

Des nanoparticules polymères pour traiter les cancers

Application au mésothéliome, le cancer de l'amiante

Résumé Cet article présente le ciblage sélectif vers les tumeurs d'inhibiteurs des désacétylases d'histones grâce à une plateforme polymère nanoparticulaire produite par polymérisation par métathèse par ouverture de cycle de macromonomères α,ω -poly(oxyde d'éthylène) azido-norbornényl fonctionnalisés par chimie click. Dans nos modèles de mésothéliome, une accumulation sélective élevée de ces particules a été obtenue dans les tumeurs. La libération des inhibiteurs implique un polymère conjugué pH-sensible conduisant à une réduction jusqu'à 80 % du poids de la tumeur pour le meilleur composé, et ceci sans toxicité pour les cellules saines. Ce travail démontre que des nanovecteurs théranostiques permettent d'optimiser la délivrance d'inhibiteurs épigénétiques dans les tumeurs, améliorant ainsi leurs propriétés antitumorales *in vivo*.

Mots-clés **Épigénétique, désacétylases d'histone, inhibiteurs, nanoparticules, ROMP, cancer, amiante.**

Abstract **Polymeric nanoparticle for treating cancers: application in mesothelioma, the asbestos-related cancer**
This article presents the selective tumour delivery of histone deacetylases inhibitors using a polymeric nanoparticle platform produced by ring-opening metathesis polymerization (ROMP) of azido-polyethylene oxide-norbornene macromonomers functionalized using click chemistry. In our models of mesothelioma, a highly selective accumulation of the particles in the tumour was obtained. The release of the drugs involved a pH-responsive polymer conjugate leading to 80% reduction of tumor weight for the best compound without toxicity. This work demonstrates that the use of theranostic nanovectors leads to an optimized delivery of epigenetic inhibitors in tumours and then, improving their anti-tumour properties *in vivo*.

Keywords **Epigenetic, histone deacetylases, inhibitors, nanoparticles, ROMP, cancer, asbestos.**

Malgré d'importants progrès dans les traitements des cancers, les résistances acquises et certaines formes très agressives et moins répandues sont toujours en attente de traitements efficaces. Les nouvelles solutions proposées pour répondre à ces problèmes tiennent compte des avancées récentes dans notre connaissance de la biologie en général et des cancers en particulier, mais également de celles relatives à une meilleure distribution des molécules actives chez les patients selon le type de cancer à traiter.

Dans le domaine de la biologie, l'approche épigénétique a émergé ces vingt dernières années [1-2]. Si la génétique est aujourd'hui bien assimilée par la communauté scientifique, restait la question de comprendre pourquoi un génome commun à toutes nos cellules (génotype) donnait différents types de cellules (phénotype). Cette question a été résolue en constatant qu'à génome identique, seuls certains groupes de gènes sont activés dans des cellules différenciées, et que cette activation de certains gènes est le résultat de mécanismes épigénétiques (du grec *epi*, sur, au-dessus, à cause de, et *genêtikós*, apte à procréer, qui engendre, produit).

L'activation ou non d'un gène est contrôlée en partie par des modifications post-traductionnelles réversibles intervenant sur l'ADN et les protéines histones. Ces modifications d'ordre chimique influencent la reconnaissance par les facteurs de transcription des parties du génome devant être transcrites ; ce sont la méthylation du carbone 5 des cytosines de l'ADN et des formes oxydées de cette méthylcytosine (CH₂OH, CH=O, COOH), ainsi que des modifications des protéines histones, avec pour les plus importantes l'acétylation et la (poly)méthylation sur les résidus lysine et la (poly)méthylation sur les résidus arginine (figure 1). D'autres modifications existent, telles que la sumoylation et différentes formes d'acylation des lysines, ainsi que la glycosylation et la phosphorylation sur les résidus tyrosine et sérine, découvertes plus récemment et

moins étudiées. Ces différentes marques chimiques sur l'ADN et/ou les histones, appelées marques épigénétiques, sont ajoutées par des familles d'enzymes spécialisées dites « writers » et ôtées par des « erasers ». Ces marques sont ensuite reconnues par des « readers », des domaines protéiques constitutifs des facteurs de transcription, faisant ainsi le lien entre marques chimiques et transcription.

Ce mécanisme de régulation subtil peut se dérégler suite à des mutations génétiques intervenant sur le codage des protéines

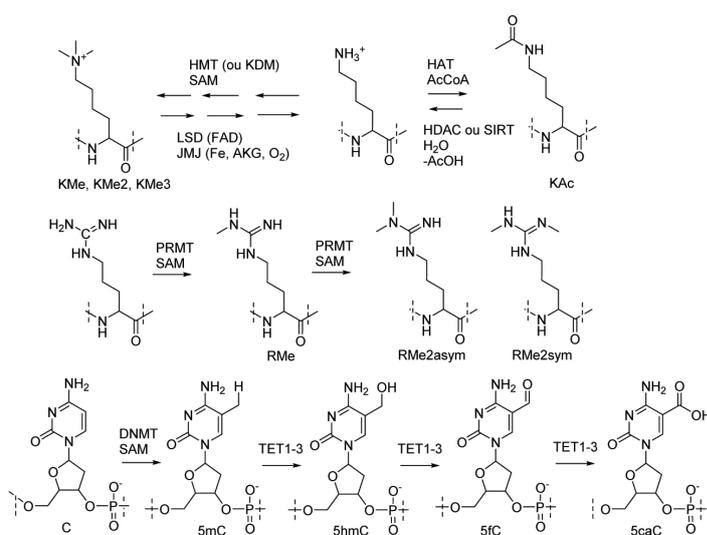


Figure 1 - Marques épigénétiques des résidus lysine et arginine et des cytosines de l'ADN. Quelques enzymes « writers » ou « erasers » sont indiquées.

HMT : histone méthyltransférase (ou lysine méthyltransférase) ; SAM : S-adenosylméthionine ; LSD : « lysine-specific demethylase » ; FAD : JMJ : Jumonji ; AKG : alpha-cétoglutarate ; HAT : histone acétyltransférase ; AcCoA : acétyl co-enzyme A ; HDAC : histone désacétylase ; SIRT : sirtuine ; PRMT : protéine arginine méthyltransférase ; DNMT : ADN méthyltransférase ; TET : « ten-eleven-translocation » ; KMe(n) : lysine mono, di, tri-méthylée ; KAc : lysine acétylée ; C : cytosine ; 5mC : 5-méthylcytosine ; 5hmC : 5-hydroxyméthylcytosine ; 5fC : 5-formylcytosine ; 5caC : 5-carboxylcytosine.

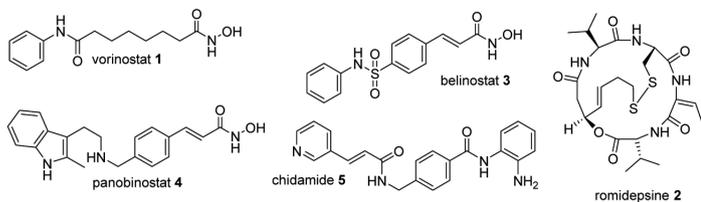


Figure 2 - Inhibiteurs HDAC approuvés en clinique.

régulant ou non les mécanismes épigénétiques ou par des changements dans le niveau d'expression de ces protéines. C'est notamment le cas dans la plupart des cancers, où les cellules malignes surexpriment certains régulateurs épigénétiques dans le but de rendre silencieux des gènes suppresseurs de tumeurs. Parmi les protéines régulatrices de l'épigénétique surexprimées dans les cancers, les histones désacétylases (HDAC) ont fait l'objet de nombreux travaux avec le développement de petites molécules inhibitrices dont quatre sont aujourd'hui approuvées par l'Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (FDA) pour le traitement de certains cancers (figure 2) : l'acide suberoylanilide hydroxamique SAHA **1** [3] (vorinostat, Zolinza®) et FK228 **2** [4] (romidepsine, Istodax®), contre le lymphome cutané des cellules T, le belinostat **3** [5] (Beleodaq®), pour le lymphome périphérique réfractaire ou régressé des cellules T, et le panobinostat **4** (Farydak®) contre le myélome multiple [6]. Un cinquième composé, le chidamide, n'est approuvé qu'en Chine pour le lymphome périphérique des cellules T [7]. Par contre, les recherches impliquant les histones méthyle transférases (writers) et déméthylases (erasers) ainsi que les bromodomains (readers) sont très actives avec plusieurs composés en étude clinique, mais aucune molécule n'est encore approuvée pour ces cibles thérapeutiques.

Il est apparu classiquement que les inhibiteurs développés pour moduler l'activité de ces régulateurs épigénétiques ont des limites bien connues telles que le manque de sélectivité pour leur cible, une biodistribution trop large ou des paramètres pharmacocinétiques et dynamiques insuffisants. Aussi la possibilité d'un meilleur ciblage et d'une délivrance de ces inhibiteurs épigénétiques spécifiquement sur le site tumoral ont été envisagées par différents groupes dans le monde [8]. Le vorinostat, une molécule approuvée en clinique, a été vectorisé avec succès chez la souris sous forme encapsulée [9], en combinaison avec un agent anti-angiogénique.

Dans le domaine de la vectorisation, les vecteurs de type nanoparticules (NP) sont largement utilisés pour leurs propriétés intrinsèques à s'accumuler dans les tissus tumoraux par l'effet de perméabilité et rétention accrue (EPR) [10]. Cette accumulation tumorale résulte de la vascularisation déficiente des tumeurs qui permet le passage de NP d'une certaine taille quand des vaisseaux normalement constitués ne le permettent pas. Ainsi il est admis que des NP dont la taille est comprise entre 100 et 200 nanomètres sont adaptées à cette stratégie. La taille utilisable peut cependant varier en fonction du type de cellule utilisée et de la composition de cette nanoparticule. Le transport de molécules anticancéreuses grâce à ces NP depuis le site d'administration jusqu'à la zone tumorale doit donc permettre une délivrance plus spécifique au sein de la tumeur. Un des problèmes rencontrés par ce type de stratégie est la captation potentielle par les macrophages des NP par opsonisation (i.e. processus favorisant la phagocytose grâce à certaines protéines sériques opsonines ou anticorps qui enrobent les microorganismes). Ceci est généralement évité en recouvrant la NP de chaînes de

poly(oxyde d'éthylène) (« polyethylene oxide », PEO), dont la présence confère à la NP des propriétés de furtivité en réduisant la reconnaissance des NP exogènes par les mécanismes d'élimination. Le ciblage spécifique des cellules tumorales peut augmenter la sélectivité du système. Dans ce cas, la NP est dotée d'une entité reconnaissant sélectivement des biomarqueurs surexprimés uniquement à la membrane des cellules tumorales. Un troisième élément réside dans le mode de libération de la molécule active. Des mécanismes enzymatiques sont utilisés, mais également l'acidité du milieu tumoral et, à l'intérieur des cellules, le mécanisme d'endocytose générant aussi des vésicules acides.

Nos objectifs

L'objet de nos travaux consistait à combiner ces différents éléments afin de concevoir un nouveau système de délivrance à base de NP polymère libérant à pH acide modéré, et idéalement par endocytose, des inhibiteurs de régulateurs épigénétiques liés de manière covalente à la NP [11]. L'application ciblée est le traitement du mésothéliome pleural malin, le cancer lié à l'exposition à l'amiante, pour lequel le traitement actuel de première intention (pemetrexed + cisplatine) est très peu efficace. L'introduction covalente de molécules actives sur la NP peut être réalisée avant polymérisation, si le monomère utilisé est déjà correctement fonctionnalisé, ou après polymérisation par une réaction adaptée en surface de la NP. Ces deux approches ont été initialement envisagées et nous avons finalement développé celle par fonctionnalisation du monomère. Le mode de fonctionnalisation retenu repose sur la chimie click entre azoture et alcyne avec obtention d'un triazole aromatique.

Ayant retenu une libération en condition acide des molécules actives afin d'exploiter à la fois l'environnement tumoral mais surtout l'internalisation des particules par endocytose, une prodrogue acido-labile a donc été conçue [12]. Inspiré du groupement trityle (triphénylméthane), connu comme groupement protecteur aisément éliminé en milieu acide, un nouveau système analogue diaryltriazolyleméthane **8** (figure 3B) a été développé, permettant la modulation de la libération de différentes molécules à divers pH. Un des objectifs était

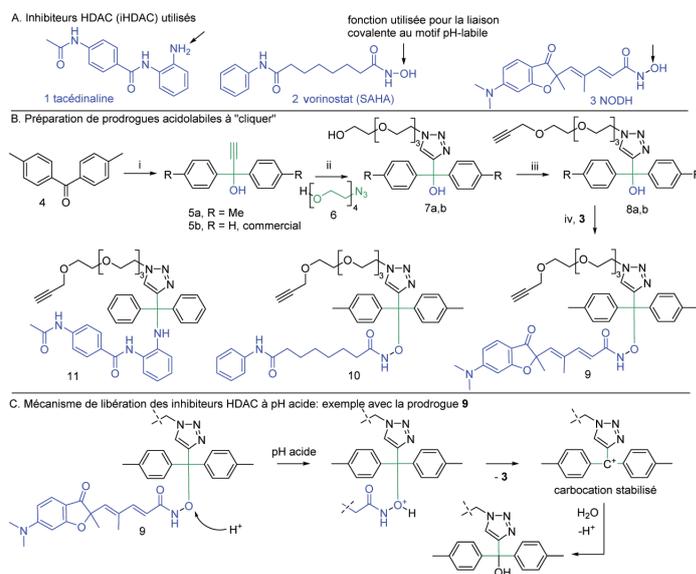


Figure 3 - A) Inhibiteurs HDAC utilisés dans ces travaux. B) Synthèse des prodrogues à « cliquer » pH-labile. C) Principe de la libération à pH acide.

Réactifs et conditions : i) a) $\text{Me}_3\text{SiC}\equiv\text{CH}$, nBuLi , THF ; b) KOH, MeOH. ii) CuBr , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ 1/1. iii) a) NaH 2 éq., THF, bromure d'allyle 2 éq., 24 h ; b) KHSO_4 2 M aq., 24 h. iv) a) HCl, Et_2O ou AcCl , toluène ; b) CH_3CN , NEt_3 .

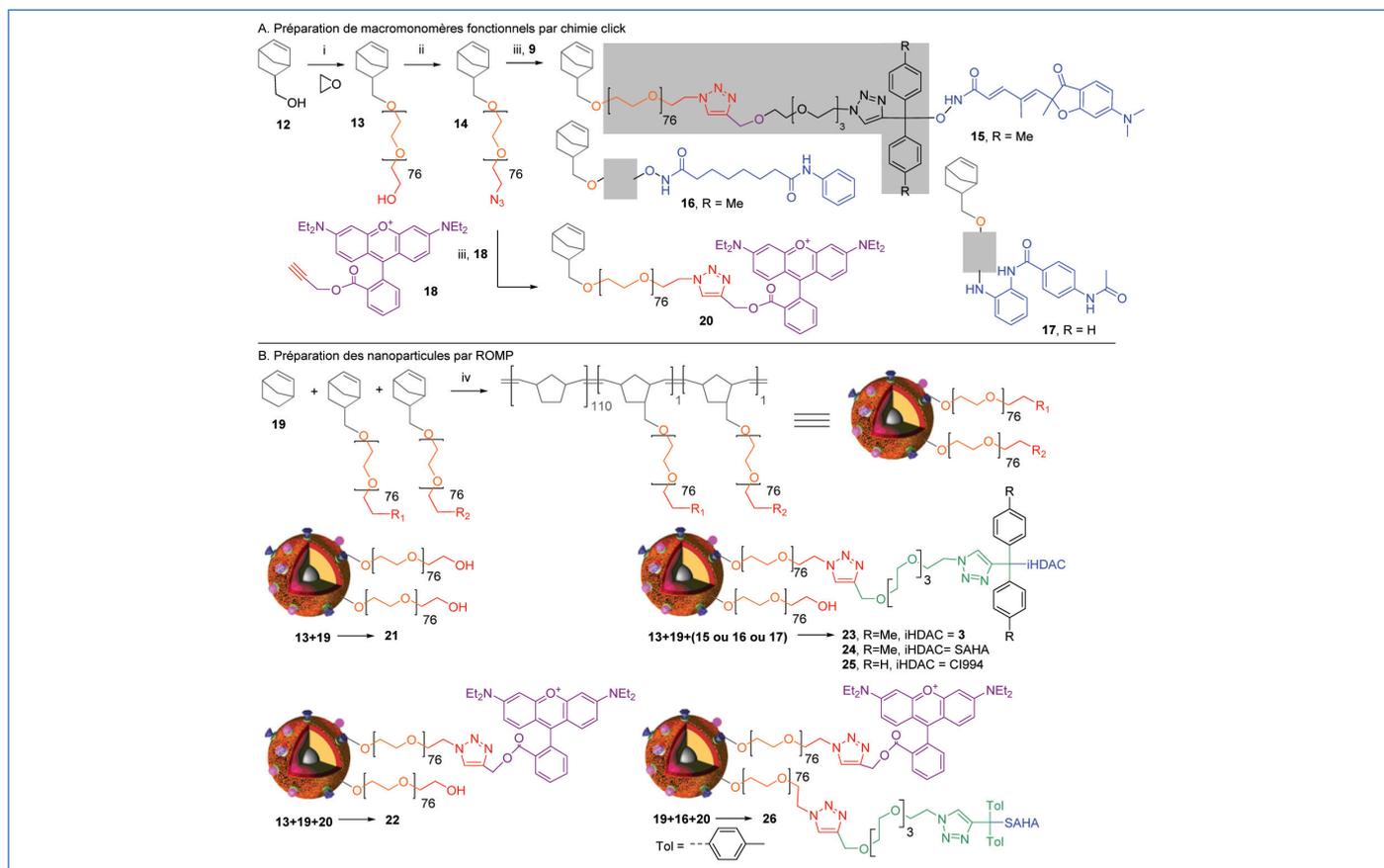


Figure 4 - Préparation des macromonomères (A) et polymères (B).

Réactifs et conditions : i) oxyde d'éthylène, nBuLi. ii) a) $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$; b) NaN_3 . iii) CuBr , DMF, $\text{Me}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_2-\text{NMe}-(\text{CH}_2)_2-\text{NMe}_2$. iv) catalyseur de Grubbs 1^{ère} génération, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$ 50/50.

d'avoir une demi-vie de la prodrogue en milieu pH 5 d'environ 30 minutes à une heure, un délai connu pour la maturation des vésicules acides en lysosomes lors de l'endocytose, et une demi-vie longue à pH physiologique pour éviter une libération du composé actif lors du transport sanguin.

Trois inhibiteurs HDAC ont été utilisés pour valider ces prodrogues : le vorinostat **2**, la tacédinaline (CI994) **1** et une molécule **3** préparée à Poitiers, analogue de la trichostatine A (figure 3A). Ces molécules ont été accrochées de manière covalente sur ce système pH-labile « cliquable » par une fonction nucléophile indiquée sur la figure 3A par une flèche (amine et acide hydroxamique dans le cas des inhibiteurs de désacétylases zinc-dépendantes). Des études additionnelles ont montré que des groupements phénol, alcool et thiol peuvent aussi être utilisés.

À titre d'exemple, la synthèse de la prodrogue **9** du composé **3** commence par la préparation de l'alcool **5a** à partir de la cétone **4**. Une réaction de chimie click entre l'alcool **5a** et l'azoture **6** donne accès au composé **7a**, étherifié par le bromure de propargyle pour donner l'éther **8a**, converti en prodrogue **9** portant le composé **3**. Cette prodrogue **9** peut donc être « cliquée » à un monomère azidé ou à une NP azidée. Le même éther **8a** a été utilisé pour préparer la prodrogue du vorinostat **10**. L'alcool commercial **5b** a été utilisé comme point de départ en suivant la même voie de synthèse pour la préparation de la prodrogue **11** de la tacédinaline **1**. La libération des inhibiteurs HDAC de ces trois prodrogues a été validée *in vitro* et répond au mécanisme indiqué dans la figure 3C. Comme l'indique la figure 3B, les résultats ont montré que le motif **8a** est mieux adapté pour les acides hydroxamiques et le motif **8b** pour les amines aromatiques. À systèmes labiles équivalents, les alcools donnent des prodrogues plus stables, de même que les thiols. Les phénols donnent les structures

les plus fragiles. Un lien direct a été ainsi mis en évidence entre la nucléophilie de la fonction utilisée pour accrocher la molécule active et la facilité de libération. L'hydrolyse de ces prodrogues a été validée à différents pH et leur activité biologique caractérisée, notamment l'effet inhibiteur HDAC dû à la libération des molécules actives et l'effet antiprolifératif sur cellules cancéreuses. Le système acido-labile sans inhibiteur **8a,b** n'a pas d'effet. L'inhibition des HDAC a été mesurée en utilisant un test BRET (« bioluminescence resonance energy transfer ») développé à Nantes, permettant une mesure directe de l'activité des composés dans les cellules vivantes.

Synthèse des vecteurs particuliers (NP) par ROMP

Le système de transport choisi est basé sur des NP polymères mises au point à Bordeaux et obtenues par polymérisation par métathèse par ouverture de cycle (« ring-opening metathesis polymerization », ROMP). À partir de norbornène-méthanol **12** (figure 4A), une chaîne PEO est introduite par polymérisation basique d'oxyde d'éthylène pour donner le macromonomère **13**, converti en azoture **14**. Cette stratégie permet d'introduire dès la conception les futures propriétés de furtivité dues à la présence de la chaîne PEO. Le composé **14** donne accès par chimie click à une librairie de macromonomères fonctionnels **15-17** et **20**. Les macromonomères **15-17** sont obtenus par réaction de **14** avec respectivement les prodrogues **9-11** (figure 3). Le composé **20** est obtenu par réaction de **14** avec l'ester de rhodamine **18** dont la synthèse est connue. La rhodamine B permet le suivi des particules *in vitro* et *in vivo*. Le choix de ce traceur résidait dans sa longévité *in vivo*, à l'intensité du signal, et surtout pour notre application à sa stabilité à pH acide, contrairement à son analogue la fluorescéine.

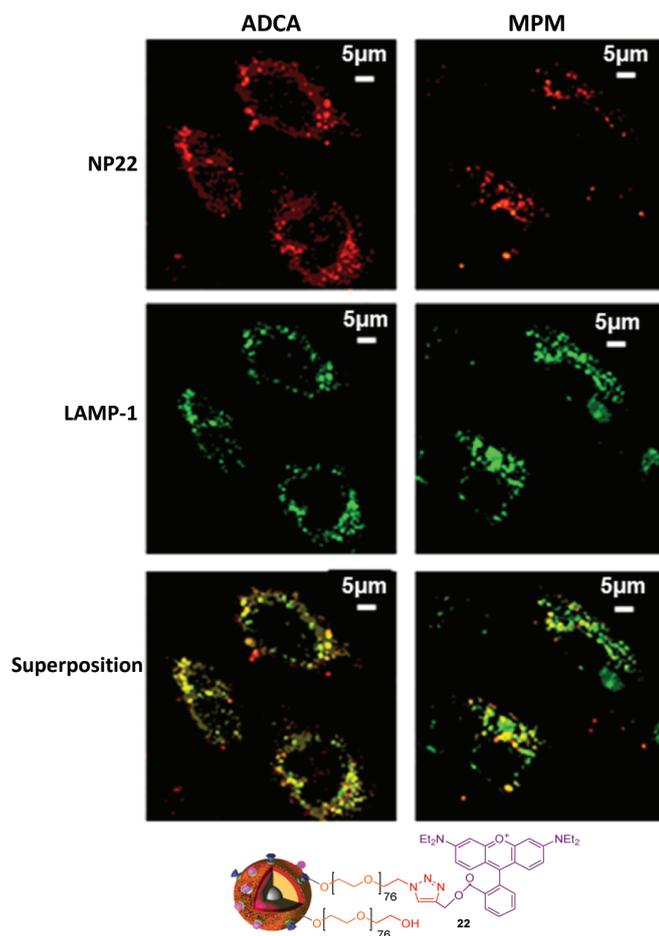


Figure 5 - Colocalisation des nanoparticules fluorescentes **22** et des vésicules acides dans des cellules cancéreuses d'adénocarcinome pulmonaire (ADCA) et de MPM. 1^{ère} ligne : localisation des NP ; 2^e ligne : marquage au LAMP-1 des vésicules acides ; 3^e ligne : superposition des lignes 1 et 2. La couleur jaune indique une colocalisation des NP et des vésicules acides.

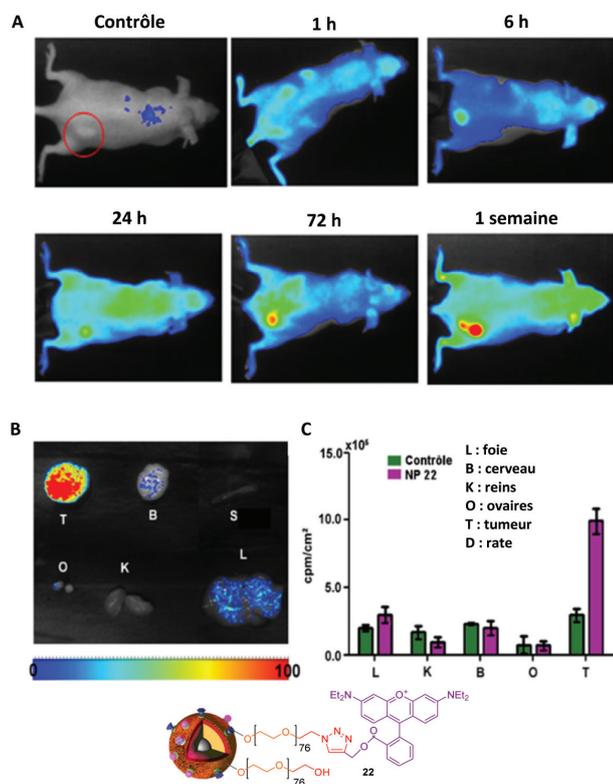


Figure 6 - Ciblage passif des tumeurs xénotransplantées par la NP **22**. A) Suivi dans le temps de la détection de la fluorescence sur le modèle murin par imagerie de l'animal entier. B) Analyse de la distribution après dissection des différents organes et C) quantification de l'accumulation dans les différents tissus au cours du temps par mesure de la fluorescence.

Selon l'objectif souhaité, différentes NP ont été préparées par ROMP à partir de cette bibliothèque de macromonomères fonctionnels ou non, en utilisant le catalyseur de métathèse de Grubbs première génération, montrant la souplesse de notre approche. Toutes les NP préparées comportent 99 % molaire de norbornène (**19**) et 1 % molaire de macromonomère porteur d'une fonction d'intérêt (figure 4B). Toutes les particules obtenues s'organisent en particules sphériques cœur-écorce de diamètre compris entre 300 et 380 nm. La chaîne principale poly-norbornène hydrophobe se trouve au cœur des NP et les chaînes PEO en surface. Cette morphologie garantit que les fonctions d'intérêts (ciblage tumoral, molécule à libérer, fluorophore) sont en surface de la NP. La NP **21** « nue » est préparée à partir de **19** et du macromonomère **13** non fonctionnel, la NP **22** en combinant à **19** les macromonomères **13** et fluorescent **20**, et les NP **23** à **25** sont obtenues avec les macromonomères **15** à **17** respectivement, combinés avec **19** et le dérivé **13**. Enfin, la copolymérisation avec deux macromonomères d'intérêt **16** et **20** avec **19** a conduit à l'obtention de la NP **26**.

Internalisation et biodistribution des NP

L'activité biologique de ces différentes NP a été étudiée et étendue *in vivo* lorsque les essais *in vitro* étaient concluants. Une première étude a consisté à valider l'internalisation par endocytose de ces NP nues ou fonctionnalisées par les molécules actives. L'internalisation des NP non fonctionnelles **21** (figure 4) a été démontrée par cytométrie et confirmée par imagerie avec des NP fluorescentes **22** [13]. En effet, ces dernières nous ont permis de confirmer l'internalisation des NP dans les cellules par microscopie de fluorescence, mais aussi de les localiser dans les compartiments intracellulaires acides (endosomes tardifs et lysosomes) grâce à un marquage spécifique de la protéine Lamp-1 (figure 5). Ces expériences ont démontré que ce type de NP peut nativement être internalisé par des cellules cancéreuses sans ajout de systèmes de reconnaissance ou d'entités favorisant l'internalisation, comme les peptides pénétrants cellulaires (CPP). Cette validation a permis de passer à la fonctionnalisation avec des prodrugs acido-labiles. Dans un deuxième temps, la validation *in vivo* du ciblage tumoral passif a été confirmée en utilisant des particules fluorescentes **22** dans un modèle murin avec xénotgreffe (figure 6) [14]. Un ciblage natif très sélectif des tumeurs a été observé, sans la nécessité d'ajouter des entités de ciblage actif. En effet, on observe très clairement une accumulation des NP **22** au niveau de la tumeur sous-cutanée au cours du temps lors des expériences d'imagerie de l'animal entier (figure 6A). Cette distribution très spécifique des NP **22** au sein du tissu tumoral a été confirmée par des expériences d'imagerie d'organes isolés pour avoir une sensibilité de détection plus importante (figure 6B). Dans ces conditions, seul un signal important de fluorescence a été détecté dans la tumeur comparé au foie, reins, rate, ovaires et cerveau. Le même résultat a été obtenu avec des tumeurs péritonéales diffuses de mésothéliome après imagerie de fluorescence de la tumeur et d'organes isolés (figure 7). Un tel niveau de ciblage passif du tissu tumoral par des nanovecteurs n'est pas habituel. Ainsi, avec ces deux résultats clés, l'utilisation de NP porteuses d'inhibiteurs HDAC a été mise en œuvre.

Évaluation *in vivo* et *in vitro* des NP

Une première étude avec des NP **25** porteuses de tacédinaline (inhibiteur de type benzamide, figure 4) a montré *in vitro* leur

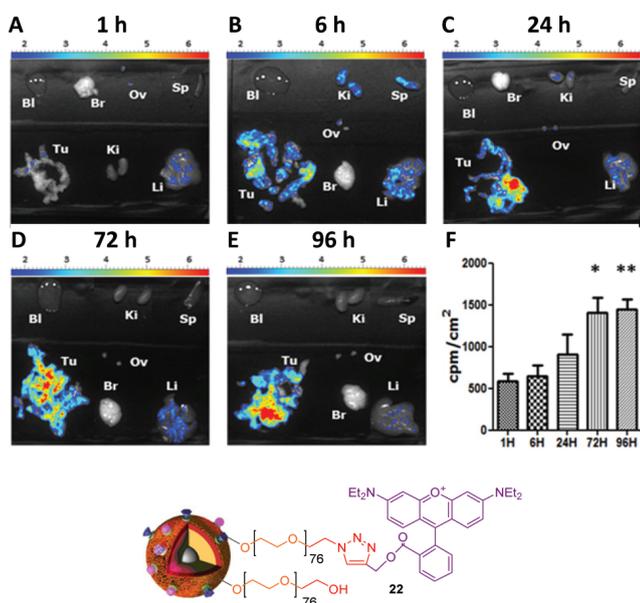


Figure 7 - Ciblage passif des tumeurs péritonéales par la NP **22**. A-E) Suivi dans le temps de la distribution après dissection des organes et (F) quantification de l'accumulation dans les tumeurs au cours du temps par mesure de la fluorescence.

*p < 0,05; **p < 0,01.

effet cytotoxique sur les lignées de mésothéliome, ainsi qu'une inhibition effective des HDAC [15]. Des résultats similaires ont été obtenus avec des NP **24** délivrant du vorinostat [16]. Une augmentation de l'apoptose (coloration brun-marron des cellules) (figure 8A) et de l'acétylation de l'histone H3 (coloration brun-marron des noyaux des cellules) (figure 8B) a été observée par immunohistologie dans les tumeurs des souris traitées avec les NP **24**. Dans le cas du vorinostat, des NP bifonctionnelles **26** portant également la rhodamine ont été préparées et l'imagerie de fluorescence a confirmé l'accumulation de ces particules bifonctionnelles dans les tumeurs *in vivo*, mais sans effet sur la réduction des masses tumorales.

Ces résultats ont montré que le ciblage natif par ces NP est très efficace mais que la réduction tumorale n'a pas lieu, sans doute parce que les molécules utilisées n'étaient pas assez actives ou le taux de fonctionnalisation pas assez élevé. Afin de maintenir un niveau de fonctionnalisation à 1 %, le composé **3**, actif à des concentrations nanomolaires et développé

à Poitiers, a été utilisé [17]. Ce composé avait démontré des activités supérieures au vorinostat dans nos modèles [18], ainsi que la réduction de résistance associée à l'utilisation de cisplatine [19]. De plus, un modèle murin de mésothéliome intrapéritonéal, une localisation connue de ce cancer chez l'homme, a été utilisé dans cette dernière étude [20]. Ce modèle est caractérisé par un développement diffus de la tumeur au niveau de la cavité péritonéale avec le développement de métastases pancréatiques. À partir de ce composé **3**, les NP **23** ont été préparées. Comme précédemment, un bon niveau de cytotoxicité a été obtenu *in vitro*, avec une augmentation de l'acétylation des histones, indiquant l'effet inhibiteur HDAC. L'application de ces NP **23** dans ce modèle de mésothéliome intrapéritonéal a tout d'abord été validée avec les NP fluorescentes **22** qui ont permis de montrer un ciblage passif très spécifique des tumeurs (figure 7). L'utilisation de NP **23** portant l'inhibiteur **3** a finalement permis d'obtenir de très bons résultats avec une réduction de 80 % de la croissance tumorale (figure 9A) associée à une meilleure préservation du pancréas dans ce modèle (figure 9B-D). En effet, les figures 9B et 9C montrent l'invasion du pancréas par les cellules tumorales dans les conditions contrôles et traitement avec le composé **3**. La figure 9D montre l'intégrité du tissu pancréatique suite à l'administration des NP **23**. Ces résultats sont corrélés avec une augmentation de l'acétylation des histones dans ces cellules tumorales (coloration brun-marron des noyaux des cellules) (figure 10A) et un niveau d'acétylation inchangé dans les autres organes analysés (coloration bleue des noyaux des cellules) (figure 10B). Les mesures préliminaires de toxicité réalisées indiquent par ailleurs l'innocuité de ces NP **23** sur les autres organes et sur la formulation sanguine [10].

L'ensemble de ces travaux démontre que les traitements anticancéreux sur la seule base de l'épigénétique sont potentiellement viables à condition de contrôler au mieux la délivrance des inhibiteurs de cibles épigénétiques. Comparativement aux différentes stratégies de délivrance d'inhibiteurs de cibles épigénétiques développées, notre stratégie a montré une grande souplesse et adaptabilité avec une mise en œuvre synthétique de complexité réduite. Les résultats expérimentaux *in vitro* et *in vivo* ont montré que nos nanoparticules cœur-écorce à base de polynorbornène et de PEO présentent une excellente sélectivité vis-à-vis

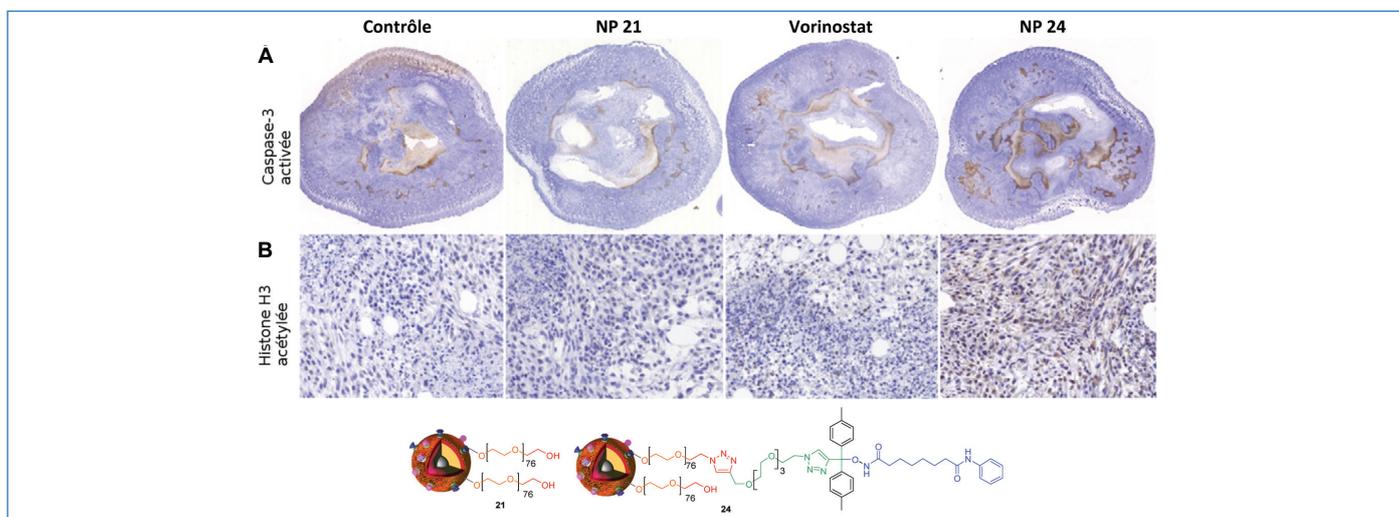


Figure 8 - Analyses histologiques des tumeurs après traitement des souris avec les NP **24**. Les souris xéno greffées avec tumeur AK7 ont été traitées par intraveineuse avec les NP **21** (160 mg/kg), le vorinostat **2** seul (50 mg/kg), ou les NP **24** (1,9 mg/kg vorinostat, 160 mg/kg polymère). Les tumeurs issues des souris ont été analysées par immunohistochimie avec anticorps (A) anti-caspase-3 activée ou (B) anti-histone H3 acétylée.

Coloration bleue : absence de marquage ; en brun : marquage anticorps positif.

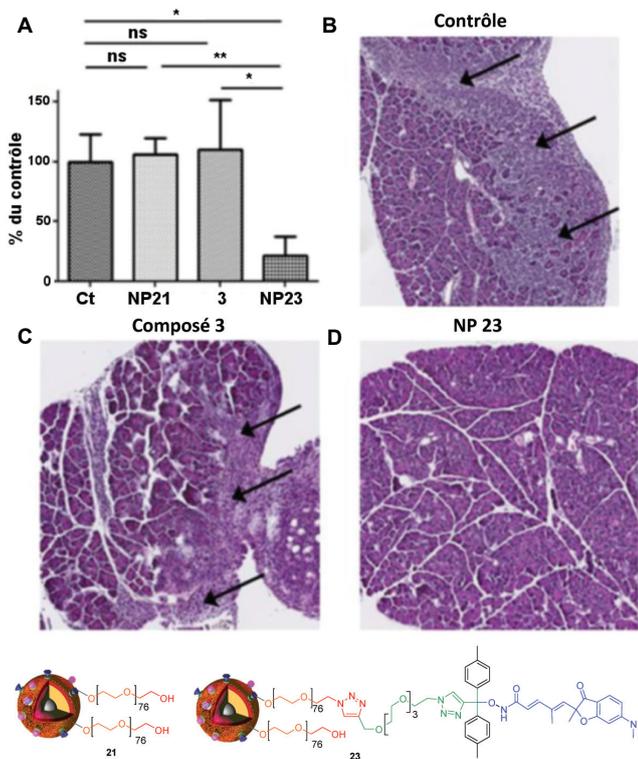


Figure 9 - Activité antitumorale des NP 23. Quatre groupes (G1-G4) de souris C57Bl6 portant des tumeurs AK7 orthotopiques ont été traitées par injection intrapéritonéale de dédicabine (4 µg/g) aux jours 7 et 9, suivie d'injection intraveineuse de NP 21 (hydroxyl NP 80 µg/g, G2), de composé 3 (0,25 µg/g, G3), ou de NP 23 (0,25 µg/g composé 2, 16 µg/g polymère, G4). Le groupe G1 n'a pas eu de traitement. A) Représentation du poids des tumeurs à la fin du traitement. B-D) Coupes histologiques après coloration HES représentatives de pancréas du groupe contrôle G1 (B), du groupe G3 traité avec le composé 3 (C) ou du groupe G4 traité avec les NP 23 (D).

Les flèches indiquent les zones d'invasion du pancréas par les cellules tumorales. ns : non significatif ; *p < 0,05 ; **p < 0,01.

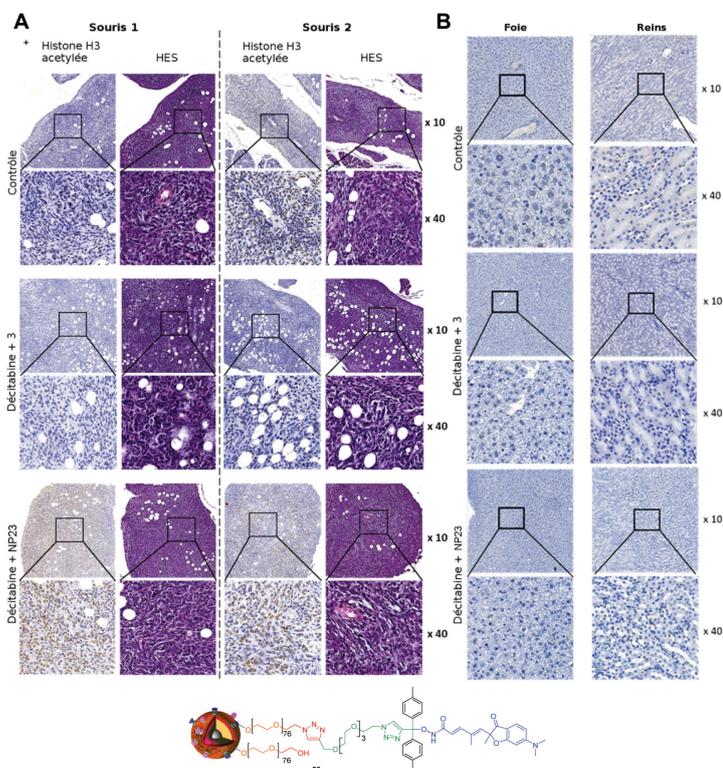


Figure 10 - Analyses histologiques des tissus après traitement des souris avec la dédicabine et les NP 23. A) Analyse des tumeurs par immunohistochimie avec anticorps anti-histone H3 acétylée et coloration HES. B) Analyse du foie et des reins par immunohistochimie avec anticorps anti-histone H3 acétylée. Coloration bleue : absence de marquage ; en brun : marquage anticorps positif.

des tumeurs sans nécessiter l'ajout de fonctions de ciblage spécifique, ce qui a permis de réduire la complexité du développement de ces nanoparticules. Différents développements sont en cours autour des concepts présentés ici.

[1] Monneret C., Jacques R.A., L'épigénétique : enjeux scientifiques, éthiques et sociétaux, *L'Act. Chim.*, **2016**, 407, p. 6.
 [2] Arrowsmith C.H., Bountra C., Fish P.V., Lee K., Schapira M., Epigenetic protein families: a new frontier for drug discovery, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2012**, 11, p. 384.
 [3] Duvic M., Vu J., Vorinostat: a new oral histone deacetylase inhibitor approved for cutaneous T-cell lymphoma, *Expert Opin. Investig. Drugs*, **2007**, 16, p. 1111.
 [4] Grant C. et al., Romidepsin: a new therapy for cutaneous T-cell lymphoma and a potential therapy for solid tumors, *Expert Rev. Anticancer Ther.*, **2010**, 10, p. 997.
 [5] Poole R., Belinostat: first global approval, *Drugs*, **2014**, 74, p. 1543.
 [6] Fenichel M.P., FDA approves new agent for multiple myeloma, *J. Natl. Cancer Inst.*, **2015**, 107, djv165.
 [7] Lowe D., China's first homegrown pharma, *Seeking Alpha*, **2015**, <https://seekingalpha.com/article/3055626-chinas-first-homegrown-pharma>
 [8] El Bahhaj F., Dekker F.J., Martinet N., Bertrand P., Delivery of epidrugs, *Drug Discov. Today*, **2014**, 19, p. 1337.
 [9] Mohamed E.A. et al., Vorinostat with sustained exposure and high solubility in poly(ethylene glycol)-b-poly(DL-lactic acid) micelle nanocarriers: characterization and effects on pharmacokinetics in rat serum and urine, *J. Pharm. Sci.*, **2012**, 101, p. 3787.
 [10] Maeda H., Toward a full understanding of the EPR effect in primary and metastatic tumors as well as issues related to its heterogeneity, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2015**, 91, p. 3.
 [11] Delatouche R., Bertrand P., Collette F., Héroguez V., Gueugnon F., Blanquart C., Grégoire M., Nanovecteurs ou particules et leur utilisation comme médicament et/ou agent de diagnostic, FR20110055761, WO2012FR51498, US2014219925 A1.
 [12] Delatouche R., Denis I., Grinda M., El Bahhaj F., Baucher E., Collette F., Héroguez V., Grégoire M., Blanquart C., Bertrand P., Design of pH responsive clickable prodrugs applied to histone deacetylases inhibitors: a new strategy for anticancer therapy, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **2013**, 85, p. 862.
 [13] Collette F., Delatouche R., Blanquart C., Gueugnon F., Grégoire M., Bertrand P., Héroguez V., An easy and effective method to produce functionalized particles for cellular uptake, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **2013**, 51, p. 176.
 [14] Gueugnon F., Denis I., Pouliquen D., Collette F., Delatouche R., Héroguez V., Grégoire M., Bertrand P., Blanquart C., Nanoparticles produced by ring-opening metathesis polymerization using norbornenyl-poly(ethylene oxide) as a ligand-free generic platform for highly selective in vivo tumor targeting, *Biomacromolecules*, **2013**, 14, p. 2396.
 [15] Denis I., El Bahhaj F., Collette F., Delatouche R., Gueugnon F., Pouliquen D., Pichavant L., Héroguez V., Grégoire M., Bertrand P., Blanquart C., Histone deacetylase inhibitor-polymer conjugate nanoparticles for acid-responsive drug delivery, *Eur. J. Med. Chem.*, **2015**, 95, p. 369.
 [16] Denis I., El Bahhaj F., Collette F., Delatouche R., Gueugnon F., Pouliquen D., Pichavant L., Héroguez V., Grégoire M., Bertrand P., Blanquart C., Vorinostat-polymer conjugate nanoparticles for acid-responsive delivery and passive tumor targeting, *Biomacromolecules*, **2014**, 15, p. 4534.
 [17] Charrier C., Clarhaut J., Gesson J.P., Estiu G., Wiest O., Roche J., Bertrand P., Synthesis and modeling of new benzofuranone histone deacetylase inhibitors that stimulate tumor suppressor gene expression, *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, p. 3112.
 [18] Blanquart C., François M., Charrier C., Bertrand P., Grégoire M., Pharmacological characterization of histone deacetylase inhibitor and tumor cell-growth inhibition properties of new benzofuranone compounds, *Current Cancer Drug Targets*, **2011**, 11, p. 919.
 [19] Gueugnon F., Cartron P.F., Charrier C., Bertrand P., Fonteneau J.F., Grégoire M., Blanquart C., New histone deacetylases inhibitors improve cisplatin antitumor properties against thoracic cancer cells, *Oncotarget*, **2014**, 5, p. 4504.
 [20] El Bahhaj F., Denis I., Pichavant L., Delatouche R., Collette F., Linot C., Pouliquen D., Grégoire M., Héroguez V., Blanquart C., Bertrand P., Histone deacetylase inhibitors delivery using nanoparticles with intrinsic passive tumor targeting properties for tumor therapy, *Theranostic*, **2016**, 6, p. 795.

Valérie HÉROGUEZ⁽¹⁾,

directrice de recherche CNRS au Laboratoire de Chimie des Polymères Organiques (LCPO), École Nationale Supérieure de Chimie, Biologie et Physique, Université de Bordeaux.

Christophe BLANQUART⁽²⁾,

chargé de recherche CNRS au Centre de Recherche en Cancérologie et Immunologie Nantes-Angers (CRCINA), Inserm UMR 1232, et membre du réseau Épigénétique du Cancéropôle Grand Ouest (REpiCGO)¹.

Philippe BERTRAND⁽³⁾,

maître de conférences à l'Institut de Chimie des Milieux et Matériaux de Poitiers (IC2MP), UMR CNRS 7285, et membre du réseau REpiCGO*.

(1) valerie.heroguez@enscbp.fr

(2) christophe.blanquart@inserm.fr

(3) philippe.bertrand@univ-poitiers.fr

* www.canceropole-grandouest.com/index.php/epigenetique.html