



HAL
open science

Promédicaments à fonction carbamate : description du concept et application à la synthèse de molécules d'intérêt dans le traitement de la maladie d'Alzheimer

François-Xavier Toublet

► To cite this version:

François-Xavier Toublet. Promédicaments à fonction carbamate : description du concept et application à la synthèse de molécules d'intérêt dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Sciences pharmaceutiques. 2020. dumas-03078422

HAL Id: dumas-03078422

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03078422>

Submitted on 16 Dec 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THESE

(Spécialité DES Innovation Pharmaceutique et Recherche)

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 4 octobre 1988 tient lieu de
Thèse pour l'obtention du Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie
Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie

**Promédicaments à fonction carbamate : description du concept et application
à la synthèse de molécules d'intérêt dans le traitement de la maladie
d'Alzheimer.**

Présentée par
François-Xavier TOUBLET

**Soutenue publiquement le 03/07/2020
devant le jury composé de**

M. PATRICK DALLEMAGNE	Professeur des Universités, Université de Caen Normandie	Président du jury
M. VINCENT CATTOIR	Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes	Examineur
M. SYLVAIN DINI	Praticien Hospitalier, Centre Hospitalier de Carentan	Examineur
M. CHRISTOPHE ROCHAIS	Professeur des Universités, Université de Caen Normandie	Directeur de Thèse

Thèse dirigée par **CHRISTOPHE ROCHAIS**

LISTE DES ENSEIGNANTS-CHERCHEURS

Directeur de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques
Professeur Michel BOULOUARD

Assesseurs

Professeur Pascale SCHUMANN-BARD
Professeur Anne-Sophie VOISIN-CHIRET

Directrice administrative
Madame Sarah CHEMTOB

Directrice administrative adjointe
Madame Emmanuelle BOURDON

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

BOULOUARD Michel	Physiologie, Pharmacologie
BUREAU Ronan	Biophysique, Chémoinformatique
COLLOT Valérie	Pharmacognosie
DALLEMAGNE Patrick	Chimie médicinale
DAUPHIN François	Physiologie, Pharmacologie
DELEPEE Raphaël	Chimie analytique
FABIS Frédéric	Chimie organique
FRERET Thomas	Physiologie, Pharmacologie
GARON David	Botanique, Mycologie, Biotechnologies
GIARD Jean-Christophe	Bactériologie, Virologie
MALZERT-FREON Aurélie	Pharmacie galénique
ROCHAIS Christophe	Chimie organique
SCHUMANN-BARD Pascale	Physiologie, Pharmacologie
SICHEL François	Toxicologie
SOPKOVA Jana	Biophysique, Drug design
VOISIN-CHIRET Anne-Sophie	Chimie médicinale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

ANDRE Véronique – HDR	Biochimie, Toxicologie
BOUET Valentine – HDR	Physiologie, Pharmacologie
CAILLY Thomas – HDR	Chimie bio-inorganique, Chimie organique
DENOYELLE Christophe – HDR	Biologie cellulaire et moléculaire, Biochimie, Cancérologie
DHALLUIN Anne	Bactériologie, Virologie, Immunologie
ELDIN de PECOULAS Philippe – HDR	Parasitologie, Mycologie médicale
GROO Anne-Claire	Pharmacie galénique
KIEFFER Charline	Chimie médicinale

KRIEGER Sophie (Praticien hospitalier) – HDR.....	Biologie clinique
LAPORTE-WOJCIK Catherine	Chimie bio-inorganique
LEBAILLY Pierre – HDR.....	Santé publique
LECHEVREL Mathilde – HDR.....	Toxicologie
LEGER Marianne	Physiologie, Pharmacologie
LEPAILLEUR Alban – HDR.....	Modélisation moléculaire
N'DIAYE Monique	Parasitologie, Mycologie médicale, Biochimie clinique
PAIZANIS Eleni	Physiologie, Pharmacologie
PEREIRA-ROSENFELD Maria de Fatima	Chimie organique et thérapeutique
POTTIER Ivannah	Chimie et toxicologie analytiques
PREVOST Virginie – HDR.....	Chimie analytique, Nutrition, Education thérapeutique du patient
QUINTIN Jérôme	Pharmacognosie
RIOULT Jean-Philippe	Botanique, Mycologie, Biotechnologies
SINCE Marc	Chimie analytique
VILLEDIEU Marie – HDR.....	Biologie et thérapies innovantes des cancers

PROFESSEUR AGREGE (PRAG)

PRICOT Sophie	Anglais
----------------------------	---------

PERSONNEL ASSOCIE A TEMPS PARTIEL (PAST)

SAINT-LORANT Guillaume	Pharmacie clinique
SEDILLO Patrick	Pharmacie officinale
RICHARD Estelle	Pharmacie officinale

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

JOURDAN Jean-Pierre

Enseignants titulaires du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

À Monsieur Vincent Cattoir

Professeur des universités et Praticien hospitalier, Université de Rennes 1 et Centre Hospitalier Universitaire de Rennes

À Monsieur Patrick Dallemagne

Professeur des universités, Université de Caen Normandie

À Monsieur Sylvain Dini

Praticien hospitalier, Centre Hospitalier de Carentan les Marais

À Monsieur Christophe Rochais

Professeur des universités, Université de Caen Normandie

Qui me font l'honneur de lire ce manuscrit,

Et de juger mon travail,

En témoignage de ma profonde reconnaissance.

Serment de Galien

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je vous propose une petite rétrospective historique sur quelques Serments des Apothicaires et de Pharmaciens.

Serment d'Hippocrate

Je jure par Apollon médecin, par Hygie et Panacée, par tous les dieux et par toutes les déesses que je prends ici à témoin, que de toutes mes forces et en pleine conscience je tiendrai entièrement mon serment et les engagements suivants :

Que je respecterai mon maître dans cet art comme je respecte mes parents, que je partagerai avec lui mon avoir et lui donnerai tout ce dont il aura besoin, que je considérerai ses ascendants comme mes frères par le sang et qu'à mon tour je leur enseignerai cet art sans rétribution ni condition aucune.

Que je donnerai libre accès aux connaissances et à l'enseignement de toute la discipline à mes fils en premier, puis aux fils de mon maître, puis à tous ceux qui, par écrit et par serment suivant la loi médicale se déclareront mes disciples, et à nul autre.

En ce qui concerne la guérison des malades, je leur ordonnerai des diètes de mon mieux d'après mon opinion, et je me tiendrai loin de tout mal et de toute injustice. Je ne me laisserai induire par la prière de qui que ce soit à administrer un poison ou donner un conseil dans une circonstance semblable. Je ne mettrai à aucune femme d'appareil dans le vagin pour empêcher la conception ou le développement d'un enfant. Je considérerai comme sacrés ma vie et mon art. Je ne pratiquerai pas l'opération de la taille, et, quand j'entrerai dans une maison, je n'y entrerai que pour le bien des malades.

Je m'abstiendrai de toute action injuste et je ne souillerai, par lascivité, d'aucun contact soit avec les femmes, soit avec des hommes libres, soit avec des affranchis, soit avec des esclaves. Tout ce que j'aurai vu et entendu au cours de la cure ou en dehors de la cure dans la vie courante je le tairai, je le garderai toujours pour moi comme un secret, et il ne me sera pas permis de le dire.

Si je tiens fidèlement, intégralement ce serment, que je puisse obtenir une vie heureuse et un avenir heureux dans l'exercice de mon art et qu'on me couvre toujours de louanges. Mais, si je dois manquer à mon serment, ou jurer le faire, puissé-je avoir un sort contraire.

Serment de Montpellier (1574)

Je jure saintement de porter honneur et révérence à l'Université de Médecine de cette ville de Montpellier et particulièrement au collège des Maistres apothicaires d'ycelle en quelque part que je soys, observant mes statuts et règlements, pourchassant son avancement et endurent ni ne dissimulant aucune détraction, conjuration ou entreprise faite à l'encontre d'icelle, en tant que je pourrai.

Que je ferai l'état d'apothicaire dignement et fidèlement, sans abuser personne, n'entreprenant sur la charge des sieurs médecins et chirurgiens et ordonnant et administrant aucuns médicaments quy ne soynt par eux-mesmes ordonnés respectivement selon leur profession et ne souffrant qu'aucun pratique en cette ville et Faculté de Médecine ou Chirurgie, sans que au moins, je le révèle au procureur des-dites Facultés.

Item, que je n'useray de qui pro quo ou substitue aux médicamens qui me défandront que par leur ordonnace et volonté, donc, quand je ne pourray avoyr quelque simple ou composé requis en leurs receptes, je les en avertiray comme aussi quand je doutera ne l'intelligence de leurs dittes receptes quand à l'usage ou autre intancion, je n'auray pas honte de leur demander, sans faire aucune chose de ma fantaisie.

Item que je tiendray des meilleurs drogues que je pourray trouver et toutes les compositions requises en la qualité qu'il me faudra; et quand aucune chose me semblera corrompüe, ou de peu d'efficace en sa qualité, je ne l'emploeray aucunement, ni balheray à un autre, ainsi la jetteray si chère qu'elle soyt.

Item que je ne balheray du sublimé, arsenic, ni autre médicamen vénéneux, que aux maistres chirurgiens, orfèvres et autres artisans qui ne doivent user, ni aux femmes enceintes aucune chose pour les faire affoler à peyne d'etre convaincu d'homicide.

Item que j'auray soin de mes apprentys et serviteurs à les instruire, leur donnant bonne doctrine et exemple selon les grâces que Dieu m'aura faite, les entretenant humainement ainsi que mes propres enfants.

Item, que je ne médiray ou détracteray aucunement de mes compagnons ou autres faisant profession de médecine, que je ne suborneray ou solliciteray leurs serviteurs malades ou chalans pour leur soustrayre en sorte que ce soyt.

Item, que je traiteray fidèlement et gratuitement mes malades et les contenteray de payement honneste et raisonnable sans extorcionner personne, faisant aumône aux pauvres indigens, non seulement de mon industrie et labeurs, mais aussi de mon bien suivant la règle de charité.

Serment de Montpellier au XVIIIe siècle

Je jure que je serai fidelle et obeissant à l'Université en médecine de cette ville et que j'honorerai messieurs les professeurs du Roy et docteurs en médecine; et si je sçay quelque chose contre l'honneur d'aucun, je le lui notifierai,

Item, je jure que je porterai à l'assemblée des maistres de l'art l'honneur qui leur est deu, et que j'aideray mes compagnons de conseil, assistance et faveur,

Item, je jure que j'observerai tous les statuts de maistrise, ordonnez ou a ordonner,

Item, je jure que j'exerceray fidèlement l'art de pharmacie; et que j'achèterai les simples bons et choisis, et que je dispenserai tous les remèdes prescrits des médecins et les médicaments composez qu'on a coustume de faire aux boutiques pour l'usage, selon conscience, et que je rejetteray tous les médicaments corrompus, soit qu'ils soient simples ou composez,

Item, je jure que je ne baillerai aucun médicament sans ordonnance des médecins, excepté le clystère commun et la potion cardiaque, et contrevers et que je ne souffriray point que les chirurgiens ordonnent des remèdes internes, principalement purgatifs, et encore moins les empyriques et opérateurs, mais seulement par les médecins approuvez,

Item, je jure que si les médicaments prescrits et ordonnez par les médecins défailent en ma vboutique, soient simples ou composez, que je n'en substitueray point, et que je ne supposeray point un qui pro quo sans le conseil des médecins; que s'il se présente quelque doutte en l'intelligence en dispensation des remèdes, je me retireray à eux, afin qu'ils s'expliquent et ordonnent ce qu'il faut faire,

Item, je jure que je ne bailleray point aux filles des médicaments provoquant les mois, ny aux femmes les abortifs, ny ne permettray que les autres les baillent sans conseil des médecins, soubz mesme peine,

Item, je jure que je vivray en paix avec mes compagnons et maistres de l'art, et que je ne débaucheray point ny leurs serviteurs, ny ceux qui travaillent pour eux,

Item, je jure que je traiterai humainement les apprentis et serviteurs de boutique, et les enseignerai fidèlement,

Item, je jure que je serai libéral envers les pauvres et que je n'exigerai rien de mes débiteurs, que selon conscience et serai content de mon salaire.

Serment des Apothicaires de Saint-Quentin (1639)

Je déclare ouvertement de vénérer le Créateur de toutes choses, Dieu un en sa trinité et je promets d'observer tout ce qui suit :

- De vivre et de mourir dans la foi chrétienne,
- De vénérer les parents,
- De rendre aux médecins et aux maîtres pour leurs soins l'obéissance qui leur est due,
- De ne jamais offenser publiquement les plus anciens maîtres de notre communauté ni aucuns autres.
- De servir vaillamment pour l'honneur de notre Art,
- De ne pas révéler ses secrets,
- De n'entreprendre aucune action et de ne donner aucun conseil seulement dans l'intérêt du gain,
- De ne pas donner de remèdes purgatifs sans le consentement du médecin, même dans les cas sérieux,
- De ne s'approcher jamais des parties naturelles si ce n'est pour des soins médicaux,
- De ne donner jamais de médicaments qui contribuent à la honte,
- De ne révéler les secrets de personne,
- De ne vendre à personne des poisons et de ne conseiller à personne de les donner même à un ennemi,
- De ne pas préparer de remèdes abortifs sans l'ordre du médecin,
- De ne rien changer aux prescriptions des médecins,
- De ne pas substituer une drogue par une autre sans demander le conseil d'un médecin,
- De condamner les pratiques nuisibles des empiriques,
- De ne refuser le secours à personne,
- De ne pas conserver dans l'officine des drogues abîmées et nuisibles,

Et que le secours divin vienne en aide dans cette promesse et cette activité.

Remerciements

Ayant déjà effectué de nombreux remerciements dans ma thèse de sciences (que je vous conseille de lire) et pour éviter de ne pas être redondant, je serai plus bref et me concentrerai sur les personnes ayant contribué à ma réussite pour devenir pharmacien.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mon directeur de thèse, Christophe Rochais, et au directeur du CERMN, Patrick Dallemagne. Je les remercie d'avoir pris le risque de m'accueillir dans leur équipe de recherche alors que je n'avais aucune expérience en chimie thérapeutique. On peut le dire, grâce à eux, Cédric et Julien, j'ai tout appris de la vie dans un laboratoire de chimie. Leurs cours de chimie organique et chimie thérapeutique m'ont permis de développer ma passion dans le domaine de la chimie reliée à la santé.

Je remercie très chaleureusement Vincent Cattoir pour m'avoir accueilli dans son laboratoire de microbiologie qui allie clinique et recherche. Ce premier vrai stage de recherche m'a permis d'apprendre toutes les bases et les qualités à avoir pour être un bon chercheur.

Pendant mes années, j'ai aussi pu découvrir deux personnes formidables de l'équipe de pharmacognosie, Valérie Collot et Silvia Stiebing, qui ont dû malheureusement se souvenir de ma maladresse.

Je n'oublierai pas de nommer Frédéric Fabis qui est le premier à m'avoir appris les bases de la chimie organique, lors de ses fameux cours en première année, ni Charline Kieffer pour ses conseils, vis-à-vis des posters, présentations orales et sur l'enseignement.

Plus récemment j'ai rencontré une équipe formidable appelée équipe K. Bien qu'elle soit à Toulouse, elle est dirigée par un Normand, le Pierre Verhaeghe. Je le remercie particulièrement d'avoir cru en moi et de m'avoir pris dans son équipe. Ses conseils avisés aussi bien sur le plan pédagogique que sur le plan de la recherche m'ont permis de d'apprendre énormément de chose sur l'enseignement dans le milieu universitaire. Je n'omettrai pas Tiffany (ppiiizzzzzaaaaa) et Antoine les deux doctorants, ni Jean-Luc (pour ses bons jeux de mots), Emmanuelle, Geneviève et Jean.

Je remercie aussi toute l'équipe de la Pharmacie du Dauphin avec qui j'ai travaillé 7 ans : Mme Colin, Christelle, Mélissa et Amandine.

Merci à tous les amis, doctorants, professeurs, maitres de conférences, biatss, que j'ai pu rencontrer au cours de ces 13 années (je ne peux pas reciter tout me monde, je l'ai déjà fait

précédemment), car si une thèse est une réussite personnelle, elle est impossible sans un soutien collectif.

Je tenais aussi à remercier Pierre Vignet et Philippe Brodin, mes compères pharmaciens que j'ai rencontré en fin de seconde année, avec chacun son caractère, ses qualités et ses défauts 😊. Combien de fous rires a-t-on pu avoir en cours (quand vous veniez), en tp (particulièrement en galénique) et en dehors. Qui aurait dit que je serai le second à passer ma thèse. Pierre si tu attends encore un peu, Philippe et moi pourrons être dans ton jury.

Je vais donc finir par mes meilleurs amis rencontrés au lycée : Jo et Ben, toujours présents dans les bons et les mauvais moments (surtout en début de seconde année), avec qui j'ai évolué pendant toutes mes années à Caen. (Ne pas oublier Aurélien, Bérénice, Victor, Rahma, Arnaud, Virginie et Vincent).

Comme on dit : le meilleur pour la fin avec une note spéciale pour Reynald rencontré vers la fin de mes études. Reynald est l'une des meilleures découvertes de ses dernières années. D'abord collègue, nous avons tenté une colocation (dont j'avais un peu peur au début) qui a très bien fonctionné (mis à part quelques histoires de mcdo dont je m'excuse, de méduse ...). Un peu dans ton monde quand tu joues (surtout avec ton téléphone), ton caractère, ta bonne humeur et tes conseils avisés (pas toujours très subtils), m'ont permis d'avoir toujours la forme même quand cela n'allait pas.

Je terminerai bien évidemment par remercier mes parents pour m'avoir donné le privilège de faire ce que je souhaitais et de poursuivre mes études jusqu'à aujourd'hui. Je vous remercie pour tout ce vous avez fait. Même si seulement toi Maman pourra me voir finir, j'espère que vous serez toujours fiers de moi.

Table des matières

Abréviations	1
Avant-propos	5
Chapitre 1. Promédicaments	7
1. Promédicament : définition et généralités	9
1.1. Définition	9
1.2. Rétrospective historique	9
1.3. Généralités	10
2. Classification par mécanisme de bioconversion	11
2.1. Bioprécurseurs	11
2.1.1. Définition	11
2.1.2. Exemple : Clopidogrel – PLAVIX	12
2.2. Promédicaments transporteurs	12
2.2.1. Définition	12
2.2.2. Propriétés des promédicaments à transporteurs	13
2.2.3. Exemple : Phosphate de clindamycine - DALACINE	13
2.2.4. Catégories particulières de promédicaments à transporteur	14
2.2.4.1. Self-immolative linker ou espaceur auto-immolable	14
2.2.4.2. Co-médicament, co-drogue ou prodrogue mutuelle	15
3. Classification par site de conversion	16
3.1. Type I : Intracellulaire	16
3.2. Type II : Extracellulaire	16
3.3. Type Mixte	17
4. Classification par fonction chimique	17
4.1. Esters d'acides	17
4.2. Carbamates	18
4.3. Esters de phosphate	18
4.4. Acides aminés	19
5. Utilité des promédicaments	20
5.1. Modification de l'hydrosolubilité	20
5.2. Amélioration l'absorption gastro-intestinale	20
5.3. Amélioration de la perméabilité membranaire	20
5.4. Amélioration de la demi-vie	21
5.5. Masquer la toxicité médicamenteuse et réduire les effets secondaires	21
5.6. Amélioration du ciblage	22
5.7. Agents dormants	23

Chapitre 2. Le groupement carbamate dans la conception de promédicaments _____ 25

1. Le groupement carbamate _____ 27

2. Promédicaments à carbamate _____ 29

2.1. Groupement carbamate comme promédicament _____ 29

2.1.1. Bioconversion par hydrolyse _____ 29

2.1.2. Par réarrangement _____ 30

2.1.2.1. Réactions d'éliminations _____ 30

2.1.2.2. Réactions de cyclisation _____ 31

2.1.2.3. Réactions d'élimination/cyclisation ou cyclisation/élimination _____ 31

2.1.3. ADAPT ou Antibody-directed enzyme prodrug therapy _____ 33

2.2. Promédicaments à carbamates sur le marché du médicament Français et Américain _____ 34

2.2.1. Chlorhydrate de Bambutérol – OXEOL _____ 34

2.2.2. Capécitabine – XELODA _____ 34

2.2.3. Ceftobiprole médocaril sodique – MABELIO _____ 35

2.2.4. Irinotécan chlorhydrate trihydraté – CAMPTO _____ 36

2.2.5. Enacarbile Gabapentine– HORIZANTY _____ 37

2.2.6. Sulfate d'Isavuconazonium – CRESEMBA (USA) _____ 38

2.3. Promédicaments et essais cliniques _____ 40

2.3.1. Amélubant / BIIL 284 _____ 40

2.3.2. Placarbil d'arbaclofène _____ 41

2.3.3. KP-14-61 _____ 42

2.3.4. Lefradafiban _____ 42

2.4. Promédicaments récemment décrits dans la littérature _____ 43

2.4.1. Antalgiques _____ 43

2.4.2. Antibiotiques _____ 44

2.4.2.1. Double promédicament d'un analogue inverse de la fosmidomycine _____ 44

2.4.2.2. Promédicament du SQ109 _____ 45

2.4.2.3. Promédicament activé par hypoxie _____ 46

2.4.2.4. Promédicament du triclosan : bioconversion déclenché par la tétrazine _____ 46

2.5. Anticancéreux _____ 48

2.5.1.1. Conjugaison d'indoles à des anticorps grâce à un nouveau liant auto-immolant _____ 48

2.5.1.2. Promédicament self-immolative linker composé d'une proline _____ 49

3. Quand le mécanisme de bioconversion devient une cible thérapeutique _____ 50

Chapitre 3. Application à la maladie d'Alzheimer : synthèse d'un promédicament pléiotrope _____ 53

1. Maladie d'Alzheimer et traitement _____ 55

1.1. Généralités _____ 55

1.2. Système cholinergique et cholinestérases _____ 56

1.2.1. Description	56
1.2.2. Les inhibiteurs covalents des cholinestérases	60
1.2.2.1. Cinétique enzymatique et équation de Michaelis-Menten	60
1.2.2.2. Inhibiteur compétitif	61
1.2.2.3. Inhibition mixte	62
1.2.2.4. Rivastigmine	62
1.3. Ligands multicibles ou MTDL	64
1.4. Ligands pléiotropes développés au CERMN	65
2. Nouveau concept	66
2.1. Description du concept	66
2.2. Ladostigil	66
2.3. Objectif du projet	68
3. Développement d'un médicament pléiotrope	69
3.1. Analyse <i>in silico</i>	69
3.2. Accès synthétiques des dérivés carbamates et phénoliques	71
3.2.1. Voie de synthèse des précurseurs RS-pipéridine-Boc	71
3.2.1.1. Iodométhylpipéridine protégée	71
3.2.1.2. Synthèse du précurseur cétone, boc protégé	72
3.2.2. Synthèse des précurseurs carbamoylé et phénolique	72
3.2.2.1. Synthèse des précurseurs carbamoylés	72
3.2.2.2. Synthèse des précurseurs phénoliques	73
3.2.3. Voie de synthèse des produits finaux carbamate et des dérivés phénoliques	73
3.3. Résultats <i>in vitro</i>	74
3.3.1. Evaluation biologique <i>in vitro</i> AChE/5-HT ₄ R/5-HT ₆ R	74
3.3.2. Parallel Artificial Membrane Permeability Assay – PAMPA	76
3.3.3. Profils 5-HT ₄ R et 5-HT ₆ R	77
3.3.4. Evaluation de la décarbamoylation du composé 21 en présence d'eelAChE	78
3.4. Résultats <i>in vivo</i>	80
3.4.1. Description des différents tests	81
3.4.1.1. Screening pharmacologique et analyse de la toxicité	81
3.4.1.2. Activité locomotrice spontanée	81
3.4.1.3. Mémoire de travail : alternance spontanée	82
3.4.2. Résultats <i>in vivo</i>	83
3.4.2.1. Toxicologie Aiguë	83
3.4.2.2. Activité locomotrice spontanée	83
3.4.2.3. Mémoire de travail : alternance spontanée	84
3.4.3. Conclusion	85
4. Conclusion	86
Conclusion – Perspectives	87

Partie Expérimentale	91
1. General experimental conditions	93
2. In silico studies	94
3. Chemistry	94
3.1. General procedures	94
3.2. Synthesis of compounds	96
4. In vitro biological studies	104
4.1. In vitro tests of AChE and BuChE biological activity	104
4.2. Pharmacological characterization of drugs on human 5-HT ₄ R	105
4.3. Kinetic Study for ChE Inhibition	105
4.4. Parallel Artificial Membrane Permeability Assay	105
4.5. Determination of cAMP production	106
4.6. AChE dependent decarbamylation	106
5. In vivo studies	107
5.1. Animals	107
5.2. CNS-activity and acute toxicity test	108
5.3. Locomotor activity	108
5.4. Spatial working memory	108
5.5. Pharmacological treatments	108
5.6. Statistical analysis	109
Bibliographie	111

Liste des Figures, Schémas et Tableaux

Liste des Figures

Figure 1. Illustration des deux classes de promédicaments : bioprécurseur ou prodrogues à transporteur. ¹⁰	11
Figure 2. Description schématique de la dégradation d'un ligand auto-immolable.	14
Figure 3. Représentation schématique du fonctionnement des co-médicaments. ²⁵	15
Figure 4. Inhibition de la synthèse de la paroi mycobactérienne par l'action de l'isoniazide. ⁴²	23
Figure 5. Témoporfine, promédicament utilisé en thérapie photodynamique.	23
Figure 6. Structures de résonance de la fonction carbamate.	27
Figure 7. Conformations syn et anti des carbamates.	28
Figure 8. Formes mésomères du phénate après décarbamoylation.	30
Figure 9. Représentation schématique du principe d'ADEPT. ⁶³	33
Figure 10. Stratégie ADAPT libérant un agent alkylant par dégradation de la liaison carbamate. ³⁶	33
Figure 11. Synthèse de l'ACh et transmission cholinergique ¹⁴⁴	56
Figure 12. Mécanisme de l'hydrolyse de l'ACh, catalysé par la AChE(Tc) ; A. Décarboxylation de l'ACh et carboxylation réversible de la Ser200 ; B. Hydrolyse de la Ser200 et libération de choline et d'acide acétique. ^{54,145}	58
Figure 13. Représentation schématique de l'AChE(Tc) (code PDB : 1EVE) décrivant divers sites de liaison actifs et leurs résidus d'acides aminés. Plusieurs sites actifs d'AChE sont colorés avec des bulles : CAS en rouge ; PAS en bleu ; Sous-site anionique en vert ; Trou oxydant en violet ; Poche de fixation Acyl en orange. ¹⁴⁴	59
Figure 14. Représentation d'un neurone ayant des altérations dans la maladie d'Alzheimer. (1) réduction de l'innervation cholinergique corticale ; (2) neurotransmission glutamatergique corticocorticale réduite due à une perte de neurone ou de synapse ; (3) couplage réduit des récepteurs muscariniques M1 ; (4) passage de tau à l'état hyperphosphorylé ; (5) réduction de la sécrétion de sAPP α ; (6) augmentation de la production de A β ; (7) diminution de la production de glutamate. mAChR = récepteurs muscariniques de l'ACh ; nAChR = récepteurs nicotiniques de l'ACh. Glu = glutamate. ^{142,148,149,150}	59
Figure 15. Structure des inhibiteurs réversibles n'interagissant pas par liaison covalente avec l'AChE.	60
Figure 16. Représentation de la loi de Michaelis-Menten, montrant la vitesse initiale de la réaction en fonction de la concentration initiale en substrat [S].	61
Figure 17. Représentation de Michaelis-Menten d'un inhibiteur compétitif. Courbe 1 : pas d'inhibiteur ; courbe 2 : inhibiteur.	61
Figure 18. Représentation de Lineweaver-Burk d'un inhibiteur compétitif. Courbe 1 : pas d'inhibiteur ; courbe 2 et 3 : inhibiteur à 2 concentrations différentes.	62
Figure 19. Représentation de Lineweaver-Burk d'un inhibiteur mixte.	62
Figure 20. Analogie entre l'acétylcholine et la rivastigmine.	62
Figure 21. Cristaux de l'ACh (A) et de la rivastigmine (B), tirés de la bibliothèque PubChem. ^{155,156}	63
Figure 22. Mécanisme d'action de la rivastigmine sur AChE(Tc). ⁵⁴	63
Figure 23. Approche classique et MTDL. ¹⁶⁴	64
Figure 24. Conception et métabolisation du Ladostigil. ¹⁷²	67

Figure 25. (A) : Mécanisme d'action de la rivastigmine ; (B) : Mécanisme générale des promédicaments pléiotropes inhibitrices des cholinestérases. _____	68
Figure 26. Analyse <i>in silico</i> du composé 1 . Position du donépézil à partir de la structure de rayon X (A) par rapport à 56 positionné dans les sites de liaison hAChE en utilisant les études de docking, groupe 1 (B) et groupe 2 (C). Le composé et les chaînes latérales des résidus sélectionnés du site de liaison sont représentés en bâtonnet et la protéine en ruban. Cette figure a été réalisée avec PyMOL (DeLano Scientific, 2002, San Carlo, États-Unis). _____	71
Figure 27. Représentation Lineweaver-Buck de la cinétique d'inhibition montrant que 21 agit comme un inhibiteur mixte de l'AChE (A) et 22 comme un inhibiteur non-compétitif de l'AChE (B). _____	76
Figure 28. Profils pharmacologiques de 22 , RS67333 et Idalopirdine. (A) : activité agoniste vis-à-vis des 5-HT ₂ R _(α) (h) ; (B) : activité antagoniste vis-à-vis des 5-HT ₆ R(h). _____	77
Figure 29. Décarbamoxylation de 21 par l'AChE(ee) ; (A) : 21 (5 μM) et 22 (5 μM) sans AChE(ee) ; (B) : 22 sans AChE(ee) (contrôle négatif). (C) : 21 (5 μM) en présence de 250 U/mL d'AChE (ee) ; λ = 330 nm, incubation 25°C, 18 h. _____	80
Figure 30. Protocole de screening pharmacologique et d'évaluation de la toxicité aiguë. _____	81
Figure 31. Protocole de l'évaluation de l'activité locomotrice. _____	81
Figure 32. Structure de la scopolamine et de MK801. _____	82
Figure 33. Protocole d'analyse de la mémoire de travail avec un déficit induit par scopolamine ou MK801. _____	83
Figure 34. Effet de 21 et 22 sur l'activité locomotrice spontanée. Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type (n = 8). Les médicaments ont été administrés par voie IP 30 minutes avant le test comportemental. Composés 21 et 22 : 1–3–10 mg/kg ; Chlorpromazine CPZ : 3 mg/kg (***) p < 0,05 NaCl, test SNK). _____	84
Figure 35. Effet de 21 et 22 sur la déficience induite par la scopolamine au cours du test de la réversion de l'alternance spontanée. Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type (n = 8). Les médicaments ont été administrés en IP 30 minutes avant le test et la scopolamine a été administrée en SC 20 minutes avant le test. Composés 21 et 22 : 1–3–10 mg/kg ; Scopolamine : 0,5 mg/kg. (* p < 0,5 ** p < 0,01 *** p < 0,001, test t univarié). _____	84
Figure 36. Effet de 21 et 22 sur la déficience induite par la scopolamine au cours du test de la réversion de l'alternance spontanée. Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type (n = 8). Les médicaments ont été administrés en IP 30 minutes avant le test et la scopolamine a été administrée en SC 20 minutes avant le test. Composés 21 et 22 : 1–3–10 mg/kg ; MK801 : 0,1 mg/kg. (* p < 0,5 ** p < 0,01 *** p < 0,001, test t univarié). _____	85
Figure 37. Structures d'intérêts dans la MA possédant une benzylamine. _____	90

Liste des Schémas

Schéma 1. Premiers promédicaments. _____	10
Schéma 2. Bioactivation du clopidogrel. ¹³ _____	12
Schéma 3. Fosampnénavir, promédicament à transporteur de l'amprénavir. _____	14
Schéma 4. Sulfasalazine, co-drogue. _____	15
Schéma 5. Enalapril, promédicament de l'énalaprilate. _____	18
Schéma 6. Phosphate de clindamycine, promédicament de la clindamycine. _____	19
Schéma 7. L-dopa, promédicament de la dopamine. _____	19

Schéma 8. Valaciclovir, promédicament de l'aciclovir. _____	20
Schéma 9. Pyrazinamide, promédicament de l'acide pyrazinoïque. _____	21
Schéma 10. Décanoate d'halopéridol, promédicament de l'halopéridol _____	21
Schéma 11. Cyclophosphamide, promédicament d'agents alkylants. _____	22
Schéma 12. Mécanisme d'action de l'isoniazide. A : activation du promédicament ; B : Formation du complexe INH-NADH. ⁴³ _____	22
Schéma 13. Prodrogues à carbamate : A. protection d'alcool ou de phénol ; B. protection d'amine. _____	30
Schéma 14. Réactions d'élimination des ligands autoimmolables : A. élimination 1,4 ; B. élimination 1,6 _____	30
Schéma 15. Réaction d'éliminations des ligands auto-immolables. ²² _____	31
Schéma 16. Exemple de réaction de cyclisation par libération de composé anticancéreux. ²² _____	31
Schéma 17. Réaction d'élimination 1,6, suivie d'une cyclisation libérant du paclitaxel. ⁵⁸ _____	31
Schéma 18. Réaction de cyclisation suivie d'une élimination permettant la libération de doxorubicine. ²² _____	32
Schéma 19. Cascade d'élimination suivant la publication Blencowe et al. ⁵⁷ _____	32
Schéma 20. Structure chimique du bambutérol et sa conversion enzymatique en terbutaline. _____	34
Schéma 21. Structure chimique de la capécitabine et sa conversion enzymatique en 5-FU. _____	35
Schéma 22. Structure chimique du médocaril de ceftobirpôle et sa conversion enzymatique en ceftobiprole. _____	36
Schéma 23. Structure chimique de l'irinotécan et sa conversion enzymatique en SN-38. _____	36
Schéma 24. Voies métaboliques de l'irinotécan. ⁷³ _____	37
Schéma 25. Structure chimique de l'énacarbil de gabapentine et sa conversion enzymatique en gabapentine. ⁷⁶ _____	37
_____	37
Schéma 26. Hydrolyse des carbamates d'acyloxyalkyle. ⁷⁷ _____	38
Schéma 27. Structure chimique du sulfate d'isavuconazonium et sa conversion enzymatique en isavuconazole. ³⁸	38
Schéma 28. Bioconversion de l'isavuconazonium en isavuconazole. ² _____	39
Schéma 29. Structure chimique de l'amélubant et sa conversion enzymatique en BIIL 260 et BIIL 315. _____	40
Schéma 30. Structure chimique du placarbil d'abaclofène en R-baclofène. _____	41
Schéma 31. Structure chimique de KP-1461 et sa conversion enzymatique en KP-1212. _____	42
Schéma 32. Structure chimique du lefrabafiban et sa conversion enzymatique en fradafiban. _____	43
Schéma 33. Mécanisme de bioconversion du promédicament carbamate-tapentadol via le métabolisme par les enzymes CYP du foie suivi de la libération de tapentadol dans le plasma. ¹⁰⁴ _____	44
Schéma 34. Double promédicament analogue de la fosmidomycine. _____	45
Schéma 35. Promédicament de SQ109. _____	46
Schéma 36. Bioconversion par hypoxie (condition hypoxie mimée ici par du chlorure d'étain). ¹¹⁵ _____	46
Schéma 37. Promédicament du triclosan. ¹¹⁸ _____	46
Schéma 38. Mécanisme réactionnelle d'activation d'une prodrogue TCO-carbamate grâce à la térazine. ¹¹⁸ _____	47
Schéma 39. Prévision de la libération et de l'activation d'un anticorps conjugué au médicament (ADC) sur une tumeur, permise par la nouvelle réaction d'élimination basée sur DA-inv. ¹²⁰ _____	48
Schéma 40. Promédicament donc le groupement carbamate sert de liant entre un espaceur et un effecteur composé d'un indole. ¹²¹ _____	48
Schéma 41. Mécanisme de bioconversion par cyclisation de différents espaceurs : EthCar ou dérivé de proline. ¹²² _____	49
_____	49

Schéma 42. Bioconversion par cyclisation de dérivé de la proline. ¹²²	49
Schéma 43. Equation d'Inhibition réversible	60
Schéma 44. Inhibition compétitive.	61
Schéma 45. Structure du donépézil, RS67333, donécopride et MR33327.	65
Schéma 46. Promédicament IACHe et agoniste des 5-HT ₄ R.	69
Schéma 47. Synthèse du iodométhylpipéridine protégée 7 .	71
Schéma 48. Synthèse du précurseur 9 .	72
Schéma 49. Synthèse des précurseurs carbamoylés 14 et 15 .	72
Schéma 50. Synthèse du précurseur 16 .	73
Schéma 51. Synthèse du précurseur 19 .	73
Schéma 52. Synthèse des composés 1 , 2 , 3 et 20 .	74
Schéma 53. Déprotection du composé 20 .	74
Schéma 54. Synthèse des fumarate 21 et 22 .	74

Liste des Tableaux

Tableau 1. Résumé de la classification des prodrogues par site de bioconversion. ²⁶	17
Tableau 2. IC ₅₀ AChE, MAO-A et MAO-B de la rivastigmine, rasagiline, ladostigil et de la 6-hydroxyrasagiline. ¹⁷⁴	67
Tableau 3. Activité inhibitrice sur la hAChE (% inhibition ou IC ₅₀), affinité sur les 5-HT ₄ R et les 5-HT ₆ R (% inhibition ou K _i).	75
Tableau 4. LogPe représentent les résultats du coefficient de perméabilité effective PAMPA de 21 et 22 .	77
Tableau 5. Profils pharmacologiques sur 5-HT ₄ R et/ou 5-HT ₆ R de RS67333 , Idalopirdine, 55 et 56 . 5-HT et SB271046 sont respectivement utilisés comme témoins agoniste des 5-HT ₄ R et antagoniste des 5-HT ₆ R.	78
Tableau 6. Conditions expérimentales de décarbamoylation de la rivastigmine et de 21 .	79
Tableau 7. Propriétés pharmacologique et toxicologique de 21 et 22 .	83
Tableau 8. Résumé des évaluations in vivo de 21 et 22 .	85
Tableau 9. Gradient conditions	107
Tableau 10. HPLC conditions	107

Abréviations

5-FU	5-fluorouracile
5-HT	Sérotonine
5-HTR	Récepteurs Sérotoninergique
5-HTXR	Récepteurs Sérotoninergique X
A β	Béta-amyloïde
ACh	Acétylcholine
AChE	Acétylcholinestérase
ACN	Acétonitrile
AcOH	Acide Acétique
ADEPT	<i>Antibody directed enzyme prodrug therapy</i>
ADME	Absorption, Distribution, Métabolisation et Elimination
ADN	Acide désoxyribonucléique
AICD	APP intracellulaire
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
AMPc	Adénosine Monophosphate Cyclique
APP	Protéine Précurseur de l'Amyloïde
ATC	Acétylthiocholine
ATP	Adénosine Triphosphate
BACE1	<i>Beta-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1</i>
BAIB	<i>[bis(acétoxy)-iodo]benzene</i>
BBB	<i>Blood-Brain Barrier</i>
BHE	Barrière Hémato-Encéphalique
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbone
Boc ₂ O	di- <i>tert</i> -butyl dicarbonate
BuChE	Butyrylcholinestérase
CAS	Site catalytique anionique
CCDC	Centre de Données Cristallographiques de Cambridge
CERMN	Centre d'Etudes et de Recherche sur le Médicament de Normandie
CES	Carboxylestérases
ChAT	Choline acétyltransférase
ChE	Cholinestérase
CHX	Cyclohexane
CNS	<i>Central Nervous System</i>
Cox	Cyclooxygénase
CTF α	<i>C-Terminal Fragment α</i>
CTZ	<i>Chimoreceptive Trigger Zone</i>
Cu(OAc) ₂	<i>Copper(II) acetate</i>
DEAD	Azodicarboxylate de diéthyle
DL ₅₀	Dose létale médiane
DCM	Dichlorométhane
DIAD	Azodicarboxylate de diisopropyle
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropyléthylamine
DMAP	4-Diméthylaminopyridine

DMF	Diméthylformamide
DPZ	Donépézil
E	Enzyme
EDCI	1-éthyl-3-(3-diméthyl aminopropyl)carbodiimide
(eel)	<i>Electrophorus electricus</i>
(eq)	Equine
ESI	<i>Electrospray ionisation</i>
Et ₃ N	Triéthylamine
Et ₂ O	Diéthylether
EtOAc	Acétate d'éthyle
EtOH	Ethanol
FDA	Food and Drug Administration
GDEPT	<i>Gene directed enzyme prodrug therapy</i>
GDP	Guanosine Diphosphate
Glu	Glutamate
GMPC	Guanosine Monophosphate Cyclique
GSH	Forme réduite du glutathion
GTP	Guanosine Triphosphate
(h)	Humaine
HPLC	<i>High-Performance Liquid Chromatography</i>
HRMS	<i>High Resolution Mass Spectrometry</i>
HOBT	Hydroxybenzotriazole
HYD	Site Hydrophobe
I	Inhibiteur
IACHe	Inhibiteur de l'Acétylcholinestérase
IBuChE	Inhibiteur de la Butyrylcholinestérase
IC ₅₀	Concentration Inhibitrice médiane
IGF	Institut de Génomique Fonctionnelle
IMAO	Inhibiteur de la Monoamine Oxydase
IP	Intrapéritonéale
iPrOH	Isopropanol
IR	Infrarouge
K _D	Constante de Dissociation
K _i	Constante d'Affinité
K _m	Constante de Michaelis
LAH	Lithium aluminium hydride
LC	<i>Liquid chromatography</i>
LCMS	<i>Liquid chromatography-mass spectrometry</i>
LD ₅₀	Dose Létale Médiane
LSD	Diéthyllysergamide
MA	Maladie d'Alzheimer
MAO	Monoamine Oxydase

MeOD	Méthanol deutéré
MeOH	Méthanol
MK801	Dizocilpine
MMC	<i>Multiple-Compound Medication</i>
MMT	<i>Multiple-Medication Therapy</i>
M.p.	<i>Melting point</i>
MS	<i>Mass spectrometry</i>
MTBE	Méthyl tert-butyl éther
MTDL	<i>Multi Target Directed Ligand</i>
NaBH(OAc) ₃	Triacétoxyborohydrure de sodium
nAChR	Récepteurs nicotiniques de l'ACh
NADPH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NFTs	<i>Neurofibrillary Tangles</i>
NIS	<i>N-Iodosuccinimide</i>
NMDA	<i>N-méthyl-D-aspartate</i>
P	Produit
p.	Page
PAMPA	<i>Parallel Artificial Membrane Permeability Assay</i>
PAS	Site Anionique Périphérique
PdC	Palladacycle
Phe	Phénylalanine
PI	Ionisable Positif
pKA	Constante d'acidité
PSEN	Présénilines
ptau	Hyperphosphorylation de tau
QSAR	Relation Quantitative Structure Activité
Réf	Référence
RCPG	Récepteurs Couplés aux Protéines G
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
RIV	Rivastigmine
RSA	Relation Structure Activité
rt	Room temperature.
S	Substrat
sAPP α	soluble Amyloid Precursor Proteine α
Ser	Sérine
SCOP	Scopolamine
TA	Température ambiante
TAC	Tacrine
TCO	Trans-cyclooctène
(Tc)	<i>Torpedo californica</i>
TFA	Acide Trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofurane
TLC	<i>Thin Layer Chromatography</i>

t_R	Temps de rétention
Trp	Tryptophane
Tyr	Tyrosine
UPLC	<i>Ultra performance liquid chromatography</i>
VDEPT	<i>Virus directed enzyme prodrug therapy</i>

Avant-propos

Mes travaux de thèse présentés ici sont le fruit d'un travail bibliographique et d'un travail expérimental réalisés au Centre d'Études et de Recherche sur le Médicament de Normandie (CERMN), sous la direction du Professeur Christophe Rochais.

Pharmacien de formation, j'ai passé le concours de l'internat pour être nommé interne en innovation pharmaceutique et recherche dans la région Nord-Ouest. J'ai réalisé mes deux premiers semestres dans le Groupe Hospitalier Public du Sud de l'Oise de Creil et au Centre Hospitalo-universitaire d'Amiens. Ma formation a été complétée par un diplôme de Master 2 Drug Design et par un stage de 4 ans en chimie thérapeutique au CERMN.

Le CERMN, rattaché à l'Université de Caen Normandie et dirigé par le Pr Patrick Dallemagne, est une unité de recherche orientée vers le *drug design*. Les axes de recherche actuellement développés sont la cancérologie et les neurosciences, avec comme programmes scientifiques prioritaires la polypharmacologie, les interactions protéine-protéine et les outils chimiques pour le diagnostic et l'imagerie. Mon projet de recherche s'insère principalement dans le domaine de la chimie organique et médicinale, plus précisément dans la thématique polypharmacologie.

Le nombre de nouvelles molécules pléiotropes croît de façon exponentielle depuis de nombreuses années, mais très peu arrivent en phase d'essais cliniques. Dans le but d'obtenir des molécules actives en clinique, nous nous sommes intéressés aux principes des promédicaments afin de former des molécules polyactives ayant de bonnes propriétés ADME (administration, distribution, métabolisation et élimination), permettant d'augmenter l'efficacité de ces molécules et de diminuer les effets secondaires. Cette efficacité est couplée à la synergie d'actions des effets induits par la pléiotropie de ces molécules.

Ce manuscrit sera ainsi divisé en 3 parties : la première présentera le concept de promédicament. La seconde décrira plus spécifiquement le groupement carbamate ainsi que quelques exemple de promédicaments possédant cette fonction chimique. Le dernier chapitre a pour but de mettre en application les différents concepts de promédicament et de la fonction carbamate décrits dans les deux chapitres précédents. Ils sont liés à un travail expérimental qui a fait l'objet d'une publication scientifique dans la revue *Molecules* en 2019.¹

¹ Toublert, F.-X.; Lecoutey, C.; Lalut, J.; Hatat, B.; Davis, A.; Since, M.; Corvaisier, S.; Freret, T.; Sopkova de Oliveira Santos, J.; Claeysen, S.; *et al.* *Molecules* **2019**, *24* (15), 2786.

Chapitre 1. Promédicaments

1. Promédicament : définition et généralités

1.1. Définition

Les promédicaments (ou prodrogues) sont des dérivés inactifs d'agents pharmacologiquement actifs, qui doivent subir une transformation enzymatique et / ou chimique pour libérer la substance active, qui peut alors exercer l'effet pharmacologique désiré.²

1.2. Rétrospective historique

Le terme a été employé pour la première fois par Adrien Albert en 1958.³ L'auteur a d'ailleurs par la suite regretté ce nom, expliquant que le terme de « pré-drogue » aurait été plus approprié. En fait, sans le savoir, les premiers promédicaments ont été synthétisés à la fin du XIX^{ème} siècle.

Les deux premières prodrogues connues sont l'acétanilide et la phénacétine (découvertes respectivement en 1886 et 1887). Ces deux molécules sont deux promédicaments du paracétamol. L'une est activée par hydroxylation aromatique et l'autre via une O-désalkylation (Schéma 1.A).⁴ Un autre promédicament très connu a été développé en 1899 : la méthénamine. Cet antibactérien des voies urinaires est une hexamine qui va être biotransformée en ammoniac et en formaldéhyde (Schéma 1.B).⁵

Pour finir sur cette petite partie historique, nous devons parler d'un des médicaments les plus connus : l'aspirine (Schéma 1.C). Dans le cas de cette molécule, la qualification de promédicament fait débat. En effet l'aspirine inhibe irréversiblement la cyclooxygénase (cox) en acétylant un groupe hydroxyle d'une sérine dans le site actif de l'enzyme. À l'inverse l'acide salicylique est un faible inhibiteur réversible de la cox. À cet égard, l'aspirine ne peut pas être considérée comme un promédicament.⁶ Cependant, l'aspirine est rapidement hydrolysée dans la paroi intestinale et le foie, ainsi que dans le sang en acide salicylique, ce qui signifie qu'elle agit en fait comme une prodrogue.⁷

² Rautio, J.; Meanwell, N. A.; Di, L.; Hageman, M. J. *Rev. Drug Discov.* **2018**, *17* (8), 559–587.

³ Albert, A. *Nature* **1958**, *182* (4633), 421–423.

⁴ Bertolini, A.; Ferrari, A.; Ottani, A.; Guerzoni, S.; Tacchi, R.; Leone, S. *CNS Drug Rev.* **2006**, *12* (3–4), 250–275.

⁵ Testa, B. *Biochem. Pharmacol.* **2004**, *68* (11), 2097–2106.

⁶ Vane, J. R.; Botting, R. M. *Thromb. Res.* **2003**, *110* (5–6), 255–258.

⁷ Testa, B.; Mayer, J. M. *Hydrolysis in Drug and Prodrug Metabolism: Chemistry, Biochemistry, and Enzymology*, 1st ed.; Verlag Helvetica Chimica Acta, Postfach, CH-8042 Zürich, Switzerland, 2003.

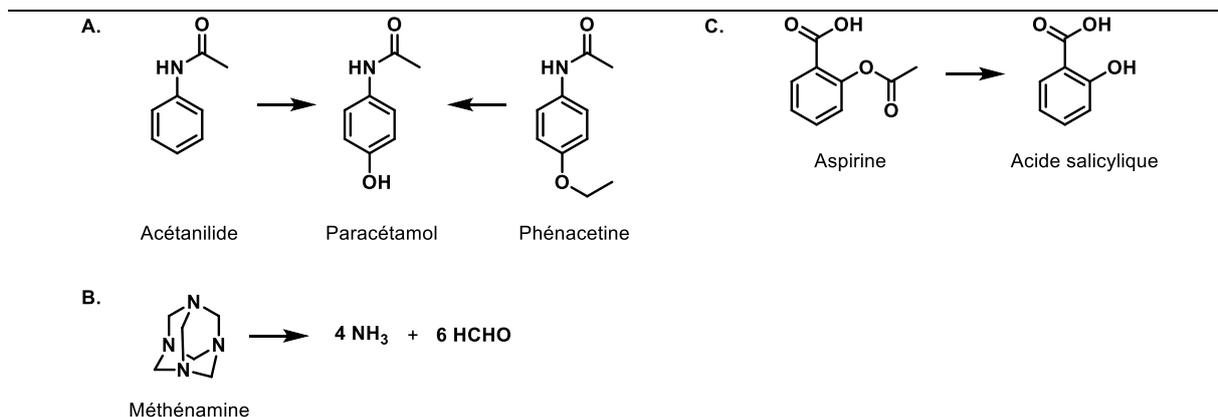


Schéma 1. Premiers promédicaments.

1.3. Généralités

Un principe actif peut parfois présenter des problèmes d'absorption, de distribution, de métabolisation, d'élimination ou de toxicité (ADMET). Pour contourner ces différents obstacles, il a été proposé le concept des prodrogues. Celles-ci permettent par différents moyens (modification d'une fonction chimique par exemple) de changer les caractéristiques physico-chimiques de la substance active. Par la suite, les prodrogues libèrent la molécule ayant une activité thérapeutique. La libération peut être induite soit par une réaction enzymatique par hydrolase, estérase, peptidase, phosphatase ou autre, soit par une transformation chimique, par oxydation ou réduction métabolique, par exemple.

Les objectifs des prodrogues peuvent être d'améliorer l'hydrosolubilité, d'améliorer le passage des barrières telle que la barrière hémato-encéphalique (BHE), d'améliorer la stabilité métabolique, de prolonger l'activité, de diminuer la toxicité des substances actives ou d'améliorer le ciblage.

Comme le fait remarquer Rautio J., plusieurs facteurs sont à considérer dans le développement structural des prodrogues :⁸

- Quels groupes fonctionnels du médicament parent sont susceptibles d'être modifiés ?
- Les modifications chimiques apportées au médicament doivent être réversibles et permettre au promédicament de se transformer en médicament actif par une réaction chimique et / ou enzymatique *in vivo*.
- Le profragment ne devra pas être toxique et doit rapidement être excrété du corps.

⁸ Rautio, J. Prodrugs and Targeted Delivery, Wiley.; Rautio, J., Ed.; Methods and Principles in Medicinal Chemistry; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, 2010.

- Les propriétés d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion (ADME) du médicament parent et du promédicament doivent être connues.
- Les possibles dégradations des sous-produits peuvent affecter à la fois la stabilité chimique et physique qui conduit à la formation de nouveaux produits de dégradation.

Ce concept est en pleine expansion depuis de nombreuses années. Au cours des dix dernières années, la Food and Drug Administration (FDA) a approuvé au moins 30 promédicaments, représentant 12% des nouveaux médicaments à bas poids moléculaires.² De même, les promédicaments représentent environ 10 % de tous les médicaments commercialisés.⁹

Ces prodrogues peuvent être classifiées de plusieurs façons : une classification chimique suivant le mode de bioconversion, une classification suivant le site de bioconversion, une classification suivant la fonction chimique et enfin une classification suivant l'utilité de la prodrogue.

2. Classification par mécanisme de bioconversion

Il existe deux catégories de promédicaments résumés par la Figure 1.

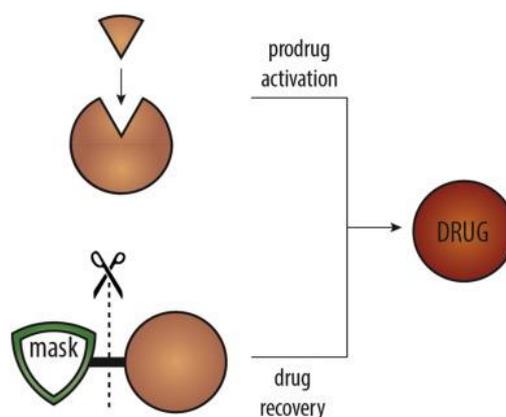


Figure 1. Illustration des deux classes de promédicaments : bioprécurseur ou prodrogues à transporteur.¹⁰

2.1. Bioprécurseurs

2.1.1. Définition

Un bioprécurseur est un promédicament dont la structure de la substance active n'est pas identifiable mais est générée à la suite de réactions biochimiques de transformations de groupements fonctionnels. Plusieurs processus peuvent intervenir, certains bioprécurseurs peuvent subir une réduction, une oxydation,¹¹ une transformation d'un isocyanate en

⁹ Najjar, A.; Karaman, R. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2019**, *16* (1), 1–5.

¹⁰ Walther, R.; Rautio, J.; Zelikin, A. N. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2017**, *118*, 65–77.

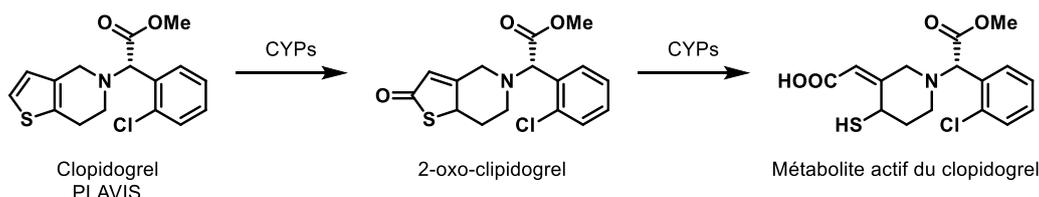
¹¹ Peauger, L.; Azzouz, R.; Gembus, V.; Țințaș, M.-L.; Sopková-de Oliveira Santos, J.; Bohn, P.; Papamicaël, C.; Levacher, V.; Tintas, M.; Santos, S. O.; et al. *J. Med. Chem.* **2017**, *60* (13), 5909–5926.

carbonyle,¹² etc. Dans ce cas de figure, la complexité de la molécule est relativement inchangée alors que l'activité thérapeutique est nettement renforcée. Dans d'autres cas, l'activation va dépendre d'une réaction de conjugaison, augmentant alors la complexité chimique de la molécule (par exemple, activation pas phosphorylation). Ainsi nous pouvons parler d'« activation de promédicament » ou « *prodrug activation* ». ¹⁰

2.1.2. Exemple : Clopidogrel – PLAVIX

Le clopidogrel est une prodrogue de la classe des bioprécurseurs et est un inhibiteur du récepteur plaquettaire P2Y₁₂ activé par l'ADP pour réduire les événements thrombotiques et cardiovasculaires.¹³ Il fait partie, comme la ticlopidone et le prasugrel, de la classe des thiénopyridines.¹⁴

Son activation passe par deux mécanismes de bioconversion grâce à des enzymes du cytochrome (Schéma 2) : une première étape d'oxydation de la position 2 du thiophène, puis une ouverture de celui-ci, permettant d'obtenir le métabolite actif.^{13,15}



*Schéma 2. Bioactivation du clopidogrel.*¹³

2.2. Promédicaments transporteurs

2.2.1. Définition

Les promédicaments à transporteur sont des molécules dont la structure de la substance active est présente et liée à une entité appelée transporteur. La réaction de bioconversion, chimique ou enzymatique, implique l'élimination d'un groupe masquant, souvent par hydrolyse. La complexité moléculaire va diminuer et le transporteur devra bien évidemment ne posséder aucune toxicité après sa libération. Il est à noter que généralement le

¹² Perez, O. D.; Logg, C. R.; Hiraoka, K.; Diago, O.; Burnett, R.; Inagaki, A.; Jolson, D.; Amundson, K.; Buckley, T.; Lohse, D.; *et al. Mol. Ther.* **2012**, *20* (9), 1689–1698.

¹³ Herbert, J. M.; Frehel, D.; Vallee, E.; Kieffer, G.; Gouy, D.; Berger, Y.; Necciari, J.; Defreyn, G.; Maffrand, J. P. *Cardiovasc. Drug Rev.* **1993**, *11* (2), 180–198.

¹⁴ Farid, N. A.; Payne, C. D.; Ernest, C. S.; Li, Y. G.; Winters, K. J.; Salazar, D. E.; Small, D. S. *J. Clin. Pharmacol.* **2008**, *48* (1), 53–59.

¹⁵ Pereillo, J. M.; Maftouh, M.; Andrieu, A.; Uzabiaga, M. F.; Fedeli, O.; Savi, P.; Pascal, M.; Herbert, J. M.; Maffrand, J. P.; Picard, C. *Drug Metab. Dispos.* **2002**, *30* (11), 1288–1295.

transporteur modifie les propriétés physico-chimiques du médicament actif. Ainsi nous pouvons parler de « récupération du médicament » ou de « *drug recovery* ». ¹⁰

Ce mode de prodrogue va particulièrement nous intéresser dans ce travail. Nous verrons donc par la suite quelques groupements fonctionnels très importants. Mais avant cela nous allons déterminer les propriétés indispensables à un bon promédicament à transporteur. De plus il est à noter que les promédicaments à transporteur comprennent plusieurs catégories que nous allons très rapidement décrire. ¹⁶

2.2.2. Propriétés des promédicaments à transporteurs

Comme nous l'avons dit, les promédicaments à transporteur peuvent ainsi être considérés comme des médicaments contenant des groupes protecteurs, non toxiques, utilisés de manière transitoire pour modifier ou éliminer les propriétés indésirables de la molécule mère. ¹⁷ Un promédicament doit posséder différentes caractéristiques : ¹⁸

- Le lien entre la substance médicamenteuse et la fraction de transport est généralement une liaison covalente.
- Normalement, le promédicament est inactif ou moins actif que le composé parent.
- La liaison entre la substance active et le transporteur doit être dégradée *in vivo*.
- Le promédicament ainsi que le transporteur libéré *in vivo* doivent être non toxiques.
- L'apparition de la substance active doit se faire avec une cinétique rapide pour garantir une efficacité optimale au niveau du site d'action et pour ainsi minimiser le métabolisme de la prodrogue et de la substance active.

2.2.3. Exemple : Phosphate de clindamycine - DALACINE

Le foamprénvir (phosphate d'amprénvir) est une prodrogue à transporteur ayant des activités antirétrovirales. Son principe actif, l'amprénvir est libéré la suite d'une hydrolyse du groupement phosphate par des phosphatases alcalines (Schéma 3). ¹⁹

¹⁶ Shah, K.; Gupta, J. K.; Chauhan, N. S.; Upmanyu, N.; Shrivastava, S. K.; Mishra, P. *Open Med. Chem. J.* **2017**, *11* (1), 146–195.

¹⁷ Sinkula, A. A. Prodrugs, Protective Groups and the Medicinal Chemist. In *Medicinal Chemistry*; Elsevier : Amsterdam, 1977; pp 125–133.

¹⁸ Choi-Sledeski, Y. M.; Wermuth, C. G. Designing Prodrugs and Bioprecursors. In *The Practice of Medicinal Chemistry*; Academic Press, 2014; pp 657–696.

¹⁹ Chapman, T. M.; Plosker, G. L.; Perry, C. M. *Drugs* **2004**, *64* (18), 2101–2124.

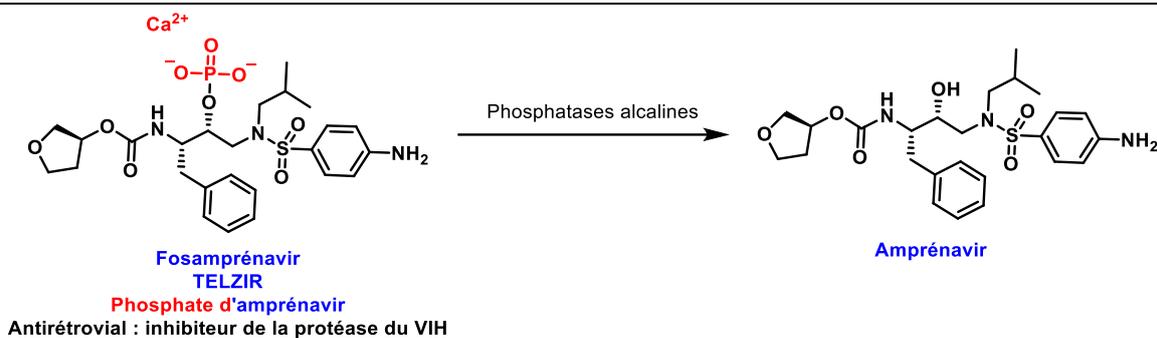


Schéma 3. Fosamprénavir, promédicament à transporteur de l'amprénavir.

2.2.4. Catégories particulières de promédicaments à transporteur

2.2.4.1. Self-immolative linker ou espaceur auto-immolable

Les prodrogues auto-immolables (ou *self-immolative linker* en anglais) sont des prodrogues tripartites composées d'une amorce (*trigger*), d'un connecteur ou espaceur (*linker* ou *spacer*) et d'une unité effectrice (*effector unit*).²⁰ Ils ont été décrits pour la première fois en 1981 par Carl *et al.*²¹ La fonction principale du linker est de libérer la substance active après l'activation de la prodrogue *via* une décomposition chimique spontanée. En effet, ce type de prodrogue conduit à la libération du composé actif par un processus en 2 étapes : il commence par une activation chimique (oxydation, réduction, pH) ou enzymatique (hydrolase, estérase) de l'amorce. Cette activation va entraîner une la rupture chimique spontanée de l'espaceur permettant la libération de l'effecteur (Figure 2).²² Les réactions faisant suite à l'activation du l'amorce sont de plusieurs ordres : élimination, cyclisation, double élimination ou élimination / cyclisation.²²

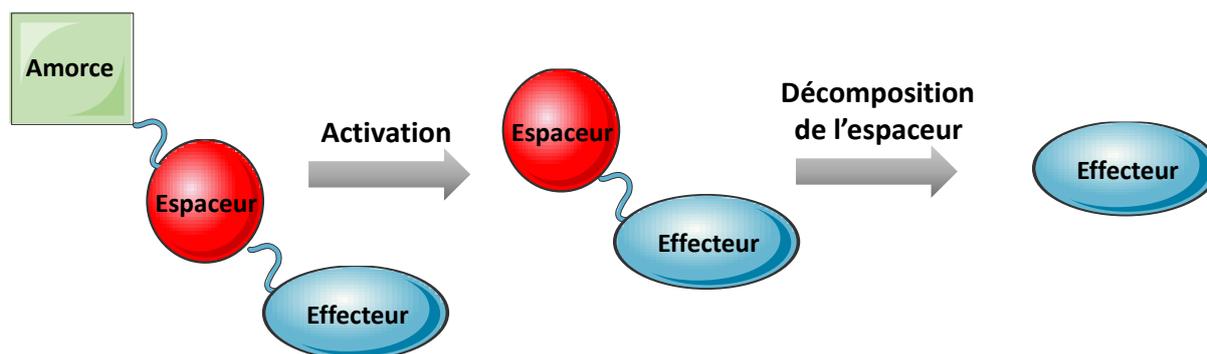


Figure 2. Description schématique de la dégradation d'un ligand auto-immolable.

²⁰ Papot, S.; Tranoy, I.; Tillequin, F.; Florent, J. C.; Gesson, J. P. *Curr. Med. Chem. - Anti-Cancer Agents* **2002**, 2 (2), 155–185.

²¹ Carl, P. L.; Chakravarty, P. K.; Katzenellenbogen, J. A. *J. Med. Chem.* **1981**, 24 (5), 479–480.

²² Tranoy-Opalinski, I.; Fernandes, A.; Thomas, M.; Gesson, J.-P.; Papot, S. *Anticancer. Agents Med. Chem.* **2008**, 8 (6), 618–637.

2.2.4.2. Co-médicament, co-drogue ou prodrogue mutuelle

Dans ce cas de figure, deux molécules pharmacologiquement actives sont couplées pour ne former qu'une molécule, de sorte que chaque molécule joue le rôle de profragment pour l'autre (Figure 3).^{23,24} Il ne faut pas les confondre avec les *soft-drugs* : médicaments actifs en tant que tels, conçus pour se transformer en une forme inactive *in vivo* après avoir atteint leur effet thérapeutique.²⁵

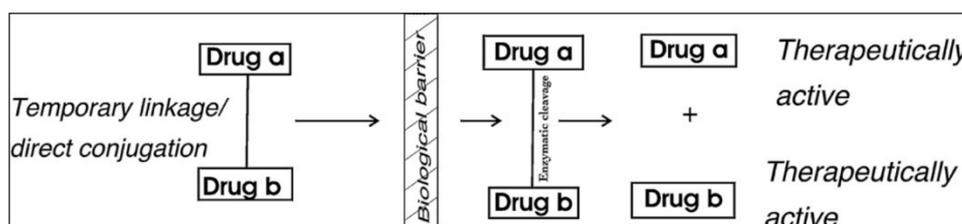


Figure 3. Représentation schématique du fonctionnement des co-médicaments.²⁵

Une co-drogue est donc un ensemble de deux substances actives ne formant plus qu'une molécule. Elle doit améliorer les propriétés d'administration d'une ou des deux substances actives. En outre elle doit être inactive mais doit libérer les deux substances actives lors de la rupture de la liaison chimique. De manière plus appropriée, on peut dire que la combinaison de deux pharmacophores différents, avec des activités pharmacologiques similaires ou différentes, induit un effet synergique ou aide à cibler le médicament parent sur un site / organe / cellules spécifiques. Cette approche est couramment utilisée pour améliorer les propriétés physicochimiques, biopharmaceutiques et d'administration des agents thérapeutiques.²⁴

La sulfasalazine est une co-drogue comprenant un antibiotique (sulfapyridine) et un anti-inflammatoire (acide 5-aminosalicylique) reliés par une liaison azoïque (Schéma 4). La réduction de cette liaison va s'effectuer dans le colon permettant de libérer les deux substances actives au niveau de leur site d'action.¹⁶

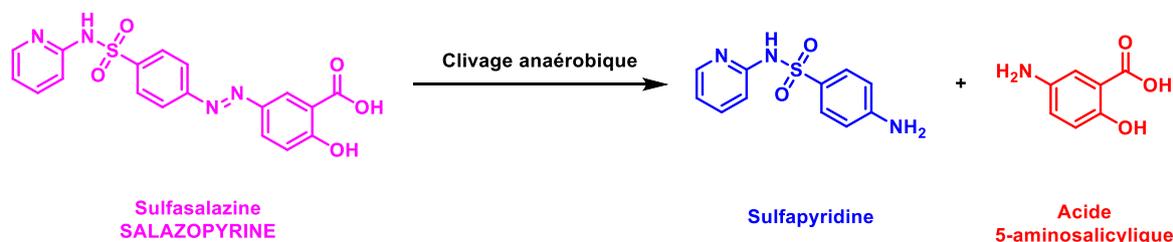


Schéma 4. Sulfasalazine, co-drogue.

²³ Leppänen, J.; Huuskonen, J.; Nevalainen, T.; Gynther, J.; Taipale, H.; Järvinen, T. *J. Med. Chem.* **2002**, *45* (6), 1379–1382.

²⁴ Das, N.; Dhanawat, M.; Dash, B.; Nagarwal, R. C.; Shrivastava, S. K. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2010**, *41* (5), 571–588.

²⁵ Bodor, N.; Buchwald, P. *Med. Res. Rev.* **2000**, *20* (1), 58–101.

3. Classification par site de conversion

Cette classification très récente permet de catégoriser les promédicaments suivant le site de conversion où le promédicament est transformé en médicament actif. Il existe deux types principaux (I et II) utilisés en fonction du site de conversion (intra ou extracellulaire). Ces deux types sont eux même divisés en plusieurs sous-types en fonction du lieu de conversion (tissus, fluides, cellules cibles). Il existe en outre un type dit mixte dans lequel sont classés les promédicaments activés par deux mécanismes successifs.²⁶

3.1. Type I : Intracellulaire

Les prodrogues de type I sont des molécules dont le site de conversion est intracellulaire, comme par exemple les antiviraux analogues de nucléosides ou certaines statines. Le type I est divisé en deux sous-types. Le sous-type IA correspond à une activation directement dans les cellules cibles, comme par exemple certains agents antitumoraux (5-fluorouracil) ou certains antibiotiques. Le sous-type IIB comprend les prodrogues qui s'appuient sur les enzymes métaboliques en particulier dans les cellules hépatiques, les cellules intestinales et autres, comme par exemple le captopril.

3.2. Type II : Extracellulaire

À côté des promédicaments activés de manière intracellulaire, nous trouvons les promédicaments de type II qui sont activés dans le compartiment extracellulaire en s'appuyant sur des enzymes courantes telles que les estérases et des phosphatases. Elles sont divisées en trois sous-types correspondants aux différentes localisations de l'activation. Le sous-type IIA correspond aux promédicaments activés dans le milieu des fluides gastro-intestinaux, comme le lopéramide oxyde. Le sous-type IIB comprend les promédicaments activés dans la circulation systémique et/ou dans d'autres compartiments des fluides extracellulaires, comme le bambutérol ou la bacampicilline. Enfin les promédicaments du sous-type IIC sont transformés près des cellules ou des tissus cibles, comme les chimiothérapies enzymatiques dirigées par les anticorps, gènes ou virus (*antibody-, gene- or virus-directed enzyme prodrugs* [ADEP/GDEP/VDEP]).

²⁶ Wu, K.-M. *A Pharmaceuticals* **2009**, 2 (3), 77–81.

3.3. Type Mixte

Certains promédicaments sont dits de type mixte, ce qui signifie qu'ils sont convertis sur plusieurs sites, soit en parallèle, soit en étape séquentielle.

Par exemple un promédicament de type mixte en parallèle aura un processus de conversion qui se déroulera de manière simultanée dans les cellules cibles et les tissus métaboliques. Il sera nommé promédicament de type IA/IB. A l'inverse, l'autre type de promédicament mixte dit séquentiel signifie que le promédicament est activé en plusieurs étapes de manière séquentielle, ce qui est le cas du fumarate de ténofovir disoproxil.

Tableau 1. Résumé de la classification des prodrogues par site de bioconversion.²⁶

Type	Site de conversion	Sous-type	Lieu de conversion	Exemple d'enzyme	Exemple de médicament
Type I	Intracellulaire	A	Cellules ou tissus cibles	Kinase virale KatG	Aciclovir 5-FU
		B	Tissus métabolique (foie, cellules intestinales, poumon...)	Estérases CYP450	Captopril
Type I	Extracellulaire	A	Fluides gastrointestinaux Circulation systémique	Estérases	Sulfasalazine
		B	Autres compartiments de liquide extracellulaire	Cholinestérases Phosphatases	Bambutérol Bacampicillin
		C	Cellules ou tissus cibles	Estérases Phosphatases	ADEPs GDEPs
Type Mixte	Parallèle	Ex : IA / IB			Inhibiteurs de la HMG Co-A réductase
	Séquentielle	Ex : IIA – IA			Fumarate de ténofovir disoproxil

4. Classification par fonction chimique

La plupart des stratégies de promédicament nécessitent un groupe fonctionnel sur le principe actif. Les groupes fonctionnels polaires et/ou ionisés peuvent être convertis en esters plus lipophiles. À l'inverse des groupes fonctionnels hydrophiles peuvent être rendus lipophiles. Nous allons ainsi voir quelques exemples de groupements fonctionnels très importants.

4.1. Esters d'acides

Les groupes hydroxyle, carboxyle et thiol, peuvent être convertis en ester d'alkyle ou d'aryle de formule générale RCOOR', augmentant ainsi la lipophilie et donc la perméabilité des molécules vis-à-vis des barrières membranaires.²⁷ En effet les esters, moins polaires,

²⁷ Beaumont, K.; Webster, R.; Gardner, I.; Dack, K. *Curr. Drug Metab.* **2003**, 4 (6), 461–485.

permettent un meilleur passage passif des membranes plasmiques lipophiles.²⁸ Le clivage s'effectue en général au sein de la circulation sanguine par des estérases mais aussi au niveau des tissus et d'autres organes. Les enzymes hydrolysant les esters peuvent être des estérases telles que les cholinestérases, des carboxycholestérases ou des arylcholestérases. Il est à noter que les esters ne sont pas tous hydrolysés avec la même efficacité.²⁹

L'énalaprilate est un inhibiteur de l'enzyme de conversion ayant une biodisponibilité orale nulle. L'utilisation d'un groupement ester (énalapril) va permettre de diminuer le caractère hydrophile de l'acide carboxylique et donc rendre la molécule plus apolaire, permettant d'obtenir une biodisponibilité de 53 à 74 % (Schéma 5).³⁰

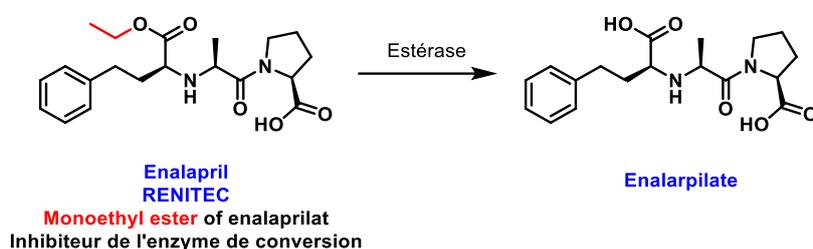


Schéma 5. Enalapril, promédicament de l'énalaprilate.

4.2. Carbamates

Un carbamate est un dérivé d'ester de l'acide carbamique, de formule générale RNR'COOR''. Ils sont généralement plus stables que les esters, mais ils sont plus sensibles que les amides. Ils sont majoritairement bioconvertis par des estérases. Nous détaillerons les particularités de ce groupement dans le Chapitre 2.³¹

4.3. Esters de phosphate

Les promédicaments à base d'esters de phosphate sont généralement conçus pour les groupements hydroxyle et amine de médicaments peu solubles dans l'eau dans le but d'améliorer leur solubilité aqueuse pour permettre une administration orale ou parentérale plus favorable.³² Ces promédicaments présentent une très bonne stabilité chimique et une bioconversion rapide par les phosphatases alcalines présentes à la bordure de la brosse intestinale ou dans le foie.

²⁸ Taylor, M. D. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1996**, *19* (2), 131–148.

²⁹ Liederer, B. M.; Borchardt, R. T. *J. Pharm. Sci.* **2006**, *95* (6), 1177–1195.

³⁰ Todd, P. A.; Heel, R. C. Enalapril. *Drugs* **1986**, *31* (3), 198–248.

³¹ Potter, P.; Wadkins, R. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13* (9), 1045–1054.

³² Heimbach, T.; Oh, D. M.; Li, L. Y.; *Int. J. Pharm.* **2003**, *261* (1–2), 81–92.

Prenons pour exemple la clindamycine et sa prodrogue, le phosphate de clindamycine (Schéma 6).³³ Comme pour 40 % des candidats médicament, cette molécule possède une solubilité aqueuse faible inférieure à 10 µM.³⁴ Avec l'ajout d'un groupement phosphate, la solubilité va passer de 0,2 mg/mL à 150 mg/mL. Ceci va permettre de diminuer le volume d'eau utilisé pour l'injection du médicament et ainsi diminuer et douleurs liées à l'injection.³⁵

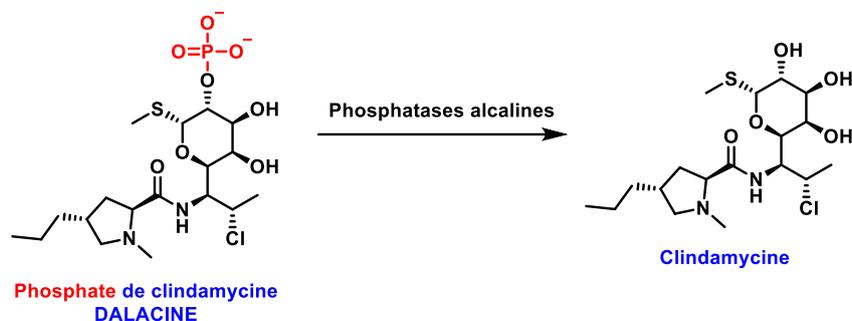


Schéma 6. Phosphate de clindamycine, promédicament de la clindamycine.

4.4. Acides aminés

Les dérivés d'acides aminés sont en général des promédicaments de molécules passant difficilement les barrières physiologiques (barrière intestinale, barrière hématoencéphalique...). L'obtention d'un dérivé d'acide aminé va permettre au promédicament d'utiliser les protéines de transport actif des différentes membranes.⁹

La dopamine est un neurotransmetteur dont le déficit est l'une des causes de la maladie de Parkinson. Cette molécule est incapable de franchir la BHE. L'ajout d'un groupement carboxyle va permettre de mimer la structure de la L-phénylalanine et donc à la prodrogue (L-dopa) d'utiliser les transporteurs LAT1 pour atteindre le système nerveux central (Schéma 7).

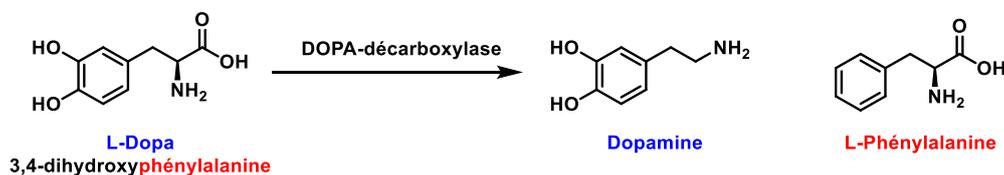


Schéma 7. L-dopa, promédicament de la dopamine.

³³ DeHaan, R. M.; Metzler, C. M.; Schellenberg, D.; Vandenbosch, W. D. Pharmacokinetic Studies of Clindamycin Phosphate. *J. Clin. Pharmacol. New Drugs* **1973**, *13* (5–6), 190–209.

³⁴ Lipinski, C. A. Biotechnology: Pharmaceutical Aspects. In *Pharmaceutical Profiling in Drug Discovery for Lead Selection*; American Association of Pharmaceutical Scientists, 2004; pp 93–125.

³⁵ Di, L.; Kerns, E. H. Prodrugs. In *Drug-Like Properties: Concepts, Structure Design and Methods from ADME to Toxicity Optimization*; Academic Press, 2016; pp 471–485.

5. Utilité des promédicaments

Synthétiser des promédicaments doit bien sûr avoir des avantages que nous allons maintenant développer avec quelques exemples.³⁶

5.1. Modification de l'hydrosolubilité

Comme nous l'avons vu à la page 18 avec l'exemple du promédicament de la clindamycine, l'utilisation de différents groupements ester d'acide ou à l'inverse, ester de phosphate, va permettre de modifier l'hydrosolubilité. Ceci aura pour avantage de faciliter le passage de barrière et de membrane, mais aussi de diminuer les volumes d'injection pour la voie IV.

5.2. Amélioration l'absorption gastro-intestinale

L'exemple de l'énalapril a permis de montrer que l'utilisation d'un groupement ester permettait de passer d'une biodisponibilité nulle à une biodisponibilité de 53 à 74 % (page 30). D'autres exemples existent, comme le valaciclovir. Le valaciclovir est le L-Valyl ester de l'aciclovir, et grâce au groupement L-Valyl va pouvoir utiliser les transporteurs hPEPT1 permettant à la biodisponibilité de passer de 12-20 % à 54 % (Schéma 8).³⁷

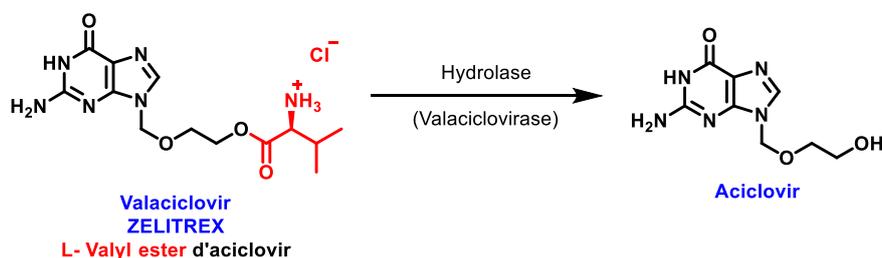


Schéma 8. Valaciclovir, promédicament de l'aciclovir.

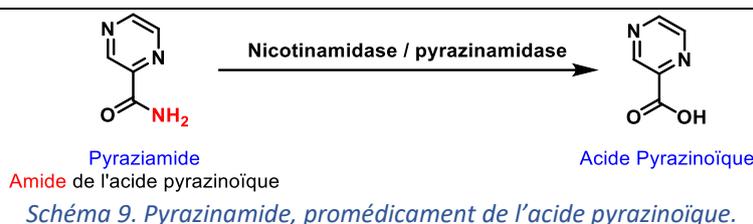
5.3. Amélioration de la perméabilité membranaire

Les promédicaments permettent aussi d'augmenter la distribution, comme nous l'avons vu avec la L-dopa (page 19). Un autre exemple peut être intéressant : la pyrazinamide (PIRILENE), un antituberculeux ayant une bonne pénétration intracellulaire et de la BHE contrairement à la substance active. La pyrazinamide est bioconvertie en acide pyrazinoïque par la pyrazinamidase et la nicotamidase de *Mycobacterium tuberculosis* (Schéma 9).³⁸

³⁶ Patrick, G. *An Introduction to Medicinal Chemistry*, 5th ed; Oxford University Press, 2014.

³⁷ Perry, C. M.; Faulds, D. *Drugs* **1996**, *52* (5), 754–772.

³⁸ Zhang, Y.; Mitchison, D.. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* **2003**, *7* (1), 6–21.



5.4. Amélioration de la demi-vie

Parfois, les promédicaments sont conçus pour être convertis lentement en médicament actif, prolongeant ainsi l'activité. Certaines prodrogues antipsychotiques et antiasthmatiques utilisent cette méthode.

L'administration de décanoate d'halopéridol sous forme d'injection retard par voie intramusculaire conduit à une libération lente et prolongée d'halopéridol libre (Schéma 10).³⁹ Les concentrations plasmatiques augmentent progressivement et atteignent généralement leur valeur maximale 3 à 9 jours après l'injection. Ceci va permettre une utilisation mensuelle de ce médicament en comparaison avec l'halopéridol qui lui doit être administré quotidiennement. Cette injection mensuelle va avoir comme avantage de diminuer les problèmes d'observance.

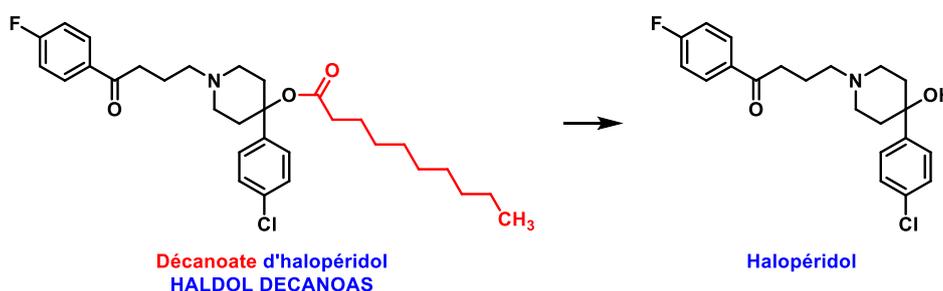


Schéma 10. Décanoate d'halopéridol, promédicament de l'halopéridol

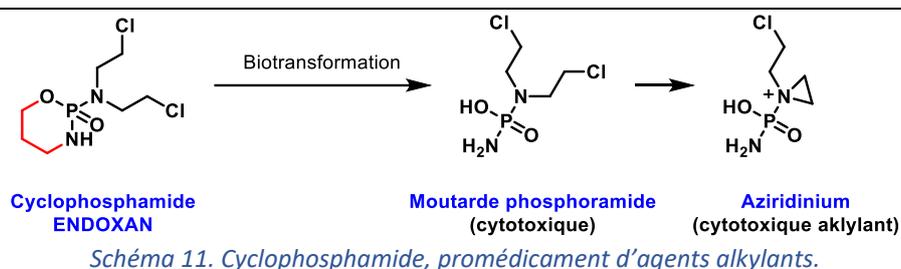
5.5. Masquer la toxicité médicamenteuse et réduire les effets secondaires

Les prodrogues peuvent être utilisées pour masquer les effets secondaires et la toxicité des médicaments. Ainsi, une prodrogue atoxique permettra une libération lente de molécules, qui seraient trop toxiques pour être administrées directement.

Nous pouvons ainsi citer l'exemple de la cyclophosphamide : bioprécurseur inerte d'agents alkylants dérivés des moutardes azotées.⁴⁰

³⁹ Nambu, K.; Miyazaki, H.; Nakanishi, Y.; Oh-e, Y.; Matsunaga, Y.; Hashimoto, M. *Biochem. Pharmacol.* **1987**, *36* (10), 1715–1722.

⁴⁰ Gershwin, M. E.; Goetzel, E. J.; Steinberg, A. D. *Ann. Intern. Med.* **1974**, *80* (4), 531–540.



5.6. Amélioration du ciblage

Plusieurs mécanismes permettent d'effectuer une sélectivité d'action : se baser sur le pH, cibler une enzyme active présente uniquement près du site d'action. Les conjugués anticorps-médicament peuvent également être considérés comme des promédicaments et sont décrits dans cette section.

L'isoniazide est un inhibiteur de la synthèse d'acides mycoliques de la paroi mycobactérienne.⁴¹ Inactif, il est biotransformé par une enzyme KatG spécifique des *Mycobacterium*, libérant ainsi un produit d'oxydation qui va pouvoir former un adduit avec le NAD⁺ de la mycobactérie (Schéma 12). Cette adduit INH-NADH va inhiber l'énoyl-ACP réductase (InhA) du système d'acide gras synthase de type II (FAS II), bloquant la biosynthèse des acides mycoliques et induisant ainsi la mort cellulaire (Figure 4).⁴²

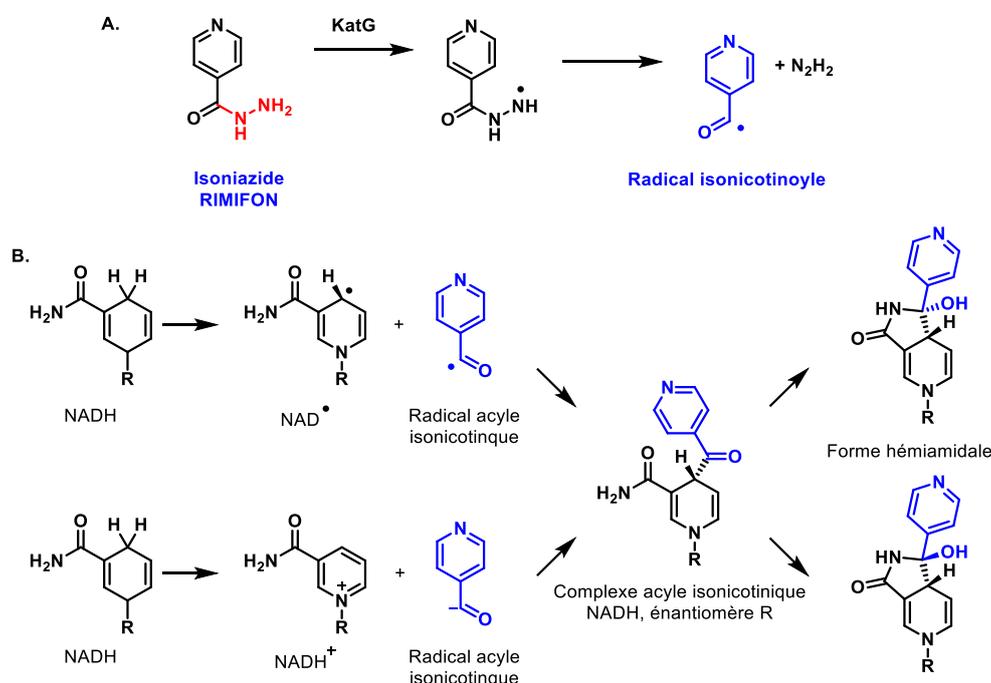


Schéma 12. Mécanisme d'action de l'isoniazide. A : activation du promédicament ; B : Formation du complexe INH-NADH.⁴³

⁴¹ Marrakchi, H.; Lanéelle, M. A.; Daffé, M. *Chem. Biol.* **2014**, *21* (1), 67–85.

⁴² Vilchèze, C.; Jacobs, Jr., W. R. *Annu. Rev. Microbiol.* **2007**, *61* (1), 35–50.

⁴³ Scior, T.; Meneses Morales, I.; Garcés Eisele, S. J.; Domeyer, D.; Laufer, S. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **2002**, *335* (1112), 511–525.

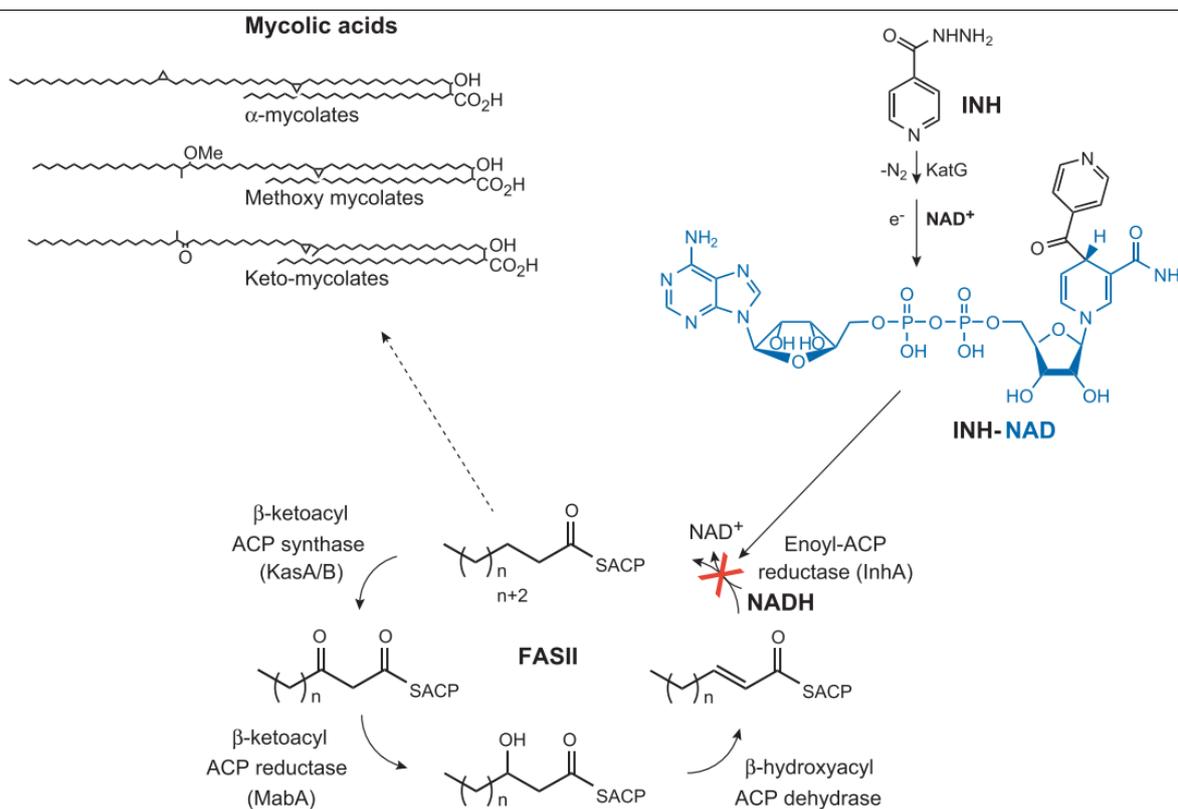


Figure 4. Inhibition de la synthèse de la paroi mycobactérienne par l'action de l'isoniazide.⁴²

5.7. Agents dormants

Pour finir cette partie nous devons citer les agents dormants. Ces promédicaments ont la particularité d'être convertis en substance active par une influence extérieure. C'est le principe de la thérapie photodynamique.⁴⁴ Dans ces thérapies, les prodrogues possèdent dans leurs structures une porphyrine ou une chlorine, comme la témoporfine (agent photosensibilisant, Figure 5).⁴⁵ L'activité pharmacologique sera déclenchée par la photoactivation de la témoporfine sous une lumière non thermique de 652 nm après administration intraveineuse. L'effet thérapeutique passe par la production de dérivés oxygénés hautement réactifs, un processus dépendant de l'interaction intracellulaire entre la témoporfine, la lumière et l'oxygène.

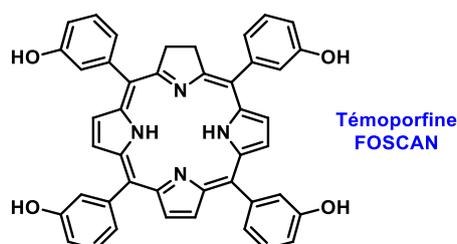


Figure 5. Témoporfine, promédicament utilisé en thérapie photodynamique.

⁴⁴ Kwiatkowski, S.; Knap, B.; Przystupski, D.; Saczko, J.; Kędzierska, E.; Knap-Czop, K.; Kotlińska, J.; Michel, O.; Kotowski, K.; Kulbacka, J. *Biomed. Pharmacother.* **2018**, *106* (June), 1098–1107.

⁴⁵ Senge, M. O.; Brandt, J. C. *Photochem. Photobiol.* **2011**, *87* (6), 1240–1296.

Après ce bref rappel sur les prodrogues, où nous avons vu leurs définitions, caractéristiques, classification et avantages, nous allons maintenant nous tourner vers un groupement fonctionnel particulier : les carbamates.

*Chapitre 2. Le groupement carbamate dans la
conception de promédicaments*

Le groupement carbamate est un motif structural clé dans de nombreux médicaments et promédicaments. Nous constatons une utilisation croissante de carbamates dans la chimie médicinale et de nombreux dérivés sont spécifiquement conçus pour réaliser des interactions drogue-cible thérapeutique.⁴⁶

Nous allons donc décrire en détail ce groupement particulier, son utilisation comme groupement fonctionnel dans une prodrogue et les différents mécanismes d'activation de celles-ci.

Nous allons ensuite découvrir quelques médicaments actuellement sur le marché, des molécules en développement n'ayant pas réussi leurs essais cliniques et enfin des molécules décrites très récemment dans la littérature.

1. Le groupement carbamate

Les carbamates sont des composés organiques dérivés de l'acide carbamique, il s'agit d'un ester substitué de cet acide. Il est porteur d'une fonction R-R'N-COO-R''. La fonction carbamate est liée aux caractéristiques hybrides d'un amide et d'un ester, et présente une très bonne stabilité chimique et protéolytique, principalement pour les métabolisations dues aux amino-peptidases, enzymes impliquées dans le métabolisme des médicaments similaires à des peptides. Le rôle émergent du carbamate dans la chimie médicinale est dû à sa stabilité chimique et à sa capacité à imprégner les membranes cellulaires. Ces attributs ont été exploités dans la conception de médicaments. En conséquence, le motif carbamate devient le choix pour les substituts de liaison peptidique. Ils sont aussi employés dans d'autres domaines tels que l'industrie agrochimique (pesticide, insecticide, herbicide et fongicide)⁴⁷ et l'industrie des polymères.

Un point important de cette fonction est représenté par la résonance de l'amide. En effet il y a trois structures de résonance possibles contribuant à la stabilisation du carbamate (Figure 6).⁴⁸

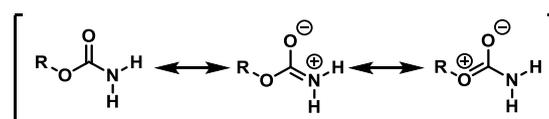


Figure 6. Structures de résonance de la fonction carbamate.

⁴⁶ Ghosh, A. K. *et al. J. Med. Chem.* **2015**, 58 (7), 2895–2940.

⁴⁷ Fukuto, T. R. *Environ. Health Perspect.* **1990**, 87, 245–254.

⁴⁸ Kaur, D.; Sharma, P.; Bharatam, P. V. *J. Mol. Struct. THEOCHEM* **2005**, 757 (1–3), 149–153.

De plus, les carbamates se caractérisent par une pseudo double liaison, une déconjugaison potentielle du système hétéroatome (σ -bond)-carbonyl (π -bond) -hétéroatome qui restreint la rotation libre sur la seule liaison σ formelle. Par conséquent, deux isomères, *syn* et *anti*, peuvent coexister (Figure 7).⁴⁹

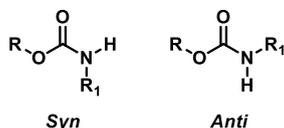


Figure 7. Conformations *syn* et *anti* des carbamates.

D'après certaines études, la conformation *anti* est favorisée par rapport à la conformation *syn* pour des raisons stériques et électrostatiques, avec une différence d'énergie de 1,0-1,5 kcal.mol⁻¹.⁵⁰ Mais dans la plupart des cas, le ratio d'isomères *syn/anti* est de 50/50. L'équilibre entre ces rotamères est important pour la conformation des molécules.

Plusieurs paramètres peuvent modifier cet équilibre : il s'agit de l'électronégativité de R₁, le solvant, la concentration de produit, la présence ou non de sels et le pH. De plus il peut être perturbé par la présence ou non de liaisons hydrogène intra ou intermoléculaires.⁵¹

Des études sur des spectres RMN ¹H ont ainsi montré que l'augmentation de la concentration en carbamate favorisait la conformation *syn*, expliquée par un processus d'agrégation. La diminution de la température est une autre circonstance permettant de stabiliser cette oligomérisation. À l'inverse une augmentation de la température permet de passer de la conformation *syn* à *anti*.⁵²

Ces composés sont utilisés dans le traitement de nombreuses maladies tels que le glaucome, la maladie de Parkinson et la myasthénie grave, et surtout comme inhibiteur de l'acétylcholinestérase (AChE) lors d'intoxications aux pesticides, et en traitement prophylactique de l'empoisonnement aux composés organophosphorés (OP). En effet, les OP vont se fixer de manière irréversible sur l'AChE et ainsi l'inactiver. À l'inverse des OP, les carbamates sont considérés comme des inhibiteurs pseudo-irréversibles, car le temps

⁴⁹ Dugave, C.; Demange, L. *Chem. Rev.* **2003**, *103* (7), 2475–2532.

⁵⁰ Moraczewski, A. L.; Banaszynski, L. A.; From, A. M.; White, C. E.; Smith, B. D. *J. Org. Chem.* **1998**, *63* (21), 7258–7262.

⁵¹ Deetz, M. J.; Forbes, C. C.; Jonas, M.; Malerich, J. P.; Smith, B. D.; Wiest, O. *J. Org. Chem.* **2002**, *67* (11), 3949–3952.

⁵² Marcovici-Mizrahi, D.; Gottlieb, H. E.; Marks, V.; Nudelman, A. *J. Org. Chem.* **1996**, *61* (24), 8402–8406.

d'inactivation de l'enzyme est de 30 à 40 min.^{53,54} Friedman *et al.* ont montré que dans des conditions de stress, la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BHE ou *Blood Brain Barrier BBB* en anglais) vis-à-vis des carbamates était augmentée.⁵⁵ Un dérivé naturel carbamate, la physostigmine (issue de *Physostigma venenosum*), est d'ailleurs utilisé comme inhibiteur d'AChE dans le traitement de la myasthénie grave. Cette physostigmine est capable d'empêcher la liaison irréversible des OP à l'AChE, et par conséquent peut être utilisée comme agent de prévention. La particularité de cette fonction la rend donc particulièrement intéressante dans le traitement de cette maladie.⁵³

2. Promédicaments à carbamate

2.1. Groupement carbamate comme promédicament

Le groupement carbamate peut être utilisé dans la conception de prodrogues, par sa résistance au premier passage hépatique et sa stabilité dans le système systémique. Il peut aussi comme le groupement ester, permettre d'augmenter la lipophilie des molécules et ainsi favoriser le passage des barrières telles que la barrière hématoencéphalique.⁴⁶ Il est à noter que les groupement carbamates sont plus stables que les esters correspondants.

Les prodrogues à carbamates peuvent être activées par deux méthode différentes : par hydrolyse ou par réarrangement.

2.1.1. Bioconversion par hydrolyse

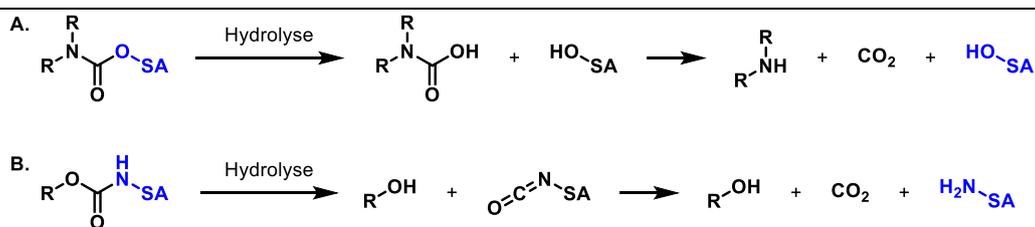
L'activation de la molécule nécessite généralement une estérase, comme par exemple les carboxylestérases (CES).^{29,56} L'hydrolyse des carbamates permet la libération d'un phénol ou alcool de la molécule mère et d'un acide carbamique, qui est ensuite lui-même transformé en amine et en dioxyde de carbone (Schéma 13.A). À l'inverse, les carbamates d'amines primaires sont fragmentés en isocyanates et alcool (Schéma 13.B).

⁵³ Colovic, M. B.; Krstic, D. Z.; Lazarevic-Pasti, T. D.; Bondzic, A. M.; Vasic, V. M. *Curr. Neuropharmacol.* **2013**, *11* (3), 315–335.

⁵⁴ Darvesh, S.; Darvesh, K. V.; McDonald, R. S.; Mataija, D.; Walsh, R.; Mothana, S.; Lockridge, O.; Martin, E. J. *Med. Chem.* **2008**, *51* (14), 4200–4212.

⁵⁵ Friedman, A.; Kaufner, D.; Shemer, J.; Hendler, I.; Soreq, H.; Tur-Kaspa, I. *Nat. Med.* **1996**, *2* (12), 1382–1385.

⁵⁶ Di, L. *Curr. Drug Metab.* **2018**, *20* (2), 91–102.



SA = substance active
R = Alkyl

Schéma 13. Prodrogues à carbamate : A. protection d'alcool ou de phénol ; B. protection d'amine.

2.1.2. Par réarrangement

Parfois le groupement carbamate n'est pas directement hydrolysé par une enzyme. Dans ce cas de figure, le groupement carbamate se trouve dans la structure de la prodrogue et est dégradé suite à une chaîne de réactions chimiques. Ceci est le cas des prodrogues auto-immolables décrites à la page 14. Plusieurs types de réactions sont alors mises en jeu pour dégrader cette fonction carbamate.

2.1.2.1. Réactions d'éliminations

Les réactions d'élimination se traduisent par une délocalisation électronique partant de l'amorce et entraînant la libération de la substance active. Ceci conduit ainsi à la formation d'une *o*-méthylène quinone ou une *p*-méthylène quinone. Il existe plusieurs types d'éliminations, dont l'élimination 1,4 et élimination 1,6 (Schéma 14).⁵⁷

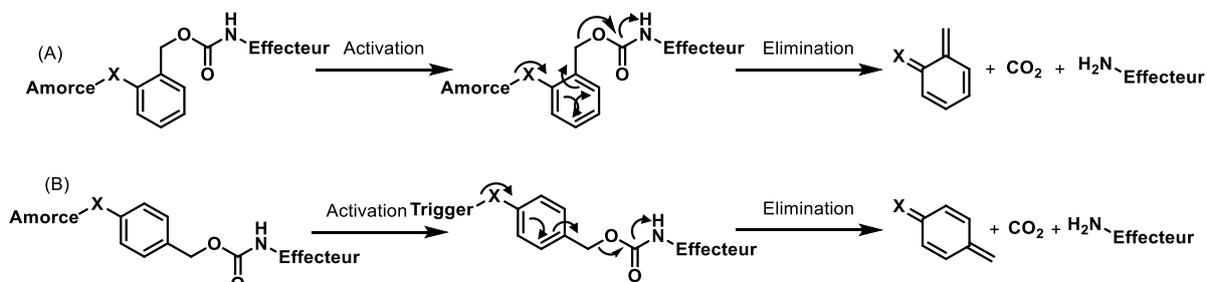


Schéma 14. Réactions d'élimination des ligands autoimmolables : A. élimination 1,4 ; B. élimination 1,6

La Figure 8 représente des exemples des formes mésomères du phénate, permettant de comprendre pourquoi la substance active doit être en position *ortho* ou *para* de celui-ci.

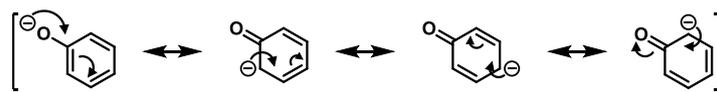


Figure 8. Formes mésomères du phénate après décarbamoxylation.

⁵⁷ Blencowe, C. A.; Russell, A. T.; Greco, F.; Hayes, W.; Thornthwaite, D. W. *Polym. Chem.* **2011**, 2 (4), 773–790.

2.1.2.2. Réactions de cyclisation

Au-delà des réactions d'élimination, des réactions de cyclisation intramoléculaire permettent de libérer le métabolite actif. Cette stratégie consiste en la présence d'un groupe nucléophile qui une fois activé, attaque un carbonyle auquel est accroché le métabolite (Schéma 15).

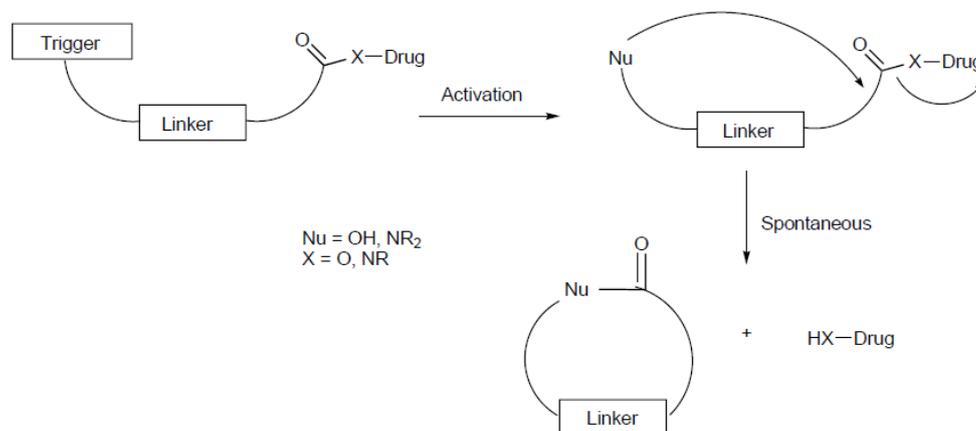


Schéma 15. Réaction d'élimination des ligands auto-immolables.²²

Nous pouvons citer l'exemple de la β -glucuronidase qui suite à son action permet une cyclisation du linker provoquant la libération de l'effecteur actif (Schéma 16).²²

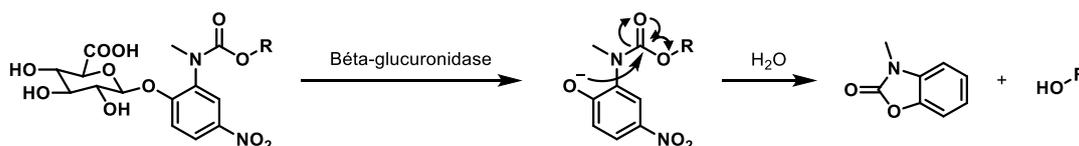


Schéma 16. Exemple de réaction de cyclisation par libération de composé anticancéreux.²²

2.1.2.3. Réactions d'élimination/cyclisation ou cyclisation/élimination

Une autre possibilité est de fusionner ces 2 mécanismes : élimination puis cyclisation, comme c'est le cas des prodrogues du paclitaxel (Schéma 17).⁵⁸ Il s'agit toujours ici du même système de relargage mais avec un espaceur supplémentaire.

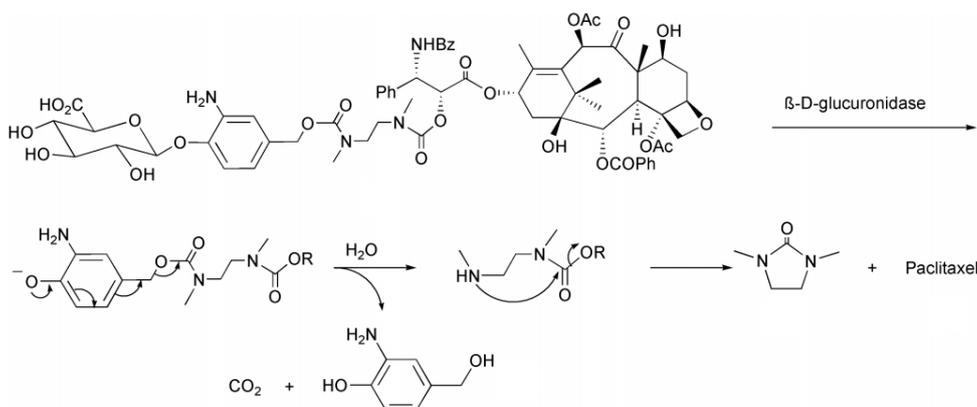


Schéma 17. Réaction d'élimination 1,6, suivie d'une cyclisation libérant du paclitaxel.⁵⁸

⁵⁸ Bouvier, E.; Thiot, S.; Schmidt, F.; Monneret, C. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1* (19), 3343–3352.

À l'inverse, des prodrogues telles que celles de la doxorubicine provoquent la libération du composé actif après cyclisation suivie d'une élimination (Schéma 18).^{59,60}

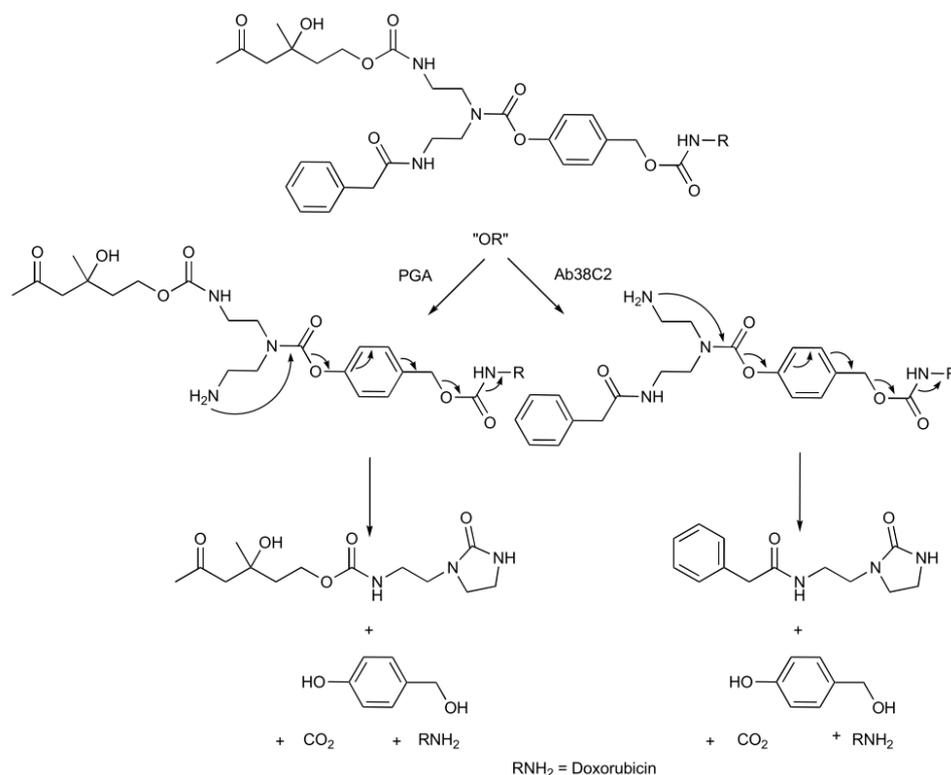


Schéma 18. Réaction de cyclisation suivie d'une élimination permettant la libération de doxorubicine.²²

Un autre concept, qui a été développé par de Groot *et al.*, concerne l'utilisation de linkers dendritiques qui à la suite d'une activation permet de libérer plusieurs substances actives par une double élimination.⁶¹ De même Blencowe *et al.* ont créé des ligands qui une fois activés permettent de libérer trois molécules (Schéma 19).⁵⁷

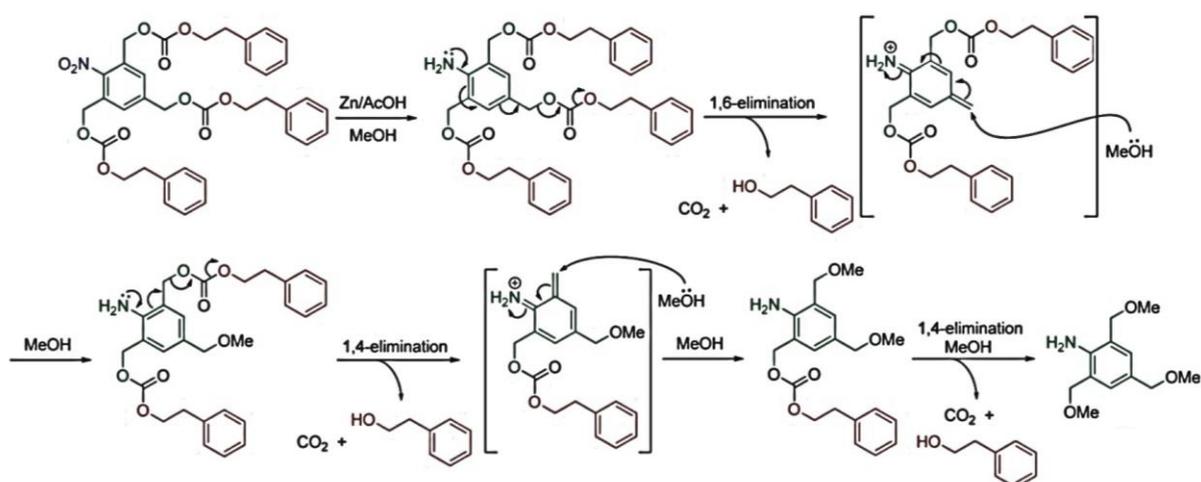


Schéma 19. Cascade d'élimination suivant la publication Blencowe *et al.*⁵⁷

⁵⁹ Gopin, A.; Pessah, N.; Shamis, M.; Rader, C.; Shabat, D. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2003**, 42 (3), 327–332.

⁶⁰ Amir, R. J.; Popkov, M.; Lerner, R. A.; Barbas, C. F.; Shabat, D. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2005**, 44 (28), 4378–4381.

⁶¹ Groot, F. M. H.; Albrecht, C.; Koekkoek, R.; Beusker, P. H.; Scheeren, H. W. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2003**, 42 (37), 4490–4494.

2.1.3. ADAPT ou Antibody-directed enzyme prodrug therapy

Un ADAPT est une stratégie immuno-ciblée permettant de cibler spécifiquement une zone thérapeutique dans un traitement de chimiothérapie.

La stratégie ADAPT se déroule en deux phases (Figure 9). Dans un premier temps, une enzyme conjuguée à un anticorps monoclonal est dirigée contre une cellule tumorale, et est vectorisée à la surface de celle-ci. Dans un second temps, un promédicament non toxique est administré de façon systémique. Il est alors converti par l'enzyme pré-dirigée au niveau du tissu tumoral en un agent toxique, responsable d'effets délétères sur la tumeur.⁶²

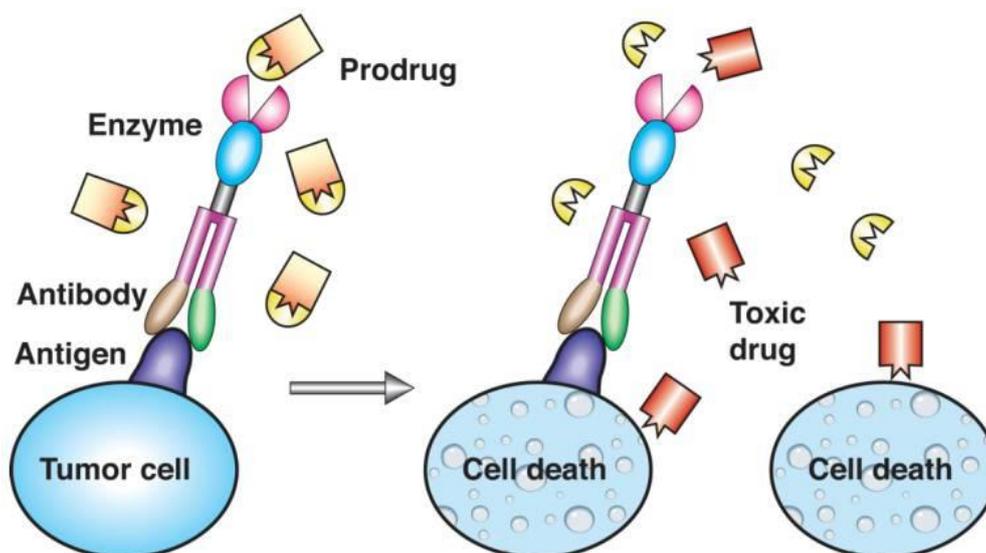


Figure 9. Représentation schématique du principe d'ADEPT.⁶³

Le groupement carbamate a toute sa place dans ce concept agissant comme un espaceur clivable permettant la libération de cet agent alkylant (Figure 10).

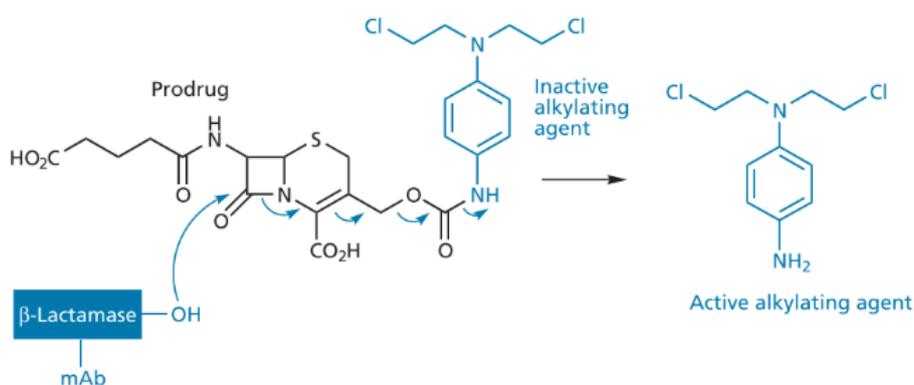


Figure 10. Stratégie ADAPT libérant un agent alkylant par dégradation de la liaison carbamate.³⁶

⁶² Wentworth, P.; Datta, A.; Blakey, D.; Boyle, T.; Partridge, L. J.; Blackburn, G. M. Toward Antibody-Directed "Abzyme" Prodrug Therapy, ADAPT: Carbamate Prodrug Activation by a Catalytic Antibody and Its in Vitro Application to Human Tumor Cell Killing. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1996**, *93* (2), 799–803.

⁶³ Solaro, R.; Chiellini, F.; Battisti, A. *Materials*. **2010**, *3* (3), 1928–1980.

2.2. Promédicaments à carbamates sur le marché du médicament Français et Américain

2.2.1. Chlorhydrate de Bambutérol – OXEOL

Le bambutérol est sans doute la prodrogue à carbamate la plus connue. Nous pouvons aussi l'appeler de manière informelle la terbutaline dicarbamate (Schéma 20). Ce médicament utilisé dans le traitement de fond de l'asthme va libérer de la terbutaline un β 2-mimétique.

Per os, la terbutaline est rapidement dégradée lors de l'absorption par le tractus digestif et lors du premier passage hépatique. Sa demi-vie varie de 5 à 7h. L'ajout de 2 groupements carbamates va permettre d'augmenter la stabilité métabolique de la molécule, avec une demi-vie pour le bambutérol allant de 9 à 17 h.⁶⁴

L'hydrolyse des deux groupements carbamates est effectuée en 2 étapes par des enzymes plasmatiques, les cholinestérases (ChE), et plus particulièrement la butyrylcholinestérase (BuChE).⁶⁵ Cette hydrolyse va entraîner une libération lente de la substance active augmentant ainsi sa durée d'action.⁶⁶



Schéma 20. Structure chimique du bambutérol et sa conversion enzymatique en terbutaline.

2.2.2. Capécitabine – XELODA

La capécitabine est un agent chimiothérapeutique administré par voie orale. Il est utilisé dans le traitement des cancers métastatiques du sein et de la zone colorectale. La capécitabine est un promédicament qui est converti par voie enzymatique en 5-fluorouracile (5-FU) dans la tumeur, où il inhibe la synthèse de l'ADN et ralentit la croissance du tissu tumoral (Schéma 21).⁶⁷

⁶⁴ Olsson, O. A. T.; Svensson, L. *Pharm. Res. An Off. J. Am. Assoc. Pharm. Sci.* **1984**, *1* (1), 19–23.

⁶⁵ Tunek, A.; Levin, E.; Svensson, L.-Å. *Biochem. Pharmacol.* **1988**, *37* (20), 3867–3876.

⁶⁶ Persson, G.; Pahlm, O.; gnospelius, Y. *Curr. Ther. Res.* **1995**, *56* (5), 457–465.

⁶⁷ Miwa, M.; Ura, M.; Nishida, M.; Sawada, N.; Ishikawa, T.; Mori, K.; Shimma, N.; Umeda, I.; Ishitsuka, H. *Eur. J. Cancer* **1998**, *34* (8), 1274–1281.

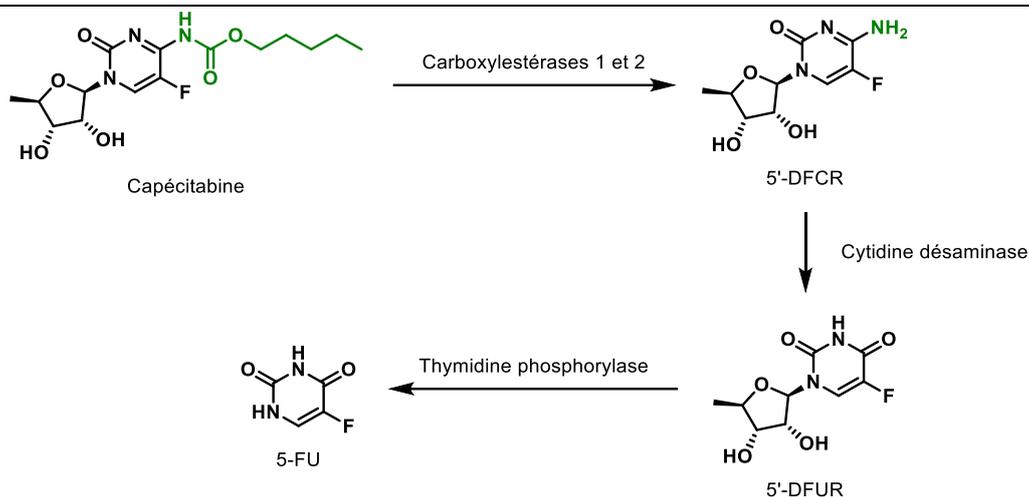


Schéma 21. Structure chimique de la capécitabine et sa conversion enzymatique en 5-FU.

Pour comprendre le mécanisme d'action, rappelons que le 5-FU antimétabolite actif contre de nombreux types de néoplasmes, mais étant non-sélectif des cellules visées, possède une toxicité systémique très importante. L'utilisation d'un groupement carbamate va permettre de cibler plus spécifiquement les cellules cancéreuses.

La bioconversion va s'effectuer en 3 étapes : la première est une décarbamylation, au niveau hépatique, de la capécitabine en 5'-DFCR par les CES1 et 2.⁶⁸ Par la suite ce composé va être converti en 5'-DFUR par la cytidine désaminase. La dernière étape est effectuée par une enzyme la thymidine phosphorylase qui est surexprimée dans les cellules tumorales, permettant ainsi une meilleure sélectivité vis-à-vis de ces cellules malignes.⁶⁹

2.2.3. Ceftobiprole médocaril sodique – MABELIO

Le ceftobiprole médocaril sodique est une prodrogue antibactérienne de la classe des céphalosporines dont la substance active est le ceftobiprole (Schéma 22). Elle est utilisée par voie intraveineuse dans le cadre de pneumonies nosocomiales et communautaires, particulièrement à staphylocoques dorés résistant à la méticilline (SARM), à l'exclusion des pneumonies acquises sous ventilation mécanique.⁷⁰

⁶⁸ Quinney, S. K.; Sanghani, S. P.; Davis, W. I.; Hurley, T. D.; Sun, Z.; Murry, D. J.; Bosron, W. F. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, *313* (3), 1011–1016.

⁶⁹ Walko, C. M.; Lindley, C. *Clin. Ther.* **2005**, *27* (1), 23–44.

⁷⁰ Noel, G. J. *Clin. Microbiol. Infect.* **2007**, *13* (5), 25–29.

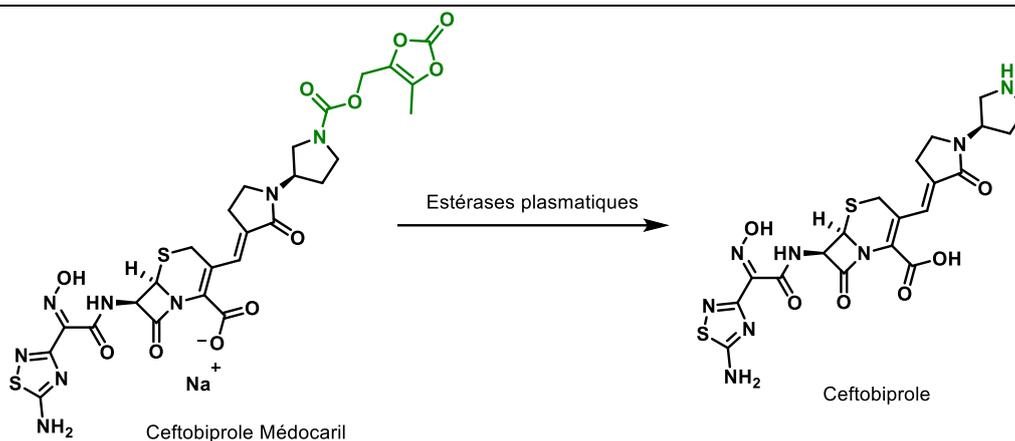


Schéma 22. Structure chimique du médocaril de ceftobirpôle et sa conversion enzymatique en ceftobirpôle.

Le ceftobirpôle a une faible solubilité aqueuse (0,1 mg/mL). L'utilisation d'un groupement carbamate va avoir pour but d'augmenter fortement cette solubilité, passant à plus de 200 mg/mL.⁷¹ Le promédicament est converti rapidement et presque complètement en médicament actif par des estérases plasmatiques (environ 38 secondes).⁷²

2.2.4. Irinotécan chlorhydrate trihydraté – CAMPTO

Du même principe, l'irinotécan est une prodrogue améliorant la solubilité du SN-38. Ce médicament est utilisé seul pour les traitements des cancers colorectaux avancés, ou en association avec le 5-FU, l'acide folique et le bevacizumab dans le cas de cancer colorectal métastatique.⁷³ Sa substance active SN-38, dérivée de la camptothécine, est un inhibiteur de la topoisomérase I.⁷⁴

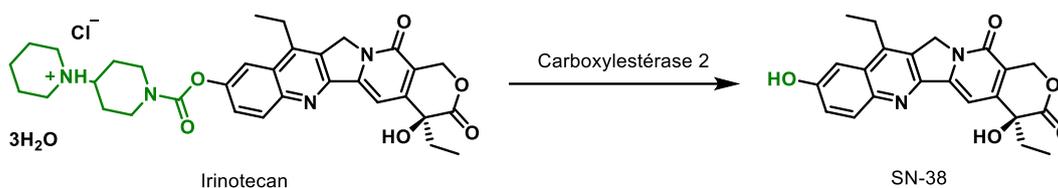


Schéma 23. Structure chimique de l'irinotécan et sa conversion enzymatique en SN-38.

La molécule est activée par les carboxylestérasés 1 et 2, bien que la CES 2 soit 64 fois plus efficace, mais la bioconversion est assez faible. Des études ont en effet montré que 55 % de l'irinotécan administré est excrété sous forme inchangée. Le reste est métabolisé en différents composés dont seul le SN-38 est cytotoxique : APC (10,5 %), SN-38 (8,8%), SN-38-G (3,3%) et le NPC (1,5%), suivant 2 principaux mécanismes (Schéma 24). Le premier est l'hydrolyse par la CES2 (plus faiblement par la butyrylcholinestérase) avec formation de la substance active

⁷¹ *Drugs R D* **2006**, 7 (5), 305–311.

⁷² Murthy, B.; Schmitt-Hoffmann, A. *Clin. Pharmacokinet.* **2008**, 47 (1), 21–33.

⁷³ Mullangi, R.; Ahlawat, P.; Srinivas, N. R. *Biomed. Chromatogr.* **2010**, 24 (1), 104–123.

⁷⁴ Kunimoto, T.; Nitta, K.; Tanaka, T.; Uehara, N.; Baba, H.; Takeuchi, M.; Yokokura, T.; Sawada, S.; Miyasaka, T.; Mutai, M. *Cancer Res.* **1987**, 47 (22), 5944–5947.

SN-38, qui est éliminée par glucuronidation (SN-38G). La seconde voie est une oxydation dépendante du cytochrome P450 3A, conduisant soit à l'ouverture du cycle pipéridine (APC, dérivé de l'acide aminopentanoïque), soit au NPC.⁷⁵

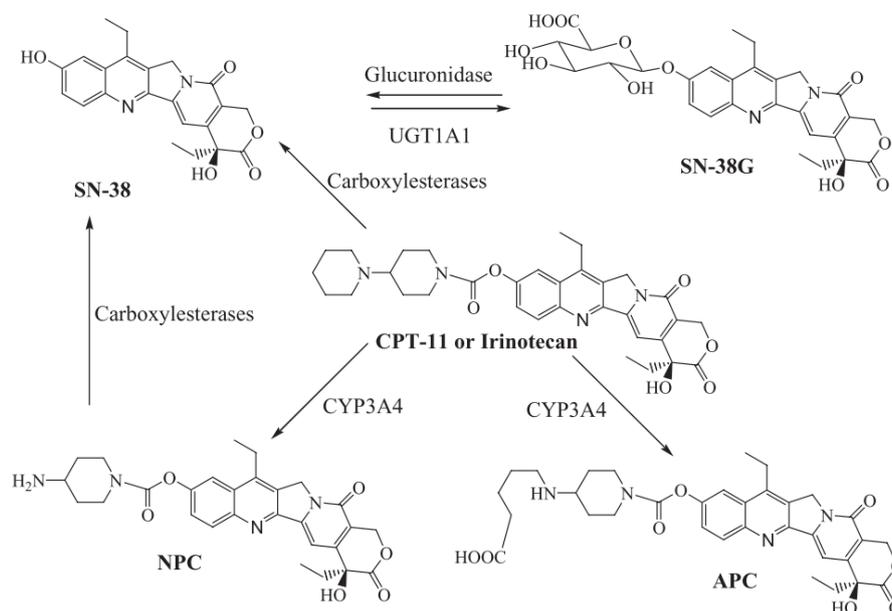


Schéma 24. Voies métaboliques de l'irinotecan.⁷³

Le métabolisme de l'irinotecan, dépendant en partie du CYP3A4, doit donc être observé avec une grande prudence lors de la prise de médicaments puissamment inhibiteurs ou inducteurs de ce cytochrome. Leur association est donc déconseillée.

2.2.5. Enacarbile Gabapentine– HORIZANTY

L'énacarbile de gabapentine, le promédicament de la gabapentine, est utilisé aux Etats-Unis dans le traitement de l'épilepsie et des douleurs neuropathiques (Schéma 25).

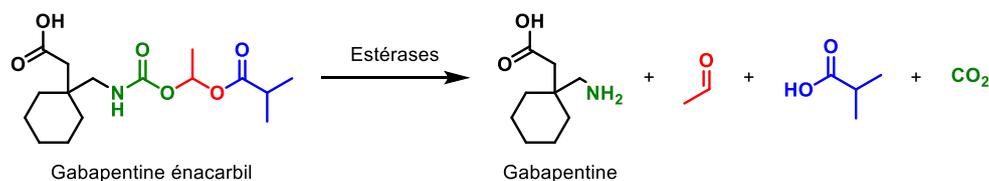


Schéma 25. Structure chimique de l'énacarbil de gabapentine et sa conversion enzymatique en gabapentine.⁷⁶

Ce promédicament a la particularité d'être un carbamate d'acyloxyalkyle. Ces composés possèdent un groupe terminal sensible aux estérases, dont l'hydrolyse déclenche une

⁷⁵ Sanghani, S. P.; Quinney, S. K.; Fredenburg, T. B.; Davis, W. I.; Murry, D. J.; Bosron, W. F. *Drug Metab. Dispos.* **2004**, *32* (5), 505–511.

⁷⁶ Cundy, K. C.; Sastry, S.; Luo, W.; Zou, J.; Moors, T. L.; Canafax, D. M. *J. Clin. Pharmacol.* **2008**, *48* (12), 1378–1388.

décomposition spontanée du dérivé intermédiaire (hydroxyalkoxy)carbonyle libérant l'amine parente (Schéma 26).⁷⁷

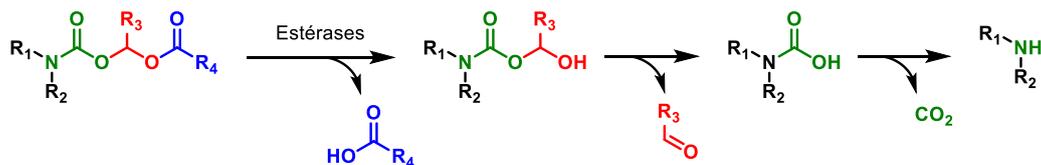


Schéma 26. Hydrolyse des carbamates d'acyloxyalkyle.⁷⁷

Ce motif permet d'augmenter la biodisponibilité orale de la gabapentine, qui grâce au carbamate d'acyloxyalkyle, peut d'utiliser le transporteur monocarboxylate de type 1 (MCT-1) et le transporteur multivitamine dépendant du sodium (SMVT).⁷⁶ La biodisponibilité orale passe de 25 à 75 % chez le singe⁷⁸ tandis que chez l'homme la biodisponibilité de la gabapentine est de 60% à la dose de 300 mg et devient inférieure à 40% à des doses allant de 600 à 4800 mg.⁷⁹ À l'inverse la biodisponibilité de la gabapentine après hydrolyse de la prodrogue est d'environ 68% quelle que soit la dose.⁷⁶ L'hydrolyse est effectuée par des estérases plasmatiques non spécifiques.

2.2.6. Sulfate d'isavuconazonium – CRESEMBA (USA)

Le sulfate d'isavuconazonium est un anti-mycosique prescrit dans les cas d'aspergillose invasive et de mucormycose invasive.⁸⁰ Sa substance active, l'isavuconazole, est très peu soluble dans l'eau (< 1 mg/mL), Contrairement au promédicament qui lui a une solubilité supérieur à 100 mg/mL (Schéma 27).⁸¹

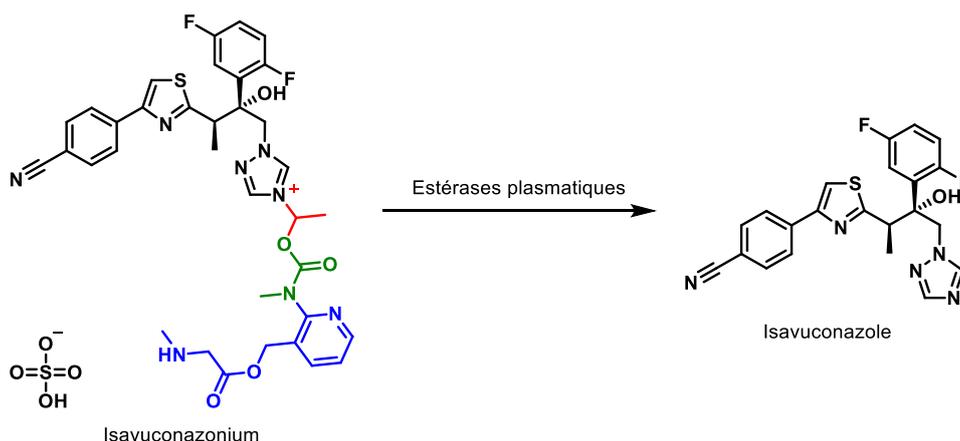


Schéma 27. Structure chimique du sulfate d'isavuconazonium et sa conversion enzymatique en isavuconazole.

⁷⁷ Simplício, A.; Clancy, J.; Gilmer, J. Prodrugs for Amines. *Molecules* **2008**, *13* (3), 519–547.

⁷⁸ Cundy, K. C.; Annamalai, T.; Bu, L.; De Vera, J.; Estrela, J.; Luo, W.; Shirsat, P.; Torneros, A.; Yao, F.; Zou, J.; et al. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2004**, *311* (1), 324–333.

⁷⁹ Lal, R.; Sukbuntherng, J.; Luo, W.; Chen, D.; Vu, A.; Tovera, J.; Cundy, K. C. *Clin. Ther.* **2009**, *31* (8), 1776–1786.

⁸⁰ Shirley, M.; Scott, L. J. *Drugs* **2016**, *76* (17), 1647–1657.

⁸¹ Ohwada, J.; Tsukazaki, M.; Hayase, T.; Oikawa, N.; Isshiki, Y.; Fukuda, H.; Mizuguchi, E.; Sakaitani, M.; Shiratori, Y.; Yamazaki, T.; et al. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2003**, *13* (2), 191–196.

Cette prodrogue est utilisable soit en *per os* soit en perfusion. *Per os*, aucune concentration significative du promédicament n'a été détectée dans le plasma, ce qui suggère une conversion pré-systémique rapide de l'isavuconazonium dans le tractus intestinal et/ou le foie ainsi que dans le plasma. La concentration maximale en isavuconazole est atteinte en 2-3h avec une biodisponibilité orale de 98%.⁸² Par intraveineuse, lors d'une perfusion de 1h, le promédicament est indétectable dans le plasma après une 1,25 h.⁸³

Isavuconazonium est composé d'un groupement *N*-(3-acétoxypropyl)-*N*-méthylaminocarboxyméthyle, qui est en fait un linker auto-immolable dégradé en 2 étapes. Le groupement ester d'alkylcarbonyle va être rapidement hydrolysé par des estérases non-spécifiques (dont la butyrylcholinestérase) pour générer un intermédiaire alcool instable.⁸⁴ La seconde étape consiste en une cyclisation intramoléculaire spontanée et une *N*-désalkylation pour libérer l'isavuconazole, un carbamate cyclique (BAL8728) et du formaldéhyde.⁸⁵ Le carbamate joue ici le rôle d'intermédiaire structural de la prodrogue.

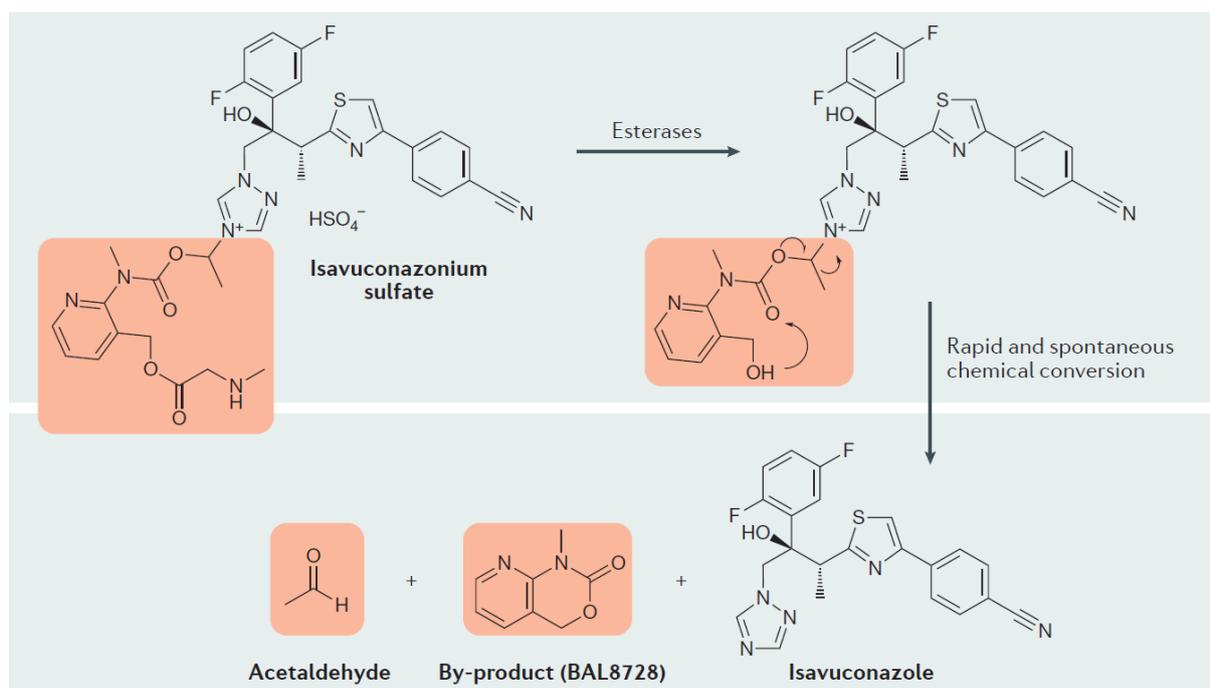


Schéma 28. Bioconversion de l'isavuconazonium en isavuconazole.²

⁸² Donnelley, M. A.; Zhu, E. S.; Thompson, G. R. *Infect. Drug Resist.* **2016**, *9*, 79–86.

⁸³ Rautio, J.; Kärkkäinen, J.; Sloan, K. B. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2017**, *109*, 146–161.

⁸⁴ Murrell, D.; Bossaer, J. B.; Carico, R.; Hariforoosh, S.; Cluck, D. *Int. J. Pharm. Pract.* **2017**, *25* (1), 18–30.

⁸⁵ Denis, J.; Ledoux, M. P.; Nivoix, Y.; Herbrecht, R. *J. Mycol. Med.* **2018**, *28* (1), 8–14.

2.3. Promédicaments et essais cliniques

2.3.1. Amélubant / BIIL 284

BIIL 284 ou Amélubant est un nouvel antagoniste des récepteurs LTB₄ développé comme nouvel agent anti-inflammatoire pour plusieurs affections inflammatoires chroniques.⁸⁶

Cette prodrogue est rapidement métabolisée par des estérases plasmatiques formant le composé BIIL 260, lui-même métabolisé en BIIL 315 par glucuroconjugaison, les deux métabolites étant des antagonistes des récepteurs LTB₄.⁸⁶ Le temps pour atteindre la concentration maximale de BIIL 315 est d'environ 4h (Schéma 29).⁸⁷

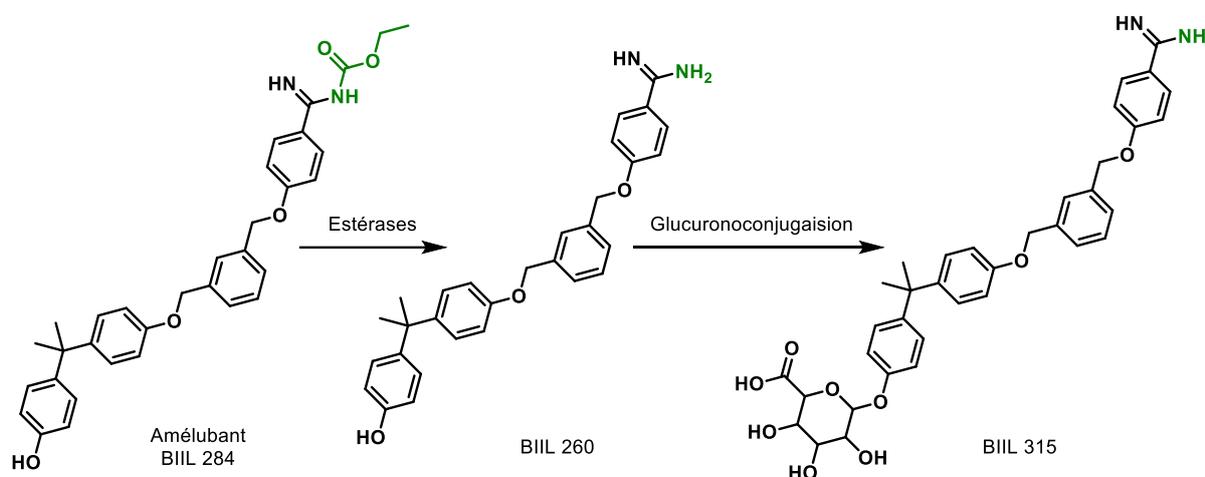


Schéma 29. Structure chimique de l'amélubant et sa conversion enzymatique en BIIL 260 et BIIL 315.

Plusieurs études cliniques ont été menées sur ce composé: 12 études de phase I et 5 de phase II entre 1998 et 2014 principalement dans 4 maladies : BPCO, asthme, polyarthrite rhumatoïde (PR) et la fibrose kystique.⁸⁸ Seuls quelques résultats mitigés ont été publiés à ce jour, les résultats sur l'asthme et la BPCO n'ont pas encore été publiés.

Concernant l'arthrite rhumatoïde, l'étude menée sur 342 patients s'est montrée décevante, la différence d'amélioration entre les groupes traités et le groupe placebo n'étant pas significative. D'après les auteurs, les résultats de cet essai montrent que le LTB₄ n'est pas un contributeur majeur au processus inflammatoire de la PR.⁸⁹

⁸⁶ Birke, F. W.; Meade, C. J.; Anderskewitz, R.; Speck, G. A.; Jennewein, H. M. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2001**, *297* (1), 458–466.

⁸⁷ Alten, R.; Gromnica-Ihle, E.; Pohl, C.; Emmerich, J.; Steffgen, J.; Roscher, R.; Sigmund, R.; Schmolke, B.; Steinmann, G. *Ann. Rheum. Dis.* **2004**, *63* (2), 170–176.

⁸⁸ BIIL 284 - List Results <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=BIIL+284&draw=3&rank=14#rowId13> (accessed May 1, 2020)

⁸⁹ Díaz-González, F.; Alten, R. H. E.; Bensen, W. G.; Brown, J. P.; Sibley, J. T.; Dougados, M.; Bombardieri, S.; Durez, P.; Ortiz, P.; De-Miquel, G.; et al. *Ann. Rheum. Dis.* **2007**, *66* (5), 628–632.

L'autre étude a été menée sur des enfants et adultes atteints de fibroses kystiques. Malheureusement l'étude sur 420 patients a été arrêtée en cours d'essai après l'apparition d'effets indésirables graves (36% chez les adultes sous traitement vs 21% sous placebo). La cause étant aujourd'hui inconnue, l'hypothèse émise serait une augmentation des infections dues à la diminution de la réponse inflammatoire.⁹⁰

2.3.2. Placarbil d'arbaclofène

Le placarbil d'arbaclofène est le promédicament de l'arbaclofène, qui est un agoniste sélectif des récepteurs de l'acide γ -aminobutyrique de type B et de l'énantiomère *R* du baclofène. Il permet d'obtenir une libération de *R*-baclofène (Schéma 30).⁹¹

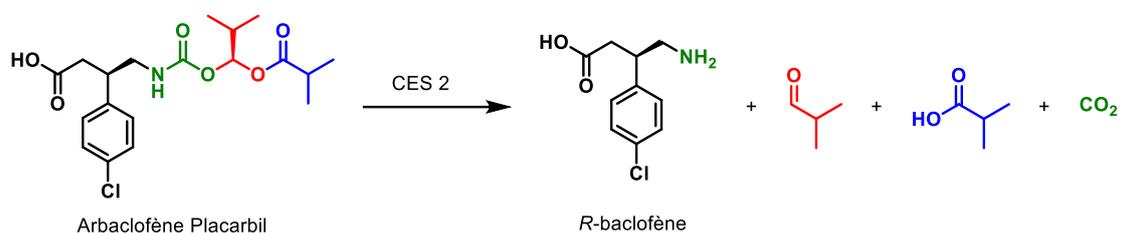


Schéma 30. Structure chimique du placarbil d'arbaclofène en *R*-baclofène.

En effet, le baclofène n'est absorbé que dans l'intestin grêle supérieur par des mécanismes de transport actif saturable, et est rapidement métabolisé (demi-vie de 3 à 4h). Le baclofène doit donc être administré fréquemment pour maintenir une efficacité thérapeutique. Le placarbil d'arbaclofène est lui absorbé au niveau du colon, ce qui permet de délivrer le médicament dans une formulation à libération prolongée pour permettre une prise moins fréquente de médicament. Après absorption il est rapidement métabolisé par hydrolyse par les carboxylestérases humaine 2.

Le placarbil d'arbaclofène aurait des propriétés intéressantes dans le traitement du reflux gastro-œsophagien (RGO) et la spasticité en cas de sclérose en plaques. 8 essais thérapeutiques ont été tentés : 1 en phase I, 6 en phase II et 1 en phase III.⁹²

Malheureusement, après plusieurs essais cliniques de phase II peu concluants, le laboratoire XenoPort a décidé d'abandonner le médicament pour le traitement des RGO.⁹³ En 2013, après

⁹⁰ Konstan, M. W.; Döring, G.; Heltshe, S. L.; Lands, L. C.; Hilliard, K. A.; Koker, P.; Bhattacharya, S.; Staab, A.; Hamilton, A. J. *Cyst. Fibros.* **2014**, *13* (2), 148–155.

⁹¹ Lal, R.; Sukbuntherng, J.; Tai, E. H. L.; Upadhyay, S.; Yao, F.; Warren, M. S.; Luo, W.; Bu, L.; Nguyen, S.; Zamora, J.; et al. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2009**, *330* (3), 911.

⁹² Arbaclofen Placarbil - List Results - ClinicalTrials.gov <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=Arbaclofen+Placarbil&cntry=&state=&city=&dist=> (accessed May 1, 2020).

⁹³ Vakil, N. B.; Huff, F. J.; Cundy, K. C. = *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2013**, *38* (2), 107–117.

un essai de phase III, le laboratoire a annoncé son intention de mettre fin au développement du placarbil d'arbaclofène pour le traitement de la sclérose en plaques.⁹⁴

2.3.3. KP-14-61

KP-1461 est le promédicament du KP-1212. KP-1461 est un puissant analogue désoxyribonucléosidique mutagène sans terminaison de chaîne. Désigné comme nucléoside caché d'ADN, le médicament se compose d'une base modifiée qui s'intègre de manière aléatoire dans le VIH et s'apparie avec plusieurs bases (Schéma 31).

L'avantage de KP-1212, par rapport à un inhibiteur nucléosidique classique, est d'avoir une base modifiée permettant de s'appareiller avec plusieurs bases, pouvant ainsi cibler une grande partie de protéines virales. Le KP-1461, après bioconversion en KP-1212, est métabolisé en triphosphate et incorporé dans le génome du VIH-1. Le médicament est également incorporé dans l'ADN polymérase mitochondriale humaine. Il a été démontré que la substance active KP-1212 inhibe l'activité antivirale dans les tissus après un seul passage.⁹⁵

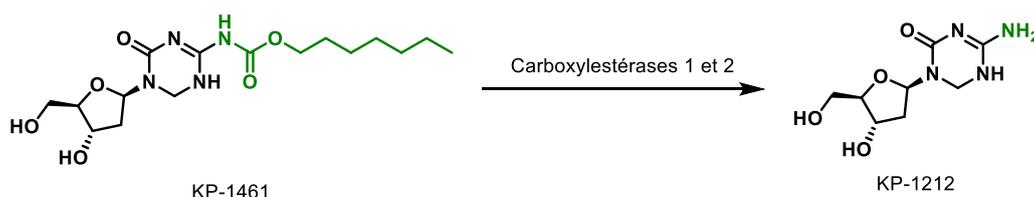


Schéma 31. Structure chimique de KP-1461 et sa conversion enzymatique en KP-1212.

Un essai thérapeutique a été lancé en 2008, en monothérapie, pendant 4 mois chez des patient VIH-1 et présentant des résistances multiples aux antirétroviraux. Mais aucun effet démontrable sur la charge virale en VIH ou le nombre de lymphocytes CD4 n'a pu être observé.⁹⁶

2.3.4. Lefradafiban

Le Lefradafiban, un promédicament oralement actif du fradafiban, est un nouvel inhibiteur de la glycoprotéine IIb/IIIa pour le traitement de l'angor instable (Schéma 32). Le fradafiban n'a qu'une activité orale très limitée, probablement en raison de sa polarité élevée et donc une mauvaise absorption après ingestion orale. L'estérification du groupe carboxyle et l'acylation du groupe amidine du fradafiban ont conduit à un promédicament beaucoup moins polaire, le lefradafiban. Il n'interagit pas avec le récepteur GP IIb/IIIa et doit être converti

⁹⁴ Arbaclofen Placarbil - DrugBank <https://www.drugbank.ca/drugs/DB08892> (accessed May 2, 2020).

⁹⁵ Harris, K. S.; Brabant, W.; Styrchak, S.; Gall, A.; Daifuku, R. *Antiviral Res.* **2005**, *67* (1), 1–9.

⁹⁶ Hicks, C.; Clay, P.; Redfield, R.; Lalezari, J.; Liporace, R.; Schneider, S.; Sension, M.; McRae, M.; Laurent, J.-P. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* **2013**, *29* (2), 250–255.

métaboliquement. Les estérases, mais pas les enzymes dépendantes du cytochrome P450, sont impliquées dans la conversion de lefradafiban en fradafiban *in vivo*.⁹⁷

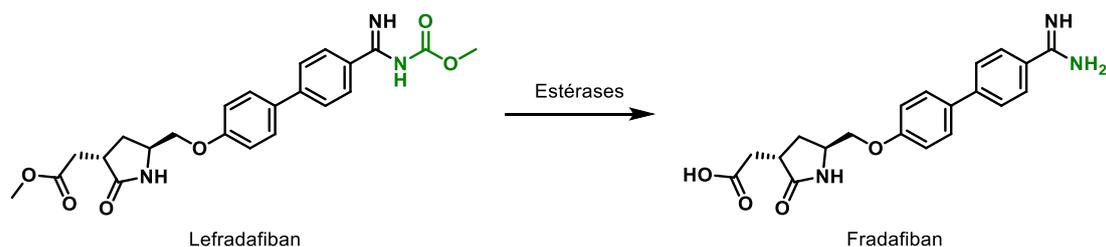


Schéma 32. Structure chimique du lefradafiban et sa conversion enzymatique en fradafiban.

Les études pharmacologiques ont montré que le lefradafiban était absorbé majoritairement dans l'intestin grêle et peu dans le colon. Le promédicament subit par la suite une estérification par des estérases rapidement après son absorption.⁹⁸

Les premiers résultats des différents essais cliniques ont été positifs,^{99,100} mais finalement le développement a été interrompu en 2000 en raison d'un manque d'efficacité.¹⁰¹

2.4. Promédicaments récemment décrits dans la littérature

La découverte de promédicaments à carbamate continue son développement, avec des mécanismes de bioconversion toujours plus ambitieux. Voici six promédicaments décrits très récemment dans la littérature, divisés en 3 sections : antidouleur, antibiotiques et anticancéreux.

2.4.1. Antalgiques

Le tapentadol (PALEXIA) est un médicament indiqué dans le traitement des douleurs aiguës modérées à sévères de l'adulte, qui ne peuvent être correctement traitées que par des antalgiques opioïdes. Cet opioïde fort possède une activité agoniste μ -opioïde et des propriétés additionnelles d'inhibition de la recapture de la noradrénaline.¹⁰²

⁹⁷ Müller, T. H.; Weisenberger, H.; Brickl, R.; Narjes, H.; Himmelsbach, F.; Krause, J. *Circulation* **1997**, *96* (4), 1130–1138.

⁹⁸ Drewe, J.; Narjes, H.; Heinzl, G.; Brickl, R.-S.; Rohr, A.; Beglinger, C. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2001**, *50* (1), 69–72.

⁹⁹ Akkerhuis, K. M.; Neuhaus, K. L.; Wilcox, R. G.; Vahanian, A.; Boland, J. L.; Hoffmann, J.; Baardman, T.; Nehmiz, G.; Roth, U.; Klootwijk, A. P. J.; *et al. Eur. Heart J.* **2000**, *21* (24), 2042–2055.

¹⁰⁰ Akkerhuis, K. M.; Van den Brand, M. J. B. M.; Van der Zwaan, C.; Peels, H. O. J.; Suryapranata, H.; Van der Wieken, L. R.; Stibbe, J.; Hoffmann, J.; Baardman, T.; Deckers, J. W.; *et al. Heart* **2001**, *85* (4), 444–450.

¹⁰¹ Lefradafiban - DrugBank <https://www.drugbank.ca/drugs/DB04863> (accessed May 3, 2020).

¹⁰² Tzschentke, T. M.; Christoph, T.; Kögel, B.; Schiene, K.; Hennies, H.-H.; Englberger, W.; Haurand, M.; Jahnel, U.; Cremers, T. I. F. H.; Friderichs, E.; De Vry, J. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2007**, *323* (1), 265–276.

Le médicament est rapidement absorbé, mais subit une forte métabolisation lors du premier passage hépatique (70%), la disponibilité étant finalement de 32%.¹⁰³

Comme nous l'avons vu précédemment le groupement carbamate peut être protecteur lors de ce premier passage hépatique. Ainsi l'ajout d'un groupement *N,N*-diméthylcarbamate permet d'améliorer la biodisponibilité orale de 2,3 fois (Schéma 34).¹⁰⁴

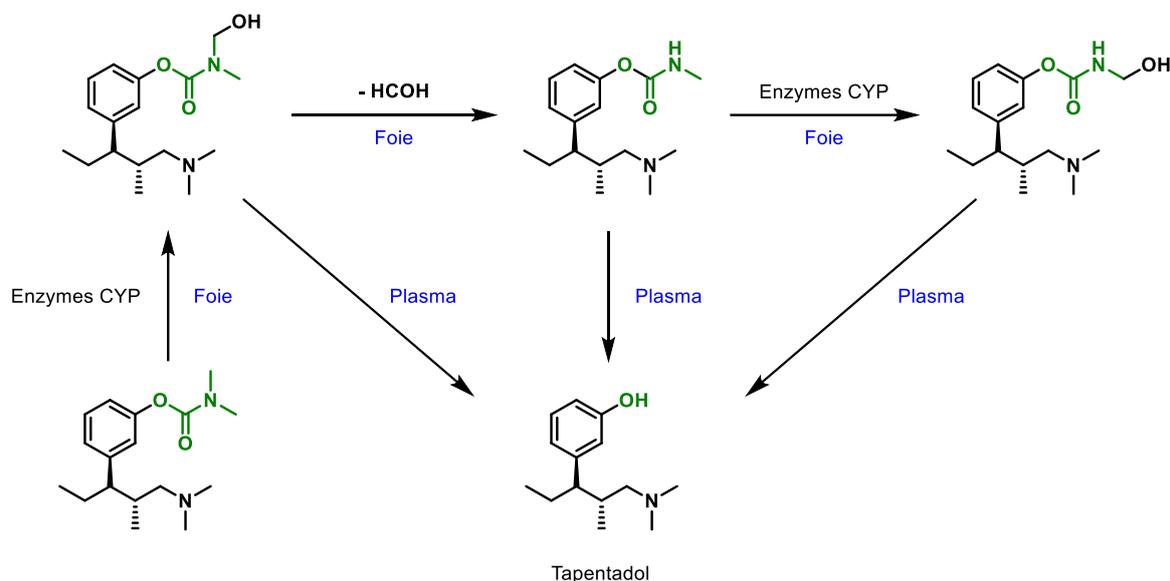


Schéma 33. Mécanisme de bioconversion du promédicament carbamate-tapentadol via le métabolisme par les enzymes CYP du foie suivi de la libération de tapentadol dans le plasma.¹⁰⁴

2.4.2. Antibiotiques

2.4.2.1. Double promédicament d'un analogue inverse de la fosmidomycine

La fosmidomycine est une molécule ayant des activités *in vitro*, inhibant le développement de *P. falciparum* et *M. tuberculosis*.¹⁰⁵ La fosmidomycine et ses dérivés présentent une mauvaise absorption, avec une faible perméabilité passive, une biodisponibilité modérée (20-40%) et une courte demi-vie (1,87h).¹⁰⁶ En outre, les voies de perméabilité induites par *P. falciparum* sont nécessaires pour l'absorption active de la fosmidomycine dans les globules rouges infectés.¹⁰⁷

Pour obtenir une meilleure absorption, indépendante du transporteur, des groupements esters d'acyloxyalkyle et d'alcoxycarbonyloxyalkyle phosphonate ont été greffés à la molécule

¹⁰³ Giorgi, M.; Meizler, A.; Mills, P. C. *Vet. J.* **2012**, *194* (3), 309–313.

¹⁰⁴ Li, Y.; Wang, Y.; Zhang, R.; Liu, C.; Wei, Y.; Sun, J.; He, Z.; Xu, Y.; Zhang, T. *Drug Deliv. Transl. Res.* **2018**, *8* (5), 1335–1344.

¹⁰⁵ Courtens, C.; Risseuw, M.; Caljon, G.; Maes, L.; Cos, P.; Martin, A.; Van Calenbergh, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2019**, *29* (10), 1232–1235.

¹⁰⁶ Wiesner, J.; Borrmann, S.; Jomaa, H. *Parasitol. Res.* **2003**, *90*, S71–S76.

¹⁰⁷ Baumeister, S.; Wiesner, J.; Reichenberg, A.; Hintz, M.; Bietz, S.; Harb, O. S.; Roos, D. S.; Kordes, M.; Friesen, J.; Matuschewski, K.; et al. *PLoS One* **2011**, *6* (5), e19334.

(premier promédicament).¹⁰⁸ Cependant, les molécules n'avaient pas encore suffisamment d'efficacité. En effet, le groupement hydroxamate contribue aussi à une haute polarité de la fosmidomycine. Par conséquent, masquer l'hydroxamate permettrait encore d'améliorer l'absorption par diffusion passive. De plus, le masquage de la fonctionnalité hydroxamate pourrait également entraîner une meilleure stabilité plasmatique, car les hydroxamates sont connus pour être sensibles à l'hydrolyse plasmatique.¹⁰⁹ Ainsi le groupement carbamate s'est retrouvé être un groupement de choix (Schéma 34),¹¹⁰ améliorant considérablement l'activité inhibitrice contre *P. falciparum* (IC₅₀(Pf-K1) de 0,64 pour la double prodrogue vs 1,73 pour la fosfomycine), mais est dénué d'effet sur *M. tuberculosis*.¹⁰⁵

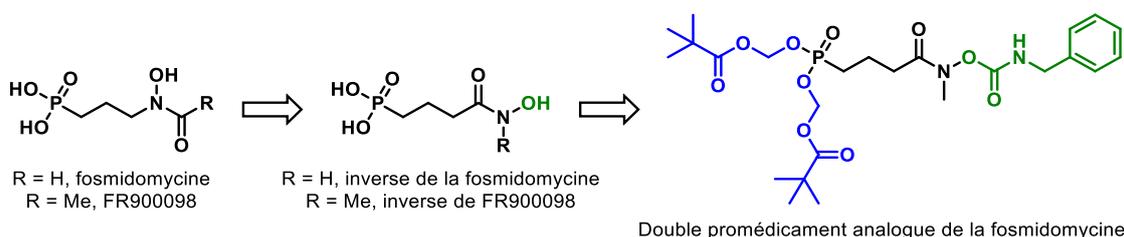


Schéma 34. Double promédicament analogue de la fosmidomycine.

2.4.2.2. Promédicament du SQ109

Le composé SQ109 est un antituberculeux en cours d'essais cliniques de phase II et III.^{111,112}

Sa faible biodisponibilité orale varie de 2,4 à 12% au maximum suivant l'espèce animale testée, ceci principalement dû à une très forte métabolisation par oxydation, époxydation et N-désalkylation lors du premier passage hépatique.¹¹³

L'utilisation d'un groupement carbamate (Schéma 35), sensible aux estérases a permis d'obtenir une meilleure biodisponibilité de SQ109 chez le rat, passant de 21,4% à 91,4%. En outre, nous observons une distribution préférentielle dans les poumons et la rate, organes cibles de l'infection tuberculeuse.¹¹⁴

¹⁰⁸ Brücher, K.; Gräwert, T.; Konzuch, S.; Held, J.; Lienau, C.; Behrendt, C.; Illarionov, B.; Maes, L.; Bacher, A.; Wittlin, S.; et al. *J. Med. Chem.* **2015**, *58* (4), 2025–2035.

¹⁰⁹ Flipo, M.; Charton, J.; Hocine, A.; Dassonneville, S.; Deprez, B.; Deprez-Poulain, R. *J. Med. Chem.* **2009**, *52* (21), 6790–6802.

¹¹⁰ Schlimme, S.; Hauser, A. T.; Carafa, V.; Heinke, R.; Kannan, S.; Stolfa, D. A.; Cellamare, S.; Carotti, A.; Altucci, L.; Jung, M.; et al. *ChemMedChem* **2011**, *6* (7), 1193–1198.

¹¹¹ Boeree, M. J.; Heinrich, N.; Aarnoutse, R.; Diacon, A. H.; Dawson, R.; Rehal, S.; Kibiki, G. S.; Churchyard, G.; Sanne, I.; Ntinginya, N. E.; et al. *Lancet Infect. Dis.* **2017**, *17* (1), 39–49.

¹¹² World Health Organization. *Global Tuberculosis Report*; 2019.

¹¹³ Jia, L.; Noker, P. E.; Coward, L.; Gorman, G. S.; Protopopova, M.; Tomaszewski, J. E. *Br. J. Pharmacol.* **2006**, *147* (5), 476–485.

¹¹⁴ Meng, Q.; Luo, H.; Liu, Y.; Li, W.; Zhang, W.; Yao, Q. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 2808–2810.

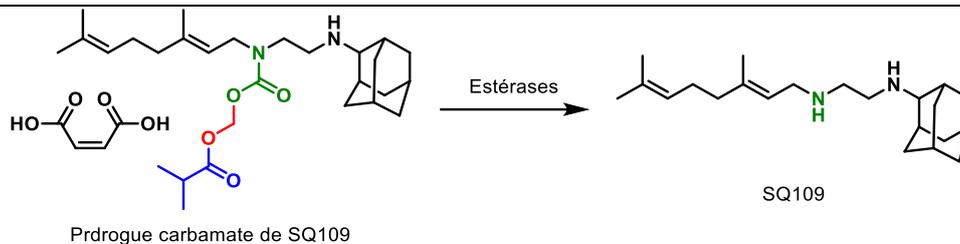


Schéma 35. Promédicament de SQ109.

2.4.2.3. Promédicament activé par hypoxie

Cette molécule **A** est basée sur une substance active ciblant *E. coli* et *S. aureus* et est activée en conditions réductrices donc en hypoxie (Schéma 36).¹¹⁵ De précédentes études ont montré qu'une hypoxie était associée à une série d'infections bactériennes et induite par une réduction de l'apport sanguin aux tissus infectés.¹¹⁶ Un promédicament activé par hypoxie permettrait de libérer la substance active au niveau des tissus infectés, comme le groupement nitro.¹¹⁷

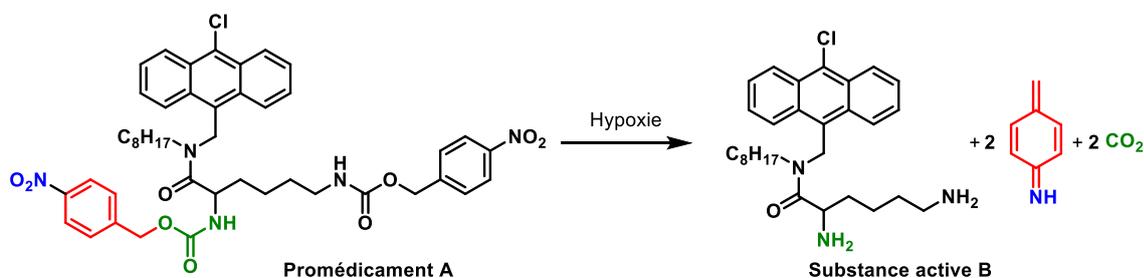


Schéma 36. Bioconversion par hypoxie (condition hypoxie mimée ici par du chlorure d'étain).¹¹⁵

2.4.2.4. Promédicament du triclosan : bioconversion déclenché par la tétrazine

L'utilisation d'un promédicament du triclosan (Schéma 37) n'a pas ici grand intérêt d'un point de vue pharmacologique, mais permet de valider une preuve de concept, celui des promédicaments activés par la tétrazine. Cette méthode permet de libérer des molécules actives possédant un groupement phénol.¹¹⁸

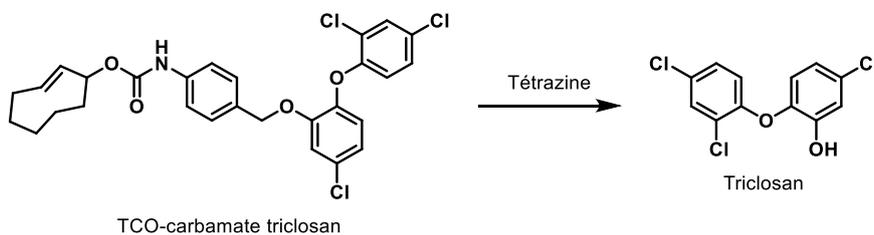


Schéma 37. Promédicament du triclosan.¹¹⁸

¹¹⁵ Yeoh, Y. Q.; Horsley, J. R.; Polyak, S. W.; Abell, A. D. A Hypoxia-Activated Antibacterial Prodrug. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, No. March, 127140.

¹¹⁶ Fu, Q.; Yang, Y.; Li, C.; Zeng, Q.; Zhou, T.; Li, N.; Liu, Y.; Liu, S.; Liu, Z. *Dev. Comp. Immunol.* **2017**, *77*, 241–251.

¹¹⁷ Testa, B. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2009**, *13* (3), 338–344.

¹¹⁸ Davies, S.; Oliveira, B. L.; Bernardes, G. J. L. *Biomol. Chem.* **2019**, *17* (23), 5725–5730.

Cette nouvelle méthode a été décrite grâce aux travaux de Blackman *et al.*, dans lesquels ils ont montré une rapide bioconversion basée sur la réaction de Diels-Alder. Elle correspond à une cycloaddition de tétrazine sur des dérivés trans-cyclooctène (TCO) très rapide (k_2 de $2000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$). Les réactions tolèrent une large gamme de fonctionnalités et se déroulent avec un rendement élevé dans les solvants organiques, l'eau, les milieux cellulaires ou le lysat cellulaire.¹¹⁹

Ce promédicament est un *self-immolative linker* composé par le TCO-carbamate (amorce en vert), la méthylaniline (espaceur en bleu) et le dérivé alcoolique (effecteur en bleu) (Schéma 38).

Le mécanisme est divisé en 4 étapes. L'ajout d'une tétrazine permet d'activer l'amorce par cycloaddition sur le TCO. Ceci entraîne une délocalisation électronique libérant le linker-effecteur et du CO_2 . Cette libération est suivie par une élimination 1,6 relarguant le principe actif (R_1OH) et un dérivé de méthylène quinone, qui est lui-même rapidement hydrolysé.¹¹⁸

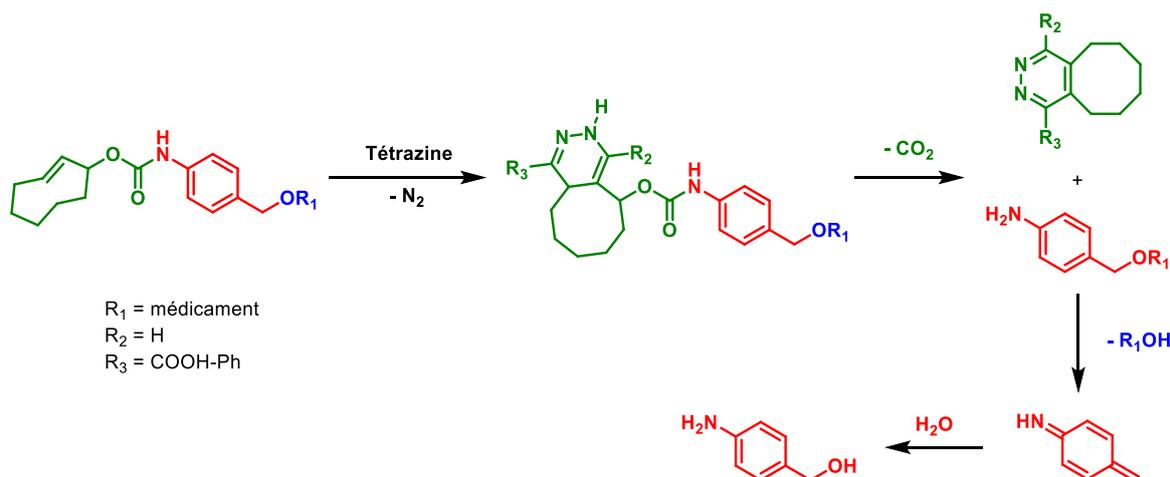


Schéma 38. Mécanisme réactionnelle d'activation d'une prodrogue TCO-carbamate grâce à la tétrazine.¹¹⁸

Un mécanisme sans linker avait été décrit par Ron M. Versteegen en 2013 (Schéma 39).¹²⁰ Cette publication décrit l'utilité du groupement TCO dans le ciblage des anticancéreux à partir de conjugués anticorps-médicament (*antibody-drug-conjugates* ADC). Un médicament possédant un groupement amine est fixé par liaison carbamate au TCO, lui-même fixé à un anticorps. Une fois l'anticorps fixé à sa cible dans une cellule cancéreuse, l'ajout de tétrazine permet de libérer la substance active.

¹¹⁹ Blackman, M. L.; Royzen, M.; Fox, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (41), 13518–13519.

¹²⁰ Versteegen, R. M.; Rossin, R.; Ten Hoeve, W.; Janssen, H. M.; Robillard, M. S. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2013**, *52* (52), 14112–14116.

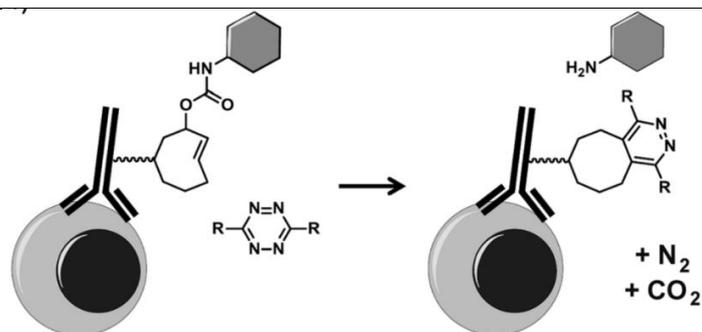


Schéma 39. Prédiction de la libération et de l'activation d'un anticorps conjugué au médicament (ADC) sur une tumeur, permise par la nouvelle réaction d'élimination basée sur DA-inv.¹²⁰

2.5. Anticancéreux

2.5.1.1. Conjugaison d'indoles à des anticorps grâce à un nouveau liant auto-immolant

Ce nouveau concept de *self-immolative linker* est composé d'une amorce (anticorps en bleu) reliée par un pont disulfure à l'espaceur, (rouge) lui-même relié par une liaison carbamate à l'azote 1 de l'indole d'un effecteur (vert, Schéma 40). À l'inverse de la stratégie ADAPT, ici la prodrogue est reliée à l'anticorps.

Après internalisation cellulaire du composé et portage sur la cible de l'anticorps, la molécule va subir un catabolisme entraînant une réduction du pont disulfure. Ceci entraîne une relocalisation électronique relarguant le principe actif.¹²¹

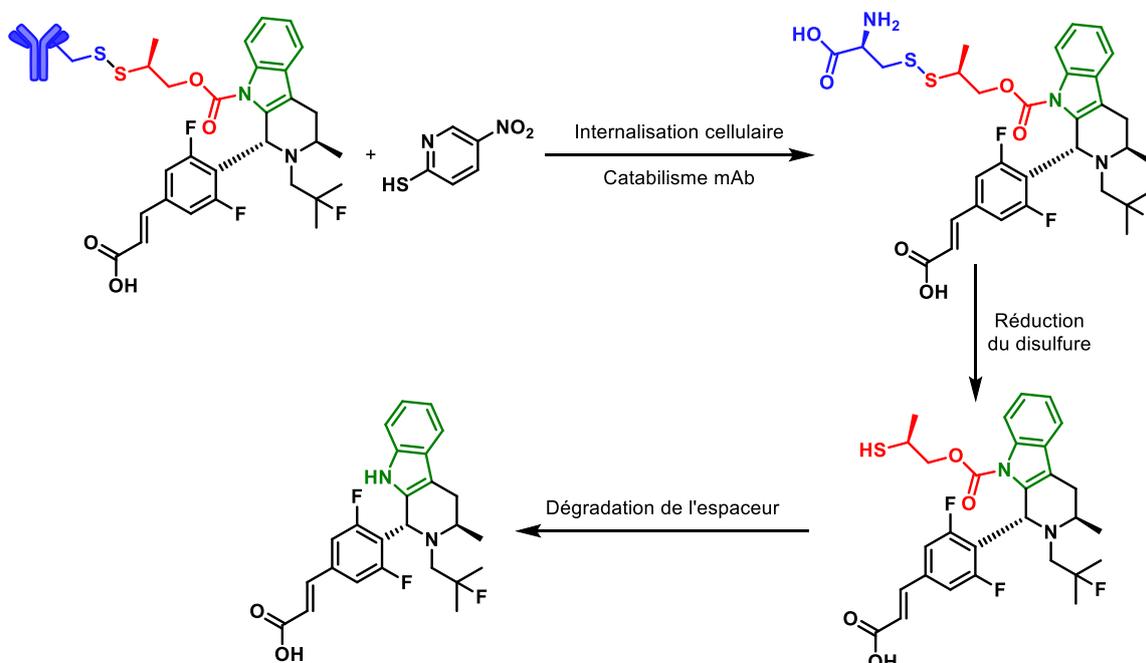


Schéma 40. Promédicament donc le groupement carbamate sert de liant entre une espaceur et un effecteur composé d'un indole.¹²¹

¹²¹ Dragovich, P. S.; Blake, R. A.; Chen, C.; Chen, J.; Chuh, J.; den Besten, W.; Fan, F.; Fourie, A.; Hartman, S. J.; He, C.; et al. *Chem. - A Eur. J.* **2018**, *24* (19), 4830–4834.

2.5.1.2. Promédicament self-immolative linker composé d'une proline

La camptothécine et le paclitaxel sont des médicaments anti-cancéreux bien connus. Un nouveau type de *self-immolative linker* a été développé en 2020 par A. Dal Corso, se basant sur une cyclisation rapide d'un dérivé de la proline, améliorant ainsi l'efficacité des prodrogues à carbamate.¹²² Le but ici est de montrer une meilleure bioconversion du promédicament lorsque le groupement éthylène diamine de l'espaceur est remplacé pour un dérivé de la proline (Schéma 41).

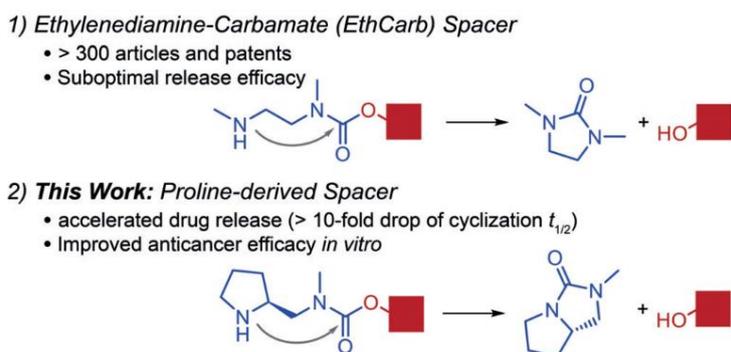


Schéma 41. Mécanisme de bioconversion par cyclisation de différents espaceurs : EthCar ou dérivé de proline.¹²²

La molécule est composée comme toujours de 3 parties (Schéma 42) : une gâchette valine-arginine, un espaceur en 2 parties (dérivé éthylaniline relié à un dérivé proline par une liaison carbamate) et enfin un effecteur.

Un clivage enzymatique de la gâchette Val-Arg va entraîner une déstabilisation de l'aniline qui par élimination 1,6 *via* relarguer une proline. Ce dérivé proline va subir une cyclisation permettant de libérer la substance active. Cette cyclisation avec une proline permet de diminuer le temps de demi-vie de la prodrogue d'un facteur 10 par rapport à une cyclisation avec un groupement carbamate éthylènediamine ($t_{1/2}$ passant de 10,6 h à 1,6 h).

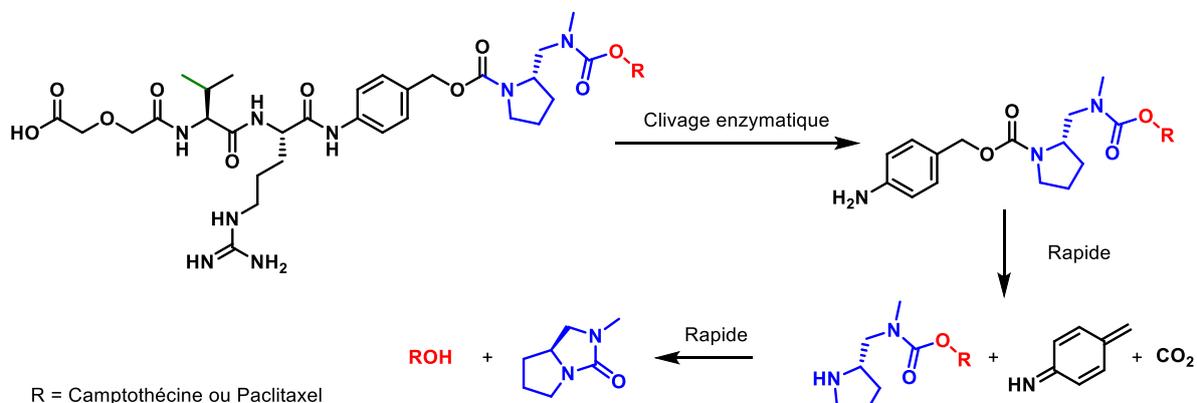


Schéma 42. Bioconversion par cyclisation de dérivé de la proline.¹²²

¹²² Dal Corso, A.; Borlandelli, V.; Corno, C.; Perego, P.; Belvisi, L.; Pignataro, L.; Gennari, C. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2020**, 59 (10), 4176–4181.

3. Quand le mécanisme de bioconversion devient une cible thérapeutique

Comme nous l'avons vu, plusieurs promédicaments que nous avons décrit sont bioconvertis en substance active par des cholinestérases : acétylcholinestérase et/ou butyrylcholinestérase (Bambutérol p.34, irinotécan p.36 et isavuconazonium p.38). Le rôle primaire des cholinestérases est de métaboliser les esters (comme l'acétylcholine) par transestérification, permettant de libérer le métabolite. Du fait de la transestérification, le groupement ester formé sur l'enzyme va l'inactiver pendant un court instant, celle-ci étant réactivée par hydrolyse grâce à la présence d'eau (dégradation de 25 000 molécules par seconde pour une molécule d'AChE).⁵³ Comme nous l'avons rapidement vu page 29 certains composés possédant un groupement carbamate peuvent inactiver l'enzyme pendant un temps de 30 à 40 min, par réaction de trans-carbamoylation.

Deux promédicaments provoquent une inhibition des ChE et plus précisément de la BuChE : l'irinotécan et le bambutérol.^{123,124}

En 1999, des études de l'irinotécan ont montré que celui-ci était un inhibiteur de la BuChE avec des valeurs d'IC₅₀ allant de 0,08 µM à 3,96 µM sur BuChE *Electrophorus electricus* (*eel*) et BuChE équine (*eq*). Des cinétiques enzymatiques ont pu montrer que la bioconversion n'était possible qu'avec la BuChE. Ceci permet de poser l'hypothèse selon laquelle la bioconversion de l'irinotécan induit une inhibition enzymatique de la BuChE.¹²³

En 1988, Tunek *et al.*, ont mené des études enzymatiques sur le bambutérol vis-à-vis de l'AChE et de la BuChE humaine (*h*). Il en a été conclu que le bambutérol était spécifique de la BuChE(*h*) avec une IC₅₀ de 17 nM (contre 41 µM pour l'AChE(*h*)). Des études cinétiques complémentaires ont montré que le bambutérol était bien un inhibiteur compétitif.¹²⁴

La BuChE étant une cible thérapeutique dans le traitement de la maladie d'Alzheimer,¹²⁵ la structure du bambutérol intéresse les chercheurs depuis plusieurs années, comme base de

¹²³ Dodds, H. M.; Rivory, L. P. *Mol. Pharmacol.* **1999**, *56* (6), 1346–1353.

¹²⁴ Tunek, A.; Svensson, L. A. Bambuterol, a Carbamate Ester Prodrug of Terbutaline, as Inhibitor of Cholinesterases in Human Blood. *Drug Metab. Dispos.* **1988**, *16* (5), 759–764.

¹²⁵ Darvesh, S.; Hopkins, D. A.; Geula, C. Neurobiology of Butyrylcholinesterase. *Nat. Rev. Neurosci.* **2003**, *4* (2), 131–138.

nouvelles molécules d'intérêt dans le traitement de cette maladie. Des dérivés ont d'ailleurs été synthétisés dans ce but en 2016.¹²⁶

Dans le cadre d'un repositionnement pharmaceutique,¹²⁷ la structure elle-même du bambutérol pourrait être utilisable dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Dans ce cadre les équipes des Prs Rochais, Dallemagne et Malzert-Fréon ont déposé un brevet en 2019.¹²⁸

En conclusion, nous venons de voir dans ces 2 exemples, qu'une prodrogue peut être une molécule active qui inhibe l'enzyme responsable de sa bioconversion pendant celle-ci. De plus l'exemple du bambutérol montre que cette prodrogue serait un composé actif dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Sur ces constats, nous pourrions imaginer un promédicament à carbamate bioconverti par les cholinestérases inhibant donc celles-ci, et libérant une substance active sur une autre cible thérapeutique de la MA (nous pouvons citer les récepteurs sérotoninergiques). Nous aurions donc un promédicament multicible ou un promédicament pléiotrope.

¹²⁶ Wu, J.; Tian, Y.; Wang, S.; Pistozzi, M.; Jin, Y.; Zhou, T.; Roy, G.; Xu, L.; Tan, W. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *126*, 61–71.

¹²⁷ Jourdan, J.; Bureau, R.; Rochais, C.; Dallemagne, P. *J. Pharm. Pharmacol.* **2020**.

¹²⁸ Rochais, C.; Dallemagne, P.; Groo, A.-C.; Malzert-Fréon, A. WO2019202400A1, 2019.

*Chapitre 3. Application à la maladie d'Alzheimer :
synthèse d'un promédicament pléiotrope*

1. Maladie d'Alzheimer et traitement

1.1. Généralités

La maladie d'Alzheimer (MA) découverte en 1906 par Aloïs Alzheimer,¹²⁹ est une maladie neurodégénérative, progressive, irréversible et liée à l'âge avec perte de la mémoire et des fonctions cognitives. Elle est classifiée dans les démences et représente 50 à 80 % de celles-ci.¹³⁰ L'estimation du nombre de malades dans le monde en 2019 est de 50 millions d'individus et ce nombre devrait passer à 132 millions en 2050. Son coût a été estimé à 820 millions en 2015 et devrait atteindre la somme de 2.000 milliards en 2030.¹³¹

La maladie se décompose en 3 phases : une phase préclinique asymptomatique de plusieurs années avec apparition des lésions cérébrales, une phase pré-démentielle avec apparition des troubles mnésiques (perte de la mémoire récente) et comportementaux, et enfin la phase démentielle avec augmentation des troubles mnésiques, dégradation des facultés mentales, aphasie, apraxie, agnosie, aboutissant à une perte d'autonomie du patient.

La maladie se caractérise par une mort progressive des cellules nerveuses avec altération des fonctions cognitives et de la mémoire, ainsi que des lésions produites par plusieurs mécanismes dont les deux principaux sont : la formation de plaques séniles extracellulaires, appelées communément les plaque amyloïdes, composées de fibrilles de protéines β -amyloïdes ($A\beta$)^{132,133} et la dégénérescence neurofibrillaire induite par une hyperphosphorylation de la protéine tau.^{134,135} D'autres hypothèses permettraient de compléter ces 2 mécanismes : la présence d'ions métalliques,^{136,137} la neuroinflammation^{138,139} et le stress oxydant.^{140,141}

¹²⁹ Stelzmann, R. A.; Norman Schnitzlein, H.; Reed Murtagh, F. *Clin. Anat.* **1995**, *8* (6), 429–431.

¹³⁰ Prince, M.; Bryce, R.; Albanese, E.; Wimo, A.; Ribeiro, W.; Ferri, C. P. *Alzheimer's Dement.* **2013**, *9* (1), 63–75.

¹³¹ OMS | Démence et plan mondial d'action de santé publique - infographies https://www.who.int/mental_health/neurology/dementia/infographic_dementia/fr/ (accessed Dec 23, 2019).

¹³² Turner, P. R.; O'Connor, K.; Tate, W. P.; Abraham, W. C. *Prog. Neurobiol.* **2003**, *70* (1), 1–32.

¹³³ Lee, S. J. C.; Nam, E.; Lee, H. J.; Savelieff, M. G.; Lim, M. H. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46* (2), 310–323.

¹³⁴ Goedert, M.; Spillantini, M. G.; Jakes, R.; Rutherford, D.; Crowther, R. *Disease. Neuron* **1989**, *3* (4), 519–526.

¹³⁵ Ward, S. M.; Himmelstein, D. S.; Lancia, J. K.; Binder, L. I. *Biochem. Soc. Trans.* **2012**, *40* (4), 667–671.

¹³⁶ Faller, P.; Hureau, C. *Chem. - A Eur. J.* **2012**, *18* (50), 15910–15920.

¹³⁷ Duce, J. A.; Tsatsanis, A.; Cater, M. A.; James, S. A.; Robb, E.; Wikke, K.; Leong, S. L.; Perez, K.; Johanssen, T.; Greenough, M. A.; *et al. Cell* **2010**, *142* (6), 857–867.

¹³⁸ Rogers, J.; Mastroeni, D.; Leonard, B.; Joyce, J.; Grover, A. *Int. Rev. Neurobiol.* **2007**, *82*, 235–246.

¹³⁹ Heneka, M. T.; Carson, M. J.; Khoury, J. El; Landreth, G. E.; Brosseron, F.; Feinstein, D. L.; Jacobs, A. H.; Wyss-Coray, T.; Vitorica, J.; Ransohoff, R. M.; *et al. Lancet Neurol.* **2015**, *14* (4), 388–405.

¹⁴⁰ Markesbery, W. R.; Carney, J. M. *Brain Pathol.* **2006**, *9* (1), 133–146.

¹⁴¹ Rosini, M.; Simoni, E.; Milelli, A.; Minarini, A.; Melchiorre, C. *J. Med. Chem.* **2014**, *57* (7), 2821–2831.

Enfin il y a l'hypothèse cholinergique qui suppose que la dégénérescence dans les neurones cholinergiques et la perte associée de la neurotransmission dans le cortex cérébral contribuent à la détérioration des fonctions cognitives.¹⁴²

1.2. Système cholinergique et cholinestérases

1.2.1. Description

Le système cholinergique possède comme neurotransmetteur l'acétylcholine (ACh). L'ACh, agoniste cationique des récepteurs nicotiniques et muscariniques, est impliquée dans de nombreux processus physiologiques au niveau central et périphérique (activité musculaire). Elle est responsable de l'apprentissage et de la mémoire.¹⁴³

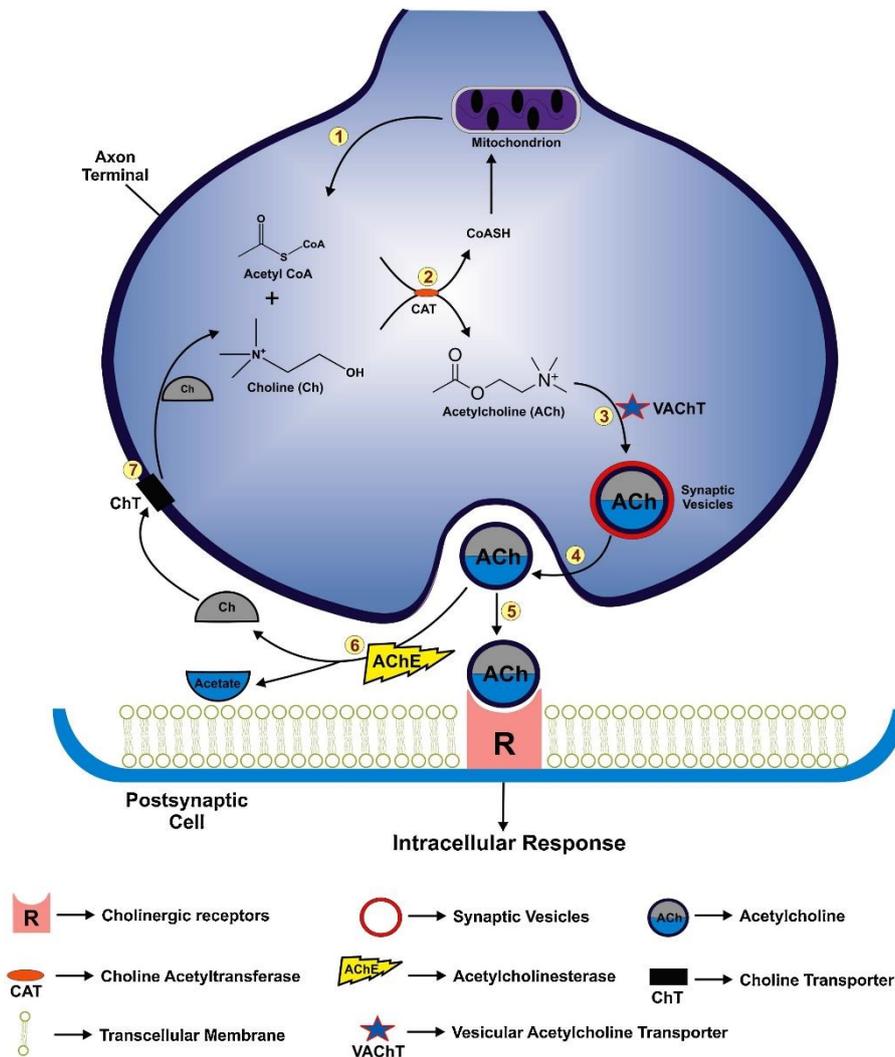


Figure 11. Synthèse de l'ACh et transmission cholinergique¹⁴⁴

¹⁴² Francis, P. T.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **1999**, *66* (2), 137–147.

¹⁴³ Soreq, H.; Seidman, S. *Nat. Rev. Neurosci.* **2001**, *2* (4), 294–302.

¹⁴⁴ Sharma, P.; Srivastava, P.; Seth, A.; Tripathi, P. N.; Banerjee, A. G.; Shrivastava, S. K. *Prog. Neurobiol.* **2019**, *174*, 53–89.

Ce neurotransmetteur est synthétisé dans le neurone pré-synaptique à partir de choline et d'acétyl-coenzyme A (Figure 11), grâce à une enzyme la choline acétyltransférase (ChAT). L'ACh est ensuite libérée dans l'espace intersynaptique qui permet la transmission d'un influx nerveux d'un neurone à l'autre en diffusant et se liant aux récepteurs postsynaptiques. L'influx nerveux est régulé par les cholinestérases (ChE) : acétylcholinestérase (AChE) et butyrylcholinestérase (BuChE). Ces enzymes ont pour rôle de mettre fin à la transmission du signal par hydrolyse de l'ACh en acétate et en choline. La choline est par la suite recapturée par le neurone présynaptique permettant ainsi une nouvelle production d'ACh.

L'AChE est une cholinestérase que l'on trouve principalement au niveau des jonctions synaptiques nerveuses et dans le cortex cérébral humain adulte.

L'AChE est une enzyme présente sous forme de tétramère. C'est une sérine hydrolase dont la spécificité est relativement élevée pour l'ACh, avec une dégradation de 25 000 molécules par seconde pour une molécule d'AChE.⁵³ Elle a une forme ellipsoïdale, d'une dimension de 45 Å sur 60 Å sur 65 Å. Un monomère est composé de 12 feuillets β entourés de 14 hélices α . L'enzyme possède une gorge profonde et étroite de 20 Å. Ainsi, le site actif catalytique de l'AChE est situé à 4 Å du fond de cette gorge et comprend 2 sous-sites : le site anionique et le site estérasique correspondants respectivement au site catalytique et à la poche de liaison de la choline. Le sous-site anionique, non chargé et lipophile, lie l'ammonium quaternaire chargé positivement de la partie choline de l'ACh. Les substrats cationiques ne sont pas liés par un acide aminé chargé négativement dans le site anionique, mais par interaction avec 14 résidus aromatiques qui bordent la gorge menant au site actif. Parmi les acides aminés aromatiques, le tryptophane 84 est essentiel et sa mutation en une alanine entraîne une diminution de 3000 fois de l'activité enzymatique. Le sous-site estérasique, où l'ACh est hydrolysée en acétate et choline, contient une triade catalytique de trois acides aminés : la sérine 200, l'histidine 440 et le glutamate 327, comme les sous-sites catalytiques d'autres sérine hydrolases (Figure 12).

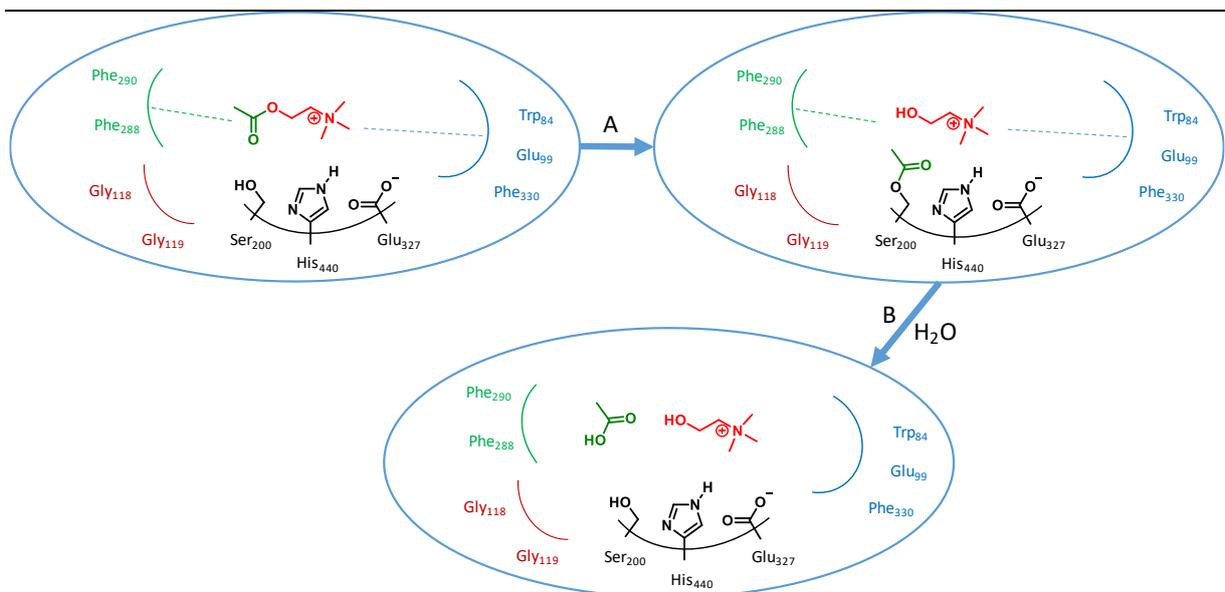


Figure 12. Mécanisme de l'hydrolyse de l'ACh, catalysé par la AChE(Tc) ; A. Décarboxylation de l'ACh et carboxylation réversible de la Ser₂₀₀ ; B. Hydrolyse de la Ser₂₀₀ et libération de choline et d'acide acétique.^{54,145}

En plus de son site actif, l'AChE contient un site périphérique (PAS) situé à l'entrée de la gorge. Il permet la liaison de l'ACh ou d'autres ligands agissant comme ligands non compétitifs. Il est impliqué dans les mécanismes d'action des inhibiteurs de l'AChE. Le PAS pourrait agir comme un régulateur allostérique de l'activité de l'AChE et réguler l'activité catalytique en adaptant l'efficacité de l'AChE à la concentration d'ACh, permettant notamment l'accélération de la réaction catalytique à de basses concentrations de substrat (fixation de l'ACh au PAS d'une enzyme contenant déjà un substrat d'ACh en son site actif). Inestrosa *et al.* ont prouvé qu'il existait une complexation entre l'Aβ et le PAS de l'AChE qui accélère l'agrégation de Aβ.¹⁴⁶ Le donépézil, inhibiteur de l'AChE actuellement commercialisé, est un inhibiteur de ce PAS, ainsi que du site catalytique.

Dans l'hypothèse cholinergique, la MA provoque une dégénérescence des neurones cholinergiques, provoquant une diminution de la neurotransmission cholinergique principalement dans le cortex cérébral et à d'autres régions entraînant la détérioration de la fonction cognitive observée chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Celle-ci est en relation avec un effondrement du taux de neurotransmetteur.¹⁴⁷ La Figure 14 tirée du travail de Francis *et al.* résume cette hypothèse.¹⁴²

¹⁴⁵ Darvesh, S.; Darvesh, K. V.; McDonald, R. S.; Mataija, D.; Walsh, R.; Mothana, S.; Lockridge, O.; Martin, E. J. *Med. Chem.* **2008**, *51* (14), 4200–4212.

¹⁴⁶ Inestrosa, N. C.; Alvarez, A.; Pérez, C. A.; Moreno, R. D.; Vicente, M.; Linker, C.; Casanueva, O. I.; Soto, C.; Garrido, J. *Neuron* **1996**, *16* (4), 881–891.

¹⁴⁷ Bartus, R. T.; Dean, R. L.; Pontecorvo, M. J.; Flicker, C. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1985**, 332–358.

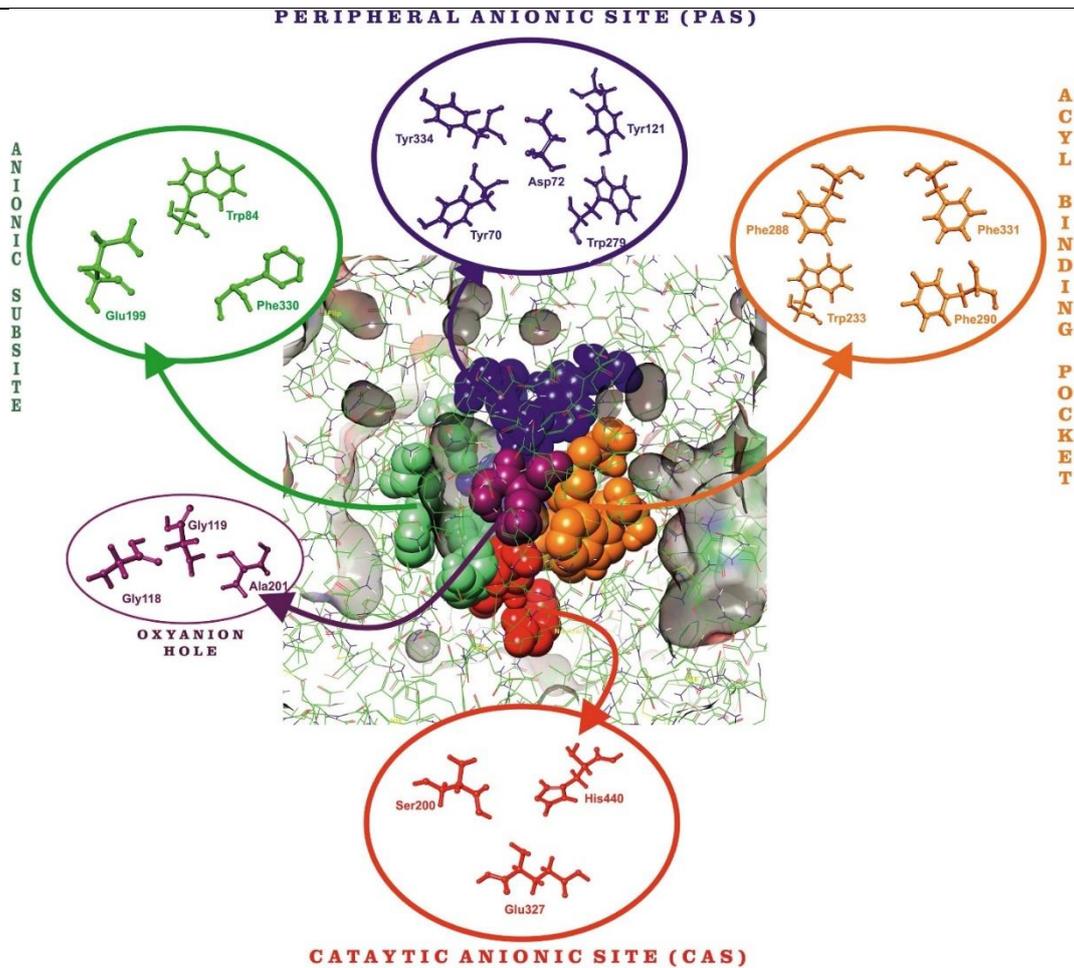


Figure 13. Représentation schématique de l'AChE(Tc) (code PDB : 1EVE) décrivant divers sites de liaison actifs et leurs résidus d'acides aminés. Plusieurs sites actifs d'AChE sont colorés avec des bulles : CAS en rouge ; PAS en bleu ; Sous-site anionique en vert ; Trou oxydant en violet ; Poche de fixation Acyl en orange.¹⁴⁴

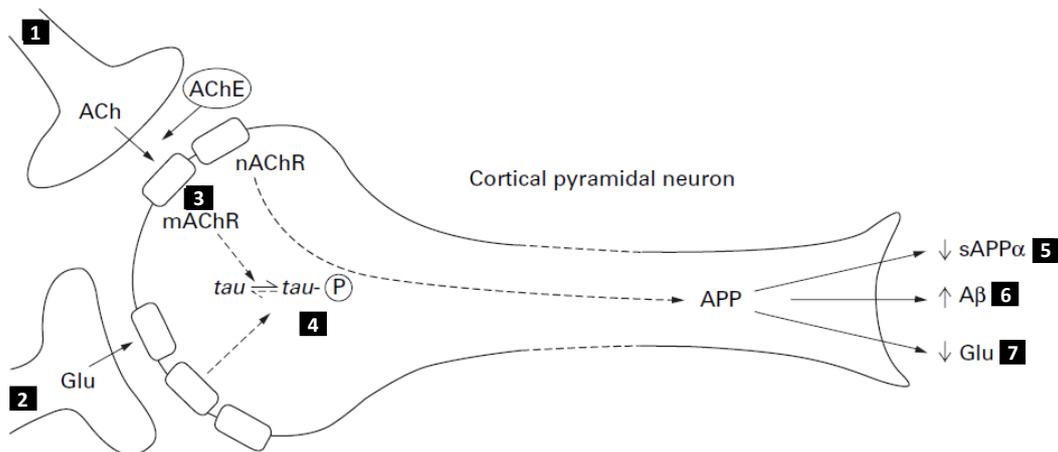


Figure 14. Représentation d'un neurone ayant des altérations dans la maladie d'Alzheimer. (1) réduction de l'innervation cholinergique corticale ; (2) neurotransmission glutamatergique corticocorticale réduite due à une perte de neurone ou de synapse ; (3) couplage réduit des récepteurs muscariniques M1 ; (4) passage de tau à l'état hyperphosphorylé ; (5) réduction de la sécrétion de sAPP α ; (6) augmentation de la production de A β ; (7) diminution de la production de glutamate. mAChR = récepteurs muscariniques de l'ACh ; nAChR = récepteurs nicotiniques de l'ACh. Glu = glutamate.^{142,148,149,150}

¹⁴⁸ Palmer, A. M.; Gershon, S. *FASEB J.* **1990**, 4 (10), 2745–2752.

¹⁴⁹ Francis, P. T.; Sims, N. R.; Procter, A. W.; Bowen, D. M. *J. Neurochem.* **1993**, 60 (5), 1589–1604.

¹⁵⁰ Nitsch, R. M. *Neurodegeneration* **1996**, 5 (4), 477–482.

1.2.2. Les inhibiteurs covalents des cholinestérases

Il existe actuellement 3 médicaments, inhibiteurs réversibles, qui vont inhiber l'enzyme de façon rapide, en interagissant avec elle sans former de liaisons covalentes : donépézil (ARICEPT), galantamine (REMINYL) et tacrine (COGNEX), cette dernière n'étant plus prescrite pour cause d'hépatotoxicité (Figure 15).

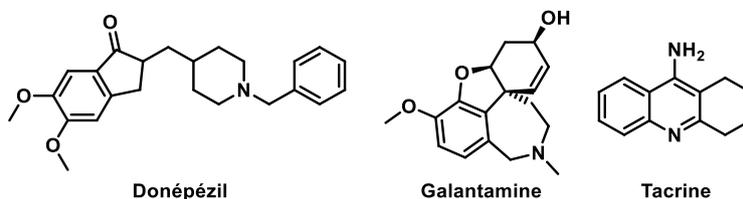


Figure 15. Structure des inhibiteurs réversibles n'interagissant pas par liaison covalente avec l'AChE.

1.2.2.1. Cinétique enzymatique et équation de Michaelis-Menten

De manière simple, une réaction enzymatique se schématise par l'équation suivante, avec l'enzyme E, le substrat S et le produit P, k représentant les constantes de vitesses à chaque étape (Schéma 43) :



Schéma 43. Equation d'Inhibition réversible

Après une démonstration mathématique non développée ici, nous obtenons l'équation de Michaelis-Menten représentant la vitesse de la réaction enzymatique (Figure 16) :

$$v_0 = v_{max} \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad (1)$$

Avec v_0 la vitesse initiale de la réaction, v_{max} la vitesse maximale, $[S]$ la concentration en substrat et K_m la constante de Michaelis correspondant à la valeur de la concentration de substrat pour laquelle la vitesse de la réaction enzymatique est égale à la moitié de la vitesse maximale V_{max} avec

$$v_{max} = k_2[ES] \quad (2)$$

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad (3)$$

Pour pousser plus loin le calcul mathématique, les biologistes utilisent la représentation de Lineweaver-Burk :

$$\frac{1}{v_0} = \frac{1}{v_{max}} + \frac{K_M}{v_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} \quad (4)$$

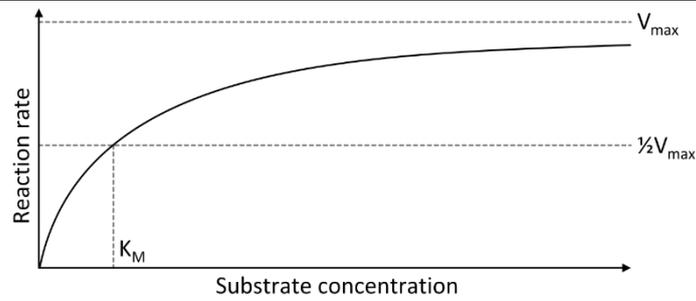


Figure 16. Représentation de la loi de Michaelis-Menten, montrant la vitesse initiale de la réaction en fonction de la concentration initiale en substrat [S].

Cette représentation dite aussi représentation en double inverse, permet de caractériser de façon mathématique le type d'inhibition : compétitif, incompétitif, non compétitif et mixte. Les inhibiteurs qui vont nous intéresser sont les inhibiteurs covalents, compétitifs ou mixtes qui peuvent se lier au site actif l'ACHe à la place de l'ACH.

1.2.2.2. Inhibiteur compétitif

Un inhibiteur compétitif est un inhibiteur se fixant sur le site actif de l'enzyme à la place du substrat. Il peut agir de manière irréversible (comme les organophosphates pour l'acétylcholinestérase) (Schéma 44) ou réversible (galantamine).^{47,53}

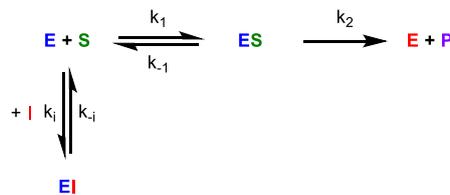


Schéma 44. Inhibition compétitive.

La vitesse de réaction se caractérise par une modification de K_m sans modifier v_{max} (Figure 17).

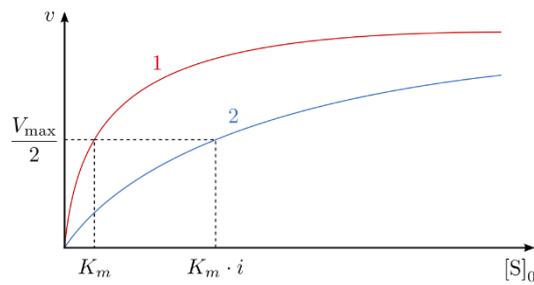


Figure 17. Représentation de Michaelis-Menten d'un inhibiteur compétitif. Courbe 1 : pas d'inhibiteur ; courbe 2 : inhibiteur.

Par la représentation de Lineweaver-Burk, le point d'intersection des différentes droites se trouve être l'axe des ordonnées (Figure 18).

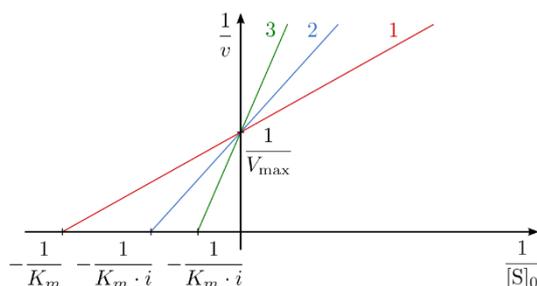


Figure 18. Représentation de Lineweaver-Burk d'un inhibiteur compétitif. Courbe 1 : pas d'inhibiteur ; courbe 2 et 3 : inhibiteur à 2 concentrations différentes.

1.2.2.3. Inhibition mixte

Dans le cas où l'inhibiteur peut se lier à la fois à l'enzyme libre et au complexe enzyme-substrat, se comportant donc à la fois comme un inhibiteur compétitif et non-compétitif, le composé est dit inhibiteur mixte. Dans ce cas de figure, lors de la représentation en double inverse, les droites de régression se rejoindront avant ou après l'axe des ordonnées (Figure 19). Ceci est le cas de du donépézil et de la tacrine.^{151,152}

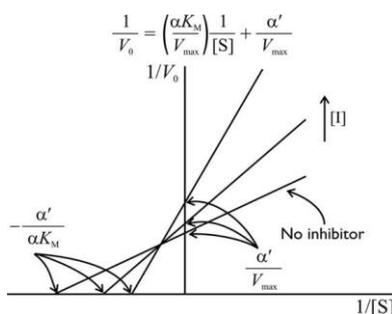


Figure 19. Représentation de Lineweaver-Burk d'un inhibiteur mixte.

1.2.2.4. Rivastigmine

L'inhibiteur qui va nous intéresser est la rivastigmine. Cette molécule est un inhibiteur mixte et pseudo-irréversible de l'ACHé et de la BuChE. Elle se lie de manière covalente au site actif, grâce à sa fonction carbamate, mimant l'ester de l'ACh (Figure 20).¹⁵³

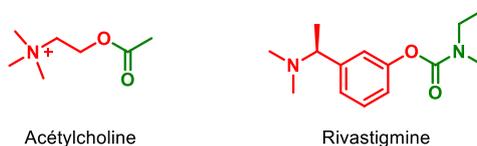


Figure 20. Analogie entre l'acétylcholine et la rivastigmine.

La rivastigmine est ionisée au pH physiologique et nous pouvons voir que la distance entre la fonction ester et l'ammonium de l'ACh est quasi-identique avec la distance entre le carbamate

¹⁵¹ Nochi, S.; Asakawa, N.; Sato, T. *Biol. Pharm. Bull.* **1995**, *18* (8), 1145–1147.

¹⁵² Catalán, R. E.; Martínez, A. M.; Aragonés, M. D.; Miguel, B. G.; Hernández, F.; Cruz, E. *Life Sci.* **1993**, *53* (14), 1165–1172.

¹⁵³ <http://www.theriaque.org/apps/monographie/index.php?type=SP&id=11413&info=CLASS> (accessed Jul 15, 2019).

et l'amine de la rivastigmine.¹⁵⁴ La distance entre N et O est de 3,73 Å pour l'ACh et de 5,27 Å pour la rivastigmine. La distance N et O=C est de 5,09 Å (ACh) et de 5,19 Å (rivastigmine).

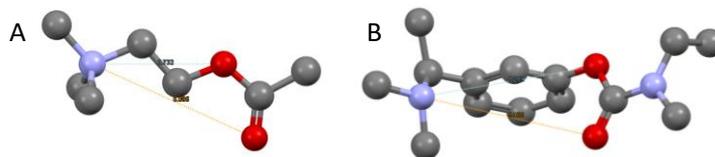


Figure 21. Cristaux de l'ACh (A) et de la rivastigmine (B), tirés de la bibliothèque PubChem.^{155,156}

Le mécanisme d'action de la rivastigmine est identique à celui de l'ACh sauf l'étape de réactivation de l'enzyme. En effet, l'inhibition est dite pseudo-irréversible car le groupement carbamate de la sérine est relativement stable et donc très lent à hydrolyser : 30 à 40 min sont nécessaires (Figure 22).¹⁵⁷ Par la suite l'enzyme sera réactivée par une hydrolyse de cette sérine-carbamoylée. À l'inverse du donépézil, la rivastigmine inhibe aussi la butyrylcholinestérase avec une IC₅₀ comparable à l'AChE (IC₅₀.AChE(h) = 4.15 μM¹⁵⁸ et IC₅₀.BuChE(eq) = 1.60 μM¹⁵⁹).^{160,161}

Lors de cette inhibition, comme nous pouvons le voir sur la Figure 22, nous avons à la suite de l'action de la rivastigmine, la libération d'un dérivé phénolique, qui sera le scaffold de nos molécules décrites par la suite.



Figure 22. Mécanisme d'action de la rivastigmine sur AChE(Tc).⁵⁴

¹⁵⁴ Birks, J.; Grimley Evans, J.; Iakovidou, V.; Tsolaki, M.; Holt, F. E. *Cochrane database Syst. Rev.* **2009**, *15* (2), CD001191.

¹⁵⁵ Chemical Components in the PDB : ACh <https://www.ebi.ac.uk/pdbe-srv/pdbechem/chemicalCompound/show/ACH> (accessed Sep 23, 2019).

¹⁵⁶ PubChem : Rivastigmine <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/77991> (accessed Sep 23, 2019).

¹⁵⁷ Bar-On, P. *et al. Biochemistry* **2002**, *41* (11), 3555–3564.

¹⁵⁸ Yu, Q.-S.; Zhu, X.; Holloway, H. W.; Whittaker, N. F.; Brossi, A.; Greig, N. H. *J. Med. Chem.* **2002**, *45* (17), 3684–3691.

¹⁵⁹ Luo, W.; Li, Y.-P.; Tan, J.-H.; Gu, L.-Q.; Huang, Z.-S. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2011**, *26* (5), 706–711.

¹⁶⁰ Furukawa-Hibi, Y. *et al. Behav. Brain Res.* **2011**, *225* (1), 222–229.

¹⁶¹ Kandiah, N.; Pai, M. C.; Senanarong, V.; Looi, I.; Ampil, E.; Park, K. W.; Karanam, A. K.; Christopher, S. *Clin. Interv. Aging* **2017**, *12*, 697–707.

1.3. Ligands multicibles ou MTDL

Les molécules actuelles n'arrivant pas pour l'instant à avoir un effet suffisant sur la MA et ainsi obtenir une AMM, le développement d'un composé sélectif d'une seule cible spécifique de la MA ne semble pas à ce jour être l'approche la mieux adaptée à la nature complexe de la maladie d'Alzheimer, ayant une origine multifactorielle. La meilleure approche semble être la polypharmacologie, divisée en 3 méthodes :

- **Multiple medication therapy** : consiste en un cocktail de plusieurs médicaments combinant différents mécanismes thérapeutiques (exemple le traitement antituberculeux).¹⁶²
- **Multiple-Compound Medication** : le médicament est composé de plusieurs substances actives, sous une seule forme pharmaceutique, afin de simplifier les schémas posologiques, améliorant ainsi la compliance du patient.¹⁶²
- **Multi-Target Directed Ligands MTDL** : un médicament comprenant une substance active pouvant se fixer sur deux voire trois cibles thérapeutiques.¹⁶³

L'administration d'une substance active pléiotrope présente de nombreux avantages : bénéfice de la compliance, limitation des effets secondaires, optimisation des propriétés ADME (absorption, distribution, métabolisme, élimination) et baisse du risque d'interactions médicamenteuses. Par ailleurs, pour avoir une efficacité optimale, les activités sur les différentes cibles visées doivent être équivalentes.

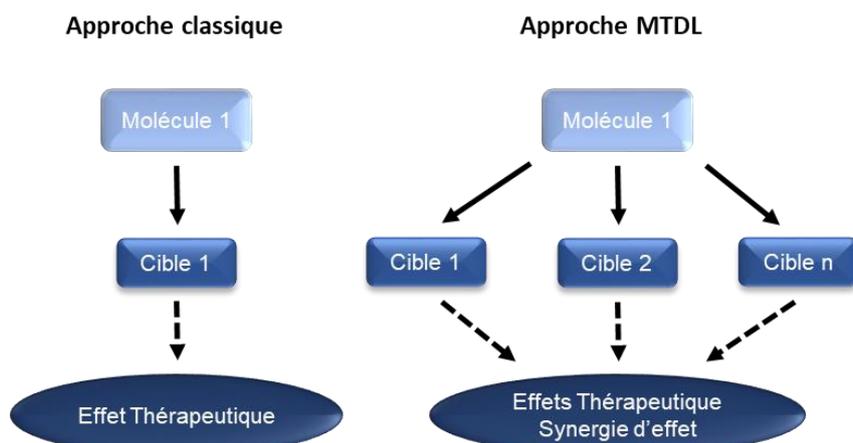


Figure 23. Approche classique et MTDL.¹⁶⁴

¹⁶² Morphy, R.; Rankovic, Z. *J. Med. Chem.* **2005**, *48* (21), 6523–6543.

¹⁶³ Carreiras, M.; Mendes, E.; Perry, M.; Francisco, A.; Marco-Contelles, J. The Multifactorial Nature of Alzheimer's Disease for Developing Potential Therapeutics. *Curr. Top. Med. Chem.* **2013**, *13* (15), 1745–1770.

¹⁶⁴ Bolognesi, M. L.; Matera, R.; Minarini, A.; Rosini, M.; Melchiorre, C. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2009**, *13* (3), 303–308.

Plusieurs stratégies existent pour concevoir des MTDL à partir de deux substances actives :¹⁶⁵

- Deux substances actives reliées par un linker : appelé aussi co-drogue.²⁴
- Fusion de substances actives
- Compromis structural entre substances actives : Lorsque les cibles présentent des points communs, le plus efficace est de créer un compromis structural. Ceci permet d'obtenir des molécules plus petites et plus simples avec un poids moléculaire plus faible. Cette nouvelle entité moléculaire combine les capacités de ciblage des molécules originelles dans une structure chimique plus petite en maintenant les éléments essentiels.

1.4. Ligands pléiotropes développés au CERMN

Le CERMN s'intéresse depuis longtemps aux MTDL dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Plusieurs structures publiées nous ont intéressés pour notre étude, toutes étant des structures ligands pléiotropes : IACHe et agonistes des récepteurs sérotoninergiques 5-HT₄R^{166,167,168} Ces récepteurs sérotoninergiques sont des cibles de choix dans le traitement de la maladie d'Alzheimer, mais leurs caractéristiques ne seront pas détaillées ici.

Ces travaux ont permis de mettre en avant des structures intéressantes : principalement le donécopride et le composé MR33327, un compromis structural entre le donépézil et le composé RS67333, agoniste des récepteurs 5-HT₄ (Schéma 45).

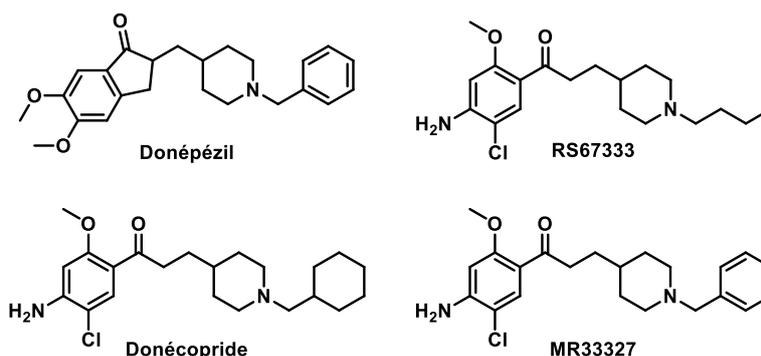


Schéma 45. Structure du donépézil, RS67333, donécopride et MR33327.

¹⁶⁵ Savelieff, M. G.; Nam, G.; Kang, J.; Lee, H. J.; Lee, M.; Lim, M. H. *Chem. Rev.* **2019**, *119* (2), 1221–1322.

¹⁶⁶ Lecoutey, C.; Hedou, D.; Freret, T.; Giannoni, P.; Gaven, F.; Since, M.; Bouet, V.; Ballandonne, C.; Corvaisier, S.; Malzert Freon, A.; *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.* **2014**, *111* (36), E3825–E3830.

¹⁶⁷ Rochais, C.; Lecoutey, C.; Gaven, F.; Giannoni, P.; Hamidouche, K.; Hedou, D.; Dubost, E.; Genest, D.; Yahiaoui, S.; Freret, T.; *et al. J. Med. Chem.* **2015**, *58* (7), 3172–3187.

¹⁶⁸ Lecoutey, C.; Rochais, C.; Genest, D.; Butt-Gueulle, S.; Ballandonne, C.; Corvaisier, S.; Dulin, F.; Lepailleur, A.; Sopkova-de Oliveira Santos, J.; Dallemagne, P. *MedChemComm* **2012**, *3* (5), 627.

Le donécopride présente toutes les caractéristiques d'un candidat médicament et d'un bon MTDL. Nous pouvons citer entre autres une efficacité équivalente entre le Ki 5-HT₄R (7,1 nM) et l'IC₅₀ AChE (16 nM). Toutes les études ont montré qu'il était bien agoniste des 5-HT₄R, inhibiteur non compétitif de l'AChE (prédit par docking et confirmé par Lineweaver-Burk et le test à l'iodure de propidium). Les tests *in vivo* se sont montrés de plus très concluants, avec un rétablissement de la mémoire de travail à des doses de 0,3 à 3 mg/kg en injection intrapéritonéale, chez des souris NMRI ayant un déficit mémoriel induit par de la scopolamine.^{166,167} Cette molécule très prometteuse est actuellement en phase pré-clinique.¹⁶⁹

2. Nouveau concept

2.1. Description du concept

Comme nous l'avons vu précédemment, un promédicament désigne tout composé destiné à l'usage thérapeutique qui doit subir une biotransformation, après administration à un organisme, pour que s'exerce une activité biologique. C'est une forme d'optimisation par modulation moléculaire où la chimie intervient pour modifier non pas les propriétés pharmacodynamiques intrinsèques de la molécule considérée, mais pour changer ses propriétés pharmacocinétiques. Dans le cas de développement de MTDL, les promédicaments que nous développons ont la particularité d'être déjà actifs sur une cible thérapeutique. De façon différente des co-drogues, les promédicaments MTDLs sont actifs sur une première cible thérapeutique puis libèrent une seconde molécule capable d'exercer une autre activité complémentaire. En effet le promédicament ne sera actif que sur une enzyme cible, qu'elle inhibera, puis par la suite d'une réaction de l'estérase ou de la phosphatase, va libérer un second composé actif sur une autre cible thérapeutique.

2.2. Ladostigil

Le ladostigil (TV3326) a été décrit par Weinstock *et al.* en 2000, est la première prodrogue pléiotrope décrite ayant des résultats biologiques très prometteurs.¹⁷⁰ Cette molécule est un compromis structural entre la rivastigmine et la rasagiline. La rasagiline est un inhibiteur sélectif irréversible de la monoamine oxydase B (MAO-B), enzyme dégradant spécifiquement

¹⁶⁹ Rochais, C.; Lecoutey, C.; Hamidouche, K.; Giannoni, P.; Gaven, F.; Cem, E.; Mignani, S.; Baranger, K.; Freret, T.; Bockaert, J.; *et al.* *Br. J. Pharmacol.* **2020**, *177* (9), 1988–2005.

¹⁷⁰ Weinstock, M.; Bejar, C.; Wang, R.-H.; Poltyrev, T.; Gross, A.; Finberg, J. P. M.; Youdim, M. B. H. *Adv. Res. Neurodegener.* **2000**, *13* (60), 157–169.

la dopamine.¹⁷¹ Le ladostigil possède un noyau indane, un groupement propargylamine (rasagiline) et un groupement propargylamine (rasagiline) et un groupement carbamate en position 6 (rivastigmine) (Figure 24).

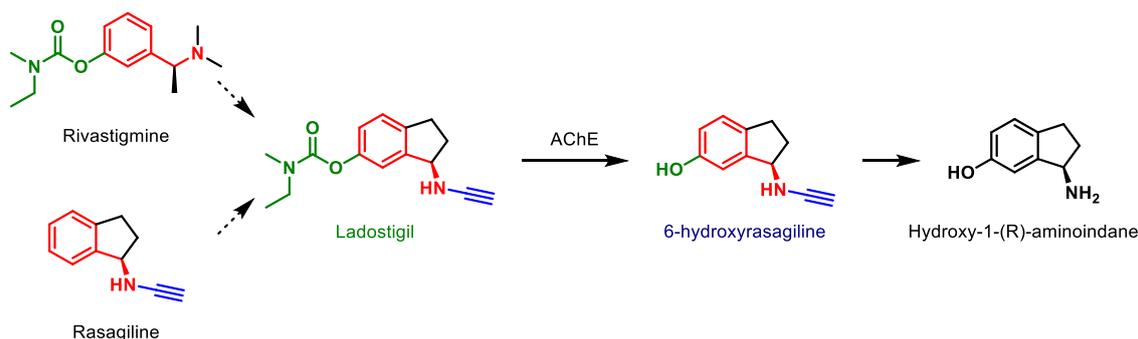


Figure 24. Conception et métabolisation du Ladostigil.¹⁷²

Le ladostigil est un inhibiteur compétitif covalent de l'AChE, comme la rivastigmine et n'a qu'une faible affinité pour MAO A et B (Tableau 2). À la suite de la métabolisation du ladostigil par l'AChE, le composé libéré, la 6-hydroxyrasagiline, est lui IMAO-A et IMAO-B.¹⁷³

Tableau 2. IC_{50} AChE, MAO-A et MAO-B de la rivastigmine, rasagiline, ladostigil et de la 6-hydroxyrasagiline.¹⁷⁴

	IC_{50} (μ M)		
	AChE(h)	MAO-A	MAO-B
Rivastigmine	0,92	-	-
Rasagiline	-	0,7	0,014
Ladostigil	52,4	85	120
6-hydroxyrasagiline	-	0,3	0,2

Ce candidat médicament appartenant à Avraham Pharma a été en phase II d'essai clinique pour évaluer son innocuité et son efficacité dans le traitement de la déficience cognitive légère. Les résultats de cette étude ont été publiés en 2016 : l'objectif principal était de déterminer si le ladostigil pouvait retarder ou empêcher la progression de la déficience cognitive légère (de l'anglais *Mild Cognitive Impairment* MCI) pour bloquer la progression vers la maladie d'Alzheimer.

¹⁷¹ Kalir, A.; Sabbagh, A.; Youdim, M. B. *J. Pharmacol.* **1981**, *73* (1), 55–64.

¹⁷² Weinreb, O.; Amit, T.; Bar-Am, O.; Youdim, M. B. *H. Curr. Drug Targets* **2012**, *13* (4), 483–494.

¹⁷³ Hubálek, F.; Binda, C.; Li, M.; Herzig, Y.; Sterling, J.; Youdim, M. B. H.; Mattevi, A.; Edmondson, D. E. *J. Med. Chem.* **2004**, *47* (7), 1760–1766.

¹⁷⁴ Sterling, J.; Herzig, Y.; Goren, T.; Finkelstein, N.; Lerner, D.; Goldenberg, W.; Miskolczi, I.; Molnar, S.; Rantal, F.; Tamas, T.; et al. *J. Med. Chem.* **2002**, *45* (24), 5260–5279.

Les premiers résultats des études de phase II avec l'utilisation de ladostigil à faible dose, ne montrent pas de différences significatives avec le groupe placebo en ce qui concerne le nombre de patients n'ayant pas progressé de la MCI vers la MA.^{175,176}

2.3. Objectif du projet

Dans le cadre de mon projet, la première cible sera l'acétylcholinestérase. L'action de l'enzyme va, comme pour la rivastigmine, permettre la formation de la sérine carbamoylée (inhibiteur de manière transitoire l'AChE) et libérer un second composé (dérivé phénolique) actif sur une seconde cible thérapeutique (Figure 25).

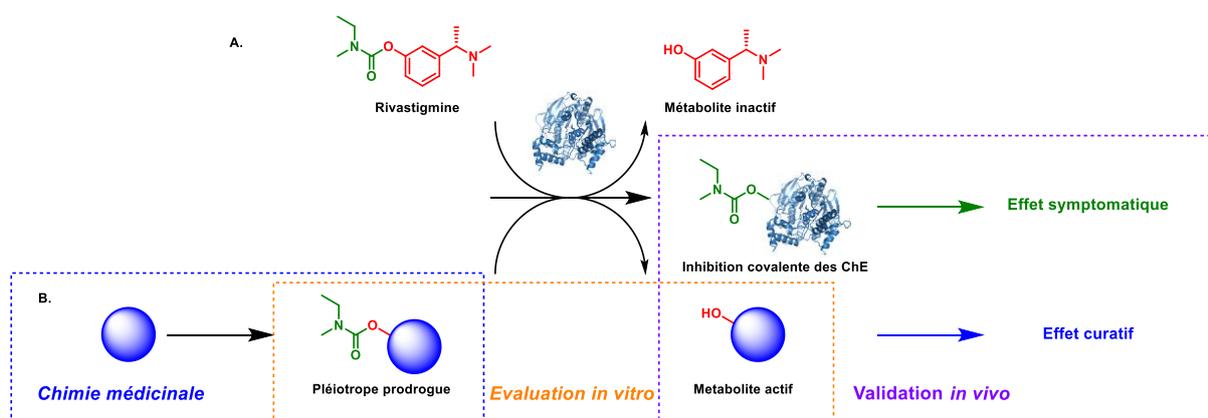


Figure 25. (A) : Mécanisme d'action de la rivastigmine ; (B) : Mécanisme générale des promédicaments pléiotropes inhibitrices des cholinestérases.

Nous aurons ainsi un promédicament actif sur une cible thérapeutique, entraînant la libération d'un second produit actif sur une autre cible thérapeutique. Ceci ayant pour but, d'augmenter l'absorption, de faciliter le passage des différentes barrières (principalement la barrière hémato-encéphalique) et de diminuer les effets secondaires périphériques.

L'objectif de ce travail est donc de synthétiser un promédicament MTDL, inhibiteur de l'AChE, libérant une molécule active sur une nouvelle cible très intéressante, les récepteurs sérotoninergiques 5-HT₄ (5-HT₄R). Dans le contexte de l'étude des récepteurs sérotoninergiques, une molécule a ainsi attiré notre attention : le composé **MR33327** (Schéma 45, dérivé benzylé du composé RS67333).¹⁶⁷ Ce composé a une constante d'affinité (K_i) du même ordre à celle de la référence : le K_i de **MR33327** est de 14,3 nM et celui du **RS67333** est de 5,2 nM. Ce composé, fort de son excellente constante d'inhibition, possède également une analogie structurale avec la rivastigmine (Schéma 5). En rouge : méthylamine secondaire ou

¹⁷⁵ Avraham Pharma - Clinical Data <http://www.avphar.com/ladostigil/clinical-data/> (accessed Jul 23, 2019).

¹⁷⁶ Schneider, L. S.; Geffen, Y.; Rabinowitz, J.; Thomas, R. G.; Schmidt, R.; Ropele, S.; Weinstock, M. Low-Dose Ladostigil for Mild Cognitive Impairment. *Neurology* **2019**.

tertiaire fixée sur un cycle phényle. Le but de notre travail est de développer un compromis structural entre la rivastigmine et **MR33327**. Ainsi plusieurs dérivés carbamoylés ainsi que leurs dérivés phénoliques seront synthétisés. Mais au-delà de la synthèse de ces composés, il conviendra de vérifier plusieurs choses : l'inhibition de l'AChE par les composés carbamoylés, la mise au point d'une méthode analytique pour prouver le mécanisme d'action de ces molécules ainsi que la liaison aux 5-HT₄R des phénols potentiellement libérés ainsi que leurs profils pharmacologiques (Schéma 46).

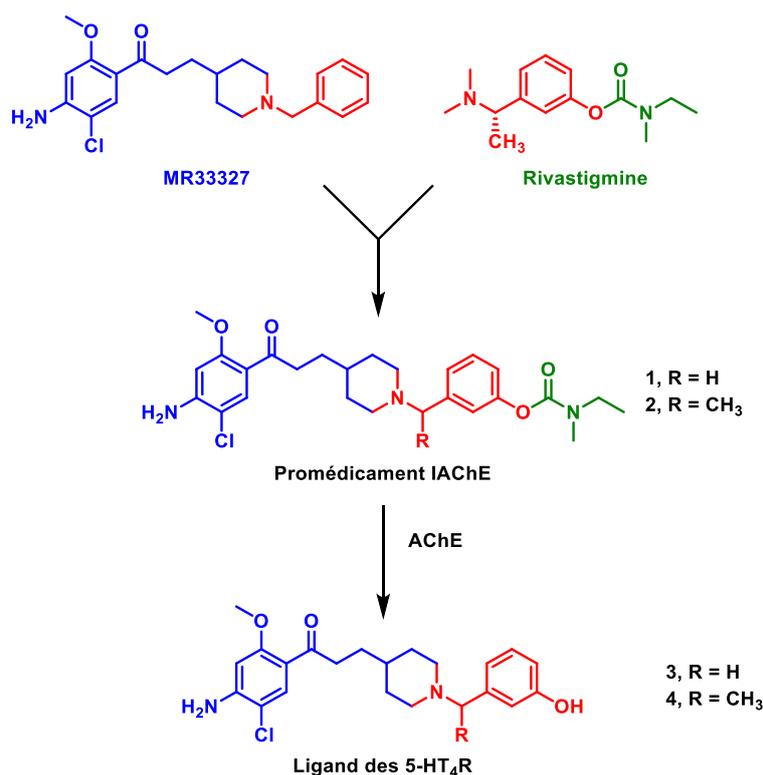
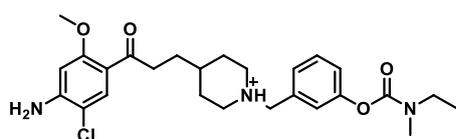


Schéma 46. Promédicament IACHe et agoniste des 5-HT₄R.

Nous allons aussi étudier l'interaction de nos composés avec le récepteur 5-HT₆, car des structures similaires à la nôtre (avec un méthyl à la place de l'hydroxy en position 3) possèdent une triple activité d'action.¹⁷⁷

3. Développement d'un médicament pléiotrope

3.1. Analyse *in silico*



Nous avons souhaité évaluer *in silico* si le dérivé **1** pouvait accéder à la triade catalytique de la hAChE, notamment au résidu Ser203 jouant un rôle crucial lors

¹⁷⁷ Hatat, B.; Yahiaoui, S.; Lecoutey, C.; Davis, A.; Freret, T.; Boulouard, M.; Claeysen, S.; Rochais, C.; Dallemagne, P. *Aging Neurosci.* **2019**, *11*, 148.

de la carbamoylation. Selon le mécanisme proposé de carbamoylation de la rivastagmine,¹⁷⁸ l'approche du groupement carbamate vers la sérine commence par une liaison hydrogène entre l'atome d'oxygène du groupe carbamate C=O et le groupe hydroxy de la Ser203. Par conséquent, lors de l'étude d'amarrage de **1** sur le site actif de l'hAChE (code PDB: 4EY7),¹⁷⁹ réalisée à l'aide du logiciel Gold 5.7.2 (v5.7.2, Centre de données cristallographiques de Cambridge, CCDC), une contrainte de liaison hydrogène entre le carbamate et le groupement hydroxyle de la Ser203 a été appliquée. Parallèlement, la chaîne latérale de la Ser203 a été maintenue flexible pendant le docking. Les différentes poses générées de **1** ont eu des scores de fit compris entre 85,44 et 100,64 et peuvent être divisées en deux groupes, se différenciant par la position des fragments méthoxyphényl et phényl. Dans le groupe 1 (Figure 26B), le groupe carbonyle a établi une liaison hydrogène avec la Ser293 en plus de celle imposée ; dans le groupe 2 (Figure 26C), un π -stacking a été établi entre le noyau phénol de **1** et le noyau Tyr 337, ainsi qu'une éventuelle interaction *via* une liaison hydrogène entre le NH₂ de **1** et le C=O de Trp286. **1** se situerait dans le site actif de l'AChE avec le groupe carbamate à proximité de la Ser203, comme imposé par la contrainte, mais il est positionné beaucoup plus haut dans le site de liaison de l'AChE comparé au donépézil ou au donécopride (Figure 26).^{167,179} En conséquence, d'après nos résultats de modélisation moléculaire, **1** perd les interactions caractéristiques de la famille des ligands du donécopride, à savoir :

- Interaction entre NH⁺ du noyau pipéridine *via* la molécule d'eau située entre les groupes hydroxy de deux tyrosines (Tyr341 et Tyr337)
- Interaction *via* le groupe C=O avec le NH de la chaîne principale de Phe295
- Le fragment méthoxyphényle est placé un peu haut mais l'interaction *via* un π -stacking avec Trp286 reste possible.

D'autre part, le groupe C=O de **1** établit une nouvelle interaction *via* une liaison hydrogène avec le groupe hydroxy de la Ser293 dans le groupe 1. Ainsi, la partie « donécopride » liée au carbamate de **1** entraîne peu d'interactions en plus du groupe carbamate, et l'interaction avec le site de liaison AChE est réalisée principalement grâce au groupe carbamate.

¹⁷⁸ Bacalhau, P.; San Juan, A. A.; Goth, A.; Caldeira, A. T.; Martins, R.; Burke, A. J. *Bioorg. Chem.* **2016**, *67*, 105–109.

¹⁷⁹ Cheung, J.; Rudolph, M. J.; Burshteyn, F.; Cassidy, M. S.; Gary, E. N.; Love, J.; Franklin, M. C.; Height, J. J. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (22), 10282–10286.

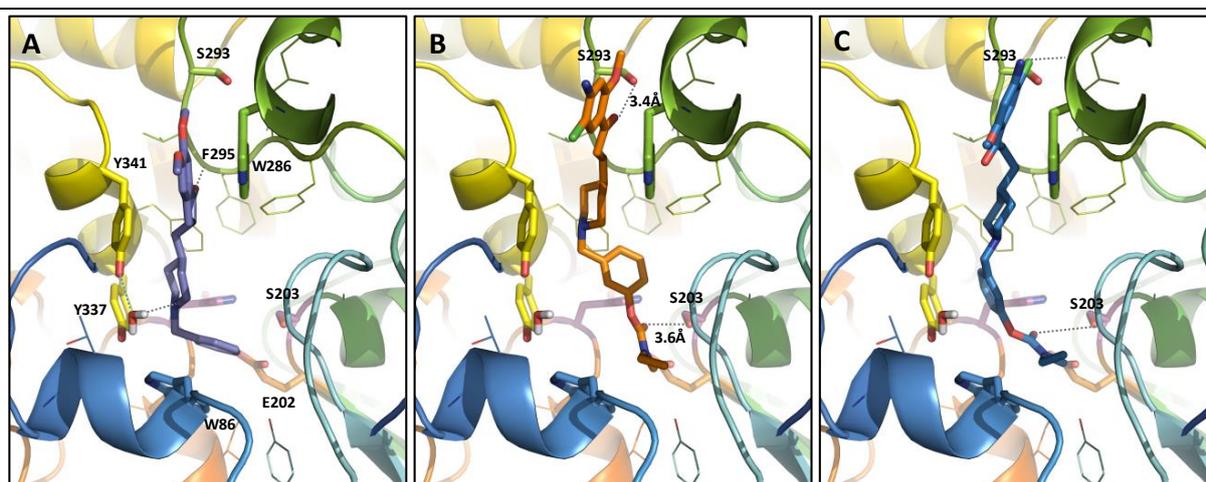


Figure 26. Analyse *in silico* du composé **1**. Position du donépézil à partir de la structure de rayon X (A) par rapport à 56 positionné dans les sites de liaison hAChE en utilisant les études de docking, groupe 1 (B) et groupe 2 (C). Le composé et les chaînes latérales des résidus sélectionnés du site de liaison sont représentés en bâtonnet et la protéine en ruban. Cette figure a été réalisée avec PyMOL (DeLano Scientific, 2002, San Carlo, États-Unis).

3.2. Accès synthétiques des dérivés carbamates et phénoliques

3.2.1. Voie de synthèse des précurseurs RS-pipéridine-Boc

La première partie consiste à protéger la pipéridine et à la coupler à un dérivé RS.

3.2.1.1. Iodométhylpipéridine protégée

Pour former le *tert*-butyl 4-(iodométhyl)pipéridine-1-carboxylate (**5**) nous partons de l'isonipécotate d'éthyle. Cette molécule commerciale est réduite par du LiAlH₄ au reflux de l'éther diéthylique, puis l'azote de la pipéridine est protégé par un groupement *tert*-butoxycarbonyle pour conduire au composé **6**. Enfin l'alcool est iodé pour former le composé **7**, précurseur de la série cétone (Schéma 47).¹⁸⁰

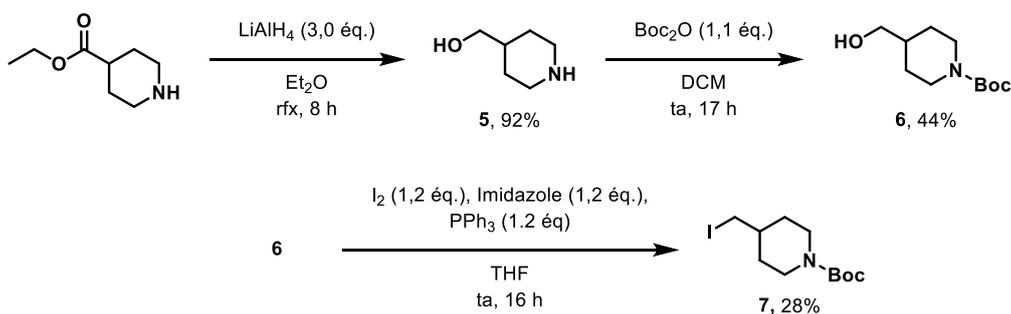
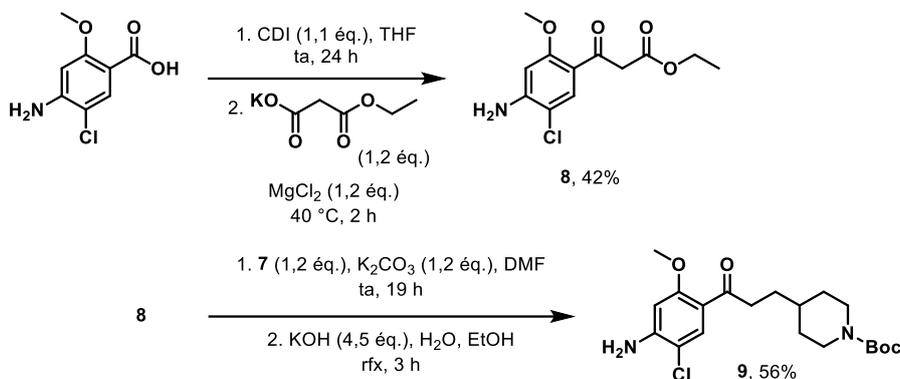


Schéma 47. Synthèse de l'iodométhylpipéridine protégée **7**.

¹⁸⁰ Sutton, J. C.; Bolton, S. A.; Davis, M. E.; Hartl, K. S.; Jacobson, B.; Mathur, A.; Ogletree, M. L.; Slusarchyk, W. A.; Zahler, R.; Seiler, S. M.; et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14 (9), 2233–2239.

3.2.1.2. Synthèse du précurseur cétone, boc protégé

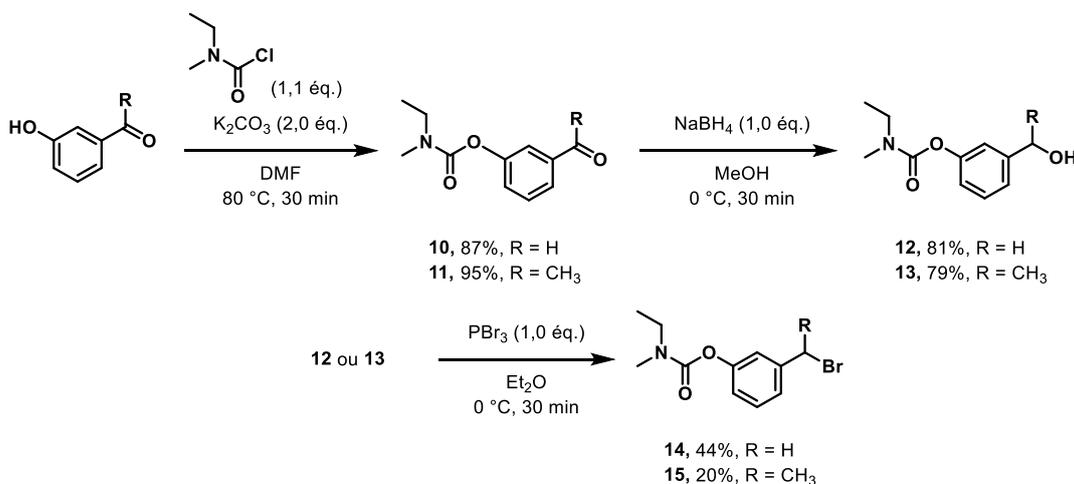
Nous commençons par former un β -cétaloester **8** : l'acide est tout d'abord activé par le CDI,¹⁸¹ suivi par un couplage avec le malonate d'éthyle. Il s'ensuit une substitution nucléophile en α du carbonyle avec le dérivé iodé **7**, une saponification et décarboxylation pour obtenir le composé **9** (Schéma 48).¹⁸²

Schéma 48. Synthèse du précurseur **9**.

3.2.2. Synthèse des précurseurs carbamoylé et phénolique

3.2.2.1. Synthèse des précurseurs carbamoylés

À partir du 3-hydroxybenzaldéhyde ou de la 3-hydroxyacétophénone, nous formons respectivement les dérivés carbamoylés **10** et **11**, grâce à une alkylation avec le chlorure d'éthyl(méthyl)carbamate, dans le DMF à 80 °C. Les groupements aldéhyde et cétone sont réduits par du tétrahydruoborate de sodium. À la suite de la bromation de l'alcool benzylique par du tribromure de phosphore, nous obtenons le composé **14** seul et le composé **15** en mélange racémique (Schéma 49).

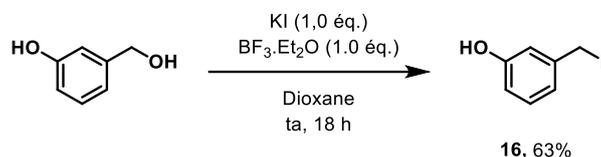
Schéma 49. Synthèse des précurseurs carbamoylés **14** et **15**.

¹⁸¹ Yang, W.; Wang, Y.; Roberge, J. Y.; Ma, Z.; Liu, Y.; Michael Lawrence, R.; Rotella, D. P.; Seethala, R.; Feyen, J. H. M.; Dickson, J. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15* (4), 1225–1228.

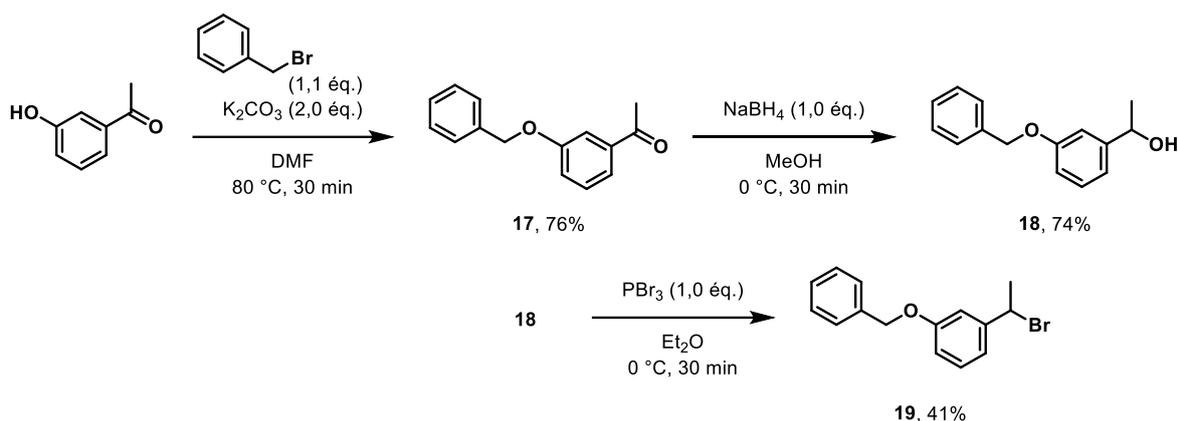
¹⁸² Kaspi, J.; Lerman, O.; Arad, O.; Alnabari, M.; Sery, Y. EP 1 386 607 B1, 2006.

3.2.2.2. Synthèse des précurseurs phénoliques

La méthode de synthèse pour former les deux précurseurs phénoliques est différente. Une iodation sélective du 3-(hydroxyméthyl)phénol grâce à du KI/BF₃.Et₂O, permettant d'obtenir le composé **16** a été décrite par Bandgar *et al.* (Schéma 50).¹⁸³

Schéma 50. Synthèse du précurseur **16**.

Pour le dérivé halogéné secondaire, nous avons décidé de partir de la 3-hydroxyacétophénone. Le phénol est ainsi protégé par un groupement benzyle puis la cétone est réduite par du tétrahydruroborate de sodium. La formation de **19** est effectuée dans les mêmes conditions réactionnelles présentées précédemment dans le Schéma 49, et permet d'obtenir un mélange racémique de **19** (Schéma 51).

Schéma 51. Synthèse du précurseur **19**.

3.2.3. Voie de synthèse des produits finaux carbamate et des dérivés phénoliques

La dernière étape est commune dans toutes les séries : la pipéridine est déprotégée par de l'acide trifluoroacétique (TFA) dans le DCM. Le composé est concentré *in vacuo*, et une alkylation les différents dérivés halogénés va permettre d'obtenir nos trois composés finaux **1**, **2** et **3** (Schéma 52).

¹⁸³ Bandgar, B. P.; Sadavarte, V. S.; Uppalla, L. S. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42 (5), 951–953.

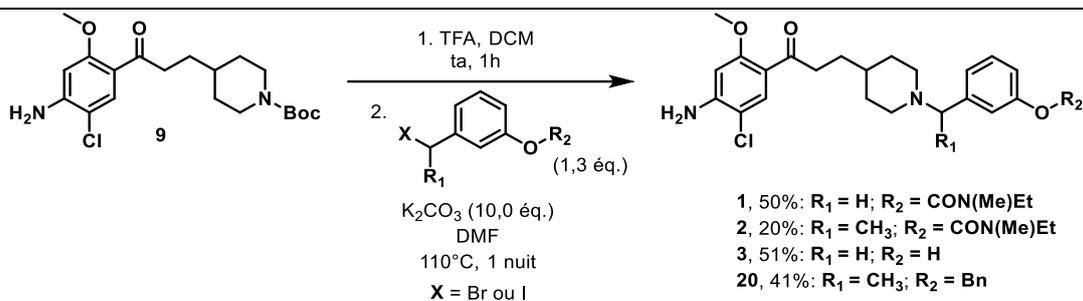


Schéma 52. Synthèse des composés 1, 2, 3 et 20.

Nous obtenons le dérivé phénol 4 par déprotection du groupement benzyl en présence de bromure d'hydrogène piégé dans l'acide acétique (Schéma 53).

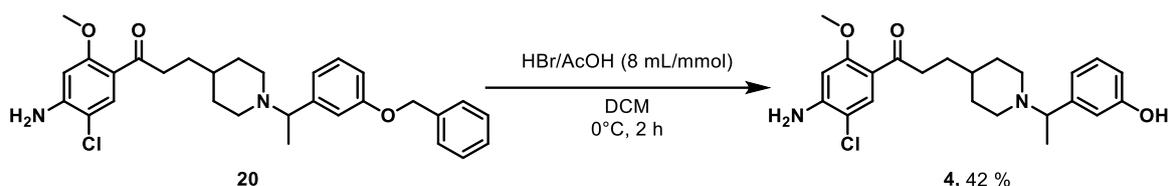


Schéma 53. Déprotection du composé 20.

Au vu des résultats *in vitro* présenté par la suite dans le Tableau 3, nous avons synthétisé les fumarates des dérivés 1 et 2 pour éviter divers problèmes de solubilité et de stabilité, et faciliter ainsi les évaluations biologiques (Schéma 54). Par ailleurs toutes les évaluations biologiques (hormis celles présentées dans le Tableau 3) seront effectuées uniquement sur les composés 21 et 22.

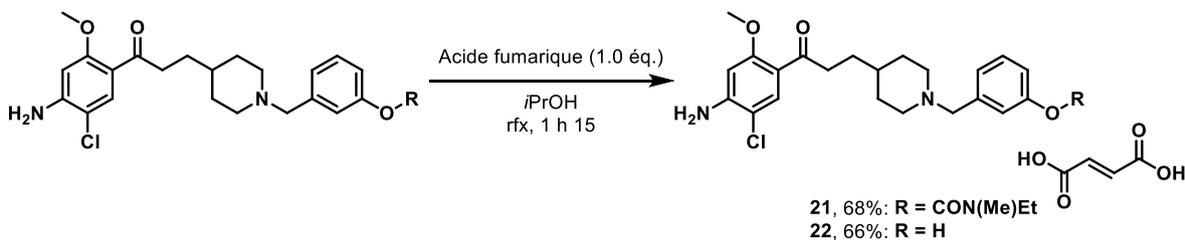


Schéma 54. Synthèse des fumarate 21 et 22.

3.3. Résultats *in vitro*

3.3.1. Evaluation biologique *in vitro* AChE/5-HT₄R/5-HT₆R

Le but de ces deux analyses est double : prouver que la prodrogue est inhibitrice de l'AChE et n'a pas d'affinité avec les récepteurs sérotoninergique, et qu'à l'inverse le dérivé phénolique est ligand des 5-HT₄R et des 5-HT₆R.

D'après les résultats présentés dans le Tableau 3, aucun dérivé carbamate (1, 2 et 21) ne possède d'activité significative sur les récepteurs sérotoninergiques 4 et 6. Ils sont en revanche, comme nous nous y attendions, des inhibiteurs de l'AChE avec des IC₅₀ allant de 4,15 à 9,10 μM.

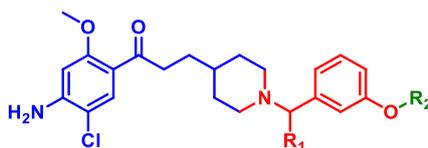
À l'inverse les composés phénoliques sont des ligands des 5-HT₄R avec des K_i allant de 5,1 à 36,1 nM. De plus il est intéressant de noter que les composés **3** et **22** sont de bons inhibiteurs de l'AChE (IC_{50} de 72 et 149 nM) et lient faiblement les 5-HT₆R (K_i de 142 et 422 nM).

En parallèle, nous pouvons observer que l'ajout d'un méthyl en mélange racémique influence peu l'inhibition de l'AChE (**1** vs **2**), mais rend le dérivé phénolique complètement inopérant vis-à-vis d'AChE et des 5-HT₆R (**3** vs **4**). Il serait intéressant d'isoler les formes *S* et *R*, pour évaluer l'influence spécifique des différentes formes.

Au vu de ces résultats, les composés **21** et **22** ont été considérés comme les plus intéressants :

- **21** : IC_{50} du même ordre de grandeur que celle de la rivastigmine
- **22** : triple activité

Tableau 3. Activité inhibitrice sur la hAChE (% inhibition ou IC_{50}), affinité sur les 5-HT₄R et les 5-HT₆R (% inhibition ou K_i).



Composé	R ₁	R ₂	hAChE	h5-HT ₄ R	h5-HT ₆ R
			IC_{50} (nM) % inh. 10 ⁻⁶ M	K_i (nM) % inh. 10 ⁻⁶ M / 10 ⁻⁸ M	K_i (nM) % inh. 10 ⁻⁶ M / 10 ⁻⁸ M
RIV	-	-	4 150 ± 160 ¹	-	-
DPZ	-	-	7,0 ± 1,5	-nn	-
RS67333	-	-	403 ± 862 ²	5,1 ± 0,5 ²	-
Idalopirdine	-	-	-	-	6,9 ± 1,2
1	H	CON(Me)Et	4 151 ± 794 27 %	n.d. 85 % / 3 %	n.d. 19 % / 0 %
2	CH ₃	CON(Me)Et	9 103 ± 759 8 %	74 % / 11 %	n.d. 22 % / 15 %
3	H	H	148,6 ± 34,9 82 %	5,1 ± 1,1 103 % / 79 %	422,0 ± 27,0 70 % / 10 %
4	CH ₃	OH	n.d. 17 %	36,1 ± 7,7 100 % / 38 %	49 % / 0 %
21	H	CON(Me)Et, fumarate	6 070 ± 404 20 %	n.d. 80 % / 16 %	n.d. 26 % / 15 %
22	H	H, fumarate	72 ± 1,4 90 %	6,9 ± 1,2 100 % / 78 %	142 ± 4,7 76 % / 39 %

Les valeurs d' IC_{50} sont exprimées en moyenne ± erreur type de la moyenne (SEM) d'au moins deux expériences ;
Les valeurs de K_i sont exprimées en moyenne ± erreur type de la moyenne (SEM) d'au moins trois expériences ;

¹Données de la réf.¹⁵⁸ ; ²Données de la réf.¹⁵⁹

La méthode utilisée pour connaître le mécanisme d'inhibition d'une enzyme par une molécule est basée sur une cinétique enzymatique. Comme nous l'avons vu page 62 la représentation de Lineweaver-Burk permet de caractériser de façon mathématique le type d'inhibition : compétitif, incompétitif, non compétitif et mixte.

Pour ce faire, nous faisons varier la quantité de substrat, la quantité d'inhibiteur, la quantité et le temps de la réaction. Nous déterminons ainsi la vitesse initiale de réaction. Nous traçons les droites par la représentation en double inverse de Lineweaver-Burk $\frac{1}{v_0} = f\left(\frac{1}{[S]}\right)$. Nous déterminons le mode d'inhibition par le lieu d'intersection des différentes droites.

Le carbamate **21** a montré une inhibition mixte (Figure 27A) illustrée par un graphique de Lineweaver-Burk similaire à celui obtenu avec un IACHe comme la rivastigmine.¹⁸⁴ Le phénol **22** agit comme un inhibiteur non-compétitif, ce qui explique une interaction possible de **22** avec le PAS de l'enzyme (Figure 27B).¹⁶⁷ (Protocole en annexe page 105).

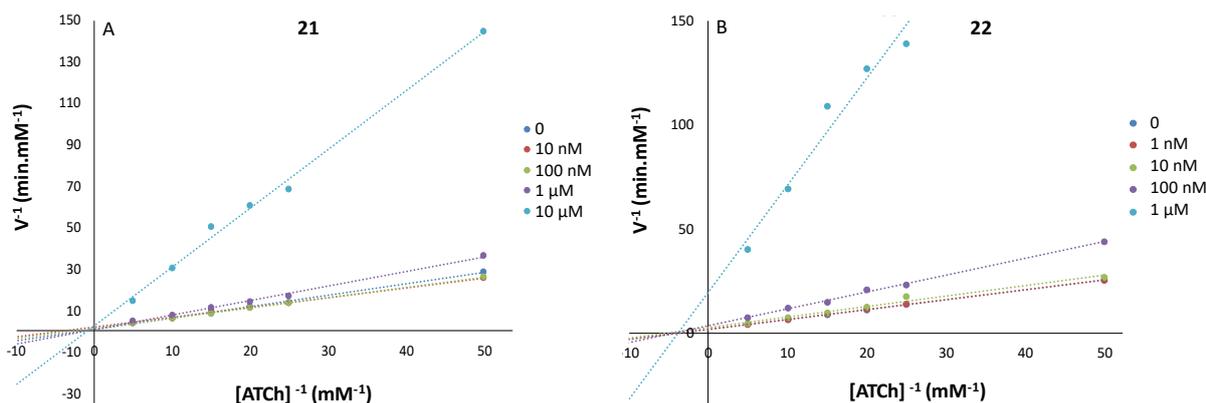


Figure 27. Représentation Lineweaver-Burk de la cinétique d'inhibition montrant que 21 agit comme un inhibiteur mixte de l'ACHe (A) et 22 comme un inhibiteur non-compétitif de l'ACHe (B).

3.3.2. Parallel Artificial Membrane Permeability Assay – PAMPA

Le test de perméabilité parallèle à une membrane artificielle (de l'anglais Parallel Artificial Membrane Permeability Assay, appelé couramment PAMPA), est une méthode qui permet de déterminer la diffusion passive d'une substance à travers une membrane artificielle contenant des phospholipides, d'un compartiment donneur vers un compartiment accepteur. La membrane utilisée ici doit simuler la BHE.

¹⁸⁴ Robaire, B.; Kato, G. *Mol. Pharmacol.* **1975**, *11* (6), 722–734.

Nous calculons la perméabilité P_e ($\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$), et pour faciliter les interprétations, nous déterminons le $\log P_e$. Suivant sa valeur, trois interprétations peuvent être établies :

- $\log P_e > -5$: le composé diffuse bien
- $-5 > \log P_e > -6$: diffusion modérée
- $\log P_e < -6$: le composé ne diffuse pas

Le dérivé carbamate **21** passe par diffusion passive à travers la BHE, d'après le test PAMPA. À l'inverse le **22** ne diffuse pas à travers la membrane (Tableau 4). Ceci permet de confirmer l'utilité de former une prodrogue.

Tableau 4. $\log P_e$ représentent les résultats du coefficient de perméabilité effective PAMPA de **21** et **22**.

	Perméabilité à pH 7,4		
	$\log P_e$	$P_e \cdot 10^{-6} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$	Conclusion
Corticostérone	$-4,84 \pm 0,02$	$14,36 \pm 0,50$	Diffuse
Théophylline	$-6,52 \pm 0,05$	$0,31 \pm 0,04$	Ne diffuse pas
21	$-4,39 \pm 0,12$	$42,38 \pm 12,26$	Diffuse
22	$-10,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$	Ne diffuse pas

3.3.3. Profils 5-HT₄R et 5-HT₆R

Le profil pharmacologique de **22** a été évalué vis-à-vis des 5-HT₄R et des 5-HT₆R. Le composé **22** stimule bien la production d'AMPC et est donc agoniste partiel des 5-HT₄R, et faible antagoniste des 5-HT₆R (Figure 28 et Tableau 5).

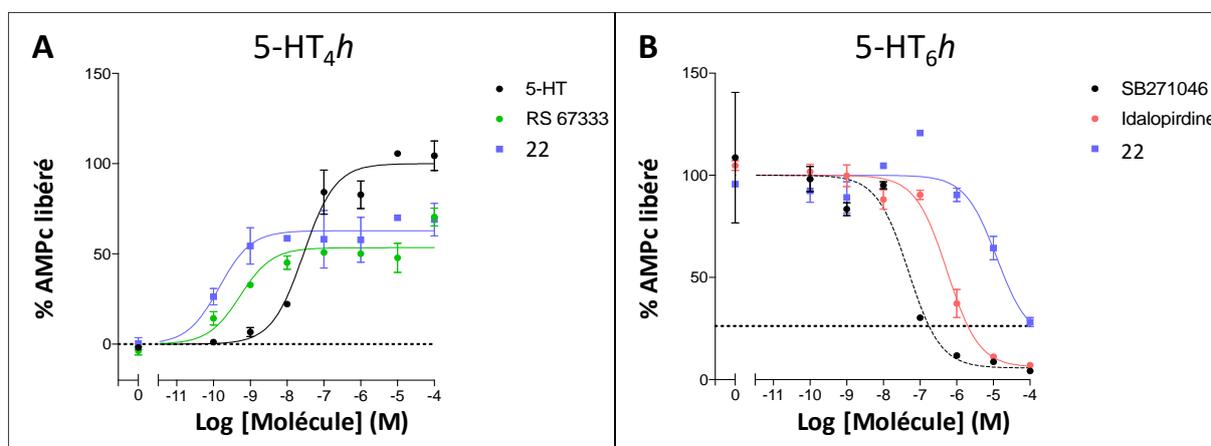


Figure 28. Profils pharmacologiques de **22**, RS67333 et Idalopirdine. (A) : activité agoniste vis-à-vis des 5-HT₄R_(α)(h) ; (B) : activité antagoniste vis-à-vis des 5-HT₆R(h).

Tableau 5. Profils pharmacologiques sur 5-HT₄R et/ou 5-HT₆R de **RS67333**, Idalopirdine, **55** et **56**. 5-HT et **SB271046** sont respectivement utilisés comme témoins agoniste des 5-HT₄R et antagoniste des 5-HT₆R.

	5-HT ₄ (a)R(h)			5-HT ₆ R(h)		
	pEC ₅₀	% réponse agoniste par rapport au témoin	Profil	pIC ₅₀	% réponse antagoniste par rapport au témoin	Profil
RS67333	-8,8 ± 0,2 n = 2	48,7 ± 5,2 n = 3	Agoniste partiel	-	-	-
Idalopirdine	-	-	-	-6,2 ± 0,2 n = 2	101,2 ± 3,2 n = 2	Agoniste inverse
22	-9,9 ± 0,0 n = 3	59,0 ± 3,9 n = 2	Agoniste partiel	-4,2 ± 0,6 n = 3	19,3 n = 1	Faible antagoniste

Les valeurs de pEC₅₀ et pIC₅₀ sont exprimées en moyenne ± erreur type de la moyenne (SEM) d'au moins deux ou trois expériences ; Les valeurs des % réponse agoniste ou antagoniste par rapport aux témoins sont exprimées en moyenne ± erreur type de la moyenne (SEM) d'au moins deux expériences.

3.3.4. Evaluation de la décarbamoylation du composé **21** en présence d'eelAChE

Cette méthode, très peu décrite dans la littérature, sert à prouver que l'enzyme permet la dégradation du carbamate et la libération du métabolite phénolique.

Mon travail avec le Dr Marc Since a consisté à développer cette méthode. Pour ce faire, nous nous sommes basés sur les publications de Zheng, H. *et al.* qui mettent en évidence, par analyse de spectres UV, l'apparition de dérivés secondaires après action de l'AChE sur leurs molécules.^{185,186} Cependant ils ne décrivent que très succinctement leur méthode expérimentale, ne précisant pour seule information que la mise en incubation du produit à pH 7,4 avec un excès d'AChE. Nous avons donc dû tout réétudier et essayer de développer un protocole détaillé ci-dessous. Pour des soucis d'économie, les tests ont été réalisés avec de l'AChE de *Electrophorus electricus* eelAChE, moins chère.

Le principe général de cette méthode est de mettre en contact, pendant un temps t et à une certaine température, notre composé en présence ou non d'enzyme, et de contrôler par HPLC et LCMS, les composés présents au bout du temps imparti.

Une gamme d'étalonnage avec les deux composés a été effectuée à 7 concentrations différentes (de 50 à 1 µM) dans un mélange ACN/H₂O (50/50) avec r² > 0,99, ceci pour déterminer les meilleures conditions d'élution et de détection.

¹⁸⁵ Zheng, H.; Fridkin, M.; Youdim, M. B. H. *Neurochem. Res.* **2010**, *35* (12), 2117–2123.

¹⁸⁶ Zheng, H.; Youdim, M. B. H.; Fridkin, M. *ACS Chem. Biol.* **2010**, *5* (6), 603–610.

En améliorant ce protocole et en nous aidant des travaux de Alix *et al.*,¹⁸⁷ les composés à 5 μM sont mis en solution à 25 °C, en présence ou non de 250 U/mL d'enzyme pendant 18 h (Tableau 6 et Figure 29).

Tableau 6. Conditions expérimentales de décarbamoylation de la rivastigmine et de **21**.

[AChEeef] (U/mL)	21	
	0	250
[Carbamate] (μM)	5	5
Nombre d'équivalent d'AChE	0	3,0
Volume final (μL)	250	250
Solvant	TpP	TpP
Temps (h)	18 h	18 h
Température (°C)	25	25

Le composé **21** est quant à lui bien présent dans le témoin avec l'apparition d'un produit de dégradation inconnu (Figure 29B). En présence d'enzyme, nous obtenons la formation du composé **22**, dont la masse a été confirmée par LCMS (Figure 29C). La concentration des phases aqueuses ne nous a pas apporté d'informations supplémentaires.

En conclusion, en présence d'AChE à 25 °C, à pH 7,4, le composé **21** est hydrolysé et provoque la libération du composé **22**. Cela permet en partie de confirmer notre hypothèse d'hydrolyse du carbamate.

Pour compléter les évaluations *in vitro* de ces molécules, plusieurs tests importants sont à envisager. Concernant l'interaction avec les ChE, quelques tests seraient intéressants : comme l'exploration de la cinétique de décarbamoylation en variant le temps d'incubation des tests développés plus haut.

¹⁸⁷ Alix, F.; Gembus, V.; Coquet, L.; Hubert-Roux, M.; Chan, P.; Truong, L.; Sebban, M.; Coadou, G.; Oulyadi, H.; Papamicaël, C.; *et al.* *ACS Omega* **2018**, 3 (12), 18387–18397.

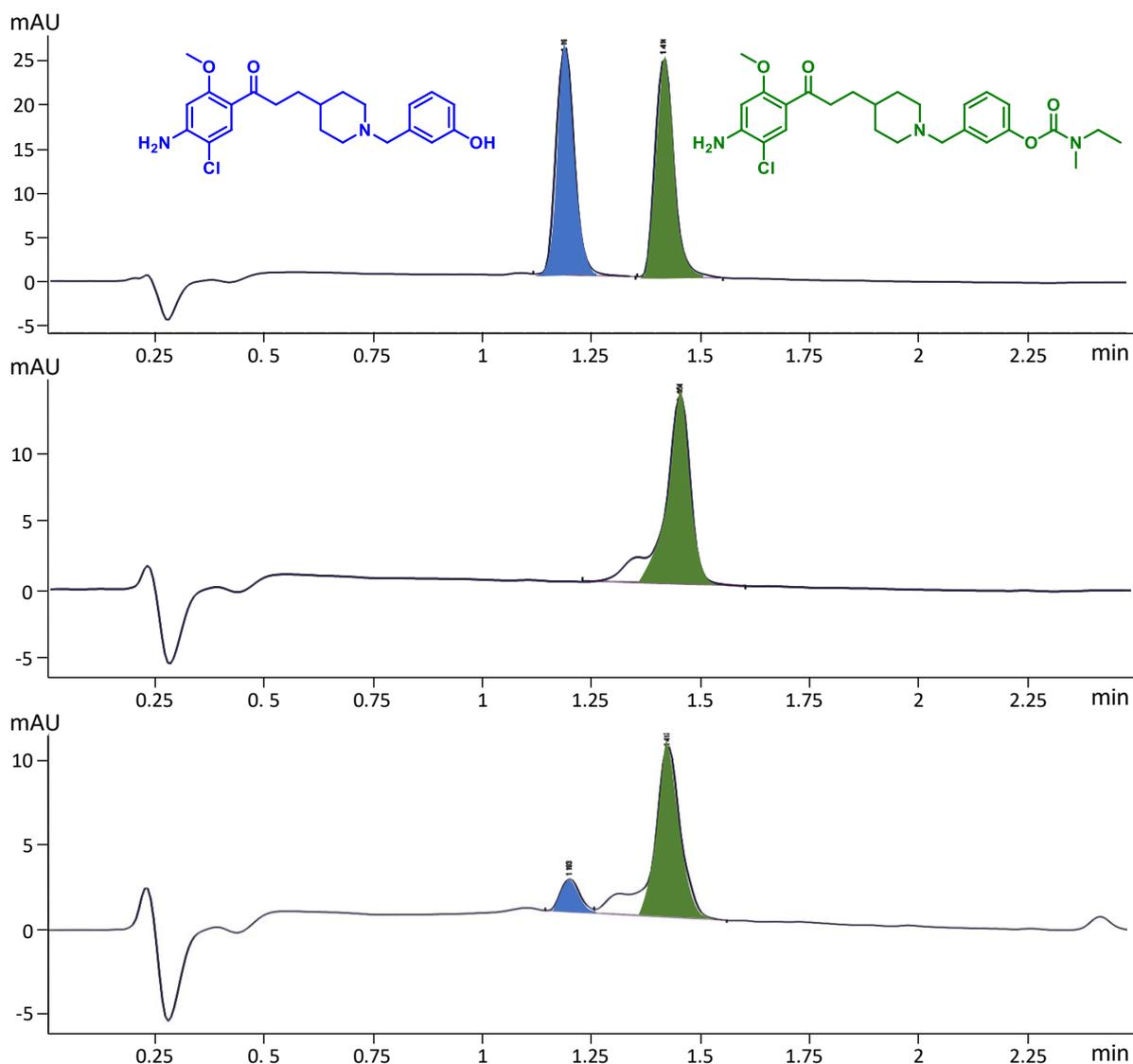


Figure 29. Décarbamylation de **21** par l'AChE(*ee*) ; (A) : **21** (5 μ M) et **22** (5 μ M) sans AChE(*ee*) ; (B) : **22** sans AChE(*ee*) (contrôle négatif). (C) : **21** (5 μ M) en présence de 250 U/mL d'AChE (*ee*) ; $\lambda = 330$ nm, incubation 25°C, 18 h.

3.4. Résultats *in vivo*

Au vu de ces premiers résultats, les molécules **21** (carbamate) et **22** (phénol) ont été testées sur des souris NMRI au laboratoire COMETE sous la direction du Pr. Thomas Fréret et du Pr. Michel Boulouard. Trois évaluations ont été faites durant cette campagne :

- Screening pharmacologique / toxicité aiguë
- Activité locomotrice spontanée
- Alternance spontanée de la mémoire de travail en présence de scopolamine ou de dizocilpine MK801.

3.4.1. Description des différents tests

3.4.1.1. Screening pharmacologique et analyse de la toxicité

Par groupes de quatre souris, les modifications comportementales et neurologiques induites par des doses graduées des dérivés testés ont été évaluées par une technique d'observation standardisée à différents temps après injection péritonéale (IP).¹⁸⁸ Les modifications majeures des données comportementales par rapport au groupe témoin (hypo ou hyperactivité, ataxie, tremblements, convulsions, etc.) sont notées à $t = 30$ min, 3 h, 6 h et 24 h. Les doses létales médiane (LD_{50}) approximatives des composés ont également été calculées par la quantification de la mortalité après 24 h. L'amphétamine (2 mg/kg) est la référence excitative et la chlorpromazine (10 mg/kg) été utilisée comme référence dépressive (Figure 30).

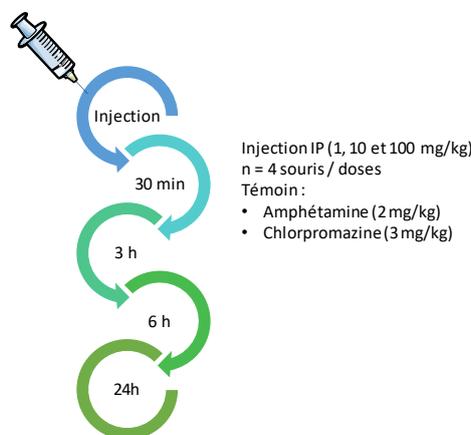


Figure 30. Protocole de screening pharmacologique et d'évaluation de la toxicité aiguë.

3.4.1.2. Activité locomotrice spontanée

L'activité locomotrice des souris est mesurée à l'aide d'un actimètre par détection infrarouge. Huit cages individuelles amovibles dans lesquelles chaque souris a été placée, sont disposées dans l'actimètre. L'activité locomotrice a été mesurée en enregistrant le nombre d'interruptions des faisceaux sur une période de 30 minutes *via* un système d'enregistrement relié à l'actimètre. Les composés ont été testés à 1, 3 et 10 mg/kg (Figure 31).¹⁸⁹

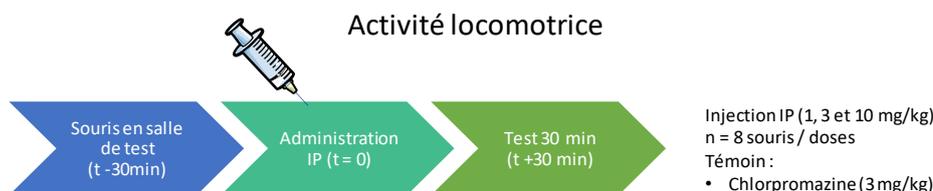


Figure 31. Protocole de l'évaluation de l'activité locomotrice.

¹⁸⁸ Morpurgo, C. *Arzneimittelforschung*. **1971**, 21 (11), 1727–1734.

¹⁸⁹ Freret, T.; Bouet, V.; Quiedeville, A.; Nee, G.; Dallemagne, P.; Rochais, C.; Boulouard, M. *Behav. Brain Res.* **2012**, 230 (1), 304–308.

3.4.1.3. Mémoire de travail : alternance spontanée

L'activité anti-amnésique des composés testés est évaluée par inversion du déficit induit, par la scopolamine SCOP (0,5 mg/kg) ou la dizocilpine, appelée aussi MK801 (0,1 mg/kg), sur le comportement d'alternance spontanée dans le test du labyrinthe en Y (ou Y maze).¹⁹⁰

La scopolamine est un composé de type atropinique qui agit comme antagoniste compétitif de l'acétylcholine et des autres agonistes muscariniques (Figure 32). La scopolamine diminue la motilité intestinale et exerce un effet tachycardisant moins marqué que l'atropine. Au niveau du système nerveux central, elle exerce un effet sédatif prédominant contrairement à l'atropine. Elle est couramment utilisée pour induire un déficit mnésique chez les souris, lors des tests d'alternance spontanée de la mémoire de travail par inhibition du système cholinergique.

Le MK801 est antagoniste non-compétitif des récepteurs *N*-méthyl-*D*-aspartate (NMDA) empêchant ainsi la transmission de l'influx nerveux.

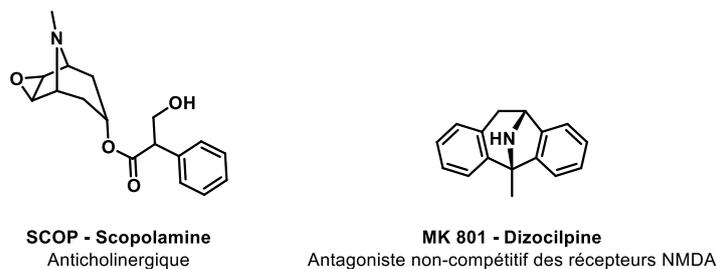


Figure 32. Structure de la scopolamine et de MK801.

Les composés testés sont injectés en IP 30 min avant le début du test. 20 min avant le test, la scopolamine, le MK801 ou la solution saline sont injectés en SC. La souris est placée au bout d'un des bras et est autorisée à se déplacer librement dans le labyrinthe au cours d'une session de 5 et 8 minutes, tandis que la séquence des entrées des bras est enregistrée par un observateur. Une entrée de bras est marquée lorsque les quatre pattes de la souris sont dans le bras. Une alternance a été définie comme une entrée dans les trois bras consécutifs. Le nombre d'alternances possibles est donc le nombre total d'entrées de bras moins deux ; le pourcentage d'alternance a été calculé comme suit : (alternance réelle / alternance possible) x 100. Les composés ont été testés à 1, 3 et 10 mg/kg.

¹⁹⁰ Hooper, N.; Fraser, C.; Stone, T. W. *Psychopharmacology (Berl)*. **1996**, *123* (3), 250–257.

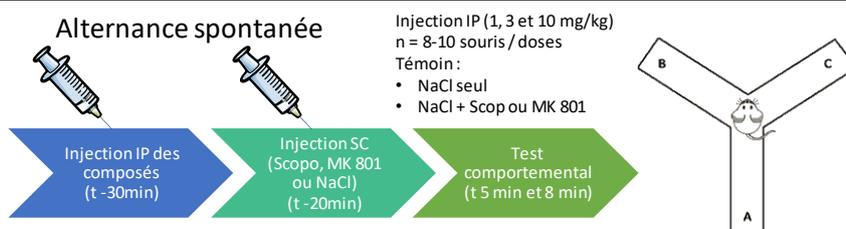


Figure 33. Protocole d'analyse de la mémoire de travail avec un déficit induit par scopolamine ou MK801.

3.4.2. Résultats *in vivo*

3.4.2.1. Toxicologie Aiguë

Quelle que soit la dose testée (1, 10 et 100 mg/kg), le dépistage toxicologique et pharmacologique préliminaire de **22** n'a révélé aucun signe délétère, suggérant ainsi une LD₅₀ très supérieure à 100 mg/kg (Tableau 7).

À l'inverse, à une dose de 100 mg/kg, le composé **21** présente des effets toxiques : une souris est décédée dans les 30 min après l'injection, et 3 autres souris ont présenté une forte hypomobilité et de forts tremblements (complètement réversible après 24 h). La LD₅₀ devrait donc être légèrement supérieur à 100 mg/kg.

Tableau 7. Propriétés pharmacologique et toxicologique de **21** et **22**.

Composé	Doses (mg/kg)	LD ₅₀ (mg/kg)	Symptômes (doses toxiques)
21	1-10-100	> 100	1-10 : pas de symptômes 100 : tremblement, hypomobilité, réversible en 24h
22	1-10-100	> 100	Pas de symptômes
Amphétamine ¹	2		Hyperactivité, exophtalmie, irritabilité
Chlorpromazine ¹	10	-	Hypoactivité, ataxie, sommeil

¹Amphétamine (2 mg/kg) et chlorpromazine (10 mg/kg) sont utilisées respectivement comme références stimulantes et dépressives.

3.4.2.2. Activité locomotrice spontanée

Aucune des doses testées de **21** et **22** (1, 3 et 10 mg/kg) n'a cependant modifié l'activité locomotrice spontanée (Figure 34).

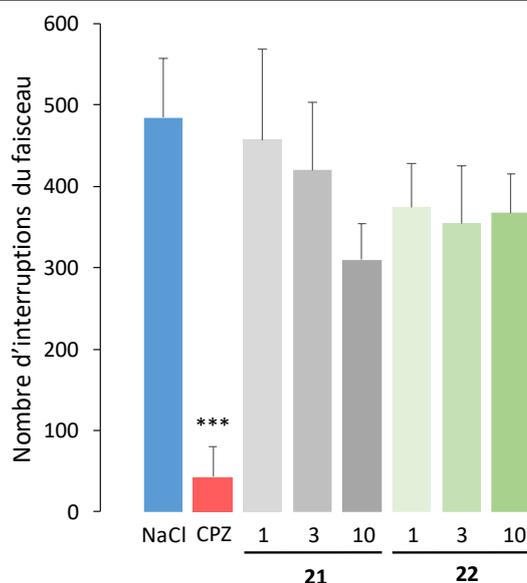


Figure 34. Effet de **21** et **22** sur l'activité locomotrice spontanée. Les données sont exprimées en moyenne \pm écart-type ($n = 8$). Les médicaments ont été administrés par voie IP 30 minutes avant le test comportemental. Composés **21** et **22** : 1–3–10 mg/kg ; Chlorpromazine CPZ : 3 mg/kg (***) $p < 0,05$ NaCl, test SNK).

3.4.2.3. Mémoire de travail : alternance spontanée

Scopolamine : En ce qui concerne le déficit d'alternance spontanée induit par la scopolamine, un effet anti-amnésique a été observé après administration IP de **22** uniquement de façon partielle à une dose de 1 mg/kg. Concernant le composé **21**, nous obtenons un effet partiel aux doses de 1 et 10 mg/kg (Figure 35).

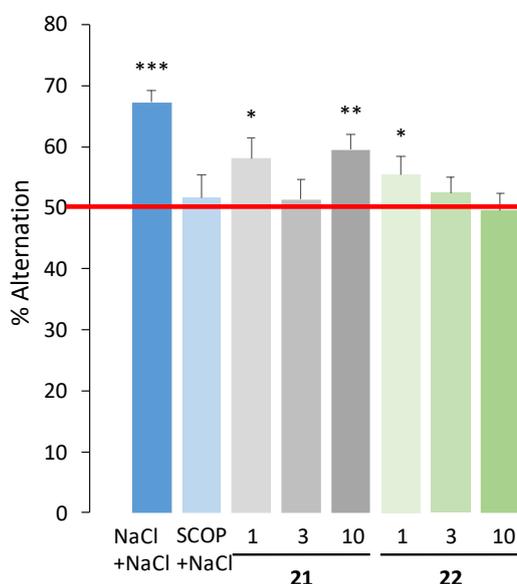


Figure 35. Effet de **21** et **22** sur la déficience induite par la scopolamine au cours du test de la réversion de l'alternance spontanée. Les données sont exprimées en moyenne \pm écart-type ($n = 8$). Les médicaments ont été administrés en IP 30 minutes avant le test et la scopolamine a été administrée en SC 20 minutes avant le test. Composé **21** et **22** : 1–3–10 mg/kg ; Scopolamine : 0,5 mg/kg. (* $p < 0,5$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$, test t univarié).

MK801 : En ce qui concerne le déficit de la mémoire de travail induit par ce composé, l'inversion de l'alternance spontanée a été observée après administration IP de **22** de façon

complète pour la dose de 3mg/kg. Concernant le composé **21**, nous obtenons une inversion partielle à toutes les doses. Aucune toxicité n'est apparue pendant ce test (Figure 35).

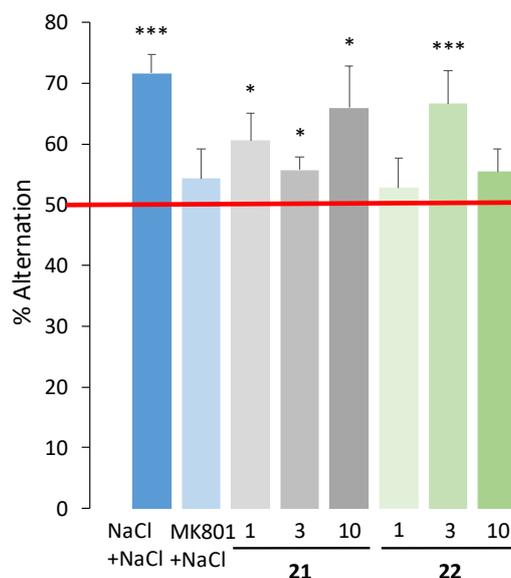


Figure 36. Effet de **21** et **22** sur la déficience induite par la scopolamine au cours du test de la réversion de l'alternance spontané. Les données sont exprimées en moyenne \pm écart-type ($n = 8$). Les médicaments ont été administrés en IP 30 minutes avant le test et la scopolamine a été administrée en SC 20 minutes avant le test. Composé **21** et **22** : 1–3–10 mg/kg ; MK801 : 0,1 mg/kg. (* $p < 0,5$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$, test t univarié).

3.4.3. Conclusion

Le Tableau 8 permet de résumer ces résultats *in vivo* :

Tableau 8. Résumé des évaluations *in vivo* de **21** et **22**.

Composés	Screening (1, 10 et 100 mg/kg)	Activité locomotrice (1, 10 et 100 mg/kg)	Réversion de l'altération (1, 3 et 10 mg/kg)	
			SCOP	MK801
21	LD ₅₀ ~ 100 mg/kg	✓	Partielle à 1 et 10 mg/kg	Partielle à 1, 3 et 10 mg/kg
22	✓	✓	Partielle à 1 mg/kg	Complète à 3 mg/kg

La prodrogue **21** provoque donc une inversion partielle dans les deux tests à toutes les doses, et a donc une action supérieure au composé **22**, qui n'est pas toujours actif et présente des incohérences (résultats positifs à 1 mg avec la SCOP et 3 mg avec le MK801).

Au vu de ces différents résultats nous pouvons dire que la prodrogue **21** synthétisée remplit nos conditions : elle passe la BHE (par test PAMPA et confirmé par les résultats *in vivo*), est décarbamoylée de façon compétitive par l'AChE et permet l'inversion de la mémoire de travail des souris traitées par de la SCOP ou du MK801.

4. Conclusion

Pour cette partie chimique, les molécules synthétisées et dérivées du composé **MR33327** ont toutes montré de bons résultats *in vitro*. Les dérivés cétoniques ont été plus intéressants car le composé **3** (potentiel métabolite de **1**) est actif sur 3 cibles thérapeutiques d'intérêt dans la maladie d'Alzheimer. À l'inverse la présence d'un carbone asymétrique (en mélange racémique) entraîne chez le composé **4** la disparition de l'inhibition de l'AChE et la disparition de l'interaction avec les 5-HT₆R.

D'après les premiers résultats, la molécule **1** est un inhibiteur mixte de l'AChE et son métabolite **3** est ligand de 5-HT₄R. Les analyses des fumarates ont montrées que **21** libère **3** en présence d'AChE, grâce à une méthode d'analyse développée au cours de cette thèse. De plus l'étude du profil pharmacologique a permis de montrer que **22** est un agoniste partiel des récepteurs 5-HT₄ et un faible antagoniste des récepteurs 5-HT₆. Les analyses *in vivo* ont permis de montrer que les LD₅₀ de **21** et **22** sont respectivement et proche de 100 mg/kg et supérieures à 100 mg/kg, et ces deux molécules ne perturbent pas l'activité locomotrice des souris. L'étude de la mémoire de travail pour le test d'alternance spontanée s'est montrée concluante. En effet les résultats pour **21** montrent une inversion partielle à quasiment toutes les doses testées (sauf 3 mg/kg avec la SCOP). À l'inverse le dérivé **22** n'est efficace qu'à 1 mg/kg avec la SCOP et à la dose de 3 mg/kg avec MK801. La variabilité de ces résultats vient sans doute du fait que la molécule ne passe pas la BHE de manière uniforme.

Conclusion – Perspectives

Comme nous l'avons vu dans cette thèse, le groupement carbamate s'est montré être un groupement de choix dans le développement de promédicaments. Celui-ci permet entre autres d'augmenter la stabilité métabolique lors du premier passage hépatique, d'améliorer le ciblage et d'augmenter la solubilité aqueuse de plusieurs substances actives.

Le mécanisme de bioconversion d'un groupement carbamate peut être une simple hydrolyse par différentes estérases (dont l'AChE et la BuChE) ou de manière plus complexe dans le cas des *self-immolative linker*.

Un des promédicaments carbamates le plus connu est le bambutérol. Cette molécule est hydrolysée en terbutaline par l'action d'une butyrylcholinestérase. Le mécanisme de bioconversion va engendrer une inhibition de cette enzyme. Notre projet s'est basé sur ce principe de promédicament inhibant les cholinestérases et entraînant la libération d'un principe actif sur une seconde cible thérapeutique, dans le traitement de la maladie d'Alzheimer.

Ce concept de promédicaments pléiotropes présente plusieurs avantages : d'un côté l'inhibition de plusieurs cibles thérapeutiques et donc potentiellement un effet synergique, sans problème de compliance. D'un autre côté, l'utilisation d'un groupement carbamate va faciliter le passage de la BHE de molécules ne possédant pas les propriétés requises. Ceci va permettre une meilleure efficacité et une diminution des effets secondaires périphériques.

Nous avons pu démontrer ce concept par la synthèse de plusieurs molécules inhibitrices de l'AChE et ligands des récepteurs 5-HT₄.¹⁹¹ Ces premiers résultats nous ont encouragés à poursuivre notre stratégie de prodrogues pléiotropes.

Des analyses complémentaires seraient intéressantes pour déterminer l'interaction de **22** avec d'autres récepteurs sérotoninergiques ou dopaminergiques (analogie structurale avec le métoclopramide). Nous pourrions aussi changer de modèle animal comme les souris 5XFAD ayant une atteinte amyloïde sévère. Il serait aussi intéressant de déterminer l'influence des cholinestérases plasmatiques sur l'hydrolyse de nos promédicaments et de déterminer la concentration intracérébrale de ceux-ci.

Ce concept a été testé avec une autre molécule possédant une benzylamine, l'idaloipirdine, et dont les résultats se sont montrés concluants.¹⁹¹ D'autres molécules possédant une

¹⁹¹ Toublet, F.-X.; Lalut, J.; Hatat, B.; Lecoutey, C.; Davis, A.; Since, M.; Corvaisier, S.; Freret, T.; Sopkova de Oliveira Santos, J.; Claeysen, S.; *et al.* *ACS Chem. Neurosci.* In progress.

benzylamine pourraient être des substances actives de choix (Figure 37). D'autres promédicaments basés sur le concept des *self-immolatives linkers* sont actuellement en cours de développement.

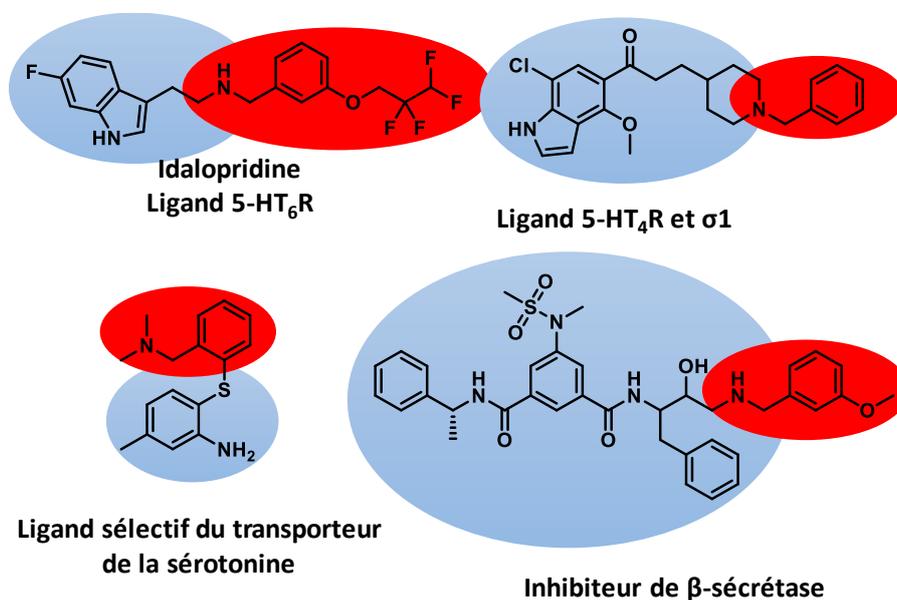


Figure 37. Structures d'intérêts dans la MA possédant une benzylamine.

Partie Expérimentale

1. General experimental conditions

Reactant and reagents: All commercially available compounds were used as received. Other reagents were used as provided by chemical companies. All reactions involving air and moisture sensitive reagents were performed under N₂ using syringe-septum cap technique. Column chromatography was performed on silica gel (60 Å, particle size 35-70 µm) or RP-18 (50 µm). All reported solvent mixture are volume measures.

¹H and ¹³C NMR spectrometer: ¹H and ¹³C spectra were recorded, respectively, at 400 MHz and 100 MHz with a Jeol Lambda 400 MHz NMR spectrometer and a Bruker Advance 400 MHz spectrometer. ¹⁹F NMR spectra were recorded at 282 MHz with a Bruker Advance 400 spectrometer. CDCl₃ or DMSO or CD₃OD or CD₃CN were used as solvents. ¹H and ¹³C chemical shift (δ) are quoted in parts per million (ppm) relative to residual solvent peaks as appropriate. ¹⁹F spectra were externally referenced to CFCl₃. The coupling constants (*J*) are given in Hertz (Hz). The NMR signals were designated as follows: br s (broad singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet), m (multiplet), or a combination of the above.

LC-MS (ESI) analyses were realized with Waters Alliance 2695 as separating module using the following gradients: A (95%) /B (5%) to A (5%)/B (95%) in 4.00 min. This ratio was hold during 1.50 min before return to initial conditions in 0.50 min. Initial conditions were then maintained for 2.00 min. (A = H₂O, B = CH₃CN; each containing HCOOH: 0.1 %; column XBridge C18 2.5 µm/4.6x50 mm; flow rate 0.8 mL/ min) MS were obtained on a SQ detector by positive ESI. Mass spectrum data are reported as *m/z*.

High resolution mass spectra (HRMS) were recorder on a Waters Acquity UPLC H-ClassXevo G2-XS spectrometer using positive electrospray ionization (ESI).

Melting Point were determined on a Kofler melting point apparatus or measured on a Stuart Automatic Melting point SMP-50 apparatus.

Infrared spectra (IR) were obtained on a PERKIN-ELMER FT-IR spectrometer and are reported in terms of frequency of absorption (cm⁻¹) using KBr discs. Data are reported as follows: stretching vibration (ν) and bending vibration (δ).

Flash Chromatographies were performed on a VWR SPOT II Essential instrument with silica gel 0.040-0.063 mm-60 Å. Column's size and flow rate were used according to manufacturer's recommendation.

2. In silico studies

The initial model of compound studied was built from donecopride X-ray structure,¹⁶⁷ and its protonation state at pH 7.4 was predicted using standard tools of the ChemAxon Package (<http://www.chemaxon.com/>). The majority microspecies protonated on piperidine nitrogen at this pH was used for docking studies.

The crystallographic coordinates of human acetylcholinesterase used in this study were obtained from X-ray structure of the donepezil/AChE complex (PDB ID 4EY7, a structure refined to 2.35 Å with an R factor of 17.7%). Structures of human acetylcholinesterase in complex with pharmacologically important ligands.¹⁷⁹ The AChE amino acid protonation state was checked before the docking study using the ProPKA software and the proposed protonation for Glu202 was applied.

The docking of the compound into the AChE was carried out with the GOLD program (v5.7.2, Cambridge Crystallographic Data Center, CCDC) using the default parameter.^{192,193} This program applies a genetic algorithm to explore conformational spaces and ligand binding modes. To evaluate the proposed ligand positions, the ChemPLP fitness function was used. The binding site in the AChE model was defined as a 7 Å sphere from the co-crystallized donepezil ligand, and a water molecule interacting with a protonated piperidine ring of donepezil was conserved during the docking (residue number 931). The Ser203 side chain was kept flexible and a hydrogen bond constraint between Ser203 side chain and carbonyl oxygen was applied during the docking.

3. Chemistry

3.1. General procedures

General procedure A, for alkylation in DMF: To a stirred solution of alcohol or phenol derivative (1.0 equiv) in DMF, was added K₂CO₃ (2.0 equiv), at 0 °C. After 5 min, the halogenated derivative (1.1 equiv) was added in the mixture. The solution was then stirred for 2 h at 80 °C. The mixture was extract by EtOAc, and the organic layer was washed with saturated aqueous NaHCO₃, then brine, dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The crude was purified by chromatography on silica gel column (CHX/EtOAc, gradient 100:0 to 80:20) and concentrated *in vacuo* to afford protected compound.

¹⁹² Jones, G.; Willett, P.; Glen, R. C. *J. Mol. Biol.* **1995**, *245* (1), 43–53.

¹⁹³ Jones, G.; Willett, P.; Glen, R. C.; Leach, A. R.; Taylor, R. *J. Mol. Biol.* **1997**, *267* (3), 727–748.

General procedure B, for reduction of aldehyde or ketone: To a stirred solution of aldehyde or ketone derivative (1.0 equiv) in MeOH was reduced with NaBH₄ (1.0 or 3.0 equiv) at 0 °C or rt for 30 min. The reaction was stopped by saturated aqueous NH₄Cl. The solvent was removed *in vacuo* and the crude was dissolved with EtOAc, then the organic layer was washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo* to afford alcohol compound.

General procedure C, for bromination of alcohol: To a stirred solution of alcohol derivative (1.0 equiv) in Et₂O, was added phosphorus tribromide (1.0 equiv) at 0 °C. After a stirring for 30 min, the reaction was quenched by saturated aqueous NaHCO₃ and extracted 3 times by Et₂O. The organic layer was washed with brine and dried over anhydrous MgSO₄. The solvent was evaporated *in vacuo* to afford bromide compound without purification.

General procedure D, for the deprotection/alkylation of the piperidine moiety: To a stirred solution of *tert*-butyl piperidine-1-carboxylate derivative (1.0 equiv) in DCM (20 mL/mmol) was added TFA (2 mL/mmol). The resulting mixture was stirred at rt for 1 h. Removal of the solvent under vacuum afforded the crude product, which was directly engaged in the next step. The residue obtained (1.0 equiv) was dissolved in DMF (10 mL/mmol) and alkyl-halogenated derivatives (1.3 equiv) and K₂CO₃ (10.0 equiv) were added. The resulting mixture was stirred at 110 °C for 2-15 h, then concentrated *in vacuo*. EtOAc was added, the organic layer was washed several times with brine, dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The crude was purified by flash chromatography on silica gel column (DCM/MeOH, gradient 100:0 to 90:10) and concentrated *in vacuo* to afford alkylated compound.

General procedure E, for reductive amination with NaBH(OAc)₃: To a stirred solution of amine (1.0 equiv) in MeOH, was added aldehyde (1.6 equiv) and few drops of acetic acid. The reaction was stirred at rt for 1 night. NaBH(OAc)₃ (3.0 equiv) was added and the solution was stirred at rt for 5 h. The solvent was removed *in vacuo*. The crude was purified by flash chromatography on silica gel column (DCM/MeOH, gradient 100:0 to 80:20), and concentrated *in vacuo* to afford amine compound.

General procedure F, for the formation of fumarate salt: To a stirred solution of basic compound (1.0 equiv) in *i*PrOH was added fumaric acid (0.95 equiv). The solution was refluxed. The mixture was then concentrated *in vacuo*. The residue was triturated in Et₂O and then filtrated to afford fumarate salt.

3.2. Synthesis of compounds

4-piperidinylmethanol (5).¹⁹⁴ To a solution of ethyl isonipecotate (2.0 mL, 13.00 mmol, 1.0 equiv) in Et₂O (150 mL) was added portionwise LiAlH₄ (1.48 g, 39.00 mmol, 3.0 equiv) at 0 °C and the reaction mixture was refluxed for 7h. The mixture was then cooled to 0 °C and the reaction was then slowly quenched with 1.5 mL of water, 1.5 mL of 15% NaOH solution followed by 4.5 mL of water to afford a granular inorganic precipitate. The white solid was filtered and washed several times with EtOAc. Evaporation of the filtrate *in vacuo* provided 1.38 g (92% yield) of compound **5** as a colorless oil. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 3.40-3.34 (m, 2H), 3.08-2.99 (m, 2H), 2.59-2.50 (m, 2H), 2.00 (s, 1H), 1.72-1.61 (m, 2H), 1.55 (m, 1H), 1.21-1.00 (m, 2H); ¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 68.2, 46.5 (2C), 39.2, 30.1 (2C). * Spectral and analytical data matched with literature.

Tert-butyl 4-(hydroxymethyl)piperidine-1-carboxylate (6).¹⁹⁵ To a solution of 4-piperidinylmethanol **5** (1.54 g, 13.38 mmol, 1.0 equiv) in DCM (54 mL) was added di-*tert*-butyldicarbonate (3.21 g, 14.72 mmol, 1.1 equiv). The solution was stirred for 1 night at rt. The mixture was then diluted with water and the aqueous layer was extracted several times with DCM. The organic layer was dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The crude product was purified by chromatography on silica gel column (CHX/EtOAc, gradient 100:0 to 70:30) to give 1.28 g (44% isolated yield) of compound **6** as white solid. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 4.21-4.04 (m, 2H), 3.50 (t, 2H, ³J_{HH} = 5.6 Hz), 2.77-2.62 (m, 2H), 1.75-1.67 (m, 2H), 1.63 (m, 1H), 1.48-1.40 (m, 10H), 1.20-1.07 (m, 2H); ¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 155.0, 79.5, 67.8, 43.7 (2C), 39.0, 28.7 (2C), 28.6 (3C).

Tert-butyl 4-(iodomethyl)piperidine-1-carboxylate (7).¹⁹⁶ To a solution of *tert*-butyl 4-(hydroxymethyl)piperidine-1-carboxylate **6** (1.28 g, 5.95 mmol, 1.0 equiv), imidazole (486 mg, 7.13 mmol, 1.2 equiv) and triphenylphosphine (1.87 g, 7.13 mmol, 1.2 equiv) in dry THF (18 mL) was added drop-wise a solution of iodine (1.81 g, 7.13 mmol, 1.2 equiv) in dry THF (18 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred at rt for 1 night. The mixture was quenched with a saturated aqueous Na₂S₂O₃. The aqueous layer was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with water, dried over MgSO₄, and concentrated *in vacuo*. The crude was several

¹⁹⁴ Boyer, N.; Gloanec, P.; De Nanteuil, G.; Jubault, P.; Quirion, J. C. *European J. Org. Chem.* **2008**, 25, 4277–4295.

¹⁹⁵ Saitton, S.; Del Tredici, A. L.; Saxin, M.; Stenström, T.; Kihlberg, J.; Luthman, K. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, 6 (9), 1647–1654.

¹⁹⁶ Villalobos, A.; Blake, J. F.; Biggers, C. K.; Butler, T. W.; Chapin, D. S.; Chen, Y. L.; Ives, J. L.; Jones, S. B.; Liston, D. R.; Nagel, A. A. *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 2721–2734.

times diluted with cold Et₂O, and white crystals were filtered. After concentration of filtrate *in vacuo*, the compound **7** was obtained as a colorless oil (550 mg, 28% isolated yield). ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 4.17-3.98 (m, 2H), 3.06 (d, 2H, ³J_{HH} = 6.4 Hz), 2.71-2.57 (m, 2H), 1.82-1.74 (m, 2H), 1.56 (m, 1H), 1.41 (s, 9H), 1.16-1.03 (m, 2H); ¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 154.5, 79.4, 43.6 (2C), 38.5, 32.4 (2C), 28.3 (3C), 13.3.

Ethyl 3-(4-amino-5-chloro-2-methoxyphenyl)-3-oxopropanoate (8).¹⁶⁶ To a mixture of 4-amino-5-chloro-2-methoxybenzoic acid (2.0 g, 9.92 mmol, 1.0 equiv) and CDI (1.77 g, 10.91 mmol, 1.1 equiv), dry THF (100 mL) (caution: gas evolution) was added. The reaction mixture was stirred at rt for 8 h, and then, potassium 3-ethoxy-3-oxopropanoate (2.03 g, 11.90 mmol, 1.2 equiv) and MgCl₂ (1.13 g, 11.90 mmol, 1.2 equiv) were added portionwise. The reaction mixture was stirred at 40 °C for 2 h. Evaporation of the solvent provided a residue that was diluted in water. The mixture was extracted with DCM. The organic layer was washed with water, saturated aqueous NaHCO₃, and brine, and then, it was dried over MgSO₄. Evaporation of the solvent provided a crude product that was purified by column on silica, eluting with a gradient of 20–30% EtOAc/CHX to give the compound **8** (1.14 g, 42% isolated yield) as a white solid. ¹H NMR (MeOD, 400 MHz) δ 7.91 (s, 1H), 6.23 (s, 1H), 4.59 (s, 2H), 4.17 (q, 2H, ³J_{HH} = 7.2 Hz), 3.87 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 1.24 (t, 2H, ³J_{HH} = 7.2 Hz); ¹³C NMR (MeOD, 101 MHz) δ 189.8, 168.8, 160.0, 148.9, 132.6, 117.4, 111.8, 97.2, 61.0, 55.6, 50.6, 14.3.

Tert-butyl 4-[3-(4-amino-5-chloro-2-methoxyphenyl)-3-oxopropyl]piperidine-1-carboxylate (9).¹⁶⁶ To a DMF (30 mL) solution of compound ethyl 3-(4-amino-5-chloro-2-methoxyphenyl)-3-oxopropanoate **9** (860 mg, 3.17 mmol, 1.0 equiv) and the compound *tert*-butyl 4-(iodomethyl)piperidine-1-carboxylate **7** (1.24 g, 3.81 mmol, 1.2 equiv) was added K₂CO₃ (877 mg, 6.35 mmol, 2.0 equiv), and the mixture was stirred at rt for 1 night. The reaction mixture was diluted with water, and product was extracted with EtOAc. Combined organic layer was washed with water and brine and then dried over MgSO₄. Evaporation of the solvent gave a crude mixture (2.04 g, 4.34 mmol), which was directly dissolved in EtOH (87 mL). To the solution, H₂O (17 mL) and KOH (1.1 g, 19.6 mmol, 4.5 equiv) were added. The reaction mixture was refluxed for 3h. EtOH was evaporated. The mixture was diluted with H₂O and extracted with EtOAc. The organic layer was washed with H₂O and brine. Evaporation of the solvent provided a crude product, which was purified by column on silica, eluting with a gradient of 0–20% of EtOAc/DCM to give the compound **9** as a colorless solid (710mg, 56% isolated yield). ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.79 (s, 1H), 6.26 (s, 1H), 4.46 (s, 2H), 4.16-3.98 (m, 2H), 3.85 (s,

3H), 2.94-2.87 (m, 2H), 2.73-2.60 (m, 2H), 1.71-1.63 (m, 2H), 1.62-1.56 (m, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.40 (m, 1H), 1.16-1.04 (m, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 101 MHz) δ 198.9, 159.6, 155.0, 147.8, 132.4, 119.0, 111.4, 97.7, 79.3, 55.8, 44.0 (2C), 40.8, 35.9, 32.2 (2C), 31.3, 28.6 (3C).

(3-formylphenyl) *N*-ethyl-*N*-methylcarbamate (10). Starting from 3-hydroxybenzaldehyde (2.0 g, 16.38 mmol, 1.0 equiv) and ethylmethylcarbamate (1.87 mL, 18.02 mmol, 1.2 equiv), following the **general procedure A**. The expected compound **10** was isolated as a yellowish oil (2.96 g, 87% isolated yield). ^1H NMR (**DMSO, 400 MHz, 363K**) δ 10.02 (s, 1H), 7.76 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz), 7.65 (ddd, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, $^5J_{\text{HH}} = 0.4$ Hz), 7.61 (td, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^5J_{\text{HH}} = 0.4$ Hz), 7.46 (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz), 3.41 (q, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz), 3.00 (s, 3H), 1.19 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz); ^{13}C NMR (**DMSO, 101 MHz, 363K**) δ 191.6, 152.8, 151.6, 137.2, 129.6, 127.2, 125.6, 121.4, 43.2, 33.3, 12.0; **MS** m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ 208.40; **HRMS/ESI** m/z calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{NO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 208.0974, found 208.0976; **IR** (neat, cm^{-1}) ν_{max} 2974 (CHO), 1721 (C=O), 1234 (C-O).

(3-acetylphenyl) *N*-ethyl-*N*-methyl-carbamate (11).¹⁹⁷ Starting from 3-hydroxyacetophenone (1.48 g, 10.83 mmol, 1.0 equiv) and ethylmethylcarbamate (1.24 mL, 11.96 mmol, 1.1 equiv), following the **general procedure A**. The expected compound **11** was isolated as a colorless oil (2.28 g, 95% isolated yield). ^1H NMR (**DMSO, 400 MHz, 363K**) δ 7.79 (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz), 7.65 (dd, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz), 7.52 (t, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, H₅), 7.39 (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz), 3.41 (q, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz), 3.00 (s, 3H), 2.57 (s, 3H), 1.19 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz); ^{13}C NMR (**DMSO, 126 MHz, 363K**) δ 196.5, 152.9, 151.3, 137.9, 129.0, 125.8, 124.3, 120.5, 43.1, 33.3, 26.1, 12.1.

[3-(hydroxymethyl)phenyl] *N*-ethyl-*N*-methylcarbamate (12). Starting from (3-formylphenyl) *N*-ethyl-*N*-methylcarbamate **10** (1.06 g, 5.12 mmol, 1.0 equiv) and NaBH_4 (561 mg, 14.82 mmol, 3.0 equiv) at 0 °C for 30 min, following the **general procedure B**. The expected compound **12** was obtained as a yellow oil (900 mg, 84% yield). ^1H NMR (**DMSO, 400 MHz, 363K**) δ 7.30 (t, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz), 7.14 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz), 7.07 (s, 1H), 6.9 (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 0.6$ Hz), 4.94 (t, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.7$ Hz), 4.52 (d, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 5.7$ Hz), 3.39 (q, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz), 2.97 (s, 3H), 1.17 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz); ^{13}C NMR (**DMSO, 126 MHz, 363K**) δ 153.2, 151.1, 143.7, 128.2, 122.3, 119.2, 119.0, 62.2, 43.0, 33.2, 12.1; **MS** m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ 210.47;

¹⁹⁷ Nagai, T.; Sakurai, S.; Natori, N.; Hataoka, M.; Kinoshita, T.; Inoue, H.; Hanaya, K.; Shoji, M.; Sugai, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26* (7), 1304–1313.

HRMS/ESI m/z calcd. for $C_{11}H_{15}NNaO_3$ $[M+Na]^+$ 232.0950, found 232.0948; **IR (neat, cm^{-1})** ν_{max} 3419, 2975, 2937, 2877, 1704, 1436, 1402, 1238, 1170, 1088, 1030, 758, 691.

[3-(1-hydroxyethyl)phenyl] *N*-ethyl-*N*-methyl-carbamate (13).¹⁹⁸ Starting from (3-acetylphenyl) *N*-ethyl-*N*-methyl-carbamate **11** (2.21 g, 10.00 mmol, 1.0 equiv) and $NaBH_4$ (1.14 g, 29.99 mmol, 3.0 equiv) 0 °C for 30 min following the **general procedure B**. The expected compound **13** was obtained as a yellow oil (1.76 g, 79% yield). **1H NMR (DMSO, 400 MHz, 363K)** δ 7.30 (t, 1H, $^3J_{HH} = 7.8$ Hz), 7.17 (d, 1H, $^3J_{HH} = 7.8$ Hz), 7.10 (t, 1H, $^4J_{HH} = 2.0$ Hz), 6.95 (ddd, 1H, $^3J_{HH} = 7.8$ Hz, $^4J_{HH} = 2.4$ Hz, $^4J_{HH} = 1.1$ Hz), 4.91 (d, 1H, $^3J_{HH} = 4.4$ Hz), 4.74 (qd, 1H, $^3J_{HH} = 6.4$ Hz, $^3J_{HH} = 4.4$ Hz), 3.39 (q, 2H, $^3J_{HH} = 7.1$ Hz), 2.97 (s, 3H), 1.35 (d, 3H, $^3J_{HH} = 6.4$ Hz), 1.17 (t, 3H, $^3J_{HH} = 7.1$ Hz); **^{13}C NMR (DMSO, 126 MHz, 363K)** δ 153.2, 151.0, 148.5, 128.1, 121.4, 119.1, 118.0, 67.3, 43.0, 33.2, 25.1, 12.1.

[3-(bromomethyl)phenyl] *N*-ethyl-*N*-methylcarbamate (14). Starting from [3-(hydroxymethyl)phenyl] *N*-ethyl-*N*-methylcarbamate **12** (350 mg, 1.67 mmol, 1.0 equiv) and following the **general procedure C**. The expected compound **14** was isolated as a colorless oil (200 mg, 44% isolated yield). **1H NMR (DMSO, 400 MHz, 363K)** δ 7.36 (t, 1H, $^3J_{HH} = 7.8$ Hz), 7.28 (dd, 1H, $^3J_{HH} = 7.8$ Hz, $^4J_{HH} = 1.3$ Hz), 7.21 (t, 1H, $^3J_{HH} = 1.3$ Hz), 7.16 (ddd, 1H, $^3J_{HH} = 7.8$ Hz, $^4J_{HH} = 2.3$ Hz, $^4J_{HH} = 1.3$ Hz), 4.67 (s, 2H), 3.39 (q, 2H, $^3J_{HH} = 7.1$ Hz), 2.98 (s, 3H), 1.17 (t, 3H, $^3J_{HH} = 7.1$ Hz); **^{13}C NMR (DMSO, 126 MHz, 363K)** δ 153.0, 151.1, 138.8, 128.9, 125.2, 121.8, 121.1, 43.1, 33.3, 33.0, 12.1; **MS** m/z $[M+H]^+$ 272.44 / 274.47; **HRMS/ESI** m/z calcd. for $C_{11}H_{15}BrNO_2$ $[M+H]^+$ 272.0286, found 272.0287 / 274.0267; **IR (neat, cm^{-1})** ν_{max} 3438.5, 2972, 2931, 1719, 1395, 1248, 1161, 691.

[3-(1-(bromomethyl)phenyl) *N*-ethyl-*N*-methylcarbamate (15).¹⁹⁹ Starting from [3-(1-hydroxyethyl)phenyl] *N*-ethyl-*N*-methyl-carbamate **13** (502 mg, 2.24 mmol, 1.0 equiv) and following the **general procedure C**. The expected compound **15** was obtained as a yellow oil (130 mg, 20% isolated yield). **1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz)** δ 7.32 (s, 1H, $^3J_{HH} = 7.8$ Hz), 7.27 – 7.24 (m, 1H), 7.22 – 7.18 (m, 1H), 7.07 – 7.03 (m, 1H), 5.17 (q, 1H, $^3J_{HH} = 6.9$ Hz), 3.47 (q, 1H, $^3J_{HH} = 7.1$ Hz, rota A), 3.41 (q, 1H, $^3J_{HH} = 7.1$ Hz, rota B), 3.07 (s, 3H, rota A), 2.99 (s, 3H, rota B), 2.03 (d, 3H, $^3J_{HH} = 6.9$ Hz), 1.25 (t, 1.5H, $^3J_{HH} = 7.1$ Hz, rota A), 1.19 (t, 1.5H, $^3J_{HH} = 7.1$ Hz, rota B).

¹⁹⁸ Hua, Y.-G.; Han, L.-P.; Yang, Q.-Q.; Wang, M.-J.; Zhang, E.; Liu, H.-M. *A ChemistrySelect* **2018**, *3* (5), 1385–1387.

¹⁹⁹ Liu, Hong min; Zhang, En; Zhang, Baoyin; Lv, Aiqiao; Li, Cong; Fang, Y. CN 102617403, 2012.

3-(iodomethyl)phenol (16).¹⁸³ To a dioxane (50 mL) solution of 3-(hydroxymethyl)phenol (3.0 g, 24.17 mmol, 1.0 equiv) and potassium iodide (4.01 g, 24.17 mmol, 1.0 equiv) was added boron trifluoride diethyl etherate (BF₃.Et₂O) (3.43 g, 24.17 mmol, 1.0 equiv). The reaction mixture was stirred at rt for 17h30. The mixture was poured into cold water and extracted with Et₂O (3 x 50 mL). The organic layer was washed with water and brine. The solvent was evaporated *in vacuo*. After a purification by chromatography on silica gel column (CHX/EtOAc, gradient 100:0 to 90:10), the compound **33** was obtained as a white powder (3.56 g, 63% isolated yields). ¹H NMR (MeOD, 400 MHz) δ 7.16 (t, 1H, ³J_{HH} = 7.6 Hz), 6.95 (td, 1H, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz), 6.85 (t, 1H, ⁴J_{HH} = 2.0 Hz), 6.72 (ddd, 1H, ³J_{HH} = 8.2 Hz, ⁴J_{HH} = 2.6 Hz, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz), 4.90 (s, 1H), 4.40 (s, 2H); ¹³C NMR (MeOD, 101 MHz) δ 155.7, 141.1, 130.2, 121.4; 115.8, 115.2, 5.3.

1-(3-benzyloxyphenyl)ethanone (17).²⁰⁰ Starting from 3-acetophenone (1.50 g, 11.02 mmol, 1.0 equiv) and benzyl bromide (1.48 mL, 12.12 mmol, 1.1 equiv) following the **general procedure A**. The expected compound **17** was isolated as a brown oil (1.90 g, 76% yield). ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.59 – 7.57 (m, 1H), 7.57 – 7.54 (m, 1H), 7.47-7.32 (m, 6H), 7.19 (ddd, 1H, ³J_{HH} = 8.2 Hz, ⁴J_{HH} = 2.8 Hz, ⁴J_{HH} = 0.8 Hz), 5.12 (s, 2H), 2.59 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 198.0, 159.1, 138.6, 136.6, 129.7, 128.8 (2C), 128.3, 127.7 (2C), 121.4, 120.4, 113.7, 70.3, 26.9.

1-(3-benzyloxyphenyl)ethanol (18).²⁰⁰ Starting from 1-(3-benzyloxyphenyl)ethanone **17** (1.62 g, 7.15 mmol, 1.0 equiv) and NaBH₄ (271 mg, 7.15 mmol, 1.0 equiv) at 0 °C for 30 min following the **general procedure B**. The expected compound **18** was obtained as a yellow oil (1.20 g, 74% yield). ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.48 – 7.38 (m, 4H), 7.37 – 7.32 (m, 1H), 7.28 (t, 1H, ³J_{HH} = 7.9 Hz), 7.05 (t, 1H, ⁴J_{HH} = 2.0 Hz), 6.97 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.9 Hz), 6.90 (ddd, 1H, ³J_{HH} = 7.9 Hz, ⁴J_{HH} = 2.0 Hz, ⁴J_{HH} = 0.8 Hz), 5.08 (s, 2H), 4.87 (q, 1H, ³J_{HH} = 6.4 Hz), 1.49 (d, 3H, ³J_{HH} = 6.4 Hz); ¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 159.1, 147.7, 137.1, 129.7, 128.7 (2C), 128.1, 127.6 (2C), 118.1, 113.8, 112.0, 70.4, 70.0, 25.2.

1-benzyloxy-3-(1-bromoethyl)benzene (19). Starting from 1-(3-benzyloxyphenyl)ethanol **18** (1.13 mg, 4.95 mmol, 1.0 equiv) and following the **general procedure C**. The expected compound **19** was obtained as a brown oil (600 mg, 42% yield). ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.47 – 7.38 (m, 4H), 7.37 – 7.32 (m, 1H), 7.28 (t, 1H, ³J_{HH} = 7.9 Hz), 7.09 (t, 1H, ⁴J_{HH} = 2.0 Hz),

²⁰⁰ Aggarwal, R.; Birkbeck, A. A.; Giles, R. G. F.; Green, I. R.; Gruchlik, Y.; Oosthuizen, F. J. *Aust. J. Chem.* **2003**, *56* (5), 489.

7.04 (d, 1H, $^3J_{HH} = 7.9$ Hz), 6.91 (dd, 1H, $^3J_{HH} = 7.9$ Hz, $^4J_{HH} = 2.0$ Hz), 5.18 (q, 1H, $^3J_{HH} = 7.0$ Hz), 5.08 (s, 2H), 2.04 (d, 3H, $^3J_{HH} = 7.0$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 159.0, 144.9, 136.9, 129.8, 128.8 (2C), 128.2, 127.7 (2C), 119.5, 114.7, 113.7, 70.2, 49.5, 26.9; MS m/z [M-H]⁻ 290.86-292.87; HRMS/ESI not determined; IR (neat, cm⁻¹) ν_{max} 1597, 1584, 486, 1421, 1258, 1159, 1025, 733, 694.

[3-[[4-[3-(4-amino-5-chloro-2-methoxyphenyl)-3-oxopropyl]-1-piperidyl]methyl]phenyl] N-ethyl-N-methyl-carbamate (1) Starting from *tert*-butyl 4-[3-(4-amino-5-chloro-2-methoxyphenyl)-3-oxopropyl]piperidine-1-carboxylate **9** (123 mg, 0.31 mmol, 1.0 equiv) and [3-(bromomethyl)phenyl] *N*-ethyl-*N*-methylcarbamate **14** (110 mg, 0.40 mmol, 1.3 equiv), following the **general procedure D**. The expected compound **1** was isolated as a brown oil (80 mg, 50% isolated yield). ^1H NMR (DMSO, 400 MHz, 363K) δ 7.51 (s, 1H), 7.29 (t, 1H, $^3J_{HH} = 7.8$ Hz), 7.12 (d, 1H, $^3J_{HH} = 7.8$ Hz), 7.03 (s, 1H), 6.97 (dd, 1H, $^3J_{HH} = 7.8$ Hz, $^4J_{HH} = 2.4$ Hz), 6.51 (s, 1H), 5.84 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.45 (s, 2H), 3.39 (q, 2H, $^3J_{HH} = 7.1$ Hz), 2.97 (s, 3H), 2.85-2.76 (m, 4H), 2.01-1.96 (m, 2H), 1.66-1.59 (m, 2H), 1.50 (q, 2H, $^3J_{HH} = 7.2$ Hz), 1.28-1.12 (m, 6H); ^{13}C NMR (DMSO, 126 MHz, 363K) δ 196.9, 159.0, 153.6, 151.0, 149.1, 140.2, 130.5, 128.2, 124.7, 121.1, 119.4, 116.7, 109.2, 97.6, 61.5, 55.3, 52.8 (2C), 43.0, 41.1, 34.7, 33.2, 31.5 (2C), 30.6, 12.1; MS m/z [M+H]⁺ 488.75/490.74; HRMS/ESI m/z calcd. for C₂₆H₃₄ClN₃O₄ [M+H]⁺ 488.2316, found 488.2323; IR (neat, cm⁻¹) ν_{max} 3439, 2918, 2852, 1713, 1621, 1589, 1250, 1167.

[3-[1-[4-[3-(4-amino-5-chloro-2-methoxy-phenyl)-3-oxo-propyl]-1-piperidyl]ethyl]phenyl] N-ethyl-N-methyl-carbamate (2) Starting from *tert*-butyl 4-[3-(4-amino-5-chloro-2-methoxyphenyl)-3-oxopropyl]piperidine-1-carboxylate **9** (120 mg, 0.30 mmol, 1.0 equiv) and 1-benzyloxy-3-(1-bromoethyl)benzene **15** (104 mg, 0.36 mmol, 1.2 equiv), following the **general procedure D**. The expected compound **53** was isolated as a yellowish oil (31 mg, 20% isolated yield). ^1H NMR (MeOD, 400 MHz) δ 7.64 (s, 1H, H₇), 7.34 (t, $^3J_{HH} = 7.8$ Hz, 1H), 7.18 (d, $^3J_{HH} = 7.8$ Hz, 1H), 7.09 (t, $^4J_{HH} = 1.7$ Hz, 1H), 7.01 (dd, $^3J_{HH} = 7.8$, $^4J_{HH} = 1.7$ Hz, 1H), 6.50 (s, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.56 – 3.47 (m, 2H, rota A), 3.40 (q, $^3J_{HH} = 7.2$ Hz, 1H, rota B), 3.20 – 3.13 (m, 1H), 3.10 (s, 1.5H, rota A), 2.98 (s, 1.5H, rota B), 2.92 – 2.84 (m, 3H, H₂₀), 2.1 – 2.03 (m, 1H), 2.00 – 1.91 (m, 1H), 1.80 – 1.73 (m, 1H), 1.70 – 1.64 (m, 1H), 1.57 – 1.49 (m, 1H), 1.43 (d, $^3J_{HH} = 6.8$ Hz, 3H), 1.36 – 1.15 (m, 6H); ^{13}C NMR (MeOD, 101 MHz) δ 201.0, 161.6, 156.4 (rota A), 156.3 (rota B), 152.9, 151.7, 144.9, 132.9, 130.2, 126.3, 122.6 (rota A), 122.5 (rota B), 122.0, 117.9, 111.6, 98.1, 66.3, 56.1, 52.5, 51.7, 45.2, 41.6, 36.6, 34.5 (rota A), 34.3 (rota B), 32.8 (2C), 32.6, 19.5, 13.4 (rota A), 12.6 (rota B); MS m/z [M+H]⁺ 502.79/504.79; HRMS/ESI calcd. for

$C_{27}H_{37}ClN_3O_4$ $[M+H]^+$ 502.2473, found 502.2477; **IR** (neat, cm^{-1}) ν_{max} 3434, 2992, 2851, 1725, 1620, 1399, 1262, 1240, 1162, 1027.

1-(4-amino-5-chloro-2-methoxyphenyl)-3-[1-[(3-hydroxyphenyl)methyl]-4-

piperidyl]propan-1-one (3). Starting from *tert*-butyl 4-[3-(4-amino-5-chloro-2-methoxyphenyl)-3-oxopropyl]piperidine-1-carboxylate **9** (300 mg, 0.76 mmol, 1.0 equiv) and 3-(iodomethyl)phenol **16** (212 mg, 0.91 mmol, 1.3 equiv), following the **general procedure D**. The expected compound **3** was isolated as a white powder (150 mg, 51% isolated yield). **1H NMR (MeOD, 400 MHz)** δ 7.64 (s, 1H), 7.12 (t, 1H, $^3J_{HH} = 8.1$ Hz), 6.79 – 6.75 (m, 1H), 6.76 (s, 1H), 6.69 (m, 1H), 6.44 (s, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.42 (s, 2H), 2.93 – 2.86 (m, 4H), 2.15 (s, 2H), 2.03 – 1.94 (m, 2H), 1.73 – 1.67 (m, 2H), 1.58 – 1.51 (m, 2H), 1.32 – 1.22 (m, 3H); **^{13}C NMR (MeOD, 101 MHz)** δ 201.1, 161.7, 158.5, 151.7, 139.7, 132.9, 130.2, 122.0, 117.9, 117.7, 115.3, 111.6, 98.1, 64.4, 56.1, 54.8 (2C), 41.7, 36.8, 32.8 (2C), 32.7; **MS** m/z $[M+H]^+$ 403.60/405.61; **HRMS/ESI** calcd. for $C_{22}H_{28}ClN_2O_3$ $[M+H]^+$ 403.1788, found 403.1801; **m.p.** 162.0 °C; **IR** (neat, cm^{-1}) ν_{max} 3469, 3321, 3204, 2920, 2853, 1624, 1580, 1450, 1216.

1-(4-amino-5-chloro-2-methoxy-phenyl)-3-[1-[1-(3-benzyloxyphenyl)ethyl]-4-

piperidyl]propan-1-one (20). Starting from *tert*-butyl 4-[3-(4-amino-5-chloro-2-methoxyphenyl)-3-oxopropyl]piperidine-1-carboxylate **9** (344 mg, 0.87 mmol, 1.0 equiv) and [3-(bromomethyl)phenyl] *N*-ethyl-*N*-methyl-carbamate **19** (328 mg, 1.13 mmol, 1.3 equiv), following the **general procedure E**. The expected compound **20** was isolated as a yellowish oil (180 mg, 41% isolated yield). **1H NMR (MeOD, 400 MHz)** δ 7.64 (s, 1H), 7.42 – 7.38 (m, 2H), 7.35 – 7.30 (m, 2H), 7.28 – 7.23 (m, 1H), 7.19 (t, $^3J_{HH} = .9$ Hz, 1H), 6.91 (dd, $^4J_{HH} = 2.4$ Hz, $^4J_{HH} = 0.7$ Hz, 1H) 6.86 (ddd, $^3J_{HH} = 7.9$ Hz, $^4J_{HH} = 2.4$ Hz, $^4J_{HH} = .7$ Hz, 1H), 6.84 (dd, $^3J_{HH} = 7.9$, $^4J_{HH} = 0.8$ Hz, 1H), 6.41 (s, 1H), 5.05 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.33 (m, $^3J_{HH} = 6.8$ Hz, 1H), 3.07 – 3.00 (m, 1H), 2.87 – 2.81 (m, 3H), 2.77 – 2.72 (m, 1H), 1.94 – 1.85 (m, 1H), 1.79 – 1.71 (m, 1H), 1.71 – 1.64 (m, 1H), 1.60 – 1.54 (m, 1H), 1.49 (q, $^3J_{HH} = 6.8$ Hz, 1H), 1.35 (d, $^3J_{HH} = 6.8$ Hz, 3H), 1.29 – 1.23 (m, 1H), 1.18 – 1.06 (m, 2H); **^{13}C NMR (MeOD, 101 MHz)** δ 200.1, 161.6, 160.1, 151.2, 145.1, 138.7, 132.9, 130.3, 129.5 (2C), 128.8, 128.6 (2C), 121.7, 117.9, 115.6, 114.8, 111.6, 98.1, 70.8, 66.6, 56.1, 52.6, 51.6, 41.7, 36.7, 33.0 (2C), 32.6, 19.8; **MS** m/z $[M+H]^+$ 506.73/508.75; **HRMS/ESI** m/z calcd. for $C_{30}H_{36}ClN_2O_3$ $[M+H]^+$ 507.2414, found 507.2415; **IR** (neat, cm^{-1}) *not determined*.

1-(4-amino-5-chloro-2-methoxy-phenyl)-3-[1-[1-(3-hydroxyphenyl)ethyl]-4-piperidyl]propan-1-one (4). To a mixture of 1-(4-amino-5-chloro-2-methoxy-phenyl)-3-[1-[1-(3-benzyloxyphenyl)ethyl]-4-piperidyl]propan-1-one **20** (146 mg, 0.29 mmol, 1.0 equiv) in DCM, was added HBr in acetic acid (2.3 mL, 8 mL/mmol). The reaction mixture was stirred at 0 °C for 2 h, then quenched with ice water and evaporated. The crude was purified by flash chromatography on silica gel column (DCM/MeOH, gradient 100:0 to 90:10 with NH₃ 0.5%). The expected compound **4** was isolated as a yellowish oil (50 mg, 42% isolated yield). **¹H NMR (MeOD, 400 MHz)** δ 7.64 (s, 1H), 7.13 (t, ³J_{HH} = 7.9 Hz, 1H), 6.79 – 6.73 (m, 2H), 6.68 (ddd, ³J_{HH} = 7.9 Hz, ⁴J_{HH} = 2.4 Hz, ⁴J_{HH} = 0.9 Hz, 1H), 6.44 (s, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.36 (q, ³J_{HH} = 6.6 Hz, 1H), 3.18 – 3.12 (m, 1H), 2.91 – 2.82 (m, 2H), 2.06 – 1.98 (m, 1H), 1.94 – 1.86 (m, 1H), 1.78 – 1.72 (m, 1H), 1.69 – 1.63 (m, 1H), 1.56 – 1.50 (m, 1H), 1.40 (d, ³J_{HH} = 6.6 Hz, 3H), 1.36 – 1.21 (m, 3H); **¹³C NMR (MeOD, 101 MHz)** δ 201.1, 161.7, 158.6, 151.7, 144.9, 132.9, 130.3, 120.3, 117.9, 115.9, 115.3, 111.6, 98.1, 66.8, 56.1, 52.7, 51.8, 41.7, 36.7, 32.9 (2C), 32.7, 19.8; **MS** *m/z* [M+H]⁺ 416.86/418.86; **HRMS/ESI** *m/z* calcd. for C₂₃H₃₀ClN₂O₅ [M+H]⁺ 417.1945, found 417.1949; **IR (neat, cm⁻¹)** *in progress*.

[3-[[4-[3-(4-amino-5-chloro-2-methoxyphenyl)-3-oxopropyl]-1-piperidyl]methyl]phenyl] *N*-ethyl-*N*-methyl-carbamate fumaric acid salt (21). Starting from [3-[[4-[3-(4-amino-5-chloro-2-methoxyphenyl)-3-oxopropyl]-1-piperidyl]methyl]phenyl] *N*-ethyl-*N*-methyl-carbamate **1** (135 mg, 0.28 mmol, 1.0 equiv) and following the **general procedure F**. The mixture was stirred at reflux for 1 h 15. The expected compound **21** was obtained as a white powder (114 mg, 68% yield). **¹H NMR (MeOD, 400 MHz)** δ 7.66 (s, 1H), 7.49 (t, ³J_{HH} = 7.9 Hz, 1H), 7.36 (dt, ³J_{HH} = 7.9, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1H), 7.30 (t, ⁴J_{HH} = 2.1 Hz, 1H), 7.23 (dd, ³J_{HH} = 8.1, ⁴J_{HH} = 2.1 Hz, 1H), 6.70 (s, 2H), 6.44 (s, 1H), 4.26 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.56 – 3.36 (m, 4H), 3.10 (s, 1.5H, rota A), 2.99 (s, 1.5H, rota B), 2.98 – 2.89 (m, 4H), 2.00 – 1.90 (m, 2H), 1.66 – 1.54 (m, 3H), 1.54 – 1.40 (m, 2H), 1.26 (t, ³J_{HH} = 7.1 Hz, 1.5H, rota A), 1.18 (t, ³J_{HH} = 7.1 Hz, 1.5H, rota B); **¹³C NMR (MeOD, 101 MHz)** δ 200.1, 171.2 (2C), 161.7, 156.1 (rota A), 156.0 (rota B), 153.2, 151.8, 136.2 (2C), 132.9, 132.3 (rota A), 132.2 (rota B), 131.3, 129.3, 125.9 (rota A), 125.8 (rota B), 124.6 (rota A), 124.5 (rota B), 117.7, 111.7, 98.0, 60.8, 56.1, 53.5 (2C), 45.3 (rota A), 45.2 (rota B), 41.2, 34.6 (rota A), 34.3 (rota B), 34.5, 31.5, 30.3 (2C), 13.4 (rota A), 12.6 (rota B); **MS** *m/z* [M+H]⁺ 488.75/490.74; **HRMS/ESI** *m/z* calcd. for C₂₆H₃₅ClN₃O₄ [M+H]⁺ 488.2316, found 488.2318; **M.p.** > 250 °C; **IR (neat, cm⁻¹)** *v*_{max} 3439, 2918, 2852, 1713, 1621, 1589, 1250, 1167.

1-(4-amino-5-chloro-2-methoxyphenyl)-3-[1-[(3-hydroxyphenyl)methyl]-4-piperidyl]propan-1-one fumaric acid salt (22) Starting from 1-(4-amino-5-chloro-2-methoxyphenyl)-3-[1-[(3-hydroxyphenyl)methyl]-4-piperidyl]propan-1-one **2** (135 mg, 0.34 mmol, 1.0 equiv) and following the **general procedure F**. The mixture was stirred at reflux for 1 h 15. The expected compound **22** was obtained as a white powder (116 mg, 66% yield). **¹H NMR (MeOD, 400 MHz)** δ 7.65 (s, 1H), 7.26 (t, $^3J_{HH} = 8.1$ Hz), 6.94 – 6.89 (m, 2H), 6.89 – 6.83 (m, 1H), 6.69 (s, 2H), 6.44 (s, 1H), 4.10 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.43 – 3.35 (m, 2H), 2.99 – 2.90 (m, 2H), 2.90 – 2.78 (m, 2H), 2.00 – 1.87 (m, 2H), 1.66 – 1.51 (m, 3H), 1.51 – 1.38 (m, 2H); **¹³C NMR (MeOD, 101 MHz)** 200.3, 172.6 (2C), 161.7, 159.3, 151.8, 136.6 (2C), 132.9, 132.7, 131.2, 122.9, 118.8, 117.7, 111.7, 98.0, 61.7, 56.1, 53.5 (2C), 41.3, 34.7, 31.6 (2C), 30.5 (2C); **MS** m/z [M+H]⁺ 403.60/405.61; **HRMS/ESI** m/z calcd. for C₂₂H₂₈N₂O₃Cl [M+H]⁺ 403.1788, found 403.1790; **M.p.** > 250 °C; **IR (neat, cm⁻¹)** ν_{\max} 3331, 3207, 1622, 1584, 1454, 1362, 1215.

4. *In vitro* biological studies

4.1. *In vitro* tests of AChE and BuChE biological activity

Inhibitory capacity of compounds on AChE biological activity was evaluated through the use of the spectrometric method of Ellman.²⁰¹ Acetylthiocholine iodide and 5,5-dithiobis(2-nitrobenzoic) acid (DTNB) were purchased from Sigma-Aldrich. AChE from human erythrocytes (buffered aqueous solution, ≥ 500 units/mg protein (BCA), Sigma-Aldrich) was diluted in 20 mM HEPES buffer pH 8, 0.1% Triton X-100 such as to have enzyme solution with 0.25 unit/mL enzyme activity. In the procedure, 100 μ L of 0.3 mM DTNB dissolved in phosphate buffer pH 7.4 were added into the 96-well plate followed by 50 μ L of test compound solution and 50 μ L of enzyme (0.05 U final). After 5 min of preincubation at 25 °C, the reaction was then initiated by the injection of 50 μ L of 10 mM acetylthiocholine iodide solution. The hydrolysis of acetylthiocholine was monitored by the formation of yellow 5-thio-2-nitrobenzoate anion as the result of the reaction of DTNB with thiocholine, released by the enzymatic hydrolysis of acetylthiocholine, at a wavelength of 412 nm using a 96-well microplate plate reader (TECAN Infinite M200, Lyon, France). Test compounds were dissolved in analytical grade DMSO. Donepezil was used as a reference standard. The rate of absorbance increase at 412 nm was followed every minute for 10 min. Assays were performed with a blank containing all components except acetylthiocholine, in order to account for nonenzymatic reaction. The reaction slopes were compared and the percent inhibition due to the presence

²⁰¹ Ellman, G. L.; Courtney, K. D.; Andres, V. J.; Featherstone, R. M. *Biochem. Pharmacol.* **1961**, 7 (2), 88–95.

of test compounds was calculated by the following expression: $100 - (v_i/v_0 \times 100)$, where v_i is the rate calculated in the presence of inhibitor and v_0 is the enzyme activity.

First screening of AChE activity was carried out at a 10^{-6} or 10^{-5} M concentration of compounds under study. For the compounds with significant inhibition ($\geq 50\%$), IC_{50} values were determined graphically by plotting the % inhibition versus the logarithm of six inhibitor concentrations in the assay solution using the Origin software.

4.2. Pharmacological characterization of drugs on human 5-HT₄R

For competition studies, 2.5 μ g of proteins 5-HT_{4(b)} membrane preparations, HTS110M, Eurofins. Eurofins' 5-HT_{4(b)} membrane preparations were crude membrane preparations made from their proprietary stable recombinant cell lines to ensure high-level of GPCR surface expression.) were incubated in duplicate at 25 °C for 60 min in the absence or the presence of 10^{-6} or 10^{-8} M of each drug (RS67333 was used as a reference standard) and 0.2 nM [³H]-GR113808 (NET 1152, Perkin Elmer) in 25 mM Tris buffer (pH 7.4, 25 °C). At the end of the incubation, homogenates were filtered through Whatman GF/C filters (Alpha Biotech) presoaked with 0.5% polyethylenimine using a Brandel cell harvester. Filters were subsequently washed three times with 1 mL of ice-cold 25 mM Tris buffer (pH 7.4, 4 °C). Non-specific binding was evaluated in parallel in the presence of 30 μ M serotonin.

For some of these compounds, affinity constants were calculated from five-point inhibition curves using the GraphPad Prism 6 software and expressed as $K_i \pm SD$.

4.3. Kinetic Study for ChE Inhibition

To try to clarify the mechanism of action of **21**, reciprocal plots of $1/\text{velocity}$ vs. $1/[\text{substrate}]$ were constructed at different concentrations of the substrate acetylthiocholine iodide (0.01–1 mM) by using the spectrometric method by Ellman *et al.*²⁰¹ Four concentrations of **21** were selected for the studies: 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} and 10^{-9} M for the kinetic analysis of AChE inhibition. Four concentrations of **20** were selected for the studies: 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} and 10^{-8} M for the kinetic analysis of ChE inhibition. The plots were assessed by a weighted least squares analysis that assumed the variance of velocity (v) to be a constant percentage of v for the entire dataset. Slopes of these reciprocal plots were then plotted against the concentration of **21**.

4.4. Parallel Artificial Membrane Permeability Assay

The parallel artificial membrane permeability assay (PAMPA) blood-brain barrier (BBB) experiments were conducted using the Pampa Explorer Kit (Pion Inc.) according to the

protocol provided by the manufacturer. Briefly, the donecopride fumarate solution (20 mM in DMSO) was diluted in Prisma HT buffer (pH 7.4; pION) to 100 μ M; 200 μ L this solution ($n = 6$) was added to the donor plate (P/N 110,243). Five microliters BBB-1 Lipid (P/N 110,672) was added to the donor plate (P/N 110,243). Five microliters BBB-1 Lipid (P/N 110,672) was used to coat the membrane filter of the acceptor plate (P/N 110,243). Two hundred microliters Brain Sink Buffer (P/N 110,674) was added to each well of the acceptor plate. The PAMPA sandwich was assembled and allowed to incubate at rt for 4 h without stirring. The sandwich was then separated, and the UV-visible spectra were measured for both the donor and receiver wells with the microplate reader (Tecan Infiniit M200). The $-\log Pe$ and Pe (PAMPA effective permeability coefficient) were calculated by the PAMPA Explorer software version 3.7 (pION) for studied compounds. Corticosterone ($-\log Pe = 4.76$, $Pe = 17.2 \cdot 10^{-6}$ cm/s) and theophylline ($-\log Pe = 6.44$, $Pe = 0.40 \cdot 10^{-6}$ cm/s) were used as positive and negative references, respectively.

4.5. Determination of cAMP production

COS-7 cells were grown in Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM) supplemented with 10% dialyzed fetal calf serum (dFCS) and antibiotics. Cells were transiently transfected by electroporation with plasmids encoding HA-tagged 5-HT₄R (100 ng/10⁶ cells) or HA-tagged 5-HT₆R (70 ng/10⁶ cells or 300 ng/10⁶ cells), then seeded in 96-well plates (16,000 cells/well).

5-HT₄R-induced cAMP production: 24 hrs after transfection, cells were exposed to the indicated concentrations of 5-HT₄R ligands in the presence of 0.1 mM of the phosphodiesterase inhibitor RO-20-1724, at 37 °C in 100 μ L of HBS (20 mM HEPES; 150 mM NaCl; 4.2 mM KCl; 0.9 mM CaCl₂; 0.5 mM MgCl₂; 0.1% glucose; 0.1% BSA). After 10 min, cells were then lysed by addition of the same volume of Triton-X100 (0.1%).

Quantification of cAMP production was performed by HTRF[®] by using the cAMP Dynamic kit (Cisbio Bioassays) according to the manufacturer's instructions.

4.6. AChE dependent decarbamylation

Solutions of compound **21** were prepared in a PBS buffer (pH 7.4). AChE from *Electrophorus electricus* (buffered aqueous solution, ≥ 500 units/mg protein (BCA), Sigma Aldrich) was diluted in PBS buffer pH 7.4, to reach enzyme activity at 250 unit/mL. Solution was prepared by addition of 250 μ L of the abovementioned enzyme stock solution to 5 μ L of solution of compounds **21** or **22** at 255 μ M. The mixture was stirred during 24 h at rt. The

mixture was extracted by 300 μ L of EtOAc, and 250 μ L of the organic layer was reduced by nitrogen flow. The crude product was submerged in 50 μ L of ACN, then analyzed by HPLC.

The HPLC analyses were performed using an Agilent (Agilent technologies, Santa Clara, CA, USA) binary pump 1290, an autosampler 1290 and a diode array UV detector 1260. A reversed phase column C18 (Restek® Ultra, 5 μ m, 2.1 x 50 mm) has been used for all components. The mobile phase was always composed of a mixture of (A) water (0.1% formic acid) and (B) acetonitrile using a gradient mode (Tableau 9 et Tableau 10). Injection volumes was 6 μ L, flow rate, 0,6 mL/min and total analysis time 2.5 min.

Tableau 9. Gradient conditions

Method	Rivastigmine			21		
Time (min)	0	0.8	1.9	0	3.0	3.2
Solvent (%)	A	95	90	30	90	30
	B	5	10	70	10	70

Tableau 10. HPLC conditions

Compound	Carbamate	Rivastigmine	21
	Phenol	3-[(1S)-1-(dimethylamino)ethyl]phenol	22
Retention time (min)	Carbamate	1.517	1.813
	Phenol	2.150	1.734
Wavelength (nm)		265	280

5. In vivo studies

5.1. Animals

Adult male NMRI mice (3 months old, weighing 35–40g) from Janvier labs (Le Genest-Saint-Isle, France) were used to perform experiments. Mice were housed by ten in standard polycarbonate cages in standard controlled conditions (22 ± 2 °C, $55 \pm 10\%$ humidity) with a reversed 12 h light/dark cycle (light on at 7 pm). Food and water were available ad libitum in the home cage. All experiments were conducted (between 9 am and 3 pm) during the active–dark phase of the cycle and were in agreement with the European Directives and French law on animal experimentation (personal authorization n° 14–17 for MB and 14–60 for TF).

5.2. CNS-activity and acute toxicity test

Behavioral and neurological changes induced by graded doses (1, 10, 100 mg/kg) of the tested derivatives were evaluated in mice, in groups of four, by a standardized observation technique at different times (30 min, 3 and 24 h) after intraperitoneal administration.¹⁶⁸ Major changes of behavioral data (for example, hypo- or hyperactivity, ataxia, tremors, convulsion, etc.) were noted in comparison to the control group. The approximate DL₅₀ of the compounds were also calculated through the quantification of mortality after 24 h. Amphetamine (2 mg/kg) and chlorpromazine (10 mg/kg) were used as the stimulant and depressive references, respectively.

5.3. Locomotor activity

The locomotion of mice was measured using an actimeter (Imetronic®) through infrared detection. Eight individual removable polycarbonate cages (21 cm length, 7 cm wide and 12 cm high), in which each mouse was placed, were used in the actimeter. Locomotor activity was measured by recording the number of interruptions of beams of the red light over a period of 30 min through a recording system attached to the actimeter. Compound was tested at 1, 3 and 10 mg/kg. Chlorpromazine (3 mg/kg) were used as depressive reference.¹⁸⁹

5.4. Spatial working memory

The anti-amnesic activity of the tested compounds was evaluated by a reversal of deficit on spontaneous alternation behavior in the Y maze test.¹⁹⁰ Deficits were pharmacologically induced either by scopolamine (SCOP, 0.5 mg/kg) or dizocilpine (MK801, 0.1 mg/kg). The Y maze made of grey plastic consisted of three equally-spaced arms (21-cm long, 7-cm wide with walls 15-cm high). The mouse was placed at the end of one of the arms and allowed to move freely through the maze during a 5 min session, while the sequence of arm entries was recorded by an observer. An arm entry was scored when all four feet crossed into the arm. An alternation was defined as entries into all three arms on a consecutive occasion. The number of possible alternations is thus the total number of arm entries minus two; the percentage of alternation was calculated as (actual alternation/possible alternation) 100. Compounds **21** and **22** were tested at 1, 3 and 10 mg/kg.

5.5. Pharmacological treatments

Amphetamine (+)- α -Methylphenethylamine hemisulfate, chlorpromazine hydrochloride, MK801 hydrogen maleate and scopolamine hydrobromide were purchased from Sigma

(France). All pharmacological compounds were dissolved in NaCl 0.9%, used as the vehicle. Besides, all were administered IP 30 min before tests, except for scopolamine and MK801, which were subcutaneously administered 20 min before spontaneous alternation test.

5.6. Statistical analysis

Results were expressed as mean \pm SD and were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA), with Statview® software. In case of significance, a SNK (Student-Newman-Keuls) post hoc test was realized. Additionally, for the spontaneous alternation test, the percentage of alternation was compared to a theoretical 50% value (random alternation) by a univariate *t*-test. Differences were considered as statistically significant if the *p* value was strictly under 0.05.

Bibliographie

- (1) Toublet, F.-X.; Lecoutey, C.; Lalut, J.; Hatat, B.; Davis, A.; Since, M.; Corvaisier, S.; Freret, T.; Sopkova de Oliveira Santos, J.; Claeysen, S.; et al. Inhibiting Acetylcholinesterase to Activate Pleiotropic Prodrugs with Therapeutic Interest in Alzheimer's Disease. *Molecules* **2019**, *24* (15), 2786. <https://doi.org/10.3390/molecules24152786>.
- (2) Rautio, J.; Meanwell, N. A.; Di, L.; Hageman, M. J. The Expanding Role of Prodrugs in Contemporary Drug Design and Development. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2018**, *17* (8), 559–587. <https://doi.org/10.1038/nrd.2018.46>.
- (3) Albert, A. Chemical Aspects of Selective Toxicity. *Nature* **1958**, *182* (4633), 421–423. <https://doi.org/10.1038/182421a0>.
- (4) Bertolini, A.; Ferrari, A.; Ottani, A.; Guerzoni, S.; Tacchi, R.; Leone, S. Paracetamol: New Vistas of an Old Drug. *CNS Drug Rev.* **2006**, *12* (3–4), 250–275. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2006.00250.x>.
- (5) Testa, B. Prodrug Research: Futile or Fertile? *Biochem. Pharmacol.* **2004**, *68* (11), 2097–2106. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2004.07.005>.
- (6) Vane, J. R.; Botting, R. M. The Mechanism of Action of Aspirin. *Thromb. Res.* **2003**, *110* (5–6), 255–258. [https://doi.org/10.1016/S0049-3848\(03\)00379-7](https://doi.org/10.1016/S0049-3848(03)00379-7).
- (7) Testa, B.; Mayer, J. M. *Hydrolysis in Drug and Prodrug Metabolism: Chemistry, Biochemistry, and Enzymology*, 1st ed.; Verlag Helvetica Chimica Acta, Postfach, CH-8042 Zürich, Switzerland: Zürich, 2003. <https://doi.org/10.1002/9783906390444>.
- (8) Rautio, J. *Prodrugs and Targeted Delivery*, Wiley.; Rautio, J., Ed.; Methods and Principles in Medicinal Chemistry; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, 2010. <https://doi.org/10.1002/9783527633166>.
- (9) Najjar, A.; Karaman, R. The Prodrug Approach in the Era of Drug Design. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2019**, *16* (1), 1–5. <https://doi.org/10.1080/17425247.2019.1553954>.
- (10) Walther, R.; Rautio, J.; Zelikin, A. N. Prodrugs in Medicinal Chemistry and Enzyme Prodrug Therapies. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2017**, *118*, 65–77. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.06.013>.
- (11) Peauger, L.; Azzouz, R.; Gembus, V.; Țîntaş, M.-L.; Sopková-de Oliveira Santos, J.; Bohn, P.; Papamicaël, C.; Levacher, V.; Tintas, M.; Santos, S. O.; et al. Donepezil-Based Central Acetylcholinesterase Inhibitors by Means of a “Bio-Oxidizable” Prodrug Strategy: Design, Synthesis, and in Vitro Biological Evaluation. *J. Med. Chem.* **2017**, *60* (13), 5909–5926. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00702>.
- (12) Perez, O. D.; Logg, C. R.; Hiraoka, K.; Diago, O.; Burnett, R.; Inagaki, A.; Jolson, D.; Amundson, K.; Buckley, T.; Lohse, D.; et al. Design and Selection of Toca 511 for Clinical Use: Modified Retroviral Replicating Vector With Improved Stability and Gene Expression. *Mol. Ther.* **2012**, *20* (9), 1689–1698. <https://doi.org/10.1038/mt.2012.83>.
- (13) Herbert, J. M.; Frehel, D.; Vallee, E.; Kieffer, G.; Gouy, D.; Berger, Y.; Necciari, J.; Defreyn, G.; Maffrand, J. P. Clopidogrel, A Novel Antiplatelet and Antithrombotic Agent. *Cardiovasc. Drug Rev.* **1993**, *11* (2), 180–198. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3466.1993.tb00275.x>.
- (14) Farid, N. A.; Payne, C. D.; Ernest, C. S.; Li, Y. G.; Winters, K. J.; Salazar, D. E.; Small, D. S. Prasugrel, a New Thienopyridine Antiplatelet Drug, Weakly Inhibits Cytochrome P450

- 2B6 in Humans. *J. Clin. Pharmacol.* **2008**, *48* (1), 53–59. <https://doi.org/10.1177/0091270007309709>.
- (15) Pereillo, J. M.; Maftouh, M.; Andrieu, A.; Uzabiaga, M. F.; Fedeli, O.; Savi, P.; Pascal, M.; Herbert, J. M.; Maffrand, J. P.; Picard, C. Structure and Stereochemistry of the Active Metabolite of Clopidogrel. *Drug Metab. Dispos.* **2002**, *30* (11), 1288–1295. <https://doi.org/10.1124/dmd.30.11.1288>.
- (16) Shah, K.; Gupta, J. K.; Chauhan, N. S.; Upmanyu, N.; Shrivastava, S. K.; Mishra, P. Prodrugs of NSAIDs: A Review. *Open Med. Chem. J.* **2017**, *11* (1), 146–195. <https://doi.org/10.2174/1874104501711010146>.
- (17) Sinkula, A. A. Prodrugs, Protective Groups and the Medicinal Chemist. In *Medicinal Chemistry*; Mathieu, J., Ed.; Elsevier : Amsterdam, 1977; pp 125–133.
- (18) Choi-Sledeski, Y. M.; Wermuth, C. G. Designing Prodrugs and Bioprecursors. In *The Practice of Medicinal Chemistry*; Wermuth, C. G., Aldous, D., Raboisson, P., Rognan, D., Eds.; Academic Press, 2014; pp 657–696.
- (19) Chapman, T. M.; Plosker, G. L.; Perry, C. M. Fosamprenavir. *Drugs* **2004**, *64* (18), 2101–2124. <https://doi.org/10.2165/00003495-200464180-00014>.
- (20) Papot, S.; Tranoy, I.; Tillequin, F.; Florent, J. C.; Gesson, J. P. Design of Selectively Activated Anticancer Prodrugs: Elimination and Cyclization Strategies. *Curr. Med. Chem. - Anti-Cancer Agents* **2002**, *2* (2), 155–185. <https://doi.org/10.2174/1568011023354173>.
- (21) Carl, P. L.; Chakravarty, P. K.; Katzenellenbogen, J. A. A Novel Connector Linkage Applicable in Prodrug Design. *J. Med. Chem.* **1981**, *24* (5), 479–480. <https://doi.org/10.1021/jm00137a001>.
- (22) Tranoy-Opalinski, I.; Fernandes, A.; Thomas, M.; Gesson, J.-P.; Papot, S. Design of Self-Immolative Linkers for Tumour-Activated Prodrug Therapy. *Anticancer. Agents Med. Chem.* **2008**, *8* (6), 618–637. <https://doi.org/10.2174/1871520610808060618>.
- (23) Leppänen, J.; Huuskonen, J.; Nevalainen, T.; Gynther, J.; Taipale, H.; Järvinen, T. Design and Synthesis of a Novel L-Dopa–Entacapone Codrug. *J. Med. Chem.* **2002**, *45* (6), 1379–1382. <https://doi.org/10.1021/jm010980d>.
- (24) Das, N.; Dhanawat, M.; Dash, B.; Nagarwal, R. C.; Shrivastava, S. K. Codrug: An Efficient Approach for Drug Optimization. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2010**, *41* (5), 571–588. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2010.09.014>.
- (25) Bodor, N.; Buchwald, P. Soft Drug Design: General Principles and Recent Applications. *Med. Res. Rev.* **2000**, *20* (1), 58–101. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1128\(200001\)20:1<58::AID-MED3>3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1128(200001)20:1<58::AID-MED3>3.0.CO;2-X).
- (26) Wu, K.-M. A New Classification of Prodrugs: Regulatory Perspectives. *Pharmaceuticals* **2009**, *2* (3), 77–81. <https://doi.org/10.3390/ph2030077>.
- (27) Beaumont, K.; Webster, R.; Gardner, I.; Dack, K. Design of Ester Prodrugs to Enhance Oral Absorption of Poorly Permeable Compounds: Challenges to the Discovery Scientist. *Curr. Drug Metab.* **2003**, *4* (6), 461–485. <https://doi.org/10.2174/1389200033489253>.
- (28) Taylor, M. D. Improved Passive Oral Drug Delivery via Prodrugs. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1996**, *19* (2), 131–148. [https://doi.org/10.1016/0169-409X\(95\)00104-F](https://doi.org/10.1016/0169-409X(95)00104-F).

- (29) Liederer, B. M.; Borchardt, R. T. Enzymes Involved in the Bioconversion of Ester-Based Prodrugs. *J. Pharm. Sci.* **2006**, *95* (6), 1177–1195. <https://doi.org/10.1002/jps.20542>.
- (30) Todd, P. A.; Heel, R. C. Enalapril. *Drugs* **1986**, *31* (3), 198–248. <https://doi.org/10.2165/00003495-198631030-00002>.
- (31) Potter, P.; Wadkins, R. Carboxylesterases - Detoxifying Enzymes and Targets for Drug Therapy. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13* (9), 1045–1054. <https://doi.org/10.2174/092986706776360969>.
- (32) Heimbach, T.; Oh, D. M.; Li, L. Y.; Rodríguez-Hornedo, N.; Garcia, G.; Fleisher, D. Enzyme-Mediated Precipitation of Parent Drugs from Their Phosphate Prodrugs. *Int. J. Pharm.* **2003**, *261* (1–2), 81–92. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(03\)00287-4](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(03)00287-4).
- (33) DeHaan, R. M.; Metzler, C. M.; Schellenberg, D.; Vandenbosch, W. D. Pharmacokinetic Studies of Clindamycin Phosphate. *J. Clin. Pharmacol. New Drugs* **1973**, *13* (5–6), 190–209. <https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.1973.tb00208.x>.
- (34) Lipinski, C. A. Biotechnology: Pharmaceutical Aspects. In *Pharmaceutical Profiling in Drug Discovery for Lead Selection*; Borchardt, R. T., Kerns, E. H., Lipinski, C. A., Thakker, D., Wang, B., Eds.; American Association of Pharmaceutical Scientists, 2004; pp 93–125.
- (35) Di, L.; Kerns, E. H. Prodrugs. In *Drug-Like Properties: Concepts, Structure Design and Methods from ADME to Toxicity Optimization*; Academic Press, 2016; pp 471–485. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801076-1.00039-3>.
- (36) Patrick, G. L. *An Introduction to Medicinal Chemistry*, 5th ed.; Patrick, G. L., Ed.; Oxford University Press, 2014. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- (37) Perry, C. M.; Faulds, D. Valaciclovir. A Review of Its Antiviral Activity, Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Efficacy in Herpesvirus Infections. *Drugs* **1996**, *52* (5), 754–772. <https://doi.org/10.2165/00003495-199652050-00009>.
- (38) Zhang, Y.; Mitchison, D. The Curious Characteristics of Pyrazinamide: A Review. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* **2003**, *7* (1), 6–21.
- (39) Nambu, K.; Miyazaki, H.; Nakanishi, Y.; Oh-e, Y.; Matsunaga, Y.; Hashimoto, M. Enzymatic Hydrolysis of Haloperidol Decanoate and Its Inhibition by Proteins. *Biochem. Pharmacol.* **1987**, *36* (10), 1715–1722. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(87\)90058-X](https://doi.org/10.1016/0006-2952(87)90058-X).
- (40) Gershwin, M. E.; Goetzl, E. J.; Steinberg, A. D. Cyclophosphamide: Use in Practice. *Ann. Intern. Med.* **1974**, *80* (4), 531–540. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-80-4-531>.
- (41) Marrakchi, H.; Lanéelle, M. A.; Daffé, M. Mycolic Acids: Structures, Biosynthesis, and Beyond. *Chem. Biol.* **2014**, *21* (1), 67–85. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2013.11.011>.
- (42) Vilchèze, C.; Jacobs, Jr., W. R. The Mechanism of Isoniazid Killing: Clarity Through the Scope of Genetics. *Annu. Rev. Microbiol.* **2007**, *61* (1), 35–50. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.61.111606.122346>.
- (43) Scior, T.; Meneses Morales, I.; Garcés Eisele, S. J.; Domeyer, D.; Laufer, S. Antitubercular Isoniazid and Drug Resistance of Mycobacterium Tuberculosis — A Review. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **2002**, *335* (1112), 511–525. <https://doi.org/10.1002/ardp.200290005>.

- (44) Kwiatkowski, S.; Knap, B.; Przystupski, D.; Saczko, J.; Kędzierska, E.; Knap-Czop, K.; Kotlińska, J.; Michel, O.; Kotowski, K.; Kulbacka, J. Photodynamic Therapy – Mechanisms, Photosensitizers and Combinations. *Biomed. Pharmacother.* **2018**, *106* (June), 1098–1107. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.049>.
- (45) Senge, M. O.; Brandt, J. C. Temoporfin (Foscan®, 5,10,15,20-Tetra(m-Hydroxyphenyl)Chlorin)-A Second-Generation Photosensitizer†,‡. *Photochem. Photobiol.* **2011**, *87* (6), 1240–1296. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2011.00986.x>.
- (46) Ghosh, A. K.; Brindisi, M. Organic Carbamates in Drug Design and Medicinal Chemistry. *J. Med. Chem.* **2015**, *58* (7), 2895–2940. <https://doi.org/10.1021/jm501371s>.
- (47) Fukuto, T. R. Mechanism of Action of Organophosphorus and Carbamate Insecticides. *Environ. Health Perspect.* **1990**, *87*, 245–254. <https://doi.org/10.1289/ehp.9087245>.
- (48) Kaur, D.; Sharma, P.; Bharatam, P. V. Amide Resonance in Thio- and Seleno-Carbamates: A Theoretical Study. *J. Mol. Struct. THEOCHEM* **2005**, *757* (1–3), 149–153. <https://doi.org/10.1016/j.theochem.2005.09.019>.
- (49) Dugave, C.; Demange, L. Cis–Trans Isomerization of Organic Molecules and Biomolecules: Implications and Applications †. *Chem. Rev.* **2003**, *103* (7), 2475–2532. <https://doi.org/10.1021/cr0104375>.
- (50) Moraczewski, A. L.; Banaszynski, L. A.; From, A. M.; White, C. E.; Smith, B. D. Using Hydrogen Bonding to Control Carbamate C–N Rotamer Equilibria. *J. Org. Chem.* **1998**, *63* (21), 7258–7262. <https://doi.org/10.1021/jo980644d>.
- (51) Deetz, M. J.; Forbes, C. C.; Jonas, M.; Malerich, J. P.; Smith, B. D.; Wiest, O. Unusually Low Barrier to Carbamate C–N Rotation. *J. Org. Chem.* **2002**, *67* (11), 3949–3952. <https://doi.org/10.1021/jo025554u>.
- (52) Marcovici-Mizrahi, D.; Gottlieb, H. E.; Marks, V.; Nudelman, A. On the Stabilization of the Syn -Rotamer of Amino Acid Carbamate Derivatives by Hydrogen Bonding. *J. Org. Chem.* **1996**, *61* (24), 8402–8406. <https://doi.org/10.1021/jo961446u>.
- (53) Colovic, M. B.; Krstic, D. Z.; Lazarevic-Pasti, T. D.; Bondzic, A. M.; Vasic, V. M. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Curr. Neuropharmacol.* **2013**, *11* (3), 315–335. <https://doi.org/10.2174/1570159X11311030006>.
- (54) Darvesh, S.; Darvesh, K. V.; McDonald, R. S.; Mataija, D.; Walsh, R.; Mothana, S.; Lockridge, O.; Martin, E. Carbamates with Differential Mechanism of Inhibition Toward Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase. *J. Med. Chem.* **2008**, *51* (14), 4200–4212. <https://doi.org/10.1021/jm8002075>.
- (55) Friedman, A.; Kaufer, D.; Shemer, J.; Hendler, I.; Soreq, H.; Tur-Kaspa, I. Pyridostigmine Brain Penetration under Stress Enhances Neuronal Excitability and Induces Early Immediate Transcriptional Response. *Nat. Med.* **1996**, *2* (12), 1382–1385.
- (56) Di, L. The Impact of Carboxylesterases in Drug Metabolism and Pharmacokinetics. *Curr. Drug Metab.* **2018**, *20* (2), 91–102. <https://doi.org/10.2174/1389200219666180821094502>.
- (57) Blencowe, C. A.; Russell, A. T.; Greco, F.; Hayes, W.; Thornthwaite, D. W. Self-Immolative Linkers in Polymeric Delivery Systems. *Polym. Chem.* **2011**, *2* (4), 773–790.

- <https://doi.org/10.1039/C0PY00324G>.
- (58) Bouvier, E.; Thirot, S.; Schmidt, F.; Monneret, C. A New Paclitaxel Prodrug for Use in ADEPT Strategy. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1* (19), 3343–3352. <https://doi.org/10.1002/anie.200500842>.
- (59) Gopin, A.; Pessah, N.; Shamis, M.; Rader, C.; Shabat, D. A Chemical Adaptor System Designed to Link a Tumor-Targeting Device with a Prodrug and an Enzymatic Trigger. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2003**, *42* (3), 327–332. <https://doi.org/10.1002/anie.200390108>.
- (60) Amir, R. J.; Popkov, M.; Lerner, R. A.; Barbas, C. F.; Shabat, D. Prodrug Activation Gated by a Molecular “OR” Logic Trigger. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2005**, *44* (28), 4378–4381. <https://doi.org/10.1002/anie.200500842>.
- (61) de Groot, F. M. H.; Albrecht, C.; Koekkoek, R.; Beusker, P. H.; Scheeren, H. W. “Cascade-Release Dendrimers” Liberate All End Groups upon a Single Triggering Event in the Dendritic Core. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2003**, *42* (37), 4490–4494. <https://doi.org/10.1002/anie.200351942>.
- (62) Wentworth, P.; Datta, A.; Blakey, D.; Boyle, T.; Partridge, L. J.; Blackburn, G. M. Toward Antibody-Directed “Abzyme” Prodrug Therapy, ADAPT: Carbamate Prodrug Activation by a Catalytic Antibody and Its in Vitro Application to Human Tumor Cell Killing. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1996**, *93* (2), 799–803. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.2.799>.
- (63) Solaro, R.; Chiellini, F.; Battisti, A. Targeted Delivery of Protein Drugs by Nanocarriers. *Materials (Basel)*. **2010**, *3* (3), 1928–1980. <https://doi.org/10.3390/ma3031928>.
- (64) Olsson, O. A. T.; Svensson, L. New Lipophilic Terbutaline Ester Prodrugs with Long Effect Duration. *Pharm. Res. An Off. J. Am. Assoc. Pharm. Sci.* **1984**, *1* (1), 19–23. <https://doi.org/10.1023/A:1016322524471>.
- (65) Tunek, A.; Levin, E.; Svensson, L.-Å. Hydrolysis of 3H-Bambuterol, a Carbamate Prodrug of Terbutaline, in Blood from Humans and Laboratory Animals in Vitro. *Biochem. Pharmacol.* **1988**, *37* (20), 3867–3876. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(88\)90068-8](https://doi.org/10.1016/0006-2952(88)90068-8).
- (66) Persson, G.; Pahlm, O.; gnospelius, Y. Oral Bambuterol versus Terbutaline in Patients with Asthma. *Curr. Ther. Res.* **1995**, *56* (5), 457–465. [https://doi.org/10.1016/0011-393X\(95\)85078-3](https://doi.org/10.1016/0011-393X(95)85078-3).
- (67) Miwa, M.; Ura, M.; Nishida, M.; Sawada, N.; Ishikawa, T.; Mori, K.; Shimma, N.; Umeda, I.; Ishitsuka, H. Design of a Novel Oral Fluoropyrimidine Carbamate, Capecitabine, Which Generates 5-Fluorouracil Selectively in Tumours by Enzymes Concentrated in Human Liver and Cancer Tissue. *Eur. J. Cancer* **1998**, *34* (8), 1274–1281. [https://doi.org/10.1016/s0959-8049\(98\)00058-6](https://doi.org/10.1016/s0959-8049(98)00058-6).
- (68) Quinney, S. K.; Sanghani, S. P.; Davis, W. I.; Hurley, T. D.; Sun, Z.; Murry, D. J.; Bosron, W. F. Hydrolysis of Capecitabine to 5'-Deoxy-5-Fluorocytidine by Human Carboxylesterases and Inhibition by Loperamide. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, *313* (3), 1011–1016. <https://doi.org/10.1124/jpet.104.081265>.
- (69) Walko, C. M.; Lindley, C. Capecitabine: A Review. *Clin. Ther.* **2005**, *27* (1), 23–44. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2005.01.005>.

- (70) Noel, G. J. Clinical Profile of Ceftobiprole, a Novel β -Lactam Antibiotic. *Clin. Microbiol. Infect.* **2007**, *13* (5), 25–29. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01725.x>.
- (71) Ceftobiprole Medocaril. *Drugs R D* **2006**, *7* (5), 305–311. <https://doi.org/10.2165/00126839-200607050-00003>.
- (72) Murthy, B.; Schmitt-Hoffmann, A. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Ceftobiprole, an Anti-MRSA Cephalosporin with Broad-Spectrum Activity. *Clin. Pharmacokinet.* **2008**, *47* (1), 21–33. <https://doi.org/10.2165/00003088-200847010-00003>.
- (73) Mullangi, R.; Ahlawat, P.; Srinivas, N. R. Irinotecan and Its Active Metabolite, SN-38: Review of Bioanalytical Methods and Recent Update from Clinical Pharmacology Perspectives. *Biomed. Chromatogr.* **2010**, *24* (1), 104–123. <https://doi.org/10.1002/bmc.1345>.
- (74) Kunimoto, T.; Nitta, K.; Tanaka, T.; Uehara, N.; Baba, H.; Takeuchi, M.; Yokokura, T.; Sawada, S.; Miyasaka, T.; Mutai, M. Antitumor Activity of 7-Ethyl-10-[4-(1-Piperidino)-1-Piperidino]Carbonyloxy-Camptothecin, a Novel Water-Soluble Derivative of Camptothecin, against Murine Tumors. *Cancer Res.* **1987**, *47* (22), 5944–5947.
- (75) Sanghani, S. P.; Quinney, S. K.; Fredenburg, T. B.; Davis, W. I.; Murry, D. J.; Bosron, W. F. Hydrolysis of Irinotecan and Its Oxidative Metabolites, 7-Ethyl-10-[4-N-(5-Aminopentanoic Acid)-1-Piperidino] Carbonyloxycamptothecin and 7-Ethyl-10-[4-(1-Piperidino)-1-Amino]-Carbonyloxycamptothecin, by Human Carboxylesterases CES1A1, CES2, and a Newly E. *Drug Metab. Dispos.* **2004**, *32* (5), 505–511. <https://doi.org/10.1124/dmd.32.5.505>.
- (76) Cundy, K. C.; Sastry, S.; Luo, W.; Zou, J.; Moors, T. L.; Canafax, D. M. Clinical Pharmacokinetics of XP13512, a Novel Transported Prodrug of Gabapentin. *J. Clin. Pharmacol.* **2008**, *48* (12), 1378–1388. <https://doi.org/10.1177/0091270008322909>.
- (77) Simplício, A.; Clancy, J.; Gilmer, J. Prodrugs for Amines. *Molecules* **2008**, *13* (3), 519–547. <https://doi.org/10.3390/molecules13030519>.
- (78) Cundy, K. C.; Annamalai, T.; Bu, L.; De Vera, J.; Estrela, J.; Luo, W.; Shirsat, P.; Torneros, A.; Yao, F.; Zou, J.; et al. XP13512 [(±)-1-[(α -Isobutanoyloxyethoxy)Carbonyl] Aminomethyl)-1-Cyclohexane Acetic Acid], A Novel Gabapentin Prodrug: II. Improved Oral Bioavailability, Dose Proportionality, and Colonic Absorption Compared with Gabapentin in Rats and Monkeys. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2004**, *311* (1), 324–333. <https://doi.org/10.1124/jpet.104.067959>.
- (79) Lal, R.; Sukbuntherng, J.; Luo, W.; Chen, D.; Vu, A.; Tovera, J.; Cundy, K. C. Pharmacokinetics and Tolerability of Single Escalating Doses of Gabapentin Enacarbil: A Randomized-Sequence, Double-Blind, Placebo-Controlled Crossover Study in Healthy Volunteers. *Clin. Ther.* **2009**, *31* (8), 1776–1786. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2009.07.026>.
- (80) Shirley, M.; Scott, L. J. Isavuconazole: A Review in Invasive Aspergillosis and Mucormycosis. *Drugs* **2016**, *76* (17), 1647–1657. <https://doi.org/10.1007/s40265-016-0652-6>.
- (81) Ohwada, J.; Tsukazaki, M.; Hayase, T.; Oikawa, N.; Isshiki, Y.; Fukuda, H.; Mizuguchi, E.; Sakaitani, M.; Shiratori, Y.; Yamazaki, T.; et al. Design, Synthesis and Antifungal Activity

- of a Novel Water Soluble Prodrug of Antifungal Triazole. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2003**, *13* (2), 191–196. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(02\)00892-2](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(02)00892-2).
- (82) Donnelley, M. A.; Zhu, E. S.; Thompson, G. R. Isavuconazole in the Treatment of Invasive Aspergillosis and Mucormycosis Infections. *Infect. Drug Resist.* **2016**, *9*, 79–86. <https://doi.org/10.2147/IDR.S81416>.
- (83) Rautio, J.; Kärkkäinen, J.; Sloan, K. B. Prodrugs – Recent Approvals and a Glimpse of the Pipeline. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2017**, *109*, 146–161. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.08.002>.
- (84) Murrell, D.; Bossaer, J. B.; Carico, R.; Harirforoosh, S.; Cluck, D. Isavuconazonium Sulfate: A Triazole Prodrug for Invasive Fungal Infections. *Int. J. Pharm. Pract.* **2017**, *25* (1), 18–30. <https://doi.org/10.1111/ijpp.12302>.
- (85) Denis, J.; Ledoux, M. P.; Nivoix, Y.; Herbrecht, R. Isavuconazole: A New Broad-Spectrum Azole. Part 1: In Vitro Activity. *J. Mycol. Med.* **2018**, *28* (1), 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2018.02.005>.
- (86) Birke, F. W.; Meade, C. J.; Anderskewitz, R.; Speck, G. A.; Jennewein, H. M. In Vitro and in Vivo Pharmacological Characterization of BIIL 284, a Novel and Potent Leukotriene B4 Receptor Antagonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2001**, *297* (1), 458–466.
- (87) Alten, R.; Gromnica-Ihle, E.; Pohl, C.; Emmerich, J.; Steffgen, J.; Roscher, R.; Sigmund, R.; Schmolke, B.; Steinmann, G. Inhibition of Leukotriene B4-Induced CD11B/CD18 (Mac-1) Expression by BIIL 284, a New Long Acting LTB4 Receptor Antagonist, in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* **2004**, *63* (2), 170–176. <https://doi.org/10.1136/ard.2002.004499>.
- (88) BIIL 284 - List Results - ClinicalTrials.org <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=BIIL+284&draw=3&rank=14#rowId13> (accessed May 1, 2020).
- (89) Díaz-González, F.; Alten, R. H. E.; Bensen, W. G.; Brown, J. P.; Sibley, J. T.; Dougados, M.; Bombardieri, S.; Durez, P.; Ortiz, P.; De-Miquel, G.; et al. Clinical Trial of a Leucotriene B4 Receptor Antagonist, BIIL 284, in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* **2007**, *66* (5), 628–632. <https://doi.org/10.1136/ard.2006.062554>.
- (90) Konstan, M. W.; Döring, G.; Heltshe, S. L.; Lands, L. C.; Hilliard, K. A.; Koker, P.; Bhattacharya, S.; Staab, A.; Hamilton, A. A Randomized Double Blind, Placebo Controlled Phase 2 Trial of BIIL 284 BS (an LTB4 Receptor Antagonist) for the Treatment of Lung Disease in Children and Adults with Cystic Fibrosis. *J. Cyst. Fibros.* **2014**, *13* (2), 148–155. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2013.12.009>.
- (91) Lal, R.; Sukbuntherng, J.; Tai, E. H. L.; Upadhyay, S.; Yao, F.; Warren, M. S.; Luo, W.; Bu, L.; Nguyen, S.; Zamora, J.; et al. Arbaclofen Placarbil, a Novel R-Baclofen Prodrug: Improved Absorption, Distribution, Metabolism, and Elimination Properties Compared with R-Baclofen. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2009**, *330* (3), 911. <https://doi.org/10.1124/jpet.108.149773.baclofen>.
- (92) Arbaclofen Placarbil - List Results - ClinicalTrials.gov <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=Arbaclofen+Placarbil&cntry=&state=&city=&dist=> (accessed May 1, 2020).
- (93) Vakil, N. B.; Huff, F. J.; Cundy, K. C. Randomised Clinical Trial: Arbaclofen Placarbil in

- Gastro-Oesophageal Reflux Disease - Insights into Study Design for Transient Lower Sphincter Relaxation Inhibitors. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2013**, *38* (2), 107–117. <https://doi.org/10.1111/apt.12363>.
- (94) Arbaclofen Placarbil - DrugBank <https://www.drugbank.ca/drugs/DB08892> (accessed May 2, 2020).
- (95) Harris, K. S.; Brabant, W.; Styrchak, S.; Gall, A.; Daifuku, R. KP-1212/1461, a Nucleoside Designed for the Treatment of HIV by Viral Mutagenesis. *Antiviral Res.* **2005**, *67* (1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2005.03.004>.
- (96) Hicks, C.; Clay, P.; Redfield, R.; Lalezari, J.; Liporace, R.; Schneider, S.; Sension, M.; McRae, M.; Laurent, J.-P. Safety, Tolerability, and Efficacy of KP-1461 as Monotherapy for 124 Days in Antiretroviral-Experienced, HIV Type 1-Infected Subjects. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* **2013**, *29* (2), 250–255. <https://doi.org/10.1089/aid.2012.0093>.
- (97) Müller, T. H.; Weisenberger, H.; Brickl, R.; Narjes, H.; Himmelsbach, F.; Krause, J. Profound and Sustained Inhibition of Platelet Aggregation by Fradafiban, a Nonpeptide Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Antagonist, and Its Orally Active Prodrug, Lefradafiban, in Men. *Circulation* **1997**, *96* (4), 1130–1138. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.96.4.1130>.
- (98) Drewe, J.; Narjes, H.; Heinzl, G.; Brickl, R.-S.; Rohr, A.; Beglinger, C. Absorption of Lefradafiban from Different Sites of the Gastrointestinal Tract. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2001**, *50* (1), 69–72. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2125.2000.00228.x>.
- (99) Akkerhuis, K. M.; Neuhaus, K. L.; Wilcox, R. G.; Vahanian, A.; Boland, J. L.; Hoffmann, J.; Baardman, T.; Nehmiz, G.; Roth, U.; Klootwijk, A. P. J.; et al. Safety and Preliminary Efficacy of One Month Glycoprotein IIb/IIIa Inhibition with Lefradafiban in Patients with Acute Coronary Syndromes without ST-Elevation: A Phase II Study. *Eur. Heart J.* **2000**, *21* (24), 2042–2055. <https://doi.org/10.1053/euhj.2000.2309>.
- (100) Akkerhuis, K. M.; Van den Brand, M. J. B. M.; Van der Zwaan, C.; Peels, H. O. J.; Suryapranata, H.; Van der Wieken, L. R.; Stibbe, J.; Hoffmann, J.; Baardman, T.; Deckers, J. W.; et al. Pharmacodynamics and Safety of Lefradafiban, an Oral Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Receptor Antagonist, in Patients with Stable Coronary Artery Disease Undergoing Elective Angioplasty. *Heart* **2001**, *85* (4), 444–450. <https://doi.org/10.1136/heart.85.4.444>.
- (101) Lefradafiban - DrugBank <https://www.drugbank.ca/drugs/DB04863> (accessed May 3, 2020).
- (102) Tzschentke, T. M.; Christoph, T.; Kögel, B.; Schiene, K.; Hennies, H.-H. H.; Englberger, W.; Haurand, M.; Jahnel, U.; Cremers, T. I. F. H.; Friderichs, E.; et al. (–)-(1 R, 2 R)-3-(3-Dimethylamino-1-Ethyl-2-Methyl-Propyl)-Phenol Hydrochloride (Tapentadol HCl): A Novel μ -Opioid Receptor Agonist/Norepinephrine Reuptake Inhibitor with Broad-Spectrum Analgesic Properties. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2007**, *323* (1), 265–276. <https://doi.org/10.1124/jpet.107.126052>.
- (103) Giorgi, M.; Meizler, A.; Mills, P. C. Pharmacokinetics of the Novel Atypical Opioid Tapentadol Following Oral and Intravenous Administration in Dogs. *Vet. J.* **2012**, *194* (3), 309–313. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.05.019>.
- (104) Li, Y.; Wang, Y.; Zhang, R.; Liu, C.; Wei, Y.; Sun, J.; He, Z.; Xu, Y.; Zhang, T. Improving the Oral Bioavailability of Tapentadol via a Carbamate Prodrug Approach: Synthesis,

- Bioactivation, and Pharmacokinetics. *Drug Deliv. Transl. Res.* **2018**, *8* (5), 1335–1344. <https://doi.org/10.1007/s13346-018-0524-6>.
- (105) Courtens, C.; Risseeuw, M.; Caljon, G.; Maes, L.; Cos, P.; Martin, A.; Van Calenbergh, S. Double Prodrugs of a Fosmidomycin Surrogate as Antimalarial and Antitubercular Agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2019**, *29* (10), 1232–1235. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.03.009>.
- (106) Wiesner, J.; Borrmann, S.; Jomaa, H. Fosmidomycin for the Treatment of Malaria. *Parasitology Research*. Springer June 1, 2003, pp S71–S76. <https://doi.org/10.1007/s00436-002-0770-9>.
- (107) Baumeister, S.; Wiesner, J.; Reichenberg, A.; Hintz, M.; Bietz, S.; Harb, O. S.; Roos, D. S.; Kordes, M.; Friesen, J.; Matuschewski, K.; et al. Fosmidomycin Uptake into Plasmodium and Babesia-Infected Erythrocytes Is Facilitated by Parasite-Induced New Permeability Pathways. *PLoS One* **2011**, *6* (5), e19334. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019334>.
- (108) Brücher, K.; Gräwert, T.; Konzuch, S.; Held, J.; Lienau, C.; Behrendt, C.; Illarionov, B.; Maes, L.; Bacher, A.; Wittlin, S.; et al. Prodrugs of Reverse Fosmidomycin Analogues. *J. Med. Chem.* **2015**, *58* (4), 2025–2035. <https://doi.org/10.1021/jm5019719>.
- (109) Flipo, M.; Charton, J.; Hocine, A.; Dassonneville, S.; Deprez, B.; Deprez-Poulain, R. Hydroxamates: Relationships between Structure and Plasma Stability. *J. Med. Chem.* **2009**, *52* (21), 6790–6802. <https://doi.org/10.1021/jm900648x>.
- (110) Schlimme, S.; Hauser, A. T.; Carafa, V.; Heinke, R.; Kannan, S.; Stolfa, D. A.; Cellamare, S.; Carotti, A.; Altucci, L.; Jung, M.; et al. Carbamate Prodrug Concept for Hydroxamate HDAC Inhibitors. *ChemMedChem* **2011**, *6* (7), 1193–1198. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201100007>.
- (111) Boeree, M. J.; Heinrich, N.; Aarnoutse, R.; Diacon, A. H.; Dawson, R.; Rehal, S.; Kibiki, G. S.; Churchyard, G.; Sanne, I.; Ntinginya, N. E.; et al. High-Dose Rifampicin, Moxifloxacin, and SQ109 for Treating Tuberculosis: A Multi-Arm, Multi-Stage Randomised Controlled Trial. *Lancet Infect. Dis.* **2017**, *17* (1), 39–49. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30274-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30274-2).
- (112) World Health Organization. *Global Tuberculosis Report*; 2019.
- (113) Jia, L.; Noker, P. E.; Coward, L.; Gorman, G. S.; Protopopova, M.; Tomaszewski, J. E. Interspecies Pharmacokinetics and in Vitro Metabolism of SQ109. *Br. J. Pharmacol.* **2006**, *147* (5), 476–485. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706650>.
- (114) Meng, Q.; Luo, H.; Liu, Y.; Li, W.; Zhang, W.; Yao, Q. Synthesis and Evaluation of Carbamate Prodrugs of SQ109 as Antituberculosis Agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 2808–2810. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.03.091>.
- (115) Yeoh, Y. Q.; Horsley, J. R.; Polyak, S. W.; Abell, A. D. A Hypoxia-Activated Antibacterial Prodrug. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, No. March, 127140. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127140>.
- (116) Fu, Q.; Yang, Y.; Li, C.; Zeng, Q.; Zhou, T.; Li, N.; Liu, Y.; Liu, S.; Liu, Z. The CC and CXC Chemokine Receptors in Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) and Their Involvement in Disease and Hypoxia Responses. *Dev. Comp. Immunol.* **2017**, *77*, 241–251. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.08.012>.

- (117) Testa, B. Prodrugs: Bridging Pharmacodynamic/Pharmacokinetic Gaps. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2009**, *13* (3), 338–344. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.04.620>.
- (118) Davies, S.; Oliveira, B. L.; Bernardes, G. J. L. Development of a Self-Immolative Linker for Tetrazine-Triggered Release of Alcohols in Cells. *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17* (23), 5725–5730. <https://doi.org/10.1039/C9OB01167F>.
- (119) Blackman, M. L.; Royzen, M.; Fox, J. M. Tetrazine Ligation: Fast Bioconjugation Based on Inverse-Electron-Demand Diels–Alder Reactivity. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (41), 13518–13519. <https://doi.org/10.1021/ja8053805>.
- (120) Versteegen, R. M.; Rossin, R.; Ten Hoeve, W.; Janssen, H. M.; Robillard, M. S. Click to Release: Instantaneous Doxorubicin Elimination upon Tetrazine Ligation. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2013**, *52* (52), 14112–14116. <https://doi.org/10.1002/anie.201305969>.
- (121) Dragovich, P. S.; Blake, R. A.; Chen, C.; Chen, J.; Chuh, J.; den Besten, W.; Fan, F.; Fourie, A.; Hartman, S. J.; He, C.; et al. Conjugation of Indoles to Antibodies through a Novel Self-Immolating Linker. *Chem. - A Eur. J.* **2018**, *24* (19), 4830–4834. <https://doi.org/10.1002/chem.201800859>.
- (122) Dal Corso, A.; Borlandelli, V.; Corno, C.; Perego, P.; Belvisi, L.; Pignataro, L.; Gennari, C. Fast Cyclization of a Proline-Derived Self-Immolative Spacer Improves the Efficacy of Carbamate Prodrugs. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2020**, *59* (10), 4176–4181. <https://doi.org/10.1002/anie.201916394>.
- (123) Dodds, H. M.; Rivory, L. P. The Mechanism for the Inhibition of Acetylcholinesterases by Irinotecan (CPT-11). *Mol. Pharmacol.* **1999**, *56* (6), 1346–1353. <https://doi.org/10.1124/mol.56.6.1346>.
- (124) Tunek, A.; Svensson, L. A. Bambuterol, a Carbamate Ester Prodrug of Terbutaline, as Inhibitor of Cholinesterases in Human Blood. *Drug Metab. Dispos.* **1988**, *16* (5), 759–764.
- (125) Darvesh, S.; Hopkins, D. A.; Geula, C. Neurobiology of Butyrylcholinesterase. *Nat. Rev. Neurosci.* **2003**, *4* (2), 131–138. <https://doi.org/10.1038/nrn1035>.
- (126) Wu, J.; Tian, Y.; Wang, S.; Pistolozzi, M.; Jin, Y.; Zhou, T.; Roy, G.; Xu, L.; Tan, W. Design, Synthesis and Biological Evaluation of Bambuterol Analogues as Novel Inhibitors of Butyrylcholinesterase. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *126*, 61–71. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.08.061>.
- (127) Jourdan, J.; Bureau, R.; Rochais, C.; Dallemagne, P. Drug Repositioning: A Brief Overview. *J. Pharm. Pharmacol.* **2020**. <https://doi.org/10.1111/jphp.13273>.
- (128) Rochais, C.; Dallemagne, P.; Groo, A.-C.; Malzert-Fréon, A. Bambuterol for the Treatment of Alzheimer’s Disease. WO2019202400A1, 2019.
- (129) Stelzmann, R. A.; Norman Schnitzlein, H.; Reed Murtagh, F. An English Translation of Alzheimer’s 1907 Paper, “Über Eine Eigenartige Erkankung Der Hirnrinde.” *Clin. Anat.* **1995**, *8* (6), 429–431. <https://doi.org/10.1002/ca.980080612>.
- (130) Prince, M.; Bryce, R.; Albanese, E.; Wimo, A.; Ribeiro, W.; Ferri, C. P. The Global Prevalence of Dementia: A Systematic Review and Metaanalysis. *Alzheimer’s Dement.* **2013**, *9* (1), 63–75. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2012.11.007>.
- (131) OMS | Démence et plan mondial d’action de santé publique - infographies

- https://www.who.int/mental_health/neurology/dementia/infographic_dementia/fr/ (accessed Dec 23, 2019).
- (132) Turner, P. R.; O'Connor, K.; Tate, W. P.; Abraham, W. C. Roles of Amyloid Precursor Protein and Its Fragments in Regulating Neural Activity, Plasticity and Memory. *Prog. Neurobiol.* **2003**, *70* (1), 1–32. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(03\)00089-3](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(03)00089-3).
- (133) Lee, S. J. C.; Nam, E.; Lee, H. J.; Savelieff, M. G.; Lim, M. H. Towards an Understanding of Amyloid- β Oligomers: Characterization, Toxicity Mechanisms, and Inhibitors. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46* (2), 310–323. <https://doi.org/10.1039/c6cs00731g>.
- (134) Goedert, M.; Spillantini, M. G.; Jakes, R.; Rutherford, D.; Crowther, R. A. Multiple Isoforms of Human Microtubule-Associated Protein Tau: Sequences and Localization in Neurofibrillary Tangles of Alzheimer's Disease. *Neuron* **1989**, *3* (4), 519–526. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(89\)90210-9](https://doi.org/10.1016/0896-6273(89)90210-9).
- (135) Ward, S. M.; Himmelstein, D. S.; Lancia, J. K.; Binder, L. I. Tau Oligomers and Tau Toxicity in Neurodegenerative Disease. *Biochem. Soc. Trans.* **2012**, *40* (4), 667–671. <https://doi.org/10.1042/bst20120134>.
- (136) Faller, P.; Hureau, C. A Bioinorganic View of Alzheimer's Disease: When Misplaced Metal Ions (Re)Direct the Electrons to the Wrong Target. *Chem. - A Eur. J.* **2012**, *18* (50), 15910–15920. <https://doi.org/10.1002/chem.201202697>.
- (137) Duce, J. A.; Tsatsanis, A.; Cater, M. A.; James, S. A.; Robb, E.; Wikke, K.; Leong, S. L.; Perez, K.; Johanssen, T.; Greenough, M. A.; et al. Iron-Export Ferroxidase Activity of β -Amyloid Precursor Protein Is Inhibited by Zinc in Alzheimer's Disease. *Cell* **2010**, *142* (6), 857–867. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.08.014>.
- (138) Rogers, J.; Mastroeni, D.; Leonard, B.; Joyce, J.; Grover, A. Neuroinflammation in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease: Are Microglia Pathogenic in Either Disorder? *Int. Rev. Neurobiol.* **2007**, *82*, 235–246. [https://doi.org/10.1016/S0074-7742\(07\)82012-5](https://doi.org/10.1016/S0074-7742(07)82012-5).
- (139) Heneka, M. T.; Carson, M. J.; Khoury, J. El; Landreth, G. E.; Brosseron, F.; Feinstein, D. L.; Jacobs, A. H.; Wyss-Coray, T.; Vitorica, J.; Ransohoff, R. M.; et al. Neuroinflammation in Alzheimer's Disease. *Lancet Neurol.* **2015**, *14* (4), 388–405. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)70016-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)70016-5).
- (140) Markesbery, W. R.; Carney, J. M. Oxidative Alterations in Alzheimer's Disease. *Brain Pathol.* **2006**, *9* (1), 133–146. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.1999.tb00215.x>.
- (141) Rosini, M.; Simoni, E.; Milelli, A.; Minarini, A.; Melchiorre, C. Oxidative Stress in Alzheimer's Disease: Are We Connecting the Dots? *J. Med. Chem.* **2014**, *57* (7), 2821–2831. <https://doi.org/10.1021/jm400970m>.
- (142) Francis, P. T.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K. The Cholinergic Hypothesis of Alzheimer's Disease: A Review of Progress. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **1999**, *66* (2), 137–147. <https://doi.org/10.1136/jnnp.66.2.137>.
- (143) Soreq, H.; Seidman, S. Acetylcholinesterase — New Roles for an Old Actor. *Nat. Rev. Neurosci.* **2001**, *2* (4), 294–302. <https://doi.org/10.1038/35067589>.
- (144) Sharma, P.; Srivastava, P.; Seth, A.; Tripathi, P. N.; Banerjee, A. G.; Shrivastava, S. K. Comprehensive Review of Mechanisms of Pathogenesis Involved in Alzheimer's Disease

- and Potential Therapeutic Strategies. *Prog. Neurobiol.* **2019**, *174*, 53–89. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2018.12.006>.
- (145) Dallemagne, P. *Les Médicaments Du Système Nerveux Central, Cours de 4ème Année de Pharmacie*; 2014.
- (146) Inestrosa, N. C.; Alvarez, A.; Pérez, C. A.; Moreno, R. D.; Vicente, M.; Linker, C.; Casanueva, O. I.; Soto, C.; Garrido, J. Acetylcholinesterase Accelerates Assembly of Amyloid- β -Peptides into Alzheimer's Fibrils: Possible Role of the Peripheral Site of the Enzyme. *Neuron* **1996**, *16* (4), 881–891. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80108-7](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80108-7).
- (147) Bartus, R. T.; Dean, R. L.; Pontecorvo, M. J.; Flicker, C. The Cholinergic Hypothesis : A Historical Overview , Current Perspective , and Future Directions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1985**, 332–358.
- (148) Palmer, A. M.; Gershon, S. Is the Neuronal Basis of Alzheimer's Disease Cholinergic or Glutamatergic? *FASEB J.* **1990**, *4* (10), 2745–2752. <https://doi.org/10.1096/fasebj.4.10.2165009>.
- (149) Francis, P. T.; Sims, N. R.; Procter, A. W.; Bowen, D. M. Cortical Pyramidal Neurone Loss May Cause Glutamatergic Hypoactivity and Cognitive Impairment in Alzheimer's Disease: Investigative and Therapeutic Perspectives. *J. Neurochem.* **1993**, *60* (5), 1589–1604. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1993.tb13381.x>.
- (150) Nitsch, R. M. From Acetylcholine to Amyloid: Neurotransmitters and the Pathology of Alzheimer's Disease. *Neurodegeneration* **1996**, *5* (4), 477–482. <https://doi.org/10.1006/neur.1996.0066>.
- (151) Nochi, S.; Asakawa, N.; Sato, T. Kinetic Study on the Inhibition of Acetylcholinesterase by 1-Benzyl-4-[(5,6-Dimethoxy-1-Indanon)-2-Yl]Methylpiperidine Hydrochloride (E2020). *Biol. Pharm. Bull.* **1995**, *18* (8), 1145–1147. <https://doi.org/10.1248/bpb.18.1145>.
- (152) Catalán, R. E.; Martínez, A. M.; Aragonés, M. D.; Miguel, B. G.; Hernández, F.; Cruz, E. Tetrahydroaminoacridine Affects the Cholinergic Function of Blood-Brain Barrier. *Life Sci.* **1993**, *53* (14), 1165–1172. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(93\)90553-F](https://doi.org/10.1016/0024-3205(93)90553-F).
- (153) EXELON 1,5MG GELULE - Monographie spécialité <http://www.theriaque.org/apps/monographie/index.php?type=SP&id=11413&info=C LASS> (accessed Jul 15, 2019).
- (154) Birks, J.; Grimley Evans, J.; Iakovidou, V.; Tsolaki, M.; Holt, F. E. Rivastigmine for Alzheimer's Disease. *Cochrane database Syst. Rev.* **2009**, *15* (2), CD001191. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001191.pub2>.
- (155) Chemical Components in the PDB : ACh <https://www.ebi.ac.uk/pdbe-srv/pdbechem/chemicalCompound/show/ACH> (accessed Sep 23, 2019).
- (156) PubChem : Rivastigmine <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/77991> (accessed Sep 23, 2019).
- (157) Bar-On, P.; Millard, C. B.; Harel, M.; Dvir, H.; Enz, A.; Sussman, J. L.; Silman, I. Kinetic and Structural Studies on the Interaction of Cholinesterases with the Anti-Alzheimer Drug Rivastigmine. *Biochemistry* **2002**, *41* (11), 3555–3564.

- <https://doi.org/10.1021/bi020016x>.
- (158) Yu, Q.-S.; Zhu, X.; Holloway, H. W.; Whittaker, N. F.; Brossi, A.; Greig, N. H. Anticholinesterase Activity of Compounds Related to Geneserine Tautomers. N -Oxides and 1,2-Oxazines ||. *J. Med. Chem.* **2002**, *45* (17), 3684–3691. <https://doi.org/10.1021/jm010491d>.
- (159) Luo, W.; Li, Y.-P.; Tan, J.-H.; Gu, L.-Q.; Huang, Z.-S. Synthesis and Biological Evaluation of Novel N, N'-Bis-Methylenedioxybenzyl-Alkylenediamines as Bivalent Anti-Alzheimer Disease Ligands. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2011**, *26* (5), 706–711. <https://doi.org/10.3109/14756366.2010.548329>.
- (160) Furukawa-Hibi, Y.; Alkam, T.; Nitta, A.; Matsuyama, A.; Mizoguchi, H.; Suzuki, K.; Moussaoui, S.; Yu, Q. S.; Greig, N. H.; Nagai, T.; et al. Butyrylcholinesterase Inhibitors Ameliorate Cognitive Dysfunction Induced by Amyloid-Beta Peptide in Mice. *Behav. Brain Res.* **2011**, *225* (1), 222–229. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.07.035>.
- (161) Kandiah, N.; Pai, M. C.; Senanarong, V.; Looi, I.; Ampil, E.; Park, K. W.; Karanam, A. K.; Christopher, S. Rivastigmine: The Advantages of Dual Inhibition of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase and Its Role in Subcortical Vascular Dementia and Parkinson's Disease Dementia. *Clin. Interv. Aging* **2017**, *12*, 697–707. <https://doi.org/10.2147/CIA.S129145>.
- (162) Morphy, R.; Rankovic, Z. Designed Multiple Ligands. An Emerging Drug Discovery Paradigm. *J. Med. Chem.* **2005**, *48* (21), 6523–6543. <https://doi.org/10.1021/jm058225d>.
- (163) Carreiras, M.; Mendes, E.; Perry, M.; Francisco, A.; Marco-Contelles, J. The Multifactorial Nature of Alzheimer's Disease for Developing Potential Therapeutics. *Curr. Top. Med. Chem.* **2013**, *13* (15), 1745–1770. <https://doi.org/10.2174/15680266113139990135>.
- (164) Bolognesi, M.-L.; Matera, R.; Minarini, A.; Rosini, M.; Melchiorre, C. Alzheimer's Disease: New Approaches to Drug Discovery. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2009**, *13* (3), 303–308. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.04.619>.
- (165) Savelieff, M. G.; Nam, G.; Kang, J.; Lee, H. J.; Lee, M.; Lim, M. H. Development of Multifunctional Molecules as Potential Therapeutic Candidates for Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Amyotrophic Lateral Sclerosis in the Last Decade. *Chem. Rev.* **2019**, *119* (2), 1221–1322. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00138>.
- (166) Lecoutey, C.; Hedou, D.; Freret, T.; Giannoni, P.; Gaven, F.; Since, M.; Bouet, V.; Ballandonne, C.; Corvaisier, S.; Malzert Freon, A.; et al. Design of Donecopride, a Dual Serotonin Subtype 4 Receptor Agonist/Acetylcholinesterase Inhibitor with Potential Interest for Alzheimer's Disease Treatment. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2014**, *111* (36), E3825–E3830. <https://doi.org/10.1073/pnas.1410315111>.
- (167) Rochais, C.; Lecoutey, C.; Gaven, F.; Giannoni, P.; Hamidouche, K.; Hedou, D.; Dubost, E.; Genest, D.; Yahiaoui, S.; Freret, T.; et al. Novel Multitarget-Directed Ligands (MTDLs) with Acetylcholinesterase (AChE) Inhibitory and Serotonergic Subtype 4 Receptor (5-HT4R) Agonist Activities As Potential Agents against Alzheimer's Disease: The Design of Donecopride. *J. Med. Chem.* **2015**, *58* (7), 3172–3187. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00115>.

- (168) Lecoutey, C.; Rochais, C.; Genest, D.; Butt-Gueulle, S.; Ballandonne, C.; Corvaisier, S.; Dulin, F.; Lepailleur, A.; Sopkova-de Oliveira Santos, J.; Dallemagne, P.; et al. Synthesis of Dual AChE/5-HT₄ Receptor Multi-Target Directed Ligands. *Medchemcomm* **2012**, *3* (5), 627–634. <https://doi.org/10.1039/C2MD20063E>.
- (169) Rochais, C.; Lecoutey, C.; Hamidouche, K.; Giannoni, P.; Gaven, F.; Cem, E.; Mignani, S.; Baranger, K.; Freret, T.; Bockaert, J.; et al. Donecopride, a Swiss Army Knife with Potential against Alzheimer's Disease. *Br. J. Pharmacol.* **2020**, *177* (9), 1988–2005. <https://doi.org/10.1111/bph.14964>.
- (170) Weinstock, M.; Bejar, C.; Wang, R.-H.; Poltyrev, T.; Gross, A.; Finberg, J. P. M.; Youdim, M. B. H. TV3326, a Novel Neuroprotective Drug with Cholinesterase and Monoamine Oxidase Inhibitory Activities for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Adv. Res. Neurodegener.* **2000**, *13* (60), 157–169. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6301-6_10.
- (171) Kalir, A.; Sabbagh, A.; Youdim, M. B. Selective Acetylenic "suicide" and Reversible Inhibitors of Monoamine Oxidase Types A and B. *Br. J. Pharmacol.* **1981**, *73* (1), 55–64. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1981.tb16771.x>.
- (172) Weinreb, O.; Amit, T.; Bar-Am, O.; Youdim, M. B. H. Ladostigil: A Novel Multimodal Neuroprotective Drug with Cholinesterase and Brain-Selective Monoamine Oxidase Inhibitory Activities for Alzheimer's Disease Treatment. *Curr. Drug Targets* **2012**, *13* (4), 483–494. <https://doi.org/10.2174/138945012799499794>.
- (173) Hubálek, F.; Binda, C.; Li, M.; Herzig, Y.; Sterling, J.; Youdim, M. B. H.; Mattevi, A.; Edmondson, D. E. Inactivation of Purified Human Recombinant Monoamine Oxidases A and B by Rasagiline and Its Analogues. *J. Med. Chem.* **2004**, *47* (7), 1760–1766. <https://doi.org/10.1021/jm0310885>.
- (174) Sterling, J.; Herzig, Y.; Goren, T.; Finkelstein, N.; Lerner, D.; Goldenberg, W.; Miskolczi, I.; Molnar, S.; Rantal, F.; Tamas, T.; et al. Novel Dual Inhibitors of AChE and MAO Derived from Hydroxy Aminoindan and Phenethylamine as Potential Treatment for Alzheimer's Disease. *J. Med. Chem.* **2002**, *45* (24), 5260–5279. <https://doi.org/10.1021/jm020120c>.
- (175) Avraham Pharma - Clinical Data <http://www.avphar.com/ladostigil/clinical-data/> (accessed Jul 23, 2019).
- (176) Schneider, L. S.; Geffen, Y.; Rabinowitz, J.; Thomas, R. G.; Schmidt, R.; Ropele, S.; Weinstock, M. Low-Dose Ladostigil for Mild Cognitive Impairment. *Neurology* **2019**. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000008239>.
- (177) Hatat, B.; Yahiaoui, S.; Lecoutey, C.; Davis, A.; Freret, T.; Boulouard, M.; Claeysen, S.; Rochais, C.; Dallemagne, P. A Novel in Vivo Anti-Amnesic Agent, Specially Designed to Express Both Acetylcholinesterase (AChE) Inhibitory, Serotonergic Subtype 4 Receptor (5-HT₄R) Agonist and Serotonergic Subtype 6 Receptor (5-HT₆R) Inverse Agonist Activities, With a Potential Inter. *Front. Aging Neurosci.* **2019**, *11*, 148. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00148>.
- (178) Bacalhau, P.; San Juan, A. A.; Goth, A.; Caldeira, A. T.; Martins, R.; Burke, A. J. Insights into (S)-Rivastigmine Inhibition of Butyrylcholinesterase (BuChE): Molecular Docking and Saturation Transfer Difference NMR (STD-NMR). *Bioorg. Chem.* **2016**, *67*, 105–109. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2016.06.002>.

- (179) Cheung, J.; Rudolph, M. J.; Burshteyn, F.; Cassidy, M. S.; Gary, E. N.; Love, J.; Franklin, M. C.; Height, J. J. Structures of Human Acetylcholinesterase in Complex with Pharmacologically Important Ligands. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (22), 10282–10286. <https://doi.org/10.1021/jm300871x>.
- (180) Sutton, J. C.; Bolton, S. A.; Davis, M. E.; Hartl, K. S.; Jacobson, B.; Mathur, A.; Ogletree, M. L.; Slusarchyk, W. A.; Zahler, R.; Seiler, S. M.; et al. Solid-Phase Synthesis and SAR of 4-Carboxy-2-Azetidinone Mechanism-Based Trypsin Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14* (9), 2233–2239. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.02.012>.
- (181) Yang, W.; Wang, Y.; Roberge, J. Y.; Ma, Z.; Liu, Y.; Michael Lawrence, R.; Rotella, D. P.; Seethala, R.; Feyen, J. H. M.; Dickson, J. K. Discovery and Structure–Activity Relationships of 2-Benzylpyrrolidine-Substituted Aryloxypropanols as Calcium-Sensing Receptor Antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15* (4), 1225–1228. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.11.071>.
- (182) Kaspi, J.; Lerman, O.; Arad, O.; Alnabari, M.; Sery, Y. Process for the Preparation of Donepezil EP 1 386 607 B1, 2006.
- (183) Bandgar, B. P.; Sadavarte, V. S.; Uppalla, L. S. An Expedient and Highly Selective Iodination of Alcohols Using a KI/BF₃·Et₂O System. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42* (5), 951–953. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)01953-5](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)01953-5).
- (184) Robaire, B.; Kato, G. Effects and of Edrophonium, Eserine, Decamethonium, d-Tubocurarine, and Gallamine on the Kinetics of Membrane-Bound and Solubilized Eel Acetylcholinesterase. *Mol. Pharmacol.* **1975**, *11* (6), 722–734.
- (185) Zheng, H.; Fridkin, M.; Youdim, M. B. H. Site-Activated Chelators Derived from Anti-Parkinson Drug Rasagiline as a Potential Safer and More Effective Approach to the Treatment of Alzheimer’s Disease. *Neurochem. Res.* **2010**, *35* (12), 2117–2123. <https://doi.org/10.1007/s11064-010-0293-1>.
- (186) Zheng, H.; Youdim, M. B. H.; Fridkin, M. Site-Activated Chelators Targeting Acetylcholinesterase and Monoamine Oxidase for Alzheimer’s Therapy. *ACS Chem. Biol.* **2010**, *5* (6), 603–610. <https://doi.org/10.1021/cb900264w>.
- (187) Alix, F.; Gembus, V.; Coquet, L.; Hubert-Roux, M.; Chan, P.; Truong, L.; Sebban, M.; Coadou, G.; Oulyadi, H.; Papamicaël, C.; et al. Dihydroquinoline Carbamate DQS1-02 as a Prodrug of a Potent Acetylcholinesterase Inhibitor for Alzheimer’s Disease Therapy: Multigram-Scale Synthesis, Mechanism Investigations, in Vitro Safety Pharmacology, and Preliminary in Vivo Toxicology Profile. *ACS Omega* **2018**, *3* (12), 18387–18397. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b02121>.
- (188) Morpurgo, C. A New Design for the Screening of CNS-Active Drugs in Mice. A Multi-Dimensional Observation Procedure and the Study of Pharmacological Interactions. *Arzneimittelforschung.* **1971**, *21* (11), 1727–1734.
- (189) Freret, T.; Bouet, V.; Quiedeville, A.; Nee, G.; Dallemagne, P.; Rochais, C.; Boulouard, M. Synergistic Effect of Acetylcholinesterase Inhibition (Donepezil) and 5-HT₄ Receptor Activation (RS67333) on Object Recognition in Mice. *Behav. Brain Res.* **2012**, *230* (1), 304–308. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.02.012>.
- (190) Hooper, N.; Fraser, C.; Stone, T. W. Effects of Purine Analogues on Spontaneous Alternation in Mice. *Psychopharmacology (Berl).* **1996**, *123* (3), 250–257.

- <https://doi.org/10.1007/BF02246579>.
- (191) Toublet, F.-X.; Lalut, J.; Hatat, B.; Lecoutey, C.; Davis, A.; Since, M.; Corvaisier, S.; Freret, T.; Sopkova de Oliveira Santos, J.; Claeysen, S.; et al. Pleiotropic Prodrug: Butyrylcholinesterase Inhibitor and 5-HT₆ Receptor Ligands with Therapeutic Interest in Alzheimer's Disease. *ACS Chem. Neurosci.* In progress.
- (192) Jones, G.; Willett, P.; Glen, R. C. Molecular Recognition of Receptor Sites Using a Genetic Algorithm with a Description of Desolvation. *J. Mol. Biol.* **1995**, *245* (1), 43–53. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(95\)80037-9](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(95)80037-9).
- (193) Jones, G.; Willett, P.; Glen, R. C.; Leach, A. R.; Taylor, R. Development and Validation of a Genetic Algorithm for Flexible Docking. *J. Mol. Biol.* **1997**, *267* (3), 727–748. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1996.0897>.
- (194) Boyer, N.; Gloanec, P.; De Nanteuil, G.; Jubault, P.; Quirion, J. C. Synthesis of α,α -Difluoro- β -Amino Esters or Gem-Difluoro- β -Lactams as Potential Metalloprotease Inhibitors. *European J. Org. Chem.* **2008**, No. 25, 4277–4295. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200800363>.
- (195) Saitton, S.; Del Tredici, A. L.; Saxin, M.; Stenström, T.; Kihlberg, J.; Luthman, K. Synthesis and Evaluation of Novel Pyridine Based PLG Tripeptidomimetics. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6* (9), 1647–1654. <https://doi.org/10.1039/b718058f>.
- (196) Villalobos, A.; Blake, J. F.; Biggers, C. K.; Butler, T. W.; Chapin, D. S.; Chen, Y. L.; Ives, J. L.; Jones, S. B.; Liston, D. R.; Nagel, A. A. Novel Benzisoxazole Derivatives as Potent and Selective Inhibitors of Acetylcholinesterase. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2721–2734. <https://doi.org/10.1021/jm00043a012>.
- (197) Nagai, T.; Sakurai, S.; Natori, N.; Hataoka, M.; Kinoshita, T.; Inoue, H.; Hanaya, K.; Shoji, M.; Sugai, T. Synthesis of Enantiomerically Enriched Drug Precursors and an Insect Pheromone via Reduction of Ketones Using Commercially Available Carbonyl Reductase Screening Kit "Chiralscreen® OH." *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26* (7), 1304–1313. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.03.067>.
- (198) Hua, Y.-G.; Han, L.-P.; Yang, Q.-Q.; Wang, M.-J.; Zhang, E.; Liu, H.-M. A Practical and Efficient Stereoselective Synthesis of (S)-Rivastigmine and (R)-Rivastigmine. *ChemistrySelect* **2018**, *3* (5), 1385–1387. <https://doi.org/10.1002/slct.201703032>.
- (199) Liu, Hongmin; Zhang, En; Zhang, Baoyin; Lv, Aiqiao; Li, Cong; Fang, Y. Process for Preparing Rivastigmine Racemic Mixture as an Agent for the Treatment of Alzheimer Disease. CN 102617403, 2012.
- (200) Aggarwal, R.; Birkbeck, A. A.; Giles, R. G. F.; Green, I. R.; Gruchlik, Y.; Oosthuizen, F. J. Regioselectivity in the Syntheses of Enantiopure 2-Benzopyrans through Intramolecular Cyclization of Tethered Lactaldehydes. Conformations of the Products. *Aust. J. Chem.* **2003**, *56* (5), 489. <https://doi.org/10.1071/CH03027>.
- (201) Ellman, G. L.; Courtney, K. D.; Andres, V. J.; Featherstone, R. M. A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. *Biochem. Pharmacol.* **1961**, *7* (2), 88–95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9).



UNIVERSITÉ
CAEN
NORMANDIE

U.F.R. Santé

Faculté des Sciences Pharmaceutiques

VU, LE PRESIDENT DU JURY

CAEN, LE

VU, LE DIRECTEUR DE LA FACULTE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

CAEN, LE

L'université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses et mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.

TITRE

PROMÉDICAMENTS À FONCTION CARBAMATE : DESCRIPTION DU CONCEPT ET APPLICATION À LA SYNTHÈSE DE MOLÉCULES D'INTÉRÊT DANS LE TRAITEMENT DE LA MALADIE D'ALZHEIMER

Résumé

Décrit en 1959, les promédicaments sont des médicaments d'un genre particulier qui permettent de modifier les propriétés pharmacocinétiques d'une substance active. Certains d'entre eux sont composés d'une fonction carbamate qui sont hydrolysés en présence d'estérases ou de cholinestérases (ChE). Ces dernières enzymes sont une cible de choix dans la maladie d'Alzheimer (MA). Du fait de sa complexité physiologique, aucun traitement curatif n'existe pour soigner la MA. Ces enzymes ChE pourraient servir de protéine d'activation pour des promédicaments pléiotropes. En effet, l'inhibition des ChE centrales par des molécules possédant un groupement carbamate et capables de se lier de manière covalente à l'enzyme permettrait de libérer des métabolites actifs dans le cerveau. Cette approche serait plus efficace sur le plan clinique, et permettrait d'en diminuer les effets secondaires périphériques. Cette thèse a permis d'effectuer un résumé de l'état de l'art des promédicaments composés d'un groupement carbamate, et d'ouvrir de nouvelles voies de synthèse conduisant à des études *in vitro* et *in vivo* de promédicaments pléiotropes ciblant à la fois les ChE et une seconde cible. Cette polyactivité pourrait apporter aux patients atteints de MA de réels bénéfices thérapeutiques à la fois symptomatiques et curatifs, ainsi qu'une relative innocuité.

TITLE

PRODRUGS WITH CARBAMATE FONCTION: DESCRIPTION OF THE CONCEPT AND APPLICATION TO THE SYNTHESIS OF INTEREST MOLECULES TO TREAT ALZHEIMER'S DISEASE

Summary

Described in 1959, prodrugs have existed since the end of the 19th century. These drugs allow to modify the pharmacokinetic properties of an active substance. Some are composed of a carbamate function which, among other things, and which are hydrolyzed in the presence cholinesterases. These latter enzymes are a prime target in Alzheimer's disease (AD). Currently, no curative treatment exists to treat AD. ChE could also serve as an activating protein for pleiotropic prodrugs. Indeed, inhibiting central ChE with brain-penetrating designed carbamates which are able to covalently bind to the enzyme and to concomitantly liberate active metabolites in the brain could constitute a clinically more efficient approach which, additionally, is less likely to cause peripheral side effects. This thesis allowed to perform a digest state of the art of prodrugs composed of a carbamate group and opened up new synthetic pathways, coupled with *in vitro* and *in vivo* studies of pleiotropic prodrugs targeting both ChE with second therapeutic target. This polyactivity could provide patients with AD with real therapeutic benefits, both symptomatic and curative, as well as relative safety.

Mots-clés

Promédicaments ; carbamate ; Cholinestérases ; pléiotrope : Alzheimer, Maladie d'
