

**PEPTIDES CIBLANT VDAC-1 POUR L'ÉTUDE ET LE TRAITEMENT DE MALADIES
NEURODÉGÉNÉRATIVES.**

**PEPTIDES TARGETING VDAC-1 FOR THE STUDY AND TREATMENT OF NEURODEGENERATIVE
DISEASES.**

Établissement **Université de Perpignan Via Domitia**

École doctorale **Energie et Environnement**

Spécialité **Chimie**

Unité de recherche **Centre de recherches insulaires et observatoire de l'environnement**

Directeur de la thèse **Nicolas INGUIMBERT**

Financement du 01-10-2018 au 01-10-2021 *origine* **Bourse de la région Occitanie** *Employeur* **université de Perpignan Via Domitia**
Financement d'une collectivité locale ou territoriale
Salaire mensuel net : 1400 €

Début de la thèse le **1 octobre 2018**

Date limite de candidature **31 mai 2018**

Mots clés - Keywords

Peptide, Synthèse peptidique en phase solide, Triazole, 1,3-oxazole

Peptide, solid phase Peptide Synthesis, triazole, 1,3-oxazole

Profil et compétences recherchées - Profile and skills required

Le candidat devra présenter une solide formation en chimie organique complétée par des connaissances en synthèse peptidique et un intérêt marqué pour la chimie médicinale. Le candidat maîtrisera par ailleurs les différentes techniques de purification, d'analyse et de caractérisation structurale des composés. De bonne capacité rédactionnelle et la maîtrise de l'anglais seront un plus.

The applicant must have a solid background in organic chemistry supplemented by knowledge of peptide synthesis and a strong interest in medicinal chemistry. The candidate will also master the different techniques of purification, analysis and structural characterization of the compounds. Good writing skills and fluency in English will be appreciate.

Description de la problématique de recherche Project description

La dérégulation de l'homéostasie du Ca²⁺ mitochondrial est une caractéristique de différentes maladies neurodégénératives, telles, la neuropathie diabétique périphérique (DPN), les maladies de Charcot, d'Alzheimer, de Parkinson et d'Huntington.

Ce projet est dédié à l'étude de la DPN qui peut conduire à une amputation chez les patients diabétiques suite à une altération de la gaine de myéline produite par les cellules de Schwann.

Nos collaborateurs ont récemment montré que les cellules de Schwann de souris diabétiques présentent un canal anionique voltage dépendant (VDAC-1) qui laisse échapper le calcium lorsqu'il n'est plus associé à son ligand l'hexokinase 1 (HK) ce qui induit la démyélinisation. Pour ce projet nous optimiserons des mimes peptidiques de HK réduisant la perméabilité de VDAC1 au calcium. En effet, nos premiers résultats montrent que les peptides que nous avons obtenus se lient à VDAC-1 et stoppent l'efflux de calcium.

Les résultats prometteurs de cette étude pluridisciplinaire ouvrent la voie à de nouvelles approches thérapeutiques dans la lutte contre la DPN qui pourraient être étendues aux pathologies neurodégénératives impliquant VDAC.

Deregulation of mitochondrial Ca²⁺ + homeostasis is a feature of various neurodegenerative diseases, such as peripheral diabetic neuropathy (DPN), Charcot, Alzheimer, Parkinson's and Huntington diseases.

This project is dedicated to the study of DPN which can lead to amputation in diabetic patients following an alteration of myelin sheath produced by Schwann cells.

Our collaborators have recently shown that Schwann cells in diabetic mice have a voltage-gated anionic channel (VDAC-1) that releases calcium when it is no longer associated with its ligand hexokinase 1 (HK), which induces demyelination. For this project we will optimize peptide mimics of HK reducing the permeability of VDAC1 to calcium. Indeed, our first results show that the peptides we obtained bind to VDAC-1 and stop the calcium efflux.

The promising results of this multidisciplinary study pave the way for new therapeutic approaches in the fight against DPN that could be extended to neurodegenerative pathologies involving VDAC.

Thématiques /Domaine /Contexte

Hypothèse scientifique et but :

Le canal anionique voltage dépendant VDAC-1 est un pore protéique situé sur la membrane extérieure de la mitochondrie qui est impliqué dans le métabolisme et l'apoptose. Les données scientifiques récentes soulignent l'importance de cette protéine dans différentes pathologie neurodégénératives liées à un dysfonctionnement de la mitochondrie.1 En effet, VDAC-1 constitue le site de liaison privilégié de différentes protéines et peptides impliquées dans les maladies d'Alzheimer, Huntington, Charcot, de Parkinson ou la neuropathie diabétique périphérique (DPN).

La DPN est le principal facteur de comorbidité associée au diabète et touche 50% des patients diabétiques. Sous sa forme aigüe, cette maladie se caractérise par une neuropathie démyélinisante chronique affectant la gaine de myéline produite par des cellules de Schwann. Le seul traitement existant est une bonne gestion du diabète, mais même ainsi, cela reste un problème chronique et la DPN représente 70% des amputations non traumatique aux États-Unis.

Chimie médicinale, peptidique, organique.

Nos résultats préliminaires ont montré que :

- 1- La démyélinisation du nerf périphérique peut être empêchée en inhibant VDAC avec l'olesoxime un dérivé de cholestérol se liant à VDAC-1.
 - 2- A l'opposé déplacer HK de VDAC par le méthyljasmonate (MJ) conduit à une démyélinisation spontanée.
 - 3- Des peptides dérivés de l'hélice N-terminale de HK-1 conjugués à un peptide perméant ont une affinité de l'ordre du micromolaire pour le récepteur VDAC. Ces composés antagonisent le relargage de calcium initié par le méthyljasmonate. Avec le soutien financier d'INSERM transfert, un alaskan est en cours pour identifier les aminoacides de l'hélice essentiels à la liaison avec VDAC-1.
 - 4- Un alaskan et une délétion séquentielle sont en cours. Les résultats de cette étude permettront de définir la séquence active minimale. le travail de thèse portera en partie sur l'optimisation de cette séquence.
- Ainsi, la liaison de HK à VDAC est essentielle pour le maintien de la myéline et mimer cette interaction peut représenter une nouvelle voie thérapeutique pour le traitement des maladies démyélinisantes telles que la DPN, mais également pour d'autres maladies neurodégénératives.

Objectifs

Notre projet propose de développer des composés capables d'empêcher la démyélinisation des nerfs périphériques en se liant à VDAC-1. En effet, il a été récemment montré que les cellules de Schwann de souris diabétiques ont un canal anionique voltage-dépendant (VDAC1) qui laisse fuir le calcium intracellulaire et empêcher ce relargage peut avoir des applications thérapeutiques.2 Dans les cellules saines VDAC-1 libère l'ATP qui est produit dans les mitochondries, mais pas Ca²⁺, ceci est contrôlé par une interaction étroite entre VDAC1 et l'hexokinase (HK). Toutefois, cette interaction se produit seulement de manière faible chez les sujets diabétiques ce qui induit une démyélinisation.

Méthode

Nous proposons de synthétiser et étudier des peptides dérivés de HK-1 en :

- 1- Introduisant dans l'hélice N-terminale des mutations par l'acide aminoisobutyrique (Aib) pour sa capacité à induire un repliement en hélice α et à renforcer la stabilité métabolique des peptides.
- 2- En synthétisant d'autres peptides dérivés des zones d'interaction de HK-1 avec VDAC. Le choix des peptides à synthétiser s'appuiera sur une étude des données cristallographiques existantes pour les deux protéines d'intérêt (VDAC-1 et HK-1) ainsi que sur un modèle d'interaction de ces deux protéines.
- 3- Remplaçant la liaison peptidique par des mimes résistants à la protéolyse (Triazole et 1,3-oxazole). Une étude structurale de ces mimes par RMN et diffraction des rayons X sera réalisée en insérant ces hétérocycles dans des peptides modèles.
- 4- Augmentant leur perméabilité cellulaire et la stabilité métabolique en ajoutant une terminaison hydrophobe en N-terminal selon une technologie que nous avons récemment développée et brevetée avec l'appui de la SATT.

5- Conjuguant les peptides les plus actifs à une sonde fluorescente pour analyser leur distribution cellulaire et la co-localisation avec VDAC.

Résultat attendu

Ce projet vise à développer des composés peptidiques mimes de HK-1 capables de se lier à VDAC-1 une cible thérapeutique émergente dans les maladies neurodégénératives. Afin d'améliorer l'efficacité, la spécificité, la biodisponibilité, la résistance à la biodégradation des peptides

Précision sur l'encadrement

Nombre de thèses actuellement encadrées par le directeur de thèse : 2 Suivi de thèse une réunion mensuelle. 100h de formations transversales dispensée par l'ED 305 ou le collège doctoral LR Comité de suivi individuel annuel;

Conditions scientifiques matérielles (conditions de sécurité spécifiques) et financières du projet de recherches

Les produits (aminoacides, autres réactifs et solvants), le matériel et l'accès aux bases de données (Reaxys, bibliovie ...) nécessaires au début du projet sont disponibles dans le laboratoire. Plus particulièrement, l'étudiant disposera d'un automate de synthèse peptidique sous champ micro-onde, des outils de purification HPLC, d'analyse RMN 1H et 13C et LC/MS.

Objectifs de valorisation des travaux de recherche du doctorant : diffusion, publication et confidentialité, droit à la propriété intellectuelle,...

Les objectifs minimum sont les suivants:

Diffusion : un congrès national et un congrès international.

Publication : Une publication dans une revue internationale

Collaborations envisagées

Ce projet s'appuie sur une approche pluridisciplinaire permettant d'évaluer l'activité biologique des peptides synthétisés (N. Tricaud, Equipe Myeline, Institut des Neurosciences de Montpellier INSERM U1051, Hopital St Eloi). Les peptides seront testés (i) à l'aide d'un test de liaison entre VDAC-1 et HK permettant d'observer et de mesurer la libération de calcium par VDAC1 sur cellule HEK293 transfectées avec une sonde fluorescente GCaMP2 ciblant la matrice des mitochondries. (ii) sur des modèl

Ouverture Internationale

Collaboration avec le laboratoire de J Abramson (David Geffen School of Medicine, UCLA, Los Angeles) qui a cristallisé le récepteur VDAC-1

Références bibliographiques

1. a) V. Shoshan-Barmatz, et al. VDAC, a multi-functional mitochondrial protein as a pharmacological target. *Mitochondrion* 1, 24-34 (2015). b) Magri, A. et al. Interactions of VDAC with proteins involved in neurodegenerative aggregation: an opportunity for advancement on therapeutic molecules. *Curr. Med. Chem.* (2017).
2. N. Tricaud et al. Methods and pharmaceutical compositions for treating demyelinating diseases. Brevet WO2016184988.
3. Rosano, C. Molecular model of hexokinase binding to the outer mitochondrial membrane porin (VDAC1): Implication for the design of new cancer therapies. *Mitochondrion* 11, 513–519 (2011).
4. N. Inguibert et al. Method for Improving the Capacity of a Compound to Pass Through Membranes. Brevet WO2017055286.
5. S. Hiller et al. The 3D structures of VDAC represent a native conformation. *Trends Biochem. Sci.* 35, 514–521 (2010).
6. S Das et al Enhancing the Antimicrobial Activity of Alamethicin F50/5 by Incorporating N-terminal Hydrophobic Triazole Substituents. *Chem Eur J.* 23, 17964-17972 (2017).
7. Valverde, I. E. et al. 1,2,3-Triazoles as Amide Bond Mimics: Triazole Scan Yields Protease-Resistant Peptidomimetics for Tumor Targeting. *Angew. Chem. Int. Ed.* 52, 8957–8960 (2013).
8. J.L. Li et al. Facile synthesis of 2,5-disubstituted oxazoles via a coppercatalyzed cascade reaction of alkenes with azides. *Chem Comm.* 51, 17772-17774 (2015)

