

(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  
23 février 2006 (23.02.2006)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 2006/018544 A1**

(51) Classification internationale des brevets :

C07D 409/14 (2006.01) A61K 31/44 (2006.01)  
C07D 409/04 (2006.01) A61K 31/381 (2006.01)  
C07D 333/56 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)  
C07D 333/64 (2006.01) A61P 31/10 (2006.01)  
C07D 333/68 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)  
C12Q 1/04 (2006.01)

PARIS (FR). PELLET-ROSTAING, Stéphane [FR/FR];  
2 allée Marcel Achard, F-69100 VILLEURBANNE (FR).  
BOUHOURS, Pascale [FR/FR]; 3 allée Soufflot, F-92600  
ASNIERES Sur Seine (FR). DAVID, Emilie [FR/FR]; 213  
rue Paul Bert, F-69003 LYON (FR). JOUCLA, Lionel  
[FR/FR]; 34 rue Dedieu, F-69100 VILLEURBANNE  
(FR).

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2005/001964

(74) Mandataire : SARLIN, Laure; Cabinet BEAU DE  
LOMENIE, 51, Avenue Jean Jaurès, B.P. 7073, F-69301  
LYON CEDEX 07 (FR).

(22) Date de dépôt international : 27 juillet 2005 (27.07.2005)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
0408362 29 juillet 2004 (29.07.2004) FR

(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) : UNI-  
VERSITE CLAUDE BERNARD LYON I [FR/FR]; 43,  
Boulevard du 11 Novembre 1918, F-69622 VILLEUR-  
BANNE CEDEX (FR). ECOLE NATIONALE SU-  
PERIEURE DE CHIMIE DE PARIS [FR/FR]; 11 Rue  
Pierre et Marie Curie, F-75231 PARIS Cédex 05 (FR).  
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCI-  
ENTIFIQUE (C.N.R.S.) [FR/FR]; 3, Rue Michel Ange,  
F-75794 PARIS CEDEX 16 (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : LEMAIRE,  
Marc [FR/FR]; 32 Rue Michel Dupeuble, F-69100  
VILLEURBANNE (FR). MOREAU, Nicole [FR/FR];  
30 Avenue Jean Jaurès, F-94220 CHARENTON (FR).  
FOURNIER DIT CHABERT, Jérémy [FR/FR]; 166  
rue du 4 Août, F-69100 VILLEURBANNE (FR). MAR-  
QUEZ, Béatrice [FR/FR]; 153 Avenue de Flandre,  
F-75019 PARIS (FR). MARQUET, Bernard [FR/FR]; 4  
rue du Capitaine Ferber, F-69300 CALUIRE et CUIRE  
(FR). NEUVILLE, Luc [FR/FR]; 94 rue Bobillot, F-75013

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

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre  
de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,  
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,  
ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),  
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,  
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT,  
RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,  
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

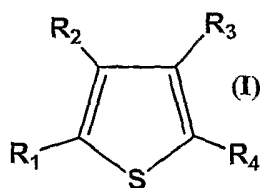
Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des  
revendications, sera republiée si des modifications sont re-  
çues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.

(54) Title: COMPOSITION CONTAINING A THIOPHENIC OR BENZOTHIOPHENIC COMPOUND AND EXHIBITING A PUMP NORA INHIBITING ACTIVITY

(54) Titre : COMPOSITIONS CONTENANT UN COMPOSE THIOPHENIQUE OU BENZOTHIOPHENIQUE, PRESENTANT UNE ACTIVITE INHIBITRICE DE POMPE NORA



(57) Abstract: The invention relates to the use of NorA efflux pump inhibitors of formula (I) such as defined in claim 1 for preparing a drug potentiating the action of an antimicrobial agent and to composition potentiating the action of the antimicrobial agent containing said NorA efflux pump inhibitor in the form of a potentiator agent.

(57) Abrégé : La présente invention concerne l'utilisation d'inhibiteurs de pompe efflux NorA de formule (I) : tels que définis à la revendication 1, pour la préparation d'un médicament destiné à potentialiser l'effet d'un agent antimicrobien, ainsi que des compositions pour potentialiser l'effet d'un agent antimicrobien contenant, en tant qu'agent potentialisateur, un tel inhibiteur de pompe efflux NorA.

WO 2006/018544 A1

COMPOSITIONS CONTENANT UN COMPOSE THIOPHENIQUE OU BENZOTHIOPHENIQUE, PRESENTANT UNE ACTIVITE INHIBITRICE DE POMPE NorA

La présente invention a pour objet des nouvelles compositions contenant, des dérivés thiophéniques ou benzothiophéniques présentant une activité inhibitrice des pompes MDR (« multidrug resistance »), et en particulier des pompes NorA.

Ces dernières années, de nouvelles souches microbiennes manifestant des phénotypes variés de résistance aux agents antibiotiques ou antifongiques connus se sont développées. Face à ce phénomène, un grand nombre d'agents antibiotiques ou antifongiques connus se trouvent inefficaces.

En particulier, la résistance bactérienne aux antibiotiques pose un grave problème de santé publique puisque ce phénomène touche maintenant la quasi-totalité des antibiotiques (ATB) et tous leurs champs d'application avec des conséquences importantes du point de vue économique. Notamment, un phénotype de résistance concernant plusieurs familles d'antibiotiques de structures chimiques différentes, s'appuyant sur un mécanisme d'expulsion, a été identifié chez plusieurs bactéries à Gram positif et à Gram négatif, fréquemment rencontrées dans les infections nosocomiales. Les systèmes d'efflux actif ou “ pompes d'efflux ” présents chez les bactéries sont des transporteurs membranaires protéiques fonctionnant avec l'énergie provenant du gradient électrochimique de la membrane cytoplasmique (*Microbiological Reviews*, (1996), 575-608) ou de l'hydrolyse de l'ATP. Pour plus de détails, on pourra notamment se référer à : *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2003, 51, 9-11, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (2000), 44(9), 2233-2241, *Molecular Microbiology* (2000), 36(3), 772-773 et *Current opinion in drug discovery & development* (2001), 4(2), 237-45. La fonction de ces systèmes est identique malgré leur diversité structurale et leur source d'énergie : ils s'opposent à l'accumulation intracellulaire de leurs substrats tels que métaux lourds, sels biliaires, antibiotiques... Ces systèmes ont un impact négatif en antibiothérapie car ils peuvent (i) potentialiser l'effet d'autres mécanismes de résistance préexistants (modification de la cible, altération de la perméabilité membranaire, inactivation enzymatique de l'antibiotique) et permettre ainsi à des bactéries de devenir insensibles à pratiquement tous les antibiotiques disponibles, (ii) faciliter l'adaptation et la persistance des bactéries *in vivo*, (iii) favoriser l'émergence de mutants de cible (fluoroquinolones,

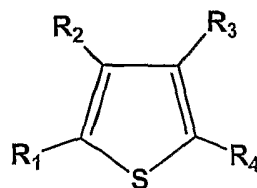
...). Plusieurs familles d'agents antimicrobiens peuvent être l'objet de ces mécanismes d'efflux. Ces mécanismes d'efflux jouent le rôle de systèmes d'expulsion et entraînent donc une diminution de la concentration intracellulaire des agents antimicrobiens qui y sont soumis et participent à la résistance aux agents antibiotiques tels que les fluoroquinolones, les tétracyclines, les macrolides... A noter que ce type de résistance se manifeste aussi vis-à-vis d'agents antiparasitaires et d'agents antitumoraux.

Aussi, une des solutions envisageables pour contrecarrer ces résistances bactériennes, est l'utilisation d'inhibiteurs de leurs pompes à efflux pour permettre de restaurer l'activité d'antibiotiques ou d'antifongiques usuels, dont l'efficacité est actuellement touchée par ce type de mécanisme. Les germes visés sont les bactéries résistantes aux antibiotiques par un mécanisme d'efflux (Efflux-mediated resistance to fluoroquinolones in gram-positive bacteria and the mycobacteria: Keith Poole; *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2000**, 44(10), 2595-2599), en particulier : *Staphylococcus* tel que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* tel que *Enterococcus faecalis*, d'autres souches telles que *Pneumonia*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* et des moisissures telles que *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*.... En effet, les inhibiteurs d'efflux apportent une solution originale pour enrayer la progression de la résistance bactérienne comme démontré dans *Journal of Medicinal Chemistry* (**2001**), 44(2), 261-268, *Antimicrobial agents and chemotherapy* (**2001**), 45(1), 105-16, *Antimicrobial agents and chemotherapy* (**1999**), 43, 2404-2408 et *Antimicrobial agents and chemotherapy* (**2003**), 47 (2), 719-726. Les inhibiteurs de pompes efflux et, en particulier de pompes NorA, pourraient ainsi occuper en thérapeutique une place importante, en étant utilisés en association avec divers agents antimicrobiens et en particulier antibiotiques ou antifongiques. Ces inhibiteurs peuvent donner un regain d'activité à des antibiotiques devenus inefficaces sur les bactéries multi-résistantes en augmentant leur concentration intracellulaire. Ils peuvent "sécuriser" l'utilisation de certains antibiotiques, comme les fluoroquinolones ou les macrolides, en réduisant considérablement l'émergence de mutations dans les cibles. Enfin, les inhibiteurs de type compétitif devraient être actifs sur un grand nombre d'espèces,

étant donné la spécificité relative des pompes pour le substrat et les homologies entre différents transporteurs.

Dans ce contexte, les inventeurs ont trouvé de nouveaux inhibiteurs de pompes d'efflux telles que les pompes NorA. En particulier, les inventeurs ont démontré que des composés de structure benzothiophénique ou thiophénique sont capables de restaurer l'activité d'une classe d'antibiotiques usuels de la famille des fluoroquinolones vis-à-vis de souches bactériennes présentant ce type de résistance : *Staphylococcus aureus* 1199B, *Bacillus subtilis* ΔΔNA. Ces inhibiteurs peuvent donc être utilisés dans des compositions, avantageusement des compositions pharmaceutiques, destinées à améliorer l'action d'un antifongique ou d'un antibiotique dont l'efficacité se trouve affaiblie, à cause de la résistance que présentent des microbes par expulsion dudit antibiotique ou antifongique par la pompe d'efflux, et en particulier la pompe NorA. Ces inhibiteurs peuvent également être utilisés dans des tests diagnostiques destinés à l'identification de souches exprimant le phénotype de résistance. A partir d'un échantillon biologique issu d'un prélèvement réalisé sur un patient infecté, on pourra déterminer les concentration minimum inhibitrices (CMI) de l'antibiotique de traitement (de préférence une fluoroquinolone et préférentiellement la Ciprofloxacine), en présence ou non de l'un de ces inhibiteurs. Les courbes obtenues, pourront fournir des renseignements sur l'existence et la nature d'un mécanisme de résistance qui sera pris en compte dans le traitement.

Plus précisément, la présente invention a pour objet l'utilisation d'inhibiteurs de pompe efflux NorA de formule (I), éventuellement sous forme hydratée ou sous forme d'un sel acceptable pour une administration aux animaux ou végétaux, pour la fabrication de médicaments destinés à potentialiser l'effet d'un agent antimicrobien, ainsi que des compositions pour potentialiser l'effet d'un agent antimicrobien contenant, en tant qu'agent potentialisateur, un tel composé de formule (I) :



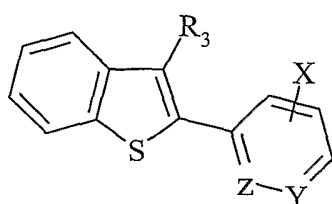
Formule (I)

dans laquelle :

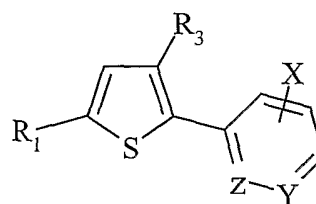
- $R_1$  et  $R_2$  peuvent être liés entre eux pour former une chaîne polyvinylique éventuellement substituée :  $-\text{CH}=\text{CR}_a-\text{CR}_b=\text{CH}-$ , de façon à former un  
5 benzothiophène avec le groupe thiophène auquel ils sont liés ; avec  $R_a$  et  $R_b$  identiques ou différents et représentant un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un groupe choisi parmi les suivants : amine secondaire ( $-\text{NHR}_c$ ) ou tertiaire ( $-\text{NR}_c\text{R}_d$ ), amide primaire ( $-\text{CO}-\text{NH}_2$ ), secondaire ( $-\text{CO}-\text{NHR}_c$ ) ou tertiaire ( $-\text{CO}-\text{NR}_c\text{R}_d$ ), imine ( $-\text{C}=\text{NR}_c\text{R}_d$ ), éther ( $-\text{OR}_c$ ), thioéther ( $-\text{SR}_c$ ), carbonyle ( $-\text{C}(\text{O})\text{R}_c$ ),  $-\text{OH}$ ,  $-\text{CO}_2\text{H}$ , ester  
10 ( $-\text{CO}_2\text{R}_c$ ),  $-\text{CN}$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$  ou  $-\text{NO}_2$ ,  
ou bien  $R_1$  représente un hydrogène, un groupe aryle ou hétéroaryle éventuellement substitué et  $R_2$  un atome d'hydrogène,  
-  $R_3$  et  $R_4$  représentent chacun indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou d'halogène, ou un groupe choisi parmi : aryle éventuellement substitué ou  
15 hétéroaryle éventuellement substitué,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}_e$ ,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}_e$ , un groupe  $(\text{C}(\text{O})\text{OR}_e)(\text{NHCOR}_f)\text{alkyle}$  ou  $(\text{C}(\text{O})\text{OR}_e)(\text{NHCOR}_f)\text{alcényle}$ ,  $-\text{OR}_e$ ,  $-\text{NR}_e\text{R}_f$ ,  $-\text{CO}-\text{NR}_e\text{R}_f$  ou  $-\text{NR}_e-\text{COR}_f$  ;  
étant entendu que l'un au moins des groupes  $R_3$  et  $R_4$  représente un groupe aryle ou hétéroaryle, éventuellement substitué,  
20 -  $R_c$  représente un groupe, éventuellement substitué, choisi parmi : alkyle, cycloalkyle, hétérocycloalkyle, aryle, arylalkyle ou hétéroaryle, les groupes alkyle, aryle, arylalkyle et hétéroaryle, éventuellement substitués, étant préférés,  
-  $R_d$  représente un groupe, éventuellement substitué, choisi parmi : alkyle, cycloalkyle, hétérocycloalkyle, aryle, arylalkyle ou hétéroaryle, les groupes aryle et  
25 alkyle éventuellement substitués, étant préférés,  
-  $R_e$  et  $R_f$  représentent, chacun indépendamment, un atome d'hydrogène, un groupe, éventuellement substitué, choisi parmi : alkyle, cycloalkyle, hétérocycloalkyle, aryle, arylalkyle ou hétéroaryle, les groupes alkyle, cycloalkyle, hétérocycloalkyle, aryle, et hétéroaryle, éventuellement substitués, étant préférés,  
30 éventuellement sous forme hydratée ou sous forme d'un sel acceptable pour une administration aux animaux ou végétaux.

De façon avantageuse, les composés de formule (I) possèdent un groupe aryle ou hétéroaryle substitué, sur au moins l'une des positions  $R_1$ ,  $R_3$  ou  $R_4$ , avec un ou plusieurs substituants X identiques ou différents placés en position ortho, méta ou para du cycle, de préférence choisis parmi : -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>, -Cl ou -OR'<sub>d</sub>, avec R'<sub>d</sub> tel que défini ci-dessus pour R<sub>d</sub>.

De façon avantageuse, les composés de formule (I) répondent à l'une des formules (Ia) ou (Ib) ci-dessous :



(Ia)



(Ib)

10 dans lesquelles :

- Y et Z sont définis comme suit : soit  $Y = Z = \text{CH}$ , soit  $Y = \text{N}$  et  $Z = \text{CH}$ , soit  $Y = \text{CH}$  et  $Z = \text{N}$ ,

-  $R_1$ ,  $R_3$ , et X sont tels que définis précédemment pour les composés de formule (I),  $R_1$ , dans le cas des composé de formule (Ib) représentant avantageusement un groupe phényl ou 3- ou 2-pyridyl, éventuellement substitué, notamment par un groupe -CF<sub>3</sub> ou -CN en position ortho, méta ou para.

20 Selon une variante préférée, les compositions selon l'invention contiennent un composé de formule (I), (Ia) ou (Ib), éventuellement sous forme hydratée ou sous forme de sel acceptable pour une administration aux animaux ou végétaux, dans laquelle :

-  $R_3$  représente un groupe choisi parmi : -COH, -CO<sub>2</sub>R<sub>g</sub>, -COR<sub>h</sub>, -CN, -Cl, -CH<sub>2</sub>CH(C(O)OR<sub>g</sub>)(NHCOR<sub>i</sub>), -CH=C(C(O)OR<sub>g</sub>)(NHCOR<sub>i</sub>), -OR<sub>j</sub>, avec

R<sub>g</sub> qui représente un groupe alkyle de préférence un méthyle,

25 R<sub>h</sub> qui représente un groupe alkyle, aryle, arylalkyle ou hétéroaryle substitués, de préférence un aryle substitué par un ou plusieurs groupes méthoxy

R<sub>i</sub> qui représente un groupe aryle, de préférence un phényle,

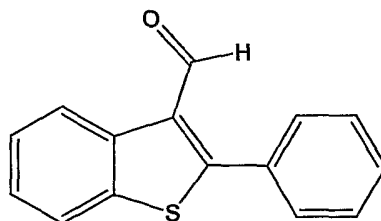
R<sub>j</sub> qui représente un groupe alkyle éventuellement substitué par un groupe trifluorométhyle, de préférence un groupe méthyle ou -CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>,

- Y et Z sont définis comme suit : soit  $Y = Z = \text{CH}$ , soit  $Y = \text{N}$  et  $Z = \text{CH}$ ,
  - X représente un atome d'hydrogène, un atome de chlore ou un groupe choisi  $-\text{CN}$ ,  $-\text{CF}_3$  ou  $-\text{OR}'_j$ , avec  $\text{R}'_j$  tel que défini ci-dessus pour  $\text{R}_j$ ,
- qui constituent des inhibiteurs de pompe efflux NorA avantageux au sens de

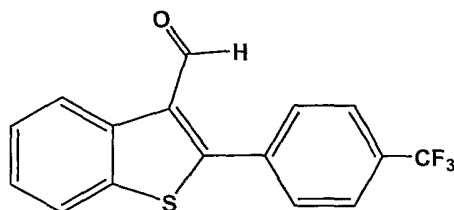
5 l'invention.

Les inhibiteurs préférés selon l'invention sont choisis parmi :

- le 2-phénylbenzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde **1a** de formule :

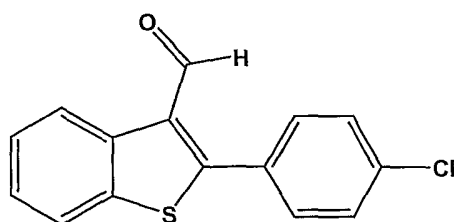


- le 2-(4'-( $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluorotolyl)benzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde **1b** de  
10 formule :



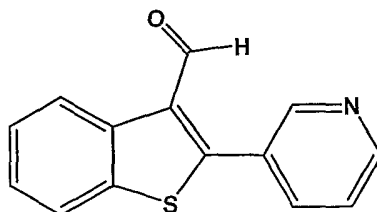
15

- le 2-(4'-chlorophényl)benzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde **1c** de formule :



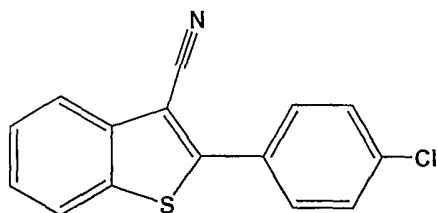
20

- le 2-(pyridin-3-yl)benzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde **1d** de formule :



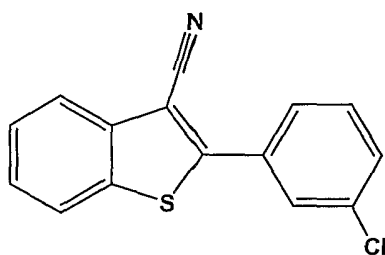
- le 2-(4'-chlorophényl)benzo[b]thiophène-3-carbonitrile **1e** de formule :

5



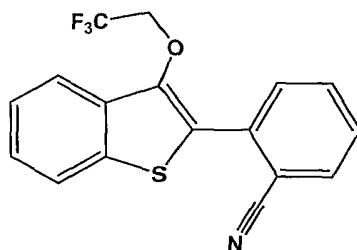
- le 2-(3'-chlorophényl)benzo[b]thiophène-3-carbonitrile **1f** de formule :

10



- le 2-[(2'-benzonitrile)-3-(2,2,2)-trifluoroéthoxy]benzo-[b]thiophène **1g** de formule :

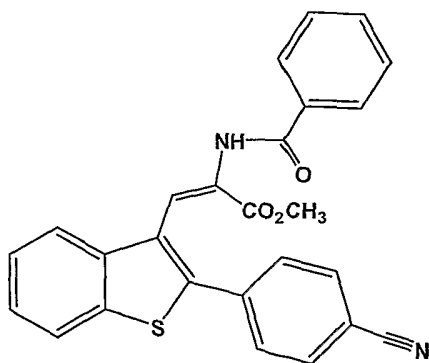
15



20

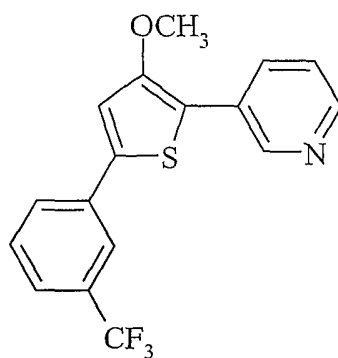
- le [méthyl-(Z)-2-(benzylamino)-3-(2-(4'-benzonitrile)benzo[b]thiophène)-propénoate **1h** de formule :

25

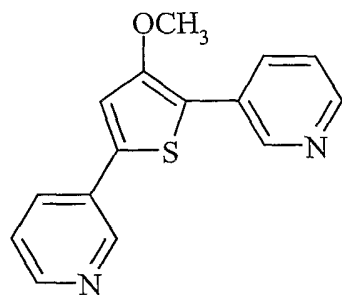


- le 2-(3'-pyridyl)-5-(3'-( $\alpha,\alpha,\alpha$ )-trifluorotolyl)-3-méthoxythiophène **1i** de formule :

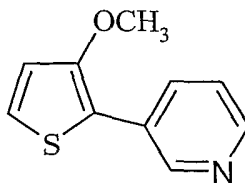
8



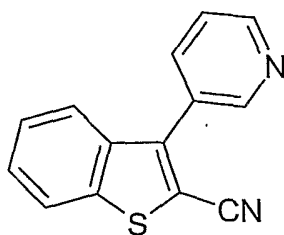
- le 2,5-di (3'-pyridyl)-3-méthoxythiophène **1j** de formule :



- 5 - le 2-(3'-pyridyl)-3-méthoxythiophène **1k** de formule :

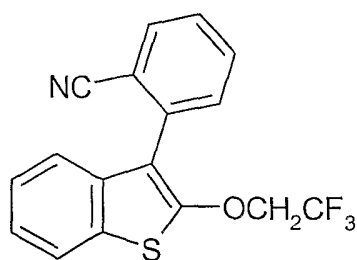


- le 3-(3'-pyridyl)-benzo[b]thiophène-2-carbonitrile **1l** de formule :



10

- le 2-(2,2,2-trifluoroéthoxy)-3-(2'-cyanophény)-benzo[b]thiophène **1m** de formule :



Ces composés **1a** à **1m** ne présentent pas d'effet antibiotique propre, et ne peuvent donc induire un phénomène de résistance vis-à-vis des souches ciblées.

Les compositions selon l'invention présentent, de préférence, une ou plusieurs  
 5 des caractéristiques techniques ci-dessous, lorsqu'elles ne s'excluent pas l'une l'autre :

- l'agent antimicrobien est un antifongique ou antibiotique auquel des bactéries sont résistantes par expulsion par pompe d'efflux, et en particulier la pompe NorA,
- les microbes résistants à l'agent antimicrobien, en l'absence de composé  
 10 potentialisateur selon l'invention, sont pour les bactéries à Gram positif ou négatif, et sont avantageusement choisies parmi : *Staphylococcus* tel que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* tel que *Enterococcus faecalis*, d'autres souches telles que *Pneumonia*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, (des moisissures telles que *Saccharomyces cerevisiae*,  
 15 *Candida albicans* ) et de préférence *Staphylococcus aureus* ou *Bacillus subtilis* .
- les compositions comprennent l'agent antimicrobien dont l'effet est à potentialiser.
- les compositions sont des compositions pharmaceutiques ou phytosanitaires et l'agent antimicrobien est un antifongique, avantageusement choisi parmi : les dérivés triazolés tels que le fluconazole, le terconazole, l'itraconazole ou imidazolés tels que  
 20 le ketoconazole, le butoconazole, l'isoconazole.
- les compositions sont des compositions pharmaceutiques et l'agent antimicrobien est un antibiotique, avantageusement choisi parmi : les tétracyclines, les macrolides, les ansamycines, les  $\beta$ -lactames et de préférence les fluoroquinolone choisies parmi l'Enofloxacin, l'Ofloxacin, la Lévofoxacin, et de préférence la Ciprofloxacine.

25 La présente invention a également pour objet l'utilisation d'un composé de formule (I), (Ia), (Ib), tel que défini ci-dessus, éventuellement sous forme hydratée ou sous forme de sel pharmaceutiquement acceptable, pour la fabrication d'un médicament destiné à potentialiser l'effet d'un agent antimicrobien.

La description ci-après permet de mieux comprendre l'invention. En préliminaire, un certain nombre de définitions est rappelé.

Par alkyle, on entend, lorsqu'il n'est pas donné plus de précision, un radical hydrocarboné saturé, linéaire ou ramifié comportant 1 à 6 atomes de carbone, de préférence de 1 à 4 atomes de carbone. A titre d'exemples de groupe alkyle, on pourra citer les groupes méthyle, éthyle, n-propyle, isopropyle, n-butyle, isobutyle, sec-butyle, t-butyle, n-pentyle, n-hexyle et analogues.

Par halogène, on entend un atome de brome, iode ou fluor, et en particulier de chlore.

10 Le terme alcényle correspond à un groupe alkyle tel que ci-dessus défini comprenant une double liaison. Les exemples de groupe alcényle sont par exemple des groupes vinyle, allyle, isopropényle, 1-,2- ou 3-butényle, pentényle, hexényle.

Le terme cycloalkyle, désigne un groupe cycloalkyle comprenant de 3 à 10 atomes de carbone, par exemple cyclopropyle, cyclobutyle, cyclopentyle, 15 cyclohexyle, des groupes cycloalkyle pontés tels que les groupes adamantyle, bicyclo[3.2.1]optanyle.

Le terme hétérocycloalkyle désigne un cycloalkyle tel que ci-dessus défini, comprenant un ou plusieurs hétéroatomes, sélectionnés parmi les atomes d'azote, oxygène et soufre.

20 Les groupes aryles désignent des carbocycles mono, bi ou poly cycliques comprenant au moins un groupe aromatique et de préférence des monocycles aromatiques à 5 ou 6 chaînons.

Le terme hétéroaryle désigne un groupe aryle tel que ci-dessus défini comprenant au moins un atome choisi parmi un atome d'azote, oxygène ou soufre.

25 En tant qu'aryle ou hétéroaryle, on peut citer les groupes phényle, 1-naphtyle, 2-naphtyle, indanyle, indényle, biphényle, benzocycloalkyle, c'est-à-dire bicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triène, benzodioxolyle, les groupes pyrrolyle, furyle, thiényle, imidazolyle, pyrazolyle, thiazolyle, oxazolyle, isoxazolyle, pyridyle, quinolyle, pirazinyle, pyrimidyle, tétrazolyle, thiadiazolyle, oxadiazolyle, triazolyle, 30 pyridazinyle, les groupes phényles, naphtyles, quinolyles et pyridyles étant particulièrement préférés.

Les groupes donnés dans  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_a$ ,  $R_b$  et  $X$  peuvent éventuellement être substitués, par exemple, par un substituant choisi parmi : les halogènes, nitrooxocarboxy, cyano, alkyle, trifluoroalkyle, notamment  $-CF_3$ , alcényle, alcynyle, cycloalkyle, aryle, hétérocycloalkyle, amino, alkylamino, dialkylamino, hydroxy, alcoxy, aryloxy. Un groupe substitué, quand il n'est pas donné plus de précision, est donc porteur de un ou plusieurs de ces dits substituants.

Les termes utilisés pour la définition des substituants sont ceux usuellement reconnus par l'homme du métier. Par exemple, un substituant du type cycloalkylalkyle signifie que le substituant est constitué d'un groupe alkyle lui-même substitué par un groupe cycloalkyle. De même, un groupe  $(C(O)OR_b)(NHCOR_c)$ alkyle désigne un substituant constitué d'une chaîne alkyle dont le carbone terminal est disubstitué, d'une part par un groupe  $-C(O)OR_b$  et d'autre part par un groupe  $-NHCOR_c$ .

Les sels des composés selon l'invention comprenant notamment un dérivé azoté sont préparés selon des techniques bien connues de l'homme de l'art. Les sels des composés de formule (I) selon la présente invention comprennent ceux avec des acides minéraux ou organiques qui permettent une séparation ou une cristallisation convenable des composés de formule (I), ainsi que des sels pharmaceutiquement acceptables. En tant qu'acide approprié, on peut citer : l'acide picrique, l'acide oxalique ou un acide optiquement actif, par exemple un acide tartrique, un acide dibenzoyltartrique, un acide mandélique ou un acide camphosulfonique, et ceux qui forment des sels physiologiquement acceptables, tels que le chlorhydrate, le bromhydrate, le sulfate, l'hydrogénosulfate, le dihydrogénophosphate, le maléate, le fumarate, le 2-naphtalènesulfonate, le paratoluènesulfonate.

Comme composé sous forme hydratée, on peut citer les semihydrates et monohydrates.

Lorsqu'un composé selon l'invention présente un ou plusieurs carbones asymétriques, les isomères optiques de ce composé font partie intégrante de l'invention. Lorsqu'un composé selon l'invention présente une stéréoisomérisation par exemple de type axial-équatorial ou Z-E, l'invention comprend tous les stéréoisomères de ce composé. La présente invention comprend les composés de formule (I) sous forme d'isomères purs mais également sous forme de mélange

d'isomères en proportion quelconque. Les composés (I) sont isolés sous forme d'isomères purs par les techniques classiques de séparation : on pourra utiliser, par exemple des recristallisations fractionnées d'un sel du racémique avec un acide ou une base optiquement active dont le principe est bien connu ou les techniques classiques de chromatographies sur phase chirale ou non chirale.

Les composés de formule (I) ci-dessus comprennent également ceux dans lesquels un ou plusieurs atomes d'hydrogène, de carbone ou d'halogène, notamment de chlore ou de fluor ont été remplacés par leur isotope radioactif par exemple le tritium ou le carbone-14. De tels composés marqués sont utiles dans des travaux de recherche, de métabolisme ou de pharmacocinétique, dans des essais biochimiques.

Les groupes fonctionnels éventuellement présents dans la molécule des composés de formule (I) et dans les intermédiaires réactionnels peuvent être protégés, soit sous forme permanente soit sous forme temporaire, par des groupes protecteurs qui assurent une synthèse univoque des composés attendus. Les réactions de protection et déprotection sont effectuées selon des techniques bien connues de l'homme de l'art. Par groupe protecteur temporaire des amines, alcools ou des acides carboxyliques on entend les groupes protecteurs tels que ceux décrits dans *Protective Groups in Organic Synthesis*, Greene T.W. et Wuts P.G.M., ed John Wiley et Sons, 1991 et dans *Protecting Groups*, Kocienski P.J., 1994, Georg Thieme Verlag.

Les composés de formule (I) peuvent être préparés selon les méthodes décrites, notamment, dans *J. Chem. Soc. (C)*, **1970**, 2592-2595, *Tetrahedron*, **2004**, 60(14), 3221-3230 et *Tetrahedron Letters*, **2002**, 43, 1829-1833 et l'homme du métier sera à même d'apporter les adaptations nécessaires. Les produits de départ pour la synthèse des composés selon l'invention sont directement disponibles dans le commerce, sont connus dans la littérature ou peuvent être synthétisés par des méthodes classiques connues de l'homme du métier. A titre d'exemples, les 2-arylbenzothiophènes peuvent être préparés par réaction d'*ortho*-halo (ou *ortho*-nitro)  $\alpha$ -arylcétones ou  $\alpha$ -arylaldehydes avec un thiol benzylique comme décrit dans *Tetrahedron Letters*, **2003**, 44, 6665-6667 ou en suivant les méthodes décrites dans les articles suivants : *Synthesis*, **2002**, 2, 213-216 ; *ibid*, **1994**, 521-524 ; *ibid*, **1988**, 155-157 ; *J. Heterocyclic Chem*, **1991**, 28, 173-176. Les 3-arylbenzothiophènes sont facilement préparés par cyclisation acidocatalysée des 2 aryl thioacétophénonnes comme décrit

dans *Tetrahedron Letters*, **1999**, 40, 2909-2912 ou en suivant les modes de préparation décrits dans *Synthesis*, **1988**, 888-891 ou encore dans *J. Chem. Soc. Perkin I*, **1997**, 22, 3345-3350. Plus particulièrement, les 2-aryl-3-arylbzothiophènes peuvent être synthétisés selon la référence *Tetrahedron Letters*, **1999**, 40, 5155-5159, tandis que les composés thiophéniques de type (Ib) sont accessibles suivant plusieurs voies décrites dans les références suivantes : *Helv. Chim. Acta*, **1998**, 81, 1207-1214 ; *Org. Lett.*, **2004**, 6, 2011-2014 ; *Ibid*, 2003, 5, 301-304 ; *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124 (19), 5286-5287.

Les composés de formule (I) décrits précédemment présentent une activité inhibitrice de pompe efflux MDR et, en particulier de pompe NorA, activité mise en évidence selon les tests décrits ci-après. Ils peuvent donc être utilisés pour potentialiser l'effet, c'est-à-dire augmenter l'effet, d'agents antimicrobiens et en particulier d'antibiotiques, ou d'agents anticancéreux devenus non actifs vis-à-vis de souches résistantes *via* un tel mécanisme d'efflux. Par potentialisation, on entend qu'en associant un composé de formule (I) et un agent antimicrobien, on obtient un effet antimicrobien supérieur à celui obtenu avec l'un ou l'autre des composés et même supérieur à la somme des effets obtenus séparément.

Les composés de formule (I) peuvent donc être utilisés pour restaurer l'action d'antifongiques ou d'antibiotiques traditionnels, dans les cas où les pompes MDR sont responsables d'une résistance significative à de tels antibiotiques. En tant qu'exemple de résistance aux antibiotiques cliniquement constatés, on peut citer la résistance aux quinolones de *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pneumoniae*; les résistances de *Pseudomonas aeruginosa* ; la résistance aux azoles des espèces *Candida* (ASMNews, (1997), 63, 605-610). On pourra également se référer au Merck Index, 11th Ed., Budavari ed., 1989, Merck & Co., Inc., Rahway, N. J., pp. THER-9 à THER-11 et THER-13, qui décrit un certain nombre d'agents antibiotiques et antifongiques dont l'effet pourrait être potentialisé grâce aux composés de formule (I).

En particulier, les inventeurs ont démontré vis-à-vis de souches résistantes de *Staphylococcus aureus* 1199B (SA 1199B), que les composés de formule (I) préférés **1a**, **1b**, **1c**, **1d**, **1e**, **1f**, **1g**, **1h**, **1i**, **1j**, **1k**, **1l** et **1m** permettent de restaurer l'activité de la Ciprofloxacin (un antibiotique de la famille des fluoroquinolones) utilisée à une

concentration sub-inhibitrice par rapport à sa concentration minimum inhibitrice (CMI). Ces résultats ont été confirmés pour **1a**, **1b**, **1c**, **1d**, **1e**, **1f**, **1g** par la construction des isobogrammes correspondants. A partir d'une étude concernant la molécule **1a**, les inventeurs ont démontré vis-à-vis des souches résistantes

5 *Staphylococcus aureus* 1199b et *Bacillus subtilis*  $\Delta\Delta$ NA, que l'effet obtenu était comparable à celui de la réserpine, un inhibiteur de référence de NorA. Enfin, l'activité de **1a** sur l'inhibition de NorA a été évaluée par trois méthodes basées sur un suivi par fluorescence de l'accumulation et de l'efflux du bromure d'éthidium par les souches SA 1199B et *Bacillus subtilis*  $\Delta\Delta$ NA (*vide supra*) et finalement en

10 mesurant l'accumulation de Ciprofloxacine à l'intérieur des bactéries en présence et en l'absence de l'inhibiteur **1a**.

Au vu de ces résultats, les composés de formule (I), à activité inhibitrice de la pompe d'efflux NorA peuvent être utilisés dans des compositions pharmaceutiques ou phytosanitaires, destinées à restaurer l'efficacité d'agents antibiotiques ou

15 antifongiques ayant été affectée par un mécanisme d'expulsion par pompe d'efflux NorA. Ces compositions peuvent contenir, en plus de l'inhibiteur, un antibiotique, notamment, de la famille des fluoroquinolones, et un excipient usuel permettant l'ingestion et le transport des principes actifs.

De plus, aucun signe de toxicité n'est observé avec ces composés aux doses

20 pharmacologiquement actives et leur toxicité est donc compatible avec leur utilisation comme médicaments.

De façon générale, les composés selon l'invention pourront être utilisés pour préparer un médicament destiné à améliorer l'action d'agents antimicrobiens dont l'efficacité est affectée par des mécanismes de pompes d'efflux et, en particulier, de

25 pompe NorA. L'administration des composés de formule (I) s'accompagne donc de l'administration de l'agent antimicrobien dont on souhaite améliorer l'activité. Le composé de formule (I) peut être formulé en association avec ledit agent microbien ou faire l'objet d'une formulation séparée. Il pourra également être utilisé pour la réalisation de test diagnostique comme un antibiogramme permettant de mettre en

30 évidence, pour la souche concernée, un mécanisme de résistance par pompe d'efflux.

La présente invention a donc également pour objet les composés de formule (I), ainsi que leurs sels pharmaceutiquement compatibles, ou éventuellement solvats

ou hydrates, en tant que médicaments, des compositions administrable ou plantes et animaux (y compris l'homme), contenant une dose efficace d'un composé selon l'invention ou d'un sel, d'un solvat ou d'un hydrate acceptable de celui-ci, et des excipients convenables.

5 Lesdits excipients sont choisis selon la forme et le mode d'administration souhaité. Dans les compositions pharmaceutiques de la présente invention pour l'administration orale, sublinguale, sous-cutanée, intramusculaire, intra-veineuse, topique, intratrachéale, intranasale, transdermique, rectale ou intraoculaire, les principes actifs de formule (I) ci-dessus, ou leurs sels, solvats et hydrates éventuels,  
10 peuvent être administrés sous formes unitaires d'administration, en mélange avec des supports pharmaceutiques classiques, aux animaux et aux êtres humains pour la prophylaxie ou le traitement des troubles ou des maladies ci-dessus. Les formes unitaires d'administration appropriées comprennent les formes par voie orale telles que les comprimés, les gélules, les poudres, les granules et les solutions ou  
15 suspensions orales, les formes d'administration sublinguale, buccale, intratrachéale, intranasale, les formes d'administration sous-cutanée, intramusculaire ou intraveineuse et les formes d'administration rectale. Pour l'application topique, on peut utiliser les composés selon l'invention dans des crèmes, pommades, lotions ou collyres.

20 Afin d'obtenir l'effet, la dose de principe actif varie, de préférence, entre 1 et 100 mg par kg de poids du corps et par jour. Le composé (I) et l'agent antimicrobien dont l'effet est à potentialiser sont avantageusement administrés dans un rapport de 4 à 1.

Lorsqu'on prépare une composition solide sous forme de comprimés, on  
25 mélange l'ingrédient actif principal avec un véhicule pharmaceutique, tel que la gélatine, l'amidon, le lactose, le stéarate de magnésium, le talc, la gomme arabique ou analogues. On peut enrober les comprimés de saccharose, d'un dérivé cellulosique, ou d'autres matières appropriées ou encore on peut les traiter de telle sorte qu'ils aient une activité prolongée ou retardée et qu'ils libèrent d'une façon  
30 continue une quantité prédéterminée de principe actif.

On obtient une préparation en gélules en mélangeant l'ingrédient actif avec un diluant et en versant le mélange obtenu dans des gélules molles ou dures.

Les compositions pharmaceutiques contenant un composé de l'invention peuvent aussi se présenter sous forme liquide, par exemple, des solutions, des émulsions, des suspensions ou des sirops. Les supports liquides appropriés peuvent être, par exemple, l'eau, les solvants organiques tels que le glycérol ou les glycols, de même que leurs mélanges, dans des proportions variées, dans l'eau.

Une préparation sous forme de sirop ou d'élixir ou pour l'administration sous forme de gouttes peut contenir l'ingrédient actif conjointement avec un édulcorant, acalorique de préférence, du méthylparaben et du propylparaben comme antiseptique, ainsi qu'un agent donnant du goût et un colorant approprié. Les poudres ou les granules dispersibles dans l'eau peuvent contenir l'ingrédient actif en mélange avec des agents de dispersion ou des agents mouillants, ou des agents de mise en suspension, comme la polyvinylpyrrolidone, de même qu'avec des édulcorants ou des correcteurs de goût.

Ainsi, la présente invention a également pour objet des compositions pharmaceutiques contenant plusieurs principes actifs en association dont l'un est un composé (I) et l'autre un agent anti-microbien tel que précédemment défini.

Par ailleurs, d'une façon générale, les mêmes préférences que celles indiquées précédemment pour les inhibiteurs et compositions sont applicables *mutatis mutandis* aux médicaments et utilisations mettant en œuvre ces composés.

La présente invention a également pour objet l'utilisation des inhibiteurs tels que définis ci-dessus dans des méthodes de diagnostics et notamment leur utilisation pour mettre en évidence, *in vitro*, la présence de bactéries résistantes à un antibiotique donné dans un échantillon biologique ou déterminer, *in vitro*, le degré de résistance à un antibiotique de bactéries présentes dans un échantillon biologique.

Les synthèses et descriptions des tests biologiques ci-après, en référence aux figures annexées, illustrent l'invention sans toutefois la limiter.

Les **fig. 1** et **2** représentent respectivement les isobogrammes pour l'association Ciprofloxacine-**1a** sur *Staphylococcus aureus* 1199B et Ciprofloxacine-**1a** sur *Bacillus subtilis*  $\Delta\Delta\text{NA}$ .

La **fig. 3** montre l'effet du composé **1a** sur l'accumulation du bromure d'éthidium (BET) à 10  $\mu\text{g/mL}$  par *Staphylococcus aureus* 1199B.

La **fig. 4** représente l'effet du composé **1a** (20 µg/mL) sur l'efflux du bromure d'éthidium (BET) par *Staphylococcus aureus* 1199.

La **fig. 5** représente l'effet du composé **1a** (20 µg/mL) sur l'efflux du Bromure d'éthidium (BET) par *Bacillus subtilis* ΔΔNA.

5 La **fig. 6** représente l'effet du composé **1a** (20 µg/mL) sur l'accumulation de la Ciprofloxacine par SA-1199B. L'inhibiteur **1a** est ajouté 10 mn après le début de la mesure.

La **fig. 7** représente, de façon comparative, les isobogrammes obtenus pour les composés **1a** à **1g**.

#### 10 Description des tests

**Mise en évidence des inhibiteurs de pompe d'efflux NorA** : le test de criblage utilise un robot Beckman Biomek 2000 et des plaques de microtitration à 96 puits. On mesure la croissance bactérienne dans le milieu de culture BHI, par mesure de l'absorbance à 660 nm. Cette mesure est faite à plusieurs temps entre 0 et 24h  
15 d'incubation à 37°C. Dans chaque puits (200µl), on place la bactérie résistante, l'antibiotique auquel elle est résistante à une concentration sub-inhibitrice (de 1/8 à 1/4 de CMI), le milieu de culture et le composé de formule (I) à tester. Pour le témoin négatif (sans composé), il n'y a pas d'inhibition de croissance, et les bactéries poussent normalement. Si en présence du composé de formule (I) testé, il n'y a pas  
20 de croissance bactérienne, ce composé de formule (I) peut être un inhibiteur de la pompe. Cela est vérifié ultérieurement par la mesure de l'accumulation de l'antibiotique auquel la bactérie est résistante, en absence, et en présence de la composé de formule (I) supposé inhibiteur. L'augmentation de l'accumulation de l'antibiotique par addition du composé de formule (I) testé met en évidence son  
25 activité inhibitrice de la pompe d'efflux.

Les composés de formule (I) sont d'abord testés seuls à 100 µg/mL pour vérifier qu'ils n'ont pas d'activité antibiotique propre. Puis, ils sont testés en combinaison avec la Ciprofloxacine (CIP) sur une souche résistante à cet antibiotique par efflux actif dû à la pompe NorA. Les composés de formule (I) utilisés à une  
30 concentration sub-inhibitrice restaurent l'activité de la CIP et sont donc des inhibiteurs de NorA. Leur activité sur NorA est ensuite évaluée plus précisément. L'activité de **1a** a été précisée par des tests complémentaires sur *Bacillus subtilis*

$\Delta\Delta$ NA, bactérie dont les principales pompes connues ont été inactivées et qui surexprime NorA grâce à l'acquisition d'un plasmide.

**Mesure de l'accumulation de la Ciprofloxacine (CIP) à l'intérieur des bactéries en fonction du temps :** L'étude a été réalisée sur les souches SA-1199B. Un

5 bouillon de culture en milieu LB (Luria broth) est préparé à partir d'une culture de nuit que l'on dilue au centième, puis on incube le bouillon jusqu'à atteindre une DO (densité optique) comprise entre 0,7 et 0,8. La culture est ensuite lavée et concentrée 20 fois en milieu LB ou tampon PBS. Grâce à 2 cycles de centrifugations (20 mn, 12000 rpm, +4°C, centrifugeuse Sorval rotor SLA 3000) et resuspension. La CIP est

10 ajoutée à une concentration finale de 10  $\mu\text{g/mL}$ , après un premier prélèvement à  $t_0$ , 2 autres prélèvements de 500 $\mu\text{L}$  sont effectués par la suite ( $t_5$  et  $t_{10}$ ), puis on sépare la culture en deux. On ajoute dans une des deux parties un inhibiteur de référence soit le carbonyle cyanide-m.chlorophénylhydrazone (CCCP) ou la réserpine à 20 $\mu\text{g/mL}$ . On effectue ensuite 2 nouveaux prélèvements ( $t_{15}$  et  $t_{25}$ ) ; à chaque fois le volume

15 prélevé est déposé sur une couche d'huile silicone de densité 1,03 préalablement glacée (dans un tube Eppendorf). On centrifuge les échantillons pendant 5 mn à 14000 rpm, puis on les place à -20°C. Le culot de bactérie est récupéré, suspendu dans 1 mL de tampon glycine 0,1M pH= 3 et chauffé 10 mn à 90°C. Les échantillons sont ensuite centrifugés 8 mn à 14000 rpm afin d'éliminer le culot composé de

20 fragments de bactéries. On récupère le surnageant dont on mesure la fluorescence avec  $\lambda_{\text{ex}} = 242$  nm et  $\lambda_{\text{em}} = 487$  nm. La mesure de l'accumulation de CIP est finalement déduite en comparant l'intensité de la fluorescence par rapport à une droite d'étalonnage obtenue à partir d'une gamme de concentration de CIP dans le tampon glycine.

## 25 **A) Evaluation de l'inhibiteur 1a**

### ***1. Effet sur les concentrations minimum inhibitrices (CMI)***

L'effet de **1a** sur les CMI de la Ciprofloxacine et du bromure d'éthidium (substrats de NorA) sur *Staphylococcus aureus* 1199B et *Bacillus subtilis*  $\Delta\Delta$ NA a été évalué et comparé à l'effet de la réserpine, inhibiteur de référence de NorA. Dans

30 tous les cas, **1a** diminue significativement la CMI de la Ciprofloxacine et du bromure d'éthidium, deux substrats de NorA (**Tableau 1**). Ce résultat a été confirmé par la construction d'isobogrammes.

Tableau 1 : Comparaison de l'effet de 1a et de la réserpine sur les CMI de la Ciprofloxacine et du bromure d'éthidium (BET) sur *Staphylococcus aureus* 1199, *Staphylococcus aureus* 1199B et *Bacillus subtilis*  $\Delta\Delta\text{NA}$ .

| Antibiotique | CMI ( $\mu\text{g/mL}$ ) |          |                            |  |      |                            |
|--------------|--------------------------|----------|----------------------------|--|------|----------------------------|
|              | SA 1199B                 |          |                            | <i>B. subtilis</i> $\Delta\Delta\text{NA}$ |      |                            |
|              | $\emptyset$              | +RES     | +1a                        | $\emptyset$                                | +RES | +1a                        |
| CIP          | <b>16</b> (8)            | 8        | <b>4</b>                   | 1 (2)                                      | 0,7  | <b>0,25</b>                |
| BET          | <b>32</b> (25)           | 16 (6,3) | <b><math>\leq 8</math></b> | <b>24</b> (40)                             | 10,7 | <b><math>\leq 4</math></b> |

5

$\emptyset$ , antibiotique seul ; + RES, avec réserpine à 20  $\mu\text{g/mL}$  ; + 1a, avec 1a à 20  $\mu\text{g/mL}$  entre parenthèses, valeurs de références, en gras, effet significatif de l'inhibiteur.

Un isobogramme permet de caractériser l'effet antibiotique d'une association de deux composés A et B. Il consiste à déterminer la CMI de B en présence de différentes concentrations de A. Ces couples de concentrations sont reportés sur un graphe. Une courbe convexe indique un effet synergique, une droite un effet additif, et une courbe concave un effet antagoniste.

Ce travail a été mené pour le composé 1a, sur *Staphylococcus aureus* 1199B et *Bacillus subtilis*  $\Delta\Delta\text{NA}$ . La CMI de la Ciprofloxacine a été déterminée en présence de différentes concentrations de 1a (0, 20, 30 et 100  $\mu\text{g/mL}$ ). Pour les deux souches, on observe un effet synergique de l'association Ciprofloxacine-1a comme le montrent les **fig. 1** et **2** qui représentent respectivement les isobogrammes pour l'association Ciprofloxacine-1a sur *Staphylococcus aureus* 1199B et Ciprofloxacine-1a sur *Bacillus subtilis*  $\Delta\Delta\text{NA}$ .

20

L'ensemble de ces tests permet de mettre en évidence un nouvel inhibiteur potentiel de NorA, le composé 1a. L'activité de ce composé sur la pompe d'efflux NorA a alors été évaluée.

25

## 2. Accumulation et efflux du bromure d'éthidium (BET) par *Staphylococcus aureus* 1199B

Trois méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité de **1a** sur l'inhibition de NorA : l'accumulation du bromure d'éthidium par *Staphylococcus aureus* 1199B et l'efflux de bromure d'éthidium par *Staphylococcus aureus* 1199B et par *Bacillus subtilis*  $\Delta\Delta NA$ .

5 Après avoir vérifié que le composé **1a** ne perturbe pas la fluorescence du bromure d'éthidium et que le DMSO ne modifie pas l'accumulation du bromure d'éthidium dans les proportions utilisées (le composé **1a** est dissous dans du DMSO), l'expérience montre que le composé **1a** à 20  $\mu\text{g/mL}$  permet d'accroître l'accumulation du bromure d'éthidium par la bactérie dans des proportions  
10 supérieures à la réserpine à 20  $\mu\text{g/mL}$ . L'activité du composé **1a** est maintenue à 10  $\mu\text{g/mL}$  et la **fig. 3** montre l'effet du composé **1a** sur l'accumulation du bromure d'éthidium (BET) à 10  $\mu\text{g/mL}$  par *Staphylococcus aureus* 1199B. Les inhibiteurs sont ajoutés au temps indiqué (une courbe par inhibiteur); BET= Bromure d'éthidium; CCCP = carbonyl cyanide-m.chlorophénylhydrazone (inhibiteur de la  
15 pompe NorA par suppression de la force proton motrice).

### **3. Efflux du bromure d'éthidium (BET) par *Staphylococcus aureus* 1199B**

L'expérience montre que le composé **1a** à 20  $\mu\text{g/mL}$  a une activité comparable à celle de la réserpine à 20  $\mu\text{g/mL}$  et à celle du CCCP à 20  $\mu\text{g/mL}$ . La **fig. 4** représente l'effet du composé **1a** (20  $\mu\text{g/mL}$ ) sur l'efflux du bromure d'éthidium  
20 (BET) par *Staphylococcus aureus* 1199.

### **4. Efflux du Bromure d'éthidium par *Bacillus subtilis* $\Delta\Delta NA$**

L'expérience montre que le composé **1a** à 20  $\mu\text{g/mL}$  a une activité comparable à celle de la réserpine à 20  $\mu\text{g/mL}$  et à celle du CCCP à 20  $\mu\text{g/mL}$ . La **fig. 5** représente l'effet du composé **1a** (20  $\mu\text{g/mL}$ ) sur l'efflux du Bromure d'éthidium  
25 (BET) par *Bacillus. subtilis*  $\Delta\Delta NA$ .

### **5. Accumulation de la Ciprofloxacine**

La **fig. 6** représente l'effet du composé **1a** (20  $\mu\text{g/mL}$ ) sur l'accumulation de la Ciprofloxacine par SA-1199B. L'inhibiteur **1a** est ajouté 10 mn après le début de la  
30 mesure.

### **B) Evaluation de l'activité des molécules inhibitrices 1b, 1c, 1d, 1e, 1f, 1g, 1i, 1j par rapport à 1a**

Récapitulatif des Concentrations minimum inhibitrices croisées (CMI croisées)  
Composés inhibiteurs/Ciprofloxacine (CIP)

|                  | 1 <sup>er</sup> test |                    | Test à 1/2           |                    | Test à 1/4           |                    |
|------------------|----------------------|--------------------|----------------------|--------------------|----------------------|--------------------|
|                  | [composé]<br>(µg/mL) | CMI CIP<br>(µg/mL) | [composé]<br>(µg/mL) | CMI CIP<br>(µg/mL) | [composé]<br>(µg/mL) | CMI CIP<br>(µg/mL) |
| <b><u>1a</u></b> | 100                  | ≤2                 | 30                   | 4                  | 20                   | 4                  |
| <b><u>1b</u></b> | 77                   | ≤2                 | 38,5                 | 4                  | 19                   | 4                  |
| <b><u>1c</u></b> | 68                   | ≤2                 | 34                   | 4                  | 17                   | 4                  |
| <b><u>1d</u></b> | 60                   | ≤2                 | 30                   | ≤2                 | 15                   | 4                  |
| <b><u>1e</u></b> | 67                   | ≤2                 | 33,5                 | 8                  | 17                   | 8                  |
| <b><u>1f</u></b> | 67                   | ≤2                 | 33,5                 | 8                  | 17                   | 8                  |
| <b><u>1g</u></b> | 83                   | ≤2                 | 41,5                 | 8                  | 21                   | 8                  |
| <b><u>1i</u></b> | 75                   | ≤2                 | 37,5                 | 8                  | 19                   | 8                  |
| <b><u>1j</u></b> | 75                   | ≤2                 | 37,5                 | 16                 | 19                   | 16                 |

La **fig. 7** représente, de façon comparative, les isobogrammes obtenus pour les composés **1a** à **1g**.

- 5 Au vu de ces résultats, les benzothiophènes **1a**, **1b**, **1c**, **1d**, **1e**, **1f**, **1g** et les thiophènes **1i**, **1j** peuvent être considérés comme de bons inhibiteurs des pompes d'efflux NorA.

#### **Synthèses des composés 1a à 1m**

- 10 *2-phénylbenzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde* **1a**: Sa synthèse et ses caractéristiques spectrales ont été décrites précédemment dans Condensed thiophen ring systems. Part IV. Synthesis, reactions and stability of 2-phenyl-3-benzo[b]thienyl-lithium and related compounds; R.P. Dickinson and B. Iddon, *J. Chem. Soc. (C)*, **1970**, 2592-2595.
- 15 *2-(4'-(α,α,α)-trifluorotolyl)benzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde* **1b**; *2-(4'-chlorophényl)benzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde* **1c**; *2-(4'-chlorophényl)benzo[b]thiophène-3-carbonitrile* **1e**; *2-(2'-benzonitrile)-3-(2,2,2) trifluoroéthoxybenzo[b]thiophène* **1g**: leurs synthèses et leur caractéristiques spectrales ont été décrites dans "An efficient phosphine-free palladium coupling for the synthesis of new 2-

arylbenzo[b]thiophenes”, J. Fournier Dit Chabert, L. Joucla, E. David and M.

Lemaire, *Tetrahedron*, **2004**, 60(14), 3221-3230.

2-(pyridin-3-yl)benzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde **1d**: il a été préparé  
suivant la voie A décrite dans *Tetrahedron*, **2004** (*vide supra*). Ses caractéristiques  
5 physiques et spectrales sont les suivantes : solide brun ; RMN <sup>1</sup>H δ (ppm, CDCl<sub>3</sub>,  
300 MHz) : 7,45-7,52 (m, 2H) ; 7,55 (ddd, 1H, J = 1,3 Hz, 7,3 Hz, 8,3 Hz) ; 7,88 (d,  
1H, J = 7,6 Hz) ; 7,92 (ddd, 1H, J = 1,8 Hz, 1,9 Hz, 7,9 Hz) ; 8,76 (dd, 1H, J = 1,8  
Hz, 5 Hz) ; 8,79 (d, 1H, J = 8,3 Hz) ; 8,86 (d, 1H, J = 1,9 Hz) ; 10,04 (s, 1H, CHO)  
10 RMN <sup>13</sup>C δ (ppm, CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) : 122,1 (CH) ; 124,0 (CH) ; 125,7(CH) ; 126,7  
(CH) ; 127,0 (CH), 128,4 (C) ; 131,5 (C) ; 137,3 (C) ; 138,0 (CH) ; 138,6 (C) ; 150,7  
(CH) ; 151,4 (CH) ; 156,2 (C) ; 186,1 (CHO). SM (*m/z*): 239 (70 %, M+) ; 238 (100  
%) ; 210 (50 %) ; 138 (30 %)

2-(3'-chlorophényl)benzo[b]thiophène-3-carbonitrile **1f**: Sa synthèse et ses  
caractéristiques spectrales sont rapportées dans “Synthesis of new 2-  
15 arylbenzo[b]thiophenes using 'Heck-type' technology”, J. Fournier Dit Chabert, C.  
Gozzi and M. Lemaire, *Tetrahedron Letters*, **2002**, 43, 1829-1833.

Méthyl-(Z)-2-benzylamino-3-(2-(4'-benzonitrile)benzo[b]thiophène)-  
propénoate **1h**: Il est obtenu en deux étapes à partir du 2-(4'-benzonitrile)-  
benzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde (*Tetrahedron*, **2004** *vide supra*).

20 a) 4-(2-(4'-benzonitrile)benzo[b]thiophène-3-ylméthylène)-2-phényl-4H-oxazol-  
5-one : Ce composé intermédiaire est obtenu en chauffant dans l'anhydride acétique  
(10 mL) sous agitation (18h à 80°C), 250 mg (0,949 mmol) de 2-(4'-benzonitrile)-  
benzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde, 117 mg (1,426 mmol) d'acétate de sodium et  
851 mg (4,749 mmol) d'acide hippurique. La solution réactionnelle est ensuite  
25 concentrée dans du cyclohexane et 10 mL de méthanol sont ajoutés. Le précipité est  
recueilli sur un fritté et lavé par de faibles quantités de méthanol pour donner 188 mg  
(Rend. : 48%) d'oxazole intermédiaire : solide jaune ; PF : 224°C ; RMN<sup>1</sup>H δ (ppm,  
CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) : 7,43 (s, 1H) ; 7,45-7,75 (m, 4H) ; 7,61 (tt, 1H, J = 1,5 Hz, J = 7,4  
Hz) ; 7,67(d, 2H, J = 8,5 Hz) ; 7,75 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 7,90 (d, 1H, j = 7,1 Hz) ; 7,96  
30 (d, 2H, J = 7,7 Hz) ; 8,45 (d, 1H, J = 7,4 Hz) ppm.

b) Méthyl-(Z)-2-benzylamino-3-(2-(4'-benzonitrile)benzo[b]thiophène)-  
propénoate **1h**: Une solution de méthanol (50 mL) contenant l'oxazole obtenu

précédemment (180 mg, 0,443 mmol) et 0,3 mL de triéthylamine est portée à reflux pendant 2h. Après concentration, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur colonne de silice. Par élution au chlorure de méthylène, on isole 170 mg (Rend. : 87%) de composé **1h** : solide blanc, Analyse centésimale : Calc. (%) pour  $C_{26}H_{18}N_2O_3S$  : C, 71,22 ; H, 4,14 N, 6,39. trouvé : C, 71,15 ; H, 4,17 ; N, 6,06. RMN  $^1H$   $\delta$  (ppm,  $CDCl_3$ , 300 MHz) 3,91 (s, 3H) ; 7,31-7,42 (m, 4H) ; 7,43-7,50 (m, 3H) ; 7,46 (s, 1H) ; 7,59-7,66 (m, 3H) ; 7,72-7,77 (m, 3H) ; 7,82 (dd, 1H,  $J = 1,7$  Hz,  $J = 7,1$  Hz) ppm.

2-(3'-pyridyl),5-(3'-( $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluorotolyl)-3-méthoxythiophène **1i** : Ce composé est obtenu en une seule étape à partir du 3-méthoxythiophène commercialement disponible. Dans un réacti-vial, on introduit successivement l'éther couronne DCH-18-C-6 (480 mg ; 1,35 mmol),  $K_2CO_3$  (578 g ; 4,05 mmol), la 3-bromopyridine (213 mg ; 1,35 mmol) et le 3-méthoxythiophène (154 mg ; 1.35 mmol). Le tout est mis en solution dans le DMF (1,5 mL) et placé sous atmosphère d'argon. On introduit ensuite du diacétate de palladium (28 mg ; 0,125 mmol) et on porte le tout à 100 °C pendant 7 h en contrôlant l'avancement de la réaction par chromatographie en phase gazeuse. On ajoute ensuite le 3-bromo-( $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluorotoluène (304 mg ; 1,35 mmol) et on laisse la réaction sous agitation pendant 13 heures supplémentaires. En fin de réaction, le mélange réactionnel est refroidi puis filtré sur célite en éluant au dichlorométhane (30 mL). La phase organique est lavée trois fois avec 20 mL d'une solution saturée en chlorure de potassium puis séchée au sulfate de magnésium. Après filtration, le solvant est évaporé et le solide résiduel est purifié par chromatographie "flash" (éluant cyclohexane) pour donner 40 mg (Rend. : 7 %) de 2,5-di(3'-( $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluorotoluy)-3-méthoxythiophène sous forme d'une poudre jaune ainsi que 170 mg (Rent.: 37 %) de composé **1i** sous forme d'une huile orange. RMN  $^1H$   $\delta$  (ppm,  $CDCl_3$ , 300MHz) 4,00 (s, 3H); 7,29-7,33 (m, 2H); 7,50-7,61 (m, 2H); 7,80 (d, 1H,  $J = 7,7$  Hz); 7,86 (s, 1H), 8,10 (d, 1H,  $J = 8,1$  Hz); 8,50 (m, 1H); 9,05 (m, 1H) ppm. RMN  $^{13}C$   $\delta$  (ppm,  $CDCl_3$ , 75 MHz): 59,0 ( $CH_3$ ) ; 114,0 (CH) ; 116,8 (C) ; 121,9 (CH, q,  $J$  4 Hz) ; 124,0 ( $CF_3$ , q,  $J$  273 Hz) ; 124,6 (CH, q,  $J$  4 Hz) ; 128,4 (CH) ; 128,4 (C) ; 129,7 (CH) ; 131,5 (C, q,  $J$  32 Hz) ; 133,6 (CH) ; 133,6 (CH) ; 134,7 (C) ; 139,3 (C) ; 147,3 (CH) ; 147,6 (CH) ; 155,4 (C).

*2,5-di(3'-pyridyl)-3-méthoxythiophène 1j*: Dans un monocol, on introduit successivement l'éther couronne DCH-18-C-6 (466 mg ; 1,25 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (518 mg ; 3,75 mmol), la 3-bromopyridine (197 mg ; 1,25 mmol) et le 3-méthoxythiophène (143 mg ; 1,25 mmol). Le tout est mis en solution dans le DMF  
5 (1,25 mL) et placé sous une atmosphère d'argon. On introduit ensuite du diacétate de palladium (14 mg ; 0,0625 mmol) et on porte le tout à 100 °C pendant 2. h en contrôlant l'avancement de la réaction par chromatographie en phase gazeuse. En fin de réaction, le mélange réactionnel est refroidi puis filtré sur célite en éluant au dichlorométhane (30 mL). La phase organique est lavée trois fois avec 20 mL d'une  
10 solution saturée en chlorure de potassium puis séchée au sulfate de magnésium. Après filtration, le solvant est évaporé et le solide résiduel est purifié par chromatographie "flash" (éluant cyclohexane : acétate d'éthyle, 95 : 5) pour donner 73 mg (Rend. : 30 %) de 2-(3'-pyridyl)-3-méthoxythiophène sous forme d'une huile orange ainsi que 53 mg (Rend.: 16 %) de composé **1j** sous forme d'une poudre  
15 orange. RMN <sup>1</sup>H δ (ppm, CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 4,00 (s, 3H); 7,15 (s, 1H); 7,27 (m, 2H); 7,80 (d, 1H, J = 7,9Hz); 8,00 (d, 1H, J = 7,9Hz), 8,40 (s, 1H); 8,48 (s, 1H); 8,83 (s, 1H) ; 8,84 (s,1H).

#### **Synthèses des composés 1k, 1l, 1m :**

A une suspension de carbonate de potassium (3,75 mmol) dans le *N,N*-  
20 diméthylformamide (1mL), on ajoute PPh<sub>3</sub> (0,125 mmol), le benzo[*b*]thiophène ou le thiophène (1,25 mmol), puis le bromure d'aryle correspondant (0,75 mmol) et l'on agite le tout à 140°C sous argon pendant 5 minutes. On ajoute ensuite du diacétate de palladium (0,0625 mmol) et le mélange réactionnel est agité pendant le temps  
indiqué. Selon l'avancement de la réaction (contrôlé par CPV), de petites portions  
25 d'halogénure d'aryle (0,375mmol) sont ajoutées. Le mélange réactionnel est ensuite refroidi, filtré sur Celite<sup>®</sup>, puis rincé au dichlorométhane (10 mL) avant d'être successivement lavé à la saumure (10 mL), puis par une solution de thiosulfate de sodium saturé (10 mL) et de l'eau (10 mL). La phase organique est ensuite séchée  
sur MgSO<sub>4</sub>, filtrée et concentrée en un résidu brun. Ce produit brut est purifié par  
30 chromatographie flash (silice, cyclohexane/acétate d'éthyle 95/5 v/v) pour conduire au composé pur désiré.

#### **1k : 2-(3'-pyridyl)-3-méthoxythiophène.**

Ce produit a été préparé à partir du 3-méthoxythiophène en 1,5 heures avec 68% de rendement selon la méthode générale décrite ci dessus. Huile incolore; anal. trouvées : C 63,03, H 4,97, N 7,45%, calcul pour C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>NOS: C 62,80, H 4,74, N 7,32%;  $\delta_H$  (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 3,94 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 6,95 (d, 1H, *J* 5,6 Hz), 7,23 (d, 1H, *J* 5,6 Hz), 7,28 (dd, 1H, *J* 4,0; 8,0 Hz), 8,00 (ddd, 1H, *J* 0,6; 2,3; 8,0 Hz), 8,43 (d, 1H, *J* 4,0 Hz), 8,97 (s, 1H);  $\delta_C$  (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 58,4 (OCH<sub>3</sub>), 115,6 (C), 117,0 (CH), 123,1 (CH), 123,3 (CH), 129,6 (C), 133,3 (CH), 146,7 (CH), 147,2 (CH), 154,8 (C) ppm; *m/z* 191 (M<sup>+</sup>, 100), 176 (40), 148 (40).

10        **1l : 3-(3'-pyridyl)-benzo[b]thiophène-2-carbonitrile.**

Ce produit a été préparé à partir du 2-cyanobenzo[b]thiophène en 22 heures avec 17% de rendement selon la méthode générale décrite ci dessus. Poudre amorphe blanche; pf. 132-133°C; anal. trouvées : C 70,41, H 3,42, N 11,50%, calcul pour C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>S: C 71,16, H 3,41, N 11,86%;  $\delta_H$  (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7,51 (ddd, 1H, *J* 1,0; 7,5; 8,1 Hz), 7,55 (ddd, 1H, *J* 1,2; 3,8; 7,9 Hz), 7,61 (ddd, 1H, *J* 1,1; 7,5; 8,1 Hz), 7,81 (d, 1H, *J* 8,1 Hz), 7,93 (d, 1H, *J* 8,1 Hz), 7,98 (ddd, 1H, *J* 1,2; 1,3; 7,9 Hz), 8,78 (d, 1H, *J* 3,8 Hz), 8,88 (s, 1H) ;  $\delta_C$  (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 107,8 (C), 114,6 (C), 123,3 (CH), 124,4 (CH), 124,9 (CH), 126,6 (CH), 128,8 (CH), 129,0 (C), 136,7 (C), 137,3 (CH), 141,5 (C), 144,9 (C), 150,1 (CH), 150,8 (CH) ppm; *m/z* 236 (M<sup>+</sup>, 100).

20

**1m : 2-(2,2,2-trifluoroéthoxy)-3-(2'-cyanophényl)-benzo[b]thiophène.**

Ce produit a été préparé à partir du 2-trifluoroéthoxybenzo[b]thiophène en 3 heures avec 69% de rendement selon la méthode générale décrite ci dessus. Solide rose pâle; pf. 130-131°C;  $\delta_H$  (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 4,48 (dq, 1H, *J* 7,9; 11,9 Hz), 4,69 (dq, 1H, *J* 8,1; 11,9 Hz), 7,33-7,43 (m, 3H), 7,48-7,59 (m, 2H), 7,68-7,78 (m, 2H), 7,83 (d, 1H, *J* 7,7 Hz);  $\delta_C$  (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 71,0 (q, CH<sub>2</sub>, *J* 36 Hz), 113,9 (C), 116,4 (C), 118,5 (C), 121,8 (CH), 122,7 (CH), 124,6 (CH), 125,5 (CH), 125,9 (q, CF<sub>3</sub>, *J* 264 Hz), 128,4 (CH), 131,3 (CH), 131,7 (C), 132,9 (CH), 133,6 (CH), 136,5 (C), 136,9 (C), 158,6 (C) ppm; *m/z* 333 (M<sup>+</sup>, 40), 250 (30), 222 (100).

30

**Exemples de compositions pharmaceutiques :**

Les composés de formule (I), en tant qu'adjuvants aux antibiotiques, sont administrés en quantité efficace, de préférence à des doses journalières allant de 1 à 50 mg/Kg préférentiellement 20mg/Kg.

A titre d'exemple, les médicaments peuvent se présenter sous différentes  
5 formes

a) Poudre : Ciprofloxacin : 250 à 500mg

Composé 1d ou 1i : 600mg à 1400mg

Aspartam

Crospovidone

10 Arôme orange

La poudre est conditionnée dans des sachets individuels. Le médicament est dilué dans un verre d'eau avant absorption.

b) Collyre : Ciprofloxacin : 350 mg pour 100ml

15 Composé 1d ou 1i : 200mg à 500mg pour 100ml

Acide édétique sel de sodium

Mannitol

Acétate de sodium

Eau purifiée

20 Benzalkonium chlorure

c) Solution pour perfusion en poche de 200ml (usage hospitalier)

Ciprofloxacin : 400 mg pour 200ml

Composé 1a : 600mg à 1400mg pour 200 ml

25 Glucose monohydrate

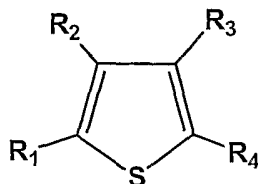
Acide lactique

Eau purifiée

**REVENDICATIONS :**

1 - Compositions pour potentialiser l'effet d'un agent antimicrobien contenant, en tant qu'agent potentialisateur, un inhibiteur de pompe efflux NorA de formule (I) :

5



**Formule (I)**

10 dans laquelle :

- R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub> peuvent être liés entre eux pour former une chaîne polyvinylique éventuellement substituée : -CH=CR<sub>a</sub>-CR<sub>b</sub>=CH-, de façon à former un benzothiophène avec le groupe thiophène auquel ils sont liés ; avec R<sub>a</sub> et R<sub>b</sub> identiques ou différents et représentant un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un

15 groupe choisi parmi les suivants : amine secondaire (-NHR<sub>c</sub>) ou tertiaire (-NR<sub>c</sub>R<sub>d</sub>), amide primaire (-CO-NH<sub>2</sub>), secondaire (-CO-NHR<sub>c</sub>) ou tertiaire (-CO-NR<sub>c</sub>R<sub>d</sub>), imine (-C=NR<sub>c</sub>R<sub>d</sub>), éther (-OR<sub>c</sub>), thioéther (-SR<sub>c</sub>), carbonyle (-C(O)R<sub>c</sub>), -OH, -CO<sub>2</sub>H, ester (-CO<sub>2</sub>R<sub>c</sub>), -CN, -SO<sub>3</sub>H ou -NO<sub>2</sub>,

ou bien R<sub>1</sub> représente un hydrogène, un groupe aryle ou hétéroaryle éventuellement

20 substitué et R<sub>2</sub> un atome d'hydrogène,

- R<sub>3</sub> et R<sub>4</sub> représentent chacun indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou d'halogène, ou un groupe choisi parmi : aryle éventuellement substitué ou hétéroaryle éventuellement substitué, -C(O)R<sub>e</sub>, -CN, -NO<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>e</sub>, un groupe

25 NR<sub>e</sub>R<sub>f</sub> ou -NR<sub>e</sub>-COR<sub>f</sub> ;

étant entendu que l'un au moins des groupes R<sub>3</sub> et R<sub>4</sub> représente un groupe aryle ou hétéroaryle, éventuellement substitué,

- R<sub>c</sub> représente un groupe, éventuellement substitué, choisi parmi : alkyle, cycloalkyle, hétérocycloalkyle, aryle, arylalkyle ou hétéroaryle, les groupes alkyle,

30 aryle, arylalkyle et hétéroaryle, éventuellement substitués, étant préférés,

-  $R_d$  représente un groupe éventuellement substitué, choisi parmi : alkyle, cycloalkyle, hétérocycloalkyle, aryle, arylalkyle ou hétéroaryle, les groupes aryle et alkyle éventuellement substitués, étant préférés,

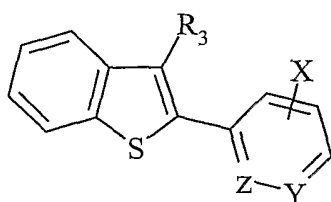
-  $R_e$  et  $R_f$ , représentent, chacun indépendamment, un atome d'hydrogène, un groupe, éventuellement substitué, choisi parmi : alkyle, cycloalkyle, hétérocycloalkyle, aryle, arylalkyle ou hétéroaryle, les groupes alkyle, cycloalkyle, hétérocycloalkyle, aryle, et hétéroaryle, éventuellement substitués, étant préférés,

éventuellement sous forme hydratée ou sous forme d'un sel acceptable pour une administration aux animaux ou végétaux.

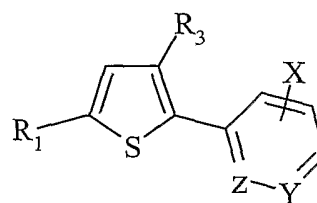
10 2 - Compositions selon la revendication précédente caractérisées en ce que l'agent potentialisation est de formule (I) avec un groupe aryle ou hétéroaryle substitué sur au moins l'une des positions  $R_1$ ,  $R_3$  ou  $R_4$  avec un ou plusieurs substituants X identiques ou différents, de préférence choisis parmi : -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>, -Cl ou -OR'<sub>d</sub>, avec R'<sub>d</sub> tel que défini pour R<sub>d</sub> à la revendication 1, et placés en position  
15 ortho, méta ou para du cycle,

éventuellement sous forme hydratée ou sous forme d'un sel acceptable pour une administration aux animaux ou végétaux.

3 - Compositions selon la revendication 1 ou 2 caractérisées en ce que l'agent potentialisation est de formule (Ia) ou (Ib) ci-dessous :



(Ia)



(Ib)

20

éventuellement sous forme hydratée ou sous forme de sel acceptable pour une administration aux animaux ou végétaux, dans lesquelles :

- Y et Z sont définis comme suit : soit Y = Z = CH, soit Y = N et Z = CH, soit Y = CH et Z = N,

25

-  $R_1$ ,  $R_3$ , et X sont tels que définis précédemment pour les composés de formule (I),  $R_1$ , dans le cas des composé de formule (Ib) représentant avantageusement un groupe phényl ou 3- ou 2-pyridyl, éventuellement substitué, notamment par un groupe -CF<sub>3</sub> ou -CN en position ortho, méta ou para.

4 - Compositions selon l'une des revendications précédentes caractérisées en ce que :

-R<sub>3</sub> représente un groupe choisi parmi : -COH, -CO<sub>2</sub>R<sub>g</sub>, -COR<sub>h</sub>, -CN, -Cl, -CH<sub>2</sub>CH(C(O)OR<sub>g</sub>)(NHCOR<sub>i</sub>), -CH=C(C(O)OR<sub>g</sub>)(NHCOR<sub>i</sub>), -OR<sub>j</sub>, avec

5 R<sub>g</sub> qui représente un groupe alkyle de préférence un méthyle,

R<sub>h</sub> qui représente un groupe alkyle, aryle, arylalkyle ou hétéroaryle substitués, de préférence un aryle substitué par un ou plusieurs groupes méthoxy

R<sub>i</sub> qui représente un groupe aryle, de préférence un phényle,

R<sub>j</sub> qui représente un groupe alkyle éventuellement substitué par un groupe trifluorométhyle, de préférence un groupe méthyle ou -CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>,

- Y et Z sont définis comme suit : soit Y = Z = CH, soit Y = N et Z = CH,

- X représente un atome d'hydrogène, un atome de chlore ou un groupe choisi -CN, -CF<sub>3</sub> ou -OR'<sub>j</sub>, avec R'<sub>j</sub>, tel que défini ci-dessus pour R<sub>j</sub>.

5 - Compositions selon l'une des revendications précédentes caractérisées en ce que l'agent potentialisateur est choisi parmi les composés suivants :

- le 2-phénylbenzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde **1a**,

- le 2-(4'-( $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluorotolyl)benzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde **1b**,

- le 2-(4'-chlorophényl)benzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde **1c**,

- le 2-(pyridin-3-yl)benzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde **1d**,

20 - le 2-(4'-chlorophényl)benzo[b]thiophène-3-carbonitrile **1e**,

- le 2-(3'-chlorophényl)benzo[b]thiophène-3-carbonitrile **1f**,

- le 2-(2'-benzonitrile)-3-(2,2,2)-trifluoroéthoxy)benzo-[b]thiophène **1g**,

- le méthyl-(Z)-2-benzylamino-3-(2-(4'-benzonitrile)benzo[b]thiophène)-propénoate **1h**,

25 - le 2-(3'-pyridyl),5-(3'-( $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluorotolyl)-3-méthoxythiophène **1i**,

- le 2,5-di(3'-pyridyl)-3-méthoxythiophène **1j**,

- le 2-(3'-pyridyl)-3-méthoxythiophène **1k**,

- le 3-(3'-pyridyl)-benzo[b]thiophène-2-carbonitrile **1l**,

- le 2-(2,2,2-trifluoroéthoxy)-3-(2'-cyanophényl)-benzo[b]thiophène **1m**,

30 éventuellement sous forme hydratée ou de sel acceptable pour une administration aux animaux ou végétaux.

6 - Compositions selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisées en ce que l'agent antimicrobien est un antifongique ou antibiotique auquel des bactéries sont résistantes par expulsion par pompe efflux, et en particulier pompe NorA.

7 - Compositions selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que les  
5 bactéries sont a Gram positif ou négatif, et sont avantageusement choisies parmi : *Staphylococcus* tel que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* tel que *Enterococcus faecalis*, d'autres souches telles que *Pneumonia*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* et des moisissures telles que *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*.

10 8 - Compositions selon la revendication 7 caractérisé en ce que les bactéries sont *Staphylococcus aureus* ou *Bacillus subtilis*.

9 - Compositions selon l'une des revendications 1 à 8 comprenant l'agent antimicrobien dont l'effet est à potentialiser.

15 10 - Compositions selon l'une des revendications 1 à 9 se présentant sous la forme d'une composition pharmaceutique ou phytosanitaire caractérisées en ce que l'agent antimicrobien est un antifongique.

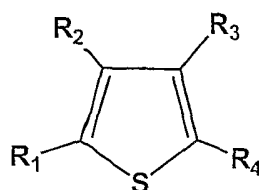
11 - Compositions pharmaceutiques ou phytosanitaires selon la revendication 10 caractérisées en ce que l'agent antifongique est choisi parmi : les dérivés triazolés tels que le fluconazole, le terconazole, l'itraconazole ou imidazolés tels que le  
20 ketoconazole, le butoconazole, l'isoconazole.

12 - Compositions selon l'une des revendications 1 à 11 se présentant sous la forme d'une composition pharmaceutique caractérisées en ce que l'agent antimicrobien est un antibiotique.

13 - Compositions pharmaceutiques selon la revendication 12 caractérisées en ce  
25 que l'agent antibiotique est choisi parmi : les tétracyclines, les macrolides, les ansamycines, les  $\beta$ -lactames et de préférence les fluoroquinolone choisies parmi l'Enofloxacin, l'Ofloxacin, la Lévofoxacin et de préférence la Ciprofloxacine.

14 - Compositions pharmaceutiques selon la revendication 13 caractérisées en ce que l'agent antibiotique est la Ciprofloxacine.

30 15 - Utilisation, pour la fabrication d'un médicament destiné à potentialiser l'effet d'un agent antimicrobien, d'un composé de formule (I) :



Formule (I)

5

dans laquelle :

- R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub> peuvent être liés entre eux pour former une chaîne polyvinylique éventuellement substituée : -CH=CR<sub>a</sub>-CR<sub>b</sub>=CH-, de façon à former un benzothiophène avec le groupe thiophène auquel ils sont liés ; avec R<sub>a</sub> et R<sub>b</sub> identiques ou différents et représentant un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un
 

10 groupe choisi parmi les suivants : amine secondaire (-NHR<sub>c</sub>) ou tertiaire (-NR<sub>c</sub>R<sub>d</sub>), amide primaire (-CO-NH<sub>2</sub>), secondaire (-CO-NHR<sub>c</sub>) ou tertiaire (-CO-NR<sub>c</sub>R<sub>d</sub>), imine (-C=NR<sub>c</sub>R<sub>d</sub>), éther (-OR<sub>c</sub>), thioéther (-SR<sub>c</sub>), carbonyle (-C(O)R<sub>c</sub>), -OH, -CO<sub>2</sub>H, ester (-CO<sub>2</sub>R<sub>c</sub>), -CN, -SO<sub>3</sub>H ou -NO<sub>2</sub>,
- ou bien R<sub>1</sub> représente un hydrogène, un groupe aryle ou hétéroaryle éventuellement substitué et R<sub>2</sub> un atome d'hydrogène,
  - R<sub>3</sub> et R<sub>4</sub> représentent chacun indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou d'halogène, ou un groupe choisi parmi : aryle éventuellement substitué ou hétéroaryle éventuellement substitué, -C(O)R<sub>e</sub>, -CN, -NO<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>e</sub>, un groupe
 

20 (C(O)OR<sub>e</sub>)(NHCOR<sub>f</sub>)alkyle ou (C(O)OR<sub>e</sub>)(NHCOR<sub>f</sub>)alcényle, -OR<sub>e</sub>, -NR<sub>e</sub>R<sub>f</sub>, -CO-NR<sub>e</sub>R<sub>f</sub> ou -NR<sub>e</sub>-COR<sub>f</sub> ;

 étant entendu que l'un au moins des groupes R<sub>3</sub> et R<sub>4</sub> représente un groupe aryle ou hétéroaryle, éventuellement substitué,
    - R<sub>c</sub> représente un groupe, éventuellement substitué, choisi parmi : alkyle,
 

25 cycloalkyle, hétérocycloalkyle, aryle, arylalkyle ou hétéroaryle, les groupes alkyle, aryle, arylalkyle et hétéroaryle, éventuellement substitués, étant préférés,
    - R<sub>d</sub> représente un groupe éventuellement substitué, choisi parmi : alkyle, cycloalkyle, hétérocycloalkyle, aryle, arylalkyle ou hétéroaryle, les groupes aryle et alkyle éventuellement substitués, étant préférés,
- R<sub>e</sub> et R<sub>f</sub>, représentent, chacun indépendamment, un atome d'hydrogène, un groupe,
 

30 éventuellement substitué, choisi parmi : alkyle, cycloalkyle, hétérocycloalkyle, aryle,

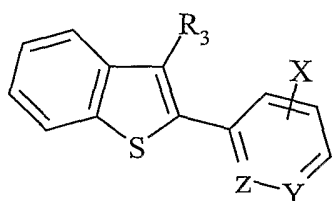
arylalkyle ou hétéroaryle, les groupes alkyle, cycloalkyle, hétérocycloalkyle, aryle, et hétéroaryle, éventuellement substitués, étant préférés,

éventuellement sous forme hydratée ou sous forme d'un sel pharmaceutiquement acceptable.

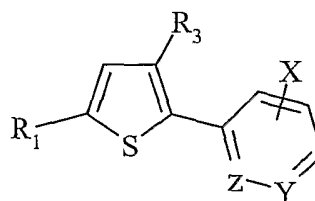
- 5           **16** - Utilisation selon la revendication 15, caractérisée en ce que l'agent potentialisation est de formule (I) avec un groupe aryle ou hétéroaryle substitué sur au moins l'une des positions  $R_1$ ,  $R_3$  ou  $R_4$  avec un ou plusieurs substituants X identiques ou différents, de préférence choisis parmi : -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>, -Cl ou -OR'<sub>d</sub>, avec R'<sub>d</sub> tel que défini pour R<sub>d</sub> à la revendication 15, et placés en position
- 10 ortho, méta ou para du cycle,

éventuellement sous forme hydratée ou sous forme d'un sel pharmaceutiquement acceptable.

**17** - Utilisation selon la revendication 15 ou 16, caractérisée en ce que l'agent potentialisation est de formule (Ia) ou (Ib) ci-dessous :



(Ia)



(Ib)

15

éventuellement sous forme hydratée ou sous forme d'un sel pharmaceutiquement acceptable, dans lesquelles :

- Y et Z sont définis comme suit : soit  $Y = Z = CH$ , soit  $Y = N$  et  $Z = CH$ , soit  $Y = CH$  et  $Z = N$ ,
- 20 -  $R_1$ ,  $R_3$ , et X sont tels que définis précédemment pour les composés de formule (I),  $R_1$ , dans le cas des composé de formule (Ib) représentant avantageusement un groupe phényl ou 3- ou 2-pyridyl, éventuellement substitué, notamment par un groupe -CF<sub>3</sub> ou -CN en position ortho, méta ou para.

- 25           **18** - Utilisation selon l'une des revendications 15 à 17, caractérisée en ce que
- $R_3$  représente un groupe choisi parmi : -COH, -CO<sub>2</sub>R<sub>g</sub>, -COR<sub>h</sub>, -CN, -Cl, -CH<sub>2</sub>CH(C(O)OR<sub>g</sub>)(NHCOR<sub>i</sub>), -CH=C(C(O)OR<sub>g</sub>)(NHCOR<sub>i</sub>), -OR<sub>j</sub>, avec R<sub>g</sub> qui représente un groupe alkyle de préférence un méthyle,

R<sub>h</sub> qui représente un groupe alkyle, aryle, arylalkyle ou hétéroaryle substitués, de préférence un aryle substitué par un ou plusieurs groupes méthoxy

R<sub>i</sub> qui représente un groupe aryle, de préférence un phényle,

R<sub>j</sub> qui représente un groupe alkyle éventuellement substitué par un groupe trifluorométhyle, de préférence un groupe méthyle ou -CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>,

- Y et Z sont définis comme suit : soit Y = Z = CH, soit Y = N et Z = CH,

- X représente un atome d'hydrogène, un atome de chlore ou un groupe choisi -CN,

-CF<sub>3</sub> ou -OR'<sub>j</sub>, avec R'<sub>j</sub> tel que défini ci-dessus pour R<sub>j</sub>.

**19** – Utilisation selon l'une des revendications 15 à 18 caractérisée en ce que

- 10 - le 2-phénylbenzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde **1a**,
- le 2-(4'-( $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluorotolyl)benzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde **1b**,
- le 2-(4'-chlorophényl)benzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde **1c**,
- le 2-(pyridin-3-yl)benzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde **1d**,
- le 2-(4'-chlorophényl)benzo[b]thiophène-3-carbonitrile **1e**,
- 15 - le 2-(3'-chlorophényl)benzo[b]thiophène-3-carbonitrile **1f**,
- le 2-(2'-benzonitrile)-3-(2,2,2)-trifluoroéthoxy)benzo-[b]thiophène **1g**,
- le méthyl-(Z)-2-benzylamino-3-(2-(4'-benzonitrile)benzo[b]thiophène)-propénoate **1h**,
- le 2-(3'-pyridyl),5-(3'-( $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluorotolyl)-3-méthoxythiophène **1i**,
- 20 - le 2,5-di(3'-pyridyl)-3-méthoxythiophène **1j**,
- le 2-(3'-pyridyl)-3-méthoxythiophène **1k**,
- le 3-(3'-pyridyl)-benzo[b]thiophène-2-carbonitrile **1l**,
- le 2-(2,2,2-trifluoroéthoxy)-3-(2'-cyanophény)-benzo[b]thiophène **1m**,
- 25 éventuellement sous forme hydratée ou d'un sel pharmaceutiquement acceptable.

**20** - Utilisation selon l'une des revendications 15 à 19 caractérisée en ce que l'agent antimicrobien est un antifongique ou antibiotique auquel des bactéries sont résistantes par expulsion par pompe efflux, et en particulier pompe NorA.

**21** – Utilisation selon l'une des revendications 15 à 20, caractérisée en ce que  
30 les bactéries sont a Gram positif ou négatif, et sont avantageusement choisies parmi : *Staphylococcus* tel que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* tel que *Enterococcus faecalis*, d'autres souches telles que *Pneumonia*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*,

*Pseudomonas aeruginosa, Haemophilus influenzae et des moisissures telles que Saccharomyces cerevisiae, Candida albicans.*

22 - Utilisation selon la revendication 21, caractérisée en ce que les bactéries sont *Staphylococcus aureus* ou *Bacillus subtilis*.

5 23 - Utilisation selon l'une des revendications 15 à 22 caractérisée en ce que le médicament comprend l'agent antimicrobien dont l'effet est à potentialiser.

24 - Utilisation selon l'une des revendications 15 à 23 caractérisée en ce que l'agent antimicrobien est un antifongique.

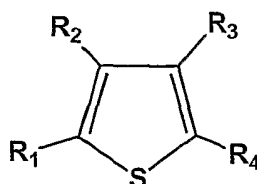
10 25 - Utilisation selon la revendication 24 caractérisée en ce que l'agent antifongique est choisi parmi : les dérivés azolés tels que le fluconazole, le terconazole, l'itraconazole ou imidazolés tels que le ketoconazole, le butoconazole, l'isoconazole.

26 - Utilisation selon l'une des revendications 15 à 23 caractérisée en ce que l'agent antimicrobien est un antibiotique.

15 27 - Utilisation selon la revendication 26 caractérisée en ce que l'agent antibiotique est choisi parmi : les tétracyclines, les macrolides, les ansamycines, les  $\beta$ -lactames et de préférence les fluoroquinolones choisies parmi l'Enofloxacine, l'Ofloxacine, la Lévofloxacine et de préférence la Ciprofloxacine.

28 - Utilisation d'un inhibiteur, de formule (I)

20



Formule (I)

25 dans laquelle :

- R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub> peuvent être liés entre eux pour former une chaîne polyvinylique éventuellement substituée : -CH=CR<sub>a</sub>-CR<sub>b</sub>=CH-, de façon à former un benzothiophène avec le groupe thiophène auquel ils sont liés ; avec R<sub>a</sub> et R<sub>b</sub> identiques ou différents et représentant un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un  
30 groupe choisi parmi les suivants : amine secondaire (-NHR<sub>c</sub>) ou tertiaire (-NR<sub>c</sub>R<sub>d</sub>), amide primaire (-CO-NH<sub>2</sub>), secondaire (-CO-NHR<sub>c</sub>) ou tertiaire (-CO-NR<sub>c</sub>R<sub>d</sub>), imine

(-C=NR<sub>c</sub>R<sub>d</sub>), éther (-OR<sub>c</sub>), thioéther (-SR<sub>c</sub>), carbonyle (-C(O)R<sub>c</sub>), -OH, -CO<sub>2</sub>H, ester (-CO<sub>2</sub>R<sub>c</sub>), -CN, -SO<sub>3</sub>H ou -NO<sub>2</sub>,

ou bien R<sub>1</sub> représente un hydrogène, un groupe aryle ou hétéroaryle éventuellement substitué et R<sub>2</sub> un atome d'hydrogène,

- 5 - R<sub>3</sub> et R<sub>4</sub> représentent chacun indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou d'halogène, ou un groupe choisi parmi : aryle éventuellement substitué ou hétéroaryle éventuellement substitué, -C(O)R<sub>e</sub>, -CN, -NO<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>e</sub>, un groupe (C(O)OR<sub>e</sub>)(NHCOR<sub>f</sub>)alkyle ou (C(O)OR<sub>e</sub>)(NHCOR<sub>f</sub>)alcényle, -OR<sub>e</sub>, -NR<sub>e</sub>R<sub>f</sub>, -CO-NR<sub>e</sub>R<sub>f</sub> ou -NR<sub>e</sub>-COR<sub>f</sub> ;
- 10 étant entendu que l'un au moins des groupes R<sub>3</sub> et R<sub>4</sub> représente un groupe aryle ou hétéroaryle, éventuellement substitué,
- R<sub>c</sub> représente un groupe, éventuellement substitué, choisi parmi : alkyle, cycloalkyle, hétérocycloalkyle, aryle, arylalkyle ou hétéroaryle, les groupes alkyle, aryle, arylalkyle et hétéroaryle, éventuellement substitués, étant préférés,
- 15 - R<sub>d</sub> représente un groupe éventuellement substitué, choisi parmi : alkyle, cycloalkyle, hétérocycloalkyle, aryle, arylalkyle ou hétéroaryle, les groupes aryle et alkyle éventuellement substitués, étant préférés,
- R<sub>e</sub> et R<sub>f</sub>, représentent, chacun indépendamment, un atome d'hydrogène, un groupe, éventuellement substitué, choisi parmi : alkyle, cycloalkyle, hétérocycloalkyle, aryle, arylalkyle ou hétéroaryle, les groupes alkyle, cycloalkyle, hétérocycloalkyle, aryle, et
- 20 hétéroaryle, éventuellement substitués, étant préférés,

éventuellement sous forme hydratée ou sous forme d'un sel acceptable pour une administration aux animaux ou végétaux, pour mettre en évidence, *in vitro*, la présence de bactéries résistantes à un antibiotique donné dans un échantillon

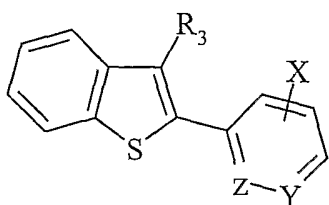
25 biologique, ou pour mettre en évidence, *in vitro*, le degré de résistance à un antibiotique de bactéries présentes dans un échantillon biologique.

29 - Utilisation selon la revendication 28, caractérisée en ce que l'agent potentialisation est de formule (I) avec un groupe aryle ou hétéroaryle substitué sur au moins l'une des positions R<sub>1</sub>, R<sub>3</sub> ou R<sub>4</sub> avec un ou plusieurs substituants X

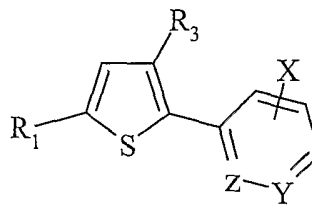
30 identiques ou différents, de préférence choisis parmi : -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>, -Cl ou -OR'<sub>d</sub>, avec R'<sub>d</sub> tel que défini pour R<sub>d</sub> à la revendication 28, et placés en position ortho, méta ou para du cycle,

éventuellement sous forme hydratée ou sous forme d'un sel acceptable pour une administration aux animaux ou végétaux.

**30** – Utilisation selon la revendication 28 ou 29, caractérisée en ce que l'agent potentialisation est de formule (Ia) ou (Ib) ci-dessous :



(Ia)



(Ib)

5

éventuellement sous forme hydratée ou sous forme de sel acceptable pour une administration aux animaux ou végétaux, dans lesquelles :

- Y et Z sont définis comme suit : soit  $Y = Z = \text{CH}$ , soit  $Y = \text{N}$  et  $Z = \text{CH}$ , soit  $Y = \text{CH}$  et  $Z = \text{N}$ ,

10 -  $R_1$ ,  $R_3$ , et X sont tels que définis précédemment pour les composés de formule (I),  $R_1$ , dans le cas des composé de formule (Ib) représentant avantageusement un groupe phényl ou 3- ou 2-pyridyl, éventuellement substitué, notamment par un groupe  $-\text{CF}_3$  ou  $-\text{CN}$  en position ortho, méta ou para.

**31** – Utilisation selon l'une des revendications 28 à 30, caractérisée en ce que

15 -  $R_3$  représente un groupe choisi parmi :  $-\text{COH}$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}_g$ ,  $-\text{COR}_h$ ,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{Cl}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{C}(\text{O})\text{OR}_g)(\text{NHCOR}_i)$ ,  $-\text{CH}=\text{C}(\text{C}(\text{O})\text{OR}_g)(\text{NHCOR}_i)$ ,  $-\text{OR}_j$ , avec  $R_g$  qui représente un groupe alkyle de préférence un méthyle,

$R_h$  qui représente un groupe alkyle, aryle, arylalkyle ou hétéroaryle substitués, de préférence un aryle substitué par un ou plusieurs groupes méthoxy

20  $R_i$  qui représente un groupe aryle, de préférence un phényle,

$R_j$  qui représente un groupe alkyle éventuellement substitué par un groupe trifluorométhyle, de préférence un groupe méthyle ou  $-\text{CH}_2\text{CF}_3$ ,

- Y et Z sont définis comme suit : soit  $Y = Z = \text{CH}$ , soit  $Y = \text{N}$  et  $Z = \text{CH}$ ,

- X représente un atome d'hydrogène, un atome de chlore ou un groupe choisi  $-\text{CN}$ ,

25  $-\text{CF}_3$  ou  $-\text{OR}'_j$ , avec  $R'_j$  tel que défini ci-dessus pour  $R_j$ .

**32** – Utilisation selon l'une des revendications 28 à 31 caractérisée en ce que

- le 2-phénylbenzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde **1a**,

- le 2-(4'-( $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluorotolyl)benzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde **1b**,

- le 2-(4'-chlorophényl)benzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde **1c**,
  - le 2-(pyridin-3-yl)benzo[b]thiophène-3-carboxaldéhyde **1d**,
  - le 2-(4'-chlorophényl)benzo[b]thiophène-3-carbonitrile **1e**,
  - le 2-(3'-chlorophényl)benzo[b]thiophène-3-carbonitrile **1f**,
  - 5 - le 2-(2'-benzonitrile)-3-(2,2,2)-trifluoroéthoxy)benzo-[b]thiophène **1g**,
  - le méthyl-(Z)-2-benzylamino-3-(2-(4'-benzonitrile)benzo[b]thiophène)-  
propénoate **1h**,
  - le 2-(3'-pyridyl),5-(3'-( $\alpha,\alpha,\alpha$ )-trifluorotolyl)-3-méthoxythiophène **1i**,
  - le 2,5-di(3'-pyridyl)-3-méthoxythiophène **1j**,
  - 10 - le 2-(3'-pyridyl)-3-méthoxythiophène **1k**,
  - le 3-(3'-pyridyl)-benzo[b]thiophène-2-carbonitrile **1l**,
  - le 2-(2,2,2-trifluoroéthoxy)-3-(2'-cyanophényl)-benzo[b]thiophène **1m**,
- éventuellement sous forme hydratée ou de sel acceptable pour une administration aux animaux ou végétaux.

1/4

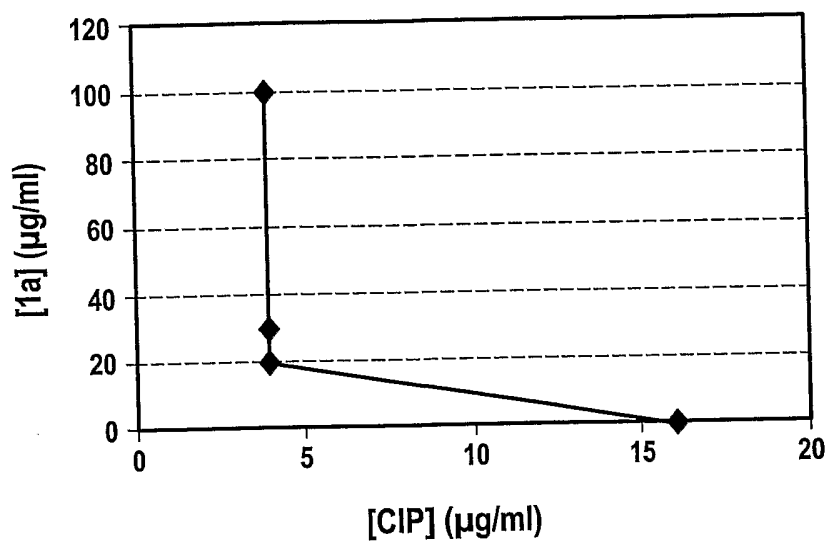


FIG.1

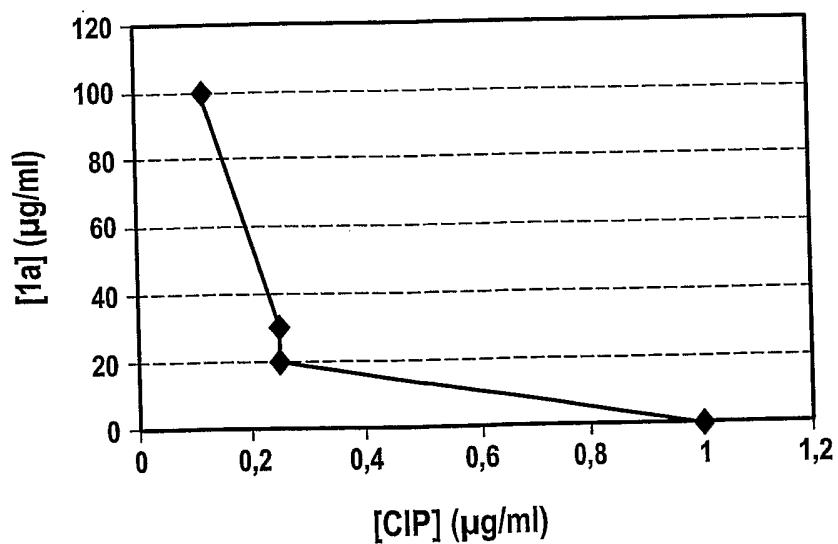


FIG.2

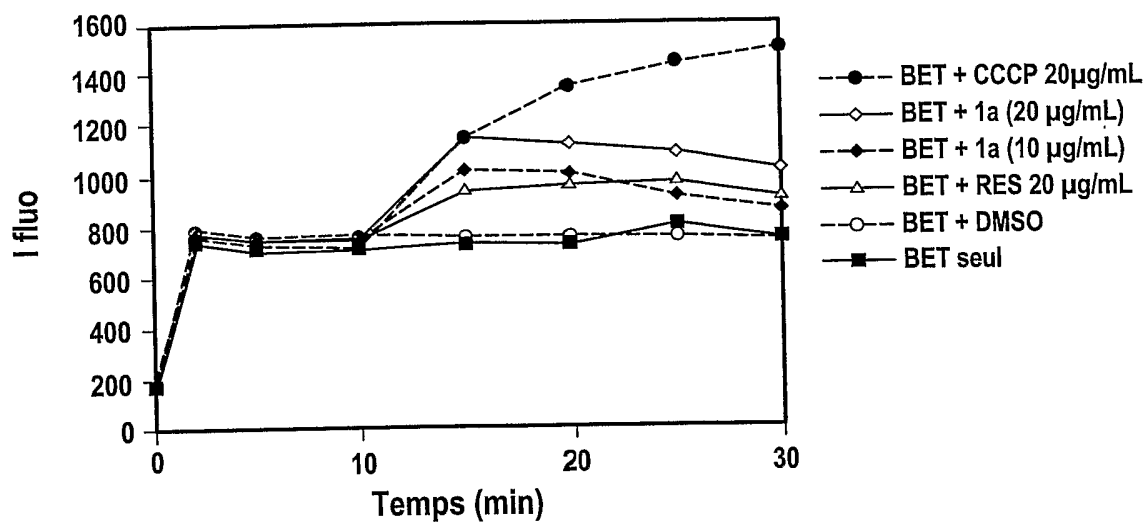


FIG.3

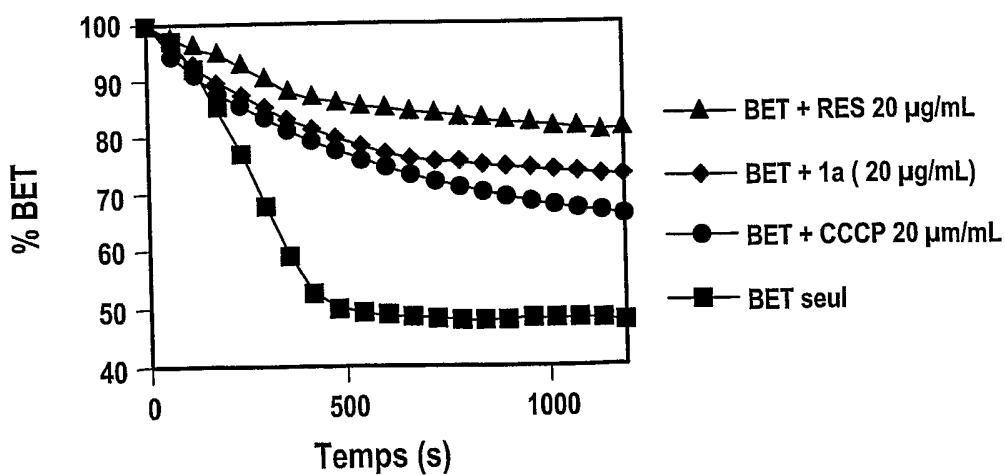


FIG.4

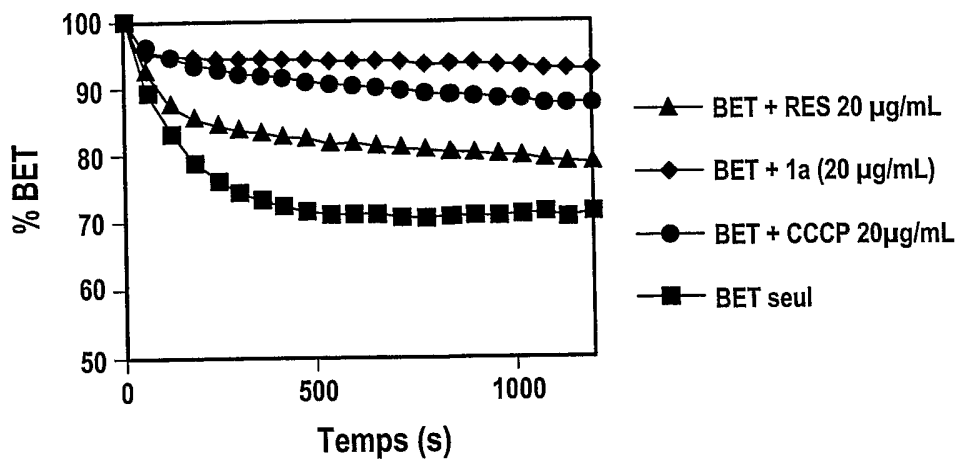


FIG.5

Accumulation de la CIP (10µg/mL) par SA-1199B

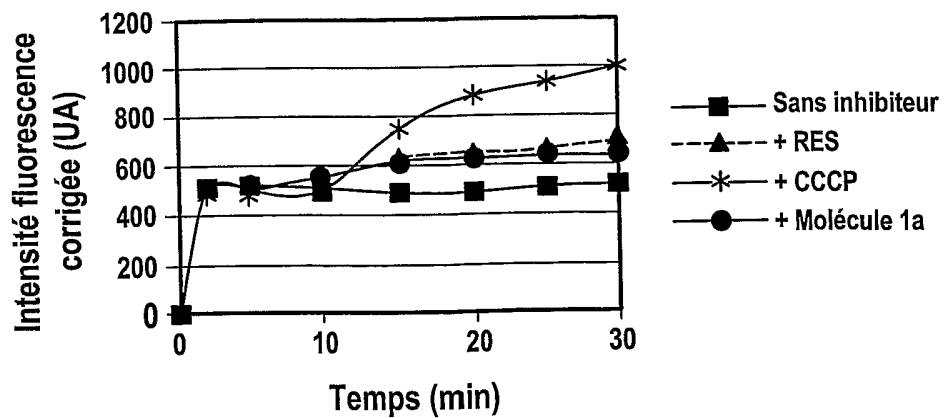


FIG.6

Isobogrammes comparatifs des benzothiophènes

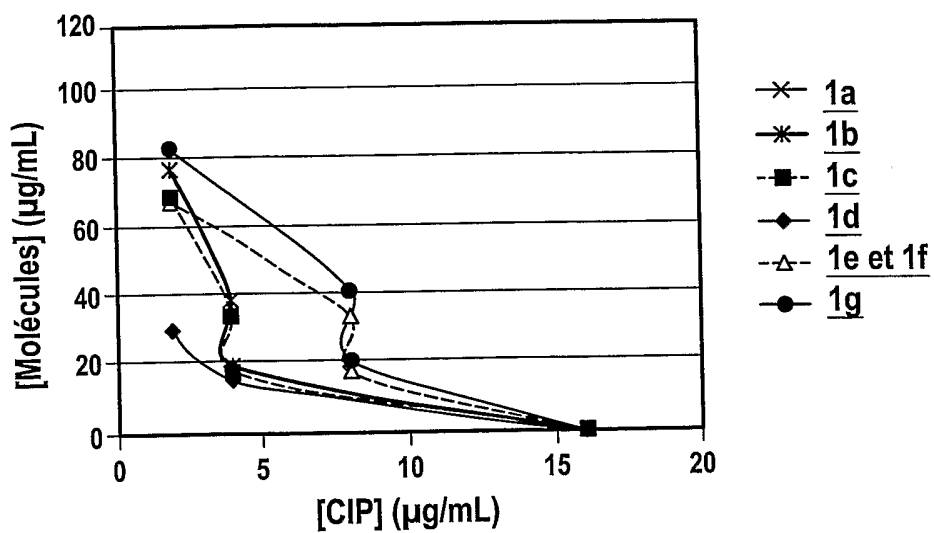


FIG.7

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/FR2005/001964

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D409/14 C07D409/04 C07D333/56 C07D333/64 C07D333/68  
C12Q1/04 A61K31/44 A61K31/381 A61P35/00 A61P31/10  
A61P31/04

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)

C07D C12Q 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 practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages            | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| A          | EP 0 773 217 A (ELI LILLY AND COMPANY)<br>14 May 1997 (1997-05-14)<br>page 2 - page 3; claims | 1-32                  |
| A          | EP 0 709 090 A (ELI LILLY AND COMPANY)<br>1 May 1996 (1996-05-01)<br>claims; examples 35-54   | 1-32                  |
| A          | EP 0 652 004 A (ELI LILLY AND COMPANY)<br>10 May 1995 (1995-05-10)<br>claims                  | 1-32                  |
| A          | EP 0 729 754 A (ELI LILLY AND COMPANY)<br>4 September 1996 (1996-09-04)<br>claims             | 1-32                  |
| A          | EP 0 729 755 A (ELI LILLY AND COMPANY)<br>4 September 1996 (1996-09-04)<br>claims             | 1-32                  |

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in 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 document 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

8 December 2005

Date of mailing of the international search report

22/12/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Fazzi, R

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR2005/001964

| Patent document cited in search report |            | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|--|------------|------------------|-------------------------|------------------|
| EP 0773217                             | A          | 14-05-1997       | AU 7602896 A            | 29-05-1997       |
|  |            |                  | CA 2236543 A1           | 15-05-1997       |
|  |            |                  | JP 2000500138 T         | 11-01-2000       |
|  |            |                  | WO 9717069 A1           | 15-05-1997       |
| EP 0709090                             | A          | 01-05-1996       | AU 702301 B2            | 18-02-1999       |
|  |            |                  | AU 3829895 A            | 06-05-1996       |
|  |            |                  | CA 2202661 A1           | 25-04-1996       |
|  |            |                  | CN 1168631 A            | 24-12-1997       |
|  |            |                  | CZ 9701137 A3           | 17-09-1997       |
|  |            |                  | FI 971568 A             | 12-06-1997       |
|  |            |                  | HU 77604 A2             | 29-06-1998       |
|  |            |                  | JP 10512544 T           | 02-12-1998       |
|  |            |                  | NO 971704 A             | 13-05-1997       |
|  |            |                  | WO 9611677 A1           | 25-04-1996       |
|  |            |                  | US 6121292 A            | 19-09-2000       |
|  |            |                  | US 6124311 A            | 26-09-2000       |
|  |            |                  | ZA 9508688 A            | 14-04-1997       |
| EP 0652004                             | A          | 10-05-1995       | AT 220323 T             | 15-07-2002       |
|  |            |                  | AU 670518 B2            | 18-07-1996       |
|  |            |                  | AU 7578694 A            | 04-05-1995       |
|  |            |                  | CA 2118096 A1           | 16-04-1995       |
|  |            |                  | CN 1108094 A            | 13-09-1995       |
|  |            |                  | CZ 9402536 A3           | 17-05-1995       |
|  |            |                  | DE 69430940 D1          | 14-08-2002       |
|  |            |                  | DE 69430940 T2          | 03-04-2003       |
|  |            |                  | DK 652004 T3            | 02-09-2002       |
|  |            |                  | ES 2179063 T3           | 16-01-2003       |
|  |            |                  | HU 71237 A2             | 28-11-1995       |
|  |            |                  | JP 7149638 A            | 13-06-1995       |
|  |            |                  | NO 943874 A             | 18-04-1995       |
|  |            |                  | PT 652004 T             | 31-10-2002       |
| ZA 9408025 A                           | 15-04-1996 |                  |                         |                  |
| EP 0729754                             | A          | 04-09-1996       | CA 2170480 A1           | 29-08-1996       |
|  |            |                  | JP 8253417 A            | 01-10-1996       |
| EP 0729755                             | A          | 04-09-1996       | AU 5028696 A            | 18-09-1996       |
|  |            |                  | CA 2214080 A1           | 06-09-1996       |
|  |            |                  | CN 1176600 A            | 18-03-1998       |
|  |            |                  | FI 973521 A             | 27-08-1997       |
|  |            |                  | HU 9801327 A2           | 28-06-1999       |
|  |            |                  | JP 11501033 T           | 26-01-1999       |
|  |            |                  | NO 973963 A             | 28-08-1997       |
|  |            |                  | WO 9626727 A1           | 06-09-1996       |
| ZA 9601564 A                           | 27-08-1997 |                  |                         |                  |

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No  
PCT/FR2005/001964

|   |            |            |            |            |
|---|------------|------------|------------|------------|
| <b>A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE</b> |            |            |            |            |
| C07D409/14                                    | C07D409/04 | C07D333/56 | C07D333/64 | C07D333/68 |
| C12Q1/04                                      | A61K31/44  | A61K31/381 | A61P35/00  | A61P31/10  |
| A61P31/04                                     |            |            |            |            |

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)

C07D C12Q 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 réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie ° | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents        | no. des revendications visées |
|-------------|---|-------------------------------|
| A           | EP 0 773 217 A (ELI LILLY AND COMPANY)<br>14 mai 1997 (1997-05-14)<br>page 2 - page 3; revendications | 1-32                          |
| A           | EP 0 709 090 A (ELI LILLY AND COMPANY)<br>1 mai 1996 (1996-05-01)<br>revendications; exemples 35-54   | 1-32                          |
| A           | EP 0 652 004 A (ELI LILLY AND COMPANY)<br>10 mai 1995 (1995-05-10)<br>revendications                  | 1-32                          |
| A           | EP 0 729 754 A (ELI LILLY AND COMPANY)<br>4 septembre 1996 (1996-09-04)<br>revendications             | 1-32                          |
| A           | EP 0 729 755 A (ELI LILLY AND COMPANY)<br>4 septembre 1996 (1996-09-04)<br>revendications             | 1-32                          |

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

\*Z\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

8 décembre 2005

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

22/12/2005

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, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Fazzi, R

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale No

PCT/FR2005/001964

| Document brevet cité<br>au rapport de recherche |            | Date de<br>publication | Membre(s) de la<br>famille de brevet(s) | Date de<br>publication |
|---|------------|------------------------|---|------------------------|
| EP 0773217                                      | A          | 14-05-1997             | AU 7602896 A                            | 29-05-1997             |
|   |            |                        | CA 2236543 A1                           | 15-05-1997             |
|   |            |                        | JP 2000500138 T                         | 11-01-2000             |
|   |            |                        | WO 9717069 A1                           | 15-05-1997             |
| EP 0709090                                      | A          | 01-05-1996             | AU 702301 B2                            | 18-02-1999             |
|   |            |                        | AU 3829895 A                            | 06-05-1996             |
|   |            |                        | CA 2202661 A1                           | 25-04-1996             |
|   |            |                        | CN 1168631 A                            | 24-12-1997             |
|   |            |                        | CZ 9701137 A3                           | 17-09-1997             |
|   |            |                        | FI 971568 A                             | 12-06-1997             |
|   |            |                        | HU 77604 A2                             | 29-06-1998             |
|   |            |                        | JP 10512544 T                           | 02-12-1998             |
|   |            |                        | NO 971704 A                             | 13-05-1997             |
|   |            |                        | WO 9611677 A1                           | 25-04-1996             |
|   |            |                        | US 6121292 A                            | 19-09-2000             |
|   |            |                        | US 6124311 A                            | 26-09-2000             |
|   |            |                        | ZA 9508688 A                            | 14-04-1997             |
| EP 0652004                                      | A          | 10-05-1995             | AT 220323 T                             | 15-07-2002             |
|   |            |                        | AU 670518 B2                            | 18-07-1996             |
|   |            |                        | AU 7578694 A                            | 04-05-1995             |
|   |            |                        | CA 2118096 A1                           | 16-04-1995             |
|   |            |                        | CN 1108094 A                            | 13-09-1995             |
|   |            |                        | CZ 9402536 A3                           | 17-05-1995             |
|   |            |                        | DE 69430940 D1                          | 14-08-2002             |
|   |            |                        | DE 69430940 T2                          | 03-04-2003             |
|   |            |                        | DK 652004 T3                            | 02-09-2002             |
|   |            |                        | ES 2179063 T3                           | 16-01-2003             |
|   |            |                        | HU 71237 A2                             | 28-11-1995             |
|   |            |                        | JP 7149638 A                            | 13-06-1995             |
|   |            |                        | NO 943874 A                             | 18-04-1995             |
|   |            |                        | PT 652004 T                             | 31-10-2002             |
| ZA 9408025 A                                    | 15-04-1996 |                        |   |                        |
| EP 0729754                                      | A          | 04-09-1996             | CA 2170480 A1                           | 29-08-1996             |
|   |            |                        | JP 8253417 A                            | 01-10-1996             |
| EP 0729755                                      | A          | 04-09-1996             | AU 5028696 A                            | 18-09-1996             |
|   |            |                        | CA 2214080 A1                           | 06-09-1996             |
|   |            |                        | CN 1176600 A                            | 18-03-1998             |
|   |            |                        | FI 973521 A                             | 27-08-1997             |
|   |            |                        | HU 9801327 A2                           | 28-06-1999             |
|   |            |                        | JP 11501033 T                           | 26-01-1999             |
|   |            |                        | NO 973963 A                             | 28-08-1997             |
|   |            |                        | WO 9626727 A1                           | 06-09-1996             |
| ZA 9601564 A                                    | 27-08-1997 |                        |   |                        |