

T H E S E

présentée en vue de l'obtention
du diplôme de Doctorat
de l'Université Paul Sabatier

Spécialité : Pharmacologie

par

Bernard DUGUE

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU MECANISME D'ACTION

DE L'ACETATE D'ELLIPTINIUM

Soutenue le 28 novembre 1985 devant la Commission d'Examen :

Président : J.P. ZALTA, Professeur, UPS, Toulouse
Membres : G. ATASSI, Professeur, Bruxelles
C. AUCLAIR, Chargé de Recherche, CNRS, Villejuif
J. CROS, Professeur UPS, Toulouse
B. MEUNIER, Directeur de Recherche, CNRS, Toulouse

T A B L E D E S M A T I E R E S

PRESENTATION DU SUJET.....	1
CHAPITRE I : INTRODUCTION.....	4
<u>PREMIERE PARTIE</u> : BREF HISTORIQUE DU CELIPTIUM.....	5
<u>DEUXIEME PARTIE</u> : PROPRIETES DES ELLIPTICINES.....	7
I - EFFET CYTOTOXIQUE ET ANTITUMORAL.....	7
II - METABOLISME.....	9
III - EFFET SUR LES CELLULES.....	10
IV - EFFET SUR LA SYNTHESE DES MACROMOLECULES.....	11
V - INTERCALATION DANS LES ACIDES NUCLEIQUES.....	12
VI - BIOOXYDATION/FIXATION COVALENTE.....	14
A - Etudes <u>in vitro</u>	14
B - Etudes <u>in vivo</u>	17
<u>TROISIEME PARTIE</u> : INTERACTION ACIDES NUCLEIQUES/ AGENTS ANTITUMORAUX.....	18
I - INTERCALATION/AFFINITE AVEC L'ADN.....	18
II - ALKYLATION DE L'ADN.....	19
III - COUPURES D'ADN.....	22
A - Coupures d'ADN <u>in vivo</u>	23
B - Coupures d'ADN <u>in vitro</u> générées par l'interaction drogue/métal de transition.....	25
C - Coupures d'ADN induites par l'interaction drogue antitumorale/ADN/topoisomérase <u>in vitro</u>	29
IV - INCORPORATION DE NUCLEOSIDES MODIFIES DANS L'ADN ET L'ARN.....	31

QUATRIEME PARTIE : FER ET PROLIFERATION CELLULAIRE.....	29
I - INTRODUCTION.....	32
II - ROLE DU FER DANS LA PROLIFERATION DES BACTERIES.....	32
III - MOBILISATION DU FER PAR LES CELLULES A PROLIFERATION RAPIDE, EN PARTICULIER LES CELLULES CANCEREUSES.....	34
A - Le fer est associé à la prolifération des cellules.....	34
B - Mobilisation du fer par les cellules tumorales.....	36
IV - EFFET DES CHELATANTS SUR LA PROLIFERATION DES CELLULES.....	38
V - CONCLUSION.....	40
 CHAPITRE II : SYNTHESSES DE DERIVES DE L'ACETATE D'ELLIPTINIUM GLYCOSYLES EN POSITION 9.....	 41
LIMINAIRE.....	42
Rappels bibliographiques sur la glucuroconjugaison.....	42
Résumé de l'Article.....	45
 CHAPITRE III : FIXATION COVALENTE DE L'ACETATE D'ELLIPTINIUM SUR L'ARN ET LE POLY A IN VITRO.....	 51
Résumé de l'article.....	52
 CHAPITRE IV : FIXATION COLAVENTE DE L'ACETATE D'ELLIPTINIUM SUR LES ACIDES NUCLEIQUES DE CELLULES L1210 EN CULTURE.....	 61
Résumé de l'article.....	62

CHAPITRE V : QUEL EST LE ROLE DES SELS DE FER ET DES RADICAUX DANS LA DEGRADATION DES NUCLEOS(T)IDES PAR L'ACETATE D'ELLIPTINIUM.....	89
Résumé de l'article.....	90
CONCLUSION GENERALE.....	100
I - GLUCUROCONJUGAISON DE LA 9-OH-NME.....	101
II - FIXATION COVALENTE DE LA 9-OH-NME SUR LES ACIDES NUCLEIQUES IN VITRO.....	102
III - FIXATION COVALENTE DE LA 9-OH-NME SUR LES ACIDES NUCLEIQUES IN VIVO.....	103
IV - INTERACTION DE LA 9-OH-NME AVEC LES IONS FERRIQUES.....	104
V - LE MECANISME DU CELIPTIUM EST-IL DE TYPE PLURIMODAL ?.....	105
BIBLIOGRAPHIE.....	108

DUGUE (Bernard). - Contribution à l'étude du mécanisme d'action de l'acétate d'elliptinium
d'elliptinium
Th. Doctorat de l'Université Paul Sabatier : Pharmacologie
Toulouse III : 1985 ;

RESUME :

Différents aspects du mécanisme d'action de l'acétate d'elliptinium (9-OH-NME, Celiptium®) ont été envisagés successivement.

1) Synthèse, structure, étude de dérivés de la 9-OH-NME fonctionnalisés en position 9. Mise en évidence de la glucuroconjugaison de la 9-OH-NME chez le rat et chez l'homme. 2) Fixation covalente de la 9-OH-NME sur des acides nucléiques *in vitro*. Mise au point d'une technique HPLC pour déterminer cette fixation et quantification avec un isotope radioactif de 9-OH-NME.

3) Fixation covalente de la 9-OH-NME sur les acides nucléiques *in vivo*. Mise au point d'une méthode pour quantifier la fixation covalente sur l'ADN et l'ARN extraits de cellules L1210 en culture. Sensibilité inférieure à 1 molécule de drogue fixée/10⁷ bases en utilisant de la 9-OH-NME fortement marquée. Etude cinétique, dose-réponse, réparation. Comparaison avec la fixation obtenue pour la NME (dérivé non hydroxylé). 4) Mise en évidence d'un nouveau type d'interaction possible avec la 9-OH-NME : l'interaction 9-OH-NME/complexe ferrique conduit à la dégradation de la déoxyguanosine en guanine et 8-OH-dG. Etude du mécanisme de cette réaction et mise en évidence des radicaux HO[•] formés en RPE.

MOTS CLES :

- Acétate d'elliptinium
- Acides nucléiques
- Glucuroconjugaison
- Fer
- Cellules L1210

JURY et date de soutenance : 28 novembre 1985 à 10 h 30

Président : J.P. ZALTA
Membres : G. ATASSI
C. AUCLAIR
J. CROS
B. MEUNIER (LPTF)

LIEU : Laboratoire de Pharmacologie et de Toxicologie Fondamentales
205, route de Narbonne, 31400 TOULOUSE
Salle de Conférence
