

**Composés hybrides ω -Alcanol /
Hydroquinone à activité
neurotrophique. Synthèse et étude
des propriétés physicochimiques et
biologiques.**

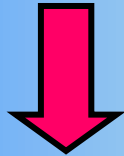
Mazen Hanbali

Laboratoire de Chimie Organique des Substances Naturelles

Laboratoire de Physiologie Moléculaire de la Régénération Nerveuse

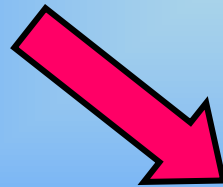
Lésions axonales du Système Nerveux Central

Vieillessement de la
population



Neuropathies
dégénératives

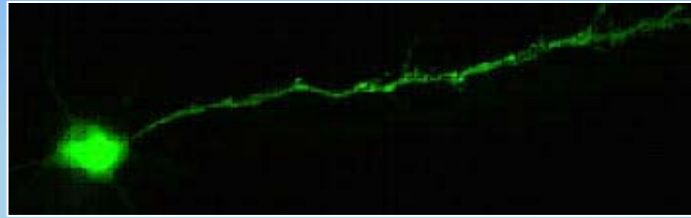
Accident
(à tout âge)



Atteintes axonales irréversibles

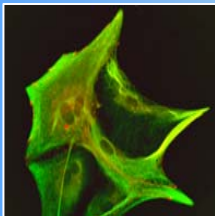
Cellules du Système Nerveux Central

∞ Les neurones

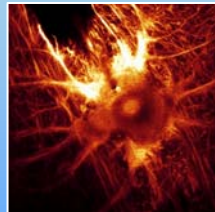


∞ Les cellules gliales : cellules de soutien

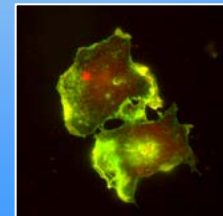
Astrocytes



Oligodendrocytes



Microgliocytes



Traitement des lésions du SNC

Lésion du SNC



Lésion accidentelle

ou

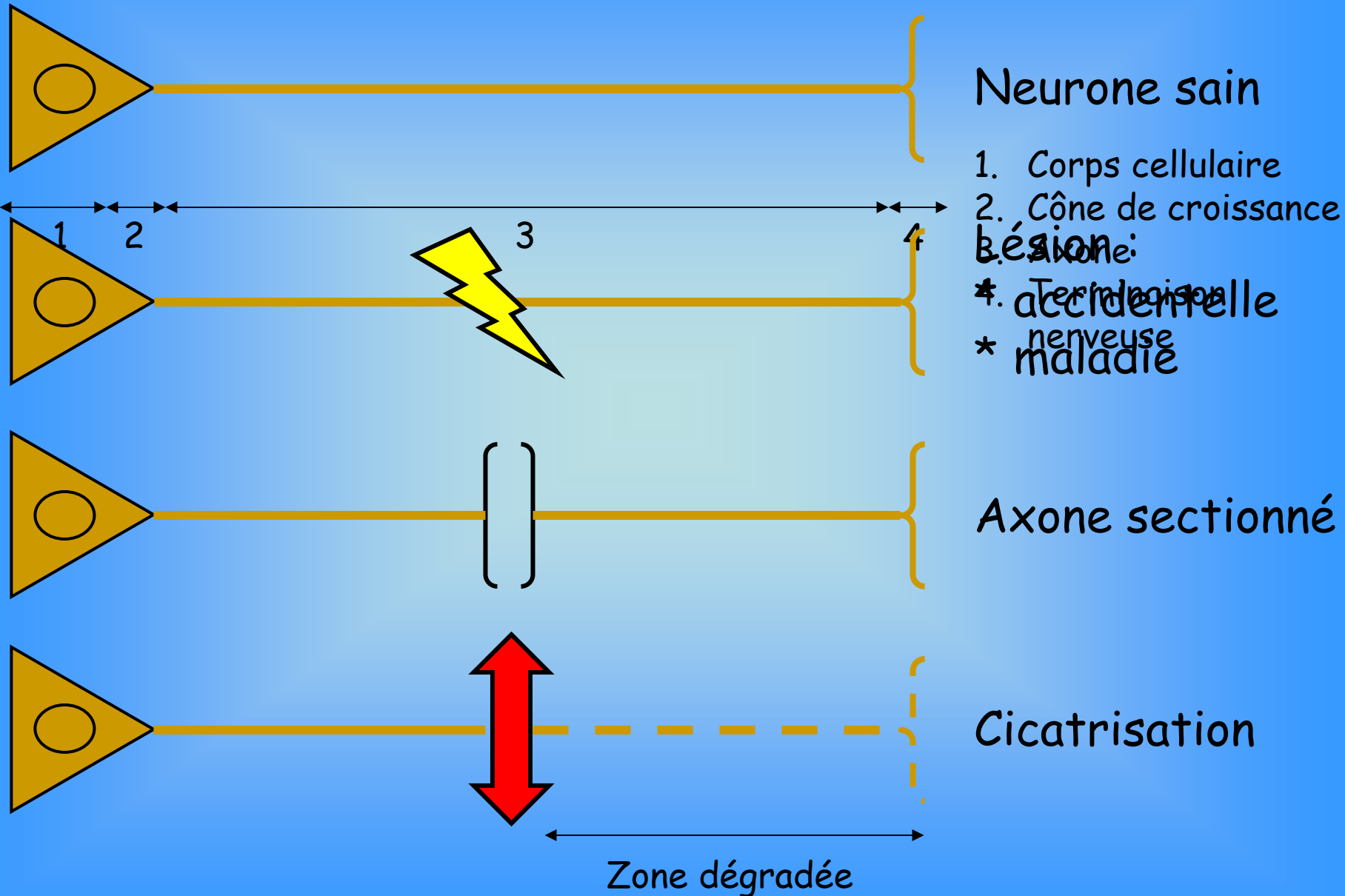
Lésion liée à une maladie neurodégénérative
(Parkinson, Alzheimer)



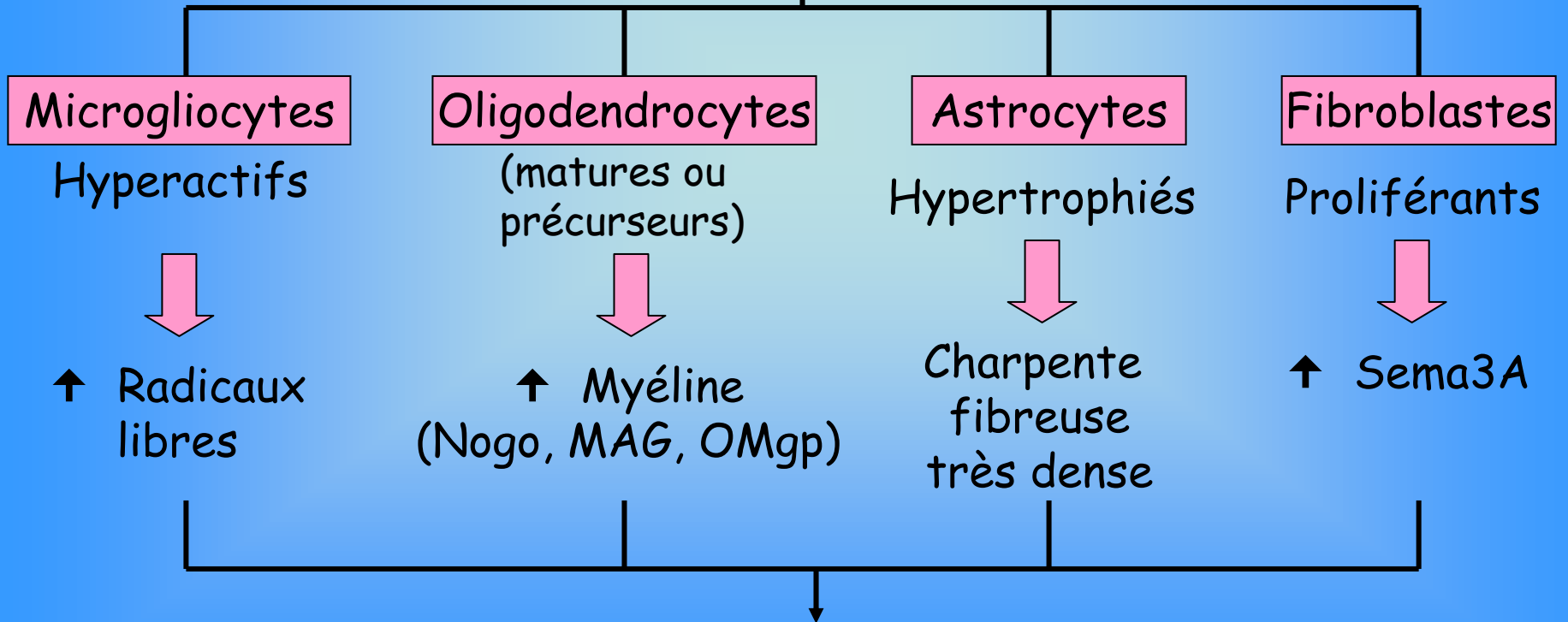
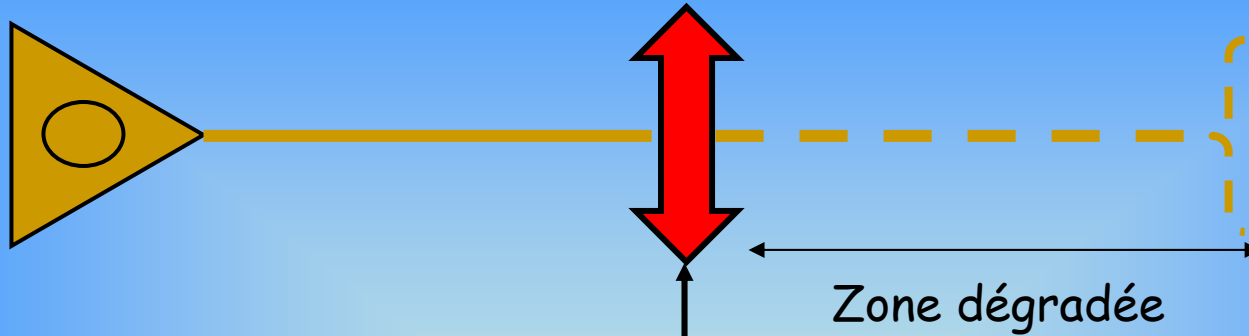
Mort neuronale / Cicatrisation gliale

Réparation difficile

La lésion du SNC



La cicatrisation gliale



Milieu hostile, non permissif et inhibiteur de la régénération

La cicatrisation gliale

La cicatrice gliale constitue :

- * Une barrière physique / mécanique
- * Une barrière chimique
(Sema3A, myéline, radicaux libres)

→ Régénération axonale difficile

Approche thérapeutique

Approche	Moyen de lutte
<i>Neuroprotection</i>	* Neutraliser les radicaux
<i>Neurorégénération</i>	Contourner l'inhibition: * Myéline * Sema3A

Approche thérapeutique

∞ Neurorégénération

- * Limiter la mort neuronale

- * Promouvoir la croissance et la régénération

→ Facteurs de croissance naturels

∞ Neuroprotection

- * Réduire l'inflammation

→ Anti-inflammatoires/antioxydants

Neurorégénération

∞ Facteurs Neurotrophiques

- * Développement du SNC
- * Différenciation des cellules souches neurales
- * Maturation des cellules nerveuses

Inconvénients :

- * Instables
- * Faible biodisponibilité
- * Hydrophiles

→ Ne traversent pas la barrière hémato-encéphalique

Neurorégénération

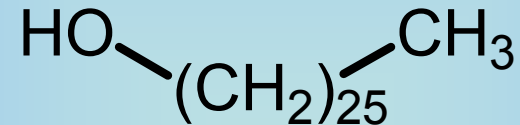
∞ Facteurs Neurotrophiques de Substitution

- * Mimétiques des facteurs naturels
- * Lipophiles

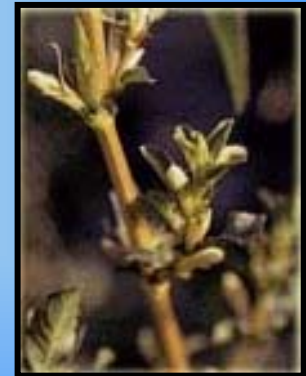
→ Traversent la barrière hémato-encéphalique

Neurorégénération

Composé lipidique neurotrophique
n-hexacosanol



- Origine : *Hygrophila erecta*
- Cicatrisation cutanée
- Propriétés neurorégénératives
- Longueur chaîne + fonction alcool



Neuroprotection

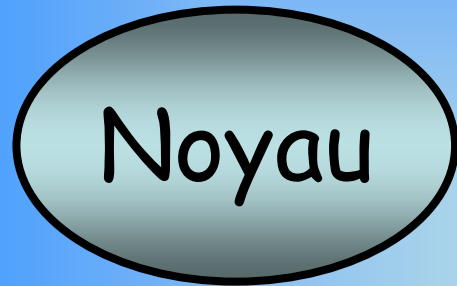
→ Neutraliser les radicaux libres

Premiers acteurs cellulaires de la cicatrisation :
les microgliocytes

Activation :

- Structure macrophage-like
- Prolifération
- Hyperactivité
- Sécrétion de radicaux libres et cytokines pro-inflammatoires ($\text{TNF}\alpha$)

Objectifs du laboratoire

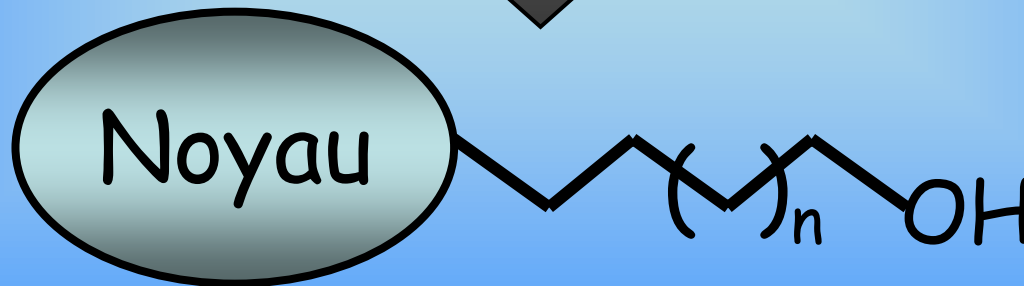


Neuroprotection

+



Régénération
cellulaire

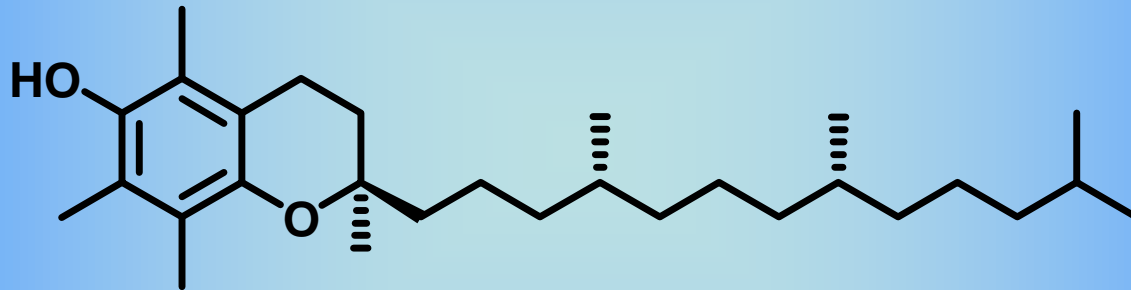


→ Composés agissant sur environnement oxydant

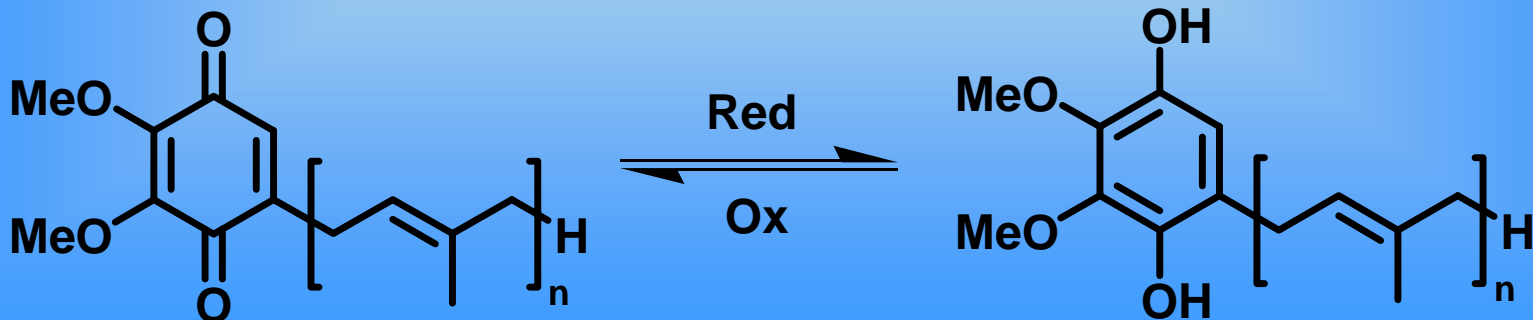
Neuroprotection

→ Composés antioxydants intervenant dans les processus inflammatoires :

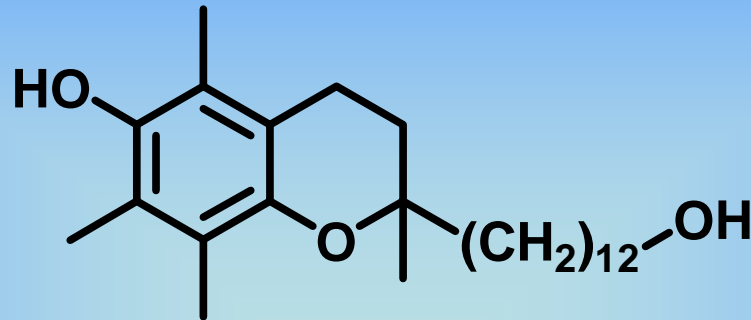
Vitamine E



Coenzyme Q



Précédents travaux



TFA12

* antioxydant

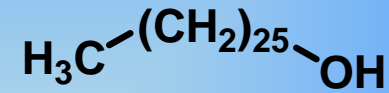
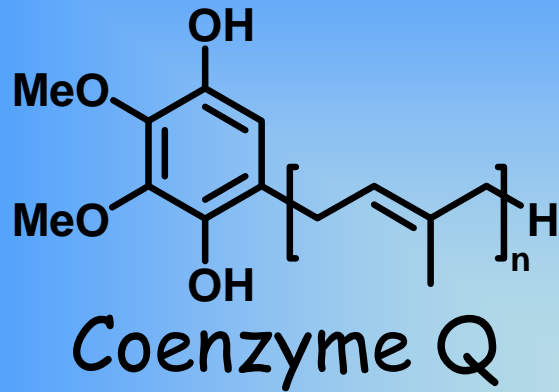
* modulateur de l'activité microgliale :

→ TNF α ↓

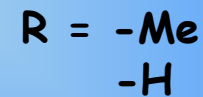
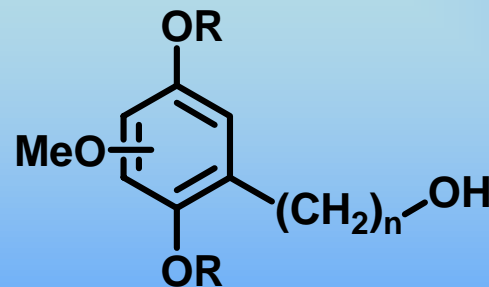
→ NO ↓

} Réduction de l'inflammation

Quinol Fatty Alcohols



n-hexacosanol



Quinol Fatty Alcohols
QFA

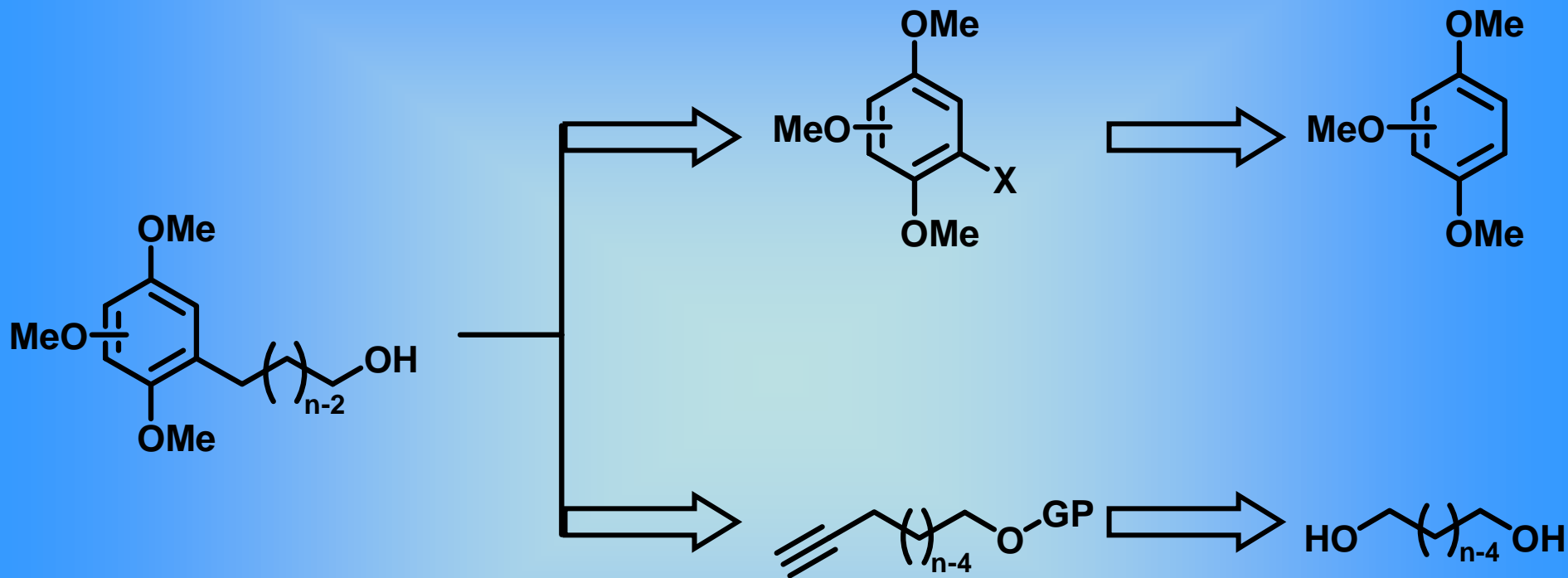
Plan de l'exposé

- ∞ Introduction
- ∞ Synthèse chimique des QFA
 - * Synthèse des QFA C-alkylés
 - * Synthèse des QFA N/O-alkylés
- ∞ Résultats physicochimiques et biologiques
- ∞ Synthèse supportée du QFA15
- ∞ Conclusion générale et perspectives

Plan de l'exposé

- ∞ Introduction
- ∞ Synthèse chimique des QFA
 - * Synthèse des QFA C-alkylés
 - * Synthèse des QFA N/O-alkylés
- ∞ Résultats physicochimiques et biologiques
- ∞ Synthèse supportée du QFA15
- ∞ Conclusion générale et perspectives

Synthèse des QFA C-alkylés



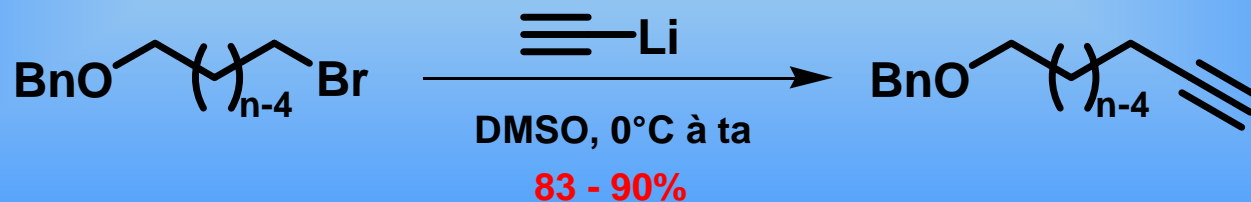
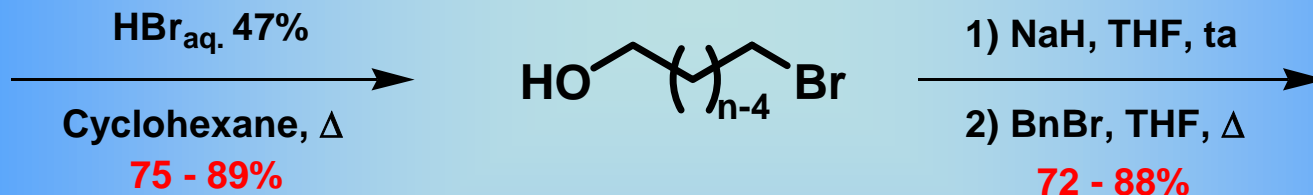
$n = 12 \text{ à } 18$

$R = -H \text{ ou } -OMe$

GP: Groupement protecteur

Synthèse des QFA C-alkylés

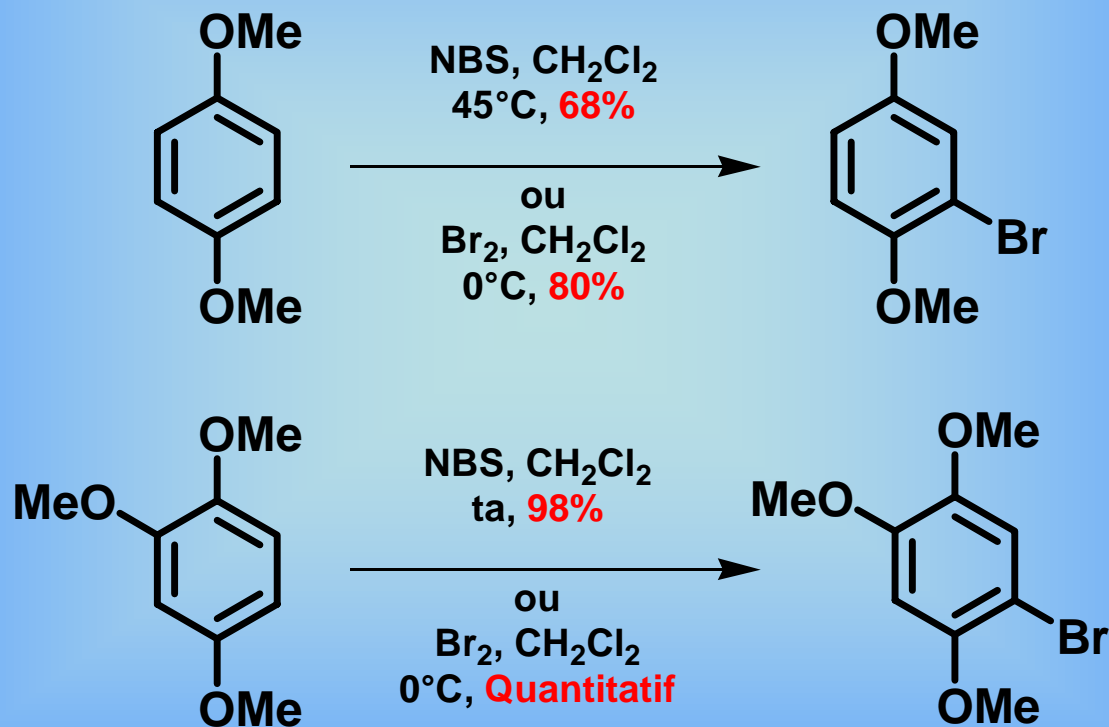
∞ Synthèse des chaînes



$n = 12, 14, 15, 16, 18$

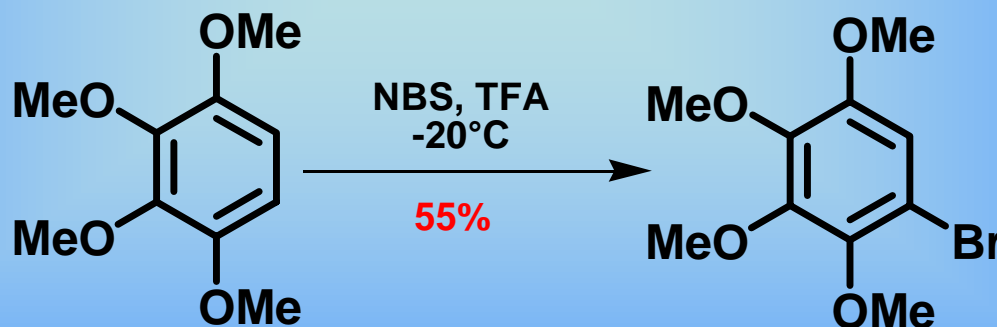
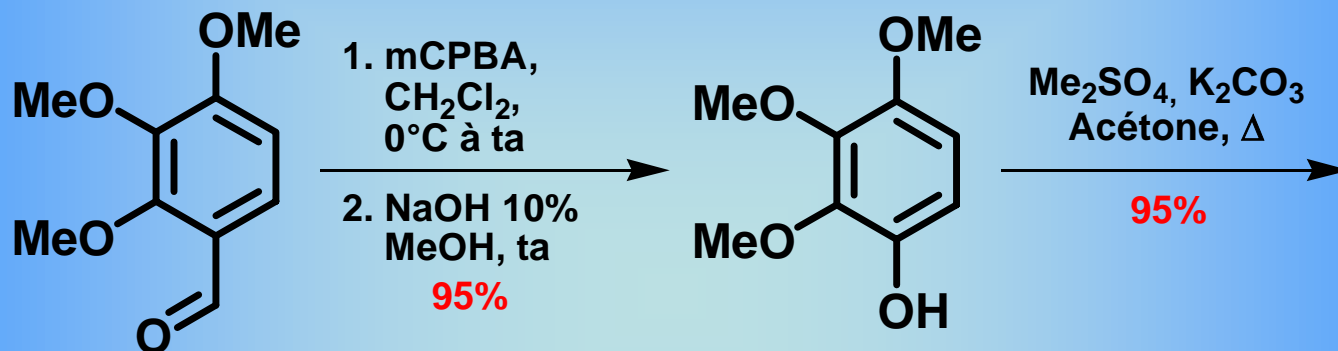
Synthèse des QFA C-alkylés

∞ Synthèse des arylbromures

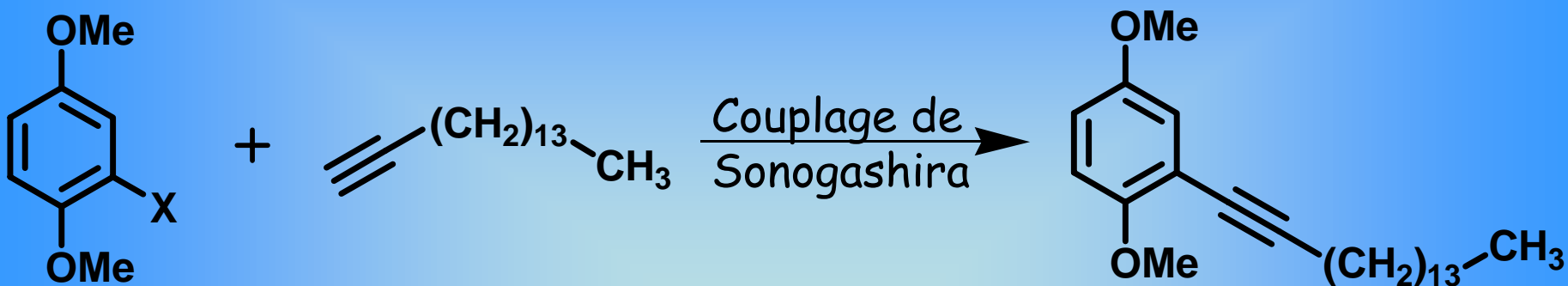


Synthèse des QFA C-alkylés

∞ Synthèse des arylbromures

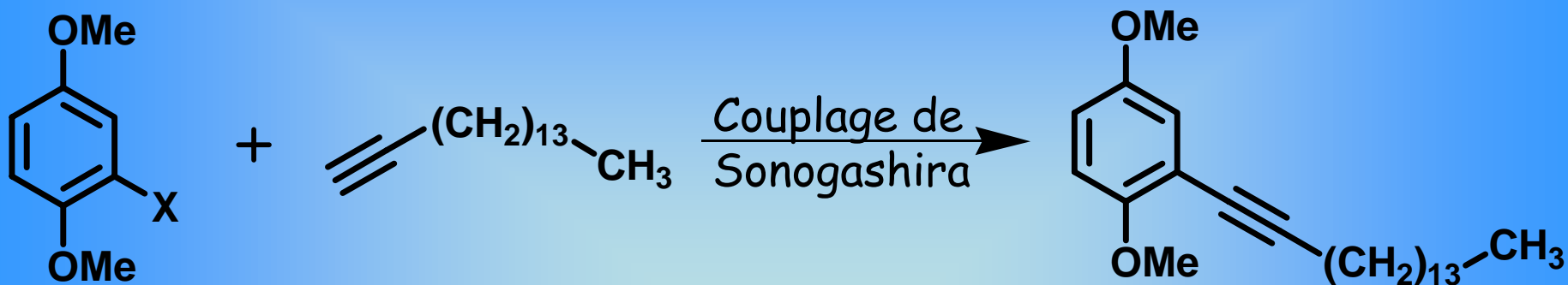


Synthèse des QFA C-alkylés



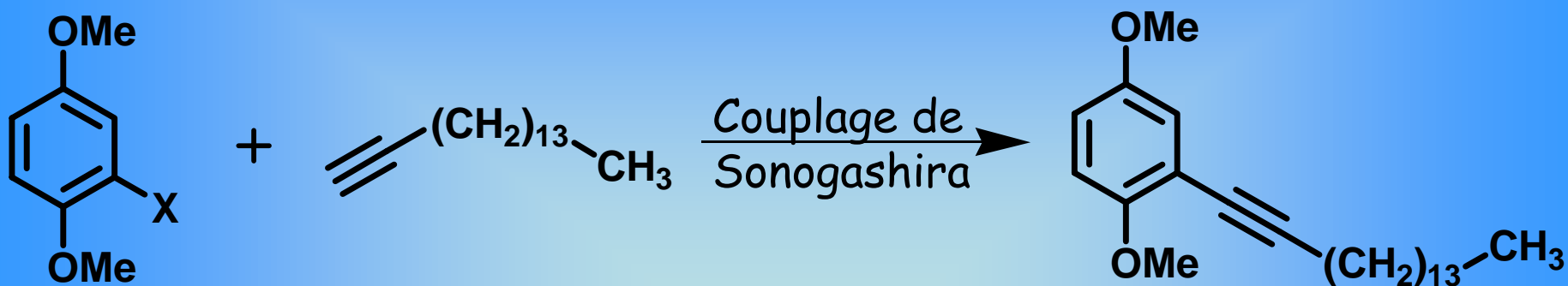
	X	Catalyseur	Solvant	Rendement
1				
2				
3				
4				

Synthèse des QFA C-alkylés



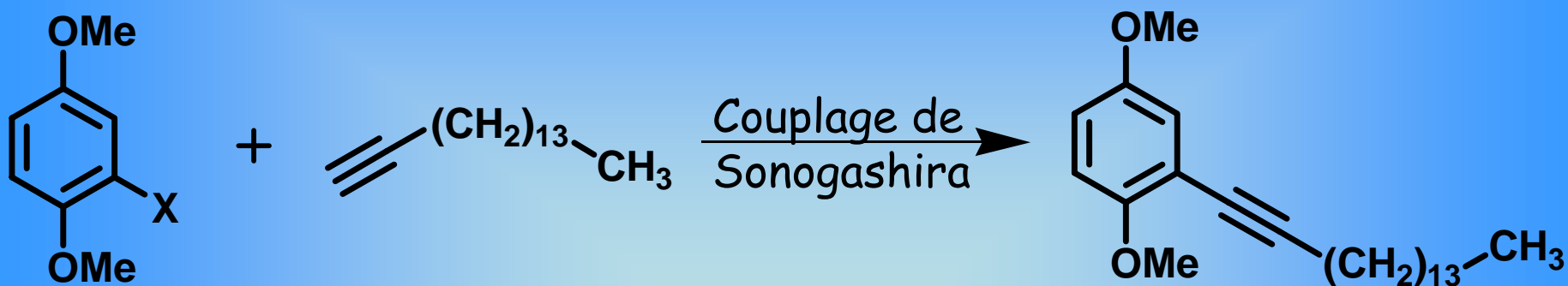
	X	Catalyseur	Solvant	Rendement
1	Br	$\text{Pd}^{\text{II}}/\text{CuI}$	NEt_3	32%
2				
3				
4				

Synthèse des QFA C-alkylés



	X	Catalyseur	Solvant	Rendement
1	Br	$\text{Pd}^{\text{II}}/\text{CuI}$	NEt_3	32%
2	I	$\text{Pd}^{\text{II}}/\text{CuI}$	NEt_3	35%
3				
4				

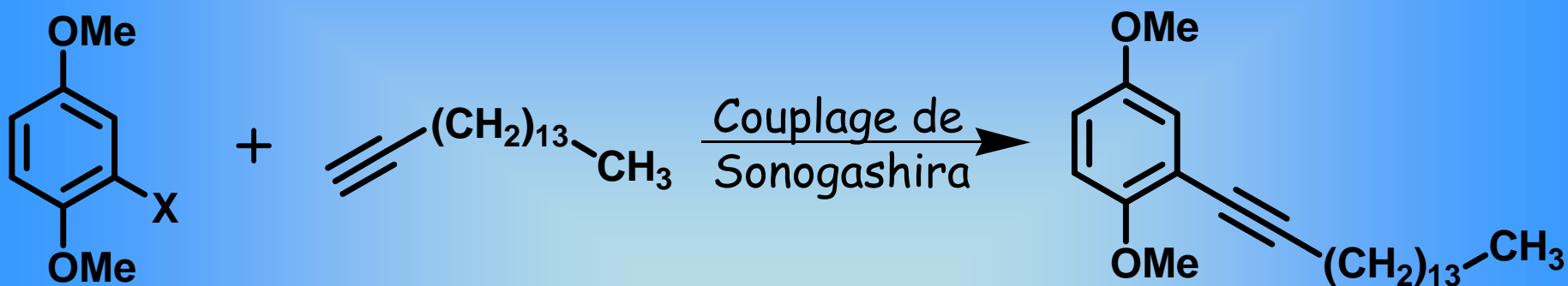
Synthèse des QFA C-alkylés



	X	Catalyseur	Solvant	Rendement
1	Br	Pd ^{II} /CuI	NEt ₃	32%
2	I	Pd ^{II} /CuI	NEt ₃	35%
3*	Br	Pd ⁰ /CuI	Pipéridine	68%
4*				

* Alami et coll. *Tetrahedron Lett.*, 1993

Synthèse des QFA C-alkylés

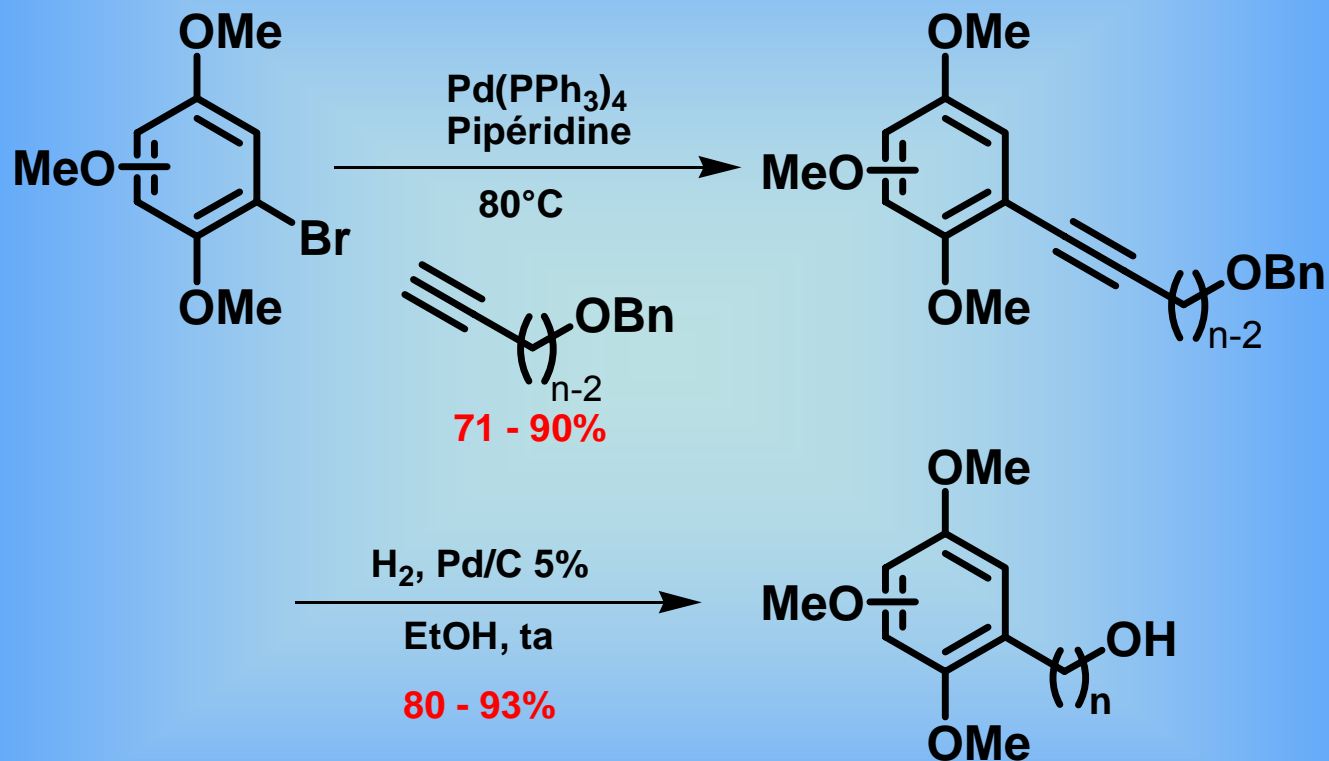


	X	Catalyseur	Solvant	Rendement
1	Br	Pd ^{II} /CuI	NEt ₃	32%
2	I	Pd ^{II} /CuI	NEt ₃	35%
3*	Br	Pd ⁰ /CuI	Pipéridine	68%
4*	Br	Pd ⁰	Pipéridine	91%

* Alami et coll. *Tetrahedron Lett.*, 1993

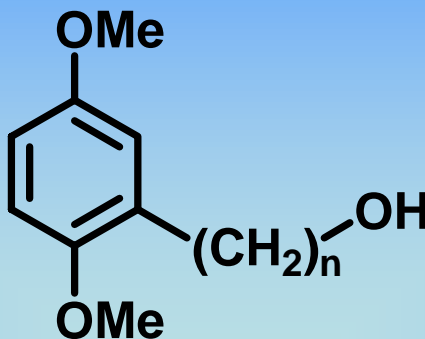
Synthèse des QFA C-alkylés

∞ Synthèse des QFA



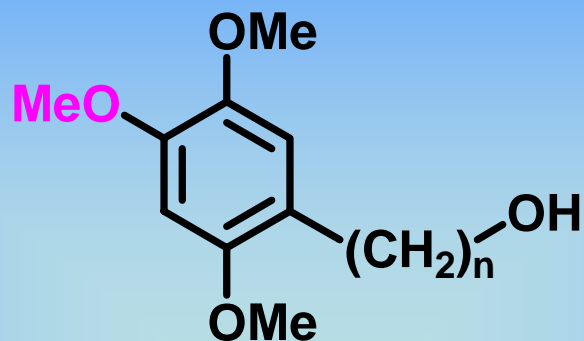
$n = 12, 14, 15, 16, 18$

Synthèse des QFA C-alkylés



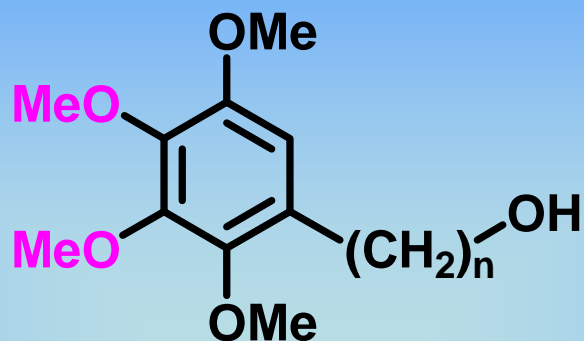
Séries de Composés	Nombre d'étapes	Rendements globaux
QFA	3	51 - 61%
Q ₃ FA		
Q ₄ FA		

Synthèse des QFA C-alkylés



Séries de Composés	Nombre d'étapes	Rendements globaux
QFA	3	51 - 61%
Q₃FA	3	61 - 70%
Q ₄ FA		

Synthèse des QFA C-alkylés



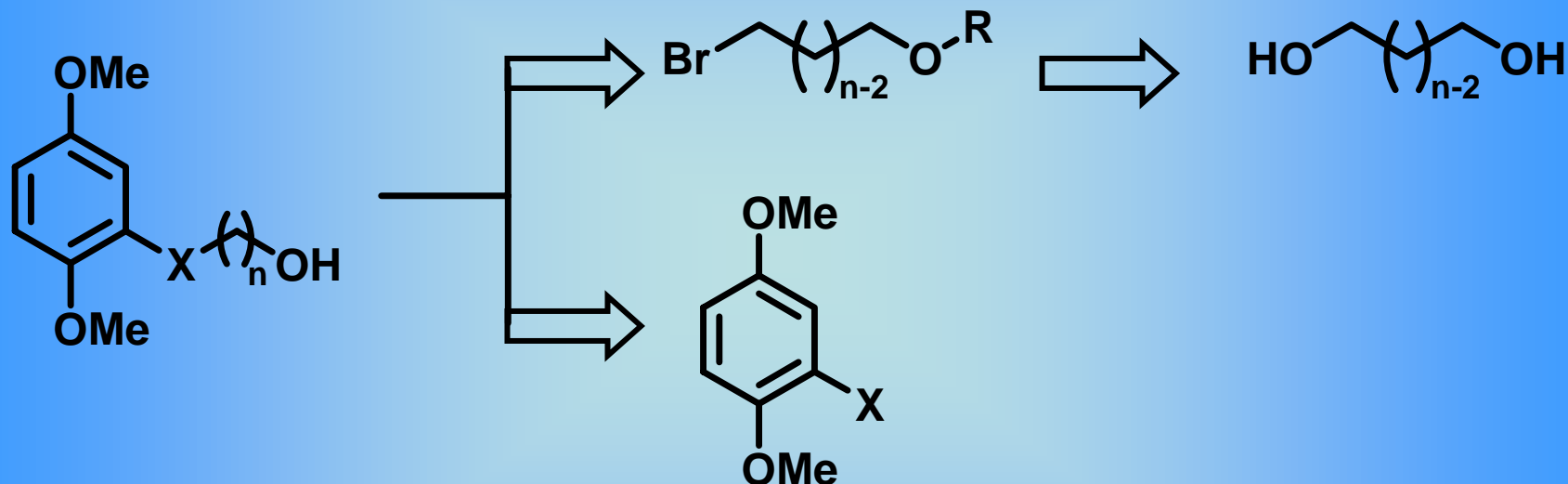
Séries de Composés	Nombre d'étapes	Rendements globaux
QFA	3	51 - 61%
Q ₃ FA	3	61 - 70%
Q ₄ FA	6	32 - 38%

Plan de l'exposé

- ∞ Introduction
- ∞ Synthèse chimique des QFA
 - * Synthèse des QFA C-alkylés
 - * Synthèse des QFA N/O-alkylés
- ∞ Résultats physicochimiques et biologiques
- ∞ Synthèse supportée du QFA15
- ∞ Conclusion générale et perspectives

Synthèse des QFA *N/O*-alkylés

→ Étude de l'importance de la liaison C-C



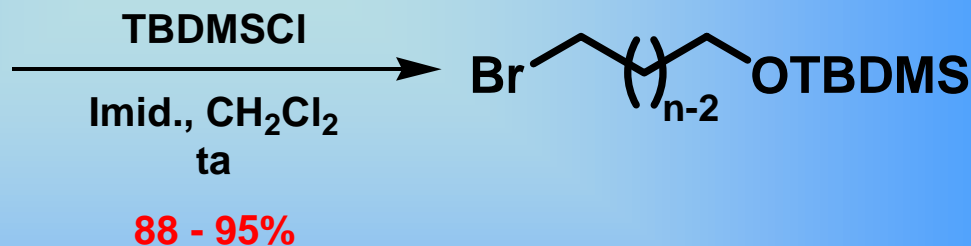
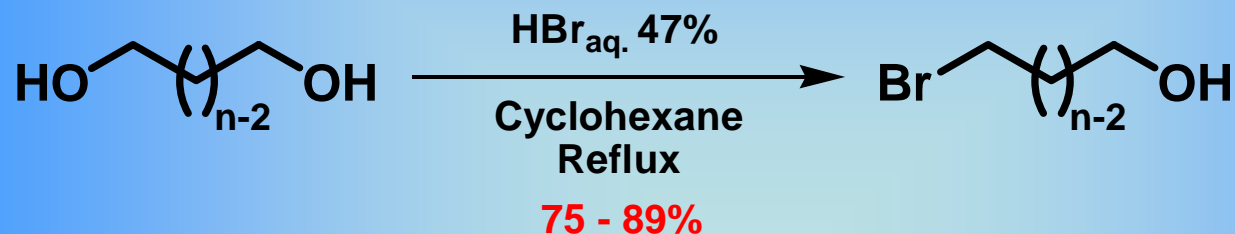
X = NH ou O
n = 10, 12, 14, 16

n = 10, 12, 14, 16

R = H ou TBDMS
X = NH₂ ou OH

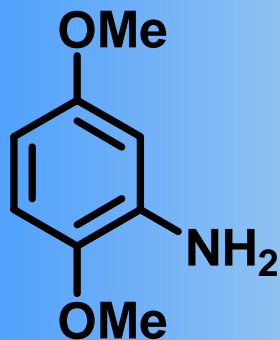
Synthèse des QFA N/O-alkylés

∞ Synthèse des chaînes



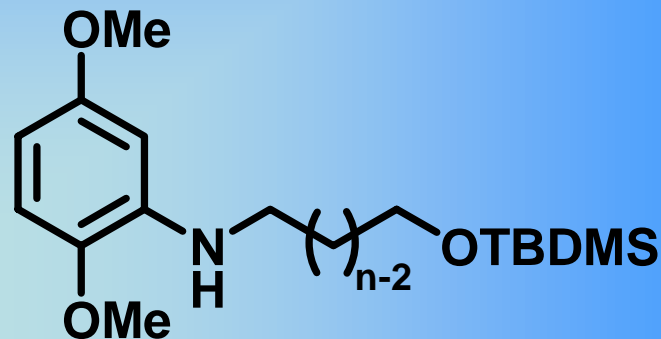
Synthèse des QFA *N/O*-alkylés

∞ Synthèse des QFA *N*-alkylés



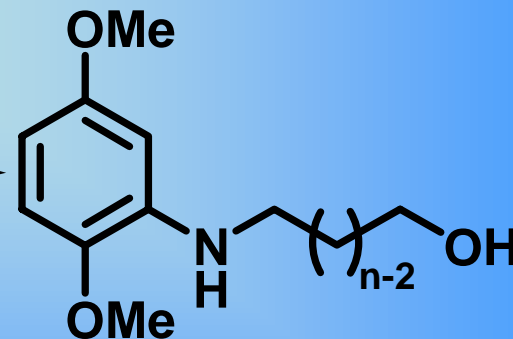
1) nBuLi, THF, 0°C
2) Chaîne, THF, 60°C
3) Dioxane, 60°C

54 - 64%



TBAF, THF, ta

93 - 95%

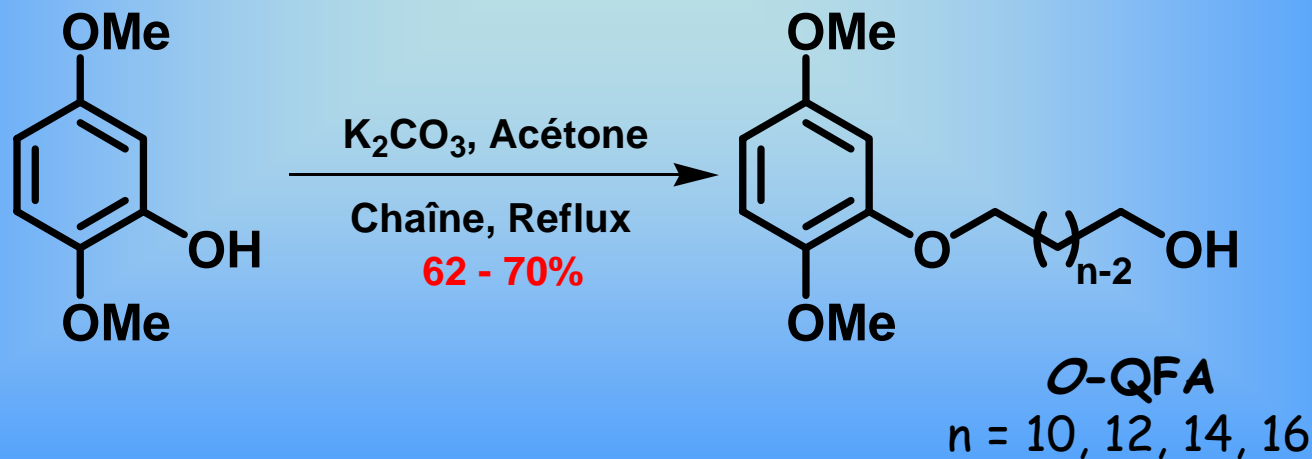
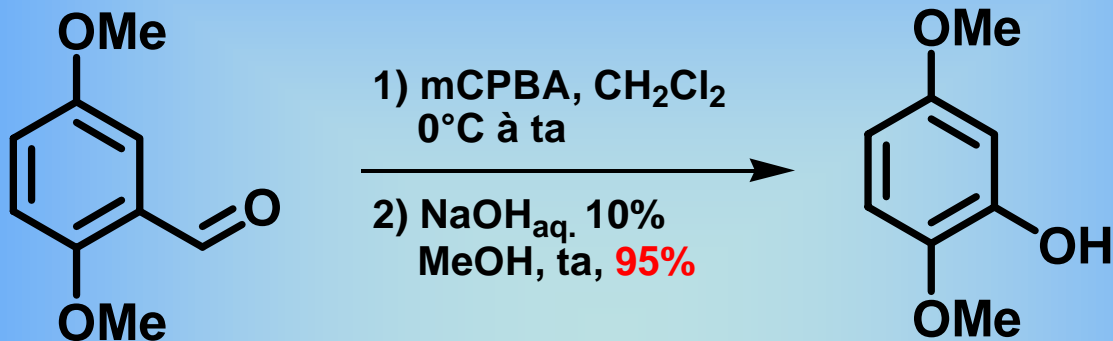


N-QFA

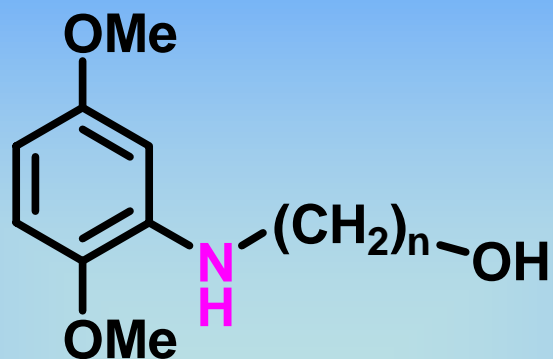
$n = 10, 12, 14, 16$

Synthèse des QFA *N/O*-alkylés

∞ Synthèse des QFA *O*-alkylés

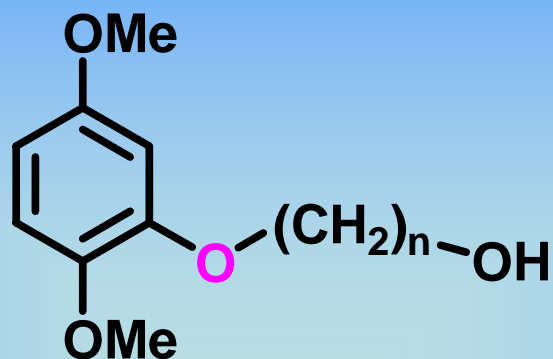


Synthèse des QFA *N/O*-alkylés



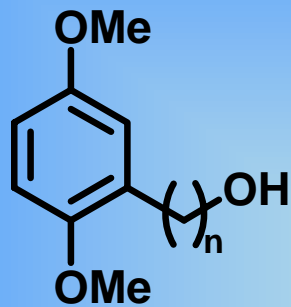
Séries de Composés	Nombre d'étapes	Rendements globaux
N-QFA	3	51 - 62%
O-QFA		

Synthèse des QFA *N/O*-alkylés

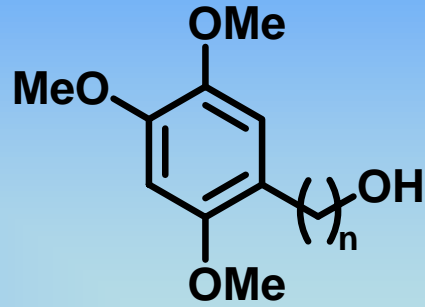


Séries de Composés	Nombre d'étapes	Rendements globaux
N-QFA	3	51 - 62%
O-QFA	2	62 - 70%

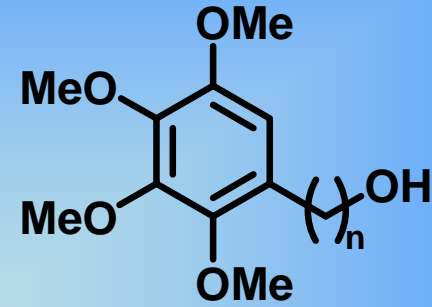
Conclusion



QFA

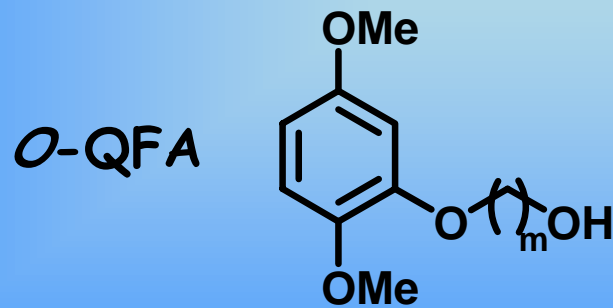


Q_3FA

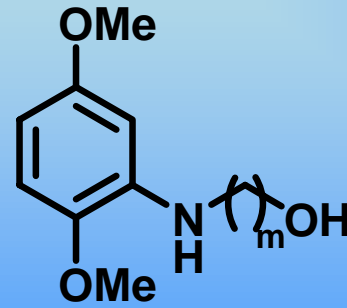


Q_4FA

$$n = 12, 14, 15, 16, 18$$



O-QFA



N-QFA

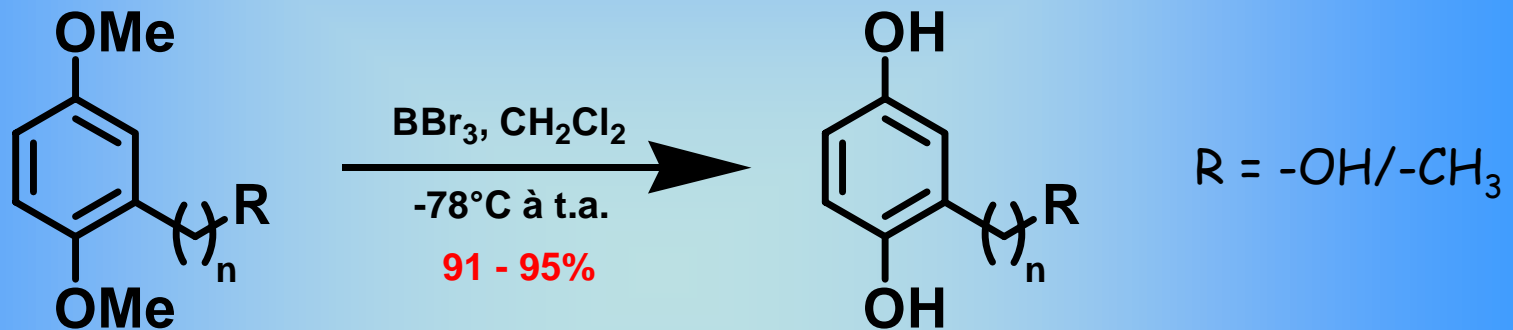
$$m = 10, 12, 14, 16$$

Plan de l'exposé

- ∞ Introduction
- ∞ Synthèse chimique des QFA
 - * Synthèse des QFA C-alkylés
 - * Synthèse des QFA N/O-alkylés
- ∞ Études physicochimiques et biologiques
- ∞ Synthèse supportée du QFA15
- ∞ Conclusion générale et perspectives

Capacité antioxydante des QFA

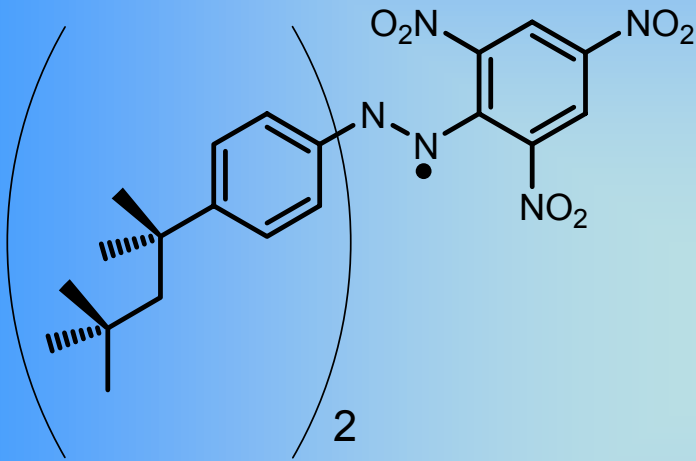
∞ Déméthylation



- QFA : testés sous leur forme méthylée et déméthylée
- Autres : testés sous leur forme méthylée

Test au DPPH

* (2,2'-di(4-*tert*-octylphényl)-1-picrylhydrazyl)



→ Radical stabilisé
→ D.O. à 517 nm

* Molécule antioxydante → Réduction DPPH

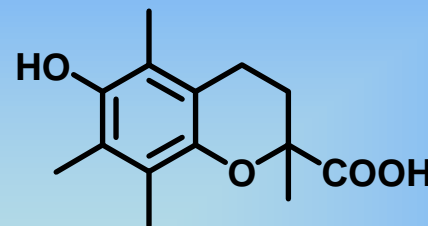
* D.O. à 517 nm ↘

* IC₅₀ : diminution de 50% du DPPH initial

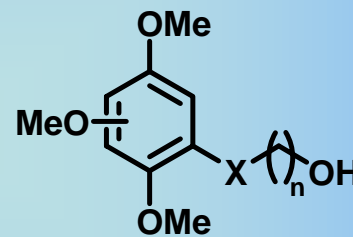
Test au DPPH

∞ Résultats obtenus :

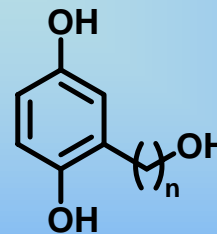
Composé testé	IC ₅₀ (mM) DPPH
Trolox®	0,23
Tous QFA	>10
dmQFA	0,23
dmQFA16c	1,53



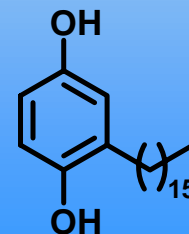
Trolox®



X = -CH₂, -NH, -O



dmQFA



dmQFA16c

Test au DPPH

* Première indication de l'activité antioxydante de nos produits

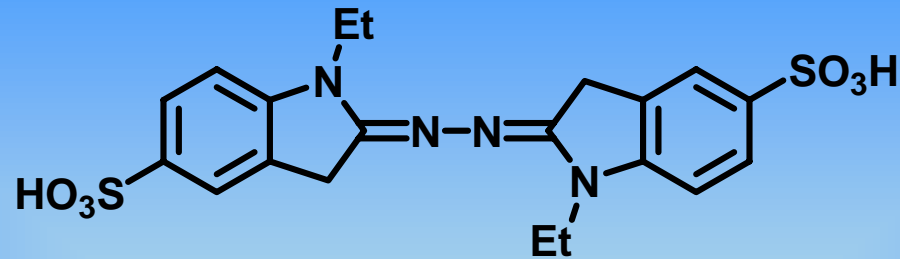
→ Test DPPH peu concluant

✓ DPPH radical encombré

✓ Non présent dans SNC

→ Test avec radicaux oxygénés

Test à l'ABTS



* L'ABTS est oxydé en présence de radicaux hydroxyles



* Réaction de Fenton

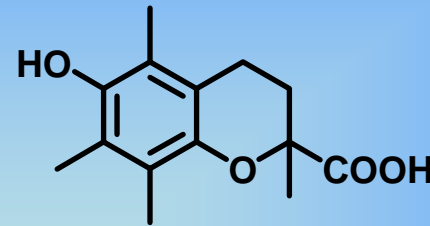


* Molécule anti-oxydante ➡ compétition pour les radicaux hydroxyles

* D.O. à 405 nm ➡ IC_{50} : diminution de 50% de l'ABTS^{·+} formé

Capacité antioxydante des QFA

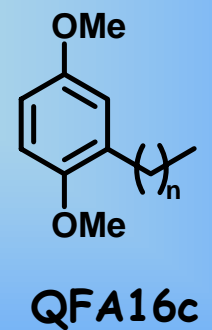
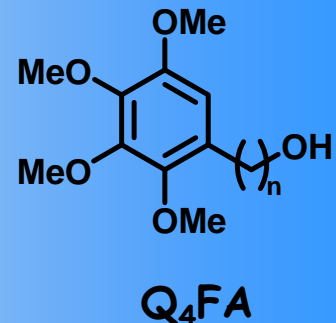
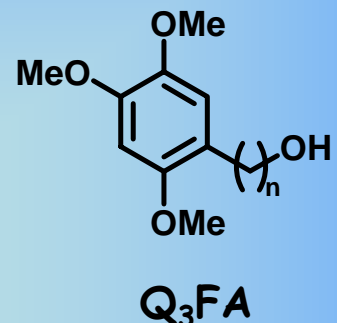
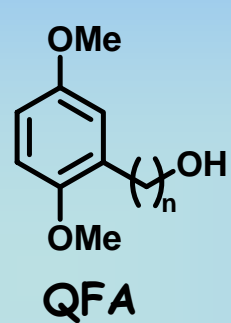
Composé testé	IC ₅₀ (μM) ABTS
Trolox®	600



Trolox®

Capacité antioxydante des QFA

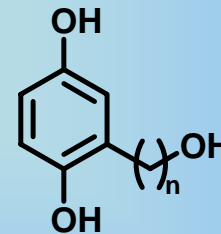
Composé testé	IC ₅₀ (μM) ABTS
Trolox®	600
QFA	>10000
Q ₃ FA	720
Q ₄ FA	nd
QFA16c	>10000



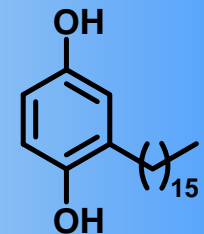
nd : IC₅₀ non atteinte

Capacité antioxydante des QFA

Composé testé	IC ₅₀ (μM) ABTS
Trolox®	600
QFA	>10000
Q ₃ FA	720
Q ₄ FA	nd
QFA16c	>10000
dmQFA	6
dmQFA16c	6000



dmQFA

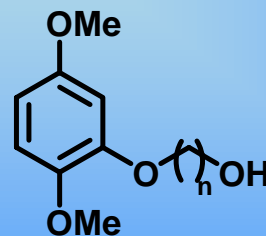


dmQFA16c

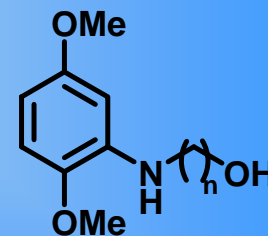
nd : IC₅₀ non atteinte

Capacité antioxydante des QFA

Composé testé	IC ₅₀ (μM) ABTS
Trolox®	600
QFA	>10000
Q ₃ FA	720
Q ₄ FA	nd
QFA16c	>10000
dmQFA	6
dmQFA16c	6000
<i>O</i> -QFA	nd
<i>N</i> -QFA	nd



O-QFA



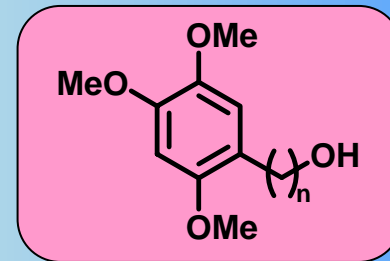
N-QFA

nd : IC₅₀ non atteinte

Capacité antioxydante des QFA

Composé testé	IC ₅₀ (μM) ABTS
Trolox®	600
QFA	>10000
Q ₃ FA	720
Q ₄ FA	nd
QFA16c	>10000
dmQFA	6
dmQFA16c	6000
O-QFA	nd
N-QFA	nd

* Q₃FA proche du Trolox®



Capacité antioxydante des QFA

Composé testé	IC ₅₀ (μM) ABTS
Trolox®	600
QFA	>10000
Q ₃ FA	720
Q ₄ FA	nd
QFA16c	>10000
dmQFA	6
dmQFA16c	6000
O-QFA	nd
N-QFA	nd

* Q₃FA proche du Trolox®

* dmQFA 100 fois plus antioxydant que Trolox®



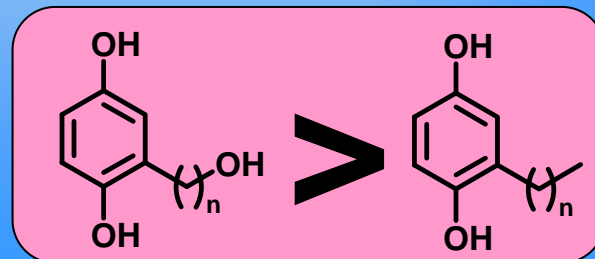
Capacité antioxydante des QFA

Composé testé	IC ₅₀ (μM) ABTS
Trolox®	600
QFA	>10000
Q ₃ FA	720
Q ₄ FA	nd
QFA16c	>10000
dmQFA	6
dmQFA16c	6000
O-QFA	nd
N-QFA	nd

* Q₃FA proche du Trolox®

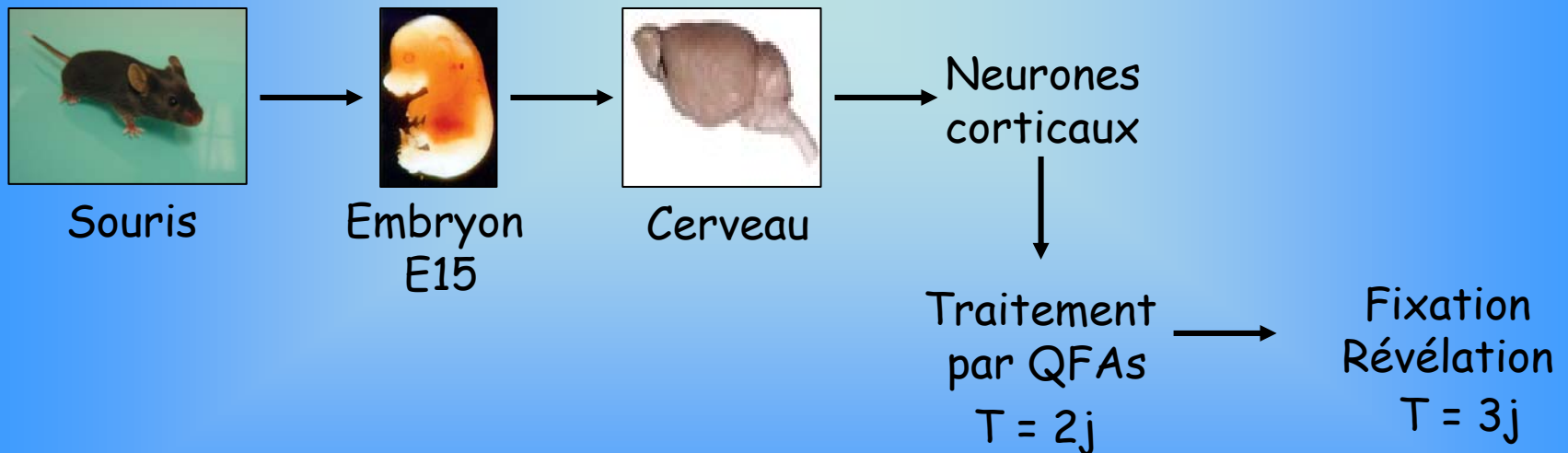
* dmQFA 100 fois plus antioxydant que Trolox®

* Fonction hydroxyle en bout de chaîne capitale



Maturation des cellules nerveuses

- ∞ QFAs : maturation de neurones embryonnaires au stade E15
- ∞ Différentes concentrations testées : 10^{-7} à $10^{-12}M$

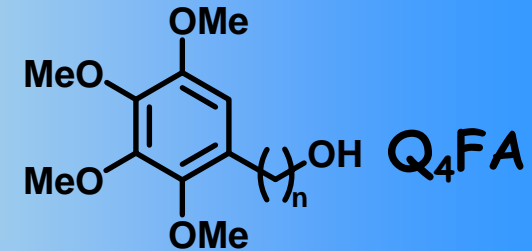
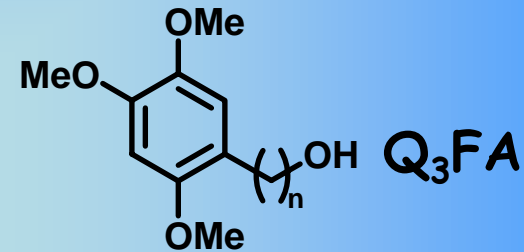
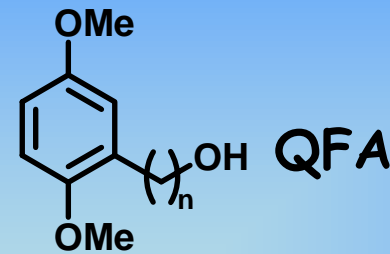


Maturation des cellules nerveuses

Composé	n	Croissance axonale (%)
EtOH	∅	100
QFA12	12	109
QFA14	14	110
QFA15	15	181
QFA16	16	120
QFA18	18	109
Q3FA12	12	108
Q3FA14	14	109
Q3FA15	15	152
Q3FA16	16	135
Q3FA18	18	106
Q4FA12	12	100
Q4FA14	14	108
Q4FA15	15	158
Q4FA16	16	127
Q4FA18	18	103
O-QFA10	10	122
O-QFA12	12	145
O-QFA14	14	165
O-QFA16	16	109
N-QFA10	10	100
N-QFA12	12	102
N-QFA14	14	105
N-QFA16	16	104

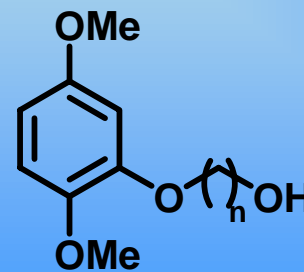
Maturation des cellules nerveuses

Composé	n	Croissance axonale (%)
EtOH	∅	100
QFA12	12	109
QFA14	14	110
QFA15	15	181
QFA16	16	120
QFA18	18	109
Q3FA12	12	108
Q3FA14	14	109
Q3FA15	15	152
Q3FA16	16	135
Q3FA18	18	106
Q4FA12	12	100
Q4FA14	14	108
Q4FA15	15	158
Q4FA16	16	127
Q4FA18	18	103
O-QFA10	10	122
O-QFA12	12	145
O-QFA14	14	165
O-QFA16	16	109
N-QFA10	10	100
N-QFA12	12	102
N-QFA14	14	105
N-QFA16	16	104

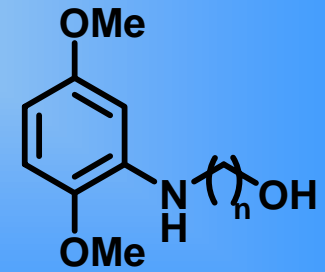


Maturation des cellules nerveuses

Composé	n	Croissance axonale (%)
EtOH	∅	100
QFA12	12	109
QFA14	14	110
QFA15	15	181
QFA16	16	120
QFA18	18	109
Q3FA12	12	108
Q3FA14	14	109
Q3FA15	15	152
Q3FA16	16	135
Q3FA18	18	106
Q4FA12	12	100
Q4FA14	14	108
Q4FA15	15	158
Q4FA16	16	127
Q4FA18	18	103
O-QFA10	10	122
O-QFA12	12	145
O-QFA14	14	165
O-QFA16	16	109
N-QFA10	10	100
N-QFA12	12	102
N-QFA14	14	105
N-QFA16	16	104



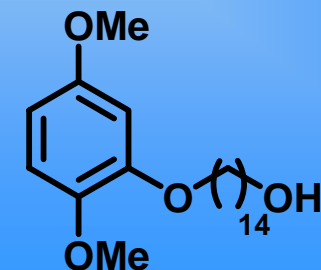
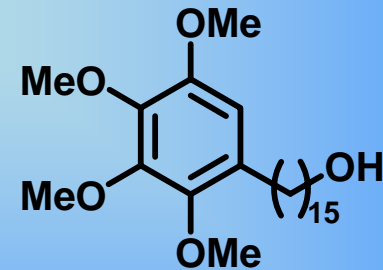
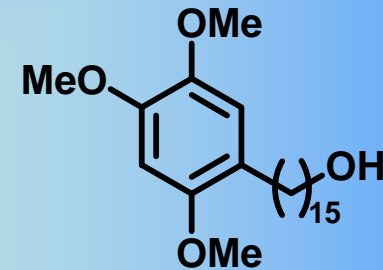
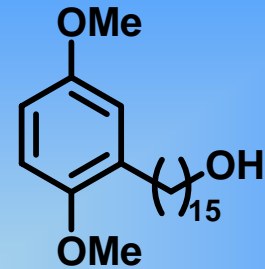
O-QFA



N-QFA

Maturation des cellules nerveuses

Composé	n	Croissance axonale (%)
EtOH	∅	100
QFA12	12	109
QFA14	14	110
QFA15	15	181
QFA16	16	120
QFA18	18	109
Q3FA12	12	108
Q3FA14	14	109
Q3FA15	15	152
Q3FA16	16	135
Q3FA18	18	106
Q4FA12	12	100
Q4FA14	14	108
Q4FA15	15	158
Q4FA16	16	127
Q4FA18	18	103
O-QFA10	10	122
O-QFA12	12	145
O-QFA14	14	165
O-QFA16	16	109
N-QFA10	10	100
N-QFA12	12	102
N-QFA14	14	105
N-QFA16	16	104



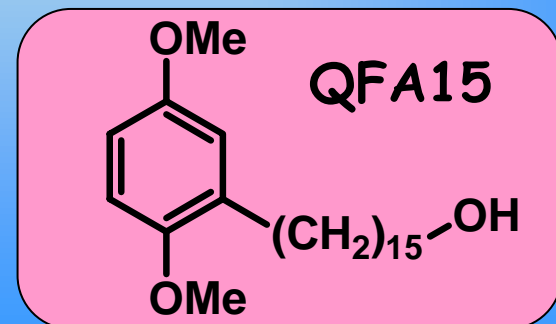
Maturation des cellules nerveuses

Composé	n	Croissance axonale (%)
EtOH	∅	100
QFA12	12	109
QFA14	14	110
QFA15	15	181
QFA16	16	120
QFA18	18	109
Q3FA12	12	108
Q3FA14	14	109
Q3FA15	15	152
Q3FA16	16	135
Q3FA18	18	106
Q4FA12	12	100
Q4FA14	14	108
Q4FA15	15	158
Q4FA16	16	127
Q4FA18	18	103
O-QFA10	10	122
O-QFA12	12	145
O-QFA14	14	165
O-QFA16	16	109
N-QFA10	10	100
N-QFA12	12	102
N-QFA14	14	105
N-QFA16	16	104

∞ Les QFA à 15C sont les plus actifs

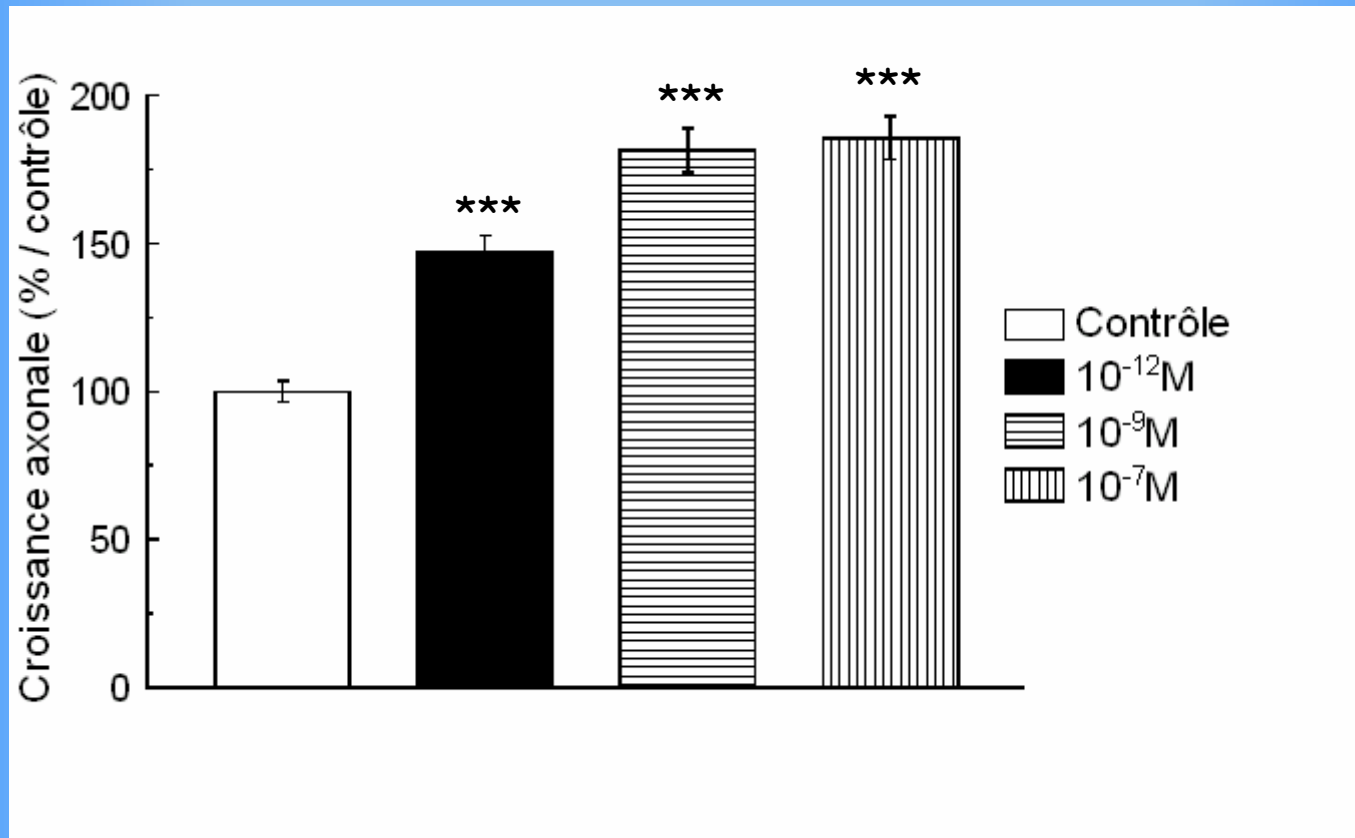
∞ Le QFA15 présente la meilleure activité

∞ La liaison C-C entre la chaîne et le cycle est importante pour l'activité biologique



Étude biologique du QFA15

∞ Effet trophique dose-dépendant

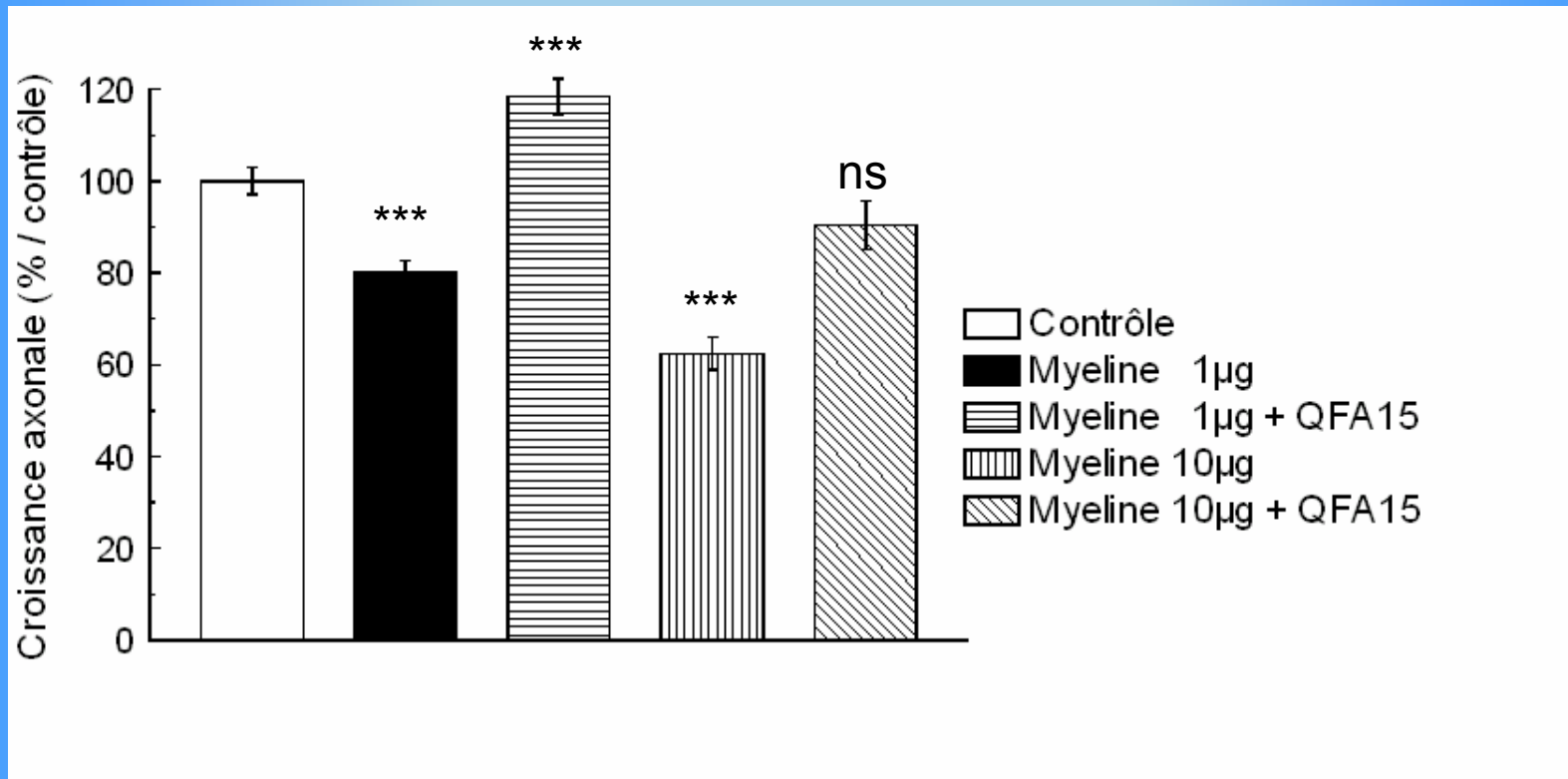


→ Croissance maximale à $10^{-9}M$

Étude biologique du QFA15

∞ Effet trophique sur milieux inhibiteurs

Protéines de MYELINE

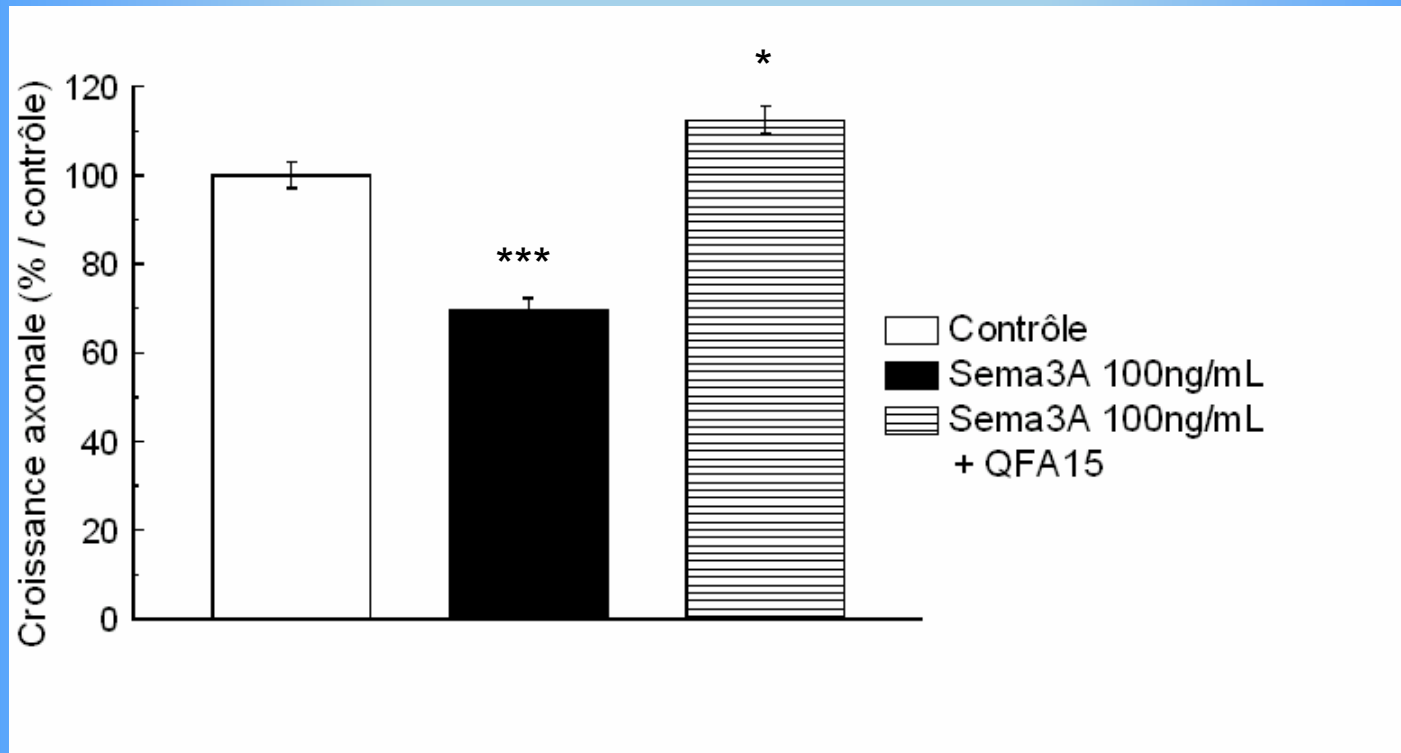


→ Levée de l'inhibition myélinique

Étude biologique du QFA15

∞ Effet trophique sur milieux inhibiteurs

SEMA 3A



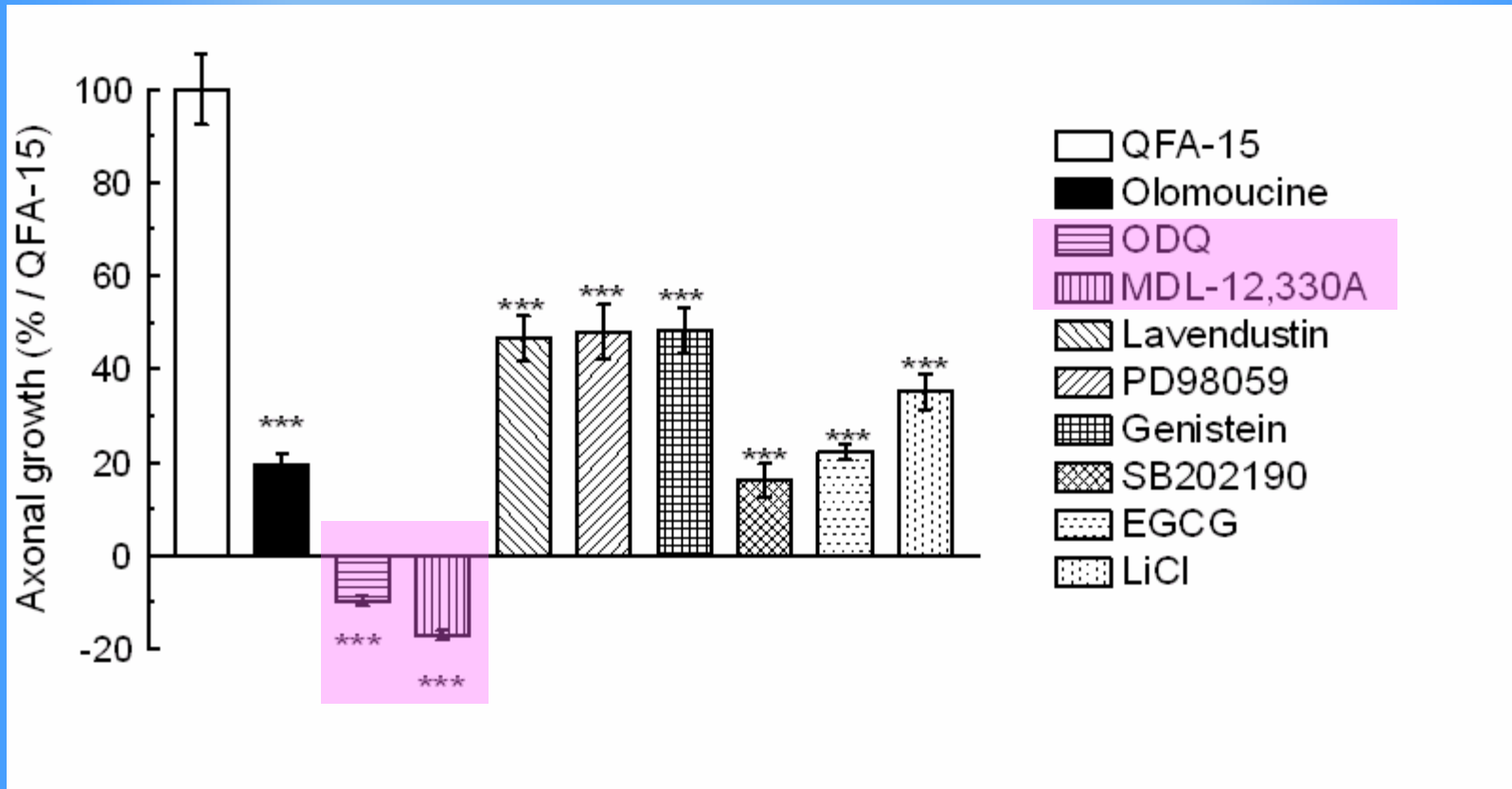
→ Levée de l'inhibition liée à la Sema3A

Étude pharmacologique du QFA15

Catégorie d'inhibiteur	Nom
Inhibiteurs Tyrosine kinases	Genistein
Inhibiteurs Ser/Thr Kinases	Lavendustin
Inhibiteurs MAP-kinases	LiCl
Inhibiteurs Tyrosine kinases	SB202190
Inhibiteurs MAP-kinases	PD98058
Inhibiteurs Nucléotides Cycliques	MDL-12,330A
Inhibiteurs Kinases Cycline-dependantes	ODQ
Inhibiteur Oxydo-réductase	Olomoucine
Inhibiteur Oxydo-réductase	EGCG

Étude pharmacologique du QFA15

∞ Étude pharmacologique



→ Voie des nucléotides cycliques privilégiée

Récapitulatif

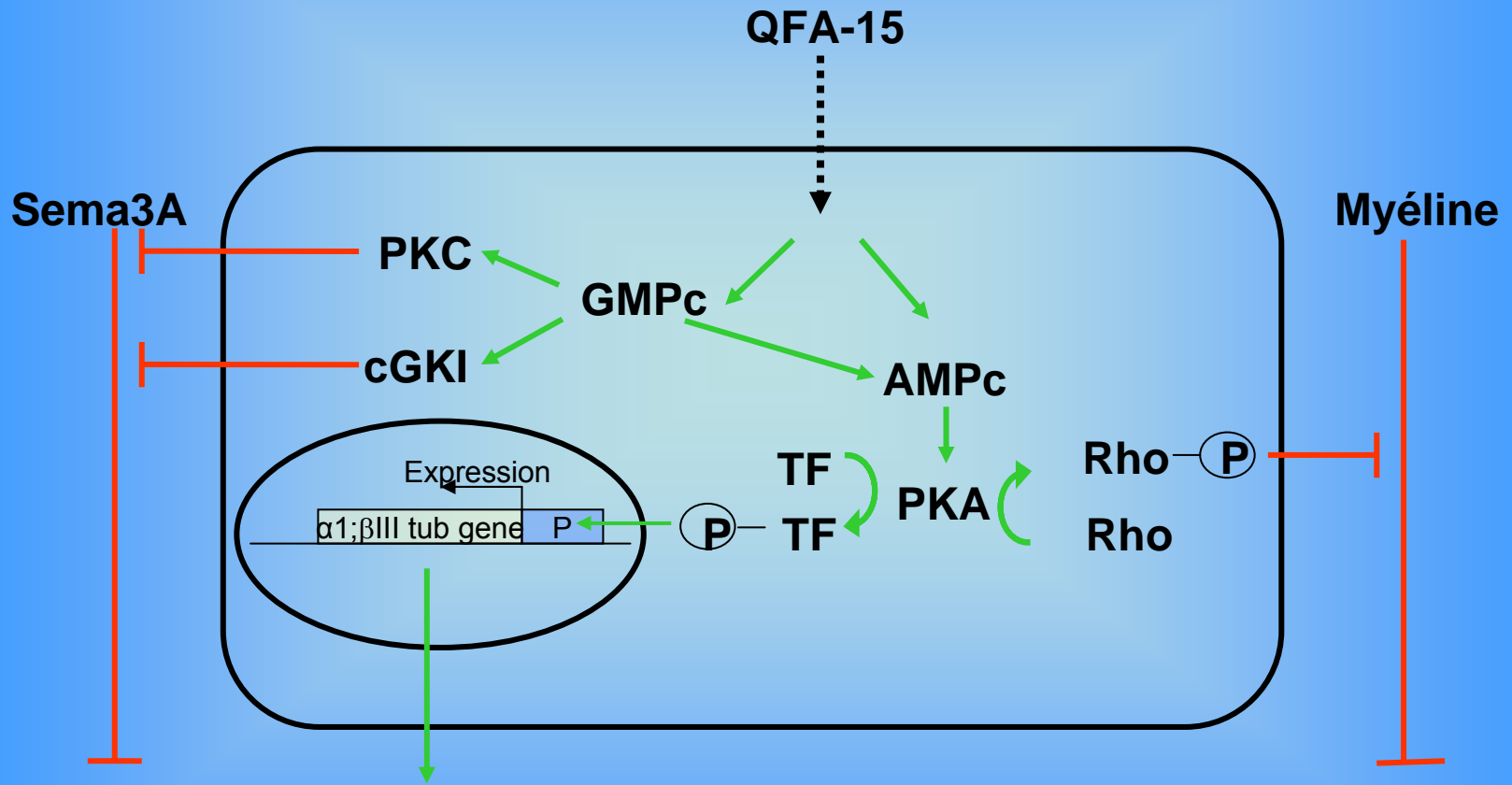
∞ Conclusion

	Fonction requise	Résultat
Neuroprotection	Neutralisation des radicaux	✓
Neuro-régénération	Contournement Myéline Contournement Sema3A	✓ ✓

} Nucléotides cycliques

Étude pharmacologique du QFA15

∞ Mode d'action hypothétique



Croissance axonale

Plan de l'exposé

- ∞ Introduction
- ∞ Synthèse chimique des QFA
 - * Synthèse des QFA C-alkylés
 - * Synthèse des QFA N/O-alkylés
- ∞ Études physicochimiques et biologiques
- ∞ Synthèse supportée du QFA15
- ∞ Conclusion générale et perspectives

Synthèse supportée du QFA15

∞ Besoin croissant en nouveaux composés

→ Synthèse supportée de nouveaux composés hybrides

- * Librairie de molécules

- * Diversité moléculaire

- * Réactions propres

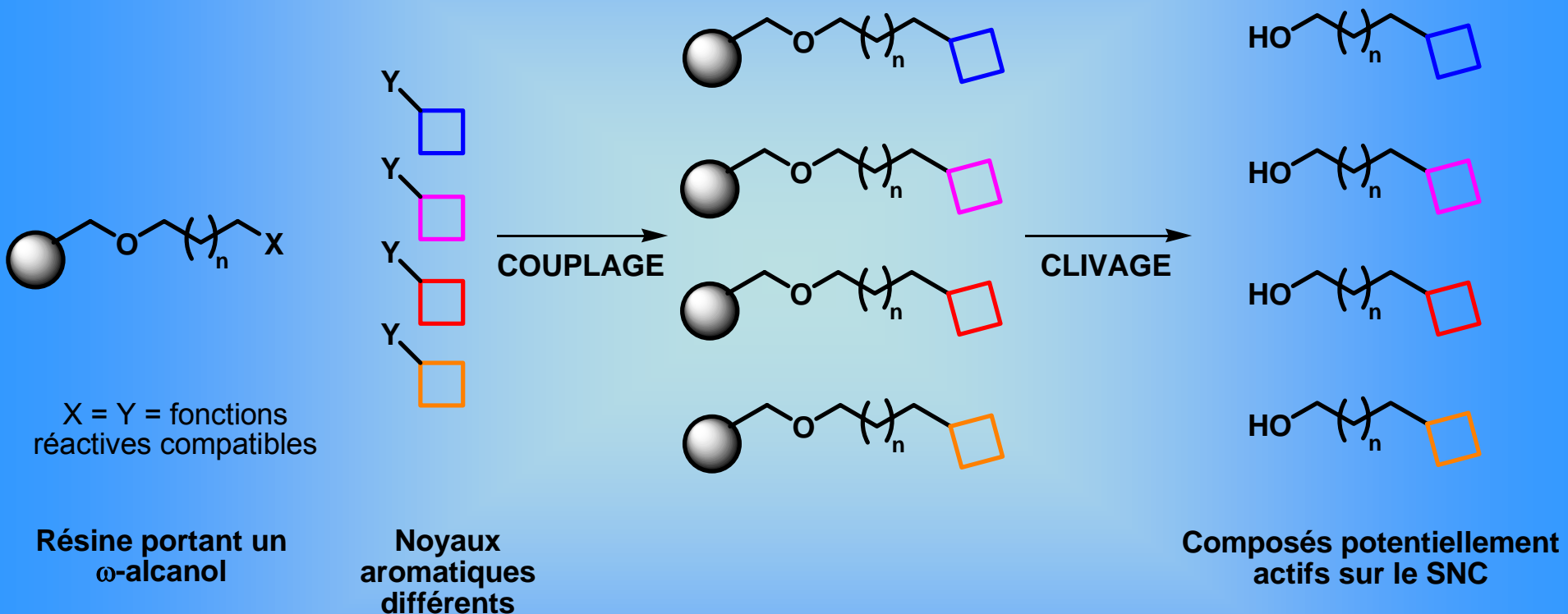
- * Moins coûteux

→ Quantités modérées (qqes mg)

→ Pureté ➡ Tests biologiques

Synthèse supportée du QFA15

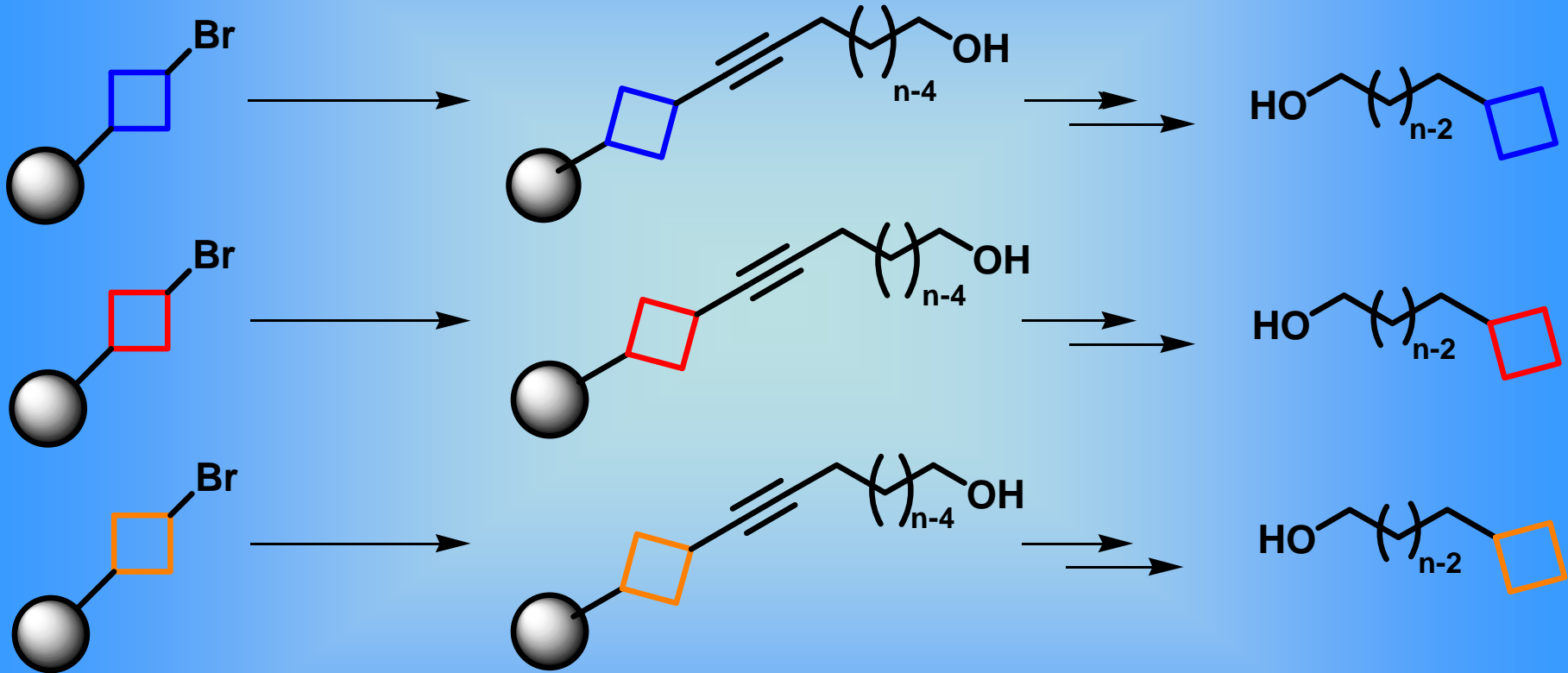
∞ Méthode envisagée



→ Mise au point sur QFA15

Synthèse supportée du QFA15

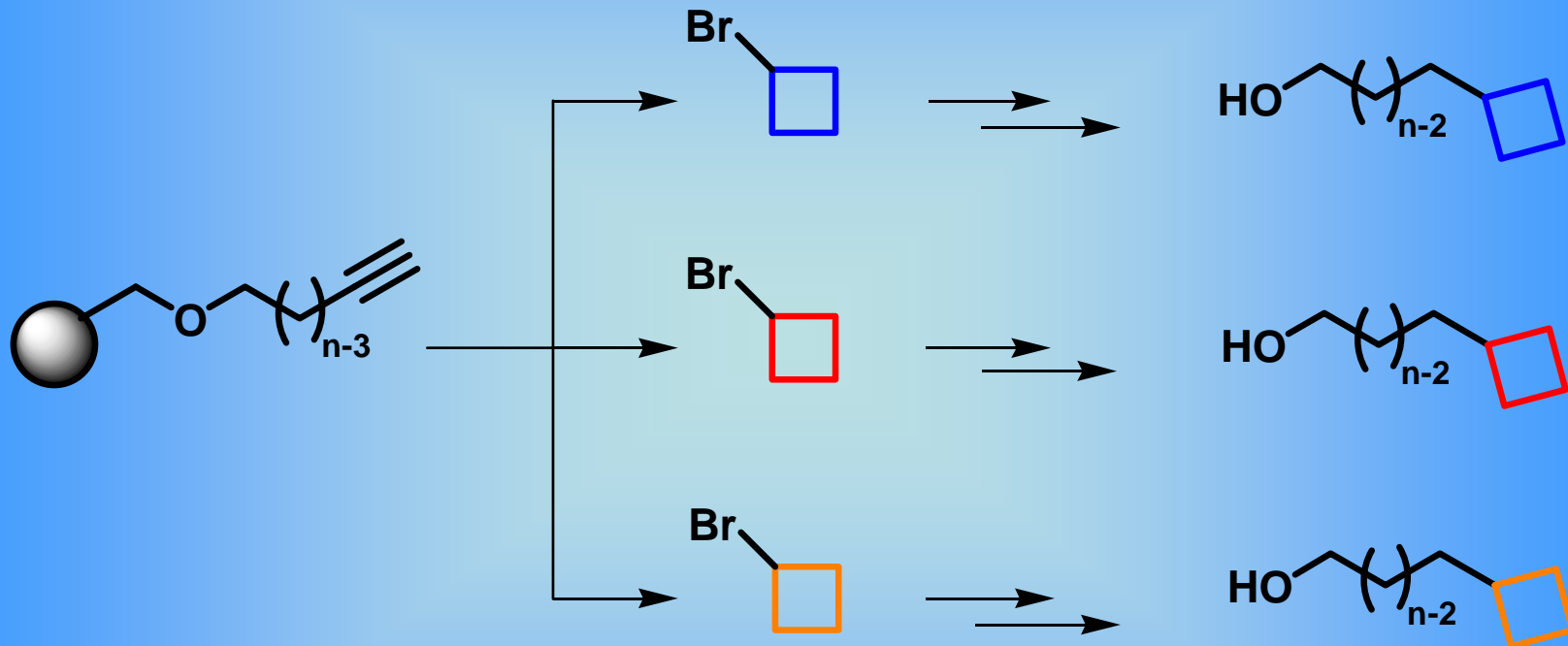
∞ Dans la littérature



→ Fastidieux / coûteux

Synthèse supportée du QFA15

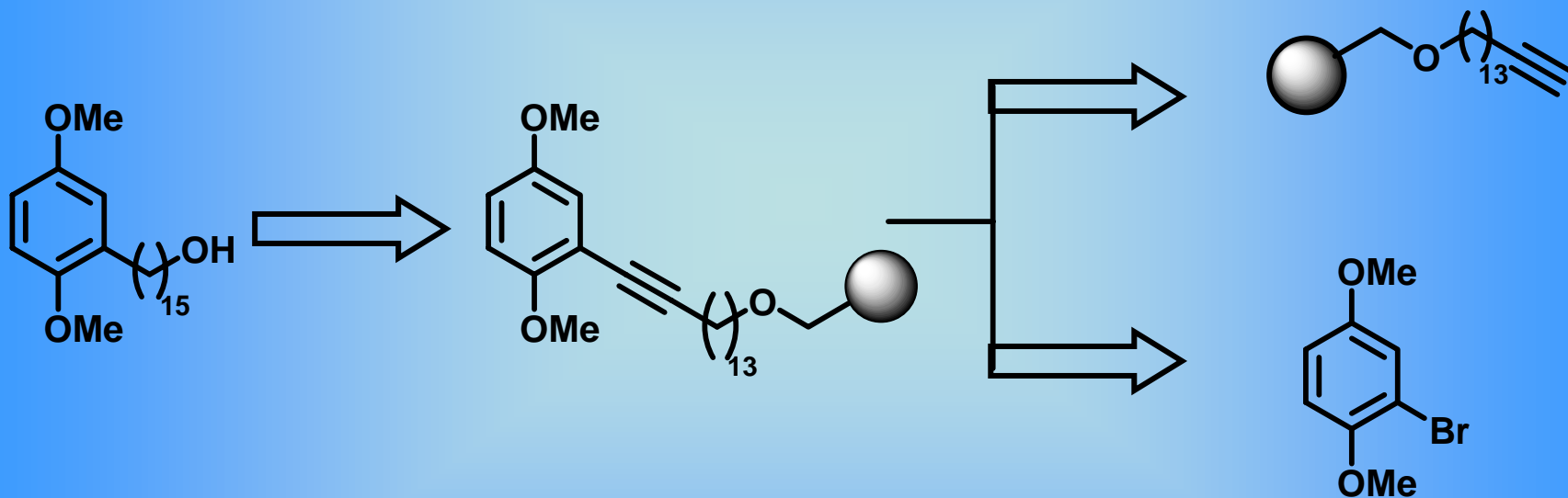
∞ Voie envisagée



→ Moins coûteux / plus simple

Synthèse supportée du QFA15

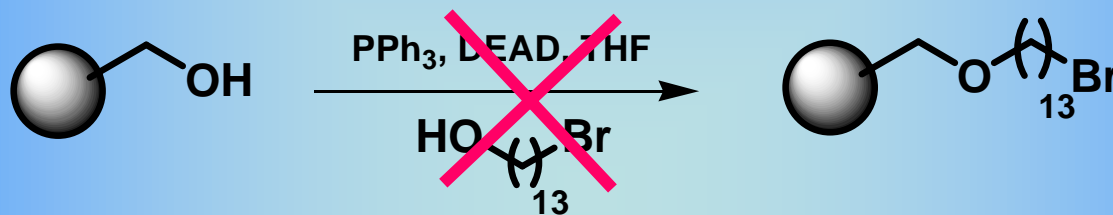
∞ Schéma rétrosynthétique



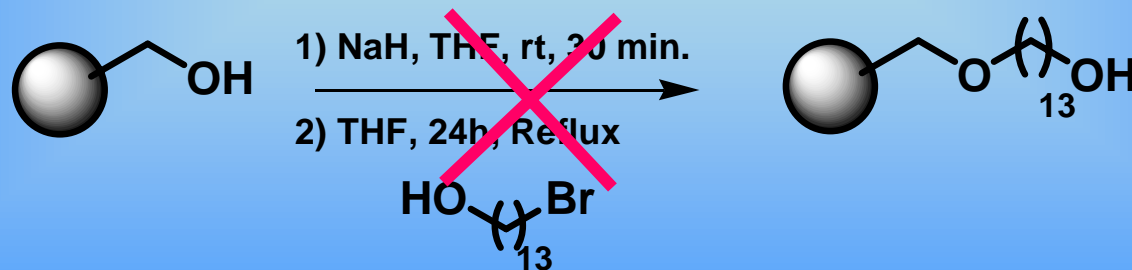
Synthèse supportée du QFA15

∞ Synthèse de l'alcyne vrai supporté

* Réaction de Mitsunobu

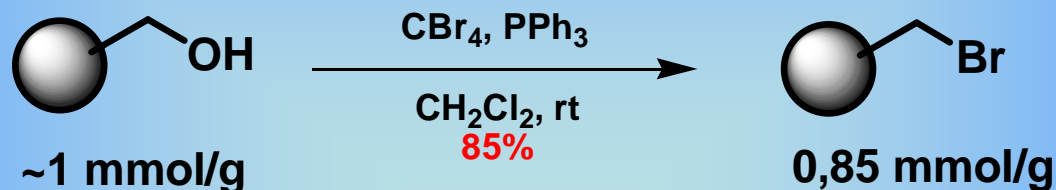


* Résine nucléophile

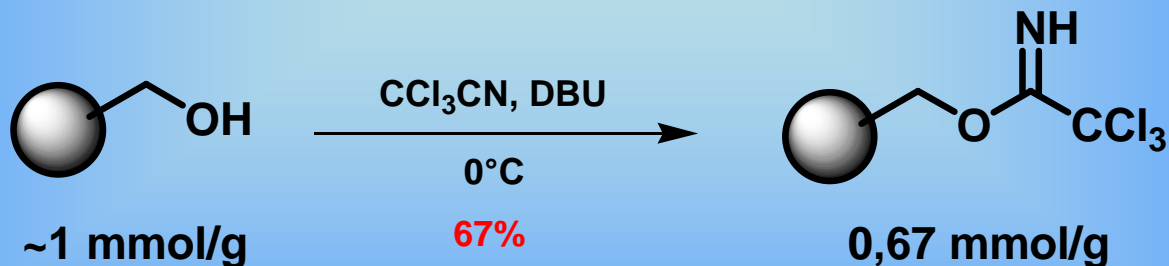


Synthèse supportée du QFA15

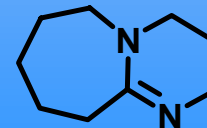
* Résine électrophile



ou

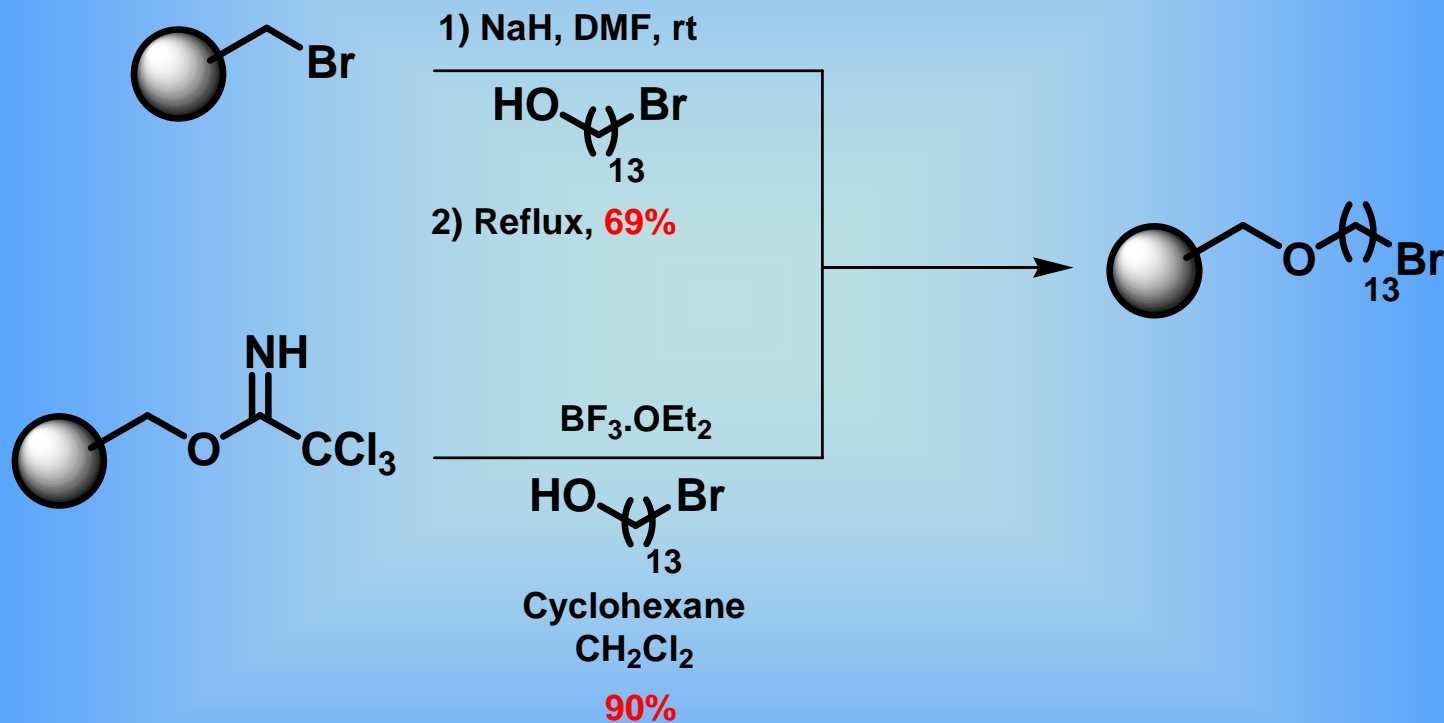


DBU : 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène



Synthèse supportée du QFA15

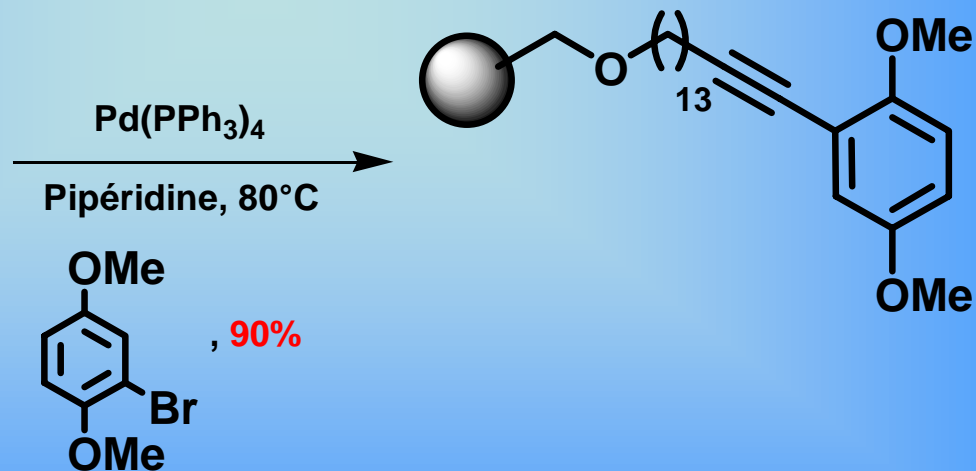
* Résine électrophile



→ Résine trichloroacétamidate choisie

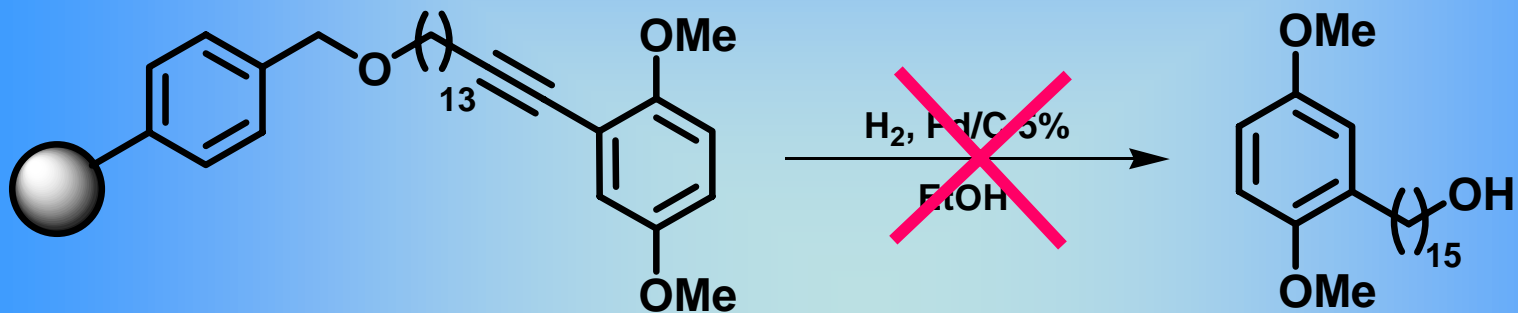
Synthèse supportée du QFA15

∞ Couplage de Sonogashira

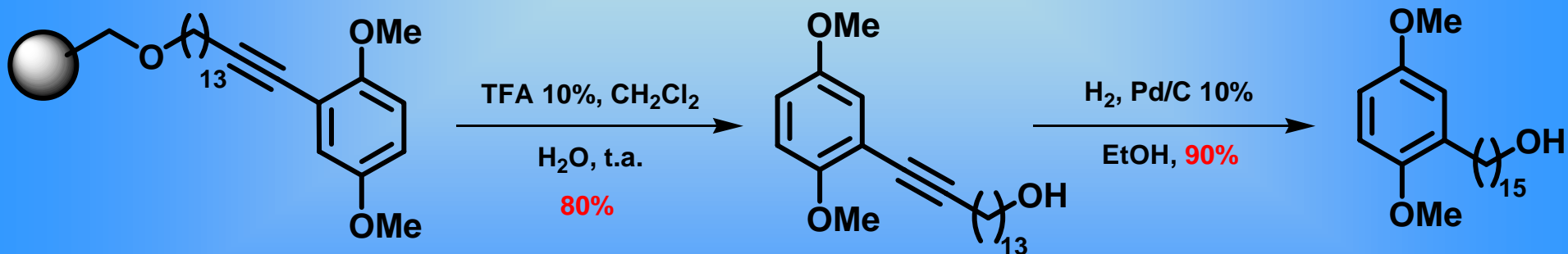


Synthèse supportée du QFA15

∞ Hydrogénation et clivage simultanés

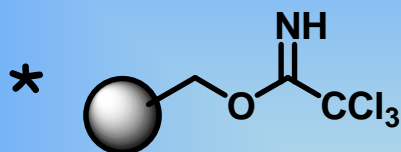


∞ Clivage et hydrogénation



Conclusion

∞ Résine électrophile :



∞ Couplage de Sonogashira : bons rendements

∞ Clivage et hydrogénation:

* Hydrogénation simultanée : impossible

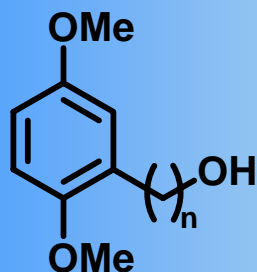
* Clivage suivi de l'hydrogénation

Plan de l'exposé

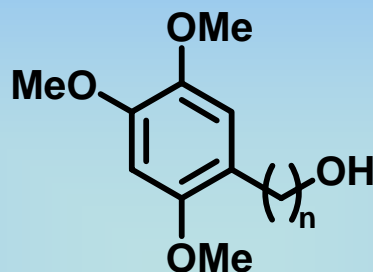
- ∞ Introduction
- ∞ Synthèse chimique des QFA
 - * Synthèse des QFA C-alkylés
 - * Synthèse des QFA N/O-alkylés
- ∞ Études physicochimiques et biologiques
- ∞ Synthèse supportée du QFA15
- ∞ Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale

Synthèse des alcools gras quinoliques (QFAs)

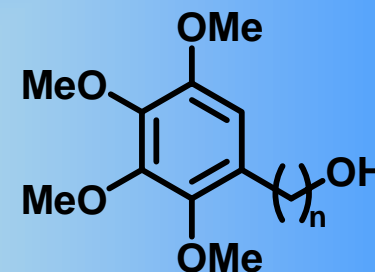


QFA

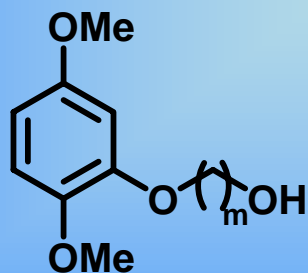


Q₃FA

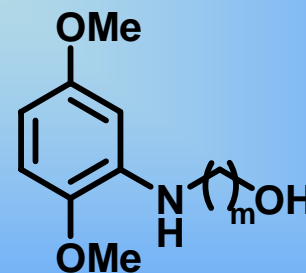
$n = 12, 14, 15, 16, 18$



Q₄FA



O-QFA



N-QFA

$m = 10, 12, 14, 16$

Conclusion générale

∞ Synthèse organique

- * Simple / efficace / reproductible
- * Couplage de Sonogashira
- * Rendements globaux : 32 - 70%

∞ Activité physicochimique et biologique

- * Agents antioxydants
- * Promoteurs de la croissance axonale
- * Levée des inhibitions chimiques de la cicatrice gliale

Conclusion générale

∞ Synthèse supportée

- * 6 étapes

- * 37% rendement global

- * Synthèse efficace / facile

→ Conception de nouveaux composés hybrides

Perspectives

- **Chimie**

- * Composés plus hydrophiles
- * Composés fluorescents/radiomarqués

- **Biophysicochimie**

- * Interaction avec membrane

- **Biologie**

- * Étude pharmacologique plus poussée
- * Mode d'action définitif du QFA15

Remerciements

Dr. Bang LUU

Dr. Dominique BAGNARD

Djalil

Martine

Thierry

Gérard

Frédérique

Bertrand

Nadège

Éric

Jiawei