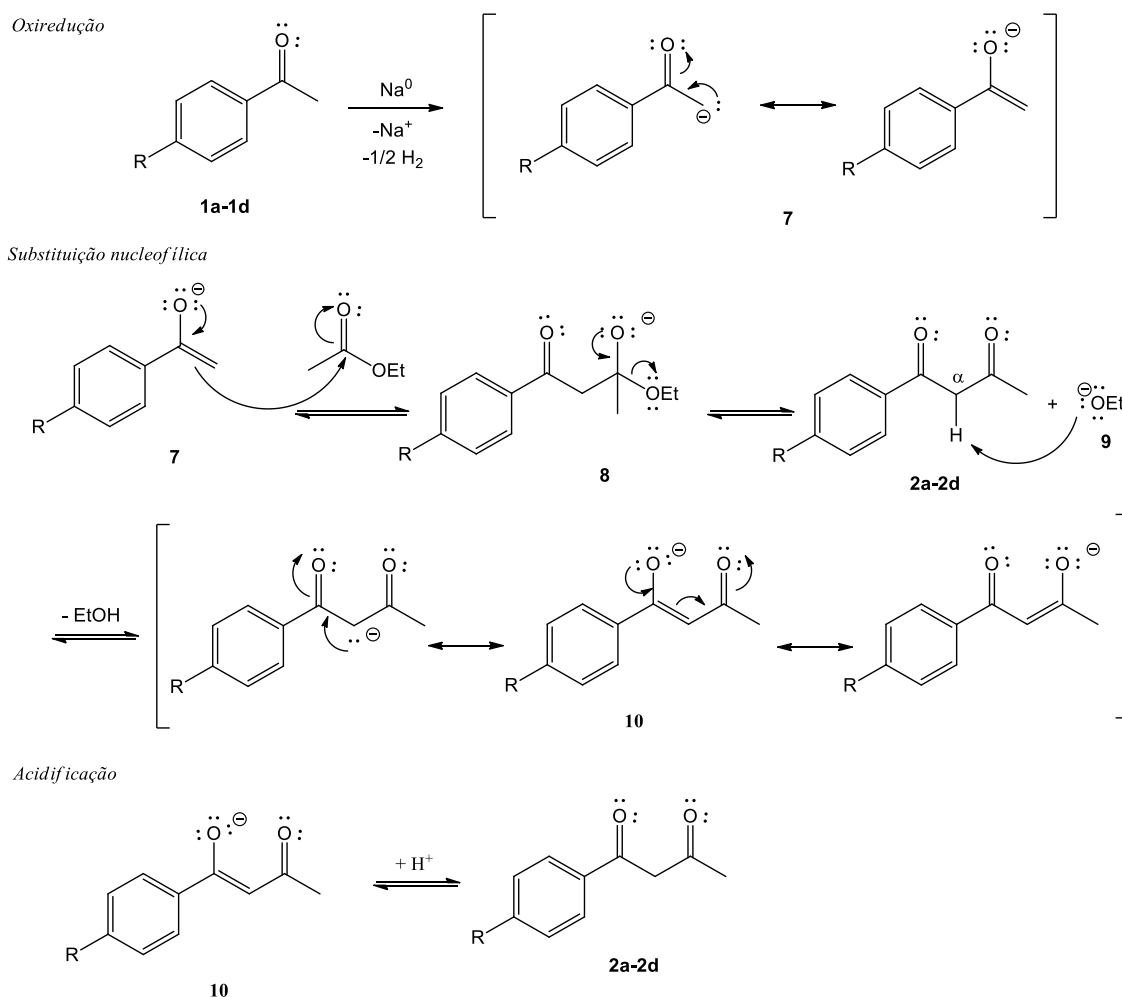


**Fonte:** O Autor.

As benzoilacetonas (**2a-2d**) foram sintetizadas através de reações de condensação de Claisen entre as acetofenonas correspondentes (**1a-1d**) e o acetato de etila, sendo este último empregado na sua forma anidra como reagente e como o solvente da reação. A reação foi previamente testada empregando hidreto de sódio e metóxido de sódio como catalizadores básicos, no entanto, mostrou-se mais promissora a condição reacional que utilizou sódio metálico para promover a formação do intermediário enolato à partir das acetofenonas. Os produtos (**2a-2d**) foram obtidos em pureza elevada com bons rendimentos (67-89%), dispensando a necessidade de purificação para a realização da próxima etapa.

O Esquema 8 ilustra uma proposta de mecanismo para a formação das benzoincetonas. Inicialmente, ocorre a reação de oxirredução entre a acetofenona (**1a-1d**) e o sódio metálico, levando a formação do enolato correspondente (**7**). Este, por sua vez, atua como um nucleófilo e ataca a carbonila do acetato de etila, que possui caráter eletrofílico, gerando um intermediário tetraédrico (**8**). Durante a eliminação de etóxido (**9**) ocorre a restituição da ligação  $\pi$  do grupo carbonila e formação da benzoincetona (**2a-2d**) desejada. Como o meio é fortemente básico, a benzoincetona sofre desprotonação na posição 2,  $\alpha$  a dois grupos carbonila e assim a posição mais ácida da molécula, gerando o enolato estabilizado (**10**). Finalmente, a conversão do enolato **10** na benzoincetona (**2a-2d**) de interesse é realizada pela adição de solução ácida durante a etapa de tratamento da reação, imediatamente antes do isolamento do produto.

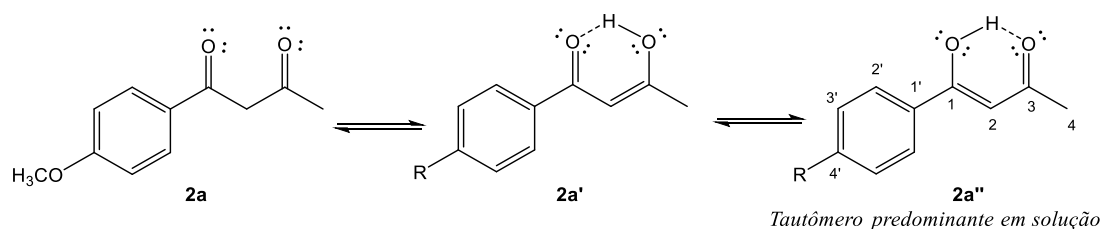
**Esquema 8** – Proposta de mecanismo para a formação de **2a-2d**.



Fonte: O Autor.

As  $\beta$ -dicetonas possuem duas regiões enolizáveis, logo, podem apresentar-se como duas formas *cis*-enólicas ( $a'$  e  $a''$ ), mostradas no Esquema 9. No caso das benzoilacetonas, a forma  $a''$  é provavelmente predominante sobre a forma  $a'$ , uma vez que, neste caso, há conjugação estendida entre a ligação C=C do enol e o anel aromático, fato também observado por Sloop *et al.* (2006), Jiménez-Cruz *et al.* (2015) e Adeniyi; Conradie (2019). As espécies *trans* também podem estar presentes no meio, entretanto, por assumirem uma conformação que não permite a formação de ligações de hidrogênio intramolecular, são menos estáveis que as espécies *cis*, logo, estão em menor porcentagem (ADENIYI; CONRADIE, 2019).

**Esquema 9** – Equilíbrio tautomérico para a benzoilacetona **2b**.

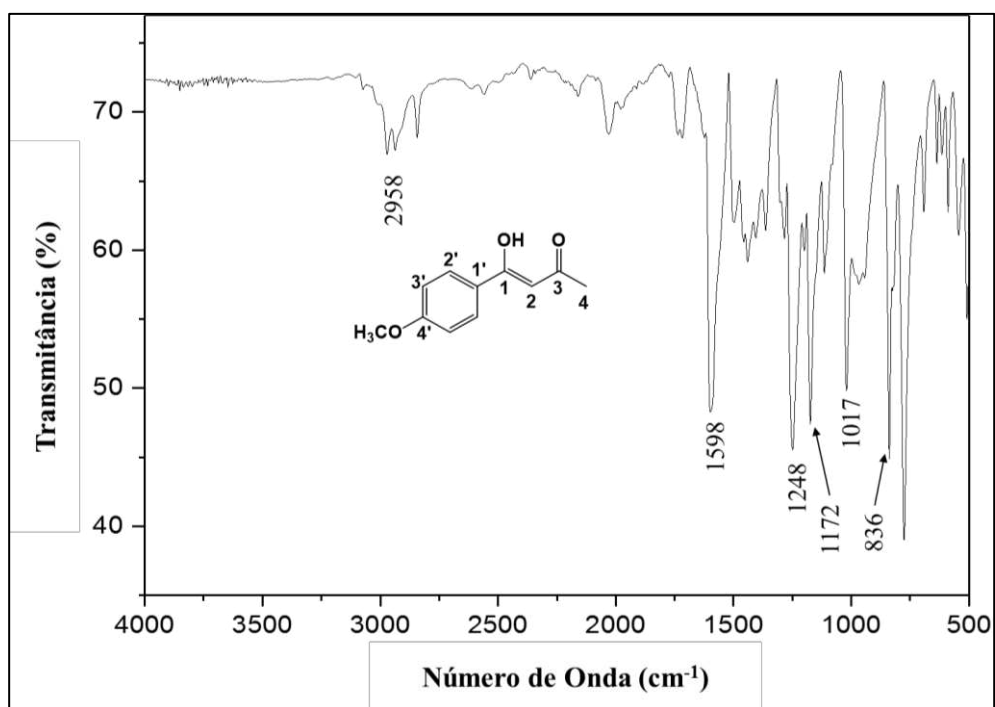


**Fonte:** O Autor.

A análise dos espectros de IV e RMN de todas as benzoilacetonas indicaram o predomínio das formas enólicas  $2a''$  no equilíbrio.

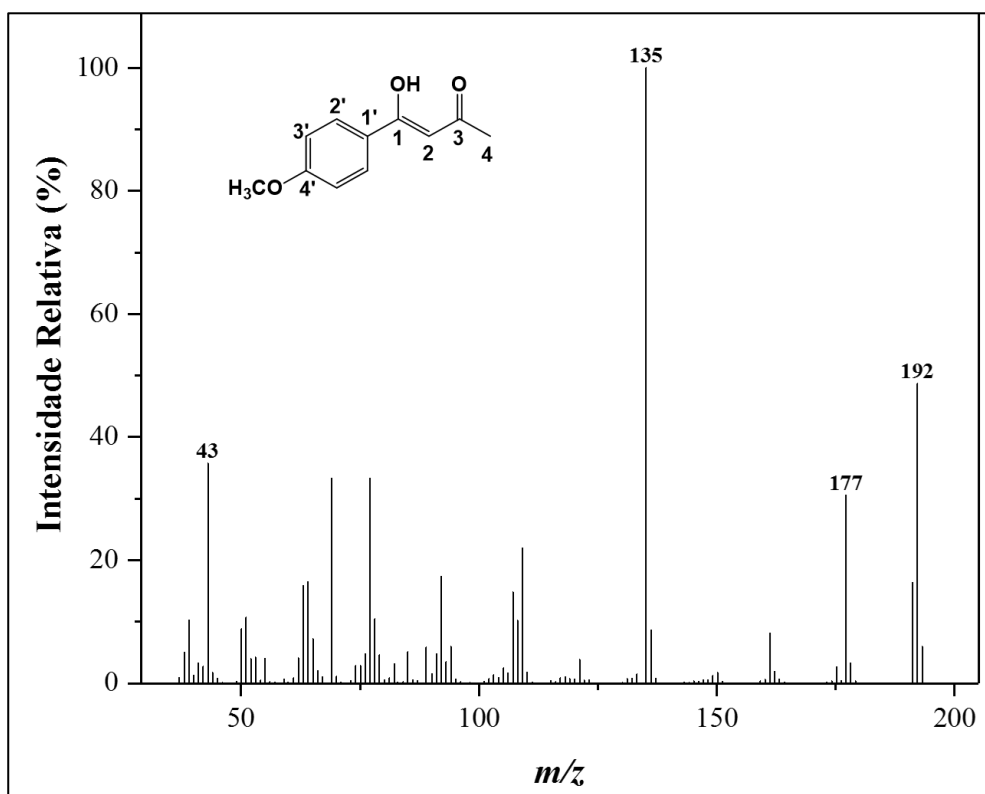
No espectro de IV da benzoilacetona **2a** (Figura 19) podemos observar bandas fracas de estiramento de ligações C-H na região entre 3000 e 2900  $\text{cm}^{-1}$ ; no entanto, a banda referente ao estiramento da ligação O-H não foi observada. De acordo com Tayyari *et al.* (2006), a diminuição da intensidade e alargamento dessa banda está relacionada à força da ligação de hidrogênio intramolecular. Quanto mais forte essa interação, menor será a intensidade e mais alargado será o sinal, tornando-o muitas vezes imperceptível (TAYYARI *et al.*, 2001). A banda forte em 1598  $\text{cm}^{-1}$  pode ser predominantemente atribuída ao estiramento da ligação dupla C=O. A redução na frequência de absorção em relação ao valor encontrado para cetonas alifáticas (aproximadamente 1725  $\text{cm}^{-1}$ ) se deve à conjugação estendida do sistema e à força da ligação de hidrogênio intramolecular, indicando a predominância da forma tautomérica enólica  $2a''$  no equilíbrio. Em razão da coexistência de várias formas tautoméricas, não foi realizada a completa atribuição das bandas existentes no espectro de infravermelho.

**Figura 19** – Espectro no infravermelho (ATR) da benzoilacetona **2a**.



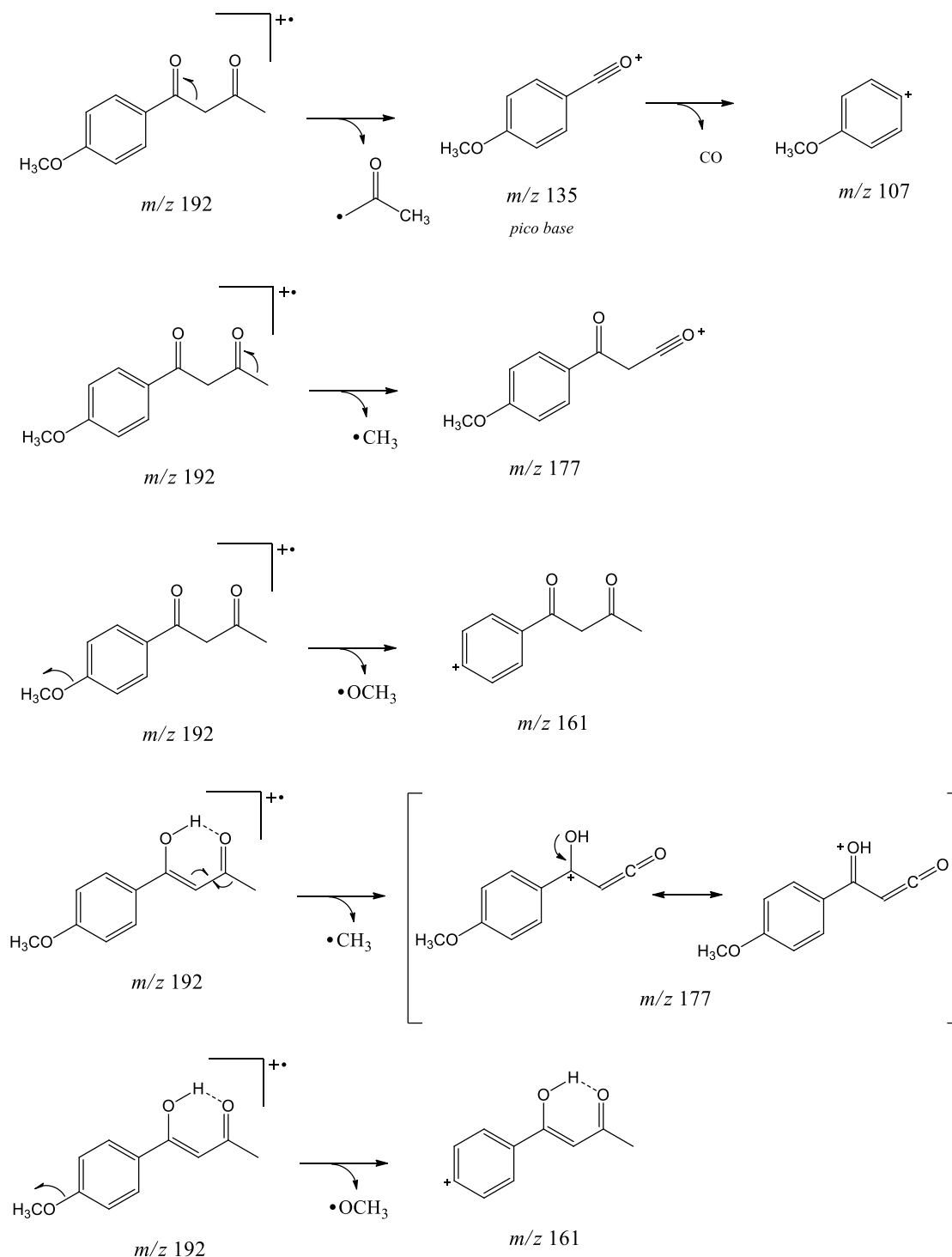
Fonte: O Autor.

Através da análise do EM (Figura 20) de **2a**, é possível constatar a presença do pico do íon molecular em  $m/z$  192, condizente com a fórmula molecular  $C_{11}H_{12}O_3$ . A formação da espécie condizente ao pico base em  $m/z$  135 pode ser melhor compreendida à partir da fragmentação alfa da forma ceto, como mostrado no Esquema 10. O fragmento correspondente ao pico base pode sofrer perda de CO, dando origem à espécie com  $m/z$  107. É também possível observar um pico em  $m/z$  177, correspondente a perda de um radical metila, que pode ser observada à partir de ambas formas ceto ou enólica do íon molecular. Por fim, o pico com  $m/z$  161 é referente à perda de um radical metoxila pelo íon molecular.

**Figura 20** – Espectro de massas da benzoilacetona **2a**.

Fonte: O Autor.

**Esquema 10** – Propostas de fragmentações correspondentes a benzoilacetona **2a**.



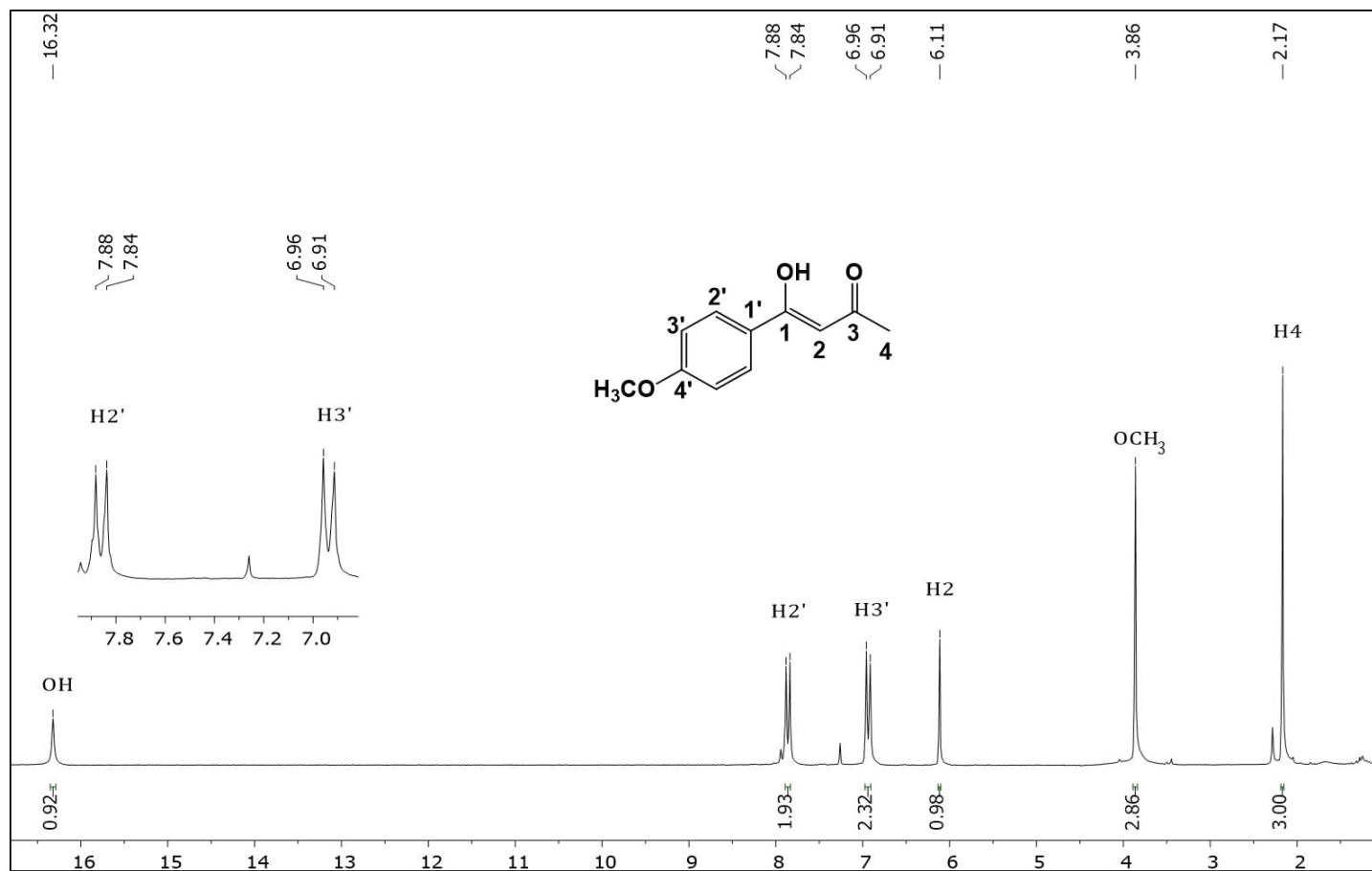
**Fonte:** O Autor

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da benzoilacetona **2a** (Figura 21) realizado em clorofórmio- $d_1$ , forneceu um simpleto em  $\delta$  16,32 referente ao hidrogênio enólico, tal valor está próximo aos observados por Zhang *et al.* (2006); Jiménez-Cruz *et al.* (2015) e Darugar *et al.* (2017), confirmando novamente o predomínio da forma enólica na

estrutura das benzoilacetonas. O maior deslocamento do sinal observado neste caso deve-se a existência de uma forte ligação de hidrogênio intramolecular (ZHANG *et al.*, 2006). Além disso, a presença da interação intramolecular, confirma a formação preferencial da forma *cis*-enólica **2a''** (JIMÉNEZ-CRUZ *et al.*, 2015). Também é possível observar nesse espectro dois dupletos em  $\delta$  7,82 e  $\delta$  6,94, ambos integrados para dois hidrogênios e com constante de acoplamento *orto* de 8,9 Hz, atribuídos aos hidrogênios H2' e H3', respectivamente. O simpleto em  $\delta$  6,11, integrado para um hidrogênio, pode ser atribuído ao hidrogênio H2. Os simpletos  $\delta$  3,86 e  $\delta$  2,17, ambos integrados para três hidrogênios, correspondem aos átomos de hidrogênio dos grupos metoxila e metila, respectivamente.

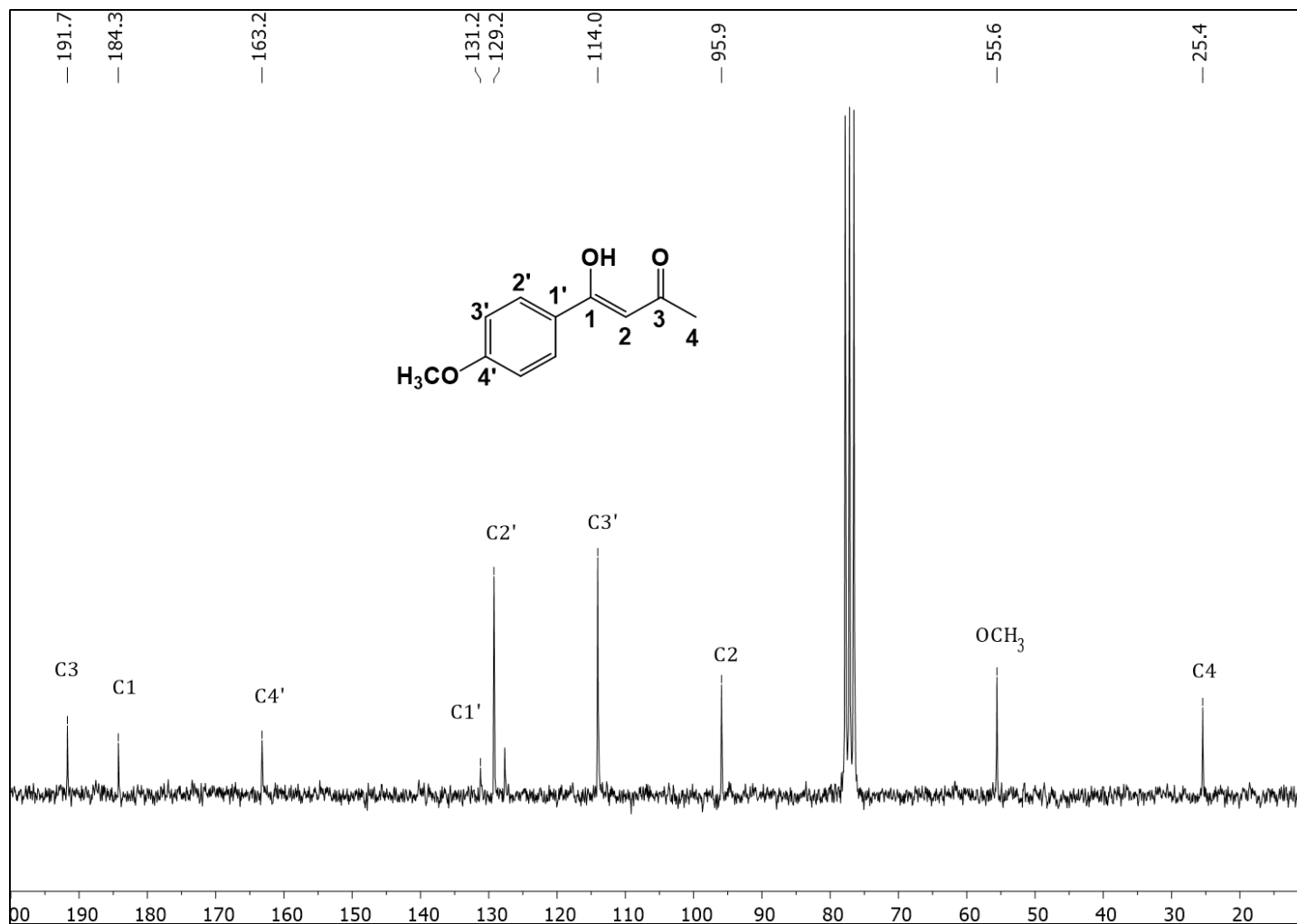
No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **2a** (Figura 22), empregando clorofórmio-*d*<sub>1</sub>, destacam-se os seguintes sinais característicos: um sinal em  $\delta$  191,7 referente ao grupo carbonila (C3); um sinal em  $\delta$  184,2 atribuído ao carbono enólico C1; um sinal em  $\delta$  163,2 referente ao carbono C4' do anel aromático; um sinal em  $\delta$  131,2 correspondendo a C1'; dois sinais intensos em  $\delta$  129,2 e  $\delta$  114,2, sendo o primeiro atribuído aos carbonos C2' e o segundo ao carbono C3'; um sinal de média intensidade referente a C2 em  $\delta$  95,9; um sinal em  $\delta$  55,5 relativo ao carbono do grupo metoxila; e, por fim, um sinal em  $\delta$  25,4 correspondente ao carbono metílico em C4 (CRAVERO; GONZÁLEZ-SIERRA; OLIVIERI, 1993).

Figura 21 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da benzoilcetona **2a** (Clorofórmio- $d_1$ , 200MHz).



Fonte: O Autor.

Figura 22 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da benzoilacetona **2a** (Clorofórmio- $d_1$ , 50MHz).

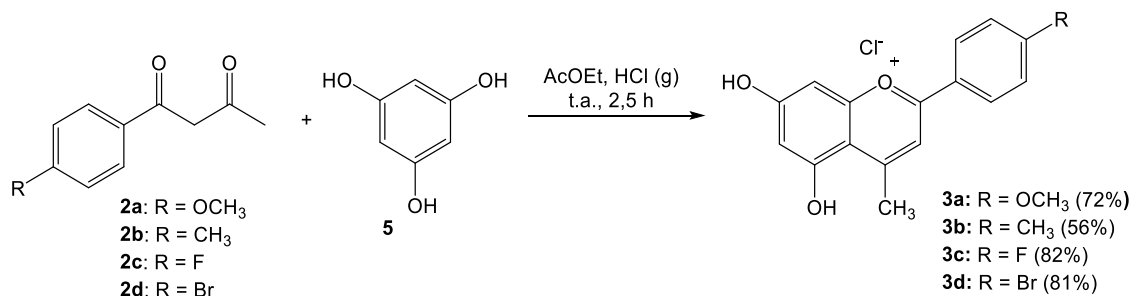


Fonte: O Autor.

### 3.1.2. Sais de flavílio (3a-3d)

Neste trabalho, as benzoiacetonas (**2a-2d**) foram utilizadas, sem purificação prévia, como precursores para síntese dos cloretos de flavílios (**3a-3d**), que foram preparados com bons rendimentos (56-82%), como resumido no Esquema 11.

**Esquema 11** – Rota sintética e rendimentos obtidos para síntese dos sais de flavílio (**3a-3d**).



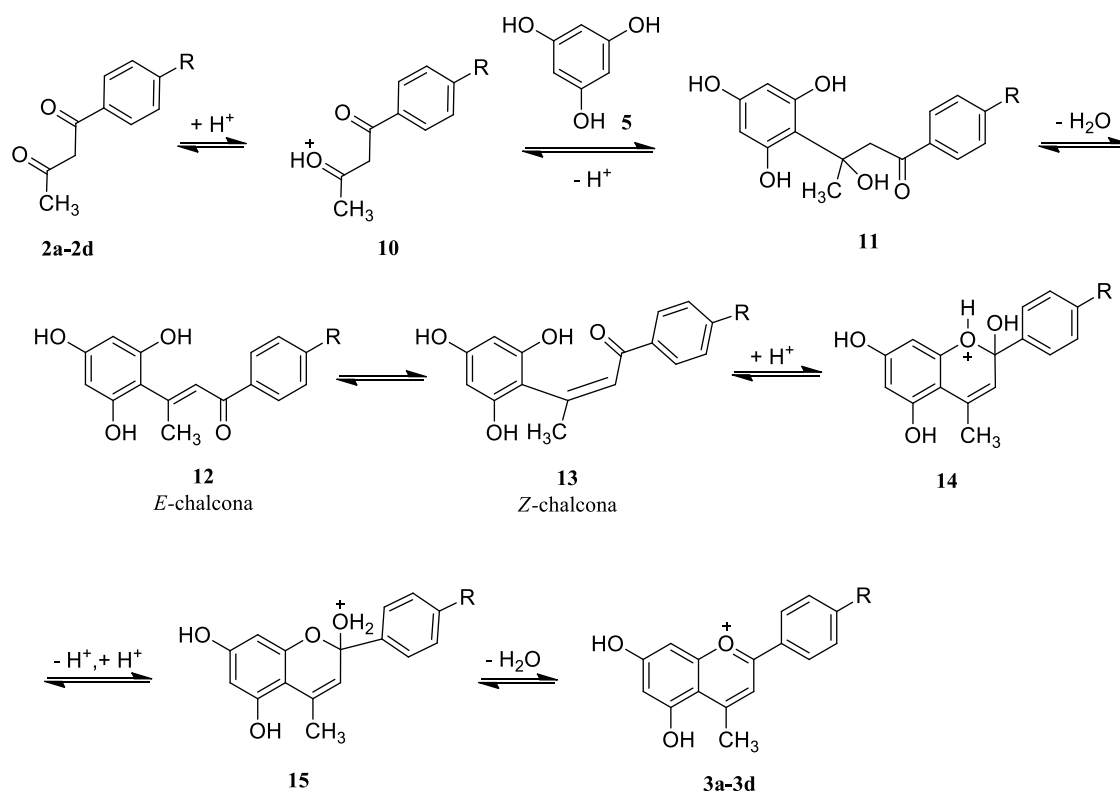
**Fonte:** O Autor.

A obtenção dos sais de flavílio desejados foi realizada através da reação de condensação entre as benzoiacetonas (**2a-2d**) e o fluoroglucinol (**5**) em meio ácido. Neste procedimento, a mistura dos reagentes foi borbulhada com cloreto de hidrogênio, empregando acetato de etila como solvente, em condições anidras, favorecendo a formação de água e o curso da reação. Tendo finalizado a etapa de borbulhamento do catalizador ácido, a mistura reacional foi deixada sob repouso ao abrigo da luz por um período de 24 h e, em seguida, resfriada por igual período, possibilitando a precipitação do produto desejado. Este, por sua vez, foi removido através de filtração a vácuo e lavado com acetato de etila ou tetrahydrofurano previamente resfriado.

Na proposta mecanística apresentada no Esquema 12, a etapa inicial corresponde a uma reação de substituição eletrofílica aromática. Para tal, os elétrons  $\pi$  do anel aromático do fluoroglucinol (**5**) atacam a carbonila, previamente protonada, da forma ceto da benzoiacetona (**10**), que atua como um eletrófilo, formando o intermediário **11**. Este pode sofrer eliminação de água catalisada por ácido, levando a formação de uma *E*-chalcona (**12**), que está em equilíbrio com seu isômero *Z* (**13**). Ambos os intermediários **12** e **13** são bastante estáveis por possuírem conjugação estendida do sistema  $\pi$ . A *Z*-chalcona (**13**) pode, em seguida, sofrer ciclização através

do ataque de uma das hidroxilas do anel aromático à carbonila previamente protonada, levando ao intermediário **14** e, após prototropismo, ao intermediário **15**. Este, após a eliminação de uma molécula de água, leva a formação do produto desejado (**3a-3d**), sendo a carga positiva resultante, estabilizada pela deslocalização eletrônica na molécula.

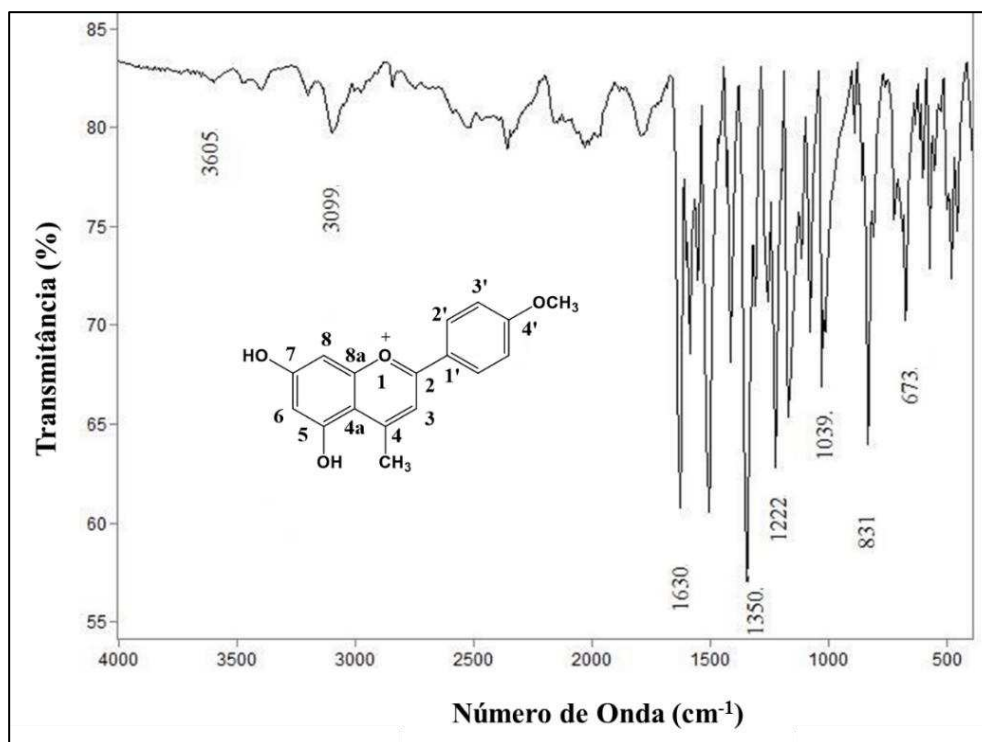
**Esquema 12** - Proposta de mecanismo para a formação de **3a-3d**.



*Fonte: O Autor.*

No espectro de IV (Figura 23) do sal de flavílio **3a** foi possível observar bandas fracas na região de  $3100\text{ cm}^{-1}$  referentes a estiramentos de ligações C-H e bandas relativamente fortes entre  $1600$  e  $1450\text{ cm}^{-1}$  referentes a estiramentos das ligações C=C dos anéis aromáticos. Também foram observadas bandas fortes entre  $900$ - $690\text{ cm}^{-1}$  referentes ao dobramento fora do plano nas ligações =C-H. A banda de estiramento da ligação O-H apresentou baixa intensidade e tornou-se quase imperceptível na região onde a mesma era esperada ( $3600$ - $3000\text{ cm}^{-1}$ ). Este fenômeno pode ser explicado pela elevada acidez dos hidrogênios, proporcionando um intenso alargamento das bandas e, conseqüentemente, redução da sua intensidade.

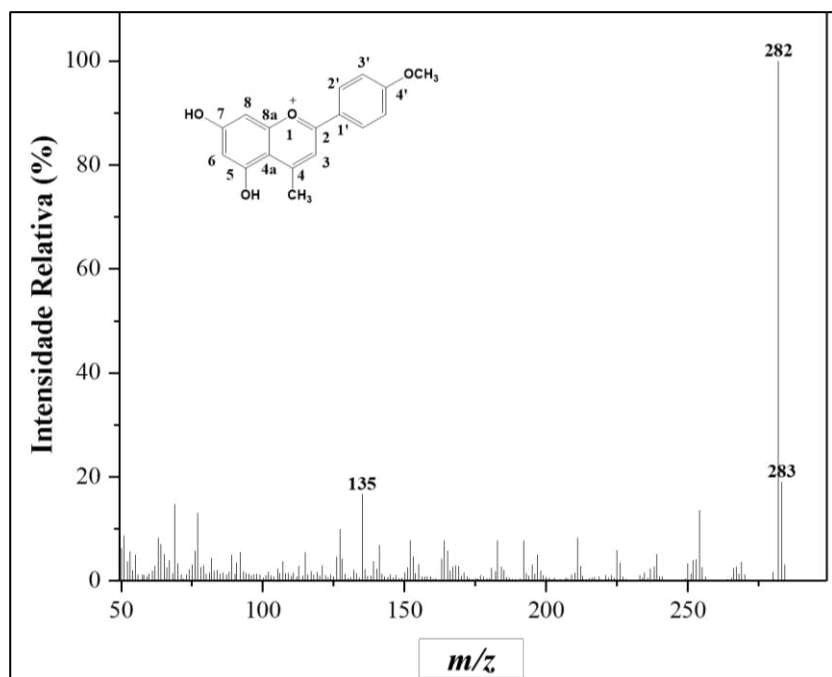
**Figura 23** - Espectro no infravermelho (ATR) do flavílio **3a**.



**Fonte:** O Autor.

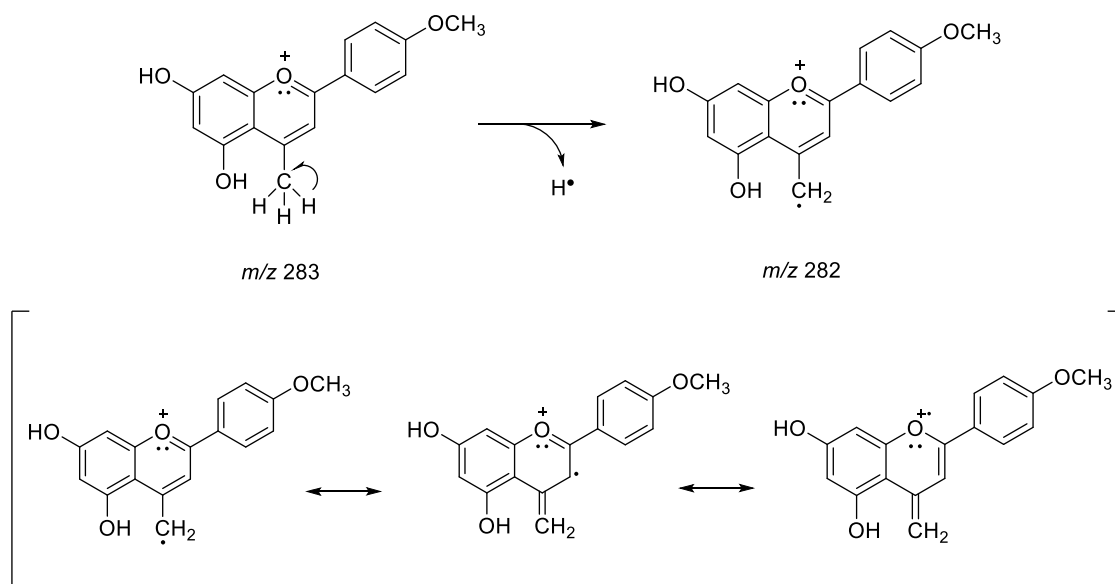
No espectro de massas de **3a** (Figura 24), pode-se observar o pico do íon molecular em  $m/z$  283, condizente com a fórmula molecular  $C_{17}H_{15}O_4$ . É também possível observar um pico em  $m/z$  282, sendo esse o pico base, correspondente a perda de um radical hidrogênio, como mostrado no Esquema 13.

Figura 24 – Espectro de Massas de 3a.



Fonte: O Autor.

Esquema 13 – Propostas de fragmentação correspondente ao flavílio 3a.



Fonte: O Autor.

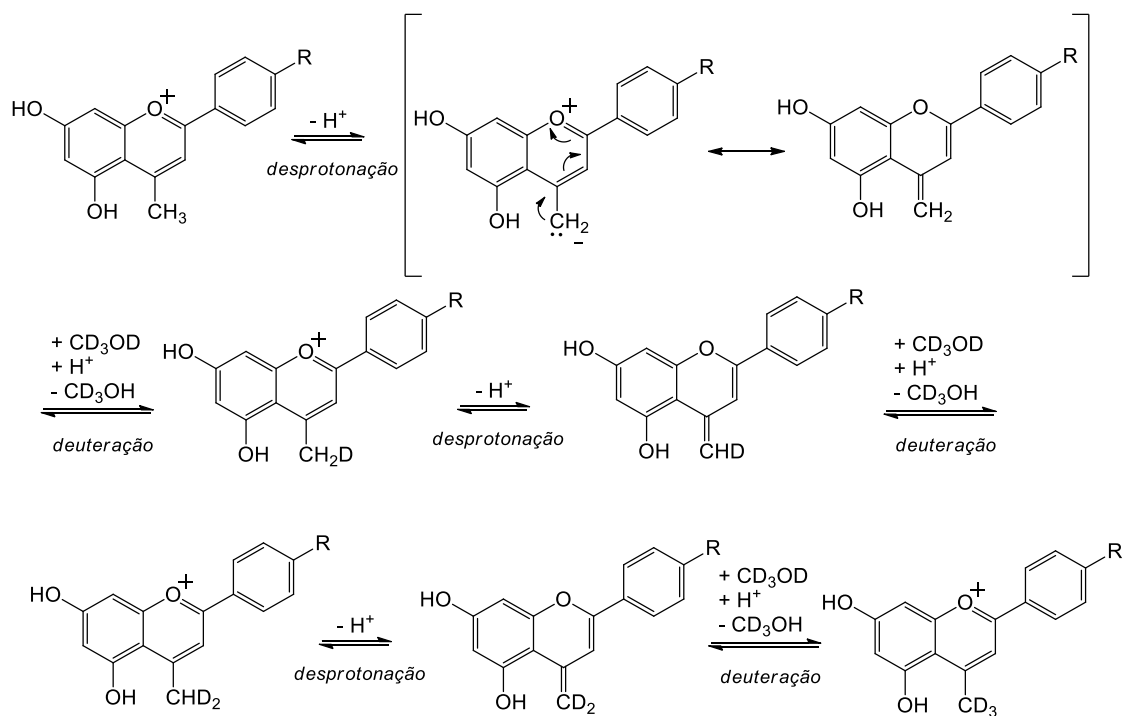
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do flavílio **3a** (Figura 25) realizado em metanol- $d_4$ , forneceu os seguintes dados: um duplete em  $\delta$  9,93 integrado para dois hidrogênios e com constante de acoplamento *orto* de 9,0 Hz, referente ao H2'; um simpleto em  $\delta$  9,56, integrado para um hidrogênio, relativo ao H3; um duplete em  $\delta$  8,80 integrado para dois hidrogênios e com constante de acoplamento *orto* de 9,0 Hz, referente ao hidrogênio H3'; um duplete em  $\delta$  8,51, com constante de acoplamento *meta* de 2,2 Hz e integrado para um hidrogênio, correspondendo ao H8; um duplete em  $\delta$  8,24 com constante de acoplamento *meta* de 2,2 Hz e integrado para um hidrogênio, correspondendo ao H6; e, por fim, um simpleto em  $\delta$  5,54, integrado para três hidrogênios, referente aos hidrogênios do grupo metoxila.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **3a** (Figura 26), empregando metanol- $d_4$ , destacam-se os seguintes sinais característicos: oito sinais de baixa intensidade em  $\delta$  171,1; 170,8; 169,6; 167,6; 162,8; 159,9; 122,3 e 114,2, correspondentes aos átomos de carbono não hidrogenados C4, C2, C4', C7, C5, C8a, C1' e C4a, respectivamente; dois sinais intensos em  $\delta$  132,4 e 116,1, sendo o primeiro relativo ao átomo de carbono C2' e o segundo aos átomos C3' e C3; dois sinais de média intensidade em  $\delta$  103,9 e 96,5 relativos aos átomos de carbono C6 e C8; e, por fim, um sinal mais blindado em  $\delta$  56,6, correspondente ao átomo de carbono do grupo metoxila.

Não foi possível observar no espectro de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  o sinal referente ao grupo metila ligado a C4. Tais observações foram reportadas por Costa (2016) em seu trabalho e por outros membros do grupo de pesquisa por meio da análise dos espectros de RMN de moléculas similares sintetizadas anteriormente. Não existem na literatura estudos direcionados à explicação desse fenômeno, mas uma provável explicação baseia-se na elevada acidez dos hidrogênios metílicos ligados a C4, permitindo uma possível troca dos mesmos por deutério proveniente do solvente, como mostrado no Esquema 14. Como consequência da substituição desses hidrogênios por deutério, o sinal do grupo metila deixa de existir no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ . O desaparecimento do sinal correspondente ao carbono do grupo metila no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ , quando este está ligado a três átomos de deutério, pode ser explicado pela progressiva perda de intensidade do sinal causada pelo somatório de três diferentes fenômenos: um deles se deve à redução da intensificação nuclear Overhauser (NOE) que depende do número de átomos de hidrogênio vizinhos e da sua distância; outro corresponde ao maior

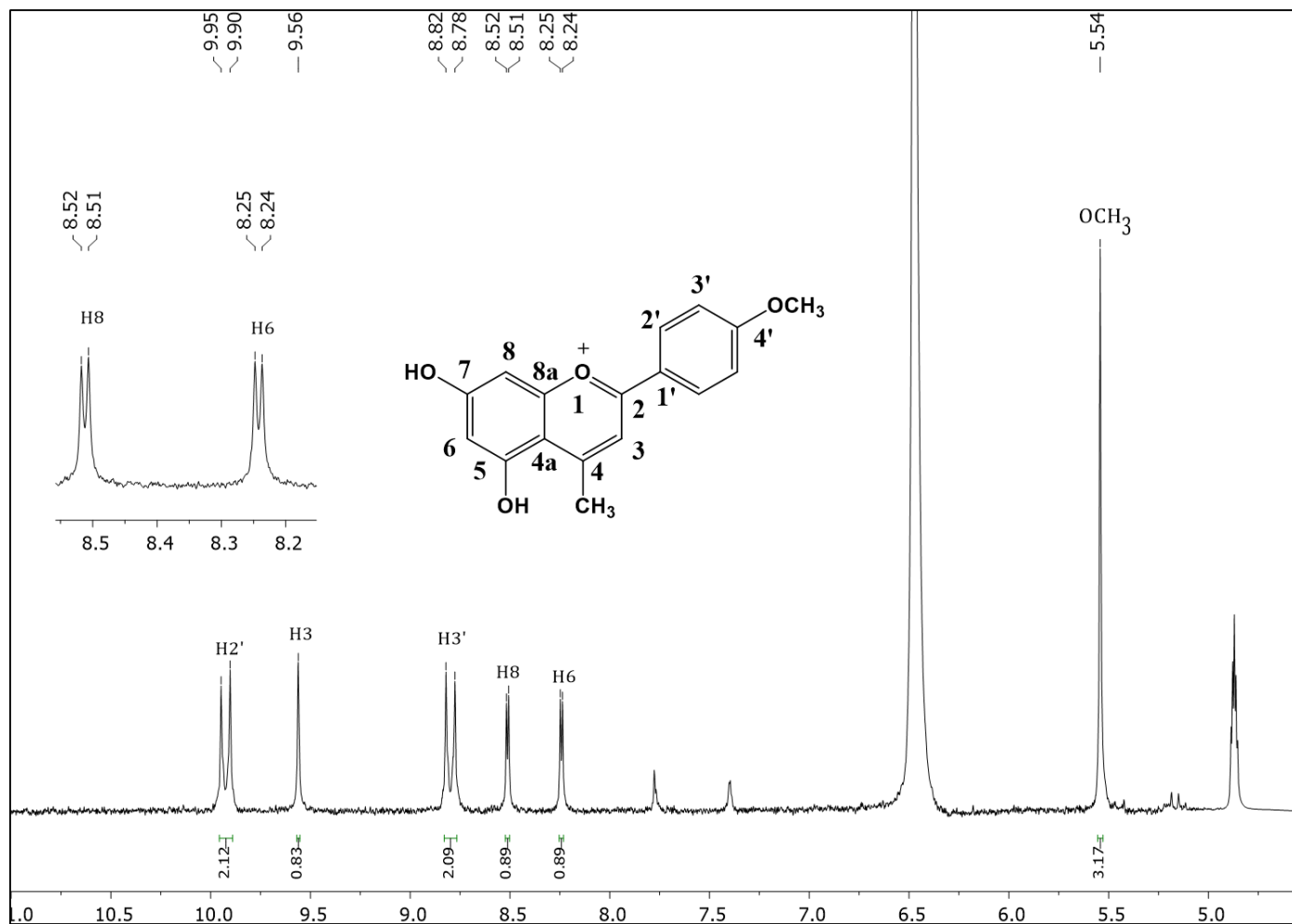
tempo de relaxação dos átomos de carbono não hidrogenados; e, por fim, o desdobramento do sinal devido ao acoplamento do átomo de carbono com os três átomos de deutério.

**Esquema 14** – Esquema de troca de hidrogênios por deutério pelos sais de flavílio (**3a-3d**).



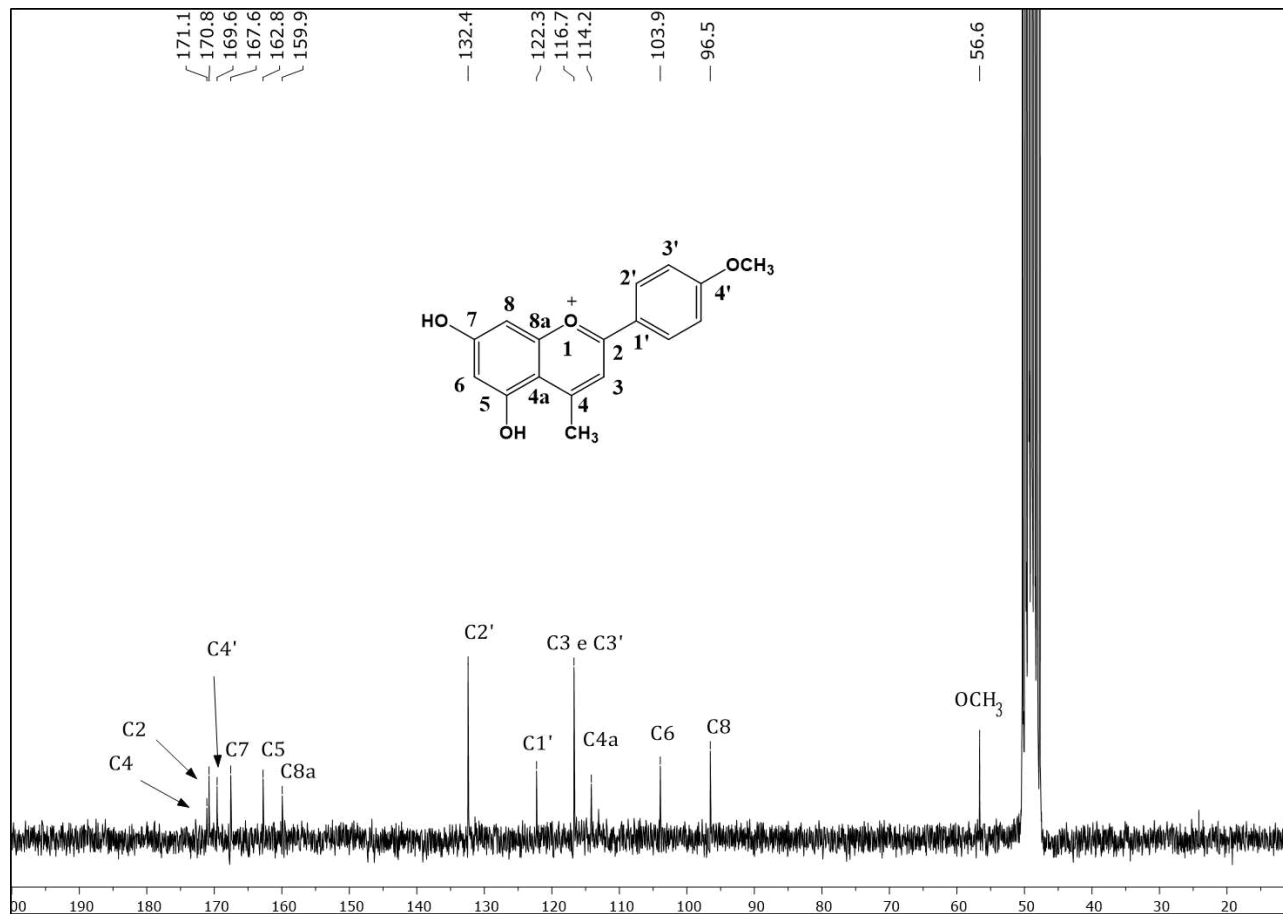
**Fonte:** O Autor.

Figura 25 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do flavílio 3a (Metanol- $d_4$ , 200MHz)



Fonte: O Autor.

Figura 26 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do flavílio **3a** (Metanol- $d_4$ , 50MHz).

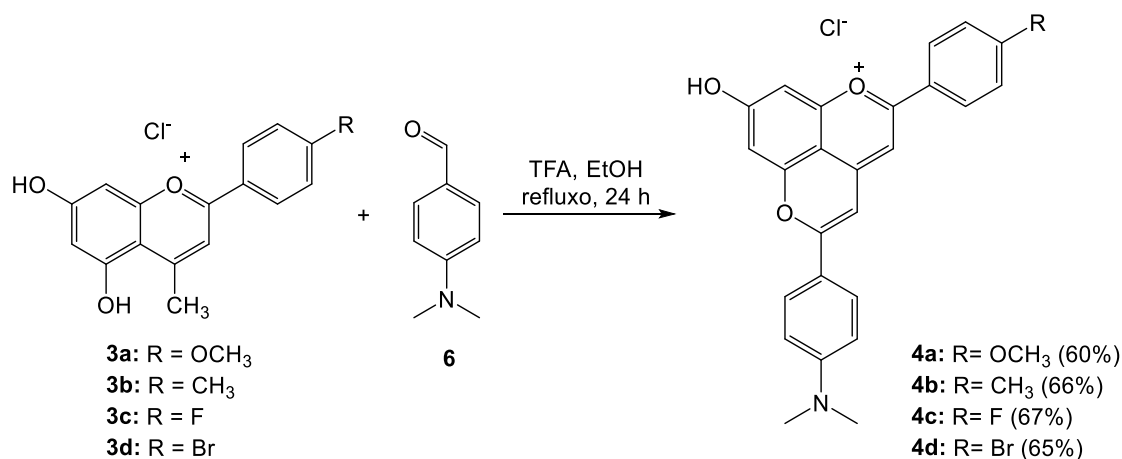


Fonte: O Autor.

### 3.1.3. Sais de piranoflavílio (4a-4d)

Os sais de piranoflavílio (**4a-4d**) foram sintetizados com rendimentos que variaram entre 60 e 67%, cujos resultados foram resumidos no Esquema 15.

**Esquema 15** – Rota sintética e rendimentos obtidos para síntese de **4a-4d**.



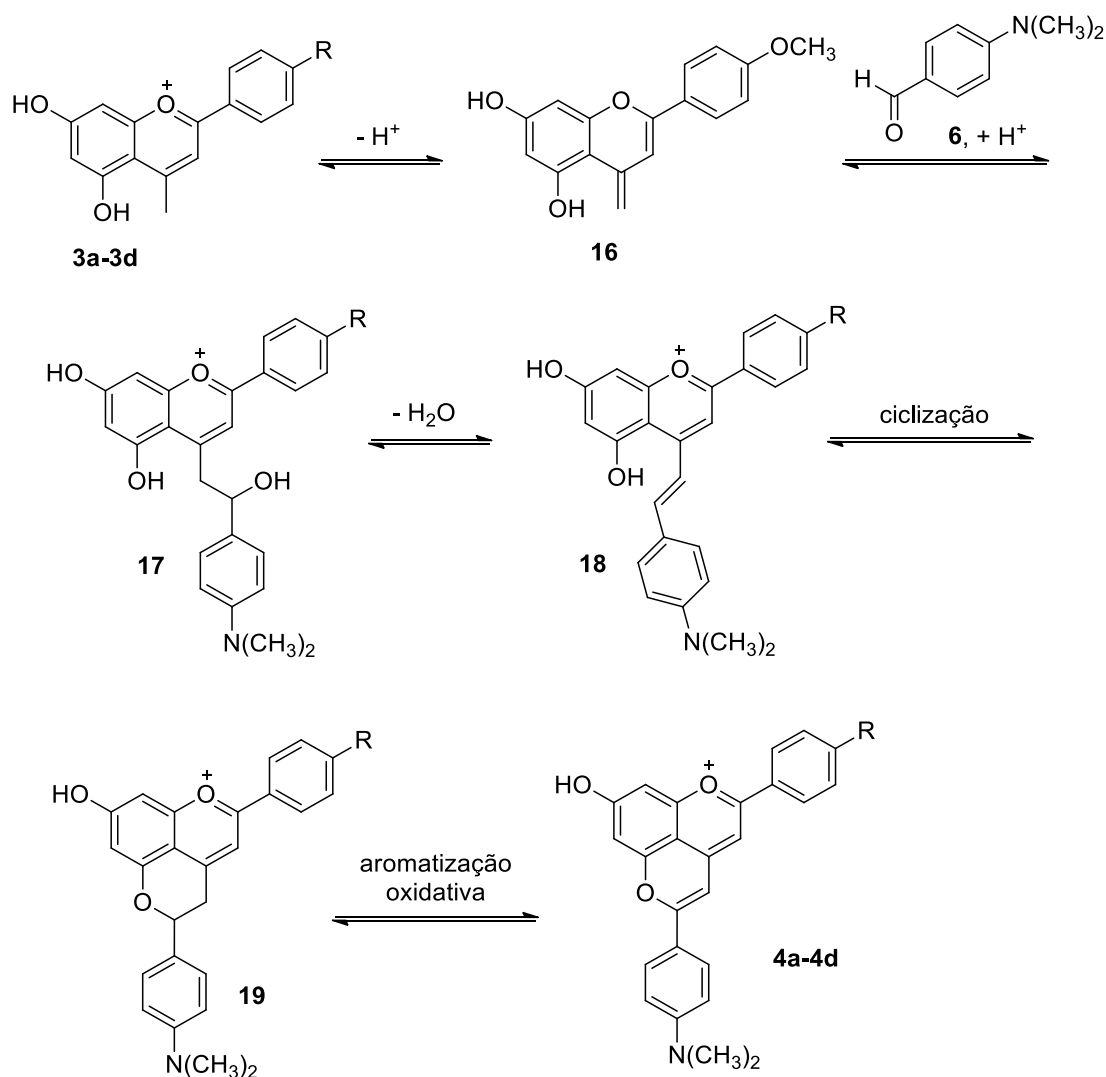
**Fonte:** O Autor.

Foram empregados como materiais de partidas os sais de flavílio (**3a-3d**) e 4-dimetilaminobenzaldeído (**6**) em etanol, com adição de TFA até concentração de 1  $\mu$ M. A metodologia utilizada é a mesma proposta Da Silva *et al.* (2018) em seu trabalho. A reação se procedeu em refluxo e, durante a primeira 1 h, sobre atmosfera de nitrogênio, para retardar a ocorrência da aromatização autoxidativa dos intermediários formados, de modo a evitar a formação de produtos secundários (DA SILVA *et al.*, 2018). Decorrido esse tempo inicial, o recipiente ainda em refluxo foi destampado para que ocorresse a aromatização autoxidativa do anel pirano.

O mecanismo para formação dos piranoflavílios é mostrado no Esquema 16 e foi descrito por Da Silva e colabores (2018). Neste mecanismo, a base conjugada (**16**) é formada devido a desprotonação do sal de flavílio (**3a-3d**). A adição de (**16**), que atua como nucleófilo, ao 4-dimetilaminobenzaldeído (**6**), por meio do ataque dos elétrons  $\pi$  do grupo metileno à carbonila do aldeído, gera o intermediário (**17**) após protonação. Este último sofrerá eliminação de água e formará o intermediário (**18**). Através de uma ciclização catalisada por ácido presente no meio, o intermediário (**18**) originará o intermediário ciclizado (**19**), que, em contato com o ar atmosférico,

incorporado ao meio devido a abertura do meio reacional, sofrerá aromatização oxidativa formando os sais de piranoflavílio (**4a-4d**).

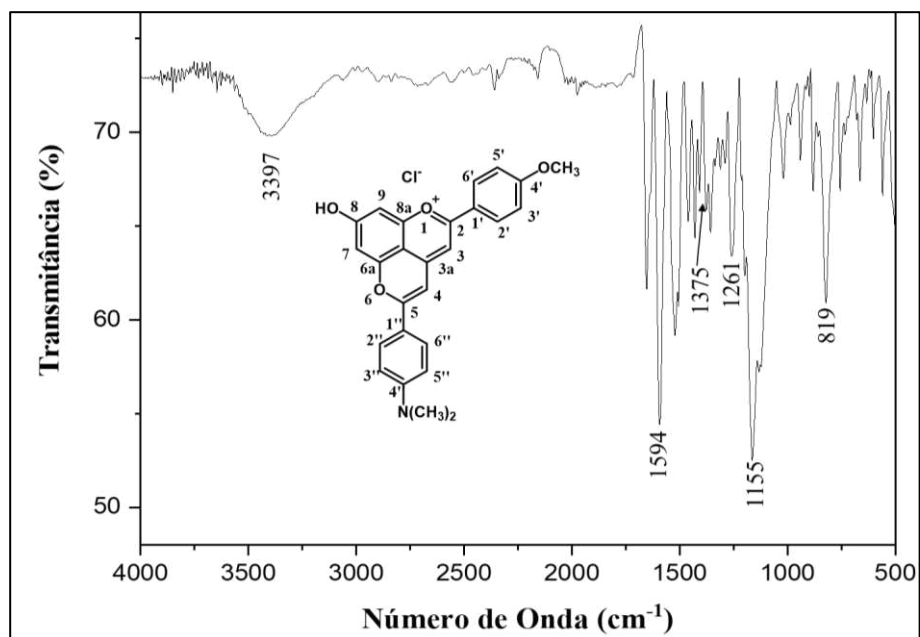
**Esquema 16** – Proposta de mecanismo para a formação de **4a-4d**.



**Fonte:** Adaptado de DA SILVA et al, 2018, p. 955.

As análises espectrais confirmaram a formação dos compostos desejados. No espectro IV (Figura 27) podemos observar uma banda forte em  $1594\text{ cm}^{-1}$ , correspondente ao estiramento simétrico C=C de aromáticos. Bandas na região de  $819\text{ cm}^{-1}$  referentes à deformação angular para fora do plano de ligações C-H. Há também bandas de estiramento assimétrico =C-O-C na região de  $1261\text{ cm}^{-1}$  e uma banda de estiramento O-H em  $3397\text{ cm}^{-1}$ .

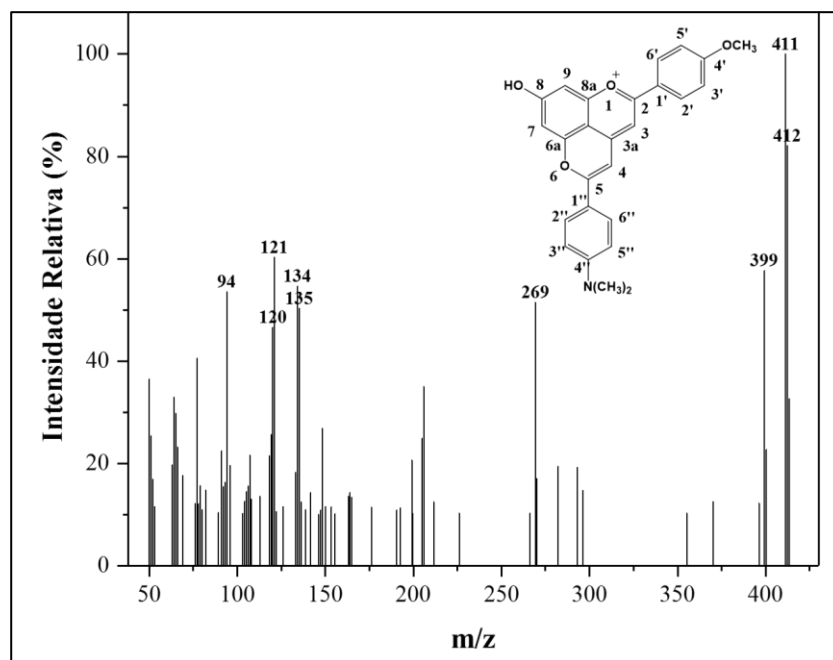
Figura 27 – Espectro de infravermelho (ATR) do piroflavílio **4a**.



Fonte: O Autor.

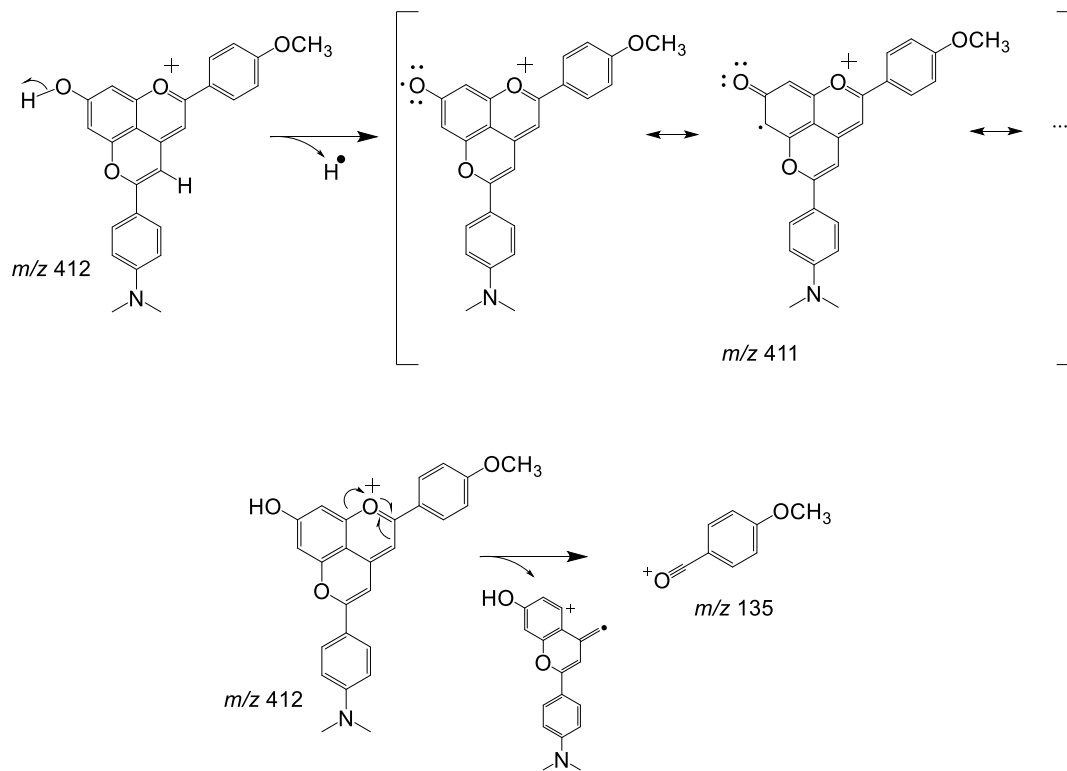
Analisando o EM de **4a** (Figura 28), constatou-se a presença do pico do íon molecular em  $m/z$  412 em concordância com a fórmula molecular  $C_{11}H_{12}O_3$ . É também possível observar o pico base em  $m/z$  411 correspondente a perda de um radical hidrogênio. É possível observar um pico em  $m/z$  135 correspondente a fissão do anel B, sendo esta abertura do anel B observada por Oliveira; Esperança; Almoester Ferreira (2001). O padrão de fragmentação para **4a**, é ilustrado no Esquema 17.

**Figura 28** – Espectro de massas do piranoflavílio **4a**.



Fonte: O Autor.

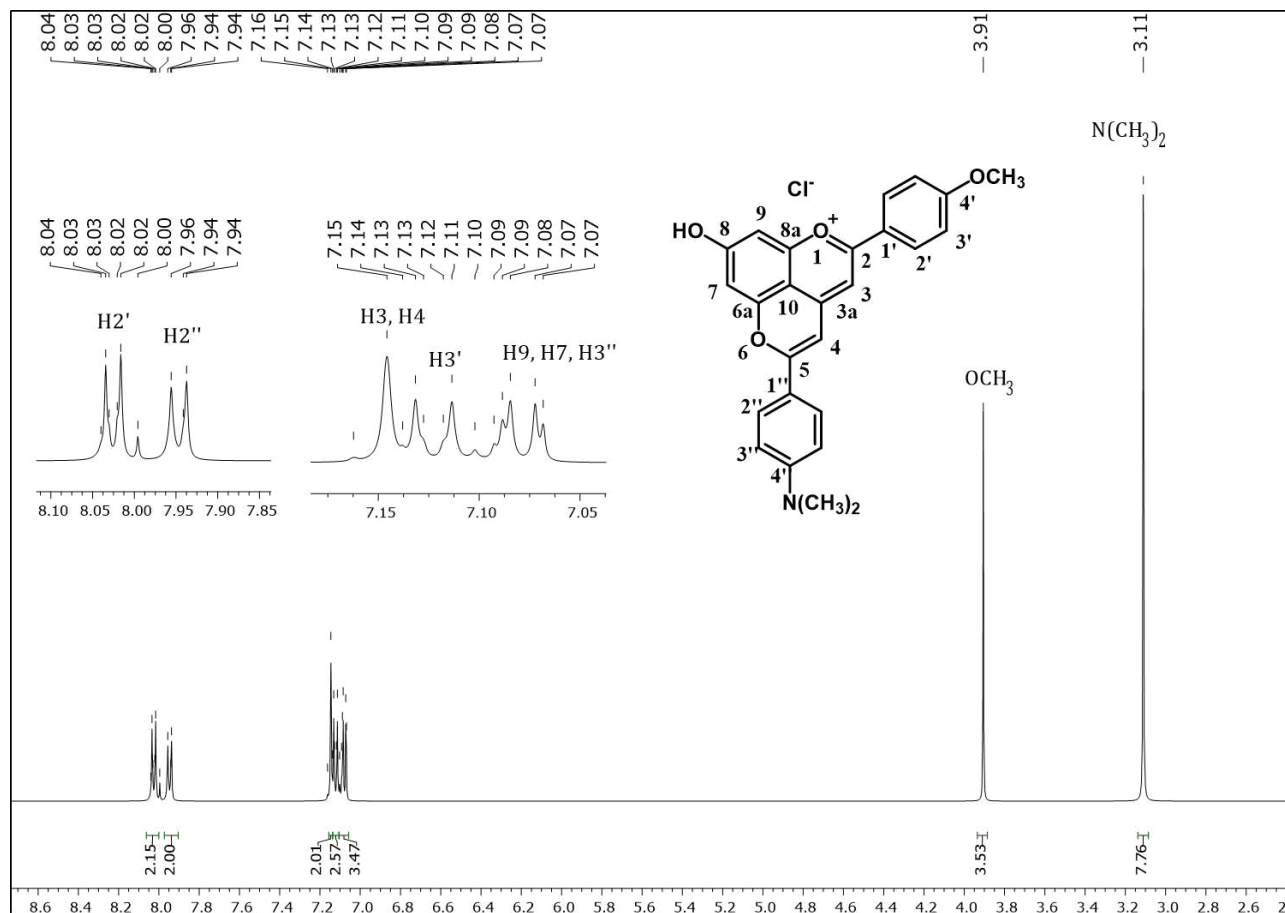
**Esquema 17** – Propostas de fragmentações correspondentes ao piranoflavílio **4a**.



Fonte: O Autor.

A partir da análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 29) do piranoflavílio **4a** realizado em acetonitrila- $d_3$ , foi possível a identificação dos seguintes sinais: um multiplete na faixa  $\delta$  8,02–8,04, integrado para dois hidrogênios, referente ao H2'; um multiplete na faixa  $\delta$  7,94–7,96, integrado para dois hidrogênios, correspondendo ao H2''; um simpleto alargado em  $\delta$  7,15 integrado pra dois hidrogênios, relativo a H3 e H4; um multiplete na faixa de  $\delta$  7,11–7,13, integrado para dois hidrogênios, referentes ao hidrogênios H3'; outro multiplete na faixa de 7,06-7,09, integrado para quatro hidrogênios, referente aos H9, H7 e H3''; um simpleto em  $\delta$  3,91, integrado para três, referente aos hidrogênios do grupo metoxila; e, por fim, um simpleto em  $\delta$  3,11 integrado para seis hidrogênios, referente aos hidrogênios dos grupos metila ligados ao nitrogênio.

**Figura 29** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do piranoflavílio **4a** (Acetonitrila- $d_3$ , 500MHz).



Fonte: O Autor.

#### 4. CONCLUSÃO

Foram sintetizadas quatro moléculas para cada série de compostos, sendo elas benzoilacetonas (**2a-2d**), sais de flavílio (**3a-3d**) e sais de piranoflavílio (**4a-4d**) e os compostos foram caracterizados por IV, EM e RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Dentre todas as substâncias preparadas seis são inéditas, sendo elas **3b-3d** e **4b-4d**.

Reações de condensação entre acetofenonas *para*-substituídas e acetato de etila, levaram a formação de quatro benzoilacetonas (**2a-2d**) com diferentes substituintes na posição *para* em rendimentos de 67% a 89%. As mesmas não foram purificadas, mas dados espectroscópicos demonstraram que estas foram isoladas em elevado grau de pureza.

Quatro sais de flavílio (**3a-3d**) com diferentes padrões de substituição na posição C4' do anel B foram sintetizados a partir da condensação entre as benzoilacetonas (**2a-2d**) e o fluoroglucinol (**5**). O rendimento alcançado para essa reação foi de moderado a bom, variando de 56 a 82%, sendo que rendimentos mais baixos podem ter sido ocasionados por perdas durante as etapas de lavagem com solventes para a adequada purificação dos mesmos.

Os sais de piranoflavílio (**4a-4d**) foram sintetizados a partir da reação entre os flavílios (**3a-3d**) e 4-dimetilaminobenzaldeído (**6**). Quatro piranoflavílios com diferentes padrões de substituição em C4' do anel B foram preparados empregando a metodologia supracitada. Os rendimentos alcançados foram moderados, variando entre 60 e 67%. Observou-se a diminuição da massa com a lavagem dos sólidos com éter dietílico, o que pode ter contribuído para reduções nos rendimentos.

## CAPÍTULO 2

### CARACTERIZAÇÃO FOTOFÍSICA DOS SAIS DE FLAVÍLIO E PIRANOFLAVÍLIO

#### 1. INTRODUÇÃO

##### 1.1. Aspectos gerais da espectroscopia UV-Vis e fotoluminescência

À temperatura ambiente, a maioria das moléculas encontra-se no seu estado fundamental (TALHAVINI; ATVARIS, 1998; PAVONI *et al.*, 2014). Quando sobre a matéria é incidido um feixe de luz, parte dessa luz é absorvida e parte é espalhada. A absorção ocorre de maneira quantizada, ou seja, a radiação incidida deve possuir a energia exata para promover os elétrons do nível fundamental para o excitado (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2008; VAZ *et al.*, 2015; RODRIGUES, 2017). Normalmente, a transição ocorre entre os orbitais HOMO e LUMO (VAZ *et al.*, 2015).

Muitas moléculas orgânicas possuem absorção no comprimento de onda correspondente à região ultravioleta e visível do espectro eletromagnético (180–800 nm). As principais transições que podem ocorrer nessa região são a  $n \rightarrow \sigma^*$  e  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ . Estas possuem maior energia e ocorrem na região UV. As transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  estão relacionadas à região UV-Vis, desde que os elétrons da molécula estejam deslocalizados, como no caso dos compostos aromáticos. Uma forma de diferenciar os tipos de transições é por meio do efeito do solvente sobre as mesmas. Em geral, solventes polares deslocam as bandas  $\pi \rightarrow \pi^*$  para maiores comprimentos de onda. Cromóforo é o nome dado à área da molécula em que há ocorrência das transições eletrônicas (MARTINHO, 1994; PASSOS; SARAIVA, 2019).

A absorção se relaciona com a concentração do analito por meio da equação de Lambert–Beer. A mesma pode ser descrita da seguinte forma:

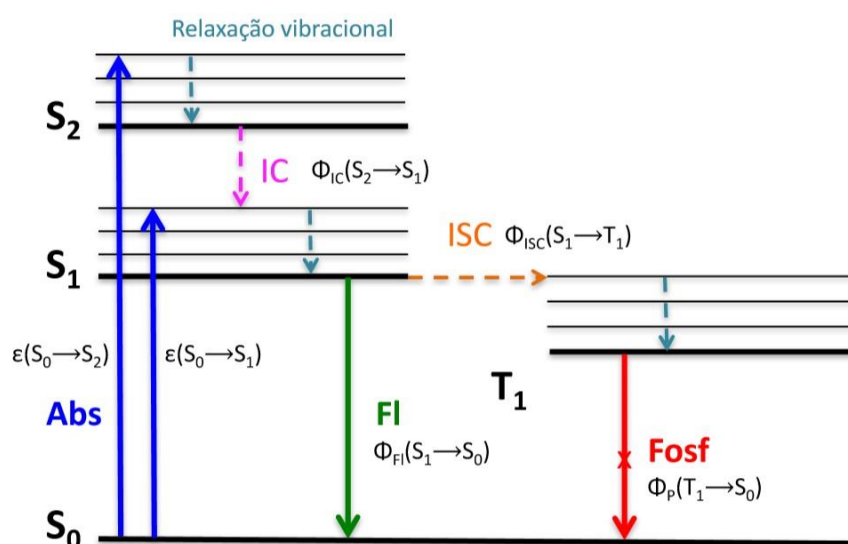
$$A = \epsilon \times b \times c \text{ (I)},$$

onde  $A$  é a absorvância,  $\epsilon$  é absorvidade molar (dependente do comprimento de onda) em  $\text{mol}^{-1}.\text{L}.\text{cm}^{-1}$ ,  $b$  é o comprimento do caminho óptico em cm e  $c$  é a concentração do absorvedor em  $\text{mol}.\text{L}^{-1}$ . Em soluções muito concentradas essa relação linear é perdida devido aos denominados desvios da Lei de Beer (VAZ *et al.*, 2015; PASSOS; SARAIVA, 2019).

Devido à instabilidade do estado excitado, as moléculas tendem a voltar para o nível fundamental, fazendo isso por meio da liberação de energia absorvida anteriormente. Tal fenômeno pode ocorrer por meio de um processo não radiativo (perda de calor) ou radiativo (emissão de radiação eletromagnética) (TALHAVINI; ATVARS, 1998; PAVONI *et al.*, 2014; RODRIGUES, 2017). Quando a liberação de energia ocorre por processos radiativos, estes são chamados de fotoluminescência, que pode ser dividida em fluorescência, quando as transições ocorrem entre estados eletrônicos de mesma multiplicidade de spin eletrônico e fosforescência quando a multiplicidade dos spins é diferente (TALHAVINI; ATVARS, 1998; VAZ *et al.*, 2015; RODRIGUES, 2017).

O diagrama de Jablonski (**Esquema 18**) esquematiza os mecanismos dos processos de absorção e liberação de energia.

**Esquema 18** – Diagrama de Jablonski.



Fonte: (RODRIGUES, 2017, p.15)

Os níveis de energia vibracionais são representados pelas linhas pretas mais finas; níveis eletrônicos pelas linhas pretas grossas; processos emissivos são ilustrados por meio das setas retas e processos não radiativos pelas setas pontilhadas (RODRIGUES, 2017).

Inicialmente a absorção de um fóton pode levar os elétrons do estado fundamental simpleto ( $S_0$ ) para os estados excitados simpleto ( $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_n$ ). Esta transição é denominada simpleto–simpleto. A liberação desta energia absorvida pode ocorrer através de processos não radiativos e radiativos. Um dos processos não radiativos de liberação de energia é a conversão interna (IC, do inglês *Internal Conversion*), que ocorre entre dois estados eletrônicos de multiplicidade similar de spin ( $S_n \rightarrow S_1$ ), como indicado no diagrama de Jablonski. A molécula no estado excitado  $S_1$  pode sofrer um processo radiativo denominado fluorescência, que ocorre entre estados eletrônicos com multiplicidade igual de spin, correspondendo ao decaimento  $S_1 \rightarrow S_0$ . Além deste processo, também pode ocorrer uma transição do estado simpleto para o tripleto ( $S_1 \rightarrow T_1$ ), que é uma transição entre dois estados eletrônicos de multiplicidade diferente. A este processo não radiativo é dado o nome de cruzamento intersistema (ISC, do inglês *Intersystem Crossing*). O estado excitado tripleto  $T_1$  é capaz de liberar energia através de um processo radiativo denominado fosforescência ( $T_1 \rightarrow S_0$ ) que, apesar de ser proibido por multiplicidade de spin, ocorre por meio da interação spin-orbital (VAZ et al, 2015; RODRIGUES, 2017; NOGUEIRA, 2019).

A fosforescência pode ocorrer com tempos que variam de  $10^{-3}$  s até vários minutos após cessar a absorção de radiação. Por outro lado, a fluorescência ocorre com maior rapidez, sendo observados tempos de  $10^{-9}$  a  $10^{-6}$  s após a excitação (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2008; RODRIGUES, 2017; NOGUEIRA, 2019).

Nos processos radiativos, cada molécula irá emitir a radiação eletromagnética em um comprimento de onda característico, denominado comprimento de onda de emissão, sendo que este comprimento será maior que o de absorção. A distância entre o máximo de absorção e o de emissão é denominada Deslocamento de Stokes (EABORN, 1988; BRASLAVSKY, 2007; PAVONI et al, 2014; ZHOU et al., 2019). Quanto maior o deslocamento de Stokes, mais detectável será a fluorescência da espécie que emite a radiação (fluoróforo) (PAVONI et al, 2014).

Outro parâmetro importante que pode ser obtido por meio da fluorescência é o rendimento quântico ( $\Phi$ ). O mesmo demonstra a eficiência da fluorescência frente os outros modos de desativação, sejam radiativos ou não radiativos. Na prática, o rendimento quântico de fluorescência é obtido tendo como referência um padrão cujo valor de  $\Phi$  é conhecido. A partir disso, o rendimento quântico da molécula de análise é calculado realizando as medidas com parâmetros experimentais idênticos aos aplicados para o padrão, tais como, mesmo comprimento de onda de excitação e abertura das fendas de excitação e detecção (RODRIGUES, 2017; NOGUEIRA, 2019). Neste caso, o valor de  $\Phi$  pode ser calculado a partir da seguinte equação:

$$\phi_{Am} = \phi_P \frac{A^P(\lambda)}{A^{Am}(\lambda)} \frac{a^{Am}}{a^P} \frac{(n_R^{Am})^2}{(n_R^P)^2} \quad (\text{II})$$

onde, o sobrescrito  $P$  indica o padrão, o  $Am$  significa amostra;  $a$  é área sobre o espectro de emissão e  $n_R$  é o índice de refração do solvente e  $A$  é a absorvância no comprimento de onda de absorção (RODRIGUES, 2017).

O meio em que o fluoróforo se encontra afeta as medidas de absorção e fluorescência. As interações existentes entre o soluto e o solvente podem contribuir para aumentar o comprimento de onda máximo ( $\lambda_{\text{max}}$ ) deslocando-o para o vermelho, processo conhecido como deslocamento batocrômico, ou ocasionar a sua diminuição, processo conhecido como deslocamento hipsocrômico. Quando esses efeitos ocasionam a diminuição no valor da absorvidade molar, dizemos que houve um efeito hipocrômico, o efeito oposto é chamado de efeito hipercrômico. Além do efeito ocasionado pelo solvente, existem substituintes que, mesmo não sendo capazes de emitir luz por si só, quando ligados ao cromóforo podem proporcionar a intensificação da cor e variar a posição da banda de absorção e emissão dos mesmos. A esses substituintes dá-se o nome de auxocromos (EABORN, 1988; BRASLAVSKY, 2007; RODRIGUES, 2017).

## 1.2. Antocianinas e a indústria de corantes

Diversos parâmetros estão associados à qualidade dos alimentos comercializados, sendo a cor um dos principais. A coloração dos alimentos é um dos fatores associados à aceitação dos mesmos, além de servir como um chamariz para atrair a atenção do consumidor. Diante disso, o uso de corantes sintéticos ou naturais

apresenta-se como uma alternativa para suprir a busca pela melhoria do aspecto visual do produto final (PRADO; GODOY, 2007; ARAÚJO *et al.*, 2018).

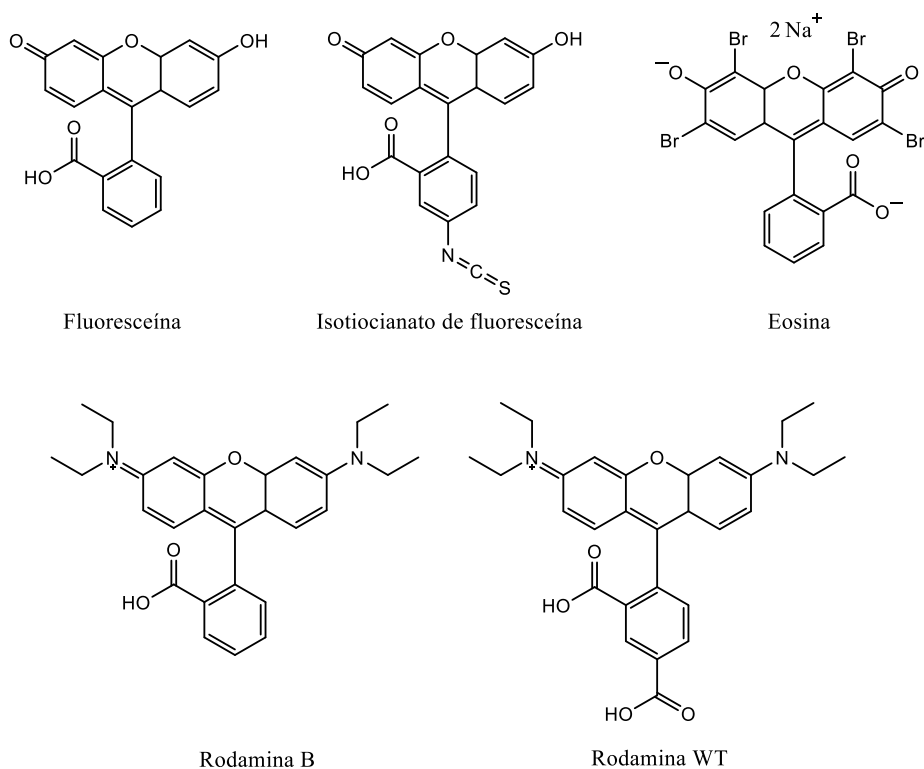
A grande variedade de cor produzida pelas antocianinas é um dos fatores que as tornaram alvo de grande interesse na indústria alimentícia (WEBER; BOCH; SCHIEBER, 2017). Elas também se destacam por não serem consideradas substâncias tóxicas e pelos seus conhecidos benefícios à saúde, tais como suas propriedades antioxidantes (CARVALHO *et al.*, 2019).

A cor das antocianinas esboça uma dependência com a estrutura química das mesmas (LOPES *et al.*, 2007). A conjugação existente entre os anéis A e C, que possibilitam uma alta deslocalização eletrônica, é um dos principais fatores responsáveis pela coloração, tendo também o anel B uma certa contribuição para tal (CHUNG *et al.*, 2016; QIAN *et al.*, 2017).

Entretanto, a instabilidade desses compostos, frente a parâmetros como pH, luz e temperatura, tem dificultado a utilização dos mesmos, uma vez que afeta o prazo de validade e a qualidade dos alimentos (CHUNG *et al.*, 2017; DEKIC *et al.*, 2017; QIAN *et al.*, 2017). Diante disso, faz-se necessário o contínuo estudo das propriedades destes compostos, bem como de seus derivados sintéticos.

### **1.3. Corantes na agricultura**

Na indústria agrícola, os corantes vêm sendo utilizados como traçadores para estudo da eficiência de pulverização (ZAMBIANCO, 2013; ALVES; CUNHA; PALLADINI, 2014). Da Silva; Donnici; Ayala (2009) definem traçador como “*qualquer substância, ou partícula/entidade (química ou biológica), que pode ser usada para seguir, quer pontualmente ou de forma contínua, o comportamento de um determinado sistema ou de um componente*” (p. 1576). Os mesmos podem ser classificados como artificiais ou naturais e para ambientes internos ou externos. Dentro do grupo de corantes externos destacam-se os traçadores fluorescentes, tais como: azul de Evans, eosina, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina-B, rodamina-WT e sulfoflavina brilhante (DA SILVA; DONNICI; AYALA, 2009; ALVES; CUNHA; PALLADINI, 2014).

**Figura 30** – Estrutura de alguns traçadores agrícolas.

**Fonte:** (DA SILVA; DONNICI; AYALA, 2009, p. 1578).

Por apresentarem fluorescência, as antocianinas poderiam ser empregadas como corantes externos, no entanto, sua aplicação é limitada pela sua baixa estabilidade. Assim, novas moléculas sintéticas inspiradas na estrutura base dessa classe de compostos naturais poderão apresentar-se como alternativas mais estáveis e igualmente fluorescentes.

#### 1.4. Sondas solvatocrômicas

As alterações ocasionadas pelo solvente nas medidas espectroscópicas de um fluoróforo tem sido alvo de vários estudos. Os mesmos se desenvolvem através da análise do comportamento das sondas solvatocrômicas (DAMASCENO, 2009; NUNES; ELVAS-LEITÃO; MARTINS, 2014).

Estas sondas se baseiam no solvatocromismo, que é a propriedade que está ligada as mudanças de intensidade, forma e deslocamento de uma banda de absorção ou de emissão, ocasionadas pela interação entre a sonda (cromóforo/ fluoróforo) e o

solvente em que ela se encontra (DAMASCENO, 2009; NUNES *et al.*, 2018; KHOO *et al.*, 2017; PATIL; KOTRESH; INAMDAR, 2019).

Uma das aplicabilidades desse tipo de estudo é na formulação da escala de polaridade de solvente, como descrito por Damasceno (2009). Como há um deslocamento do comprimento de onda a medida que se aumenta a polaridade, pode-se inferir qual solvente é mais polar que o outro usando determinada sonda, que irá interagir de diferentes maneiras com o meio e a partir disso provocar aumentos consideráveis ou não nos  $\lambda$  (DAMASCENO, 2009; PATIL; KOTRESH; INAMDAR, 2019).

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo das propriedades fotofísicas dos sais de flavílio e piranoflavílio foi realizado em colaboração com o grupo do Prof. Frank Herbert Quina da Universidade de São Paulo (USP). Estes estudos foram realizados por meio da análise dos espectros de absorção de UV-Vis, fluorescência e fosforescência, sendo os dois primeiros realizados em soluções acidificadas de acetonitrila (MeCN), metanol (MeOH) e isopropanol (iPrOH) e o último realizado em iPrOH. Também foram realizados experimentos para a determinação do rendimento quântico dos sais de piranoflavílio (DA SILVA, *et al.*, 2019).

Espectros de UV-Vis foram obtidos com espectrofotômetro HP8542A da Hewlett-Packard.

Os espectros de fluorescência estática e fosforescência foram obtidos por meio do espectrofluorímetro Hitachi F-4500, com excitação por lâmpada de Xenônio de 125W.

Utilizou-se cubetas de quartzo para fluorescência e medidas de UV-Vis com caminho óptico de 10,00 mm x 10,00 mm.

### 2.1. Medidas de UV-Vis

Foram preparadas soluções contendo os sais de flavílio e piranoflavílio em metanol, acetonitrila e isopropanol, em balões de 25 mL, com concentração na ordem de  $10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup>. As soluções de MeCN, MeOH e iPrOH eram previamente acidificadas com TFA na concentração de 1 mM (740  $\mu$ L de TFA para 100 mL de solução). A partir dessas soluções estoque, os espectros de absorção foram registrados em concentrações decrescentes. Por meio dos dados de absorção foram calculados os valores de absorvidade molar.

### 2.2. Medidas de fluorescência

As medidas de fluorescência foram realizadas a partir das soluções estoque. Para tal, as concentrações das soluções foram ajustadas até a obtenção da absorção próxima a 0,25 no comprimento de excitação máximo.

### 2.3. Rendimento quântico de fluorescência

A determinação do rendimento quântico das amostras foi baseada no rendimento quântico de referência do cresil violeta ( $\Phi = 0,54$ ). A solução do padrão foi preparada pela solubilização do padrão sólido em metanol. Em seguida, a mesma foi diluída em 1000 vezes para ser utilizada como referência nas medidas com metanol e acetonitrila e 100 vezes para as soluções de isopropanol. As soluções dos sais de flavílio foram preparadas pela solubilização dos sais em cada um dos solventes descritos anteriormente. Para as medidas as soluções estoques foram diluídas em 100. As análises de emissão foram realizadas nos comprimentos de absorção previamente medidos, sendo a absorção máxima não maior que 0,1. Calculou-se as áreas absolutas ( $a$ ) das curvas obtidas para determinar o rendimento quântico através da equação (II), supracitada.

### 2.4. Medidas de Fosforescência

As medidas de fosforescência foram realizadas em isopropanol vítreo. As medidas foram realizadas usando um acessório do fluorímetro Hitachi F4500 incluindo Dewar de quartzo apropriado e tubo de quartzo de 5 mm de diâmetro interno. A solução contendo os piranoflavílios (**4b-4d**) em isopropanol foram resfriadas lentamente em nitrogênio líquido até atingir a forma vítrea.

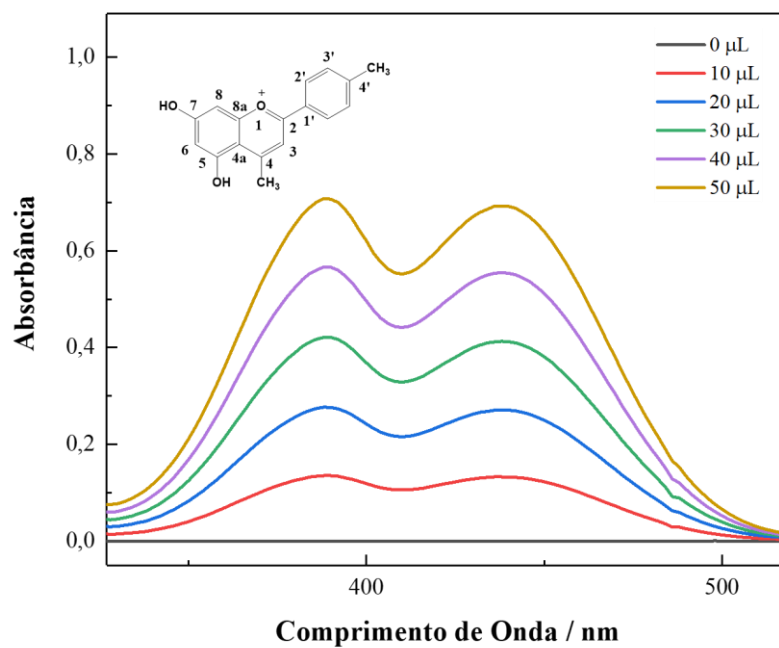
### 3. RESULTADO E DISCUSSÃO

#### 3.1. Absorção e Absortividade molar

Os espectros de ultravioleta foram obtidos a partir da dissolução dos sais de flavílio (**3b-3d**) e piranoflavílio (**4b-4d**) em diferentes solventes (MeOH, MeCN e Isopropanol), na presença de TFA (1 mM) para favorecer a forma catiônica ácida das espécies estudadas. Estas medidas permitiram quantificar dois parâmetros principais, sendo eles, o comprimento de onda máximo de absorção ( $\lambda_{\max}$ ) e o seu respectivo valor de absortividade molar ( $\epsilon_{\max}$ ).

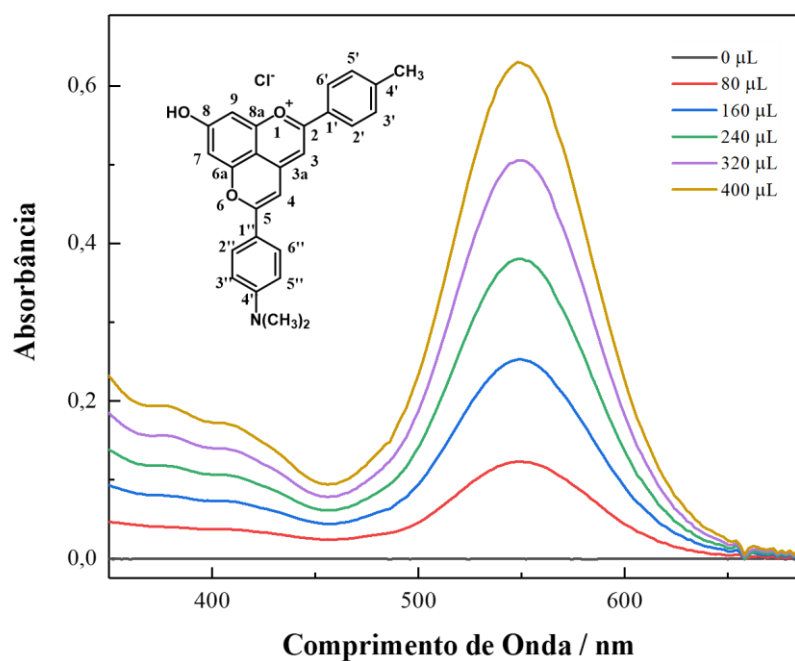
Os espectros dos flavílios (**3b-3d**) apresentaram duas bandas de absorção, sendo a primeira com  $\lambda_{\text{abs}}$  de 436 a 458 nm, correspondente à transição  $S_0 \rightarrow S_1$ , e a segunda com  $\lambda_{\text{abs}}$  de 382 a 396 nm, correspondente à transição  $S_0 \rightarrow S_2$ , estando estes valores em regiões de absorção eletromagnética características de flavonóides (SINOPOLI; CALOGERO; BARTOLOTTA, 2019), como pode ser observado na Figura 31. Em relação aos espectros de absorção dos piranoflavílios, os mesmos apresentaram apenas uma banda com  $\lambda_{\max}$  variando entre 548 e 556 nm, correspondente à transição  $S_0 \rightarrow S_1$ , como observado na Figura 32. Em todos os solventes e concentrações utilizados os espectros tiveram o mesmo comportamento. Os espectros de absorção para cada substância se encontram em Apêndice B, no fim deste capítulo.

**Figura 31** – Espectro de absorção do flavílio **3b** (Acetonitrila) em diferentes concentrações molares.



Fonte: O Autor.

**Figura 32** – Espectro de absorção do piranoflavílio **4b** (Acetonitrila) em diferentes concentrações molares.



Fonte: O Autor.

Para fins de comparação, optou-se por utilizar no caso dos flavílios apenas a banda de absorção de menor energia, correspondente à transição  $S_0 \rightarrow S_1$ . A Tabela 2 apresenta os dados de  $\lambda_{\text{abs}}$  e  $\epsilon_{\text{max}}$  de todos os compostos estudados.

**Tabela 2** – Valores de comprimento de onda máximo de absorção ( $\lambda_{\text{abs}}$ ) e absorvidade molar ( $\epsilon_{\text{max}}$ ) dos flavílios e piranoflavílios nos diferentes solventes.

Composto	$\lambda_{\text{abs}}$ (nm)			$\epsilon_{\text{max}}$ (L.mol <sup>-1</sup> .cm <sup>-1</sup> )		
	MeCN	MeOH	iPrOH	MeCN	MeOH	iPrOH
<b>Constante dielétrica*</b>	37,5	32,7	19,9			
3b	436	448	454	71977	37856	31189
3c	436	446	454	35565	11423	9257
3d	442	450	458	10900	13854	4814
4b	548	548	554	30737	26560	20693
4c	552	552	556	50064	23324	21924
4d	558	554	562	54165	55093	20616

**Fonte:** O Autor / (\*) <https://people.chem.umass.edu/xray/solvent.html>

Foi possível observar para os sais de flavílio um deslocamento batocrômico nos valores de comprimento de onda ( $\lambda_{\text{abs}}$ ) com a redução da polaridade dos solventes estudados (ordem de polaridade: MeCN > MeOH > iPrOH). Para os sais de piranoflavílio **4b** e **4c** não ocorreu variação dos  $\lambda_{\text{abs}}$  com a mudança do solvente de MeCN (aprótico) para MeOH (prótico), sendo observado um deslocamento batocrômico com a utilização do solvente iPrOH que é o menos polar. Já no caso do piranoflavílio **4d** observou-se um deslocamento batocrômico com a mudança do solvente de MeOH para iPrOH e um deslocamento hipsocrômico com a mudança de MeCN para MeOH, mostrando não haver uma relação direta entre a polaridade do solvente e o  $\lambda_{\text{abs}}$ . Entre os solventes pertencentes a uma mesma função (MeOH e iPrOH) é possível notar um deslocamento batocrômico com a redução da polaridade, tanto para os flavílios quanto para os piranoflavílios. Isto se deve a uma menor estabilização do estado fundamental, devido a sua interação com o solvente menos polar, em relação ao estado excitado, ocasionando uma menor diferença entre os níveis de energia dos estados fundamental e excitado (DAMASCENO, 2009). Para os piranoflavílios, quando comparados os valores de  $\lambda_{\text{abs}}$  dentro de um mesmo solvente, é

possível observar um deslocamento batocrômico com a mudança do substituinte, ligado a C4', de doador para retirador de densidade eletrônica. Tal fato está de acordo com a esperada maior estabilização do estado fundamental no caso dos compostos contendo grupos doadores de densidade eletrônica.

Por meio dos valores de  $\epsilon_{\max}$  foi possível observar para todos os sais de flavílio que a redução da polaridade do solvente ocasiona também uma redução da absorvidade molar, conhecido como efeito hipocrômico. Além disso, é possível notar que em todos os casos, excetuando **3c** e **3d** em isopropanol, as absorções são de alta energia ( $\epsilon_{\max}$  entre  $10^4$  e  $10^5$ ). Para os casos de **3c** e **3d** em isopropanol,  $\epsilon < 10^4$ , as transições são de energia moderada (PAVIA et al, 2010). O maior valor de  $\epsilon_{\max}$  dependente do solvente, demonstrou uma relação com o grupo substituinte em C4'. Compostos substituídos com  $\text{CH}_3$  (**3b** e **4b**) e F (**3c** e **4c**), apresentaram maiores valores de absorvidade molar em acetonitrila, por outro lado, aqueles em que o Br estava presente (**3d** e **4d**) apresentaram maior valor de  $\epsilon_{\max}$  em MeOH. Apesar disso, não foi possível estabelecer uma tendência geral entre a intensidade de absorção molar e a natureza do solvente ou do substituinte. Tais resultados podem sugerir interações multivariadas entre substituintes e solventes, afetando de maneira diferente cada  $\epsilon_{\max}$ . Os valores de absorvidades molar para todos os piranoflavílios são característicos de absorções de alta energia ( $\epsilon_{\max}$  entre  $10^4$  e  $10^5$ ) (PAVIA et al, 2010).

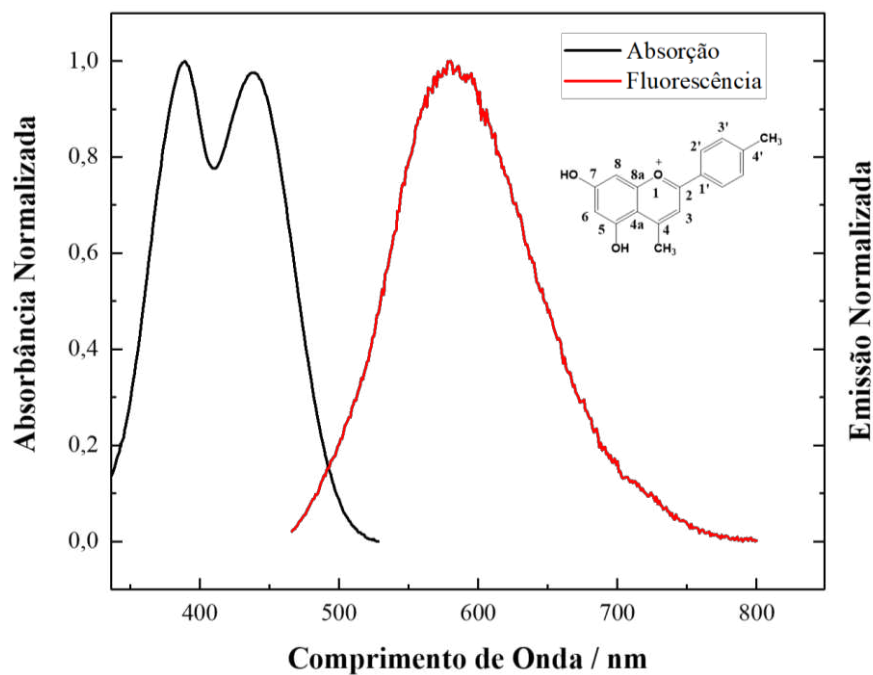
Quando comparados os valores de comprimento de onda máximo entre os piranoflavílios e seus respectivos precursores flavílios, nota-se um aumento no valor de  $\lambda_{\text{abs}}$ , caracterizando um deslocamento batocrômico. Este efeito indica que o novo anel formado nos sais de piranoflavílio causa uma redução na diferença de energia entre o estado fundamental e o primeiro estado excitado.

### 3.2. Fluorescência e Fosforescência

As Figuras 33 e 34 correspondem aos espectros de fluorescência do flavílio **3b** e do piranoflavílio **4b**, respectivamente. Os demais espectros de fluorescência estão no Apêndice B. Os espectros de fluorescência dos flavílios (**3b-3d**) e piranoflavílios (**4b-4d**) apresentaram apenas uma banda de emissão. O espectro de absorção foi construído em conjunto ao de emissão e os valores de ambos os dados foram normalizados para

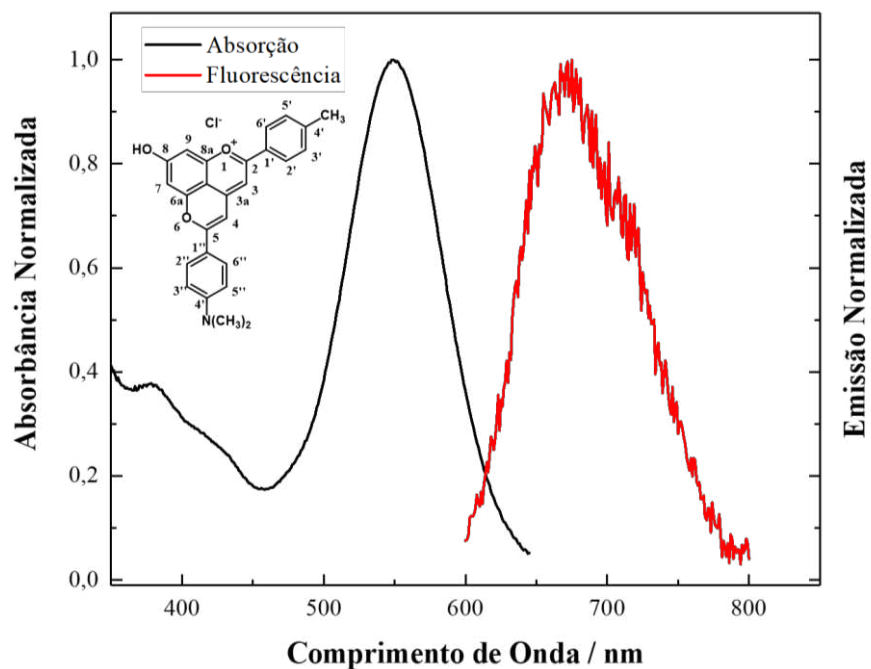
uma melhor visualização dos deslocamentos. Os dados relativos aos comprimentos de onda de emissão de fluorescência ( $\lambda_{Ems}^{Fluor}$ ) estão dispostos na Tabela 3.

Figura 33 – Espectro de emissão de fluorescência do flavílio **3b** (Acetonitrila).



Fonte: O Autor.

Figura 34 – Espectro de emissão de fluorescência do piranoflavílio **4b** (Acetonitrila).



Fonte: O Autor.

**Tabela 3** – Valores de comprimento de onda máximo de emissão de fluorescência dos flavílios e piranoflavílios nos diferentes solventes.

Compostos	$\lambda_{\text{Ems}}^{\text{Fluor}}$ (nm)		
	MeCN	MeOH	iPrOH
3b	580	514	552
3c	585	523	584
3d	579	534	537
4b	669	652	646
4c	705	670	654
4d	675	656	642

**Fonte:** O Autor.

Observações a partir dos dados experimentais mostram um aumento do comprimento de onda de emissão no solvente polar aprótico (MeCN) em relação aos solventes polares próticos (MeOH e iPrOH), tanto para os flavílios quanto para os piranoflavílios, caracterizando um deslocamento batocrômico. A análise dos  $\lambda_{\text{Ems}}^{\text{Fluor}}$  para os solventes pertencentes a uma mesma função orgânica (MeOH e iPrOH), mostrou a ocorrência de um deslocamento hipsocrômico dos valores no solvente menos polar em relação ao mais polar para os flavílios e um deslocamento batocrômico no caso dos piranoflavílios.

A partir dos dados de comprimento de onda de absorção e emissão foi possível calcular o deslocamento de Stokes ( $\Delta\nu$ ) para os flavílios e piranoflavílios. Os valores calculados estão dispostos na Tabela 4.

A estabilização dos estados fundamental e excitados podem ser relacionados ao deslocamento de Stokes por meio do efeito solvatocrômico. Quanto maior o valor de  $\Delta\nu$ , maior será a estabilização do fluoróforo no estado excitado. Tal fato se deve as possíveis interações que ocorrem entre os momentos dipolares do soluto e as moléculas do solvente (NOGUEIRA, 2019). De acordo com a Tabela 4, o maior deslocamento de Stokes ocorre em MeCN, tanto para os flavílios quanto para os piranoflavílios. Tal resultado permite inferir que o estado excitado dos fluoróforos possui estabilização por meio de uma interação dipolo-dipolo com a acetonitrila.

**Tabela 4** – Valores de Deslocamento de Stokes ( $\Delta\nu$ ) dos flavílios e piranoflavílios nos diferentes solventes.

Composto	$\Delta\nu$ (nm)		
	MeCN	MeOH	iPrOH
3b	141	68	136
3c	142	88	83
3d	144	72	131
4b	127	109	88
4c	118	101	90
4d	147	115	99

**Fonte:** O Autor.

Os estudos das propriedades fotofísicas prosseguiram por meio dos cálculos de rendimento quântico para os piranoflavílios. O mesmo ocorreu utilizando cresil violeta como padrão ( $\Phi_{\text{cresil}} = 0,54$  em MeOH). Os dados coletados a partir das medidas estão listados na Tabela 5.

**Tabela 5** – Valores de rendimento quântico ( $\Phi$ ) dos piranoflavílios nos diferentes solventes.

Composto	$\Phi$					
	MeCN		MeOH		iPrOH	
4b	$2,2 \cdot 10^{-3}$	0,22%	$3,7 \cdot 10^{-3}$	0,37%	$2,0 \cdot 10^{-2}$	2,0%
4c	$1,1 \cdot 10^{-3}$	0,11%	$1,8 \cdot 10^{-3}$	0,18%	$1,7 \cdot 10^{-2}$	1,7%
4d	$1,2 \cdot 10^{-3}$	0,12%	$2,5 \cdot 10^{-3}$	0,25%	$9,5 \cdot 10^{-3}$	0,95%

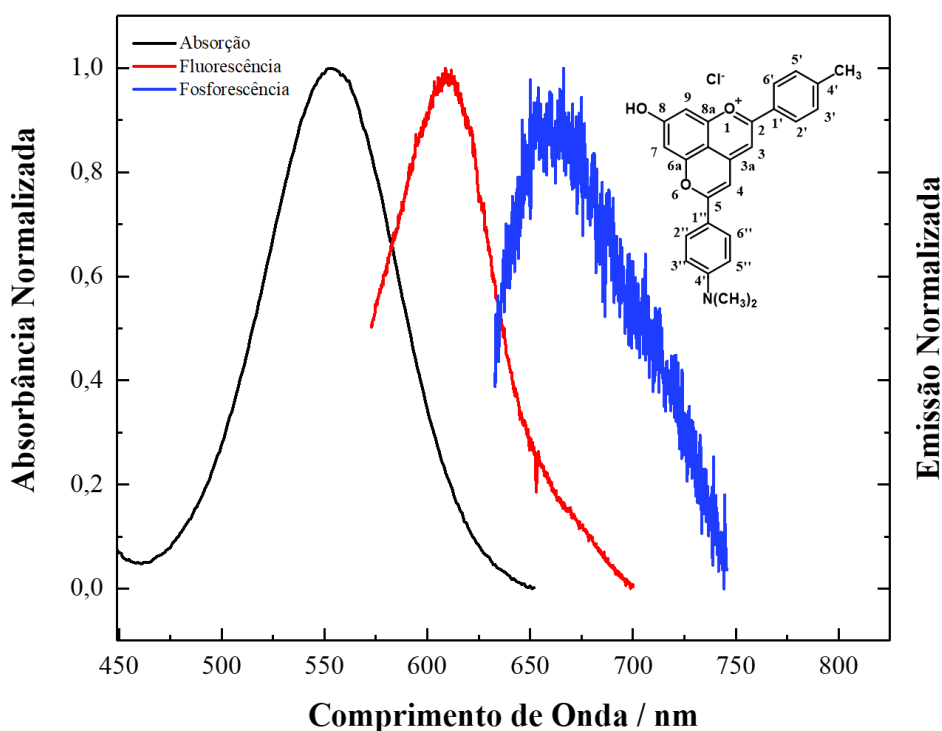
**Fonte:** O Autor.

Os valores de rendimento quântico variam entre 0,11 e 2,0%. Tais valores sugerem que a fotofísica dessas espécies está sendo determinada principalmente por processos não radiativos. Sendo o maior valor obtido quando as medidas foram realizadas em isopropanol. Como este parâmetro representa a eficiência da fluorescência frente às outras formas de desativação do estado excitado, pode-se inferir que os compostos foram mais fluorescentes no solvente menos polar devido a uma menor interação com o mesmo. No que tange a avaliação do efeito do grupo substituinte, é possível observar que maiores valores de rendimento quântico foram alcançados quando o grupo ligado a C4' é o metil (**4b**). Tal efeito pode ser explicado pela maior estabilização do estado simpleto excitado de menor energia em comparação

ao estado tripleto de energia mais próxima, diminuindo a probabilidade de ocorrência de ISC, o qual competiria com a emissão de fluorescência (MAGALHÃES, 2006).

Os espectros de fosforescência dos piranoflavílios apresentaram uma banda única com diferentes valores de comprimento de onda de emissão para cada flavílio. A Figura 35 apresenta os espectros de absorção, fluorescência e fosforescência do piranoflavílio **4b** e os dados para os demais piranoflavílios estão no Apêndice B. As medidas foram realizadas em solução de isopropanol, que foi solidificada pelo resfriamento lento em nitrogênio líquido. Os dados de fosforescência forneceram um deslocamento batocrômico seguindo a ordem CH<sub>3</sub>, F e Br. Um aumento no valor do comprimento de onda de emissão de fosforescência ( $\lambda_{\text{Ems}}^{\text{Fosf}}$ ) sugere uma estabilização do estado tripleto excitado de menor energia (T<sub>1</sub>).

**Figura 35** – Espectro de emissão/ fosforescência do piranoflavílio **4b** (Isopropanol).



Fonte: O Autor.

#### 4. CONCLUSÃO

Os sais de flavílio (**3b-3d**) e piranoflavílios (**4b-4d**), foram estudados e tiveram suas propriedades fotofísicas caracterizadas.

As medidas de absorção permitiram inferir a estabilização do estado fundamental ( $S_0$ ) baseado na provável interação de cada corante com o solvente empregado. Além disso, o grupo substituinte ligado a C4' mostrou ter influência apenas sobre o espectro de absorção dos piranoflavílios, sendo que o caráter doador ou aceptor do grupo ocasionou deslocamentos nos  $\lambda_{\text{max}}$ . Tanto para os sais de flavílio como para os de piranoflavílio, os valores de absorvidade molar indicaram transições de alta energia para a maioria dos compostos. No entanto, não foi possível estabelecer uma tendência geral entre  $\epsilon_{\text{max}}$  e a natureza do solvente ou do substituinte.

Tanto para os flavílios quanto para os piranoflavílios, observou-se um deslocamento batocrômico dos comprimentos de onda de emissão de fluorescência ( $\lambda_{\text{Ems}}^{\text{Fluor}}$ ) em MeCN. A análise dos  $\lambda_{\text{Ems}}^{\text{Fluor}}$  para os solventes polares próticos (MeOH e iPrOH), mostrou diferentes efeitos solvatocrômicos para os sais de flavílio e piranoflavílio.

O maior deslocamento de Stokes ocorreu em MeCN, tanto para os flavílios quanto para os piranoflavílios. Tal resultado permite inferir que o estado excitado dos fluoróforos possui estabilização por meio de uma interação dipolo-dipolo com a acetonitrila.

Os valores de rendimento quântico variam entre 0,11 e 2,0%. Tais valores sugerem que a fotofísica das espécies estudadas está sendo determinada principalmente por processos não radiativos. Os corantes estudados foram mais fluorescentes no solvente menos polar (iPrOH) devido a uma menor interação com o mesmo. Maiores valores de rendimento quântico foram alcançados para a piranoflavílio **4b**, contendo grupo metil em C4'.

Estudos anteriores realizados pelo grupo de pesquisa do prof. Frank Quina, comprovaram a não fosforescência dos sais de flavílio para vários substituintes. Diante disso, foram realizadas medidas dessa propriedade apenas para os piranoflavílios, sendo observado um deslocamento batocrômico seguindo a ordem CH<sub>3</sub>, F e Br.

## CAPÍTULO 3

### ESPECIAÇÃO DOS SAIS DE FLAVÍLIO E PIRANOFILAVÍLIO

#### 1. INTRODUÇÃO

As propriedades químicas, físicas e biológicas dos compostos orgânicos, esboçam uma relação com o comportamento ácido-base dos mesmos. Tais informações são de grande utilidade para o desenvolvimento de novos produtos para a indústria química e biológica (SAYGILI *et al.*, 2015). Uma vez em solução, espécies que apresentam propriedades ácido-base possuem a forma ácida em equilíbrio com sua base conjugada. A medida da força do ácido ou da base pode ser representada por meio do valor do pKa, conhecido como constante de ionização, constante de dissociação ácida ou constante de acidez. Os valores de pKa relacionam-se ao pH por meio do grau de ionização das moléculas quando varia-se esse último parâmetro, sendo que, o valor de pH em que estão presentes no meio 50% de espécies na forma protonada e 50% na desprotonada, corresponde ao pKa do composto estudado (ATKINS; JONES, 2006 ; MEDEIROS, 2013)

Existem diversas técnicas para determinação do valor de pKa, sendo que destacam-se a eletroforese capilar, a cromatografia líquida acoplada a espectrofotometria, a titulação potenciométrica e a espectrofotometria UV-Vis, sendo necessário para as medidas uma variação do pH e de um parâmetro que seja alterado com a mudança do estado de ionização da molécula (PEREIRA *et al.*, 2011; MEDEIROS, 2013). Neste trabalho, as medidas foram realizadas por meio da espectrofotometria UV-Vis.

A espectrofotometria UV-Vis é uma alternativa para determinações de pKa de substâncias que apresentam baixa solubilidade em água, sendo necessário para que a técnica seja eficiente uma concentração de  $10^{-6}$  mol.L<sup>-1</sup> da espécie em água. Além disso, para que a técnica seja bem sucedida, é necessário que a porção do cromóforo esteja próxima a região que será ionizada, de modo a gerar uma variação espectral entre as formas molecular e ionizada quando houver variação de pH (PEREIRA *et al.*, 2011; MEDEIROS, 2013).

Para obtenção do valor de pKa por meio da espectrofotometria UV-Vis é necessário fazer medidas de absorção do composto em solução em diferentes valores

de pH e, em seguida, o valor de pKa pode ser obtido por meio do gráfico de absorvância versus pH, onde o ponto de inflexão irá fornecer o valor de pKa. Ainda por meio deste gráfico, pode-se usar os métodos das derivadas em que o máximo ou mínimo da curva na primeira derivada fornece o valor de pKa, já na segunda derivada esse valor é obtido pelo ponto onde ocorre mudança no sinal da curva de positivo para negativo. Outra forma é por meio gráfico de  $\text{pH} \times \log\{(A - A_a)/(A_b - A)\}$ , onde  $A_a$  é a absorvância da espécie ácida,  $A_b$  é a absorvância da espécie básica, e  $A$  é a absorvância total da mistura para um dado pH. Neste último o valor do coeficiente linear irá fornecer o valor de pKa. Pode-se também utilizar equação de Henderson-Hasselbalch modificada por meio da junção com a Lei de Lambert-Beer que, após rearranjos, resulta na equação  $\text{pKa} = \text{pH} - \log\{(A - A_a)/(A_b - A)\}$ . Por fim, pode-se construir um gráfico de distribuição das espécies e o valor de pKa é dado pelo ponto isobéstico ou isoabsortivo, que é onde as curvas correspondentes às espécies se cruzam, sendo esta a maneira utilizada para obtenção do pKa neste trabalho (FERNANDES PREVIDELLO *et al.*, 2006; ADAIME; ZANELLA, 2009; PEREIRA *et al.*, 2011).

### 1.1. Efeito do pH sobre as antocianinas

A instabilidade das antocianinas frente às variações de pH é a principal dificuldade encontrada para utilização e processamento das mesmas (LOPES *et al.*, 2007). Em meio aquoso as antocianinas apresentam-se como diversas espécies químicas em equilíbrio (Esquema 19), sendo elas o cátion flavílio, a base quinoidal, hemiacetal e a chalcona (LOPES *et al.*, 2007; CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009).

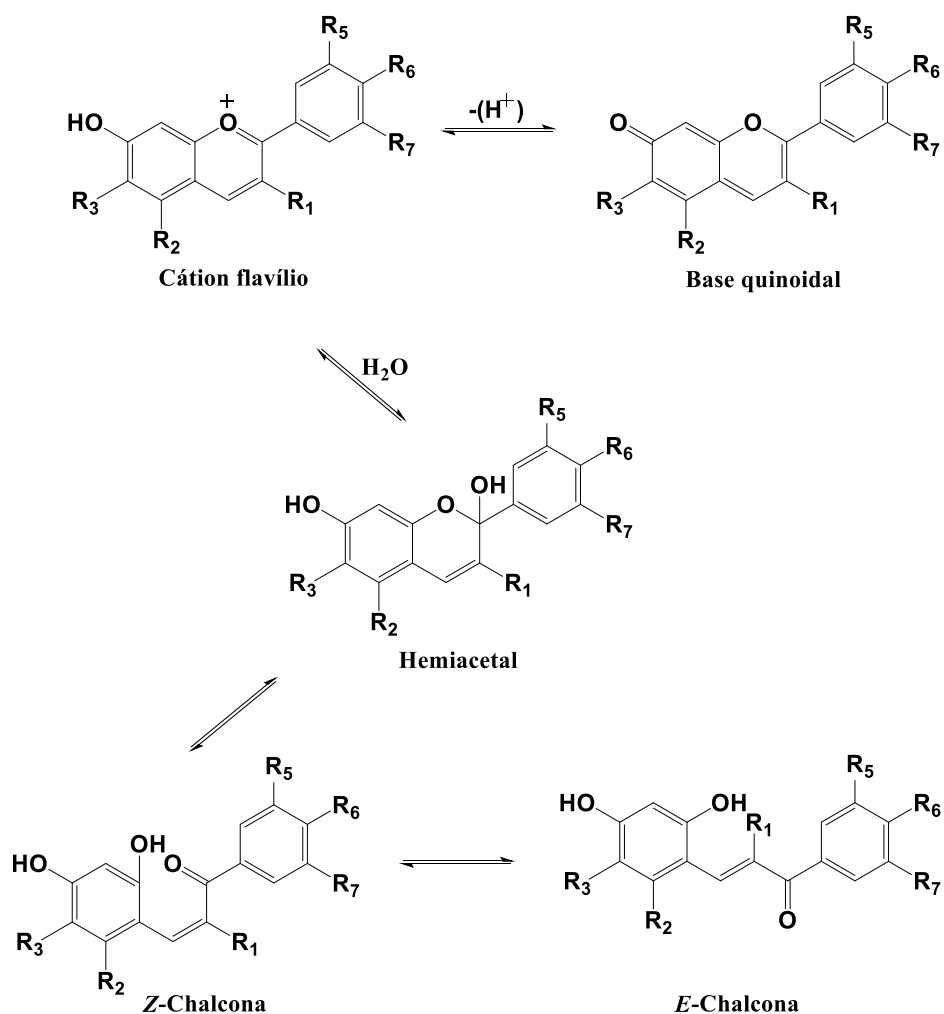
Quando o pH apresenta valores menores que 2, a espécie que predomina é o cátion flavílio. Em pH superior a 2, há predomínio da forma quinoidal, devido a desprotonação da espécie catiônica. As formas hemiacetal e chalcona prevalecem em equilíbrio tautomérico no meio aquoso devido a hidratação do cátion flavílio (LOPES *et al.*, 2007). Em uma faixa de pH entre 4 e 6, quando possível, haverá coexistência das quatro espécies supracitadas (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009). Em pH 7, pode ocorrer a fissão do anel da espécie quinoidal levando a formação da chalcona (LOPES *et al.*, 2007). Além disso, neste valor de pH, a natureza do grupo substituinte pode influenciar para que as antocianinas sejam degradadas (CASTAÑEDA-

OVANDO *et al.*, 2009). A formação das espécies em equilíbrio em solução aquosa pode ser observada no Esquema 19.

A velocidade para que o equilíbrio se estabeleça entre as várias espécies em solução é variável. Para o equilíbrio ácido-base cátion flavílio – base quinoidal o intervalo de tempo é de microssegundos a nanossegundos; já a formação do hemiacetal devido a hidratação do cátion flavílio pode levar de segundos a minutos; a formação da *Z*-chalcona a partir do hemiacetal pode levar de minutos a horas; e, por fim, a isomerização de *Z* para *E*-chalcona pode ocorrer em um intervalo de tempo de horas a dias (FREITAS *et al.*, 2010; CAICONTE, 2012).

A absorção em comprimentos de onda na faixa UV-Vis é observada apenas para o cátion flavílio e para a base quinoidal, sendo que as bandas da última espécie aparecem em maiores  $\lambda_{\max}$ . A forma hemiacetal absorve em comprimentos de onda no intervalo de 260-280 nm, sendo isto resultado de uma menor conjugação dessa espécie em relação ao cátion flavílio, ocasionada pela hidratação durante a formação do hemiacetal. Já as chalconas absorvem radiação eletromagnética entre 300 e 360 nm (FREITAS, 2005; CAICONTE, 2012).

Esquema 19 – Equilíbrio das antocianinas em solução aquosa



Fonte: Adaptado de (LOPES *et al.*, 2007)

A possibilidade de formação de diferentes espécies químicas devido a variação de pH faz das antocianinas moléculas com potencial para a utilização na indústria das embalagens inteligentes monitoras de frescor, uma vez que esse tipo de embalagem utiliza da mudança de cor da embalagem quando há variação no pH durante a degradação do alimento (QIN *et al.*, 2019; YONG *et al.*, 2019; JIANG *et al.*, 2020).

Diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos a fim de estudar o potencial das antocianinas em embalagens inteligentes com sensores para frescor. Um dos exemplos da aplicação dessas moléculas para o fim supracitado foi realizado por Yong *et al.* (2019) e Jiang *et al.* (2020) onde ambos grupos de pesquisadores utilizaram antocianinas extraídas da batata-roxa (*Solanum tuberosum*). O primeiro grupo

incorporou o composto fenólico em quitosana para criar um filme indicador de frescor. O segundo grupo produziu uma película indicadora de pH para monitorar o frescor de peixes, por meio da adição das antocianinas em matriz de carboximetilcelulose e amido. Outro exemplo foi o trabalho realizado por Ebrahimi Tirtashi *et al.*(2019), os quais desenvolveram um indicador colorimétrico incorporando antocianinas da cenoura preta (*Daucus carota* L.) em uma matriz de celulose e quitosana. Zhang *et al.* (2019) também desenvolveram pesquisas voltadas para a formulação de embalagens inteligentes para sensores de frescor, utilizando antocianinas da rosélia (*Hibiscus sabdariffa*) adicionadas à matriz de amido e álcool polivinílico para desenvolver um filme de frescor para carne de porco.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

A especiação dos sais de flavílio e piranoflavílio foi realizada em colaboração com o grupo do Prof. Frank Herbert Quina da Universidade de São Paulo (USP).

Realizou-se a especiação dos compostos através da comparação dos espectros de absorção no UV-Vis em diferentes valores de pH (FREITAS, ADILSON A. *et al.*, 2006). Para tal, uma solução estoque foi preparada adicionando o sal de flavílio ou piranoflavílio em 1 mL de metanol com concentração final próxima a  $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ . As medidas da absorbância foram realizadas diluindo-se de 5 a 10  $\mu\text{L}$  da solução estoque a 2 mL da solução de pH determinado. Para o branco, foram utilizadas as soluções de pH correspondente a cada medição, sem a presença do composto no meio. As medições ocorreram prontamente após o preparo da solução estoque. Os valores de pH de trabalho variaram de 2 a 8.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

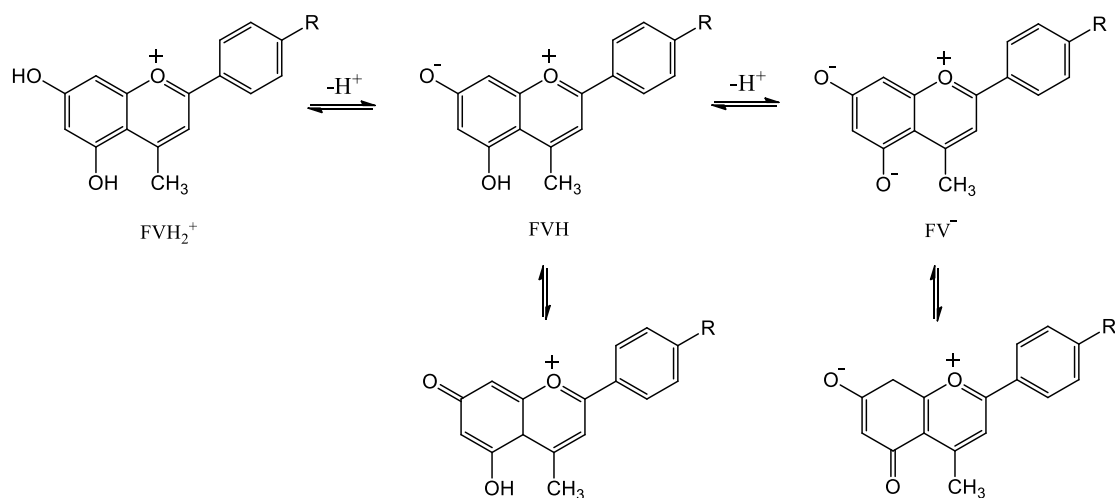
A partir da observação dos espectros de cada flavílio (**3a-3d**) e piranoflavílio (**4a-4d**) foi construída a Tabela 6, contendo os valores de  $\lambda_{\max}$  para cada espécie presente no meio com a variação do pH.

**Tabela 6** – Comprimentos de onda máximo de absorção de cada espécie presente em solução.

Compostos	$\lambda_{\max}$ (nm)			
	$FVH_2^+$		FVH	$FV^-$
<b>3a</b>	403	450	479	413
<b>3b</b>	388	439	475	409
<b>3c</b>	381	435	466	407
<b>3d</b>	387	443	468	390
	$PRH^+$		PR	
<b>4a</b>	534		467	
<b>4b</b>	534		461	
<b>4c</b>	530		453	
<b>4d</b>	533		456	

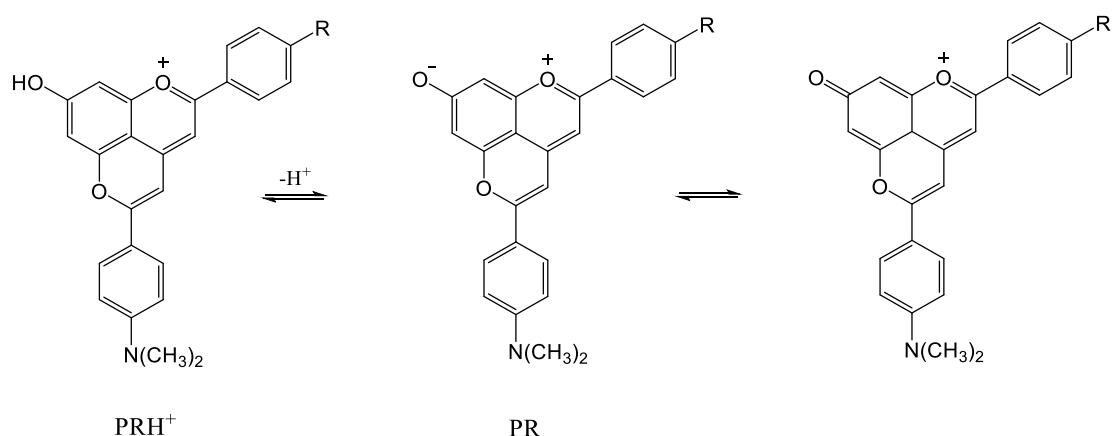
**Fonte:** O Autor.

Observa-se para **3a-3d**, em menores valores de pH, máximos de absorção por volta de 381–403 nm e 435–450 nm, sendo estes comprimentos de onda correspondentes à espécie cátion flavílio protonado ( $FVH_2^+$ ). Com o aumento do pH do meio, é possível observar uma diminuição na intensidade destas bandas de absorção e formação de uma nova banda com máximo que varia entre 466 e 479 nm. Atribui-se essa banda à presença da base quinoidal neutra (FVH). A contínua elevação do pH mostrou a formação de mais uma espécie com máximo de absorção na faixa de 390–413 nm, sendo esta banda correspondente à base quinoidal ionizada ( $FV^-$ ) (CAICONTE, 2012). O Esquema 20 ilustra as espécies formadas devido ao equilíbrio ácido-base consequente da variação de pH.

**Esquema 20** – Espécies presentes em equilíbrio com a variação do pH (**3a-3d**).

Fonte: O Autor.

No que tange **4a-4d**, nota-se um máximo de absorção na região entre 530 e 534 nm, sendo esta banda de absorção atribuída ao cátion piranoflavílio (PRH<sup>+</sup>). Com o aumento do valor de pH, nota-se a diminuição da intensidade da banda correspondente ao cátion piranoflavílio e formação de uma nova banda com máximos entre 453 a 467 nm, correspondente a base quinoidal (PR), formada devido à perda de um próton pela hidroxila presente no anel A. As estruturas das espécies presentes em equilíbrio no meio são mostradas no Esquema 21.

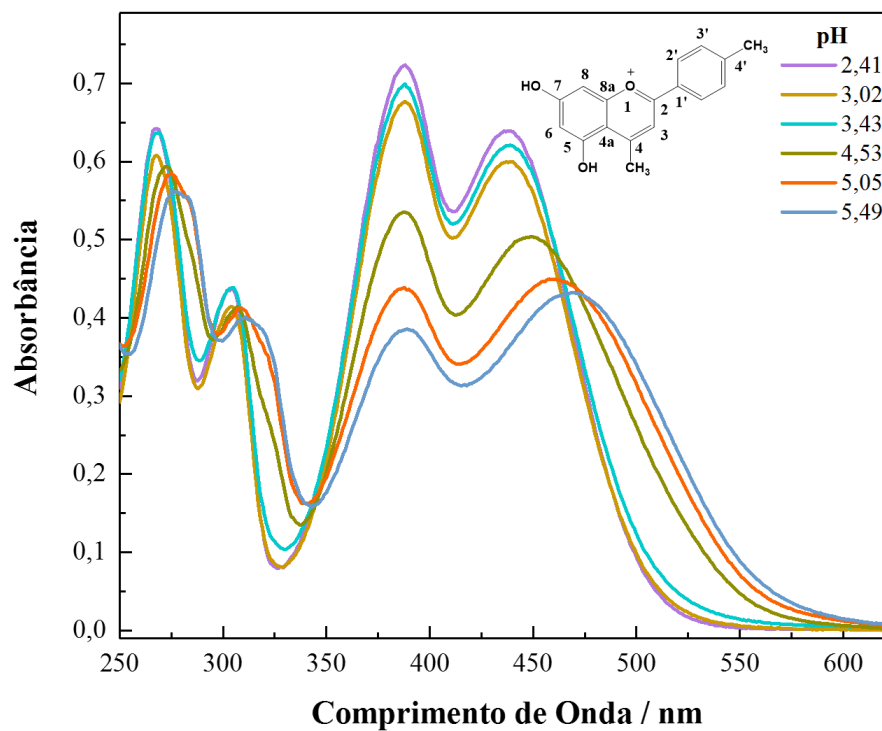
**Esquema 21** – Espécies presentes em equilíbrio com a variação do pH (**4a-4d**).

Fonte: O Autor.

Para todos os compostos não foram observadas bandas referentes às espécies hemiacetal e chalconas, tal fato se deve a presença das substituições em C4 que impedem que ocorra hidratação da molécula (CAICONTE, 2012). Exemplo dos

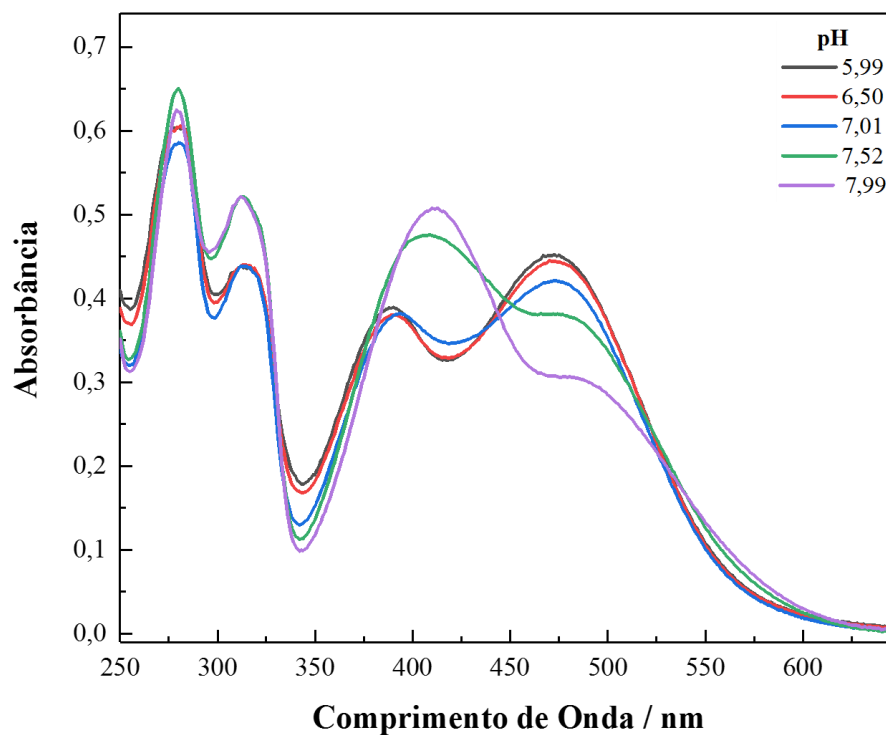
espectros de absorção dos sais de flavílio e piranoflavílio são mostrados nas Figuras 36–38. Os demais espectros encontram-se no Apêndice C.

**Figura 36** – Espectro de absorção de **3b** entre pH 2,41 e 5,59 a 25 °C.



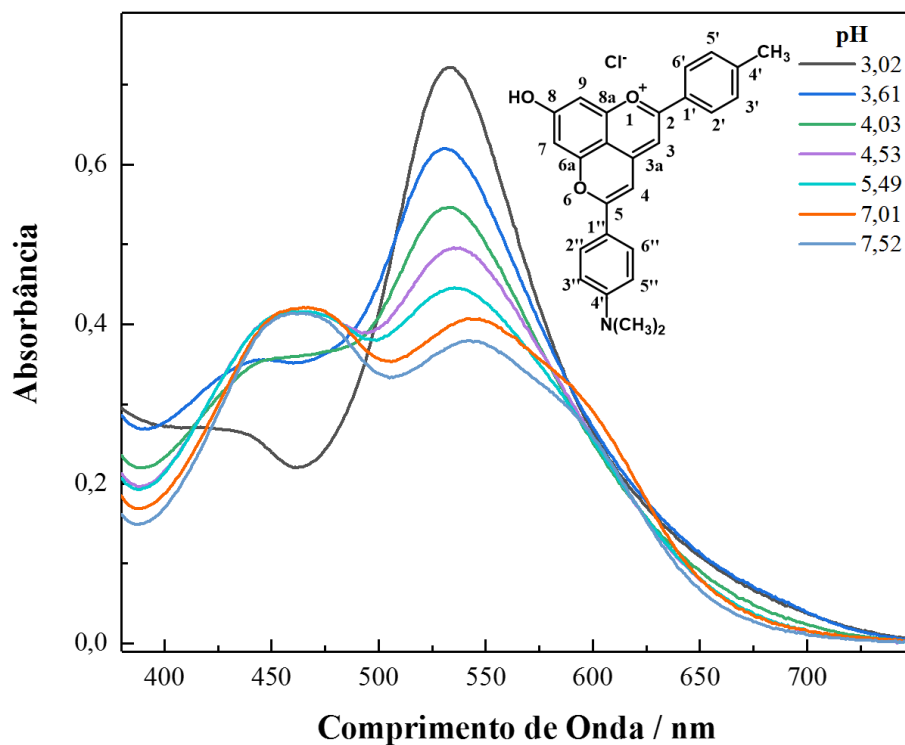
Fonte: O Autor.

**Figura 37** – Espectro de absorção de **3b** entre pH 5,99 e 7,99 a 25 °C.



Fonte: O Autor.

**Figura 38** – Espectro de absorção de **4b** entre pH 3,02 e 7,52 a 25 °C.



Fonte: O Autor.

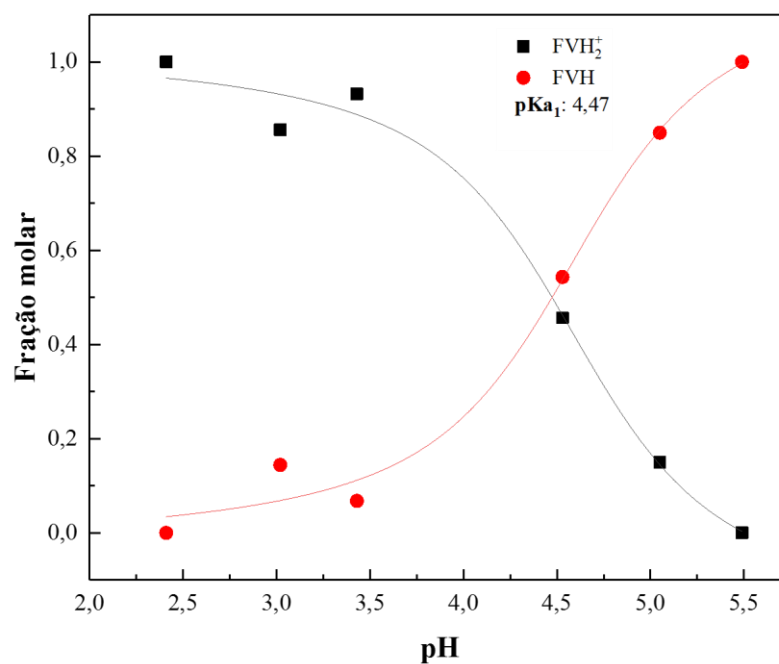
Por meio dos gráficos que correlacionam a variação das frações molares das espécies em equilíbrio em função do pH, foram determinados o valor de pKa. Os mesmos estão dispostos na Tabela 7. As Figuras 39–40 apresentam os gráficos obtidos para o flavílio **3b**, mostrados no corpo do texto para fins de exemplificação. Os gráficos obtidos para os demais compostos podem ser encontrados no Apêndice C.

**Tabela 7** – Valores de pKa encontrados para cada sal de flavílio e piranoflavílio.

<b>Compostos</b>	<b>pKa<sub>1</sub></b>	<b>pKa<sub>2</sub></b>
<b>3a</b>	4,74	7,60
<b>3b</b>	4,47	7,53
<b>3c</b>	4,60	7,35
<b>3d</b>	3,81	7,78
<b>4a</b>	3,55	-
<b>4b</b>	4,07	-
<b>4c</b>	3,83	-
<b>4d</b>	4,57	-

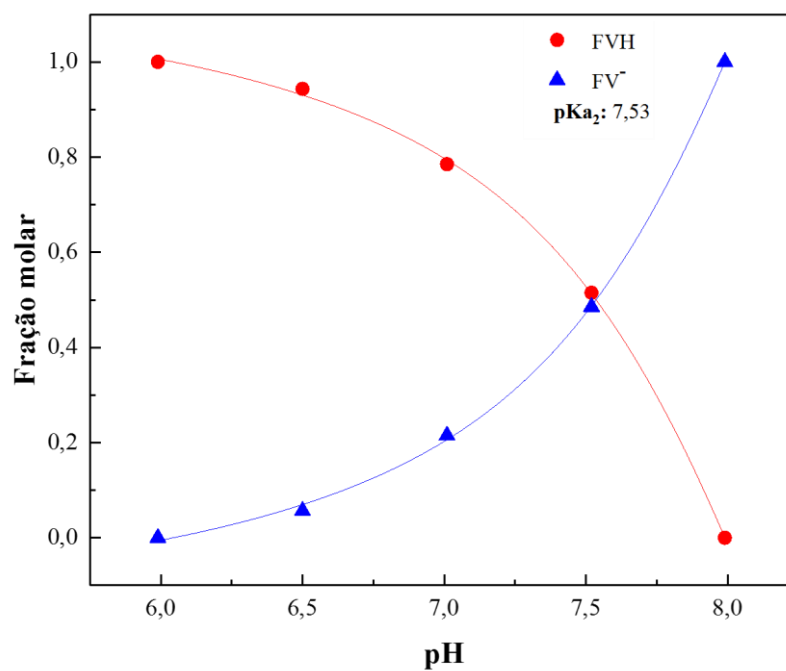
**Fonte:** O Autor.

**Figura 39** – Variação da fração molar do cátion flavílio protonado ( $\text{FVH}_2^+$ ) e da base quinoidal neutra (FVH) para **3b** em função do pH, a 25 °C.



Fonte: O Autor.

**Figura 40** – Variação da fração molar da base quinoidal neutra (FVH) e da base quinoidal ionizada ( $\text{FV}^-$ ) para **3b** em função do pH, a 25 °C.



Fonte: O Autor.

Para os sais de flavílio, aquele substituído com Br em C4' (**3d**), apresenta o menor valor de  $pK_{a1}$ . Logo, isso pode caracterizar uma melhor estabilização da base quinoidal neutra (FVH) pelo átomo de bromo. Já o menor valor de  $pK_{a2}$  foi apresentado para **3c**, indicando uma possível melhor estabilização da base quinoidal ionizada (FV<sup>-</sup>) devido a presença do substituinte flúor em C4'. No caso dos piranoflavílios, o menor valor de  $pK_a$  foi obtido quando o grupo OCH<sub>3</sub> está ligado a C4' (**4a**), o que pode estar relacionado a uma maior estabilidade da base quinoidal (PR), formada devido a perda do próton pela hidroxila no anel A.

#### 4. CONCLUSÃO

Foi realizada a especificação dos sais de flavílio e piranoflavílio e os valores de pKa para cada espécie foram determinados.

Os sais de flavílio apresentaram em seus espectros de absorção bandas referentes às espécies cátion flavílio protonado ( $FVH_2^+$ ), base quinoidal neutra (FVH) e base quinoidal ionizada ( $FV^-$ ). Logo, os compostos **3a-3d** apresentaram dois valores de pKa. Os valores de pKa<sub>1</sub> variaram entre 3,81 e 4,74, sendo o menor valor encontrado quando o bromo era o substituinte ligado a C4' no anel B (**3d**). Os valores de pKa<sub>2</sub> estão entre 7,35 e 7,78, sendo o menor valor pertencente a **3c**, o qual contém o flúor ligado a C4'.

Em relação aos piranoflavílios (**4a-4d**), o espectro de absorção possui duas bandas características que são correspondentes ao cátion piranoflavílio e sua respectiva base quinoidal. Essa série de compostos apresentou apenas um pKa, que se localizava entre 3,55 e 4,57, sendo o menor valor correspondente a **4a**, o qual possui o grupo metoxila ligado a C4'.

Assim como observado por Caiconte (2012), não foram verificadas as bandas referentes ao hemiacetal e chalcona, sendo um dos motivos abordados na literatura para este fato a presença do substituinte na posição C4 do anel C nos flavílios.

Apesar dos resultados interessantes alcançados, devem ser realizados estudos mais aprofundados em relação à faixa de pH adequada para realizar novas medidas, de modo a confirmar se outras espécies podem ou não ser observadas no espectro de absorção devido à mudança do pH.

## CONCLUSÃO GERAL E PERSPECTIVAS

Foram sintetizadas neste trabalho quatro benzoilacetonas (**2a-2d**) com diferentes grupos substituintes. Estas foram precursoras para sínteses de sais de flavílio (**3a-3d**) com variados grupos ligados ao anel B, sendo estes últimos sintetizados com rendimentos que variaram de bons a moderados, demonstrando dessa forma que a rota sintética utilizada foi viável. Os mesmos apresentaram colorações dentro do tom de laranja o que lhes confere potencial para serem usados como corantes.

A partir dos sais de flavílio sintetizados, foram preparados sais de piranoflavílio (**4a-4d**), com rendimentos moderados. São necessários mais estudos relacionados à purificação desses sais, de modo a diminuir as perdas de massa durante este processo. Os compostos apresentaram coloração dentro da faixa de cor púrpura, o que lhes confere grande potencial para serem utilizados na indústria de corantes.

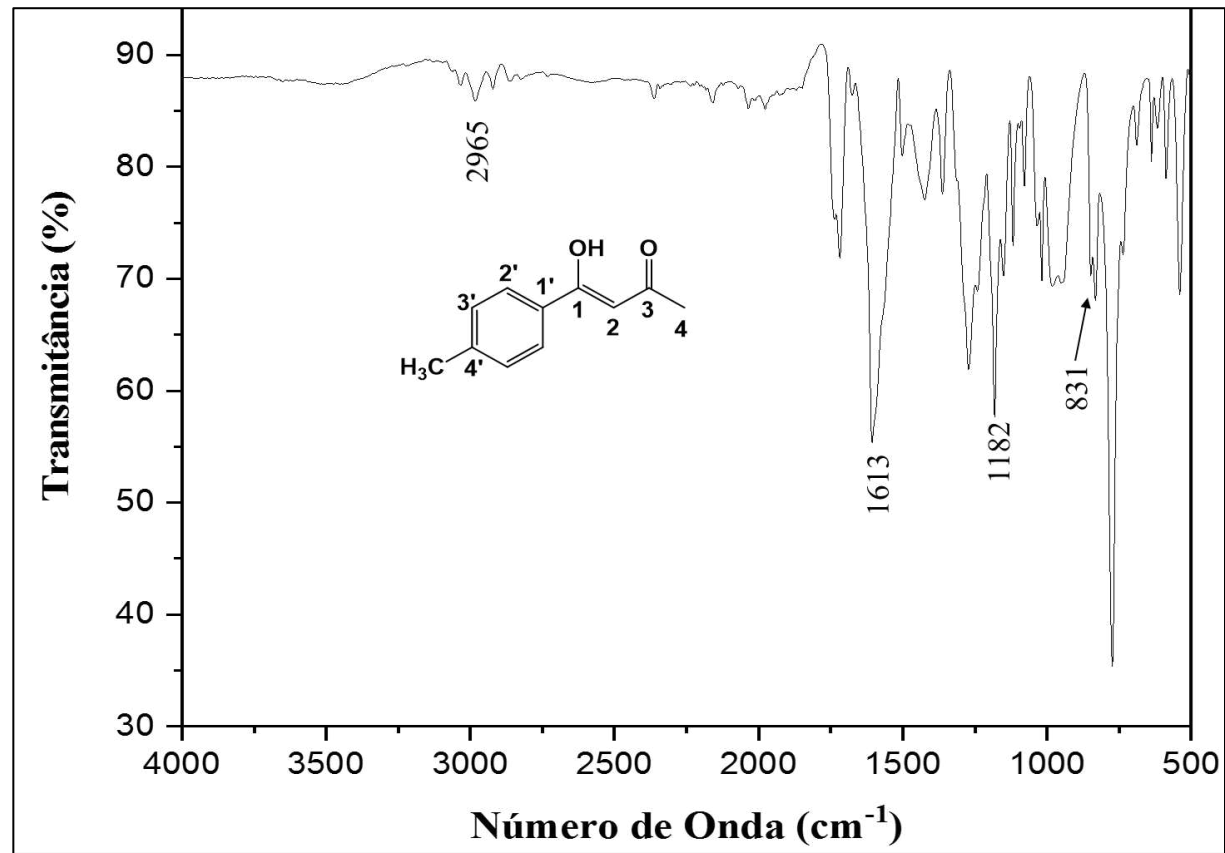
Foi realizada a caracterização fotofísica dos flavílios (**3b-3d**) e piranoflavílios (**4b-4d**) empregando soluções em MeCN, MeOH e iPrOH. Nos solventes testados, o rendimento quântico de fluorescência medido para os sais de piranoflavílio foi baixo, quando comparado ao padrão utilizado (cresil). Assim, novos solventes poderão ser avaliados no futuro a fim de determinar condições ótimas que proporcionem um maior rendimento quântico de fluorescência. Para uma análise e comparação entre flavílios e piranoflavílios, torna-se necessária a medida do rendimento quântico dos sais de flavílio, entretanto, estes dados ainda não foram concluídos.

A especiação confirmou a formação de três espécies em equilíbrio para os sais de flavílio (**3a-3d**) devido a variação de pH e duas espécies para os piranoflavílios (**4a-4d**), indicando, dessa forma, a maior estabilidade da segunda classe de compostos frente a variações de pH.

Além dos dados obtidos nessa pesquisa, novas propostas foram traçadas para os compostos sintetizados. Assim, parcerias estão sendo firmadas a fim de proporcionar a realização de estudos visando uma possível utilização dos piranoflavílios em células solares. Também serão realizados testes citotóxicos com intuito de entender se esses compostos tem potencialidade para serem usados no tratamento de doenças.

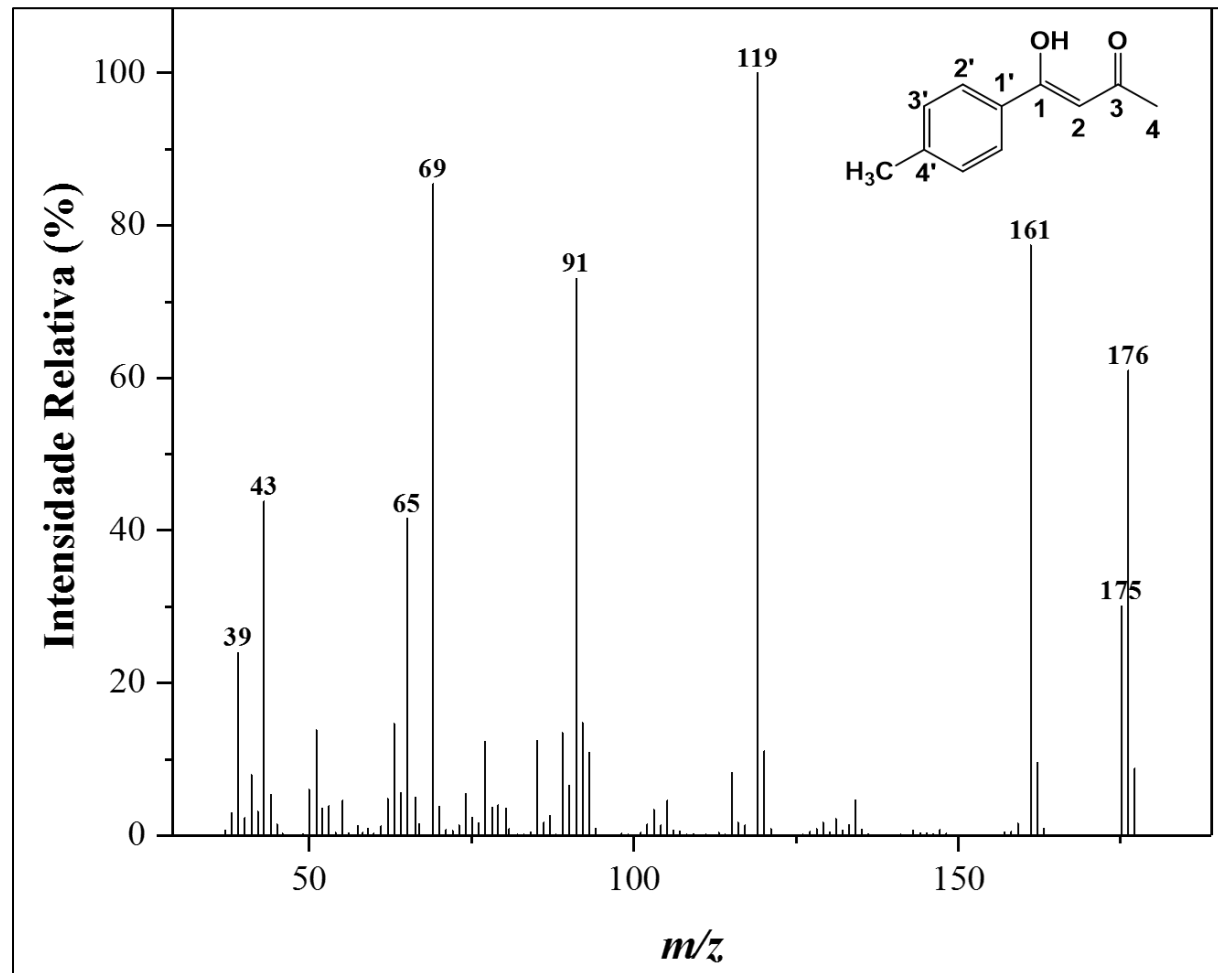
**APÊNDICE A – Espectros de IV, MASSAS E RMN  
dos compostos sintetizados.**

Figura 41 – Espectro no infravermelho (ATR) da benzoilacetona **2b**.



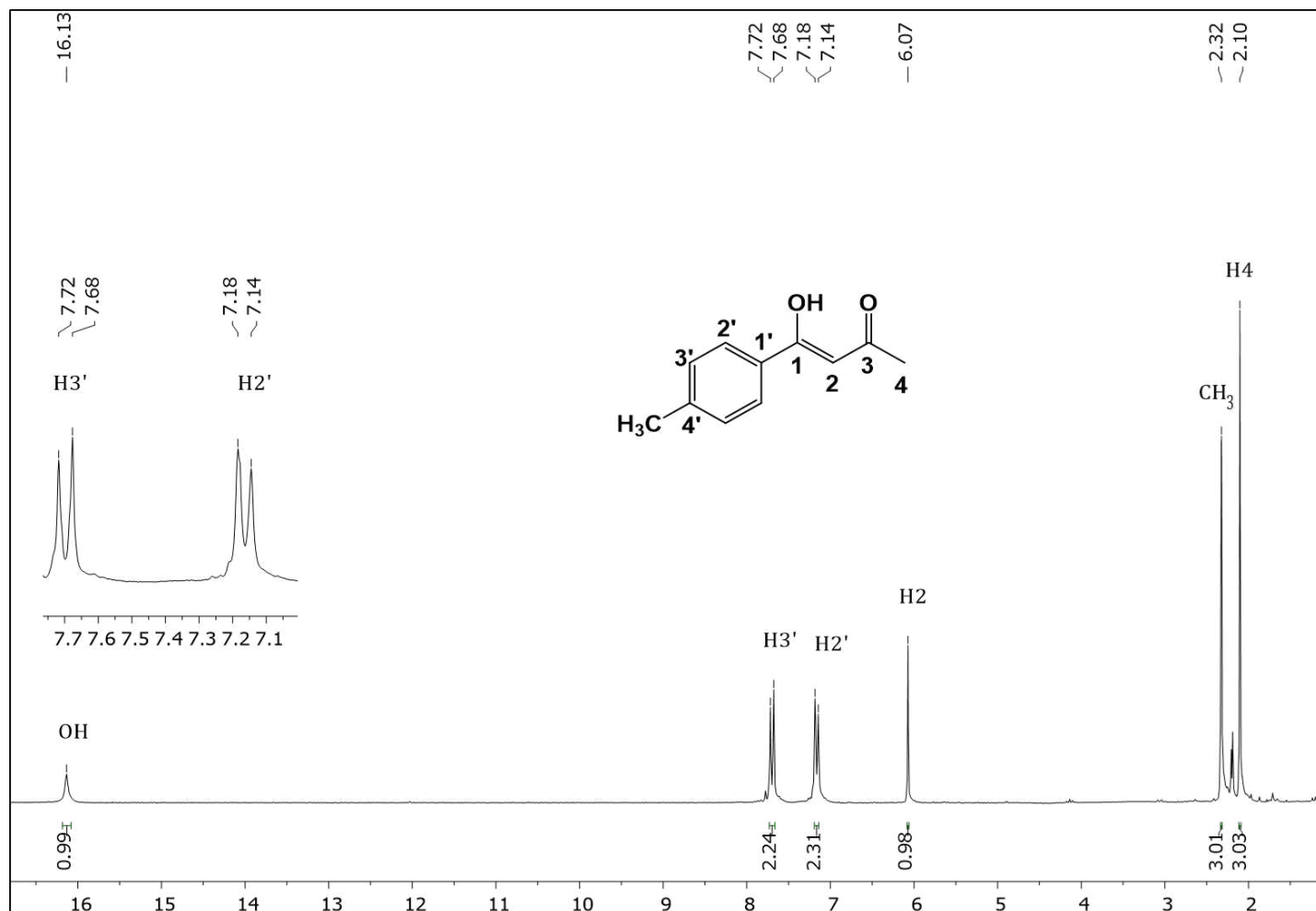
Fonte: O Autor.

Figura 42 – Espectro de massas da benzoilacetona 2b.



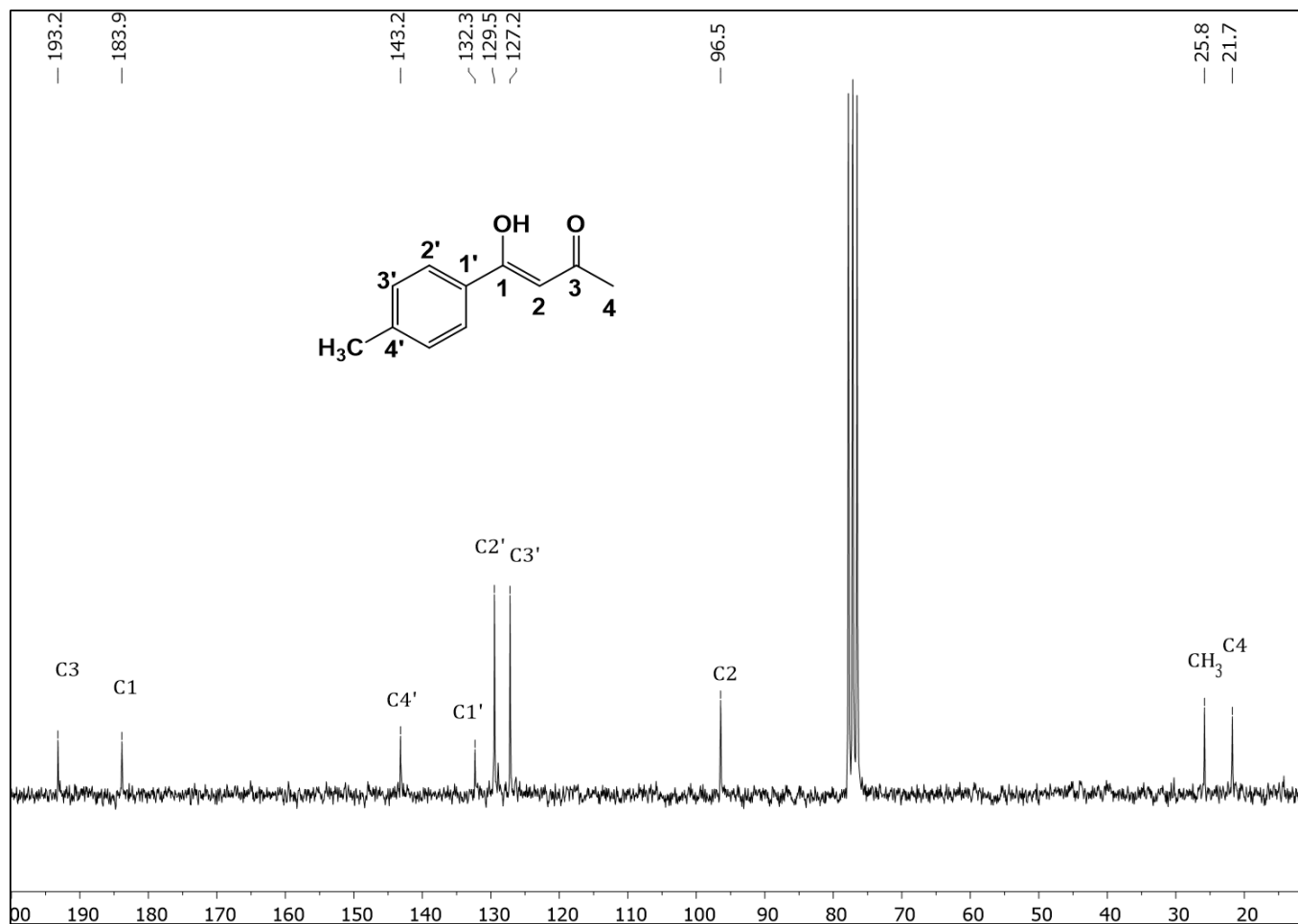
Fonte: O Autor.

Figura 43 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  benzoilacetona **2b** (Clorofórmio- $d_1$ , 200MHz).



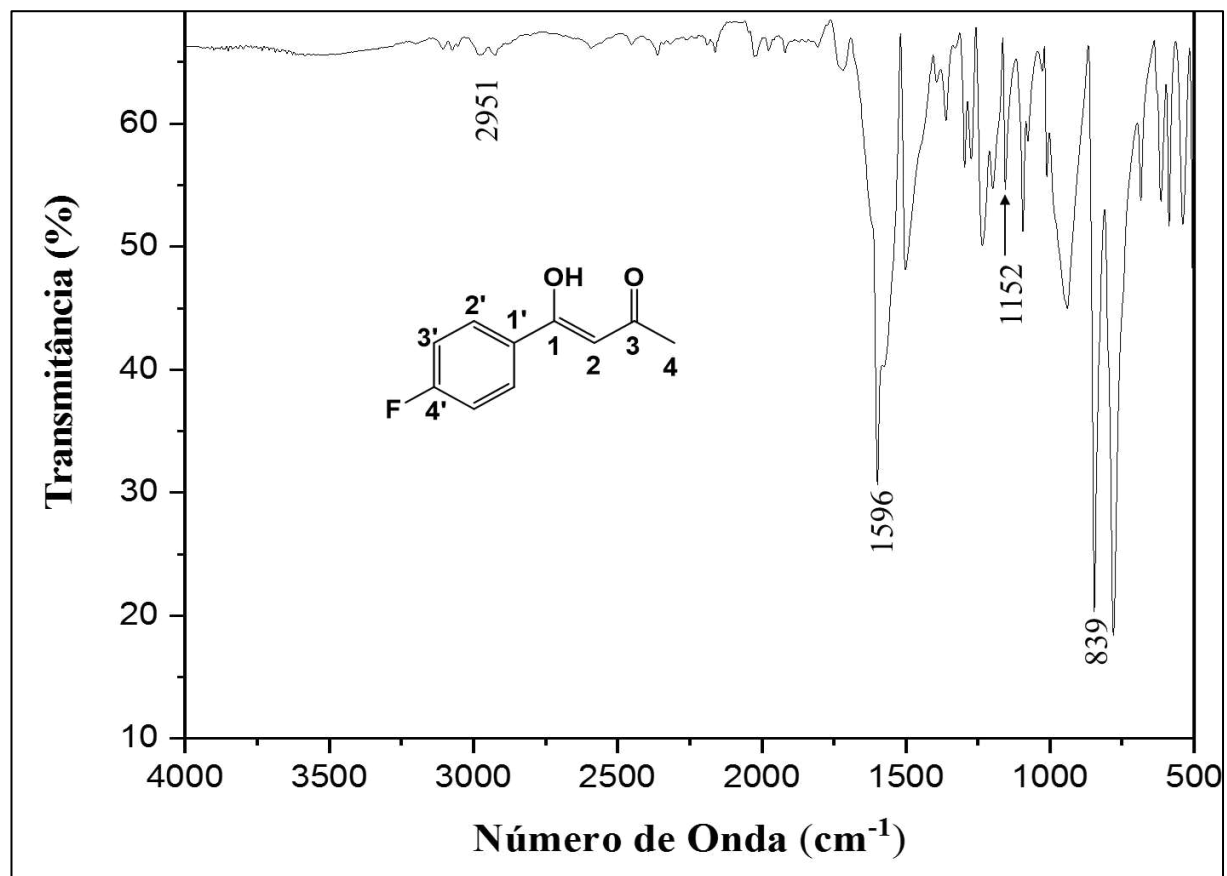
Fonte: O Autor.

Figura 44 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  benzilacetona **2b** (Clorofórmio- $d_1$ , 50MHz).



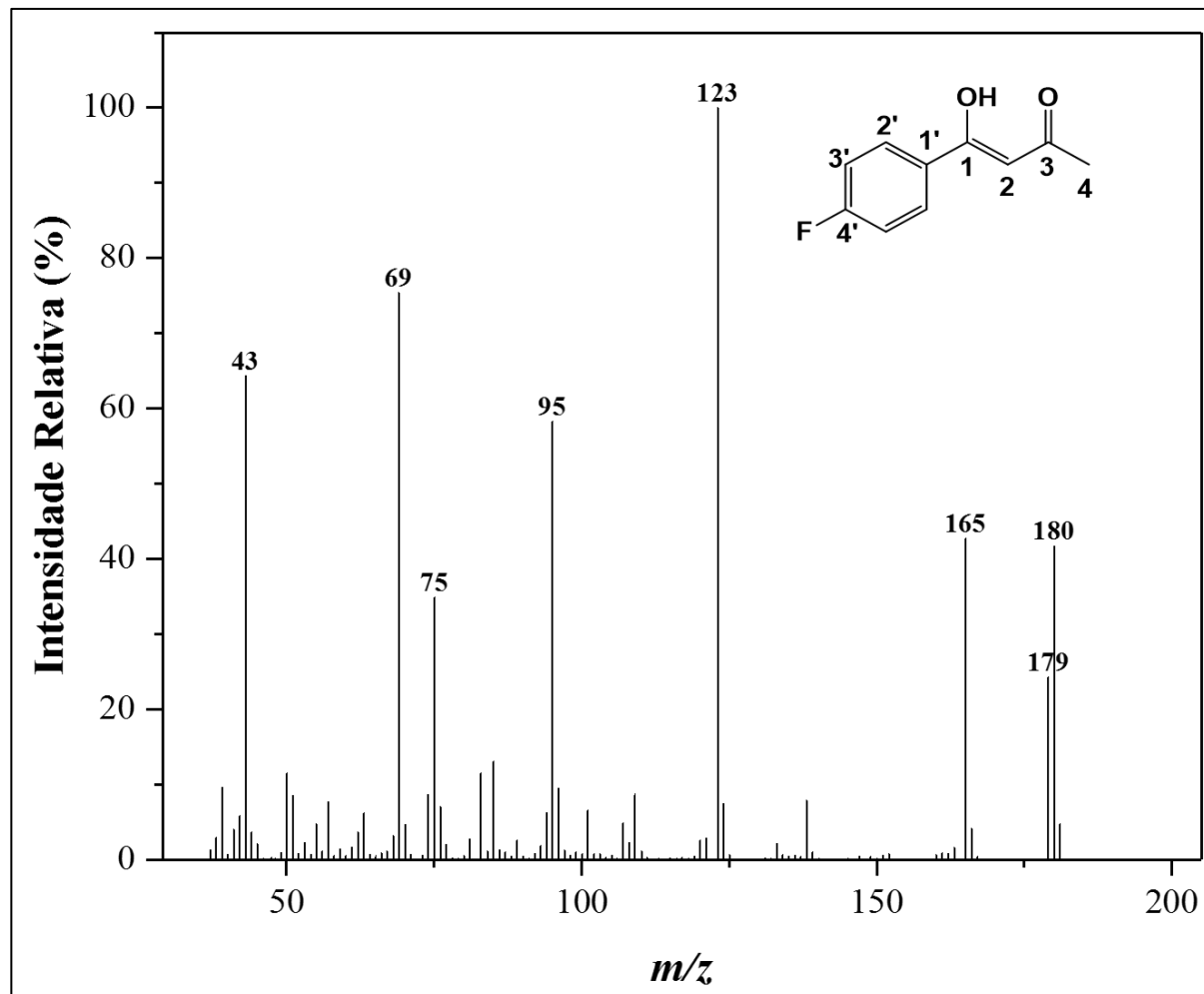
Fonte: O Autor.

Figura 45 – Espectro no infravermelho (ATR) da benzoilacetona 2c.



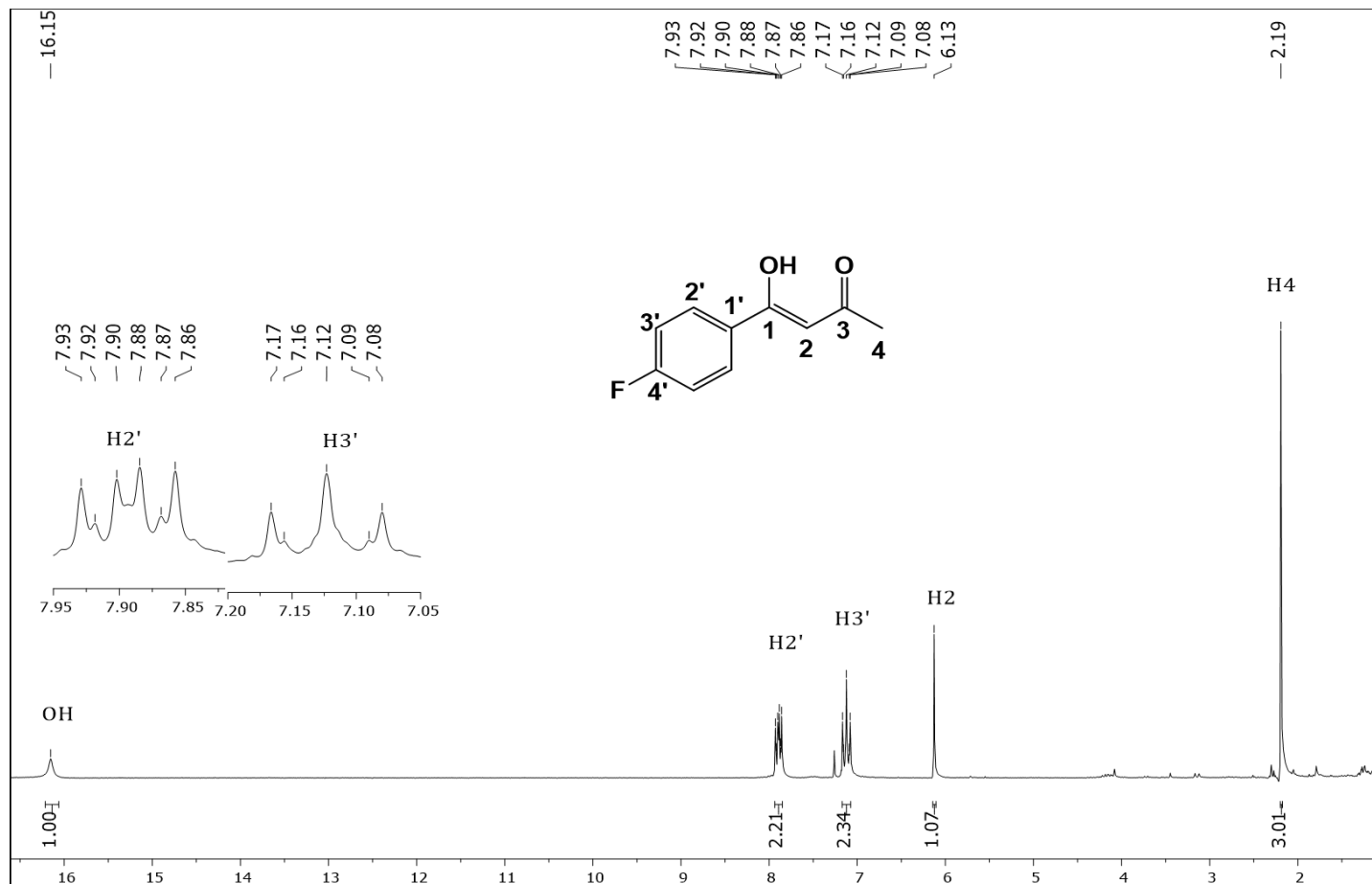
Fonte: O Autor.

Figura 46 – Espectro de massas da benzoilacetona 2c.



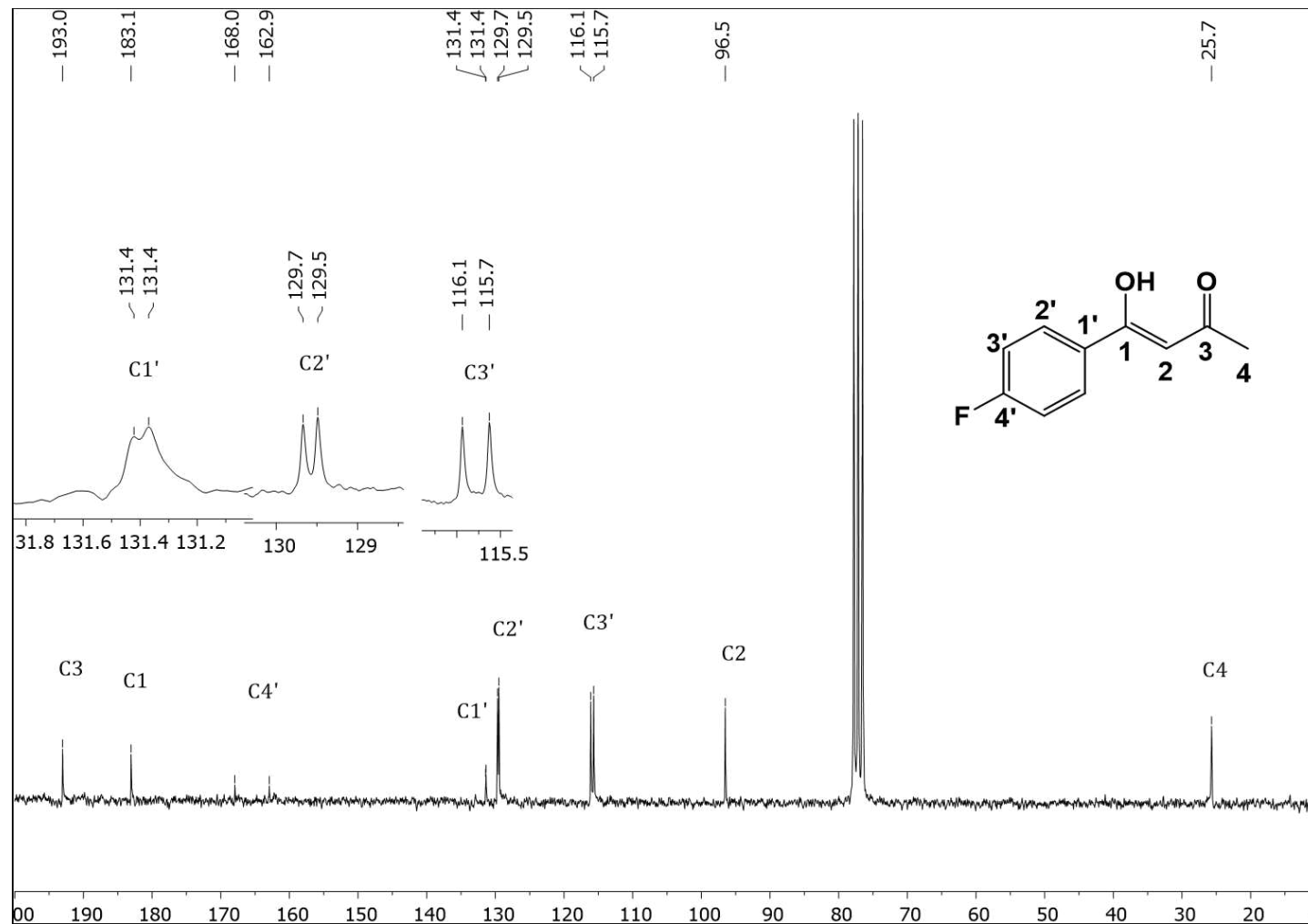
Fonte: O Autor.

Figura 47 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  benzoilacetona **2c** (Clorofórmio- $d_1$ , 200MHz).



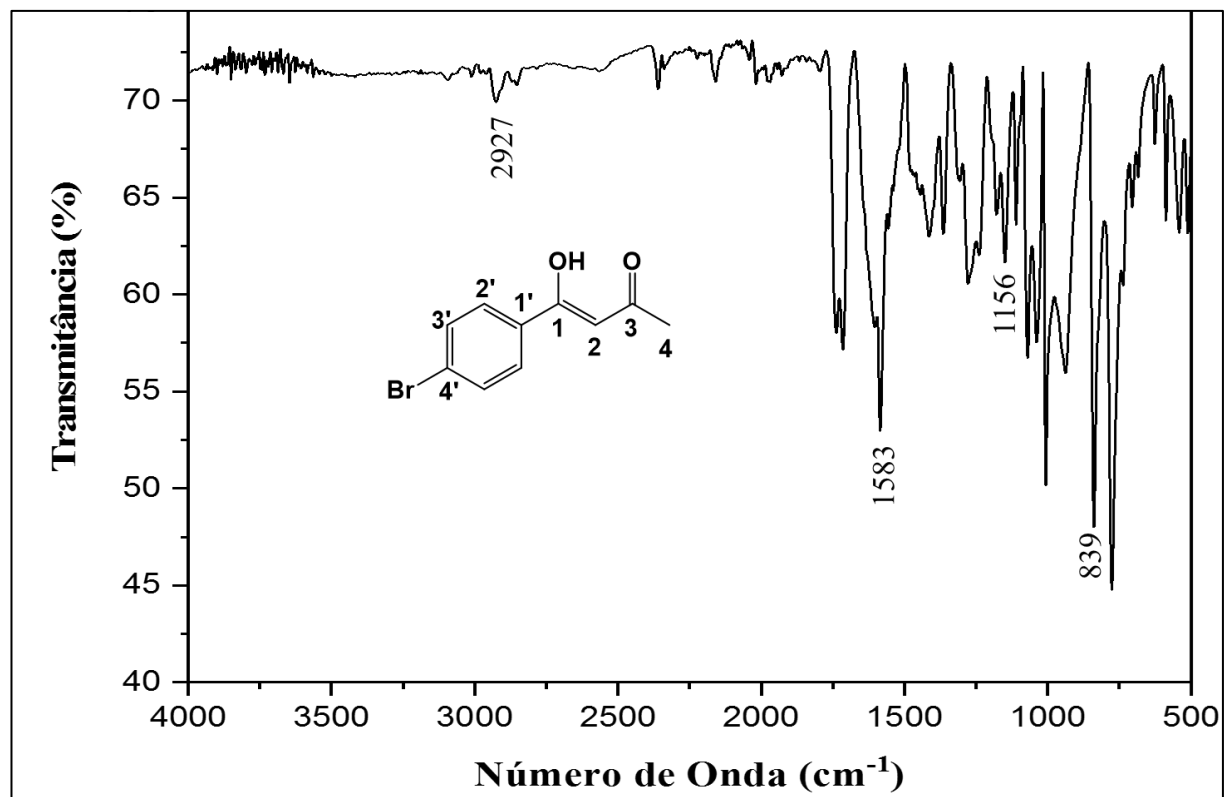
Fonte: O Autor.

Figura 48 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  benzoilacetona **2c** (Clorofórmio- $d_1$ , 50MHz).



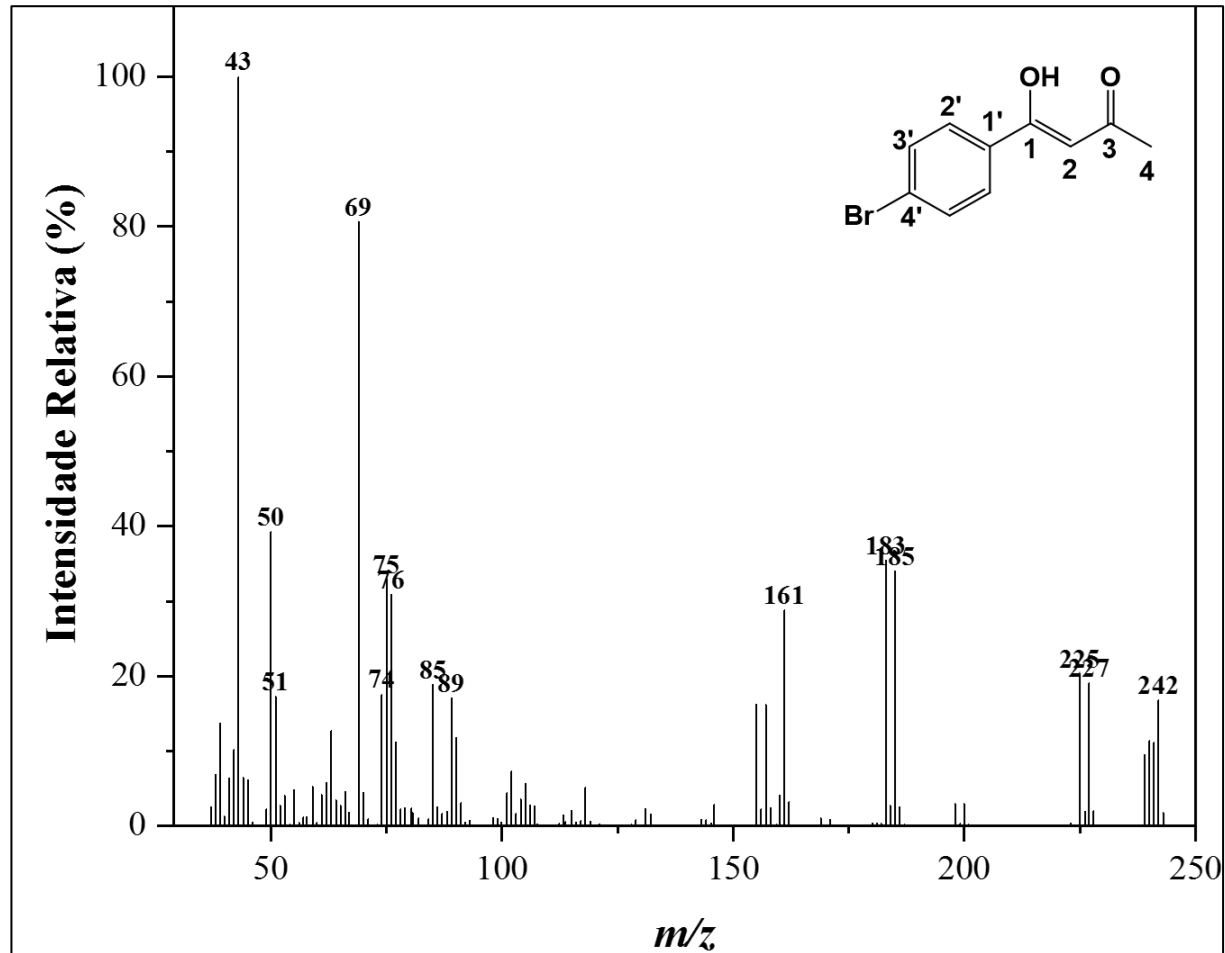
Fonte: O Autor.

Figura 49 – Espectro no infravermelho (ATR) da benzoilacetona 2d.



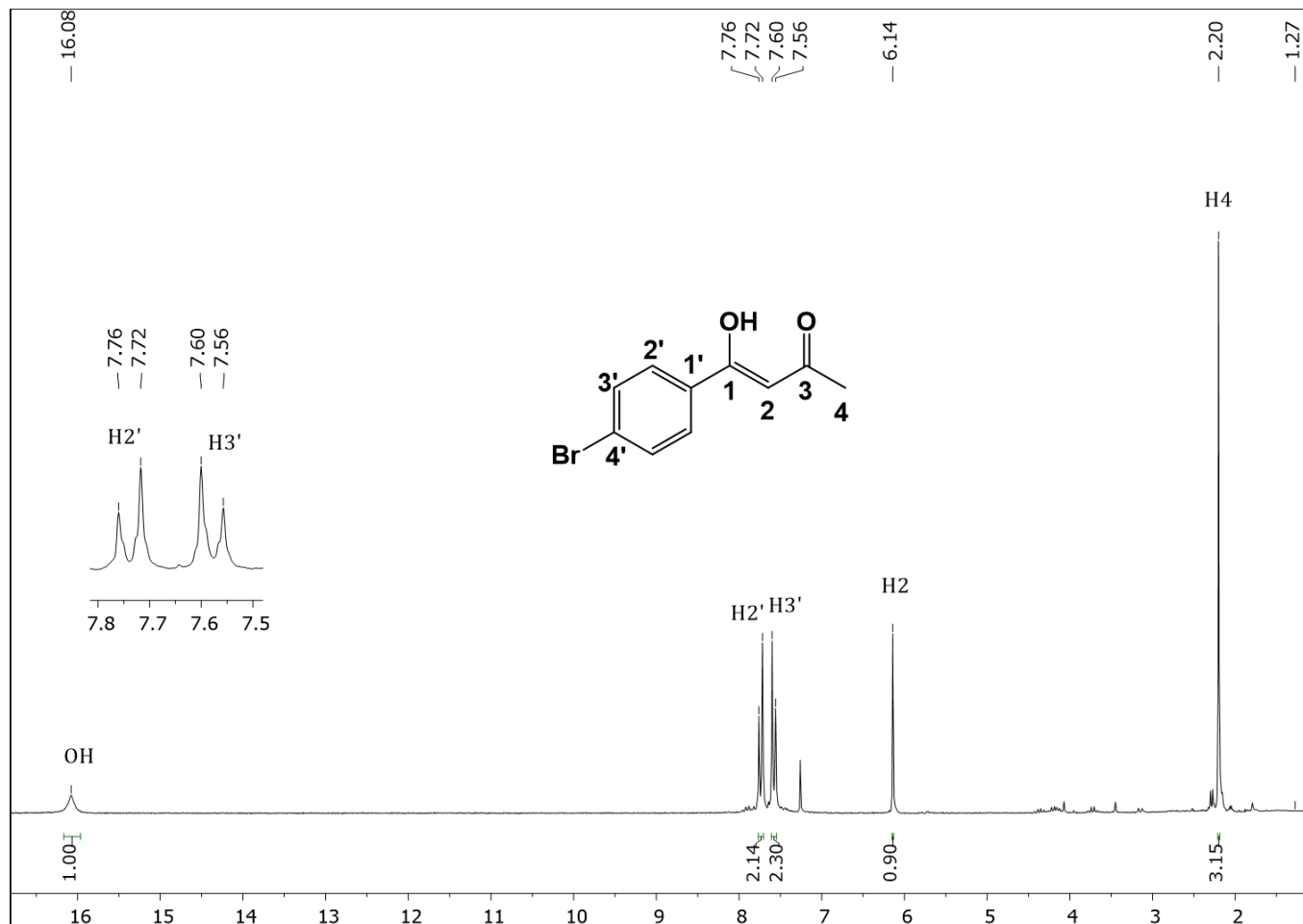
Fonte: O Autor.

Figura 50 –Espectro de massas da benzoilacetona 2d.



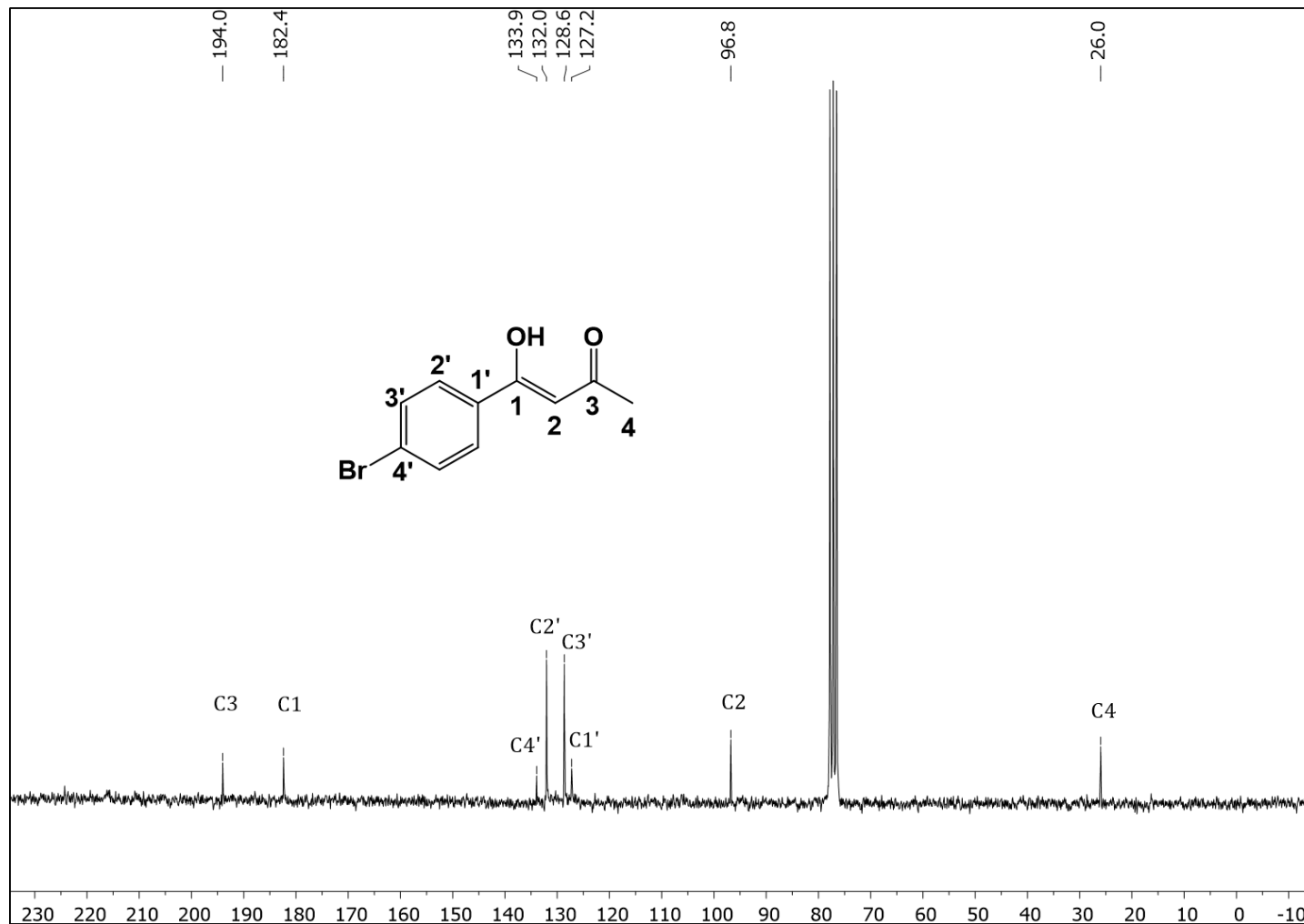
Fonte: O Autor.

Figura 51 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  benzoilacetona **2d** (Clorofórmio- $d_1$ , 200MHz).



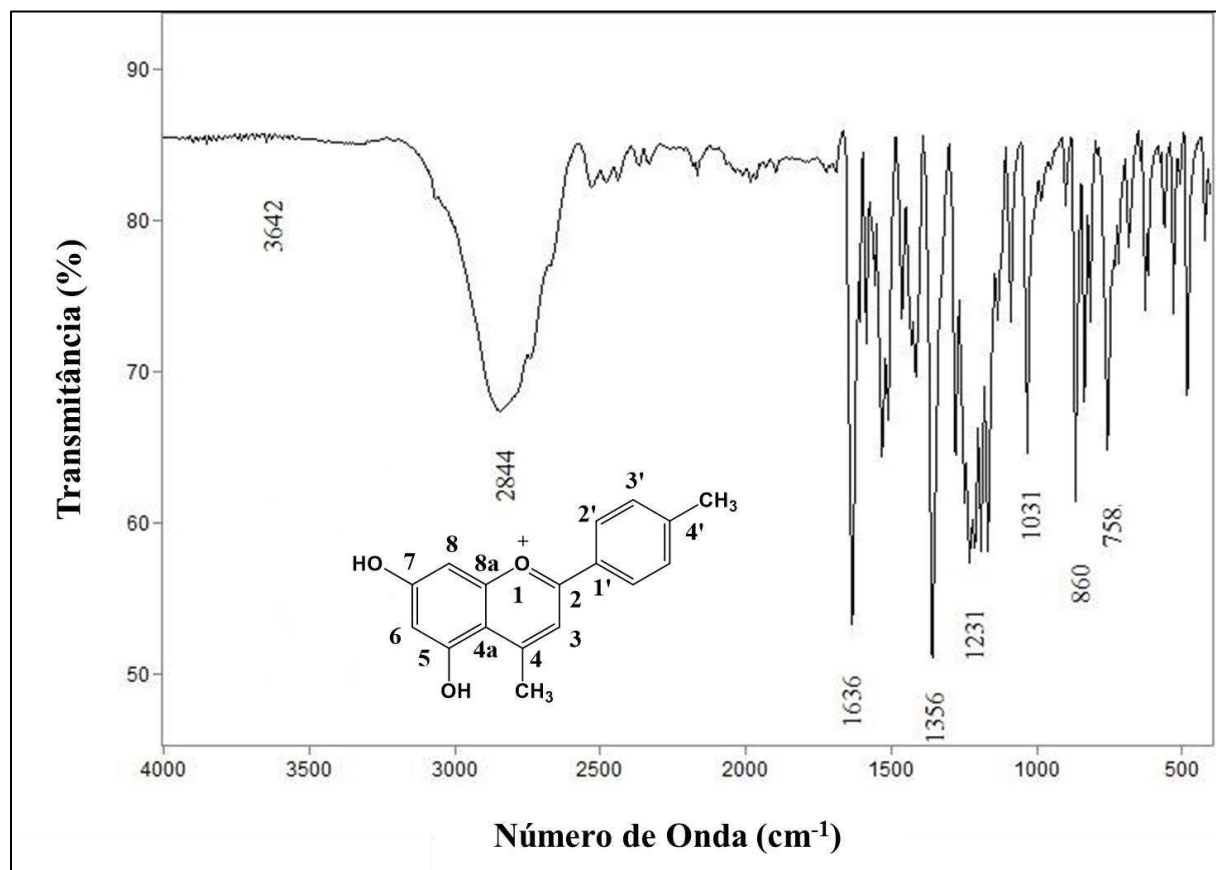
Fonte: O Autor.

Figura 52 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  benzoilacetona **2d** (Clorofórmio- $d_1$ , 50MHz).



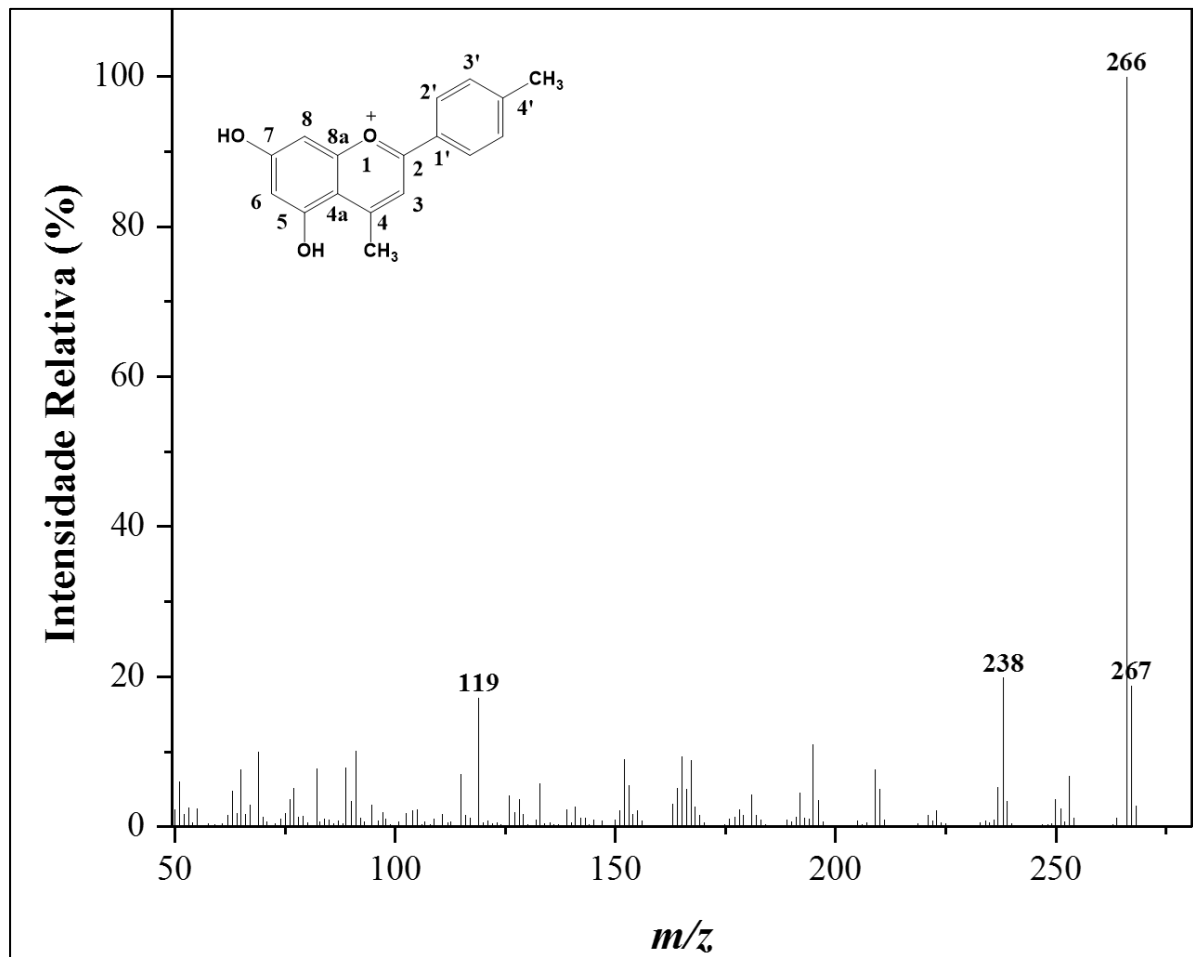
Fonte: O Autor.

Figura 53 – Espectro no infravermelho (ATR) do flavílio 3b.



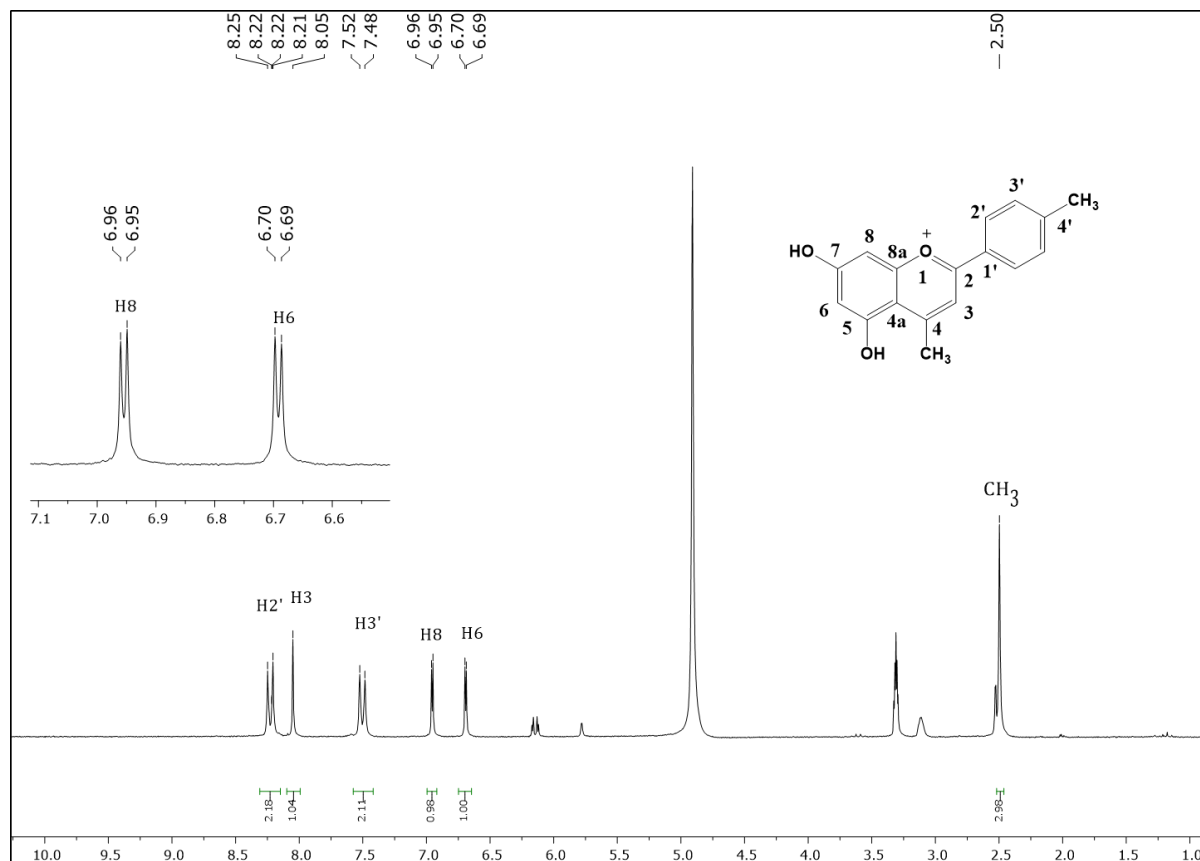
Fonte: O Autor.

Figura 54 – Espectro de massas do flavílio 3b.



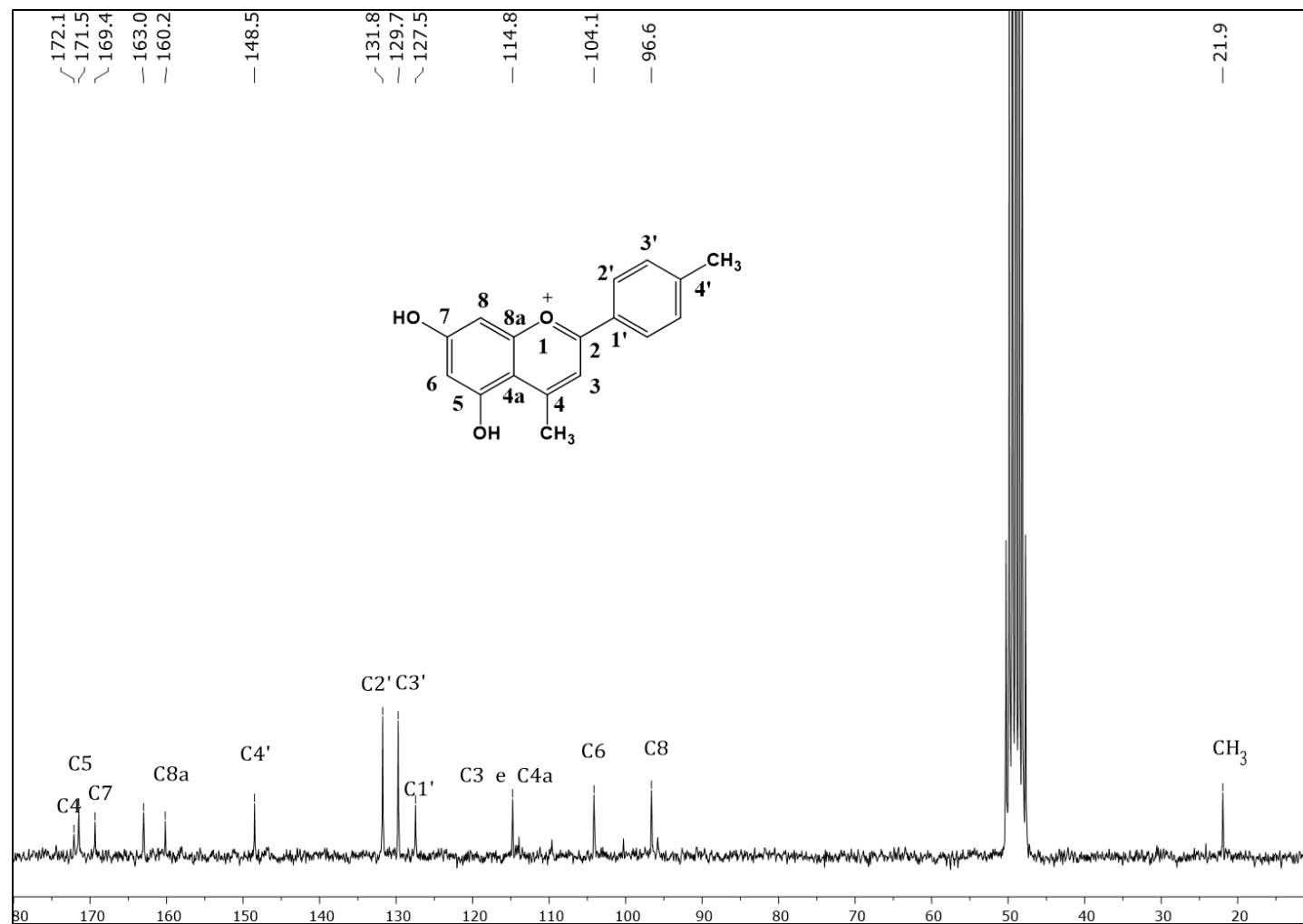
Fonte: O Autor.

Figura 55 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do flavílio **3b** (Metanol- $d_4$ , 200MHz).



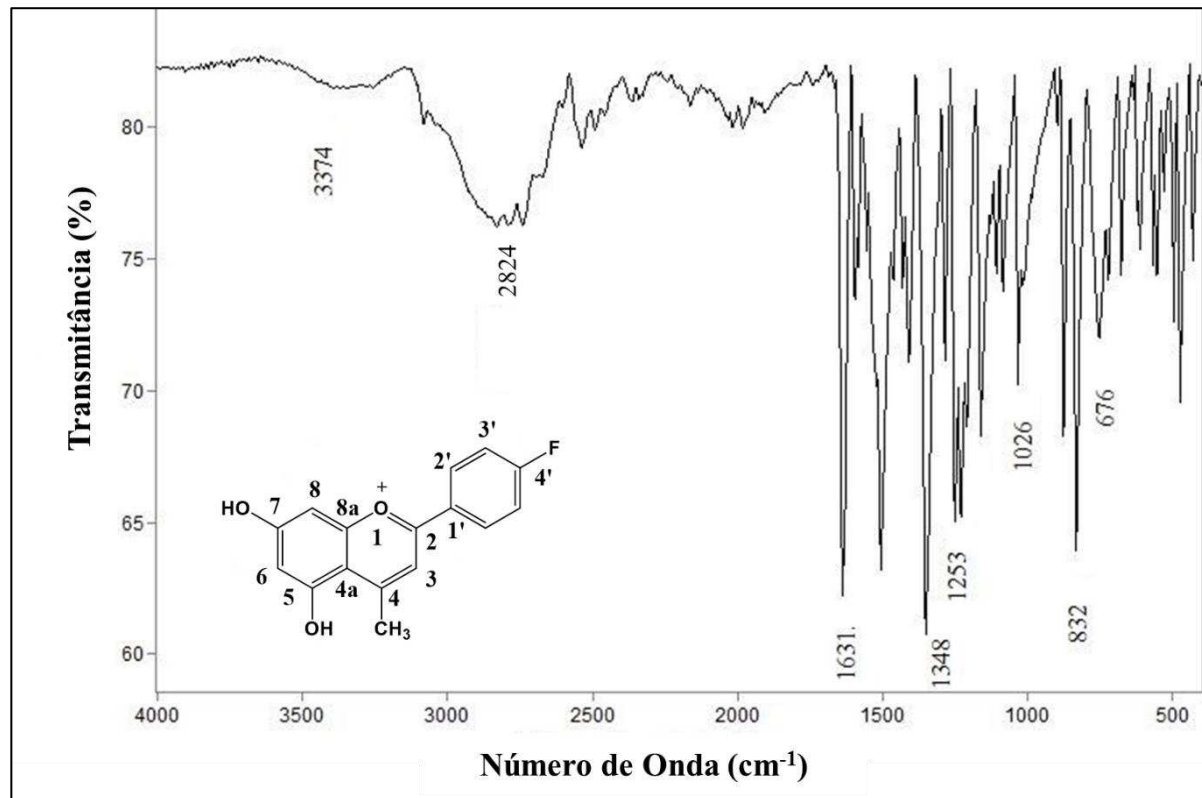
Fonte: O Autor.

Figura 56 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do flavílio **3b** (Metanol- $d_4$ , 50MHz).



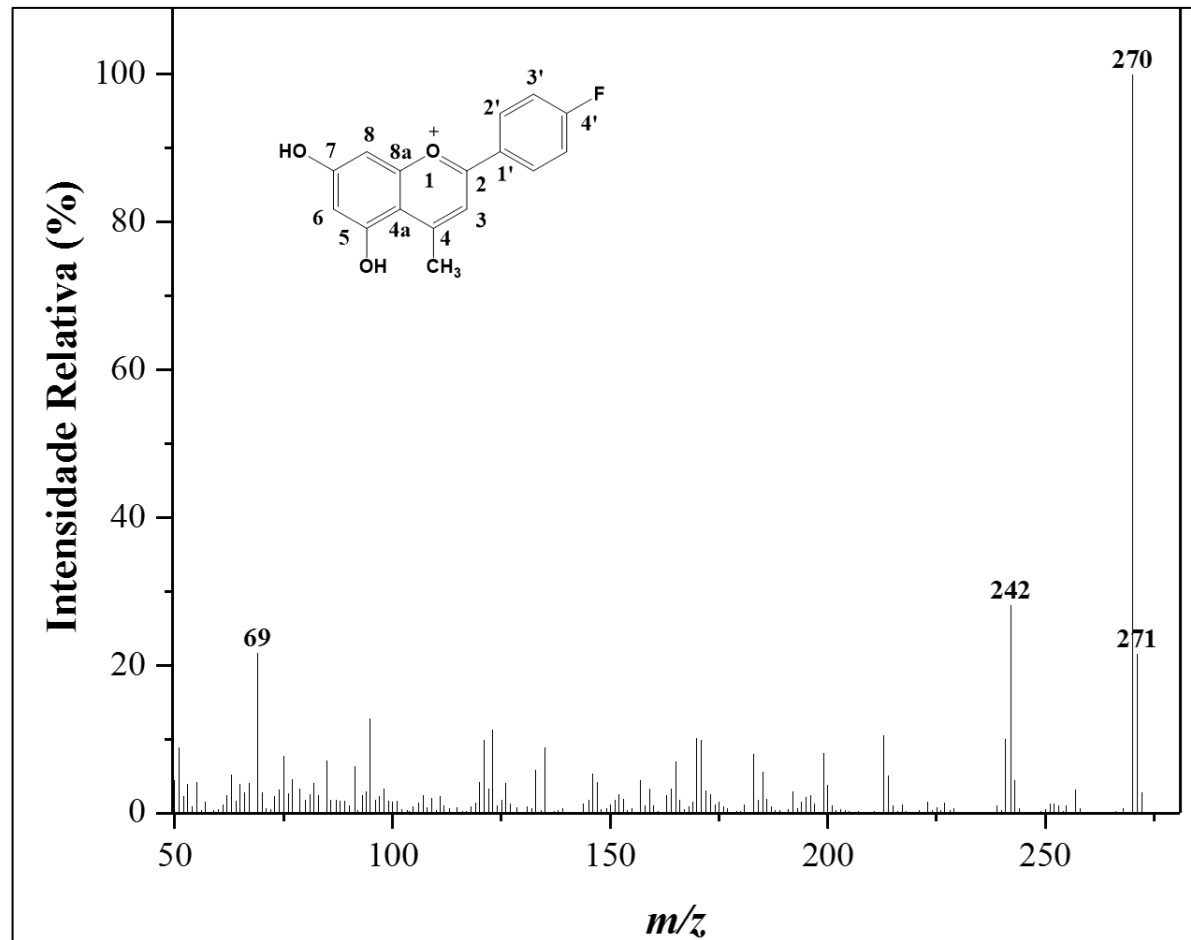
Fonte: O Autor.

Figura 57 – Espectro no infravermelho (ATR) do flavílio 3c.



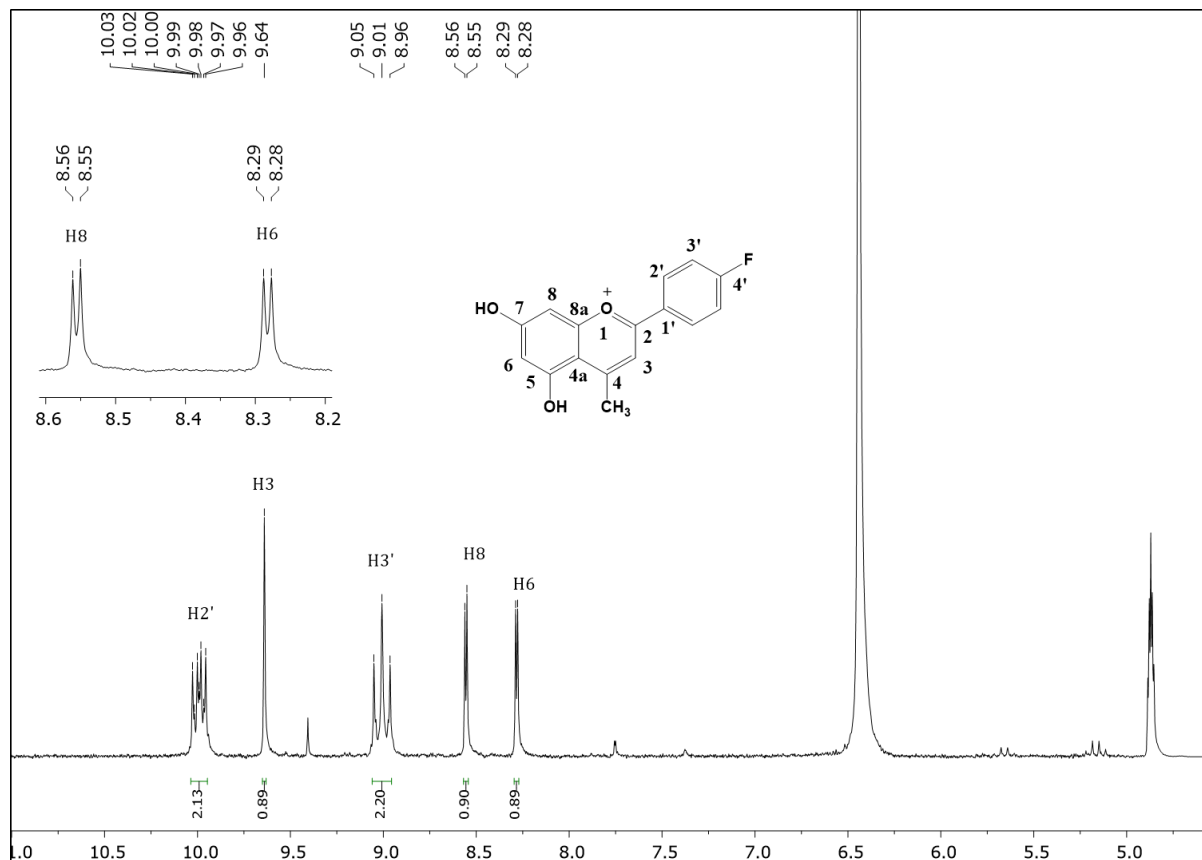
Fonte: O Autor.

Figura 58 – Espectro de massas do flavílio 3c.



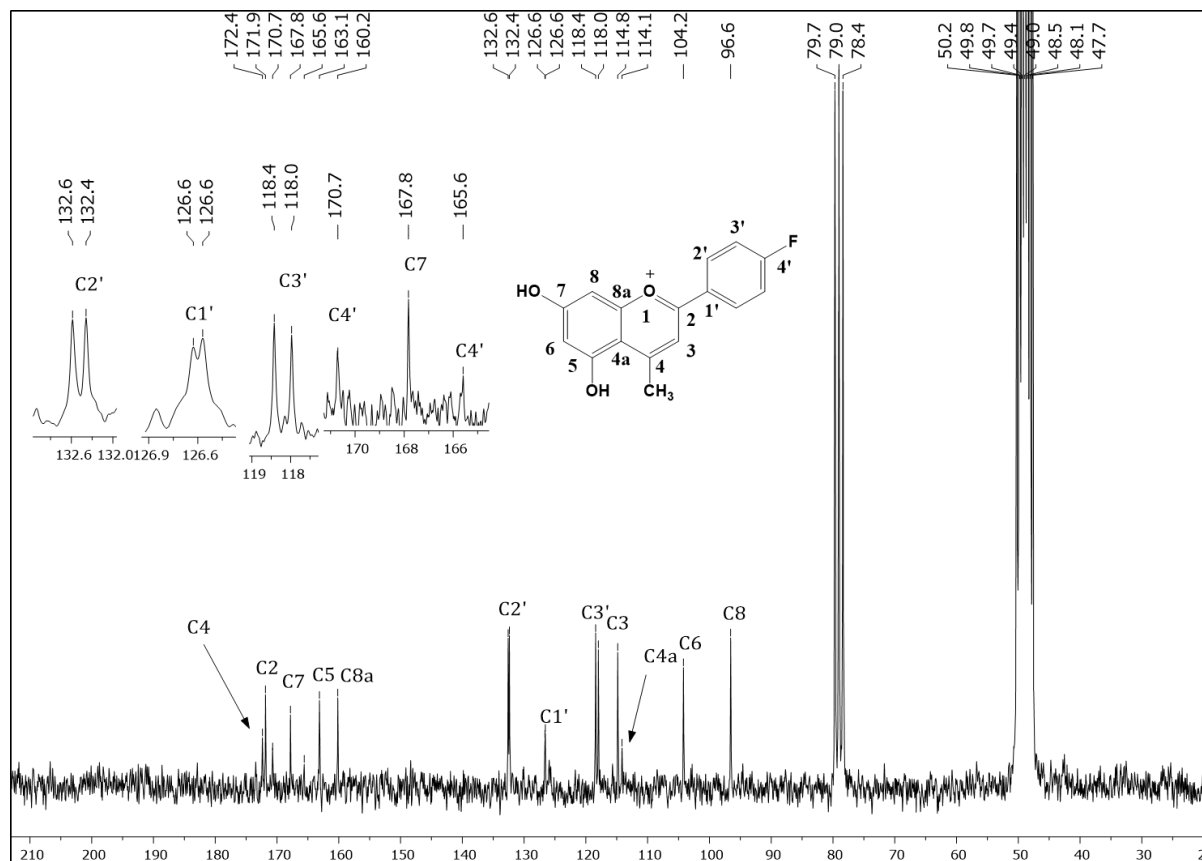
Fonte: O Autor.

Figura 59 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do flavílio 3c (Metanol- $d_4$ , 200MHz).



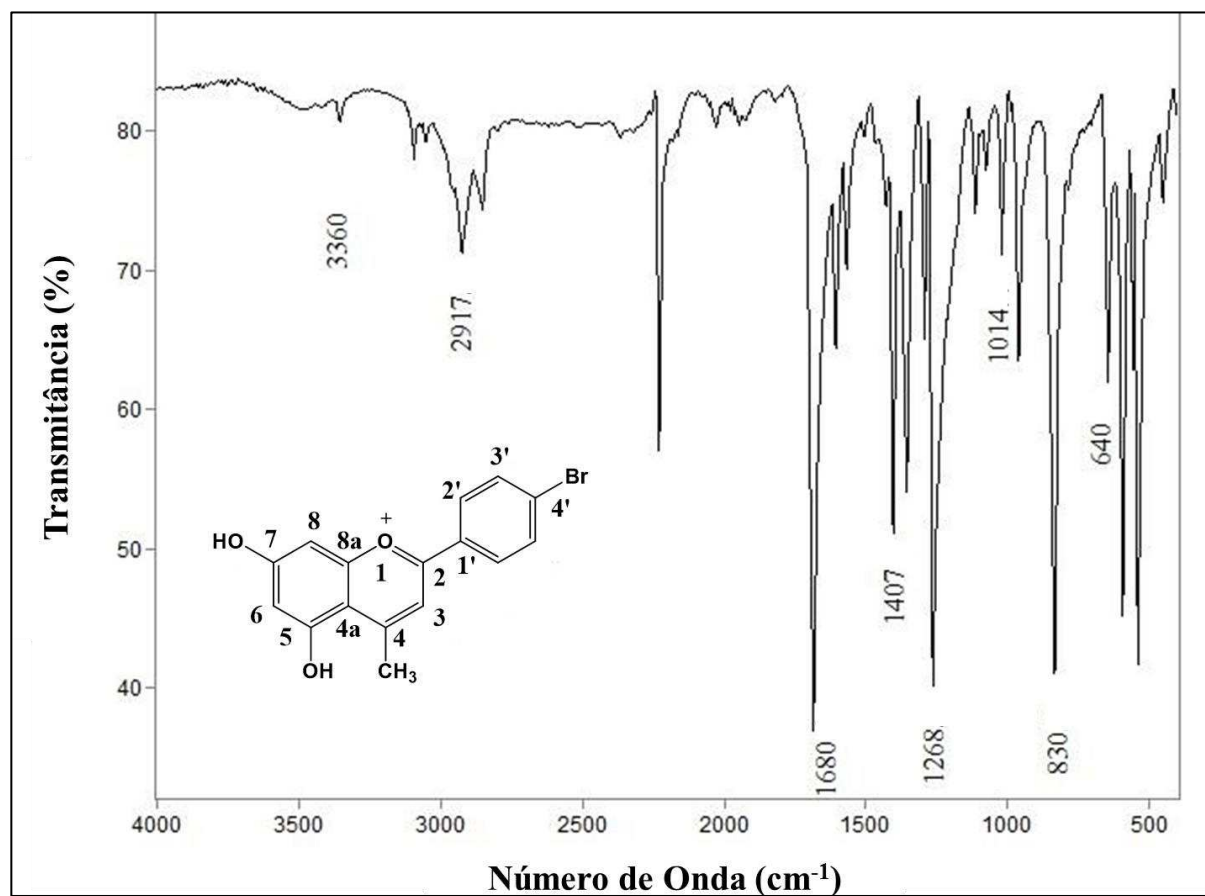
Fonte: O Autor.

**Figura 60** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do flavílio **3c** (Metanol- $d_4$ , 50MHz).



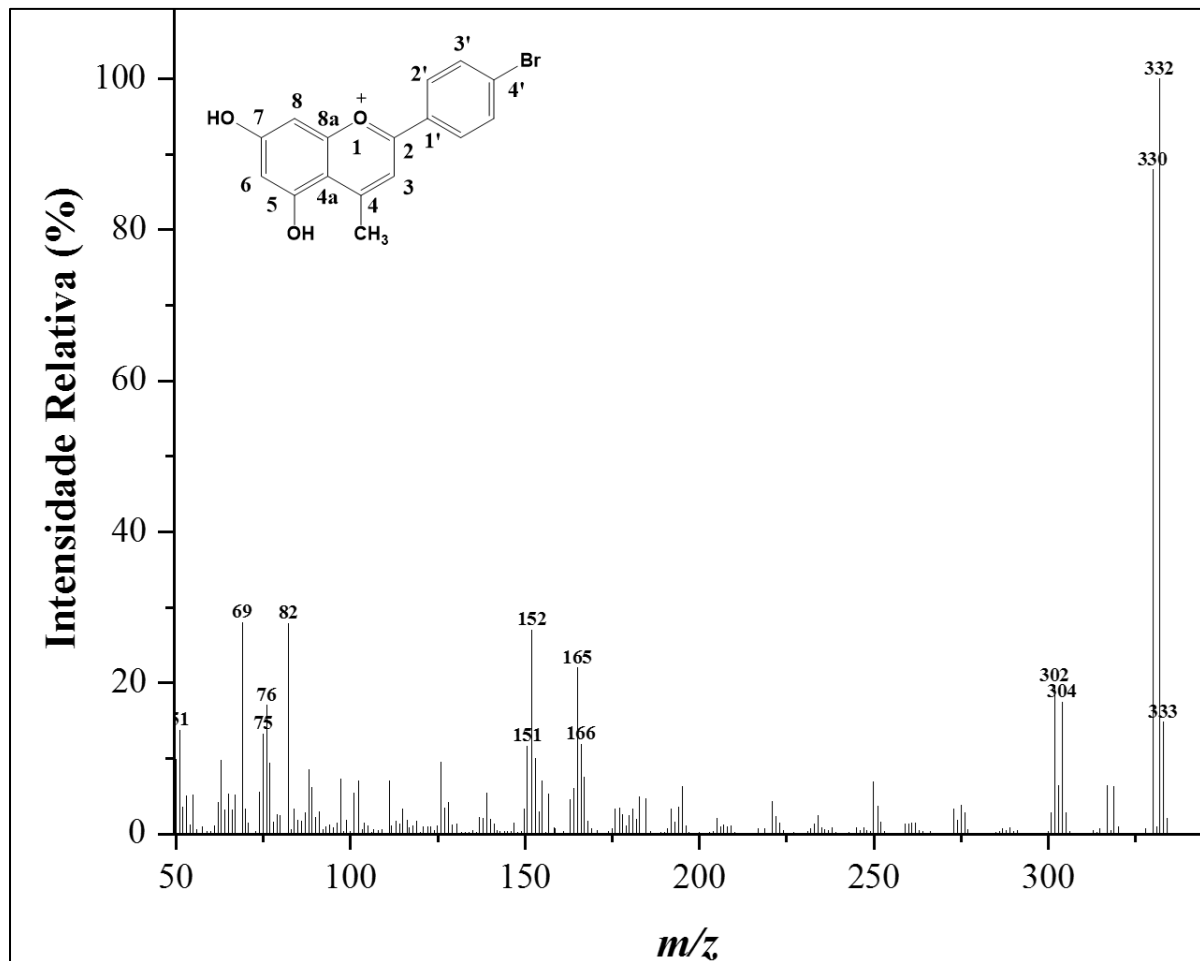
Fonte: O Autor.

**Figura 61** – Espectro no infravermelho (ATR) do flavílio **3d**.



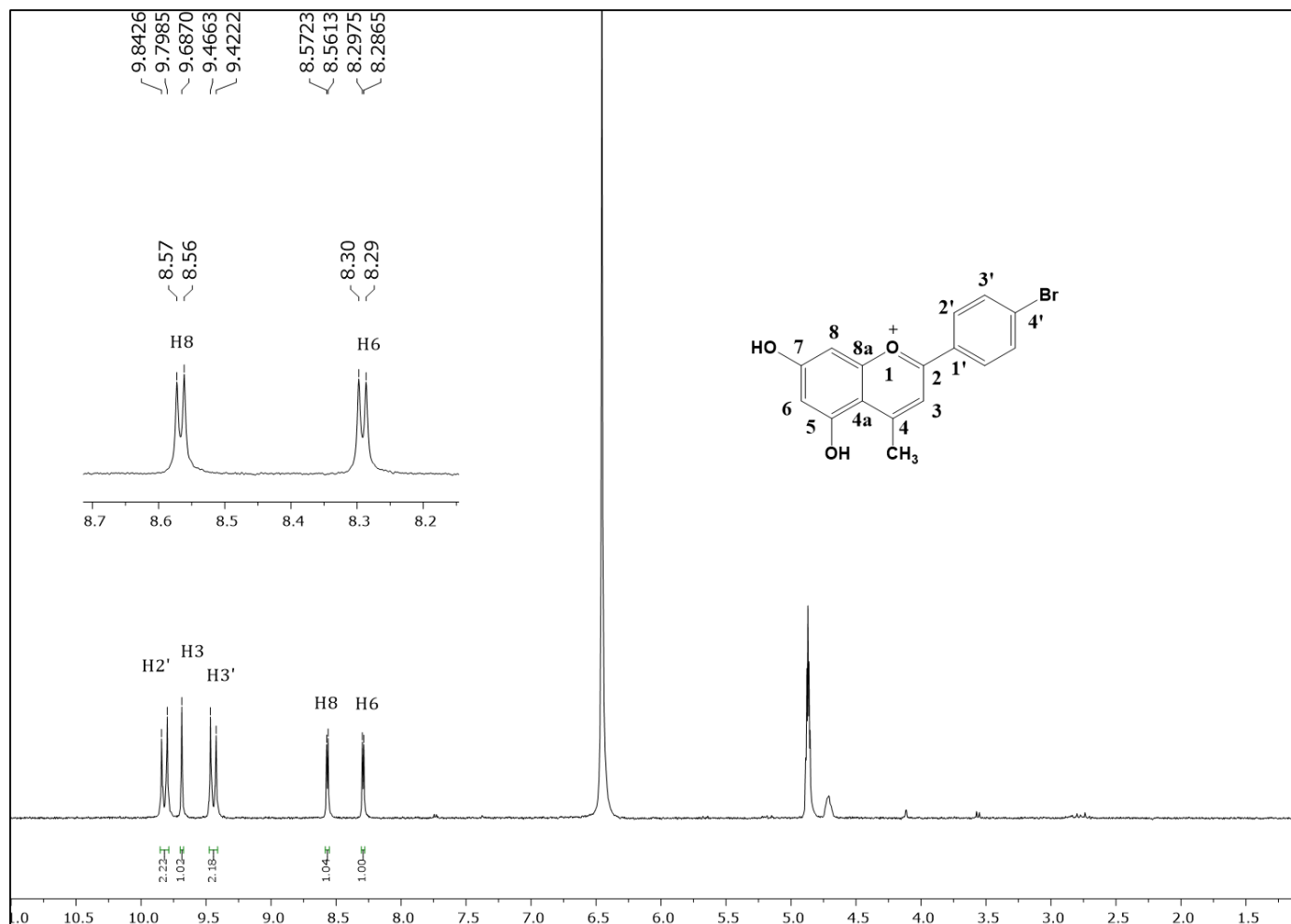
Fonte: O Autor.

Figura 62 – Espectro de massas do flavílio 3d.



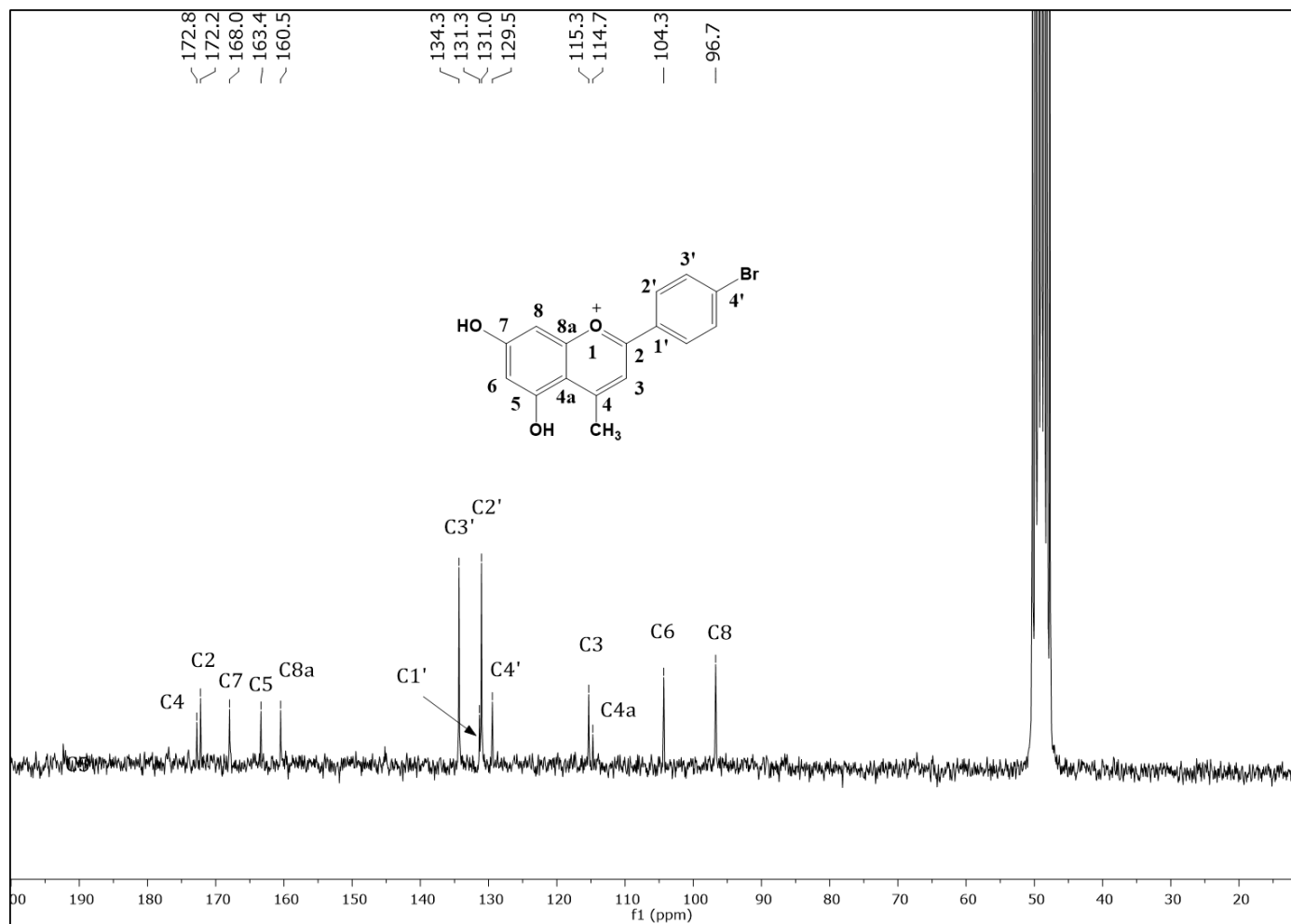
Fonte: O Autor.

Figura 63 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do flavílio 3d (Metanol- $d_4$ , 200MHz).



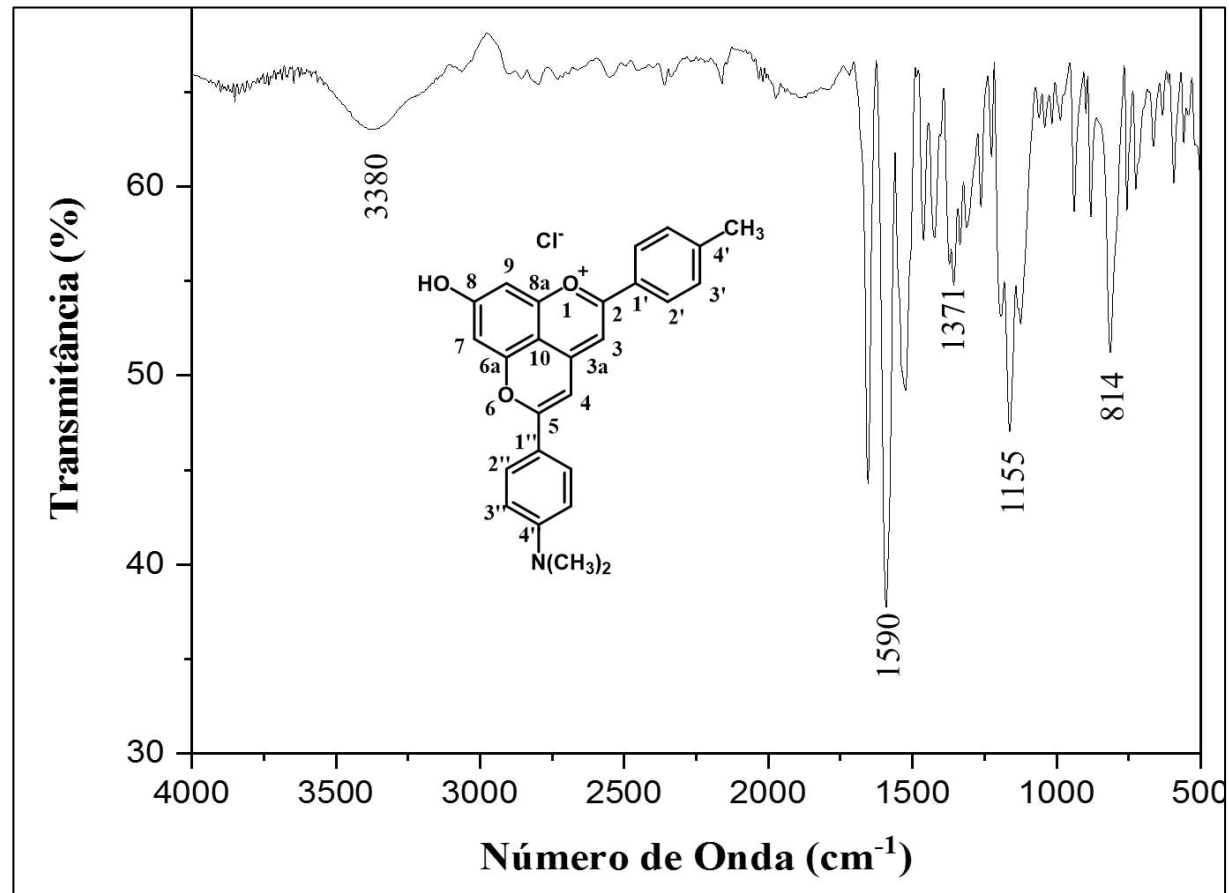
Fonte: O Autor.

Figura 64 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do flavílio **3d** (Metanol- $d_4$ , 50MHz).



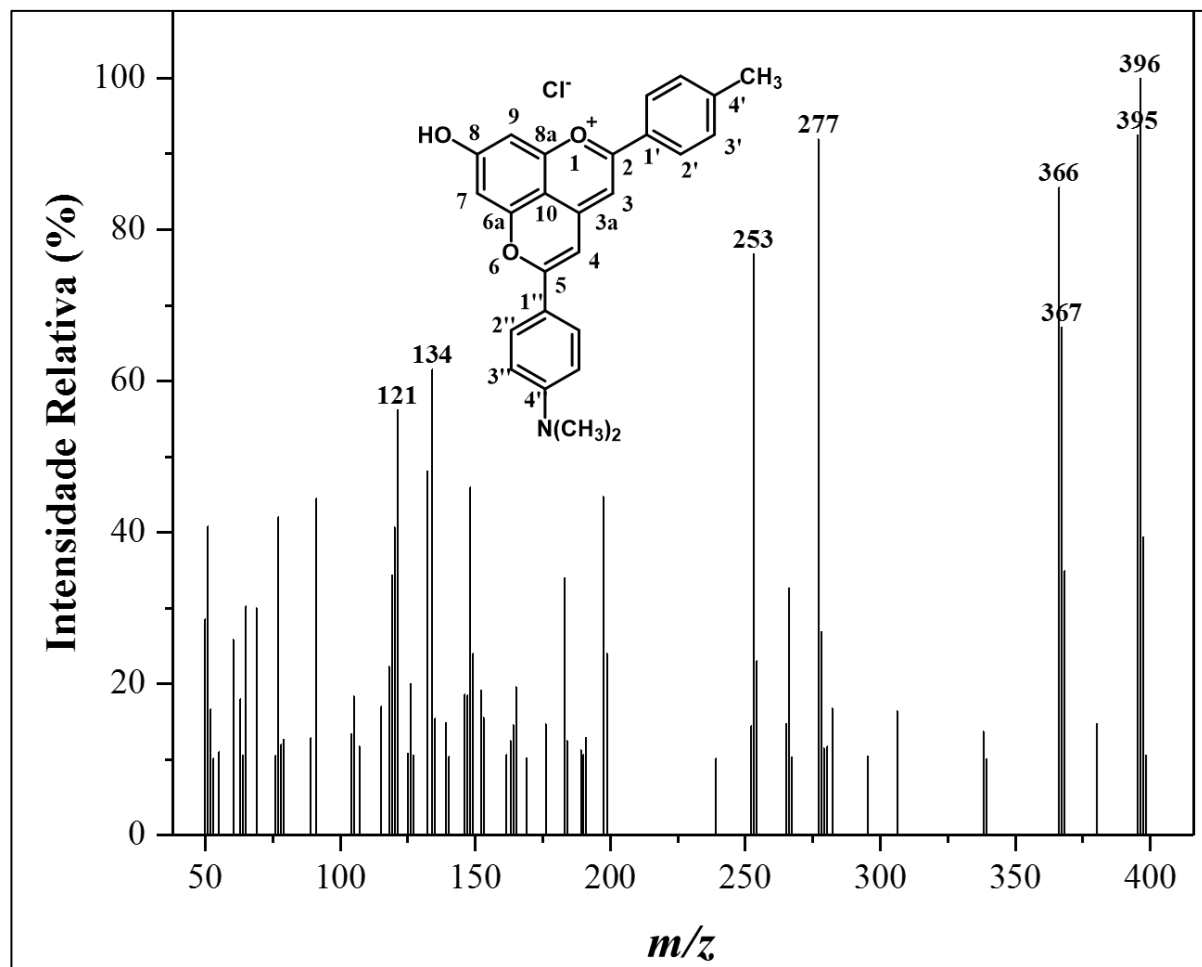
Fonte: O Autor.

Figura 65 – Espectro no infravermelho (ATR) do piranoflavílio 4b.



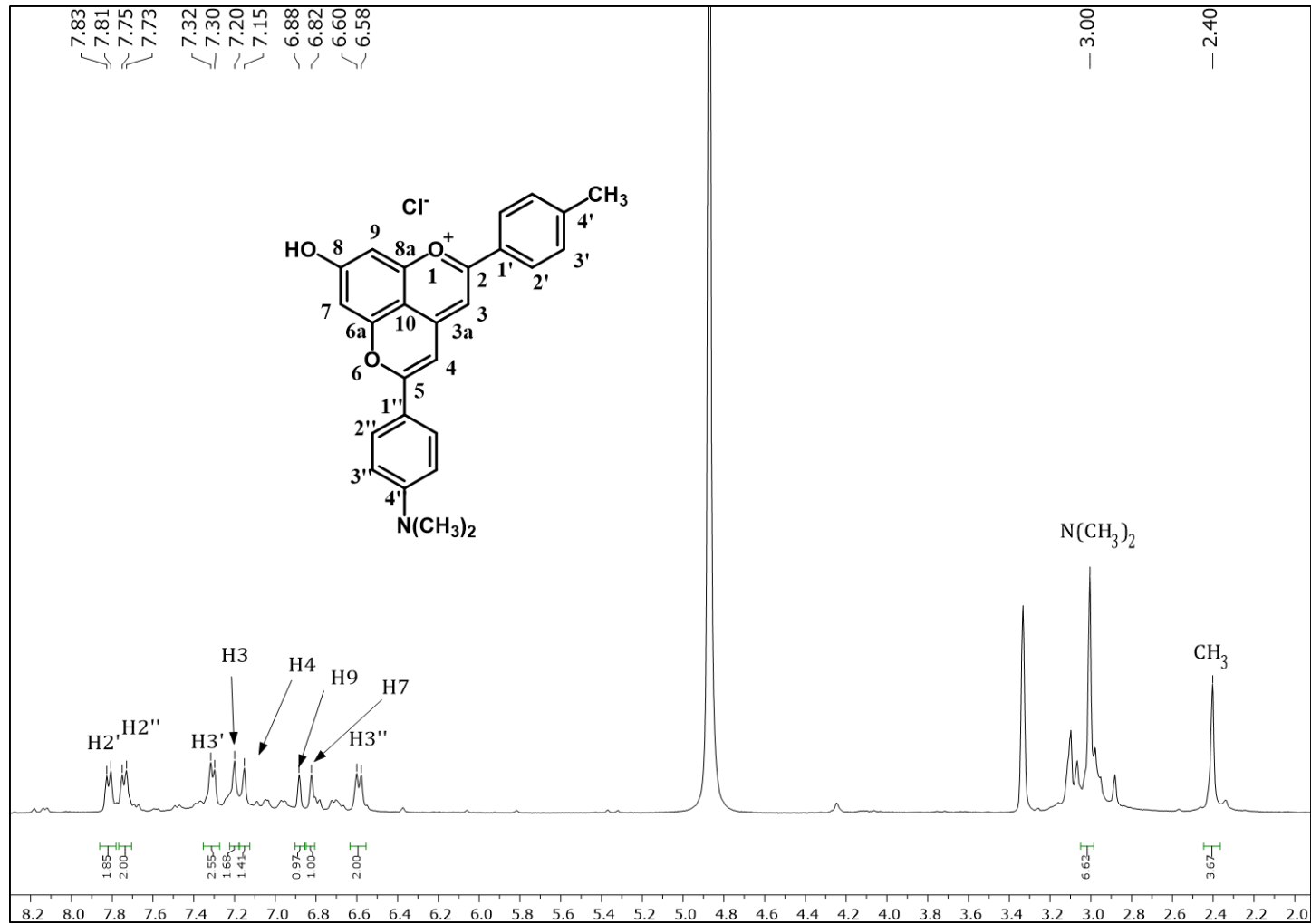
Fonte: O Autor.

Figura 66 – Espectro de massas do piranoflavílio 4b.



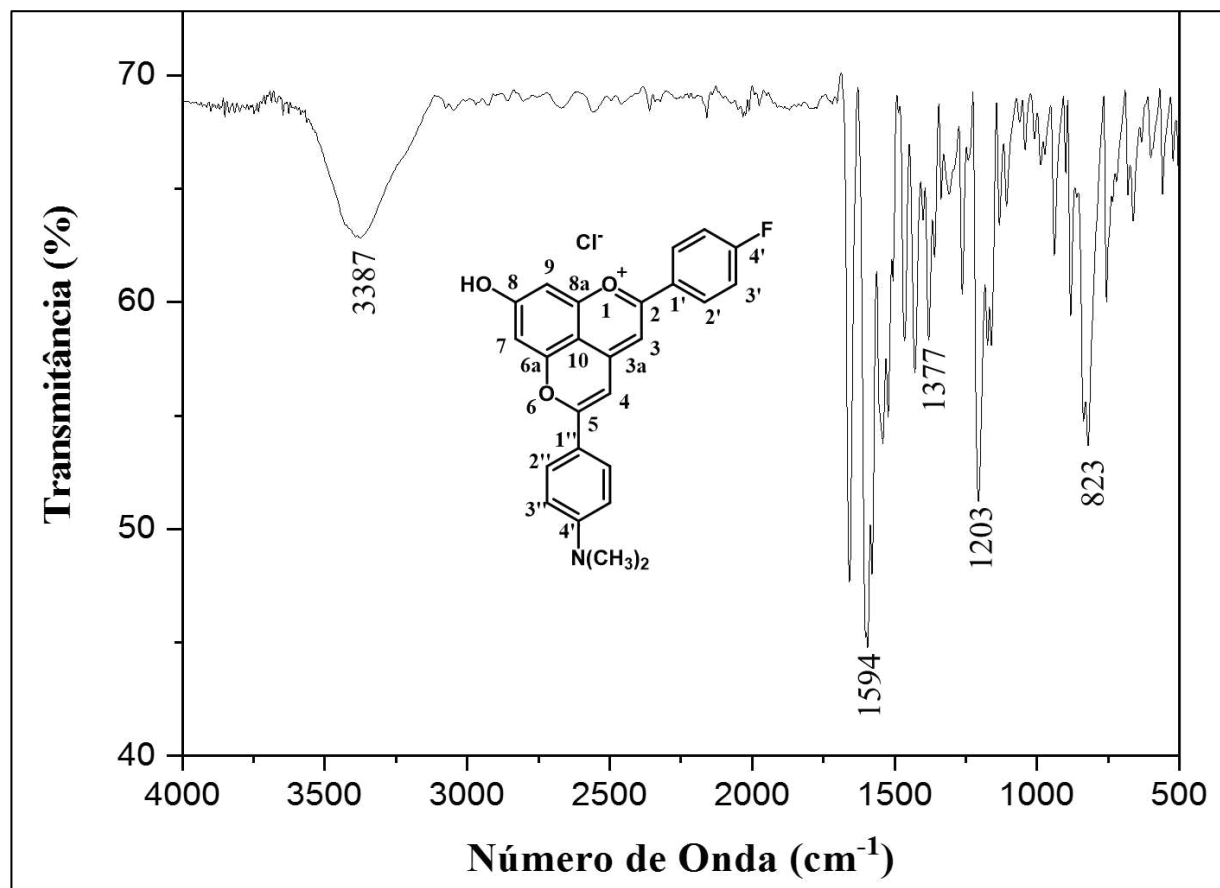
Fonte: O Autor.

Figura 67 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do piranoflavílio **4b** (Metanol- $d_4$ , 400MHz).



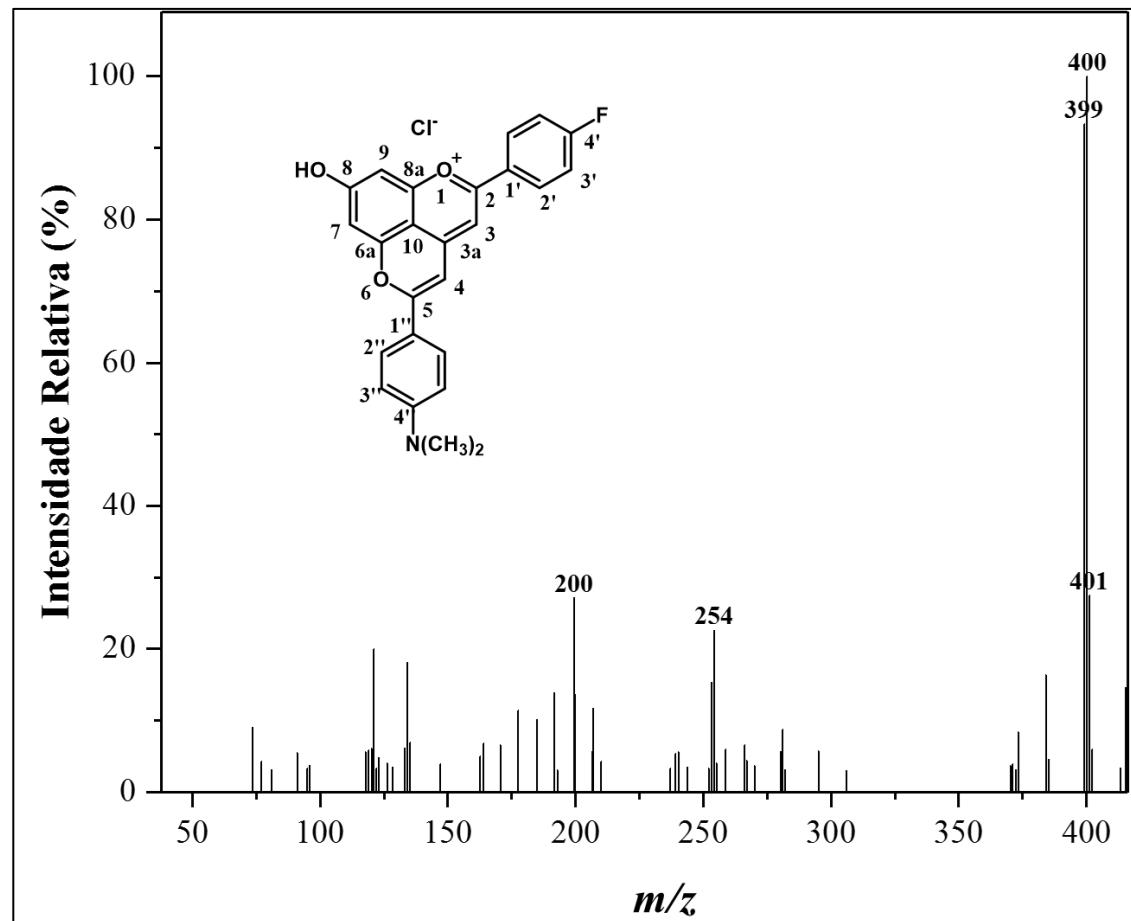
Fonte: O Autor.

Figura 68 – Espectro no infravermelho (ATR) do piranoflavílio 4c.



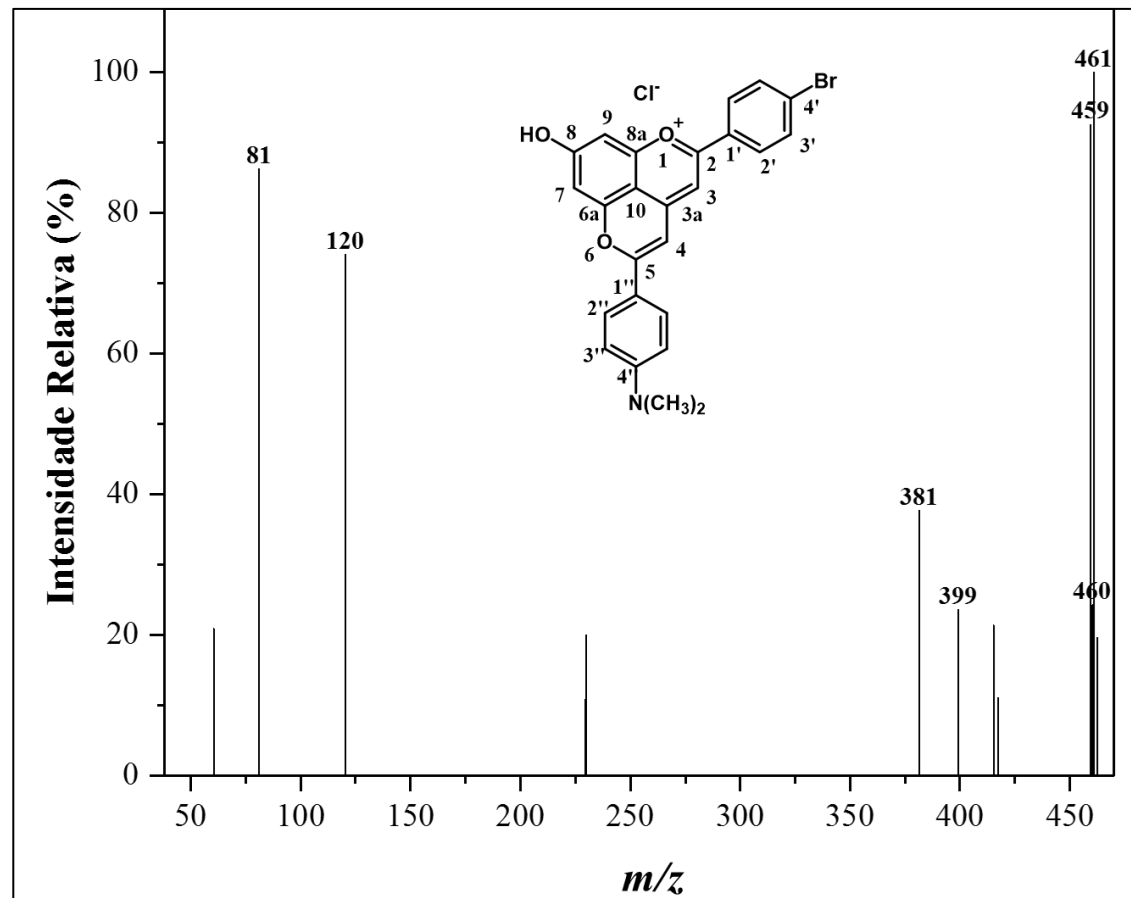
Fonte: O Autor.

Figura 69 – Espectro de massas do piranoflavílio 4c.



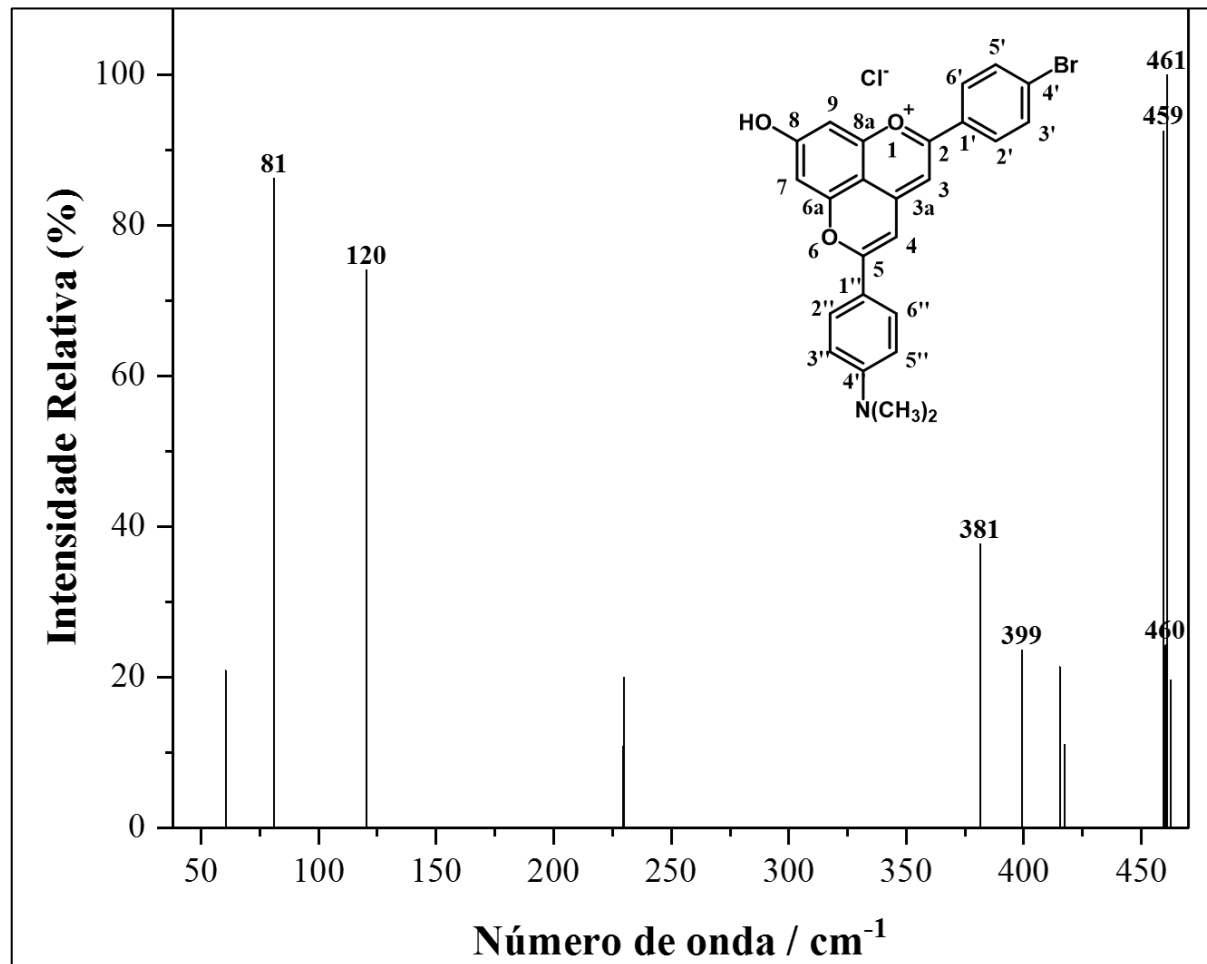
Fonte: O Autor.

Figura 70 – Espectro no infravermelho (ATR) do piranoflavílio 4d.



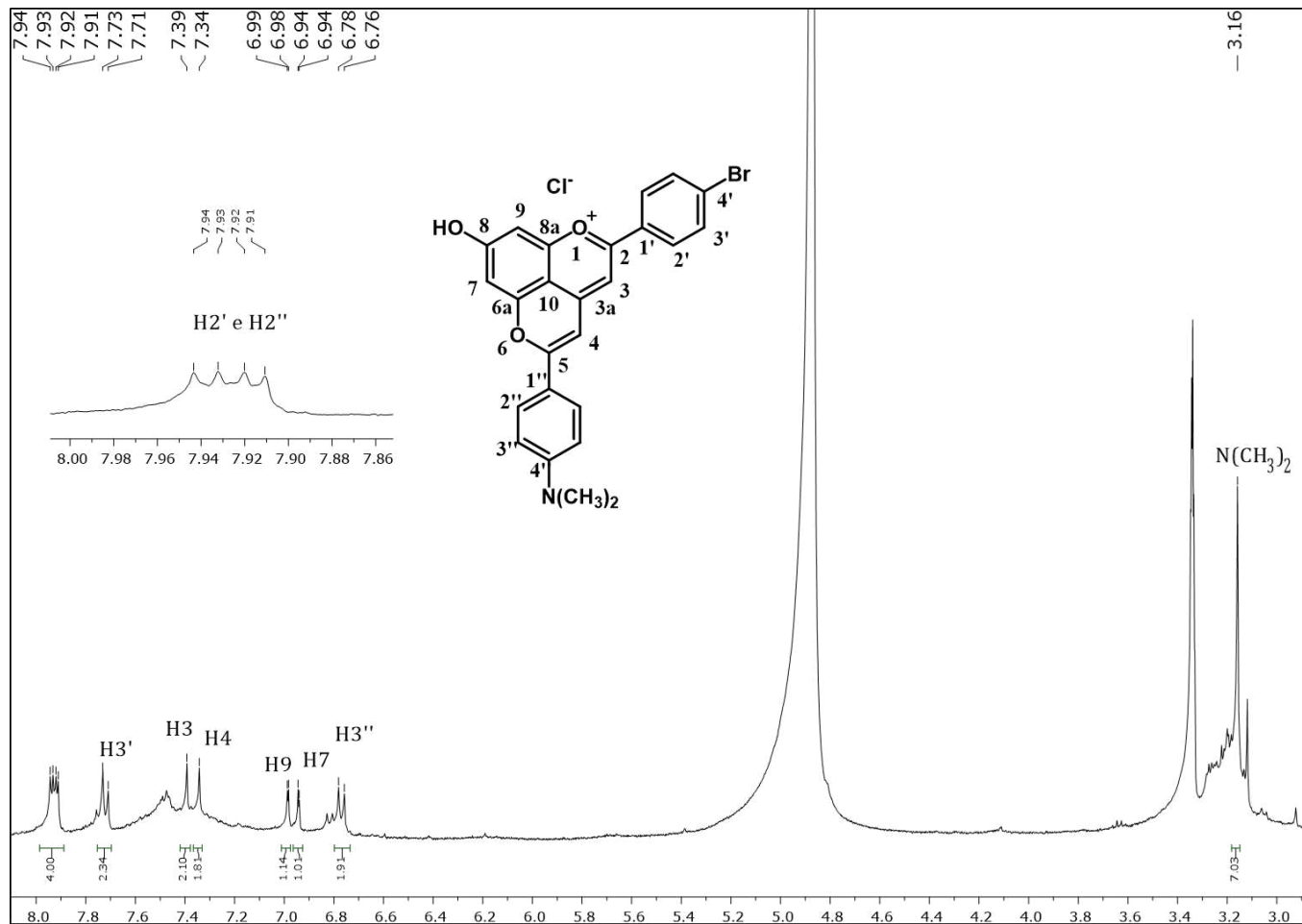
Fonte: O Autor.

Figura 71 – Espectro de massas do piranoflavílio 4d.



Fonte: O Autor.

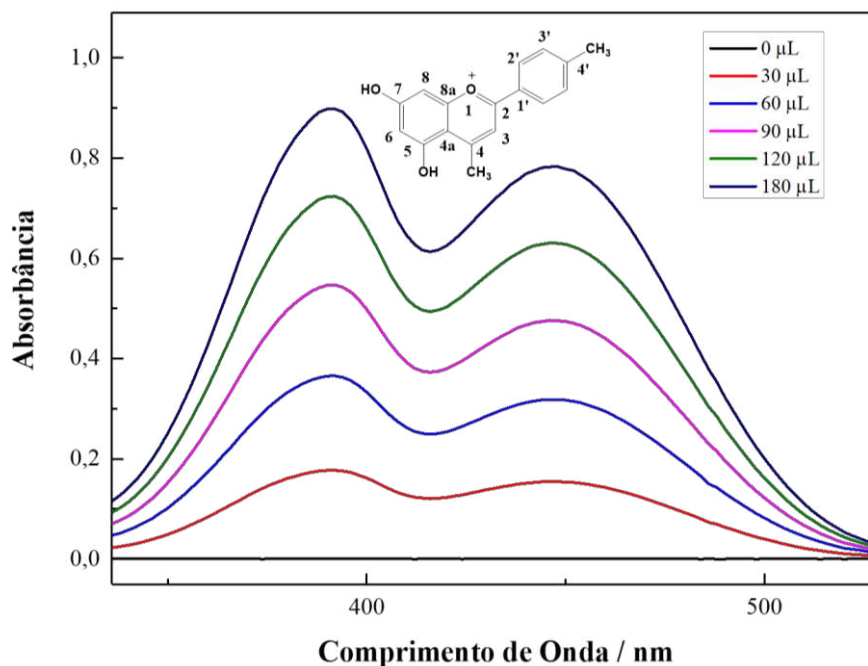
Figura 72 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do piranoflavílio **4d** (Metanol- $d_4$ , 400MHz).



Fonte: O Autor.

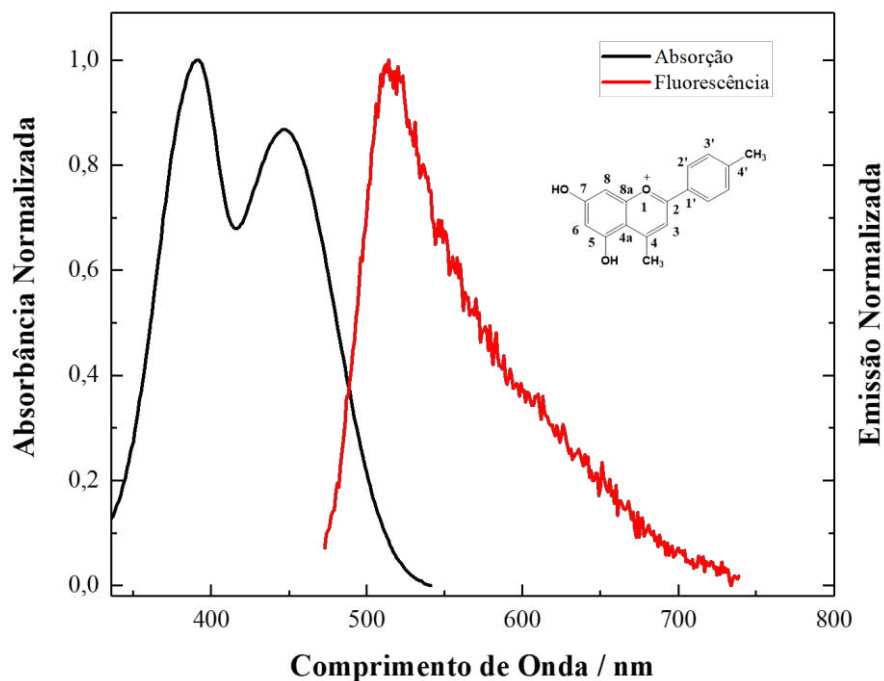
**APÊNDICE B – Espectros UV, Fluorescência dos compostos 3b-3d e 4b-4d e espectros de Fosforescência de 4b-4d.**

**Figura 73** – Espectro de absorção do flavílio **3b** (Metanol) em diferentes concentrações molares.



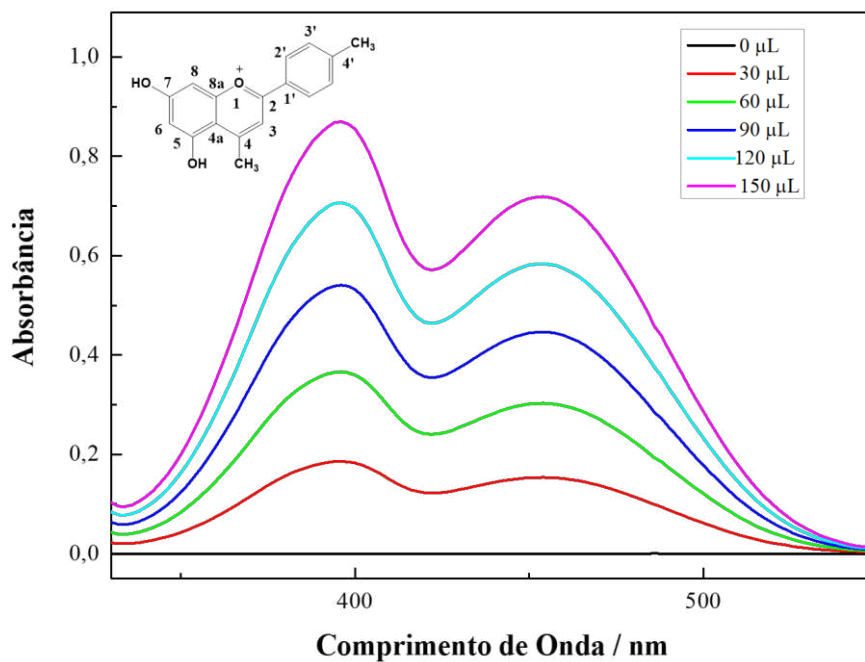
Fonte: O Autor

**Figura 74** – Espectro de emissão/ fluorescência do flavílio **3b** (Metanol).



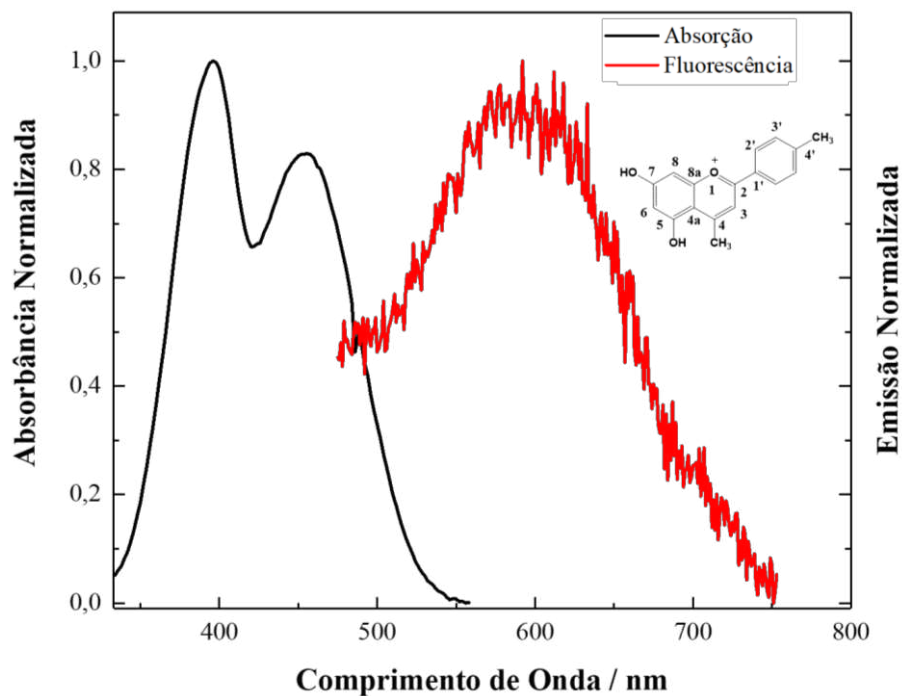
Fonte: O Autor.

**Figura 75** – Espectro de absorção do flavílio **3b** (Isopropanol) em diferentes concentrações molares.



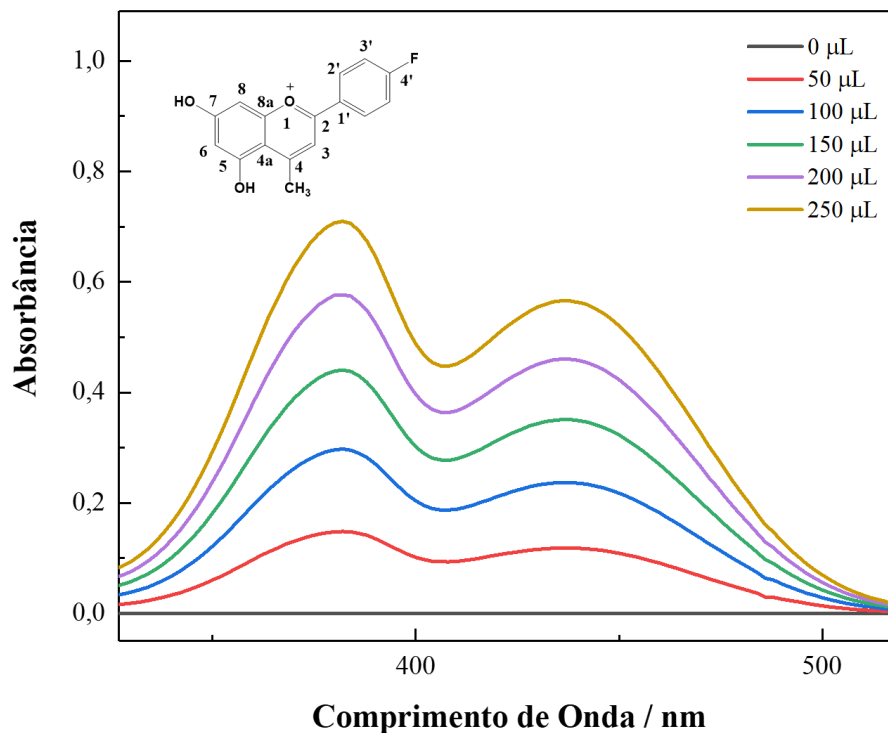
Fonte: O Autor.

**Figura 76** – Espectro de emissão/ fluorescência do flavílio **3b** (Isopropanol).

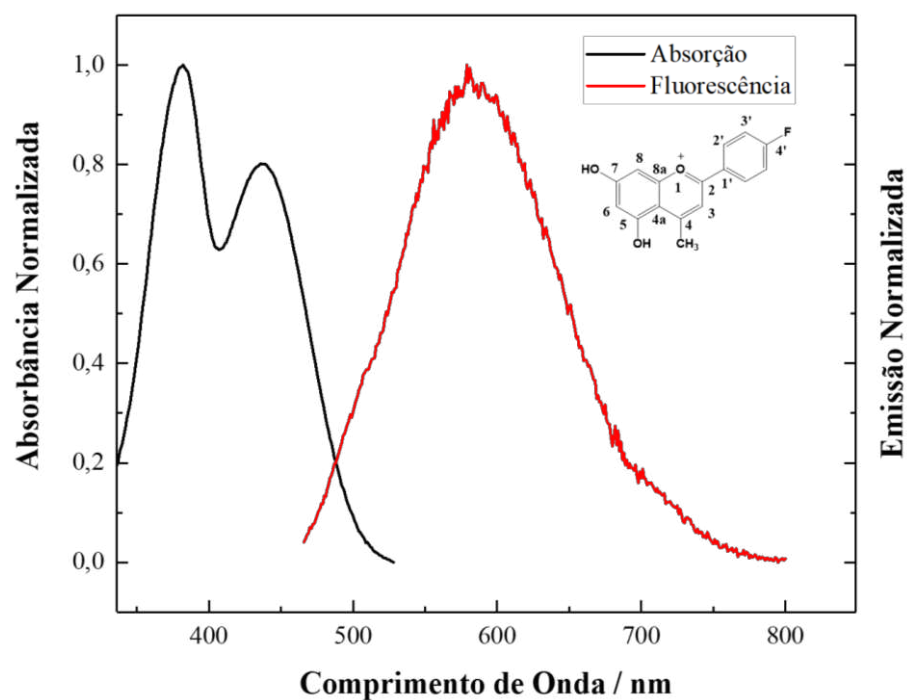


Fonte: O Autor.

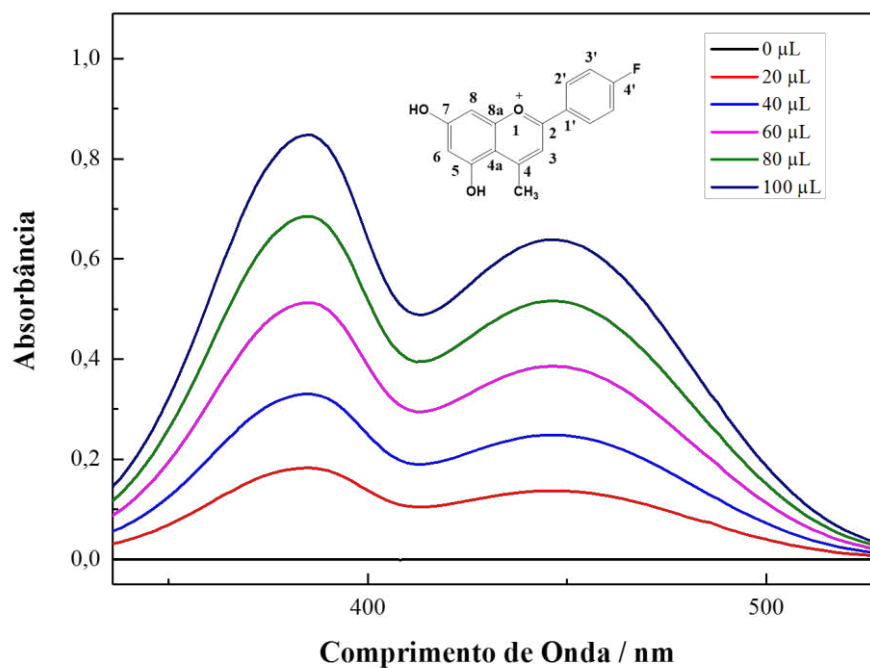
**Figura 77** – Espectro de absorção do flavílio **3c** (Acetonitrila) em diferentes concentrações molares.



**Figura 78** – Espectro de emissão/ fluorescência do flavílio **3c** (Acetonitrila).

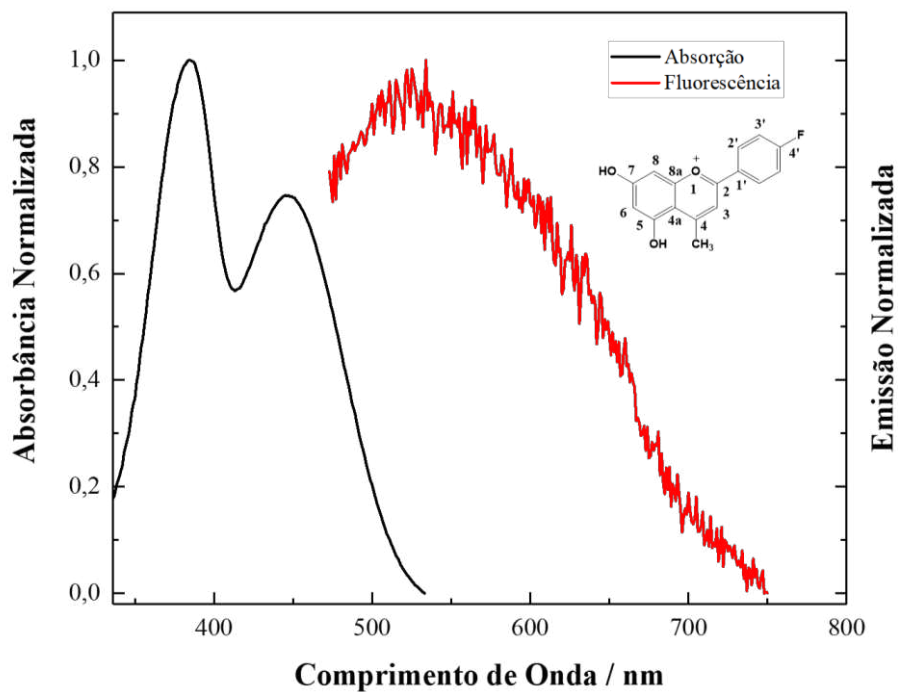


**Figura 79** – Espectro de absorção do flavílio **3c** (Metanol) em diferentes concentrações molares.



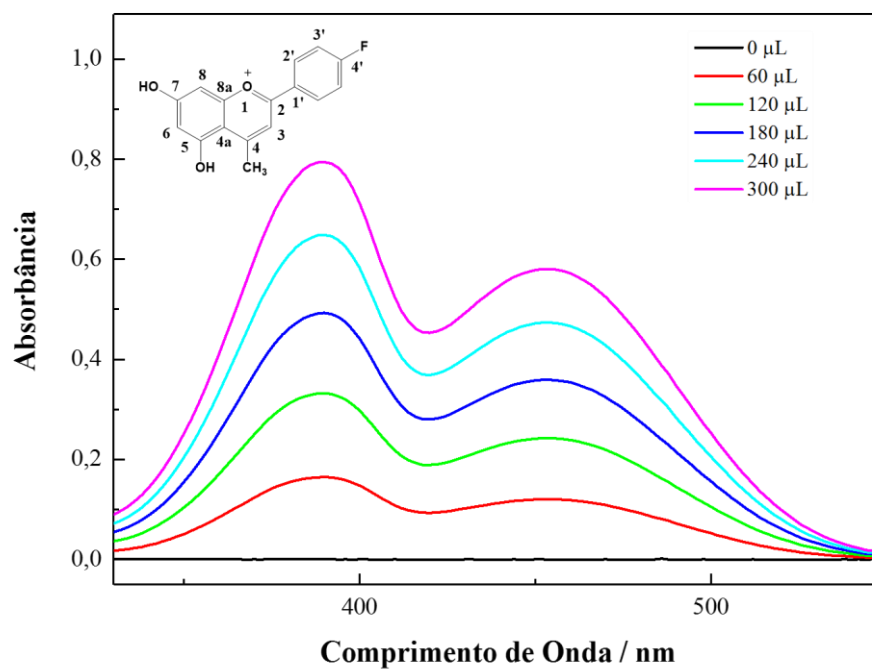
Fonte: O Autor.

**Figura 80** – Espectro de emissão/ fluorescência do flavílio **3c** (Metanol).



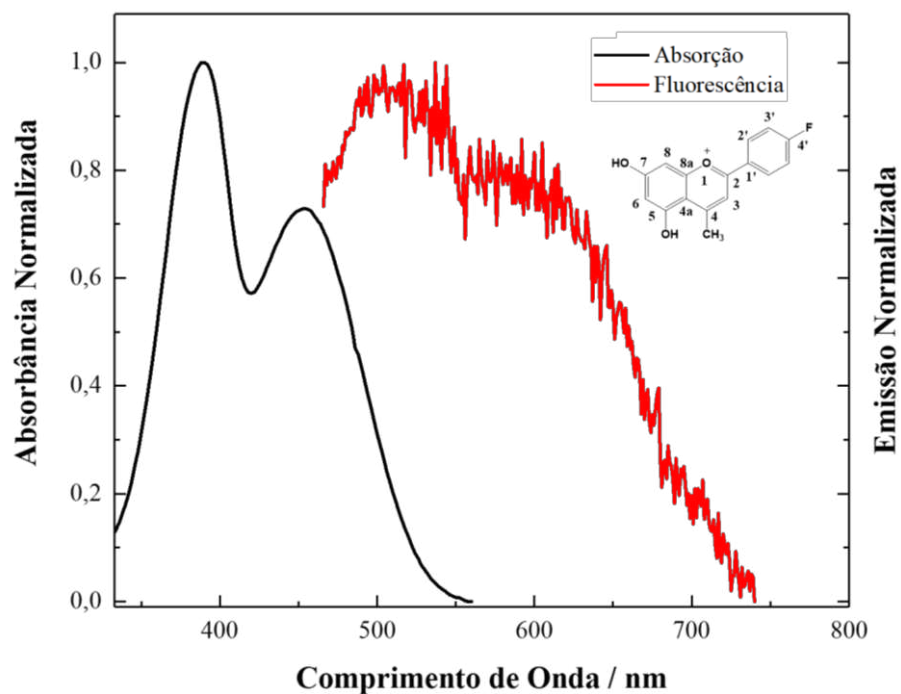
Fonte: O Autor.

**Figura 81** – Espectro de absorção do flavílio **3c** (Isopropanol) em diferentes concentrações molares.



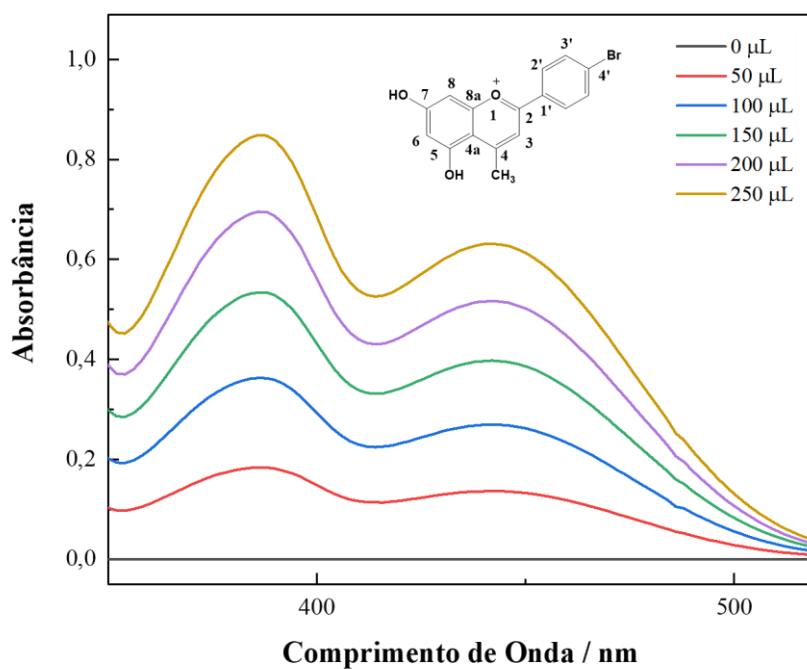
Fonte: O Autor.

**Figura 82** – Espectro de emissão/ fluorescência do flavílio **3c** (Isopropanol).



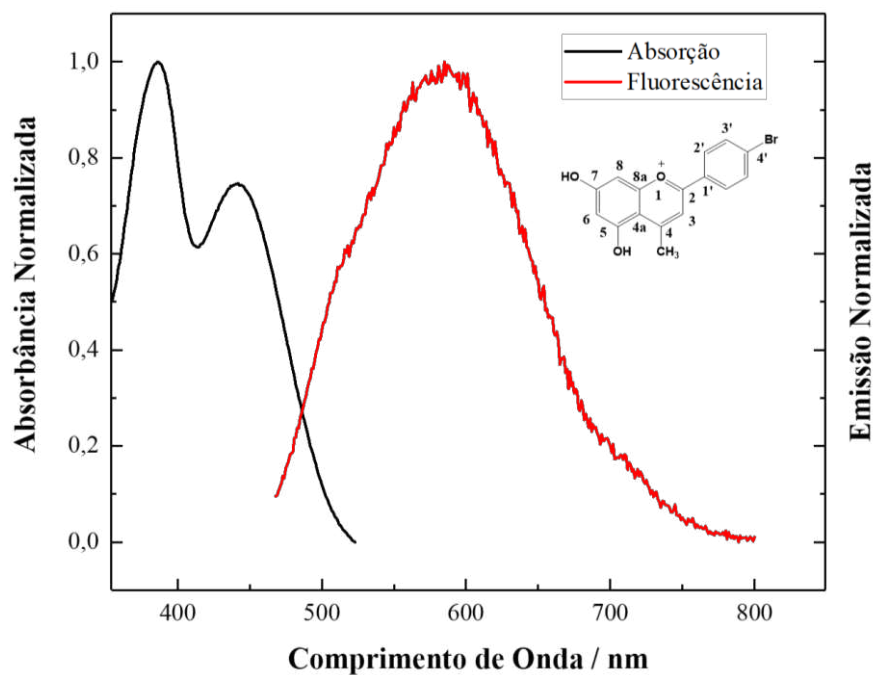
Fonte: O Autor.

**Figura 83** – Espectro de absorção do flavílio **3d** (Acetonitrila) em diferentes concentrações molares.



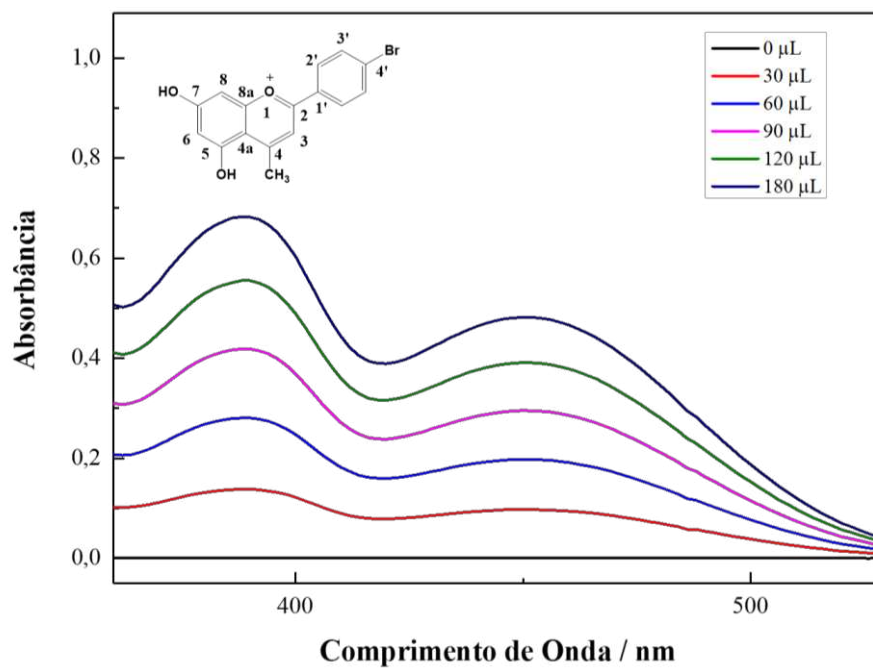
Fonte: O Autor.

**Figura 84** – Espectro de emissão/ fluorescência do flavílio **3d** (Acetonitrila).



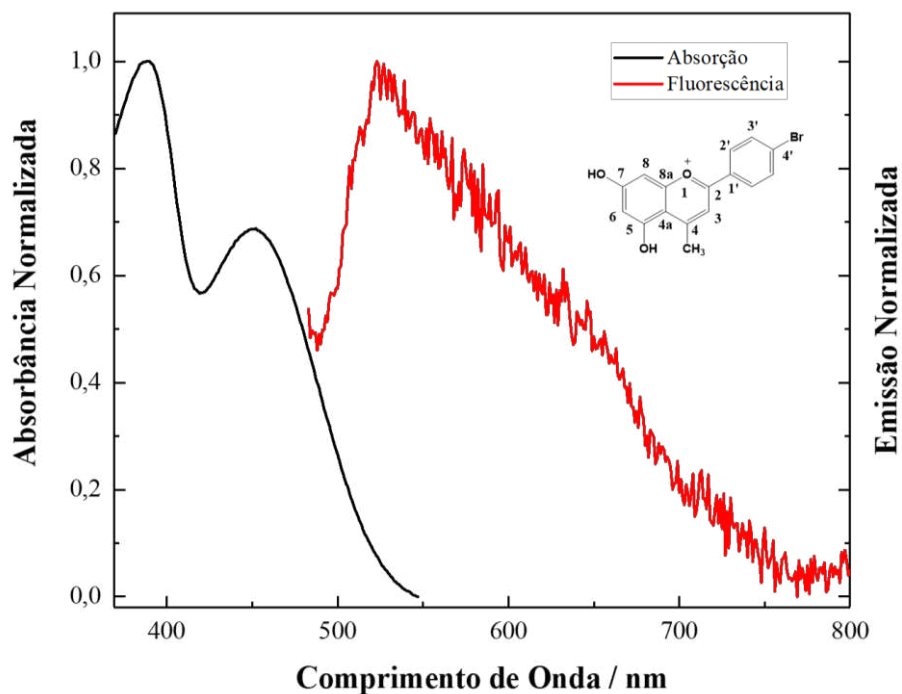
Fonte: O Autor.

**Figura 85** – Espectro de absorção do flavílio **3d** (Metanol) em diferentes concentrações molares.



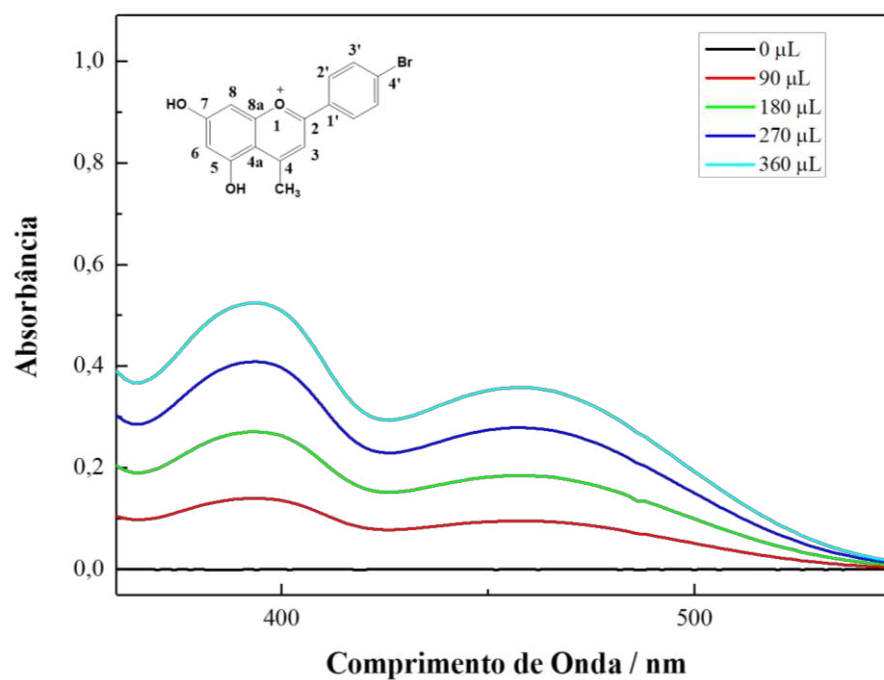
Fonte: O Autor.

**Figura 86** – Espectro de emissão/ fluorescência do flavílio **3d** (Metanol).



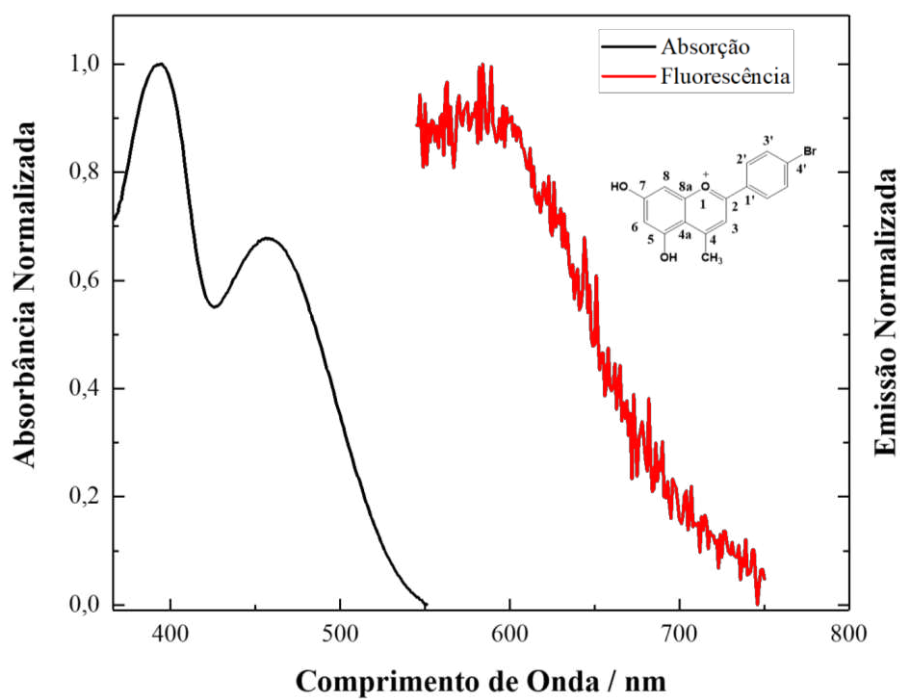
Fonte: O Autor.

**Figura 87** – Espectro de absorção do flavílio **3d** (Isopropanol) em diferentes concentrações molares.



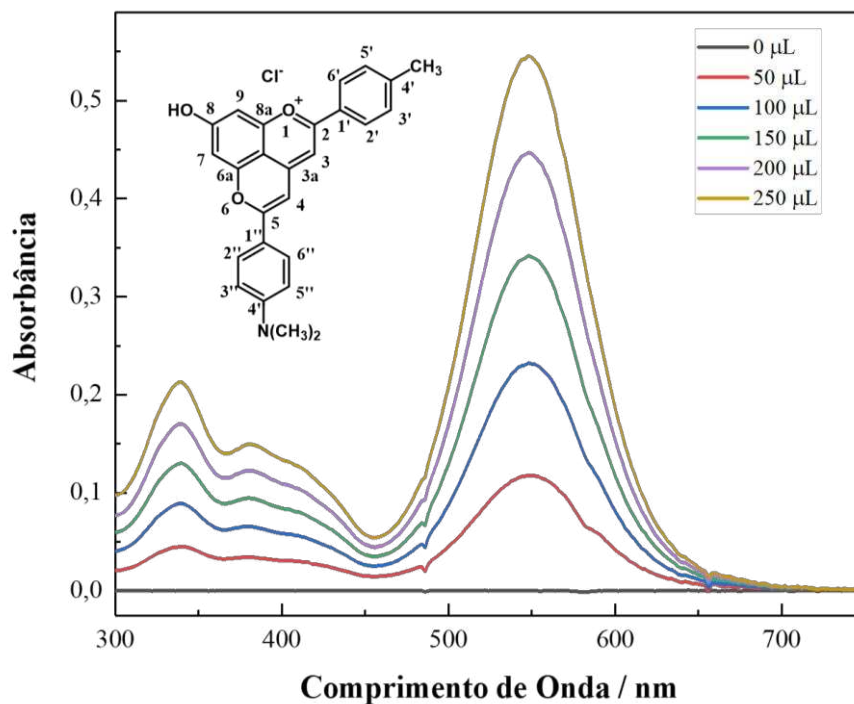
Fonte: O Autor.

**Figura 88** – Espectro de emissão/ fluorescência do flavílio **3d** (Isopropanol).



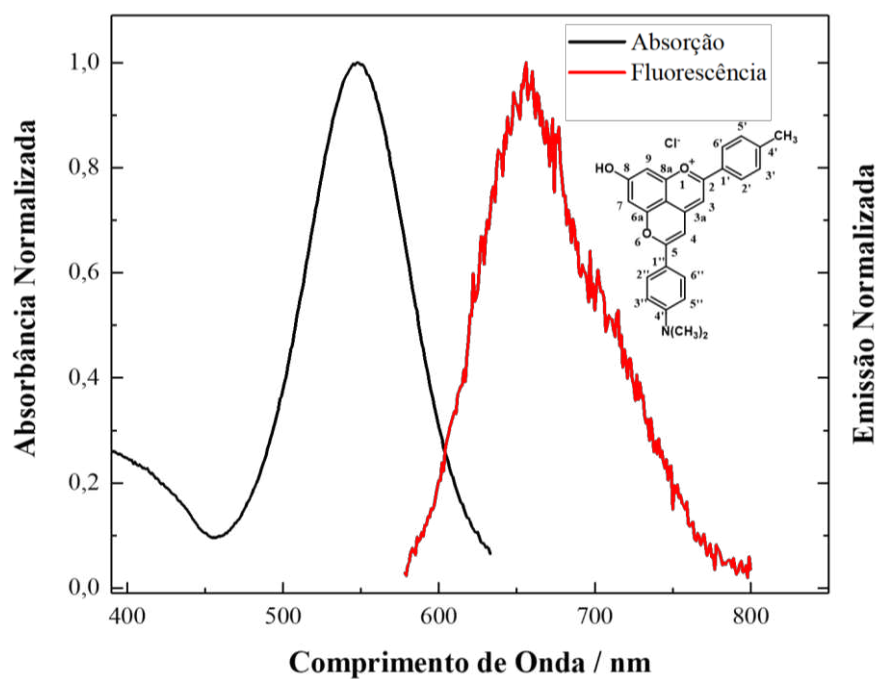
Fonte: O Autor.

**Figura 89** – Espectro de absorção do piranoflavílio **4b** (Metanol) em diferentes concentrações molares.



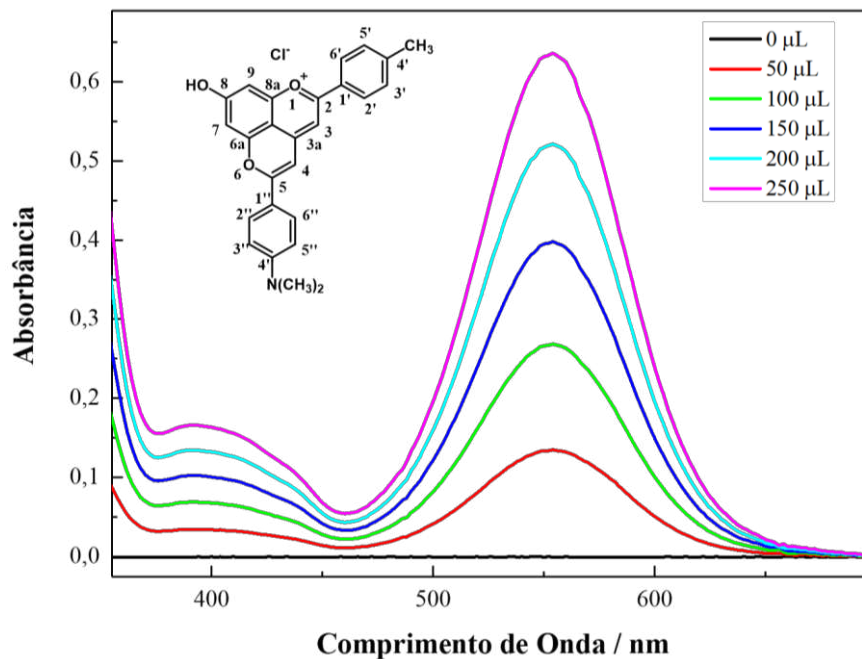
Fonte: O Autor.

**Figura 90** – Espectro de emissão/ fluorescência do piranoflavílio **4b** (Metanol).



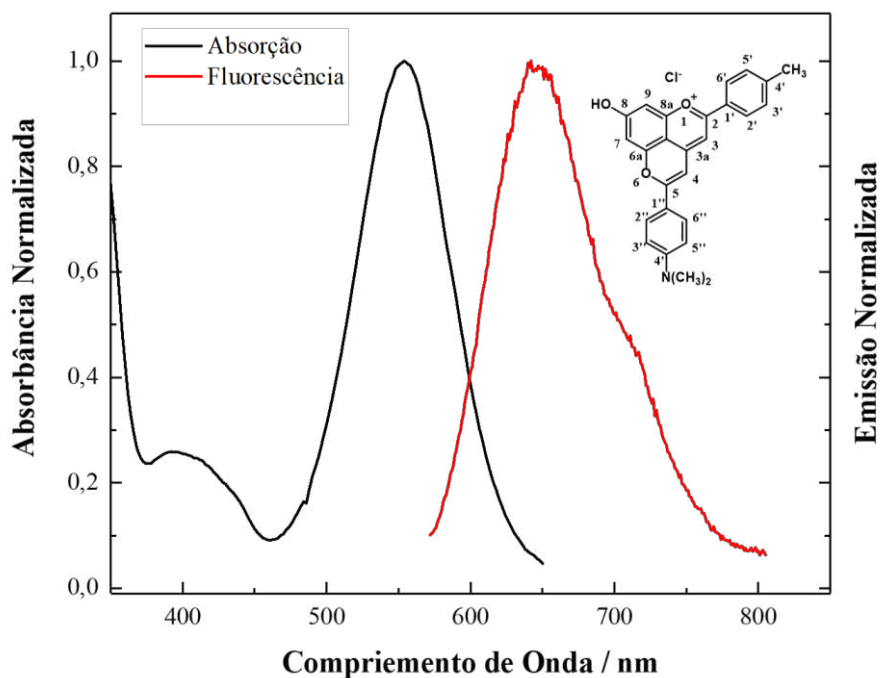
Fonte: O Autor.

**Figura 91** – Espectro de absorção do piranoflavílio **4b** (Isopropanol) em diferentes concentrações molares.



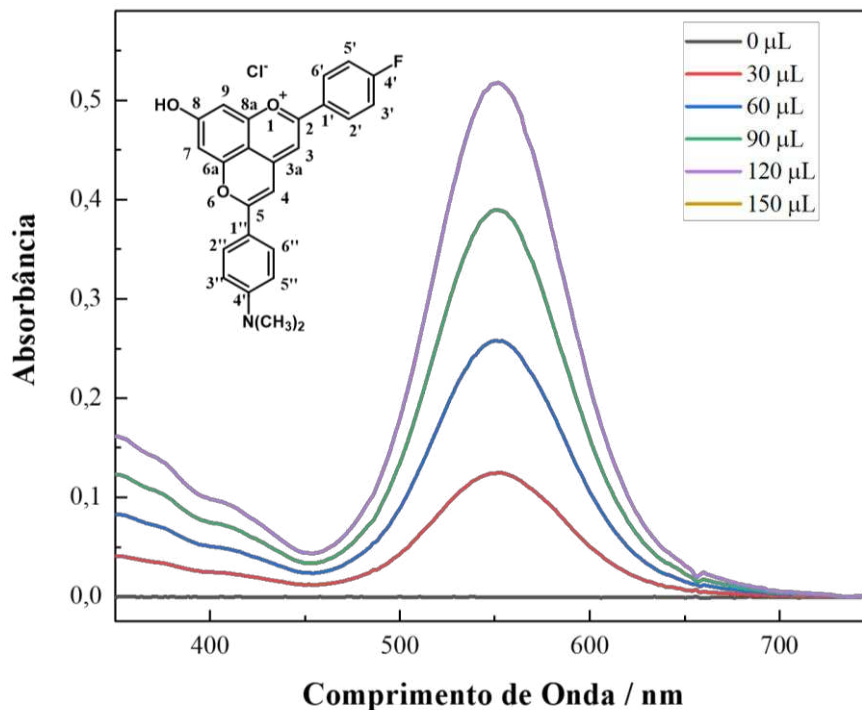
Fonte: O Autor.

**Figura 92** – Espectro de emissão/ fluorescência do piranoflavílio **4b** (Isopropanol).



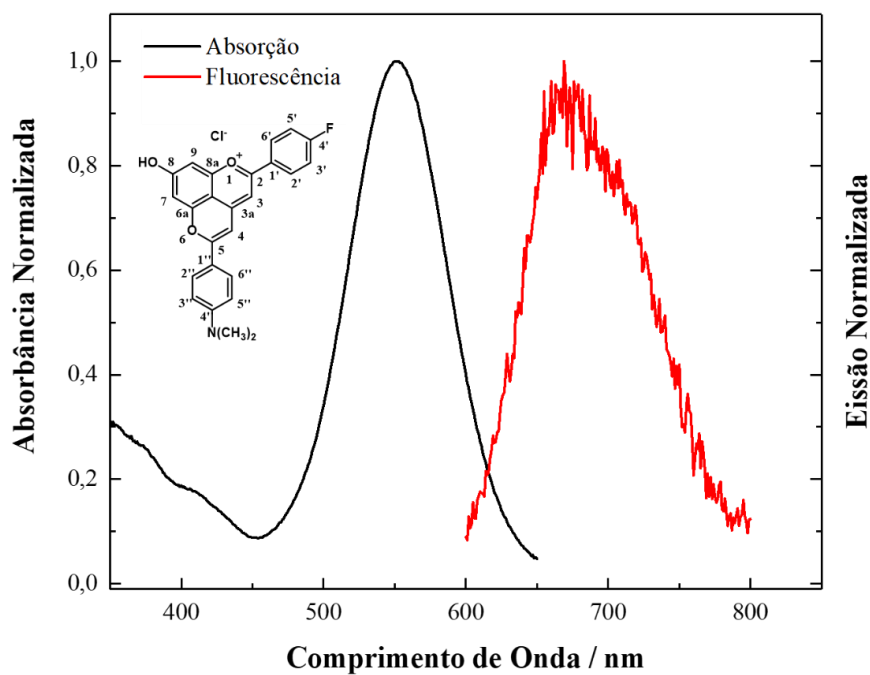
Fonte: O Autor.

**Figura 93** – Espectro de absorção do piranoflavílio **4c** (Acetonitrila) em diferentes concentrações molares.



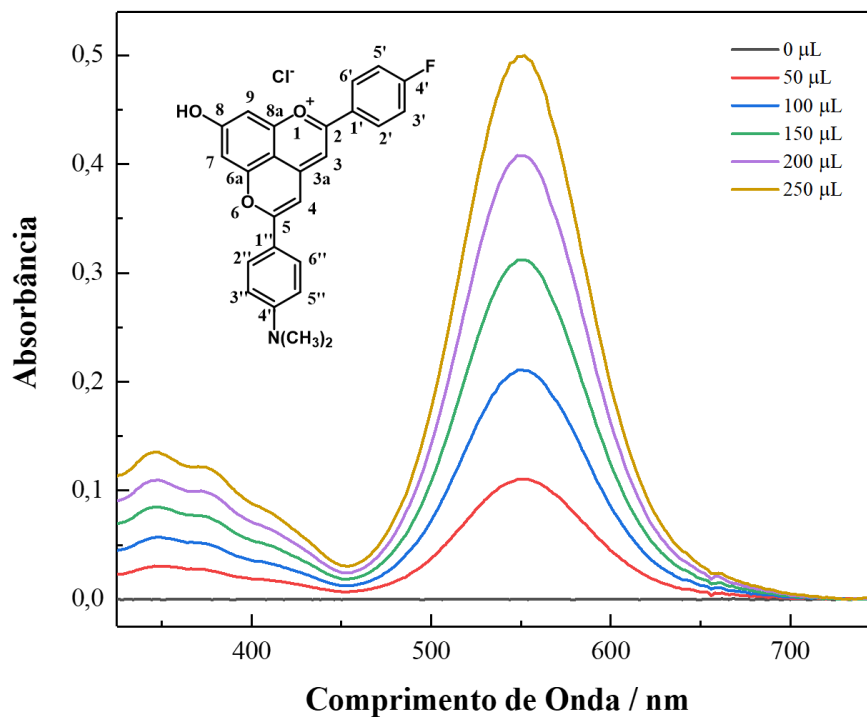
Fonte: O Autor.

**Figura 94** – Espectro de emissão/ fluorescência do piranoflavílio **4c** (Acetonitrila).



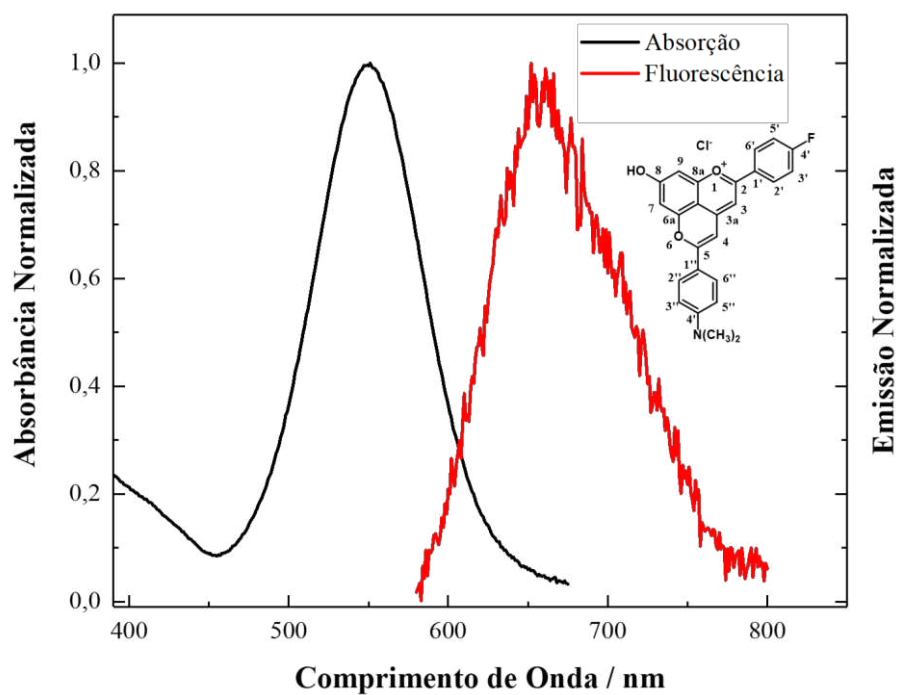
Fonte: O Autor.

**Figura 95** – Espectro de absorção do piranoflavílio **4c** (Metanol) em diferentes concentrações molares.



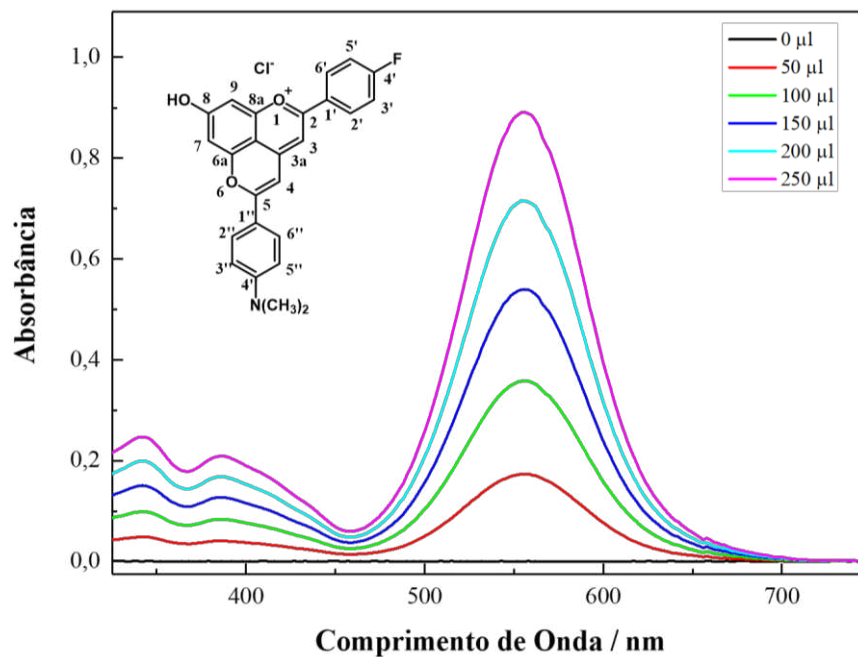
Fonte: O Autor.

**Figura 96** – Espectro de emissão/ fluorescência do piranoflavílio **4c** (Metanol).



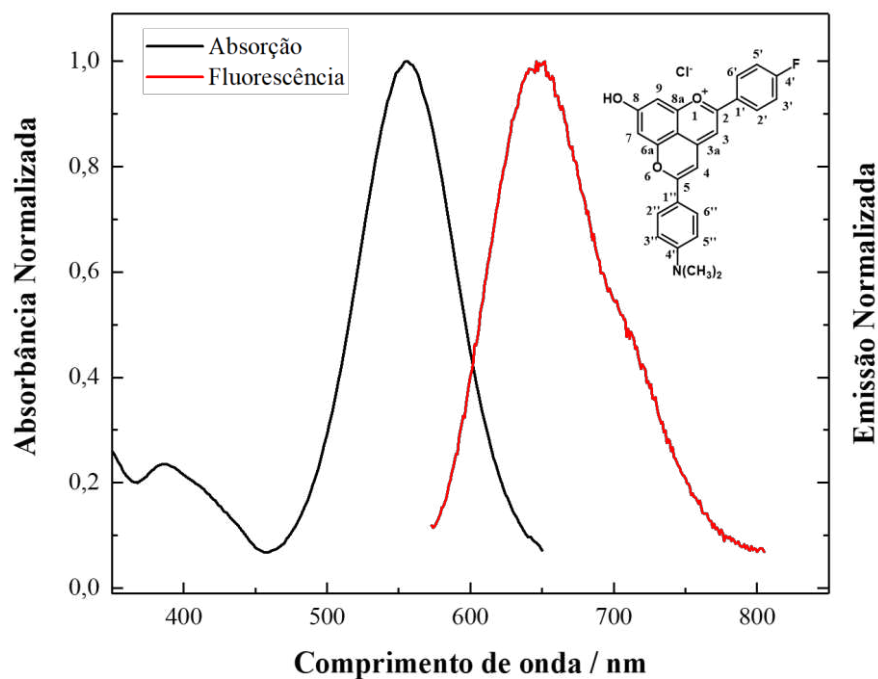
Fonte: O Autor.

**Figura 97** – Espectro de absorção do piranoflavílio **4c** (Isopropanol) em diferentes concentrações molares.

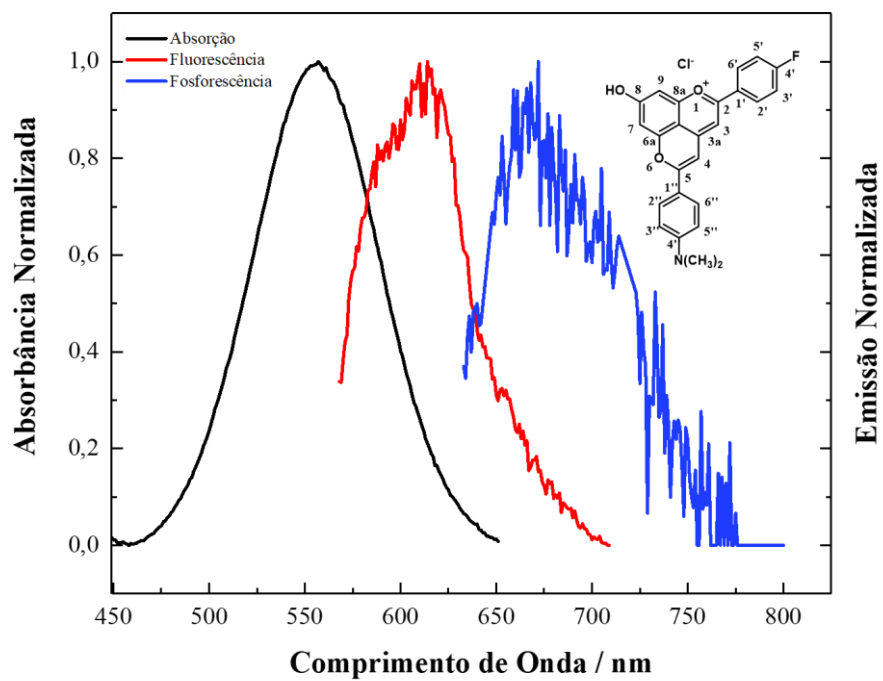


Fonte: O Autor.

**Figura 98** – Espectro de emissão/ fluorescência do piranoflavílio **4c** (Isopropanol).

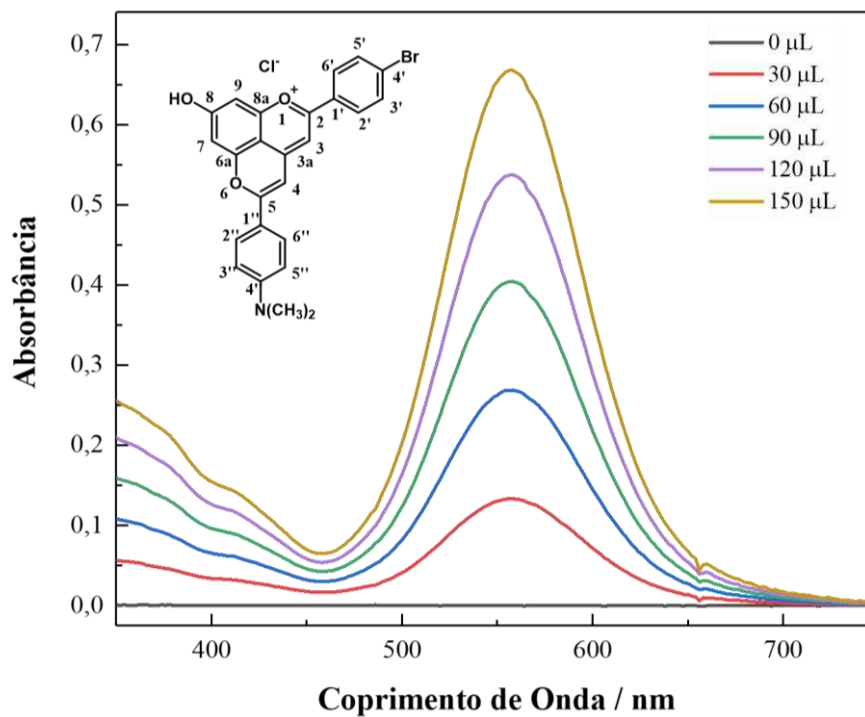


Fonte: O Autor.

**Figura 99** – Espectro de emissão/ fosforescência do piranoflavílio **4c**.

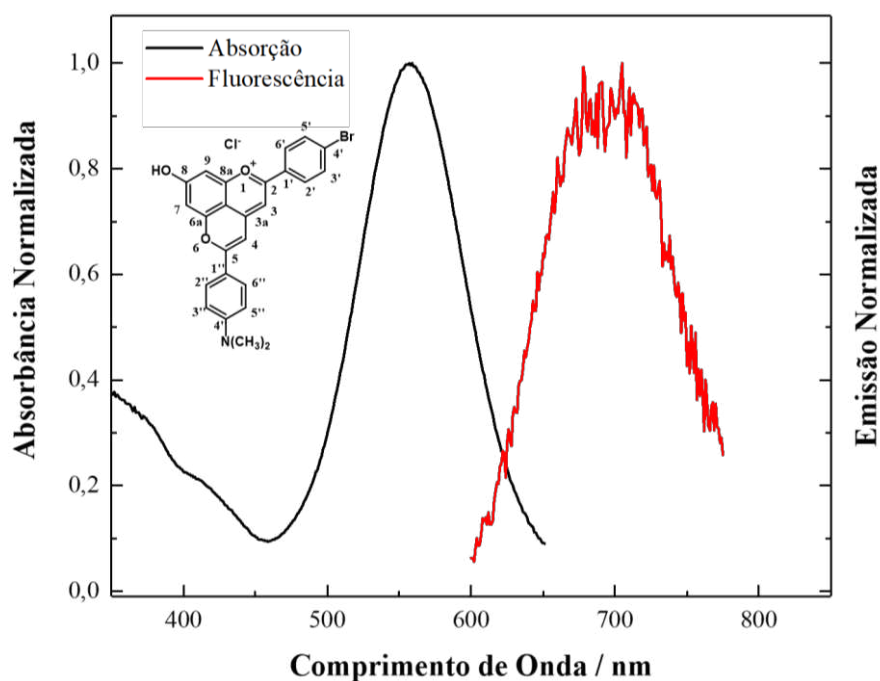
Fonte: O Autor.

**Figura 100** – Espectro de absorção do piranoflavílio **4d** (Acetonitrila) em diferentes concentrações molares.



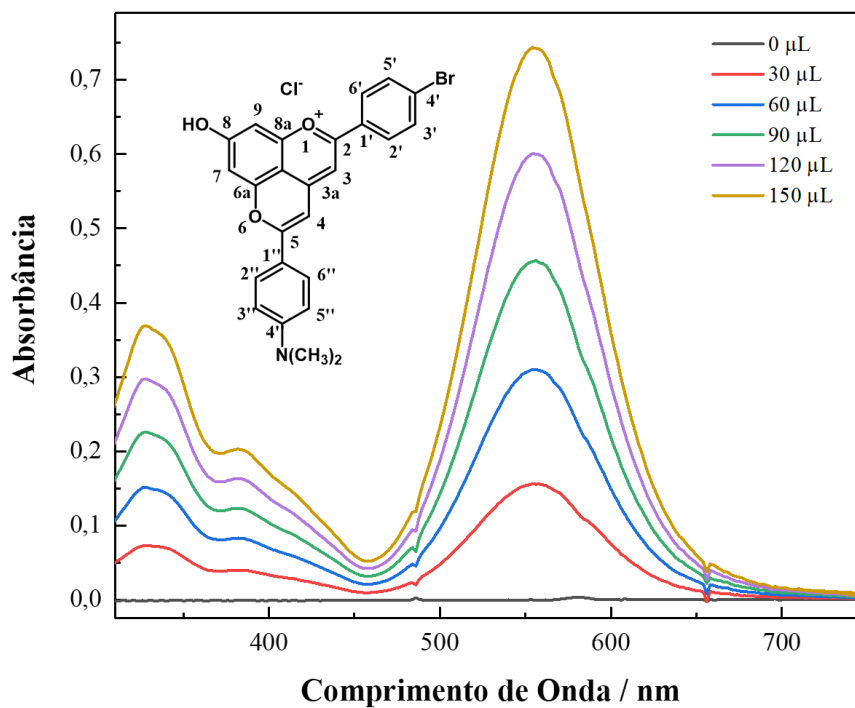
Fonte: O Autor.

**Figura 101** – Espectro de emissão/ fluorescência do piranoflavílio **4d** (Acetonitrila).



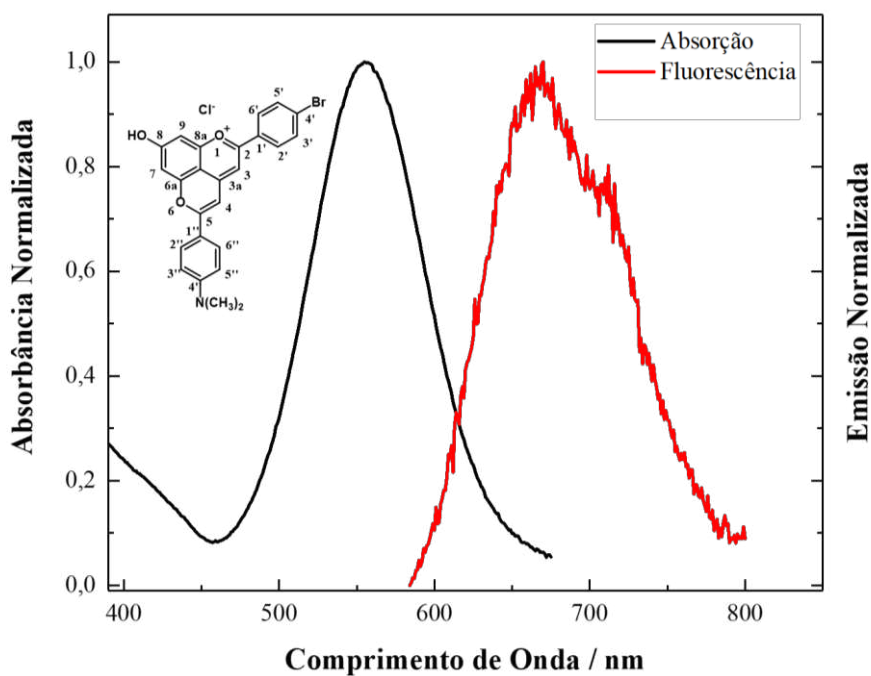
Fonte: O Autor.

**Figura 102** – Espectro de absorção do piranoflavílio **4d** (Metanol) em diferentes concentrações molares.



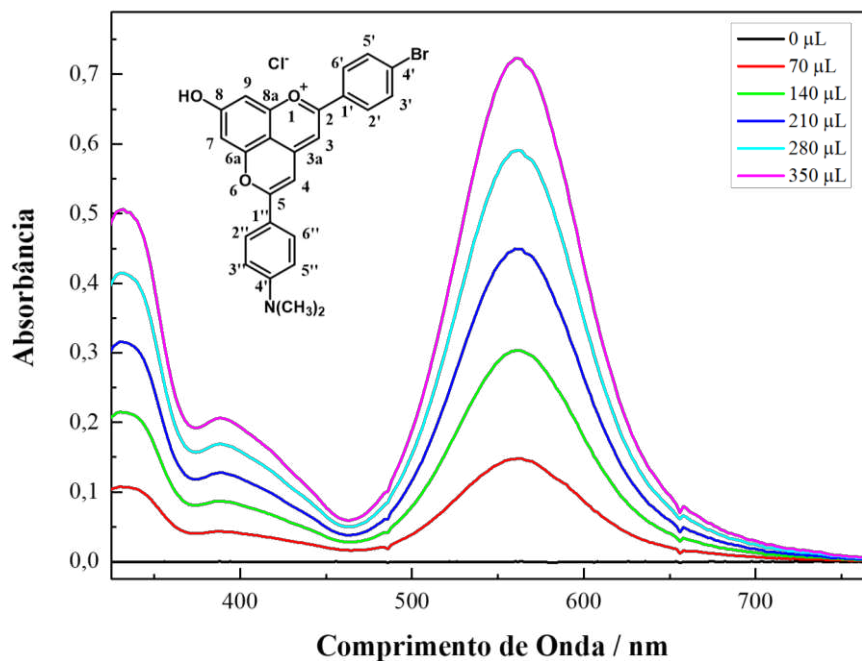
Fonte: O Autor.

**Figura 103** – Espectro de emissão/ fluorescência do piranoflavílio **4d** (Metanol).



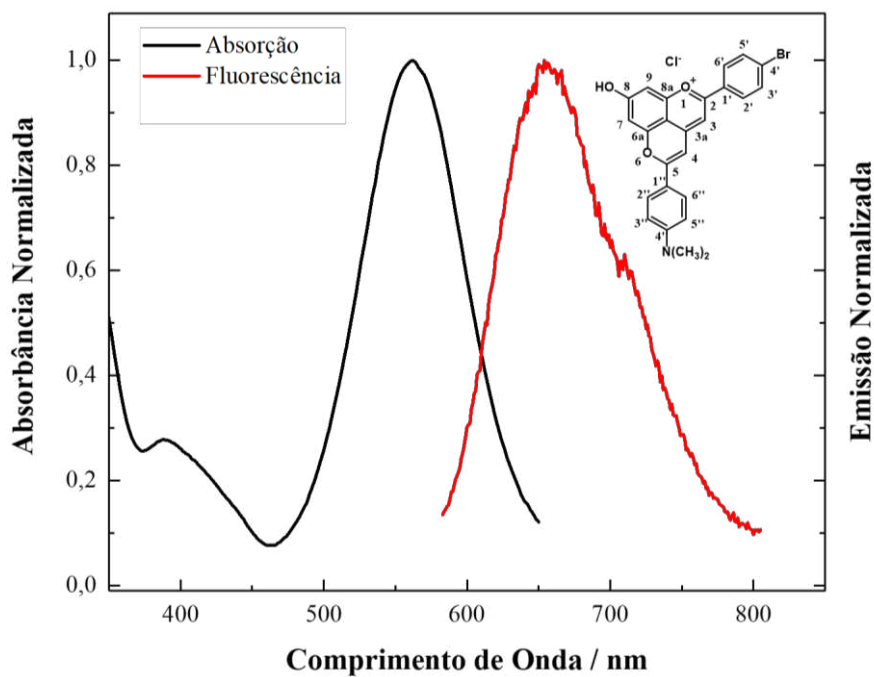
Fonte: O Autor.

**Figura 104** – Espectro de absorção do piranoflavílio **4d** (Isopropanol) em diferentes concentrações molares.

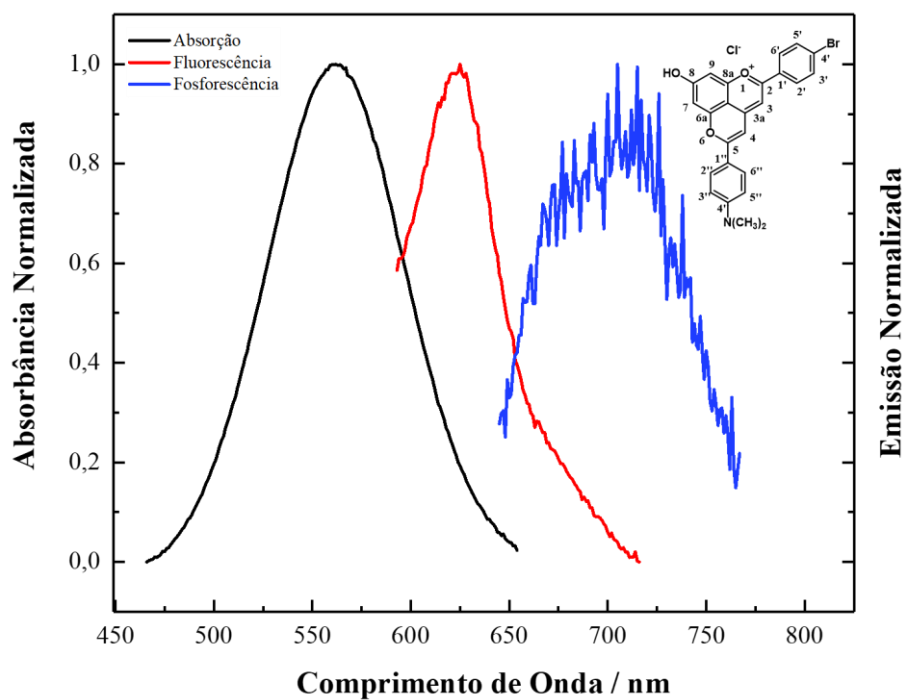


Fonte: O Autor.

**Figura 105** – Espectro de emissão/ fluorescência do piranoflavílio **4d** (Isopropanol).



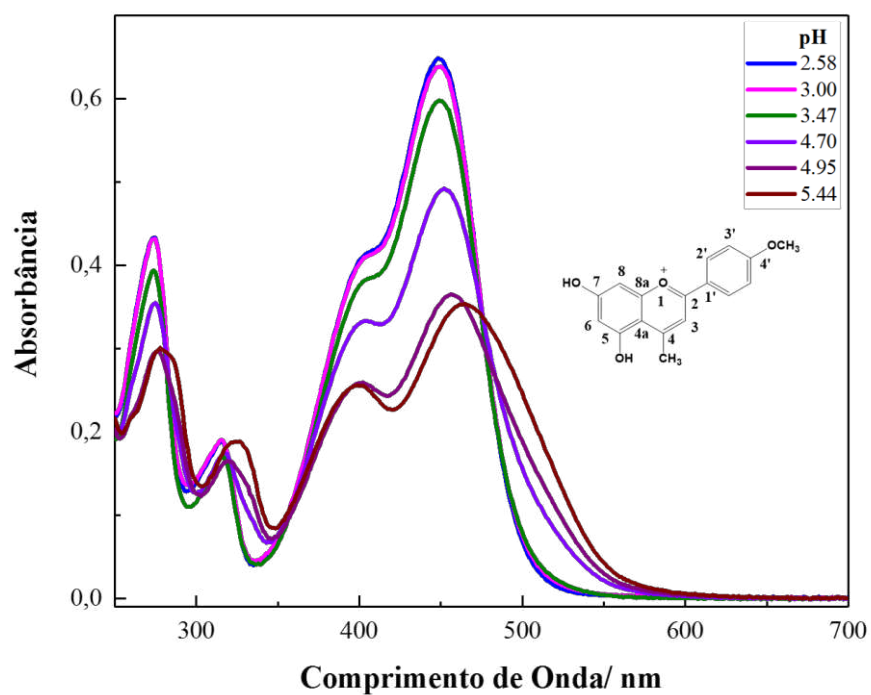
Fonte: O Autor.

**Figura 106** – Espectro de emissão/ fosforescência do piranoflavílio **4d**.

Fonte: O Autor.

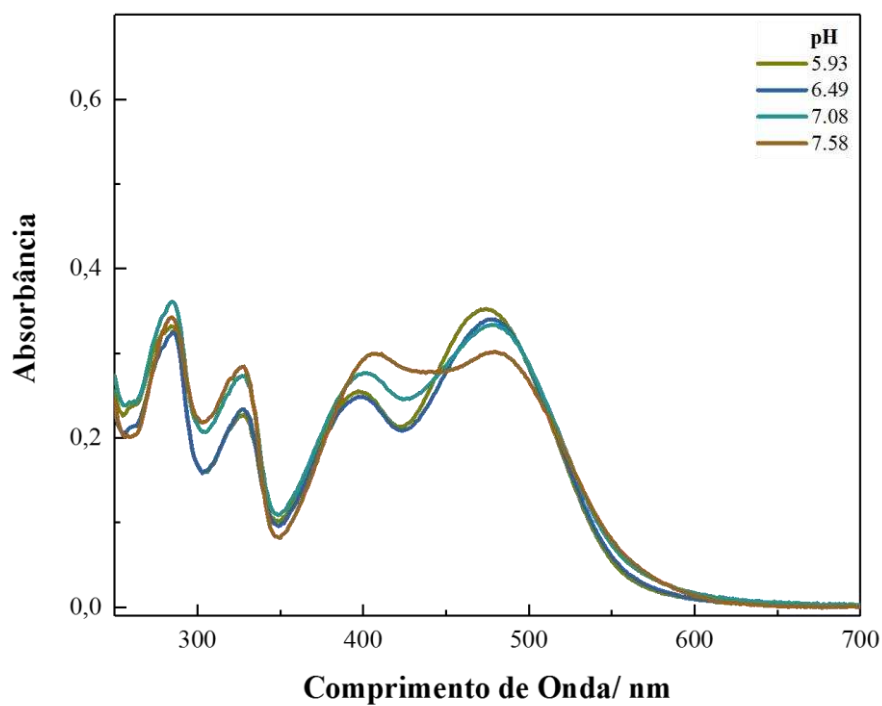
**APÊNDICE C – Espectros de Absorção e Gráficos de Fração Molar *versus* pH dos compostos 3a-3d e 4a-4d.**

Figura 107 – Espectro de absorção de **3a** entre pH 2,58 e 5,44 a 25 °C.



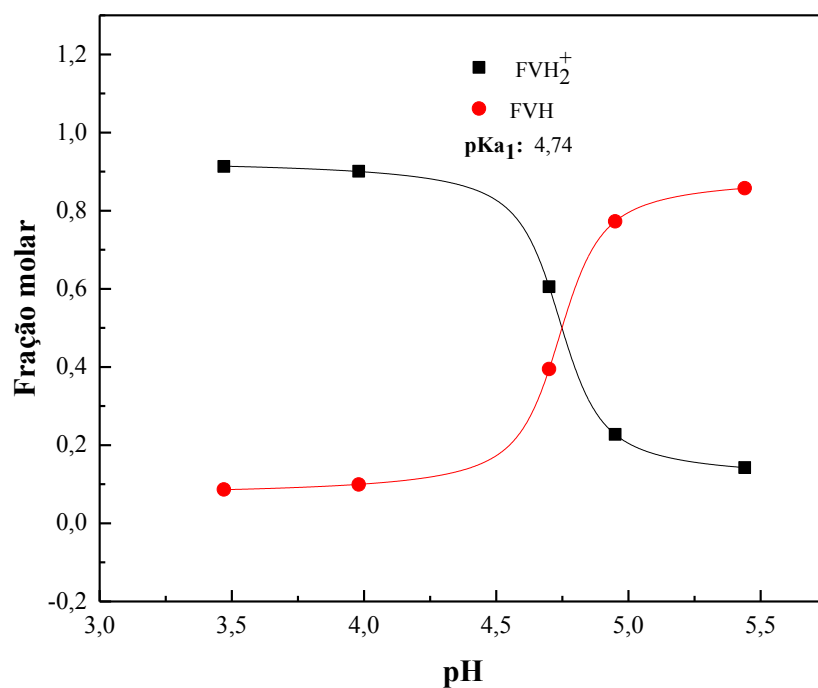
Fonte: O Autor.

Figura 108 – Espectro de absorção de **3a** entre pH 5,93 e 7,58 a 25 °C



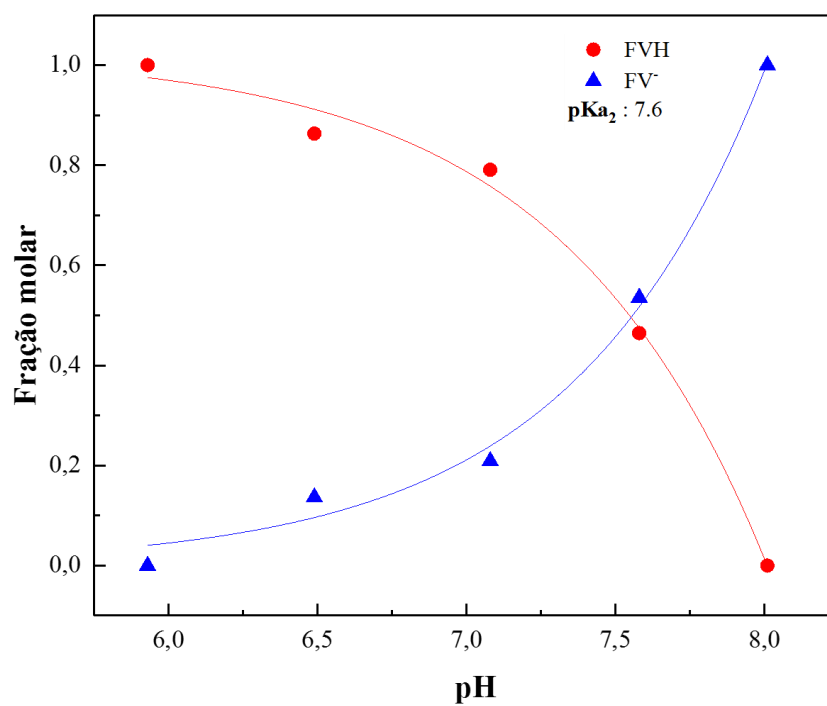
Fonte: O Autor.

**Figura 109** – Variação da fração molar do cátion flavílio protonado ( $\text{FVH}_2^+$ ) e da base quinoidal neutra (FVH) para **3a** em função do pH, a 25 °C.



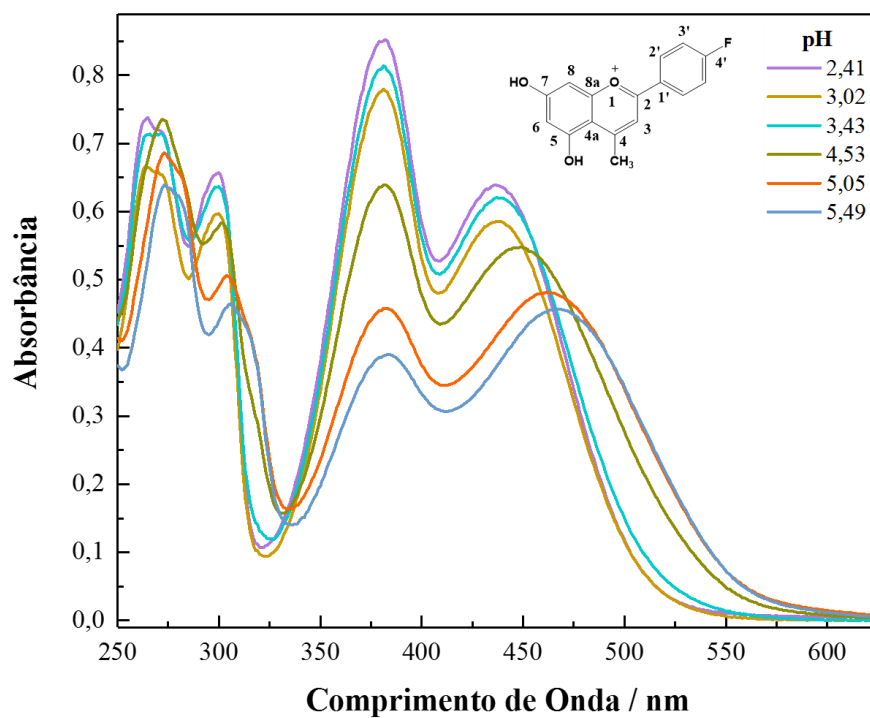
Fonte: O Autor.

**Figura 110** – Variação da fração molar da base quinoidal neutra (FVH) e da base quinoidal ionizada ( $\text{FV}^-$ ) para **3a** em função do pH, a 25 °C



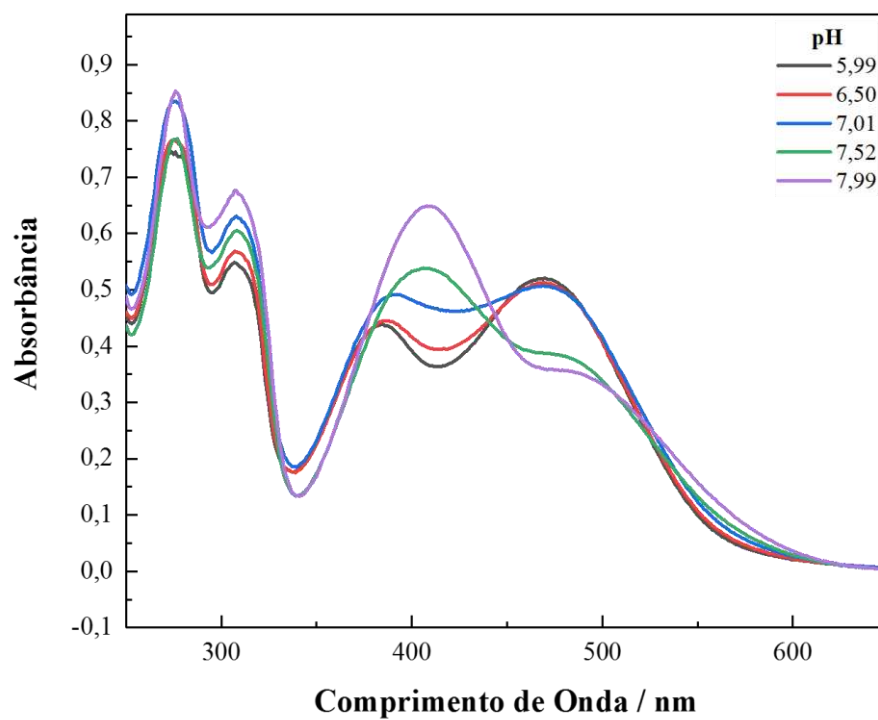
Fonte: O Autor.

Figura 111 – Espectro de absorção de **3c** entre pH 2,41 e 5,49 a 25 °C.



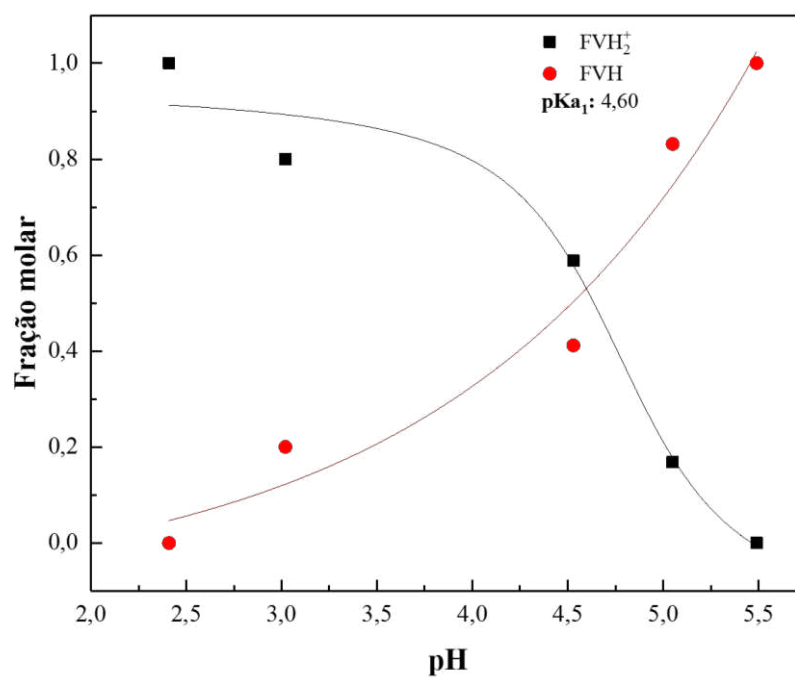
Fonte: O Autor.

Figura 112 – Espectro de absorção de **3c** entre pH 5,99 e 7,99 a 25 °C.



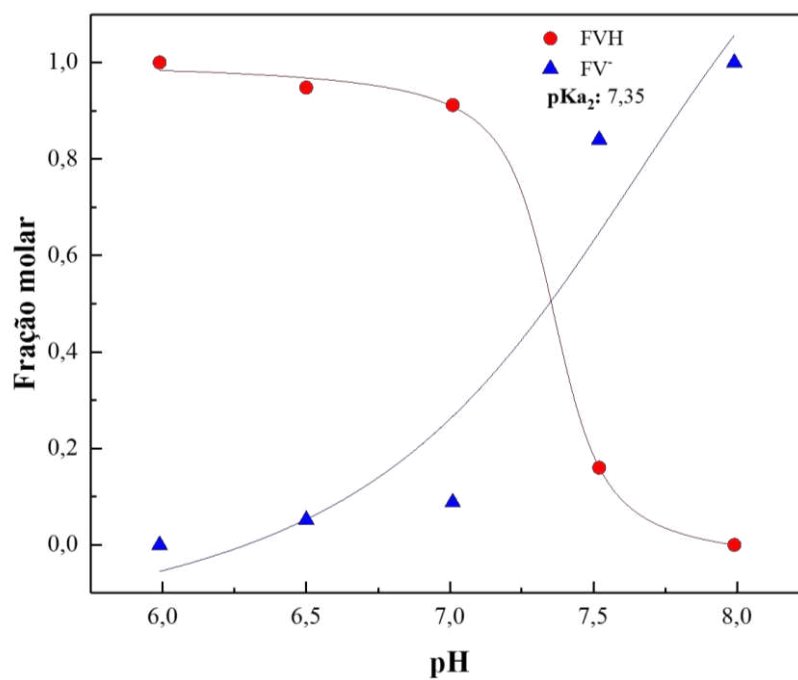
Fonte: O Autor.

**Figura 113** – Variação da fração molar do cátion flavílio protonado ( $\text{FVH}_2^+$ ) e da base quinoidal neutra (FVH) para **3c** em função do pH, a 25 °C.



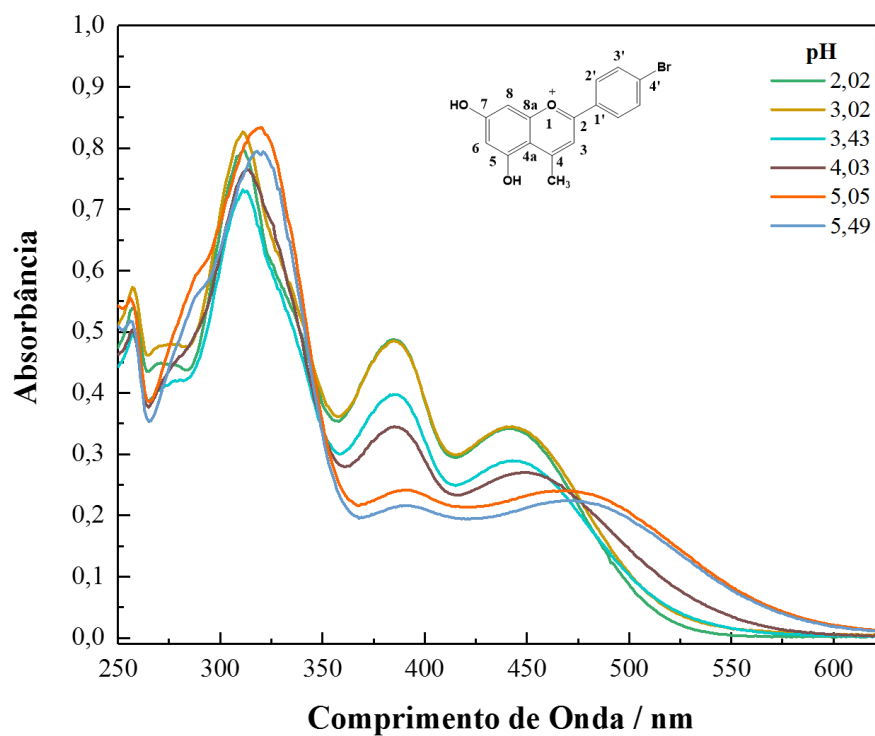
Fonte: O Autor.

**Figura 114** – Variação da fração molar da base quinoidal neutra (FVH) e da base quinoidal ionizada ( $\text{FV}^-$ ) para **3c** em função do pH, a 25 °C



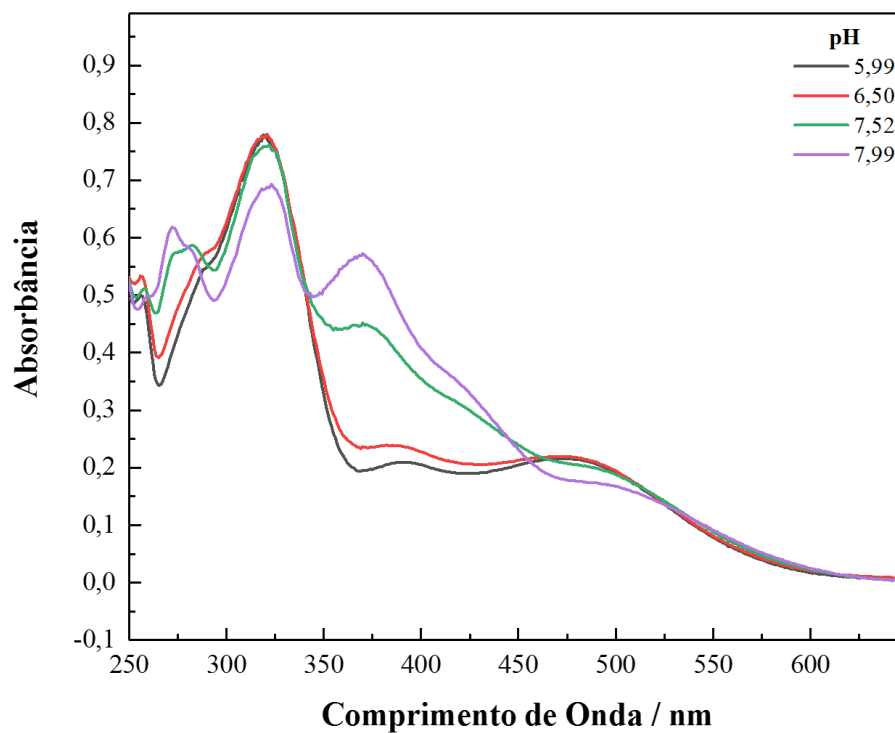
Fonte: O Autor.

Figura 115 – Espectro de absorção de **3d** entre pH 2,02 e 5,49 a 25 °C.



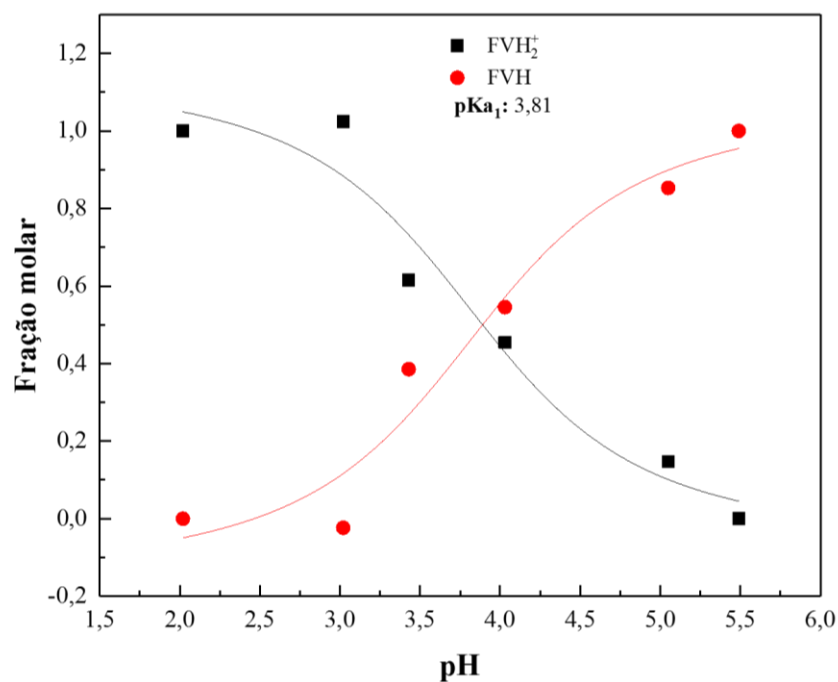
Fonte: O Autor.

Figura 116 – Espectro de absorção de **3d** entre pH 5,99 e 7,99 a 25 °C.



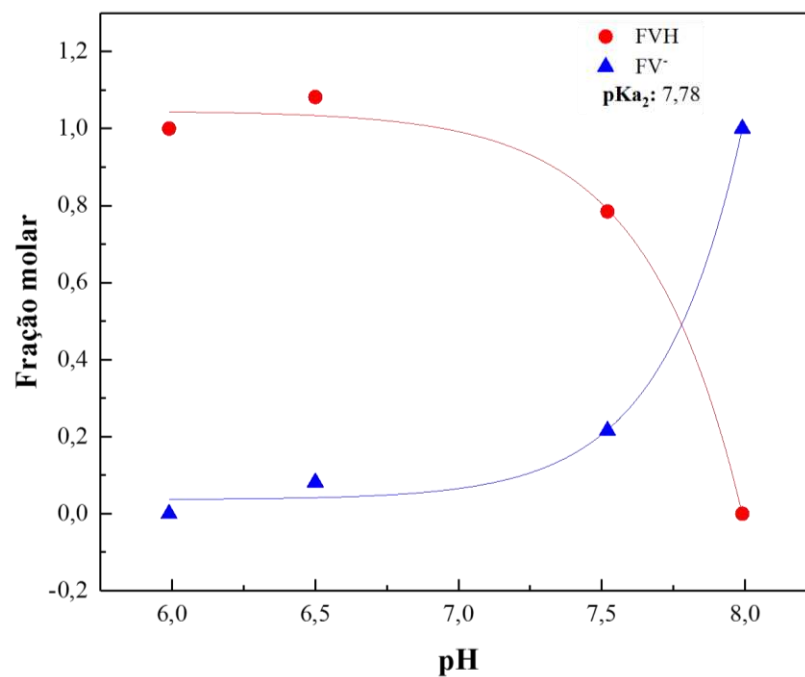
Fonte: O Autor.

**Figura 117** – Variação da fração molar do cátion flavílio protonado ( $\text{FVH}_2^+$ ) e da base quinoidal neutra (FVH) para **3d** em função do pH, a 25 °C.



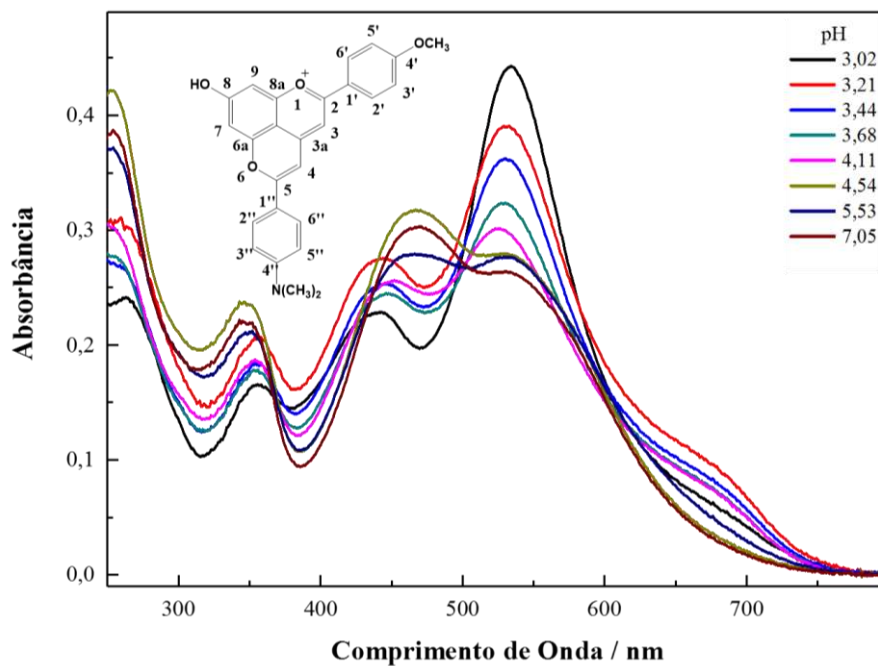
Fonte: O Autor.

**Figura 118** – Variação da fração molar da base quinoidal neutra (FVH) e da base quinoidal ionizada ( $\text{FV}^-$ ) para **3d** em função do pH, a 25 °C



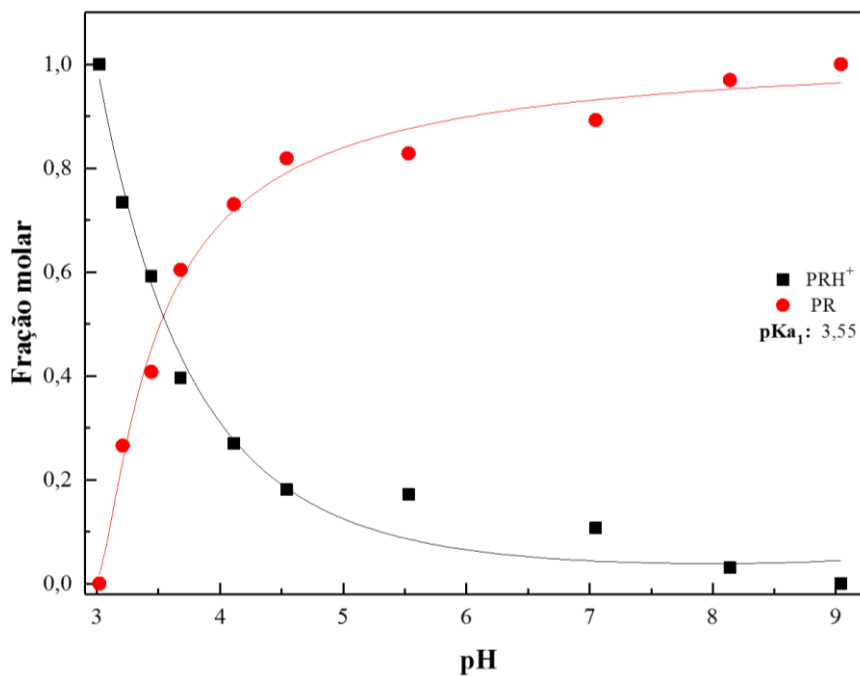
Fonte: O Autor.

Figura 119 – Espectro de absorção de **4a** entre pH 3,02 e 7,05 a 25 °C.



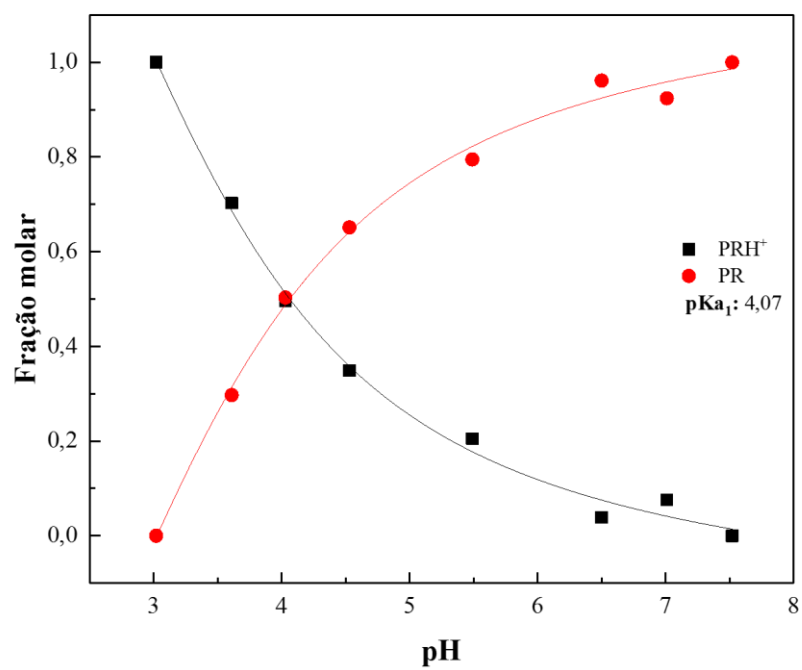
Fonte: O Autor.

Figura 120 – Variação da fração molar do cátion piranoflavílio ( $\text{PRH}^+$ ) e da base quinoidal (PR) para **4a** em função do pH, a 25 °C.



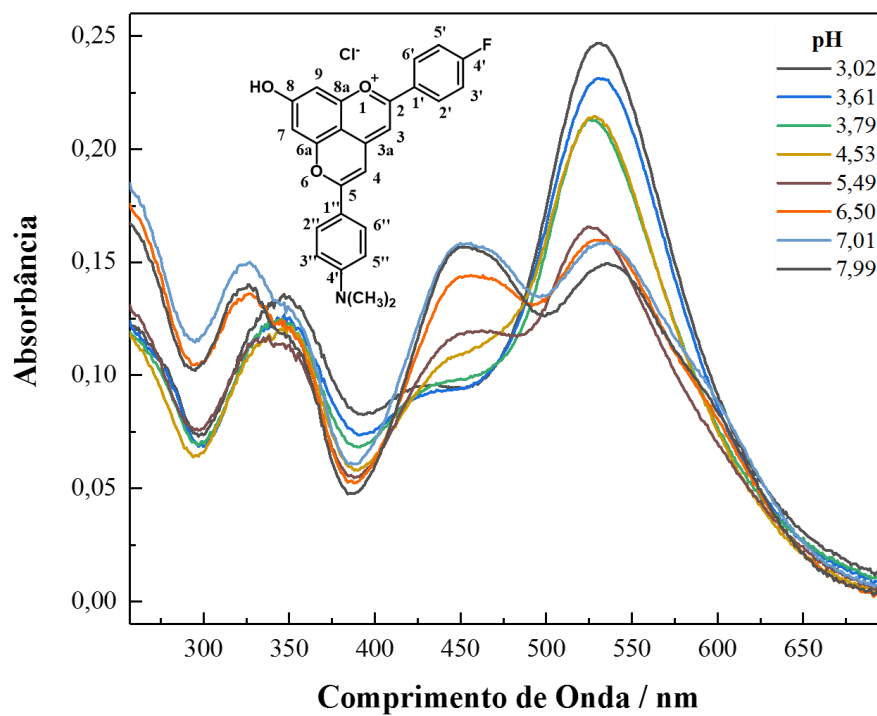
Fonte: O Autor.

**Figura 121** – Variação da fração molar do cátion piranoflavílio (PRH<sup>+</sup>) e da base quinoidal (PR) para **4b** em função do pH, a 25 °C.



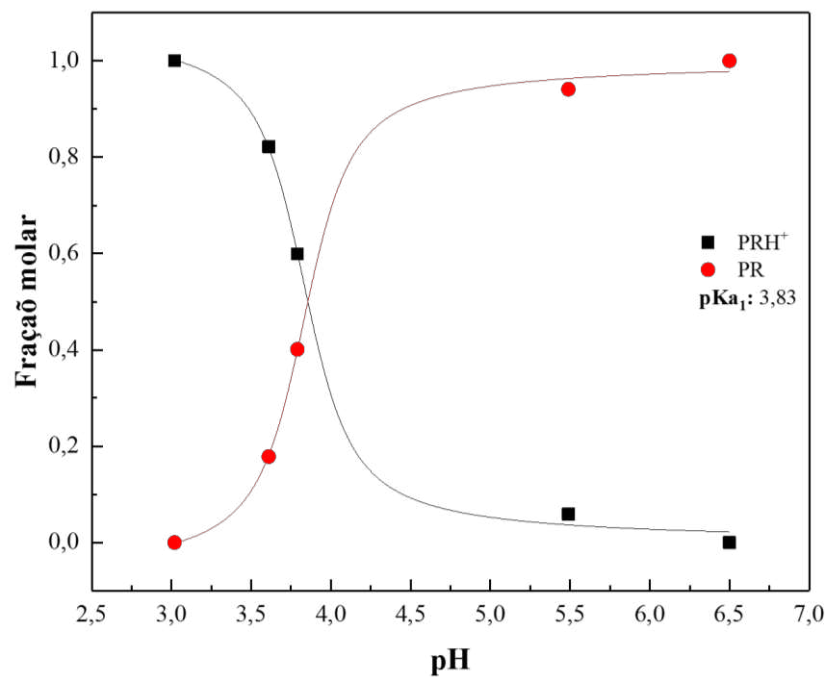
Fonte: O Autor.

Figura 122 – Espectro de absorção de **4c** entre pH 3,02 e 7,99 a 25 °C.



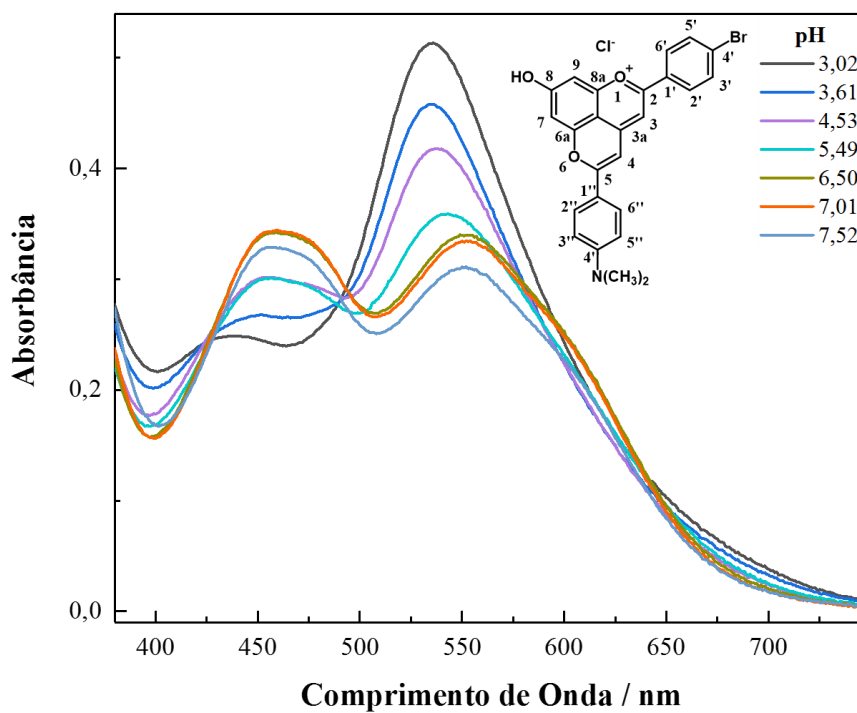
Fonte: O Autor.

Figura 123 – Variação da fração molar do cátion piranoflavílio (PRH<sup>+</sup>) e da base quinoidal (PR) para **4c** em função do pH, a 25 °C.



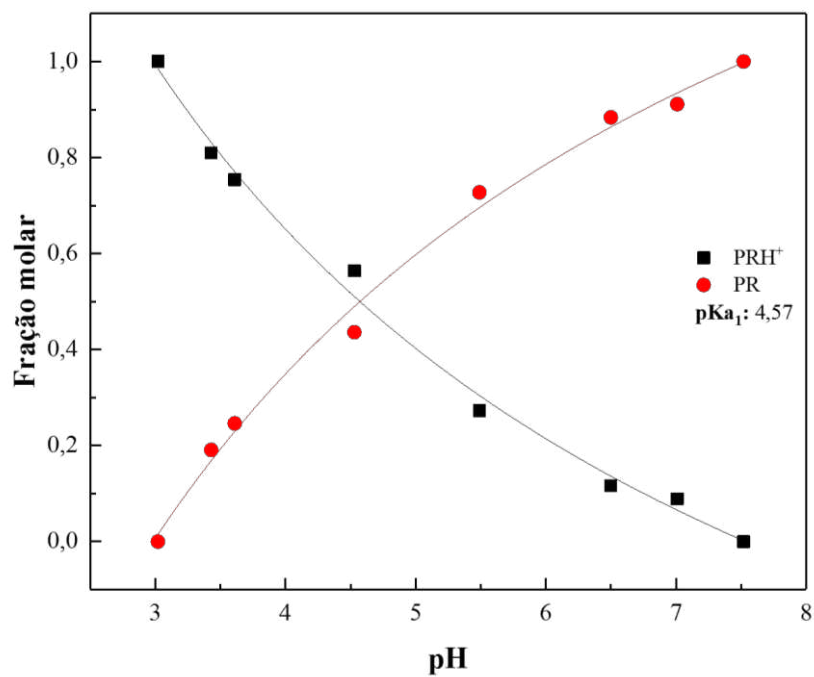
Fonte: O Autor.

Figura 124 – Espectro de absorção de **4d** entre pH 3,02 e 7,52 a 25 °C.



Fonte: O Autor.

Figura 125 – Variação da fração molar do cátion piranoflavílio ( $\text{PRH}^+$ ) e da base quinoidal (PR) para **4d** em função do pH, a 25 °C.



Fonte: O Autor.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ADAIME, Martha B.; ZANELLA, Renato. **Análise Instrumental Prática**. 33 p. Santa Maria, 2009. (Apostila).

ADENIYI, Adebayo A.; CONRADIE, Jeanet. Influence of substituents on the reduction potential and pK a values of  $\beta$ -diketones tautomers: A theoretical study. **Electrochimica Acta**, v. 297, p. 947–960, 2019.

AGUILAR-CASTILLO, Bethsy Adriana; SÁNCHEZ-BOJORGE, Nora Aydee; CHÁVEZ-FLORES, David; CAMACHO-DÁVILA, Alejandro A., PASILLAS-ORNELAS, Eddie; RODRÍGUEZ-VALDEZ, Luz-María & ZARAGOZA-GALÁN, Gerardo. Naphtyl-and pyrenyl-flavylium dyads: Synthesis, DFT and optical properties. **Journal of Molecular Structure**, v. 1155, p. 414-423, 2018.

ALGARRA, Manuel; FERNANDES, Ana; MATEUS, Nuno; DE FREITAS, Victor; DA SILVA, Joaquim C.G. Esteves & CASADO, Juan. Journal of Food Composition and Analysis Anthocyanin profile and antioxidant capacity of black carrots (*Daucus carota* L . ssp . sativus var . atrorubens Alef .) from Cuevas Bajas , Spain. **Journal of Food Composition and Analysis**,v. 33, n. 1, p. 71–76, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2013.11.005>>

ALI, Hussein M.; ALMAGRIBI, Wafaa; AL-RASHIDI, Mona N. Antiradical and reductant activities of anthocyanidins and anthocyanins, structure – activity relationship and synthesis. **FOOD CHEMISTRY**, v. 194, p. 1275–1282, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.003>>

ALVES, G.S.; CUNHA, J.P.A.R.; PALLADINI, L.A.. Seleção de traçadores para estudos de eficiência das aplicações de produtos fitossanitários. **Planta daninha, Viçosa**, v. 32, n. 4, p. 861-870, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582014000400021>>

ARAÚJO, Paula; BASÍLIO, Nuno; AZEVEDO, Joana; FERNANDES, Ana; MATEUS, Nuno; PINA, Fernando, FREITAS, Victor de & Oliveira, Joana. Colour modulation of blue anthocyanin-derivatives. Lignosulfonates as a tool to improve the water solubility of natural blue dyes. **Dyes and Pigments**, v. 153, n. January, p. 150–159, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2018.02.019>>

ARAÚJO, Paula; COSTA, Ana; FERNANDES, Iva; MATEUS, Nuno; FREITAS, Victor de; SARMENTO, Bruno; OLIVEIRA, Joana. Stabilization of bluish pyranoanthocyanin pigments in aqueous systems using lignin nanoparticles. **Dyes and Pigments**, v. 166, n. January, p. 367–374, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.03.020>>

ATKINS, Peter William; JONES, Loretta. **Princípios de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente**. 3.ed. Porto Alegre: Bookman, 2006. 965 p.

BRASLAVSKY, Silva E. Glossary of terms used in photochemistry 3rd edition: (IUPAC Recommendations 2006). **Pure and Applied Chemistry**, v. 79, n. 3, p. 293–465, 2007.

CAICONTE, Luis Eduardo Ossadón. **Especiação e Atividade antioxidantes de íons hidroxiflavílio**. 2012. Dissertação (Mestrado). Instituto de Química – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

CAMEIRA-DOS-SANTOS, Paulo-Jorge; BRILLOUET, Jean-Marc; CHEYNIER, Veronique & MOUTOUNET, Michel. (1996). Detection and partial characterisation of new anthocyanin-derived pigments in wine. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 70, n. 2, p. 204-208.

CASTAÑEDA-OVANDO, Araceli; PACHECO-HERNÁNDEZ, Ma. de Lourdes; PÁEZ-HERNÁNDEZ; Ma. Elena; RODRÍGUEZ, José A.; GALÁN-VIDAL, Carlos Andrés . Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859–871, 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814608010674>>

CHASSAING, Stefan; ISOREZ-MAHLER, Géraldine; KUENY-STOTZ, Marie; BROUILLARD, Raymond . Aged red wine pigments as a source of inspiration for organic synthesis - The cases of the color-stable pyranoflavylum and flavylum-(4→8)-flavan chromophores. **Tetrahedron**, v. 71, n. 20, p. 3066–3078, 2015. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0040402014015099>>

CHUNG, Cheryl; ROJANASASITHARA, Thananunt; MUTILANGI; William, McCLEMENTS, David Julian . Stabilization of natural colors and nutraceuticals: Inhibition of anthocyanin degradation in model beverages using polyphenols. **Food**

**Chemistry**, v. 212, p. 596–603, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.025>>

CHUNG, Cheryl; ROJANASASITHARA, Thananunt; MUTILANGI, William, McCLEMENTS, David Julian . Stability improvement of natural food colors : Impact of amino acid and peptide addition on anthocyanin stability in model beverages. **Food Chemistry**, v. 218, p. 277–284, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.087>>

COKLAR, Hacer; AKBULUT, Mehmet. Anthocyanins and phenolic compounds of Mahonia aquifolium berries and their contributions to antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v. 35, p. 166–174, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2017.05.037>>

COSTA, Tassia de Sousa. **Síntese de sais de flavílio para estudo de suas propriedades químicas**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016.

CRAVERO, Raquel M.; GONZÁLEZ-SIERRA, Manuel; OLIVIERI, Alejandro C. 13 C NMR spectroscopic study of the tautomeric equilibrium in p-phenyl substituted benzoylacetones. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, 1993, 6: 1067-1071.

CRUZ, Luís; SOUSA, Joana L.C.; MARINHO, Andreia; MATEUS, Nuno; FREITAS, Victor de. Synthesis and structural characterization of novel pyranoluteolinidin dyes. **Tetrahedron Letters**, v. 58, n. 2, p. 159–162, 2017.

DA FONSECA MACHADO, Ana Paula; REZENDE, Camila Alves; RODRIGUES, Rodney Alexandre; BARBERO, Gerardo Fernández; E ROSA, Paulo de Tarso Vieira & MARTÍNEZ, Julian. Encapsulation of anthocyanin-rich extract from blackberry residues by spray-drying, freeze-drying and supercritical antisolvent. **Powder Technology**, v. 340, p. 553–562, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.09.063>>

DA SILVA, Cassio Pacheco; PIOLI, Renan Moraes; LIU, Liu; ZHENG, Shasha; ZHANG, Mengjiao; SILVA, Gustavo Thalmer de Medeiros; CARNEIRO, Vânia Maria Teixeira & QUINA, Frank H.. Improved synthesis of analogues of red wine pyranoanthocyanin pigments. **ACS omega**, v. 3, n. 1, p. 954-960, 2018.

DA SILVA, Láuris Lucia; DONNICI, Claudio Luis & AYALA, José Danilo . Traçadores: O uso de agentes químicos para estudos hidrológicos, ambientais, petroquímicos e biológicos. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1576–1585, 2009.

DAMASCENO, Marcus Vinicius Araujo. **Estudos dos efeitos de solventes no espectro de absorção eletrônica da merocianina de Brooker e derivados**. 2015. Tese (Doutorado) - Instituto de Física, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

DARUGAR, Vahidreza R, VAKILI, M.; NEKOEI, A-Reza.; TAYYARI, Sayyed Faramarz & AFZALI, R.. Tautomerism, molecular structure, intramolecular hydrogen bond, and enol-enol equilibrium of para halo substituted 4,4,4-trifluoro-1-phenyl-1,3-butanedione; Experimental and theoretical studies. **Journal of Molecular Structure**, v. 1150, p. 427–437, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.09.004>>

DEKIC, Milan; KOLAŠINAC, Rejhana; RADULOVIC', Niko; ŠMIT, Biljana; AMIC', Dragan; MOLC'ANOV, Krešimir; MILENKOVIC, Dejan & MARKOVIC', Zoran . Synthesis and theoretical investigation of some new 4-substituted flavylum salts. **Food chemistry**, v. 229, p. 688-694, 2017. .

EABORN, Colin. Compendium of chemical Terminology: IUPAC Recommendations. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 356, n. 2, p. C76–C77, 1988.

EBRAHIMI TIRTASHI, Fahimeh; MORADI, Mehran; TAJIK, Hossein; FOROUGH, Mehrdad; EZATI, Parya & KUSWANDI, Bambang . Cellulose/chitosan pH-responsive indicator incorporated with carrot anthocyanins for intelligent food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 136, p. 920–926, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.148>>

FERNANDES PREVIDELLO, Bruno Alarcon; CARVALHO, Fernando Rodrigues de; TESSARO, André Luiz; DE SOUZA, Vagner Roberto & HIOKA, Noboru. O pKa de indicadores ácido-base e os efeitos de sistemas coloidais. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 600–606, 2006.

FERNANDES, Iva; FARIA, Ana; CALHAU, Conceição; FREITAS, Victor de & MATEUS, Nuno. Bioavailability of anthocyanins and derivatives. **Journal of functional foods**, v. 7, p. 54-66, 2014.

FREITAS, Adilson A.; PAULO, Luisa; MAÇANITA, Antonio L. & QUINA, Frank H. . Acid-base equilibria and dynamics in sodium dodecyl sulfate micelles: Geminate recombination and effect of charge stabilization. **Langmuir**, v. 22, n. 19, p. 7986–7993, 2006.

FREITAS, Adilson A.; QUINA, Frank H.; FERNANDES, Ana C. & MAÇANITA, António A. L.. Picosecond dynamics of the prototropic reactions of 7-hydroxyflavylium photoacids anchored at an anionic micellar surface. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 114, n. 12, p. 4188–4196, 2010.

FREITAS, Adilson Alves de. **Reatividade química e fotoquímica de antocianinas em sistemas organizados**. 2005. Tese (Doutorado) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

GOMES, Vânia; MATEUS, Nuno; FREITAS, Victor de & CRUZ, Luís . Synthesis and chemical equilibria of a new 10-methylpyrano-2-styrylbenzopyrylium pigment in aqueous solution and its modulation by different micellar systems. **Dyes and Pigments**, v. 167, n. February, p. 60–67, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.04.004>>

JIANG, Guangyang; HOU, Xiaoyan; ZENGA, Xuedan; ZHANG, Can; WU, Hejun; SHEN, Guanghui; LI, Shanshan; LUO, Qingying; LI, Meiliang; LIU, Xingyan; CHEN, Anjun; WANG, Zhangying & ZHANG, Zhiqing . Preparation and characterization of indicator films from carboxymethyl-cellulose/starch and purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) lam) anthocyanins for monitoring fish freshness. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 143, p. 359–372, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.024>>

JIMÉNEZ-CRUZ, Federico; RÍOS-OLIVARES, Hector; GARCÍA-GUTIÉRREZ, José Luis & MAR, Lubanski Fragoza . Electronic effects on keto-enol tautomerism of p-substituted aryl-1,3-diketone malonates. **Journal of Molecular Structure**, v. 1101, p. 162–169, 2015.

KHOO, Hock Eng; AZLAN, Azrina; TANG, Sou Teng & LIM, See Meng . Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. **Food & Nutrition Research**, 2017.

LOPES, Toni Jefferson; XAVIER, Marcelo Fonseca; QUADRI, Mara Gabriela Novy & QUADRI, Marinho Bastos . Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 13, n. 3, 2007.. p. 291–297, 2007.

MAGALHÃES, Janildo Lopes. **Propriedades fotofísicas de substituintes aromáticos em derivados da N-metil-1,8-naftalimida: uma correlação entre dados teóricos e experimentais**. 2006. Tese (Doutorado). Instituto de Química de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

MARTINHO, José Manuel Gaspar. Espectroscopia de Absorção no Ultravioleta e Visível. **Boletim da Sociedade Portuguesa de Química**, v. 52, n. 3, p. 44–46, 1994.

MEDEIROS, Giovanna Christinne Rocha de. **Determinação espectrofotométrica do pKa e desenvolvimento de dispersões sólidas da nova entidade química LPSF/FZ4: um promissor agente esquistossomicida**. 2013. Dissertação (Mestrado) - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

MOGHADDAM, Firouz; FOROUSHANI, Behzad Koushki; GHONOUEI, Nima & KALAHROODI, Elaheh Lotfi . Microwave Assisted Preparation of Flavylum Salts with Perchloric Acid Impregnated on Silica Gel Under Solvent-free Conditions. **Letters in Organic Chemistry**, v. 11, n. 10, p. 713–718, 2014.

MONCADA, Margarida C.; MOURA, Sara; MELO, M. João; ROQUE, Ana; LODEIRO, Carlos & PINA, Fernando . Complexation of aluminum (III) by anthocyanins and synthetic flavylum salts: A source for blue and purple color. **Inorganica Chimica Acta**, v. 356, p. 51-61, 2003.v. 356, p. 51–61, 2003.

MORA-SOUMILLE, Nathalie; BITTAR, Sheiraz Al; ROSA, Maxence & DANGLES, Olivier . Dyes and Pigments Analogs of anthocyanins with a 3 0, 4 0 -dihydroxy substitution: Synthesis and investigation of their acid e base , hydration , metal binding and hydrogen-donating properties in aqueous solution. **Dyes and Pigments**, v. 96, n. 1, p. 7–15, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.dyepig.2012.07.006>>

NOGUEIRA, Felipe Marques. **Síntese, caracterização e estudo fotofísico de potenciais sensores fluorescentes derivados de cumarina**. 2019. Dissertação (Mestrado). Instituto de Química – Universidade de Brasília, Brasília, 2019.

NUNES, Néelson; ELVAS-LEITÃO, Ruben; MARTINS, Filomena. UV-Vis spectroscopic study of preferential solvation and intermolecular interactions in methanol/1-propanol/acetonitrile by means of solvatochromic probes. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 124, p. 470–479, 2014.

NUNES, Ricardo; NUNES, Néelson; ELVAS-LEITÃO, Ruben & MARTINS, Filomena . Using solvatochromic probes to investigate intermolecular interactions in 1,4-dioxane/methanol/acetonitrile solvent mixtures. **Journal of Molecular Liquids**, v. 266, p. 259–268, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.06.071>>

OLIVEIRA, Isadora R. N. De; ROQUE, Jussara V.; MAIA, Mariza P.; STRINGHETA, Paulo C. & TEÓFILO, Reinaldo F. . New strategy for determination of anthocyanins, polyphenols and antioxidant capacity of *Brassica oleracea* liquid extract using infrared spectroscopies and multivariate regression. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 194, p. 172-180, 2018.

OLIVEIRA, Joana; ARAÚJO, Paula; FERNANDES, Ana; MATEUS, Nuno & FREITAS, Victor de. Synthesis and Structural Characterization of Amino-Based Pyranoanthocyanins with Extended Electronic Delocalization. **Synlett**, v. 27, n. 17, p. 2459–2462, 2016.

OLIVEIRA, M. C.; ESPERANÇA, P.; ALMOSTER FERREIRA, M. A. Characterisation of anthocyanidins by electrospray ionisation and collision-induced dissociation tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 15, n. 17, p. 1525–1532, 2001.

PASSOS, Marieta L.C.; SARAIVA, M. Lúcia M.F.S. Detection in UV-Visible spectrophotometry: Detectors, detection systems, and detection strategies. **Measurement: Journal of the International Measurement Confederation**, v. 135, p. 896–904, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.measurement.2018.12.045>>

PATIL, Mallikarjun K.; KOTRESH, M. G.; INAMDAR, Sanjeev R. A combined solvatochromic shift and TDDFT study probing solute-solvent interactions of blue fluorescent Alexa Fluor 350 dye: Evaluation of ground and excited state dipole

moments. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 215, p. 142–152, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.02.022>>

PATRAS, Ankit; BRUNTONA, Nigel. P.; O'DONNELLB, Colm & TIWARIB, B.K.,. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 1, p. 3–11, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2009.07.004>>

PAVONI, Juliana Fernandes; NEVES-JUNIOR, W.F.P.; SPIROPULOS, M.A. & ARAUJO, D.B. de . Uma montagem experimental para a medida de fluorescência. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 36, n. 4, 2014.

PEREIRA, Airton Vicente; GARABELI, Aline Ansbach; SCHUNEMANN, Grazieli Delponte & BORCK, Patrícia Cristine . Determinação da constante de dissociação (Ka) do captopril e da nimesulida: experimentos de química analítica para o curso de farmácia. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 34, n. 9, p. 1656-1660, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422011000900029>>

PRADO, Marcelo Alexandre; GODOY, Helena Teixeira. Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 268–273, 2007.

QIAN, Bing-jun; LIU, Jian-Hua; ZHAO, Shu-Juan; CAI, Jian-Xiong; JING, Pu . The effects of gallic / ferulic / caffeic acids on colour intensification and anthocyanin stability. **Food Chemistry**, v. 228, p. 526–532, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.120>>

QIN, Yan; LUI, Yunpeng; YONG, Huimin; LUI, Jing; ZHANG, Xin & LIU, Jun. Preparation and characterization of active and intelligent packaging films based on cassava starch and anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 134, p. 80–90, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.029>>

RODRIGUES, Ana Clara Beltran. **Betalainas funcionais: semissíntese, propriedades fotofísicas e interações intermoleculares**. 2017. Tese (Doutorado). Instituto de Química – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

ROQUE, Ana; LODEIRO, Carlos; PINA, Fernando; MAESTRI, Mauro; DUMAS, Stephane; PASSANITI, Paolo & BALZANI, Vincenzo. Multistate/Multifunctional Systems. A Thermodynamic, Kinetic, and Photochemical Investigation of the 4'-Dimethylaminoflavylium Compound. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 4, p. 987-994, 2003.

SAYGILI, Rukiye; ULUS, Ramazan; YESILDAG, Ibrahim; INAL, E. Kübra; KAYA, Muharrem; KALFA, O. Murat & ZEYBEK, Bülent. Synthesis of some 1,8-dioxoacridine carboxylic acid derivatives and the determination of their ionization constants in ethanol-water mixtures. **Journal of Molecular Structure**, v. 1083, p. 252–259, 2015.

SILVA, Cassio Pacheco; SILVA, Gustavo Thalmer de Medeiros; COSTA, Tássia de Sousa; CARNEIRO, Vânia Maria Teixeira; SIDDIQUE, Farhan; AQUINO, Adelia J. A.; FREITAS, Adilson A.; CLARK, John A.; ESPINOZA, Eli M.; VULLEV, Valentine I. & QUINA, Frank H. Chromophores inspired by the colors of fruit, flowers and wine. **Pure and Applied Chemistry**, 2019.

SINOPOLI, Alessandro; CALOGER, Giuseppe; BARTOLOTTA, Antonio. Computational aspects of anthocyanidins and anthocyanins: A review. **Food Chem.** v. 297, p. 1-12

SLOOP, Joseph C; BUMGARDNER, Carl L.; WASHINGTON, Gary; LOEHLE, W. David; SANKAR, Sabapathy S. & LEWIS, Adam B. . Keto-enol and enol-enol tautomerism in trifluoromethyl- $\beta$ -diketones. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 127, n. 6, p. 780–786, 2006.

TALHAVINI, M.; ATVARS, T. D. Z. Aquisição de tempos de vida de fosforescência com resolução de fase e sua aplicação ao estudo de relaxações em polímeros. **Quimica Nova**, v. 21, n. 3, p. 332–336, 1998.

TAYYARI, Sayyed Famarz; EMAMPOUR, J.S.; VAKILI, M.; NEKOEI, A.R.; ESHGHI, H.; SALEMI, S. & HASSANPOUR, M.. Vibrational assignment and structure of benzoylacetone: A density functional theoretical study. **Journal of Molecular Structure**, v. 794, n. 1–3, p. 204–214, 2006.

TAYYARI, Sayyed Famarz; REISSI, Heydar; MILANI-NEJAD, Fereydoon & BUTLER, Ian S... Vibrational assignment of  $\alpha$ -cyanoacetylacetone. **Vibrational Spectroscopy**, v. 26, n. 2, p. 187–199, 2001.

VAZ, Roberto; VIEIRA, Kayo O.; MACHADO, Cláudia E.; FERRARI, Jefferson L. & SCHIAVON, Marco A.. Preparação de pontos de carbono e sua caracterização óptica: um experimento para introduzir nanociência na graduação. **Química Nova**, v. 38, n. 10, p. 1366-1373, 2015.

WEBER, Fabian; BOCH, Kerstin; SCHIEBER, Andreas. LWT - Food Science and Technology Influence of copigmentation on the stability of spray dried anthocyanins from blackberry. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 72–77, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.042>>

YONG, Huimin; WANG, Xingchi; BAI, Ruyun; MIAO, Ziqing; ZHANG, Xin & LIU, Jun Development of antioxidant and intelligent pH-sensing packaging films by incorporating purple-fleshed sweet potato extract into chitosan matrix. **Food hydrocolloids**, v. 90, p. 216-224, 2019.

ZAMBIANCO, Edmar Casarin. **Avaliação da qualidade de pulverização em plantas de tomate utilizando diferentes pontas**. 2013. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

ZHANG, Junjun; ZOU, Xiaobo; ZHAI, Xiaodong; HUANG, XiaoWei; JIANG, Caiping & HOLMESB, Mel. Preparation of an intelligent pH film based on biodegradable polymers and roselle anthocyanins for monitoring pork freshness. **Food Chemistry**, v. 272, n. April 2018, p. 306–312, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.041>>

ZHANG, Xin; LI, Zi-Chen; LAO, Chun-Feng; ZOU, De-Chun; LU, Feng-Zhu; CHEN, Guang-Qiang; DU, Fu-Sheng & LI, Fu-Mian. New  $\beta$ -diketone-containing styrenic monomers and their polymers: Synthesis, keto-enol tautomerism and related fluorescence behavior. **Polymer**, v. 47, n. 10, p. 3390–3400, 2006.

ZHOU, Ronghui; LUB, Xiaomei; YANGC, Qin & WUB, Peng. Nanocrystals for large Stokes shift-based optosensing. **Chinese Chemical Letters**, v. 30, n. 10, p. 1843–1848, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2019.07.062>>

ZHU, Zhenzhou; WU, Nao; KUANG, Minjie; LAMIKANRA, Olusola; LIU, Gang; LI, Shuyi & HE, Jingren. Preparation and toxicological evaluation of methyl pyranoanthocyanin. **Food and Chemical Toxicology**, v. 83, p. 125–132, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2015.05.004>>