

**THESE**  
**POUR LE DIPLOME D'ETAT**  
**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenu publiquement le 28 Septembre 2020**  
**Par Mme Caroline LANTHIER**

---

**Les macrocycles en chimie médicinale : concept, intérêts  
et application dans la maladie d'Alzheimer.**

---

**Membres du jury :**

**Président :** Pr WILLAND Nicolas, Professeur des Universités, laboratoire U1177, Université de Lille.

**Directrice, conseillère de thèse :** Pr DEPREZ-POULAIN Rebecca, Professeur des Universités, Docteur en Pharmacie, laboratoire U1177, Université de Lille.

**Assesseur :** Dr BOSCH Damien, Docteur en Chimie Organique, Maître de conférences en Chimie Thérapeutique, laboratoire U1177, Université de Lille.

**Membre extérieur :** Pr DALLEMAGNE Patrick, Professeur des Universités, Docteur en Pharmacie, Directeur du CERMN (Centre d'Études et de Recherche sur le Médicament de Normandie), Caen.



## Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>



### Université de Lille

Président :	Jean-Christophe CAMART
Premier Vice-président :	Nicolas POSTEL
Vice-présidente formation :	Lynne FRANJIE
Vice-président recherche :	Lionel MONTAGNE
Vice-président relations internationales :	François-Olivier SEYS
Vice-président stratégie et prospective :	Régis BORDET
Vice-présidente ressources :	Georgette DAL
Directeur Général des Services :	Pierre-Marie ROBERT
Directrice Générale des Services Adjointe :	Marie-Dominique SAVINA

### Faculté de Pharmacie

Doyen :	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-doyen et Assesseur à la recherche :	Patricia MELNYK
Assesseur aux relations internationales :	Philippe CHAVATTE
Assesseur aux relations avec le monde professionnel :	Thomas MORGENROTH
Assesseur à la vie de la Faculté :	Claire PINÇON
Assesseur à la pédagogie :	Benjamin BERTIN
Responsable des Services :	Cyrille PORTA
Représentant étudiant :	Victoire LONG

### Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	DEPREUX	Patrick	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie

Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire

### Liste des Professeurs des Universités

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences Végétales et Fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences Végétales et Fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique et application de RMN
Mme	DEPREZ	Rebecca	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DEPREZ	Benoît	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences Végétales et Fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie industrielle
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire

Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Éric	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle
M.	WILLAND	Nicolas	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants

### Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie

### Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale
Mme	CHARTON	Julie	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	FLIPO	Marion	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique

Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences Végétales et Fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique
M.	POURCET	Benoît	Biochimie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / service innovation pédagogique
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie

Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	WELTI	Stéphane	Sciences Végétales et Fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

### Professeurs Certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

### Professeur Associé - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DHANANI	Alban	Législation et Déontologie pharmaceutique

### Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	GILLOT	François	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

### AHU

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

### ATER

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	GHARBI	Zied	Biomathématiques
Mme	FLÉAU	Charlotte	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale
M.	RUEZ	Richard	Hématologie
M.	SAIED	Tarak	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
Mme	VAN MAELE	Laurie	Immunologie

### Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

## ***Faculté de Pharmacie de Lille***

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX  
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64  
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

## Remerciements

---

Je tiens à remercier en premier lieu le **Professeur Rebecca Deprez-Poulain** pour avoir accepté de diriger et conseiller ma thèse de Pharmacie. Vous avez su m'accompagner tout au long de mes études de pharmacie et ce, dès la 3<sup>ème</sup> année en m'aidant à trouver mon premier stage en chimie médicinale. Je vous remercie de vos précieux conseils qui m'ont permis d'arriver là où j'en suis actuellement. Merci d'avoir accepté d'être ma tutrice de thèse d'exercice et des conseils, relectures malgré cette année particulière.

Je souhaite ensuite remercier le **Professeur Nicolas Willand**, président de ce jury de thèse, pour sa bonne humeur et pour avoir été le meilleur parrain de la meilleure Revue Pharma jamais organisée à Lille (2014).

Je tiens également à remercier le **Professeur Patrick Dallemagne**, directeur du laboratoire CERMN à Caen où je réalise actuellement ma thèse de Sciences portant sur la conception de composés contre la maladie d'Alzheimer, pour ses conseils et discussions avisés en tant que pharmacien et pour avoir accepté de faire partie des membres de ce jury de thèse de Pharmacie.

Je remercie le **Docteur Damien Bosc**, maître de conférences et membre du jury, pour son encadrement lors de mon stage de Master 2 au sein du laboratoire U1177 sur la synthèse de composés macrocycliques. Ce dernier stage m'a permis d'acquérir certains automatismes qui ont été d'une grande aide dans la réalisation de ma thèse de Science. Merci également pour vos conseils et votre bonne humeur.

## **Un grand Merci :**

### **A ma famille,**

A mon grand-père Jacques et mon arrière-grand-mère Emma, partis trop tôt ...

A mes parents, mon frère et mes grands-parents d'avoir été présents, d'avoir cru en moi jusqu'au bout et de m'avoir toujours soutenue,

A Yuki, ma petite boule de poil.

### **A mes amis,**

Au groupe pharma, Elodie, Claire, Marine, Élise, William et Clément, pour tous ces bons moments passés sur les bancs de la faculté et encore après... Les soirées/before people, les intés, les fous rires, les TPs, les cours, les examens ... Sans vous, mes années pharmas auraient été bien mornes ;

A mes amis du lycée, Florine, Lisa, Sophie, Jérôme, Hélène, Mathilde, Adèle, Marie, pour tous ces moments qu'on continue de partager malgré la distance et les années qui passent ;

Aux copains de la corpo notamment les commissions Santé publique, Revue et Forum industrie. Merci à tous ceux qui ont croisé ma route durant cette folle aventure ;

A mes copines de PACES : Justine et Marie avec qui je garde toujours des liens très fort, ainsi qu'à la communauté PACES Family de Twitter ;

A mes copains de Caen, Pauline et Line (Line<sup>3</sup>), Mirka, Bertille, Pierre, Reynald, Hugo l'équipe du CM034, FX, Bérénice, Benjamin et Cécé. Aux mecs sûrs, Clément, Kévin. A Léo, même si l'on s'est connu à Lille je te range dans la case copains de Caen. Merci pour votre soutien de tous les jours ! Aux anciens de Caen, Martina, Camille et Victor ;

Et à tous ceux que je n'ai pas cités mais qui se reconnaîtront, merci ! Merci d'avoir contribué de près ou de loin à la rédaction de cette thèse qui clos mes études de Pharmacie.

# Table des matières

INTRODUCTION	2
CHAPITRE 1 : LES MACROCYCLES GENERALITES	3
1) Des macrocycles naturels aux premiers composés synthétiques .....	3
2) La place des macrocycles en chimie médicinale.....	5
a. Les nouvelles modalités en chimie médicinale	5
b. Macrocycles et évolution du concept de drugabilité.	12
i. La règle de cinq de Lipinski	13
ii. Règle de Veber	14
iii. Le score de biodisponibilité ABS	15
iv. Place des macrocycles dans les règles de drugabilité	16
3) Intérêts et effets de la macrocyclisation.....	17
a. Les macrocycles peuvent agir sur des cibles complexes.	18
b. Macrocycles et perméabilité cellulaire : le bon compromis.	20
c. Les macrocycles ont une bonne stabilité métabolique.	21
d. Impact thermodynamique de la macrocyclisation	22
e. Amélioration de la puissance, de l'affinité et de la sélectivité par la cyclisation.	24
4) La production à grande échelle de macrocycle : un challenge ? .....	25
CHAPITRE 2 : METHODES D'OBTENTION DES MACROCYCLES SYNTHETIQUES	27
1) Introduction.....	27
2) Macrolactamisation et macrolactonisation .....	28
a. Formation de liaison amide ou macrolactamisation	28
b. Formation des liaisons esters ou macrolactonisation	30
3) Réactions de substitutions nucléophile (SN <sub>2</sub> ou SN <sub>AR</sub> ).....	31
4) Ring Closing Metathesis (RCM) ou métathèse cyclisante. ....	33
5) Cycloaddition.....	35
6) Oléfination de Wittig .....	36
7) Réactions à catalyse organométallique .....	37
	10

a.	Couplage de Suzuki	37
b.	Réaction de Heck	38
c.	Réaction de Stille	39
d.	Réaction de Sonogashira	40
e.	Réaction de Buchwald Hartwig	41
<b>8)</b>	<b>Amination réductrice .....</b>	<b>42</b>
<b>9)</b>	<b>Réaction à Multicomposants ou Multicomponent reaction (MCR) .....</b>	<b>43</b>
<b>10)</b>	<b>Conclusion du chapitre .....</b>	<b>43</b>
 <b>CHAPITRE 3 : EXEMPLE D'APPLICATION DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER</b>		<b>45</b>
<b>1)</b>	<b>La maladie d'Alzheimer .....</b>	<b>45</b>
a.	Introduction et généralités	45
b.	Causes moléculaires de la maladie	46
i.	Hypothèse génétique	47
ii.	Hypothèse cholinergique	48
iii.	Hypothèse amyloïde	49
iv.	Hypothèse Tau	50
v.	Autres hypothèses	51
c.	Les traitements actuels	52
d.	Les composés en essais clinique.	53
<b>2)</b>	<b>Les macrocycles en développement dans la maladie d'Alzheimer .....</b>	<b>56</b>
a.	Cahier des charges des composés en développement pour la maladie d'Alzheimer	56
i.	Biodisponibilité orale	56
ii.	Passage de la BHE	56
b.	Les macrocycles développés dans la MA	60
i.	Les inhibiteurs de BACE-1	60
ii.	Inhibiteurs GSK-3 $\beta$	68
c.	Perspectives	69
 <b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b>		<b>72</b>

# Table des Illustrations

Figure 1- Exemple de macrocycles utilisés comme antibiotiques.....	3
Figure 2- Exemples de macrocycle en oncologie et immunologie .....	4
Figure 3- Macrocycles obtenus par "de novo" design, inhibiteurs de la protéase du VHC .....	5
Figure 4- différentes stratégies permettant d'agir sur une cible d'intérêt <sup>13</sup> .....	6
Figure 5- Représentation générale de la découverte d'un hit par une approche centrée sur le mode d'interaction. <sup>13</sup> .....	8
Figure 6- distribution des first-in-class en fonction du type de molécule entre 1999 et 2014 <sup>17</sup> .....	9
Figure 7- Espace chimique occupé par les macrocycles. <sup>18</sup> .....	10
Figure 8- Représentation picturale de ABS ((rouge <10%; jaune, 10-49%; bleu foncé,50-79%; vert,80%). .....	15
Figure 9- Résumé des intérêts de la macrocyclisation .....	17
Figure 10- A) Formes des sites actifs, B) conformation des composés bRo5, en vert : composés macrocycliques, en rouge composés non macrocycliques. <sup>31</sup> .....	18
Figure 11- Inhibiteur macrocyclique de la voie de signalisation Hedgehog. <sup>33</sup> .....	20
Figure 12 – Changement conformationnel des peptides macrocycliques afin de traverser les membranes. <sup>34</sup> .....	21
Figure 13- Composés décrits par Zapf. <sup>35</sup> .....	22
Figure 14- exemple d'amélioration de la puissance par macrocyclisation. <sup>43</sup> .....	25
Figure 15- Étapes clés de la synthèse à grande échelle du céléprévir. ....	26
Figure 16- Equilibre cycle/chaine dans les réactions de macrocyclisation.....	27
Figure 17- Agents de couplage peptidiques.....	29
Figure 18- Exemple de macrolactame à petit et grand cycle, en bleu : agent d'activation ayant permis la cyclisation. ....	30
Figure 19- Catalyseurs utilisé dans les réactions de RCM .....	34
Figure 20- Structures des différents inhibiteurs macrocycliques de HCV protéase utilisant la RCM. ....	35
Figure 21 - Principales lésions observées chez les patients <sup>113</sup> .....	45
Figure 22 - Cycle de transmission cholinergique et d'hydrolyse de l'ACh <sup>126</sup> .....	48
Figure 23 - Différentes voies de métabolisation de l'APP <sup>127</sup> .....	49
Figure 24- Agrégat intracellulaires dans les Tauopathies <sup>131</sup> .....	51
Figure 25 - Composés sur le marché dans le traitement de la maladie d'Alzheimer .....	53
Figure 26 - Composés en essais cliniques à la date du 12 février 2019 par Cummings <i>et al.</i> <sup>145</sup> .....	54
Figure 27 - structure de la bryostatine.....	55

Figure 28- Modélisation de l'efflux d'une molécule (magenta) par la P-gp. <sup>154</sup> .....	58
Figure 29- Représentation schématique du passage de crizotinib au lorlatinib. <sup>157</sup> .....	59
Figure 30- Premiers macrocycles peptidomimétique inhibiteur de BACE-1. ....	61
Figure 31- premiers composés dérivés du peptidomimétique OM99-2 .....	63
Figure 32- A) Optimisation d'OM99-2 pour obtenir le composé <b>8</b> ; B) structure co-cristallographique de <b>8</b> avec BACE-1 (PDB: 1XS7). <sup>162</sup> .....	64
Figure 33 -Inhibiteur de BACE-1 développé par Amgen.....	65
Figure 34 – Inhibiteurs de BACE-1 développés par Merck .....	66
Figure 35 – Inhibiteur de BACE-1 développé par Johnson & Johnson .....	67
Figure 36- Composés macrocycliques inhibiteur de GDK3β .....	69

## Tables des Schémas

Schéma 1- Réaction de Mitsunobu pour former une macrolactone <sup>58</sup> .....	31
Schéma 2 - Exemple de deux réactions de substitution nucléophile aromatique pour la synthèse de macrocycle de différentes tailles. <sup>60,61</sup> .....	32
Schéma 3 - exemple d'une cyclisation par métathèse suivie d'une réduction de la double liaison par hydrogénation catalysée au palladium sur charbon. <sup>66</sup> .....	33
Schéma 4- Cycloaddition de Huisgen catalysée au Cuivre .....	36
Schéma 5- macrocyclisation par réaction de Wittig. <sup>81</sup> .....	37
Schéma 6- Réaction de Suzuki-Miyaura appliqué à la synthèse de Macrocycles. <sup>85</sup> .....	38
Schéma 7- Réaction de Heck pour la synthèse de composé inhibiteur de l'HCV. <sup>88</sup> .....	39
Schéma 8- Macrocyclisations par réaction de Stille. <sup>97</sup> .....	40
Schéma 9- Macrocyclisation par réaction de Sonogashira <sup>99</sup> .....	41
Schéma 10-Macrocyclisation par Buchwald-Hartwig.....	42
Schéma 11- Macrocyclisation par amination réductrice.....	42

# Liste des abréviations

## A

A $\beta$ : beta amyloïde  
ABS: a bioavailability score  
ACh: Acétylcholine  
AChE: Acétylcholinestérase  
ACN: Acétonitrile  
ADN: Acide désoxyribonucléique  
ALK: anaplastic lymphoma kinase  
APP: Amyloid precursor protein  
ARN: Acide ribonucléique  
ATP: Adénosine triphosphate

## B

BD: Biodisponibilité  
BHE: Barrière Hémato-Encéphalique  
BINAP: 2,2'-bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphtyle  
Boc: tert-butoxycarbonyle  
BOP: benzotriazol-1-yloxytris(diméthylamino)phosphonium hexafluorophosphate  
bRo5: beyond Rule of 5

## C

CDI: Carbonyldiimidazole  
CDK: cyclin dépendant kinase  
CRISPR/Cas9: Clustered Regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated protein 9  
Cu: Cuivre

## D

DCC: *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimide  
DCM: Dichlorométhane  
DEAD: Diethyl azodicarboxylate  
DIAD: Diisopropyl azodicarboxylate  
DIPEA: *N,N*-Diisopropylethylamine  
DMF: Diméthylformamide

## E

EC<sub>50</sub>: Concentration efficace 50  
EDCI: 1-Ethyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide  
Et<sub>3</sub>N: Triéthylamine  
EtOH: Ethanol

## F

FDA: Food and Drug Administration

## G

Grb2: Growth factor receptor-bound protein 2  
GSK: Glycogen synthase kinase

## H

H<sub>2</sub>: dihydrogène  
HAS: Haute Autorité de Santé  
HATU: Hexafluorophosphate Azabenzotriazole Tetramethyl Uronium  
HCV: Hepatitis C Virus  
HDAC: Histone Deacetylase  
HRV3C: Human Rinovirus 3C  
Hsp90: heat shock protein 90  
HTS: High-throughput screening

## I

IC<sub>50</sub>: Concentration inhibitrice 50

## J

J: Joule

## K

K: Kelvin  
K<sub>d</sub>: Constance de dissociation  
kDa: Kilo Dalton  
kg: Kilogramme  
K<sub>i</sub>: Constante d'équilibre

## L

LiOH: hydroxide de lithium

## M

MA: Maladie d'Alzheimer  
mARN: MicroARN  
MeOH: Méthanol  
Mg: Milligramme  
mM: Millimolaire  
Mol: Mole  
MTDL: Muti Target directed ligand

## N

NaBH(Oac): Sodium triacetoxyborohydride  
nM: Nanomolaire  
NMDA: N-Methyl-D-aspartic acid  
NS3/4A: Nonstructural protein 3 ou 4A

## P

P-gp: P-glycoprotéine  
PCSK9: proprotéine convertase  
subtilisine/kexine de type 9  
Pd: Paladium  
PROTAC: Proteolysis Targeting Chimeric  
PSA: Polar Surface area  
PSEN1: Préséniline 1  
PSEN2: Préséniline 2

## R

RCPG: Récepteur couplé aux protéines G  
Ro5: Rules of 5  
ROS1: Proto-oncogene tyrosine-protein  
kinase  
RSA: Relation structure-Activité

## S

SiARN: petit ARN interférent

## T

T : Température  
Ta : Température ambiante  
T3P : Propanephosphonic acid anhydride  
Tau : Tubulin-associated unit  
TEP : Tomographie par emission de proton  
TFA : Acide trifluoroacétique  
THF : Tétrahydrofuran

## U

USAN: United States Adopted Name

## V

VCAM/VLA-4: vascular cell adhesion  
molecule/very late antigen-4  
VHC : Virus de l'hépatite C  
VIH : Virus de l'immunodéficience Humaine

## Autre

°C : degré Celsius  
 $\Delta G$  energie libre de Gibbs  
 $\Delta H$ : Enthalpie  
 $\Delta S$ : Entropie  
 $\mu M$ : micromolaire

---

*Les macrocycles en chimie  
médicinale : concept, intérêt et  
application dans la maladie  
d'Alzheimer*

---

## Introduction

---

Depuis la nuit des temps, l'Homme a appris à faire face à la maladie. Paracelse au 16<sup>ème</sup> siècle fut le premier à poser les bases de la pharmacologie moderne et à introduire la notion de dose-effet. Il faudra attendre 1803 pour que l'on isole la morphine à partir de l'opium et 1854 pour que l'on invente l'acide acétylé salicylique communément appelé aspirine.<sup>1</sup> Le développement de la chimie au 20<sup>ème</sup> siècle permit alors l'avènement de la chimie thérapeutique. L'avantage de la chimie est de pouvoir obtenir des structures simples à complexes à de moindres coûts et dans des délais plus courts que par l'extraction de plantes ou de microorganismes primaires. Mais la chimie permet également d'apporter de simples petites modifications structurales permettant d'adapter une molécule à sa cible au travers d'études de relation structure activité (RSA).

Bien qu'historiquement la majorité des médicaments étaient issus des produits naturels et de leurs métabolites,<sup>2</sup> au cours de ces 100 dernières années, l'industrie pharmaceutique s'est plutôt engagée sur le développement de « small-molecules » de synthèse, plus faciles et rapides à tester sur les cibles, à développer et à produire. C'est pour cela qu'il existe aujourd'hui une grosse proportion de médicaments de synthèse sur le marché. Au fil de l'évolution, les différentes espèces ont su, elles, s'adapter à leur environnement afin de répondre à des besoins de plus en plus complexes, et ce dans tous les domaines. Il n'est donc pas étonnant de retrouver des structures de plus en plus complexes, tels que les macrocycles, dans ce monde en constante évolution. En étudiant ces produits naturels, des leçons ont été tirées de ces composés, en particulier des relations structure – propriétés physico chimiques très intéressantes qui permettent aujourd'hui aux chimistes thérapeutiques de concevoir des cycles de 12 ou plus atomes que l'on appelle macrocycles. Ces structures auront la capacité d'interagir avec de nouvelles cibles et mener alors à la découverte de nouveaux mécanismes d'actions ou de cibles plus complexes.

Cette thèse se concentrera principalement sur les macrocycles synthétiques et leur voie d'obtention ainsi que l'exemple d'application du développement de macrocycles dans la maladie neurodégénérative comme la maladie d'Alzheimer.

---

<sup>1</sup> Lichterman, B. L. Aspirin: The Story of a Wonder Drug. *Br. Med J.* **2004**, 329 (7479), 1408.

<sup>2</sup> Chast, F. Chapter 1 - A History of Drug Discovery: From First Steps of Chemistry to Achievements in Molecular Pharmacology. In *The Practice of Medicinal Chemistry (Third Edition)*; Wermuth, C. G., Ed.; Academic Press: New York, **2008**; 1–62.

# Chapitre 1 : Les macrocycles généralités

## 1) Des macrocycles naturels aux premiers composés synthétiques

Les macrocycles sont des molécules initialement isolées à partir de plantes ou de microorganisme primaires.<sup>3</sup> On peut également classer les peptides cycliques comme macrocycle. En 2017, Stotani et Giordanetto ont analysé les 74 macrocycles sur le marché ainsi que ceux en essai clinique.<sup>4</sup> Il s'avère qu'on les retrouve dans plusieurs grandes aires thérapeutiques et plus particulièrement en tant qu'antibiotiques (avec près de 50% des macrocycles sur le marché) et anti-cancéreux.<sup>5</sup>

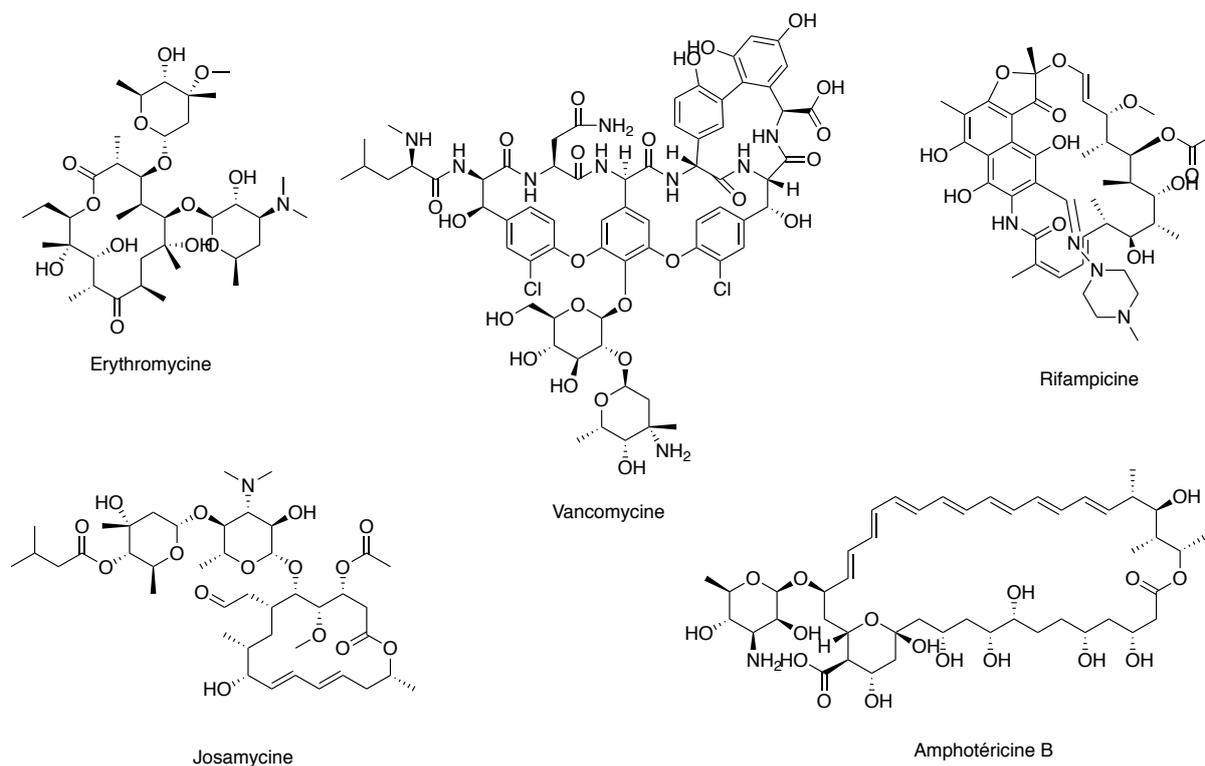


Figure 1- Exemple de macrocycles utilisés comme antibiotiques

Comme représenté dans la Figure 1, les macrocycles naturels représentent un important arsenal thérapeutique en infectiologie notamment grâce à de puissants antibiotiques que sont :

<sup>3</sup> Wessjohann, L. A.; Ruijter, E.; Garcia-Rivera, D.; Brandt, W. What Can a Chemist Learn from Nature's Macrocycles? – A Brief, Conceptual View. *Mol Divers* **2005**, 9 (1), 171–186.

<sup>4</sup> Stotani, S.; Giordanetto, F. Overview of Macrocycles in Clinical Development and Clinically Used. In *Practical Medicinal Chemistry with Macrocycles*; **2017**; 411–499

<sup>5</sup> Newman, D. J.; Cragg, G. M. Chapter 1 - Bioactive Macrocycles from Nature. In *Macrocycles in Drug Discovery*; **2014**; 1–36.

- L'érythromycine, produite par *Saccharopolyspora erythraea* ;
- La vancomycine, produite par *Amycolatopsis orientalis* ;
- La rifampicine, produite par *Amycolatopsis rifamycinica* ;
- Ou encore la josamycine, produite par *Streptomyces narbonensis*.

On les retrouve aussi dans le domaine de la mycologie avec l'amphotéricine B issu de *Streptomyces nodosus*.<sup>6</sup>

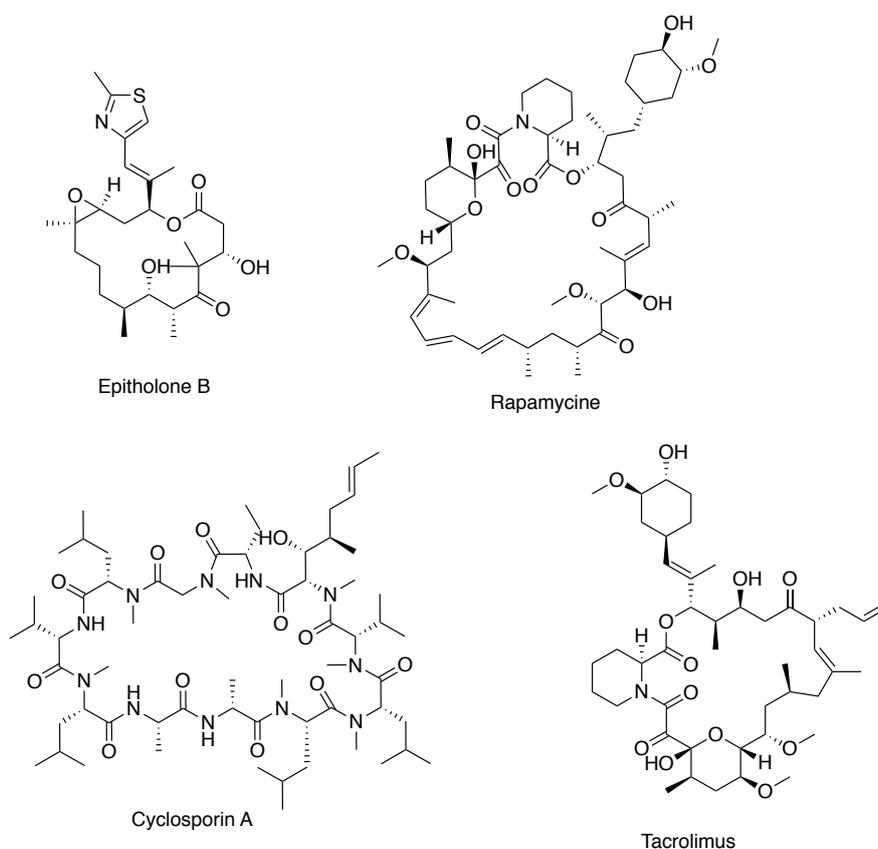


Figure 2- Exemples de macrocycle en oncologie et immunologie

Ils sont également utilisés en oncologie (Figure 2) avec par exemple l'épitholone B (6), un métabolite produit par *Sorangium cellulosum*, qui est un inhibiteur d'assemblage des microtubules ou comme immunosuppresseur afin d'éviter les rejets de greffes avec :

- la rapamycine communément appelé sirolimus, isolé à partir de *Streptomyces hygroscopicus*
- le tacrolimus, isolé chez *Streptomyces tsukubaensis*.
- Et la cyclosporine A, un peptide cyclique de 11 acides aminés synthétisé à partir d'un champignon, *Tolypocladium inflatum*.

<sup>6</sup> Raboisson, P. Chapter 10 - Macrocycles: Under-Explored and Poorly Exploited Drug Class Despite the Proven Therapeutic Potential. In *The Practice of Medicinal Chemistry (Fourth Edition)*; 2015; 267–275.



transporteurs et certains récepteurs couplés aux protéines G (RCPG).<sup>8,9</sup> Aujourd’hui, on retrouve des cibles beaucoup plus complexes qualifiées autrefois « d’undrugable » ou de « difficult-to-drug ». Ces cibles ont souvent des zones de liaisons larges, très lipophiles, polaires, flexibles, plates ou avec peu de possibilités d’interactions (nombre limité d’accepteurs et de donneurs de liaison hydrogène). C’est par exemple le cas des cibles à interactions protéine-protéine (IPP).<sup>10</sup>

Cela s’explique en partie par la découverte de nouvelles stratégies d’identification de cible grâce aux criblages génomiques par CRISPR-CAS9 permis par les avancés dans le décryptage du génome humain ou encore une meilleure compréhension des mécanismes de régulation des protéines.<sup>11,12</sup> Afin d’atteindre ces nouvelles cibles, il a été nécessaire de revoir les modalités de découverte des médicaments. En plus des petites molécules et des « biologics », de nouvelles modalités prometteuses sont apparues incluant l’édition précise de génome, les peptides modifiés, les oligonucléotides, ainsi que les macrocycles qui seront détaillés par la suite.

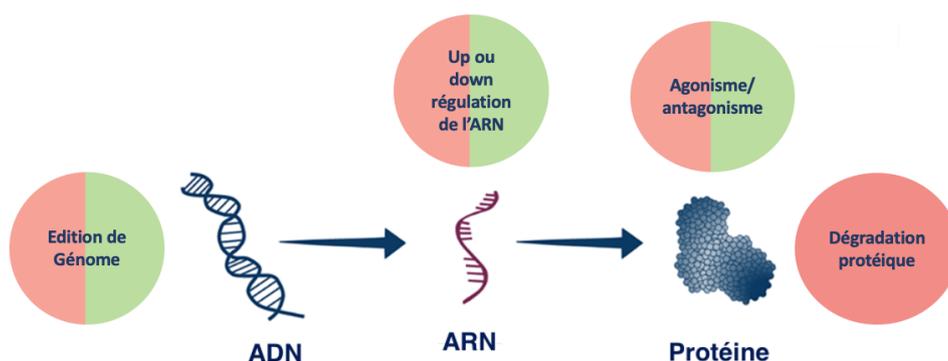


Figure 4- différentes stratégies permettant d’agir sur une cible d’intérêt d’après Valeur *et al.*<sup>13</sup>

Afin de moduler une cible d’intérêt, il va être possible d’interagir avec celle-ci à plusieurs niveaux (Figure 4). Les chercheurs pourront ainsi développer plusieurs approches sur les différents niveaux d’interaction à la cible afin d’optimiser la modulation de celle-ci.

<sup>8</sup> Rask-Andersen, M.; Almén, M. S.; Schiöth, H. B. Trends in the Exploitation of Novel Drug Targets. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2011**, *10* (8), 579–590.

<sup>9</sup> Rask-Andersen, M.; Masuram, S.; Schiöth, H. B. The Druggable Genome: Evaluation of Drug Targets in Clinical Trials Suggests Major Shifts in Molecular Class and Indication. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2014**, *54* (1), 9–26.

<sup>10</sup> Schneider, J. A.; Craven, T. W.; Kasper, A. C.; Yun, C.; Haugbro, M.; Briggs, E. M.; Svetlov, V.; Nudler, E.; Knaut, H.; Bonneau, R.; *et al.* Design of Peptoid-Peptide Macrocycles to Inhibit the  $\beta$ -Catenin TCF Interaction in Prostate Cancer. *Nat. Commun.* **2018**, *9* (1), 1–10.

<sup>11</sup> Kim, M.-S.; Pinto, S. M.; Getnet, D.; Nirujogi, R. S.; Manda, S. S.; Chaerkady, R.; *et al.* A Draft Map of the Human Proteome. *Nature* **2014**, *509* (7502), 575–581.

<sup>12</sup> International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the Euchromatic Sequence of the Human Genome. *Nature* **2004**, *431* (7011), 931–945.

<sup>13</sup> Valeur, E.; Jimonet, P. New Modalities, Technologies, and Partnerships in Probe and Lead Generation: Enabling a Mode-of-Action Centric Paradigm. *J. Med. Chem.* **2018**, *61* (20), 9004–9029

- Au premier niveau on trouve l'édition de génome. Il est dorénavant possible d'agir directement au niveau de l'ADN, grâce aux technologies telles que CRISPR-CAS9 publiée par Doudna J. et Charpentier E. en 2012 dans *Science*.<sup>14</sup> Il s'agit d'une enzyme qui va être capable d'utiliser des séquences CRISP afin de reconnaître et de cliver des sites spécifiques dans un ADN cible. On utilise cette modalité principalement dans les maladies orphelines afin de rétablir ou d'inhiber les gènes impliqués dans la pathologie.
- Au deuxième niveau il est possible de viser la régulation des différents ARN, grâce à des SiARN (ARN interférents) ou des codons anti-sens permettant la mise en silence de l'ARN cible, réduisant ainsi la traduction de ceux-ci en protéines. Certaines petites molécules arrivent également à agir directement au niveau de l'ARN en régulant par le bas la production de celles-ci comme le montre les études visant le gène PCSK9.<sup>15</sup>
- Au troisième niveau, on retrouve le mode d'interaction le plus courant en chimie médicinale. Il s'agit de la conception de petites molécules, anticorps, peptides, aptamers, macrocycles de telle manière à agir sur la cible en tant qu'agoniste (activateur de la cible) ou antagoniste (bloqueur de la cible). Mais pour cela il est souvent nécessaire de bien connaître la protéine étudiée et que celle-ci soit disponible afin de vérifier les interactions dans des tests de criblages.
- Il existe enfin un dernier niveau qui permet d'agir directement sur la dégradation d'une protéine cible. Cela est possible avec les PROTAC décrites par la suite.

En 2018, Eric Valeur et Patrick Jimonet ont donc proposé un nouveau paradigme en chimie médicinale. Ils ont souligné l'importance de placer au centre des projets de chimie médicinale, le mode d'interaction adapté, et d'en déduire ensuite les stratégies de développement de hit.<sup>13</sup> En effet, il est nécessaire de bien connaître sa cible et le mode d'interaction que l'on souhaite utiliser pour ensuite choisir la modalité que l'on voudra appliquer à cette cible (Figure 5). Les chimistes médicaux doivent également prendre en considération l'environnement de la cible afin de définir le meilleur mode d'interaction. Est-ce que la cible est intracellulaire ou extracellulaire ? La voie d'administration peut

---

<sup>13</sup> Valeur, E.; Jimonet, P. New Modalities, Technologies, and Partnerships in Probe and Lead Generation: Enabling a Mode-of-Action Centric Paradigm. *J. Med. Chem.* 2018, 61 (20), 9004–9029

<sup>14</sup> Jinek, M.; Chylinski, K.; Fonfara, I.; Hauer, M.; Doudna, J. A.; Charpentier, E. A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. *Science*. 2012, 337 (6096), 816–821.

<sup>15</sup> Petersen, D. N.; Hawkins, J.; Ruangsiriluk, W.; Stevens, K. A.; Maguire, B. A.; O'Connell, T. N.; Rocke, B. N.; Boehm, M.; Ruggeri, R. B.; Rolph, T.; *et al.* A Small-Molecule Anti-Secretagogue of PCSK9 Targets the 80S Ribosome to Inhibit PCSK9 Protein Translation. *Cell Chem. Biol.* 2016, 23 (11), 1362–1371.

également être importante, certaines modalités ne sont que peu biodisponibles par voie orale. Le tissu dans lequel se trouve la cible a également son importance car certaines modalités peuvent être complexes à administrer.

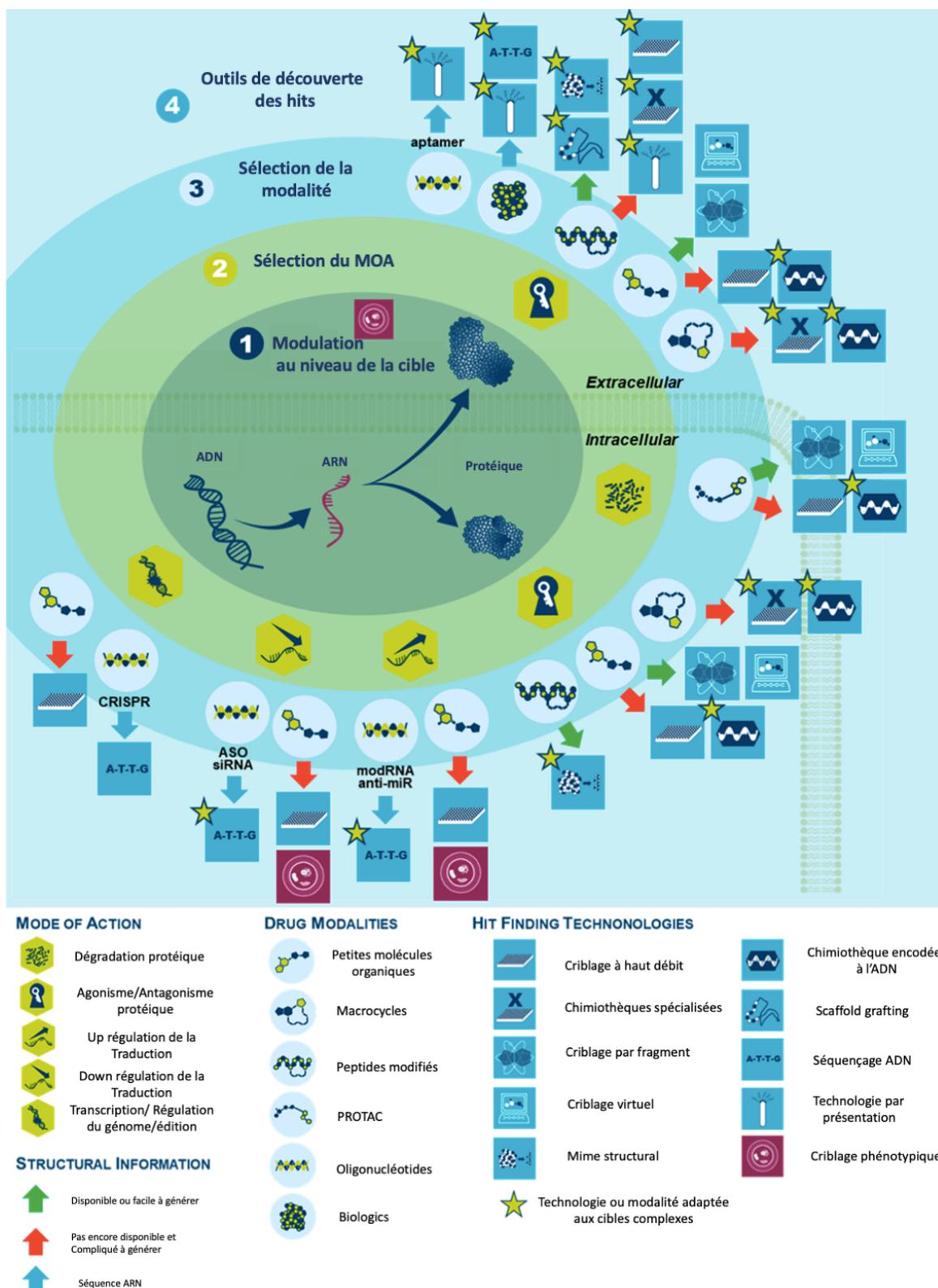


Figure 5- Représentation générale de la découverte d'un hit par une approche centrée sur le mode d'interaction d'après Valeur *et al.* <sup>13</sup>

Il existe plusieurs types de modalités pour agir sur ces modes d'interactions, que l'on peut séparer en 6 grandes familles :

- Les petites molécules organiques : ce sont des molécules qui vont avoir la capacité de passer assez facilement les membranes biologiques et d'agir à l'intérieur des cellules.<sup>16</sup> Elles auront un poids moléculaire généralement inférieur à 500 g.mol<sup>-1</sup>. Et d'après l'étude de Eder J. publié en 2014 sur les nouvelles molécules mises sur le marché entre 1999 et 2013,<sup>17</sup> les petites molécules de synthèse représentent, à elles seules, encore 42% des « first-in-class » (médicament possédant un mode d'action nouveau et unique envers une maladie donnée) mis sur le marché durant cette période, contre 30% pour les « biologics » (Figure 6).

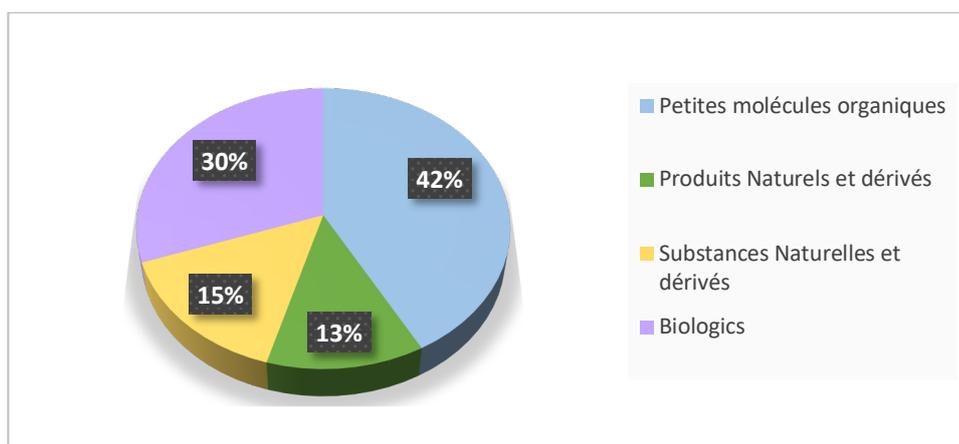


Figure 6- distribution des first-in-class en fonction du type de molécule entre 1999 et 2014 ; adapté de Eder *et al.*<sup>17</sup>

- Les « Biologics » : vont rassembler les protéines et autres anticorps monoclonaux. Ce sont des structures qui seront extraites ou semi-synthétisées à partir de sources biologiques. C'est le cas des anticorps monoclonaux, des interleukines ou de certains vaccins. Leur poids moléculaire sera supérieur à 10 000 g.mol<sup>-1</sup>.
- Les Macrocycles : **Un macrocycle se définit comme une structure moléculaire possédant un ou plusieurs cycles de 12 ou plus atomes.** Les macrocycles, eux, vont couvrir un espace chimique qui leur est propre (Figure 7), trop gros pour être considérés comme de petites molécules organiques mais assez complexes pour interagir avec des domaines fonctionnels de

<sup>16</sup> NCI Dictionary of Cancer Terms, <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms> (accessed Mar 17, 2019).

<sup>17</sup> Eder, J.; Sedrani, R.; Wiesmann, C. The Discovery of First-in-Class Drugs: Origins and Evolution. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2014**, *13* (8), 577–587.

protéines. Bien que représentant un véritable challenge synthétiquement parlant, ces structures occupent un large espace chimique qui reste à l'heure actuelle relativement inexploité contrairement à celui des petites molécules.<sup>6,18-21</sup>

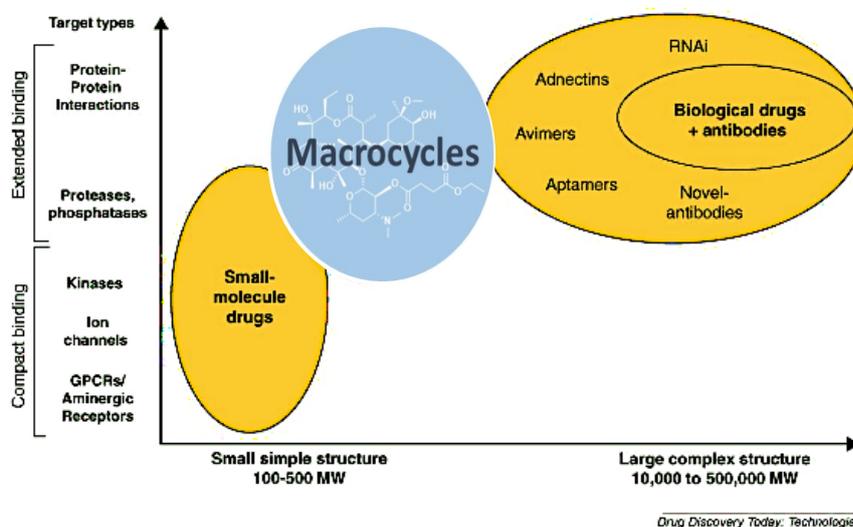


Figure 7- Espace chimique occupé par les macrocycles ; adapté de Terrett *et al.*<sup>18</sup>

- Les Peptides modifiés : ce sont des polymères d'acides aminés qui seront modifiés par l'ajout de nouvelles fonctions chimiques internes, par des modifications N ou C-terminal, ou encore par la modification du squelette général de celui-ci.
- Les PROTAC (Proteolysis Targeting Chimeric) : ces molécules vont avoir 2 « têtes », l'une permettant de lier la protéine cible, l'autre interagissant avec des ligases E3 à ubiquitine. Cela va alors permettre l'ubiquitination de la protéine cible et ainsi son adressage aux protéasomes qui la dégraderont.<sup>22</sup>

<sup>18</sup> Terrett, N. K. Methods for the Synthesis of Macrocyclic Libraries for Drug Discovery. *Drug Discov. Today Technol.* **2010**, 7 (2), 97–104.

<sup>19</sup> Driggers, E. M.; Hale, S. P.; Lee, J.; Terrett, N. K. The Exploration of Macrocycles for Drug Discovery — an Underexploited Structural Class. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2008**, 7 (7), 608–624.

<sup>20</sup> Marsault, E.; Peterson, M. L. Macrocycles Are Great Cycles: Applications, Opportunities, and Challenges of Synthetic Macrocycles in Drug Discovery. *J. Med. Chem.* **2011**, 54 (7), 1961–2004.

<sup>21</sup> Giordanetto, F.; Kihlberg, J. Macrocyclic Drugs and Clinical Candidates: What Can Medicinal Chemists Learn from Their Properties? *J. Med. Chem.* **2014**, 57 (2), 278–295.

<sup>22</sup> Churcher, I. Protac-Induced Protein Degradation in Drug Discovery: Breaking the Rules or Just Making New Ones? *J. Med. Chem.* **2018**, 61 (2), 444–452.

- Les Oligonucléotides : ce sont de courts fragments d'ADN ou d'ARN de quelques dizaines de nucléotides obtenus le plus souvent par synthèse chimique en phase solide.

De ces différentes modalités, il pourra être déduit la technologie la plus adaptée à la découverte d'un point de départ à de nombreux projets de recherche, parmi lesquelles on retrouve :

- Les criblages HTS « high throughput screening » : ces criblages à haut débit permettent de mettre en relation des centaines de molécules avec une cible donnée et de mettre en évidence les molécules se liant préférentiellement.
- L'utilisation de chimiothèques spécialisées peut également être envisagé comme point de départ. Ces grandes librairies chimiques spécialisées peuvent être achetées et utilisées lors de criblages. Il existe des chimiothèques spécialisées dans les macrocycles et les peptides cycliques.
- Les criblages par fragment : ces criblages vont chercher à mettre en évidence des fragments clés se liant à la cible donnée. Une fois le fragment trouvé il existera plusieurs stratégies pour aboutir à un hit final. Soit en liant plusieurs fragments entre eux, soit en « décorant » le fragment d'intérêt pour lui apporter une meilleure affinité envers la cible, soit en reliant deux fragments d'intérêt en un seul composé.
- Les criblages virtuels : ces criblages sont réalisés grâce à des modèles chemo-informatiques qui prédisent les différentes interactions de ligands hypothétique envers une cible.
- L'utilisation de chimiothèque encodée par l'ADN : il s'agit de composés qui vont être encodés par des séquences ADN bien précises. Cela va permettre de cribler énormément de composés simultanément et de retrouver les composés d'intérêts par une lecture rapide de la séquence d'ADN par laquelle il est encodé.
- L'utilisation de mimes de structure protéique : ce sont des composés qui vont former des structures secondaires en formant des hélices alpha ou des feuillets beta voir même tertiaire sous forme hélice-boucle-hélice.
- Le greffage de motifs chimiques ou « Scaffold grafting » : il s'agit d'une technologie permettant de greffer un épitope actif au sein d'une structure peptidique instable. Permettant alors de stabiliser celle-ci mais également d'améliorer son activité envers la cible donnée.
- L'utilisation de méthode basé sur la séquence ADN : Ce sont des technologies qui vont cibler directement les gènes grâce à l'intervention de SiARN par exemple.
- Les technologies par présentation ou « Display technologies » (comprenant les phages displays ou mARN display) : Il s'agit d'une technologie qui permet de relier les protéines aux gènes grâce à des bactériophages. Il permet notamment de cribler les interactions protéiques.

- Les criblages phénotypiques : il s'agit d'un criblage où l'on ne connaît pas la cible. Le but de ces criblages va être d'observer l'effet que produit un composé sur une maladie donnée. Cette stratégie s'avère particulièrement efficace pour l'identification de nouvelles classes thérapeutiques ou « first in class ».

Les macrocycles sont des structures sous développées dans la recherche en chimie médicinale et cela pour plusieurs raisons. Tout d'abord, ces structures sont très complexes à moduler et ne sont pas adaptées pour des études de relation structure activité contrairement aux petites molécules qui sont très facilement diversifiables. Elles n'entrent également pas dans le cahier des charges classique de bonne drugabilité. Pourtant la macrocyclisation de petites molécules permettra d'étendre l'espace chimique qui leur est propre et d'atteindre de nouvelles cibles plus complexes.

Les macrocycles sont des composés qui vont pourtant se démarquer dans les stratégies de recherche, en effet le screening de chimiothèque de ces composés s'avère bien adapté aux cibles plus complexes comme les interactions protéines-protéines et peut même s'avérer intéressantes sur des cibles intracellulaires. Elles sont aujourd'hui bien ancrées dans les stratégies de développement et notamment grâce aux différents autres avantages qu'elles apportent par rapport aux autres modalités disponibles.

## b. Macrocycles et évolution du concept de drugabilité.

Lors du développement d'un médicament, la forme orale est la forme galénique privilégiée, elle est la plus répandue, la plus naturelle et n'est pas contraignante pour le patient contrairement aux formes injectables. C'est une voie d'exposition fiable, qui est adaptable à de nombreux dosages et le format de comprimé permet une meilleure stabilité du principe actif chimique comparé aux formes liquides ou en suspension.<sup>23</sup>

L'industrie pharmaceutique cherche donc à développer en priorité des molécules qui vont être biodisponibles par voie orale. Afin de faciliter le tri des molécules issues des services de recherche et développement, certaines équipes de recherches ont cherché à développer des « outils » de prédiction

---

<sup>23</sup> Smith, D. A.; Allerton, C.; Kalgutkar, A. S.; Waterbeemd, H. van de; Walker, D. K. *Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Design*; John Wiley & Sons, **2012**.

de la bonne biodisponibilité orale (BD), et des règles leur permettant de discriminer simplement les molécules ayant une pauvre BD orale.

### i. La règle des cinq de Lipinski

Lipinski et son équipe en 1997 publièrent une étude réalisée au sein du laboratoire Pfizer.<sup>24</sup> Le but de cette étude était de calculer les paramètres physico qui étaient les plus propices à être reliés à une bonne absorption et perméabilité des membranes afin d'en proposer des guidelines à l'attention des chimistes.

La règle des 5 (Ro5, ou Rule of 5) a été formulée d'après cette étude. Selon les auteurs, quatre paramètres sont nécessaires pour que 90% des composés de la librairie USAN aient de bons paramètres de perméabilité et d'absorption et donc de BD orale. Il faudrait donc qu'une molécule ait :

- Une masse molaire inférieure à 500 g/mol
- Moins de 5 atomes donneurs de liaison hydrogène
- Moins de 10 atomes accepteurs de liaisons hydrogène
- $\text{Log P} < 5$  (coefficient de partage n-octanol/eau)

Cependant, les molécules substrats de transporteurs biologiques sont des exceptions à cette règle, en effet ceux-ci peuvent traverser les membranes grâce à ces dit transporteurs. D'après cette étude, si deux ou plus de ces règles ne sont pas respectées, il se peut que le composé ait des problèmes de BD orale. Cette règle est en quelque sorte devenue un mantra dans l'industrie pharmaceutique et est entrée dans les critères de criblage de celle-ci.<sup>25</sup>

Cependant, dans la littérature, on retrouve pourtant certains macrocycles de plus de 800 g.mol<sup>-1</sup> ayant une bonne BD orale. Par exemple, la rifapentine, un antibiotique indiqué dans la tuberculose, possède une BD orale de 70% chez l'homme malgré une masse molaire de 847 g.mol<sup>-1</sup>.<sup>21</sup>

---

<sup>24</sup> Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1997**, 23 (1), 3–25.

<sup>12</sup> Giordanetto, F.; Kihlberg, J. Macrocyclic Drugs and Clinical Candidates: What Can Medicinal Chemists Learn from Their Properties? *J. Med. Chem.* **2014**, 57 (2), 278–295.

<sup>25</sup> Abad-Zapatero, C. A Sorcerer's Apprentice and The Rule of Five: From Rule-of-Thumb to Commandment and Beyond. *Drug Discov. Today* **2007**, 12 (23–24), 995–997.

Il est nécessaire de prendre du recul par rapport à ces Ro5. En effet celles-ci ne sont le reflet que des molécules sur le marché ainsi que celles en études cliniques en 1997. Il faut aussi noter que les auteurs ont décidé d'exclure de nombreux peptides, ammoniums quaternaires et autres dérivés phosphiniques, ne basant leur observation que sur 2245 composés de la librairie USAN (United States Adopted Name).

## ii. Règle de Veber

En 2002, Daniel F Veber et son équipe décident, eux aussi, d'étudier les propriétés moléculaires pouvant influencer la BD des composés.<sup>26</sup> Étant donné qu'il est souvent nécessaire de travailler avec des composés de hauts poids moléculaires afin d'atteindre une sélectivité et activité optimale sur la cible, ils ont décidé de développer de nouvelles règles indépendantes du poids moléculaire. Pour cela ils ont mesuré la BD orale sur des rats de près de 1100 composés développés en tant que candidats médicaments dans leur laboratoire Smith Kline Beecham (actuellement GlaxoSmithKline).

De cette étude, ils ont réussi à démontrer qu'il existait 2 paramètres indépendants du poids moléculaire qui étaient importants pour prédire une bonne BD orale :

- Une faible flexibilité moléculaire (mesurée par le nombre de liens rotatifs)
- Et une surface polaire réduite (PSA = polar surface area)

Cela se traduira par :

- $PSA < 140 \text{ \AA}^2$  et nombre de liens rotatifs  $< 10$
- Ou la somme des donneur et accepteurs de liaisons hydrogène  $< 12$  et nombre de liens rotatifs  $< 10$

Si un composé suit l'une ou l'autre des deux règles énoncées précédemment, il y a de fortes chances qu'il ait une BD orale de 20 à 100 %. Il est cependant important de relever que cette étude ne se base que sur la BD orale chez un modèle murin (le rat). En 2006, Cao *et al.*, ont démontrés que le rat pouvait être utilisé pour prédire l'absorption d'un composé au niveau du petit intestin chez

---

<sup>26</sup> Veber, D. F.; Johnson, S. R.; Cheng, H.-Y.; Smith, B. R.; Ward, K. W.; Kopple, K. D. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *J. Med. Chem.* **2002**, *45* (12), 2615–2623.

l'humain mais qu'il n'était pas assez fiable pour prédire le métabolisme ou la biodisponibilité orale du composé chez l'homme.<sup>27</sup>

### iii. Le score de biodisponibilité ABS

En 2005, Yvonne Martin de Abbott n'étant pas satisfaite des outils de prédiction disponibles dans la littérature, créa le ABS (A bioavailability score).<sup>28</sup> Ce score de BD orale est formulé comme la probabilité qu'aura un composé à avoir une BD orale supérieure à 10% chez le rat ou une perméabilité mesurée dans un test Caco-2.

Tout cela dépend de la charge prédominante du composé au pH biologique (Figure 8) :

- Pour les molécules anioniques à pH physiologique, 85% d'entre elles auront une BD >10% chez le rat s'ils possèdent une PSA <75 Å<sup>2</sup> alors que ce taux descend à 11% si la PSA > 150 Å<sup>2</sup>. La surface polaire aura donc une importance pour ces composés
- Pour les molécules neutres, cationiques ou zwitterioniques, 55% de celles respectant les ro5 de Lipinski auront une BD > 10% contre seulement 17% de composé à BD > 10% pour les composés ne respectant pas les Ro5.

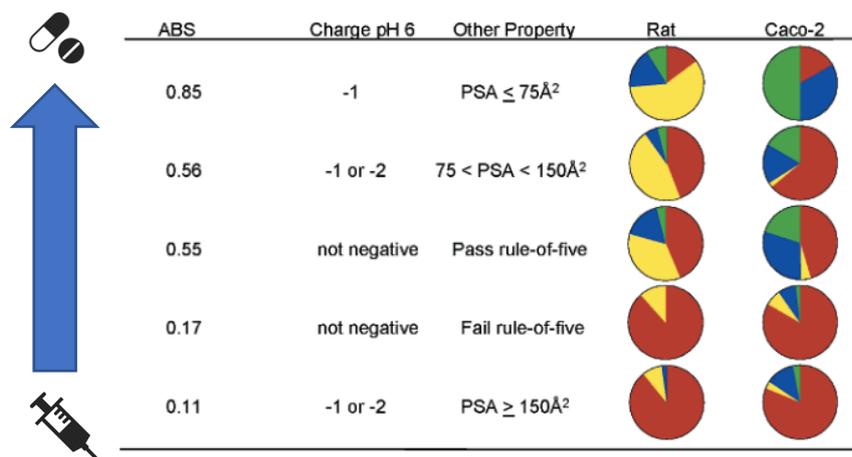


Figure 8- Représentation picturale du score ABS ((rouge <10%; jaune, 10-49%; bleu foncé, 50-79%; vert, 80%) adapté de Martin *et al.*<sup>28</sup>

<sup>27</sup> Cao, Z.; Yang, J.; Xu, R.; Song, Q.; Zhang, X.; Liu, H.; Qiang, X.; Li, Y.; Tan, Z.; Deng, Y. Design, Synthesis and Evaluation of 4'-OH-Flurbiprofen-Chalcone Hybrids as Potential Multifunctional Agents for Alzheimer's Disease Treatment. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26* (5), 1102–1115.

<sup>28</sup> Martin, Y. C. A Bioavailability Score. *J. Med. Chem.* **2005**, *48* (9), 3164–3170.

#### iv. Place des macrocycles dans les règles de drugabilité

Ces différentes règles vont avoir chacune leurs limites, les macrocycles étant directement en dehors des Ro5 de par leur haut poids moléculaire, il est intéressant de voir qu'il est tout de même possible d'obtenir une disponibilité orale en jouant sur d'autres propriétés physico-chimiques telles que la surface polaire ou encore l'état d'ionisation de la molécule. Cependant, à l'heure actuelle, on ne sait que peu de choses sur la drugabilité générale et le profil pharmacocinétique de ces macrocycles, cela reste un domaine d'étude qui nécessite d'être exploré en profondeur.

Doak *et al.* ont publié en 2014 une revue analysant les médicaments et candidats médicament biodisponibles par voie orale dans l'espace chimique situé en dehors des Ro5. Les macrocycles à eux seuls vont alors représenter 38% des composés oralement BD dans bRo5 (beyond Rules of 5) alors qu'ils ne représentaient que 15% des composés oralement BD dans l'espace chimique total.<sup>29</sup> Dans ces composés étudiés par Doak *et al.*, on retrouve majoritairement des produits naturels tels que les dérivés de l'erythronolide, des leucomycines et des rifamycines avec des biodisponibilités orales allant de 10 % pour le dirithromycine à 95% pour la josamycine. Pour les composés de novo design tels que les inhibiteurs de kinase de l'HCV, la biodisponibilité orale reste modeste mais acceptable avec par exemple 25% pour le siméprévir. On retrouve dans cette catégorie aussi les cyclosporines et ascomycines.

D'après les auteurs, l'espace chimique englobant les composés biodisponibles oralement va bien au-delà des traditionnelles Ro5 de Lipinski. Bien que pour le moment la majorité des composés sont issus de composés naturels, il existe de réelles opportunités à saisir pour améliorer les propriétés physico-chimiques des composés et ainsi faciliter leur biodisponibilité orale par l'ajout de liaisons hydrogènes intramoléculaires par exemple, ou par l'intermédiaire de nouvelles méthodes de formulation. Ils ont tout de même remarqué qu'un paramètre restait à peu près constant dans tout l'espace chimique des molécules biodisponibles oralement : la lipophilie. Cela confirme l'importance que ce paramètre peut avoir dans l'absorption par voie orale des médicaments.<sup>26,30</sup>

---

<sup>29</sup> Doak, B. C.; Over, B.; Giordanetto, F.; Kihlberg, J. Oral Druggable Space beyond the Rule of 5: Insights from Drugs and Clinical Candidates. *Chem. Biol.* **2014**, *21* (9), 1115–1142.

<sup>30</sup> Gleeson, M. P. Generation of a Set of Simple, Interpretable ADMET Rules of Thumb. *J. Med. Chem.* **2008**, *51* (4), 817–834.

Avec ces nouvelles données, l'espace chimique pour la biodisponibilité orale pourrait être étendu à ces différents paramètres n'excluant plus les macrocycles :

- Poids moléculaire  $\leq 1000 \text{ g.mol}^{-1}$
- cLogP compris entre -2 et 10 ;
- Donneurs de liaisons hydrogènes  $\leq 6$
- Accepteurs de liaisons hydrogènes  $\leq 15$
- Surface polaire  $\leq 250 \text{ \AA}^2$
- Nombre de liens rotatoires  $\leq 20$

### 3) Intérêts et effets de la macrocyclisation

Les macrocycles sont des composés qui vont pouvoir atteindre des cibles plus complexes que d'autres modalités aussi bien en extra, qu'en intracellulaire, tout en étant relativement accessibles chimiquement par rapport aux « biologics » notamment. Les macrocycles combinent les avantages des « biologics » tels que la sélectivité et la puissance envers une cible donnée, mais également ceux des petites molécules avec des propriétés pharmacocinétiques permettant une bonne biodisponibilité orale, une pénétration cellulaire et un risque réduit d'immunogénicité (par rapport aux « biologics »).

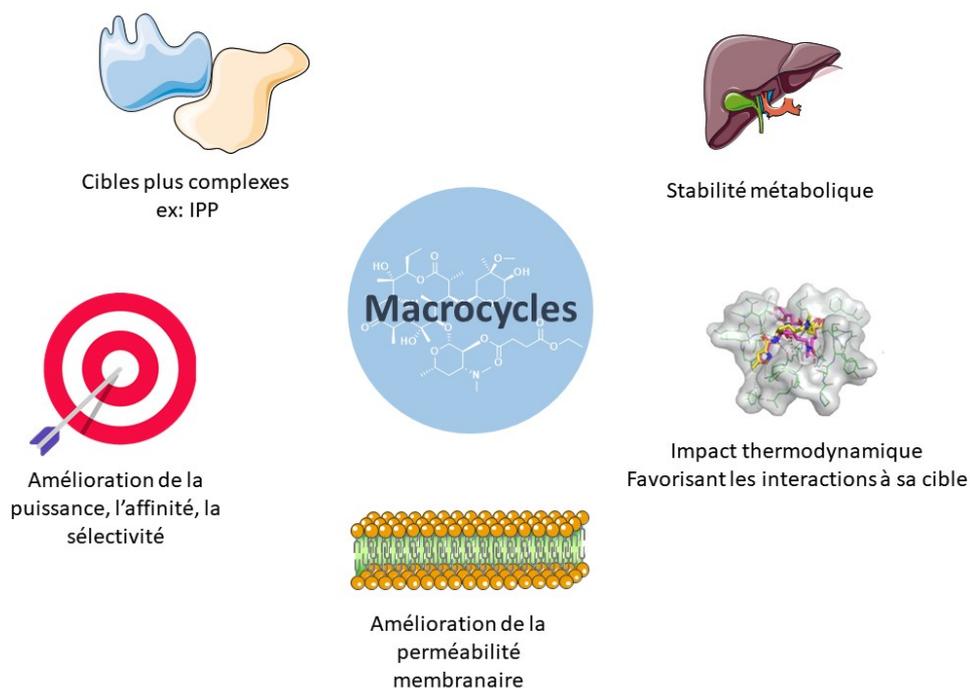


Figure 9- Résumé des intérêts de la macrocyclisation

### a. Les macrocycles peuvent agir sur des cibles complexes.

En 2016, Doak *et al.* ont décrit l'interaction des composés en essai clinique en dehors des règles de drugabilité énoncés par Lipinski *et al.* par rapport à leur cible.<sup>31</sup> L'une des premières hypothèse de l'amélioration de l'activité des macrocycles était le blocage conformationnel limitant la flexibilité comme énoncé précédemment.<sup>32</sup> Cependant les auteurs ont montré que, sur les candidats médicaments en essai clinique, les composé macrocycliques ou linéaires bRo5 (behind rules of 5) avaient des affinités et flexibilités similaires (les composés non macrocycliques limitant leur flexibilité par l'utilisation de cycles aromatiques et de système  $\pi$  tel que les liaisons amides). Cependant les macrocycles auraient tendance à adopter des formes **sphériques ou de disques**, leur permettant ainsi de se lier à des surfaces plus plates et des crevasses. Les molécules linéaires, elles, iront plutôt se loger dans des cavités de type poche, tunnel ou crevasse. (Figure 10)

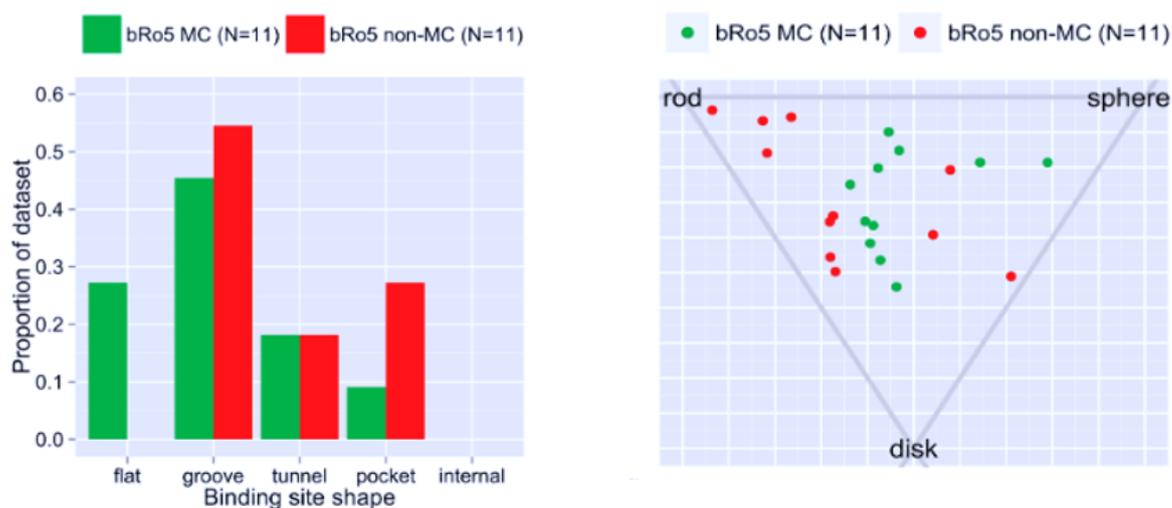


Figure 10- A) Formes des sites actifs, B) conformation des composés bRo5, en vert : composés macrocycliques, en rouge composés non macrocycliques par Doak *et al.*<sup>31</sup>

Il faut cependant prendre en compte que la majorité des composés macrocycliques en phase clinique sont issus des produits naturels et qu'ils ont été découverts avant l'utilisation du paradigme de « target-based » et des screening à haut débits. Le fait qu'ils enrichissent, à l'heure actuelle, l'espace bRo5 en tant que composés BD reflète simplement l'état d'avancement de la chimie médicinale pour

<sup>31</sup> Doak, B. C.; Zheng, J.; Dobritzsch, D.; Kihlberg, J. How Beyond Rule of 5 Drugs and Clinical Candidates Bind to Their Targets. *J. Med. Chem.* **2016**, *59* (6), 2312–2327.

<sup>32</sup> Mallinson, J.; Collins, I. Macrocycles in New Drug Discovery. *Future Med. Chem.* **2012**, *4* (11), 1409–1438.

les cibles complexes. En résumé, les composés suivant les Ro5 de Lipinski peuvent être intéressants pour les cibles classiques possédant des poches internes, mais pour les cibles un peu plus complexes, il existe un réel intérêt à aller au-delà de cet espace chimique (Tableau 1).<sup>29</sup>

Property <sup>a</sup>	Ro5	extended Ro5	beyond Ro5 <sup>b</sup>
Target classes	GPCR, Ion channel, nuclear hormone receptor	GPCR, protease/hydrolase, kinase, transferase, structural & adhesion, other	GPCR, protease/hydrolase, transferase, isomerases, structural & adhesion, enzyme regulators, other
Shape	internal, pocket	groove, internal, pocket,	flat, groove
Buried ligand surface area	285-575 Å <sup>2</sup>	440-760 Å <sup>2</sup>	415-820 Å <sup>2</sup>
Ligand buried surface area proportion	63-99%	56-96%	36-78%
Ligand interface non-polar atom proportion	60-88%	64-81%	63-78%
H bond interactions	0-4 Acc. 0-2 Don.	1-4 Acc. 0-3 Don.	1-7 Acc. 0-3 Don.
-log(Affinity)	4.6-9.7	7.3-10.2	6.1-9.9
LE (kcal/mol.HAC)	0.27-0.66	0.23-0.39	0.14-0.26 <sup>c</sup>
LLE	2.0-8.1	2.5-7.0	1.6-10.2
Flexibility in bRo5 space	Macrocyclisation favours disk and sphere-like shapes for flat binding sites Rings and π-systems (aromatics and amides etc.) favours rod-like shapes for groove and pocket binding sites		

Tableau 1- Résumé des interactions entre les candidats médicament et leur cible par espace chimique dédié  
 Les boites noires indiquent les différences entre les petites molécules organiques et les composés bRo5 par  
 Doak *et al.*<sup>31</sup>

Comme exprimé dans le paragraphe précédent, les macrocycles ont pour principal avantage de pouvoir interagir avec des cibles pharmacologiques plus complexes. Ce sont des structures semi-rigides, bloquées conformationnellement mais restant assez flexibles ce qui leur permet de se lier à de larges zones planes. Elles sont particulièrement adaptées aux poches larges et peu profondes à la surface des protéines, ce qui en fait des composés de choix pour interagir avec les interactions protéine-protéine. C'est notamment le cas du composé développé par Owens *et al.* en 2017.<sup>33</sup> En criblant leur chimiothèque de peptides cycliques encodé par ADN, ils ont réussi à identifier un premier composé. Celui-ci a ensuite été optimisé jusqu'à obtenir le composé final (Figure 11) liant Shh avec un K<sub>d</sub> de 170 nM et supprimant la voie de signalisation Hedgehog médié par Shh ainsi que la transcription de gènes contrôlés par Gli dans un modèle cellulaire, créant ainsi l'un des plus puissants inhibiteurs de l'interaction hedgehog-patched impliqué dans certains processus oncologiques.

<sup>33</sup> Owens, A. E.; de Paola, I.; Hansen, W. A.; Liu, Y.-W.; Khare, S. D.; Fasan, R. Design and Evolution of a Macrocyclic Peptide Inhibitor of the Sonic Hedgehog/Patched Interaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139* (36), 12559–12568.

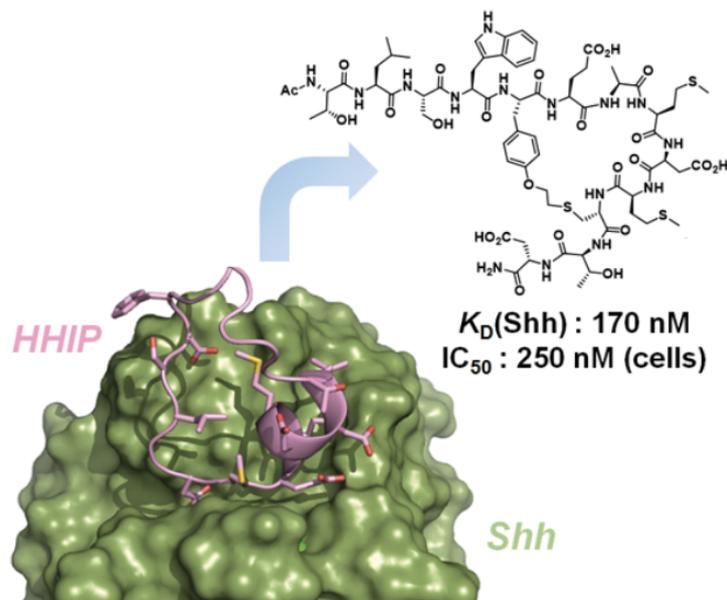


Figure 11- Inhibiteur macrocyclique de la voie de signalisation Hedgehog par Owens *et al.*<sup>33</sup>

## b. Macrocycles et perméabilité cellulaire : le bon compromis.

Malgré leur haute masse moléculaire et leur surface polaire élevée, les macrocycles peuvent avoir une meilleure perméabilité cellulaire que leurs analogues linéaires. Rezaï *et al.* ont proposé l'hypothèse selon laquelle certaines de ces structures pourraient traverser les membranes en masquant leurs liaisons hydrogène comme cela est représenté dans Figure 12 avec des peptides macrocycliques. Ainsi, lorsqu'un peptide cyclique se trouve dans le fluide extracellulaire, les groupements polaires des molécules seraient projetés à l'extérieur afin de réaliser des liaisons hydrogène avec le solvant, permettant une meilleure solubilité du composé. Alors que, lorsque le macrocycle entrerait dans la bicouche lipidique de la membrane cellulaire, il existerait une réorganisation des groupements afin de masquer la polarité. Cette internalisation se ferait par la formation de liaisons hydrogène intramoléculaires, et par l'externalisation des groupements lipophiles au niveau de la bicouche lipidique. De la même manière, le macrocycle atteindrait le cytosol par le même mécanisme dit de « flip-flop » moléculaire.<sup>34</sup>

<sup>34</sup> Rezaï, T.; Yu, B.; Millhauser, G. L.; Jacobson, M. P.; Lokey, R. S. Testing the Conformational Hypothesis of Passive Membrane Permeability Using Synthetic Cyclic Peptide Diastereomers. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (8), 2510–2511.

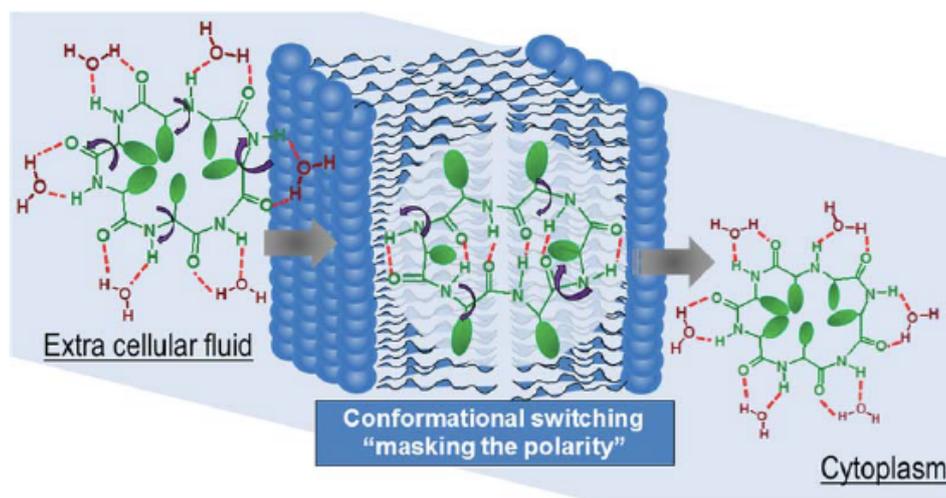


Figure 12 – Changement conformationnel hypothétique des peptides macrocycliques afin de traverser les membranes par Rezai *et al.* <sup>34</sup>

La diffusion de ces molécules ne peut cependant pas être prédite par les données habituelles (log D, pKa, surface polaire) et pourrait changer d'un diastéréoisomère à un autre. Même si ces macrocycles sont le plus souvent en dehors des critères habituels de bonne biodisponibilité, solubilité et pharmacocinétique, il a été montré que des macrocycles de près de 1kDa avec des surfaces polaires de plus de 250 Å<sup>2</sup> pouvaient avoir une bonne biodisponibilité confirmant les allégations de Doak *et al.*<sup>20</sup>

### c. Les macrocycles ont une bonne stabilité métabolique.

Un des autres avantages des macrocycles est leur meilleure stabilité métabolique en comparaison à leurs analogues linéaires. En effet, ceux-ci seront plus résistants aux phénomènes de métabolisation de phase I. Il a d'ailleurs été prouvé qu'un peptide macrocyclique était moins sujet à la protéolyse que son analogue non cyclique.<sup>35</sup>

Il existe d'autres exemples dans la littérature de macrocycles non peptidiques, tel que le composé de Zapf *et al.* L'équipe de Pfizer a conçu et étudié de nouveaux inhibiteurs macrocycliques de Hsp90, une protéine chaperonne d'intérêt en oncologie. En modulant la rigidité de leurs composés ils ont réussi à améliorer la stabilité métabolique. Par exemple, le composé **1** ayant une T<sub>1/2</sub> de 3 min

<sup>35</sup> March, D. R.; Abbenante, G.; Bergman, D. A.; Brinkworth, R. I.; Wickramasinghe, W.; Begun, J.; Martin, J. L.; Fairlie, D. P. Substrate-Based Cyclic Peptidomimetics of Phe-Ile-Val That Inhibit HIV-1 Protease Using a Novel Enzyme-Binding Mode. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118* (14), 3375–3379.

a été rigidifié en enlevant un chaînon au cycle et en enlevant un groupement méthyle afin d'arriver au composé 2 possédant une  $T_{1/2}$  plus de 30 min dans les microsomes de rat tout en gardant une bonne activité cellulaire et en améliorant la solubilité.<sup>36</sup>

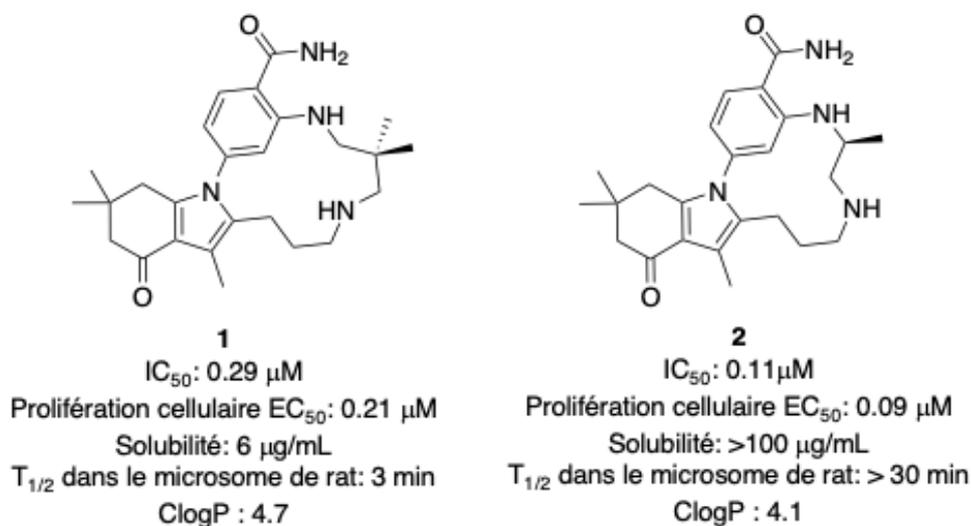


Figure 13- Composés décrits par Zapf.<sup>35</sup>

#### d. Impact thermodynamique de la macrocyclisation

La macrocyclisation de composés va également avoir un impact thermodynamique sur la liaison d'un composé à sa cible. L'entropie est reliée aux autres paramètres thermodynamiques par l'équation d'énergie libre de Gibbs.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S = -RT \ln K$$

Équation 1- Equation de Gibbs

Les différents paramètres qui la composent peuvent se définir comme cela :

- $\Delta G$  se définit comme le changement d'énergie libre lors de la liaison,
- $\Delta H$  est le changement d'enthalpie,

<sup>36</sup> Zapf, C. W.; Bloom, J. D.; McBean, J. L.; Dushin, R. G.; Nittoli, T.; Ingalls, C.; Sutherland, A. G.; Sonye, J. P.; Eid, C. N.; Golas, J.; *et al.* Design and SAR of Macrocyclic Hsp90 Inhibitors with Increased Metabolic Stability and Potent Cell-Proliferation Activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21* (8), 2278–2282.

- $\Delta S$  le changement d'entropie,
- T est la température en Kelvin
- R la constante des gaz parfait (8,13 en J.mol<sup>-1</sup>.K<sup>-1</sup>)
- K est la constante de liaison.

Ainsi un  $\Delta G$  négatif à la liaison se traduit par une meilleure affinité pour cette liaison (ln K). Cependant les contributions d'enthalpie ( $\Delta H$ ) et d'entropie ( $\Delta S$ ) peuvent se compenser individuellement et l'attribution précise des énergies de liaisons à ces deux événements est souvent complexe.<sup>32,37</sup>

Bien que la diminution de l'entropie ( $\Delta S$ ) du ligand lors de la liaison soit défavorable, le déplacement des molécules d'eau résiduelle du site actif provoque généralement une contribution enthalpique ( $\Delta H$ ), qui elle, est favorable (c'est ce qu'on appelle l'effet hydrophobe).<sup>38</sup> Il faut donc considérer les changements d'état de l'entropie ( $\Delta S$ ) du ligand en tenant compte de son environnement global.

Lorsque le ligand se lie, il y a une perte de degré de liberté interne à la molécule, le fait de restreindre celle-ci dans sa conformation par la macrocyclisation va permettre de minimiser l'influence négative de cette perte de degré de liberté. Cela peut également permettre une réduction de mouvement général du complexe ligand-récepteur comparé à des analogues linéaires grâce à cette rigidification intrinsèque. La macrocyclisation peut donc avoir un effet défavorable en réduisant également l'entropie ( $\Delta S$ ) générale du complexe ligand-récepteur. Cependant grâce à la compensation entropie ( $\Delta S$ ) /enthalpie ( $\Delta H$ ), il peut y avoir une amélioration des contributions à la liaison en un complexe moins flexible, avec pour conséquence, une réduction générale de mouvement permettant de renforcer les interactions intermoléculaires comme les liaisons hydrogène.<sup>39,40</sup>

DeLorbe *et al.* ont d'ailleurs analysé en 2010 la complexité énergétique liée à ces macrocyclisations en étudiant l'effet de la macrocyclisation d'inhibiteur d'interaction protéine-protéine entre Grb2 et

---

<sup>37</sup> Reynolds, C. H.; Holloway, M. K. Thermodynamics of Ligand Binding and Efficiency. *ACS Med. Chem. Lett.* **2011**, 2 (6), 433–437.

<sup>38</sup> Sarkar, A.; Kellogg, G. Hydrophobicity - Shake Flasks, Protein Folding and Drug Discovery. *Curr. Top. Med. Chem.* **2010**, 10 (1), 67–83.

<sup>39</sup> Williams, D. H.; Calderone, C. T.; O'Brien, D. P.; Zerella, R. Changes in Motion vs. Bonding in Positively vs. Negatively Cooperative Interactions. *Chem. Commun.* **2002**, No. 12, 1266–1267.

<sup>40</sup> Schneider, H.-J. Binding Mechanisms in Supramolecular Complexes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48 (22), 3924–3977.

SH2 en utilisant des techniques de titration calorimétrique iso-thermique. Cela leur a permis de décrire que bien que la macrocyclisation n'ait pas résulté en la conformation la plus favorable du point de vue de l'enthalpie ( $\Delta H$ ), la surcompensation entropique ( $\Delta S$ ) positive du complexe permet elle, d'obtenir un macrocycle bien plus puissant que tous les autres analogues linéaires.<sup>41</sup>

Ces impacts thermodynamiques peuvent alors expliquer en grande partie l'effet que peut avoir la macrocyclisation sur la puissance, l'affinité, et la sélectivité.

### e. Amélioration de la puissance, de l'affinité et de la sélectivité par la cyclisation.

Afin de déterminer l'activité d'une molécule envers une cible il va être important de déterminer assez précocement sa puissance envers la cible. La puissance se définit comme la quantité de composé nécessaire afin de produire un effet d'une intensité déterminée. Elle est souvent exprimée en  $IC_{50}$  (concentration inhibitrice 50) ou  $EC_{50}$  (concentration efficace 50). Cette affinité est dépendante de différents paramètres dont l'affinité qui est la capacité d'une molécule à se lier à un site récepteur. Pour augmenter la puissance d'une molécule envers sa cible on va donc chercher à la rendre plus affine envers son récepteur.

Pour se lier correctement à une protéine, la molécule va devoir adapter une conformation bioactive interagissant avec les différents acides animés du site actif ciblé. La restriction conformationnelle est utilisée depuis longtemps afin d'augmenter la puissance des molécule envers leur cible.<sup>42</sup> En macrocyclisant des composés, on les bloque dans une conformation préférentielle en restreignant les liens rotatifs, tout en les laissant assez flexible pour s'adapter à leur environnement.

Récemment, Namoto *et al.* ont conçu et synthétisé des inhibiteurs macrocycliques de l'human rhinovirus 3C (HRV3C) en réalisant un pont macrocyclique entre les résidus P1 et P3 d'une molécule d'intérêt, le rupintrivir. Cela leur a permis de découvrir un composé possédant une activité antivirale

---

<sup>41</sup> DeLorbe, J. E.; Clements, J. H.; Whiddon, B. B.; Martin, S. F. Thermodynamic and Structural Effects of Macrocyclic Constraints in Protein–Ligand Interactions. *ACS Med. Chem. Lett.* **2010**, *1* (8), 448–452.

<sup>42</sup> Mann, A. Chapter 17 - Conformational Restriction and/or Steric Hindrance in Medicinal Chemistry. In *The Practice of Medicinal Chemistry (Third Edition)*; Wermuth, C. G., Ed.; Academic Press: New York, **2008**; 363–379.

trois fois supérieure à l'analogue linéaire. Cela montre bien qu'une stratégie de macrocyclisation adaptée peut améliorer les paramètres pharmacocinétiques et l'activité cellulaire.<sup>43</sup>

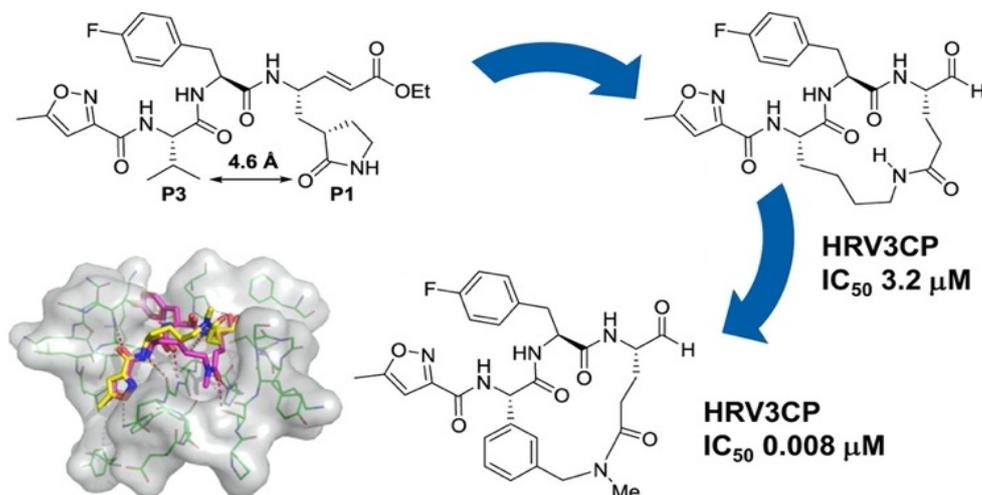


Figure 14- exemple d'amélioration de la puissance par macrocyclisation, d'après Namoto *et al.*<sup>43</sup>

Il faut cependant prendre en considération que la macrocyclisation en elle-même ne garantit pas forcément la mise en place de la bonne conformation. Il est souvent nécessaire de réaliser une enquête préliminaire afin de déterminer la taille optimale du macrocycle pour ensuite complexifier la fonctionnalisation de la molécule. C'est ce qu'ont réalisé Proisy *et al.*, en analysant plusieurs inhibiteurs macrocycliques des Hsp90. Ils ont pu montrer que la protéine chaperonne pouvait s'accommoder de macrocycles de différentes tailles ce qui a abouti à la découverte d'un composé puissant avec un macrocycle plus large que le produit naturel de base, le radicicol.<sup>44</sup>

#### 4) La production à grande échelle de macrocycle : un challenge ?

Du point de vue industriel, il existe une certaine réticence à développer des macrocycles. En effet les routes de synthèses sont bien plus complexes que pour les « *small molecules* » et peuvent

<sup>43</sup> Namoto, K.; Sirockin, F.; Sellner, H.; Wiesmann, C.; Villard, F.; Moreau, R. J.; Valeur, E.; Paulding, S. C.; Schleege, S.; Schipp, K.; *et al.* Structure-Based Design and Synthesis of Macrocyclic Human Rhinovirus 3C Protease Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28* (5), 906–909.

<sup>44</sup> Proisy, N.; Sharp, S. Y.; Boxall, K.; Connelly, S.; Roe, S. M.; Prodromou, C.; Slawin, A. M. Z.; Pearl, L. H.; Workman, P.; Moody, C. J. Inhibition of Hsp90 with Synthetic Macrolactones: Synthesis and Structural and Biological Evaluation of Ring and Conformational Analogs of Radicicol. *Chem. Biol.* **2006**, *13* (11), 1203–1215.

engendrer une hausse des coûts de production, notamment lors du passage à la synthèse au kilogramme (scale-up). En effet, la montée en échelle est l'une des étapes cruciales dans le développement d'un médicament. Généralement, lors des phases préliminaires de recherche, les synthèses développées sont des synthèses adaptées à de petites quantités et peu optimisées en matière de rendement. Lors de la montée en échelle, les chimistes en développement vont chercher à développer la synthèse la plus linéaire possible, avec le meilleur rendement global et produisant le moins de rejet de matière possible. Cela implique un certain coût, qui comparé au développement de « *small molecule* » peut s'avérer rédhibitoire. Mais grâce à de nouvelles méthodes chimiques, ces structures connaissent, depuis quelques années, un regain d'intérêt dans les approches modernes de « *drug discovery* ». Les différentes méthodes de macrocyclisation sont d'ailleurs développées en détail dans le Chapitre 2.

Bien que complexes et d'apparence peu drugables, les macrocycles ont pourtant un certain nombre d'avantages non négligeables qui peuvent expliquer le regain d'intérêt actuel pour le développement de ces structures. Le développement à grande échelle de 400 kg de céléprévir (Figure 15), premier inhibiteur d'une protéase d'intérêt dans l'hépatite C, fut d'ailleurs un réel succès, permettant alors de balayer les premières réticences émises.<sup>45</sup>

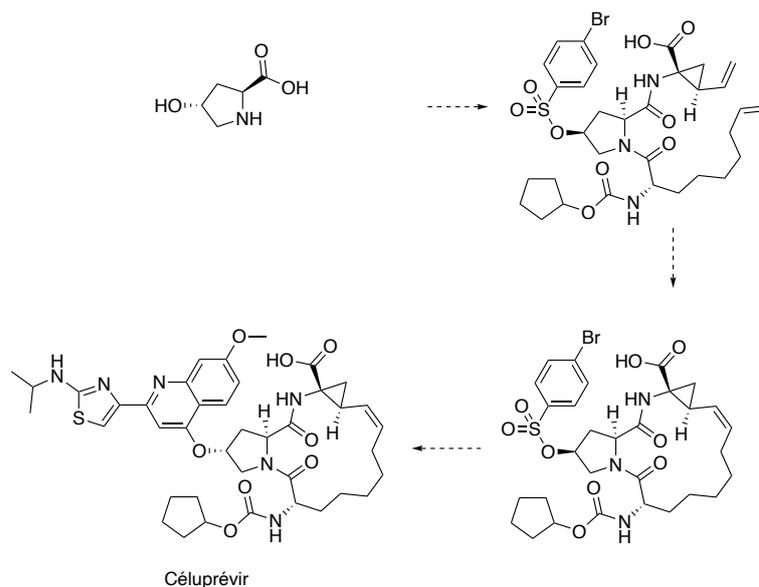


Figure 15- Étapes clés de la synthèse à grande échelle du céléprévir. <sup>45</sup>

<sup>45</sup> Nicola, T.; Brenner, M.; Donsbach, K.; Kreye, P. First Scale-Up to Production Scale of a Ring Closing Metathesis Reaction Forming a 15-Membered Macrocycle as a Precursor of an Active Pharmaceutical Ingredient. *Org. Process Res. Dev.* **2005**, 9 (4), 513–515.

## Chapitre 2 : Méthodes d'obtention des macrocycles synthétiques

### 1) Introduction

De nombreuses méthodologies chimiques peuvent s'appliquer à la macrocyclisation. Il ne sera présenté ici que les principales avec des exemples de la littérature impliqués dans la synthèse de macrocycles de novo. Le plus gros challenge autour de ces synthèses va être de basculer l'équilibre cycle/chaîne vers la formation du macrocycle. En effet la molécule devant réagir sur elle-même, il est possible que celle-ci se dimérise ou se polymérise plutôt que de se cycliser. Afin de contourner ce problème et de basculer l'équilibre vers la réaction intramoléculaire, les réactions de macrocyclisation sont souvent réalisées sous des conditions de haute dilution de l'ordre de 0,05M.

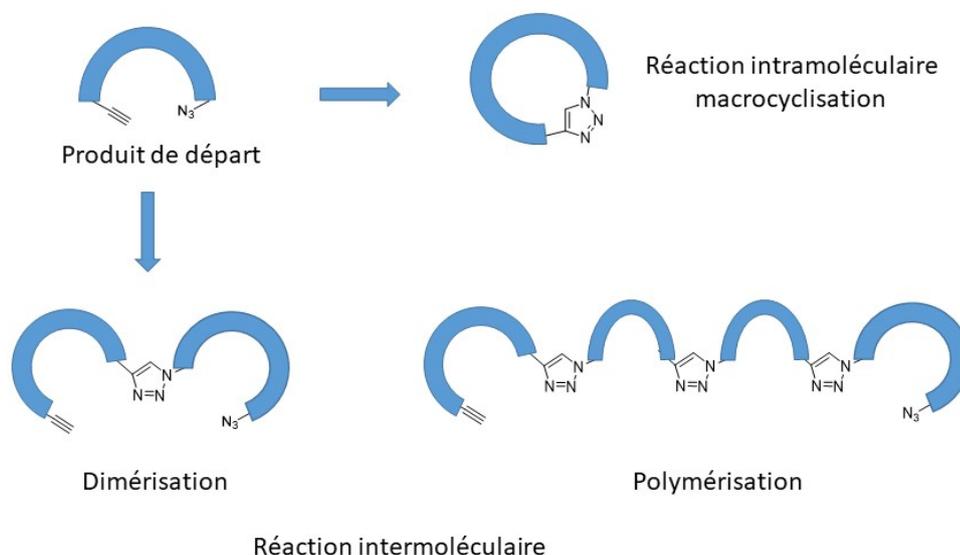


Figure 16- Equilibre cycle/chaîne dans les réactions de macrocyclisation.

Un des autres aspects importants dans la macrocyclisation va être la cinétique de réaction, la réussite de la réaction va grandement dépendre de la capacité du composé à se positionner favorablement dans une conformation propice à la macrocyclisation. Il faut que les deux extrémités à relier soient assez proches l'une de l'autre pour réagir et que la formation du cycle soit stable.

De nombreuses revues existent dans la littérature concernant les techniques de macrocyclisation, il ne sera fait état dans ce paragraphe que des réactions les plus courantes utilisés pour la synthèse de macrocycles.<sup>46-48</sup>

## 2) Macrolactamisation et macrolactonisation

La macrolactonisation et macrolactamisation sont les techniques les plus utilisées pour la synthèse des macrocycles naturels. Elles reposent sur la formation d'une liaison amide (pour les macrolactames) ou ester (pour les macrolactones) et sont utilisés principalement dans des structures peptidomimétiques visant différentes protéases.

Ces réactions ont différents avantages :

- Il s'agit d'une chimie bien développée et décrite dans la littérature et dont les réactifs sont faciles d'accès,
- La synthèse des précurseurs linéaire est directe et permet une grande diversité chimique,
- Et elle peut se réaliser en solution ou sur phase solide.

Ces réactions de liaisons peptidiques ont cependant un gros désavantage. En effet, les amides et les esters sont présents dans de nombreux composés naturels et sont donc facilement reconnus par les différentes estérases et kinases présentes dans le corps humain contrairement à d'autres types de liaisons.

### a. Formation de liaison amide ou macrolactamisation

On retrouve ce type de réaction dans les premiers macrocycles synthétiques décrit. En effet, ceux-ci ciblant des protéases, il n'était pas étonnant de faire des mimes de peptides ou peptidomimétiques et donc d'inclure des liaisons amides.

---

<sup>46</sup> Peterson, M. L. Chapter 11- The Synthesis of Macrocyces for Drug Discovery. In *Macrocyces in Drug Discovery*; **2014**; 398–486.

<sup>47</sup> Marsault, E.; Peterson, M. L. *Practical Medicinal Chemistry with Macrocyces: Design, Synthesis, and Case Studies*; John Wiley & Sons, **2017**.

<sup>48</sup> Mortensen, K. T.; Osberger, T. J.; King, T. A.; Sore, H. F.; Spring, D. R. Strategies for the Diversity-Oriented Synthesis of Macrocyces. *Chem. Rev.* **2019**, *119* (17), 10288–10317.

Les réactifs de macrolactamisation sont donc les mêmes que ceux utilisés dans la chimie peptidique avec différents agents de couplages comme par exemple (Figure 17) :

- Les carbodiimides tel que l'EDCI (1-Ethyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide), le CDI (carbonyldiimidazole) ou encore le DCC (dicyclohexylcarbodiimide). Ils sont souvent utilisés avec un triazole tel que l'HOBt (1-hydroxy-benzotriazole) permettant d'éviter la racémisation de l'acide carboxylique activé ;
- Les sels d'aminium/urinium tel que le HATU (hexafluorophosphate azabenzotriazole tetraméthyle uronium) ;
- Des sels de phosphate tel que le BOP (benzotriazol-1-yloxytris(diméthylamino)phosphonium hexafluorophosphate), ou ses analogues tel que le PyBOP (benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate). On retrouve également dans cette section le FDPP (Pentafluorophenyl diphenylphosphinate) ;
- Le T3P (anhydride d'acide Propanephosphonique) peut aussi être utilisé.

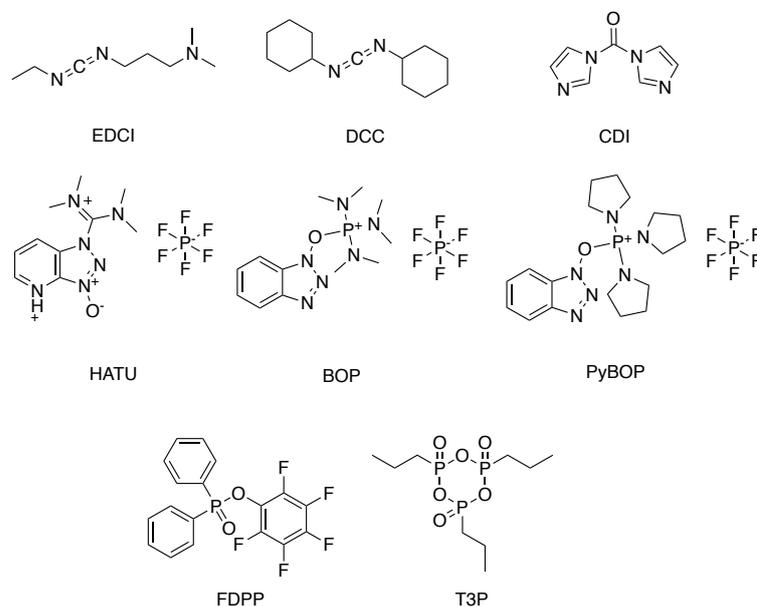


Figure 17- Agents de couplage peptidiques

Ces agents de couplage vont permettre d'activer l'acide en lui greffant un bon groupement partant, permettant à l'amine nucléophile d'attaquer plus aisément. La formation de lien amide intramoléculaire peut être rapide et efficace, même si, comme dans toute réaction de macrocyclisation, cela dépend énormément de la capacité du précurseur linéaire à adopter la

conformation optimale à la macrocyclisation. De nombreuses revues existent dans la littérature, montrant la diversité de réactifs possibles.<sup>49–51</sup>

Comme on le voit dans la Figure 18, ces couplages sont des méthodes de choix pour les composés macrocyclique de petites taille comme l'inhibiteur de MMP-8 décrit par Cherney en 1998 qui a été macrocyclisé grâce au BOP.<sup>52</sup> Ils permettent également d'obtenir des cycles de plus grande tailles comme pour les ligands du G-quadruplex décrits par Nielsen *et al.* et synthétisés par la formation simultanée des deux liaisons amides grâce au FDPP.<sup>53</sup>

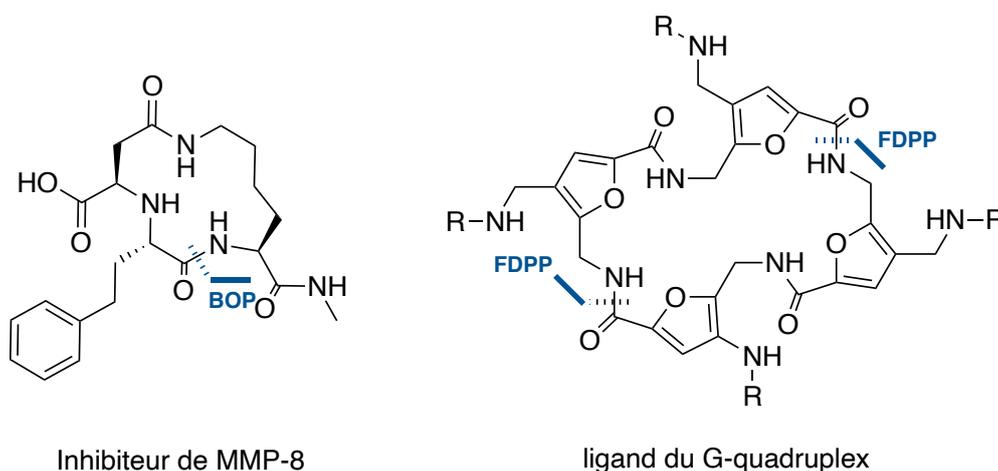


Figure 18- Exemple de macrolactame à petit et grand cycle, en bleu : agent d'activation ayant permis la cyclisation.

En dehors de ces réactions de couplages peptidiques menant à l'obtention d'un lien amide, il existe de nouvelles voies d'accès simples et efficaces pour former des liaisons esters et même éthers.

## b. Formation des liaisons esters ou macrolactonisation

Les conditions de Yamagushi, Mukaiyama et Mitsunobu sont les réactions les plus fréquentes pour former des macrolactones. C'est une chimie qui a l'avantage d'être plutôt bien décrite dans la littérature.<sup>54</sup>

<sup>49</sup> El-Faham, A.; Albericio, F. Peptide Coupling Reagents, More than a Letter Soup. *Chem. Rev.* **2011**, *111* (11), 6557–6602.

<sup>50</sup> Montalbetti, C. A. G. N.; Falque, V. Amide Bond Formation and Peptide Coupling. *Tetrahedron* **2005**, *61* (46), 10827–10852.

<sup>51</sup> Valeur, E.; Bradley, M. Amide Bond Formation: Beyond the Myth of Coupling Reagents. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38* (2), 606–631.

<sup>52</sup> Cherney, R. J.; Wang, L.; Meyer, D. T.; Xue, C.-B.; Wasserman, Z. R.; Hardman, K. D.; Welch, P. K.; Covington, M. B.; Copeland, R. A.; Arner, E. C.; DeGrado, W. F.; Decicco, C. P. Macrocyclic Amino Carboxylates as Selective MMP-8 Inhibitors. *J. Med. Chem.* **1998**, *41* (11), 1749–1751.

<sup>53</sup> C. Nielsen, M.; Ulven, T. Macrocyclic G-Quadruplex Ligands. *Curr. Med. Chem.* **2010**, *17* (29), 3438–3448.

<sup>54</sup> Parenty, A.; Moreau, X.; Campagne, J.-M. Macrolactonizations in the Total Synthesis of Natural Products. *Chem. Rev.* **2006**, *106* (3), 911–939.

Dans les conditions de Yamaguchi, les acides carboxyliques sont activés en utilisant du chlorure de 2,4,6-trichlorobenzoyle et l'estérification intramoléculaire est favorisée par la présence de DMAP (4-diméthylaminopyridine) dans des réactions à reflux et sous haute dilution.<sup>55</sup> Pour les conditions de Mukaiyama, des sels de 2-halo-*N*-alkylpyridinium sont utilisés.<sup>56</sup> Le Schéma 1 montre un exemple de macrolactonisation via la réaction de Mitsunobu entre un acide benzoïque et un alcool. Cette réaction permet la formation d'une liaison ester par l'utilisation de triphénylphosphine (PPh<sub>3</sub>) et l'azodicarboxylate de diéthyle (DEAD) ou azodicarboxylate de diisopropyle (DIAD). Dans cette réaction si l'alcool est tertiaire il est à noter que celui-ci subira une inversion de sa stéréochimie.<sup>57-58</sup>

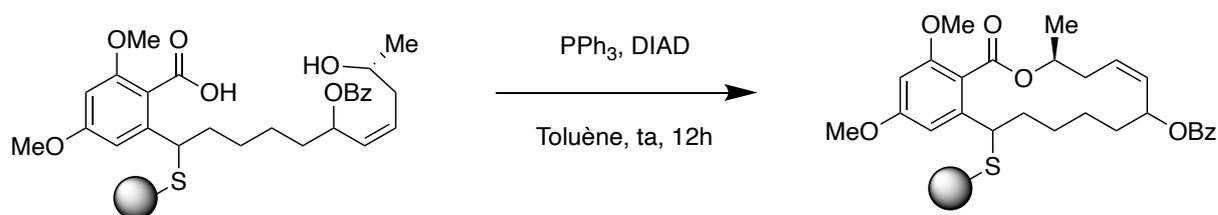


Schéma 1- Réaction de Mitsunobu pour former une macrolactone <sup>58</sup>

La réaction de Mitsunobu est une réaction permettant la formation de liaison ester mais également de liaison éther lorsqu'un alcool est assez acide pour réagir (comme c'est le cas pour les phénols). C'est ainsi que l'on retrouve, entre autre, dans la littérature des macrocyclisations de potentiels inhibiteurs HCV utilisant cette méthode.<sup>59</sup>

### 3) Réactions de substitutions nucléophile (S<sub>N</sub>2 ou S<sub>N</sub>AR)

On retrouve également dans la littérature des réactions de substitution nucléophile comme moyen de macrocyclisation.

<sup>55</sup> Inanaga, J.; Hirata, K.; Saeki, H.; Katsuki, T.; Yamaguchi, M. A Rapid Esterification by Means of Mixed Anhydride and Its Application to Large-Ring Lactonization. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, *52* (7), 1989–1993.

<sup>56</sup> Narasaka, K.; Maruyama, K.; Mukaiyama, T. A Useful Method for the Synthesis of Macrocyclic Lactone. *Chem. Lett.* **1978**, *7* (8), 885–888.

<sup>57</sup> Mitsunobu, O.; Yamada, M. Preparation of Esters of Carboxylic and Phosphoric Acid via Quaternary Phosphonium Salts. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, *40* (10), 2380–2382.

<sup>58</sup> Dakas, P.-Y.; Barluenga, S.; Totzke, F.; Zirrgiebel, U.; Winssinger, N. Modular Synthesis of Radicicol A and Related Resorcylic Acid Lactones, Potent Kinase Inhibitors. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46* (36), 6899–6902.

<sup>59</sup> Arasappan, A.; Chen, K. X.; Njoroge, F. G.; Parekh, T. N.; Girijavallabhan, V. Novel Dipeptide Macrocycles from 4-Oxo-, -Thio, and -Amino-Substituted Proline Derivatives. *J. Org. Chem.* **2002**, *67* (11), 3923–3926.

La substitution nucléophile (de type 2 ou aromatique) est une réaction commune en chimie organique qui fait intervenir un nucléophile en présence d'un carbone portant un bon groupement partant nucléofuge (habituellement un groupement halogène).

Ces techniques de substitutions directes vont avoir plusieurs avantages :

- Disponibilité d'une myriade de conditions et de réactifs ;
- Chimie bien connue qui ne demande pas de compétence spéciale ;
- Flexibilité concernant les différents sites de fermeture ;
- Exécution facile sur des supports à résine, ce qui explique son utilisation dans la synthèse de macrocyclique de type peptidomimétique.

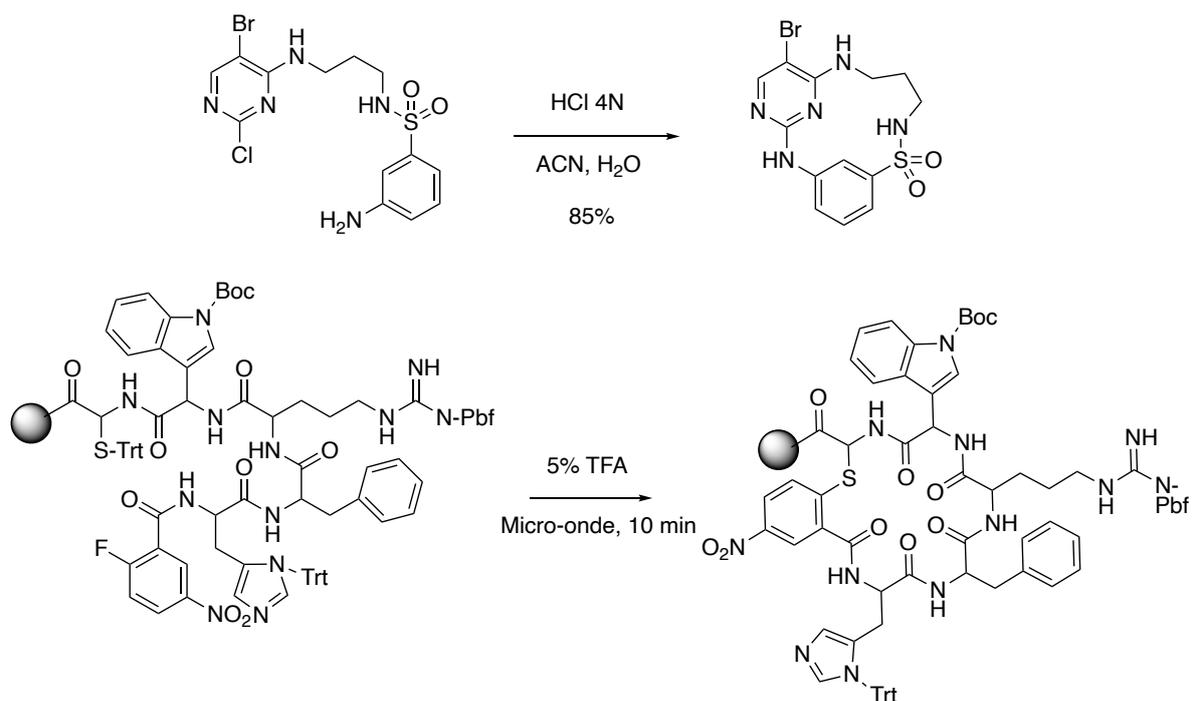


Schéma 2 - Exemple de deux réactions de substitution nucléophile aromatique pour la synthèse de macrocycles de différentes tailles. <sup>60,61</sup>

Cependant elle peut ne pas être compatible avec certaines autres fonctions chimiques présentes sur le fragment à cycliser, ce qui nécessite alors de protéger ces fonctions avant toute cyclisation et de les déprotéger par la suite. Cela peut aussi mener à de nombreuses réactions secondaires de type élimination ou oligomérisation. On retrouve ces techniques dans des macrocycles de différentes tailles comme le montre le Schéma 2 sur des inhibiteurs macrocycliques de CDK (kinase dépendante des

cyclines) développés par Lücking *et al.* ou encore les antagonistes sélectifs des récepteurs melanocortine-5 par Grieco *et al.*<sup>60,61</sup>

#### 4) Ring Closing Metathesis (RCM) ou métathèse cyclisante.

La métathèse cyclisante (ou RCM) est une méthode décrite initialement par Villemin dans les années 1980 pour la synthèse de macrolides.<sup>62</sup> Elle a été largement développée par la suite avec les travaux des Grubbs, Schrock et Chauvin qui gagnèrent le prix Nobel de Chimie en 2005 pour cela.<sup>63–65</sup> Elle permet de former un cyclo-alcène à partir de deux terminaisons éthylènes, cette liaison peut ensuite être fonctionnalisée, même si la plupart du temps, elle est simplement réduite pour former une chaîne alkyle. Il s'agit d'une réaction qui se réalise à l'aide d'un catalyseur métallique tel que le ruthénium ou le molybdène. Dans l'exemple de le Schéma 3, c'est un réactif de Grubbs de seconde génération contenant du ruthénium, qui a été utilisé.<sup>66</sup>

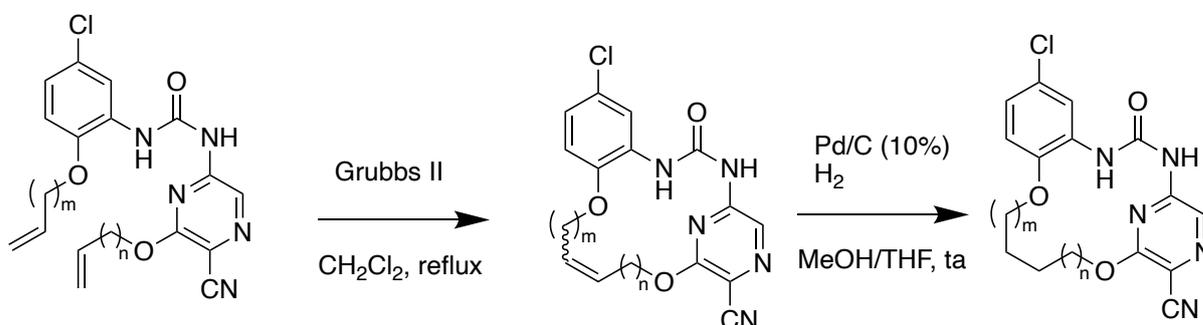


Schéma 3 - exemple d'une cyclisation par métathèse suivie d'une réduction de la double liaison par hydrogénation catalysée au palladium sur charbon.<sup>66</sup>

<sup>60</sup> Lücking, U.; Siemeister, G.; Schäfer, M.; Briem, H.; Krüger, M.; Lienau, P.; Jautelat, R. Macrocyclic Aminopyrimidines as Multitarget CDK and VEGF-R Inhibitors with Potent Antiproliferative Activities. *ChemMedChem* **2007**, 2 (1), 63–77.

<sup>61</sup> Grieco, P.; Cai, M.; Liu, L.; Mayorov, A.; Chandler, K.; Trivedi, D.; Lin, G.; Campiglia, P.; Novellino, E.; Hruby, V. J. Design and Microwave-Assisted Synthesis of Novel Macrocyclic Peptides Active at Melanocortin Receptors: Discovery of Potent and Selective HMC5R Receptor Antagonists. *J. Med. Chem.* **2008**, 51 (9), 2701–2707.

<sup>62</sup> Villemin, D. Synthèse de Macrolides Par Methathese. *Tetrahedron Lett.* **1980**, 21 (18), 1715–1718.

<sup>63</sup> Chauvin, Y. Olefin Metathesis: The Early Days (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45 (23), 3740–3747.

<sup>64</sup> Grubbs, R. H. Olefin-Metathesis Catalysts for the Preparation of Molecules and Materials (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45 (23), 3760–3765.

<sup>65</sup> Schrock, R. R. Multiple Metal–Carbon Bonds for Catalytic Metathesis Reactions (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45 (23), 3748–3759.

<sup>66</sup> Tao, Z.-F.; Sowin, T. J.; Lin, N.-H. Synthesis of Macrocyclic Urea Kinase Inhibitors. *Synlett* **2007**, 2007 (18), 2855–2858.

La métathèse est l'une des méthodes les plus souples et modulables pour la synthèse de macrocycle, cela est principalement dû aux nombreux avantages qu'offre cette transformation :

- Elle agit sur un large éventail de molécules ;
- Elle s'adapte à des cycles de différentes tailles ;
- Elle a très bonne tolérance vis à vis des autres fonctions chimiques ;
- Elle se réalise directement dans des conditions plutôt douces ;
- Et il existe de nombreux catalyseurs différents permettant de varier en réactivité et sélectivité comme le montre la Figure 19.

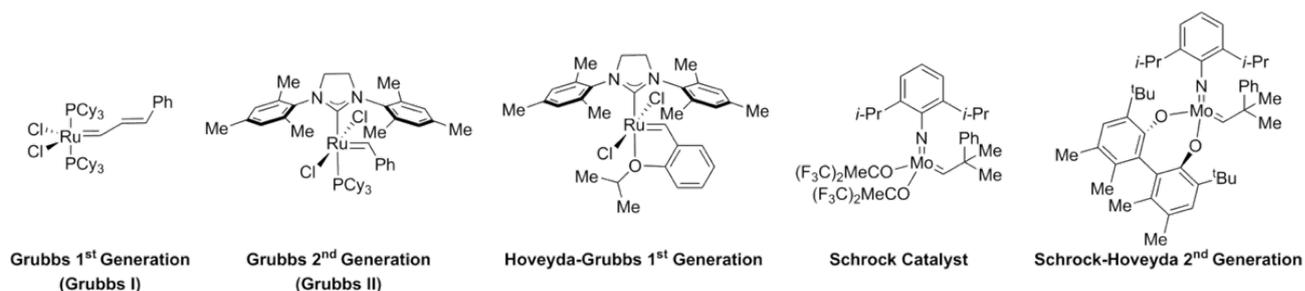


Figure 19- Catalyseurs utilisé dans les réactions de RCM

C'est une méthode qui a été utilisée notamment dans le développement d'inhibiteur macrocyclique de HCV NS3/4A. C'est le cas notamment du céléprévir (dont les étapes clés ont été décrites Figure 15- Étapes clés de la synthèse à grande échelle du céléprévir), du siméprévir, vaniprévir et danoprévir (Figure 20).<sup>67-70</sup>

<sup>67</sup> Horváth, A.; Depré, D.; A. Vermeulen, W. A.; Wuyts, S. L.; Harutyunyan, S. R.; Binot, G.; Cuypers, J.; Couck, W.; Den Heuvel, D. V. Ring-Closing Metathesis on Commercial Scale: Synthesis of HCV Protease Inhibitor Simeprevir. *J. Org. Chem.* **2019**, *84* (8), 4932–4939.

<sup>68</sup> Jiang, Y.; Andrews, S. W.; Condroski, K. R.; Buckman, B.; Serebryany, V.; Wenglowy, S.; Kennedy, A. L.; Madduru, M. R.; Wang, B.; Lyon, M.; *et al.* Discovery of Danoprevir (ITMN-191/R7227), a Highly Selective and Potent Inhibitor of Hepatitis C Virus (HCV) NS3/4A Protease. *J. Med. Chem.* **2014**, *57* (5), 1753–1769.

<sup>69</sup> McCauley, J. A.; McIntyre, C. J.; Rudd, M. T.; Nguyen, K. T.; Romano, J. J.; Butcher, J. W.; Gilbert, K. F.; Bush, K. J.; Holloway, M. K.; Swestock, J.; *et al.* Discovery of Vaniprevir (MK-7009), a Macrocylic Hepatitis C Virus NS3/4a Protease Inhibitor. *J. Med. Chem.* **2010**, *53* (6), 2443–2463.

<sup>70</sup> Lamarre, D.; Anderson, P. C.; Bailey, M.; Beaulieu, P.; Bolger, G.; Bonneau, P.; Bös, M.; Cameron, D. R.; Cartier, M.; Cordingly, M. G.; *et al.* An NS3 Protease Inhibitor with Antiviral Effects in Humans Infected with Hepatitis C Virus. *Nature* **2003**, *426* (6963), 186–189.

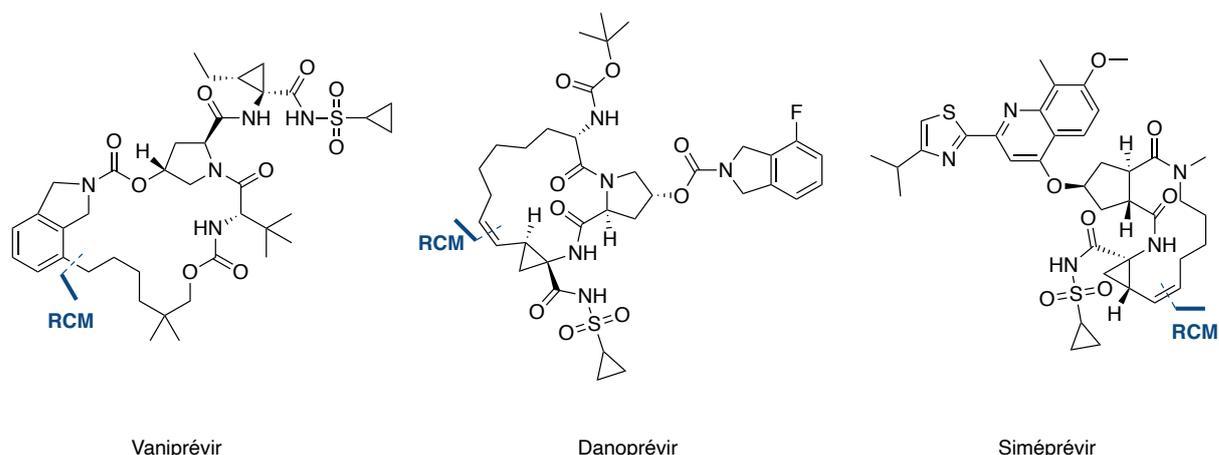


Figure 20- Structures des différents inhibiteurs macrocycliques de HCV protéase utilisant la RCM.

## 5) Cycloaddition

Les cycloadditions sont des réactions d'additions menant à la formation de cycles. La cycloaddition 1,3 dipolaire de Huisgen est l'une des méthodes les plus populaires dans la formation de macrocycles ce qui explique la grande diversité d'exemples dans la littérature. Elle fait partie des réactions de « click chemistry » car elle permet d'obtenir les composés finaux avec de bons rendements, dans des conditions biologiques et en limitant les produits secondaires.<sup>71-73</sup>

Notamment, elle permet l'obtention d'un triazole 1,4- et/ou 1,5-disubstitué en faisant réagir un azoture avec un alcyne en présence d'un catalyseur au cuivre ou ruthénium. C'est une technique qui s'est d'abord appliqués aux composés peptidomimétiques tel que décrit chez Holub *et al.* mais qui se retrouve également dans des structures non peptidomimétiques comme le montrent les composés développés par Bogdan *et al.* avec de bons rendements, améliorés par l'utilisation d'une méthode de

<sup>71</sup> Kolb, H. C.; Sharpless, K. B. The Growing Impact of Click Chemistry on Drug Discovery. *Drug Discov. Today* **2003**, *8* (24), 1128–1137.

<sup>72</sup> Pasini, D. The Click Reaction as an Efficient Tool for the Construction of Macrocyclic Structures. *Molecules* **2013**, *18* (8), 9512–9530.

<sup>73</sup> Huisgen, R. 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, *2* (10), 565–598.

synthèse en flux (Schéma 4). On retrouve également d'autres exemples de formation de triazole chez Looper *et al.* et plus récemment chez Chavez *et al.* et Rajakumar *et al.* <sup>74–78</sup>

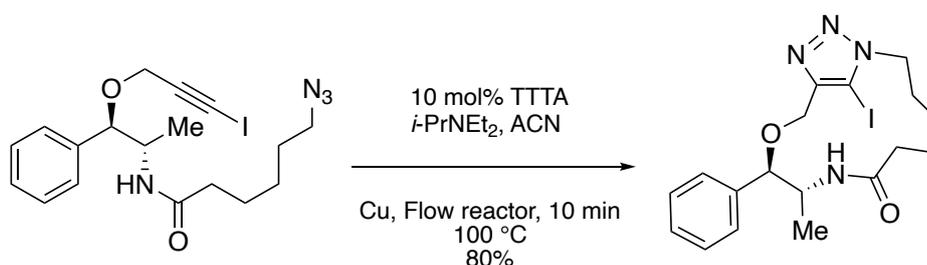


Schéma 4- Cycloaddition de Huisgen catalysée au Cuivre

## 6) Oléfination de Wittig

Bien qu'utilisées principalement dans la synthèse totale, les réactions de Wittig (à ne pas confondre avec le réarrangement de Wittig) représentent une autre façon fiable et efficace de former les macrocycles.

Cette réaction consiste en la réaction d'un aldéhyde ou d'une cétone avec ylure de phosphore (communément nommé réactif de Wittig) afin de former des éthylènes substitués. George Wittig reçut le prix Nobel de chimie en 1979 pour la découverte de cette nouvelle méthode de synthèse des alcènes, bien que décrit dès 1961 par Griffin *et al.*<sup>79</sup> On en trouve que peu d'exemples d'utilisation de cette réaction en tant que méthode de macrocyclisation.<sup>80</sup> Tilley *et al.* ont décrit en 2000 la synthèse de nouveaux antagonistes du complexe VCAM/VLA-4 (Vascular cell adhesion molecule 1, very late antigen 4, son récepteur) pouvant avoir un intérêt thérapeutique dans le traitement de l'asthme ou de la polyarthrite rhumatoïde notamment (Schéma 5). Après la macrocyclisation réalisée en une première étape d'oxydation puis d'un traitement à la DIPEA, le composé final a été obtenu après

<sup>74</sup> Holub, J. M.; Kirshenbaum, K. Tricks with Clicks: Modification of Peptidomimetic Oligomers via Copper-Catalyzed Azide-Alkyne [3 + 2] Cycloaddition. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39 (4), 1325–1337..

<sup>75</sup> Bogdan, A. R.; James, K. Synthesis of 5-Iodo-1,2,3-Triazole-Containing Macrocycles Using Copper Flow Reactor Technology. *Org. Lett.* **2011**, 13 (15), 4060–4063.

<sup>76</sup> Looper, R. E.; Pizzirani, D.; Schreiber, S. L. Macrocycloadditions Leading to Conformationally Restricted Small Molecules. *Org. Lett.* **2006**, 8 (10), 2063–2066.

<sup>77</sup> Chavez-Acevedo, L.; Miranda, L. D. Synthesis of Novel Tryptamine-Based Macrocycles Using an Ugi 4-CR/Microwave Assisted Click-Cycloaddition Reaction Protocol. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, 13 (15), 4408–4412.

<sup>78</sup> Prabhakaran, P.; Subaraja, M.; Rajakumar, P. Synthesis, Electrochemical, Antibacterial and Anticancer Studies on Triazole-Bridged Pyrrolidine-Grafted Macrocycles via [3+2] Cycloaddition of Azomethin Ylide. *ChemistrySelect* **2018**, 3 (17), 4687–4693.

déprotections des différents groupements protecteurs (BOC, ester...) menant à l'obtention d'un composé possédant une IC<sub>50</sub> de 44 nM envers sa cible.<sup>81</sup>

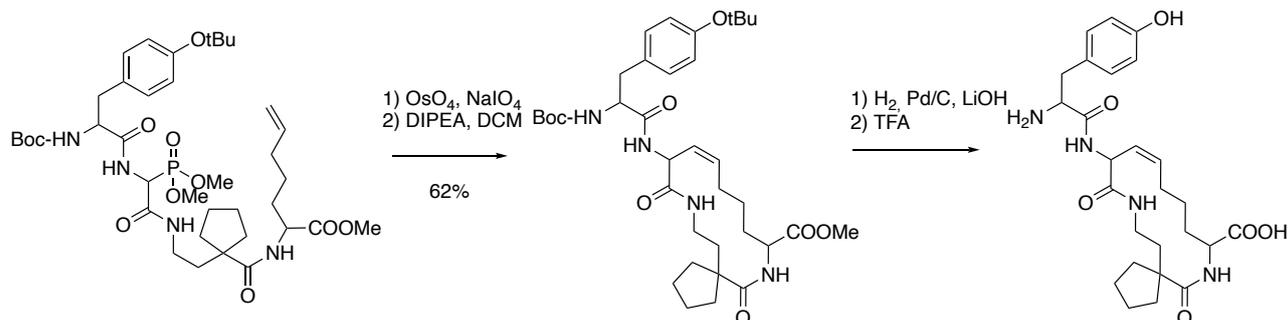


Schéma 5- macrocyclisation par réaction de Wittig.<sup>81</sup>

En 2015, Mysliwiec *et al.* ont décrit la formation de nombreux carbazolophanes grâce à cette réaction également, bien que pour former leurs cycles, ils aient privilégié des phénomènes de polymérisations.<sup>82</sup>

## 7) Réactions à catalyse organométallique

Les réactions à catalyse organométallique sont de réelles alliées dans la synthèse de nouveaux macrocycles. Il existe de nombreuses réactions permettant de faire réagir de manière directe une multitude de fonctions chimiques avec d'excellentes sélectivités.

### a. Couplage de Suzuki

Le couplage pallado-catalysé de Suzuki-Miyaura fut décrit en 1979 par Akira Suzuki qui remporta le prix Nobel de chimie en 2010 pour ses travaux. Il s'agit d'un couplage entre deux composés aryles,

<sup>79</sup> Wittig, G.; Haag, W. Über Triphenyl-phosphinmethylene als olefinbildende Reagenzien (II. Mitteil.1)). *Chem. Ber.* **1955**, *88* (11), 1654–1666.

<sup>80</sup> Griffin, C. E.; Martin, K. R.; Douglas, B. E. Synthesis of a Macrocycle by Application of the Wittig Reaction. *J. Org. Chem.* **1961**, *27* (5), 1627–1631.

<sup>81</sup> Tilley, J.; Kaplan, G.; Fotouhi, N.; Wolitzky, B.; Rowan, K. Carbacyclic Peptide Mimetics as VCAM–VLA-4 Antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10* (11), 1163–1165.

<sup>82</sup> Myśliwiec, D.; Lis, T.; Gregoliński, J.; Stępień, M. Stereoselective Wittig Olefination as a Macrocyclization Tool. Synthesis of Large Carbazolophanes. *J. Org. Chem.* **2015**, *80* (12), 6300–6312.

l'un possédant un acide ou un ester boronique et l'autre un halogène, c'est l'une des réactions les plus populaires pour réaliser des liaisons carbone-carbone en chimie organique.<sup>83,84</sup>

Il n'est donc pas étonnant de retrouver ce genre de réaction dans la formation de macrocycles à l'heure actuelle. C'est ce qu'ont réalisé Dufour *et al.* dans leur synthèse totale pour obtenir des arylomycines A2 et B2 notamment. Ils ont utilisé un ester boronique en présence d'un iodo-benzène, qui suite à une catalyse avec du PdCl<sub>2</sub>(SPhos)<sub>2</sub> a permis la formation d'un biaryle. (Schéma 6)<sup>85</sup>

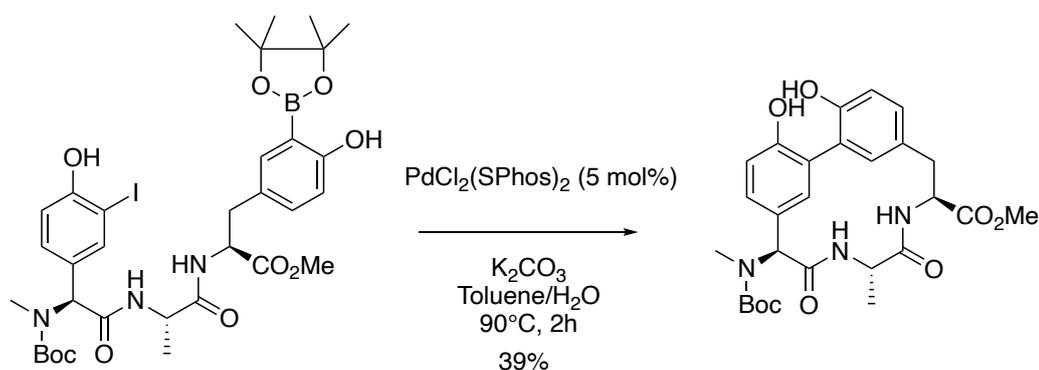


Schéma 6- Réaction de Suzuki-Miyaura appliquée à la synthèse de Macrocycles.<sup>85</sup>

Cette méthode de synthèse est également utilisable en synthèse sur résine comme le montre les travaux de Li *et al.* sur la préparation de composés biarylés mimant des coudes β.<sup>86</sup>

## b. Réaction de Heck

La réaction de Heck est une réaction catalysée au Palladium entre un dérivé halogéné insaturé ou un triflate et un alcène en milieu basique. Elle a été décrite par Richard Heck qui reçut le prix Nobel de chimie en 2010 pour cette réaction.<sup>87</sup>

Ces réactions ont contribué à l'obtention de nouveaux inhibiteurs de protéase HCV comme celui décrit par Chen *et al.* en 2005 notamment (Schéma 7).<sup>88</sup> C'est également une méthode qui a été utilisée

<sup>83</sup> Miyaura, N.; Yamada, K.; Suzuki, A. A New Stereospecific Cross-Coupling by the Palladium-Catalyzed Reaction of 1-Alkenylboranes with 1-Alkenyl or 1-Alkynyl Halides. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20* (36), 3437–3440.

<sup>84</sup> Miyaura, N.; Suzuki, A. Stereoselective Synthesis of Arylated (E)-Alkenes by the Reaction of Alk-1-Enylboranes with Aryl Halides in the Presence of Palladium Catalyst. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1979**, No. 19, 866–867.

<sup>85</sup> Dufour, J.; Neuville, L.; Zhu, J. Intramolecular Suzuki–Miyaura Reaction for the Total Synthesis of Signal Peptidase Inhibitors, Arylomycins A2 and B2. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16* (34), 10523–10534.

<sup>86</sup> Li, W.; Burgess, K. A New Solid-Phase Linker for Suzuki Coupling with Concomitant Macrocyclization: Synthesis of β-Turn Mimics. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40* (36), 6527–6530.

pour la synthèse de petits peptides macrocycliques par Rajamohan Reddy *et al.* ainsi que des structures beaucoup plus complexes telles que des analogues macrocycliques du paclitaxel de Boge *et al.*<sup>89,90</sup>

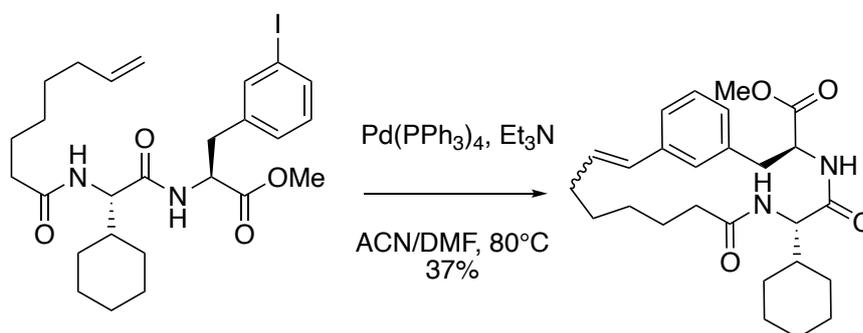


Schéma 7- Réaction de Heck pour la synthèse de composé inhibiteur de l'HCV.<sup>88</sup>

### c. Réaction de Stille

La réaction de Stille est une réaction catalysée au Palladium entre un composé organostannique et un dérivé halogéné hybridé sp<sup>2</sup> aboutissant à la construction de triènes macrocycliques. Elle fut décrite par Stille et Milstein en 1978.<sup>91</sup> L'utilisation de cette réaction dans la synthèse de liens intramoléculaires a été d'ailleurs été décrite dans une revue par Duncton *et al.* en 1999.<sup>92</sup>

Cette réaction a été décrite dans de nombreuses synthèses totales de produits naturels tels que des upenamides ou des lankacidine.<sup>93</sup> C'est grâce à cette méthode que Brain *et al.* ont réussi à synthétiser un intermédiaire **3'** à partir de la molécule linéaire **3**, dans la synthèse totale de lankacidine C, une molécule macrocyclique naturelle antitumorale et antibiotique. (Schéma 8).<sup>94-96</sup>

<sup>87</sup> Heck, R. F.; Nolley, J. P. Palladium-Catalyzed Vinylic Hydrogen Substitution Reactions with Aryl, Benzyl, and Styryl Halides. *J. Org. Chem.* **1972**, *37* (14), 2320–2322.

<sup>88</sup> Chen, K. X.; Njoroge, F. G.; Prongay, A.; Pichardo, J.; Madison, V.; Girijavallabhan, V. Synthesis and Biological Activity of Macrocyclic Inhibitors of Hepatitis C Virus (HCV) NS3 Protease. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15* (20), 4475–4478.

<sup>89</sup> Rajamohan Reddy, P.; Balraju, V.; Madhavan, G. R.; Banerji, B.; Iqbal, J. Synthesis of Small Cyclic Peptides via Intramolecular Heck Reactions. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44* (2), 353–356.

<sup>90</sup> Boge, T. C.; Wu, Z.-J.; Himes, R. H.; Vander Velde, D. G.; Georg, G. I. Conformationally Restricted Paclitaxel Analogues: Macrocyclic Mimics of the "Hydrophobic Collapse" Conformation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9* (20), 3047–3052.

<sup>91</sup> Milstein, D.; Stille, J. K. A General, Selective, and Facile Method for Ketone Synthesis from Acid Chlorides and Organotin Compounds Catalyzed by Palladium. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100* (11), 3636–3638.

<sup>92</sup> Duncton, M. A. J.; Pattenden, G. The Intramolecular Stille Reaction. *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1999**, No. 10, 1235–1246.

<sup>93</sup> Unsworth, W. P.; Gallagher, K. A.; Jean, M.; Schmidt, J. P.; Diorazio, L. J.; Taylor, R. J. K. Direct Imine Acylation: Synthesis of the Proposed Structures of 'Upenamides. *Org. Lett.* **2013**, *15* (2), 262–265.

<sup>94</sup> Brain, C. T.; Chen, A.; Nelson, A.; Tanikkul, N.; Thomas, E. J. Synthesis of Macrocyclic Precursors of Lankacidins Using Stille Reactions of 4-(2-Iodo-Alkenyl)Azetidiones and Related Compounds for Ring Closure. *Tetrahedron* **2010**, *66* (33), 6613–6625.

<sup>95</sup> Uramoto, M.; Ōtake, N.; Ogawa, Y.; Yonehara, H.; Marumo, F.; Saito, Y. The Structures of Bundlin A (Lankacidin) and Bundlin B. *Tetrahedron Lett.* **1969**, *10* (27), 2249–2254.

Parmi d'autres exemples intéressants, on peut retrouver également la cyclisation effectuée par Falardeau *et al.* sur le précurseur linéaire actif **4**.<sup>97</sup> Après études des cristaux, il s'est avéré que la molécule avait deux isomères de conformation, la macrocyclisation leur a alors permis d'obtenir un composé **4'** restreint dans sa conformation avec une activité près de 150 fois meilleure que le composé linéaire sur le cytomégalovirus humain.

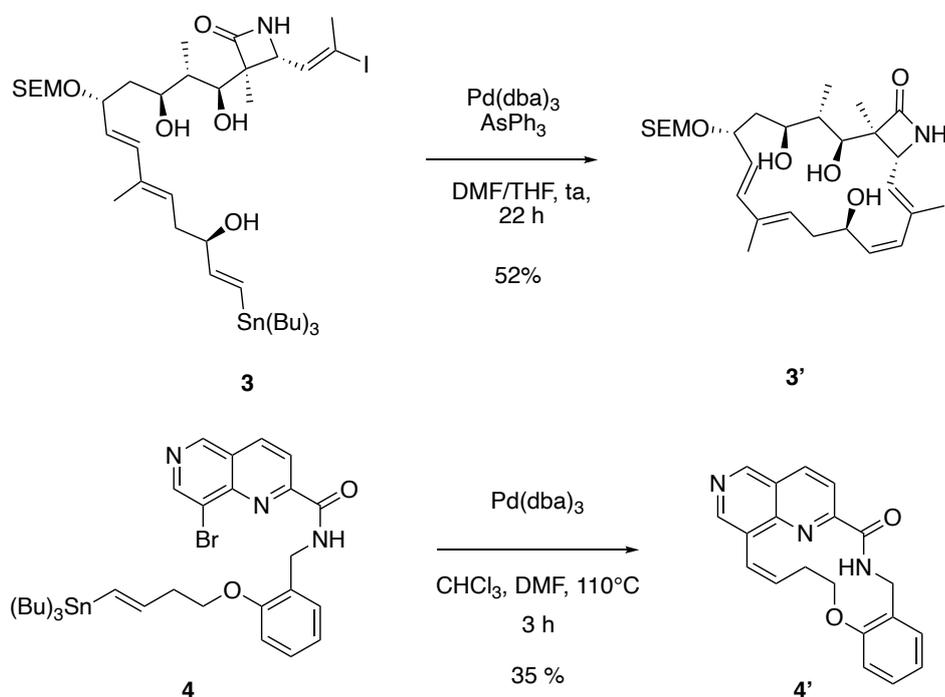


Schéma 8- Macrocyclisations par réaction de Stille.<sup>97</sup>

#### d. Réaction de Sonogashira

Le couplage de Sonogashira est une réaction décrite pour la première fois en 1975 par le chimiste du même nom. Elle met en jeu un halogénure d'aryle et un alcyne terminal, le tout catalysé par du palladium et des sels de cuivre.<sup>98</sup>

<sup>96</sup> Uramoto, M.; Otake, N.; Cary, L.; Tanabe, M. Biosynthetic Studies with Carbon-13. Lankacidin Group of Antibiotics. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100* (11), 3616–1617.

<sup>97</sup> Falardeau, G.; Lachance, H.; St-Pierre, A.; Yannopoulos, C. G.; Drouin, M.; Bédard, J.; Chan, L. Design and Synthesis of a Potent Macrocyclic 1,6-Naphthyridine Anti-Human Cytomegalovirus (HCMV) Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15* (6), 1693–1695.

<sup>98</sup> Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. A Convenient Synthesis of Acetylenes: Catalytic Substitutions of Acetylenic Hydrogen with Bromoalkenes, Iodoarenes and Bromopyridines. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16* (50), 4467–4470.

Au même titre que les réactions de couplage de Suzuki, il s'agit d'une méthode assez populaire pour réaliser des liaisons carbone-carbone. Les réactions de type Sonogashira se sont montrées un peu moins applicables aux macrocyclisations même si elles ont été utilisées dans la synthèse de composés peptidomimétiques et de tri-peptidomimétiques comme le montre le Schéma 9.<sup>99</sup>

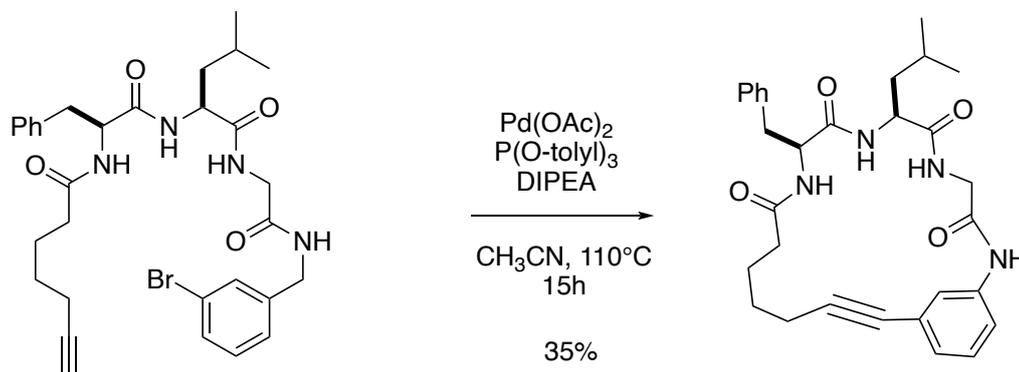


Schéma 9- Macrocyclisation par réaction de Sonogashira <sup>99</sup>

Cependant on peut noter que la synthèse sur résine de cette réaction pour des composés plus larges a permis la synthèse d'un mime macrocyclique de près de 65-membres de la boucle A-B du domaine Cε3 de l'Immunoglobuline humaine par Spivey *et al.*<sup>100</sup>

### e. Réaction de Buchwald Hartwig

La réaction de couplage de Buchwald-Hartwig décrite en 1995 permet la formation pallado-catalysée d'une liaison carbone-azote à partir d'une amine et d'un halogénure d'aryle (ou un triflate).

101

Cette méthode de synthèse n'est pas très courante pour la formation de macrocycles mais on retrouve cependant des exemples intéressants dans la littérature comme la synthèse d'inhibiteurs de Hsp90 par Zapf *et al.* avec des rendements plutôt satisfaisants de macrocyclisation allant de 45 à 98% sur leurs composés.<sup>102</sup>

<sup>99</sup> Balraju, V.; Reddy, D. S.; Periasamy, M.; Iqbal, J. Synthesis of Conformationally Constrained Cyclic Peptides Using an Intramolecular Sonogashira Coupling. *J. Org. Chem.* **2005**, *70* (23), 9626–9628.

<sup>100</sup> Spivey, A. C.; McKendrick, J.; Srikanan, R.; Helm, B. A. Solid-Phase Synthesis of an A–B Loop Mimetic of the Cε3 Domain of Human IgE: Macrocyclization by Sonogashira Coupling. *J. Org. Chem.* **2003**, *68* (5), 1843–1851.

<sup>101</sup> Guram, A. S.; Rennels, R. A.; Buchwald, S. L. A Simple Catalytic Method for the Conversion of Aryl Bromides to Arylamines. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34* (12), 1348–1350.

<sup>102</sup> Zapf, C. W.; Bloom, J. D.; McBean, J. L.; Dushin, R. G.; Nittoli, T.; Otteng, M.; Ingalls, C.; Golas, J. M.; Liu, H.; Lucas, J.; Boschelli, F.; Hu, Y.; Vogan, E.; Levin, J. I. Macrocylic Lactams as Potent Hsp90 Inhibitors with Excellent Tumor Exposure and Extended Biomarker Activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21* (11), 3411–3416.

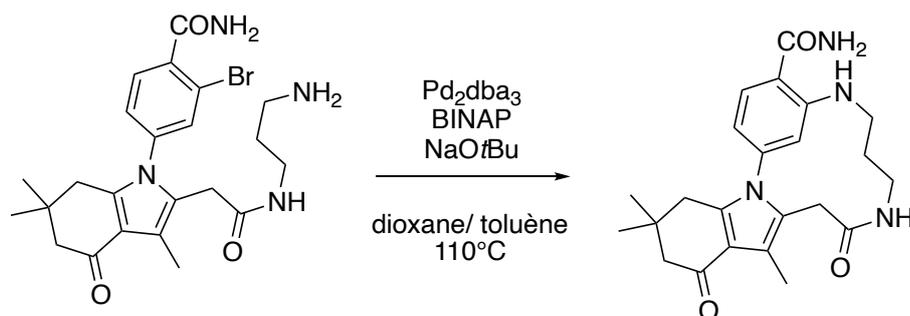


Schéma 10-Macrocyclisation par Buchwald-Hartwig.<sup>102</sup>

## 8) Amination réductrice

L'amination réductrice est une réaction couramment utilisée en chimie organique avant d'obtenir des amines substituées. Elle intervient entre une amine et un composé carbonylé tel qu'un aldéhyde pour former un intermédiaire imine qui sera ensuite réduit pour obtenir l'amine. Ce n'est pas une méthode très courante dans la synthèse de macrocycle mais elle a permis la macrocyclisation de composés très intéressants des inhibiteurs de  $\beta$ -sécrétase (BACE-1) décrits par Huang *et al.* tel que montré dans le schéma <sup>103</sup>

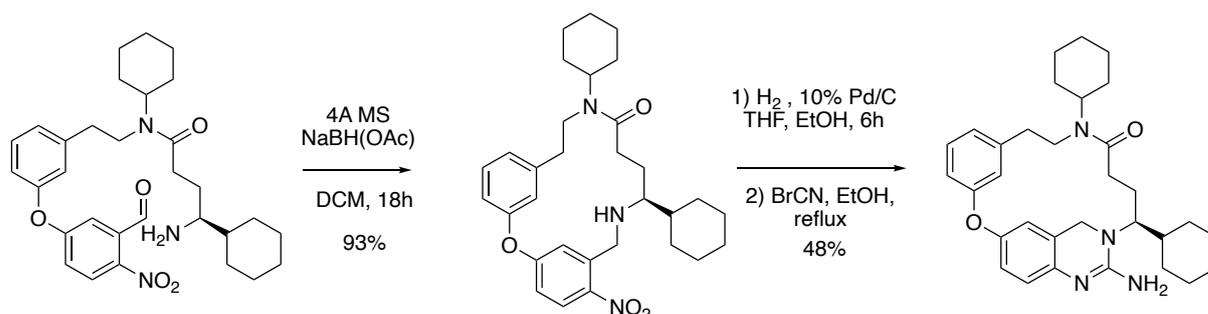


Schéma 11- Macrocyclisation par amination réductrice. <sup>103</sup>

Il s'est avéré que ce composé fut assez actif et puissant sur sa cible avec un  $K_i$  de 5 nM et une  $IC_{50}$  de 17 nM en test cellulaire sur la réduction de plaques amyloïdes.

<sup>103</sup> Huang, Y.; Strobel, E. D.; Ho, C. Y.; Reynolds, C. H.; Conway, K. A.; Piesvaux, J. A.; Brennehan, D. E.; Yohrling, G. J.; Moore Arnold, H.; Rosenthal, D.; Alexander, R. S.; Tounge, B. A.; Mercken, M.; Vandermeeren, M.; Parker, M. H.; Reitz, A. B.; Baxter, E. W. Macrocyclic BACE Inhibitors: Optimization of a Micromolar Hit to Nanomolar Leads. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20* (10), 3158–3160.

## 9) Réaction à Multicomposants ou Multicomponent reaction (MCR)

Une réaction à multi-composants est une réaction qui va mettre en jeu au moins 3 réactifs en une étape. Cela permet de synthétiser des molécules plus complexes à partir de petits fragments organiques facilement accessibles et disponibles tels que les acides carboxyliques, les beta céto-esters, les alcools...Et dans le cas présent, cela peut permettre de diversifier plus facilement les séries de macrocycles.

Les méthodes développées par Ugi, Staudinger, Passerini ou encore Staudinger ont connu un regain d'intérêt de par leur efficacité à pouvoir produire de larges chimiothèques de produits d'intérêt thérapeutique. Cependant, les applications à la synthèse de macrocycles sont encore limitées. On retrouve cependant des revues sur le sujet dans la littérature notamment celle de Masson *et al.* en 2010 et de Dömling *et al.* en 2018.<sup>104,105</sup>

## 10) Conclusion du chapitre

Comme développé dans ce chapitre, nombreuses sont les réactions permettant la macrocyclisation, ce chapitre n'est cependant pas exhaustif. Bien que la majorité des réactions y soient expliquées et exemplifiées ; il existe d'autres méthodes impliquant notamment des réactions catalysées au nickel ou ruthénium, des réactions impliquant un mécanisme radicalaire ou encore des réactions d'ouverture de cycle ou d'expansion de cycle.<sup>106-108</sup>

Bien que la majorité des réactions soient connues et exploités dans la synthèse organique classique, les chimistes ont su les appliquer intelligemment à la synthèse de macrocycles permettant des réactions avec des rendements satisfaisants. De nombreuses techniques sont encore sous

---

<sup>104</sup> Masson, G.; Neuville, L.; Bughin, C.; Fayol, A.; Zhu, J. Multicomponent Syntheses of Macrocycles. In *Synthesis of Heterocycles via Multicomponent Reactions II*; Orru, R. V. A., Ruijter, E., Eds.; Topics in Heterocyclic Chemistry; Springer: Berlin, Heidelberg, 2010; 1–24.

<sup>105</sup> Abdelraheem, E. M. M.; Shaabani, S.; Dömling, A. Macrocycles: MCR Synthesis and Applications in Drug Discovery. *Drug Discov. Today Technol.* **2018**, *29*, 11–17.

<sup>106</sup> Janetka, J. W.; Raman, P.; Satyshur, K.; Flentke, G. R.; Rich, D. H. Novel Cyclic Biphenyl Ether Peptide  $\beta$ -Strand Mimetics and HIV-Protease Inhibitors. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119* (2), 441–442.

<sup>107</sup> Knapp-Reed, B.; Mahandru, G. M.; Montgomery, J. Access to Macrocyclic Endocyclic and Exocyclic Allylic Alcohols by Nickel-Catalyzed Reductive Cyclization of Ynals. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (38), 13156–13157.

<sup>108</sup> Balraju, V.; Srinivasa Reddy, D.; Periasamy, M.; Iqbal, J. Synthesis of Small Cyclic Peptides Constrained with 3-(3-Aminomethylphenyl)Propionic Acid Linkers Using Free Radical-Mediated Macrocyclization. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46* (31), 5207–5210.

développées aujourd'hui pour la synthèse de macrocycles, et pourraient, dans le futur, être facilement popularisées telles que les aminations réductrices.

En chimie médicinale, la synthèse de macrocycles nécessite cependant une haute dilution ce qui implique des réactions plus lentes et plus coûteuses en termes de solvant. C'est pour cela que de nouvelles méthodes permettant un meilleur suivi et contrôle de la réaction peuvent aussi être appliquées par l'utilisation de la chimie en flux. La chimie en flux est une méthode de synthèse qui se démocratise de plus en plus, elle peut permettre de réaliser des réactions dans des conditions de plus hautes dilutions ou de température comme le montre l'étude de Bogdan *et al* ou Bedart *et al*.<sup>75,109,110</sup>

Les macrocycles sont donc des structures particulières dans l'espace chimique global, leur conception et synthèse reste tout de même sous développé par rapport aux petites molécules organiques. De nombreuses opportunités restent à saisir dans la conception de macrocycle dont l'espace chimique est loin d'avoir été exploré en profondeur. Dans le chapitre suivant sera exemplifié la conception et synthèse de macrocycles dans une pathologie particulière du système nerveux central : la maladie d'Alzheimer.

---

<sup>109</sup> Bédard, A.-C.; Santandrea, J.; Collins, S. K. Efficient Continuous-Flow Synthesis of Macrocylic Triazoles. *J. Flow Chem.* **2015**, 5 (3), 142–144.

<sup>110</sup> Bédard, A.-C.; Régner, S.; K. Collins, S. Continuous Flow Macrocyclization at High Concentrations: Synthesis of Macrocylic Lipids. *Green Chem.* **2013**, 15 (7), 1962–1966.

## Chapitre 3 : Exemple d'application dans la maladie d'Alzheimer

### 1) La maladie d'Alzheimer

#### a. Introduction et généralités

La maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie neurodégénérative, chronique et évolutive du cortex cérébral. Elle fut pour la première fois décrite par le médecin et psychiatre Aloïs Alzheimer en 1906, comme étant une maladie particulière du cortex cérébral qu'il repéra chez une de ses patientes, Auguste Deter, âgée de 51 ans souffrant de démence précoce.<sup>111</sup> L'autopsie cérébrale de celle-ci permit alors à Aloïs Alzheimer de mettre en évidence plusieurs éléments caractéristiques. Il constata tout d'abord une atrophie générale du cerveau, ainsi que deux grands types de lésions qui sont, encore à l'heure actuelle, étudiés comme étant les principales causes moléculaire de la maladie (Figure 21) :<sup>112</sup>

- Les plaques séniles situées au niveau extracellulaire ;
- Et les dégénérescences neurofibrillaires situées au niveau intracellulaire.

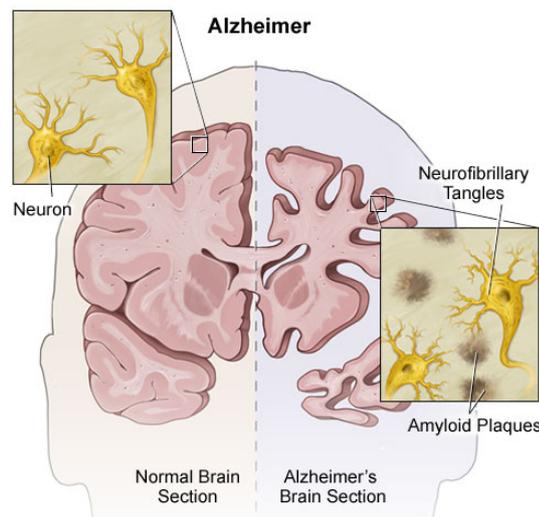


Figure 21 - Principales lésions observées chez les patients <sup>113</sup>

<sup>111</sup> Alzheimer, A. Über Einen Eigenartigen Schweren Erkrankungsprozess Der Hirnrinde. *Neurol Zentralbl* **1906**, 23, 1129–1136.

<sup>112</sup> Strassnig, M.; Ganguli, M. About a Peculiar Disease of the Cerebral Cortex. *Psychiatry Edgmont* **2005**, 2 (9), 30–33.

<sup>113</sup> Pescosolido, N.; Pascarella, A.; Buomprisco, G.; Rusciano, D. Critical Review on the Relationship between Glaucoma and Alzheimer's Disease. *Adv. Ophthalmol. Vis. Syst.* **2014**, Volume 1 (Issue 4).

A l'heure actuelle, soit près de 100 ans après ces premières découvertes, on ne sait toujours pas avec exactitude le lien qu'il existe entre ces deux lésions, on sait cependant qu'elles sont toujours présentes ensemble. De nombreuses équipes de recherches travaillent encore aujourd'hui à une meilleure compréhension de la physiopathologie de la MA, cela a d'ailleurs déjà permis de mettre en évidence plus d'une vingtaine de cibles potentielles.

Cette maladie se caractérise par 4 grands types de symptômes :

- Amnésie : troubles de la mémoire, avec une perte totale ou partielle des processus de mémorisation de l'information
- Aphasie : troubles du langage et de sa compréhension écrite ou orale
- Agnosie : troubles de la reconnaissance des objets ou des personnes
- Apraxie : troubles de la réalisation des gestes

A tout cela vont s'ajouter des troubles de la fonction exécutive, de l'orientation spatiale, temporelle et du comportement. Il n'est pas rare d'observer une certaine agitation ou même une agressivité chez les patients atteints qui sont plutôt la conséquence logique des différents troubles décrits précédemment.

Elle est responsable de 50 à 80% des démences dans le monde.<sup>114</sup> Une démence se définit comme un syndrome comprenant un trouble résultant d'une perte des capacités cognitives (mémoire, attention, langage, raisonnement) s'aggravant par désorientation spatio-temporelle et délire. En 2015, en France, on estimait à plus de 900 000 le nombre de personnes atteintes par cette maladie et près de 47 millions dans le monde.<sup>115</sup>

## b. Causes moléculaires de la maladie

La maladie d'Alzheimer est une maladie complexe. C'est une maladie qui clive encore la communauté scientifique à l'heure actuelle. De nombreux progrès sont encore à réaliser notamment dans la compréhension moléculaire, environnementale ou génétique de la maladie. Plus de 100 ans

---

<sup>114</sup> Prince, M.; Bryce, R.; Albanese, E.; Wimo, A.; Ribeiro, W.; Ferri, C. P. The Global Prevalence of Dementia: A Systematic Review and Metaanalysis. *Alzheimers Dement.* **2013**, *9* (1), 63-75.

<sup>115</sup> Alzheimer (maladie d') | Inserm - La science pour la santé <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/alzheimer-maladie> (accessed Sep 26, 2019).

après sa découverte, les causes physiopathologiques exactes ne sont toujours pas élucidées. Il existe cependant plusieurs grandes hypothèses autours desquelles les chercheurs se mobilisent.

Il s'agit d'une maladie multifactorielle qui va se développer suite à l'intervention de plusieurs facteurs de risques parmi lesquels on retrouve :

- L'âge : elle va toucher majoritairement les personnes de plus de 60 ans ;<sup>116</sup>
- Les antécédents génétiques tels que ceux développés ci-dessous ;
- Les maladies cardiovasculaires ou métaboliques ;<sup>117,118</sup>
- L'environnement : éducation, stimulation cérébrale, sport.<sup>119,120</sup>

Ces facteurs de risques ont déjà permis l'identification de causes plus profondes de la maladie mais de nombreuses pistes restent inexploitées à l'heure actuelle.

### i. Hypothèse génétique

Bien que principalement sporadique (90% des cas) il existe une forme héréditaire (5 à 8% des cas) de la MA par transmission autosomique dominante.<sup>121</sup> Elle va toucher des personnes bien plus jeunes (45 ans contre 65 ans en moyenne dans une forme non familiale). Elle est principalement due à des mutations sur le gène APP (situé sur le chromosome 21) codant pour la protéine précurseur de l'amyloïde (APP) ainsi que les gènes PSEN1 (chromosome 14) et PSEN2 (chromosome 1), des gènes codant pour des protéines présénilines, qui jouent un rôle dans la régulation de l'APP.<sup>122</sup>

---

<sup>116</sup> Hebert, L. E.; Weuve, J.; Scherr, P. A.; Evans, D. A. Alzheimer Disease in the United States (2010–2050) Estimated Using the 2010 Census. *Neurology* **2013**, *80* (19), 1778–1783.

<sup>117</sup> Rönnekaa, E.; Rönnekaa, E.; Zethelius, B.; Lannfelt, L.; Kilander, L. Vascular Risk Factors and Dementia: 40-Year Follow-Up of a Population-Based Cohort. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* **2011**, *31* (6), 460–466.

<sup>118</sup> Meng, X.-F.; Yu, J.-T.; Wang, H.-F.; Tan, M.-S.; Wang, C.; Tan, C.-C.; Tan, L. Midlife Vascular Risk Factors and the Risk of Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Alzheimers Dis.* **2014**, *42* (4), 1295–1310.

<sup>119</sup> Santos-Lozano, A.; Pareja-Galeano, H.; Sanchis-Gomar, F.; Quindós-Rubial, M.; Fiuza-Luces, C.; Cristi-Montero, C.; Emanuele, E.; Garatachea, N.; Lucia, A. Physical Activity and Alzheimer Disease: A Protective Association. *Mayo Clin. Proc.* **2016**, *91* (8), 999–1020.

<sup>120</sup> Stern, Y. What Is Cognitive Reserve? Theory and Research Application of the Reserve Concept. *J. Int. Neuropsychol. Soc.* **2002**, *8* (3), 448–460.

<sup>121</sup> Bekris, L. M.; Yu, C.-E.; Bird, T. D.; Tsuang, D. W. Review Article: Genetics of Alzheimer Disease. *J. Geriatr. Psychiatry Neurol.* **2010**, *23* (4), 213–227.

<sup>122</sup> Ryan, N. S.; Rossor, M. N. Correlating Familial Alzheimer's Disease Gene Mutations with Clinical Phenotype. *Biomark. Med.* **2010**, *4* (1), 99–112.

## ii. Hypothèse cholinergique

Cette hypothèse repose sur le fait que la MA provoque la dégénérescence des neurones cholinergiques et donc une diminution globale de la neurotransmission cholinergique dans le cortex cérébral. L'acétylcholine (ACh) est un neurotransmetteur impliqué dans les phénomènes de mémorisation et d'apprentissage. Son manque serait donc responsable des principaux symptômes de la maladie, à savoir la détérioration de la fonction cognitive des patients. C'est pour cela que les molécules sur le marché ciblent l'enzyme qui la dégrade.<sup>123,124</sup>

L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme située au niveau synaptique, qui va avoir pour action d'hydrolyser l'ACh en Choline et en acétate. Celle-ci est anormalement élevée chez les patients atteints de la maladie. Dans les conditions physiologiques, l'ACh transmet son message en se fixant à son récepteur et le surplus est hydrolysé en choline et acétate (Figure 22). Chez les patients atteints de la MA, l'ACh va être hydrolysée avant d'atteindre son récepteur et l'influx nerveux ne va donc pas passer expliquant les déficiences cognitives des patients concernés.<sup>125</sup>

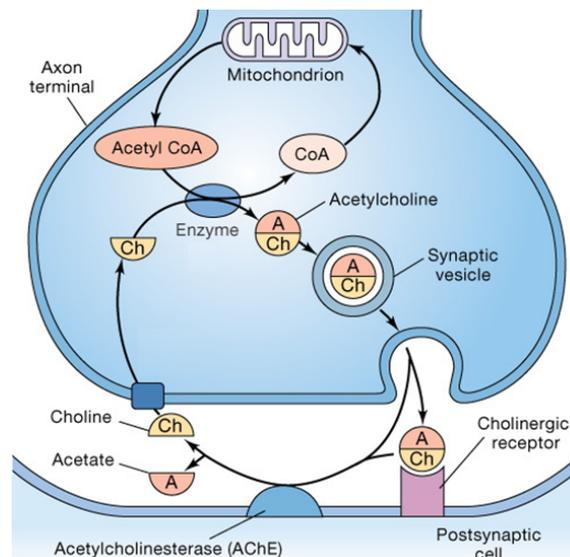


Figure 22 - Cycle de transmission cholinergique et d'hydrolyse de l'ACh<sup>126</sup>

<sup>123</sup> 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**, *444*, 332–358.

<sup>124</sup> H. Ferreira-Vieira, T.; M. Guimaraes, I.; R. Silva, F.; M. Ribeiro, F. Alzheimer's Disease: Targeting the Cholinergic System. *Curr. Neuropharmacol.* **2016**, *14* (1), 101–115

<sup>125</sup> Muir, J. L. Acetylcholine, Aging, and Alzheimer's Disease. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **1997**, *56* (4), 687–696.

<sup>126</sup> What is the role of acetylcholinesterase at a synapse? | Socratic <https://socratic.org/questions/what-is-the-role-of-acetylcholinesterase-at-a-synapse-1> (accessed Apr 9, 2020).

### iii. Hypothèse amyloïde

Comme indiqué dans l'introduction de cette partie, Alois Alzheimer décrit 2 types de lésions, les plaques amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires. D'après cette hypothèse la maladie aurait pour cause l'accumulation anormale de peptides  $\beta$  amyloïdes (ou  $A\beta$ ) sous forme de plaques séniles. Ces peptides  $A\beta$  sont formés lors de la métabolisation de la protéine précurseur de l'amyloïde (communément appelée APP). Il existe un équilibre dans la métabolisation de cet APP mettant en jeu deux voies principales possibles (Figure 23) :

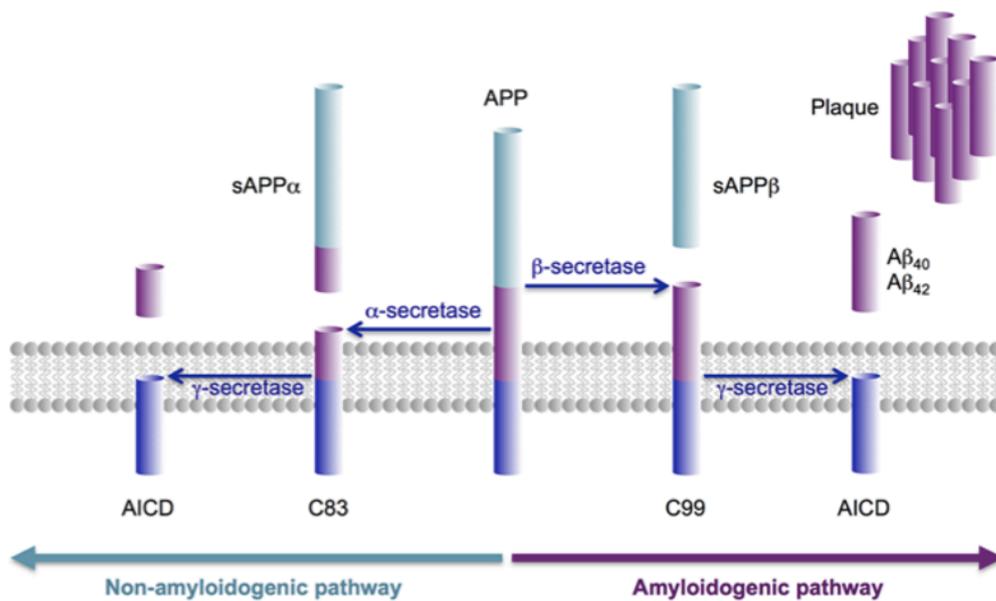


Figure 23 - Différentes voies de métabolisation de l'APP adapté de Claysen *et al.* <sup>127</sup>

- La voie non amyloïdogénique : c'est la voie prépondérante chez les patients jeunes et en bonne santé. Celle-ci clive l'APP par l'activation d'une  $\alpha$ -sécrétase formant ainsi un fragment  $sAPP\alpha$  qui est neurosoluble et neuroprotecteur ;
- La voie amyloïdogénique : est une voie qui apparaît dans les populations plus âgées et chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Elle clive l'APP en faisant intervenir une  $\beta$ -sécrétase puis une  $\gamma$ -sécrétase, ceci aboutissant à la libération de peptides  $A\beta$  qui vont s'agréger sous forme de plaques séniles. La formation de ces plaques va passer par plusieurs intermédiaires distincts. Tout d'abord il y aura la formation d'oligomères (allant jusqu'à 12 unités) organisés en feuillets  $\beta$  grâce à des liaisons de Van der Waal. Ces structures vont

<sup>127</sup> Claeysen, S.; Bockart, J.; Giannoni, P. Serotonin: A New Hope in Alzheimer's Disease? *ACS Chem. Neurosci.* **2015**, *6* (7), 940–943.

ensuite avoir tendance à former des proto-fibrilles, qui, en présence d'autres éléments (métaux, protéines) vont s'agréger sous forme de fibrilles et ainsi former les plaques.<sup>128</sup>

Ces plaques se situent dans le domaine extracellulaire et pourraient être l'une des principales causes de la maladie. En effet, chez les patients atteints de la MA, on observe une surproduction de ces peptides A $\beta$  et donc une suraccumulation des plaques. Ces plaques séniles entraîneraient alors des altérations cellulaires menant à l'apoptose ou la nécrose des neurones ainsi qu'à l'augmentation de stress oxydant.

#### iv. Hypothèse Tau

La seconde lésion observée par Aloïs Alzheimer concerne les dégénérescences neurofibrillaires. Ces lésions intra-neurales seraient causées par l'enchevêtrement de neurofibrilles constituées d'agrégats de protéine Tau (ou tubulin associated unit). Dans les conditions physiologiques, la protéine Tau non phosphorylée vient stabiliser les microtubules formant le « squelette » cellulaire, ce qui favorise le transport axonal et le soutien de la structure dendritique.<sup>129,130</sup>

Chez les patients atteints de la MA, il va exister une hyperphosphorylation de cette protéine Tau conduisant à son agrégation intracellulaire. Dans ce contexte elle ne va donc pas pouvoir jouer son rôle de stabilisation des microtubules. Ceux-ci vont alors se dégrader provoquant l'altération du passage nerveux et conduisant à la dégénérescence des neurones puis finalement à leur mort. On retrouve d'ailleurs ce phénomène dans d'autres tauopathies telles que la trisomie 21 et la maladie de Pick ou encore la maladie de Parkinson suggérant un lien entre plusieurs maladies neurodégénératives.<sup>131,132</sup>

---

<sup>128</sup> Cheng, P.-N.; Liu, C.; Zhao, M.; Eisenberg, D.; Nowick, J. S. Amyloid  $\beta$ -Sheet Mimics That Antagonize Protein Aggregation and Reduce Amyloid Toxicity. *Nat. Chem.* **2012**, *4* (11), 927–933.

<sup>129</sup> 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.

<sup>130</sup> Ballatore, C.; Lee, V. M.-Y.; Trojanowski, J. Q. Tau-Mediated Neurodegeneration in Alzheimer's Disease and Related Disorders. *Nat. Rev. Neurosci.* **2007**, *8* (9), 663–672.

<sup>131</sup> Mazanetz, M. P.; Fischer, P. M. Untangling Tau Hyperphosphorylation in Drug Design for Neurodegenerative Diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2007**, *6* (6), 464–479.

<sup>132</sup> Lee, V. M.-Y.; Goedert, M.; Trojanowski, J. Q. Neurodegenerative Tauopathies. *Annu. Rev. Neurosci.* **2001**, *24* (1), 1121–1159.

Cependant, il est apparu au travers de nouvelles études que les oligomères de Tau seraient responsables de la toxicité et non les nœuds neurofibrillaires comme le laissent présager les hypothèses initiales. En effet les oligomères Tau joueraient un rôle précoce dans la maladie d'Alzheimer en perturbant le transport axonal et en altérant la potentialisation à long terme.<sup>133</sup>

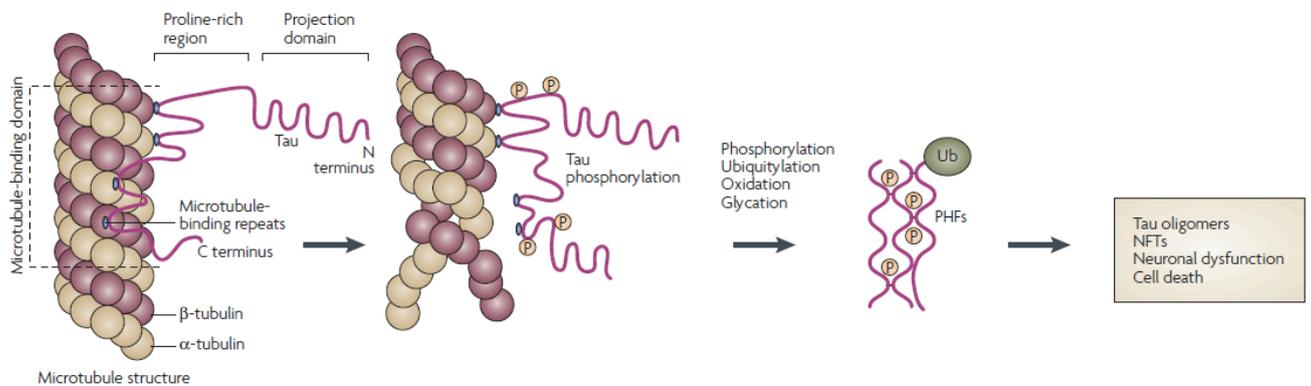


Figure 24- Agrégats intracellulaires dans les Tauopathies, adapté de Mazanet *et al.*<sup>131</sup>

## v. Autres hypothèses

De nombreuses autres pistes sont étudiées afin d'élucider aux mieux les causes de cette pathologie complexe et multifactorielle.

Ces dernières années les chercheurs ont étudié de plus en plus les phénomènes liés à la neuro-inflammation et au stress oxydant. En effet, ces phénomènes semblent être au centre de la pathologie d'Alzheimer en agissant aussi bien sur l'hyperphosphorylation de Tau que sur la formation de plaques séniles et de peptides A $\beta$ .<sup>134,135</sup>

Il existe une mauvaise homéostasie liée aux métaux dans les pathologies neurodégénératives. Un nouveau phénomène de mort cellulaire a, par ailleurs, été décrit en 2012,<sup>136</sup> il s'agit de la ferroptose.

<sup>133</sup> 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.

<sup>134</sup> 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.

<sup>135</sup> Heneka, M. T.; Carson, M. J.; Khoury, J. E.; Landreth, G. E.; Brosseron, F.; *et al.* Neuroinflammation in Alzheimer's Disease. *Lancet Neurol.* **2015**, *14* (4), 388–405.

C'est est une mort cellulaire liée au fer qui pourrait être impliquée dans les dégénérescences de la maladie d'Alzheimer.<sup>137</sup>

L'une des plus récente hypothèse est l'origine bactérienne de la maladie. En effet ces dernières années les chercheurs se sont penchés sur la bactérie *Porphyromonas Gingivalis*, agent responsable de parodontite chronique. Il a été observé la présence de cette bactérie chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer. D'après Dominy *et al.*, la bactérie serait responsable du développement de gingipaïne, une enzyme neurotoxique qui sur modèle animale semble être à l'origine de la production de protéine A $\beta$ . Un inhibiteur de gingipaïne appelé COR388 a d'ailleurs été développé par Cortexyme et est en test clinique chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer.<sup>138-140</sup>

### c. Les traitements actuels

A l'heure actuelle, il existe quatre molécules possédant une autorisation de mise sur le marché dans la maladie d'Alzheimer (Figure 25).

Il s'agit de :

- La mémantine, un antagoniste non compétitif des récepteurs N-Méthyl-D-Aspartate (NMDA)
- Le donépézil, un inhibiteur réversible de l'AChE
- La rivastigmine, un inhibiteur pseudo-réversible de l'AChE et de la butyrylcholinestérase (BuChE)
- La galantamine, un inhibiteur réversible de l'AChE

---

<sup>136</sup> Dixon, S. J.; Lemberg, K. M.; Lamprecht, M. R.; Skouta, R.; Zaitsev, E. M. *et al.* Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of Nonapoptotic Cell Death. *Cell* **2012**, *149* (5), 1060–1072.

<sup>137</sup> Ayton, S.; Bush, A. I. L-8 - Iron and Ferroptosis in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Free Radic. Biol. Med.* **2018**, *120* (8).

<sup>138</sup> Dominy, S. S.; Lynch, C.; Ermini, F.; Benedyk, M.; Marczyk, A.; *et al.* Porphyromonas Gingivalis in Alzheimer's Disease Brains: Evidence for Disease Causation and Treatment with Small-Molecule Inhibitors. *Sci. Adv.* **2019**, *5* (1), 3333.

<sup>139</sup> Singhrao, S. K.; Olsen, I. Assessing the Role of Porphyromonas Gingivalis in Periodontitis to Determine a Causative Relationship with Alzheimer's Disease. *J. Oral Microbiol.* **2019**, *11* (1), 1563405.

<sup>140</sup> Ilievski, V.; Zuchowska, P. K.; Green, S. J.; Toth, P. T.; Ragozzino, M. E.; Le, K.; Aljewari, H. W.; O'Brien-Simpson, N. M.; Reynolds, E. C.; Watanabe, K. Chronic Oral Application of a Periodontal Pathogen Results in Brain Inflammation, Neurodegeneration and Amyloid Beta Production in Wild Type Mice. *PLoS ONE* **2018**, *13* (10).

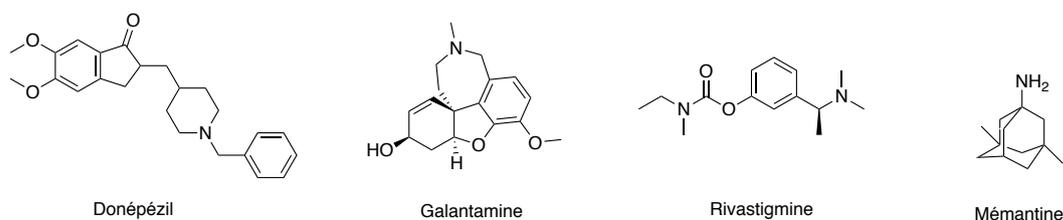


Figure 25 - Composés sur le marché dans le traitement de la maladie d'Alzheimer

Sur ces quatre molécules, trois ciblent l'ACHé validant ainsi l'hypothèse cholinergique de la maladie. Concernant la mémantine, il apparaît que les patients souffrant de la maladie d'Alzheimer présentent une augmentation du taux de glutamate dans le cerveau, provoquant alors une saturation des récepteurs NMDA qui mène à la mort neuronale.<sup>141</sup> La mémantine va permettre de réguler l'homéostasie du système glutamatergique en agissant en tant qu'antagoniste voltage-dépendant non compétitif.<sup>142</sup> Ce sont des traitements purement symptomatiques dont l'efficacité a été jugée modeste par rapport aux risques selon un rapport de la HAS publié en 2016.<sup>143</sup> Suite à de nombreux débats, ces molécules furent finalement déremboursées en France en 2018.<sup>144</sup>

En l'absence de traitement efficace ou curatif, la maladie d'Alzheimer reste l'une des maladies les plus étudiées au monde, aussi bien au travers des découvertes sur les causes biologiques que sur les découvertes de nouveaux traitements agissant sur de nouvelles cibles. Le besoin médical autour de la maladie est donc très important.

#### d. Les composés en essais clinique.

De par sa complexité physiopathologique, la maladie d'Alzheimer représente un véritable challenge. Pourtant de nombreux essais cliniques sont réalisés chaque année pour trouver de nouvelles thérapeutiques adaptées. Cummings *et al.*, dans sa revue annuelle des essais cliniques en

<sup>141</sup> Cacabelos, R.; Takeda, M.; Winblad, B. The Glutamatergic System and Neurodegeneration in Dementia: Preventive Strategies in Alzheimer's Disease. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **1999**, *14* (1), 3–47.

<sup>142</sup> Parsons, C. G.; Stöffler, A.; Danysz, W. Memantine: A NMDA Receptor Antagonist That Improves Memory by Restoration of Homeostasis in the Glutamatergic System - Too Little Activation Is Bad, Too Much Is Even Worse. *Neuropharmacology* **2007**, *53* (6), 699–723.

<sup>143</sup> Médicaments de la maladie d'Alzheimer : un intérêt médical insuffisant pour justifier leur prise en charge par la solidarité nationale. [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_2679466/fr/medicaments-de-la-maladie-d-alzheimer-un-interet-medical-insuffisant-pour-justifier-leur-prise-en-charge-par-la-solidarite-nationale](https://www.has-sante.fr/jcms/c_2679466/fr/medicaments-de-la-maladie-d-alzheimer-un-interet-medical-insuffisant-pour-justifier-leur-prise-en-charge-par-la-solidarite-nationale) (accessed Apr 9, 2020).

<sup>144</sup> Arrêté du 29 mai 2018 portant radiation de spécialités pharmaceutiques de la liste mentionnée au premier alinéa de l'article L. 162-17 du code de la sécurité sociale | Legifrance. <https://www.legifrance.gouv.fr/eli/arrete/2018/5/29/SSAS1804466A/jo/texte> (accessed Apr 9, 2020).

cours dans la maladie, a présenté 132 molécules dans 156 études à la date du 19 février 2019 ainsi représentées dans la Figure 26.<sup>145</sup>

### 2019 Alzheimer's Drug Development Pipeline

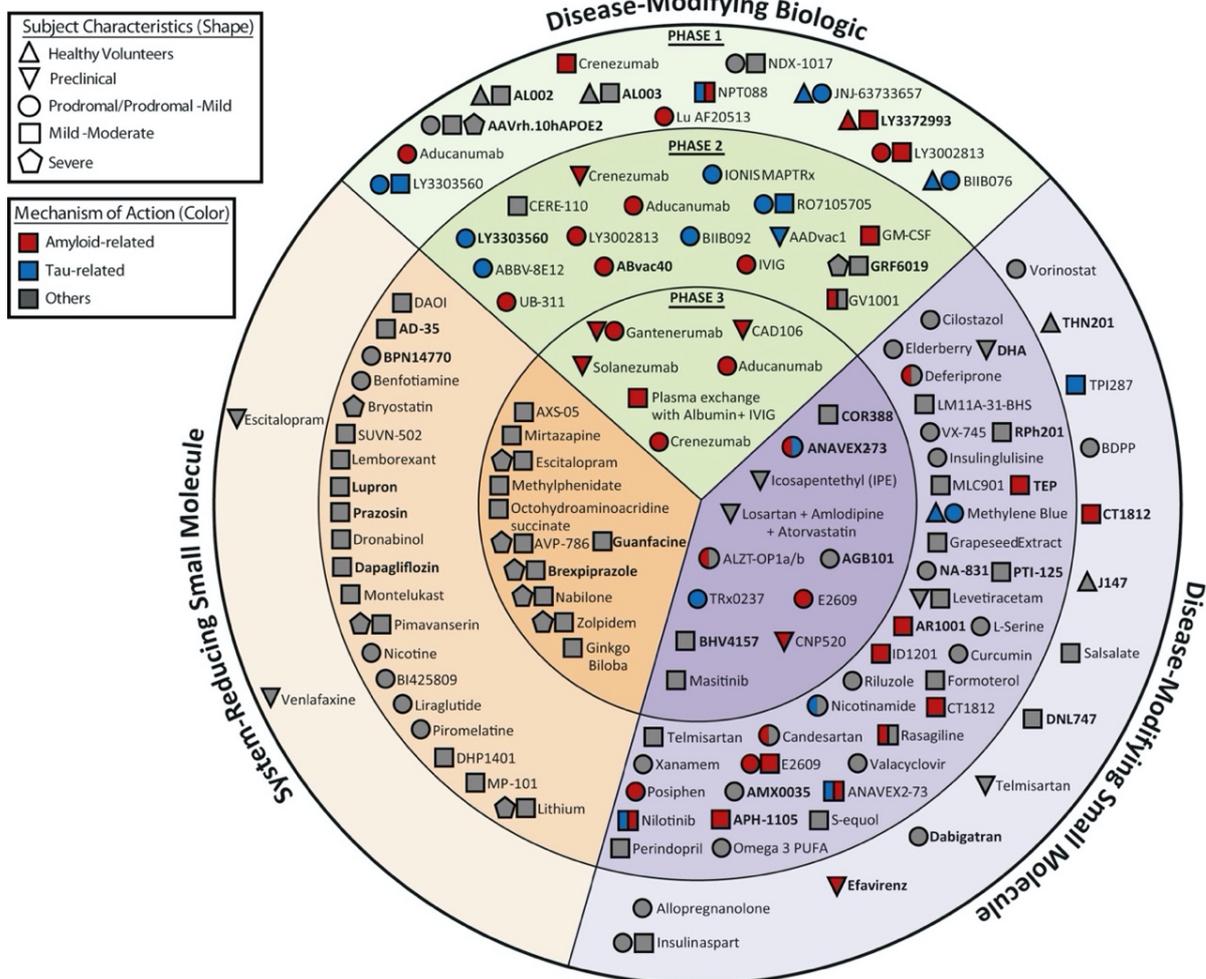


Figure 26 - Composés en essais cliniques à la date du 12 février 2019 par Cummings *et al.* <sup>145</sup>

On va retrouver 2 grandes stratégies de molécules dans ces essais cliniques :

- Les molécules « disease modifying » qui vont agir sur les causes moléculaires de la maladie pour empêcher son évolution. On peut sous-diviser cette catégorie en deux entre les « biologics » et les petites molécules organiques.
- Les molécules « system-reducing » qui vont chercher à traiter les symptômes de la maladie, c'est dans cette catégorie que l'on retrouvera de nombreuses molécules en repositionnement.

<sup>145</sup> Cummings, J.; Lee, G.; Ritter, A.; Sabbagh, M.; Zhong, K. Alzheimer's Disease Drug Development Pipeline: 2019. *Alzheimers Dement. Transl. Res. Clin. Interv.* **2019**, *5*, 272–293.

La majorité des molécules en essais cliniques fonctionnent selon 3 grands mécanismes d'action :

- L'élimination des agrégats de peptides A $\beta$  : par des immunothérapies visant directement les fragments A $\beta$  grâce à des anticorps monoclonaux ou par immunisation active ou passive via des vaccins ;
- La limitation de formation de plaques séniles et de peptides A $\beta$  : par des inhibiteurs de sécrétases permettant de contrer la formation de peptides amyloïdogéniques.
- Le blocage de l'hyperphosphorylation de Tau, de son agrégation ou l'activation de sa dégradation

Sur ces molécules, seulement 28 étaient en phase 3 à cette date. Notamment, l'aducanumab, un anticorps monoclonal ciblant les peptides A $\beta$ , a notamment fait parler de lui dans les médias publics cette année.<sup>146</sup> D'abord arrêté par faute de réponse aux différents critères énoncés en mars 2019, Biogen relança une procédure afin de relancer des études de phase 3 en octobre 2019 auprès de la FDA. En effet, après une nouvelle analyse des données, celles-ci auraient montré un effet notable sur la réduction des plaques sur le groupe de patients recevant la dose la plus élevée. Si cette nouvelle étude s'avère efficace cela pourrait être le premier succès d'une thérapie ciblant les plaques séniles et donc les peptides  $\beta$  amyloïdes, validant alors l'hypothèse amyloïdogénique de la maladie.<sup>147,148</sup>

On peut également noter la présence d'un macrocycle dans ces molécules en essais cliniques : la bryostatine. Cette lactone macrocyclique est un inhibiteur de PKC. Cette PKC a été étudié pour son intérêt dans la maladie d'Alzheimer mais également en tant qu'anticancéreux et antiviral contre le VIH. Bien que prometteur sur les

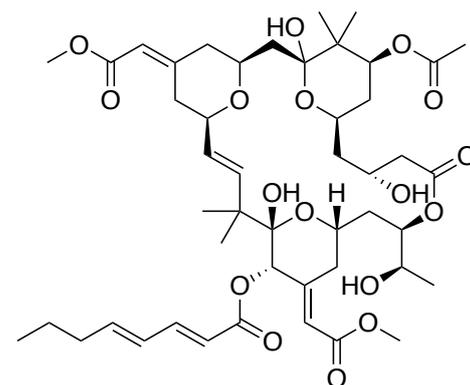


Figure 27 - structure de la bryostatine

---

<sup>146</sup> Sevigny, J.; Chiao, P.; Bussière, T.; Weinreb, P. H.; Williams, L.; et al. The Antibody Aducanumab Reduces A $\beta$  Plaques in Alzheimer's Disease. *Nature* **2016**, *537* (7618), 50–56.

<sup>147</sup> Aducanumab : l'espoir renaît pour les patients Alzheimer. *Fondation Vaincre Alzheimer*, 2019.

<sup>148</sup> Kunkle, F. Biogen's potential new drug for Alzheimer's disease gets cautiously optimistic review following presentation <https://www.washingtonpost.com/dc-md-va/2019/12/05/biogens-potential-new-drug-alzheimers-disease-gets-cautiously-optimistic-review-following-presentation/> (accessed Apr 9, 2020).

modèles animaux de la maladie, l'essai clinique a cependant été arrêté en septembre 2019 par manque d'efficacité.<sup>149-151</sup>

## 2) Les macrocycles en développement dans la maladie d'Alzheimer

Les macrocycles dans la maladie d'Alzheimer sont des structures sous-développées, le seul macrocycle en essai clinique a d'ailleurs été abandonné en septembre 2019 comme mentionné ci-dessus. Cependant de nombreuses équipes travaillent actuellement au développement de nouvelles structures innovantes principalement en tant qu'inhibiteur de  $\beta$  sécrétase (BACE-1).

### a. Cahier des charges des composés en développement pour la maladie d'Alzheimer

#### i. Biodisponibilité orale

Comme mentionné dans le Chapitre 1, la biodisponibilité orale des composés macrocycliques est un élément qui doit être pris en compte dans la conception de la molécule. Bien que d'apparence non « drugable » ces molécules peuvent s'avérer oralement biodisponibles et passer les différentes membranes biologiques afin d'arriver dans la circulation et les tissus cibles.

#### ii. Passage de la BHE

Les cibles thérapeutiques de la maladie d'Alzheimer étant principalement situées dans le système nerveux central et particulièrement au niveau neuronal, l'un des challenges le plus important des chercheurs va être de concevoir des composés pouvant traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE). Il a déjà été évoquée dans le chapitre 1 l'impact des différentes propriétés physicochimiques d'un composé macrocyclique sur l'absorption et l'administration par voie orale notamment.

---

<sup>149</sup> Schrott, L.; Jackson, K.; Yi, P.; Dietz, F.; Johnson, G.; Basting, T.; Purdum, G.; Tyler, T.; Rios, J.; Castor, T. Acute Oral Bryostatin-1 Administration Improves Learning Deficits in the APP/PS1 Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Curr. Alzheimer Res.* **2015**, *12* (1), 22–31.

<sup>150</sup> Nelson, T. J.; Sun, M.-K.; Lim, C.; Sen, A.; Khan, T.; Chirila, F. V.; Alkon, D. L. Bryostatin Effects on Cognitive Function and PKC $\epsilon$  in Alzheimer's Disease Phase IIa and Expanded Access Trials. *J. Alzheimers Dis.* **2017**, *58* (2), 521–535.

<sup>151</sup> Neurotrope | Neurotrope Announces Top-Line Results From Confirmatory Phase 2 Study of Bryostatin-1 in Moderate to Severe Alzheimer's Disease.

Pour passer dans le système nerveux central et notamment la BHE un composé doit avoir des propriétés plutôt strictes.<sup>152</sup> En 2012, Ghose *et al.* après analyse des composés biodisponibles par voie orale SNC ou non SNC ont permis de mettre en évidence certaines propriétés permettant d'obtenir de bons composés pour le SNC:

- Une surface polaire (PSA) <76 Å<sup>2</sup> (préférentiellement 25–60 Å<sup>2</sup>);
- Au moins un ou deux azotes (dont préférentiellement une amine aliphatique) ;
- Moins de sept chaînes linéaires (deux à quatre préférentiellement) en dehors des cycles ;
- Moins de trois atomes accepteurs ou donneurs de liaisons hydrogène ;
- Volume totale de 740–970 Å<sup>3</sup>;
- Surface accessible au solvant de 460–580 Å<sup>2</sup> ;
- Et des paramètres SNC QikProp (logiciel de calculs de paramètres pharmacocinétique) positifs

La violation d'une de ces règles peut cependant être envisagée. Cela laisse cependant peu de marge de manœuvre pour les macrocycles.<sup>153</sup>

Les pompes d'efflux P-glycoprotéine (ou P-gp) sont des transporteur ATP-dépendant transmembranaire. Ils permettent d'éviter l'excès de molécules exogènes au niveau cérébral. Lors du développement d'une molécule ciblant le SNC, il est alors très important d'éviter l'efflux par ce transporteur, d'autant que la concentration plasmatique de la molécule atteint rarement le seuil de saturation des pompes P-gp au niveau de la B.H.E.<sup>154,155</sup> Comme le montre la Figure 28, la molécule exogène (en magenta) va passer la bicouche lipidique afin d'entrer dans le compartiment intracellulaire souhaité. Une fois le feuillet interne de cette bicouche atteint, la molécule va alors être piégée dans la poche liant les molécules (en cyan) de la P-gp. L'ATP (en jaune) va alors se lier à ses sites de liaison induisant un changement de conformation qui permettra le relargage de la molécule exogène dans le compartiment extracellulaire uniquement.<sup>154</sup>

---

<sup>152</sup>. Hitchcock, S. A.; Pennington, L. D. Structure–Brain Exposure Relationships. *J. Med. Chem.* **2006**, *49* (26), 7559–7583.

<sup>153</sup> Ghose, A. K.; Herbertz, T.; Hudkins, R. L.; Dorsey, B. D.; Mallamo, J. P. Knowledge-Based, Central Nervous System (CNS) Lead Selection and Lead Optimization for CNS Drug Discovery. *ACS Chem. Neurosci.* **2012**, *3* (1), 50–68.

<sup>154</sup> Hitchcock, S. A. Structural Modifications That Alter the P-Glycoprotein Efflux Properties of Compounds. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (11), 4877–4895.

<sup>155</sup> Desai, P. V.; Sawada, G. A.; Watson, I. A.; Raub, T. J. Integration of in Silico and in Vitro Tools for Scaffold Optimization during Drug Discovery: Predicting P-Glycoprotein Efflux. *Mol. Pharm.* **2013**, *10* (4), 1249–1261.

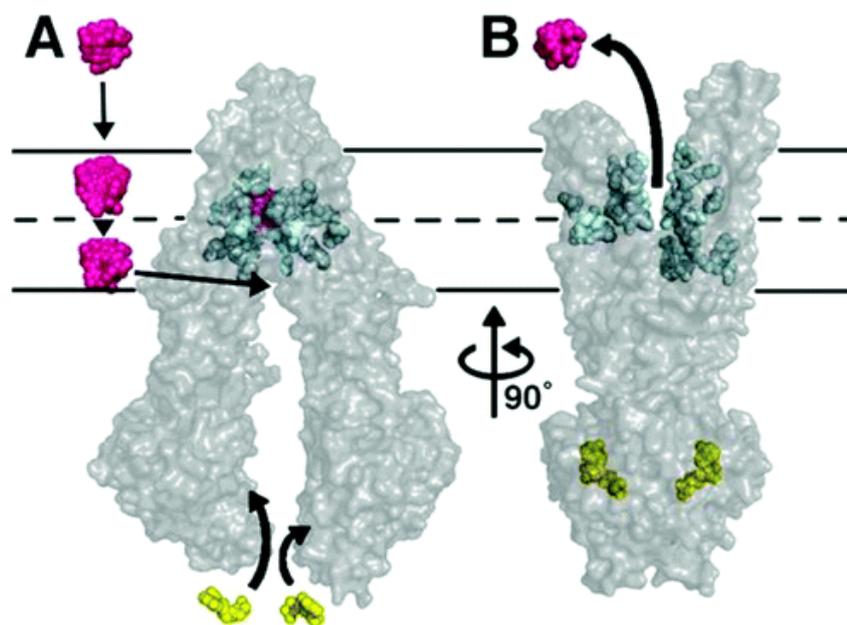


Figure 28- Modélisation de l'efflux d'une molécule (magenta) par la P-gp par Hitchcock *et al.* <sup>154</sup>

La capacité d'un composé à être substrat de cette P-gp est donc un critère à prendre en compte, bien que celles-ci aient un impact limité sur l'absorption intestinale, le fait de concevoir des macrocycles ou des molécules bRo5 pour le SNC demandera plus d'effort que la conception de petites molécules organiques. L'efflux par P-gp a été largement étudié, ce qui nous permet alors d'avoir des pistes nous permettant de contrer cet effet. Différentes stratégies existent, telles que limiter le poids moléculaire, limiter les liaisons donneuses ou accepteuses de liaisons hydrogène, ou encore diminuer la surface polaire. Cependant on ne peut appliquer ce type d'approche à tous les composés car cela pourrait se traduire par une perte d'activité envers la cible.

Une autre stratégie consiste donc à administrer en même temps un « pharmacoenhancer » comme le ritonavir ou le cobicistat.<sup>156</sup> En inhibant les CYP3A4 et l'efflux médié par la P-gp, cela permet d'améliorer la biodisponibilité de certains anti HIV par exemple. Ceci est à nuancer par le fait que la saturation et l'inhibition de ces transporteurs et du métabolisme peuvent avoir des effets délétères pour le patient en provoquant des complications de type interactions iatrogéniques.

---

<sup>156</sup> Xu, L.; Liu, H.; Murray, B. P.; Callebaut, C.; Lee, M. S.; *et al.* Cobicistat (GS-9350): A Potent and Selective Inhibitor of Human CYP3A as a Novel Pharmacoenhancer. *ACS Med. Chem. Lett.* **2010**, *1* (5), 209–213.

Globalement les molécules passant la BHE pour atteindre le SNC doivent avoir une surface polaire limitée, et être plutôt lipophiles. Concevoir des macrocycles capables de passer la barrière s'avère donc un véritable challenge. Ceci n'est pas pour autant impossible.

Le lorlatinib est un inhibiteur d'ALK (kinase du lymphome anaplasique) et de ROS1 (récepteur tyrosine kinase proto oncogène ROS), deux enzymes impliquées dans le développement de cancers et notamment de carcinome pulmonaire non à petite cellules.<sup>157,158</sup> L'un des problèmes rencontrés chez ce type de cancer est la présence de métastases chimio-résistantes dans le cerveau, c'est pourquoi les propriétés de passage de la BHE ont été largement étudiées dans la conception de ce composé (Figure 29).<sup>159</sup> Il a été obtenu en optimisant le crizotinib, un inhibiteur d'ALK de première génération afin d'améliorer sa stabilité métabolique et son efflux par les P-gp. Son passage dans le SNC et particulièrement le cerveau, a été confirmé par imagerie TEP (Tomographie par émission de proton).

160

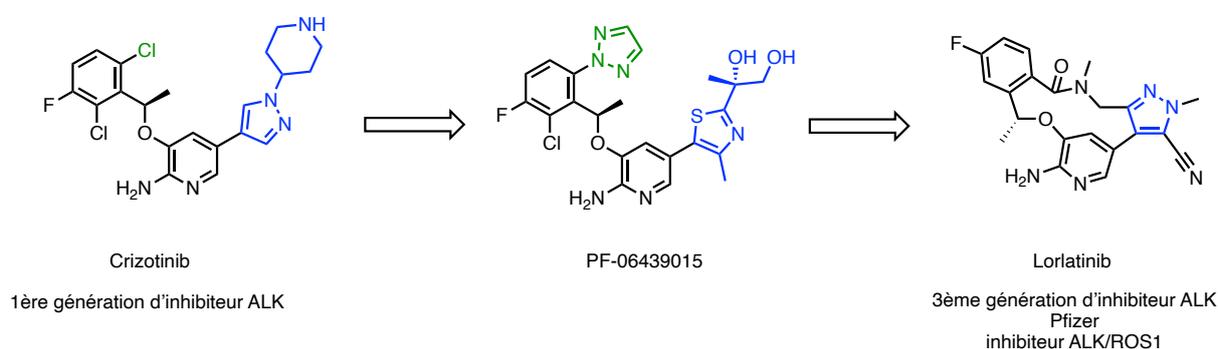


Figure 29- Représentation schématique du passage de crizotinib au lorlatinib.<sup>157</sup>

Une récente étude semble montrer que le lorlatinib traverse la BHE grâce à des mécanismes sous-jacents permettant de réduire le nombre de jonctions serrées au niveau de cette barrière et ainsi passer plus facilement. Cette molécule aurait alors un rôle protecteur sans pour autant interagir

<sup>157</sup> Johnson, T. W.; Richardson, P. F.; Bailey, S.; Brooun, A.; Burke, B. J.; *et al.* Discovery of (10R)-7-Amino-12-Fluoro-2,10,16-Trimethyl-15-Oxo-10,15,16,17-Tetrahydro-2H-8,4-(Metheno)Pyrazolo[4,3-h][2,5,11]-Benzoxadiazacyclotetradecine-3-Carbonitrile (PF-06463922), a Macrocylic Inhibitor of Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) and c-Ros Oncogene 1 (ROS1) with Preclinical Brain Exposure and Broad-Spectrum Potency against ALK-Resistant Mutations. *J. Med. Chem.* **2014**, *57* (11), 4720–4744.

<sup>158</sup> Li, W.; Sparidans, R. W.; Wang, Y.; Lebre, M. C.; Wagenaar, E.; Beijnen, J. H.; Schinkel, A. H. P-Glycoprotein (MDR1/ABCB1) Restricts Brain Accumulation and Cytochrome P450-3A (CYP3A) Limits Oral Availability of the Novel ALK/ROS1 Inhibitor Lorlatinib. *Int. J. Cancer* **2018**, *143* (8), 2029–2038.

<sup>159</sup> Collier, T. L.; Maresca, K. P.; Normandin, M. D.; Richardson, P.; McCarthy, T. J.; Liang, S. H.; Waterhouse, R. N.; Vasdev, N. Brain Penetration of the ROS1/ALK Inhibitor Lorlatinib Confirmed by PET. *Mol. Imaging* **2017**, *16*, 1536012117736669.

<sup>160</sup> Chen, W.; Jin, D.; Shi, Y.; Zhang, Y.; Zhou, H.; Li, G. The Underlying Mechanisms of Lorlatinib Penetration across the Blood-Brain Barrier and the Distribution Characteristics of Lorlatinib in the Brain. *Cancer Med.* **2020**, *9* (12), 4350–4359.

directement avec les P-gp dans le cerveau, cela limiterait donc les phénomènes de résistances que la BHE peut mettre en place contre une substance telle l'augmentation de l'expression des P-gp.<sup>161</sup>

## b. Les macrocycles développés dans la MA

### i. Les inhibiteurs de BACE-1

Comme décrit précédemment, les plaques amyloïdes sont formées d'agrégats de peptides A $\beta$ . Les chercheurs ont donc essayé de trouver un moyen d'éviter la formation de ce peptide A $\beta$  afin de bloquer la cascade amyloïde pouvant être à l'origine de la maladie d'Alzheimer elle-même. Bien qu'à ce jour il n'existe aucune molécule sur le marché agissant sur cette cause moléculaire, la réitération de la phase 3 de l'adacumumab ouvre un espoir quant à l'efficacité des thérapies ciblant le peptide A $\beta$ .

L'une des cibles les plus étudiées afin de bloquer de cette voie amyloïde est BACE-1 (ou memapsin-2). BACE-1 est la première et la principale  $\beta$ -sécrétase au niveau neuronal, le fait de l'inhiber pourrait donc théoriquement limiter la production de fragment A $\beta_{1-40}$  et A $\beta_{1-42}$  qui sont les fragments les plus neurotoxiques issus de l'action de cette sécrétase sur l'APP.<sup>162</sup> La découverte des inhibiteurs macrocycliques de BACE-1 a d'ailleurs fait l'objet de plusieurs paragraphes dans de très bonnes revues sur les macrocycles ou sur les inhibiteurs BACE-1.<sup>20,47,162</sup>

Cette enzyme étant une sécrétase, il n'est pas étonnant que les études aient commencé par le développement d'inhibiteurs peptidomimétiques. Cela a d'ailleurs permis une meilleure connaissance de l'enzyme, sa structure fut d'ailleurs publiée dans Science par Hong *et al.* en 2000.<sup>163</sup>

---

<sup>161</sup> Basit, S.; Ashraf, Z.; Lee, K.; Latif, M. First Macrocyclic 3rd-Generation ALK Inhibitor for Treatment of ALK/ROS1 Cancer: Clinical and Designing Strategy Update of Lorlatinib. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *134*, 348–356.

<sup>162</sup> Ghosh, A. K.; Osswald, H. L. BACE1 ( $\beta$ -Secretase) Inhibitors for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43* (19), 6765–6813.

<sup>163</sup> Hong, L.; Koelsch, G.; Lin, X.; Wu, S.; Terzyan, S.; Ghosh, A. K.; Zhang, X. C.; Tang, J. Structure of the Protease Domain of Memapsin 2 ( $\beta$ -Secretase) Complexed with Inhibitor. *Science* **2000**, *290* (5489), 150–153.

## 1. Les inhibiteurs semi-peptidiques

La proximité de certaines poches de BACE-1 a été révélée grâce à la co-cristallisation de l'enzyme avec plusieurs inhibiteurs linéaires dont OM99-2 (Figure 31), notamment les poches P3-P1, P1-N2 et P3-P1 qui semblent former ensemble une large poche hydrophobe. C'est grâce à ces premières observations que Rojo *et al.*<sup>164</sup> ont alors pu développer les premiers inhibiteurs macrocycliques de BACE-1 dès 2006 à partir d'un premier inhibiteur peptidomimétique issu de précédentes recherches (Figure 30).

Une première cyclisation entre P3-P1 a alors permis l'obtention d'un macrocycle à 13 membres. Malheureusement cela s'est soldé par une perte d'activité aussi bien enzymatique que cellulaire. La cyclisation entre P1-N2 en revanche a permis de préserver l'activité enzymatique et a même amélioré l'activité cellulaire grâce à la formation d'un cycle à 10 membres malgré la perte d'une interaction de type  $\pi$ - $\pi$  entre P1 et l'enzyme. Ils ont donc émis l'hypothèse que le manque d'interactions majeures dans la cavité P1 était compensé par la pré-organisation qu'imposait la cyclisation. La formation de ce petit cycle permettant de masquer le lien amide, a également permis d'améliorer la perméabilité cellulaire du composé afin d'obtenir une meilleure activité de celui-ci dans la cellule.<sup>164</sup>

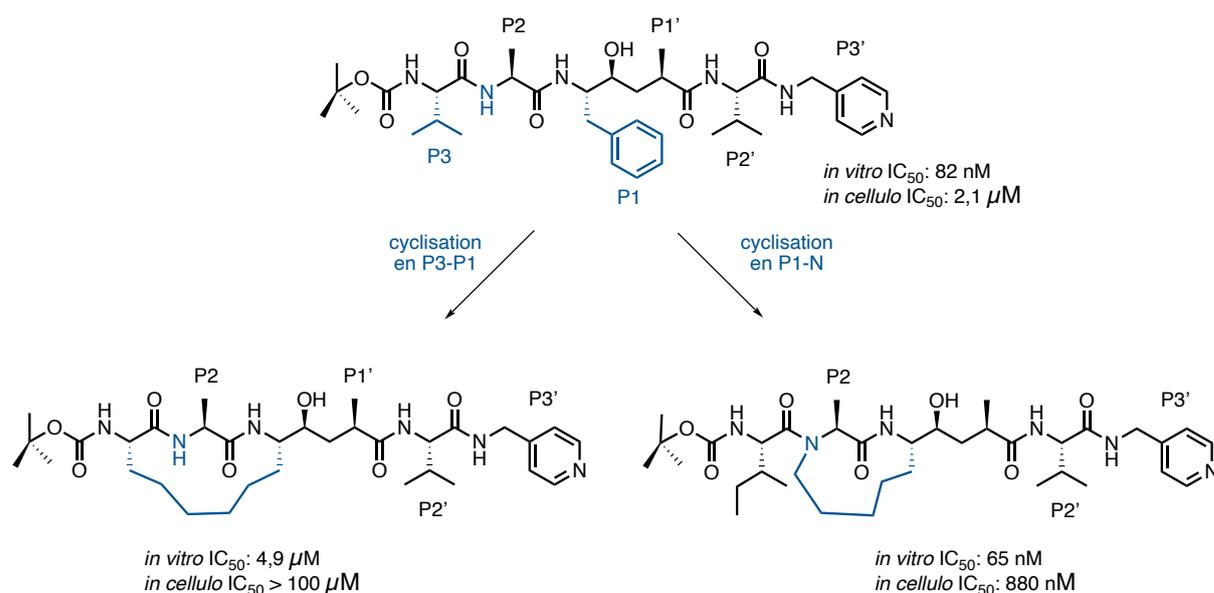


Figure 30- Premiers macrocycles peptidomimétique inhibiteur de BACE-1.

<sup>164</sup> Rojo, I.; Martín, J. A.; Broughton, H.; Timm, D.; Erickson, J.; Yang, H.-C.; McCarthy, J. R. Macrocylic Peptidomimetic Inhibitors of  $\beta$ -Secretase (BACE): First X-Ray Structure of a Macrocylic Peptidomimetic-BACE Complex. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16* (1), 191–195.

Le composé **5** est inspiré directement de OM99-2, il a également été optimisé afin d'améliorer sa perméabilité cellulaire (Figure 31). En co-crystalisant celui-ci avec l'enzyme, il est apparu qu'il n'y avait que 3.8 Å de distances entre les chaînes P3-P1 dans une zone relativement « vide » de la protéine ce qui permettrait une stratégie de macrocyclisation entre ces deux résidus. Une première génération d'analogues a permis l'obtention de composés macrocycliques de 15 à 16 membres ayant une activité enzymatique et cellulaire modeste. Concernant la sélectivité, ce composé s'est cependant montré sélectif envers BACE-1 en comparaison à la cathepsine D (une protéase aspartique structurellement proche des BACE).<sup>165–167</sup>

Afin d'améliorer la perméabilité cellulaire, le caractère peptidique de ces composés a alors été réduit et un groupement basique a été ajouté. L'optimisation a permis l'obtention de macrocycles à 16 membres possédant une IC<sub>50</sub> à 22 nM *in vivo* et 45 nM *in cellulo*, montrant alors une nette amélioration de la perméabilité cellulaire tout en gardant une sélectivité contre la cathepsine D. Bien que réduisant les fragments Aβ<sub>40</sub> dans le cerveau après injection par IV (intraveineuse) chez un modèle murin de la MA, le composé **6** étant substrat de la P-gp, les tests de passage de la BHE se sont cependant avérés peu concluants.<sup>167</sup>

Une nouvelle optimisation a été réalisée afin d'améliorer les propriétés pharmacocinétiques ce qui permet d'obtenir le composé **7**. Celui-ci a réussi à maintenir une activité *in vivo* sur un modèle murin et *in cellulo* avec des K<sub>i</sub> de l'ordre du nM tout en ayant une amélioration de la perméabilité après prise orale. Ils ont observé au niveau cérébral, une réduction des fragments Aβ<sub>40</sub> de 66% après absorption orale (60 μmol par kg) des composés dans un modèle murin de la MA. Cependant dû à un manque de sélectivité contre la cathépsine D (IC<sub>50</sub> de 3 nM envers celle-ci dû à l'ajout du groupement isopropyl) le développement de ce composé et de ses dérivés a été abandonné.<sup>168</sup>

---

<sup>165</sup> Hanessian, S.; Yang, G.; Rondeau, J.-M.; Neumann, U.; Betschart, C.; Tintelnot-Blomley, M. Structure-Based Design and Synthesis of Macrocyclic Peptidomimetic Inhibitors of the Aspartic Protease β-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme (BACE). *J. Med. Chem.* **2006**, *49* (15), 4544–4567.

<sup>166</sup> Machauer, R.; Laumen, K.; Veenstra, S.; Rondeau, J.-M.; Tintelnot-Blomley, *et al.* Macrocyclic Peptidomimetic β-Secretase (BACE-1) Inhibitors with Activity in Vivo. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19* (5), 1366–1370.

<sup>167</sup> Machauer, R.; Veenstra, S.; Rondeau, J.-M.; Tintelnot-Blomley, M.; Betschart, C.; Neumann, U.; Paganetti, P. Structure-Based Design and Synthesis of Macrocyclic Peptidomimetic β-Secretase (BACE-1) Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19* (5), 1361–1365.

<sup>168</sup> Lerchner, A.; Machauer, R.; Betschart, C.; Veenstra, S.; Rueeger, H.; McCarthy, C.; Tintelnot-Blomley, M.; Jatton, A.-L.; Rabe, S.; Desrayaud, S.; Enz, A.; Staufienbiel, M.; Paganetti, P.; Rondeau, J.-M.; Neumann, U. Macrocyclic BACE-1 Inhibitors Acutely Reduce Aβ in Brain after Po Application. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20* (2), 603–607.

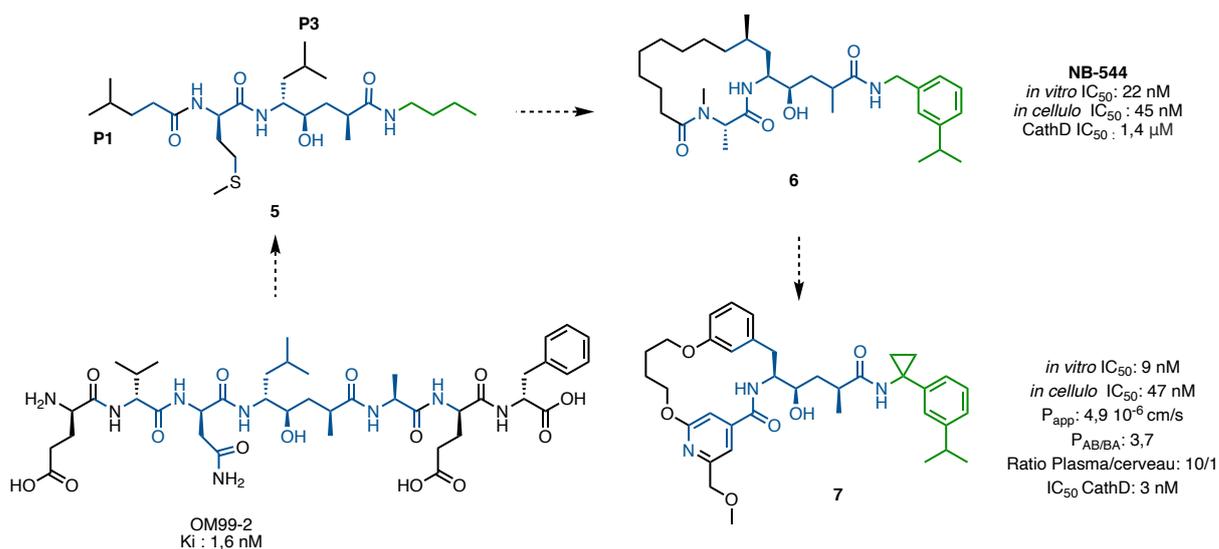


Figure 31- premiers composés dérivés du peptidomimétique OM99-2

Ghosh et al. qui avaient découvert le OM99-2 ont également poussé leurs recherches afin d'obtenir un premier macrocycle intéressant **8**. La macrocyclisation a permis d'améliorer la perméabilité cellulaire (en divisant l'IC<sub>50</sub> du composé de référence par 12) et donc d'améliorer l'activité cellule bien que cela ait provoqué une légère perte d'activité sur l'enzyme elle-même en passant d'un Ki de 1,6 nM pour OM99-2 à un Ki de 25,1 nM pour ce composé **8**. Les interactions ont été étudiées grâce à la co-cristallisation de celui-ci avec BACE-1, les auteurs ont observés des interactions entre l'hydroxyéthylène et Asp32 ainsi que Asp228. Les sites S1 et S10 sont remplis respectivement par la leucine en P1 et l'alanine en P10. L'amide et le motif asparagine quant à eux vont réaliser une liaison hydrogène avec l'Arg235, permettant à l'urethane de remplir la cavité hydrophobe. (Figure 32) A la suite de ces premiers résultats encourageants des analogues non peptidomimétiques ont été envisagés.<sup>169</sup>

<sup>169</sup> Ghosh, A. K.; Devasamudram, T.; Hong, L.; DeZutter, C.; Xu, X.; Weerasena, V.; Koelsch, G.; Bilcer, G.; Tang, J. Structure-Based Design of Cycloamide-Urethane-Derived Novel Inhibitors of Human Brain Memapsin 2 (β-Secretase). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15* (1), 15–20.

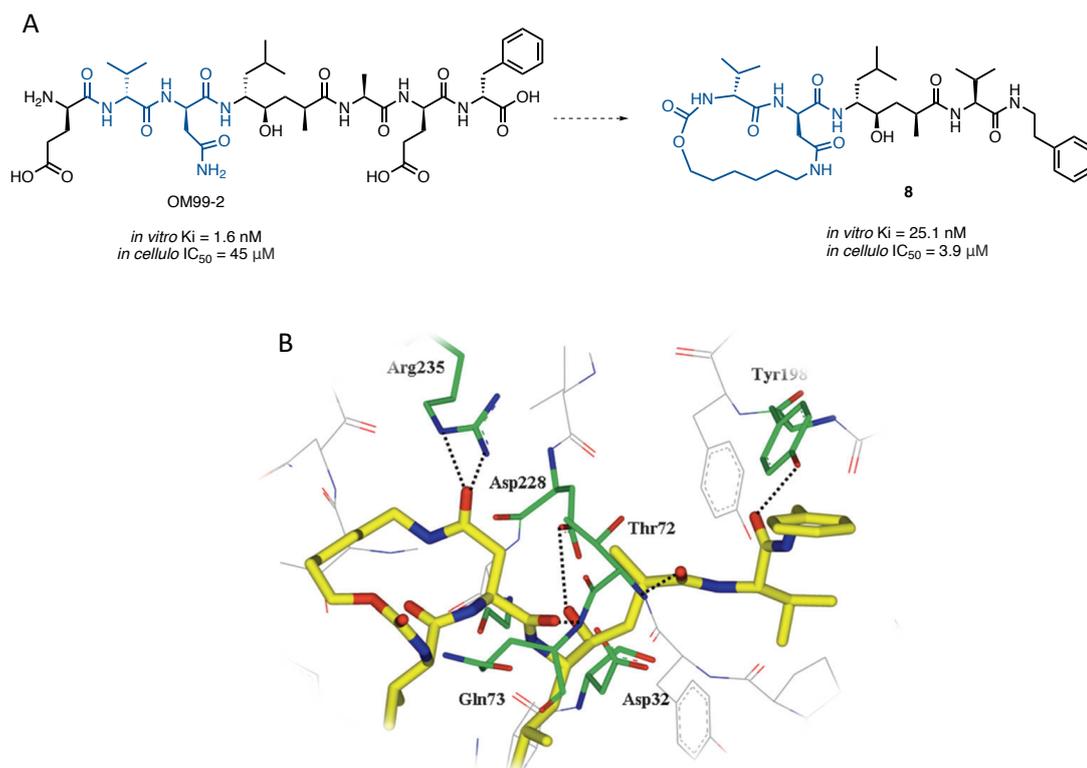


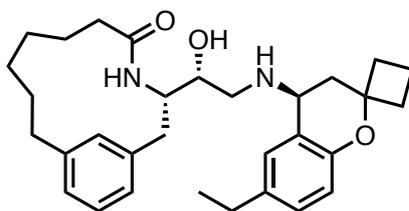
Figure 32- A) Optimisation d'OM99-2 pour obtenir le composé **8** ; B) structure co-cristallographique de **8** avec BACE-1 (PDB: 1XS7).<sup>162</sup>

## 2. Les inhibiteurs « de novo designed »

En dehors des macrocycles peptidiques, la démocratisation des tests de criblage à haut débit a permis d'identifier d'autres inhibiteurs de BACE-1. Le fait de développer des composés non peptidiques a pour but, en théorie, de réduire leur taille et d'améliorer leur stabilité métabolique et leur perméabilité cellulaire (en diminuant l'effet par les P-gp pour passer la BHE).

Amgen a également publié en 2013 une série d'inhibiteurs BACE-1, ils ont réussi à démontrer une amélioration des activités biologiques entre leur macrocycles et des analogues linéaires diéniques terminaux correspondants. Dans ce cas de figure, la macrocyclisation a permis une meilleure puissance, une meilleure sélectivité vis à vis des cathepsine D et une amélioration des activités *in cellulo* (et donc de la perméabilité membranaire). Notamment le composé **9**, présentant une balance parfaite de tous ces paramètres. Ils ont également révélé que les bénéfices de la macrocyclisation peuvent être contrebalancés lorsqu'on commençait à modifier d'autres parties de la molécule, il faut

donc optimiser les molécules dans leur ensemble et ne pas se concentrer uniquement sur le macrocycle.<sup>170</sup>



9

*in vitro* IC<sub>50</sub>: 17 nM  
*in cellulo* IC<sub>50</sub>: 58 nM  
IC<sub>50</sub> CathD: 3700 nM

Figure 33 -Inhibiteur de BACE-1 développé par Amgen.

Merck a également réussi à se placer dans la course aux macrocycles inhibiteurs de BACE-1. Ils sont partis d'un inhibiteur **10** (Figure 34) de BACE1 assez puissant *in vivo* et *in cellulo* (possédant des IC<sub>50</sub> de 7 et 20 nM respectivement) mais malheureusement comme la plupart des composés développés dans ce chapitre, le profil pharmacocinétique de cette molécule était décevant et s'est avéré être un substrat de la P-gp.<sup>171</sup> Après administration de la molécule par voie intra-craniale, les auteurs ont cependant remarqué que la molécule avait des résultats intéressants sur un modèle murin de la MA, alors que les effets étaient décevants après une administration en IV. Afin d'améliorer la perméabilité de la BHE, la molécule a donc été optimisée de telle sorte que :

- Le caractère peptidique du composé initial soit réduit ;
- Le poids moléculaire soit diminué ;
- En macrocyclisant après avoir observé une proximité entre P1 et P3.

Cela a permis l'identification d'un premier composé **11**, avec une bonne perméabilité cellulaire, une réduction de la susceptibilité à la pompe P-gp et un ration cerveau sang de 20 à 30 %. Une fois administré en IV (à 100 mg par kg), celui-ci permet la réduction de 25% des plaques sur un modèle

---

<sup>170</sup> Pennington, L. D.; Whittington, D. A.; Bartberger, M. D.; Jordan, S. R.; Monenschein, H.; Nguyen, T. T.; Yang, B. H.; Xue, Q. M.; Vounatsos, F.; Wahl, R. C.; Chen, K.; Wood, S.; Citron, M.; Patel, V. F.; Hitchcock, S. A.; Zhong, W. Hydroxyethylamine-Based Inhibitors of BACE1: P1–P3 Macrocyclization Can Improve Potency, Selectivity, and Cell Activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23 (15), 4459–4464.

<sup>171</sup> Coburn, C. A.; Stachel, S. J.; Jones, K. G.; Steele, T. G.; Rush, D. M.; DiMuzio, J.; Pietrak, B. L.; Lai, M.-T.; Huang, Q.; Lineberger, J.; Jin, L.; Munshi, S.; Katharine Holloway, M.; Espeseth, A.; Simon, A.; Hazuda, D.; Graham, S. L.; Vacca, J. P. BACE-1 Inhibition by a Series of  $\psi$ [CH<sub>2</sub>NH] Reduced Amide Isosteres. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16 (14), 3635–3638.

murin de la MA. C'est l'un des premiers macrocycles non peptidiques à être efficace sur un modèle *in vivo*. Cependant, à cause d'un manque d'exposition à la cible, l'efficacité a diminué jusqu'à obtenir une réduction de 10% des plaques après 3h.

Afin d'améliorer encore plus le passage de la BHE, d'autres composés linéaires tels que le composé **12** ont alors été conçus en réduisant le poids moléculaire ainsi que la surface polaire, et en supprimant la portion peptidique extra cyclique. La macrocyclisation de ce composé a permis l'obtention d'un analogue tel que le composé **13**. Malheureusement, malgré toutes les modifications apportées, la réduction de l'efflux par les P-gp n'est acquise qu'au coût de la réduction d'activité sur l'enzyme elle-même.<sup>172,173</sup>

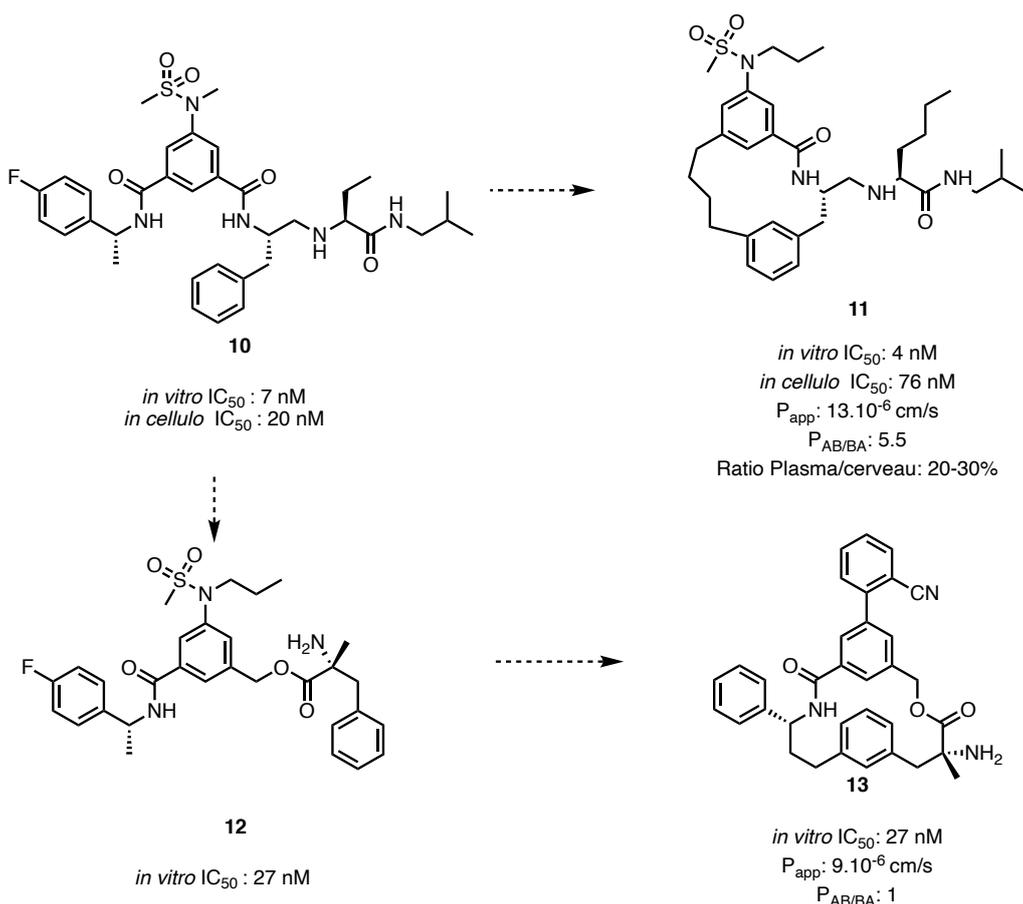


Figure 34 – Inhibiteurs de BACE-1 développés par Merck

<sup>172</sup> Stachel, S. J.; Coburn, C. A.; Sankaranarayanan, S.; Price, E. A.; Pietrak, B. L.; Huang, Q.; Lineberger, J.; Espeseth, A. S.; Jin, L.; Ellis, J.; Holloway, M. K.; Munshi, S.; Allison, T.; Hazuda, D.; Simon, A. J.; Graham, S. L.; Vacca, J. P. Macrocyclic Inhibitors of  $\beta$ -Secretase: Functional Activity in an Animal Model. *J. Med. Chem.* **2006**, *49* (21), 6147–6150.

<sup>173</sup> Lindsley, S. R.; Moore, K. P.; Rajapakse, H. A.; Selnick, H. G.; Young, M. B.; Zhu, H.; Munshi, S.; Kuo, L.; McGaughey, G. B.; Colussi, D.; Crouthamel, M.-C.; Lai, M.-T.; Pietrak, B.; Price, E. A.; Sankaranarayanan, S.; Simon, A. J.; Seabrook, G. R.; Hazuda, D. J.; Pudvah, N. T.; Hochman, J. H.; Graham, S. L.; Vacca, J. P.; Nantermet, P. G. Design, Synthesis, and SAR of Macrocyclic Tertiary Carbinamine BACE-1 Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17* (14), 4057–4061.

Les criblages à haut débit ont également permis à Johnson & Johnson de découvrir le composé **14** avec une activité primaire de 900 nM sur l'enzyme. Après étude chemo-informatique de docking sur BACE-1, il s'est avéré que le composé adoptait une structure en tête d'épingle permettant alors d'imaginer une macrocyclisation. Le premier macrocycle obtenu par Huang *et al.* montrait une bonne activité sur l'enzyme mais la perméabilité cellulaire était limitée.<sup>103</sup> Des optimisations ont alors été effectuées pour obtenir le composé **16** très affin envers l'enzyme avec un Ki de 5 nM en test *in vitro* et 7 nM en test *in cellulo*. Malheureusement, que ce soit par voie orale ou parentérale ce composé n'a pas montré de réduction significative des peptide A chez les modèles animaux testés, laissant supposer qu'il était fortement substrat des P-gp et donc que son passage dans le SNC est limité.

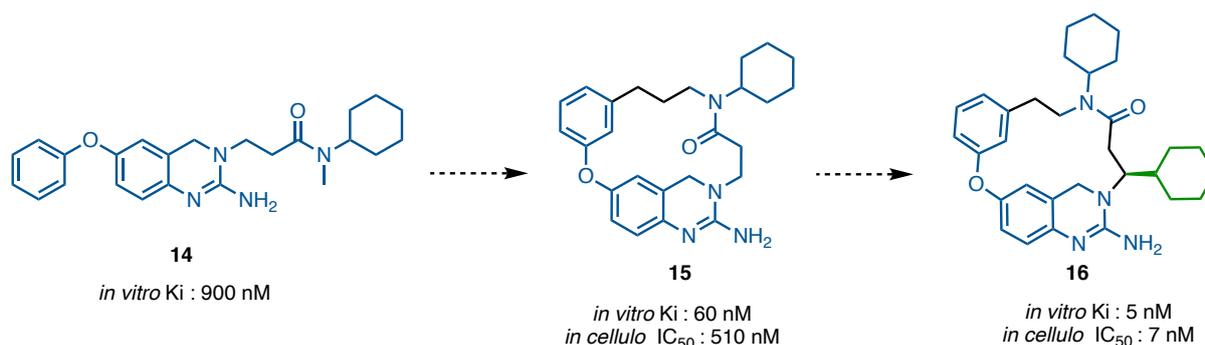


Figure 35 – Inhibiteur de BACE-1 développé par Johnson & Johnson.<sup>103</sup>

BACE-1 est l'une des cibles la plus étudiée dans la MA. Cependant, sa localisation dans le SNC en fait une cible très complexe à moduler, comme le montre les exemples ci-dessus qui ont été arrêtés suite à un efflux par les P-gp trop important dans la majorité des cas. Plusieurs des composés développés ci-dessus ont cependant montré des effets après administration iv ou orale sur des modèles murins *in vivo* de la MA, mais à ce jour aucun n'est parvenu jusqu'au stade de l'essai clinique.

### 3. Discussion autour des inhibiteurs de BACE-1

Dans les cinq dernières années, les 4 différents inhibiteurs de B-sécrétase en essais cliniques ont échoué à démontrer une balance bénéfice risque favorable dans les différents essais randomisés chez des patients en stade précoce ou avancé et même chez les sujets sains à risque de développer la maladie (formes familiales ou génétiques).

Par exemple, le verubecestat a été arrêté par manque d'efficacité bien que les premiers résultats semblaient montrer une diminution des taux de peptides Aβ dans le liquide cébrospinal, il s'est avéré

que cela n'a pourtant pas amélioré la cognition et la qualité de vie des patients d'un point de vue clinique.<sup>174,175</sup> Certaines études ont même montré une aggravation des symptômes en comparaison du groupe placebo.<sup>176</sup> De la même manière, des résultats décevants ont aussi mené à l'abandon du lanabecestat, de l'atabecestat et de l'elebecestat.<sup>177</sup>

Ces échecs ont mené à la remise en cause de l'hypothèse de la cascade amyloïde notamment par Panza *et al.*<sup>178</sup> Cependant, les résultats encourageants des anticorps monoclonaux tels que l'adacumumab contre les formes les plus toxiques des peptides A $\beta$  tendent à montrer que cibler cette cause moléculaire n'est pas dénué d'intérêts.<sup>146,147,179</sup>

## ii. Inhibiteurs GSK-3 $\beta$

La kinase glycogène synthase 3 (GSK-3) est une serine thréonine kinase qui a été identifiée il y a près de 40 ans de par sa capacité à phosphoryler et à inhiber la glycogène synthase. L'enzyme permet la phosphorylation de Tau. C'est une cible intéressante dans la MA. En effet l'hyper-phosphorylation de Tau est associée aux dégénérescences neurofibrillaires, l'une des principales causes moléculaires de la maladie développé dans le paragraphe.1)b.iv) Hypothèse Tau.

Johnson & Johnson a décrit en 2002 trois premières séries d'inhibiteur de GSK-3 $\beta$  macrocyclique, donc des composés avec des activités très intéressantes sur la cible le composé **17** avec un Ki de 11 nM et le composé **18** avec un Ki de 36 nM. Le composé **17** possède d'ailleurs une activité plutôt sélective de GSK3 $\beta$  d'une à deux fois ses activités sur CDK2, PKC $\beta$ II, et Rsk3 et pas d'activité sur les 62 autres protéines kinases testées. Quant au composé **18**, il s'est avéré très sélectif d'un facteur 100 de GSK3 $\beta$  sur un panel sur 65 protéines kinase. Les résultats cellulaires semblaient prometteurs mais les

---

<sup>174</sup> Egan, M. F.; Kost, J.; Tariot, P. N.; Aisen, P. S.; Cummings, J. L.; Vellas, B.; Sur, C.; Mukai, Y.; Voss, T.; Furtek, C.; Mahoney, E.; Harper Mozley, L.; Vandenberghe, R.; Mo, Y.; Michelson, D. Randomized Trial of Verubecestat for Mild-to-Moderate Alzheimer's Disease. *N. Engl. J. Med.* **2018**, *378* (18), 1691–1703.

<sup>175</sup> Kennedy, M. E.; Stamford, A. W.; Chen, X.; Cox, K.; Cumming, J. *et al.* The BACE1 Inhibitor Verubecestat (MK-8931) Reduces CNS  $\beta$ -Amyloid in Animal Models and in Alzheimer's Disease Patients. *Sci. Transl. Med.* **2016**, *8* (363), 363.

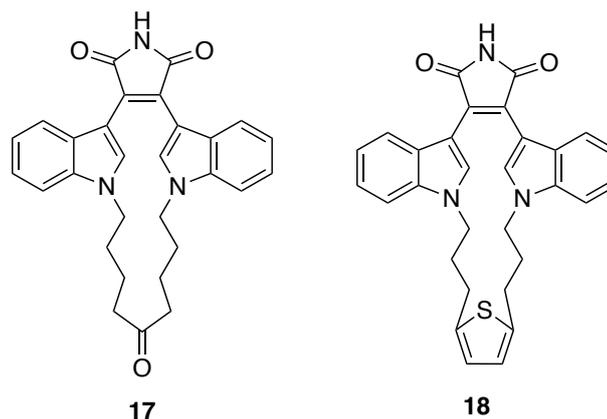
<sup>176</sup> Doggrell, S. A. Lessons That Can Be Learnt from the Failure of Verubecestat in Alzheimer's Disease. *Expert Opin. Pharmacother.* **2019**, *20* (17), 2095–2099.

<sup>177</sup> Panza, F.; Lozupone, M.; Watling, M.; Imbimbo, B. P. Do BACE Inhibitor Failures in Alzheimer Patients Challenge the Amyloid Hypothesis of the Disease? *Expert Rev. Neurother.* **2019**, *19* (7), 599–602.

<sup>178</sup> Panza, F.; Lozupone, M.; Logroscino, G.; Imbimbo, B. P. A Critical Appraisal of Amyloid- $\beta$ -Targeting Therapies for Alzheimer Disease. *Nat. Rev. Neurol.* **2019**, *15* (2), 73–88.

<sup>179</sup> Panza, F.; Lozupone, M.; Seripa, D.; Imbimbo, B. P. Amyloid- $\beta$  Immunotherapy for Alzheimer Disease: Is It Now a Long Shot? *Ann. Neurol.* **2019**, *85* (3), 303–315.

propriétés pharmaco-chimiques, de solubilité ou de passage de BHE n'ont pas été évaluées. A ce jour, aucune suite ne semble avoir été donnée à ce projet.<sup>180</sup>



*in vitro* Ki : 11 nM

*in vitro* Ki : 36 nM

Figure 36- Composés macrocycliques inhibiteur de GSK3β

### c. Perspectives

Le développement de macrocycles dans les maladies neurodégénératives est fortement limité comparé à d'autres cibles telles que les kinases. Cela est principalement dû aux difficultés que peuvent rencontrer de tels composés à passer la BHE. Cependant, de grands industriels ont tout de même focalisé plusieurs de leurs équipes de recherche sur des projet de conception de macrocycles dans la MA comme le montre les différents exemples d'inhibiteurs de BACE-1 retrouvés dans la littérature (Johnson & Johnson et Janssen, BMS, Merck, Novartis entre autres...). De nombreux brevets ont d'ailleurs été déposé dans ce domaine dans les années 2000 à 2010.<sup>181–187</sup>

<sup>180</sup> Shen, L.; Prouty, C.; Conway, B. R.; Westover, L.; Xu, J. Z.; Look, R. A.; Chen, X.; Beavers, M. P.; Roberts, J.; Murray, W. V.; Demarest, K. T.; Kuo, G.-H. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Macrocyclic Bis-7-Azaindolymaleimides as Potent and Highly Selective Glycogen Synthase Kinase-3β (GSK-3β) Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12* (5), 1239–1255.

<sup>181</sup> Auberson, Y.; Betschart, C.; Glatthar, R.; Laumen, K.; Machauer, R.; Tintelnot-Blomley, M.; Troxler, T. J.; Veenstra, S. J. Macrocyclic Lactams and Pharmaceutical Use Thereof. WO2005049585A1, June 2, 2005.

<sup>182</sup> Stamford, A. W.; Huang, Y.; Li, G.; Strickland, C. O.; Voigt, J. H. Macrocyclic Beta-Secretase Inhibitors. WO2006014944A1, February 9, 2006.

<sup>183</sup> Pulley, S. R.; Beck, J. P.; Tenbrink, R. E. Macrocycles Useful in the Treatment of Alzheimer's Disease. WO2002100856A1, December 19, 2002.

<sup>184</sup> Iserloh, U.; Zhu, Z.; Stamford, A.; Voigt, J. Macrocyclic Heterocyclic Aspartyl Protease Inhibitors. US20060281729A1, December 14, 2006.

<sup>185</sup> Shi, S.; Gerritz, S.; Zhu, S. Macrocyclic Acyl Guanidines as Beta-Secretase Inhibitors. US20080262055A1, October 23, 2008.

<sup>186</sup> Wu, Y.-J.; Gerritz, S.; Shi, S.; Zhu, S. Oxime-Containing Macrocyclic Acyl Guanidines as Beta-Secretase Inhibitors. US20080139523A1, June 12, 2008.

<sup>187</sup> Baxter, E.; Reitz, A.; Parker, M.; Huang, Y.; Ho, C.; Strobel, E.; Reynolds, C. MACROCYCLE DERIVATIVES USEFUL AS INHIBITORS OF Beta-SECRETASE (BACE). US20070232630A1, October 4, 2007.

On remarque cependant une nette diminution des publications sur la conception de macrocycles dans la maladie d'Alzheimer depuis. Cela pourrait être due à l'abandon progressif des programmes autour de cette maladie. De nombreuses nouvelles cibles impliquées dans la physiopathologie de la MA sont identifiées chaque année et pourraient être engagées dans des programmes de développement de macrocycles.

C'est le cas des inhibiteurs d'histone déacétylase (HDAC), bien que globalement bien intégré dans les programmes de recherche à visée anticancéreuse, de nouvelles études tendent à montrer son intérêt dans la MA.<sup>188,189</sup> Le vorinostat, un inhibiteur pan-HDAC est actuellement en essai clinique contre la MA, il aurait un effet neuroprotecteur et neurotrophique.<sup>190</sup> La macrocyclisation des inhibiteurs d'HDAC a été également énormément étudiée, bien qu'aucun article ou revue ne mentionne leur intérêt dans les maladies neurodégénératives. Il pourrait être intéressant de développer des inhibiteurs macrocycliques de cette cible dans un contexte de maladie neurodégénérative.<sup>20,191,192</sup>

La neuroinflammation et le stress oxydant semblent également être des cibles prenant de plus en plus d'intérêt dans la recherche de composé visant la MA.<sup>134,135</sup> Brewster *et al.* ont montré récemment l'intérêt de l'utilisation de macrocycles antioxydants que sont les metallotexaphyrines dans la MA.<sup>193</sup>

Cependant, les échecs des essais cliniques depuis plus de 100 ans montrent l'intérêt de changer de stratégie globale dans la recherche de composés ayant un intérêt thérapeutique dans cette maladie. Un nouveau paradigme est apparu à la fin des années 2010, celui des MTDL (multitarget directed

---

<sup>188</sup> Nott, A.; Fass, D. M.; Haggarty, S. J.; Tsai, L.-H. Chapter 8 - HDAC Inhibitors as Novel Therapeutics in Aging and Alzheimer's Disease. In *Epigenetic Regulation in the Nervous System*; Sweatt, J. D., Meaney, M. J., Nestler, E. J., Akbarian, S., Eds.; Academic Press: San Diego, 2013;225–248.

<sup>189</sup> Rodrigues, D. A.; Pinheiro, P. de S. M.; Sagrillo, F. S.; Bolognesi, M. L.; Fraga, C. A. M. Histone Deacetylases as Targets for the Treatment of Neurodegenerative Disorders: Challenges and Future Opportunities. *Med. Res. Rev.* **2020**, med.21701.

<sup>190</sup> Shukla, S.; Shariat-Madar, Z.; Walker, L. A.; Tekwani, B. L. Mechanism for Neurotropic Action of Vorinostat, a Pan Histone Deacetylase Inhibitor. *Mol. Cell. Neurosci.* **2016**, *77*, 11–20.

<sup>191</sup> C. Mwakwari, S.; Patil, V.; Guerrant, W.; K. Oyelere, A. Macrocyclic Histone Deacetylase Inhibitors. *Curr. Top. Med. Chem.* **2010**, *10* (14), 1423–1440.

<sup>192</sup> Maolanon, A. R.; Kristensen, H. M. E.; Leman, L. J.; Ghadiri, M. R.; Olsen, C. A. Natural and Synthetic Macrocyclic Inhibitors of the Histone Deacetylase Enzymes. *ChemBioChem* **2017**, *18* (1), 5–49.

<sup>193</sup> Brewster, J. T.; Thiabaud, G. D.; Harvey, P.; Zafar, H.; Reuther, J. F.; Dell'Acqua, S.; Johnson, R. M.; Root, H. D.; Metola, P.; Jasanoff, A.; Casella, L.; Sessler, J. L. Metallotexaphyrins as MRI-Active Catalytic Antioxidants for Neurodegenerative Disease: A Study on Alzheimer's Disease. *Chem* **2020**, *6* (3), 703–724..

ligands). Dans une stratégie de chimie médicinale traditionnelle, une molécule est conçue envers une cible pour avoir un seul effet thérapeutique. Dans ce nouveau paradigme, une molécule va être conçue pour interagir sélectivement avec plusieurs cibles en même temps. Cela permettra d'obtenir une synergie d'action, et d'avoir de réel effet contre la maladie tout en diminuant le risque d'effet secondaires, d'iatrogénie et de non-observance que l'on voit dans les associations de molécules.<sup>194</sup> On peut facilement imaginer la conception de macrocycles ayant des propriétés antioxydantes tout en agissant sur BACE-1 par exemple.

---

<sup>194</sup> Proschak, E.; Stark, H.; Merk, D. Polypharmacology by Design: A Medicinal Chemist's Perspective on Multitargeting Compounds. *J. Med. Chem.* **2018**, 62 (2), 420-440/

## Conclusion et perspectives

---

Les macrocycles sont des structures particulières de l'espace chimique utilisé en chimie médicinale. Elles sont encore à ce jour sous-développées par rapport aux molécules de plus petites tailles qui sont plus faciles à développer d'un point de vue général. Mais en regardant de plus près il existe d'énormes opportunités à saisir. La nature a su évoluer en produisant des macrocycles naturels afin d'interagir avec des cibles de plus en plus complexes, les chercheurs ont su s'inspirer de cela afin de produire de nouvelles molécules efficaces comme le montre le succès obtenu avec les inhibiteurs macrocyclique de l'hépatite C.

Bien qu'en dehors des Ro5 énoncés par Lipinski, ces structures peuvent avoir de bonnes propriétés physico-chimiques permettant leur absorption par voie orale et peuvent même passer la BHE comme le montre le développement du lorlatinib par Pfizer. La biodisponibilité orale et le passage dans le SNC restent encore de vrais challenges à surpasser pour le développement de macrocycles dans la MA mais les récentes études sur la drugabilité des espèces chimiques bRo5 et sur le fonctionnement des P-gp peuvent aider à concevoir des macrocycles de qualité optimale envers ces paramètres.<sup>29,160</sup>

Les techniques chimiques ont également évolué depuis les cinquante dernières années. La démocratisation de la chimie en flux pourrait permettre l'obtention plus aisée de macrocycles.<sup>46</sup> De nombreuses réactions chimiques faciles d'accès et reproductibles telles que la macrolactamisation ou macrolactamisation ainsi que les méthodes de chimie click semblent être efficaces pour la formation de macrocycles. Les challenges dans la conception de macrocycles sont donc, à mon sens, principalement liés à la drugabilité et aux passages membranaires des composés synthétisés.

Les échecs récurrents dans les essais cliniques envers la maladie d'Alzheimer sont principalement dus à une mauvaise balance bénéfice-risque ou un manque d'efficacité alors que les données pré-cliniques semblent indiquer des effets prometteurs. Il se pose alors la question de la fiabilité de ces premiers modèle animaux.<sup>195</sup> Mais aussi de la fiabilité des essais cliniques en eux-mêmes. Les patients présentent les premiers symptômes de la maladie d'Alzheimer près de 10 à 15 après l'apparition des causes moléculaires de la maladie, la neurodégénération qui en résulte est irréversible. Les principaux axes thérapeutiques visent à cibler ces causes moléculaires de la maladie, mais les essais cliniques sont réalisés le plus souvent chez des patients à des stades avancés, l'effet est alors forcément limité étant donné qu'on ne peut pas régénérer les neurones. Il faudrait donc de

meilleurs moyens permettant de diagnostiquer la maladie assez tôt pour limiter les dégâts causés par les plaques amyloïde ou les dégénérescences neurofibrillaires.<sup>196</sup> Il se pose également une question éthique, n'ayant pas de traitement efficace à l'heure actuelle, est-il éthique de diagnostiquer la maladie sans avoir d'alternative thérapeutique à proposer aux patients ? Ces problématiques devront pourtant être résolues dans un futur proche, on estime qu'en 2050, avec le vieillissement mondial de la population, la maladie d'Alzheimer pourrait toucher près de 100 millions de personnes.<sup>197</sup>

Il est important de continuer la recherche dans la MA, aussi bien sur les causes moléculaires, génétiques et environnementales que sur la conception et le développement de nouveaux traitements. Les macrocycles ouvrent l'opportunité d'explorer un nouvel espace chimique dans lequel certains composés pourraient être très intéressants pour la MA.

---

<sup>195</sup> Onos, K. D.; Sukoff Rizzo, S. J.; Howell, G. R.; Sasner, M. Toward More Predictive Genetic Mouse Models of Alzheimer's Disease. *Brain Res. Bull.* **2016**, *122*, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2015.12.003>.

<sup>196</sup> Mehta, D.; Jackson, R.; Paul, G.; Shi, J.; Sabbagh, M. Why Do Trials for Alzheimer's Disease Drugs Keep Failing? A Discontinued Drug Perspective for 2010-2015. *Expert Opin. Investig. Drugs* **2017**, *26* (6), 735–739.

<sup>197</sup> Prince, M. J. World Alzheimer Report 2015: The Global Impact of Dementia <https://www.alz.co.uk/research/world-report-2015> (accessed Jun 26, 2020)

---

# Bibliographie

---

- (1) Lichterman, B. L. Aspirin: The Story of a Wonder Drug. *BMJ* **2004**, *329* (7479), 1408. <https://doi.org/10.1136/bmj.329.7479.1408>.
- (2) Chast, F. Chapter 1 - A History of Drug Discovery: From First Steps of Chemistry to Achievements in Molecular Pharmacology. In *The Practice of Medicinal Chemistry (Third Edition)*; Wermuth, C. G., Ed.; Academic Press: New York, 2008; 1–62. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374194-3.00001-9>.
- (3) Wessjohann, L. A.; Ruijter, E.; Garcia-Rivera, D.; Brandt, W. What Can a Chemist Learn from Nature's Macrocycles? – A Brief, Conceptual View. *Mol. Divers.* **2005**, *9* (1), 171–186. <https://doi.org/10.1007/s11030-005-1314-x>.
- (4) Stotani, S.; Giordanetto, F. Overview of Macrocycles in Clinical Development and Clinically Used. In *Practical Medicinal Chemistry with Macrocycles*; 2017;411–499. <https://doi.org/10.1002/9781119092599.ch16>.
- (5) Newman, D. J.; Cragg, G. M. Chapter 1 - Bioactive Macrocycles from Nature. In *Macrocycles in Drug Discovery*; 2014; 1–36. <https://doi.org/10.1039/9781782623113-00001>.
- (6) Raboisson, P. Macrocycles: Under-Explored and Poorly Exploited Drug Class Despite the Proven Therapeutic Potential. *ResearchGate*. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-417205-0.00010-9>.
- (7) Chatel-Chaix, L.; Baril, M.; Lamarre, D. Hepatitis C Virus NS3/4A Protease Inhibitors: A Light at the End of the Tunnel. *Viruses* **2010**, *2* (8), 1752–1765. <https://doi.org/10.3390/v2081752>.
- (8) Rask-Andersen, M.; Almén, M. S.; Schiöth, H. B. Trends in the Exploitation of Novel Drug Targets. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2011**, *10* (8), 579–590. <https://doi.org/10.1038/nrd3478>.
- (9) Rask-Andersen, M.; Masuram, S.; Schiöth, H. B. The Druggable Genome: Evaluation of Drug Targets in Clinical Trials Suggests Major Shifts in Molecular Class and Indication. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2014**, *54* (1), 9–26. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-011613-135943>.
- (10) Schneider, J. A.; Craven, T. W.; Kasper, A. C.; Yun, C.; Haugbro, M.; Briggs, E. M.; Svetlov, V.; Nudler, E.; Knaut, H.; Bonneau, R.; Garabedian, M. J.; Kirshenbaum, K.; Logan, S. K. Design of Peptoid-Peptide Macrocycles to Inhibit the  $\beta$ -Catenin TCF Interaction in Prostate Cancer. *Nat. Commun.* **2018**, *9* (1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06845-3>.
- (11) Kim, M.-S.; Pinto, S. M.; Getnet, D.; Nirujogi, R. S.; Manda, S. S.; Chaerkady, R.; Madugundu, A. K.; Kelkar, D. S.; Isserlin, R.; Jain, S.; Thomas, J. K.; Muthusamy, B.; Leal-Rojas, P.; Kumar, P.; Sahasrabudhe, N. A.; Balakrishnan, L.; Advani, J.; George, B.; Renuse, S.; Selvan, L. D. N.; Patil, A. H.; Nanjappa, V.; Radhakrishnan, A.; Prasad, S.; Subbannayya, T.; Raju, R.; Kumar, M.; Sreenivasamurthy, S. K.; Marimuthu, A.; Sathe, G. J.; Chavan, S.; Datta, K. K.; Subbannayya, Y.; Sahu,

A.; Yelamanchi, S. D.; Jayaram, S.; Rajagopalan, P.; Sharma, J.; Murthy, K. R.; Syed, N.; Goel, R.; Khan, A. A.; Ahmad, S.; Dey, G.; Mudgal, K.; Chatterjee, A.; Huang, T.-C.; Zhong, J.; Wu, X.; Shaw, P. G.; Freed, D.; Zahari, M. S.; Mukherjee, K. K.; Shankar, S.; Mahadevan, A.; Lam, H.; Mitchell, C. J.; Shankar, S. K.; Satishchandra, P.; Schroeder, J. T.; Sirdeshmukh, R.; Maitra, A.; Leach, S. D.; Drake, C. G.; Halushka, M. K.; Prasad, T. S. K.; Hruban, R. H.; Kerr, C. L.; Bader, G. D.; Iacobuzio-Donahue, C. A.; Gowda, H.; Pandey, A. A Draft Map of the Human Proteome. *Nature* **2014**, *509* (7502), 575–581. <https://doi.org/10.1038/nature13302>.

(12) International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the Euchromatic Sequence of the Human Genome. *Nature* **2004**, *431* (7011), 931–945. <https://doi.org/10.1038/nature03001>.

(13) Valeur, E.; Jimonet, P. New Modalities, Technologies, and Partnerships in Probe and Lead Generation: Enabling a Mode-of-Action Centric Paradigm. *J. Med. Chem.* **2018**, *61* (20), 9004–9029. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00378>.

(14) Jinek, M.; Chylinski, K.; Fonfara, I.; Hauer, M.; Doudna, J. A.; Charpentier, E. A Programmable Dual-RNA–Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. *Science* **2012**, *337* (6096), 816–821. <https://doi.org/10.1126/science.1225829>.

(15) Petersen, D. N.; Hawkins, J.; Ruangsiriluk, W.; Stevens, K. A.; Maguire, B. A.; O’Connell, T. N.; Rocke, B. N.; Boehm, M.; Ruggeri, R. B.; Rolph, T.; Hepworth, D.; Loria, P. M.; Carpino, P. A. A Small-Molecule Anti-Secretagogue of PCSK9 Targets the 80S Ribosome to Inhibit PCSK9 Protein Translation. *Cell Chem. Biol.* **2016**, *23* (11), 1362–1371. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2016.08.016>.

(16) NCI Dictionary of Cancer Terms <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms> (accessed Mar 17, 2019).

(17) Eder, J.; Sedrani, R.; Wiesmann, C. The Discovery of First-in-Class Drugs: Origins and Evolution. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2014**, *13* (8), 577–587. <https://doi.org/10.1038/nrd4336>.

(18) Terrett, N. K. Methods for the Synthesis of Macrocyclic Libraries for Drug Discovery. *Drug Discov. Today Technol.* **2010**, *7* (2), e97–e104. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2010.06.002>.

(19) Driggers, E. M.; Hale, S. P.; Lee, J.; Terrett, N. K. The Exploration of Macrocycles for Drug Discovery — an Underexploited Structural Class. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2008**, *7* (7), 608–624. <https://doi.org/10.1038/nrd2590>.

(20) Marsault, E.; Peterson, M. L. Macrocycles Are Great Cycles: Applications, Opportunities, and Challenges of Synthetic Macrocycles in Drug Discovery. *J. Med. Chem.* **2011**, *54* (7), 1961–2004. <https://doi.org/10.1021/jm1012374>.

(21) Giordanetto, F.; Kihlberg, J. Macrocyclic Drugs and Clinical Candidates: What Can Medicinal Chemists Learn from Their Properties? *J. Med. Chem.* **2014**, *57* (2), 278–295. <https://doi.org/10.1021/jm400887j>.

(22) Churcher, I. Protac-Induced Protein Degradation in Drug Discovery: Breaking the Rules

or Just Making New Ones? *J. Med. Chem.* **2018**, *61* (2), 444–452. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01272>.

(23) Smith, D. A.; Allerton, C.; Kalgutkar, A. S.; Waterbeemd, H. van de; Walker, D. K. *Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Design*; John Wiley & Sons, 2012.

(24) Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1997**, *23* (1), 3–25. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00423-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00423-1).

(25) Abad-Zapatero, C. A Sorcerer's Apprentice and The Rule of Five: From Rule-of-Thumb to Commandment and Beyond. *Drug Discov. Today* **2007**, *12* (23–24), 995–997. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2007.10.022>.

(26) Veber, D. F.; Johnson, S. R.; Cheng, H.-Y.; Smith, B. R.; Ward, K. W.; Kopple, K. D. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *J. Med. Chem.* **2002**, *45* (12), 2615–2623. <https://doi.org/10.1021/jm020017n>.

(27) Cao, Z.; Yang, J.; Xu, R.; Song, Q.; Zhang, X.; Liu, H.; Qiang, X.; Li, Y.; Tan, Z.; Deng, Y. Design, Synthesis and Evaluation of 4'-OH-Flurbiprofen-Chalcone Hybrids as Potential Multifunctional Agents for Alzheimer's Disease Treatment. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26* (5), 1102–1115. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.01.030>.

(28) Martin, Y. C. A Bioavailability Score. *J. Med. Chem.* **2005**, *48* (9), 3164–3170. <https://doi.org/10.1021/jm0492002>.

(29) Doak, B. C.; Over, B.; Giordanetto, F.; Kihlberg, J. Oral Druggable Space beyond the Rule of 5: Insights from Drugs and Clinical Candidates. *Chem. Biol.* **2014**, *21* (9), 1115–1142. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2014.08.013>.

(30) Gleeson, M. P. Generation of a Set of Simple, Interpretable ADMET Rules of Thumb. *J Med Chem* **2008**, *51* (4), 817.

(31) Doak, B. C.; Zheng, J.; Dobritzsch, D.; Kihlberg, J. How Beyond Rule of 5 Drugs and Clinical Candidates Bind to Their Targets. *J. Med. Chem.* **2016**, *59* (6), 2312–2327. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01286>.

(32) Mallinson, J.; Collins, I. Macrocycles in New Drug Discovery. *Future Med. Chem.* **2012**, *4* (11), 1409–1438. <https://doi.org/10.4155/fmc.12.93>.

(33) Owens, A. E.; de Paola, I.; Hansen, W. A.; Liu, Y.-W.; Khare, S. D.; Fasan, R. Design and Evolution of a Macrocyclic Peptide Inhibitor of the Sonic Hedgehog/Patched Interaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139* (36), 12559–12568. <https://doi.org/10.1021/jacs.7b06087>.

(34) Rezai, T.; Yu, B.; Millhauser, G. L.; Jacobson, M. P.; Lokey, R. S. Testing the Conformational Hypothesis of Passive Membrane Permeability Using Synthetic Cyclic Peptide Diastereomers. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (8), 2510–2511. <https://doi.org/10.1021/ja0563455>.

(35) March, D. R.; Abbenante, G.; Bergman, D. A.; Brinkworth, R. I.; Wickramasinghe, W.;

Begun, J.; Martin, J. L.; Fairlie, D. P. Substrate-Based Cyclic Peptidomimetics of Phe-Ile-Val That Inhibit HIV-1 Protease Using a Novel Enzyme-Binding Mode. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118* (14), 3375–3379. <https://doi.org/10.1021/ja953790z>.

(36) Zapf, C. W.; Bloom, J. D.; McBean, J. L.; Dushin, R. G.; Nittoli, T.; Ingalls, C.; Sutherland, A. G.; Sonye, J. P.; Eid, C. N.; Golas, J.; Liu, H.; Boschelli, F.; Hu, Y.; Vogan, E.; Levin, J. I. Design and SAR of Macrocyclic Hsp90 Inhibitors with Increased Metabolic Stability and Potent Cell-Proliferation Activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21* (8), 2278–2282. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.02.101>.

(37) Reynolds, C. H.; Holloway, M. K. Thermodynamics of Ligand Binding and Efficiency. *ACS Med. Chem. Lett.* **2011**, *2* (6), 433–437. <https://doi.org/10.1021/ml200010k>.

(38) Sarkar, A.; Kellogg, G. Hydrophobicity - Shake Flasks, Protein Folding and Drug Discovery. *Curr. Top. Med. Chem.* **2010**, *10* (1), 67–83.

(39) Williams, D. H.; Calderone, C. T.; O'Brien, D. P.; Zerella, R. Changes in Motion vs. Bonding in Positively vs. Negatively Cooperative Interactions. *Chem. Commun.* **2002**, No. 12, 1266–1267. <https://doi.org/10.1039/B201428A>.

(40) Schneider, H.-J. Binding Mechanisms in Supramolecular Complexes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48* (22), 3924–3977. <https://doi.org/10.1002/anie.200802947>.

(41) DeLorbe, J. E.; Clements, J. H.; Whiddon, B. B.; Martin, S. F. Thermodynamic and Structural Effects of Macrocyclic Constraints in Protein–Ligand Interactions. *ACS Med. Chem. Lett.* **2010**, *1* (8), 448–452. <https://doi.org/10.1021/ml100142y>.

(42) Mann, A. Chapter 17 - Conformational Restriction and/or Steric Hindrance in Medicinal Chemistry. In *The Practice of Medicinal Chemistry (Third Edition)*; Wermuth, C. G., Ed.; Academic Press: New York, 2008;363–379. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374194-3.00017-2>.

(43) Namoto, K.; Sirockin, F.; Sellner, H.; Wiesmann, C.; Villard, F.; Moreau, R. J.; Valeur, E.; Paulding, S. C.; Schleege, S.; Schipp, K.; Loup, J.; Andrews, L.; Swale, R.; Robinson, M.; Farady, C. J. Structure-Based Design and Synthesis of Macrocyclic Human Rhinovirus 3C Protease Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28* (5), 906–909. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.01.064>.

(44) Proisy, N.; Sharp, S. Y.; Boxall, K.; Connelly, S.; Roe, S. M.; Prodromou, C.; Slawin, A. M. Z.; Pearl, L. H.; Workman, P.; Moody, C. J. Inhibition of Hsp90 with Synthetic Macrolactones: Synthesis and Structural and Biological Evaluation of Ring and Conformational Analogs of Radicicol. *Chem. Biol.* **2006**, *13* (11), 1203–1215. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2006.09.015>.

(45) Nicola, T.; Brenner, M.; Donsbach, K.; Kreye, P. First Scale-Up to Production Scale of a Ring Closing Metathesis Reaction Forming a 15-Membered Macrocycle as a Precursor of an Active Pharmaceutical Ingredient. *Org. Process Res. Dev.* **2005**, *9* (4), 513–515. <https://doi.org/10.1021/op0580015>.

(46) Peterson, M. L. CHAPTER 11: The Synthesis of Macrocycles for Drug Discovery. In *Macrocycles in Drug Discovery*; 2014;398–486. <https://doi.org/10.1039/9781782623113-00398>.

- (47) Marsault, E.; Peterson, M. L. *Practical Medicinal Chemistry with Macrocycles: Design, Synthesis, and Case Studies*; John Wiley & Sons, 2017.
- (48) Mortensen, K. T.; Osberger, T. J.; King, T. A.; Sore, H. F.; Spring, D. R. Strategies for the Diversity-Oriented Synthesis of Macrocycles. *Chem. Rev.* **2019**, *119* (17), 10288–10317. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00084>.
- (49) El-Faham, A.; Albericio, F. Peptide Coupling Reagents, More than a Letter Soup. *Chem. Rev.* **2011**, *111* (11), 6557–6602. <https://doi.org/10.1021/cr100048w>.
- (50) Montalbetti, C. A. G. N.; Falque, V. Amide Bond Formation and Peptide Coupling. *Tetrahedron* **2005**, *61* (46), 10827–10852. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2005.08.031>.
- (51) Valeur, E.; Bradley, M. Amide Bond Formation: Beyond the Myth of Coupling Reagents. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38* (2), 606–631. <https://doi.org/10.1039/B701677H>.
- (52) Cherney, R. J.; Wang, L.; Meyer, D. T.; Xue, C.-B.; Wasserman, Z. R.; Hardman, K. D.; Welch, P. K.; Covington, M. B.; Copeland, R. A.; Arner, E. C.; DeGrado, W. F.; Decicco, C. P. Macrocyclic Amino Carboxylates as Selective MMP-8 Inhibitors. *J. Med. Chem.* **1998**, *41* (11), 1749–1751. <https://doi.org/10.1021/jm970850y>.
- (53) C. Nielsen, M.; Ulven, T. Macrocyclic G-Quadruplex Ligands. *Curr. Med. Chem.* **2010**, *17* (29), 3438–3448. <https://doi.org/10.2174/092986710793176320>.
- (54) Parenty, A.; Moreau, X.; Campagne, J.-M. Macrolactonizations in the Total Synthesis of Natural Products. *Chem. Rev.* **2006**, *106* (3), 911–939. <https://doi.org/10.1021/cr0301402>.
- (55) Inanaga, J.; Hirata, K.; Saeki, H.; Katsuki, T.; Yamaguchi, M. A Rapid Esterification by Means of Mixed Anhydride and Its Application to Large-Ring Lactonization. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, *52* (7), 1989–1993. <https://doi.org/10.1246/bcsj.52.1989>.
- (56) Narasaka, K.; Maruyama, K.; Mukaiyama, T. A Useful Method for the Synthesis of Macrocyclic Lactone. *Chem. Lett.* **1978**, *7* (8), 885–888. <https://doi.org/10.1246/cl.1978.885>.
- (57) Mitsunobu, O.; Yamada, M. Preparation of Esters of Carboxylic and Phosphoric Acid via Quaternary Phosphonium Salts. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, *40* (10), 2380–2382. <https://doi.org/10.1246/bcsj.40.2380>.
- (58) Dakas, P.-Y.; Barluenga, S.; Totzke, F.; Zirrgiebel, U.; Winssinger, N. Modular Synthesis of Radicicol A and Related Resorcylic Acid Lactones, Potent Kinase Inhibitors. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46* (36), 6899–6902. <https://doi.org/10.1002/anie.200702406>.
- (59) Arasappan, A.; Chen, K. X.; Njoroge, F. G.; Parekh, T. N.; Girijavallabhan, V. Novel Dipeptide Macrocycles from 4-Oxo, -Thio, and -Amino-Substituted Proline Derivatives. *J. Org. Chem.* **2002**, *67* (11), 3923–3926. <https://doi.org/10.1021/jo011160b>.
- (60) Lücking, U.; Siemeister, G.; Schäfer, M.; Briem, H.; Krüger, M.; Lienau, P.; Jautelat, R. Macrocyclic Aminopyrimidines as Multitarget CDK and VEGF-R Inhibitors with Potent Antiproliferative Activities. *ChemMedChem* **2007**, *2* (1), 63–77. <https://doi.org/10.1002/cmdc.200600199>.

- (61) Grieco, P.; Cai, M.; Liu, L.; Mayorov, A.; Chandler, K.; Trivedi, D.; Lin, G.; Campiglia, P.; Novellino, E.; Hruby, V. J. Design and Microwave-Assisted Synthesis of Novel Macrocyclic Peptides Active at Melanocortin Receptors: Discovery of Potent and Selective HMC5R Receptor Antagonists. *J. Med. Chem.* **2008**, *51* (9), 2701–2707. <https://doi.org/10.1021/jm701181n>.
- (62) Villemin, D. Synthèse de Macrolides Par Méthathèse. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21* (18), 1715–1718. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)77818-X](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)77818-X).
- (63) Chauvin, Y. Olefin Metathesis: The Early Days (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45* (23), 3740–3747. <https://doi.org/10.1002/anie.200601234>.
- (64) Grubbs, R. H. Olefin-Metathesis Catalysts for the Preparation of Molecules and Materials (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45* (23), 3760–3765. <https://doi.org/10.1002/anie.200600680>.
- (65) Schrock, R. R. Multiple Metal–Carbon Bonds for Catalytic Metathesis Reactions (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45* (23), 3748–3759. <https://doi.org/10.1002/anie.200600085>.
- (66) Tao, Z.-F.; Sowin, T. J.; Lin, N.-H. Synthesis of Macrocyclic Urea Kinase Inhibitors. *Synlett* **2007**, *2007* (18), 2855–2858. <https://doi.org/10.1055/s-2007-991083>.
- (67) Horváth, A.; Depré, D.; A. Vermeulen, W. A.; Wuyts, S. L.; Harutyunyan, S. R.; Binot, G.; Cuypers, J.; Couck, W.; Den Heuvel, D. V. Ring-Closing Metathesis on Commercial Scale: Synthesis of HCV Protease Inhibitor Simeprevir. *J. Org. Chem.* **2019**, *84* (8), 4932–4939. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.8b03124>.
- (68) Jiang, Y.; Andrews, S. W.; Condroski, K. R.; Buckman, B.; Serebryany, V.; Wenglowisky, S.; Kennedy, A. L.; Madduru, M. R.; Wang, B.; Lyon, M.; Doherty, G. A.; Woodard, B. T.; Lemieux, C.; Do, M. G.; Zhang, H.; Ballard, J.; Vigers, G.; Brandhuber, B. J.; Stengel, P.; Josey, J. A.; Beigelman, L.; Blatt, L.; Seiwert, S. D. Discovery of Danoprevir (ITMN-191/R7227), a Highly Selective and Potent Inhibitor of Hepatitis C Virus (HCV) NS3/4A Protease. *J. Med. Chem.* **2014**, *57* (5), 1753–1769. <https://doi.org/10.1021/jm400164c>.
- (69) McCauley, J. A.; McIntyre, C. J.; Rudd, M. T.; Nguyen, K. T.; Romano, J. J.; Butcher, J. W.; Gilbert, K. F.; Bush, K. J.; Holloway, M. K.; Swestock, J.; Wan, B.-L.; Carroll, S. S.; DiMuzio, J. M.; Graham, D. J.; Ludmerer, S. W.; Mao, S.-S.; Stahlhut, M. W.; Fandozzi, C. M.; Trainor, N.; Olsen, D. B.; Vacca, J. P.; Liverton, N. J. Discovery of Vaniprevir (MK-7009), a Macrocyclic Hepatitis C Virus NS3/4a Protease Inhibitor. *J. Med. Chem.* **2010**, *53* (6), 2443–2463. <https://doi.org/10.1021/jm9015526>.
- (70) Lamarre, D.; Anderson, P. C.; Bailey, M.; Beaulieu, P.; Bolger, G.; Bonneau, P.; Bös, M.; Cameron, D. R.; Cartier, M.; Cordingley, M. G.; Faucher, A.-M.; Goudreau, N.; Kawai, S. H.; Kukulj, G.; Lagacé, L.; LaPlante, S. R.; Narjes, H.; Poupart, M.-A.; Rancourt, J.; Sentjens, R. E.; George, R. S.; Simoneau, B.; Steinmann, G.; Thibeault, D.; Tsantrizos, Y. S.; Weldon, S. M.; Yong, C.-L.; Llinàs-Brunet, M. An NS3 Protease Inhibitor with Antiviral Effects in Humans Infected with

Hepatitis C Virus. *Nature* **2003**, *426* (6963), 186–189. <https://doi.org/10.1038/nature02099>.

(71) Kolb, H. C.; Sharpless, K. B. The Growing Impact of Click Chemistry on Drug Discovery. *Drug Discov. Today* **2003**, *8* (24), 1128–1137. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(03\)02933-7](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(03)02933-7).

(72) Pasini, D. The Click Reaction as an Efficient Tool for the Construction of Macrocyclic Structures. *Molecules* **2013**, *18* (8), 9512–9530. <https://doi.org/10.3390/molecules18089512>.

(73) Huisgen, R. 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, *2* (10), 565–598. <https://doi.org/10.1002/anie.196305651>.

(74) Holub, J. M.; Kirshenbaum, K. Tricks with Clicks: Modification of Peptidomimetic Oligomers via Copper-Catalyzed Azide-Alkyne [3 + 2] Cycloaddition. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39* (4), 1325–1337. <https://doi.org/10.1039/B901977B>.

(75) Bogdan, A. R.; James, K. Synthesis of 5-Iodo-1,2,3-Triazole-Containing Macrocycles Using Copper Flow Reactor Technology. *Org. Lett.* **2011**, *13* (15), 4060–4063. <https://doi.org/10.1021/ol201567s>.

(76) Looper, R. E.; Pizzirani, D.; Schreiber, S. L. Macrocycloadditions Leading to Conformationally Restricted Small Molecules. *Org. Lett.* **2006**, *8* (10), 2063–2066. <https://doi.org/10.1021/ol0604724>.

(77) Chavez-Acevedo, L.; Miranda, L. D. Synthesis of Novel Tryptamine-Based Macrocycles Using an Ugi 4-CR/Microwave Assisted Click-Cycloaddition Reaction Protocol. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13* (15), 4408–4412. <https://doi.org/10.1039/C5OB00067J>.

(78) Prabhakaran, P.; Subaraja, M.; Rajakumar, P. Synthesis, Electrochemical, Antibacterial and Anticancer Studies on Triazole-Bridged Pyrrolidine-Grafted Macrocycles via [3+2] Cycloaddition of Azomethin Ylide. *ChemistrySelect* **2018**, *3* (17), 4687–4693. <https://doi.org/10.1002/slct.201800033>.

(79) Wittig, G.; Haag, W. Über Triphenyl-phosphinmethylene als olefinbildende Reagenzien (II. Mitteil.1)). *Chem. Ber.* **1955**, *88* (11), 1654–1666. <https://doi.org/10.1002/cber.19550881110>.

(80) Griffin, C. E.; Martin, K. R.; Douglas, B. E. Synthesis of a Macrocyclic by Application of the Wittig Reaction. *J. Org. Chem.* **1961**, *27* (5), 1627–1631. <https://doi.org/10.1021/jo01052a033>.

(81) Tilley, J.; Kaplan, G.; Fotouhi, N.; Wolitzky, B.; Rowan, K. Carbacyclic Peptide Mimetics as VCAM–VLA-4 Antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10* (11), 1163–1165. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(00\)00173-6](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(00)00173-6).

(82) Myśliwiec, D.; Lis, T.; Gregoliński, J.; Stępień, M. Stereoselective Wittig Olefination as a Macrocyclization Tool. Synthesis of Large Carbazolophanes. *J. Org. Chem.* **2015**, *80* (12), 6300–6312. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.5b00745>.

(83) Miyaura, N.; Yamada, K.; Suzuki, A. A New Stereospecific Cross-Coupling by the Palladium-Catalyzed Reaction of 1-Alkenylboranes with 1-Alkenyl or 1-Alkynyl Halides. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20* (36), 3437–3440. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)95429-2](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)95429-2).

- (84) Miyaura, N.; Suzuki, A. Stereoselective Synthesis of Arylated (E)-Alkenes by the Reaction of Alk-1-Enylboranes with Aryl Halides in the Presence of Palladium Catalyst. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1979**, No. 19, 866–867. <https://doi.org/10.1039/C39790000866>.
- (85) Dufour, J.; Neuville, L.; Zhu, J. Intramolecular Suzuki–Miyaura Reaction for the Total Synthesis of Signal Peptidase Inhibitors, Arylomycins A2 and B2. *Chem. – Eur. J.* **2010**, *16* (34), 10523–10534. <https://doi.org/10.1002/chem.201000924>.
- (86) Li, W.; Burgess, K. A New Solid-Phase Linker for Suzuki Coupling with Concomitant Macrocyclization: Synthesis of  $\beta$ -Turn Mimics. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40* (36), 6527–6530. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(99\)01306-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(99)01306-4).
- (87) Heck, R. F.; Nolley, J. P. Palladium-Catalyzed Vinylic Hydrogen Substitution Reactions with Aryl, Benzyl, and Styryl Halides. *J. Org. Chem.* **1972**, *37* (14), 2320–2322. <https://doi.org/10.1021/jo00979a024>.
- (88) Chen, K. X.; Njoroge, F. G.; Prongay, A.; Pichardo, J.; Madison, V.; Girijavallabhan, V. Synthesis and Biological Activity of Macrocyclic Inhibitors of Hepatitis C Virus (HCV) NS3 Protease. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15* (20), 4475–4478. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.07.033>.
- (89) Rajamohan Reddy, P.; Balraju, V.; Madhavan, G. R.; Banerji, B.; Iqbal, J. Synthesis of Small Cyclic Peptides via Intramolecular Heck Reactions. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44* (2), 353–356. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(02\)02573-X](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(02)02573-X).
- (90) Boge, T. C.; Wu, Z.-J.; Himes, R. H.; Vander Velde, D. G.; Georg, G. I. Conformationally Restricted Paclitaxel Analogues: Macrocyclic Mimics of the “Hydrophobic Collapse” Conformation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9* (20), 3047–3052. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(99\)00522-3](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(99)00522-3).
- (91) Milstein, D.; Stille, J. K. A General, Selective, and Facile Method for Ketone Synthesis from Acid Chlorides and Organotin Compounds Catalyzed by Palladium. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100* (11), 3636–3638. <https://doi.org/10.1021/ja00479a077>.
- (92) Duncton, M. A. J.; Pattenden, G. The Intramolecular Stille Reaction. *J. Chem. Soc. Perkin I* **1999**, No. 10, 1235–1246. <https://doi.org/10.1039/A808261H>.
- (93) Unsworth, W. P.; Gallagher, K. A.; Jean, M.; Schmidt, J. P.; Diorazio, L. J.; Taylor, R. J. K. Direct Imine Acylation: Synthesis of the Proposed Structures of ‘Upenamide. *Org. Lett.* **2013**, *15* (2), 262–265. <https://doi.org/10.1021/ol3030764>.
- (94) Brain, C. T.; Chen, A.; Nelson, A.; Tanikkul, N.; Thomas, E. J. Synthesis of Macrocyclic Precursors of Lankacidins Using Stille Reactions of 4-(2-Iodo-Alkenyl)Azetidiones and Related Compounds for Ring Closure. *Tetrahedron* **2010**, *66* (33), 6613–6625. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2010.04.129>.
- (95) Uramoto, M.; Ōtake, N.; Ogawa, Y.; Yonehara, H.; Marumo, F.; Saito, Y. The Structures of Bundlin A (Lankacidin) and Bundlin B. *Tetrahedron Lett.* **1969**, *10* (27), 2249–2254.

[https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)88133-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)88133-8).

(96) Uramoto, M.; Otake, N.; Cary, L.; Tanabe, M. Biosynthetic Studies with Carbon-13. Lankacidin Group of Antibiotics. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100* (11), 3616–1617. <https://doi.org/10.1021/ja00479a064>.

(97) Falardeau, G.; Lachance, H.; St-Pierre, A.; Yannopoulos, C. G.; Drouin, M.; Bédard, J.; Chan, L. Design and Synthesis of a Potent Macrocyclic 1,6-Naphthyridine Anti-Human Cytomegalovirus (HCMV) Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15* (6), 1693–1695. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.01.050>.

(98) Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. A Convenient Synthesis of Acetylenes: Catalytic Substitutions of Acetylenic Hydrogen with Bromoalkenes, Iodoarenes and Bromopyridines. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16* (50), 4467–4470. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)91094-3](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)91094-3).

(99) Balraju, V.; Reddy, D. S.; Periasamy, M.; Iqbal, J. Synthesis of Conformationally Constrained Cyclic Peptides Using an Intramolecular Sonogashira Coupling. *J. Org. Chem.* **2005**, *70* (23), 9626–9628. <https://doi.org/10.1021/jo051412z>.

(100) Spivey, A. C.; McKendrick, J.; Srikanan, R.; Helm, B. A. Solid-Phase Synthesis of an A–B Loop Mimetic of the Cε3 Domain of Human IgE: Macrocyclization by Sonogashira Coupling. *J. Org. Chem.* **2003**, *68* (5), 1843–1851. <https://doi.org/10.1021/jo026693e>.

(101) Guram, A. S.; Rennels, R. A.; Buchwald, S. L. A Simple Catalytic Method for the Conversion of Aryl Bromides to Arylamines. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34* (12), 1348–1350. <https://doi.org/10.1002/anie.199513481>.

(102) Zapf, C. W.; Bloom, J. D.; McBean, J. L.; Dushin, R. G.; Nittoli, T.; Otteng, M.; Ingalls, C.; Golas, J. M.; Liu, H.; Lucas, J.; Boschelli, F.; Hu, Y.; Vogan, E.; Levin, J. I. Macrocyclic Lactams as Potent Hsp90 Inhibitors with Excellent Tumor Exposure and Extended Biomarker Activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21* (11), 3411–3416. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.03.112>.

(103) Huang, Y.; Strobel, E. D.; Ho, C. Y.; Reynolds, C. H.; Conway, K. A.; Piesvaux, J. A.; Brenneman, D. E.; Yohrling, G. J.; Moore Arnold, H.; Rosenthal, D.; Alexander, R. S.; Tounge, B. A.; Mercken, M.; Vandermeeren, M.; Parker, M. H.; Reitz, A. B.; Baxter, E. W. Macrocyclic BACE Inhibitors: Optimization of a Micromolar Hit to Nanomolar Leads. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20* (10), 3158–3160. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.03.097>.

(104) Masson, G.; Neuville, L.; Bughin, C.; Fayol, A.; Zhu, J. Multicomponent Syntheses of Macrocycles. In *Synthesis of Heterocycles via Multicomponent Reactions II*; Orru, R. V. A., Ruijter, E., Eds.; Topics in Heterocyclic Chemistry; Springer: Berlin, Heidelberg, 2010;1–24. [https://doi.org/10.1007/7081\\_2010\\_47](https://doi.org/10.1007/7081_2010_47).

(105) Abdelraheem, E. M. M.; Shaabani, S.; Dömling, A. Macrocycles: MCR Synthesis and Applications in Drug Discovery. *Drug Discov. Today Technol.* **2018**, *29*, 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2018.06.008>.

(106) Janetka, J. W.; Raman, P.; Satyshur, K.; Flentke, G. R.; Rich, D. H. Novel Cyclic

Biphenyl Ether Peptide  $\beta$ -Strand Mimetics and HIV-Protease Inhibitors. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119* (2), 441–442. <https://doi.org/10.1021/ja963495u>.

(107) Knapp-Reed, B.; Mahandru, G. M.; Montgomery, J. Access to Macrocyclic Endocyclic and Exocyclic Allylic Alcohols by Nickel-Catalyzed Reductive Cyclization of Ynals. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (38), 13156–13157. <https://doi.org/10.1021/ja054590i>.

(108) Balraju, V.; Srinivasa Reddy, D.; Periasamy, M.; Iqbal, J. Synthesis of Small Cyclic Peptides Constrained with 3-(3-Aminomethylphenyl)Propionic Acid Linkers Using Free Radical-Mediated Macrocyclization. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46* (31), 5207–5210. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.05.115>.

(109) Bédard, A.-C.; Santandrea, J.; Collins, S. K. Efficient Continuous-Flow Synthesis of Macrocyclic Triazoles. *J. Flow Chem.* **2015**, *5* (3), 142–144. <https://doi.org/10.1556/jfc-d-14-00042>.

(110) Bédard, A.-C.; Régnier, S.; K. Collins, S. Continuous Flow Macrocyclization at High Concentrations: Synthesis of Macrocyclic Lipids. *Green Chem.* **2013**, *15* (7), 1962–1966. <https://doi.org/10.1039/C3GC40872H>.

(111) Alzheimer, A. Über Einen Eigenartigen Schweren Erkrankungsprozeb Der Himrinde. *Neurol Zentralbl* **1906**, *23*, 1129–1136.

(112) Strassnig, M.; Ganguli, M. About a Peculiar Disease of the Cerebral Cortex. *Psychiatry Edgmont* **2005**, *2* (9), 30–33.

(113) Pescosolido, N.; Pascarella, A.; Buomprisco, G.; Rusciano, D. Critical Review on the Relationship between Glaucoma and Alzheimer’s Disease. *Adv. Ophthalmol. Vis. Syst.* **2014**, *Volume 1* (Issue 4). <https://doi.org/10.15406/aovs.2014.01.00024>.

(114) Prince, M.; Bryce, R.; Albanese, E.; Wimo, A.; Ribeiro, W.; Ferri, C. P. The Global Prevalence of Dementia: A Systematic Review and Metaanalysis. *Alzheimers Dement.* **2013**, *9* (1), 63–75.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2012.11.007>.

(115) Alzheimer (maladie d’) | Inserm - La science pour la santé <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/alzheimer-maladie> (accessed Sep 26, 2019).

(116) Hebert, L. E.; Weuve, J.; Scherr, P. A.; Evans, D. A. Alzheimer Disease in the United States (2010–2050) Estimated Using the 2010 Census. *Neurology* **2013**, *80* (19), 1778–1783. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31828726f5>.

(117) Rönnekaa, E.; Rönnekaa, E.; Zethelius, B.; Lannfelt, L.; Kilander, L. Vascular Risk Factors and Dementia: 40-Year Follow-Up of a Population-Based Cohort. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* **2011**, *31* (6), 460–466. <https://doi.org/10.1159/000330020>.

(118) Meng, X.-F.; Yu, J.-T.; Wang, H.-F.; Tan, M.-S.; Wang, C.; Tan, C.-C.; Tan, L. Midlife Vascular Risk Factors and the Risk of Alzheimer’s Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Alzheimers Dis.* **2014**, *42* (4), 1295–1310. <https://doi.org/10.3233/JAD-140954>.

(119) Santos-Lozano, A.; Pareja-Galeano, H.; Sanchis-Gomar, F.; Quindós-Rubial, M.;

Fiuza-Luces, C.; Cristi-Montero, C.; Emanuele, E.; Garatachea, N.; Lucia, A. Physical Activity and Alzheimer Disease: A Protective Association. *Mayo Clin. Proc.* **2016**, *91* (8), 999–1020. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2016.04.024>.

(120) Stern, Y. What Is Cognitive Reserve? Theory and Research Application of the Reserve Concept. *J. Int. Neuropsychol. Soc.* **2002**, *8* (3), 448–460. <https://doi.org/10.1017/S1355617702813248>.

(121) Bekris, L. M.; Yu, C.-E.; Bird, T. D.; Tsuang, D. W. Review Article: Genetics of Alzheimer Disease. *J. Geriatr. Psychiatry Neurol.* **2010**, *23* (4), 213–227. <https://doi.org/10.1177/0891988710383571>.

(122) Ryan, N. S.; Rossor, M. N. Correlating Familial Alzheimer's Disease Gene Mutations with Clinical Phenotype. *Biomark. Med.* **2010**, *4* (1), 99–112. <https://doi.org/10.2217/bmm.09.92>.

(123) 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**, *444*, 332–358. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1985.tb37600.x>.

(124) H. Ferreira-Vieira, T.; M. Guimaraes, I.; R. Silva, F.; M. Ribeiro, F. Alzheimer's Disease: Targeting the Cholinergic System. *Curr. Neuropharmacol.* **2016**, *14* (1), 101–115.

(125) Muir, J. L. Acetylcholine, Aging, and Alzheimer's Disease. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **1997**, *56* (4), 687–696. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(96\)00431-5](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(96)00431-5).

(126) What is the role of acetylcholinesterase at a synapse? | Socratic <https://socratic.org/questions/what-is-the-role-of-acetylcholinesterase-at-a-synapse-1> (accessed Apr 9, 2020).

(127) Claeysen, S.; Bockaert, J.; Giannoni, P. Serotonin: A New Hope in Alzheimer's Disease? *ACS Chem. Neurosci.* **2015**, *6* (7), 940–943. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.5b00135>.

(128) Cheng, P.-N.; Liu, C.; Zhao, M.; Eisenberg, D.; Nowick, J. S. Amyloid  $\beta$ -Sheet Mimics That Antagonize Protein Aggregation and Reduce Amyloid Toxicity. *Nat. Chem.* **2012**, *4* (11), 927–933. <https://doi.org/10.1038/nchem.1433>.

(129) 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).

(130) Ballatore, C.; Lee, V. M.-Y.; Trojanowski, J. Q. Tau-Mediated Neurodegeneration in Alzheimer's Disease and Related Disorders. *Nat. Rev. Neurosci.* **2007**, *8* (9), 663–672. <https://doi.org/10.1038/nrn2194>.

(131) Mazanetz, M. P.; Fischer, P. M. Untangling Tau Hyperphosphorylation in Drug Design for Neurodegenerative Diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2007**, *6* (6), 464–479. <https://doi.org/10.1038/nrd2111>.

(132) Lee, V. M.-Y.; Goedert, M.; Trojanowski, J. Q. Neurodegenerative Tauopathies. *Annu. Rev. Neurosci.* **2001**, *24* (1), 1121–1159. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.24.1.1121>.

- (133) 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>.
- (134) 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>.
- (135) Heneka, M. T.; Carson, M. J.; Khoury, J. E.; Landreth, G. E.; Brosseron, F.; Feinstein, D. L.; Jacobs, A. H.; Wyss-Coray, T.; Vitorica, J.; Ransohoff, R. M.; Herrup, K.; Frautschy, S. A.; Finsen, B.; Brown, G. C.; Verkhratsky, A.; Yamanaka, K.; Koistinaho, J.; Latz, E.; Halle, A.; Petzold, G. C.; Town, T.; Morgan, D.; Shinohara, M. L.; Perry, V. H.; Holmes, C.; Bazan, N. G.; Brooks, D. J.; Hunot, S.; Joseph, B.; Deigendesch, N.; Garaschuk, O.; Boddeke, E.; Dinarello, C. A.; Breitner, J. C.; Cole, G. M.; Golenbock, D. T.; Kummer, M. P. 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).
- (136) Dixon, S. J.; Lemberg, K. M.; Lamprecht, M. R.; Skouta, R.; Zaitsev, E. M.; Gleason, C. E.; Patel, D. N.; Bauer, A. J.; Cantley, A. M.; Yang, W. S.; Morrison, B.; Stockwell, B. R. Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of Nonapoptotic Cell Death. *Cell* **2012**, *149* (5), 1060–1072. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.042>.
- (137) Ayton, S.; Bush, A. I. L-8 - Iron and Ferroptosis in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Free Radic. Biol. Med.* **2018**, *120*, S8. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.04.037>.
- (138) Dominy, S. S.; Lynch, C.; Ermini, F.; Benedyk, M.; Marczyk, A.; Konradi, A.; Nguyen, M.; Haditsch, U.; Raha, D.; Griffin, C.; Holsinger, L. J.; Arastu-Kapur, S.; Kaba, S.; Lee, A.; Ryder, M. I.; Potempa, B.; Mydel, P.; Hellvard, A.; Adamowicz, K.; Hasturk, H.; Walker, G. D.; Reynolds, E. C.; Faull, R. L. M.; Curtis, M. A.; Dragunow, M.; Potempa, J. Porphyromonas Gingivalis in Alzheimer's Disease Brains: Evidence for Disease Causation and Treatment with Small-Molecule Inhibitors. *Sci. Adv.* **2019**, *5* (1), eaau3333. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aau3333>.
- (139) Singhrao, S. K.; Olsen, I. Assessing the Role of Porphyromonas Gingivalis in Periodontitis to Determine a Causative Relationship with Alzheimer's Disease. *J. Oral Microbiol.* **2019**, *11* (1), 1563405. <https://doi.org/10.1080/20002297.2018.1563405>.
- (140) Ilievski, V.; Zuchowska, P. K.; Green, S. J.; Toth, P. T.; Ragozzino, M. E.; Le, K.; Aljewari, H. W.; O'Brien-Simpson, N. M.; Reynolds, E. C.; Watanabe, K. Chronic Oral Application of a Periodontal Pathogen Results in Brain Inflammation, Neurodegeneration and Amyloid Beta Production in Wild Type Mice. *PLoS ONE* **2018**, *13* (10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204941>.
- (141) Cacabelos, R.; Takeda, M.; Winblad, B. The Glutamatergic System and Neurodegeneration in Dementia: Preventive Strategies in Alzheimer's Disease. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **1999**, *14* (1), 3–47. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1166\(199901\)14:1<3::AID-GPS897>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1166(199901)14:1<3::AID-GPS897>3.0.CO;2-7).

(142) Parsons, C. G.; Stöfler, A.; Danysz, W. Memantine: A NMDA Receptor Antagonist That Improves Memory by Restoration of Homeostasis in the Glutamatergic System - Too Little Activation Is Bad, Too Much Is Even Worse. *Neuropharmacology* **2007**, *53* (6), 699–723. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.07.013>.

(143) Médicaments de la maladie d'Alzheimer : un intérêt médical insuffisant pour justifier leur prise en charge par la solidarité nationale [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_2679466/fr/medicaments-de-la-maladie-d-alzheimer-un-interet-medical-insuffisant-pour-justifier-leur-prise-en-charge-par-la-solidarite-nationale](https://www.has-sante.fr/jcms/c_2679466/fr/medicaments-de-la-maladie-d-alzheimer-un-interet-medical-insuffisant-pour-justifier-leur-prise-en-charge-par-la-solidarite-nationale) (accessed Apr 9, 2020).

(144) Arrêté du 29 mai 2018 portant radiation de spécialités pharmaceutiques de la liste mentionnée au premier alinéa de l'article L. 162-17 du code de la sécurité sociale | Legifrance <https://www.legifrance.gouv.fr/eli/arrete/2018/5/29/SSAS1804466A/jo/texte> (accessed Apr 9, 2020).

(145) Cummings, J.; Lee, G.; Ritter, A.; Sabbagh, M.; Zhong, K. Alzheimer's Disease Drug Development Pipeline: 2019. *Alzheimers Dement. Transl. Res. Clin. Interv.* **2019**, *5*, 272–293. <https://doi.org/10.1016/j.trci.2019.05.008>.

(146) Sevigny, J.; Chiao, P.; Bussière, T.; Weinreb, P. H.; Williams, L.; Maier, M.; Dunstan, R.; Salloway, S.; Chen, T.; Ling, Y.; O'Gorman, J.; Qian, F.; Arastu, M.; Li, M.; Chollate, S.; Brennan, M. S.; Quintero-Monzon, O.; Scannevin, R. H.; Arnold, H. M.; Engber, T.; Rhodes, K.; Ferrero, J.; Hang, Y.; Mikulskis, A.; Grimm, J.; Hock, C.; Nitsch, R. M.; Sandrock, A. The Antibody Aducanumab Reduces A $\beta$  Plaques in Alzheimer's Disease. *Nature* **2016**, *537* (7618), 50–56. <https://doi.org/10.1038/nature19323>.

(147) Aducanumab : l'espoir renaît pour les patients Alzheimer. *Fondation Vaincre Alzheimer*, 2019.

(148) Kunkle, F. Biogen's potential new drug for Alzheimer's disease gets cautiously optimistic review following presentation <https://www.washingtonpost.com/dc-md-va/2019/12/05/biogens-potential-new-drug-alzheimers-disease-gets-cautiously-optimistic-review-following-presentation/> (accessed Apr 9, 2020).

(149) Schrott, L.; Jackson, K.; Yi, P.; Dietz, F.; Johnson, G.; Basting, T.; Purdum, G.; Tyler, T.; Rios, J.; Castor, T. Acute Oral Bryostatin-1 Administration Improves Learning Deficits in the APP/PS1 Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Curr. Alzheimer Res.* **2015**, *12* (1), 22–31.

(150) Nelson, T. J.; Sun, M.-K.; Lim, C.; Sen, A.; Khan, T.; Chirila, F. V.; Alkon, D. L. Bryostatin Effects on Cognitive Function and PKC $\epsilon$  in Alzheimer's Disease Phase IIa and Expanded Access Trials. *J. Alzheimers Dis.* **2017**, *58* (2), 521–535. <https://doi.org/10.3233/JAD-170161>.

(151) Neurotrope | Neurotrope Announces Top-Line Results From Confirmatory Phase 2 Study of Bryostatin-1 in Moderate to Severe Alzheimer's Disease.

(152) Hitchcock, S. A.; Pennington, L. D. Structure–Brain Exposure Relationships. *J. Med. Chem.* **2006**, *49* (26), 7559–7583. <https://doi.org/10.1021/jm060642i>.

(153) Ghose, A. K.; Herbertz, T.; Hudkins, R. L.; Dorsey, B. D.; Mallamo, J. P. Knowledge-

Based, Central Nervous System (CNS) Lead Selection and Lead Optimization for CNS Drug Discovery. *ACS Chem. Neurosci.* **2012**, *3* (1), 50–68. <https://doi.org/10.1021/cn200100h>.

(154) Hitchcock, S. A. Structural Modifications That Alter the P-Glycoprotein Efflux Properties of Compounds. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (11), 4877–4895. <https://doi.org/10.1021/jm201136z>.

(155) Desai, P. V.; Sawada, G. A.; Watson, I. A.; Raub, T. J. Integration of in Silico and in Vitro Tools for Scaffold Optimization during Drug Discovery: Predicting P-Glycoprotein Efflux. *Mol. Pharm.* **2013**, *10* (4), 1249–1261. <https://doi.org/10.1021/mp300555n>.

(156) Xu, L.; Liu, H.; Murray, B. P.; Callebaut, C.; Lee, M. S.; Hong, A.; Strickley, R. G.; Tsai, L. K.; Stray, K. M.; Wang, Y.; Rhodes, G. R.; Desai, M. C. Cobicistat (GS-9350): A Potent and Selective Inhibitor of Human CYP3A as a Novel Pharmacoenhancer. *ACS Med. Chem. Lett.* **2010**, *1* (5), 209–213. <https://doi.org/10.1021/ml1000257>.

(157) Basit, S.; Ashraf, Z.; Lee, K.; Latif, M. First Macrocyclic 3rd-Generation ALK Inhibitor for Treatment of ALK/ROS1 Cancer: Clinical and Designing Strategy Update of Lorlatinib. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *134*, 348–356. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.04.032>.

(158) Johnson, T. W.; Richardson, P. F.; Bailey, S.; Brooun, A.; Burke, B. J.; Collins, M. R.; Cui, J. J.; Deal, J. G.; Deng, Y.-L.; Dinh, D.; Engstrom, L. D.; He, M.; Hoffman, J.; Hoffman, R. L.; Huang, Q.; Kania, R. S.; Kath, J. C.; Lam, H.; Lam, J. L.; Le, P. T.; Lingardo, L.; Liu, W.; McTigue, M.; Palmer, C. L.; Sach, N. W.; Smeal, T.; Smith, G. L.; Stewart, A. E.; Timofeevski, S.; Zhu, H.; Zhu, J.; Zou, H. Y.; Edwards, M. P. Discovery of (10R)-7-Amino-12-Fluoro-2,10,16-Trimethyl-15-Oxo-10,15,16,17-Tetrahydro-2H-8,4-(Metheno)Pyrazolo[4,3-h][2,5,11]-Benzoxadiazacyclotetradecine-3-Carbonitrile (PF-06463922), a Macrocyclic Inhibitor of Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) and c-Ros Oncogene 1 (ROS1) with Preclinical Brain Exposure and Broad-Spectrum Potency against ALK-Resistant Mutations. *J. Med. Chem.* **2014**, *57* (11), 4720–4744. <https://doi.org/10.1021/jm500261q>.

(159) Li, W.; Sparidans, R. W.; Wang, Y.; Lebre, M. C.; Wagenaar, E.; Beijnen, J. H.; Schinkel, A. H. P-Glycoprotein (MDR1/ABCB1) Restricts Brain Accumulation and Cytochrome P450-3A (CYP3A) Limits Oral Availability of the Novel ALK/ROS1 Inhibitor Lorlatinib. *Int. J. Cancer* **2018**, *143* (8), 2029–2038. <https://doi.org/10.1002/ijc.31582>.

(160) Collier, T. L.; Maresca, K. P.; Normandin, M. D.; Richardson, P.; McCarthy, T. J.; Liang, S. H.; Waterhouse, R. N.; Vasdev, N. Brain Penetration of the ROS1/ALK Inhibitor Lorlatinib Confirmed by PET. *Mol. Imaging* **2017**, *16*, 1536012117736669. <https://doi.org/10.1177/1536012117736669>.

(161) Chen, W.; Jin, D.; Shi, Y.; Zhang, Y.; Zhou, H.; Li, G. The Underlying Mechanisms of Lorlatinib Penetration across the Blood-Brain Barrier and the Distribution Characteristics of Lorlatinib in the Brain. *Cancer Med.* **2020**, *9* (12), 4350–4359. <https://doi.org/10.1002/cam4.3061>.

(162) Ghosh, A. K.; Osswald, H. L. BACE1 ( $\beta$ -Secretase) Inhibitors for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43* (19), 6765–6813.

<https://doi.org/10.1039/C3CS60460H>.

(163) Hong, L.; Koelsch, G.; Lin, X.; Wu, S.; Terzyan, S.; Ghosh, A. K.; Zhang, X. C.; Tang, J. Structure of the Protease Domain of Memapsin 2 ( $\beta$ -Secretase) Complexed with Inhibitor. *Science* **2000**, *290* (5489), 150–153. <https://doi.org/10.1126/science.290.5489.150>.

(164) Rojo, I.; Martín, J. A.; Broughton, H.; Timm, D.; Erickson, J.; Yang, H.-C.; McCarthy, J. R. Macrocyclic Peptidomimetic Inhibitors of  $\beta$ -Secretase (BACE): First X-Ray Structure of a Macrocyclic Peptidomimetic-BACE Complex. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16* (1), 191–195. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.09.003>.

(165) Hanessian, S.; Yang, G.; Rondeau, J.-M.; Neumann, U.; Betschart, C.; Tintelnot-Blomley, M. Structure-Based Design and Synthesis of Macroheterocyclic Peptidomimetic Inhibitors of the Aspartic Protease  $\beta$ -Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme (BACE). *J. Med. Chem.* **2006**, *49* (15), 4544–4567. <https://doi.org/10.1021/jm060154a>.

(166) Machauer, R.; Laumen, K.; Veenstra, S.; Rondeau, J.-M.; Tintelnot-Blomley, M.; Betschart, C.; Jatón, A.-L.; Desrayaud, S.; Staufenbiel, M.; Rabe, S.; Paganetti, P.; Neumann, U. Macrocyclic Peptidomimetic  $\beta$ -Secretase (BACE-1) Inhibitors with Activity in Vivo. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19* (5), 1366–1370. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.01.055>.

(167) Machauer, R.; Veenstra, S.; Rondeau, J.-M.; Tintelnot-Blomley, M.; Betschart, C.; Neumann, U.; Paganetti, P. Structure-Based Design and Synthesis of Macrocyclic Peptidomimetic  $\beta$ -Secretase (BACE-1) Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19* (5), 1361–1365. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.01.036>.

(168) Lerchner, A.; Machauer, R.; Betschart, C.; Veenstra, S.; Rueeger, H.; McCarthy, C.; Tintelnot-Blomley, M.; Jatón, A.-L.; Rabe, S.; Desrayaud, S.; Enz, A.; Staufenbiel, M.; Paganetti, P.; Rondeau, J.-M.; Neumann, U. Macrocyclic BACE-1 Inhibitors Acutely Reduce A $\beta$  in Brain after Po Application. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20* (2), 603–607. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.11.092>.

(169) Ghosh, A. K.; Devasamudram, T.; Hong, L.; DeZutter, C.; Xu, X.; Weerasena, V.; Koelsch, G.; Bilcer, G.; Tang, J. Structure-Based Design of Cycloamide–Urethane-Derived Novel Inhibitors of Human Brain Memapsin 2 ( $\beta$ -Secretase). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15* (1), 15–20. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.10.084>.

(170) Pennington, L. D.; Whittington, D. A.; Bartberger, M. D.; Jordan, S. R.; Monenschein, H.; Nguyen, T. T.; Yang, B. H.; Xue, Q. M.; Vounatsos, F.; Wahl, R. C.; Chen, K.; Wood, S.; Citron, M.; Patel, V. F.; Hitchcock, S. A.; Zhong, W. Hydroxyethylamine-Based Inhibitors of BACE1: P1–P3 Macrocyclization Can Improve Potency, Selectivity, and Cell Activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23* (15), 4459–4464. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.05.028>.

(171) Coburn, C. A.; Stachel, S. J.; Jones, K. G.; Steele, T. G.; Rush, D. M.; DiMuzio, J.; Pietrak, B. L.; Lai, M.-T.; Huang, Q.; Lineberger, J.; Jin, L.; Munshi, S.; Katharine Holloway, M.; Espeseth, A.; Simon, A.; Hazuda, D.; Graham, S. L.; Vacca, J. P. BACE-1 Inhibition by a Series of

ψ[CH<sub>2</sub>NH] Reduced Amide Isosteres. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16* (14), 3635–3638. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.04.076>.

(172) Stachel, S. J.; Coburn, C. A.; Sankaranarayanan, S.; Price, E. A.; Pietrak, B. L.; Huang, Q.; Lineberger, J.; Espeseth, A. S.; Jin, L.; Ellis, J.; Holloway, M. K.; Munshi, S.; Allison, T.; Hazuda, D.; Simon, A. J.; Graham, S. L.; Vacca, J. P. Macrocyclic Inhibitors of β-Secretase: Functional Activity in an Animal Model. *J. Med. Chem.* **2006**, *49* (21), 6147–6150. <https://doi.org/10.1021/jm060884i>.

(173) Lindsley, S. R.; Moore, K. P.; Rajapakse, H. A.; Selnick, H. G.; Young, M. B.; Zhu, H.; Munshi, S.; Kuo, L.; McGaughey, G. B.; Colussi, D.; Crouthamel, M.-C.; Lai, M.-T.; Pietrak, B.; Price, E. A.; Sankaranarayanan, S.; Simon, A. J.; Seabrook, G. R.; Hazuda, D. J.; Pudvah, N. T.; Hochman, J. H.; Graham, S. L.; Vacca, J. P.; Nantermet, P. G. Design, Synthesis, and SAR of Macrocyclic Tertiary Carbinamine BACE-1 Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17* (14), 4057–4061. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.04.072>.

(174) Egan, M. F.; Kost, J.; Tariot, P. N.; Aisen, P. S.; Cummings, J. L.; Vellas, B.; Sur, C.; Mukai, Y.; Voss, T.; Furtek, C.; Mahoney, E.; Harper Mozley, L.; Vandenberghe, R.; Mo, Y.; Michelson, D. Randomized Trial of Verubecestat for Mild-to-Moderate Alzheimer's Disease. *N. Engl. J. Med.* **2018**, *378* (18), 1691–1703. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1706441>.

(175) Kennedy, M. E.; Stamford, A. W.; Chen, X.; Cox, K.; Cumming, J. N.; Dockendorf, M. F.; Egan, M.; Ereshefsky, L.; Hodgson, R. A.; Hyde, L. A.; Jhee, S.; Kleijn, H. J.; Kuvelkar, R.; Li, W.; Mattson, B. A.; Mei, H.; Palcza, J.; Scott, J. D.; Tanen, M.; Troyer, M. D.; Tseng, J. L.; Stone, J. A.; Parker, E. M.; Forman, M. S. The BACE1 Inhibitor Verubecestat (MK-8931) Reduces CNS β-Amyloid in Animal Models and in Alzheimer's Disease Patients. *Sci. Transl. Med.* **2016**, *8* (363), 363ra150–363ra150. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aad9704>.

(176) Doggrell, S. A. Lessons That Can Be Learnt from the Failure of Verubecestat in Alzheimer's Disease. *Expert Opin. Pharmacother.* **2019**, *20* (17), 2095–2099. <https://doi.org/10.1080/14656566.2019.1654998>.

(177) Panza, F.; Lozupone, M.; Watling, M.; Imbimbo, B. P. Do BACE Inhibitor Failures in Alzheimer Patients Challenge the Amyloid Hypothesis of the Disease? *Expert Rev. Neurother.* **2019**, *19* (7), 599–602. <https://doi.org/10.1080/14737175.2019.1621751>.

(178) Panza, F.; Lozupone, M.; Logroscino, G.; Imbimbo, B. P. A Critical Appraisal of Amyloid-β-Targeting Therapies for Alzheimer Disease. *Nat. Rev. Neurol.* **2019**, *15* (2), 73–88. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0116-6>.

(179) Panza, F.; Lozupone, M.; Seripa, D.; Imbimbo, B. P. Amyloid-β Immunotherapy for Alzheimer Disease: Is It Now a Long Shot? *Ann. Neurol.* **2019**, *85* (3), 303–315. <https://doi.org/10.1002/ana.25410>.

(180) Shen, L.; Prouty, C.; Conway, B. R.; Westover, L.; Xu, J. Z.; Look, R. A.; Chen, X.; Beavers, M. P.; Roberts, J.; Murray, W. V.; Demarest, K. T.; Kuo, G.-H. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Macrocyclic Bis-7-Azaindolylmaleimides as Potent and Highly Selective Glycogen

Synthase Kinase-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ) Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12* (5), 1239–1255. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2003.09.047>.

(181) Auberson, Y.; Betschart, C.; Glatthar, R.; Laumen, K.; Machauer, R.; Tintelnot-Blomley, M.; Troxler, T. J.; Veenstra, S. J. Macrocyclic Lactams and Pharmaceutical Use Thereof. WO2005049585A1, June 2, 2005.

(182) Stamford, A. W.; Huang, Y.; Li, G.; Strickland, C. O.; Voigt, J. H. Macrocyclic Beta-Secretase Inhibitors. WO2006014944A1, February 9, 2006.

(183) Pulley, S. R.; Beck, J. P.; Tenbrink, R. E.; Jacobs, J. S. Macrocycles Useful in the Treatment of Alzheimer's Disease. WO2002100399A1, December 19, 2002.

(184) Iserloh, U.; Zhu, Z.; Stamford, A.; Voigt, J. Macrocyclic Heterocyclic Aspartyl Protease Inhibitors. US20060281729A1, December 14, 2006.

(185) Shi, S.; Gerritz, S.; Zhu, S. Macrocyclic Acyl Guanidines as Beta-Secretase Inhibitors. US20080262055A1, October 23, 2008.

(186) Wu, Y.-J.; Gerritz, S.; Shi, S.; Zhu, S. Oxime-Containing Macrocyclic Acyl Guanidines as Beta-Secretase Inhibitors. US20080139523A1, June 12, 2008.

(187) Baxter, E.; Reitz, A.; Parker, M.; Huang, Y.; Ho, C.; Strobel, E.; Reynolds, C. MACROCYCLE DERIVATIVES USEFUL AS INHIBITORS OF Beta-SECRETASE (BACE). US20070232630A1, October 4, 2007.

(188) Nott, A.; Fass, D. M.; Haggarty, S. J.; Tsai, L.-H. Chapter 8 - HDAC Inhibitors as Novel Therapeutics in Aging and Alzheimer's Disease. In *Epigenetic Regulation in the Nervous System*; Sweatt, J. D., Meaney, M. J., Nestler, E. J., Akbarian, S., Eds.; Academic Press: San Diego, 2013;225–248. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-391494-1.00008-2>.

(189) Rodrigues, D. A.; Pinheiro, P. de S. M.; Sagrillo, F. S.; Bolognesi, M. L.; Fraga, C. A. M. Histone Deacetylases as Targets for the Treatment of Neurodegenerative Disorders: Challenges and Future Opportunities. *Med. Res. Rev.* **2020**, med.21701. <https://doi.org/10.1002/med.21701>.

(190) Shukla, S.; Shariat-Madar, Z.; Walker, L. A.; Tekwani, B. L. Mechanism for Neurotropic Action of Vorinostat, a Pan Histone Deacetylase Inhibitor. *Mol. Cell. Neurosci.* **2016**, *77*, 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2016.09.003>.

(191) C. Mwakwari, S.; Patil, V.; Guerrant, W.; K. Oyelere, A. Macrocyclic Histone Deacetylase Inhibitors. *Curr. Top. Med. Chem.* **2010**, *10* (14), 1423–1440. <https://doi.org/10.2174/156802610792232079>.

(192) Maolanon, A. R.; Kristensen, H. M. E.; Leman, L. J.; Ghadiri, M. R.; Olsen, C. A. Natural and Synthetic Macrocyclic Inhibitors of the Histone Deacetylase Enzymes. *ChemBioChem* **2017**, *18* (1), 5–49. <https://doi.org/10.1002/cbic.201600519>.

(193) Brewster, J. T.; Thiabaud, G. D.; Harvey, P.; Zafar, H.; Reuther, J. F.; Dell'Acqua, S.; Johnson, R. M.; Root, H. D.; Metola, P.; Jasanoff, A.; Casella, L.; Sessler, J. L. Metallotexaphyrins as MRI-Active Catalytic Antioxidants for Neurodegenerative Disease: A Study on Alzheimer's Disease.

*Chem* **2020**, *6* (3), 703–724. <https://doi.org/10.1016/j.chempr.2019.12.016>.

(194) Proschak, E.; Stark, H.; Merk, D. Polypharmacology by Design: A Medicinal Chemist's Perspective on Multitargeting Compounds. *J. Med. Chem.* **2018**. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00760>.

(195) Onos, K. D.; Sukoff Rizzo, S. J.; Howell, G. R.; Sasner, M. Toward More Predictive Genetic Mouse Models of Alzheimer's Disease. *Brain Res. Bull.* **2016**, *122*, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2015.12.003>.

(196) Mehta, D.; Jackson, R.; Paul, G.; Shi, J.; Sabbagh, M. Why Do Trials for Alzheimer's Disease Drugs Keep Failing? A Discontinued Drug Perspective for 2010-2015. *Expert Opin. Investig. Drugs* **2017**, *26* (6), 735–739. <https://doi.org/10.1080/13543784.2017.1323868>.

(197) Prince, M. J. World Alzheimer Report 2015: The Global Impact of Dementia <https://www.alz.co.uk/research/world-report-2015> (accessed Jun 26, 2020).

Université de Lille  
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE  
**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
Année Universitaire : 2019/2020

**Nom :Lanthier**  
**Prénom :Caroline**

**Titre de la thèse : Les macrocycles en chimie médicinale : concept, intérêts et application dans la maladie d'Alzheimer.**

**Mots-clés : Macrocycles ; Chimie médicinale ; Alzheimer**

---

**Résumé :**

Un macrocycle se définit comme une structure moléculaire possédant un ou plusieurs cycles de 12 ou plus atomes. Ce sont des structures initialement issues des produits naturels, et bien qu'on les retrouve dans de grands groupes pharmacologiques tel que les macrolides, elles restent sous-développées dans les stratégies de chimie médicinale actuelles. Perçues comme trop complexes à développer et en dehors des règles usuelles de drugabilité, elles ont pourtant de nombreux avantages et intérêts. Les avancées de la chimie nous permettent aujourd'hui d'accéder à la formation de ces cycles au travers de divers réactions décrites, définies et exemplifiées dans le chapitre deux. Enfin, le dernier chapitre sera consacré à la conception de macrocycles dans le contexte de la maladie d'Alzheimer.

---

**Membres du jury :**

**Président :** Pr WILLAND Nicolas, Professeur des Universités, laboratoire U1177, Université de Lille.

**Directrice, conseillère de thèse :** Pr Rebecca DEPRez-POULAIN, Professeur des Universités, Docteur en Pharmacie, laboratoire U1177, Université de Lille.

**Assesseur :** Dr BOSC Damien, Docteur en Chimie Organique, Maître de conférences en Chimie Thérapeutique, laboratoire U1177, Université de Lille.

**Membre extérieur :** Pr DALLEMAGNE Patrick, Professeur des Universités, Docteur en Pharmacie, Directeur du CERMN (Centre d'Études et de Recherche sur le Médicament de Normandie), Caen.