

Inhibiteurs réversibles des transglutaminases tissulaires



uOttawa

Élise L. M. De Francesco, Christophe Pardin et Jeffrey W. Keillor

Université d'Ottawa, Département de Chimie, 10 Marie-Curie, Ottawa, ON, Canada, K1N 6N5



uOttawa

Transglutaminases

Les transglutaminases (TGases) sont une famille d'enzymes dans notre corps qui jouent un rôle dans la formation de protéines pour favoriser la coagulation sanguine et stabiliser la matrice extracellulaire¹. Elles font ceci en catalysant la formation d'une liaison isopeptidique

entre la partie glutamine d'une protéine et la partie lysine d'une autre. Par contre, un dérèglement de l'activité de la TGase peut entraîner des désordres physiologique tels que l'athérosclérose, le diabète, le cancer, et les maladies auto-immunes. De plus, l'enzyme est impliquée dans les maladies neuro-dégénératives de Huntington, d'Alzheimer et de Parkinson². Le groupe du Pr. Keillor a découvert et développé des inhibiteurs très efficaces de la TGase². Ces inhibiteurs, basés sur des dérivés cinnamoyles, pourraient subir une attaque de Michael et perdre ainsi leur pouvoir inhibiteur. Dans le but d'éliminer ce risque, il a été suggéré de synthétiser une série de molécules dont la double liaison serait remplacée par une triple liaison. Dans le cadre de ce projet, trois de ces composés seront synthétisés.

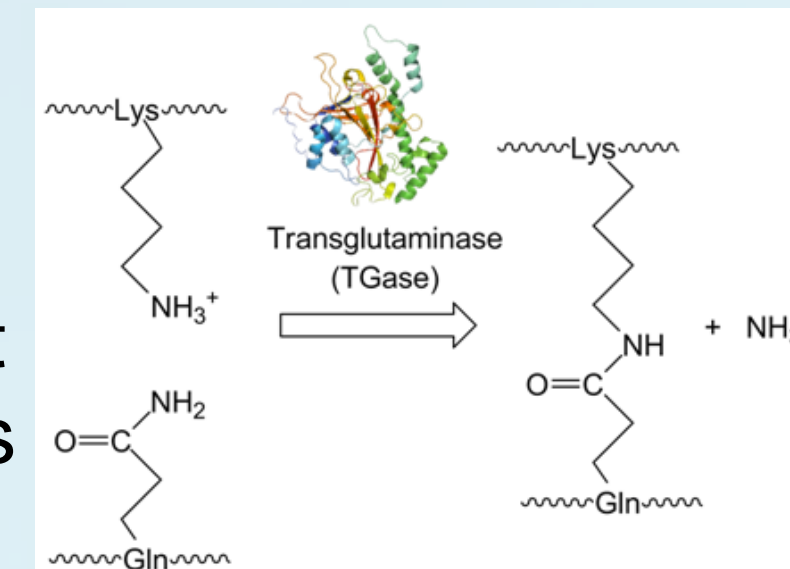


Figure 1 : Réaction catalytique de la TGase

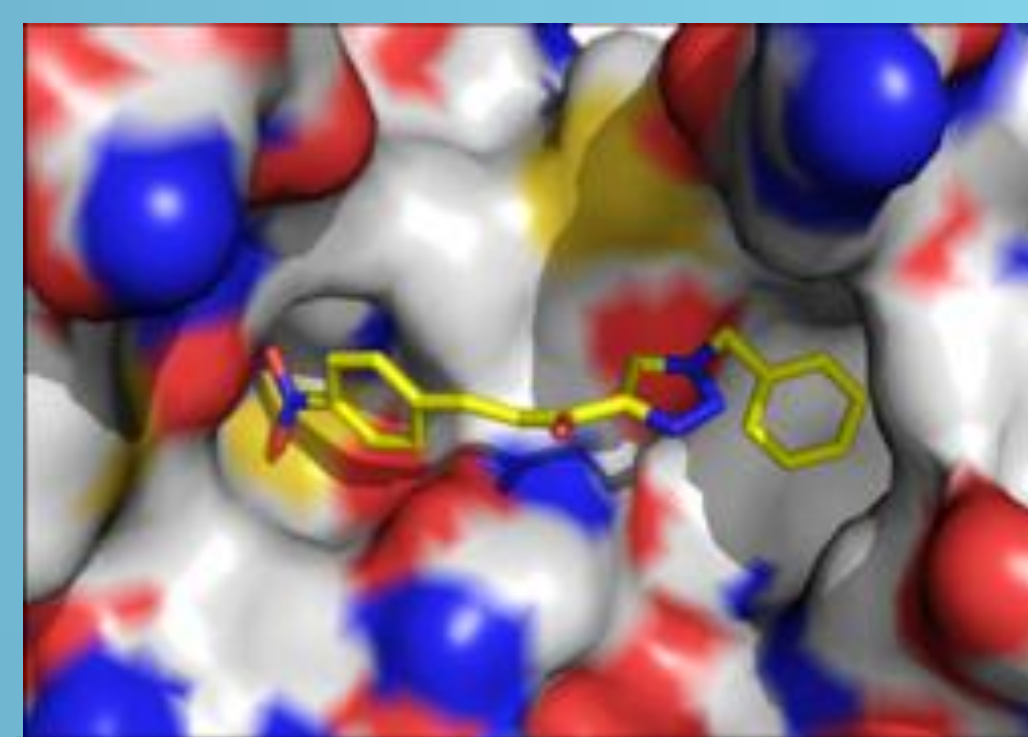


Figure 2 : La TGase en présence d'un inhibiteur

Réaction chimique et isolation du produit

Chaque réaction chimique demande des conditions très précises qui doivent être respectées afin de maximiser le rendement final. Ces conditions impliquent l'utilisation de solvant approprié ainsi qu'un maintien constant de la température et du pH. Une fois la réaction initiale complétée, il faut passer à l'étape d'isolation et de purification.

A) Extraction et lavage

L'extraction et le lavage utilisent l'insolubilité de la phase aqueuse dans la phase organique comme mode de séparation. L'extraction fait passer le produit final d'une phase à l'autre en utilisant le concept d'affinité électronique. Le lavage, au contraire, déplace les impuretés de phases. À la fin du processus, le produit se trouve isolé la phase organique.



B) Séchage, filtration et évaporation

Afin d'éliminer toutes particules d'eau, un agent desséchant, tel le sulfate de magnésium, est ajouté. L'agent utilisé est ensuite filtré du liquide. Un évaporateur rotatif permet par la suite d'enlever le solvant pour qu'il nous reste que le produit final.

C) Colonne de chromatographie

La colonne de chromatographie permet la purification du produit selon leur polarité. La colonne contient une phase stationnaire (la silice) et une phase mobile (des solvants organiques). La vitesse de migration dépend de la polarité de la phase mobile. La phase stationnaire étant très polaire, les produits plus polaires migrent moins rapidement le long de la colonne. Des ratios variés d'hexanes et d'acétate d'éthyle ont été utilisés comme phase mobile lors des purifications.



Résultats

La voie de synthèse des trois molécules est illustrée ci-dessous. La première étape (1), soit la réduction du groupe nitro, a donné un échantillon pur avec un rendement de 45%. Cet échantillon de 390 mg, ayant un groupe amine, fut séparé en deux portions égales pour subir deux réactions différentes. L'une d'elle fait appel à une protection de l'amine par fonction Boc qui attend d'être purifiée. Seule la protection (2) a été performée en laboratoire, les résultats de cette réaction sont à déterminer. L'autre voie de synthèse est une acétylation qui a permis d'obtenir le produit voulu avec un rendement de 96% et une masse de 0.21 g. Le spectre RMN du produit isolé a démontré qu'il était suffisamment pur pour continuer la synthèse. La réaction de saponification (4) n'a pas donné le produit attendu. Le spectre RMN a démontré des impuretés dans sa composition. Il reste alors à refaire cette étape sous de nouvelles conditions afin de continuer cette synthèse.

Analyse du produit final

Pour ce faire, on utilise la spectroscopie à RMN et la spectroscopie à haute résolution. Si le produit est un solide, on détermine aussi son point de fusion. Les spectres RMN d'hydrogène (¹H) et de carbone (¹³C) effectués à la fin de chaque étape doivent illustrer la pureté de la molécule afin de pouvoir procéder à la prochaine synthèse. Le spectre ci-dessous représente les hydrogènes après une réaction de réduction du groupe nitro.

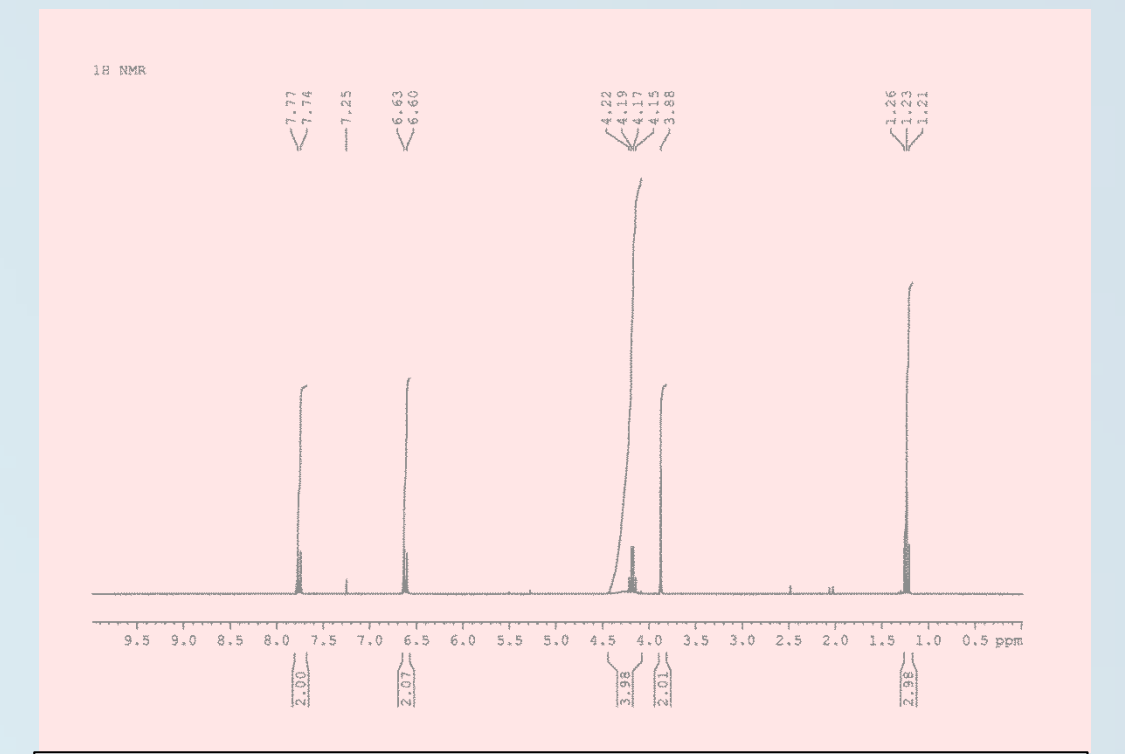


Figure 3 : Spectre RMN ¹H après l'étape 1 de la synthèse organique

Conclusion

Le but du projet est la synthèse et l'étude cinétique de trois composés pouvant potentiellement être des inhibiteurs de la TGase. Les premières étapes de synthèses ont été réalisées et ont permis de me familiariser avec toutes les étapes de la synthèse de composés (réaction, extraction, purification, analyse). Ces molécules, empêchant la réaction de Michael, devront être testées cinétiquement et selon leur pouvoir d'inhibition, elles pourront ouvrir la voie à la synthèse d'autres composés basés sur le même schéma.

Références

- Pardin, C.; Pelletier, J.N.; Lubell, W.D.; Keillor, J.W. *J. Org. Chem.*, **2008**, 73: 5766-5775
- Pardin, C.; Roy, I.; Lubell, W.D.; Keillor, J.W. *Chem Biol Drug Des.*, **2008**, 72: 189-196

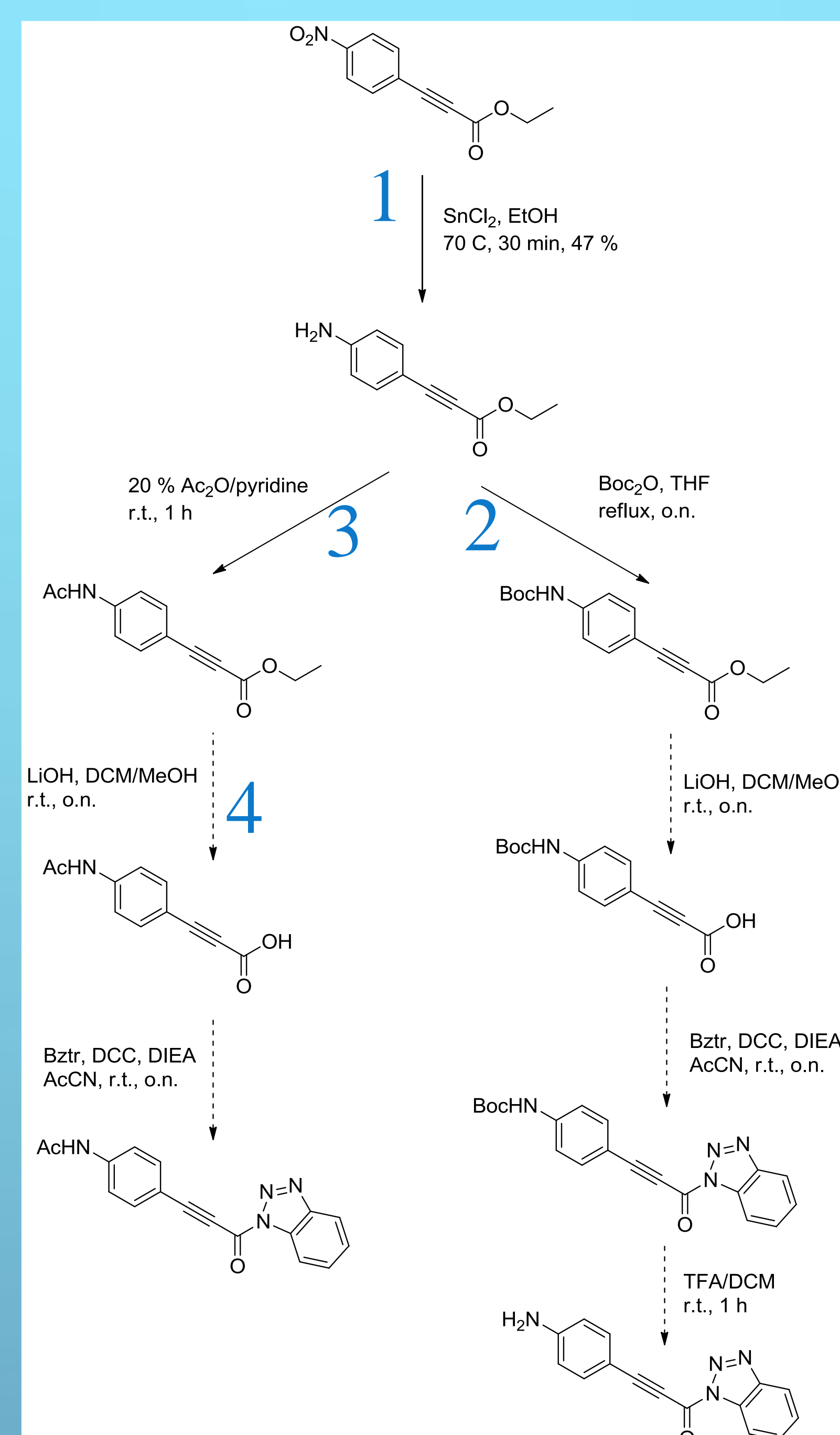
Remerciements

Merci au Dr. Jeffrey W. Keillor et au Dr. Christophe Pardin, ainsi qu'aux autres membres de laboratoire. Merci à Mme Pascale Lafrance, au programme de bourse PIRPC et à l'Université d'Ottawa.

Coordonnées

Élise De Francesco
Adresse courriel: e.defrancesco@live.com
Tél: 613-292-8957

Jeffrey W. Keillor
Site internet:
<http://mysite.science.uottawa.ca/jkeillor/Francais/Bienvenue.html>



Voies de synthèses de trois inhibiteurs potentiels de la TGase