

DESENVOLVIMENTO DE ABORDAGEM OBJETIVANDO A SÍNTESE DA 3-DESIDROXI-4-METOXI-TUBASTRINA

Kelly de Oliveira Santos, Marcus Vinícius Craveiro e Roberto G. S. Berlinck*

Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, CP 780, 13560-970 São Carlos - SP, Brasil.

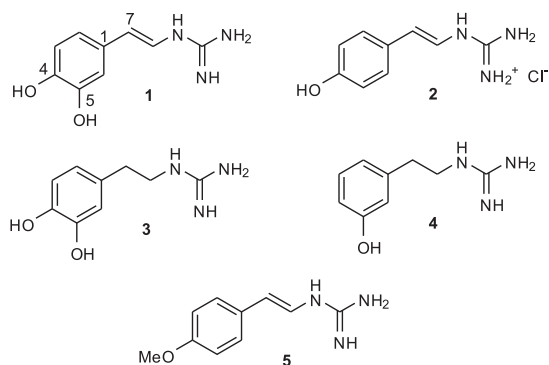
Recebido em 10/11/06; aceito em 7/5/07; publicado na web em 5/10/07

DEVELOPMENT OF AN APPROACH FOR THE SYNTHESIS OF 3-DEHYDROXY-4-METHOXY TUBASTRINE. We report the synthesis of amino(2-hydroxy-2-(4-methoxyphenyl)ethylamino)methaniminium (**14**) as a direct precursor of a tubastrine derivative (3-dehydroxy-4-methoxytubastrine). The synthetic steps involved functional group interconversions starting from 1-(4-methoxyphenyl)ethanone to obtain the guanidine-protected derivative **13**. Tentative dehydration of **13** with SiOH-adsorbed CuSO₄ resulted in guanidine deprotection only. This was an unexpected result, since there are no reports of CuSO₄.SiOH as Boc-deprotecting of guanidines. The product **14** was obtained in five steps and 5.4 % overall yield, and constitutes a direct precursor of 3-dehydroxy-4-methoxytubastrine.

Keywords: tubastrine; 3-dehydroxy-4-methoxy tubastrine; guanidine.

INTRODUÇÃO

Organismos marinhos são uma fonte ímpar de produtos naturais bioativos¹. Diversas atividades biológicas foram relatadas para produtos naturais marinhos: antibiótica, antifúngica, tóxica, citotóxica, neurotóxica, antimetabólica e antiviral, dentre outras²⁻⁴. A tubastrina (**1**) foi isolada pela primeira vez em 1987 do coral *Tubastrea aurea*, coletado em Okinawa, Japão, e apresentou moderada atividade antiviral contra o vírus *Herpes simplex* do tipo 1 e o vírus causador da estomatite vesicular⁵. Um derivado da tubastrina foi isolado da esponja *Spongosorites* spp., o antibiótico 3-desidroxitubastrina (**2**), solúvel em água, que apresentou modestas atividades inibitórias do crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Serratia* spp. e *Escherichia coli*⁶. Outros dois derivados da tubastrina foram isolados da esponja marinha *Petrosia cf. contignata*, coletada em Papua, Nova Guiné: a 7,8-desidrotubastrina (**3**) e a 4-desidroxí-7,8-desidrotubastrina (**4**)⁷. Tanto a tubastrina como seus derivados tiveram suas estruturas elucidadas por análises de espectrometria de massas, RMN-¹H e -¹³C, bem como por transformações e derivatizações químicas⁵⁻⁷.



A síntese de compostos apresentando o grupo funcional guanidina é complicada porque esses apresentam caráter fortemente

básico ($pK_{a_{\text{guanidina}}} \sim 13,5$). Devido a essa característica, os derivados guanidínicos são solúveis em solventes polares. A solubilidade em solventes orgânicos apolares pode ser incrementada se o grupo guanidínico estiver substituído com dois ou mais grupos alquila, ou protegido por grupos retiradores de elétrons, apolares e facilmente removíveis, como *tert*-butoxicarbonil (Boc), trifluorometanossulfonil (Tf) ou benziloxicarbonil (Cbz). Compostos guanidínicos são geralmente muito estáveis à oxidação, degradação térmica ou condições ácidas⁸.

A síntese de guanidinas substituídas é comumente realizada por duas rotas: a reação de uma amina substituída com uma amidina substituída e/ou protegida ou não, ou pela reação de uma guanidina, uréia ou tiouréia, em geral substituídas, com um halogeneto de alquila, um álcool ou um derivado carbonílico. A primeira via é a mais comumente empregada e de aplicações mais gerais. Por outro lado, a alquilação ou condensação de um derivado de guanidina, uréia ou tiouréia é muitas vezes utilizado na síntese de produtos naturais biologicamente ativos⁸.

Este trabalho teve como objetivo a síntese da 3-desidroxí-4-metoxitubastrina (**5**), um intermediário sintético para a obtenção da 3-desidroxítubastrina (**2**), partindo-se da 1-(4-metoxifenil)etanona (**6**), reagente comercialmente disponível. O presente trabalho constitui uma primeira abordagem para a síntese desta classe de produtos naturais guanidínicos.

PARTE EXPERIMENTAL

Generalidades

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos em aparelho Bruker AC 200 (4,7 Tesla). Os deslocamentos químicos (δ) foram medidos em relação ao tetrametilsilano (TMS), utilizado como padrão interno. A constante de acoplamento (J) foi medida em Hertz (Hz) e o número de hidrogênios deduzidos de sua integral relativa. Os espectros de absorção no infravermelho foram registrados em um espectrofotômetro FTIR Bomem modelo MB-102, em pastilhas de KBr. Os espectros de massas de baixa resolução (IE e FAB) foram obtidos em um espectrômetro de massas VG-7070. As análises por cromatografias em camada delgada foram realizadas utilizando-se

*e-mail: rgsberlinck@iqsc.usp.br

cromatofolhas de Sílica-gel 60 sobre poliéster com indicador ultravioleta F254 (Aldrich). As cromatofolhas foram reveladas por inspeção sob luz ultravioleta (UV) em equipamento Spectroline Model ENF-240 C/FE no comprimento de onda de 254 nm, ou com reagentes específicos, tais como solução de ninidrina para a detecção de grupo amina primário e reagente de Dragendorff para a detecção de grupo guanidina. As cromatografias em coluna pré-empacotada foram realizadas em colunas Sep Pak da Waters em fase normal (fase estacionária: sílica gel) e fase reversa (fase estacionária: C_{18}). Para a cromatografia de permeação em gel Sephadex LH-20 foi utilizada uma coluna de vidro com dimensões de 170 cm de comprimento e 2 cm de diâmetro interno, utilizando-se metanol P.A. como eluente. Para a cromatografia de adsorção em modo relâmpago ("flash") foi utilizada uma coluna de vidro empacotada com sílica-gel 230-400 Mesh 60 μm (Aldrich). Para as separações por cromatografia líquida de alto desempenho (CLAE) o equipamento utilizado foi um sistema Waters com duas bombas modelo 600, um degaseificador em linha, um detector de arranjo de diodos ("Photodiode Array Detector"), um sistema de controle Controller 600 e computador com software Millennium® Waters. A coluna utilizada foi a Nova Pak Sílica 6 μm , 19 x 300 mm, da Waters. Os solventes utilizados nas separações por CLAE foram de grau cromatográfico.

Procedimentos experimentais

2-azido-1-(4-metoxifenil)etanona (**8**)

Em CH_2Cl_2 (30 mL) foram adicionados 1-(4-metoxifenil)etanona (**6**, 2,801 g, 18,7 mmol), I_2 (5,084 g, 20 mmol) e HgCl_2 (2,725 g, 20 mmol), mantidos à temperatura ambiente sob agitação. Após 24 h de reação foram acrescentadas quantidades adicionais de HgCl_2 (0,272 g) e I_2 (0,508 g). A reação foi mantida à temperatura ambiente e sob agitação por 24 h. Em seguida, o meio de reação foi filtrado para retirar o precipitado de HgI_2 . Após a filtração, a fase orgânica foi lavada, primeiramente com solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,05 M) e depois com solução de KI (5 M). Secou-se a fase orgânica com Na_2SO_4 anidro; a fase orgânica foi filtrada e o solvente foi evaporado. O produto obtido foi analisado por CCD (eluente: CH_2Cl_2 /éter de petróleo 7:3). Sem promover a purificação da 2-iodo-1-(4-metoxifenil)etanona (**7**), esta foi solubilizada em 40 mL de MeCN e adicionou-se 1,307 g de NaN_3 (20 mmol). A reação foi mantida por 3 h à temperatura ambiente sob agitação e logo depois a solução foi filtrada, o solvente evaporado, o resíduo solubilizado em CH_2Cl_2 e a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi secada com Na_2SO_4 e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O produto obtido foi analisado por CCD (eluente: CH_2Cl_2 /éter de petróleo 7:3) e IV. O produto (**8**) foi purificado por cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 usando-se MeOH como eluente. As frações contendo (**8**) foram reunidas e purificadas por CLAE, utilizando-se como eluente hexano/AcOEt 85:15, fluxo de 2 mL min^{-1} e tempo de retenção de 71 min, com rendimento de 1,53 g (8,02 mmol, 43% para 2 etapas). RMN- ^1H δ (200 MHz, CDCl_3): 7,88 (d, 9 Hz, 2H), 6,99 (d, 9 Hz, 2H), 4,48 (s, 2H) e 3,86 (s, 3H). RMN- ^{13}C δ (50 MHz, CDCl_3): 191,5, 164,1, 130,1, 127,3, 114,0, 55,5 e 54,4. IV (cm^{-1}): 2123, 1684, 1599, 1176 e 822. EM (m/z): 191 (M^+ , 0,7%), 135 (100%), 107 (14%), 92 (14%), 77 (21%).

2-azido-1-(4-metoxifenil)etanol (**9**)

Adicionaram-se 248 mg da 2-azido-1-(4-metoxifenil)etanona (**8**, 1,30 mmol) em 30 mL de EtOH em um balão de 50 mL. Em seguida, foram adicionados 49 mg de NaBH_4 (1,30 mmol, 100% de excesso), com o balão em banho de gelo e sob agitação magnética. Após a adição, retirou-se o banho de gelo e deixou-se a reação

atingir a temperatura ambiente (t.a.). O meio de reação foi mantido a t.a. sob agitação por 15 min e em seguida adicionaram-se 15 mL de água destilada. Aqueceu-se então até o ponto de ebulição e manteve-se o balão nessa temperatura por 1 min. Após resfriamento da mistura, extraiu-se o produto com CH_2Cl_2 e secou-se a fase orgânica com Na_2SO_4 anidro. O solvente foi filtrado, evaporado sob pressão reduzida e o resíduo obtido foi analisado por CCD (eluente: CH_2Cl_2 /éter de petróleo 9:1) e IV, constatando-se a total formação do produto desejado, o qual apresentou bom grau de pureza por RMN- ^1H . O produto (**9**) não foi purificado e sim diretamente utilizado na etapa subsequente. RMN- ^1H δ (200 MHz, CDCl_3): 7,28 (d, 8,4 Hz, 2H), 6,89 (d, 8,8 Hz, 2H), 4,81 (dd, 7,98 Hz e 7,62 Hz, 1H), 3,8 (s, 3H), 3,43 (dd, 7,94 Hz e 7,62 Hz, 2H) e 2,18 (s, 1H). RMN- ^{13}C δ (50 MHz, CDCl_3): 159,6, 132,7, 127,2, 114,1, 73,0, 58,0 e 55,3. IV (cm^{-1}): 3417, 2104, 1612, 1511, 1241, 1034 e 828. EM (m/z): 193 (M^+ , 1,1%), 137 (100%), 135 (16%), 107 (0,3%), 77 (19%).

Acetato de 2-azido-1-(4-metoxifenil)etila (**10**)

Em um reator de 5 mL, o 2-azido-1-(4-metoxifenil)etanol (**9**) foi solubilizado em 1 mL de piridina destilada e 1 mL de anidrido acético destilado. O meio de reação foi mantido sob agitação magnética por 16 h. Após esse período, foram adicionadas 3 gotas de HCl concentrado e 10 mL de água destilada. O produto foi extraído com CH_2Cl_2 e secou-se a fase orgânica com Na_2SO_4 anidro. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo obtido foi analisado por CCD [eluentes: (CH_2Cl_2 /éter de petróleo 1:1)/ EtOAc 9:1] e IV. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel em modo "flash" usando-se gradiente de CH_2Cl_2 /éter de petróleo 2:8, 3:7, 4:6, 1:1 e CH_2Cl_2 100%, fornecendo o produto **10** (233 mg) com 77 % de rendimento para as 2 etapas. RMN- ^1H δ (200 MHz, CDCl_3): 7,25 (d, 8,8 Hz, 2H), 6,86 (d, 8,8 Hz, 2H), 5,87 (dd, 4,12 Hz e 8,26 Hz, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,62 (dd, 4,12 Hz e 8,26 Hz, 1H), 3,39 (dd, 4,12 Hz e 8,26 Hz, 1H) e 2,04 (s, 3H). RMN- ^{13}C δ (50 MHz, CDCl_3): 169,8, 159,8, 129,2, 127,5, 114,1, 74,2, 55,2, 54,9 e 21,0. IV (cm^{-1}): 2102, 1743, 1613, 1512, 1230, 1032 e 826. EM (m/z): 235 (M^+ , 1,8%), 179 (2,2%), 137 (100%), 135 (14%), 77 (9%), 43 (32%).

N-[2-hidroxi-2-(4-metoxifenil)etil]acetamida (**11**)

Em um balão de fundo redondo de 10 mL contendo 2 mL de MeCN foram solubilizados 15 mg de SnCl_2 (0,075 mmol). O meio de reação foi mantido sob agitação magnética à t.a. Em seguida, foram adicionados 31 μL de Et_3N (0,225 mmol), 23 μL de PhSH (0,225 mmol) e 12 mg do acetato de 2-azido-1-(4-metoxifenil)etila (**10**) (0,05 mmol). A reação foi mantida sob agitação por 20 min e então adicionaram-se 15 mL de uma solução de NaOH 2 M. O produto foi extraído com CH_2Cl_2 e secou-se a fase orgânica com Na_2SO_4 anidro. O solvente foi evaporado, o resíduo obtido foi analisado por CCD (eluente: éter de petróleo/AcOEt 9:1) e revelado com ninidrina e UV. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel do tipo Sep Pak (10 g) usando-se gradiente de AcOEt/ CH_2Cl_2 3:7, 3,5:6,5, 4:6, 4,5:5,5, 1:1, 6:4, 7:3, 8:2 e AcOEt/MeOH 1:1, obtendo-se 9,7 mg do composto **11** com 92,5% de rendimento. RMN- ^1H δ (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 7,85 (s, NH), 7,22 (d, 8,6Hz, 2H), 6,86 (d, 8,6Hz, 2H), 4,52 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,35 (s, 3H), 3,15 (m, 1H) e 3,05 (m, 1H). RMN- ^{13}C δ (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 169,6, 158,5, 135,9, 127,3, 113,6, 71,1, 55,2, 47,1 e 22,7. IV (cm^{-1}): 3290, 3332, 1615, 1237, 1072 e 840. EM (m/z): 209 (M^+ , 0,7%), 191 (5,1%), 150 (47%), 137 (100%), 77 (17%), 43 (17%).

Síntese do 2-amino-1-(4-metoxifenil)etanol **12** e da guanidina protegida **13**

Em um balão de 20 mL foram solubilizados 39 mg (0,20 mmol) de 2-azido-1-(4-metoxifenil)etanona (**8**) em 5 mL de *i*-PrOH e logo

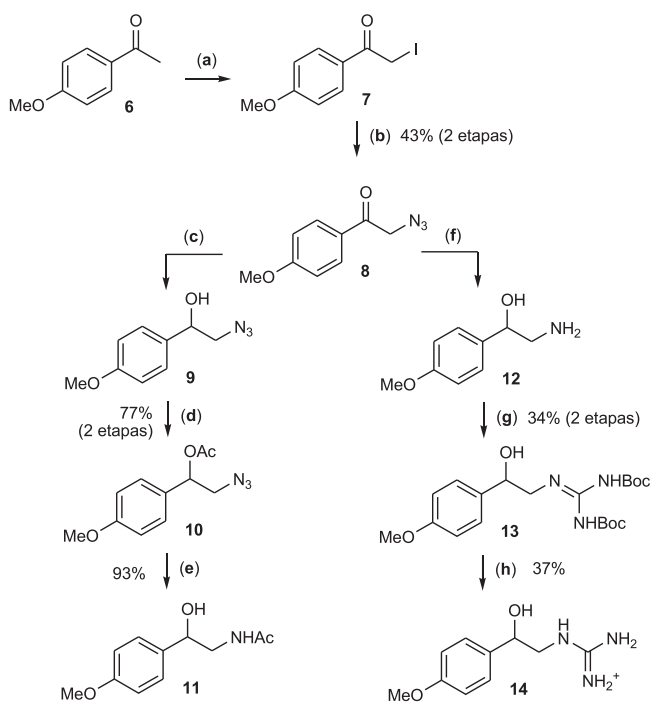
após foram adicionados 16,5 mg (0,40 mmol) de NaBH_4 . O meio de reação foi mantido por 8 h em agitação magnética à temperatura ambiente. O solvente foi então evaporado e o produto obtido analisado por placa de CCD (eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95:5) revelada com ninidrina, observando-se que a reação de redução promoveu a formação da amina primária (**12**). O produto foi solubilizado em água com 5 gotas de HCl e foi feita uma partição em AcOEt. A fase aquosa foi evaporada e, sem a purificação do composto **12**, este foi submetido à reação de guanidinilação. Em 3 mL de DMF foram solubilizados 43 mg do composto **12**, *bis*-Boc-metil-tiopseudouréia (60 mg, 0,20 mmol), Et_3N (85 μL , 0,61 mmol) e HgCl_2 (59 mg, 0,20 mmol). Esta solução foi mantida sob agitação por 4 h à t.a. Em seguida, o meio de reação foi diluído com AcOEt, para então ser filtrado em celite. O filtrado foi lavado com água, secado com Na_2SO_4 anidro e o solvente evaporado. O resíduo obtido foi analisado por CCD (eluente: éter de petróleo/AcOEt 8:2) e revelado com reagente de Dragendorff (que indica a presença de compostos nitrogenados de caráter básico) observando-se a formação da guanidina protegida. Procedeu-se então à purificação do produto obtido por meio de duas cromatografias em coluna de sílica gel do tipo Sep Pak (5 g). A primeira separação cromatográfica foi realizada com um gradiente de éter de petróleo/AcOEt 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75: 25, 70:30 e por fim MeOH 100%. A segunda foi realizada com um gradiente de éter de petróleo/AcOEt 85:15, 84:16, 83:17, 82:18, 81:19, 80:20 e por fim AcOEt 100%, obtendo-se o composto **13** (28,5 mg) com 34% de rendimento para 2 etapas. RMN- ^1H δ (200 MHz, CDCl_3): 8,83 (sl, 1H), 8,62 (sl, 1H), 7,30 (d, 8,3 Hz, 2H), 6,87 (d, 8,3 Hz, 2H), 4,88 (dd, 6,98 e 6,98 Hz, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,69 (m, 2H) e 1,50 (s, 18H). RMN- ^{13}C δ (50 MHz, CDCl_3): 159,1, 152,8, 150,8, 148,9, 134,1, 127,1, 113,8, 83,6, 73,7, 55,2, 49,5 e 27,9. IV (cm^{-1}): 3419, 2975, 1791, 1720, 1637, 1250, 1132, 1026 e 777. EM (m/z): 410 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 20,5%), 392 (7%), 354 (8%), 307 (14,5%), 298 (11%), 283 (13,5%), 280 (14%), 261 (23%), 205 (99%), 154 (75,5%), 149 (100%), 137 (52%), 107 (18,5%), 89 (18,5%) e 77 (19%).

Síntese do amino(2-hidroxi-2-(4-metoxifenil)etilamino)metanimínio (**14**)

À uma solução aquosa de 26,6 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ foram adicionados 66 mg de sílica gel (230-400 mesh) e, após a evaporação do solvente, a mistura foi levada a uma estufa à vácuo por 3 h a 200 °C. O composto (**13**) foi então dissolvido em 5 mL de tolueno previamente secado e, em seguida, adicionou-se o CuSO_4 adsorvido na sílica. O meio de reação foi mantido em refluxo por 1 h e logo depois solubilizado em AcOEt (2 mL) e filtrado em pipeta com algodão. O sólido retido foi lavado com MeOH e o solvente foi evaporado. Purificou-se o produto obtido por CLAE com coluna $\mu\text{Bondapak Phenyl}$ utilizando-se $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 8:2. Foram obtidos 5,4 mg de **14** (37,0%); RMN- ^1H δ (200 MHz, DMSO): 7,52 (sl), 7,32 (d, 8,0 Hz, 2H), 7,03 (sl), 6,91 (d, 8,0 Hz, 2H), 5,85 (sl), 5,45 (sl), 4,65 (sl), 3,74 (s, 2H) e 3,15 (d, 4,13 Hz, 2H). RMN- ^{13}C δ (50 MHz, DMSO- d_6): 158,5, 156,9, 134,4, 127,1, 113,4, 70,1, 54,9 e 48,3. IV (cm^{-1}): 3354, 1668, 1514, 1246, 1020 e 827. EM (m/z): 210 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 36%), 192 (11%), 165 (4%), 155 (23,5%), 154 (100%), 137 (58%), 136 (69,5%), 120 (12%), 107 (24%), 89 (22%) e 77 (24%).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira etapa da síntese objetivando a obtenção da 3-desidroxí-4-metoxi-tubastrina (**5**) foi a iodação do reagente comercialmente disponível 1-(4-metoxifenil)etanona (**6**), ocorrendo a formação da 2-iodo-1-(4-metoxifenil)etanona (**7**). Na reação de iodação com I_2 e HgCl_2 há a formação de $(\text{HgICl}_2)\text{I}^+$, que é o agente de iodação⁹. Optou-se pela iodação de **6** tendo em vista que a



Esquema 1. (a) I_2 , HgCl_2 , CH_2Cl_2 ; (b) NaN_3 , CH_3CN ; (c) NaBH_4 , EtOH; (d) i. Ac_2O , piridina; ii. HCl , H_2O ; (e) SnCl_2 , Et_3N , PhSH , CH_3CN ; (f) NaBH_4 , *i*-PrOH; (g) *bis*-Boc-metilisotiouréia, DMF, Et_3N , HgCl_2 ; (h) CuSO_4 , sílica-gel, tolueno, refluxo

tentativa anterior de bromação do reagente de partida com Br_2 em CHCl_3 e banho de gelo levou à formação do produto dibromado. Tentou-se purificar o produto da reação de iodação (**7**) por meio de cromatografia do tipo “flash” sem sucesso, pois ambos reagente e produto apresentaram praticamente o mesmo R_f em CCD, utilizando-se inúmeros eluentes. Sendo assim, optou-se pela utilização do composto (**7**) sem sua purificação.

A reação de azidação de **7** levou à formação da 2-azido-1-(4-metoxifenil)etanona (**8**). Todavia, tanto o composto **7** como o composto **8** apresentaram o mesmo R_f em CCD. A substituição do iodo pelo grupo azida foi confirmada pela análise do espectro no infravermelho de **8**, observando-se o surgimento de banda em 2123 cm^{-1} , característica da deformação axial das ligações $\text{N}=\text{N}=\text{N}$, bem como pela análise do espectro de massas de **8**, que apresentou pico do íon molecular em m/z 191. A purificação do composto **8** foi feita por meio de cromatografias em coluna de sílica-gel (“flash”), em coluna de permeação em gel do tipo Sephadex LH-20 e por CLAE. O rendimento para essas duas etapas foi de 43%. Este rendimento relativamente baixo pode ser atribuído à etapa de iodação, já que a reação de azidação é muito favorecida pelo fato do N_3^- ser um bom nucleófilo e I ser um bom grupo abandonador.

A preparação do 2-azido-1-(4-metoxifenil)etanol (**9**) foi realizada com NaBH_4 em EtOH. O sucesso da reação foi comprovado por IV, com o desaparecimento da banda em 1684 cm^{-1} , característica da deformação axial da ligação $\text{C}=\text{O}$, e o surgimento da banda larga em 3417 cm^{-1} , atribuída à deformação axial da ligação $\text{O}-\text{H}$ em ligação hidrogênio intermolecular. Outro dado que confirmou o sucesso da reação foi a mudança do deslocamento do sinal do carbono carbonílico no espectro de RMN- ^{13}C de δ 191,5 em **8** para δ 73,0 em **9**, o que também confirmou a redução. No espectro de RMN- ^1H observou-se o surgimento dos sinais em δ 4,81 ($-\text{CHOH}$) e δ 2,18 ($-\text{CH}_2\text{N}_3$). No espectro de massas observou-se o pico do íon molecular de **9** em m/z

193. De acordo com a análise por CCD, todo o reagente foi transformado no produto desejado, por isso resolveu-se realizar a próxima etapa sem realizar a purificação do produto obtido.

Inicialmente, foi considerada a necessidade de proteção do grupo hidroxila de **9** por acetilação, já que talvez fosse problemática a presença do grupo OH na etapa de formação da guanidina, que poderia eventualmente levar à formação de um produto ciclizado. Sendo assim, procedeu-se à acetilação do grupo hidroxila com piridina e anidrido acético. O produto obtido, o acetato de 2-azido-1-(4-metoxifenil)etila (**10**), foi analisado por CCD e IV. Pôde-se comprovar que a reação ocorreu, devido ao surgimento da banda em 1743 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$ de ésteres) e o desaparecimento da banda em 3417 cm^{-1} ($\nu_{\text{O-H}}$) no espectro de IV. A análise do espectro de RMN- ^{13}C confirmou o resultado obtido, com o surgimento dos sinais em δ 169,8 (C=O) e δ 21,0 (CH_3). Já no espectro de RMN- ^1H de **10** observou-se um singlete em δ 2,04 (3H), atribuído à metila do grupo acetila. No espectro de massas de **10** observou-se o pico do íon molecular em m/z 235. O rendimento para as duas etapas foi de 77%.

A redução de **10** levou à formação da *N*-(2-hidroxi-2-(4-metoxifenil)etil)acetamida (**11**), um produto de rearranjo não desejado. Nessa etapa desejava-se a redução da azida para se obter a amina primária. Para tanto, foi utilizado o método descrito por Bartra *et al.*¹⁰, que faz uso de SnCl_2 como agente redutor juntamente com tiofenol e trietilamina, em acetonitrila. O espectro no IV do produto obtido após cromatografia do meio de reação indicou o desaparecimento da banda em 1743 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$ acetila) e o surgimento de banda em 1615 cm^{-1} , coincidindo com a banda de deformação axial da ligação C=C do anel aromático). O rearranjo observado na molécula também foi confirmado pela análise dos espectros de RMN- ^1H (sinal do hidrogênio característico de amida secundária em δ 7,85) e RMN- ^{13}C (o carbono da metila ligada à carbonila teve seu deslocamento alterado de δ 21,0 para δ 22,7). O espectro de massas comprovou a ocorrência do rearranjo, observando-se a presença do fragmento com m/z 191, que equivale à perda de uma molécula de água por desidratação do produto obtido **11**.

Sendo assim, foi necessário alterar a rota de síntese da 3-desidroxi-4-metoxi-tubastrina (**5**). Decidiu-se partir do composto (**8**) já obtido, reduzindo-se simultaneamente os grupos azida e cetona deste composto utilizando-se NaBH_4 em *i*-PrOH¹¹. Após a reação, o meio de reação foi analisado por CCD com ninidrina, que indicou a formação da amina primária. O espectro de IV também confirmou a ocorrência da reação, indicando o desaparecimento da banda em 2100 cm^{-1} ($\nu_{\text{N=N=N}}$) e o surgimento de banda larga na região de 3350 cm^{-1} , indicando a formação do aminoálcool **12**. Foram realizadas várias tentativas de purificação do produto obtido, por extração em fase sólida em coluna de fase reversa e cromatografia de permeação em gel do tipo Sephadex LH-20, sem sucesso. Foi realizada uma lavagem do produto solubilizado em solução aquosa acidificada com HCl com AcOEt, obtendo-se o produto com grau de pureza satisfatório.

O produto **12** foi solubilizado em DMF e depois adicionados *bis*-Boc-metil-tiopseudouréia, Et_3N e HgCl_2 (catalisador)¹². A purificação do produto da reação de guanidinilação por duas extrações em fase sólida forneceu o produto puro com rendimento de 34% para duas etapas. O sucesso da reação foi comprovado pela análise do espectro de infravermelho, com o surgimento da banda em 1637 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=N}}$) e das bandas em 1792 e 1720 cm^{-1} , referentes à deformação axial das carbonilas do grupo protetor. O espectro de RMN- ^{13}C também comprovou a ocorrência da reação devido ao surgimento do sinal em δ 159,1, característico do carbono guanidínico, dos sinais em δ 152,8 e δ 150,8, atribuídos aos carbonos dos grupos carbonila protetores, e dos sinais em δ 73,8 e δ 27,9

dos grupos *terc*-butila. Já o espectro de RMN- ^1H apresentou em singlete intenso em δ 1,5 atribuído aos hidrogênios das metilas do grupo *terc*-butila. O espectro de massas forneceu o pico do íon molecular em m/z 410, correspondente ao produto protonado.

Foi utilizado o método descrito por Nishiguchi *et al.*¹³ objetivando a desidratação do grupo álcool sem promover a desproteção do grupo Boc da guanidina. Neste método, a desidratação de álcoois é promovida utilizando-se CuSO_4 adsorvido em sílica gel cromatográfica. Após o produto ser purificado pôde-se comprovar que ocorreu a desproteção do grupo Boc e não a desidratação do álcool. Este resultado foi inesperado, já que a desproteção da guanidina nestas condições ainda não foi relatada na literatura. Para tanto, utiliza-se ácido trifluoroacético em CH_2Cl_2 , com bons rendimentos⁶. A formação do composto **14** foi comprovada pela análise do espectro no infravermelho, que apresentou banda em 3354 cm^{-1} ($\nu_{\text{O-H}}$). As análises dos espectros de RMN- ^1H e ^{13}C também indicaram a formação de **14**, com o desaparecimento dos sinais característicos do grupo *terc*-butila (δ 1,5 para os hidrogênios; δ 73,7 e 27,9 para os carbonos). O surgimento do pico do íon molecular em m/z 210 (guanidina protonada) no espectro de massas também confirma a formação de **14**. O rendimento para a reação foi de 37,0%.

A transformação do produto **14** na 3-desidroxitubastrina (**2**) requer apenas a desidratação do álcool e a remoção do grupo metila. Portanto, a síntese de **14** constitui a primeira abordagem objetivando síntese formal de **2**, produto natural isolado da esponja *Spongosorites* sp⁴. Estudos posteriores deverão ser realizados objetivando a otimização desta síntese e a obtenção da tubastrina e seus derivados.

CONCLUSÃO

O objetivo desse trabalho foi o de se realizar um estudo preliminar da síntese da tubastrina, sintetizando-se a 3-desidroxi-4-metoxi-tubastrina (**5**). Foi possível a obtenção do precursor imediato do composto **5**, a 2-hidroxi-2-(4-metoxifenil)etilguanidina (**14**). Esta síntese foi realizada em 5 etapas, fazendo-se uso de reações clássicas de síntese orgânica, com um rendimento total de 9,6%.

AGRADECIMENTOS

À gentileza dos Profs. A. L. M. Porto e C. A. Montanari, pela cuidadosa revisão do manuscrito final, bem como aos Profs. B. Copp (University of Auckland, Auckland, Nova Zelândia), R. J. Andersen e Dr. D. E. Williams (University of British Columbia, Vancouver, Canadá) pela ajuda na obtenção dos espectros de massas de baixa resolução. K. O. Santos agradece ao CNPq pela bolsa de mestrado concedida e M. V. Craveiro agradece à FAPESP pela bolsa de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

- Blunt, J. W.; Copp, B. R.; Munro, M. H. G.; Northcote, P. T.; Prinsep, M. R.; *Nat. Prod. Rep.* **2006**, *23*, 26.
- Mayer, A. M. S.; Gustafson, K. R.; *Eur. J. Cancer* **2006**, *42*, 2241.
- Mayer, A. M. S.; Hamann, M. T.; *Comp. Biochem. Physiol.* **2005**, *140*, 265.
- Kelecom, A.; *An. Acad. Bras. Cienc.* **2002**, *74*, 151.
- Sakai, R.; Higa, T.; *Chem. Lett.* **1987**, 127.
- Urban, S.; Capon, R. J.; Hooper, J. N. A.; *Aust. J. Chem.* **1994**, *47*, 2279.
- Sperry, S.; Crews, P.; *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 859.
- Berlinck, R. G. S.; Kossuga, M. H.; Nascimento, A. M.; *Sci. Synth.* **2005**, *18*, 1117.
- Barluenga, J.; Martinez-Gallo, J. M.; Najera, C.; Yus, M.; *Synthesis* **1986**, 678.
- Bartra, M.; Romea, P.; Urpí, F.; Vilarrosa, J.; *Tetrahedron* **1990**, *46*, 587.
- Smith, P. A. S.; Hall, J. H.; Kan, R. O.; *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 485.
- Kim, K. S.; Qian, L.; *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 7677.
- Nishiguchi, T.; Machida, N.; Yamamoto, E.; *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 4565.