



HAL
open science

Conception, caractérisation et évaluation de nouveaux radiotraceurs pour le diagnostic et le traitement du cancer du sein et de la prostate

Tesnim Dallagi

► **To cite this version:**

Tesnim Dallagi. Conception, caractérisation et évaluation de nouveaux radiotraceurs pour le diagnostic et le traitement du cancer du sein et de la prostate. Génie chimique. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2010. Français. NNT : 2010PA066395 . tel-00814837

HAL Id: tel-00814837

<https://theses.hal.science/tel-00814837>

Submitted on 17 Apr 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Thèse de doctorat
de l'Université de Pierre et Marie Curie (Paris VI) et
de l'Université de Tunis El Manar

Ecole Doctorale de Chimie Moléculaire

Spécialité : Chimie Bioorganométallique

Présentée par **Tesnim DALLAGI**

Pour obtenir le grade de *Docteur de l'université Paris VI* et le grade de
Docteur de l'université de Tunis El Manar

**Conception, caractérisation et évaluation de nouveaux
radiotraceurs
pour le diagnostic et le traitement du Cancer du Sein et de
la Prostate**

Soutenue le 12 Octobre 2010

Devant le Jury composé de

Pr. Mohamed AMRI	Examineur
Dr. Kamel KACEM	Rapporteur
Dr. Christophe BIOT	Rapporteur
Dr. Eric Rose	Examineur
Dr. Mouldi SAIDI	CoDirecteur
Dr. Siden TOP	CoDirecteur

Thèse préparée à l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Paris (France)
et au Centre National des Sciences et Technologies Nucléaires (Tunisie).

Remerciements

Ce travail de recherche a été effectué dans le Laboratoire des Radiopharmaceutiques, situé au CNSTN (Centre National des Sciences et Technologies Nucléaires à Sidi Thabet, Tunis) et dans le Laboratoire de Charles Friedel, situé à l'ENSCP (Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Paris), associé au CNRS UMR 7576.

Je remercie le Pr. Gérard Jaouen pour m'avoir accueilli dans son laboratoire. Je lui exprime ma plus grande gratitude.

Je tiens à exprimer ma gratitude à mon directeur le Dr. Mouldi Saidi pour m'avoir accueilli au sein de son unité de recherche au CNSTN et pour avoir dirigé mes travaux. Je le remercie de m'avoir transmis ses connaissances précieuses et le savoir faire nécessaire dans le domaine des radiopharmaceutiques.

J'adresse mes plus sincères remerciements au Dr. Siden Top, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et dirigé ce travail doctoral. Et parce que la réussite d'un projet de recherche est avant tout basée sur la confiance, je lui suis reconnaissante de m'avoir accordé la sienne durant ces années pour mener ce sujet et d'avoir su me laisser la liberté nécessaire à l'accomplissement de mes travaux. Je le remercie de son dynamisme communicatif et ses encouragements m'ont été d'un grand secours tout au long de ces années.

Je remercie le Pr. Mohamed AMRI (Faculté des Sciences de Tunis) pour avoir accepté d'être le président de mon jury. Je remercie également le Dr Eric ROSE, Directeur de Recherche au CNRS (Université Pierre et Marie Curie), le Dr. Kamel KACEM (Faculté des Sciences de Bizerte)), ainsi que le Dr. Christophe BIOT (Université de Lille 1) d'avoir accepté de juger mon travail.

Je remercie Madame Nadia Melek Saied, du laboratoire des Radiopharmaceutiques pour sa disponibilité et son soutien.

Je voudrais tout particulièrement remercier le Dr. Pigeon, du laboratoire Charles Friedel pour sa gentillesse et son aide, notamment lors des synthèses chimiques. Je remercie aussi le Dr. Rager pour avoir effectué les spectres RMN, ainsi que pour sa disponibilité.

Merci à tous les membres de l'équipe des Radiopharmaceutiques et de l'équipe de la partie chimie de laboratoire Charles Friedel, passés et présents, avec qui j'ai partagé un bout de paillasse, des discussions scientifiques ou non, ainsi que beaucoup de rigolades et de délires. Dans le désordre merci à Oaurdia, Meral, Olivier, Barissa, Najoua, Salem, Yassine, Imen, Mouna et Sihem.

Je réserve mes derniers remerciements pour ma famille : Maman, Papa, ma sœur, mon frère, et mes amis dont l'amour m'a permis de m'épanouir et de maintenir le cap. Je remercie mon mari Fethi, ma force tranquille, de croire en moi, d'écarter les doutes, de soigner les blessures et de partager les joies. Je remercie ma fille Baraa.

SOMMAIRE

RESUME	<i>i</i>
ABREVIATIONS	<i>1</i>
LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX	<i>3</i>
CHAPITRE 1: Revue bibliographique	<i>8</i>
I. GENERALITES SUR LES STEROÏDES	<i>9</i>
I.1. Les Androgènes	<i>10</i>
I.1.a. Synthèse et métabolisme de la testostérone	<i>11</i>
I.2. Les Œstrogènes	<i>14</i>
I.2.a. Biosynthèse des œstrogènes	<i>15</i>
II. Récepteurs nucléaires	<i>17</i>
II.1. Les récepteurs à androgènes	<i>19</i>
II.1.a. Structure du domaine de liaison au ligand du récepteur des androgènes	<i>20</i>
II.1.b. Conformation et fonction du récepteur AR	<i>20</i>
II.2. Les récepteurs à œstrogènes	<i>23</i>
II.2.a. Conformation et fonction du récepteur à œstrogènes	<i>25</i>
II.2.b. Structure du domaine de liaison au ligand du récepteur à œstrogènes	<i>27</i>
III. Le cancer	<i>28</i>
III.1. Mécanisme de déclenchement tumoral	<i>29</i>
III.2. Progression tumorale et l'échappement thérapeutique	<i>30</i>
III.3. Le Cancer de la prostate	<i>31</i>
III.3.a. Origine du cancer de la prostate	<i>33</i>
III.3.b. Diagnostic et dépistage du Cancer de la Prostate	<i>33</i>
III.3.c. Les différents traitements utilisés contre le cancer de la prostate	<i>34</i>
III.4. Le cancer du sein	<i>36</i>
III.4.1. Facteurs de risque	<i>37</i>
III.4.2. Dépistage et diagnostic du cancer du sein	<i>38</i>
III.4.3. Stratégies thérapeutiques	<i>38</i>
III.4.3.1. La chirurgie	<i>38</i>
III.4.3.2. La radiothérapie	<i>39</i>
III.4.3.3. La chimiothérapie	<i>39</i>
III.4.3.4. L'hormonothérapie	<i>42</i>
III.4.3.5. L'immunothérapie	<i>42</i>
IV. La route en quête de médicaments contre le cancer	<i>43</i>
IV.1. Contribution des molécules organiques	<i>43</i>
IV.1.1. Les anti-œstrogènes	<i>43</i>

IV.1.1.1. Les anti-œstrogènes purs	43
IV.1.1.2. Les modulateurs sélectifs des récepteurs des oestrogènes (SERMs).....	45
IV.1.2. Les anti-androgènes	47
IV.1.3. Les SARMs (Selctive Androgen Receptor Modulators)	49
IV.2. Contribution des molécules bioactives à base de métaux	50
IV.3. Contribution des molécules organométalliques bioactives	52
IV.3.1. Hydroxyferrocifènes	54
V. Radiopharmaceutiques	56
V.1. Technétium	56
V.2. Rhénium	57
V.3. Les Radiopharmaceutiques et cancer	59
VI. Objectif des travaux	62
CHAPITRE 2: Synthèse et biodistribution de (Z+E)-(1-[2-(cyclopentadiényltricarboxyl- [99mTc]-technétium)(p-hydroxyphényl)but-1-ène (TPEDiOHCO ^{99m}Tc)	64
1. Introduction	65
2. Résultats et discussion	66
2.1. Synthèses chimique	66
2.1.1. Synthèse de (Z+E)-TPEDiOHCOMn	66
2.1.2. Synthèse des précurseurs du (Z+E)-TPEDiOHCO ^{99m} Tc, 2	73
2.1.3 Synthèse de (Z+E)-TPEDiOHCO ^{99m} Tc 2	76
2.1.4. Contrôle de qualité et purification du (Z+E) TPEDiOHCO ^{99m} Tc 2	79
2.2. Etude de la stabilité du (Z+E) TPEDiOHCO ^{99m} Tc dans différents solvants	82
2.3. Propriétés physicochimiques du (Z+E) TPEDiOHCO ^{99m} Tc: Analyse in vitro	83
2.3.1. Etude du coefficient de partage	83
2.3.2. Détermination de la répartition sanguine du (Z+E) TPEDiOHCO ^{99m} Tc	84
2.3.2.1. Mesure de la fixation cellulaire du (Z+E) TPEDiOHCO ^{99m} Tc	84
2.3.2.2. Mesure de la fixation non spécifique aux protéines plasmatiques du (Z+E) TPEDiOHCO ^{99m} Tc	85
2.4. Etude de la stabilité du (Z+E) TPEDiOHCO ^{99m} Tc in vitro	86
2.4.1. Etude de la stabilité du (Z+E) TPEDiOHCO ^{99m} Tc dans le tampon phosphate	86
2.4.2. Etude de la stabilité sanguine du (Z+E) TPEDiOHCO ^{99m} Tc in vitro	87
2.5. Evaluation pharmacologiques: Etudes précliniques du (Z+E) TPEDiOHCO ^{99m} Tc	89
2.5.1. Etude de la cinétique sanguine du (Z+E) TPEDiOHCO ^{99m} Tc	89
2.5.2. Etude de la biodistribution de (Z+E) TPEDiOHCO ^{99m} Tc	90
3. Conclusion	95
4. Partie expérimentale	96
4.1. Synthèses	96
4.1.1 Synthèse du (Z+E) TPEDiOHCOFc 1.....	97
4.1.2. Synthèse du (Z+E)-TPEDiOHCOMn (Z+E)-8	97
4.1.3. Synthèse du (Z+E) TPEDiOHCO ^{99m} Tc	109

4.2. Etude biologique	109
4.2.1. Détermination de la répartition sanguine et de la stabilité in vitro du (Z+E)	
TPEDiOHCO ^{99m}Tc	109
4.2.2. Etude de la stabilité de (Z+E) TPEDiOHCO ^{99m} Tc dans le tampon phosphate .	110
4.2.3. Etude de la biodistribution in vivo	110
4.2.4. Mesure du coefficient de partage	110
 CHAPITRE 3: Synthèse et biodistribution de (Z+E)-1-(p-(tricarbonylcyclopentadiényl- [^{99m}Tc]-technétium carboxy-amino-phényl)-1,2-di(p-hydroxyphényl)-but-1-ène	
(TPEDiOHNCO^{99m}Tc)	112
1. Introduction	113
2. Résultats et discussion	114
2.1. Synthèse chimique	114
2.1.1. Synthèse de Z-TPEDiOHNCOFc et E-TPEDiOHNCOFc	114
2.1.2. Synthèse de E-TPEDiOHNCOMn	117
2.2. Synthèse de (Z+E)-TPEDiOHNCO ^{99m} Tc	118
2.3. Etude de la stabilité de (Z+E)-TPEDiOHNCO ^{99m} Tc dans les solvants	122
2.4. Propriétés physicochimiques du (Z+E)-TPEDiOHNCO ^{99m} Tc: Analyse in vitro	123
2.4.1. Etude de coefficient du partage	123
2.4.2. Détermination de la répartition sanguine du (Z+E)-TPEDiOHNCO ^{99m} Tc	124
2.4.2.1. Mesure de la fixation cellulaire	124
2.4.2.2. Mesure de la fixation non spécifique aux protéines plasmatiques	124
2.5. Etude de la stabilité in vitro	125
2.5.1. Etude de la stabilité de (Z+E)-TPEDiOHNCO ^{99m} Tc dans le tampon phosphate	125
2.5.2. Etude de la stabilité sanguine de (Z+E)-TPEDiOHNCO ^{99m} Tc	127
2.6. Evaluation pharmacologiques: Etudes précliniques	131
2.6.1. Etude de la cinétique sanguine du (Z+E)-TPEDiOHNCO ^{99m} Tc	131
2.6.2. Etude de la biodistribution	132
3. Conclusion	137
4. Partie expérimentale	138
4.1. Synthèses	138
4.1.1. Synthèse de Z-TPEDiOHNCOFc et de E-TPEDiOHNCOFc	139
4.1.2 Synthèse de E-TPEDiOHNCOMn	144
4.1.3. Synthèse de (Z+E)-TPEDiOHNCO ^{99m} Tc).....	145
4.2. Etude biologique	145
4.2.1. Détermination de la répartition sanguine et de la stabilité in vitro du (Z+E)- TPEDiOHNCO ^{99m}Tc)	145
4.2.2. Etude de la stabilité de (Z+E)-TPEDiOHNCO ^{99m} Tc) dans le tampon phosphate	146
4.2.3. Etude de la biodistribution in vivo	146
4.2.4. Mesure du coefficient de partage	146
 CHAPITRE 4: Synthèse et biodistribution de N-[4-nitro-3-trifluorométhyl-phnyl]-[^{99m}Tc]- technétiumcyclopentadiényltricarbonyl-carboxamide (NF^{99m}Tc)	

	148
1. Introduction	149
2. Résultats et discussion	150
2.1. Synthèse Chimique	150
2.1.1. Synthèse du NFFe	150
2.1.2 Synthèse du NFRe	151
2.2. Synthèse du NF^{99m}Tc	151
2.2.1. Optimisation de la réaction de radiomarquage	152
2.2.2. Contrôle de qualité et purification	153
2.3. Propriétés physicochimiques du radiotracteur: Analyse in vitro	156
2.3.1. Détermination de la répartition sanguine du NF^{99m}Tc	156
2.3.1.1. Mesure de la fixation cellulaire	156
2.3.1.2. Mesure de la fixation non spécifique aux protéines plasmatiques	156
2.4. Etude de la stabilité in vitro	158
2.4.1. Etude de la stabilité de NF^{99m}Tc dans le tampon phosphate	158
2.4. 2. Etude de la stabilité sanguine de NF^{99m}Tc in vitro	158
2.5. Evaluation pharmacologiques: Etude de la biodistribution	158
4. Conclusion	163
4. Partie expérimentale	163
4.1. Synthèses.....	163
4.1.1. Synthèse du N-[4-nitro-3-trifluoromethyl-phenyl]-ferrocenecarboxamide (NFFe)....	164
4.1.2. N-[4-nitro-3-trifluoromethyl-phenyl]-rheniumcyclopentadienyltricarbonyl-carboxamide (NFRe).....	165
4.1.3. Synthèse du N-[4-nitro-3-trifluoromethyl-phenyl]-[^{99m} Tc]-technetiumcyclopentadienyltricarbonyl-carboxamide (NF^{99m}Tc)	165
4.2. Etude biologique	166
4.2.1. Détermination de la répartition sanguine et de la stabilité in vitro du NF^{99m}Tc	166
4.2.2. Etude de la stabilité de NF^{99m}Tc dans le tampon phosphate .	166
4.2.3. Etude de la biodistribution in vivo	166
DISCUSSION	168
CONCLUSION GENERALE	179
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	182
ANNEXES	205

Abréviations

μCi	: Micro Curie
μl	: Microlitre
Ac	: Acetyl group $-\text{CO}-\text{CH}_3$
AF	: Activation Function
AR	: Androgen Receptor
arom	: Noyau aromatique
BPH	: Benign Prostate Hypertrophy
^tBu	: tert-butyl $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$
CCM	: Chromatographie sur Couche Mince
CH_2Cl_2	: Dichlorométhane
CI	: Chemical ionization (MS)
CLHP	: Chromatographie Liquide Haute Performance
Cp	: Cyclopentadiényle
Cq	: Carbone quaternaire
Cip	: Carbone ipso
d	: Doublet
ADN	: Acide deoxyribonucleique
DHT	: Dihydrotestostérone
DBD	: DNA Binding Domain
DMF	: Diméthylformamide $\text{HCO}-\text{N}(\text{CH}_3)_2$
DMSO	: Dimethylsulfoxyde $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$
éq	: Equivalent
E2	: 17-estradiol
ER	: Recepteur d'oestrogène
ER+	: Hormone-dependent
ER-	: Hormone-independent
ESI	: Electrospray ionization (MS)
Et	: Ethyl $-\text{C}_2\text{H}_5$
EtOH	: Ethanol
FAB	: Fast atom bombardment (MS)
Fc	: Groupe Ferrocenyl $-(\eta^5-\text{C}_5\text{H}_4)\text{Fe}(\eta^5-\text{C}_5\text{H}_5)$
GSH	: Glutathion
GnRH	: Gonadotropine Releasing Hormone
h	: heure
HRMS	: High resolution mass spectroscopy
IC_{50}	: Concentration d'un produit qui est suffisante pour tuer 50% de cellules tumorales
IR	: Spectroscopie infrarouge
J	: Constante de couplage (RMN)
KBq	: Kilo Becquerel
LBD	: Ligand binding domain
Leu	: Leucine
LH	: Luteinising Hormone
MBq	: Méga Becquerel
mCi	: Milli Curie
min	: Minute
mL	: Millilitre

Mn (CO) ₅ Br	: Bromopentacarbonyl-manganese(I)
m	: Multiplet
M	: mol.L ⁻¹
MCF-7	: Une lignée de cellules cancéreuses hormono-dépendantes
MDA-MB-231	: Une lignée de cellules cancéreuses hormono-indépendantes
Me	: Methyl -CH ₃
MeOH	: Methanol
MS	: Mass spectroscopy
m/z	: Mass to charge ratio (MS)
Mp	: Point de fusion
PC-3	: Hormone-independent prostate cancer cell line
PBS	: Phosphate buffered saline
Ph	: Phenyl
ppm	: Parties par million
pi	: Post-injection
Pv	: Pivaloate -CO-C(CH ₃) ₃
PSA	: Prostate Specific Antigen
q	: Quartet
RMN	: Nuclear magnetic resonance
RBA	: Affinité relative de liaison
Rf	: Rapport frontal
t	: Triplet
^{99m} Tc	: Technétium-99m
TEP	: Tomographie par émission positons
TEMP	: Tomographie à émission monophotonique
Tyr	: tyrosine
s	: Singlet
SARM	: Selective Androgen Receptor Modulator
SERM	: Selective estrogen receptor modulator
TFA	: Acide trifluoroacétique
Tr	: Temps de rétention en CLHP
UV	: Ultraviolet
v/v	: Volume à volume

Liste des figures et des tableaux

CHAPITRE 1: Revue bibliographique

- Figure 1-1:** Structure du gonane.
- Figure 1-2:** Filiation des principales hormones stéroïdes.
- Figure 1-3:** Biosynthèse de la testostérone.
- Figure 1-4:** Régulation de la biosynthèse de testostérone.
- Figure 1-5:** Métabolisme de la testostérone.
- Figure 1-6:** Les trois principaux œstrogènes chez la femme.
- Figure 1-7:** Synthèse de la prégnénolone à partir du cholestérol.
- Figure 1-8:** Synthèse des œstrogènes à partir de la prégnénolone.
- Figure 1-9:** Organisation structurale des récepteurs nucléaires en régions fonctionnelles.
- Figure 1-10:** Structure du domaine de liaison au ligand du récepteur des androgènes.
- Figure 1-11:** Structure et homologie entre **ER α** et **ER β** .
- Figure 1-12:** Représentation schématique de **ER α** au sein de son complexe multi-chaperons.
- Figure 1-13:** Structure déterminée aux rayons X du domaine de liaison au ligand du **ER α** .
- Figure 1-14:** Les conformations du domaine de liaison au ligand (E_2) de **ER α** et **ER β** .
- Figure 1-15:** Initiation, promotion et progression d'une cellule tumorale: rôle de l'équilibre entre pro et anti-oncogènes.
- Figure 1-16:** Représentation de la prostate.
- Figure 1-17:** Anatomie du sein.
- Figure 1-18:** Molécules utilisés en chimiothérapie (cas de cancer ER-).
- Figure 1-19:** Le tamoxifène et son métabolite actif, (z)-hydroxytamoxifène.
- Figure 1-20:** Structures de MER 25, fulvestrant, RU 58668, l'œstrogène et (DES).
- Figure 1-21:** Les deux modes d'action d'un SERM.
- Figure 1-22:** Structures de GW 5638, Raloxifène, Zindoxifène et ERA-923.
- Figure 1-23:** Anti-androgènes non stéroïdiens commerciaux.
- Figure 1-24:** Exemples de selective androgen receptor modulators (SARM).
- Figure 1-25:** Structures du Salvarsan, le cis-platine, le carboplatine et l'oxaliplatine.
- Figure 1-26:** Quelques complexes de platine associés à l'œstradiol et au tamoxifène.
- Figure 1-27:** Structure du ferrocène. a/ Structure proposée par Pauson. b/ Structure corrigée.

Figure 1-28: Structures des composés (**E**) et (**F**).

Figure 1-29: Structures du composé (**G**), de la ferroquine et de la chloroquine.

Figure 1-30: La voie de synthèse des hydroxyferrocifènes.

Figure 1-31: Dérivés du flutamide radiomarqués.

Figure 1-32: Exemples d'antiœstrogènes et d'analogues organométalliques développés par Jaouen et al.

Figure 1-33: Exemples des dérivés ferrocéniques du tamoxifène.

Figure 1-34: Composés organométalliques marqués au Tc-99m.

Tableau 1.I: Quelques caractéristiques des éléments du groupe 7.

CHAPITRE 2: Synthèse et biodistribution de (Z+E)-(1-[2-(cyclopentadiényltricarboxyl-^{99m}Tc]-technétium)(p-hydroxyphényl)but-1-ène (TPEDiOHCO ^{99m}Tc)

Figure 2-1: Les composés (Z+E)-TPEDiOHCOFc, **1** et (Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc, **2**.

Figure 2-2: Chromatogramme du (Z+E)-TPEDiOHCOFc **1** par CLHP.

Figure 2-3: Radiochromatogramme du mélange réactionnel du (Z+E) TPEDiOHCOFc en présence de ^{99m}TcO₄⁻ après 90 min de chauffage à 150°C dans du DMSO.

Figure 2-4: Radiochromatogramme du mélange réactionnel du (Z+E) TPEDiOHCOFc **1** en présence de ^{99m}TcO₄⁻ après 120 min de chauffage à 150°C dans du DMF/eau.

Figure 2-5: Radioghrommatogramme du mélange réactionnel du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc **2** avec ^{99m}TcO₄⁻ après 90 min de chauffage à 150°C dans du DMF/eau.

Figure 2-6: (a) Profil CLHP du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc purifié. (b) Profil CLHP du (Z+E) TPEDiOHCOMn purifié.

Figure 2-7: Radiochromatogramme du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc après une heure d'incubation dans NaCl 0,9 %.

Figure 2-8: Radiochromatogramme du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc après 24 heures d'incubation dans l'eau purifiée.

Figure 2-9: Biodistribution sanguine in vitro de (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc.

Figure 2-10: Radiochromatogramme du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc après 24 heures d'incubation dans un tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4).

Figure 2-11: Stabilité du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc dans le sang.

Figure 2-12: Evolution des concentrations sanguines de (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc (% DI/g) après injection intraveineuses IV chez les rats femelles (n=3, Dose injectée: 100 µCi).

Figure 2-13: Représentation semi logarithmique: Aspect linéaire de la décroissance de la l'activité du $(Z+E)$ $TPEDiOHCO^{99m}Tc$ dans l'échantillon sanguin in vivo au cours du temps.

Figure 2-14: Biodistribution de la radioactivité en %DI/g du tissu chez la femelle du rat à différents temps après injection intraveineuse du $(Z+E)$ $TPEDiOHCO^{99m}Tc$; n=3 ; Dose injectée: 100 μ Ci. Les valeurs sont représentées avec écart type.

Figure 2-15: Comparaison de la radioactivité exprimée en % DI/g de tissu des organes du rats femelles 2 heures après injection intraveineuse IV du $(Z+E)$ $TPEDiOHCO^{99m}Tc$ (contrôle) et co-injection de 15 μ g d'oestradiol. n=3; Dose injectée: 100 μ Ci.

Tableau 2.I: Rendement des réactions de radiomarquage du $(Z+E)$ $TPEDiOHCOFc$ en fonction du type de solvant.

Tableau 2.II: Coefficient de partage du $(Z+E)$ $TPEDiOHCO^{99m}Tc$.

Tableau 2.III: Propriétés physico-chimiques du $(Z+E)$ $TPEDiOHCO^{99m}Tc$. Etude de la répartition sanguine du $(Z+E)$ $TPEDiOHCO^{99m}Tc$ in vitro.

Tableau 2.IV : Biodistribution de la radioactivité en %DI/g de tissu chez les rats femelles à différents temps après injection intraveineuse IV du $(Z+E)$ $TPEDiOHCO^{99m}Tc$; n=3 ; Doses injectées: 100 μ Ci. Les valeurs sont représentées avec écart type.

Tableau 2.V: Biodistribution de la radioactivité en %DI/g de tissu chez la femelle du rat à 2h après injection intraveineuse du $(Z+E)$ $TPEDiOHCO^{99m}Tc$; n=3; Dose injectée: 100 μ Ci. Les valeurs sont représentées avec écart type.

CHAPITRE 3: Synthèse et biodistribution de (Z+E)-1-(p-(tricarbonylcyclopentadiényl- ^{99m}Tc)-technétium carboxy-amino-phényl)-1,2-di(p-hydroxyphényl)-but-1-ène (TPEDiOHNCO ^{99m}Tc)

Figure 3-1: Exemples des complexes organométalliques synthétisés dans le chapitre 3.

Figure 3-2: Présentation ORTEP de E - $TPEDiOSiNCOFc$

Figure 3-3: Radiochromatogramme du mélange réactionnel du $(Z+E)$ - $TPEDiOHNCOFc$ avec $^{99m}TcO_4^-$ après 60 min de chauffage à 150° C en présence de DMSO.

Figure 3-4: Radiochromatogramme du mélange réactionnel du $(Z+E)$ - $TPEDiOHNCOFc$ avec $^{99m}TcO_4^-$ après 60 min de chauffage à 150°C en présence de DMF.

Figure 3-5: (a) Profil CLHP du $(Z+E)$ - $TPEDiOHNCO^{99m}Tc$ purifié. (b) Profil CLHP du E - $TPEDiOHNCOMn$ purifié.

Figure 3-6: Radiochromatogramme du $(Z+E)$ - $TPEDiOHNCO^{99m}Tc$ après 24 heures d'incubation dans NaCl 0,9 % à 4°C.

Figure 3-7: Biodistribution sanguine in vitro de (Z+E)-TPEDIHNCO^{99m}Tc.

Figure 3-8: Radiochromatogramme du (Z+E)-TPEDIHNCO^{99m}Tc après 30 min d'incubation dans le tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4).

Figure 3-9: Radiochromatogramme du (Z+E)-TPEDIHNCO^{99m}Tc après 24 heures d'incubation dans le tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4).

Figure 3-10: Stabilité du (Z+E)-TPEDIHNCO^{99m}Tc dans le sang.

Figure 3-11: Cinétique sanguine de (Z+E)-TPEDIHNCO^{99m}Tc.

Figure 3-12: Représentation semi logarithmique de la variation de l'activité du (Z+E)-TPEDIHNCO^{99m}Tc dans l'échantillon sanguin in vivo au cours du temps.

Figure 3-13: Biodistribution de la radioactivité en %DI/g du tissu chez des rats femelles à différents temps après injection intraveineuse IV du (Z+E)-TPEDIHNCO^{99m}Tc; n=3 ; Dose injectée : 80 µCi.

Figure 3-14: Comparaison de la radioactivité exprimée en % DI/g de tissu des organes des rats femelles 15 min après injection intraveineuse du (Z+E)-TPEDIHNCO^{99m}Tc et co-injection de 15 µg d'œstradiol. n=3; Dose injectée: 80µCi.

Tableau 3.I : Rendement des réactions de radiomarquage du (Z+E)-TPEDIHNCO^{99m}Tc en fonction du type de solvant.

Tableau 3.II: Coefficient de partage du (Z+E)-TPEDIHNCO^{99m}Tc

Tableau 3.III: Propriétés physico-chimiques du (Z+E)-TPEDIHNCO^{99m}Tc.

Tableau 3.IV: Biodistribution de la radioactivité en %DI/g de tissu chez des rats femelles à différents temps après injection intraveineuse du (Z+E)-TPEDIHNCO^{99m}Tc; n=3 ; Dose injectée : 80 µCi. Les valeurs sont représentées avec écart type.

Tableau 3.V: Biodistribution de la radioactivité en %DI/g de tissu chez des rats femelles à 15 min après injection intraveineuse du (Z+E)-TPEDIHNCO^{99m}Tc; n=3 ; Dose injectée: 80 µCi. Les valeurs sont représentées avec écart type.

CHAPITRE 4: Synthèse et biodistribution de N-[4-nitro-3-trifluorométhyl-phnyl]-[^{99m}Tc]-technétiumcyclopentadiényltricarboxyl-carboxamide (NF^{99m}Tc)

Figure 4-1: Flutamide, NFFe, NF^{99m}Tc et NFRe.

Figure 4-2: Radiochromatogramme du mélange réactionnel du NFFe avec [^{99m}Tc (H₂O)₃(CO)₃]⁺ après 60 min de chauffage à 150°C dans du DMF/eau à pH=1.

Figure 4-3: (a) Profil CLHP du NFRe. (b) Profil CLHP du NF^{99m}Tc purifié.

Figure 4-4 : Biodistribution sanguine in vitro de NF^{99m}Tc.

Figure 4-5: Comparaison de la radioactivité exprimée en % DI/g de tissu des organes des rats mâles matures 1 heure et 2 heures après injection intraveineuse du $\text{NF}^{99\text{mTc}}$. n=3; Dose injectée: 70 μCi .

Figure 4-6: Comparaison de la radioactivité exprimée en % DI/g de tissu des organes des rats mâles matures 1 heure après injection intraveineuse du $\text{NF}^{99\text{mTc}}$ (contrôle) et co-injection de 0,14 μg \text{g} d'acétate de testostérone. n=3; Dose injectée: 70 μCi .

Tableau 4.I: Réaction de NFFe avec $[\text{}^{99\text{mTc}}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ selon différentes conditions.

Tableau 4.II: Etude de la répartition sanguine du $\text{NF}^{99\text{mTc}}$ in vitro.

Tableau 4.III: Biodistribution de la radioactivité en %DI/g de tissu chez des rats mâles matures à différents temps après injection intraveineuse IV du $\text{NF}^{99\text{mTc}}$; n=3 ; Dose injectée: 70 μCi . Les valeurs sont représentées avec écart type.

Tableau 4.IV: Biodistribution de la radioactivité en %DI/g de tissu chez les rats mâles matures à 1 heure après injection intraveineuse IV du $\text{NF}^{99\text{mTc}}$; n=3 ; Dose injectée : 70 μCi . Les valeurs sont représentées avec écart type.

DISCUSSION

Figure 1: Cinétiques sanguines du $(Z+E)\text{-TPEDiOHCO}^{99\text{mTc}}$ 1 et du $(Z+E)\text{-TPEDiOHNCO}^{99\text{mTc}}$.

Figure 2: Rapports de fixations du $(Z+E)\text{-TPEDiOHCO}^{99\text{mTc}}$ et du $(Z+E)\text{-TPEDiOHNCO}^{99\text{mTc}}$ entre les organes cibles (ovaires et utérus) et tissus avoisinants (sang et muscle).

Figure 3: Biodistributions du $(Z+E)\text{-TPEDiOHCO}^{99\text{mTc}}$ et du $(Z+E)\text{-TPEDiOHNCO}^{99\text{mTc}}$ au niveau des poumons (% dose injectée (DI)\gramme).

Figure 4: Biodistributions du $(Z+E)\text{-TPEDiOHCO}^{99\text{mTc}}$ et du $(Z+E)\text{-TPEDiOHNCO}^{99\text{mTc}}$ au niveau du foie (% dose injectée (DI)\gramme).

Figure 5: Biodistributions du $(Z+E)\text{-TPEDiOHCO}^{99\text{mTc}}$ et du $(Z+E)\text{-TPEDiOHNCO}^{99\text{mTc}}$ au niveau des reins (% dose injectée (DI)\gramme).

Tableau I. Biodistributions du $(Z+E)\text{-TPEDiOHCO}^{99\text{mTc}}$ et du $(Z+E)\text{-TPEDiOHNCO}^{99\text{mTc}}$ au niveau des ovaires et de l'utérus après l'injection des traceurs (% dose injectée (DI)\gramme).

CHAPITRE 1

Revue bibliographique

I. Généralités sur les stéroïdes

En 1905, William M. Bayliss et Ernest H. Starling ont défini pour la première fois le concept d'hormones (Starling., 1905). Les hormones sont des messagers chimiques de l'organisme, agissant sur un organe ou un tissu cible situé à distance de l'organe émetteur. Cette définition regroupe un très grand nombre de molécules, certaines protéiniques, d'autres peptidiques, des amines et bien d'autres molécules, parmi lesquelles les stéroïdes.

Le mot stéroïde tire son origine du mot grec «stéréos», signifiant «solide» et désignant l'ensemble des molécules qui possèdent un noyau de type gonane (cyclo-phénanthrénique) (figure 1-1), identique ou proche de celui des stérols. Ils sont très répandus dans la nature où on les rencontre à tous les échelons du règne végétal et du règne animal. Le premier de ces composés fut isolé, vers 1770, de calculs biliaires, par Poulletier de la Salle, puis trouvé aussi, en 1816, dans les graisses animales, par M. E. Chevreul (Chevreul., 1816) Il fut nommé «cholestérine» (du grec *khole* = bile et *stéréos* = solide) en souvenir de la source où il avait été découvert initialement.

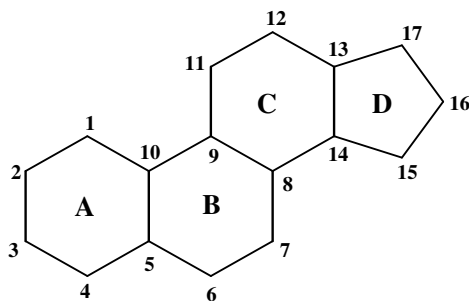


Figure 1-1: Structure du gonane.

La famille des stéroïdes a été divisée par les scientifiques en cinq grandes classes, suivant la réponse biologique qu'ils entraînent.

- *les glucocorticoïdes* (ex: Cortisol): ils sont synthétisés par la glande corticosurrénale et interviennent dans les mécanismes luttant contre le stress et les inflammations.
- *les minéralocorticoïdes* (ex: Aldostérone): ils sont synthétisés par la glande corticosurrénale ; ils régulent l'activité des reins et sont employés par la médecine comme des anesthésiants locaux.
- *les hormones progestatives* (ex: Progestérone): elles sont sécrétées par les ovaires ou le placenta chez la femme et régulent le cycle menstruel.

- *les œstrogènes* (ex: Oestradiol): ils sont sécrétés par les gonades, le cerveau (hypothalamus) et les tissus adipeux (seins). Ces hormones sont nécessaires à la sexualité de la femme adulte et provoquent l'œstrus (= phase de l'ovulation).
- *les androgènes* (ex: Testostérone, 5 α -dihydrotestostérone ou 5 α -DHT): ce sont des hormones sexuelles mâles sécrétées par les gonades. Elles interviennent dans le processus de la puberté et sont nécessaires à la sexualité de l'homme adulte

Les hormones stéroïdes, sont formées dans le cytosol, à partir du cholestérol néo-synthétisé, ou apporté par les lipoprotéines plasmatiques légères (**LDL**) ou lourdes (**HDL**), selon les organes (figure 1-2) (Borel et al., 2000). De nature lipidique, donc lipophile, elles traversent sans difficulté la bicouche lipidique de la membrane plasmique. A cause de cette nature lipophile et donc hydrophobe, les stéroïdes ne peuvent circuler dans le plasma sanguin, que fixées sur des protéines de transport.

Le complexe stéroïde-protéine est inactif, seule l'hormone stéroïde libre, a une action endocrine. La protéine de transport, ne libère l'hormone stéroïde qu'au niveau des capillaires sanguins, qui irriguent les organes cibles. Une fois libérée de la protéine, le stéroïde traverse la paroi du capillaire. Au contact de leurs cellules cibles, les stéroïdes franchissent la membrane plasmique, entrent dans la cellule, continuent leur trajet, franchissent la membrane nucléaire et interagissent via des récepteurs protéiques avec le génome. En d'autres termes, c'est la présence du récepteur hormonal, qui confère à la cellule cible sa sensibilité vis-à-vis de l'hormone.

1.1. Les Androgènes

Les androgènes sont des hormones stéroïdes découvertes en 1936. Elles interviennent dans la régulation de nombreux aspects du développement masculin incluant le développement des organes sexuels, la croissance de la pilosité faciale, corporelle et pubienne, l'élargissement des cordes vocales, la perte des cheveux, la production de sperme, le développement musculaire et la croissance de la prostate.

La testostérone est le principal androgène circulant. Elle est produite de façon quasi-exclusive (plus de 95%) par les cellules de Leydig du testicule et 5% par les glandes surrénales. La sécrétion globale de testostérone est de 5 à 7,5 mg/jour chez un homme adulte normal. Elle exerce une action quasi-ubiquitaire dans l'organisme de l'homme, directement ou par l'intermédiaire de sa bioconversion en un androgène plus puissant, la dihydrotestostérone (DHT) ou en un œstrogène puissant, l'oestradiol (E2).

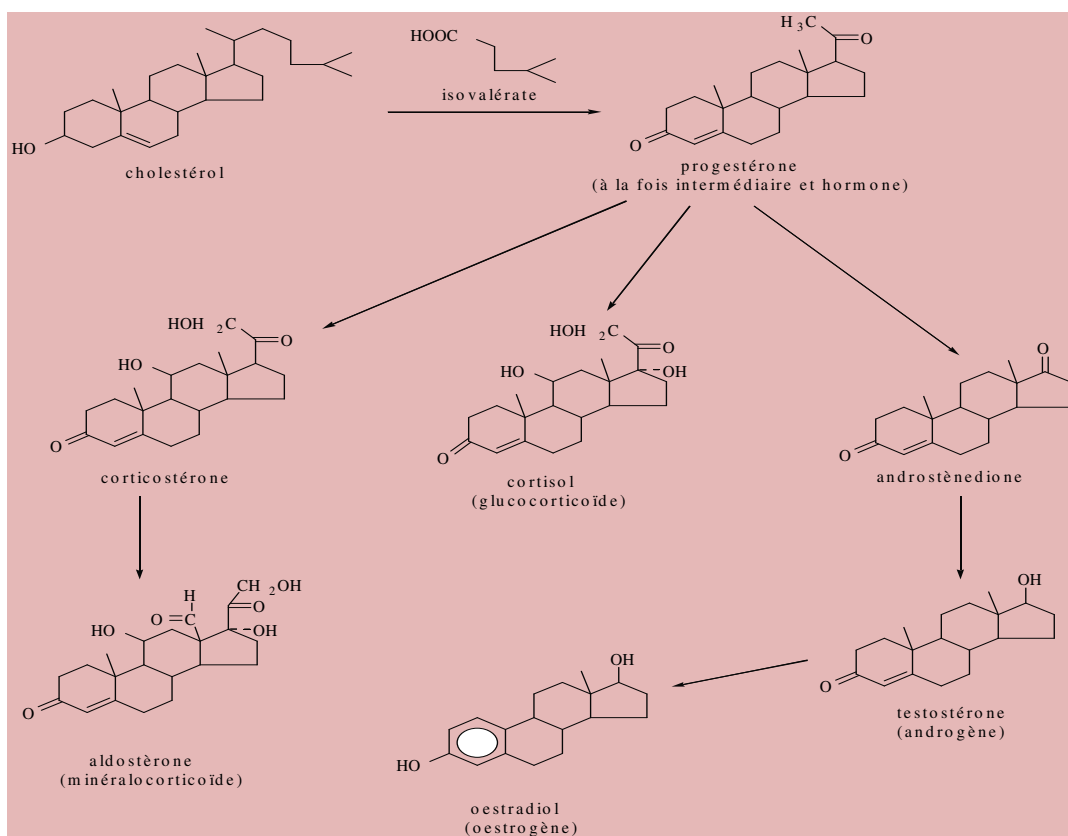


Figure 1-2: Filiation des principales hormones stéroïdes.

1.1. a. Synthèse et métabolisme de la testostérolone

La testostérolone est synthétisée à partir du cholestérol dans les cellules de Leydig situées dans les testicules (figure 1-3) (Miller et al., 1988). Elle est aussi synthétisée dans le foie et dans l'ovaire chez la femme. L'étape limitante de cette synthèse est le clivage de la chaîne latérale du cholestérol par l'intermédiaire d'une enzyme, le cytochrome P450_{sc}. Elle est régulée par l'hormone lutéinique (LH). Cette hormone est produite dans la glande pituitaire et sa sécrétion est contrôlée par la gonado-libérine (GnRH), cette hormone peptidique étant produite dans l'hypothalamus. La sécrétion de LH est également régulée par la testostérolone elle-même au niveau de la glande pituitaire et de l'hypothalamus (figure 1-4). Des stéroïdes précurseurs inactifs, tels que la déhydroépiandrostérolone (DHEA) et l'androsténone, sont convertis en androgènes actifs dans de nombreux tissus, incluant la prostate.

La testostérone diffuse librement à travers la membrane des cellules de Leydig. Dans le plasma, la testostérone circule sous trois formes: 2% sous forme libre, seule forme utilisable directement par les tissus, 45 à 75% sont liés à la protéine de transport des stéroïdes

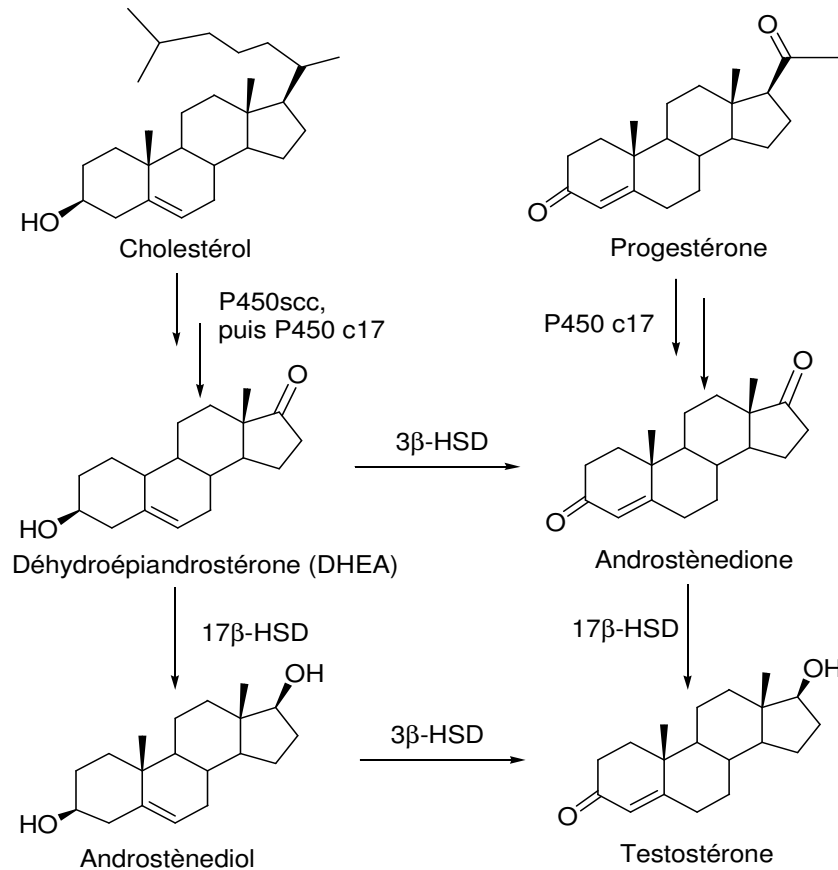


Figure 1-3 : Biosynthèse de la testostérone.

sexuels SHBG (Sex Hormone Binding Globulin), et 30 à 55% sous forme liée à l'albumine. Les protéines de liaison servent de réserve de stéroïdes, qui autrement seraient rapidement métabolisés par le foie. Lorsque le taux de testostérone libre baisse, une partie de la fraction liée se dissocie de l'albumine et de la SHBG afin de maintenir un taux constant de testostérone libre.

Le métabolisme de la testostérone est présenté sur la figure 1-5 (Bélanger et al., 2003). La testostérone est métabolisée soit dans ses organes cibles, soit dans le foie (Burger et al., 2003; Dorfman et al., 1965; Verderame et al., 1986). Dans la glande prostatique, la peau et le foie (Thigpen et al., 1993), elle est réduite en 5α-DHT par la 5α-réductase en présence d'un cofacteur, le NADPH (Russell et al., 1994). D'autre part, une petite quantité (0,2%) peut aussi être convertie en oestradiol par une enzyme, la P450 aromatasase. Elle permet le clivage du

groupe méthyle C19 et l'aromatation du cycle A, principalement dans les tissus adipeux chez l'homme et dans les ovaires chez la femme. Ces deux processus sont irréversibles. Après administration de testostérone radioactive, environ 90% de la radioactivité se retrouve dans l'urine et 6% dans les fèces (Goodman et al., 2001). Les principaux métabolites retrouvés dans l'urine comprennent l'androstérone et l'étiocolanolone et sont inactifs. Après administration orale, la demi-vie de la testostérone est de moins de 30 minutes. En effet, 90% de la testostérone est métabolisée dans le foie, avant d'atteindre la circulation systémique.

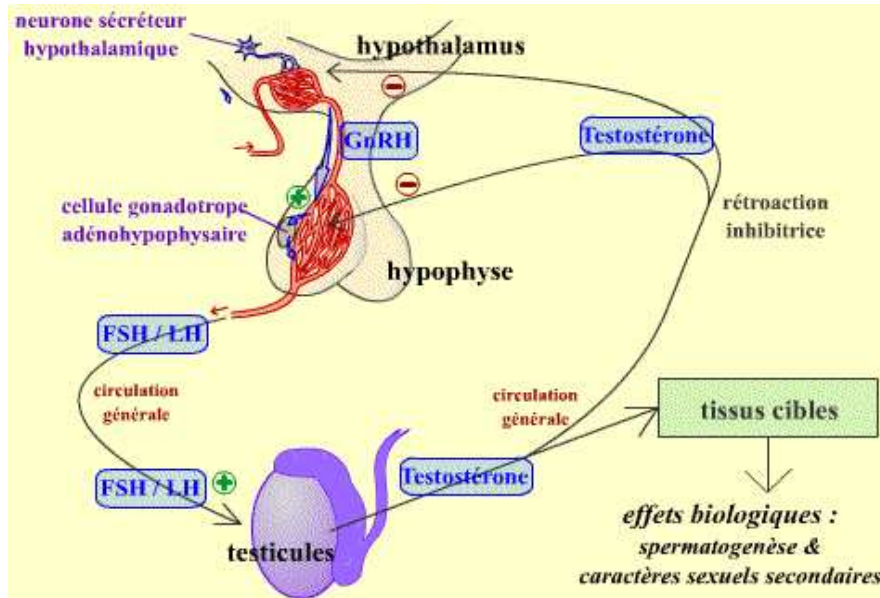


Figure 1-4 : Régulation de la biosynthèse de testostérone. D'après[1@].

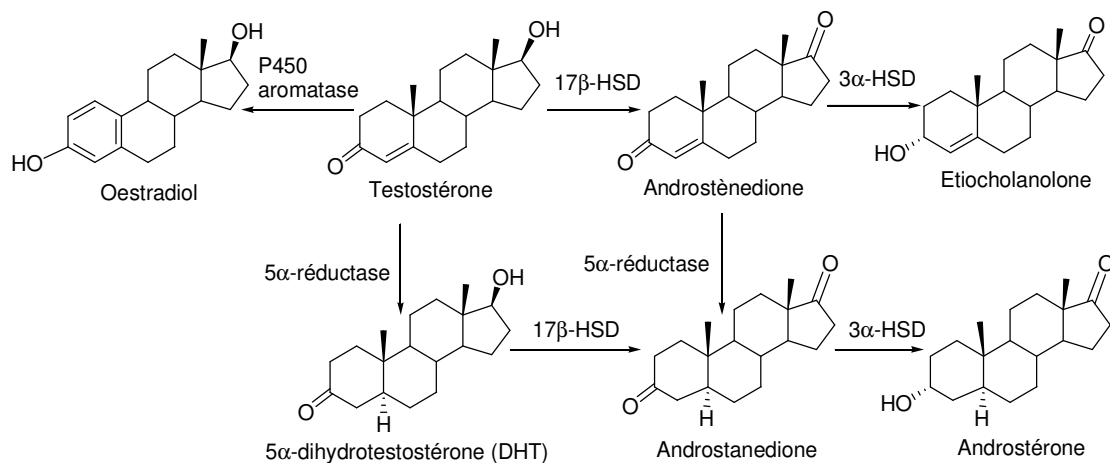


Figure 1-5: Métabolisme de la testostérone.

Chez les hommes adultes, il a été clairement établi que les androgènes jouent un rôle majeur dans les désordres prostatiques, tels que l'hypertrophie bénigne de la prostate (BPH) et

le cancer de la prostate (Sciarra et al., 1990). Ils jouent aussi un rôle majeur dans les maladies cutanées, telles que l'acné, l'hirsutisme (ou hyperpilosité féminine) et l'alopecie androgénique (ou calvitie) (Cunliffe et Simpson., 1980; Dorfman et Shipley., 1956). En effet, il a été montré qu'ils permettaient la sécrétion de la glande sébacée pour stimuler la croissance pileuse chez les femmes hirsutes. Ils ont deux effets principaux: un effet anabolisant exprimé dans les muscles et les os et un effet androgénique exprimé dans les organes reproducteurs (prostate, vésicule séminale, testicules). Ces effets sont consécutifs à leur liaison sur un récepteur spécifique appelé récepteur à androgènes (AR).

1.2. Les oestrogènes

Les œstrogènes sont connus de longue date par leur implication dans la différenciation sexuelle, la croissance et la reproduction. Signal hormonal à la puberté, les œstrogènes amorcent le développement morphologique de la femme adulte et de son cycle menstruel. Les œstrogènes jouent un rôle essentiel dans la fertilité de la femme tout au long de la période reproductive de sa vie. A la ménopause, la perte des œstrogènes ovariens implique la fin de la période reproductive et apporte également de nombreux changements biologiques.

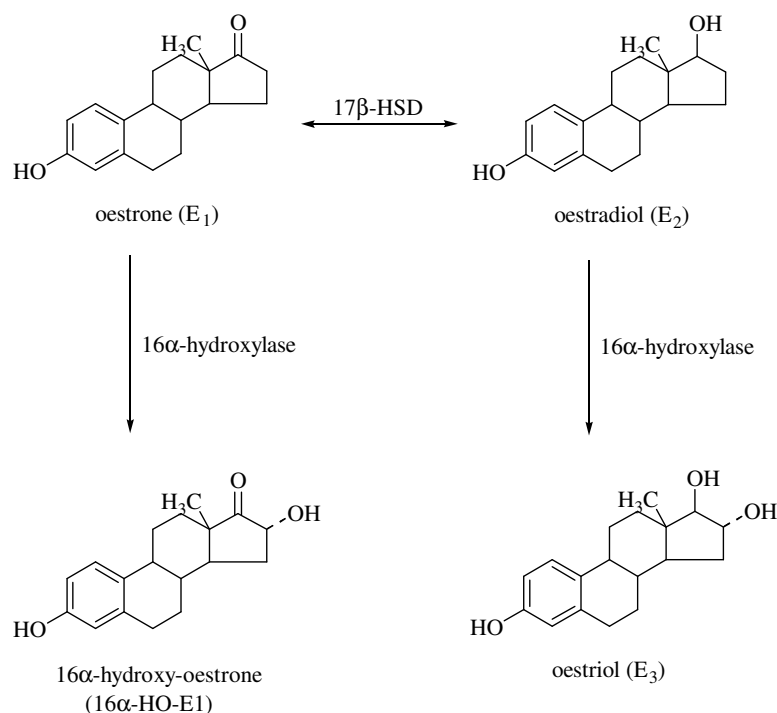


Figure 1-6: Les trois principaux œstrogènes chez la femme.

Le 17 β -œstradiol (**E**₂), l'œstrone (**E**₁) et l'œstriol (**E**₃) sont les trois principaux œstrogènes chez la femme. **E**₂ est l'œstrogène prédominant à la pré-ménopause et **E**₁ à la post-ménopause, alors que **E**₃ est l'œstrogène le plus abondant pendant la grossesse (Coelingh Bennink., 2004; Musey et al., 1987). **E**₂ peut être oxydé réversiblement en **E**₁ par les 17 β -hydroxy-stéroïde-dehydrogénases (Day et al., 2006) (figure 1-6). **E**₁ et **E**₂ peuvent être convertis en **E**₃ par les oxydo-réductases (Mueck et al., 2002).

1.2.a. Biosynthèse des œstrogènes

La biosynthèse des œstrogènes, s'effectue surtout dans les ovaires, mais d'autres organes, tels que les testicules, le tissu adipeux, l'hypothalamus, le cerveau, peuvent aussi les synthétiser [2@].

Les œstrogènes, comme tous les stéroïdes, dérivent du cholestérol et de la prégnénolone, sont transformés en androstènedione et testostérone, précurseurs directs des œstrogènes (figure 1-7 et 1-8).

La principale réaction enzymatique est la transformation de la testostérone et de l'androstènedione en œstradiol et estrone, sous l'influence d'une aromatasé constituée d'un cytochrome p450 et d'un cytochrome réductase utilisant le NADPH comme réducteur [2@]. Cette enzyme est présente dans l'ovaire, mais aussi dans le foie, les muscles, les follicules adipeux et certains tissus tumoraux, comme les carcinomes mammaires.

Durant la grossesse, de grandes quantités d'œstrogènes sont synthétisées par le placenta et excrétées dans l'urine. La sécrétion d'œstrogènes augmente à la puberté et chute considérablement à la ménopause.

Les œstrogènes sont présents également chez l'homme, ils sont sécrétés d'une manière physiologique par le testicule et la glande corticosurrénale et éventuellement formés dans les tissus adipeux.

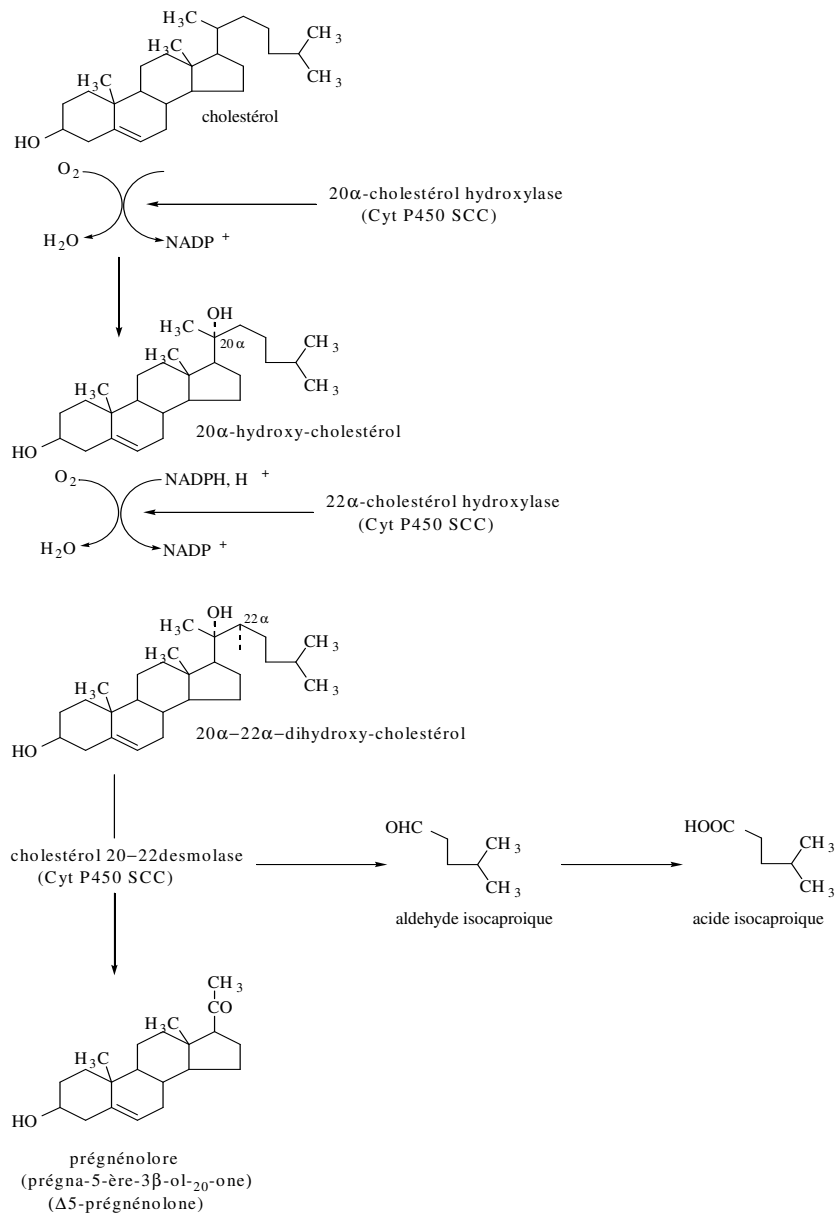


Figure 1-7: Synthèse de la prégnénolone à partir du cholestérol.

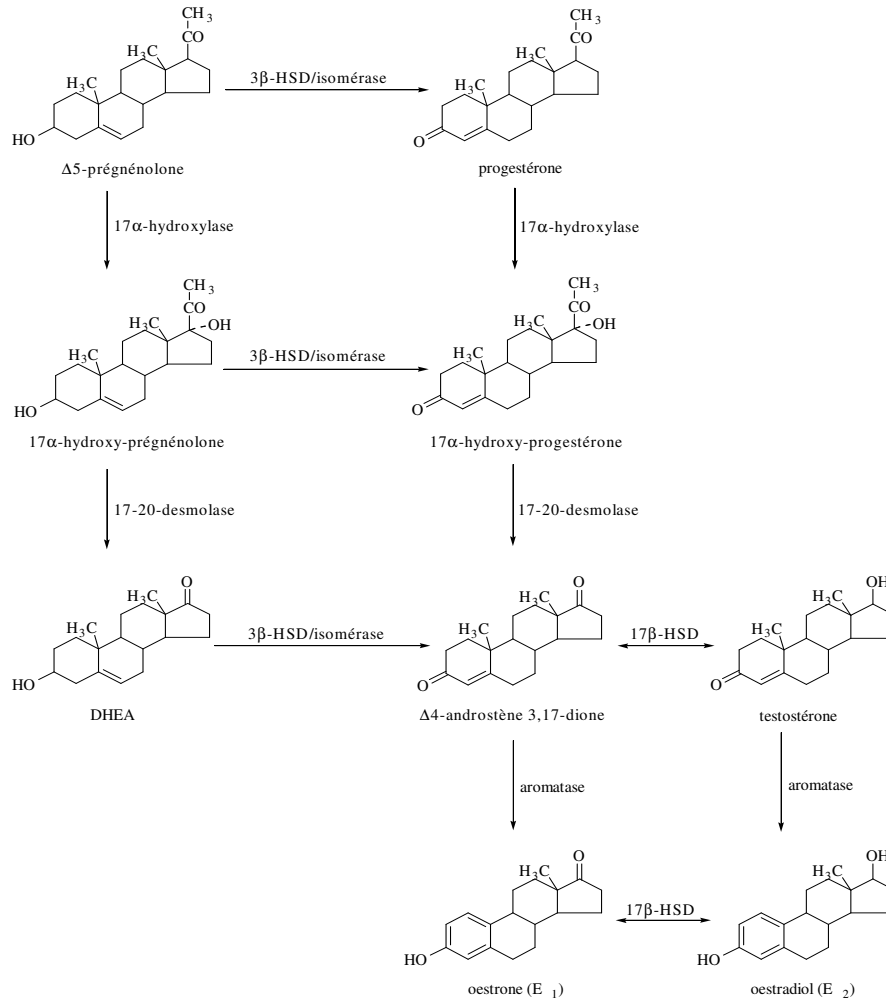


Figure 1-8: Synthèse des œstrogènes à partir de la prégnénolone.

II. Récepteurs nucléaires

La superfamille des récepteurs nucléaires a été décrite la première fois par R. Evans en 1988 (Evans., 1988). Ce sont des facteurs de transcription impliqués dans des processus biologiques fondamentaux tels que la différenciation ou la prolifération cellulaire.

La superfamille des récepteurs nucléaires représente 48 gènes dans le génome humain, 49 chez la souris (FXR β), 21 chez *Drosophila melanogaster*, plus de 270 chez *Caenorhabditis elegans*. Elle se subdivise en trois groupes selon la nature des ligands :

- Récepteurs aux hormones stéroïdes: récepteur aux œstrogènes (ER)(Green et al., 1986), récepteur de la progestérone (PR) (Jeltsch et al., 1986), récepteur des minéralocorticoïdes (MR) (Arriza et al., 1987), récepteur des glucocorticoïdes (GR)(Govindan et al.,1985), récepteur des androgènes (AR)(Tan et al., 1988)

- Récepteurs aux hormones non stéroïdes: récepteur aux acides rétinoïques (Petkovich et al., 1987), récepteurs aux hormones thyroïdiennes (TR)(Sap et al., 1986), récepteur de la vitamine D₃ (ou calcitriol ou cholécalciférol) (VDR)(Baker et al., 1988).
- Récepteurs orphelins (dont le ligand n'était pas caractérisé au moment du clonage) (Laudet et al., 1992)

Les récepteurs nucléaires présentent des homologies de séquence, plus au moins dans différentes portions de leur structure. De plus, ces récepteurs ont une organisation générale commune en plusieurs domaines, présentant des propriétés fonctionnelles homologues.

De l'extrémité *N-terminale* à l'extrémité *C-terminale*, on a pu identifier cinq régions fonctionnelles, le long des séquences des récepteurs (figure 1-9).

- un domaine N-terminal hautement variable (A/B). C'est ce domaine qui contient le domaine de transactivation AF1 (Activation Function 1), région impliquée dans l'activation de l'expression des gènes cibles en permettant l'interaction d'autres facteurs protéiques.
- un domaine de liaison à l'ADN (C), très conservé, (DBD - DNA Binding Domain). Le domaine C est aussi impliqué dans la dimérisation des récepteurs.
- un domaine intermédiaire (domaine D), de petite taille, qui va notamment permettre la localisation nucléaire du récepteur (NLS - Nuclear Localization Signal) (Marivoet et al., 1992, Redeuilh et al., 1987; Sanchez et al., 1985; Rafestin-Oblin et al., 1989; Radanyi et al., 1989).
- un domaine de liaison au ligand (domaine E) de grande taille (LBD - Ligand Binding Domain) (Dobson et al., 1989) qui contient également le domaine de transactivation AF2 (Activation Function 2) (Danielian et al., 1992) ainsi qu'une région essentielle pour la dimérisation du récepteur et un domaine d'interaction avec la hsp90. Eventuellement un domaine supplémentaire C-terminal (domaine F) très variable et dont la fonction est encore mal connue.

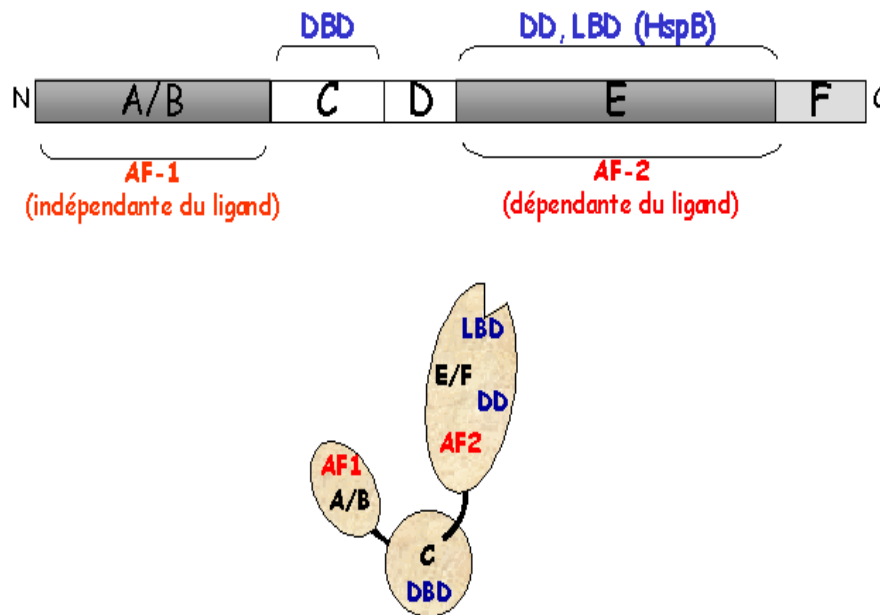


Figure 1-9: Organisation structurale des récepteurs nucléaires en régions fonctionnelles. DBD: DNA binding domain, DD: dimérisation domain, HspB: Hsp Binding, AF: activation function.

II.1. Les récepteurs à androgènes

Le récepteur à androgènes (AR) est largement distribué dans l'organisme. Il présente toutefois un degré d'expression très variable selon les tissus, et pour un tissu donné selon son stade de développement, et selon le degré de différenciation cellulaire. L'AR est particulièrement exprimé dans les tissus cibles des androgènes, tels que la prostate, les muscles, le foie et le système nerveux central, avec un niveau d'expression très élevé observé dans la prostate (Johansen., 2004). Il est aussi localisé dans la peau, notamment dans les glandes sébacées. Physiologiquement, le récepteur AR activé par la liaison d'androgènes est responsable de la différenciation sexuelle et des changements morphologiques observés lors de la puberté.

Le gène du AR est localisé sur le bras long du chromosome X en position q11-q12 (Lubahn et al., 1988), et s'étend sur environ 90 kb . Son expression est donc monoallélique chez l'homme. Le cadre ouvert de lecture s'étend sur 2,7 kb, comprend 8 exons et code pour une protéine de 919 acides aminés ayant une masse moléculaire de 110 kilodaltons (kDa). Deux espèces d'ARN messagers (ARNm) de 8,5 kb et de 11 kb ont été identifiées dans différentes lignées cellulaires, et l'on présage que des facteurs tissulaires spécifiques

déterminent lequel est préférentiellement utilisé dans un tissu donné. Dans la prostate, c'est le transcrit de 11 kb qui est principalement exprimé.

II.1.a. Structure du domaine de liaison au ligand du récepteur des androgènes

Les structures du domaine de liaison au ligand (LBD) des récepteurs nucléaires seuls ou en présence d'un agoniste ou d'un antagoniste ont été résolues. En revanche, la plupart des structures cristallographiques des récepteurs orphelins ne sont pas encore connues. La première résolution de la structure cristallographique d'un LBD a indiqué que ce domaine est hautement structuré (Bourguet et al., 1995). Le LBD du AR est constitué de 11 hélices α et d'un court feuillet β , arrangés en trois couches pour former un sandwich antiparallèle formant ainsi une poche hydrophobique (figure 1-10). Les autres récepteurs nucléaires sont composés de 12 hélices α , mais l'hélice 2 n'existe pas chez le AR.

Les hélices 1 à 3 forment une face du LBD, les hélices 4, 5, 8 et 9 ainsi que le feuillet β correspondent à la couche centrale du LBD, et les hélices 6, 7 et 10 forment la troisième face du « sandwich ». L'hélice 12 permet au LBD de réguler la transcription. Les ligands sont reconnus grâce à deux types de contact : des liaisons hydrogènes aux extrémités et des liaisons hydrophobes de type van der Waals pour tout le corps du ligand. Suite à la liaison du ligand, le LBD subit un réarrangement structural où l'hélice 12 va changer de position afin de fermer la poche de liaison du ligand, ce qui conduit à la formation d'une surface d'interaction protéine-protéine hautement conservée appelée fonction d'activation 2 (AF-2). Le domaine AF-2 est alors capable d'interagir avec des co-activateurs et ainsi de promouvoir la transcription des gènes cibles (Warnmark et al., 2003).

II.1.b. Conformation et fonction du récepteur AR

Comme les autres récepteurs stéroïdiens, AR est principalement localisé dans le cytoplasme et est associé avec un complexe de protéines chaperons (HSP pour Heat Shock Protein) par l'intermédiaire d'interactions avec le LBD (Pratt et Toft., 1997). Lorsque AR est lié à un agoniste, il se passe une série de changements conformationnels provoquant la dissociation des HSPs. Ainsi, ces changements de conformation déclenchent des processus de dimérisation, de phosphorylation et la translocation de AR dans le noyau qui est déclenchée par le signal de localisation nucléaire (NLS).

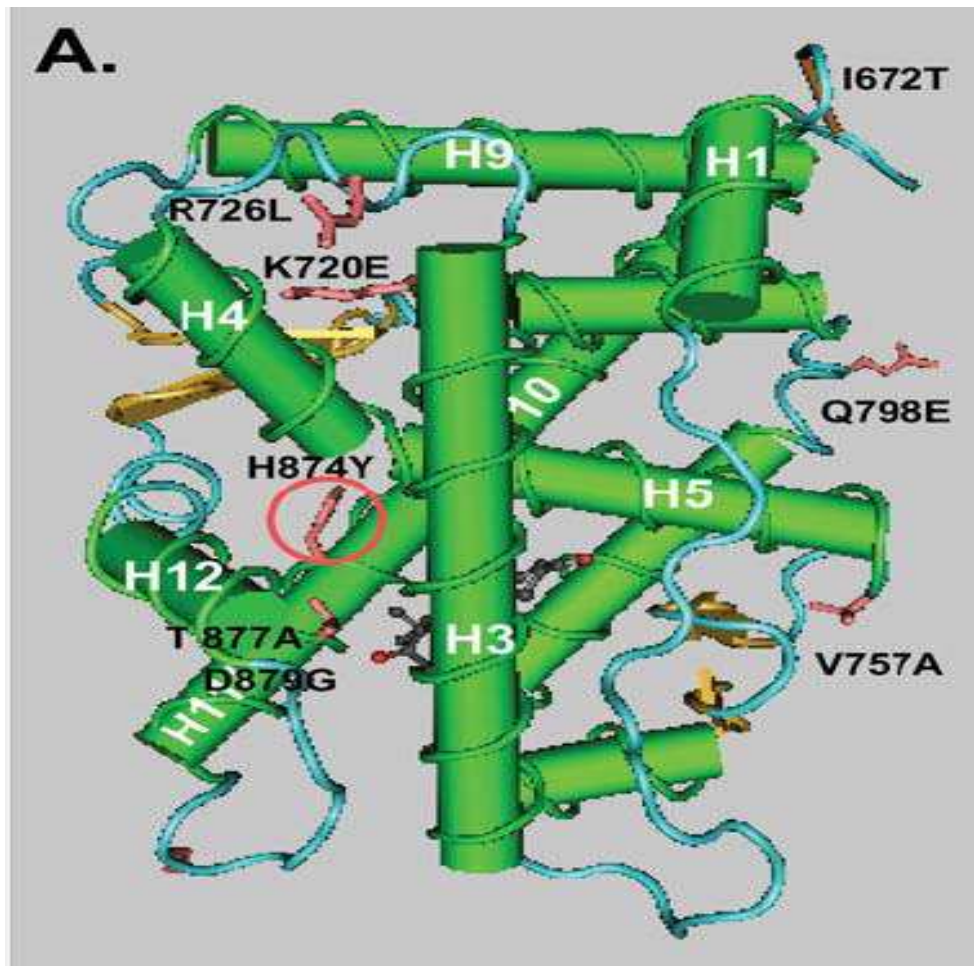


Figure 1-10: Structure du domaine de liaison au ligand du récepteur des androgènes. Le LBD du AR est formé de 11 hélices α représentées par les cylindres verts, agencées en sandwich tri-lamellaire. Quelques mutations ponctuelles décrites dans les CaP et ayant un impact sur la liaison du ligand sont représentées en rose. (D'après Duff et al., 2006).

Ensuite, le récepteur se lie à l'élément de réponse aux androgènes (ARE), caractérisé par une séquence consensus de six nucléotides 5'- TGGTCT -3' et localisé dans la région «enhancer» des cibles du gène codant pour le récepteur AR. Le recrutement d'autres co-régulateurs de transcription (co-activateurs et co-répresseurs) (Heinlein et al., 2002) et de la machinerie de transcription (Shang et Myers., 2002) assure l'activation de l'expression du gène régulé par AR.

Tous ces processus sont initiés par les changements de conformation de AR induits par l'association d'un ligand sur le LBD. Ainsi, ces changements permettent la formation d'une région de fonction d'activation (AF2) située sur la surface du LBD. Cette région est cruciale à la fois pour l'interaction de type N/C-terminale (N/C) du récepteur AR et pour le recrutement de co-régulateurs durant la transcription. La région AF2 est un sillon hydrophobe constitué

par la région C-terminale de H3, H4 et H12 (Wurtz et al., 1996). Elle serait essentielle pour le recrutement de co-régulateurs car le motif «LXXLL» (Heery et al., 1997) (X = un acide aminé quelconque) qui se trouve, chez des co-activateurs, dans un domaine interagissant avec un récepteur nucléaire (NID) se lierait spécifiquement sur AF2 (Bourguet et al., 2000). De plus, d'autres motifs sur le domaine N-terminal de AR, ²³FXXLF²⁷ et ⁴³³WXXLF⁴³⁷, pourraient aussi interagir avec AF2 (He et al., 2002). Ainsi, ces deux interactions pourraient entrer en compétition pour le même site de liaison vis-à-vis de AF2.

Les changements de conformation de AR induits par un ligand fournissent une base structurale pour le recrutement de cofacteurs et de la machinerie de transcription. En effet, il a été montré que la formation d'un complexe d'activation implique AR, des co-activateurs, et l'ARN polymérase II qui sont liés sur les régions « enhancer » et promotrices du gène codant pour l'antigène spécifique à la prostate (PSA) (Shang et Myers., 2002). La formation d'un complexe de répression implique des facteurs qui sont seulement liés à la région promotrice. Puisque la formation de la région AF2 fonctionnelle fournit une base structurale pour l'interaction protéine/protéine, le recrutement de co-régulateurs pourrait être crucial pour l'activité agoniste ou antagoniste des ligands du récepteur AR (Hodgson et al., 2005).

La liaison à l'ADN est aussi requise pour l'expression du gène régulé par le récepteur AR. La séquence de l'élément de réponse aux androgènes (ARE) peut être arrangée selon des répétitions, soit inversées, soit directes (Nantermet et al., 2004; Nelson et al., 2002; Claessens et al., 2001; Haelens et al., 2003). Le récepteur AR reconnaît et se lie au site de l'ARE par l'intermédiaire de deux doigts de zinc (« zinc fingers ») localisés dans le domaine de liaison à l'ADN. Tout comme les autres récepteurs stéroïdiens, AR forme des homodimères et semble former des dimères «têtes contre têtes» (Shaffer et al., 2004). La reconnaissance sélective de séquences spécifiques de l'ARE pourrait être régulée, soit par la liaison au ligand,⁵⁵ soit par la présence d'autres facteurs de transcription qui se lient à leurs propres sites de liaison à l'ADN, ou bien par les deux mécanismes (Remenyi et al., 2004).

En conclusion, les changements de conformation de la poche de liaison de AR dus à la liaison d'un antagoniste n'ont pas encore été élucidés à ce jour. On a vu précédemment que AR joue un rôle critique dans de nombreux processus physiologiques, incluant le développement des caractéristiques sexuelles mâles secondaires telles que les muscles, les cheveux, la masse osseuse et la spermatogenèse. AR est aussi impliqué dans le développement de cancers de la prostate hormono-dépendants.

II.2. Les récepteurs à œstrogènes

Le récepteur des oestrogènes (ER) est un facteur de transcription qui fait partie de la superfamille des récepteurs nucléaires. L'activité du facteur de transcription ER est capitale pour une prolifération normale des cellules mammaires.

Le gène codant le ER fut cloné à partir de cellules cancéreuses mammaires MCF7 en 1985 (Walter et al., 1985) et séquencé un an plus tard (Greene et al., 1986). Une dizaine d'années plus tard un second type de récepteur des oestrogènes a été découvert, d'abord chez le rat (Kuiper et al., 1996) puis chez l'homme (Mosselman et al., 1996) et la souris (Tremblay et al., 1997). Ce nouveau type de récepteur a été nommé récepteur des oestrogènes β (Kuiper et al., 1996) par opposition au premier ER séquencé qui a été nommé ER α .

Le gène codant le ER α est localisé sur le chromosome 6 au locus 6q25.1. Il est organisé en 8 exons dont la transcription est sous le contrôle de 7 promoteurs (Kos et al., 2001). L'usage de ces différents promoteurs conduit à des variants d'ARNm qui diffèrent par leur région 5' non traduite. Dans tous les cas, une même protéine de 66 kDa est produite. L'utilisation de ces différents promoteurs varie en fonction du type cellulaire, ce qui permet la régulation de la quantité de transcrits synthétisés. Le gène codant le ER β est localisé sur le chromosome 14 entre les loci 14q11.1 et 14q11.2. Comme le ER α , il est organisé en 8 exons. Le gène ER β code une protéine de 530 acides aminés d'environ 60kD. (Menasce et al., 1993; Enmark et al., 1997; Kuiper et al., 1997).

Le ER α et le ER β sont localisés principalement au niveau du système reproducteur féminin (sein, utérus). On les retrouve aussi dans le foie, le colon, le cerveau, le système cardio vasculaire, le tractus uro-génital et l'os (Enmark et al., 1997; Kuiper et al., 1997; Taylor and Al-Azzawi, 2000). Dans un même tissu, le ER α et le ER β peuvent posséder des localisations spécifiques. Ainsi, dans l'ovaire, le ER α est largement présent dans les cellules de la thèque et les cellules interstitielles, alors que le ER β est prédominant dans les cellules de la granulosa (Hiroi et al., 1999; Sar and Welsch, 1999). Dans la prostate, le ER β est localisé dans l'épithélium tandis que le ER α est localisé dans le stroma (Weihua et al., 2002). Récemment, plusieurs études réalisées sur le sein, l'ovaire, le colon et la prostate ont montré la sous expression du ER β (ARNm et protéine) dans le tissus tumoral comparé aux tissus sain (Campbell-Thompson et al., 2001; Fixemer et al., 2003; Leygue et al., 1998; Pujol et al., 1998; Roger et al., 2001). Il semble que le rapport ER α /ER β augmente au cours de la tumorigénèse, suggérant ainsi que ces deux protéines aient des rôles différents au cours de ce processus.

II.2.a. Conformation et fonction du récepteur à œstrogènes

Contrairement aux autres récepteurs nucléaires, tous les récepteurs des hormones stéroïdes non liés à l'hormone sont associés à un complexe multiprotéique de protéines auxiliaires. Ces protéines incluent les protéines de choc thermique hsp90, la première identifiée (Catelli et al., 1985), hsp70 (Ratajczak et al., 1993) et la protéine p59 (Renoir et al., 1990), une protéine de la famille des immunophilines (prolyl-isomérase)(Lebeau et al., 1992). En absence de ligand, le ER est retrouvé sous forme d'un complexe aporecepteur composé d'un monomère de RE, d'un dimère de la hsp90 (Redeuilh et al., 1987) et de plusieurs autres protéines (Segnitz et Gehring, 1995) (figure 1-12). Suite à la liaison du ligand, le ER "activé" se dissocie du complexe des protéines chaperones. Le domaine de liaison à l'hormone (LBD) du ER α change de conformation suite à sa liaison à l'agoniste. Ce changement se traduit par le repositionnement de l'hélice 12 en C terminal du LBD et permet le passage à une forme transcriptionnellement active du ER α .

Le fait que la séquence régulatrice à laquelle se fixe le ER ait une structure palindromique suggère que le RE lie aux éléments de réponse des œstrogènes (ERE) sous forme de dimère (Kumar et Chambon, 1988; Schwabe et al., 1993; Whang et al., 1995). La formation de dimères semble être essentielle pour le fonctionnement normal du ER α car des mutations qui bloquent sa dimérisation entraînent généralement l'inactivation du ER (Lees et al., 1990).

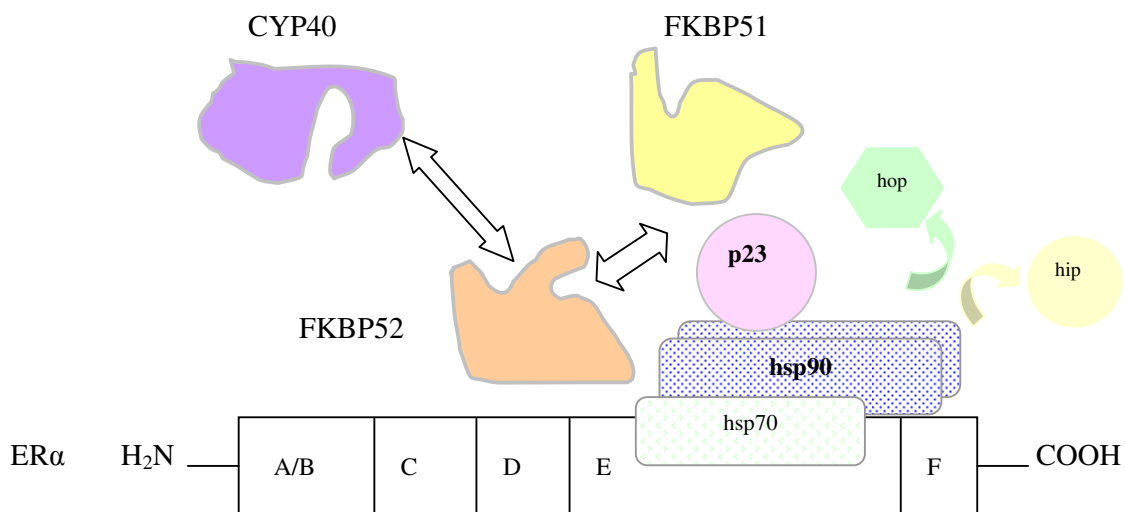


Figure 1-12: Représentation schématique de ER α au sein de son complexe multi-chaperons. ER α est pris en charge au sein d'un complexe hétéro-oligomérique de chaperons moléculaires: un dimère de hsp90, la hsp70 et une immunophiline.

Le principal domaine responsable de la dimérisation du ER se trouve au niveau du domaine E. La surface de dimérisation est assez importante et représente 15% de la surface de chaque monomère (Brzozowski et al., 1997). Le ER existe sous forme de dimère, même en absence de ligand et cette interaction est résistante à de fortes concentrations en agent dénaturants (Salomonsson et al., 1994). Toutefois les ligands du ER (agonistes comme antagonistes) entraînent une stabilisation des dimères de ER α (Tamrazi et al., 2002). Le ER α est capable de s'hétérodimériser avec le ER β (Cowley et al., 1997; Hall and McDonnell., 1999; Ogawa et al., 1998 b) formant ainsi des homodimères ER α , des hétérodimères ER α /ER β , et des homodimères ER β . L'interface précise de dimérisation entre ces récepteurs n'est pas encore déterminée.

Le ER lie un élément de réponse aux oestrogènes appelé "Estrogen Responsive Element" (ERE). La comparaison de 23 éléments de réponse fonctionnels a permis de définir un ERE consensus (Anolik et al., 1993). C'est une séquence palindromique parfaite de 13 paires de bases, organisées en 2 hexamères séparés par 3 nucléotides de séquence aléatoire GGTCANNN TGACC. En fonction de son ligand, le ER adopte des conformations différentes qui permettent ou non la reconnaissance des différents ERE (Ramsey and Klinge, 2001; Wood et al., 1998; Wood et al., 2001), ce qui conforte l'idée que des bases structurales sont impliquées dans les mécanismes d'action des anti-oestrogènes.

Les ER activent aussi la transcription de leurs gènes cibles en s'associant à des facteurs de transcription liant eux-mêmes l'ADN comme le complexe AP-1 ou la protéine Sp1 (Klinge, 2000; Safe, 2001; Webb et al., 1995).

L'activité transcriptionnelle du ER est régulée par un vaste éventail de cofacteurs et de corépresseurs (McDonnell and Norris, 2002; McKenna et al., 1999; McKenna and O'Malley., 2002; Smith and O'Malley., 2004). C'est ce réseau complexe de co-activateurs et de corépresseurs qui permet une régulation fine de l'activité transcriptionnelle du RE α et notamment explique en partie l'activité plus ou moins forte du ER selon le type cellulaire ainsi que la balance entre activité agoniste/antagoniste des SERMs selon les tissus.

En plus de ce mécanisme fin de régulation du ER, il existe un niveau de complexité supérieur de contrôle de l'activité du RE. En effet au sein d'un même type cellulaire, le dialogue entre les voies de signalisation ainsi que les modifications post-traductionnelles du RE α et de ses partenaires vont jouer un rôle important dans son activité.

L'observation d'effets très rapides des œstrogènes, ne pouvant pas provenir de la transcription et de la formation de protéines a mené à l'hypothèse de l'existence d'un récepteur membranaire des œstrogènes. Récemment, ces derniers ont été détectés (Razandi et

al., 2004; Zivadinovic et al., 2005). L'œstrogène se lie au récepteur qui interagit avec la PI3 kinase. L'activation de cette dernière mène à la phosphorylation de la sérine-thréonine protéine kinase (AKt/PKB), qui induit une augmentation rapide d'oxyde nitrique (NO) produite par l'activation de eNOS (Simoncini et al., 2002).

II.2.b. Structure du domaine de liaison au ligand du récepteur à œstrogènes

Les structures cristallographiques des domaines de liaison au ligand et à l'ADN de différents récepteurs nucléaires ont été résolues. Cependant, aucune structure cristallographique d'un récepteur entier n'est encore disponible à ce jour.

La première structure tridimensionnelle du LBD du récepteur ER a été résolue en 1997 par Brzozowski (Brzozowski et al., 1997). Ce domaine partage une structure tridimensionnelle similaire aux autres récepteurs stéroïdiens. La structure cristallographique du domaine de liaison du récepteur ER sauvage a été résolue avec le 17β -œstradiol (E2) (figure 1-13 et 1-14). La protéine comprend douze hélices alpha ($H\alpha$) et deux courts coudes bêta (β), qui sont arrangés selon trois couches pour former un « sandwich d'hélices alpha » antiparallèle (Bourguet et al., 2000; Nahoum et al., 2007).

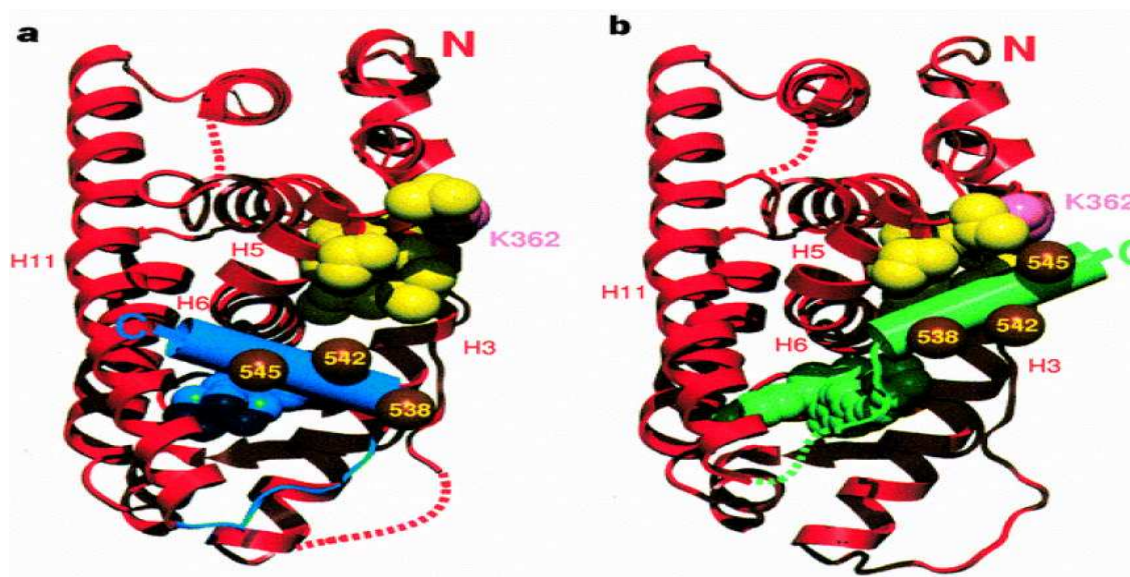


Figure 1-13: Structure déterminée aux rayons X du domaine de liaison au ligand du **ER α** . L'hélice 12 dont la position varie en fonction est représentée par un cylindre bleu dans le cas de la liaison à l'œstradiol (a) et en vert dans le cas de la liaison à l'anti œstrogène partiel Raloxifène (b). d'après Brzozowski et al., 1997.

Les hélices H1, H2 et H3 forment une face du LBD, pendant que les hélices H4, H5, le premier coude β 1 et les hélices H8 et H9 constituent la couche centrale de la structure et que les hélices H6, H7, H10 et H11 forment la deuxième face. H5, la région *N-terminale* de H3

ainsi que la région *C-terminale* des hélices H10 et H11 constituent la majeure partie de la poche hydrophobe de liaison au ligand (LBP). Lorsque l'œstradiol, ligand naturel de ER, se lie à son récepteur, l'hélice H12 sert de couvercle recouvrant la LBP, afin de stabiliser le ligand. La fin de la région *C-terminale* du LBP forme le deuxième coude béta ($\beta 2$), qui fonctionne comme un verrou afin de stabiliser la conformation du couvercle H12. Cette conformation est ce qu'on appelle conformation active, car elle favorise le recrutement de co-activateurs transcriptionnels.

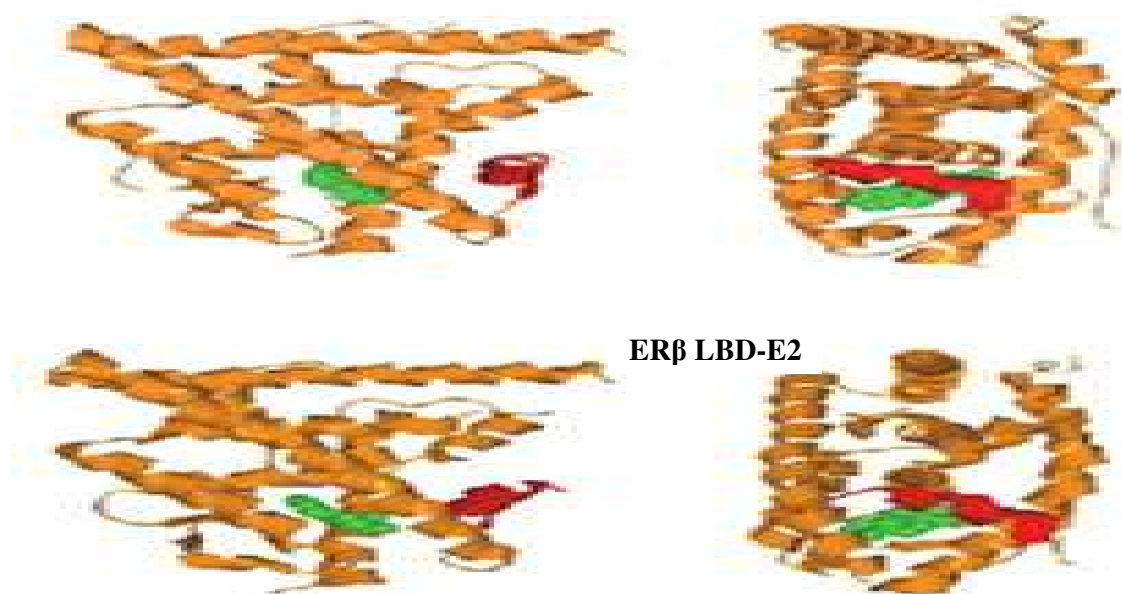


Figure 1-14: Les conformations du domaine de liaison au ligand (E_2) de **ER α** et **ER β** . La figure montre le positionnement du ligand (E_2) en vert, la cavité de sa liaison aux deux isoformes de ER ainsi que le positionnement de l'hélice H12 en rouge dans deux orientations différentes pour les deux récepteurs.

III. Le Cancer

Dans la Grèce antique, les Asclépiades désignent diverses familles vouées à l'exercice de la médecine. Ce sont les Asclépiades qui ont dénommé *karkinos* cette redoutable affection que l'on compte parmi les plus grands fléaux de l'humanité. Ils désignaient ainsi toutes les tumeurs à marche envahissante et rapide, qui déterminent la mort. Mais pourquoi les Grecs ont-ils donné à ces tumeurs le nom de *karkinos*, mot qui signifie « crabe » ? Deux possibilités se présentent à nous. La première pourrait être en raison d'une comparaison des pattes d'un crabe à la forme des veines dilatées, des lymphatiques engorgés et des traînées cancéreuses qui s'écartent en rayonnant autour d'une tumeur, masse principale rappelant le corps d'un animal. L'autre possibilité pourrait être que les Asclépiades ont cru qu'un animal rongait les

tissus, tenaillant les malades, les enserrant comme dans un étau. C'est ainsi qu'Hippocrate définit en premier la maladie, comme un gonflement dur (tumeur), noninflammatoire, ayant tendance à récidiver et se généraliser jusqu'à la mort. Les latins ont par la suite conservés l'appellation grecque sous la forme latine de *cancer*.

Le cancer est une maladie due à une prolifération cellulaire anormale au sein d'un tissu normal de l'organisme. Au cours de l'évolution de la maladie, certaines cellules peuvent migrer de leur lieu de production et former des métastases. Les cellules cancéreuses possèdent des caractéristiques propres. Elles présentent ainsi une capacité de croissance exagérée qui est stimulée de façon non physiologique. Par ailleurs, ces cellules sont insensibles aux inhibiteurs physiologiques de la croissance cellulaire, et elles ont la particularité d'échapper à l'apoptose. De plus, les cellules cancéreuses sont capables de se diviser de façon illimitée, mais aussi d'induire une néo-angiogénèse, processus nécessaire au soutien de la croissance tumorale. Enfin, ces cellules possèdent des capacités d'invasion et de métastases. Tous ces avantages acquis caractérisent une cellule cancéreuse.

III. 1. Mécanisme de déclenchement tumoral

La première étape de cancérisation est une phase d'initiation. Elle se caractérise par une accumulation de mutations qui ont pour conséquence une surexpression des facteurs pro-oncogéniques. Les cellules sont génétiquement anormales mais toujours contrôlées par l'environnement cellulaire via les jonctions serrées (gap-junction). Lorsque les cellules entrent dans la seconde étape dite de promotion, elles acquièrent leur indépendance vis-à-vis des facteurs de croissance grâce aux pro-oncogènes, et perdent leur capacité de communication intercellulaire (figure 1-15).

Cette acquisition d'indépendance peut se faire de plusieurs manières:

- soit la cellule est capable de synthétiser elle-même un certain nombre de facteurs : on parle alors de contrôle autocrine notamment avec une augmentation de la synthèse et une surexpression d'« Insuline Growth Factor » (IGF), d'« Epithelial Growth Factor » (EGF) ou encore TGF- α .
- soit il y a une surexpression des récepteurs transducteurs de signaux comme par exemple c-erb B2, le récepteur de l'EGF (Eccles et al., 2001).
- soit la cellule surexprime des facteurs de transcription, par exemple le pro-oncogène c-myc. Dans la cellule normale, il forme un dimère avec la protéine Max et induit la prolifération cellulaire. Ce stimulus est régulé dans les conditions physiologiques par le complexe Mad-Max. En cas de surexpression de c-myc, le complexe Myc-Max est

favorisé au dépend de Mad-Max ce qui entraîne une prolifération cellulaire non régulée (Eccles., 2001; Hynes et Lane., 2001).

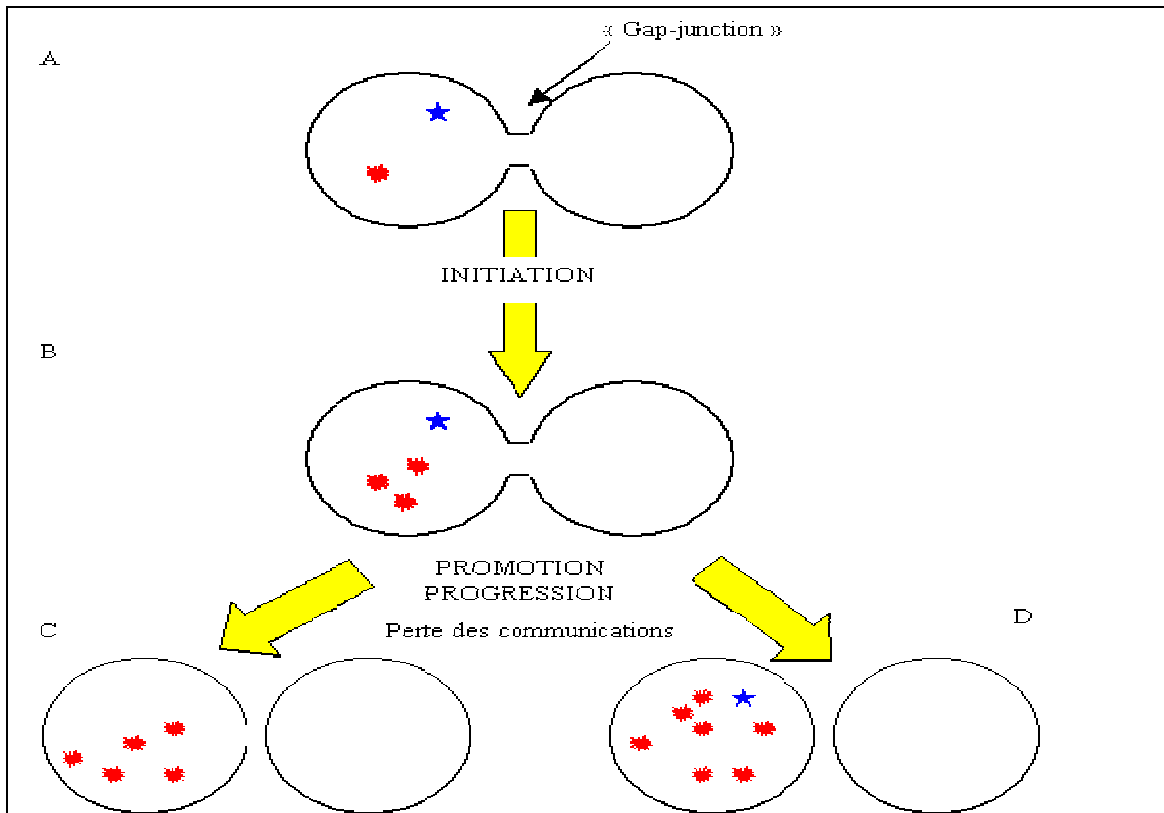


Figure 1-15: Initiation, promotion et progression d'une cellule tumorale: rôle de l'équilibre entre pro et anti-oncogènes.

Pro-oncogène : * (red star), Anti-oncogène : * (blue star).

A : équilibre entre pro et anti-oncogènes la croissance cellulaire est normale.

B : phase d'initiation avec un déséquilibre entre pro et anti-oncogènes. La croissance est toujours normale.

C : perte des anti-oncogènes et des communications intercellulaires. La croissance devient incontrôlée.

Les mécanismes de cancérisation sont aussi provoqués par la perte d'un certain nombre de contrôles sur la croissance cellulaire, avec notamment des pertes de fonctionnalité des anti-oncogènes. Deux anti-oncogènes majeurs interviennent dans la régulation du cycle cellulaire : la protéine du rétinoblastome (pRb) et le produit du gène p53 (Eccles., 2001; Hynes et Lane., 2001).

III. 2. Progression tumorale et l'échappement thérapeutique

Lorsque la tumeur atteint 1 à 3 mm³, elle a besoin d'apports en oxygène et en nutriments pour poursuivre sa croissance, dans le cas contraire elle entre en nécrose (Folkman., 1995 a,b). Pour échapper à la nécrose, elle met en place un processus de néo-vascularisation appelé néo-angiogenèse. Il s'agit d'un processus naturel qui a surtout lieu lors

du développement embryonnaire. La formation de nouveaux vaisseaux apparaît aussi au cours du cycle menstruel (irrigation de l'utérus) et dans les phénomènes de cicatrisation (Lloyd et al., 2003). L'angiogenèse physiologique est régulée par un équilibre entre des facteurs pro-angiogéniques tel que le « vascular endothelial growth factor » (VEGF) et des facteurs anti-angiogéniques tels que l'angiostatine et l'endostatine. L'angiogenèse tumorale répond à trois grands principes d'activation mis en jeu par les cellules tumorales en hypoxie: la libération directe de facteurs pro-angiogéniques, la dégradation des composants de la membrane basale, provoquant la libération de facteurs de croissance et pro-angiogéniques, ce qui entraîne l'activation de macrophages et l'amplification du phénomène.

Les facteurs pro-angiogéniques tels que le VEGF, agissent sur les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins pré-existants, qui sont des cellules à faible potentiel de division. Ils provoquent leur entrée en cycle cellulaire et une augmentation de leur pouvoir mitotique. Elles rompent la membrane basale des vaisseaux sanguins, et s'organisent en capillaires. Ces derniers migrent vers la source émettrice des facteurs pro-angiogéniques : la tumeur. Les cellules mésenchymateuses se différencient en péricytes, et les capillaires forment alors les nouveaux vaisseaux fonctionnels. Ce nouveau réseau de vaisseaux permet à la tumeur de se développer et de mettre en place les processus d'envahissement métastatique. Les cellules tumorales en plein développement provoquent une rupture de la membrane basale tumorale et migrent dans les vaisseaux sanguins (Andre et al., 1998; Boucheau et Myers., 2003). Une fois dans la circulation, elles se dispersent dans d'autres organes comme les poumons ou les os. La dispersion métastatique d'un cancer mammaire se fait aussi via le système lymphatique, grâce au processus de lymphangiogenèse. La lymphangiogenèse est un processus physiologique impliqué dans la synthèse de néo-vaisseaux lymphatiques. Comme pour l'angiogenèse, la lymphangiogenèse est détournée par les cellules tumorales afin de favoriser leur développement. Lorsque les cellules tumorales envahissent les vaisseaux lymphatiques, on observe un envahissement ganglionnaire. Une fois le processus métastatique enclenché, et les métastases à distance présentes, la maladie atteint un stade critique, avec généralement une perte d'efficacité de la chimiothérapie (phénomène de chimiorésistance) et de l'hormonothérapie (perte des récepteurs hormonaux à la surface des cellules). La maladie entre en stade final dit d'échappement thérapeutique.

III.3. Le cancer de la prostate

La prostate englobe le carrefour des voies urinaires et des voies génitales, d'où l'origine de son nom « *prostates* » en grec, qui signifie « *protecteur, ou qui se tient devant* ».

La prostate saine est approximativement de la taille d'une prune, de 15 à 25 g à l'âge adulte (volume estimé à 20 cm³ environ) (figure 1-16). Très petite à la naissance, c'est lors de la puberté qu'elle prend du volume. Cette glande subit une seconde période de croissance après l'âge de 60 ans. Sa fonction principale est de sécréter et de stocker le liquide séminal, l'un des constituants du sperme. Ce liquide séminal est composé de nombreuses enzymes dont la phosphatase acide (PAP pour prostatic acid phosphatase) et l'antigène spécifique de la prostate (PSA pour prostate specific antigen).

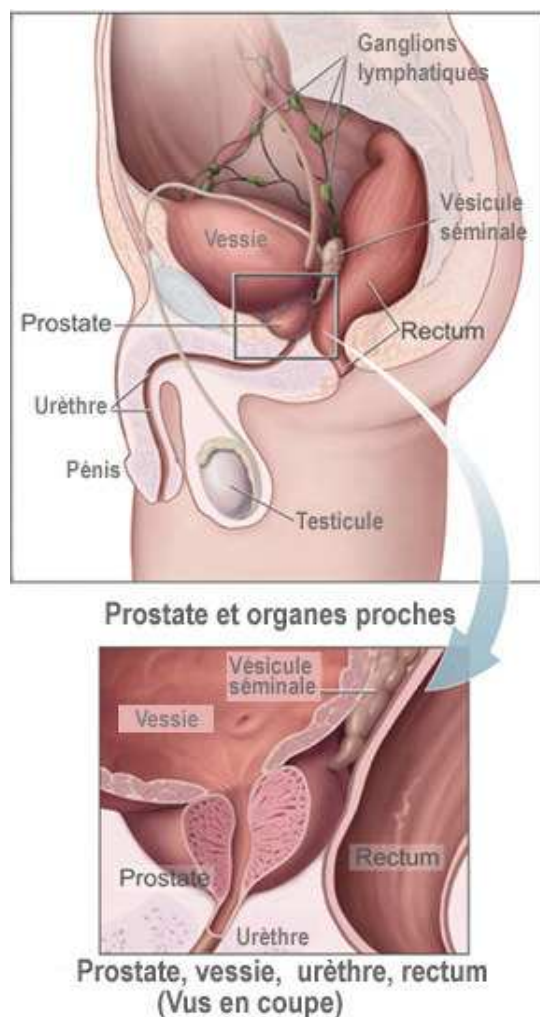


Figure 1-16: Représentation de la prostate.

La prostate est composée d'un épithélium glandulaire et d'un stroma fibromusculaire. C'est à partir de l'épithélium que se développe le carcinome prostatique.

Peu reconnu au 19^{ème} siècle où des cas de cancer de la prostate (CaP) étaient présentés lors de congrès médicaux comme un phénomène rare (Lytton., 2001), c'est actuellement le cancer le plus commun chez les hommes. En effet, avec plus de 62 000

nouveaux cas par an, le CaP représente le premier cancer de l'homme en France devant le cancer du poumon (24 000 nouveaux cas), et arrive au deuxième rang des décès par cancer chez l'homme dans les pays occidentaux après le cancer bronchique avec environ 10 000 décès par an. Ainsi, le CaP représente un problème majeur de santé publique. Le CaP peut être dépendant ou indépendant des hormones mâles, mais la plupart d'entre eux sont hormono-dépendants. Les causes sont encore mal connues, mais l'influence d'une alimentation riche en graisses semblerait être un facteur prédominant. Par ailleurs, une influence génétique semblerait également être un facteur de risques, même si cela n'a pas été clairement mis en évidence.

III.3.a. Origine du cancer de la prostate

La majorité des cancers prostatiques se développeraient à partir de lésions précancéreuses de l'épithélium prostatique. La néoplasie intra-épithéliale prostatique (PIN) a été reconnue comme une lésion précurseur du CaP. Il s'agit d'anomalies nucléocytoplasmiques présentes sur une seule assise cellulaire au niveau des glandes et des tubules de la prostate. Trois grades ont été définis, de la dysplasie légère, parfois difficile à différencier de l'épithélium normal, à la dysplasie sévère (PIN de haut grade) (Vandenbos et al., 2004).

Les CaP ne dépassant pas la capsule prostatique sont dits localisés (à la glande prostatique), et ceux dont les cellules cancéreuses ont dépassé cette capsule sont au moins localement avancés voir métastatiques.

III.3.b. Diagnostic et dépistage du cancer de la Prostate

Les carcinomes prostatiques apparaissant en général dans la zone périphérique de la glande, il est de ce fait inhabituel qu'ils soient symptomatiques à un stade localisé ou même extra-capsulaire. Les symptômes initiaux du cancer de la prostate sont le plus souvent secondaires à l'extension extra-prostatique et aux métastases, notamment osseuses. Les symptômes typiques de «prostatisme» (diminution du jet, difficultés à initier et interrompre la miction, fréquence excessive des mictions appelées pollakiurie) sont en général dus à l'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP) et non pas au cancer prostatique. Toutefois, comme la prévalence de l'HBP et de cancer augmente avec l'âge, il n'est pas rare qu'un cancer soit découvert fortuitement lors de la prise en charge de symptômes urinaires.

Le dépistage du CaP repose sur des tests complémentaires incluant un test sanguin afin de doser l'Antigène Spécifique de la Prostate (PSA), un toucher rectal, et un diagnostic issu d'un examen par imagerie révélant les anomalies de la glande prostatique. Que la maladie ait

une progression lente ou agressive, elle ne peut être détectée de façon certaine qu'avec une biopsie.

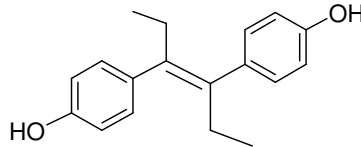
III.3.c. Les différents traitements utilisés contre le cancer de la prostate

Le CaP peut être traité par la chirurgie, la radiothérapie, la thérapie hormonale, la chimiothérapie, ou une combinaison de ces méthodes. L'état de différenciation de la tumeur ainsi que son étendue, tout comme l'âge, la santé et l'état général du patient sont importants pour le choix de la thérapeutique.

- **Prostatectomie radicale:** C'est la première méthode utilisée pour traiter le cancer de la prostate. Elle a été conçue par Huggins en 1941 (Huggins et Hodges., 1941). Elle consiste en une ablation de la glande prostatique et des vésicules séminales par voie chirurgicale. Il s'agit encore du traitement de référence pour les patients jeunes, lorsque le cancer est localisé. C'est un traitement efficace; cependant, il comporte des effets indésirables qui sont essentiellement l'impuissance sexuelle et l'incontinence urinaire.
- **Traitement par radiothérapie:** Ce traitement est proposé aux patients atteints d'un cancer localisé qui ne peuvent pas subir d'opération chirurgicale. Il consiste à exposer la prostate à des irradiations qui créent des lésions dans l'ADN. C'est un traitement efficace qui, cependant, présente des inconvénients tels que le risque d'impuissance sexuelle.
- **Les traitements hormonaux:** Le traitement hormonal, encore appelé hormonothérapie, est basé sur la notion d'hormono- dépendance de la prostate. En effet, le cancer de la prostate est largement dépendant des androgènes. Ce traitement n'est pas curatif; il a plutôt une action palliative choisie lorsque le patient est âgé, lorsque le cancer est déjà à un stade avancé, ou lorsqu'il n'est plus limité à la prostate. Ce traitement est en général prescrit en association avec les traitements locaux (prostatectomie, radiothérapie). L'objectif essentiel de l'hormonothérapie est de ralentir la progression du cancer, en s'opposant à la fabrication et/ou à l'action des androgènes, et d'accroître la survie du patient tout en lui conférant une qualité de vie décente. L'hormonothérapie peut être de trois types:
 - Castration chirurgicale: Ce traitement, encore appelé orchidectomie vraie, consiste en une ablation des testicules afin de prévenir la fabrication de la testostérone. Elle assure une diminution d'environ 95% du taux d'androgènes dans le sang.

- Castration médicale ou chimique: Encore appelée orchidectomie, elle consiste en l'utilisation de médicaments hormonaux actifs afin de diminuer le niveau de testostérone dans le sang. Les médicaments utilisés sont les suivants:

✓ Oestrogènes (exemple: le Diéthylstilbestrol ou Distilbène®): Ce traitement a été découvert en 1941 par Huggins (Huggins et Hodges., 1941). Ils agissent en réduisant la sécrétion de LH et réduisent ainsi la sécrétion de testostérone. Ils se sont avérés efficaces; ils présentent, cependant, des risques cardio-vasculaires, même à faible dose. Par conséquent, ce traitement a été abandonné depuis les années 1980.



Diéthylstilbestrol (Distilbène®)

✓ Agonistes de la LHRH (ou gonado-libérine): La LHRH entraîne une stimulation de l'hypophyse avec une augmentation de la sécrétion de LH et donc de la testostérone. Cependant, une administration continue à des taux élevés de LHRH entraîne un épuisement rapide de la production de LH et donc une suppression quasi complète de la fabrication de testostérone. Ce traitement est couramment utilisé depuis 1980, car il permet de réaliser une castration médicale sans les effets indésirables des oestrogènes. En revanche, il présente d'autres effets indésirables tels que les bouffées de chaleur, l'impuissance sexuelle, la baisse de la libido, ou la gynécomastie (= augmentation de volume de la poitrine).

- Blocage androgénique: Il consiste en l'utilisation de molécules antagonistes des androgènes au niveau des récepteurs AR, appelées anti-androgènes. Ces molécules se sont avérées prometteuses pour le traitement du cancer de la prostate; c'est pourquoi nous nous limiterons à l'étude de ces molécules.

➤ **Chimiothérapie**: La chimiothérapie est utilisée dans le cancer de la prostate quand celui-ci a évolué avec une extension extra-prostatique et qu'il ne répond plus au traitement hormonal. La chimiothérapie diminue la croissance tumorale et peut

diminuer les douleurs liées au cancer. le traitement recommandé était l'association de Mitoxantrone et de Prednisone (Tannock et al., 1996).

III.4. Le cancer du sein

Le sein est une glande exocrine, qui se développe au cours de la vie de la femme. Son architecture se construit tout au long de la vie, du stade fœtal à la ménopause, sous l'influence des hormones sexuelles (œstrogènes et progestérone) et d'un certain nombre de facteurs de croissance (figure 1-17).

L'évolution permanente de la glande mammaire sous l'influence des hormones et des facteurs de croissance la rend plus susceptible aux transformations cancéreuses (Olsson et al., 2000; Russo et al., 1998; Anderson et al., 1982; Ferguson et Anderson., 1981; Brisken., 2002; Nguyen et al., 1995; Polyak et al., 2001).

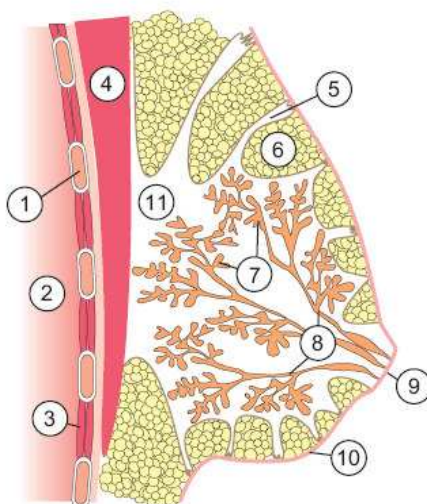


Figure 1-17: Anatomie du sein: (1) cote, (2) poumons, (3) muscles inter-costaux, (4) muscles pectoraux, (5) ligament Cooper (tissu de soutien), (6) graisse sous cutanée, (7) lobule, (8) Canal galactophore, (9) mamelon, (10) peau, (11) espace graisseux rétro-mammaire.

Le cancer du sein est une tumeur maligne qui prend naissance dans les cellules de la glande mammaire. Il représente la première cause de mortalité par cancer chez la femme. Ce cancer est essentiellement un cancer de la femme puisqu'il est très rare chez l'homme (moins de 1%) mais est plus grave car son diagnostic est souvent très tardif.

Les cancers du sein sont cliniquement classés en deux catégories: les cancers du sein dits ER+ et ceux dits ER-, selon le niveau d'expression en récepteurs des œstrogènes (ER) dans une biopsie de tumeur. Les tumeurs du sein ER+ représentent 50 à 80% de la totalité des tumeurs du sein et la proportion des tumeurs sensibles aux œstrogènes augmente avec l'âge. La présence de ER est actuellement corrélée avec un meilleur pronostic de survie. Son

expression détermine si une thérapie anti-hormonale peut être associée aux thérapies classiques.

Malheureusement, une femme atteinte du cancer du sein à un stade précoce, ne présente aucun symptôme. C'est pourquoi, les femmes doivent suivre les recommandations de dépistage. Cependant, le cancer tout en se développant, la femme peut observer les symptômes suivants : apparition de grosseurs dans le sein, anomalies de la peau (fossettes ou une ride à sa surface), un changement de forme ou de taille des seins, un mamelon qui devient rentrant (rétraction), une grosseur sur l'aisselle, un écoulement par le mamelon ou une rougeur sur le mamelon (rare) et douleur localisée.

III.4.1. Facteurs de risque

Les causes exactes du cancer du sein ne sont pas encore toutes connues. Cependant, nous savons qu'il existe de nombreux facteurs de risque qui augmentent la probabilité de contracter un cancer du sein. Ces facteurs peuvent être classés en trois catégories : génétiques, hormonaux et environnementaux.

1. **Les facteurs génétiques:** sont responsables de 5 à 10% des cancers du sein. Il s'agit en fait de la transmission héréditaire d'une anomalie génétique impliquée dans les processus de cancérisation, comme par exemple une forme altérée de gènes tels que BRCA1, BRCA2 ou p53. Un tel risque concerne les femmes ayant un parent proche (mère, sœur ou fille) atteint d'une de ces anomalies (Wooster et Weber., 2003; Keen et Davidson., 2003).
2. **Les facteurs hormonaux:** Les hormones endogènes sont très impliquées dans le développement de la glande mammaire et de ce fait jouent un rôle important en tant que facteurs de risque du cancer du sein. L'apparition précoce des règles (avant 12 ans), une ménopause tardive (après 55 ans) et l'absence de grossesse menée à terme avant 30 ans sont autant de facteurs favorisant l'apparition d'une tumeur mammaire. En revanche, une grossesse menée à terme avant 20 ans ainsi que l'allaitement diminue considérablement les risques. Le risque élevé est en relation avec une surexposition aux œstrogènes endogènes (Clavel-Chapelon., 2002).
3. **Les facteurs environnementaux:** Les variations d'incidence existantes d'un pays à l'autre amènent à parler de risques environnementaux. Les hypothèses concernant le rôle d'une alimentation trop riche en graisses animales comme facteur de risque n'ont pas encore été démontrées à ce jour. En revanche, d'autres facteurs environnementaux

sont reconnus comme impliqués dans l'apparition de cancers du sein. Notamment, on retrouve l'exposition à de fortes radiations (cas des femmes de Nagasaki et Hiroshima).

Signalons encore d'autres facteurs de risque possibles, l'obésité qui fait augmenter le taux d'œstrogènes et un traitement substitutif hormonal de la ménopause (Beral., 2003).

III.4.2. Dépistage et diagnostic du cancer du sein

La détection et le traitement précoces du cancer du sein, augmente les chances de guérison et offre aux femmes plusieurs options de traitements. La majorité des cancers sont détectés par les femmes elles-mêmes, mais souvent sous forme d'une masse. Cependant, quelques médecins conseillent l'autopalpation mensuel des seins, d'autres un bilan général annuel à la clinique ou une mammographie, qui est une forme spéciale des rayons X pour le sein, une ou deux fois par an. Pour les femmes âgées et les femmes à grand risque de contracter le cancer du sein, une mammographie est vivement recommandée par les médecins.

Si une masse ou une anomalie quelconque est détectée par mammographie, une biopsie sera nécessaire et permettra les biochimistes d'obtenir un échantillon tissulaire pour l'examiner sous microscope afin de réaliser un diagnostic.

III.4.3. Stratégies thérapeutiques

Il existe plusieurs traitements pour toutes les patientes atteintes du cancer du sein, à savoir, la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie, l'hormono-thérapie et l'immunothérapie.

III.4.3.1. La chirurgie

La chirurgie est la technique la plus ancienne dans le cas du cancer du sein. La plupart des patientes subissent une chirurgie du sein pour l'ablation du cancer. La chirurgie radicale décrite par Halsted, consiste à retirer en continuité la glande mammaire, les muscles pectoraux et les ganglions lymphatiques axillaires, opération réservée au cancer avec propagation aux muscles pectoraux. Cette technique lourde et traumatisante a quasiment disparu au profit d'une mastectomie moins large avec la conservation des muscles pectoraux et un curage axillaire (ganglionnaire) moins étendu.

Pour les tumeurs de petite taille, la mastectomie est remplacée par la tumorectomie associée à un curage axillaire et à la radiothérapie. Le curage axillaire est à l'heure actuelle facilité par la technique du ganglion sentinelle, qui permet de ne retirer que le premier ganglion de relais et non plus toute la chaîne. Cette méthode est connue sous le nom de

chirurgie conservatrice.

Il existe des cancers du sein opérables d'emblée. Pour les autres cas, la chirurgie est précédée d'une cure de chimiothérapie ou d'hormonothérapie et parfois la combinaison des deux.

III.4.3.2. La radiothérapie

C'est l'utilisation des rayons-X à haute énergie pour tuer les cellules cancéreuses. Dans les services de radiothérapie, les irradiations pour radiothérapie du sein représentent 20 à 30% des irradiations. La radiothérapie post-opératoire est réalisée 3 à 4 semaines après l'intervention chirurgicale, après une bonne cicatrisation. Le traitement est en général de cinq (05) à six (06) semaines, avec une exposition totale de 9 à 10 gray par semaine à raison de 4 à 5 séances de 1,8 à 2,5 gray.

Si la radiothérapie est accompagnée d'une chimiothérapie, l'irradiation est réalisée au milieu du traitement ou après la chimiothérapie. La radiothérapie pré-opératoire ou seule n'est pas appliquée.

III.4.3.3. La chimiothérapie

La chimiothérapie utilise les molécules chimiques, qui ont pour cible l'**ADN** ou les protéines impliquées dans le métabolisme de l'**ADN**, pour tuer les cellules cancéreuses. Ils peuvent être administrés, soit par la bouche ou par injection intra-veineuse ou intramusculaire. Il s'agit d'un traitement appelé systémique, puisque les médicaments, une fois en circulation sanguine, voyagent à travers le corps et peuvent par conséquent tuer les cellules cancéreuses en dehors de la région du sein. Ils peuvent être classés en quatre (04) familles selon leur mode d'action:

- Les antimétabolites, avec les alcaloïdes de pervenche: ce sont des dérivés hémisynthétiques de la pervenche de Madagascar. Ils inhibent la polymérisation de la tubuline, ce qui induit l'apoptose. La molécule la plus utilisée dans les protocoles thérapeutiques du cancer du sein est la vinorelbine. Les taxanes (paclitaxel ou docetaxel), sont aussi des antimétabolites. Ils bloquent les cellules en métastase en inhibant la dépolymérisation de la tubuline. Les molécules utilisées, paclitaxel et docetaxel sont des dérivés d'extraits d'If (figure 1-18).
- Les agents alkylants: sont des molécules de synthèse, qui après activation hépatique ou tissulaire se lient de manière covalente à l'**ADN**, ce qui provoque une inhibition de la

progression de l'ADN polymérase. Dans le cas du cancer du sein, c'est le cyclophosphamide (figure 1-18) qui est utilisé.

- *Les antimétabolites*: perturbent la synthèse de l'ADN, en bloquant les enzymes nécessaires à la synthèse des nucléotides. Les plus utilisés dans le cancer du sein sont le 5-fluorouracile (5-FU) et le méthotrexate (MTX) (figure 1-18).
- *Les inhibiteurs de la topoisomérase II*: inhibent la relégation des deux brins d'ADN après le relâchement des contraintes de torsion nécessaire au processus de réplication. Il s'agit de la famille des anthracyclines avec principalement l'adriamycine et l'épirubicine (figure 1-18).

Ces différentes molécules peuvent être administrées seules ou en combinaison. Les combinaisons se sont avérées plus efficaces, les principales combinaisons sont:

- ❖ CMF (cyclophosphamide-méthotrexate-5FU).
- ❖ AC (adriamycine-cyclophosphamide).
- ❖ FEC (5FU-épirubicine-cyclophosphamide).
- ❖ AVCMF (adriamycine-vincristine-cyclophosphamide-méthotrexate-5FU).

Les molécules utilisées en chimiothérapie sont très cytotoxiques et peuvent réduire la mortalité jusqu'à 20% (Hortobagyi et Buzdar., 1995). Elles sont très efficaces sur les cellules à division rapide, en occurrence les tumeurs. Mais, malheureusement, elles affectent aussi les cellules qui se multiplient rapidement, à savoir les cellules impliquées dans la pousse des cheveux, renouvellement des tissus du tube digestif ou la production des globules blancs dans la moelle osseuse.

La chimiothérapie est généralement prescrite aux patientes souffrant d'un cancer de sein hormono-indépendant (**ER⁻**), pour éradiquer les cellules cancéreuses qui ne peuvent être éliminées par chirurgie ou qui ont déjà envahi d'autres parties du corps. Plusieurs effets secondaires accompagnent la chimiothérapie, comme les nausées, la fatigue, l'anémie, la perte de cheveux, troubles cérébraux et une faible résistance aux infections.

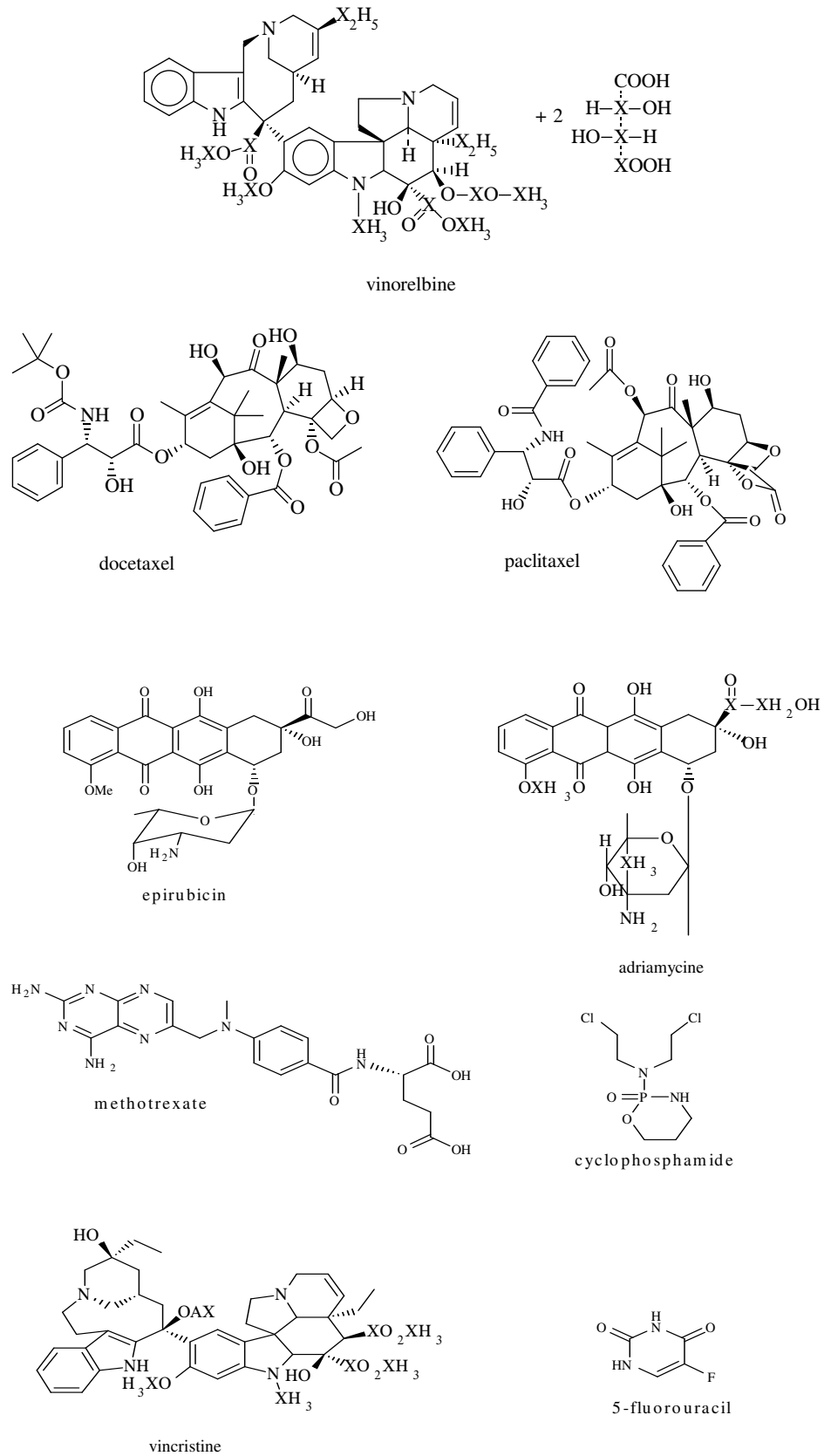


Figure1-18: Molécules utilisés en chimiothérapie (cas de cancer ER-).

III.4.3.4. L'hormonothérapie

Dans les cas des cancers hormono-dépendants, l'hormonothérapie est utilisée pour modifier l'action des hormones qui permet le blocage de la prolifération des cellules tumorales. Il existe trois types d'hormonothérapie:

- *L'hormonothérapie compétitive avec les anti-œstrogènes*: ces derniers bloquent l'action des œstrogènes en se fixant aux récepteurs œstrogéniques des cellules tumorales (Jordan., 2003 a et b; Jordan., 1999; Robertson et al., 2004; Singh et al., 2007). La molécule la plus largement utilisée à l'heure actuelle est le tamoxifène (Johnston et al., 1997)(figure 1-19).

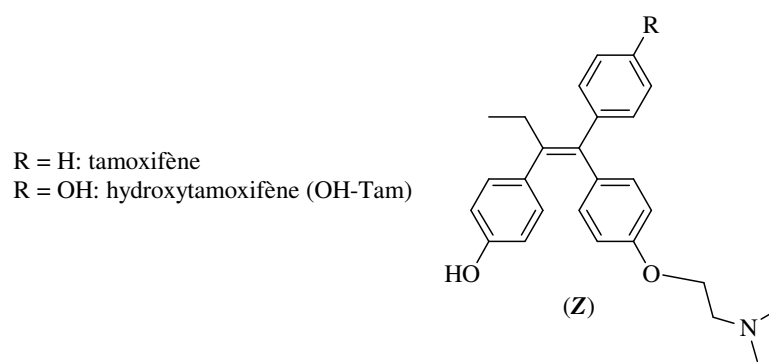


Figure 1-19: Le tamoxifène et son métabolite actif, (z)-hydroxytamoxifène.

- *L'hormonothérapie additive avec la prise des progestatifs de synthèse* : A forte dose, ils se comportent comme des anti-œstrogènes.
- *L'hormonothérapie inhibitrice avec les anti-aromatases* : elle consiste en une surrénalectomie chimique, qui se traduit par une inhibition de l'activité aromatase, responsable de la conversion des stéroïdes surrénaliens (androgènes) en œstrogènes (Dixon., 2004; Winer et al., 2005).

Cette thérapie hormonale, offre les avantages d'être moins agressive et produit moins d'effets secondaires, comparée à la radiothérapie et la chimiothérapie pour les patientes souffrant d'un cancer du sein hormono-dépendant (Jordan., 2003 a et b; Magarian., 1994; Meegan et Lloyd., 2003)

III.4.3.5.L'immunothérapie

Le but de l'immunothérapie est d'amplifier une réponse immune anti-tumorale et de détourner les mécanismes d'échappement de ces dernières à la réponse immunitaire. Le

trastuzumab (Herceptin[®]) est un anticorps monoclonal qui bloque le récepteur membranaire *Her2* (*CerbB2*) qui active la prolifération cellulaire. Seules les patientes qui surexpriment le gène *Her2* (***Her2*⁺**) peuvent profiter de ce médicament, qui a réduit d'un tiers le taux de mortalité (Ismail et al., 2007; Hudis., 2007). Les anticorps monoclonaux humanisés semblent constituer des pistes prometteuses. Quelques-uns sont en cours d'évaluation.

Il est à souligner qu'après une guérison d'un cancer du sein, il est indispensable que la patiente soit suivie régulièrement, car il y a toujours un risque de récurrence, d'où l'intérêt de maintenir la surveillance.

IV. La route en quête de médicaments contre le cancer

IV.1. Contribution des molécules organiques

IV.1.1. Les anti-œstrogènes

Puisque les œstrogènes jouent un rôle fondamental dans la genèse et la progression du cancer du sein, l'utilisation de composés antagonistes des œstrogènes est une approche thérapeutique de choix. Le but est d'obtenir des agents qui agiront comme agonistes dans les tissus où les œstrogènes sont bénéfiques comme dans l'os, le cerveau et le système cardiovasculaire et comme antagonistes dans les organes atteints d'une tumeur dont la prolifération est stimulée par les œstrogènes. On distingue les anti-œstrogènes purs et les modulateurs sélectifs des récepteurs des œstrogènes (SERMs).

IV.1.1.1. Les anti-œstrogènes purs

Pour qu'un anti-œstrogène soit considéré comme étant pur, la molécule doit avoir un seul mode d'action, indépendant du contexte cellulaire. Il doit empêcher la formation d'un complexe de transcription dans la région promotrice des gènes cibles et/ou accroître l'habilité du complexe ligand-ER à se détruire une fois lié au récepteur. On retrouve les anti-œstrogènes non-stéroïdiens et les anti-œstrogènes stéroïdiens.

➤ **Les anti-œstrogènes non-stéroïdiens:** le premier anti-œstrogène non-stéroïdien est le moxytriphétol (MER-25) (figure 1-20). Sa très faible affinité à ER ainsi que ses effets secondaires qui affectent le système nerveux a entravé son développement. Peu après, il fut découvert que la caractéristique clé pour la reconnaissance du ligand par le récepteur à œstrogènes est la présence d'un groupement phénol, analogue au phénol A du 17β-œstradiol (Zeelen et Bergink., 1980; Raynaud et al., 1985), qui est absent dans le MER-25. Par conséquent, les structures des anti-œstrogènes synthétisés sont

généralement dérivées de l'œstradiol lui-même ou d'œstrogènes synthétiques de type diphenyl-éthylène, comme le diethylstilbestrol (figure 1-20).

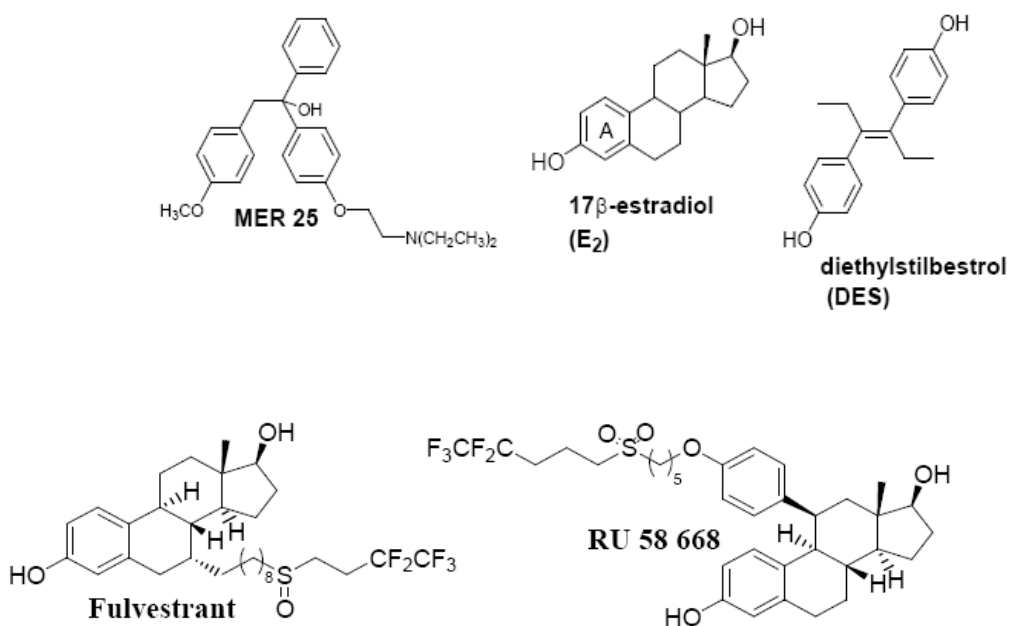


Figure 1-20: Structures de MER 25, fulvestrant, RU 58668, l'œstrogène et (DES): ligands de récepteur d'œstrogène.

➤ **Les anti-œstrogènes stéroïdiens:** c'est le ICI 182,780 (*fulvestrant*) (figure 1-20), préparé et testé pour la première fois dans les années 90^s (Wakeling et al., 1991; Wakeling et al., 1992) qui est le plus efficace dans cette série. Depuis 2000, il a été approuvé par la FDA comme un médicament de deuxième génération, pour le traitement du cancer du sein, à un stade avancé et est commercialisé sous le nom de *faslodex*[®] (Jordan., 2003 a et b). Son succès a stimulé la recherche d'autres agents potentiels, comme le *RU58 668* (figure 1-20) (Van de Velde et al., 1994). La longue chaîne-latérale, hydrophobe de ces deux anti-œstrogènes est suspecte d'être à l'origine de la perturbation d'une façon significative, de la structure protéique du ER, qui conduit à une paralysie cytoplasmique et la destruction rapide du ER. Outre que les risques croissants de l'ostéoporose et l'inflammation des artères coronaires du cœur, les problèmes majeurs associés auxdits anti-œstrogènes purs, sont leur pauvre biodisponibilité et leur mode d'administration. Etant que les molécules stéroïdiennes, sont fortement hydrophobes, d'où

leur administration par voie orale est exclue. Les patientes doivent se rendre à l'hôpital chaque mois, pour recevoir des injections, ce qui est onéreux et désagréable. Dans le but d'améliorer la biodisponibilité du *RU 58 668*, Renoir et collaborateurs, ont réussi à l'encapsuler dans des nano-capsules, de nature polymérique (Ameller et al., 2003; Maillard et al., 2005).

IV.1.1.2. Les modulateurs sélectifs des récepteurs des œstrogènes (SERMs)

Les modulateurs sélectifs des récepteurs des œstrogènes (SERMs), sont des ligands des ER, qui ont la capacité de bloquer l'action des œstrogènes (effet antagoniste) dans certains tissus (cerveau, sein) et à imiter l'action des œstrogènes (effet agoniste) dans d'autres tissus (os, foie, système cardio-vasculaire) (Borgna et Rochefort., 1981)(figure 1-21). Dans l'utérus, les SERMs exercent les deux effets.

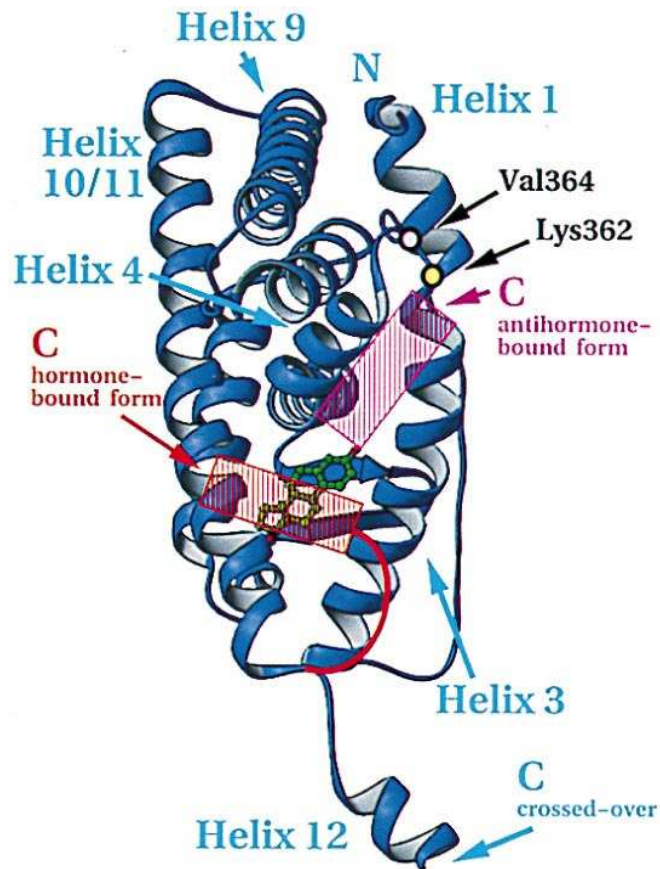


Figure 1-21: Les deux modes d'action d'un SERM.

L'idéal serait, qu'ils puissent agir en tant qu'anti-œstrogènes dans le sein et l'utérus, où ils limiteraient les effets œstrogéniques prolifératives, et garder leurs effets œstrogéniques bénéfiques pour les os et le cœur. La classe des SERMs, renferme la famille des

triphenyléthylènes (TPE), les benzothiophènes et les indoles (Jordan., 2003 a et b). La majorité des SERMs, partagent le motif structural commun de type stilbène, constitué de deux groupements aryls, séparés par deux atomes (figure 1-20).

- *Les triphényléthylènes:* Le SERM le plus populaire de cette famille et le plus largement prescrit pour le cancer du sein hormono-dépendant est le *tamoxifène* (Novaldex®), qui fut découvert en 1962. Son métabolite actif, qui est l'*hydroxy-tamoxifène* (HO-TAM), agit comme antagoniste à l'œstradiol dans les tumeurs du sein ER⁺ (figure 1-19) (Jordan., 1999).

L'interaction de la chaîne-latérale diméthylaminoéthoxy avec l'asp 351, du site de liaison du ER est à l'origine de l'effet anti-ostrogénique observé pour l'*hydroxytamoxifène* (Jordan et al., 2001; Shiau et al., 1998; MacGregor et Jordan., 1998). Cette chaîne-latérale, amène l'hélice 12, à subir un changement de conformation, différent de celui, observé avec l'œstradiol. Ceci, empêche le recrutement de co-acteurs et favorise la fixation de co-répresseurs, à la place. Toutefois, selon la nature du promoteur du gène, auquel l'*hydroxytamoxifène* se lie et le contexte cellulaire (c-à-d, type de ER majoritaire (ER α ou ER β) présent dans le tissu et le rapport co-acteurs/co-répresseurs dans la cellule), ce SERM peut aussi réagir comme agoniste. Ainsi, comme pour l'œstradiol, l'*hydroxytamoxifène* peut induire des effets bénéfiques, à savoir, le maintien de la densité osseuse. Mais, malheureusement, il augmente de 3 à 4 fois, le risque du cancer de l'endomètre (Clarke et al., 2001).

L'analogue du *tamoxifène*, GW-5638 (figure 1-22), découvert par Willson et collaborateurs en 1994, présente la caractéristique intéressante, qui est le changement de la chaîne-latérale anti-œstrogénique du *tamoxifène* par un groupement allyl-carboxylique (Willson et al., 1997; Wu et al., 2005).

- *Les benzothiophènes:* On retrouve en tête de cette famille le *raloxifène* SERM de deuxième génération (figure 1-22). Tout, comme le *tamoxifène*, il agit comme antagoniste à l'œstrogène dans le tissu du sein. Officiellement, connu sous le nom de LY 156,758 ou *keoxifène*, il fut développé vers le début de 1980^s, comme candidat pour le traitement du cancer du sein, combiné au *tamoxifène* (Clemens et al., 1983).

Il est principalement utilisé pour ses propriétés bénéfiques contre l'ostéoporose. Il est approuvé sous le nom de Evista® (Jordan., 1995; Willhite et Goebel., 1998).

- *Les indoles:* Des études préliminaires, portant sur les 2-

hydroxyphenylindoles, effectuées par Von Angerer et collaborateurs (Von Angerer et Prekajac., 1983; Von Angerer., 1990), ont montré qu'ils ont une activité anti-tumorale. Bien que, le Zindoxifène (figure 1-22), semblait prometteur, il a été prouvé qu'il était inefficace lors des essais cliniques, en phase II.

Cependant, la deacétylation et la substitution de l'azote de l'indole par la longue chaîne-latérale amino-alkyl a donné naissance à des anti-œstrogènes potentielles, comme le ERA-923 (figure 1-22), qui est actuellement soumis à des tests cliniques, en phase II, pour le traitement du cancer du sein hormono-dépendant (Miller et al., 2001).

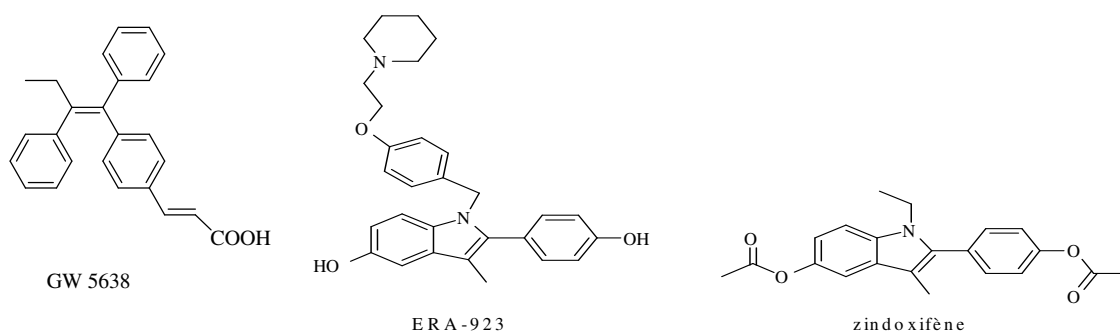


Figure 1-22: Structures de GW 5638, Raloxifène, Zindoxifène et ERA-923.

Malheureusement, à long terme, les tumeurs du cancer du sein hormono-dépendant qui initialement, répondaient au traitement anti-hormonal avec le tamoxifène montrent une résistance au traitement (Osborne., 1998; Lewis et Jordan., 2005). D'où, il devient urgent de trouver de nouvelles molécules actives pour le remplacer.

IV.1.2. Les anti-androgènes

Dans le cas de cancer de la prostate hormono-dépendant, la présence d'androgènes liés au récepteur AR induit la multiplication des cellules tumorales de façon continue, sans moyen de restriction. Cependant, les scientifiques ont constaté que certaines molécules pouvaient être antagonistes des androgènes pour AR. Ces molécules sont appelées anti-androgènes. Leur principal effet est d'inhiber de manière compétitive les effets de la testostérone et de la 5 α -DHT, au niveau du site de liaison de AR. De tels composés ont, par conséquent, un potentiel thérapeutique intéressant dans le traitement des maladies androgéno-dépendantes, aussi bien cutanées (acné, alopecie, hirsutisme) chez les femmes que prostatiques (cancer, BPH) chez les hommes.

Ces molécules sont classées en deux catégories, selon leur structure chimique: les anti-androgènes stéroïdiens et non stéroïdiens (Singh et al., 2000).

- Les anti-androgènes stéroïdiens: Parmi les anti-androgènes stéroïdiens, le médicament le plus utilisé est l'acétate de cyprotérone (ou Androcur[®]) (Neumann., 1977; Neumann., 1994). C'est le premier anti-androgène à avoir été utilisé en tant que médicament (McLeod., 1993). Or, il avait été conçu, à la base, pour d'autres traitements. En effet, l'acétate de cyprotérone est une molécule possédant une double activité. Elle a une faible activité anti-androgénique, même si elle se lie à AR avec une bonne affinité (Fang et Liao., 1969). Elle a aussi une activité progestative en supprimant la libération de gonadotrophine, entraînant ainsi une diminution de la sécrétion de LH et donc de la testostérone (Neri et al., 1976). Or, du fait qu'elle interagit aussi avec d'autres récepteurs que AR, tels que les récepteurs des glucocorticoïdes et de la progestérone (Moguilewsky et al., 1988), ce médicament est à l'origine de nombreux effets indésirables, comme la thrombose, la perte de libido ou la gynécomastie (Neurman et Jacobi., 1982). En conséquence, son utilisation en tant que drogue contre le cancer de la prostate a été progressivement abandonnée, voire totalement comme aux Etats-Unis.

En conclusion, l'utilisation d'anti-androgènes stéroïdiens est limitée à cause de leur pauvre biodisponibilité orale, de leur hépatotoxicité potentielle et de leur manque de spécificité envers les récepteurs AR. En outre, leur modification structurale est limitée à cause du squelette stéroïdien. Donc, pour tenter de résoudre tous ces problèmes, des homologues non stéroïdiens ont été développés pour traiter le cancer de la prostate.

- Les anti-androgènes non stéroïdiens: Les anti-androgènes non stéroïdiens ont pour principal avantage de se lier exclusivement à AR, même si leur affinité de liaison au récepteur est faible. Parmi les anti-androgènes non stéroïdiens, trois molécules sont commercialisées et utilisées à des fins thérapeutiques (Harris et al., 1993): la flutamide (Neri et al., 1979; Koch., 1984; Labrie., 1993; Wong et al., 1995) (Eulexin[®]) et son métabolite actif, le 2-hydroxyflutamide, la nilutamide (Raynaud et al., 1984; Kuhn et al., 1989) (Anandron[®]), et la bicalutamide (Tucker et al., 1988; Furr., 1996; Kolvenbag et Blackledge., 1996) (Casodex[®]) (figure 1-23). Ils permettent de préserver la sexualité, notamment chez les patients plus jeunes. Néanmoins, des effets secondaires indésirables existent, tels les bouffées de chaleur, la gynécomastie ou la baisse de la libido.

La flutamide est le premier anti-androgène pur à avoir été découvert. Elle a été synthétisée pour la première fois par Neri en 1967. Après administration orale, la flutamide est complètement absorbée et est métabolisée en 2-hydroxyflutamide, qui est le principal métabolite, et en un produit d'hydrolyse, le 3-trifluorométhyl-4-nitro-aniline. Le 2-hydroxyflutamide est un anti-androgène plus puissant *in vivo* avec une meilleure affinité de liaison à AR que la flutamide (Wakeling et al., 1981). Elle a une demi-vie d'élimination d'environ 8 heures, chez l'homme (Schulz et al., 1988). L'hydrolyse de la liaison amide représente la voie métabolique majeure pour générer le métabolite actif qu'est le 2-hydroxyflutamide (Katchen et Buxbaum., 1975). La flutamide est utilisée à des doses thérapeutiques de 750 mg/jour, dans le but de réaliser un blocage complet de AR. Cependant, comme cette molécule est métabolisée par le foie, ce métabolisme engendre la formation d'un grand nombre de produits d'hydrolyse, notamment le 4-nitro-3-trifluorométhyl-aniline qui pourrait être à l'origine de l'hépatotoxicité de ce médicament (Fau et al., 1994). Ainsi, son utilisation après une administration à long terme est particulièrement limitée.

Les anti-androgènes sont de plus en plus utilisés, malgré la présence d'effets secondaires indésirables, comme la gynécomastie, dû à l'augmentation du taux d'androgènes dans l'organisme et à une augmentation de la conversion de testostérone en oestrogènes.

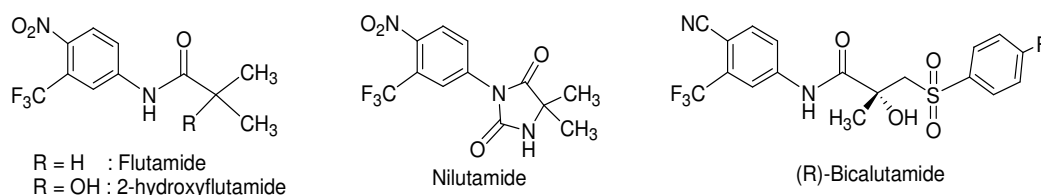


Figure 1-23: Anti-androgènes non stéroïdiens commerciaux.

IV.1.3. Les SARMs (Selective Androgen Receptor Modulators)

Des modifications au niveau de la structure des anti-androgènes ont abouti à la découverte de plusieurs classes de ligands non stéroïdiens pouvant être agonistes ou antagonistes envers AR selon le type de tissus. Ainsi a émergé le concept des SARMs (Negro-Vilar., 1999). Ce sont des composés qui sont antagonistes ou faiblement agonistes dans la prostate; cependant, ils sont agonistes dans les muscles, les os et dans la glande pituitaire. De plus, ils sont absorbés par voie orale avec une faible hépatotoxicité.

Des modifications structurales de la bicalutamide ont mené à la découverte de la première génération de SARMs (figure 1-24). Ces composés non seulement se lient à AR avec une meilleure affinité que la bicalutamide, mais aussi démontrent une grande sélectivité au niveau des organes chez des modèles animaux. En effet, ils présentent, chez des rats, une activité antagoniste au niveau de la prostate sans abolir les effets anabolisants des androgènes dans les muscles ou accroître la libération de gonadotrophine et les concentrations de testostérone dans le plasma (Rosenberg et al., 1969; Rosenberg et al., 1965). Ces observations suggèrent que les SARMs ayant une faible activité intrinsèque dans la prostate seraient utilisés comme une thérapie alternative pour traiter l'hyperplasie bénigne de la prostate (BPH), ou le cancer de la prostate.

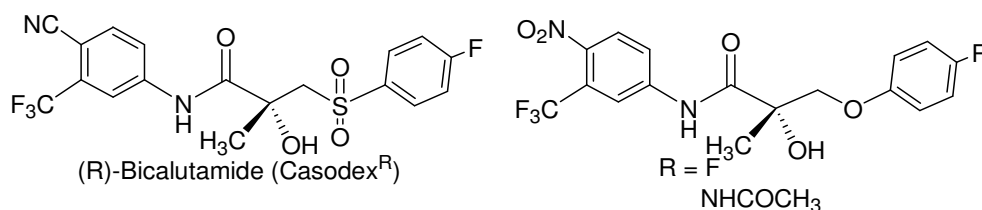


Figure 1-24: Exemples de selective androgen receptor modulators (SARM).

IV.2. Contribution des molécules bioactives à base de métaux

Les métaux sont souvent considérés comme étant toxiques pour les systèmes vivants. Cependant, toute toxicité en ions métalliques dépend de leur concentration dans l'organisme. En effet, plusieurs métalloprotéines de base, comme la nitrogénase et les cytochromes oxydases, sont nécessaires dans les processus biologiques les plus importants. En outre, plusieurs molécules contenant un ion métallique, sont essentielles pour la vie, comme la vitamine B12, qui contient du cobalt et l'hémoglobine qui contient du fer.

Le rôle des métaux en biologie a été très prometteur, du point de vue de leur utilisation en médecine (Jaouen et al., 2006). Le premier composé métallique bioactif, qui est un organométallique qu'a connu un succès, était le fameux médicament contre la syphilis "Salvarsan" (figure 1-25), découvert par *Paul Ehrlich*, qui a introduit en même temps, la notion des récepteurs et de la chimiothérapie. A la fin du 20^{ème} siècle, une autre découverte a de nouveau donné de l'intérêt à la chimie biomédicale, basée sur la chimie des métaux. C'était la découverte du complexe métallique de coordination, le *cisplatine* par Rosenberg (Rosenberg al., 1969; Rosenberg al., 1965; Rosenberg et Vancamp., 1970). Ce complexe inorganique (figure 1-25), a montré des effets fortement toxiques, spécialement sur les cellules cancéreuses. Cependant, le *cisplatine* possède des limitations sérieuses, à savoir une

faible fenêtre thérapeutique et des problèmes de résistance au médicament (Lippert., 1999). Le cisplatine n'a aucune efficacité sur le cancer du sein. Il est prescrit pour d'autres types de cancer à savoir celui des testicules. Sa valeur IC_{50} , relativement élevée, de l'ordre de $12 \mu\text{M}$ affiche une faible activité cytotoxique (Descoteaux et al., 2003).

Actuellement, deux analogues du *cisplatine*, sont largement utilisés, le *carboplatine* (*paraplatine*[®]) et l'*oxaliplatine* (*Eloxatin*[®]), (figure 1-25) (Jakupec., 2003). Le premier médicament est similaire au *cisplatine* en termes d'activité, avec cependant une plus faible toxicité, qui est propre au système.

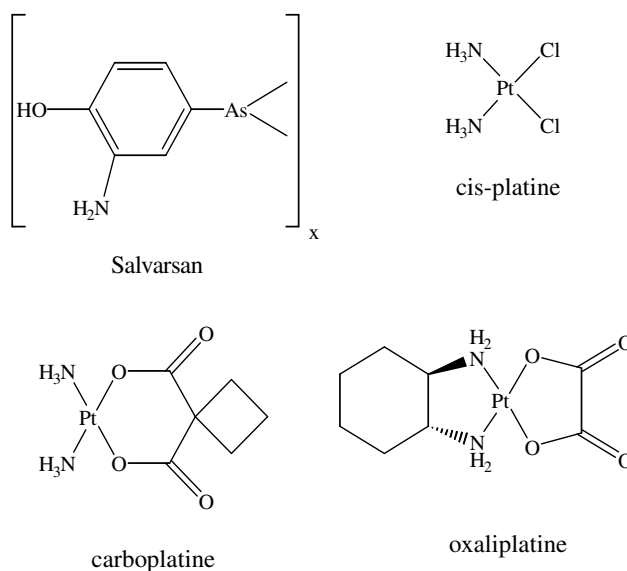


Figure 1-25: Structures du Salvarsan, le cis-platine, le carboplatine et l'oxaliplatine.

Le second est un médicament de troisième génération, associé au *5-fluorouracil*, il est efficace contre quelques cancers résistants au *cisplatine* (Culy et al., 2000). Afin de vaincre le problème de résistance et pour atténuer les effets secondaires, observés lors de la thérapie avec le *cisplatine*, plusieurs chercheurs, ont proposé une variété de complexes, où des ligands stéroïdiens ou non-stéroïdiens étaient attachés au platine. De plus, ils ont proposé des complexes combinant des propriétés anti-œstrogéniques liées au bio-ligand qui est un anti-œstrogène et les propriétés cytotoxiques dues au métal qui est le platine, donnant ainsi naissance à un nouveau spectre thérapeutique. Le platine fut d'abord associé à l'oestradiol puis plus tard à l'hydroxytamoxifène (figure 1-26) (Von Anger., 1993; Chesne et al., 1986; Gust et al., 1993; Karl et al., 1988; Gandolfi et al., 1984). Les complexes **A-D**, ont montré une activité antiproliférative et/ou cytotoxique sur la lignée cellulaire du cancer du sein hormono-dépendant MCF-7 (Top et al., 2004; Top et al., 2003; Grenier et al., 1998).

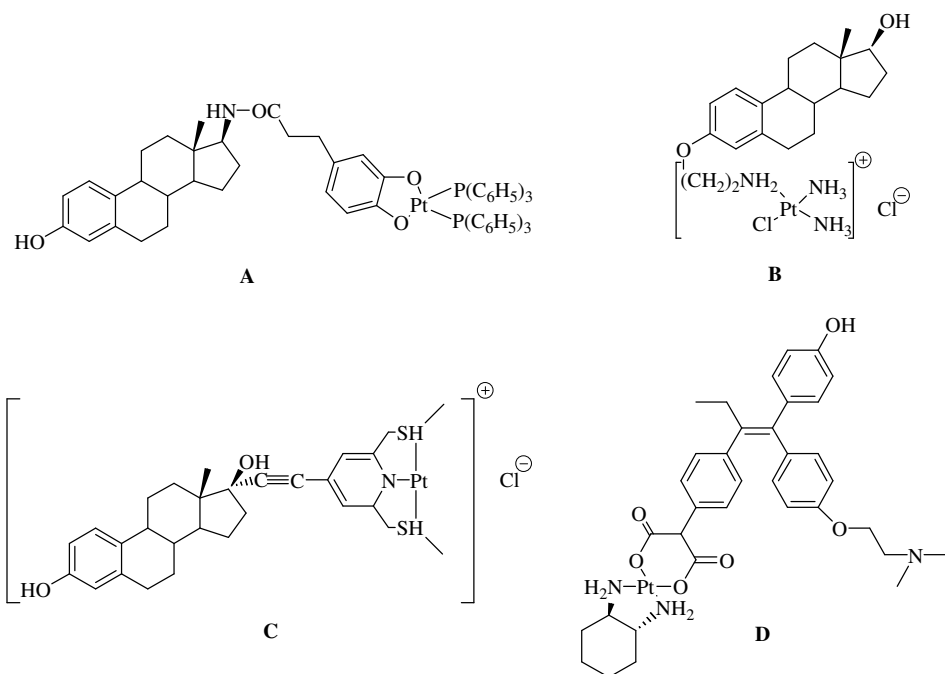


Figure 1-26: Quelques complexes de platine associés à l'œstradiol et au tamoxifène.

Il est à noter que les composés (A) à (D), sont des composés de coordination. Le caractère de coordination des liaisons ligand-métal, fait que ces composés sont susceptibles à la solvatation, alors que l'hydrolyse des ligands chlorés est nécessaire pour l'activité du *cisplatine*. Dans le cas des combinaisons biovecteur-platine, la perte du biovecteur peut expliquer leur faible, voire même la perte de leur pouvoir biologique, dans le milieu physiologique. Ainsi, d'autres systèmes métalliques sont à rechercher.

IV. 3. Contribution des molécules organométalliques bioactives

La chimie organométallique qui réfère à la chimie des complexes métalliques, contenant au moins une liaison métal-carbone a connu une grande évolution au 3^{ème} quart du XX^{ème} siècle à la suite de la découverte révolutionnaire du ferrocène par Kealy & Pauson en 1951 (Kealy et Pauson., 1951). La correction de la structure proposée pour le ferrocène par Pauson revient au chimiste anglais Geoffrey Wilkinson et le physicien allemand Ernst Fisher (figure 1-27) qui furent récompensés pour leurs travaux par un prix nobel en 1973 (Wilkinson et al., 1952) et la description sandwich à L.E.Orgel suite à l'étude consacrée à ses orbitales moléculaires (OM) (Dunitz et Orgel., 1953). Le ferrocène est en effet le plus stable des métallocènes; chaque ligand cyclopentadiényle ($C_5H_5^-$) étant un donneur de six électrons ainsi que les six électrons de Fe(+II) lui confèrent une configuration de 18 électrons.

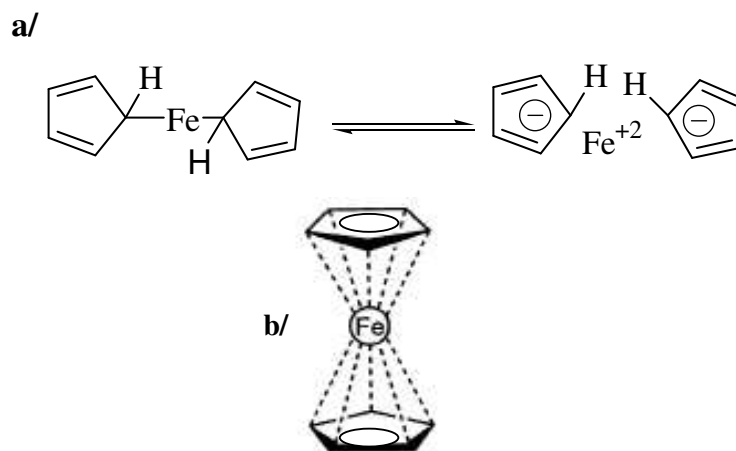


Figure 1-27: Structure du ferrocène. a/ Structure proposée par Pauson. b/ Structure corrigée.

Les composés organométalliques, qui renferment des liaisons métal-ligand à fort caractère covalent sont souvent plus stables que les complexes des métaux de transition (Crabtree., 2005). Plus généralement, les métallocènes sont de petites molécules, rigides et lipophiles, qui peuvent traverser facilement les membranes cellulaires. Par conséquent, l'idée d'utiliser des bio-ligands organométalliques, destinés à des fins médicales, a germé dans l'esprit de quelques chercheurs, il y a de cela trente ans. La structure sandwich, formée par les deux noyaux pentadienyles, dans les métallocènes, est semblable à un substituant aromatique en termes de géométrie et d'aromaticité. La stabilité relative des métallocènes dans le milieu biologique, est un autre argument qui a encouragé leur application comme traceurs ou comme composés à vecteurs bioactifs. Cette approche a été exploitée par Edwards et collaborateurs, dans les années 70, pour produire des antibiotiques ferrocéniques, contre la résistance des bactéries à la *pénicilline*: (*E*) et (*F*) (figure 1-28) (Edwards et al., 1979; Edwards et al., 1976 a; Edwards et al., 1976 b).

In vivo, des études toxicologiques, sur des dérivés ferrocéniques ont révélé des niveaux de toxicité très bas, en dépit de problèmes liés au foie. Le sel *Ocarboxybenzoyl-ferrocène* (*G*) de sodium, a été développé en premier en URSS, pour le traitement de l'anémie, il s'est avéré que son administration par voie orale est mieux toléré (Nesemeyanov et al., 1971).

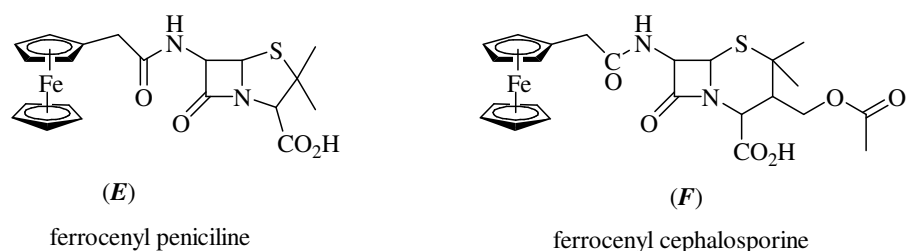


Figure 1-28: Structures des composés (E) et (F).

L'idée de modifier la structure des composés organiques bioactifs a été reprise par Brocard et collaborateurs, pour produire la *Ferroquine* en 1997 (H) (Biot et al., 1997). Ce composé est un analogue ferrocénique de la *chloroquine*, médicament contre la malaria (figure 1-29). Grâce à l'addition de l'entité ferrocenyl, la *ferroquine* n'est pas seulement actif contre les bactéries, sensibles à la *chloroquine*, mais aussi contre la résistance des souches. La molécule active, est maintenant à la phase clinique II par Sano-Aventis [3@].

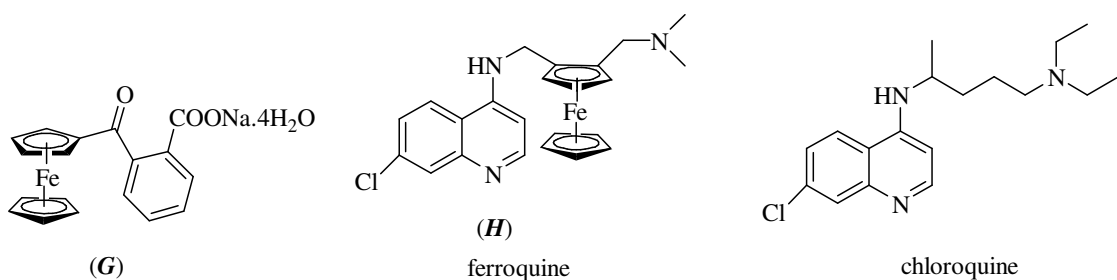


Figure 1-29: Structures du composé (G), de la ferroquine et de la chloroquine.

IV.3.1. Hydroxyferrocifènes

En 1996, Jaouen et coll se sont intéressés à la synthèse de dérivés ferrocéniques du tamoxifène (Top et al., 1996; Top et al., 1997). En effet leur utilisation en chimie bioorganométallique permet d'envisager des molécules actives contre les cellules cancéreuses du sein. Les hydroxyferrocifènes sont des analogues très actifs qui miment le comportement du 4-hydroxytamoxifène, mais vont au delà, avec les effets cytotoxiques du ferrocène pour atteindre des nouveaux avantages thérapeutiques (Jaouen et al., 2000; Top et al., 2001). La synthèse des hydroxyferrocifènes se fait par le remplacement d'un groupement phényle de OH-Tam par le ferrocène. Puisque le ferrocène est intrinsèquement aromatique, sa présence à la place du groupement phényle ne devrait pas beaucoup modifier l'affinité pour le RE. Leur voie de synthèse est la réaction du couplage de McMurry entre une cétone ferrocénique et le

4,4'-dihydroxybenzophenone (figure 1-30). Les hydroxyferrocifènes montrant moins d'affinité pour le ER que OH-Tam, ceci est due probablement à l'effet stérique du groupement ferrocénique qui est légèrement plus grand que le groupement phényle. En outre, plus la chaîne latérale est longue, plus l'affinité au récepteur diminue à cause de l'encombrement stérique. L'activité antiproliférative de ces dérivés ferrocéniques a été testée sur les cellules MCF-7, qui sont des cellules du cancer de sein hormono-dépendantes ayant une concentration importante de ER α , et les cellules MDA-MB-231, cellules du cancer de sein hormono-indépendantes. Les effets des hydroxyferrocifènes sur les cellules MCF-7 sont tout à fait semblables à ceux de l'OH-Tam. L'ion ferricinium est probablement responsable de cette activité statique (Kopf-Maier., 1994; Kopf-Maier et Kopf., 1987; Mason et al., 1999). Récemment, en accord avec ce mécanisme de formation de l'ion ferricinium, le Laboratoire a démontré que l'ion ferricinium évolue vers la formation de quinone méthide qui devrait être le métabolite actif du ferrocifène.

L'OH-Tam est complètement inactif sur les cellules hormono-indépendantes MDA-MB-231 tandis que les hydroxyferrocifènes ont montré un effet antiprolifératif fort sur ces cellules. Il est intéressant de noter que le composé organique l'OH-Tam n'a pas d'effet sur les cellules MDA-MB-231 et aussi le ferrocène seul n'a aucun effet cytotoxique sur ces cellules (Top et al., 2003). Cependant, en combinant l'hydroxytamoxifène et le ferrocène, Jaouen et coll ont créé une nouvelle classe des molécules fortement cytotoxiques.

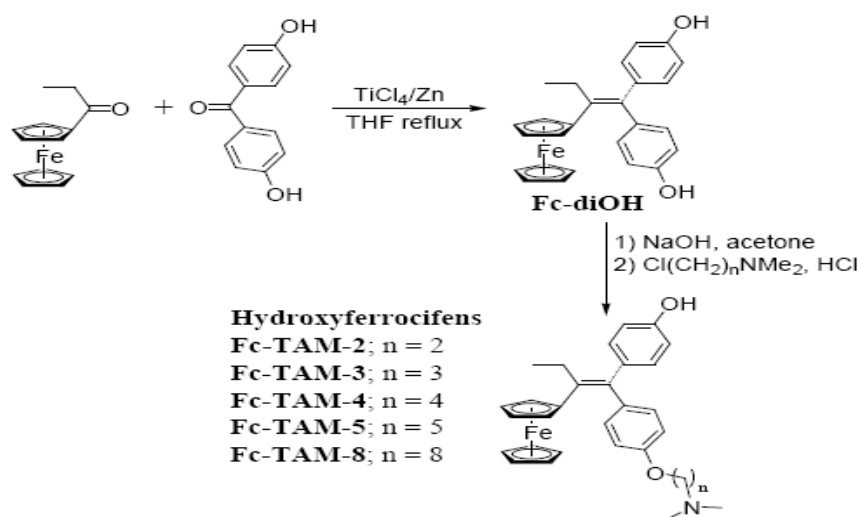


Figure 1-30: La voie de synthèse des hydroxyferrocifènes.

Depuis la synthèse des hydroxyferrocifènes, beaucoup de dérivés ferrocéniques ont été synthétisés dans but de trouver un meilleur complexe qui combine l'excellente activité à la

bonne biodisponibilité et aussi d'éclaircir leur mécanisme d'action. (Jaouen et al., 2004; Vessières et al., 2005; Vessières et al., 2006; Nguyen et al., 2007 a; Nguyen et al., 2007 b; Vessières et al., 2006, Vessières et al., 2006; Hillard et al., 2007; Pigeon et al., 2009; Zekri et al., 2009; Kelvin Tan et al., 2009; Gormen et al., 2009)

Concernant les cancers de la prostate hormono-dépendants, des travaux ont été réalisés sur des stéroïdes complexés par des groupes organométalliques de ferrocène et de $\text{CpRe}(\text{CO})_3$ (Le Bideau et al., 2000; Le Bideau et al., 2001; Top et al., 2009) et des dérivés ferrocéniques d'anti-androgènes non stéroïdiens (Payen et al., 2008).

V. Radiopharmaceutiques

Depuis la découverte de la radioactivité à la fin du dix-neuvième siècle par Henri Becquerel puis la radioactivité artificielle par Frédéric et Irène Joliot-Curie en 1933 (prix Nobel de chimie en 1935), l'utilisation des radio-isotopes n'a cessé de se développer dans différents secteurs. En industrie, les isotopes radioactifs sont utilisés pour l'étude des matériaux, en géoscience ils sont utilisés comme des processus géologiques, dans l'industrie alimentaire l'irradiation des aliments est courante afin d'améliorer leur conservation. Toutefois, c'est le secteur médical qui est le domaine le plus actif. Les composés radioactifs sont utilisés bien dans le secteur de la biologie in vitro d'hormones ou de métabolites chez l'homme (sans administration au patient) qu'en clinique, après administration au patient, pour un usage diagnostique et thérapeutique. Depuis les années 1980, leur application in vivo s'est diversifiée en relation avec le développement de nouvelles caméras et de nouveaux outils de détection plus performants, avec la mise au point de la chimie des isotopes notamment de la chimie de technétium $^{99\text{m}}$ et avec la synthèse de nouvelles molécules marquées.

V.1. Technétium

Le technétium (Tc, $Z= 43$) a été prévu par Mendeleïev en 1871, sous le nom ekamanganese, mais il n'a été isolé qu'en 1937 par les italiens Emilio Segrè et Carlo Perrier (Venook., 1994). Son nom lui vient du grec « technetos » τεχνητος, soit artificiel, et lui fut donné par ses découvreurs en 1947 (Roche et Baere., 2001) pour rappeler qu'il fut le premier élément artificiel connu. Actuellement, plus de 40 isotopes lui sont connus, tous étant radioactifs, conformément à la loi de Mattauch. L'isotope $^{99\text{m}}$ métastable ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), utilisé en médecine nucléaire, fut isolé par Seaborg et Segrè par bombardement sur du molybdène (Buscombe et Padhy., 2001) puis par Segrè et Wu dans les produits de fission de l'uranium (Ohishi et al., 1985). Dans les années 50, l'analyse des impuretés éluées lors de l'étude d'un

générateur d'iode-132 ($^{132}\text{Te}/^{132}\text{I}$) au Brookhaven National Laboratory conduit à la découverte de la présence de technétium-99m (Michel et al., 2001). Il est rapidement démontré que ce dernier est issu de la décroissance du molybdène-99, qui provient de la purification du tellure des autres produits de fission. Les similitudes entre la chimie de la paire tellure/iode et de la paire molybdène/technétium conduisent au rapide développement d'un générateur ($^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$) permettant l'obtention du technétium $^{99\text{m}}\text{Tc}$ quotidiennement et pour un coût limité (Ryder et al., 1996). Deux ans plus tard, en 1960, Richards propose le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ comme traceur médical potentiel (Karlson et al., 1999). Ses propriétés physiques idéales en font rapidement un élément de prédilection pour l'imagerie scintigraphique, car c'est un émetteur γ pur de 140 Kev parfaitement adapté aux γ -caméras avec une demi vie de 6,023 heures, permettant d'administrer aux patients une forte activité, avec pour conséquence de bonnes images scintigraphiques. Ses propriétés chimiques lui permettent de former facilement des complexes. L'ensemble de ces caractéristiques fait que les molécules technétiées représentent plus de 70% des radiopharmaceutiques utilisés en médecine nucléaire et que le technétium 99m reste le radioélément de choix pour la synthèse de nouveaux traceurs à usage diagnostique (De Jonge et Pauwelees., 1996; Jurisson et Lydon., 1999).

La seule forme chimique commerciale du technétium est l'ion pertechnétate, $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$, aussi bien à l'échelle du traceur ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) qu'à l'échelle pondérale (^{99}Tc), avec un contre-ion variable (sodium, ammonium, ...). Toute la chimie de cet élément s'organisera donc à partir de cet ion. Deux stratégies de synthèse peuvent être mises en œuvre : la méthode directe, où le pertechnétate est réduit en présence d'un ligand, et la méthode indirecte, dans laquelle un complexe de faible constante de stabilité est synthétisé dans une première étape avant un échange de ligand sur ce complexe intermédiaire. La synthèse, en milieu aqueux, de complexes stables, dont la cinétique de formation est souvent lente, implique d'utiliser cette seconde méthode qui évite la réaction plus rapide de l'eau sur le technétium et donc la formation de $^{99\text{m}}\text{TcO}_2$.

V.2. Rhénium

Le rhénium (prédit par Mendeleïev sous le nom dwimanganèse) a été détecté pour la première fois par Noddack, Tacke et Berg en 1925 dans les spectres de rayons X de certains concentrés minéraux (Ackerman et al., 1969; Lin et al., 1984). Ce fut le dernier des éléments stables à être découvert. Il se trouve à l'état naturel sous deux formes isotopiques stables: ^{185}Re (37,4 %) et ^{187}Re (62,6 %). En vérité, le ^{187}Re est un émetteur β^- très faible (2,62 keV), avec une période physique très importante ($t_{1/2} = 4,35.10^{10}$ ans). C'est un des éléments les

moins abondants dans la croûte terrestre, et dans le système solaire. Ainsi, il n'y a nulle part de concentrations assez élevées pour permettre une extraction économique du rhénium. La seule source de rhénium commerciale est un sous-produit de l'industrie du molybdène. L'heptoxyde de dirhénium Re_2O_7 volatil se dégage dans les gaz effluents et peut être récupéré en solution aqueuse lors de la combustion de la molybdénite à l'air pour former le trioxyde de molybdène. Le rhénium est alors isolé par adsorption sélective sous forme de perrhénate ReO_4^- et éventuellement précipité sous forme de NH_4ReO_4 ou de Re_2S_7 (Al-Mufti et al., 1999).

Le rhénium, de configuration électronique $[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^5 6s^2$, appartient, tout comme le manganèse et le technétium, à la colonne VIIb de la classification périodique. Les rayons ioniques et atomiques du rhénium et du technétium sont très voisins par suite de la contraction des lanthanides (remplissage des couches 4f).

Le rhénium possède deux isotopes émetteurs β^- , potentiellement intéressants en médecine nucléaire, dans une optique thérapeutique : ^{186}Re ($t_{1/2} = 90 \text{ h}$; $E_{\beta\text{max}} = 1,1 \text{ MeV}$) et ^{188}Re ($t_{1/2} = 17 \text{ h}$; $E_{\beta\text{max}} = 2,1 \text{ MeV}$) (Chevret et al., 1999; Okada et al., 2002). Ses deux isotopes possèdent également l'avantage d'une émission γ , dans la bonne fenêtre d'énergie pour l'imagerie (respectivement 137 et 155 keV) pour le suivi de la thérapie. Ils sont l'objet d'importantes recherches pour le développement de molécules à la fois dans le traitement de tumeurs malignes, mais également dans le traitement de maladies bénignes telles que l'inflammation des articulations, l'arthrite ou dans la prévention du phénomène de resténose après angioplastie (Raoul et al., 1988; Hind et al., 1992).

Le rhénium-186 est obtenu par irradiation du rhénium enrichi en isotope 185, dans un réacteur nucléaire. Les réactions (n, γ) conduisent aux isotopes ^{186}Re et ^{188}Re . Il est cependant possible d'obtenir du ^{186}Re isotopiquement pur (no carrier-added, nca), nécessaire au radiomarquage d'anticorps monoclonaux pour la radioimmunothérapie. Par le bombardement deutéronique (deutéron = $^2\text{H}^+$) $^{186}\text{W} (d, 2n) ^{186}\text{Re}$. Dans ce cas, la réaction est plus favorable et le rendement en ^{186}Re est donc meilleur et plus adapté à la production de ce dernier pour la médecine nucléaire (Okuda et al., 1977), à condition d'avoir à proximité un cyclotron permettant le flux de deutérons.

Le rhénium-188 est accessible par deux voies : le bombardement par un flux de neutrons d'une cible de rhénium enrichie en ^{187}Re , et à l'aide d'un générateur, par décroissance du tungstène-188.

La chimie du rhénium présente un certain nombre d'analogies avec celle du technétium (Liu et Fan., 1997). Possédant avantageusement des isotopes stables ($^{185}/^{187}\text{Re}$), ce qui n'est

pas le cas avec le technétium, le rhénium est donc souvent considéré comme un modèle du technétium à l'échelle macroscopique (Chou et al., 1995). Par exemple, du fait de leurs rayons atomiques et ioniques voisins (tableau 1.I), il est possible d'effectuer une comparaison directe des structures des complexes du technétium et du rhénium (Kan., 1996). Les complexes des deux métaux possèdent des propriétés physiques proches (taille, lipophilie, etc...) ainsi qu'une chimie similaire (Garin et al., 2004). Actuellement, cette comparaison s'effectue en sens inverse, les complexes du technétium-99m servant de modèles pour des complexes analogues du rhénium-188.

Tableau 1.I: Quelques caractéristiques des éléments du groupe 7.

	Mn	Tc	Re
Numéro atomique	25	43	75
Configuration électronique	[Ar] 3d ⁵ 4s ²	[Kr] 4d ⁵ 5s ²	[Xe] 4f ¹⁴ 5d ⁵ 6s ²
Rayon métallique (Å)	1,26	1,36	1,37
Energie de première ionisation (eV)	7,43	7,28	7,87
E ₀ (V) MO ₄ ⁻ /M	+ 0,78	+ 0,48	+ 0,37
MO ₂ /M	+ 0,115	+ 0,28	+ 0,26
MO ₄ ⁻ /MO ₂	+ 1,695	+ 0,74	+ 0,55

V.3. Les radiopharmaceutiques et cancer

Un radiopharmaceutique est un médicament contenant un isotope radioactif destiné à un usage diagnostique ou thérapeutique. Il peut être constitué par l'isotope seul sous forme d'ion qui joue le rôle de traceur et de vecteur (iode 131 sous forme d'iodure de sodium (NaI) pour la scintigraphie des glandes thyroïdiennes, technétium 99m sous forme de pertechnétate de sodium (Na^{99m}TcO₄) pour la scintigraphie des glandes thyroïdes et salivaires) mais il est le plus souvent constitué d'un traceur (radio-isotopes), qui détermine la répartition spatiale de la molécule, lui-même fixé ou complexé à un vecteur ayant un tropisme particulier pour un organe ou une fonction. Ce dernier détermine la biodistribution de cette molécule et permet d'apprécier la fonctionnalité de l'organe cible. Les radiopharmaceutiques ont principalement un usage diagnostique. Ce sont alors des émetteurs gamma (γ) ou bêta plus (β^+) qui sont administrés à l'état de trace et dont on suit la biodistribution dans l'organisme par détection externe (imagerie TEMP (tomographie par émission monophotonique) ou TEP (tomographie par émission de positons) respectivement). La scintigraphie est un examen non invasif qui

donne des informations morphologiques, anatomiques, fonctionnelles et dynamiques par mesure du rayonnement externe émis par l'isotope radioactif. De ce fait la scintigraphie représente un outil puissant d'imagerie médicale pour la détection précoce du cancer. Cependant, l'activité thérapeutique se développe, essentiellement dans le traitement des cancers, avec l'utilisation d'émetteur β^- tels que l'yttrium 90, le lutétium 177 ou le rhénium 186/188.

Les tendances futures s'orientent vers l'utilisation des vecteurs du technétium pour la localisation des tumeurs, des micrométastases, la prédiction de leur potentiel de diffusion (ou de généralisation) et la détection de cellules tumorales résistantes à la chimiothérapie et à la radiothérapie. Ceci s'inscrit dans une stratégie de prise en charge thérapeutique correspondant au profil tumoral réel du patient, établi sur des éléments de certitude et qui s'oppose radicalement au concept probabiliste actuel se basant sur des scores pronostics (combinant le stade et le grade). En effet, il est évident que l'histoire des cancers et de leurs métastases reste longtemps occulte (non détectables cliniquement) en raison des moyens actuels d'imagerie dont le seuil de détection et de fiabilité est de l'ordre centimétrique.

Dans ce contexte, un nombre de biovecteurs du technétium ayant une affinité pour des récepteurs exprimés spécifiquement par certaines cellules cancéreuses et déjà en cours de développement et de mise au point. Nous citerons à titre d'exemple:

- **Pour la détection:** la pentagastrine pour les tumeurs digestives, la bombésine pour les tumeurs prostatiques et mammaires, et la somatostatine pour les tumeurs cérébrales et pulmonaires.

- **Pour le choix de la stratégie thérapeutique:** l'endostatine, l'angiostatine et l'intégrine marquées au technétium permettent de distinguer les tumeurs primitives qui ont tendances à se généraliser et orientent de ce fait le cancérologue vers une chimiothérapie générale.

Actuellement, des nouvelles méthodes de diagnostics telles que l'imagerie par résonance magnétique (IRM), ultra sons et tomographie par émission des positons (TEP) ont été développés pour l'imagerie du cancer de la prostate. La TEP utilisant des radio-isotopes émetteurs (β^+), un temps considéré comme prometteuse (DeGardo et al., 2006; Hara et al., 2002; Jacobson et al., 2005; Parent et al., 2006; Parent et al., 2007; Reske et al., 2006), cependant cette technique d'imagerie a ses limites due à la difficulté de production des isotopes émetteurs de position de courte demi vie et la nécessité de l'instrumentation. En effet, à la différence des grandes majorités des autres tumeurs, il n'y a pas, à ce jour de méthode d'imagerie permettant une cartographie fiable du cancer dans la prostate, il reste un

défi pour l'imagerie. Le développement des radiotraceurs marquées au ^{99m}Tc utilisés comme agents d'imagerie en tomographie à émission monophotonique (TEMP) fournirait une alternative pour les hôpitaux équipés de TEMP camera. À notre connaissance, peu de composés ont été marqués au ^{99m}Tc pour leur éventuelle utilisation en imagerie du cancer de la prostate (Das et al., 2006; He et al., 2009). Des dérivés du flutamides, anti-androgène non stéroïde 1 (Parent et al., 2006) et 2 (He et al., 2009)) ont été synthétisés (figure 1-31). Cependant, la majorité de radiotraceurs utilisés en TEMP et TEP n'ont pas assez d'affinité pour les AR et faible spécificité et/ou basse stabilité d'où la nécessité du développement des nouveaux radiotraceurs pour l'imagerie du cancer de la prostate.

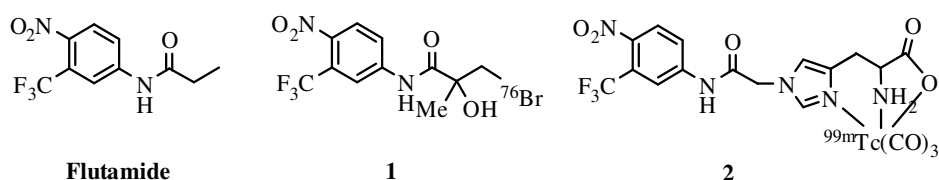


Figure 1-31: Dérivés du flutamide radiomarqués.

L'imagerie du cancer du sein par TEP est bien développée utilisant des stéroïdes marqués avec fluor-18 tels que 16α -[^{18}F]fluoroestradiol (FES) (Mortimer et al., 1999; Jonson et al., 1999). Aussi d'autres stéroïdes marquées avec brome, fluor, iode ont été étudié (Senderoff et al., 1982; Katzenellenbogen et al., 1982; Katzenellenbogen et al., 1981; Landvatter et al., 1981; McElvany et al., 1982; Pomper et al., 1990; Seimbille et al., 2002; VanBrocklin et al., 1993) mais leur utilisation en médecine nucléaire est limitée (McElvany et al., 1982). Un nombre limité des travaux qui sont focalisés sur les œstrogènes non stéroïdiens et les anti-œstrogènes (Seoa et al., 2007).

À la recherche des radiopharmaceutiques ayant comme cible les ER, Katzenellenbogen et coll ont proposé plusieurs dérivés de rhénium et de technétium. Cependant, ces composés n'ont pas assez d'affinité pour les RE et faible spécificité (Hom et Katzenellenbogen., 1997; Skaddan et al., 1999; Carlson et al., 1998). En revanche, Jaouen et al ont trouvé des dérivés d'oestradiol rhénié ayant une grande affinité pour les RE (Top et al., 1995) (figure 1-32). Cependant, leur méthode de synthèse n'est pas appropriée pour l'usage clinique courant dans la médecine nucléaire.

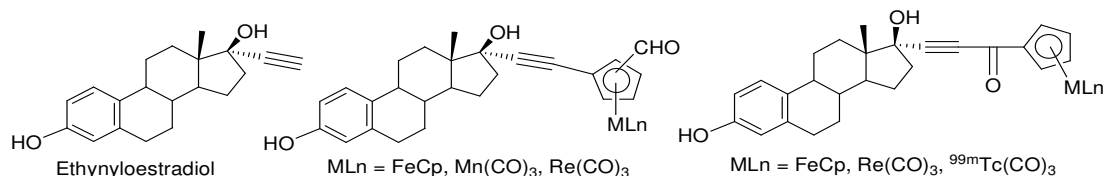


Figure 1-32: Exemples d'antiœstrogènes et d'analogues organométalliques développés par Jaouen et al.

VI. Objectif du travail

Cette thèse s'inscrit dans le cadre d'une cotutelle entre l'Université Pierre et Marie Curie et l'Université de Tunis El Manar. Le sujet de la thèse concerne la synthèse de dérivés organométalliques potentiellement utilisables en thérapie dans le cas des complexes ferrocéniques, en radioimagerie et en radiothérapie dans le cas des complexes de technétium et de rhénium. Il a été démontré au laboratoire que les dérivés ferrocéniques du tamoxifène ont une propriété antiproliférative contre les cellules cancéreuses hormonodépendantes et aussi contre les cellules cancéreuses hormonoindépendantes du sein. Pour ces dernières l'hormonothérapie classique n'est pas efficace. Jusqu'à présent de nombreux complexes ferrocéniques, dérivés de polyphénols triphényléthyléniques, ont été synthétisés au Laboratoire. Les meilleurs composés présentent des valeurs d'IC₅₀ autour de 0,2 à 0,5 μM pour les cellules cancéreuses MDA-MB-231 (Vessières et al., 2005; Nguyen et al., 2007 b; Pigeon et al., 2009).

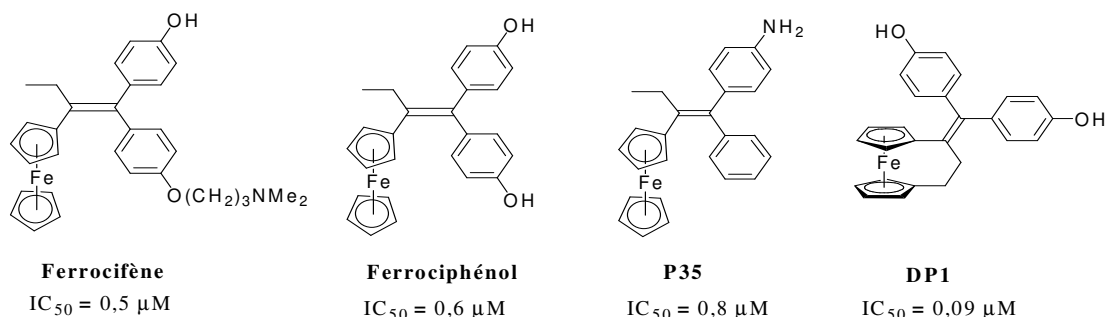


Figure 1-33: Exemples des dérivés ferrocéniques du tamoxifène.

Récemment, une excellente valeur de 0,09 μM a été obtenue pour un dérivé de ferrocénocyclophane, **DP1** (Plazuk et al., 2009) (figure 1-33). Des études *in vivo* ont montré que le ferrociphénol présente une excellente activité contre les cellules cancéreuses de gliome implantées sur les rats (Allard et al., 2008). La biodistribution des composés actifs dans les

organismes est facteur très important, les médicaments et les radiopharmaceutiques doivent être dirigés essentiellement vers les organes cibles pour minimiser les effets secondaires. Jusqu'à présent les composés organométalliques ont été seulement synthétisés sous forme de complexes non radioactifs. Ils ne peuvent pas être utilisés pour étudier leur biodistribution. Pour pallier à cette lacune, nous proposons dans cette étude de synthétiser quelques complexes marqués au Tc-99m. La synthèse des composés radioactifs nécessite un travail de mise au point élaboré car la méthode de synthèse pour les composés froids n'est pas souvent utilisable pour les composés radioactifs. Ceci est dû surtout à la très faible quantité de l'isotope radioactif que l'on peut manipuler et aussi à une obligation d'obtenir un très bon rendement, supérieur à 90%, pour éviter l'étape de purification avant l'injection. Nous avons réussi à synthétiser les trois composés ci-dessous (figure 1-34).

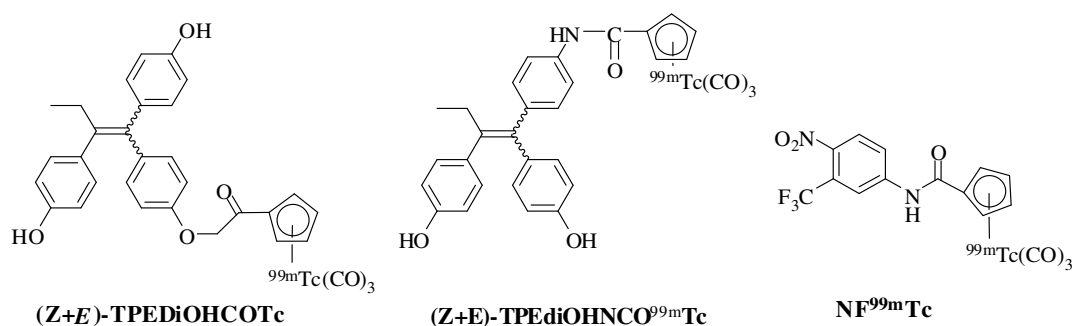


Figure 1-34: Composés organométalliques marqués au Tc-99m.

Les composés **(Z+E)-TPEDiOHCOTc** et **(Z+E)-TPEdiOHNCOTc** sont des composés qui reconnaissent les récepteurs de l'oestradiol. Ils sont donc utilisés pour l'étude du cancer du sein. Le composé **NF ^{99m}Tc** , qui est un dérivé du médicament flutamide, sera utilisé pour étudier le cancer de la prostate.

Le présent rapport décrit la synthèse de ces composés organométalliques marqués au Tc-99m et leur biodistribution dans les différents organes des rats.

CHAPITRE 2

Synthèse et biodistribution de (Z+E)-(1-[2-(cyclopentadiényltricarboxyl-[^{99m}Tc]-technétium)(p-hydroxyphényl)but-1-ène (TPEDiOHCO ^{99m}Tc).

1. Introduction

Il a été démontré dans notre laboratoire que le dérivé ferrocénique (*Z+E*)-**TPEDiOHCOFc**, **1** (figure 2-1), composés résultant de la substitution de la chaîne aminée de l'hydroxytomaxifène par le groupe 2-ferrocényl-2-oxo-éthyle, présente une activité antiproliférative sur les cellules cancéreuses hormono-dépendantes du sein MCF-7 et les cellules cancéreuses hormono-indépendantes de la prostate PC3 avec des valeurs d'IC₅₀ respectives de 10,4 μM et de 8,9 μM (Nguyen et al., 2007 b).

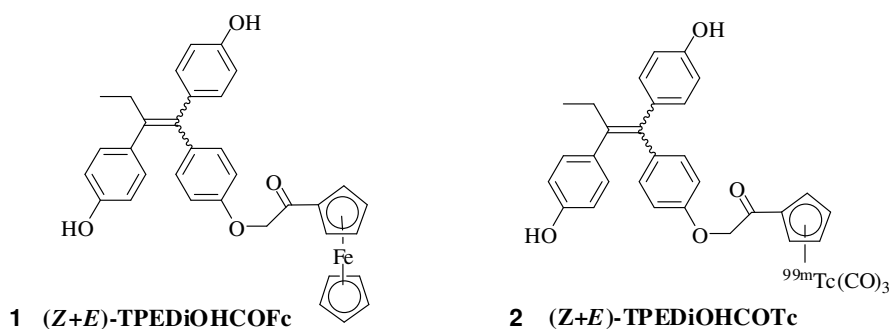


Figure 2-1: Les composés (*Z+E*)-TPEDiOHCOFc, **1** et (*Z+E*)-TPEDiOHCO^{99m}Tc, **2**.

Bien que son activité soit inférieure à celle du ferrocifène (IC₅₀ = 0,5 μM) ou du ferrociphenol (IC₅₀ = 0,7 μM) sur les cellules MCF-7 (Top et al., 2003; Vessières et al., 2005), ce nouveau composé présente une affinité intéressante pour le récepteur ERα qui se trouve dans les cellules cancéreuses hormono-dépendantes du sein (l'isomère *Z* a une valeur de RBA = 13,9% pour les cellules MCF-7). Cette bonne affinité pour un dérivé organométallique nous a incité à préparer son analogue du technétium-99m qui, en principe, devrait présenter une affinité similaire. Par conséquent, il serait utilisable comme agent d'imagerie pour visualiser les régions cancéreuses. La première synthèse du dérivé de Tc-99m (*Z+E*)-TPEDiOHCO^{99m}Tc, **2**, a été réalisée par Nguyen en 2007 (Nguyen., 2007 a) selon la réaction d'échange de ligands en chauffant le composé (*Z+E*)-TPEDiOHCOFc avec le réactif d'Alberto [^{99m}Tc(CO)₃(H₂O)₃]⁺ pendant 40 min à 120°C dans du DMSO (schéma 2-1).

(*Z+E*)-TPEDiOHCO^{99m}Tc, **2** a été obtenu avec un rendement de 70%, rendement qui le rend non utilisable pour une injection dans le corps humain car un radiopharmaceutique doit être exempt d'impureté, ce qui signifie qu'il exige une réaction à très haut rendement et propre sans produits secondaires. Or le composé **2**, obtenu selon cette méthode, contient obligatoirement le dérivé ferrocénique de départ. Par conséquent, nous devons, soit améliorer

le rendement de la réaction, soit trouver une nouvelle méthode de synthèse. Le présent chapitre décrit les différents essais effectués pour améliorer le rendement et la pureté du **(Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc, 2**. Après avoir purifié le produit, les études biologiques, en particulier l'étude sur la biodistribution du produit dans les rats, ont été menées.

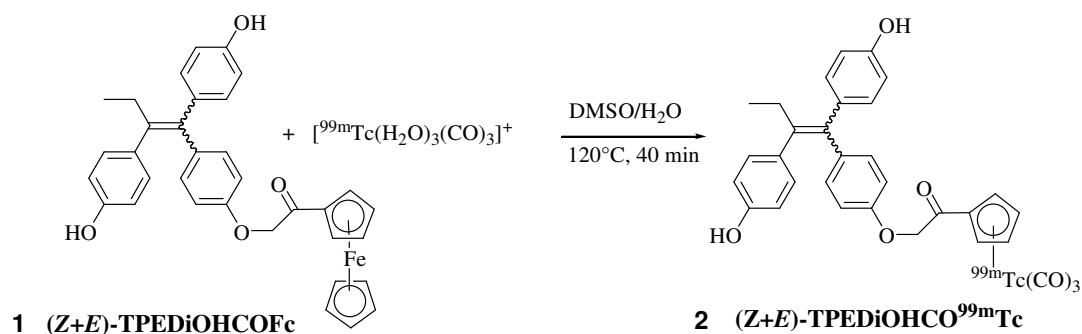


Schéma 2-1: Première voie de synthèse du composé **(Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc, 2**.

2. Résultats et discussion

2.1. Synthèses chimique

2.1.1. Synthèse de **(Z+E)-TPEDiOHCOMn**

Roger Alberto a montré que les dérivés cyclopentadiényltricarboxyl ^{99m}Tc peuvent être obtenus avec un excellent rendement en faisant réagir directement un dérivé de cyclopentadiénide avec l'aqua-ion $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ dans un milieu aqueux ajusté à pH 10 (schéma 2-2) (Wald et al., 2001).

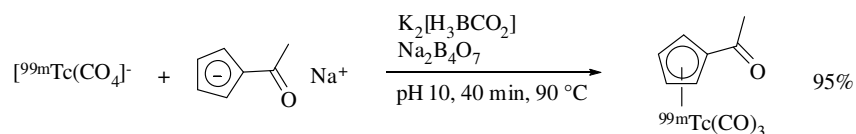
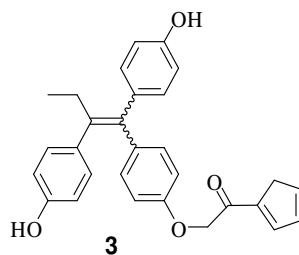


Schéma 2-2

C'est une voie de synthèse directe qui ne fait pas intervenir le précurseur ferrocénique, le composé de Tc formé n'est donc pas contaminé par ce précurseur. Elle apparaît donc comme une voie intéressante. La synthèse de **2** selon cette voie revient à préparer le dérivé cyclopentadiényle **3** qui, en principe, devrait être obtenu sous l'action de l'anion cyclopentadiénide sur un ester approprié.



Or les premiers essais au laboratoire n'ont pas abouti à la formation du composé cible. Nous avons repris cette étude en explorant d'autres voies de synthèse. Il a été démontré au laboratoire que la décomplexation sous irradiation UV d'un complexe cyclopentadiényltricarboxylmanganèse peut conduire à la génération du cyclopentadiène libre (Top et al., 2001 a) (schéma 2-3).

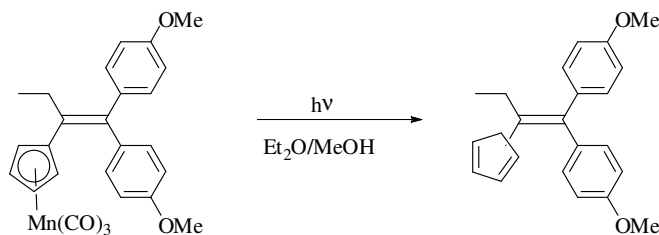


Schéma 2-3

Nous avons donc choisi d'explorer cette nouvelle voie de synthèse, ce qui revient en fait à synthétiser l'analogue de manganèse, **6**, du composé ferrocénique **1**. La première voie utilisée est représentée par le schéma 2-4.

La synthèse du composé (*Z+E*)-**4** est basée sur la réaction de couplage de McMurry, réaction très utilisée pour la synthèse des dérivés d'alcène organométalliques (Top et al., 2003; Jaouen et al., 1997). Les groupements hydroxyles sont préalablement protégés par un groupe protecteur (*t*-BuMe₂Si) pour éviter leur implication dans la réaction d'alkylation. Le composé **4** est un mélange de deux isomères *Z* et *E*. Il est ensuite transformé en dérivé cyané **5** en faisant réagir le composé **4** avec BrCH₂CN en présence de Cs₂CO₃. Le composé **5** a été obtenu avec un rendement de 50% sous forme de mélange de deux isomères *Z* et *E*. L'action de l'anion manganèsetricarbonylcyclopentadiénide sur le dérivé cyné **5** devrait fournir le composé organométallique **6**. Malheureusement, cette réaction n'a pas conduit à ce composé malgré plusieurs tentatives en modifiant les conditions de la réaction. On obtient en fait plusieurs produits non identifiés. Cette voie de synthèse a été donc abandonnée.

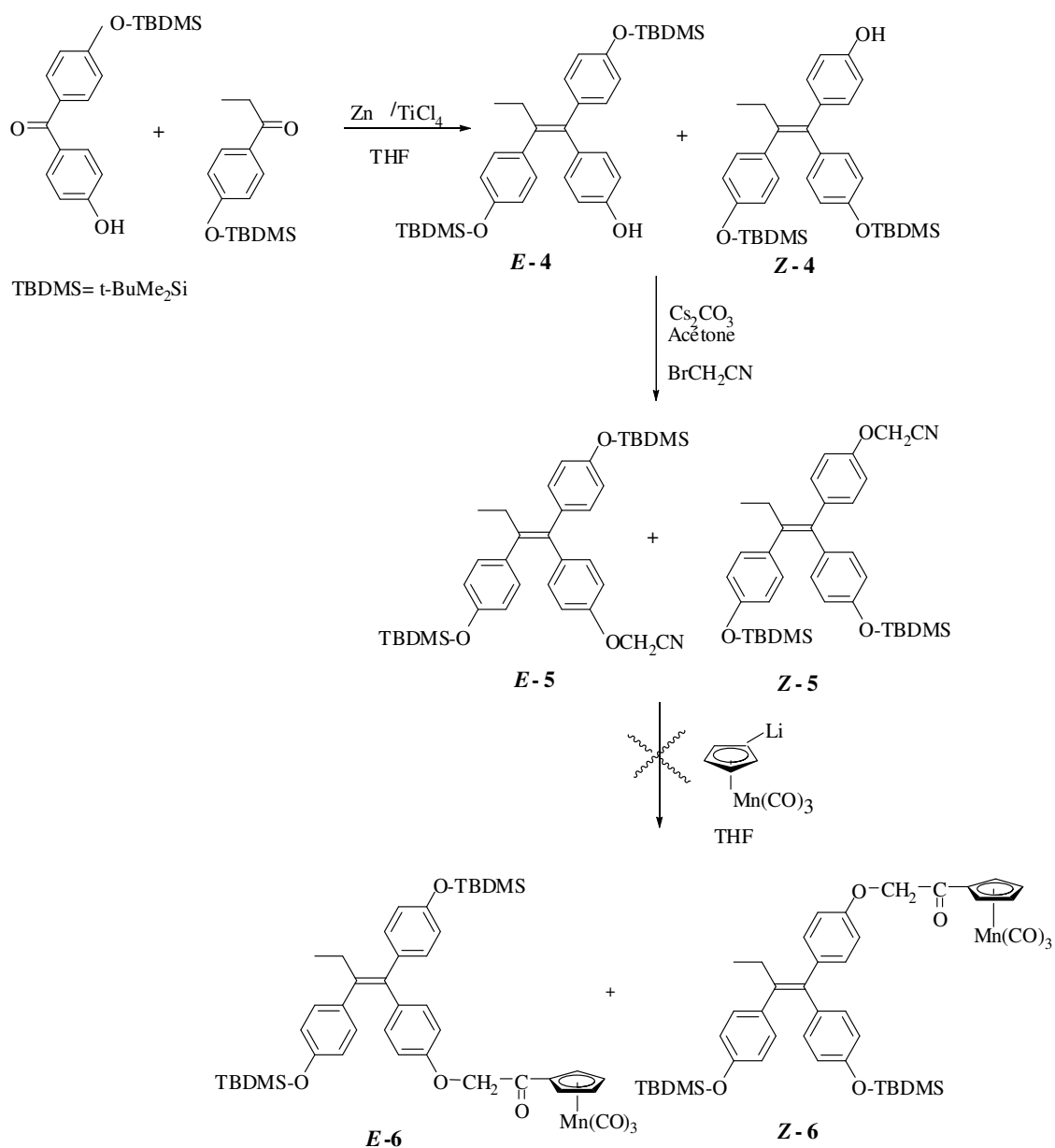


Schéma 2-4: Première voie de synthèse du composé (Z+E)-6.

Suite à cet échec, une autre voie de synthèse a été explorée (schéma 2-5 et 2-6). Nous préparons d'abord le précurseur bromopropionyl-cyclopentadienyltricarboxylmanganèse **7** en faisant réagir l'anion manganèsetricarboxylcyclopentadiénide avec l'amide de Weinreb BrCH₂CON(OMe)Me (Nahm et al., 1981). L'addition du composé **7** au composé (Z+E)-**4** en présence de Cs₂CO₃ produit le composé (Z+E)-**6** avec un rendement de 9 % (schéma 2-6). La déprotection en chauffant le composé **6** avec HCl dans l'éthanol fournit finalement le composé **8**.

Le faible rendement de cette dernière étape de réaction rend difficile l'exploitation de cette voie de synthèse pour une préparation en quantité suffisante pour la suite de la réaction. Nous avons donc exploré une nouvelle voie de synthèse en préparant dans ce cas l'amide de Weinreb qui contient déjà le groupe triphénylbutène, l'introduction du groupe cyclopentadiényltricarboxymanganèse se fait, dans ce cas, vers la fin des étapes de la synthèse. Pour tester cette nouvelle voie de synthèse, nous avons d'abord travaillé sur un modèle, il s'agit de l'ester **9** (schéma 2-7). **9** a été obtenu par alkylation du diméthylphénol par l'éthylbromoacétyl ester. L'addition de l'amine HNMe(OMe),HCl sur le composé **9** en présence de Me₃Al produit l'amide de Weinreb **10**. La réaction entre le composé **10** et le lithium cyclopentadiénide à -70 °C fournit finalement le complexe **11** avec un rendement de 42%. Cette voie de synthèse est donc, en principe, meilleure que la voie précédente. Nous avons donc préparé de nouveau le composé **8** selon cette nouvelle voie (schéma 2-7).

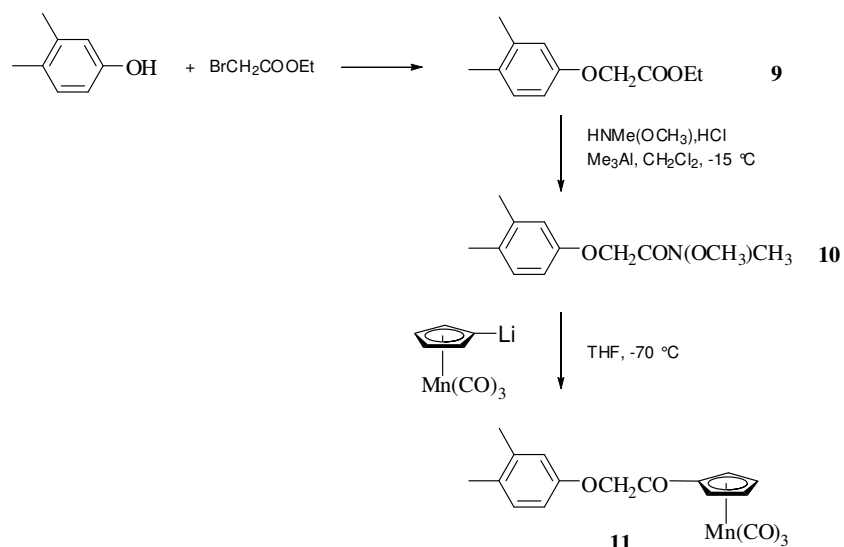


Schéma 2-7: Synthèse du composé **11**

Les esters **E-12** et **Z-12** ont été obtenus par alkylation des dérivés phénoliques **4** par l'ester éthylbromoacétyl. Les deux isomères formés sont séparés par chromatographie sur colonne de gel de silice avec comme éluant éther/éther de pétrole 1/20. **E-12** et **Z-12** ont été obtenus avec des rendements, respectivement, de 22,4% et de 27% (schéma 2-8).

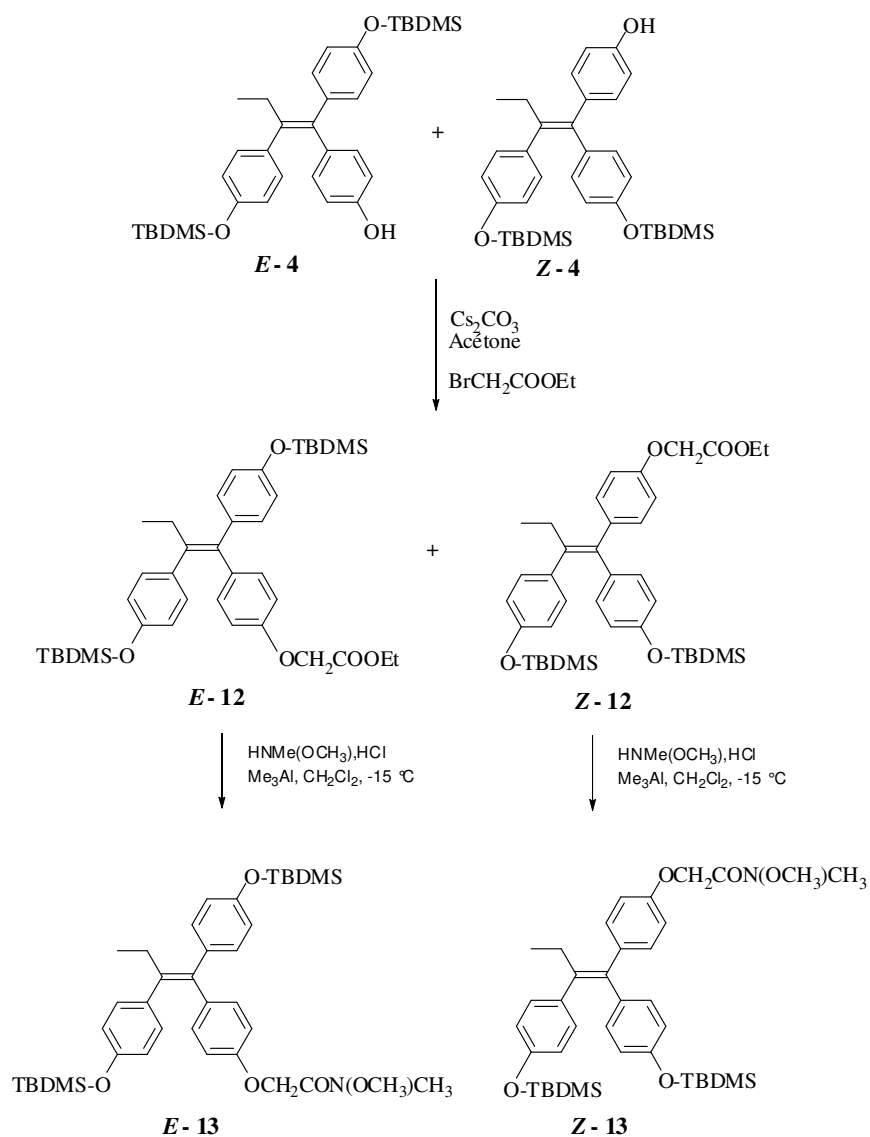


Schéma 2-8: Synthèse du composé **13**

L'attribution de la forme *Z* ou *E* à ces deux isomères a été obtenue par affiliation avec un complexe de rhénium dont la structure a été déjà identifiée (Nguyen., 2007 a). En effet la réaction entre l'isomère **Z-13** et le lithium rhéniumtricarboxylcyclopentadiénide à -70°C fournit le complexe de rhénium **Z-14** (schéma 2-9). Les caractéristiques spectroscopiques de ce composé sont identiques à celles du complexe de rhénium obtenu par A. Nguyen et identifié comme l'isomère *Z*.

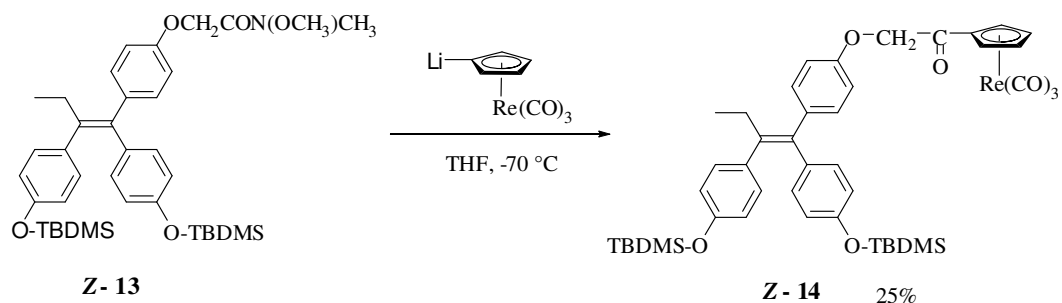


Schéma 2-9: Synthèse du composé **Z-14**

De même, la réaction entre l'isomère **Z-13** et le lithium manganèsetricarbonylcyclopentadiénide à -70°C fournit le complexe de manganèse **Z-6** avec un rendement de 22% (schéma 2-10). Après réaction de déprotection avec HCl dans de l'éthanol, on obtient le composé **E-8** avec un rendement de 48% pour cette étape.

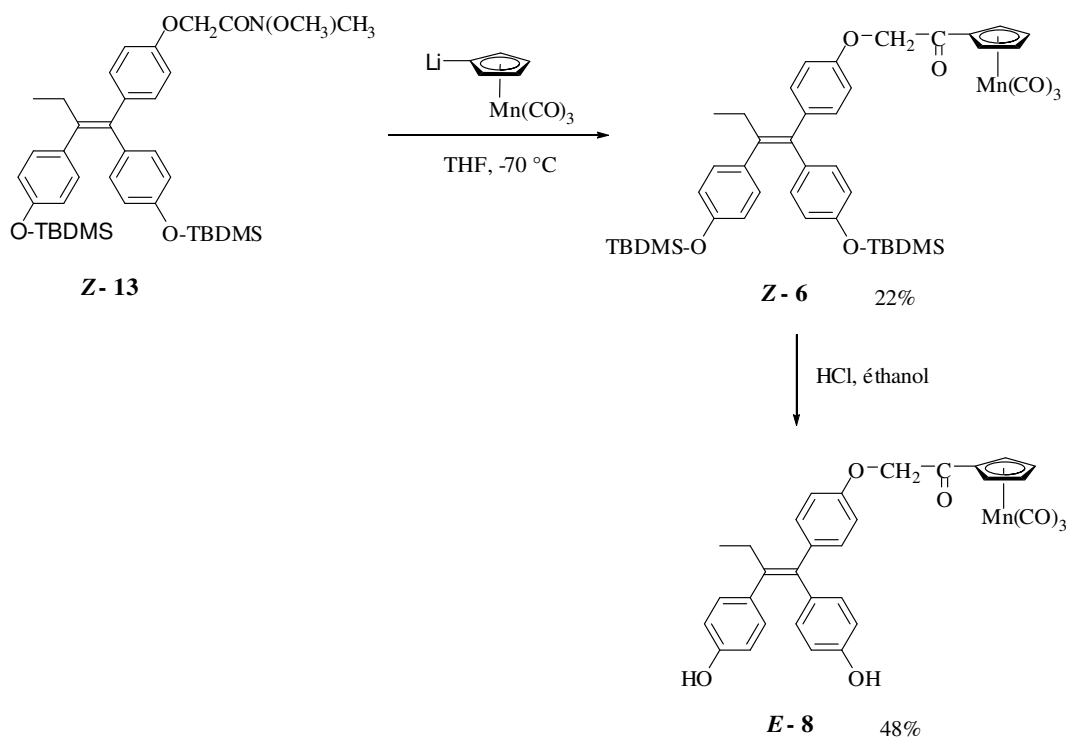


Schéma 2-10: Synthèse du composé **E-8**

Globalement, on peut dire que cette dernière voie de synthèse donne un meilleur rendement pour le complexe de manganèse bien que ce rendement reste modeste. En solution dans de l'acétone, l'isomère **E-8** s'isomérisse pour donner un mélange de **Z-8** et **E-8** avec une proportion finale de 42/58.

2.1.2. Synthèse des précurseurs du (Z+E)-TPEDiHCO^{99m}Tc, 2

Le composé cyclopentadiényle **3** mentionné au début de ce chapitre est le précurseur le plus direct et susceptible de produire le composé de technétium **2** avec excellent rendement et une pureté acceptable comme un radiopharmaceutique. Nous venons de démontrer que le lithium rhéniumtricarboxylcyclopentadiénide ou le lithium manganèsetricarboxylcyclopentadiénide réagissait avec l'amide **13** pour former un complexe cyclopentadiényle. Notre première tentative pour atteindre le composé **3** était donc de faire réagir le lithium cyclopentadiénide sur l'amide Z-**13** (schéma 2-11).

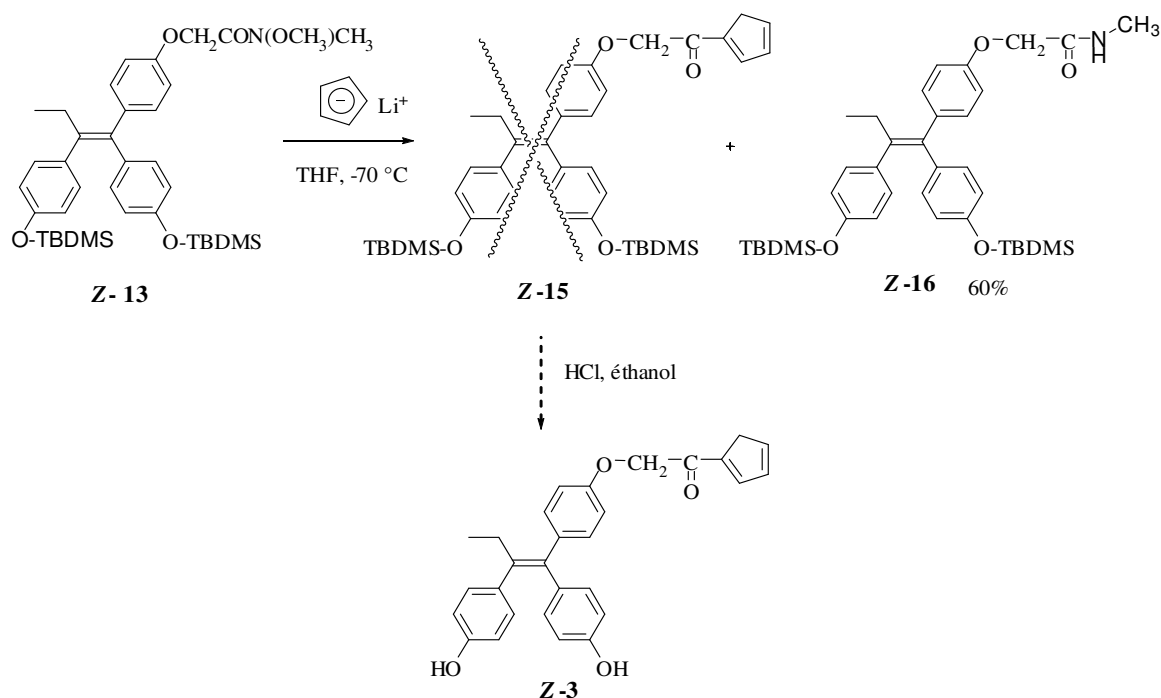


Schéma 2-11: Synthèse du composé **3**

Cette réaction n'a pas fourni le composé cyclopentadiényle **Z-15** mais il s'est formé un nouveau composé qui est identifié comme l'amide **Z-16** avec un fort rendement de 60%. Pour essayer de comprendre cette réaction, nous avons fait réagir le lithium cyclopentadiénide sur l'amide Z-**10** dans les mêmes conditions de réaction (schéma 2-12).

Encore une fois nous avons obtenu l'amide **18** comme produit majoritaire. Le composé cyclopentadiényle **17** n'est pas observé, par contre, nous avons également isolé en faible quantité un autre produit qui correspond au dimère **19** selon le spectre de masse. La présence de ce dernier prouve que le composé **17** s'est formé également mais il est instable et se

dimérise pour former **19**. La formation des amides **16** et **18** au cours de cette réaction d'addition nucléophile reste pour le moment sans explication.

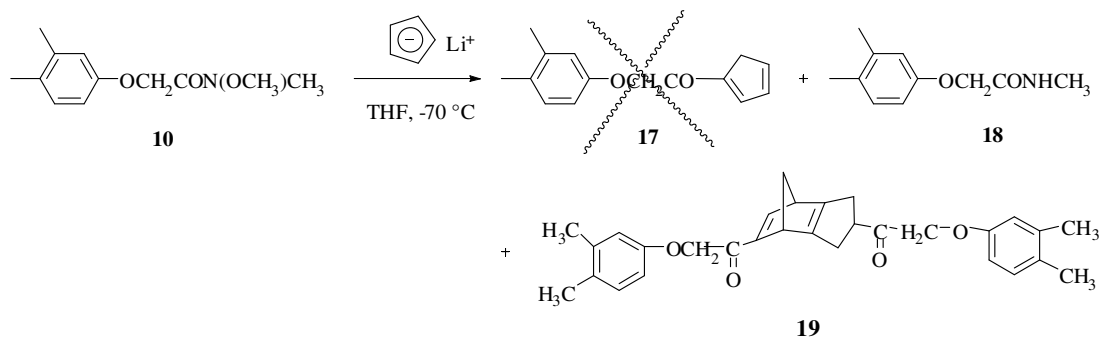


Schéma 2-12

Suite à cet échec, nous avons testé la voie de génération du composé **3** par décomplexation du composé de cymantène **Z-6** sous l'action d'une irradiation à la lampe UV selon la méthode développée dans le laboratoire (Top et al., 2000; Top et al., 2001 a)(schéma 2-13).

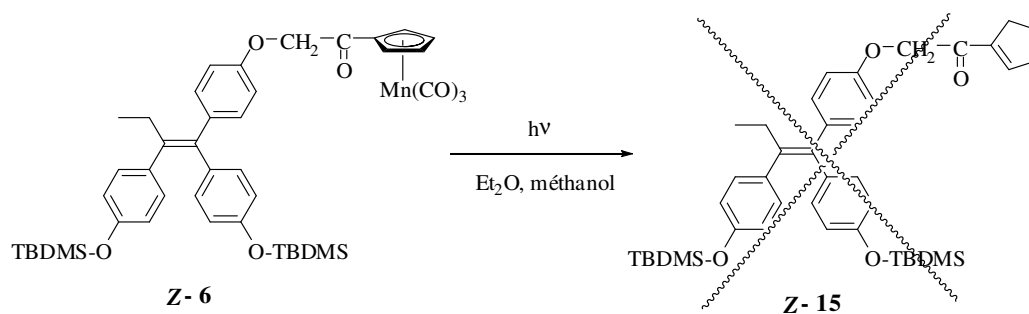


Schéma 2-13

Après une irradiation pendant 10 min, le composé de départ **Z-6** a complètement disparu. Il s'est formé plusieurs produits non identifiables. La disparition du produit de départ devrait en principe produire le composé cyclopentadiényl **15** qui n'est pas observé à cause probablement de sa sensibilité à la réaction de polymérisation.

Il est clair que les deux voies de synthèse étudiées ne permettent pas d'atteindre le précurseur **3**. Suite à cet échec nous avons repris la réaction d'échange de ligands, étudiée pour la première fois par A. Nguyen, pour essayer d'augmenter le rendement de la réaction.

Le réactif de départ, le composé (*Z+E*)-TPEDiOHCOFc **1**, a été synthétisé selon la méthode développée par A. Nguyen (Nguyen., 2007 a) (schéma 2-14).

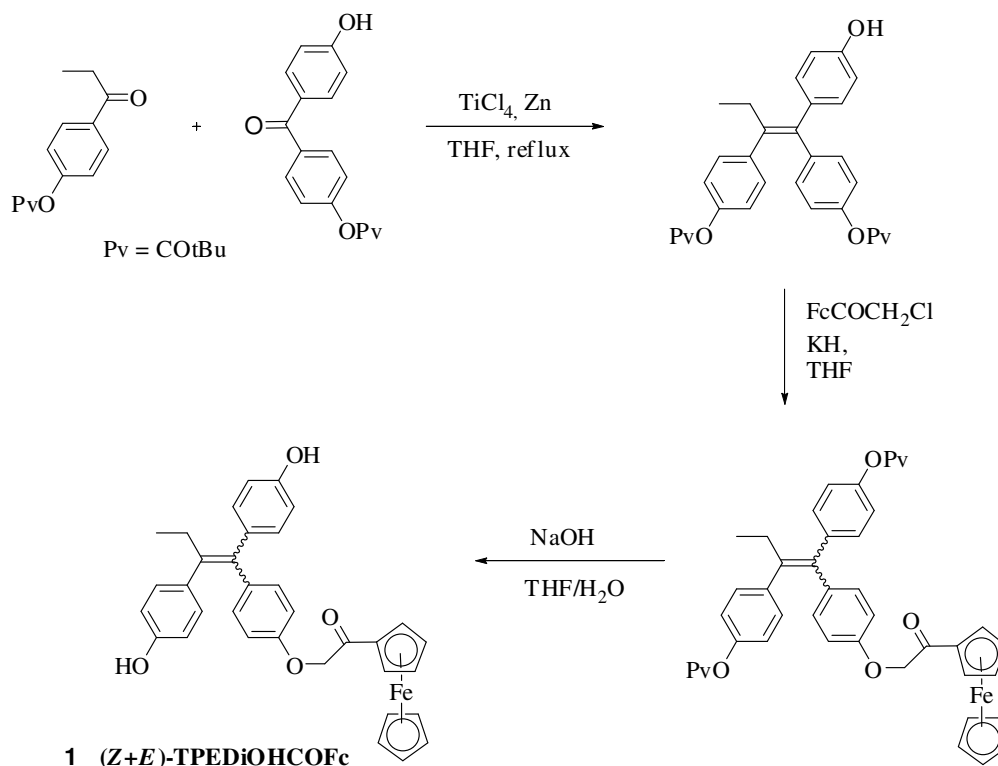


Schéma 2-14: Synthèse du composé (*Z+E*)-TPEDiOHCOFc **1**.

La synthèse du **1** a été faite en 4 étapes: synthèse du squelette triphényléthylénique, protection du groupement phénol α et β , couplage du groupement ferrocénique au squelette triphényléthylénique et déprotection du groupement phénol α et β . Le squelette triphényléthylénique a été synthétisé par couplage de deux cétones appropriées selon la réaction de McMurry, réaction très efficace pour ce type de composé (Gauthier et al., 1996, Top et al., 2003). Les fonctions phénoliques de la 4-hydroxypropiophénone et de la 4,4'-dihydroxybenzophénone étaient d'abord protégées par le groupe pivaloate (Gauthier et al., 1996). Le couplage de McMurry entre les deux cétones a été réalisé en utilisant le réactif TiCl_4/Zn dans du THF anhydre. On obtient le composé triphénylbutène sous forme de mélange de deux isomères *Z* et *E*. L'alkylation de ce composé avec le chloroacétylferrocène, en présence d'une base fournit le composé **1** protégé par le groupe pivaloate. La déprotection a été réalisée en chauffant à reflux le composé protégé avec NaOH dans $\text{H}_2\text{O}/\text{THF}$ pendant 6h. On obtient finalement le composé **1** sous forme de mélange de deux isomères *Z* et *E*. La

pureté du produit synthétisé a été vérifiée par CLHP en phase inverse, en utilisant une colonne C-18 (figure 2-2). Le chromatogramme montre la présence de deux pics intenses correspondent respectivement aux deux isomères Z et E.

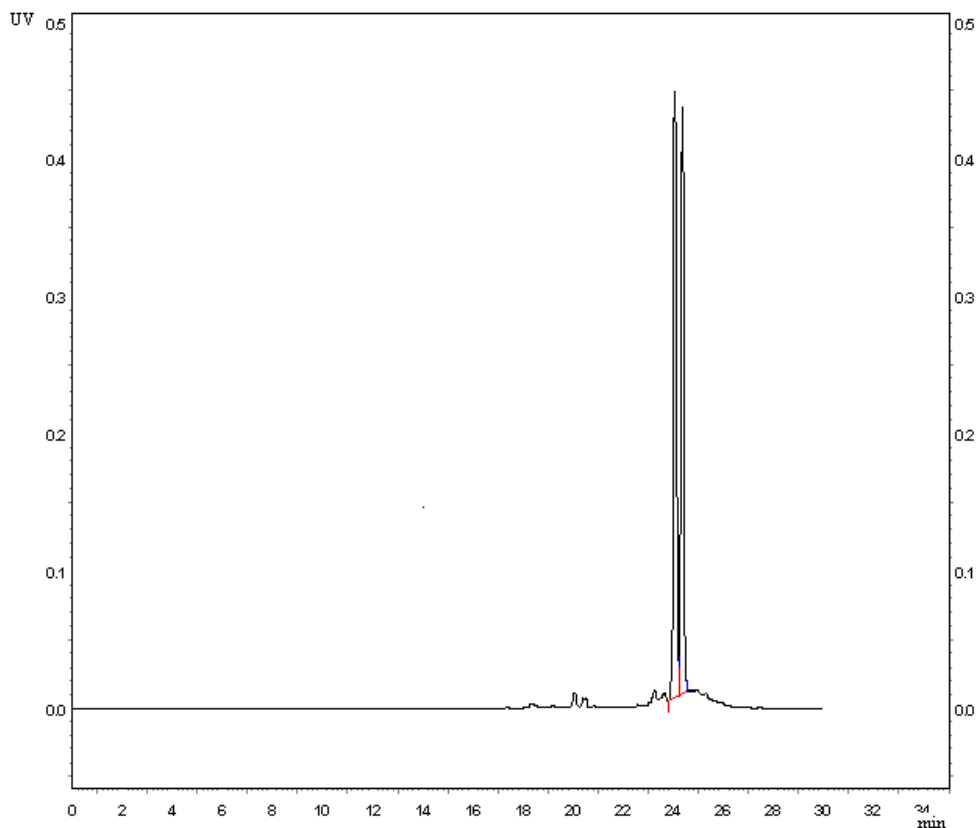


Figure 2-2: Chromatogramme du **(Z+E)-TPEDiOHCOFc 1** par CLHP. Analyse sur colonne C18 Shim-pack VP-ODS. Gradient d'éluion (A = 0.1% CF₃COOH /eau ultra pure, B = MeOH): 0-3 min: 100% A; 3-9 min: 75% A; 9 min: 66% A; 9-20 min: 66%→0% A; 20-25 min: 0% A; 25-30 min: 100% A. Débit: 1 ml/min; Détecteur UV($\lambda=254\text{nm}$). Température: 40°C. Temps de rétention 24,09, 24,41 min.

2.1.3. Synthèse de **(Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc 2**

Le composé **(Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc 2**, a été préparé pour la première fois par A. Nguyen (Nguyen., 2007 a) en chauffant le dérivé ferrocénique **(Z+E)-TPEDiOHCOFc 1** avec ^{99m}TcO₄⁻ dans le mélange DMSO/H₂O à 120 °C pendant 40 min (schéma 2-1). Un rendement de 70 % a été obtenu. Pour en améliorer le rendement, cette réaction a été reprise en changeant les conditions opératoires comme le solvant, la température, et la durée de la réaction (schéma 2-15).

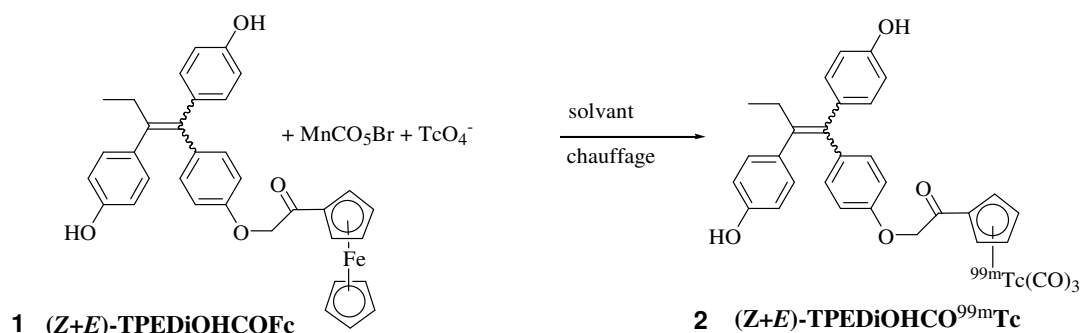


Schéma 2-15: Synthèse du (Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc

L'activité spécifique du ^{99m}Tc est très élevée, la caractérisation du composé technétié n'est possible que par CLHP utilisant le composé de manganèse **8** comme référence.

Le mécanisme d'échange entre le fer et le technétium a été discuté par Kuntschke et al (Kuntschke et al., 1995). On démontre qu'une température élevée déstabilise le noyau cyclopentadiényle et favorise l'échange entre les atomes centraux.

La déstabilisation du complexe ferrocénique et la libération du fer dans le milieu réactionnel présente un avantage majeur dans la réduction du technétium (^{99m}Tc) qui passe d'un degré d'oxydation +VII (complexe très stable) vers un degré d'oxydation +I.

Pour améliorer le rendement de marquage et la pureté radiochimique du traceur, les expériences suivantes ont été effectuées. 150 µl d'une solution aqueuse contenant le ^{99m}TcO₄⁻ ont été mélangés avec 150 µl de solvant de la réaction contenant le précurseur ferrocénique **1** et le réducteur MnCO₅Br. Le mélange est chauffé à une température sélectionnée. La détermination du pourcentage de la molécule marquée doit prendre en compte le fait que le radioélément est présent à l'état de trace, c'est-à-dire à des concentrations très faibles de 10⁻⁹ à 10⁻¹² M alors que la molécule vectrice est à des concentrations de 10⁻³ à 10⁻⁶ M. Les méthodes physicochimiques usuelles ne sont pas applicables, la méthode généralement employée est la radiochromatographie sur des plaques de gel de silice (CCM) sur lesquelles nous avons fait migrer le mélange réactionnel avec l'éluant acétate d'éthyle/d'ether de pétrole 80/20.

Dans un premier temps, nous avons utilisé le DMSO comme solvant pour la réaction de marquage. Le rendement du marquage obtenu n'a pas dépassé les 47 % (figure 2-3).

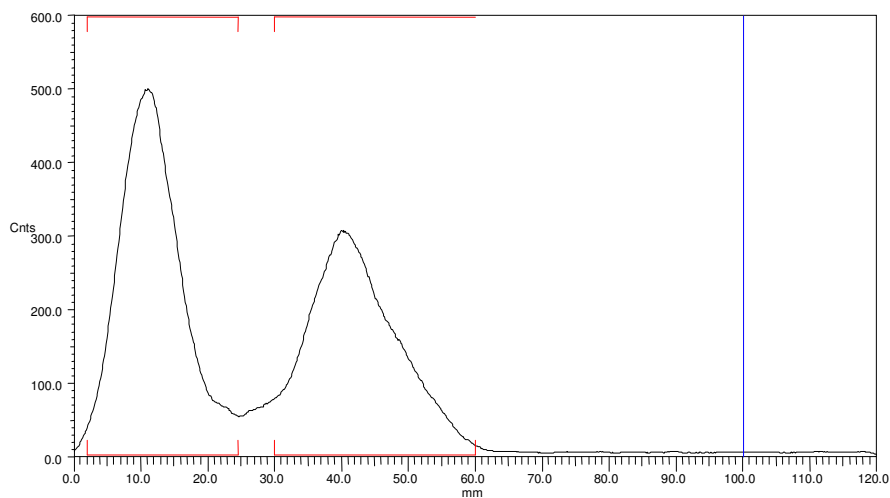


Figure 2-3: Radiochromatogramme du mélange réactionnel du (**Z+E**) **TPEDiOHCOFc** en présence de $^{99m}\text{TcO}_4^-$ après 90 min de chauffage à 150°C dans du DMSO. La séparation est effectuée sur gel de silice avec un mélange d'acétate d'éthyle/ d'éther de pétrole 80/20 comme éluant.

Afin d'optimiser ce rendement, le solvant de départ (DMSO) a été remplacé par le DMF. Une amélioration du rendement de 47% à 86 % a été observée (Tableau 2.I).

Tableau 2.I: Rendement des réactions de radiomarquage du (**Z+E**) **TPEDiOHCOFc** en fonction du type de solvant.

Solvant	Rendement en %
Eau	0
DMSO/Eau (1/1)	45-50
DMF/Eau (1/1)	85-90

On voit que le rendement de la réaction de marquage varie en fonction du solvant utilisé. En effet, dans l'eau pure le marquage n'a pas eu lieu. Le meilleur rendement a été obtenu avec le mélange DMF/eau (1/1). Ce mélange a été adopté pour la suite des expériences.

Une étude sur l'effet du temps de la réaction a montré que le maximum du rendement est obtenu après 90 min de chauffage. Lorsque le temps de réaction dépasse 90 min, on observe l'apparition des produits secondaires (figure 2-4).

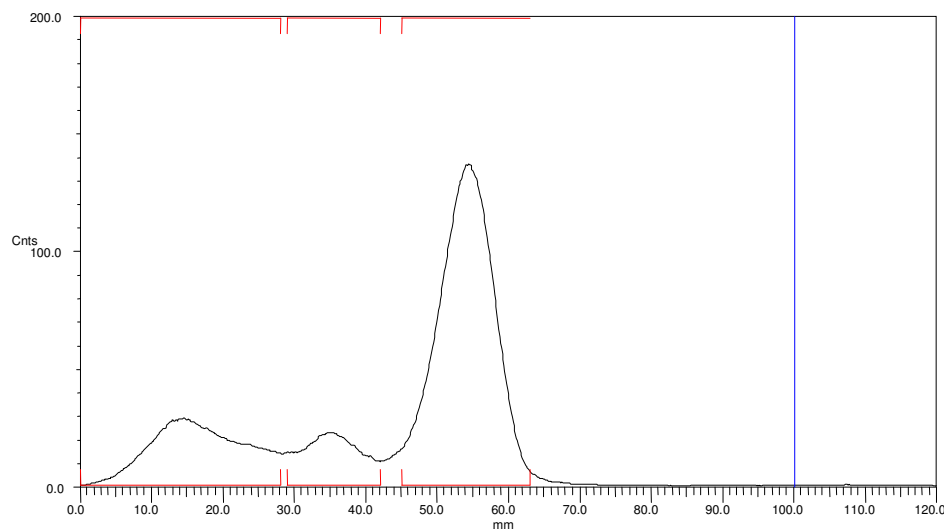


Figure 2-4: Radiochromatogramme du mélange réactionnel du (*Z+E*) TPEDiOHCOFc 1 en présence de $^{99m}\text{TcO}_4^-$ après 120 min de chauffage à 150°C dans du DMF/eau. La séparation est effectuée sur gel de silice avec un mélange d'acétate d'éthyle/éther de pétrole 80/ 20.

2.1.4. Contrôle de qualité et purification du (*Z+E*) TPEDiOHCO ^{99m}Tc 2

La qualité des réactions de marquage a été évaluée primordialement par radiochromatographie sur plaques de gel de silice sur lesquelles on fait migrer les mélanges réactionnels dans une phase mobile composée d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole (80/20). La radioactivité est détectée par un radiochromatographe. Voir figure ci-après (figure 2-5):

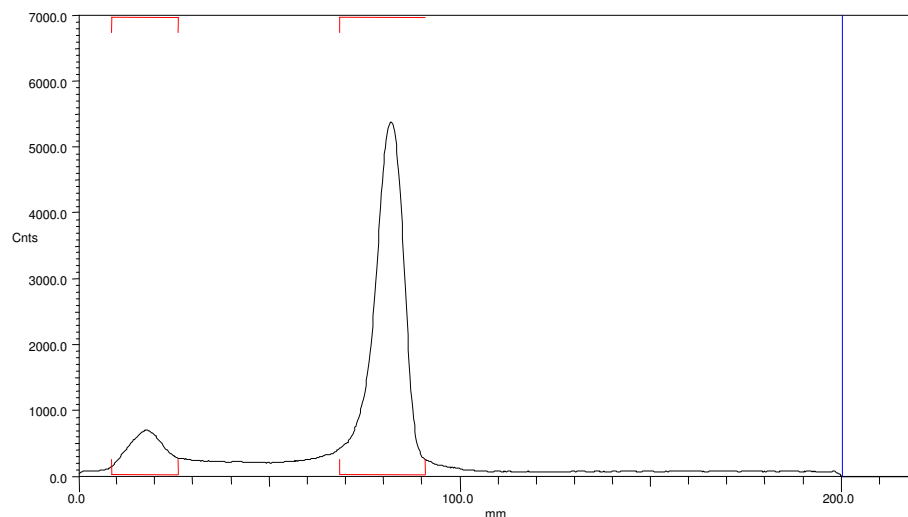


Figure 2-5: Radiograph chromatogram of the reaction mixture of **(Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc 2** with $^{99m}\text{TcO}_4^-$ after 90 min of heating at 150°C in DMF/water. The separation is performed on silica gel with ethyl acetate/petroleum ether 80/20.

The radiograph chromatogram shows two radioactive peaks with different R_f values; the one with a very low R_f corresponds to very polar molecules and is probably that of the non-reduced pertechnetate, that is to say that it has not reacted. This is demonstrated in the radiograph chromatogram which corresponds to the CCM migration of the pertechnetate alone in the same mobile phase.

The second peak with $R_f = 0.8$ reveals a very high activity indicating the formation of another radioactive compound. This peak seems to correspond to **(Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc 2**.

The band, corresponding to the labeled product, has been scraped and the product has been eluted on a micro-column and then analyzed by CLHP.

The presence of a single intense peak at a retention time equal to 22.73 min testifies of a high radiochemical purity and seems to show the presence of a single isomer but as this type of species has a tendency to isomerize, it is probable that the two isomers come out at the same place. In order to identify the labeled product obtained we compared its CHPL profile to that of its manganese analogue **8** (figure 2-6). The labeled molecule has an R_f close to that of its manganese analogue.

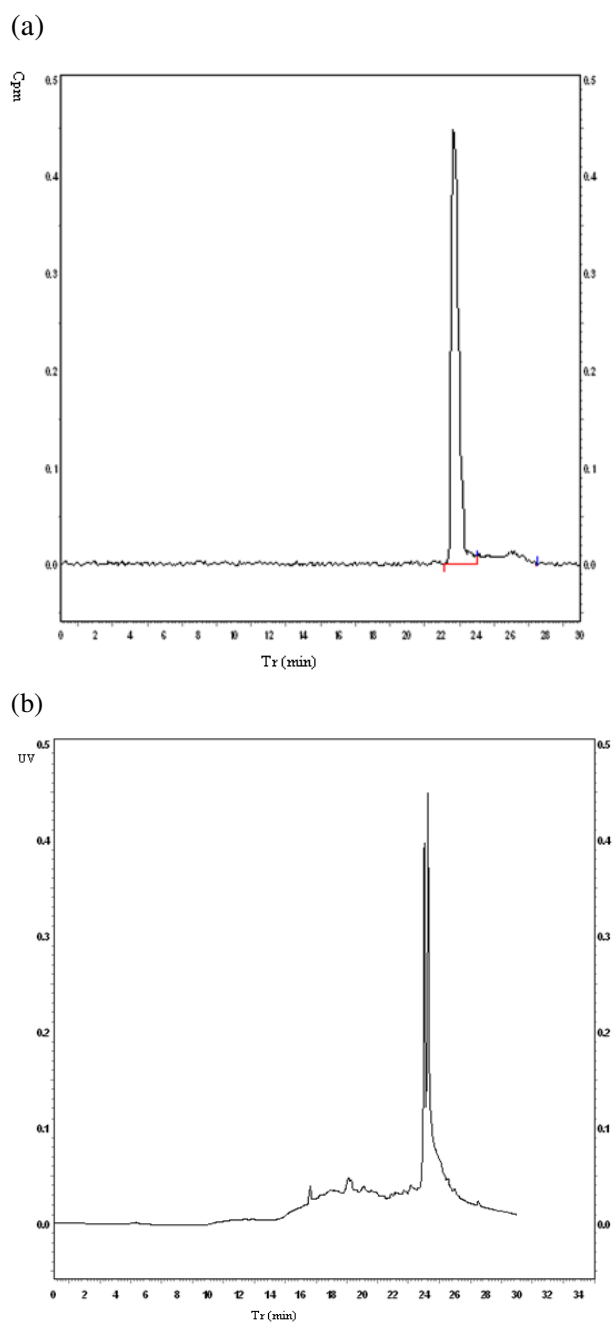


Figure 2-6: (a) Profil CLHP du (Z+E) $TPEDiOHCO^{99m}Tc$ purifié. Analyse sur colonne C18 Shim-pack VP-ODS. Gradient d'éluion (A = 0.1% CF_3COOH /eau ultra pure, B = MeOH): 0-3 min: 100% A; 3-9 min: 75% A; 9 min: 66% A; 9-20 min: 66%→0% A; 20-25 min: 0% A; 25-30 min: 100% A. Débit: 1 ml/min; Détecteur Gamma (Gabi).Température: 40°C. Temps de rétention 22,73 min. (b) Profil CLHP du (Z+E) $TPEDiOHCOMn$ purifié. Analyse sur colonne C18 Shim-pack VP-ODS. Gradient d'éluion (A = 0,1% CF_3COOH /eau ultra pure, B = MeOH): 0-3 min: 100% A; 3-9 min: 75% A; 9 min: 66% A; 9-20 min: 66%→0% A; 20-25 min: 0% A; 25-30 min: 100% A. Débit: 1 ml/min; Détecteur UV (λ 250nm).Température: 40°C. Temps de rétention 24,05, 24,9 min.

2.2. Etude de la stabilité du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc dans différents solvants

Nous avons notamment étudié la stabilité du radiotracer dans différents solvants afin de déterminer les conditions de sa conservation au cours du temps. La stabilité de la préparation du radiotracer est déterminée après incubation du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc dans différents milieux: eau purifiée, NaCl 0,9 % et éthanol. La pureté radiochimique est définie par CCM ou CLHP sur des échantillons conservés à 4°C, à 30 min, 1h, et 24 h après marquage.

Le radiotracer reste stable pendant 24 heures dans l'éthanol à 4°C. Dans le milieu NaCl 0,9 %, le marquage ne semble pas être aussi stable que dans l'éthanol. Le produit reste stable pendant les 30 premières minutes d'incubation seulement. Après 1h, le radiochromatogramme montre la formation d'une nouvelle entité radioactive avec un temps de rétention de 24,77 min (figure 2-7).

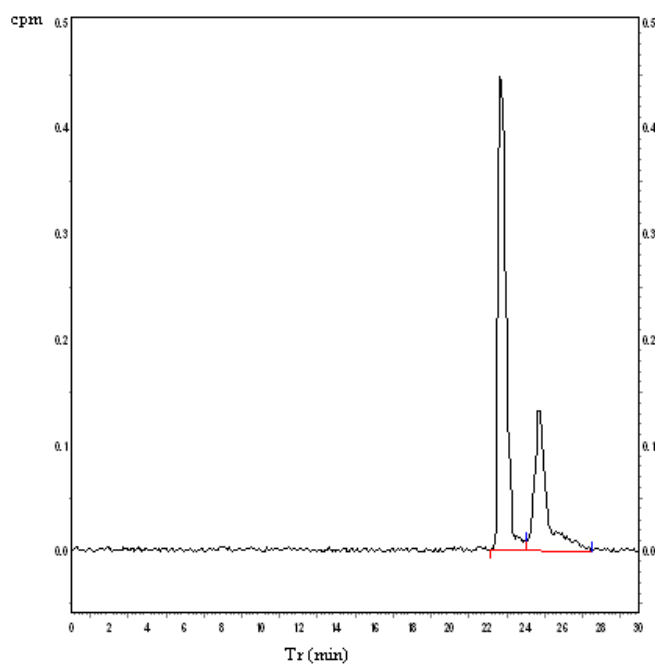


Figure 2-7: Radiochromatogramme du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc après une heure d'incubation dans NaCl 0,9 %. Analyse par CLHP sur colonne C18 Shim-pack VP-ODS. Gradient d'éluion (A = 0,1% CF₃COOH /eau ultra pure, B = MeOH): 0-3 min: 100% A; 3-9 min: 75% A; 9 min: 66% A; 9-20 min: 66%→0% A; 20-25 min: 0% A; 25-30 min: 100% A. Débit: 1 ml/min; Détecteur Gamma (Gabi).Température: 40°C.

Dans l'eau purifiée, après 24h, Le radiochromatogramme montre la formation de nouveaux métabolites secondaires résultant de la dégradation du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc, ces produits ne correspondent pas au technétium libre (figure 2-8).

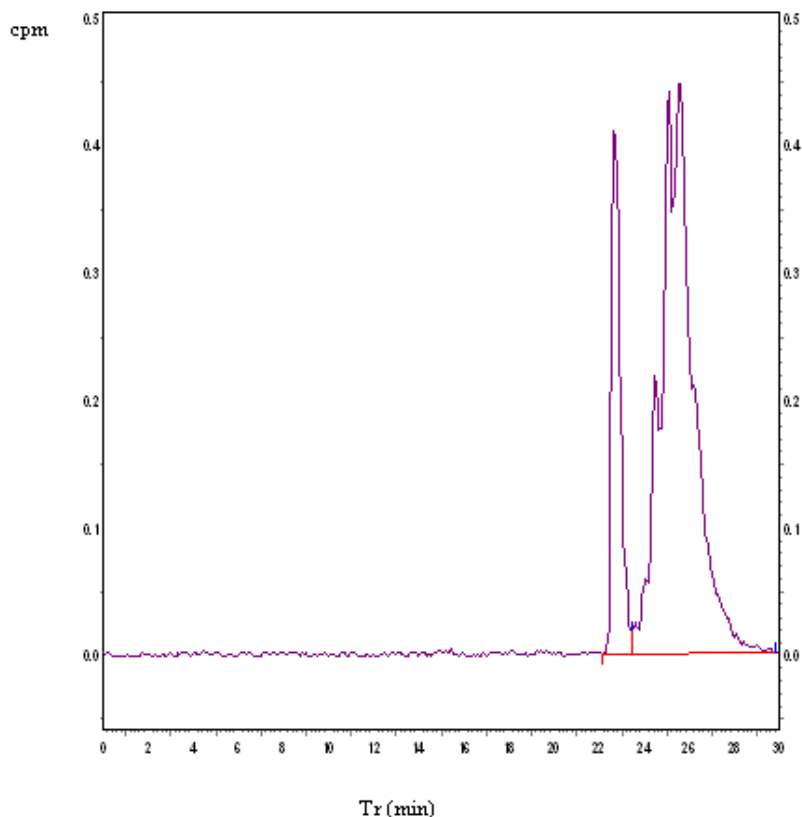


Figure 2-8: Radiochromatogramme du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc après 24 heures d'incubation dans l'eau purifiée. Analyse par CLHP sur colonne C18 Shim-pack VP-ODS. Gradient d'éluion (A = 0,1% CF₃COOH /eau ultra pure, B = MeOH): 0-3 min: 100% A; 3-9 min: 75% A; 9 min: 66% A; 9-20 min: 66%→0% A; 20-25 min: 0% A; 25-30 min: 100% A. Débit: 1 ml/min; Détecteur Gamma (Gabi).Température: 40°C.

2.3. Propriétés physicochimiques du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc: Analyse in vitro

Après avoir optimisé la réaction de radiomarquage afin d'obtenir une molécule marquée avec un bon rendement de marquage, une pureté radiochimique supérieure à 90% et une activité spécifique suffisante, différentes analyses ont été effectuées afin de déterminer le comportement de la molécule in vitro dans différents milieux et de prévoir la stabilité du marquage in vivo. Nous avons notamment étudié la lipophilie de traceur, par mesure de son coefficient de partage en milieu n-octanol/Tris HCl pH 7,4, ainsi que la répartition sanguine des traceurs par mesure de la fixation aux éléments figurés du sang et aux protéines plasmatiques.

2.3.1 Etude du coefficient de partage

Le n-octanol simule les membranes biologiques. La répartition de la molécule entre la phase octanolique et la phase aqueuse (tampon Tris HCl) détermine le caractère hydrophile ou hydrophobe du composé marqué. Selon la bibliographie, la présence d'un atome de technétium augmente l'hydrophilie de la molécule vectrice (Ardison., 2006). La mesure de la lipophilie d'une molécule, par détermination du coefficient de partage P, permet d'évaluer la partition de la molécule entre les milieux biologiques aqueux et lipidiques, la biodistribution dans les tissus, et la liaison de la molécule avec le site récepteur ou les protéines plasmatiques. Le coefficient de partage P de **(Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc** entre n-octanol/ Tampon Tris HCl (0,05 M) à pH 7,4 est de 32,81 (Tableau 2.II). Il s'agit donc d'une molécule lipophile.

Tableau 2.II: Coefficient de partage du **(Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc**.

Traceur	(Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc
P= ([n-octanol]/[Tris HCl, pH 7,4])	32,81
Log Po/w	1.51

2.3.2. Détermination de la répartition sanguine du **(Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc**

Seul le radiotraceur libre dans le sérum peut être biologiquement actif, La vocation de ce traceur est de reconnaître un récepteur cellulaire cible. La détermination de la fixation non spécifique par mesure du taux de liaison aux protéines plasmatiques et par mesure de la répartition sanguine entre le sérum et les éléments figurés du sang permet d'évaluer l'efficacité et la sensibilité du traceur. Ces deux facteurs vont jouer sur la clairance sanguine des traceurs.

2.3.2.1. Mesure de la fixation cellulaire du **(Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc**

L'étude de la fixation du radioligand aux cellules sanguines est réalisée, après centrifugation d'un échantillon de sang, par mesure de la répartition de la radioactivité entre le culot cellulaire et le plasma. Elle détermine s'il existe une fixation non spécifique du traceur soit à la surface des cellules soit dans les cellules (polynucléaires, plaquettes, hématies) après passage transmembranaires. Le radioligand est incubé à 37°C sous agitation en présence du sang total. Après 30 min, 1 heure, 2 heures, 3 heures et 24 heures d'incubation, 1 mL de sang est prélevé et centrifugé à 10000 rpm pendant 10 minutes, puis le culot cellulaire et le surnageant sont comptés au compteur gamma. Le taux de captation cellulaire varie légèrement de 30 min à 24 heures d'incubation (figure 2-9 et Tableau 2.III). Nous n'avons pas déterminé

si l'activité était intracytoplasmique ou si la molécule était fixée à la surface externe de la membrane cytoplasmique

2.3.2.2. Mesure de la fixation non spécifique aux protéines plasmatiques du (Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc

La précipitation à l'acétonitrile (Parent et al., 2006) a permis d'explorer la fixation non spécifique du traceur aux protéines plasmatiques. Après centrifugation du sang, le culot contenant les cellules sanguines est séparé du surnageant (plasma). L'acétonitrile est ajouté au plasma, une apparition d'un précipité blanc constitué des protéines plasmatiques auxquelles s'est potentiellement fixée la molécule marquée. Le culot est séparé du surnageant et chaque milieu est compté au compteur gamma. Le (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc est présent majoritairement dans le sérum et ce quelle que soit la durée d'incubation (figure 2-9 et tableau 2.III). La fixation non spécifique aux protéines varie légèrement au cours du temps.

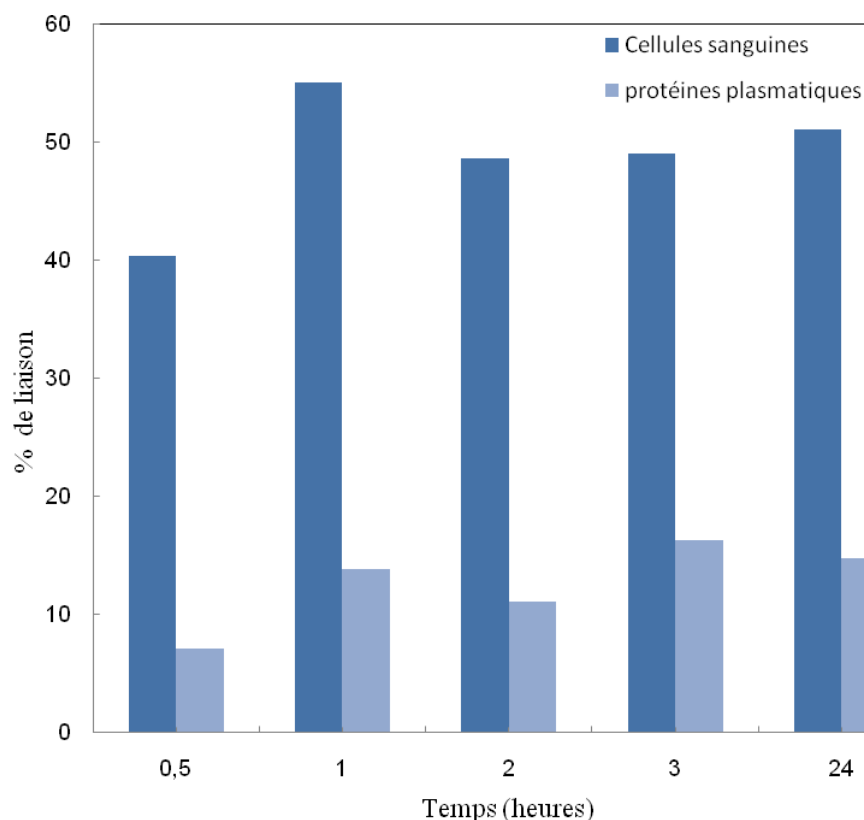


Figure 2-9: Biodistribution sanguine in vitro de (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc. Pourcentage de liaison de (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc aux cellules sanguines et aux protéines plasmatiques en fonction de la durée d'incubation. Mesure de l'activité au compteur à puits gamma (Cobra).

Tableau 2.III: Propriétés physico-chimiques du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc. Etude de la répartition sanguine du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc in vitro.

	Temps d'incubation (heures)				
	0,5	1	2	3	24
Cellules	40,36 %	55,13 %	48,63 %	49,09 %	51,11 %
Plasma	59,64 %	44,68 %	51,36 %	50,91 %	48,88 %
Sérum	92,91 %	86,16 %	88,86 %	83,68 %	85,25 %
Fixation protéique	7,08 %	13,83 %	11,13 %	16,3 %	14,74 %

2.4. Etude de la stabilité du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc in vitro

La mesure de la pureté radiochimique du radadioligand, après incubation dans un échantillon sanguin ou dans des conditions proches des conditions physiologiques (37°C, pH neutre), permet d'apprécier la décomplexation du radiotracer en fonction du temps et d'évaluer si, in vivo, la radioactivité détectée correspond au traceur ou à l'isotope libre.

2.4.1. Etude de la stabilité du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc dans le tampon phosphate

Le marquage de la molécule par le ^{99m}Tc se fait dans des conditions chimiques précises, et à une très haute température.

Le changement des conditions environnementales peut conduire à l'instabilité du produit et à la production d'impuretés et de colloïdes. Le produit marqué étant destiné à être injecté dans l'organisme, il est important de connaître la stabilité du radiotracer. Une étude de la stabilité dans une solution du tampon phosphate (0,1M, pH 7,4) à 37°C a été effectuée. On incube le produit radiomarqué et purifié dans 1 mL de tampon frais dans un bain-marie à 37°C. On prélève des aliquotes du mélange à 30 min, 1 h, 2 h, 3 h et 24 h. Ces aliquotes sont analysés par CLHP. L'analyse des radiochromatogrammes laisse présager une bonne stabilité du marquage du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc dans le tampon phosphate, car après 24 h d'incubation à 37°C, le pourcentage de ^{99m}Tc libéré dans le milieu reste inférieur à 1±0,5% (PRC 98,5%) (figure 2-10).

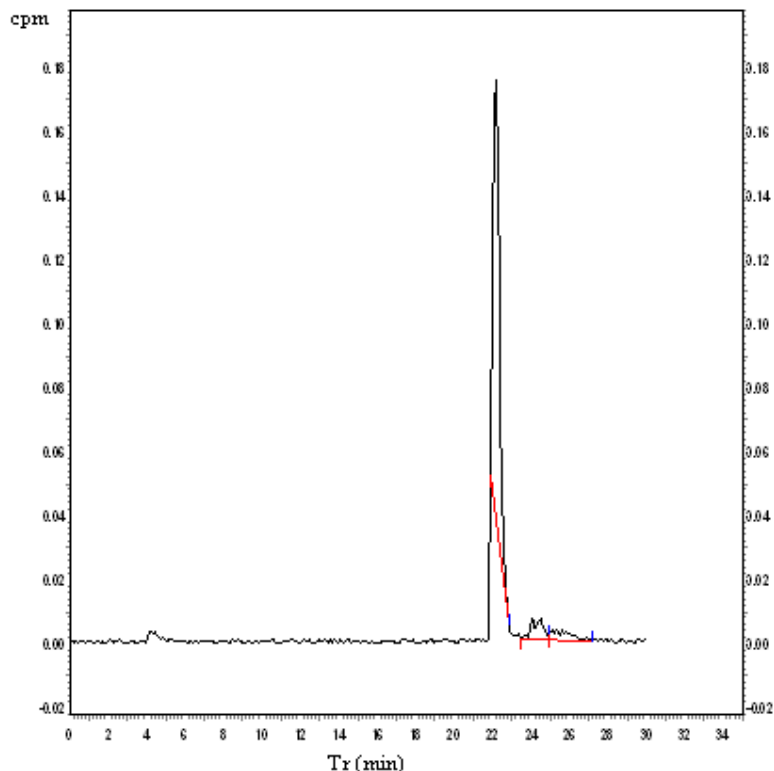


Figure 2-10: Radiochromatogramme du (Z+E) $\text{TPEDiOHCO}^{99m}\text{Tc}$ après 24 heures d'incubation dans un tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4). Analyse par CLHP sur colonne C18 Shim-pack VP-ODS. Gradient d'éluion (A = 0,1% CF_3COOH /eau ultra pure, B = MeOH): 0-3 min: 100% A; 3-9 min: 75% A; 9 min: 66% A; 9.-20 min: 66%→0% A; 20-25 min: 0% A; 25-30 min: 100% A. Débit: 1 ml/min; Détecteur Gamma (Gabi).Température: 40°C.

2.4.2. Etude de la stabilité sanguine du (Z+E) $\text{TPEDiOHCO}^{99m}\text{Tc}$ in vitro

La stabilité est déterminée après incubation de la préparation en présence de sang total sur une durée de 24 heures. Le radioligand est incubé à 37°C sous agitation en présence du sang total. Après 30 min, 1 heure, 2 heures, 3 heures et 22 heures d'incubation, 1 mL de sang est prélevé et centrifugé à 10000 rpm pendant 10 minutes, puis le culot cellulaire et le surnageant sont séparés. L'acétonitrile est ajouté au plasma, pour précipiter les protéines plasmatiques. Le surnageant est séparé du culot et analysé par CLHP (figure 2-11).

L'analyse chromatographique des échantillons de sérum montre qu'aucune décomplexation du (Z+E) $\text{TPEDiOHCO}^{99m}\text{Tc}$ n'est observée pendant 30 min d'incubation, au-delà desquelles on note la présence majoritaire de radiotraceur sous sa forme initiale, le technétium libre est absent et une formation d'une nouvelle entité radioactive de temps de rétention 24,37 min qui reste minoritaire jusqu'à 24 heures d'incubation est observée.

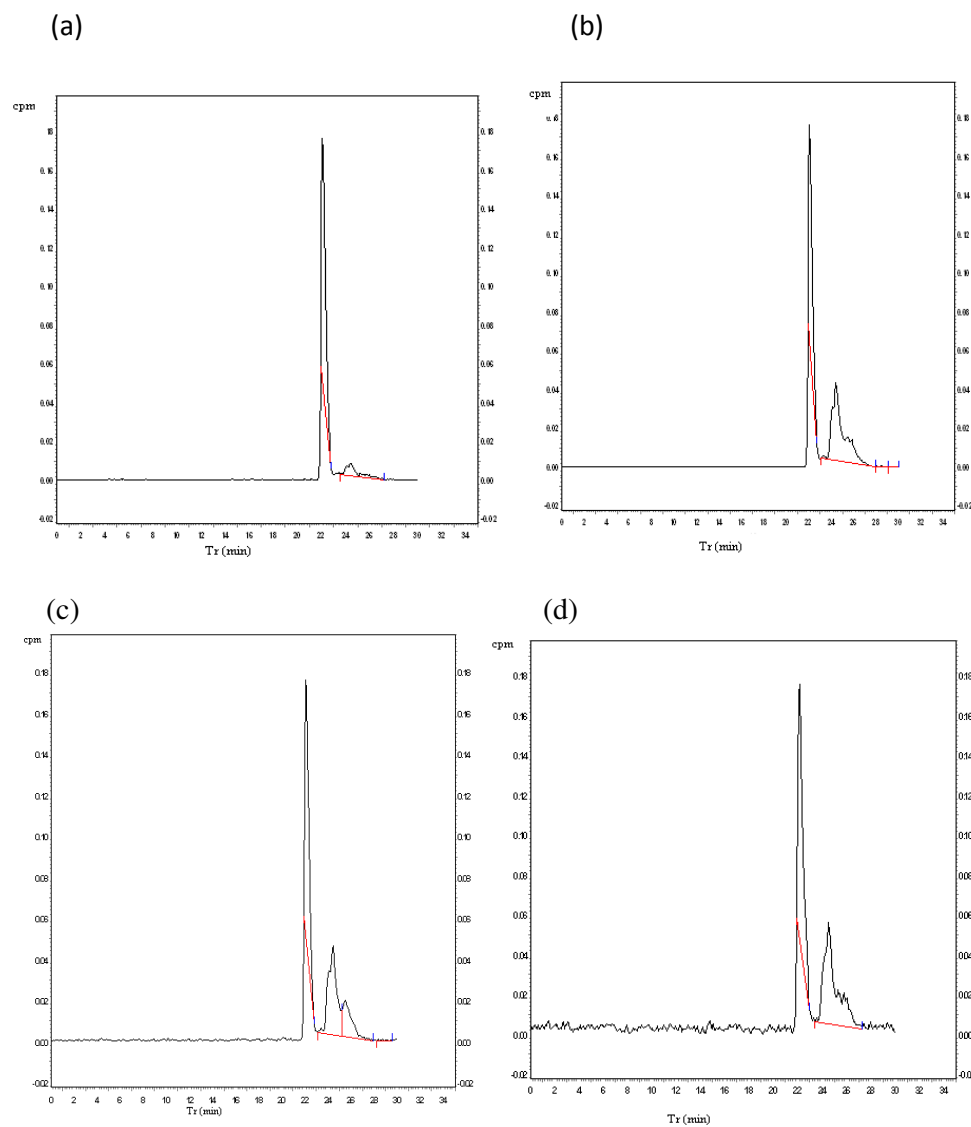


Figure 2-11: Stabilité du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc dans le sang. Incubation de (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc dans 5 mL de sang à 37°C sous agitation pendant 24 heures. Analyse du serum par CLHP sur colonne C18 Shim-pack VP-ODS. Gradient d'éluion (A = 0,1% CF₃COOH /eau ultra pure, B = MeOH): 0-3 min: 100% A; 3-9 min: 75% A; 9 min: 66% A; 9-20 min: 66%→0% A; 20-25 min: 0% A; 25-30 min: 100% A. Débit: 1 ml/min; Détecteur Gamma (Gabi).Température: 40°C. (a) radiochromatogramme du serum de mammifère après 1 heure d'incubation (b) radiochromatogramme du serum de mammifère après 2 heures d'incubation (c) radiochromatogramme du serum de mammifère après 3 heures d'incubation (d) radiochromatogramme du serum de mammifère après 24 heures d'incubation.

2.5. Evaluation pharmacologiques: Etudes précliniques du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc

Les expérimentations animales ont été réalisées chez des rats femelles matures provenant de l'élevage de l'institut Pasteur de Tunis en conformité avec les lois sur l'expérimentation animale et après validation d'un conseil d'éthique. Les propriétés physico-chimiques définissent la pharmacocinétique de la molécule. Cette dernière est déterminée à partir des études de cinétiques sanguines et des études de biodistribution.

2.5.1. Etude de la cinétique sanguine du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc

La figure 2-12 représente la cinétique de la biotransformation du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc. On observe une augmentation considérable de l'activité au cours des 30 premières minutes puis une diminution du pourcentage du reste du composé mère allant de 30 min jusqu'à 3h. Ensuite une diminution rapide entre 3h et 18 h. On constate que le pourcentage de l'activité plasmatique du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc décroît exponentiellement.

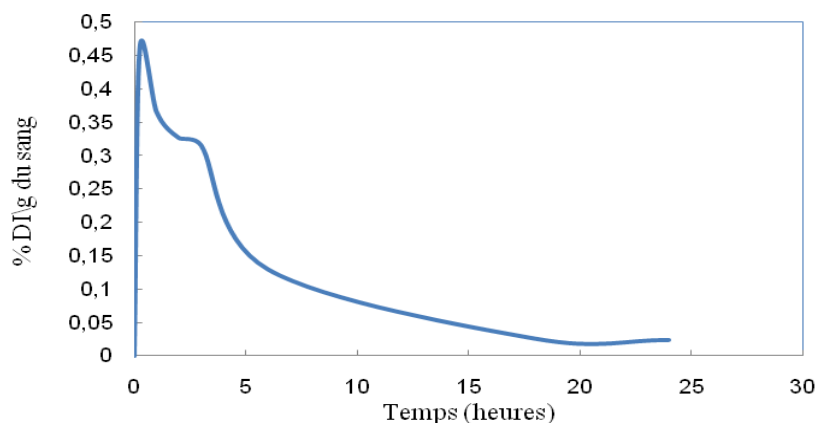


Figure 2-12: Evolution des concentrations sanguines de (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc (% DI/g) après injection intraveineuses IV chez les rats femelles (n=3, Dose injectée: 100 µCi).

La variation du pourcentage de l'activité plasmatique du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc en fonction du temps montre une première phase d'augmentation suivie d'une deuxième phase de distribution et redistribution et d'une autre phase d'élimination lente.

En se basant sur l'activité du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc contenu dans les échantillons de sang murin prélevés à différents temps post-injection, la demi-vie biologique du traceur a été estimée. On obtient avec des coordonnées semi-logarithmiques la linéarisation de la

courbe exponentielle observée avec les valeurs arithmétiques. Cette linéarisation est très pratique pour une analyse graphique des résultats expérimentaux (figure 2-13).

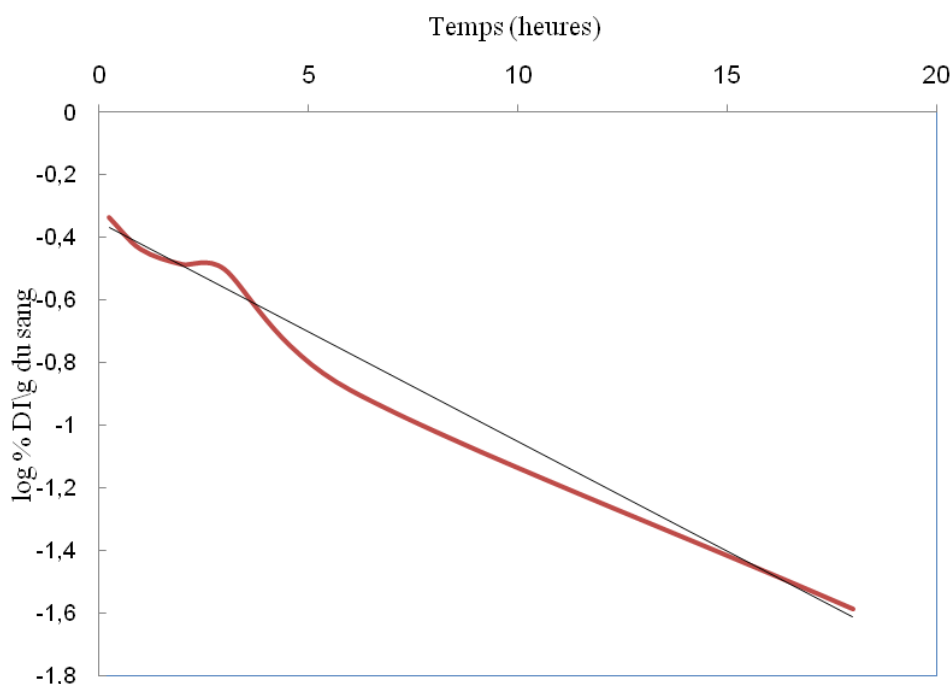


Figure 2-13: Représentation semi logarithmique: Aspect linéaire de la décroissance de la l'activité du (Z+E) $\text{TPEDiOHCO}^{99m}\text{Tc}$ dans l'échantillon sanguin in vivo au cours du temps.

La T_{eff} du traceur a été calculée selon la formule suivante:

$$T_{\text{eff}} = \frac{0,693}{K_e} \quad \text{avec} \quad K_e = \frac{\log\left(\frac{C_1}{C_2}\right)}{t_2 - t_1} \quad K_e: \text{Constante d'élimination}$$

$T_{\text{eff}} = 4,27 \text{ h}$

Nous pouvons déterminer par la suite T_b qui est égale à $T_b = \frac{T_p \times T_{\text{eff}}}{T_p - T_{\text{eff}}} = 14,68 \text{ heures}$

2.5.2. Etude de la biodistribution de (Z+E) $\text{TPEDiOHCO}^{99m}\text{Tc}$

Nous avons réalisé la biodistribution pour vérifier si cette substance radioactive peut être utilisée ou non comme agent d'imagerie. Dans cette étude, on souhaite avoir non seulement une concentration élevée dans l'organe cible mais aussi dans la mesure du possible un contraste élevé entre l'organe cible et les tissus avoisinant. Ce contraste est quantitativement déterminé par le rapport:

$$Q = \frac{\text{organe cible}}{\text{organe non cible}}$$

Dans lequel la concentration est exprimée en pourcentage de dose injectée par gramme du tissu (% DI/g). Nous avons choisi comme organe non cible le sang et le muscle. Notre

objectif de test est de déterminer d'après les résultats obtenus le temps (p.i) où le rapport Q est le plus élevé, c'est-à-dire le temps optimal pour l'acquisition de l'image.

Pour étudier la biodistribution du **(Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc**, trois rats ont été utilisées pour chaque temps. Les concentrations de la radioactivité sont exprimées en pourcentage de la dose injectée par organe (% DI) et par gramme de tissu (% DI/g du tissu).

La biodistribution et la variation de la rétention du **(Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc** dans les organes au cours du temps sont représentées par le graphique correspondant aux % DI/g du tissu d'organe en fonction des temps de post injection (p.i.), (Tableau 2.IV, figure 2-14).

A 30 min post injection, le taux de fixation au niveau de l'utérus et des ovaires est identique ($0,197 \pm 0,049$ DI/g; $0,199 \pm 0,002$ DI/g, respectivement). Le taux de fixation le plus élevé est observé au niveau des poumons ($7,697 \pm 0,892$ DI/g), le taux de fixation au niveau des autres organes est relativement faible.

A 1 h post injection, le taux de fixation varie légèrement pour la plupart des organes sauf pour le foie et la rate, on observe une augmentation considérable de fixation du radiotracer au niveau de ces deux organes ($7,787 \pm 1,636$ DI/g versus $2,43 \pm 0,646$ DI/g; $6,493 \pm 4,320$ DI/g versus $1,327 \pm 0,231$, respectivement).

A 2 h post injection, le taux de fixation au niveau de l'utérus est presque constant, par contre le taux au niveau des ovaires augmente de $0,269 \pm 0,06$ DI/g à 1h post injection à $0,611 \pm 0,078$ DI/g. La fixation pulmonaire de **(Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc** devient très importante ($21,863 \pm 1,7$ DI/g). Le taux de fixation au niveau du foie et de la rate continue à augmenter ($9,873 \pm 1,680$ ID/g; $8,857 \pm 0,752$ ID/g, respectivement).

A 3 h post injection, le taux de fixation du **(Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc** au niveau des différents organes varie très légèrement seulement au niveau de la rate il diminue de $\approx 50\%$ ($4,847 \pm 0,093$ % DI/g versus $8,857 \pm 0,752$ DI/g).

A 6 h post injection, l'activité au niveau des différents organes baisse. Au niveau du foie, l'activité diminue de $\approx 80\%$ ($1,897 \pm 0,720$ DI/g versus $10,523 \pm 0,892$ DI/g), L'activité hépatique diminue de $\approx 33\%$ ($6,2 \pm 0,94$ DI/g versus $24,817 \pm 1,6$).

Après 24 h post injection, le taux de captation du **(Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc** est faible avec le taux le plus élevé au niveau des poumons ($1,143 \pm 0,225$ DI/g).

Tableau 2.IV : Biodistribution de la radioactivité en %DI/g de tissu chez les rats femelles à différents temps après injection intraveineuse IV du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc; n=3 ; Doses injectées : 100 µCi. Les valeurs sont représentées avec écart type.

Organes	15 min	1 h	2 h	3 h	6 h	18 h	24 h
Sang	0,462 ±0,054	0,336 ±0,113	0,327 ±0,059	0,316 ±0,012	0,130 ±0,000	0,026 ±0,008	0,024 ±0,0202
Foie	2,430 ±0,646	7,787 ±1,636	9,873 ±1,680	10,523 ±0,892	1,897 ±0,720	0,235 ±0,041	0,580 ±0,078
Os	0,233 ±0,095	0,123 ±0,031	0,143 ±0,031	0,203 ±0,059	0,065 ±0,015	0,016 ±0,003	0,022 ±0,002
Muscle	0,099 ±0,001	0,124 ±0,023	0,110 ±0,040	0,170 ±0,060	0,034 ±0,003	0,006 ±0,001	0,007 ±0,001
Poumons	7,697 ±0,892	6,627 ±0,255	21,863 ±1,700	24,817 ±1,609	6,200 ±0,943	1,067 ±0,306	1,143 ±0,225
Utérus	0,197 ±0,049	0,236 ±0,143	0,283 ±0,057	0,156 ±0,015	0,096 ±0,010	0,045 ±0,046	0,033 ±0,0450
Ovaires	0,199 ±0,002	0,269 ±0,060	0,611 ±0,078	0,558 ±0,139	0,183 ±0,015	0,021 ±0,000	0,036 ±0,029
Rein	0,430 ±0,020	0,473 ±0,189	1,470 ±0,236	2,035 ±0,453	1,127 ±0,038	0,440 ±0,165	0,340 ±0,163
Rate	1,327 ±0,231	6,493 ±0,432	8,857 ±0,752	4,847 ±0,093	0,285 ±0,090	0,044 ±0,014	0,081 ±0,012
cœur	0,225 ±0,025	0,210 ±0,060	0,367 ±0,087	0,398 ±0,083	0,149 ±0,009	0,025 ±0,006	0,031 ±0,014

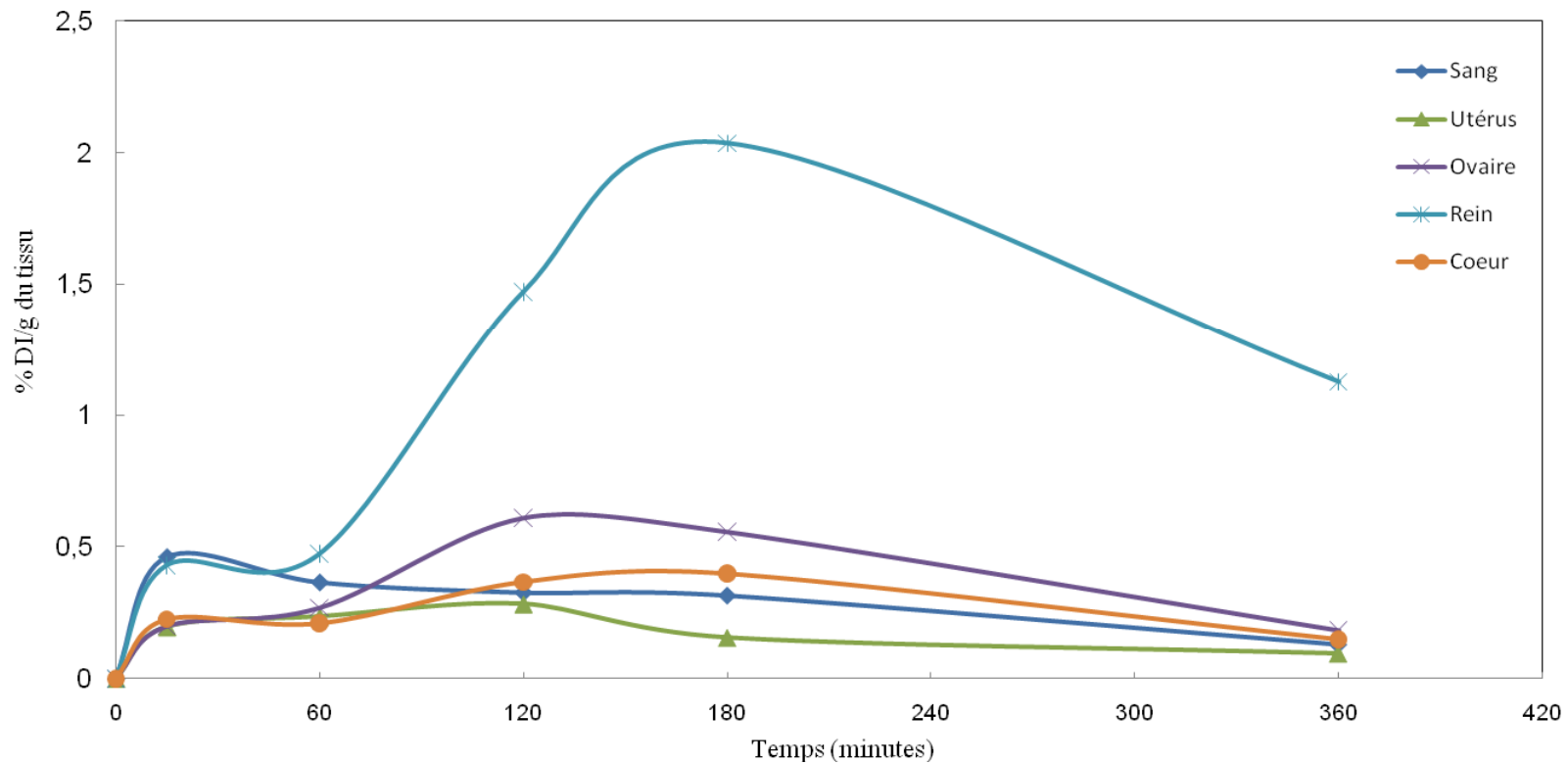


Figure 2-14: Biodistribution de la radioactivité en %DI/g du tissu chez la femelle du rat à différents temps après injection intraveineuse du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc ; n=3 ; Dose injectée: 100 µCi. Les valeurs sont représentées avec écart type.

La fixation de **(Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc** au niveau du foie et de la rate est plus importante que celle du rein au cours du temps. La molécule est probablement métabolisée par voie hépatique. La fixation pulmonaire de **(Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc** persiste jusqu'à 6 h post injection, elle est responsable d'une clairance sanguine rapide et d'une activité circulante faible. Le poumon est le premier organe atteint par le traceur après injection par voie veineuse périphérique, et trois mécanismes peuvent expliquer la localisation pulmonaire d'une molécule: l'agrégation du complexe au niveau des capillaires pulmonaires sous forme de particules si les molécules s'agrègent entre elles ou avec des composants biologiques sanguines, des interactions ioniques, essentiellement avec des molécules basiques (Coenen et al., 2006) ou des interactions hydrophobes, et enfin l'existence de récepteur du ligand in situ.

Afin de vérifier si la rétention de **(Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc** se fait via les récepteurs d'œstrogènes (RE) nous avons utilisé l'œstradiol pour bloquer ces derniers. 15 µg d'œstradiol ont été co-injectés avec le **(Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc** aux rats femelles et la biodistribution a été étudiée 2h post injection comme précédemment. Les résultats sont illustrés dans le tableau 2.V et la figure 2-15.

Tableau 2.V: Biodistribution de la radioactivité en %DI/g de tissu chez la femelle du rat à 2h après injection intraveineuse du **(Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc**; n=3; Dose injectée: 100 µCi. Les valeurs sont représentées avec écart type.

Organes	2 h	2 h inhibée*
Sang	0,33 ±0,06	0,48 ±0,19
foie	9,87 ±1,68	12,71 ±5,79
os	0,14 ±0,03	0,16 ±0,08
Muscle	0,11 ±0,04	0,05 ±0,05
Poumons	21,86 ±1,70	23,97 ±14,26
Utérus	0,28 ±0,06	0,11 ±0,16
ovaire	0,61 ±0,08	0,24 ±0,38
rein	1,47 ±0,24	0,70 ±0,87
rate	8,86 ±0,75	8,70 ±5,73
Cœur	0,37 ±0,09	0,20 ±0,20
Utérus/Muscle	3,02 ±1,86	2,109 ±0,890
Utérus/Sang	0,89 ±0,27	0,247 ±0,150
Ovaire/Muscle	6,11 ±2,32	4,463 ±1,013
Ovaire/Sang	1,94 ±0,65	0,513 ±0,188

*2 h inhibée: co-injection de 15 µg d'œstradiol.

La fixation du $(E+Z)$ -TPEDiOHCO^{99m}Tc par les organes riches en ER (ovaires et utérus) est nettement réduite. L'activité au niveau des ovaires diminue de $\approx 75\%$ ($0,61 \pm 0,08$ DI/g versus $0,24 \pm 0,38$ DI/g). Au niveau de l'utérus la diminution est de 50% ($0,28 \pm 0,06$ DI/g versus $0,11 \pm 0,16$ DI/g). Les rapports ovaires/ sang et ovaires/ muscle diminuent $1,94 \pm 0,65\%$ ID/g versus $0,513 \pm 0,188\%$ ID/g ; $6,11 \pm 0,35$ ID/g versus $4,46 \pm 1,01\%$ ID/g respectivement. Ceci semble indiquer que la fixation au niveau des ovaires et de l'utérus se fait via les ER. Aucune différence d'activité n'a été observée dans les autres organes sauf pour le rein et le cœur et ceci s'explique par la présence des ER au niveau du système cardiovasculaire et le tractus urogénitale (Enmark et al., 1997).

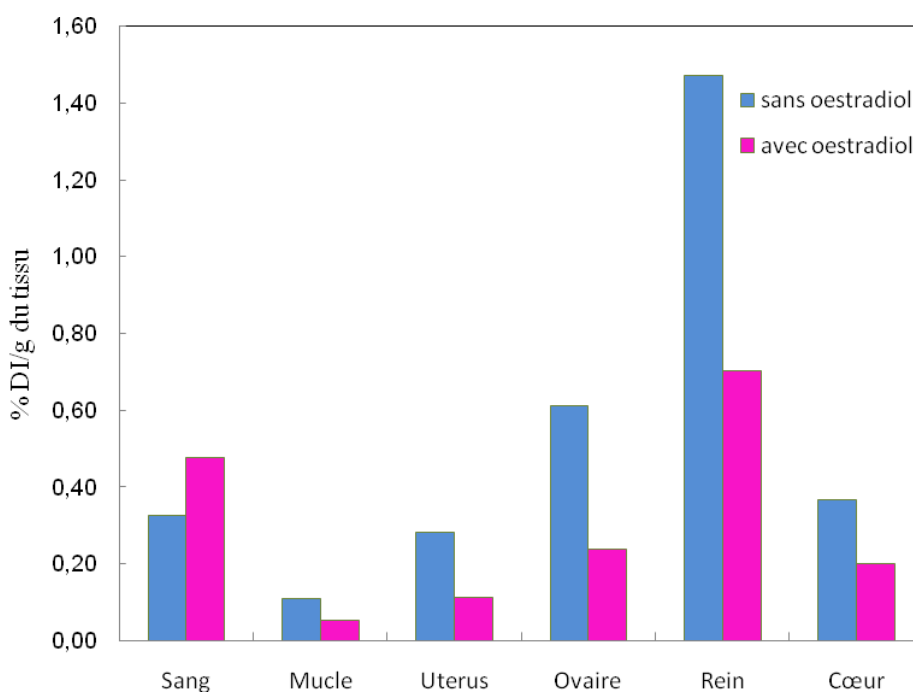


Figure 2-15: Comparaison de la radioactivité exprimée en % DI/g de tissu des organes du rats femelles 2 heures après injection intraveineuse IV du $(Z+E)$ TPEDiOHCO^{99m}Tc (contrôle) et co-injection de $15\ \mu\text{g}$ d'oestradiol. $n=3$; Dose injectée: $100\ \mu\text{Ci}$.

3. Conclusion

Plusieurs voies de synthèse du composés $(E+Z)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc ont été explorées. La réaction d'échange de ligands reste pour le moment la seule voie satisfaisante pour la synthèse du composé $(E+Z)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc. Après une étude sur l'optimisation de cette réaction, $(E+Z)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc a été obtenu avec un rendement de 80% . La biodistribution de ce radiotracer chez des rats femelles matures montre un maximum de fixation à 2 h post injection au niveau des ovaires. Suite au blocage des ER par

un excès d'oestradiol, le rapport ovaires/muscle diminue considérablement ce qui signifie que la fixation de (*E+Z*)-TPEDiOHCO^{99m}Tc se fait via les RE.

4. Partie expérimentale

4.1 Synthèse

Toutes les réactions ont été effectuées sous atmosphère d'argon. L'éther, le THF et le toluène ont été distillés avec un mélange sodium/benzophénone. Le dichlorométhane a été distillé avec P₂O₅. Les autres réactifs et solvants utilisés, tels que le DMF anhydre, sont des produits commerciaux. Les chromatographies sur colonne ont été réalisées sur gel de silice Merck 60 (40-63 µm). Les points de fusion des produits ont été mesurés à l'aide d'un banc Köfler. Les spectres infrarouges ont été enregistrés sur un spectromètre IR-FT BOMEM Michelson-100. Les analyses RMN ¹H et ¹³C ont été effectuées sur un appareil Bruker 300 MHz. Les solvants RMN utilisés sont le chloroforme deutéré CDCl₃ et l'acétone-d₆. Les déplacements chimiques (δ) sont mesurés en parties par millions (ppm) et les constantes de couplage (*J*) sont calculées en Hertz (Hz). Les analyses élémentaires des nouveaux produits ont été effectuées au Service de Microanalyse de l'I.C.S.N. à Gif sur Yvette. La spectrométrie de masse a été faite avec Nermag R 10-10C. Le [^{99m}TcO₄]⁻ est élué d'un générateur Mallinckrodt Med. Inc. Inc. La purté radiochimique des composés est déterminée par CLHP en phase inverse (C18 column, 4.6 µm×250 mm, Gradient d'éluion (A = 0,1% CF₃COOH /eau ultra pure, B = MeOH): 0-3 min: 100% A; 3-9 min: 75% A; 9 min: 66% A; 9-20 min: 66%→0% A; 20-25 min: 0% A; 25-30 min: 100% A. Débit: 1 ml/min; Température: 40°C.équipée d'une sonde radioactive NaI et couplée à un détecteur UV (λ=254 nm). Dans ce travail, nous avons eu recours à une instrumentation spécifique de mesure de la radioactivité. Les plaques de chromatographie couche mince (CCM) sont lues au radiochromatographe de type mini-GITA de Ray Test. La mesure de la radioactivité des échantillons liquides et solides est réalisée soit sur l'activimètre de type CAPINTEC, INC. CRC_ 35R (pour la mesure des grandes valeurs de radioactivité de l'ordre de MBq). Pour le comptage des faibles valeurs de radioactivité (dans les tissus et les organes), nous avons utilisé un compteur gamma à puits de type CANBERRA (U.S.A.). Tout au long de ce travail, des substances radioactives ont été manipulées. Cette utilisation des éléments radioactifs a été soumise à des restrictions et des règles particulières du fait de leurs effets néfastes sur la santé des personnes exposées aux radiations émises. Le matériel de radioprotection permet la manipulation de la radioactivité tout en assurant la sécurité des individus des rayonnements ionisants. Pour simuler la dose de

radioactivité reçue lors des manipulations, il est requis d'utiliser des dosimètres personnels. Le dosimètre utilisé est un dosimètre thermo luminescent fluoré lithium (TLD F Li).

4.1.1. Synthèse du (Z+E) TPEDiOHCOFc 1

La synthèse du (Z+E)-TPEDiOHCOFc a été faite selon la méthode décrite dans la littérature (Nguyen., 2007 a).

4.1.2. Synthèse du (Z+E)-TPEDiOHCOMn (Z+E)-8

Synthèse du N-Méthoxy-N-méthyl-bromoacétamide: La réaction se déroule sous argon. On dissout le N,O-diméthylhydroxylamine hydrochloride (2,14 g, 22 mmol) dans 25 ml de chloroforme sec, puis on ajoute la pyridine (3,48 g, 44 mmol). Le mélange est agité pendant 20 min. La solution est limpide. Dans un autre tube de Schlenk, le bromure de bromoacétyle (4,8 g, 22 mmol) est dissout dans 15 ml de chloroforme sec et refroidit à 5°C. La première solution est ajoutée à la deuxième solution (5 min). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h. Dichlorométhane (100 ml) est ajouté et le mélange est versé dans l'eau (100 ml). Le mélange est extrait avec dichlorométhane 2 x 100 ml. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporé. Le N-Methoxy- N- méthyl- bromoacétamide est une huile incolore (C₄H₈BrNO₂, M= 181,9 g.mol⁻¹, m= 1,118 g, Rdt: 81,2%).

Rf ((éter/pentane 1/1) = 0,36.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 3,22 (s, 3H, Me), 3,78 (s, 3H, MeO), 4,00 (s, 2H, CH₂).

¹³C NMR (75,5 MHz, CDCl₃): δ 25,1 (Me), 32,6 (CH₂), 61,6 (OMe), 167,5 (CO).

MS (CI): m/z = 199 [M+NH₄]⁺, 182 [M+H]⁺.

Synthèse du composé 7 (Bromopropionyl-cyclopentadiényl)tricarboxylmanganèse): La réaction se déroule sous argon. On dissout CpMn(CO)₃ (206 mg, 1 mmol) dans 3 ml du THF anhydre. On refroidit la solution à - 70°C. Ensuite le nBuLi (0,48 ml, 1,2 mmol de solution 2M dans l'hexane) est ajouté (1 min). La solution est agité à - 70°C pendant 1 h30 min. Puis une solution de BrCH₂CON(OMe)Me (273 mg, 1,5 mmol) dissoute dans 2 ml de THF est ajoutée (1 min). Le mélange est agité pendant 1 h à - 70°C. On ajoute 2 ml d'une solution HCL 1/10 et on enlève le bain froid. Après 5 min, on ajoute 20 ml d'une solution HCL 1/10 et le mélange est extrait avec le diéthyl éther (3 x 30 ml). La phase organique est lavée avec 20 mL d'eau. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporé. Le produit obtenu est purifié par CCM (plaques de gel de silice) en utilisant le diéthyl éther/ pentane 1/1 comme éluant. Le CpMn(CO)₃ est élué le premier (74 mg). La deuxième fraction est

identifiée comme le bromopropionyl-cyclopentadienyl tricarbonylmanganèse. Il est cristallisé dans du pentane pour donner des cristaux marrons ($C_{10}H_6BrMnO_4$, $M=324,99 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Rdt : 25,8 %).

Rf ((diéthyl éther/pentane 1/1) = 0,75.

^1H NMR (300 MHz, acétone): δ 4,27 (σ , 2H, CH_2), 5,08 (t, 2H, C_5H_4), 5,68 (t, 2H, C_5H_4).

^{13}C NMR (75 MHz, acétone): δ 32,1 (CH_2), 85,9, 88,6 (CH , C_6H_4), 89,8 (Cp, C_5H_4), 190,20 (CO).

IR (CH_2Cl_2 , cm^{-1}): 2033 et 1952 (Mn(CO)), 1681 (CO).

Pf = 76°C.

MS(ESI): $m/z = 383,3$ [MCH_3COO].

Analyse: calcul $C_{10}H_6BrMnO_4$: C, 36,96; H, 1,86. Trouvé: C, 37,76; H, 1,84

4-(tert-butyl-diméthylsilyloxy)-4'-hydroxy-benzophénone: La réaction se déroule à température ambiante sous argon. On dissout l'imidazole (8,16 g, 120 mmol) dans 20 ml de DMF sec puis on ajoute le t-BuMe₂SiCl (9,04 g, 60 mmol). Le mélange est agité pendant 30 min. On dissout le dihydroxybenzophénone (12,84 g, 60 mmol) dans 20 ml de DMF sec. La première solution est ajoutée à la deuxième solution en plusieurs fractions (20%) goutte à goutte à des intervalles de 15 min. Après l'ajout de la dernière fraction, on arrête la réaction suite à la disparition de dihydroxybenzophénone. Le mélange est versé dans 300 ml d'eau. On extrait le produit avec du dichlorométhane (deux fois). La phase aqueuse est éliminée et la phase organique est lavée à l'eau. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporé. Le produit est purifié sur colonne de silice (éluant: éther/éther de pétrole 3/1). Le produit obtenu est sous forme d'huile incolore ($C_{19}H_{24}O_3\text{Si}$, $M= 328,48 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, $m= 6 \text{ g}$, Rdt %: 30,4 %).

Rf ((éther/éther de pétrole 1/1) = 0,42 .

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 0,23 (s, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$), 0,98 (s, 9H, t-Bu), 6,87; 6,91; 7,71; 7,7,2 (d, d, d, d, 2H, 2H, 2H, 2H, 2 C_6H_4); 7,1 (s, 1H, OH).

^{13}C NMR (75,5 MHz, CDCl_3): δ -4,3 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 18,2 (Cq du t-Bu), 25,6 (CH_3 du t-Bu), 115,2, 119,7, 132,3 et 132,7 (CH_{ar}), 130,2 et 131,0, 159,8 et 160,21 (Cq), 195,6 (C=O).

IR (CH_2Cl_2 , cm^{-1}) : 3693,7 (OH), 1647,15 CO).

4-(tert-butyl-diméthylsilyloxy)propionophénone: La réaction se déroule à température ambiante sous argon, on dissout le NaH (0,576 g, 14,4 mmol) dans 20 ml de THF sec. On

dissout la 4- hydroxypropiophénone (1,802 g, 12 mmol) dans 20 ml de THF sec. On ajoute la deuxième solution à la première solution goutte-à-goutte. On laisse agir pendant 30 min puis on ajoute le t-BuMe₂SiCl (1,950 g, 12 mmol). Le mélange est agité pendant 2 h. Le mélange est versé dans 40 ml d'eau. On fait l'extraction deux fois avec de l'éther (2×100 ml). La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée. Le produit est purifié par colonne de gel de silice (éluant: éther/éther de pétrole 1/1). Le produit obtenu est sous forme d'huile incolore (C₁₅H₂₄O₂Si, M= 264,44 g.mol⁻¹, m= 2,14 g, Rdt: 66,7 %).

Rf ((éter/éter de pétrole 1/1) = 0,89.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0,21 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0,96 (s, 9H, t-Bu), 1,18 (t, 3H, CH₃), 2,92 (q, 2H, CH₂), 6,94 et 7,86 (d, d, 2H, 2H, J = 8,7 Hz, C₆H₄).

¹³C NMR (75,5 MHz, CDCl₃): δ - 4,34 (Si(CH₃)₂), 8,4 (CH₃), 18,3 (Cq du t-Bu), 25,6 (CH₃ du t-Bu), 31,4 (CH₂) 119,7 et 130,5 (CH du C₆H₄), 130,6 (Cq), 160,2 (Cq), 199,6 (C=O).

IR (CH₂Cl₂, cm⁻¹) : 1678,94 (CO).

Synthèse du composé 1,2-bis-[4-(tert-butyl-diméthylsiloxy)phényl]-1-(4-hydroxyphényl)but-1-ène (Z+E)-4: Le zinc (18 mmol, 1,18 g) est mis en suspension dans du THF distillé (39 ml) sous argon. Le composé TiCl₄ (9,9 mmol, 1,1 ml) est ensuite ajouté goutte-à-goutte au mélange. La réaction est exothermique, on refroidit le mélange réactionnel avec un bain de glace. Il se dégage des vapeurs jaunes. Le mélange noirâtre est chauffé à reflux pendant 2h. On dissout la 4,4'-(tert-butyl-diméthylsilyloxy)-hydroxybénzophénone (1,000 g, 3 mmol) et la 4-(tert-butyl-diméthylsilyloxy) propiophénone (0,793 g, 3 mmol) dans du THF distillé (9 ml) puis on les ajoute au premier mélange réactionnel. Le mélange est chauffé de nouveau à reflux pendant 2 h. Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel est traité par de l'eau acidifié. La solution prend une teinte violette foncée avec un surnagent verdâtre. La phase aqueuse est extraite par le dichlorométhane. La phase organique est séchée par MgSO₄ et évaporée sous pression réduite. Le produit de couplage mixte est séparé par colonne de gel de silice (éluant dichlorométhane). Le produit obtenu est un mélange de deux isomères sous forme d'huile incolore (1,2 bis-[4-(tert-butyl-diméthylsilyloxy) phényl]-1-(4-hydroxyphényl)but-1-ène, C₃₄H₄₈O₃Si₂, M= 560,91 g.mol⁻¹, m= 0,852 g, Rdt : 50,1 %).

Rf (CH₂Cl₂) = 0,85.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 0,16 et 0,26 (s, s, 6H, 6H, 2 MeSi), 0,84, 0,96 et 1,01 (s, s, s, 9H, 18 H, 9H, 4 t-Bu), 2,34 (q, 2H, $J = 7,5$ Hz, CH_2), 4,5 et 4,7 (s, 1 H, OH), 6,44 -7,26 (m, 24H, Ar).

^{13}C NMR (75.5 MHz, CDCl_3): δ -4,4 (Si(CH_3) $_2$), 13,6(CH_3 du Et), 18,2 (Cq du t-Bu), 25,7 (CH_3 du t-Bu), 28,9 (CH_2), 114,1, 114,9; 118,8, 119,5, 130,6, 130,8, 131,9 et 132,1 (CH de C_6H_4), 135,5; 136,6; 137,3, 140, 6 (C=C et C_{arom}), 153,4, 153,7 et 154,0 (Cq-O).

IR (CH_2Cl_2 , cm^{-1}): 3433 (OH), 1604 (C=C).

pf = 65°C.

MS (EI) m/z : 560 $[\text{M}]^{++}$, 545 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$, 57 $[\text{t-Bu}]^+$.

HRMS (EI, $\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{O}_3\text{Si}_2$: $[\text{M}]^{++}$) calculé: 560,3142, trouvé: 560,3132.

Synthèse du composé ((Z)- et (E)-1-[2-(cyclopentadiényltricarboxylmanganèse)-2-oxoethoxy-phényl]-1,2-di(*p*-tert-butyl-diméthylsiloxylphényl)but-1-ène (Z+E)-6: La réaction se déroule à température ambiante sous argon. On dissout le (Z+E) 1,2 bis-[4-(tert-butyl-diméthylsilyloxy)phényl]-1-(4-hydroxyphényl)but-1-ène (560,9 mg, 1 mmol) dans l'acétone sec (15ml) puis on ajoute le Cs_2CO_3 (326 mg, 1 mmol). La solution prend une teinte violette puis le $(\text{BrCH}_2\text{CO}-\text{C}_5\text{H}_4)\text{Mn}(\text{CO})_3$ (277 mg, 0,85 mmol) est dissout dans 7 ml d'acétone et ajouté goutte-à-goutte (15 min) à la première solution. On agite pendant 1h. Il y a formation progressive de précipité au cours de la réaction. On filtre le mélange réactionnel et on l'évapore. Le mélange est purifié par CCM (plaques de gel de silice) en utilisant l'éther: pentane 1/5. Le produit obtenu est cristallisé dans du pentane pour donner des cristaux beige ($\text{C}_{44}\text{H}_{53}\text{MnO}_7\text{Si}_2$, $M = 805 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, $m = 73 \text{ mg}$, Rdt: 9 %).

Rf ((éther/pentane 1/5) = 0,39.

^1H NMR (300 MHz, acétone- d_6): δ 0,12 et 0,17 (s,s,2 \times 6 H, Me_2Si), 0,91 (t,3H, Me), 0,93 et 0,97 (s, s, 2 \times 9H,2 t-Bu), 2,44 (q, 2H, $J = 7,8$ Hz, CH_2), 5,11 (s, 2H, OCH_2), 5,21 et 5,88 (t,t, 2 CH_2 , C_5H_4), 6,52, 6,67, 6,99, 7,16 (d,d,d,d,d, 2H, 2H, 2H, 4H, 2H,12H, 3 C_6H_4).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ -4,4 (Si (CH_3) $_2$), 13,6 (CH_3 de l'Et), 18,2 (Cq de t-Bu), 25,7 (CH_3 de t-Bu), 28,7 (CH_2 de l'Et), 71,9 (CH_2 de CH_2CO), 83,7 (C_5H_4), 87,5 (C_5H_4), 114,1, 118,8, 119,4, 130,6, 130, 8 et 131,8 (CH_{arom}), 135,3-153,4 (C=C et C_{arom}), 191,3 (CO).

IR (CH_2Cl_2) : 2033 et 1952 ($\text{Mn}(\text{CO})$), 1681 (CO).

Pf = 118°C.

MS(ESI) : $m/z = 822,6$ $[\text{MNH}_4]^+$.

Analyse: calcul $\text{C}_{44}\text{H}_{53}\text{MnO}_7\text{Si}_2$: C, 65, 65 ; H, 6,64. 0Trouvé : C, 64,88; H, 6,76.

Synthèse du composé (Z+E)-5: La réaction se déroule à température ambiante sous argon. On dissout (Z+E) 1,2 bis-[4-(tert-butyl-diméthylsilyloxy)phényl]-1-(4-hydroxyphényl)but-1-ène ($C_{34}H_{48}O_3Si_2$) (281 mg, 0,5mmol) dans l'acétone sec (5 ml) puis on ajoute le Cs_2CO_3 (226 mg, 0,7 mmol). La solution prend une teinte violette puis on ajoute le $BrCH_2CN$ (84 mg, 0,7 mmol) goutte-à-goutte. On agite pendant 2h. Il y a formation de précipité mauve progressivement au cours de la réaction. On filtre le mélange réactionnel et on l'évapore. Le mélange est purifié par CCM en utilisant l'éther de pétrole: dichlorométhane 3:2. Le produit obtenu est un mélange de deux isomères sous forme d'huile incolore $C_{36}H_{49}O_3Si_2N$, M= 595,91 g/mol, m= 152 mg, n= 0,25 mmol, Rdt: 50%.

Rf (CH_2Cl_2 /éther de pétrole2/3) = 0,45.

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 0,26 et 0,16 (s, s, 6 H, 6H, 2 Me_2Si), 0,92, 0,93 et 0,95 (s, s, s, 18 H, 9H, 9H, 4 t-Bu), 0,96 et 0,97 (t, t, 3H, 3H, 2Me), 2,41 et 2,43 (q,q, 2H, 2H, 2 CH_2), 4,63 et 4,78 (s, s, 2H, 2H, 2 CH_2CN), 6,46-7,22(m, 24H, Ar).

^{13}C NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ - 4,4 (C de $Si(CH_3)_2$), 13,6 (CH_3 de l'Et), 18,2 (C_q de t-Bu), 25,7 (CH_3 du t-Bu), 28,7 (CH_2 de l'Et), 53,7 (CH_2 de CH_2CN), 113,2, 114,5, 118,9, 119,5 (C_{arom}), 130,6, 131, 131,8 et 132,3(C_{arom} et CN), 135,5, 136,6, 137,3 et 140,7 (C=C et C_q de C_6H_4), 153,53 et 153,88 ($Cq-O$).

IR (CH_2Cl_2 , cm^{-1}):2029 (CN), 1603 (C=C).

Synthèse du composé (Z+E)-12: La réaction se déroule à température ambiante sous argon. On dissout Z, E- 4 (5,5 g, 9,8 mmol) dans de l'acétone sec (120 ml) puis on ajoute le Cs_2CO_3 (4,5 g, 13,8 mmol), ensuite on ajoute le $BrCH_2CO_2C_2H_5$ (2,3 g, 13,8 mmol) goutte-à-goutte. On agite pendant 1 h. Il y a formation de précipité mauve progressivement au cours de la réaction. On filtre le mélange réactionnel et on l'évapore. Le mélange est purifié sur colonne de gel de silice en utilisant éther de pétrole/éther 20/1.

Composé Z-12:($C_{38}H_{54}O_5Si_2$, M= 647 g.mol $^{-1}$, m= 1, 758 g, solide jaune, Rdt: 27%)

Rf (éther de pétrole /éther 10/1) = 0,39.

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 0,11 (s, 6H, $(CH_3)_2Si$), 0,15 (s, 6H, $(CH_3)_2Si$), 0,91 (t, 3H, $J = 7,5$ Hz, CH_3), 0,92 (s, 9H, t-Bu), 0,96 (s, 9H, t-Bu), 1,30 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz, OCH_2CH_3), 2,43 (q, 2H, $J = 7,5$ Hz, CH_2), 4,29 (q, 2H, $J = 7,1$ Hz, OCH_2CH_3), 4,63 (s, 2H, OCH_2), 6,46 et 6,67 (d, d, 2H, 2H, $J = 8,7$ Hz, C_6H_4), 6,61 et 6,92 (d, d, 2H, 2H, $J = 8,6$ Hz, C_6H_4), 6,87 et 7,13 (d, d, 2H, 2H, $J = 8,8$ Hz, C_6H_4).

^{13}C NMR (75,5 MHz, CDCl_3): δ - 4,4 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 13,6 (CH_3), 14,1 (OCH_2CH_3), 18,1 et 18,2 (C_q of t-Bu), 25,6 (CH_3 of t-Bu), 28,7 (CH_2), 61,3 (OCH_2), 65,5 (OCH_2CH_3), 114,2, 118,8, 119,4, 130,7 (2C) et 131,9 (CH_{arom}), 135,4, 136,5, 137,2, 137,5, 140,8, 153,4, 153,8 et 156,4 (C_q de 3 C_6H_4 and $\text{C}=\text{C}$), 169,0 ($\text{C}=\text{O}$).

IR (CH_2Cl_2): 1755,7 (CO), 1603,5 ($\text{C}=\text{C}$).

Pf = 106°C.

MS(EI, $\text{C}_{38}\text{H}_{54}\text{O}_5\text{Si}_2$, $[\text{M}]^+$) calculé 646,35, trouvé 646.

Analyse: calcul: $\text{C}_{38}\text{H}_{54}\text{O}_5\text{Si}_2$ C, 70,54; H, 8,41. trouvé : C, 70,72; H, 8,81

Composé **E-12**: ($\text{C}_{38}\text{H}_{54}\text{O}_5\text{Si}_2$, M= 647 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, m= 1,442 g, huile incolore , Rdt 22,4%)

Rf (éther de pétrole /éther 10/1) = 0,52.

^1H NMR (300 MHz, CD_3SOCD_3): δ 0,12 (s, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$), 0,18 (s, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$), 0,85 (t, 3H, CH_3), 0,89 (s, 9H, t-Bu), 0,94 (s, 9H, t-Bu), 1,14 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz, OCH_2CH_3), 2,35 (q, 2H, CH_2), 4.10 (q, 2H, $J = 7,1$ Hz, OCH_2CH_3), 4,60 (s, 2H, OCH_2), 6,54 et 6,68 (d, d, 2H, 2H, $J = 8,9$ Hz, C_6H_4), 6,63 et 6,94 (d, d, 2H, 2H, $J = 8,6$ Hz, C_6H_4), 6,82 et 7,02 (d, d, 2H, 2H, $J = 8,5$ Hz, C_6H_4).

^{13}C NMR (75,5 MHz, CD_3SOCD_3): δ - 4,5 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 13,3 (CH_3), 13,9 (OCH_2CH_3), 17,9 (C_q de t-Bu), 25,5 (CH_3 de t-Bu), 28,4 (CH_2), 60,5 (OCH_2), 64,5 (OCH_2CH_3), 113,3, 119,4 (2C), 130,2, 130,4 et 131,3 (CH_{arom}), 134,9, 136,0, 137,0, 137,5, 140,2, 153,0, 153,5 et 155,4 (C_q de 3 C_6H_4 and $\text{C}=\text{C}$), 168,6 ($\text{C}=\text{O}$).

IR (CH_2Cl_2) : 1755 (CO), 1604 cm^{-1} ($\text{C}=\text{C}$).

Masse MS (EI, $\text{C}_{38}\text{H}_{54}\text{O}_5\text{Si}_2$, $[\text{M}]^+$) calculé 646,4, trouvé 646.

Analyse: $\text{C}_{38}\text{H}_{54}\text{O}_5\text{Si}_2$ C, 70,54; H, 8,41. Trouvé : C, 70,58; H, 8,46.

Synthèse du composé (Z-13): La réaction se déroule à -15°C sous argon. On dissout **Z-12** (647 mg, 1mmol) dans 5ml de dichlorométhane distillé, on refroidit à -15°C puis on ajoute le $\text{HNMe}(\text{OMe})_2\text{HCl}$ (195 mg, 2 mmol), ensuite on ajoute le Me_3Al (0,8 ml, 2 mmol d'une solution 2,5M dans le toluène) goutte-à-goutte (10 min). On agite pendant 3h30 min. On ajoute au mélange réactionnel 50 ml de CH_2Cl_2 . La phase organique est lavée avec (2×30 ml) d'eau. La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et évaporé. Le mélange est purifié par CCM (plaques de gel de silice) en utilisant l'éther/éther de pétrole 2/1 comme éluant. Le produit obtenu est un solide jaune ($\text{C}_{38}\text{H}_{55}\text{NO}_5\text{Si}_2$, M= 662,02 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, m = 474 mg, Rdt: 72%).

Rf (éther/éther de pétrole 2/1) = 0,65.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): 0,10 (s, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$), 0,15 (s, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$), 0,89 (s, 9H, CH_3 de t-Bu), 0,91 (t, 3H, CH_3 de l'Et), 0,96 (s, 9H, CH_3 de t-Bu), 2,44 (q, 2H, CH_2 de l'Et), 3,25 (s, 3H, CH_3 de N- CH_3), 3,77 (s, 3H, OCH_3), 4,82 (s, 2H, CH_2 de OCH_2), 6,45, 6,61, 6,67, 6,80, 6,92 et 7,13 (6d, 6 \times 2H, C_6H_4).

^{13}C NMR (75,5 MHz, CDCl_3): δ -4,5 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 13,6 (CH_3 de l'Et), 18,2 (C_q de t-Bu), 25,6 (CH_3 de t-Bu), 25,7 (CH_3 de N CH_3), 28,7 (CH_2 de l'Et), 61,6 (OCH_2), 65,7 (NOCH_3), 114,5, 118,8, 119,4, 130,6 et 131,9 (CH_{arom}), 135,5, 137,3, 140,7, 153,4, 153,7 et 156,9 ($\text{C}=\text{C}$ et C_{arom}), 168 ($\text{C}=\text{O}$).

IR (CH_2Cl_2): 1692,4 (CO), 1603,7 cm^{-1} ($\text{C}=\text{C}$).

Masse MS (EI, $\text{C}_{38}\text{H}_{55}\text{NO}_5\text{Si}_2$, $[\text{M}]^+$) calculé 661,36, trouvé 661.

Analyse: Calcul $\text{C}_{38}\text{H}_{55}\text{NO}_5\text{Si}_2$ C,68,94; H, 8,37. trouvé: C, 68,65; H, 8,62.

Pf = 97°C

Synthèse du composé (E-13): La réaction se déroule à - 15° C sous argon. On dissout E-12 (770 mg, 1,19 mmol) dans 15 ml de dichlorométhane distillé, on refroidit à - 15° C puis on ajoute le HNMe(OMe), HCl (464 mg, 4,76 mmol), ensuite on ajoute le Me_3Al (2,38 ml, 4,76 mmol) goutte-à-goutte (10 min). On agite pendant 2h30 min. On ajoute au mélange réactionnel 100 ml de CH_2Cl_2 . La phase organique est lavée avec (2 \times 30 ml) d'eau. La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et évaporé. Le mélange est purifié par CCM on utilisant comme éluant éther/éther de pétrole 2/1 comme éluant. Le produit obtenu est une huile incolore ($\text{C}_{38}\text{H}_{55}\text{NO}_5\text{Si}_2$, $M = 662,02 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, $m = 1,07 \text{ g}$, Rdt: 71 %).

Rf (l'éther/éther de pétrole 2/1) = 0,50.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): 0,16 (s, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$), 0,22 (s, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$), 0,88 (t, 3H, CH_3 de l'Et), 0,92 (s, 9H, CH_3 de t-Bu), 0,96 (s, 9H, CH_3 de t-Bu), 2,43 (q, 2H, $J = 7,2 \text{ Hz}$, CH_2 de l'Et), 3,23 (s, 3H, CH_3 de N- CH_3), 3,7 (s, 3H, OCH_3), 4,67 (s, 2H, CH_2 de OCH_2), 6,58 et 6,72 (d, d, 2H, 2H, $J = 8,7 \text{ Hz}$, C_6H_4), 6,64 et 6,94 (d, d, 2H, 2H, $J = 8,7 \text{ Hz}$, C_6H_4), 6,79 et 7,06 (d, d, 2H, 2H, $J = 8,7 \text{ Hz}$, C_6H_4).

^{13}C NMR (75,5 MHz, CDCl_3): δ - 4,4 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 13,6 (CH_3), 18,1 and 18,2 (C_q de t-Bu), 25,7 (CH_3 de t-Bu), 28,9 (CH_2), 32,4 (NMe), 61,6 (NOMe), 65,6 (OCH_2), 113,5, 119,5, 119,6, 130,6, 130,7 et 131,9 (CH_{arom}), 135,5, 136,8, 136,9, 137,2, 140,8, 153,7, 154,2 et 156,0 (C_q de 3 C_6H_4 et $\text{C}=\text{C}$), 167,0 ($\text{C}=\text{O}$).

IR (CH_2Cl_2): 1692,4 (CO), 1603,7 cm^{-1} ($\text{C}=\text{C}$).

MS(EI, $\text{C}_{38}\text{H}_{55}\text{NO}_5\text{Si}_2$) : 661 $[\text{M}]^+$.

Analyse: Calcul $\text{C}_{38}\text{H}_{55}\text{NO}_5\text{Si}_2$ C,68,94; H, 8,37 ; N, 2,12. trouvé: C,68,35; H, 8,47 ; N, 2,04.

Synthèse du composé Z-6 à partir de Z-13: La réaction se déroule sous argon, on dissout CpMn (CO)₃ (735 mg, 3,6 mmol) dans 10 ml du THF anhydre. On refroidit la solution à -70°C. Ensuite le nBuLi (1,68 ml, 2,7 mmol d'une solution 1,6 M dans l'hexane) est ajouté (2 min). La solution est agitée à -70°C pendant 1h 30 min. La température remonte à -30°C. Puis une solution de Z-13 (597 mg, 0,9 mmol) dissout dans 5ml de THF est ajoutée (2 min). Le mélange est agité pendant 10 min à -30°C. On ajoute 30 ml d'une solution HCL 1/10 N et on enlève le bain froid. Après 5 min, on ajoute 30 ml d'une solution HCL 1/10 N et le mélange est extrait avec éther 3 x 50 ml. La phase organique est lavée avec 2 x 40 ml d'eau. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporé. Le mélange est purifié sur colonne on utilisant éther de pétrole/diéthyl éther 1/2 comme éluant. Le CpMn (CO)₃ non réagit est élué le premier (510 mg). La seconde fraction correspond au produit attendu, solide jaune citron (C₄₄H₅₃MnO₇Si₂, M= 804 g.mol⁻¹, m= 160 mg, Rdt: 22%).

Rf ((éther/pentane 1:2) = 0,78.

¹H NMR (300 MHz, CD₃COCD₃): δ 0,13 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0,18 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0,92 (t, 3H, J = 5,6 Hz, CH₃), 0,94 (s, 9H, t-Bu), 0,97 (s, 9H, t-Bu), 2,45 (q, 2H, J = 5,6 Hz, CH₂), 5,12 (s, 2H, OCH₂), 5,21 (t, 2H, J = 1,7 Hz, C₅H₄), 5,88 (t, 2H, J = 1,7 Hz, C₅H₄), 6,53 et 6,73 (d, d, 2H, 2H, J = 6,4 Hz, C₆H₄), 6,68 et 6,99 (d, d, 2H, 2H, J = 6,4 Hz, C₆H₄), 6,99 et 7,17 (d, d, 2H, 2H, J = 6,4 Hz, C₆H₄).

¹³C NMR (75,5 MHz, CD₃COCD₃): δ - 4,4 (Si(CH₃)₂), 13,8 (CH₃), 18,6 et 18,7 (C_q of t-Bu), 25,9 (CH₃ of t-Bu), 29,3 (CH₂), 71,5 (OCH₂), 85,5 et 88,3 (CH, C₅H₄), 90,0 (C_{ip}, C₅H₄), 115,1, 119,7, 120,3, 131,3, 131,6 et 132,6 (CH_{arom}), 136,3, 137,6, 137,8, 138,5, 141,7, 154,4, 154,8 et 157,8 (C_q de 3 C₆H₄ et C=C), 193,3 (C=O).

IR (CH₂Cl₂): 2033 et 1952 (Mn(CO)), 1702 et 1679 cm⁻¹ (CO).

MS(CI) : m/z = 805 [MH]⁺.

Analyse : calculé C₄₄H₅₃MnO₇Si₂: C, 65,65; H, 6,64. Trouvé: C, 65,78; H, 6,60.

Pf = 122°C.

Synthèse du composé (Z+E)-1-[2-(cyclopentadiényltricarboxylmanganèse)(p-hydroxyphényl)but-1-ène, (Z)-8: Le composé Z-6 est dissout dans 10 ml d'éthanol (130 mg, 0,16 mmol). 0,2 mL de HClconc est ensuite ajouté à la solution. Le mélange est agité à 80 °C pendant 15 min. On enlève le bain chaud, on ajoute 50 ml d'éther éthylique. La solution est lavée avec 3 x 10 ml d'eau, puis séchée sur MgSO₄. Après filtration est évaporation, le brut obtenu est purifié sur colonne de gel de silice avec comme éluant éther/pentane 4/1. Le composé E-8 est obtenu sous forme de solide jaune (48 mg, Rdt = 48%).

Rf: 0,50 (diéthyl éther/pentane 4/1).

^1H NMR (300 MHz, CD_3COCD_3): δ 0,92 (t, 3H, $J = 7,4$ Hz, CH_3), 2,45 (q, 2H, $J = 7,4$ Hz, CH_2), 5,10 (s, 2H, OCH_2), 5,20 (t, 2H, $J = 2,1$ Hz, C_5H_4), 5,87 (t, 2H, $J = 2,1$ Hz, C_5H_4), 6,49 et 6,70 (d, d, 2H, 2H, $J = 8,5$ Hz, C_6H_4), 6,64 et 6,96 (d, d, 2H, 2H, $J = 8,5$ Hz, C_6H_4), 6,98 et 7,15 (d, d, 2H, 2H, $J = 8,6$ Hz, C_6H_4), 8,08 et 8,15 (s, s, OH, OH).

^{13}C NMR (75,5 MHz, CD_3COCD_3): δ 14,0 (CH_3), \cong 29,8 (CH_2 , caché par CD_3COCD_3), 71,5 (OCH_2), 85,5 et 88,3 (CH, C_5H_4), 90,0 (C_{ip} , C_5H_4), 114,2, 115,1, 115,6, 115,8, 131,3, 131,6 et 132,7 (CH_{arom}), 134,3, 135,8, 138,2, 138,3, 141,3, 156,1, 156,5 et 157,7 (C_q des 3 C_6H_4 et $\text{C}=\text{C}$), 193,3 ($\text{C}=\text{O}$), 223,0 (MnCO). En solution dans de l'acétone, l'isomère *E-8* s'isomérisé pour donner une proportion de *E* : *Z* = 58 : 42.

Z-8: ^1H NMR (300 MHz, CD_3COCD_3): δ 0,87 (t, 3H, $J = 7,4$ Hz, CH_3), 2,41 (q, 2H, $J = 7,4$ Hz, CH_2), 4,94 (s, 2H, OCH_2), 5,16 (t, 2H, $J = 2,1$ Hz, C_5H_4), 5,81 (t, 2H, $J = 2,1$ Hz, C_5H_4), 6,65 et 6,81 (d, d, 2H, 2H, $J = 8,8$ Hz, C_6H_4), 6,65 and 6,95 (d, d, 2H, 2H, $J = 8,8$ Hz, C_6H_4), 6,82 et 7,03 (d, d, 2H, 2H, $J = 8,4$ Hz, C_6H_4), 8,17 et 8,31 (s, s, OH, OH).

^{13}C NMR (75,5 MHz, CD_3COCD_3): δ 14,0 (CH_3), \cong 29,8 (CH_2 , caché par CD_3COCD_3), 71,5 (OCH_2), 85,5 et 88,3 (CH, C_5H_4), 90,0 (C_{ip} , C_5H_4), 114,2, 115,1, 115,6, 115,8, 131,3, 131,6 et 132,7 (CH_{arom}), 134,3, 136,0, 138,2, 138,3, 141,4, 156,1, 156,5 et 157,3 (C_q de 3 C_6H_4 et $\text{C}=\text{C}$), 193,3 ($\text{C}=\text{O}$), 223,0 (MnCO).

IR (CH_2Cl_2 , v): 2033 et 1951 (MnCO), 1701 et 1682 (CO), 1608 cm^{-1} ($\text{C}=\text{C}$).

Masse MS (ESI): 621 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Pf = 120°C .

Analyse: $\text{C}_{31}\text{H}_{24}\text{MnNO}_6 \cdot 1/2\text{ H}_2\text{O}$ calculé: C, 65,38; H, 4,25; N, 2,46. trouvé : C, 65,62; H, 4,56; N, 2,39.

Décomplexation du composé Z-6 par irradiation: Le composé **Z-6** (45 mg, 0,05 mmol) est dissout dans 1 mL d'éther technique et 1 mL de méthanol. Le tube contenant la solution est placé à côté d'une lampe UV (lampe à Hg haute pression Heraeus TQ 150 W). Après 10 min d'irradiation la solution devient rouge avec formation d'un précipité rouge. On filtre sur 3 mm d'épaisseur de gel de silice contenu dans une petite colonne. On obtient une huile rouge, la CCM révèle plusieurs produits non identifiables.

Synthèse du composé Z-14: La réaction se déroule sous argon, on dissout $\text{CpRe}(\text{CO})_3$ (100,6 mg, 0,3 mmol) dans 2 ml du THF anhydre. On refroidit la solution à -70°C . Ensuite le $n\text{BuLi}$

(0,144 ml, 0,36 mmol) est ajouté (1 min). La solution est agitée à -70°C pendant 1 h. Puis une solution de **Z-13** (132 mg, 0,2 mmol) dissoute dans 3ml de THF est ajoutée (1 min). Le mélange est agité pendant 2 h à -70°C . On ajoute 2 ml d'une solution HCL 1/10 N et on enlève le bain froid. Après 5 min, on ajoute 10 ml d'une solution HCL 1/10 N et le mélange est extrait avec diéther 3 x 15 ml. La phase organique est lavée avec 20 ml d'eau. La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et évaporé. Le mélange est purifié sur colonne on utilisant éther/pentane 3/5 comme éluant. Le $\text{CpRe}(\text{CO})_3$ est élué le premier. Le produit obtenu est cristallisé dans le pentane ($\text{C}_{44}\text{H}_{53}\text{ReO}_7\text{Si}_2$, $M= 935,26 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, $m= 46 \text{ mg}$, Rdt: 25 %) identifié comme isomère Z (Nguyen., 2007 a).

Rf (diéther/pentane1/2) = 0,39.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): isomère majoritaire δ 0,10 et 0,15 (s, s, 6 H, 6 H, 4 CH_3), 0,91 et 0,97 (s, s, 9H, 9H, 6 CH_3), 0,93 (t, 3H CH_3), 2,43 (q, 2H, CH_2 de l'Et), 4,8 (s, 2H, CH_2CO), 5,43 (t, 2H, C_5H_4), 6,25(t,2H, C_5H_4), 6,46, 6,62, 6,68, 6,9, 6,92 et 7,16 (6d, 12H, 3 C_6H_4).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): isomère moritiare δ -4,4 (4 CH_3), 13,6 (CH_3), 18,2 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 25,6 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 28,7 (CH_2), 71,9 (CH_2CO), 85,2, 88,9 et 92,2 (C_5H_4), 114,1 , 118,9, 119,4, 130,6, 130,9 et 131,9 (CH de C_6H_4), 135,3, 136,4, 137,0, 137,9, 141,0, 153,4, 153,8 et 156,1 ($\text{C}=\text{C}$ et C de C_6H_4), 191,3 (COCH_2 et $\text{C}(\text{ORe})$).

IR (CH_2Cl_2): 2033 et 1939 ($\text{Re}(\text{CO})$), 1704 et 1683 (CO), 1604 ($\text{C}=\text{C}$).

Masse(APCI) : $m/z = 937 [\text{M}+\text{H}]^+$.

Pf = 100°C .

Synthèse du composé 9: La réaction se déroule à température ambiante sous argon. On dissout 3, 4-diméthylphenol (2 g, 16,3 mmol) dans de l'acétone sec (40 ml) puis on ajoute le Cs_2CO_3 (7,43 g, 22.82 mmol). On ajoute ensuite le $\text{BrCH}_2\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$ (3,81 g, 22.82 mmol) goutte-à-goutte. On agite pendant 1 h .Il y a formation d'un précipité blanc au cours de la réaction. On filtre le mélange réactionnel et on l'évapore. Le produit obtenu est une huile incolore ($\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_3$ $M= 208,25 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, $m= 3,4 \text{ g}$, Rdt: 100 %). Rf ((éther/éther de pétrole 1 /3) = 0,44.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1,28 (t, 3H, CH_3 (Et)), 2,22 et 2,18 (s, s, 3H, 3H, 2 CH_3), 4,26 (q, 2H, CH_2), 4,57 (s, 2H, OCH_2), 6,63 (dd, 1H, C_6H_3), 6,73 (d, 1H, C_6H_3), 7,02(d,1H, C_6H_3).

^{13}C NMR (75,5 MHz, CDCl_3): δ 14,1 (CH_3 (Et)), 18,8 et 20,0 (2 Me), 61,2 (OCH_2), 65,6 (CH_2 de l'Et), 11,5, 116.4 et 130,3 (3 CH, Ar), 129,7, 137,8 et 156,0 (3C, Ar), 196,2 (CO).

IR (CH_2Cl_2): $1745,7 \text{ cm}^{-1}$ (CO).

Synthèse du composé 10: La réaction se déroule à -5°C sous argon. On dissout le composé **9** (418 mg, 2 mmol) dans 5 ml de dichlorométhane distillé, on refroidit à -5°C puis on ajoute le HNMe(OMe),HCl (390 mg, 4 mmol) puis on ajoute le Me_3Al (2 ml, 4 mmol de solution 2M dans toluène), goutte-à-goutte (5 min). On agite pendant 1h. On ajoute au mélange réactionnel 30 ml de CH_2Cl_2 . La phase organique est lavée avec (2×30 ml) d'eau. La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et évaporé. Le produit obtenu est cristallisé dans un mélange éther/pentane pour donner des cristaux blancs ($\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_3$, $M= 223,27\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, $m= 426$ mg, Rdt: 95%). Rf ((éther) = 0,6.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 2,18 et 2,23 (2Me), 3,23 (s, 3H, N- CH_3), 3,75 (s, 3H, OMe), 4,77 (s, 2H, OCH_2), 6,66 (dd, 1 H, C_6H_3), 6,69 (d, 1 H, $J= 2,4$ Hz, C_6H_3), 6,94 (d, 1 H, $J= 8,1$ Hz, C_6H_3).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 19,0 et 20,3 (2 Me), 32,7 (CH_3 de N- CH_3), 61,9 (CH_2 de OCH_3), 66,1 (CH_3 de NOCH_3), 111,9, 116,8, 130,5 (3CH_{arom}), 129,7, 138,0, 156,6 (3C_{arom}), 196,9 (CO).

IR (CH_2Cl_2): 1684 (CO).

Pf = 70°C .

Synthèse du composé 11: La réaction se déroule sous argon, on dissout CpMn(CO)_3 (206 mg, 1 mmol) dans 2 ml du THF anhydre. On refroidit la solution à -70°C . Ensuite le $n\text{BuLi}$ (0,170 ml, 1,2 mmol de solution 2,5 M dans l'hexane) est ajouté (1 min). La solution est agité à -70°C pendant 1 h. Puis une solution de composé **10** (125 mg, 0,55 mmol) dissout dans 2 ml de THF est ajoutée (1 min). Le mélange est agité pendant 1 h 30 min à -70°C . On ajoute 2 ml d'une solution HCL 1\10 N et on enlève le bain froid. Après 5 min, on ajoute 10 ml d'une solution HCL 1\10 N et le mélange est extrait avec du diéthyl éther 3 x 15 ml. La phase organique est lavée avec 20 ml d'eau. La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et évaporé. Le produit obtenu est purifié par CCM (plaques de gel de silice) en utilisant le diéthyl éther: éther de pétrole 1/1 comme éluant. Le CpMn(CO)_3 est élué le premier. Le produit obtenu est cristallisé dans le pentane pour donner des cristaux filamenteux jaunâtre ($\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{MnO}_5$, $M=372$ $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, $m= 88$ mg, Rdt: 42 %).

Rf ((éther/éther de pétrol 1/1) = 0,5.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 2,20 et 2,24 (2Me), 4,64 (s, 2H, OCH_2), 4,78 (s, 2H, Cp), 5,65 (s, 2H, Cp), 6,68 (m, 1H, C_6H_3), 6,75 (s, 1H, C_6H_3), 7,05 (d, 1H, C_6H_3).

IR (CH₂Cl₂): 1950,5 et 2032 Mn(CO), 1676,9 cm⁻¹(CO).

Pf = 142 °C.

Analyse: C₁₈H₁₅MnO₅ calculé: C, 59,03; H, 4,13. trouvé : C, 58,93; H, 3,91.

Synthèse des composés 18 et 19: La réaction se déroule sous argon. On dissout C₅H₅H (0,185 mL, 2,5 mmol) dans 3 ml du Et₂O sec refroidis à 0°C. Puis on ajoute goutte-à-goutte le nBuLi (1ml d'une solution 2,5M/hexane, 2,5 mmol) (4 à 5min). La solution est agitée pendant 30 min, il se forme un précipité blanc, on arrête l'agitation et on laisse le précipité se décanter. Après décantation, on élimine l'éther à l'aide d'une seringue, on redissout le précipité dans du THF (2ml). Cette première solution est ajoutée goutte-à-goutte (4 à 5min) à une solution de **10** (111,5 mg, 0,5 mmol) dissout dans 2 ml de THF refroidi à 0°C. On enlève le bain froid et on chauffe pendant 10 min à 40 °C. Puis on refroidit de nouveau à 0°C, on ajoute 5 ml d'ether acidifié par HCL concentré. Le mélange est séché sur MgSO₄, filtré et évaporé. Le brut obtenu est purifié sur colonne de gel de silice en utilisant éther/ether de pétrole1/1 comme éluant. On isole trois fractions. Deux fractions ont été identifiées:

La deuxième fraction est le composé **13** (C₃₀H₃₂O₄, M= 456,32 g.mol⁻¹).

Masse : (ESI) : m/z = 479,5 [MNa]⁺, 935,9 [2MNa]⁺.

Pf = 105°C.

La troisième fraction est le composé **18** (C₁₁H₁₅NO₂, M= 193,24 g.mol⁻¹).

Masse: (ESI) : m/z = 211,3[MNH₄]⁺, 216,4[MNa]⁺, 404,4 [2MNH₄]⁺, 409,7[2MNa]⁺.

Pf = 76°C.

Synthèse du composé 16: La réaction se déroule sous argon. On dissout C₅H₅H (0,074 ml, 1 mmol) dans 2 ml du Et₂O sec refroidis à 0°C. Puis on ajoute goutte-à-goutte le nBuLi (0.4 ml d'une solution 2,5 M/hexane, 1 mmol) (4 à 5 min). La solution est agité pendant 30 min, il se forme un précipité blanc, on arrête l'agitation et on laisse le précipité se décanter. Après décantation, on élimine l'éther à l'aide d'une seringue, on redissout le précipité dans du THF (3 ml) et on refroidit le mélange à -50°C. Cette première solution est ajoutée goutte-à-goutte (4 à 5min) à une solution de **Z-13** (132 mg, 0,2 mmol) dans du THF (2 ml, 1 min) refroidi à -50°C. Après 30 min d'agitation, la solution passe du jaune clair au rouge foncé. On enlève le bain froid, on continue l'agitation pendant une heure. On verse le mélange dans l'eau (40 ml). On ajoute une solution de HCL 1/10 N jusqu'à pH 1. Le mélange est extrait avec le diéthyl éther (2 x 50 ml). La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporé. Le mélange est purifié sur colonne de gel de silice en utilisant éther/pentane 3/2 comme éluant. Le produit

obtenu est cristallisé dans éther /pentane pour fournir des cristaux de couleur beige de **17** ($C_{38}H_{55}NO_5Si_2$, $M = 662,02 \text{ g.mol}^{-1}$, $m = 400\text{mg}$, Rdt 60%).

Rf (l'éther/éther de pétrole 1/1) = 0,21.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $CDCl_3$): 0,1 (s, 6H, $(CH_3)_2Si$), 0,15 (s, 6H, $(CH_3)_2Si$), 0,88 (s, 9H, CH_3 du t-Bu), 0,92 (t, 3H, CH_3 de l'Et), 0,96 (s, 9H, CH_3 du t-Bu), 2,42 (q, 2H, CH_2 de l'Et), 2,93 (d, 3H, $J = 5,1\text{Hz}$, CH_3 de N- CH_3), 3,46 (s, H, NH), 4,52 (s, 2H, CH_2 du OCH_2), 6,57, 6,63, 6,68, 6,88, 6,93 et 7,17 (6d, $6 \times 2\text{H}$, C_6H_4).

$^{13}\text{C NMR}$ (75,5 MHz, $CDCl_3$): δ -4,5 ($Si(CH_3)_2$), 13,6 (CH_3 de l'Et), 18,1 (Cq du t-Bu), 25,6 (CH_3 du t-Bu), 25,7 (CH_3 du N CH_3), 28,7 (CH_2 de l'Et), 67,4 (OCH_2), 114,2, 118,8, 130,6, 130,9 et 131,8 (CH_{arom}), 135,3, 136,4, 137,9, 141,1, 153,5, 153,8 et 156,0 (C=C et C_{arom}), 167 (C=O).

MS(ESI): $m/z = 654 [MNa]^+$, $649 [MNH_4]^+$.

Analyse Calcul $C_{37}H_{53}NO_4Si_2$ C, 70,32; H, 8,45; N, 2,22. trouvé : C, 67,55; H, 8,42; N, 2,15. Pf = 94°C .

4.1.3. Synthèse du (Z+E) **TPEDiOHCO^{99m}Tc**

Synthèse du (Z+E) **TPEDiOHCO^{99m}Tc**: Dans un petit flacon étanche de 3 ml, on dissout 1 mg du (Z+E) **TPEDiOHCOFc**, 1 mg de $Mn(CO_5)Br$ dans 150 μl de DMF, par la suite 150 μl de la solution saline de pertechnétate est ajouté au mélange. Le flacon est fermé sous atmosphère d'azote puis placé dans un bain d'huile à 150°C pendant une heure et demie. Le mélange est purifié par CCM en utilisant acétate d'éthyle/éther de pétrole 8/2 comme éluant pour donner (Z+E)-(1-[2-(cyclopentadiényltricarboxyl- ^{99m}Tc)-technétium](p-hydroxyphényl)but-1-ène (**TPEDiOHCO^{99m}Tc**).

Rdt : 86 %.

Rf (acétate d'éthyle/éther de pétrole 8/2) = 0,8.

4.2. Etude biologique

4.2.1. Détermination de la répartition sanguine et de la stabilité in vitro du (Z+E)-**TPEDiOHCO^{99m}Tc**

La répartition sanguine de (Z+E)-**TPEDiOHCO^{99m}Tc** a été étudiée dans le sang de rat héparinisé (rat Wistar femelle mature). Le sang entier (5ml) a été incubé avec 100 μCi de (Z+E)-**TPEDiOHCO^{99m}Tc** dans 100 μl d'éthanol pendant 30 minute, 1 h, 2 h, 3 h et 24 h à 37°C . 1 mL de sang est prélevé et centrifugé à 5000 trs/min pendant 5 min, puis le culot

cellulaire et le surnageant sont séparés, comptés au compteur gamma à puits. L'acétonitrile est ajouté au plasma pour précipiter les protéines plasmatiques (Parent et al., 2006). Ensuite une centrifugation à 5000 trs/min a été effectuée pendant 5 min, Le sérum est alors séparé du culot protéique et les fractions ont été de nouveau comptées. Le sérum est filtré et analysé par CLHP.

4.2.2. Etude de la stabilité de (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc dans le tampon phosphate

On incube (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc (100 µl, 60 µCi) purifié dans 900 µl de tampon phosphate frais (0,1M, pH 7,4) dans un bain marie à 37°C. On prélève des aliquotes du mélange à 30 min, 1 h, 2 h, 3 h et 24 h. Ces aliquotes sont analysés par CLHP.

4.2.3. Etude de la biodistribution in vivo

Les études de biodistribution ont été effectuées selon le règlement du conseil d'éthique national utilisant des rats Wistar femelles matures (âgés de 5-6 semaines) pesant entre 180 et 200 g. Le (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc purifié est reconstitué dans une solution saline à 15 % d'éthanol et injecté par la veine caudale sous une légère anesthésie par l'éther. La doses employé pour chaque groupe d'animaux (n= 3) est 100 µCi dans un volume de 300 µl et un seul groupe d'animaux est coinjecté avec le radiotracer un inhibiteur œstradiol (15 µg) .A 15 min, 1h, 2 h, 3, h, 6h, 18 h et 24 h postinjection du (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc, les animaux sont sacrifiés par ponction cardiaque. Les tissus ont été prélevés, pesés et leur radioactivité a été mesurée. Le pourcentage de dose injectée par organe (%DI) est calculé selon la formule suivante : % DI = activité détectée par organe ×100/ Activité totale injectée. Ensuite le %DI/g de tissu est calculé comme suit: % DI/g= % dose injectée par organe/masse de l'organe(g). Pour chaque groupe d'animaux, les résultats sont mis sous forme de moyenne et l'écart type est calculé. Les données ont été traitées par analyse de la variance multifactorielle (ANOVA, SPSS 12.0 pour Windows) et Les différences significatives ont été considérées en utilisant le test de student au p < 0,05.

4.2.4. Mesure du coefficient de partage

Après avoir purifié le complexe (Z+E) TPEDiOHCO^{99m}Tc, nous avons étudié sa lipophilie par mesure de son coefficient de partage entre une solution aqueuse (tampon Tris-HCl) de pH= 7,4 et une solution de n-octanol.

Le complexe pur est reconstitué avec 100 µl d'éthanol absolu. La solution est placé dans un tube à essai. 2 ml d'une solution de n-octanol et 2 ml d'un tampon Tris-HCl (0,05 M) de pH 7,4 sont ajoutés. Le mélange est vortexé pendant 1 min et centrifugé pendant 5 min à 5000

rpm. Le surnageant est transvasé dans un autre tube puis vortexé avec 2 ml de tampon frais. L'opération entière est refaite 3 fois de suite. Après la dernière centrifugation, les deux phases sont pesées séparément. L'activité de chaque phase est mesurée à l'aide d'un activimètre. Le coefficient de partage correspond au rapport entre l'activité massique contenue dans la phase n-octanol et celle contenue dans la phase aqueuse:

$$P = \frac{\text{Activité dans la phase n-octanol/g}}{\text{Activité dans la phase tampon pH 7,4/g}}$$

CHAPITRE 3

Synthèse et biodistribution de (Z+E)-1-(p-(tricarboxylcyclopentadiényl-[^{99m}Tc]-technétium carboxy-amino-phényl)-1,2-di(p-hydroxyphényl)-but-1-ène (TPEDiOHNCO^{99m}Tc)

1. Introduction

A cause de phénomènes de résistance dûs à l'utilisation prolongée du tamoxifène, mais aussi à ses limites thérapeutiques, il devient urgent de trouver de nouvelles molécules actives susceptibles de le remplacer. Pour réaliser cet objectif, le groupe Chimie Médicinale et Organométallique du Laboratoire Charles Friedel a choisi d'explorer la voie des organométalliques pour leurs propriétés intrinsèques originales. Certains organométalliques sont susceptibles d'être exploités en médecine, en raison par exemple de leur capacité cytotoxique ou de l'existence d'isotopes radioactifs utilisables pour l'imagerie ou la thérapie. Les études ont été d'abord orientées vers les analogues organométalliques de l'hydroxytamoxifène et les premiers composés synthétisés, sont les hydroxyferrocifènes (Top et al., 2003; Vessières et al., 2005).

Le résultat le plus intéressant a été obtenu sur le composé hydroxyferrocifène FcOHTAM3 contenant la chaîne aminée $O(CH_2)_3NMe_2$. Il s'est montré particulièrement actif dans le cas du test avec la lignée cellulaire MDA-MB231, laquelle est connue comme une lignée ne possédant que le récepteur β des oestrogènes. Le test a montré que FcOHTAM3 a une activité marquante ($IC_{50} = 0,5 \mu M$) alors que le tamoxifène ne présente qu'un très faible effet sur cette lignée ($IC_{50} = 30 \mu M$). Ce résultat très encourageant a amené les chercheurs du laboratoire à examiner la possibilité d'utilisation d'autres groupes organométalliques comme les dérivés de rhénium (Jaouen et al., 2001; Top et al., 2004), de platine (Top et al., 2003) ou de titane (Top et al., 2002a). Ces travaux ont montré que les dérivés ferrocéniques ont une meilleure activité par rapport aux complexes des autres métaux de transition. Ces résultats montrent clairement l'intérêt potentiel des dérivés ferrocéniques dans le traitement des cancers du sein. Par conséquent, d'autres complexes doivent être préparés, d'une part, pour trouver les composés les plus actifs, et d'autre part, pour élucider leur mécanisme d'action. Nous avons synthétisé des nouveaux complexes organométalliques caractérisés par la présence de la fonction amide (figure 3-1).

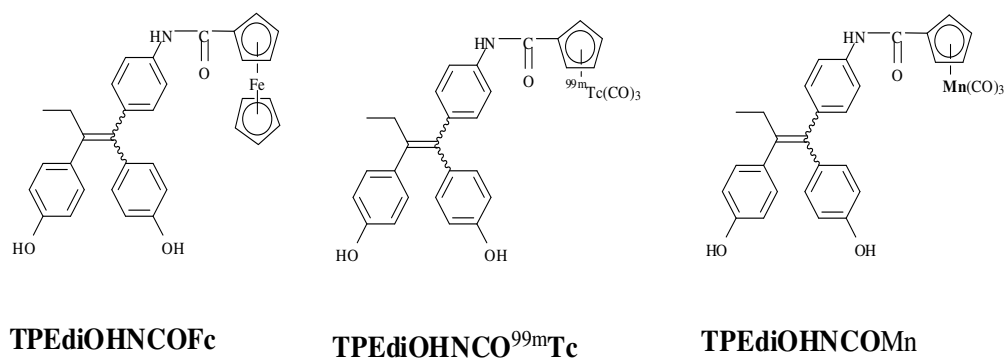


Figure 3-1: Exemples des complexes organométalliques synthétisés dans le chapitre 3.

Le dérivé ferrocénique **TPEdiOHNCOFc** pourrait avoir une activité antiproliférative contre le cancer du sein alors que le dérivé de technétium **TPEdiOHNCO^{99m}Tc** pourrait être utilisé comme agent d'imagerie. Le présent chapitre est essentiellement consacré à la synthèse et à l'étude *in vivo* de biodistribution de ce dernier composé. Le composé **TPEdiOHNCOMn** a été également synthétisé, il permet de repérer le composé **TPEdiOHNCO^{99m}Tc** par HPLC.

2. Résultats et discussion

2.1. Synthèse chimique

2.1.1. Synthèse de *Z*-**TPEdiOHNCOFc** et de *E*-**TPEdiOHNCOFc**

Le schéma 3-1 représente la voie de synthèse des dérivés ferrocéniques *Z*- et *E*-**TPEdiOHNCOFc**. Comme dans le cas du chapitre 2, la réaction de couplage de McMurry a été utilisée pour préparer le premier précurseur. La réaction entre le 4-*t*-butyldiméthylsiloxy-4'-nitro-benzophénone et le 4-(*t*-butyldiméthylsilyloxy)-propiophénone donne directement le dérivé aminé **TPEdiOSiNH₂** sous forme de mélange de deux isomères *Z* et *E* sans traces de dérivé nitro.

Le **TPEdiOSiNH₂** aurait dû être préparé à partir d'aminobenzophénone mais il a été démontré que la fonction amine de cette cétone inactive la réaction de couplage de McMurry (Pigeon et al., 2009). Cet inconvénient a pu être évité en utilisant le dérivé nitro à la place. La réduction de la fonction nitro en amine s'est faite *in situ* lors de la réaction de McMurry. Les deux isomères ont été purifiés et séparés par chromatographie sur colonne de gel de silice. Ils sont obtenus avec des rendements de 26% pour l'isomère *E* et 12% pour l'isomère *Z* (l'identification *Z* ou *E* pour les deux isomères sera explicitée plus loin). La réaction entre le chlorure d'acide FcCOCl avec, séparément, les amines *Z* et *E*-**TPEdiOSiNH₂** dans du CH₂Cl₂ en présence de la pyridine fournit 64% de l'amide *Z*-**TPEdiOSiNCOFc** et 51% de l'amide *E*-

TPediOSiNCOFc. Finalement la déprotection des fonctions phénoliques à l'aide de fluorure de tétrabutylammonium $n\text{Bu}_4\text{NF}$ donne l'amide *Z*-**TPediOHNCOFc** avec un rendement de 80% et l'amide *E*-**TPediOHNCOFc** avec un rendement de 84%. Ces deux isomères géométriques sont sensibles à une réaction d'interconversion. L'isomère *Z* s'isomériser beaucoup plus vite que l'isomère *E*; alors qu'il est possible d'isoler l'isomère *E* sous forme pure, l'isomère *Z* commence à s'isomériser dès qu'il est en solution dans, par exemple, le chloroforme. A l'équilibre, on obtient à la fin une proportion de l'ordre de $Z/E = 60/40$.

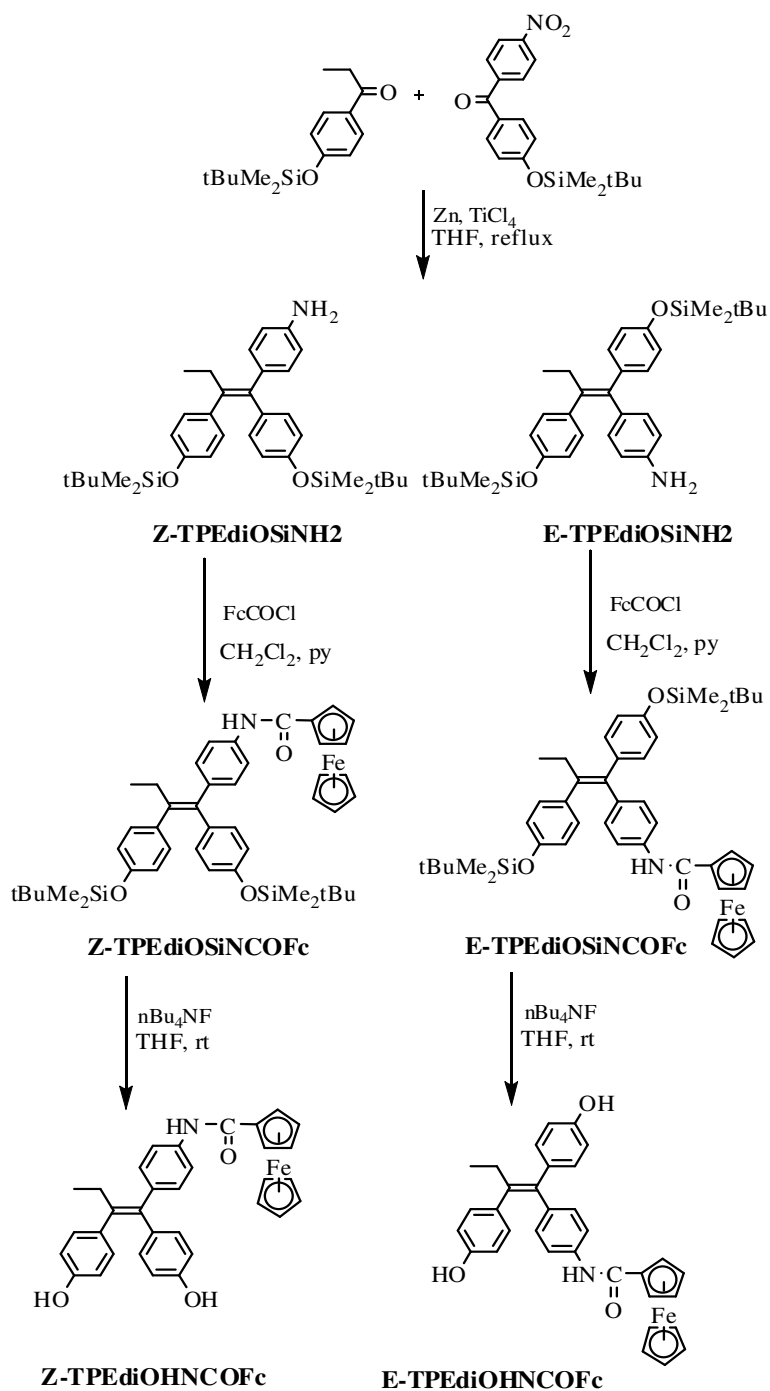


Schéma 3-1: Schéma de la synthèse de **Z-TPEdiOHNCOFc** et de **E-TPEdiOHNCOFc**.

Identification de l'isomère E par analyse structurale aux rayons X

La distinction entre les isomères *Z* et *E* a pu être obtenue grâce à la détermination structurale aux rayons X de l'amide *E*-**TPEDiOSiNCOFc**. La figure 3-2 montre clairement la configuration *E* de cet isomère.

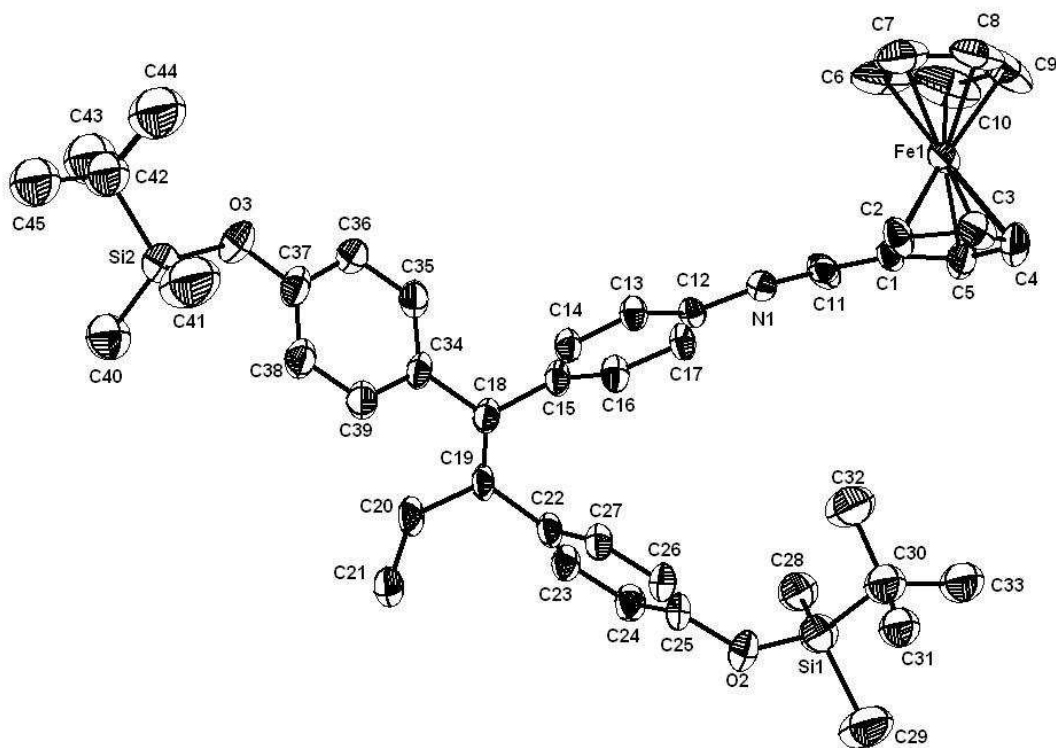


Figure 3-2: Présentation ORTEP de *E*-**TPEDiOSiNCOFc**

2.1.2. Synthèse de *E*-**TPEDiOHNCOMn**

La synthèse du dérivé correspondant de manganèse a été effectuée seulement sur l'isomère *E*. Comme dans le cas du dérivé ferrocénique, la réaction entre le chlorure d'acide $(C_5H_4COCl)Mn(CO)_3$ avec l'amine *E*-**TPEDiOSiNH₂** dans CH_2Cl_2 en présence de la pyridine fournit l'amide *E*-**TPEDiOSiNCOMn** avec un rendement de 46% (schéma 3-2).

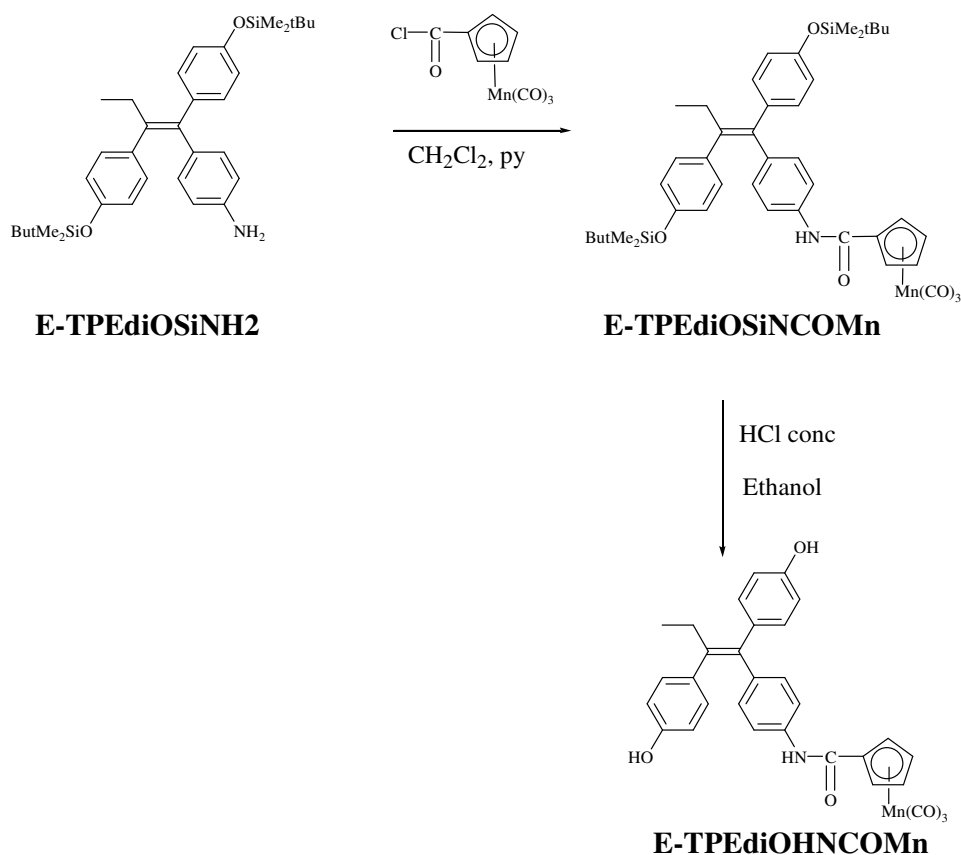


Schéma 3-2: Synthèse de *E*-TPEdiOHNCOMn

La déprotection des fonctions phénoliques s'est fait dans ce cas dans l'éthanol avec HCl conc car l'utilisation du réactif $n\text{Bu}_4\text{NF}$ n'a pas donné le bon produit. L'amide *E*-TPEdiOHNCOMn a été obtenu avec un rendement de 62%.

2.2. Synthèse de (*Z+E*)-TPEDIHNCO^{99m}Tc

Le (*Z+E*)-TPEDIHNCO^{99m}Tc est obtenue à partir de son homologue ferrocénique (*Z+E*)-TPEDIHNCOFc par une réaction de double transfert de ligands entre le fer et le technétium en présence du réducteur MnCO_5Br (schéma 3-3).

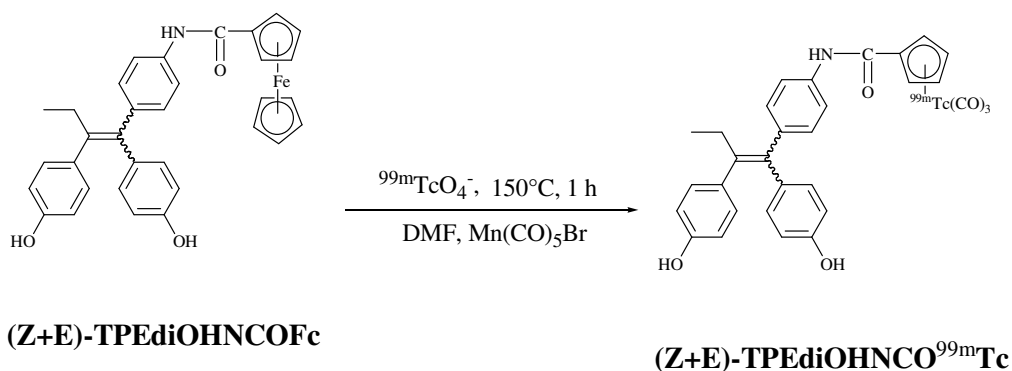


Schéma 3-3: Synthèse du (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc

Dans un premier temps, nous avons utilisé le DMSO comme solvant pour la réaction de marquage. Le rendement du marquage obtenu n'a pas dépassé les 58 % (figure 3-3).

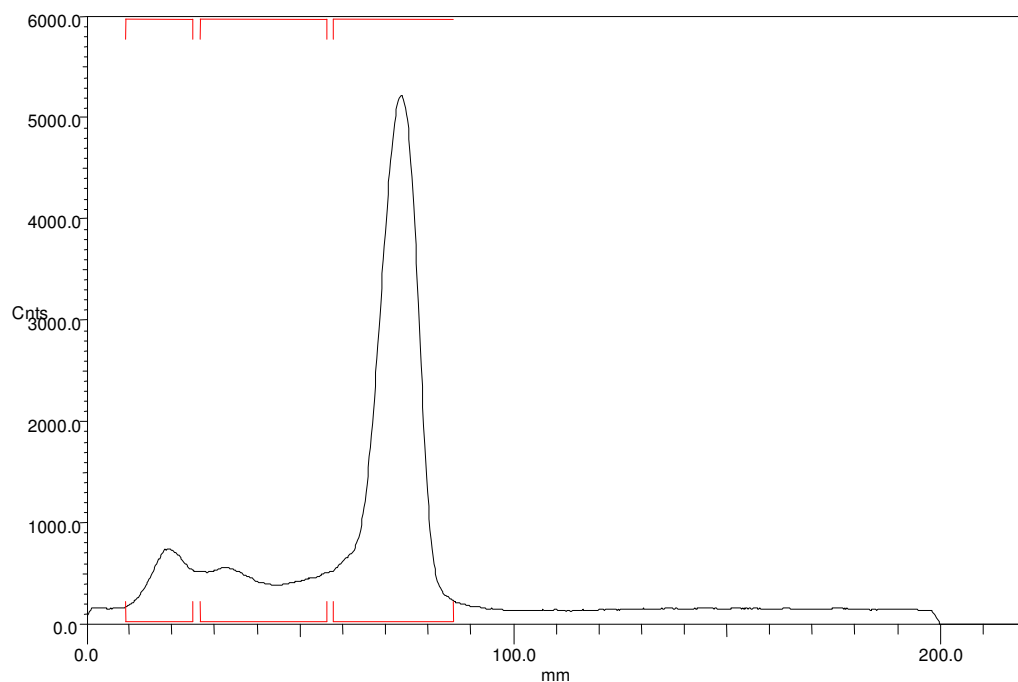


Figure 3-3: Radiochromatogramme du mélange réactionnel du (Z+E)-TPEDiOHNCOfc avec ^{99m}TcO₄ après 60 min de chauffage à 150° C en présence de DMSO, effectué sur gel de silice avec de l'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole 95/5.

Afin d'optimiser ce rendement, le solvant de départ (DMSO) a été remplacé par le DMF. Une amélioration du rendement de 58 % à 75 % a été observée (Tableau 3.I).

Tableau 3.I : Rendement des réactions de radiomarquage du (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc en fonction du type de solvant.

Solvant	Rendement en %
Eau	0
DMSO/Eau (1/1)	50
DMF/Eau (1/1)	75

Pour la suite du travail, le protocole de marquage avec le DMF a été adopté afin d'avoir le meilleur rendement. Une étude sur l'effet du temps de réaction a montré que le maximum du rendement a été obtenu après 60 min de chauffage. Lorsque le temps de réaction dépasse 60 min, on observe l'apparition de produits secondaires.

La qualité des réactions de marquage a été évaluée principalement par radiochromatographie sur plaques de gel de silice sur lesquelles on fait migrer le mélange réactionnel dans une phase mobile composée de l'éther. On obtient le profil suivant après balayage à l'aide d'un détecteur gamma mobile (figure 3-4).

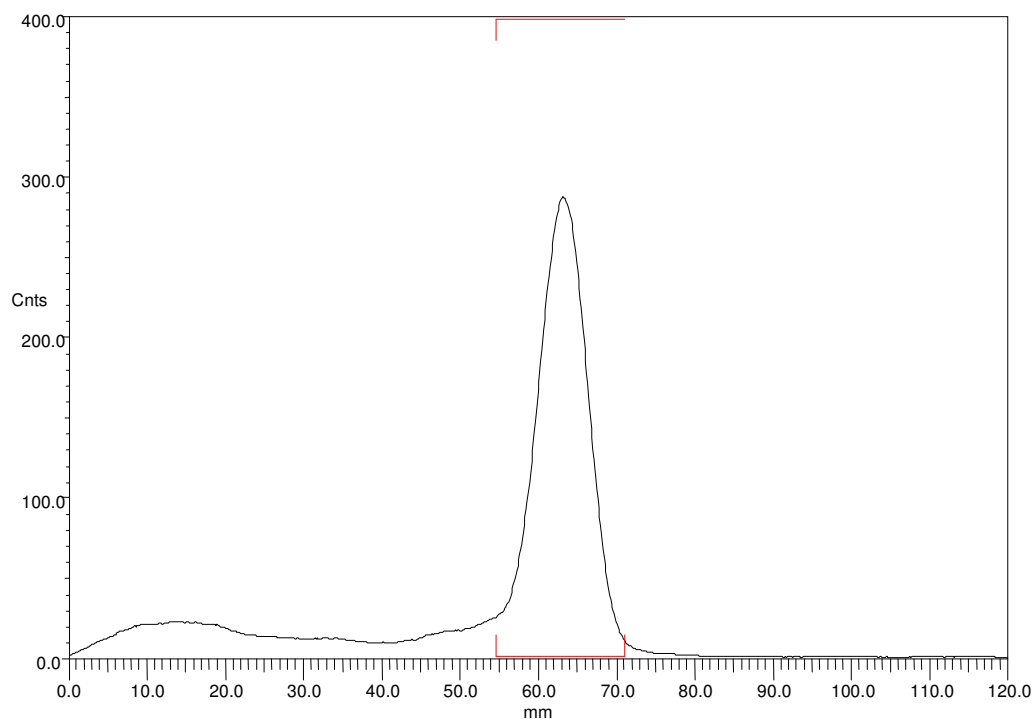
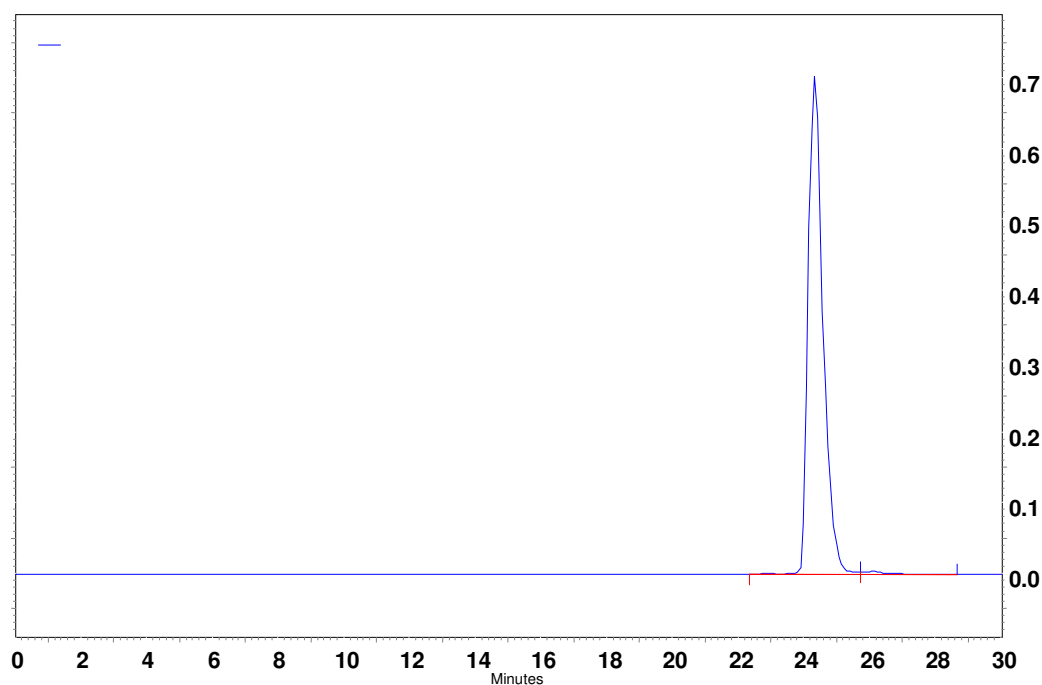


Figure 3-4: Radiochromatogramme du mélange réactionnel du **(Z+E)-TPEDiOHNCOfc** avec $^{99m}\text{TcO}_4^-$ après 60 min de chauffage à 150°C en présence de DMF, effectuée sur gel de silice avec de l'éther comme éluant.

Le radiochromatogramme montre un pic de $R_f = 0,69$ révélant une activité très élevée indiquant la formation d'un composé radioactif. Ce pic semble correspondre au **(Z+E)-TPEDiOHNCOfc** marqué par le ^{99m}Tc .

La bande, correspondant au produit marqué, a été grattée et le produit a été purifié sur micro-colonne puis analysé par CLHP. La présence d'un seul pic intense à un temps de rétention égal à 24,36 min témoigne d'une haute pureté radiochimique. Afin d'identifier le produit marqué obtenu nous avons comparé son profil CLHP à celui de son analogue avec le manganèse ***E*-TPEDiOHNCOMn** (figure 3-5). La molécule marquée possède un R_f proche que celle de son analogue de manganèse.

(a)



(b)

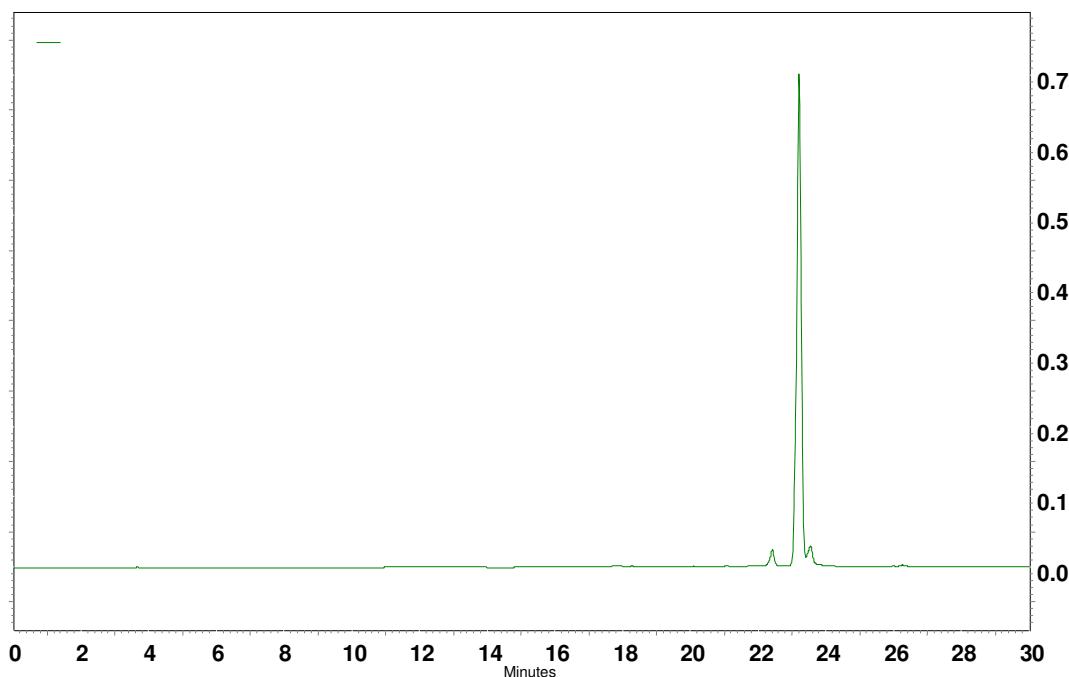


Figure 3-5: (a) Profil CLHP du **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** purifié Détecteur Gamma (Gabi). (b) Profil CLHP du **E-TPEDiOHNCOMn** purifié. Détecteur UV (λ 250nm). Analyse sur colonne C18 Shim-pack VP-ODS. Gradient d'éluion (A = 0,1% CF₃COOH /eau ultra pure, B = MeOH): 0-3 min: 100% A; 3-9 min: 75% A; 9 min: 66% A; 9-20 min: 66%→0% A; 20-25 min: 0% A; 25 -30 min: 100% A. Débit: 1 ml/min;).Température: 40°C. Temps de rétention 23,21 min.

On remarque que le composé de Tc, qui est normalement un mélange de deux isomère *Z* et *E*, présente un signal très fin. Il est difficile à ce stade de savoir avec certitude si ce composé contient un seul ou deux isomères. Etant donné la facilité du dérivé ferrocénique à s'isomériser, il est probable que son homologue Tc existe aussi sous forme de mélange.

2.3. Etude de la stabilité de **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** dans les solvants

La stabilité de **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** a été déterminée dans différents milieux: eau purifiée, NaCl 0,9 % et éthanol. La pureté radiochimique est définie par CCM ou CLHP sur des échantillons conservés à 4°C à 30 min, 1h, et 24 h après marquage.

Après 30 min d'incubation dans les différents milieux, le radiochromatogramme montre le dédoublement du pic. Ce dédoublement est dû surtout à une meilleure séparation entre les deux isomères *Z* et *E* (figure 3-6). Que se soit dans l'eau purifiée, dans la solution NaCl 0,9 % ou dans l'éthanol, on observe seulement les deux pics du **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc**. Il est clair que **TPEDiOHNCO^{99m}Tc** possède une grande stabilité.

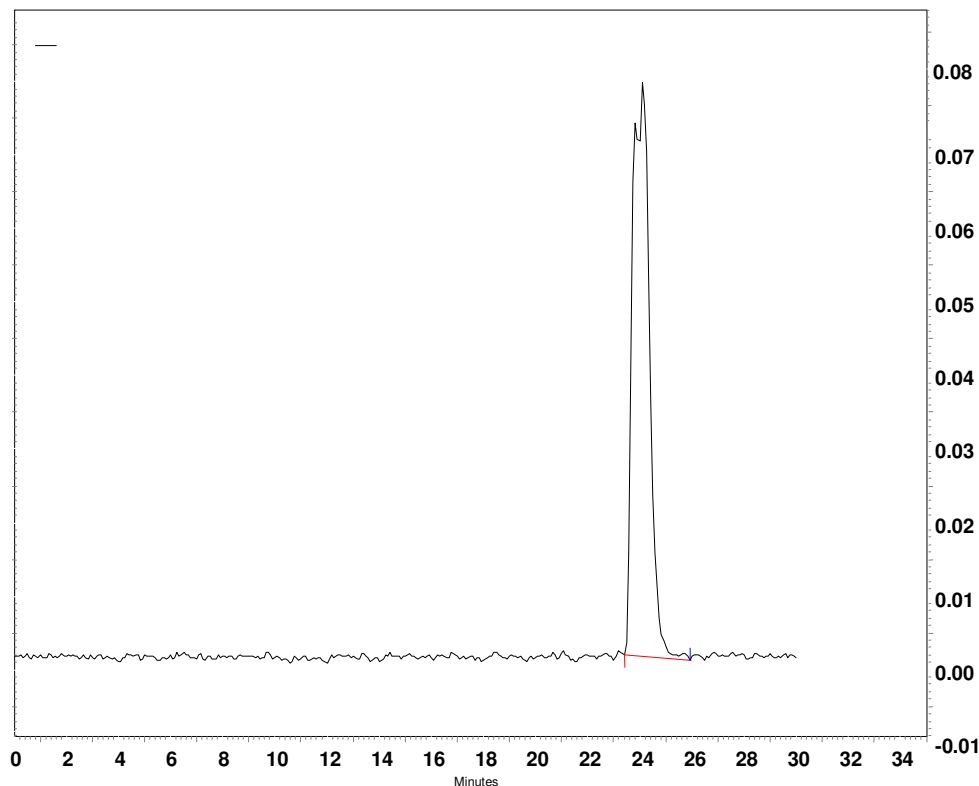


Figure 3-6: Radiochromatogramme du $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc après 24 heures d'incubation dans NaCl 0,9 % à 4°C. Analyse par CLHP sur colonne C18 Shim-pack VP-ODS. Gradient d'éluion (A = 0,1% CF₃COOH /eau ultra pure, B = MeOH): 0-3 min: 100% A; 3-9 min: 75% A; 9 min: 66% A; 9-20 min: 66%→0% A; 20-25 min: 0% A; 25-30 min: 100% A. Débit: 1 ml/min; Détecteur Gamma (Gabi).Température: 40°C.

2.4. Propriétés physicochimiques du $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc : Analyse *in vitro*

Nous avons notamment étudié la lipophilie du $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc par mesure de son coefficient de partage en milieu n-octanol/Tris HCl pH 7,4, ainsi que sa répartition sanguine

2.4.1. Etude du coefficient de partage

Le coefficient de partage de $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc n-octanol/ Tampon Tris HCl (0,05 M) à pH 7,4 est de 10,57 (Tableau 3.II). Ce qui correspond à un produit lipophile

Tableau 3.II: Coefficient du partage du $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc

Traceur	$(Z+E)$ -TPEDiOHNCO ^{99m} Tc
P= ([n-octanol]/[Tris HCl, pH 7,4])	10,57
Log Po/w	1.02

2.4.2. Détermination de la répartition sanguine du (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc

2.4.2.1. Mesure de la fixation cellulaire

Le (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc est incubé à 37°C sous agitation en présence du sang total. Après 30 min, 1 heure, 2 heures, 3 heures, 6 heures et 22 heures d'incubation, 1 ml de sang est prélevé et centrifugé à 10000 rpm pendant 10 minutes, puis le culot cellulaire et le surnageant sont comptés au compteur gamma. Le taux de captation cellulaire varie légèrement au cours de 22 heures d'incubation (Tableau 3.III et figure 3-7).

2.4.2.2. Mesure de la fixation non spécifique aux protéines plasmatiques

L'acétonitrile est ajouté au plasma, on observe un précipité blanc constitué des protéines plasmatiques auxquelles s'est potentiellement fixé (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc. Le culot est séparé du surnageant et chaque milieu est compté au compteur gamma. Le (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc est présent majoritairement dans le sérum et ce quelle que soit la durée d'incubation (Tableau 3.III et figure 3-7). La fixation non spécifique aux protéines varie légèrement au cours du temps.

Tableau 3.III: Propriétés physico-chimiques du (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc.

	Temps d'incubation (heures)					
	0,5	1	2	3	6	22
Cellules	46,22 %	37,16 %	36,124 %	46,47 %	33,87 %	36,12 %
Plasma	53,77 %	62,83 %	63,87 %	53,52 %	66,12 %	63,87 %
Sérum	83,07 %	93,77 %	95,1 %	92,48 %	94,18 %	93,99 %
Fixation protéique	16,92 %	6,22 %	4,89 %	7,51 %	5,81 %	6,01 %

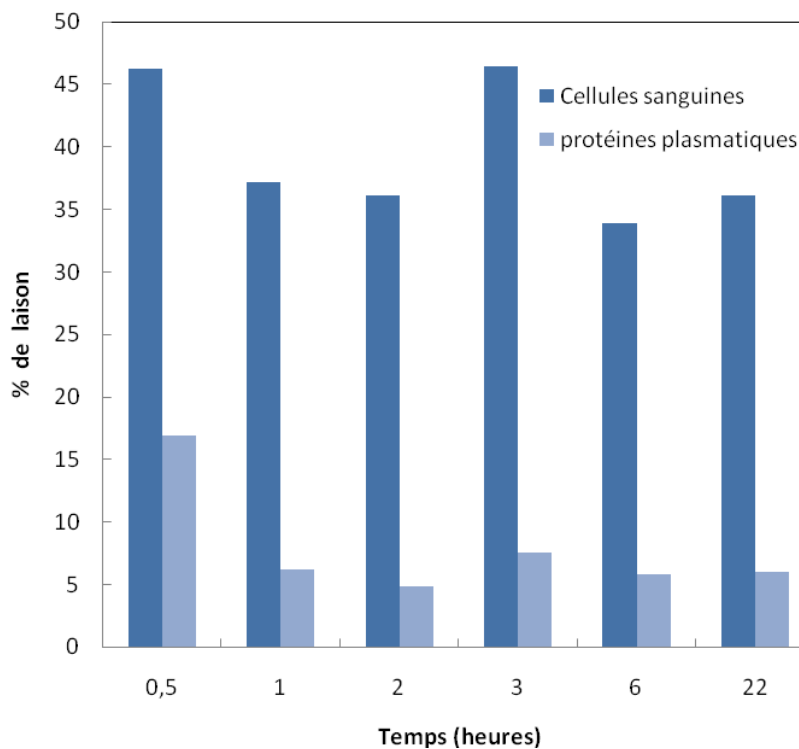


Figure 3-7: Biodistribution sanguine in vitro de $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc. Pourcentage de liaison de $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc aux cellules sanguines et aux protéines plasmatiques en fonction de la durée d'incubation. Mesure de l'activité au compteur gamma (Cobra).

2.5. Etude de la stabilité in vitro

2.5.1. Etude de la stabilité de $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc dans le tampon phosphate

On incube $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc purifié dans 1 ml de tampon frais dans un bain-marie à 37°C. On prélève des aliquotes du mélange à 30 min, 1 h, 2 h, 3 h et 22 h. Ces aliquotes sont analysés par CLHP. L'analyse du radiochromatogramme après 30 min d'incubation montre le dédoublement du pic du $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc dans le tampon phosphate (figure 3-8), le dédoublement du pic témoigne la présence des deux isomères *Z* et *E* du composé. Après 24 h d'incubation à 37°C, le pourcentage de ^{99m}Tc- libéré dans le milieu reste inférieur à 5% (PRC 90%) (figure 3-9).

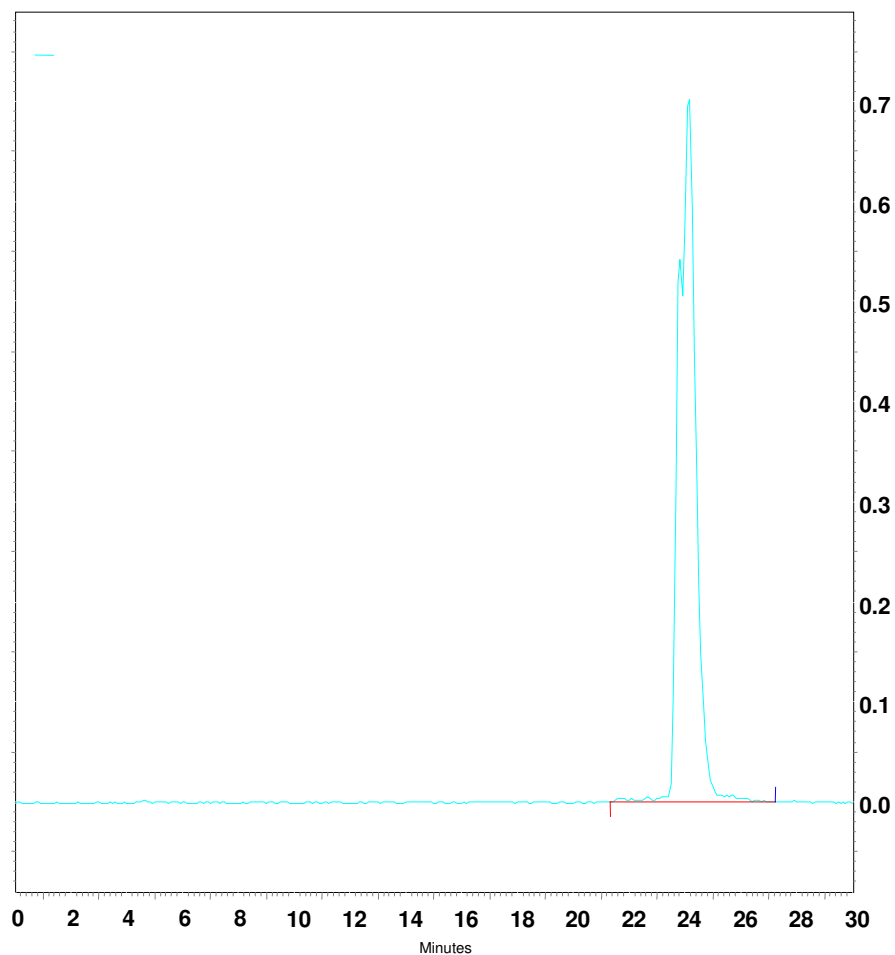


Figure 3-8: Radiochromatogramme de $(Z+E)$ -TPEDiOHNC 99m Tc après 30 min d'incubation dans le tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4). Analyse par CLHP sur colonne C18 Shim-pack VP-ODS. Gradient d'éluion (A = 0.1% CF₃COOH /eau ultra pure, B = MeOH): 0-3 min: 100% A; 3-9 min: 75% A; 9 min: 66% A; 9-20 min: 66%→0% A; 20-25 min: 0% A; 25-30 min: 100% A. Débit: 1 ml/min; Détecteur Gamma (Gabi).Température: 40°C.

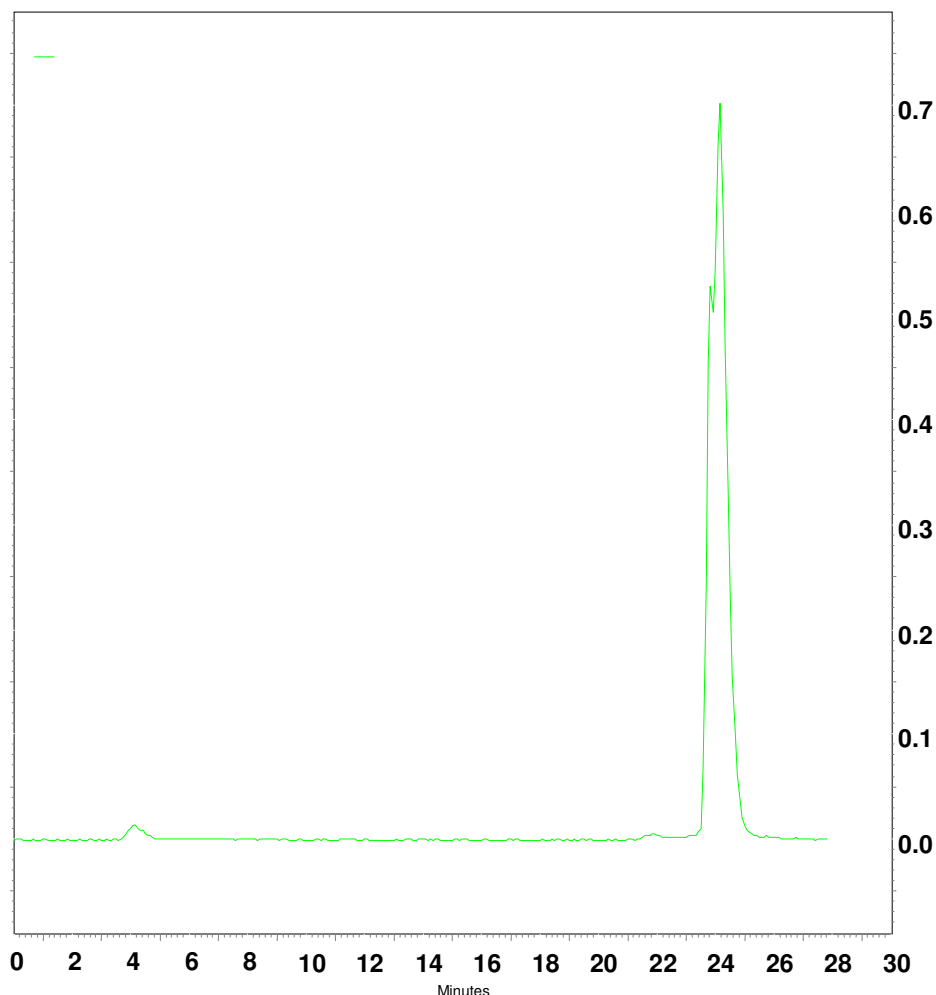


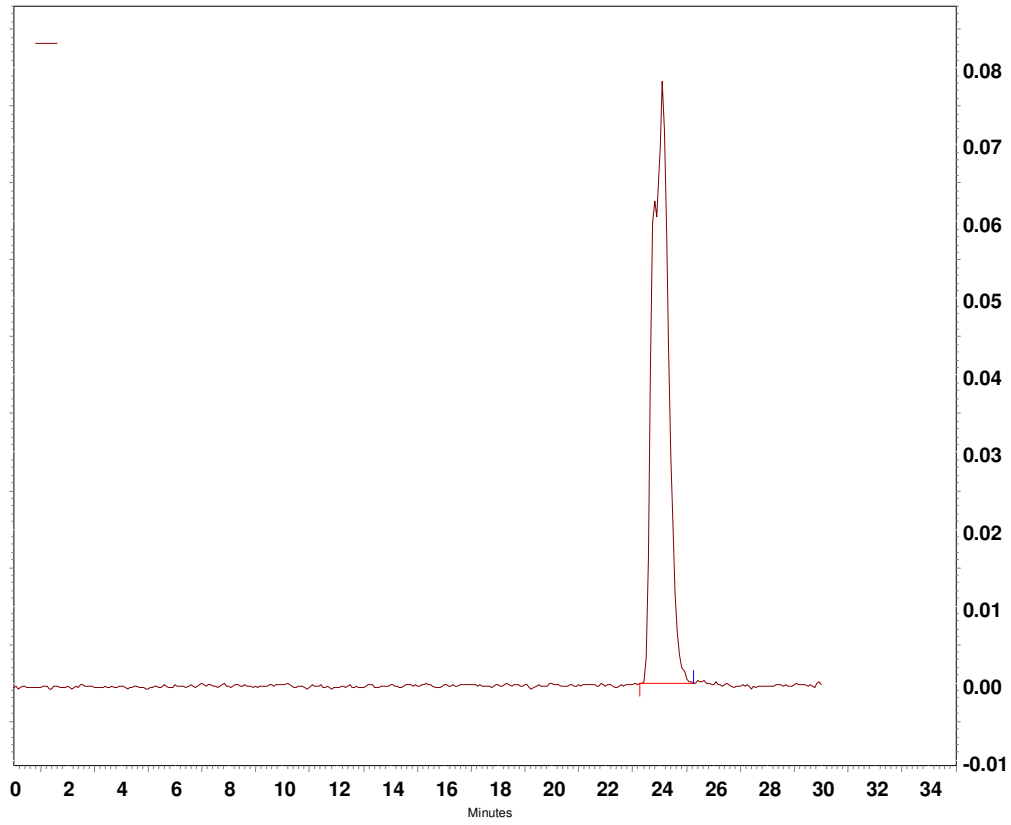
Figure 3-9: Radiochromatogramme de $(Z+E)\text{-TPEDiOHNCO}^{99m}\text{Tc}$ après 24 heures d'incubation dans le tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4). Analyse par CLHP sur colonne C18 Shim-pack VP-ODS. Gradient d'éluion (A = 0,1% CF_3COOH /eau ultra pure, B = MeOH): 0-3 min: 100% A; 3-9 min: 75% A; 9 min: 66% A; 9-20 min: 66%→0% A; 20-25 min: 0% A; 25-30 min: 100% A. Débit: 1 ml/min; Détecteur Gamma (Gabi).Température: 40°C.

2.5.2. Etude de la stabilité sanguine de $(Z+E)\text{-TPEDiOHNCO}^{99m}\text{Tc}$

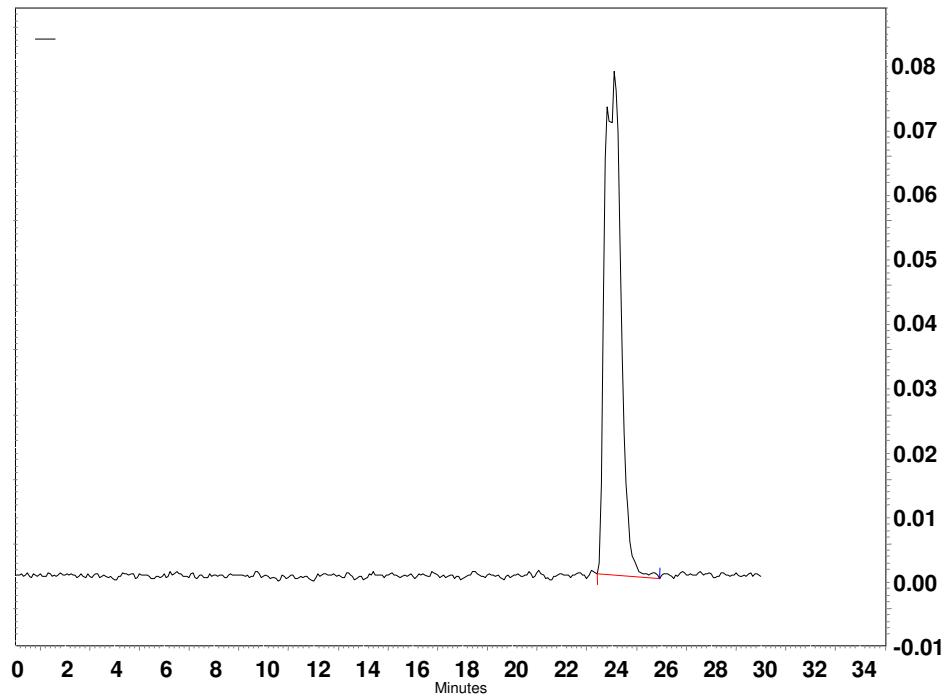
Le $(Z+E)\text{-TPEDiOHNCO}^{99m}\text{Tc}$ est incubé à 37°C sous agitation en présence du sang total. Après 30 min, 1 heure, 2 heures, 3 heures, 6 heures et 22 heures d'incubation, 1 ml de sang est prélevé et centrifugé, puis le culot cellulaire et le surnageant sont séparés. L'acétonitrile est ajouté au plasma pour précipiter les protéines plasmatiques. Le surnageant est séparé du culot et analysé par CLHP (figure 3-10). De façon identique à ce qu'on a observé durant l'incubation du $(Z+E)\text{-TPEDiOHNCO}^{99m}\text{Tc}$ avec le tampon phosphate, après 30 min d'incubation, on observe le dédoublement du pic correspondant aux isomères *Z* et *E*-

TPEDiOHNCO^{99m}Tc. Après 24 h d'incubation à 37°C, on note la présence d'un pic qui correspond au Tc libre mais il est minoritaire.

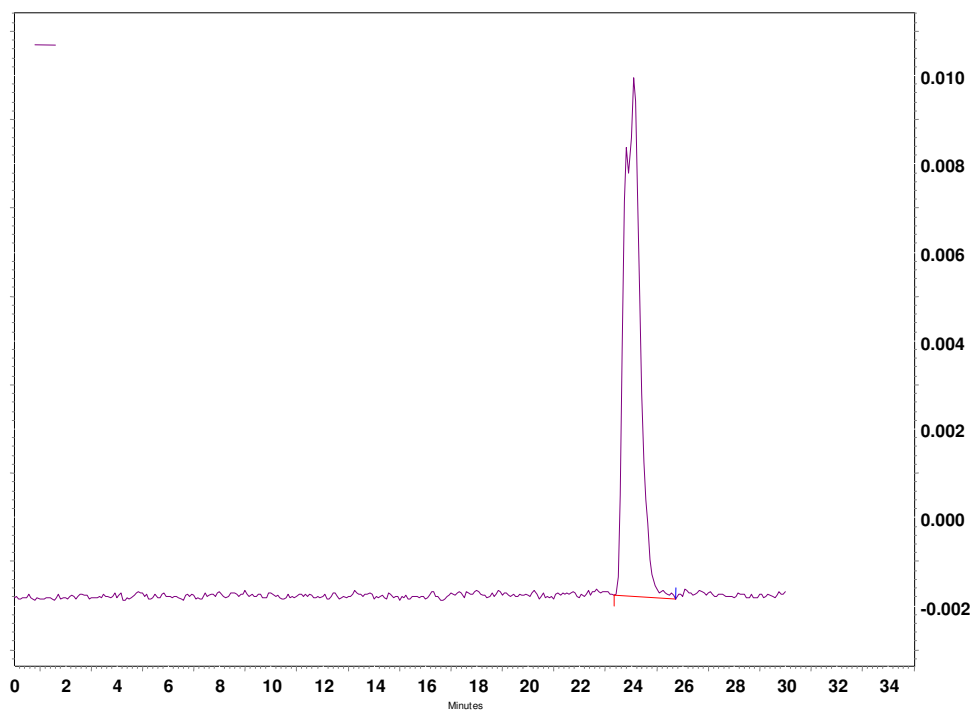
(a)



(b)



(c)



(d)

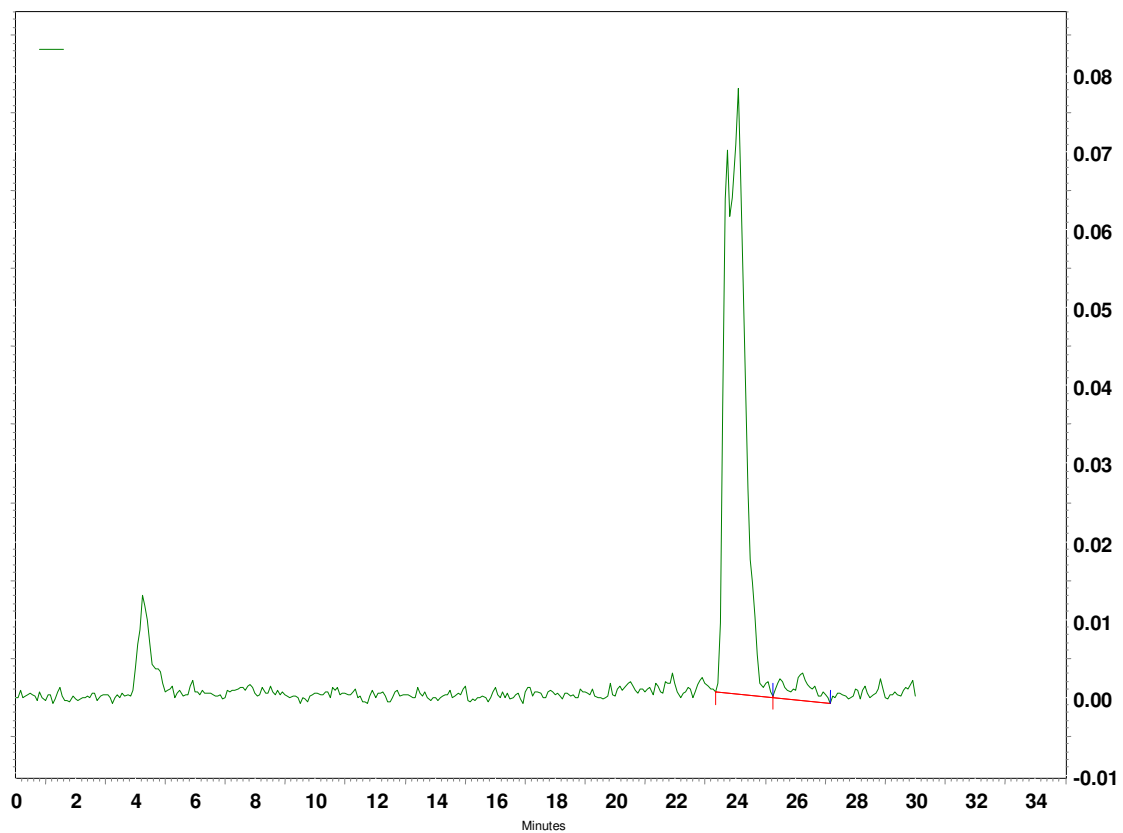


Figure 3-10: Stabilité de $(Z+E)$ -TPEDiOHNC $O^{99m}Tc$ dans le sang. Analyse du serum par CLHP sur colonne C18 Shim-pack VP-ODS. Gradient d'élution (A = 0.1% CF $_3$ COOH /eau ultra pure, B = MeOH): 0-3 min: 100% A; 3-9 min: 75% A; 9 min: 66% A; 9 -20 min: 66%→0% A; 20-25 min: 0% A; 25-30 min: 100% A. Débit: 1 ml/min; Détecteur Gamma (Gabi).Température: 40°C. (a) radiochromatogramme du serum après 1 heure d'incubation (b) radiochromatogramme du serum après 2 heures d'incubation (c) radiochromatogramme du serum de mammifère après 3 heures d'incubation (d) radiochromatogramme du serum de mammifère après 22 heures d'incubation.

2.6. Evaluation pharmacologiques: Etudes précliniques

Les expérimentations animales ont été réalisées chez des rats femelles matures provenant de l'élevage de l'institut pasteur de Tunis en conformité avec les lois sur l'expérimentation animale et après validation d'un conseil d'éthique.

2.6.1. Etude de la cinétique sanguine de $(Z+E)$ -TPEDiOHNC $O^{99m}Tc$

La figure 3-11 représente la cinétique de la biotransformation de $(Z+E)$ -TPEDiOHNC $O^{99m}Tc$. On observe une augmentation considérable de l'activité après 15 min post injection puis une diminution rapide de l'activité allant de 1 heure à 3 heures. L'activité devient faible à partir de 6h jusqu'à 22 heures.

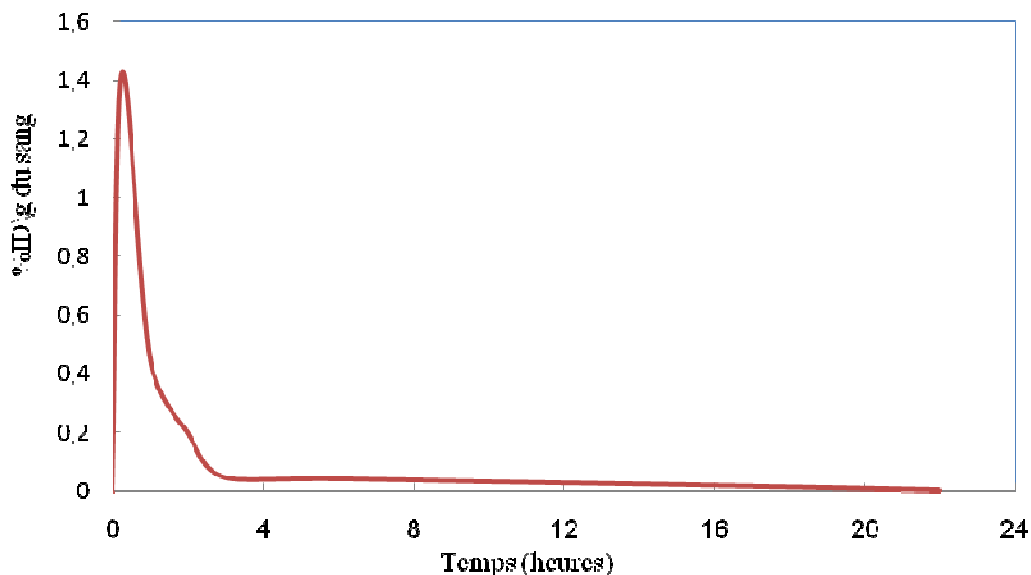


Figure 3-11: Cinétique sanguine de $(Z+E)$ -TPEDiOHNC $O^{99m}Tc$. Biodistribution de la radioactivité en % DI/g du sang chez des rats femelles à différents temps après injection intraveineuse IV de $(Z+E)$ -TPEDiOHNC $O^{99m}Tc$; n=3 ; Dose injectée: 80 μ Ci.

En se basant sur l'activité du $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc contenue dans les échantillons de sang murin prélevés à différents temps post-injection, la demi-vie biologique du traceur a été estimée. La figure 3-12 représente un aspect linéaire de la décroissance des concentrations plasmatiques de $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc.

La biotransformation de $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc dans le sang présente une première phase de métabolisme assez rapide ($T_{\text{eff a}} = 0,58$ h, $T_{\text{ba}} = 0,64$ h) et une phase assez lente ($T_{\text{eff b}} = 5,52$ h, $T_{\text{bb}} = 71,92$ h). La première demi-vie correspond à l'absorption cellulaire et à l'élimination rapide. La seconde demi-vie correspond au métabolisme cellulaire.

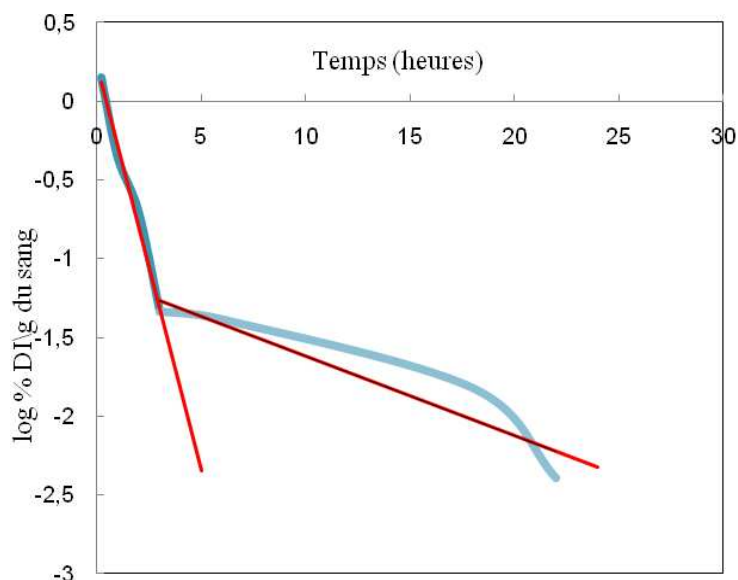


Figure 3-12: Représentation semi logarithmique de la variation de l'activité de $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc dans l'échantillon sanguin in vivo au cours du temps.

2.6.2. Etude de la biodistribution

Pour étudier la biodistribution de $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc, trois rats ont été utilisés pour chaque temps. Les concentrations de la radioactivité sont exprimées en pourcentage de la dose injectée par organe (% DI) et par gramme de tissu (% DI/g du tissu).

La biodistribution et la variation de la rétention du $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc dans les organes au cours du temps sont représentées par le graphique correspondant aux % DI/g du tissu d'organe en fonction des temps de post injection (p.i.), (Tableau 3.IV, figure 3-13).

A 15 min post injection, le taux de fixation du $(Z+E)$ - $\text{TPEDiOHNCO}^{99\text{mTc}}$ par les ovaires est significatif ($1,76 \pm 0,1$ % DI/g). La fixation hépatique et la fixation pulmonaire sont plus élevées par rapport aux autres organes ($17,47 \pm 1,8$ %, $13,89 \pm 1,2$ respectivement). Cette captation pulmonaire entraîne une diminution de la redistribution du radiotracer et par conséquent une diminution de la radioactivité dans les autres organes.

Tableau 3.IV: Biodistribution de la radioactivité en %DI/g de tissu chez des rats femelles à différents temps après injection intraveineuse du (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc; n=3 ; Dose injectée : 80 µCi. Les valeurs sont représentées avec écart type.

	15 min	1 heure	2 heures	3 heures	6 heures	18 heures	22 heures
<i>Sang</i>	1,42 ±0,28	0,45 ±0,09	0,20 ±0,14	0,05 ±0,001	0,04 ±0,02	0,02 ±0,00	0,004 ±0,001
<i>Foie</i>	17,47 ±1,80	4,54 ±0,31	27,03 ±1,21	12,70 ±0,86	5,32 ±0,44	3,54 ±0,30	1,00 ±0,119
<i>Os</i>	0,51 ±0,06	0,24 ±0,08	0,21 ±0,04	0,10 ±0,02	0,03 ±0,001	0,05 ±0,005	0,01 ±0,003
<i>Muscle</i>	0,45 ±0,05	0,22 ±0,02	0,18 ±0,10	0,07 ±0,02	0,06 ±0,01	0,04 ±0,003	0,01 ±0,001
<i>Poumons</i>	13,89 ±1,20	2,34 ±0,70	15,72 ±1,11	4,01 ±0,64	0,23 ±0,04	0,25 ±0,03	0,07 ±0,006
<i>Utérus</i>	0,44 ±0,15	0,20 ±0,05	0,20 ±0,02	0,07 ±0,02	0,04 ±0,01	0,04 ±0,01	0,01 ±0,000
<i>Ovaire</i>	1,76 ±0,10	0,42 ±0,03	0,45 ±0,08	0,13 ±0,01	0,12 ±0,02	0,06 ±0,01	0,02 ±0,002
<i>Rein</i>	4,32 ±0,15	1,48 ±0,31	1,44 ±0,22	0,41 ±0,02	0,47 ±0,03	0,26 ±0,02	0,11 ±0,011
<i>Rate</i>	2,43 ±0,31	0,70 ±0,13	1,23 ±0,14	1,51 ±0,36	0,17 ±0,04	0,09 ±0,00	0,03 ±0,005
<i>Cœur</i>	2,44 ±0,38	0,55 ±0,05	0,62 ±0,06	0,25 ±0,02	0,22 ±0,03	0,06 ±0,01	0,03 ±0,005

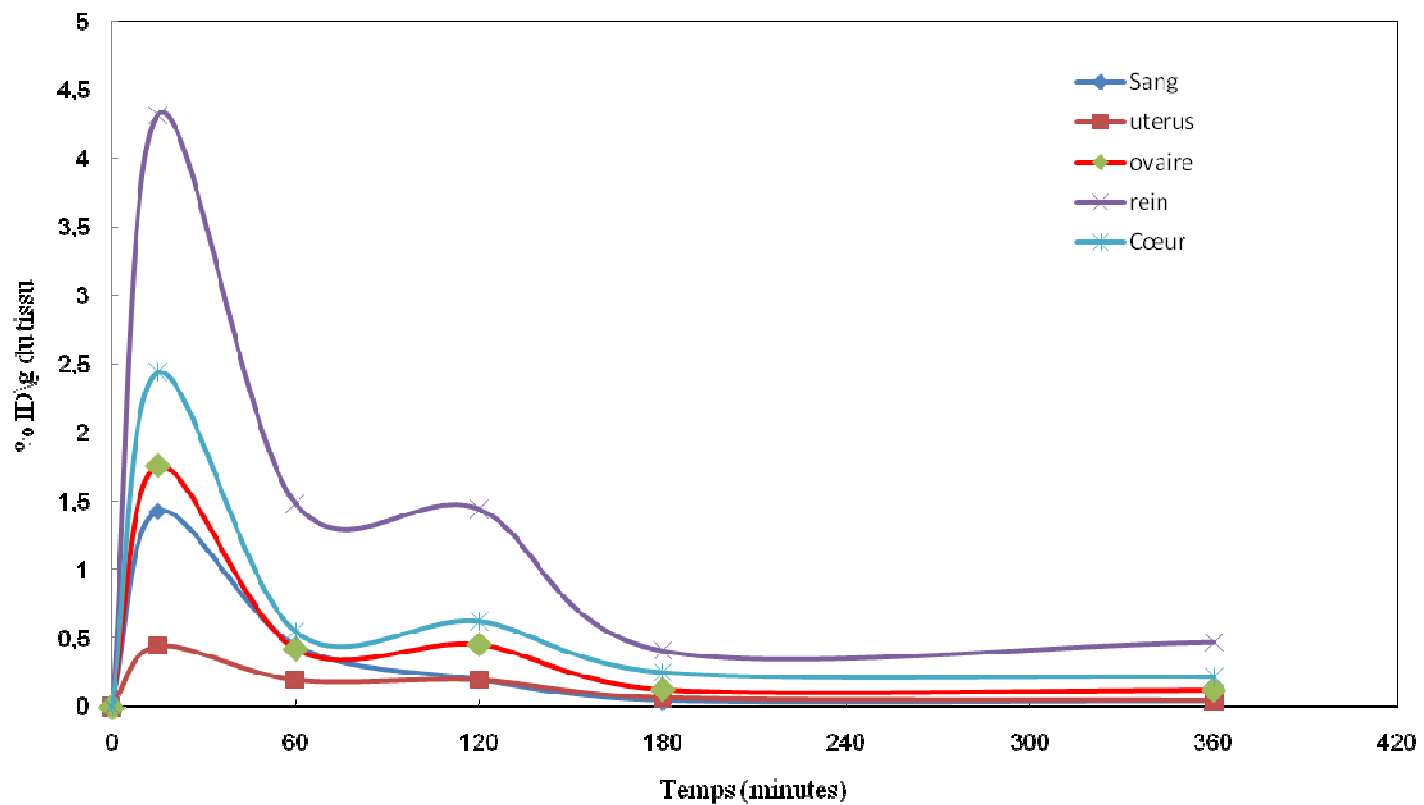


Figure 3-13 : Biodistribution de la radioactivité en %DI/g du tissu chez des rats femelles à différents temps après injection intraveineuse IV du (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc; n=3 ; Dose injectée : 80 µCi.

A 1 h post injection, la fixation du $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc par les ovaires diminue ($0,42 \pm 0,03$)%. On observe une diminution de taux de captation de $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc des différents organes étudiés. A 2 h post injection, on remarque une nette élévation de taux de fixation de $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc au niveau des poumons et du foie ($27,03 \pm 1,21$ % DI/g; $15,72 \pm 1,11$ DI/g%; respectivement).

A 22 h post injection, l'activité de tous les organes est réduite, mais l'activité au niveau du foie reste élevée. Le $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc est éliminé par voie hépatique vu que l'activité retrouvée au niveau du foie est la plus importante. La captation rénale n'est pas très importante, probablement due à la captation pulmonaire. La vessie se vide au décès de l'animal et l'activité réelle éliminée ne peut pas être déterminée.

Afin de vérifier si la rétention de $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc se fait via les récepteurs d'œstrogènes (ER) nous avons utilisé l'œstradiol pour bloquer ces derniers.

15 µg d'œstradiol ont été co-injectés avec le $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc aux rats femelles et la biodistribution à 15 min post injection a été étudiée vue que l'accumulation de notre radiotraceur est maximale à ce temps. Les résultats sont illustrés dans la figure 3-14 et le tableau 3.V.

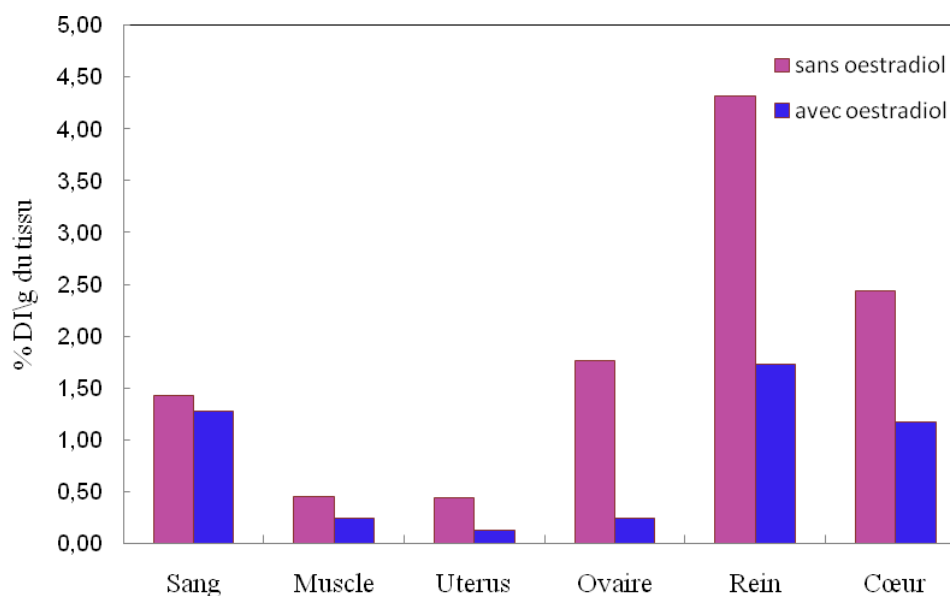


Figure 3-14: Comparaison de la radioactivité exprimée en % DI/g de tissu des organes des rats femelles 15 min après injection intraveineuse du $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc et co-injection de 15 µg d'œstradiol. n=3; Dose injectée: 80µCi.

Tableau 3.V: Biodistribution de la radioactivité en %DI/g de tissu chez des rats femelles à 15 min après injection intraveineuse du **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc**; n=3 ; Dose injectée: 80 µCi. Les valeurs sont représentées avec écart type.

Organes	15 min	15 min inhibée*
Sang	1,42 ± 0,28	1,28 ±0,02
Foie	17,47 ±1,80	17,15 ±0,97
Os	0,51 ±0,06	0,34 ±0,09
Muscle	0,45 ±0,05	0,24 ±0,07
Poumons	13,89 ±1,20	14,00 ±0,79
Utérus	0,44 ±0,15	0,13 ±0,05
Ovaire	1,76 ±0,10	0,25 ±0,04
Rein	4,32 ±0,15	1,73 ±0,24
Rate	2,43 ±0,31	2,73 ±0,68
Cœur	2,44 ±0,38	1,17 ±0,10
Ovaire\Sang	1,27 ±0,32	0,19 ±0,03
Ovaire\Muscle	3,89 ±0,35	1,11 ±0,47
Utérus\Sang	0,30 ±0,05	0,1 ±0,04
Utérus\Muscle	0,99 ±0,40	0,61 ±0,06

*2 h inhibée: co-injection de 15 µg d'oestradiol.

La fixation du **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** par les organes riches en ER (utérus et ovaires) est nettement réduite, elle passe de %DI/g = 0,44±0,15 à 0,13±0,05 pour l'utérus et de %DI/g = 1,76±0,10 à 0,25±0,04 pour les ovaires. Ceci prouve que la fixation au niveau des ovaires et de l'utérus se fait via les ER. Le rapport ovaires/ sang diminue de 1,27± 0, 32 à 0,19 ±0,03 alors que celui de utérus/sang diminue de 3,89 ±0,35 à 1,11 ±0,47. La diminution significative d'activité a été également observée dans les os, le muscle, le rein et le cœur où le récepteur des oestrogènes est présent. Par contre l'activité reste stable dans le sang, le foie, le poumon et la rate.

3. Conclusion

Nous avons synthétisé le composé **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** à partir de son analogue férrocénique **(Z+E)-TPEDiOHNFc** avec un rendement de 75 %. La biodistribution de ce radiotracer chez des rats femelles matures montre un maximum de fixation sélective à 15 min post injection au niveau des ovaires. Suite au blocage des ER par un excès

d'oestradiol, le rapport ovaires/muscle diminue considérablement ce qui signifie que la fixation de (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc se fait via les RE.

4. Partie expérimentale

4.1. Synthèses

Toutes les réactions ont été effectuées sous atmosphère d'argon. L'éther, le THF et le toluène ont été distillés avec un mélange sodium/benzophénone. Le dichlorométhane a été distillé avec P₂O₅. Les autres réactifs et solvants utilisés, tels que le DMF anhydre, sont des produits commerciaux. Les chromatographies sur colonne ont été réalisées sur gel de silice Merck 60 (40-63 µm). Les points de fusion des produits ont été mesurés à l'aide d'un banc Köfler. Les spectres infra-rouges ont été enregistrés sur un spectromètre IR-FT BOMEM Michelson-100. Les analyses RMN ¹H et ¹³C ont été effectuées sur un appareil Bruker 300 MHz. Les solvants RMN utilisés sont le chloroforme deutéré CDCl₃ et l'acétone-d₆. Les déplacements chimiques (δ) sont mesurés en parties par millions (ppm) et les constantes de couplage (J) sont calculées en Hertz (Hz). Les analyses élémentaires des nouveaux produits ont été effectuées au Service de Microanalyse de l'I.C.S.N. à Gif sur Yvette. La spectrométrie de masse a été faite avec Nermag R 10-10C. Le [^{99m}TcO₄]⁻ est élué d'un générateur Mallinckrodt Med. Inc. Inc. La purté radiochimique des composés est déterminée par CLHP en phase inverse (C18 column, 4.6 µm×250 mm, Gradient d'éluion (A = 0,1% CF₃COOH /eau ultra pure, B = MeOH): 0-3 min: 100% A; 3-9 min: 75% A; 9 min: 66% A; 9 -20 min: 66%→0% A; 20-25 min: 0% A; 25-30 min: 100% A. Débit: 1 ml/min; Température: 40°C. L'appareil est équipé d'une sonde radioactive NaI et couplée à un détecteur UV (λ=254nm). Dans ce travail, nous avons eu recours à une instrumentation spécifique de mesure de la radioactivité. Les plaques de chromatographie couche mince (CCM) sont lues au radiochromatographe de type mini-GITA de Ray Test. La mesure des échantillons liquides et solides est réalisée soit sur l'activimètre de type CAPINTEC, INC. CRC_ 35R (pour la mesure des grandes valeurs de radioactivité de l'ordre de MBq). Pour le comptage des faibles valeurs de radioactivité (dans les tissus et les organes), nous avons utilisé un compteur gamma à puits de type CANBERRA (U.S.A.). Tout au long de ce travail, des substances radioactives ont été manipulées. Cette utilisation des éléments radioactifs a été soumise à des restrictions et des règles particulières du fait de leurs effets néfastes sur la santé des personnes exposées aux radiations émises. Le matériel de radioprotection permet la manipulation de la radioactivité tout en assurant la sécurité des individus des rayonnements ionisants. Pour simuler la dose de

radioactivité reçue lors des manipulations, il est requis d'utiliser des dosimètres personnels. Le dosimètre utilisé est un dosimètre thermo luminescent fluoré lithium (TLD F Li).

4.1.1. Synthèse de *Z*-TPEDiOHNCOFc et de *E*-TPEDiOHNCOFc

4-(ter-butyldiméthylsilyloxy)-propiophénone: La synthèse de 4-(ter-butyldiméthylsilyloxy)-propiophénone a été déjà décrite dans le chapitre 2.

4-t-Butyldiméthylsiloxy-4'-nitro-benzophénone: On dissout 4-hydroxy-4'-nitro-benzophénone (2,43 g, 10 mmol) et imidazole (1,36 g) dans le DMF (15 ml). Puis on ajoute le chloro-t-butyldiméthylsilane (1,80 g, 12 mmol) et le mélange est agité pendant 15 h. Le mélange est versé dans l'eau (100 ml). Le produit est extrait avec du dichlorométhane (3 x 60 ml) et la phase organique est lavée avec de l'eau (2 x 50 ml). La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtré et évaporé. Le produit obtenu (5,20 g) est purifié sur colonne de gel de silice donnant 4-t-butyldiméthylsiloxy-4'-nitro-benzophénone sous forme de solide blanc (2,72 g, Rdt: 76 %).

Rf (ether/pentane 1/4): 0,44.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0,26 (s, 6H, (CH₃)₂Si); 1,00 (s, 9H, (CH₃)₃CSi); 6,92 et 7,75 (d, d, 2H, 2H, *J* = 8,6 Hz, C₆H₄); 7,89 et 8,33 (d, d, 2H, 2H, *J* = 8,8 Hz, C₆H₄).

¹³C NMR (75,5 MHz, CDCl₃): δ -4,3 ((CH₃)₂Si); 18,2 ((CH₃)₃CSi); 25,5 ((CH₃)₃CSi); 120,1 (CH, C₆H₄); 123,4 (CH, C₆H₄); 129,4 (C_q, C₆H₄); 130,3 (CH, C₆H₄); 132,4 (CH, C₆H₄); 143,7 (C_q, C₆H₄); 149,5 (C_q, C₆H₄); 160,9 (C_q, C₆H₄); 193,5 (CO).

IR (CH₂Cl₂, cm⁻¹): 1659,5 (CO).

MS (CI) : 358.21 [M+H]⁺.

Pf = 72°C.

***Z* et *E*-1-(p-aminophényl)-1,2-di(p-t-butyldiméthylsiloxy-phényl)-but-1-ène (*E*- et *Z*-TPEDiOSiNH₂):** La poudre de zinc (3,90 g, 60 mmol) est mis en suspension dans du THF distillé (80 ml) à 0°C, le tétrachlorure de titane (TiCl₄) (3,30 ml, 30 mmol) est ajouté goutte à goutte au mélange. Le mélange est chauffé à reflux pendant 2 h puis le bain chaud est retiré pendant 10 min. On dissout la 4-t-butyldiméthylsilyl-propiophénone (1,59 g, 6 mmol) et la 4-amino-4'-t-butyldiméthylsiloxy-benzophénone (2,14 g, 6 mmol) dans 30 ml de THF. On ajoute ce dernier mélange dans la première solution contenant le réactif de McMurry. Le mélange est porté de nouveau à reflux pendant 12 h. Après refroidissement à température ambiante, le mélange est versé dans l'eau (200 ml). La solution est neutralisée par une solution de K₂CO₃ 20% et on extrait les produits à l'éther (3 x 200 ml). La phase organique est lavée avec de l'eau, séchée sur du sulfate de magnésium, filtrée et évaporée. Le produit

brut obtenu est purifié sur une colonne de gel de silice (éluant : éther/éther de pétrole 1/2). On obtient deux fractions:

La première fraction correspond à l'isomère *E*-1-(*p*-amino-phényl)-1,2-di(*p*-butyldiméthylsiloxo-phényl)-but-1-ène, huile jaune, 0,870 g (Rdt :26%).

Rf : 0,75 (éther/pentane 1/1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0,14 et 0,22 (s, s, 6H, 6H, 2 (CH₃)₂Si); 0,91 (t, 3 H, , *J* = 7,4 Hz, CH₃); 0,96 et 1,00 (s, s, 6H, 6H, 2 (CH₃)₃Si); 2,42 (q, 2H, *J* = 7,4 Hz, CH₂); 3,30 (broad s, 2H, NH₂); 6,32 et 6,64 (d, d, 2H, 2 H, *J* = 8,6 Hz, C₆H₄); 6,63 et 6,96 (d, d, 2H, 2 H, *J* = 8,6 Hz, C₆H₄); 6,78 et 7,06 (d, d, 2H, 2 H, *J* = 8,6 Hz, C₆H₄).

¹³C NMR (75,47 MHz, CDCl₃): δ -4,4 (CH₃Si); 13,7 (CH₃); 18,2 et 18,3 (t-BuC); 25,7 (t-Bu); 28,9 (CH₂); 114,1, 119,4, 119,5, 130,5, 130,6, 130,7, 131,9 (6 CH, 3 C₆H₄); 134,0, 135,9, 137,3, 137,6, 139,7, 143,9, 153,6, 153,1, (8 C_q, 3 C₆H₄ + C=C).

IR (CH₂Cl₂, cm⁻¹): 3380 (NH₂).

MS (EI) : 559.34 [M]⁺, 544.36 [M-Me]⁺.

La deuxième fraction correspond à l'isomère *Z*-1-(*p*-amino-phényl)-1,2-di(*p*-butyldiméthylsiloxo-phényl)-but-1-ène, huile jaune, 0,396 g (Rdt: 12%).

Rf : 0,58 (éther/pentane 1/1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0,10 et 0,16 (s, s, 6H, 6H, 2 (CH₃)₂Si); 0,95 (t, 3 H, , *J* = 7,4 Hz, CH₃); 0,94 et 0,96 (s, s, 6H, 6H, 2 (CH₃)₃Si); 2,47 (q, 2H, *J* = 7,4 Hz, CH₂); 3,80 (broad s, 2H, NH₂); 6,46 et 6,70 (d, d, 2H, 2 H, *J* = 8,6 Hz, C₆H₄); 6,62 et 6,92 (d, d, 2H, 2 H, *J* = 8,6 Hz, C₆H₄); 6,65 et 7,01 (d, d, 2H, 2 H, *J* = 8,5 Hz, C₆H₄).

¹³C NMR (75,47 MHz, CDCl₃): δ -4,4 (CH₃Si); 13,7 (CH₃); 18,1 et 18,2 (t-BuC); 25,7 (t-Bu); 28,8 (CH₂); 114,7, 118,7, 119,4, 130,5, 130,7, 131,9 (6 CH, 3 C₆H₄); 134,4, 135,7, 136,9, 137,8, 140,1, 144,7, 153,3, 153,6, (8 C_q, 3 C₆H₄ + C=C).

IR (CH₂Cl₂, cm⁻¹): 3384 (NH₂).

MS (EI) : 559.43 [M]⁺, 544.59 [M-Me]⁺.

***E*-1-(*p*-(ferrocénylcarbonylamino-phényl)-1,2-di(*p*-tert-butyldiméthylsiloxophényl)-but-1-ène** ***E*-TPEDiOSiNCOFc**: Le chlorure d'oxalyle (2 ml) est ajouté à l'acide ferrocénylcarboxylique FcCOOH (230 mg, 1 mmol) refroidi par un bain glacé. 5 min après le bain glacé est enlevé et la solution est agitée pendant 3 h à température ambiante. L'excès du chlorure d'oxalyle est éliminé par aspiration sous vide. Le chlorure d'acide formé est redissout dans du dichlorométhane (4 ml) et le mélange obtenu est ajouté à une solution de 1-(*p*-amino-phenyl)-1,2-di(*p*-t-butyldimethylsiloxo-phenyl)-but-1-ène (130 mg, 0,3 mmol) et

de pyridine (79 mg, 1 mmol) dans du dichlorométhane (4 ml). Le mélange est agité pendant 1.30 h puis versé dans l'eau (40 ml). Le mélange est extrait avec du dichlorométhane (2 x 40 ml). La phase organique est lavée à l'eau (40 ml), séchée sur du sulfate de magnésium, filtrée et évaporée. Le produit est purifié sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant CH₂Cl₂/éther de pétrole 3/1. 1-(p-(ferrocénylcarbonylamino-phényl)-1,2-di(p-tert-butyl-diméthylsiloxypényl)-but-1-ène **E-TPEDIOSiNCOFc** est obtenu sous forme de solide orange (90 mg, Rdt: 51%).

Rf : 0,66 (ether/pentane 1/1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0,16 et 0,22 (s, s, 6H, 6H, 2 (CH₃)₂Si); 0,93 (t, 3 H, *J* = 7,4 Hz, CH₃); 0,95 et 1,00 (s, s, 6H, 6H, 2 (CH₃)₃Si); 2,46 (q, 2H, *J* = 7,4 Hz, CH₂); 4,23 (s, 5H, Cp), 4,39 et 4,73 (broad s, broad s, 2H, 2H, C₅H₄); 6,66 et 6,83 (d, d, 2H, 2 H, *J* = 8,5 Hz, C₆H₄); 6,81 et 6,97 (d, d, 2H, 2 H, *J* = 8,5 Hz, C₆H₄); 7,08 et 7,23 (d, d, 2H, 2H, *J* = 8,5 Hz, C₆H₄N).

¹³C NMR (75,47 MHz, CDCl₃): δ -4,4 (CH₃Si); 13,6 (CH₃); 18,2 et 18,3 (t-BuC); 25,7 (t-Bu); 29,0 (CH₂); 68,5 (2 CH, C₅H₄); 70,2 (Cp); 71,2 (2 CH, C₅H₄); 118,6, 119,6, 119,7, 130,6, 130,7, 131,6 (6 CH, 3 C₆H₄); 135,4, 135,35 136,7, 137,3, 139,4, 141,3, 153,8, 154,3 (8 C_q, 3 C₆H₄ + C=C), 168,2 (CO).

IR (CH₂Cl₂, cm⁻¹): 1671 (CO).

MS (EI) : 771,24 [M]⁺, 714,26 [M-tBu]⁺.

Analyse: C₄₅H₅₇FeNO₃Si₂ calculé: C, 70,01; H, 7,44; N, 1,81. trouvé : C, 70,05; H, 7,39; N, 1,72.

Pf = 148°C (éther/hexane).

La configuration *E* de cet isomère a été déterminée par analyse structurale aux rayons X.

Z-1-(p-(ferrocénylcarbonylamino-phényl)-1,2-di(p-tert-butyl-diméthylsiloxypényl)-but-1-ène Z-TPEDIOSiNCOFc: Le chlorure d'oxalyle (3 ml) est ajouté à l'acide ferrocénylcarboxylique FcCOOH (460 mg, 2 mmol) refroidi par un bain glacé. 5 min après le bain glacé est enlevé et la solution est agité pendant 3 h à température ambiante. L'excès du chlorure d'oxalyle est enlevé par aspiration sous vide. Le chlorure d'acide formé est redissout dans du dichlorométhane (8 ml) et le mélange obtenu est ajouté à une solution de 1-(p-amino-phényl)-1,2-di(p-t-butyl-diméthylsiloxypényl)-but-1-ène (423 mg, 0,75 mmol) et de pyridine (158 mg, 2 mmol) dans du dichlorométhane (8 ml). Le mélange est agité pendant 1,30 h puis versé dans 50 ml de dichlorométhane. La solution est lavée à l'eau (2 x 30 ml), séchée sur du sulfate de magnésium, filtrée et évaporée. Le produit est purifié sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant CH₂Cl₂/éther de pétrole 2/1. 1-(p-(ferrocénylcarbonylamino-phényl)-

1,2-di(p-tert-butyldiméthylsiloxypényl)-but-1-ène **Z-TPEDiOSiNCOFc** est obtenu sous forme d'un solide orange (372 mg, Rdt: 64%).

Rf : 0,53 (éther/pentane 1/1).

IR (CH₂Cl₂, cm⁻¹): 1671 (CO).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0,11 et 0,17 (s, s, 6H, 6H, 2 (CH₃)₂Si); 0,92 et 0,96 (s, s, 6H, 6H, 2 (CH₃)₃Si); 0,95 (caché par le signal du (CH₃)₃Si, CH₃); 2,51 (q, 2 H, J = 7,5 Hz, CH₂); 4,31 (s, 5H, Cp), 4,45 et 4,81 (s largee, s large, 2H, 2H, C₅H₄); 6,47 et 6,70 (d, d, 2H, 2 H, J = 8,6 Hz, C₆H₄); 6,63 et 6,94 (d, d, 2H, 2 H, J = 8,6 Hz, C₆H₄); 7,21 et 7,56 (d, d, 2H, 2H, J = 8,3 Hz, C₆H₄N).

¹³C NMR (75,47 MHz, CDCl₃): δ -4,4 (CH₃Si); 13,7 (CH₃); 18,1 et 18,2 (t-BuC); 25,7 (t-Bu); 28,8 (CH₂); 68,3 (2 CH, C₅H₄); 70,0 (Cp); 70,9 (2 CH, C₅H₄); 76,3 (C_{ip}, C₅H₄); 118,9, 119,5, 130,2, 130,7, 131,9 (6 CH, 3 C₆H₄); 135,3, 136,3, 136,5, 137,2, 139,9, 141,1, 153,5, 153,8, (8 C_q, 3 C₆H₄ + C=C), 168,7 (CO).

MS (CI) : 772,47 [M+H]⁺.

Analyse: C₄₅H₅₇FeNO₃Si₂ calculé: C, 70,01; H, 7,44; N, 1,81. trouvé : C, 70,05; H, 7,39; N, 1,72.

Pf = 182°C.

E-1-(p-(ferrocénylcarbonylamino-phényl)-1,2-di(p-hydroxyphényl)-but-1-ène **E-TPEDiOHNCOFc**: On dissout le *E*-1-(p-(ferrocénylcarbonylamino-phényl)-1,2-di(p-tert-butyldiméthylsiloxypényl)-but-1-ène (90 mg, 0,12 mmol) dans du THF (3 ml). 0,15 ml (0,15 mmol) de nBu₄NF (solution 1M dans THF) est ajouté. Après 15 min d'agitation, le mélange est évaporé. Le produit est redissout dans 1 ml de méthanol et 2 ml de dichlorométhane et purifié sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant dichlorométhane/éther 3/1. *E*-1-(p-(ferrocénylcarbonylamino-phényl)-1,2-di(p-hydroxyphényl)-but-1-ène est obtenu sous forme de solide orange (55 mg, Rdt:84%).

Rf : 0,67 (CH₂Cl₂/ether 2/1).

¹H NMR (300 MHz, CD₃COCD₃): δ 0,93 (s, 3H, J = 7,4 Hz, CH₃); 2,46 (q, 2H, J = 7,4 Hz, CH₂); 4,19 (s, 5H, Cp), 4,37 et 4,90 (t, t, 2H, 2H, J = 1,9 Hz, C₅H₄); 6,67 et 6,84 (d, d, 2H, 2 H, J = 8,7 Hz, C₆H₄); 6,82 et 6,99 (d, d, 2H, 2 H, J = 8,6 Hz, C₆H₄); 7,06 et 7,40 (d, d, 2H, 2H, J = 8,6 Hz, C₆H₄N); 8,70 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (75,47 MHz, CD₃COCD₃): δ 15,6 (CH₃); 29,5 (CH₂); 69,3 (2 CH, C₅H₄); 70,4 (Cp); 71,4 (2 CH, C₅H₄); 77,8 (C_{ip}, C₅H₄); 115,6, 115,8, 119,7, 131,4, 131,6, 131,8 (6 CH, 3

C₆H₄); 134,3, 136,0, 137,8, 138,5, 139,9, 141,7, 156,6, 157,0, (8 C_q, 3 C₆H₄ + C=C), 168,8 (CO).

L'isomère *E* s'isomérisse progressivement dans l'acétone pour donner à la fin une proportion de E/Z = 60/40.

IR (CH₂Cl₂, cm⁻¹): 1671 (CO).

MS (EI) : 543,18 [MH]⁺.

CLHP: Tr = 3,80 (Kromasil C18, 10 microns, 4,6x250 mm, CH₃CN/H₂O = 80/20, 1ml/min)

Z-1-(p-(ferrocénylcarbonylamino-phényl)-1,2-di(p-hydroxyphényl)-but-1-ène **Z-**

TPEDIOHNCOfc: On dissout le Z-1-(p-(ferrocénylcarbonylamino-phényl)-1,2-di(p-tert-butylidiméthylsiloxypényl)-but-1-ène (175 mg, 0,23 mmol) dans du THF (6 ml). 0,50 ml (0,50 mmol) de nBu₄NF (solution 1M dans THF) est ajouté. Après 15 min d'agitation, 30 ml de méthanol et 130 ml d'acétate d'éthyle sont ajoutés. La solution est lavée avec de l'eau (2 x 30 ml), séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée. On obtient une huile orange qui abandonne des cristaux orange après une nuit à température ambiante. Après élimination de l'huile restante par lavage avec un mélange éther/pentane, on obtient le Z-1-(p-(ferrocénylcarbonylamino-phényl)-1,2-di(p-hydroxyphényl)-but-1-ène pratiquement pur sous forme de cristaux orange (100 mg, Rdt: 80%).

Rf : 0,53 (CH₂Cl₂/ether 2/1).

¹H NMR (300 MHz, CD₃COCD₃): δ 0,92 (s, 3H, *J* = 7,4 Hz, CH₃); 2,46 (q, 2H, *J* = 7,4 Hz, CH₂); 4,24 (s, 5H, Cp), 4,42 and 4,96 (t, t, 2H, 2H, *J* = 1,9 Hz, C₅H₄); 6,52 et 6,73 (d, d, 2H, 2 H, *J* = 8,7 Hz, C₆H₄); 6,65 et 6,98 (d, d, 2H, 2 H, *J* = 8,7 Hz, C₆H₄); 7,16 et 7,74 (d, d, 2H, 2H, *J* = 8,6 Hz, C₆H₄N); 8,88 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (75,47 MHz, CD₃COCD₃): δ 13,3 (CH₃); 29,5 (CH₂); 68,7 (2 CH, C₅H₄); 69,8 (Cp); 70,7 (2 CH, C₅H₄); 77,1 (C_{ip}, C₅H₄); 114,4, 114,9, 119,8, 129,7, 130,9, 132,1 (6 CH, 3 C₆H₄); 133,6, 135,1, 137,8, 138,1, 139,5, 140,6, 155,5, 155,8, (8 C_q, 3 C₆H₄ + C=C), 168,5 (CO).

IR (CH₂Cl₂, cm⁻¹): 1670 (CO).

MS (CI) : 544,25 [M+H]⁺.

Analyse: C₃₃H₂₉FeNO₃.1/2H₂O calculé: C, 71,75; H, 5,47; N, 2,39. trouvé : C, 72,03; H, 5,51; N, 2,45.

CLHP: Tr= 4,36 min (Kromasil C18, 10 microns, 4,6x250 mm, CH₃CN/H₂O = 80/20, 1ml/min).

4.1.2. Synthèse du ***E*-1-(p-(tricarbonylcyclopentadiénylmanganèse carboxy-amino-phényl)-1,2-di(p-hydroxyphényl)-but-1-ène (E-TPEDIHNCOMn)**

***E*-1-(p-(tricarbonylcyclopentadiénylmanganèse carboxy-amino-phényl)-1,2-di(p-tert-butylidiméthylsiloxyphényl)-but-1-ène E-TPEDIOSiNCOMn** : Le chlorure d'oxalyle (2 m) est ajouté à l'acide tricarbonylcyclopentadiénylmanganèse carboxylique (C₅H₄COOH)Mn(CO)₃ (400 mg, 1,61 mmol). Le mélange est chauffé à 40°C pendant 2 h. L'excès du chlorure d'oxalyle est enlevé par aspiration sous vide. Le chlorure d'acide formé est redissout dans du dichloromethane (5 ml) et le mélange obtenu est ajouté à une solution de *E*-1-(p-amino-phenyl)-1,2-di(p-t-butylidiméthylsiloxy-phenyl)-but-1-ène (190 mg, 0,34 mmol) et de pyridine (79 mg, 1 mmol) dans du dichlorométhane (5 ml). Le mélange est agité pendant 2 h puis versé dans l'eau (50 ml). Le mélange est extrait avec du dichlorométhane (3 x 40 ml). La phase organique est lavée à l'eau (40 ml), séchée sur sulfate de magnesium, filtrée et évaporée. Le produit est purifié sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant éther/éther de pétrole 1/1. *E*-1-(p-(tricarbonylcyclopentadiénylmanganèse carboxy-amino-phényl)-1,2-di(p-tert-butylidiméthylsiloxyphényl)-but-1-ène ***E*-TPEDIOSiNCOMn** est obtenu sous forme d'huile jaune (123 mg, Rdt: 46%).

IR (CH₂Cl₂, cm⁻¹): 2030 (MnCO), 1948 (MnCO), 1682 (NHCO).

Le produit est utilisé tel quel pour la prochaine étape.

***E*-1-(p-(tricarbonylcyclopentadiénylmanganèse carboxy-amino-phényl)-1,2-di(p-hydroxyphényl)-but-1-ène (E-TPEDIHNCOMn)**: On dissout le *E*-1-(p-tricarbonylcyclopentadiénylmanganèse carboxy-amino-phényl)-1,2-di(p-tert-butylidiméthylsiloxyphényl)-but-1-ène (110 mg, 0,14 mmol) dans 5 ml d'éthanol. 0,1 ml de HClconc est ajouté dans la solution. La solution est chauffée à 70 °C pendant 20 min. On enlève le bain chaud et on ajoute 50 ml d'éther. Le mélange est lavé avec de l'eau, séché sous MgSO₄, filtré et évaporé. Le produit brut est purifié sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant éther/éther de pétrole 4/1. On obtient le *E*-1-(p-tricarbonylcyclopentadiénylmanganèse carboxy-amino-phényl)-1,2-di(p-hydroxyphényl)-but-1-ène sous forme de solide jaune (80 mg, Rdt: 62%).

pf= 142°C (éther/hexane).

Rf : 0,71 (éther).

¹H NMR (400 MHz, CD₃COCD₃): δ 0,92 (s, 3H, *J* = 5,5 Hz, CH₃); 2,46 (q, 2H, *J* = 5,5 Hz, CH₂); 5,06 (s, 2H, C₅H₄), 5,74 (s, 2H, C₅H₄), 6,65 et 6,83 (d, d, 2H, 2 H, *J* = 8,7 Hz, C₆H₄);

6,83 et 6,97 (d, d, 2H, 2H, $J = 8,7$ Hz, C₆H₄); 7,05 et 7,35 (d, d, 2H, 2H, $J = 8,6$ Hz, C₆H₄N); 8,18 et 8,34 (s, s, 1H, 1H, 2 OH); 9,01 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (100 MHz, CD₃COCD₃): δ 13,8 (CH₃); 29,9 (CH₂); 84,4 (2 CH, C₅H₄); 86,4 (2 CH, C₅H₄); 92,7 (C_{ip}, C₅H₄); 115,5, 115,7, 119,8, 131,2, 131,5, 131,7 (6 CH, 3 C₆H₄); 134,1, 135,7, 136,8, 138,2, 140,6, 141,9, 156,5, 156,9, (8 C_q, 3 C₆H₄ + C=C), 162,1 (CO).

IR (CH₂Cl₂) : 2030 et 1938 (Mn(CO)), 1732 et 1682 (CO).

MS (ED): 561,12 [MH]⁺, 477,22 [M-3CO]⁺.

Analyse: C₃₁H₂₄MnNO₆.1/2H₂O calculé: C, 65,38; H, 4,25; N, 2,46. trouvé: C, 65,62; H, 4,56; N, 2,39.

CLHP: Tr = 3,90 (colonne Kromasil C18, 10 microns, 4,6x250 mm, CH₃CN/H₂O = 80/20, 1ml/min).

CLHP: Tr =23,21 min [colonne C18 Shim-pack VP-ODS; gradient d'éluion (A = 0,1% CF₃COOH /eau ultra pure, B = MeOH): 0-3 min: 100% A; 3-9 min: 75% A; 9 min: 66% A; 9-20 min: 66%→0% A; 20-25 min: 0% A; 25 -30 min: 100% A. Débit: 1 ml/min) ; température: 40°C].

4.1.3. Synthèse de (Z+E-TPEDIHNCO ^{99m}Tc)

Dans un petit flacon étanche de 3 ml, on dissout 1 mg de Z -1-(p-(ferrocénylcarbonylamino-phényl)-1,2-di(p-hydroxyphényl)-but-1-ène (Z+E-TPEDIHNCOFc), 1 mg de Mn(CO₅)Br dans 150 μ l de DMF. Puis, 150 μ L de la solution saline de pertechnétate de sodium est ajouté au mélange. Le flacon est fermé sous atmosphère d'azote puis placé dans un bain d'huile à 150° C pendant une heure. Le mélange est purifié par CCM en utilisant l'éther comme éluant pour donner le (Z+E)-1-(p-(tricaronylcyclopentadiényl)-[^{99m}Tc]-technétium carboxy-amino-phényl)-1,2-di(p-hydroxyphenyl)-but-1-ène (Z+E-TPEDIHNCO ^{99m}Tc) (Rdt:70-75 %).

Rf = 0,69 (éther).

CLHP: Tr=24,36 min [colonne C18 Shim-pack VP-ODS; gradient d'éluion (A = 0,1% CF₃COOH /eau ultra pure, B = MeOH): 0-3 min: 100% A; 3-9 min: 75% A; 9 min: 66% A; 9-20 min: 66%→0% A; 20-25 min: 0% A; 25 -30 min: 100% A. Débit: 1 ml/min) ; température: 40°C].

4.2. Etude biologique

4.2.1. Détermination de la répartition sanguine et de la stabilité in vitro du (Z+E)-TPEDIHNCO ^{99m}Tc

La répartition sanguine de **(Z+E)-TPEDiOHNCO ^{99m}Tc** a été étudiée dans le sang de rat héparinisé (rat Wistar femelle mature). Le sang entier (5ml) a été incubé avec 70 µCi de **(Z+E)-TPEDiOHNCO ^{99m}Tc** dans 100 µl d'éthanol pendant 30 minutes, 1 h, 2 h, 3 h, 6 h et 22 h à 37°C. 1 ml de sang est prélevé et centrifugé à 5000 trs/min pendant 5 min, puis le culot cellulaire et le surnageant sont séparés, comptés au compteur gamma à puits. L'acétonitrile est ajouté au plasma pour précipiter les protéines plasmatiques (Parent et al., 2006). Ensuite une centrifugation à 5000 trs/min a été effectuée pendant 5 min, Le sérum est alors séparé du culot protéique et les fractions ont été de nouveau comptées. Le sérum est filtré et analysé par CLHP.

4.2.2. *Etude de la stabilité de (Z+E)-TPEDiOHNCO ^{99m}Tc dans le tampon phosphate*

On incube **(Z+E)-TPEDiOHNCO ^{99m}Tc** (100 µl, 50 µCi) purifié dans 900 µl de tampon phosphate frais (0,1M, pH 7,4) dans un bain marie à 37°C. On prélève des aliquotes du mélange à 30 minutes, 1 h, 2 h, 3 h et 24 h. Ces aliquotes sont analysés par CLHP.

4.2.3. *Etude de la biodistribution in vivo*

Les études de biodistribution ont été effectuées selon le règlement du conseil d'éthique national utilisant des rats Wistar femelles matures (âgés de 5-6 semaines) pesant entre 180 et 200 g. Le **(Z+E)-TPEDiOHNCO ^{99m}Tc** purifié est reconstitué dans une solution saline à 15 % d'éthanol et injecté par la veine caudale sous une légère anesthésie par l'éther diéthylique. La dose employée pour chaque groupe d'animaux (n= 3) est de 80 µCi dans un volume de 300 µl et un seul groupe d'animaux est coinjecté avec le radiotracer, un inhibiteur d'œstradiol (15 µg). A 15 minutes, 1h, 2 h, 3, h, 6h, 18 h et 22 h postinjection du **(Z+E)-TPEDiOHNCO ^{99m}Tc**, les animaux sont sacrifiés par ponction cardiaque. Les tissus ont été prélevés, pesés et leur radioactivité a été mesurée. Le pourcentage de dose injectée par organe (%DI) est calculé selon la formule suivante : % DI = activité détectée par organe ×100/ Activité totale injectée. Ensuite le %DI/g de tissu est calculé comme suit : % DI/g= % dose injectée par organe/masse de l'organe(g). Pour chaque groupe d'animaux, les résultats sont mis sous forme de moyenne et l'écart type est calculé. Les données ont été traitées par analyse de la variance multifactorielle (ANOVA, SPSS 12.0 pour Windows) et les différences significatives ont été considérées utilisant le test de student au p < 0,05.

4.2.4. *Mesure du coefficient de partage*

Après avoir purifié le complexe (*Z+E*) **TPEDiOHNCO^{99m}Tc**, nous avons étudié sa lipophilie par mesure de son coefficient de partage entre une solution aqueuse (tampon Tris-HCl) de pH= 7,4 et une solution de n-octanol. La méthode de mesure du coefficient de partage a été déjà décrite dans le chapitre 2.

CHAPITRE 4

Synthèse et biodistribution de N-[4-nitro-3-trifluorométhyl-phényl]-[^{99m}Tc]-technétiumcyclopentadiényltricarboxamide (NF^{99m}Tc)

1. Introduction

Le cancer de la prostate (CaP) est actuellement le cancer le plus commun chez les hommes et le second en terme du nombre de décès chez l'homme devant le cancer du poumon (Jemal et al., 2009). En 2009 aux USA, 27,360 décès étaient attendus. La probabilité de développer un cancer de la prostate entre la naissance et le décès est de 1/6. Son incidence est approximativement 85.000 en Europe (Bray et al., 2002) et 25.000 en France (Menegoz et al., 1997). La testostérone est le principal androgène circulant. Cette hormone masculine intervient, directement ou par l'intermédiaire de sa bioconversion en un androgène plus puissant, la dihydrotestostérone (DHT), pour le développement et maintien des cellules de la prostate normales. Le mécanisme d'action des androgènes se fait via le récepteur des androgènes (AR) (Ross et al., 1998; Rokhlin et al., 2005; Coffey et al., 2002). Chez les hommes adultes, il a été clairement établi que les androgènes jouent un rôle majeur dans les désordres prostatiques, tels que l'hypertrophie bénigne de la prostate (BPH) et le cancer de la prostate (Sciarra et al., 1990). Le cancer de la prostate peut être dépendant ou indépendant des hormones mâles, mais la plupart d'entre eux sont hormono-dépendants. Sa thérapie est plus efficace lorsque le cancer est diagnostiqué à un stade précoce (Labrie et al., 2004). Le dépistage du CaP repose sur des tests complémentaires incluant un test sanguin afin de doser l'Antigène Spécifique de la Prostate (PSA), un toucher rectal, et un diagnostic issu d'un examen par imagerie révélant les anomalies de la glande prostatique. Que la maladie ait une progression lente ou agressive, elle ne peut être détectée de façon certaine qu'avec une biopsie. Cependant ce carcinome est souvent asymptomatique, et une technique de diagnostic fiable est requise. En effet, une évaluation précise de l'étendue du cancer est d'importance fondamentale pour choisir une option thérapeutique appropriée. Actuellement, des nouvelles méthodes de diagnostic telles que l'imagerie par résonance magnétique (IRM), ultra sons et tomographie par émission des positrons (TEP) ont été développées pour l'imagerie du cancer de la prostate. La TEP, utilisant des radio-isotopes émetteurs (β^+), fut un temps considéré comme prometteuse (DeGardo et al., 2006; Hara et al., 2002; Jacobson et al., 2005; Parent et al., 2006; Parent et al., 2007; Reske et al., 2006). Cependant cette technique d'imagerie a ses limites due à la difficulté de production des isotopes émetteurs de position de courte demi vie et la nécessité d'une instrumentation lourde. En effet, à la différence de la grande majorité des autres tumeurs, il n'y a pas, à ce jour de méthode d'imagerie permettant

une cartographie fiable du cancer dans la prostate. Ceci reste un défi pour l'imagerie. Le développement des radiotraceurs marqués au ^{99m}Tc et utilisés comme agents d'imagerie en tomographie à émission monophotonique (TEMP) fournirait une alternative pour les hôpitaux équipés de TEMP caméra. À notre connaissance, peu de composés ont été marqués au ^{99m}Tc pour leur éventuelle utilisation en imagerie du cancer de la prostate (Das et al., 2006; He et al., 2009).

Dans ce chapitre, nous abordons le problème de l'imagerie en synthétisant un nouveau dérivé organométallique de la flutamide marquée au Tc-99m, NF^{99m}Tc (figure 4-1). La flutamide est un anti-androgène non stéroïdien, médicament utilisé contre le cancer de la prostate. L'utilisation du ^{99m}Tc comme radioélément semble être un choix judicieux. En effet, le temps de sa demi-vie physique et ses propriétés physico-chimiques s'avèrent bien adaptés aux exigences de nombreuses études de diagnostic. NF^{99m}Tc a été préparé selon la réaction d'échange de ligands à partir son analogue ferrocénique NFFe . L'identification du NF^{99m}Tc a été réalisée par comparaison avec son analogue rhénié NFRe . NFFe et NFRe ont été préparés par S. Masi (Dallagi et al., 2010).

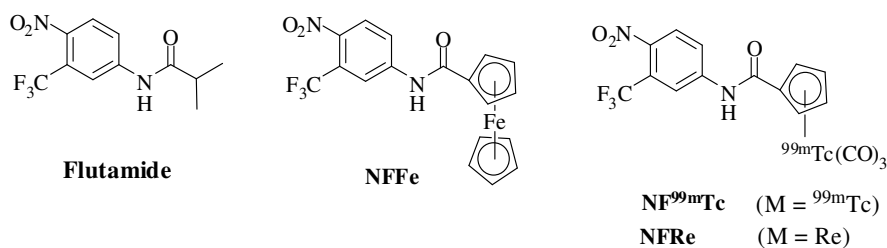


Figure 4-1: Flutamide, NFFe , NF^{99m}Tc et NFRe .

2. Résultats et discussion

2.1. Synthèse Chimique

2.1.1. Synthèse du NFFe

Le N-[4-nitro-3-trifluorométhyl-phényl]-ferrocèncarboxamide (NFFe) est obtenu en faisant réagir le 4-nitro-3-trifluorométhyl-aniline avec le chlorure d'acide du ferrocène préparé à partir de l'acide ferrocénylcarboxylique par réaction avec le chlorure d'oxalyle (Schéma 4-1).

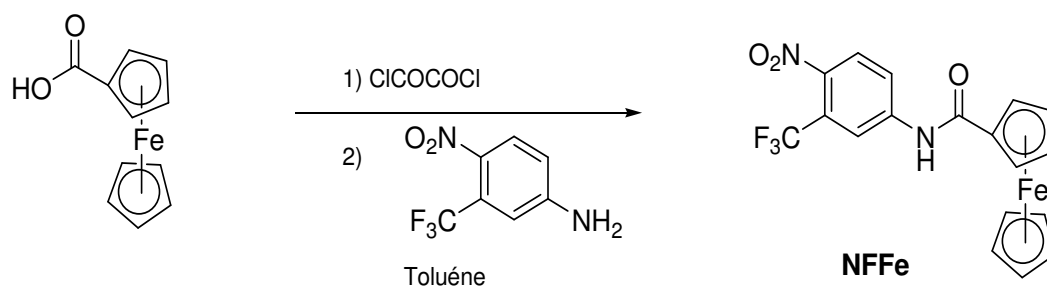


Schéma 4-1 : Synthèse du **NFFe**.

Le **NFFe** purifié est un solide orange, le rendement de la synthèse est de 75 %.

2.1.2 Synthèse du **NFRe**

N-[4-nitro-3-trifluorométhyl-phényl]-rhéniumcyclopentadiényltricarboxyl-carboxamide (**NFRe**) peut être préparé selon le même schéma réactionnel de la synthèse du **NFFe** mais la réaction d'échange entre **NFFe** et $[\text{Re}(\text{CO})_6]^+[\text{BF}_4]^-$ a été choisie (Top et al., 2002) parce que, premièrement, cette réaction évite la synthèse de l'acide cyclopentadiényltricarboxylrhéniumcarboxylique et, deuxièmement, elle peut être employée comme modèle pour la préparation des composés du technétium (Masi et al., 2004). Ainsi, on chauffe le **NFFe** avec $[\text{Re}(\text{CO})_6]^+[\text{BF}_4]^-$ dans du DMSO pendant 35 min à 160° C. **NFRe** est obtenu avec un rendement de 20 % (Schéma 4-2).

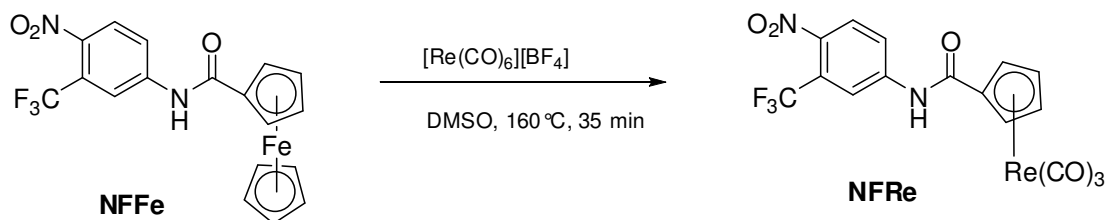


Schéma 4-2: Synthèse du **NFRe**.

Il a été démontré que la première étape de la réaction est la substitution des 3 CO de $[\text{Re}(\text{CO})_6]^+[\text{BF}_4]^-$ par le DMSO pour produire $\text{fac-}[\text{Re}(\text{DMSO})_3(\text{CO})_3]^+$ qui réagit plus tard avec un dérivé ferrocénique (Masi et al., 2004). Il est évident que $\text{fac-}[\text{Re}(\text{DMSO})_3(\text{CO})_3]^+$ est similaire au réactif d'Alberto $\text{fac-}[^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$. Par conséquent, la réaction d'échange entre $\text{fac-}[^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ et **NFFe** devrait fonctionner de la même manière.

2.2. Synthèse du $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$

Le cyclopentadiényltricarboxyltechnétium N-[4-nitro-3-trifluorométhyl-phényl]carboxamide ($\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$) a été préparé sous la forme de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ à partir de son homologue ferrocénique, le N-[4-nitro-3-trifluorométhyl-phényl]-ferrocénecarboxamide (**NFFe**) (schéma

4-3) en utilisant le réactif d'Alberto $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ (Spradau et al., 1999; Spradau and Katzenellenbogen., 1998; Minutolo and Katzenellenbogen., 1999; Masi et al., 2004). Ce réactif préparé par Alberto et al (Alberto et al., 2001; Alberto., 2007), est un précurseur polyvalent pour la synthèse d'une nouvelle classe de radiopharmaceutiques (Alberto et al., 2009; Alberto et al., 1999; Van Staveren et al, 2004.; Müller et al, 2007; Biechlin et al., 2008).

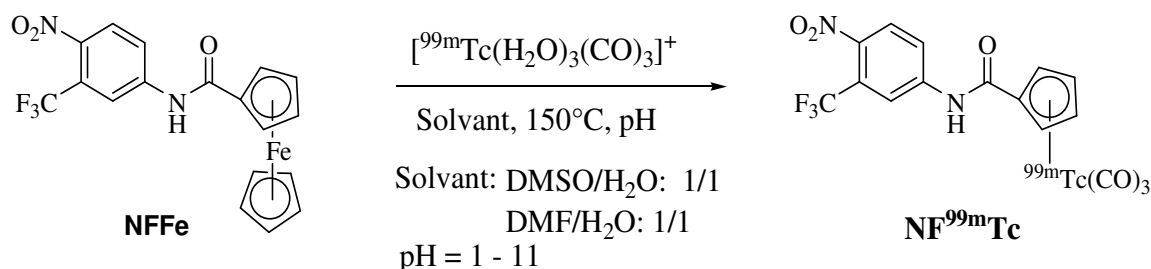


Schéma 4-3: Synthèse du $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$

L'activité spécifique du $^{99\text{m}}\text{Tc}$ est très élevée, la caractérisation du composé technétié n'est possible que par CLHP et par comparaison avec le composé de rhénium utilisé comme référence.

2.2.1. Optimisation de la réaction de radiomarquage

150 μl de solution aqueuse de $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$, préparé via la procédure d'Alberto (Alberto et al., 2001; Wald et al., 2001), sont ajoutés à une solution de **NFFe** dans le DMSO (10^{-2} mM) à pH 7. Le mélange est chauffé à 150°C pendant 1 heure (tableau 4.I). La réaction est suivie par un radiochromatographe équipé d'un γ radiodétecteur. Dans ces conditions, la réaction n'a pas eu lieu. Ceci est très différent de la série d'éthinylœstradiol où la réaction de substitution s'est produite dans DMSO/eau en milieu alcalin donnant un rendement très élevé, supérieur à 90% (Masi et al., 2004). La réaction n'a pas fonctionné également en milieu alcalin (pH= 11) ou en milieu acide (pH= 1). Il a été démontré dans le cas des composés de rhénium que le choix de solvant est crucial pour ce type de réaction. DMSO et DMF ont été trouvés comme les meilleurs solvants, MeOH donne un rendement plus faible alors que l'acétonitrile et l'éthanol ne produisent pas les complexes de rhénium (Top et al., 2002). Par conséquent, le DMF a été choisi pour les réactions suivantes. La réaction effectuée dans le milieu alcalin ou neutre n'a pas produit $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$. $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ a commencé à former seulement quand le milieu est devenu acide. Le rendement augment de 42% à 63% et puis à 82% quand le pH diminue de 3 à 2 et puis à 1. Ces résultats indiquent

que la réaction exige un pH 1 afin d'obtenir $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ avec un bon rendement. L'augmentation du temps de chauffage à plus d'une heure n'améliore pas le rendement, par contre il s'est formé plus de sous-produits à la place du produit désiré. Par conséquent, les conditions optimales pour la synthèse du $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ sont l'utilisation du DMF comme solvant à pH 1 à 150° C pendant 1 heure.

Tableau 4.I: Réaction de NFFe avec $[\text{Tc}^{99\text{m}}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ selon différentes conditions.

	Solvants	Temps de réaction	Température de la réaction	pH	Rendement de $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ ^a (%)
1	DMSO\H ₂ O (1 :1)	1 h	160°C	7	NP^b
2	DMF\H ₂ O (1 :1)	1 h	150°C	7	NP^b
3	DMSO\H ₂ O (1 :1)	1 h	160°C	11	NP^b
4	DMF\H ₂ O (1 :1)	1 h	150°C	11	NP^b
5	DMF\H ₂ O (1 :1)	1 h	150°C	5	21-27
6	DMF\H ₂ O (1 :1)	2 h	150°C	5	29
7	DMF\H ₂ O (1 :1)	1 h	150°C	4	31
8	DMF\H ₂ O (1 :1)	1 h	150°C	3	42
9	DMF\H ₂ O (1 :2)	1 h	150°C	3	11
10	DMF\H ₂ O (1 :1)	1 h	150°C	2	56-63
11	DMF\H ₂ O (1 :2)	1 h	150°C	2	34
12	DMSO\H ₂ O (1 :1)	1 h	160°C	1	NP^b
13	DMSO\H ₂ O (1 :1)	2 h	160°C	1	NP^b
14	DMF\H₂O (1 :1)	1 h	150°C	1	75-82

^a Le suivi et les rendements de la réaction sont analysés par radiochromatographie - CCM(solvants d'élution : ether de pétrole /acetate d'éthyle = 6/4, vol/vol).

2.2.2. Contrôle de qualité et purification

La qualité des réactions de marquage a été évaluée préférentiellement par radiochromatographie sur plaques de gel de silice sur lesquelles on fait migrer les mélanges

réactionnels dans une phase mobile composée d'éther de pétrole et d'acétate d'éthyle (60:40). La radioactivité est détectée par radiochromatographie. Voir figure ci-après (figure 4-2):

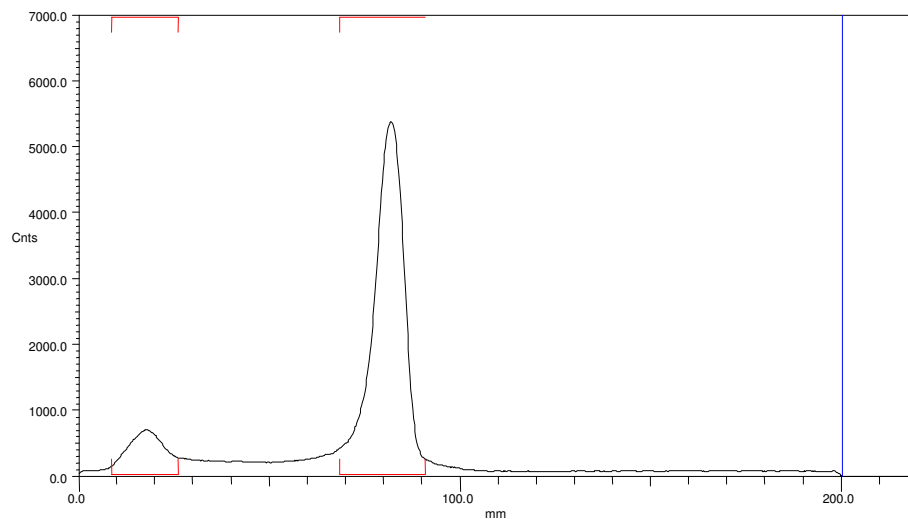


Figure 4-2: Radiochromatogramme du mélange réactionnel du **NFFe** avec $[^{99m}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ après 60 min de chauffage à 150°C dans du DMF/eau à pH=1, effectué sur gel de silice avec du mélange éther de pétrole/ acétate d'éthyle 60/40.

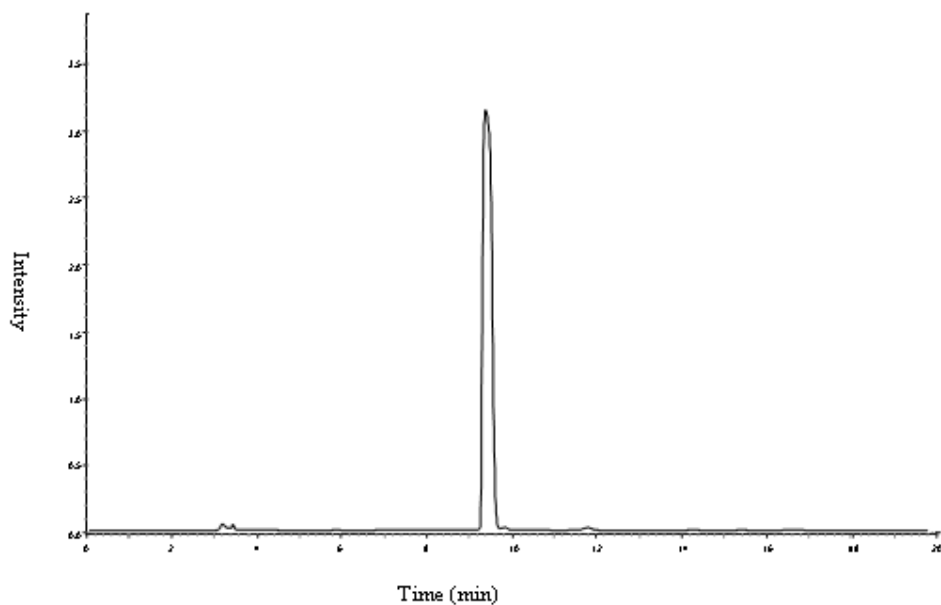
Le radiochromatogramme montre deux pics radioactifs de R_f différents; celui de R_f nul correspond aux molécules très polaires et c'est probablement celui du pertechnétate non réduit, c'est-à-dire qui n'a pas réagi. En effet le pertechnétate présente la même valeur R_f dans les mêmes conditions de migration.

Le deuxième pic avec $R_f = 0,87$ révèle une activité très élevée indiquant la formation d'un autre composé radioactif.

La bande, correspondant au produit marqué, a été grattée et le produit a été purifié sur micro-colonne puis analysé par CLHP.

La présence d'un seul pic intense à un temps de rétention égal à 9,29 min témoigne d'une haute pureté radiochimique. Afin d'identifier le produit marqué obtenu nous avons comparé son profil CHPL à celui du composé de rhénium **NFRé** (figure 4-3). Les chromatogrammes montrent que les valeurs R_f de ces deux composés sont proches indiquant que le composé radioactif isolé correspond au **NF^{99m}Tc**.

(a)



(b)

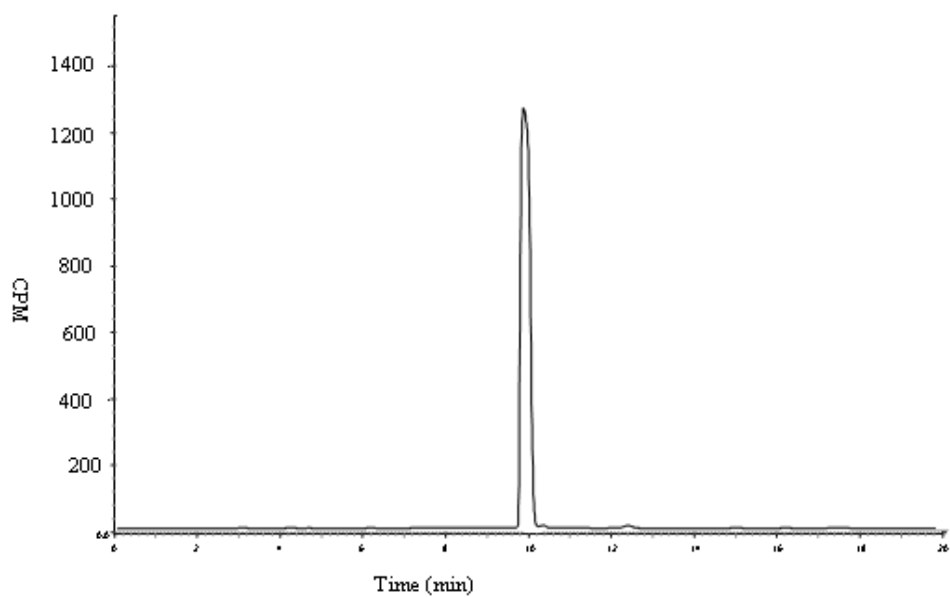


Figure 4-3: (a) Profil CLHP de **NFRe**. Analyse sur colonne C18 Shim-pack VP-ODS. $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 70/30 Débit: 1 ml/min; Détecteur UV (λ 254nm). Température: 40°C. Temps de rétention 9,29 min. (b) Profil CLHP de **NF ^{99m}Tc** purifié. Analyse sur colonne C18 Shim-pack VP-ODS.. Débit: 1 ml/min; Détecteur Gamma (Gabi).Température: 40°C. Temps de rétention 9,82 min.

2.3. Propriétés physicochimiques du radiotracteur: Analyse in vitro

Après avoir optimisé la réaction du radiomarquage afin d'obtenir une molécule marquée avec un bon rendement de marquage, une pureté radiochimique supérieure à 99% et une activité spécifique suffisante, différentes analyses ont été effectuées afin de déterminer le comportement in vitro de la molécule dans différents milieux et de prévoir la stabilité du marquage in vivo. Nous avons notamment étudié la répartition sanguine des traceurs par mesure de la fixation aux éléments figurés du sang et aux protéines plasmatiques.

2.3.1. Détermination de la répartition sanguine du $NF^{99m}Tc$

Seul le radiotracteur libre dans le sérum peut être biologiquement actif. La vocation de ce traceur étant de reconnaître un récepteur cellulaire cible. La détermination de la fixation non spécifique par mesure du taux de liaison aux protéines plasmatiques et par mesure de la répartition sanguine entre le sérum et les éléments figurés du sang permet d'évaluer l'efficacité et la sensibilité du traceur. Ces deux facteurs vont jouer sur la clairance sanguine des traceurs.

2.3.1.1. Mesure de la fixation cellulaire

L'étude de la fixation du radioligand aux cellules sanguines est réalisée, après centrifugation d'un échantillon de sang, par mesure de la répartition de la radioactivité entre le culot cellulaire et le plasma. Elle détermine s'il existe une fixation non spécifique du traceur soit à la surface des cellules soit dans les cellules (polynucléaires, plaquettes, hématies) après passage transmembranaires. Le radioligand est incubé à 37°C sous agitation en présence du sang total. Après 30 minutes, 1 heure, 2 heures, 3 heures et 24 heures d'incubation, 1 ml de sang est prélevé et centrifugé à 10000 rpm pendant 10 minutes, puis le culot cellulaire et le surnageant sont comptés au compteur gamma. Le taux de captation cellulaire varie légèrement de 30 min à 3 heures d'incubation puis il augmente considérablement de 30,44 % à 40,56 % de 3 heures d'incubation à 22 heures d'incubation (Tableau 4.II et figure 4-4).

2.3.1.2. Mesure de la fixation non spécifique aux protéines plasmatiques

La précipitation à l'acétonitrile (Parent et al., 2006) a permis d'explorer la fixation non spécifique du traceur aux protéines plasmatiques. Après centrifugation du sang, le culot contenant les cellules sanguines est séparé du surnageant (plasma). L'acétonitrile est ajouté au plasma, une apparition d'un précipité blanc constitué des protéines plasmatiques auxquelles

s'est potentiellement fixée notre molécule marquée. Le culot est séparé du surnageant et chaque milieu est compté au compteur gamma. A 30 min d'incubation, le $\text{NF}^{99\text{mTc}}$ est présent majoritairement dans le sérum (76,54%), à 1 heure il est présent à des proportions presque égales dans les deux fractions et puis il augmente considérablement dans le sérum de 51,1 % à 93,44 % de 1 heure à 22 heures d'incubation (Tableau 4.II et figure 4-4). Par conséquent la fixation non spécifique aux protéines diminue énormément au cours du temps jusqu'à 6,56% à 22 h.

Tableau 4.II: Etude de la répartition sanguine du $\text{NF}^{99\text{mTc}}$ in vitro.

	Temps d'incubation				
	30 min	1 heure	2 heures	3 heures	22 heures
Cellules	25,70%	34,47%	29,47%	30,44%	40,56%
Plasma	74,29%	65,53%	70,53%	69,66%	59,44%
Sérum	76,54%	51,10%	87,95%	86,10%	93,44%
Fixation protéique	23,57%	48,90%	14,04%	13,90%	6,56%

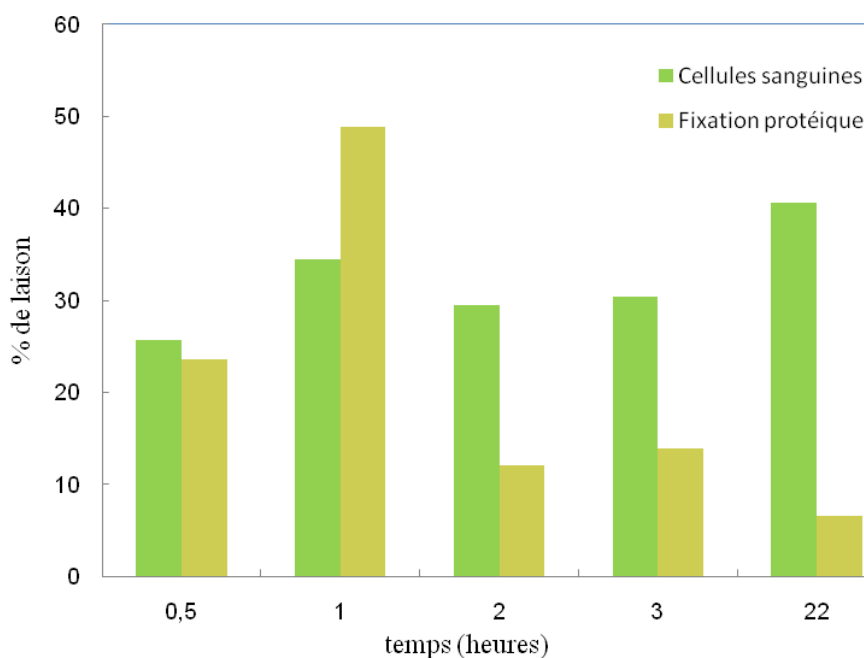


Figure 4-4 : Biodistribution sanguine in vitro de $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$. Pourcentage de liaison de $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ aux cellules sanguines et aux protéines plasmatiques en fonction de la durée d'incubation. Mesure de l'activité au compteur gamma (Cobra).

2. 4. Etude de la stabilité in vitro

La mesure de la pureté radiochimique du radioligand, après incubation dans un échantillon sanguin ou dans des conditions proches des conditions physiologiques (37°C, pH neutre), permet d'apprécier la décomplexation du radiotracer en fonction du temps et d'évaluer si, in vivo, la radioactivité détectée correspond au traceur ou à l'isotope libre.

2.4.1. Etude de la stabilité de $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ dans le tampon phosphate

Le marquage de la molécule par le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ se fait dans des conditions chimiques précises, et à une très haute température.

Le changement des conditions environnementales peut conduire à l'instabilité du produit et à la production d'impuretés et de colloïdes. Le produit marqué étant destiné à être injecté dans l'organisme, subit d'abord une étude de stabilité dans une solution de tampon phosphate (0,1M, pH 7,4) à 37°C. On incube le produit radiomarqué et purifié dans 1 ml de tampon frais dans un bain marie à 37°C. On prélève des aliquotes du mélange à 30 minutes, 1 heure, 2 heures, 3 heures et 24 heures. Ces aliquotes sont analysés par CLHP. L'analyse des radiochromatogrammes laisse présager une bonne stabilité du marquage du $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ dans le tampon phosphate, car après 24 heures d'incubation à 37°C, on note l'absence de nouvelles entités radioactives.

2.4.2. Etude de la stabilité sanguine de $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ in vitro

La stabilité est déterminée après incubation de la préparation en présence de sang total sur une durée de 24 heures. Le radioligand est incubé à 37°C sous agitation en présence du sang total. Après 30 min, 1 heure, 2 heures, 3 heures et 22 heures d'incubation, 1 ml de sang est prélevé et centrifugé à 10000 rpm pendant 10 minutes, puis le culot cellulaire et le surnageant sont séparés. L'acétonitrile est ajouté au plasma pour provoquer une précipitation des protéines plasmatiques. Le surnageant est séparé du culot et analysé par CLHP.

L'analyse chromatographique des échantillons de sérum montre qu'aucune décomplexation du radiotracer n'est observée pendant 24 heures d'incubation, on note la présence majoritaire de notre radiotracer sous sa forme initiale et le technétium libre est absent

2.5. Evaluation pharmacologiques: Etude de la biodistribution

Les expérimentations animales ont été réalisées chez des rats mâles matures provenant de l'élevage de l'institut Pasteur de Tunis en conformité avec les lois sur l'expérimentation animale et après validation d'un conseil d'éthique.

Pour étudier la biodistribution du produit marqué, trois souris ont été utilisées pour chaque temps. Les concentrations de la radioactivité sont exprimées en pourcentage de la dose injectée par organe (% DI) et par gramme de tissu (% DI/g du tissu).

La biodistribution et la variation de la rétention de $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ dans les organes au cours du temps sont représentées par le graphique correspondant aux % DI/g du tissu d'organe en fonction des temps de post injection (p.i.), (Tableau 4.III, figure 4-5).

Tableau 4.III: Biodistribution de la radioactivité en %DI/g de tissu chez des rats mâles matures à différents temps après injection intraveineuse IV du $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$; n=3 ; Dose injectée: 70 μCi . Les valeurs sont représentées avec leur écart type.

	<i>1 heure</i>	<i>2 heures</i>
<i>Sang</i>	0,11 \pm 0,03	0,18 \pm 0,15
<i>Prostate</i>	0,64 \pm 0,11	0,78 \pm 0,14
<i>Vésicule séminale</i>	0,08 \pm 0,03	0,28 \pm 0,33
<i>Testicules</i>	0,28 \pm 0,14	0,72 \pm 0,66
<i>Glandes surrénales</i>	1,10 \pm 0,79	0,97 \pm 0,48
<i>Rein</i>	0,54 \pm 0,31	1,32 \pm 1,36
<i>Foie</i>	5,48 \pm 1,29	6,44 \pm 1,58
<i>Rate</i>	1,97 \pm 0,59	4,15 \pm 1,81
<i>Poumons</i>	1,23 \pm 0,71	11,14 \pm 0,46
<i>Cœur</i>	0,29 \pm 0,08	0,49 \pm 0,42
<i>Muscle</i>	0,23 \pm 0,12	0,21 \pm 0,21
<i>Os</i>	0,26 \pm 0,09	0,46 \pm 0,17
<i>Prostate/Muscle</i>	3,54 \pm 2,02	6,15 \pm 3,92
<i>Prostate/Sang</i>	5,87 \pm 0,90	6,46 \pm 3,74

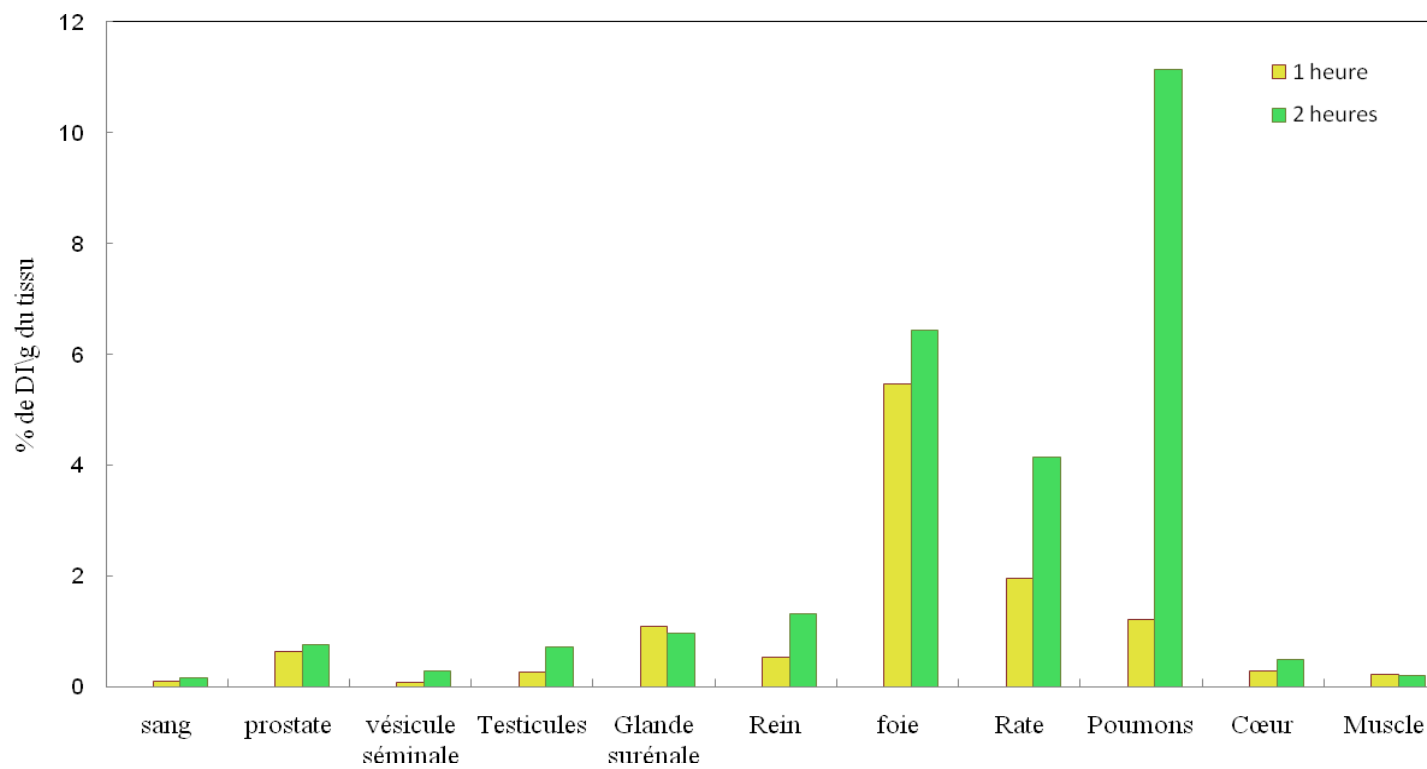


Figure 4-5: Comparaison de la radioactivité exprimée en % DI/g de tissu des organes des rats mâles matures 1 heure et 2 heures après injection intraveineuse du ^{99m}Tc . n=3; Dose injectée: 70 μCi .

A 1 h post injection, la fixation de $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ au niveau de la prostate est significative ($0,64 \pm 0,11$ % ID/g). La rétention du $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ au niveau du foie est la plus élevée de tous les organes. Les rapports prostate/muscle et prostate/sang sont de 3,54 et 5.86, respectivement. Le rapport prostate/muscle est du même ordre que celui du dérivé de flutamide marqué au ^{76}Br ($\approx 2,5$) (Parent et al., 2006) and 4- ^{76}Br]bromobicalutamide (2,9) (Parent et al., 2007) tandis que le rapport prostate/sang ($5,86 \pm 0,90$ % ID/g) est plus haut que celui de ces deux composés, ≈ 1.6 et 1.8, respectivement.

A 2 h post injection, le taux de fixation au niveau de la prostate augmente légèrement ($0,78 \pm 0,14$ % ID/g), tandis que l'activité au niveau du foie, muscle et sang est la même que celle à une 1 h post injection. Cependant, nous avons observé une augmentation du taux de fixation au niveau des poumons ($11,14 \pm 0,46$ % ID/g contre $1,23 \pm 0,71$ % ID/g). La raison de cette fixation n'est pas claire pour le moment. Il est également à noter que, récemment, les microsphères poly(L-lactide) marquées avec le même noyau $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3$ ont montré aussi une fixation élevée au niveau du tissu pulmonaire (Saatchi and Häfeli., 2009). Le rôle du fragment lipophile $\text{Tc}(\text{CO})_3$ peut être suspecté.

Afin de vérifier si la rétention de $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ se fait via les récepteurs des androgènes (AR) nous avons utilisé la testostérone acétate pour bloquer ces derniers.

0,14 $\mu\text{g/g}$ d'acétate de testostérone a été co-injecté avec le $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ aux rats mâles matures pour occuper tout les AR et la biodistribution 1 heure post injection a été étudié comme précédemment. Les résultats sont illustrés dans le tableau 4.IV et la figure 4-6.

Tableau 4.IV: Biodistribution de la radioactivité en %DI/g de tissu chez les rats mâles matures à 1 heure après injection intraveineuse IV du $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$; n=3 ; Dose injectée : 70 μCi . Les valeurs sont représentées avec écart type.

Tissu	% Injectée Dose/g	
	1 h control	1 h inhibé
Sang	0,112 \pm 0,034	0,127 \pm 0,038
Prostate	0,637 \pm 0,106	0,674 \pm 0,094
Vésicule séminale	0,082 \pm 0,031	0,143 \pm 0,033
Testicules	0,278 \pm 0,143	0,407 \pm 0,136
Glande surénale	1,100 \pm 0,788	1,133 \pm 0,470
Rein	0,540 \pm 0,305	0,663 \pm 0,188
Foie	5,477 \pm 1,288	6,843 \pm 1,836
Rate	1,970 \pm 0,591	3,137 \pm 1,023
Poumons	1,227 \pm 0,710	3,867 \pm 1,966
Coeur	0,290 \pm 0,080	0,335 \pm 0,067
Muscle	0,227 \pm 0,122	0,160 \pm 0,017
Os	0,257 \pm 0,086	0,663 \pm 0,166
Prostate/muscle	3,540 \pm 2,017	3,303 \pm 1,841
Prostate/sang	5,867 \pm 0,902	5,637 \pm 1,907

*1 h inhibée : co-injection de 0,14 $\mu\text{g/g}$ d'acétate de testostérone.

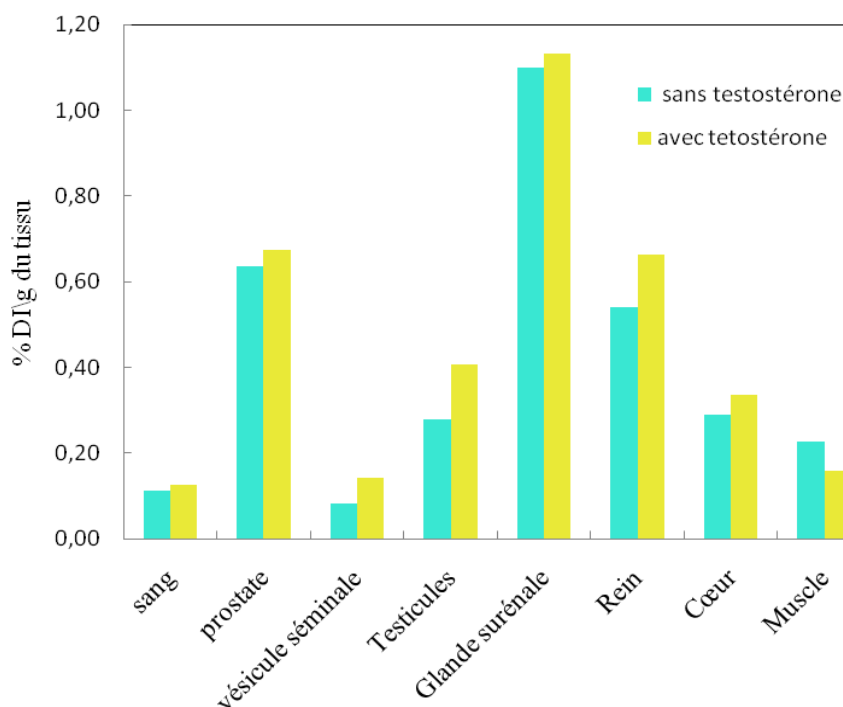


Figure 4-6: Comparaison de la radioactivité exprimée en % DI/g de tissu des organes des rats mâles matures 1 heure après injection intraveineuse du $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ (contrôle) et co-injection de 0,14 $\mu\text{g/g}$ d'acétate de testostérone. n=3; Dose injectée: 70 μCi .

A 1h post injection, le taux de fixation de $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ au niveau de la prostate demeure semblable à celui de l'injection sans acétate de testostérone. Ceci indique que la fixation du $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ au niveau de la prostate ne se fait pas via AR. Ce résultat n'est étonnant car l'affinité du $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ pour le récepteur AR a été trouvée très faible (RBA= 0,007%) (Payen., 2007). L'affinité du $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ devrait être du même ordre de grandeur. Aucune différence dans les taux de fixation au niveau des autres organes tels que le sang, le rein, le foie et les testicules. $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ utilise une autre cible protéique que AR au niveau de la prostate. Cette cible existe aussi dans la prostate cancéreuse.

3. Conclusion

Nous avons trouvé des conditions appropriées pour la synthèse de [$^{99\text{m}}\text{Tc}$] N-[4-nitro-3-trifluorométhyl-phenyl] cyclopentadiényltricarboxyltechnetium carboxamide dérivé d'anti-androgène non stéroïdien flutamide. $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ est synthétisé avec un rendement supérieur à 82%). L'étude de la biodistribution a montré une rétention sélective et significative de $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ par la prostate et une activité faible au niveau du sang et muscle. Cependant, le rapport prostate/ muscle n'a pas révélé une diminution significative quand le récepteur a été bloqué par la co-injection de l'acétate de testostérone en excès, ce qui signifie que la fixation du $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ au niveau de la prostate ne se fait pas via AR. $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ a montré l'excellente stabilité à 37°C dans le pH physiologique et dans le sérum murins. L'étude de la distribution sanguine du $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$ a montré l'existence d'une fixation cellulaire qui n'est pas négligeable, par contre la fixation protéique est faible, à 3 h d'incubation plus de 87 % du produit étant retrouvé sous forme libre dans le sérum. Cette molécule est donc un bon candidat pour des études ultérieures.

4. Partie expérimentale

4.1. Synthèses

Toutes les réactions ont été effectuées sous atmosphère d'argon. L'éther, le THF et le toluène ont été distillés avec un mélange sodium/benzophénone. Le dichlorométhane a été distillé avec P_2O_5 . Les autres réactifs et solvants utilisés, tels que le DMF anhydre, sont des produits commerciaux. Les chromatographies sur colonne ont été réalisées sur gel de silice Merck 60 (40-63 μm). Les points de fusion des produits ont été mesurés à l'aide d'un banc Köfler. Les spectres infra-rouges ont été enregistrés sur un spectromètre IR-FT BOMEM Michelson-100. Les analyses RMN ^1H et ^{13}C ont été effectuées sur un appareil Bruker 300 MHz. Les solvants RMN utilisés sont le chloroforme deutéré CDCl_3 et l'acétone- d_6 . Les

déplacements chimiques (δ) sont mesurés en parties par millions (ppm) et les constantes de couplage (J) sont calculées en Hertz (Hz). Les analyses élémentaires des nouveaux produits ont été effectuées au Service de Microanalyse de l'I.C.S.N. à Gif sur Yvette. La Spectrométrie de masse a été faite avec Nermag R 10-10C. Le $[^{99m}\text{TcO}_4]^-$ est élué d'un générateur Mallinckrodt Med. Inc. Le Kit Isolink utilise est un don de Mallinckrodt Med. Inc. La purté radiochimique des composés est déterminée par CLHP en phase inverse (C18 column, 4,6 $\mu\text{m} \times 250$ mm, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$: 70/30, débit: 1 ml/min) équipée d'une sonde radioactive NaI et couplée à un détecteur UV ($\lambda=254\text{nm}$). Dans ce travail, nous avons eu recours à une instrumentation spécifique de mesure de la radioactivité. Les plaques de chromatographie sur couche mince (CCM) sont lues au radiochromatographe de type mini-GITA de Ray Test. La mesure de la radioactivité des échantillons liquides et solides est réalisée soit sur l'activimètre de type CAPINTEC, INC. CRC_ 35R (pour la mesure des grandes valeurs de radioactivité de l'ordre de MBq). Pour le comptage des faibles valeurs de radioactivité (dans les tissus et les organes), nous avons utilisé un compteur gamma à puits de type CANBERRA (U.S.A.). Tout au long de ce travail, des substances radioactives ont été manipulées. Cette utilisation des éléments radioactifs a été soumise à des restrictions et des règles particulières du fait de leurs effets néfastes sur la santé des personnes exposées aux radiations émises. Le matériel de radioprotection permet la manipulation de la radioactivité tout en assurant la sécurité des individus des rayonnements ionisants. Pour simuler la dose de radioactivité reçue lors des manipulations, il est requis d'utiliser des dosimètres personnels. Le dosimètre utilisé est un dosimètre thermo luminescent fluoré lithium (TLD F Li). La synthèse du **NFFe** et du **NFRe** a été réalisée par Stéphane Masi (Dallegi et al., 2010). Dans le souci de fournir un résultat complet, nous décrivons de nouveau la synthèse de ces deux composés.

4.1.1. Synthèse du *N*-[4-nitro-3-trifluorométhyl-phényl]-ferrocénecarboxamide (**NFFe**)

Un tube de schlenk préalablement séché est surmonté d'un réfrigérant. On place l'acide ferrocénylcarboxylique (1,000 g, 4,34 mmol) dans le tube de schlenk. On refroidit avec un bain alcool-glace, puis on ajoute le chlorure d'oxalyle (14,5 g, 114 mmol). On laisse l'agitation pendant 3 heures à température ambiante. L'excès du chlorure d'oxalyle est éliminé à la pompe à vide. Le chlorure d'acyle obtenue est dilué dans 10 ml de toluène, on ajoute ensuite 4-nitro-3-trifluorométhyl-aniline (0,813 g, 3,94 mmol). Le mélange est chauffé pendant 3 h à 80°C. Le produit est extrait par le dichlorométhane. La phase organique est séchée sur du MgSO_4 et évaporée sous pression réduite. Le produit est purifié par

chromatographie flash (dichlorométhane\ éther de pétrole). Le **NFFe** est obtenu sous forme de solide orange (1,24 g, 75 %).

Pf= 226 °C.

Analyse: trouvé: C, 51.6; H, 3.13; N, 6.82. Calc. C₁₈H₁₃F₃N₂O₃Fe: C, 51.69; H, 3.11; N, 6.7.

¹H RMN (200 MHz, (CD₃)₂CO): δ_H 4,28 (5H, s, C₅H₄), 4,52 (2H, dd, *J* 2.0, C₅H₄), 5,03 (dd, 2H, dd, *J* 2.0, H de C₅H₄), 8,15 (1H, d, *J* 8,0, Ar), 8,32 (1H, dd, *J* 0,2 et 8.0, Ar), 8.45 (1H, d, *J* 2,0, Ar), 9,53 (1H, s, NH).

¹³C RMN (50 MHz, (CD₃)₂CO): δ_C 69.7(C_q), 70,7, 72,2, 76,0 (C_q), 72,2, 118,5, 132,2, 128,0, 145,0 (C_q), 162.3 (NHC=O), 170,4 (C=O).

*v*_{max}(KBr)/cm⁻¹ 3297m (*v*_{NH}), 1646vs (*v*_{CO}). *m/z* (IC, DCI/NH₃) 436 (M+NH₄)⁺, 419 (M+H)⁺, 177, 134.

4.1.2. *N*-[4-nitro-3-trifluorométhyl-phényl]-rheniumcyclopentadiényltricarboxamide (**NFRe**)

Dans un ballon de 5 ml équipé d'un bareau magnétique, on dissout le rhenium hexacarbonyle [Re(CO)₆]BF₄] (0,073 g, 0,166 mmol) dans 1 ml de DMSO. Le **NFFe** (0,073 g, 0,175 mmol) est ajouté, le mélange est chauffé pendant 35 min à 160°C. On Laisse le mélange reroidir à temperature ambiante et on ajoute 10 ml d'eau. On extrait le produit avec du dichlorométhane (50 ml×2). La phase organique est lavée, sechée sur du MgSO₄, filtrée et concentrée. Le produit est purifié par chromatographie sur plaques préparatives (dichlorométhane) pour donner **NFRe** (0,019 g, Rdt: 20%).

Pf= 186 °C.

Analyse: trouvé: C, 31,60; H, 1,10; N, 4,83. Calc. C₁₆H₈F₃N₂O₆Re: C, 33,87; H, 1,42; N, 4,94.

¹H RMN (200 MHz, (CD₃)₂CO): δ_H 5.79 (2H, t, *J* 2,3, 3,4-H de C₅H₄), 6,48 (2H, t, *J* 2.3, 2,5-H de C₅H₄), 8,16 (1H, d, *J* 8.8, Ar), 8,25 (1H, dd, *J* 2,2 et 8,8, Ar), 8,34 (1H, d, *J* 2,2, Ar), 9,91 (1H, s, -NH-CO). ¹³C RMN (50 MHz, (CD₃)₂CO): δ_C 87,0 (C_{Cp}), 88,8 (C_{Cp}), 94,1 (C_{Cp}), 119,0 (q, *J*_{CF} 6), 123,0 (q, *J*_{CF} 207.2), 123,7 (C_{Ar}), 124,5 (q, *J*_{CF} 33.5), 128,0 (C_{Ar}), 143,4 (C_{Ar}), 143.8 (C_{Ar}), 162,3 (NHC=O), 193,6 (ReC=O).

IR *v*_{max}(CH₂Cl₂)/cm⁻¹ 2031 s, 1939 s (*v*_{CO}) cm⁻¹.

Masse: *m/z* (EI) 568 (M)⁺, 363 ((CO)₃Re(C₅H₅CO))⁺.

4.1.3. Synthèse du *N*-[4-nitro-3-trifluorométhyl-phényl]-[^{99m}Tc] technétiumcyclopentadiényltricarboxamide (**NF^{99m}Tc**)

1 ml d'une solution aqueuse de $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ est préparé selon la littérature (Alberto et al., 2001; Wald et al., 2001). Le flacon est chargé avec 4 mg boranocarbonate ($\text{K}_2\text{H}_3\text{BCO}_2$), 7 mg $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, et 7 mg sodium tartrate, et sellé sous atmosphère d'azote. 1 ml de la solution saline de pertechnétate $[\text{}^{99\text{m}}\text{TcO}_4]^-$ de sodium est ajouté au mélange. Le flacon est chauffé à 95°C pendant 30 min. On obtient $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ avec un rendement supérieur à 95% (CLHP). Le pH de cette solution est ajusté à pH 1 avec 100 µl de HCl 1 N. 150 µl de cette solution est ajoutée à une solution de NFFe (10^{-2} mol. L^{-1}) dans du DMF. Le flacon est flashé par l'azote pendant 10 min, sellé et chauffé à 150°C au bain d'huile pendant 1 h. Le mélange est purifié par chromatographie sur plaques préparatives (CCM) (éther de pétrole/acétate d'éthyle, 4/6) pour donner le (N-[4-nitro-3-trifluorométhyl-phenyl]- $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}]$ -technetiumcyclopentadienyltricarboxyl-carboxamide (**NF^{99m}Tc**). La radiochromatographie sur CCM (éther de pétrole/acétate d'éthyle, 4/6) a donné un pic d'un $R_f = 0,87$ (Rdt: 70-80 %).

4.2. Etude biologique

4.2.1. Détermination de la répartition sanguine et de la stabilité in vitro du **NF^{99m}Tc**

La répartition sanguine de **NF^{99m}Tc** a été étudiée dans le sang de rat héparinisé (rat Wistar mâle mature). Le sang entier (5ml) a été incubé avec 90 µ Ci **NF^{99m}Tc** dans 100 µl d'éthanol pendant 30 minutes, 1 h, 2 h, 3 h et 22 h à 37°C. 1 ml de sang est prélevé et centrifugé à 5000 trs/min pendant 5 min, puis le culot cellulaire et le surnageant sont séparés, comptés au compteur gamma à puits. L'acétonitrile est ajouté au plasma pour précipiter les protéines plasmatiques (Parent et al., 2006). Ensuite une centrifugation à 5000 trs/min a été effectuée pendant 5 min, Le sérum est alors séparé du culot protéique et les fractions ont été de nouveau comptées. Le sérum est filtré et analysé par CLHP.

4.2.2. Etude de la stabilité de **NF^{99m}Tc** dans le tampon phosphate

On incube **NF^{99m}Tc** purifié dans 1 ml de tampon phosphate frais (0,1M, pH 7,4) dans un bain-marie à 37°C. On prélève des aliquotes du mélange à 30 min, 1 h, 2 h, 3 h et 24 h. Ces aliquotes sont analysés par CLHP.

4.2.3. Etude de la biodistribution in vivo

Les études de biodistribution ont été effectuées selon le règlement du conseil d'éthique national utilisant des rats Wistar mâles matures (âgés de 5-6 semaines) pesant entre 180 et 200 g. Le **NF^{99m}Tc** purifié est reconstitué dans une solution saline à 15 % d'éthanol et injecté par la veine caudale sous une légère anesthésie par l'éther diéthylique. La dose

employée pour chaque groupe d'animaux (n= 3) est de 70 μCi dans un volume de 300 μl . Un seul groupe d'animaux est coinjecté avec un inhibiteur, acétate de testostérone (0,14 $\mu\text{g/g}$), et le radiotraceur. A 1 et 2 heures postinjection du $\text{NF}^{99\text{m}}\text{Tc}$, les rats sont sacrifiés par ponction cardiaque. Les tissus ont été prélevés, pesés et leur radioactivité a été mesurée. Le pourcentage de dose injectée par organe (% DI) est calculé selon la formule suivante : % DI = activité détectée par organe $\times 100$ / Activité totale injectée. Ensuite le %DI/g de tissu est calculé comme suit : % DI/g= % dose injectée par organe/masse de l'organe(g). Pour chaque groupe d'animaux, les résultats sont mis sous forme de moyenne et l'écart type est calculé. Les données ont été traitées par analyse de la variance multifactorielle (ANOVA, SPSS 12.0 pour Windows) et les différences significatives ont été considérées utilisant le test de student au $p < 0,05$.

DISCUSSION

La médecine nucléaire est une technique d'imagerie moléculaire dont le principe repose sur l'injection par voie intraveineuse de molécules radiomarquées, ou radiotraceurs, spécifiques d'une cible ou d'un mécanisme biologique. La détection externe des émissions radioactives à l'aide de caméras sensibles aux émissions gamma (Single Photon Emission Tomographie, SPECT) ou aux positons (Tomographie par émission de positons, TEP) permet de réaliser de l'imagerie scintigraphique. Première cause de mortalité chez l'homme et deuxième cause chez la femme en France en 2002, le cancer est un problème majeur de santé publique. Malgré des efforts de dépistage, il est encore parfois difficile d'établir un diagnostic précoce. Au niveau thérapeutique, les traitements conventionnels entraînent de nombreux effets secondaires et des mécanismes de résistance limitent parfois les possibilités de guérison obligeant à recourir à des multi-thérapies avec des succès contestés. La recherche doit donc apporter de nouvelles solutions diagnostiques et thérapeutiques afin de diminuer la mortalité liée à cette maladie et d'améliorer le confort des patients. En cancérologie, la médecine nucléaire cherche à caractériser les tumeurs afin d'obtenir les informations nécessaires à la prise en charge adéquate des patients. Dans ce contexte, l'objectif de ce travail était de mettre au point des dérivés organométalliques potentiellement utilisables en thérapie dans le cas des complexes férrocéniques, en radioimagerie et en radiothérapie dans le cas des complexes de technétium et de rhénium.

La synthèse de radiotraceurs marqués par le technétium-99m comporte, dans sa conception, des aspects chimiques concernant soit le ligand (choix du site de coordination, nature de la cage, ligands bifonctionnels), soit le complexe (stabilité, taille, lipophilie, sélectivité...) avec, en addition des aspects biologiques (distribution tissulaire, sélectivité pour l'organe cible, toxicité,...). Nous avons choisi comme produits de départ des ligands à base d'un noyau cyclopentadiényl car ils sont de petite taille, ont un caractère aromatique comme un arène. De plus ils sont stables et se laissent substituer facilement.

L'étape de marquage est l'étape prépondérante de la préparation du radiopharmaceutique. Le défi majeur est de synthétiser des molécules marquées chimiquement et radiochimiquement pures, qui ne sont pas métabolisées in vivo avec une fixation de l'isotope à la molécule jusqu'à son élimination ou jusqu'à sa décroissance dans la cible, spécifiques d'un organe ou d'une fonction, qui se fixent avec une bonne affinité sur leur cible, et qui sont rapidement éliminées de la circulation sanguine.

La réaction de marquage elle-même est un autre défi pas seulement liée au solvant aqueux du précurseur. Elle bien doit être définie et contrôlée afin d'accéder à une molécule dotée d'une bonne activité spécifique. Elle doit présenter un bon rendement de marquage et la pureté radiochimique de la molécule active doit être supérieure, si possible, à 90% afin d'éviter une étape supplémentaire de purification difficilement réalisable en routine dans un laboratoire hospitalier de médecine nucléaire.

Après avoir défini les conditions de marquage, il est nécessaire d'étudier la stabilité du complexe. La question que l'on doit se poser lors de l'imagerie nucléaire est de savoir à quoi correspond la radioactivité détectée: au ligand radiomarqué, à ses métabolites ou à l'isotope seul.

Evaluation de nouveaux radiotraceurs pour le diagnostic et le traitement du cancer du sein

Les traceurs évalués sont des dérivés organométalliques analogues en tamoxifène, médicament utilisé en hormonothérapie pour le traitement du cancer du sein. Ces dérivés ont été radiomarqués au technétium par une méthode susceptible d'être utilisée en routine, et qui permet la formation de complexes stables et utilisables chez l'homme. Les traceurs doivent présenter des propriétés pharmacocinétiques compatibles avec une utilisation in vivo (clairance sanguine rapide, élimination urinaire, temps de diffusion vers la cible compatible avec la demi-vie de l'isotope).

- **Synthèse radiochimique**

Le (Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc **1** et le (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc sont complexés au Tc-99m par marquage direct par substitution entre le fer et le technétium. Le marquage nécessite une étape de chauffage indispensable. Avec un chauffage au bain d'huile (à 150°C) pendant 1h30 pour (Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc **1** et 1h pour (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc, en présence de DMSO, le rendement n'a pas dépassé 50%. Les paramètres de la réaction de marquage: choix du solvant, température et durée de l'incubation ont été optimisés afin d'obtenir une réaction complète et une bonne pureté radiochimique.

Ainsi, le DMF a été choisi comme solvant car en sa présence le rendement réactionnel augmente considérablement à 90 % pour (Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc **1** et à 75 % pour (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc, contrairement au DMSO.

- **Stabilité**

Le **(Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc 1** et **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** sont solubles dans de nombreux solvants: eau purifiée, chlorure de sodium 0,9%, le tampon phosphate PBS et l'éthanol, tous compatibles avec une administration chez l'animal et chez l'homme. De même, dans ces solvants, le **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** est stable pendant 24 heures, permettant ainsi sa préparation sous forme de médicament prêt à l'emploi ou de médicament multi doses. Le **(Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc 1** semble être stable dans l'éthanol pur pendant 24 h. Néanmoins sa pureté radiochimique ne devient inférieure à 70 % dans le chlorure de sodium 0,9% qu'après 30 minutes d'incubation. Le temps nécessaire au mélange et à l'administration au patient est usuellement plus court. La pureté radiochimique des deux radiotraceurs dans le sérum à 30 min reste supérieure à 90%.

Le caractère hydrophile ou lipophile des radiotraceurs a été déterminé par mesure du coefficient de partage octanol/ eau à pH 7,4. Les deux radiotraceurs sont lipophiles, **(Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc 1** étant plus lipophile que **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** (P = 32,81, P = 10,57, respectivement). En effet, la présence de trois groupes carbonyles au sein de la molécule marquée augmente la liposolubilité.

- **Cinétique sanguine**

La cinétique sanguine du **(Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc 1** et du **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** sont présentées sur la figure 1. L'activité sanguine du **(Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc 1** subit une décroissance exponentielle, avec un $T_{1/2 \text{ eff}} = 4,27$ h. En revanche la cinétique sanguine du **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** est de type bi-exponentielle, avec une composante initiale rapide ($T_{1/2 \text{ eff}} = 0,58$ h) suivie d'une composante lente ($T_{1/2 \text{ eff}} = 5,25$ h).

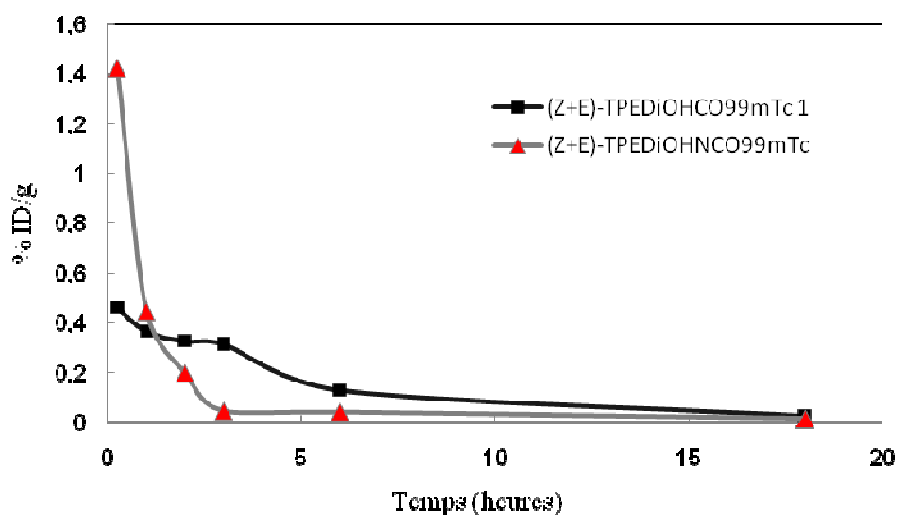


Figure 1: Cinétiques sanguines du (Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc 1 et du (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc.

L'activité circulante de (Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc 1 et du (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc 15 minutes après l'injection représente 0,462 ± 0,054 % et 1,42 ± 0,28 % de la dose injectée par gramme, respectivement. A 15 minutes, l'activité circulante du (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc est 3 fois plus élevée que celle de (Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc 1. Soixante minutes après l'injection des traceurs, les activités circulantes du (Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc et du (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc représentent 0,366 ± 0,11% et 0,45 ± 0,09 % de la dose injectée par gramme, respectivement.

- **Biodistribution**

Les biodistributions du (Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc et du (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc au niveau des ovaires et l'utérus, réalisées après l'injection des traceurs chez les rates, sont représentées dans le tableau I. Au niveau des ovaires, à 15 min après l'injection la fixation du (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc est 8,84 fois supérieure à la fixation du (Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc. Le maximum de fixation du (Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc au niveau des ovaires est atteint à 2 heures post injection. Le maximum de fixation du (Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc et du (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc au niveau de l'utérus est à 2 heures et 15 min post injection, respectivement.

Tableau I. Biodistributions du (Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc et du (Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc au niveau des ovaires et de l'utérus après l'injection des traceurs (% dose injectée (DI)\gramme).

	<i>(Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc</i>		<i>(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc</i>	
	<i>Ovaires</i>	<i>Utérus</i>	<i>Ovaires</i>	<i>Utérus</i>
15 min	0,199 ±0,002	0,197 ±0,049	1,76 ±0,10	0,44 ±0,15
1 heure	0,269 ±0,060	0,236 ±0,143	0,42 ±0,03	0,2 ±0,05
2 heures	0,611 ±0,078	0,283 ±0,057	0,45 ±0,08	0,2 ±0,02
3 heures	0,558 ±0,139	0,156 ±0,015	0,13 ±0,01	0,07 ±0,02
6 heures	0,183 ±0,015	0,096 ±0,010	0,12 ±0,02	0,04 ±0,01
18 heures	0,021 ±0,000	0,045 ±0,046	0,06 ±0,01	0,04 ±0,01

A 2 heures post injections, les rapports de fixations ovaire\ sang et utérus\ sang du *(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc* sont respectivement 3 fois et 2,7 fois plus élevés que ceux du *Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc*. Les rapports de fixations ovaires\ muscle et utérus\ muscle du *(Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc* sont respectivement 2 fois et 2,3 fois plus élevés que ceux du *Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc* (figure 2).

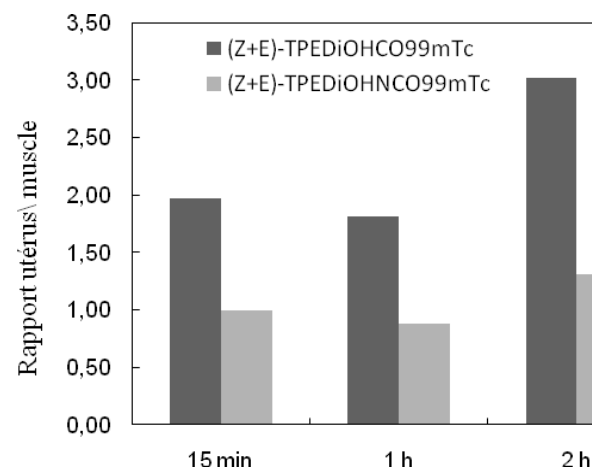
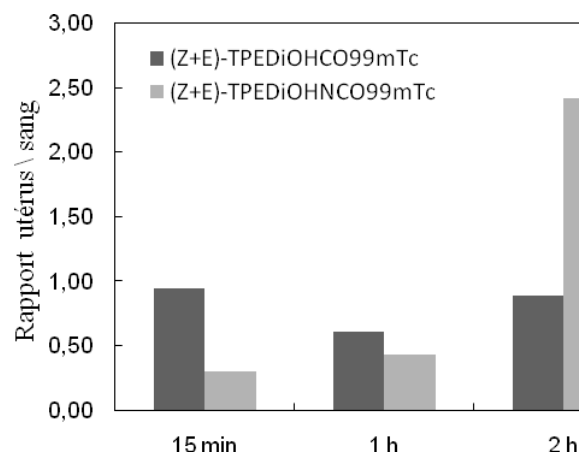
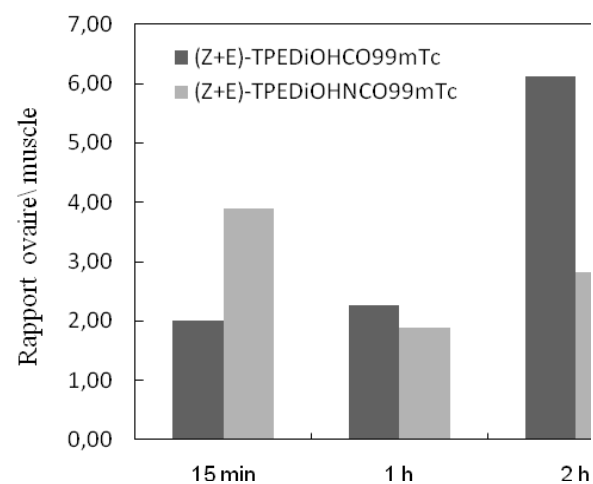
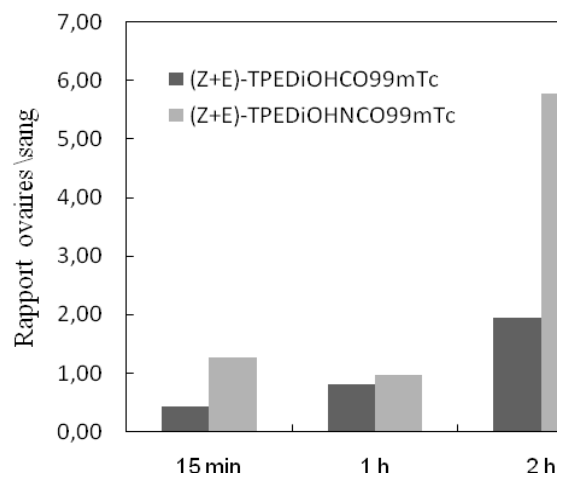


Figure 2: Rapports de fixations du $(Z+E)$ -TPEDiOHCO^{99m}Tc et du $(Z+E)$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc entre les organes cibles (ovaires et utérus) et tissus avoisinants (sang et muscle).

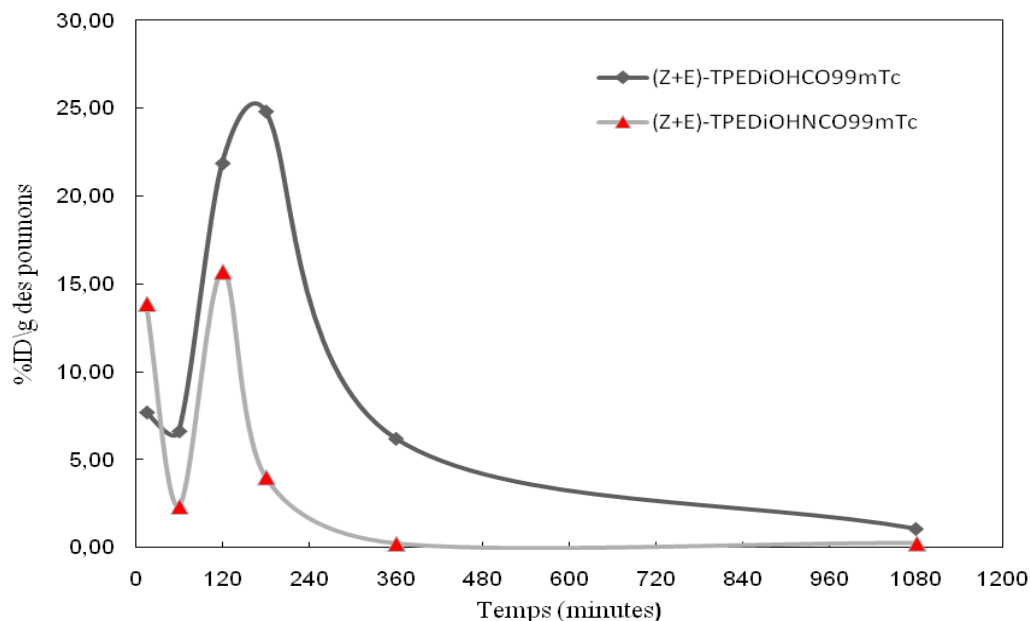


Figure 3: Biodistributions du **(Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc** et du **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** au niveau des poumons (% dose injectée (DI)\ gramme).

Dans ces études préliminaires, la fixation pulmonaire du **(Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc** et du **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** persiste pendant au moins 3 heures et 6 heures respectivement (figure 3). A deux heures post injection, la fixation pulmonaire du **(Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc** est 1,39 fois supérieur que celle du **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc**. Cette captation pulmonaire très élevée est probablement responsable de la faible activité circulante du **(Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc**, qui est 1,63 fois plus faible que celle du **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc**. Elle est due probablement aux propriétés lipophiles de ces deux radiotraceurs. Les études de biodistributions se révèlent en accord avec la lipophilie de ces deux traceurs, ils sont excrétés principalement par le système hépatobiliaires et minoritairement éliminés par les reins (figure 4 et 5).

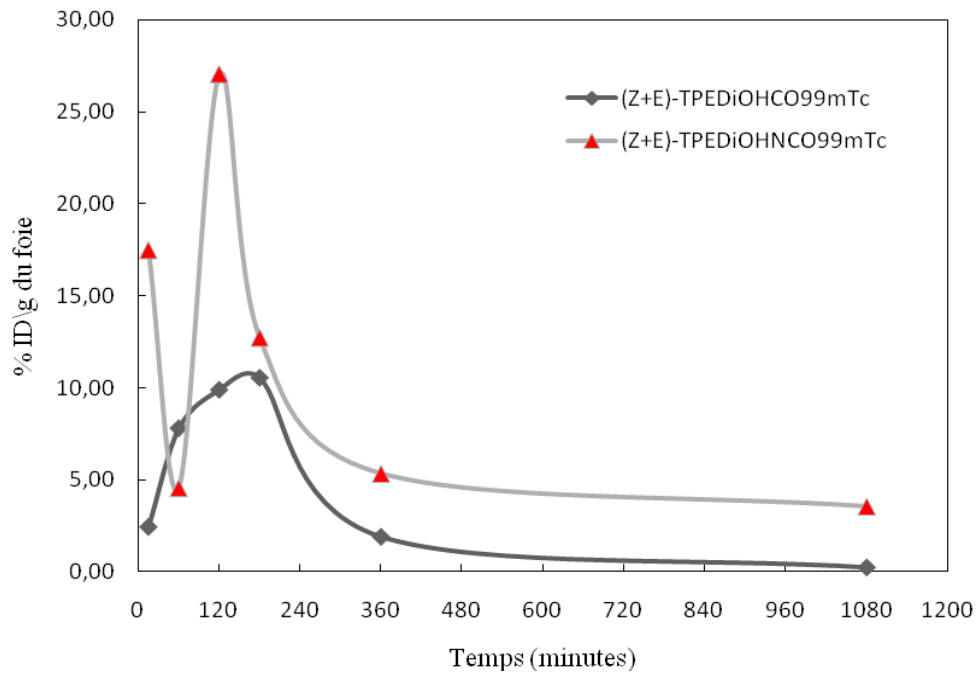


Figure 4: Biodistributions du $Z+E$ -TPEDiOHCO^{99m}Tc et du $Z+E$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc au niveau du foie (% dose injectée (DI)\gramme).

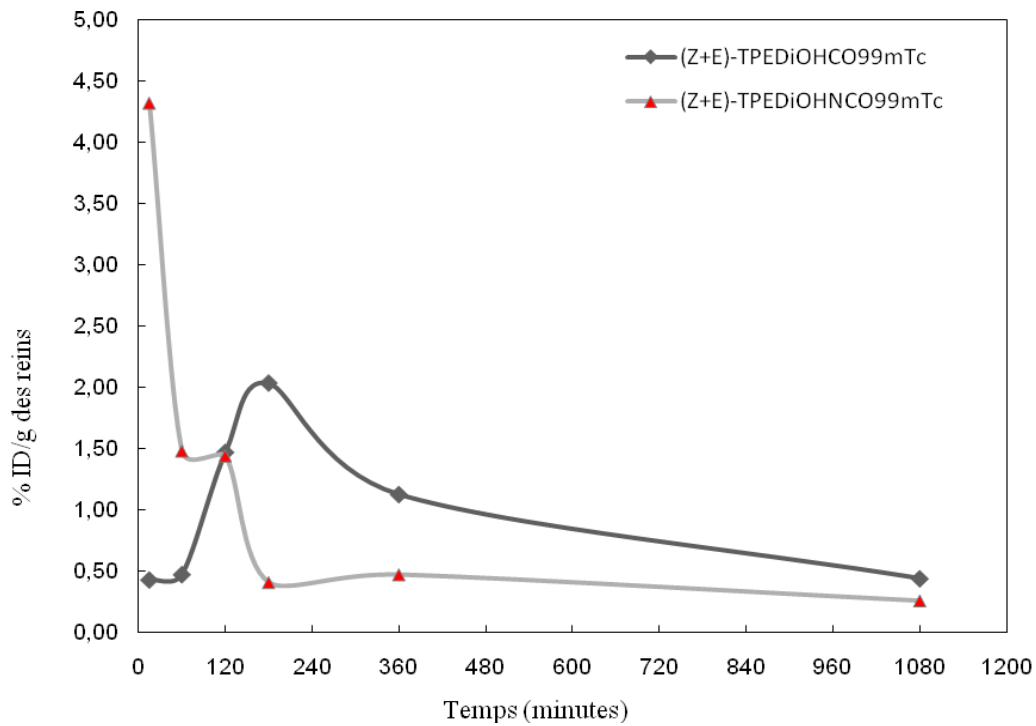


Figure 5: Biodistributions du $Z+E$ -TPEDiOHCO^{99m}Tc et du $Z+E$ -TPEDiOHNCO^{99m}Tc au niveau des reins (% dose injectée (DI)\gramme).

Parmi les deux traceurs évalués sur 24 heures, le **(Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc** présente le meilleur rapport de fixation ovaire\ muscle, cependant le **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** présente le meilleur rapport de fixation ovaire\ sang, à deux heures post injection. Le **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** présente la meilleure cinétique d'élimination sanguine. D'après les études de compétition, **(Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc** et du **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** sont probablement spécifiques du récepteur d'œstrogène (ER) puisqu'ils entrent en compétition avec l'œstradiol, son ligand naturel et leurs rapports de fixation au niveau des organes cibles par rapport au tissu avoisinants in vivo diminuent en présence de ce dernier. Ces deux traceurs sont donc prometteurs pour une éventuelle utilisation en scintigraphie.

- ***Comparaison avec les autres radiotraceurs proposés***

De nombreux radiotraceurs émetteurs de photons gamma ont été ou sont actuellement évalués. Plusieurs stéroïdes radiomarqués au fluor-18 tels que 16 α -[¹⁸F]fluoroœstradiol (FES) (Mortimer et al., 1996; Jonson et al., 1999; Seo et al.; 2007), au brome, à l'iode (Senderoff et al., 1982; Katzenellenbogen et al., 1982; Katzenellenbogen et al., 1981; Landvatter et al., 1982; McElvany et al., 1982; Pomper et al., 1990; Seimbille et al., 2002; VanBrocklin et al., 1993; Zhou et al., 2008) et au technétium-94m (Luyt et al., 2003), ont été étudiés, mais leur utilisation pour l'imagerie in vivo en scintigraphie chez l'homme est limitée par mauvaise spécificité. Un nombre restreint des études ont été consacrées aux composés non-stéroïdiens et aux anti-œstrogènes (SERMs) (VanBrocklin et al., 1993).

Parmi les radiotraceurs cités dans la littérature, on trouve C4- [¹⁸F] fluorocyclofenil ([¹⁸F] FCF) et C4- [¹⁸F] fluoroethylcyclofenil ([¹⁸F] FECF) (Seo et al., 2007) qui sont des ligands non stéroïdiens. Les études de biodistribution ont montré une fixation non- sélective de [¹⁸F] FCF au niveau des organes cibles (le rapport utérus/sang est 0,44 \pm 0,14) et une captation sélective de [¹⁸F] FECF par l'utérus (les rapports utérus/ sang et utérus / muscle sont respectivement de 2,7 \pm 0,24 et de 5,76 \pm 1,33). La fixation du [¹⁸F] FECF au niveau de l'utérus est bloquée en présence d'un excès d'œstradiol. Aussi, l'œstrogène substituée en position 7 α et 17 α par un chélate tridentate de métal tricarbonyle a été marqué au technétium-94m (Luyt et al., 2003). La fixation sélective de ce radiotraceur au niveau des organes cibles n'est pas évidente vu que l'imagerie par microPET montre une localisation importante de l'activité au niveau de l'estomac (les rapports utérus\ sang.et utérus\ muscle sont respectivement 0,41 \pm 0,09 et 3,1 \pm 0,41; les rapports ovaire\ sang et ovaire\ muscle sont respectivement de 1,19 \pm 0,14 et 9,14 \pm 0,45).

Dans la présente étude, les rapports de fixation entre les organes cibles (utérus et ovaires) et les tissus avoisinants du **Z+E)-TPEDiOHCO^{99m}Tc** et du **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** sont donc comparable voir légèrement supérieurs à ceux obtenue par Seo et al et Leonard et al avec [¹⁸F] FCF, [¹⁸F] FECF et avec l'œstrogène radiomarké au technétium-94m chez des rats femelles au même temps (2 heures post injection). .

CONCLUSION GENERALE

Conclusion Générale

Ce mémoire de thèse décrit la synthèse de plusieurs analogues du tamoxifène et d'anti-androgènes non stéroïdiens. Ces composés contiennent un groupement organométallique, soit le ferrocène, soit $\text{CpRe}(\text{CO})_3$, soit $\text{CpMn}(\text{CO})_3$, soit $\text{Cp}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3$. Ces composés ont fait l'objet d'études biologiques afin d'évaluer leur comportement.

Le premier chapitre de ce rapport rappelle quelques notions de base pour préciser la situation de ce travail. Il rappelle, d'une part, ce que sont les stéroïdes, et tout particulièrement les androgènes et les œstrogènes, et leurs rôles joués dans les cancers de la prostate et du sein. D'autre part, il introduit le concept d'anti-androgènes et d'anti-œstrogènes et en présente les différents types existants. Il rappelle ce que sont les récepteurs à androgènes AR et les récepteurs à œstrogènes ER; et enfin, un bref descriptif sur les radiopharmaceutiques et le technétium afin d'explicitier les problèmes liés à la conception de tels composés et à l'imagerie nucléaire. Les autres chapitres ont été consacrés aux synthèses et aux expériences de marquage, c'est-à-dire à l'étude des réactions de complexation avec le technétium, aux études de stabilité in vitro et in vivo, puis à l'évaluation biologique par mesure de la cinétique sanguine et de la biodistribution des molécules radiomarquées.

Dans le second chapitre, la synthèse de $(Z+E)\text{-TPEDiOHCO}^{99\text{m}}\text{Tc}$ à partir de son analogue ferrocénique $(Z+E)\text{-TPEDiOHFe}$ a été réalisée. La biodistribution du $(Z+E)\text{-TPEDiOHCO}^{99\text{m}}\text{Tc}$ chez des rats femelles matures montre un maximum de fixation à 2 h post injection au niveau des ovaires ($0,611 \pm 0,078$ DI/g). Le taux de fixation au niveau du sang est très faible ($0,095 \pm 0,005\%$ DI/g). On a montré aussi que probablement la fixation de $(Z+E)\text{-TPEDiOHCO}^{99\text{m}}\text{Tc}$ au niveau des organes cibles (ovaires et utérus) se fait via les RE. La molécule est hydrophobe. C'est un facteur qui peut expliquer l'absence de fixation non spécifique in vivo au niveau pulmonaire. Elle est faiblement liée aux protéines plasmatiques et surtout présente une pharmacocinétique compatible avec son utilisation comme radiopharmaceutique, avec une élimination hépatique prépondérante.

Le troisième chapitre présente la synthèse de $(Z+E)\text{-TPEDiOHNCO}^{99\text{m}}\text{Tc}$ à partir de son analogue ferrocénique $(Z+E)\text{-TPEDiOHNCO}^{99\text{m}}\text{Tc}$ avec un rendement de 75 %. A 15

min post injection, le taux de fixation du **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** par les ovaires est significatif (1,76±0,1 % DI/g). Sa fixation aux cellules sanguines est un peu élevée et constante au cours du temps par contre sa fixation aux protéines plasmatique est faible et en outre reste presque constante au cours du temps. Le pourcentage de molécules susceptibles d'atteindre le site récepteur est donc important ce qui peut augmenter l'intensité du signal. Les résultats de cinétiques sanguines montrent une décroissance exponentielle de la radioactivité avec une phase de distribution suivie d'une phase d'élimination rapide responsable de la métabolisation de la quasi-totalité du **(Z+E)-TPEDiOHNCO^{99m}Tc** et d'une autre phase d'élimination lente. Le groupe $(CO)_3^{99m}Tc$ est un groupe très hydrophile, ceci va favoriser l'élimination rénale et urinaire. Par contre le poids de la molécule est un peu élevée ce qui concourt à une élimination par voie hépato-biliaire. La clairance sanguine est augmentée, ce qui améliore le rapport signal/bruit de fond au niveau du tissu cible et par conséquent la stabilité du traceur.

Dans le chapitre 4, nous avons abordé le problème d'imagerie et du traitement du cancer de la prostate en synthétisant **NF^{99m}Tc**. Le marquage au technétium est réalisé à l'aide d'un petit synthon tricarbonyle commercialisé par la société Mallinckrod et sous forme de kit : L'isolink®. Ce kit permet la formation d'un petit synthon tricarbonyle-technétium stabilisé par trois ligands donneurs (eau). La réaction entre le réactif $[^{99m}Tc(CO)_3(H_2O)_3]^+$ et le dérivé ferrocénique **NFFe** produit **NF^{99m}Tc** avec un très bon rendement. L'étude de sa biodistribution a montré une rétention sélective et significative de **NF^{99m}Tc** par la prostate et une activité faible au niveau du sang et muscle. On a montré que la fixation du **NF^{99m}Tc** au niveau de la prostate ne se fait pas via AR. **NF^{99m}Tc** a montré une excellente stabilité à 37°C au pH physiologique et dans un sérum murin. Ce paramètre permet leur utilisation sous forme de préparations multidoses. L'étude de la distribution sanguine du **NF^{99m}Tc** a montré l'existence d'une fixation cellulaire qui n'est pas négligeable, par contre la fixation protéique est faible, à 3 h d'incubation plus de 86 % du produit étant retrouvé sous forme libre dans le sérum.

Nous avons atteint ainsi l'objectif initial visant de nouvelles molécules cibles pouvant être utilisés comme radiopharmaceutique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

-A-

Ackerman N.B., Lien W.M., Kondi E.S., Silverman N.A. (1969). The blood supply of experimental liver metastases. I. The distribution of hepatic artery and portal vein blood to “small” and “large” tumors. *Surgery*, **66**, 1067.

Alberto R., Ortner K., Wheatley N., Schibli R., Schubiger A. P. (2001). Synthesis and properties of boranocarbonate: A convenient in situ CO source for the aqueous preparation of $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$. *J. Amer. Chem. Soc.*, **123**, 3135-3136.

Alberto R., Schibli R., Waibel R., Abram U., Schubiger A.P. (1999). Basic aqueous chemistry of $[\text{M}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ (M=Re, Tc) directed towards radiopharmaceutical application. *Coord. Chem. Rev.*, **190-192**, 901-919.

Alberto R. (2007). The particular role of radiopharmacy within bioorganometallic chemistry. *J. Organomet. Chem.*, **692**, 1179-1186.

Alberto R. (2009). The Chemistry of Technetium-Water Complexes within the Manganese Triad: Challenges and Perspectives. *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2009**, 21-31.

Allard E., Passirani C., Garcion E., Pigeon P., Vessières A., Jaouen G., Benoit J.P. (2008). Lipid nanocapsules loaded with an organometallic tamoxifen derivative as a novel drug-carrier system for experimental malignant gliomas. *J. Control. Release*, **130**, 146.

Al-Mufti R.A.M., Pedley R.B., Marshall D., Begent R.H.J., Hilson A., Winslet M.C., Hobbs K.E.F. (1999). In vitro assessment of Lipiodol-targeted radiotherapy for liver and colorectal cancer cell lines. *Br. J. Cancer*, **79**, 1665.

Ameller T., Marsaud V., Legrand P., Gref R., Renoir J. M. (2003). In vitro and in vivo biologic evaluation of long-circulating biodegradable drug carriers loaded with the pure antiestrogen RU 58668. *Int. J. Cancer*, **106**, 446-454.

Anderson T.J., Ferguson D.J., Roab G.M. (1982). Cell turnover in the resting human Breast: influence of parity, contraceptive pill, age and laterality. *Br. J. Cancer*, **46** (3), 376-382.

Andre T., Chastre E., Kotelevets L., Vaillant J. C., Louvet C., Balosso J., Le Gall E., Prevot S., Gespach C. (1998). Tumoral angiogenesis: Physiopathology, prognostic value and therapeutic perspectives. *Rev. Med. Interne*, **19** (12), 904-913.

Anolik J.H., Klinge C.M., Bambara R.A., Hilf R. (1993). Differential impact of flanking sequences on estradiol- vs. 4-hydroxytamoxifen-liganded estrogen receptor binding to estrogen responsive element DNA. *J Steroid Biochem Mol Biol*, **46**, 713-730.

Ardison V. (2006). Evaluation des nouveaux radiopharmaceutiques. Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier-Grenoble I, (268 p.).

Arriza J.L., Weinberger C., Cerelli G., Glaser T.M., Handelin B. L., Housman D.E., Evans R.M. (1987). Cloning of human mineralocorticoid receptor complementary DNA: structural and functional kinship with the glucocorticoid receptor. *Science*, **237**, 268-275.

-B-

Baker A.R., McDonnell D.P., Hughes M., Crisp T.M., Mangelsdorf D.J., Haussler M.R., Pike J.W., Shine J., O'Malley B.W. (1988). Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **85**, 3294-3298.

Beral V. (2003). Breast cancer and hormone-replacement therapy in the million women study. *Lancet*, **362**, 419-427,.

Bélanger A., Pelletier G., Labrie F., Barbier O., Chouinard S. (2003). Inactivation of androgens by UDP-glucuronosyltransferase enzymes in humans. *Trends Endocrinol. Metab*, **14**, 473.

Biechlin M.L., Bonmartin A., Gilly F.N., Fraysse M., Moulinet d'Hardemare A. (2008). Radiolabeling of annexin A5 with ^{99m}Tc: comparison of HYNIC-Tc vs. iminothiolane-Tc-tricarbonyl conjugates. *Nucl. Med. Biol*, **35**, 679-687.

Biot C., Glorian C., Macièjewski L.A., Brocard J.S. (1997). Synthesis and antimalarial activity in vitro and in vivo of a new ferrocene-chloroquine analogue. *J. Med. Chem*, **40**, 3715-3718.

Borgna J.L., Rochefort H. (1981). Hydroxylated metabolites of tamoxifen are formed in vivo and bound to estrogen receptor in target tissues. *J. Biol. Chem*, **256**, 859-868.

Borel J.P., Sternberg M. (2000). Biochimie et Biologie Moléculaire illustrées. Frison-Roche Edt, 150-151.

Boucheau N., Myers C. (2003). Breast cancer-induced angiogenesis: multiple mechanisms and the role of the microenvironment. *Breast Cancer Res*, **5** (3), 140-146.

Bourguet W., Ruff M., Chambon P., Gronemeyer H., Moras D. (1995). Crystal structure of the ligand-binding domain of the human nuclear receptor RXR alpha. *Nature*, **375** (6530), 377-382.

Bourguet W., Germain P., Gronemeyer H. (2000). Nuclear receptor ligand-binding domains: three-dimensional structures, molecular interactions and pharmacological implications. *Trends Pharmacol. Sci*, **21**, 381.

Bray F., Sankila R., Ferlay J., Parkin D.M. (2002). Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 1995. *European Journal of cancer*, **38**, 99-166.

Briskin B. (2002). Hormonal control of alveolar development and its implications for Breast Carcinogenesis. *J. Mammary gland Biol. Neoplasia*, **7** (1), 39-48.

Brzozowski A.M., Pike A.C.W., Dauter Z., Hubbard R.E., Bonn T., Engstrom O., Ohman L., Greene G.L., Gustafsson J.A., Carlquist M. (1997). Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor. *Nature*, **389**, 753-758.

Buscombe J.R., Padhy A. (2001). A Treatment of hepatocellular carcinoma: a pivotal role for nuclear medicine?. *Nucl. Med. Com*, **22**, 119.

Burger A., Abraham D.J. (2003). Burger's medicinal chemistry and drug discovery, 6th ed., Wiley: Hoboken, NJ.

- Carlson W.F., Katzenellenbogen J.A., Spies H., Johannsen B. (1998).** Synthesis and binding affinities of a new 17 α -substituted estradiol-rhenium "n+1" mixed-ligand and thioether-carbonyl complexes. *Steroids*, **63**, 665-671.
- Catelli M.G., Binart N., Jung-Testas I., Renoir J.M., Baulieu E.E., Feramisco J.R., Welch W.J. (1985).** The common 90-kd protein component of non-transformed '8S' steroid receptors is a heat-shock protein. *Embo J*, **4**, 3131-3135
- Campbell-Thompson M., Lynch I.J., Bhardwaj B. (2001).** Expression of estrogen receptor (ER) subtypes and ERbeta isoforms in colon cancer. *Cancer Res*, **61**, 632-640.
- Chesne C., Leclercq G., Pointeau P., Patin H. (1986).** Synthesis and biological studies of aminoestradiol-platinum (II) conjugates. *Eur. J. Med. Chem*, **21**, 321-327.
- Chevret S., Trinchet J.C., Mathieu D., Rached A.A., Beaugrand M., Chastang C. (1999).** A new prognostic classification for predicting survival in patients with hepatocellular carcinoma. *J. Hepatol*, **31**, 133.
- Chevreul M.E. (1816).** Examen des graisses d'homme, de mou- ton, de boeuf, de jaguar et d'oise. *Ann. Chim. Phys.*, **2**, 339-372.
- Chou F.I., Fang K.C., Chung C., Lui W.Y., Chi C.W., Liu R.S., Chan W.K. (1995).** Lipidol uptake and retention by human hepatoma cells. *Nucl.Med. Biol.*, **22**, 379.
- Claessens F., Verrijdt G., Schoenmakers E., Haelens A., Peeters B., Verhoeven G., Rombauts W. (2001).** Selective DNA binding by the androgen receptor as a mechanism for hormone-specific gene regulation. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*, **76**, 23.
- Clarke R., Leonessa F., Welch J.N., Skaar T. C. (2001).** Cellular and molecular pharmacology of antiestrogen action and resistance. *Pharmacol. Rev*, **53**, 25-71.
- Clavel-Chapelon E. (2002).** Cumulative number of menstrual cycles and breast cancer risk: Results from the E3N cohort study of French women. *Cancer causes and control*, **13**, 831-838.
- Clemens J.A., Bennett D.R., Black L.J., Jones C.D. (1983).** Effects of a new antiestrogen keoxifene (LY156758) on growth of carcinoma-induced mammary tumors and on LH and prolactin levels. *Life Sci*, **32**, 2869-2875.
- Coenen H.H., Mertens J., Mazière B. (2006).** Radioionidation reactions for pharmaceuticals, compendium for effective synthesis strategies. COST. Netherlands, springer.
- Coelingh Bennink H. J. (2004).** Are all estrogens the same ? *Maturitas*, **47**, 269-275.
- Coffey R.N.T., William R., Watson G, O'Neill A.J., McEleny K., Fitzpatrick J. M.(2002).** Androgen-mediated resistance to apoptosis. *The Prostate*, **53**, 300-309.
- Cowley S.M., Hoare S., Mosselman S., Parker M.G. (1997).** Estrogen receptor alpha and beta form heterodimers on DNA. *J Biol Chem*, **272**, 19858-19862.
- Crabtree R. H. (2005).** The organometallic chemistry of the transition elements, 4th ed, Hoboken, New Jersey, J. Wiley and sons.
- Culy C. R., Clemett D., Wiseman L. R. (2000).** Oxaliplatin, a review of its pharmacological properties and clinical efficacy in metastatic colorectal cancer and its potential in other malignancies. *Drugs*, **60**, 895-924.

Cunliffe W.J., Simpson N.B. (1980). Percutaneous Absorption of Steroids. Academic Press, New York.

-D-

Danielian P.S., White R., Lees J.A., Parker M.G. (1992). Identification of a conserved region required for hormone dependent transcriptional activation by steroid hormone receptors. *Embo J*, **11**, 1025-1033.

Das T., Banerjee S., Samuel G., Bapat K., Subramanian S., Pillai M. R. A., Venkatesh M. (2006). A novel ^{99m}Tc-labeled testosterone derivative as a potential agent for targeting androgen receptors. *Bioorg. Med. Chem. Lett*, **16**, 5788-5792.

Day J.M., Tutill H.J., Newman S.P., Purohit A., Lawrence H.R., Vicker N., Potter B.V., Reed M.J. (2006). 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase Type 1 and Type 2: association between mRNA expression and activity In cell lines. *Mol. Cell. Endocrinol*, **248**, 246-249.

DeGrado T.R., Coleman R.E., Wang S., Baldwin S.W., Orr M.D., Robertson C.N., Polascik T.J., Price D.T. (2000). Synthesis and Evaluation of ¹⁸F-labeled Choline as an Oncologic Tracer for Positron Emission Tomography: Initial Findings in Prostate Cancer. *Cancer Res*, **61**, 110-117.

De Jonge F. E., Pauweles E. (1996). Technetium, the missing element. *Eur. J. Nuc. Med*, **23**, 336-344.

Descôteaux C., Provencher-Mandeville J., Mathieu I., Perron V., Mandal S.K., Asselin E., Bérubé G. (2003). Synthesis of 17 β - α estradiol platinum (II) complexes: biological evaluation on breast cancer cell lines. *Bioorg. Med. Chem. Lett*, **13** (22), 3927-3931.

Dixon J.M. (2004). Exemestane and aromatase inhibitors in the management of advanced breast cancer. *Expert. Opin. Pharmacother*, **5**, 307-316.

Dobson A.D., Conneely O.M., Beattie W., Maxwell B.L., Mak P., Tsai M.J., Schrader W. T., O'Malley B.W. (1989). Mutational analysis of the chicken progesterone receptor. *J Biol Chem*, **264**, 4207-4211.

Dorfman R.I., Shipley R.A. (1956). Androgens: Biochemistry, Physiology and Clinical Significance. , New York, John Wiley and Sons.

Dorfman R.I., Ungar F. (1965). Metabolism of steroid hormones, 2nd ed, New York, Academic Press.

Duff J., Davies P., Watt K., McEwan I.J. (2006). Structural dynamics of the human androgen receptor: implications for prostate cancer and neurodegenerative disease. *Biochem Soc Trans*, **34**, 1098-1102.

Dunitz J.D., Orgel L.E. (1953). Bis-cyclopentadienyl iron: A molecular sandwich. *Nature*, **171**, 121-122.

-E-

Eccles S.A. (2001). The role of C-erb-2/Her 2/neu in Breast Cancer, progression and metastasis. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, **6** (4), 393-406.

Edwards E.J., Epton R., Marr G. (1979). Heterylferrocenes. Synthesis and use. *J. Organom. Chem*, **168**, 259-272.

Edwards E.J., Epton R., Marr G. (1976 a). 1,1-ferrocenyldiacetic acid anhydride and its use in the preparation of heteroannularly substituted ferrocenyl-penicillins and cephalosporins. *J. Organom. Chem*, **122**, C49-C53.

Edwards E.J., Epton R., Marr G. (1976 b). Organometallic derivatives of penicillins and cephalosporins: a new class of semi-synthetic antibiotics. *J. Organom. Chem*, **85**, C23-C25.

Enmark E., Pelto-Huikko M., Grandien K., Lagercrantz S., Lagercrantz J., Fried G., Nordenskjold M., Gustafsson J.A. (1997). Human estrogen receptor β -gene structure, chromosomal localization and expression pattern. *J. Clin. Endocrinol. Metab*, **82**, 4258-4265.

Enmark E., Gustafsson J.A. (1999). Estrogen receptors-an overview. *J. Intern. Med*, **246**, 133-138.

Evans R.M. (1988). The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science*, **240**, 889-895.

-F-

Fang S., Liao S. (1969). Antagonistic Action of Anti-androgens on the Formation of a Specific Dihydrotestosterone-Receptor Protein Complex in Rat Ventral Prostate. *Mol. Pharmacol*, **5**, 428.

Fau D., Eugene D., Berson A., Letteron P., Fromenty B., Fisch C., Pessayre D. (1994). Toxicity of the antiandrogen flutamide in isolated rat hepatocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, **269**, 954.

Ferguson D.J., Anderson T.J. (1981). Morphological evolution of cell turnover in relation to the menstrual cycle in the resting human Breast. *Br. J. Cancer*, **44** (2), 177-181.

Fixemer T., Remberger K., Bonkhoff H. (2003). Differential expression of the estrogen receptor beta (ERbeta) in human prostate tissue, premalignant changes, and in primary, metastatic, and recurrent prostatic adenocarcinoma. *Prostate*, **54**, 79-87.

Folkman J. (1995 a). Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat. Med*, **1** (1), 27-31,

Folkman J. (1995 b). Angiogenesis inhibitors generated by tumors. *Mol. Med*, **1** (2), 120-122.

Furr B.J.A. (1996). The development of casodex (Bicalutamide): Preclinical studies. *Eur. Urol*, **29**, 83.

-G-

Gandolfi O., Blum J., Mandelbaumshavit F. (1984). Antitumor steroidal-cis-platinum (II) O-Catecholato conjugates, preliminary evaluation on breast cancer MCF-7 cells. *Inorg. Chim. Acta*, **91**, 257-261.

Gao W., Kearbey J.D., Nair V.A., Chung K., Parlow A.F., Miller D.D., Dalton J.T. (2004). Comparison of the pharmacological effects of a novel selective androgen receptor modulator, the 5α -reductase inhibitor finasteride, and the antiandrogen hydroxyflutamide in intact rats: new approach for benign prostate hyperplasia. *Endocrinology*, **145**, 5420.

Garin E., Noiret N., Malbert C.H., Lepareur N., Roucoux A., Dazord L., Caulet-Maugendre S., Turlin B., Moisan A., Leclourec J., Herry J.Y., Boucher E., Raoul J.L.,

Bourguet P. (2004). Development of ^{99m}Tc labelled Lipiodol: biodistribution following injection into the hepatic artery of the healthy pig. *Nucl. Med. Com*, 25 (3), 291-7.

Gauthier S., Mailhot J., Labrie F. (1996). New highly stereoselective synthesis of (Z)-4-hydroxytamoxifen and (Z)-4-hydroxytoremifene via McMurry reaction. *J. Org. Chem*, 61, 3890-3893.

Goodman L.S., Hardman J.G., Limbird L.E., Gilman A.G. (2001). Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, 10th ed., McGraw-Hill Medical Pub. Division: New York

Gormen M., Pigeon P., Hillard E.A., Plamont M.A., Plazuk D., Top S., Vessières A., Jaouen G. (2010). Comparative toxicity of [3]ferrocenophane and ferrocene moieties on breast cancer cells. *Tetrahedron Lett*, 51, 118-120.

Govindan M. V., Devic M., Green S., Gronemeyer H., Chambon P. (1985). Cloning of the human glucocorticoid receptor cDNA. *Nucleic Acids Res*, 13 (23), 8293–8304.

Green S., Walter P., Kumar V., Krust A., Bornert J.M., Argos P., Chambon P. (1986). Human oestrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to v-erb-A. *Nature*, 320, 134-139.

Greene, G.L., Gilna, P., Waterfield, M., Baker, A., Hort, Y., and Shine, J. (1986). Sequence and expression of human estrogen receptor complementary DNA. *Science*, 231, 1150-1154.

Grenier G., Bérubé G., Gicquaud C. (1998). Effects of new triphenylethylene platinum (II) complexes on the interaction with phosphatidylcholine liposomes. *Chem. Pharm. Bull*, 46, 1480.

Gust R., Schönenberger H., Klement U., Range K.J. (1993). Aqua 51-(2,6-dichloro-4-hydroxyphenyl)-2-(2-halo-4-hydroxyphenyl) ethylenediamine) sulfoplatinum (II) complexes with variable substituents in the 2-phenyl ring. II: correlation of molecular structure and estrogenic activity of breast and prostate cancer inhibiting [erythro-1-(2,6-dichloro-4-hydroxy-phenyl)-2-(2-halo-4-hydroxyphenyl) ethylenediamine] platinum (II) complexes, *Arch. Pharm*, 326, 967-976.

-H-

Hara T., Kosaka N., Kishi H. (2002). Development of ^{18}F -Fluoroethylcholine for Cancer Imaging with PET: Synthesis, Biochemistry, and Prostate Cancer Imaging. *J. Nucl. Med*, 43, 187-199.

Haelens A., Verrijdt G., Callewaert L., Christiaens V., Schauwaers K., Peeters B., Rombauts W., Claessens F. (2003). DNA recognition by the androgen receptor: evidence for an alternative DNA-dependent dimerization, and an active role of sequences flanking the response element on transactivation. *Biochem. J*, 369, 141.

Harris M.G., Coleman S.G., Faulds D., Chrisp P. (1993). Nilutamide. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in prostate cancer. *Drugs Aging*, 3, 9-25.

He B., Minges J.T., Lee L.W., Wilson E.M. (2002). The FXXLF motif mediates androgen receptor-specific interactions with coregulators. *J. Biol. Chem*, 277, 10226.

He H., Morely J. E., Silva-Lopez E., Bottenus B., Montajano M., Fugate G.A., Twamley B., Benny P.D. (2009). Synthesis and Characterization of Nonsteroidal-Linked $\text{M}(\text{CO})_3^+$ ($\text{M} =$

^{99m}Tc, Re) Compounds Based on the Androgen Receptor Targeting Molecule Flutamide. *Bioconjugate Chem*, **20**, 78-86.

Heery D.M., Kalkhoven E., Hoare S., Parker M.G. (1997). A signature motif in transcriptional co-activators mediates binding to nuclear receptors. *Nature*, **387**, 733.

Heinlein C.A., Chang C. (2002). Androgen Receptor (AR) Coregulators: An Overview. *Endocr. Rev*, **23**, 175.

Hillard E.A, Vessières A., Top S., Pigeon P., Kowalski K., Huché M., Jaouen G. (2007). Organometallic diphenols: The importance of the organometallic moiety on the expression of a cytotoxic effect on breast cancer cells. *J. Organomet. Chem*, **692**, 1315-1326.

Hillard E.H., de Abreu F.C., Ferreira D.C., Jaouen G., Goulart M.O., Amatore C. (2008). Electrochemical parameters and techniques in drug development with an emphasis on quinines and related compounds. *Chem. Commun*, **23**, 2612-2628.

Hind R.E., Loizidou M., Perring S., Fleming J., Batty V., Birch S., Taylor I. (1992). Biodistribution of Lipiodol following hepatic arterial injection. *Br. J.Surgery*, **79**, 952.

Hiroi H., Inoue S., Watanabe T., Goto, W., Orimo A., Momoeda M., Tsutsumi O., Taketani Y., Muramatsu, M. (1999). Differential immunolocalization of estrogen receptor alpha and beta in rat ovary and uterus. *J Mol Endocrinol*, **22**, 37-44.

Hodgson M.C., Astapova I., Cheng S., Lee L.J., Verhoeven M.C., Choi E., Balk S.P., Hollenberg A.N. The androgen receptor recruits nuclear receptor CoRepressor (N-CoR) in the presence of mifepristone via its N and C termini revealing a novel molecular mechanism for androgen receptor antagonists. (2005). *J. Biol. Chem*, **280**, 6511.

Hom R.K., Katzenellenbogen J.A. (1997). Technetium-99m-labeled receptor-specific small-molecule radiopharmaceuticals: recent developments and encouraging results. *Nucl. Med. Biol*, **24**, 485-498.

Hortobagyi G.N., Buzdar A.U. (1995). Current status of adjuvant systemic therapy for primary breast cancer progress and controversy. *CA Cancer J. Clin*, **45**, 199-226.

Hudis C.A. (2007). Trastuzumab-mechanism of action and use in clinical practice. *N. Engl. J. Med*, **357**, 39-51.

Huggins C., Hodges C.V. (1941). Studies on prostatic cancer. 1. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. *Cancer Res*, **1**, 293.

Hynes N.E., Lane H.A. (2001). Myc and mammary cancer, Myc is a downstream effector of the ErbB 2 receptor tyrosine kinase. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, **6** (1), 141-150.

-I-

Ismail G., Rosa D.D., Azambuja E., Braga S., Piccard-Gebhart M. (2007). Trastuzumab (herceptin) for early-stage breast cancer. *Hematol. Oncol. Clin. North Am*, **21**, 239-256.

-J-

Jemal A., Siegl R., Ward E., Hao Y., Xu J., Thun M.J. (2009). Cancer Statistics, 2009. *CA Cancer J. Clin*, **59**, 225-249.

Jacobson O. Bechor Y., Icar A., Novak N., Birman A., Marom H., Fadeeva L., Golan E., Leibovitch I., Gutman M., Even-Sapir E., Chisin R., Gozin M., Mishani E. (2005).

Prostate cancer PET bioprobes: Synthesis of [¹⁸F]-radiolabeled hydroxyflutamide derivatives. *Bioorg. Med. Chem.*, **13**, 6195-6205.

Jakupec M.A., Galanski M., Keppler B.K. (2003). Tumour-inhibiting platinum complexes-state of the art and future perspectives. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, **146**, 1-53.

Jaouen G., Top S., Vessières A., Leclercq G., Quivy J., Jin L., Croisy A. (2000). The studies of an organometallic antioestrogens and their antiproliferative effects. *C. R. Acad.Sci. Paris, Série IIc*, 89-93.

Jaouen G., Top S., Vessières A., Pigeon P., Leclerc G., Laios I. (2001). First anti-oestrogen in the cyclopentadienyl rhenium tricarbonyl series. Synthesis and study of antiproliferative effects. *Chem. Commun.*, 383-384.

Jaouen G., Top S., Vessières A., Leclercq G., McGlinchey M.J. (2004). The first organometallic selective estrogen receptor modulators (SERMs) and their relevance to breast cancer. *Curr. Med. Chem.*, **11**, 2505.

Jaouen G., Beck W., McGlinchey M.J. (2006). Bioorganometallics, Wiley-VCH.

Jeltsch J.M., Krozowski Z., Quirin-Stricker C., Gronemeyer H., Simpson R.J., Garnier J.M., Krust A., Jacob F., Chambon P. (1986). Cloning of the chicken progesterone receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **83**, 5424-5428.

Johnston S.R. (1997). Acquired tamoxifen resistance in human breast cancer-potential mechanisms and clinical implications. *Anticancer Drugs*, **8**, 911-930.

Jonson S.D., Bonasera T.A., Dehdashti F., Cristel M.E., Katzenellenbogen J.A., Welch M.J. (1999). Comparative breast tumor imaging and comparative in vitro metabolism of 16 α -[¹⁸F]fluo-roestradiol-17 β and 16 β -[¹⁸F]fluoromoxestrol in isolated hepatocytes. *Nucl Med Biol*, **26**, 123-30.

Jordan V.C. (1995). Alternate antiestrogens and approaches to the prevention of breast cancer. *J. Cell Biochem*, **22**, 51-57.

Jordan V.C. (1999). Tamoxifen for the treatment and prevention of breast cancer. PRR, Inc, New York.

Jordan V.C., Schafer J.M.G., Levenson A.S., Liu H., Pease K.M., Simons L.A., Zapf J.W. (2001). Molecular classification of estrogens. *Advances in Cancer Research*, **61**, 6619-6623.

Jordan V.C. (2003 a). Antiestrogens and selective estrogen receptor modulators as multifunc-tional medicines. 1. Receptor interactions. *J. Med. Chem*, **46**(6), 883-908.

Jordan V.C. (2003 b). Antiestrogens and selective estrogen receptor modulators as multifunctional medicines. 2. Clinical considerations and new agents. *J. Med. Chem*, **46**(7), 1081-1108.

Jurisson S., Lydon J.D. (1999). Potentiaal technetium small molecule radiopharmaceuticals. *Chem.Rev.*, **99**, 2205-2218.

-K-

Kan Z., Ivancev K., Lunderquist A., McCuskey P.A., Wright K.C., Wallace S., McCuskey R.S. (1993). In vivo microscopy of hepatic tumors in animal models: a dynamic investigation of blood supply to hepatic metastases. *Radiology*, **187**, 621.

- Kan Z. (1996).** Dynamic study of iodized oil in the liver and blood supply to hepatic tumors. *Acta Radiol*, **37**, 6.
- Karl R., Gust T., Spruss M.R., Schneider H., Schönenberger J., Engel K.H., Wrobel F., Lux S., Trebert H. (1988).** Ring-substituted [1,2-bis (4-hydroxyphenyl) ethylenediamine] dichloroplatinum (II) complexes: compounds with a selective effect on the hormone-dependent mammary carcinoma. *J. Med. Chem*, **31**, 72-83.
- Karlson B.M., Lofberg A.M., Lorelius L.E., Jacobson G., Haglund U. (1999).** Intraarterial chemoembolisation with lipiodol and epirubicin in hepatocellular cancer--improved survival in some patients? *Ann. Chir.Gynaecol*, **88**, 264.
- Katzenellenbogen J.A., Senderoff S.G., McElvany K.D., O'Brien Jr. H.A., Welch M.J. (1981).** 16 α -[⁷⁷Br]Bromoestradiol-17 β : A High Specific-Activity, Gamma-Emitting Tracer with Uptake in Rat Uterus and Induced Mammary Tumors. *J Nucl Med*; **22**, 42.
- Katzenellenbogen J.A., McElvany K.D., Senderoff S.G., Carlson K.E., Landvatter S.W., Welch M.J. (1982).** 16 α -[⁷⁷Br]Bromo-11 β -methoxyestradiol-17 β : A Gamma-Emitting Estrogen Imaging Agent with High Uptake and Retention by Target Organs. *J Nucl Med*, **23**, 411.
- Katchen B., Buxbaum S. (1975).** Disposition of a new, nonsteroid, antiandrogen, alpha,alpha,alpha-trifluoro-2-methyl-4'-nitro-m-propionotoluidide (Flutamide), in men following a single oral 200 mg dose. *J Clin Endocrinol Metab*, **41**, 373-379.
- Kealy J., Pauson P.L. (1951).** A new type of organo-iron compound. *Nature*, **168**, 1039.
- Keen J.C., Davidson N.E. (2003).** The biology of breast carcinoma. *Cancer*, **97**, 825-833.
- Klinge C.M. (2000).** Estrogen receptor interaction with co-activators and co-repressors. *Steroids*, **65**, 227-251
- Koch H. (1984).** Flutamide—A new non-steroidal anti-androgen. *Drugs of Today*, **20**, 561.
- Kolvenbag G.J.C.M., Blackledge G.R.P. (1996).** Worldwide activity and safety of Bicalutamide: a summary review. *Urology*, **47**, 70.
- Kos M., Reid G., Denger S., Gannon, F. (2001).** Minireview: genomic organization of the human ER alpha gene promoter region. *Mol Endocrinol*, **15**, 2057.
- Köpf-Maier P. (1994).** Complexes of metals other than platinum as antitumour agents. *Eur. J. Clin. Pharmacol*, **47**, 1-16.
- Köpf-Maier P., Köpf H. (1987).** Non-platinum group metal antitumor agents. History, current status, and perspectives. *Chem Rev*, **87**, 1137.
- Krishnan V., Heath H., Bryant H.U. (2000).** Mechanism of action of estrogens and selective estrogen receptor modulators. *Vitam. Horm*, **60**, 123-147.
- Kuhn J.M., Billebaud T., Navratil H., Moulouguet A., Friet J., Grise P., Louis J.F., Costa P., Husson J.M., Dahan R., Bertagna C., Edelstein R.N. (1989).** Prevention of the transient adverse effects of a gonadotropin-releasing hormone analogue (buserelin) in metastatic prostatic carcinoma by administration of an antiandrogen (nilutamide). *Engl. J. Med*, **321**, 413.
- Kuiper G.G., Enmark E., Pelto-Huikko M., Nilsson S., Gustafsson J.A. (1996).** Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **93**, 5925-5930.

Kuiper G.G., Carlsson B., Grandien K., Enmark E., Haggblad J., Nilsson S., Gustafsson J.A. (1997). Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology*, **138**, 863-870.

Kumar V., Chambon P. (1988). The estrogen receptor binds tightly to its responsive element as a ligand-induced homodimer. *Cell*, **55**, 145-156.

Kuntschke D., Wenzel M., Schulze P. (1995). "New ^{99m}Tc-Cytectrene Amine Compounds as specific imaging Agents". *J. Label. Compd. Radiopharm*, **XXXVI** (2), 193-203.

-L-

Labrie F. (1993). Mechanism of action and pure antiandrogenic properties of flutamide. *Cancer*, **72**, 3816.

Labrie F., Cusan L., Gomez J., Luu-The V., Candas B., Belanger A., Labrie C. (2004). Major impact of hormonal therapy in localized prostate cancer-death can already be an exception. *J. Steroid Biochem Mol. Biol*, **92**, 327-344.

Laflamme N., Nappi R.E., Drolet G., Labrie C., Rivest S. (1998). Expression and neuropeptidergic characterization of estrogen receptors (ER alpha and ER beta) throughout the rat brain: anatomical evidence of distinct roles of each subtype. *J. Neurobiol*, **36**, 357-378.

Landvatter S.W., Katzenellenbogen J.A., McElvany K.D., Welch M.J. (1982). (2R*,3S*)-1-[¹²⁵I]Iodo-2,3-bis(4-hydroxyphenyl)pentane ([¹²⁵I]iodonorhexestrol) and (2R*,3S*)-1-[⁷⁷Br]Bromo-2,3-bis(4-hydroxyphenyl)pentane ([⁷⁷Br]bromonorhexestrol), two gamma-emitting estrogens that show receptor-mediated uptake by target tissues in vivo. *J Med Chem*; **25**, 1307-12.

Laudet V., Hanni C., Coll J., Catzeflis F., Stehelin D. (1992). Evolution of the nuclear receptor gene superfamily. *Embo J*, **11**, 1003-1013.

Lebeau M.C., Massol N., Herrick J., Faber L.E., Renoir J.M., Radanyi C., Baulieu E.E. (1992). P59, an hsp 90-binding protein. Cloning and sequencing of its cDNA and preparation of a peptide-directed polyclonal antibody. *J Biol Chem*, **267**, 4281-428

Le Bideau F., El Bachir K., Haquette P., Kernbach U., Marrot J., Stéphan E., Top S., Vessières A., Jaouen G. (2000). New and efficient routes to CpRe(CO)₃ substituted steroids. *Chem. Commun*, 211-212.

Le Bideau F., Perez-Luna A., Marrot J., Rager M.N., Stéphan E., Top S., Jaouen G. (2001). New and efficient synthesis of CpRe(CO)₃ substituted steroids. *Tetrahedron*, **57**, 3939.

Leygue E., Dotzlaw H., Watson P.H., Murphy L.C. (1998). Altered estrogen receptor alpha and beta messenger RNA expression during human breast tumorigenesis. *Cancer Res*, **58**, 3197-3201.

Lewis J.S., Jordan V.C. (2005). Selective estrogen receptor modulators (SERMs): mechanisms of anticarcinogenesis and drug resistance. *Mutation Research/Fundamental and molecular mechanisms of mustagenesis*, **591** (1-2), 247-263.

Lin G., Lunderquist A., Hagerstrand I., Boijesen E. (1984). Postmortem examination of the blood supply and vascular pattern of small liver metastases in man. *Surgery*, **96**, 517.

Lippert B. (1999). Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a leading Anticancer Drug. John Wiley and sons, New York.

Liu C.L., Fan S.T. (1997). Non-resectional therapies for hepatocellular carcinoma. *Am. J. Surg*, **173**, 358.

Lloyd R.V., Vidal S., Horvath E., Kovacs K., Scheithauer B. (2003). Angiogenesis in normal and neoplastic pituitary tissues. *Microsc. Res. Tech*, **60** (2), 244-250.

Lubahn D.B., Joseph D.R., Sullivan P.M., Willard H.F., French F.S., Wilson E.M. (1988). Cloning of human androgen receptor complementary DNA and localization to the X chromosome. *Science*, **240** (4850), 327-330.

Luyt L.G., Bigott H.M., Welch M.J., Katzenellenbogen J.A. (2003). 7 α - and 17 α -substituted estrogens containing tridentate tricarbonyl rhenium/technetium complexes: synthesis of estrogen receptor imaging agents and evaluation using microPET with technetium-94m. *Bioorg Med Chem*, **11**(23), 4977-89.

Lytton B. (2001). Prostate cancer: a brief history and the discovery of hormonal ablation treatment. *J. Urol*, **165**, 1859 - 1862.

-M-

MacGregor I., Jordan V.C. (1998). Basic guide to the mechanisms of antiestrogen action. *Pharmacol. Rev*, **50**, 151-196.

Magarian R.A., Overacre L.B., Singh S., Meyer K.L. (1994). The medicinal chemistry of nonsteroidal antiestrogens: a review. *Curr. Med. Chem*, **1**, 61.

Maillard S., Ameller T., Gauduchon T., Googlet A., Gouilleux F., Legrand P., Marsaud V., Fattal E., Sola B., Renoir J.M. (2005). Innovative drug delivery nanosystems improve the anti-tumor activity in vitro and in vivo of antiestrogens in human breast cancer and multiple myeloma. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*, **94**, 111-121.

Marivoet S., Van Dijck P., Verhoeven G., Heyns W. (1992). Interaction of the 90-kDa heat shock protein with native and in vitro translated androgen receptor and receptor fragments. *Mol Cell Endocrinol*, **88**, 165-174.

Mason R.W., McGrouther K., Ranatunge-Bandarage P.R.R., Robinson B.H., Simpson.(1999). Toxicology and antitumour activity of ferrocenylamines and platinum derivatives. *J Appl. Organomet. Chem*, **13**, 163.

Masi S., Top S., Boubeker L., Jaouen G., Mundwiler S., Spingler B., Alberto R. (2004). Direct synthesis of tricarbonyl(cyclopentadienyl)rhenium and tricarbonyl(cyclopentadienyl)technetium units from ferrocenyl moieties. preparation of 17 α -ethynylestradiol derivatives bearing a tricarbonyl(cyclopentadienyl)technetium group. *Eur. J. Inorg. Chem*, **10**, 2013-2017.

McDonnell D.P., Norris J.D. (2002). Connections and regulation of the human estrogen receptor. *Science*, **296**, 1642-1644.

McElvany K.D., Katzenellenbogen J.A., Shafer K.E., Siegel B.A., Senderoff S.G., Welch M.J.(1982). 16 α -[⁷⁷Br]Bromoestradiol: Dosimetry and Preliminary Clinical Studies. *J Nucl Med*, **23**, 425-30.

McKenna N.J., Lanz R.B., O'Malley B.W. (1999). Nuclear receptor coregulators: cellular and molecular biology. *Endocr Rev*, **20**, 321-344.

- McKenna N.J., O'Malley B.W. (2002).** Combinatorial control of gene expression by nuclear receptors and coregulators. *Cell*, **108**, 465-474.
- McLeod D.G. (1993).** Antiandrogenic drugs. *Cancer*, **71**, 1046.
- Meegan M.J., Lloyd D.G. (2003).** Advances in the science of estrogen receptor modulation, *Curr. Med. Chem*, **10**, 181-210.
- Ménégoz F., Black R J., Arveux P., Magne, V., Ferlay J., Buémi A., Carli P. M., Chapelain G., Faivre, J., Gignoux M., Grosclaude, P., Mace-Lesec'h J., Raverdy N., Schaffer P. (1997).** Cancer incidence and mortality in France in 1975-95. *Eur J cancer Prev*, **6**, 442-446.
- Menasce L.P., White G.R., Harrison C.J., Boyle J.M. (1993).** Localization of the estrogen receptor locus (ESR) to chromosome 6 q25.1 by FISH and a simple post-FISH banding technique. *Genomics*, **17**, 263-265.
- Michel P., Gorla O., Riachi G. (2001).** Carcinome hépatocellulaire : alcoolisation, radiofréquence, chimio-embolisation, iode radioactif : quel gain réel de survie ? = Hepatocellular carcinoma : alcohol treatment, radiofrequency, chimio-embolization, radioactivity iodine : what real gain of survival?. *La Lettre de l'Hépatogastroentérologue*, **4**, 30.
- Miller W.L. (1988).** Molecular Biology of Steroid Hormone Synthesis. *ENDOCR. REV*, **9**, 295-318.
- Miller C.P., Collini M.D., Tran B.D., Harris H.A., Kharode Y.P., Marzolf J.T., Moran R.A., Henderson R.A., Bender R.H.W., Unwalla R.J., Greenberger L.M., Yardley J.P., Abou-Gharbia M.A., Lyttle C.R., Komm B.S. (2001).** Design, synthesis and preclinical characterization of novel highly selective indole estrogens. *J. Med. Chem*, **44**, 1654-1657.
- Minutolo F., Katzenellenbogen J. A. (1999).** Three-Component Synthesis of Substituted η^5 -Cyclopentadienyltricarbonylrhenium Complexes: Scope, Limitations, and Mechanistic Interpretations. *Organometallics*, **18**, 2519-2530.
- Moguilewsky M., Bouton M.M. (1988).** How the study of the biological activities of antiandrogens can be oriented towards the clinic. *J. Steroid Biochem*, **31**, 699.
- Mortimer J.E., Dehdashti F., Siegel B.A., Katzenellenbogen J.A., Fracasso P., Welch M.J. (1996).** Positron emission tomography with 2-18F. Fluoro-2-deoxy-D-glucose and 16alpha-18F. fluoro-17beta-estradiol in breast cancer: correlation with estrogen receptor status and response to systemic therapy. *Clin Cancer Res*, **2**, 933-9.
- Mosselman S., Polman J., Dijkema, R. (1996).** ER beta: identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS Lett*, **392**, 49-53.
- Mueck A. O., Seeger H., Lippert T. H. (2002).** Estradiol metabolism and malignant disease. *Maturitas*, **43**, 1-10.
- Müller C., Schubiger P.A., Schibli R. (2007).** Isostructural folate conjugates radiolabeled with the matched pair $^{99m}\text{Tc}/^{188}\text{Re}$: a potential strategy for diagnosis and therapy of folate receptor-positive tumors. *Nucl. Med. Biol*, **34**, 595-601.
- Musey V.C., Collins D.C., Brogan D.R., Santos V.R, Musey P.I., Martino-Saltzman D., Preedy J.R. (1987).** Long term effects of a first pregnancy on the hormonal environment: estrogens and androgens. *J. Clin. Endocrinol. Metab*, **64**, 111-118.

- Nahm S., Weinreb S.M. (1981).** N-methoxy-n-methylamides as effective acylating agents. *Tetrahedron Lett*, **22**, 3815.
- Nahoum V., Bourguet W. (2007).** Androgen and estrogen receptors: potential of crystallography in the fight against Cancer *Int. J. Biochem. cell biol*, **39**, 1280-1287.
- Nakakuma K., Tashiro S., Hiraoka T., Ogata K., Ootsuka K.(1985).** Hepatocellular carcinoma and metastatic cancer detected by iodized oil. *Radiology*, **154**, 15.
- Nantermet P.V., Xu J., Yu Y., Hodor P., Holder D., Adamski S., Gentile M.A., Kimmel D.B., Harada S., Gerhold D., Freedman L.P., Ray W.J. (2004).** Identification of genetic pathways activated by the androgen receptor during the induction of proliferation in the ventral prostate gland. *J. Biol. Chem*, **279**, 1310.
- Negro-Vilar A. (1999).** Selective androgen receptor modulators (SARMs): a novel approach to androgen therapy for the new millenium. *J. Clin. Endocrinol. Metab*, **84**, 3459.
- Nelson P.S., Clegg N., Arnold H., Ferguson C., Bonham M., White J., Hood L., Lin B. (2002).** The program of androgen-responsive genes in neoplastic prostate epithelium. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*, **99**, 11890.
- Neri R.O. (1976).** Antiandrogens. *Adv. Sex Horm. Res*, **2**, 233.
- Neri R., Peets E., Watnick A. (1979).** Anti-androgenicity of flutamide and its metabolite Sch 16423. *Biochem. Soc. Trans*, **7**, 565.
- Nesmeyanov A. N., Bogomolova L. G., Viltchevskaya V., Palitsyne N., Andrianova I., Belozenova O.(1971).** USA patent, **119**, 356.
- Neumann F. (1977).** Pharmacology and potential use of cyproterone acetate. *Horm. Metab. Res*, **9**, 1.
- Neumann F. (1994).** The antiandrogen cyproterone acetate: discovery, chemistry, basic pharmacology, clinical use and tool in basic research. *Exp. Clin. Endocrinol*, **102**, 1.
- Neumann F., Jacobi G.H. (1982).** Antiandrogens in tumour therapy. *J. Clin. Oncol*, **1**, 41.
- Nguyen A. (2007 a).** Synthèse et évaluation biologique de nouveaux dérivés organométalliques du tamoxifène pour le diagnostic et le traitement du Cancer du Sein. Thèse de doctorat, Université ParisV (165 p.).
- Nguyen A., A. Vessières A., Hillard E.A., Top S., Pigeon P., Jaouen G. (2007 b).** Ferrocifens and ferrociphenols as new potential weapons against breast cancer. *Chimia*, **61**, 716.
- Nguyen A., Top S., Vessières A., Pigeon P., Huché M., Hillard E.A, Jaouen G. (2007 c).** Organometallic analogues of tamoxifen: Effect of the amino side-chain replacement by a carbonyl ferrocenyl moiety in hydroxytamoxifen. *J. Organomet. Chem*, **692**, 1219-1225.
- Nguyen C., Kean M. M., Johnston P. G. (1995).**The biology of growth regulation in normal and malignant Breast epithelium: from bench to clinic, *Crit. Rev. Oncol. Hematol*, **20** (3), 223-236.

-O-

Ogawa S., Inoue S., Watanabe T., Hiroi H., Orimo A., Hosoi T., Ouchi Y., Muramatsu M. (1998 a). The complete primary structure of human estrogen receptor beta (hER beta) and its heterodimeriza-tion with ER alpha in vivo and in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, **243**, 122-126.

Ogawa S., Inoue S., Watanabe T., Orimo A., Hosono T., Ouchi Y., Muramatsu M. (1998 b). Molecular cloning and characterization of human estrogen receptor beta: a potential inhibitor of estrogen action in human. *Nucleic Acids Res*, **26**, 3505-3512.

Ohishi H., Uchida H., Yoshimura H., Ohue S., Ueda J., Katsuragi M., Matsuo N., Hosogi Y. (1985). Hepatocellular carcinoma detected by iodized oil. Use of anticancer agents. *Radiology*, **154**, 25.

Okada S., Okusaka T., Ueno H. (2002). In Colombo M. Schiff E. Eds., Update in Hepatology: Hepatocellular Carcinoma, Milan: UTET Periodici, **59**.

Okuda K., Musha H., Yamasaki T. (1977). Angiographic demonstration of intrahepatic arterio-portal anastomoses in hepatocellular carcinoma. *Radiology*, **122**, 53.

Olsson H. (2000). Tumor biology of a Breast Cancer at least partly reflects the biology of the tissue/epithelial cell of origin at the time of initiation – a hypothesis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*, **74** (5), 345-350,

Osborne C.K. (1998). Tamoxifen in the treatment of breast cancer. *N. Engl. J. Med*, **339**, 1609-1618,.

-P-

Parent E. E., Jenks C., Sharp T., Welch M.J., Katzenellenbogen J.A. (2006). Synthesis and biological evaluation of a nonsteroidal bromine-76-labeled androgen receptor ligand 3-[⁷⁶Br]bromo-hydroxyflutamide. *Nucl. Med. Biol*, **33**, 705-713

Parent, E.E., Dence C.S., Jenks C., Sharp T.L., Welch M.J., Katzenellenbogen J.A. (2007). Synthesis and Biological Evaluation of [¹⁸F]Bicalutamide, 4-[⁷⁶Br]Bromobicalutamide, and 4-[⁷⁶Br]Bromo-thiobicalutamide as Non-Steroidal Androgens for Prostate Cancer Imaging. *J. Med. Chem*, **50**, 1028-1040.

Payen O. (2007). Synthèse d'anti-androgènes organométalliques non stéroïdiens et application au traitement du cancer de la prostate. Thèse de doctorat, Université ParisV, (148 p.).

Payen O., Top S., Vessières A., Brulé E., Plamont M.A., McGlinchey M.J., Müller-Bunz H., Jaouen G. (2008). Synthesis and Structure–Activity Relationships of the First Ferrocenyl-Aryl-Hydantoin Derivatives of the Nonsteroidal Antiandrogen Nilutamide. *J. Med. Chem*, **51**, 1791–1799.

Petkovich M., Brand N. J., Krust A., Chambon, P. (1987). A HUMAN RETINOIC ACID RECEPTOR which belongs to the family of nuclear RECEPTORS. *Nature*, **330**, 444-50.

Pigeon P., Top S., Zekri O., Hillard E.A., Vessières A., Plamont M.A., Buriez O., Labbé E., Huché M., Boutamine S., Amatore C., Jaouen G. (2009). The replacement of a phenol group by an aniline or acetanilide group enhances the cytotoxicity of 2-ferrocenyl-1,1-diphenyl-but-1-ene compounds against breast cancer cells. *J. Organometal. Chem*, **694**, 895-901.

Plazuk D., Vessières A., Hillard E. A., Buriez O., Labbe E., Pigeon P., Plamont M.A. Amatore C., Zakrzewski J., Jaouen G. (2009). A [3]ferrocenophane polyphenol showing a remarkable antiproliferative activity on breast and prostate cancer cell lines. *J. Med. Chem*, **52**, 4964–4967.

Polyak K. (2001). On the birth of Breast Cancer. *Biochim. Biophys. Acta*, **1552** (1), 1-13.

Pomper M.G., Van Brocklin H., Thieme A.M., Thomas R.D., Kiesewetter K.E., Carlson K.E. (1990). 11 beta-methoxy-, 11 beta-ethyl- and 17 alpha-ethynyl-substituted 16 alpha-fluoroestradiols: receptor-based imaging agents with enhanced uptake efficiency and selectivity. *J Med Chem*, **33**, 3143– 55.

Pratt W.B., Toft D.O. (1997). Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones. *Endocr. Rev*, **18**, 306.

Pujol P., Rey J.M., Nirde P., Roger P., Gastaldi M., Laffargue F., Rochefort H., Maudelonde T. (1998). Differential expression of estrogen receptor-alpha and -beta messenger RNAs as a potential marker of ovarian carcinogenesis. *Cancer Res*, **58**, 5367-5373.

-R-

Radanyi C., Renoir J.M., Sabbah M., Baulieu E.E. (1989). Chick heat-shock protein of Mr = 90,000, free or released from progesterone receptor, is in a dimeric form. *J Biol Chem*, **264**, 2568-2573.

Rafestin-Oblin M.E., Couette B., Radanyi C., Lombes M., Baulieu E.E. (1989). Mineralocorticosteroid receptor of the chick intestine. Oligomeric structure and transformation. *J Biol Chem*, **264**, 9304-9309.

Ramsey T.L., Klinge C.M. (2001). Estrogen response element binding induces alterations in estrogen receptor-alpha conformation as revealed by susceptibility to partial proteolysis. *J Mol Endocrinol*, **27**, 275-292.

Raoul J.L., Bourguet P., Bretagne J.F., Duvauferrier R., Coornaert S., Darnault P., Ramee A., Herry J.Y., Gastard J. (1988). Hepatic artery injection of I-131-labeled lipiodol. Part I. Biodistribution study results in patients with hepatocellular carcinoma and liver metastases. *Radiology*, **168**, 541.

Ratajczak T., Carrello A., Mark P.J., Warner B.J., Simpson R.J., Moritz R.L., House A.K. (1993). The cyclophilin component of the unactivated estrogen receptor contains a tetratricopeptide repeat domain and shares identity with p59 (FKBP59). *J Biol Chem*, **268**, 13187-13192.

Raynaud J.P., Ojasoo T., Bouton M.M., Bignon E., Pons M., Castres de Paulet A. (1985). Estrogens in the environment, McLachlan Ed., Elsevier, Amsterdam.

Raynaud J.P., Bonne C., Moguilewsky M., Lefèbvre F.A., Bélanger A., Labrie F. (1984). The pure antiandrogen RU 23908 (Anandron), a candidate of choice for the combined antihormonal treatment of prostatic cancer: a review. *The Prostate*, **5**, 299.

Razandi M., Pedram A., Merchenthaler I., Greene G.L., Levin E.R (2004). Plasma membrane estrogen receptors exist and functions as dimmers. *Mol. Endocrinol*, **18**, 2854-2865.

Redeuilh G., Moncharmont B., Secco C., Baulieu E. E. (1987). Subunit composition of the molybdate-stabilized "8-9 S" nontransformed estradiol receptor purified from calf uterus. *J Biol Chem*, **262**, 6969-6975.

Renoir J.M., Radanyi C., Faber L.E., Baulieu E.E. (1990). The non-DNA-binding heterooligomeric form of mammalian steroid hormone receptors contains a hsp90-bound 59-kilodalton protein. *J Biol Chem*, **265**, 10740-10745.

Remenyi A., Scholer H.R., Wilmanns M. (2004). Combinatorial control of gene expression. *Nat. Struct. Mol. Biol*, **11**, 812.

Reske, S.N., Blumstein N.M., Neumaier B., Gottfried H.W., Finsterbusch F., Kocot D., Möller P., Glatting,G., Perner S. (2006). Imaging Prostate Cancer with ¹¹C-Choline PET/CT. *J. Nucl. Med*, **47**, 1249-1254.

Robertson J.F.R.(2004). Selective oestrogen receptor modulators/new antioestrogens: a clinical perspective. *Cancer Treatment Reviews*, **30**, 695-706.

Roche A., De Baere T., Kuoch V. (2001). Que reste-t-il de la chimioembolisation hépatique? *Acta Endoscopica*, **31**, 61.

Roger P., Sahla M.E., Makela S., Gustafsson J.A., Baldet P., Rochefort H. (2001). Decreased expression of estrogen receptor beta protein in proliferative preinvasive mammary tumors. *Cancer Res*, **61**, 2537-2541.

Rokhlin O.W., Taghiyev A.F., Guseva N.V., Glover R.A., Chumakov, P.M., Kravchenko J.E., Cohen M.B. (2005). Androgen regulates apoptosis induced by TNFR family ligands via multiple signaling pathways in LNCaP. *Oncogen*, **24**, 6773-6784.

Ross R.K., Piker M.C., Coetzee G.A.,Reichardt J.k., Yu, M.C., Feigelson H., Stanczyk F. Z, Kolonel L.N., Henderson B.E. (1998). Androgen Metabolism and Prostate Cancer: Establishing a Model of Genetic Susceptibility. *Cancer Research*, **58**, 4497-4504.

Rosenberg B., Vancamp L., Trosko J.E., Mansour V.H. (1969). Platinum compounds : a new class of potent antitumour agents. *Nature*, **222**, 385-386.

Rosenberg B., Vancamp L., Krigas T. (1965). Inhibition of cell division in Escherichia coli by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature*, **205**, 698-699.

Rosenberg B., Vancamp L. (1970). The successful regression of large solid sarcoma 180 tumors by platinum compounds. *Cancer Res*, **30**, 1799-1802.

Russell DW, Berman D.M., Bryant .JT., Cala K.M., Davis D.L., Landrum C.P., Prihoda J.S., Silver R.I, Thigpen A.E., Wigley W.C. (1994). The molecular genetics of steroid 5 alpha-reductases. *Recent Prog Horm Res*, **49**, 275–284.

Russo J.H., Russo J. (1998). Role of hormones in mammary cancer: initiation and progression. *J. Mammary gland Biol. Neoplasia*, **3** (1), 49-61.

Ryder S.D., Rizzi P.M., Metivier E., Karani J., Williams R. (1996). Chemoembolization with lipiodol and doxorubicin : applicability in British patients with hepatocellular carcinoma. *Gut* **38**, 125.

-S-

Saatchi K., Häfeli U.O. (2009). Radiolabeling of biodegradable polymeric microspheres with [^{99m}Tc(CO)₃]⁺ and in vivo biodistribution evaluation using microSPECT/CT imaging. *Bioconjugate Chem*, **20**, 1209-1217.

Safe S. (2001). Transcriptional activation of genes by 17 beta-estradiol through estrogen receptor-Sp1 interactions. *Vitam Horm*, **62**, 231-252.

Salomonsson M., Haggblad J., O'Malley B.W., Sitbon G.M. (1994). The human estrogen receptor hormone binding domain dimerizes independently of ligand activation. *J Steroid Biochem Mol Biol*, **48**, 447-452.

Sanchez E.R., Toft D.O., Schlesinger M.J., Pratt W.B. (1985). Evidence that the 90-kDa phosphoprotein associated with the untransformed L-cell glucocorticoid receptor is a murine heat shock protein. *J Biol Chem*, **260**, 12398-12401.

- Sap J., Munoz A., Damm K., Goldberg Y., Ghysdael J., Leutz A., Beug H., Vennstrom B. (1986).** The c-erb-A protein is a high-affinity receptor for thyroid hormone. *Nature*, **324**, 635-640.
- Sar M., Welsch F. (1999).** Differential expression of estrogen receptor- β and estrogen receptor- α in the rat ovary. *Endocrinology*, **140**, 963 – 971.
- Schulz M., Schmoltdt A., Donn F., Becker H. (1988).** The pharmacokinetics of flutamide and its major metabolites after a single oral dose and during chronic treatment. *Eur. J. Clin. Pharmacol*, **34**, 633.
- Schwabe J.W.R., Chapman L., Finch J.T., Rhodes D. (1993).** The crystal structure of the estrogen receptor DNA-binding domain bound to DNA: how receptors discriminate between their response elements. *Cell*, **75**, 567-578.
- Sciarra F., Toscano G., Concolino G., Di Silverio F. (1990).** Antiandrogens: Clinical applications. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*, **37**, 349-362
- Segnitz B., Gehring U. (1995).** Subunit structure of the nonactivated human estrogen receptor. *Proc.Natl. Acad.Sci. USA*, **92**, 2179-2183.
- Seoa J.W., Chia D.Y., Denceb C.S., Welchb M.J., Katzenellenbogen J.A. (2007).** Synthesis and biodistribution of fluorine-18-labeled fluorocyclofenils for imaging the estrogen receptor. *Nuclear Medicine and Biology*, **34**, 383–390
- Senderoff S.G., McElvany K.D., Carlson K.E., Heiman D.F., Katzenellenbogen J.A., Welch M.J. (1982).** Methodology for the synthesis and specific activity determination of 16α -[^{77}Br]-bromoestradiol-17 β and 16α -[^{77}Br]-11 β -methoxyestradiol-17 β , two estrogen receptorbinding radiopharmaceuticals. *Int J Appl Radiat Isot*, **33**, 545–51.
- Seimbille Y., Benard F., van Lier J.E. (2002).** Synthesis of 16a-fluoro ICI 182,780 derivatives: powerful antiestrogens to image estrogen receptor densities in breast cancer by position emission tomography. *J Chem Soc Perkin Trans*, **20**, 2275-81.
- Shaffer P.L., Jivan A., Dollins D.E., Claessens F., Gewirth D.T. (2004).** Structural basis of androgen receptor binding to selective androgen response elements. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*, **101**, 4758.
- Shiau A.K., Barstad D., Loria P.M., Cheng L., Kushner P.J., Agard D.A., Greene G.L. (1998).**The structural basis of estrogen receptor/coactivator recognition and the antagonism of this interaction by tamoxifen,. *Cell*, **95**, 927-937.
- Smith C.L., O'Malley B.W. (2004).** Coregulator function: a key to understanding tissue specificity of selective receptor modulators. *Endocr Rev*, **25**, 45-71.
- Seo J.W., Chi D.Y, Dence C.S, Welch M.J., Katzenellenbogen J.A. (2007).** Synthesis and biodistribution of fluorine-18-labeled fluorocyclofenils for imaging the estrogen receptor. *Nuclear Medicine and Biology*, **34**, 345-470.
- Shang Y., Myers M., Brown M. (2002).** Formation of the androgen receptor transcription complex. *Mol. Cell*, **9**, 601.
- Simoncini T., Fornari L., Mannella P., Varone G., Caruso A., Liao J.K., Genazzani A. R. (2002).** Novel non-transcriptional mechanisms for estrogen receptor signaling in the cardiovascular system. Interaction of estrogen receptor alpha with phosphatidylinositol 3-OH kinase. *Steroids*, **67**, 935-939.

Singh S.M., Gauthier S., Labrie F. (2000). Androgen receptor antagonists (antiandrogens): structure-activity relationships. *Curr. Med. Chem*, **7**, 211.

Singh M.N., Stringfellow H.F., Paraskevaidis E., Martin-Hirsch P.L., Martin F.L. (2007). Tamoxifen: Important considerations of a multi-functional compound with organ-specific properties. *Cancer Treatment Reviews*, **33**, 91-100.

Skaddan M. B., Wüst F. R., Katzenellenbogen J. A. (1999). Synthesis and binding affinities of novel Re-containing 7 α -substituted estradiol complexes: models for breast cancer imaging agents. *J. Org. Chem*, **64**, 8108-8121.

Spradau T.W., Katzenellenbogen J.A. (1998). Preparation of Cyclopentadienyltricarboxylrhenium Complexes Using a Double Ligand-Transfer Reaction. *Organometallics*, **17**, 2009-2017.

Spradau T.W., Edwards W.B., Anderson C.J., Welch M.J., Katzenellenbogen J.A. (1999). Synthesis and biological evaluation of Tc-99m-cyclopentadienyltricarboxyltechnetium-labeled octreotide. *Nucl. Med. Biol*, **26**, 1-7.

Starling E.H. (1905). The Chemical Correlation of the functions of the body, Lecture I. *Lancet*, **2**, 339.

-T-

Tamrazi A., Carlson K.E., Daniels J.R., Hurth, K.M., Katzenellenbogen J.A. (2002). Estrogen Receptor Dimerization: Ligand Binding Regulates Dimer Affinity and Dimer Dissociation Rate. *Mol Endocrinol*, **16**, 2706-2719.

Tan Y.L.K., Pigeon P., Hillard E.A., Top S., Vessières A., McGlinchey M.J., Müller-Bunz H., Gérard Jaouen G. (2009). Synthesis, oxidation chemistry and cytotoxicity studies on ferrocene derivatives of diethylstilbestrol. *Dalton trans*, **48**, 10871-10881.

Tan J.A., Joseph D.R., Quarmby V.E., Lubahn D.B., Sar M., French F.S., Wilson E.M. (1988). The rat androgen receptor: primary structure, autoregulation of its messenger ribonucleic acid, and immunocytochemical localization of the receptor protein. *Mol Endocrinol*, **2**, 1276-1285.

Tannock I.F., Osoba D., Stockler M.R., Ernst D.S., Neville A.J., Moore M.J., Armitage G.R., Wilson J.J., Venner P.M., Coppin C.M., Murphy K.C. (1996). Chemotherapy with mitoxantrone plus prednisone or prednisone alone for symptomatic hormone-resistant prostate cancer: a Canadian randomized trial with palliative end points. *J. Clin. Oncol*, **14** (6), 1756 - 1764.

Taylor A.H., Al-Azzawi F. (2000). Immunolocalisation of oestrogen receptor beta in human tissues. *J Mol Endocrinol*, **24**, 145-155.

Thigpen A.E., Silver R.I., Guileyardo J.M., Casey M.L., McConnell J.D., Russell D.W. (1993). Tissue distribution and ontogeny of steroid 5 α -reductase isozyme expression. *J. Clin. Invest*, **92**, 903.

Top S., El Hafa H., Vessières A., Quivy J., Vaissermann J., Hugues D., McGlinchey M.J., Mornon J., Thoreau E., Jaouen G. (1995). Rhenium carbonyl complexes of beta-estradiol derivatives with high affinity for the estradiol receptor: an approach to selective organometallic radiopharmaceuticals. *J. Am. Chem. Soc*, **117**, 8372-8380,

- Top S., Tang J., Vessières A., Carrez D., Provot C., Jaouen G. (1996).** Ferrocenylhydroxytamoxifen: a prototype for a new range of oestradiol receptor site-directed cytotoxics. *Chem. Commun.*, 955-956.
- Top S., Dauer B., Vaissermann J., Jaouen G. (1997).** Facile route to ferrocifen, 1-[4-(2-dimethylaminoethoxy)]-1(phenyl-2-ferrocenyl-but-1-ene), first organometallic analogue of tamoxifen, by the McMurry reaction. *J. Organomet. Chem.*, **541**, 355-361,
- Top S., Kaloun E.B., Jaouen G. (2000).** A Novel and Mild Metal-Exchange Reaction in the Organometallic Cyclopentadienyl Series: 1,1'-Diaryl 2-Cymantrenyl 1-Butene as an Example. *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 736.
- Top S., Vessières A., Cabestaing C., Laios I., Leclercq G., Provot C., Jaouen G. (2001).** Studies on organometallic selective receptor modulators (SERMs). dual activity in the hydroxy ferrocifen series. *J. Organomet. Chem.*, **637**, 500-506,
- Top S., Kaloun E.B., Toppi S., Herrbach A., McGlinchey M.J., Jaouen G. (2001 a).** Decomplexation of Cyclopentadienylmanganese Tricarbonyls under Very Mild Conditions: A Novel Route to Substituted Cyclopentadienes and Their Application in Organometallic Synthesis. *Organometallics*, **20**, 4554.
- Top S., Kaloun E.B., Vessières A., Laios I., Leclercq G., Jaouen G. (2002 a).** The First Titanium Dichloride Moiety Vectorised by a Selective Estrogen Receptor Modulator (SERM). Synthesis and Preliminary Biochemical Behaviour. *J. Organomet. Chem.*, 350-356
- Top S., Masi S., Jaouen G. (2002 b).** The [Re(CO)₆]⁺ cation as a ligand-transfer reagent with ferrocene derivatives. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 1848-1853.
- Top S., Kaloun E. B., Vessières A., Leclercq G., Laios I., Ourevitch M., Deuschel C., McGlinchey M. J., Jaouen G. (2003a).** Tamoxifen derivatives for delivery of the antitumoral DACH-Pt group: selective synthesis by McMurry coupling and biochemical behavior. *Chem. Bio. Chem.*, **4**, 754-761.
- Top S., Vessières A., Leclercq G., Quivy J., Tang J., Vaissermann J., Huché M., Jaouen G. (2003b).** Synthesis, biochemical properties and molecular modelling studies of organometallic specific estrogen receptor modulators (SERMs), the ferrocifens and hydroxyferrocifens: evidence for an antiproliferative effect of hydroxyferrocifens on both hormone-dependent and hormone-independent breast cancer cell lines. *Chem. Eur. J.*, **9**, 5223-5236.
- Top S., Vessières A., Pigeon P., Rager M.-N., Huché M., Salomon E., Cabestaing C., Vaissermann J., Jaouen G. (2004).** SERMs in cyclopentadienyl rhenium tricarbonyl series. Synthesis and biological behavior. *Chem. Bio. Chem.*, **5**, 1104-1113.
- Top S., Thibaudeau C. I., Vessières A., Brulé E., Le Bideau F., Joerger J.-M., Plamont M.A., Samreth S., Edgar A., Marrot J., Herson P., Jaouen G. (2009).** Synthesis and structure activity relationship (SAR) of *organometallic* steroidal androgen derivatives. *Organometallics*, **28**, 1414-1424.
- Tremblay G.B., Tremblay, A., Copeland N.G., Gilbert D.J., Jenkins, N.A., Labrie F., Giguere V. (1997).** Cloning, chromosomal localization, and functional analysis of the murine estrogen receptor beta. *Mol Endocrinol*, **11**, 353-365.
- Tucker H., Crook J.W., Chesterson G.J. (1988).** Nonsteroidal antiandrogens. Synthesis and structure-activity relationships of 3-substituted derivatives of 2-hydroxypropionanilidestitre. *J. Med. Chem.*, **31**, 954.

-U-

-V-

VanBrocklin HF., Carlson K.E, Katzenellenbogen J.A., Welch. M.J. (1993). 16 beta-([18F]fluoro)estrogens: systematic investigation of a new series of fluorine-18-labeled estrogens as potential imaging agents for estrogen-receptor-positive breast tumors. *J Med Chem*, **36**.

Van Staveren D.R., Waibel R., Mundwiler S., Schubiger P.A., Alberto R. (2004). Conjugates of vitamin B12 with N_ε-functionalized histidine for labeling with [^{99m}Tc(OH₂)₃(CO)₃]⁺: synthesis and biodistribution studies in tumor bearing mice. *J. Organomet. Chem*, **689**, 4803-4810.

Van de Velde P., Nique F., Bouchoux F., Bremaud J., Hameau M.C., Lucas D., Moratille C., Viet S., Philibert D., Teutsch G. (1994). RU58, 668, a new pure antiestrogen inducing a regression of human mammary carcinoma implanted in nude mice. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **48**, 187-196.

Vandenbos F., Chevallier D., Michiels J.F. (2004). Cancers de la prostate : classification histopathologique. *Oncologie*, **6**, 385-393.

Venook A. (1994). Treatment of hepatocellular carcinoma: too many options? *J. Clin. Oncol*, **12**, 1323.

Verderame M.(1986). CRC handbook of hormones, vitamins and radiopaques, CRC Press: Boca Raton, FL.

Vessières A., Top S., Pigeon P., Hillard E. A, Boubeker L., Spera D., Jaouen G. (2005). Modification of the estrogenic properties of diphenols by the incorporation of ferrocene. Generation of anti-proliferative effects in vivo. *J. Med. Chem*, **48**, 3937-3940.

Vessières A., Top S., Beck W., Hillard E.A., Jaouen G. (2006). Metal complex SERMs (selective oestrogen receptor modulators). The influence of different metal units on breast cancer cell antiproliferative effects. *Dalton trans*, 529-541.

Vessières A., Spera D., Top S., Misterkiewicz B., Heldt I.M, Hillard E.A., Huché M., Plamont M.A., Napolitano E, Fiaschi R Jaouen G. (2006). The presence of a ferrocenyl unit on an estrogenic molecule is not always sufficient to generate in vitro cytotoxicity. *ChemMedChem*, **1**, 1275-1281.

Von Angerer E., Prekajac J. (1983). 2-(hydroxyphenyl) indoles: a new class of mammary tumor-inhibing compounds. *J. Med. Chem*, **26** (1), 113-116.

Von Angerer E., Knebel N., Kager M., Ganss B. (1990). 1-(aminoalkyl)-2-phenylindoles as novel pure estrogen antagonists. *J. Med. Chem*, **33**, 2635-2640.

Von Angerer E. (1993). Platinum complexes with specific activity against hormone dependent tumors, (B. K. Keppler) Edts, VCH.

-W-

Wakeling A.E., Furr B.J., Glen A.T., Hughes L.R. (1981). Receptor binding and biological activity of steroidal and nonsteroidal antiandrogens. *J. Steroid Biochem*, **15**, 355.

Wakeling A.E., Dukes M., Bowler J. (1991). A potent specific pure antiestrogen with clinical potential. *Cancer Res*, **51**, 3867-3873.

- Wakeling A.E., Bowler J. (1992).** ICI 182,780, a new antiestrogen with clinical potential. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **43**, 173-177.
- Walter P., Green S., Greene G., Krust A., Bornert J.M., Jeltsch J.M., Staub A., Jensen E., Scrace G., Waterfield M., et al. (1985).** Cloning of the human estrogen receptor cDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **82**, 7889-7893.
- Whang H., Peters G.A., Zeng X., Tang M., Ip W., Khan S.A. (1995).** Yeast twohybrid system demonstrates that estrogen receptor dimerization is ligand dependent in vivo. *Journal of Biological Chemistry*, **270**, 23322-23329.
- Wald J., Alberto R., Ortner K., Candreia L. (2001).** Aqueous one-pot synthesis of derivatized cyclopentadienyl-tricarbonyl complexes of ^{99m}Tc with an in situ CO source: Application to a serotonergic receptor ligand. *Angew. Chem. Int. Ed*, **40**, 3062-3066.
- Warnmark A., Treuter E., Wright A.P., Gustafsson J.A. (2003).** Activation functions 1 and 2 of nuclear receptors: molecular strategies for transcriptional activation. *Mol. Endocrinol*, **17** (10), 1901-1909.
- Webb P., Lopez G.N., Uht R.M., Kushner P.J. (1995).** Tamoxifen activation of the estrogen receptor/AP-1 pathway: potential origin for the cell-specific estrogen-like effects of antiestrogens. *Mol Endocrinol*, **9**, 443-456.
- Weihua Z., Warner M., Gustafsson J.A. (2002).** Estrogen receptor beta in the prostate. *Mol Cell Endocrinol*, **193**, 1-5.
- Willhite S.L., Goebel S.R., Scoggin J.A. (1998).** Raloxifene provides an alternative for osteoporosis prevention. *Ann. Pharmacother*, **32** (7), 834-837.
- Willson T.M., Norris J.D., Wagner B.L., Asplin I., Baer P., Brown H.R., Jones S.A., Henke B., Sauls H., Wolfe S., Morris D.C., McDonnell D.P. (1997)** Dissection of the molecular mechanism of action of GW5638, a novel estrogen receptor ligand, provides insights into the role of estrogen receptor in bone. *Endocrinology*, **138**, 3901-3911.
- Wilkinson C., Rosenberg M., Whiting M.C., Woodward R.B. (1952).** Hybrid of ferrocene and fullerene. *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 2125.
- Winer E.P., Hudis C., Burstein H.J., Wol A.C., Pritchard K.I., Ingle J.N., Chlebowski R. T., Gelber R., Edge S.B., Gralow J., Cobleigh M.A., Mamounas E.P., Goldstein L.J., Whelan T.J., Powles T.J., Bryant J., Perkins C., Perotti J., Braun S., Langer A.S., Browman G.P., Somer M.R. (2005).** American society of clinical oncology technology assessment on the use of aromatase inhibitors as adjuvant therapy for post-menopausal women with hormone receptor-positive breast cancer: status report 2004. *J Clin Oncol*, **23**, 619-629.
- Wong C.I., Kelce W.R., Sar M., Wilson E.M. (1995).** Androgen Receptor Antagonist VERSUS Agonist Activities of the Fungicide Vinclozolin Relative to Hydroxyflutamide. *J. Biol. Chem.*, **270**, 19998.
- Wood J.R., Greene G.L., Nardulli A.M. (1998).** Estrogen response elements function as allosteric modulators of estrogen receptor conformation. *Mol Cell Biol*, **18**, 1927-1934.
- Wood J.R., Likhite V.S., Loven M.A., Nardulli A.M. (2001).** Allosteric modulation of estrogen receptor conformation by different estrogen response elements. *Mol Endocrinol*, **15**, 1114-1126.
- Wooster R., Weber B.L. (2003).** Breast and ovarian cancer. *N. Engl. J. Med.*, **348**, 2339-2347.

Wu Y.L., Yang X., Ren Z., McDonnell D.P., Norris J.D., Willson T.M., Greene G.L. (2005). Structural basis for an unexpected mode of SERM-mediated ER antagonism. *Molecular Cell*, **18**, 413-424.

Wurtz J.M., Bourguet W., Renaud J.P., Vivat V., Chambon P., Moras D., Gronemeyer H. (1996). A canonical structure for the ligand-binding domain of nuclear receptors. *Nat. Struct. Biol.*, **3**, 87.

-X-

-Y-

Yumoto Y., Jinno K., Tokuyama K., Araki Y., Ishimitsu T., Maeda H., Konno T., Iwamoto S., Ohnishi K., Okuda K. (1985). Hepatocellular carcinoma detected by iodized oil. *Radiology*, **154**, 19.

-Z-

Zeelen F.S., Bergink E.W. (1980). Cytotoxic estrogens in hormone receptive tumors, pp 39-48 (J. Raus, H. Martens, G. Leclercq) Eds. , Academic Press, London.

Zekri O., Hillard E.H., Top S., Vessières A., Pigeon P., Plamont M.A, Huché M., Boutamine S., McGlinchey M.J., Müller-Bunz H., Jaouen G. (2009). Role of aromatic substituents on the antiproliferative effects of diphenyl ferrocenyl butene compounds. *Dalton trans*, 4318-4326.

Zhou D., Sharp T.L., Fettig N.M., Lee H., Lewis J.S., Katzenellenbogen J.A., Welch M.J. (2008). Evaluation of a bromine-76-labeled progestin 16 α ,17 α -dioxolane for breast tumor imaging and radiotherapy: in vivo biodistribution and metabolic stability studies. *Nuclear Medicine and Biology*, **35**, 655-663.

Zivadinovic B., Gametchu B., Watson C.S. (2005). Membrane estrogen receptor-alpha levels in MCF-7 Breast Cancer cells predict cAMP and proliferation responses. *Breast Cancer Res*, **7**, R101-R112,

Nétographie

[1@] <http://jeanzin.fr/index.php?2008/04/27/133-la-degenerescence-de-l-homme>

[2@] [www. Pharmacorama.com](http://www.pharmacorama.com), estrogens, progestatifs et estroprogestatifs.

[3@] http://www.sanofi-aventis.com/rd/portfolio/p_rd_portfolio_medicine_interne.asp

ANNEXES

Crystal structure information:

=====

Formula C45H57FeNO3Si2			
Crystal Class	monoclinic	Space Group	P 21/a
a	10.0614(9)	alpha	90
b	24.941(2)	beta	104.916(7)
c	18.9865(15)	gamma	90
Volume	4604.1(7)	Z	4
Radiation type	Mo K α	Wavelength	0.710730
ρ	1.11	Mr	771.97
μ	0.415	Temperature (K)	200(2)
Size	0.08x 0.10x 0.24		
Colour	orange	Shape	plate
Cell from	120 Reflections	Theta range	4 to 19
Diffractometer type	KAPPACCD	Scan type	PHIOMEGA
Absorption type	multi-scan	Transmission range	0.94 0.96
Reflections measured	51495	Independent reflections	10145
		Theta max	27.50
Hmin, Hmax	-12 13		
Kmin, Kmax	-32 32		
Lmin, Lmax	-24 24		
Refinement on Fsqd			
R[I>2 σ (I)]	0.164	WR2(all)	0.487
		Max shift/su	0.0092
Delta Rho min	-3.88	Delta Rho max	5.85
Reflections used	10141		
Number of parameters	393	Goodness of fit	0.948

Table II : Fractional atomic coordinates for C₄₅H₅₇FeNO₃Si₂

Atom	x/a	y/b	z/c	U(eq ν)
Fe (1)	0.30026 (13)	0.14697 (5)	0.16571 (7)	0.0362
Si (1)	0.3765 (3)	0.53534 (12)	0.17110 (17)	0.0517
Si (2)	0.0737 (4)	0.35082 (13)	0.82768 (17)	0.0578
O (1)	0.4279 (5)	0.2725 (2)	0.2639 (3)	0.0353
O (2)	0.2692 (7)	0.5484 (3)	0.2210 (3)	0.0450
O (3)	0.1863 (9)	0.3356 (3)	0.7782 (4)	0.0628
N (1)	0.2210 (6)	0.2674 (3)	0.2898 (3)	0.0284
C (1)	0.2512 (8)	0.2233 (3)	0.1835 (4)	0.0328
C (2)	0.1308 (9)	0.1916 (4)	0.1646 (5)	0.0422
C (3)	0.1244 (11)	0.1700 (4)	0.0938 (6)	0.0529
C (4)	0.2359 (16)	0.1880 (5)	0.0702 (6)	0.0638
C (5)	0.3162 (12)	0.2208 (4)	0.1259 (5)	0.0492
C (6)	0.4250 (18)	0.1167 (5)	0.2582 (9)	0.0901
C (7)	0.3105 (17)	0.0822 (5)	0.2312 (8)	0.0798
C (8)	0.3141 (15)	0.0660 (4)	0.1629 (8)	0.0720
C (9)	0.4254 (17)	0.0873 (6)	0.1476 (10)	0.0906
C (10)	0.4955 (13)	0.1210 (6)	0.2065 (12)	0.0890
C (11)	0.3085 (8)	0.2556 (3)	0.2486 (4)	0.0269
C (12)	0.2400 (7)	0.3037 (3)	0.3492 (4)	0.0258
C (13)	0.1423 (8)	0.3025 (3)	0.3900 (4)	0.0326
C (14)	0.1484 (9)	0.3409 (3)	0.4437 (4)	0.0330
C (15)	0.2465 (9)	0.3809 (3)	0.4577 (4)	0.0336
C (16)	0.3459 (9)	0.3795 (3)	0.4190 (4)	0.0360
C (17)	0.3443 (9)	0.3418 (3)	0.3645 (4)	0.0335
C (18)	0.2471 (9)	0.4231 (4)	0.5135 (4)	0.0352
C (19)	0.2610 (9)	0.4750 (3)	0.5018 (4)	0.0355
C (20)	0.2821 (11)	0.5174 (4)	0.5620 (5)	0.0434
C (21)	0.1715 (14)	0.5589 (4)	0.5502 (5)	0.0558
C (22)	0.2612 (9)	0.4969 (3)	0.4289 (4)	0.0342
C (23)	0.3619 (9)	0.5321 (3)	0.4191 (4)	0.0356
C (24)	0.3671 (10)	0.5492 (4)	0.3501 (5)	0.0420
C (25)	0.2673 (9)	0.5323 (4)	0.2900 (4)	0.0348
C (26)	0.1614 (9)	0.4994 (4)	0.2982 (4)	0.0377
C (27)	0.1579 (9)	0.4819 (4)	0.3673 (4)	0.0364
C (28)	0.5513 (12)	0.5325 (5)	0.2234 (6)	0.0548
C (29)	0.3582 (18)	0.5928 (7)	0.1015 (10)	0.1008
C (30)	0.3125 (12)	0.4767 (5)	0.1139 (6)	0.0578
C (31)	0.1621 (12)	0.4854 (5)	0.0700 (6)	0.0558
C (32)	0.3270 (16)	0.4284 (7)	0.1674 (9)	0.0861
C (33)	0.3981 (14)	0.4720 (5)	0.0552 (7)	0.0661
C (34)	0.2315 (10)	0.4006 (4)	0.5845 (4)	0.0372
C (35)	0.3131 (11)	0.3596 (4)	0.6184 (5)	0.0449
C (36)	0.2972 (12)	0.3379 (4)	0.6837 (5)	0.0499
C (37)	0.1965 (11)	0.3580 (4)	0.7146 (5)	0.0464
C (38)	0.1126 (11)	0.3992 (4)	0.6809 (5)	0.0480
C (39)	0.1309 (11)	0.4205 (4)	0.6161 (5)	0.0440
C (40)	0.1021 (14)	0.4199 (5)	0.8610 (7)	0.0673
C (41)	-0.103 (2)	0.3352 (10)	0.7729 (13)	0.1291
C (42)	0.1308 (14)	0.3040 (6)	0.9072 (8)	0.0698
C (43)	0.2770 (19)	0.3159 (7)	0.9455 (10)	0.0935
C (44)	0.108 (2)	0.2453 (9)	0.8731 (12)	0.1138
C (45)	0.0384 (18)	0.3114 (7)	0.9586 (9)	0.0883

Table III : Interatomic distances (Å) for C₄₅H₅₇FeNO₃Si₂

Fe(1) - C(1)	2.017(8)	Fe(1) - C(2)	2.032(9)
Fe(1) - C(3)	2.021(9)	Fe(1) - C(4)	2.038(12)
Fe(1) - C(5)	2.013(10)	Fe(1) - C(6)	2.023(12)
Fe(1) - C(7)	2.025(12)	Fe(1) - C(8)	2.026(10)
Fe(1) - C(9)	2.034(12)	Fe(1) - C(10)	2.024(13)
Si(1) - O(2)	1.642(7)	Si(1) - C(28)	1.785(12)
Si(1) - C(29)	1.926(14)	Si(1) - C(30)	1.836(13)
Si(2) - O(3)	1.690(9)	Si(2) - C(40)	1.833(14)
Si(2) - C(41)	1.86(3)	Si(2) - C(42)	1.878(14)
O(1) - C(11)	1.235(9)	O(2) - C(25)	1.375(10)
O(3) - C(37)	1.357(11)	N(1) - C(11)	1.351(9)
N(1) - C(12)	1.421(9)	C(1) - C(2)	1.413(13)
C(1) - C(5)	1.413(12)	C(1) - C(11)	1.465(10)
C(2) - C(3)	1.435(13)	C(3) - C(4)	1.385(18)
C(4) - C(5)	1.414(15)	C(6) - C(7)	1.42(2)
C(6) - C(10)	1.36(2)	C(7) - C(8)	1.37(2)
C(8) - C(9)	1.34(2)	C(9) - C(10)	1.43(2)
C(12) - C(13)	1.399(10)	C(12) - C(17)	1.389(11)
C(13) - C(14)	1.388(11)	C(14) - C(15)	1.382(11)
C(15) - C(16)	1.385(11)	C(15) - C(18)	1.493(11)
C(16) - C(17)	1.395(11)	C(18) - C(19)	1.326(12)
C(18) - C(34)	1.506(11)	C(19) - C(20)	1.531(10)
C(19) - C(22)	1.489(11)	C(20) - C(21)	1.493(16)
C(22) - C(23)	1.390(12)	C(22) - C(27)	1.401(12)
C(23) - C(24)	1.391(12)	C(24) - C(25)	1.378(13)
C(25) - C(26)	1.385(12)	C(26) - C(27)	1.393(12)
C(30) - C(31)	1.543(16)	C(30) - C(32)	1.560(17)
C(30) - C(33)	1.578(16)	C(34) - C(35)	1.365(14)
C(34) - C(39)	1.393(13)	C(35) - C(36)	1.398(13)
C(36) - C(37)	1.389(15)	C(37) - C(38)	1.379(15)
C(38) - C(39)	1.395(13)	C(42) - C(43)	1.49(2)
C(42) - C(44)	1.59(3)	C(42) - C(45)	1.52(2)

Table IV :Bond angles (°) for C45H57FeNO3Si2

C(1) - Fe(1) - C(2)	40.8(4)	C(1) - Fe(1) - C(3)	68.6(3)
C(2) - Fe(1) - C(3)	41.5(4)	C(1) - Fe(1) - C(4)	68.9(4)
C(2) - Fe(1) - C(4)	69.0(5)	C(3) - Fe(1) - C(4)	39.9(5)
C(1) - Fe(1) - C(5)	41.1(4)	C(2) - Fe(1) - C(5)	69.1(4)
C(3) - Fe(1) - C(5)	68.1(5)	C(4) - Fe(1) - C(5)	40.9(4)
C(1) - Fe(1) - C(6)	109.3(5)	C(2) - Fe(1) - C(6)	123.0(7)
C(3) - Fe(1) - C(6)	158.8(8)	C(4) - Fe(1) - C(6)	160.7(7)
C(5) - Fe(1) - C(6)	125.1(5)	C(1) - Fe(1) - C(7)	128.8(5)
C(2) - Fe(1) - C(7)	110.7(6)	C(3) - Fe(1) - C(7)	122.7(6)
C(4) - Fe(1) - C(7)	154.4(5)	C(5) - Fe(1) - C(7)	164.6(5)
C(1) - Fe(1) - C(8)	165.2(6)	C(2) - Fe(1) - C(8)	127.6(5)
C(3) - Fe(1) - C(8)	108.7(5)	C(4) - Fe(1) - C(8)	119.1(5)
C(5) - Fe(1) - C(8)	152.8(6)	C(1) - Fe(1) - C(9)	155.1(6)
C(2) - Fe(1) - C(9)	162.4(5)	C(3) - Fe(1) - C(9)	124.5(5)
C(4) - Fe(1) - C(9)	106.6(7)	C(5) - Fe(1) - C(9)	119.5(7)
C(1) - Fe(1) - C(10)	119.5(5)	C(2) - Fe(1) - C(10)	155.3(6)
C(3) - Fe(1) - C(10)	160.8(7)	C(4) - Fe(1) - C(10)	123.8(8)
C(5) - Fe(1) - C(10)	105.8(6)	C(6) - Fe(1) - C(7)	41.2(6)
C(6) - Fe(1) - C(8)	67.6(5)	C(7) - Fe(1) - C(8)	39.5(6)
C(6) - Fe(1) - C(9)	66.5(7)	C(7) - Fe(1) - C(9)	65.5(8)
C(8) - Fe(1) - C(9)	38.5(6)	C(6) - Fe(1) - C(10)	39.2(7)
C(7) - Fe(1) - C(10)	67.6(7)	C(8) - Fe(1) - C(10)	68.0(6)
C(9) - Fe(1) - C(10)	41.3(6)	O(2) - Si(1) - C(28)	112.8(5)
O(2) - Si(1) - C(29)	106.6(5)	C(28) - Si(1) - C(29)	108.5(7)
O(2) - Si(1) - C(30)	108.5(5)	C(28) - Si(1) - C(30)	116.3(5)
C(29) - Si(1) - C(30)	103.3(8)	O(3) - Si(2) - C(40)	109.6(6)
O(3) - Si(2) - C(41)	109.0(7)	C(40) - Si(2) - C(41)	115.6(8)
O(3) - Si(2) - C(42)	101.3(5)	C(40) - Si(2) - C(42)	108.6(6)
C(41) - Si(2) - C(42)	111.7(8)	Si(1) - O(2) - C(25)	131.6(6)
Si(2) - O(3) - C(37)	128.1(8)	C(11) - N(1) - C(12)	128.6(6)
Fe(1) - C(1) - C(2)	70.2(5)	Fe(1) - C(1) - C(5)	69.3(5)
C(2) - C(1) - C(5)	108.4(8)	Fe(1) - C(1) - C(11)	126.9(5)
C(2) - C(1) - C(11)	130.4(8)	C(5) - C(1) - C(11)	121.2(8)
Fe(1) - C(2) - C(1)	69.0(5)	Fe(1) - C(2) - C(3)	68.8(5)
C(1) - C(2) - C(3)	106.1(9)	Fe(1) - C(3) - C(2)	69.7(5)
Fe(1) - C(3) - C(4)	70.7(7)	C(2) - C(3) - C(4)	109.7(9)
Fe(1) - C(4) - C(3)	69.4(6)	Fe(1) - C(4) - C(5)	68.6(6)
C(3) - C(4) - C(5)	107.5(9)	Fe(1) - C(5) - C(1)	69.6(5)
Fe(1) - C(5) - C(4)	70.5(6)	C(1) - C(5) - C(4)	108.3(9)
Fe(1) - C(6) - C(7)	69.5(7)	Fe(1) - C(6) - C(10)	70.4(9)
C(7) - C(6) - C(10)	108.3(14)	Fe(1) - C(7) - C(6)	69.3(8)
Fe(1) - C(7) - C(8)	70.3(7)	C(6) - C(7) - C(8)	107.6(16)
Fe(1) - C(8) - C(7)	70.1(7)	Fe(1) - C(8) - C(9)	71.1(7)
C(7) - C(8) - C(9)	108.5(13)	Fe(1) - C(9) - C(8)	70.4(7)
Fe(1) - C(9) - C(10)	69.0(7)	C(8) - C(9) - C(10)	109.6(16)
Fe(1) - C(10) - C(6)	70.4(8)	Fe(1) - C(10) - C(9)	69.8(7)
C(6) - C(10) - C(9)	105.9(14)	O(1) - C(11) - N(1)	122.0(7)
O(1) - C(11) - C(1)	122.2(7)	N(1) - C(11) - C(1)	115.8(7)
N(1) - C(12) - C(13)	117.1(6)	N(1) - C(12) - C(17)	122.8(6)
C(13) - C(12) - C(17)	119.9(7)	C(12) - C(13) - C(14)	119.1(7)
C(13) - C(14) - C(15)	122.3(7)	C(14) - C(15) - C(16)	117.2(7)
C(14) - C(15) - C(18)	121.3(7)	C(16) - C(15) - C(18)	121.5(7)
C(15) - C(16) - C(17)	122.5(7)	C(12) - C(17) - C(16)	118.7(7)
C(15) - C(18) - C(19)	123.5(7)	C(15) - C(18) - C(34)	113.0(7)
C(19) - C(18) - C(34)	123.6(7)	C(18) - C(19) - C(20)	123.4(7)
C(18) - C(19) - C(22)	122.6(7)	C(20) - C(19) - C(22)	114.1(7)
C(19) - C(20) - C(21)	114.3(8)	C(19) - C(22) - C(23)	122.1(7)
C(19) - C(22) - C(27)	120.0(8)	C(23) - C(22) - C(27)	117.9(8)
C(22) - C(23) - C(24)	121.6(8)	C(23) - C(24) - C(25)	119.4(8)
O(2) - C(25) - C(24)	120.9(8)	O(2) - C(25) - C(26)	118.8(7)
C(24) - C(25) - C(26)	120.3(7)	C(25) - C(26) - C(27)	120.0(8)
C(22) - C(27) - C(26)	120.6(8)	Si(1) - C(30) - C(31)	110.7(8)
Si(1) - C(30) - C(32)	105.7(10)	C(31) - C(30) - C(32)	112.0(11)
Si(1) - C(30) - C(33)	107.7(9)	C(31) - C(30) - C(33)	105.5(10)

Table IV (continued)

C(32) - C(30) - C(33)	115.2(10)	C(18) - C(34) - C(35)	120.9(8)
C(18) - C(34) - C(39)	120.5(8)	C(35) - C(34) - C(39)	118.6(8)
C(34) - C(35) - C(36)	121.1(9)	C(35) - C(36) - C(37)	119.9(10)
O(3) - C(37) - C(36)	117.3(10)	O(3) - C(37) - C(38)	122.8(9)
C(36) - C(37) - C(38)	119.8(8)	C(37) - C(38) - C(39)	119.4(9)
C(34) - C(39) - C(38)	121.2(9)	Si(2) - C(42) - C(43)	109.1(10)
Si(2) - C(42) - C(44)	105.2(10)	C(43) - C(42) - C(44)	113.9(13)
Si(2) - C(42) - C(45)	109.1(10)	C(43) - C(42) - C(45)	110.5(13)
C(44) - C(42) - C(45)	108.8(13)		

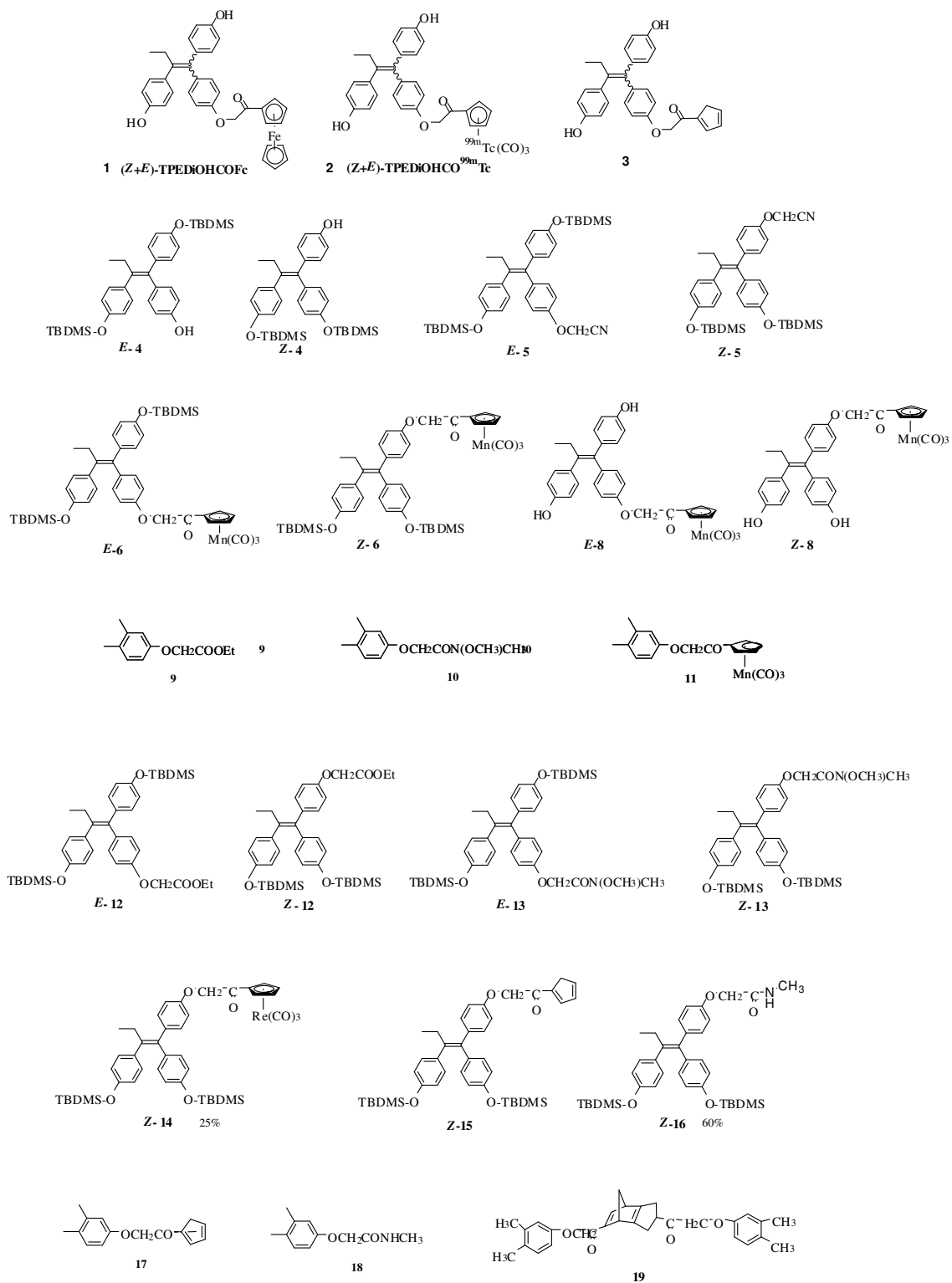
Table S1 : Anisotropic thermal parameters for C45H57FeNO3Si2

Atom	u(11)	u(22)	u(33)	u(23)	u(13)	u(12)
Fe(1)	0.0352(7)	0.0325(6)	0.0381(7)	-0.0083(5)	0.0044(5)	0.0050(5)
Si(1)	0.0519(5)	0.0519(5)	0.0519(5)	0.0019(5)	0.0148(5)	0.0019(5)
Si(2)	0.0741(5)	0.0533(5)	0.0483(5)	0.0032(5)	0.0203(5)	0.0045(5)
O(1)	0.020(3)	0.040(3)	0.046(3)	-0.010(3)	0.008(2)	0.002(2)
O(2)	0.047(4)	0.061(4)	0.030(3)	0.002(3)	0.016(3)	-0.001(3)
O(3)	0.087(6)	0.067(5)	0.043(4)	0.015(3)	0.031(4)	0.000(4)
N(1)	0.022(3)	0.032(3)	0.032(3)	-0.010(3)	0.009(3)	-0.003(2)
C(1)	0.035(4)	0.035(4)	0.024(4)	-0.008(3)	-0.001(3)	0.009(3)
C(2)	0.034(4)	0.053(5)	0.035(4)	-0.017(4)	0.000(3)	0.007(4)
C(3)	0.052(6)	0.050(5)	0.040(5)	-0.016(4)	-0.018(4)	0.011(5)
C(4)	0.105(10)	0.057(6)	0.032(5)	-0.009(4)	0.023(6)	-0.003(6)
C(5)	0.072(7)	0.048(5)	0.033(4)	-0.001(4)	0.024(5)	-0.008(5)
C(6)	0.086(11)	0.053(7)	0.087(10)	0.002(7)	-0.058(9)	0.012(7)
C(7)	0.103(11)	0.043(6)	0.075(9)	0.014(6)	-0.011(8)	0.002(6)
C(8)	0.075(9)	0.031(5)	0.089(9)	-0.008(5)	-0.016(7)	0.017(5)
C(9)	0.079(10)	0.067(9)	0.115(12)	-0.032(8)	0.006(9)	0.036(8)
C(10)	0.039(7)	0.056(7)	0.149(16)	-0.013(9)	-0.016(8)	0.005(5)
C(11)	0.027(4)	0.025(3)	0.027(3)	0.001(3)	0.003(3)	0.006(3)
C(12)	0.020(3)	0.031(4)	0.027(3)	-0.003(3)	0.006(3)	0.002(3)
C(13)	0.033(4)	0.036(4)	0.029(4)	-0.007(3)	0.009(3)	-0.007(3)
C(14)	0.038(4)	0.037(4)	0.029(4)	-0.004(3)	0.017(3)	-0.005(3)
C(15)	0.043(5)	0.037(4)	0.023(3)	-0.008(3)	0.011(3)	-0.008(3)
C(16)	0.037(4)	0.040(4)	0.032(4)	-0.010(3)	0.012(3)	-0.016(4)
C(17)	0.036(4)	0.038(4)	0.029(4)	-0.012(3)	0.013(3)	-0.011(3)
C(18)	0.043(5)	0.040(4)	0.023(4)	-0.003(3)	0.010(3)	-0.004(4)
C(19)	0.048(5)	0.040(4)	0.019(3)	-0.012(3)	0.009(3)	-0.005(4)
C(20)	0.064(6)	0.040(5)	0.026(4)	-0.014(3)	0.012(4)	-0.014(4)
C(21)	0.088(8)	0.047(5)	0.036(5)	-0.008(4)	0.023(5)	-0.001(5)
C(22)	0.043(5)	0.035(4)	0.025(4)	-0.010(3)	0.010(3)	-0.004(3)
C(23)	0.041(5)	0.037(4)	0.028(4)	-0.007(3)	0.008(3)	-0.010(3)
C(24)	0.054(6)	0.038(4)	0.037(4)	-0.005(4)	0.017(4)	-0.010(4)
C(25)	0.039(4)	0.045(5)	0.023(4)	-0.005(3)	0.013(3)	-0.002(4)
C(26)	0.040(5)	0.048(5)	0.025(4)	-0.006(3)	0.008(3)	-0.003(4)
C(27)	0.042(5)	0.040(4)	0.029(4)	-0.007(3)	0.012(3)	-0.006(4)
C(28)	0.0555(17)	0.0555(17)	0.0555(17)	0.0055(17)	0.0184(17)	0.0055(17)
C(29)	0.109(6)	0.109(6)	0.109(6)	0.059(6)	0.072(6)	0.059(6)
C(30)	0.059(2)	0.059(2)	0.059(2)	0.009(2)	0.022(2)	0.009(2)
C(31)	0.057(2)	0.057(2)	0.057(2)	0.007(2)	0.020(2)	0.007(2)
C(32)	0.092(4)	0.092(4)	0.092(4)	0.042(4)	0.055(4)	0.042(4)
C(33)	0.069(3)	0.069(3)	0.069(3)	0.019(3)	0.031(3)	0.019(3)
C(34)	0.050(5)	0.041(4)	0.021(4)	-0.006(3)	0.011(3)	-0.014(4)
C(35)	0.063(6)	0.043(5)	0.034(4)	-0.004(4)	0.022(4)	-0.002(4)
C(36)	0.076(7)	0.041(5)	0.035(5)	0.003(4)	0.018(5)	0.002(5)
C(37)	0.060(6)	0.052(5)	0.031(4)	0.000(4)	0.019(4)	-0.013(5)
C(38)	0.058(6)	0.056(6)	0.035(5)	0.000(4)	0.020(4)	-0.003(5)
C(39)	0.056(6)	0.044(5)	0.035(4)	-0.005(4)	0.017(4)	-0.006(4)
C(40)	0.0668(17)	0.0668(17)	0.0668(17)	-0.0037(17)	0.0144(17)	-0.0037(17)
C(41)	0.137(6)	0.137(6)	0.137(6)	0.058(6)	0.079(6)	0.058(6)
C(42)	0.071(2)	0.071(2)	0.071(2)	0.006(2)	0.023(2)	0.006(2)
C(43)	0.095(2)	0.095(2)	0.095(2)	0.011(2)	0.033(2)	0.011(2)
C(44)	0.118(4)	0.118(4)	0.118(4)	0.034(4)	0.056(4)	0.034(4)
C(45)	0.090(3)	0.090(3)	0.090(3)	0.014(3)	0.034(3)	0.014(3)

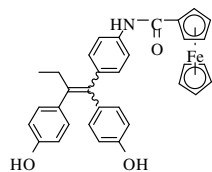
Table S2 : Hydrogen atoms fractional atomic coordinates for
C45H57FeNO3Si2

Atom	x/a	y/b	z/c	U(iso)
H(1)	0.1472	0.2474	0.2735	0.075(5)
H(21)	0.0674	0.1862	0.1936	0.075(5)
H(31)	0.0532	0.1471	0.0662	0.075(5)
H(41)	0.2562	0.1786	0.0251	0.075(5)
H(51)	0.4010	0.2384	0.1245	0.075(5)
H(61)	0.4490	0.1361	0.3035	0.075(5)
H(71)	0.2387	0.0713	0.2587	0.075(5)
H(81)	0.2491	0.0435	0.1302	0.075(5)
H(91)	0.4532	0.0837	0.1021	0.075(5)
H(101)	0.5776	0.1408	0.2099	0.075(5)
H(131)	0.0715	0.2757	0.3808	0.075(5)
H(141)	0.0795	0.3397	0.4702	0.075(5)
H(161)	0.4167	0.4057	0.4290	0.075(5)
H(171)	0.4146	0.3420	0.3391	0.075(5)
H(201)	0.3661	0.5361	0.5626	0.075(5)
H(202)	0.2884	0.5012	0.6067	0.075(5)
H(211)	0.1928	0.5842	0.5884	0.075(5)
H(212)	0.1644	0.5767	0.5047	0.075(5)
H(213)	0.0868	0.5418	0.5489	0.075(5)
H(231)	0.4308	0.5440	0.4608	0.075(5)
H(241)	0.4401	0.5711	0.3445	0.075(5)
H(261)	0.0874	0.4903	0.2565	0.075(5)
H(271)	0.0876	0.4582	0.3730	0.075(5)
H(281)	0.6132	0.5258	0.1936	0.075(5)
H(282)	0.5797	0.5662	0.2487	0.075(5)
H(283)	0.5647	0.5051	0.2599	0.075(5)
H(291)	0.2668	0.5995	0.0750	0.075(5)
H(292)	0.3829	0.6291	0.1312	0.075(5)
H(293)	0.4189	0.5922	0.0730	0.075(5)
H(311)	0.1303	0.4530	0.0411	0.075(5)
H(312)	0.1575	0.5141	0.0380	0.075(5)
H(313)	0.1046	0.4906	0.1014	0.075(5)
H(321)	0.2946	0.3954	0.1395	0.075(5)
H(322)	0.4214	0.4224	0.1915	0.075(5)
H(323)	0.2753	0.4329	0.2013	0.075(5)
H(331)	0.3717	0.4415	0.0248	0.075(5)
H(332)	0.3879	0.5034	0.0266	0.075(5)
H(333)	0.4952	0.4681	0.0799	0.075(5)
H(351)	0.3863	0.3465	0.5992	0.075(5)
H(361)	0.3510	0.3079	0.7043	0.075(5)
H(381)	0.0397	0.4120	0.7014	0.075(5)
H(391)	0.0730	0.4495	0.5924	0.075(5)
H(401)	0.0348	0.4292	0.8887	0.075(5)
H(402)	0.1895	0.4259	0.8902	0.075(5)
H(403)	0.0830	0.4449	0.8202	0.075(5)
H(411)	-0.1678	0.3431	0.7994	0.075(5)
H(412)	-0.1232	0.3552	0.7287	0.075(5)
H(413)	-0.1086	0.2976	0.7607	0.075(5)
H(431)	0.3087	0.2922	0.9873	0.075(5)
H(432)	0.2873	0.3518	0.9637	0.075(5)
H(433)	0.3357	0.3107	0.9142	0.075(5)
H(441)	0.1330	0.2195	0.9096	0.075(5)
H(442)	0.0116	0.2418	0.8489	0.075(5)
H(443)	0.1593	0.2418	0.8382	0.075(5)
H(451)	0.0650	0.2888	1.0007	0.075(5)
H(452)	0.0436	0.3483	0.9765	0.075(5)
H(453)	-0.0551	0.3045	0.9347	0.075(5)

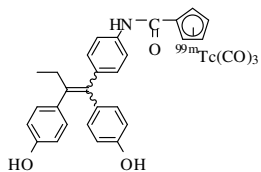
Produits discutés dans le chapitre 2



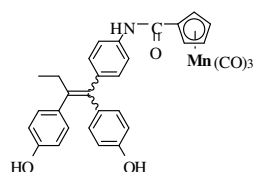
Produits discutés dans le chapitre 3



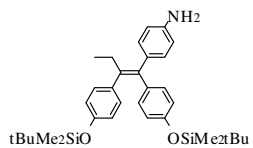
TPEdiOHNCOfc



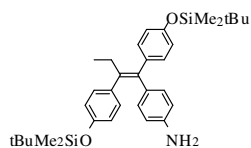
TPEdiOHNCO^{99mTc}



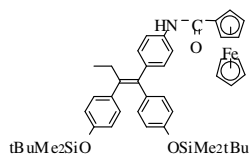
TPEdiOHNCOMn



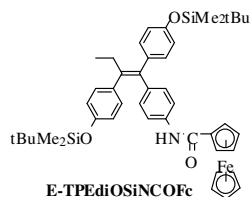
Z-TPEdiOSiNH2



E-TPEdiOSiNH2

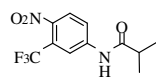


Z-TPEdiOSiNCOfc

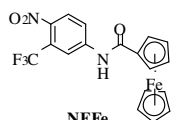


E-TPEdiOSiNCOfc

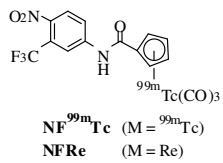
Produits discutés dans le chapitre 4



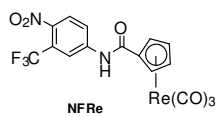
Flutamide



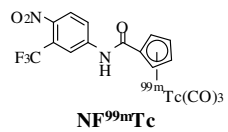
NFe



NF^{99m}Tc (M = ^{99m}Tc)
NFRe (M = Re)



NRe



NF^{99m}Tc

Résumé

Notre laboratoire s'intéresse depuis de nombreuses années à l'utilisation de composés organométalliques dans le cadre de la recherche de nouvelles approches thérapeutiques. En effet, leur potentiel cytotoxique ou radioactif, peut être bénéfique dans la lutte contre de nombreuses maladies. Notre objectif est la synthèse des analogues de molécules d'intérêt biologique comportant un groupe organométallique cytotoxique tel que le ferrocène, le cymantène, le cyrhétrène, ou le cyclopentadiényltricarboxyltechnétium. Ces molécules seraient susceptibles de traiter ou de détecter plusieurs formes de cancers hormono-dépendants ou non. Dans ce travail de thèse, Nous avons développé aussi le radiomarquage au technétium d'une série de ces molécules afin de permettre l'utilisation de ces traceurs pour des études d'imagerie *in vivo* chez l'animal puis chez l'homme. Les paramètres de réaction ont été définis afin que la réaction de marquage présente un haut rendement de marquage, et une forte activité spécifique. Les réactions sont rapides et reproductibles et la mise en forme compatible avec une utilisation *in vivo*. Les différentes propriétés physicochimiques: liposolubilité, stabilité du marquage, et les propriétés pharmacocinétiques: Pourcentage de liaison non spécifique et biodistribution chez le petit animal ont été réalisés. Les études ont permis de sélectionner les radiotraceurs présentent les meilleurs critères pour une utilisation *in vivo* en imagerie.

The medicinal and organometallic chemistry group of the Charles Friedel Laboratory has been developing therapeutic approaches based on organometallic compounds for many years. It has been found that these compounds may be used as cytotoxic agents or as radiopharmaceuticals for the treatment or diagnosis of diseases. The goal of the present work is the synthesis of organometallic analogs of biological substances (such as drugs) bearing a ferrocenyl, cymantrenyl, cerhetrenyl, or cyclopentadienyltricarbonyltechnetium group. We have especially focused our research on the preparation of Tc-99m derivatives and their purification. We have found suitable methods which are easy to handle and give high yields and high specific activities. These technetium compounds have been used for the study of *in vivo* biodistribution in animals.