

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
2 avril 2015 (02.04.2015)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2015/044348 A1

(51) Classification internationale des brevets :

A61K 9/00 (2006.01) A61P 33/06 (2006.01)
A61K 31/407 (2006.01) A61K 31/4188 (2006.01)
A61P 33/00 (2006.01) A61K 31/429 (2006.01)
A61P 33/02 (2006.01) A61K 31/5025 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/EP2014/070625

(22) Date de dépôt international :

26 septembre 2014 (26.09.2014)

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

1359289 26 septembre 2013 (26.09.2013) FR

(71) Déposants : INSTITUT NATIONAL DE LA RE-
CHERCHE AGRONOMIQUE [FR/FR]; 147, rue de
l'Université, F-75007 Paris (FR). UNIVERSITE FRAN-
COIS RABELAIS DE TOURS [FR/FR]; 60, rue du Plat
d'étain, F-37000 Tours (FR).

(72) Inventeur : BROSSIER, Fabien (décédé).

(72) Inventeurs : ENGUEHARD-GUEIFFIER, Cécile; 14 al-
lée des Grenouilles Hameau de Beauvais, F-37310 Tauxi-
gny (FR). GRAS, Simon; 6 allée de la Chaude Rivière, F-
59650 Villeneuve D'ascq (FR). ABARBRI, Mohamed;
121 rue de Grand Cour, F-37550 Saint Avertin (FR). THI-
BONNET, Jérôme; 5 rue du Paradis, F-37250 Veigne
(FR). SILVESTRE, Anne; 6 rue Maria Callas, F-37550
Saint Avertin (FR). SILPA, Laurence; 76 rue Bernard Pa-

lissy, F-37000 Tours (FR). PETRIGNET, Julien; 50 rue
Martin Audenet, F-37700 Saint-Pierre-Des-Corps (FR).

(74) Mandataire : REGIMBEAU; 139 rue Vendôme, F-69477
Lyon Cedex 06 (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG,
MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM,
PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ,
TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU,
TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU,
LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,
SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Déclarations en vertu de la règle 4.17 :

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv))

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

(54) Title : PREVENTION AND/OR TREATMENT OF PARASITOSEs INDUCED BY PARASITES FROM THE APICOM-
PLEXA PHYLUM

(54) Titre : PREVENTION ET/OU TRAITEMENT DES PARASITOSEs INDUITES PAR DES PARASITES APPARTENANT
AU PHYLUM DES APICOMPLEXES

(57) Abstract : The invention relates to compounds from the class of pyranones, used in the prevention and/or treatment of cocci-
diosis (infection by Eimeria spp.). These compounds are also useful in the prevention and/or treatment of cryptosporidiosis (infec-
tion by Cryptosporidium spp.), toxoplasmosis (infection by Toxoplasma gondii), neosporosis (infection induced by Neospora cani-
num) and/or malaria (infection by Plasmodium spp.).

(57) Abrégé : La présente invention concerne des composés appartenant à la classe des pyranones utiles dans la prévention et/ou le
traitement des coccidioses (infections par Eimeria spp.). Ces composés s'avèrent également utiles dans la prévention et/ou le traite-
ment de la cryptosporidiose (infections par Cryptosporidium spp.), de la toxoplasmose (infections par Toxoplasma gondii), de la néo-
sporose (infections induites par Neospora caninum) et/ou de la malaria (infections par Plasmodium spp.).



WO 2015/044348 A1

PREVENTION ET/OU TRAITEMENT DES PARASITOSE INDUITES PAR DES PARASITES APPARTENANT AU PHYLUM DES APICOMPLEXES

DOMAINE DE L'INVENTION

5 La présente invention concerne le domaine de la prévention et/ou du traitement des parasitoses induites par des parasites appartenant au phylum des apicomplexes. Plus particulièrement, la présente invention vise à fournir de nouveaux composés utiles dans la prévention et/ou le traitement des coccidioses (infections par *Eimeria* spp.). Les composés de la présente invention s'avèrent également utiles dans la prévention et/ou le traitement de la
10 cryptosporidiose (infections par *Cryptosporidium* spp.), de la toxoplasmose (infections par *Toxoplasma gondii*), de la néosporose (infections induites par *Neospora caninum*) et/ou de la malaria (infections par *Plasmodium* spp.).

ARRIERE PLAN DE L'INVENTION

15 Les coccidioses du genre *Eimeria* sont des maladies parasitaires touchant de nombreuses espèces telles que les ovins, porcins, bovins, lapins, oiseaux et volailles. Les parasites responsables de ces pathologies sont divers et touchent chacun une espèce propre. Par exemple, les coccidioses aviaires, maladies parasitaires les plus fréquentes chez les volailles, peuvent prendre de nombreuses formes et sont causées par des parasites du genre
20 *Eimeria*, tels qu'*E. acervulina*, *E. necatrix*, *E. maxima*, *E. brunetti*, *E. tenella*, *E. mitis*, *E. praecox*.

D'une manière générale, les parasites responsables des coccidioses appartiennent au phylum des apicomplexes, auquel appartiennent également les parasites responsables de pathologies humaines telles que la malaria ou paludisme (ex : *Plasmodium falciparum*, *P.*
25 *vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. knowlesi*), la toxoplasmose (ex : *Toxoplasma gondii*) ou la cryptosporidiose (ex : *Cryptosporidium hominis*).

Sur le plan vétérinaire, la lutte contre les coccidioses aviaires passe généralement par un traitement prophylactique des élevages comprenant l'administration d'anticoccidiens et/ou la vaccination. Le coût élevé des vaccins obtenus à partir de souches atténuées freine le recours
30 à ce mode de traitement dans les élevages de poulets de chair. Ainsi, les éleveurs choisissent très souvent d'avoir recours à des anticoccidiens.

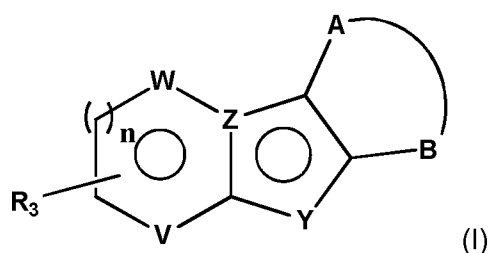
Si les agents anticoccidiens disponibles à ce jour s'avèrent efficaces, les éleveurs doivent cependant faire face à un problème majeur : l'apparition croissante de phénomène de

résistance des parasites aux agents anticoccidiens, essentiellement liée à leur utilisation massive.

Un besoin existe donc pour la mise à disposition de nouveaux agents permettant de prévenir et/ou traiter les parasitoses induites par les parasites appartenant au phylum des apicomplexes, en particulier les coccidioses induites par *Eimeria*.

BREVE DESCRIPTION DE L'INVENTION

La présente invention concerne des composés de formule (I) :



dans laquelle :

- **-A-B-** représente $-\text{CO}-\text{O}-\text{CR}_1=\text{C}-$ ou $-\text{C}=\text{CR}_1-\text{X}-\text{CO}-$
 - avec **X** représentant un atome d'oxygène ou d'azote ;
 - avec **R₁** représentant un groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle, ledit groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle pouvant être substitué, ou non, par un ou plusieurs groupement(s) hydroxyle, halogène, alkyle, alcényle, alcynyle, alkyloxy, alkylthio, amino, nitro, cycloalkyle, aryle, hétéroaryle, ester et/ou cétone ;
- **Y** représente un atome d'azote substitué, ou non, par un groupement **R₂** avec **R₂** représentant un atome d'hydrogène, un groupement alkyle, aryle, arylalkyle, hétéroaryle, alkylcarbonyle, arylcarbonyle ou hétéroarylcarbonyle ;
- **Z** représente un atome de carbone ou d'azote ;
- **W** représente un atome de carbone ou d'azote, à la condition que lorsque **W** est un atome d'azote, **Z** est un atome d'azote et **V** est un atome de carbone substitué par **R₃**;
- **n** représente le nombre entier 0 ou 1 ;

- **V** représente un atome de carbone ou de soufre, à la condition que lorsque **V** est un atome de soufre, **n** est égal à 0, **Z** est un atome d'azote et **W** est atome de carbone ;
- **R₃** représente un hydrogène, un groupement alkyle, alcényle, alcynyle, alkylthio, arylthio, alkyloxy, aryloxy, aryle, hétéroaryle, amino ou un halogène ;

pour utilisation dans la prévention et/ou le traitement des parasitoses induites par des parasites appartenant au phylum des apicomplexes.

La présente invention concerne également des compositions pharmaceutiques ou vétérinaires comprenant au moins un composé de la présente invention et au moins un excipient acceptable.

Enfin, la présente invention concerne des combinaisons comprenant au moins un composé de la présente invention et au moins un agent antiparasitaire.

BREVE DESCRIPTION DES DESSINS

La figure 1 représente des images de microscopie à fluorescence de cellules MDBKs infectées par *E. tenella* en présence du composé C1 comparées à un contrôle (A : Schizontes ; B : Sporozoïtes)

La figure 2 représente un graphique illustrant l'inhibition dose dépendante du développement des parasites *Eimeria tenella* par le composé C1. Les $\diamond$ illustrent le pourcentage d'invasion par rapport au témoin DMSO en fonction de la concentration en composé C1. Les $\square$ illustrent le pourcentage de développement par rapport au témoin DMSO en fonction de la concentration en composé C1.

La figure 3A représente un graphique illustrant les effets des composés C1, C2, C3 et C4 sur l'invasion et le développement des parasites *Eimeria tenella*. Pour chaque essai, la barre de gauche représente le pourcentage de parasites ayant envahi comparé au contrôle et la barre de droite représente le pourcentage de développement comparé au contrôle.

La figure 3B présente l'absence d'effets cytotoxiques des composés C1, C2, C3 et C4 et C5 sur les cellules par rapport au contrôle (DMSO).

La figure 4A représente un graphique illustrant la diminution dose dépendante de la surface des plages de lyses en fonction des concentrations croissantes en composé C1.

La figure 4B représente des images de microscopie photonique (objectif x4).

La figure 5 représente un graphique illustrant l'inhibition dose dépendante de la croissance de *P. falciparum* en fonction des concentrations croissantes en composé C1.

DESCRIPTION DETAILLEE DE L'INVENTION

Les inventeurs ont découvert que le développement des parasites appartenant au phylum
5 des apicomplexes peut être bloqué par des composés appartenant à la classe des pyranones.
Ces composés, ici désignés par le terme « composé(s) de la présente invention », présentent
ainsi un intérêt dans la prévention et/ou le traitement des parasitoses induites par des parasites
appartenant au phylum des apicomplexes. Des exemples de parasitoses induites par des
parasites appartenant au phylum des apicomplexes incluent les coccidioses (infections induites
10 par *Eimeria spp.*), la malaria (infections induites par *Plasmodium spp.*), la toxoplasmose
(infections induites par *Toxoplasma gondii*), la néosporose (infections induites par *Neospora
caninum*) ou la cryptosporidiose (infections induites par *Cryptosporidium spp.*).

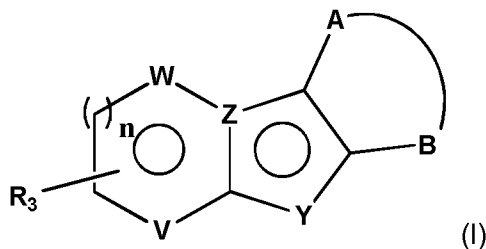
En particulier, les inventeurs ont montré que le développement des parasites du genre
Eimeria tenella, *Plasmodium falciparum* et *Toxoplasma gondii* peut être bloqué par les
15 composés de la présente invention. Les composés de la présente invention présentent ainsi
tout particulièrement un intérêt dans la prévention et/ou le traitement des coccidioses, de la
malaria et/ou de la toxoplasmose.

Plus spécifiquement, les inventeurs ont mis en évidence que les composés de la
présente invention inhibent ou diminuent l'activité d'au moins une protéase appartenant à la
20 famille des aminopeptidases N, protéases essentielles au développement des parasites et
présentes chez la majorité des parasites appartenant au phylum des apicomplexes. Ainsi, les
inventeurs ont mis en évidence que les composés de la présente invention inhibent ou
diminuent l'activité de la protéase EtApN1 chez *Eimeria tenella*. De manière avantageuse, les
composés de la présente invention bloquent le développement parasitaire sans inhiber
25 l'invasion. Le maintien de l'invasion permet une activation du système immunitaire des
animaux, permettant *in fine* de limiter le recours à des traitements complémentaires pour traiter
les parasitoses, en particulier les coccidioses.

De manière avantageuse, les composés de la présente invention sont actifs à des doses
inférieures aux inhibiteurs commerciaux connus d'aminopeptidases perméables aux cellules,
30 tels que le 1,10-ortho-phenanthroline et l'hydrochlorure de bestatine. Les doses peuvent être
inférieures d'un facteur 10 (diminution de l'IC50 pour *Eimeria in vitro* par rapport à
l'hydrochlorure de bestatine). En particulier, le composé C1 (voir ci-dessous) s'est avéré
inhiber l'activité de la protéase EtApN1 dans un lysat parasitaire à une concentration 20 fois

inférieure à celle du 1,10-ortho-phenanthroline et de l'hydrochlorure de bestatine. Par ailleurs, les composés de la présente invention ne présentent pas de toxicité *in vitro*.

Les composés de la présente invention, utiles dans la prévention et/ou le traitement des parasitoses induites par des parasites appartenant au phylum des apicomplexes, présentent la formule générale (I):



dans laquelle :

- **-A-B-** représente $-\text{CO}-\text{O}-\text{CR}_1=\text{C}-$ ou $-\text{C}=\text{CR}_1-\text{X}-\text{CO}-$
 - avec **X** représentant un atome d'oxygène ou d'azote ;
 - avec **R₁** représentant un groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle, ledit groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle pouvant être substitué, ou non, par un ou plusieurs groupement(s) hydroxyle, halogène, alkyle, alcényle, alcynyle, alkyloxy, alkylthio, amino, nitro, cycloalkyle, aryle, hétéroaryle, ester et/ou cétone ;
- **Y** représente un atome d'azote substitué, ou non, par un groupement **R₂** avec **R₂** représentant un atome d'hydrogène, un groupement alkyle, aryle, arylalkyle, hétéroaryle, alkylcarbonyle, arylcarbonyle ou hétéroarylcarbonyle ;
- **Z** représente un atome de carbone ou d'azote ;
- **W** représente un atome de carbone ou d'azote, à la condition que lorsque **W** est un atome d'azote, **Z** est un atome d'azote et **V** est un atome de carbone substitué par **R₃**, de préférence **R₃** est un halogène ;
- **n** représente le nombre entier 0 ou 1 ;
- **V** représente un atome de carbone ou de soufre, à la condition que lorsque **V** est un atome de soufre, **n** est égal à 0, **Z** est un atome d'azote et **W** est un atome de carbone ;
- **R₃** représente un hydrogène, un groupement alkyle, alcényle, alcynyle, alkylthio, arylthio, alkyloxy, aryloxy, aryle, hétéroaryle, amino ou un halogène.

Le terme « alkyle » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention, en particulier dans les définitions des substituants **R₁**, **R₂** et **R₃**, désigne une chaîne hydrocarbonée linéaire ou ramifiée, de préférence comprenant de 1 à 12 atomes de carbone. Des exemples de
5 groupement « alkyle » incluent, de manière non limitative, les groupements méthyle, éthyle, propyle, butyle, pentyle, hexyle, heptyle, octyle, nonyle, décyle, undécyle, dodécyle, isobutyle, isopropyle, t-butyle et 1,1-diméthylpropyle. Dans des modes de réalisation particuliers de la présente invention, **R₁**, **R₂** et **R₃** représentent indépendamment l'un de l'autre un groupement alkyle comprenant de 1 à 6 atomes de carbone.

10

Le terme « alcényle » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention, en particulier dans les définitions des substituants **R₁** et **R₃**, désigne une chaîne hydrocarbonée d'au moins deux atomes de carbone, linéaire ou ramifiée, comprenant au moins une double liaison carbone-carbone, de préférence comprenant au plus 12 atomes de carbone. Des exemples de
15 groupement « alcényle » incluent, de manière non limitative, les groupements éthényle, propényle et butényle.

Le terme « alcynyle » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention, en particulier dans les définitions des substituants **R₁** et **R₃**, désigne une chaîne hydrocarbonée d'au moins
20 deux atomes de carbone, linéaire ou ramifiée, comprenant au moins une triple liaison carbone-carbone, de préférence comprenant au plus 12 atomes de carbone. Des exemples de groupement « alcynyle » incluent, de manière non limitative, les groupements éthyneyle, propynyle, butynyle, pentynyle et hexynyle.

25 Le terme « arylalkyle » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention, en particulier dans la définition du substituant **R₂**, désigne un groupement alkyle tel que défini ci-dessus lié à un groupement « aryle » tel que défini ci-dessous. Un exemple de groupement « arylalkyle » inclut le groupement benzyle. **R₂** désigne de manière avantageuse un groupement benzyle ou méthyle.

30

Le terme « aryle » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention, en particulier dans les définitions des substituants **R₁**, **R₂** et **R₃**, désigne un système cyclique aromatique. Des exemples de groupement « aryle » incluent, de manière non limitative, les carbocycles aromatiques comprenant 5, 6, 7 ou 8 chaînons, tels que le phényle. Le terme « aryle » tel

qu'utilisé dans la description de la présente invention inclut également les systèmes polycycliques comprenant au moins un cycle aromatique fusionné à au moins un autre cycle qui peut être aromatique ou non aromatique.

- 5 Le terme « hétéroaryle » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention, en particulier dans les définitions des substituants **R₁**, **R₂** et **R₃**, désigne un cycle aromatique comprenant de 5 à 8 chaînons et contenant un ou plusieurs hétéroatomes choisis parmi l'oxygène, le soufre ou l'azote, tels que 2 ou 3 hétéroatomes. Le terme « hétéroaryle » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention inclut également les systèmes polycycliques comprenant au moins un
- 10 cycle aromatique comprenant de 5 à 8 chaînons et contenant un ou plusieurs hétéroatomes choisis parmi l'oxygène, le soufre ou l'azote. Des exemples de groupement « hétéroaryle » incluent, de manière non limitative, les groupements dérivants du thiophène, pyrrole, benzofurane, indole, pyridine, imidazole et pyrazine.
- 15 Le terme « alkyloxy » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention, en particulier dans les définitions des substituants **R₁** et **R₃**, désigne un radical monovalent de formule **R-O-** dans laquelle **R** désigne une chaîne hydrocarbonée, linéaire ou ramifiée, de préférence comprenant de 1 à 12 atomes de carbone. Des exemples de groupement « alkyloxy » incluent, de manière non limitative, les groupements méthoxy, éthoxy, propoxy, prop-2-oxy, butoxy, but-
- 20 2-oxy, 1-méthyléthyle-oxy, pentoxy ou hexyloxy.

Le terme « aryloxy » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention, en particulier dans les définitions du substituant **R₃**, désigne un radical monovalent de formule **R'-O-** dans laquelle **R'** désigne un groupement « aryle » tel que défini ci-dessus.

25

Le terme « cycloalkyle » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention, en particulier dans la définition du substituant **R₁**, désigne un cycle hydrocarboné non aromatique comprenant au moins 3 chaînons et de préférence au plus 7 chaînons. Des exemples de groupement « cycloalkyle » incluent, de manière non limitative, les groupements cyclopropyle,

30 cyclobutyle, cyclopentyle ou cyclohexyle.

Le terme « amino » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention, en particulier dans les définitions des substituants **R₁** et **R₃**, désigne un groupement amine substitué, ou non, par

un ou deux groupements choisis parmi les groupements alkyle, alcényle, alcynyle et/ou aryle. Les groupements alkyle, alcényle, alcynyle et aryle sont tels que définis ci-dessus.

Le terme « halogène » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention, en particulier dans la définition du substituant **R₃**, désigne les éléments fluor, chlore, brome et iode.

Le terme « alkylcarbonyle » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention, en particulier dans la définition du substituant **R₂**, désigne un groupement carbonyle (C=O) attaché à un groupement alkyle, le groupement alkyle étant tel que défini ci-dessus.

Le terme « arylcarbonyle » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention, en particulier dans la définition du substituant **R₂**, désigne un groupement carbonyle (C=O) attaché à un groupement aryle, le groupement aryle étant tel que défini ci-dessus.

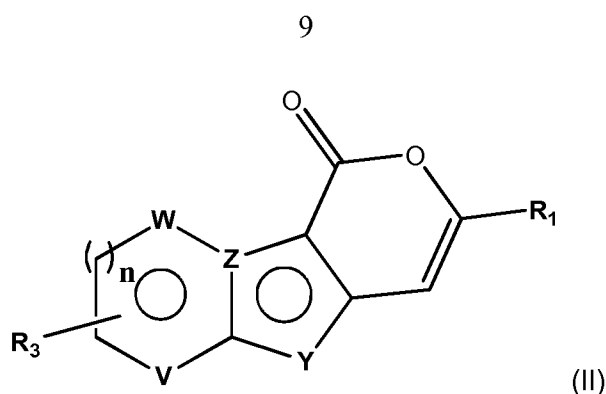
Le terme « hétéroarylcarbonyle » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention, en particulier dans la définition du substituant **R₂**, désigne un groupement carbonyle (C=O) attaché à un groupement hétéroaryle, le groupement hétéroaryle étant tel que défini ci-dessus.

Le terme « alkylthio » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention, en particulier dans la définition du substituant **R₃**, désigne un atome de soufre attaché à un groupement « alkyle », le groupement alkyle étant tel que défini ci-dessus.

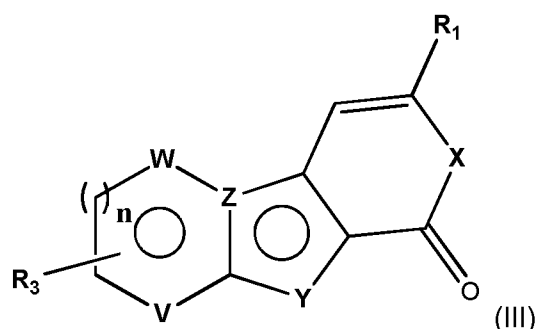
Le terme « arylthio » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention, en particulier dans la définition du substituant **R₃**, désigne un atome de soufre attaché à un groupement « aryle », le groupement aryle étant tel que défini ci-dessus.

Le terme « ester » tel qu'utilisé dans la description de la présente invention, en particulier dans les définitions des substituants **R₁**, désigne un groupement –CO-O-**R** dans laquelle **R** désigne une chaîne hydrocarbonée, linéaire ou ramifiée, de préférence comprenant de 1 à 12 atomes de carbone.

En particulier, lorsque **-A-B-** représente –CO-O-CR₁=C–, les composés de la présente invention présentent la formule générale (II) suivante dans laquelle **V**, **W**, **Y**, **Z**, **R₁** et **R₃** et **n** sont tels que définis ci-dessus :



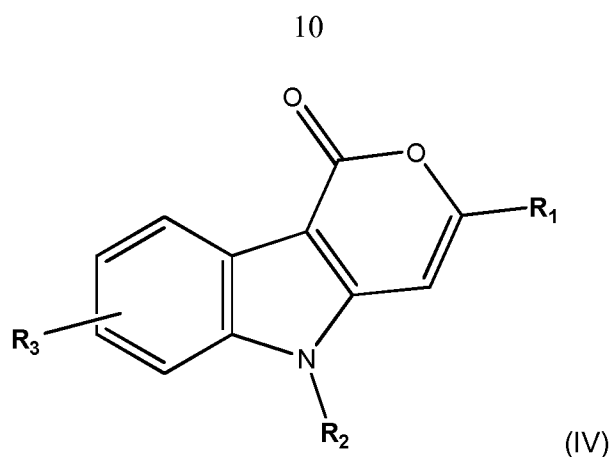
Lorsque **-A-B-** représente $-\text{C}=\text{CR}_1-\text{X}-\text{CO}-$, les composés de la présente invention présentent la formule générale (III) suivante dans laquelle **V**, **W**, **X**, **Y**, **Z**, **R₁** et **R₃** et **n** sont tels que définis ci-dessus :



Dans des modes de réalisations particuliers, les composés de la présente invention présentent la formule (I), (II) ou (III) dans laquelle **Y** représente un atome d'azote substitué par un groupement **R₂** avec **R₂** représentant un groupement alkyle, aryle, arylalkyle, hétéroaryle, alkylcarbonyle, arylcarbonyle ou hétéroarylcarbonyle et **V**, **W**, **Z**, **R₁**, **R₃**, **X** et **n** sont tels que définis ci-dessus.

Dans des modes de réalisations particuliers, les composés de la présente invention présentent la formule (I), (II) ou (III) dans laquelle **V**, **W** et **Z** représentent un atome de carbone, **Y** représente un atome d'azote substitué par un groupement **R₂** tel que défini ci-dessus, **n** est égal à 1 et **R₁**, **R₃** et **X** sont tels que définis ci-dessus. De préférence, dans ces modes de réalisations, **X** est un atome d'oxygène et/ou **R₂** représente un groupement alkyle, aryle, arylalkyle, hétéroaryle, alkylcarbonyle, arylcarbonyle ou hétéroarylcarbonyle.

Ainsi, dans des modes de réalisations particuliers, lorsque que **-A-B-** représente $-\text{CO}-\text{O}-\text{CR}_1=\text{C}-$, les composés de la présente invention présentent la formule (IV) suivante :



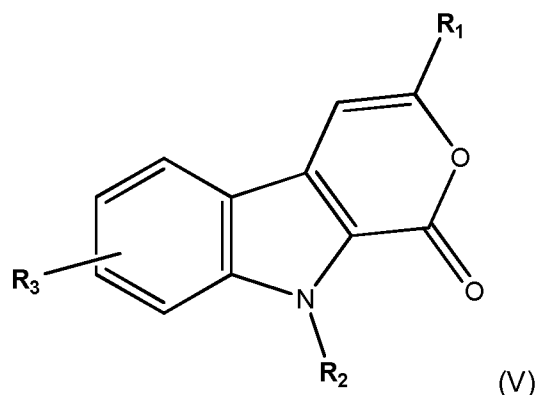
dans laquelle :

- **R₁** représente un groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle, ledit groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle
5 pouvant être substitué, ou non, par un ou plusieurs groupement(s) hydroxyle, halogène, alkyle, alcényle, alcynyle, alkyloxy, alkylthio, amino, nitro, cycloalkyle, aryle, hétéroaryle, ester et/ou cétone ;

- **R₂** représente un groupement alkyle, aryle, arylakyle, hétéroaryle, alkylcarbonyle, arylcarbonyle ou hétéroarylcarbonyle ;

10 - **R₃** représente un hydrogène, un groupement alkyle, alcényle, alcynyle, arylthio, alkylthio, aryloxy, alkyloxy, aryle, hétéroaryle, amino ou un halogène.

Dans d'autres modes de réalisations particuliers, les composés de la présente invention présentent la formule (V) suivante :



dans laquelle :

- **R₁** représente un groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle, ledit groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle
15 pouvant être substitué, ou non, par un ou plusieurs groupement(s) hydroxyle, halogène, alkyle,

alcényle, alcynyle, alkyloxy, alkylthio, amino, nitro, cycloalkyle, aryle, hétéroaryle, ester et/ou cétone ;

- **R₂** représente un groupement alkyle, aryle, arylalkyle, hétéroaryle, alkylcarbonyle, arylcarbonyle ou hétéroarylcarbonyle ;

5 - **R₃** représente un hydrogène, un groupement alkyle, alcényle, alcynyle, alkylthio, arylthio, alkyloxy, aryloxy, aryle, hétéroaryle, amino ou un halogène.

En particulier, les composés de la présente invention peuvent présenter la formule (I), (II), (III), (IV) ou (V) dans laquelle :

10 - **R₁** représente :

 - un groupement alkyle ou alcényle comprenant de 1 à 6 atomes de carbone, substitué, ou non, par un ou plusieurs groupement(s) hydroxyle, alkyloxy, ester, alcyne et/ou cycloalkyle ;

 - un groupement phényle ;

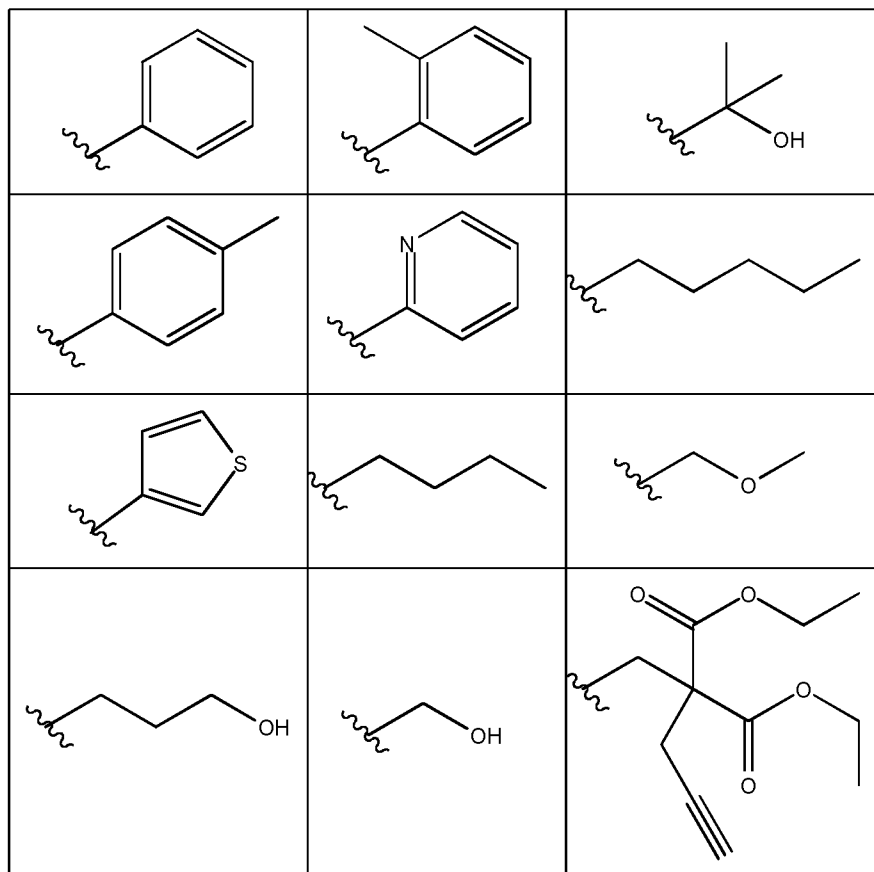
15 - un groupement phényle substitué en ortho, méta ou para par un groupement alkyle comprenant de 1 à 3 atomes de carbone, halogène, alkyloxy, alkylthio, nitro ou amino ; ou

 - un groupement thiophène ou pyridine ; et/ou

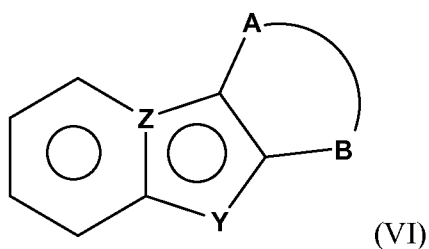
- **R₂** représente un groupement benzyle ou méthyle; et/ou

20 - **R₃** représente un hydrogène.

Le groupement **R₁** peut tout particulièrement être choisi parmi les groupements suivants :



Dans un mode de réalisation particulier, les composés selon la présente invention sont caractérisés en ce que lesdits composés présentent la formule (VI):

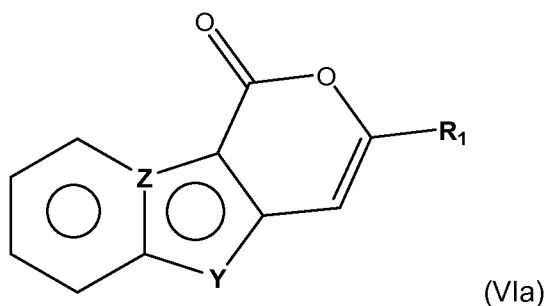


5 dans laquelle :

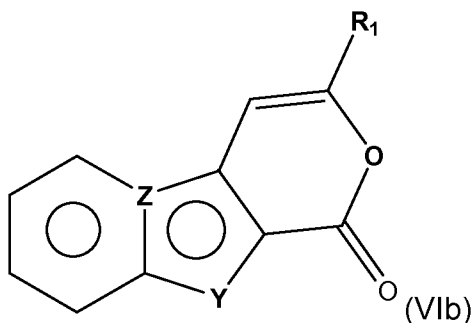
- **-A-B-** représente $-\text{CO}-\text{O}-\text{CR}_1=\text{C}-$ ou $-\text{C}=\text{CR}_1-\text{O}-\text{CO}-$
 - avec R_1 représentant un groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle, ledit groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle pouvant être substitué, ou non, par un ou plusieurs groupement(s) hydroxyle, alkyle, alcényle, alcynyle, alkyloxy, cycloalkyle, aryle, hétéroaryle et/ou ester;

- **Y** représente un atome d'azote substitué, ou non, par un groupement **R₂** avec **R₂** représentant un groupement alkyle ou arylalkyle ; et
- **Z** représente un atome de carbone ou d'azote.

5 En particulier, lorsque **-A-B-** représente **-CO-O-CR₁=C-**, les composés de la présente invention présentent la formule générale (VIa) suivante dans laquelle **Y**, **Z**, et **R₁** sont tels que définis ci-dessus :



10 Lorsque **-A-B-** représente **-C=CR₁-O-CO-**, les composés de la présente invention présentent la formule générale (VIb) suivante dans laquelle **Y**, **Z**, et **R₁** sont tels que définis ci-dessus :

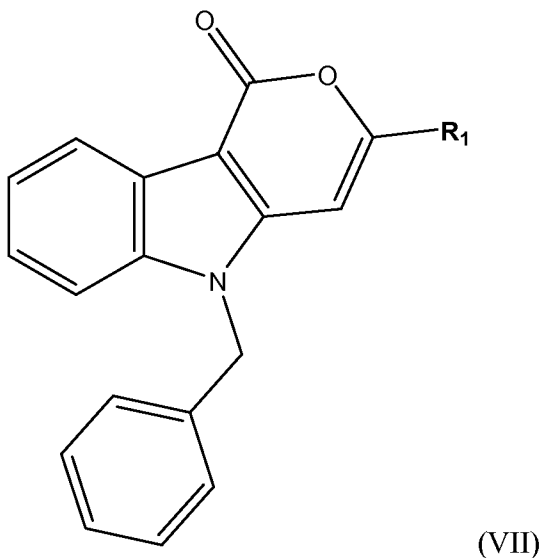


15 Dans des modes de réalisations particuliers, les composés de la présente invention présentent la formule (VI), (VIa) ou (VIb) dans laquelle **Y** représente un atome d'azote substitué par un groupement **R₂** avec **R₂** représentant un groupement alkyle, arylalkyle et **Z**, et **R₁** sont tels que définis ci-dessus.

20 Dans des modes de réalisations particuliers, les composés de la présente invention présentent la formule (VI), (VIa) ou (VIb) dans laquelle **Z** représente un atome d'azote ou de carbone, **Y** représente un atome d'azote substitué ou non par un groupement **R₂** tel que défini ci-dessus et

R_1 , est tel que défini ci-dessus. De préférence, dans ces modes de réalisations, R_2 représente un groupement alkyle ou arylalkyle,

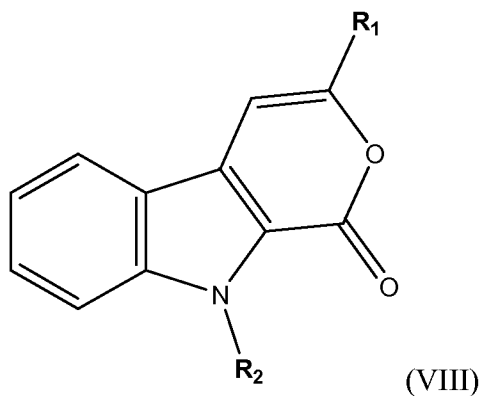
De manière avantageuse, les composés selon la présente invention sont caractérisés en ce
5 que lesdits composés présentent la formule (VII):



dans laquelle :

- R_1 représente un groupement alkyle, alcényle, aryle ou hétéroaryle, ledit groupement alkyle, alcényle, ou aryle, pouvant être substitué, ou non, par un ou
10 plusieurs groupement(s) alkyle, alcényle, alcynyle, alkyloxy, cycloalkyle et/ou ester.

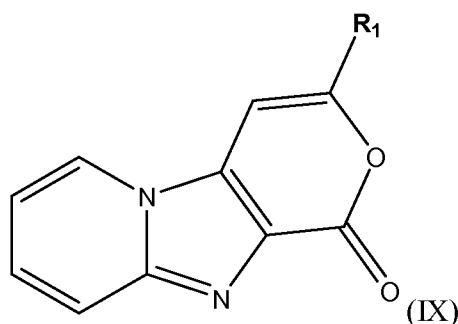
De manière également avantageuse, les composés selon la présente invention sont caractérisés en ce que lesdits composés présentent la formule (VIII):



15 dans laquelle :

- **R₁** représente un groupement alkyle, alcényle, aryle, ou hétéroaryle, ledit groupement alkyle, alcényle, ou aryle, pouvant être substitué, ou non, par un ou plusieurs groupement(s) hydroxyle, alkyle, alcényle, alcynyle, alkyloxy, cycloalkyle, aryle, hétéroaryle et/ou ester ; et
- **R₂** représente un groupement alkyle ou arylalkyle.

De manière tout aussi avantageuse, les composés selon la présente invention sont caractérisés en ce que lesdits composés présentent la formule (IX):



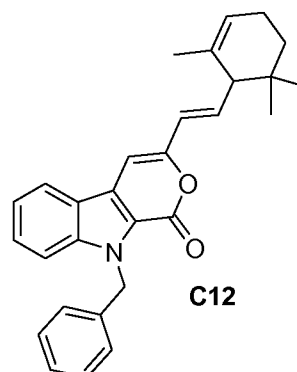
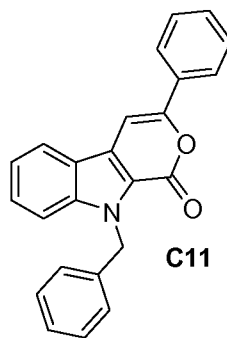
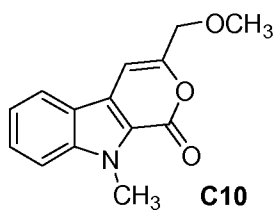
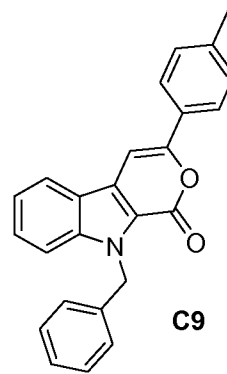
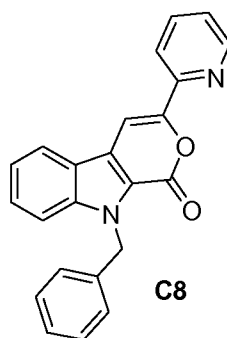
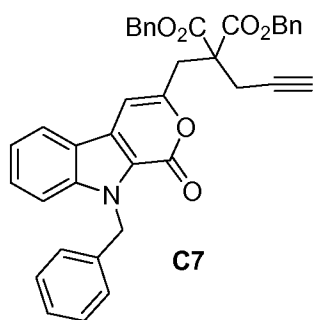
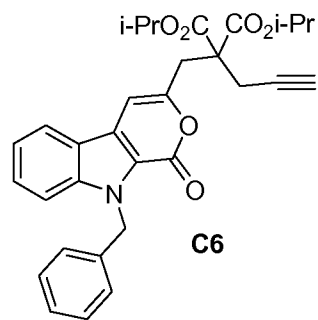
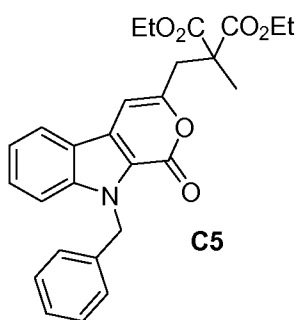
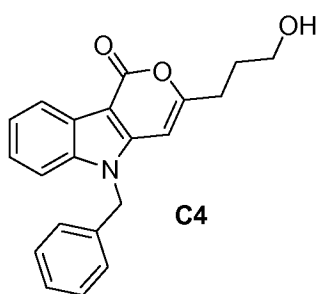
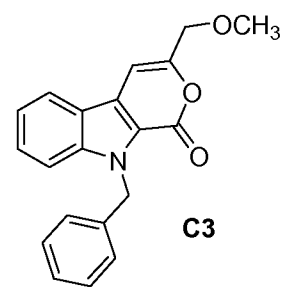
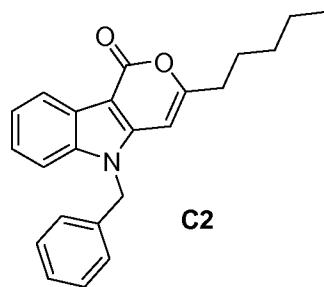
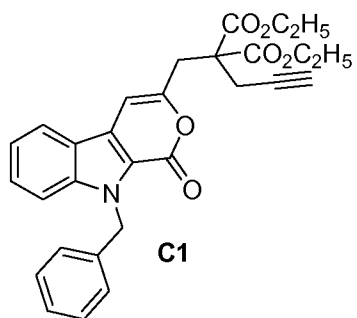
dans laquelle :

- **R₁** représente un groupement alkyle, alcényle ou cycloalkyle, ledit groupement alkyle ou alcényle pouvant être substitué, ou non, par un ou plusieurs groupement(s) alkyle, alcényle, alkyloxy, cycloalkyle et/ou ester;

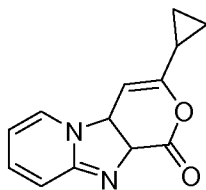
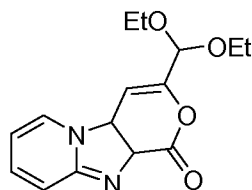
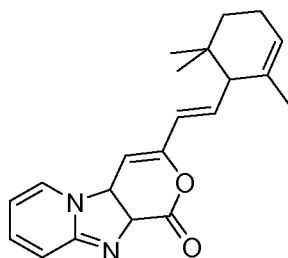
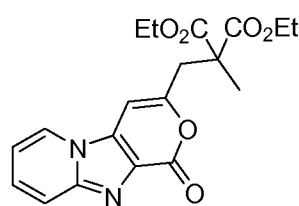
En particulier, les composés de la présente invention peuvent présenter la formule (VI), (VIa), (VIb), (VII), (VIII) ou (IX) dans laquelle :

- **R₁** représente le cas échéant :
 - un groupement alkyle ou alcényle comprenant de 1 à 6 atomes de carbone, substitué, ou non, par un ou plusieurs groupement(s) hydroxyle, alkyloxy, ester, alcyne et/ou cycloalkyle ;
 - un groupement phényle ;
 - un groupement phényle substitué en ortho, méta ou para par un groupement alkyle comprenant de 1 à 3 atomes de carbone, halogène, alkyloxy, alkylthio, nitro ou amino ; ou
 - un groupement thiophène ou pyridine.

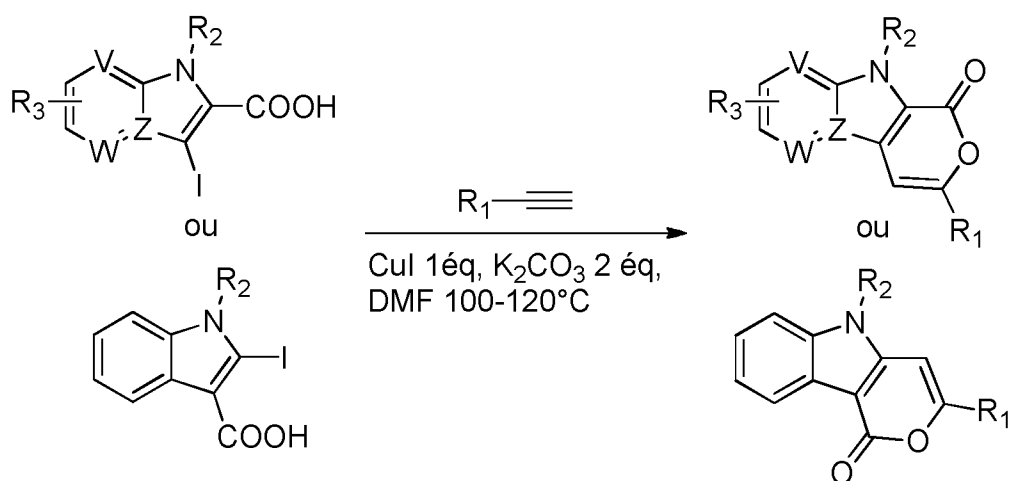
Dans des modes de réalisations particuliers, les composés de la présente invention présentent les structures suivantes :



17

**C13****C14****C15****C16**

Les composés de la présente invention peuvent être préparés selon des méthodes connues de l'homme du métier et qui peuvent être telles que décrites dans J.Org.Chem., 2011, 76, 8347-8354 et dans *Org. Bio. Mol.* **2011**, 9, 1212-1218. En particulier, les composés de la présente invention peuvent être préparés selon le schéma réactionnel suivant :



Les composés de la présente invention sont utilisés pour prévenir et/ou traiter les parasitoses induites par des parasites appartenant au phylum des apicomplexes. En particulier, ils peuvent être utilisés pour prévenir et/ou traiter les coccidioses, telles que les coccidioses aviaires, bovines, porcines ou ovines.

Les composés de la présente invention peuvent également être utilisés pour prévenir et/ou traiter la malaria (infections par *Plasmodium spp.*), la toxoplasmose (infections par *Toxoplasma gondii*), la néosporose (infections par *Néospora caninum*) et/ou la cryptosporidiose, en particulier des ruminants et de l'homme (infections par *Cryptosporidium parvum* et *hominis*).

Les composés de la présente invention peuvent être administrés seuls ou en combinaison avec des excipients acceptables dans une composition pharmaceutique et/ou vétérinaire. Ainsi, la présente invention concerne également une composition pharmaceutique ou vétérinaire comprenant au moins un composé de la présente invention et au moins un excipient acceptable. La composition pharmaceutique ou vétérinaire peut être utilisée pour prévenir et/ou traiter les parasitoses induites par des parasites appartenant au phylum des apicomplexes, telles que les coccidioses, la malaria, la toxoplasmose, la néosporose et/ou la cryptosporidiose. De préférence, la composition pharmaceutique ou vétérinaire peut être utilisée pour prévenir et/ou traiter les coccidioses, la malaria et/ou la toxoplasmose.

De manière non limitative, des exemples d'excipients acceptables incluent les solvants, agents d'écoulement, agents de mise en suspension, agents de solubilisation, stabilisants, conservateurs.

Dans certains modes de réalisations, les composés de la présente invention peuvent être administrés en combinaison avec d'autres agents utiles dans le traitement des parasitoses (agents antiparasitaires). Ainsi, la présente invention concerne également une combinaison comprenant au moins un composé de la présente invention tel que décrit ci-dessus et au moins un autre agent utile dans le traitement des parasitoses (agent antiparasitaire).

Par exemple, dans le cadre de la prévention et/ou du traitement des coccidioses, les agents antiparasitaires peuvent être des produits chimiques de synthèse qui altèrent le métabolisme des parasites (décoquinate, diclazuril, halofuginone, nicarbazine et robénidine) et/ou des ionophores dérivés de la fermentation microbienne, qui inhibent le transport des ions à travers la membrane du parasite (lasalocid, maduramicine, narasin, salinomycine, semduramicine et monensin).

La combinaison peut ainsi être utilisée pour prévenir et/ou traiter les parasitoses induites par des parasites appartenant au phylum des apicomplexes, telles que les coccidioses, la malaria, la toxoplasmose, la néosporose et/ou la cryptosporidiose, de préférence les coccidioses, la malaria et/ou la toxoplasmose.

Les composés individuels d'une telle combinaison peuvent être administrés séparément à différents moments au cours du traitement ou de manière concomitante dans des formes combinées ou séparées. Ainsi, la combinaison de la présente invention peut être destinée à une utilisation sous forme combinée ou séparée.

5 La combinaison décrite ci-dessus peut également être présente au sein d'une composition pharmaceutique et/ou vétérinaire. Ainsi, la présente invention concerne également une composition pharmaceutique ou vétérinaire comprenant au moins un composé de la présente invention tel que décrit ci-dessus, au moins un agent antiparasitaire et au moins un excipient acceptable pouvant être utilisée dans la prévention et/ou le traitement des
10 parasitoses induites par des parasites appartenant au phylum des apicomplexes, telles que les coccidioses, la malaria, la toxoplasmose, la néosporose et/ou la cryptosporidiose, de préférence les coccidioses, la malaria et/ou la toxoplasmose.

 Les composés ou compositions de la présente invention destiné(e)s au traitement des
15 humains peuvent être administrés par voie orale ou par voie parentérale, incluant les administrations intraveineuses, intramusculaires, intrapéritonéales, subcutanées, rectales ou topiques. Les compositions se présentent alors sous toutes formes appropriées selon les modes d'administration souhaités. En particulier, les compositions pharmaceutiques peuvent se présenter sous forme de poudre, lyophilisât, cachet, gélule, pilule, granule, comprimé, gel,
20 pommade, crème, sirop, solution injectable, spray, patch.

 Les composés ou compositions de la présente invention destiné(e)s au traitement des animaux peuvent être administrées selon toutes voies d'administration bien connues dans le domaine et adaptées au traitement de chacun des animaux. De préférence, elles sont
25 administrées par voies orale et parentérale. Les compositions se présentent alors sous toutes formes appropriées selon les modes d'administration souhaités. Elles peuvent donc être sous la forme d'une solution ou d'une suspension liquide orale ou injectable, ou sous la forme solide ou semi-solide, de poudres, de comprimés, de capsules, de granules, de dragées, de gélules, de sprays, de cachets, de pilules, de tablettes, ou de pâtes. Par ailleurs dans le cas de
30 formulations orales, celles-ci peuvent être administrées directement aux animaux ou bien mélangées à la nourriture.

 La présente invention concerne également les composés de la présente invention pour leur utilisation en thérapie. Ainsi, la présente invention concerne également une méthode de

prévention et/ou traitement des parasitoses induites par des parasites appartenant au phylum des apicomplexes comprenant l'administration à un sujet d'une dose efficace d'au moins un composé de la présente invention tel que décrit ci-dessus ou d'une composition comprenant au moins un composé de la présente invention tel que décrit ci-dessus et au moins un excipient acceptable. Le sujet peut être un humain ou un animal. En particulier, l'animal peut être choisi parmi les volailles et les ruminants.

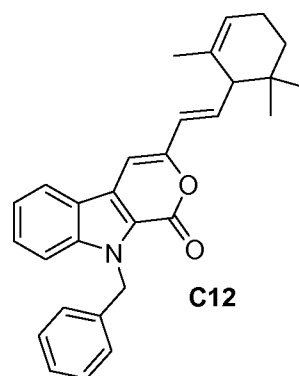
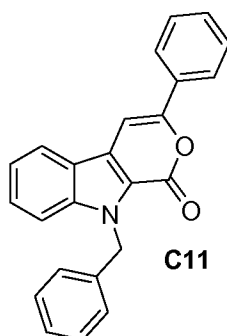
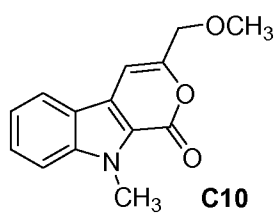
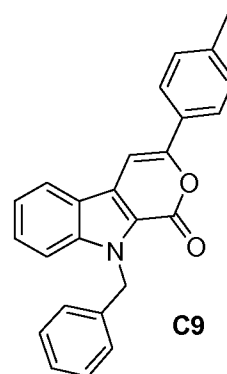
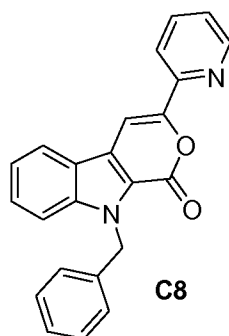
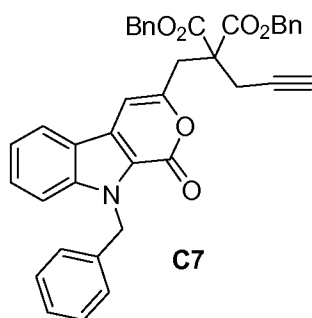
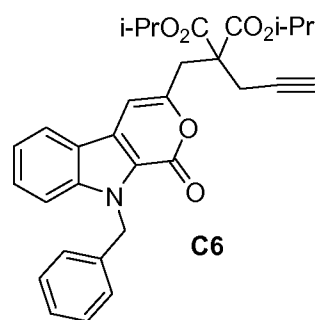
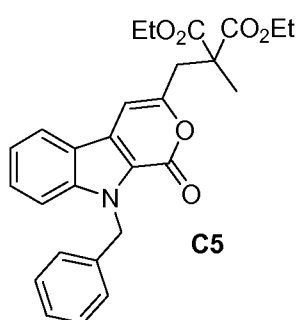
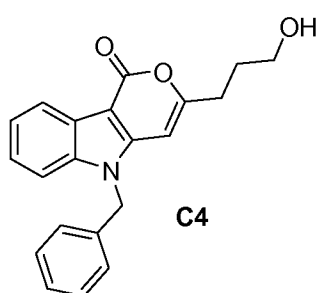
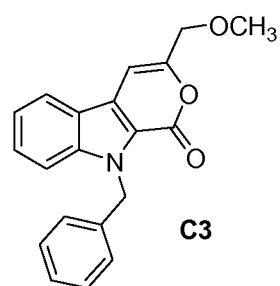
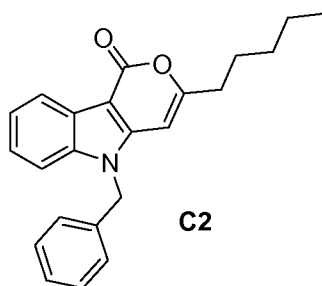
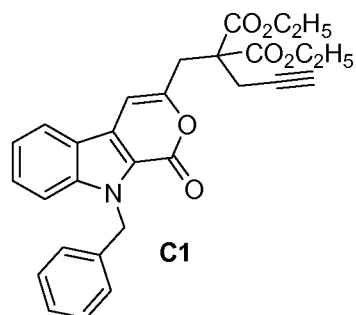
La présente invention concerne, enfin, l'utilisation d'au moins un composé de la présente invention tel que décrit ci-dessus pour la préparation d'un médicament pour prévenir et/ou traiter les parasitoses induites par des parasites appartenant au phylum des apicomplexes, telles que les coccidioses, la malaria, la toxoplasmose, la néosporose ou la cryptosporidiose.

EXEMPLES

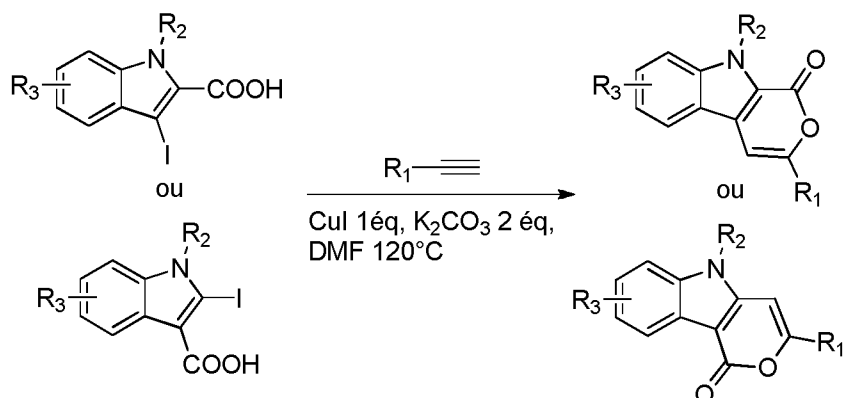
15

Préparation des composés C1 à C12

21



Les composés C1 à C12 sont préparés selon la méthode décrite dans J.Org.Chem. 2011, 76, 8347-8354.



Procédure générale d'obtention du noyau indolopyran-1-one :

- 5 Dans un tube de Schlenk équipé d'un barreau aimanté, sont introduits 552 mg de K₂CO₃ (4 mmol, 2 équivalents) et 750 mg d'acide iodoindolylcarboxylique (2 mmol, 1 équivalent), ainsi que 15 mL de DMF anhydre. La suspension est agitée pendant 15 minutes puis dégazée sous vide à -80°C et mise sous argon. Après avoir atteint la température ambiante, l'alcyne (4 mmol, 2 équivalents) est ajouté ainsi que 381 mg de Cul (2 mmol, 1 équivalent). Le tube de Schlenk
- 10 est placé et agité dans un bain d'huile préchauffé à 110-120°C pendant 24-48h. Le mélange est ensuite refroidi à température ambiante et hydrolysé à 0°C avec une solution aqueuse saturée de NH₄Cl (15 mL) ; 50 mL d'éther sont ajoutés dans le tube de Schlenk et le mélange est filtré sur Celite®. La Celite® est ensuite lavée avec 50 mL d'éther. La phase aqueuse est éliminée et la phase organique est lavée trois fois avec de l'eau (3 x 15 mL). La phase
- 15 organique est séchée sur MgSO₄ et concentrée sous vide. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice pour donner les indolopyranones désirées.

2-[(9-Benzyl-1,9-dihydro-1-oxopyrano[3,4-b]indol-3-yl)methyl]-2-(prop-2ynyl)malonate de diéthyle (C1)

- 20 Rendement: 30%; solide blanc. Mp: 165-166 °C. IR (KBr): 3256, 1735, 1709, 1628.
- RMN ¹H (300MHz, CDCl₃): 1.31 (t, 6H, J = 7.1), 2.15 (t, 1H, J = 2.5), 2.87 (d, 2H, J = 2.5), 3.44 (s, 2H), 4.25-4.37 (m, 4H), 5.89 (s, 2H), 6.90 (s, 1H), 7.01-7.34 (m, 6H), 7.40-7.50 (m, 2H), 7.89 (d, 1H, J = 8.0).
- RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 14.1, 22.9, 36.3, 48.1, 56.3, 62.3, 72.2, 79.0, 102.0, 111.5, 121.2,
- 25 121.3, 121.8, 125.6, 126.4, 127.1, 127.6, 128.1, 128.8, 137.5, 140.9, 151.2, 156.7, 169.3.

MS (70 eV, EI) m/z (%) = 485 (M^{++} , 19), 441 (40), 368 (17), 367 (33), 294 (11), 288 (17), 91 (100).

HRMS (ESI): calcul anal. pour $C_{29}H_{27}NO_6$ ($M+H$) 486.1911, mesuré 486.1914.

5 **5-Benzyl-3-pentylpyrano[4,3-*b*]indol-1(5*H*)-one (C2)**

Rendement: 76%; solide incolore. Mp: 123-125 °C. IR (KBr): 3155, 3034-2872, 1713, 1626, 1608.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): 0.88 (t, 3H, $J = 6.4$), 1.27-1.35 (m, 4H), 1.65-1.80 (m, 2H), 2.57 (t, 2H, $J = 7.9$), 5.38 (s, 2H), 6.29 (s, 1H), 7.03-7.12 (m, 3H), 7.27-7.35 (m, 6H), 7.97-8.03 (m, 1H).

10 RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): 14.1, 22.5, 27.1, 31.3, 34.6, 47.7, 92.7, 99.6, 109.9, 121.4, 122.8, 124.5, 126.3, 128.2, 129.2, 135.7, 138.4, 146.7, 160.2, 164.5.

LRMS (ESI) 346 ($M+H$).

HRMS (ESI): calcul anal. pour $C_{23}H_{23}NO_2$ ($M+H$) 346.1729, mesuré 346.1736.

15 **9-Benzyl-3-methoxymethylpyrano[3,4-*b*]indol-1(9*H*)-one (C3)**

Rendement : 77%; solide incolore. Mp: 121-122 °C.

IR (KBr): 3069, 1714, 1626, 1615, 1212, 1084.

RMN 1H (300MHz, $CDCl_3$): 3.50 (s, 3H), 4.36 (d, 2H, $J = 0.7$), 5.90 (s, 2H), 7.00 (s, 1H), 7.20-7.32 (m, 6H), 7.45 - 7.50 (m, 2H), 7.90 (d, 1H, $J = 8.0$).

20 RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): 48.0, 58.9, 71.0, 99.9, 111.5, 120.7, 121.3, 121.4, 121.7, 125.4, 127.1, 127.6, 128.1, 128.7, 137.4, 140.8, 152.3, 156.9.

MS (70 eV, EI) m/z (%) = 319 (M^{++} , 68), 288 (27), 260 (8), 168 (11), 91 (100).

HRMS (ESI): calcul anal. pour $C_{20}H_{17}NO_3$ ($M+H$) 320.1281, mesuré 320.1276.

25 **5-Benzyl-3-hydroxypropylpyran[4,3-*b*]indol-1(5*H*)-one (C4)**

Rendement: 63%; solide orange. Mp: 149-151 °C.

IR (KBr): 3413, 2930-2860, 1713, 1559.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): 1.71 (bs, 1H), 1.92-2.05 (m, 2H), 2.73 (t, 2H, $J = 7.3$), 3.71 (t, 2H, $J = 6.1$), 5.38 (s, 2H), 6.36 (s, 1H), 7.03-7.10 (m, 2H), 7.23-7.39 (m, 6H), 8.18-8.26 (m, 1H).

30 RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): 30.3, 31.0, 47.3, 61.7, 93.2, 99.7, 110.0, 121.4, 122.9, 124.5, 124.7, 126.4, 128.2, 129.2, 135.7, 138.5, 146.6, 160.2, 163.6.

LRMS (ESI) 333 ($M+H$), 356 ($M+Na$); 372 ($M+K$).

HRMS (ESI): calcul anal. pour $C_{21}H_{19}NO_3$ ($M+H$) 333.1365, mesuré 333.1367.

2-((9-benzyl-1-oxo-1,9-dihydropyrano[3,4-b]indol-3-yl)methyl)-2-methylmalonate de diéthyle (C5)

Rendement: 65%; solide beige. IR (neat) : 3050, 2984, 2957, 1720, 1708, 1628, 1468, 1244, 1149, 738.

5 RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 1.28 (t, 6H, J = 7.1 Hz), 1.51 (s, 3H), 3.25 (s, 2H), 4.21-4.32 (m, 4H), 5.90 (s, 2H), 6.80 (s, 1H), 7.18-7.29 (m, 6H), 7.42-7.50 (m, 2H), 7.86 (d, 1H, J = 8.0 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 14.0, 19.1, 39.3, 47.9, 53.5, 61.7, 101.6, 111.4, 121.1, 121.2, 125.5, 127.0, 127.5, 128.0, 128.6, 137.4, 140.8, 151.9, 156.8, 171.3.

HRMS (ESI) : calcul anal. pour C₂₇H₂₈NO₆ (M+H) 462.19166, mesuré 462.19072.

10

2-((9-benzyl-1-oxo-1,9-dihydropyrano[3,4-b]indol-3-yl)methyl)-2-methylmalonate de diisopropyle (C6)

Rendement: 35%. Solide beige. Mp: .IR (neat): 3264, 2982, 1725, 1707, 1628, 1195, 1099, 739.

15 RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 1.26 (d, 6H, J = 6.2 Hz), 1.33 (d, 6H, J = 6.2 Hz), 2.13 (t, 1H, J = 2.6 Hz), 2.85 (d, 2H, J = 2.6 Hz), 3.40 (s, 2H), 2.06-5.28 (m, 1H), 5.89 (s, 2H), 6.89 (s, 1H), 7.16-7.29 (m, 6H), 7.42-7.50 (m, 2H), 7.88 (d, 1H, J = 8.0 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 21.6 (2C), 27.7, 35.9, 48.0, 56.2, 69.8, 72.0, 79.0, 101.9, 111.4, 120.6, 121.1, 121.2, 121.6, 125.4, 127.0, 127.5, 128.0, 128.7, 137.4, 140.8, 151.3, 156.7, 168.6.

20

HRMS (ESI): calcul anal. pour C₃₁H₃₂NO₆ (M+H) 514.22296, mesuré 514.22267.

2-((9-benzyl-1-oxo-1,9-dihydropyrano[3,4-b]indol-3-yl)methyl)-2-methylmalonate de dibenzyle (C7)

25 Rendement: 28%. Solide jaune. IR (neat): 3290, 2958, 1806, 1715, 1628, 1628, 1612, 1455, 1173, 739, 695.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 2.13 (t, 1H, J = 2.6 Hz), 2.96 (d, 2H, J = 2.6 Hz), 3.49 (s, 2H), 5.25 (s, 4H), 5.91 (s, 2H), 6.87 (s, 1H), 7.20-7.39 (m, 16H), 7.44-7.52 (m, 2H), 7.88 (d, 1H, J = 8.0 Hz).

30 RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 22.9, 36.3, 48.0, 56.5, 67.9, 72.4, 76.6, 78.6, 85.8, 102.0, 110.1, 111.4, 121.1, 121.7, 127.0, 127.3, 127.6, 128.0, 128.3, 128.4, 128.5, 128.56, 128.6, 128.7, 129.0, 135.1, 137.3, 140.8, 150.8, 168.9.

HRMS (ESI): calcul anal. pour C₃₉H₃₂NO₆ (M+H) 610.22296, mesuré 610.22255.

9-benzyl-3-(pyridin-2-yl)pyrano[3,4-*b*]indol-1(9H)-one (C8)

Rendement : 75%. Solide blanc. Mp = 183-184 °C. IR (KBr): 3033; 1717; 1616; 1582; 1526; 1204; 1073; 1060; 789; 735.

5 RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) : 5.98 (s, 2H), 7.22-7.36 (m, 7H), 7.49 (m, 2H), 7.84 (t, 1H, J = 7.7 Hz), 8.05 (t, 2H, J = 7.6 Hz), 8.19 (s, 1H), 8.68 (d, 1H, J = 4.6 Hz).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃): 48.2, 100.0, 111.6, 119.9, 121.7, 121.8, 122.1, 123.6, 126.3, 127.2, 127.7, 128.4, 128.8, 137.4, 141.2, 149.5, 150.0, 151.3, 156.4.

10 SM (70 eV, EI) *m/z* (%) = 352 (M⁺, 100), 261 (51), 233 (26), 204 (10), 106 (10), 91 (54), 78 (19).

HRMS (ESI): calcul anal. pour C₂₃H₁₆N₂O₂ (M+H) 353.1285, mesuré 353.1273

9-benzyl-3-*p*-tolylpyrano[3,4-*b*]indol-1(9H)-one (C9)

Rendement: 60%. Solide blanc. Mp = 184-185 °C. IR (KBr): 3087; 3061; 3032; 1712; 1615; 1515; 1206; 1073; 816; 742.

15 RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) : 2.45 (s, 3H), 6.0 (s, 2H), 7.28-7.33 (m, 8H), 7.4 (s, 1H), 7.51-7.54 (m, 2H), 7.85 (d, 2H, J = 8.2 Hz), 8.01 (d, 1H, J = 8.0 Hz).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃): 21.5, 48.1, 96.5, 111.6, 120.8, 121.2, 121.8, 125.0, 126.7, 127.2, 127.6, 128.2, 128.8, 129.6, 129.9, 137.5, 139.5, 141.1, 153.2, 156.9.

20 SM (70 eV, EI) *m/z* (%) = 365 (M⁺, 100), 274 (63), 246 (21), 218 (27), 119 (12), 91 (44), 65 (12).

HRMS (ESI): calcul anal. pour C₂₅H₁₉NO₂ (M+H) 366.1489, mesuré 366.1485.

3-(methoxymethyl)-9-methylpyrano[3,4-*b*]indol-1(9H)-one (C10)

Rendement : 80%. Solide blanc. Mp = 80-82°C. IR (neat): 3056, 2946, 2829, 1733, 1701, 1631, 1461, 1195, 1055, 736.

25 RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃) : 3.50 (s, 3H), 4.21 (s, 3H), 4.37 (d, 2H, J = 0.6 Hz), 6.70 (t, 1H, J = 0.6 Hz), 7.25-7.31 (m, 1H), 7.45-7.47 (m, 2H), 7.88 (ddd, 1H; J = 8.1, 1.2, 0.8 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz; CDCl₃) : 31.2, 58.7, 70.8, 99.8, 110.5, 120.9, 121.5, 124.7, 127.8, 141.2, 151.9, 157.1.

30 HRMS (ESI): calcul anal. pour C₁₄H₁₄NO₃ (M+H) 244.09737, mesuré 244.09656.

9-benzyl-3-phenylpyrano[3,4-*b*]indol-1(9H)-one (C11)

Rendement: 40%; solide jaune. Mp: 160-161 °C. IR (KBr): 3025, 2939, 1716, 1616, 1605, 1526.

RMN ^1H (300MHz, CDCl_3): 5.97 (s, 2H), 7.20-7.53 (m, 12H), 7.92-8.00 (m, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 48.2, 97.3, 100.1, 111.6, 121.0, 121.4, 121.8, 125.1, 126.5, 127.2, 127.7, 128.3, 128.8, 129.0, 129.3, 132.7, 137.5, 141.2, 153.0, 156.8.

MS (70 eV, EI) m/z (%) = 351 (M^+ , 100), 260 (59), 232 (23), 204 (18), 105 (12), 91, 45, 77 (14).

HRMS (ESI): calcul anal pour $\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{NO}_2$ ($\text{M}+\text{H}$) 352.1332, mesuré 352.1322.

(E)-9-benzyl-3-(2-(2,6,6-trimethylcyclohex-2-enyl)vinyl)pyrano[3,4-*b*]indol-1(9H)-one (C12)

Rendement: 70%; solide orange. Mp: 86-88 °C. IR (KBr): 3060, 3031, 1710, 1640, 1593.

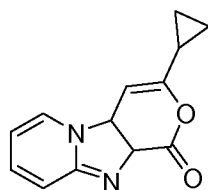
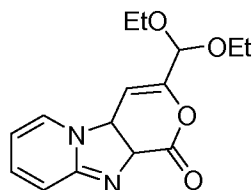
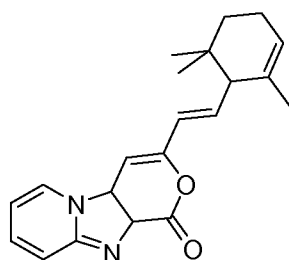
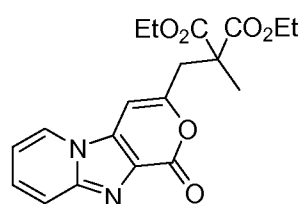
RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): 0.92 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 1.20-1.28 (m, 1H), 1.49-1.60 (m, 1H), 1.65 (d, 3H, $J=1.3$ Hz), 2.02-2.12 (m, 2H), 2.30 (d, 1H, $J=9.5$ Hz), 5.50 (bs, 1H), 5.92 (s, 2H), 6.12 (d, 1H, $J=15.4$ Hz), 6.46 (dd, 1H, $J=15.4, 9.5$ Hz), 6.76 (s, 1H), 7.24-7.30 (m, 6H), 7.45-7.53 (m, 2H), 7.87 (d, 1H, $J=8.0$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 23.2, 23.2, 27.1, 28.1, 31.4, 32.8, 48.1, 54.8, 99.3, 111.5, 120.8, 121.2, 121.6, 121.8, 121.9, 123.3, 126.6, 127.2, 127.6, 128.1, 128.8, 133.3, 135.8, 137.6, 141.0, 152.0, 156.9.

MS (70 eV, EI) m/z (%) = 423 (M^+ , 41), 368 (12), 367 (40), 331 (24), 301 (20), 289 (10), 288 (39), 91 (100).

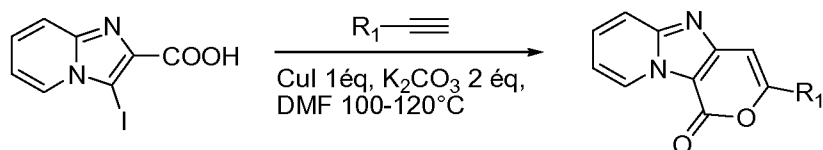
HRMS (ESI): calcul anal pour $\text{C}_{29}\text{H}_{29}\text{NO}_2$ ($\text{M}+\text{H}$) 424.2271, mesuré 424.2279.

Préparation des composés C13 à C16

**C13****C14****C15****C16**

Les composés C13 à C16 sont préparés selon la méthode décrite *Org. Bio. Mol.* **2011**, 9, 1212-1218.

5



Procédure générale d'obtention du noyau imidazo[1,2-a]pyridinpyran-1-one :

Dans un tube de Schlenk équipé d'un barreau aimanté, sont introduits 478 mg de K_2CO_3 (3.46 mmol, 2 équivalents) et 500 mg d'acide 3-iodoimidazo[1,2-a]pyridin-2-oïque (1.73 mmol, 1 équivalent), ainsi que 10 mL de DMF anhydre. La suspension est agitée pendant 15 minutes puis dégazée sous vide à $-80^\circ C$ et mise sous argon. Après avoir atteint la température ambiante, l'alcyne (2.59 mmol, 1.5 équivalents) est ajouté ainsi que 330 mg de CuI (1.73 mmol, 1 équivalent). Le tube de Schlenk est placé et agité dans un bain d'huile préchauffé à 110-120°C pendant 24-48h. Le mélange est ensuite refroidi à température ambiante et hydrolysé à $0^\circ C$ avec une solution aqueuse saturée de NH_4Cl (15 mL) ; 50 mL d'éther sont ajoutés dans le tube de Schlenk et le mélange est filtré sur Celite®. La Celite® est ensuite lavée avec 50 mL d'éther. La phase aqueuse est éliminée et la phase organique est lavée trois fois avec de l'eau

(3 x 15 mL). La phase organique est séchée sur MgSO_4 et concentrée sous vide. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice pour donner les indolopyranones désirées.

5 **3-[Cyclopropyl]pyrano[3',4':4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-1-one (C13)**

Rendement: 62%. Solide jaune. Mp = 150-152 °C. IR (KBr) : 3091, 2918, 1739, 1621, 1516, 1037.

RMN ^1H (200 MHz; CDCl_3) : 0.99-1.03 (m, 2H), 1.14-1.18 (m, 2H), 1.91-1.97 (m, 1H), 6.68 (s, 1H), 6.96 (t, 1H, $J = 6.6$ Hz), 7.35 (dd, 1H, $J = 9.4, 6.6$ Hz), 7.71 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz), 8.12 (1H, d, $J = 6.6$ Hz).

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3) : 7.5, 14.2, 89.5, 113.2, 119.1, 124, 126.4, 127.4, 132.2, 146.4, 158.2, 160.0.

SM (EI) 226 (100), 197 (30), 184 (26), 169 (93), 155 (16), 129 (26), 78 (93), 51 (34) and 39 (14).

HRMS: calcul anal. pour $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ (M^+): 226.0742, mesuré 226.0747.

3-(Diethoxymethyl)pyrano[3',4':4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-1-one (C14)

Rendement : 43%. Solide jaune. Mp: 168-170 °C; IR (KBr) : 3059, 2974, 1734, 1685, 1636, 1506.

RMN ^1H (200 MHz; CDCl_3) : 1.30 (t, 6H, $J = 7.0$ Hz), 3.66-3.79 (m, 4H), 5.36 (s, 1H), 7.01 (t, 1H, $J = 6.6$ Hz), 7.16 (s, 1H), 7.40-7.43 (m, 1H), 7.74-7.76 (m, 1H), 8.18-8.21 (m, 1H).

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3) : 15.6 (2C), 63.0 (2C), 91.7, 98.0, 114.7, 120.3, 125.4, 128.8, 155.1, 158.7.

MS (EI) 288 (M, 70), 260 (54), 243 (62), 231 (39), 215 (100), 185 (46), 78 (72), 75 (49), 47 (68).

HRMS calcul anal. pour $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4$ (M^+): 288.1110, mesuré 288.1119.

(E)-3-[2-(2,6,6-Trimethylcyclohex-2-enyl)vinyl]pyrano[3',4':4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-1-one (C15).

Rendement: 60%. Solide jaune. Mp: 125-127 °C IR (KBr) : 3065, 2926, 1732, 1637, 1508, 1262, 1035.

RMN ^1H (200 MHz; DMSO) : 0.85 (s, 3H), 0.91 (s, 3H), 1.50-1.53 (m, 2H), 1.58 (s, 3H), 1.99-2.02 (m, 2H), 2.36-2.40 (m, 1H), 5.48 (bs, 1H), 6.20-6.24 (m, 2H), 7.33 (t, 1H, $J = 6.4$ Hz), 7.46 (s, 1H), 7.53 (dd, 1H, $J = 9.0, 6.4$ Hz), 7.72 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz), 8.74 (d, 1H, $J = 6.4$ Hz); RMN

^{13}C (50 MHz; DMSO) : 22.7, 26.6, 27.7, 30.8, 32.8, 53.5, 94.0, 113.8, 118.4, 121.6, 123.4, 126.7, 127.3, 129.3, 132.7, 132.8, 135.5, 135.7, 146.8, 152.2, 157.6.

MS (EI) 334 (M^+ , 99), 278 (100), 249 (54), 213 (96), 149 (49) and 39 (34);

HRMS calcul anal. pour $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$ (M^+):. 334.1681, mesuré 334.1687.

5

pyrano[3',4':4,5]imidazo[1,2-*a*]pyridin-1-one (C16)

Rendement: 2%. Solide marron. Mp: 172-174 °C IR (ATR) : 3081, 2925, 2853, 1727, 1096, 757, 740.

10 RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3) : 1.29 (t, 6H, $J = 7.1$ Hz), 1.53 (s, 3H), 3.27 (s, 2H), 4.27 (q, 4H, $J = 7.1$ Hz), 6.83 (s, 1H), 7.01 (ddd, 1H, $J = 1.1, 6.9$ Hz), 7.43 (ddd, 1H, $J = 1.1, 6.9, 9.2$ Hz), 7.80 (ddd, 1H, $J = 1.1, 9.2$ Hz), 8.19 (ddd, 1H, $J = 1.1, 6.9$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3) : 14.0, 201.1, 29.7, 39.8, 53.6, 61.9, 95.3, 114.0, 119.8, 124.7, 128.0, 136.3, 155.0, 171.1.

HRMS calcul anal. pour $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_6$ ($\text{M}+\text{H}$):. 373.13996 mesuré 373.13911

15

Inhibition du développement d'*Eimeria tenella*

20 L'effet des 15 composés dérivés du C1 (et en particulier C2, C3 et C5) sur le développement du parasite *Eimeira tenella* est déterminé en observant leur incidence sur la différenciation des sporozoites en schizontes, qui constitue une étape clef du développement des parasites.

Préparation des cellules :

25 Des cellules MDBK (Madin-Darby bovine kidney) sont mises en culture en plaque 24 puits contenant des lamelles de verres, 24h avant l'expérience. La concentration utilisée est de 1×10^5 cellules par puits, dans du milieu Ham's F12 avec 5% de SVF, 2mM glutamine, 10UI/mL pénicilline et 10µg/mL streptomycine.

Les cellules sont ensuite placées dans une étuve à 41°C en atmosphère contenant 5% de CO_2 .

Préparation des parasites :

30 Des parasites exprimant le gène de la Yellow Fluorescent Protein (YFP) sont purifiés à partir d'oocystes comme décrit par Rieux *et al*, Plos One 2012.

Les oocystes sporulés sont broyés mécaniquement à l'aide de billes de verre de 0,5 mm. Les parasites sont centrifugés à 800G, 5 min, 20°C et lavés 3 fois en PBS pour éliminer les débris de parois. Les sporocystes sont ensuite incubés dans un milieu d'excystation (Sels biliaires

0,5%, Trypsine 0,25% dilué en PBS pH 7,6) à 41°C pendant 75 minutes. Les sporozoïtes sont purifiés par deux étapes de filtration, la première sur du coton puis sur un filtre de polycarbonate de 5µM (GE Water & Process Technology).

5 Préparation des composés :

Les composés C1, C2, C3, C4 et C5 sont dissous dans du DMSO (Diméthylsulfoxyde) à une concentration de 10mM.

Infection des cellules :

- 10 Les parasites (2×10^5) sont mis au contact des cellules (1×10^5) en même temps que le composé à tester (C1, C2, C3, C4 et C5) dans un volume final de 500µL par puits. Pour chaque composé testé, le test est réalisé en double dans 2 puits différents. Un témoin (réalisés en double dans 2 puits) sert de témoin de développement. Il est constitué des parasites et des cellules sans ajout de composé à tester. Un autre témoin (également en double) est utilisé pour
- 15 tester la toxicité du DMSO dans lequel sont dissouts les composés à tester. Il est constitué des cellules, des parasites et du solvant (DMSO) à la concentration maximale utilisée pour l'expérimentation.

Les cellules sont ensuite placées dans une étuve à 41°C en atmosphère contenant 5% de CO₂.

- Le milieu de culture est changé deux fois par jour à partir de 16h PI (Post-infection), les
- 20 inhibiteurs sont renouvelés en même temps que le milieu.

Observation des parasites en absence et en présence du composé C1:

Les cellules sont lavées et fixées à l'Antigène fixe à 48h PI. Les lamelles sont ensuite mises en contact avec du milieu de montage (Vectashield) contenant du DAPI avant d'être sellées.

- 25 Les résultats sont présentés à la figure 1. Il peut être observé qu'en présence du composé C1, le nombre de schizontes observés (B) est plus faible.

Calcul du pourcentage d'invasion:

- Dans un premier temps, le pourcentage d'invasion est calculé. Trois comptages sont effectués
- 30 pour déterminer le nombre de cellules et le nombre de parasite total (sporozoïtes + schizontes).

$$\text{Formule : } (\text{Nb parasites} / \text{Nb cellules}) * 100$$

Calcul du pourcentage de développement :

Pour déterminer le pourcentage de développement, il est nécessaire de comparer le nombre de parasite total et le nombre de schizontes présents.

$$\text{Formule : } (\text{Nb schizontes} / \text{Nb parasites}) * 100$$

5

Les effets des composés sur l'invasion et le développement des parasites sont présentés aux figures 2 et 3.

La figure 2 met en évidence une inhibition dose dépendante du développement des parasites par le composé C1. Il peut être observé que le composé C1 n'inhibe pas l'invasion mais inhibe
10 fortement la différenciation des sporozoïtes en schizontes.

Test de cytotoxicité au MTT :

Après incubation des cellules en présence de 20 µM des composés pendant 1 heure, le milieu de culture est éliminé, 1 mL de milieu complet frais est ajouté aux cellules ainsi que 200 µL de
15 MTT (Dimethyl thiazol-diphenyl-tetrazolium bromide, à 5 mg/mL). Les cellules sont placées à 41°C pendant 2 heures en atmosphère contenant 5% de CO₂. Le milieu de culture est éliminé, et 200 µL de tampon d'extraction (HCl 4 mM en isopropanol) sont ajoutés. Les cellules sont incubées 10 minutes à 37°C en atmosphère contenant 5% de CO₂. Le tampon d'extraction est prélevé, centrifugé 5 minutes à 1400 rpm pour éliminer les débris cellulaires. Le surnageant est
20 transféré en plaque P96, et la densité optique (DO) est lue à 570 nm. L'intensité est proportionnelle à la quantité de cellules vivantes. Le pourcentage de réduction de la DO est calculé :

$$\text{Formule : } (\text{DO}_{\text{composé}} / \text{DO}_{\text{DMSO}}) * 100$$

25

La figure 3A présente les effets des composés C1, C2, C3, C4 et C5 sur l'invasion et le développement par rapport au contrôle. Il peut être observé que chacun des composés testés inhibe fortement la différenciation des sporozoïtes en schizontes sans influencer l'invasion.

La figure 3B présente l'absence d'effets cytotoxiques des composés C1, C2, C3, C4 et C5 sur
30 les cellules par rapport au contrôle (DMSO).

Inhibition du développement de *Toxoplasma gondii*

L'effet de composés chimiques sur le développement du parasite *Toxoplasma gondii* est déterminé en observant leur incidence sur la formation de plages de lyses qui illustre la multiplication de parasite sur un tapis cellulaire.

5 **Préparation des cellules :**

Des cellules HFF (Human Foreskin Fibroblast) sont mises en culture en plaque 6 puits pour être à confluence au moment de l'expérimentation. Les cellules sont dans du milieu DMEM avec 10% de SVF, 2mM glutamine, 10U/mL pénicilline et 10µg/mL de streptomycine.

Les cellules sont ensuite placées dans une étuve à 37°C en atmosphère contenant 5% de CO₂

10

Préparation des parasites :

Les tachizoites de *Toxoplasma gondii* sont maintenus en routine sur des cultures de HFF cultivées dans du milieu DMEM (voir ci-dessus). Avant la mise en contact sur les cellules HFF les parasites sont filtrés avec un filtre de polycarbonate de 5µm (GE Water & Process

15 Technology)

Préparation des composés :

Les composés à tester sont dissous dans du DMSO (Diméthylsulfoxyde) à une concentration de 10mM.

20

Infection des cellules :

Les parasites (1x10⁴/puits) sont déposés sur les cellules à confluence en même temps que le composé à tester dans un volume final de 3mL par puits. Pour chaque composé, le test est réalisé en double dans deux puits différents. Un contrôle sans composé (réalisé en double dans 2 puits différents) sert de témoin de développement. Il est uniquement composé des cellules et des parasites. Un autre témoin (également en double) est testé pour vérifier l'absence d'effet néfaste du DMSO sur le développement. Il est constitué des cellules, des parasites et du solvant (DMSO) à la concentration maximale utilisée pour l'expérimentation. Après ajout des parasites et des composés, les cellules sont placées dans une étuve à 41°C

25

30 en atmosphère contenant 5% de CO₂.

Le milieu de culture ne doit pas être changé et la plaque ne doit pas être déplacée pendant toute la durée de l'infection

Marquage des HFFs et révélation des plages de lyses :

Les cellules sont fixées au méthanol froid (conservé à -20°C) pendant 5 minutes. Les cellules sont ensuite lavées au PBS avant d'être colorées au Crystal Violet pendant 1 à 5 minutes. Les plaques sont lavées abondamment pour enlever l'excédent de colorant et sont séchées à l'air libre. Les plages de lyses reflétant le développement de *Toxoplasma* vont apparaître comme
5 des plages claires sur le fond violet des HFFs. Une diminution du développement du parasite entraîne une diminution du nombre de plages observées et de leurs superficies.

Calcul de la superficie des plages de lyses :

La superficie des plages de lyses est calculée par l'utilisation d'un logiciel de traitement
10 d'image de microscopie (Zeiss Axiovision). La superficie moyenne est calculée pour chaque condition et est exprimée comme le pourcentage de la moyenne d'une condition par rapport au contrôle sans inhibiteur avec son écart type.

Les résultats sont présentés aux figures 4A et 4B qui mettent en évidence la diminution dose
dépendante de la surface des plages de lyses illustrant le développement du parasite
15 *Toxoplasma gondii*.

Inhibition du développement de *Plasmodium falciparum*

Les travaux sur *P. falciparum* ont été réalisés par Henri Vial et son équipe (UMR 5235,
20 Dynamique des Interactions Membranaires Normales et Pathologiques, CNRS Université Montpellier II, Case 107, Place Eugene Bataillon, 34095 Montpellier, Cedex 05, France). L'effet des composés chimiques sur le développement du parasite *Plasmodium falciparum* est déterminé *in vitro* en évaluant leur activité contre ce parasite après 48h de culture de contact (soit le temps d'un cycle de *P. falciparum*). Cette activité pharmacologique est évaluée par
25 incorporation par le parasite d'hypoxanthine tritiée et est confirmée par microscopie optique après coloration au Giemsa.

Préparation des parasites et des cellules :

L'effet du composé C1 sur la croissance *in vitro* de *Plasmodium falciparum* est mesuré sur des
30 érythrocytes en suspension infectés par la souche *P. falciparum* 3D7 (1,5% d'hématocrite finale et 0,6% de parasitémie) en micro-plaques 96 puits comme décrits par Desjardins et al (Desjardins, 1979). Le volume de chaque puit est de 200µL final de milieu de culture complet CM (RPMI 1640 25 mM Hepes + 10% de sérum humain AB) sans (Contrôle) ou en présence du composé C1. La culture est mise en étuve pendant 48h à 37°C.

Préparation des composés :

Le composé C1 a été dissous dans du DMSO (Diméthylsulfoxyde). La concentration finale de DMSO ne dépasse jamais 0,25%.

5

Evaluation des effets anti-malaria :

Après les 48h de cultures, 30µL de milieu complet contenant 0,6µCi [³H]-hypoxanthine sont ajoutés dans chaque puits. Les plaques sont incubées pendant 18h à 37°C. Les cellules sont ensuite lysées et les macromolécules parasitaires, incluant les acides nucléiques radioactifs sont récupérés avec des filtres de fibre de verre. Un cocktail de scintillation est ajouté et la radioactivité des filtres est évaluée en phase liquide par un spectromètre de scintillation.

10

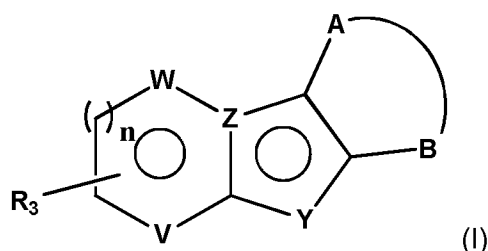
Le bruit de fond de radioactivité est obtenu par l'incubation de cellules non infectée dans les mêmes conditions que précédemment. L'effet antiparasitaire est exprimé comme l'IC₅₀, dose à laquelle la drogue entraîne une inhibition de 50% du développement parasitaire. Les résultats sont présentés à la figure 5. L'IC₅₀ du composé C1 contre la croissance de *Plasmodium falciparum* après 48 h de contact (un temps de cycle) est de 14 micromolaires.

15

L'activité antiparasitaire est confirmée par examen de frottis colorié au Giemsa.

REVENDICATIONS

1. Composés de formule (I) :



5

dans laquelle :

- **-A-B-** représente $-\text{CO}-\text{O}-\text{CR}_1=\text{C}-$ ou $-\text{C}=\text{CR}_1-\text{X}-\text{CO}-$
 - avec **X** représentant un atome d'oxygène ou d'azote ;
 - avec **R₁** représentant un groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle, ledit groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle pouvant être substitué, ou non, par un ou plusieurs groupement(s) hydroxyle, halogène, alkyle, alcényle, alcynyle, alkyloxy, alkylthio, amino, nitro, cycloalkyle, aryle, hétéroaryle, ester et/ou cétone ;
- **Y** représente un atome d'azote substitué, ou non, par un groupement **R₂** avec **R₂** représentant un atome d'hydrogène, un groupement alkyle, aryle, arylalkyle, hétéroaryle, alkylcarbonyle, arylcarbonyle ou hétéroarylcarbonyle ;
- **Z** représente un atome de carbone ou d'azote ;
- **W** représente un atome de carbone ou d'azote, à la condition que lorsque **W** est un atome d'azote, **Z** est un atome d'azote et **V** est un atome de carbone substitué par **R₃**;
- **n** représente le nombre entier 0 ou 1 ;
- **V** représente un atome de carbone ou de soufre, à la condition que lorsque **V** est un atome de soufre, **n** est égal à 0, **Z** est un atome d'azote et **W** est atome de carbone ;
- **R₃** représente un hydrogène, un groupement alkyle, alcényle, alcynyle, alkylthio, arylthio, alkyloxy, aryloxy, aryle, hétéroaryle, amino ou un halogène, de préférence **R₃** représente un hydrogène ;

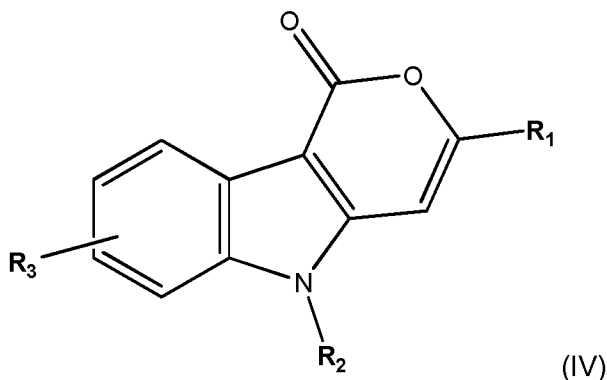
25

pour utilisation dans la prévention et/ou le traitement des parasitoses induites par des parasites appartenant au phylum des apicomplexes.

2. Composés pour utilisation selon la revendication 1 dans laquelle les parasitoses sont choisies parmi les coccidioses, telles que les coccidioses aviaires, bovines, porcines ou ovines, la malaria, la toxoplasmose, la néosporose ou la cryptosporidiose.

3. Composés pour utilisation selon la revendication 1 ou 2, caractérisés en ce que lesdits composés présentent la formule (I) dans laquelle **V**, **W** et **Z** représentent un atome de carbone, **Y** représente un atome d'azote substitué par un groupement **R₂** et n est égal à 1.

4. Composés pour utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce que lesdits composés présentent la formule (IV) :



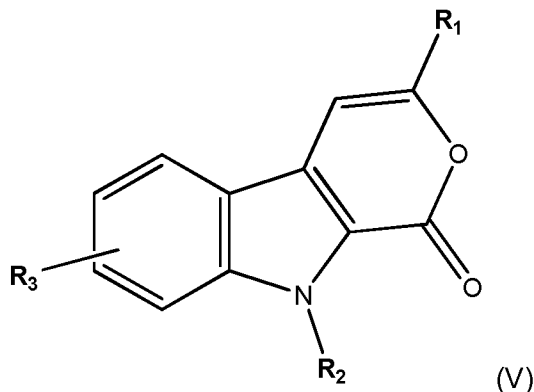
dans laquelle :

- **R₁** représente un groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle, ledit groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle pouvant être substitué, ou non, par un ou plusieurs groupement(s) hydroxyle, halogène, alkyle, alcényle, alcynyle, alkyloxy, alkylthio, amino, nitro, cycloalkyle, aryle, hétéroaryle, ester et/ou cétone ;

- **R₂** représente un groupement alkyle, aryle, arylakyle, hétéroaryle, alkylcarbonyle, arylcarbonyle ou hétéroarylcarbonyle ;

- **R₃** représente un hydrogène, un groupement alkyle, alcényle, alcynyle, arylthio, alkylthio, aryloxy, alkyloxy, aryle, hétéroaryle, amino ou un halogène, de préférence **R₃** représente un hydrogène.

5. Composés pour utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisés en ce que lesdits composés présentent la formule (V) :

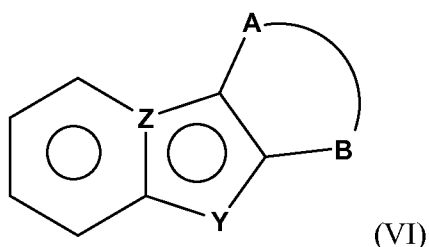


dans laquelle :

- 5 - **R₁** représente un groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle, ledit groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle pouvant être substitué, ou non, par un ou plusieurs groupement(s) hydroxyle, halogène, alkyle, alcényle, alcynyle, alkyloxy, alkylthio, amino, nitro, cycloalkyle, aryle, hétéroaryle, ester et/ou cétone ;
- 10 - **R₂** représente un groupement alkyle, aryle, arylalkyle, hétéroaryle, alkylcarbonyle, arylcarbonyle ou hétéroarylcarbonyle ;
- **R₃** représente un hydrogène, un groupement alkyle, alcényle, alcynyle, alkylthio, alkyloxy, aryle, hétéroaryle, amino ou un halogène, de préférence **R₃** représente un hydrogène.
- 15 6. Composés pour utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce que lesdits composés présentent la formule (I), (IV) ou (V) dans laquelle **R₁** représente :
- un groupement alkyle ou alcényle comprenant de 1 à 6 atomes de carbone, substitué, ou non, par un ou plusieurs groupement(s) hydroxyle, alkyloxy, ester, alcène et/ou cycloalkyle ;
- 20 - un groupement phényle ;
- un groupement phényle substitué en ortho, méta ou para par un groupement alkyle comprenant de 1 à 3 atomes de carbone, halogène, alkyloxy, alkylthio, nitro, amino ; ou
- 25 - un groupement thiophène ou pyridine.

7. Composés pour utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce que lesdits composés présentent la formule (I), (IV) ou (V) dans laquelle **R₂** représente un groupement benzyle ou méthyle.

- 5 8. Composés pour utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisés en ce que lesdits composés présentent la formule (VI):

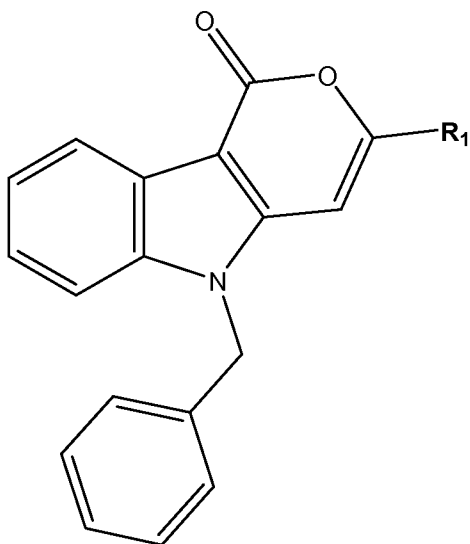


dans laquelle :

- **-A-B-** représente $-\text{CO}-\text{O}-\text{CR}_1=\text{C}-$ ou $-\text{C}=\text{CR}_1-\text{O}-\text{CO}-$
 - 10 ○ avec **R₁** représentant un groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle, ledit groupement alkyle, alcényle, alcynyle, aryle, hétéroaryle ou cycloalkyle pouvant être substitué, ou non, par un ou plusieurs groupement(s) hydroxyle, alkyle, alcényle, alcynyle, alkyloxy, cycloalkyle, aryle, hétéroaryle et/ou ester;
- 15 - **Y** représente un atome d'azote substitué, ou non, par un groupement **R₂** avec **R₂** représentant un groupement alkyle ou arylalkyle ; et
- **Z** représente un atome de carbone ou d'azote.

9. Composés pour utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 et 8, caractérisés en ce que lesdits composés présentent la formule (VII):
- 20

39

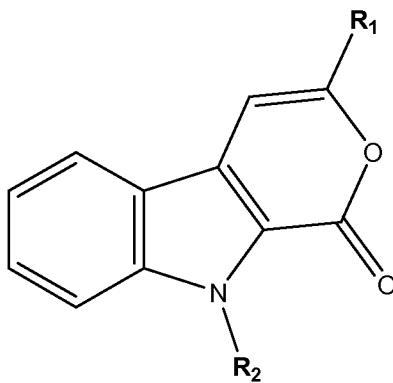


(VII)

dans laquelle :

- **R₁** représente un groupement alkyle, alcényle, aryle ou hétéroaryle, ledit groupement alkyle, alcényle, ou aryle, pouvant être substitué, ou non, par un ou plusieurs groupement(s) alkyle, alcényle, alcynyle, alkyloxy, cycloalkyle et/ou ester.

10. Composés pour utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 et 8, caractérisés en ce que lesdits composés présentent la formule (VIII):

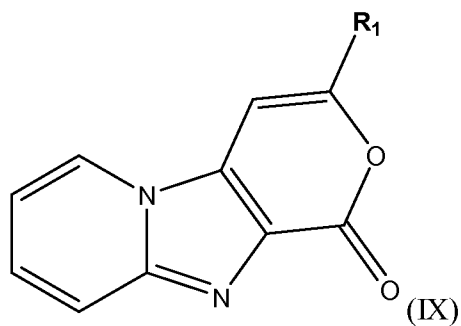


(VIII)

10 dans laquelle :

- **R₁** représente un groupement alkyle, alcényle, aryle, ou hétéroaryle, ledit groupement alkyle, alcényle, ou aryle, pouvant être substitué, ou non, par un ou plusieurs groupement(s) hydroxyle, alkyle, alcényle, alcynyle, alkyloxy, cycloalkyle, aryle, hétéroaryle et/ou ester ; et
- **R₂** représente un groupement alkyle ou arylalkyle, préférentiellement benzyle ou méthyle.

11. Composés pour utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, et 8 caractérisés en ce que lesdits composés présentent la formule (IX):

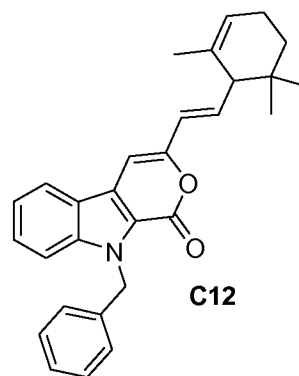
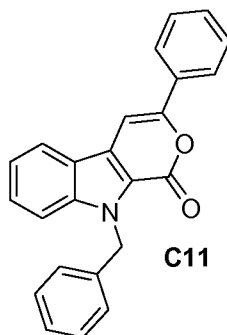
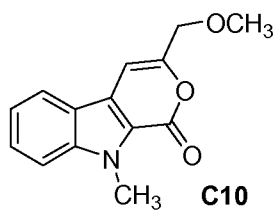
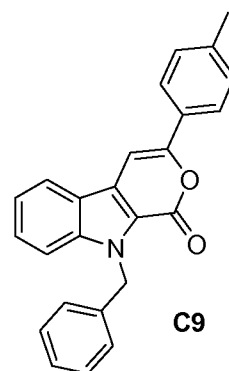
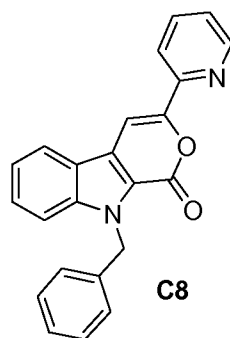
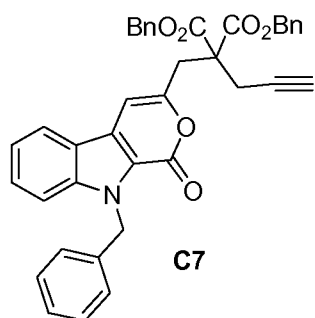
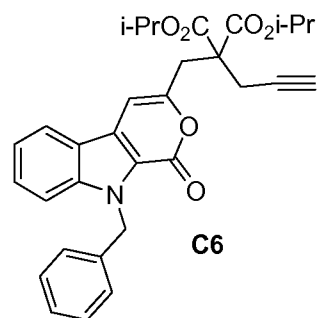
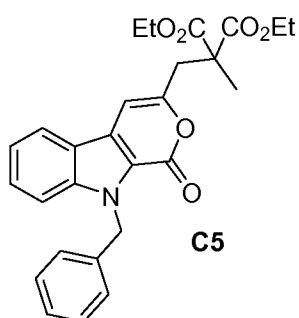
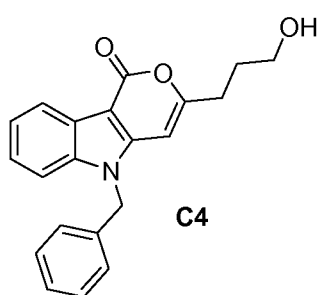
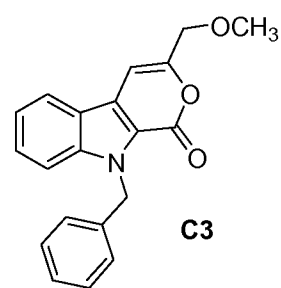
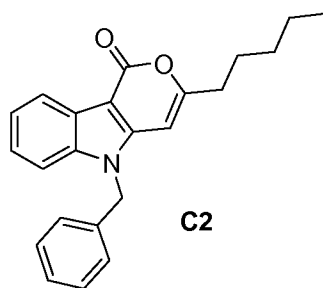
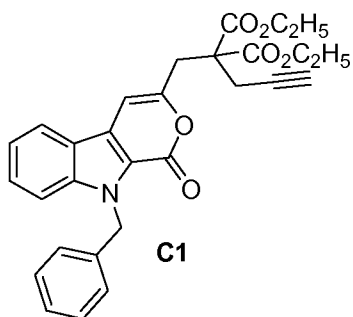


5 dans laquelle :

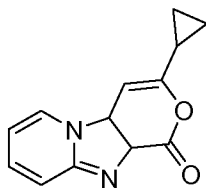
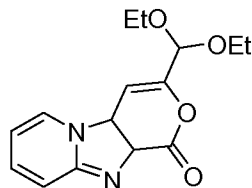
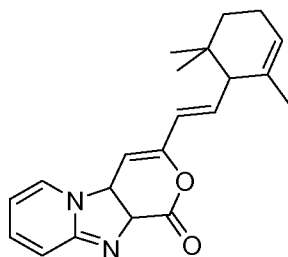
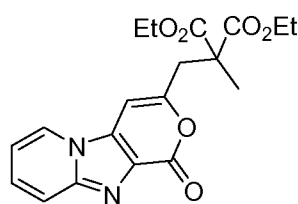
- **R₁** représente un groupement alkyle, alcényle ou cycloalkyle, ledit groupement alkyle ou alcényle pouvant être substitué, ou non, par un ou plusieurs groupement(s) alkyle, alcényle, alkyloxy, cycloalkyle et/ou ester;

10 12. Composés pour utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes choisis parmi :

41



42

**C13****C14****C15****C16**

13. Composition pharmaceutique ou vétérinaire comprenant au moins un composé de formule (I) tel que décrit dans l'une quelconque des revendications 1 à 12 et au moins un excipient acceptable.

14. Composition pharmaceutique ou vétérinaire selon la revendication 13 pour utilisation dans la prévention et/ou le traitement des parasitoses induites par des parasites appartenant au phylum des apicomplexes.

15. Composition pharmaceutique ou vétérinaire selon la revendication 13 ou 14 comprenant en outre un agent antiparasitaire.

16. Composition pharmaceutique ou vétérinaire selon l'une quelconque des revendications 13 à 15 destinée à être administrée par voie orale.

17. Combinaison comprenant au moins un composé de formule (I) tel que décrit dans l'une des revendications 1 à 12 et au moins un agent antiparasitaire.

FIGURE 1

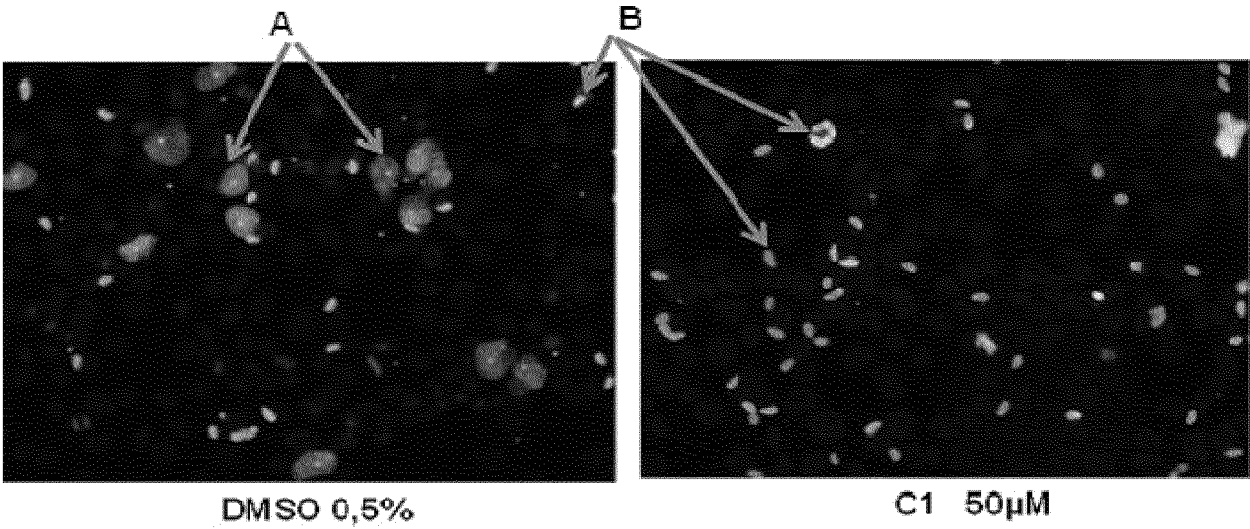


FIGURE 2

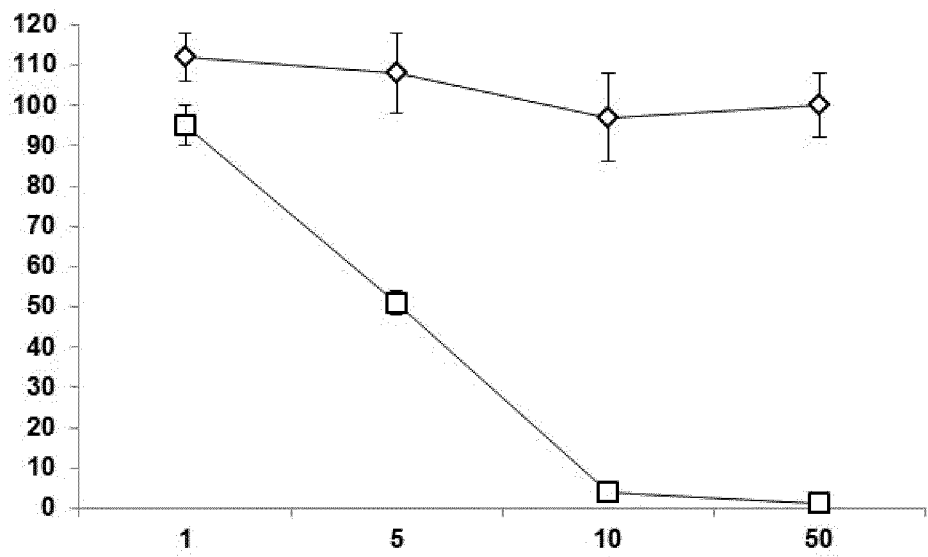
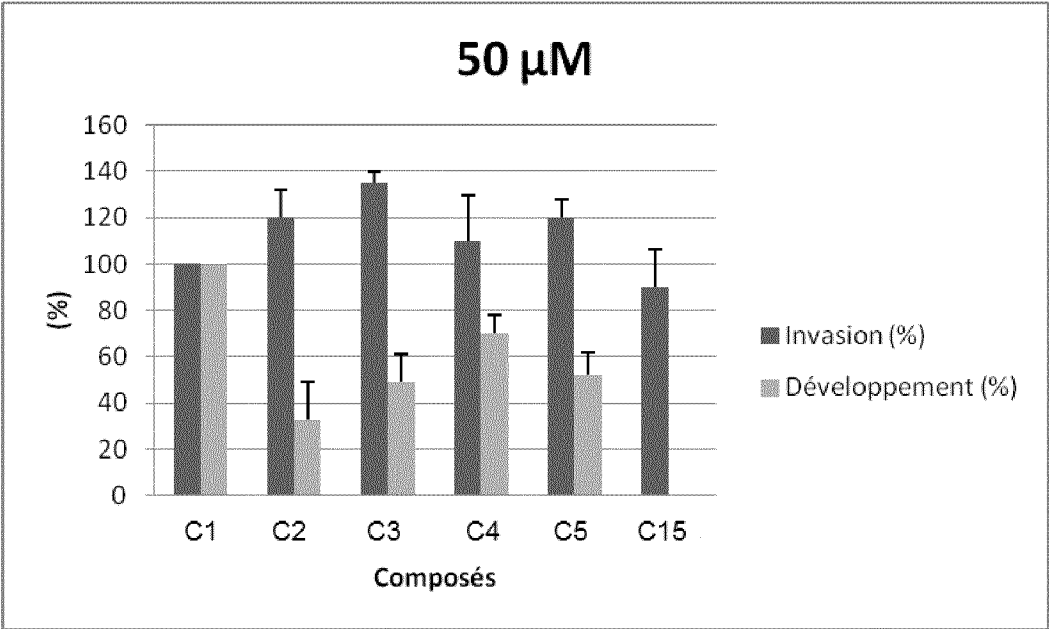


FIGURE 3

A)



B)

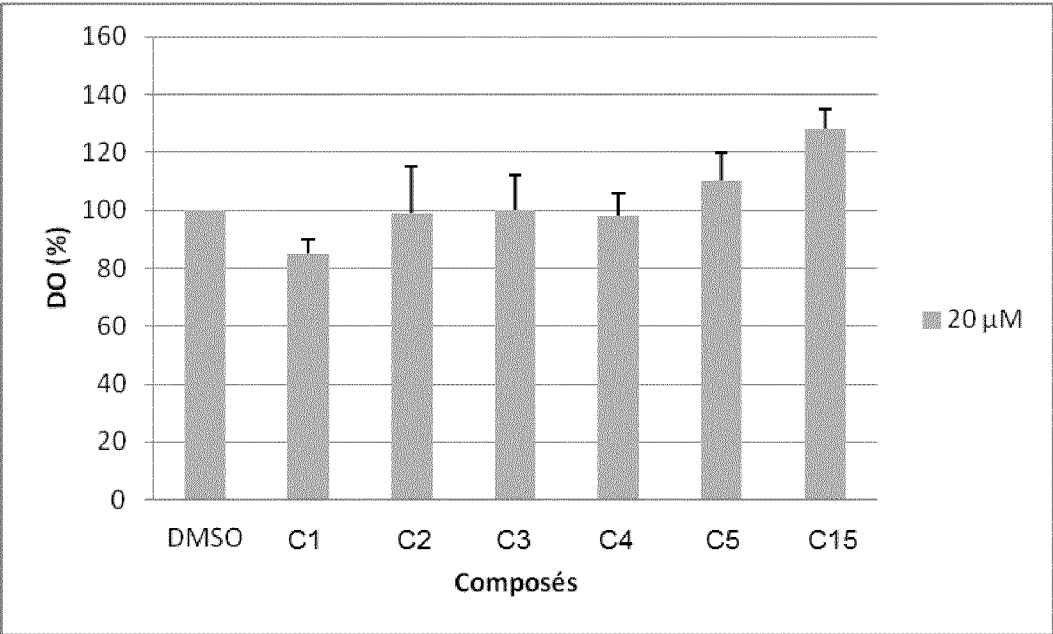


FIGURE 4

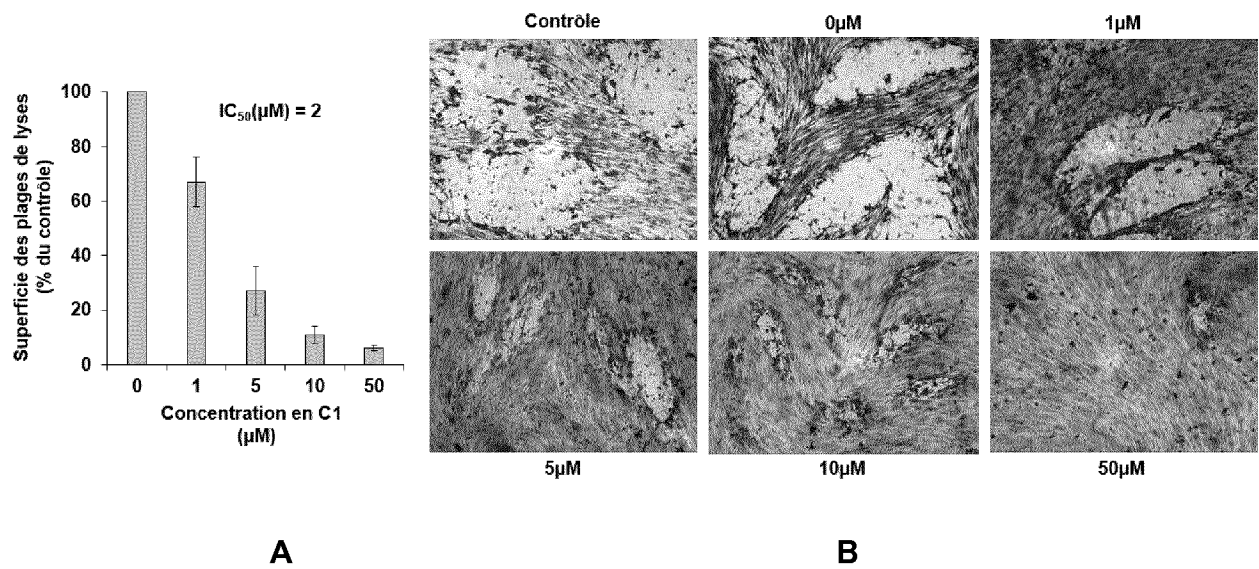
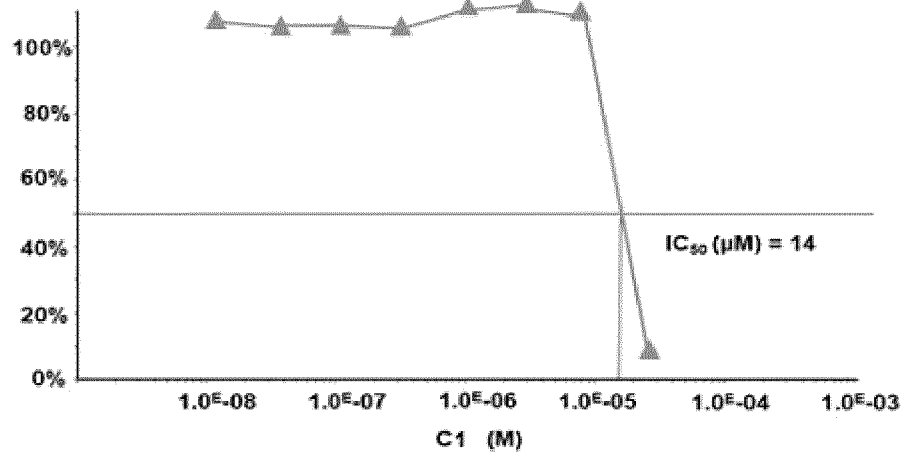


FIGURE 5



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2014/070625

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K9/00 A61K31/407 A61P33/00 A61P33/02 A61P33/06
A61K31/4188 A61K31/429 A61K31/5025

ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data, EMBASE, FSTA

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CHANDRASEKARAN PRAVEEN ET AL: "Gold(III) chloride catalyzed regioselective synthesis of pyrano[3,4-]indol-1(9)-ones and evaluation of anticancer potential towards human cervix adenocarcinoma", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, AMSTERDAM, NL, vol. 21, no. 14, 24 May 2011 (2011-05-24), pages 4170-4173, XP028234373, ISSN: 0960-894X, DOI: 10.1016/J.BMCL.2011.05.088 [retrieved on 2011-05-30] page 4171; compounds 7a-j page 4172, column 1 ----- -/--	13



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 December 2014

Date of mailing of the international search report

10/12/2014

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Houyvet-Landriscina

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SAMUEL INACK NGI ET AL: "Regioselective Copper-Mediated Synthesis of Thieno[2,3- c]pyrane-7-one, Indolo[2,3- c]pyrane-1-one, and Indolo[3,2- c]pyrane-1-one", THE JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, vol. 76, no. 20, 21 October 2011 (2011-10-21), pages 8347-8354, XP055098199, ISSN: 0022-3263, DOI: 10.1021/jo201528u cited in the application table 3; compounds 3a, 3c, 3d, 3h, 3k, 3j, 4a, 4b -----	1-17
A	HELLAL ET AL: "6-endo-dig Cyclization of heteroarylesters to alkynes promoted by Lewis acid catalyst in the presence of Bronsted acid", TETRAHEDRON LETTERS, PERGAMON, GB, vol. 49, no. 1, 7 November 2007 (2007-11-07), pages 62-65, XP022374255, ISSN: 0040-4039, DOI: 10.1016/J.TETLET.2007.11.020 table 4; compounds 12-13 -----	1-17
A	FRETER K: "Synthesis and reactions of 3-indolyl beta ketones", THE JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, vol. 37, no. 12, 1 January 1972 (1972-01-01), pages 2010-2015, XP002371373, ISSN: 0022-3263, DOI: 10.1021/J000977A032 compound 15a -----	1-17
A	ZHUANGZHI SHI ET AL: "Synthesis of [beta]- and [gamma]-Carbolinones via Pd-Catalyzed Direct Dehydrogenative Annulation (DDA) of Indole-carboxamides with Alkynes Using Air as the Oxidant", ORGANIC LETTERS, vol. 12, no. 13, 2 July 2010 (2010-07-02), pages 2908-2911, XP55156166, ISSN: 1523-7060, DOI: 10.1021/ol1007839 figure 2; compounds 3ia-3ix -----	1-17
A	EP 2 520 297 A1 (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE [FR]; CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]) 7 November 2012 (2012-11-07) page 2, paragraph 1-3 page 4, paragraph 23 page 5, paragraph 27 - page 6, paragraph 34 -----	1-17
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2014/070625

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MARILYN KATRIB ET AL: "Stage-specific expression of protease genes in the apicomplexan parasite, Eimeria tenella", BMC GENOMICS, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON, UK, vol. 13, no. 1, 7 December 2012 (2012-12-07), page 685, XP021138589, ISSN: 1471-2164, DOI: 10.1186/1471-2164-13-685 the whole document -----	1-17
A	BROSSIER F ET AL: "Toxoplasma gondii: Microneme protein MIC2", INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOCHEMISTRY AND CELL BIOLOGY, PERGAMON, GB, vol. 37, no. 11, 1 November 2005 (2005-11-01), pages 2266-2272, XP027742077, ISSN: 1357-2725 [retrieved on 2005-11-01] abstract -----	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2014/070625

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
EP 2520297	A1	07-11-2012	EP 2520297 A1	07-11-2012
			WO 2012150577 A1	08-11-2012

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/EP2014/070625

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. A61K9/00 A61K31/407 A61P33/00 A61P33/02 A61P33/06 A61K31/4188 A61K31/429 A61K31/5025 ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) A61K A61P		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data, EMBASE, FSTA		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	CHANDRASEKARAN PRAVEEN ET AL: "Gold(III) chloride catalyzed regioselective synthesis of pyrano[3,4-]indol-1(9)-ones and evaluation of anticancer potential towards human cervix adenocarcinoma", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, AMSTERDAM, NL, vol. 21, no. 14, 24 mai 2011 (2011-05-24), pages 4170-4173, XP028234373, ISSN: 0960-894X, DOI: 10.1016/J.BMCL.2011.05.088 [extrait le 2011-05-30] page 4171; composés 7a-j page 4172, colonne 1 ----- -/--	13
☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents ☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités: "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 2 décembre 2014		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 10/12/2014
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Houyvet-Landriscina

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	SAMUEL INACK NGI ET AL: "Regioselective Copper-Mediated Synthesis of Thieno[2,3- c]pyrane-7-one, Indolo[2,3- c]pyrane-1-one, and Indolo[3,2- c]pyrane-1-one", THE JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, vol. 76, no. 20, 21 octobre 2011 (2011-10-21), pages 8347-8354, XP055098199, ISSN: 0022-3263, DOI: 10.1021/jo201528u cité dans la demande tableau 3; composés 3a, 3c, 3d, 3h, 3k, 3j, 4a, 4b -----	1-17
A	HELLAL ET AL: "6-endo-dig Cyclization of heteroarylesters to alkynes promoted by Lewis acid catalyst in the presence of Bronsted acid", TETRAHEDRON LETTERS, PERGAMON, GB, vol. 49, no. 1, 7 novembre 2007 (2007-11-07), pages 62-65, XP022374255, ISSN: 0040-4039, DOI: 10.1016/J.TETLET.2007.11.020 tableau 4; composés 12-13 -----	1-17
A	FRETER K: "Synthesis and reactions of 3-indolyl beta ketones", THE JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, vol. 37, no. 12, 1 janvier 1972 (1972-01-01), pages 2010-2015, XP002371373, ISSN: 0022-3263, DOI: 10.1021/J000977A032 composé 15a -----	1-17
A	ZHUANGZHI SHI ET AL: "Synthesis of [beta]- and [gamma]-Carbolinones via Pd-Catalyzed Direct Dehydrogenative Annulation (DDA) of Indole-carboxamides with Alkynes Using Air as the Oxidant", ORGANIC LETTERS, vol. 12, no. 13, 2 juillet 2010 (2010-07-02), pages 2908-2911, XP55156166, ISSN: 1523-7060, DOI: 10.1021/ol1007839 figure 2; composés 3ia-3ix -----	1-17
A	EP 2 520 297 A1 (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE [FR]; CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]) 7 novembre 2012 (2012-11-07) page 2, alinéa 1-3 page 4, alinéa 23 page 5, alinéa 27 - page 6, alinéa 34 ----- -/--	1-17

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	MARILYN KATRIB ET AL: "Stage-specific expression of protease genes in the apicomplexan parasite, Eimeria tenella", BMC GENOMICS, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON, UK, vol. 13, no. 1, 7 décembre 2012 (2012-12-07), page 685, XP021138589, ISSN: 1471-2164, DOI: 10.1186/1471-2164-13-685 le document en entier -----	1-17
A	BROSSIER F ET AL: "Toxoplasma gondii: Microneme protein MIC2", INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOCHEMISTRY AND CELL BIOLOGY, PERGAMON, GB, vol. 37, no. 11, 1 novembre 2005 (2005-11-01), pages 2266-2272, XP027742077, ISSN: 1357-2725 [extrait le 2005-11-01] abrégé -----	1-17

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

PCT/EP2014/070625

Formulaire PCT/ISA/210 (annexe familles de brevets) (avril 2005)