

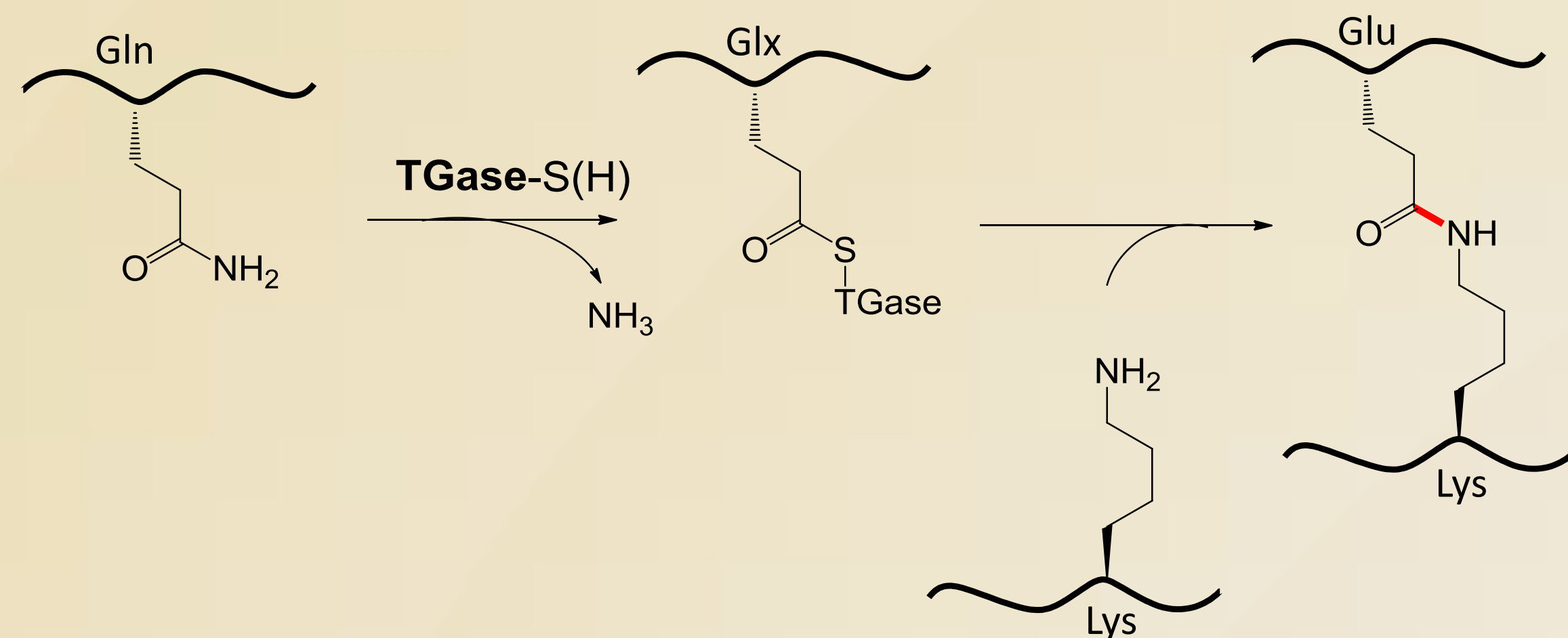
Synthèse d'un inhibiteur réversible de la transglutaminase tissulaire

Nicholas Brunet-Filion – Kim Y.P. Apperley – Jeffrey W. Keillor

Département de chimie et sciences biomoléculaires, Université d'Ottawa, Ottawa, Ontario

Introduction

La transglutaminase tissulaire (TG2) fait partie de la famille des transglutaminases, des enzymes qui sont essentielles au fonctionnement de plusieurs mécanismes du corps humain, comme la cascade de coagulation. La TG2 catalyse la formation de liaisons isopeptidiques entre les chaînes latérales de résidus de glutamine et de lysine, ce qui entraîne la réticulation des protéines et permet de stabiliser la matrice extracellulaire.

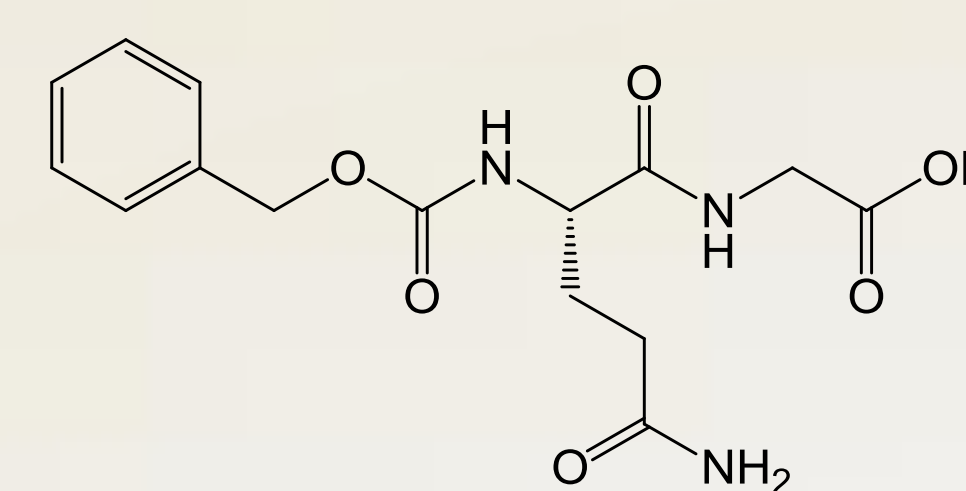


Réticulation de 2 protéines par la TG2

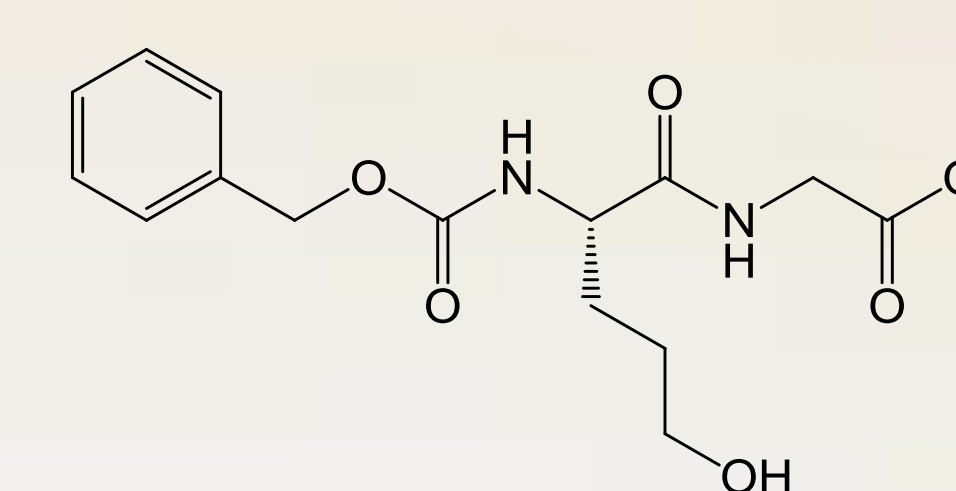
Motivation

Bien que nécessaire à l'organisme humain, cette enzyme, lorsque son activité n'est pas régulée, peut être impliquée dans divers troubles de la santé, dont la fibrose, la maladie cœliaque et certains cancers métastatiques. Ainsi, il est primordial de développer des inhibiteurs de la TG2.

L'objectif de cette recherche consiste en la synthèse d'un inhibiteur réversible de la transglutaminase tissulaire. La structure de l'inhibiteur fut déterminée en se basant sur la structure d'un substrat connu de la TG2 (Cbz-Gln-Gly) dans le but que l'enzyme ait une affinité pour l'inhibiteur. Toutefois, le groupement acétamide en position γ du résidu de la glutamine du substrat a été remplacé par un groupement hydroxyle, afin que l'inhibiteur soit réversible et qu'il ne se lie pas à l'enzyme, mais qu'il occupe tout de même le site actif.



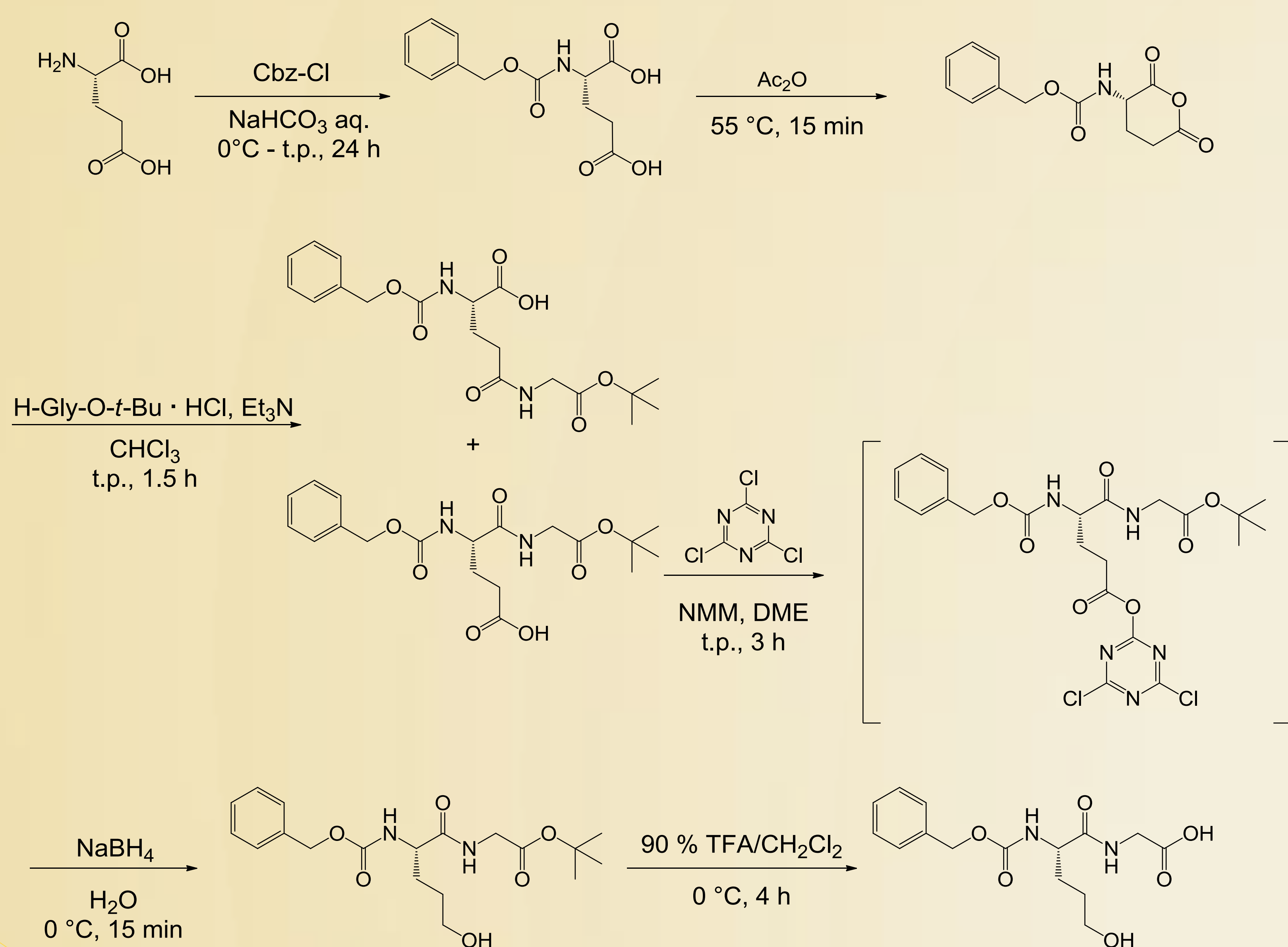
Substrat connu de la TG2



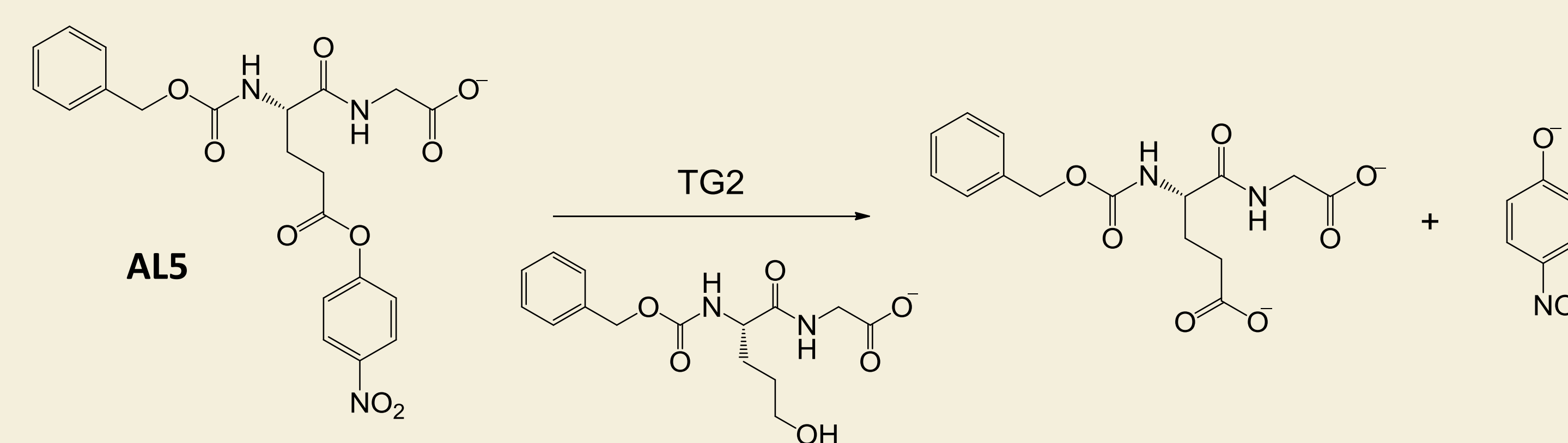
Structure de l'inhibiteur

Méthodologie

Synthèse de l'inhibiteur



Détermination de l'IC₅₀



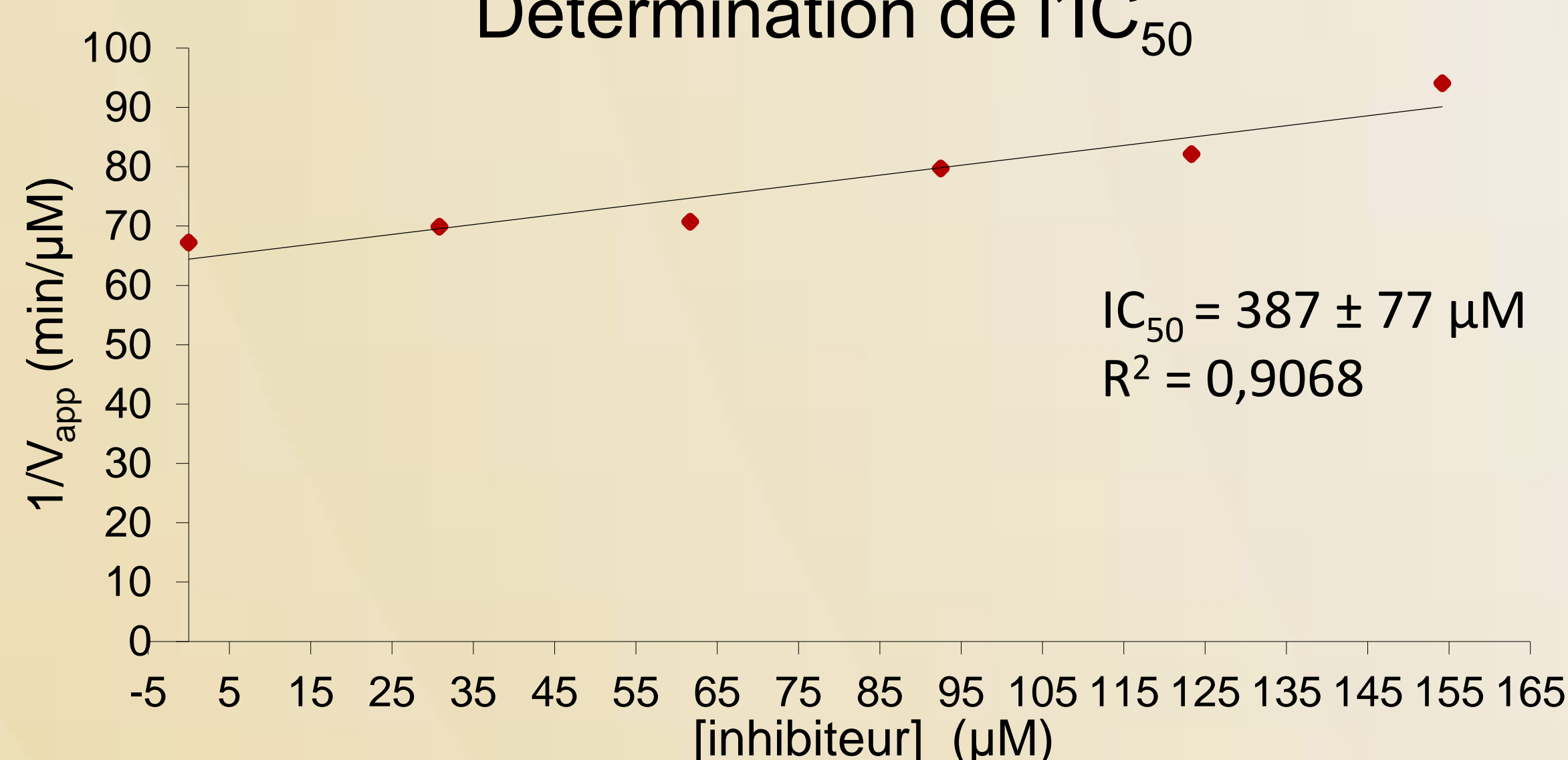
Pour suivre l'activité de l'enzyme lors des tests d'inhibition, le composé **AL5** est utilisé. En effet, cette molécule est un substrat pour la transglutaminase tissulaire et, lorsque **AL5** est hydrolysé par l'enzyme, du *p*-nitrophénolate est formé. Le *p*-nitrophénolate absorbe la lumière à une longueur d'onde de 405 nm. Ainsi, en mesurant l'absorbance de la solution à 405 nm, il est possible de déterminer la quantité de produit formé au fil du temps et, par conséquent, de quantifier l'activité de l'enzyme.

Les tests d'inhibition ont été effectués en mesurant l'absorbance au fil du temps d'échantillons contenant des concentrations identiques de transglutaminase et de substrat (**AL5**), mais des concentrations différentes d'inhibiteurs.

Les tests d'inhibitions ont été effectués dans les conditions suivantes : 25 °C, 0,01 M MOPS pH 7, 2,3 mM CaCl₂, 45 μM EDTA, 5 % (V/V) DMF, 54,5 μM AL5 et 2,5 μU/mL de TG2.

Résultats

Détermination de l'IC₅₀



L'IC₅₀ fut déterminé à partir de l'abscisse à l'origine du graphique ci-dessus qui correspond à -IC₅₀.

Les valeurs de V_{app} correspondent à la pente initiale de la droite formée du graphique des valeurs d'absorbances en fonction du temps pour chaque concentration d'inhibiteur.

Conclusions

Le composé synthétisé a la capacité d'inhiber la TG2, malgré l'IC₅₀ élevé qui n'indique qu'une faible inhibition. Ainsi, cet inhibiteur est un excellent point de départ pour la synthèse d'une nouvelle gamme d'inhibiteurs.

L'inhibiteur fut caractérisé par spectrométrie de masse et RMN ¹H.

Remerciements

Je remercie Kim Y.P. Apperley, le professeur Jeffrey Keillor et les autres membres du groupe Keillor pour leurs conseils lors de la réalisation de ce projet de recherche.

Références

- Falorni, M.; Porcheddu, A.; Taddei, M. Mild reduction of carboxylic acids to alcohols using cyanuric chloride and sodium borohydride. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40* (23), 4395–4396 DOI: 10.1016/S0040-4039(99)00734-0.
- Keillor, J. W.; Apperley, K. Y. P.; Akbar, A. Inhibitors of tissue transglutaminase. *Trends Pharmacol. Sci.* **2015**, *36* (1), 32–40 DOI: 10.1016/j.tips.2014.10.014.
- Leblanc, A.; Gravel, C.; Labelle, J.; Keillor, J. W. Kinetic Studies of Guinea Pig Liver Transglutaminase Reveal a General-Base-Catalyzed Deacylation Mechanism. *Biochemistry* **2001**, *40* (28), 8335–8342 DOI: 10.1021/bi0024097.



uOttawa