

Production, extraction et interaction dans le milieu biologique des radioisotopes

Résumé

Ce programme de recherche est associé à deux mots clés, radioactivité et santé, avec comme enjeux sociétaux la toxicité nucléaire et l'utilisation des radionucléides en médecine nucléaire.

Les objectifs du projet de toxicologie nucléaire sont à la fois de répondre à un besoin sociétal de transparence sur la toxicité des éléments radioactifs, et de combler le manque de données de toxicologie, notamment chimique, afin d'évaluer l'impact de ces éléments sur la santé humaine.

D'un autre côté, l'utilisation des radio-isotopes est un réel intérêt en médecine avec comme objectif le développement de radiopharmaceutiques innovants et leur transfert en clinique pour le diagnostic par imagerie moléculaire (TEP: tomographie par émission de positons) notamment en neurologie et en oncologie, et pour la thérapie du cancer par radiothérapie moléculaire.

Dans les deux cas, il s'agit de programmes de recherche pluri-disciplinaires qui impliquent physiciens, (radio)chimistes, biologistes, (radio)pharmaciens et médecins. Les activités impliquant les radiochimistes concernent la production des radio-isotopes et l'étude de leur comportement dans les milieux biologiques.

Cet axe de recherche, organisé en huit projets, est structuré au niveau national dans le cadre du programme Toxicologie Nucléaire en collaboration avec le CEA et le labex IRON (« Innovative Radiopharmaceuticals in Oncology and Neurology ») et dispose d'outils uniques présents dans les laboratoires de l'IN2P3 (cyclotrons, plateforme AIFIRA...).

Les activités de radiochimie pour la médecine nucléaire :

- Production de radioisotopes innovants par transmutation
- Production de radioisotopes par générateur, le projet CARAT
- Ingénierie du radiomarquage
- Exploration de la chimie de l'astate pour le développement de méthodes de marquage innovantes en thérapie alpha ciblée
- Projet scandium
- Projet Nanoparticules

Les activités de radiochimie pour la toxicologie nucléaire:

- Projet neurotoxicité de l'uranium
- Projet interaction des actinides avec les molécules biologiques

Rédacteurs : R. Ortega (CENBG), E. Simoni (IPNO), C. Alliot (GIP ARRONAX), A. Ouadi (IPHC), E ; R. Maurice (SUBATECH), S. Huclier (SUBATECH) et G. Montavon (SUBATECH)

1. Enjeux scientifiques

Ce programme de recherche est associé à deux mots clés, **radioactivité et santé**, avec comme enjeux sociétaux **la toxicité nucléaire et l'utilisation des radionucléides en médecine nucléaire**.

Les objectifs du projet de toxicologie nucléaire sont à la fois de répondre à un besoin sociétal de transparence sur la toxicité des éléments radioactifs, et de combler le manque de données de toxicologie, notamment chimique, afin d'évaluer l'impact de ces éléments sur la santé humaine. Il s'agit donc d'étudier les effets toxiques d'éléments utilisés dans la recherche et l'industrie nucléaire, toxiques chimiques ou radiotoxiques, afin d'identifier des seuils de toxicité pour l'homme et de proposer des solutions préventives ainsi que des remèdes pour traiter d'éventuelles contaminations des personnes. Les questions adressées par le projet de toxicologie nucléaire sont :

- Quels sont les effets sur les organismes vivants des éléments chimiques, radioactifs ou non, utilisés dans la recherche et l'industrie nucléaires ?
- Comment un élément toxique atteint-il sa cible moléculaire ?
- Pourquoi les cellules d'un organe cible sont-elles plus sensibles ou plus exposées que celles d'autres organes ?
- Comment certaines cellules ou organismes résistent-ils à ces éléments toxiques ?

D'un autre côté, l'utilisation des radio-isotopes est un réel intérêt en médecine avec comme objectif le développement de radiopharmaceutiques innovants et leur transfert en clinique pour le diagnostic par imagerie moléculaire (TEP: tomographie par émission de positons) notamment en neurologie et en oncologie, et pour la thérapie du cancer par radiothérapie moléculaire. Ces radiopharmaceutiques participeront au développement de médecine personnalisée, permettant d'orienter les patients vers des thérapies ciblées adaptées ou de traiter une maladie tumorale réfractaire aux traitements classiques. Les principales questions adressées dans ce contexte sont :

- Quels radioisotopes innovants, comment les produire et comment assurer la distribution aux centres hospitaliers ?
- Quels vecteurs biologiques pour une vectorisation sélective ?
- Comment attacher le radioisotope au vecteur biologique de manière stable ?

Dans les deux cas, il s'agit de programmes de recherche pluri-disciplinaires qui impliquent physiciens, (radio)chimistes, biologistes, (radio)pharmaciens et médecins. Les activités impliquant les radiochimistes concernent la production des radio-isotopes et l'étude de leur comportement dans les milieux biologiques.

2. Genèse

Genèse Pour la médecine nucléaire :

- Construction des cyclotrons ARRONAX (acceptation et début des productions : fin 2010-début 2011) et CYRCEE (2013.)

- Soutien de la région Pays de La Loire pour le développement d'une recherche incluant physiciens, chimistes, radiochimistes, biologistes et radiopharmaciens (NUCSAN ; 2010-2015)
- Pôle « Production de Radionucléides pour l'imagerie et la thérapie » du GDR MI2B (2013)
- Labex IRON (2012-2019) : structuration nationale avec des projets identifiés
- Equipex ARRONAX+ (2012-2019) : construction d'une plateforme autour du cyclotron ARRONAX

Genèse pour la toxicologie nucléaire

- Période 2004-2007. Ouverture du programme national inter-organismes de Toxicologie Nucléaire piloté par le CEA, 15 projets multidisciplinaires, 200 chercheurs issus de différents organismes de recherche (CEA, CNRS, INRA et INSERM). Ce programme a permis de relancer au plan national les recherches en toxicologie. L'un des sous-projets, 'Spéciation directe dans le solide', était coordonné par R. Ortega (CENBG).
- Période 2009-2013. Poursuite du programme de Toxicologie Nucléaire par le CEA uniquement avec quelques laboratoires partenaires au CNRS, dont le CENBG.
- Projets SPECO, 'Toxicité et accumulation intracellulaire du cobalt' ; projet IODE 'Spéciation chimique et distribution de l'iode stable et radioactif' (aussi soutenu par le projet fédérateur NEEDS Nucléaire : énergie, environnement, déchets, société).
- Depuis 2013-2014 : projet U-NEURO, 'Neurotoxicité de l'uranium' (2 équipes CEA + CENBG), un des programmes ToxNuc financé par le CEA également soutenu par le CNRS PEPS Faidora : Faibles Doses risques Alertes 2016, et par l'IN2P3 sur projet (GDR MI2B pôle Imagerie Chimique P1-IMN6). Projet interaction des actinides avec les molécules biologiques (IPN Orsay).

Evaluations

Les activités de médecine nucléaire, au-delà des évaluations HCERES/AERES des laboratoires sont évaluées par le comité scientifique international du Labex IRON.

Les activités du programme de toxicologie nucléaire ont été évaluées régulièrement par le comité de pilotage ToxNuc du CEA, par l'AERES en 2010, par le conseil scientifique du CENBG en décembre 2012, et par l'HCERES lors de l'évaluation du CENBG en 2015. Elles seront évaluées en 2017 par le programme PEPS Faidora (Faibles doses risques alertes).

3. État de l'art

Médecine nucléaire

Le développement de la médecine nucléaire est intimement lié au développement de vecteurs biologiques spécifiques et qui peuvent tracer des mécanismes moléculaires pour tendre vers la médecine personnalisée. Le choix du radio-isotope est une question cruciale (particule émise, temps de vie....) et justifie les programmes de recherches autour des radio-isotopes innovants dans lesquels les acteurs de l'IN2P3 sont

pleinement intégrés. Les axes de recherches et les questions posées par rapport à l'état de l'art sont identifiés dans la description des projets (cf partie 4 du document).

Toxicologie nucléaire

L'étude de la neurotoxicité de l'uranium est une thématique émergente pour laquelle il convient de progresser rapidement. Les recherches dans ce domaine sont principalement menées en France (CEA, CNRS, IRSN) et aux Etats-Unis. Pour ne parler que du projet sur la neurotoxicologie de l'uranium, les équipes concurrentes aux USA (i.e. Armed Forces Radiobiology Research Institute) s'intéressent à la neurotoxicité de l'uranium appauvri après exposition à de fortes doses, de type blessure pas armes lors des conflits. En France l'IRSN est très actif dans la recherche des effets de l'uranium sur le neuro-développement. Le projet CEA-CNRS est complémentaire et d'une plus ample portée puisqu'il s'intéresse aux effets neurologiques de l'uranium naturel à faibles doses, afin de définir s'il présente un risque pour l'homme par exposition environnementale, et à partir de quel seuil d'exposition. En termes de calendrier le projet suit une programmation précise, en phase avec les équipes du CEA, qui prévoit de terminer le projet fin 2018.

4. Les Projets

Les activités de radiochimie pour la médecine nucléaire

Les activités de radiochimie s'inscrivent à l'interface avec les physiciens, chimistes et biologistes. On s'intéresse à la question de la production et du marquage des radioisotopes avec des objectifs de recherche de base ou finalisée. Six projets sont identifiés et sont décrits de manière succincte ci-dessous.

- *Production de radioisotopes innovants par transmutation (IPHC-ARRONAX)*

L'objectif est de développer la production des radionucléides ayant un potentiel pour l'élaboration de radiopharmaceutiques en oncologie et en neurologie. Il s'agit du cuivre-64, du scandium-44, du zirconium-89, et du gallium-68 pour l'imagerie TEP et de l'astate-211, du cuivre-67, et du scandium-47 pour la radiothérapie moléculaire. La disponibilité de ces radionucléides dépend fortement de la capacité des partenaires du Labex IRON à les produire en quantités et qualités suffisantes. Deux cyclotrons permettent la production en grande quantité de ces isotopes. Il s'agit d'ARRONAX et de CYRCé. Cela passe notamment par un important transfert de connaissance et de savoir-faire entre les équipes de Strasbourg et Nantes avec des échanges de développement sur la ciblerie, des méthodes de purifications et du développement de modules de synthèses. Un aspect important développé concerne l'automatisation des procédés. Le partenariat s'agrandit avec les projets de production au GANIL et au CERN (Isolde).

- *Production de radioisotopes par générateur, le projet CARAT (SUBATECH)*

Suite à un programme de R&D lancé en 2005, AREVA Med a développé un procédé unique permettant l'extraction du plomb-212 (^{212}Pb) à partir de stock de Th. Ce métal rare fait aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches et apparaît dans de nouveaux traitements prometteurs de médecine nucléaire (thérapie alpha ciblée, TAC) . Porté par Areva Med, le projet Carat (Consortium pour des Applications en Radio Alpha Thérapie)

fédère des compétences complémentaires dans le but d'industrialiser la production de plomb-212.

- *Ingénierie du radiomarquage (IPHC)*

Le groupe Imagerie moléculaire de l'IPHC est particulièrement impliqué dans le développement de radiopharmaceutiques pour l'imagerie préclinique.

Les projets vont de l'optimisation de la synthèse automatisée des molécules radio-marquées comme la radiosynthèse de la fluorothymidine ([¹⁸F]FLT) à partir d'une faible quantité de précurseur mais aussi au développement de nouveaux radiopharmaceutiques radiomarqués au Fluor 18, Cuivre 64, Iode 123 ou Technétium 99m. Le choix du radioisotope dépend de la durée de la biodistribution, de la période radioactive du radioisotope, de la facilité d'incorporation dans les molécules nécessaires à l'exploration. Les techniques de radiomarquages nécessitent souvent la modification chimique de l'anticorps, du peptide, de la nanoparticule.... L'interconnexion des plateformes CYRCé et d'imagerie multimodale, couplée à la présence d'une animalerie en fait un lieu unique pour l'émergence de nombreux projets de recherche à l'interface Chimie-Physique-Biologie-Médecine. A moyen terme (courant 2017) le groupe produira et utilisera également le zirconium-89 pour le radiomarquage d'anticorps.

- *Exploration de la chimie de l'astate pour le développement de méthodes de marquage innovantes en thérapie alpha ciblée (SUBATECH)*

Le projet s'inscrit dans le cadre du Labex IRON au travers du programme « *Development of innovative labelling strategies for F-18 and At-211* », Le principal protocole de marquage, utilisé lors d'essais cliniques antérieurs, repose, par analogie avec l'iode, sur la formation d'une liaison covalente entre l'astate (At) et un atome de carbone d'un cycle aryle. Cependant, plusieurs études précliniques montrent que la stabilité de la liaison C-At formée n'est pas satisfaisante dans le cas d'injections systémiques de la biomolécule marquée, ou si celle-ci est internalisée dans les cellules. Le résultat précédent est important car il révèle les limites de l'analogie astate/iode. L'utilisation de méthodes alternatives requiert le développement d'un marquage propre à la chimie de l'astate, impliquant une meilleure connaissance de ses propriétés physico-chimiques. Notre approche est d'explorer la chimie de l'astate en solution, *i.e.* dans les conditions usuelles de marquage, pour, *in fine*, contribuer au développement de protocoles de marquage novateurs et efficaces. Ce projet transversal rassemble radiochimistes, chimistes théoriciens et de synthèse.

L'approche suivie est structurée autour des points suivants :

Quels outils ? L'astate est un élément rare et « invisible » (outils spectroscopiques usuels insuffisamment sensibles). Ceci explique le manque de données notamment structurales sur ses composés. Une partie clé du projet porte sur la mise en place d'outils expérimentaux et théoriques adaptés pour étudier la chimie de l'astate en solution ;

Quelles formes chimiques (et degré d'oxydation de At) pour le marquage ? Le diagramme de Pourbaix (E_h -pH) d'un élément est une donnée fondamentale, et indispensable dans le contexte présent pour identifier (i) les formes élémentaires de l'astate qui peuvent être utilisées pour le marquage, et (ii) les conditions permettant leur obtention ;

Quel(s) paramètre(s) faut-il améliorer ? Il est important de comprendre l'origine de l'instabilité *in vivo* observée pour les biomolécules marquées via des liaisons C_{aryl}-At. Plusieurs paramètres explicatifs sont envisageables, tels la force intrinsèque des liaisons ou leur stabilité relative sous les conditions physico-chimiques du milieu physiologique ;

Réactivité de l'astate et « *in silico* screening » ? L'idée est de mieux appréhender la réactivité de l'astate à l'aide de simulations utilisant divers outils théoriques. Les résultats seront vérifiés et complétés par des études expérimentales (synthèses et mesures de radiochimie). Les connaissances acquises devront permettre de guider le travail expérimental pour, *in fine*, conduire à des approches de marquage innovantes.

- *Projet scandium(SUBATECH)*

Les isotopes du Scandium : le ^{47}Sc et le ^{44}Sc , sont intéressants tant pour la radiothérapie interne (^{47}Sc) que pour l'étude dosimétrique pré-thérapeutique qui pourra être réalisée grâce à l'image obtenue avec la TEP (image de la tumeur traitée) avec le ^{44}Sc . De plus, le ^{44}Sc possède un état isomère, $^{44\text{m}}\text{Sc}$ ($T_{1/2}=2,44\text{j}$), produit en même temps que le ^{44}Sc et qui permet d'envisager l'utilisation de générateur in-vivo $^{44\text{m}}\text{Sc}/^{44}\text{Sc}$.

Le radiomarquage du DOTA avec le couple $^{44\text{m}}\text{Sc}/^{44}\text{Sc}$ a été optimisé (cinétique, pH, température, rapport métal-ligand) et nous avons pu mettre en évidence que le concept de générateur *in vivo* pour le couple $^{44\text{m}}\text{Sc}/^{44}\text{Sc}$ était valable. Une étude chez le petit animal a débuté (biodistribution, premières images TEP...) et doit conduire progressivement à des études pré-cliniques pour ce nouveau radiopharmaceutique (collaboration avec l'école vétérinaire de Nantes). Cela passera par un développement de cibles de scandium de plus haute activité. Toutefois, d'un point de vue plus fondamental, les constantes d'interaction entre les protéines et le scandium seraient à déterminer afin de pouvoir prédire leur spéciation *in vivo*. Un couplage CE-ICP-MS a été développé et testé avec succès avec les actinides trivalents et des ligands polyamicopolycarboxyliques et sera appliqué pour le cas du scandium (collaboration avec le CEA/DAM).

Hormis les chélatants classiques de type polyaminocarboxylique, il existe des ExoPolySaccharides (EPS) produits par des bactéries marines (collaboration Ifremer). Ces EPS dépolymérisés et sur-sulfatés selon des procédés brevetés par l'Ifremer constituent une classe de molécules dites « Glycosaminoglycanes-mimétiques » qui peuvent se substituer avantageusement aux glycosaminoglycanes d'origine animale actuellement commercialisés (héparines, ...). Ces molécules qui jouent un rôle clé dans la physiologie cellulaire et tissulaire sont très étudiées pour être exploitées à des fins thérapeutiques mais aussi pour comprendre la survenue et la progression de certaines pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives...). Les objectifs de ce travail sont (i) de réaliser une étude physico-chimique du radiomarquage au scandium-44; (ii) d'évaluer la stabilité *in vitro* de ces complexes (études de compétition en milieu sérique); (iii) d'acquérir des données *in vivo* chez le petit animal (biodistributions et images TEP) dans un modèle d'ostéosarcome en collaboration avec les biologistes.

- *Projet Nanoparticule (SUBATECH-IPHC)*

En cancérologie, l'imagerie doit permettre de détecter les tumeurs et de les localiser avec précision, mais aussi de les caractériser aux plans fonctionnel et phénotypique. Ce triple objectif requiert une imagerie multimodale qui combine une imagerie morphologique (Scanner X, IRM) avec une imagerie moléculaire (SPECT, TEP). La fusion des deux images permet une localisation morphologique précise des lésions, une analyse quantitative des images et une confirmation croisée de la nature pathologique ou non des sites de concentration radioactive. Les nanotechnologies sont considérées comme une technologie émergente, ayant un impact significatif pour les applications dans le traitement du cancer. Il y a eu un énorme investissement ces

dernières années, notamment dans le domaine de l'administration de médicaments anticancéreux et agents de contraste pour l'imagerie. Des progrès récents ont permis d'obtenir des nanoparticules dont les propriétés pharmacocinétiques sont largement améliorées grâce à une maîtrise de leur taille et de leurs interactions avec les milieux vivants. Un premier travail a porté sur une étude physico-chimique de radiomarquage avec ^{44}Sc , ^{64}Cu et ^{68}Ga de petites plates-formes rigides (SRP) servant d'agent de contraste pour l'IRM mais sur lesquelles des ligands DOTA restent libres pour chélater les autres cations d'intérêt (par ex. ^{111}In pour l'imagerie SPECT, mais encore ^{44}Sc , ^{64}Cu ou ^{68}Ga) et/ou pour effectuer des liaisons amides avec les NH_2 terminaux d'autres molécules, via un des bras d'acide carboxylique du DOTA. La caractérisation physico-chimique complète de ces objets par des techniques de fractionnement (A4F) a également été réalisée (collaboration Université de Lyon 1).

Par ailleurs, la curiethérapie ou brachythérapie est une technique de traitement du cancer consistant à déposer une source radioactive au contact ou au sein de la tumeur de manière à cibler directement la zone atteinte par le cancer. Pour une injection intra-tumorale, les microparticules doivent bénéficier d'une bonne pénétration dans le tissu et d'une bonne fixation au sein de la tumeur après injection (sans migration hors de la tumeur). Des microparticules à base d'oxyde d'Holmium ont été sélectionnées pour cette application. Les techniques de A4F permettent de s'assurer de l'intégrité de la suspension, d'évaluer les éventuels produits de relargage grâce à des couplages opportuns (détecteurs de radioactivité, MS-IT-TOF ...) en vue de proposer des outils et des indicateurs pour le développement de ces objets en phase clinique (collaboration avec Advanced Accelerator Applications, Nano-H, Gi-Pharma, l'Université Claude Bernard Lyon I, et l'Université de Limoges).

Enfin, un travail a débuté afin de synthétiser des NPs, en collaboration avec l'IPHC de Strasbourg, pour faire une imagerie TEP-IRM de la maladie d'Alzheimer. Ces Nps seront fonctionnalisées pour pouvoir traverser la barrière hémato-encéphalique et aller cibler spécifiquement les oligomères $\text{A}\beta$. Les objectifs seront de mettre au point et optimisation du radiomarquage, de caractériser les Nps par A4F et d'étudier la stabilité in vitro de ces Nps.

Les activités de radiochimie pour la toxicologie nucléaire

Le programme ToxNuc est par essence pluri- et trans-disciplinaire, il associe des physiciens, des chimistes et des biologistes de différents organismes de recherche. La contribution des équipes de l'IN2P3 apporte des compétences complémentaires à celles existantes par ailleurs, particulièrement dans le domaine de la radiochimie et de l'analyse par faisceau d'ions. Parmi les projets ayant impliqué des équipes de l'IN2P3 on peut citer l'étude du césium dans les plantes, de l'iode dans les organismes marins (algues brunes), du cobalt et de sa toxicité chez l'homme (organes : peau, poumon). Deux projets sont actuellement en cours ils visent à étudier la neurotoxicité de l'uranium, et les interactions des actinides (Th(IV) , U(VI) , Am(III)) avec les molécules biologiques.

- *Projet « neurotoxicité de l'uranium » (CENBG)*

L'uranium est un élément ubiquiste, entraînant une exposition de la population à de faibles concentrations. L'exposition à l'uranium est associée chez l'animal à des effets neurologiques comme la perturbation du système dopaminergique. De tels effets neurologiques sont également suspectés chez l'homme et représentent une

problématique émergente. L'objectif de ce projet est d'évaluer les effets neurologiques de l'Unat, à de faibles concentrations, sur des cellules neuronales dopaminergiques humaines en culture. La stratégie adoptée se décline en trois étapes (i) la détermination du seuil de cytotoxicité de l'Unat et du seuil d'observation d'effets sur le système dopaminergique ; (ii) la détermination de sa concentration intracellulaire, de sa répartition quantitative dans les organites, notamment le noyau, pour des expositions sub-cytotoxiques ; (iii) l'évaluation de son impact sur l'homéostasie des éléments traces essentiels endogènes (P, Ca, Fe,...) , permettant de détecter des effets de compétition inter-éléments. La connaissance de ces informations est un point clef pour la compréhension des conséquences fonctionnelles associées à une accumulation d'U dans le système nerveux central. Des méthodes analytiques de pointe sont mises en œuvre telles que l'imagerie chimique par nanosonde faisceau d'ions (équipe Ortega, CENBG), l'analyse multi-élémentaire et isotopique par spectrométrie de masse à source plasma à couplage inductif (ICP MS) (équipe Bresson, LANIE, CEA CNRS, Saclay) et l'analyse protéomique pour définir les protéines interagissant avec l'uranium (équipe Vidaud, BIAM, CEA Marcoule). Ce projet implique 6,15 ETP répartis sur les 3 laboratoires dont 1,15 ETP à l'IN2P3 (CENBG). L'IN2P3 finance 6% du projet auquel il convient d'ajouter le financement de l'accélérateur AIFIRA du CENBG.

Les résultats d'imagerie par faisceau d'ions (Fig. 1) montrent une compartimentation intracytoplasmique de l'uranium dans les cellules neuronales dopaminergiques, sans diffusion vers le noyau cellulaire. Ces résultats suggèrent que l'uranium n'interagit pas directement avec les fonctions génomiques, qu'il s'accumule dans un compartiment du cytoplasme, compartiment que nous souhaitons maintenant identifier par la même approche d'imagerie corrélative. En fonction du compartiment cellulaire qui sera identifié (appareil de Golgi, réticulum endoplasmique, autophagosome, lysosomes, ...) des mécanismes précis de toxicité et de détoxification pourront être proposés.

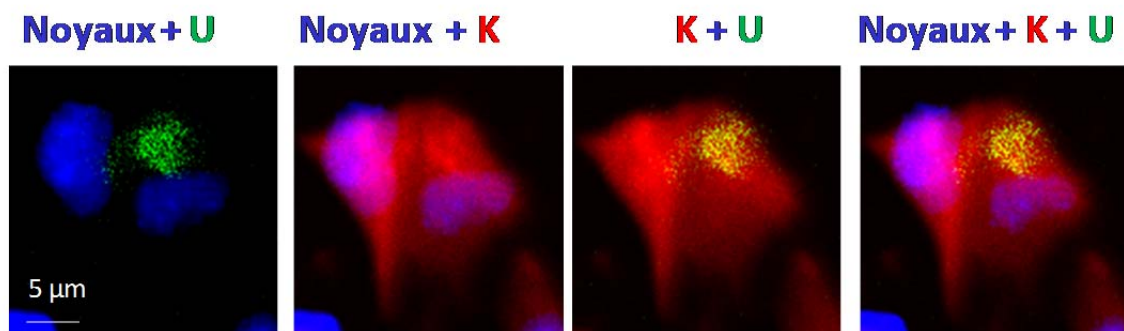


Figure 1. *Imagerie corrélative de la distribution des éléments chimiques (uranium et potassium) obtenue par micro-PIXE (Particle Induced X-ray Emission) et par microscopie d'épifluorescence (noyaux) de neurones dopaminergiques exposés à une concentration sub-toxique d'uranium. La distribution du potassium décrit l'enveloppe cellulaire (en rouge), les noyaux sont repérés par une molécule fluorescente (en bleu). Les images corrélatives montrent clairement que l'uranium (en vert) n'est pas présent dans le noyau et qu'il se localise dans une région bien définie du cytoplasme.*

- *Projet « interaction des actinides avec les molécules biologiques » (IPNO)*

Les conséquences d'une contamination sont fonction non seulement du radionucléide incorporé et de sa période mais également de sa répartition et de la rapidité de fixation dans les différents organes et tissus. Les méthodes thérapeutiques communément employées

portent sur l'utilisation d'agents décorporants capables de diminuer la rétention aux organes cibles et d'augmenter l'excrétion de l'élément concerné. Cependant, ces modes de traitement pour l'homme restent encore peu nombreux et pas suffisamment efficaces. Deux méthodologies sont actuellement mises en œuvre : d'une part physico-chimique pour mettre au point de nouvelles molécules fortement chélatantes à hautes affinité et sélectivité et d'autre part pharmacocinétique pour proposer de nouvelles formulations accédant de façon plus efficace aux sites de rétention. Cependant, il n'existe que très peu de données sur l'interaction des actinides avec des molécules biologiques à l'échelle moléculaire, la plupart des données toxicologiques disponibles ne relevant que d'un point de vue macroscopique ou physiologique. Ainsi, l'acquisition d'informations structurales et thermodynamiques (à l'échelle microscopique) sur des complexes d'actinides avec des molécules d'intérêt biologique (peptides, protéines, chélatants biocompatibles ...) conduira d'une part à une meilleure compréhension des mécanismes de transport et de stockage des actinides dans les organismes vivants et d'autre part à l'élaboration de stratégies de décontamination. . Le projet porte aujourd'hui principalement sur la caractérisation physico-chimique des interactions entre des actinides hexa-, penta-, tétra- et trivalents (Th(IV), U(VI), Np(V), Am(III),...) et d'une part des protéines responsables de régulation métabolique dans les cellules (calmoduline, kinase ...) et d'autre part des molécules biocompatibles, à base de polyphosphonates nouvellement synthétisées. Il s'agira ici non seulement d'identifier les conditions physico-chimiques favorables à la complexation de ces radioéléments par ces biomolécules mais également de caractériser thermodynamiquement et structuralement les complexes ainsi formés.

Production scientifique

La production scientifique se traduit essentiellement sous forme d'articles publiés dans des journaux de toxicologie, de chimie bio-inorganique, de chimie générale ou de radiochimie. Ces publications ont pour vocation de partager ces nouvelles connaissances et d'alimenter les données bibliographiques pour les organisations internationales telles que la commission internationale de protection radiologique, ou l'OMS. Une liste des publications est donnée en annexe.

5. Ressources et moyens

Personnel

Le premier tableau fait un bilan ainsi qu'une prévision du personnel (chercheurs, ingénieurs & techniciens, post-doctorants, thèses) sur la période 2011-2016. Le deuxième tableau précise le personnel impliqué pour l'année 2016.

Tableau I. *Personnel – bilan et prévision*

	SUBATECH C/IT/PD/T	IPHC C/IT/PD/T	CENBG C/IT/PD/T	IPNO C/IT/PD/T	GIP ARRONAX C/IT/PD/T
2011	3/2/1/2	-	2/2/0/0	-	0/1/2/0
2012	3/1/1/1	-	2/1/1/0	-	0/1/2/0
2013	4/1/1/4	0.2/2/0/0	2/1/1/0	3/1/0/1	0/1/2/0
2014	4/0/1/4	0.2/2/0/0	2/1/1/0	3/1/0/1	0/1/2/0
2015	4/1/1/4	0.2/2/0/0	2/1/0/0	2/0/0/2	0/1/2/0
2016	4/1/0/4	0.2/2/0/0	2/1/0/0	2/0/0/1	0/1/2/0
2017	4/1/0/4	0.2/2/1 IT AI demandé/0	2/1/1 demande/0	2/0/0/1	0/1/2/0
2018	4/1/0/4	0.2/2/1 IT AI demandé/0	2/1/1 demande/0	2/0/0/1	0/1/2/0

Tableau II. *Personnel – Personnel impliqué en 2016*

	SUBATECH	IPHC	CENBG	IPNO	GIP ARRONAX
Chercheurs	G. Montavon (DR, 0,4 ETP) R. Maurice (CR, 0,5 ETP) S. HUCLIER (MCU-HDR), 0.5 ETP J. CHAMPION (MA-EMN), 0,2 ETP	D.Brasse (DR, 0,1 ETP) F. Boisson (CR, 0,1ETP)	R. Ortega (DR, 0,4 ETP) A. Carmona (CR, 0,5 ETP)	J. Roques (EC, 0,25 ETP) E. Simoni (EC, 0,25ETP)	-
IT	L. Deroo (IE, 1ETP)	A. Ouadi (IR-1 ETP) P.Marchand (IR-1 ETP)	S. Roudeau (IR, 0,25 ETP)	-	C. Alliot (IR, 1 ETP)) N. Audouin (T, 0.4 ETP) A-C. Bonraisin (T, 0.4 ETP)
Post-doctorant	-	-	-	-	
Thèses	C. Sergentu, 0,8 ETP , N. Guo (1 ETP), E. Ntsiba (1 ETP), C. Gomez Pech (0,1 ETP), S. Khalfallah (1 ETP)	-	-	F. Brulfert (1 ETP) G. Ye (1 ETP)	-

Ressources financières

Les tableaux ci-dessous indiquent de manière succincte par année (sur la période 2013-2016) les sources de financement, les montants ainsi que la contribution de l'IN2P3 qui accompagnent les projets de recherche (en k€).

Tableau III. *Ressources financières pour la période 2013-2016*

2013

	IN2P3	Source	Autre	Source
SUBATECH	-	-	118	ANR EXCAT3, IRON NUCSAN
IPHC	2	n.r.	53	INCA
CENBG	6,5	Projet IN2P3 GDR MI2B P1- IMN6	68.5 k€ PostDoc 12 k€ 4 k€	NEEDS CEA ANR
GIP ARRONAX	-	-	9k€ 40k€ 10k€	ANR EXCAT3, IRON, ressource propre
IPNO	-	-	-	-

2014

	IN2P3	Source	Autre	Source
SUBATECH	37	Thèse/GDR MI2B	70	ANR EXCAT3, IRON NUCSAN
IPHC	2	-	53 53	IRON, INCA,
CENBG	4 k€	Projet IN2P3 GDR MI2B P1- IMN6	8 k€	CEA
GIP ARRONAX	-	-	40k€ 10k€	ANR EXCAT3, IRON, ressource propre
IPNO	-	-	-	-

2015

	IN2P3	Source	Autre	Source
SUBATECH	37	Thèse/GDR MI2B	142	ANR EXCAT3, IRON
CENBG	4 k€	Projet IN2P3 GDR MI2B P1- IMN6	8 k€	CEA
IPHC	2	-	40 53	IRON, INCA,
GIP ARRONAX	-	-	50k€ 10k€	ANR EXCAT3, IRON, ressource propre
IPNO	-	-	thèse	CSC-chine

2016

	IN2P3	Source	Autre	Source
SUBATECH	37	Thèse/GDR MI2B	117	IRON Univ Nantes, Ifremer
IPHC	2	-	33 53	IRON, INCA
CENBG	2,5 k€	Projet IN2P3	10 k€ 8 k€	PEPS Faidora CEA
GIP ARRONAX	-	-	50k€ 10k€	IRON, ressource propre
IPNO	-	-	thèse	CSC-chine

n.r. : non renseigné

6. Réalisations techniques

Appareil d'électromobilité : l'objectif est de pouvoir remonter à des informations sur le rapport charge/taille d'espèces radioactives via le déplacement de ses dernières dans un champ électrique. Cet appareil a été développé notamment pour mieux comprendre la chimie de l'astate. Il a été conçu/réalisé entièrement par le service mécanique du laboratoire Subatech.

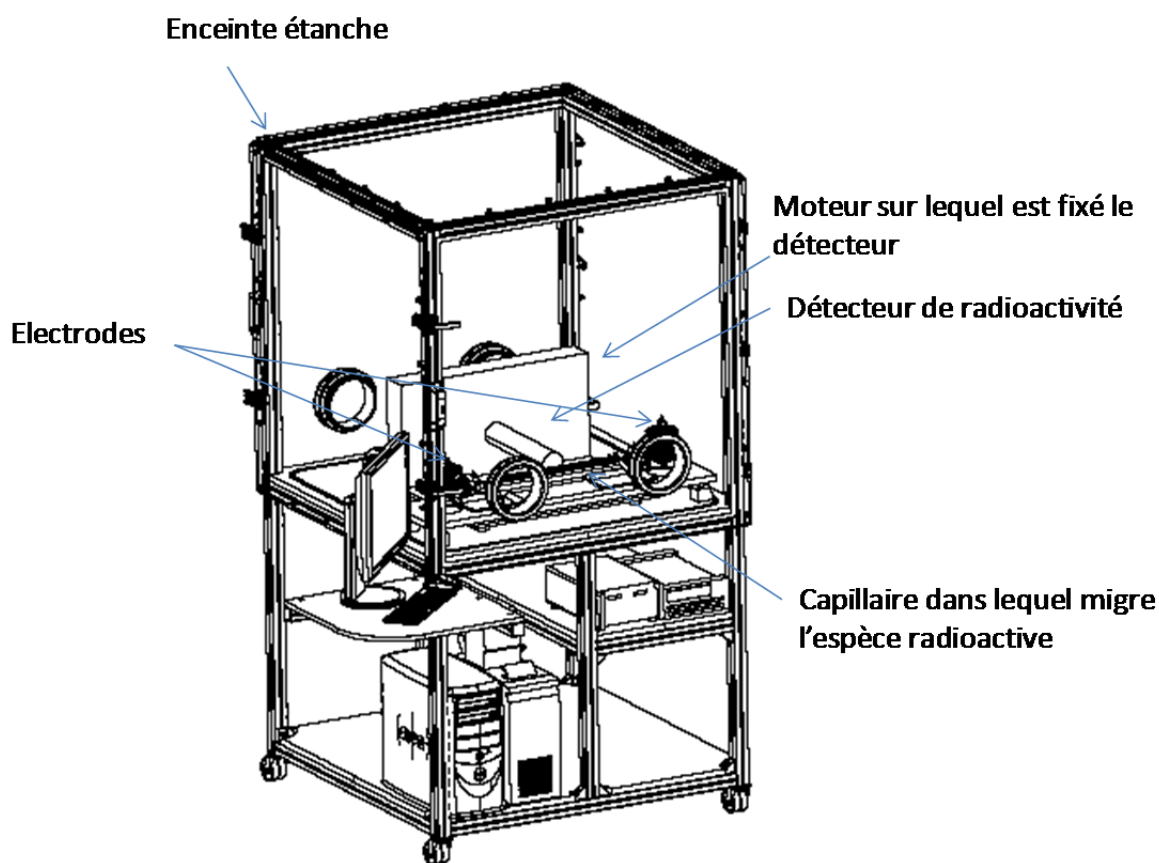


Figure II. *Appareil d'électromobilité développé au laboratoire SUBATECH permettant la mesure des mobilités des espèces chargées sous l'influence d'un champ électrique.*

Imagerie corrélative : des outils logiciels pour l'imagerie corrélative (faisceau d'ions / fluorescence optique) sont en cours de développement au CENBG. Ils sont nécessaires pour l'identification précise des compartiments subcellulaires d'accumulation des radioéléments.

Module de dissolution et de purification du Cuivre 64 : Le cuivre 64 est obtenu après irradiation du Nickel 64 électrodéposé sur un jeton en or. Un système de transfert, un module de réception de cible ainsi qu'un module de dissolution et de purification du cuivre-64 ont été développés afin de limiter la dose délivrée aux opérateurs dans le cadre de production d'activités importantes.

7. Auto-analyse SWOT (facultative)

Quelles sont les forces, faiblesses, opportunités et menaces qui pèsent sur le projet.

	Atouts	Handicaps
Origine interne, Organisation	<p><u>Forces</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Un lien fort avec les enjeux sociétaux • Une structuration nationale établie • Des outils de de recherche structurant (cyclotron, ...) 	<p><u>Faiblesses</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Forte dépendance aux appels à projets spécifiques
Origine externe, Environnement	<p><u>Opportunités</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Lien avec les physiciens de l'institut • Toxicologie nucléaire des matériaux futurs des chambres pour la fusion nucléaire (tungstène, béryllium,...) 	<p><u>Menaces</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Travail en sous effectif • Soutien financier des tutelles nécessaire

Figure III. *Auto-analyse SWOT*

Production scientifique

On se limite ici aux articles publiés dans des revues scientifiques internationales.

Médecine nucléaire

- J. Champion et al. *Astatine Standard Redox Potentials and Speciation in Acidic Medium*, Journal of Physical Chemistry A **114**, 576 (2010).
- M. Mevel et al. *A Rapid Microwave-Assisted Procedure for Easy Access to N-X Polydentate Ligands for Potential Application in Alpha-RIT*, Synlett 1215 (2010).
- G. Montavon, U. Repinc, C. Apostolidis, F. Bruchertseifer, K. Abbas, and A. Morgenstern. *Investigation of Para-Sulfonatocalix[n]arenes [n=6, 8] as Potential Chelates for (230)U*, Dalton Transactions **39**, 1366 (2010).
- C. Alliot, N. Michel, A.-C. Bonraisin, V. Bossé, J. Laizé, C. Bourdeau, B. Mokili and F. Haddad. "One step purification process for no-carrier-added ^{64}Cu produced using enriched nickel target". Radiochimica Acta, vol. 99, pp. 627-630 (2011).
- Champion, M. Seydou, A. Sabatie-Gogova, E. Renault, G. Montavon, and N. Galland. *Assessment of an Effective Quasirelativistic Methodology Designed to Study Astatine Chemistry in Aqueous Solution*, Physical Chemistry Chemical Physics **13**, 14984 (2011).
- S. Huclier-Markai et al. *Chemical and Biological Evaluation of scandium(III)-olyaminopolycarboxylate Complexes as Potential PET Agents and Radiopharmaceuticals*, Radiochimica Acta **99**, 653 (2011).
- Le Du et al. *In Vivo Pb-212/Bi-212 Generator Using Indium-DTPATagged Liposomes*, Radiochimica Acta **99**, 743 (2011).
- C. Alliot, A. Audouin, J. Barbet, A.C. Bonraisin, Y. Bortoli, V. Bossé, C. Bourdeau, G. Bouvet, J.M. Buhour, A. Cadiou, S. Fresneau, M. Guillamet, F. Haddad, J. Laizé, M. Michel, T. Milieto, M. Mokili. "Radio-isotope production at Arronax". Radiotherapy and Oncology. Vol 102, pp. S144 (2012).
- E. Ansoberlo et al. *Review of Chemical and Radiotoxicological Properties of Polonium for Internal Contamination Purposes*, Chemical Research in Toxicology **25**, 1551 (2012).
- S. Huclier-Markai, C. Alliot, N. Varmenot, C. S. Cutler, and J. Barbet. *Alpha-Emitters for Immuno-Therapy: A Review of Recent Developments from Chemistry to Clinics*, Current Topics in Medicinal Chemistry **12**, 2642 (2012).
- S.HUCLIER-MARKAI, C. ALLIOT, N. VARMENOT, C.S. CUTLER, J. BARBET. Alpha-Emitters for Immuno-Therapy: a review of recent developments from production to clinics. *Curr. Topics in Med. Chem.*, 2012, 23, 2642-2654.
- A. le Du, A. Sabatie-Gogova, A. Morgenstern, and G. Montavon. *Is DTPA a Good Competing Chelating Agent for Th(IV) in Human Serum and Suitable in Targeted Alpha Therapy?*, Journal of Inorganic Biochemistry **109**, 82 (2012).
- G. Montavon, A. Le Du, J. Champion, T. Rabung, and A. Morgenstern. *DTPA Complexation of Bismuth in Human Blood Serum*, Dalton Transactions **41**, 8615 (2012).
- J. Pilme, E. Renault, T. Ayed, G. Montavon, and N. Galland. *Introducing the ELF Topological Analysis in the Field of Quasirelativistic Quantum Calculations*, Journal of Chemical Theory and Computation **8**, 2985 (2012).
- C. Alliot et al. *Optimization of Sr-82 Purification Procedure Using Chelex-100 Resin*, Applied Radiation and Isotopes **74**, 56 (2013).
- T. Ayed, F. Real, G. Montavon, and N. Galland. *Rationalization of the Solvation Effects on the AtO⁺ Ground-State Change*, Journal of Physical Chemistry B **117**, 10589 (2013).
- T. Ayed, M. Seydou, F. Real, G. Montavon, and N. Galland. *How Does the Solvation Unveil AtO⁺ Reactivity?*, Journal of Physical Chemistry B **117**, 5206 (2013).
- J. Champion et al. *Investigation of Astatine(III) Hydrolyzed Species: Experiments and Relativistic Calculations*, Journal of Physical Chemistry A **117**, 1983 (2013).

C. S. Cutler, H. M. Hennkens, N. Sisay, S. Huclier-Markai, and S. S. Jurisson. *Radiometals for Combined Imaging and Therapy*, Chemical Reviews **113**, 858 (2013).

R. Kerdjoudj, C. Alliot, C. S. Cutler, S. Huclier-Markai, and J. Barbet. *Chemical and Biological Evidence of the Feasibility of Sc-44m/Sc-44 as a New in Vivo PET Generator*, Journal of Labelled Compounds & Radiopharmaceuticals **56**, S70 (2013).

R. Kerdjoudj et al. *Production, Extraction and Purification of Sc-44m/Sc-44 as a New in Vivo PET Generator*, Journal of Labelled Compounds & Radiopharmaceuticals **56**, S219 (2013).

Saad, Roxane; Ouadi, Ali; Devarasu, Thirunavukkarasu et al. Potent calcium phosphate nanoparticle surface coating for in vitro and in vivo siRNA delivery: a step toward multifunctional nanovectors; Journal of materials chemistry B; 1,36,4692-4700 (2013)

Ouadi, Ali; Habold, Caroline; Keller, Murielle; et al. Synthesis of new I-123-labeled free fatty acids analogues and first evaluation as potential tracers for SPECT imaging to elucidate fatty acid flux in mouse. RSC Advances. 3,41,19040-19050 (2013)

Marchand, Patrice; Bekaert, Virgile; Ouadi, Ali; et al. Forty Years of F-18-Labeled Compound Development in an Open Access Database J Nucl Med. 54,1,15(2013)

S. Huclier-Markai et al. *Promising Prospects of Sc-44m/Sc-44 as an inVivo Generator: Biological Evaluation and PET Images*, Nuclear Medicine and Biology **41**, 631 (2014).

S. Huclier-Markai et al. *Optimization of Reaction Conditions for the Radiolabeling of DOTA and DOTA-Peptide with (44m/44)Sc and Experimental Evidence of the Feasibility of an in Vivo PET Generator.*, Nuclear Medicine and Biology **41 Suppl**, e36 (2014).

J. Pilme, E. Renault, F. Bassal, M. Amaouch, G. Montavon, and N. Galland. *QTAIM Analysis in the Context of Quasirelativistic Quantum Calculations*, Journal of Chemical Theory and Computation **10**, 4830 (2014).

M. Pniok et al. *Thermodynamic and Kinetic Study of Scandium(III) Complexes of DTPA and DOTA: A Step Toward Scandium Radiopharmaceuticals*, Chemistry-a European Journal **20**, 7944 (2014).

T. Sounalet et al. *Strontium-82 and Future Germanium-68 Production at the ARRONAX Facility*, Nuclear Data Sheets **119**, 261 (2014).

Marchand P; Ouadi A. et al Cyrcé, un cyclotron pour la recherche et l'enseignement en Alsace ; Actualite Chimique, 386, 9-14 (2014)

Abada, Sabah; Lecointre, Alexandre; Christine, Caline; et al. *Phosphonated chelates for nuclear imaging* Organic and biomolecular chemistry; 12,47, 9601-9620 (2014)

C. Alliot, R. Kerdjoudj, N. Michel, F. Haddad, and S. Huclier-Markai. *Cyclotron Production of High Purity Sc-44m,Sc-44 with Deuterons from (CaCO3)-Ca-44 Targets*, Nuclear Medicine and Biology **42**, 524 (2015).

ALLIOT, C., KERDJOUJ, M., MICHEL, N., HADDAD, F., HUCLIER-MARKAI, S. Processing of a ^{44m/44}Sc generator for potential medical applications: production and chemistry aspects. *Nucl. Med. Biol.* 2015 42, 6, 544-529

F. Haddad et al. *Is There an Interest to Use Deuteron Beams to Produce Alternative Radionuclides?*, Frontiers in Medicine **2**, (2015).

C. Alliot, N. Audouin, J. Barbet, A-C. Bonraisin, V. Bossé, C. Bourdeau, M. Bourgeois, C. Duchemin, A. Guertin, F. Haddad, S. Huclier-Markai, R. Kerdjoudj, J. Laizé, V. Métivier, N. Michel, M. Mokili, M. Pageau, A. Vidal « Is there an interest to use deuteron beams to produce non-conventional radionuclides? » *Front. Med.* 2:31. Doi: 10.3389/fmed.2015.00031 (2015)

HUCLIER-MARKAI, S., ALLIOT, C., SEBTI, J., BRUNEL B, AUPIAIS, J. A comparative thermodynamic study of the formation of Scandium Complexes with DTPA and DOTA. *RSC Advances*. 2015, 5, 99606-99617

R. Maurice, F. Real, A. S. P. Gomes, V. Vallet, G. Montavon, and N. Galland. *Effective Bond Orders from Two-Step Spin-Orbit Coupling Approaches: The I-2, At-2, IO+, and AtO+ Case Studies*, Journal of Chemical Physics **142**, 094305 (2015).

D. Brasse, A. Nonat *Radiometals: towards a new success story in nuclear imaging?* Dalton Trans. **44**, 11, 4845-4858 (2015)

D.-C. Sergentu, A. Sabatié-Gogova, D. Tézé, J. Champion, F. Bassal, N. Guo, C. Alliot, R. Maurice, N. Galland, G. Montavon *Advances on the determination of the astatine Pourbaix diagram: AtO(OH)₂⁻ predominates over At⁻ in basic conditions*. Chem Eur J **22**; 2964 – 2971 (2016)

D.-C. Sergentu, G. David, G. Montavon, R. Maurice and N. Galland “*Scrutinizing “invisible” astatine: a challenge for modern density functionals*” J. Comput. Chem. (2016)

Detour J, Pierre A, Boisson F, Kreutter G, Lavaux T, Namer IJ, Kessler L, Brasse D, Marchand P, Imperiale A.J Carbido-pa Effect on 18F-FDOPA Uptake in Insulinoma: from Cell Culture to microPET Imaging. Nucl Med. Sep 8 sous presse (2016)

Marchand, Patrice; Ouadi, Ali; Pellicoli, Michel; et al. *Automated and efficient radiosynthesis of [F-18]FLT using a low amount of precursor*. Nuclear Medicine and Biology, **43**, 8, 520-527. (2016)

KERDJOUJ, R., PNIOK, M., ALLIOT, C., KUBICEK, V., HAVLICKOVA, J., ROSCH, F, HERMANN, P., HUCLIER-MARKAI, S. Monophosphonate/phosphinate DOTA analogues as ligands for trivalent scandium: thermodynamic study and radiolabelling with cyclotron-produced ^{44m}Sc/⁴⁴Sc and ⁴⁴Sc from ⁴⁴Ti/⁴⁴Sc generator. *Dalton Trans.* 2016, 45, 1398- 1409

Toxicologie nucléaire

Bresson C., Chartier F., Ansoborlo E., Ortega R. (2013) Analytical tools for speciation in the field of toxicology. *Radiochimica Acta*, **101**, 349-357.

Safi S, Creff G, Jeanson A, Qi L, Basset C, Roques J, Solari PL, Simoni E, Vidaud C, Den Auwer C. Osteopontin: a uranium phosphorylated binding-site characterization. *Chemistry*. 2013 Aug 19; **19**(34):11261-9

Bresson C., Darolles C., Carmona A., Gautier C., Sage N., Roudeau S., Ortega R., Ansoborlo E., Malard V. (2013) Cobalt chloride speciation, mechanisms of cytotoxicity on human pulmonary cells, and synergistic toxicity with zinc. *Metallomics*, **5**, 133-143.

Ortega R., Bresson C., Darolles C., Gautier C., Roudeau S., Perrin L., Janin M., Floriani M., Aloin V., Carmona A., Malard V. (2014) Low-solubility particles and a Trojan-horse type mechanism of toxicity: the case of cobalt oxide on human lung cells, *Particle & Fibre Toxicology*, **11**:14.

Brulfert F, Safi S, Jeanson A, Martinez-Baez E, Roques J, Berthomieu C, Solari PL, Sauge-Merle S, Simoni É. Structural Environment and Stability of the Complexes Formed Between Calmodulin and Actinyl Ions. *Inorg Chem.* 2016 Mar 21; **55**(6):2728-36.

Safi S, Jeanson A, Roques J, Solari PL, Charnay-Pouget F, Den Auwer C, Creff G, Aitken DJ, Simoni E. Thermodynamic and Structural Investigation of Synthetic Actinide-Peptide Scaffolds. *Inorg Chem.* 2016 Jan 19; **55**(2):877-86

Creff G, Safi S, Roques J, Michel H, Jeanson A, Solari PL, Basset C, Simoni E, Vidaud C, Den Auwer C. Actinide(IV) Deposits on Bone: Potential Role of the Osteopontin-Thorium Complex. *Inorg Chem.* 2016 Jan 4; **55**(1):29-36

Paredes E., Avazeri E., Malard V., Vidaud C., Reiller P., Ortega R., Nonell A., Isnard H. Chartier F., Bresson C. (2016) Evidence of isotopic fractionation of natural uranium in cultured human cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, (accepté avec révisions mineures).

