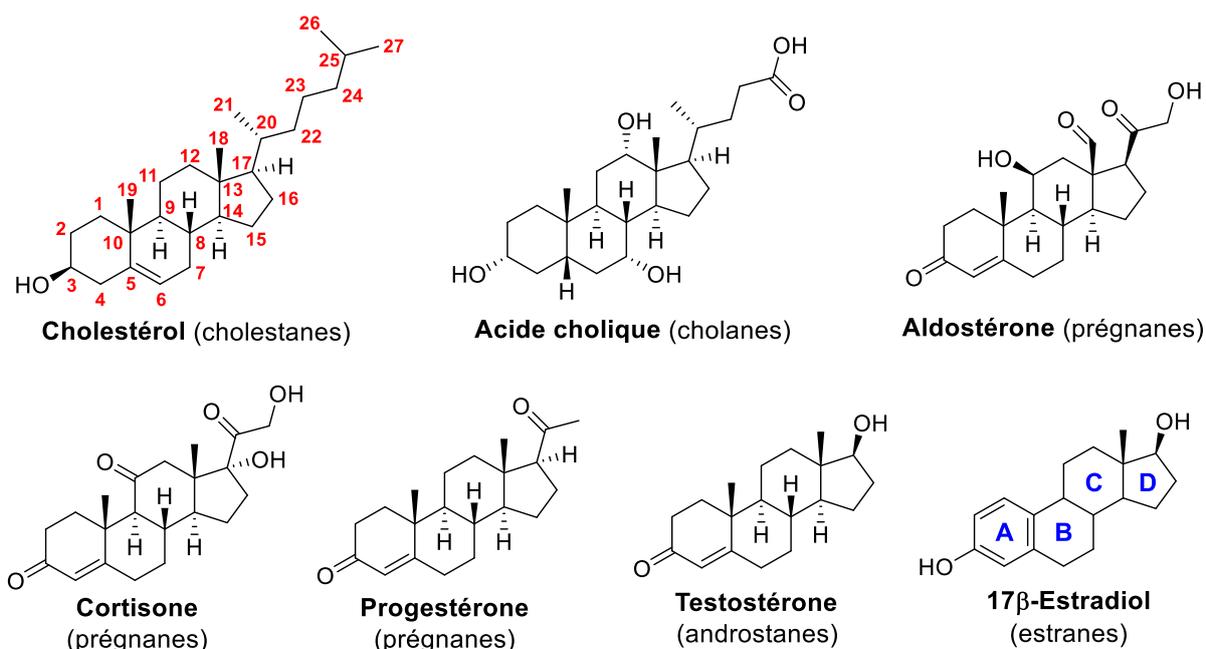


## 1.2. Les stéroïdes

### 1.2.1. Classification

Les stéroïdes constituent une classe unique de lipides, dérivés des C<sub>30</sub> triterpènes, qui sont essentiels pour de nombreux processus biologiques. Leur structure est caractérisée par la présence d'un noyau à 17 carbones composé de quatre cycles condensés : trois cycles à six atomes de carbone (cycles A, B et C) et un cycle à cinq carbones (cycle D) (**Figure 3**) [69-72]. Les hormones stéroïdiennes désignent les stéroïdes qui agissent comme des hormones, soient des molécules de signalisation produites par des glandes afin de réguler l'homéostasie de plusieurs systèmes biologiques [73, 74]. Chez l'humain, elles sont produites lors de la stéroïdogénèse à partir du cholestérol, un stéroïde à 27 carbones. Ce dernier provient majoritairement de l'alimentation mais peut aussi être produit de façon endogène par la voie du mévalonate à partir du lanostérol, lui-même étant issu de la cyclisation du squalène [69, 75]. On peut considérer deux fonctions biologiques principales des stéroïdes : certains, tels le cholestérol, sont des composés essentiels à la fluidité des membranes cellulaires, mais la majorité vont agir à titre d'hormones [71, 76].

Les hormones stéroïdiennes peuvent être classées selon leur fonction ou selon leur structure. D'un point de vue fonctionnel, on retrouve deux principales classes de stéroïdes : les corticostéroïdes, incluant les minéralocorticoïdes et les glucocorticoïdes, qui sont produits dans le cortex surrénal; et les hormones sexuelles, soit les estrogènes, les androgènes et les progestagènes, qui sont produits au niveau des gonades [73, 77]. Les minéralocorticoïdes (aldostérone) et les glucocorticoïdes (cortisone) sont impliqués dans une large variété de processus biologiques tels que la réponse immunitaire, la régulation inflammatoire, la réponse au stress, le métabolisme des glucides, le catabolisme des protéines, la diffusion des électrolytes et le comportement [77, 78]. Parmi les hormones sexuelles, on retrouve les progestagènes dont le principal représentant est la progestérone. Cette dernière est impliquée dans la régulation du cycle menstruel, l'embryogénèse et le maintien de la grossesse [79]. Les estrogènes, dont les trois principaux représentants sont l'estrone (E1), l'estradiol (E2) et l'estriol (E3), sont impliqués dans le développement et la régulation de l'appareil reproducteur féminin et les caractéristiques sexuelles secondaires. Les androgènes, représentés principalement par la testostérone (T), la dihydrotestostérone (DHT) et l'androstènedione, sont quant à eux impliqués dans le développement et le maintien des caractères mâles [71, 80, 81].



**Figure 3.** Structures chimiques des principaux représentants des différentes classes de stéroïdes. La numération des carbones est indiquée en rouge sur la première structure (cholestérol). L'identification des cycles A/B/C/D du noyau stéroïdien est représentée en bleu sur la dernière structure (17β-estradiol).

Les stéroïdes peuvent aussi être classés selon leur structure chimique, on va ainsi distinguer différentes classes selon leur nombre d'atomes de carbone. Les estranes (E1, E2, E3) vont ainsi posséder 18 carbones dans leur structure, avec un groupe méthyle (CH<sub>3</sub>-18) lié au carbone 13 du noyau C18-stéroïdien [69, 82]. De plus, le cycle A du noyau stéroïdien des estranes est aromatique, ce qui confère des propriétés structurales uniques à cette classe de stéroïdes. Les androstanes (T, DHT, androstènedione) présentent 19 carbones dans leur structure avec un méthyle supplémentaire à la jonction des cycles A et B (CH<sub>3</sub>-18 et CH<sub>3</sub>-19 liés à C13 et C10, respectivement) [69, 81]. Les prégnanes sont des C21-stéroïdes et regroupent les progestines telles que la progestérone ainsi que les corticostéroïdes caractérisés par la présence d'un groupement oxygéné en position 11 [69, 78, 79]. Les cholanes possèdent 24 carbones dans leur structure et une chaîne à cinq carbones en position 17; ces composés constituent le noyau de base des acides biliaires tels que l'acide cholique [83]. Enfin, on retrouve les cholestanes dont le principal représentant est le cholestérol; ces C27-stéroïdes sont caractérisés par la présence d'une chaîne à huit atomes de carbones en position 17 du noyau stéroïdien. Notons également que les cholanes et les cholestanes sont souvent désignés sous le nom de stérols alors que le terme stéroïde est préférentiellement utilisé pour les hormones stéroïdiennes [69, 84].

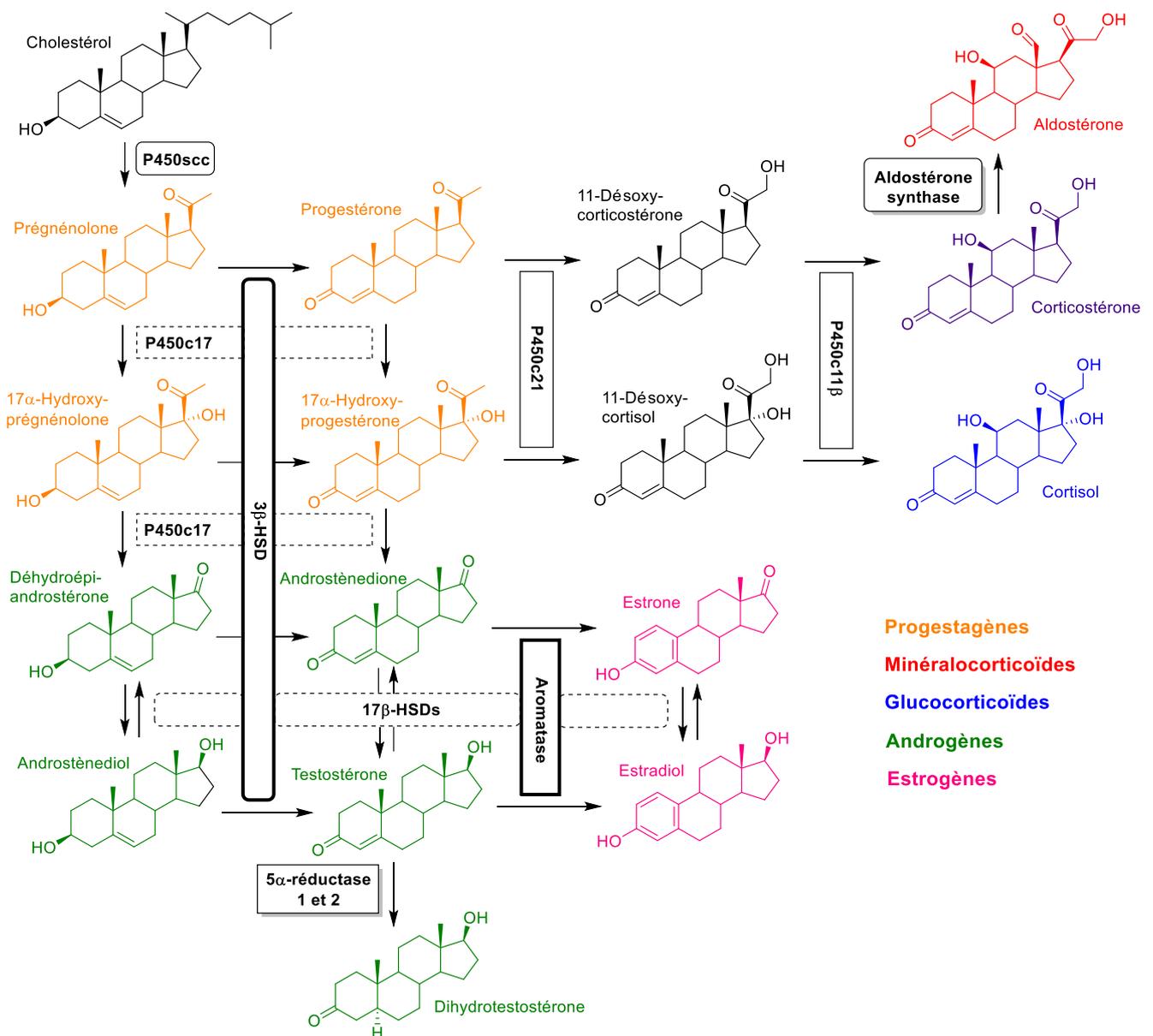
Par ailleurs, certains stéroïdes sont classés dans des catégories particulières, c'est le cas par exemple des neurostéroïdes (exemples : la déhydroépiandrostérone et l'alloprégnanone) qui sont synthétisés à partir du cholestérol dans le cerveau et qui vont intervenir dans de nombreuses voies de signalisation, notamment via les récepteurs de l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA) [85]. Les aminostéroïdes tels que le rocuronium, un agent bloquant neuromusculaire, sont caractérisés par la présence d'un groupement aminé associé à leur noyau stéroïdien. Ces composés constituent une classe émergente dans le milieu thérapeutique; nous reviendrons d'ailleurs sur ce sujet dans la section 1.3. [86, 87]. Finalement, l'appellation sécostéroïde est utilisée pour désigner les stéroïdes dont le noyau tétracyclique est ouvert, c'est le cas notamment des différentes formes de la vitamine D telles que le cholécalférol (vitamine D<sub>3</sub>) [88, 89].

### 1.2.2. Stéroïdogénèse

La stéroïdogénèse correspond au processus biologique complexe par lequel les hormones stéroïdiennes sont synthétisées à partir du cholestérol par le biais de transformations successives impliquant de nombreuses enzymes et plusieurs cofacteurs (**Figure 4**) [71, 74, 90, 91]. La biosynthèse des hormones stéroïdiennes est effectuée dans des organes sécrétoires spécifiques tels que les glandes surrénales, les testicules (cellules de Leydig), les ovaires ou encore le placenta; on parle alors de production endocrine. Cependant, la stéroïdogénèse peut aussi être réalisée au niveau intracellulaire dans les tissus périphériques disposant des enzymes nécessaires, on parle alors de production intracrine [90-96]. La première étape de la stéroïdogénèse est la conversion du cholestérol (C27-stéroïde) en prégnénolone (C21-stéroïde) via un clivage de la chaîne alkyle en position C17 par un complexe enzymatique unique, le cytochrome P450 11A1 (CYP11A1) ou P450<sub>scc</sub> ("side chain cleavage"). La transformation effectuée par la CYP11A1 constitue une étape limitante de cette cascade biologique. Les enzymes de la stéroïdogénèse peuvent être classées en deux principales catégories : les cytochromes P450 de types 1 (mitochondriaux) et 2 (situés dans le réticulum endoplasmique), et les hydroxystéroïdes déshydrogénases [90, 91, 97].

La prégnénolone est le précurseur de toutes les hormones stéroïdiennes, elle peut ainsi être convertie en progestérone par la  $3\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase/ $\Delta^5$ - $\Delta^4$  isomérase ( $3\beta$ -HSD) [97-99]. La progestérone peut ensuite être hydroxylée en position 21 par l'enzyme P450<sub>c21</sub> (activité 21-hydroxylase) pour donner la désoxycorticostérone qui pourra être

transformée en aldostérone (C21-stéroïde de la famille des minéralocorticoïdes) grâce à l'aldostérone synthase [97, 100-104]. Pour la synthèse des glucocorticoïdes, la prégnénolone est hydroxylée par la P450c17 (activités 17 $\alpha$ -hydroxylase et 17,20-lyase) en 17 $\alpha$ -hydroxyprégnénolone [105, 106]. Cette dernière est hydroxylée successivement en C21 et C11 par les enzymes P450c21 et P450c11 $\beta$  (11 $\beta$ -hydroxylase), respectivement, pour former le cortisol (C21-stéroïde) [107-109].



**Figure 4.** Représentation schématique de la stéroïdogénèse humaine. Les différentes classes de stéroïdes sont identifiées par un code couleur.

Pour la formation des androgènes (C19-stéroïdes), la 17 $\alpha$ -hydroxyprégnénolone est convertie en déhydroépiandrostérone (DHEA) par l'enzyme P450c17 (17,20-lyase). La DHEA peut être transformée en androstènedione par la 3 $\beta$ -HSD ou en androstènediol par la 17 $\beta$ -

hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 ( $17\beta$ -HSD1) [98-100, 105, 106, 110]. L'androstènediol permet d'obtenir la T via la  $3\beta$ -HSD mais cette dernière peut également être formée à partir de l'androstènedione par la  $17\beta$ -HSD3 [110-112]. Le plus puissant des androgènes chez l'humain, soit la DHT, est obtenu via la réduction de la liaison  $\Delta^{4,5}$  du cycle A de la testostérone par la  $5\alpha$ -réductase de types 1 et 2 [113, 114]. Finalement, les estrogènes (C18-stéroïdes), E1 et E2, sont formés respectivement via l'aromatase du cycle A de l'androstènedione et de la T par l'aromatase, une enzyme de la famille des cytochromes P450 [115]. De plus, E1 est réduit en E2 par la  $17\beta$ -HSD1 tandis qu'E2 est oxydé en E1 par la  $17\beta$ -HSD2 [111].

Il est important de souligner que les  $17\beta$ -HSDs, dont l'activité enzymatique principale est la réduction des C17-cétostéroïdes (stéroïdes avec un groupe cétone en C17) ainsi que la réaction inverse (oxydation), jouent un rôle primordial dans la régulation du niveau d'androgènes et d'estrogènes [97, 116]. Quinze isoformes de cette enzyme agissant à différentes étapes de la stéroïdogénèse sont actuellement connues. Les  $17\beta$ -HSDs constituent notamment une cible thérapeutique très intéressante pour le traitement des cancers hormono-dépendants [92, 93, 117-119]. C'est le cas, par exemple, des cancers du sein et de la prostate où le niveau d'androgènes et d'estrogènes est un facteur critique quant au développement du cancer. Il est néanmoins essentiel de développer des inhibiteurs ou activateurs très spécifiques de l'isoenzyme visée car une autre isoforme peut avoir une activité inverse.

### 1.2.3. Applications thérapeutiques

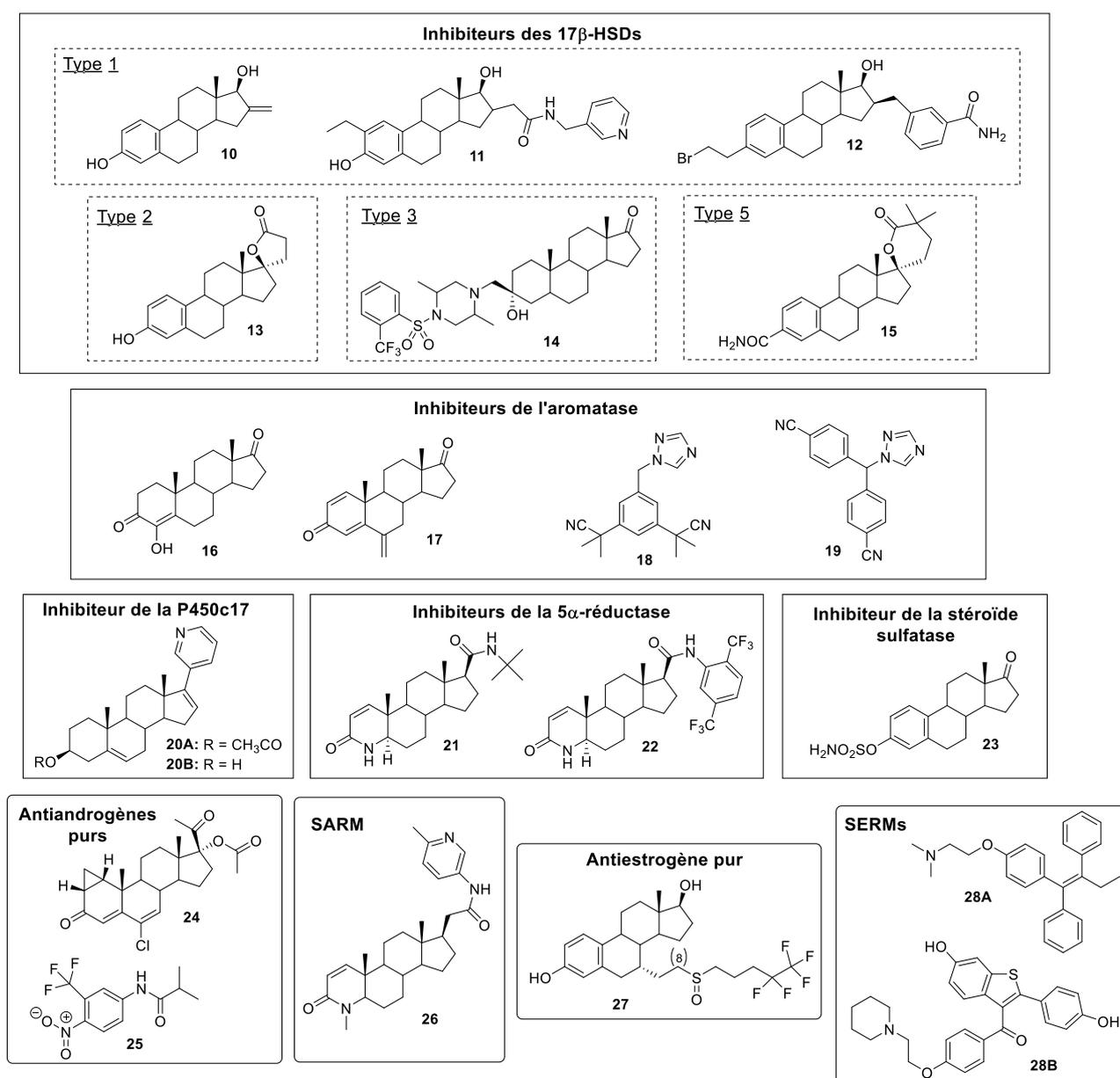
D'un point de vue global, les stéroïdes et leurs dérivés vont être utilisés dans un cadre thérapeutique pour le traitement des cancers hormono-dépendants et autres pathologies dans lesquelles les hormones stéroïdiennes vont jouer un rôle majeur dans le développement de la maladie. La stratégie thérapeutique va alors consister à inhiber la production d'une ou de plusieurs hormones stéroïdiennes qui favorisent la progression de la maladie ou, plus rarement, de favoriser la production d'un ou de plusieurs stéroïdes jouant un rôle protecteur [92, 93]. Considérant la cascade de réactions enzymatiques impliquées dans la biosynthèse des stéroïdes (**Figure 4**), il est primordial de cibler sélectivement une enzyme intervenant, si possible, dans les dernières étapes de la stéroïdogénèse. En effet, si une enzyme impliquée dans les premières étapes de la stéroïdogénèse (exemple : P450scc) est inhibée, la production de tous les stéroïdes va être stoppée, notamment la biosynthèse des minéralocorticoïdes et des

glucocorticoïdes qui sont essentiels au bon fonctionnement de nombreux processus biologiques [77, 78].

Parmi les principales applications médicales des stéroïdes et de leurs analogues, on retrouve la classe des inhibiteurs des 17 $\beta$ -HSDs qui présentent un intérêt thérapeutique majeur pour le traitement des cancers sensibles aux androgènes et aux estrogènes, car ces isoenzymes sont essentielles à leur biosynthèse [92, 93, 110, 116, 120]. Le développement d'inhibiteurs nécessite de bien connaître la structure et les fonctions de la 17 $\beta$ -HSD ciblée, cela afin d'obtenir une inhibition puissante et sélective, et de ne pas perturber la biosynthèse des autres hormones stéroïdiennes. Au sein de cette classe d'inhibiteurs stéroïdiens, l'inhibition de la 17 $\beta$ -HSD1 représente un intérêt particulier pour le traitement des cancers sensibles aux estrogènes car cette approche empêcherait la formation d'E2, le plus puissant des estrogènes, ainsi que la biosynthèse de l'androstènediol, un androgène possédant une activité estrogénique significative surtout après la ménopause [92, 110, 111, 121].

Les inhibiteurs de la 17 $\beta$ -HSD1 (composés **10**, **11** et **12**, **Figure 5**) sont divisés en deux catégories selon leur faculté à inactiver ou non l'enzyme, soit les inhibiteurs réversibles et irréversibles. Parmi les inhibiteurs irréversibles, on retrouve les marqueurs par affinité, les alkylants et les inhibiteurs "suicides" [92, 116, 122-124]. Un inhibiteur suicide est initialement inactif et devient actif suite à sa transformation par l'enzyme avec laquelle il va alors former un lien covalent inactivant ainsi l'enzyme. Les inhibiteurs irréversibles présentent dans leur structure un groupement accepteur de nucléophile pouvant former un lien covalent avec l'enzyme aboutissant ainsi à son inactivation. Ces inhibiteurs ont l'avantage d'avoir une action à longue durée car l'enzyme doit être régénérée, mais certains possèdent néanmoins une forte réactivité et sont donc moins sélectifs. D'un autre côté, les inhibiteurs réversibles ne forment pas de lien covalent avec l'enzyme et sont généralement des analogues du substrat qui vont entrer en compétition avec ce dernier au niveau du site actif de la 17 $\beta$ -HSD concernée. Il faut souligner que notre groupe a récemment développé un inhibiteur stéroïdien irréversible de la 17 $\beta$ -HSD1, le PBRM (composé **12**), très prometteur pour le traitement du cancer du sein et de l'endométriose [125]. Les inhibiteurs de la 17 $\beta$ -HSD2 sont moins nombreux du fait que cette enzyme a été caractérisée plus récemment que la 17 $\beta$ -HSD1. On retrouve parmi cette classe les spirolactones avec un noyau C18-stéroïdien (exemple : composé **13**) ou encore certains dérivés C19-stéroïdiens [124, 126]. Les travaux autour de la 17 $\beta$ -HSD3 sont encore plus récents, mais des dérivés de l'androstérone ont été identifiés comme des inhibiteurs de la

17 $\beta$ -HSD3 (composé **14**). Les premières études sur les inhibiteurs des 17 $\beta$ -HSDs ont été menées par le groupe de Covey dans les années 1980 puis de nombreuses études ont suivi avec notamment un pic d'inhibiteurs brevetés en 2005 et 2006. Actuellement, des études ont été menées sur toutes les isoformes de la 17 $\beta$ -HSD mais aucun inhibiteur des 17 $\beta$ -HSDs 4, 6, 7, et 8 n'a encore été breveté à ce jour [92, 124, 127-129]. Un défi essentiel dans le développement de ces inhibiteurs, qui peuvent être des dérivés stéroïdiens ou non stéroïdiens, est qu'ils ne présentent pas d'activité œstrogénique ou androgénique résiduelle par interaction avec les récepteurs aux œstrogènes (ER) et aux androgènes (AR).



**Figure 5.** Structures chimiques des principaux dérivés stéroïdiens et non stéroïdiens présentant un intérêt thérapeutique par leur interaction biologique avec les enzymes de la stéroïdogénèse ou les récepteurs aux androgènes et aux œstrogènes.

L'aromatase catalyse la transformation des C19-stéroïdes, soit l'androstènedione, la T et la 16-hydroxy-androstènedione en C18-stéroïdes, soit E1, E2 et la 16-hydroxy-E1, respectivement. L'inhibition de cette enzyme représente donc une stratégie thérapeutique très intéressante pour le traitement des cancers sensibles aux estrogènes [130-132]. Les études autour de l'inhibition de cette enzyme ont commencé il y a une quarantaine d'années et ont abouti au développement de plusieurs agents thérapeutiques aujourd'hui disponibles sur le marché. Les inhibiteurs de l'aromatase sont divisés en deux catégories principales, irréversibles et réversibles. Les inhibiteurs irréversibles regroupent deux sous-catégories : les alkylants (marqueurs par affinité) qui sont des dérivés du substrat androstènedione, et les suicides ("mechanism-based inhibitor"). Le formestane (composé **16**), sur le marché depuis 1993 sous l'appellation Lentaron, ou encore l'exémestane (**17**), vendu sous le nom d'Aromasine depuis 1999, font partie des inhibiteurs suicides de l'aromatase, et sont utilisés pour le traitement des cancers du sein sensibles aux estrogènes [133, 134]. Les inhibiteurs réversibles peuvent être stéroïdiens ou non-stéroïdiens, on retrouve notamment parmi ces derniers les inhibiteurs de l'aromatase de troisième génération tels que l'anastrozole (**18**) et le létrozole (**19**) [135, 136].

L'inhibition de la P450c17, qui catalyse la transformation de la prégnénolone en DHEA, constitue aussi une approche thérapeutique attrayante afin de bloquer la production des androgènes pour le traitement des cancers androgéno-sensibles tels que le cancer de la prostate [137, 138]. La problématique liée à l'inhibition de la P450c17 est qu'il faut inhiber l'activité 17,20-lyase de l'enzyme sans bloquer son activité 17 $\alpha$ -hydroxylase essentielle à la formation des glucocorticoïdes. Le kétoconazole, un composé non stéroïdien de la classe des imidazoles, est le premier inhibiteur de la P450c17 qui a été identifié mais il est peu sélectif [139]. Un représentant majeur de cette classe d'inhibiteurs est l'acétate d'abiratérone (composé **20A**) [prodrogue transformée en abiratérone (**20B**)], sur le marché depuis 2009 sous l'appellation Zytiga. L'acétate d'abiratérone a montré, en association avec un glucocorticoïde, une amélioration significative de la survie de patients atteints d'un cancer de la prostate résistant à la castration [140].

Les inhibiteurs de la 5 $\alpha$ -réductase, l'enzyme qui catalyse la transformation de la T en DHT, soit le plus puissant des androgènes, sont également des molécules attrayantes pour traiter plusieurs pathologies sensibles aux androgènes [137, 141, 142]. Cette classe est subdivisée selon l'isoenzyme ciblée. En effet, les inhibiteurs de la 5 $\alpha$ -réductase de type II, qui est localisée dans la prostate et les organes génitaux externes masculins, vont être utilisés pour le

traitement du cancer de la prostate et de l'hyperplasie bénigne de la prostate. D'autre part, l'inhibition de la 5 $\alpha$ -réductase de type I, localisée au niveau de la peau périphérique et des follicules pileux, va être intéressante pour le traitement de l'alopecie, l'hirsutisme et l'acné. Le finastéride (**21**), un dérivé 4-aza-stéroïdien non sélectif inhibant les 5 $\alpha$ -réductases I et II, ainsi que le dutastéride (**22**), qui inhibe uniquement la 5 $\alpha$ -réductase de type I, sont deux représentants majeurs de cette classe d'inhibiteurs utilisés notamment pour le traitement de l'hyperplasie bénigne de la prostate et du cancer de la prostate [143, 144].

Il faut noter par ailleurs que les stéroïdes sont transportés dans le sang sous forme sulfatée et qu'ils nécessitent l'action de la stéroïde sulfatase pour provoquer leurs effets biologiques. En effet, les récepteurs hormonaux ne reconnaîtront pas ces hormones sulfatées. L'inhibition de la stéroïde sulfatase s'avère donc intéressante afin de réguler entre autres l'activité biologique des androgènes et des estrogènes par inhibition de l'hydrolyse du groupement sulfate de la DHEA-sulfate et de l'E1-sulfate très présentes dans la circulation sanguine. Les inhibiteurs de la stéroïde sulfatase identifiés à ce jour sont divisés en quatre catégories selon qu'ils soient sulfamoylés, ou non, et qu'ils possèdent un noyau stéroïdien, ou non. Dans cette classe d'inhibiteurs, on retrouve par exemple l'EMATE (E1-3-*O*-sulfamate) (**23**) [145-147].

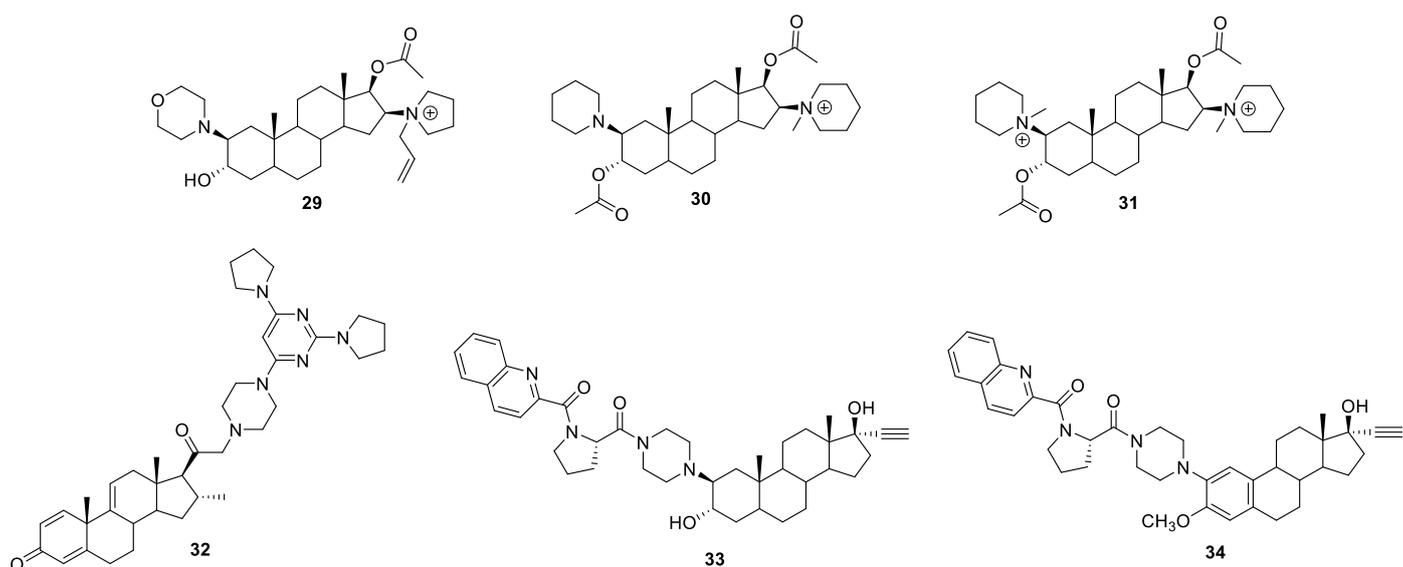
Une autre stratégie thérapeutique est d'utiliser des molécules (antagonistes) qui vont entrer en compétition avec les récepteurs aux androgènes et aux estrogènes afin de réguler leur activité biologique, on parle alors d'antiandrogènes et d'antiestrogènes. Les antiandrogènes vont entrer en compétition avec la T et la DHT au niveau du site actif du récepteur [148-150]. Ils sont utilisés chez l'homme pour traiter le cancer de la prostate et chez la femme pour traiter des symptômes d'hyperandrogénie. Les antiandrogènes doivent être purs, c'est-à-dire qu'ils ne doivent ni présenter d'activité androgénique, ni se lier à d'autres récepteurs tels que les récepteurs aux glucocorticoïdes. Comme pour la plupart des classes d'inhibiteurs cités précédemment, les antiandrogènes peuvent être stéroïdiens ou non. Parmi les antiandrogènes avec un noyau stéroïdien, on retrouve des dérivés de la progestérone avec notamment l'acétate de cyprotérone (Androcur) (**24**) qui a été utilisé dans le traitement du cancer de la prostate [151, 152]. Les antiandrogènes incluent aussi des dérivés de la T tels que le metogest utilisé pour traiter l'acné. Les dérivés non stéroïdiens regroupent plusieurs dérivés de la famille du flutamide (Eulexin) (**25**) qui représente le premier antiandrogène pur [153]. Les SARMS ("selective androgen receptor modulators") (exemple : composé **26**) constituent une classe à part qui peuvent stimuler ou bloquer la production de la T selon les tissus ciblés [154, 155].

De plus, ils peuvent intervenir au niveau du système nerveux central sur la production des lipides; les SARMs sont donc utilisés pour le traitement de nombreuses pathologies liées aux hormones stéroïdiennes. De la même manière, les antiestrogènes sont employés pour réguler l'activité biologique des estrogènes, E1 et E2, en entrant en compétition avec ces derniers au niveau du site actif du récepteur [156, 157]. Les antiestrogènes incluent plusieurs dérivés de E2 avec entre autres le fulvestrant (Falsodex) (**27**) employé pour traiter le cancer du sein métastatique [158]. Au même titre que les SARMs, les SERMs ("selective estrogen receptor modulators") peuvent agir en tant qu'agonistes ou antagonistes des récepteurs aux estrogènes selon les différents tissus. Les SERMs regroupent plusieurs médicaments sur le marché tels que le tamoxifène (**28A**), utilisé pour le traitement du cancer du sein. Ce composé agit en tant qu'agoniste au niveau de l'os et de l'utérus et comme antagoniste au niveau du sein [159, 160]. Le raloxifène (**28B**) est également un SERM agissant comme agoniste au niveau de l'os et comme antagoniste au niveau du sein et de l'utérus; il est utilisé pour traiter l'ostéoporose et le cancer du sein.

### 1.3. Les aminostéroïdes

#### 1.3.1. Une famille en émergence

Les aminostéroïdes forment une petite famille de composés présentant dans leur structure un noyau stéroïdien amino-substitué. Peu d'études ont été menées sur ces composés mais certains sont utilisés en clinique comme myorelaxant en anesthésie générale, c'est le cas notamment du rocuronium (**29**), du vécuronium (**30**) et du pancuronium (**31**) (**Figure 6**) [161, 162]. Ces derniers sont des curares non-dépolarisants, c'est-à-dire qu'ils ne vont pas dépolariser le muscle suite à leur fixation au récepteur nicotinique de l'acétylcholine évitant ainsi l'apparition de spasmes musculaires provoqués par les curares dépolarisants comme la succinylcholine. Certaines études ont également été menées sur des dérivés C21-stéroïdiens amino-substitués en position 21, aussi connus sous le nom de lazaroïdes parmi lesquels on retrouve le tirilazad (**32**), entre autres [163, 164]. Ces composés ont montré une activité neuroprotectrice en empêchant la peroxydation des lipides par leur faculté à piéger les radicaux libres et à stabiliser la membrane cellulaire. Certains C20-aminostéroïdes ont par ailleurs montré une activité cytotoxique sur des cellules cancéreuses de la prostate en agissant en tant qu'antagonistes des récepteurs aux androgènes [165].



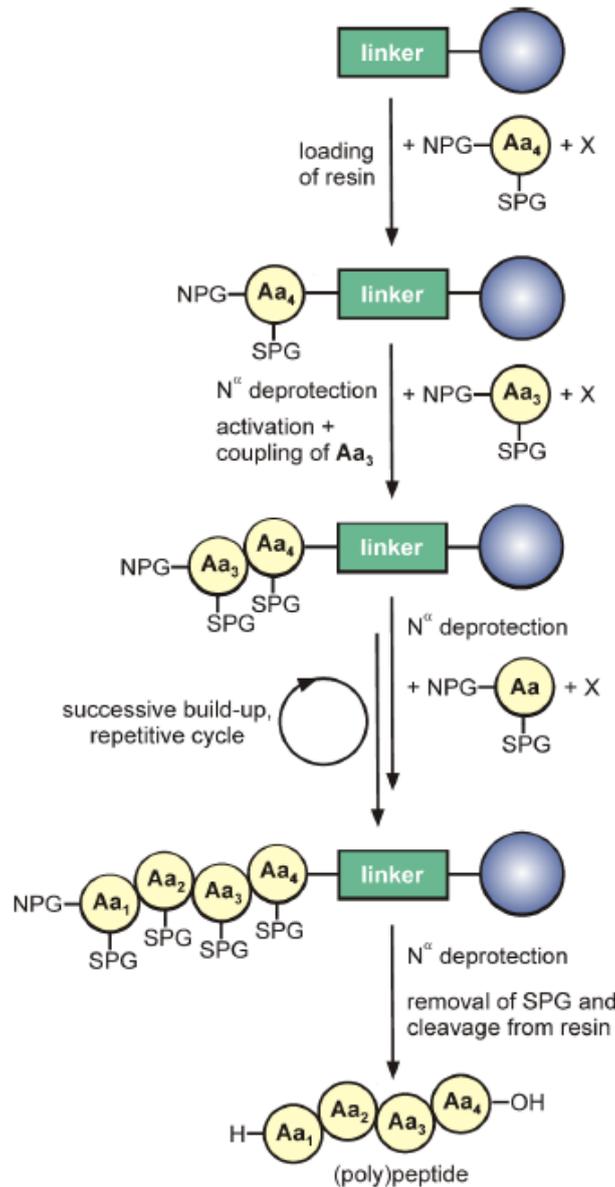
**Figure 6.** Structures chimiques de quelques représentants caractéristiques de la famille des aminostéroïdes avec un noyau C18- (composé **34**), C19- (**29**, **30**, **31** et **33**) et C21-stéroïdien (**32**).

Récemment, notre groupe de recherche a travaillé sur le développement de dérivés C19-stéroïdiens amino-substitués en positions 2, 3 et 16 afin d'évaluer leur activité anticancéreuse sur différentes lignées cellulaires [166-168]. Ces études ont menées à l'identification d'un candidat prometteur, le RM-133 (**33**), un dérivé androstane amino-substitué en C2 ayant montré une activité cytotoxique *in vitro* similaire à celle de la doxorubicine (**7**) sur une large variété de lignées cellulaires cancéreuses représentatives de différents cancers : sein, prostate, pancréas, reins, ovaires et leucémie [169-171]. Le potentiel anticancéreux de ce composé a également été confirmé *in vivo* sur trois modèles de xénogreffes. Afin d'optimiser la stabilité métabolique du RM-133, le noyau C19-stéroïdien a été remplacé par un noyau C18-stéroïdien, et le 3-OH a été protégé sous la forme d'un groupe méthoxy. Ceci a mené au développement du RM-581 (**34**), un composé deux fois plus stable métaboliquement, plus sélectif et aussi actif que le RM-133 [172]. Le mécanisme d'action biologique du RM-133 a récemment été identifié par notre groupe, ce composé présente une activité cytotoxique en agissant en tant qu'aggravateur du stress du réticulum endoplasmique par perturbation de l'homéostasie du cholestérol [173].

### 1.3.2. La synthèse sur support solide d'aminostéroïdes

La synthèse sur support solide a été introduite par Merrifield en 1963 amenant ainsi le concept de chimie combinatoire, ses travaux lui ont d'ailleurs valu le prix Nobel de chimie en 1984.

Cette méthode de synthèse est principalement utilisée pour la production de peptides, on parle notamment de synthèse de peptides en phase solide (SPPS) [174-176]. Le principe de cette méthode est de former une ou plusieurs liaisons covalentes entre une molécule et une matrice solide, soit une résine polymérique. Suite à la mise en place d'une stratégie de synthèse, on peut ainsi introduire plusieurs groupements sur la molécule greffée sur le support solide par le biais de réactions successives alternant avec des étapes de lavage de la matrice. Il est important que la résine ne réagisse pas dans les conditions réactionnelles utilisées au cours de la synthèse totale et elle doit également être insoluble dans les solvants employés. Dans le cadre de la synthèse peptidique, on fait réagir un premier acide aminé protégé en position N-terminale avec la résine au niveau de sa fonction acide carboxylique (**Figure 7**). Après le clivage du groupe protecteur de la fonction amine de ce premier acide aminé, on fait réagir la fonction acide carboxylique d'un second acide aminé protégé en position N-terminale avec la fonction amine du premier acide aminé greffé sur la résine via une réaction de couplage peptidique. On peut ainsi répéter ces étapes de couplage/déprotection un nombre  $n$  de fois avec différents acides aminés jusqu'à l'obtention du peptide d'intérêt. Le clivage du peptide de la résine s'effectue dans des conditions compatibles avec le type d'ancrage ("linker") utilisé, ce dernier doit donc être choisi avec précaution afin d'éviter que les conditions de clivage à la fin de la synthèse sur support solide affectent le produit désiré.



**Figure 7.** Exemple d'assemblage d'un tétrapeptide par SPPS. Le groupe C-terminal de l'acide aminé est premièrement couplé à l'ancrage de la résine. La chaîne peptidique est ensuite allongée par répétition du cycle : 1) déprotection du NPG, 2) activation du groupe carboxy et 3) couplage. Les groupes protecteurs sont finalement clivés en fin de synthèse pour obtenir le peptide désiré. NPG : "N-protecting group" (groupe N-protecteur), X : agent de couplage, SPG : "side-chain protecting group" (groupe protecteur de la chaîne latérale), Aa : "amino acid" (acide aminé). Figure tirée et adaptée de « Automated solid-phase peptide synthesis to obtain therapeutic peptides » (Synthèse peptidique en phase solide automatisée pour obtenir des peptides thérapeutiques) de Mäde *et al.* [176].

Les résines polymériques principalement utilisées sont des résines de polystyrène, de polyéthylène glycol ou encore des résines composées d'un mélange de ces deux polymères

[177]. Ces résines sont appréciées en synthèse sur support solide pour leur faculté à se gonfler dans plusieurs solvants améliorant ainsi les rendements des réactions. Les groupements protecteurs doivent être choisis minutieusement afin de pouvoir effectuer des déprotections sélectives lors de la séquence réactionnelle sans toucher aux groupements protégeant les autres fonctions réactives de la molécule greffée sur la résine. Les deux principaux groupes protecteurs utilisés en synthèse peptidique sont le *tert*-butoxycarbonyle (Boc), qui peut être hydrolysé avec de l'acide trifluoroacétique (TFA), et le fluorénylméthoxycarbonyle (Fmoc), qu'on peut hydrolyser avec de la pipéridine [178]. Plusieurs ancres impliquant des conditions de relargage du peptide différentes ont été développés afin d'élargir les possibilités de synthèse sur support solide. Parmi les ancres les plus utilisés en synthèse peptidique, on retrouve notamment les ancres Merrifield, Rink et HMBA (hydroxymethylbenzoic acid) qui sont clivés respectivement avec de l'acide fluorhydrique, du TFA et avec différents nucléophiles [179]. Finalement, la réaction de couplage peptidique, soit la formation d'une liaison amide entre un acide carboxylique et une amine, nécessite l'utilisation d'agents de couplage qui vont réagir avec l'acide carboxylique et ainsi activer ce dernier pour faciliter la réaction de couplage avec l'amine. On distingue quatre principales classes d'agents de couplage : les sels d'uronium (HATU, HBTU, HCTU), les sels de phosphonium (PyAOP, PyBOP), les carbodiimides (DIC, DCC) et les additifs (HOAt, HOBT, 6-Cl HOBT) [180].

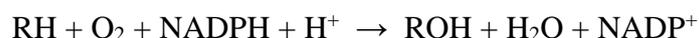
La synthèse sur support solide présente de nombreux avantages car elle permet de développer en parallèle un grand nombre de composés en un temps record. De plus, la synthèse sur support solide s'effectue au moyen d'un synthétiseur automatisé couplé à un logiciel sur lequel on programme la séquence réactionnelle [176]. Ainsi, lorsque cette dernière est mise en place et que les différents réactifs ont été introduits dans les récipients appropriés, on peut alors démarrer la séquence et effectuer d'autres manipulations en parallèle pendant que l'appareil réalise automatiquement la séquence de réactions. De plus, cette méthode permet d'éviter les étapes de lavage par extraction liquide-liquide et la chromatographie sur colonne, incontournables dans la synthèse classique en solution. Néanmoins, cette méthode reste limitée à certains types de réactions répétées plusieurs fois et ne peut être utilisée pour des synthèses totales complexes. De plus, l'utilisation de la synthèse sur support solide implique de programmer judicieusement sa séquence de réactions en tenant compte des différents paramètres énoncés précédemment, et ce, à partir de l'introduction du composé sur support solide jusqu'au relargage du produit final.

Notre groupe de recherche a récemment développé un ancrage diéthylsilylacétylénique via la formation d'une liaison entre un groupe éthyne en position C17 du noyau stéroïdien avec le groupe diéthylsilyle d'une résine de polystyrène, appelée résine PS-DES (Polystyrene diethylsilane). Cet ancrage a été utilisé pour développer rapidement en parallèle plusieurs dérivés aminostéroïdiens avec un noyau C19-stéroïde, soit des analogues du RM-133 (**33**) [181, 182]. Le relargage des produits en fin de séquence s'effectue avec de l'acide chlorhydrique faiblement concentré. La même approche méthodologique a été employée dans le cadre de mon projet de recherche afin de développer plusieurs dérivés du RM-581 (**34**) en vue de tester leur activité anticancéreuse sur différentes lignées cellulaires et éventuellement identifier des relations structure-activité. Cette nouvelle famille d'aminostéroïdes avec un noyau C18-stéroïdien présente, en effet, un potentiel très prometteur pour le traitement de plusieurs cancers, notamment le cancer du pancréas dont le taux de survie est particulièrement faible.

## 1.4. Les Cytochromes P450 (CYPs)

### 1.4.1. Généralités

Les cytochromes P450 (CYPs), découverts il y a 60 ans, constituent une superfamille d'hémoprotéines qui vont contenir un hème dans leur structure, soit un ion ferreux au centre d'un noyau porphyrine, qui va jouer un rôle de cofacteur. Les CYPs jouent un rôle biologique essentiel de par la variété de réactions de réduction et d'oxydation qu'ils catalysent sur de nombreux substrats, endogènes et xénobiotiques [183, 184]. Le terme P450 provient de la longueur d'onde d'absorption maximale de ces enzymes, soit 450 nm, lorsqu'elles sont à l'état réduit et complexées avec du monoxyde de carbone. Plus de 21 000 séquences de cytochromes P450 ont été nommées au sein d'espèces très distinctes, on les retrouve en effet chez les animaux, les plantes, les bactéries, les champignons, les protistes, les archées et également chez les virus [185]. Ces enzymes sont majoritairement des monooxygénases et vont catalyser la réaction suivante :



Les CYPs sont impliqués dans diverses réactions telles que l'hydroxylation du carbone, l'oxydation d'hétéroatomes, la désalkylation, l'époxydation, la déshalogénation, la désulfuration, la désamination, l'hydroxylation aromatique, la réduction ou encore la

peroxydation [186]. Les substrats de ces enzymes sont également très variés, les CYPs interviennent en effet dans la biosynthèse des stéroïdes, des acides gras et des acides biliaires, des éicosanoïdes ou encore de certaines vitamines. Ils vont également intervenir dans la biotransformation et le métabolisme de nombreux composés exogènes, notamment des composés carcinogènes, des médicaments, des solvants organiques, l'éthanol, des anesthésiques, des hydrocarbures aromatiques et des pesticides [187]. La diversité des substrats et des réactions catalysées par les CYPs fait de ce système enzymatique le plus important dans le métabolisme des composés d'origine exogène parmi les enzymes de la phase I. Au vu de la versatilité des CYPs, la perturbation de la fonction de ces enzymes peut provoquer le développement de nombreuses pathologies associées à des déficiences en molécules biologiques essentielles comme le cholestérol, les acides gras et biliaires ou encore certaines vitamines [188]. Le développement des cancers est également associé au dysfonctionnement des CYPs qui ne peuvent plus transformer les composés carcinogènes d'origine externe [189]. On retrouve trois groupes principaux de CYPs selon l'origine du transfert d'électrons : les cytochromes microsomaux, les cytochromes mitochondriaux et les cytochromes bactériens [190]. Les cytochromes microsomaux sont liés à la membrane et les électrons vont provenir d'une NADPH-cytochrome P450 réductase microsomale. Les électrons des cytochromes mitochondriaux vont provenir du NADPH formé via la réaction catalysée par l'adrénotoxine réductase. Les électrons des CYPs bactériens vont quant à eux provenir de la réaction de la ferrédoxine réductase et de la ferrédoxine. Les CYPs sont par ailleurs regroupés au sein de différentes familles, les membres d'une même famille vont ainsi présenter plus de 40 % d'homologie de séquence [184].

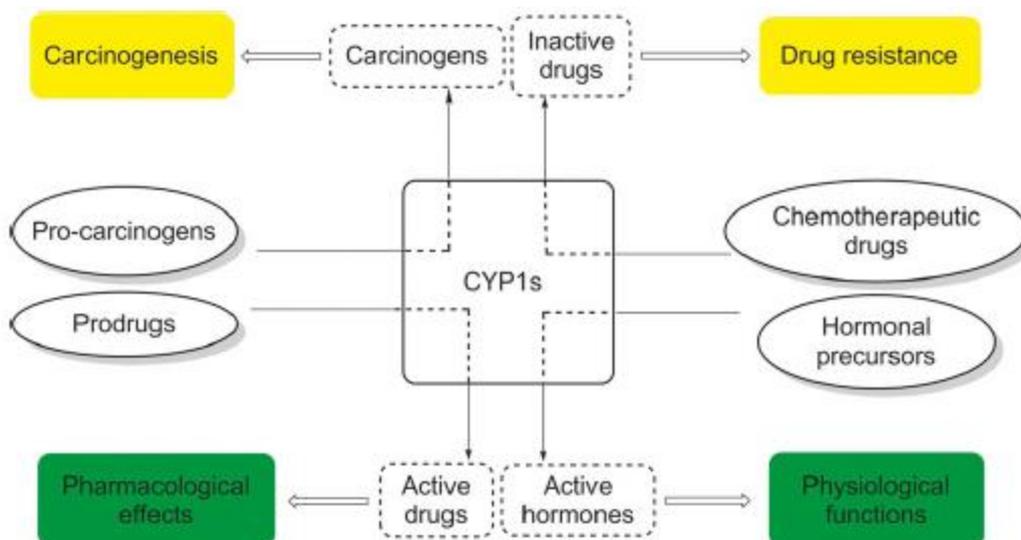
Chez l'homme, on retrouve 18 familles de CYPs qui sont principalement des enzymes membranaires localisées dans la membrane interne du réticulum endoplasmique ou des mitochondries [184, 185]. Certains CYPs vont métaboliser de nombreux substrats tandis que d'autres, comme la CYP19 (aromatase), sont beaucoup plus spécifiques et ne possèdent qu'un ou quelques substrats. Ces enzymes sont ubiquitaires mais certaines vont être associées à certains tissus suivant leur fonction biologique. En effet, certaines fonctions biologiques vont être associées à une ou plusieurs familles, les CYPs 11, 17 et 19, par exemple, vont intervenir dans la stéroïdogénèse (**Figure 4**). Par ailleurs, les CYPs 39, 46 et 51 interviennent dans le métabolisme du cholestérol; la CYP24A1 permet la dégradation de la vitamine D alors que les CYP4s sont essentielles au métabolisme des acides gras et de l'acide arachidonique [184-187]. Les CYPs 1, 2 et 3 représentent quant à eux les principaux acteurs du métabolisme des

médicaments et des autres composés xénobiotiques [191]. Les CYP2s constituent la plus large famille de CYPs chez les mammifères avec un total de 13 sous-familles. La sous-famille des CYP2Cs est d'une importance cruciale d'un point de vue pharmacologique car les CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18 et CYP2C19 regroupées ensemble sont impliquées dans le métabolisme de plus de la moitié des médicaments fréquemment prescrits, notamment la warfarine et le paclitaxel (5) [192]. Cette sous-famille est également essentielle au métabolisme de composés endogènes tels que l'acide arachidonique et certains stéroïdes. La plus importante famille pharmacologique de CYPs est la famille des CYP3s, constituée d'une seule sous-famille : les CYP3As, dont le principal membre est le CYP3A4 [191, 193]. Les CYP3As sont présents en grande quantité au niveau de la muqueuse du tractus gastro-intestinal et interviennent dans la biotransformation d'une large variété de médicaments mais sont aussi importants pour le métabolisme de composés endogènes, notamment certains stéroïdes. Le CYP3A4 est le cytochrome possédant le plus grand nombre de substrats, principalement xénobiotiques, et va métaboliser plus d'un tiers des médicaments couramment utilisés, comme le paracétamol, la codéine et la warfarine [193]. Les pharmaciens recommandent souvent lors d'une prescription de médicaments de ne pas boire de jus de pamplemousse car ce dernier est un puissant inhibiteur de la CYP3A4, aboutissant ainsi à une augmentation non désirée de la biodisponibilité de certains médicaments.

#### 1.4.2. Les CYP1s

La famille des cytochromes P450 1 (CYP1s) regroupent trois membres : la CYP1A1, la CYP1A2 et la CYP1B1. Ces enzymes sont principalement impliquées dans la métabolisation de certains médicaments, de stéroïdes et de plusieurs composés aromatiques polycycliques (**Figure 8**) [193-195]. L'expression des CYP1s est induite par les récepteurs aux hydrocarbures aromatiques (AhRs), des récepteurs cytosoliques activés par des hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAHs pour "polycyclic aromatic compounds") présents notamment dans la fumée de cigarette et les aliments grillés. Il faut noter à ce propos que l'expression des CYP1s peut ainsi être induite expérimentalement avec la 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-*p*-dioxine (TCDD) via les AhRs. La CYP1A1 est exprimée dans le foie mais on la retrouve principalement dans plusieurs tissus extra-hépatiques tels que le pancréas, le petit intestin, le thymus ou encore l'utérus [196-198]. La CYP1A2, quant à elle, est uniquement exprimée dans le foie alors que la CYP1B1 est majoritairement retrouvée dans

certaines tissus extra-hépatiques comme l'utérus, le sein et la prostate. L'expression des CYP1s peut cependant varier selon les individus, par exemple, la CYP1B1 est parfois observée dans des proportions variables au sein d'autres tissus tels que les reins, le foie, l'œil le cerveau et l'intestin. La CYP1A1 et la CYP1A2 font partie de la sous-famille des CYP1As car elles partagent 72 % d'homologie de séquence alors qu'elles présentent respectivement 41 % et 40 % d'homologie de séquence avec la CYP1B1 [197]. Par ailleurs, les gènes codant pour la CYP1A1 et la CYP1A2 sont localisés sur le chromosome 15 alors que le gène de la CYP1B1 est situé sur le chromosome 2 [193, 194]. Les CYP1s vont majoritairement intervenir dans des réactions d'hydroxylation et d'oxydation de composés aromatiques. La CYP1A1 et la CYP1B1 catalysent préférentiellement la transformation des PAHs alors que les arylamines et les N-hétérocycles sont des substrats préférentiels de la CYP1A2. Une autre différence majeure entre ces trois enzymes se situe au niveau du métabolisme d'E2, en effet, la CYP1A1 et la CYP1A2 vont préférentiellement former le 2-hydroxy-E2 à partir d'E2 tandis que la CYP1B1 va former le 4-hydroxy-E2, un composé mutagène qui va provoquer la création de sites apuriniques au niveau de l'ADN [199]. Le 2-hydroxy-E2 jouerait quant à lui un rôle protecteur vis-à-vis de la carcinogénèse. D'autres études ont montré que l'expression de ces enzymes n'est pas seulement induite par l'activation des AhRs, en effet, l'expression de la CYP1A1 et de la CYP1A2 est également modulée par le récepteur constitutif des androstanes [200]. Il faut également souligner que les structures cristallines de ces trois CYP1s ont été rapportées et peuvent être consultées dans la "Protein Data Bank" (**Figure 9**) [201-203].



**Figure 8.** Résumé des différentes fonctions biologiques des CYP1s. Figure tirée et adaptée de « Flavonoids and naphthoflavonoids : wider roles in the modulation of cytochrome P450

family 1 enzymes » (Les flavonoïdes et les naphthoflavonoïdes : des rôles divers dans la modulation des enzymes de la famille 1 des cytochromes P450) de Dong *et al.* [206].

Au même titre que la CYP1B1, la CYP1A1 a été largement étudiée car elle joue un rôle crucial dans l'activation de composés procarcinogènes tels que les PAHs et les hydrocarbures aromatiques polyhalogénés (PHAHs), ainsi que dans le métabolisme de plusieurs médicaments [193-195]. Néanmoins, cette enzyme est aussi essentielle pour la détoxification de certains composés exogènes et elle est également impliquée dans le métabolisme des leucotriènes et des éicosanoïdes qui sont les principaux modulateurs de l'inflammation [204]. Le rôle de la CYP1A1 est particulièrement controversé car cette enzyme permet aussi d'activer des composés issus de l'alimentation, notamment les flavonoïdes, en molécules présentant une activité antioxydante et anticancéreuse [205, 206]. Parmi les PAHs métabolisés en composés carcinogènes par la CYP1A1, on retrouve entre autres le benzo[ $\alpha$ ]pyrène (BaP) et le 7,12-diméthylbenzylanthracène (DMBA) [200]. Par une réaction de *N*-hydroxylation, la CYP1A1 active également la 2-amino-1-méthyl-6-phénylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP), présente dans la viande et le poisson cuits, en un composé mutagène pouvant lier l'ADN de façon covalente. La CYP1A1 est aussi impliquée dans l'activation de composés procarcinogènes de type *N*-nitrosamines retrouvés notamment dans la fumée de tabac. La CYP1A1 intervient par ailleurs dans le métabolisme de la caféine et de plusieurs médicaments parmi lesquels on retrouve la warfarine et l'imatinib (**9**). Elle est aussi impliquée dans la biotransformation de plusieurs composés endogènes dont les stéroïdes (exemples : E1 et E2), les acides gras, l'acide arachidonique et l'acide rétinoïque qui va moduler les fonctions de la vitamine A [200].

Parmi les réactions typiquement catalysées par la CYP1A2, on retrouve notamment la *O*-dééthylation de la 7-éthoxyrésorufine et de la phénacétine, et la *N*3-déméthylation de la caféine [193, 194]. A l'instar de la CYP1A1 et de la CYP1B1, elle est impliquée dans la bioactivation de composés procarcinogènes tels que les PAHs, incluant entre autres le BaP et les arylamines. Cette enzyme joue également un rôle déterminant dans le métabolisme de plusieurs médicaments dont des analgésiques et des antipyrétiques (acétaminophène, lidocaïne), des antidépresseurs (duloxétine), des antipsychotiques (clozapine), des anti-inflammatoires (nabumétone) ou encore des composés utilisés pour le traitement de problèmes cardiovasculaires (propranolol). Certains médicaments, comme l'antiandrogène flutamide (**25**), sont par ailleurs bioactivés par la CYP1A2. La CYP1A2 intervient aussi dans

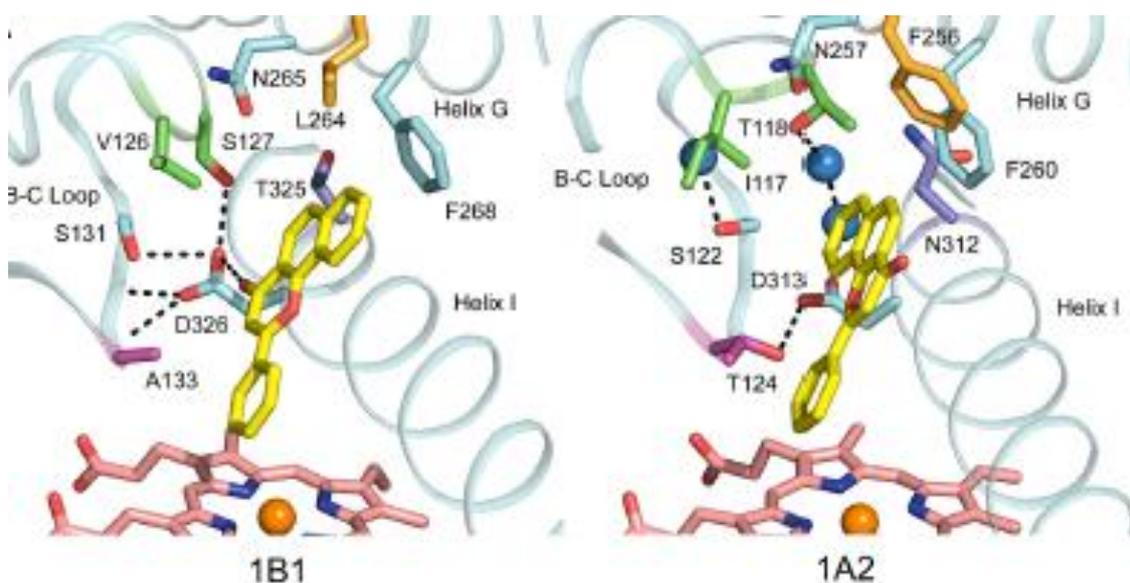
le métabolisme de nombreux composés endogènes dont les estrogènes, les prostaglandines, l'acide arachidonique, la mélatonine et l'acide rétinoïque [193, 194].

La CYP1B1 peut activer une large variété de composés procarcinogènes dont les PAHs et les amines aromatiques et hétérocycliques. Un de ses principaux substrats parmi les PAHs est le dibenzo[*a,l*]pyrène-11,12-diol, un puissant composé procarcinogène. La CYP1B1 va être active notamment dans l'hydroxylation du BaP, l'oxydation de la caféine et de la théophylline et la *O*-désalkylation de l'éthoxycoumarine et de l'éthoxyrésorufine. Cette enzyme est également impliquée dans l'activation de l'aflatoxine B1 en un composé mutagène [207].

### 1.4.3. CYP1B1 et cancer

La CYP1A1 et la CYP1B1 ont fait l'objet de nombreuses études, notamment plusieurs études sur le développement d'inhibiteurs de ces enzymes, du fait de leur capacité à activer les PAHs et à métaboliser un grand nombre de médicaments [208, 209]. Néanmoins, il faut souligner que les rôles biologiques de la CYP1A1 et de la CYP1A2 sont particulièrement controversés étant donné que ces enzymes sont aussi impliquées dans la détoxification de plusieurs composés aromatiques, dans le métabolisme de plusieurs composés endogènes essentiels, ainsi que dans la biotransformation de molécules provenant de l'alimentation, conférant ainsi à certains composés une activité anticancéreuse [204, 205]. Parmi les trois CYP1s, la CYP1B1 représente la cible thérapeutique la plus attrayante, notamment pour le développement d'agents anticancéreux. En effet, la CYP1B1 intervient dans l'activation de plus de 15 PAHs et plus de 10 amines aromatiques et hétérocycliques [209-211]. Elle est également impliquée dans la biotransformation de l'aflatoxine B1 en un composé carcinogène. Par ailleurs, tel qu'énoncé précédemment, la CYP1B1 a la particularité d'hydroxyler E2 en position 4 alors que la CYP1A1 et la CYP1A2 vont ajouter un groupe OH en position 2 d'E2. La CYP1B1 est d'ailleurs l'enzyme la plus active dans la 4-hydroxylation d'E2 [209-211]. Le 4-hydroxy-E2 ainsi formé est ensuite oxydé en E2-3,4-semiquinone et en E2-3,4-quinone par les CYP1s alors que le 2-hydroxy-E2 est oxydé en E2-2,3-semiquinone et en E2-2,3-quinone [212]. La E2-2,3-quinone peut se lier à l'ADN mais va aboutir à la formation d'adduits d'ADN stables n'entraînant pas l'apparition de mutations. À l'inverse, l'E2-3,4-quinone va aboutir à la formation de sites apuriques par déstabilisation de la liaison glycosidique suite à la formation d'un lien covalent entre ce composé et la guanine de l'ADN [211, 212]. La

dépuration de l'ADN peut entraîner la formation de mutations au niveau de certains gènes critiques augmentant ainsi le risque de développer un cancer. De plus, il faut noter que les 4-hydroxyestrogènes sont des puissants agonistes des récepteurs aux estrogènes alors que les 2-hydroxyestrogènes ont une faible activité estrogénique. Ainsi, la CYP1B1 peut jouer un rôle déterminant dans le développement de certains cancers hormono-dépendants par sa faculté à hydroxyler les estrogènes en position 4. Le 4-OH-E2 et les estrogènes quinones/semiquinones peuvent entraîner la formation de ROS ("reactive oxygen species") qui causent des dommages par leur pouvoir oxydant [211].



**Figure 9.** Modes de liaisons de l' $\alpha$ -naphthoflavone (ANF) dans le site actif de la CYP1B1 et de la CYP1A2 et caractéristiques structurales des coins supérieurs de la cavité de liaison du substrat. L'ANF est représenté en jaune, le fer de l'hème correspond aux sphères orange et le noyau porphyrine est représenté en rose. Les acides aminés conservés sont représentés avec des carbones en bleu cyan tandis que les différents résidus possèdent des carbones avec des couleurs variables. Les molécules d'eau correspondent aux sphères bleues et les liaisons hydrogènes sont représentées par des lignes pointillées. Figure tirée et adaptée de « Structural characterization of the complex between  $\alpha$ -naphthoflavone and human cytochrome P450 1B1 » (Caractérisation structurale du complexe entre l' $\alpha$ -naphthoflavone et le cytochrome P450 1B1 humain) de Wang *et al.* [203].

Comme évoqué précédemment, l'expression de la CYP1B1 est variable selon les individus mais on la retrouve principalement au sein des tissus stéroïdogéniques (ovaires, testicules, glandes surrénales) et dans les tissus sensibles aux stéroïdes (seins, prostate, utérus) [207]. Par ailleurs, un point important à propos de cette enzyme est qu'elle est parfois surexprimée dans

les tissus tumoraux. Une surexpression de la CYP1B1 a en effet été observée dans différents cas de cancers humains tels que des cancers du sein, de la prostate, de l'ovaire, du côlon, des testicules, de la peau, des poumons, de l'œsophage, des ganglions lymphatiques ou encore du cerveau [213]. En revanche, cette surexpression enzymatique n'était pas observée dans les tissus sains. La surexpression de la CYP1B1 dans les tissus tumoraux peut ainsi rendre le cancer plus agressif dans le cas de plusieurs cancers hormono-dépendants, notamment les cancers sensibles aux estrogènes, mais peut également jouer un rôle déterminant dans le développement de toutes les maladies sensibles aux estrogènes telles que l'endométriose [214]. En revanche, l'expression surélevée de cette enzyme peut aussi être utilisée pour la détection de certains cancers ainsi que pour faciliter le choix d'un traitement adapté. En effet, la CYP1B1 peut également intervenir dans des phénomènes de résistance aux médicaments dont plusieurs agents anticancéreux. Cette enzyme est capable d'inactiver métaboliquement le paclitaxel (5), le docétaxel (6), la doxorubicine (7), la mitoxantrone (8) et le tamoxifène (28A), soit plusieurs agents anticancéreux couramment utilisés en clinique [215, 216]. Le traitement des cancers où la CYP1B1 est surexprimée avec ces agents thérapeutiques sera ainsi peu efficace étant donné qu'ils seront rapidement inactivés par cette enzyme. Par conséquent, l'association d'un inhibiteur puissant et sélectif de la CYP1B1 avec ces agents anticancéreux pourrait être une stratégie thérapeutique très intéressante pour le traitement des cancers sensibles aux estrogènes où cette enzyme est surexprimée. Cui *et al.* ont récemment identifié le plus puissant inhibiteur de la CYP1B1 connu à ce jour, ce composé est un dérivé de l' $\alpha$ -naphthoflavone (ANF), un puissant inhibiteur de la CYP1B1, dont le complexe enzyme-inhibiteur a été caractérisée par Wang *et al.* (**Figure 9**) [203, 216]. L'ANF est ainsi souvent utilisé comme référence pour les tests d'activité inhibitrice de la CYP1B1 et comme composé de départ pour la synthèse d'inhibiteurs. Considérant qu'E1 et E2 sont tous deux des substrats de la CYP1B1 et que notre groupe de recherche est spécialisé dans le développement de dérivés stéroïdiens; le design, la synthèse et l'évaluation biologique de l'activité inhibitrice de dérivés C18-stéroïdiens à l'encontre de la CYP1B1 constituent la deuxième partie de mon projet de recherche.