L'Act. Chim. (R) 1996,6, 9-15

La chimie bioorganométallique en réceptorologie et analyse

I - Étude du récepteur des œstrogènes

Gérard Jaouen* *professeur,* **Anne Vessières*** *directeur de recherche (CNRS),* **Siden Top*** *directeur de recherche CNRS,*
Michèle Salmain* *chargée de recherche CNRS*

Bioorganometallic chemistry : a burgeoning area. Examples in receptorology and analysis
I - Study of the oestrogens receptor
Bioorganometallic chemistry appears as a new pluridisciplinary domain of research. It is based on the combination of biological species (bioligands) with organometallic compounds, such an association taking advantage of the particular physical and chemical properties of the latter species. In the first part of this review, we present, for the case of the oestrogen receptor, a new concept of affinity labelling and we discuss on the receptor functioning. This idea leads to the definition of organometallic radiopharmaceuticals and specific anti-tumour agents.

Bioorganométallique, récepteur des œstrogènes, hormones organométalliques, anti-œstrogènes, radiopharmaceutiques.
Bioorganometallic, oestrogens receptor, organometallic hormones, anti-œstrogens, radiopharmaceuticals.

Les espèces biologiques comportant des liaisons métal-carbone sont rares parmi les produits naturels. Malgré l'intérêt suscité naguère par l'étude du coenzyme B_{12} et ses dérivés, y compris la vitamine B_{12}, ceci n'a pas suffi pour établir la chimie bio-organométallique comme discipline scientifique à part entière [1]. Les retombées synthétiques et théoriques de ce champ d'investigation se sont très vites fondues, soit dans le domaine de la chimie organométallique, soit dans celui de la bioinorganique. Ce n'est que récemment que l'on s'est aperçu que la chimie organométallique des espèces biologiques pouvait en raison du caractère antagoniste, contradictoire, artificiel de cet accouplement déboucher sur des perspectives inédites. Les premiers auteurs qui se sont penchés sur cette question étaient à la recherche de substituts de marqueurs radioactifs dans les dosages immunologiques [2]. Ils ont tenté d'utiliser les complexes organométalliques, particulièrement ceux du ferrocène, comme sondes en électrochimie [3] ou en absorption atomique [4]. Les métallocènes ont aussi fait en parallèle l'objet de recherches comme antitumoraux [5]. Peu à peu a émergé l'idée qu'on avait, à l'interface de la chimie organométallique et de la biologie, un domaine d'investigation vaste et novateur [6]. C'est ce que nous allons tenter de montrer à l'aide d'exemples choisis parmi les travaux de notre laboratoire.

* École Nationale Supérieure de Chimie de Paris,
11, rue Pierre et Marie Curie,
75231 Paris Cedex 05.
Tél. : 01.43.26.95.55. Fax : 01.43.26.00.61.
E.mail : jaouen@ext.jussieu.fr

Modification des œstrogènes par fixation d'une entité organométallique en position 17α. Conséquences

Ce qui a motivé, *inter alia*, le succès de la chimie organométallique de ces dernières décennies réside dans la possibilité de son utilisation en chimie organique [7]. Une démarche couramment utilisée est résumée au *schéma 1*. Elle se décrit ainsi. Supposons que l'on vise une cible synthétique quelconque et que celle-ci ne puisse être atteinte directement par les voies classiques. Il est parfois possible d'atteindre l'objectif fixé en utilisant des intermédiaires organométalliques. En effet la complexation d'un coordinat organique par une entité organométallique appropriée en modifie les facteurs stériques, électroniques et de symétrie. Elle autorise la réussite de réactions difficiles ou impossibles autrement. Une simple décomplexation, au stade ultime, libère l'entité organique recherchée (*schéma 1*).

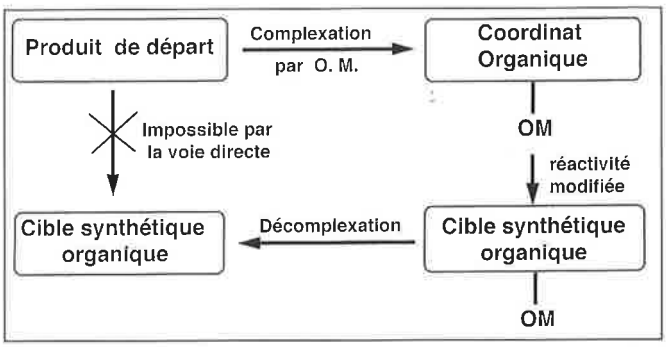


Schéma 1 - **Approche stœchiométrique de l'utilisation de l'organométallique en synthèse organique.**

Cette démarche a été abondamment illustrée dans la littérature [8]. Pour ce qui concerne la chimie des stéroïdes, le *schéma 2* ci-dessous montre la fonctionalisation régio- et stéréospécifique de la position 6 de l'œstradiol (*schéma 2*) [9].

L'attaque intervient toujours du côté opposé au groupe $Cr(CO)_3$ activateur de la position benzylique. Une simple décomplexation à l'air et à la lumière libère quantitativement le stéroïde. De même l'aromatisation sélective du cycle A de stéroïdes tels que la testostérone ou la progestérone est aisément réalisée à l'aide du fragment électrophile Cp^*Ru^+ ($Cp^* = C_5Me_5$) (*schéma 3*) [10]. L'aromatisation du cycle A requiert la rupture d'une liaison d'un atome de carbone quarternaire substitué par un groupe méthyle. Ce processus, assez difficile, est réalisé dans la nature par la P-450 aromatase au cours d'étapes d'oxydations successives.

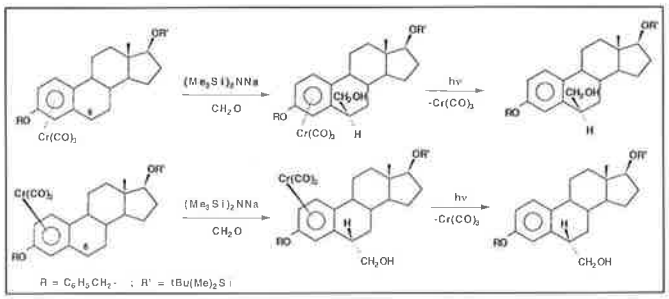


Schéma 2.

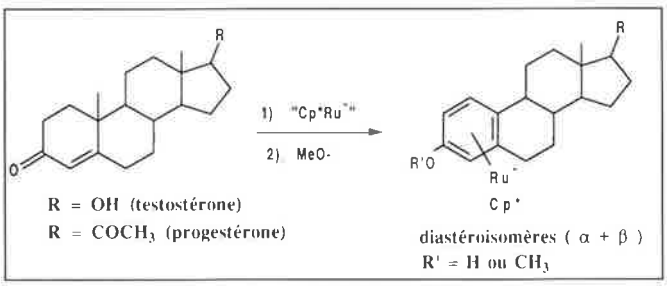


Schéma 3.

On pourrait multiplier les exemples à l'envie.

Une approche apparentée, à finalité non synthétique, peut être menée avec des espèces d'intérêt biologique (*schéma 4*).

Supposons un bioligand quelconque, modifiable par greffe organométallique, par exemple une hormone, de telle sorte que ses propriétés de reconnaissance soient préservées vis-à-vis de sa protéine réceptrice. On peut espérer que, dans des cas favorables, la modification du bioligand puisse induire des propriétés particulières, notamment de réactivité, au niveau du site de reconnaissance. On peut ainsi en améliorer la connaissance et accéder, au niveau moléculaire, à quelques indices du fonctionnement de la protéine.

Nous allons, ci-après, illustrer cette démarche dans le cas particulier important du récepteur des œstrogènes. L'importance de cette protéine tient à son implication dans les problèmes de fertilité mais aussi dans des maladies bien identifiées telles que le cancer du sein. On sait que, dans le monde occidental, ce type d'affection atteint une femme sur neuf avec un taux de mortalité proche de 40 %.

Le récepteur des œstrogènes (ER), protéine de 595 résidus d'acides aminés chez l'espèce humaine [11], est membre d'une superfamille de récepteurs nucléaires pour des petits ligands hydrophobes qui comprennent les autres hormones stéroïdes, l'hormone thyroïdienne, la vitamine D et les rétinoïdes [12]. En tant que classe, ces récepteurs sont des facteurs de transcription qui sont régulés de façon allostérique par association de ligand. L'œstradiol **1** extracellulaire, qui est le ligand naturel pour ER, diffuse librement à travers la membrane de la cellule cible (utérus) et s'associe réversiblement à ER. Ceci est le début d'une série d'événements, libération de protéines chaperons, par exemple la HSP 90, déclenchement du processus de dimérisation du récepteur ER, association forte de ce dimère de ER avec sa cible spécifique sur une portion d'ADN. Après association à l'ADN, le récepteur ligandé et dimérisé active la transcription selon un mécanisme encore inconnu mais qui probablement fait intervenir l'association d'une protéine de 160 KD, ERAP 160 [13]. L'effet hormonal traduit un scénario complexe dont la connaissance au niveau moléculaire constitue un axe de recherche très actuel.

La structure primaire du récepteur des œstrogènes a été déterminée par Chambon *et al.* [11] qui ont, avec d'autres, identifié et localisé les domaines fonctionnels de cette protéine. ER comprend au moins quatre fonctions qui sont l'association du ligand tel que **1**, la dimérisation, la fixation à l'ADN et l'activation de la machinerie transcriptionnelle. Ces fonctions font intervenir des parties de la protéine grossièrement analysées et qui sont reportées au *schéma 5*. On remarquera la complexité fonctionnelle de « l'hormone binding domain » HBD et l'interdépendance prévisible des différentes fonctions de ce domaine (*schéma 5*).

Grâce à des progrès récents [14], on sait que le récepteur s'associe tête-bêche sous forme de dimère aux éléments de

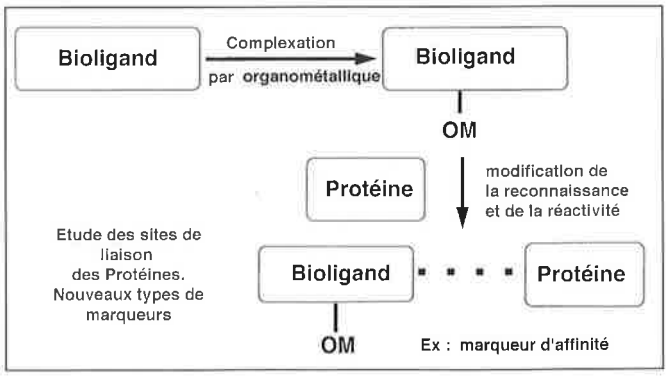


Schéma 4 - **Utilisation potentielle de l'organométallique en biologie.**

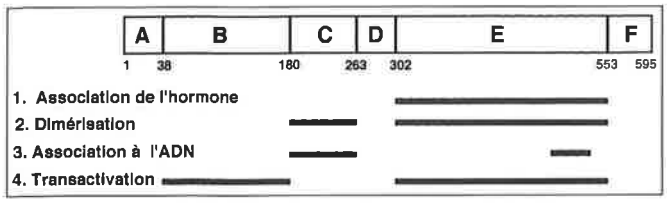


Schéma 5 - **Domaines structurels du récepteur de l'œstradiol humain (h-ER ; 595 AA) et localisation des fonctions du récepteur (1-4) dans des régions spécifiques (A-F).**

réponse de l'ADN (ERE), une séquence palindromique de 13 nucléotides. Le récepteur dimérisé occupé par l'œstrogène interagirait alors avec les facteurs de transcription (TAF_1, localisé dans le domaine N terminal et TAF_2 qui dépend directement de l'œstrogène situé dans la partie C terminale du récepteur) de façon à moduler la transcription des gènes. L'effet hormonal lié au récepteur des œstrogènes, par exemple, est la synthèse du récepteur de la progestérone (*schéma 6*).

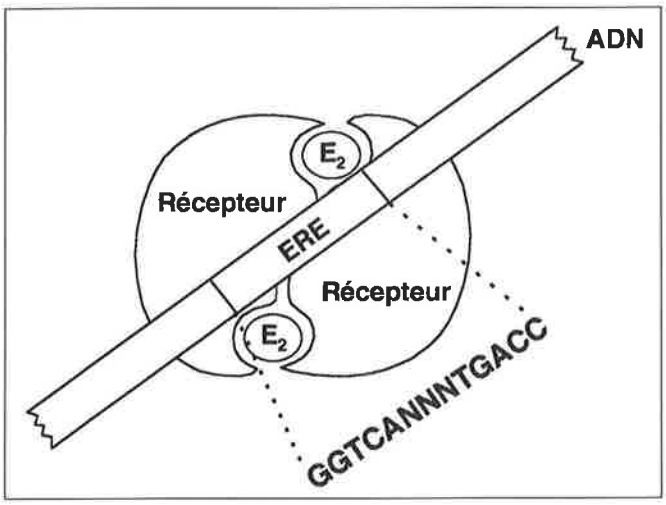
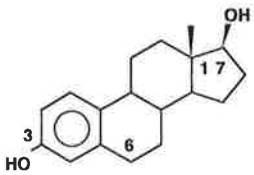


Schéma 6 - **Mode d'action du récepteur des œstrogènes.**

Il est tout à fait concevable que la poche d'association de l'hormone se situe à l'interface du dimère. Cette association de l'hormone renforcerait la stabilisation du dimère. L'action d'un œstrogène peut être annihilée par des antiœstrogènes qui s'associent à ER de façon compétitive, mais sont impuissants à moduler la transcription des gènes [15].

C'est dans ce contexte que la modification chimique que confère à un ligand organique tel que **1** l'adjonction d'une copule organométallique peut être mise à profit.



17β-oestradiol 1

Afin de préserver une bonne affinité pour le récepteur, cette modification ne doit pas toucher les deux groupes hydroxyles en position 3 et en position 17 [16]. En respectant cette condition, nous avons trouvé que des complexes d'hormones peuvent être obtenus en faisant réagir les réactifs métalliques appropriés sur le 17α-éthynyl ou le 17α-propynyl œstradiol (*schéma 7*) [17, 18].

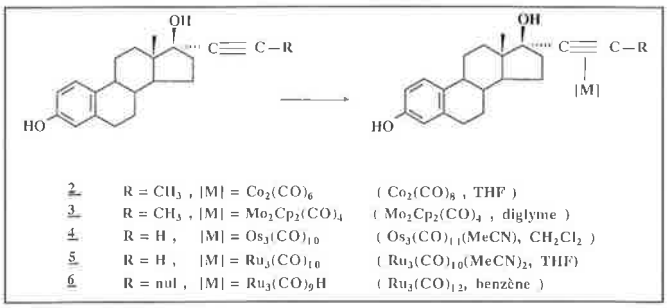


Schéma 7.

Plusieurs métaux différents ont été utilisés pour cette étude comme Co, Mo, Os, et Ru. Les complexes de Co et de Mo, **2** et **3**, sont obtenus, respectivement, par action de $Co_2(CO)_8$ et $Mo_2Cp_2(CO)_4$ sur le 17α-propynyl œstradiol. Les complexes de l'Os et du Ru, **4** et **5**, sont obtenus par réaction entre le cluster $[M_3(CO)_{11}][(MeCN)]$ ou $[M_3(CO)_{10}]$ $[(MeCN)_2]$, M = Os ou Ru, et le 17α-éthynyl œstradiol. Alors que le complexe **6** est préparé en chauffant le 17α-éthynyl œstradiol avec $Ru_3(CO)_{12}$.

Tous ces complexes se lient au récepteur du β-œstradiol avec des affinités relatives de liaison (ARL) sensiblement dépendantes de leur encombrement stérique.

Les valeurs obtenues sont reportées au *tableau I*. Une propriété remarquable de ces hormones organométalliques figure aussi dans ce tableau. Il s'agit de la possibilité d'inactiver le récepteur par établissement d'une liaison irréversible hormone-récepteur. L'exemple le plus net fait intervenir l'hormone du 17α-propynyl $Co_2(CO)_6$ **2** pour laquelle l'étude en série radioactive a été réalisée [17]. L'hormone **3** portant un cluster du molybdène n'est pas ou peu dotée de cette propriété. Tandis qu'elle est simplement suspectée mais non encore démontrée, faute d'étude en série radioactive, dans le cas des clusters trimétalliques **4**, **5**, **6**.

La simple fixation en 17α d'un petit cluster dans **2** a suffi pour changer le cours des choses. On a montré que l'établissement de cette liaison covalente entre l'hormone **2** et le récepteur repose sur l'une des propriétés les plus ubiquitaires de la chimie organométallique, à savoir la génération et la stabilisation d'ions carbéniums adjacents à l'entité organométallique. Ces ions sont dotés de propriétés alkylantes. Le pK_{R+} de $CH_3C{\equiv}C\text{-}CH_2^+/Co_2(CO)_6$ est de l'ordre de - 5,5 ; ce qui constitue un bon compromis entre stabilité et réactivité. Pour $CH_3C{\equiv}C\text{-}CH_2^+/Mo_2Cp(CO)_4$ le pK_{R+} est de +3. Ceci est l'indice d'un cation très stable et peu réactif. Tandis que pour les espèces trimétalliques on a des valeurs intermédiaires. Ce concept de substrat suicide est unique à ce jour et repose de fait sur des particularités de la chimie organométallique.

Nous avons entrepris l'étude de la réactivité de dérivés de la cystéine et de l'histidine avec le 1-ferrocényl éthanol comme

Tableau 1 - **Affinité relative de liaison (ARL) et pourcentage d'inactivitation du récepteur des œstrogènes (ER).**

Composé	ARL (%)	Inactivation du ER (%)
2	18	80
3	33	22
4	2,5	65
5	8	68
6	2,6	62

modèle [18]. Cette molécule possède en effet un groupe OH adjacent à une entité métallocénique. Les expériences on été réalisées avec des quantités équimoléculaires de CF_3CO_2H et $ZnCl_2$ dans un mélange eau-THF à 25 °C. La réaction de couplage a lieu sur l'atome de soufre de la cystéine protégée sur la fonction acide. Il n'y a pas d'attaque à l'atome d'azote de l'amino acide. Il n'y a pas non plus de réaction en présence de $CaCl_2$ ou d'histidine protégée. Ces résultats confirment la nucléophilie particulière du soufre comparé à l'azote. La possibilité de réaliser des réactions de couplage non seulement avec des protons mais aussi avec des acides de Lewis tels que Zn^{++} est ainsi clairement démontrée (*schéma 8*).

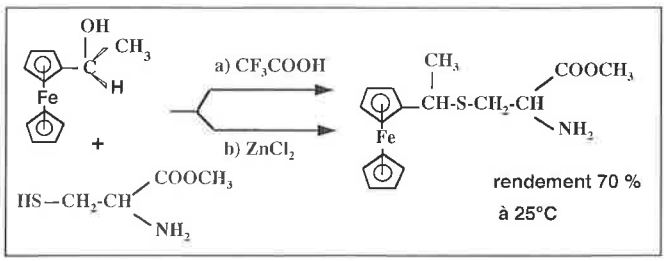


Schéma 8.

Des expériences de mutagénèse dirigée, de délétion de fragments ont été réalisées récemment pour le récepteur des œstrogènes [19]. Ce travail a permis de préciser l'importance et la complexité de l'hormone binding domain. On a montré que cette région possède un domaine additionnel d'association au DNA dans la zone 497-534, que la région 503-521 est essentielle pour la dimérisation et 514-521 est l'une des clés de l'association de l'hormone tandis que la partie 534-548 est un domaine essentiel pour l'activité transcriptionnelle TAF_2. Enfin les cystéines **530** et **381** sont étonnamment proches dans l'espace. Tout ceci montre l'importance, la complexité et l'intrication des fonctions dans le domaine HBD de ER. Seule une détermination structurale aux RX permettra de démêler cette complexité [20]. En ce moment, on ne dispose que de modèles structuraux avec leur degré d'incertitude et qui doivent donc être considérés avec précaution [21, 14].

Il a été cependant possible de montrer la faculté de l'HBD d'associer du Zn^{2+}. Un fragment de 32 K_d de ER qui contient entièrement le domaine HBD lie le zinc radioactif $^{65}Zn^{2+}$ avec une haute affinité. Ce zinc radioactif peut être déplacé par les ions Zn^{2+} [22] et Cu^{2+} qui s'avèrent des compétiteurs puissants. Le Co^{2+} et Ni^{2+} sont beaucoup moins efficaces tandis que Mg^{2+} ne l'est pratiquement pas du tout. Il est intéressant de noter que cette capacité à fixer Zn^{2+} dépend du pH. On perd cette capacité vers pH 6-6,5 qui correspond probablement à la protonation de l'histidine (*schéma 9*).

De là à penser que dans le HBD le zinc est lié à de la cystéine et à de l'histidine, il n'y a qu'un pas.

La capacité du Cu^{2+} à se lier dans le HBD est à rapprocher de la méthode contraceptive basée sur la fixation dans l'utérus de stérilet en cuivre. Il est probable que cet ion change la conformation de la protéine par rapport à Zn^{2+}, qui est un métal d^{10}, et perturbe la manifestation de l'effet hormonal.

Nous avons ensuite examiné l'effet de l'incorporation de fragments organométalliques chargés positivement sur les

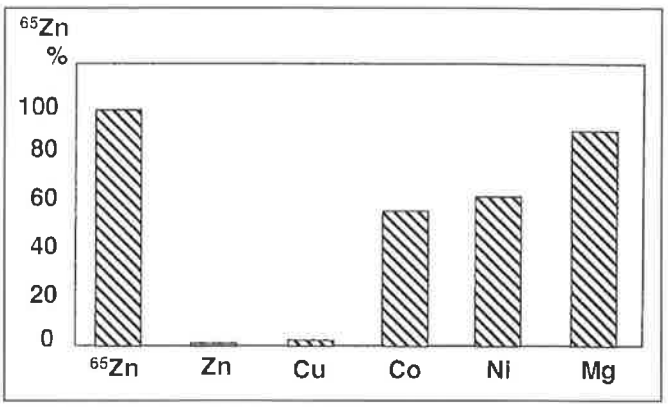


Schéma 9 - **Mise en évidence de la liaison du zinc dans l'hormone binding domain (HBD).**

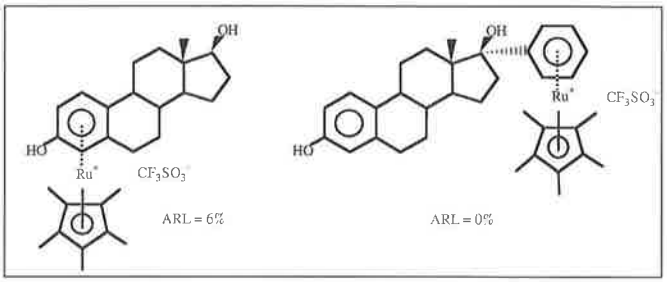


Schéma 10 - **Effet d'incorporation de fragments organométalliques chargés positivement sur les propriétés d'association de l'œstradiol.**

propriétés d'association de l'œstradiol [23]. Lorsque la charge est introduite en position 17α , il n'y a pas de reconnaissance du tout (*schéma 10*).

Cette inhibition d'association est probablement due à des répulsions électrostatiques. Elle suggère que le partenaire de l'association dans le récepteur naturel possède dans son voisinage une charge positive. Ceci peut être le fait d'un métal tel que Zn^{2+} près de la zone d'association ou (et) de lysines protonées 529, 531 qui entourent la cystéine 530.

On a aussi vérifié l'effet de l'élimination du groupe 17-OH lors de l'introduction d'un cluster métal carbonyl [24]. La molécule ci-dessous a été synthétisée (*schéma 11*) :

La valeur relativement faible de l'ARL montre le rôle essentiel joué par le substituant 17β OH dans la capacité d'association de l'hormone. Contrairement à certains clusters précédents, le cluster mixte Fe-Co ci-dessous se lie de façon réversible à ER. Les propriétés alkylantes au niveau du site de reconnaissance nécessitent donc la présence simultanée du groupe 17β OH (précurseur d'ion carbénium) et d'une entité organométallique pour l'activation.

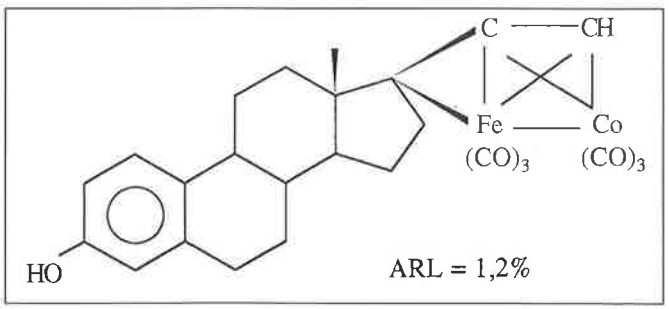


Schéma 11 - **Effet du changement du groupe 17-OH par un cluster métal carbonyl.**

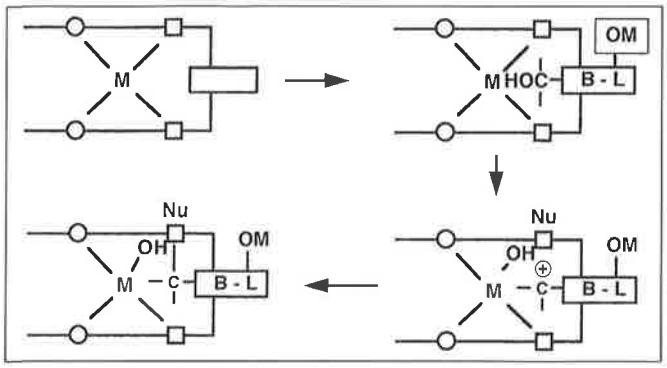


Schéma 12 - **Schéma hypothétique de marquage d'affinité des protéines par des bioligands modifiés à l'aide d'une entité organométallique.**

On peut concilier ces faits à l'aide d'un schéma simplifié figurant ci-dessus (*schéma 12*).

Soit un bioligand naturel modifié judicieusement par une entité organométallique (par exemple **2**). Si la reconnaissance de cette nouvelle entité par le récepteur naturel est préservée, il y a fixation de ce complexe sur le site d'association. Supposons qu'au voisinage de celui-ci se trouve un acide de Lewis, par exemple du Zn^{++}, coordiné à des résidus protéiques nucléophiles. On peut dès lors envisager la génération immédiate d'un ion carbénium grâce à la modification organométallique. Celui-ci va aussitôt attaquer le site nucléophile le plus proche et le plus réactif, en général une cystéine. On a donc établissement d'une liaison irréversible permettant d'étudier le site d'association.

On a effectivement montré que le métal acide déclenchant le phénomène est du zinc Zn^{2+} et suggéré que ce métal est présent dans l'hormone binding domain (HBD) [22, 18], suggéré aussi que le cation métallique est lié dans le dimère du récepteur aux cystéines 381 et 530 et peut être à l'histidine 488 d'un autre monomère [25]. Tout ceci se situe au voisinage du site d'association hormone-récepteur qui est quant à lui proche de la surface de la protéine.

Cette interprétation a le mérite de concilier l'ensemble des faits connus par ailleurs. Elle présente aussi l'intérêt d'avoir induit d'autres axes de recherches inédits basés sur notre modèle du site d'association. Ils sont explicités ci-après.

Une approche des radiopharmaceutiques organométalliques

On connaît l'intérêt des ^{99m}Tc et ^{186}Re, ^{188}Re en médecine nucléaire [26]. Ces métaux, surtout Tc, sont utilisables en radioimagerie, et, essentiellement Re, en thérapie. Ils sont, à ce jour, introduits généralement sous forme de chélates de métal de d_{ox} +5 ce qui ne manque pas de poser nombre de problèmes de synthèse des chélatants, de décomposition par relargage du métal, de lipophilicité donc de non-spécificité de la reconnaissance, de mauvais ciblage de l'objectif, d'association réduite en raison de leur volume ([27].

Nous avons abordé cette question selon une voie organométallique sans précédent [25]. Au lieu de la création de chélate, le Re est introduit sur la molécule d'hormone par l'intermédiaire du groupe $CpRe(CO)_3$, groupe reconnu comme une entité très stable vis-à-vis de l'oxydation. Les voies d'obtention des complexes sont indiquées sur le *schéma 13*.

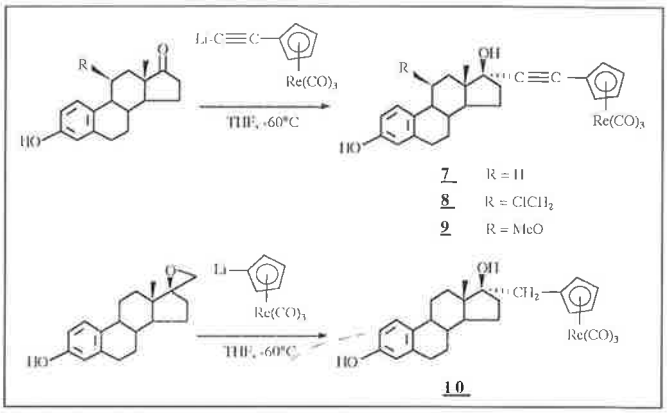


Schéma 13.

Les dérivés **7**, **8** et **9** sont respectivement obtenus par réaction d'addition du lithien $[Re(CO)_3](\eta^5\text{-}C_5H_4\text{-}C{\equiv}C\text{-}Li)$ sur l'œstrone et le 11β-chlorométhyl œstrone. Le composé **10** est préparé par action de $[Re(CO)_3](\eta^5\text{-}C_5H_4Li)$ sur le dérivé spiro oxyranyl de l'œstradiol. Ces trois complexes comprennent un organométallique du Re très stable en milieu biologique en position 17α, les valeurs d'affinité relative de liaison sont indiquées dans le *tableau II*.

Tableau II - **Valeurs d'affinités relatives de liaison (ARL) vis-à-vis du récepteur de l'œstradiol des complexes dérivés du rhénium.**

Composé	ARL (%) (incubation à 0°C)	ARL (%) (incubation à 25°C)
7	16	15
8	29	172
9	30	20
10	0,88	-

Les quatres complexes sont reconnus par le récepteur de l'œstradiol. On remarque que le complexe **8** possède une affinité extraordinaire (ARL = 172 % pour une incubation à 25 °C contre 100 % pour l'œstradiol naturel **1**). De plus, le temps de résidence de **8** sur le site est de 2 jours contre 6 à 8 heures pour **1**.

Cette particularité de **8** pourrait reposer selon nous sur la présence du Zn^{2+} au voisinage du site d'association qui permet de coordiner le substituant $-CH_2Cl$ par l'atome d'halogène. De plus, cette chaîne est courte et ne déforme pas la protéine. On maintient donc pour **8** un effet œstrogénique (*schéma 14*).

On possède donc ici un moyen efficace d'introduire le métal au voisinage de l'ADN via la fixation de **8** sur le récepteur suivie d'une dimérisation. Il suffit pour avoir des radiopharmaceutiques organométalliques d'introduire le complexe métal radioactif sur **8**.

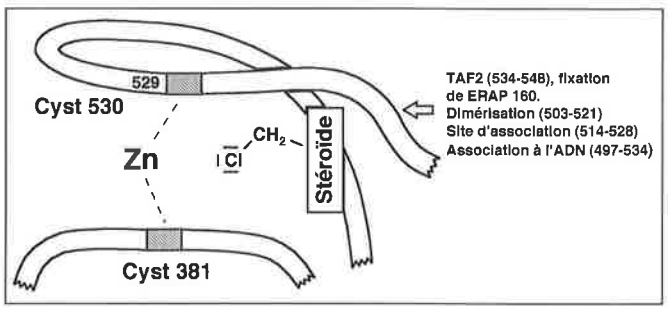
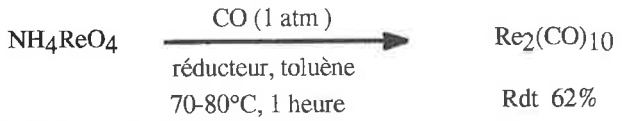


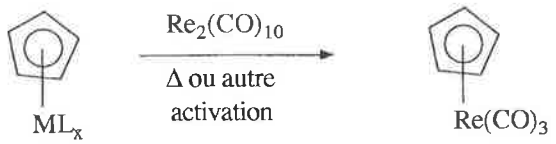
Schéma 14 - **Tentative d'explication de l'association élevée du 11β-chlorométhyl œstradiol.**

Jusqu'à présent, le rhénium radioactif est disponible sous forme de perrhénate ReO_4^-. Il faut donc trouver une méthode de synthèse capable de transformer rapidement le perrhénate en composé **8**. Ceci nous a obligés à mettre au point deux réactions nouvelles :

1) La synthèse simple, rapide, efficace de $Re_2(CO)_{10}$, réactif de choix dans ces séries, au départ du perrhénate d'ammonium :



2) L'échange facile de métal, comme par exemple :



ML_x= Tl, $Co(CO)_2$, Fe $(CO)_2I$, $CpTiCl_2$, $TiCl_3$

Il est clair, en fait, que le marquage sélectif par des complexes organométalliques du Re ne se borne pas à **8**. Il a déjà été réalisé avec succès au laboratoire sur des protéines, anticorps, peptides. C'est un domaine très vaste et vierge qui s'offre ainsi à nous.

Les ferrocifènes : un nouveau concept en thérapie des cancers du sein

Les antiœstrogènes, dont quelques représentants figurent ci-dessous, ont tous en commun de posséder une chaîne carbonée plus ou moins longue et incorporant des groupes portant des électrons p, complexants potentiels d'un métal (*schéma 15*) [28].

Selon la longueur de cette chaîne, on a affaire à deux types différents d'antiœstrogènes. Si elle n'est pas trop longue (autour de 4 à 5 atomes) la molécule permet la dimérisation du récepteur mais empêche le fonctionnement de la machinerie transcriptionnelle. C'est le cas du tamoxifène, un agoniste partiel. Si elle est plus longue comme dans le cas de Ru 58668 ou ICI 182780, c'est déjà la dimérisation qui est déstabilisée [15].

Le mécanisme d'action de ces molécules est pris en compte par notre modèle impliquant un métal, site de complexation potentiel de la chaîne, qui confère le caractère antiœstrogénique à la molécule (*schéma 16*).

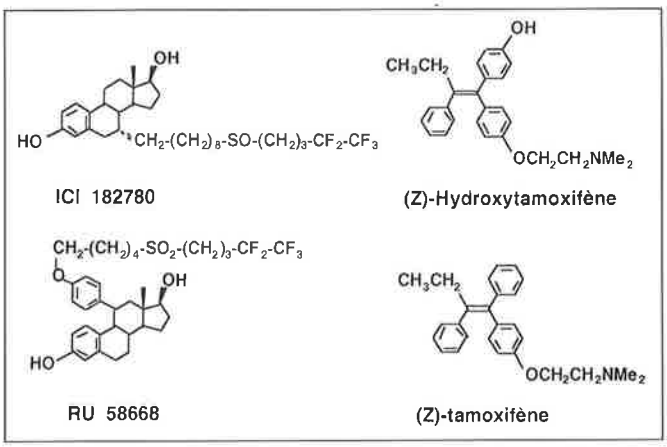


Schéma 15 - **Exemples d'antiœstrogènes synthétiques.**

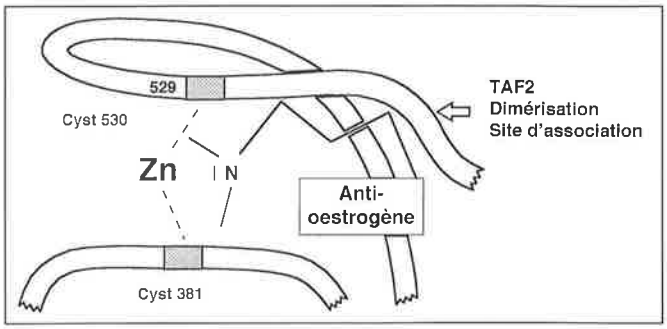


Schéma 16 - **Tentative d'explication de l'effet antiœstrogénique.**

Dans la mesure où le tamoxifène (TAM) est utilisé dans le traitement de longue haleine d'un certain nombre de cancers du sein et que certains problèmes (stimulation de tumeurs, cancers de l'endomètre) sont liés à son usage prolongé, il y a en ce moment une recherche activement menée pour pallier les désavantages de cette molécule.

Une approche organométallique est susceptible d'offrir de nouvelles perspectives dans ce domaine. On sait en effet que certains métallocènes tels que le ferrocène, oxydable aisément *in vivo* en ion ferricinium, possèdent des propriétés antitumorales avérées [5]. La synthèse de molécules telles que le ferrocifène est alors susceptible de permettre à deux effets de coexister dans la même entité, à savoir une composante antiœstrogénique, selon la longueur de la chaîne complexante, et des propriétés génotoxiques, dues au complexe métallique.

Des dérivés ferrocéniques analogues du tamoxifène ont été synthétisés (*schéma 17*) [29]. Les ferrocifènes **11** et les 4-hydroxyferrocifènes **12** sont préparés à partir de l'acide ferrocényl acétique en plusieurs étapes. Les deux isomères Z et E ont été séparés soit par cristallisation fractionnée, soit par chromatographie sur plaques de gel de silice.

11 et **12** avec comme chaîne $OCH_2CH_2NMe_2$ présentent une analogie apparente avec le tamoxifène, médicament vedette utilisé en hormonothérapie du cancer du sein. Le *tableau III* résume les valeurs de l'affinité relative de liaison des deux isomères de **11** et de **12**. On remarque que l'isomère Z de **12** a une valeur d'ARL très élevée, 40 %.

De plus, ces composés **11** et **12** font preuve de toxicité sur des cellules cancéreuses du type MCF7 à des concentrations inférieures à celles du tamoxifène. Enfin, ils sont génotoxiques en ce sens qu'ils provoquent des lésions sur l'ADN, ce que ne fait pas le tamoxifène [29].

Les antiœstrogènes organométalliques dont le caractère antiœstrogénique peut être modulé par la chaîne $-O(CH_2)_n-N(CH_3)_2$ ont ainsi un caractère cytotoxique additionnel apporté par l'entité organométallique. On peut dès lors en principe accéder à des molécules originales et améliorées contre le traitement du cancer du sein par rapport au tamoxifène.

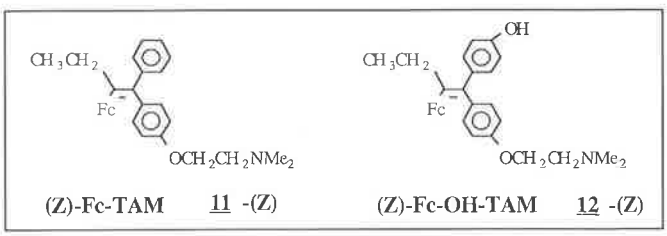


Schéma 17.

Tableau III - **Affinité relative de liaison (ARL) vis-à-vis de ER, et test de toxicité des ferrocifènes et tamoxifènes.**

Composé	ARL (%)	IC_{50}(µmol) MCF7 ATTC	MCF7-P
(Z)-Fc-OH-TAM	40[a)]	3,4	5,6
(E)-Fc-OH-TAM	12[a)]	4,9	2
TAM(Z+E)	2[a)]	6,4	7,2
Fc-TAM(Z+E)	(Z) 0,9[b)] (E) 0,01b)	5,9	

a) valeur d'ARL mesurée à 0°C

b) valeur d'ARL mesurée à 25°C.

Références

[1] a) D. Dolphin ed., B12, Wiley, New York, **1982**.
b) Toscano P. J., Marzelli L. G., B12 and related organocobalt formation and cleavage of cobalt carbon bonds, *Prog. Inorg. Chem*, **1984**, *31*, p. 105.

[2] Kricka L. J., chapt. 8, Metalloimmunoassay in *Ligand-Binder Assays*, Marcel Dekker Inc., **1985**, New York.

[3] a) Weber S. G., Purdy W. C., *Anal. Lett.*, **1979**, *12*, p. 1.
b) Wehmeyer K. R., Doyle M. J., Halsall H. B., Heineman W. R., in *Methods in Enzymology*, Acad. Press, **1983**, vol 92, *34*, p.432 et suivantes.

[4] Cais M., in *Methods in Enzymology*, Acad. Press, **1983**, vol. 92, *35*, p. 445.

[5] a) Köpf-Maier P., Köpf H., *Chem. Rev.*, **1987**, *87*, p. 1137.
b) Houlton A., Roberts R. M. G., Silver J., *J. Organomet. Chem.*, **1991**, *418*, p. 107.
c) Neuse E. W., Kanzawa F., *Appl. Organomet. Chem.*, **1990**, *4*, p. 19.

[6] a) Ryabow A. D., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1991**, *30*, p. 931, et références citées.
b) Jaouen G., Vessières A. , Butler I.S., *Chem. Res.*, **1993**, *26*, p. 361.

[7] a) McQuillin F. J., Parker D. G., Stephenson G. R., *Transition metal organometallics for organic Synthesis*, Cambridge Univ. Press, **1991**.
b) Hegedus L. S., *Transition metals in the synthesis of complex organic molecules*, Univ. Science Books, **1994**.

[8] Jaouen G., chapt. II, vol. 2, in *Transition metal organometallics in organic synthesis*, H. Alper Ed., Acad. Press, **1978**.

[9] Jaouen G., Top S., Laconi A., Couturier D., Brocard J., *J. Amer. Chem. Soc.*, **1984**, *106*, p. 2207.

[10] Urbanos F., Halcrow M. A., Fernandez-Baeza J., Dahan F., Labroue D., Chaudret B., *J. Amer. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, p. 3484.

[11] Green S., Walter P., Kumar V., Krust A., Bornert J. M., Argos P., Chambon P., *Nature*, **1986**, *320*, p. 134.

[12] a) Parker M. G., *Curr. Opin. Cell. Biol.*, **1993**, *5*, p. 499.
b) Gronemeyer H., J. Recept. Res., **1993**, *13*, p. 667.
c) Baniahmad A.,Tsai M. J., *J. Cell. Biochem.*, **1993**, *51*, p. 151.
d) Green S., *Nature*, **1993**, *361*, p. 590.

[13] Halachmi S., Marden E., Martin G., Mackay H., Abbondanza C., Brown M., *Science*, **1994**, *264*, p. 1455.

[14] Mornon J. P., Thoreau E., Rowlands D., Caillebaut I., Moreau G., *C. R. Acad. Sci. Paris, sér. III*, **1994**, *317*, p. 597, et références citées.

[15] a) Parker M. G., *Breast Canc. Res. Treat.*, **1993**, *26*, p. 131.
b) Katzenellenbogen B. S., Fang H., Ince B. A., Pakdel F., Reese J. C., Wooge C. H., Wrenn C. K., *Breast Canc. Res. Treat.*, **1993**, *27*, p. 17.

[16] Ojasoo T., Raynaud J. P., Mornon J. P., in *Comprehensive medicinal chemistry*, vol. 3, *Membranes and Receptors*, Ed. J. C. Emmet, Pergamon, Oxford, **1990**, p. 1175.

[17] Vessières A., Vaillant C., Salmain M., Jaouen G., *J. Steroid Biochem.*, **1989**, *34*, p. 301.

[18] Vessières A., Top S., Vaillant C., Osella D., Mornon J. P., Jaouen G., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1992**, *31*, p. 753.

[19] a) Lees J. A., Fawell S. E., White R., Parker M. G., *Mol. Cell. Biol.*, **1990**, p. 5529.
b) Fawell S. E., Lees J. E., White R., Parker M. G., *Cell*, **1990**, *60*, p. 953.
c) Danielan, P. S., White R., Lees J. A., Parker M. G., *EMBO*, **1992**, *11*, p. 1025.
d) Danielan P. S., White R., Hoare S. A., Fawell S. E., Parker M. G., *Mol. Endo.*, **1993**, *7*, p. 232.
e) Wooge C. H., Nilsson G. M., Heierson A., McPonnell D. P., Katzenellenbogen B. S., *Mol. Endo.*, **1992**, *6*, p. 861.
f) Reese J. C., Wooge C. H., Katzenellenbogen B. S., *Mol. Endo.*, **1992**, *6*, p. 2160.

[20] Bourguet W., Ruff M., Chambon P., Gronemeyer H., Moras D., *Nature*, **1995**, *375*, p. 377.

[21] Golstein R. A., Katzenellenbogen J. A., Luthey-Schulten Z. A., Seielstad D. A., Wolynes P. G., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1993**, *90*, p. 9949.

[22] Humeny A., Thole H. H., *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **1993**, *194*, p. 1248.

[23] El Amouri H., Vessières A., Vichard D., Top S., Gruselle M., Jaouen G., *J. Med. Chem.*, **1992**, *35*, p. 3130.

[24] Osella D., Dutto G., Jaouen G., Vessières A., Raithby P. R., De Benedetto L., McGlinchey M. J., *Organometallics*, **1993**, *12*, p. 4545.

[25] Top S., El Hafa H., Vessières A., Quivy J., Vaissermann J., Hughes D. W., McGlinchey M. J., Mornon J. P., Thoreau E., Jaouen G., *J. Amer. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, p. 8372.

[26] M. Nicolini, G. Bandoli, U. Mazzi Eds., *Technetium and Rhenium in Chemistry and Nuclear Medicine*, S G Editoriali, Padoue, **1995**, vol. 4.

[27] O'Neil J. P., Carlson K. E., Anderson C. J., Welch M. J., Katzenellenbogen J. A., *Bioconjugate Chem.*, **1994**, *5*, p. 182.

[28] Magarian R. A., Overacre L. B., Sing S., Meyer K. L., *Curr. Med. Chem.*, **1994**, 1, p. 61.

[29] Top S., Tang J., Vessières A., Carrez D., Provot C., Jaouen G., *Chem. Commun.*, **1996**, p. 955.