

Les isoprostanes, des lipides bioactifs marqueurs du stress oxydant

Thierry Durand, Valérie Bultel-Poncé, Alexandre Guy, Camille Oger et Jean-Marie Galano

Résumé

Les acides gras polyinsaturés, connus sous les appellations oméga 3 et oméga 6, sont les constituants majeurs des membranes cellulaires. Certains, comme les oméga 3, sont plébiscités pour leurs propriétés cardioprotectrices. Cet article met en lumière que ces acides gras polyinsaturés sont également les précurseurs de nombreux métabolites oxygénés, générés enzymatiquement ou par un mécanisme oxydatif initié par des radicaux libres. La peroxydation radicalaire des acides arachidonique, docosahexaénoïque et adrénique conduit, *in vivo*, à la formation d'isoprostanes, neuroprostanes et dihomos-isoprostanes. Ces métabolites, dérivés des acides gras polyinsaturés, possèdent un large spectre d'activités biologiques et sont aussi considérés comme les marqueurs du stress oxydant cellulaire les plus significatifs. C'est dans ce contexte que sont présentés les isoprostanes et leurs dérivés, à travers leurs biosynthèses, leur nomenclature IUPAC, la dernière stratégie de synthèse de ces lipides oxydés des auteurs, puis leur rôle comme biomarqueur du stress oxydant et certaines des activités biologiques découvertes jusqu'à aujourd'hui.

Mots-clés

Stress oxydant, acides gras polyinsaturés, isoprostanes, neuroprostanes, biomarqueurs, lipides bioactifs.

Abstract

Isoprostanes, bioactive lipids, biomarkers of oxidative stress

Polyunsaturated fatty acids, known as omega 3 and omega 6, are important constituents in all eukaryotic organisms and contribute to the structural integrity of biological membranes. Omega 3 polyunsaturated fatty acids are well known for their cardioprotective effects, but not only. In fact, polyunsaturated fatty acids can generate, by an enzymatic and/or a free-radical initiated mechanism, key metabolites which participate in a variety of pathophysiological processes. Oxidative stress conditions induce free radical-catalyzed peroxidation of polyunsaturated fatty acids and led *in vivo* to the formation of isoprostanes compounds which are now the most reliable indicators of oxidative stress in humans. In this review, the authors present some advances in their knowledge regarding these cyclic polyunsaturated fatty acid metabolites, and how their biological roles may be clarified through new approaches based on analytical and synthetic organic chemistry.

Keywords

Oxidative stress, polyunsaturated fatty acids, isoprostanes, neuroprostanes, biomarkers, bioactive lipids.

Les acides gras polyinsaturés, tels les oméga 3 et les oméga 6, sont largement médiatisés par l'industrie agroalimentaire, notamment pour leur côté protecteur vis-à-vis des maladies cardiovasculaires, mais on parle moins de leurs multiples rôles physiologiques dans les divers compartiments d'un organisme vivant. Certains de leurs dérivés oxygénés sont plus précisément étudiés depuis quelques années, tant au niveau de leur biosynthèse que de leur activité comme marqueurs de certaines pathologies. Leur synthèse chimique devient alors l'élément incontournable de ces études.

Chez les mammifères, l'acide arachidonique (AA, C20:4 n-6) est présent, estérifié aux phospholipides des membranes cellulaires. Lors d'un stress oxydant, il est peroxydé selon un mécanisme radicalaire qui conduit à la biosynthèse des isoprostanes (IsoP) (*figure 1*). L'augmentation du taux d'isoprostanes est mise en évidence par exemple dans des maladies neurodégénératives ou encore des

maladies cardiovasculaires. La quantification du stress oxydant lipidique est alors possible, par la mesure du taux d'isoprostanes, considérées comme des marqueurs standards de la peroxydation lipidique [1].

La peroxydation radicalaire de l'acide docosahexaénoïque (DHA, C22:6 n-3), acide gras particulièrement présent dans la matière grise du cerveau humain, conduit à la formation des neuroprostanes (NeuroP, *figure 1*), qui pourraient, par analogie, s'avérer être des marqueurs spécifiques du stress oxydant neuronal [2-3].

Chez le primate et chez l'Homme, on note une forte concentration en acide adrénique (AdA, C22:4 n-6) dans la myéline (composant principal de la matière blanche) et la rétine. La peroxydation de l'acide adrénique conduit quant à elle à une nouvelle classe d'isoprostanes, les dihomos-isoprostanes (dihomo-IsoP, *figure 1*) [4].

C'est en 1990 que Morrow *et coll.* ont mis en évidence la formation *in vivo* chez l'Homme des isoprostanes, isomères

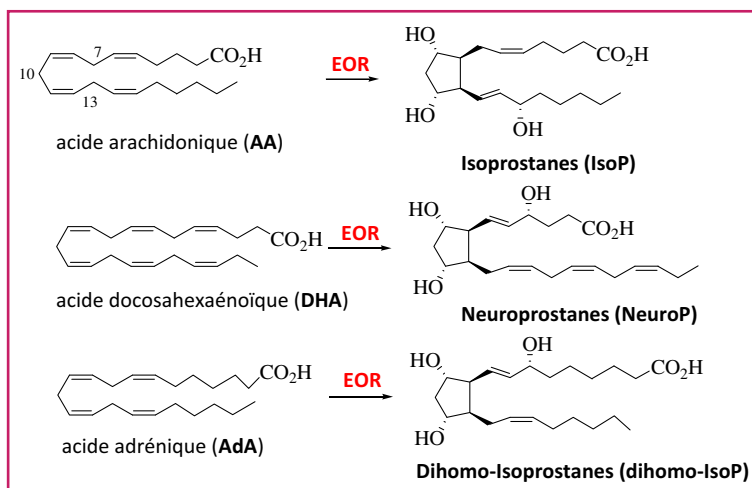


Figure 1 - Métabolites dérivant de la peroxydation radicalaire de différents acides gras polyinsaturés chez les vertébrés.

EOR : espèces oxygénées réactives.

l'oxygène, comme l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), leur confère des qualités de régulateurs de nombreuses fonctions biologiques. Cependant, certaines espèces radicalaires plus réactives, en particulier les radicaux hydroxyles ($HO^{\bullet}$) ou peroxydes ($HOO^{\bullet}$) sont à l'origine des réactions de peroxydation des lipides.

La peroxydation de l'acide arachidonique débute par l'abstraction d'un atome d'hydrogène par des espèces telles que $HO^{\bullet}$ ou $HOO^{\bullet}$, sur l'une des trois positions bis-allyliques C-7, C-10, C-13 (figure 2). Le radical penta-diényl formé réagit avec une molécule de dioxygène moléculaire pour former un radical peroxy qui subit alors une réaction de cyclisation intramoléculaire, pour former un endoperoxyde et un cycle à cinq carbones. Le radical allylique généré réagit avec une deuxième molécule de dioxygène, provoquant l'arrêt de la séquence réactionnelle. Au final, la réduction de l'endoperoxyde et de l'hydroperoxyde allylique conduit à quatre régioisomères/séries d'isoprostanes (séries 5, 8, 12 et 15). Morrow *et coll.* ont montré que les séries 5 et 15 sont prépondérantes [5].

des prostaglandines (PG), par peroxydation radicalaire de l'acide arachidonique suivant un mécanisme non enzymatique. Afin de déterminer si les isoprostanes possédaient des activités biologiques intrinsèques, l'une d'entre elles, la 15-F_{2t}-IsoP (8-iso-PGF_{2α}), a été injectée dans un rein de rat, soit dans une veine périphérique (5 µg/mn), soit directement dans le rein (0,5-2,0 µg/kg par mn), avec comme conséquence la réduction de la pression sanguine et du taux de filtration [5]. Les isoprostanes ont donc bien des activités biologiques qui leur confèrent un rôle de médiateur dans un contexte de stress oxydant. De plus, leur quantification dans l'urine et le plasma permet une mesure précise, non invasive et représentative de la peroxydation lipidique chez l'Homme [6].

La formation d'isoprostanes, de neuroprostanes, et très récemment des dihomo-isoprostanes, a été démontré, *in vitro* et *in vivo*, mais leur identification précise et leur quantification dans les liquides biologiques reste encore à étudier. Pour cela, il est nécessaire de disposer des molécules de référence que seuls peuvent apporter les chimistes. Les collaborations entre chimistes, biochimistes et cliniciens sont indispensables pour démontrer le rôle de ces composés oxydés des acides gras polyinsaturés, comme biomarqueurs, mais également leur implication dans diverses autres activités biologiques, telles que celles rapportées précédemment, par exemple dans la rétine et sur le rythme cardiaque.

Peroxydation *in vivo* des acides gras polyinsaturés

Le bon fonctionnement de l'organisme dépend de l'équilibre entre d'une part les espèces pro-oxydantes capables de produire des radicaux libres et de propager une attaque oxydante visant les biomolécules telles que les lipides, et d'autre part un système de défense de l'organisme destiné à les neutraliser, qu'il s'agisse d'antioxydants endogènes ou apportés par l'alimentation.

À l'état naturel, la forme stable du dioxygène, l'oxygène triplet, est un diradical. La faible réactivité des radicaux de

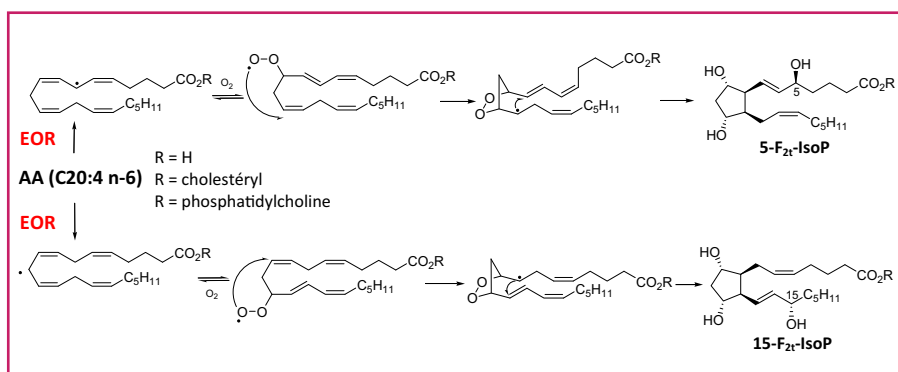


Figure 2 - Mécanisme radicalaire non enzymatique de la formation des isoprostanes. Exemple de la 5-F_{2t}-IsoP et de la 15-F_{2t}-IsoP.

EOR : espèces oxygénées réactives (ex. : $OH^{\bullet}$).

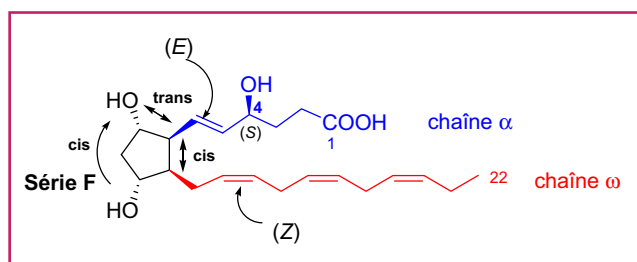
Suivant le même mécanisme, le DHA conduit à huit régioisomères/séries de neuroprostanes, avec prédominance des séries 4 et 20 ; l'acide adrénique conduit à quatre régioisomères/séries de dihomo-isoprostanes, où les séries 7 et 17 sont les plus abondantes [2-4].

Isoprostanes et prostaglandines, analogies et différences

Les isoprostanes sont des isomères des prostaglandines. Leur principale différence est d'ordre structural. En effet, dans le cas des isoprostanes, les chaînes latérales sont orientées en *cis* l'une par rapport à l'autre, alors que dans les prostaglandines, l'orientation est *trans*.

La seconde différence est liée au fait que les isoprostanes sont formées *in situ* par peroxydation, principalement, de l'acide gras polyinsaturé estérifié sous forme de phospholipides membranaires et sont ensuite libérées dans les fluides biologiques par action d'une phospholipase, alors que les prostaglandines sont générées à partir d'acide arachidonique libre.

Enfin, la biosynthèse enzymatique des prostaglandines, via les cyclooxygénases, génère des métabolites énantiomériquement purs alors que la peroxydation radicalaire conduit à de nombreux stéréo- et régioisomères d'isoprostanes sous forme racémique. Il a ainsi été nécessaire de définir une

Figure 3 - La 4-F_{4t}-NeuroP.

nomenclature afin de nommer précisément ces différents régioisomères, et de standardiser leur dénomination afin de fournir à tous les scientifiques une même référence. Cette nomenclature, développée par Taber *et coll.* [7], a été reconnue par l'IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) et sera utilisée dans cet article.

La première classe d'isoprostanes découverte a été la série F. Cette dénomination provient de la structure des prostaglandines : un cycle à cinq carbones possédant deux chaînes latérales et deux fonctions alcool. S'appuyant sur l'analogie avec les prostaglandines, l'alcool allylique est par convention de configuration absolue S pour décrire les isoprostanes. L'épimère de cette position conduira à une configuration absolue R et le terme « épi » sera mentionné dans le nom de la molécule (figure 3).

La chaîne α est celle qui porte l'acide carboxylique, la seconde chaîne est notée ω par analogie à la nomenclature des lipides.

Ainsi, la position de l'alcool allylique donne le numéro de la série (ex : 4-F_{4t}-NeuroP = série 4), qui est suivi du type de série (ici série F). En indice sont indiqués le nombre d'insaturations portées par les chaînes latérales et leurs positions relatives à l'alcool porté par le cyclopentane (ici en trans = t).

Synthèses totales des isoprostanes et de leur analogues

La synthèse totale des métabolites des acides gras polyinsaturés, énantiomériquement enrichis, répond à un double défi. D'une part, il s'agit de rechercher la ou les stratégie(s) offrant la plus grande souplesse pour élaborer la synthèse d'un grand nombre de métabolites lipidiques⁽¹⁾. D'autre part, il est nécessaire de synthétiser des composés purs et bien identifiés pour en étudier précisément les effets biologiques.

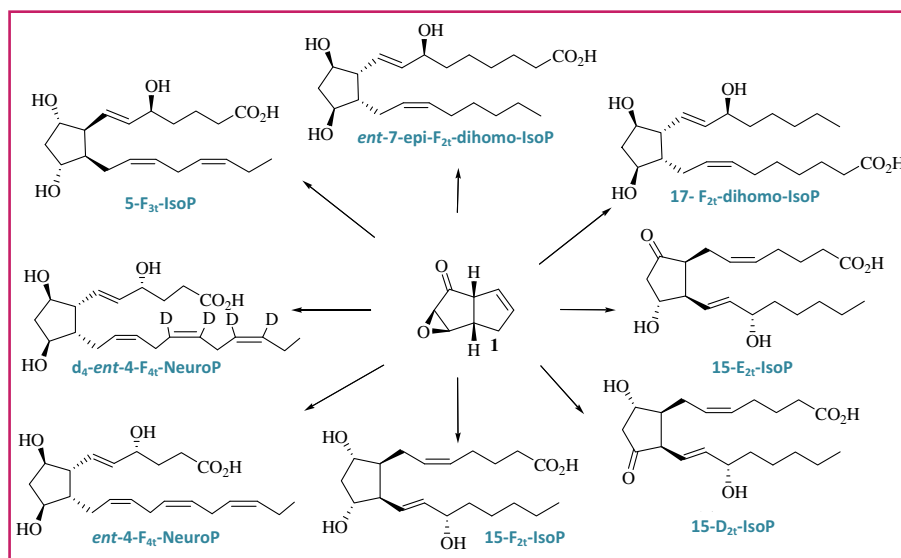
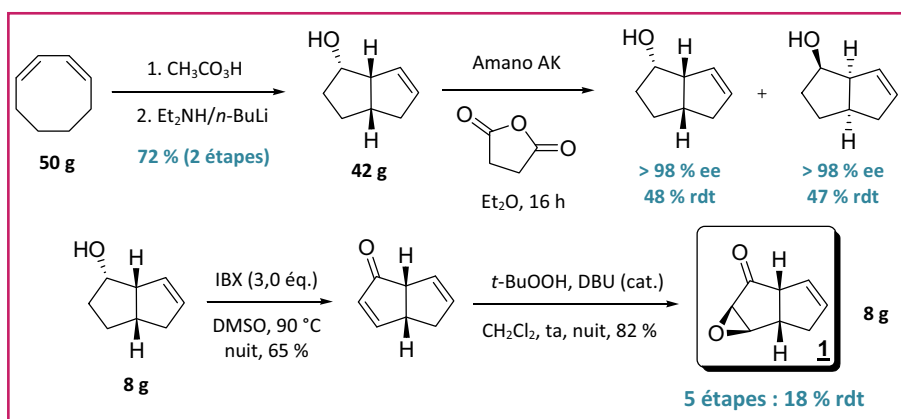
Au cours des dernières années, notre équipe a expérimenté plusieurs stratégies, dont la plus récente, particulièrement efficace, est basée sur l'obtention d'un intermédiaire clé, un bicyclo[3.3.0]octène céto-époxyde **1** [8] à partir duquel les synthèses divergent afin d'obtenir les différentes séries d'isoprostanes, neuroprostanes et dihomoisoprostanes (figure 4).

Le 1,3-cyclooctadiène, commercial, subit une monoépoxydation suivie d'une réaction d'insertion CH pour conduire à un alcool

bicyclique sous forme racémique. Ce composé est déracémisé en présence de lipase Amano AK et d'anhydride succinique, et les deux alcools énantiomériquement enrichis sont obtenus avec de très bons rendements et de très bons excès énantiomériques, par simples extractions liquide/liquide. L'alcool bicyclique est oxydé en énone en présence d'IBX (acide 2-iodoxybenzoïque), puis une réaction d'époxydation régiosélective de l'énone permet d'obtenir le céto-époxyde **1** (figure 5).

Après plusieurs étapes – réduction chimiosélective, protection, ozonolyse/réduction et protection régiosélective –, les chaînes latérales sont introduites par réaction de Wittig, d'Horner-Wadworth-Emmons et de métathèse. Des protections orthogonales ont permis l'obtention d'isoprostanes de série F, mais également des séries D et E (figure 4). De plus, des modifications des chaînes latérales ont permis les synthèses de dihomoisoprostanes et de neuroprostanes (figure 4) [9-11]. D'autres séries d'isoprostanes et neuroprostanes sont en cours de synthèse.

L'obtention par les chimistes de ces métabolites oxygénés, purs et en quantité suffisante, est indispensable pour que biologistes et cliniciens puissent réaliser les études nécessaires pour éclairer le rôle biologique de tels lipides sur différents modèles *in vivo* ou *in vitro* [1]. La littérature rapporte plusieurs de ces études [12], notamment depuis que certains isoprostanes (comme la 15-F_{2t}-IsoP) sont commercialement disponibles.

Figure 4 - Synthèses des IsoP/NeuroP/Dihomo-IsoP à partir du céto-époxyde **1**.Figure 5 - Stratégie de synthèse de l'intermédiaire clé : le céto-époxyde **1**.

Par ailleurs, la détection et l'identification de ces lipides dans les fluides comme le plasma et l'urine apportent des informations sur les tissus qui sont le siège des attaques oxydantes, puisque, comme nous l'avons vu, certains acides gras polyinsaturés sont concentrés dans des tissus spécifiques, comme le DHA dans les neurones, l'acide adrénique dans la myéline ; la quantification de ces lipides donne des informations sur la gravité de cette attaque.

La quantification des isoprostanes et de leurs analogues

La quantité d'isoprostanes présentes dans les fluides biologiques dépend de nombreux facteurs, dont l'âge, le sexe et les variations physiopathologiques dues à différentes maladies. De plus, des facteurs exogènes comme le régime alimentaire, la pratique du sport, le statut de fumeur ou de non-fumeur, etc. affectent également le taux basal d'isoprostanes.

Un grand nombre de méthodologies sont à présent disponibles pour le dosage des isoprostanes [1, 13]. La chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse GC-MS en ionisation chimique en mode négatif est de loin la plus couramment utilisée. Elle nécessite de « dériver » la biomolécule : la fonction acide carboxylique des isoprostanes est dérivée en ester pentafluorobenzyle, et les fonctions alcool en éthers de triméthylsilyle. L'ionisation chimique fournit des spectres de masse caractéristiques, présentant peu de fragments. Les étalons internes utilisés pour la quantification des biomolécules sont majoritairement des isoprostanes deutérées disponibles commercialement. Les métabolites urinaires des isoprostanes peuvent être mesurés sur une période de temps prolongée, ce qui a permis de montrer la formation chez l'Homme, parmi d'autres métabolites, de la 2,3-dinor-5,6-dihydro-15-F_{2t}-IsoP à partir de la 15-F_{2t}-IsoP [6, 14].

Parallèlement à la spectrométrie de masse, des kits de type Elisa (EIA) ou radio-immunologiques (RIA) ont été développés [15]. Ils sont relativement simples et rapides à mettre en œuvre, cependant leur précision est compromise par des interférences avec des substances présentes dans les fluides biologiques étudiés. Des étapes de purification sont donc nécessaires avant d'effectuer le test.

Les analyses par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) utilisées pour le dosage des isoprostanes utilisent la LC en phase inverse et l'électrospray ESI/MS en mode positif [16]. Les échantillons biologiques peuvent être purifiés sur colonne d'immuno-affinité (IAC), puis ensuite sur phase inverse avant l'analyse par ESI/MS. Les dosages par LC-MS en tandem ESI/MS/MS ont permis la discrimination des épimères sur le carbone portant la fonction alcool allylique d'une même isoprostane. Les métabolites de la 15-F_{2t}-IsoP ont également été dosés par cette méthode [17-20].

Les applications en médecine humaine

Les métabolites de ces acides gras sont reconnus comme marqueurs dans plusieurs pathologies humaines sérieuses ou graves. Grâce à nos compétences en synthèse et en analyse, nous avons pu établir une collaboration efficace avec plusieurs laboratoires, français et étrangers, particulièrement dans les trois exemples rapportés ci-après.

Le diagnostic du syndrome de Rett

En collaboration avec l'équipe de Claudio de Felice, neuropédiatre en Italie, nous avons récemment montré que les

F_{2t}-dihomo-isoprostanes sont des marqueurs spécifiques de la dégradation de la myéline dans le stade 1 (0 à 18 mois) du syndrome de Rett. Il s'agit d'une maladie génétique rare (1/10 000 naissances), neurodéveloppementale, ayant pour particularité de toucher principalement les filles, en raison de mutations sur le chromosome X [21]. Ce syndrome s'exprime selon quatre stades successifs, dont le premier est très difficile à diagnostiquer car souvent confondu avec l'autisme. Nous avons montré que dans le premier stade de la maladie, le taux plasmatique de F_{2t}-dihomo-isoprostanes est de 185,9 pg/mL (contre 1,2 pg/mL chez un sujet sain). Ce taux diminue au cours des trois stades suivants, passant à 3,75 au stade 2, puis à 2,65 au stade 3, et enfin à 2,53 pg/mL au stade 4. Un nourrisson porteur de la maladie (anomalie du gène MECP2) naîtra apparemment en bonne santé, et il ne développera les premiers signes cliniques visibles (développement de graves troubles neurologiques, psychomoteurs, gastriques et pulmonaires) qu'entre 6 et 18 mois. Le taux plasmatique élevé en F_{2t}-dihomo-isoprostanes au premier stade de la maladie semble indiquer que l'attaque oxydante cérébrale est alors à son paroxysme, et qu'il donne une information pertinente sur l'évolution probable de la maladie. En effet, nous avons montré que le taux plasmatique de F_{2t}-isoprostanes et de F₄-neuroprostanes est corrélé avec la gravité des effets cliniques observés [22]. Ce qui confirme l'intérêt des dihomoisoprostanes, qui seraient alors de nouveaux biomarqueurs précoces du syndrome de Rett.

La fonction visuelle : effets biologiques des isoprostanes et neuroprostanes

Catherine Opere (Creighton University, Omaha) a testé différentes isoprostanes et neuroprostanes synthétisées par notre équipe : 5-F_{2t}-IsoP et 5-*epi*-F_{2t}-IsoP (dérivant de l'acide arachidonique) ; 4-F_{3t}-NeuroP et 4-*epi*-F_{3t}-NeuroP (dérivant de l'acide docosapentaénoïque, DPA C22:5 n-6) ; 4(RS)-F_{4t}-NeuroP (dérivant du DHA). Elle observe deux types d'inhibition de la sécrétion d'aspartate. Les isoprostanes et neuroprostanes dont l'alcool allylique est de configuration S, (5-F_{2t}-IsoP, 4-F_{3t}-NeuroP), ainsi que la 4(RS)-F_{4t}-NeuroP, présentent un minimum d'inhibition pour une concentration de 10⁻⁸ à 10⁻⁷ M respectivement. Les isoprostanes et neuroprostanes dont l'alcool allylique est de configuration R présentent un effet dose-réponse. Cependant, la 5-*epi*-F_{2t}-IsoP active les récepteurs EP₁, alors que la 4-*epi*-F_{3t}-NeuroP active les récepteurs EP₂, EP₃ ou DP et non les EP₁ [23].

Ainsi, les isoprostanes et neuroprostanes synthétiques montrent effectivement une activité modulatrice de la circulation sanguine dans la rétine.

Les acides gras oméga 3, leurs métabolites et l'arythmie cardiaque

Depuis les années 1970, plusieurs études scientifiques ont montré qu'une consommation accrue d'huile de poisson, riche en acides gras polyinsaturés oméga 3, avait des effets cardioprotecteurs [24]. Ils ne préviennent pas l'infarctus, mais ils agissent en réduisant les arythmies, ces irrégularités du rythme cardiaque qui se produisent après un infarctus et peuvent provoquer le décès soudain du patient. À l'heure actuelle, leurs mécanismes d'action sont encore débattus et il n'existe pas de traitement efficace pour ces arythmies. Chimistes et physiologistes associés se proposent d'apporter des réponses à ces questions.

Les acides gras polyinsaturés, comme nous l'avons vu ci-dessus, peuvent être oxydés au sein même des phospholipides membranaires et libérés dans les fluides biologiques. Judé

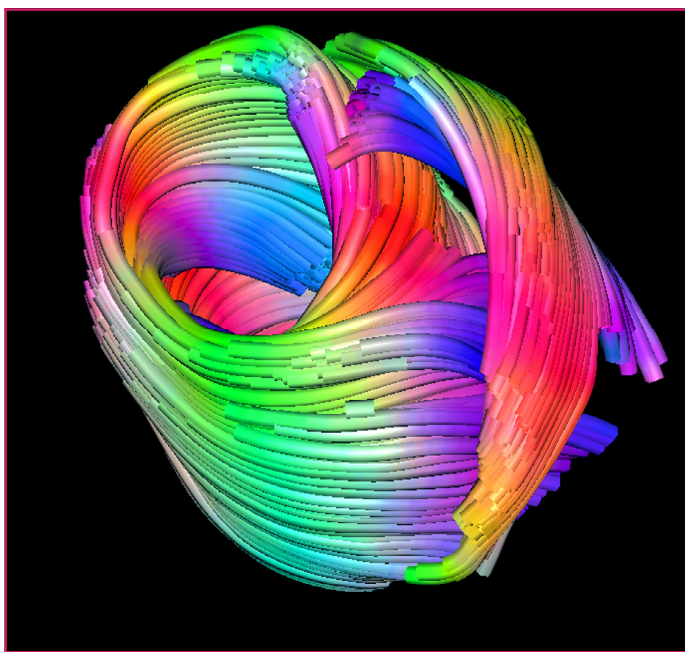


Figure 6 - Cœur de porc observé grâce à l'imagerie par résonance magnétique de diffusion (IRM de diffusion). En mesurant les déplacements microscopiques des molécules d'eau au sein des fibres musculaires cardiaques, cette technique permet de reconstituer l'organisation de ces fibres (« spaghettis » multicolores). Leur orientation est un bon indicateur de l'intégrité et de la fonctionnalité du cœur (UMR 5220, Centre de Recherche en Acquisition et Traitement de l'Image pour la Santé (CREATIS), Villeurbanne).

et coll. ont donc émis l'hypothèse que des métabolites oxygénés dérivant de leur peroxydation pourraient avoir une activité anti-arythmique [25]. Dans un premier temps, nous avons réalisé la synthèse de ces métabolites oxygénés (isoprostanes et neuroprostanes). Une fois disponibles en quantité suffisante, leurs effets biologiques ont été testés par Jean-Yves Leguennec et son équipe de physiologistes (INSERM, Montpellier) sur les cellules cardiaques d'animaux sains ou ayant subi un infarctus du myocarde. Leur potentiel anti-arythmique a ainsi pu être évalué. En parallèle, nous étudions une méthode pour mesurer la quantité des métabolites des acides gras polyinsaturés dans le plasma, ce qui nous permettra de déterminer la concentration à laquelle ces isoprostanes seraient actives.

Les résultats de cette approche originale viennent de faire l'objet d'un brevet [26] en mettant à jour une nouvelle famille d'anti-arythmiques potentiels, et une étude approfondie permettra de préciser les mécanismes complexes conduisant à l'effet anti-arythmique de ces métabolites oxygénés de l'acide arachidonique et du DHA.

Conclusion

Les voies enzymatiques (cyclooxygénases, lipoxygénases) de la cascade arachidonique ont fourni un nombre important de métabolites oxygénés cycliques et acycliques, dont les prostaglandines biologiquement actives décrites à l'aube des années 1930.

La biosynthèse des isoprostanes, dérivant d'une peroxydation de l'acide arachidonique, non enzymatique mais catalysée par l'action des radicaux libres, a été mise en évidence chez l'Homme dans les années 1990 et a ouvert l'ère des isoprostanes. Par la suite, l'étude de la peroxydation des

différents acides gras polyinsaturés a conduit à décrire les neuroprostanes (issues du DHA) et les F_{2t}-dihomo-IsoP (issues de l'AdA). Grâce à la synthèse organique, ces métabolites oxygénés cycliques ont pu être détectés et éventuellement quantifiés dans différents fluides biologiques. Il a ainsi été établi que ces métabolites sont d'excellents marqueurs du stress oxydant lipidique. La contribution du chimiste, indispensable pourvoyeur en molécules pures et structuralement bien définies, a déjà conduit à l'identification de certaines des activités biologiques attribuables aux isoprostanes et neuroprostanes. La collaboration entre chimistes, biochimistes et cliniciens permet déjà et devrait permettre dans les prochaines années, de préciser les mécanismes biologiques et cellulaires mis en jeu, et peut-être de nouvelles cibles thérapeutiques nous seront alors dévoilées.

Les auteurs remercient tous leurs collaborateurs : chimistes, biochimistes, cliniciens, biologistes, ainsi que le CNRS, le Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche, l'Université Montpellier 1 (BQR 2008 et 2011), le PEP II INSB-INC, la Fondation pour la Recherche Médicale (DCM20111223047) et l'INRA (INRA-AlimH 2008-2010) pour leurs contributions financières.

Note et références

- [1] D'autres équipes de chimistes se sont intéressées aux isoprostanes et différentes stratégies de synthèse ont été décrites dans la littérature. Celles-ci sont résumées dans une revue publiée en 2008 [1].
- [2] Jahn U., Galano J.M., Durand T., Beyond prostaglandins: chemistry and biology of cyclic oxygenated metabolites formed by free-radical pathways from polyunsaturated fatty acids, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, 47, p. 5894.
- [3] Nourooz-Zadeh J., Liu E.H., Anggard E., Halliwell B., F₄-isoprostanes: a novel class of prostanoids formed during peroxidation of docosahexaenoic acid (DHA), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1998**, 242, p. 338.
- [4] Roberts II L.J., Montine T.J., Markesbery W.R., Tapper A.R., Hardy P., Chemtob S., Dettbarn W.D., Morrow J.D., Formation of isoprostane-like compounds (neuroprostanes) *in vivo* from docosahexaenoic acid, *J. Biol. Chem.*, **1998**, 273, p. 13605.
- [5] VanRollins M., Woltjer R.L., Yin H., Morrow J.D., Montine T.J., F₂-Dihomo-isoprostanes arise from free radical attack on adrenic acid, *J. Lipid Res.*, **2008**, 49, p. 995.
- [6] Morrow J.D., Hill K.E., Burk R.F., Nammour T.M., Badr K.F., Roberts II L.J., A series of prostaglandin F₂-like compounds are produced *in vivo* in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism, *PNAS*, **1990**, 87, p. 9383.
- [7] Special issue: Lipid biochemistry, metabolism, and signaling, *Chem. Rev.*, **2011**, 111(10), p. 5817-6512.
- [8] Taber D.F., Morrow J.D., Roberts II L.J., A nomenclature system for isoprostanes, *Prostaglandins*, **1997**, 53, p. 63.
- [9] Oger C., Brinkmann Y., Bouazzaoui S., Durand T., Galano J.-M., Stereoccontrolled access to isoprostanes via a bicyclo[3.3.0]octene framework, *Org. Lett.*, **2008**, 10, p. 5087.
- [10] Brinkmann Y., Oger C., Guy A., Durand T., Galano J.M., Total synthesis of 15-D_{2t}- and 15-epi-15E_{2t}-isoprostanes, *J. Org. Chem.*, **2010**, 75, p. 2411.
- [11] Oger C., Bultel-Poncé V., Guy A., Balas L., Rossi J.-C., Durand T., Galano J.M., The handy use of Brown's catalyst for a skipped diyne deuteration: application to the synthesis of a d₄-labelled-F_{4t}-neuroprostaglandin, *Chem. Eur. J.*, **2010**, 16, p. 13976.
- [12] Oger C., Bultel-Poncé V., Guy A., Durand T., Galano J.-M., Total syntheses of isoprostanes derived from AdA and EPA, *Eur. J. Org. Chem.*, **2012**, p. 2621.
- [13] Milne G.L., Yin H., Hardy K.D., Davies S.S., Roberts L.J., Isoprostane generation and function, *Chem. Rev.*, **2011**, 111, p. 5973.
- [14] Berdeaux O., Scruel O., Cracowski J.-L., Durand T., F₂-isoprostanes: review of analytical methods, *Curr. Pharm. Anal.*, **2006**, 2, p. 69.
- [15] Schwedhelm E., Tsikas D., Durand T., Gutzki F.-M., Guy A., Rossi J.-C., Frolich J.C., Tandem mass spectrometric quantification of 8-iso-prostaglandin F₂[α] and its metabolite 2,3-dinor-5,6-dihydro-8-iso-prostaglandin F₂[α] in human urine, *J. Chromatogr. B: Biomedical Sciences and Applications*, **2000**, 744, p. 99.
- [16] Basu S., Radioimmunoassay of 8-iso-prostaglandin F₂[α]: an index for oxidative injury via free radical catalysed lipid peroxidation, *Prostaglandins, Leukotrienes Essent. Fatty Acids*, **1998**, 58, p. 319.
- [17] Michel F., Bonnefont-Rousselot D., Mas E., Drai J., Thérond P., Biomarkers of lipid peroxidation: analytical aspects, *Annales de Biologie Clinique*, **2008**, 66, p. 605.
- [18] Liang Y., Wei P., Duke R.W., Reaven P.D., Harman S.M., Cutler R.G., Heward C.B., Quantification of 8-iso-prostaglandin-F₂[α] and 2,3-dinor-8-iso-prostaglandin-F₂[α] in human urine using liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Free Radic. Biol. Med.*, **2003**, 34, p. 409.

- [18] Brose S.A., Thuen B.T., Golovko M.Y., LC/MS/MS method for analysis of Ev(2) series prostaglandins and isoprostanes, *J. Lipid Res.*, **2011**, 52, p. 850.
- [19] Medina S., Domínguez-Perles R., Gil J., Ferreres F., García-Viguera C., Martínez-Sanz J., Gil-Izquierdo A., A ultra-pressure liquid chromatography/triple quadrupole tandem mass spectrometry method for the analysis of 13 eicosanoids in human urine and quantitative 24 hour values in healthy volunteers in a controlled constant diet, *Rapid Commun Mass Spectrom.*, **2012**, 26, p. 1249.
- [20] Prasain J.K., Arabshahi A., Taub P.R., Sweeney S., Moore R., Sharer J.D., Barnes S., Simultaneous quantification of F2-isoprostanes and prostaglandins in human urine by liquid chromatography tandem-mass spectrometry, *J. Chromatogr. B*, **2013**, 913-914, p. 161.
- [21] De Felice C., Signorini C., Durand T., Oger C., Guy A., Bultel-Poncé V., Galano J.-M., Ciccoli L., Leoncini S., D'Esposito M., Filosa S., Pecorelli A., Valacchi G., Hayek J., F2-dihomo-isoprostanes as potential early biomarkers of lipid oxidative damage in Rett syndrome, *J. Lipid Res.*, **2011**, 52, p. 2287.
- [22] De Felice C., Signorini C., Durand T., Ciccoli L., Leoncini S., D'Esposito M., Filosa S., Oger C., Guy A., Bultel-Poncé V., Galano J.-M., Pecorelli A., De Felice L., Valacchi G., Hayek J., Partial rescue of Rett syndrome by ω -3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) oil, *Genes and Nutrition*, **2012**, 7, p. 447.
- [23] Jamil J., Wright A., Harrison N.C., Kegey E., Flowers A.F., Flyod N.J., Kotera C., Guy A., Galano J.-M., Durand T., Njie-Mbye Y.F., Ohia S.E., Opere C.A., Regulation of [3H]D-aspartate release by the 5-F2t-isoprostane and its 5-epimer in isolated bovine retina, *Neurochem Res.*, **2012**, 37, p. 574.
- [24] GISSI-Prevenzione Investigators, Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial, *Lancet*, **1999**, 354, p. 447.
- [25] Judé S., Bedut S., Roger S., Pinault M., Champeroux P., White E., Le Guennec J.-Y., Peroxidation of docosahexaenoic acid is responsible for its effects on I TO and I SS in rat ventricular myocytes, *Br. J. Pharmacol.*, **2003**, 139, p. 816.
- [26] Le Guennec J.-Y., Galano J.-M., Oger C., Thireau J., Roy J., Bultel-Poncé V., Guy A., Durand T., *Methods and pharmaceutical composition for the treatment and prevention of cardiac arrhythmias*, European patent EP12306519.3, 5 décembre 2012.



T. Durand



V. Bultel-Poncé



A. Guy



C. Oger

Thierry Durand (auteur correspondant), directeur de recherche au CNRS, est directeur du département Lipides de l'Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM) et responsable de l'équipe Synthèse de Lipides Bioactifs*.

Valérie Bultel-Poncé est ingénieure d'études à l'Université Montpellier 1*.

Alexandre Guy est ingénieur de recherche au CNRS*.

Camille Oger est maître de conférences à l'Université Montpellier 1 et présidente de la section régionale Languedoc-Roussillon de la Société Chimique de France.

Jean-Marie Galano est chargé de recherche au CNRS*.



J.-M. Galano

* Institut des Biomolécules Max Mousseron IBMM, UMR 5247 CNRS/ Université Montpellier 1/Université Montpellier 2/ENSCM, Faculté de Pharmacie, 15 avenue Charles Flahault, F-34093 Montpellier Cedex 05. Courriel : Thierry.Durand@univ-montp1.fr

From Pharma to Cosmetics
High quality manufacturing

MINASOLVE®

Bio-ingredients for your applications

- Preservative solutions
- Actives and green ingredients

