

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS  
E  
UNIVERSIDADE DE RENNES1

**SÍNTESE DE  $\delta$ -VALEROLACTONES  
E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA:  
CITOTÓXICA, ANALGÉSICA E ANTIINFLATÓRIA**

PATRICIA DE AGUIAR AMARAL

Porto Alegre, 2008

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS  
E  
UNIVERSIDADE DE RENNES1

**SÍNTESE DE  $\delta$ -VALEROLACTONES  
E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA:  
CITOTÓXICA, ANALGÉSICA E ANTIINFLATÓRIA**

Tese apresentada por **Patrícia de Aguiar Amaral** para obtenção do TÍTULO DE DOUTOR em Ciências Farmacêuticas

**Tese em co-tutelle (Brasil/França)  
n.418/03.**

Orientadora: Dr. Eifler-Lima, Vera Lucia (Brasil)  
Orientadora: Dr. David, Michèle (França)

# THÈSE

Présentée

**devant l'Université Federal do Rio Grande do Sul/UFRGS/Brésil**

pour obtenir

le grade de : Docteur de l'Université Federal do Rio Grande do Sul et de Rennes1

Mention : Chimie

**Patrícia de Aguiar AMARAL**

**Thèse en cotutelle (Brésil/France) n.418/03**

Équipe d'accueil à Rennes : EA 4090 "Substances Lichéniques et Photoprotection"  
École Doctorale : Sciences de la Matière

Titre de la thèse :

*Synthèse de diverses  $\delta$ -valerolactones et évaluation biologique :  
cytotoxicité, analgesie et antiinflammatoire*

Soutenance prévue le 12 Septembre 2008 devant la commission d'examen

## COMPOSITION DU JURY

Rapporteurs	Arlene Corrêa Professeur à l'Université de São Carlos (UFSCAR/Brésil) Eliezer J. Barreiro Professeur à l'Université Federal do Rio de Janeiro (UFRJ/Brésil)
Examineurs	René Greé Directeur de Recherche à Rennes1/France Michèle David (HDR) Maître de Conférences à l'Université de Rennes 1/France Vera Lucia Eifler Lima Professeur à l'Université Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS/Brésil)

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 12.09.2008 pela comissão examinadora constituída por :

Prof. Dr Arlene Corrêa  
Universidade de São Carlos

Prof. Dr. Eliezer J. Barreiro  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr René Greé  
Directeur de Recherche à Rennes1/France

A485s Amaral, Patrícia de Aguiar  
Síntese de  $\delta$ -valerolactones e avaliação biológica: citotóxica, analgésica e antiinflamatória / Patrícia de Aguiar Amaral – Porto Alegre : UFRGS, 2008. – xxix, 146 p. : il.

Tese (Doutorado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas e Universidade de Rennes 1.

1.  $\delta$ -valerolactonas. 2. Kavalactonas. 3. Yangonina. 3. Citotoxicidade. 4. Analgesia. 5. Atividade antiinflamatória. I. Lima, Vera Lucia Eifler. II. Michele, David. III. Título.

CDU: 547.05

Bibliotecária responsável:

Margarida Maria Cordeiro Fonseca Ferreira – CRB10/480

*Agradecimentos CAPES/COFECUB n. 418/03, órgão que financiou a bolsa de estudos para o desenvolvimento deste trabalho, e ao Laboratório de Síntese Orgânica Medicinal (LaSOM/UFRGS) e ao Laboratoire de Chimie Therapeutique à Rennes1/França que disponibilizaram todos equipamentos e materiais necessários para a realização dos experimentos práticos na elaboração da presente tese.*

## Agradecimentos

---

Estas breves linhas tentarão relatar o que para mim foi uma ocasião de comoção em lembrar alguns momentos e pessoas que fizeram e fazem parte desta tese. A junção desse Universo de ciência e mestres, quando bem compartilhados, te conduzem à descobertas que te despertam e te motivam à essa caminhada.

Primeiramente quero agradecer ao meu marido, Morvânio Anselmo, que não entende nada de química, mas foi o catalisador ideal e mais importante nesta transformação, além do apoio incondicional à Rennes/França.

A minha família: Manoel Carlos Amaral, Sônia Vitória de Aguiar e Viviane de Aguiar Casagrande, pelo apoio e carinho.

Em relação à academia quero agradecer a Minha Orientadora Vera Lucia Eifler-Lima pela oportunidade e incansável orientação durante todos esses anos.

Aos meus colegas do LaSOM/UFRGS: Cédric Graebin, Mônica Duarte, Rômulo Canto pela amizade e suporte.

Aos colegas das “valerolactones»: Daiana Dias, Taciana Augustini e Tiago Claudino pelo bom trabalho em conjunto, e o melhor, sempre otimistas, dispostos e de bom humor.

Aos professores: Grace Gossman, Eduardo Rolim, Stela Rates e Adriana Polmann a chance de ter convivido e aprendido ao longo desses anos; não só no plano da pesquisa mas também em relação ao profissionalismo e ao carácter destes pesquisadores.

À banca composta pelos Doutores Eliezer J. Barreiro, Arlene Corrêa e René Grée, por terem aceito o convite para avaliação deste manuscrito.

Aos nosso colaboradores de longa data e amigos: Valdir Cechinel Filho e Fátima Campus-Buzzi, pela realização dos testes *in vivo* sobre a analgesia (UNIVALI/Itajaí).

Aos colegas e amigos: Angela Erna Rossato, Indianara Renault, Juliana Lora, Marilúcia Pereira (Coordenadora do curso de Farmácia), Eduardo Agnes, Tatiana Barichelo (ex. Coordenadora) que me proporcionaram a segurança e a tranquilidade

## *Agradecimentos*

---

de que precisava para me dedicar exclusivamente à tese durante o meu período de afastamento da Universidade/UNESC.

Aos amigos da ciência: Arlei Antunes, Maura Antunes, Simone Gnoato, Edlus da Silva e Lucia A. Corrêa, que nos oportunizaram um acolhimento bem brasileiro em terras estrangeiras.

As minhas amigas queridas e irmãs de alma: Andréia Adams, Vanessa Maio, Lorena dos Santos, Eloisa Schwinden e Aline Rigon Zimmer; nem a distância e nem o tempo conseguem abalar nossa fraternidade.

O momento de relatar e enumerar os agradecimentos são realmente um momento interessante... é neste momento que podemos “*olhar*” para estes últimos quatro anos e lembrar todos que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização desta etapa, à todos esses, os meus sinceros agradecimentos.



## Remerciements

---

Je tiens tout d'abord à remercier Madame Michèle David pour avoir accepté d'être mon Directeur de thèse en France et pour toute son amitié. J'ai pu apprécier ses conseils avisés et j'ai été très sensible à son enthousiasme et à ses encouragements du début à la fin.

Pour m'avoir guidée et accompagnée dans ces travaux, pour leur confiance et leurs enseignements, leur bonne humeur et leur disponibilité exemplaire, je remercie chaleureusement Nicolas Gouault et Pierre Van-de-Weghe.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Monsieur Philippe Uriac qui m'a ouvert, en confiance, les portes du laboratoire de Chimie Thérapeutique.

Merci à Françoise Lohézic-Le Dévéhat et Isabelle Rouaud pour la réalisation des tests de cytotoxicité au laboratoire de pharmacognosie.

A Corinne Martin-Chouly pour m'avoir acceptée et orienter aux essais sur le TNF $\alpha$  et pour sa confiance.

Pour avoir rendu ce séjour aussi productif qu'épanouissant, un grand merci à tous les membres des laboratoires. Merci à Joël Boustie, Myriam Le Roch (les dernier manip...merci), Jean-François Cupif, Béatrice Legouin (les spectres d'ultraviolets), Jacques Renault (l'artiste), David Horthnt, Emmanuel Baslé, Aurélie Bernard, Sophie Tomasi, Marie France Guitton, Patrice Gernigon, ma petite stagiaire (plus grande que moi, bien sûr) Marie Touleimat ; Alexandre Cariou pour le travail collectif sur le support fluoré, enfin un grand merci à tous pour tout ! Que soient ainsi remerciées toutes les personnes qui m'ont accompagnée et ont participé à ce travail !

A mon super père franco-brésilien : Jean Charles Corbel et sa famille, que nous a ouvert sa maison et nous a laissés faire partie de sa vie pendant ces 18 mois à Rennes...merci.

A Mickaël Jean pour « la réaction de Jean » et pour sa motivation contagieuse...

A M. René Grée pour m'avoir accueillie dans son laboratoire et à Julien Petrignet pour sa collaboration.

## *Remerciements*

---

Mes derniers remerciements, mais non les moindres...s'adressent à mes super copines : Anne-Cécile Le Lamer pour sa gentillesse et son grand sourire (j'ai jamais vu quelqu'un parler aussi vite !!!), Estelle Marchal (ma grande copine, je n'aurais pas pu mieux choisir comme voisine de paillasse et merci pour le petit bouquin *ar-ti-cu-ler* !!! ) et Marion Millot (qui n'a jamais compris mon « bon français » au début et maintenant la plus à me comprendre. Je regard toujours le cadeau « bouquin !! »). Merci à vous pour les sympas soirées et votre amitié. Je vous attends ici au Brésil, peut-être « demain » ☺ !!

## SOMMAIRE

<b>AGRADECIMENTOS/REMERCIEMENTS</b> .....	<b>v</b>
<b>TABLEAUX</b> .....	<b>xiii</b>
<b>TABLE DE FIGURES</b> .....	<b>xiv</b>
<b>ABREVIATION</b> .....	<b>xvi</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>xviii</b>
<b>RESUME</b> .....	<b>xix</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xx</b>
<b>APPAREILLAGES ET TECHNIQUES D'ANALYSE</b> .....	<b>xxi</b>

## CHAPITRE I – INTRODUCTION GENERALE

<b>1. Introduction Générale</b> .....	<b>2</b>
<b>1.1. Exemples de stratégies de synthèses de valérolactones</b> .....	<b>5</b>
<b>1.1.1. Réaction de cycloaddition: réaction d'Hétéro-Diels-Alder (HDA)</b> .....	<b>5</b>
<b>1.1.2. La réaction de Réformatsky</b> .....	<b>9</b>
<b>1.1.3. Aldolisation /cyclisation</b> .....	<b>9</b>
<b>1.1.4. Modulations du cycle valérolactone par réactions de couplage</b> .....	<b>10</b>
<b>1.2. Synthèses des kavalactones</b> .....	<b>12</b>
<b>1.2.1. Synthèses racémiques des kavalactones</b> .....	<b>12</b>
<b>1.2.2. Synthèses asymétriques des kavalactones</b> .....	<b>13</b>
<b>1.3. La chimie combinatoire et les valérolactones</b> .....	<b>17</b>
<b>2. Le Motif <math>\delta</math>-valérolactone</b> .....	<b>20</b>
<b>3. Objectifs et stratégie de synthèse</b> .....	<b>22</b>

## CHAPITRE II – SYNTHÈSE EN PHASE FLUORÉE

<b>1. Introduction sur la synthèse fluorée</b> .....	<b>31</b>
1.1. Concept de la synthèse fluorée.....	31
1.1.1. La synthèse "hautement fluorée" .....	31
1.1.2. Emergence de la synthèse "faiblement fluorée" .....	34
1.1.3. A l'interface entre la synthèse en solution et la synthèse sur support solide .....	36
1.2. Exemples de travaux développés sur support fluoré au laboratoire de Chimie Pharmaceutique à l'Université de Rennes1 – Rennes/France .....	38
1.2.1. Synthèse d' $\alpha$ -méthylène- $\gamma$ -lactones mono- ou disubstituées .....	38
1.2.2. Séparation d'un mélange d'acides paraconiques sur support fluoré .....	39
1.2.3. Application de la synthèse d'amines secondaires en parallèle par utilisation de techniques fluorées .....	41
<b>2. Résultats et discussion de la synthèse sur support fluoré de <math>\delta</math>-valérolactones diversement substituées en position 5 et 6</b> .....	<b>43</b>
2.1. Préparation de l'Acétate de 1H,1H,2H,2H-perfluorooctyle (116) .....	45
2.2. Aldolisation : accès au $\beta$ -hydroxyester (117) .....	47
2.3. Réaction de Heck .....	50
2.4. Aldolisation, cyclisation et clivage de $\delta$ -valérolactones sur support fluoré.....	52
<b>3. Autres alternatives sur support fluoré</b> .....	<b>54</b>
<b>4. Conclusions</b> .....	<b>58</b>
<b>5. Données expérimentales du chapitre II : synthèse sur support fluorée</b> .....	<b>59</b>
5.1. Synthèse de l'acétate de 1H,1H,2H,2H-perfluorooctyle (116) .....	59
5.2. Synthèse du $\beta$ -hydroxyester $\alpha,\beta$ insaturés (117) .....	60
5.2.1. Procédure générale pour la purification des composés par FSPE (Fluorous Solid Phase Extraction) .....	61

5.3. Synthèse du produit de Heck (118) .....	61
<b>6. Bibliographie.....</b>	<b>63</b>

### **CHAPITRE III - TOWARDS SYNTHESIS OF KAVALACTONE DERIVATIVES**

Introduction .....	67
Acknowledgments.....	69
Supplementary data.....	70
References .....	70
Supplementary data.....	71

### **CHAPITRE IV - DIFFERENT CROSS-COUPPLING APPROACHES TO THE SYNTHESIS OF NOVEL KAVAIINE-LIKE DERIVATIVES AND EVALUATION OF THEIR CYTOTOXICITY**

Introduction .....	80
Experimental Section.....	82
Biological .....	92
Results and discussion .....	94
Conclusions .....	98
Acknowledgments.....	98
References .....	99

## **CHAPITRE V - EVALUATION DE L'ACTIVITE TNF**

1. Introduction.....	106
2. Donnés expérimentales d'évaluations anti-inflammatoire.....	109
2.1. Principe et méthode de l'évaluation biologique anti-inflammatoire .....	110
2.2. Généralités sur le test ELISA.....	111
3. Résultats et discussion sur l'évaluation anti-inflammatoire .....	112
4. Conclusion.....	118
5. Bibliographie .....	119

## **CHAPITRE VI - EVALUATION DE L'ACTIVITE ANALGESIQUE**

<b>1. Introduction.....</b>	<b>121</b>
<b>2. Donnés expérimentales d'évaluations analgésique .....</b>	<b>122</b>
2.1. Matériel biologique .....	122
2.2. Médicaments et solutions utilisées .....	122
2.3. Modèle de contorsions abdominales induites par l'acide acétique .....	123
2.4. Analyses statistique.....	123
<b>3. Résultats et discussions .....</b>	<b>123</b>
<b>4. Conclusion .....</b>	<b>130</b>
<b>5. Bibliographie.....</b>	<b>131</b>

<b>CONCLUSIONS GENERALES.....</b>	<b>133</b>
-----------------------------------	------------

<b>BIOGRAFIA .....</b>	<b>138</b>
------------------------	------------

## TABLEAUX

Tableau 1.1 : Les principales kavalactones .....	4
Tableau 1.2 : Pourcentage d'inhibition de $\delta$ -valérolactones sur l'activité analgésique .....	21
Tableau 2.1 - Comparaison des principales caractéristiques des synthèses en solution, sur support solide et en support fluorée <sup>9</sup> .....	37
Tableau 2.2 : essais d'optimisation de la 2 <sup>ème</sup> étape sur support fluoré (aldolisation) .....	48
Tableau 2.3 : Essais réalisés sur la réaction de Heck .....	51
Tableau 2.4 : essais réalisés pour la réaction d'aldolisation/cyclisation .....	53
Tableau 5.1: Pourcentage d'inhibition du TNF- $\alpha$ par les produits de la série 1.....	113
Tableau 5.2 : Pourcentage d'inhibition du TNF- $\alpha$ par les produits de la série 1/II...	114
Tableau 6.1 : Activité analgésique des dérivés $\delta$ -valérolactones sur le modèle de l'acide acétique 0,6% <i>via i.p.</i> dose de 10 mg/kg. ....	125
Tableau 6.2 : Etude théorique de solubilité et perméabilité des $\delta$ -valérolactones. .	128

## TABLE DE FIGURES

Figure 1.1 : $\gamma$ -butyrolactone 1 et $\delta$ -dodécalactone 2 .....	3
Figure 1.2 : Structure générale d'une valérolactone .....	3
Figure 1.3 : Structure générale des kavalactones .....	3
Figure 2.1 : Extraction liquide-liquide triphasique solvant organique/eau/solvant fluoré.....	33
Figure 2.2 : Analogie des synthèses sur support solide et sur support fluoré.....	33
Figure 2.3 : Structure de la silice fluorée. ....	35
Figure 2.4 : (a) Structure de deux aminoanthraquinones non fluorée ou fluorée ; (b) Illustration de leur séparation par FSPE.....	35
Figure 2.5 : Robot utilisée pour la synthèse en parallèle .....	36
Figure 2.6 : Structure des plusieurs des acides paraconiques .....	39
Figure 2.7 : $\delta$ -valérolactones proposée par support fluoré.....	43
Figure 2.8 : RMN $^1\text{H}$ (270 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de l'acétate de 1H,1H,2H,2H-perfluorooctyle (116). Tétraméthylsilane (TMS) a été employé en tant que référence interne.....	46
Figure 2.9 : L'acétate de 1H,1H,2H,2H-perfluorooctyle avec la chaîne fluorée. ....	46
Figure 2.10 : RMN $^{19}\text{F}$ (254 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de l'acétate de 1H,1H,2H,2H-perfluorooctyle (116).....	47
Figure 2.11 : l'hydroxypenténoate .....	49
Figure 2.12 : RMN $^1\text{H}$ (254 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de $\beta$ -hydroxyester (117) .....	49
Figure 2.13 : Cycle catalytique sur la réaction de Heck.....	51
Figure 2.14 : $\beta$ -cétoester fluoré (118).....	54
Figure 2.15 : l'alcool allylique (117) .....	55
Figure 5.1: Deméthoxyyangonine 17.....	108
Figure 5.2 : $\delta$ -valérolactones .....	109
Figure 6.3 : Principe de la technique du test ELISA en « sandwich ».....	112
Figure 5.4 : Série 1 .....	113
Figure 5.5 : Série 1/II .....	113



Figure 6.1 : molécules testées pour l'évaluation analgésique.....	123
Figure 6.2 : $\delta$ -valérolactones testée.....	125

## ABREVIATIONS

AcOEt : Acétate d'éthyle

BPCO : bronchopneumopathie chronique obstructive

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CHU : (Hôpital Université à Ponchaillou/Rennes/France

CI<sub>50</sub> : Concentration d'Inhibitrice 50 %

CMI : Concentration Minimale d'Inhibitrice

COSY : Correlation Spectroscopy

DMPU : 1,3-Dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinone

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DO : Densité optique

Eb : température d'ébullition

ee : excès énantiomérique

EGCG : (-) - gallate d'epigallocatechin

éq. : Équivalent

FSPE : *Fluorous Solide Phase Extraction*

HDA : Hétéro-Diels-Alder

HMPA : d'hexaméthylphosphoramide

*HPLC : High Performance Liquid Chromatography*

*HTS = high throughput screening*

IL : linterleukines

IRFT : Infra-Rouge à Transformée de Fourier

LDA : diisopropylamidure de lithium

LHMDS : hexaméthylidisilylamidure de lithium

LPS : Lipopolysaccharide

*m*-CPBA : Acide meta-chloroperbenzoïque

MeOH : Méthanol

MMT : Microculture tetrazolium-(Bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)2,5-diphényltétrazolium)

MTT : Bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)2,5-diphényltétrazolium

Ns : nosyle

*n*-BuLi : *n*-butyllithium

PF : Phase fluorée

*R<sub>f</sub>* : facteur de Rétention

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

(*R,R*) TADDOL : (*R,R*)-(-)-*trans*-4,5-bis(hydroxydiphenylmethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxacyclopentane)

SMHR : Spectrométrie de Masse Haute Résolution

SOPS = Synthèses organique en phase solide

SPE : *Solid Phase Extraction*

t.a. : Température ambiante

TFA : Acide trifluoroacétique

THF : Tétrahydrofurane

TMSCI : chlorure de triméthylsilyle

TNF- $\alpha$  : Factor de Nécroses Tumoral alpha

tR : temps de Rétention

# SÍNTESE DE DIVERSAS $\delta$ -VALEROLACTONAS E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA

## RESUMO

A pesquisa e desenvolvimento de medicamentos é um processo complexo e longo que se inicia com a pesquisa básica de um novo composto bioativo em modelos experimentais *in vitro* e pré-clínicos. Neste trabalho descreve-se a síntese de  $\delta$ -valerolactonas e avaliação biológica. Uma primeira rota sintética permitiu obter análogos das kavalactonas com bons rendimentos através de reações de aldolização e acoplamentos do tipo Heck e Suzuki com o auxílio do forno de microondas. Paralelamente outra estratégia sintética foi realizada através de modulações no anel aromático ligado ao núcleo lactônico, com reações do tipo Heck, Suzuki e Sonogashira, com excelentes rendimentos. Outra sequência reacional foi desenvolvida a partir de álcoois alílicos utilizando a reação conhecida como tandem *isomerização/aldolização* com diversos aldeídos obtendo lactonas substituídas em posição 3, 5 e 6 do ciclo lactônico. Objetivou-se também neste estudo, a partir do princípio da química combinatória, preparar uma pequena quimioteca de  $\delta$ -valerolactones. Para tanto se desenvolveu uma sequência reacional a partir do suporte fluorado em função das vantagens deste método em relação à Síntese Orgânica em Fase Sólida (SOFS), esta rota sintética foi acompanhada em solução. No que se refere ao aspecto biológico, foram avaliados 35 compostos sintetizados sobre a atividade citotóxica. No entanto apenas um composto apresentou uma leve atividade ( $CI_{50} < 10\mu M$ ) sobre as linhagens celulares testadas (A-375M e B16). Em relação à avaliação antiinflamatória *in vitro* observou-se atividade interessante sobre o composto **61** na inibição do  $TNF\alpha$  no sangue total. A avaliação do potencial antinociceptivo dos 10 compostos testados (**5**, **129-137**) demonstrou um perfil promissor, sendo que o composto **131** apresentou uma inibição mais expressiva (69,4%) em relação aos outros compostos. Os resultados químicos e biológicos promissores aqui demonstrados indicam a viabilidade em utilizar essa classe química estudada para encontrar substâncias mais ativas as quais podem representar uma nova entidade terapêutica.

**Palavras-chaves:**  $\delta$ -valerolactonas, kavalactonas, yangonina, acoplamento com paládio, suporte fluorado,  $TNF\alpha$ , citotoxicidade, analgesia.

# SYNTHESE DE DIVERSES $\delta$ -VALEROLACTONES ET EVALUATION BIOLOGIQUE

## RESUME

Le travail présenté dans ce manuscrit est consacré à la synthèse et à l'évaluation pharmacologique de quelques  $\delta$ -valérolactones. Une première séquence réactionnelle a permis d'accéder aux analogues synthétiques des kavalactones avec de bons rendements en développant notamment des réactions de couplage par activation aux micro-ondes. Diverses modulations ont ensuite été réalisées par des couplages de type Heck, Suzuki et Sonogashira. Parallèlement une deuxième séquence réactionnelle a été mise au point au départ d'alcools allyliques en utilisant une réaction tandem *isomérisation-aldolisation* avec divers aldéhydes pour entrer différents substituants en position 3, 5 et 6 du cycle lactonique.

Notre intérêt s'est aussi porté sur la chimie combinatoire, pour préparer des petites chimiothèques de  $\delta$ -valérolactones. Nous avons utilisé le couplage de Heck suivi d'une *aldolisation/lactonisation* à partir d'un support fluoré. Les avantages de ce support fluoré ont permis de simplifier les étapes de purification. La séquence réactionnelle choisie n'a cependant été validée qu'en solution.

Concernant l'aspect biologique, l'évaluation de l'activité cytotoxique *in vitro* de 34  $\delta$ -valérolactones seul un composé présente une cytotoxicité modérée sur les lignées cancéreuses B16 et A375M ( $CI_{50} < 10\mu M$ ). Les effets inhibiteurs *in vitro* sur le sang total permettent de souligner l'intérêt thérapeutique éventuel de cette famille de molécules dans le traitement de l'inflammation. Enfin le test à l'acide acétique *in vivo* pour évaluer l'activité analgésique de quelques composés a montré une forte inhibition pour l'hétérocycle **131** (69,4%).

**Mots-clés** :  $\delta$ -valérolactones, kavalactones, yangonine, couplage au palladium, support fluoré, inhibition du  $TNF\alpha$ , activité cytotoxique, activité analgésique.

# SYNTHESIS AND BIOLOGICAL EVALUATION OF VARIOUS $\delta$ -VALEROLACTONE DERIVATIVES

## ABSTRACT

This work describes the synthesis and the pharmacological evaluation of various  $\delta$ -valerolactone derivatives. We first prepared some kavalactone analogues in good yields using microwave-promoted palladium-catalyzed coupling reactions. Several modulations have been done using Heck, Suzuki and Sonogashira reactions. At the same time, we developed a synthetic pathway starting from allylic alcohols and involving a tandem isomerisation-aldolisation reaction with various aldehydes in order to introduce diversity at the C-3, C-5 and C-6 positions of the valerolactone. We focused on the combinatorial chemistry in order to obtain a library of  $\delta$ -valerolactone derivatives. The Heck coupling was followed by an isomerisation-aldolisation reaction using a fluorated support. The purification steps were much easier using fluorated supports. However, so far this synthetic pathway is only valid in solution.

We then tested 34  $\delta$ -valerolactones analogues to determine their *in vitro* cytotoxic activity and discovered that one  $\delta$ -valerolactone was slightly active ( $CI_{50} < 10\mu M$ ) on two cell lines (A-375M and B16). Moreover, the *in vitro* inhibitor effects on whole blood sample showed that  $\delta$ -valerolactone derivatives might have an interesting anti-inflammatory activity. Finally, the *in vivo* acetic acid test evaluating the analgesic activity of several compounds displayed a high inhibition for the heterocyclic **131** (69.4%).

**Key words** :  $\delta$ -valerolactone, yangonine, microwave activated Heck coupling, Suzuki-Miyaura, Sonogashira, fluorated support, inhibition of the  $TNF\alpha$ , anti-inflammatory activity, analgesic activity.

## **1. Appareillages et techniques d'analyse**

Les différentes analyses réalisées sur toutes les molécules que nous avons synthétisées dans ce travail de thèse ont été effectuées à l'aide des appareils et techniques suivantes.

### **1.1. Résonance Magnétique Nucléaire**

Appareil à Transformée de Fourier JEOL GSX WB 270 MHz (270 MHz pour le proton et 67.5 MHz pour le carbone 13) à Rennes1/France ; VARIAN, VXR200 (200 MHz pour le proton et 50 MHz pour le carbone 13) ; VARIAN, YH300 (300 MHz pour le proton et 75 MHz pour le carbone 13) à UFRGS/Brésil.

Les spectres ont été réalisés dans le  $\text{CDCl}_3$  ou dans le DMSO-*d* deutérée. Les déplacements chimiques ( $\pm$ ) sont exprimés en partie par millions (ppm), par rapport au tétraméthylsilane (TMS) utilisé comme référence interne. Les constantes de couplage ( $J$ ) sont exprimées en Hertz (Hz). La multiplicité des signaux est indiquée comme suit: s: singulet, d: doublet, t: triplet, m: multiplet, dd: doublet de doublet, etc. Dans certains cas, la réalisation de spectres RMN 2D (COSY, HMQC, HMBC ou NOESY) a été nécessaire pour l'attribution des signaux. Les spectres sont analysés au premier ordre.

### **1.2. Infra-Rouge à Transformée de Fourier. Spectromètre à Transformée de Fourier Perkin Elmer FTIR 1600.**

Les échantillons solides sont analysés par réflexion diffuse après inclusion dans une matrice de KBr anhydre à une concentration de 1 %, alors que les échantillons liquides sont analysés par réflexion totale atténuée sur un cristal de séléniure de zinc. Les fréquences d'absorption ( $\nu$ ) des groupements fonctionnels sont exprimées en  $\text{cm}^{-1}$  à leur maximum d'intensité.

### **1.3. Spectrométrie de Masse Haute Résolution**

Appareil VARIAN MAT 311 (CRMPO), ionisation par impact électronique. L'énergie du faisceau électronique est de 70 eV, l'intensité du courant d'émission est de 300  $\mu$ A et la tension d'accélération des ions est de 3 kV.

### **1.4. Micro-ondes**

L'appareil Synthewave 402 Prolabo Power 600W, dimensions: largeur 220 mm, profondeur 525 mm, hauteur 360 mm. Masse: 15 kg. Système original à micro-ondes focalisées et matras ouvert. Fréquence d'émission 2,45 GHz. Protection de la carrosserie par un revêtement Polyuréthane et de la cavité micro-ondes par un doigt de gant en quartz.

### **1.5. Chromatographies**

Les *R<sub>f</sub>* et les *t<sub>R</sub>* sont donnés à titre indicatif.

Les Chromatographies sur Couche Mince (CCM) ont été réalisées sur des plaques d'aluminium recouvertes de gel de silice avec indicateur de fluorescence (63-200  $\mu$ m, Kieselgel 60 F254, MERCK 5554). Après migration dans un éluant approprié, les plaques ont été systématiquement observées en lumière visible et sous UV (254 nm et 365 nm). Les chromatogrammes ont ensuite été révélés par une des solutions suivantes:

\_  $\text{KMnO}_4/\text{NaOH}$ : 1g de  $\text{KMnO}_4$  dissous dans 500 mL de NaOH 1N. Trempage puis séchage à température ambiante.

\_ Anisaldéhyde sulfurique: 0,5 mg de 4-méthoxybenzaldéhyde dissous dans 85 mL de méthanol et 10 mL d'acide acétique glacial, additionné extemporanément de 2 % d' $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré. Pulvérisation puis chauffage.

Les chromatographies sur couches minces préparatives ont été réalisées sur des plaques de verre recouvertes de gel de silice (63-200  $\mu$ m, Kieselgel 60, MERCK).



Les chromatographies sur colonnes ouvertes ont été effectuées sur gel de silice (63-200  $\mu\text{m}$ , Kieselgel 60, MERCK 7734) soit à pression atmosphérique soit sous vide (chromatographie flash ou Solide Phase Extraction : SPE).

Chromatographie sur silice fluorée : *Fluorous Solide Phase Extraction* (FSPE)  
Les FSPE sont réalisées sur Silice Fluorée (Silica gel 60 C<sub>8</sub>-reversed phase perfluorinated 35-70  $\mu\text{m}$ , FLUKA).

Chromatographie Liquide à Haute Performance: La chaîne HPLC utilisée est constituée d'un instrument Waters connectée au UV 996 associée à un détecteur à barrette de diodes avec une colonne Kromasil (100A SI 10 $\mu\text{m}$  250 x 4.6 mm). L'elution des  $\delta$ -valérolactones a été effectuée à un débit de 1 mL.min<sup>-1</sup> à température ambiante : Hexane/AcOEt (55:45). La pureté de HPLC est donnée en pourcentages d'aire sous la coube à 220 nm.

### 1.6. Point de Fusion

Les points de fusion des composés purs et cristallisés sont mesurés à l'aide d'une Rampe Koffler LEICA VMHB (précision à  $\pm 1$  °C) et ne sont pas corrigés.

---

---

**CHAPITRE III – *TOWARDS SYNTHESIS OF  
KAVALACTONES DERIVATIVES***

---

---

## Supplementary data

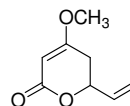
**General Experimental Procedures.** Microwave-assisted reactions were carried out in a Synthewave 402 Prolabo Power 600 W. HPLC analyses were performed on a Waters instrument connected to a UV 996 photodiode array detector with a column (Kromasil 100 A SI 10  $\mu\text{m}$  250 x 4.6 mm). Elution of  $\delta$ -valerolactones was achieved at a flow rate of 1  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$  at room temperature: Hexane/EtOAc 55/45. HPLC purity was given as area percentages at 220 nm. Chromatographic purifications were carried out using silica gel 60 PF<sub>254</sub> for preparative layer chromatography. Melting points were determined on a System Kofler type WME apparatus and were not changed. IR spectra were run on a Perkin-Elmer Spectrum 16 PC spectrometer; only selected absorbances are quoted. Nuclear magnetic resonance spectra (<sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR) were recorded on a Jeol GSX 270 WB at 270 MHz and 67.5 MHz, respectively. Chemical shifts ( $\delta$  values) are given in parts per million downfield from tetramethylsilane as the internal standard. HRMS (EI) measurements were recorded on a Varian MAT 311 mass spectrometer at the Centre Régional de Mesures Physique de l'Ouest, Rennes (France).

### General procedure for the preparation of pyrones 3 and 5

To a cold (0 °C) solution of diisopropylamine (2.60 mL, 18.5 mmol) in THF (35 mL) under argon was added *n*-butyllithium (7.40 mL, 18.5 mmol, 2.5 M in hexane) and the reaction mixture stirred 45 min at 0 °C. Ethyl acetoacetate (1.00 mL, 7.7 mmol) was added dropwise (20 min) at 0 °C and then, freshly distilled acrolein (0.55 mL, 8.5 mmol) or (*Z*) iodo acrolein prepared <sup>12</sup>(1.55 g, 8.5 mmol) was slowly added and the reaction mixture stirred 20 min at 0 °C. After addition of cold water (100 mL), the mixture was left to stand at room temperature for 1 h. The crude mixture was extracted with Et<sub>2</sub>O (60 mL) and the aqueous layer acidified with hydrochloric acid (pH = 1) at 0 °C. The oil was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 20 mL). The combined organic layers were dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), filtered, and evaporated *in vacuo*. Powdered anhydrous K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.97 g 14.3 mmol) and Me<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1.35 mL, 14.3 mmol) were added to a solution of 4-hydroxy-6-vinyl-5,6-dihdropyran-2-one (1.00 g, 7.1 mmol) or 4-hydroxy-6-(2-iodovinyl)-5,6-dihdropyran-2-one (1.90 g, 3.7 mmol) in freshly distilled acetone (20 mL). The suspension was stirred overnight at room temperature. The reaction was diluted with EtOAc (60 mL) and washed with 0.5 M HCl (60 mL). The aqueous layer was extracted with

EtOAc (2 x 30 mL), the combined organic layers were washed with saturated sodium chloride, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated *in vacuo*. The products **3** or **5** were purified by flash chromatography. (Eluent = 0 to 50% EtOAc in cyclohexane)

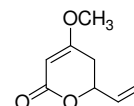
**4-methoxy-6-vinyl-5,6-dihydropyran-2-one (3) :**



572 mg (52% yield) isolated yellow viscous oil

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 270 MHz): 2.53 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 4.86-4.93 (m, 1H), 5.17 (s, 1H), 5.30 (dd, 1H, *J*=10.5, 1.1 Hz), 5.42 (dd, 1H, *J*=17.6, 1.1 Hz), 5.88-6.01 (m, 1H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 67.5 MHz): 32.7 (CH<sub>2</sub>), 56.0 (CH<sub>3</sub>), 75.7 (CH), 90.4 (CH), 118.0 (CH<sub>2</sub>), 135.0 (CH), 166.6 (C), 172.1 (C). FT-IR ZnSe crystal (cm<sup>-1</sup>): 1706, 1622. HMRS (EI) calcd for [M-CO<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>O): 110.0732; found: 110.0738.

**(Z) 4-methoxy-6-(2-iodovinyl)-5,6-dihydropyran-2-one (5):**



420 mg (40% yield) isolated orange viscous oil

<sup>1</sup>H NMR (C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, 270 MHz): 1.87 (ddd, 1H, *J*=16.9, 10.8, 1.3 Hz), 2.04 (dd, 1H, *J*=16.9, 4.6 Hz), 2.80 (s, 3H), 4.85-4.94 (m, 1H), 4.89 (d, 1H, *J*=1.5 Hz), 5.80 (dd, 1H, *J*=7.9, 1.0 Hz), 5.94 (dd, 1H, *J*=7.6 Hz). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 67.5 MHz): 31.2 (CH<sub>2</sub>), 56.1 (CH<sub>3</sub>), 78.2 (CH), 84.9 (CH), 90.5 (CH), 137.9 (CH), 166.1 (CO), 171.9 (C). FT-IR, ZnSe crystal (cm<sup>-1</sup>): 1704, 1621.

**General procedure for microwave-accelerated Heck cross-coupling reaction (4a-d).**

Aryl iodides (2 Eq, 1.3 mmol), lactone **3** (100 mg, 0.6 mmol), Hünig's base (220 μL, 1.3 mmol), palladium catalyst (5 or 10 mol %) and DMF (2 mL) were combined in a 10 mL microwave tube. The mixture was stirred and irradiated by microwave (300 W) from 4 to 8 min. The reaction mixture was filtered through Celite® and the filtrate was diluted with water and ethyl acetate. The organic layer was extracted, dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and removed. The product was purified by chromatography preparative plates (EtOAc/Cyclohexane 1:1)

Under conventional thermal heating conditions reaction was stirred at 80 °C for 16 h. The reaction mixture was treated with the same general procedure as microwave.

**(E)-6-(4-methoxystyryl)-4-methoxy-5,6-dihydropyran-2-one (4a):**

42 mg (50% yield) isolated as a white solid. mp=108-112 °C.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 270 MHz): 2.62 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.85 (s, 3H),

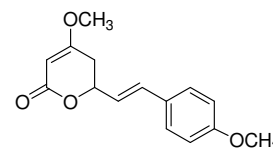
4.95-5.08 (m, 1H), 5.11 (s, 1H), 6.12 (dd, 1H, *J*=15.7, 6.5 Hz), 6.68 (d, 1H, *J*=15.7 Hz), 6.86

(d, 2H, *J*=8.6 Hz), 7.33 (d, 2H, *J*=8.6 Hz). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 67.5 MHz): 33.4 (CH<sub>2</sub>), 55.3

(OCH<sub>3</sub>), 56.0 (OCH<sub>3</sub>), 76.2 (CH), 90.6 (CH), 114.1 (2xCH), 123.3 (CH), 128.0 (2xCH), 128.5

(C), 133.0 (CH), 160.0 (C), 166.8 (C), 172.3 (C). FT-IR, KBr pellets (cm<sup>-1</sup>): 1708, 1625.

HMRS (EI) calcd for M<sup>+</sup> (C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>): 260.1049, found: 260.1050.

**(E)-4-methoxy-6-styryl-5,6-dihydropyran-2-one (4b):**

50 mg (40% yield) isolated as a pale white solid. mp=141-143 °C.

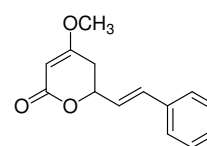
<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 270 MHz): 2.52 (m, 2H), 3.67 (s, 3H), 4.93-5.01 (m, 1H), 5.11 (s, 1H),

6.16 (dd, 1H, *J*=16.0, 6.3 Hz), 6.64 (d, 1H, *J*=16.0 Hz), 7.15-7.32 (m, 5H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>,

67.5 MHz): 33.0 (CH<sub>2</sub>), 56.0 (OCH<sub>3</sub>), 76.0 (CH), 90.5 (CH), 125.5 (CH), 126.7 (2xCH),

128.3 (CH), 128.7 (2xCH), 133.4 (CH), 135.7 (C), 166.7 (C), 172.3 (C). FT-IR, KBr pellets

(cm<sup>-1</sup>): 1713, 1625. HMRS (EI) calcd for M<sup>+</sup> (C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>): 230.0943, found: 230.0935.

**(E)-6-(2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)vinyl)-4-methoxy-5,6-dihydropyran-2-one (4c):**

75 mg (42% yield) isolated as an orange solid. mp=129-131 °C.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 270 MHz): 2.62 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 5.00-5.07 (m, 1H), 5.19 (s, 1H),

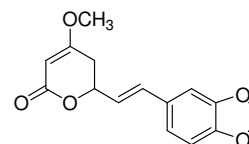
5.97 (s, 2H), 6.08 (dd, 1H, *J*=15.9, 6.5 Hz), 6.64 (d, 1H, *J*=15.9 Hz), 6.85 (m, 2H), 6.92 (s,

1H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 67.5 MHz): 33.2 (CH<sub>2</sub>), 56.0 (OCH<sub>3</sub>), 75.9 (CH), 90.4 (CH), 101.2

(CH<sub>2</sub>), 105.7 (CH), 108.2 (CH), 121.6 (CH), 123.6 (CH), 130.1 (C), 132.8 (CH), 147.7 (C),

148.0 (C), 166.6 (C), 172.2 (C). FT-IR, KBr pellets (cm<sup>-1</sup>): 1706, 1623, 1249, 1221, 825, 800.

HMRS (EI) calcd for M<sup>+</sup> (C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>): 274.0841, found: 274.0853.

**(E)-6-(4-fluorostyryl)-4-methoxy-5,6-dihydropyran-2-one (4d):**

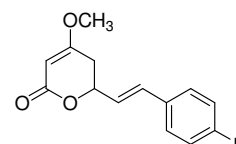
32 mg (40% yield) isolated as an orange solid. mp=187-189 °C.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 270 MHz): 2.62 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 5.01-5.09 (m, 1H), 5.20 (s, 1H), 6.19

(dd, 1H, *J*=15.6, 6.2 Hz), 6.71 (d, 1H, *J*=15.6 Hz), 7.02 (t, 2H, *J*=8.6 Hz), 7.36 (dd, 2H, *J*=8.9,

5.7 Hz). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 67.5 MHz): 33.4 (CH<sub>2</sub>), 56.1 (OCH<sub>3</sub>), 75.7 (CH), 90.6 (CH),

115.6 (2xCH, <sup>2</sup>*J*<sub>CF</sub>=21.8 Hz), 125.3 (CH), 128.3 (2xCH, <sup>3</sup>*J*<sub>CF</sub>=8.4 Hz), 128.7 (CH), 132.0 (C),

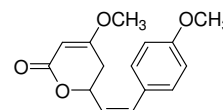


162.6 (C,  $^1J_{CF}=247$  Hz), 166.6 (C), 172.2 (C). FT-IR, KBr pellets ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1702, 1622. HMRS (EI) calcd for  $M^{+}$  ( $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{F}$ ): 248.0849, found: 248.0859.

#### General procedure for Suzuki- Miyaura cross-coupling reaction (4a, 4b et 4e).

To a solution of pyrone **5** (100 mg, 0.36 mmol) and arylboronic acid (1.5 Eq., 0.54 mmol) in degassed toluene (3 mL) under an argon flow, were successively added  $\text{K}_3\text{PO}_4$  (153 mg, 0.72 mmol), S-Phos  $^{13}$  (15 mg, 0.036 mmol) and  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (4 mg, 0.018 mmol). The mixture was stirred at 80 °C for 20 h. The reaction mixture was allowed to cool down and was poured into a mixture of 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$  and 10 mL EtOAc. The aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic phases were washed with brine, dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography (EtOAc/cyclohexane 1:1).to afford a mixture of separable diastereoisomers.

#### (Z)-6-(4-methoxystyryl)-4-methoxy-5,6-dihydropyran-2-one (4a):

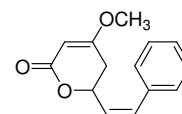


22 mg (24 % yield) isolated as a pale yellow oil

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 270 MHz): 2.44 (dd, 1H,  $J=17.0$ , 3.7 Hz), 2.65 (dd, 1H,  $J=17.0$ , 10.9 Hz), 3.74 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 5.21-5.28 (m, 1H), 5.17 (s, 1H), 5.72 (dd, 1H,  $J=10.2$  Hz), 6.71 (d, 1H,  $J=11.3$  Hz), 6.89 (d, 2H,  $J=7.9$  Hz), 7.25 (d, 2H,  $J=7.9$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 67.5 MHz): 33.3 ( $\text{CH}_2$ ), 55.3 ( $\text{OCH}_3$ ), 56.1 ( $\text{OCH}_3$ ), 72.2 (CH), 90.6 (CH), 114.0 (2xCH), 126.2 (CH), 130.1 (2xCH), 128.2 (C), 134.8 (CH), 159.4 (C), 166.8 (C), 172.3 (C). FT-IR, crystal ZnSe ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1703, 1623. HMRS (EI) calcd for  $M^{+}$  ( $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_4$ ): 260.1049, found: 260.1050.

#### (Z)-4-methoxy-6-styryl-5,6-dihydropyran-2-one (4b):

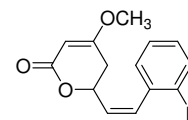
10 mg (12 % yield) isolated as a white solid. mp= 86-88 °C.



$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 270 MHz): 2.43 (dd, 1H,  $J=17.2$ , 4.2 Hz), 2.65 (dd, 1H,  $J=17.2$ , 11.0 Hz), 3.74 (s, 3H), 5.16 (s, 1H), 5.20-5.29 (m, 1H), 5.82 (dd, 1H,  $J=11.5$ , 9.4 Hz), 6.78 (d, 1H,  $J=11.5$  Hz), 7.26-7.39 (m, 5H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 67.5 MHz): 33.3 ( $\text{CH}_2$ ), 56.1 ( $\text{OCH}_3$ ), 72.1 (CH), 90.6 (CH), 127.7 (CH), 127.9 (CH), 128.6 (2xCH), 128.7 (2xCH), 135.0 (CH), 135.7 (C), 166.7 (C), 172.2 (C). FT-IR, KBr pellets ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1708, 1623. HMRS (EI) calcd for  $M^{+}$  ( $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_3$ ): 230.0943, found: 230.0935.

**(Z)-6-(2-fluorostyryl)-4-methoxy-5,6-dihydropyran-2-one (4e):**

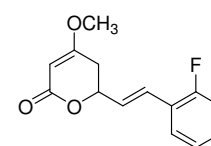
49 mg (55 % yield) isolated as a pale yellow oil.



$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 270 MHz): 2.45 (dd, 1H,  $J=17.0$ , 3.7 Hz), 2.65 (dd, 1H,  $J=17.0$ , 11.0 Hz), 3.74 (s, 3H), 5.09-5.13 (m, 1H), 5.16 (s, 1H), 5.94 (dd, 1H,  $J=10.2$  Hz), 6.76 (d, 1H,  $J=11.5$  Hz), 7.04-7.17 (m, 2H), 7.27-7.37 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 67.5 MHz): 32.9 ( $\text{CH}_2$ ), 56.0 ( $\text{OCH}_3$ ), 72.3 (CH), 90.5 (CH), 115.6 (CH,  $^2J_{\text{CF}}=21.8$  Hz), 123.3 (C,  $^2J_{\text{CF}}=15.1$  Hz), 124.2 (CH,  $^3J_{\text{CF}}=3.3$  Hz), 127.8 (CH,  $^3J_{\text{CF}}=2.2$  Hz), 129.7 (CH), 129.9 (CH,  $^3J_{\text{CF}}=7.8$  Hz), 130.6 (CH), 160.0 (C,  $^1J_{\text{CF}}=247.5$  Hz), 166.6 (C), 172.3 (C). FT-IR, crystal ZnSe ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1709, 1624. HMRS (EI) calcd fo  $\text{M}^{+\bullet}$  ( $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_3\text{F}$ ): 248.0849, found: 248.0859.

**(E)-6-(2-fluorostyryl)-4-methoxy-5,6-dihydropyran-2-one (4e):**

16 mg (18% yield) isolated as a pale yellow oil.

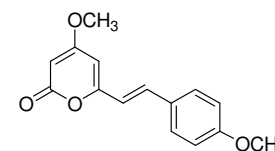


$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 270 MHz): 2.56 (dd, 1H,  $J=16.9$ , 4.1 Hz), 2.70 (dd, 1H,  $J=16.9$ , 11.1 Hz), 3.78 (s, 3H), 5.06-5.10 (m, 1H), 5.21 (s, 1H), 6.38 (dd, 1H,  $J=16.1$  Hz, 5.9 Hz), 6.88 (d, 1H,  $J=16.1$  Hz), 7.02-7.15 (m, 2H), 7.22-7.48 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 67.5 MHz): 33.3 ( $\text{CH}_2$ ), 56.1 ( $\text{OCH}_3$ ), 76.0 (CH), 90.6 (CH), 115.9 (CH,  $^2J_{\text{CF}}=19.5$  Hz), 123.6 (C,  $^2J_{\text{CF}}=12.3$  Hz), 125.9 (CH,  $^3J_{\text{CF}}=2.2$  Hz), 127.9 (CH,  $^3J_{\text{CF}}=2.8$  Hz), 128.2 (CH,  $^3J_{\text{CF}}=5.6$  Hz), 129.6 (CH), 129.7 (CH), 160.5 (C,  $^1J_{\text{CF}}=250.3$  Hz), 166.6 (C), 172.3 (C). FT-IR, crystal ZnSe ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1707, 1622. HMRS (EI) calcd fo  $\text{M}^{+\bullet}$  ( $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_3\text{F}$ ): 248.0849, found: 248.0859.

**Oxidation 4a and 4b.** DDQ (1.2 Eq, 0.53 mmol) was added to a solution of  $\delta$ -valerolactone (0.44 mmol) in anhydrous benzene (5 mL). The reaction mixture was heated to reflux for 2 hours, filtered through celite® and the solvent was evaporated *in vacuo*. The residue was purified by chromatography on silica gel with cyclohexane-EtOAc 50/50.

**(E)-6-(4-methoxystyryl)-4-methoxy-2H-pyran-2-one (1) (Yangonin):**

40 mg (80%) isolated yield yellow solid. mp=148-150 °C



(lit. 153-154, Dutta *et al.*, *Phytochemistry*. **1972**, 11, 2891).  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 270 MHz): 3.82 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 5.47 (d, 1H,  $J=1.9$  Hz), 5.90 (d, 1H,  $J=1.9$  Hz), 6.44 (d, 1H,  $J=16.2$  Hz), 6.90 (d, 2H,  $J=10.8$  Hz), 7.43-7.49 (m, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 67.5 MHz): 55.4 ( $\text{OCH}_3$ ), 55.9 ( $\text{OCH}_3$ ), 88.4 (CH), 100.4 (CH), 114.4 (2xCH), 116.4 (CH), 129.0 (2xCH), 130.8 (C), 135.5 (CH), 159.2 (C), 160.8 (C), 164.2 (C), 171.3 (C). FT-IR, KBr

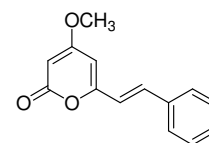
pellets ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1726, 1640, 1602. HMRS (EI) calcd for  $\text{M}^+$  ( $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_4$ ): 258.0892, found: 258.0885.

**(E)-4-methoxy-6-styryl-2H-pyran-2-one (2) (Desmethoxyyangonin):**

37 mg (75%) isolated yield yellow solid. mp=134-136 °C

(lit. 138-140, Rezende *et al.*, *Phytochemistry*. **1971**, 10, 3167).  $^1\text{H}$  NMR

( $\text{CDCl}_3$ , 270 MHz): 3.80 (s, 3H), 5.48 (d, 1H,  $J=2.0$  Hz), 5.94 (s, 1H), 6.57 (d, 1H,  $J=15.9$  Hz), 7.34-7.52 (m, 6H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 67.5 MHz): 55.9 ( $\text{OCH}_3$ ), 88.8 (CH), 101.3 (CH), 118.6 (CH), 127.4 (2xCH), 128.8 (2xCH), 129.4 (CH), 135.2 (C), 135.7 (CH), 158.6 (C), 166.7 (C), 172.3 (C). FT-IR, KBr pellets ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1731, 1636, 1609. HMRS (EI) calcd for  $\text{M}^+$  ( $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_3$ ): 228.0786, found: 228.0799.







Pergamon

## Towards synthesis of kavalactone derivatives<sup>1</sup>

Patrícia A. Amaral<sup>a,b</sup>, Nicolas Gouault<sup>a</sup>, Myriam Le Roch<sup>a</sup>, Vera L. Eifler-Lima<sup>b</sup>  
and Michèle David<sup>a\*</sup>

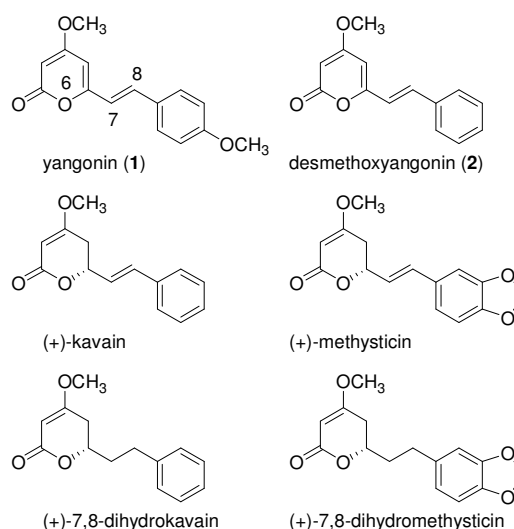
<sup>a</sup> EA 4090 Substances lichéniques et photoprotection, Université Européenne de Bretagne, Université de Rennes1, 2 Av. du Pr L. Bernard, 35043 Rennes, France.

<sup>b</sup> Laboratório de Síntese Orgânica Medicinal, University Federal of Rio Grande of Sul, Av. Ipiranga, 2752, Porto Alegre/RS, Brazil.

**Abstract**—Kavalactone derivatives were synthesized using a Heck reaction of the 4-methoxy-6-vinyl-5,6-dihydropyran-2-one with aryl iodides. The Suzuki-Miyaura reaction of an aryl boronic acid and (*Z*)-4-methoxy-6-(2-iodovinyl)-5,6-dihydropyran-2-one has also been successfully used to produce both *Z* and *E* isomers of lactones. © 2008 Elsevier Science. All rights reserved

*Piper methysticum* (kava-kava) is a plant native to the oceanic Islands of the South Pacific, that has been used as a folklore medicine and in the preparation of a traditional ceremonial beverage for thousands of years.<sup>1</sup> Modern use of kava root as a natural anxiolytic in several studies showed favourable results compared to a number prescription medications including benzodiazepines. In fact, kavalactones comprise 15% of the dried rootstock and display various and important biological properties such as sedative, anxiolytic, anti-inflammatory and analgesic effects.<sup>2</sup> The psychoactive ingredients consist of a group of structurally related lipophilic lactones derivatives with an arylethylene- $\alpha$ -pyrone core known as kavalactones (Figure 1). Among these compounds, yangonin **1** is one of the major components of kava extract and it has been reported to be responsible for the pharmacological activity.<sup>3</sup> It has shown a promising TNF- $\alpha$  release inhibitory activity.<sup>4</sup>

The pharmacological actions found for the kavalactones justify their synthesis and the preparation of original analogues. The lack of systematic studies of the pharmacological activities for the isolated kavalactones<sup>5</sup> motivates their production in sufficient quantities for further structure-activity relationship investigations. In addition, it is still unknown which compound is responsible for the pharmacological effects observed for the vegetal extracts or even whether these actions are due to one or more of these compounds.



**Figure 1.** Kavalactones isolated from *Piper methysticum*

The synthesis of six membered unsaturated  $\delta$ -lactones has generated a widespread interest, due to their occurrence in a large number of natural products possessing potent biological activities.<sup>6</sup> Various synthetic pathways, aiming to racemic<sup>7</sup> or enantiopure compounds,<sup>8</sup> have been studied to access kavalactones *via* standard aldol-based strategies involving the corresponding electron-rich cinnamaldehydes but none of them are generally applicable to the synthesis of oxygen substituted kavalactone derivatives such as yangonin and methysticin.

<sup>1</sup> [doi:10.1016/j.tetlet.2008.07.102](https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2008.07.102)

Keywords: kavalactones; Heck reaction; Suzuki-Miyaura reaction ; yangonin

\* Corresponding author. Tel.: +33(0)223234860; fax: +33(0)223234425; email: michele.david@univ-rennes1.fr

In connection with a program devoted to the synthesis of 4-oxo valerolactones derivatives and the evaluation of their *in vivo* analgesic effect,<sup>9</sup> we present in this work two approaches to the synthesis of yangonin **1**, desmethoxyyangonin **2** and structural analogues.

In order to devise a synthesis that would provide rapid access to novel compound libraries for biological evaluation we first planned a strategy based on the Heck<sup>10</sup> cross-coupling reaction between the pyrone **3** and various aryl iodides. (Figure 2)

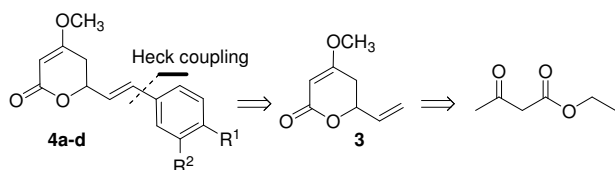
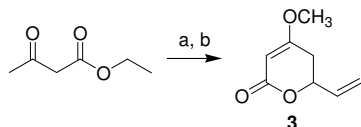


Figure 2. Retrosynthetic analysis.

The precursor for the Heck reaction was successfully prepared by aldol condensation of ethyl acetoacetate with acrolein and subsequent lactonisation according to a reported method.<sup>9</sup> Although it was possible to isolate and purify the  $\beta$ -ketone-intermediate, we decided to carry out the methylation with dimethyl sulfate in acetone at room temperature<sup>8c</sup> to afford **3** in a 52% yield overall. (scheme 1)



Scheme 1. Reagents and conditions: (a) LDA, THF 0 °C, acrolein. (b) dimethylsulfate, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dry acetone, r.t.

We then focused on the palladium-catalyzed cross coupling of **3** with some aryl iodides. To the best of our knowledge, no example related to the transformation of **3** to **4** has been reported in the literature.

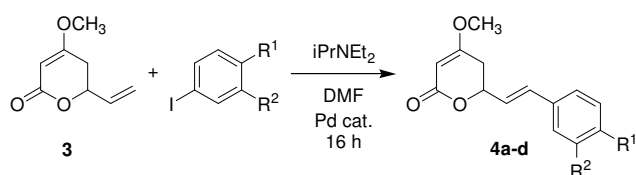
First, reactions were carried out using various substituted iodobenzenes as the coupling partners, 5 or 10 mol % of tetrakis(triphenylphosphine) palladium (0) in the presence of Hünig's base in DMF for 16 hours at 80 °C (Table 1).

Under these conventional thermal heating conditions, we observed that reactions did not proceed satisfactorily due to the heat-induced decomposition of the pyrone **3**. In addition we noticed that increasing the reaction temperature to 180 °C or longer reaction time led to total pyrone moiety decomposition. This prompted us to run the reaction under controlled microwave irradiation.

Microwave-promoted palladium-catalyzed coupling reaction is known to reduce reaction times. In addition the microwave irradiation procedures have received great

attention due to their efficient and environmentally benign conditions.<sup>11,12</sup> The reaction conditions were optimized using 4-iodoanisole as substrate over a wide temperature range: 25 to 150 °C. After some experimentation, we found it essential to employ a moderate microwave power (300 W) to avoid decomposition of lactone **3** as observed by HPLC monitoring. The best result, 47% isolated yield of **4a**, was obtained in 5.5 minutes (entry 1 Table 2). If prolonged irradiation or higher temperatures were used, more side products resulting from total decomposition of the pyrone moiety were observed by <sup>1</sup>H NMR. It has been noticed that the decomposition pathway might involve a "ring-opening-decarboxylation" sequence. No improvement was observed by increasing the amounts of Pd catalyst or change the source of Pd. Employing this protocol to other aryl iodides afforded the compounds **4b**, **4c** and **4d** within 5.5 minutes (entries 2-5), but the yields were only slightly improved. Less activated aryl iodide (*p*-nitro-iodobenzene) failed to afford the corresponding cross-coupling product regardless of heating procedure is used. (Table 1, entry 5 and table 2, entry 5)

Table 1. Heck cross-coupling reactions under thermal heating conditions



Entry	Aryl Iodide R <sup>1</sup> R <sup>2</sup>	Mol % / Catalyst	Product/ Yield (%)
1	OCH <sub>3</sub> H	5% Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	<b>4a</b> 35
2	H H	10% Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	<b>4b</b> 40
3	O-CH <sub>2</sub> -O	10% Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	<b>4c</b> 40
4	F H	10% Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	<b>4d</b> 40
5	NO <sub>2</sub> H	10% Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	nr <sup>a</sup>

<sup>a</sup> no reaction

Table 2. Fast palladium-catalysed coupling reactions under microwave irradiation (300 W, 5.5 min)

Entry <sup>a</sup>	Aryl Iodide R <sup>1</sup> R <sup>2</sup>	Catalyst	Product /Yield (%)
1	OCH <sub>3</sub> H	10% Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	<b>4a</b> 46
2	H H	10% Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	<b>4b</b> 42
3	F H	10% Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	<b>4d</b> 40
4	O-CH <sub>2</sub> -O	10% Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	<b>4c</b> 42
5	NO <sub>2</sub> H	10% Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	nr <sup>b</sup>

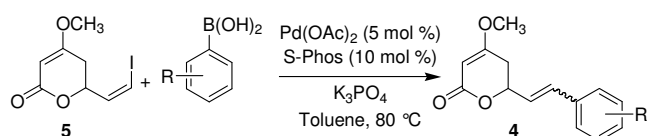
<sup>a</sup> Initial microwave irradiation of 300 W was used, the temperature being ramped from rt to 150 °C

<sup>b</sup> no reaction

According to the disappointing results we decided to investigate the Suzuki-Miyaura cross coupling reaction of

various aryl boronic acids with (*Z*)-6-(2-iodovinyl)-4-methoxy-5,6-dihydro-2H-pyran-2-one **5**. Therefore the pyrone **5** was prepared following our optimized reaction conditions for the synthesis of the pyrone **3** (scheme 1). Aldol condensation of ethyl acetoacetate with (*Z*)-iodoacrolein,<sup>13</sup> subsequent lactonisation and then methylation afforded *Z* isomer in 46% yield overall.

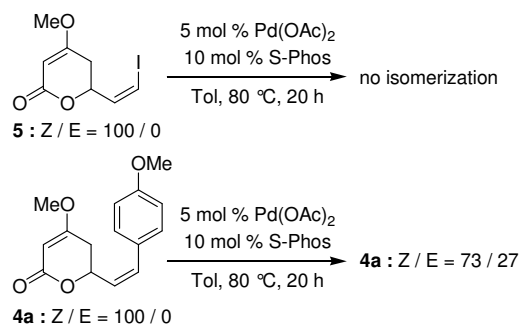
In order to optimize the yield of cross-coupled products **4** we focused on the employment of efficient catalyst system with Pd(OAc)<sub>2</sub> and 2-(2,6-dimethoxybiphenyl)dicyclohexyl-phosphine (S-Phos)<sup>14,15</sup> as ligand. Thus treatment of pyrone **5** with boronic acids in toluene at 80 °C for 20 hours in the presence of K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> as base afforded the required kavalactone derivatives **4a**, **4b** and **4c** in satisfactory yields (Scheme 2). However, we were surprised to obtain a *E/Z* mixture since the Suzuki-Miyaura reaction was known to be a stereoselective cross coupling reaction.<sup>16,17</sup> <sup>1</sup>H NMR analysis of each crude compound indicated the *E/Z* ratio: 70/30, 83/17 and 24/76 for **4a**, **4b** and **4c** respectively.



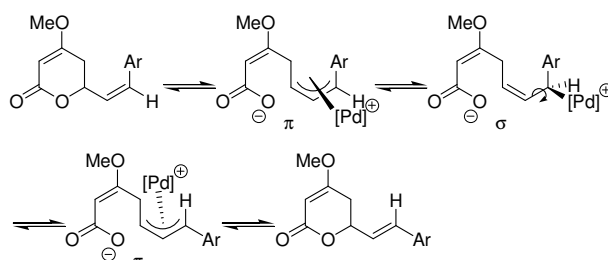
R = <i>p</i> -OCH <sub>3</sub>	<b>4a</b> 78%	<i>E/Z</i> = 70/30
R = H	<b>4b</b> 70%	<i>E/Z</i> = 83/17
R = <i>o</i> -F	<b>4c</b> 73%	<i>E/Z</i> = 24/76

**Scheme 2.** Suzuki cross coupling reaction

Initially we thought that the formation of *E*-isomers was the result of thermal isomerization of the pyrone **5** or the cross-coupling products **4**. Nevertheless no notable isomerization has been observed when these pyrones were heated in toluene at 80 °C for 24 hours. Yet we observed that treatment of pyrone **4a** (*Z* isomer) in the cross coupling conditions without boronic acid led to partial isomerization (*Z/E* = 100/0 to 73/27) after 20h at 80 °C in toluene (Scheme 3). This could be explained by possible formation of a  $\pi$ -allyl-Pd(II) intermediate in the reaction mixture and well-known syn-anti isomerization *via* a  $\pi$ - $\sigma$ - $\pi$  process<sup>18</sup> (Scheme 4). On the other hand no isomerization occurred with the vinylic iodide **5**. Probably the oxidative addition of Pd(0) in the carbon-iodine bond is faster than the formation of the  $\pi$ -allylpalladium intermediate. More experiments are needed and the results of these studies will be reported in due course.

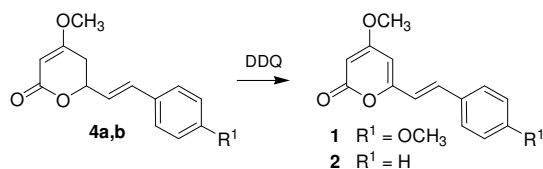


**Scheme 3.**



**Scheme 4**

In the final step of the reaction sequence product (*E*)-**4a** and (*E*)-**4b** were easily converted into the desired target yangonin **1** and desmethoxyyangonin **2** refluxing benzene with DDQ for 2 hours<sup>4</sup> (80 and 75% yields respectively) (Scheme 5).



**Scheme 5.** Synthesis of Yangonin **1** and Desmethoxyyangonin **2**.

In summary, we have devised two approaches for the preparation of kavalactone derivatives, a class of compounds with interesting biological activities. The potential of yangonin to inhibit the LPS-stimulated TNF- $\alpha$  production in human whole blood is currently in progress. Further work to extend the Suzuki-Miyaura cross coupling to a diverse range of easily available boronic acids with *Z* and *E* iodoacrolein is underway in our laboratory.

### Acknowledgments

This work was supported by CAPES/COFECUB project 418/03. The authors thank Pr. P. van de Weghe, for helpful discussion, one of reviewers for his comments and Centre

Régional de Mesures Physiques de L'Ouest (CRMPO) in Rennes (France) for performing HRMS analyses.

### Supplementary data

Supplementary data for all products associated with this article can be found, in the online version, at .....

### References

- (a) Hansel, V.R.; WeiB, D.; Schmidt, B. *Planta Med.* **1966**, *14*, 1-9; (b) Singh, Y. N. *J. Ethnopharmacol.* **1983**, *7*, 267-276; (c) Sung, Y. N.; Blumentahl, M. *Herbalgram.* **1997**, *39*, 33-56.
- (a) Keledjian, J.; Duffield, P. H.; Jamieson, D. D.; Lidgard, R. O.; Duffield, M. *J. Pharm. Sci.* **1988**, *77*, 1003-1006; (b) Backhauss, C.; Krieglstein, J. *Eur. J. Pharmacol.* **1992**, *215*, 265-269; (c) Gleitz, J.; Friese, J.; Beile, A.; Peters, T. *Eur. J. Pharmacol.* **1996**, *315*, 89-97; (d) Seitz, U.; Ameri, A.; Pelzer, H.; Gleitz, J.; Peters, T. *Planta Med.* **1997**, *63*, 303-306; (e) Schmidt, N.; Ferger B. *Synapse* **2001**, *40*, 47-54; (f) Bilia, A. R.; Gallori, S.; Vincieri, F. F. *Life Science* **2002**, *70*, 2581-2597.
- Matsuda, H.; Hirata, N.; Kawaguchi, Y.; Naruto, S.; Takata, T.; Oyama, M.; Inuma, M.; Kubo, M. *Biol. Pharm. Bull.* **2006**, *29*, 834-837.
- Hashimoto, T.; Suganuma, M.; Fujiki, H.; Yamada, M.; Kohno, T.; Asakawa, Y. *Phytomedicine* **2003**, *10*, 309-317.
- (a) Parmar, V. S.; Jain, S. C.; Bisht, K. S.; Jain, R.; Taneja, P.; Jha, A.; Tyagi, O. D.; Prasad, A. K.; Wengel, J.; Olsen, C. E.; Boll, P. M.; Phytochemistry **1997**, *64*, 597-673; (b) Dharmaratne, H. R. W.; Nanayakkara, N. P. D.; Khan, I. A. *Phytochemistry* **2002**, *59*, 429-433.
- (a) Boucard, V.; Broustal, G.; Campagne, J.-M. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 225-236; (b) Marco, J. A.; Carda, M.; Murga, J. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 2929-2958.
- (a) Piantosi, C.; Skulason, V. G. *J. Pharm. Sci.* **1964**, *53*, 902-905; (b) Izawa, T.; Mukaiyama, T. *Chem. Lett.* **1975**, 161-164; (c) Israili, Z. H.; Smisman, E. E. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 4070-4074; (d) Feffstrup, T.; Boll, P. M. *Acta Chem. Scand. B.* **1976**, *30*, 613-618; (e) Rosen, J. D.; Nelson, T. D.; Huffman, M. A.; McNamara, J. M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 365-368; (f) Pierres, C.; George, P.; Hijfte, L. V.; Ducep, J.-B.; Hibert, M.; Mann, A. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 3645-3647.
- (a) Fowler, E. M. F.; Henbest, H. B. *Chem Soc.* **1950**, 3642-3652; (b) Castellino, S.; Sims, J. J. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 4059-4062; (c) Spino, C.; Mayes, N.; Desfossés, H. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6503-6506; (d) Du, H.; Zhai, D.; Ding, K. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 5964-5970; (e) Smith, T. E.; Djang, M.; Velandar, A. J.; Downey, M.; Carroll, K. A.; Alphen, S. V. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2317-2323; (f) Xang, Dao-F.; Yue, Min-J. *Synlett.* **2005**, *13*, 2077-2079; (g) Sabitha, G.; Sudhakar, K.; Yadav, J. S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 8599-8602; (h) Kamal, A.; Krishnaji, T.; Khanna, G. B. R. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 8657-8660.
- Amaral, P. A.; Bergold, A. M.; Eifler-Lima, V. L.; Santos, E. M.; Oliveira, E. R.; Campos-Buzzi, F.; Cechinel-Filho, V. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* **2005**, *8*, 69-75.
- Beletskaya, I. P.; Cheprakov, A. V. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 3009-3066.
- Lahred, M.; Hallberg, A. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 9582-9584.
- Kappe, O. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 6250-6283.
- Marek, I.; Meyer, C.; Normant J. F. *Org. Synthesis* **1997**, *74*, 194-204.
- Barder, T. E.; Walker, S. D.; Martinelli J. R., Buchwald, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4685-4696.
- Miura, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2201-2203.
- Gaukroger, K.; Hadfield, J. A.; Hepworth, L. A. Lawrence, N. J.; McGown, A. T. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 8135-8138.
- Katayama, H.; Nagao, M.; Ozawa, F. Ikegami, M.; Arai, T. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 2699-2705.
- Ogasawara, M.; Takizawa, K.-I.; Hayashi, T. *Organometallics.* **2002**, *21*, 4853-4861 and references cited herein.

## ❖ CONCLUSIONS GENERALES

Ce travail a essentiellement consisté à développer des approches méthodologiques innovantes pour la synthèse de dérivés  $\delta$ -valérolactones originaux. Le concept de chimie combinatoire, décliné ici sous ses formes "en parallèle" et "supportée" a démontré son efficacité, au travers de ces premiers essais, pour la simplification des étapes de purification dans les processus de découverte de nouveaux composés d'origine naturelle ou inspirés de motifs naturels dans l'optique de découvrir une molécule d'intérêt thérapeutique, réaliser un criblage systématique des librairies constituées.

### ➤ Chapitre II

L'intérêt de développer une réaction de cyclisation intramoléculaire pour libérer le produit final de son support a été largement démontré par de multiples exemples de la littérature. Au cours de ce travail nous avons exploité cette méthode d'hétérocyclisation-clivage pour la formation  $\delta$ -valérolactones.

- ✓ La séquence synthétique planifiée a permis d'un point de vue méthodologique de développer les deux premières étapes de la séquence réactionnelle sur phase fluoré. Les conditions de la réaction d'aldolisation suivie de l'hétérocyclisation/clivage (dernière étape) semblent très difficiles à mettre au point et n'ont pas abouti au cycle attendu dans des conditions satisfaisantes.
- ✓ Cette technologie en phase fluoré permet en outre de répondre à certaines exigences d'une chimie de plus en plus à vocation "écologique". Par rapport à la synthèse en phase liquide, le support fluoré permet de minimiser la quantité de solvant nécessaire tant au déroulement de la réaction qu'à la purification des produits, ainsi que de diminuer la quantité de réactifs par rapport à la synthèse sur support solide ou sur polymère soluble.

- ✓ D'autre par, la synthèse sur phase fluoré se présente donc comme une alternative de choix aux autres technologies de synthèse supportée, les rendements et les puretés sont en effet comparables voire supérieurs à ceux obtenus en phase solide. Cependant les problèmes d'aldolisation/cyclisation restaient à résoudre pour donner un rendement maximum et une bonne formation des produits attendus.

### ➤ Chapitre III

- ✓ Nous avons conçu deux approches pour la préparation des dérivés des kavalactones, une classe des composés avec intéresser des activités biologiques. Davantage de travail pour prolonger le Suzuki-Miyaura interconnectant à une gamme diverse des acides boroniques facilement disponibles avec l'iode acroléine démontrent l'isomérisation *Z* et *E*.

### ➤ Chapitre IV

- ✓ Nous avons démontré la formation de  $\delta$ -valérolactones avec la combinaison de complexe-métal, couplage Heck, Suzuki et Sonogashira, sont un système très efficace pour arriver aux dérivées des intéresse thérapeutique de trois séries  $\delta$ -valérolactones substitués.
- ✓ Si l'on considère qu'une molécule n'est intéressante qu'à partir d'une  $CI_{50} < 10\mu M$  seul un composé présente une cytotoxicité modérée sur les lignées cancéreuses B16 et A375M. De ce fait les résultats ne permettent pas de faire des comparaisons de relation structure-activité entre les différentes séries synthétisées.
- ✓ Ces résultats montrent également que la majorité des produits ne présentent pas d'effet cytotoxique sur les kératinocytes humains. Cette constatation peut s'avérer intéressante dans la recherche d'une activité analgésique et/ou anti-inflammatoire.

## ➤ Chapitre V

- ✓ Sur le sang total permettent de souligner l'intérêt thérapeutique éventuel de cette famille de molécules dans le traitement de l'inflammation car les kavalactones testées dans cette étude, le produit **61** apparaît donc comme la kavalactone à la fois la plus efficace et la plus puissante dans l'inhibition de la production de TNF- $\alpha$  induite par le LPS *in vitro*.
- ✓ Elle est actuellement poursuivie pour confirmée ces résultats obtenu.

## ➤ Chapitre VI

- ✓ Le travail de recherche à l'interface chimie-biologie présenté dans ce manuscrit avait pour objectif de synthétiser divers analogues dérivés  $\delta$ -valérolactones et d'évaluer leur activité analgésique dans le but de découvrir de nouveaux agents thérapeutiques.
- ✓ Concernant l'aspect biologique, le test *in vivo* sur l'activité analgésique, le produit **131**, a montré la plus forte inhibition avec 69,4% et une  $DI_{50}$  de 8,4 (5,9 – 11,8) mg/ kg ou 37,7 (26,7 – 53,2)  $\mu$ mol/kg.
- ✓ Cela représente une diminution de l'activité par rapport l'analogue avec un énoI dans la position 4. Cette diminution peut-être lieu au caractère acide des ces valérolactones.
- ✓ Cette étude est actuellement poursuivie avec le produit le plus efficace et le plus puissant sur un nombre plus important d'expériences afin de confirmer
- ✓
- ✓

leurs effets inhibiteurs et montrer que ces effets sont statistiquement significatifs.



---

---

**BIOGRAFIA**

---

---

## Dados Pessoais

### Currículo *lattes* -

<http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.jsp?id=P787049>

Nome : Patrícia de Aguiar Amaral

Filiação: Manoel Carlos Amaral e Sônia Vitória de Aguiar

Nascimento: 28.03.1976, Criciúma, SC – Brasil

### Formação Acadêmica

1997-2000: Graduação em Farmácia. Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, SC.

2001-2003: Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Programa de Pos-Graduação em Ciências Farmacêutica - UFRGS.

2004-2008 : Doutora pelo Curso de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pos-Graduação em Ciências Farmacêutica – UFRGS (Regime cotutelle CAPES/COFECUB n.418/03).

### Produção Científica

#### Artigos completos publicados em periódicos

AMARAL, P. A.; GOUAULT, N., LE ROCH, M.; EIFLER-LIMA, V. L. DAVID, M. Towards synthesis of kavalactone derivatives. *Tetrahedron Lettes*. **2008**. doi:10.1016/j.tetlet.2008.07.102

AMARAL, P. A.; Bergold, A. M.; SANTOS, E. M.; OLIVEIRA, E. R.; BUZZI, F. C.; CECHINEL FILHO, V.; EIFLER-LIMA, V. L. Antinociceptive effects of  $\delta$ -valerolactones. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. , v.8, p.69 - 75, **2005**.

ARRUDA, A. M.; ZANETTE, V. C.; ROSSATO, A. E.; AMARAL, P. A. Piper metysticum L. (kava-kava): histórico do uso e aspectos taxonômicos, farmacológicos e toxicológicos. *Pesquisa e Extensão em Saúde*. , p.59 - 68, **2005**.

AMARAL, P. A.; NEVES, G.; FARIAS, F.; EIFLER-LIMA, V. L. Química Combinatória: Moderna ferramenta para a obtenção de candidatos a protótipos de novos fármacos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. v.39, p351-363, **2003**.

AMARAL, P. A.; CLAUDINO, T. S.; BERGOLD, A. M.; EIFLER-LIMA, V. L. Aplicação da Síntese Orgânica em Fase Sólida (SOFS) para a funcionalização do Éster Acetoacetato. *Caderno de Farmácia - UFRGS*. p.121 - 124, **2001**.

AMARAL, P. A., RATES, S. M. K.; EIFLER-LIMA, V. L. Kava em alerta. *Revista AFARGS- Porto Alegre*. **2002**.

### **Resumos Publicados em Anais de Congressos**

1999-2007 : 14 resumos publicados em Anais de Congressos

### **Atuação Profissional**

2003-2005: Professora Substituta do Curso de Farmácia-UFRGS. Disciplina: Síntese de Fármacos.

2003-atual: Professora Adjunta do Curso de Farmácia - Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC.

Orientação de Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia) : 2003-2006-UNESC – 14 orientações concluídas.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)