



HAL
open science

Optimisation et mode d'action d'un nouvel agent antipaludéen à action multiple en série quinazolinedione

Laura Mourot

► **To cite this version:**

Laura Mourot. Optimisation et mode d'action d'un nouvel agent antipaludéen à action multiple en série quinazolinedione. Chimie organique. Université de Haute Alsace - Mulhouse, 2021. Français. NNT : 2021MULH4446 . tel-03677894

HAL Id: tel-03677894

<https://theses.hal.science/tel-03677894v1>

Submitted on 25 May 2022

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

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

UNIVERSITÉ DE HAUTE-ALSACE
UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

THÈSE

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE HAUTE-ALSACE

ECOLE DOCTORALE : École doctorale des Sciences Chimiques (ED 222)

Discipline : Chimie Organique

Laboratoire d'Innovation Moléculaire et Applications

UMR CNRS 7042-LIMA

Présentée et soutenue publiquement

par

Laura Mourot

Le 9 décembre 2021

Optimisation et mode d'action d'un nouvel agent antipaludéen à action multiple en série quinazolinédione

Sous la direction du Dr. Sébastien ALBRECHT

Jury :

Dr. Samir MESSAOUDI, Université Paris-Saclay (Rapporteur)

Dr. Yung-Sing WONG, Université Grenoble Alpes (Rapporteur)

Pr. Philippe BELMONT, Université Paris (Examinateur)

Dr. Paola ARIMONDO, Institut Pasteur (Examinatrice)

Pr. Catherine MULLIÉ, Université de Picardie Jules-Verne (Présidente)

Le meilleur soutien est proche des siens !
Citation de Alain ; Les propos d'un Normand (1912)

Remerciements

Je tiens, tout d'abord, à remercier les membres du jury la Pr. Catherine Mullié, la Dr. Paola Arimondo, le Pr. Philippe Belmont, le Dr. Yung-Sing Wong et le Dr. Samir Messaoudi, pour avoir accepté de prendre de leurs temps afin de juger ces travaux de thèse.

Je souhaiterais ensuite remercier tous les membres du laboratoire au sein duquel j'ai effectué cette thèse.

Plus particulièrement, je souhaite remercier le Dr. Sébastien Albrecht pour l'accueil au sein de son équipe. Sébastien, je vous suis très reconnaissante pour votre confiance, vos conseils avisés et votre présence précieuse tout au long de ma thèse. Je me rappelle de vos propos suite à l'obtention votre HDR me faisant remarquer que la prochaine étape serait ma thèse, et j'espère que votre première doctorante après l'obtention de votre HDR a été à la hauteur.

Je remercie la Pr. Isabelle Florent et Elizabeth Mouray pour leur implication dans ce projet collaboratif.

Je tiens également à remercier le Dr. Martin Spichy pour sa collaboration dans ce projet.

Merci également à Pr. Jean-Philippe Goddard et à Dr. Nicolas Blanchard pour m'avoir permis de me sentir bien dans ce laboratoire pas seulement avec les membres de mon équipe mais avec l'ensemble des personnes du LIMA à Mulhouse.

Je tiens à remercier le Dr. Marjorie Schmitt. Marjorie merci pour ta présence, ta gentillesse, tes conseils, toutes nos discussions (professionnelles et personnelles) et ton soutien tout au long de ma thèse.

Merci également à Emmanuelle Salomon, mon voisin de paillasse. Merci à toi, pour nos discussions scientifiques et pour ta sympathie.

Je remercie le Dr. Didier Le Nouën pour sa disponibilité, ses précieux conseils en RMN et sa convivialité.

Je remercie également le Dr Cécile Joyeux et le Dr Mary-Lorène Goddard pour leur aide lors de la mise au point des méthodes d'analyse HPLC, SFC et masse.

Je tiens à remercier le Dr. Morgan Cormier collègue de bureau de mon directeur de thèse avec qui j'ai pu parler chimie, et avec qui j'ai pu découvrir l'enseignement. Merci Morgan pour tes conseils.

Je tiens à remercier Delphine et Samuel pour m'avoir accueillie à l'École de Chimie pour les travaux pratiques de première année.

Je remercie Aline pour sa gentillesse. Aline, ton caractère un peu râleur et ta bonté me manqueront.

Merci également à toi Dr. Hélène Chaumeuil pour tes conseils et toutes nos discussions. Il fut agréable en fin de journée que tu me ramènes chez moi en voiture, que l'on puisse aborder le futur et que tu m'apportes tes conseils.

Je remercie tous les stagiaires qui ont participé à ce projet, certains que j'ai pu encadrer d'autres non, mais tous ont apporté à ce projet. Thomas, Valentin, Justine, Adem, Kubra, Taylan, Malik, Rozerin et Pinar, merci à vous.

Je souhaite remercier mes collègues :

Yvette et ta joie de vivre. Raphaël, merci pour ta sympathie. Clément, cher collègue d'équipe avec qui j'ai passé de très bons moments, pour sûr nous continuerons à nous voir. Roly, j'ai passé de super bons moments avec toi, nos fous rires et nos discussions au bureau me manquent déjà. Diksha et Qioalan : « as I say, you are more than friends your are my sisters ». Nicolas, j'ai pu te connaître en tant que stagiaire dans notre équipe et je t'ai vu évoluer jusqu'à ta thèse, tu me manqueras tu peux en être certain. Mathieu, pas facile d'apprendre à te connaître en un an qui plus est en temps de pandémie, mais j'ai eu le plaisir de rencontrer une belle personne. Nadine, merci pour ta gentillesse. Lucie, superbe collègue d'équipe, merci pour ta sympathie et tous nos moments passés ensemble.

Je tiens à remercier mes parents sans qui tout cela n'aurait pas été possible. Merci pour le soutien de tous mes proches. Mes amis notamment Julie, Boyang et Pierre que je connais depuis la fac et tous les autres. Et finalement mon Doudou, nous nous sommes rencontrés juste avant que je ne commence cette thèse, tu ne savais pas dans quoi tu t'engageais... Je te remercie pour ton soutien sans faille, ton écoute et ton optimisme à toute épreuve.

Liste des abréviations

ACN : acétonitrile

ADME/tox-PK : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et toxicité - pharmacocinétique

BTFFH : Fluoro-N,N,N',N'-bis(tétraméthylène)formamidinium hexafluorophosphate

CCM : chromatographie sur couche mince

CDI : Carbonyldiimidazole

COMU : (1-Cyano-2-éthoxy-2-oxoéthylidénaminooxy)diméthylamino-morpholino-carbénium hexafluorophosphate

CV : Volume de colonne

DAST : Trifluorure de (diéthylamino)soufre

DBU : 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène

DCM : dichlorométhane

DIC : N,N'-Diisopropylcarbodiimide

DIPEA : N,N'-Diisopropyléthylamine

DMF : diméthylformamide

DMSO : diméthylsulfoxyde

EP : éther de pétrole

eq. : équivalent

ESI : ionisation par électrospray

HBTU : N,N,N',N'-Tétraméthyl-O-(1H-benzotriazol-1-yl)uronium hexafluorophosphate

HOBt : Hydroxybenzotriazole

HOPO : 2-Pyridinol 1-oxide

HPLC : Chromatographie en phase liquide Haute Performance

hERG : human Éther-à-go-go-Related Gene

IRJBD : Institut de Recherche Jean-Baptiste DONNET

LC/MS : chromatographie liquide/ spectrométrie de masse

MNHN : Muséum national d'histoire naturelle

MW : micro-ondes

NMI : N-Méthylimidazole

OMS : Organisation mondiale de la santé

PTFE : polytétrafluoroéthylène

Rdt : rendement

RMN : Résonance magnétique nucléaire

SFC : chromatographie en phase supercritique

sat : saturée

t.a : température ambiante

tampon PBS : tampon phosphate salin

TBDMS : tert-Butyldiméthylsilyl éthers

TCFH : N,N,N',N'-tetraméthylchloroformamidinium hexafluorophosphate

T3P : Propylphosphonic anhydride

TFA : acide trifluoroacétique

THF : tétrahydrofurane

thioCDI : 1,1'-Thiocarbonyldiimidazole

Sommaire

Introduction	1
Chapitre 1	2
Chapitre 2	51
Chapitre 3	71
Chapitre 4	88
Conclusion et perspectives	163
Partie expérimentale	166
Annexes	228
Glossaire	237
Résumé	241
Bibliographie	248

Introduction

Aujourd'hui encore le paludisme demeure l'une des maladies tropicales les plus mortelles et importantes, malgré de réels progrès marqués par une nette diminution de la morbidité et de la mortalité ces dernières années. Cependant, l'émergence et le développement de résistances aux insecticides et aux médicaments antipaludiques est une menace sérieuse pour les efforts mondiaux de contrôle et d'élimination du paludisme. Il existe, par conséquent, un besoin urgent de nouveaux médicaments à large potentiel thérapeutique et possédant de nouveaux modes d'action qui permettraient de surmonter la généralisation des résistances aux antipaludéens.

Dans ce contexte, l'équipe « Chimie Médicinale et Phytopharmaceutique » du Laboratoire d'Innovation Moléculaire et Applications (UMR CNRS 7042-LIMA | IRJBD) s'est intéressée à l'exploitation de la « Malaria Box » de Medicines for Malaria Venture (MMV), et a identifié un cluster prometteur de trois molécules basées sur un squelette de type quinazolinedione (figure 1). Outre leur simplicité et rapidité de synthèse, ces molécules possèdent des propriétés biologiques intéressantes contre plusieurs stades du cycle de vie du parasite du paludisme et présentent une faible toxicité envers des cellules humaines. Néanmoins, ces molécules souffrent d'un handicap majeur, eu égard à leur modeste profil pharmacocinétique, avec notamment des problèmes de solubilité ou de stabilité métabolique. Pour pallier ces défauts, nous avons alors entamé une phase d'optimisation de ces « hits », qui consiste à les modifier pour améliorer leurs propriétés pharmacologiques.

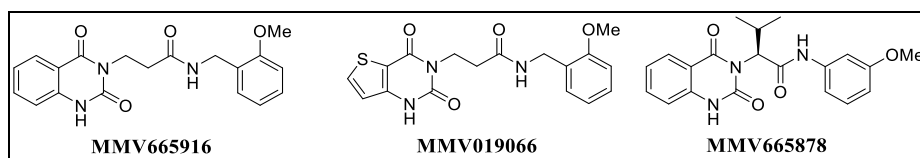


Figure 1 : molécules d'intérêt basées sur un squelette de type quinazolinedione issues de la Malaria Box.

Quatre chapitres constituent ce manuscrit de thèse :

- Le paludisme
- Développement d'un nouvel agent antipaludéen
- Étude du sous-groupe 1 (analogues de MMV665916 et MMV019006)
- Étude du sous-groupe 2 (analogues de MMV665878)

Chapitre 1 : Le paludisme

I- Généralités sur le paludisme.....	3
I-1. Les populations à risque.....	3
I-2. Transmission	4
I-3. Symptômes.....	5
II- Le parasite <i>Plasmodium</i>	9
II-1. Les différentes espèces de <i>Plasmodium</i>	5
II-2. Cycle de vie du parasite.....	9
II-3. Biochimie de <i>Plasmodium</i>	12
II-4. Pathogenèse de <i>P.falciparum</i>	17
III- Lutte antipaludique et problèmes de résistances.....	19
III-1. Vaccin.....	19
III-2. Lutte anti-vectorielle	23
III-2.1 Présentation générale	23
III-2.2. Les différents modes d'action des insecticides.....	25
III-3. Les médicaments antipaludéens	26
III-3.1. Présentations des médicaments antipaludéens actuels	26
III-3.2 Les différents modes d'action des médicaments antipaludéens actuels	30
IV- Les phénomènes de résistances	36
IV-1. Phénomènes de résistances aux insecticides	36
IV-2. Phénomènes de chimiorésistances aux antipaludéens.....	39

I- Généralités sur le paludisme

I-1. Les populations à risque

Le paludisme (du latin paludis, « marais »), aussi appelé malaria (de l'italien mal'aria, « mauvais air »), est l'une des plus importantes maladies parasitaires chez l'Homme. En 2019, l'OMS estime que cette infection est responsable de **229** millions de cas et **409 000** décès.¹ Les zones à risque se situent principalement en Afrique subsaharienne, en Asie du Sud-Est, dans les régions de la Méditerranée orientale, du Pacifique occidental et des Amériques (figure 2).² En 2019, 94 % de cas de paludisme et de décès dus à cette maladie sont survenus dans les régions africaines. En 2018, plus de la moitié des cas dans le monde a été enregistré dans seulement six pays : Nigéria (23 %), République démocratique du Congo (11 %), République-Unie de Tanzanie (5 %), Burkina Faso (4%), Mozambique (4 %) et Niger (4 %).



Figure 2 : carte du monde représentant les zones où la population a des risques de contracter la malaria (en rouge la zone la plus à risque).²

Les populations à risques d'être gravement atteintes par le paludisme sont : les nourrissons, les enfants de moins de cinq ans, les femmes enceintes, les personnes vivant avec le VIH/sida, les migrants non immunisés et les voyageurs. En effet, le groupe le plus exposé est celui des enfants de moins de cinq ans, en 2018, ils ont représenté 67 % de l'ensemble des décès dus à cette maladie.

I-2. Transmission

Le paludisme est dû à un parasite du genre *Plasmodium*. Il existe plus de 100 espèces de *Plasmodium* qui peuvent infecter de nombreuses espèces animales telles que les reptiles, les oiseaux et divers mammifères.³ Ces parasites sont véhiculés et transmis par l'intermédiaire d'un moustique femelle du genre *Anopheles* (figure 3).



Figure 3 : moustique du genre *Anopheles*.

Il existe plus de 400 espèces d'*Anopheles* et seulement 30 à 40 espèces sont considérées comme des vecteurs potentiels du paludisme humain. Les plus importants vecteurs sont *A. arabiensis*, *A. gambiae* et *A. Funestus*, et sont retrouvés en Afrique (figure 4).⁴

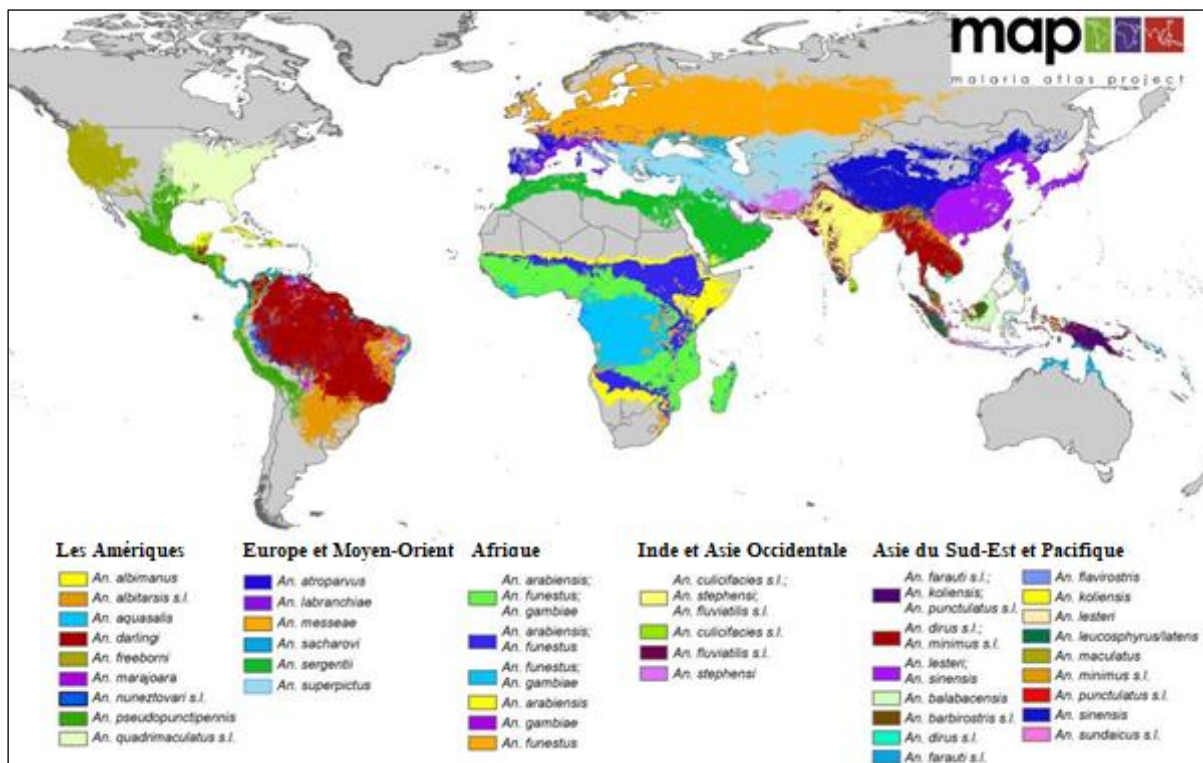


Figure 4 : répartition globale des espèces d'*Anophèles* dominantes.

Toutes les espèces considérées comme vecteurs du paludisme piquent entre le crépuscule et l'aube. L'intensité de la transmission dépend de facteurs liés au parasite, au vecteur, à l'hôte humain et à l'environnement.¹

La transmission dépend entre autres des conditions climatiques qui peuvent influencer sur l'abondance et la survie des moustiques. Pour se développer et se reproduire, les *Anopheles* ont besoin de chaleur et de surfaces d'eau peu profondes (les flaques, les rizières et les empreintes laissées par les sabots d'animaux). La raison pour laquelle ce sont les moustiques femelles qui piquent vient du fait qu'elles recherchent un repas de sang pour nourrir leurs œufs. De plus les *Anopheles* pondent leurs œufs dans l'eau. C'est pourquoi le paludisme est essentiellement concentré vers les tropiques et que la transmission se déroule principalement lors de la saison des pluies. Des épidémies de paludisme peuvent également apparaître lorsque le climat et d'autres conditions changent et favorisent soudainement la transmission dans des régions où les populations sont peu ou pas du tout immunisées. Elles peuvent aussi survenir lorsque des personnes faiblement immunisées se déplacent.

L'immunité humaine est un autre facteur important^{5,6,7}, en particulier chez les adultes dans les zones de transmission modérée à intense. Une immunité partielle se développe après des années d'exposition, elle ne confère jamais une protection totale, mais elle réduit le risque que la maladie cause des troubles sévères. C'est la raison pour laquelle la plupart des décès dus à cette maladie en Afrique surviennent chez de jeunes enfants. C'est également la raison pour laquelle dans les zones de faible transmission, où la population est peu immunisée, toutes les tranches d'âge prennent des risques lors de voyage dans les pays endémiques. Cette immunité fait encore l'objet d'étude afin de mieux la comprendre.⁸

Le seul cas de contamination inter-humaine directe a lieu lorsqu'une femme enceinte infectée contamine son enfant par voie transplacentaire.

II-1. Les différentes espèces de *Plasmodium*

Le paludisme est dû au parasite *Plasmodium*. Les *Plasmodium* appartiennent au sous-ordre des *Haemosporina* qui sont des parasites qui vivent tous dans le sang des vertébrés. La taxonomie des *Plasmodium* est décrite dans le tableau 1. Les *Haemosporina* ont deux hôtes : un hôte vertébré chez lequel a lieu la reproduction asexuée (hôte intermédiaire) et un insecte piqueur chez lequel a lieu la reproduction sexuée (hôte définitif).

Le genre *Plasmodium* a été subdivisé en 10 sous-genres, dans ce tableau sont énumérés les trois sous genres infectant les mammifères.

Domaine	Eucaryote		
Règne	Protiste		
Embranchement	<i>Apicomplexa</i>		
Classe	<i>Sporozoea</i>		
Sous classe	<i>Coccidia</i>		
Ordre	<i>Euccoccida</i>		
Sous-ordre	<i>Haemosporina</i>		
Famille	<i>Plasmodidae</i>		
Genre	<i>Plasmodium</i>		
Sous genre	<i>Plasmodium</i>	<i>Laverania</i>	<i>Vinckeia</i>
Espèces	<i>P. vivax</i> <i>P. simium</i> <i>P. cynomolgi</i> <i>P. fragile</i> <i>P. knowlesi</i> <i>P. rodhaini</i> <i>P. ovale</i> <i>P. coatneyi</i> <i>P. malariae</i> <i>P. brasilianum</i> <i>P. simiovale</i>	<i>P. falciparum</i> <i>P. reichenowi</i>	<i>P. berghei</i> <i>P. yoelii</i> <i>P. chabaudi</i> <i>P. vinckeia</i>

Tableau 1 : taxonomie du parasite *Plasmodium*.⁹

On répertorie cinq espèces de *Plasmodium* qui infectent les humains³ :

- ***P. falciparum***, que l'on trouve dans le monde entier, en particulier dans les régions tropicales et subtropicales, et surtout en Afrique. *P. falciparum* se multiplie rapidement dans le sang et ainsi provoque un « paludisme sévère » qui peut entraîner une anémie sévère. De plus, lors de l'infection par cette espèce, des petits vaisseaux sanguins peuvent s'obstruer et lorsque cela se produit dans le cerveau il en résulte un paludisme cérébral qui peut être fatal.
- ***P. vivax***, que l'on trouve principalement en Asie, en Amérique latine et dans certaines parties de l'Afrique. En raison des densités de population importantes, dans ces zones, il s'agit probablement du parasite du paludisme humain le plus répandu. *P. vivax* (ainsi que *P. ovale*) ont des stades hépatiques dormants qui peuvent s'activer et envahir le sang plusieurs mois ou années après la piqûre du moustique infectant ; ce phénomène s'appelle une « rechute ».
- ***P. ovale*** que l'on trouve principalement en Afrique (en particulier en Afrique de l'Ouest) et dans les îles du Pacifique occidental. Il est biologiquement et morphologiquement très similaire à *P. vivax*.
- ***P. malariae***, que l'on trouve dans le monde entier. S'il n'est pas traité, *P. malariae* provoque une infection chronique de longue durée qui, dans certains cas, peut durer toute une vie et parfois entraîner de graves complications.
- ***P. knowlesi***, que l'on trouve dans toute l'Asie du Sud-Est en tant que pathogène naturel des macaques. Il s'est récemment avéré une cause importante de paludisme zoonotique dans cette région, en particulier en Malaisie. *P. knowlesi* a un cycle de réplication de 24 heures et peut ainsi rapidement passer d'une infection simple à une infection grave parfois mortelle.

P. falciparum et *P. vivax* sont les plus dangereuses espèces de *Plasmodium* qui infectent l'Homme. En 2018, on estime que *P. falciparum* a été à l'origine de 99,7 % de cas dans la région africaine, de 50 % de cas dans la région de l'Asie du Sud-Est, de 71 % dans la région de la Méditerranée orientale et de 65 % dans la région du Pacifique occidental. *P. vivax* est le parasite prédominant en Amérique, où il est à l'origine de 75 % de cas.¹

I-3. Symptômes

Pour un sujet non immunisé, les symptômes apparaissent généralement 10 à 15 jours après la piqûre de moustique infectante¹. En ce qui concerne *P. falciparum*, s'il n'est pas traité dans les 24 heures, il peut évoluer vers une affection sévère souvent mortelle.

Pour les cas de « paludisme simple »¹⁰, les symptômes sont : la fièvre, les frissons, la transpiration, les courbatures, les maux de tête, la nausée, les vomissements et un malaise général. Les premiers symptômes sont la fièvre, les maux de têtes, et les frissons qui peuvent être modérés et difficiles à attribuer au paludisme. Une hypoglycémie peut également survenir chez les femmes enceintes atteintes de paludisme non compliqué.

Pour les cas de « paludisme sévère »¹⁰, les symptômes sont les suivants :

- Paludisme cérébral accompagné d'un comportement anormal, troubles de la conscience, convulsions, coma ou autres anomalies neurologiques. Ce type de paludisme est dû à l'obstruction des vaisseaux sanguins irriguant le cerveau par les globules rouges infectés.
- Anémie sévère due à l'hémolyse (destruction des globules rouges)
- Hémoglobinurie (hémoglobine dans l'urine) due à l'hémolyse
- Syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA). Ce syndrome est une réaction inflammatoire dans les poumons qui inhibe l'échange d'oxygène, qui peut se produire même après que le nombre de parasites ait diminué en réponse au traitement
- Anomalies de la coagulation sanguine
- Hypotension artérielle
- Lésion rénale aiguë
- Hyperparasitémie, où plus de 5% des globules rouges sont infectés
- Acidose métabolique (acidité excessive dans le sang et les liquides tissulaires), souvent associée à une hypoglycémie
- Hypoglycémie.

Le « paludisme sévère » survient lorsque les infections sont compliquées par de graves défaillances d'organes, des anomalies dans le sang ou le métabolisme de l'Homme.

Dans les zones d'endémie, l'immunité humaine peut conduire à des infections asymptomatiques. On constate, en effet, que suite à de nombreuses années d'infection chronique par le parasite, certains individus tolèrent sa présence et développent une immunité naturelle.

II- Le parasite *Plasmodium*

II-2. Cycle de vie du parasite

Plasmodium possède un cycle évolutif assez complexe^{11,12} (figure 5) qui nécessite deux hôtes : l'Homme (ou un autre mammifère) et la femelle hématophage d'un moustique *Anopheles*. Ce cycle comporte deux étapes essentielles : une phase asexuée chez l'Homme et une phase sexuée chez le moustique *Anopheles*.

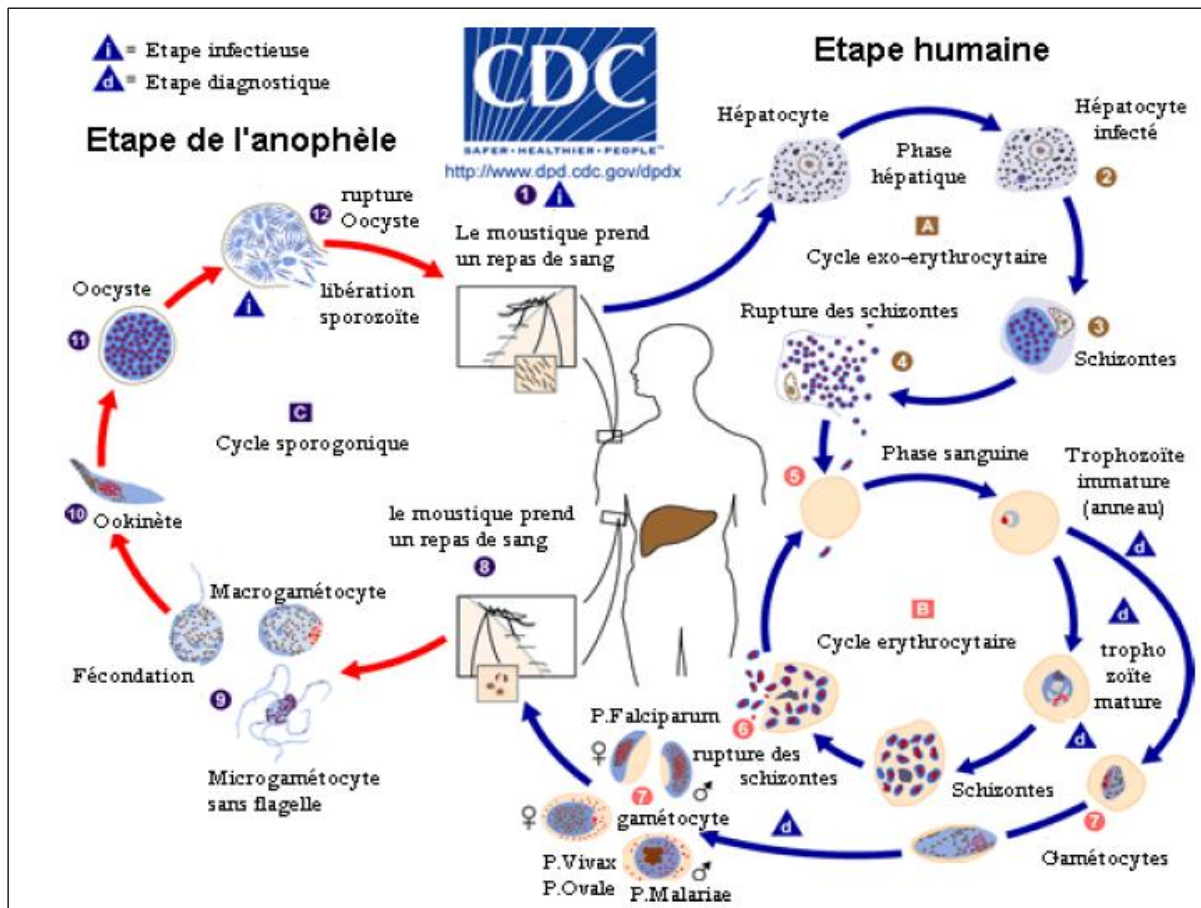


Figure 5: cycle évolutif de *Plasmodium* ³

Lors de la piqûre du moustique, l'Homme est infecté par des sporozoïtes présents dans les glandes salivaires du moustique : c'est le début de la phase exo-érythrocytaire. Les sporozoïtes sont transportés par le sang jusqu'au foie (phase hépatique) pour produire des schizontes qui vont alors pénétrer dans les globules rouges. Dans le cas particulier de *P. vivax* (ou *P. ovale*) les sporozoïtes peuvent produire des formes dormantes appelées hypnozoïtes qui pourront générer des schizontes lors de rechutes.¹³ Durant la phase exo-érythrocytaire, les schizontes vont devenir à terme des mérozoïtes qui seront libérés dans le sang. Ces mérozoïtes vont par la suite pénétrer dans les globules rouges où ils vont s'y multiplier : c'est le début de la phase érythrocytaire (figure 6A). Cette partie du cycle peut se répéter plusieurs fois, infectant ainsi plusieurs milliers de globules rouges. Au cours de la phase érythrocytaire, le parasite passe par différents stade sanguins (figure 6B) : anneaux ou trophozoïtes immatures, trophozoïtes matures, schizontes et rosaces. La rosace est le stade de maturation ultime qui correspond à un schizonte sur le point d'éclater pour libérer de nouveaux mérozoïtes. Certains mérozoïtes se transforment en anneau puis en gamétocytes par gamétogenèse et seront ingérés avec les globules rouges par une autre femelle moustique lors de son repas de sang.

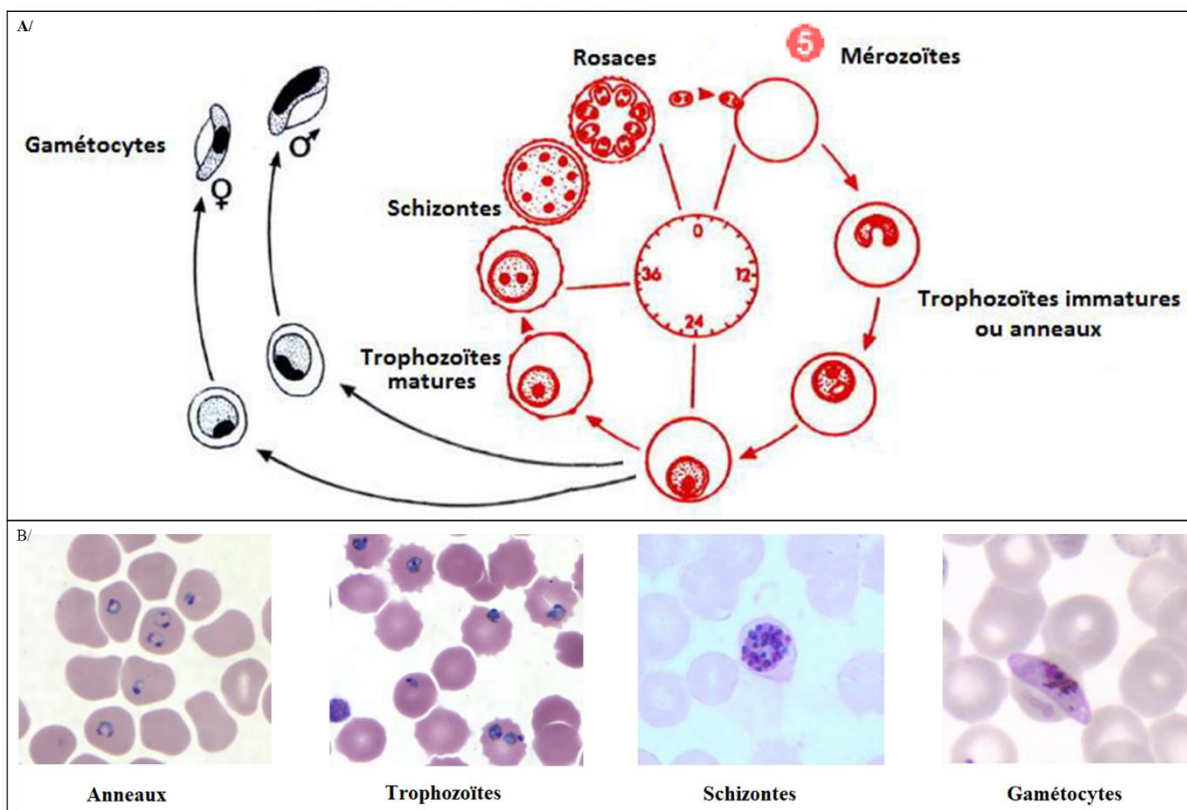


Figure 6: A/ cycle érythrocytaire (5 : mérozoïtes qui correspond à phase 5 de la figure. B/ différents stades sanguins de *P. falciparum* (clichés microscope de frottis sanguins).³

Un repas de sang sur un hôte humain est nécessaire à l'*Anophèles* femelle pour ingérer le parasite sous forme de gamétocytes mâles (microgamétocytes) et femelles (macrogamétocytes) produits par l'Homme. Le moustique est alors infecté et la phase sexuée de reproduction du parasite commence. C'est lors de cette phase que la fertilisation entre gamétocytes a lieu dans l'intestin du moustique pour produire à terme des sporozoïtes (figure 7). Cette fertilisation débute par la pénétration des microgamètes dans les macrogamètes qui génère des zygotes. Ces derniers deviennent mobiles et s'allongent pour devenir des ookinètes puis envahissent la paroi du tube digestif où ils se développent en oocystes. Chaque oocyste formé se divise et se multiplie afin de libérer plusieurs milliers de sporozoïtes qui iront coloniser les glandes salivaires du moustique. C'est à partir de ce moment que le moustique est infectieux pour l'Homme. Tout nouveau repas sanguin chez l'hôte humain sera accompagné d'une libération de sécrétions salivaires contenant les sporozoïtes.

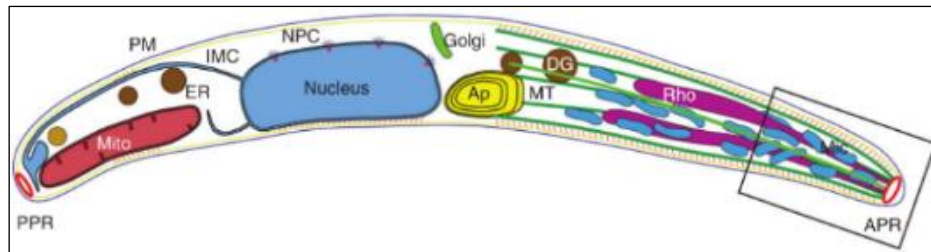


Figure 7 : structure du sporozoïte des parasites du genre *Plasmodium*. PPR : anneau polaire proximal, Mito : mitochondrie, PM : membrane plasmique (en bleu), ER : réticulum endoplasmique, IMC : complexe membranaire interne (en jaune), NPC : complexes des pores nucléaires, Ap : apicoplaste, MT : microtubules (en vert), DG : granules denses, Rho : rhoptries, Mic : micronèmes (en bleu), APR : anneau polaire apical.¹⁴

La destruction des globules rouges lors de la phase érythrocytaire est responsable des principaux symptômes du paludisme : la fièvre et l'anémie pouvant conduire au décès de l'hôte humain. C'est également lors de cette phase que la charge parasitaire est la plus importante¹⁵ (figure 8). Lors de cette phase la charge parasitaire est effectivement multipliée par 1 milliard par rapport à la charge initiale lors de la piqûre.

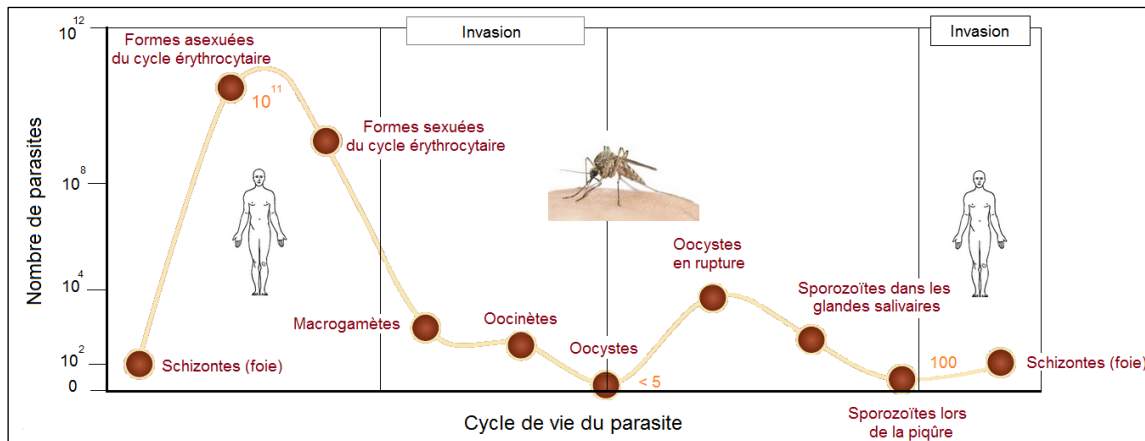


Figure 8 : évolution de la charge parasitaire au cours du cycle de vie de *Plasmodium*.¹⁵

II-3. Biochimie de *Plasmodium*

Plasmodium présente un taux de croissance et de multiplication rapide au cours des nombreuses étapes de son cycle de vie. Cela nécessite que le parasite, comme tous les autres organismes, acquière des nutriments et métabolise ces diverses molécules biologiques (le catabolisme) afin de survivre et de se reproduire (l'anabolisme).¹⁶ De toute évidence, le métabolisme du parasite est étroitement lié à celui de l'hôte en raison de la relation intime entre l'hôte et le parasite. À ce jour cette relation n'est pas encore bien comprise.

Le parasite du paludisme a besoin d'acides aminés pour la synthèse de ses protéines. L'hémoglobine est une protéine extrêmement abondante dans le cytoplasme érythrocytaire et sert de principale source d'acides aminés pour le parasite (tableau 2). L'hémoglobine est décomposée en peptides et acides aminés dans un compartiment vacuolaire connu sous le nom de vacuole digestive.^{16,17}

Statistiques d'hémoglobine
<ul style="list-style-type: none"> • 95% de la protéine érythrocytaire totale est constitué de Hb • la concentration intracellulaire de Hb est de 5 mM (> 300 mg / ml) • 60 à 80% de l'Hb est dégradée par le parasite • à 20% de parasitémie (quantité d'un parasite présent dans le sang humain), 110 g d'Hb sont consommés pendant 48 h

Tableau 2 : les statistiques de l'hémoglobine Hb lors du cycle de *Plasmodium*.¹⁶

L'ingestion du cytoplasme de l'hôte conduit à un déversement d'hémoglobine. Au stade anneau jeune, le parasite subit une transformation morphologique profonde qui lui permet d'« engoutir » une part importante du cytoplasme du globule rouge résultant en des vésicules à double membrane. C'est la première étape de formation du compartiment de digestion du parasite appelée vacuole digestive. La seconde étape a lieu au stade trophozoïte : au fur et à mesure que le parasite mûrit, il développe un organe spécial, appelé cytostome, au niveau de la surface du parasite. Finalement les vésicules et les cytostomes fusionnent pour former la vacuole alimentaire afin de déverser l'hémoglobine.¹⁶

La vacuole digestive est une organelle centrale dans le métabolisme du parasite : c'est le site de digestion de l'hémoglobine et de détoxification de l'hème. Elle est caractérisée par un pH acide de 4,5–5,5 et par la présence de diverses enzymes protéolytiques.

L'hémoglobine (figure 9) est constituée de quatre chaînes de globine identiques deux à deux (chaînes α avec 141 acides aminés et chaînes β avec 146 acides aminés). Chacune de ces chaînes est associée à un groupement prosthétique appelé hème. L'hème est constitué de fer au centre d'un dérivé tétrapyrrolique cyclique appelé la porphyrine.

Le catabolisme de l'hémoglobine, c'est-à-dire la digestion des chaînes de globine, est en cours d'étude. Un scénario probable (figure 10) consiste en des actions concertées des plasmepsines, des falcipaines et de la falcilysine conduisant à la production de petits peptides. Les petits peptides sont ensuite convertis en acides aminés. Certains petits peptides, dipeptides et acides aminés sont convertis dans le cytoplasme parasitaire en utilisant un gradient de protons électrochimique. D'autres peptides et di-peptides sont convertis en acides aminés dans le cytoplasme par action d'amino-peptidases (*PfAPP*, *PfDPAP1*, *PfM1AAP*, *PfM17LAP*, et *PfM18AAP*).¹⁷

La digestion de l'hémoglobine (Hb) libère de l'hème (structure figure 9).¹⁸ Le rôle de la dégradation de l'hème chez *Plasmodium* est encore actuellement sujet à controverse.¹⁹ L'hème libre est toxique en raison de sa capacité à déstabiliser et à lyser les membranes, et parce qu'il inhibe l'activité de plusieurs enzymes.

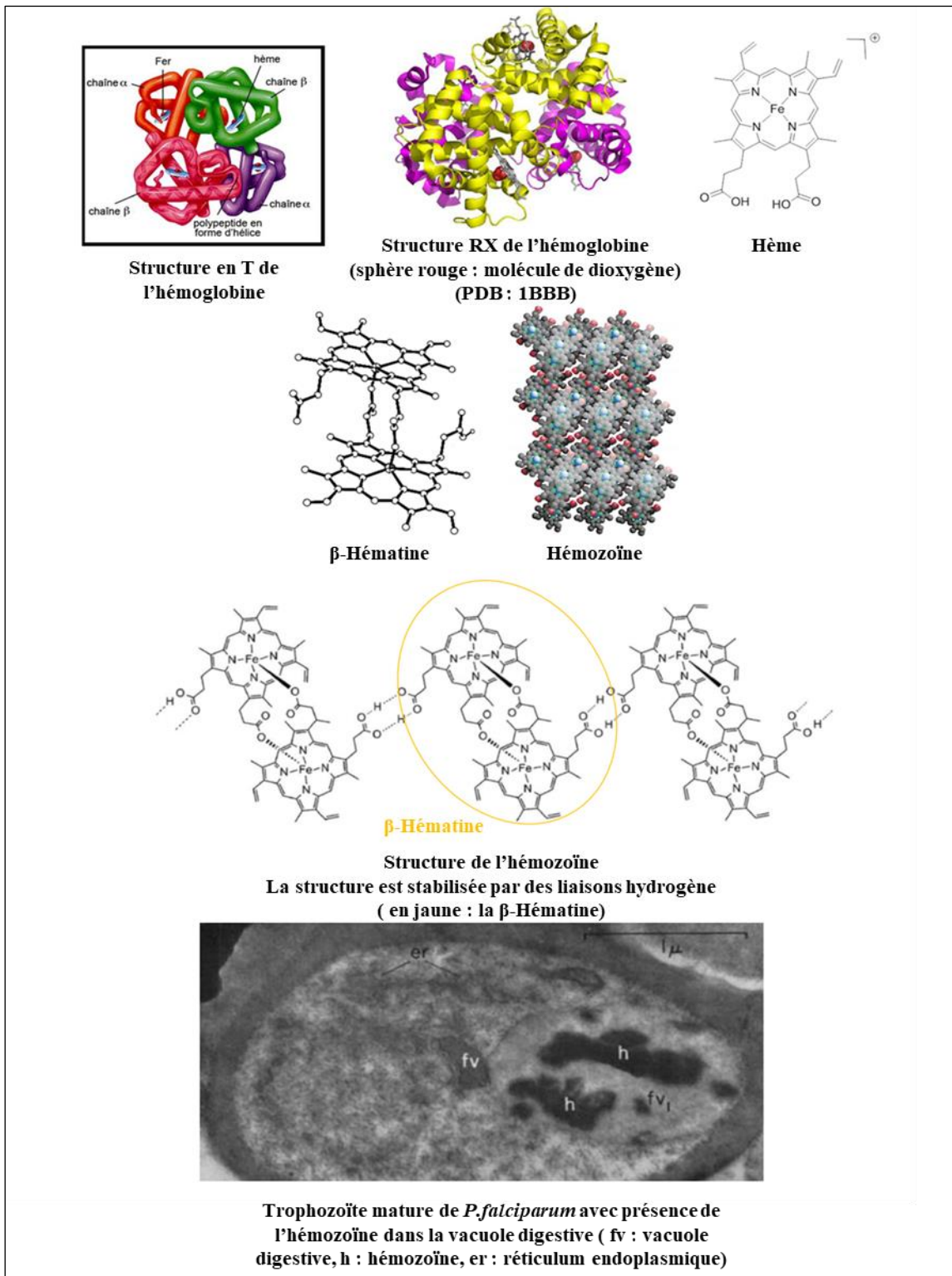


Figure 9 : structure de l'hémoglobine, l'hème, la β -hématine et l'hémozoïne. Image d'un trophozoïte de *P.falciparum* dans la vacuole digestive.

Quatre mécanismes par lesquels l'hème est détoxifié ont été identifiés (figure 10). Le premier mécanisme consiste en la formation de l'hémozoïne. Les autres mécanismes consistent en la dégradation de l'hème libre en métabolites non toxiques.

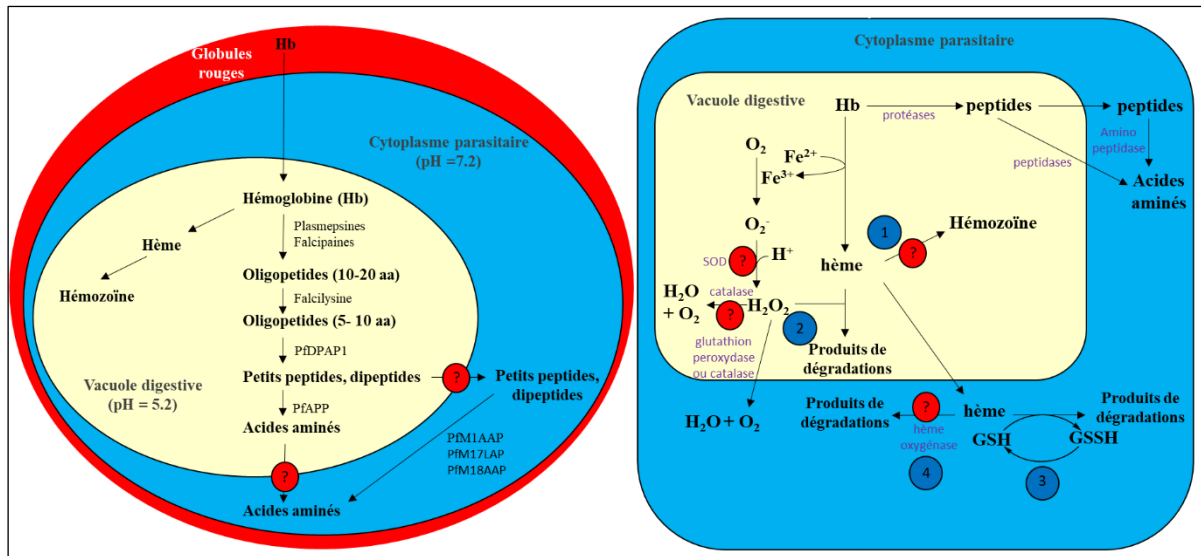


Figure 10 : le catabolisme de l'hémoglobine (à gauche) et détoxification de l'hème (à droite).¹⁶ La dégradation de l'hémoglobine implique le clivage initial par les plasmepsines et les falcipains en gros fragments puis en plus petits par la falcilysine. La dipeptidyl aminopeptidase 1 (*PfDPAP1*) peut libérer des dipeptides à partir de ces oligopeptides. Certains des petits peptides générés peuvent être transportés hors de la vacuole digestive vers le cytosol du parasite par un transporteur inconnu. Le clivage en acides aminés peut se produire dans la vacuole digestive par l'aminopeptidase acide P (*PfAPP*) et dans le cytosol par les aminopeptidases *PfM1AAP* (aminopeptidases M1 alanyl aminopeptidase), *PfM17LAP* (M17 leucine aminopeptidase) et *PfM18AAP* (aminopeptidases M18 alanyl aminopeptidase).

- Mécanisme ① :

Formation d'hémozoïne.²⁰ La cristallographie aux rayons X et l'analyse spectroscopique indiquent que l'hémozoïne a la même structure que la β -hématine (figure 9).²¹ La β -hématine est un dimère d'hème formé par des liaisons covalentes réciproques entre les groupes d'acide carboxylique sur le cycle de la porphyrine et les atomes de fer de deux molécules d'hème (figure 9). Ces dimères interagissent par le biais de liaisons hydrogène pour former des cristaux d'hémozoïne (figure 9). L'hémozoïne est aussi appelé pigment paludéen car sa couleur brunoire caractérise le sang des patients infectés par *Plasmodium*. Le mécanisme de la formation d'hémozoïne n'est pas connu. La formation des pigments est décrite comme un processus de biocristallisation.^{22,23}

- Mécanisme 2 :

Dégradation facilitée par le peroxyde d'hydrogène présent dans la vacuole alimentaire. La présence de peroxyde d'hydrogène dans la vacuole alimentaire s'explique par la libération de l'hème. Le fer lié à l'hémoglobine qui est principalement à l'état ferreux (Fe^{2+}) va être oxydé à l'état ferrique (Fe^{3+}) lors de la libération de l'hème. Les électrons libérés par cette oxydation du fer favorisent la formation de radicaux oxygénés tels que les radicaux anions superoxydes et le peroxyde d'hydrogène. La superoxyde dismutase (SOD) et la catalase sont des enzymes cellulaires qui fonctionnent pour prévenir le stress oxydatif en détoxifiant respectivement le superoxyde et le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. Ces deux activités se retrouvent dans la vacuole alimentaire. Le peroxyde d'hydrogène peut également être exporté dans le cytoplasme parasitaire où il est détoxifié par la catalase et la glutathion peroxydase. Une partie du peroxyde d'hydrogène produit à la suite de la conversion Fe^{2+} en Fe^{3+} peut également être utilisée lors de la dégradation de l'hème.

- Mécanisme 3 :

Dégradation dépendante du glutathion (GSH : forme réduite ou GSSH : forme oxydée) qui se produit dans le cytoplasme du parasite. Une partie de l'hème se déplace à travers la membrane de la vacuole alimentaire dans le cytoplasme de l'hôte où elle est oxydée par du glutathion réduit (GSH).¹⁶

- Mécanisme 4 :

L'hème oxygénase qui a été trouvée chez *P. berghei* et *P. knowlesi* mais pas chez *P. falciparum*. Le rôle de l'hème oxygénase dans la dégradation de l'hème n'est pas connu.¹⁶

La voie de formation de l'hémozoïne et les voies de dégradation fonctionnent probablement simultanément, 25 à 50% de l'hème libre étant converti en hémozoïne et le reste étant dégradé. Certaines études suggèrent également que jusqu'à 95% du fer libre libéré lors de la digestion par l'hémoglobine se trouvent dans l'hémozoïne.¹⁶

La présence du pigment paludéen dans la vacuole digestive marque la transition entre les stades anneau et trophozoïte. Ce pigment est visible au stade trophozoïte et persiste jusqu'à la rupture des schizontes qui relarguent des mérozoïtes fils, l'hémozoïne accumulée et les autres produits de dégradation.¹⁶

II-4. Pathogenèse de *P.falciparum*

P.falciparum est, comme expliqué précédemment, l'une des plus dangereuses espèces de *Plasmodium* qui infectent l'Homme. Il est donc important d'étudier sa pathogenèse (processus responsable du déclenchement et du développement d'une maladie).

L'hémozoïne et d'autres déchets parasitaires sont continuellement libérés lors de la digestion de l'hémoglobine (voir II-3). Ce phénomène active le système immunitaire de l'hôte et provoque des réponses pro- et anti-inflammatoires^{24,25}, causant fièvre et autres effets pathologiques.

Le système immunitaire est donc mis à rude épreuve ce qui explique que les enfants et toutes personnes n'ayant pas l'habitude d'être face à ces épreuves (voyageurs, expatriés,...) constituent les populations les plus à risque de contracter la maladie.

La cytoadhésion du parasite et la variation antigénique jouent également un rôle important en ce qui concerne la pathogenèse de *P.falciparum*.^{26,27} PfEMP1 (*P. falciparum* Erythrocyte Membrane Protein 1)^{28,27} semble être le principal ligand adhésif des globules rouges infectés. Cette protéine d'adhésion permet la cytoadhésion qui correspond à l'adhérence des globules rouges infectés par des parasites *Plasmodium* matures sur des cellules endothéliales. Les érythrocytes infectés adhèrent à la paroi des vaisseaux sanguins ou à des érythrocytes non-infectés. Les globules rouges infectés par *P. falciparum* peuvent être séquestrés dans les petits vaisseaux sanguins grâce à une combinaison d'adhésion directe aux cellules endothéliales afin de former des rosettes ou des agglutinats comprenant globules rouges infectés et non infectés. La séquestration qui en résulte peut obstruer la circulation sanguine dans les vaisseaux déclenchant des réponses inflammatoires et des perturbations métaboliques (figure 11).

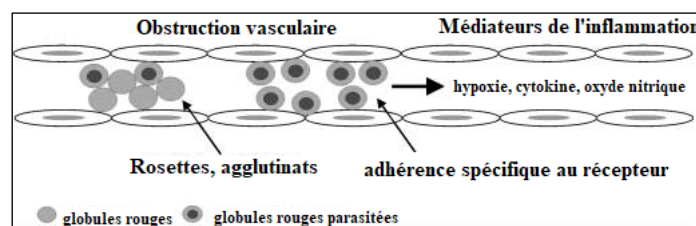


Figure 11 : modèle proposé du mécanisme impliquant la pathogenèse des syndromes paludéens sévères.²⁶

PfEMP1 est codé par les gènes var.²⁷ Il existe environ 60 gènes var dont un seul s'exprime dans la plupart des cas. Ce gène contribue à l'évolution génétique du parasite et conduit à une variation antigénique constante qui permet au parasite d'échapper au système immunitaire de l'hôte et donne le temps au parasite de se développer jusqu'au stade sexué.

Pour résumer, la cytoadhésion favorise la séquestration des globules rouges infectés par les parasites matures dans les organes vitaux (le foie, la rate et en particulier le cerveau)^{29,30} induisant le paludisme sévère³¹, ou chez la femme enceinte le paludisme gestationnel.

Les femmes enceintes sont toutefois plus susceptibles de contracter des formes graves de paludisme. Il semble donc important d'expliquer l'origine du paludisme gestationnel (figure 12).³²

Le paludisme gestationnel est une forme particulière de paludisme de la femme enceinte rencontré uniquement dans les zones endémiques. On constate, en effet, que la grossesse induit la perte de l'immunité acquise d'une femme vivant dans une zone endémique. Les globules rouges infectés sont retenus par le placenta, ce qui explique les complications que peuvent rencontrer les femmes enceintes.

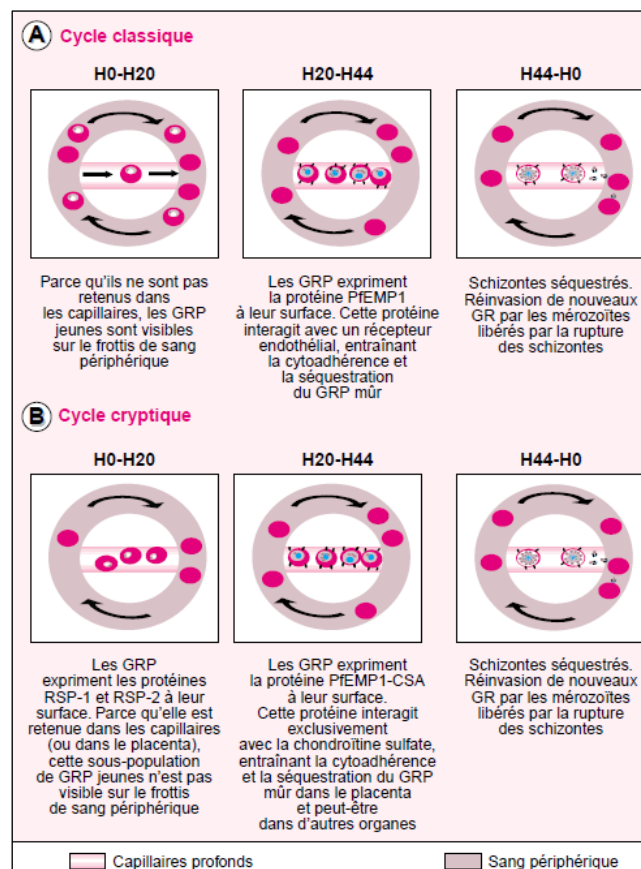


Figure 12 : chronologie de la séquestration A/ d'un cycle normale de *P.falciparum* B/ d'un de *P.falciparum* chez une femme enceinte. GRP : globules rouges parasités. CSA : chondroïtine sulfate A.³²

III- Lutte antipaludique et problèmes de résistances

III-1. Vaccin

Jusqu'à cette année, il n'existait malheureusement aucun vaccin recommandé. Récemment, un évènement historique paraît très encourageant : depuis le 6 octobre 2021 l'OMS recommande le déploiement du premier vaccin antipaludique chez les enfants vivant dans les zones endémique du paludisme.^{33,34} La complexité du cycle de vie du parasite et le niveau élevé de la diversité génétique de *Plasmodium* induisent une difficulté de développement d'un vaccin. En effet de nombreux gènes codent pour les protéines produites par les différentes espèces de *Plasmodium*. Les gènes se présentent sous diverses formes, ou allèles et différentes souches du parasite expriment différentes formes de protéines. Un vaccin efficace doit pouvoir avoir une réponse contre un maximum de variants polymorphiques ce qui explique la difficulté de concevoir un vaccin contre le paludisme. De plus, à ce jour, l'étude de *Plasmodium* n'a pas encore permis de bien comprendre la corrélation immunologique de protection contre cette maladie et les infections qu'elle induit.³⁵

Il existe plusieurs types de vaccins en cours d'étude (figure 13)^{35,36} : les vaccins pré-érythrocytaires, les vaccins érythrocytaires, les vaccins bloquant la transmission, les vaccins contre le paludisme associé à la grossesse, les vaccins multi-étapes ou multi-antigènes et les vaccins pour l'organisme entier.

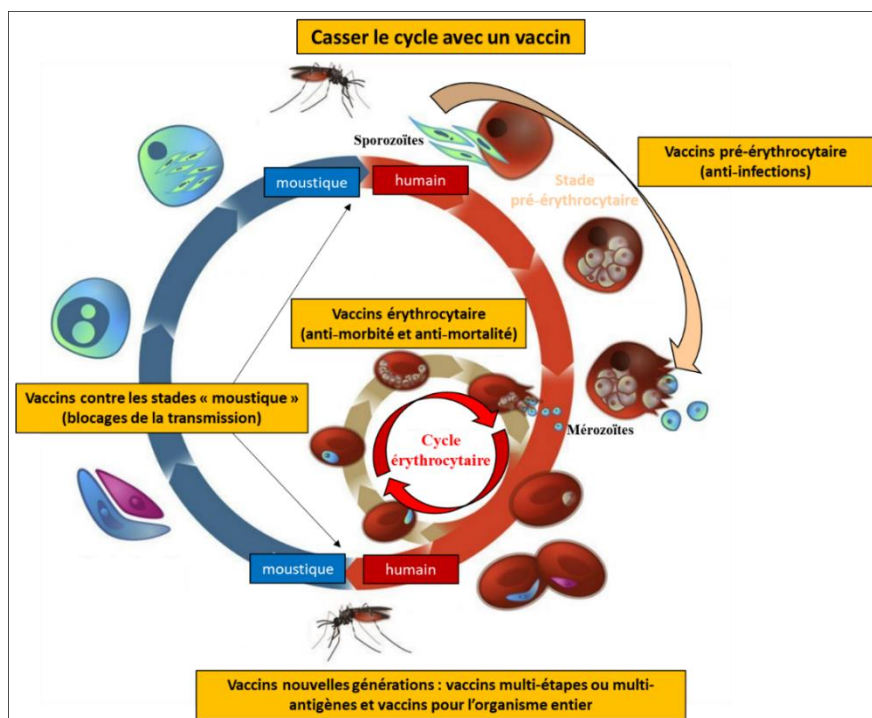


Figure 13 : les différents types de vaccins.^{35,36}

- Les vaccins pré-érythrocytaires :

Un vaccin pré-érythrocytaire très efficace contre *P. falciparum* permettrait d'arrêter l'invasion des hépatocytes par les sporozoïtes infectieux. L'immunité induite par le vaccin devrait idéalement agir rapidement et efficacement pour contrecarrer les sporozoïtes, juste après leurs injections dans le derme (pendant le repas de sang), soit avant le passage au foie soit après afin d'empêcher la maturation et la multiplication de parasite dans le foie (pour ainsi arrêter l'infection). La prévention de l'invasion des hépatocytes est complexe et partiellement comprise. Une activité pré-érythrocytaire efficace peut être obtenue via des cellules spécifiques de *Plasmodium* qui ciblent les antigènes (glossaire p 238) du stade hépatique afin de procurer une immunité.

Le vaccin candidat le plus avancé est RTS,S/AS01 (Mosquirix).³⁷ Après des essais cliniques de phase 3, il a été établi que ce vaccin avait une efficacité contre *P. falciparum* et présentait un niveau de risque plutôt acceptable. On constate que son efficacité est modeste mais qu'il offre des avantages importants pour la santé publique.³⁸ C'est ce vaccin qui le 6 octobre 2021 est devenu le premier vaccin recommandé par l'OMS pour la prévention de *P. falciparum* chez les enfants vivant dans les régions les plus à risques de contracter la maladie.^{33,34}

- Les vaccins érythrocytaires :

Ce type de vaccins cible le parasite à son stade le plus destructeur. En effet ces vaccins ne bloquent pas l'infection mais ont pour but de diminuer la quantité de parasites dans le sang et donc de réduire la sévérité de la maladie. Il est prouvé que les personnes qui ont survécu à une exposition régulière au paludisme développent une immunité naturelle avec le temps. Le but d'un tel vaccin est de cibler des antigènes ou des protéines présentes à la surface des mérozoïtes ou des globules rouges infectés afin de permettre au corps de développer une immunité naturelle avec beaucoup moins de risque de contracter la maladie.

Plusieurs cibles antigéniques ou protéiniques sont de bons candidats pour le développement de ce type de vaccin ³⁵ : l'homologue 5 de la protéine de liaison aux réticulocytes RH5, une partie d'une protéine exportée par les trophozoïtes P27A, les protéines de surface des mérozoïtes 1, 2 et 3 (MSP1, MSP2 et MSP3), l'antigène à répétition sérine SERA, l'antigène de liaison aux érythrocytes EBA, l'antigène de surface érythrocytaire infecté par un anneau RESA, la protéine riche en glutamate GLURP et l'antigène membranaire apicale 1 AMA1.

- Les vaccins bloquant la transmission :

Ces vaccins cherchent à interrompre le cycle de vie du parasite en empêchant le parasite de mûrir dans le moustique après la prise d'un repas sanguin chez une personne vaccinée. Ils visent les gamétocytes produits chez l'Homme et ingérés par le moustique ainsi que différents antigènes présents au stade sexué du moustique. Ce type de vaccin n'a pas d'effets directs et immédiats sur la personne vaccinée mais a un effet à long terme ce qui est d'une très grande importance pour atteindre le but ultime de cette lutte : l'éradication du paludisme.

Plusieurs antigènes sont des cibles candidats au vaccin bloquant la transmission de *P. falciparum* : les protéines de pré-fertilisation *Pfs48 / 45* et *Pfs230* exprimées à la surface du parasite au stade gamétocytes chez l'Homme et les protéines de post-fertilisation *Pfs25* et *Pfs28* exprimées dans l'intestin des moustiques à la surface des zygotes et des ookinètes.³⁵

- Les vaccins contre le paludisme associé à la grossesse :

Pour rappel, *PfEMP1* est la principale protéine qui permet la cytoadhésion : phénomène engendrant la séquestration des globules rouges infectés par les parasites matures dans des organes vitaux induisant chez la femme enceinte le paludisme gestationnel. *PfEMP1* est codé chez la femme enceinte par le gène *VAR2CSA*. Deux vaccins candidats ciblant *VAR2CSA* sont en cours d'essais cliniques.^{35,39}

- Les vaccins multi-étapes ou multi-antigènes :

Le concept d'un vaccin antipaludique multivalent est de cibler différentes protéines parasitaires et des stades du cycle de vie potentiellement différents.³⁵ L'avantage d'un tel vaccin est que les réponses immunitaires à différents stades seraient actives pour garantir que les parasites, qui ne sont pas complètement arrêtés à un stade seraient ciblés à un stade ultérieur. Certains vaccins candidats contre le paludisme en cours de développement ciblent deux antigènes du même stade du cycle de vie ce qui permet de mieux lutter contre la diversité du parasite mais peu de vaccin ciblent plusieurs stades dans une même formulation.

Le vaccin le plus avancé de ce type est *GMZ2*^{40,41}, il a été développé dans le but de cibler deux antigènes au stade sanguin : *MSP3* et *GLURP*. Ce vaccin a démontré un profil de sécurité acceptable et une immunogénicité significative chez les adultes et les enfants exposés au paludisme.

- Les vaccins à partir d'organisme entier appelés également vaccins vivants atténués :

Cette approche est l'approche conventionnelle du développement de vaccins pour les maladies infectieuses qui repose sur l'inactivation ou l'atténuation de l'organisme entier du parasite. Pour le paludisme, cependant, des vaccins contre l'organisme entier ont longtemps été considérés comme inconcevables en raison du cycle de vie complexe du parasite ainsi que des problèmes logistiques liés à la fabrication. En effet les premières tentatives de mise au point d'un vaccin antipaludique efficace remontent aux années 1930. Lors des premières tentatives de mise au point d'un vaccin antipaludique, les chercheurs s'intéressaient à des parasites inactivés ou tués afin de les utiliser en présence d'adjuvants et ainsi conférer une immunité. Ce type de vaccin considéré comme inconcevable pendant des années est en cours de résurgence.

Il a été démontré que l'utilisation des sporozoïtes atténués par irradiation⁴² ou génétiquement atténués⁴³ entraînait une immunité stérile, une certaine immunisation et une diminution de la parasitémie.

Le candidat le plus avancé de ce type est *PfSPZ Vaccine*^{35,44,45,46} : il est composé de sporozoïtes *P. falciparum* vivants non réplicatifs irradiés et cryoconservés dans de l'azote liquide et administré par injection intraveineuse directe. C'est à ce jour le vaccin le plus prometteur, le premier vaccin contre le paludisme qui ait démontré une immunité stérilisante (glossaire p 238).⁴⁷

Le développement d'un vaccin est l'un des plus gros enjeux à ce jour pour éradiquer le paludisme : les vaccins multi-étapes ou multi-antigènes très difficiles à concevoir restent un défi majeur. De même, les vaccins à partir d'organisme entier en cours de résurgence sont très prometteurs du fait que les problèmes logistiques et les difficultés de fabrication observées par le passé posent moins de problèmes actuellement.

III-2. Lutte anti-vectorielle

III-2.1 Présentation générale

La lutte anti-vectorielle est le principal moyen de prévenir et de réduire la transmission du paludisme.⁴⁸ En effet les insecticides peuvent permettre d'interrompre la transmission de la maladie en supprimant le vecteur *Anopheles*. Cette lutte repose sur deux mesures : les moustiquaires à imprégnation durable (MID) et la pulvérisation d'insecticide à effet rémanent à l'intérieur des habitations (PIH).

Différentes classes d'insecticides peuvent être utilisées⁴⁸ par ces deux mesures : les pyréthrinoïdes (et des dérivés comme l'éthofenprox), les organochlorés, les organophosphorés et les carbamates (figure 14). Plus récemment une autre classe d'insecticides a été identifiée pour la lutte antipaludique : les néonicotinoïdes (plus particulièrement la clothianidine).^{49, 50,51} Ces 5 classes sont préconisées par l'OMS, les pyréthrinoïdes ont longtemps été d'avantage recommandés mais, depuis l'apparition de moustiques *Anopheles* résistants, ceux-ci ne sont pas plus indiqués que les autres.

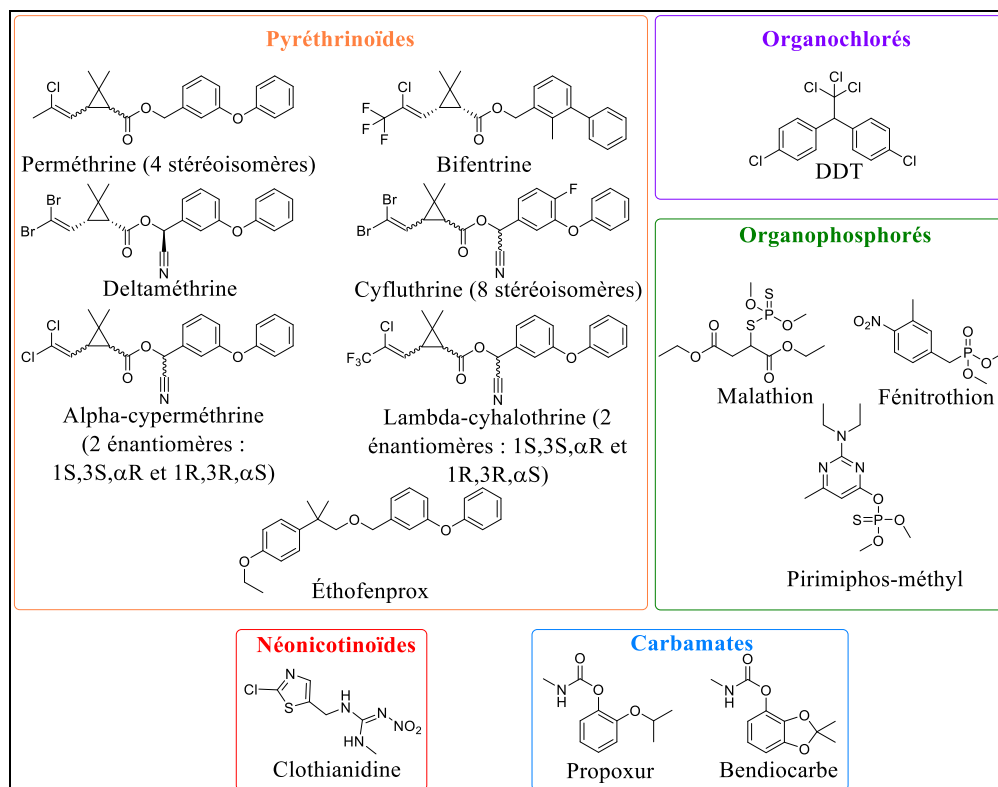


Figure 14 : structures des insecticides recommandés par l'OMS en 2018.⁵²

Les moustiquaires imprégnées d'insecticides (figure 15) permettent de réduire les contacts entre le moustique vecteur et l'homme, d'une part grâce à l'obstacle matériel qu'elles constituent, et d'autre part grâce à l'effet de l'insecticide. Cette protection accessible et répandue permet de tuer un grand nombre de moustiques. En 2018, environ 50 % de la population exposée au risque de paludisme en Afrique était protégée par des moustiquaires imprégnées, contre 29 % en 2010. Ces moustiquaires sont généralement imprégnées de pyréthrinoïdes et plus particulièrement de perméthrine.



Figure 15 : moustiquaires imprégnées d'insecticides.

La pulvérisation à effet rémanent (figure 16) est un autre moyen très efficace de réduire rapidement la transmission du paludisme. Elle consiste à pulvériser l'intérieur des habitations une ou deux fois par an.



Figure 16 : la pulvérisation d'insecticides à effet rémanent à l'intérieur des habitations

III-2.2. Les différents modes d'action des insecticides

Les organophosphorés (comme le malathion et le parathion) et les carbamates (comme le bendiocarbe) bloquent la neurotransmission synaptique du moustique en inhibant l'action enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE).⁵³ Cette enzyme n'est alors plus apte à hydrolyser son substrat naturel, l'acétylcholine. L'acétylcholine s'accumule dans la jonction synaptique maintenant une transmission permanente de l'influx nerveux. Le retour à l'état dit de repos est alors perturbé ce qui conduit à la tétanie musculaire du moustique et à sa mort.

Les pyréthrinoïdes et la majorité des organochlorés (comme la DDT : dichlorodiphényltrichloroéthane) sont des produits neurotoxiques.⁵³ Ils ciblent les canaux sodiques voltage-dépendants. En effet les insecticides se fixent dans les canaux sodiques et les maintiennent dans un état d'ouverture prolongée néfaste. Un effet appelé « knock-down » est causé par les insecticides, il se définit par la perte de coordination et la paralysie du moustique, conduisant inévitablement à sa mort.

Les néonicotinoïdes, récemment mis à contribution dans la lutte anti-vectorielle de la malaria, ont tout d'abord été étudiés pour contrôler la résistance des pyréthrinoïdes au vecteur puis la chlothianidine (une néonicotinoïde) a été commercialisée en combinaison avec la deltaméthrine (une pyréthrinoïde) : Fludora™.^{50,51} La chlothianidine est également commercialisée sans combinaison avec d'autres insecticides : SumiShield®⁴⁹, et son efficacité a également été démontrée. Les néonicotinoïdes ont une action neurotoxique sur le récepteur nicotinique de l'acétylcholine (nAChRs). Leurs actions diffèrent de celles des organophosphorés et des carbamates qui eux inhibent l'acétylcholinestérase (AChE) mais le mécanisme qui s'en suit reste le même : l'acétylcholine s'accumule conduisant à la mort du moustique.

III-3. Les médicaments antipaludéens

III-3.1. Présentations des médicaments antipaludéens actuels

Différents médicaments antipaludéens permettent actuellement de diminuer le taux de mortalité^{54,55} en étant utilisés soit comme traitement préventif soit dans le but de guérir les personnes infectées.⁵⁶ Ils sont classés par famille (figure 17) : les dérivés quinoléines, les anti-folates, les naphtoquinones, certains dérivés d'alcool d'acide aminé et les dérivés d'artémisinine. Certains antibiotiques ont aussi des propriétés antipaludéennes.

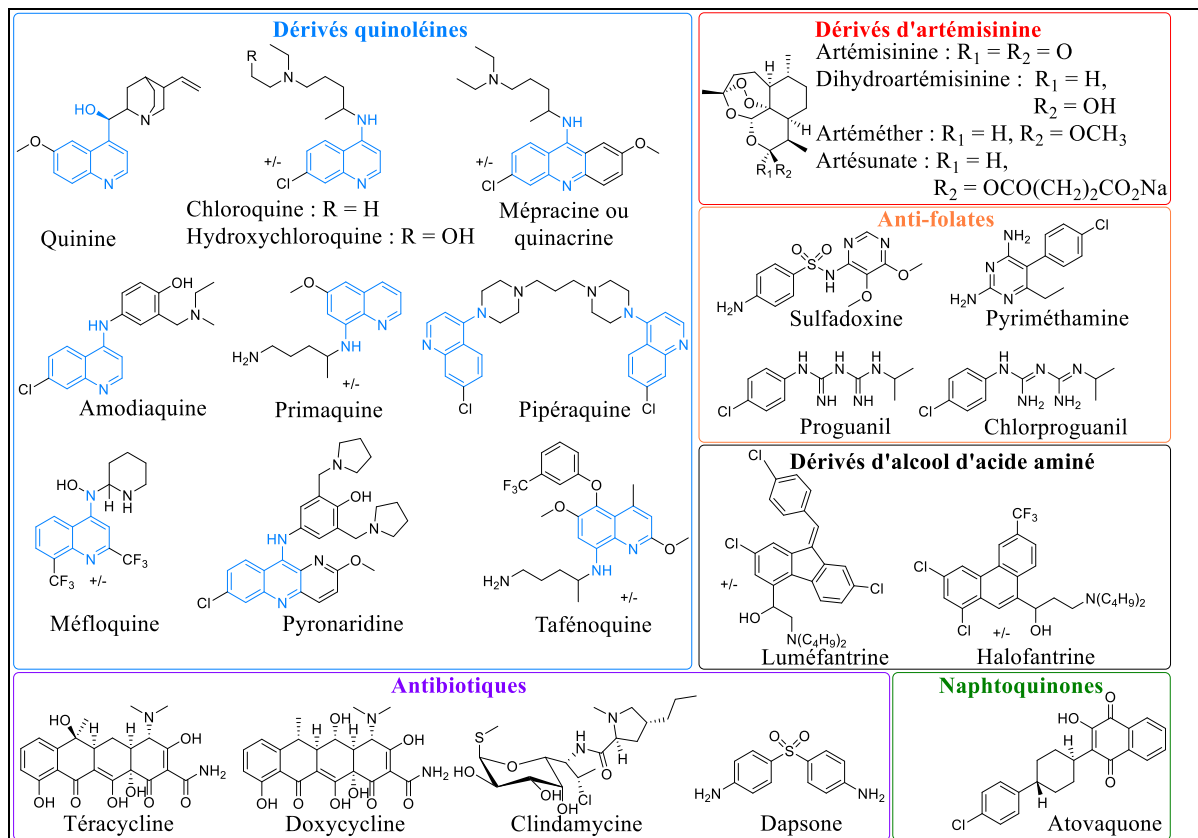


Figure 17 : principales molécules antipaludéennes.

Avant toute prescription de traitement tous les patients suspectés de paludisme doivent être testés sur la base d'un diagnostic confirmé par examen microscopique ou d'un test TDR (test diagnostique rapide) d'un échantillon de sang. Un diagnostic correct dans les zones d'endémie palustre est particulièrement important pour les groupes de population les plus vulnérables. L'OMS préconise fortement une politique de « tester, traiter et suivre » pour améliorer la qualité des soins et de la surveillance.

Il n'existe pas partout des services de microscopie de grande qualité pour le diagnostic du paludisme, notamment dans les zones endémiques les plus à risque. En effet dans ces zones parfois précaires la mise en œuvre de ce type de services est compliquée. C'est pour cela qu'au début des années 90 un test immunochromatographique simple (appelé TDR) permettant de détecter la présence des antigènes plasmodiaux dans un échantillon de sang a constitué un grand progrès.⁵⁶ Depuis 2008, plus de 290 produits ont été évalués dans le cadre du programme de l'OMS visant à concevoir un dépistage type TDR du paludisme. Le test BinaxNOW® (figure 18) est l'un des tests TDR approuvés et commercialisés actuellement : il permet de détecter l'infection monospécifique à *P. falciparum*, l'infection mixte à *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale* ou l'infection mixte à *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*.

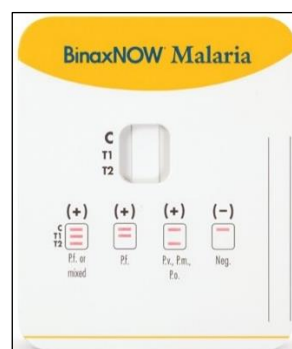


Figure 18 : le test BinaxNOW®

Le traitement d'un patient atteint de paludisme dépend des directives nationales du pays, qui prennent généralement en compte les éléments suivants⁵⁷ :

- Espèce du parasite infectant
- Grossesse
- Les problèmes de santé et les médicaments pris par le patient
- La zone où le patient a été infecté et la présence d'une résistance aux antipaludiques dans cette zone.

Les patients atteints de paludisme « simple » ne sont pas obligatoirement hospitalisés contrairement aux patients atteints de paludisme « sévère » qui eux le sont.

L'OMS préconise différents traitements par pays et par région d'infection, le programme mondial de lutte antipaludique tient une liste des médicaments antipaludiques qui ont été adoptés comme traitement de première intention dans les pays d'endémie palustre. Cette liste exhaustive est mise à jour régulièrement.⁵⁸

La plupart des médicaments recommandés pour le traitement des cas de paludisme non compliqués est actif contre les formes parasitaires dans le sang.⁵⁷ La liste des médicaments les plus couramment recommandés pour les cas de paludisme simple approuvés par l'OMS est la suivante :

- Différentes CTA (Combinaisons Thérapeutiques à bases d'Artémisinine), les plus courantes : Artéméther-luméfantrine, artésunate-amodiaquine
- Chloroquine dans les zones non confrontées aux résistances
- Doxycycline
- Méfloquine dans les zones non confrontées aux résistances
- Quinine
- Primaquine (pour *P. vivax* et *P. ovale*)

Les patients atteints par *P. falciparum* « sévère » ou qui ne peuvent pas prendre de médicaments par voie orale doivent recevoir un traitement par perfusion continue à l'hôpital pendant au moins 24h⁵⁹: l'OMS recommande l'artésunate ou si elle n'est pas disponible l'artéméther. Ces deux dérivés d'artémisinine ne doivent pas être utilisés en monothérapie mais en CTA avec un autre antipaludique. Les traitements intraveineux doivent être suivis d'une cure de médicaments antipaludiques oraux : généralement une thérapie combinée à base d'artémisinine (CTA) est utilisée ou, s'il y a des problèmes de disponibilité, des combinaisons quinine/doxycycline ou quinine/clindamycine peuvent être utilisées.

Il existe également différents types de traitement de prévention pour voyager dans les zones endémiques du paludisme^{60,61} (tableau 3) mais les voyageurs doivent savoir que la protection contre les piqûres de moustiques (moustiquaires imprégnées d'insecticide, les sprays d'insecticides, ...) est leur première ligne de défense et doivent donc se procurer le matériel pour se protéger durant le voyage.

Médicaments	Dose	Durée du traitement
Chloroquine	Adultes : un comprimé à 100 mg/jour (ou un comprimé à 300 mg deux fois par semaine) Enfants : 1,5 mg/kg/jour	À commencer le jour de départ puis pris tous les jours pendant le séjour et pendant 4 semaines après le retour
Méfloquine	Pour les personnes $m \geq 45$ kg : un comprimé à 250 mg par semaine Pour les enfants : 5-14 kg : 5 mg/kg/semaine (1/8 comprimé) 15-19 kg : 62,5 mg/semaine (1/4 comprimé) 20-29 kg : 125 mg/semaine (1/2 comprimé) 30 à 45 kg : 187,5 mg/semaine (3/4 comprimé)	1 ^{ère} prise 10 jours avant le départ (pour tester la tolérance) puis tout au long du séjour et pendant 3 semaines après le retour
Atovaquone/ proguanil Comprimé à 250/100 mg (adultes) Comprimé 62,5/25 mg (enfant)	Pour les personnes $m \geq 40$ kg : 1 comprimé pour adultes/jour Pour les enfants : 5 à 7 kg : 1/2 comprimé pour les enfants 8-10 kg : 3/4 comprimé pour les enfants 11-20 kg : 1 comprimé pour les enfants 21-30 kg : 2 comprimés pour enfants 31-40 kg : 3 comprimés pour les enfants	À commencer le jour de départ puis prendre tous les jours pendant le séjour et pendant 7 jours après retour
Doxycycline	100 mg/jour (adultes, enfants ≥ 40 kg) 50 mg/jour (enfants < 40 kg, ≥ 8 ans)	À commencer le jour de départ puis pris tous les jours pendant le séjour et pendant 4 semaines après le retour

Tableau 3 : les différents types de traitement de prévention pour voyager dans les zones endémiques.

Les traitements préventifs ou non doivent être choisis selon la zone endémique où le voyageur va se rendre ou alors où la personne a été infectée pour tenir compte des résistances que le parasite possède dans ces régions. Les phénomènes de résistances sont détaillés dans la partie IV de ce chapitre.

III-3.2 Les différents modes d'action des médicaments antipaludéens actuels

Les antipaludéens peuvent entrer dans diverses catégories selon leur mode d'action vis-à-vis des différents stades du cycle de vie du parasite (figure 19). Ainsi 4 catégories ont été différenciées :

- Les schizonticides tissulaires (appelés également schizonticides hépatiques) : agissent pendant la phase hépatique pour être utilisés en prophylaxie (glossaire p 238) afin de prévenir l'invasion sanguine des parasites.
- Les schizonticides sanguins (appelés également schizonticides érythrocytaires) : attaquent directement les schizontes lors du stade érythrocytaire empêchant ainsi l'infection des nouveaux globules rouges.
- Les gamétocytocides : détruisent les formes sexuées des parasites, capables d'assurer la transmission de l'infection au moustique, permettant ainsi son interruption.
- Les sporonticides : bloquent le cycle sporogonique chez le moustique

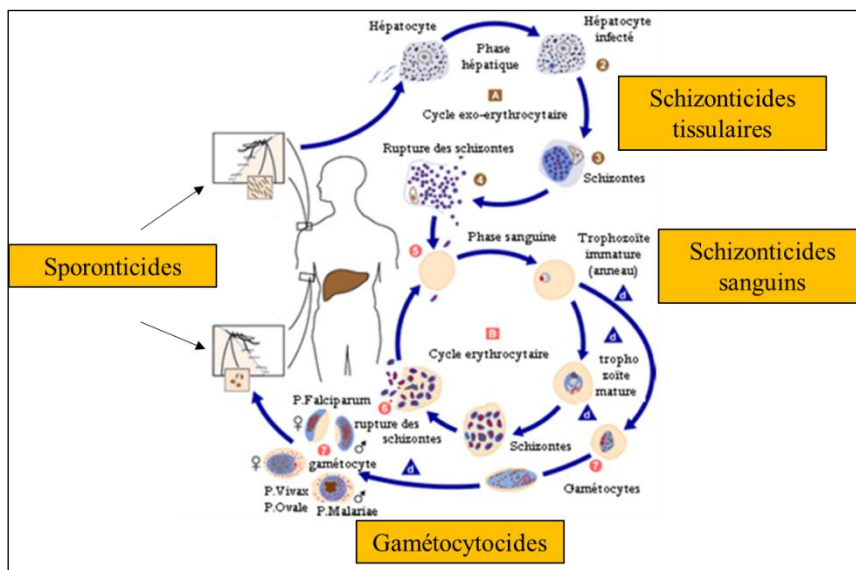


Figure 19 : stades du parasite ciblés par les antipaludéens actuels.

Les antipaludiques actuels sont tous des schizonticides et certains sont également des gamétocytocides et/ou des sporonticides. Les antipaludéens empêchant la rechute chez *P. vivax* et *P. ovale* entrent également dans la catégorie des hypnozoïcides.

La primaquine^{62,63} dont le mode d'action est sujet à controverse, tout comme son nouvel analogue commercialisé la tafénoquine, sont considérés comme schizonticides et gamétocytocides ; de plus ce sont des hypnozoïcides.^{64,65}

Les différents antipaludéens actuels sont également classés selon leur mode d'action dans les catégories suivantes⁶⁶ : les inhibiteurs de la cristallisation de l'hème, les inhibiteurs de la DHFR, les inhibiteurs de la DHPS, les inhibiteurs du transport d'électrons dans les mitochondries parasitées, les producteurs de radicaux libres, et les antibiotiques.

- Les inhibiteurs de la cristallisation de l'hème :

Les composés de cette catégorie possèdent soit un cycle 4-aminoquinoléine soit sont des dérivés d'alcool d'acides aminés. On retrouve dans cette catégorie les composés 4-aminoquinoléines suivant : la pipéraquline, l'amodiaquine, la chloroquine, l'hydroxychloroquine, la méprazine et la pyronaridine. On retrouve également les dérivés d'alcool d'acides aminés : la luméfantine et l'halofantine. La méfloquine et la quinine font aussi partie de cette catégorie : elles sont non seulement des dérivés d'alcool d'acides aminés mais possèdent également un cycle 4-aminoquinoléine.

Ces composés sont des schizonticides sanguins. Ils agissent en inhibant la cristallisation de l'hème en hémotoïne dans les globules rouges infectés lors de la phase érythrocytaire (figure 20).^{22,66,67} Ce phénomène conduit à l'accumulation de l'hème libre, toxique pour le parasite.⁶⁸ Ce type d'antipaludéen pénètre dans la vacuole digestive pour se lier à la ferriprotoporphyrine IX (dernier intermédiaire lors du processus de détoxification de l'hème) ou à l'hème afin de former un complexe. Ce phénomène conduit à l'accumulation de l'hème libre et des complexes formés toxiques pour le parasite.

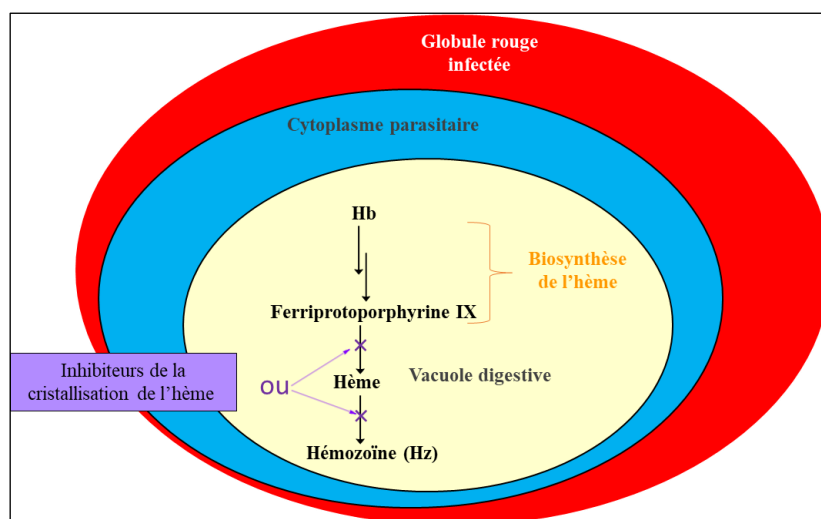


Figure 20 : mécanisme d'action des inhibiteurs de la cristallisation de l'hème en hémotoïne.²²

- Les inhibiteurs DHFR et les inhibiteurs DHPS :

Les inhibiteurs de la dihydrofolate réductase (DHFR) et les inhibiteurs de la dihydroptéroate synthase (DHPS) sont des antimétabolites^{69,70} (glossaire p 238) : ils agissent au niveau de la voie de synthèse des folates intervenant dans la synthèse de l'ADN (figure 21). Ce sont des schizonticides et des sporonticides. Les anti-folates sont des inhibiteurs de la DHFR (pyriméthamine, cycloguanil) ou des inhibiteurs de la DHPS (sulfadoxine). L'antibiotique, Dapsone, est également un inhibiteur de la DHPS.

La DHFR est une enzyme dont le rôle est de régénérer l'acide folique sous forme réduite nécessaire à la fois à *Plasmodium* et aux cellules humaines normales. Les antipaludiques inhibiteurs de la DHFR inhibent sélectivement la DHFR de *Plasmodium* pour ne pas avoir d'effets indésirable chez l'homme. Ils se fixent sur le site de l'enzyme et bloquent la synthèse des bases pyrimidiques puis de l'ADN d'où un arrêt de la croissance du parasite.^{71,72,73} La proguanil et la chlorproguanil sont des prodrogues qui se métabolisent en cycloguanil, un inhibiteur de la DHFR tout comme la pyriméthamine.⁷⁴

Les inhibiteurs de la DHPS sont des analogues structuraux de l'acide *p*-aminobenzoïque (PABA) : ils entrent en compétitions avec celui-ci et inhibent l'action de la DHPS de *Plasmodium*.^{69,73}

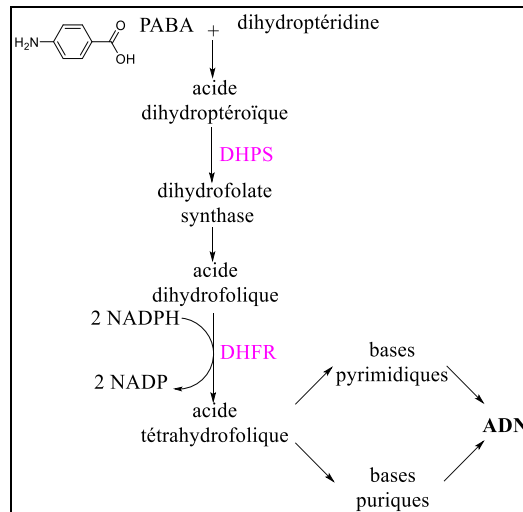


Figure 21 : rôles de la DHPS et de la DHPR dans la synthèse de l'ADN.

- Les inhibiteurs du transport d'électrons dans les mitochondries parasitées :

Les antipaludiques de ce type sont des schizonticides. Ce type d'inhibiteur est actuellement seulement représenté par l'atovaquone. C'est un analogue structural de l'ubiquinone (ou coenzyme Q) : acteur essentiel du transport d'électrons dans la chaîne respiratoire (figure 22). L'antipaludique va entrer en compétition avec la coenzyme Q et provoquer l'inhibition du transport d'électrons jusqu'au complexe III (appelé également le complexe Cytochrome bc₁).^{75,76} Cette inhibition provoque l'effondrement du potentiel de membrane de la mitochondrie, qui entraîne le blocage de la chaîne respiratoire du parasite ainsi que l'inhibition d'enzymes liées au transport d'électrons dans la mitochondrie. La sélectivité toxique de l'atovaquone pour la chaîne respiratoire du parasite est basée sur les différences de structure entre le coenzyme Q humain et parasitaire.

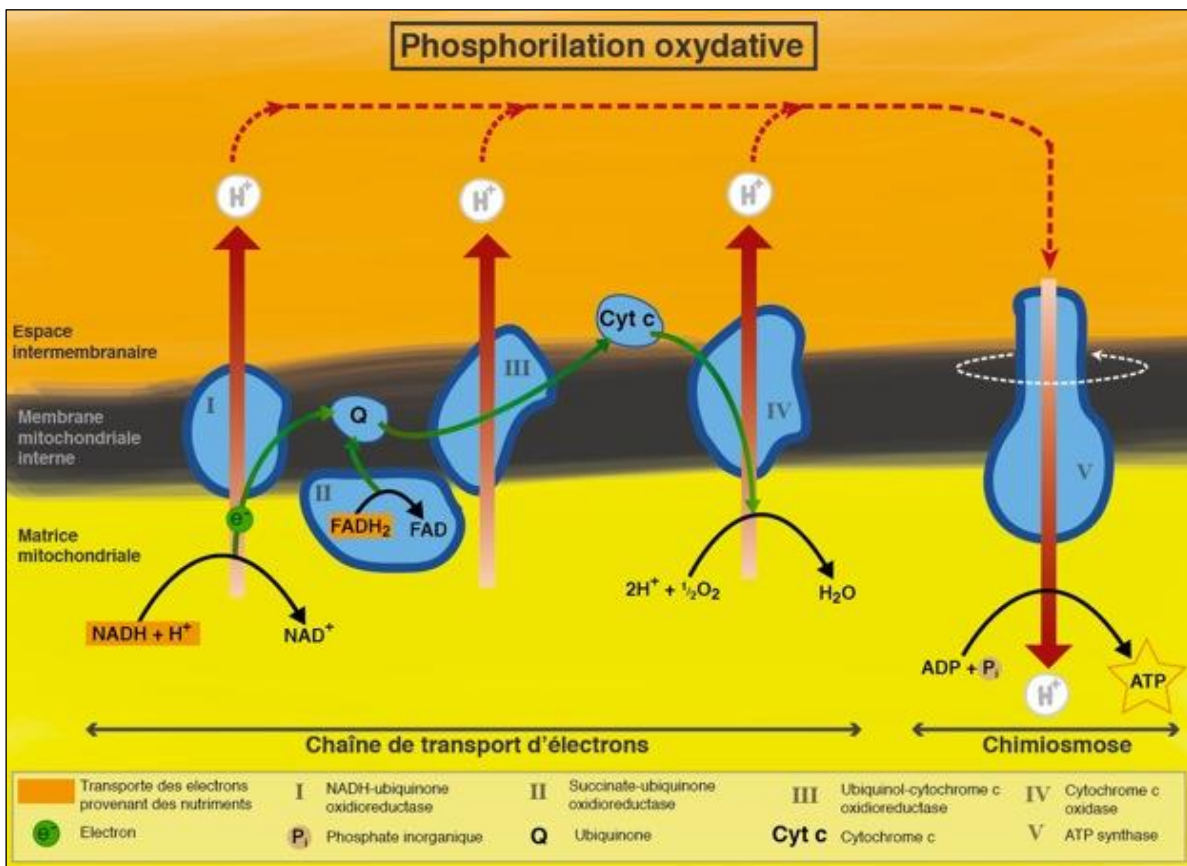


Figure 22 : le transport d'électrons dans les mitochondries.

- Les producteurs de radicaux libres :

Ce type d'antipaludiques concerne l'artémisinine et ses dérivés : ce sont des puissants schizonticides sanguins et des gamétocytocides.^{77,77,78,79}

Le mécanisme d'action de l'artémisinine et de ses dérivés fait toujours débat (récapitulatif des mécanismes d'action proposés figure 24) mais plusieurs éléments prouvent que les médicaments à base d'artémisinine exercent leur action antipaludique par formation d'espèces radicalaires via la rupture homolytique du pont endoperoxyde qui caractérise leur structure (figure 23).⁸⁰ Ces radicaux vont engendrer la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et l'alkylation de protéines induisant finalement la mort cellulaire du parasite. Les ions ferreux permettent la rupture homolytique mais la provenance de ces ions est sujette à débat.

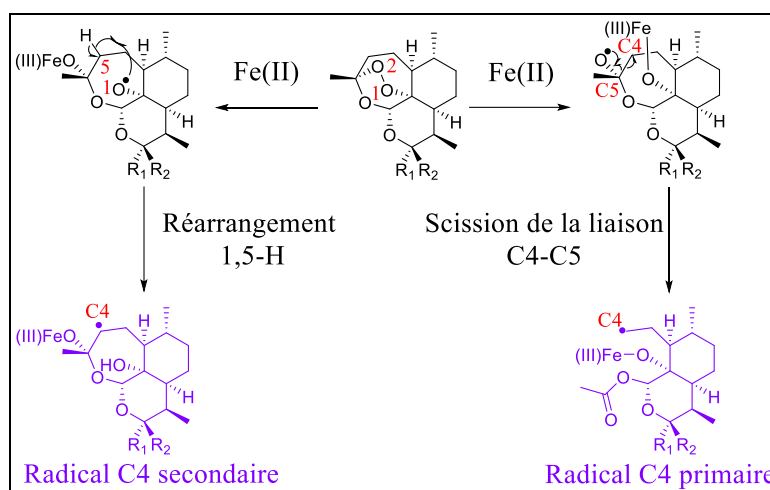


Figure 23 : activation des dérivés d'artémisines par les ions ferreux (forme activée en violet).

La première hypothèse proposée est que ce soit le fer de l'hème qui joue le rôle d'activateur de la rupture homolytique.^{81,82} En effet au stade où le parasite est situé à l'intérieur des globules rouges, lors du processus de détoxification de l'hème, des ions ferreux sont libérés. Ces ions catalysent le clivage du fragment peroxy pour former des radicaux. Une seconde hypothèse propose que cette activation soit engendrée par les ions ferreux libres du cytosol du parasite^{83,84}. Très certainement, le fer libre et le fer de l'hème agissent tous les deux dans l'activation de l'artémisinine. Un autre mécanisme propose que le fer contenu dans la mitochondrie ait comme rôle d'activer les dérivés d'artémisinine causant la production de ROS, entraînant la dépolarisation de la membrane mitochondriale et le dysfonctionnement de la mitochondrie.^{85,86}

Des études suggèrent également que l'artémisinine inhibe la pompe à calcium *Pf*ATP6 du réticulum endoplasmique. Cette protéine est une ATPase, et est impliquée dans la régulation de

l'homéostasie du calcium dans le parasite, essentielle à la survie de *Plasmodium*.^{87,88} Les ATPases sont des cibles actuellement très étudiées (chapitre 2).

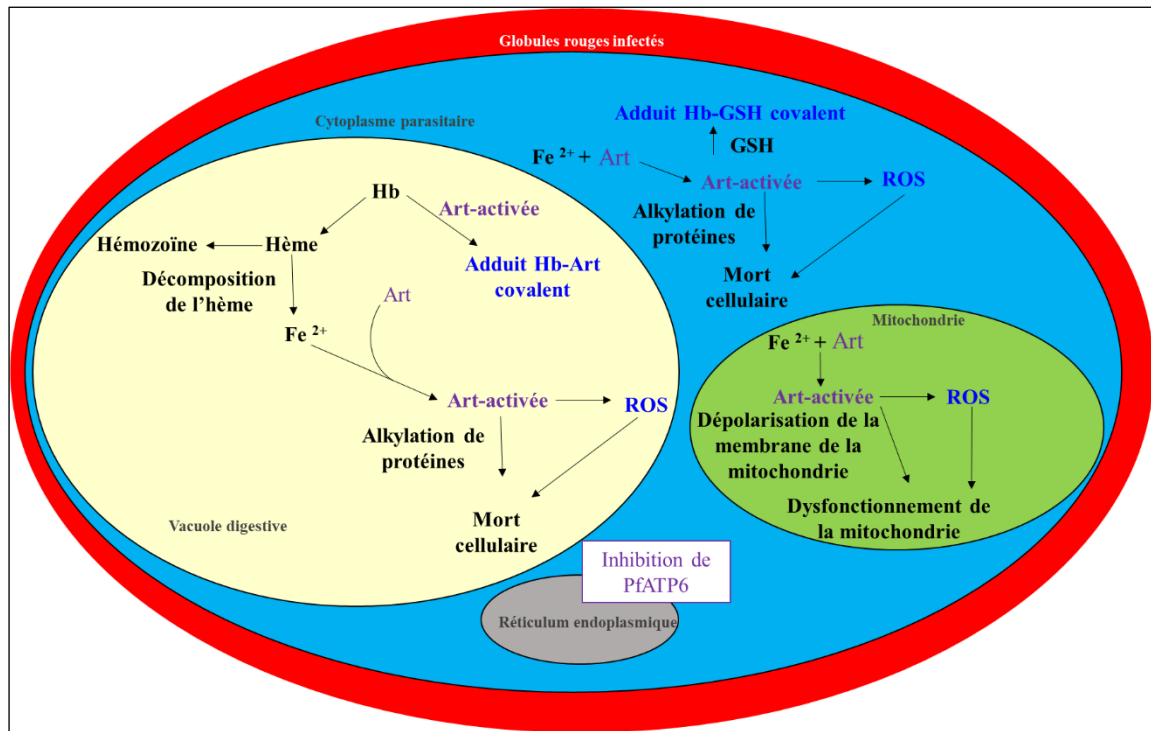


Figure 24 : récapitulatifs des différents modes d'action de l'artémisinine (en violet, Art = Artémésinine, Art-activée = forme de l'artémisinine radicalaire activée par le fer) proposés.^{85,86}

- Les antibiotiques :

La Tétracycline, la Doxycycline et la Clindamycine sont des schizonticides sanguins à action lente sur toutes les espèces de *Plasmodium*.

Les tétracyclines (Tétracycline et Doxycycline) sont des antibiotiques à large spectre avec une activité significative contre les protozoaires dont *Plasmodium*. Il a été démontré récemment que ces antibiotiques agissent via divers mécanismes d'action, notamment l'inhibition de la synthèse protéique des mitochondries parasitées et le ciblage du métabolisme de l'apicoplaste du parasite.^{89,90}

La Clindamycine est un antibiotique de la famille des lincosamides dont le mode d'action chez *Plasmodium* n'est pas encore élucidé.⁹¹

Même s'il existe encore de nombreux débats et que la communauté scientifique poursuit ses investigations sur les médicaments antipaludéens actuels, une meilleure compréhension de leurs modes d'actions permettrait l'élaboration de nouveaux candidat-médicaments tout comme la compréhension des phénomènes de résistances qui deviennent le problème majeur dans la lutte contre le paludisme.

IV- Les phénomènes de résistances

Les phénomènes de résistances ne concernent pas seulement les antipaludéens mais aussi les insecticides. En effet, que ce soit *Plasmodium* ou le vecteur *Anopheles*, ils se sont adaptés à tous nos moyens de lutte. Pour poursuivre efficacement la lutte contre paludisme il nous faut comprendre l'apparition et le développement de ces phénomènes de résistances afin de les éviter.

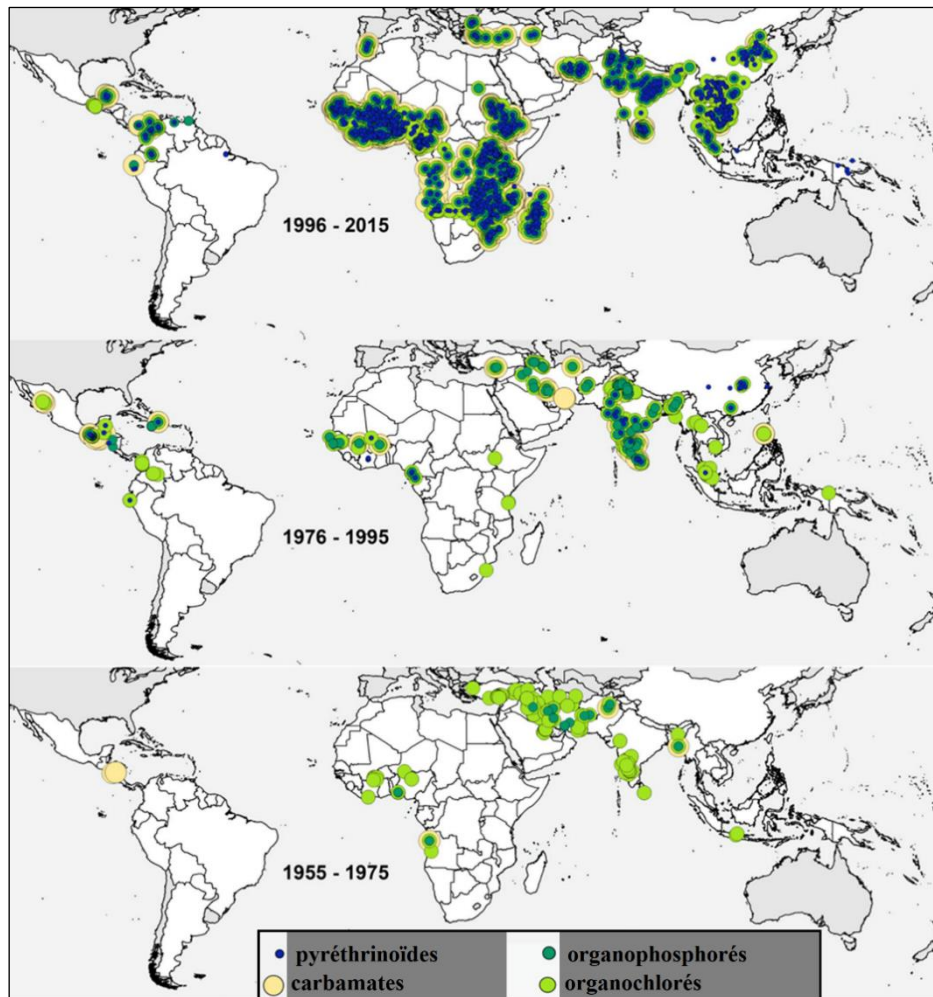
IV-1. Phénomènes de résistances aux insecticides

Chronologiquement les insecticides ont été ajoutés à la liste de vecteur-contrôle de la malaria dans l'ordre suivant : les organochlorés et les organophosphorés suivis par les carbamates puis les pyréthrinoïdes et pour finir les néonicotinoïdes. Les résistances sont apparues suivant la même chronologie (figure 25).

L'efficacité anti-vectorielle est effectivement menacée par le développement de résistances aux insecticides qui concerne toutes les principales espèces de vecteurs et toutes les classes d'insecticides notamment les pyréthrinoïdes (longtemps préconisés par l'OMS).

Selon l'OMS, 73 pays ont signalé une résistance à au moins une des classes d'insecticides (hormis les néonicotinoïdes) généralement utilisées entre 2010 et 2018, et 27 pays ont notifié une résistance à toutes les classes d'insecticides. La résistance aux néonicotinoïdes n'a pas encore été évaluée, leur utilisation est encore trop récente.

Les moustiques *Anopheles* ont une importante biodiversité et il a été montré que tous les moustiques s'adaptent aux insecticides car aucune zone endémique où prolifèrent ces moustiques ne semble épargnée (figure 17). Les mécanismes de résistance aux insecticides sont les moyens par lequel les insectes surmontent l'exposition à un insecticide.



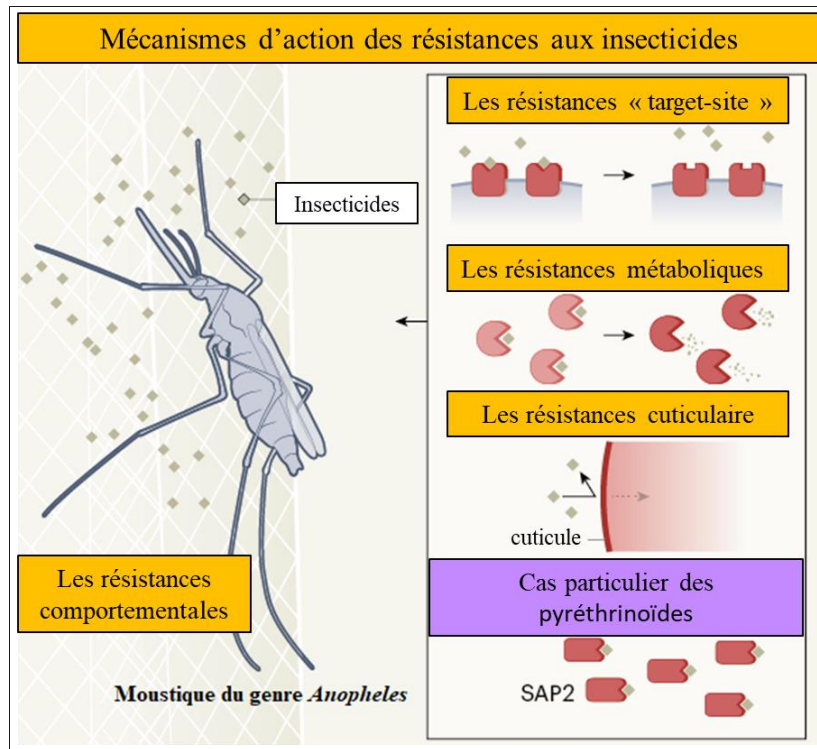


Figure 26 : les différents phénomènes de résistances aux insecticides.⁹⁴

- Les résistances métaboliques

Elles surviennent lorsque des enzymes internes des moustiques décomposent ou séquestrent les molécules d'insecticide avant qu'elles ne puissent avoir un effet toxique.⁹³ Ces enzymes font parties des familles suivantes : les monooxygénase P450, les estérases et les glutathion-S-transférases (GSTs). Ce type de résistances est observé avec toutes les classes d'insecticides mais les monooxygénase P450 confèrent plus particulièrement des résistances aux pyréthrinoïdes et carbamates ; les estérases plus particulièrement aux organophosphates (et pas aux DDT) ; et les glutathion-S-transférases (GSTs) seulement au DDT (l'organochloré utilisé pour la lutte anti-vectorielle du paludisme).

- Les résistances « target-site »

La résistance au site cible se produit lorsqu'une mutation génétique a modifié le récepteur protéique dans le moustique qu'un insecticide ciblait.⁹³ En effet le moustique s'adapte en créant des mutations génétiques ce qui bloque ou réduit l'effet toxique de l'insecticide. Des mutations au sein du gène *kdr* réduisent la sensibilité de fixation des pyréthrinoïdes et du DDT aux canaux sodiques. Les mutations du gène de l'acétylcholinestérase (appelée Ace-1R-acétylcholinestérase insensible) confèrent une résistance aux organophosphates et carbamates.

- Les résistances cuticulaires

La résistance cuticulaire, appelée également pénétration réduite, se produit lorsque l'absorption d'insecticide dans un moustique est réduite en raison de changements dans la cuticule externe de l'insecte : la couche de revêtement externe d'épiderme est de ce fait plus dure^{93,95}. Ce type de résistance peut réduire l'efficacité de divers insecticides et se produit souvent en présence d'autres mécanismes de résistance.

- Les résistances comportementales

La résistance comportementale est définie par un changement dans l'activité des moustiques : évitement des surfaces traitées à l'insecticide, changements dans les modes d'alimentation, ... On sait relativement peu de choses sur l'étendue et l'impact de ce type de résistance car aucune méthode n'a été établie pour détecter et signaler de tels changements.⁹³ L'apparition des résistances aux pyréthrinoïdes, longtemps préconisés par l'OMS dans la lutte anti-vectorielle, a poussé les chercheurs à comprendre ces phénomènes de résistances comportementales. Récemment Ingham et al. ont découvert une surexpression des gènes chez les moustique *A.gambiae* qui codent pour une famille de protéines chimiosensorielles, appelées sensorielles protéines annexes (SAP), lorsqu'ils résistent aux pyréthrinoïdes.⁹⁴

IV-2. Phénomènes de chimiorésistances aux antipaludéens

Le concept de combinaison thérapeutique est basé sur l'action potentielle synergique ou additive de deux médicaments ou plus, dans le but d'améliorer l'efficacité et de retarder l'apparition de résistance aux antipaludéens utilisés. Les CTA sont les combinaisons les plus préconisées par l'OMS. Les dérivées d'artémisinine réduisent rapidement la charge parasitaire mais ont une durée de vie courte dans l'organisme évitant ainsi l'apparition de résistance. Ils sont donc utilisés en combinaison avec des antipaludéens moins actifs mais ayant une durée de vie plus longue afin d'éradiquer complètement la charge parasitaire.

Néanmoins, ces CTA sont déjà confrontés à des phénomènes de chimiorésistances, en effet, les études de 2014 réalisé par WWARN (WorldWide Antimalarial Resistance Network) concernant les résistances aux dérivés d'artémisinine montrent que celles-ci sont déjà répandues en Asie et plus particulièrement en Asie du Sud-Est (figure 27).

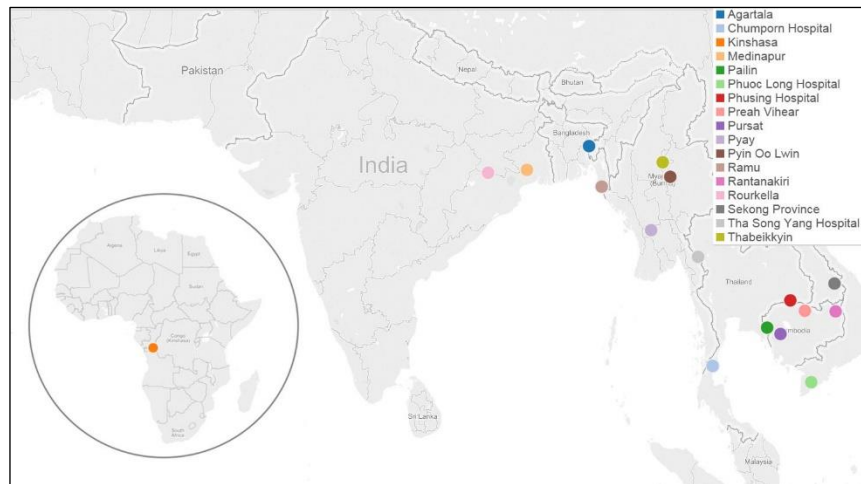


Figure 27 : localisation des résistances aux dérivées d'artémisinine.⁹⁶

Avec le temps le parasite s'adapte aux médicaments les rendant moins efficaces. En conséquence, l'utilisation de certains antipaludéens a cessé ou est limitée à des situations particulières. Le parasite ayant développé des résistances à tous les antipaludiques et en attendant de nouveaux médicaments plus efficaces, il faut lutter contre cette maladie via des traitements conçus avec notre arsenal thérapeutique actuel. Les traitements prescrits sont donc adaptés selon la localisation géographique des résistances aux antipaludéens actuels. WWARN est une plateforme collaborative générant des ressources innovantes et des preuves fiables pour informer la communauté scientifique sur les facteurs affectant l'efficacité des médicaments antipaludéens et propose des outils permettant de cartographier via WWARN explorer⁹⁷ les résistances à tous les antipaludéens actuels afin de les suivre.

Depuis l'isolement en 1820 de la quinine, la première molécule isolée pour un traitement contre le paludisme, un certain nombre d'autres composés naturels et synthétiques a été développé. La quinine isolée pour la première fois de l'écorce du quinquina (figure 28), a été l'un des traitements les plus efficaces contre le paludisme à travers le temps. La résistance a été signalée pour la première fois dans les années 80. À partir de 2006, la quinine n'est plus utilisée comme traitement de première ligne contre le paludisme mais figure toujours sur la liste modèle des médicaments essentiels (MLEM) dans la lutte antipaludique de l'OMS.



Figure 28 : l'arbuste quinquina (*Cinchona officinalis*) et son écorce.

La mépacrine (ou quinacrine), a été principalement utilisée tout au long de la Seconde Guerre mondiale (figure 29) comme prophylaxie. Ce composé est un dérivé quinoléine et est également un dérivé du bleu de méthylène, une autre molécule qui a été identifiée comme antipaludéen en 1891. Le bleu de méthylène s'est révélé être un traitement efficace contre le paludisme par le passé mais son utilisation a diminué au cours du temps, à cause de certains de ces effets secondaires. Néanmoins son intérêt a été relancé : ce composé et ses dérivés font l'objet d'un intérêt actuel croissant. La mépacrine elle-même n'est plus utilisée aujourd'hui en raison du risque élevé d'effets secondaires indésirables comme la psychose toxique. Les phénomènes de résistances n'ont pas été évalués sur cet antipaludéen car il a été utilisé en temps de guerre et ces effets secondaires l'ont éliminé de la liste des antipaludéens commercialisés.



Figure 29 : images de propagandes américaines durant la seconde guerre mondiale montrant que la lutte contre la malaria est aussi un combat.

Au cours des années 40, la chloroquine a été utilisée pour traiter toutes les formes de paludisme avec peu d'effets secondaires. Dès les années 50 de nombreuses souches de parasites ont développé une résistance à cet antipaludéen. La chloroquine figure encore aujourd'hui dans la liste modèle des médicaments essentiels (MLEM) et elle est utilisée pour le traitement de *P. vivax* dans les régions où la résistance ne s'est pas encore développée. Un de ces analogues l'hydroxychloroquine est apparue sur le marché (sous forme de sel de sulfate) après les premières résistances à la chloroquine. Elle aussi est dans la liste MLEM de l'OMS, et est utilisée dans les régions où la résistance ne s'est pas développée.

Les tétracyclines (tétracycline et doxycycline) ont été découvertes au début des années 1940⁹⁸. La Clindamycine a été utilisée à partir des années 60 d'abord pour le traitement d'infections à bactéries anaérobies puis pour des maladies dues à des protozoaires.⁹⁹ Ces trois molécules sont des antibiotiques utilisés en combinaison thérapeutique ou en prophylaxie pour limiter les phénomènes de résistances dans les zones de multi-résistances.

L'amodiaquine a été synthétisée pour la première fois en 1948. Elle est principalement utilisée pour le traitement du paludisme « simple » de *P.falciparum* en combinaison avec d'autres antipaludéens.

La pipéraquine a été développée dans les années 1960 dans le Programme national chinois d'élimination du paludisme. Initialement utilisé dans toute la Chine pour remplacer la chloroquine, l'apparition de résistances a entraîné une diminution de son utilisation en monothérapie. La pipéraquine est utilisée en combinaison avec notamment des dérivés d'arthémisinine en tant que CTA.

La pyronaridine a été synthétisée pour la première fois à l'Institut des maladies parasitaires chinoises. Elle a montré une efficacité contre les souches de *Plasmodium* résistantes à la chloroquine et est utilisée depuis plus de 40 ans en combinaison avec des dérivés d'arthémisinine en tant que CTA.

La méfloquine a été développée dans les années 70 par l'« Armée de Terre des États-Unis » et fait encore partie des antipaludiques de la liste MLEM. Initialement introduite pour le traitement du paludisme résistant à la chloroquine, elle a été utilisée à la fois comme médicament curatif et prophylactique. La résistance à la méfloquine a été signalée pour la première fois en 1986.

La proguanil est l'un des premiers médicaments antipaludiques antifoliques découvert en 1945 mais c'est dans les années 2000 qu'elle s'est avérée très efficace en combinaison avec l'atovaquone (médicament découvert en 1991 pour le traitement d'infections protozoaires).¹⁰⁰

La primaquine a été synthétisée pour la première fois aux États-Unis pendant la guerre du Pacifique (1941–1945)⁶³. Active contre les formes hypnozoïtes, elle est encore actuellement utilisée comme traitement de *P.vivax* et *P.ovale* notamment pour lutter contre les rechutes induites par ces deux espèces. La primaquine ne doit pas être administrée aux femmes enceintes et aux personnes déficientes en G6PD (glucose-6-phosphate déshydrogénase) pour éviter une anémie hémolytique.

La pyriméthamine a été développée au début des années 1950, par G.Elion et G.Hitchings, son développement leurs a permis d'obtenir le prix Nobel de médecine et physiologie en 1988. Quant à la sulfadoxine, elle a été développée au début des années 1960 mais n'est plus utilisée actuellement. La combinaison de pyriméthamine et de sulfadoxine a été approuvée pour une utilisation pour le traitement du paludisme en 1981 et est encore couramment vendue.

L'halofantrine a été développée entre les années 1960 et 1970 et a été initialement utilisée contre toutes les formes de *Plasmodium*. Son utilisation a diminué au fil du temps en raison d'un certain nombre d'effets secondaires indésirables notamment des problèmes de cardiotoxicité. L'halofantrine est toujours utilisée aujourd'hui mais uniquement dans les cas où les patients sont exempts de maladie cardiaque et où l'infection est due à des formes sévères de paludisme difficile à traiter.

L'artémisinine a été isolée pour la première fois en 1971 d'*Artemisia Annua*. En 2015, le prix Nobel de médecine et physiologie a notamment mis à l'honneur la Chinoise Youyou Tu (figure 30), pour sa découverte de l'artémisinine.^{101,102} Justement, depuis 2005, l'OMS recommande l'utilisation de CTA comme traitement de première ligne contre les cas de paludisme, et de retirer du marché les monothérapies à base uniquement de dérivés d'artémisinine pour limiter les phénomènes de résistance. À ce jour il s'agit du meilleur traitement disponible, en particulier pour le paludisme à *P. falciparum*.¹



Figure 30 : Youyou Tu (prix Nobel de médecine et physiologie 2015) et *Artemisia Annua* (plante à l'origine de la découverte de l'artémisinine).

La luméfanantrine a d'abord été synthétisée en 1976 dans le cadre de la recherche antipaludique chinoise pour le projet «Projet 523» qui a également abouti à la découverte de l'artémisinine. Elle est actuellement utilisée en CTA et fait l'objet d'un projet pour une combinaison avec un potentiel nouveau antipaludéen, la Ganaplacide (KAF156, imidazolopiperazine en cours de développement par Novartis).¹⁰³

Découverte pour la première fois en 1978, la tafénoquine est la dernière molécule à avoir été approuvée¹⁰⁴, elle a été commercialisée en 2018.^{65,64} C'est un analogue de la primaquine plus puissant et moins toxique. Cette molécule a été conçue pour la prévention de rechute induite par *P. vivax*.

L'idée de combiner le chlorproguanil avec la dapsonne (un antibiotique) pour aboutir à la combinaison appelée LapDap a émergé à l'issue d'études réalisées en Afrique de l'Est dans les années 80.¹⁰⁵ Malheureusement des résistances sont apparues rapidement après sa commercialisation dans les années 2000. De plus des problèmes de pharmacogénétiques (glossaire p 238) ont été montrés depuis sa commercialisation, il a donc été retiré du marché.¹⁰⁶

Ce petit historique nous montre que notre arsenal thérapeutique est certes très imposant mais a des failles... Comme le résume la figure 31¹⁰⁷, l'apparition de résistances tend à se produire quelques années après la commercialisation du médicament.

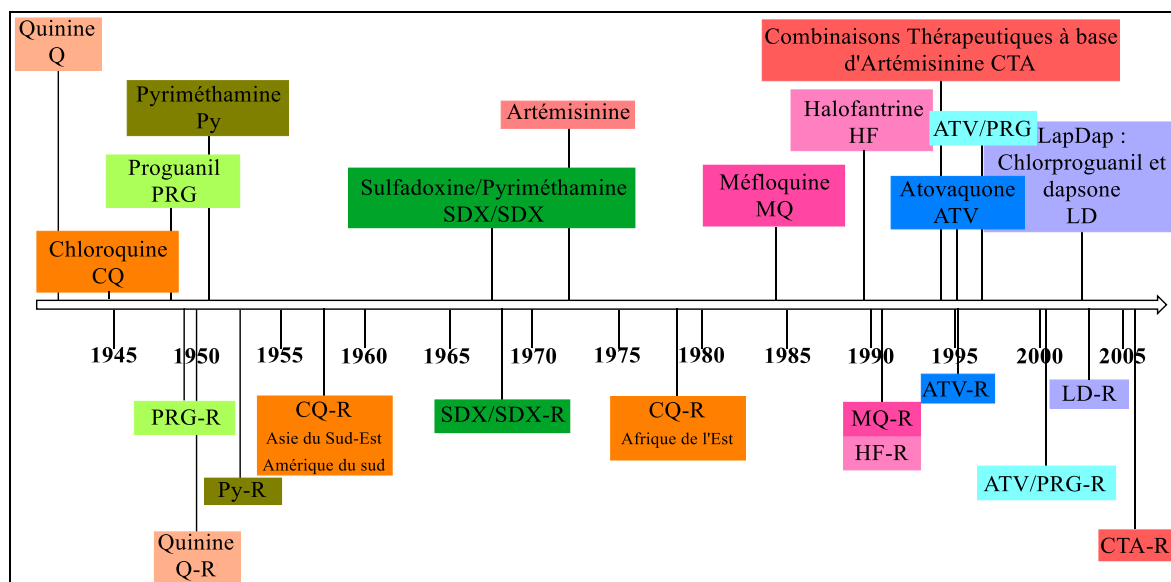


Figure 31 : historique des introductions des antipaludiques (X) et des apparitions des résistances (X-R) de *P. falciparum*.¹⁰⁷

Les résistances aux antipaludéens sont importantes à comprendre afin de les éviter dans les régions où certains parasites ne les ont pas développées ou afin d'éviter de concevoir des antipaludéens qui développeraient le même type de résistances.

Le phénotype de chimiorésistance est déterminé *in vitro* par la culture du parasite en présence de médicament. Il ne prédit pas nécessairement un échec thérapeutique (particulièrement chez les sujets ayant acquis une immunité) et inversement la chimiorésistance n'est qu'une des causes possibles d'échec thérapeutique.¹⁰⁸

La résistance à un médicament se définit par un décalage vers la droite de la courbe concentration-effet (figure 32).^{109,110} Il existe différents schémas de résistance :

- Décalage de la courbe (B)
- Modification de l'effet maximum atteignable (C)
- Modification de la pente (D)

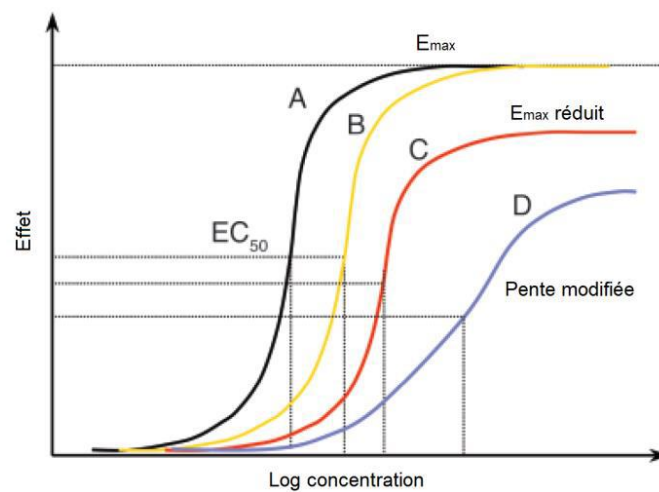


Figure 32 : courbe concentration-effet pour différentes populations de parasite (A : parasites sensibles au médicament ; B, C, D parasites résistants). E_{max} est l'effet maximum produit par le médicament et EC_{50} est la concentration qui produit 50% de l'effet maximum.

Les parasites ont une grande variabilité génétique, source d'échappement immunitaire et de chimiorésistance. L'émergence de résistances peut être considérée en deux temps :

- Étape 1 : l'évènement génétique qui produit le parasite mutant résistant.

Le nombre élevé de parasites infectant les humains fait que des mutations finissent par apparaître et par être sélectionnées par la pression médicamenteuse. En supposant une distribution égale des probabilités au cours du cycle de vie du parasite l'évènement génétique a probablement lieu dans un seul parasite au moment du pic de l'infection. La probabilité de sélection du parasite résistant dépend : du nombre de parasites exposés au médicament, de la concentration en médicament à laquelle les parasites sont exposés, des propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques du médicament, du degré de résistance qui résulte des modifications génétiques, du niveau de défense de l'hôte (immunité spécifique ou non-spécifique) et de la présence simultanée d'un autre médicament antipaludéen auquel le parasite n'est pas résistant (d'où l'importance des combinaisons thérapeutiques).

- Étape 2 : le processus qui conduit à la transmission et à la propagation de la résistance.

La résistance aux antipaludiques se propage chez les parasites du paludisme car elle confère un avantage de survie en présence des antipaludiques et se traduit donc par une plus grande probabilité de transmission pour les parasites résistants que pour les parasites sensibles aux médicaments.

Les marqueurs génétiques de *Plasmodium* situés sur les sites cibles d'un antipaludique sont importants pour le suivi de la résistance aux antipaludiques. En effet des études ont permis d'associer des perturbations génétiques aux résistances aux antipaludiques.

Les marqueurs génétiques connus et associés à la résistance aux antipaludiques actuels chez *P.falciparum* et *P.vivax* sont^{111,112}: *PfCRT*, *PfMDR1* et *PvMDR1*, *PfPLM2*, *PfMRP1*, *PfDHFR* et *PvDHFR*, *PfDHPS* et *PvDHPS*, *PfCYTB*, *PfNHE*, et *PfK13*. Le tableau 4 résume les diverses associations de ces marqueurs avec les antipaludiques.

Classe chimique	Antipaludique	Marqueurs génétiques	
		Chez <i>P.falciparum</i>	Chez <i>P.vivax</i>
Dérivés d'artémisinine	Artémisinine	<i>PfK13</i> , <i>PfMDR1</i>	inconnu
	Artésunate	<i>PfK13</i> , <i>PfMDR1</i>	inconnu
	Artéméther	<i>PfK13</i> , <i>PfMDR1</i>	inconnu
	Dyhydroartémisinine	<i>PfK13</i> , <i>PfMDR1</i>	inconnu
4-Aminoquinolines	Chloroquine	<i>PfCRT</i> , <i>PfMRP1</i>	<i>PvMDR1</i>
	Amodiaquine	<i>PfCRT</i> , <i>PfMDR1</i>	inconnu
	pipéraquline	<i>PfCRT</i> , <i>PfPLM2-3</i>	inconnu
	pyronaridine	<i>PfCRT</i> , <i>PfMRP1</i>	inconnu
Amino alcool	Quinine	<i>PfCRT</i> , <i>PfMDR1</i> , <i>PfMRP1</i> , <i>PfNHE</i>	inconnu
	Méfloquine	<i>PfMDR1</i> , <i>PfMRP1</i>	<i>PvMDR1</i>
	Luméfantrine	<i>PfCRT</i> , <i>PfMDR1</i> , <i>PfMRP</i>	inconnu
	Halofantrine	<i>PfCRT</i> , <i>PfMDR1</i>	inconnu
Antifolates	Pyriméthamine	<i>PfDHFR</i>	<i>PvDHFR</i>
	Sulfadoxine	<i>PfDHPS</i>	<i>PvDHPS</i>
	Proguanil	<i>PfDHFR</i>	inconnu
Naphthoquinone	Atovaquone	<i>PfCYTB</i>	inconnu

Tableau 4 : les marqueurs connus et associés à la résistance aux antipaludiques.

- Le transporteur de résistance à la chloroquine de *P. falciparum* (*PfCRT*) :

La résistance à divers antipaludiques, tous inhibiteurs de la cristallisation de l'hème, a été associée à des mutations dans la cavité centrale du transporteur *PfCRT*.^{111,112,113} *PfCRT* est un transporteur membranaire de la vacuole alimentaire (site de la cristallisation de l'hème) membre de la superfamille de transporteur de médicament/métabolite. Les mutations du gène *PfCRT* (codant pour ce transporteur) peuvent influencer les propriétés de sa cavité : le transport du médicament jusqu'à la vacuole digestive est empêché et le parasite devient alors résistant.

- Le gène de la protéine multirésistance 1 de *P. falciparum* ou *P. vivax* (*PfMDR1* ou *PvMDR1*) :

La résistance à divers antipaludiques, dérivés quinoléiques, dérivés d'alcool d'acides aminés et dérivés d'artémisinine, a été associée aux marqueurs *PfMDR1* chez *P.falciparum* ou *PvMDR1* chez *P.vivax*¹¹⁴. La protéine MDR1 est une pompe ATP-dépendante transmembranaire assurant le transport de solutés à travers la membrane de la vacuole digestive. La mutation et la surexpression du gène *Pfmdr1* (ou *Pvmdr1*) codant pour cette protéine ont été associées à la résistance aux médicaments antipaludiques, en particulier aux médicaments hydrophobes.

- Les plasmepsines *PfPLM2-3* :

Les plasmepsines *PfPLM2-3* sont des protéases qui digèrent l'hémoglobine. La résistance à la pipéraquline a été très fortement associée à la surexpression des gènes *Pfplm2-3* codant pour ces protéases.¹¹⁵

- Les protéines associées à la multirésistance *PfMRP1*:

La protéine MRP1 appartient à la famille des ABC (ATP-binding cassette). Les mutations du gène *Pfmrp1* codant pour cette molécule ont montré une diminution de la sensibilité de certains antipaludiques les rendant moins efficaces.¹¹⁶

- Les gènes codant pour la dihydrofolate réductase (DHFR) et la dihydroptéroate synthase (DHPS) :

Différents antipaludiques sont des inhibiteurs de la DHFR et de la DHPS notamment des antifolates (voir partie III-3.2.). La résistance du parasite à ce type d'antipaludiques est due aux mutations des gènes *dhfr* et *dhps* codant pour ces deux protéines¹¹⁷ : en effet les antipaludiques n'arrivent plus à inhiber les protéines mutées.

- Le gène codant pour *PfCytB* marqueur de la résistance à l'atovaquone :

Situé sur le génome mitochondrial le gène *PfCytB* code pour le complexe mitochondrial du cytochrome B, impliqué dans le transport d'électrons dans la mitochondrie et qui est la cible de l'atovaquone. La mutation de ce gène diminue fortement la sensibilité à l'atovaquone ce qui confère au parasite une résistance à cet antipaludique.¹¹⁸

- Le gène codant pour *PfNHE* :

Le gène *PfNHE* code la protéine putative d'échangeur sodium-hydrogène *PfNHE* qui est impliquée dans l'homéostasie du parasite en augmentant le pH cytosolique et en compensant l'acidose causée par la glycolyse anaérobie. La quinine est une base faible monoprotique qui s'accumule dans l'environnement à faible pH dans la vacuole digestive du parasite. Pour résister à la quinine il a été montré que le parasite peut sous-exprimer *Pfnhe*.¹¹⁹

- Le gène codant pour *PfK13*, principal marqueur de la résistance aux dérivés d'artémisinine :

La protéine *PfK13* est essentielle au développement du parasite lors de la phase érythrocytaire mais sa fonction n'est pas connue¹²⁰. Le gène parasite *pfkelch13* (*K13*) codant pour cette protéine est le principal marqueur de résistance à l'artémisinine.^{79,121,122} Des études ont montrées que la résistance à l'artémisinine et ses dérivés se caractérise par une clairance parasitaire ralentie. Cette clairance lente a été associée aux changements génétiques de *PfK13*.

Actuellement les mutations de *K13* ont été surtout recensées en Asie et plus particulièrement en Asie du Sud-Est (figure 33).



Figure 33 : prévalence des mutations K13 entre 2010 et 2020 établie par WWARN.¹²³

V- Conclusion du chapitre

Malgré des moyens de lutte anti-vectorielle et un arsenal thérapeutique importants, les phénomènes de résistance à tous les insecticides et à tous nos antipaludéens actuels menacent la lutte mondiale contre le paludisme.

Il devient donc urgent de proposer de nouvelles alternatives médicamenteuses aux modes d'action originaux.

Chapitre 2 : Développement d'un nouvel agent antipaludéen

I- Développer un nouvel antipaludéen	52
I-1. Généralités	52
I-2. État de l'avancée concernant la recherche d'antipaludéens	54
I-3. Les nouvelles cibles thérapeutiques	58
I-3.a. Les protéases	59
I-3.b. Le protéasome	60
I-3.c. Les protéines kinases	61
I-3.d. Shikimate pathway	61
I-3.e. La voie de transport des protéines	61
I-3.f. Les nouvelles voies de perméabilité (NPPs)	62
I-3.g. La voie de la glycolyse	62
I-3.h. Les ATPases de type P	62
I-3.i. La biosynthèse des purines et des pyrimidines	63
I-3.j. La biosynthèse des isoprénoïdes	63
I-3.k. La biosynthèse de la membrane parasitaire	64
I-4. Récapitulatif des cibles thérapeutiques	65
I-5. Développement de médicaments « multi-targets »	65
II- Présentation du projet	66
III-Conclusion du chapitre	70

I- Développer un nouvel antipaludéen

I-1. Généralités

L'OMS et Medicines for Malaria Venture (MMV) jouent un rôle important dans la lutte antipaludéenne.

Le programme mondial de lutte antipaludique de l'OMS coordonne les activités menées au niveau mondial pour lutter contre le paludisme et l'éliminer.

La Medecine for Malaria Venture (MMV) est un partenariat public-privé à but non lucratif créée en 1999 dans le but d'éradiquer la malaria en accélérant la découverte, le développement et la délivrance de nouveaux antipaludéens efficaces et abordables pour tous.¹²⁴ Ce partenariat a mis à disposition de la communauté scientifique la « Malaria Box » : un trésor de 400 composés ayant une activité antipaludique, disponible jusqu'en décembre 2015. Cette « Malaria Box » a ensuite fait place à la « Pathogen Box », qui renferme des composés destinés à lutter contre diverses maladies infectieuses négligés. Récemment en janvier 2019 la « Pandemic Response Box » et la « COVID Box » ont vu le jour. En effet MMV étend ses activités afin de favoriser de nouvelles recherches sur de nouveaux traitements pour faire face aux menaces qui concernent l'ensemble de la population mondiale. L'émergence de nouvelles maladies ces dernières années telles que Ebola, Zika (transmis par le moustique du genre *Aedes*), chikungunya (transmis par moustique tigre : *Aedes albopictus* ou du moustique *Aedes aegypti*), coronavirus... a montré comment une maladie pour laquelle les connaissances sont peu avancées peut devenir une urgence sanitaire mondiale. C'est pourquoi la MMV, évolue mais ne perd pas son objectif principal qui est d'éradiquer la malaria. Pour cela elle a également lancé un nouveau programme open source de découverte de médicaments appelé « Malaria Libre », ceci afin de susciter la découverte de médicaments antipaludiques en exploitant les études et l'apport de résultats des participants du monde entier, et en fournissant des données immédiatement accessibles.

La Malaria Box rassemble 400 composés possédant une activité contre le stade sanguin de *P. falciparum* et n'ayant aucune toxicité notable pour l'Homme. Ces composés ont été sélectionnés par criblages phénotypiques (glossaire p 238) sur différentes souches de *P. falciparum* parmi les bibliothèques de molécules de St. Jude Children's Research Hospital (TN, USA), Novartis et GlaxoSmithKline. Cette sélection (procédure de sélections figure 34) a été réalisée afin d'obtenir une large diversité structurelle, des propriétés physicochimiques pouvant permettre une absorption par voie orale et une présence minimale de toxicophores (glossaire p 238). Malheureusement, le mode d'action de ces composés n'est pas connu, et un énorme travail d'identification des cibles thérapeutiques reste encore à fournir.

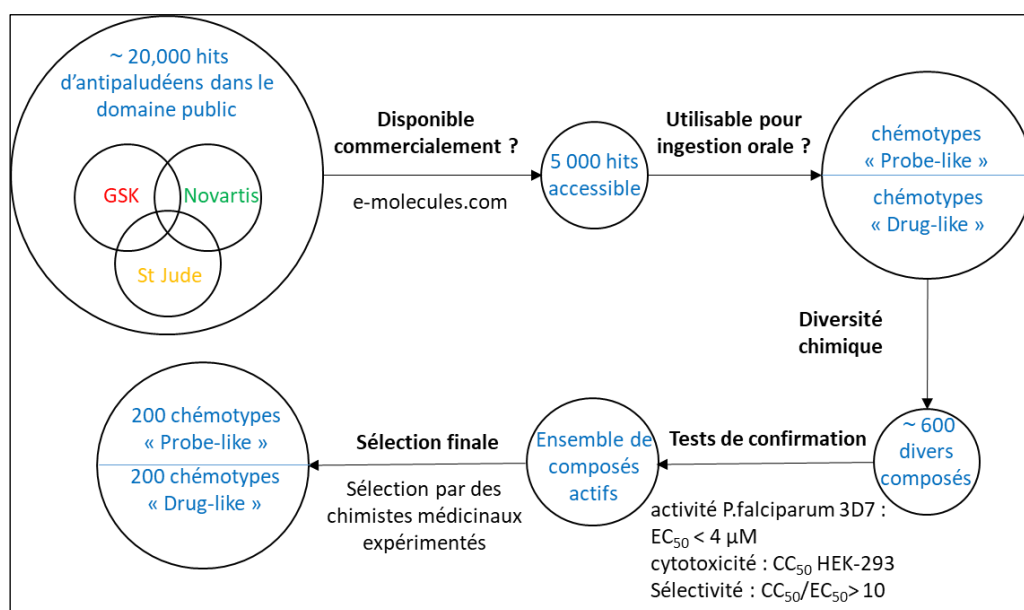


Figure 34 : procédure de sélection des composés de la « Malaria Box ». ¹²⁵

Cette Malaria Box a été mise à la disposition de la communauté scientifique mondiale par Medicine for Malaria Venture (MMV). La communauté scientifique, et plus particulièrement les biologistes, ont accès à ces composés afin de les étudier et de notamment comprendre leur mode d'action. Ce trésor de composés est également une source d'inspiration pour les chimistes médicaux : ils peuvent être utilisés comme point de départ pour des études d'optimisation et sont considérés comme des « hits » très intéressants. Il est demandé en retour aux utilisateurs de Malaria Box, que les données résultantes soient publiées et placées dans le domaine public pour aider à poursuivre la recherche dans les meilleures conditions.

Selon les recommandations de l'OMS et MMV, les agents antipaludéens de nouvelle génération doivent répondre à un cahier des charges très précis^{126,127} :

- 1) être à action rapide,
- 2) posséder une activité biologique contre plusieurs stades du cycle de vie du parasite,
- 2) éliminer la parasitémie du stade sanguin,
- 3) être actifs contre les hypnozoïtes (responsables de « rechutes »),
- 4) posséder une activité contre les schizontes hépatiques,
- 5) bloquer la transmission en ciblant les gamétocytes du parasite,
- 6) bloquer la transmission en ciblant le cycle sporogonique (phase dans l'anophèle).

Ce cahier des charges évolue afin de proposer le plan d'action le plus adapté pour éradiquer le paludisme en mettant au point des médicaments administrables par voie orale, sûrs et tolérés par les populations vulnérables notamment les femmes enceintes et les jeunes enfants. Les populations exposées à la malaria étant situées dans des zones dites économiquement pauvres, il est d'autant plus important d'élaborer des traitements peu coûteux et très facilement administrables par voie orale.

I-2. État de l'avancée concernant la recherche d'antipaludéens

Les dernières avancées et découvertes concernant la recherche d'antipaludéens vont être présentées afin de comprendre et situer où en est la lutte contre le paludisme. Les nouvelles cibles thérapeutiques impliquées dans ces découvertes seront détaillées et explicitées dans la partie I-3.

L'avancement des projets soutenus par la MMV est représenté figure 35. De nouvelles combinaisons thérapeutiques d'antipaludéens déjà connus ont été approuvées pour l'application à des cas de paludisme simples à sévères.¹⁰³

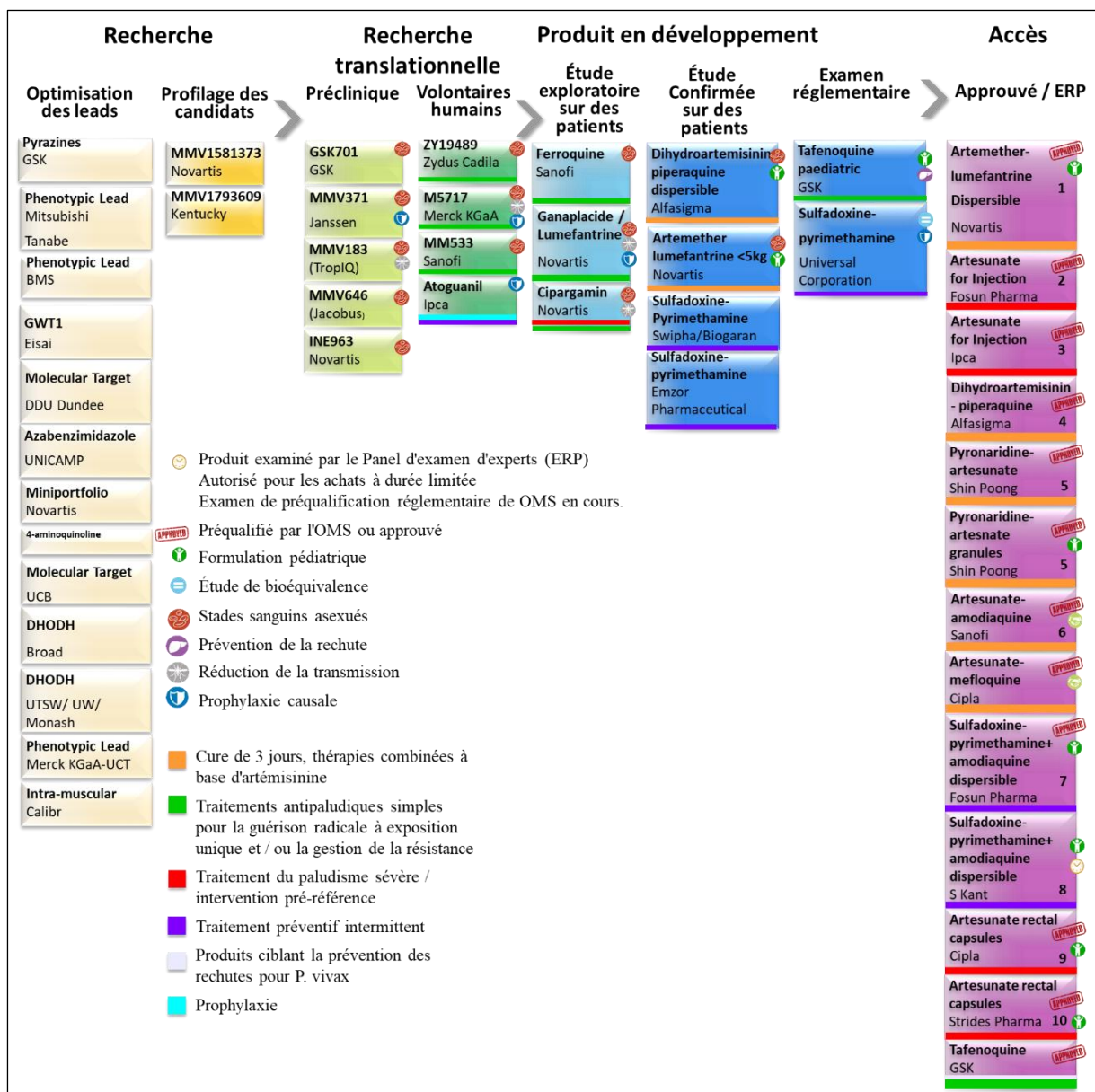


Figure 35 : vue d'ensemble des projets soutenus par la MMV en 2021¹⁰³

Parmi ces projets, trois molécules/combinaisons de molécules font l'objet d'études exploratoires sur des patients (figure 36)¹⁰³ ; il s'agit de :

- la ferroquine, un analogue de la chloroquine qui présente une longue durée d'exposition dans le plasma.
- La ganaplacide combinée à la luméfandrine. La ganaplacide, qui possède un nouveau mode d'action qui n'est pas encore déterminé ; elle permet une destruction rapide des parasites, possède une activité de blocage de la transmission et un potentiel de prophylaxie.

- la cipargamine, qui possède un nouveau mode d'action : c'est un inhibiteur de *Pf*ATP4 qui permet une destruction rapide des parasites ; elle possède également une activité de blocage de la transmission.

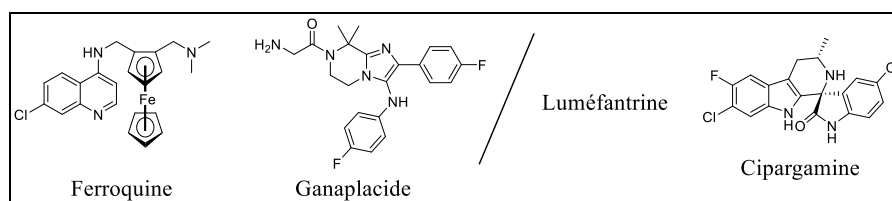


Figure 36 : structure des 3 molécules/combinaisons de molécules qui font l'objet d'études exploratoires sur des patients

Certaines molécules utilisées pour le traitement d'autres maladies ont montré des activités antipaludiques et sont actuellement en phases clinique (figure 37).¹²⁸ Le bleu de méthylène initialement utilisé pour le traitement de la méthémoglobinémie possède un IC_{50} moyen (sur 20 souches de *P. falciparum*) de 4nM¹²⁹ avec un mode d'action similaire à la chloroquine mais moins enclins à de potentielles résistances. L'antibiotique fosmidomycin, un inhibiteur de la biosynthèse de l'isoprénoïde et plus particulièrement de la DXP reductoisomerase possède un IC_{50} allant de 1,2 à 300 nM en fonction de la souche de *Plasmodium falciparum* testée.¹³⁰ Le rosiglitazone, initialement utilisé pour le traitement contre le diabète, est actuellement en essai clinique pour le traitement du paludisme sévère chez l'enfant.¹³¹ Une triple combinaison de l'artémisinine, la pipéraquline et l'imatinib (utilisé contre le cancer) est à l'étude afin de minimiser les phénomènes de résistances.¹³² Une autre combinaison associant atovaquone/proguanil avec un autre médicament déjà connu pour le traitement de la drépanocytose (sevuparin) est également à l'étude pour le traitement de *P. falciparum* non sévère.¹³³

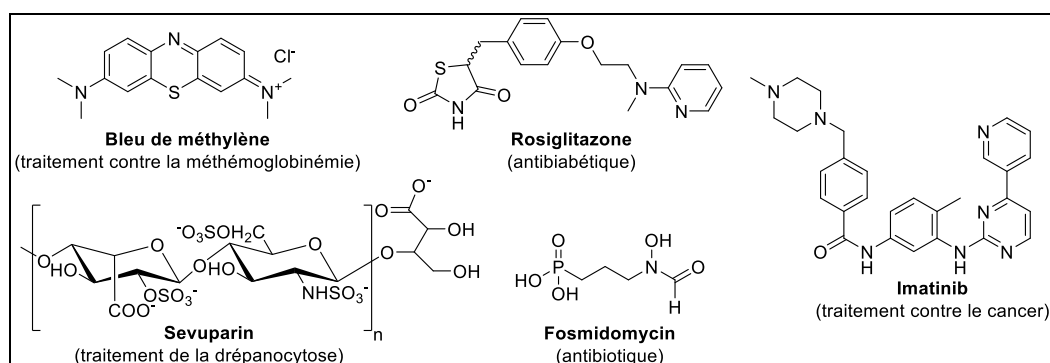


Figure 37 : structure des molécules pour le traitement d'autres maladies en court d'essais cliniques pour le traitement contre le paludisme. Entre parenthèse : traitement original.

De plus, plusieurs molécules issues de l'optimisation de H2L (Hit vers Lead) sont en étude à différents stades.¹²⁸ Les structures de certaines molécules au stade préclinique ainsi que leurs propriétés sont résumées figure 38 (liste non-exhaustive).

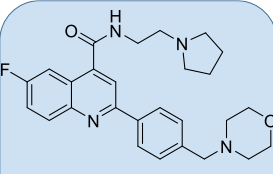
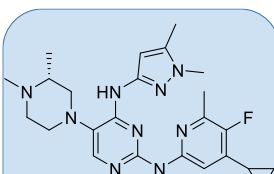
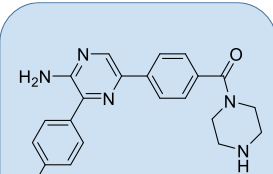
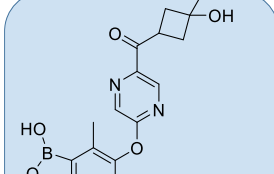
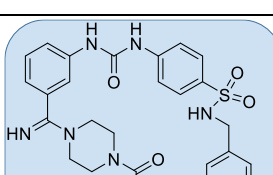
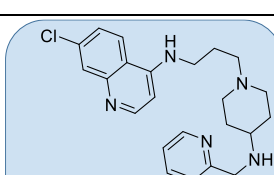
 <p>M5717</p>	<p>EC₅₀ <i>Pf</i> sang 0,97 nM/ 1,65nM <i>Pf</i> M/E gamètes 1,8 nM/ 1,2nM</p> <p>CL_{int} HLM ≤ 1,1 mL/min/kg solubilité (pH 6,5) 216 µM logD (pH 7,4) 2,5</p>	 <p>MMV253</p>	<p>EC₅₀ <i>Pf</i> sang 9 nM (NF54) <i>Pb</i> foie > 10 µM <i>Pf</i> gamètes 1 nM</p> <p>CL_{int} HLM 3,8 mL/min/kg solubilité (pH 6,5) > 1000 µM logD (pH 7,4) 4</p>
<p>Mécanisme d'action inhibition <i>Pf</i>eEF2</p>	<p>Biodisponibilité 84 % temps de demie-vie <i>in vivo</i> ED₉₀ 10h 0,1-0,3 mg/kg</p>	<p>Mécanisme d'action inhibition <i>Pf</i>ATP4</p>	<p>Biodisponibilité 80 % temps de demie-vie <i>in vivo</i> ED₉₀ 14h-16h 13,5 mg/kg</p>
 <p>UCT943</p>	<p>EC₅₀ <i>Pf</i> sang 5,4 nM (NF54) <i>Pb</i> foie 0,92 nM <i>Pf</i> gamètes précoce/tardif 134 nM/ 66nM</p> <p>CL_{int} HLM 10,3 mL/min/kg solubilité (pH 6,5) 163 µM logD (pH 7,4) 2,5</p>	 <p>AN13762</p>	<p>EC₅₀ <i>Pf</i> sang 43 nM (3D7)</p> <p>CL_{int} HLM 4,07 mL/min/kg solubilité (pH 6,5) 0,30 mg/mL logD (pH 7,4) 0,47</p>
<p>Mécanisme d'action inhibition <i>Pf</i>PI4K</p>	<p>Biodisponibilité 98 % temps de demie-vie <i>in vivo</i> ED₉₀ 5,3 h 0,25 mg/kg</p>	<p>Mécanisme d'action inhibition CPSF3</p>	<p>Biodisponibilité 101 % temps de demie-vie <i>in vivo</i> ED₉₀ 6,8 h (souris) 0,85 mg/kg</p>
 <p>SC83288</p>	<p>EC₅₀ <i>Pf</i> sang 10 nM (Dd2)</p> <p>CL_{int} HLM 303 µL/min/kg solubilité (pH 6,5) 940 µg/mL</p>	 <p>DM1157</p>	<p>EC₅₀ <i>Pf</i> sang 1,6 nM (Dd2)</p> <p>CL_{int} HLM <115 mL/min/kg</p>
<p>Mécanisme d'action inconnu</p>	<p>Biodisponibilité 100 % temps de demie-vie <i>in vivo</i> ED₉₀ 6,8 h (rat) 84 nM</p>	<p>Mécanisme d'action inhibition hemozoïne</p>	<p><i>in vivo</i> ED₉₀ 2,6 mg/kg</p>

Figure 38 : molécules en phase préclinique

M5717 a été développé en 2015 par une équipe dirigée par la « Drug Discovery Unit » (DDU) à Dundee et a montré une puissante activité contre plusieurs stades du parasite via un nouveau mécanisme d'action. Cette molécule inhibe le facteur d'élongation de la traduction 2 *Pf*eEF2 essentiel à la synthèse de protéines dans le cytoplasme des cellules de parasite. **MMV253** développé également en 2015, par AstraZeneca, inhibe une autre nouvelle cible thérapeutique *Pf*ATP4. **UCT943** a été identifié en 2016 par une équipe de l'Université de Cape Town en Afrique du Sud et inhibe la kinase *Pf*PI4K. Cependant, du fait de sa toxicité, elle n'a pas passé le stade préclinique. Les benzoxaboroles ont été découverts en 2010 par Anacor Pharmaceuticals, mais c'est en 2017 que le meilleur lead concernant ce type de molécules a été

identifié et il s'agit de **AN13762** dont la cible CPSF3 a été récemment découverte en 2020.¹³⁴ **AN13762** montre d'excellents résultats *in vitro* et *in vivo* contre plusieurs stades du cycle de vie du parasite. Il se caractérise par une action rapide et les premiers essais cliniques sont à ce stade très prometteurs. En 2017, également, une équipe de l'université de Heidelberg a développé **SC83288** une molécule elle aussi très prometteuse dont le mode d'action n'est pas connu. En 2010, DesignMedix a développés **DM1157** une « chloroquine inversée » possédant le même mode d'action que la chloroquine mais qui est conçue pour surmonter les résistances à la chloroquine. À ce stade des essais clinique, **DM1157** montre un bon potentiel.

Bien d'autres molécules sont en cours de développement et de nouvelles recherches contre la malaria sont primordiales afin d'éradiquer cette maladie.

I-3. Les nouvelles cibles thérapeutiques

Pour surmonter la résistance aux médicaments développée par le parasite, l'identification de nouvelles cibles chez le parasite et la synthèse de nouveaux antipaludéens, sont essentielles.⁶⁶ Nous venons de voir que des molécules prometteuses issues de criblage phénotypique pour la plupart, ciblent de nouvelles protéines d'intérêts.

Du fait de leur récente découverte certaines de ces cibles thérapeutiques font l'objet de nombreuses investigations.

Les différentes nouvelles cibles thérapeutiques vont être présentées en détail dans les parties I-3.a à I-3.k.

I-3.a. Les protéases

De nombreuses protéases ont montré des rôles critiques à divers stades du cycle de vie du parasite, notamment lors du cycle érythrocytaire de *Plasmodium* (figure 39 et tableau 5). De plus un certain nombre de protéases parasitaires sont impliquées dans les processus métaboliques et la régulation du cycle cellulaire chez le parasite (tableau 5).¹³⁵

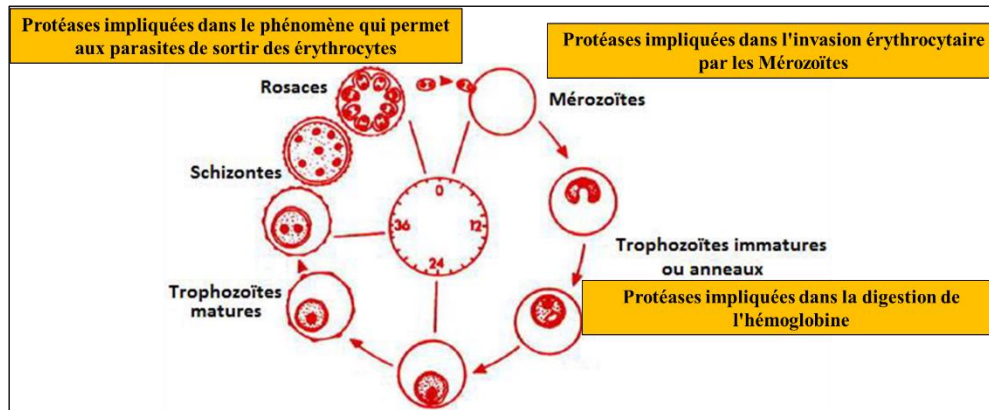


Figure 39 : rôles des protéases à divers stades sanguins lors du cycle érythrocytaire de *Plasmodium*.

Processus spécifique aux parasites	Classe de la protéase impliquée	Nom de la protéase	Fonction
Dégradation de l'hémoglobine	Protéase aspartique	Plasmepsine-1	Hémoglobinase : initie le clivage de l'hémoglobine dans la vacuole digestive
		Plasmepsine-2	
		Plasmepsine-4	Hémoglobinase de la vacuole digestive
	Protéine histo-aspartique		
	Protéase à cystéine	Falcipaine 2	Hémoglobinase de la vacuole digestive (active au stade trophozoïte précoce)
		Falcipaine 3	Hémoglobinase de la vacuole digestive (active au stade trophozoïte tardif)
	Métallo protéase	Falcilysine	Hémoglobinase de la vacuole digestive (hydrolyse de fragments peptidiques générés par les protéases à cystéine et aspartique)
Alanyl aminopeptidase M1		Hydrolyse des peptides générés par la dégradation de l'hémoglobine; essentiel pour la croissance des parasites	
Leucine Aminopeptidase M17			

Sortie (Egress) du parasite des erythrocytes	Protéase aspartique	Plasmepsine 2	Digestion <i>in vitro</i> de la spectrine, de la protéine 4.1 et de l'actine (rôle probable dans la dégradation du cytosquelette des globules rouges)
	Protéase à cystéine	Falcipaine 2	
		SERA5	Sortie des mérozoïtes des globules rouges (mécanisme exact inconnu)
		SERA6	Mutation de la cystéine et blocage du traitement par <i>PfSUB1</i> qui est létal pour le parasite (rôle probable dans la sortie)
	DPAP3	Rôle probable dans la maturation <i>PfSUB1</i>	
Protéase à sérine	<i>PfSUB1</i>	Médiation de l'évacuation qui provoque la maturation de SERA5 et SERA6	
Invasion érythrocytaire	Protéase à sérine	<i>PfSUB1</i>	Processus primaire du complexe MSP1
		<i>PfSUB2</i>	Processus secondaire du complexe MSP1 et processus de AMA1
		<i>PfROM1</i>	Clivage intramembranaire de l'AMA1
		<i>PfROM4</i>	Clivage intramembranaire d'EBA-175
Autre processus cellulaire	Protéase à Thréonine	ClpQ	Substrat exact inconnu
		Protéase de processus stromale (SPP)	Clivage du peptide de transit
	Métallo protéase	Falcilysine	Dégradation du peptide de transit
	Protéase à sérine	ClpP	Substrat exact inconnu
	Peptidase signal	SSP	Clivage du peptide signal
	Protéase aspartique	Plasmepsine V	Clivage du motif PEXEL

Tableau 5 : rôle des protéases dans le développement des stades parasites de *P. falciparum*.¹³⁵

I-3.b. Le protéasome

Le protéasome est un complexe protéolytique majeur responsable de la dégradation et du recyclage des protéines : il joue un rôle important dans le contrôle de la qualité des protéines intracellulaires. Le protéasome fait partie du système ubiquitine-protéasome (UPS), qui gère la protéostasie dans la cellule.

Chez *Plasmodium*, des études révèlent un rôle essentiel du protéasome lors des stades hépatique et sanguin, mais également lors de la transmission.¹³⁶

La fonction de l'UPS de *Plasmodium* est encore en cours d'étude, et la compréhension de sa biochimie pourrait permettre la découverte de nouveaux médicaments antipaludiques.

I-3.c. Les protéines kinases

Les Protéines eucaryotes Kinases (ePK) sont des enzymes qui activent l'activité biologique des protéines par phosphorylation d'acides aminés spécifiques. Elles jouent un rôle important dans la croissance du parasite *Plasmodium*.¹³⁷

Il a été observé que les ePK du parasite affichent une profonde divergence structurelle et fonctionnelle par rapport à leur homologue chez leurs hôtes vertébrés, ce qui suggère que leur inhibition spécifique est envisageable.^{137,138}

I-3.d. Shikimate pathway

La « Shikimate pathway » est une voie métabolique absente chez l'homme, elle est responsable de la production du chorismate. On suppose que le chorismate est un précurseur dans la synthèse de l'acide p-aminobenzoïque (biosynthèse des folates), de l'acide p-hydroxybenzoïque (biosynthèse de l'ubiquinone), de la ménaquinone et des acides aminés aromatiques.

La « Shikimate pathway » en tant que cible médicamenteuse est à ce jour discutée car la dépendance métabolique du chorismate chez *P. falciparum* reste incertaine.¹³⁹

I-3.e. La voie de transport des protéines

L'apicoplaste du parasite permet le transport de protéines.¹⁴⁰ Lorsque ce transport est inhibé, le parasite n'est plus en mesure de mener à bien l'acheminement des nutriments et la cytoadhérence aux globules rouges, deux processus essentiels à sa survie. Cette voie de transport semble être une bonne cible pour concevoir des antipaludéens.

L'apicoplaste dans sa globalité est considéré comme une bonne cible médicamenteuse, bien que les inhibiteurs avérés ne semblent pas l'inhiber sélectivement (ils inhibent également d'autres cibles). En effet, il a été constaté que cet organite est essentiel à la survie du parasite à divers stades de son cycle de vie.¹⁴¹

I-3.f. Les nouvelles voies de perméabilité (NPPs)

Plasmodium passe une partie de son cycle de vie complexe dans les globules rouges d'un hôte humain. Ce parasite modifie notamment la perméabilité de la membrane plasmique des globules rouges. L'augmentation de cette perméabilité est due à l'induction de nouvelles voies de perméabilité (NPP) essentielles à la survie des parasites.¹⁴²

Les NPP sont principalement des canaux sélectifs anioniques, et bien que montrant une préférence pour les anions, les NPP permettent également le transport de solutés à la fois électro-neutres (par exemple le glucose) et cationiques (par exemple les ions Na⁺ et K⁺). Les NPP ont une préférence pour les solutés organiques hydrophobes par rapport aux solutés hydrophiles et ne font pas de distinction entre les formes énantiomères d'un soluté. À l'heure actuelle, le mécanisme exact n'est pas entièrement élucidé, de nombreuses études sont en cours afin de mieux comprendre les NPP. Néanmoins, il a été constaté des différences entre les NPP des parasites et celles des cellules hôtes humaines, ce qui suggère que les NPP présentent un bon potentiel en tant que cibles médicamenteuses sélectives.

I-3.g. La voie de la glycolyse

Le parasite du paludisme, comme tout autre organisme vivant, nécessite un apport constant en glucose. Une quantité élevée de glucose est nécessaire pour générer suffisamment d'ATP pour permettre une réplication rapide des parasites érythrocytaires. *Plasmodium* n'a pas de mécanisme pour générer son propre glucose et dépend donc de l'hôte humain qui en génère. L'absorption de glucose chez le parasite est médiée par un transporteur de glucose connu sous le nom de *P. falciparum* Hexose Transporter (PfHT). Ce transporteur est significativement différent du transporteur de glucose chez l'hôte humain, de ce fait son inhibition semble être une bonne stratégie de traitement du paludisme.¹⁴³

I-3.h. Les ATPases de type P

L'ATPase de type P est un transporteur membranaire responsable du transport des cations. Cette superfamille de transporteurs de cations transporte sélectivement des cations tels que H⁺, Na⁺, K⁺, Zn²⁺ et Cu²⁺ à travers les membranes biologiques. Le maintien d'un bon équilibre électrochimique à travers la membrane (phénomène appelée l'homéostasie ionique) est essentiel à la survie de *Plasmodium*. De ce fait les inhibiteurs des ATPases sont de bonnes cibles thérapeutiques puisque leurs inhibitions empêcheraient le maintien de cet équilibre.

Une ATPase de ce type, *PfATP4*, a récemment été étudiée comme cible thérapeutique potentielle dans le traitement du paludisme¹⁴⁴. *PfATP4* est une pompe à efflux de Na⁺. Sa mutation s'est révélée conférer une résistance à un nombre croissant de nouveaux composés antipaludiques notamment un certain nombre de molécules de la « MalariaBox »¹⁴⁵. Certaines études de résistances/modes d'action sur de potentiels antipaludéens ont convergé vers *PfATP4*. Ces potentiels antipaludéens sont efficaces à différents stades sanguins du parasite et appartiennent à différentes classes de molécules. Ces convergences ne sont pas encore clairement expliquées, néanmoins actuellement les études concernant *PfATP4* montrent que cette ATPase est essentielle, pharmacologiquement accessible et représente donc une cible très intéressante pour le développement de nouveaux médicaments.¹⁴⁴

I-3.i. La biosynthèse des purines et des pyrimidines

À tous les stades du cycle de vie, le parasite a besoin de purines pour la synthèse d'ARN et d'ADN dont les précurseurs sont dérivés des purines et des pyrimidines. Dans le chapitre 1, DHFR et de DHPS, enzymes essentielles dans la biosynthèse des bases purines et pyrimidines, ont été présentées comme cibles de certains antipaludiques actuels.

Il a été remarqué que chez *Plasmodium* la source de purine repose sur l'absorption des purines de l'hôte humain plutôt que sur l'auto-biosynthèse. Et le parasite se sert de quatre transporteurs ENT¹⁴⁶ pour absorber la purine de l'hôte humain, faisant de ces transporteur des cibles potentielles pour le développement d'antipaludéens. Le principal transporteur chez *P.falciparum* est *PfENT1*.

Le parasite est capable de fournir sa propre pyrimidine contrairement à la purine qui vient de l'hôte. Pour cibler cette voie de synthèse des pyrimidines, une enzyme dépendante du mononucléotide flavine appelée dihydroorotate déshydrogénase (DHODH) suscite l'attention, et l'efficacité de son inhibition sur *Plasmodium* a déjà été démontrée.^{147,148,149}

I-3.j. La biosynthèse des isoprénoïdes

Les isoprénoïdes sont nécessaires pour de nombreux processus cellulaires notamment chez *Plasmodium*. La voie du phosphate de méthylérythritol (MEP) de la biosynthèse des isoprénoïdes (figure 40) est une voie validée mais encore trop inexploitée comme cible médicamenteuse. Chez *P. falciparum*, les enzymes de la voie MEP sont localisées sur les apicoplastes.¹⁵⁰ Les études de cette voie suggèrent qu'elle est indispensable lors des stades hépatique et érythrocytaire du cycle de vie de *Plasmodium*.¹⁵¹

De plus cette voie de biosynthèse n'existe pas chez l'hôte humain. L'Homme emploie une voie différente afin de synthétiser des isoprénoïdes appelée voie du mévalonate.

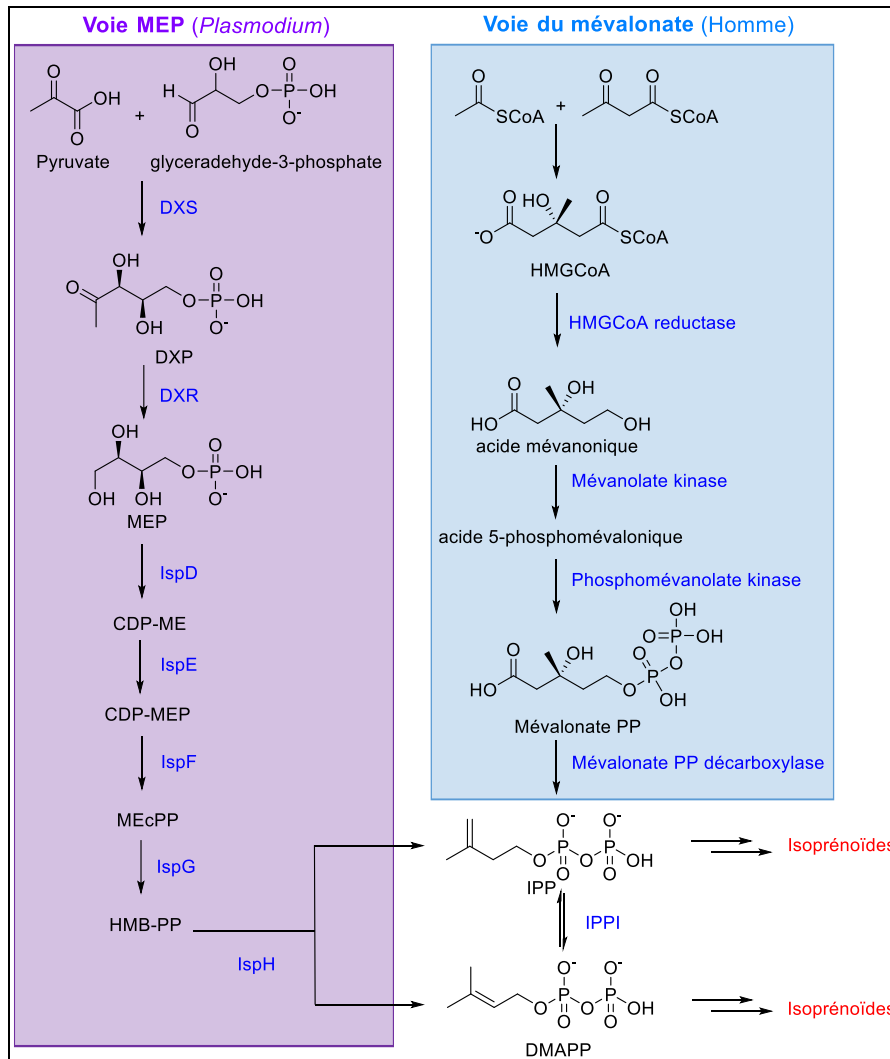


Figure 40 : biosynthèse d'isoprénoïdes par la voie MEP (chez *Plasmodium*) ou par la voie du mévalonate (chez l'Homme)

I-3.k. La biosynthèse de la membrane parasitaire

Les phospholipides sont les composants essentiels des membranes parasitaires qui enveloppent divers organites et composants subcellulaires du parasite. L'un des compartiments que la membrane renferme est la vacuole parasitophore, qui sert à protéger le parasite du système de défense de l'hôte.¹⁵² En inhibant les enzymes impliquées dans la voie de biosynthèse des phospholipides, la formation de la membrane est interrompue ce qui empêche la survie du parasite.¹⁵³

I-4. Récapitulatif des cibles thérapeutiques

Nous venons de voir qu'il existe beaucoup de cibles thérapeutiques permettant de contrer le paludisme. Un récapitulatif des différents stades à viser permet de comprendre les différentes stratégies à envisager, de plus le schéma récapitulatif où figure la localisation dans la cellule du parasite des cibles thérapeutiques connues permet de visualiser toutes les cibles (figure 41).

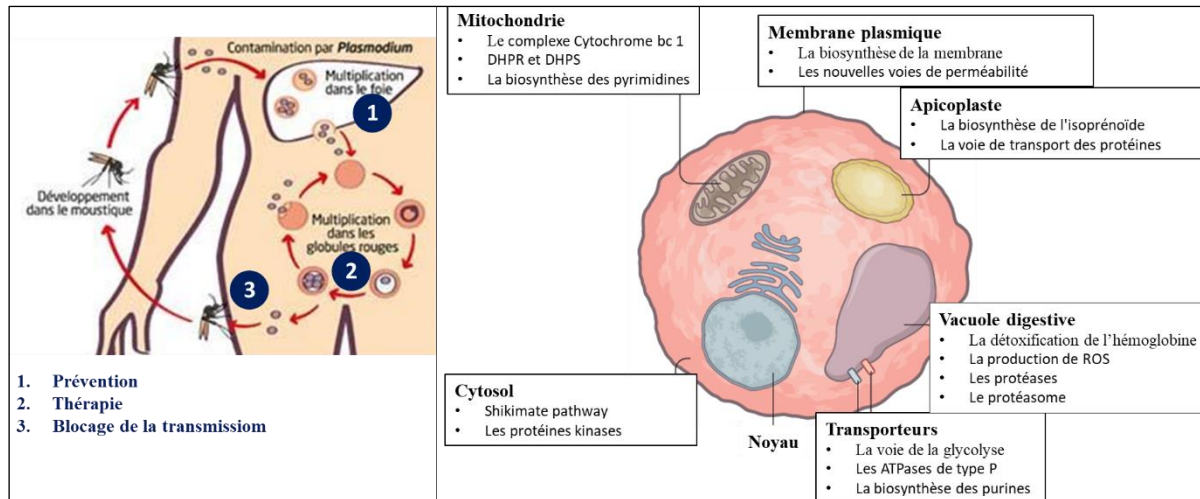


Figure 41 : interventions stratégiques au niveau du cycle du parasite, les différentes cibles connues et leur localisation dans le parasite.

I-5. Développement de médicaments « multi-targets ».

Un domaine de recherche récent réside dans le développement de médicaments « multi-targets » ciblant plusieurs cibles thérapeutiques. Cette tâche peut être parfois complexe mais confère une meilleure efficacité et pourrait éviter l'apparition de phénomènes de résistance.

Un des concepts pour développer des antipaludiques multi-cibles est le concept « Hybrid design ».^{66,154} Il permet d'élaborer des hybrides à partir d'antipaludiques dont on connaît les cibles thérapeutiques soit par utilisation des antipaludéens existants soit par utilisation des molécules issues de criblage. Il repose sur la création d'une seule entité médicamenteuse contenant plusieurs pharmacophores. Les deux squelettes les plus couramment utilisés lors de l'élaboration de tels hybrides sont les quinoléines et la partie thérapeutique de l'artémisinine : le pont endoperoxyde.

Une étude de Walsh *et al*¹⁵⁵ a montré qu'il était possible de créer un hybride à partir de dérivés quinoléiques et d'artémisinine, et d'utiliser un espaceur qui va pouvoir permettre aux différentes fractions libérées après clivage d'exercer leur activité antipaludique respective. Puis Lombard *et al*¹⁵⁶ ont élaboré des hybrides-dimères pour encore améliorer les profils physico-chimiques et pharmacocinétiques de ce type d'hybrides (figure 42).

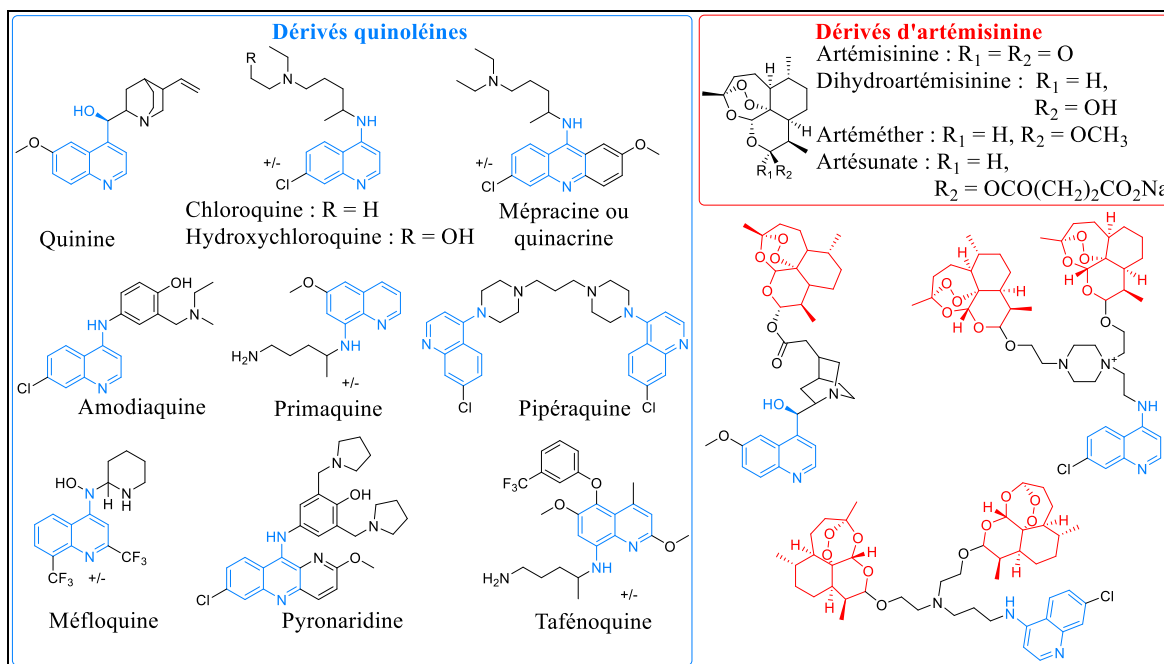


Figure 42 : exemples d'hybrides multi-cibles conçus à partir de dérivés quinoléines et d'artémisinine.

Le développement de nouvelles générations d'antipaludéens progresse, il est important, à ce stade, que chimistes et biologistes partagent leurs connaissances et travaillent ensemble. Le criblage de molécules, la chimie computationnelle assistée par ordinateur et les experts en data science ont également un rôle important afin d'entreprendre des projets qui nous permettront, à terme, d'éradiquer cette maladie.

II- Présentation du projet

Notre équipe a pour projet de mettre au point un composé phare en gardant à l'esprit l'objectif de proposer un candidat médicament administrable par voie orale et abordable pour tous.

Pour mener à bien ce projet, initié en 2015, un partenariat multidisciplinaire a été créé au fil des années avec le laboratoire Molécules de Communication et Adaptation des Micro-organismes (MCAM) et plus particulièrement l'équipe du Pr. Isabelle Florent (Muséum National d'Histoire Naturelle, UMR CNRS 7245 - MNHN, Paris) et le Dr J.L. Vazquez Ibar du Laboratoire des Protéines et Systèmes Membranaires (LPSM) de l'Institut de Biologie Intégrative de la Cellule (I2BC, UMR CNRS 9198, Gif-sur-Yvette).

L'objectif n'est pas d'obtenir une molécule avec la meilleure activité biologique (IC_{50} , EC_{50}) mais de parvenir à celle qui présentera le meilleur compromis entre activité, sélectivité et certaines propriétés ADME-Tox (hydrosolubilité, stabilité métabolique, toxicité, perméabilité membranaire...). Le choix final de la (des) molécule(s) à tester et de la dose reposera sur des études de toxicité aiguë (MTD : Maximum Tolerated Dose et MTTD : maximum tolerated toxic dose) et de biodisponibilité chez l'animal (figure 43).

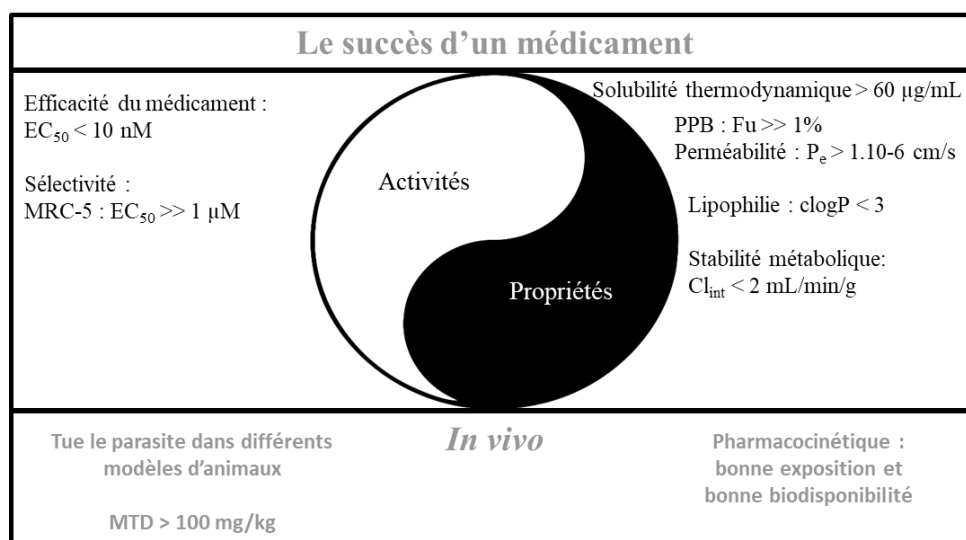


Figure 43 : équilibre des différents paramètres à prendre en compte pour développer un bon médicament ; PPB : Plasma Protein Binding (Liaison aux protéines plasmatiques), F_u : Fraction unbound (fraction non liée), MTD : Maximum Tolerated Dose (dose maximal tolérée), Cl_{int} : clairance intrinsèque.

En explorant les données de la Malaria Box, en les visualisant à l'aide du logiciel DataWarrior et avec des critères de sélection bien précis ($EC_{50} < 500 \text{ nM}$, $\text{clogP} < 3$, simplicité et rapidité de synthèse), l'équipe a sélectionné une série de molécules possédant un cœur quinazolinedione (Tableau 6), qui présente des activités antipaludéennes intéressantes sur de multiples stades du cycle de vie de *Plasmodium*.

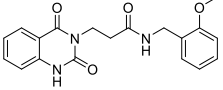
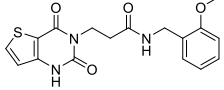
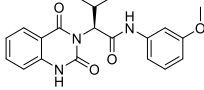
		 MMV665916	 MMV019066	 MMV665878
Activité antiplasmodiale	Stade sanguin asexué ¹⁵⁷ <i>P. falciparum</i> souches : 3D7, K1, W2, Dd2, FCR3 (EC ₅₀)	Actif (0,07 à 0.54 µM)	Actif (0,07 à 0.98 µM)	Actif (0,1 à 0,2 µM)
	Stade sexué ¹⁵⁸⁻¹⁶² <i>P. falciparum</i> gamétocytes précoces et tardifs	Inactif	Inactif	Actif (0,2 à 3 µM)
	Stade hépatique ^{157,163} <i>P. berghei</i> % d'infection / contrôle @ 5 µM	Actif (23%)	Actif (27%)	Actif (51%)
	Ookinete ¹⁶⁴ <i>P. berghei</i> développement ookinete IC ₅₀ (nM)	Inactif	Inactif	460
Toxicité ¹⁵⁷	MRC-5 EC₅₀	> 32 µM	> 32 µM	> 32 µM
	Inhibition hERG (% @ 11 µM)	Non (19%)	Non (5%)	Non (17%)
<i>In vitro</i> ADME ¹⁵⁷	Solubilité cinétique (>20 µM @ pH 7.4)	Non	Oui	Oui
	PPB humain (fraction liée)	>95%	< 95%	< 95%
PK ¹⁵⁷ (souris, PO, dose 140 µmol/kg)	C_{max} (> 1 µM)	Non (0,0213)	Oui	Oui
	T_{max} (h)	0.25	-	-
	AUC₀₋₇ (> 12 h, µM)	Non (0,0729)	Non	Non
	MRT₀₋₇ (h)	3,01	-	-

Tableau 6 : profil pharmacologique de **MMV665916**, **MMV019066** et **MMV665878** (voir annexe p 229 pour le descriptif des différentes souches).

Un autre point important est la facilité de synthèse induisant un potentiel faible coût de production. En effet, les analogues de cette série ont été synthétisés en seulement 4 ou 5 étapes (avec 1 ou 2 purifications) à partir de produits commerciaux bon marchés.

Cette série de molécules a été divisée en deux sous-groupes :

Sous-groupe 1 : **MMV665916** et **MMV019066** (molécules possédant un même espaceur de type acide β -aminé entre le cœur quinazolinedione et une fonction benzylamide). Ces molécules inhibent puissamment ($EC_{50} \leq 200$ nM) le cycle érythrocytaire de diverses souches de *Plasmodium* dont des souches résistantes à divers antipaludéens actuels (3D7, K1, W2, Dd2, FCR3). Plus intéressant, elles présentent une bonne activité sur le stade hépatique.^{157,163} À noter que ces molécules présentent une faible toxicité pour les cellules humaines (fibroblastes MRC-5 $EC_{50} > 32$ μ M) et aucun risque de cardiotoxicité (inhibition de hERG).

Sous-groupe 2 : **MMV665878** (structure proche de la série 1 possédant un espaceur de type acide α -aminé entre un cœur quinazolinedione et une fonction anilide). Cette molécule inhibe puissamment le cycle érythrocytaire ($EC_{50} \leq 200$ nM) de diverses souches de *Plasmodium falciparum* dont des souches ayant développé des résistances aux antipaludéens actuels (3D7, K1, W2, Dd2, FCR3); elle possède une activité modeste sur le stade hépatique.¹⁵⁷ **MMV665878** exerce également une activité inhibitrice importante sur le stade trophozoïte ($EC_{50} < 200$ nM) induisant une perturbation métabolique supérieure à celle de l'artémisinine, le meilleur agent antipaludique connu à ce jour.¹⁶⁵ Par ailleurs, ce composé inhibe les formes sexuées du parasite dont notamment les gamétocytes matures stade V ($EC_{50} = 0,54$ μ M). De plus, cette molécule empêche la transmission de *P. falciparum* aux moustiques avec un potentiel de blocage de la transmission de 97% à 2,5 μ M.¹⁶⁶ À noter que cette molécule présente une fenêtre de sélectivité remarquable avec une faible toxicité pour les cellules humaines (fibroblastes MRC-5 $EC_{50} > 32$ μ M) et aucun risque de cardiotoxicité (inhibition de hERG). **MMV665878** a en 2021 regagné en intérêt puisqu'elle a présentée des activités sur *P. vivax*. Ces activités sont très intéressantes et l'étude de *P. vivax* est différente de *P. falciparum* rendant ainsi notre étude encore plus prometteuse.¹⁶⁷

Le défaut majeur de ces trois molécules est leur profil pharmacocinétique très modeste.¹⁵⁷ En effet, ces composés présentent des problèmes d'exposition ($AUC < 12$ h. μ M), de biodisponibilité et de stabilité métabolique. Ces problèmes peuvent être principalement causés par une faible solubilité aqueuse, des difficultés d'absorption dans l'organisme et des dégradations métaboliques importantes.

Une solubilité non optimale va limiter la quantité de principe actif présent dans les différents fluides corporels (sang, estomac, intestin). De plus, le foie est le principal organe impliqué dans le métabolisme des molécules bioactives. En effet, c'est lors de son passage dans le foie qu'une substance bioactive va être bio-transformée par différentes enzymes. La majorité de ces

enzymes appartient à la famille des cytochromes P450 (glossaire p 238). Afin de connaître les points sensibles de ces molécules, des prédictions de dégradation métabolique par ces cytochromes ont été réalisées grâce à un modèle « XenoSite P450 Metabolism » du site web XenoSite (figure 44).¹⁶⁸ Ce modèle permet de localiser des zones potentiellement oxydables par les différentes isoformes de cytochromes P450. La représentation HLM (Human Liver Microsome) résume l'ensemble des sites d'oxydation possibles par les microsomes de foie humain, et permet de repérer rapidement les zones les plus sensibles sur un seul graphe.

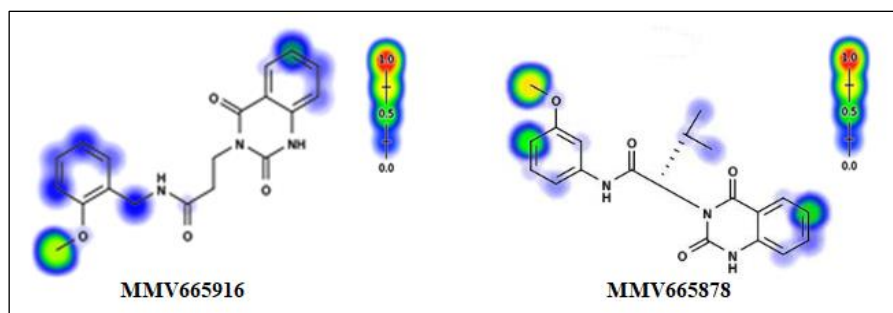


Figure 44 : prédiction de dégradation métabolique de **MMV665916** et de **MMV665878** via XenoSite, représentation HLM (l'échelle indique que les zones en rouges sont les plus susceptibles d'être oxydées venant ensuite les zones en jaune, vert puis bleu).

Pour pallier ces inconvénients et améliorer l'efficacité de ces molécules à cœur quinazolinedione, des études structures/activité (SAR), structures/propriétés (SPR), et ADME/tox - PK (étude pharmacocinétique) sont nécessaires (voir glossaire p 238).

Nous avons fait le choix de débiter notre étude par le sous-groupe 1, qui présente l'avantage d'avoir une activité hépatique plus importante que le sous-groupe 2.¹⁶³ Néanmoins, les sous-groupes étant très proches structurellement, nous avons également en parallèle synthétisé des molécules analogues à la fois au sous-groupe 1 et au sous-groupe 2, mais aussi quelques analogues uniquement du sous-groupe 2 pour comparer les deux sous-groupes. Suite à cette étude le sous-groupe 2 a été choisi et une étude plus détaillée a été réalisée.

III-Conclusion du chapitre

Ce chapitre montre la difficulté à développer des antipaludéens de par la complexité du cycle de vie du parasite *Plasmodium* et présente notre projet qui s'intègre dans la recherche de nouveaux antipaludéens. Les prochains chapitres détailleront ce projet.

Chapitre 3 : Étude du sous-groupe 1 (analogues de MMV665916 et MMV019006)

I- Objectif	72
II- Les différentes synthèses mises au point.....	73
III- Résultats	76
II-1. Étude des zones 1,2 et 3.....	76
II-2. Étude des isostères de la fonction amide.	79
II-3. Possible mode d'action et docking	81
IV- Conclusion du chapitre	87

I- Objectif

L'objectif est d'optimiser la série de molécules représentée par les dérivés quinazolidinedione MMV665916 et thiénoypyrimidinedione MMV019006. Nous nous sommes essentiellement intéressés à des modifications du squelette quinazolidinedione MMV665916 plus facile d'accès synthétique et avec une diversité plus importante de substrats de départ. Leurs voies de synthèse seront explorées et leurs activités biologiques déterminées sur la souche FcB1 de *P.falciparum* (souche résistante à la chloroquine).

Quatre zones de pharmacomodulation (figure 45) ont été définies :

Zone 1 : Modulation des propriétés stéréoélectroniques du cycle aromatique, encombrement de la position benzylique et remplacement du cycle aromatique par des chaînes aliphatiques ou cycles hétéroaromatiques.

Zone 2 : Nature et longueur de l'espaceur.

Zone 3 : Modulation des propriétés stéréoélectroniques du cœur quinazolidinedione.

Zone 4 : Remplacement (bio)isostérique de la liaison amide. Cette dernière étant susceptible d'être hydrolysée par des protéases, la fonction amide sera donc remplacée par différents isostères non-hydrolysables.

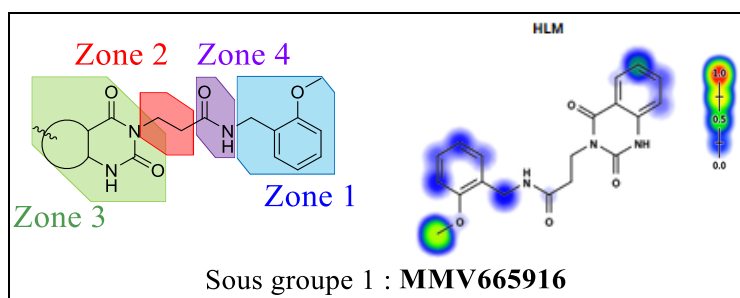


Figure 45 : le sous-groupe 1 et ses quatre zones d'étude et le sous-groupe 2. Prédiction de dégradation métabolique de **MMV665916** via XenoSite, représentation HLM (l'échelle indique que les zones en rouges sont les plus susceptibles d'être oxydées, viennent ensuite les zones en jaune, vert puis bleu).

En tenant compte des prédictions de dégradation métabolique (figure 45), la zone 3 et notamment la zone 1 seront prioritairement étudiées.

II- Les différentes synthèses mises au point

MMV665916 et 27 analogues ont été rapidement préparés par les voies de synthèse présentées en figure 46 et 47.

Les analogues permettant de moduler les zones 1, 2 et 3 peuvent être synthétisés selon deux voies distinctes (figure 46). Une première voie consiste à coupler un chlorhydrate d'acide aminé **2** avec l'acide anthranilique **3** en présence de HBTU dans le DMF. Le composé **2** est un dérivé de la β -alanine ou de l'acide γ -aminobutyrique, synthétisé au préalable à partir de l'acide aminé correspondant **1** avec du chlorure de thionyle dans MeOH. Une deuxième voie implique la réaction de cette amine **2** avec l'anhydride isatoïque **4** dans le THF en présence de DIPEA à 70 ° C. Si l'anhydride isatoïque n'est pas disponible dans le commerce, il est facilement synthétisé par cyclocondensation entre l'acide anthranilique correspondant et le triphosgène dans un mélange de MeCN / DCM. L'aniline obtenue est ensuite mise en réaction avec le chloroformiate d'éthyle puis une cyclisation du carbamate permet d'obtenir les dérivés de quinazolinedione *N*-alkylés **5a-e** et **6** via un traitement avec NaOH dans EtOH à 70 ° C. La fonction ester est également saponifiée dans ces conditions. Les acides carboxyliques résultants sont alors couplés avec diverses amines aliphatiques ou aromatiques pour donner les composés désirés **8** et **9**. Parmi les divers agents de couplage peptidique criblés, le système HBTU / DIPEA dans DMF a été largement utilisé pour former la liaison amide. Cependant, dès que la contrepartie amine est stériquement encombrée ou faiblement nucléophile, ce système n'est plus adapté. Le système COMU / DIPEA dans la DMF permet de pallier ce problème et conduit à un couplage plus efficace. De plus le remplacement du DMF par du dioxane a permis la précipitation des produits désirés qui sont facilement purifiés par une procédure simple de filtration et de lavage.

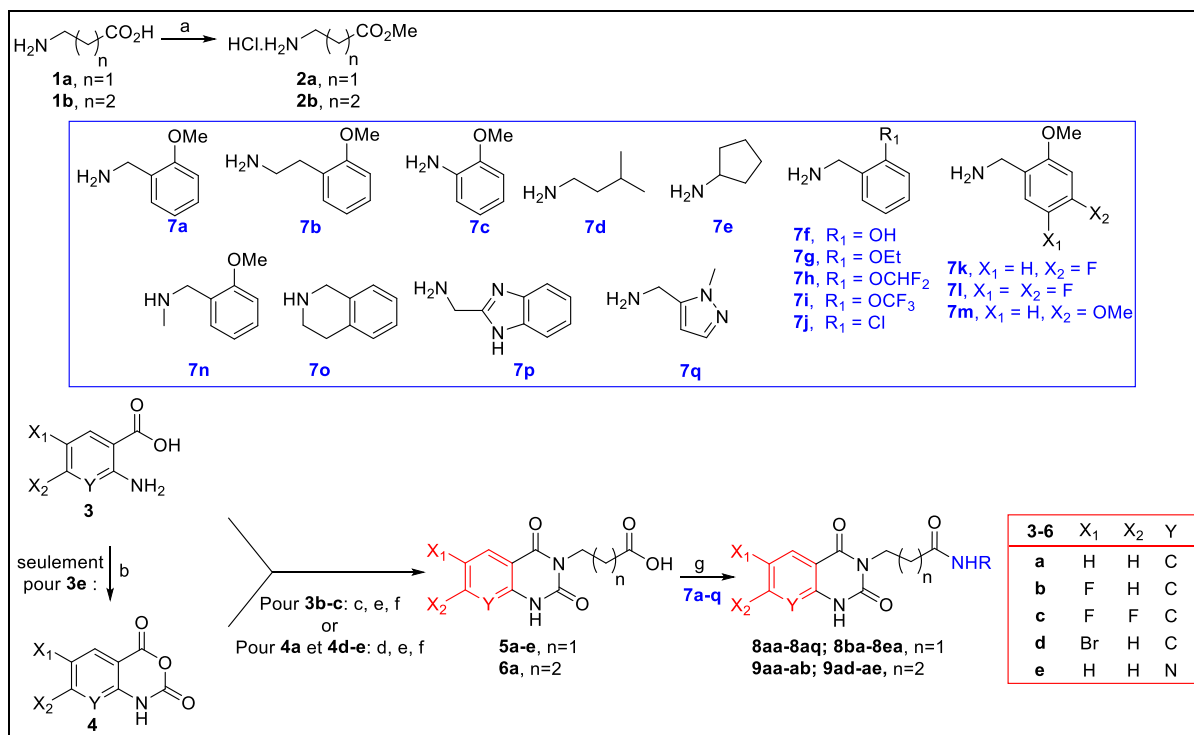


Figure 46 : schéma de synthèse générale pour l'obtention d'analogues modulant les zones 1, 2 et 3 du sous-groupe 1 ; conditions : a) SOCl_2 , MeOH, 0°C to 70°C , 5h. b) triphosgène, pyridine, MeCN : DCM (4:1), 55°C , 24h. c) **2a-b**, HBTU, DIPEA, DMF, t.a, 72h. d) **2a-b**, DIPEA, THF, 70°C , 18h. e) Chloroformiate d'éthyle, K_2CO_3 , DCM, t.a, 24h. f) NaOH, EtOH, 70°C , 20-48h. g) R-NH₂ **7a-q**, méthode A : HBTU, DIPEA, DMF, t.a ou 50°C , 48-72h ; méthode B : COMU, DIPEA, DMF, t.a, 48h ; méthode C : HBTU, DIPEA, dioxane, t.a, 48h ; méthode D : COMU, DIPEA, dioxane, 50°C , 48h.

Les motifs sulfonamide et triazole sont des isostères que nous avons choisis d'étudier, leur voie de synthèses sont décrites figure 47.^{169,170}

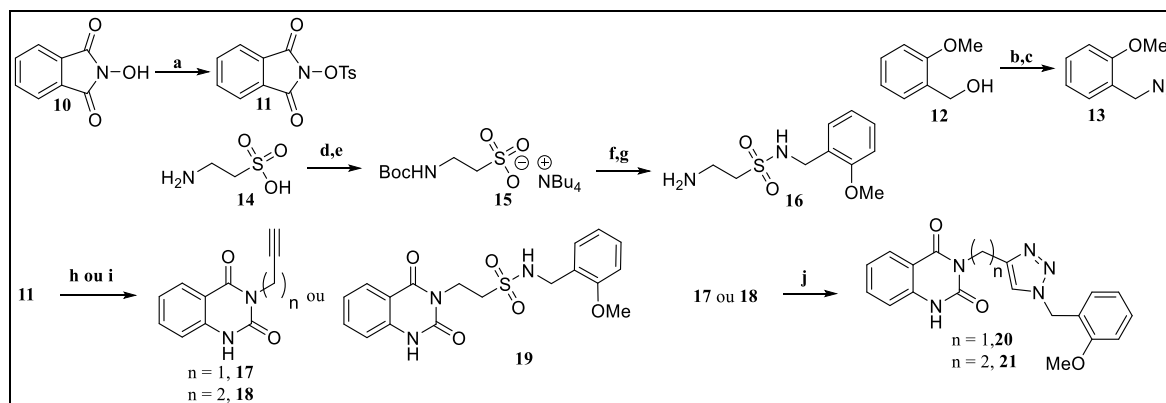


Figure 47 : schéma de synthèse générale pour l'obtention d'analogues modulant la zone 4 du sous-groupe 1 ; conditions : a) TsCl, pyridine, DCM, t.a, 77%. b) MsCl, Et₃N, DCM, 0°C . c) NaN₃, MeCN, 85°C , 24h, 62% (2 étapes). d) Boc₂O, NaOH, THF, RT, 15h. e) LiOH.H₂O, NBu₄.HSO₄, H₂O, t.a, 0.5h, quantitatif. f) triphosgène, DMF, DCM, t.a, 0.5h puis 2-méthoxybenzylamine, DBU, 0°C à t.a, 20h, 38%. g) TFA, DCM, t.a, 24h, 36%. h) propargylamine ou homopropargylamine, pyridine, 120°C , 24h, **17**: 73% et **18**: 80%. i) **16**, pyridine, 90°C , 20h, **19** : 29%. j) **13**, CuSO₄.5H₂O, sodium ascorbate, tBuOH : H₂O (1/1), 25°C , **20**: 43% et **21**: 69%.

L'analogue sulfonamide et les dérivés triazole **20** et **21** sont préparés selon la procédure détaillée dans la figure 47. Leur synthèse débute par la préparation des précurseurs suivants : la *N*-tosyloxyphtalimide **11**, l'azoture de benzyle **13**, et le dérivé β -aminosulfonamide **16**. Le composé **13** est obtenu en deux étapes. Lors de la première étape, l'alcool est transformé en chlorure et/ou mésylate en utilisant du chlorure de mésyle. La deuxième étape est une substitution nucléophile avec NaN_3 . Le composé **16** est obtenu en 4 étapes à partir de la taurine.¹⁷¹ La première étape consiste à protéger la fonction amine de la taurine puis à générer le sulfonate de tétrabutylammonium correspondant **15**. La molécule **15** ainsi obtenue est ensuite engagée dans une réaction de couplage avec la 2-méthoxybenzylamine en présence de triphosgène. Finalement le composé **16** est obtenu par déprotection lors d'une hydrolyse acide avec du TFA. Le corps quinazolinedione est obtenu grâce à la réaction clé impliquant un réarrangement de Lossen (figure 48), suivi d'une cyclisation.¹⁷² Cette réaction entre la *N*-tosyloxyphtalimide **11** et différentes amines nucléophiles permet d'obtenir les alcynes **17** et **18** ainsi que l'analogue sulfonamide **19**. Par la suite, les alcynes **17** et **18** sont engagés dans une réaction de chimie click avec l'azoture de benzyle **13** (mécanisme, figure 49) catalysée par le système Cu (II) / ascorbate ¹⁷³ qui permet un accès rapide aux deux analogues 1,2,3-triazole 1,4-disubstitués **20** et **21**.

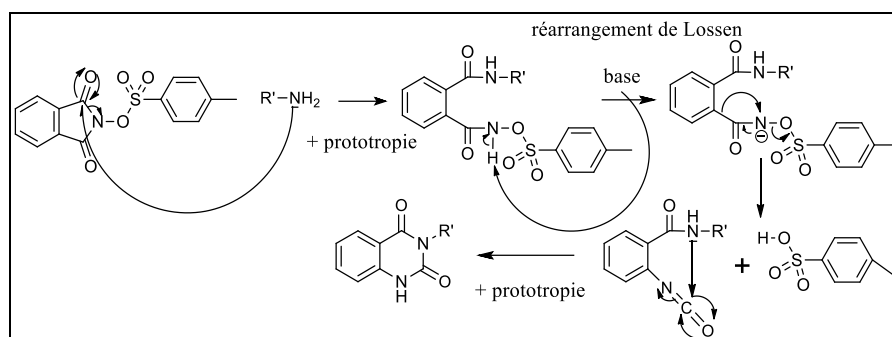


Figure 48 : mécanisme proposé par Sati et Crich pour l'addition d'une amine sur une N-Sulfonyloxy maleimide.¹⁷²

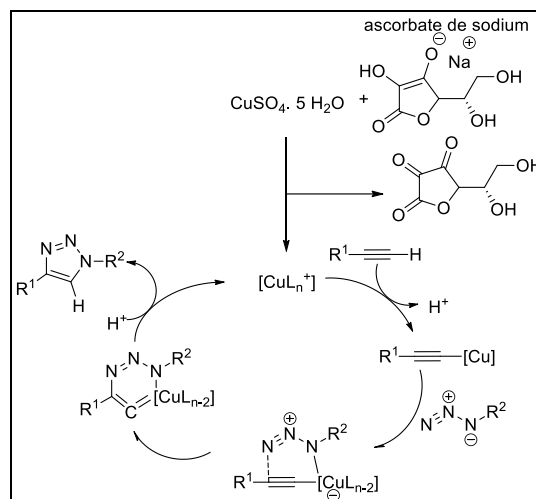


Figure 49 : mécanisme de la réaction chimie click catalysée au cuivre (CuAAC).

III- Résultats

Les 27 analogues du sous-groupe 1 ont été testés sur la souche FcB1 de *P. falciparum* (partie expérimentale p 169). Dans un premier temps, l'inhibition de la croissance du parasite à une concentration de 20 μM en inhibiteur est évaluée en duplicat. Puis l' IC_{50} est déterminé pour les molécules les plus intéressantes. Les résultats sont présentés sous forme de quatre tableaux (tableaux 7-10).

II-1. Étude des zones 1,2 et 3

Dans un premier temps, nous avons étudié l'effet :

- 1) des modifications de la longueur de la chaîne de l'espaceur entre le cœur quinazolinedione et la fonction benzylamide (zone 2),
- 2) des modifications de la longueur de la chaîne entre la liaison amide et le cycle aromatique de la zone 1,
- 3) du remplacement de la benzylamine par un groupement aliphatique (zone 1).

Les résultats du tableau 7 montrent que la longueur de la chaîne carbonée influe significativement sur l'inhibition. En effet, plus la chaîne carbonée est longue, moins la substance va inhiber la croissance du parasite (entrée 1 vs 2). La longueur de la chaîne entre la liaison amide et le cycle aromatique (zone 1) joue également un rôle important sur l'activité inhibitrice (entrée 1 vs 3 et 1 vs 5). De plus, un groupement aliphatique cyclique ou acyclique en zone 1 fait chuter significativement l'inhibition (entrée 1 vs 6 ou 8).

Entrée		n	R	Inhibition % @ 20 μM	IC ₅₀ FcB1 (μM)
1	MMV665916, 8aa	1		-	0.4 ± 0.1
2	9aa	2		-	16.9 ± 5.8
3	8ab	1			
4	9ab	2		-	7.7 ± 2.6
5	8ac	1			
6	8ad	1		-	> 25
7	9ad	2			
8	8ae	1		33±3	-
9	9ae	2			

Tableau 7 : résultats des tests biologiques des premiers analogues synthétisés du sous-groupe 1.

Modification de la zone 1

Par la suite, l'étude s'est focalisée sur les modifications de la *N*-benzylamine (tableau 8). Rappelons que le principal mécanisme de dégradation métabolique devrait être la *O*-déméthylation du groupement 2-méthoxybenzylamide de **MMV665916**. Cependant le métabolite putatif *O*-déméthylé, composé **8af**, est inactif (tableau 8, entrée 2) : il est donc important de poursuivre des tentatives de remplacement de ce groupement méthoxy par des dérivés métaboliquement stables ou des bioisostères.^{169,174} L'extension de la longueur de la chaîne du méthyle à l'éthyle (composé **8ag**, tableau 8 entrée 3) n'a pas été tolérée avec une activité multipliée par 14. Le remplacement de ce point de vulnérabilité métabolique par des groupes alternatifs tels que -OCHF₂ **8ah**, -OCF₃ **8ai** ou par un substituant chlore **8aj** n'a pas été efficace et a conduit à une baisse significative de la puissance inhibitrice, suggérant que le substituant -OMe est important pour l'activité inhibitrice de cette série de molécules. Par ailleurs, afin de minimiser le métabolisme oxydatif du noyau aromatique anisole, une stratégie de modulation de sa densité électronique a également été étudiée. L'introduction d'atomes de fluor sur le cycle aromatique, comme le fluoroanisole **8ak** ou le difluoroanisole **8al**, a été préjudiciable à l'activité inhibitrice (perte de puissance de 12 et 28 fois, respectivement). De plus, le motif 3,5-diméthoxy **8am** a conduit à une perte significative de l'activité inhibitrice. Le remplacement du noyau anisole par du benzimidazole **8ap** ou du méthylpyrazole **8aq** a également été examiné, et a malheureusement été inefficace.

De plus, la partie $-C=O-NH-CH_2$ de la *N*-benzylamide devrait également être considérée comme un groupe sensible à la dégradation métabolique via deux phénomènes : l'oxydation de la position benzylique et la sensibilité aux protéases. Pour atténuer ces potentiels voies de dégradation, nous avons cherché à augmenter l'encombrement stérique autour de cette position (composé **8an**) et également rigidifié la structure (composé **8ao**). Ces modifications ont entraîné une baisse significative de l'activité inhibitrice et suggèrent que NH serait important pour l'affinité envers la(les) cibles thérapeutique(s).

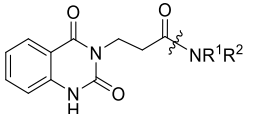
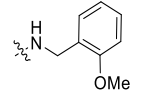
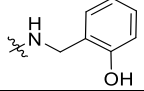
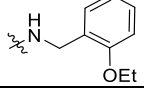
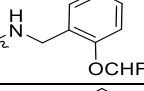
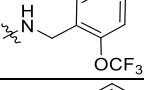
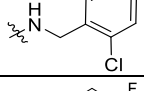
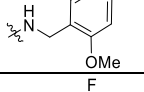
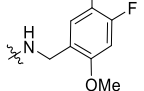
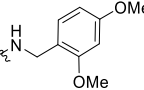
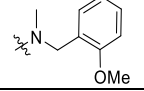
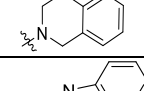
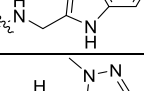
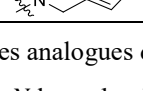
Entrée		NR ¹ R ²	Inhibition (%) à 20 μM	IC ₅₀ FcB1 (μM)
1	MMV665916, 8aa		-	0.4 ± 0.1
2	8af		17±7	-
3	8ag		85±5	5.5± 0.7
4	8ah		64±4	32.0±22.6
5	8ai		73±4	6.8±2.5
6	8aj		56±2	37.5±4.9
7	8ak		75±3	5.0± 1.4
8	8al		68±2	11.3± 3.9
9	8am		28±2	-
10	8an		42±7	-
11	8ao		31±3	-
12	8ap		38±1	-
11	8aq		20±2	-

Tableau 8 : résultats des tests biologiques des analogues du sous-groupe 1 permettant d'explorer la partie *N*-benzylamine.

Pour le moment, l'étude SAR semble montrer que l'espaceur de la zone 2 doit être constitué de 2 atomes de carbone et que seul le motif 2-méthoxybenzylamide est toléré en zone 1.

Modification de la zone 3

Afin d'éviter d'éventuelles dégradations métaboliques prédites au niveau du cycle aromatique de la partie quinazolinedione, l'introduction d'atomes de brome ou de fluor a été envisagée pour bloquer les centres oxydables et diminuer la densité électronique du cycle aromatique (tableau 9). L'introduction d'un ou deux atomes de fluor **8ba** et **8ca** a donné des résultats décevants, les données d'inhibition montrant des valeurs d'IC₅₀ dans la gamme du micromolaire. L'analogue bromé **8da** a suivi une tendance similaire avec une perte d'activité inhibitrice. L'atome de brome a un effet inductif attracteur qui comme l'atome de fluor permet de diminuer la densité électronique du cycle aromatique. Cependant il va aussi permettre l'introduction d'un encombrement stérique plus important (rayon de Van der Waals, du brome : 1,85 Å, du fluor : 1,47 Å).¹⁷⁵ Cette perte d'inhibition suggérerait la présence d'un site actif possédant une poche de liaison peu profonde autour de ce noyau aromatique.

L'introduction d'un atome d'azote au sein du squelette quinazolinedione a également été étudiée comme une alternative intéressante pour atténuer le métabolisme oxydatif.¹⁷⁶ Les résultats de l'évaluation de l'activité biologique de l'analogue pyridopyrimidinedione **8ea** montrent également une baisse de l'activité inhibitrice.

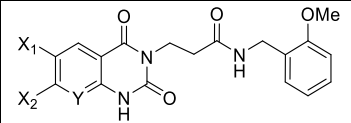
Entrée		X1	X2	Y	Inhibition (%) à 20 µM	IC ₅₀ FcB1 (µM)
1	MMV665916, 8aa	H	H	CH	-	0.4 ± 0.1
3	8ba	F	H	CH	65±6	20.0 ± 18.4
4	8ca	F	F	CH	41±1	-
2	8da	Br	H	CH	60±1	-
5	8ea	H	H	N	52±2	-

Tableau 9 : résultats des tests biologiques des analogues modulant la zone 3 du sous-groupe 1.

II-2. Étude des isostères de la fonction amide.

Pour rappel, un isostère d'une fonction est par définition une fonction capable de mimer les effets stériques, électroniques, ainsi que la topologie et la solubilité de la fonction en question.

La fonction amide de **MMV665916** peut être sujette à hydrolyse par des protéases présentes dans le sang ou dans les fluides gastro-intestinaux. Pour pallier cet éventuel problème, différentes molécules incorporant des isostères de la fonction amide ont été préparées, à savoir le motif triazole et le motif sulfonamide.

Le motif triazole est un bon isostère de la liaison amide (figure 50).¹⁷⁷ Le moment dipolaire de ce motif est de 5,0 D, ce qui est légèrement plus grand que celui des amides secondaires dont le moment dipolaire est de 3,5 à 4,0 D. Ce motif possède deux azotes accepteurs de liaison hydrogène, et la liaison C-H de ce motif est considérée comme un donneur d'hydrogène. De plus la distance entre R₁ et R₂ d'une liaison amide est similaire à celle du motif triazole (seulement 1 Å d'écart).

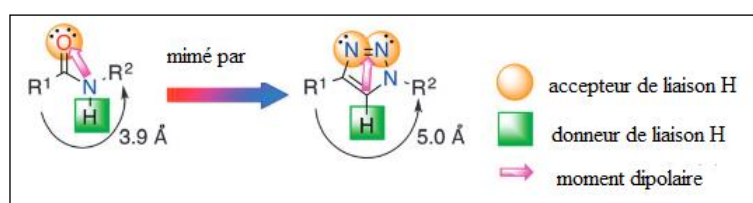


Figure 50 : le motif triazole comme isostère de la liaison amide.

Le motif sulfonamide est également un bon isostère de la fonction amide (figure 51).¹⁷⁸ En effet il possède deux oxygènes accepteurs de liaison hydrogène, et un donneur de liaison hydrogène. Cependant, ce motif diffère de par son angle dièdre qui est de 90 ° alors que celui de la liaison amide est de 180°.

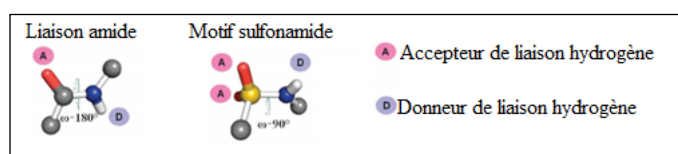


Figure 51 : le motif sulfonamide comme isostère de la liaison amide.

Le remplacement de la liaison peptidique de **MMV665916** par le sulfonamide **19** ou le triazole **20** ne sont pas de bonnes alternatives (tableau 10). En revanche, le triazole 1,4-disubstitué **21** semblerait être le meilleur isostère même si l'activité inhibitrice devrait être dans la gamme de la dizaine voire de la centaine de μM .

	L	Inhibition (%) à 20 μM
19		22±6
20		31±2
21		69±4

Tableau 10 : résultats des tests biologiques des analogues modulant la zone 4 du sous-groupe 1.

II-3. Possible mode d'action et docking

D'après l'analyse du résistome de *P. falciparum*, Cowell *et al.*¹⁷⁹ ont récemment suggéré un possible mode d'action pour la thiénopyrimidinedione MMV019006 (et par analogie pour la quinazolinedione MMV665916) via l'inhibition de l'enzyme farnésyltransférase (*PfFT*) (PF3D7_1147500).

La farnésyltransférase (FT) intervient lors de la biosynthèse des isoprénoïdes¹⁸⁰, l'une des nouvelles cibles évoquées dans le chapitre 2. Elle n'intervient pas dans la voie MEP, mais plus tard dans la biosynthèse des isoprénoïdes (figure 52). Les premiers inhibiteurs sélectifs de *PfFT* ont été découverts par Glenn (figure 53).¹⁸¹

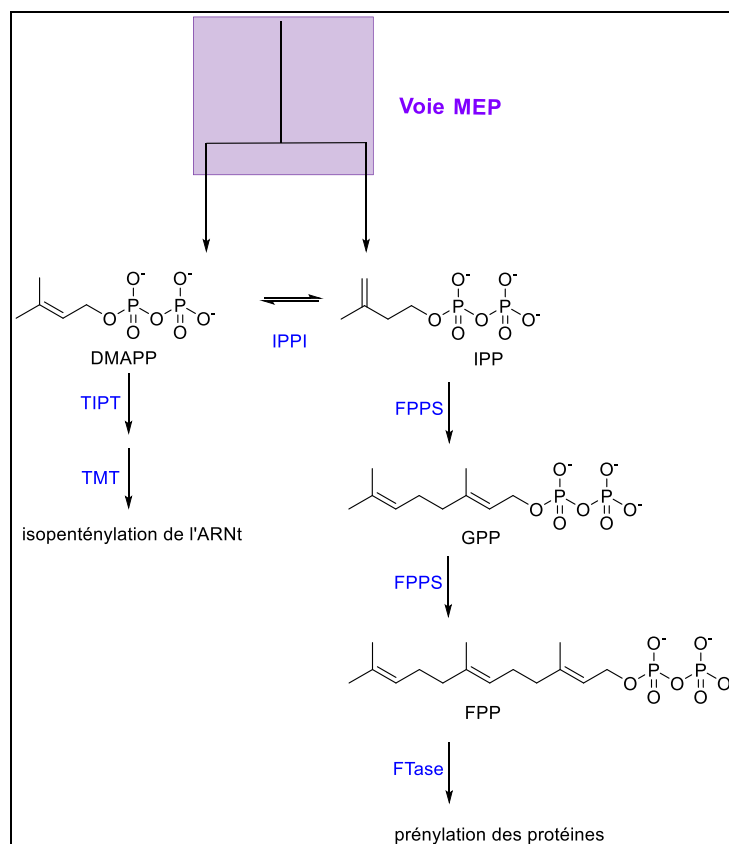


Figure 52 : implication de la FTases dans la biosynthèse d'isoprénoïdes

Structure du composé			IC ₅₀ (nM)		Sélectivité
X	R ₁	R ₂	<i>Pf</i> FT	rat PFT	
CN			0.5	25	47
Br			2.0	290	145
Br			1.9	83	44
CN			2.1	43	20
CN			0.6	15.5	27
Ph			8.0	>1000	>125

Figure 53 : structure des inhibiteurs sélectifs de Glenn et al.¹⁸¹ a) concentration d'inhibiteur requise pour diminuer l'activité de la farnésyltransférase de 50 %. b) Rapport des activités inhibitrices de PFT du rat vs de *Plasmodium falciparum*.

La farnésyltransférase est une métalloenzyme à zinc catalysant la réaction de farnésylation. La farnésylation consiste à transférer une chaîne farnésyle provenant du pyrophosphate de farnésyle (FPP) vers le résidu cystéine de certaines protéines possédant un motif CaaX, où C est la cystéine farnésylée, a est un acide aminé aliphatique et X est Ser, Ala, Gln ou Met localisé en C-terminal d'un substrat protéique.¹⁸² Ce substrat est une petite protéine de liaison au GTP faisant partie de la superfamille Ras (Ras, Rac, Rho et Rab).

En l'absence de structure cristallographique de l'enzyme *PjFT*, seule une étude de modélisation moléculaire par homologie a été réalisée en se basant sur des orthologues de FT de mammifères (notamment celle du rat qui a 34.1% d'identité, (alignement UniProt), mais dont le site actif est fortement conservé). En effet, de nombreux complexes de FT de mammifères - inhibiteur sont décrits dans la littérature, car FT a été une cible privilégiée pour le développement de nouveaux composés antitumoraux depuis le début des années 1990. D'après l'analyse du mode d'interaction FT – ligand, presque tous les inhibiteurs se lient à la partie CaaX du site actif qui est normalement occupée par le substrat protéique. L'enzyme FT et l'inhibiteur forment alors un complexe quaternaire avec FPP et l'ion zinc (figure 54). Il a été montré que la présence de FPP est nécessaire pour que la liaison avec le ligand soit efficace.¹⁸³ Un seul inhibiteur de FT dérivé d'éthylènediamine conduit à un complexe ternaire avec occupation simultanée de la poche FPP et du sous-site CaaX, empêchant ainsi la liaison des deux substrats.¹⁸⁴

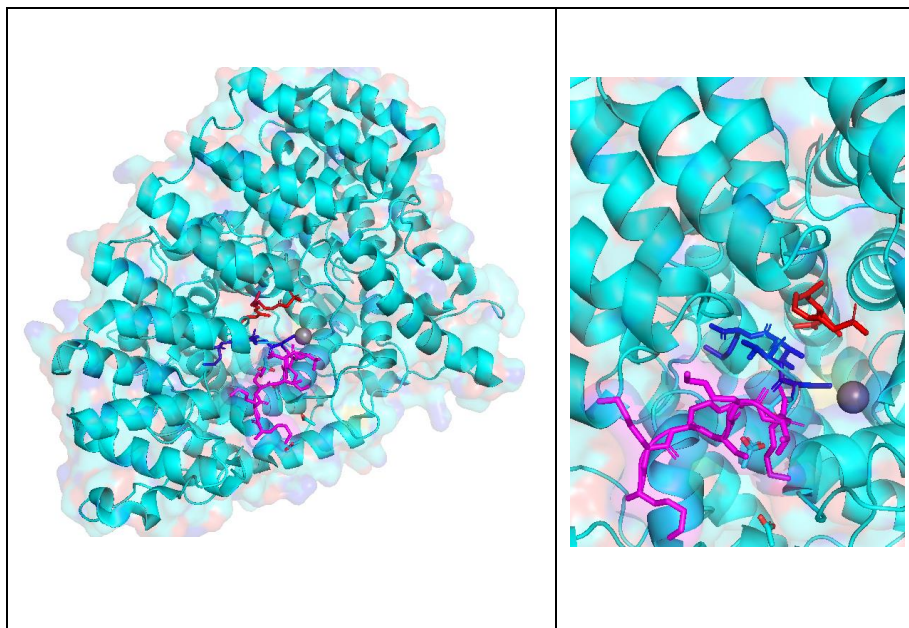


Figure 54 : structure de la farnésyltransférase ; Complexe quaternaire : en rose le sous-site CaaX, en rouge FPP, en gris Zn, en bleu foncé le substrat protéique (PDB : 1D8D).

Dans leur étude, Cowell *et al.*¹⁷⁹ ont proposé un mode de liaison compétitif pour MMV019006 (figure 55), probablement biaisé par l'absence de FPP et de l'ion zinc dans le site actif de *Pf*FT. Les auteurs ont construit un modèle de la sous-unité beta de *Pf*FT en utilisant l'homologue FT de rat comme « template » (Protein Data Bank ID, 2ZIR) mais en excluant les co-facteurs Zn²⁺ et FPP. Après « docking » moléculaire, des résultats surprenants sont observés avec le ligand MMV019006 se logeant dans l'espace hydrophobe accommodant normalement le substrat FPP et entrant donc en compétition avec ce substrat.

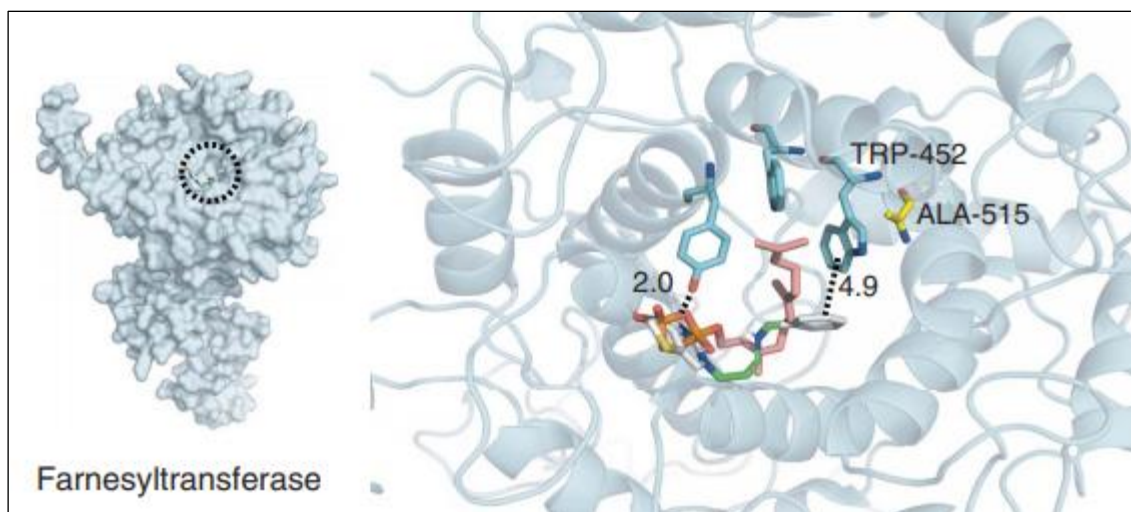


Figure 55 : docking proposé par Cowell *et al.*¹⁷⁹

En collaborant avec le Dr Martin Spichy de l'équipe Chimie Théorique et Modélisation Biomoléculaire du LIMA, nous avons proposé un nouveau mode de liaison afin d'expliquer notre étude SAR infructueuse (figure 56). En nous basant sur le même modèle que Cowell *et al.* et en excluant de la construction les co-facteurs FPP et Zn²⁺, nous avons effectivement abouti au même mode de liaison compétitif que celui proposé par Cowell *et al.* En revanche, en incluant l'ion zinc et FPP dans le modèle d'homologie de *Pf*FT, nous proposons un mode de liaison coopératif pour MMV019006 (et MMV665916) (figure 56a).

Le mode de liaison le plus favorable pour les deux ligands est très similaire. L'un des groupes carbonyle de l'hétérocycle quinazolinedione ou thiényrimidinedione serait complexé à l'ion métallique. Dans le cas de MMV019006, l'atome de soufre du noyau thiényrimidinedione complexerait également l'ion métallique Zn^{2+} . Pour les deux ligands, les parties hydrophobes des groupements aromatiques interagiraient avec la queue hydrophobe de FPP fournissant ainsi une explication potentielle à la coopérativité observée. Le cycle aromatique anisole développerait une interaction Pi-Pi parallèle déplacée avec Trp452 (4,3 Å) de l'enzyme. Cette interaction semble cruciale car sa perturbation est susceptible de provoquer l'émergence de clones résistants à cette série de pyrimidinedione. En effet, les mutations A515V ou A515T ont conduit à une perte significative de l'activité inhibitrice (IC_{50} divisé de 57 à 80 fois).¹⁷⁹ Des simulations de dynamique moléculaire (figure 56b) montrent que la mutation A515V déplace Trp452 vers l'intérieur du site de liaison CaaX, induisant une contraction du site de liaison des dérivés MMV665916 et MMV019006 et perturbant très probablement l'empilement Pi des fragments anisole des deux composés MMV. Par ailleurs, ces mutations sembleraient ne perturber que très légèrement la pose de FPP dans cette partie hydrophobe du site actif.

Nous avons également réalisé un docking pour 3 analogues (les 3 molécules qui ont le moins perdu en activité) afin de montrer qu'elles se superposent à l'une des positions préférentielles de **MMV665916**.

Ce mode de liaison coopératif est également plus en accord avec les résultats obtenus lors de notre étude SAR. Après inspection de la pose de ces ligands dans le site actif de l'enzyme, il n'y aurait que très peu de possibilités de modulations pour cette série d'inhibiteurs où la moindre modification va non seulement impacter l'affinité envers la cible mais également d'autres paramètres. La perméabilité membranaire, la solubilité dans le milieu de culture, la liaison aux constituants du sang, ... entrent également en jeu avec au final des pertes d'activité inhibitrice qui peuvent être considérables.

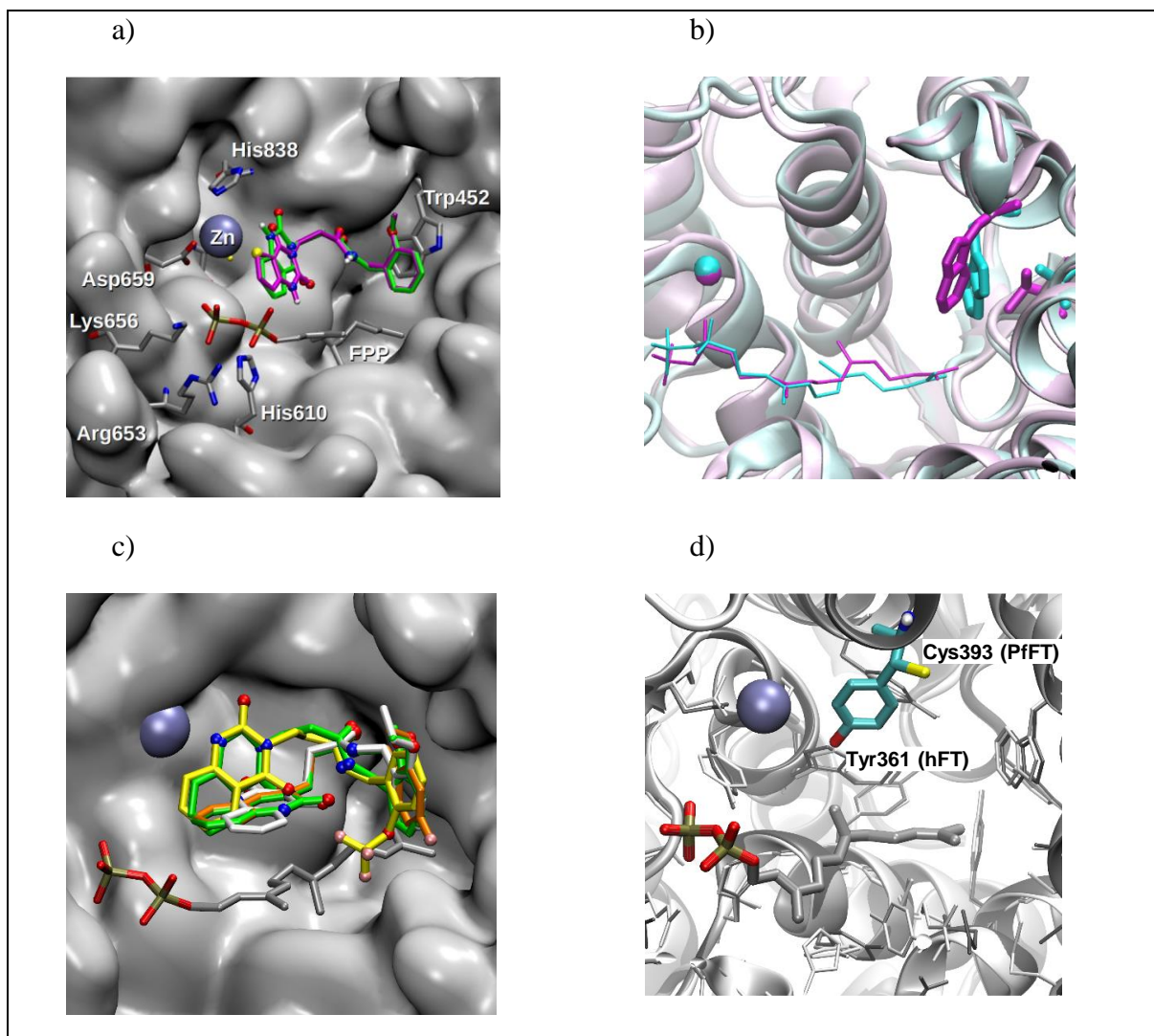


Figure 56 : a) mode de liaison des ligands MMV019006 (magenta) et MMV665916 (vert) après docking avec un modèle d'homologie de la sous-unité beta de *PfFT* construit avec la farnésyltransférase de rat (PDB 2ZIR) en présence de FPP et d'ion Zn^{2+} . Les résidus impliqués dans la liaison du diphosphate FPP et de l'ion métallique sont représentés sous forme de bâtonnets minces gris, ainsi que Trp452 qui formerait une interaction de type Pi-stacking avec le ligand. Les atomes d'hydrogène sont omis; seuls les hydrogènes polaires des ligands sont représentés. b) déplacement de Trp452 dû à la mutation A515V. La figure montre une structure moyennée dans le temps de la protéine (cartoon), de l'ion métallique (sphère), du FPP (bâtonnets minces) et des résidus 452 et 515 (bâtonnets épais) en cyan (WT) ou magenta (A515V). La moyenne temporelle a été formée avec 50 échantillons de trajectoires instantanées au cours des 50 dernières ns d'une simulation de dynamique moléculaire d'une durée de 100 ns. c) les meilleures positions pour **8e** (blanc, score : -7,7 kcal/mol), **8g** (jaune, -8,4) et **8i** (orange, -8,0) lorsqu'il est compris dans le complexe ternaire *PfFT*: $Zn(II)$: FPP. De plus, les meilleures positions de **MMV665916** (vertes, toutes deux avec un score de -7,8) sont affichées. Les analogues s'alignent sur les meilleures positions de **MMV665916**. d) superposition de *hFT* (blanc) et du modèle de *PfFT* (argent). Les résidus dans le site actif sont représentés par des bâtonnets minces. Les résidus Tyr361 (*hFT*) et Cys393 (*PfFT*) et FPP sont représentés sous forme de bâtonnets épais et colorés.

IV- Conclusion du chapitre

À la suite de ces résultats décevants et en raison d'une étude SAR plutôt « plate », le projet d'optimisation de la série MMV665916/MMV019006 a été interrompu. D'autant plus que des activités inhibitrices plus prometteuses ont été obtenues lors de l'optimisation de la série MMV665878, dont le chapitre suivant traitera plus en détails.

Néanmoins, il serait intéressant de tester ces molécules sur *PfFT* ou sur une de ses homologues de mammifères, afin de corroborer les tendances de la SAR.

Chapitre 4 : Études du sous-groupe 2 (MMV665878)

I- Résultats préliminaires	89
II- Objectifs	90
III- Études SAR et SPR.....	92
III-1. Activités biologiques et SAR	92
III-1.a. Première séquence d'optimisation.....	94
III-1.b. Étude SPR.....	117
III-3. Approche de « scaffold hopping »	122
III-4. Récapitulatif et perspectives.....	129
IV- Synthèse des analogues de MMV665878.....	133
IV-1. Voies de synthèse en série racémique.....	133
IV-1.a. Voie de synthèse n°1	133
IV-1.b. Voie de synthèse n°2 via un réarrangement de Lossen/cyclisation.....	134
IV-2. Voies de synthèse en série énantio pure.....	137
IV-2.a. Voie de synthèse n°3	137
IV-1.b. Voie de synthèse n°4	140
IV-3. Mise en évidence de la racémisation/épimérisation.....	140
IV-4. Synthèse des molécules pour la stratégie de « scaffold hopping ».	142
IV-4.a. Synthèses des analogues 38-42.....	142
IV-4.b. Synthèse des composés 43-46 : « scaffold hopping » via conception de pseudo-cycle à 6-chaînon.....	143
IV-4.c. Synthèse des dérivés d'uracile.....	145
IV-5. Divers : Obtention des composés 28ala et 52	148
IV-6. Couplages peptidiques	149
IV-7. Perspectives de synthèse	151
V- Possible mode d'action	154
VI- Perspectives et conclusion du chapitre	162

Ce chapitre sera consacré à l'optimisation de la série basée sur le squelette de la quinazolinédione MMV665878. Les résultats d'activités biologiques et ADME *in vitro* seront présentés dans un premier temps, puis nous reviendrons sur les voies de synthèses de ces différents analogues et enfin nous nous intéresserons au possible mode d'action de cette série de molécules.

I- Résultats préliminaires

Contrairement à la précédente série (chapitre 3), une étude préliminaire (phase exploratoire), avec la synthèse de quelques analogues en série racémique (tableau 11), a montré qu'il était possible de conserver, voire d'améliorer l'activité inhibitrice envers la souche FcB1 de *P. falciparum* (souche résistante à la chloroquine).

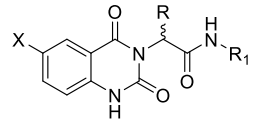


Entrée		R ₁	R	X	Inhibition (%) à 20 μM	IC ₅₀ FcB1 (μM)
1	MMV665878, 28^{aaa}		ⁱ Pr	H	98	0.32± 0.03
2	28^{faa}		ⁱ Pr	Br	98	0.075± 0.007
3	28^{aba}		ⁱ Bu	H	93	12.2±0.9
4	28^{fba}		ⁱ Bu	Br	96	2.2±1.1
5	29^{aaa}		ⁱ Pr	H	42	-
6	29^{faa}		ⁱ Pr	Br	80	6.6± 3.4
7	29^{aba}		ⁱ Bu	H	43	-
8	29^{fba}		ⁱ Bu	Br	80	8.5±0.7

Tableau 11 : résultats des tests biologiques des premiers analogues synthétisés de la série MMV665878.

L'inhibition de la croissance du parasite à une concentration de 20 μM en inhibiteur est évaluée en duplicat. Puis

l'IC₅₀ est déterminé (un duplicat a été réalisé) pour les molécules les plus intéressantes.

Dans un premier temps, le composé racémique **MMV665878** a été resynthétisé et sa puissante activité antiplasmodiale a été confirmée. Cette première phase exploratoire nous montre que l'introduction d'un atome de Br sur le squelette quinazolinedione a tendance à améliorer considérablement l'activité inhibitrice (entrée 1 vs 2 ; entrée 3 vs 4) puisque le dérivé bromé **28baa** a un IC₅₀ autour de 75 nM. En revanche, l'activité inhibitrice semble être très sensible à la substitution R₂ avec une perte significative d'activité lors du remplacement du groupe *iso*-propyle par un groupe *iso*-butyle (entrée 1 vs 3 ; entrée 2 vs 4). De même, la *N*-substitution de l'amide par un groupe benzyle (caractéristique du sous-groupe 1) à la place d'un reste phényle conduit à une perte totale de l'activité inhibitrice (entrée 1 vs 5).

II- Objectifs

Au vu de ces résultats prometteurs, nous avons alors débuté une optimisation hit-to-lead plus approfondie afin d'améliorer l'activité inhibitrice mais également, idéalement, de réduire la clairance métabolique. L'analyse des prédictions de dégradation métabolique CYP450 de **MMV665878** à l'aide de Xénosite^{185,186} (figure 57a) suggère que le métabolisme devrait se produire principalement sur la partie 2-méthoxyphényle, en particulier sur le substituant méthoxy et en position *para* de l'anilide. De plus, le métabolisme sur la position 6 du noyau quinazolinedione pourrait également contribuer à l'instabilité métabolique.

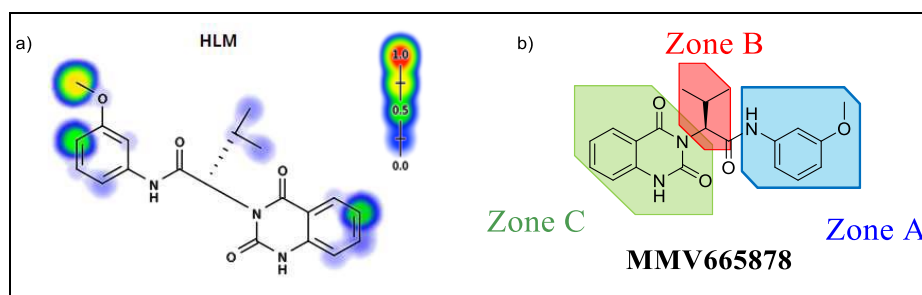


Figure 57: a) prédiction de dégradation métabolique de MMV665878 via XenoSite, représentation HLM (l'échelle indique que les zones en rouge sont les plus susceptibles d'être oxydées). b) MMV665878 et ces trois zones d'étude.

Par ailleurs, il est à noter que le groupe fonctionnel amide pourrait également être hydrolysé *in vivo* par des protéases et conduire à la libération de la *m*-anisidine, voire de son métabolite le 3-aminophénol. Ces deux composés pourraient être considérés comme potentiellement mutagène/carcinogène et également provoquer une méthémoglobinémie (glossaire p 238) (mécanisme figure 58).

Le métabolisme des anilines chez les mammifères est complexe et varie quantitativement et qualitativement d'une espèce à l'autre. L'hydroxylation (essentiellement en *o*- et *p*-aminophénol) et l'acétylation avec oxydation consécutive sont les principales étapes de l'élimination, qui est suivie d'une sulfatation et/ou d'une glucuronidation. La dégradation des anilines mène également à la formation d'espèces réactives de type nitrenium ou iminoquinone toxiques et pouvant entraîner des dommages de l'ADN.¹⁸⁷⁻¹⁹⁰

La capacité de formation de la méthémoglobine est basée principalement sur la formation de phénylhydroxylamine par *N*-hydroxylation. En présence d'oxygène, l'hémoglobine est oxydée en méthémoglobine et la phénylhydroxylamine en nitrosobenzène (« oxydation couplée »). Le nitrosobenzène est réduit enzymatiquement et le cycle recommence dans les érythrocytes....

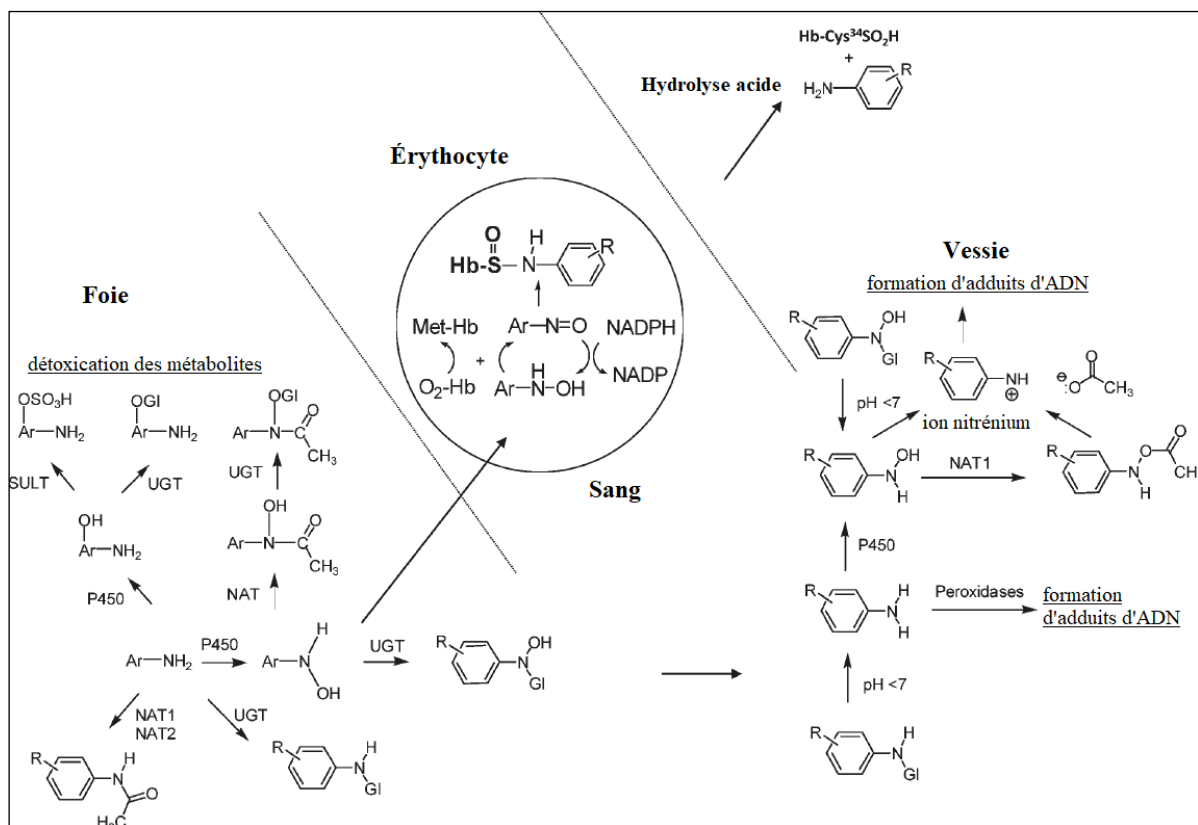


Figure 58: mécanismes de la méthémoglobinémie induite par une arylamine.¹⁹¹

Il serait donc prudent d'identifier des analogues dépourvus de risque mutagène/carcinogène dû à une libération d'une aniline *in vivo*. Deux stratégies complémentaires pourraient être adoptées :

- Identification d'anilines non mutagènes
- Identification de bioisostères de la liaison amide ne pouvant être hydrolysés pour donner une aniline

Malheureusement par manque de temps, la dernière approche n'a pu être réalisée au cours de ces travaux de thèse, mais pourrait être envisagée ultérieurement si aucun analogue efficace non toxique n'a été identifié.

Par conséquent les modifications structurelles de **MMV665878** se sont concentrées sur trois régions (figure 57 b) :

Zone **A** : Partie anilide => Modulation des propriétés stéréoélectroniques du cycle aromatique, remplacement du cycle aromatique par des chaînes aliphatiques ou cycles hétéroaromatiques.

Zone **B** : linker => Nature de l'espaceur de type acide aminé.

Zone **C** : noyau quinazolinedione => Modulation des propriétés stéréoélectroniques du cœur quinazolinedione.

Par la suite, une approche « scaffold hopping » a été entreprise avec l'étude de noyaux aromatiques alternatifs au noyau quinazolinedione de la zone C ou en remplaçant ce noyau par des pseudo-cycles à 6 chaînons formés par des liaisons hydrogènes intramoléculaires ou des dérivés d'uracile et aza-uracile.

III- Études SAR et SPR

III-1. Activités biologiques et SAR

L'activité antipaludique a été mesurée *in vitro* sur culture de globules rouges infectés par la souche asynchrone FcB1 (Colombie) de *P. falciparum* selon une méthode modifiée du microtest isotopique de Desjardins (partie expérimentale p 169).¹⁹² Ce test se base sur l'incorporation de la [³H]-hypoxanthine (un précurseur radiomarqué nécessaire à la synthèse des acides nucléiques du parasite) dans l'ARN et l'ADN du parasite.

Les globules rouges infectés sont pré-incubés 24 heures en présence de la molécule à tester, puis la [³H]-hypoxanthine est ajoutée. Après 24h d'incubation, la radioactivité est mesurée par comptage par scintillation liquide. Le bruit de fond radioactif est mesuré à partir de globules rouges non infectés et est soustrait de chaque mesure du filtre. La viabilité des parasites traités est mesurée par leur capacité de synthèse des acides nucléiques à partir du précurseur radiomarqué comparée à celle des parasites contrôles cultivés en absence du composé étudié.

Il est à noter que ces tests doivent être réalisés à basse concentration de O₂ soit dans une « boîte à bougie » soit en « étuve à CO₂ ». La molécule de référence MMV665878 racémique a été testée selon ces deux méthodes qui ont conduit à des activités inhibitrices similaires (IC₅₀ ~0,32-0,34 μM). La boîte à bougie a alors été préférée car plus simple à mettre en œuvre.

Par ailleurs, le DMSO et la Chloroquine (CQ) ont été respectivement utilisés comme témoin négatif et comme contrôle positif (IC₅₀ mesuré pour CQ = 0,077±0,01 μM (n=7) ; valeurs d'IC₅₀ dans le littérature comprises entre 0,050 et 0,170 μM¹⁹³)

MMV665878 (racémique ou énantiopure) a été utilisé comme molécule de référence lors de chaque campagne de test. En fonction de ces campagnes, ses valeurs d'IC₅₀ fluctuent largement entre 0,094 et 0,32 μM (tableau 12). Fluctuation attendue, car l'activité inhibitrice dépend entre autres des différentes cultures parasitaires et de leur viabilité.

Campagne n°1 (15 molécules testées)	Campagne n°2 (19 molécules testées)	Campagne n°3 (46 molécules testées)	Campagne n°4 (21 molécules testées)	Valeurs moyennes
0,32±0,03 (n=2)	0,09±0,01 (n=3)	0,19±0,01 (n=2)	-	0,19±0,1 (n=7)
0,34±0,13 (n=2) ^a	-	0,12±0,01 (n=2) ^b	0,20±0,04 (n=2) ^b	0.16±0,06 (n=4) ^b

Tableau 12 : valeurs d'IC₅₀ de **MMV665878** (μM) en série racémique lors des différentes campagnes de test réalisé en boîte à bougie. a) test réalisé en étuve à CO₂. b) test réalisé avec MMV665878 énantiopure. L'écart type est utilisé pour l'IC₅₀, n = nombre de réplicats.

Il faudra donc être très prudent lors de la comparaison des valeurs d'activité inhibitrice des analogues étudiés, surtout lorsque ces valeurs sont issues de différentes campagnes de test.

Il nous a semblé préférable de classer graphiquement les analogues de **MMV665878** en fonction de leurs puissances d'inhibition selon la figure présentée en marque page de ce manuscrit. Les modifications améliorant ou permettant de conserver une activité inhibitrice comparable à **MMV665878** sont situées dans les zones jaune et orange.

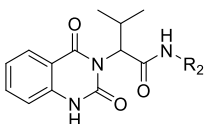
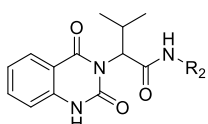
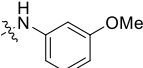
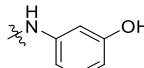
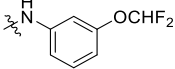
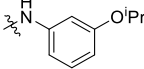
Il ne faut pas oublier que ces activités inhibitrices ont été déterminées *in vitro* sur une culture de globules rouges infectés par des parasites. Par conséquent, les activités observées pourraient provenir de l'action sur une seule cible protéique ou d'une action synergique sur différentes cibles pharmacologiques (polypharmacologie). Les activités dépendront également d'autres facteurs comme des problèmes liés à la solubilité ou à la perméabilité membranaire des molécules. De même, de possibles liaisons aux constituants des hématies pourraient venir diminuer l'activité inhibitrice.

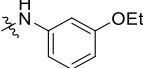
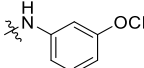
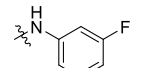
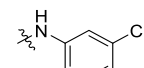
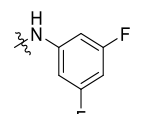
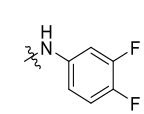
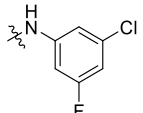
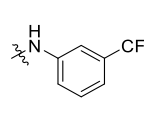
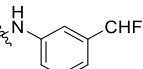
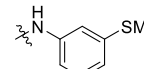
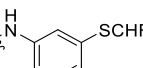
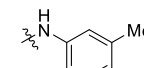
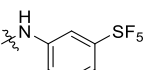
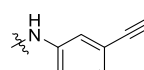
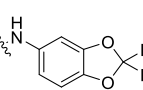
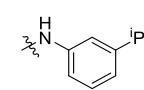
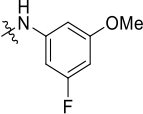
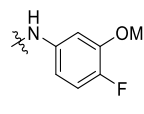
III-1.a. Première séquence d'optimisation

III-1.a.a Les analogues modulant la zone A

Les activités biologique de 38 analogues modulant la zone A ont été évaluées (tableau 13).

L'un des métabolites majoritaires de **MMV665878**, le composé *O*-déméthylé **28aab** est significativement moins actif que **MMV665878** (IC₅₀ 0,77 μM). Cette possible *O*-déméthylation qui peut avoir lieu à travers différentes voies métaboliques n'est donc pas un phénomène souhaitable et le remplacement du groupement méthoxy semble d'autant plus important.

Composé	FCB1 IC ₅₀ (μM)	Composé	FCB1 IC ₅₀ (μM)
			
MMV665878, 28aaa 	0,19±0,1 (n=7)	28aab 	0,77±0,15 (n=2)
28aac 	0,09±0,04 (n=3)	28aad 	0,35 (n = 1)

28aae 	0,33±0,19 (n=3)	28aaf 	0,35±0,06 (n=2)
28aag 	0,2±0,01 (n=2)	28aah 	0,13±0,02 (n=2)
28aai 	0,12±0,02 (n=7)	28aaj 	0,19±0,02 (n=2)
28aak 	0,12±0,03 (n=2)	28aal 	0,41±0,23 (n=3)
28aam 	0,52±0,03 (n=2)	28aan 	0,48±0,03 (n=2)
28aao 	0,59±0,06 (n=2)	28aap 	0,43±0,1 (n=2)
28aaq 	0,31 (n = 1)	28aar 	0,30 (n=1)
28aas 	1,00±0,04 (n = 2)	28aat 	19,6±1,7 (n=2)
28aau 	0,04±0,01 (n=5)	28aav 	0,18±0,01 (n=2)
28aaw	80,5±6,4 (n = 2)	28aax	0,91±0,09 (n=2)

28aay		28aaz	
	0,53±0,38 (n = 3)		0,42±0,14 (n=5)
28aaa'		28aab'	
	0,17±0,04 (n=3)		0,32 (n=1)
28aac'		28aad'	
	0,25 (n=1)		0,70±0,21 (n=2)
28aae'		28aaf'	
	0,97±0,19 (n=2)		0,95 (n=1)
28aag'		28aah'	
	0,95 (n=1)		0,88±0,09 (n=2)
28aai'		28aaj'	
	0,53±0,13 (n=2)		10,9±1,2 (n=2)
28aak'		28aal'	
	3,0 (n=1)		20,0±2,0 (n=2)
28aam'		28aan'	
	35,7±2,3 (n=2)		
28aao'			

Tableau 13 : activité des analogues modulant la zone A.

Une stratégie très populaire en « Drug Discovery » consiste en l'introduction d'un atome de fluor lors du processus d'optimisation d'un lead. Cet atome de fluor va profondément modifier les propriétés de composés biologiquement actifs en modulant les paramètres électroniques, lipophiles et stériques, qui peuvent influencer de manière critique les propriétés pharmacocinétiques (PK) et/ou pharmacodynamiques (PD).

L'atome de fluor est petit, de taille intermédiaire entre un atome d'hydrogène et un atome d'oxygène (rayon de Van der Waals : F 1,47 Å ; H 1,20 Å ; O 1,52 Å) ce qui implique que la substitution -H/-F ne va pas affecter dramatiquement la taille globale d'une molécule. Une liaison C-F est fortement polarisée avec un caractère ionique significatif (charge partielle négative sur l'atome de fluor). De plus, la longueur d'une liaison C-F est courte (longueur liaison C-F 1,4 Å ; C-H 1,09 Å, C-O 1,43 Å) et forte (énergie de dissociation d'une liaison C-F 105,4 kcal/mol : C-H 98,8 kcal/mol, respectivement).^{194,174,195} Pour ces raisons, le remplacement d'un atome d'hydrogène par un atome de fluor est une approche fréquemment rencontrée pour diminuer le métabolisme oxydatif associé au cytochrome P450 (CYP450).^{169,174,196-198} Cet atome de fluor peut diminuer la dégradation métabolique soit directement en bloquant le site d'oxydation, soit indirectement en diminuant la densité électronique à proximité du site sensible.

Par ailleurs, l'introduction d'un atome de fluor augmente généralement l'acidité des fonctions acides et diminue le caractère basique des bases. Le caractère lipophile d'une molécule est également augmenté si l'atome de fluor est situé à proximité de fonction azoté basique ou s'il est introduit sur des cycles aromatiques.

L'introduction d'un atome de fluor peut également exalter l'affinité de liaison du ligand pour sa cible :

- en développant des interactions directes avec la protéine par des liaisons hydrogène, des interactions hydrophobes ou des interactions orthogonales multipolaires C-F...H-N, C-F...C=O avec le squelette peptidique ou la fonctions amide ou guanidinium des chaînes latérales des acides aminés Asn, Gln ou Arg.^{197,199} Même si une liaison C-F est considérée comme un mauvais accepteur de liaison hydrogène,¹⁹⁷ la formation d'une liaison hydrogène intermoléculaire avec le fluor est possible dans des environnements exempts de molécule d'eau (comme des sous-sites hydrophobes) et privé d'accepteurs de liaison hydrogène concurrents.²⁰⁰

En général, une liaison C-F va préférentiellement former des interactions multipolaires (figure 59).

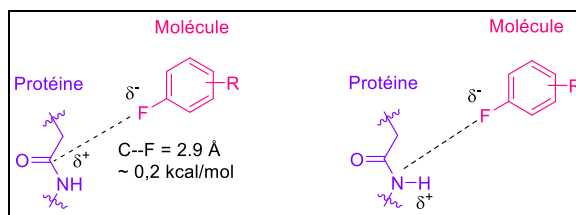


Figure 59 : interactions orthogonales multipolaires de C-F

- en développant des contacts indirects avec la protéine via l'intermédiaire de molécules d'eau
- en pré-organisant la conformation du ligand afin de permettre sa reconnaissance dans le site actif de sa cible protéique.^{174,195}

La connaissance de la conformation énergétiquement la plus favorable d'un ligand est essentielle pour optimiser l'efficacité de liaison, qui augmente avec le degré de pré-organisation du ligand. Plus la géométrie du ligand lié (conformation bioactive) ressemble à la conformation la plus basse en énergie du ligand libre, plus le gain en énergie libre de liaison est important. En effet, la pré-organisation d'un ligand se traduit généralement en imposant la conformation bioactive par rigidification de la structure du ligand. Dans ce cas, lors de la liaison d'un ligand pré-organisé, aucune perte d'enthalpie ne se produit pour atteindre la géométrie de liaison favorable, et les pénalités entropiques, associées à la perte de degrés de liberté lors de l'interaction, sont minimisées car il n'y a pas besoin de figer la conformation du ligand.

Le blocage de cette éventuelle réaction de *O*-déméthylation en remplaçant le substituant -OMe par un groupe -OCHF₂ (composé **28aac**) permet d'améliorer légèrement l'activité inhibitrice (IC₅₀~0,09 μM). En revanche, la substitution par un groupe -OⁱPr (composé **28aad**) ou -OEt (composé **28aae**) ou -OCF₃ (composé **28aaf**) entraîne une diminution d'activité (IC₅₀~0,33–0,35 μM). Cette perte d'activité pourrait être due à l'apparition d'un clash stérique entre le ligand et la protéine (volume de van der Waals des substituants : -Me 21,6 Å³ ; -CHF₂ 33,7 Å³ ; -Et 38,9 Å³ ; -CF₃ 39,8 Å³ ; -*i*Pr 56,2 Å³).

Il est décrit dans la littérature que les éthers difluorométhyliques peuvent adopter la conformation qui leur permet une liaison optimale à une protéine cible (figure 60). Alors que la liaison O-CH₃ dans ArOCH₃ adopte généralement une structure coplanaire, la liaison O-CF₃ dans ArOCF₃ adopte préférentiellement une orientation orthogonale par rapport au plan aromatique. Ce qui pourrait conduire à la perte d'activité inhibitrice observée. La préférence du groupe -OCH₃ pour être coplanaire avec le cycle phényle provient de la conjugaison d'un des

doublets non liants de l'oxygène avec le système π aromatique. Cette conformation est ~ 3.0 kcal/mol plus faible en énergie que le conformère présentant la liaison O-CH₃ orthogonale au cycle aromatique.

En revanche, les composés ArOCF₃ adoptent une conformation dans laquelle les liaisons C-F sont hors du plan en raison d'effets stériques et stéréoélectroniques. Cette conformation hors du plan entraîne une stabilisation anomérique $nO-\sigma^*_{C-F}$ qui réduit la conjugaison entre le doublet non liant de l'oxygène et le système π aromatique, éliminant ainsi la préférence pour une conformation coplanaire.^{197,201}

Les composés ArOCHF₂, quant à eux, n'ont pas de préférence pour une conformation spécifique (conformation allant de coplanaire à orthogonale).²⁰² Cependant, il a été observé que les atomes de fluor peuvent adopter un arrangement *endo-exo* ou *endo-endo* via la libre rotation autour de la liaison O-CHF₂.^{174,202-204} Cette libre rotation va donner lieu à une « lipophilie dynamique » du groupe -OCF₂H, c'est-à-dire que la lipophilie variera en fonction de l'environnement proche et de la conformation que le groupe -OCHF₂ adoptera.²⁰³ Le groupe -OCHF₂ ayant une conformation *endo-endo*, il a une lipophilie similaire au groupe -OCF₃, tandis que la conformation *endo-exo* est plus hydrophile avec une augmentation de la polarité d'un facteur 3.²⁰³⁻²⁰⁶ De plus, la liaison C-H du groupe CHF₂ est fortement polarisée d'où la possibilité que ce groupe soit donneur de liaison hydrogène et qu'il crée une interaction supplémentaire au sein d'un site actif.^{205,206}

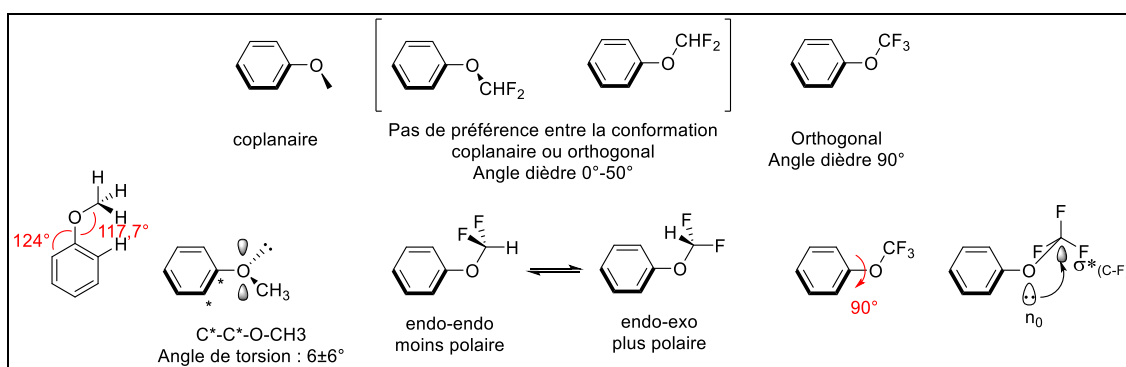


Figure 60 : préférence conformationnelle des éthers fluorés.

Des anilines alternatives à la 3-méthoxy aniline ont été examinées et le remplacement du groupe -OMe par un atome de fluor (composé **28aag**) ou un atome de chlore (composé **28aah**) donne des résultats prometteurs avec des valeurs d'IC₅₀ similaires à celles du composé de référence (IC₅₀ < 200 nM). L'introduction d'un atome de fluor supplémentaire (composés **28aai** et **28aaj**) ou la combinaison chlore et fluor (composé **28aak**) donnent également des résultats prometteurs (IC₅₀ < 200 nM). Outre des interactions hydrophobes et une complémentarité de forme, il serait également envisageable que l'atome de fluor développe des interactions multipolaires, voire une liaison hydrogène si ce sous-site actif est considéré comme une poche hydrophobe. Dans tous les cas, ces modifications s'accompagnent également d'une diminution des pénalités de désolvatation (car l'interaction du ligand libre avec l'eau est amoindrie). Parallèlement, l'introduction de ces atomes d'halogènes sur le cycle aromatique conduit également à une diminution de la densité électronique de l'aniline qui deviendrait ainsi moins sujette à des réactions d'oxydation par les CYP450.

Certaines anilines ont des activités inhibitrices de l'ordre de 500 nM comme les analogues -CF₃ (composé **28aal**), -CHF₂ (composé **28aam**), -SMe (composé **28aan**), -SCHF₂ (composé **28aao**), -Me (composé **28aap**), -SF₅ (composé **28aaq**), et l'éthynyl (composé **28aar**). Ce dernier est intéressant dans l'optique du développement d'une sonde moléculaire permettant d'identifier le mécanisme d'action de cette série de molécules. En effet des réactions de chimie « click » pourraient être envisagées sur la fonction alcyne avec divers azotures incorporant des étiquettes fluorescentes ou d'affinité (*ie* biotine). Finalement, les analogues 2,2-Difluoro-1,3-benzodioxol (composé **28aas**) et -*i*Pr (composé **28aat**) ont des activités inhibitrices dans la gamme du micromolaire.

L'application d'un effet inductif (-I) par addition d'atome de fluor à diverses positions de la *m*-méthoxy anilide de référence permettrait de moduler la densité électronique du noyau aromatique afin de minimiser le métabolisme oxydatif et ainsi de réduire le risque de mutagenicité. L'introduction d'un atome de fluor en position *mé*ta (composé **28aau**) ou *para* (composé **28aav**) de l'anilide permet d'améliorer l'activité inhibitrice (IC₅₀ de 35 et 180 nM, respectivement). En revanche, substituer la position ortho ou *ortho'* (composés **28aaw** et **28aax**) est détrimentaire à l'activité antiparasitaire avec une perte totale d'activité inhibitrice pour le composé **28aaw** (IC₅₀ ~ 80 μM). L'évolution de l'activité inhibitrice semble surprenante mais pourrait être liée à des conformations de la partie anilide très différentes. En effet la substitution d'un atome d'hydrogène par un atome de fluor en position ortho du NH d'une anilide permet la formation d'une interaction intramoléculaire et la stabilisation de la

conformation A (figure 61).^{174,207} Parallèlement, cette interaction électrostatique entre l'atome de fluor et le NH proximal masquerait efficacement le développement de toute liaison H intermoléculaire. D'où la perte d'activité inhibitrice observée pour les composés **28aax** et **28aaw** (IC_{50} ~0,9 – 80 μ M), le NH étant sans doute un pharmacophore essentiel permettant la formation d'une liaison hydrogène avec un accepteur de liaison hydrogène (HBA) du site actif. Pour corroborer cette observation l'analogue *N*-méthyl amide sera synthétisé ultérieurement.

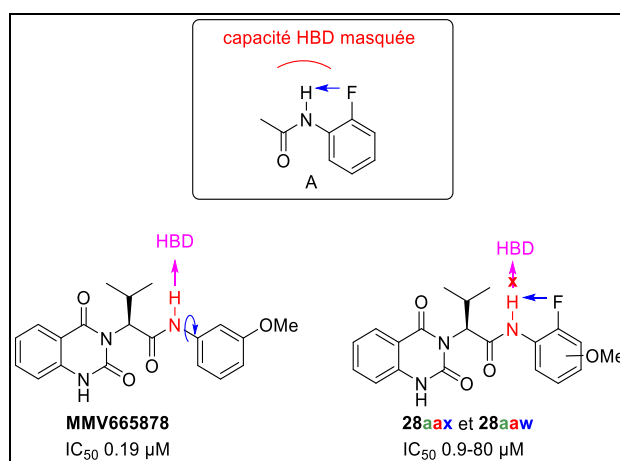


Figure 61 : conformation d'une *o*-fluoro anilide et effet sur la formation de liaison H. En rose HBD (donneur de liaison hydrogène).

L'obtention de conformation précise nous donne également des indices topologiques sur la localisation des pharmacophores et notamment l'orientation du substituant en méta du NH de l'anilide (figure 62). En effet, l'évaluation biologique des isomères **28aaw** et **28aax** indique une différence d'activité inhibitrice d'un facteur 90 en faveur de la conformation représentée par **28aax**, qui devrait ainsi représenter la conformation bioactive de la partie anilide.

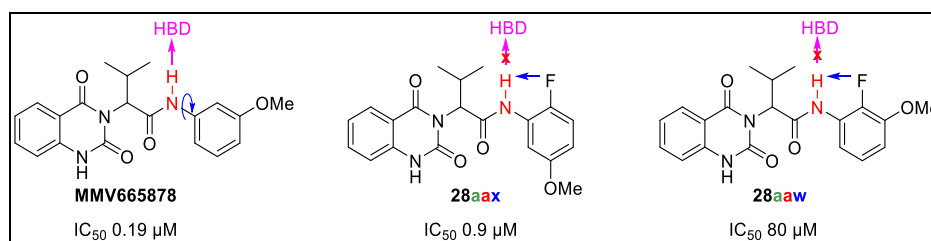


Figure 62 : conformation des substituants de l'anilide. En rose HBD (donneur de liaison hydrogène).

Alors que le fluor en position *mé*ta (composé **27aau**) a une activité inhibitrice de l'ordre de 0,035 μM , son isomère substitué en *para* (composé **28aav**) ne permet que de conserver l'activité inhibitrice (IC_{50} 0,18 μM) de la molécule de référence. Ici, l'effet inductif attracteur puissant du fluor va moduler la capacité du groupe -OMe distant à accepter des liaisons hydrogène avec une diminution très importante de cette force d'interaction pour le dérivé 2-fluoroanisole **27aav**.²⁰⁸ Cette perte énergétique serait potentiellement compensée par une pénalité de désolvatation moins importante (car l'interaction du ligand libre avec l'eau est amoindrie), ainsi que le développement favorable d'interaction multipolaire et/ou hydrophobe.

Par ailleurs, une liaison hydrogène répond à des critères géométriques bien précis et dépend notamment de la localisation et de l'orientation des doublets non liants d'un accepteur de liaison hydrogène. En l'occurrence, le 2-Fluoroanisole existe sous forme de mélange de deux conformères en phase gaz: le conformère planaire majoritaire et stable avec une orientation *anti* du groupe méthyle par rapport au substituant fluor (angle dièdre $\text{C}_F(\text{Ar})\text{-C}(\text{Ar})\text{-O-C} = 180^\circ$), et une forme non-planaire avec un angle dièdre $\text{C}_F(\text{Ar})\text{-C}(\text{Ar})\text{-O-C}$ d'environ 60° où le groupe méthyle se tourne vers l'atome de fluor.^{209,210} Une analyse des motifs de type 2-fluoroanisole substitué en position 4 et/ou 5 dans la Cambridge Structural Database (CSD - base de données rassemblant plus d'un million de structures cristallines de composés organiques ou organométalliques) a révélé une préférence marquée pour la conformation planaire *anti* (45 exemples sur 45 motifs de type 2-fluoroanisole ayant exclusivement une orientation *anti*).

Ces indices nous renseigneraient sur l'orientation optimale du doublet non-liant de l'oxygène du groupe OMe qui devrait adopter une topologie proche de celle décrite pour la molécule **28aav** en figure 63 afin de développer une liaison hydrogène. Par ailleurs, comme aucune perte significative d'activité n'est observée pour l'analogue 2-fluoroanisole **28aav**, nous pouvons supposer que le substituant méthyle s'accommode parfaitement dans une poche pouvant tolérer la présence d'un groupe -Me, -Cl, voire d'un groupe -CHF₂.

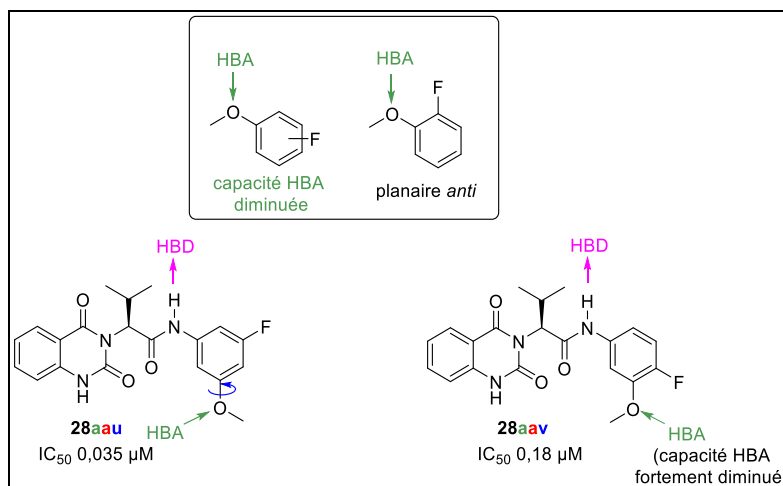


Figure 63 : Conformation des substituants de l'anilide, comparaison des analogues fluorés en méta ou para. En vert : HBA (accepteur de liaison hydrogène) et en rose HBD (donneur de liaison hydrogène). La flèche bleue signifie qu'une rotation le long de la liaison C_{ar}-O est possible.

Par contre, l'insertion d'un deuxième groupement -OMe en position méta (composé **28aay**) diminue considérablement l'activité inhibitrice (IC₅₀ 0,53 µM), probablement causée par des répulsions stériques dans le site actif.

A ce stade de l'étude, il serait possible de proposer un mode d'interaction de cette partie de la molécule avec le site actif de la protéine cible (figure 64).

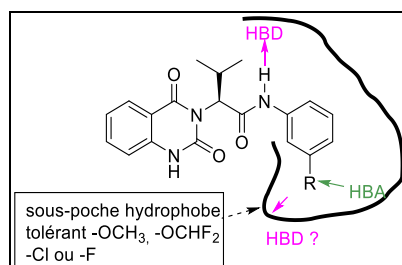


Figure 64 : mode d'interaction de la partie anilide. En rose : HBD (donneur de liaison hydrogène), en vert HBA (accepteur de liaison hydrogène). Trait noir : site actif

Afin de réduire les risques de mutagénicité, une des approches possibles consiste à remplacer le cycle aromatique par un cycle hétéroaromatique azoté tels que des noyaux pyridine, pyrazine et pyrimidine.^{188,190,211}

En général, l'introduction d'un ou deux atomes d'azote (composés **28aaz** - **28aal'**) donne lieu à une perte d'activité inhibitrice (même si ces résultats sont à considérer avec prudence, car la reproductibilité de tests biologiques est en cours). L'augmentation de l'aire de la surface polaire topologique (ou TPSA, glossaire p 238) et la diminution de la lipophilie²¹² associée à l'augmentation du nombre d'azote pourraient expliquer cette perte d'activité inhibitrice. Cela suggérerait que cette partie de la molécule interagirait certainement dans une poche hydrophobe du site actif de la protéine cible. Il semblerait donc que la partie anilide devrait être plutôt lipophile.

Cependant, en série pyridine, il semblerait que l'introduction d'un atome d'azote en position 4 de l'azote de l'anilide comme dans les anilides dérivés de la 2-méthoxy-4-pyridyl **28aaz** ou de la 2-chloro-4-pyridyl **28aaa'** soit tolérée. Dans ces cas, il serait envisageable que le doublet non liant de l'atome d'azote de la pyridine participe à une liaison hydrogène, en lieu et place du groupe -OMe de la molécule de référence MMV665878 (figure 65).²¹³ Cela corroborerait notre proposition de mode d'interaction et fixerait ainsi la topologie de cette partie anilide dont notamment la localisation du groupe méthyle du -OMe (le doublet non liant de l'oxygène du -OMe ou celui de l'azote de la pyridine devant avoir une orientation similaire afin d'interagir avec un donneur de liaison hydrogène). Une des caractéristiques intéressantes de ces éthers hétéroaryliques, surtout ceux pour lesquels le substituant est attaché à un atome de carbone adjacent à un hétéroatome du cycle aromatique, est leur préférence topologique pour une conformation *anti* (figure 65). Cette préférence est basée sur la minimisation des interactions répulsives doublet non liant-doublet non liant. Une relation *anti* entre les doublets non liants des hétéroatomes est alors fortement préférée (figure 65b).^{214,215} La différence énergétique entre les conformères est dans certains cas considérable et à la fois significative et utile dans la compréhension des interactions ligand-protéine.

Ici, dans le cas du composé **28aaz**, sa conformation de plus basse énergie **28aaz(1)** conduit probablement à des gênes stériques entre le substituant -OMe et le site actif. La conformation bioactive **28aaz(2)** serait, quant à elle, victime de pénalités énergétiques considérables, avec une barrière énergétique entre les deux conformères de ~4,5 kcal/mol. D'où les pertes d'activité inhibitrice observées pour ce dérivé de pyridyle (IC₅₀ 0,42 μM).

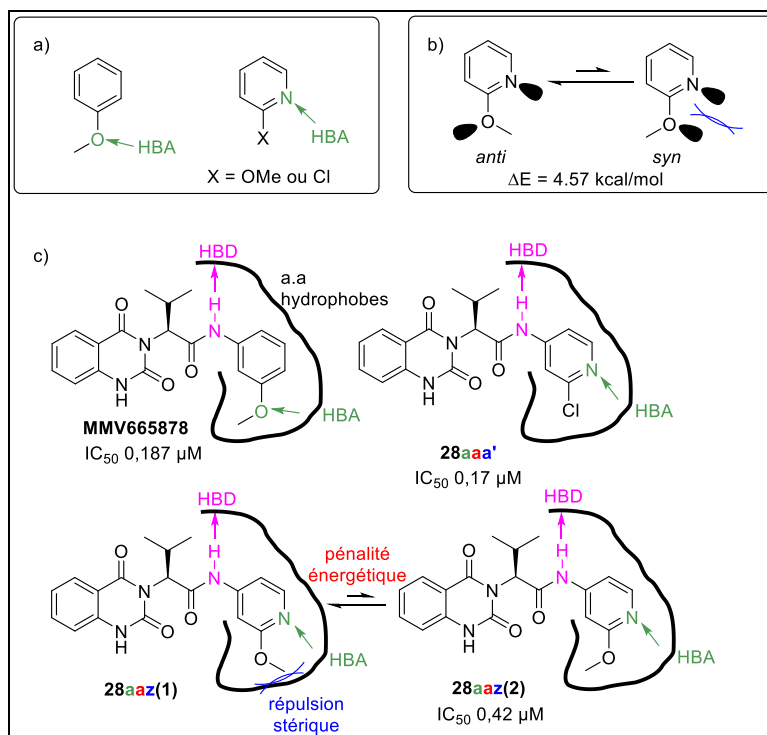


Figure 65 : a) capacité de formation d'une liaison hydrogène. b) préférence conformationnelle des éthers hétéroaryliques. c) mode d'interaction proposé en série pyridine. En rose : HBD (donneur de liaison hydrogène), en vert HBA (accepteur de liaison hydrogène) et en bleu répulsion stérique ou électronique.

En série pyrazine et pyrimidine, les analogues les plus intéressants seraient les composés **28aab'** et **28aac'** qui ont une activité inhibitrice autour de 0,3 μM .

Des interactions dipôle-dipôle favorables de type amide-hétéroarène π -stacking pourraient également contribuer à l'amélioration de l'affinité.^{216,217} Théoriquement, cette interaction nécessite :

- un alignement, avec un arrangement antiparallèle, des moments dipolaires de celui de l'hétéroarène et de celui d'une fonction amide du squelette peptidique.
- une grande amplitude du (des) moment(s) dipolaire(s), notamment un moment dipolaire important pour le cycle hétéroaromatique.
- une diminution de la densité électronique de l'hétérocycle.²¹⁷

Il semblerait ici que pour ne pas perdre en activité le moment dipolaire des hétérocycles doit être important (figure 66). Le dérivé 2-fluoro-4-pyridyl, présentant le moment dipolaire le plus important dans cette série pourraient être une alternative intéressante.

	MMV665878	28aab'	28aal'	28aac'	28aaa'	x
moment dipolaire (D)	2,53	3,32	2,68	4,70	6,71	7,24
miLogP	1,19	0,31	0,15	-0,27	0,89	0,37
TPSA	38,33	64,12	64,12	64,12	41,99	41,99
IC ₅₀ (μM)	0,19	0,32	20	0,25	0,17	

Figure 66 : évolution du moment dipolaire des hétérocycles. Les valeurs de miLogP (équivalent à LogP) et TPSA ont été déterminées par le service web Molinspiration Cheminformatics.²¹⁸ Le moment dipolaire a été calculé après minimisation d'énergie avec le champ de force MMFF94 du logiciel MarvinSketch 21.13.0 (ChemAxon Ltd).

L'adamantane (composé **28aam'**), groupement lipophile assez volumineux fait largement chuter l'activité inhibitrice (IC₅₀ 35 μM). Il semble que le site actif ne semble pas tolérer des groupements volumineux malgré leur lipophilie. Un groupement aromatique pourrait être essentiel pour l'activité inhibitrice. L'étude des composés **28aan'**- **28aaq'** (figure 67, test d'activité biologique non réalisé à ce jour) nouvellement synthétisé pourront nous aiguillés sur ce point.

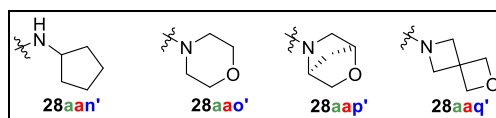


Figure 67 : les molécules **28aan'**- **28aaq'** en cours d'évaluation biologique.

Actuellement nos résultats n'excluent pas la possibilité de formation d'une interaction π - π entre la partie anilide du ligand et un résidu aromatique d'une chaîne latérale d'un acide aminé comme Phe, Tyr, Tr ou His situé dans cette poche hydrophobe. L'introduction de groupement électroattracteur sur l'anilide renforcerait alors la force de l'interaction et en augmenterait donc l'affinité.

Suite à cette première étude SAR de la zone A nous proposons le schéma récapitulatif figure 68. Le site actif serait constitué d'une cavité hydrophobe avec la présence possible d'acides aminés aromatiques, et d'un accepteur de liaison H (+ un hypothétique) et d'un donneur de liaison H.

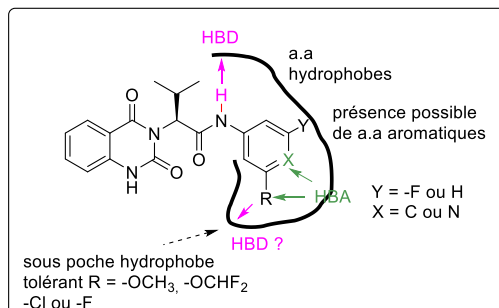


Figure 68 : interactions proposées pour la zone A. En rose : HBD (donneur de liaison hydrogène), en vert HBA (accepteur de liaison hydrogène). Trait noir : site actif.

Perspectives (figure 69) :

Afin de minimiser tout type de pénalité énergétique lors de l'ancrage du ligand dans le site actif, il serait intéressant de contrôler l'organisation moléculaire de la partie anilide en concevant une molécule pré-organisée de conformation proche de la conformation biologiquement active supposée (figure 69a). Pour ce faire, nous nous intéresserons à l'utilisation de liaison chalcogène, avec notamment des interactions intramoléculaires avec le trou sigma de l'atome de soufre. Plus particulièrement dans des dérivés de type *N*-acétylamino-thiazole, des interactions intramoléculaires 1,5 O...S, énergétiquement favorable par rapport aux autres types d'interactions X...S (géométrie étendue permettant un recouvrement idéal entre le doublet non-liant de l'atome d'oxygène et les orbitales antiliantes σ^*_{C-S}) (figure 69b),²¹⁹ devraient entraîner des préférences géométriques caractéristiques qui permettraient de stabiliser une conformation proche de la conformation bioactive supposée (figure 69c).

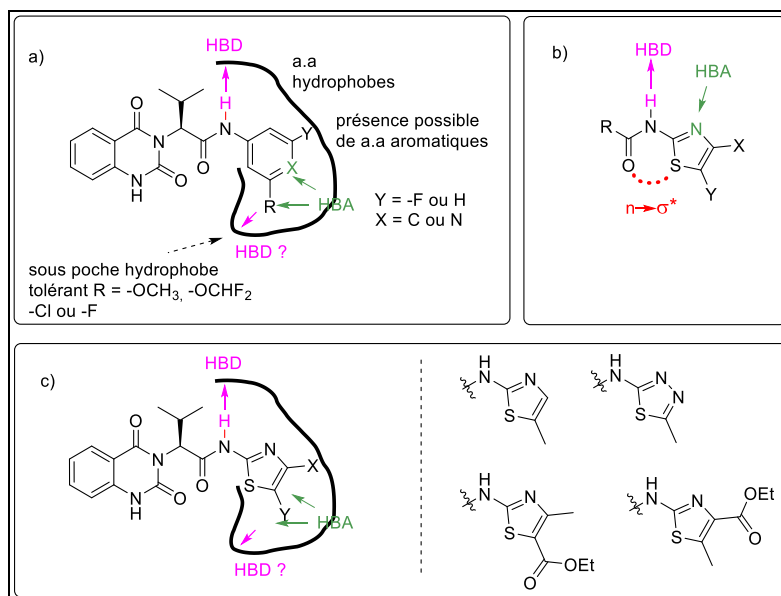


Figure 69 : perspectives pour la modulation de la zone A. En rose : HBD (donneur de liaison hydrogène), en vert HBA (accepteur de liaison hydrogène). Trait noir : site actif.

Divers dérivés d'amino-thiazole substitué avec un groupe méthyle (pour interagir dans la sous-poche hydrophobe et/ou un ester (afin d'établir une liaison hydrogène et/ou interagir avec cette sous-poche hydrophobe) seront prochainement synthétisés et évalués biologiquement.

III-1.a.b Les analogues modulant la zone B

Les modifications envisagées dans cette zone ont pour objectif d'améliorer certes l'activité inhibitrice, mais également d'introduire une gêne stérique à proximité de la fonction amide afin de réduire sa sensibilité à l'hydrolyse par des protéases *in vivo*.

Cependant, toutes les modifications réalisées (tableau 14), que ce soit l'élongation ou la réduction de la chaîne carbonée, des ramifications ou l'incorporation d'un cycloaliphatique, ainsi que l'introduction d'hétéroatome ont conduit à des pertes d'activité inhibitrice significative. Le groupement isopropyle semble être essentiel et interagirait probablement avec un sous-site hydrophobe de petite taille permettant d'accommoder un substituant isopropyle.

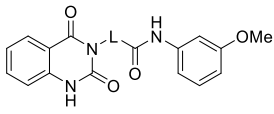
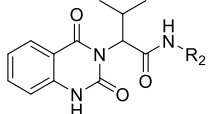

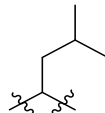




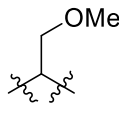
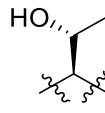
Composé	FCB1 IC ₅₀ (μM)	Composé	FCB1 IC ₅₀ (μM)
			
MMV665878, 28aaa	0,19±0,10 (n=7)	28aba	12.2±0,9 (n=2)
			
28aca	1.9 (n=1)	28ada	0,82±0,09 (n=2)
			
28aea	1,9±0,1 (n=2)	28afa	1,8±0,1 (n=2)
			
28aga	>100	28aha	10 (n=1)
			
28aja	5,8±1,2 (n=2)	28aka	2,7±0,5 (n=2)

Tableau 14 : activité des analogues modulant la zone **B**

Afin de trouver un bioisostère du résidu valine, la surface accessible au solvant (Solvent-accessible surface area ou SASA) de divers analogues a été calculée avec ChemDraw Ultra - Chem3D 16.0.1.4. Pour ce faire, la fonction amine de l'acide aminé a été à la fois acétylée et méthylée, tandis que la partie acide carboxylique a été transformée en *N*-méthyle amide (figure 70).

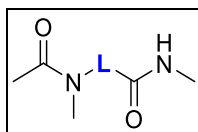


Figure 70 : substrat modèle utilisé pour la détermination de la surface accessible au solvant.

Dans un premier temps, la conformation des différentes molécules a été générée en utilisant une minimisation d'énergie avec le champ de force MMFF94, puis SASA a été déterminé via le calcul de « Connolly Accessible Area » (glossaire p 238). À noter qu'après minimisation d'énergie les squelettes peptidiques de ces différents analogues se superposent parfaitement.













					
A	B	C	D	E	F
356,76	362,00	365,57	380,17	383,03	386,61
					
G	H	I	J	K	L
391,73	392,85	393,63	400,11	419,00	422,34

Tableau 15 : aire de Surface accessible par le solvant (en Å²) pour un substrat modèle.

Le tableau 15 nous indique que les groupes cyclopentyle **G** ou fluoroisopropyle **H** pourraient être des alternatives intéressantes au reste isopropyle **I**. Leur aire de surface accessible par le solvant est quasi similaire (~392 Å²). De même, le 1,1,1-trifluoroisopropyle **J**, légèrement plus volumineux (~400 Å²), pourrait également être envisagé.

La synthèse des dérivés quinazolinedione incorporant un motif trifluorométhyle **C**, fluoroisopropyle **H** et fluoroéthyle **E** a été démarrée mais sans succès.

Suite à cette première étude SAR de la zone **B** nous proposons le schéma récapitulatif figure 71 des interactions proposées.

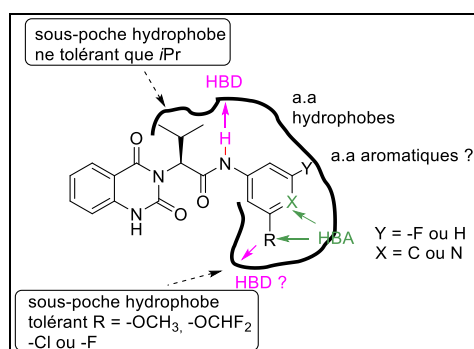


Figure 71 : mode d'interactions proposées. En rose : HBD (donneur de liaison hydrogène), en vert HBA (accepteur de liaison hydrogène). Trait noir : site actif

III-1.a.c Les analogues modulant la zone C

Les activités biologiques de 11 analogues modulant la zone C ont été évaluées (tableau 16).

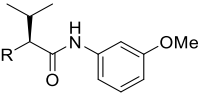
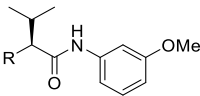
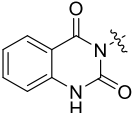
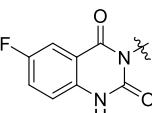
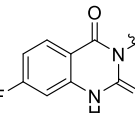
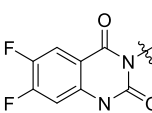
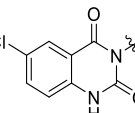
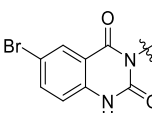
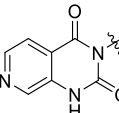
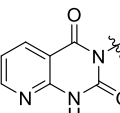
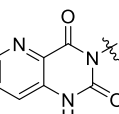
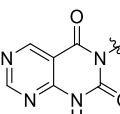
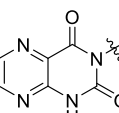
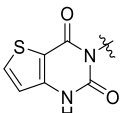
Composé	FCB1 IC ₅₀ (μM)	Composé	FCB1 IC ₅₀ (μM)
			
MMV665878, 28aaa		28baa	
	0,16±0,06 (n=4)		0,08±0,01 (n=2)
28caa		28daa	
	0,13±0,01 (n=2)		0,09±0,01 (n=2)
28eaa^a		28faa^a	
	0,12±0,01 (n=2)		0,05±0,03 (n=4)
28gaa		28haa	
	0,17±0,01 (n=2)		0,9±0,09 (n=2)
28iaa		28jaa	
	1,7±10,4 (n=2)		17,5±0,7 (n=2)
28kaa		28laa	
	15,0±1,4 (n=2)		0,24±0,04 (n=2)
28kaa		28laa	

Tableau 16 : activité des analogues modulant la zone C, a : série racémique

La substitution du cycle aromatique par un ou des atomes d'halogène permet de conserver, voire d'accroître, l'activité inhibitrice. L'introduction d'un atome de fluor en position 6 du cœur quinazolidinedione (composé **28baa**, IC₅₀ = 80 nM) semble être préférable à la position 7 (**28caa**, IC₅₀ = 130 nM). L'ajout d'un deuxième atome de fluor, comme avec l'analogue 6,7-difluoré **28daa** (IC₅₀ = 90 nM) ne conduit qu'à un léger gain d'affinité. La position 6 du cœur quinazolidinedione semble être une position intéressante à moduler. L'analogue 6-chloré **28eaa** est le moins actif de cette série (IC₅₀ = 120 nM), tandis que le composé 6-bromé **28faa** présente la meilleure activité inhibitrice avec une valeur d'IC₅₀ autour de 50 nM. Cette augmentation de l'activité inhibitrice ne pourrait pas uniquement qu'être reliée à un accroissement de la lipophilie de la partie quinazolidinedione (tableau 17).

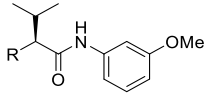
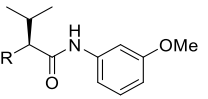
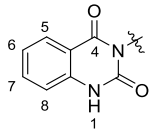
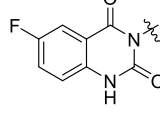
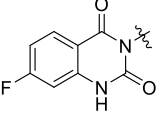
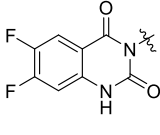
Composé	clogP	FCB1 IC ₅₀ (μM)	Composé	clogP	FCB1 IC ₅₀ (μM)
 MMV665878, 28aaa	2,56	0,16±0,06 (n=4)	 28baa	2,86	0,08±0,01 (n=2)
 28caa	2,86	0,13±0,01 (n=2)	 28daa	3,16	0,09±0,01 (n=2)
 28eaa	3,07	0,12±0,01 (n=2)	 28faa	3,17	0,05±0,03 (n=4)

Tableau 17 : calcul de clogP pour les molécules halogénées, les valeurs de clogP ont été déterminées par le site

web SwissADME²²⁰

L'atome de fluor en position 6 pourrait développer des interactions orthogonales multipolaires, alors que l'atome de brome serait plus propice pour développer une liaison halogène (interaction non covalente très directionnelle liée à la présence d'un trou sigma sur l'atome de brome le long de l'axe carbone-brome). Il se pourrait également que le substituant bromé ait une meilleure complémentarité de forme (rayon de Van der Waals : F 1,47 Å ; Cl 1,75 Å ; Br 1.85 Å) et épouserait parfaitement une sous-poche hydrophobe. Une diversification plus poussée de cette zone serait nécessaire afin d'explorer ce sous-site de liaison.

En revanche, il faut veiller à ne pas rendre la molécule trop lipophile car d'autres propriétés pharmacologiques risqueraient d'en pâtir dont notamment la solubilité (*vide infra*).

Nous avons également cherché à remplacer un des atomes de carbones du cœur quinazolinedione par un hétéroatome pour conduire à des dérivés de type pyridopyrimidinedione (**28gaa**, **28haa** et **28iaa**), pyrimidopyrimidinedione (**28jaa**), pyrazidopyrimidinedione (**28kaa**) ou thiénypyrimidinedione (**28laa**) (tableau 18).

L'introduction d'un ou deux atomes d'azote donne lieu à une perte d'activité inhibitrice considérable (même si ces résultats sont à considérer avec prudence, car la reproductibilité de tests biologiques est en cours). Seule la pyrido[3,4-*d*]pyrimidine-2,4-dione **28gaa** a permis de conserver l'activité inhibitrice de notre molécule de référence. Ces résultats laissent à penser que cette partie de la molécule pourrait interagir avec une poche lipophile. L'azote en position 7 pourrait également participer en établissant une liaison hydrogène (figure 72).

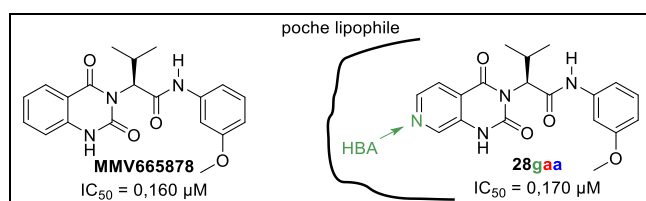


Figure 72 : interaction de **28gaa** avec la poche lipophile, En vert HBA (accepteur de liaison hydrogène). Trait noir : site actif.

Un autre analogue hétérocyclique, la thiéno[3,2-*d*]pyrimidinedione **28laa**, permet également de conserver l'activité inhibitrice. Cet analogue a un caractère lipophile semblable à MMV665878 (tableau 18), de plus une interaction de type liaison chalcogène pourrait également s'établir, interaction attractive entre le trou sigma localisé sur l'atome de soufre et des doublets non-liants de base de Lewis, comme l'atome d'oxygène ou d'azote, voire d'un système π .^{219,221,222}

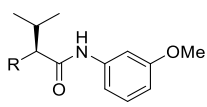
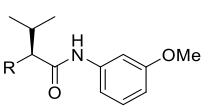
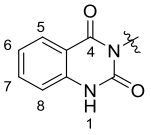
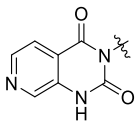
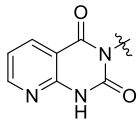
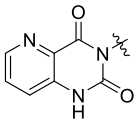
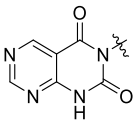
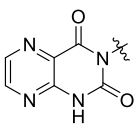
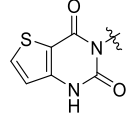
Composé 	clogP	FCB1 IC ₅₀ (μM)	Composé 	clogP	FCB1 IC ₅₀ (μM)
MMV665878, 27aaa 	2,56	0,16±0,06 (n=4)	28gaa 	1,82	0,17±0,01 (n=2)
28haa 	2,02	0,91±0,09 (n=2)	28iaa 	1,87	1,7±0,4 (n=2)
28jaa 	1,49	17,5±0,7 (n=2)	28kaa 	1,34	15,0±1,4 (n=2)
28laa 	2,62	0,24±0,04 (n=2)			

Tableau 18 : calcul de clogP pour les molécules azotées et soufrées, les valeurs de clogP ont été déterminées par le site web SwissADME²²⁰

Une interaction de type π -stacking n'est également pas à exclure. En effet l'introduction d'hétéroatome a un impact négatif sur ce type d'interaction (figures 73 et 74). Plus il y a d'hétéroatomes introduits dans le cycle aromatique, plus l'énergie d'interaction est faible. Ceci pourrait expliquer la perte d'activité des composés azotés **28haa** – **28kaa**. A l'inverse le dérivé thiophène **27laa**, quant à lui, a tendance à améliorer l'énergie d'interaction.

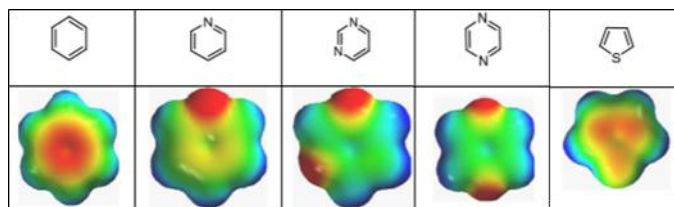


Figure 73 : représentation de surfaces de potentiel électrostatique de pyridine, thiophène et pyrimidine. Code couleur de -25kcal/mol (rouge) à +25 25kcal/mol (bleue).²²³

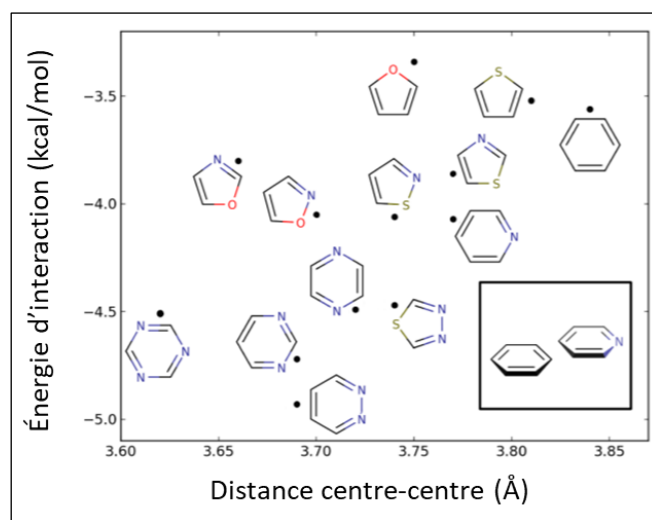


Figure 74 : énergies d'interaction des π stacking entre le benzène d'une protéine et différents hétérocycles.²²⁴

À la suite de cette première étude SAR, nous pouvons proposer un mode d'interaction représenté en figure 75.

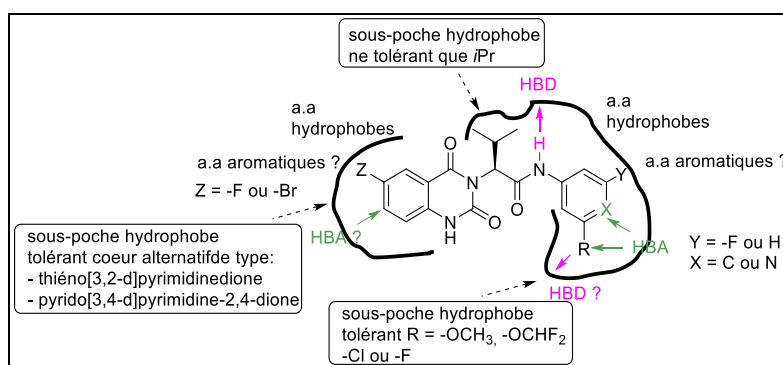


Figure 75 : mode d'interactions proposé pour les dérivés de quinazolinedione. En rose : HBD (donneur de liaison hydrogène), en vert HBA (accepteur de liaison hydrogène). Trait noir : site actif.

III-1.a.d Les analogues modulant simultanément la zone C et la zone A

3 molécules ont été synthétisées afin de moduler simultanément les zones C et A.

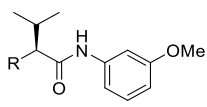
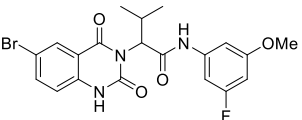
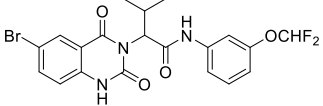
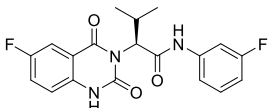
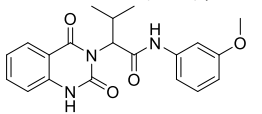
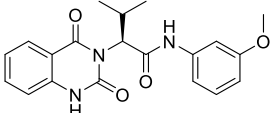
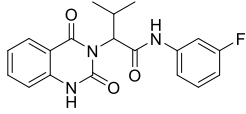
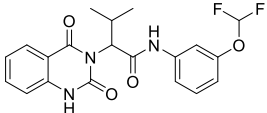
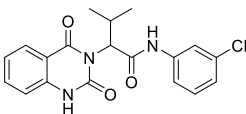
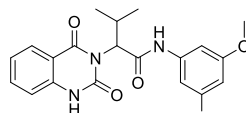
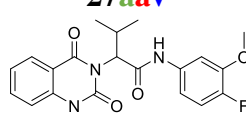
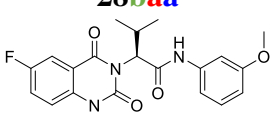
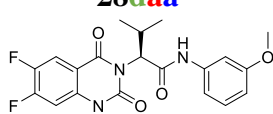
Composé	cLogP	FCB1 IC ₅₀ (μM)
 MMV665878, 28aaa	2,56	0,19±0,1 (n=7)
 28fau	3,54	0,006±0,001 (n=2)
 28fac	3,79	0,06±0,01 (n=2)
 28bag	3,23	0,06±0,02 (n=2)

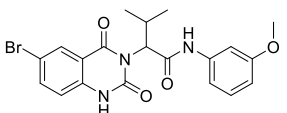
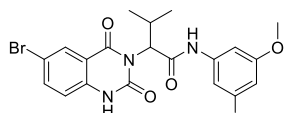
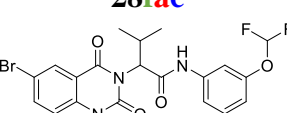
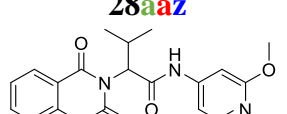
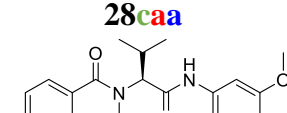
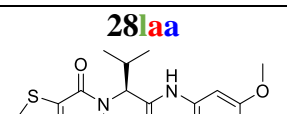
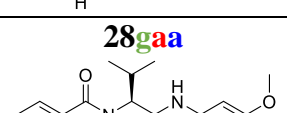
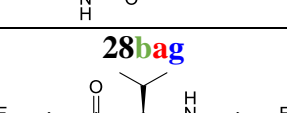
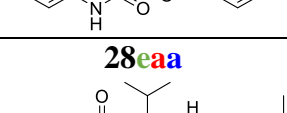
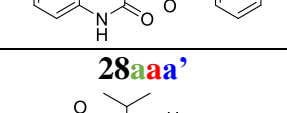
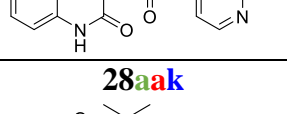
Tableau 19 : activité des analogues modulant simultanément les zones C et A. Les valeurs de clogP ont été déterminées par le site web SwissADME.²²⁰

Ces résultats, plus que prometteurs avec notamment le composé **28fau** ayant une valeur d'IC₅₀ de 6 nM, composé le plus puissant préparé de toute cette série d'analogues, nous ont montré qu'il était possible d'augmenter significativement l'activité inhibitrice en combinant les modulations de plusieurs zones de la molécule. Cependant il faudra être attentif à d'éventuel problème lié à une solubilité aqueuse trop faible.

III-1.b.Étude SPR

Au vu de cette première étude SAR, la solubilité cinétique d'une vingtaine d'analogues de MMV665878 a été déterminée dans un tampon PBS à pH 7,4 (tableau 20).

Composé	clogP	Solubilité (µM)	IC ₅₀ FcB1 (nM)
MMV665878 (rac), 28aaa 	2,56	180,5 ± 2,8	190 ± 100 (n=7)
MMV665878(S), 28aaa 	2,56	161,0 ± 2,5	160 ± 60 (n=4)
28aag 	2,91	178,7 ± 0,8	200 ± 13 (n=2)
28aac 	3,17	88,4 ± 1,2	90 ± 40 (n=3)
28aah 	3,14	51,5 ± 0,4	130 ± 20 (n=2)
28aau 	2,93	111,3 ± 2,2	40 ± 10 (n=5)
27aav 	2,87	170,3 ± 3,5	180 ± 8 (n=2)
28baa 	2,86	139,0 ± 2,6	80 ± 10 (n=2)
28daa 	3,16	74,1 ± 0,4	90 ± 10 (n=2)

<p>28faa</p> 	3,17	$14,2 \pm 0,1$	50 ± 30 (n=4)
<p>28fau</p> 	3,54	$2,2 \pm 0,1$	6 ± 1 (n=2)
<p>28fac</p> 	3,79	$1,2 \pm 0,7$	60 ± 10 (n=2)
<p>28aaz</p> 	2,06	$183,7 \pm 1,5$	420 ± 140 (n=5)
<p>28caa</p> 	2,86	$100,5 \pm 0,8$	130 ± 10 (n=2)
<p>28laa</p> 	2,62	$165,2 \pm 1,2$	240 ± 40 (n=2)
<p>28gaa</p> 	1,82	$154,9 \pm 12,6$	170 ± 10 (n=2)
<p>28bag</p> 	3,23	$102,2 \pm 6$	60 ± 20 (n=2)
<p>28eaa</p> 	3,07	$21,8 \pm 0,2$	120 ± 10 (n=2)
<p>28aaa'</p> 	2,51	$156,9 \pm 0,5$	170 ± 40 (n=2)
<p>28aak</p> 	3,46	$11,8 \pm 0$	120 ± 30 (n=2)

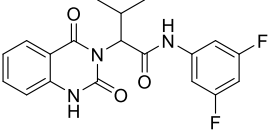
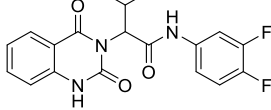
<p>28aai</p> 	3,23	78,6 ± 3,4	120 ± 20 (n=2)
<p>28aj</p> 	3,22	122,3 ± 0,4	190 ± 20 (n=2)

Tableau 20 : solubilité des molécules. Pour la solubilité un écart moyen est utilisé alors qu'un écart type est utilisé pour l'IC₅₀. En vert meilleure que MMV665878, bleue similaire, en orange moins bien, en rouge beaucoup moins bien

Dans cette série de molécule, nous pouvons constater que dès que la valeur de clogP est supérieure à 3, la solubilité aqueuse a tendance à chuter (figure 76).

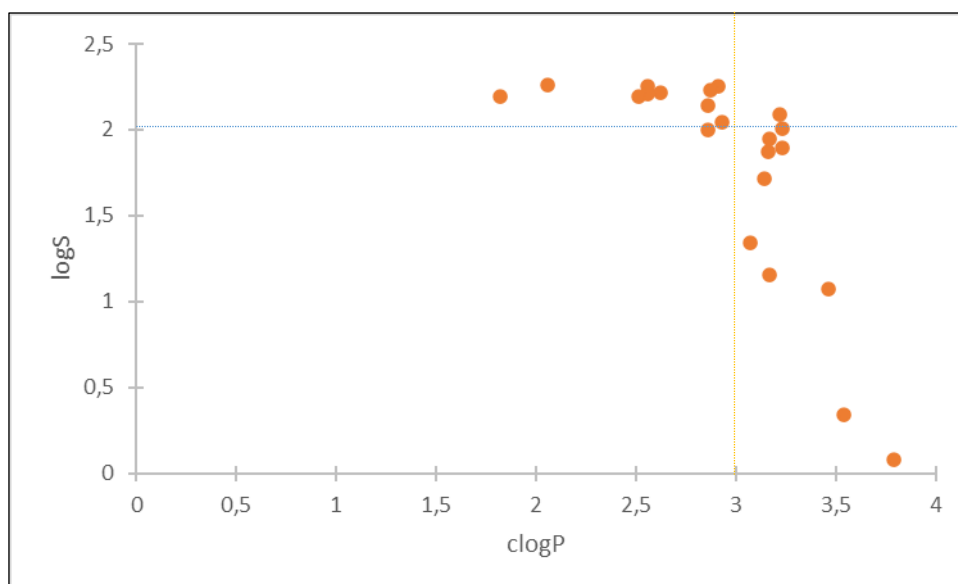


Figure 76 : solubilité vs clogP des molécules dont la solubilité a été testée.

Le graphique figure 77 récapitule de manière plus représentative les molécules les plus intéressantes au regard de leur activité inhibitrice et de leur solubilité.

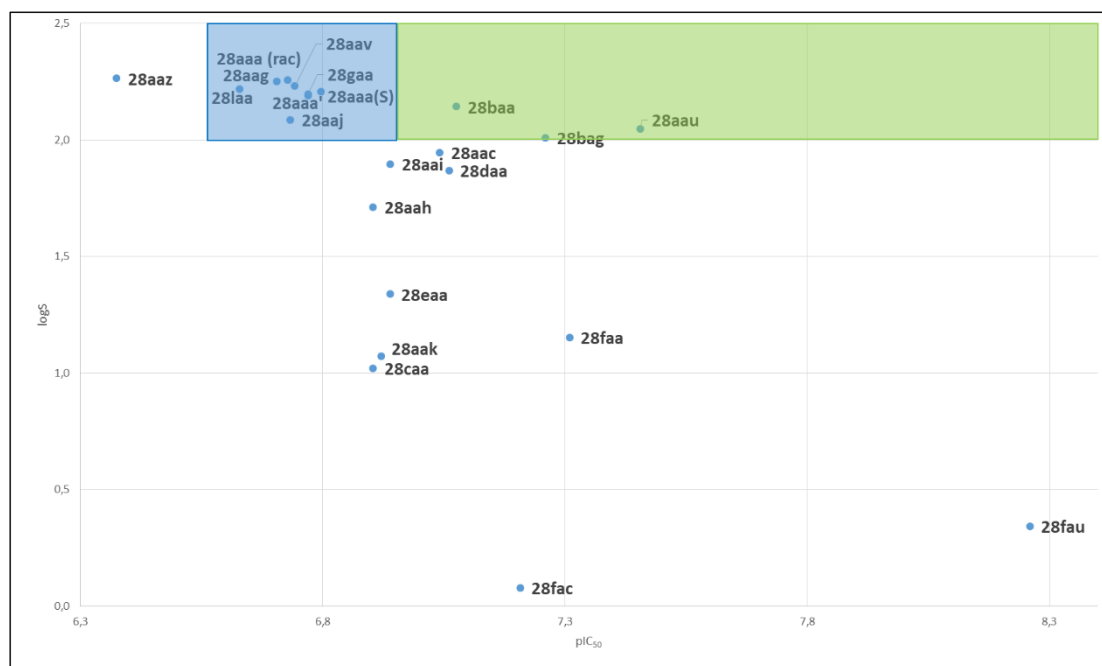


Figure 77 : solubilité cinétique dans PBS à pH 7,4 vs activité inhibitrice. solubilité : S(μ M), pIC₅₀ = $-\log(\text{IC}_{50}(\text{M}))$. Les molécules se situant dans l'encadré vert possèdent des activités inhibitrices qui ont été améliorées par rapport à celle de MMV665878. Elles possèdent également une solubilité cinétique semblable, voire légèrement inférieure à notre molécule de référence. Les molécules se situant dans l'encadré bleu possèdent des activités inhibitrices et une solubilité cinétique semblable, voire légèrement inférieure à celles de MMV665878.

L'introduction d'un atome de brome conduit à des composés très actifs mais très peu solubles ($S = 1,2\text{--}14,2 \mu\text{M}$). Le remplacement du groupe -OMe, un des « hot spots » métaboliques sur la molécule de référence, par un atome de fluor (composé **28aag**) semble être mieux toléré que l'introduction d'un atome de chlore (**28aah**) ou du groupe -OCHF₂ (**28aac**).

La position et le nombre d'atome de fluor semblent être importants pour conserver une solubilité décente et une activité inhibitrice intéressante. Que ce soit au niveau de la zone A ou C, il apparaît que la présence d'un seul atome de fluor soit suffisante pour ne pas diminuer trop significativement la solubilité aqueuse. Ainsi, le composé difluoré **28bag** semble être pour le moment un bon compromis entre activité et solubilité.

Le remplacement de la partie 3-méthoxyanilide par un hétéroaromatique avec notamment les dérivés 2-chloro/méthoxy-4-pyridyl (**28aal** ou **28aaz**) semble être une alternative intéressante pour conserver une bonne solubilité aqueuse. De même, les composés de type thiénopyrimidinedione **28l1aa** et pyridopyrimidinedione **28gaa** permettent de conserver l'activité inhibitrice et la solubilité aqueuse de MMV665878. Ces deux noyaux alternatifs aux

cœurs quinazolinedione ouvrirait ainsi la voie vers une nouvelle séquence d'optimisation, leur préparation et modulation donnant lieu à des challenges synthétiques détaillés dans la partie perspective de synthèse.

Ces résultats montrent la complexité de l'optimisation de cette série de molécules devant allier à la fois une certaine lipophilie afin d'augmenter l'activité inhibitrice, et un caractère hydrophile pour préserver la solubilité aqueuse.

Pour donner suite aux résultats des activités inhibitrices et des solubilités cinétiques, 15 analogues (Figure 78) ont été sélectionnés afin d'évaluer leur stabilité métabolique. Les molécules les plus intéressantes au regard de ces deux paramètres ont été choisies, ainsi que les composés bromés tout comme le composé chloré **28aah** et les analogues difluorométhylés **28aac** et **28fac**. Les tests de stabilité métabolique sont en cours.

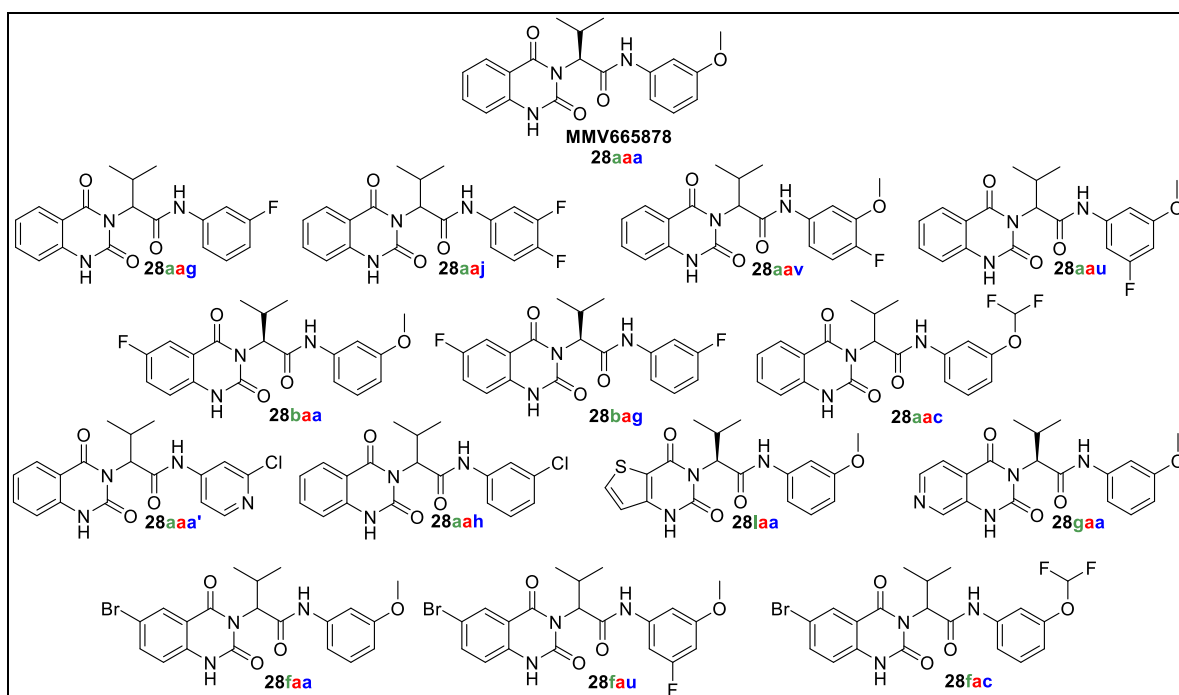


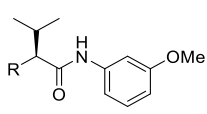
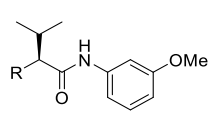
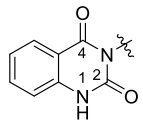
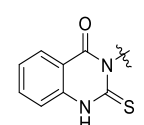
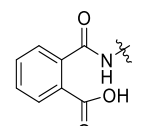
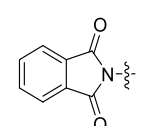
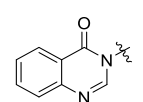
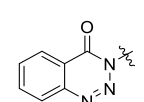
Figure 78 : molécules sélectionnées pour les tests de stabilité métabolique.

III-3. Approche de « scaffold hopping »

Une approche de scaffold hopping a été entreprise afin de concevoir une nouvelle classe de molécules avec des propriétés physicochimiques différentes.

Une approche de « scaffold hopping » visant à remplacer le fragment central quinazolinedione a alors été initiée. Plusieurs classes de composés ont été examinées en fonction de leur faisabilité synthétique et de leur complémentarité de forme avec la conformation du cœur quinazolinedione de MMV665878. Elle consiste à élaborer des analogues en modifiant la structure chimique tout en préservant le profil pharmacologique de la molécule parente. Ces analogues « fonctionnels » décrivent alors une affinité similaire à celle de MMV665878 pour une cible donnée tout en offrant des composés avec une grande diversité structurelle. L'idée est de découvrir de nouvelles molécules en changeant significativement la structure principale du cœur quinazolinedione mais en conservant des activités biologiques similaires. Ce principe repose sur l'hypothèse que des molécules structurellement et chimiquement différentes peuvent interagir avec le même récepteur et donner des activités biologiques comparables²²⁵.

Dans cet optique, onze analogues ont été synthétisées et leurs activités inhibitrices ont été évaluées (tableau 21).

Composé	FCB1 IC ₅₀ (μM)	Composé	FCB1 IC ₅₀ (μM)
			
MMV665878, 27aaa		38	
	0,19 ± 0,1 (n=7)		0,2±0,01 (n=2)
39		40	
	>100		>100
41		42	
	50±23 (n=2)		12,5±0,7 (n=2)

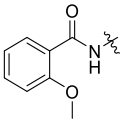
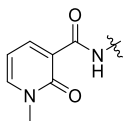
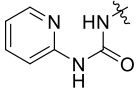
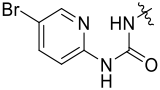
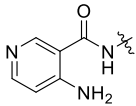
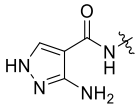
<p>43</p> 	<p>54±8 (n=2)</p>	<p>44</p> 	<p>>100</p>
<p>45</p> 	<p>64 (n=2)</p>	<p>46</p> 	<p>51±9 (n=2)</p>
<p>37maa</p> 	<p>1,7±0,4 (n=2)</p>	<p>37naa</p> 	<p>>100</p>

Tableau 21 : activité des analogues modulant la zone C présentant un « scaffold hopping »,

Dans un premier temps, nous avons conservé le système bicyclique du noyau quinazolinédione et avons étudié l'importance des motifs HBA et HBD. Pour ce faire nous avons préparé des dérivés de type thiooxo-quinazolinone **38**, isoindolinedione **40**, pyrimidinone **41**, et benzotriazinone **42** (figure 80). Dans cette série, seul la thiooxo-quinazolinone **38** conserve l'activité inhibitrice de la molécule de référence (IC₅₀ 0,2 µM). La présence d'un HBA de type carbonyle ou thiocarbonyle en position 2 semble primordiale pour l'activité inhibitrice. Cependant, il est à noter que la thiooxo-quinazolinone **38** n'est pas un scaffold alternatif d'intérêt car il est instable chimiquement dans un tampon PBS à pH 7,4.

Une liaison hydrogène est une interaction électrostatique respectant une certaine directivité avec notamment l'atome d'hydrogène pointant directement vers le doublet électronique non liant de l'atome accepteur. L'orientation de l'axe du doublet non liant de l'atome d'azote en position 2 de la pyrimidinone **41** est modifiée par rapport à celle de l'oxygène ou du soufre de la fonction carbonyle ou thiocarbonyle de la molécule de référence ou de la thiooxo-quinazolinone **38**, d'où la perte d'activité inhibitrice observée. En revanche, il reste une question en suspens à propos du rôle du N-H en position 1, il serait possible qu'il soit donneur de liaison hydrogène.

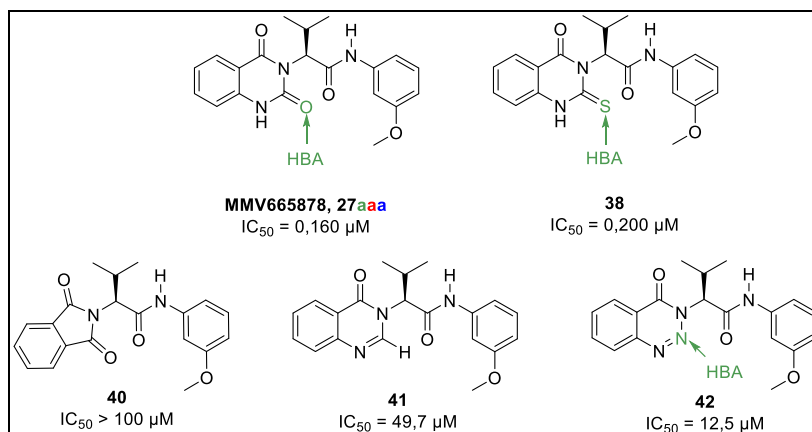


Figure 80 : « scaffold hopping », Noyaux bicycliques. En vert : HBA (accepteur de liaison hydrogène).

Par la suite, nous nous sommes intéressés à la possibilité de créer des « pseudos cycles » à 6 chaînons par liaison hydrogène intramoléculaire (IMHB). Le but est de mimer le cœur bicyclique rigide du noyau quinazolinedione par un système cyclique « temporaire » afin de moduler les propriétés physicochimiques (géométrie, forme, solubilité, lipophilie) ainsi que la perméabilité membranaire.^{226–228} Ce système cyclique temporaire est dû à un équilibre entre une conformation fermée et une forme ouverte selon le milieu environnant (figure 81). Plusieurs facteurs affectent cet équilibre dont notamment 1) l'état d'ionisation de la molécule, 2) la polarité du milieu : environnements aqueux vs environnements apolaires (intérieur des membranes/protéines), 3) l'isotropie (en solution) / anisotropie (membrane/état solide) de l'environnement.

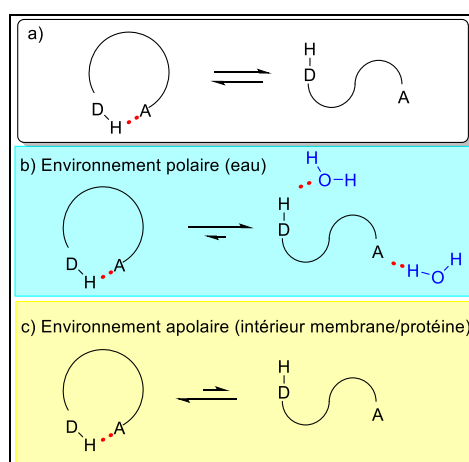


Figure 81 : équilibre entre conformations ouverte et fermée de molécules incorporant une fonctionnalité HBD (D-H) et un groupe accepteur (A). Le trait en pointillé rouge représente une liaison hydrogène intramoléculaire (IMHB)

La conformation fermée cachant l'accès à ses atomes polaires devrait être plus lipophile et afficher une perméabilité membranaire plus élevée, tandis que la forme ouverte dans laquelle les groupements polaires sont exposés au solvant devrait être plus soluble.

Il est également possible de distinguer des IMBHs dynamiques des IMBHs statiques selon que leur formation dépend de l'environnement ou non. De manière plus générale, une molécule pour laquelle la conformation fermée domine dans n'importe quel environnement forme un IMHB statique. A l'inverse, une molécule pour laquelle la forme fermée est privilégiée dans les milieux apolaires et la forme ouverte en milieu aqueux forme un IMHB dynamique et peut être considérée comme un caméléon moléculaire.

Dans ce contexte, l'étude de Kuhn et al²²⁶ est une étape importante pour l'utilisation des IMBH en drug design. Dans cette étude, les fonctionnalités HBD et HBA ainsi que les IMHB, auxquelles elles participent, ont été identifiées à partir de structures cristallines de la CSD et de la PDB en utilisant les critères appropriés de distance et d'angle IMHB. Cette information a été utilisée pour compiler une liste des topologies de systèmes cycliques de cinq à huit chaînons, considérés comme pertinents en drug design, et leurs propensions correspondantes à former des IMHB. La propension a été exprimée comme « le rapport entre le nombre d'entrées qui remplissent les critères géométriques d'un IMHB et le nombre total d'entrées dans la base de données contenant cette sous-structure ». Bien que les conformations adoptées dans les états solides et solution ne soient pas toujours identiques, il est raisonnable de supposer que les topologies avec de faibles propensions de Kuhn puissent former des IMHB dynamiques alors que les topologies avec des fortes propensions formeront préférentiellement des IMHB statiques.

Le tableau 22 montre quatre topologies de Kuhn que nous avons exploitées pour concevoir nos pseudo-cycles à 6 chaînons.

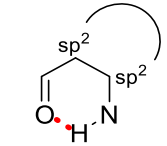
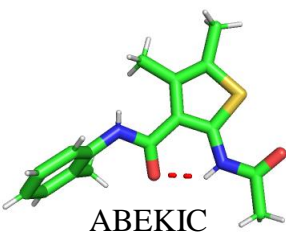
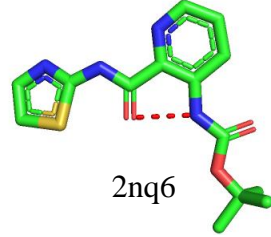
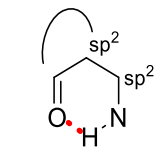
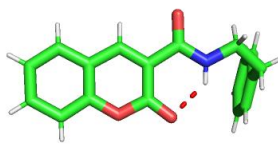
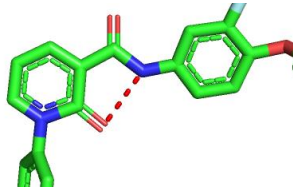
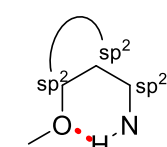

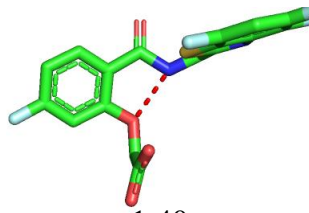
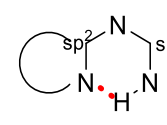
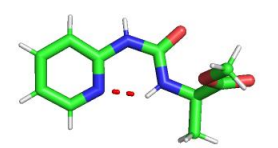
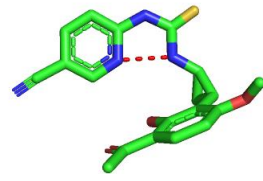
Topologie		Propension (CSD)	Exemple CSD	Exemple PDB
aC3cC3a		89,5%	 ABEKIC	 2nq6
cC3aC3a		93%	 ACEMEB	 3ce3
aC3cC3aC3a		87,9%	 BEZJIA	 1t40
aNaC3a		80,9%	 YINFOS	 1iky

Tableau 22 : topologies de Kuhn exploitées dans notre approche « scaffold hopping ». Dans la colonne Topologie, l'espaceur entre le HBD et les groupes HBA est caractérisé par son hybridation tandis que le demi-cercle désigne une liaison cyclique et le trait en pointillé rouge représente une IMHB.

Les molécules **37maa** et **37naa** ont été conçues initialement en vue de l'obtention des dérivés de type pyrido[4,3-*d*]pyrimidine-2,4-dione **28maa** et pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidine-4,6-dione **28naa**. Cependant, nous verrons par la suite que notre méthode de synthèse n'a pas permis leur obtention (partie IV-2.a.). Néanmoins ces dérivés de type 2-aminobenzamide peuvent exister sous différentes conformations avec notamment les conformations **37maa(1)** et **37maa(2)** (figure 82). Cette dernière correspond à la topologie aC3cC3a ayant une propension de 89,5% dans la CSD.²²⁶ Il est donc fort probable qu'une IMBH statique fige la conformation correspondant à **37maa(2)**. Par contre, le système pseudo-cyclique ne semble pas être localisé au bon endroit, mais les résultats sont encourageants (IC₅₀ 1,7 μM) ce qui nous a incité à poursuivre nos efforts dans cette voie.

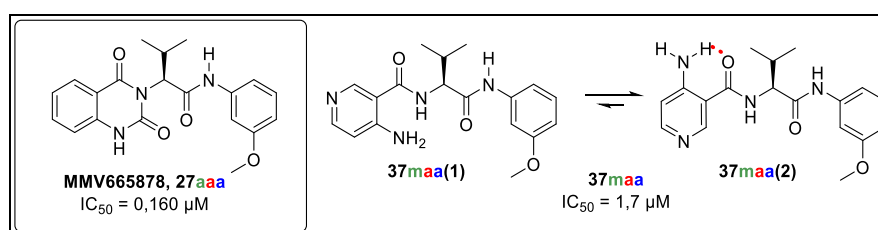


Figure 82 : trait pointillé rouge liaison intramoléculaire. Topologie aC3cC3a

Nous nous sommes alors intéressés aux trois autres topologies d'intérêt et avons en conséquence conçu des dérivés de types 2-oxo-pyridine-3-carboxamide **44**, 2-méthoxybenzamide **43** et 1-(2-pyridinyl)urée **45-46** (figure 83).

La structure cristalline de molécules parentes aux urées **45-46** est décrite dans la littérature²²⁹ (tableau 23) sous une conformation fermée (CSD : YINFOS, YINCAB), ce qui nous conforte dans notre hypothèse.

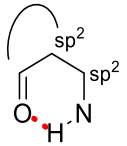
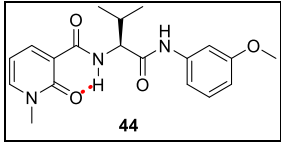
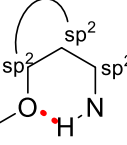
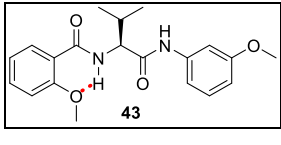
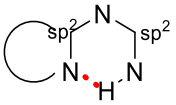
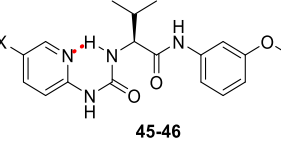
Topologie	Propension (CSD) ²²⁶	Molécule d'intérêt
cC3aC3a		
aC3cC3aC3a		
aNaC3a		

Tableau 23 : approche de « scaffold hopping ». Les pointillés rouges représentent des liaisons hydrogène intramoléculaire.

Malheureusement les résultats non pas été ceux escomptés. Le remplacement du cœur quinazolinédione par les pseudo-cycles à 6 chaînons **43-46** a conduit à une nette chute d'activité inhibitrice. Ces résultats semblent confirmer l'importance d'une fonction oxo en position 2 et 4 du squelette quinazolinédione.

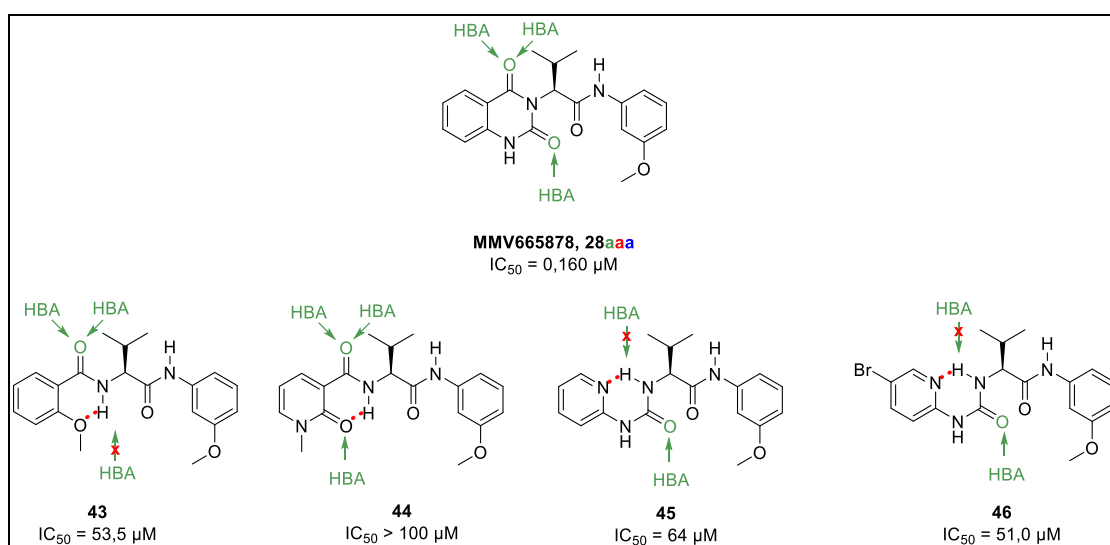


Figure 83 : « scaffold hopping » par liaison hydrogène intramoléculaire. En rose : HBD (donneur de liaison hydrogène), en vert HBA (accepteur de liaison hydrogène).

Toujours, afin de s'éloigner du système bicyclique quinazolinedione et afin de conserver les fonctions oxo en position 2 et 4, nous nous sommes intéressés à des squelettes de type uracile et azauracile (figure 84). Leur synthèse est actuellement en cours.

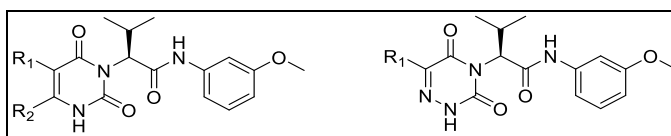


Figure 84 : uracile et azauracile en cours de synthèse.

III-4. Récapitulatif et perspectives

Suite à ces premières études SAR et SPR un schéma récapitulatif des interactions est proposé en figure 85.

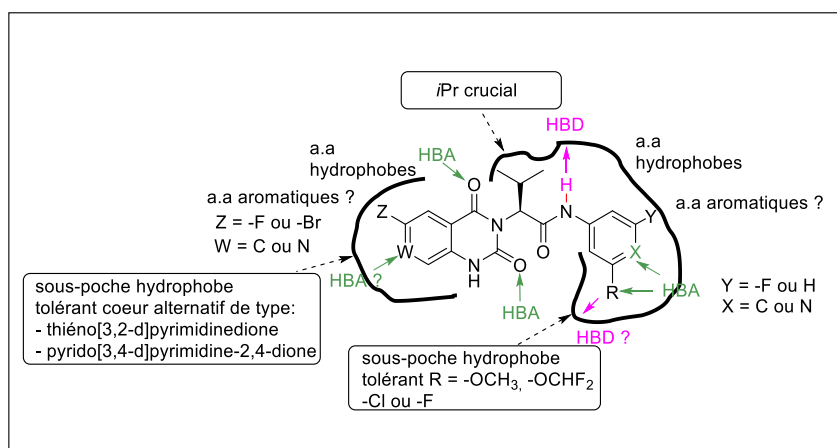


Figure 85 : modes d'interactions proposés pour les dérivés de MMV665878. En rose : HBD (donneur de liaison hydrogène), en vert HBA (accepteur de liaison hydrogène). Trait noir : site actif.

À ce stade de l'étude (figure 86) l'activité inhibitrice de cette série a pu être améliorée d'un facteur 34 (IC_{50} **MMV665878** = 187 nM et IC_{50} **28fa** = 5,5 nM), mais ces composés très puissants ont tendance à n'être que peu solubles. En attendant les résultats des tests de stabilité métabolique, le défi réside actuellement dans l'amélioration de la solubilité aqueuse ou l'obtention d'un juste équilibre entre les différentes activités et propriétés. De ce fait le composé difluoré **28bag** est pour le moment le candidat favori.

Les composés de type thiénoypyrimidinedione **28la** et pyridopyrimidinedione **28ga** pourraient être une solution alternative au cœur quinazolinedione. De même, le dérivé de la 2-chloro-4-pyridyl **28aaa'** pourrait remplacer la partie 3-fluoroanilide ou 3-méthoxyanilide.

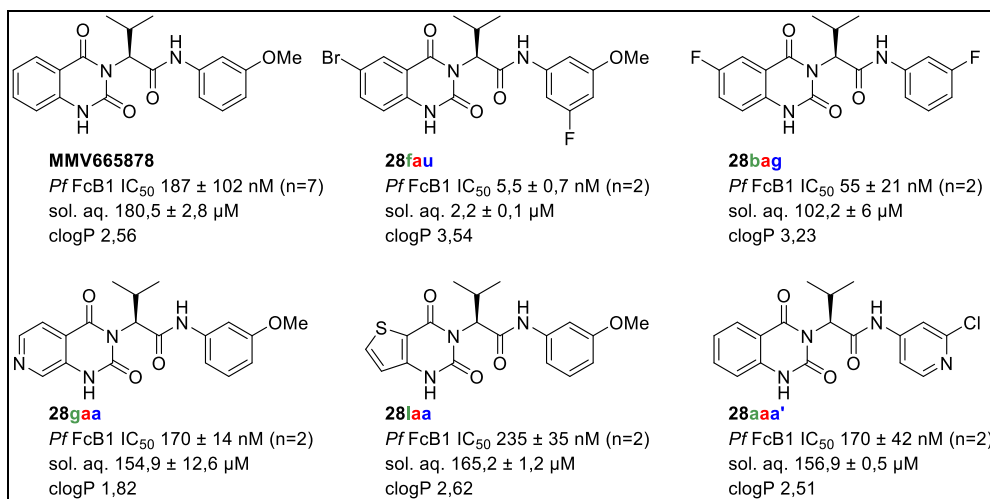


Figure 86 : progression de l'optimisation « hit to lead »

Perspectives pour la modulation de la zone A :

Huit molécules supplémentaires ont été synthétisées, mais n'ont pas encore été biologiquement évaluées (figure 87). Le composé **28aar'** serait particulièrement intéressant, car la partie benzoxaborole pourrait conférer à la molécule une activité inhibitrice complémentaire due aux activités biologiques uniques du cœur benzoxaborole.^{230–232}

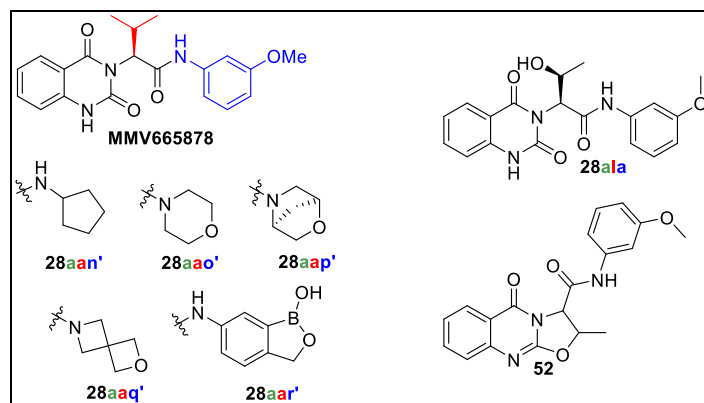


Figure 87 : molécules synthétisées dont l'évaluation biologique est en cours.

Une dernière étude sera à poursuivre avec notamment le remplacement de la 3-méthoxyanilide par un reste 2-fluoro-4-pyridyl ou par un aminothiazole (figure 88).

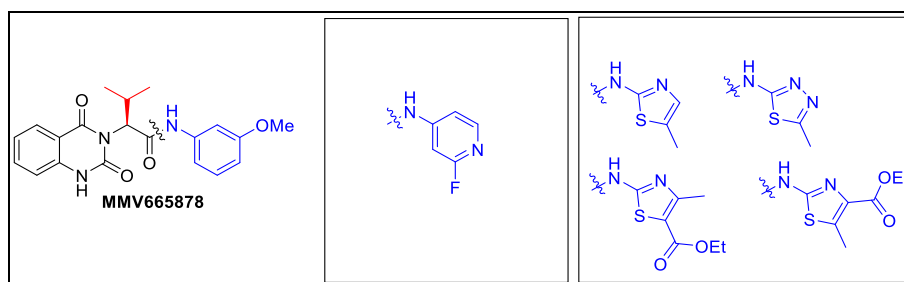


Figure 88 : prochaines molécules à synthétiser pour la modulation de la zone A.

Perspectives pour la modulation de la zone C :

La stratégie de « scaffold hopping » reste encore à poursuivre avec notamment la préparation de dérivés de type uracile ou azauracile, mais également des diazaborinones (figure 89).

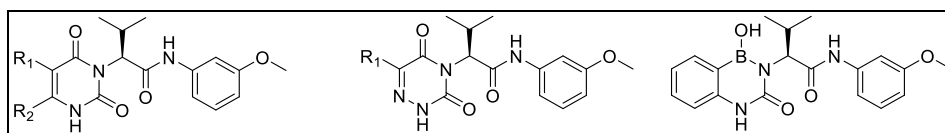


Figure 89 : prochaines molécules à synthétiser pour la modulation de la zone C.

Autres perspectives...

Les résultats de notre optimisation de MMV665878 semble tendre vers deux séries de molécules brevetées par GSK.^{233,234}

Le premier brevet²³³ ne comporte qu'une seule molécule **GSK607** (figure 90).

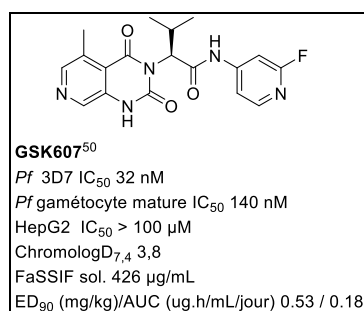


Figure 90 : autre molécule brevetée par GSK

Malgré toutes ces bonnes données, GSK607 (ou très probablement GSK3191607) a montré une énorme incertitude sur les prédictions PK humaines car le comportement PK n'était pas cohérent parmi les espèces précliniques testées (souris/rat/chien). GSK a tout de même fait progresser cette molécule vers une étude de microdosage chez l'homme (Phase 0)²³⁵ afin d'évaluer pleinement son potentiel thérapeutique en tant que traitement oral à dose unique. Le microdosage humain n'a malheureusement pas répondu aux critères de poursuite vers une étude de phase I ($T_{1/2}$ requis > 96 h).^{236,237}

Le second brevet quant à lui ne reporte que trois molécules de type uracile (tableau 24) .²³⁴

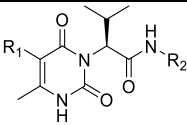

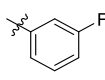



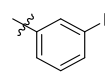
Composé ID						
	Ex1		Ex2		Ex3	
						
<i>Pf</i> IC ₅₀ (nM)	8		51		108	
FaSSIF sol. (µg/mL)	462		447		741	
ED ₉₀ (mg/kg) / AUC (µg.h/ml/jour)	0,4 / 0,04		3,1 / 0,28		3 / 0,24	

Tableau 24 : les trois molécules de type uracile du deuxième brevet et leurs caractéristiques. ²³⁴

Dans cette dernière série de molécules, il n'y a pas de plus amples informations... Mais d'après ces résultats il faudrait certainement améliorer l'activité inhibitrice afin de réduire la dose ED₉₀ tout en conservant une solubilité supérieure à 700 µg/mL. Le composé **Ex3** pourrait nous servir de point de départ pour l'optimisation des dérivés uracile ou azauracile en introduisant des morpholines à contrainte conformationnelle avec des analogues pontés monocarbonés ou à deux carbones, bicyclic fusionnés ou de type spiranique. De même, le groupe R₂ pourrait être modulé (figure 91).

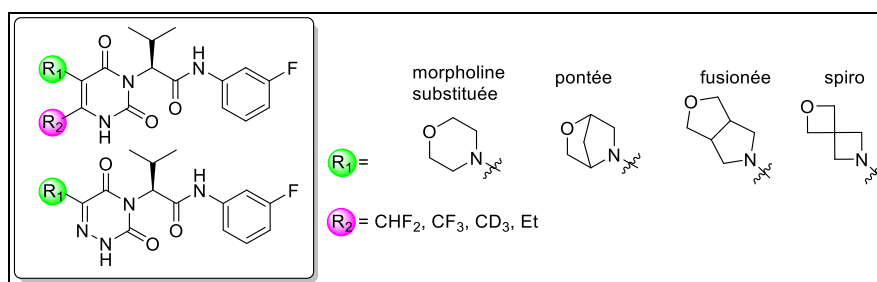


Figure 91 : perspectives de synthèses de molécules type uracile ou azauracile.

IV- Synthèse des analogues de MMV665878

Plusieurs voies de synthèses ont été développées pour la préparation de ces différents analogues.

IV-1. Voies de synthèse en série racémique

IV-1.a. Voie de synthèse n°1

La voie de synthèse n°1 décrite figure 92 a été notamment utilisée pour moduler la zone C lorsque les anhydrides isatoïques sont commerciaux et/ou peu cher comparés aux acides anthraniliques. Il s'agit de la même voie de synthèse que celle utilisée dans le chapitre 3 et qui a été initialement utilisée pour l'obtention de 7 analogues (**28faa**, **28aba**, **28fba**, **29aaa**, **29faa**, **29aba**, **29fba**) lors l'étude préliminaire de ce chapitre. Par la suite, cette voie de synthèse n°1 nous a conduit au composé chloré **28eaa** ainsi qu'aux composés bromés et fluoré **28fau** et **28fac**. Ici, divers anhydrides isatoïques **22** commercialement disponibles sont mis en réaction avec des chlorures d'ester méthylique d'acides aminés **23** dans le THF en présence de DIPEA à 70°C pour conduire aux anilines **24**. Les quinazolinediones **26** sont alors obtenues par une séquence faisant intervenir la formation d'un carbamate **25**, puis une cyclisation/saponification dans une solution alcoolique de soude à chaud. La dernière étape de couplage peptidique est réalisée via une des méthodes de couplage développées (partie II-5).

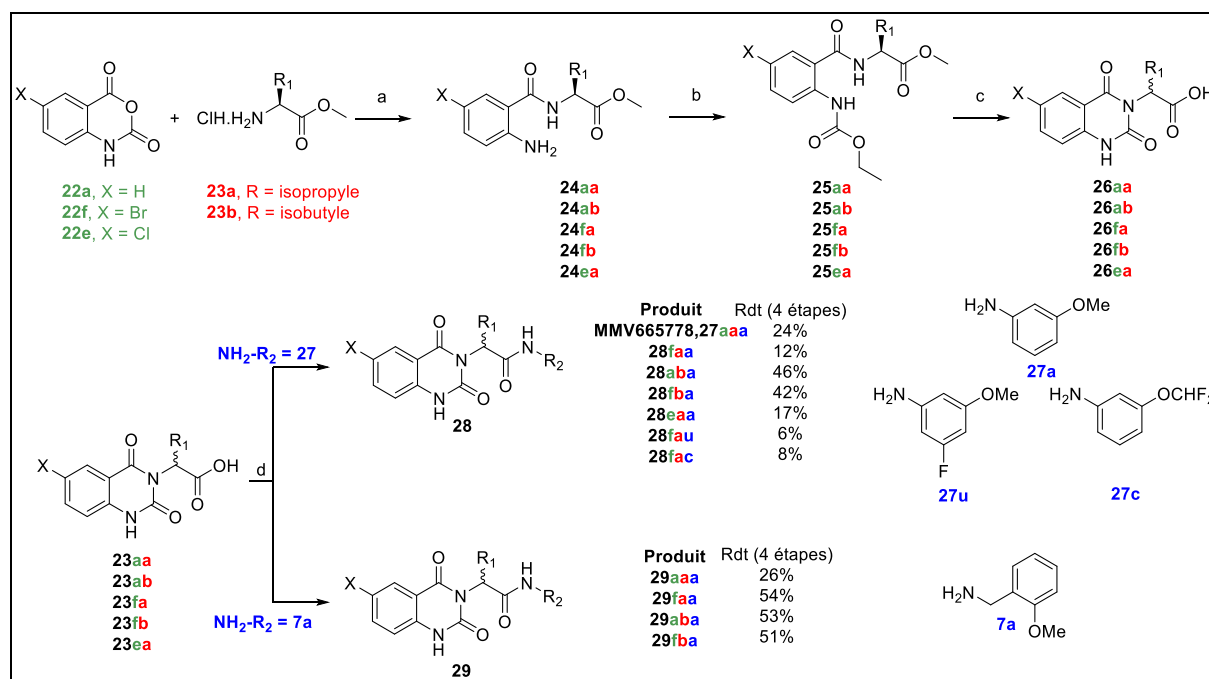


Figure 92 : obtention d'analogues en série racémique : Première voie de synthèse ; conditions : a) DIPEA, THF, 70°C, 20h. b) chloroformate d'éthyle, K₂CO₃, DCM, t.a, 20h. c) NaOH, EtOH, 70°C, 20h. d) NH₂-R₂, couplage peptidique. Dans un souci de clarté les anhydrides isatoïques **22** n'ont pas été numérotés **4** comme dans le chapitre 3.

Les rendements de cette voie de synthèse varient de 8% à 54% sur les 4 étapes. Ils dépendent énormément du rendement de la dernière étape de couplage.

IV-1.b. Voie de synthèse n°2 via un réarrangement de Lossen/cyclisation

Les composés **28aaa** et **28aac-28aar'** et **28aca-28aka** ont été obtenus via la synthèse décrite figure 93. La première étape consiste en la tosylation de la N-hydroxyphthalimide **10** afin d'obtenir le précurseur **11**. Ce dernier est alors mis en réaction avec le chlorhydrate de l'ester méthylique de la L-Valine (ou un autre acide aminé si on veut modifier la zone **B**) qui via un réarrangement de Lossen suivi d'une cyclisation conduit à la formation du squelette quinazolinedione **30**.¹⁷² L'acide carboxylique **26** est ensuite obtenu par saponification de l'ester **30** qui s'accompagne malheureusement d'une racémisation du centre stéréogène. La dernière étape est réalisée via une des méthodes de couplage peptidique développées (partie IV-6) et qui permet de coupler l'acide carboxylique **26** avec divers anilines **27**.

Cette voie de synthèse est très pratique et judicieuse pour moduler la zone **A** car la diversité est introduite lors de la dernière étape. Lors du réarrangement de Lossen se produit une désymétrisation du substrat de départ, et si le phthalimide de départ n'est pas symétrique deux isocyanates seraient susceptibles de se former (cf mécanisme, figure 94). Cette voie de synthèse n'est donc pas judicieuse pour moduler la zone **C**, sauf dans le cas de cœur quinazolinedione substitué symétriquement.

Le composé **28aab** suit la même voie de synthèse, mais il a été synthétisé en 6 étapes puisqu'il a fallu protéger/déprotéger le groupement OH du phénol (figure 95).

Les analogues **28aca-28aha** modulant la zone **B** sont plus long à préparer via cette voie de synthèse puisque l'introduction de cette diversification intervient dès le début de la synthèse. De plus, la synthèse peut ne pas être appropriée pour l'introduction d'acides aminés nécessitant une protection de leur chaîne latérale comme cela a été le cas pour le composé dérivé de la sérine **28aia** souhaité. En effet, lors de l'étape c) de saponification, le produit OMéthylé **28aja** a été exclusivement obtenu. Ce produit serait issu d'une réaction d'élimination du groupe -OTBDMS conduisant à un intermédiaire de type déshydroalanine (DHA) suivi d'une addition du méthanol (figure 96).

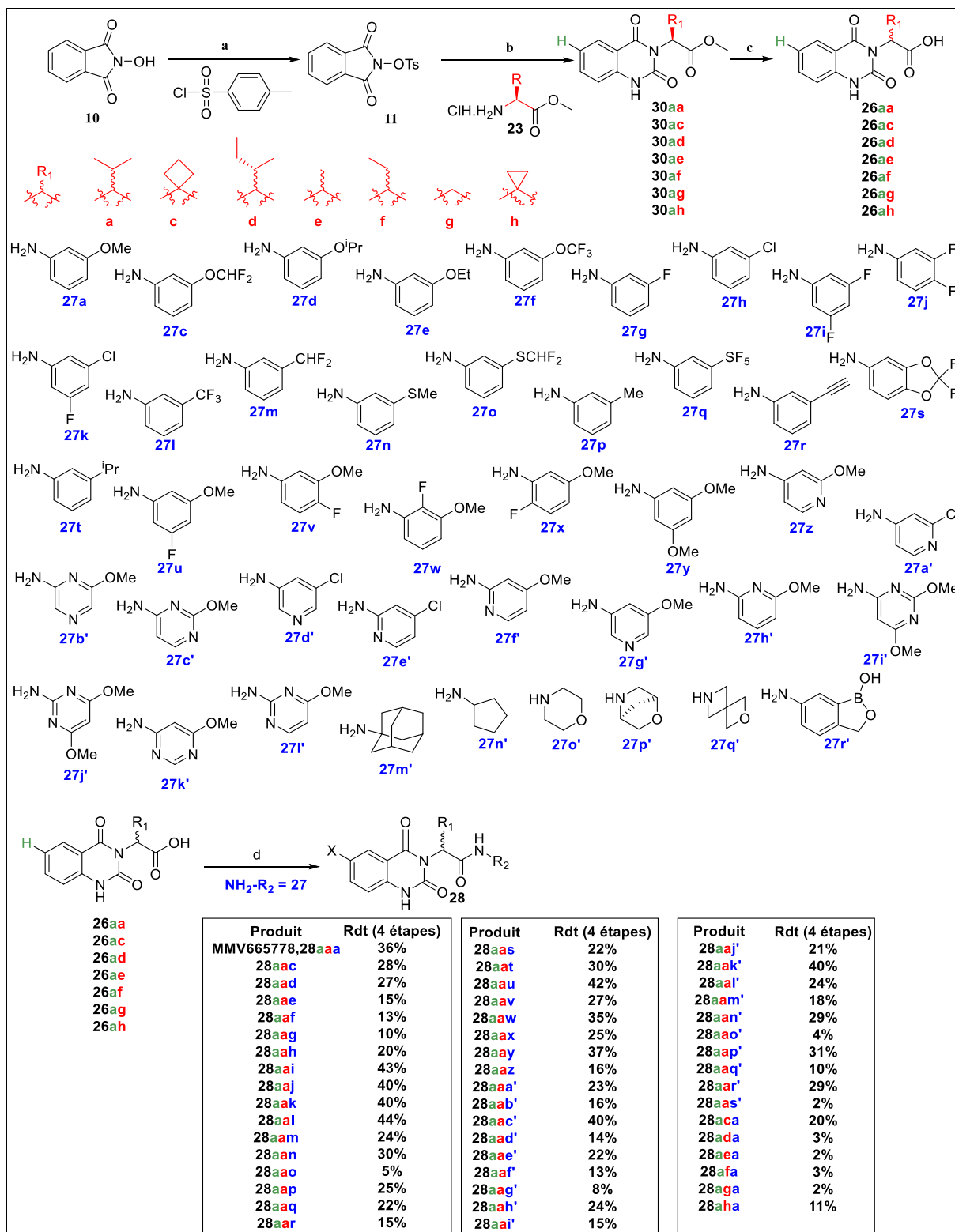


Figure 93 : obtention d'analogues en série racémique : seconde voie de synthèse ; conditions : a) pyridine, DCM, t.a, 1h30. b) pyridine, 120°C, 18h. c) NaOH, MeOH, 70°C, 18h. d) NH₂-R₂, couplage peptidique.

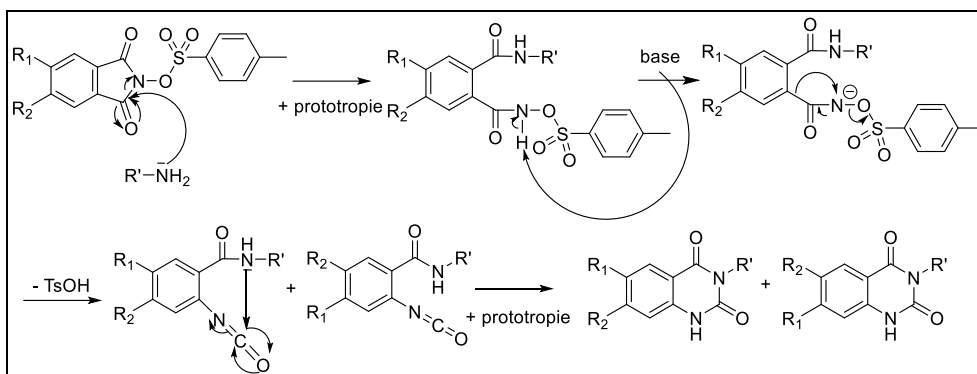


Figure 94 : mise en évidence de l'obtention de 2 isocyanates à partir de phtalimide non symétriques.

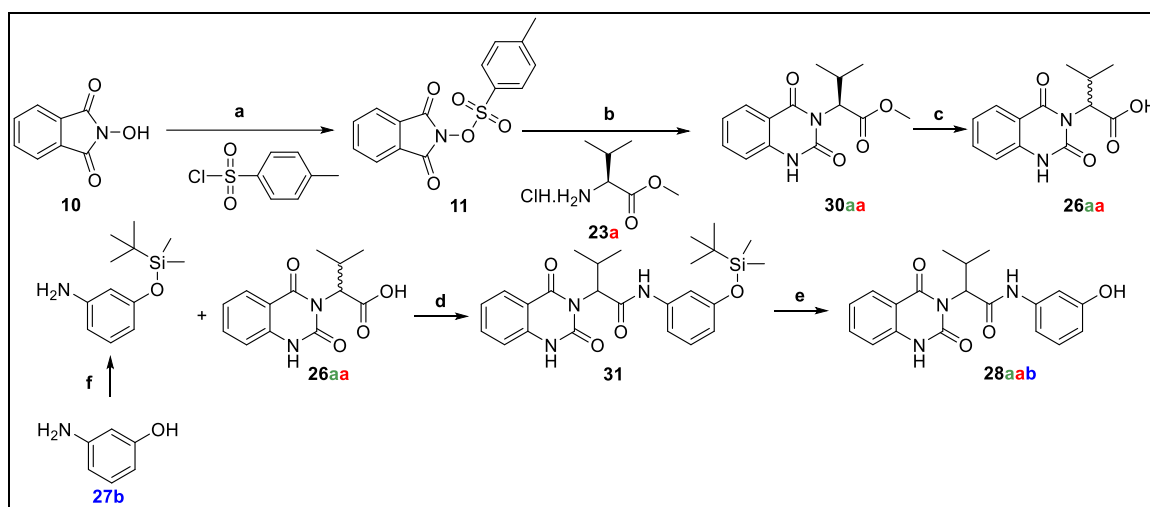


Figure 95 : synthèse du composé **28aab** ; conditions : a) pyridine, DCM, t.a, 1h30. b) pyridine, 120°C, 18h. c) NaOH, MeOH, 70°C, 18h. d) DIPEA, DCM, T3P, t.a ou 80°C, 16-72h e) TBAF, THF, t.a, 7h. f) TBDMSCl, imidazole, DCM, t.a, 48h, rdt quant. Rdt 4 +1 étapes : 29%

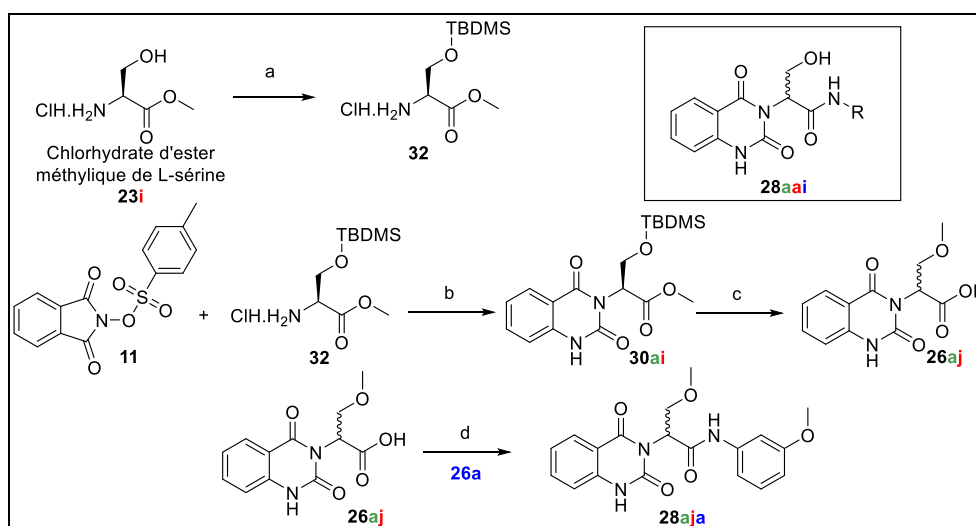


Figure 96 : obtention de l'analogue **28aja** ; conditions : a) TBDMSCl, imidazole, DCM, t.a, 18h. b) pyridine, 120°C, 18h. c) NaOH, MeOH, 70°C, 18h. d) m-anisidine, DIPEA, DCM, T3P, t.a, 18h. rdt 4 étapes = 6%

Les rendements de cette voie de synthèse varient de 2% à 43% et dépendent énormément du rendement de la dernière étape de couplage.

IV-2. Voies de synthèse en série énantio pure

IV-2.a. Voie de synthèse n°3

Une voie de synthèse permettant l'obtention de composés énantio purs a été mise au point et a conduit aux analogues **28baa–28daa** et **28gaa–28laa** de la figure 97, ainsi qu'à la préparation de la molécule de référence MMV665878 (**28aaa**) en série énantio pure.

Cette voie de synthèse est très pratique pour moduler la zone C car des modulations de la zone C viennent se greffer lors de la dernière étape de synthèse via une réaction monotope en deux étapes (procédure « *one-pot, two-step* »). La première étape consiste à *N*-protéger la L-Valine par un groupement Boc, elle est suivie d'un couplage peptidique avec la *m*-anisidine **27a** afin d'obtenir le composé **34aa**. Une hydrolyse par du TFA, suivi d'un traitement aqueux basique permet d'obtenir l'amine libre **35aa**. La réaction de couplage peut être effectuée avec deux agents de couplage différents, soit avec du T3P soit avec le système TCFH/NMI. Les dernières étapes de la synthèse se déroulent selon une procédure « *one-pot, two-step* » : divers acides anthraniliques **36** sont mis en réaction avec l'amine **35aa** afin dans un premier temps de donner les intermédiaires de type benzamide **37**, puis dans un second temps une réaction de cyclisation en présence de triphosgène conduit au squelette quinazolinedione **28**.

Certains acides anthraniliques ont posé des problèmes de solubilité dans CH₂Cl₂ et/ou de réactivité lors de cette séquence réactionnelle. De nouvelles conditions de couplages utilisant le système DIC/HOPO dans un mélange H₂O/MeCN ont dus être élaborées, conditions malheureusement incompatibles avec la procédure en « *one-pot, two-step* ».

Cette synthèse a également été appliquée à la synthèse du composé **28bag** qui fait intervenir non plus la *m*-anisidine **27a** mais l'aniline fluoré **27g** (figure 98).

Bien que cette méthode nous ait permis de synthétiser une dizaine de composés, celle-ci semble être limitée à certains substrats, notamment l'étape de cyclisation peut poser problème et n'a pas été compatible avec les benzamides **37maa** et **37naa**. En effet ces précurseurs n'ont pas réagi ou se sont dégradés en présence de triphosgène ou d'un autre agent de carbonylation comme le CDI. Les composés **37maa** et **37naa** ont tout de même été testés sous leur forme non-cyclisée. En revanche, le composé **37oaa** n'a pu être isolé car sa purification n'a pas été assez efficace et la quantité de brut obtenu était très faible, montrant que la réaction de couplage n'a pas été efficace également.

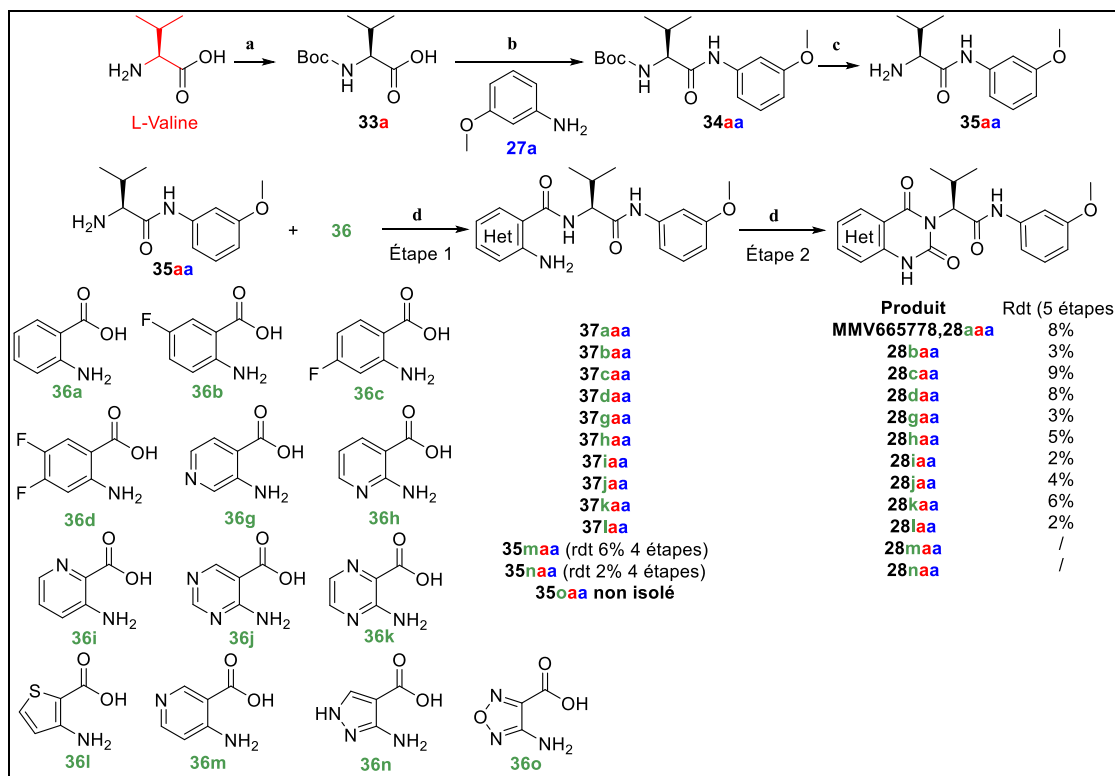


Figure 97 : Obtention d'analogues en série énantiopure ; conditions : a) Boc_2O , NaOH, THF/ H_2O , t.a, 16h. b) méthode A : DIPEA, T3P, DCM, t.a, 24h ; méthode B : TCFH/NMI, MeCN, t.a, 24h. c) TFA, DCM, t.a, 3h. d) méthode A : les étapes 1 et 2 sont réalisées en « one-pot, two steps » ; méthode B : les étapes 1 et 2 sont réalisées en séquentielles ; étape 1 méthode A : DIPEA, DCM, T3P, t.a, 16h ; étape 1 méthode B : DIC/HOPO, $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$, 80°C , 16h ; étape 2 : DIPEA, DCM, trisphosgène, 0°C puis t.a, 5h. Dans un souci de clareté, les acides anthraniliques **36** n'ont pas été numérotés 3 comme dans le chapitre 3.

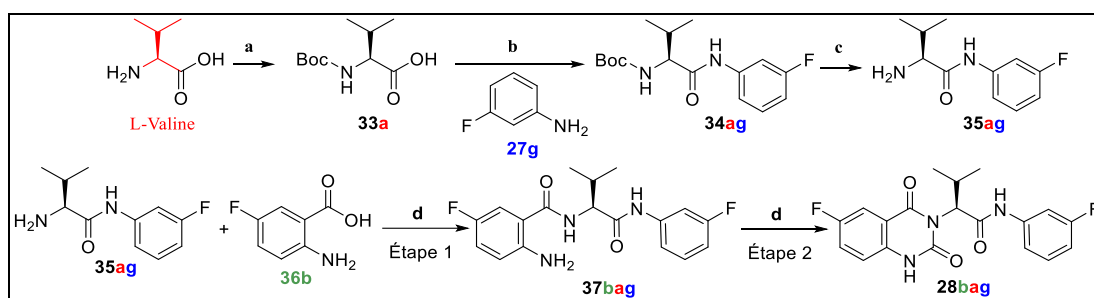


Figure 98 : obtention d'analogues **28bag**; conditions : a) Boc_2O , NaOH, THF/ H_2O , t.a, 16h. b) TCFH/NMI, MeCN, t.a, 24h. c) TFA, DCM, t.a, 3h. d) l'étape 1 et 2 sont réalisées en « one-pot, two steps » ; étape 1: DIPEA, DCM, T3P, t.a, 16h ; étape 2 : DIPEA, DCM, trisphosgène, 0°C puis t.a, 5h

Les rendements globaux de cette synthèse varient entre 5% et 10% sur 4-5 étapes. Ces rendements assez faibles sont dus notamment à des rendements modestes obtenus pour la première réaction de couplage peptidique (transformation de **33a** vers **34aa**). Ce couplage, réalisé sur « d'assez » grande quantité (ordre du gramme), ne dépasse pas 30% de rendement. Une autre étape sensible est la réaction « *one-pot, two-step* » où l'issue de la réaction dépend fortement de la réactivité des acides anthraniliques. Par ailleurs, une autre difficulté fut rencontrée lors de la purification du produit final avec la présence d'un sous-produit (structure figure 99) en infime quantité mais ayant une polarité très similaire à nos analogues.

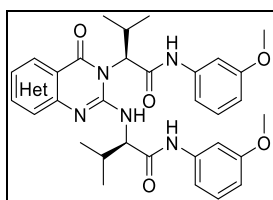


Figure 99 : impureté obtenu lors de la dernière étape de la synthèse voie de synthèse n°3.

Dans certains cas, des colonnes Puriflash® CN (figure 100) utilisées dans des conditions inverses ont permis de séparer les produits finaux de cette impureté. La colonne Puriflash® CN a la particularité de pouvoir s'utiliser soit en phase normale pour purifier des composés polaires soit en phase inverse pour purifier des composés moyennement polaires. Pour ce faire, il suffit de l'activer avec les solvants adéquats pour adopter un mode ou l'autre.

Activation colonne Puriflash® CN	
Phase normale	Phase inverse
<ul style="list-style-type: none"> Rincer avec 100% heptane, 3 ou 4 volumes de colonne 	<ul style="list-style-type: none"> Rincer avec 20% MeOH - 80% H₂O ou 30% ACN - 70% H₂O, 3 ou 4 volumes de colonne <p>Un minimum de 5% de solvant organique est requis pour maintenir cette activation</p>
<p>Phase normal</p>	<p>puriflash® CN</p>

Figure 100 : comparaison des greffages de la silice phase « normal » et Puriflash® CN

IV-1.b. Voie de synthèse n°4

Une deuxième voie de synthèse conduisant à des composés énantiopurs a été développée vers la fin de mes travaux de recherche. L'étape clé de formation du squelette quinazolinédione a lieu lors de la dernière étape via la séquence de réarrangement de Lossen/cyclisation. Seul le composé **28aka** a été préparé et a été obtenu sous la forme d'un seul diastéréoisomère. Comme précédemment, la L-Thréonine est *N*-protégée par un groupement Boc, suivi d'un couplage peptidique avec la *m*-anisidine en présence de DIC/HOPO. L'amide résultante est alors déprotégée par du TFA, puis traitée avec une solution aqueuse basique pour donner l'amine libre **35ka**. Cette dernière est alors mise en réaction avec le *N*-tosyloxyphtalimide **11** dans de la pyridine à 120°C pour donner le produit final **28aka** (figure 101).

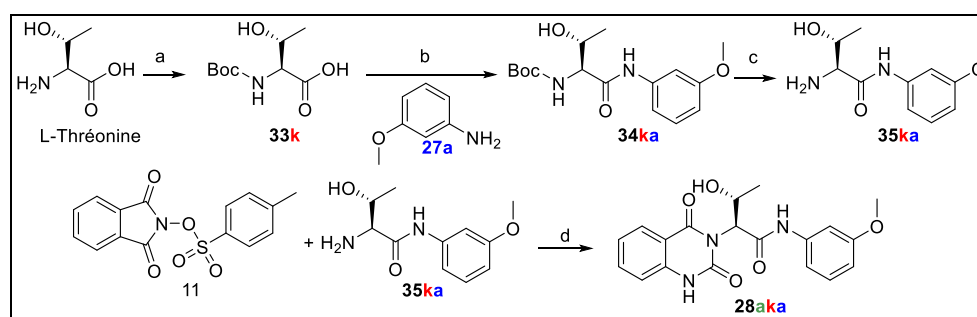


Figure 101 : obtention de l'analogue **28aka** conditions : a) Boc₂O, NaOH, THF/H₂O, t.a, 16h, rdt = 93 % b) DIC/HOPO, H₂O/MeCN, 80°C, 16h, rdt = 65 %. c) TFA, DCM, t.a, 3h. d) pyridine, 120°C, 18h, rdt = 22%.

Cette voie de synthèse est particulièrement adaptée pour la préparation de quinazolinédione symétrique en utilisant comme substrat de départ des *N*-tosyloxyphtalimides symétriques.

IV-3. Mise en évidence de la racémisation/épimérisation

La racémisation/épimérisation lors de la réaction de saponification a été mise en évidence de deux manières différentes.

1) Lors de la synthèse du composé **28ada**, deux diastéréoisomères ont été obtenus et sont distinguables en ¹H-RMN. En effet, l'ester **30ad** et l'acide carboxylique **26ad** sont les précurseurs de **28ada**, et en analysant leurs spectres RMN respectifs (figure 102), cette épimérisation a pu être mise en évidence. L'ester **30ad** possède deux centres stéréogènes, et l'épimérisation ne peut, à priori, avoir lieu que sur un seul de ces centres. Le ratio RMN entre les deux diastéréoisomères est d'approximativement 1/2 S/R (les deux doublets se chevauchent).

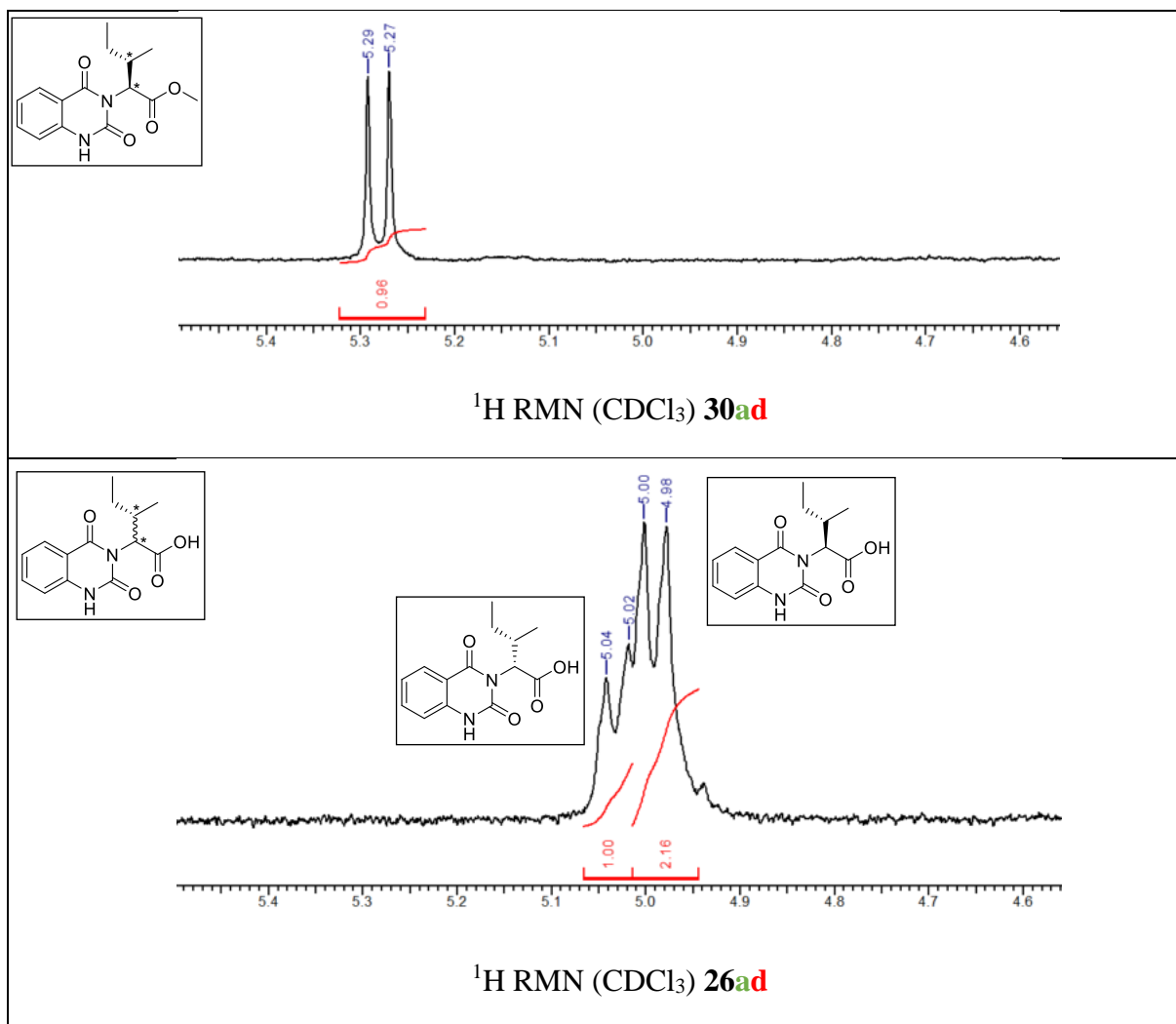


Figure 102 : mise en évidence de la racémisation lors de la saponification par analyses RMN des composés **30ad** et **26ad**.

2) Une autre méthode pour mettre en évidence ce phénomène de racémisation/épimérisation a consisté en la synthèse de MMV665878 selon deux voies de synthèse, l'une supposée racémique et l'autre permettant d'obtenir le composé sous forme énantiopure.

MMV665878 a ainsi été synthétisé via ces deux méthodes et les deux composés ont été comparés par chromatographie sur colonne chirale (chromatogramme obtenu figure 103). Nous avons alors pu constater que la méthode de synthèse n°3 permet bien d'obtenir des composés énantiopurs, contrairement à la voie de synthèse n°2 où une racémisation s'est produite, très probablement lors de l'étape de saponification/cyclisation. Le ratio S/R étant de 60/40.

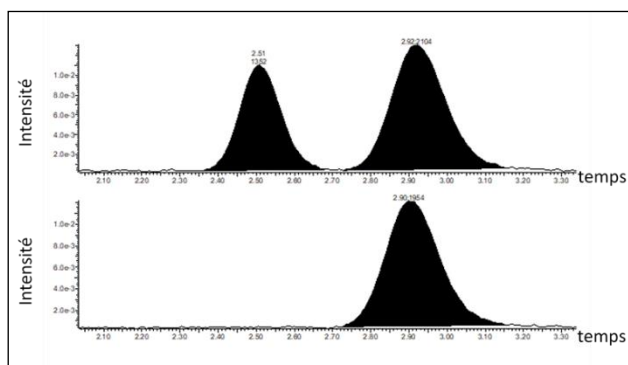


Figure 103 : chromatogrammes obtenus par chromatographie SFC : mélange racémique vs composé énantiopur MMV665878 (colonne chirale Trefoil AMY, 2,5 μ m, 2,1 \times 150 mm ; isocratique 20 % MeOH, 0,1 % FA).

IV-4. Synthèse des molécules pour la stratégie de « scaffold hopping ».

IV-4.a. Synthèses des analogues 38-42

Les composés **38-42** sont également obtenus via des synthèses permettant d'obtenir des composés énantiopurs.

La thiooxo-quinazolinone **38** a été synthétisée avec la même voie de synthèse que celle décrite auparavant (voie de synthèse n°3) en utilisant non plus du triphosgène lors de la dernière étape mais du thioCDI afin d'obtenir le dérivé soufré correspondant (figure 104).

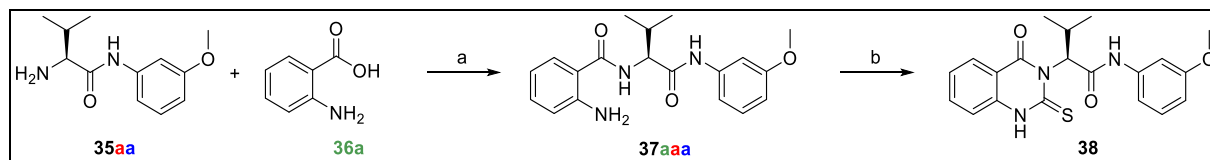


Figure 104 : réaction « one-pot, two-step » permettant l'obtention du composé **38** ; conditions : a) DIPEA, T3P, DCM, t.a, 16h, b) thioCDI, 40°C, 6h, rdt 5 étapes = 5%

Les composés **39** et l'isoindolinedione **40** ont été synthétisés à partir du composé **35aa** (figure 105) qui a été mis en réaction avec l'acide phtalique pour obtenir le composé **39**. Le composé **40** a été obtenu par cyclisation dans l'acétonitrile aux micro-ondes à 150°C.

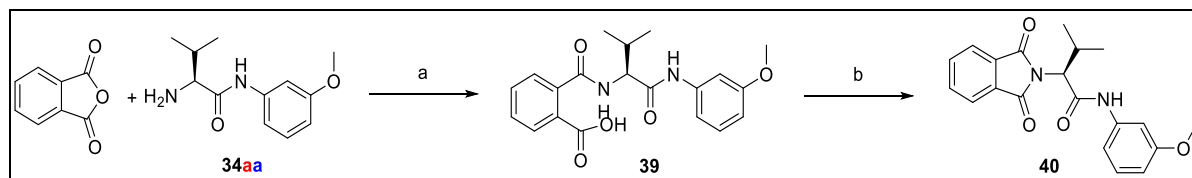


Figure 105 : obtention des composés **39** et **40** : a) Et₃N, DCM, t.a, 4h, rdt = 33%. b) MeCN, MW, 150°C, rdt = 24 %.

Lors de la mise au point de la voie de synthèse n°3, une autre méthode avait été testée en utilisant du CDI à la place du triphosgène. Le CDI s'étant malheureusement dégradé totalement en imidazole lors de sa conservation au réfrigérateur, la réaction souhaitée ne pouvait pas se produire... Néanmoins le chauffage de l'intermédiaire **37aaa** en milieu basique dans le DMF, a conduit à l'obtention de la pyrimidinone **41** (figure 106).

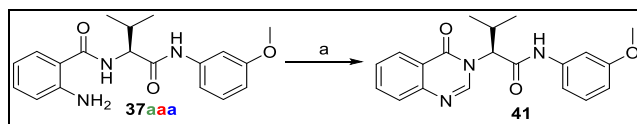


Figure 106 : obtention du composé **41** ; a) CDI dégradé en imidazole, DBU, DMF, 150°C, 16h. rdt 5 étapes = 8%

La benzotriazinone **42** a également été synthétisée à partir du composé **37aaa** (figure 107) qui a été mis en réaction avec du NaNO_2 en milieu acide aqueux.

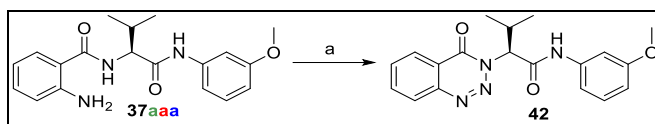


Figure 107 : obtention du composé **42** ; a) NaNO_2 , HCl, H_2O , t.a, 10 min, rdt 5 étapes = 6%.

IV-4.b. Synthèse des composés **43-46** : « scaffold hopping » via conception de pseudo-cycle à 6 chaînons

La 2-méthoxybenzamide **43** et la 2-oxo-pyridine-3-carboxamide **44** (figure 108 et 109) ont été synthétisées par simple couplage peptidique du composé **35aa** avec respectivement l'acide *o*-anisique ou l'acide 1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxylique.

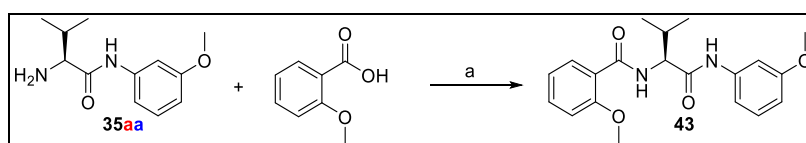


Figure 108 : obtention du composé **43** ; conditions : a) DIPEA, T3P, DCM, t.a, 16h, rdt = 41%

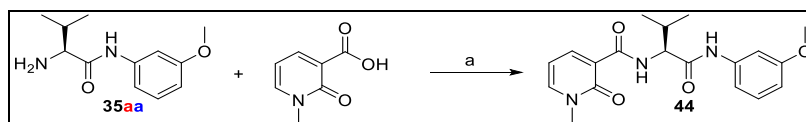


Figure 109 : obtention du composé **44**; conditions : a) DIPEA, T3P, DCM, t.a, 16h, rdt = 58%.

La synthèse des dérivés de type 1-(2-pyridinyl)urée **45-46** a été plus difficile. Dans un premier temps une première voie de synthèse (figure 110) a été essayée. Celle-ci consistait à simplement faire réagir la 2-aminopyridine **A** avec le CDI ou le triphosgène puis d'ajouter le composé **35aa** (entrée 1-2 et 4-5) ou faire réagir le composé **35aa** avec le CDI puis d'ajouter le composé **A**. Dans les deux cas, l'urée **D** a été observée, ce qui signifie d'une part que le CDI ne réagit pas avec le composé **35aa** et d'autre part que **A** est plus réactif que **35aa**. Un essai avec de la benzylamine, moins encombrée que le composé **35aa**, a également conduit à l'urée **D**. Par conséquent cette voie de synthèse a été abandonnée. Une seconde stratégie a consisté à faire réagir la 2-aminopyridine **A** avec le 4-nitrophenyl chloroformiate **B**, puis d'ajouter le composé **35aa**. Les entrées 7 et 8 ont montré que non seulement la réaction ne fonctionne pas mais que la première étape n'a pas lieu. De plus l'urée **D** étant toujours le seul produit formé, cette voie de synthèse a également été abandonnée.

entrée	conditions	substrats	réactifs	solvant	base	T (°C)	Temps
1	a	A+33 (2.2eq)	CDI (2eq)	DCM	DIPEA	t.a	16h
2	b	A+33 (2.2eq)	Triphosgène (0.6 eq)	DCM	DIPEA	0 puis t.a	16h
3	c	A+33 (2 eq)	CDI (2eq)	DCM	DIPEA	40	16h
4	d	A+33 (5 eq)	CDI (2eq)	DMF	DIPEA	t.a	72h
5	e	A+33 (3 eq)	Triphosgène (0.4 eq)	THF	DIPEA	0 puis t.a	2h
6	e	A+ C	Triphosgène (0.4 eq)	THF	DIPEA	0 puis t.a	2h
7	f	A+B puis 33	/	THF	pyridine	t.a	2×16h
8	g	A+B	/	DCM	DIPEA	t.a	16h

Figure 110 : premiers essais de synthèse du composé **45**, obtention de l'urée **D**.

Finalement les dérivés de type 1-(2-pyridinyl)urée **45** et **46** ont pu être préparés via l'approche de Kumar *et al*²³⁸ (voie de synthèse figure 111, mécanisme annexe p 234). Cette approche consiste, tout d'abord, à synthétiser les sels **48** et **49** à partir des aminopyridines correspondantes et du bromoacétate d'éthyle dans du THF. Ces sels de pyridinium sont ensuite mis en réaction avec le composé **35aa** en présence de K₃PO₄ dans la DMF.

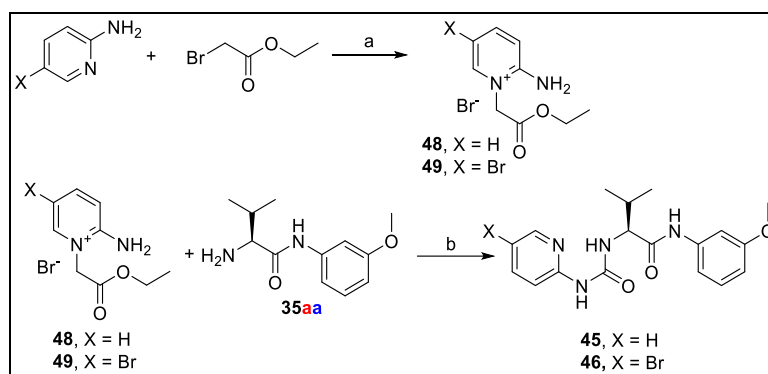


Figure 111 : obtention des composés **45** et **46** ; conditions : a) THF, t.a, **45** rdt = 66 %, **46** rdt = 26 %. b) K₃PO₄, DMF, 100°C, 20h, **44** rdt = 12%, **45** rdt = 12 %.

Cette approche reste cependant limitée aux aminopyridines puisque cette synthèse a été essayée avec des aminopyrimidines (figure 112) sans succès. Le sel **50** a pu être synthétisé avec un très faible rendement de 6%, mais celui-ci n'a pas réagi avec le composé **35aa**. Le composé **47** n'a donc pas pu être préparé. La 2-amino-5-bromopyrimidine n'est, quant à elle, pas soluble dans le THF, le sel correspondant **51** n'a donc pas pu être préparé.

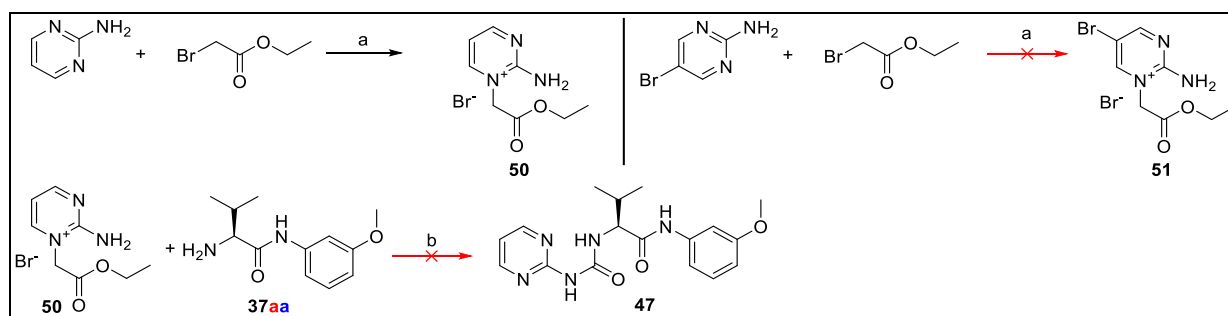


Figure 112 : limitation de la synthèse ; conditions : a) THF, t.a, **50** rdt = 6 %. b) K₃PO₄, DMF, 100°C, 20h.

IV-4.c. Synthèse des dérivés d'uracile

Pour synthétiser le noyau uracile plusieurs voies de synthèse ont été imaginées. Notre but était de ne pas reprendre la synthèse décrite dans le brevet²³⁴ afin de pouvoir moduler tardivement la partie morpholine.

Une première voie de synthèse (figure 113) est basée sur une étape clé d'insertion/réarrangement de Mumm (mécanisme annexe p 234) d'un isonitrile **E** et d'une oxime cyclique **F** catalysée par de sels d'argent.²³⁹ Malheureusement, cette voie de synthèse n'a pas permis d'obtenir le noyau uracile désiré. Le composé **E** est trop instable pour pouvoir être utilisé via cette synthèse. Ce composé a été synthétisé à partir de L-Valine (ou de dérivés de la L-Valine) qui a été mis en réaction avec l'acide formique pour donner la *N*-alkylformamide. D'un autre côté, l'oxime cyclique **F** a été obtenue après réaction avec POCl₃ en milieu acide dans DCM.²⁴⁰

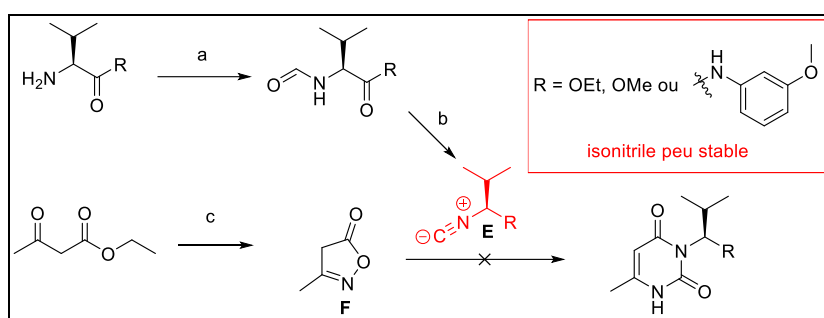


Figure 113 : conception de dérivés d'uracile ; conditions : a) acide formique, anhydride acétique, t.a, 16h. b) Et₃N, POCl₃, DCM, t.a, 16h. c) NH₂OH.HCl, pyridine, EtOH, 60°C, 16h. d) Ag₂O, pyridine, dioxane, 80°C, 6h.

Une autre voie de synthèse a donc été imaginée pour synthétiser le cœur uracile. Celle-ci débute par la synthèse d'une urée (figure 114)²⁴¹. Par la suite, cette urée a été engagée dans une réaction avec l'éthyle acétoacétate en présence de BF₃ Et₂O.²⁴² Cependant, le produit désiré n'a pas été obtenu, des hidantoïnes ont été identifiées. Cette urée a également été engagée dans une réaction catalysée au palladium avec un alcyne.²⁴³ En revanche, ici, aucune réaction ne s'est produite.

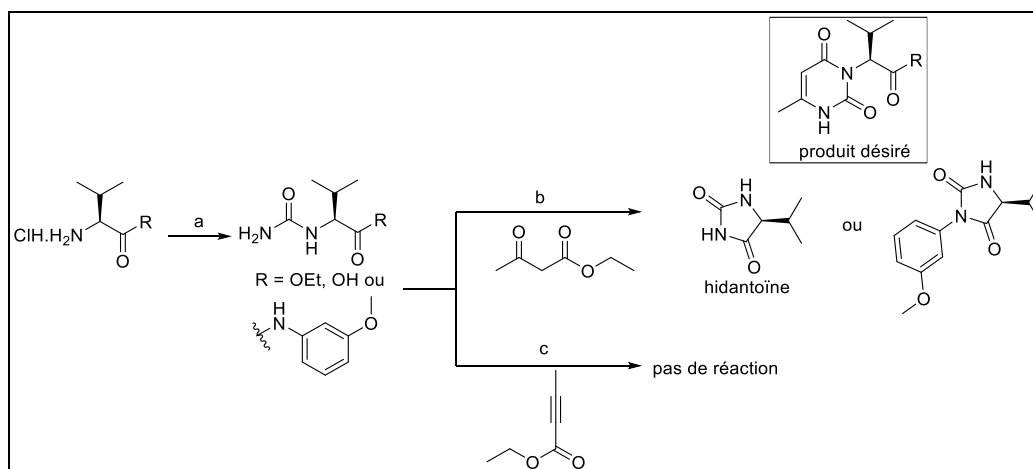


Figure 114 : conception de dérivés d'uraciles ; conditions : a) KOCN, H₂O, t.a, 16h. b) BF₃.Et₂O, MW, 30 min, 135°C. c) Pd(OAc)₂ 1%mol, TFA, NaOAc, toluène, t.a.

Face aux échecs de ces différentes voies de synthèse, nous nous sommes alors intéressés à la voie de synthèse décrite dans le brevet. Nous avons repris cette voie de synthèse et l'avons légèrement modifiée afin d'introduire tardivement la partie morpholine à diversifier (figure 115). D'ores et déjà, nous avons réussi à obtenir notre cœur uracile avec un rendement de 10% sur les 4 étapes. La première étape consiste à faire réagir l'acétoacétate d'éthyle avec l'acétate d'ammonium pour donner le (2Z)-3-aminobut-2énoate d'éthyle. Puis s'en suit une réaction avec le chloroformiate de phényle. La troisième étape consiste à faire réagir le composé activé par le chloroformiate avec la L-Valine tert-butyle ester. La quatrième étape permet de cycliser la molécule. L'élaboration de synthèse nous permettant d'introduire la morpholine (ou dérivés de morpholine) est en cours.

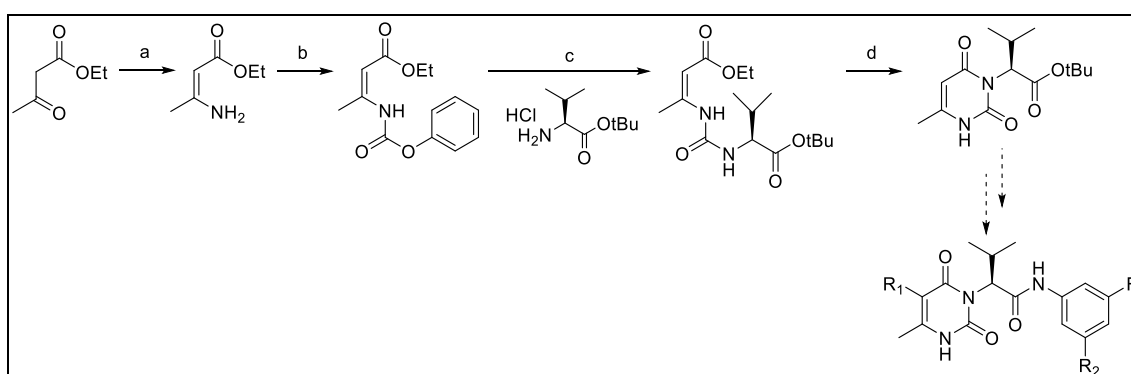
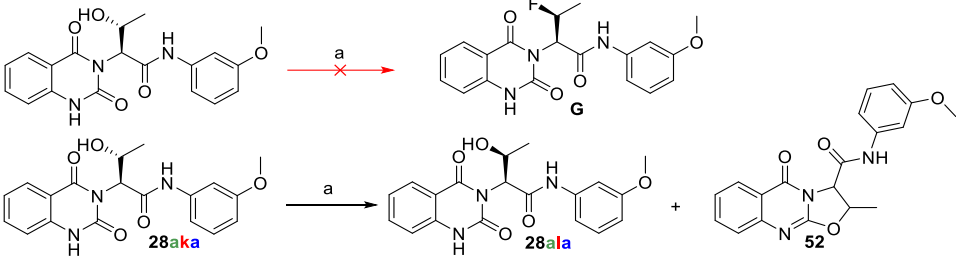


Figure 115 : conception de dérivés d'uracile. Conditions : a) acétate d'ammonium, EtOH, t.a, 6h, rdt quantitatif. c) Chloroformiate de phényle, pyridine, chloroforme, t.a, 16h. d) K₂CO₃ DMF, t.a, 16h. e) ^tBuOK, THF, 0°C, 6h puis t.a, 16h, rdt (4 étapes) = 10%.

IV-5. Divers : Obtention des composés **28ala** et **52**

La molécule fluorée **G** a voulu être synthétisée à partir du composé **28ala** via divers agents de fluoration (entrée 1 et 2 tableau figure 116). En utilisant le DAST²⁴⁴, deux produits ont été obtenus le diastéoisomère : du dérivé de thréonine **28ala** et le composé cyclisé **52** (mécanisme des réactions figure 117). Avec le réactif Fluolead²⁴⁵, seul le composé cyclisé **52** est observé.



Conditions : a) agent de fluoration, DCM, 0°C puis t.a

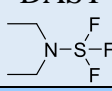
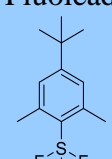
entrée	Agent de fluoration	Temps	Ratio 28ala / 52
1	DAST 	30 min à 0°C puis 1h	1/0.7
2	Fluolead 	30 min à 0°C puis 3h	0/1

Figure 116 : obtention des composés **28ala** et **52**.

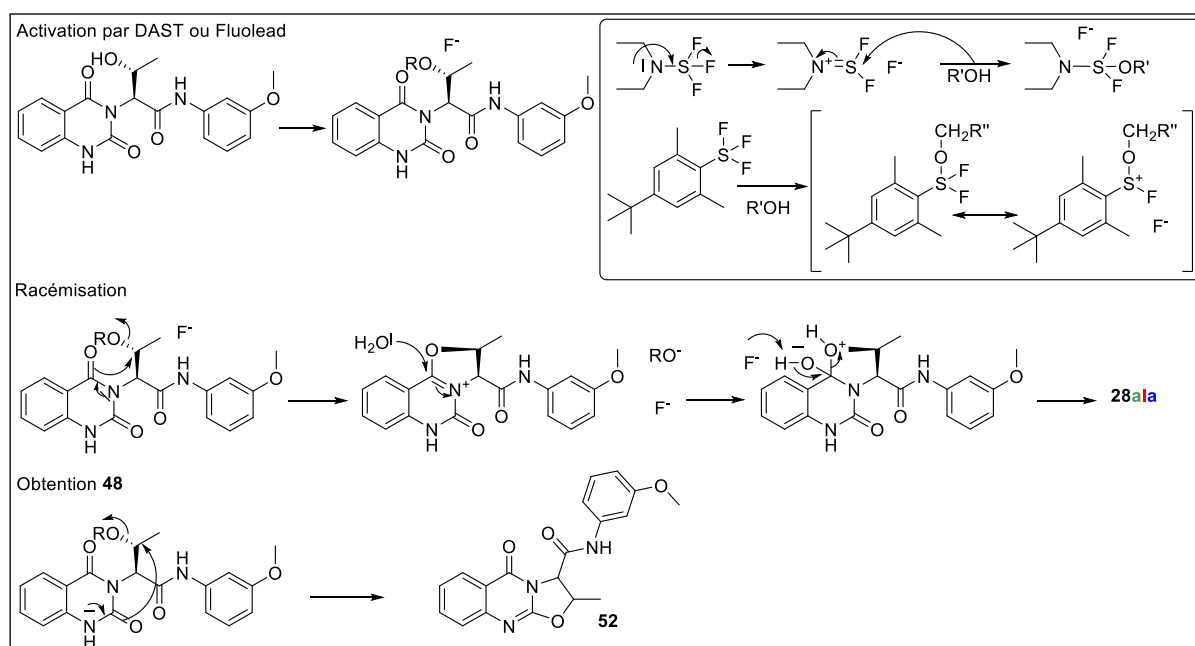


Figure 117 : mécanisme pour l'obtention des composés **28ala** et **52**.

IV-6. Couplages peptidiques

Les couplages peptidiques sont des réactions très présentes dans toutes les voies de synthèses élaborées au cours de ce projet. Plusieurs méthodes (tableau 24) de couplage ont été largement utilisées (mécanisme annexe p 234).

Pour choisir quel type de méthode utiliser, plusieurs critères sont à prendre en compte.

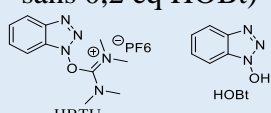
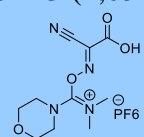
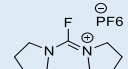
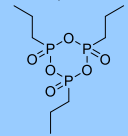
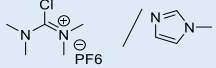
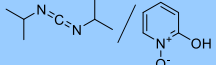
entrée	Agents de couplages (eq)	DIPEA (eq)	solvant	Température	Temps
1	HBTU (1,5 eq avec ou sans 0,2 eq HOBt) 	5	DMF	t.a	2-3 jours
2	COMU (1,05 eq) 	2	DMF ou dioxane	t.a ou 50°C	24-72 h
3	BTFFH (1,5 eq) 	4,5	DCM	80 °C	24 h
4	T3P (1,7 eq) 	3	DCM	t.a ou 80 °C	14-72 h
5	TCFH/NMI 	/	ACN	t.a	24h
6	DIC/HOPO 	/	H ₂ O/ACN	t.a ou 80 °C	16h

Tableau 24 : les différentes méthodes de couplage peptidique utilisées.

La méthode de couplage entrée 1 a été très utilisée pour les couplages intervenant dans la synthèse des analogues de MMV665916 et MMV019006 (Chapitre 3). Celle-ci consiste à réaliser un couplage peptidique en utilisant du HBTU avec ou sans HOBt dans de la DMF en présence d'une base organique. Particulièrement appropriée pour dissoudre les intermédiaires acides carboxyliques nécessaires au couplage, cette méthode n'a, en revanche, pas fonctionné pour certaines amines stériquement encombrées.

La méthode de couplage entrée 2 a été élaborée pour pallier le problème de réactivité de ces amines. Celle-ci est basée sur l'utilisation du COMU comme agent de couplage peptidique dans la DMF ou le dioxane en présence d'une base organique.²⁴⁶ Cette méthode a donné des rendements satisfaisants dans la DMF comme solvant. Par la suite, nous avons modifié les conditions opératoires en changeant de solvant et en utilisant du 1,4-dioxane. Dans ces conduits, les analogues de MMV665916 précipitaient dans le milieu réactionnel ce qui facilitait la purification via une simple filtration et un lavage au dioxane.

La méthode entrée 3 requiert l'emploi de l'agent de couplage BTFFH en milieu basique dans le DCM à 80°C et génère un fluorure d'acide intermédiaire très réactif.²⁴⁷ Méthode particulièrement appropriée pour des azaarènes peu nucléophiles et encombrés ou des partenaires acides carboxyliques fortement encombrés, elle a été utilisée pour la préparation des analogues de MMV665878 (Chapitre 4). Rapidement, cette méthode a été supplantée par la méthode entrée 4, beaucoup plus efficace et facile d'emploi.

Cette méthode entrée 4 fait intervenir le T3P dans du DCM en présence d'une base organique et a permis d'accéder à un très large panel de dérivés de MMV665878.²⁴⁸ Cependant, la montée en échelle, avec notamment des conditions de couplage sur des quantités de l'ordre du gramme et non plus de l'ordre du milligramme, a causé une chute des rendements. Cette perte d'efficacité a posé problème pour la synthèse du composé **35aa** dont on avait besoin en quantité suffisante pour réaliser la suite de la synthèse et diversifier la zone C. C'est dans l'optique d'améliorer le rendement à l'échelle du gramme que la méthode entrée 5 a été mise au point.

La méthode entrée 5 consiste à réaliser un couplage peptidique en utilisant le système TCFH/NMI dans MeCN.²⁴⁹ Elle a été tout d'abord testée sur l'échelle du milligramme pour la synthèse de **35aa** et le rendement obtenu était similaire à celui de la méthode 4 (~ 40%). Malheureusement, un essai de couplage sur l'échelle du gramme a également conduit à un rendement similaire à celui obtenu pour la méthode 4 (~20%). Cependant la méthode 5 présente des avantages pratiques considérables : 1) purification plus aisée et 2) facilité d'emploi de TCFH. TCFH est un solide pur, qui est plus approprié à peser lors des couplages peptidiques sur de grandes quantités, alors que T3P est dilué à 50% dans un solvant. Dans le cas d'un couplage avec T3P sur de grande quantité, il faut une très grande quantité de la solution commerciale.

La méthode entrée 6 a été développée à la suite des limitations dont souffrait la méthode 4 lors de l'obtention des composés **37**. La première étape de la réaction finale « one pot, two steps » conduisant aux analogues énantiopurs de MMV665878 consistait à réaliser un couplage peptidique avec divers acides anthraniliques. Cependant comme certains acides anthraniliques n'étaient solubles ni dans CH₂Cl₂ ni dans MeCN, nous avons cherché des conditions de couplage peptidique compatibles avec la présence d'eau. Une première condition de couplage dans un mélange MeCN/H₂O en présence de COMU et 2,4,6-collidine²⁵⁰ n'a pas conduit au produit souhaité. Néanmoins, dans ce mélange de solvants, les acides anthraniliques y étaient solubles. En revanche, le système DIC/HOPO dans un mélange MeCN/H₂O²⁵⁰ a permis d'accéder efficacement à la liaison amide désirée. Ces conditions expérimentales ne nous permettent certes plus de réaliser la réaction avec le triphosgène en « one pot, two steps » mais est une bonne alternative pour synthétiser certains analogues dont les précurseurs de départ sont peu ou pas solubles dans des solvants organiques. Cette méthode a également été testée pour la synthèse du composé **35aa** et est tout aussi efficace que la méthode entrée 5.

IV-7. Perspectives de synthèse

La pyridopyrimidinedione **28gaa** et la thiénypyrimidinedione **28laa** sont deux nouveaux points de départ intéressants (figure 118).

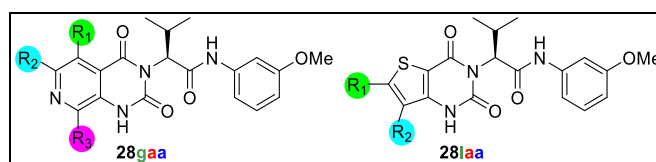


Figure 118 : analogues de **28gaa** et **28laa**.

Le design de leur voie de synthèse doit permettre, autant que possible, la dérivatisation tardive des différents squelettes avec par exemple des réactions métallocatalysées de type Suzuki...

La première voie de synthèse proposée est similaire à la voie de synthèse n°3 (figure 119). Divers acides 5-amino-2-halogéno-isonicotiniques seraient d'abord couplés avec l'amine **35aa**, puis une réaction de cyclisation conduirait au noyau pyridopyrimidinedione (figure 119, équation (1)). Dans les cas des acides isonicotiniques non commerciaux ou trop onéreux, notamment pour les acides 3-amino-5-halogéno-isonicotiniques, il serait envisageable de les préparer via la séquence réactionnelle décrite en équation (2) de la figure 119. L'étape clé consisterait en une réaction de métallation ortho dirigée (DoM) sur un acide 5-halogéno nicotinique avec LiTMP²⁵¹, suivie de la formation d'un anhydride phtalique, puis d'une

transformation en 3,4-pyridinedicarboxamide. Enfin un réarrangement de Hofmann conduirait aux acides 3-amino-5-halogéno-isonicotiniques souhaités.²⁵² Une autre stratégie DoM serait basée sur la déprotonation de dérivé de 3-amino-5-halogéno-pyridine assistée par un système BuLi/TMEDA (figure 119, équation (3)).

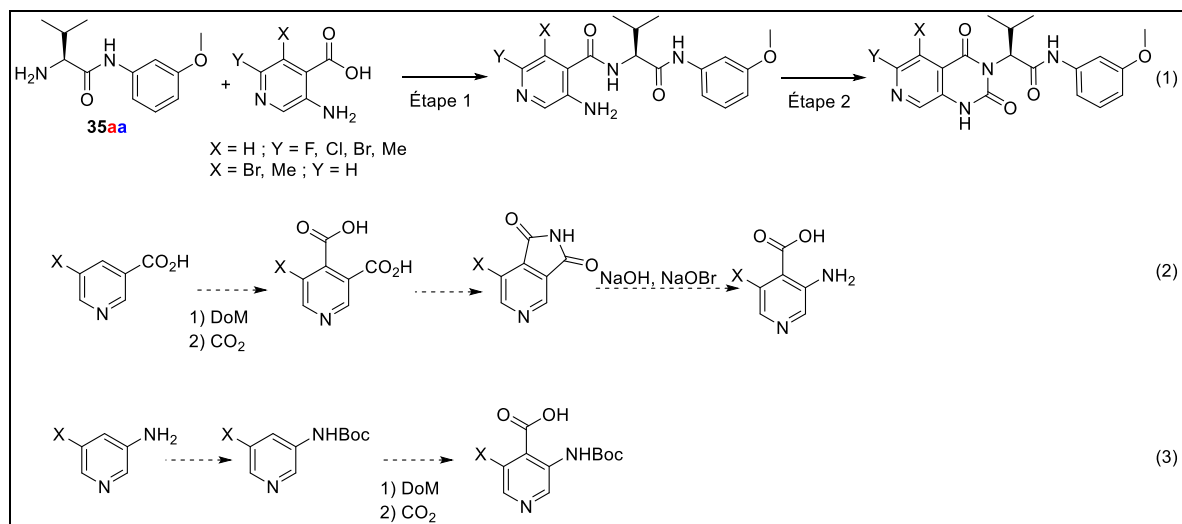


Figure 119 : voie de synthèse proposée pour la préparation des analogues substitués de la pyridopyrimidinedione **28gaa**.

Une voie alternative de synthèse (figure 120), plus courte et risquée, consisterait à faire réagir l'organolithien précédemment préparé avec la *N*-carboxyanhydride **H** ou l'isocyanate **I**, suivi d'une potentielle cyclisation dans le milieu réactionnel.^{253–256}

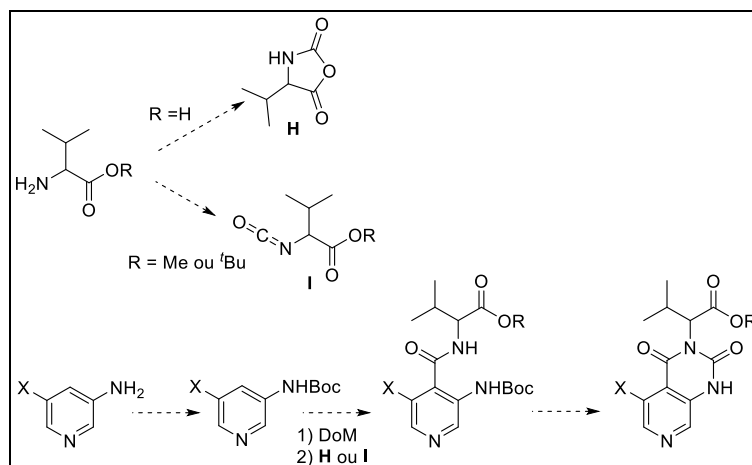


Figure 120 : voie alternative de synthèse des dérivés des pyridopyrimidinedione **28gaa**.

En ce qui concerne la synthèse d'analogues du thiénoypyrimidinedione **28laa**, nous pouvons, dans un premier temps, étudier quelle serait la meilleure position de l'atome de soufre (structure figure 121) puis explorer le motif de substitution R₁ et R₂ le plus approprié.

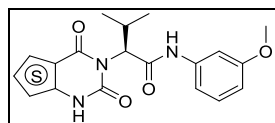


Figure 121 : structure de l'analogue de **28laa** pour l'étude de la position du soufre.

La voie de synthèse de ces analogues s'inspirerait de celle présentée précédemment. Les dérivés d'acide 2-aminothiophène-3-carboxylique pourraient être préparés via la réaction de Gewald, réaction multicomposant de condensation entre une cétone/aldéhyde et un α -cyanoester en présence de soufre S₈ et d'une base (figure 122 équation (1)). Il serait également possible d'utiliser une α -cyanoamide pour avoir une synthèse plus convergente (figure 122 équation (2)).²⁵⁷

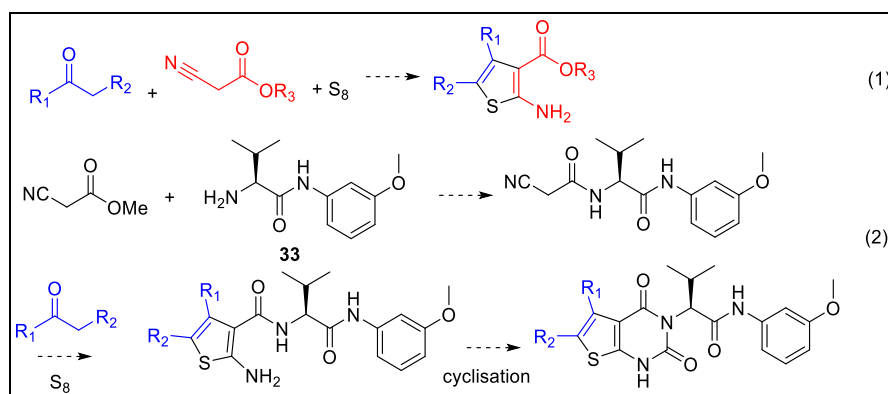


Figure 122 : voie de synthèse des dérivés de thiénoypyrimidinedione **28laa**.

En plus des analogues d'uraciles en cours de synthèse partie IV-4.c. la synthèse de dérivés de type azauracile pourrait être une alternative au noyau quinazolinedione de MMV665878. Pour des raisons synthétiques seul le dérivé 3-pyridyl sera préparé (structure figure 123, synthèse figure 124).

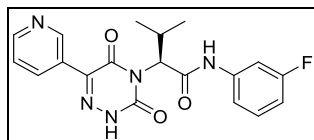


Figure 123 : azauracile envisagé

L'étape clé est la génération *in situ* d'une espèce *N*-isocyanate par irradiation au micro-onde du substrat **S1** en présence d'une amine **S2**. Cette dernière réagirait avec le *N*-isocyanate pour donner un semicarbazone qui après cyclisation conduirait à l'azauracile désirée.²⁵⁸ Le substrat **S2** serait synthétisé de la même manière que le composé **35aa** (voie de synthèse n°3). Le substrat *N*-carbamate hydrazone **S1** pourrait être obtenu à partir de la 3-éthynylpyridine par une séquence réactionnelle comprenant une oxydation photocatalysée par du Cu(I) de l'alcyne terminal en α -céto ester²⁵⁹, suivie d'une condensation avec l'hydrazide adéquate.

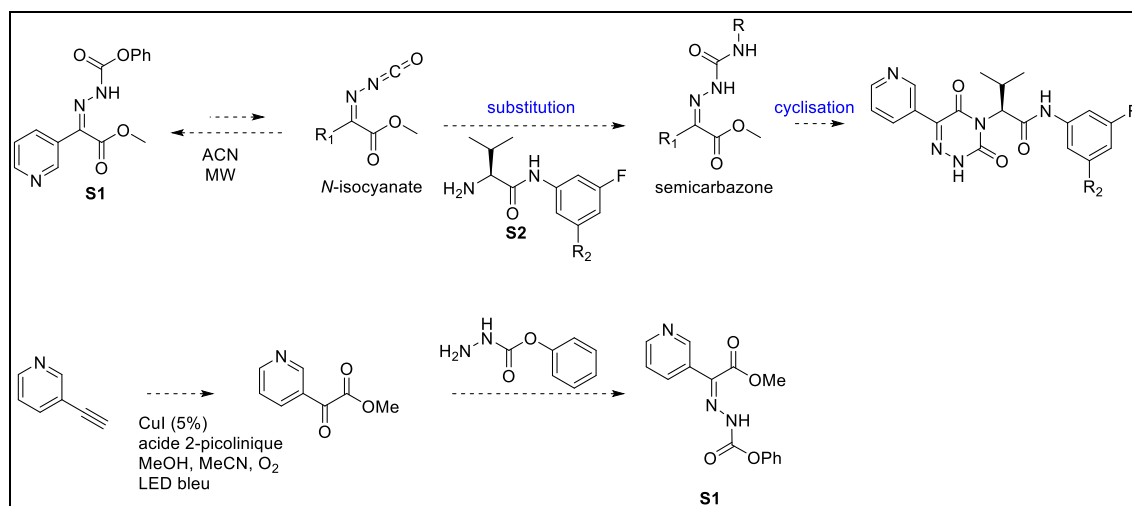


Figure 124 : voie de synthèse imaginée pour concevoir l'azauracile souhaitée

V- Possible mode d'action

Le mode d'action de MMV665878 reste à élucider. Cependant des études suggèrent que MMV665878 inhiberait une ATPase, *PfATP4*,^{260,261} une protéine transmembranaire responsable du transport par affinité des ions sodium.²⁶⁰⁻²⁶⁵

Le maintien d'une faible concentration en Na^+ cytosolique est une caractéristique fondamentale de toutes les cellules. *PfATP4* régule cette concentration chez *P.falciparum* (figure 125) et est absente chez les mammifères ce qui en fait une excellente cible thérapeutique pour la conception de nouveaux agents antipaludéens. Par ailleurs, *PfATP4* a été identifiée à divers stades sanguins, et elle semble essentielle à la survie du parasite et plus particulièrement aux stades gamétocytes.²⁶⁶ Le mécanisme qui permet l'influx et l'efflux de Na^+ provoqué par cette ATPases reste encore inconnu. De même, la structure tridimensionnelle de *PfATP4* n'est pas connue à ce jour, même si des modèles d'homologie ont été proposés.²⁶⁶⁻²⁶⁸

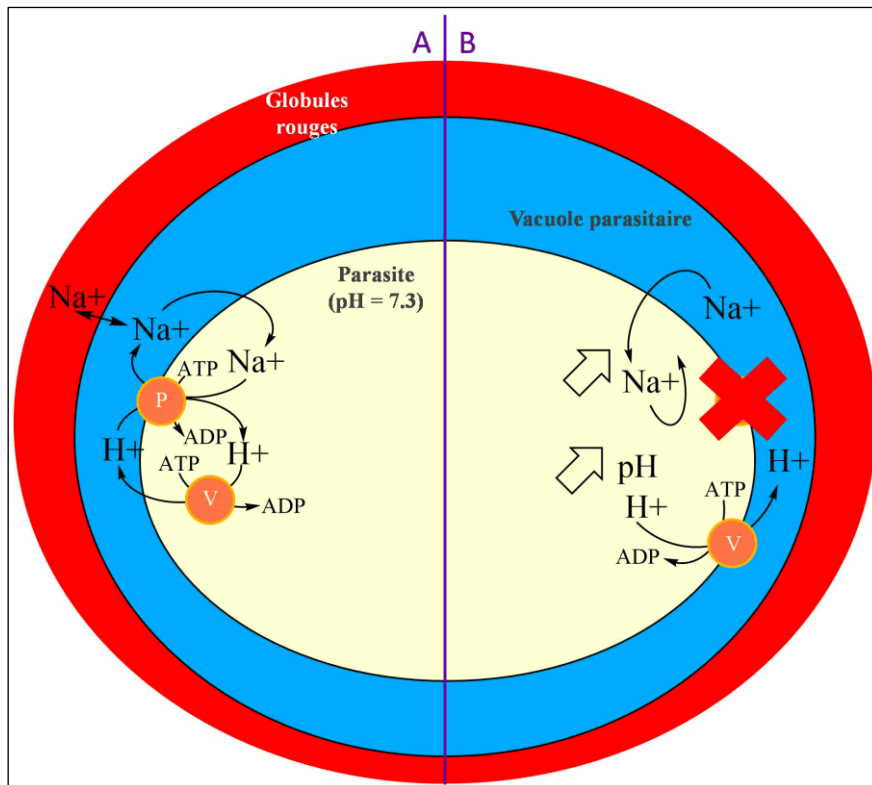


Figure 125 : le rôle putatif de *PfATP4* dans l'homéostasie de Na^+ chez le parasite du paludisme, *P. falciparum*. *PfATP4* est indiqué par le cercle étiqueté « P » et la H^+ -ATPase de type V est indiquée par le cercle étiqueté « V ». Le parasite réside dans la vacuole parasitaire. A) Cas où *PfATP4* est en action. B) Cas où *PfATP4* est inhibée²⁶⁶.

La spiroindolone NITD609 ou KAE609 ou Cipargamine,^{265,267,269} est une nouvelle classe d'agent antipaludéen très prometteurs en phase clinique II.^{270,271} L'étude de son mécanisme d'action via l'émergence de résistances chez *Plasmodium* sous l'effet de la pression de sélection médicamenteuse, suivie d'un séquençage du génome entier, a révélé une interférence avec *PfATP4*.²⁶⁸ Depuis, d'autres chémotypes très différents ont été identifiés comme inhibiteurs possibles de cette ATPase,^{260,262,266,272,273} avec notamment la série des aminopyrazoles GNF-Pf4492²⁷⁴ et des dihydroisoquinolines SJ733²⁷², également en phase clinique II.²⁷⁵ Ces nombreuses classes chimiques d'inhibiteurs non apparentées entre elles, ainsi que les mutations localisées à divers endroits de *PfATP4*, posent la question de savoir comment ces inhibiteurs interagissent avec *PfATP4*, soit directement, soit indirectement via l'interaction avec des protéines partenaires de *PfATP4* susceptibles de réguler son activation ou sa fonction.

Dans ce contexte, certains de nos analogues synthétisés vont être testés par le groupe d'Adele Lehane (Research School of Biology, Australian National University, Acton, Australie). Une série de tests fonctionnels comprenant une étude de la régulation du Na⁺ et l'évolution du pH sur des parasites au stade trophozoïte sera menée.²⁶⁰

Un second mécanisme d'action supposé serait lié à une possible cible au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale.²⁷⁶

La progression de notre étude d'optimisation nous amène à considérer des dérivés aminothiazole de MMV665878. Or, deux structures similaires à celle que nous proposons de synthétiser sont reportées dans la littérature et interfèrent avec des protéines humaines (figure 126). Il s'agit d'un activateur de glucokinase qui permet d'augmenter l'absorption hépatique du glucose et de réduire l'hyperglycémie dans plusieurs modèles animaux de diabète de Type 2.^{277,278} Le second dérivé est un inhibiteur de la kinésine Kif15 qui inhibe la prolifération cellulaire dans diverses lignées cellulaires tumorales.²⁷⁹⁻²⁸¹

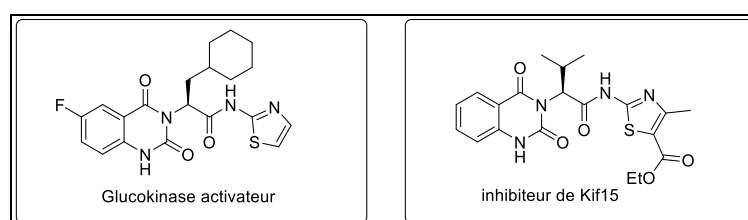


Figure 126 : les structures des composés similaires à nos composés interfèrent avec des protéines humaines.

L'homologue de la glucokinase ou hexokinase-4 humaine est chez *P. falciparum* une hexokinase (PF3D7_0624000). Cette hexokinase catalyse la phosphorylation du glucose en glucose-6-phosphate (G6P), lors de la première étape de la voie de la glycolyse. Or, durant le stade intra-érythrocytaire du parasite, la glycolyse joue un rôle métabolique critique.²⁸²⁻²⁸⁴ Le G6P est soit davantage métabolisé dans la voie glycolytique pour produire de l'ATP, soit déversé dans la voie des pentoses phosphates pour générer du NADPH et du ribulose 5-phosphate, qui sont utilisés dans la défense antioxydante et pour la synthèse *de novo* du nucléotide triphosphate.²⁸⁵⁻²⁸⁷

Kif15, également connu sous le nom de Kinesin-12, est une protéine motrice exprimée dans toutes les cellules pendant la mitose et dans les neurones post-mitotiques en croissance axonale.^{288,289} Kif15 est une protéine apparentée à la kinésine, impliquée dans l'assemblage du fuseau mitotique en réticulant et immobilisant les microtubules du fuseau.^{280,281,290}

Les homologues de la kinésine-12 humaine chez *Plasmodium* appartiennent à la famille des kinésine-8. Cette famille se compose de la kinésine-8X (PF3D7_0319400) et de la kinésine-8B (PF3D7_0111000). Ces deux kinésines ne sont pas essentielles lors du développement du parasite lors des stades sanguins,²⁹¹⁻²⁹⁴ mais jouent des rôles primordiaux dans le développement des oocystes chez le moustique et la transmission du parasite. En effet, la kinésine-8X est requise pour la prolifération endomitotique dans les oocystes,^{293,294} alors que la suppression de la kinésine-8B entraîne un défaut dans la biogenèse de l'axonème des flagelles des gamètes mâles au cours de la gamétogenèse.^{292,294,295}

Pour approfondir davantage le mode d'action de **MMV665878**, nous prévoyons d'explorer et de combiner deux approches : a) une approche chimogénomique et b) une méthode chimoprotéomique.

a) La chimogénomique est définie comme la science ayant pour objet l'étude de la réponse du génome à un composé chimique. Dans ce cas, nous allons chercher à identifier des résistances qui vont être induites sous pression d'un candidat-médicament. Ces études se reposent sur des expériences où la molécule va être mise en excès, d'où le terme « sous pression », afin de générer des parasites mutants ayant développé une ou des résistances à la molécule testée.²⁹⁶ Le séquençage du génome des souches mutantes pourrait ainsi révéler des différences avec celui des organismes de type sauvage (sensibles à la molécule) dont notamment des polymorphismes nucléotidiques (SNP) sur de potentiels cibles thérapeutiques et ainsi de supporter tel ou tel mécanisme d'action de nos inhibiteurs. La validation de la ou des cibles thérapeutiques reposera sur une édition précise du génome en perturbant les gènes ou en introduisant des mutations ponctuelles suivies d'essais dose-réponse avec notre meilleur candidat-médicament.

b) La chimoprotéomique se base sur l'étude de l'action d'une molécule avec une ou des cibles. Pour cela des sondes dites « affinity-based probes »²⁹⁷⁻²⁹⁹ sont utilisées pour « capturer » la ou les cibles protéiques qui seront analysées par spectrométrie de masse après digestion tryptique.

Plusieurs synthèses de sondes (figure 127), basées sur le squelette de MMV665878, pourraient alors être imaginées et devraient incorporer diverses étiquettes (groupement fluorescent et/ou étiquette d'affinité telle la biotine, fonction bioorthogonale ou fonction photoréactive).

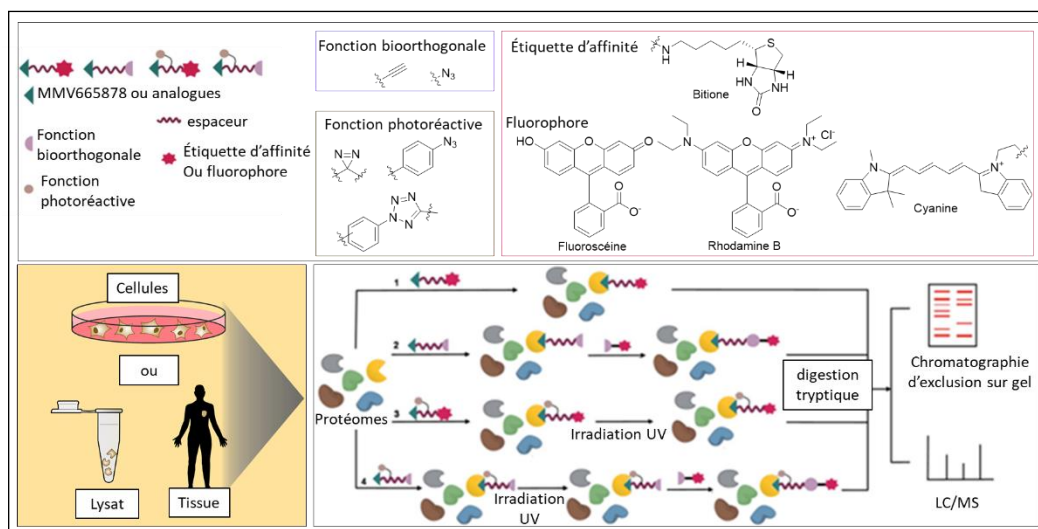


Figure 127 : les différents types de sondes basées sur le squelette de MMV665878 et leur utilisation.

Ces étiquettes peuvent être introduites directement sur le squelette de l'inhibiteur par le biais d'un espaceur judicieusement choisi afin de limiter tout type d'interaction aspécifique ou indirectement via une fonction bioorthogonale de type alcyne. Une « réaction click » *in situ* permettrait alors la fonctionnalisation de la molécule avec l'étiquette adéquate.

Les interactions cible(s) protéique(s)-sonde peuvent être modulées d'une inhibition réversible à irréversible avec l'introduction d'un groupe photoactivable (comme des groupes trifluorométhylidiazirine ou azoture d'aryle). Dans ce cas l'irradiation UV permet de fixer la sonde à la cible (figure 128). La groupe benzophénone n'a pas été retenu car trop volumineux.

	Groupe photoréactif	Structure	Irradiation UV	espèce réactive
<p>Groupement photo-activable</p> <p>protéine</p> <p>sonde</p> <p>Irradiation UV</p> <p>Création d'une liaison covalente</p>	Benzophénone	<chem>R-C(=O)-C6H5</chem>	365	<chem>R-C(=O)-C6H5</chem>
	Diazirine	<chem>N=N-C6H4-R</chem>	365	carbène
	Azoture	<chem>N3-C6H4-R</chem>	254	nitrène

Figure 128 : principe de fonctionnement d'une sonde possédant un groupement photo-activable

Cependant, comme l'ajout de ces diverses étiquettes conduit à des molécules assez encombrées, il convient d'étudier finement leur positionnement au sein de la sonde afin de limiter des interférences dans l'affinité de la sonde pour sa cible.

La figure 129 propose des sondes développées à partir de la molécule **28_{au}** qui a été choisie au vu de son excellente activité inhibitrice et de la possibilité d'ajouter des groupements :

- La sonde a) est développée en ajoutant une étiquette type fluorophore ou étiquette d'affinité à **28_{au}** sur la zone C via un espaceur type éthylène glycol pour limiter les interactions aspécifiques avec toute autre protéine.
- La sonde b) est développée en ajoutant une fonction bioorthogonale de type alcyne sur la zone C du squelette de **28_{au}**. Cette sonde sera mise en contact avec le protéome, puis une réaction click *in situ* sera réalisée avec des étiquettes incorporant une fonction azoture.
- La sonde c) est développée en ajoutant une fonction bioorthogonale et une fonction photoréactive à **28_{au}**. Cette sonde permettrait de créer une liaison covalente avec la protéine via l'utilisation de la fonction photoréactive et de l'irradiation UV. La fonction bioorthogonale permettrait d'ajouter ultérieurement l'étiquette voulue. Le groupement éthyne peut être ajouté sur la zone C auquel cas le groupement N₃ pourrait être envisagé en remplacement du groupement –OMe sur la zone A. Une autre option est d'ajouter N₃ ou le groupement 3-méthyl-3-(trifluorométhyl)-3H-diazirine sur la zone C. Ce groupement ne peut pas être envisagé sur la zone A car jugé trop encombrant pour cette zone.

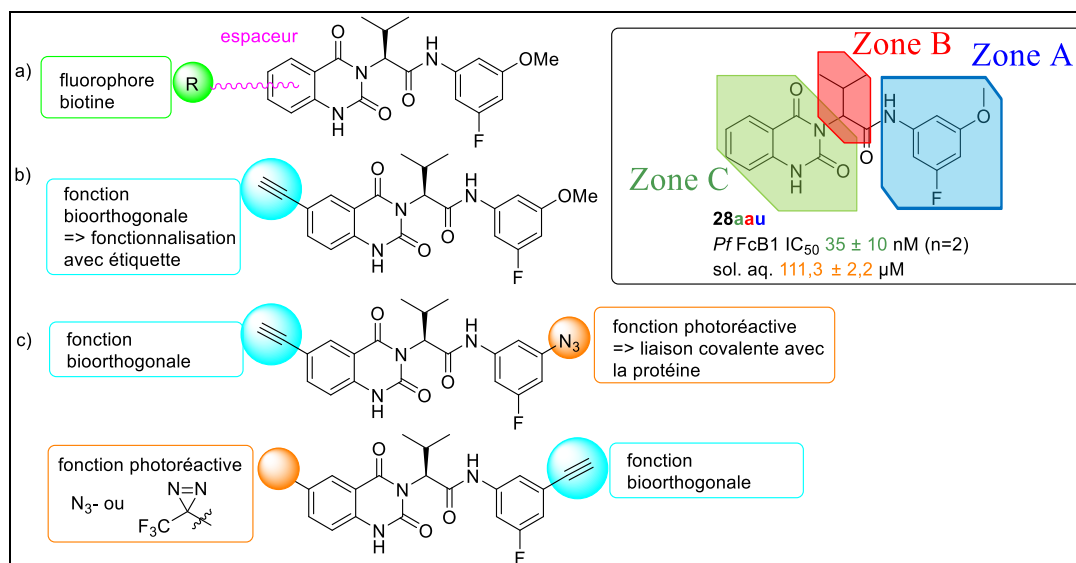


Figure 129 : sonde étiquetée envisageable

Il est important de noter que la sonde devra rester une molécule assez active ($<1 \mu\text{M}$), l'activité de toutes les sondes ainsi développées devra être vérifiée avant leur utilisation.

Une alternative avantageuse (figure 130) consisterait à concevoir une sonde la plus minimaliste possible (figure 29) en utilisant la fluorescence intrinsèque de la partie quinazolinedione ($\lambda_{\text{ex}} 315 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} 360 \text{ nm}$) afin de minimiser les problèmes de perte d'affinité engendrée par l'encombrement stérique des étiquettes et du linker. Les propriétés de fluorescence de la partie quinazolinedione pourraient être modulées par la présence de groupe électroattracteur EWG, comme par exemple $-\text{F}$, $-\text{CF}_3$ ou $-\text{NO}_2$. Il serait également avantageux d'incorporer une fonction photoactivable de type azoture sur l'un des groupes aromatiques et si possible un marquage isotopique avec au moins quatre atomes de deutérium introduits à la place d'atome d'hydrogène.

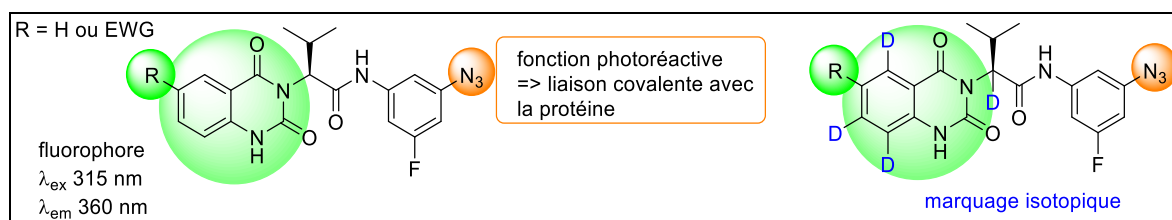


Figure 130 : utilisation de la fluorescence intrinsèque de la molécule et marquage isotopique

L'utilisation combinée de cette sonde fluorescente marquée et de la sonde non marquée permettrait de ne détecter par fluorescence que les peptides d'intérêt après digestion enzymatique. Le marquage isotopique permettrait, quant à lui, de détecter sélectivement par MS des peptides marqués en faible abondance grâce à leur motif isotopique bien particulier : doublet avec une différence de masse de 4,17 u ($z=1$) (figure 131).^{300,301}

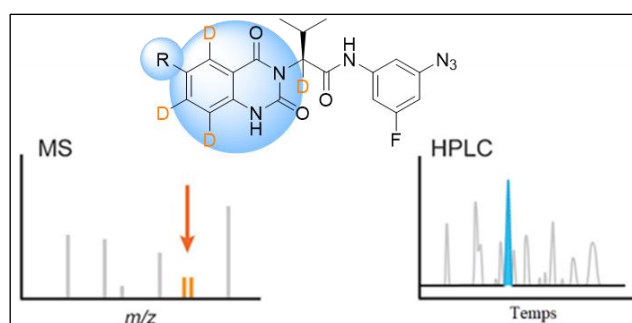


Figure 131 : utilisation de la sonde fluorescente marquée (bleue) et marquage isotopique (orange). Détection par masse et par HPLC

La fluorescence de certains analogues modulant la zone A a été évaluée (tableau 25). Il a été remarqué que l'introduction d'azote dans cette zone augmente considérablement l'intensité de fluorescence. Un atome de fluor l'augmente légèrement moins, mais nous avons vu précédemment que les activités inhibitrices des analogues sont meilleures avec des groupements fluorés. Les analogues de la zone C azotés et fluorés vont être également très intéressants pour ce type de sonde.

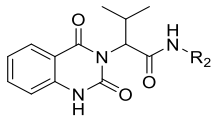
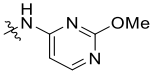
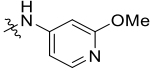
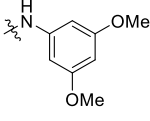
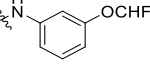
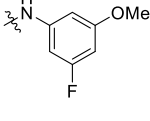
Molécules	FcB1 IC ₅₀ (μM)	Intensité de fluorescence
		
MMV665878	0,19±0,1 (n=7)	1,8.10 ⁶
	0,25 (n=1)	6,1.10 ⁶
27aac'		
	0,42±0,14 (n=5)	5,2.10 ⁶
27aaz		
	0,53±0,38 (n = 3)	1,7.10 ⁶
27aay		
	0,09±0,04 (n=3)	4,3.10 ⁶
27aac		
	0,04±0,01 (n=5)	4,1.10 ⁶
27aau		

Tableau 25 : résultats de l'intensité de fluorescence à 360 nm (avec une longueur d'onde d'excitation λ_{ex} = 315 nm) à une concentration de 250 μM dans le DMSO.

VI- Perspectives et conclusion du chapitre

Près de 80 molécules ont été synthétisées pour l'étude SAR du sous-groupe 2. Les synthèses sont simples, rapides et peu coûteuses. Leurs efficacités dépendent notamment des différents couplages peptidiques utilisés. Dans un premier temps l'optimisation des rendements est priorisée et devra être réalisée pour de futurs analogues possédant les propriétés requises pour un bon candidat médicament.

À ce stade de l'étude la puissance inhibitrice de cette série a pu être augmentée d'un facteur 34 mais des pertes en solubilité ont été notées. Le défi réside actuellement dans l'amélioration de l'activité inhibitrice tout en préservant une bonne solubilité.

Le mode d'action de cette série reste encore à élucider, une ATPase pourrait être une cible, des tests sur l'inhibition de cette ATPase avec nos analogues sont en cours.

Conclusion et perspectives

L'objectif de ce travail était de synthétiser des analogues de MMV665916, MMV019066 et MMV665878, des « hits » actifs sur *P.falciparum*, dont l'optimisation pourrait nous permettre de proposer un nouveau candidat-médicament antipaludéen administrable oralement. Les synthèses mises au point sont simples et peu coûteuses, même si un travail de synthèse reste à fournir pour améliorer les rendements de ces différentes voies.

L'étude du premier sous-groupe (MMV665916 et MMV019066) donne des résultats décevants. Néanmoins, nous proposons un mécanisme d'action qui permet d'expliquer notre étude SAR infructueuse via l'inhibition de l'enzyme farnésyltransférase (*PfFT*) selon un mode de liaison coopératif incluant l'unité FPP et l'ion Zn^{2+} . Afin de corroborer notre étude SAR, il serait intéressant de tester directement ces molécules sur *PfFT* ou sur une de ses homologues de mammifères.

L'étude du second sous-groupe a été beaucoup plus approfondie et plus fructueuse. Près de 80 analogues ont été synthétisés afin de mieux comprendre les études SAR et SPR (bilan figure 132).

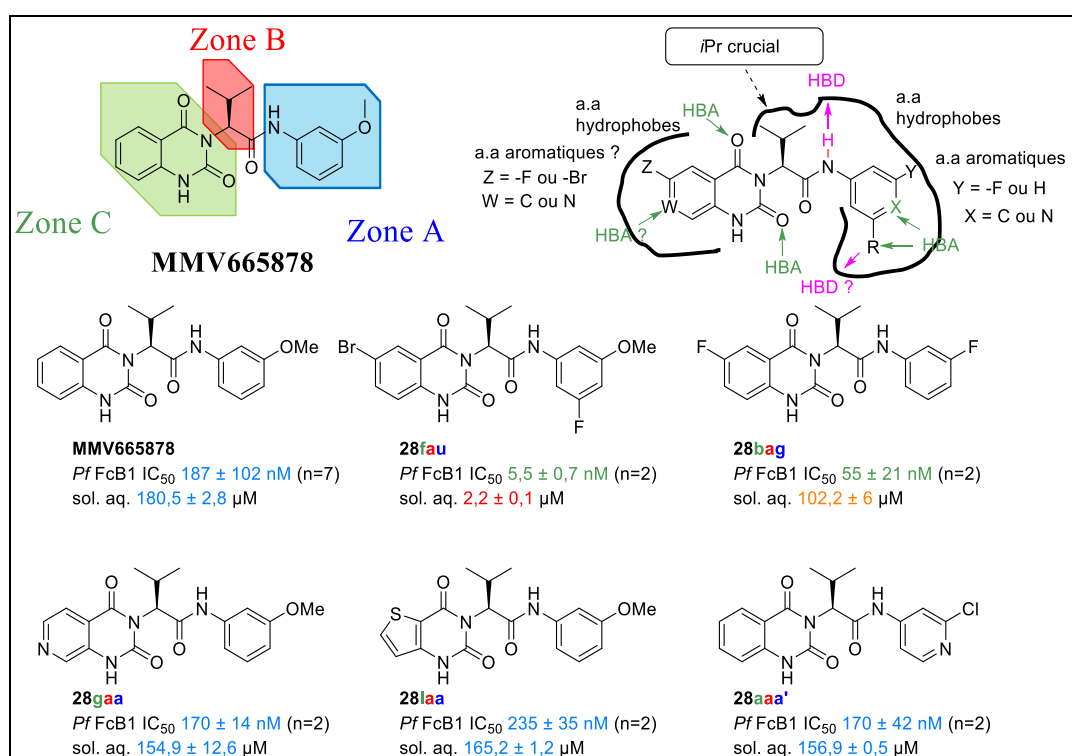


Figure 132 : bilan des études SAR et SPR du sous-groupe 2. En rose : HBD (donneur de liaison hydrogène), en vert HBA (accepteur de liaison hydrogène). Trait noir : site actif. En vert meilleure que MMV665878, en bleu similaire, en orange moins bien, en rouge beaucoup moins bien.

À ce stade de notre étude, l'activité inhibitrice de cette série a pu être améliorée d'un facteur 34 (composé **28fau** IC₅₀ 5,5 nM) mais le gain en activité inhibitrice s'est accompagné d'une perte en solubilité aqueuse. L'étude de la stabilité métabolique est en cours sur une quinzaine d'analogues.

Pour résumé brièvement notre étude SAR :

➤ La zone **A** semble être entourée d'une poche hydrophobe ne tolérant pas de groupement volumineux. Le fluor semble un bon choix pour remplacer le groupement –OMe, sujet à une possible dégradation métabolique via une réaction de *O*-déméthylation. De même, le dérivé de 2-chloro-4-pyridyl **28aaa'**, voire le composé 2-fluoro-4-pyridyl en cours de synthèse pourrait également remplacer la partie 3-méthoxyanilide afin d'accroître la solubilité aqueuse. Afin de minimiser tout type de pénalité énergétique lors de l'ancrage du ligand dans le site actif, il serait intéressant de contrôler l'organisation moléculaire du ligand via l'étude d'un atome de soufre. Divers dérivés d'amino-thiazole substitué avec un groupe méthyle seront prochainement synthétisés dans cet objectif.

➤ Le reste isopropyle de la zone **B** est crucial et aucune modification n'a été tolérée jusqu'à présent.

➤ La zone **C** semble entourée d'une poche hydrophobe. À ce stade de l'étude, le cœur quinazolinédione semble important mais la stratégie de « scaffold hopping » reste à poursuivre avec notamment la préparation de dérivés de type uracile ou azauracile. Les composés de type thiénoypyrimidinedione **28laa** et pyridopyrimidinedione **28gaa** pourraient être une solution alternative pour améliorer la solubilité aqueuse et sont considérés comme deux nouveaux points de départ intéressants. Diverses voies de synthèse ont, d'ailleurs, été proposées en vue de leur optimisation.

Un travail reste à fournir afin d'obtenir un bon équilibre entre activité/stabilité métabolique/solubilité. À ce stade la molécule **28bag** propose le meilleur compromis nous permettant d'augmenter l'activité inhibitrice d'un facteur 3,4 et de ne diminuer la solubilité aqueuse que faiblement. L'étude de sa stabilité métabolique sera donc très intéressante.

Concernant l'étude du mode d'action, une série de tests fonctionnels comprenant une étude de la régulation du Na⁺ et l'évolution du pH sur des parasites au stade trophozoïte sera menée dans l'objectif de suggérer un potentiel lien avec l'inhibition de *Pf*ATP4. Par ailleurs, une étude plus approfondie du mécanisme d'action serait à envisager avec notamment la synthèse de sondes de type « affinity-based probes » basées sur le squelette de MMV665878 incorporant directement ou indirectement diverses étiquettes (groupement fluorescent, et/ou étiquette d'affinité telle la biotine)

L'objectif de proposer un candidat-médicament n'a pas encore été atteint mais l'étude n'en est pas à sa fin et semble très prometteuse.

Partie expérimentale

Informations générales	167
Mode opératoire pour le docking moléculaire	168
Mode opératoire pour les tests biologiques.....	169
Évaluation de la solubilité cinétique dans du tampon physiologique (PBS pH 7.4) à température ambiante	170
Détermination de la pureté des composés finaux.....	171
PARTIE 1 : SYNTHÈSE DES ANALOGUES DE MMV665916.....	171
PARTIE 2 : SYNTHÈSE DES ANALOGUES DE MMV665587	188

Informations générales

Sauf indication contraire, tous les réactifs chimiques ont été achetés auprès d'Aldrich, Alfa Aesar, TCI, Acros, Fisher Scientific ou Fluorochem avec la meilleure pureté disponible dans le commerce et ont été utilisés sans autre purification. Les solvants anhydres ont été distillés sur CaH₂ (CH₂Cl₂ et toluène) ou Na (THF). L'éther de pétrole et l'acétate d'éthyle ont également été distillés en utilisant un évaporateur rotatif Heidolph 20L.

Les spectres RMN ¹H et ¹³C (300 MHz ou 400 MHz et 100 MHz) ont été enregistrés à l'aide d'un spectromètre Bruker UltraShield TM 300 et 400 ou Bruker Ascend TM 500. Les déplacements chimiques (δ) sont donnés en parties par million (ppm). Les multiplicités sont indiquées comme suit : s = singulet, d = doublet, q = quadruplet, q = quintuplet, Sept = septuplet, h = heptuplet, m = multiplet, sl = singulet large, Ar. = Aromatique. Les constantes de couplage sont notées J et sont exprimées en Hz.

Les spectres HRMS ont été enregistrés sur un spectromètre Agilent Technologies 6510 (QTof).

Les chromatographies sur colonne ont été réalisées avec de la silice de type Silicagel (Merck 60, 40-63 μm) ou par Puriflash 4250 Interchim[®]. Les plaques CCM en aluminium utilisées sont du type gel de silice CCM (Merck 60, F254).

Détermination de la pureté des composés : analyses HPLC par HPLC Agilent série 1100, Détecteur : barrette de diodes UV (DAD), injecteur automatique. Colonne : Hypersil Gold 3 μm C18 100 × 46 mm. Volume d'injection : 20 μL. Programme d'élution : débit 1,25 mL/min, solvant A : eau 0,05 % acide formique, solvant B : acétonitrile 0,05 % acide formique. Gradient : 0 min 90 % A, 1,30 min 90 % A, 10,60 min 5 % A, 13,3 min 5 % A, 14,60 min 90 % A, 20,00 min 90 % A. Détection : λ = 254 nm. Les produits finaux ont tous une pureté supérieure à 95% sauf indication contraire.

Mode opératoire pour le docking moléculaire

[Réalisé par Dr Martin Spichy (LIMA)]

Construction par homologie et docking moléculaire

Un modèle de la sous-unité bêta de la farnésyltransférase de *P. falciparum* (GenBank : AAW78028.1, PfFT) a été construit en utilisant le serveur PRIMO³⁰² avec des paramètres standards. L'homologue de rat (Protein Data Bank ID, 2ZIR) a servi de matrice où le farnésyl pyrophosphate (FPP), un ion métallique (Zn²⁺) et un inhibiteur de carboxamide sont liés au site actif de l'enzyme. Ils ont tous été inclus dans le processus de construction par homologie. Les structures ont été affinées avec la meilleure méthode PRIMO (« très lente »). Les dockings moléculaires ultérieurs ont été effectués avec le programme AutoDock Vina, version 1.1.2.³⁰³ Tous les fichiers d'entrée ont été générés avec AutoDockTools4.³⁰⁴ Les résidus protéiques étaient maintenus rigides et les liaisons rotatives de FPP ou les ligands étaient flexibles dans le processus de docking. L'ion métallique a été indiqué comme le centre de l'espace de recherche qui mesurait 30 Å dans chaque dimension. Le paramètre d'exhaustivité a été fixé à 800. Une multiplication par dix de ce paramètre conduit pour tous les dockings au même résultat (c'est-à-dire un meilleur mode de liaison identique). Pour le docking proprement dit, le farnésyl pyrophosphate a d'abord été retiré du modèle et de nouveau « docké ». Ensuite, l'inhibiteur de carboxamide a été éliminé et les ligands MMV665916 ou MMV019066 ont été « dockés » au site actif en présence de FPP et de l'ion métallique.

Simulations de dynamique moléculaire

En partant du modèle d'homologie de PfFT WT (avec FPP et Zn(II), voir ci-dessus), un système de modèle réduit a été construit pour les simulations de dynamique moléculaire. Les fichiers d'entrée initiaux ont été générés avec le serveur CHARMM-GUI³⁰⁵ et le programme CHARMM, version c43b2.³⁰⁶ Les résidus protéiques sans atome à moins de 30 Å de FPP ont été supprimés. Les chaînes protéiques tronquées étaient entourées par des groupes acétyle (N-terminal) ou méthylamide (C-terminal). La cystéine complexant le Zn(II) a été convertie en sa forme thiolate chargée négativement. Le complexe ternaire PfFT:FPP:Zn(II) a ensuite été solvaté par une boîte cubique de molécules d'eau TIP3 (76x76x76 Ang) et des contre-ions neutralisants (0,15 M NaCl). Finalement, le résidu 515 a été muté de l'alanine à la valine, ce qui a donné le système modèle pour PfFT A515V. Les forces atomiques ont été décrites par le champ de force CHARMM, jeu de paramètres c36m ; les topologies et les paramètres du FPP trianionique ont été générés par le programme General Force Field de CHARMM-GUI. Les simulations réelles ont été réalisées sur GPU (Tesla V100) avec le programme OpenMM, version 7.3.³⁰⁷ Les résidus de protéines sans atome à moins de 20 Å ont été maintenus fixes pendant les simulations (en mettant leurs masses à zéro). Tous les autres résidus protéiques ont pu se déplacer librement. L'ion métallique et les atomes non hydrogène du FPP ont été légèrement retenus dans leurs positions initiales avec un potentiel harmonique et une constante de force de 0,25 kcal/mol. Des conditions aux limites périodiques ont été appliquées. Les forces non liées à courte portée ont été mises à zéro entre 10 et 12 Å. Les interactions électrostatiques à longue portée ont été traitées par la méthode Particle-Mesh Ewald. Les liaisons hydrogène ont été contraintes à leurs valeurs de paramètre et un partage de masse d'hydrogène a été utilisé. La température a été maintenue constante à 310,15 K. Après une courte simulation d'équilibration précoce (1 ns) à volume constant (NVT) avec un pas de temps d'intégration de 1 fs, un cycle de production (100 ns) à pression constante (1 atm) avec un pas de temps de 4 fs a été effectué. Des captations instantanées le long de la trajectoire ont été enregistrées toutes les 1 ns. Les 50 dernières captations instantanées ont été utilisées pour calculer les structures moyennes dans le temps. Les visualisations ont été faites avec le programme VMD, version 1.9.3.³⁰⁸

Mode opératoire pour les tests biologiques

[Réalisé par Dr Marjorie Schmitt (LIMA) et Elisabeth Mouray (MNHN)]

Les essais antiplasmodiaux *in vitro* sont réalisés sur la souche FcB1 de *P. falciparum*.

Milieu de culture :

Les parasites sont maintenus en permanence dans des cultures sur les érythrocytes humains, dans le milieu : RPMI 1640 (Gibco-BRL) + 8 % (v / v) de sérum humain inactivé à 37 ° C sous une atmosphère de : 3% de CO₂, 6% de O₂ et 91% de N₂³⁰⁹.

Tests :

L'activité *in vitro* antiplasmodiale est déterminée en utilisant une modification de la technique de microdilution semi-automatique de Desjardins et al.³¹⁰ Des solutions mères de composés des molécules à tester (20 mM) sont préparées dans du DMSO. La chloroquine (Sigma-Aldrich, 10 mM, contrôle positif) est préparée dans de l'eau distillée stérile. Les molécules à tester sont diluées en série avec du milieu de culture et introduites dans des cultures asynchrones de parasites (1% de parasitémie et 1% hématocrite final) sur des plaques à 96 puits pendant 24 heures à 37 ° C dans une boîte à bougie (200 µL de volume total par puits). Après 24 h, 0,5 µCi de 3H-hypoxanthine (11,1 mCi / mmol ; Perkin Elmer, France) sont ajoutés par puits, puis les plaques retournent à l'incubation à 37 ° C dans une boîte à bougie. Après une incubation supplémentaire de 24 h, les plaques sont congelées, puis décongelées et les lysats cellulaires sont recueillis sur des filtres en fibre de verre pour être comptés dans un spectromètre à scintillation liquide.

Résultats :

L'inhibition de la croissance du parasite pour chaque concentration de molécules à tester a été déterminée en comparant la radioactivité incorporée dans les cultures traitées à celle de cultures témoins (sans la molécule, mais avec du DMSO à la même concentration) maintenues sur les mêmes plaques. L'IC₅₀, correspondant à des concentrations de molécule provoquant 50% d'inhibition de croissance du parasite, sont calculées à partir des courbes de réponse. Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes et les écarts types déterminés à partir d'expériences indépendantes. La concentration en DMSO dans les dosages ne dépasse jamais 0,5 %, ce qui correspond à la limite au-delà de laquelle la croissance du parasite est affectée par ce solvant. La chloroquine est utilisée comme témoin positif dans les essais.

Évaluation de la solubilité cinétique dans du tampon physiologique (PBS pH 7.4) à température ambiante

Protocole

- Préparation d'une solution stock de molécule à tester à une concentration de 10 mM.
Une masse m (≈ 2 mg) est pesée à l'aide d'une balance analytique et un volume V de DMSO est ajouté. La solution est filtrée avec un filtre en PTFE.
- Préparation d'une gamme étalon en 3 points
La solution stock est diluée à des concentrations appropriées (200 μ M, 100 μ M, 20 μ M) avec un mélange acétonitrile/eau (1/1)
 - Solution 200 μ M : 20 μ L de solution stock + 980 μ L mélange acétonitrile/eau 1/1
 - Solution 100 μ M : 10 μ L de solution stock + 990 μ L mélange acétonitrile/eau 1/1
 - Solution 20 μ M : 100 μ L de solution 200 μ M + 900 μ L mélange acétonitrile/eau 1/1
 - Solution 2 μ M : 100 μ L de solution 20 μ M + 900 μ L mélange acétonitrile/eau 1/1
- Préparation des solutions tests
 - Solutions à 200 μ M dans tampon PBS réalisées en duplicat dans un microtube eppendorf de 1.5 mL.
20 μ L de solution stock + 980 μ L tampon PBS pH 7.4
 - Les microtubes eppendorf sont agités 18 h à l'aide d'un agitateur rotatif (1,000 rpm) à 20 °C.
 - Les solutions sont filtrées avec un filtre en PTFE et analysées par HPLC
- Analyses HPLC
 - HPLC Agilent, Détecteur : UV à barrette de diodes (DAD), injecteur automatique
 - Colonne : Hypersil Gold 3 μ m C18 100×46 mm
 - Volume d'injection : 20 μ L
 - Programme élution :
Débit 1.25 mL/min
Solvant A : eau 0.05% acide formique
Solvant B : acétonitrile 0.05% acide formique
Gradient :
0 min 90 % A
1.30 min 90 % A
10.60 min 5 % A
13.3 min 5 % A
14.60 min 90% A
20.00 min 90% A
Détection : $\lambda = 254$ nm

Détermination de la pureté des composés finaux

Protocole

- Préparation d'une solution stock de molécule à tester à une concentration de 10 mM.
Une masse m (≈ 2 mg) est pesée à l'aide d'une balance analytique et un volume V de DMSO est ajouté. La solution est filtrée avec un filtre en PTFE.

- Préparation de l'échantillon à analyser
Solution 200 μ M : 20 μ L de solution stock + 980 μ L mélange acétonitrile/eau 1/1

Remarque : la dilution dépend aussi de la molécule à analyser, la réponse du signal lors de la détection à $\lambda = 254$ nm peut-être plus ou moins faible selon la structure de la molécule auquel cas il faut adapter la dilution.

- Analyses HPLC
 - HPLC Agilent, Détecteur : UV à barrette de diodes (DAD), injecteur automatique
 - Colonne : Hypersil Gold 3 μ m C18 100 \times 46 mm
 - Volume d'injection : 20 μ L
 - Programme élution :
Débit 1.25 mL/min
Solvant A : eau 0.05% acide formique
Solvant B : acétonitrile 0.05% acide formique
Gradient :
0 min 90 % A
1.30 min 90 % A
10.60 min 5 % A
13.3 min 5 % A
14.60 min 90% A
20.00 min 90% A
Détection : $\lambda = 254$ nm

PARTIE 1 : SYNTHÈSE DES ANALOGUES DE MMV665916

Mode opératoire général pour la préparation des sels de chlorhydrate d'ester d'acide aminé (2)

L'acide aminé **1** (1 eq) est refroidi à 0°C dans du méthanol anhydre sous azote. Ensuite, SOCl₂ (2 eq) est ajouté lentement pour obtenir un mélange homogène. Ce mélange est ensuite ramené à température ambiante puis porté à reflux pendant 5 h. Une fois la réaction terminée, le mélange est concentré à l'évaporateur rotatif. Ensuite, du méthyl tert-butyl éther est ajouté afin de faire précipiter les produits souhaités. Les produits sont ensuite filtrés et lavés avec du méthyl tert-butyl éther. Le sel de chlorhydrate d'ester d'acide aminé (**2**) est ensuite séché à l'évaporateur rotatif.

Mode opératoire général pour l'obtention des acides carboxylique 5a-e et 6a

Méthode 1 :

Le chlorhydrate d'ester d'acide aminé **2** (2 eq), l'acide anthranilique **3** (1 eq) et le HBTU (1.5 eq) sont dissous dans du DMF anhydre (0.05 mol/L). Puis la DIPEA (5 eq) est ajoutée goutte à goutte. Le mélange réactionnel est agité pendant 3 jours à température ambiante sous azote. La réaction est arrêtée avec une solution aqueuse saturée de NH_4Cl , extraite avec AcOEt, lavée avec une solution aqueuse saturée de NH_4Cl et ensuite avec une solution aqueuse saturée de NaCl. Les phases organiques sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et concentrées pour obtenir l'amide intermédiaire sous forme d'huile.

L'amide brut (1 eq) est dissous dans du CH_2Cl_2 anhydre (0.03 mol/L), et K_2CO_3 (3 eq) et le chloroformiate d'éthyle (2.2 eq) sont ensuite ajoutés. Le mélange réactionnel est agité pendant 18 à 24 h sous azote. La réaction est arrêtée avec une solution saturée de NH_4Cl qui est extraite avec CH_2Cl_2 . Les phases organiques sont lavées avec de la saumure puis sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et évaporées à sec pour fournir le carbamate souhaité.

Ce carbamate brut (1 eq) est dissous dans EtOH (0.05 mol/L), puis NaOH (2 eq) est ajouté. Le mélange réactionnel est agité à 70°C pendant 12-48h. Le mélange réactionnel est acidifié et extrait avec AcOEt puis lavé avec de la saumure. Les phases organiques sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et concentrées à sec. Le solide est lavé avec Et_2O ou $i\text{Pr}_2\text{O}$ pour donner l'acide carboxylique souhaité.

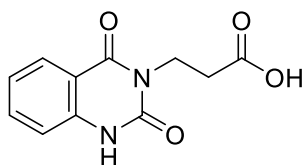
Méthode 2 :

À une solution d'anhydride isatoïque **4** (1 eq) et de chlorhydrate d'ester méthylique d'acide aminé **2** (1.3 eq) dans du THF anhydre (0.1 mol/L) est ajoutée la DIPEA (1,4 eq). Le mélange réactionnel est agité à 70°C pendant 18h (ou 24h) sous azote. Ensuite, le mélange réactionnel est évaporé et le résidu est dissous avec AcOEt. Les phases organiques sont lavées avec une solution de NH_4Cl sat, extraites avec AcOEt et lavées avec une solution de NaCl sat. Les phases organiques sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et évaporées à sec pour donner l'amide intermédiaire.

L'amide brut (1 eq) est ensuite dissous dans du CH_2Cl_2 anhydre (0.03 mol/L), du K_2CO_3 (3 eq) et du chloroformiate d'éthyle (2.2 eq) sont ensuite ajoutés. Le mélange réactionnel est agité pendant 18 à 24 h sous azote. La réaction est arrêtée avec une solution saturée de NH_4Cl , extraite avec CH_2Cl_2 et lavée avec de la saumure. Les phases organiques ont été séchées sur MgSO_4 , filtrées et évaporées à sec pour fournir le carbamate souhaité.

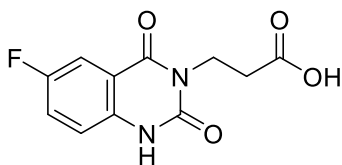
Ce carbamate brut (1 eq) est dissous dans EtOH (0.05 mol/L), et NaOH (2 eq) est ajouté. Le mélange réactionnel est agité à 70°C pendant 12-48h. Il est ensuite acidifié et extrait avec AcOEt, puis lavé avec une solution de NaCl sat. Les phases organiques sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et concentrées à sec. Le solide est lavé avec Et_2O ou $i\text{Pr}_2\text{O}$ pour donner l'acide carboxylique souhaité.

Acide 3-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)propanoïque (5a)



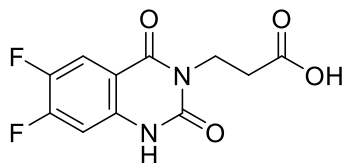
Méthode 2, rdt 92 %, solide incolore, RMN ¹H (400 MHz, DMSO) : δ 11.46 (s, 1H, NH), 7.92 (d, J = 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.65 (t, J = 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.20 (m, 2H, ArH), 4.10 (t, J = 8.1 Hz, 2H, CH₂), 2.53 (t, J = 8.1 Hz, 2H, CH₂). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) : 172.4, 161.9, 150.0, 139.4, 135.0, 127.4, 122.5, 115.2, 113.8, 36.10, 32.11. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₁₁H₁₀N₂NaO₄⁺ 257.05328, Trouvée 257.0533; m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₁H₁₁N₂O₄⁺ 235.07133, Trouvée 235.0710

Acide 3-(6-fluoro-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)propanoïque (5b)



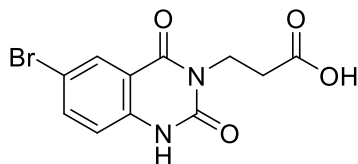
Méthode 1, rdt 26 %, solide incolore, ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) : δ 12.36 (sl, 1H, NH), 11.52 (s, 1H, OH), 7.63 (m, 2H, 2 ArH), 7.22 (dd, J = 8.9 et 4.4 Hz, 1H, ArH), 4.10 (t, J = 7.8 Hz, 2H, CH₂), 2.52 (t, J = 8.5 Hz, 2H, CH₂). ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) : δ 172.3, 160.1, 158.3 (d, J = 239.9 Hz), 149.6, 136.1, 123.9 (d, J = 24.2 Hz), 117.4 (d, J = 8 Hz), 114.7 (d, J = 7.3 Hz), 112.2 (d, J = 24.2 Hz), 36.2, 31.9. HRMS (ESI-QToF) : [M + Na]⁺ Calculée C₁₁H₉FN₂NaO₄⁺ 275.04386, Trouvée 275.04381; m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₁H₁₀FN₂O₄⁺ 253.06191, Trouvée 253.06219

Acide 3-(6,7-difluoro-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)propanoïque (5c)



Méthode 1, rdt 36 %, solide incolore, ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) : δ 11.60 (sl, 1H, NH), 7.89 (dd, J = 10.3 et 8.6 Hz, 1H, ArH), 7.13 (dd, J = 10.9 et 6.6 Hz, 1H, ArH), 4.07 (t, J = 7.8 Hz, 2H, CH₂), + 1 pic sous le pic du DMSO (2H, CH₂). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) : δ 172.4, 160.5, 153.8 (dd, J = 254.0 et 14.0 Hz), 149.8, 145.6 (dd, J = 244.0 et 14 Hz), 137.1 (d, J = 9.5 Hz), 115.6 (d, J = 21,2 Hz), 110.6 (d, J = 6 Hz), 103.9 (d, J = 21, 3 Hz), 36.4, 32.1. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₁₁H₈F₂N₂NaO₄⁺ 293.03443, Trouvée 293.03402; m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₁H₉F₂N₂O₄⁺ 271.05249, Trouvée 271.05229

Acide 3-(6-bromo-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)propanoïque (5d)



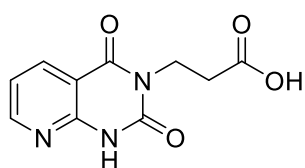
Méthode 2, rdt 76 %, solide incolore, ¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) : δ 12.38 (sl, 1H, OH), 11.60 (sl, 1H, NH), 7.99 (d, J = 2.3 Hz, 1H, ArH), 7.82 (dd, J = 8.7 et 2.3 Hz, 1H, ArH), 7.14 (d, J = 8.7 Hz, 1H, ArH), 4.08 (m, 2H, CH₂), 2.53 (m, 2H, CH₂). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) : δ 172.4, 160.8, 149.7, 138.6, 137.6, 129.2, 117.6, 115.6, 113.9, 36.3, 32.0. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₁₁H₉BrN₂NaO₄⁺ 334.96379 et 336.96186, Trouvée 312.98069 et 314.97994 ; m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₁H₁₀BrN₂O₄⁺ 312.98185 et 314.97991, Trouvée 334.96287 et 336.96132

Acide 3-(2,4-dioxo-1,4-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidine-3(2H)-yl)propanoïque (5e)

Préparation préalable du dérivé d'anhydride isatoïque 4e :

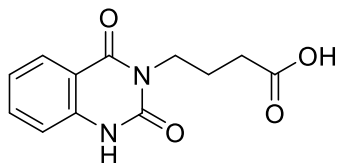
À une solution d'acide 2-aminonicotinique 3e (250.0 mg, 1,81 mmol, 1 eq.) dans MeCN (2.8 mL) est ajoutée goutte à goutte de la pyridine (0.3 mL, 3,71 mmol, 2,05 eq.) à 55°C, suivie d'une solution de triphosgène (0.12 g, 0,72 mmol, 0,4 eq) dans CH₂Cl₂ (1,8 ml). Le mélange réactionnel vire progressivement au jaune et 1 ml de MeCN est ajouté afin de bien solubiliser le mélange. Le mélange réactionnel est agité à 55°C pendant 2 jours sous azote. Une fois la réaction terminée, le mélange réactionnel est concentré puis de l'eau est ajoutée afin de faire précipiter le produit. Le produit est ensuite filtré et lavé avec du CH₂Cl₂ froid pour donner le dérivé d'anhydride isatoïque souhaité sous la forme d'un solide jaune (80 mg, 27% rdt).

L'acide carboxylique désiré 5e est ensuite obtenu via la méthode 2, rdt 6%, sous la forme d'un solide brun.



¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) : δ 11.98 (sl, 1H, NH), 8.62 (dd, J = 4.7 et 1.7 Hz, 1H, ArH), 8.30 (dd, J = 7.9 et 1.9 Hz, 1H, ArH), 7.28 (dd, J = 4.7 et 7.8 Hz, 1H, ArH), 4.09 (t, J = 7.2 Hz, 2H, CH₂), 3.55 (t, J = 6.4 Hz, 2H, CH₂).

Acide 4-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)butanoïque (6a)



Méthode 2, rdt 65 %, solide incolore, ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) : δ 12.00 (sl, 1H, OH), 11.41 (s, 1H, NH), 7.93 (d, J = 6.0 Hz, 1H, ArH), 7.65 (t, J = 6.0 Hz, 1H, ArH), 7.19 (m, 2H, ArH), 3.93 (t, J = 8.5 Hz, 2H, CH₂), 2.26 (t, J = 8.5 Hz, 2H, CH₂), 1.83 (q, J = 8.5 Hz, 2H, CH₂).RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) : δ 174.1, 162.0, 150.2, 139.4, 134.9, 127.4, 122.4, 115.1, 113.8, 31.3, 22.9 (+1 pic sous le DMSO). HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₁₂H₁₂N₂NaO₄⁺ 271.06893, Trouvée 271.06853 ; m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₂H₁₃N₂O₄⁺ 249.08698, Trouvée 249.08683

Mode opératoire général de couplage peptidique pour l'obtention des composés MMV665916, 8aa-aq, 8ba-8ea, 9aa-ab et 9ad-ae

Méthode A:

L'acide carboxylique 5a-e ou 6a (50 mg, 1eq), l'amine adéquate 7a-q (1,2eq) et le HBTU (1.5eq) sont dissous dans du DMF anhydre (0.05 mol/L). Puis, DIPEA (5eq) est ajouté lentement à la solution. Le mélange réactionnel est agité pendant 2 à 4 jours sous azote à température ambiante. Une fois la réaction terminée (suivie par 1H-RMN), elle est arrêtée avec une solution aqueuse de HCl 1 N, extraite avec AcOEt et lavée plusieurs fois (au moins 6 fois) avec une solution de NaCl sat. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées à sec. Le produit souhaité est ensuite précipité puis lavé avec Et₂O.

Méthode B:

À une solution d'acide carboxylique 5a-e ou 6 (50 mg ou 100 mg, 1 eq) et d'amine adéquat (1,2 eq) dans du DMF anhydre (0.05 mol/L) sont ajoutés DIPEA (2 eq) et COMU® (1.05 eq). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 2 jours sous azote. Une fois la réaction terminée (suivie par 1H-RMN), le milieu réactionnel est traité avec une solution aqueuse de HCl 1 N et extrait avec AcOEt. Les phases organiques sont lavées avec une solution aqueuse de NaHCO₃ 1M et enfin avec une solution de NaCl sat (au moins 6 fois). Elles sont ensuite séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées à sec. Le produit souhaité est ensuite précipité et est lavé avec Et₂O.

Méthode C:

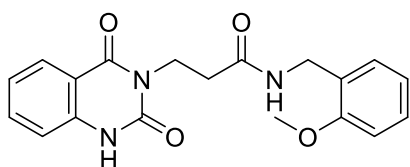
À une solution d'acide carboxylique 5a-e ou 6a (50 mg, 1 eq) dans du dioxane anhydre (0,05 mol/L) sont ajoutés HBTU (1.5 eq), l'amine adéquate 7a-q (2 eq) et la DIPEA (2 eq) à température ambiante sous azote. Le mélange réactionnel est agité à 50°C pendant 2 jours sous azote. Au cours de la réaction, le produit souhaité précipite. Après achèvement de la réaction (contrôlée par 1H-RMN), le précipité est filtré et lavé avec AcOEt froid (trois fois) afin d'obtenir le composé souhaité pur.

Méthode D:

À une solution d'acide carboxylique 5a-e ou 6 (50 mg, 1 eq) et l'amine adéquate 7a-q (2 eq) dans le dioxane anhydre (0.05 mol/L) sont ajoutés la DIPEA (2 eq) et le COMU® (1,05 eq).

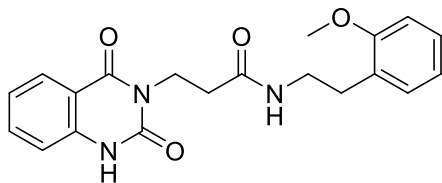
Le mélange réactionnel est agité à 50°C pendant 2 jours sous azote. Au cours de la réaction, le produit souhaité précipite. Après achèvement de la réaction (contrôlée par 1H-RMN), le mélange est refroidi, et le produit souhaité est filtré et lavé avec AcOEt froid (3 fois).

3-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(2-méthoxybenzyl)propanamide (8aa)



Méthode A, rdt 79 % (115.6 mg), solide incolore, RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) : δ 11.51 (s, 1H, NH), 8.30 (t, J = 9.0 Hz, 1H, NH), 7.92 (d, J = 9 Hz, 1H, ArH), 7.66 (t, J = 9 Hz, 1H, ArH), 7.21 (m, 3H, ArH), 7.12 (d, J = 6.0 Hz, 1H, ArH), 6.95 (d, J = 9 Hz, 1H, ArH), 6.85 (t, J = 6 Hz, 1H, ArH), 4.20 (d, J = 6 Hz, 2H, CH₂), 4.13 (t, J = 9.0 Hz, 2H, CH₂), 3.78 (s, 3H, OCH₃), +1 pic en dessous du DMSO (2H, CH₂). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) : δ 169.9, 161.8, 156.6, 150.0, 139.4, 134.9, 127.9, 127.6, 127.3, 126.7, 122.4, 120.0, 115.2, 113.8, 110.4, 55.3, 37.0, 36.9, 33.3. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₁₉H₁₉N₃NaO₄⁺ 376.12678, Trouvée 376.1257 ; m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₉H₂₀N₃O₄⁺ 354.14483, Trouvée 354.14366. Pureté HPLC : 95.5%

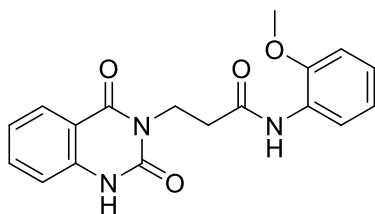
3-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(2-méthoxyphénéthyl)propanamide (8ab)



Méthode A, rdt_21 % (34.6 mg), solide incolore, RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) : δ 11.42 (sl, 1H, NH), 7.98 (t, J = 6.0 Hz, 1H, NH), 7.92 (d, J = 6 Hz, 1H, ArH), 7.65 (t, J = 9Hz, 1H, ArH), 7.20 (m, 3H, ArH), 7.09 (d, J = 6 Hz, 1H, ArH), 6.95 (d, J = 9Hz, 1H, ArH), 6.84 (t, J = 6 Hz, 1H, ArH), 4.09 (t, J = 6 Hz, 2H, CH₂), 3.77 (s, 3H, OCH₃),

3.21 (q, J = 6 Hz, 2H, CH₂), 2.67 (t, J = 6 Hz, 2H, CH₂), 2.37 (t, J = 6 Hz, 2H, CH₂). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) : δ 169.6, 161.8, 157.2, 150.0, 139.4, 134.9, 130.0, 127.6, 127.4, 127.2, 122.5, 120.3, 115.1, 113.8, 110.6, 55.2, 38.6, 36.9, 33.5, 29.8. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₂₀H₂₃N₃NaO₄⁺ 404.15708, Trouvée 404.15808 ; m/z : [M + H]⁺ Calculée C₂₀H₂₂N₃O₄⁺ 382.17613, Trouvée 382.17497. Pureté HPLC : 98.1%

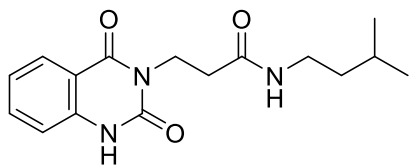
3-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(2-méthoxyphényl)propanamide (8ac)



Méthode A, rdt_17 % (26.2 mg), solide incolore, ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) : δ 11.46 (sl, 1H, NH), 9.21 (sl, 1H, NH), 7.94 (dd, J = 8.1 et 1.3 Hz, 1H, ArH), 7.85 (d, J = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.66 (td, J = 8.3 et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.20 (m, 3 H, 3 ArH), 7.04 (m, 2H, 2 ArH), 6.88 (td, J = 7.8 et 1.3 Hz, 1 H, ArH), 4.18 (t, J = 7.3 Hz, 2H, CH₂), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 2.70 (t, J = 7.3 Hz,

2H, CH₂). ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) : 169.1, 161.9, 150.0, 149.9, 139.4, 135.0, 127.4, 127.1, 124.5, 122.6, 122.5, 120.1, 115.1, 113.8, 111.1, 55.5, 36.8, 34.3. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₈H₁₈N₃O₄⁺ 340.12918, Trouvée 340.12910. Pureté HPLC : 96.7%

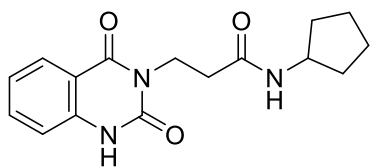
3-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-isopentylpropanamide (8ad)



Méthode A, rdt_26 % (33.0 mg), solide incolore, ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) : δ 11.41 (s, 1H, NH), 7.92 (d, J = 6 Hz, 1H, ArH), 7.85 (sl, 1H, NH), 7.65 (t, J = 9Hz, 1H, ArH), 7.18 (m, 2H, ArH), 4.08 (t, J = 6 Hz, 2H, CH₂), 3.02 (q, J = 9 Hz, 2H, CH₂), 2.37 (t, J = 9 Hz, 2H, CH₂), 1.52 (h, J = 6 Hz, 1H,

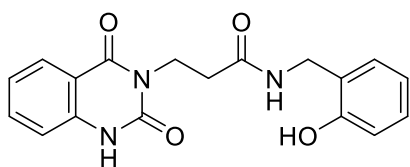
CH), 1.25 (q, J = 6 Hz, 2H, CH₂), 0.83 (d, J = 9 Hz, 6H, 2 CH₃). ¹³C RMN (100 MHz, DMSO) : δ 169.6, 161.9, 150.1, 139.5, 135.0, 127.4, 122.5, 115.1, 113.9, 38.0, 37.0, 36.7, 33.6, 25.2, 22.4, 22.4. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₁₆H₂₁N₃NaO₃⁺ 327.15054, Trouvée 327.14939 ; m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₆H₂₂N₃O₃⁺ 304.16557, Trouvée 304.16491. Pureté HPLC : 98.2%

N-cyclopentyl-3-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)propanamide (8ae)



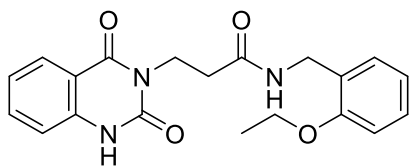
Méthode A, rdt 33 % (41.6 mg), solide incolore, RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.41 (s, 1H, NH), 7.92 (dd, $J = 8.0$ et 1.3 Hz, 1H, ArH), 7.85 (d, $J = 7$ Hz, 1H, NH), 7.64 (td, $J = 8.0$ et 1.3 Hz, 1H ArH), 7.18 (m, 2H, ArH), 4.08 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH_2), 3.93 (h, $J = 6.0$ Hz, 1H, CH), 2.36 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH_2), 1.74 (m, 2H, CH_2), 1.59 (m, 2H, CH_2), 1.46 (m, 2H, CH_2), 1.34 (m, 2H, CH_2). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO) : δ 169.1, 161.8, 150.0, 139.4, 134.9, 127.3, 122.4, 115.1, 113.8, 50.1, 37.0, 33.5, 32.2, 32.2, 30.0, 23.4, 23.4. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calculée $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{NaO}_3^+$ 324.13186, Trouvée 324.13216 ; m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_3^+$ 302.14992, Trouvée 302.15054. Pureté HPLC > 99.9%

3-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-(2-hydroxybenzyl)propanamide (8af)



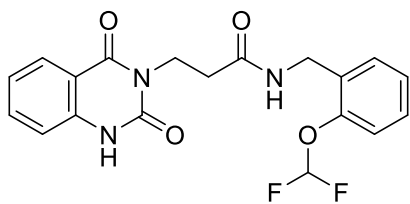
Méthode D, rdt 48 % (34.7 mg), solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) : δ 7.92 (dd, $J = 6.8$ Hz $J = 1,3$ Hz, 1H, ArH), 7.65 (td, $J = 7.3$ Hz $J = 1,5$ Hz, 1H, ArH), 7.18 (m, 2H, 2 ArH), 7.08 (m, 2H, 2 ArH), 6.72 (t, $J = 8,3$ Hz, 2H, 2 ArH), 4.08 (t, $J = 7,9$ Hz, 2H, CH_2), 3.85 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 2.44 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH_2). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 161.8, 157.1, 150.0, 139.4, 135.0, 128.5, 128.1, 127.3, 125.1, 122.5, 118.4, 115.5, 115.1, 113.8, 91.4, 41.9, 36.6, 33.0. HRMS (ESI-QToF) : pas détectable en mode négatif et positif. Pureté HPLC > 99.9%

3-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-(2-éthoxybenzyl)propanamide (8ag)



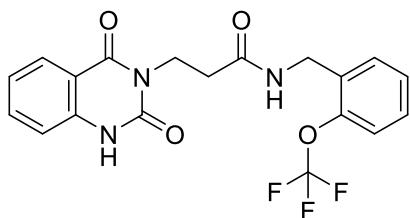
Méthode D, rdt 7 % (5.8 mg), solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) : 11.43 (sl, 1H, NH), 8.24 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H, NH), 7.93 (dd, $J = 8.1$ et 1.3 Hz, 1H, ArH), 7.66 (t, $J = 7.3$ et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.19 (m, 3H, 3 ArH), 7.11 (dd, $J = 7.3$ et 1.5 Hz, 1H, ArH), 6.93 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 6.83 (td, $J = 7.6$ et 1 Hz, 1H, ArH), 4.21 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H, CH_2), 4.13 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, CH_2), 4.03 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, CH_2), 3.44 (sl, 2H, CH_2), 1.34 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H, OCH_3). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : 169.9, 161.9, 155.9, 150.1, 139.5, 135.0, 128.0, 127.6, 127.4, 126.9, 122.5, 120.0, 115.1, 113.9, 111.4, 63.3, 37.1, 37.0, 33.4, 14.8. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{NaO}_4^+$ 390.1424, Trouvée 390.1432 ; m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_4^+$ 368.1605, Trouvée 368.1610. Pureté HPLC : 99.5%

N-(2-(difluorométhoxy)benzyl)-3-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)propanamide (8ah)



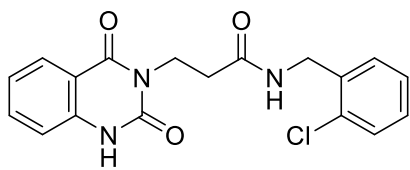
Méthode C, rdt 87 % (72.4 mg), solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.39 (sl, 1H, NH), 8.40 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H, NH), 7.93 (dd, $J = 6.8$ et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.66 (td, $J = 7.0$ et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.31 (m, 2H, 2 ArH), 7.19 (t, $J = 74.2$ Hz, 1H, ArH), 7.18 (m, 3H, 3 ArH), 4.27 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H, CH_2), 4.14 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, CH_2), + 1 pic en dessous du DMSO (2H, CH_2). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 170.1, 161.8, 150.0, 139.4, 135.0, 130.2, 128.9, 128.3, 127.4, 125.3, 122.5, 118.3, 116.6, 115.1, 113.8, 56.8, 36.8, 36.7, 33.4 (remarque: le couplage avec le fluor est trop faible pour être observé). ^{19}F RMN (470 MHz, DMSO- d_6) : δ -81.1 (d, $J = 74.9$ Hz), HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_4^+$ 390.1260, Trouvée 390.1267. Pureté HPLC : 95.4%

3-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(2-(trifluorométhoxy)benzyl)propanamide (8ai)



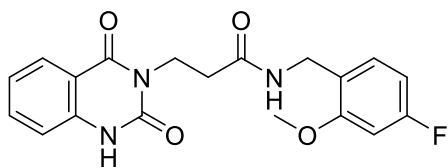
Méthode D (THF à la place du dioxane), 57 % rdt (48.0 mg), solide incolore, ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.40 (sl, 1H, NH), 8.47 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H, NH), 7.94 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.66 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H, ArH), 7.37 (m, 4H, 4 ArH), δ 7.19 (m, 2H, 2 ArH), 4.31 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H, CH_2), 4.14 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, CH_2), + 1 pic en dessous du DMSO (2H, CH_2). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 170.1, 161.8, 150.0, 146.1, 139.4, 135.0, 131.7, 129.4, 128.7, 127.5, 127.4, 122.5, 120.6, 115.1, 113.8, 36.8, 36.5, 33.3 + 1 pic en dessous du DMSO (remarque: le couplage avec le fluor est trop faible pour être observé). ^{19}F RMN (470 MHz, DMSO- d_6) : δ -56.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_4^+$ 408.1166, Trouvée 408.1181. Pureté HPLC > 99.9%

N-(2-chlorobenzyl)-3-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)propanamide (8aj)



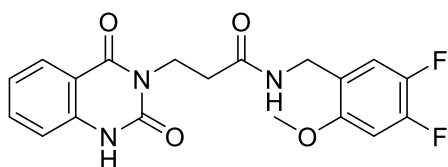
Méthode B, rdt 9 % (13.0 mg), solide incolore, ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.44 (sl, 1H, NH), 8.47 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H, NH), 7.93 (dd, $J = 7.9$ et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.66 (td, $J = 7.9$ et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.42 (td, $J = 7.9$ et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.28 (m, 3H, 3 ArH), 7.20 (m, 2H, 2ArH), 4.31 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), δ 4.15 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, CH_2), 2.55 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, CH_2). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 170.1, 161.8, 150.0, 139.4, 136.2, 135.0, 132.0, 129.1, 128.8, 128.6, 127.4, 127.1, 122.5, 115.1, 113.8, 36.8, 33.3 (+pic en dessous du DMSO). HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{ClN}_3\text{O}_3^+$ 358.0953, Trouvée 358.0967. Pureté HPLC : 95.2%

3-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-(4-fluoro-2-méthoxybenzyl)propanamide (8ak)



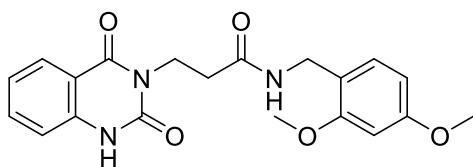
Méthode D, rdt 28 % (22.9 mg), solide incolore, ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.40 (sl, 1H, NH), 8.26 (t, J = 6.0 Hz, 1H, NH), 7.93 (dd, J = 7.7 et 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.65 (td, J = 7.7 et 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.17 (m, 3H, 3 ArH), 6.87 (dd, J = 11.3 et 2.5 Hz, 1H, ArH), 6.66 (td, J = 8.3 et 2.3 Hz, 1H, ArH), 4.13 (m, 4H, 2 CH₂), 3.80 (s, 3H, CH₃), + 1 pic en dessous du DMSO(2H, CH₂). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : 169.9, 162.1 (d, J = 241.3 Hz), 161.8, 157.8 (d, J = 10.3 Hz), 150.0, 139.4, 135.0, 128.8 (d, J = 9.5 Hz), 127.4, 122.8 (d, J = 2.5 Hz), 122.5, 115.1, 113.8, 106.0 (d, J = 21.3 Hz), 99.0 (d, J = 25.6 Hz), 55.8, 36.9, 36.7, 33.4. ^{19}F RMN (470 MHz, DMSO- d_6) : δ -113.4. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₉H₁₉FN₃O₄⁺ 372.1354, Trouvée 372.1378. Pureté HPLC > 99.9%

N-(4,5-difluoro-2-méthoxybenzyl)-3-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)propanamide (8al)



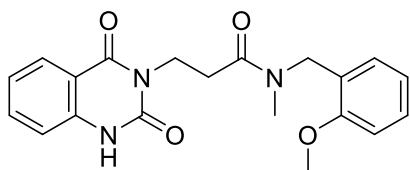
Méthode D, 70 % rdt (58.4 mg), solide incolore, ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) : 8.32 (t, J = 4,5 Hz, 1H, NH), 7.93 (dd, J = 7.4 et 1,2 Hz, 1H, ArH), 7.65 (td, J = 7,4 Hz J = 1,2 Hz, 1H, ArH), 7.16 (m, 4H, 4 ArH), 4,13 (m, 4H, 2 CH₂), 3,78 (s, 3H, OCH₃), + 1 pic en dessous du DMSO (2H, CH₂). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : 170.2, 161.8, 152.9 (d, J = 8.1 Hz), 150.0, 148.3 (dd, J = 241.9 et 13.2 Hz), 143.2 (dd, J = 236.9 et 12.5 Hz), 139.4, 135.0, 123.3, 127.3, 122.5, 116.1 (d, J = 18.3 Hz), 115.1, 113.8, 101.0 (d, J = 21.3 Hz), 56.4, 36.8, 36.4, 33.4. ^{19}F RMN (470 MHz, DMSO- d_6) : δ -138.9 (d, J = 24.2Hz), -149.8 (d, J = 24.2Hz). HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₁₉H₁₇F₂N₃NaO₄⁺ 412.1079, Trouvée 412.1089 ; m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₉H₁₈F₂N₃O₄⁺ 390.1260, Trouvée 390.1268. Pureté HPLC > 99.9%

N-(2,4-diméthoxybenzyl)-3-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)propanamide (8am)



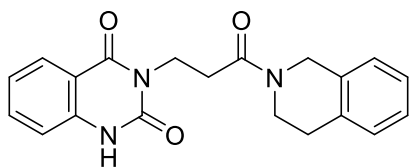
Méthode D, rdt 30 % (24.8 mg), solide incolore, ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) : δ 8.15 (t, J = 6.0 Hz, 1 H, NH), 7.92 (dd, J = 7.7 et 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.65 (td, J = 7.7 et 1.1 Hz, 1H, NH), 7.19 (m, 2H, 2 ArH), 7.02 (d, J = 8.3 Hz, 1H, ArH), 6.52 (d, J = 2.3 Hz, 1H, ArH), 6.41 (dd, J = 8.5 et 2.3 Hz, 1H, ArH), 4.12 (m, 4H, 2 CH₂), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.57 (sl, 2H, CH₂). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 169.7, 161.8, 159.6, 157.6, 150.0, 139.4, 134.9, 128.7, 127.4, 122.4, 118.9, 115.1, 113.8, 104.2, 98.1, 66.3, 55.3, 55.2, 36.9, 36.7, 33.3. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée for C₂₀H₂₂N₃O₅⁺ 384.1554, Trouvée 384.1563. Pureté HPLC : 97.2%

3-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-(2-méthoxybenzyl)-N-méthylpropanamide (8an)



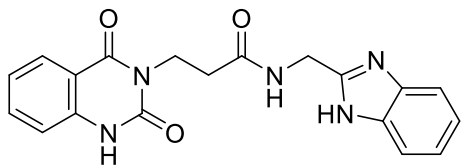
Méthode B, 46 % rdt (36.5 mg), solide incolore, Présence de 2 rotamères dans un ratio de 1:1, ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.40 (sl s, 1H, NH), 7.91 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H, ArH), 7.63 (q, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.30-7.13 (m, 3H, ArH), 7.06-6.88 (m, 3H, 3 ArH), 4.46 (s, 2H, CH_2), 4.12 (m, 2H, CH_2), 3.80 (s, 3H, OCH_3 , rota1), 3.79 (s, 3H, OCH_3 , rota2), 2.94 (s, 3H, CH_3 , rota1), 2.74 (s, 3H, CH_3 , rota2), 2.71 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 170.5 (rota1), 170.4 (rota2), 162.6 (rota1), 162.5 (rota2), 157.0 (rota1+rota2), 151.4 (rota1), 151.2 (rota2), 141.9 (rota1), 141.7 (rota2), 134.6 (rota1), 134.3 (rota2), 128.7 (rota1), 128.1 (rota2), 127.6 (rota1), 127.3 (rota2), 127.1 (rota1), 127.0 (rota2), 125.1 (rota1), 124.5 (rota2), 121.5 (rota1), 121.1 (rota2), 120.4 (rota1), 120.3 (rota2), 117.0 (rota1), 116.7 (rota2), 114.1 (rota1), 114.0 (rota2), 110.8 (rota1), 110.6 (rota2), 55.3 (rota1), 55.2 (rota2), 48.1 (rota1), 45.2 (rota2), 36.8 (rota1), 36.6 (rota2), 35.1 (rota1), 32.7 (rota2), 31.2 (rota1), 31.1 (rota2). HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_4$ + 368.1605, Trouvée 368.1602. Pureté HPLC : 97.9%

3-(3-(3,4-dihydroisoquinolin-2(1H)-yl)-3-oxopropyl)quinazoline-2,4(1H,3H)-dione (8ao)



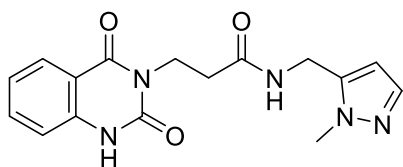
Méthode A, rdt 52 % (33.8 mg), solide incolore, présence de 2 rotamères avec un ratio 1:0.8, RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.44 (sl s, 1H, NH), 7.94 (dd, $J = 61$ et 5.0 Hz, 1H, ArH, rota1), 7.92 (dd, $J = 61$ et 5.0 Hz, 1H, ArH, rota2), 7.63 (tdd, $J = 7.5$, 3.2 et 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.23-7.09 (m, 6H, ArH), 4.46 (s, 2H, CH_2), 4.64 (s, 2H, CH_2 , rota1), 4.60 (s, 2H, CH_2 , rota2), 4.12 (m, 2H, CH_2), 3.67 (q, $J = 3.7$ Hz, 2H, CH_2), 2.86 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H, CH_2 , rota1), 2.77 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H, CH_2 , rota2), 2.73 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, CH_2). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 169.0 (rota1), 168.9 (rota2), 161.9 (rota1+rota2), 150.0 (rota1+rota2), 135.0 (rota1), 135.0 (rota2), 139.4 (rota1), 139.4 (rota2), 134.8 (rota1), 134.4 (rota2), 133.5 (rota1), 133.2 (rota2), 128.5 (rota1), 128.4 (rota2), 127.3 (rota1), 127.3 (rota2), 126.5 (rota1+rota2), 126.3 (rota1), 126.2 (rota2), 126.2 (rota1), 126.1 (rota2), 122.5 (rota1+rota2), 115.1 (rota1+rota2), 113.8 (rota1), 113.8 (rota2), 46.3 (rota1), 43.5 (rota2), 42.5 (rota1), 39.0 (rota2), 36.6 (rota1+rota2), 31.4 (rota1), 31.1 (rota2), 28.7 (rota1), 27.9 (rota2). ^1H HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NaN}_3\text{O}_3$ + 372.1319, Trouvée 372.13301 ; m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_3$ + 350.1500, Trouvée 350.15143. Pureté HPLC : 96.6%

N-((1H-benzo[d]imidazol-2-yl)méthyl)-3-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)propanamide (8ap)



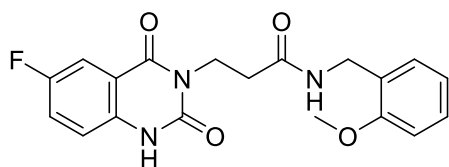
Méthode D, rdt 51 % (38.7 mg), solide incolore, ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) : δ 12.14 (sl, 1H, NH), 11.44 (s, 1H, NH), 8.63 (t, $J = 6.2$ Hz, 1H, NH), 7.93 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.66 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.53 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.46 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.16 (m, 4H, 4 ArH), 4.47 (d, $J = 6.2$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 4.17 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, CH_2), + 1 pic en dessous du DMSO (2H, CH_2). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 170.4, 161.9, 152.2, 150.1, 143.1, 139.4, 135.0, 134.2, 127.4, 122.5, 121.8, 121.1, 118.4, 115.1, 113.8, 111.2, 37.1, 36.8, 33.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée for $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}_3^+$ 364.1404, Trouvée 364.1415. Pureté HPLC : 99.2%

3-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-((1-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)méthyl)propanamide (8aq)



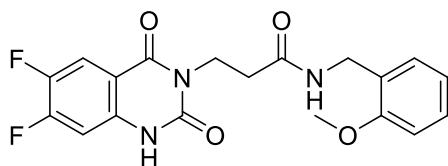
Méthode D, rdt 42 % (51.2 mg), solide incolore, ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.28 (sl, 1H, NH), 8.40 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H, NH), 7.92 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 7.65 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 7.28 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 7.18 (m, 2H, 2 ArH), 6.11 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 4.29 (d, $J = 5.3$ Hz, 2H, CH_2), 4.12 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H, CH_2), 3.73 (s, 3H, CH_3), 2.45 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H, CH_2). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 169.8, 161.8, 150.1, 139.6, 137.2, 135.0, 127.3, 122.4, 115.2, 113.8, 105.4, 47.9, 36.8, 36.1, 33.3 + 1 C quaternaire qu'on ne voit pas. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_3^+$ 328.1404, Trouvée 328.1408. Pureté HPLC : 99.1%

3-(6-fluoro-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-(2-méthoxybenzyl)propanamide (8ba)



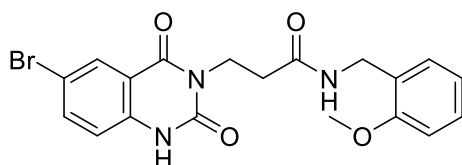
Méthode A, 50 % rdt (29.2 mg), solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.51 (sl, 1H, NH), 8.25 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H, NH), 7.63 (dd, $J = 2.9$ et 8.8 Hz, 1H, 1 ArH), 7.57 (td, $J = 2.9$ et 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.21 (m, 2H, 2 ArH), 7.12 (dd, $J = 7.6$ et 1,5 Hz, 1H, ArH), 6.95 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, ArH), 6.86 (td, $J = 7.3$ et 0.8 Hz, 1H, ArH), 4.20 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H, CH_2), 4.12 (t, $J = 7.6$ Hz, 2 H, CH_2), 3.78 (s, 3H, OCH_3), + 1 pic en dessous du DMSO (2H, CH_2). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 169.8, 161.1 (d, $J = 3\text{Hz}$), 157.3 (d, $J = 239.8$ Hz), 156.6, 149.7, 136.2, 128.0, 127.7, 126.7, 123.0 (d, $J = 24.2$ Hz), 120.1, 117.4 (d, $J = 7.7$ Hz), 114.9 (d, $J = 7.6$ Hz), 112.3 (d, $J = 24,2$ Hz), 110.4, 55.3, 37.1, 37.1, 33.3. ^{19}F RMN (470 MHz, DMSO- d_6) : δ -120.0. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{NaO}_5^+$ 394.1174, Trouvée 394.1165 ; m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3^+$ 372.1354, Trouvée 372.1342. Pureté HPLC : 97.4%

3-(6,7-difluoro-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-(2-méthoxybenzyl)propanamide (8ca)



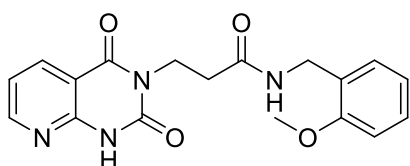
Méthode A, 69 % rdt (72.3 mg), solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.60 (sl, 1H, NH), 8.26 (t, J = 5.6 Hz, 1H, NH), 7.88 (dd, J = 10.3 et 8.6 Hz, 1H, ArH), 7.22 (td, J = 8.0 et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.12 (m, 2H, 2 ArH), 6.95 (d, J = 7.8 Hz, 1H, ArH), 6.86 (td, J = 7.3 et 0.8 Hz, 1H, ArH), 4.20 (d, J = 5.8 Hz, 2H, 2 ArH), 4.10 (t, J = 7.6 Hz, 2H, 2 ArH), 3.78 (s, 3H, OCH₃), + 1 pic en dessous du DMSO (2H, CH₂). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 169.8, 160.5, 156.6, 153.7 (dd, J = 253.6 et 14.7 Hz), 149.8, 145.6 (dd, J = 242.8 Hz et 13.9 Hz), 137.1 (d, J = 12.5 Hz), 128.0, 127.7, 126.7, 120.1, 115.6 (d, J = 21.3 Hz), 110.6 (dd, J = 5.8 et 2 Hz), 110.4, 103.9 (d, J = 22.0 Hz), 55.3, 37.1, 37.1, 33.2. ^{19}F RMN (470 MHz, DMSO- d_6) : δ -127.7 (d, J = 21.0 Hz), -44.9 (d, J = 21.0 Hz). HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₁₉H₁₇F₂N₃NaO₅⁺ 412.1079, Trouvée 412.1083 ; m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₉H₁₈F₂N₃O₅⁺ 390.1260, Trouvée 390.1267. Pureté HPLC : 95.3%

3-(6-bromo-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-(2-méthoxybenzyl)propanamide (8da)



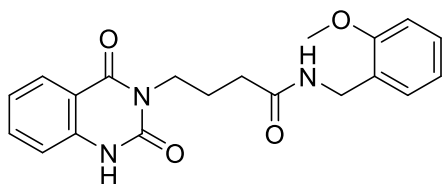
Méthode A, rdt 67 % (47.0 mg), solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.58 (sl, 1H, NH), 8.26 (t, J = 5.5 Hz, 1H, NH), 7.98 (d, J = 2.3 Hz, 1H, ArH), 7.92 (dd, J = 8.6 et 2.5 Hz, 1H, ArH), 7.22 (td, J = 8.6 et 1.8 Hz, 1H, ArH), 7.14 (d, J = 8.6 Hz, 1H, ArH), 7.12 (d, J = 9.3 Hz, 1H, ArH), 6.95 (d, J = 8.3 Hz, 1H, ArH), 6.85 (t, J = 7.30 Hz, 1H, ArH), 4.20 (d, J = 5.8 Hz, 2H, CH₂), 4.12 (t, J = 7.8 Hz, 2H, CH₂), 3.78 (s, 1H, OCH₃), + 1 pic en dessous du DMSO (2H, CH₂). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 169.8, 160.8, 156.6, 149.7, 138.6, 137.5, 129.3, 128.0, 127.6, 126.7, 120.0, 117.6, 115.7, 113.9, 110.4, 55.3, 37.1, 37.0, 33.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₉H₁₉BrN₃O₄⁺ 432.0559 et 434.0538, Trouvée 432.0553 et 434.0533. Pureté HPLC : 99.2%

3-(2,4-dioxo-1,4-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-3(2H)-yl)-N-(2-méthoxybenzyl)propanamide (8ea)



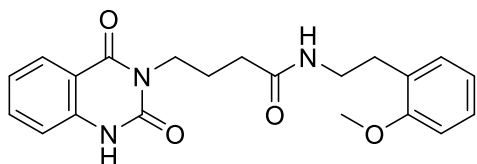
Méthode D, rdt global (5 étapes) 6 % (7.8 mg), solide incolore, ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.70 (sl, 1H, NH), 8.62 (dd, J = 4.5 et 1.5 Hz, 1H, ArH), 8.31 (dd, J = 7.7 et 1.7 Hz, 1H, ArH), 8.27 (t, J = 6.03 Hz, 1H, NH), 7.27 (dd, J = 7.7 et 4.7 Hz, 1H, ArH), 7.22 (t, J = 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.12 (d, J = 7.2 Hz, 1H, ArH), 6.95 (d, J = 7.9 Hz, 1H, ArH), 6.86 (t, J = 7.2 Hz, 1H, ArH), 4.20 (d, J = 5.7 Hz, 2H, NH-CH₂), 4.12 (t, J = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 3.79 (s, 3H, OCH₃), + 1 pic en dessous du DMSO (2H, CH₂). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 169.8, 161.5, 156.6, 154.6, 151.0, 150.2, 136.8, 128.0, 127.6, 126.7, 120.1, 119.0, 110.4, 109.4, 55.3, 39.1, 37.0, 33.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₁₈H₁₈N₄NaO₅⁺ 377.1220, Trouvée 377.1207 ; m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₈H₁₉N₄O₅⁺ 355.1401, Trouvée 355.1389. Pureté HPLC : 95.6%

4-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-(2-méthoxybenzyl)butanamide (9aa)



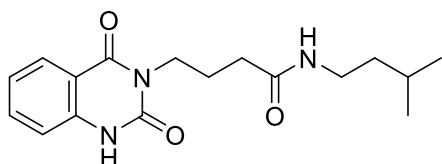
Méthode A, rdt 65 % (98.1 mg), solide incolore, RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) : δ 11.34 (sl, 1H, NH), 8.16 (t, J = 5.5 Hz, 1H, NH), 7.90 (dd, J = 8.0 et 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.64 (td, J = 7.7 et 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.18 (m, 4H, ArH), 6.95 (d, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 6.89 (t, J = 7.7 Hz, 1H, ArH), 4.19 (d, J = 6.0 Hz, 2H, CH₂), 3.92 (t, J = 9.0 Hz, 2H, CH₂), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 2.19 (t, J = 9.0 Hz, 2H, CH₂), 1.83 (q, J = 9.0 Hz, 2H, CH₂). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) : δ 171.6, 162.0, 156.6, 150.3, 139.7, 134.9, 127.9, 127.6, 126.9, 122.3, 120.1, 115.2, 113.8, 110.4, 55.3, 37.0, 33.0, 23.9 + 1 pic en dessous du DMSO. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₂₀H₂₁N₃NaO₄⁺ 390.14243, Trouvée 390.14181 ; m/z : [M + H]⁺ Calculée C₂₀H₂₂N₃O₄⁺ 368.16048, Trouvée 368.15985. Pureté HPLC : 98.4%

4-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-(2-méthoxyphénéthyl)butanamide (9ab)



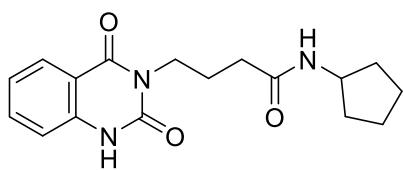
Méthode A, rdt 66 % (106.5 mg), solide incolore, RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) : δ 11.39 (s, 1H, NH), 7.93 (d, J = 7.8 Hz, 1H, ArH), 7.83 (t, J = 5.0 Hz, 1H, NH), 7.64 (t, J = 7.8 Hz, 1H, ArH), 7.18 (m, 3H, ArH), 7.08 (d, J = 7.0 Hz, 1H, ArH), 6.93 (d, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 6.84 (t, J = 7.5 Hz, 1H, ArH), 3.89 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 3.18 (q, J = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 2.65 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 2.08 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH₂), 1.79 (q, J = 7.0 Hz, 2H, CH₂). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) : δ 171.3, 162.0, 157.2, 150.2, 139.4, 134.9, 130.0, 127.5, 127.4, 127.2, 122.4, 120.2, 115.1, 113.8, 110.6, 55.2, 38.6, 33.1, 29.9, 23.8 + 1 pic en dessous du DMSO. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₂₁H₂₃N₃NaO₄⁺ 404.15808, Trouvée 404.15708 ; m/z : [M + H]⁺ Calculée C₂₁H₂₄N₃O₄⁺ 382.17613, Trouvée 382.17497. Pureté HPLC : 97.2%

4-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-isopentylbutanamide (9ad)



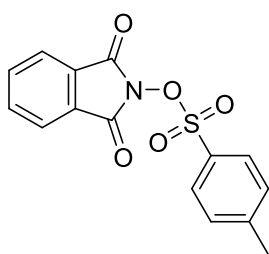
Méthode A, rdt 40 % (53.7 mg), solide incolore, ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) : δ 11.40 (s, 1H, NH), 7.93 (dd, J = 7.8 et 1.1 Hz, 1H, ArH), 7.71 (t, J = 5.0 Hz, 1H, NH), 7.64 (td, J = 7.8 et 1.1 Hz, 1H, ArH), 7.19 (m, 2H, ArH), 3.90 (t, J = 8.5 Hz, 2H, CH₂), 3.00 (q, J = 8.5 Hz, 2H, CH₂), 2.08 (t, J = 8.5 Hz, 2H, CH₂), 1.82 (q, J = 8.5 Hz, 2H, CH₂), 1.54 (h, J = 8.5 Hz, 1H, CH), 1.25 (q, J = 8.5 Hz, 2H, CH₂), 0.84 (d, J = 8.5 Hz, 6H). ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) : δ 171.1, 162.0, 150.1, 134.9, 127.4, 122.4, 115.0, 113.8, 39.7, 38.1, 38.1, 36.7, 33.1, 25.1, 23.8, 22.4, 22.4. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [2M + Na]⁺ Calculée C₃₄H₄₆N₆NaO₆⁺ 657.3371, Trouvée 657.33618 ; m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₁₇H₂₃N₃NaO₃⁺ 340.16316, Trouvée 340.16248 ; m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₇H₂₄N₃O₃⁺ 318.18122, Trouvée 318.18068. Pureté HPLC : 98.2%

N-cyclopentyl-4-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)butanamide (9ae)



Méthode A, rdt_46 % (57.9 mg), solide incolore, ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.40 (s, 1H, NH), 7.92 (dd, $J = 8.0$ et 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.71 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, NH), 7.64 (td, $J = 8.0$ et 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.18 (m, 2H, ArH), 3.90 (m, 3H, CH_2), 2.06 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH_2), 1.76 (m, 4H, 2 CH_2), 1.59 (m, 2H, CH_2), 1.45 (m, 2H, CH_2), 1.32 (m, 2H, CH_2). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 170.8, 162.0, 150.1, 139.4, 134.9, 127.4, 122.4, 115.0, 113.8, 50.1, 39.7, 33.0, 32.3, 23.8, 30.0, 23.4, 23.4. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calculée $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{NaO}_3^+$ 338.14751, Trouvée 338.14764 ; m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_3^+$ 316.16557, Trouvée 316.16553. Pureté HPLC > 99.9%

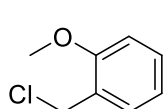
Synthèse du 1,3-dioxoisindolin-2-yl 4-méthylbenzènesulfonate (11)



À une solution de N-hydroxyphthalimide **10** (1.085 g, 6.65 mmol, 1 eq) dans CH_2Cl_2 anhydre (20 mL) est ajoutée de la pyridine (2 mL, 24.73 mmol, 3,7 eq) et du chlorure de tosylo (1.347 g, 7.07 mmol, 1,06 eq). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 1h30 sous azote. Le mélange réactionnel est désactivé avec de l'eau, extrait avec du CH_2Cl_2 et lavé avec une solution de NaCl sat (deux fois). Les phases organiques sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et concentrées à sec pour donner le produit souhaité sous la forme d'un solide incolore. ^1H RMN (300 MHz, chloroforme- d) : δ 7.97 (dt, $J = 8.5$ et 1.9 Hz, 2H, 2 ArH), 7.85 (m, 4H, 4 ArH), 7.41 (d, $J = 8.1$ Hz, 2 H, 2 ArH), 2.51 (s, 3H, CH_3).

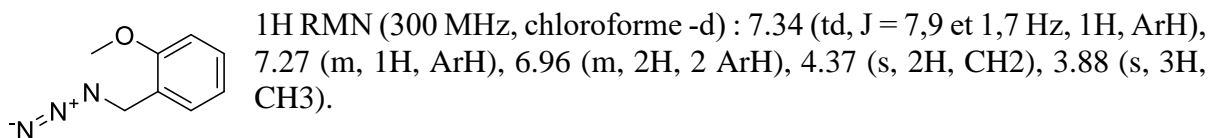
Synthèse du 1-(azidométhyl)-2-méthoxybenzène (13)

À une solution d'alcool 2-méthoxybenzylique **12** (2 mL, 14.91 mmol, 1 eq) dans CH_2Cl_2 (20 mL) est ajoutée goutte à goutte la triéthylamine (2 mL, 14.39 mmol, 1 eq) et MsCl (2,3 mL, 29.72 mmol, 2 eq) à 0°C sous azote. Le mélange réactionnel est agité à 0°C pendant 2 h puis ramené à température ambiante. La réaction est suivie par CCM. Après 160 min d'agitation, 2 mL de triéthylamine sont ajoutés à 0°C au mélange qui s'est coloré en jaune. Le mélange est ensuite amené à température ambiante pendant 80 min puis est refroidi à 0°C , et 2 ml supplémentaires de triéthylamine sont ajoutés. Le mélange réactionnel est agité pendant une nuit à température ambiante sous azote. La réaction est arrêtée avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 extraite avec CH_2Cl_2 et lavée avec une solution de NaCl sat. Les phases organiques sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et concentrées à sec pour donner le dérivé chlorure de benzyle (avec des traces de produit mésylé) sous la forme d'une huile brun orangé. Le produit a été utilisé sans autre purification pour l'étape suivante.

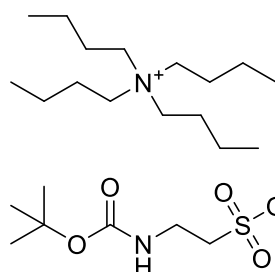


^1H RMN (300 MHz, chloroforme- d) : δ 7.36 (m, 2H, 2 ArH), 7.96 (td, $J = 7.4$ et 0.8 Hz, 1H, ArH), 6.91 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, ArH), 4.68 (s, 2H, CH_2), 3.90 (s, 3H, CH_3).

Le dérivé de chlorure de benzyle brut obtenu est ensuite dissous dans du MeCN (20 ml) puis NaN₃ (0.98 ml, 27.92 mmol, 2 eq) est ajouté par portions à température ambiante sous azote. Le mélange réactionnel a été agité pendant 24 h à 85 °C sous azote. Le mélange réactionnel a été désactivé avec de l'eau, extrait avec du CH₂Cl₂ et lavé avec de la saumure (deux fois). Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées à sec. Le résidu orange a ensuite été purifié par chromatographie sur colonne (éluant : 90/10, éther de pétrole/AcOEt) pour donner le produit souhaité sous forme de liquide incolore (1.501 g, 62 % rdt (2 étapes)).



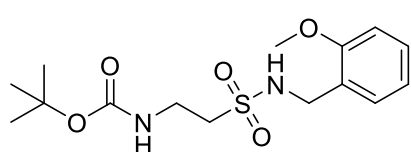
Synthèse du sel de 2-((tert-butoxycarbonyl)amino)éthane-1-sulfonate de tétrabutylammonium (15)



Une solution de Taurine **14** (504.2 mg, 4,03 mmol, 1eq), NaOH 2N aqueux (2 mL) et Boc₂O (0.9 mL, 4.21 mmol, 1eq) dans du THF (1.5 mL) est agitée pendant 20 h à température ambiante sous azote. Le mélange réactionnel est extrait avec de l'éther diéthylique. La phase aqueuse est diluée dans 20 ml d'eau, puis LiOH.H₂O (171,3 mg, 4,08 mmol, 1 eq) et nBu₄NHSO₄ (1.411 g, 4.16 mmol, 1 eq) sont ajoutés. Le mélange est agité pendant 30 min puis le produit est extrait avec du CH₂Cl₂ (trois fois). Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées à sec pour donner le produit souhaité sous forme de liquide incolore (1.864 g, rdt quantitatif). Le produit est utilisé sans autre purification dans l'étape suivante. ¹H RMN (300 MHz, chloroforme-d₆) : δ 6.15 (sl, 1H, NH), 3.51 (m, 2H, CH₂), 3.28 (t, J = 7.1 Hz, 8H, 4 CH₂), 2.86 (m, 2H, CH₂), 1.62 (t, J = 7.1 Hz 8H, 4 CH₂), 1.42 (m, 8H, 4 CH₂), 1.37 (s, 9H, 3 CH₃), 0.97 (t, J = 7.1 Hz, 12 H, 4 CH₃).

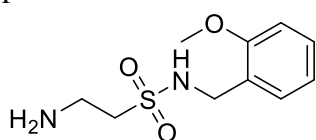
Synthèse du 2-amino-N-(2-méthoxybenzyl)éthane-1-sulfonamide (16)

À une solution de sel d'ammonium **16** (1.262 g, 2.704 mmol, 1 eq) dans CH₂Cl₂ (10 mL) et DMF (30 L) est ajouté du triphosgène (0.18 mL, 1.08 mmol, 0.4 eq). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 30 min sous azote. Lorsque la réaction est terminée (suivie par CCM), le mélange réactionnel est refroidi à 0°C, et une solution de 2-méthoxybenzylamine (0.45 mL, 3.44 mmol, 1.3 eq) et DBU (0.8 mL, 5.355 mmol, 2 eq) dans CH₂Cl₂ (2,6 ml) est ajoutée lentement sous azote. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant une nuit. La réaction est ensuite arrêtée avec une solution de NaOH 1 N, extraite avec du CH₂Cl₂ et lavée avec une solution de NaCl saturée. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées à sec. Le résidu est purifié par chromatographie flash (éther de pétrole/AcOEt, 7/3) pour donner notre intermédiaire sous forme de liquide incolore (351.2 mg, rdt 38%).



¹H RMN (300 MHz, chloroforme-d₆) : δ 7.33 (m, 2 H, 2 ArH), 6.94 (m, 2H, 2 ArH), 5.15 (sl, 2H, 2 NH), 4.30 (d, J = 6.4 Hz, 2H, CH₂), 3.89 (s, 3H, OCH₃) 3.44 (q, J = 5.7 Hz, 2H, CH₂), 2.98 (m, 2H, CH₂), 1.43 (s, 9H, 3 CH₃).

L'intermédiaire (394.6 mg, 1.15 mmol, 1eq) est dissous dans une solution de TFA (6 mL) et de CH₂Cl₂ (6 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 24 h sous azote. Il est ensuite concentré sous vide. Le résidu est dissous dans CH₂Cl₂ et lavé avec du NaOH IN aqueux (deux fois). Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées à sec pour donner **17** sous la forme d'une huile incolore (100.6 mg, rdt = 36 %). Le produit est utilisé sans autre purification dans l'étape suivante.

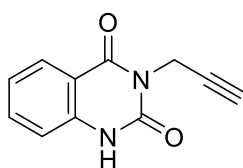


¹H RMN (300 MHz, chloroforme-d₆) : δ 7.62 (s, 1H, NH), 7.34 (m, 2H, 2 ArH), 6.96 (td, J = 7.3 1.0 Hz, 2H, 2 ArH), 4.31 (sl, 2H, NH₂), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (t, J = 6.4 Hz, 2H, CH₂) 2.94 (t, J = 5.4 Hz, 2H, CH₂), 2.18 (sl, 2H, CH₂).

Procédure générale pour l'obtention des composés **17** et **18**

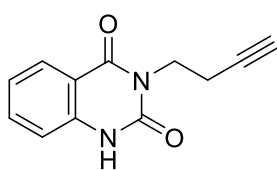
Une solution de composé **11** (100 mg, 0.32 mmol, 1 eq) et de propargylamine ou d'homopropargylamine (1.5 eq) dans de la pyridine (6 mL) est agitée à 120°C pendant 24 h sous azote. Le mélange réactionnel est refroidi à température ambiante et évaporé à sec. Le résidu est dissous dans CH₂Cl₂ et lavé avec une solution de HCl 1 N puis avec une solution de NaCl sat. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées sous vide pour donner le produit souhaité qui est utilisé pour les étapes suivantes sans autre purification.

3-(prop-2-yn-1-yl)quinazoline-2,4(1H,3H)-dione (17)



Rdt 73%, solide incolore, ¹H RMN (400 MHz, chloroforme-d) : δ 9.65 (s, 1H, NH), 8.18 (d, J = 7.8 Hz, 1H, ArH), 7.65 (t, J = 7.3 Hz, 1 H, ArH), 7.14 (d, J = 8.1 Hz, 1H, ArH), 4.88 (d, J = 2.0 Hz, 2H, CH₂), 2.22 (t, J = 2.27 Hz, 1H, CH), + 1 pic (1H, ArH) en dessous du pic du chloroforme. ¹³C RMN (100 MHz, chloroforme-d) : δ 161.8, 151.2, 138.6, 135.7, 129.0, 124.0, 115.4, 114.7, 71.2, 30.5, 30.0.

3-(but-3-yn-1-yl)quinazoline-2,4(1H,3H)-dione (18)

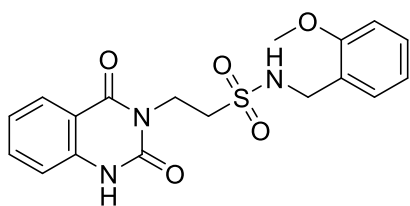


Rdt 80%, solide incolore, ¹H RMN (400 MHz, chloroforme-d) : δ 9.92 (sl, 1H, NH), 8.16 (dd, J = 7.8 et 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.64 (td, J = 8.4 et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.26 (td, J = 7.5 et 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.13 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, ArH), 4.32 (t, J = 7.6 Hz, 2H, CH₂), 2.68 (td, J = 2.8 et 7.3 Hz, 2H, CH₂), 1.99 (t, J = 2.8 Hz, 1H, CH). ¹³C RMN (100 MHz, chloroforme-d) : δ 162.1, 151.7, 138.4, 135.2, 128.5, 123.5, 115.0, 114.5, 70.0, 39.26, 29.7, 17.6.

Synthèse du

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(2-méthoxybenzyl)éthane-1-sulfonamide (19)

Une solution du composé **11** (130.4 mg, 0.4109 mmol, 1 eq) et du composé **13** (100.2 mg, 0.41 mmol, 1 eq) dans la pyridine (6 mL) est agitée à 90°C pendant 20 h sous azote. Le mélange réactionnel est refroidi à température ambiante et évaporé à sec. Le résidu est dissous dans CH₂Cl₂, et lavé avec une solution de HCl 1 N et une solution de NaCl sat. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées à sec. Le résidu est purifié par chromatographie (CH₂Cl₂/MeOH, 99/1) pour donner **20** sous forme de cristaux incolores (46.6 mg, rdt 29%).

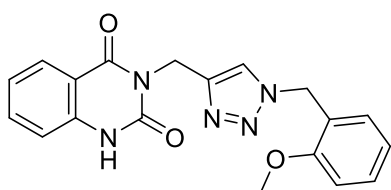


¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) : 11.51 (sl, 1H, NH), 7.94 (dd, J = 7.8 et 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.67 (td, J = 8.3 et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.54, (t, J = 6.3 Hz, 1H, NH), 7.35 (dd, J = 7.3 et 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.22, (m, 3H, 3 ArH), 6.98 (d, J = 8.3 Hz, 1H, ArH), 6.94 (t, J = 7.3 Hz, 1H, ArH), 4.26 (t, J = 7.3 Hz, 2H, CH₂), 4.17 (d, J = 6.3 Hz, 2H, NH-CH₂), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.32 (m, 2H, CH₂). ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) : δ 161.9, 156.6, 150.0, 139.4, 135.1, 128.6, 128.5, 127.4, 125.7, 122.6, 120.2, 115.2, 113.8, 110.6, 55.3, 48.5, 41.0, 34.8. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₁₈H₁₉N₃NaO₃⁺ 412.0938, Trouvée 412.0941 ; m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₈H₂₀N₃O₃⁺ 390.1119, Trouvée 390.1127. Pureté HPLC : 95.1%

Procédures générales pour l'obtention des triazoles **20** et **21**

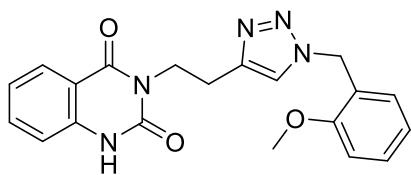
L'alcyne **17** ou **18** (1 eq), CuSO₄.5H₂O (0.4 eq) et l'acide L-ascorbique de sodium (0,3 eq) sont dissous dans un mélange 1:1 de tert-butanol/H₂O (0.025 mol/L), puis l'azoture **13** (2,6 eq) est ajouté. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 24 h. La réaction est arrêtée avec de l'eau en agitant pendant 20 min, une émulsion blanche se forme. Le mélange est ensuite extrait avec du CH₂Cl₂ (deux fois). Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées à sec. Les solides sont lavés avec de l'éther diéthylique (trois fois) pour donner les dérivés de triazole souhaités.

3-((1-(2-méthoxybenzyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)méthyl)quinazoline-2,4(1H,3H)-dione (20)



Rdt 43 % (46.6 mg), solide incolore, ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) : δ 11.51 (sl, 1H, NH), 7.93 (dd, J = 7.9 et 0.9 Hz, 1H, ArH), 7.91 (s, 1H, ArH), 7.67 (td, J = 8.3 et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.33 (td, J = 8.3 et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.20 (m, 2H, 2 ArH), 7.07 (dd, J = 7.7 et 1.3 Hz, 1H, 1 ArH), 7.04 (d, J = 8.3, 1H, ArH), 6.92 (t, J = 7.3 Hz, 1H, ArH), 5.47 (s, 2H, CH₂), 5.13 (s, 2H, CH₂), 3.79 (s, 3H, OCH₃). ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) : δ 161.7, 156.8, 149.9, 142.9, 139.5, 135.2, 129.0, 129.6, 127.4, 123.6, 123.5, 122.6, 120.5, 115.2, 113.7, 111.2, 55.5, 48.2, 35.6. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₁₉H₁₇N₅NaO₃⁺ 386.1224, Trouvée 386.1227 ; m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₉H₁₈N₅O₃⁺ 364.1404, Trouvée 364.1411. Pureté HPLC : 99.3%

3-(2-(1-(2-méthoxybenzyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)éthyl)quinazoline-2,4(1H,3H)-dione (21)



Rdt 69 % (58.4 mg), solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.42 (sl, 1H, NH), 7.91 (dd, $J = 7.8$ et 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.87 (s, 1H, ArH), 7.65 (td, $J = 8.3$ et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.32 (td, $J = 8.8$ et 1.9 Hz, 1H, ArH), 7.19 (m, 2H, 2 ArH), 7.04 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 6.92 (m, 2H, 2 ArH), 5.47 (s, 2H, CH_2), 4.14 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, CH_2), 3.81 (s, 3H, OCH_3), 2.94 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, CH_2). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 161.9, 156.6, 150.1, 143.7, 139.4, 135.0, 129.7, 129.0, 127.4, 123.8, 122.8, 122.5, 120.5, 115.1, 113.8, 111.1, 378.1545. Pureté HPLC : 99.0%
55.5, 48.0, 23.5, + 1 pic en dessous du DMSO. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{NaO}_3^+$ 400.1380, Trouvée 400.1362 ; m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}_3^+$ 378.1561, Trouvée

PARTIE 2 : SYNTHÈSE DES ANALOGUES DE MMV665587

Les différentes méthodes de couplages peptidiques

Méthode A:

L'acide carboxylique (50 mg, 1 eq), l'amine adéquate (1.2 eq) et le HBTU (1,5 eq) sont dissous dans du DMF anhydre (0.05 mol/L). Puis, DIPEA (5 eq) est ajouté lentement à la solution. Le mélange réactionnel est agité pendant 2 à 4 jours sous azote à température ambiante. Une fois la réaction terminée (suivie par ^1H -RMN), le milieu réactionnel est traité avec une solution aqueuse de HCl 1 N, extrait avec AcOEt et lavé plusieurs fois (au moins 6 fois) avec une solution de NaCl sat. Les phases organiques sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et concentrées à sec. Le produit souhaité est ensuite précipité et lavé avec Et_2O .

Méthode B:

À une solution d'acide carboxylique (50 mg ou 100 mg, 1 eq) et d'amine adéquat (1.2 eq) dans du DMF anhydre (0.05 mol/L) sont ajoutés DIPEA (2 eq) et COMU® (1.05 eq). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 2 jours sous azote. Une fois la réaction terminée (suivie par ^1H -RMN), le milieu réactionnel est traité avec une solution aqueuse de HCl 1 N et extrait avec AcOEt. Les phases organiques sont lavées avec une solution aqueuse de NaHCO_3 1M et enfin avec une solution de NaCl sat (au moins 6 fois). Les phases organiques sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et concentrées à sec. Le produit souhaité est ensuite précipité et lavé avec Et_2O .

Méthode C:

À une solution d'acide carboxylique (50 mg, 1 eq) dans du dioxane anhydre (0.05 mol/L) puis HBTU (1,5 eq), l'amine adéquate (2 eq) et la DIPEA (2 eq) sont ajoutés à température ambiante sous azote. Le mélange réactionnel est agité à 50°C pendant 2 jours sous azote. Au cours de la réaction, le produit souhaité précipite. Après achèvement de la réaction (contrôlée par ^1H -RMN), le précipité est filtré et lavé avec AcOEt froid (trois fois) afin d'obtenir le composé souhaité pur.

Méthode D:

À une solution d'acide carboxylique (50 mg, 1 eq) et d'amine adéquate (2 eq) dans le dioxane anhydre (0,05 mol/L) sont ajoutés la DIPEA (2 eq) et le COMU® (1.05 eq). Le mélange réactionnel est agité à 50°C pendant deux jours sous azote. Au cours de la réaction, le produit souhaité précipite. Après achèvement de la réaction (contrôlée par ¹H-RMN), le mélange est refroidi, et le produit souhaité est filtré et lavé avec AcOEt froid (3 fois).

Méthode E :

Dans un flacon à micro-ondes sec, sont ajoutés l'acide carboxylique (50 mg, 0.192 mmol, 1.3 eq) et le BTFFH (1.5 eq) dans du DCM anhydre (0.5 mol/L). La DIPEA (4.5 eq) est ensuite ajoutée au mélange qui est laissé sous agitation à température ambiante, sous atmosphère inerte pendant 30 min. Le dérivé d'amine adéquate (20 mg, 0.148 mmol, 1 eq) est ensuite ajouté au milieu réactionnel qui est laissé sous agitation à 80°C, sous atmosphère inerte, pendant 18h. Une fois la réaction terminée, le milieu réactionnel est refroidi à température ambiante, dilué avec de l'eau et extrait avec de l'acétate d'éthyle. Puis la phase organique est lavée une fois avec une solution de NaHCO₃, deux fois avec une solution de NH₄Cl et une dernière fois avec une solution de NaCl sat. La phase organique est séchée sur MgSO₄ et concentrée sous vide pour obtenir le produit souhaité qui est purifié par chromatographie.

Méthode F :

À un mélange composé d'acide carboxylique (50 mg, 1 eq) et d'aniline (1.1 eq) dans du DCM anhydre (0,15 mol/L), est ajoutée la DIPEA (3 eq). Le mélange est laissé sous agitation et sous atmosphère inerte à température ambiante pendant 30 min. T3P (1.7 eq) est ensuite ajouté au mélange qui est laissé sous agitation à température ambiante ou à 80°C (si le mélange est une suspension à t.a, le chauffage permet de mieux dissoudre la poudre restée en suspension) et sous atmosphère inerte pendant 18h. La réaction est suivie par RMN ¹H. Une fois la réaction terminée, le milieu réactionnel est dilué avec de l'eau et extrait avec de l'acétate d'éthyle. Puis la phase organique est lavée trois fois avec une solution de NaHCO₃, avec une solution de NH₄Cl et une dernière fois avec une solution de NaCl saturée. La phase organique est séchée sur MgSO₄ et concentrée sous vide afin d'obtenir le composé désiré qui est ensuite purifié par chromatographie.

Méthode G :

À un mélange composé d'acide carboxylique (50 mg, 1 eq), de TCFH (1.1eq) et d'amine (1.2 eq) dans de l'ACN anhydre (0.3 mol/L) est ajoutée la NMI (2 eq). Le mélange est laissé sous agitation et sous atmosphère inerte à température ambiante ou à 80°C (si le mélange est une suspension à t.a, le chauffage permet de mieux dissoudre la poudre restée en suspension) pendant 18h. La réaction est suivie par RMN ¹H. Une fois la réaction terminée, le milieu réactionnel est évaporé puis de l'acétate d'éthyle est ajoutée. La phase organique est ensuite lavée trois fois avec une solution de NaHCO₃, puis avec une solution de NH₄Cl et une dernière fois avec une solution de NaCl saturée. La phase organique est séchée sur MgSO₄ et concentrée sous vide afin d'obtenir le composé désiré qui est ensuite purifié par chromatographie.

Méthode H :

À une solution composée d'acide carboxylique (50 mg, 1 eq), de HOPO (0.5 eq) et d'amine (1.1 eq) dans de l'ACN/H₂O 1/1 (0.07 mol/L) est ajoutée DIC (1.1 eq). Le mélange est laissé sous agitation et sous atmosphère inerte à 80°C pendant 18h. La réaction est suivie par RMN ¹H. Une fois la réaction terminée, le milieu réactionnel est évaporé puis de l'acétate d'éthyle est ajoutée. La phase organique est ensuite lavée trois fois avec une solution de NaHCO₃. La phase organique est séchée sur MgSO₄ et concentrée sous vide afin d'obtenir le composé désiré qui sera ensuite purifié par chromatographie.

Les purifications par chromatographie sont réalisées avec de la silice de type Silicagel ou avec Puriflash 4250 Interchim[®] sur des colonnes phase normal en utilisant les éluants EP/AcOEt ou DCM/MeOH sauf indication contraire indiquant l'utilisation de colonne en phase inverse (effectuée après une colonne en phase normal pas assez efficace).

Méthode d'utilisation de la colonne Puriflash[®] CN :

CV	%ACN	%H ₂ O
0	10	90
35	30	70
75	30	70
90	50	50
100	50	50
120	100	0

Synthèse des composés 28xxx et 29xxx

Voie de synthèse n°1

1^{ère} étape :

À une solution d'anhydride isatoïque **22** (1 eq) et de chlorhydrate d'ester méthylique d'acide aminé **23** (1.3 eq) dans du THF anhydre (0.1 mol/L) est ajoutée la DIPEA (1.4 eq). Le mélange réactionnel est agité à 70°C pendant 18h (ou 24h) sous azote. Ensuite, le mélange réactionnel est évaporé et le résidu est dissous avec AcOEt. Les phases organiques sont lavées avec une solution de NH₄Cl sat, extraites avec AcOEt et lavées avec une solution de NaCl sat. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées à sec pour donner l'amine **24**.

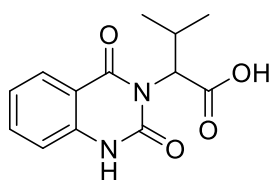
2^{ème} étape :

L'amine **24** (1 eq) est ensuite dissoute dans du CH₂Cl₂ anhydre (0,03 mol/L), du K₂CO₃ (3 eq) et du chloroformiate d'éthyle (2.2 eq) sont ensuite ajoutés. Le mélange réactionnel est agité pendant 18 à 24 h sous azote. La réaction est arrêtée avec une solution saturée de NH₄Cl, extraite avec CH₂Cl₂ et lavée avec de la saumure. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées à sec pour fournir **25**.

3^{ème} étapes :

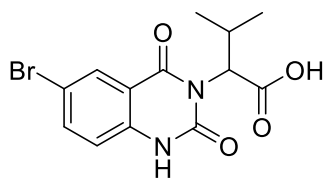
25 (1 eq) est dissous dans EtOH (0,05 mol/L), et NaOH (2 eq) est ajouté. Le mélange réactionnel est agité à 70°C pendant 12-48h. Le mélange réactionnel est acidifié et extrait avec AcOEt et lavé avec une solution de NaCl sat. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées à sec. Le solide est lavé avec Et₂O ou iPr₂O pour donner l'acide carboxylique souhaité **26**.

Acide 2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylbutanoïque (26aa)



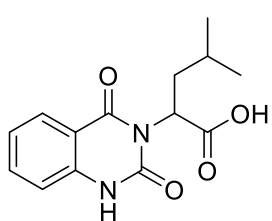
¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) : δ 1.59 (sl, 1H, NH), 7.93 (dd, J = 8.0 1.0Hz), 7.68 (ddd, J = 8.7, 7.3 et 1.6 Hz, 1H, ArH), 7.24 (ddd, J = 8.7, 7.3 et 1.0Hz, 1H, ArH), 7.20 (d, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 4.91 (d, J = 9.3Hz, 1H, CH), 2.56 (m, 1H, CH), 1.12 (d, J = 6.7 Hz, 3H, CH₃), 0.63(d, J = 6.7 Hz, 3H, CH₃). ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) : δ 171.4, 162.7, 150.7, 139.9, 136.5, 128.3, 124.0, 115.9, 113.7, 58.8, 27.4, 22.7, 119.3. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₁₃H₁₄N₂NaO₄ + 285.0846, Trouvée 285.0849.

Acide 2-(6-bromo-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylbutanoïque (26fa)



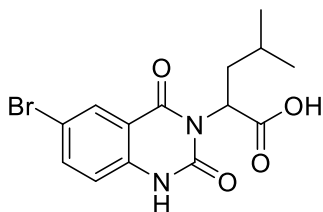
¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) : δ 12.66 (sl, 1H, OH), 11.77 (sl, 1H, NH), 8.02 (d, J = 2.3 Hz, 1H, ArH), 7.88 (dd, J = 8.7 et 2.3 Hz, 1H, ArH), 7.18 (d, J = 8.7 Hz, 1H, ArH), 4.93 (d, J = 9.2Hz, 1H, CH), 2.59 (m, 1H, CH), 1.17 (d, J = 6.7 Hz, 3H, CH₃), 0.68 (d, J = 6.7Hz, 3H, CH₃). ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) : δ 170.3, 160.8, 149.7, 138.6, 138.2, 129.5, 117.8, 114.9, 114.4, 58.3, 26.8, 22.1, 18.8. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₁₃H₁₃BrN₂NaO₄ + 362.9951, Trouvée 362.9947.

Acide 2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-4-méthylpentanoïque (26ab)



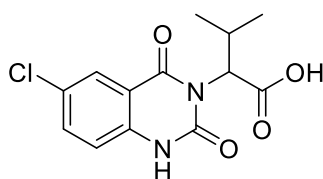
¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) : δ 12.71 (sl, 1H, OH), 11.55 (sl, 1H, NH), 7.94 (dd, J = 8.0 et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.69 (ddd, J = 8.7, 7.4 et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.22 (m, 2H, ArH), 5.40 (dd, J = 8.8 et 5.3 Hz, 1H, CH), 1.98 (m, 2H, CH₂), 1.43 (m, 1H, CH), 0.90 (d, J = 6.6Hz, 3H, CH₃), 0.84 (d, J = 6.6Hz, 3H, CH₃).

Acide 2-(6-bromo-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-4-méthylpentanoïque (26fb)



¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) : δ 12.80 (sl, 1H, OH), 11.70 (sl, 1H, NH), 8.01 (d, J = 2.3Hz, 1H, ArH), 7.86 (dd, J = 8.7 et 2.4 Hz, 1H, ArH), 7.17 (d, J = 8.7Hz, 1H, ArH), 5.35 (dd, J = 8.3 et 5.8 Hz, 1H, CH), 1.97 (m, 2H, CH₂), 1.43 (m, 1H, CH), 0.89 (d, J = 6.6 Hz, 3H, CH₃), 0.84 (d, J = 6.6Hz, 3H, CH₃).

Acide 2-(6-chloro-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylbutanoïque (25ea)



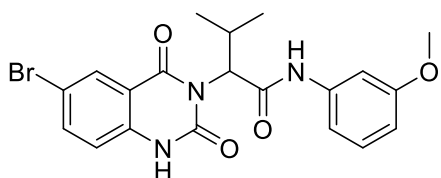
RMN ¹H (500 MHz, dms_o-d₆) : δ 12.77 (sbr, 1H, OH), 11.77 (sbr, 1H, NH), 7.90 (d, J = 2.5 Hz, 1H, ArH), 7.77 (dd, J = 2.5 and 8.7 Hz, 1H, ArH), 7.25 (d, J = 8.7 Hz, 1H, ArH), 4.91 (d, J = 9.3 Hz, 1H, CH), 2.61 (m, 1H, CH), 1.18 (d, J = 6.6 Hz, 3H, CH₃), 0.68 (d, J = 6.6 Hz, 3H, CH₃). RMN ¹³C (125 MHz, dms_o-d₆) : δ 170.4, 160.9, 149.7, 138.3, 135.4, 126.8, 126.6, 117.6, 114.6, 58.5, 26.8,

22.3, 18.9. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₁₃H₁₃ClN₂NaO₄⁺ 319.0456, Trouvée 319.0456.

4^{ème} étape :

L'acide carboxylique **26** est couplé à l'amine **27** ou **7** via l'un des couplages peptidiques décrits précédemment.

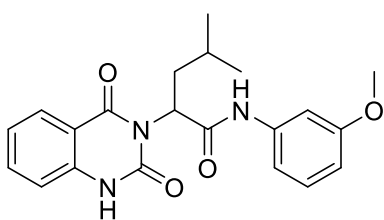
2-(6-bromo-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (28faa)



Couplage peptidique méthode A, rdt (4 étapes) 12 % (49.2 mg), solide incolore, ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) : δ 11.71 (sl, 1H, NH), 9.65 (s, 1H, NH), 7.98 (d, J = 2.3 Hz, 1H, ArH), 7.80 (dd, J = 8.8 et 2.0 Hz, 1H, ArH), 7.15 (m, 4H, 4 ArH), 6.59 (ddd, J = 8.1 et 2.5 et 1.0 Hz, 1H, ArH),

5.00 (d, J = 9.1 Hz, 1H, CH), 2.74 (m, 1H, CH), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 1.13 (d, J = 6.6 Hz, 3H, CH₃), 0.67 (d, J = 6.8 Hz, 3H, CH₃). ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) : δ 167.4, 159.7, 159.3, 150.8, 140.8, 140.2, 137.4, 129.4, 129.1, 118.8, 115.9, 113.2, 112.5, 108.8, 105.9, 59.6, 55.0, 26.6, 22.3, 18.5. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₂₀H₂₁BrN₃O₄⁺ 446.0715 et 448.0695, Trouvée 446.0707 et 448.0689. Pureté HPLC >99.9%

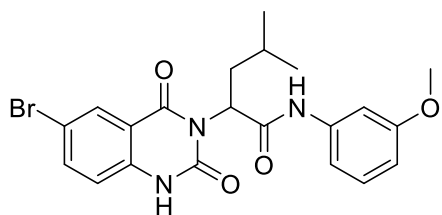
2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)-4-méthylpentanamide (28aba)



Couplage peptidique méthode A, rdt (4 étapes) 46 % (60.4 mg), solide incolore, ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) : δ 11.47 (sl, 1H, NH), 9.50 (s, 1H, NH), 7.94 (d, J = 7.8 Hz, 1H, ArH), 7.68 (td, J = 8.5 et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.16 (m, 5H, 5 ArH), 6.61 (m, 1H, ArH), 5.44 (q, J = 4.8 Hz, 1H, CH), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 2.14 (m, 1H, CH₂), 1.91 (m, 1H, CH₂), 1.42 (m, 1H,

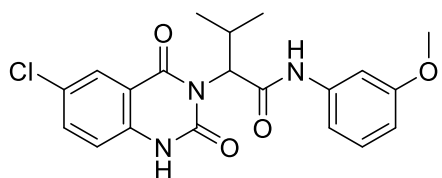
CH), 0.91 (d, J = 6.3 Hz, 3H, CH₃), 0.86 (d, J = 6.5 Hz, 3H, CH₃). ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) : 168.0, 162.2, 159.3, 150.0, 140.1, 139.6, 135.1, 129.1, 127.6, 122.5, 115.1, 114.2, 112.7, 108.9, 106.1, 55.0, 52.9, 37.1, 24.8, 23.2, 21.9. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₂₁H₂₄N₃O₄⁺ 382.1762, Trouvée 382.17481. m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₂₁H₂₃NaN₃O₄⁺ 404.1581, Trouvée 404.15656. Pureté HPLC : 95.3%

2-(6-bromo-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)-4-méthylpentanamide (28fba)



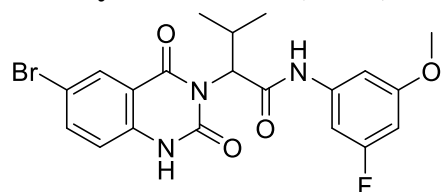
Couplage peptidique méthode A, rdt (4 étapes) 42 % (35.3 mg), solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.63 (sl, 1H, NH), 9.49 (s, 1H, NH), 8.03 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, ArH), 7.17 (m, 3H, 3 ArH), 7.09 (m, 1H, ArH), 6.62 (ddd, $J = 8.1$ et 2.5 et 1.0 Hz), 5.42 (dd, $J = 5.0$ et 9.3 Hz, 1H, ArH), 3.70 (s, 3H, CH_3), 2.14 (m, 1H, CH_2), 1.89 (m, 1H, CH_2), 1.44 (m, 1H, CH), 0.91 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, CH_3), 0.86 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 167.7, 161.2, 159.3, 149.7, 140.1, 138.9, 137.7, 129.5, 129.1, 117.6, 116.0, 114.0, 112.7, 109.0, 106.1, 55.0, 53.1, 37.1, 24.8, 23.2, 21.9. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{BrN}_3\text{O}_4^+$ 460.0867 et 462.0846, Trouvée 460.08767 et 462.08604. Pureté HPLC : 97.6%

2-(6-chloro-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (28eaa)



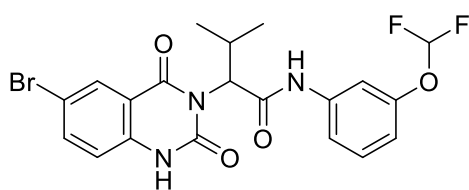
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 17 % (40.5 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.45 (sl, 1H, NH), 8.73 (sl, 1H, NH), 8.01 (d, $J = 2.4$, 1H, ArH), 7.46 (dd, $J = 2.4$ et 8.7 Hz, 1H, ArH), 7.28 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H, ArH), 7.13 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.05 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, ArH), 6.96 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 6.60 (dd, $J = 2.4$ et 8.2 Hz, 1H, ArH), 5.26 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H, CH), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 3.05 (m, 1H, CH), 1.23 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, CH_3), 0.84 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 167.3, 162.6, 160.2, 151.8, 139.0, 137.1, 136.0, 129.7, 129.4, 128.0, 117.2, 115.3, 112.4, 110.2, 106.1, 64.4, 55.4, 26.9, 21.2, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{ClN}_3\text{O}_4^+$ 402.12151 et 404.11939, Trouvée 402.12016 et 404.11852. Pureté HPLC >99.9%

2-(6-bromo-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-fluoro-5-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (28fau)



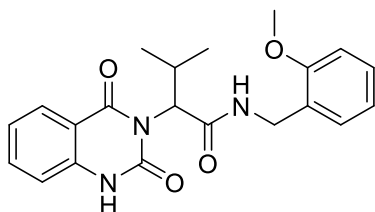
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 6 % (10.0 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.60 (s, 1H, NH), 9.61 (s, 1H, NH), 8.02 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, ArH), 7.87 (dd, $J = 8.8$ et 2.3 Hz, 1H, ArH), 7.18 (d, $J = 8.8$ Hz), 7.10 (dt, $J = 11.3$ et 2 Hz, 1H, ArH), 6.96 (t, $J = 2$ Hz, 1H, ArH), 6.49 (dt, $J = 11$ et 2.3 Hz, 1H, ArH), 4.99 (d, $J = 8.7$, 1H, CH), 3.70 (s, 3H, OCH_3), 2.69 (m, 1H, CH), 1.13 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, CH_3), 0.67 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, CH_3). ^{19}F RMN (470 MHz, DMSO- d_6) : δ -111.8 ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO- d_6) : δ 167.4, 162.8 (d, $J = 238.9$ Hz), 161.8, 160.5 (d, $J = 13.5$ Hz), 149.9, 140.1 (d, $J = 14.3$ Hz), 138.8, 137.9, 129.6, 117.7, 115.0, 114.1, 101.5, 99.2 (d, $J = 26.7$ Hz), 96.3 (d, $J = 25.1$ Hz), 59.1, 55.5, 26.6, 22.3, 18.4. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{BrFN}_3\text{O}_4^+$ 464.06157 et 466.05979, Trouvée 464.0599 et 466.0581. Pureté HPLC : 97.3%

2-(6-bromo-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-(difluorométhoxy)phényl)-3-méthylbutanamide (28fac)



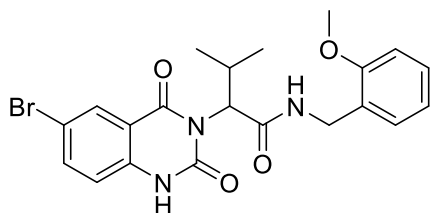
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 8 % (42.0 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.70 (s, 1H, NH), 9.66 (s, 1H, NH), 8.02 (d, $J = 2$ Hz, 1H, ArH), 7.87 (dd, $J = 8.6$ et 2 Hz, 1H, ArH), 7.46 (t, $J = 2$ Hz, 1H, ArH), 7.37 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, ArH), 7.29 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.15 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, CHF_2), 7.18 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, ArH), 6.83, (dd, $J = 8.0$ et 2.0 Hz, 1H, ArH), 5.02 (d, $J = 9$ Hz, 1H, CH), 2.70 (m, 1H, CH), 1.14 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_3), 0.68 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, CH_3). ^{19}F RMN (470 MHz, DMSO- d_6) δ -81.2, -81.4. ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO- d_6) : δ 167.3, 161.3, 150.9, 149.9, 140.5, 138.8, 137.9, 129.8, 129.6, 117.7, 116.9, 116.4 (t, $J = 257$ Hz), 115.7, 114.2, 113.4, 110.8, 59.1, 26.6, 22.3, 18.4. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{BrF}_2\text{N}_3\text{O}_4$ $^+$ 482.05215 et 484.05036, Trouvée 482.05134 et 484.04972. Pureté HPLC >99.9%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(2-méthoxybenzyl)-3-méthylbutanamide (29aaa)



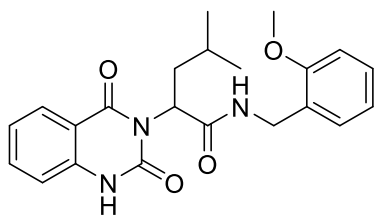
Couplage peptidique méthode A, rdt (4 étapes) 26 % (44.5 mg), solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.52 (sl, 1H, NH), 8.16 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H, NH), 7.96 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 7.67 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.20 (m, 4H, 4 ArH), 6.91 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 7.84 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 4.97 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, CH), 4.19 (m, 1H, NH- CH_2), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 2.73 (m, 1H, CH), 1.16 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, CH_3), 0.85 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 168.7, 162.4, 163.3, 150.3, 139.7, 135.1, 127.6, 127.5, 127.3, 127.2, 122.5, 120.0, 116.0, 115.1, 114.1, 110.1, 58.8, 55.2, 37.1, 26.4, 22.9. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_4$ $^+$ 382.1762, Trouvée 382.17862. Pureté HPLC : 97.0%

2-(6-bromo-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(2-méthoxybenzyl)-3-méthylbutanamide (29faa)



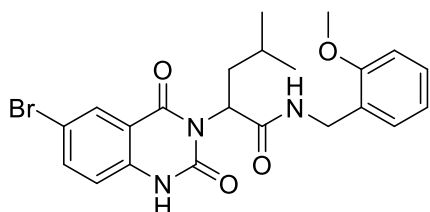
Couplage peptidique méthode A, rdt (4 étapes) 54 % (56.1 mg), solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.68 (sl, 1H, NH), 8.14 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H, NH), 2.01 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, ArH), 7.85 (dd, $J = 8.8$ et 2.3 Hz, 1H, ArH), 7.16 (m, 3H, 3 ArH), 6.92 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 6.84 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 4.93 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, CH), 4.18 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, NH- CH_2), 2.67 (m, 1H, CH), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 1.15 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, CH_3), 0.64 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 168.6, 161.5, 156.5, 139.0, 137.9, 129.7, 127.8, 127.5, 127.3, 120.1, 117.8, 116.1, 114.2, 110.4, 59.1, 55.4, 37.2, 26.6, 23.0, 18.9. (+ 1 C quaternaire que l'on ne voit pas). HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{BrN}_3\text{O}_4$ $^+$ 460.0872 et 462.0851, Trouvée 460.0864 et 462.0849. Pureté HPLC : 88.0%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-(2-méthoxybenzyl)-4-méthylpentanamide (29aba)



Couplage peptidique méthode A, rdt (4 étapes) 53 % (54.3 mg), solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.48 (sl, 1H, NH), 8.24 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H, NH), 7.95 (dd, $J = 8.0$ et 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.67 (td, $J = 8.4$ et 1.3 Hz, 1H, ArH), 7.20 (m, 4H, 4 ArH), 6.92 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 6.86 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H, ArH), 5.41 (m, 1H, CH), 4.20 (m, 2H, NH-CH $_2$), 3.76 (s, 3H, OCH $_3$), 2.06 (m, 2H, CH $_2$), 1.36 (m, 1H, CH), 0.88 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH $_3$), 0.84 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH $_3$). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 169.2, 162.3, 156.2, 150.1, 139.7, 135.0, 127.6, 127.5, 127.1, 127.0, 122.4, 120.0, 115.0, 114.3, 110.1, 55.2, 52.6, 37.2, 36.8, 24.9, 23.3, 21.7. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H] $^+$ Calculée C $_{22}$ H $_{26}$ N $_3$ O $_4$ $^+$ 396.1923, Trouvée 396.1913. m/z : [M+Na] $^+$ Calculée C $_{22}$ H $_{25}$ N $_3$ NaO $_4$ $^+$ 418.1743, Trouvée : 418.1731 m/z : [M+K] $^+$ Calculée C $_{22}$ H $_{25}$ KN $_3$ O $_4$ $^+$ 434.1482, Trouvée : 434.1475.

2-(6-bromo-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-(2-méthoxybenzyl)-4-méthylpentanamide (29fba)



Couplage peptidique méthode A, rdt (4 étapes) 51 % (57.2 mg), solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.65 (sl, 1H, NH), 8.24 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H, NH), 8.01 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, ArH), 7.84 (dd, $J = 8.8$ et 2.5 Hz, 1H, ArH), 7.17 (m, 3H, 3 ArH), 6.93 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 6.87 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 5.37 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H, CH), 4.20 (m, 2H, NH-CH $_2$), 3.76 (s, 3H, OCH $_3$), 2.05 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, CH $_2$), 1.37 (m, 1H, CH), 0.87 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH $_3$), 0.83 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH $_3$). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 169.0, 161.3, 156.3, 138.9, 137.6, 129.4, 127.6, 127.1, 123.3, 120.0, 118.7, 117.5, 116.1, 113.9, 110.1, 55.2, 55.8, 37.2, 36.7, 24.9, 23.3, 21.7. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + K] $^+$ Calculée C $_{22}$ H $_{24}$ BrKN $_3$ O $^+$ 512.05882 et 514.05662, Trouvée 512.05981 et 514.05823. Pureté HPLC : 86.5%

Voie de synthèse n° 2

1 $^{\text{ère}}$ étape : synthèse du composé **11** (voir PARTIE 1)

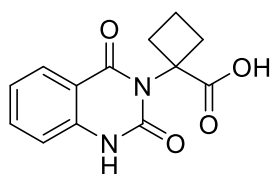
2 $^{\text{ème}}$ étape :

Le composé **11** (1 eq) et le chlorhydrate de l'ester méthylique de l'acide aminé adéquate **23** (1.01 eq) sont dissous dans la pyridine (0.1 mol/L). Le mélange est laissé sous agitation, à 120°C, sous atmosphère inerte (N $_2$) pendant 18h. Lorsque la réaction est terminée, le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est dissous dans de l'acétate d'éthyle et est lavé 2 fois avec une solution d'HCl 1N, puis avec une solution de NaHCO $_3$ et enfin avec une solution de NaCl sat. La phase organique est séchée sur MgSO $_4$ et concentrée sous vide pour donner le produit **30**.

3 $^{\text{ème}}$ étape :

L'ester **30** est dissous dans du méthanol anhydre (0.15 mol/L), puis de l'hydroxyde de sodium (11.5 eq) est ajouté au mélange qui est laissé sous agitation à 70°C, sous atmosphère inerte pendant 18h. Lorsque la réaction est terminée, le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu est dissous dans l'acétate d'éthyle. La phase organique est alors lavée 3 fois avec une solution aqueuse d'HCl, puis avec une solution de NaCl saturée. Enfin la phase organique est séchée sur MgSO $_4$ et concentrée sous vide pour donner l'acide carboxylique **26**.

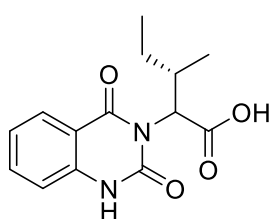
Acide 1-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)cyclobutane-1-carboxylique (26ac)



^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) : δ 12.81 (sl, 1H, OH), 11.27 (sl, 1H, NH), 7.97 (dd, $J = 7.9$ et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.64 (ddd, $J = 8.4$, 7.3 et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.18 (ddd, $J = 8.1$, 7.1 et 0.9 Hz, 1H, ArH), 7.16 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 2.73 (m, 2H, CH_2), 2.63 (m, 2H, CH_2), 2.16 (m, 1H, CH_2), 1.74 (m, 1H, CH_2), ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO- d_6) : δ 173.8, 161.8, 149.6, 139.4, 134.9, 127.2, 122.4, 114.9, 114.5, 62.5, 33.3, 16.5. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_4^+$ 261.08698, Trouvée 261.08721.

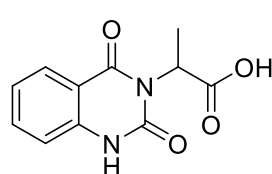
Acide

(3S)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylpentanoïquecarboxylique (26ad)



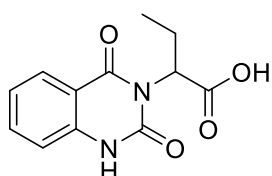
^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) : présence 2 dia ratio 0.5/1 δ 7.78 (m, 1H, ArH, dia 1 + dia 2), 7.29 (m, 1H, ArH, dia 1 + dia 2), 6.96 (m, 1H, ArH, dia 1 + dia 2), 6.75 (m, 1H, ArH, dia 1 + dia 2), 4.94 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H, CH, dia 1), 4.94 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H, CH, dia 2), 1.11 (m, 2H, CH_2 , dia 1), 1.04 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, CH_3 , dia 2), 0.88 (t, $J = 7.0$, 3H, dia 1), 0.82 (m, 2H, CH_2 , dia 2), 0.68 (t, 7.0, 3H, dia 2), 0.52 (d, d, $J = 6.4$ Hz, 3H, CH_3 , dia 1). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO- d_6) : 171.2 (dia 1), 171.1 (dia 2), 162.3 (dia 1 + dia 2), 150.4 (dia 1 + dia 2), 139.9 (dia 1 + dia 2), 136.0 (dia 1 + dia 2), 128.1 (dia 1 + dia 2), 123.4 (dia 1 + dia 2), 115.7 (dia 1 + dia 2), 113.6 (dia 1 + dia 2), 58.0 (dia 1), 56.6 (dia 2), 33.3 (dia 2), 33.1 (dia 1), 28.3 (dia 2), 25.1 (dia 1), 18.5 (dia 1), 15.0 (dia 2), 11.6 (dia 2), 11.3 (dia 1). HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_4^+$ 277.11828, Trouvée 277.11863

Acide 2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)propanoïque (26ae)



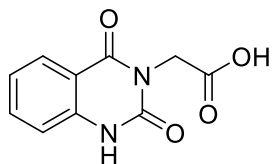
^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) : δ 12.51 (sl, 1H, OH), 11.55 (s, 1H, NH), 7.93 (dd, $J = 8.2$ et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.69 (ddd, $J = 8.2$, 7.3 et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.23 (ddd, $J = 8.2$, 7.3 et 0.9 Hz, 1H, ArH), 7.20 (dd, $J = 8.2$ et 0.9 Hz, 1H, ArH), 5.40 (q, $J = 7.0$ Hz, 1H, CH), 1.46 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO- d_6) : δ 171.3, 161.4, 149.5, 139.4, 135.3, 127.5, 122.8, 115.2, 113.6, 48.6, 14.29. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_4^+$ 235.07133, Trouvée 235.07138.

Acide 2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)butanoïque (26af)



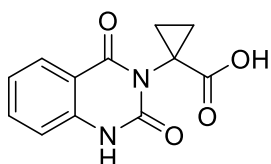
^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) : δ 12.60 (sl, 1H, OH), 11.55 (s, 1H, NH), 7.93 (dd, $J = 7.8$ et 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.69 (ddd, $J = 8.2$, 7.3 et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.23 (m, 2H, ArH), 5.26 (dd, $J = 9.6$ et 5.0 Hz, 1H, CH), 2.14 (m, 1H, CH_2), 2.0 (m, 1H, CH_2), 0.81 (t, $J = 7.5$, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO- d_6) : δ 171.0, 161.8, 149.9, 139.5, 135.4, 127.6, 122.8, 115.2, 113.4, 54.4, 21.3, 10.8. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_4^+$ 249.08698, Trouvée 249.08728.

Acide 2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)acétique (26ag)



^1H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) : δ : 12.86 (s, 1H, OH), 11.51 (s, 1H, N-H), 7.95 (dd, $J = 7.9$ et 0.8 Hz, 1H, HAr), 7.69 (ddd, $J = 8.8, 7.9$ et 1.3 Hz, 1H, HAr), 7.24 (m, 2H, ArH), 4,57 (s, 2H, CH₂). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO-d₆) : δ 169.1, 161.5, 149.7, 139.3, 135.2, 127.3, 122.6, 115.2, 113.3, 41.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_4^+$ 221.05568, Trouvée 221.05459

Acide 1-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)cyclopropane-1-carboxylique (26ah)



^1H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) : 11.36 (m, 1H, NH) 7.92 (m, 1H, ArH), 7.65 (m, 1H, ArH), 7.19 (q, 2H, ArH), 1.69 (m, 2H, CH₂), 1.34 (m, 2H, CH₂). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) : 72.6, 162.5, 150.3, 139.7, 135.1, 127.4, 122.5, 115, 114.1, 59.8, 18.6. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_4^+$ 247.07133, Trouvée 247.07137

4^{ème} étape :

L'acide carboxylique **26** est couplé à l'amine **27** via l'un des couplages peptidiques décrits précédemment.

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-hydroxyphényl)-3-méthylbutanamide (28aab)

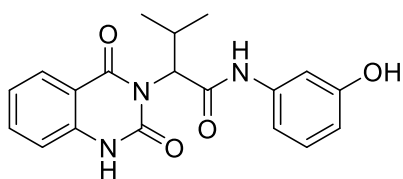
La 4^{ème} étape de couplage peptidique permettant d'obtenir le composé **31** est réalisée avec l'aniline **27b** protégée par un groupement TBDMS. Puis une 5^{ème} étape de déprotection est nécessaire pour obtenir le composé **28aab**.

Protection de **27b** :

La 3-aminobenzophénol (1eq) est dissoute dans du DCM (0.3 mol/L) puis du TBDMSCl (2.1 eq) et de l'imidazole (1.1 eq) sont ajoutés. Le milieu réactionnel est agité pendant 48h. Le milieu réactionnel est ensuite dissous dans du DCM. La phase organique est alors lavée 3 fois avec une solution aqueuse de NH_4Cl sat puis avec H_2O et finalement avec une solution de NaCl sat. La phase organique est ensuite séchée sur MgSO_4 et concentrée sous vide.

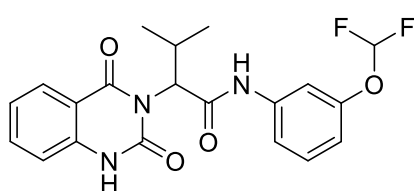
5^{ème} étape de déprotection :

Le produit **31** (1eq) est dissous dans du THF anhydre (0.1 mol/L) puis du TBAF (6.7 eq) est ajouté. Le milieu réactionnel est agité pendant 7h. Lorsque la réaction est terminée, le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu est dissous dans l'acétate d'éthyle. La phase organique est alors lavée 3 fois avec une solution aqueuse de NH_4Cl sat. La phase organique est ensuite séchée sur MgSO_4 et concentrée sous vide pour donner le composé désiré qui est purifié par chromatographie sur Puriflash 4250 Interchim[®] afin d'obtenir **28aab** pur.



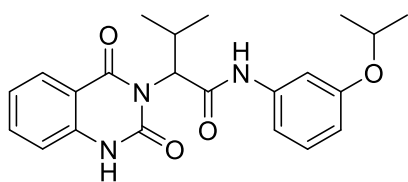
Couplage peptidique méthode A, rdt (5 étapes +1) 29 % (30.0 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.48 (sl, 1H, NH), 9.40 (sl, 1H, NH or OH), 9.26 (sl, 1H, NH or OH), 7.95 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.68 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.21 (m, 2H, ArH), 7.09 (t, $J = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 7.00 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 8.87 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.42 (dd, $J = 1.5$ et 8.0 Hz, 1H, ArH), 4.99 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, CH), 2.73 (m, 1H, CH), 1.15 d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3), 0.68 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) : δ 167.2, 162.3, 157.3, 150.3, 140.1, 139.6, 135.1, 128.9, 127.7, 122.5, 115.1, 114.0, 111.3, 110.3, 107.8, 59.0, 26.5, 22.5, 18.5. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_4^+$ 354.14483, Trouvée 354.14458. Pureté HPLC : 98.7%

N-(3-(difluorométhoxy)phényl)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylbutanamide (28aac)



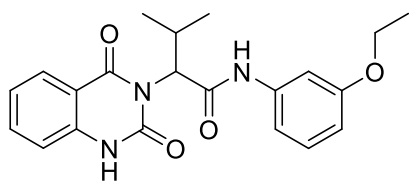
Couplage peptidique méthode D, rdt (4 étapes) 28 % (45.0 mg), solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) : δ 10.28 (s, 1H, NH), 9.03 (s, 1H, NH), 8.09 (dddd, $J = 7.9, 1.5$ et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.60 (t, $J = 7$ Hz, 1H, ArH), 7.51 (t, $J = 1.9$ Hz, 1H, ArH), 7.24 (m, 3H, ArH), 7.12 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 6.81 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 6.47 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, OCHF_2), 5.30 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H, CH), 3.10 (m, 1H, CH), 1.22 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3), 0.86 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3). ^{19}F RMN (470 MHz, DMSO- d_6) δ -80.8. ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) : δ 167.6, 163.7, 152.1, 151.8, 139.4, 138.6, 136.0, 130.1, 128.8, 124.0, 116.8, 116.0 (t $J = 259$ Hz), 115.4, 115.1, 114.2, 111.3, 64.8, 27.0, 21.0, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_4^+$ 404.14164, Trouvée 404.14162. Pureté HPLC : 96.3%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-isopropoxyphényl)-3-méthylbutanamide (28aad)



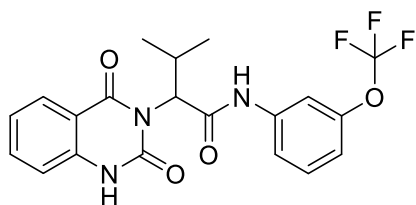
Couplage peptidique méthode D, rdt (4 étapes) 27 % (44.0 mg), solide incolore, ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) : δ 10.19 (s, 1H, NH), 8.79 (s, 1H, NH), 8.12 (dd $J = 8.1$ et 1.1 Hz, 1H, ArH), 7.60 (dddd $J = 8.3, 1.1$ et 1.1 Hz, 1H, ArH), 7.29 (m, 2H, ArH), 7.24 (t $J = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 6.99 (dd $J = 8.2$ et 1 Hz, 1H, ArH), 6.60 (dd $J = 8.1$ et 1.1 Hz, 1H, ArH), 5.30 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H, CH), 4.51 (sept, $J = 6$ Hz, 1H, OCH), 3.12 (m, 1H, CH), 1.30 (d, $J = 6$ Hz, 6H, 2 CH_3), 1.22 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_3), 0.87 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) : δ 167.1, 163.5, 158.4, 152.0, 139.0, 138.4, 135.8, 129.6, 128.7, 123.8, 115.3, 114.1, 112.0, 112.0, 107.7, 69.9, 64.7, 26.8, 22.0, 22.0, 20.9, 19.1. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{FN}_3\text{O}_4^+$ 387.15415, Trouvée 387.15393. Pureté HPLC : 99.0%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-éthoxyphényl)-3-méthylbutanamide(28aae)



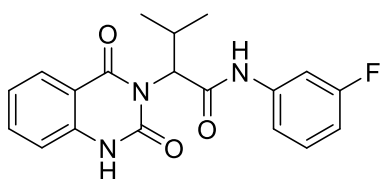
Couplage peptidique méthode D, rdt (4 étapes) 15 % (28.0 mg), solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) : 10.49 (s, 1H, NH), 8.86 (s, 1H, NH), 8.08 (d, $J = 7.8\text{Hz}$, 1H, ArH), 7.57 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H, ArH), 7.20 (m, 4H, ArH), 6.98 (d, $J = 7.5\text{ Hz}$, 1H, ArH), 6.59 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H, ArH), 5.30 (d, $J = 10.8\text{ Hz}$, 1H, CH), 3.96 (q, $J = 6.5\text{ Hz}$, 2H, OCH_2), 3.10 (m, 1H, CH), 1.36 (t, $J = 7\text{ Hz}$, 3H, CH_3), 1.23 (d, $J = 6.6\text{ Hz}$, 3H, CH_3), 0.87 (d, $J = 6.6\text{ Hz}$, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) : δ 167.4, 163.7, 159.6, 152.2, 139.1, 138.7, 135.9, 129.7, 128.7, 123.9, 115.5, 114.2, 112.2, 110.9, 106.4, 64.6, 63.6, 26.9, 21.1, 19.2, 14.9. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_4^+$ 382.17613, Trouvée 382.17546. Pureté HPLC : 97.8%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthyl-N-(3-(trifluorométhoxy)phényl)butanamide (28aaf)



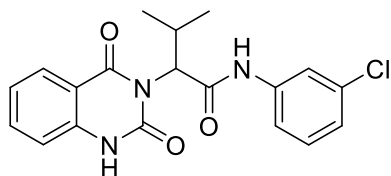
Couplage peptidique méthode D, rdt (4 étapes) 13 % (22.0 mg), solide incolore, ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) : 10.43 (s, 1H, NH), 9.11 (s, 1H, NH), 8.08 (d, $J = 7.9\text{Hz}$, 1H, ArH), 7.59 (d, $J = 8.7\text{ Hz}$, 2H, ArH), 7.38 (d, $J = 7.9\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.27 (d, $J = 7.1\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.21 (d, $J = 7.2\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.15 (d, $J = 7.6\text{ Hz}$, 1H, ArH), 6.90 (d, $J = 6.9\text{ Hz}$, 1H, ArH), 5.31 (d, $J = 10.7\text{ Hz}$, 1H, CH), 3.10 (m, 1H, CH), 1.20 (d, $J = 6.3\text{ Hz}$, 3H, CH_3), 0.85 (d, $J = 6.3\text{ Hz}$, 3H, CH_3). ^{19}F RMN (470 MHz, CDCl_3) δ -57.7. ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) : 167.6, 163.7, 152.0, 149.4, 139.2, 138.5, 135.9, 129.9, 128.5, 123.9, 120.3(q, $J = 257\text{ Hz}$), 118.1, 116.3, 115.3, 114.0, 112.9, 64.5, 26.7, 20.8, 19.0. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_4^+$ 422.13222, Trouvée 422.13161. Pureté HPLC : 92.2%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-fluorophényl)-3-méthylbutanamide (28aag)



Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 10 % (6.3 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : 9.00 (s, 1H, NH), 8.13 (d, $J = 7.9\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.63 (ddt, $J = 8.8, 7.5\text{ et }1.5\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.52 (dt, $J = 10.9\text{ et }2.0\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.18 (m, 4H, ArH), 6.76 (td, $J = 8.2\text{ et }2.0\text{ Hz}$, 1H, ArH), 5.29 (d, $J = 11.0\text{ Hz}$, 1H, CH), 3.11 (m, 1H, CH), 1.21 (d, $J = 6.7\text{ Hz}$, 3H, CH_3), 0.87 (d, $J = 6.7\text{ Hz}$, 3H, CH_3). ^{19}F RMN (470 MHz, CDCl_3) δ -111.5. ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : 167.4, 163.7, 163.1 (d, $J = 244.4\text{ Hz}$), 151.9, 139.6 (d, $J = 11.0\text{ Hz}$), 138.5, 136.0, 130.1 (d, $J = 9.2\text{ Hz}$), 129.0, 124.1, 115.4 (d, $J = 2.5\text{ Hz}$), 115.3, 114.3, 111.2 (d, $J = 21.3\text{ Hz}$), 107.6 (d, $J = 26.2\text{ Hz}$), 65.1, 26.9, 20.9, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3^+$ 356.1405, Trouvée 356.14029. Pureté HPLC : 98.6%

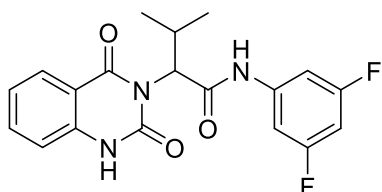
N-(3-chlorophényl)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylbutanamide (28aah)



Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 27 % (41.7 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : 8.98 (s, 1H, NH), 8.68 (s, 1H, NH), 8.17 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 7.65 (m, 2H, ArH), 7.40 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 7.30 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 7.21 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 7.06 (m, 2H, ArH), 5.30 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H, CH), 3.12 (m, 1H, CH), 1.21 (d, $J = 6.5$

Hz, 3H, CH_3), 0.88 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : 167.55, 163.71, 152.10, 139.12, 138.57, 136.04, 134.68, 130.01, 128.82, 124.44, 124.06, 120.25, 118.14, 115.42, 114.22, 64.74, 26.90, 20.97, 19.22. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{ClN}_3\text{O}_3^+$ 372.11095 et 374.10872, Trouvée 372.1103 et 374.10861. Pureté HPLC : 96.3%

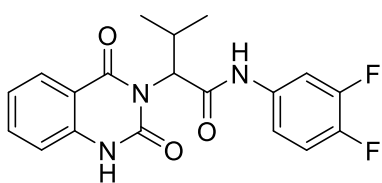
N-(3,5-difluorophényl)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylbutanamide(28aai)



Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 43 % (63.9 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, DMSO-d_6) : 11.55 (s, 1H, NH), 9.83 (s, 1H, NH), 7.95 (dd, $J = 8.0$ et 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.70 (ddd, $J = 8.6$, 7.4 et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.31 (m, 2H, ArH), 7.23 (m, 2H, ArH), 6.76 (tt, $J = 9.2$ et 2.3 Hz, 1H, ArH), 5.04 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, CH), 2.70 (m, 1H, CH),

1.14 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3), 0.67 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3). ^{19}F RMN (470 MHz, DMSO-d_6) δ -109.9 ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO-d_6) : 168.0, 162.3, 162.2 (dd, $J = 242.7$ et 15.1 Hz), 162.2 (dd, $J = 242.7$ et 15.1 Hz), 150.2, 141.7 (t, $J = 13.7$ Hz), 139.6, 135.3, 127.7, 122.7, 115.3, 113.8, 102.7 (dd, $J = 22.4$ et 7.1 Hz), 102.7 (dd, $J = 22.4$ et 7.1 Hz), 98.2 (t, $J = 26.1$ Hz), 58.8, 26.6, 22.3, 18.4. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3^+$ 374.13107, Trouvée 374.13116. Pureté HPLC : 98.7%

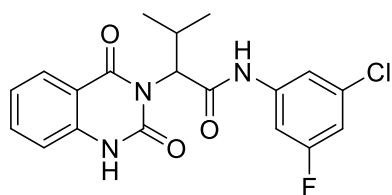
N-(3,4-difluorophényl)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylbutanamide (28aaj)



Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 40 % (56.8 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : 9.87 (sl, 1H, NH), 9.04 (sl, 1H, NH), 8.12 (dt, $J = 8.0$ et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.64 (m, 2H, ArH), 7.26 (dt, $J = 7.5$ et 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.07 (m, 3H, ArH), 5.29 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H, CH), 3.09 (m, 1H,

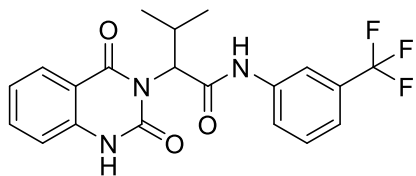
CH), 1.19 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, CH_3), 0.86 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3). ^{19}F RMN (470 MHz, CDCl_3) δ -135.8 (d, $J = 20.8$ Hz), -142.7 (d, $J = 20.8$ Hz). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : 167.4, 163.7, 152.0, 150.2 (dd, $J = 247.1$ et 13.3 Hz), 147.1 (dd, $J = 245.5$ et 13.3 Hz), 138.5, 136.1, 134.5 (dd, $J = 9.17$ et 3.3 Hz), 128.9, 124.1, 117.2 (d, $J = 18.5$ Hz), 115.3, 114.2, 115.7 (dd, $J = 5.1$ et 3.1 Hz), 109.9 (d, $J = 22.1$ Hz), 65.0, 26.9, 20.9, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3^+$ 374.13107, Trouvée 374.12978. Pureté HPLC : 99.1%

N-(3-chloro-5-fluorophényl)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylbutanamide (28aak)



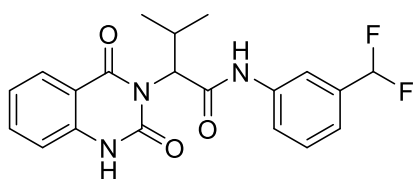
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 40 % (64.7 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 9.93 (s, 1H, NH), 9.15 (sl, 1H, NH), 8.10 (d, $J = 8.03$ Hz, 1H, ArH), 7.64 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.38 (dt, $J = 10.5$ et 2.0 Hz, 1H, ArH), 7.27 (m, 2H, ArH), 7.12 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 6.77 (dt, $J = 8.2$ et 2.0 Hz, 1H, ArH), 5.29 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H, CH), 3.09 (m, 1H, CH), 1.19 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3), 0.86 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3). ^{19}F RMN (470 MHz, DMSO-d_6) δ -109.8. ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : 167.6, 163.8, 162.9 (d, $J = 247.4$ Hz), 151.2, 140.0 (d, $J = 12.1$ Hz), 138.5, 139.2, 135.2 (d, $J = 12.5$ Hz), 128.9, 124.2, 115.7 (d, $J = 2.7$ Hz), 115.3, 114.2, 111.9 (d, $J = 25.2$ Hz), 105.9 (d, $J = 26.2$ Hz), 65.1, 26.9, 20.8, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{ClFN}_3\text{O}_3^+$ 390.10152 et 392.09857, Trouvée 390,10173 et 392,09936. Pureté HPLC : 98.8%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthyl-N-(3-(trifluorométhyl)phényl)butanamide (28aal)



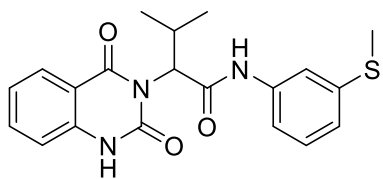
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 44 % (35.0 mg), solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) : δ 10.14 (s, 1H, -NH-), 9.06 (s, 1H, -NH-), 8.04 (m, 1H, ArH), 7.78 (s, 1H, ArH), 7.64 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.53 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.31 (m, 1H, ArH), 7.31 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.16 (m, 1H, ArH), 7.05 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 5.25 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H, CH), 3.04 (m, 1H, CH), 1.12 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3), 0.80 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3). ^{19}F RMN (470 MHz, CDCl_3) : δ -62.73. ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) : δ 167.8, 163.7, 152.1, 138.6, 138.6, 136.1, 131.4 (q, $J = 32.4$ Hz), 129.6, 128.8, 124.1, 123.9 (q, $J = 278.5$ Hz), 123.2, 121.0, 116.9, 115.4, 114.2, 64.8, 26.9, 21.0, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_3^+$ 406.1373, Trouvée 406.13702. Pureté HPLC : 98.8%

N-(3-(difluorométhyl)phényl)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylbutanamide (28aam)



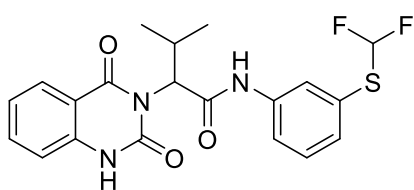
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 24 % (35.0 mg), solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) : δ 10,48 (s, 1H, NH), 9,11(s, 1H, NH), 8,08 (t, 1H, ArH), 7,75 (s, 1H, ArH), 7,61 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, ArH), 7,57 (m, 1H, ArH), 7,33 (t, $J = 7,9$ Hz et $J = 7,9$ Hz, 1H, ArH), 7,20 (m, 2H, ArH), 7,12 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, ArH), 6,55 (t, $J = 56,5$ Hz, 1H, CHF_2), 5,33 (d, $J = 10,7$ Hz, 1H, CH), 3,11 (m, 1H, CH), 1,21 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H, CH_3), 0,85 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H, CH_3). ^{19}F RMN (470 MHz, CDCl_3) : δ -110.74. ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) : δ 167.8, 163.75, 152.18, 138.67, 138.42, 135.95, 135.23 (t, $J = 22$ Hz), 129.49, 128.68, 123.95, 122.30, 121.32 (t, $J = 6.0$ Hz), 117.36 (t, $J = 6.0$ Hz), 115.46, 114.51 (t, $J = 240.0$ Hz), 114.16, 64.47, 26.93, 21.05, 19.18. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3^+$ 388.14672, Trouvée 388.14635. Pureté HPLC : 96.0%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthyl-N-(3-(méthylthio)phényl)butanamide (28aan)



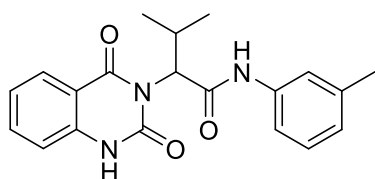
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 30 % (47.4 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 9.63 (sl, 1H, NH), 8.83 (sl, 1H, NH), 8.15 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.64 (tt, $J = 1.3$ et 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.58 (t, $J = 1.3$, 1H, ArH), 7.25 (m, 2H, ArH), 7.18 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.10 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.96 (dt, $J = 1.3$ et 8.0 Hz, 1H, ArH), 5.32 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H, CH), 3.13 (m, 1H, CH), 2.45 (s, 3H, SCH_3) 1.23 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_3), 0.89 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 167.3, 163.6, 151.9, 139.7, 138.5, 138.4, 136.0, 129.3, 129.0, 124.1, 122.4, 117.7, 116.6, 115.2, 114.3, 65.0, 26.9, 21.0, 19.3, 15.8. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}^+$ 384.13764, Trouvée 384.13721. Pureté HPLC : 99.7%

N-(3-((difluorométhyl)thio)phényl)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylbutanamide (28aao)



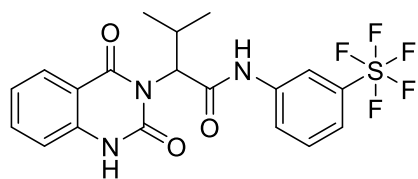
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 5 % (8.3 mg), solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) : δ 10.27 (sl, 1H, NH), 9.03 (sl, 1H, NH), 8.10 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 7.77 (s, 1H, ArH), 7.60 (m, 2H, ArH), 7.25 (m, 3H, ArH), 7.13 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 6.78 (t, $J = 57.2$ Hz, 1H, CHF_2), 5.31 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H, CH), 3.11 (m, 1H, CH), 1.21 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3), 0.86 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3). ^{19}F RMN (470 MHz, CDCl_3) : δ -92.27 ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) : δ 167.68, 163.73, 152.14, 138.82, 138.61, 136.04, 130.88, 129.90, 128.79, 126.95, 126.34, 124.03, 121.48, 121.12 (t, $J = 275$ Hz), 115.43, 114.20, 64.61, 26.91, 21.02, 19.20. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{S}^+$ 420.1188, Trouvée 420.11832. Pureté HPLC : 97.7%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthyl-N-(m-tolyl)butanamide (28aap)



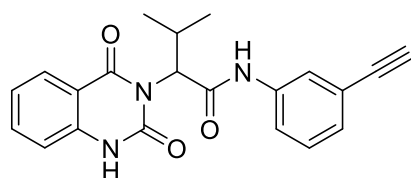
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 25 % (36.4 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.27 (sl, 1H, NH), 8.77 (sl, 1H, NH), 8.12 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.60 (tt, $J = 1.9$ et 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.40 (s, 1H, ArH), 7.32 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.24 (m, 2H, ArH), 7.15 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.88 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 5.31 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H, CH), 3.13 (m, 1H, CH), 2.28 (s, 3H, CH_3) 1.23 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_3), 0.87 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 167.6, 163.9, 152.4, 139.2, 138.9, 138.1, 136.2, 129.1, 129.0, 125.5, 124.2, 121.0, 117.5, 115.7, 114.5, 65.0, 22.2, 21.8, 21.3, 19.5. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_3^+$ 352.16557, Trouvée 352.16539. Pureté HPLC : 96.2%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthyl-N-(3-(pentafluoro-λ⁶-sulfanyl)phényl)butanamide (28aaq)



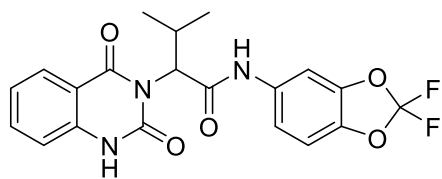
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 22 % (37.0 mg), solide incolore, ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) : δ 9.52 (s, 1H, -NH-), 9.08 (s, 1H, -NH-), 8.07 (d, J=7.1 Hz, 1H, ArH), 7.90 (s, 1H, ArH), 7.66 (d, J = 6.8 Hz, 1H, ArH), 7.57 (s, 1H, HAr), 7.37 (s, 1H, ArH), 7.27 (d, J = 7.7 Hz, 1H, HAr), 7.19 (m, 1H, ArH), 7.03 (d, J = 7.6 Hz, 1H, ArH), 5.25 (d, J = 10,7 Hz, 1H, CH), 3.05 (m, 1H, CH), 1.14 (d, J = 5.2 Hz, 3H, CH₃), 0.80 (d, J = 5.3 Hz, 3H, CH₃). ¹⁹F RMN (470 MHz, CDCl₃) -84.2 (q, J = 150.0), -62.7 (d, J = 150.0), ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) : δ 167.7, 163.7, 151.9, 138.4, 136.1, 134.9, 129.1, 128.1, 124.2, 123.1, 121.7, 117.8, 115.2, 114.3, 65.0, 26.9, 20.7, 19.01, (+1C quaternaire). HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₉H₁₉F₅N₃O₃S⁺ 464.10618, Trouvée 464.1062. Pureté HPLC >99.9%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-éthynylphényl)-3-méthylbutanamide (28aar)



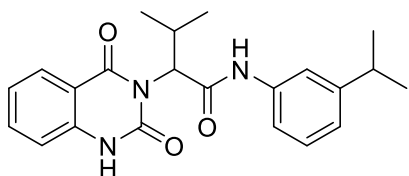
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 15 % (11.2mg), solide incolore, ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) : δ 9.71 (s, 1H, NH), 8.93 (s, 1H, NH), 8.16 (d, J=7.8Hz, 1H, ArH), 7.70 (m, 2H, ArH), 7.68 (s, 1H, CH≡C), 7.60 (d, J = 7.9Hz, 1H, ArH), 7.27 (m, 3H, ArH), 7.13 (d, J = 8.1 Hz, 1H, ArH), 5.32 (d, J = 10.9 Hz, 1H, CH), 3.13 (m, 1H, CH), 1.23 (d, J = 6.5Hz, 3H, CH₃), 0.89 (d, J = 6.6 Hz, 3H, CH₃). ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) : δ 167.4, 163.7, 151.9, 138.5, 138.0, 136.0, 129.1, 129.0, 128.1, 124.1, 123.5, 122.9, 120.7, 115.2, 114.3, 83.3, 77.5, 65.0, 26.9, 20.9, 19.3. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₂₁H₂₀N₃O₃⁺ 362.14992, Trouvée 362.14976. Pureté HPLC >99.9%

N-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylbutanamide (28aas)



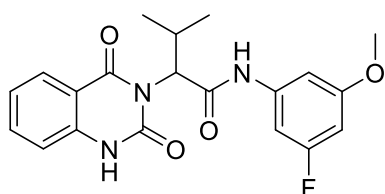
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 22 % (34.3 mg), solide incolore, ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) : δ 11,55 (s, 1H, NH), 9,74 (s, 1H, NH), 7,96 (d, J = 7,6 Hz, 1H, ArH), 7,69 (m, 2H, ArH), 7,30 (d, J = 8,6 Hz, 1H, ArH), 7,23(m, 3H, ArH), 5,30 (d, J = 8,6 Hz, 1H, CH), 2,72 (m, 1H, CH), 1,15 (d, J=6,4 Hz, 3H, CH₃), 0,68 (d, J =7,0 Hz, CH₃). ¹⁹F RMN (470 MHz, CDCl₃) δ - 49.2. ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) : 167.7, 162.3, 150.2, 142.4, 139.7, 138.3, 135.7, 131.3, 127.7, 122.6, 115.9, 115.2, 113.9, 109.7, 103.2, 58.8, 26.5, 22.4, 18.5. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₂₀H₁₈F₂N₃O₅⁺ 418.12090, Trouvée 418.12039. Pureté HPLC : 99.5%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-isopropylphényl)-3-méthylbutanamide (28aat)



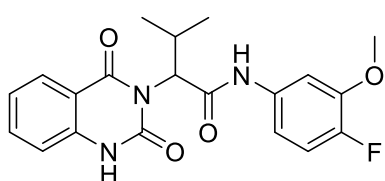
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 30 % (28.2 mg), solide incolore, ¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) : 11.49 (s, 1H, NH), 9.50 (s, 1H, NH), 7.94 (d, J = 7.8 Hz, 1H, ArH), 7.68 (ddd, J = 8.5, 7.8 et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.37 (d, 7.8 Hz, 1H, ArH), 7.34 (t, J = 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.21 (m, 2H, ArH), 7.16 (t, J = 7.8 Hz, 1H, ArH), 6.90 (d, J = 7.8 Hz, 1H, ArH), 5.01 (t, J = 9.0 Hz, 1H, CH), 2.80 (m, 1H, CH), 2.74 (m, 1H, CH), 1.17 (d, J = 2.2 Hz, 3H, 3 CH₃), 1.15 (d, J = 2.2 Hz, 3H, 3 CH₃), 1.14 (d, J = 6.8 Hz, 3H, 3 CH₃), 0.67 (d, J = 6.8 Hz, 3H, CH₃). ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) : 167.8, 162.4, 150.4, 148.6, 139.0, 135.1, 128.2, 128.2, 127.7, 122.4, 121.2, 118.4, 118.2, 115.3, 114.0, 59.0, 33.5, 26.5, 23.9, 23.9, 22.5, 18.5. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₂₂H₂₆N₃O₃⁺ 380.19687, Trouvée 380.19667. Pureté HPLC : 95.1%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-fluoro-5-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (28aau)



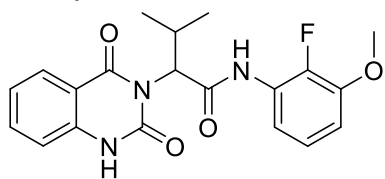
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 42 % (66 mg), solide incolore, ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) : δ 10.26 (s, 1H, NH), 8.96 (sl, 1H, NH), 8.09 (m, 1H, HAr), 7.60 (t, J = 7.4 Hz, 1H, ArH), 7.22 (m, 1H, ArH), 7.12 (d, J = 8.2 Hz, 1H, ArH), 6.92 (m, 2H, HAr), 6.31 (dt, J = 10.4 et 2.1 Hz, 1H, ArH), 5.28 (d, J = 11.3 Hz, 1H, CH), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.08 (m, 1H, CH), 1.20 (d, J = 6.5 Hz, 3H, CH₃), 0.85 (d, J = 6.7 Hz, 3H, CH₃). ¹⁹F RMN (470 MHz, DMSO-d₆) δ -110.8. ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) : δ 168.0, 163.7 (d, J = 240.7 Hz), 163.2, 161.2 (d, J = 13.0 Hz), 152.1, 139.9 (d, J = 13.7 Hz), 138.7, 136.0, 128.2, 124.0, 115.4, 114.2, 101.4, 99.8 (d, J = 26.6 Hz), 97.9 (d, J = 25.2 Hz), 64.7, 55.7, 26.9, 21.0, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₂₀H₂₁FN₃O₄⁺ 387.15415, Trouvée 387.15393. Pureté HPLC : 99.4%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(4-fluoro-3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (28aav)



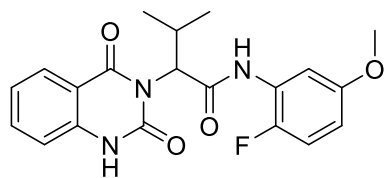
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 27 % (41.7 mg), solide incolore, ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) : δ 10.27 (sl, 1H, NH), 8.91 (sl, 1H, NH), 8.11 (d, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.60 (tt, J = 1.5 et 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.54 (d, J = 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.24 (tt, J = 1.5 et 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.13 (d, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 6.94 (dd, J = 9.0 et 10.6 Hz), 6.82 (dt, J = 3.0 et 8.5 Hz, 1H, ArH), 5.30 (d, J = 10.9 Hz, 1H, CH), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.11 (m, 1H, CH), 1.23 (d, J = 6.6 Hz, 3H, CH₃), 0.87 (d, J = 6.6 Hz, 3H, CH₃). ¹⁹F RMN (470 MHz, CDCl₃) δ -139.8. ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) : 167.4, 163.7, 152.2, 149.2 (d, J = 242.9 Hz), 147.7 (d, J = 11.1 Hz), 138.6, 135.9, 134.4 (d, J = 2.8 Hz), 128.8, 124.0, 115.8 (d, J = 19.3 Hz), 115.4, 114.2, 111.8 (d, J = 6.5 Hz), 106.3, 64.8, 56.3, 26.9, 21.0, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₂₀H₂₁FN₃O₄⁺ 386.15106, Trouvée 386.1506. Pureté HPLC : 98.8%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(2-fluoro-3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (28aaw)



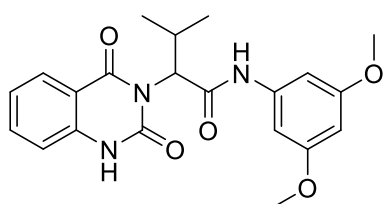
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 35 % (54.4 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.57 (sl, 1H, NH), 8.89 (sl, 1H, NH), 8.15 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 7.85 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 7.61 (td, $J = 1.2$ et 7.8 Hz, 1H, ArH), 7.25 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 7.14 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.97 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.85 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 5.38 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H, CH), 3.81 (s, 3H, OCH_3), 3.14 (m, 1H, CH), 1.26 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3), 0.89 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3). ^{19}F RMN (470 MHz, CDCl_3) δ -152.3. ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : 167.5, 163.2, 152.5, 147.4 (d, $J = 8.8$ Hz), 143.0 (d, $J = 243.2$ Hz), 138.6, 135.9, 128.8, 127.2 (d, $J = 7.8$ Hz), 124.0, 123.9 (d, $J = 5.0$ Hz), 115.5, 114.2, 114.1, 108.7, 64.3, 56.4, 27.0, 21.1, 19.3. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{FN}_3\text{O}_4^+$ 386.15106, Trouvée 386.15088. Pureté HPLC : 99.6%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(2-fluoro-5-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (28aax)



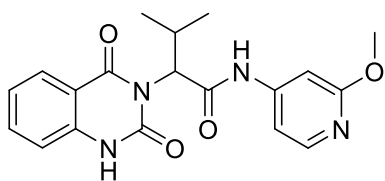
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 25 % (39.2 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.51 (sl, 1H, NH), 8.99 (sl, 1H, NH), 8.17 (dd, $J = 0.8$ et 7.7 Hz, 1H, ArH), 8.02 (dd, $J = 3.0$ et 6.8 Hz, 1H, ArH), 7.63 (td, $J = 1.4$ et 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.27 (td, $J = 0.8$ et 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.15 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.93 (dd, $J = 9.0$ et 10.5 Hz, 1H, ArH), 6.52 (dt, $J = 3.0$ et 9.0 Hz, 1H, ArH), 5.37 (d, $J = 10.9$, 1H, CH), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 3.15 (m, 1H, CH), 1.26 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3), 0.91 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3). ^{19}F RMN (470 MHz, CDCl_3) δ -140.85. ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : 167.4, 163.2, 156.0 (d, $J = 1.8$ Hz), 152.6, 147.0 (d, $J = 236.1$ Hz), 138.6, 135.9, 129.0, 126.8 (d, $J = 11.5$ Hz), 124.1, 115.5, 115.1, 114.9, 114.3, 109.9 (d, $J = 7.4$ Hz), 106.6, 64.6, 27.0, 21.1, 19.3. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{FN}_3\text{O}_4^+$ 386.15106, Trouvée 386.15059. Pureté HPLC : 99.2%

N-(3,5-diméthoxyphényl)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylbutanamide (28aay)



Couplage peptidique méthode D, rdt (4 étapes) 37 % (59 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 9.53 (s, 1H, ArH), 8.73 (s, 1H, ArH), 7.99 (m, 1H, ArH), 7.11 (m, 1H, ArH), 7.02 (dd, $J = 8.1$ et 2.7 Hz, 1H, ArH), 6.68 (s, 2H, ArH), 6.08 (s, 2H, ArH), 5.19 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H, CH), 3.60 (s, 6H, OCH_3), 2.99 (m, 1H, CH), 1.12 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3), 0.75 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 167.5, 163.6, 161.1, 152.1, 139.7, 138.7, 135.9, 128.7, 123.9, 115.5, 114.2, 98.4, 97.0, 64.6, 55.5, 55.5, 26.9, 21.1, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_5^+$ 398.17105, Trouvée 398.17101. Pureté HPLC : 97.6%

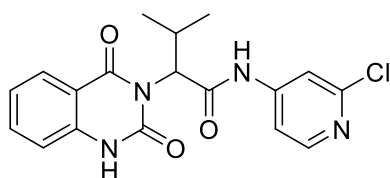
2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(2-méthoxy-pyridin-4-yl)-3-méthylbutanamide (28aaz)



Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 16 % (24 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : 9.48 (s, 1H, NH-), 9.11 (s, 1H, NH), 8.16 (d, $J=7.9\text{Hz}$, 1H, ArH), 8.02 (d, $J=5.7\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.67 (m, 1H, ArH), 7.28 (m, 1H, ArH), 7.11 (d, $J=8.2\text{Hz}$, 1H, ArH), 7.06 (d, $J=1.6\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.01 (dd, $J=5.8$ et 1.8Hz , 1H, ArH), 5.30 (d, $J=11.0\text{ Hz}$, 1H, CH),

3.90 (s, 3H, OCH_3), 3.11 (m, 1H, CH), 1.21 (d, $J=6.6\text{ Hz}$, 3H, CH_3), 0.89 (d, $J=6.6\text{ Hz}$, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 168.0, 166.6, 163.7, 152.0, 147.7, 147.3, 138.6, 136.0, 128.8, 124.1, 115.4, 114.1, 108.6, 100.0, 64.6, 53.7, 26.8, 20.9, 19.1. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_4^+$ 369.15573, Trouvée 369.1562. Pureté HPLC >99.9%

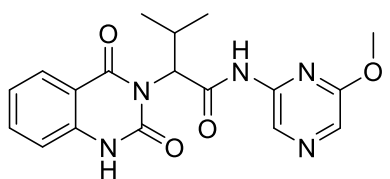
N-(2-chloropyridin-4-yl)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylbutanamide (28aaa')



Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 23 % (35.5 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.00 (s, 1H, NH), 9.43 (sl, 1H, NH), 8.18 (d, $J = 5.8\text{Hz}$, 1H, ArH), 8.10 (d, $J = 7.7\text{Hz}$, 1H, ArH), 7.65 (ddd, $J = 8.3$, 7.7 et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.63(d, $J = 1.8\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.35 (dd, $J = 5.8$ et 1.8Hz , 1H, ArH), 7.26 (m, 1H, ArH), 7.12(d, $J = 8.3\text{Hz}$, 1H, ArH),

5.29 (d, $J=10.6\text{Hz}$, 1H, CH), 3.07 (m, 1H, CH), 1.19 (d, $J = 6.6\text{Hz}$, 3H, CH_3), 0.85(d, $J = 6.6\text{Hz}$, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : 168.2, 163.7, 152.4, 151.9, 150.2, 147.2, 138.5, 136.3, 128.9, 124.3, 115.3, 114.1, 113.9, 113.0, 64.8, 26.8, 20.8, 19.1. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{ClN}_4\text{O}_3^+$ 373.10619 et 375.10324 , Trouvée 373.10636 et 375.10362. Pureté HPLC >100%

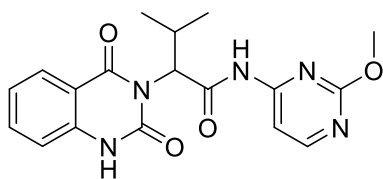
2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(6-méthoxy-pyrazine-2-yl)-3-méthylbutanamide (28aab')



Couplage peptidique méthode D, rdt (4 étapes) 16 % (28 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.55 (s, 1H, NH), 9.06 (s, 1H, NH), 8.78 (s, 1H, ArH), 8.13 (d, $J = 7.3\text{Hz}$, 1H, ArH), 7.93 (s, 1H, ArH), 7.62 (m, 1H, ArH), 7.24 (t, $J = 7.3\text{Hz}$, 1H, ArH), 7.14 (d, $J = 8.1\text{Hz}$, 1H, ArH), 5.35 (d, $J =$

10.3Hz, 1H, CH), 3.81 (s, 3H, OCH_3), 3.10 (m, 1H, CH), 1.24 (d, $J = 6.5\text{Hz}$, 3H, CH_3), 0.86 (d, $J = 6.8\text{Hz}$, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 167.2, 163.1, 158.1, 151.9, 144.9, 138.5, 135.7, 129.8, 128.7, 127.1, 123.9, 115.3, 114.0, 63.0, 53.7, 26.6, 21.1, 18.9. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_4^+$ 370.15098, Trouvée 370.15123. Pureté HPLC : 98.7%

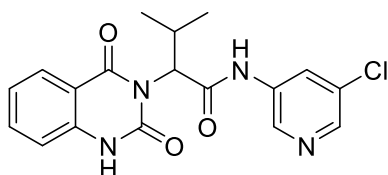
2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(2-méthoxypyrimidin-4-yl)-3-méthylbutanamide (28aac')



Couplage peptidique méthode E, rdt (4 étapes) 40 % (35,6 mg), solide incolore,

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 9.78 (sl, 1H, NH), 9.35 (sl, 1H, NH), 8.12 (dd, $J = 8.0$ et 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.89 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H, ArH), 8.39 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H, ArH), 7.62 (ddd, $J = 8.9, 7.0$ et 1.3 Hz, 1H, ArH), 7.24 (ddd, $J = 8.9, 7.0$ et 0.8 Hz, 1H, ArH), 7.17 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, ArH), 5.29 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H, CH), 3.08 (m, 1H, CH), 3.97 (s, 3H, OCH_3), 1.23 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3), 0.87 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 168.6, 165.0, 160.5, 151.7, 138.6, 135.8, 129.1, 123.9, 115.2, 114.3, 104.8, 62.8, 54.9, 26.6, 21.4, 18.9. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_4$ + 370.15098, Trouvée 370.15095. Pureté HPLC >99.9%

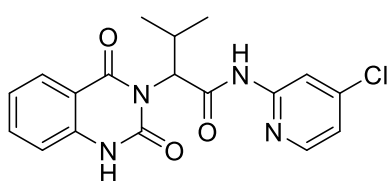
N-(5-chloropyridin-3-yl)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylbutanamide (28aad')



Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 14 % (21 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 11.57 (sl, 1H, NH), 9.90 (sl, 1H, NH), 8.62 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 8.29 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 8.14 (t, $J = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 7.96 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 7.70 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 7.24 (m,

2H, ArH), 5.09 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, CH), 2.71 (m, 1H, CH), 1.16 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3), 0.69 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : 168.4, 162.4, 150.2, 142.2, 139.7, 139.6, 136.7, 135.4, 130.4, 127.8, 126.3, 122.7, 115.2, 113.8, 58.7, 26.6, 22.3, 18.4. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{ClN}_4\text{O}_3$ + 373.10619 et 375.10392, Trouvée 373.10535 et 375.10324. Pureté HPLC : 99.6%

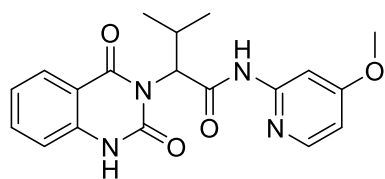
N-(4-chloropyridin-2-yl)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylbutanamide (28aae')



Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 22 % (31.2 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.83 (sl, 1H, NH), 9.59 (sl, 1H, NH), 8.36 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H, ArH), 8.10 (m, 2H, ArH), 7.60 (td, $J = 1.4$ et 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.21 (td, $J = 0.8$ et 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.10 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.02 (dd, $J = 1.8$ et 5.5 Hz, 1H, ArH), 5.32 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, CH),

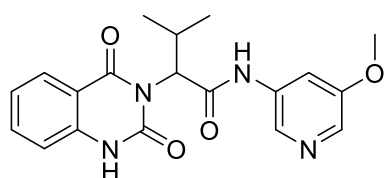
3.09 (m, 1H, CH), 1.26 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3), 0.86 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 168.4, 163.0, 152.6, 152.3, 148.0, 146.3, 138.7, 135.8, 130.0, 123.8, 120.4, 115.3, 115.1, 114.3, 62.9, 26.8, 21.5, 19.0. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{ClN}_4\text{O}_3$ + 373.10619 et 375.10392, Trouvée 373.10606 et 375.10332. Pureté HPLC : 99.5%

3H, CH₃). ¹³C RMN (125 MHz, CD₂-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(4-méthoxy-pyridin-2-yl)-3-méthylbutanamide(28aaf')



Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 13 % (19 mg), solide incolore, ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) : 11.51 (sl, 1H, NH), 9.69 (sl, 1H, NH), 8.08 (dd, J = 8.0 et 1.4 Hz, 1H, ArH), 8.02 (d, J = 6.0 Hz, 1H, ArH), 7.95 (d, J = 2.3 Hz, 1H, ArH), 7.53 (dd, J = 8.0 et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.16 (t, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.04 (d, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 6.59 (d, J = 6.0 Hz, 1H, ArH), 5.29 (d, J = 9.5 Hz, 1H, CH), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 3.12 (m, 1H, CH), 1.25 (d, J = 6.5 Hz, 3H, CH₃), 0.86 (d, J = 6.5 Hz, 3H, CH₃) : δ 168.6, 167.9, 162.9, 153.6, 152.5, 148.0, 139.0, 135.5, 128.9, 123.4, 115.0, 114.5, 108.3, 99.4, 62.9, 55.6, 26.7, 21.5, 19.0. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₉H₂₁N₄O₄⁺ 369.15573, Trouvée 369.15697. Pureté HPLC : 98.7%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(5-méthoxy-pyridin-3-yl)-3-méthylbutanamide (28aag')



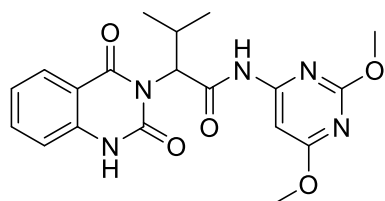
Couplage peptidique méthode A, rdt (4 étapes) 8 % (27.3 mg), solide incolore, ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) : 11.82 (sl, 1H, NH), 10.14 (sl, 1H, NH), 8.28 (s, 1H, ArH), 8.20 (s, 1H, ArH), 8.12 (d, J = 7.7 Hz, 1H, ArH), 8.02 (s, 1H, ArH), 7.60 (t, J = 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.22 (t, J = 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.13 (d, J = 7.7 Hz, 1H, ArH), 5.39 (d, J = 10.4 Hz, 1H, CH), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 3.13 (m, 1H, CH), 1.20 (d, J = 6.5 Hz, 3H, CH₃), 0.88 (d, J = 6.5 Hz, 3H, CH₃). ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) : δ 168.8, 163.2, 156.6, 152.7, 139.0, 136.7, 135.7, 132.3, 129.2, 123.8, 115.2, 114.2, 114.3, 112.0, 65.32, 55.9, 27.3, 20.7, 19.3. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₉H₂₁N₄O₄⁺ 369.15573, Trouvée 369.15611. Pureté HPLC : 98.9%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(6-méthoxy-pyridin-2-yl)-3-méthylbutanamide (28aah')



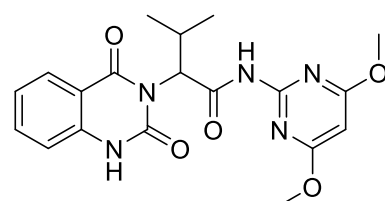
Couplage peptidique méthode A, rdt (4 étapes) 24 % (35.6 mg), solide incolore, ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) : δ 10.36 (sl, 1H, NH), 8.73 (sl, 1H, NH), 8.16 (dd, J = 1.0 et 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.81 (d, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.60 (td, J = 1.0 et 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.58 (t, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.24 (td, J = 0.5 et 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.13 (d, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 6.46 (dd, J = 0.5 et 8.0 Hz, 1H, ArH), 5.33 (d, J = 10.3 Hz, 1H, ArH), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.12 (m, 1H, CH), 1.27 (d, J = 6.5 Hz, 3H, CH₃), 0.89 (d, J = 6.5 Hz, 3H, CH₃). ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) : δ 167.4, 163.1, 163.0, 152.1, 149.3, 141.1, 138.7, 135.7, 129.0, 123.9, 115.4, 114.3, 106.3, 105.4, 63.2, 53.8, 26.7, 21.5, 19.1. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₉H₂₁N₄O₄⁺ 369.15573, Trouvée 369.15553. Pureté HPLC : 99.5%

N-(2,6-diméthoxypyrimidin-4-yl)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylbutanamide (28aai')



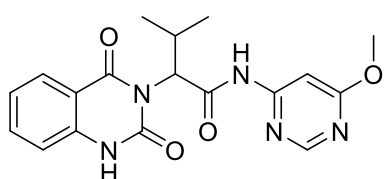
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 15 % (24.6 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.90 (sl, 1H, NH), 9.54 (sl, 1H, NH), 8.10 (dd, $J = 0.8$ et 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.59 (td, $J = 1.2$ et 7.8 Hz, 1H, ArH), 7.34 (s, 1H, ArH), 7.22 (m, 2H, ArH), 7.29 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H, CH), 3.96 (s, 3H, OCH_3), 3.94 (s, 3H, OCH_3), 3.10 (m, 1H, CH), 1.25 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3), 0.87 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 173.5, 168.8, 164.5, 162.7, 159.7, 152.3, 138.9, 135.6, 128.8, 123.6, 115.5, 114.4, 89.0, 62.69, 54.7, 54.4, 26.6, 21.4, 18.9. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_5^+$ 400.16155, Trouvée 400.16142. Pureté HPLC : 98.9%

N-(4,6-diméthoxypyrimidin-2-yl)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-3-méthylbutanamide (28aaj')



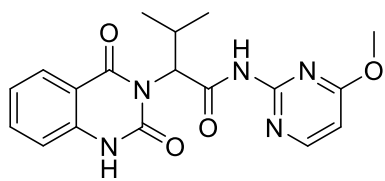
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 21 % (33.1 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.07 (sl, 1H, NH), 8.83 (sl, 1H, NH), 8.14 (dd, $J = 1.3$ et 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.61 (td, $J = 1.5$ et 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.24 (td, $J = 0.9$ et 7.7 , 1H, ArH), 7.14 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 5.74 (s, 1H, ArH), 5.33 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H, CH), 3.91 (s, 6H, OCH_3), 3.10 (m, 1H, CH), 1.28 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3), 0.87 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 172.2, 172.2, 166.6, 163.0, 156.3, 151.8, 138.7, 135.7, 129.0, 123.8, 115.3, 114.3, 84.9, 63.4, 54.5, 54.5, 26.7, 21.6, 19.1. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_5^+$ 400.16155, Trouvée 400.16249. Pureté HPLC : 99.3%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(6-méthoxypyrimidine-4-yl)-3-méthylbutanamide (28aak')



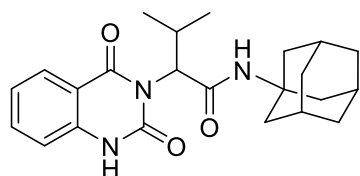
Couplage peptidique méthode E, rdt (4 étapes) 40 % (47 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.87 (sl, 1H, NH), 9.61 (sl, 1H, NH), 8.41 (s, 1H, ArH), 8.09 (dd, $J = 8.0$ et 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.62 (s, 1H, ArH), 7.57 (dd, $J = 7.4$ et 1.5 , 1H, ArH), 7.19 (dd, $J = 7.4$ et 0.9 Hz, 1H, ArH), 7.08 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 5.29 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H, ArH), 3.95 (s, 3H, OCH_3), 3.06 (m, 1H, CH), 1.23 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3), 0.85 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 171.5, 168.9, 163.0, 158.0, 157.2, 152.3, 138.7, 135.8, 128.9, 123.8, 115.3, 114.3, 95.8, 62.9, 54.5, 26.8, 21.4, 18.9. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_4^+$ 370.15098, Trouvée 370.15123. Pureté HPLC >100%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(4-méthoxypyrimidin-2-yl)-3-méthylbutanamide (28aal')



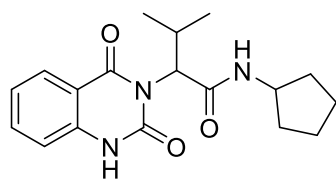
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 24 % (16.9 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.21 (sl, 1H, NH), 9.18 (sl, 1H, NH), 8.24 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H, ArH), 8.14 (dd, $J = 1.0$ et 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.60 (td, $J = 1.0$ et 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.23 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.14 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.41 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H, ArH), 5.32 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, CH), 3.97 (s, 3H, OCH_3), 3.10 (m, 1H, CH), 1.27 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3), 0.86 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 170.5, 166.8, 163.2, 157.7, 157.2, 151.8, 138.7, 135.7, 129.0, 123.7, 115.3, 114.3, 103.9, 63.6, 54.2, 26.8, 21.5, 19.1. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_4^+$ 370.15098, Trouvée 370.15125. Pureté HPLC : 98.7%

N-((3s,5s,7s)-adamantan-1-yl)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-3-méthylbutanamide (28aam')



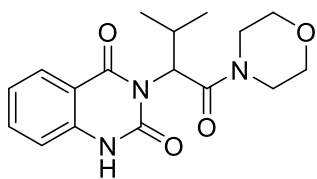
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 18 % (28.4mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ 11.41 (sl, 1H, NH), 7.93 (dd, $J = 1.0$ et 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.66 (td, $J = 1.3$ et 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.21 (td, $J = 1.0$ et 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.17 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.98 (sl, 1H, NH), 4.74 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H, CH), 2.65 (m, 1H, CH), 1.95 (m, 3H, 3 CH), 1.87 (m, 6H, 3 CH_2), 1.56 (m, 6H, 3 CH_2), 1.04 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3), 0.60 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 167.6, 162.6, 150.6, 139.7, 135.3, 127.9, 122.8, 115.2, 114.2, 60.4, 51.4, 41.1, 41.1, 41.1, 36.3, 36.3, 36.3, 29.0, 29.0, 29.0, 26.5, 22.4, 18.9. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_3^+$ 396.22817, Trouvée 396.2283. Pureté HPLC : 99.0%

N-cyclopentyl-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthylbutanamide(28aan')



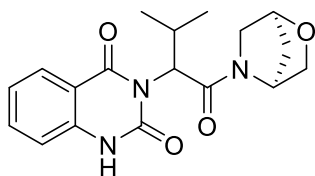
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 29 % (40.9 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 8.91 (sl, 1H, NH), 8.12 (dd, $J = 8.0$ et 0.9 Hz, 1H, ArH), 7.62 (ddd, $J = 8.4$, 7.4 et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.24 (m, 1H, ArH), 7.06 (d, $J = 8.6$, 1H, ArH), 6.68 (s, 1H, NH), 5.13 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H, CH), 4.21 (m, 1H, CH), 2.94 (m, 1H, CH_2), 1.94 (m, 2H, CH_2), 1.63 (m, 2H, CH_2), 1.38 (m, 2H, CH_2), 1.60 (m, 1H, CH_2), 1.17 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3), 0.82 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 168.6, 163.2, 151.4, 138.4, 135.6, 129.1, 123.8, 114.9, 114.4, 63.7, 51.4, 33.2, 33.0, 26.9, 23.9, 23.9, 21.1, 19.3. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calculée $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{NaO}_3^+$ 352.1632, Trouvée 352.1629. Pureté HPLC : 94.6%

3-(3-méthyl-1-morpholino-1-oxobutan-2-yl)quinazoline-2,4(1H,3H)-dione(28aa0')



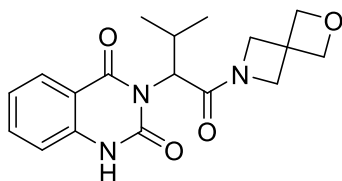
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 31 % (41.4 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.32 (sl, 1H, NH), 8.12 (dd, $J = 7.9$ et 0.8Hz , 1H, ArH), 7.66 (ddd, $J = 8.6$, 7.2 et 1.3 Hz, 1H, ArH), 7.26 (m, 1H, ArH), 7.18 (d, $J = 8.1$, 1H, ArH), 5.21 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H, CH), 3.82 (m, 1H, CH_2), 3.59 (m, 2H, CH_2), 5.51 (m, 1H, CH_2), 3.40 (m, 3H, CH_2), 3.24 (m, 1H, CH_2), 3.04 (m, 1H, CH), 1.17 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, CH_3), 0.82 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 167.4, 162.4, 151.4, 138.7, 135.9, 129.0, 123.9, 115.4, 113.8, 67.2, 66.7, 57.7, 45.7, 43.1, 27.5, 21.8, 18.5. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calculée $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{NaO}_4^+$ 354.1424, Trouvée 354.1423. Pureté HPLC : 98.6%

3-(1-((1S,4S)-2-oxa-5-azabicyclo[2.2.1]heptan-5-yl)-3-méthyl-1-oxobutan-2-yl)quinazoline-2,4(1H,3H)-dione (28aa1')



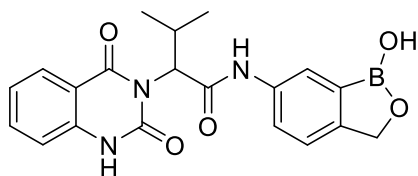
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 10 % (14.5 mg), solide incolore, Présence de 2 diastéréoisomères possédant 2 rotamères, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 9.93 (sl, 1H, NH, dia 1 rota 1), 9.85 (sl, 1H, NH, dia 1 rota 2), 9.84 (sl, 1H, NH, dia 2 rota 1), 9.71 (sl, 1H, NH, dia 2 rota 2), 8.13 (m, 1H, ArH, dia 1 rota 1 + dia 1 rota 2 + dia 2 rota 1 + dia 2 rota 2), 7.65 (m, 1H, ArH, dia 1 rota 1 + dia 1 rota 2 + dia 2 rota 1 + dia 2 rota 2), 7.25 (m, 1H, ArH, dia 1 rota 1 + dia 1 rota 2 + dia 2 rota 1 + dia 2 rota 2), 7.14 (m, 1H, ArH, dia 1 rota 1 + dia 1 rota 2 + dia 2 rota 1 + dia 2 rota 2), 7.14 (m, 1H, ArH, dia 1 rota 1 + dia 1 rota 2 + dia 2 rota 1 + dia 2 rota 2), 5.30-1.68 (m, 10H, dia 1 rota 1 + dia 1 rota 2 + dia 2 rota 1 + dia 2 rota 2), 1.31-0.79 (m, 6H, CH_3 , dia 1 rota 1 + dia 1 rota 2 + dia 2 rota 1 + dia 2 rota 2) ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 167.9 (dia 1 rota 1 + dia 1 rota 2), 166.6 (dia 2 rota 1) 165.9 (dia 2 rota 2), 162.3 (dia 1 rota 1 + dia 1 rota 2), 162.1 (dia 2 rota 1 + dia 2 rota 2), 151.3 (dia 1 rota 1 + dia 1 rota 2), 151.0 (dia 2 rota 1 + dia 2 rota 2), 138.7 (dia 1 rota 1 + dia 1 rota 2), 138.6 (dia 2 rota 1 + dia 2 rota 2), 136.0 (dia 1 rota 1), 135.8 (dia 1 rota 2), 135.8 (dia 2 rota 1), 135.7 (dia 2 rota 2), 129.2 (dia 1 rota 1), 129.1 (dia 1 rota 2), 129.1 (dia 2 rota 1), 128.9 (dia 2 rota 2), 124.6 (dia 1 rota 1), 123.9 (dia 1 rota 2), 123.9 (dia 2 rota 1), 123.8 (dia 2 rota 2), 115.4 (dia 1 rota 1), 115.3 (dia 1 rota 2), 115.2 (dia 2 rota 1), 115.2 (dia 2 rota 2), 113.9 (dia 1 rota 1 + dia 1 rota 2), 113.7 (dia 2 rota 1 + dia 2 rota 2) + 36 C (dia 1 rota 1 + dia 1 rota 2 + dia 2 rota 1 + dia 2 rota 2) : 76.2, 75.9, 75.5, 74.6, 74.1, 73.4, 59.8, 59.6, 59.1, 58.7, 58.5, 57.6, 57.5, 57.2, 56.2, 55.4, 54.8, 54.7, 54.5, 37.6, 37.2, 35.7, 35.6, 29.8, 27.6, 27.1, 27.0, 26.9, 26.7, 22.1, 22.1, 22.1, 21.9, 21.5, 19.2, 18.5. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calculée $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{NaO}_4^+$ 366.1424, Trouvée 366.1422. Pureté HPLC : 91.7%

3-(3-méthyl-1-oxo-1-(2-oxa-6-azaspiro[3.3]heptan-6-yl)butan-2-yl)quinazoline-2,4(1H,3H)-dione(28aaq')



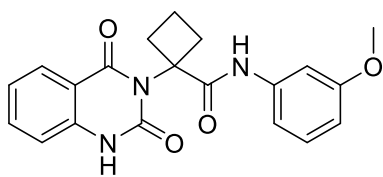
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 29 % (41.2 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.58 (sl, 1H, NH), 8.13 (dd, $J = 8.1$ et 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.65 (ddd, $J = 8.5$, 7.3 et 1.1 Hz, 1H, ArH), 7.26 (m, 1H, ArH), 7.22 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 5.10 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H, CH), 3.71 (m, 4H, CH_2), 4.28 (m, 2H, CH_2), 4.11 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, CH_2), 3.82 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, CH_2), 2.95 (m, 1H, CH), 1.19 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH₃), 0.76 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH₃). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 169.3, 162.1, 151.1, 138.8, 135.7, 128.8, 123.7, 115.5, 113.5, 80.9, 80.3, 60.4, 58.0, 57.3, 38.1, 26.4, 22.0, 18.3. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calculée $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{NaO}_4^+$ 366.1424, Trouvée 366.1427. Pureté HPLC > 99.9%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(1-hydroxy-1,3-dihydrobenzo[c][1,2]oxaborol-6-yl)-3-méthylbutanamide (28aar')



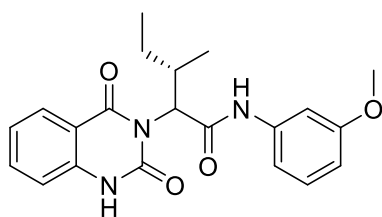
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 11 % (11.3 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 9.81 (sl, 1H, NH), 8.83 (sl, 1H, NH), 8.04 (t, $J = 6.7$ Hz, 1H, ArH), 7.74 (m, 1H, ArH), 7.56 (m, 1H, ArH), 7.47 (m, 1H, ArH), 7.14 (m, 2H, ArH), 7.05 (m, ArH), 6.56 (sl, 1H, OH), 5.28 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H, CH), 4.90 (s, 2H, CH_2), 2.99 (m, 1H, CH), 1.17 (d, $J = 5.6$ Hz, 3H, CH₃), 0.81 (d, $J = 5.6$ Hz, 3H, CH₃). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 168.0, 163.6, 151.8, 149.9, 138.6, 136.7, 135.7, 128.7, 124.2, 123.8, 122.7, 121.4, 115.3, 114.2, 71.0, 63.5, 26.9, 21.4, 19.1. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{BN}_3\text{NaO}_5^+$ 416.1388, Trouvée 416.1388. Pureté HPLC : 89.3%

1-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)cyclobutane-1-carboxamide (28aca)



Couplage peptidique méthode E, rdt (4 étapes) 20 % (15.0 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 9.44 (s, 1H, NH), 9.06 (s, 1H, NH), 8.11 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, ArH), 7.64 (m, 1H, ArH), 7.42 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H, ArH), 7.26 (m, 1H, ArH), 7.15 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 7.09 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 6.95 (dd, $J = 8.0$, 1.1 Hz, 1H, ArH), 6.61 (dd, $J = 8.2$, 1.9 Hz, 1H, ArH), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.21 (td, $J = 8.3$, 1.9 Hz, 2H, CH_2), 2.25 (dt, $J = 12.9$, 10.3 Hz, 2H, CH_2), 2.04-1.90 (m, 1H, CH_2), 1.82 (m, $J = 9.8$ Hz, 1H, CH_2). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 169.1, 163.3, 160.3, 150.9, 139.8, 138.4, 135.7, 129.6, 128.4, 124.0, 115.2, 115.0, 111.9, 110.5, 105.6, 65.5, 55.5, 33.5, 33.5, 16.1. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_4^+$ 366.14483, Trouvée 366.14451. Pureté HPLC > 100%

(3S)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthylpentanamide (28ada)

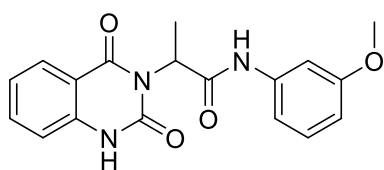


Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 3 % (5.6 mg), solide incolore, présence de deux diastéréoisomères ratio : 0.4/06. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) : δ 11.48 (sl, 1H, NH, dia1 + dia2), 9.51 (s, 1H, NH, dia1 + dia2), 7.94 (m, J = 7.1 Hz, 1H, ArH, dia1 + dia2), 7.68 (tt, J = 8.0 et 1.4 1Hz, 1H, ArH, dia1 + dia2), 7.16 (m, 5H, ArH, dia1 + dia2), 6.59 (m, 1H, ArH, dia1 + dia2), 5.08 (d, J = 8.8 Hz, 1H, CH, dia 1),

5.05 (d, J = 8.8 Hz, 1H, CH, dia 2), 3.69 (s, 3H, OCH₃, dia1 + dia2), 1.15 (m, 2H, CH₂, dia 1), 1.09 (d, J = 7.0 Hz, 3H, CH₃, dia 2), 0.93 (t, J = 7.3 Hz, 3H, CH₃, dia 1), 0.78 (t, J = 7.3 Hz, 3H, CH₃, dia 2), 0.86 (m, 2H, CH₂, dia 2), 0.63 (d, J = 6.4 Hz, 3H, CH₃, dia 1) + 1H (dia 1 + dia 2) sous le pic du DMSO. ¹³C RMN (125 MHz, DMSO-d₆) : δ 167.3 (dia 1+ dia 2), 162.3 (dia 1+dia 2), 159.3 (dia 1 +dia 2), 150.3 (dia 1+ dia 2), 140.3 (dia 1 + dia 2), 139.6 (dia 1+ dia 2), 135.2 (dia 1 + dia 2), 129.1 (dia 1 + dia 2), 127.7 (dia 1 + dia 2), 122.5 (dia 1 + dia 2), 115.2 (dia 1+ dia 2), 114.0 (dia 1 + dia 2), 112.6 (dia 1 + dia 2), 108.8 (dia1+ dia 2), 105.9 (dia 1 + dia 2), 58.8 (dia 2), 58.2 (dia 1), 55.0 (dia 1 + dia 2), 32.7 (dia 2), 32.5 (dia 1), 24.3 (dia 1 + dia 2), 18.4 (dia2), 14.3 (dia 1), 11.3 (dia 2), 11,2 (dia 1). HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₂₁H₂₄N₃O₄⁺ 382.17613, Trouvée 382.17563. Pureté HPLC : 97.7%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)propanamide

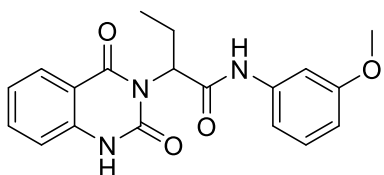
(28aea)



Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 22 % (36.9 mg), solide incolore, ¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) : δ 11.47(s, 1H, NH), 9.54 (s, 1H, NH), 7.93 (dd, J = 8.0 et 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.68 (dd, J = 7.5 et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.17 (m, 5H, ArH), 6.60 (ddd, J = 8.0, 2.5 et 1.0Hz, 1H, ArH), 5.44 (q, J = 6.9Hz, 1H, CH), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 1.48 (d, , J = 6.9Hz, 3H,

CH₃). ¹³C RMN (125 MHz, DMSO-d₆) : δ 168.0, 161.8, 159.3, 149.7, 140.3, 139.6, 135.0, 129.1, 127.5, 122.5, 115.1, 114.3, 112.3, 108.7, 105.7, 55.0, 50.1, 14.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₈H₁₈N₃O₄⁺ 340.12918, Trouvée 340.1289. Pureté HPLC >100%

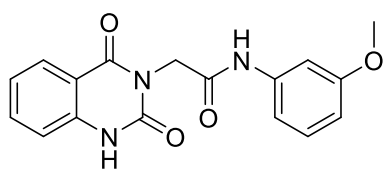
2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)butanamide (28afa)



Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 3 % (7.3 mg), solide incolore, ¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) : δ 11.48(s, 1H, NH), 9.51 (s, 1H, NH), 7.94 (dd, J = 8.0 et 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.68 (dd, J = 7.8 et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.17 (m, 5H, ArH), 6.60 (ddd, J = 7.8, 2.0 et 1.0Hz, 1H, ArH), 5.44 (dd, J = 9.7 et

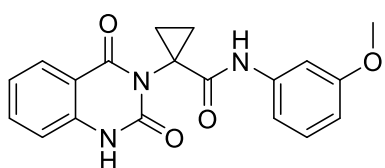
5.2 Hz, 1H, CH), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 2.28 (m, 1H, CH₂), 2.02 (m, 1H, CH₂), 0.80 (t, J = 7.5Hz, 3H, CH₃). ¹³C RMN (125 MHz, DMSO-d₆) : δ 167.8, 162.3, 159.1, 150.1, 140.2, 139.7, 135.1, 129.1, 127.6, 122.5, 115.1, 114.1, 112.5, 108.8, 105.9, 55.7, 55.0, 21.1, 10.7. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₉H₂₀N₃O₄⁺ 354.14483, Trouvée 354.1444. Pureté HPLC : 97.2%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)acétamide (28aga)



Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 2 % (8.5 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.55 (sl, 1H, NH), 10.20 (s, 1H, NH), 7.94 (dd, $J = 7.8$ et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.70 (dd, $J = 7.8$ et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.23 (m, 4H, ArH), 7.08 (ddd, $J = 8.0, 2.0$ et 0.8 Hz, 1H, ArH), 6.60 (ddd, $J = 8.0, 2.5$ et 0.8 Hz, 1H, ArH), 4.69 (s, 2H, CH_2), 3.71 (s, 3H, OCH $_3$). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO- d_6) : δ 164.5, 161.9, 159.6, 150.1, 140.0, 139.5, 135.3, 129.6, 127.5, 122.7, 115.3, 113.6, 111.3, 109.0, 104.7, 55.0, 43.1. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_4^+$ 326.11353, Trouvée 326.1122. Pureté HPLC >100%

1-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)cyclopropane-1-carboxamide (28aha)



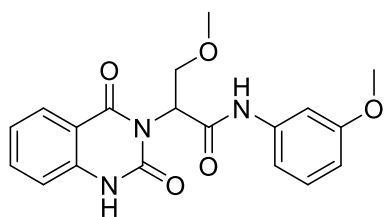
Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 11 % (20 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 8.74 (sl, 1H, NH), 8.16 (dd, $J = 7.9$ et 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.90 (s, 1H, NH), 7.64 (ddd, $J = 8.9, 7.0$ et 1.3 Hz, 1H, ArH), 7.25 (m, 2H, ArH), 7.14 (t, $J = 8.2$, 1H, ArH), 7.06 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, ArH), 6.87 (dd, $J = 8.1$ et 1.0 Hz, 1H, ArH), 6.62 (dd, $J = 8.1$ et 2.0 Hz, 1H, ArH), 3.76 (s, 3H, OCH $_3$), 2.02 (m, 2H, CH_2), 1.33 (m, 2H, CH_2). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 167.9, 163.5, 160.2, 151.4, 139.0, 138.5, 135.9, 129.6, 128.9, 124.1, 115.0, 114.8, 112.5, 110.8, 105.9, 55.5, 38.3, 31.1, 29.9. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_4^+$ 352.12918, Trouvée 352.12905. Pureté HPLC >100%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-méthoxy-N-(3-méthoxyphényl)propanamide (28aja)

La 1^{ère} étape ne consiste pas à faire réagir le composé **11** avec le composé **23i** mais avec le composé **32** (**23i** protégé par le groupement TBDMSCl).

Protection de **23i** :

Le Chlorhydrate d'ester méthylique de L-sérine **23i** (1eq) est dissous dans du DCM (0.3 mol/L) puis du TBDMSCl (2.1 eq) et de l'imidazole (1.1 eq) sont ajoutés à 0°C. Le milieu réactionnel est agité pendant 18h à t.a. Le milieu réactionnel est ensuite dissous dans du DCM. La phase organique est alors lavée 3 fois avec une solution aqueuse de NH_4Cl sat puis avec H_2O et finalement avec une solution de NaCl sat. La phase organique est ensuite séchée sur MgSO_4 et concentrée sous vide pour obtenir le composé **32**.



Couplage peptidique méthode F, rdt (4 étapes) 6 % (21 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.49 (sl, 1H, NH), 9.58 (s, 1H, NH), 7.94 (dd, $J = 7.9$ et 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.68 (dd, $J = 8.0$ et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.17 (m, 5H, ArH), 6.62 (ddd, $J = 8.0, 2.5$ et 0.5 Hz, 1H, ArH), 5.72 (dd, $J = 8.9$ et 5.3 Hz, 1H, CH), 4.02 (m, 2H, CH_2), 3.70 (s, 3H, OCH $_3$), 3.23 (s, 3H, OCH $_3$). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO- d_6) : δ 166.6, 162.3, 159.3, 150.2, 139.8, 135.1, 129.2, 127.6, 122.3, 115.5, 114.2, 112.6, 109.1, 106.1, 69.0, 58.2, 55.0, 52.9. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_4^+$ 340.12918, Trouvée 340.1289. Pureté HPLC >100%

Voie de synthèse n° 3

1^{ère} étape :

À une solution de L-Valine (1 eq) et Boc₂O (1eq) dans THF/H₂O 1/1 (0.2 mol/L) est ajouté NaOH (1 eq). Le mélange est laissé sous agitation, pendant 18h. Lorsque la réaction est terminée, THF est évaporé. H₂O est ajoutée, et la phase aqueuse est extraite avec AcOEt. Ensuite la phase aqueuse est acidifiée à pH 2 et est extraite avec AcOEt. La phase organique est séchée et évaporée afin d'obtenir le composé **33**.

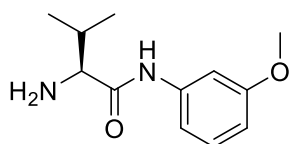
2^{ème} étape :

Couplage peptidique (méthode F ou G) avec **27a** ou **27g** pour obtenir **34aa** ou **34ag**.

3^{ème} étape :

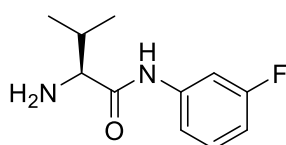
À une solution de **34** dans DCM (0.2 mol/L) est ajouté TFA (1 mol/L). Le mélange est laissé sous agitation pendant 6h. Lorsque la réaction est terminée, DCM et TFA sont évaporés. Le résidu est dissous avec DCM et refroidi à 0°C, puis une solution de NaOH 2N est ajoutée lentement sous agitation jusqu'à obtenir un pH basique. Les deux phases sont séparées et la phase organique est séchée et évaporée afin d'obtenir le composé **35**.

(S)-2-amino-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (35aa)



¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) : 9.58 (sl, 1H, NH), 7.39 (t, J = 2.0Hz, 1H, ArH), 7.20 (t, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.21 (d, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.17 (dd, J = 8.0 et 2.0 Hz, 1H, ArH), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.51 (sl, 1H, CH), 2.45 (sl, 2H, NH₂), 2.43 (m, 1H, CH), 1.03 (d, J = 6.8 Hz, 3H, CH₃), 0.60 (d, J = 6.8 Hz, 3H, CH₃). ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) : 172.6, 160.3, 139.1, 129.7, 111.7, 110.1, 105.1, 60.5, 55.4, 30.8, 19.9, 16.1.

(S)-2-amino-N-(3-fluorophényl)-3-méthylbutanamide (35ag)



¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) : 9.53 (sl, 1H, NH), 7.58 (dt, J = 10.9 et 2.0 Hz, 1H, ArH), 7.23 (m, 2H, ArH), 6.79 (ddd, J = 8.3, 2.6 et 1.2 Hz, 1H, ArH), 3.38 (d, J = 3.5Hz, 1H, CH), 2.45 (m, 1H, CH), 1.55 (sl, 2H, NH₂), 1.05 (d, J = 7.0 Hz, 3H, CH₃), 0.87 (d, J = 7.0 Hz, 3H, CH₃). En mélange : reste aniline, produit non purifié engagée tel que dans l'étape suivante.

4^{ème} étape :

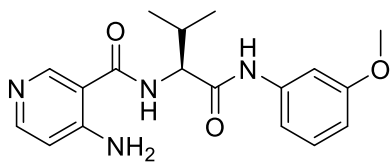
Méthode « one-pot, two steps » :

Dans un premier temps le composé **35** est engagé dans une réaction de couplage peptidique avec un acide anthranilique **36** via la méthode F afin d'obtenir l'intermédiaire **37** qui n'est pas isolé. La réaction est suivie par ¹H RMN, lorsqu'elle est terminée DIPEA (2 eq) est ajouté et le mélange réactionnel est refroidi à 0°C, puis du triphosgène est ajouté. Le mélange est laissé sous agitation à t.a pendant 5h. Lorsque la réaction est terminée, une solution de NaHCO₃ est ajoutée puis le produit est extrait avec DCM. La phase organique est lavée avec une solution de NaCl sat, séchée avec MgSO₄ et évaporée afin d'obtenir le composé désiré **28**. Le composé est ensuite purifié par chromatographie.

Méthode séquentielle :

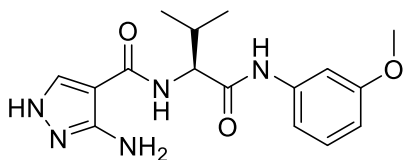
Dans un premier temps les composés **35** et l'acide anthranilique **36** sont engagés dans une réaction de couplage peptidique via la méthode H afin d'obtenir le composé **37** qui est isolé.

(S)-4-amino-N-(1-((3-méthoxyphényl)amino)-3-méthyl-1-oxobutan-2-yl)nicotinamide (37maa)



Rdt : 6% (4 étapes), solide incolore (21.3 mg), ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) : δ 10.11 (sl, 1H, NH), 8.62 (s, 1H, ArH), 8.43 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, NH), 8.03 (d, 5.0 Hz, 1H, ArH), 7.34 (t, $J = 2.0$ Hz, 1H, ArH), 7.19 (m, 2H, ArH), 7.04 (sl, 2H, NH₂), 6.62 (m, 2H, ArH), 4.32 (t, $J = 8.3$ Hz, 1H, CH), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 2.18 (m, 1H, CH), 1.00 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH₃), 0.96 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH₃). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO- d_6) : δ 170.6, 167.9, 159.5, 154.3, 150.4, 149.7, 140.0, 129.5, 111.5, 110.9, 110.4, 108.8, 105.0, 59.8, 55.0, 29.9, 19.2, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₈H₂₃N₄O₃⁺ 343.17647, Trouvée 343.17615. Pureté HPLC : 99.0%

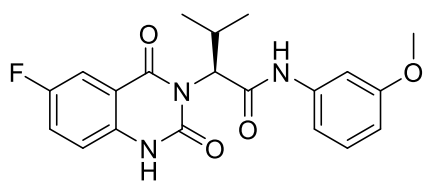
(S)-3-amino-N-(1-((3-méthoxyphényl)amino)-3-méthyl-1-oxobutan-2-yl)-1H-pyrazole-4-carboxamide (37naa)



Rdt : 6% (2 étapes), solide incolore (7.6 mg), ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.69 (sl, 1H, NH), 9.95 (s, 1H, NH), 7.99 (sl, 1H, NH), 7.53 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, CH pyrazole), 7.33 (t, $J = 2.0$ Hz, 1H, ArH), 7.18 (m, 2H, ArH), 6.63 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 5.62 (sl, 2H, NH₂), 4.36 (t, $J = 8.3$ Hz, 1H, CH), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 2.12 (m, 1H, CH), 0.96 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, CH₃), 0.94 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, CH₃). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO- d_6) : δ 170.7, 164.4, 159.4, 139.9, 129.3, 111.6, 108.7, 105.1, 58.6, 54.9, 30.1, 19.1, 18.8, manque : 3C pyrazole. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₆H₂₂N₅O₃⁺ 332.17172, Trouvée 332.17172. Pureté HPLC : 95.0%

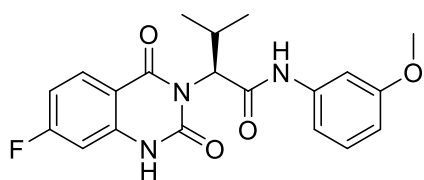
Le composé **37** obtenu est ensuite dissous dans DCM (0.15 mol/L) avec DIPEA (2 eq), et le mélange réactionnel est refroidi à 0°C ; puis du triphosgène est ajouté. Le mélange est laissé sous agitation à t.a pendant 5h. Lorsque la réaction est terminée, une solution de NaHCO₃ est ajoutée puis le produit est extrait avec DCM. La phase organique est lavée avec une solution de NaCl sat, séchée avec MgSO₄ et évaporée afin d'obtenir le composé désiré **28**.

(S)-2-(6-fluoro-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (28baa)



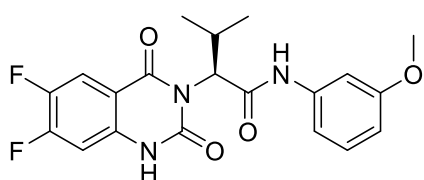
Méthode « one-pot, two steps », Purification colonne phase inverse, rdt (5 étapes) 3 % (24.4 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.23 (sl, 1H, NH), 8.70 (sl, 1H, NH), 7.77 (dd, $J = 8.0$ et 2.7 Hz, 1H, ArH), 7.31 (m, 2H, ArH), 7.15 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.10 (dd, $J = 8.8$ et 4.0 Hz, 1H, ArH), 6.97 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.62 (dd, $J = 8.0$ et 2.0 Hz, 1H, ArH), 5.28 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H, CH), 3.76 (s, 3H, OCH_3), 3.10 (m, 1H, ArH), 1.23 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3), 0.86 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3). ^{19}F RMN (470 MHz, CDCl_3) δ -117.08. ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 167.2, 162.8, 160.2, 158.9 (d, $J = 245.2$ Hz), 151.8, 139.0, 135.0, 129.7, 124.1 (d, $J = 24.5$ Hz), 117.4 (d, $J = 7.6$ Hz), 115.3 (d, $J = 7.8$ Hz), 114.1 (d, $J = 24.2$ Hz), 112.3, 110.3, 105.9, 64.6, 55.4, 26.9, 21.0, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{FN}_3\text{O}_4^+$ 386.15106, Trouvée 386.15059. Pureté HPLC : 97.6%

(S)-2-(7-fluoro-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (28caa)



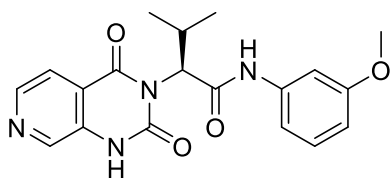
Méthode « one-pot, two steps », rdt (5 étapes) 8 % (63.7 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.19 (sl, 1H, NH), 8.80 (sl, 1H, NH), 8.08 (dd, $J = 8.9$ et 5.8 Hz, 1H, ArH), 7.29 (sl, 1H, ArH), 7.13 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 6.96 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.90 (td, $J = 8.7$ et 2.2 Hz, 1H, ArH), 6.81 (dd, $J = 8.7$ et 2.2 Hz, 1H, ArH), 6.60 (dd, $J = 8.1$ et 2.2 Hz, 1H, ArH), 5.25 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H, CH), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 3.07 (m, 1H, CH), 1.22 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3), 0.85 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3). ^{19}F RMN (470 MHz, CDCl_3) δ -99.67. ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 167.4, 167.2 (d, $J = 257.8$ Hz), 162.7, 160.2, 152.0, 140.6 (d, $J = 13.0$ Hz), 131.8 (d, $J = 11.1$ Hz), 129.7, 112.3, 112.2, 110.8, 110.5, 105.9, 102.1 (d, $J = 26.4$ Hz), 64.6, 55.4, 26.9, 21.1, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{FN}_3\text{O}_4^+$ 386.15106, Trouvée 386.15012. Pureté HPLC >99.9%

(S)-2-(6,7-difluoro-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (28daa)



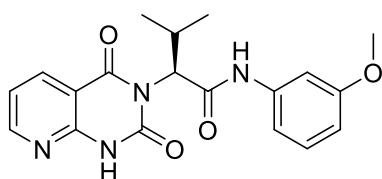
Méthode « one-pot, two steps », rdt (5 étapes) 8 % (63.7 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.33 (sl, 1H, NH), 8.77 (sl, 1H, NH), 7.84 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H, ArH), 7.23 (m, 1H, ArH), 7.12 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.95 (m, 2H, ArH), 6.60 (dd, $J = 8.0$ et 2.0 Hz, 1H, ArH), 5.25 (d, $J = 10.6$ Hz, 1H, CH), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 3.04 (m, 1H, CH), 1.22 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3), 0.84 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3). ^{19}F RMN (470 MHz, CDCl_3) δ -122.97 (d, $J = 21.7$ Hz), -122.88 (d, $J = 21.7$ Hz). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 167.4, 162.2, 160.2, 155.5 (dd, $J = 260.0$ et 14.5 Hz), 151.8, 147.4 (dd, $J = 248.2$ et 13.4 Hz), 138.2, 136.1 (d, $J = 10.6$ Hz), 129.8, 116.7 (d, $J = 19.2$ Hz), 112.4, 110.5 (d, $J = 6.4$ Hz), 110.3, 106.2, 104.6 (d, $J = 22.1$ Hz), 64.5, 55.4, 26.9, 21.1, 19.1. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_4^+$ 404.14164, Trouvée 404.14105. Pureté HPLC : 96.1%

(S)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydropyrido[3,4-d]pyrimidine-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (28gaa)



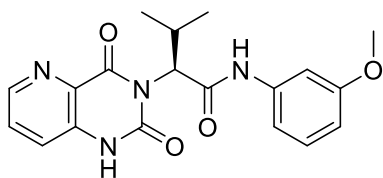
Méthode séquentielle, rdt (5 étapes) 3 % (20.5 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 8.73 (sl, 1H, NH), 8.62 (s, 1H, ArH), 8.49 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H, ArH), 7.88 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H, ArH), 7.28 (sl, 1H, ArH), 7.15 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 6.97 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 6.60 (dd, $J = 8.2$ et 2.2 Hz, 1H, ArH), 5.24 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H, CH), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 3.06 (m, 1H, CH), 1.21 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_3), 0.86 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 166.9, 162.4, 160.2, 151.1, 144.3, 138.9, 138.5, 133.7, 129.8, 120.6, 119.7, 112.4, 110.6, 105.9, 64.9, 55.4, 26.8, 21.0, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_4^+$ 369.15573, Trouvée 369.15506. Pureté HPLC : 98.8%

(S)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidine-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (28haa)



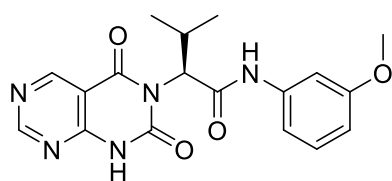
Méthode séquentielle, rdt (5 étapes) 5 % (31.1 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 12.18 (sl, 1H, NH), 8.82 (sl, 1H, NH), 8.75 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, ArH), 8.48 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.38 (s, 1H, ArH), 7.26 (m, 1H, ArH), 7.15 (t, $J = 8.0$ Hz), 7.00 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 6.62 (dd, $J = 1.5$ et 8.0 Hz, 1H, ArH), 5.27 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H, CH), 3.77 (s, 3H, OCH_3), 3.11 (m, 1H, CH), 1.23 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3), 0.89 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 166.8, 162.4, 160.2, 154.5, 151.4, 150.7, 139.2, 139.1, 129.7, 120.0, 112.03, 110.5, 110.2, 105.5, 64.9, 55.4, 26.8, 21.0, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_4^+$ 369.15573, Trouvée 369.15538. Pureté HPLC : 99.6%

(S)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydropyrido[3,2-d]pyrimidine-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (28iaa)



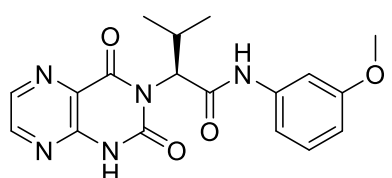
Méthode séquentielle, rdt (5 étapes) 2 % (13.9 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 11.61 (sl, 1H, NH), 9.52 (s, 1H, NH), 8.52 (dd, $J = 1.2$ et 4.5 Hz, 1H, ArH), 7.69 (dd, $J = 4.3$ et 8.3 Hz, 1H, ArH), 7.63 (dd, $J = 1.2$ et 8.3 Hz), 7.19 (t, $J = 1.7$ Hz, 1H, ArH), 7.14 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.09 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 6.59 (dd, $J = 1.7$ et 8.1 Hz, 1H, ArH), 5.02 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, CH), 3.69 (s, 3H, OCH_3), 2.73 (m, 1H, CH), 1.17 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3), 0.70 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 167.2, 161.0, 159.3, 149.7, 145.0, 140.3, 137.0, 131.0, 129.1, 123.8, 112.6, 108.8, 106.0, 59.3, 55.0, 26.5, 22.5, 18.5. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_4^+$ 369.15573, Trouvée 369.15512. Pureté HPLC >99.9%

(S)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydropyrimido[4,5-d]pyrimidine-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (28jaa)



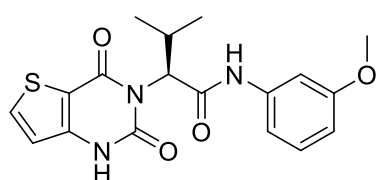
Méthode séquentielle, rdt (5 étapes) 4 % (22.6 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 9.31 (s, 1H, ArH), 9.14 (s, 1H, ArH), 8.54 (sl, 1H, NH), 7.29 (sl, 1H, ArH), 7.14 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 6.95 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 6.61 (dd, $J = 8.2$ et 1.4 Hz, 1H, ArH), 5.21 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H, CH), 3.76 (s, 3H, OCH_3), 3.04 (m, 1H, CH), 1.23 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_3), 0.89 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 166.3, 162.7, 161.2, 160.2, 159.4, 155.5, 150.8, 138.8, 129.8, 112.1, 110.6, 107.9, 105.7, 64.9, 55.4, 26.8, 20.9, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_4^+$ 370.15098, Trouvée 370.15063. Pureté HPLC : 95.0%

(S)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroptéridin-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (28kaa)



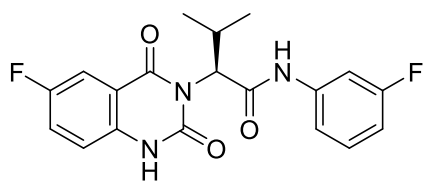
Méthode séquentielle, rdt (5 étapes) 6 % (42.1 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.67 (sl, 1H, NH), 8.79 (sl, 1H, NH), 8.58 (m, 2H, ArH), 7.26 (t, $J = 2.0$ Hz, 1H, ArH), 7.07 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 6.95 (dd, $J = 2.0$ et 8.2 Hz, 1H, ArH), 6.55 (dd, $J = 2.0$ et 8.2 Hz), 5.27 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H, CH), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 3.07 (m, 1H, CH), 1.24 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3), 0.88 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 166.6, 161.4, 160.1, 150.1, 148.5, 147.3, 141.9, 139.0, 129.6, 127.3, 112.3, 110.4, 105.7, 65.1, 55.4, 26.7, 21.0, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_4^+$ 370.15098, Trouvée 370.15001. Pureté HPLC : 99.1%

(S)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydrothiéno[3,2-d]pyrimidine-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (28laa)



Méthode « one-pot, two steps », rdt (5 étapes) 2 % (13.6 mg), solide incolore, ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 10.74 (sl, 1H, NH), 8.90 (sl, 1H, NH), 7.67 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H, ArH), 7.31 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H, ArH), 7.15 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.00 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.92 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H, ArH), 6.61 (dd, $J = 2.2$ et 8.0 Hz, 1H, ArH), 5.26 (d, $J = 10.6$ Hz, 1H, CH), 3.76 (s, 3H, OCH_3), 3.09 (m, 1H, CH), 1.21 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_3), 0.86 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 167.6, 160.2, 159.8, 153.0, 144.4, 139.2, 136.6, 129.7, 117.1, 112.7, 112.4, 110.4, 105.8, 64.6, 55.4, 26.9, 21.1, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}^+$ 374.1169, Trouvée 374.11607. Pureté HPLC : 99.4%

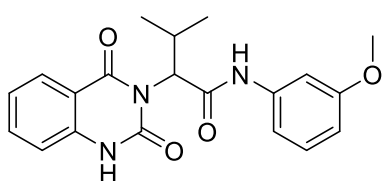
(S)-2-(6-fluoro-2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-fluorophényl)-3-méthylbutanamide (28bag)



Méthode « one-pot, two steps », rdt (5 étapes) 5 % (42.4 mg), solide incolore. ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) : δ 9.91 (sl, 1H, NH), 8.89 (sl, 1H, NH), 7.78 (dd, $J = 8.0$ et 2.9 Hz, 1H, ArH), 7.50 (dt, $J = 10.9$ et 2.1 Hz, 1H, ArH), 7.36 (td, $J = 8.3$ et 2.9 Hz, 1H, ArH), 7.20 (m, 1H, ArH), 7.12 (m, 2H, ArH), 6.76 (tdd, $J = 8.3, 2.5$ et 0.5 Hz, 1H, ArH), 5.27 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H, CH), 3.09 (m, 1H, CH), 1.20 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3), 0.85 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_3). ^{19}F RMN (470 MHz, CDCl_3) δ -111.37, -116.80. ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) : δ 167.2, 163.1 (d, $J = 245.5$ Hz), 162.9, 158.9 (d, $J = 245.6$ Hz), 151.7, 139.4 (d, $J = 11.0$ Hz), 134.9, 130.1 (d, $J = 9.5$ Hz), 124.2 (d, $J = 24.7$ Hz), 117.3 (d, $J = 7.8$ Hz), 115.4 (d, $J = 2.8$ Hz), 115.3, 114.3 (d, $J = 24.6$ Hz), 111.2 (d, $J = 21.5$ Hz), 107.6 (d, $J = 26.3$ Hz), 65.0, 26.8, 20.9, 19.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3^+$ 374.13107, Trouvée 374.12972. Pureté HPLC : 95.7%

2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide ou S-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (27aaa)

MVV665878 (27aaa) est synthétisé via les 3 voies de synthèse, (avec voie 3, purification colonne phase inverse), rdt = 24%, 36% ou 8% respectivement avec les voies de synthèse 1,2 ou 3, solide incolore.



^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) : δ 11.50 (sl, 1H, NH), 9.49 (s, 1H, NH), 7.94 (dd, $J = 7.8$ et 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.69 (td, $J = 7.3$ et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.21 (m, 3H, ArH), 7.13 (q, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 7.10 (dt, $J = 8.0$ et 1.5 Hz, 1H, ArH), 6.59 (dq, $J = 7.8$ et 1.2 Hz, 1H, ArH), 5.01 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, ArH), 3.69 (s, 3H, OCH_3), 2.74 (m, 1H, CH), 1.14 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH_3), 0.67 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) : δ 167.3, 162.3, 159.3, 150.2, 140.3, 139.6, 135.2, 129.1, 127.7, 122.5, 115.1, 113.9, 112.6, 108.8, 106.0, 59.0, 55.0, 26.5, 22.5, 18.5. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_4^+$ 368.1610, Trouvée 368,1621 m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calculée $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{NaO}_4^+$ 390.1430, Trouvée : 390.1424. Pureté HPLC >95% (pour les 3 voies)

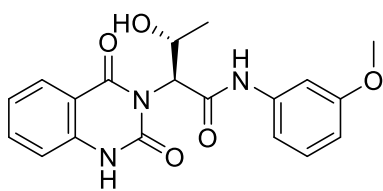
Voie de synthèse n° 4

Étapes 1 à 3 pareil que voie de synthèse n°3.

4^{ème} étape :

Le composé **11** (1 eq) et le composé **35ka** (1.01 eq) sont dissous dans la pyridine (0.1 mol/L). Le mélange est laissé sous agitation, à 120°C , sous atmosphère inerte (N_2) pendant 18h. Lorsque la réaction est terminée, le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est dissous dans de l'acétate d'éthyle et est lavé 2 fois avec une solution d'HCl 1N, puis avec une solution de NaHCO_3 et enfin avec une solution de NaCl sat. La phase organique est séchée sur MgSO_4 et concentrée sous vide pour donner le produit **28aka**.

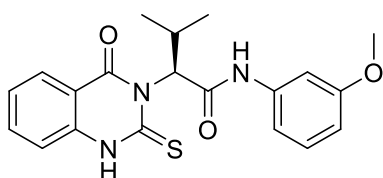
(2S,3R)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-hydroxy-N-(3-méthoxyphényl)butanamide (28aka)



Rdt (4 étapes) 13 % (176.6 mg), solide incolore. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.37 (sl, 1H, NH), 9.54 (sl, 1H, NH), 7.93 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 7.66 (td, $J = 7.7$ et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.16 (m, 5H, ArH), 6.60 (ddd, $J = 7.7, 2.4$ et 1.4 Hz, 1H, ArH), 5.15 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, CH), 4.73 (d, $J = 5.9$ Hz, 1H, OH), 4.40 (m, 1H, CH), 3.69 (s, 3H, OCH $_3$), 1.34 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H, CH $_3$). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO- d_6) : δ 167.2, 162.4, 159.3, 150.4, 140.1, 139.8, 134.8, 129.1, 127.6, 122.2, 115.0, 114.4, 112.6, 108.8, 105.9, 62.6, 59.4, 55.0, 23.5. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calculée C $_{19}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{NaO}_5^+$ 392.1217, Trouvée 392.1222. Pureté HPLC : 98.3%

Synthèse du composé 38

35aa (1.1 eq) et l'acide anthranilique (1 eq) sont dissous dans du DCM (0.1 mol/L), puis la DIPEA (3 eq) est introduite et le mélange est agité pendant 30 min à t.a sous N $_2$; puis T3P 50% dans ACN (1.7 eq) est ajouté. Le milieu réactionnel est agité pendant 24h à t.a sous N $_2$. Lorsque la réaction est terminée (suivis par RMN), thioCDI (3.3 eq) est ajouté puis le milieu réactionnel est agité 6h à 40°C. Une fois la réaction terminée, le milieu réactionnel est dilué avec de l'eau et extrait avec de l'acétate d'éthyle. Puis la phase organique est lavée trois fois avec une solution de NaHCO $_3$ puis avec une solution de NaCl saturée. La phase organique est séchée sur MgSO $_4$, et concentrée sous vide afin d'obtenir le composé désiré qui sera ensuite purifié par colonne sur Puriflash (5 CV 100% EP, puis 15 CV gradient jusqu'à 70/30 EP/AcOEt et isocratique 70/30 EP/AcOEt jusqu'à récupérer la totalité du produit) afin d'obtenir le composé **38** pur sous forme de solide incolore (35.3mg, rdt en 5 étapes : 5%)

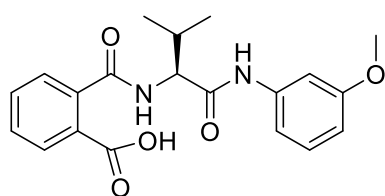


^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) : δ 13.18 (sl, 1H, NH), 9.29 (s, 1H, NH), 7.92 (m, 1H, ArH), 7.70 (td, $J = 7.6$ et 1.1 Hz, 1H, ArH), 7.45 (m, 1H, ArH), 7.35 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.17 (m, 1H, ArH), 7.14 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.08 (m, 1H, ArH), 6.61 (dd, $J = 8.2$ et 2.0 Hz, 1H, ArH), 6.27 (m, 1H, CH), 3.69 (s, 3H, OCH $_3$), 2.81 (m, 1H, CH), 1.23 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H, CH $_3$), 0.70 (d, $J = 6.5$ Hz, 1H, CH $_3$). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO- d_6) : 117.5, 166.9, 159.3, 159.1, 140.1, 139.4, 135.8, 129.0, 127.4, 124.7, 115.8, 115.7, 113.1, 108.9, 106.7, 65.3, 55.1, 26.8, 23.0, 18.4. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calculée C $_{20}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}^+$ 384.13764, Trouvée : 384.13721. Pureté HPLC : 95.8%

Synthèse des composés **39** et **40**

L'anhydride phthalique (1.1 eq) et **35aa** (1 eq) sont dissous dans DCM (0.2 mol/L) avec Et₃N (2 eq), le mélange est agité 6h à t.a. Une fois la réaction terminée, le milieu réactionnel est dilué avec DCM, et une solution de HCl 1N est ajoutée. Les phases aqueuses et organiques sont séparées. La phase organique est ensuite lavée avec une solution de NaCl sat. Elle est séchée sur MgSO₄ et concentrée sous vide afin d'obtenir le composé désiré qui sera ensuite purifié par chromatographie (Puriflash, 5 CV 100% puis 10 CV gradient jusque 95/5 DCM/MeOH puis isocratique 95/5 DCM/MeOH jusqu'à récupérer la totalité du produit) afin d'obtenir le composé **39** pur sous forme de solide incolore (rdt = 33%).

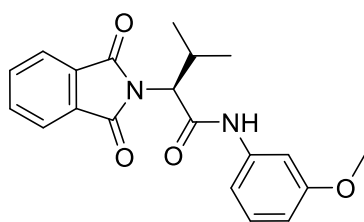
Acide (S)-2-((1-((3-méthoxyphényl)amino)-3-méthyl-1-oxobutan-2-yl)carbamoyl)benzoïque (**39**)



¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) : δ 10.14 (sl, 1H, NH), 8.74 (d, J = 7.0 Hz, 1H, NH), 7.80 (d, J = 7.0 Hz, 1H, ArH), 7.48 (m, 3H, ArH), 7.39 (d, J = 7.0 Hz, 1H, ArH), 7.33 (d, J = 7.0 Hz, 1H, ArH), 7.19 (t, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 6.64 (d, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 4.43 (t, J = 7.0 Hz, 1H, CH), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 2.26 (m, 1H, CH), 0.97 (d, J = 6.6 Hz, 3H, CH₃), 0.94 (d, J = 6.6 Hz, 3H, CH₃). ¹³C RMN (125 MHz, DMSO-d₆) : 170.3, 169.6, 168.73, 159.4, 140.2, 137.6, 130.0, 129.3, 129.3, 129.3, 129.2, 128.9, 127.8, 111.9, 108.7, 105.4, 59.1, 55.0, 29.8, 19.4, 18.0. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₂₀H₂₃N₂O₅⁺ 371.16015, Trouvée 371.15952. Pureté HPLC : 97.7%

Le composé **39** est ensuite introduit dans un tube MW avec de l'ACN (0.1 mol/L). Le milieu réactionnel est mis sous MW 2 fois 30 min à 150°C. Une fois la réaction terminée, le milieu réactionnel est évaporé puis dilué avec DCM. La phase organique est lavée avec une solution de NaHCO₃ sat puis séchée sur MgSO₄ et concentrée sous vide afin d'obtenir le composé désiré qui sera ensuite purifié par chromatographie (Puriflash, 5 CV 100% puis 10 CV gradient jusque 95/5 DCM/MeOH puis isocratique 95/5 DCM/MeOH jusqu'à récupérer la totalité du produit), afin d'obtenir le composé **40** pur sous forme de solide incolore (rdt = 24%).

(S)-2-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (**40**)

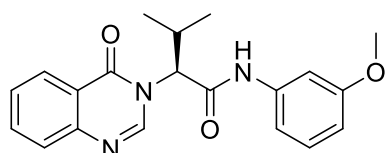


¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) : δ 9.10 (sl, 1H, NH), 9.90 (m, 2H, ArH), 7.18 (m, 2H, ArH), 7.36 (t, J = 2.2 Hz, 1H, ArH), 7.20 (t, J = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.03 (dd, J = 0.7 et 8.0 Hz, 1H, ArH), 6.66 (dd, J = 0.7 et 8.0 Hz, 1H, ArH), 4.53 (d, J = 11.6 Hz, 1H, CH), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 2.94 (m, 1H, CH), 1.18 (d, J = 6.5 Hz, 3H, CH₃), 0.91 (d, J = 6.5 Hz, 3H, CH₃). ¹³C RMN (125 MHz, DMSO-d₆) : 166.7, 167.0, 167.0, 160.3, 139.1, 134.8, 134.8, 131.4, 129.8, 129.8, 124.0, 124.0, 112.1, 110.6, 105.5, 65.0, 55.5, 27.9, 19.8, 19.6. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₂₀H₂₁N₂O₄⁺ 353.14958, Trouvée 353.1491. Pureté HPLC : 96.5%

Synthèse du composé **41**

37aaa, de l'imidazole (3 eq) et DBU (3 eq) sont dissous dans DMF (0.15 mol/L). Le milieu réactionnel est agité 16h à 150°C. Une fois la réaction terminée, le mélange est lavé avec du NH₄Cl saturé et extrait avec du DCM. La phase organique est lavée par NaCl sat puis séchée sur MgSO₄ et concentrée sous vide afin d'obtenir le composé désiré qui sera ensuite purifié par colonne sur Puriflash (5 CV 100% EP, puis 5 CV 80/20 EP/AcOEt puis 10 CV gradient jusqu'à 70/30 EP/AcOEt et isocratique 70/30 EP/AcOEt jusqu'à récupérer la totalité du produit) afin d'obtenir le composé **41** pur sous forme de solide incolore (rdt 5 étapes = 8%).

(S)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthyl-2-(4-oxoquinazoline-3(4H)-yl)butanamide (**41**)

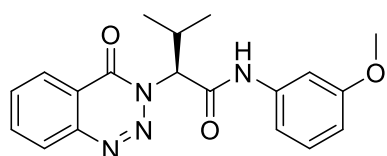


¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) : δ 8.43 (s, 1H, N=CH-N), 8.40 (sl, 1H, NH), 8.31 (dd, J = 8.0 et 1.1 Hz, 1H, ArH), 7.80 (td, J = 8.0 et 1.1 Hz, 1H, ArH), 7.77 (t, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.53 (td, J = 7.4 et 1.1 Hz, 1H, ArH), 7.28 (t, J = 2.0 Hz, 1H, ArH), 7.18 (t, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.00 (dd, J = 8.0 Hz et 1.1 Hz, 1H, ArH), 6.67 (dd, J = 8.0 et 2.0 Hz, 1H, ArH), 5.16 (d, J = 10.8 Hz, 1H, CH), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 2.76 (m, 1H, CH), 1.22 (d, J = 7.0 Hz, 3H, CH₃), 0.91 (d, J = 7.0 Hz, 3H, CH₃). ¹³C RMN (125 MHz, DMSO-d₆) : 167.1, 162.1, 160.3, 147.7, 144.0, 138.5, 135.0, 129.9, 128.0, 127.7, 127.1, 121.4, 112.3, 111.2, 105.6, 63.4, 55.5, 29.2, 20.1, 18.5 HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₂₀H₂₂N₃O₃⁺ 352.16557, Trouvée 352.16558. Pureté HPLC : 99.4%

Synthèse du composé **42**

Le composé **37aaa** et NaNO₂ sont dissous dans H₂O (0.2 mol/L), puis HCl conc (0.2/1 H₂O/HCl v/v) est ajouté. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation 10 min à t.a. Une fois la réaction terminée, le mélange est dilué avec H₂O et extrait avec AcOEt. La phase organique est séchée sur MgSO₄ et concentrée sous vide afin d'obtenir le composé désiré qui sera ensuite purifié par colonne chromatographique (éluant : 80/20 EP/AcOEt) afin d'obtenir le composé **42** pur sous forme de solide incolore (22.1 mg, rdt 5 étapes = 6%).

(S)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthyl-2-(4-oxobenzotriazolo[1,2-b]pyridin-3(4H)-yl)butanamide (**42**)

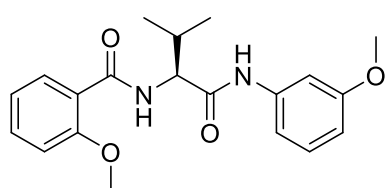


¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) : δ 8.63 (sl, 1H, NH), 8.37 (dd, J = 1.0 et 8.0 Hz, 1H, ArH), 8.22 (d, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 8.0 (td, J = 1.5 et 7.8 Hz, 1H, ArH), 7.85 (td, J = 1.0 et 7.8, 1H, ArH), 7.35 (t, J = 2.0 Hz, 1H, ArH), 7.16 (t, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.00 (dd, J = 1.5 et 8.0 Hz, 1H, ArH), 6.64 (ddd, J = 0.7, 2.5 et 8.2 Hz, 1H, ArH), 5.35 (d, J = 11.0, 1H, CH), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.15 (m, 1H, CH), 1.27 (d, J = 6.7 Hz, 3H, CH₃), 0.93 (d, J = 6.7 Hz, 3H, CH₃). ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) : δ 166.3, 160.2, 156.6, 143.7, 138.8, 135.6, 133.0, 129.7, 128.7, 125.5, 119.4, 112.1, 110.9, 105.4, 69.5, 55.4, 29.0, 19.9, 19.4. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₉H₂₁N₄O₃⁺ 353.16082, Trouvée 353.16016. Pureté HPLC > 99.9%

Synthèse du composé 43

Le **35aa** et l'acide o-anisique sont dissous dans du DCM (0.2 mol/L), puis la DIPEA (3 eq) est introduite et le mélange est agité pendant 30 min à t.a sous N₂ ; puis T3P à 50 % dans de l'ACN est ajouté. Le mélange est ensuite agité pendant une nuit à t.a. Une fois la réaction terminée, le milieu réactionnel est dilué avec de l'eau et extrait avec de l'acétate d'éthyle. Puis la phase organique est lavée trois fois avec une solution de NaHCO₃, puis avec une solution de NH₄Cl et une dernière fois avec une solution de NaCl saturée. La phase organique est séchée sur MgSO₄ et concentrée sous vide afin d'obtenir le composé désiré qui sera ensuite purifié par chromatographie (éluant : 99/1 DCM/MeOH) afin d'obtenir le composé **43** pur sous forme de solide incolore (35.1 mg, rdt 5 étapes = 18%)

(S)-2-méthoxy-N-(1-((3-méthoxyphényl)amino)-3-méthyl-1-oxobutan-2-yl)benzamide (43)

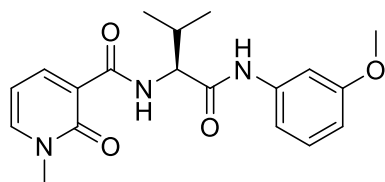


¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) : 9.13 (sl, 1H, NH), 8.57 (d, J = 8.1, 1H, NH), 8.20 (dd, J = 7.9 et 1.8 Hz, 1H, ArH), 7.48 (dd, J = 7.9 et 1.8 Hz, 1H, ArH), 7.25 (m, 1H, ArH), 7.09 (m, 2H, ArH), 7.01 (m, 2H, ArH), 6.59 (dd, J = 8.0 et 2.1 Hz, 1H, ArH), 4.82 (dd, J = 8.1 et 7.2 Hz, 1H, CH), 4.02 (s, 3H, CH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 2.39 (m, 1H, CH), 1.12 (d, J = 7.1 Hz, 3H, CH₃), 1.11 (d, J = 7.1 Hz, 3H, CH₃). ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) : δ 170.2, 166.0, 160.1, 157.9, 139.4, 133.4, 132.4, 129.5, 121.4, 121.0, 112.4, 111.6, 110.6, 105.3, 60.1, 56.3, 55.3, 30.8, 19.7, 18.6. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₂₀H₂₅N₂O₄⁺ 357.18099, Trouvée 357.18088. Pureté HPLC : 99.7%

Synthèse du composé 44

Le **35aa** et l'acide 1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxylique sont dissous dans du DCM (0.2 mol/L), puis la DIPEA (3 eq) est introduite et le mélange est agité pendant 30 min à t.a sous N₂ ; T3P à 50 % dans de l'ACN est ajouté. Le mélange est ensuite agité pendant une nuit à t.a. Une fois la réaction terminée, le milieu réactionnel est dilué avec de l'eau et extrait avec de l'acétate d'éthyle. Puis la phase organique est lavée trois fois avec une solution de NaHCO₃, puis avec une solution de NH₄Cl et une dernière fois avec une solution de NaCl saturée. La phase organique est séchée sur MgSO₄ et concentrée sous vide afin d'obtenir le composé désiré qui sera ensuite purifié par chromatographie (éluant : 99/1 DCM/MeOH) afin d'obtenir le composé **44** pur sous forme de solide incolore (49.7mg, rdt 5 étapes = 30%).

(S)-N-(1-((3-méthoxyphényl)amino)-3-méthyl-1-oxobutan-2-yl)-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (44)

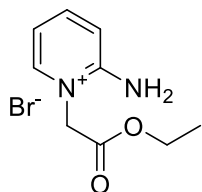


¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) : δ 10.42 (d, J = 7.9, 1H, NH), 8.74 (sl, 1H, NH), 8.49 (dd, J = 7.3 et 2.2 Hz, 1H, ArH), 7.56 (dd, J = 6.7 et 2.2 Hz, 1H, ArH), 7.32 (t, J = 2.2 Hz, 1H, ArH), 7.12 (t, J = 8.2, 1H, ArH), 6.96 (ddd, J = 8.0, 1.8 et 0.8 Hz, 1H, ArH), 6.59 (t, J = 8.3, 2.5 et 0.8 Hz, 1H, ArH), 6.40 (dd, J = 7.2 et 6.7, 1H, ArH), 4.53 (dd, J = 6.7 et 7.9 Hz, 1H, CH), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 3.65 (s, 3H, CH₃), 2.46 (m, 1H, CH), 1.10 (d, J = 6.7 Hz, 3H, CH₃), 1.07 (d, J = 6.7 Hz, 3H, CH₃). ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) : δ 169.9, 165.0, 162.6, 160.1, 144.1, 142.2, 139.3, 129.5, 120.7, 112.2, 110.4, 106.7, 105.4, 60.5, 55.4, 38.6, 29.8, 19.9, 18.4. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + H]⁺ Calculée C₁₉H₂₄N₃O₄⁺ 358.17613, Trouvée 358.17558. Pureté HPLC : 99.4%

Synthèse des composés 45 et 46

La 2-aminopyridine (ou 2-amino-5-bromopyridine ou 2-amino-5-bromopyrimidine) est dissoute dans du THF (0.7 mol/L) anhydre sous N₂, puis du bromoacétate d'éthyle (1.1 eq) est ajouté goutte à goutte à 0°C. Le mélange est ensuite agité 8h à t.a. Le produit précipite lors de la réaction. Les produits **48**, **49** ou **50** sont obtenus, après filtration et lavage par Et₂O, sous forme de solide.

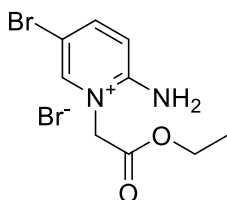
2-amino-1-(2-éthoxy-2-oxoéthyl)pyridin-1-ium bromide (**48**)



solide incolore (rose au contact de l'air avec le temps), rdt = 66% (365.5mg).

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) : δ 8.62(sl, 2H, NH₂), 8.02 (dd, J = 6.7 et 0.9 Hz, 1H, ArH), 7.92 (ddd, J = 7.1 et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.12(d, J = 8.8 Hz, 1H, ArH), 6.94(td, J = 6.9 et 1.2Hz, 1H, ArH), 5.16(s, 2H, CH₂), 4.21(q, J = 7.1, 2H, CH₂), 1.25 (t, J = 7.1Hz, 3H, CH₃). Conforme à la littérature.²³⁸

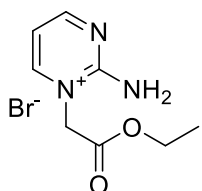
Bromure de 2-amino-5-bromo-1-(2-éthoxy-2-oxoéthyl)pyridin-1-ium (**49**)



solide incolore (rose au contact de l'air avec le temps) rdt = 26% (153.1 mg).

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) : δ 8.81(sl, 2H, NH₂), 8.34 (sl, 1H, ArH), 7.98 (d, J = 9.4 Hz, 1H, ArH), 7.01 (d, J = 9.4 Hz, 1H, ArH), 5.05(s, 2H, CH₂), 4.21(q, J = 7.0, 2H, CH₂), 1.25 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH₃). Conforme à la littérature.²³⁸

Bromure de 2-amino-1-(2-éthoxy-2-oxoéthyl)pyrimidine-1-ium (**50**)

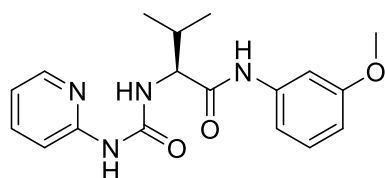


solide bleu/noir rdt = 6% (49.9 mg)

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) : δ 9.26 (sl, 2H, NH₂), 8.86 (sl, 1H, ArH), 8.43 (d, J = 6.7 Hz, 1H, ArH), 7.07 (t, J = 4.5 Hz, 1H, ArH), 5.07(s, 2H, CH₂), 4.22(q, J = 7.0, 2H, CH₂), 1.25 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH₃).

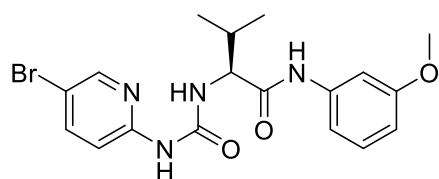
Le produit **48** (ou **49**), le composé **35aa** et le K_3PO_4 sont dissous dans DMF anhydre (0.2 mol/L). Le milieu réactionnel est agité à 100°C sous air pendant 20h. Après réaction, le mélange est refroidi puis H_2O froid est ajoutée. Le produit est ensuite extrait avec de l'AcOEt. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$ et concentrée sous vide afin d'obtenir le composé désiré qui sera ensuite purifié par chromatographie (éluant : 70/30 EP/AcOEt).

(S)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthyl-2-(3-(pyridin-2-yl)uréido)butanamide (45)



Rdt 12 % (18.2 mg), solide incolore. 1H RMN (500 MHz, $CDCl_3$) : δ 9.96 (sl, 1H, NH), 8.87 (sl, 1H, NH), 8.73 (sl, 1H, NH), 8.21 (dd, $J = 5.0$ et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.56 (dd, $J = 7.5$ et 2.1 Hz, 1H, ArH), 7.34 (t, $J = 2.1$ Hz 5H, ArH), 7.15 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.01 (m, 1H, ArH), 6.99 (ddd, $J = 8.1, 1.8$ et 0.7 Hz, 1H, ArH), 6.91 (ddd, $J = 7.2, 5.1$ et 0.7 Hz, 1H, ArH), 6.91 (ddd, $J = 8.3, 2.5$ et 0.7 Hz, 1H, ArH), 4.42 (dd, $J = 7.7$ et 6.6 Hz, 1H, CH), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 2.47 (m, 1H, CH), 1.09 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, CH_3), 1.08 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, $CDCl_3$) : δ 170.7, 160.2, 156.8, 153.2, 146.4, 139.2, 138.7, 129.7, 117.5, 112.3, 112.3, 110.5 105.6, 61.1, 55.4, 30.4, 19.3, 18.4. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[2M + H]^+$ Calculée $C_{36}H_{45}N_8O_6^+$ 685.34566, Trouvée 685.34546. Pureté HPLC : 95.1%

(S)-2-(3-(5-bromopyridin-2-yl)uréido)-N-(3-méthoxyphényl)-3-méthylbutanamide (46)



Rdt 12 % (14.1 mg), solide incolore. 1H RMN (500 MHz, $CDCl_3$) : δ 9.49 (sl, 1H, NH), 8.94 (sl, 1H, NH), 8.52 (sl, 1H, NH), 8.27 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, ArH), 7.63 (dd, $J = 8.8$ et 2.3 Hz, 1H, ArH), 7.31 (t, $J = 2.0$ Hz 5H, ArH), 7.16 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 6.98 (m, 1H, ArH), 6.65 (dd, $J = 8.1$ et 2.1Hz, 1H, ArH), 4.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H, CH), 3.76 (s, 3H, OCH_3), 2.40 (m, 1H, CH), 1.08 (d, $J = 6.5$ Hz, 6H, CH_3). ^{13}C RMN (125 MHz, $CDCl_3$) : δ 170.5, 160.2, 156.3, 151.8, 147.3, 141.3, 139.0, 129.8, 113.8, 112.4, 112.3, 110.5, 105.9, 61.2, 55.4, 30.6, 19.9, 18.5. HRMS (ESI-QToF) : m/z : $[M + H]^+$ Calculée $C_{18}H_{22}BrN_4O_3^+$ 422.08994 et 423.08514, Trouvée 422.08979 et 423.08697 Pureté HPLC : 98.0%

Synthèse des composés **28ala et **52****

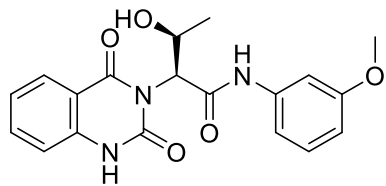
Synthèse 1 :

Le composé **28aka** (1 eq) est dissous dans du DCM (0.1 mol/L), puis DAST (1.1 eq) est ajouté à 0°C. Le milieu réactionnel est agité 30 min à 0°C puis 1h à t.a. Le milieu réactionnel est ensuite refroidi à 0°C afin d'ajouter une solution de $NaHCO_3$, puis extrait avec AcOEt. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$ et concentrée sous vide afin d'obtenir les composés **50** et **51** avec un ratio 1/0.7 (ratio RMN). Les composés sont ensuite purifiés par chromatographie (éluant : 50/50 EP/AcOEt). Composé **50**, rdt = 23% et composé **51**, rdt = 18%.

Synthèse 2 :

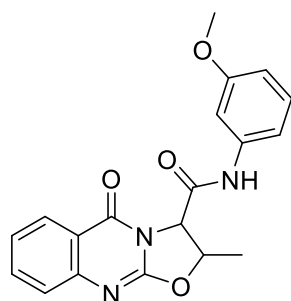
Le composé **28aka** (1eq) est dissous dans du DCM (0.5 mol/L), puis Fluolead (1.5 eq) est ajouté à 0°C. Le milieu réactionnel est agité 30 min à 0°C puis 3h à t.a. Le milieu réactionnel est ensuite évaporé puis une solution de $NaOH$ sat est ajoutée. Le produit est extrait avec AcOEt. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$ et concentrée sous vide afin d'obtenir les composés **52**. Ce composé est ensuite purifié par chromatographie (éluant : 50/50 EP/AcOEt) afin d'obtenir un solide incolore (7mg, rdt = 15%).

(2S,3S)-2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazoline-3(2H)-yl)-3-hydroxy-N-(3-méthoxyphényl)butanamide (28a)



Solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) : δ 11.58 (sl, 1H, NH), 10.02 (sl, 1H, NH), 7.95 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.71 (dd, $J = 7.6$ et 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.23 (m, 4H, ArH), 7.04 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 6.65 (dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, 1H, ArH), 5.93 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H, OH), 5.26 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, CH), 4.73 (m, 1H, CH), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 1.04 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, CH₃). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO- d_6) : δ 167.2, 162.3, 159.6, 150.2, 139.6, 139.5, 135.5, 129.6, 127.7, 122.8, 115.3, 113.6, 112.0, 109.4, 105.4, 64.0, 59.1, 55.0, 20.2. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₁₉H₁₉N₃NaO₅⁺ 392.1217, Trouvée 392.1220. Pureté HPLC : 95.2%

N-(3-méthoxyphényl)-2-méthyl-5-oxo-2,3-dihydro-5H-oxazolo[2,3-b]quinazoline-3-carboxamide (52)



Solide incolore, ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) : δ 10.64 (sl, 1H, NH), 8.03 (dd, $J = 7.9$ et 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.77 (dd, $J = 7.2$ et 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.50 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.39 (dd, $J = 6.5$ et 1.1 Hz, 1H, ArH), 7.28 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H, ArH), 7.26 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.13 (ddd, $J = 8.1, 2.0$ et 0.6 Hz, 1H, ArH), 6.71 (ddd, $J = 8.3, 2.5$ et 0.6 Hz, 1H, ArH), 5.39 (m, 1H, CH), 5.35 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, CH), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 1.46 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H, CH₃). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO- d_6) : δ 163.9, 159.6, 159.6, 155.5, 149.1, 139.1, 135.0, 129.8, 126.2, 125.9, 124.6, 118.3, 111.6, 109.8, 105.0, 77.2, 60.0, 55.0, 15.1. HRMS (ESI-QToF) : m/z : [M + Na]⁺ Calculée C₁₉H₁₇N₃NaO₄⁺ 374.1111, Trouvée 374.1110.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Les différentes souches de <i>P.falciparum</i>	229
ANNEXE 2 : Essais cliniques - Médicaments	230
ANNEXE 3 : Essais cliniques - Vaccin contre le paludisme	232
ANNEXE 4 : Mécanismes.....	234

ANNEXE 1 : Les différentes souches de *P.falciparum*

Il existe une multitude de souches de *P.falciparum* qui se sont développées partout dans le monde. Voici une liste non-exhaustive des souches pouvant être utilisées pour tester les activités inhibitrices de divers candidats médicaments.³¹¹⁻³¹³

Souche/Clone	Origine géographique	Profil de résistance aux médicaments
NF54	Pays-Bas	-
D6	Sierra Léone	-
3D7	Pays-Bas	SDX
7G8	Brésil	CQ, PYR, CYC
Dd2	Indochine	CQ, QN, PYR, SDX
FCB	Thaïlande	CQ, QN, CYC
FCR3	Gambie	CQ
W2	Indochine	CQ, QN, PYR, SDX
HB3	Honduras	PYR

SDX, sulfadoxine ; CQ, chloroquine ; QN, quinine ; CYC, cycloguanil ; PYR, pyriméthamine

La souche 3D7 a été dérivée de la souche NF54. NF54 a été isolé d'un patient vivant près de l'aéroport de Schiphol aux Pays-Bas, patient qui n'avait jamais quitté les Pays-Bas...³¹⁴

ANNEXE 2 : Essais cliniques - Médicaments

Le développement clinique de médicaments se compose de cinq phases (phase 0 à IV). Les essais cliniques se déroulent en différentes pour répondre à diverses questions, et chaque phase s'appuie sur les résultats des phases précédentes.

Phase	Objectif de l'étude
0	Pharmacocinétique, en particulier biodisponibilité orale et temps de demi-vie du médicament
I	Essais sur des volontaires sains pour évaluer l'innocuité, la tolérabilité, la pharmacocinétique, la pharmacodynamique d'un composé et les premières mesures de l'activité du médicament.
II	Évaluer l'efficacité et les effets secondaires et déterminer la dose et le schéma thérapeutique pour les essais de phase III
III	Démontrer ou confirmer le bénéfice thérapeutique visant à la mise sur le marché
IV	Pharmacovigilance après la mise sur le marché

Essais de phase 0

Phase préclinique facultatif afin d'enquêter sur certains paramètres.

Ces essais concernent l'évaluation des paramètres suivants :

- L'activité pharmacodynamique du candidat-médicament.
- La large fenêtre thérapeutique du candidat-médicament.
- La non-toxicité du candidat-médicament et sa durée d'exposition : une courte durée, soit environ une semaine.

Cette étude n'est pas obligatoire dans le cadre d'essais cliniques, elle peut avoir lieu lors de la phase R&D du candidat-médicament.

Essais de phase I

Les différentes études réalisées lors de la phase I :

- Phase Ia : un petit groupe de sujets reçoit une dose unique du composé dans un cadre clinique, et est surveillé.

- Phase Ib : un autre petit groupe de sujets reçoit non pas une dose unique mais de multiples doses sous surveillance régulière.

L'objectif étant d'évaluer tout d'abord à l'échelle humaine, l'innocuité, la tolérabilité, la pharmacocinétique, la pharmacodynamique d'un composé et les premières mesures de l'activité du médicament.

Essais de phase II

Les études lors de cette phase permettent de donner une première estimation de la relation dose-réponse et des études ultérieures plus poussées peuvent confirmer cette relation.

Les chercheurs peuvent réaliser des études confirmatoires des relations dose-réponse en phase II ou partir en phase III.

Les études de phase II peuvent comprendre les phases IIa et IIb. Cependant, il n'y a pas d'obligation formelle pour ces deux sous-catégories.

- Phase IIa : études pilotes conçues pour démontrer l'efficacité clinique ou l'activité biologique (également appelées études de preuve de concept).
- Phase IIb : études permettant de déterminer la dose optimale à laquelle le médicament montre une activité biologique avec des effets secondaires minimales.

Essais de phase III

Les études de phase III ont pour objectifs de démontrer le bénéfice du médicament en vue de sa demande d'autorisation de mise sur le marché auprès des agences sanitaires compétentes. Elles complètent donc la phase II pour notamment proposer une notice d'utilisation adéquate du médicament et expliquer les effets secondaires possibles.

Cette étape de l'évaluation du médicament est menée auprès d'une population cible plus large et souvent plus diversifiée.

Phase IV

La phase IV est menée après l'approbation du médicament : il s'agit de l'étape de pharmacovigilance qui aide à détecter tout effet indésirable rare ou à long terme sur une population beaucoup plus importante et sur une période beaucoup plus longue.

ANNEXE 3 : Essais cliniques - Vaccin contre le paludisme

Les essais cliniques de vaccins comprennent quatre phases (comme pour les médicaments), le passage d'une phase à l'autre est conditionné par les résultats obtenus en termes d'innocuité, d'immunogénicité puis d'efficacité.

Essais de phase I

Objectifs :

- évaluer l'innocuité chez l'Homme
- évaluer l'immunogénicité du vaccin

Les essais sont d'abord effectués sur des volontaires adultes vivant dans des zones non-endémiques (phase Ia). Suite à cela, les essais sont effectués sur des adultes puis des enfants vivants dans des zones endémiques (phase Ib).

Les essais de phase I impliquent quelques dizaines de volontaires.

Essais de phase II

Objectif : évaluer l'efficacité potentielle du vaccin dans différentes conditions.

- 1^{ère} étape (phase IIa) : condition expérimentale, c'est-à-dire que la vaccination se fait sur des volontaires sains dans des pays non-endémiques avec une exposition à des moustiques porteurs du paludisme (en générale 5 piqûres)
- 2^{ème} étape (phase IIb) : condition naturelle, vaccination de la population exposée au paludisme dans des pays endémiques.

Les essais de la phase IIa impliquent généralement une dizaine de volontaires, et ceux de la phase IIb impliquent quelques centaines d'individus et sont comparés à un placebo (en pratique un vaccin protégeant contre une autre maladie que le paludisme).

Essais de phase III

Objectif : démontrer l'efficacité du vaccin dans des conditions normales d'administration ainsi que le contrôle de la sécurité (effets secondaires, ...).

Les essais de phase III consistent à faire une évaluation à grande échelle allant de quelques centaines à quelques milliers de personnes, voire plus si le vaccin doit être évalué sur des formes graves du paludisme. Ceci aboutirait à une demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM).

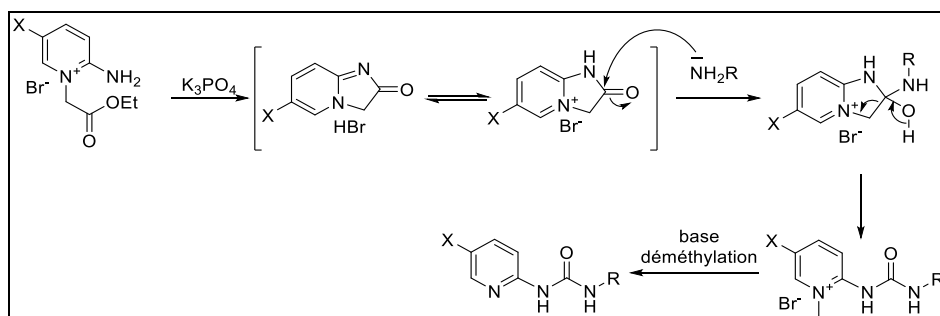
Phase IV (pharmacovigilance, après la mise sur le marché)

Objectif :

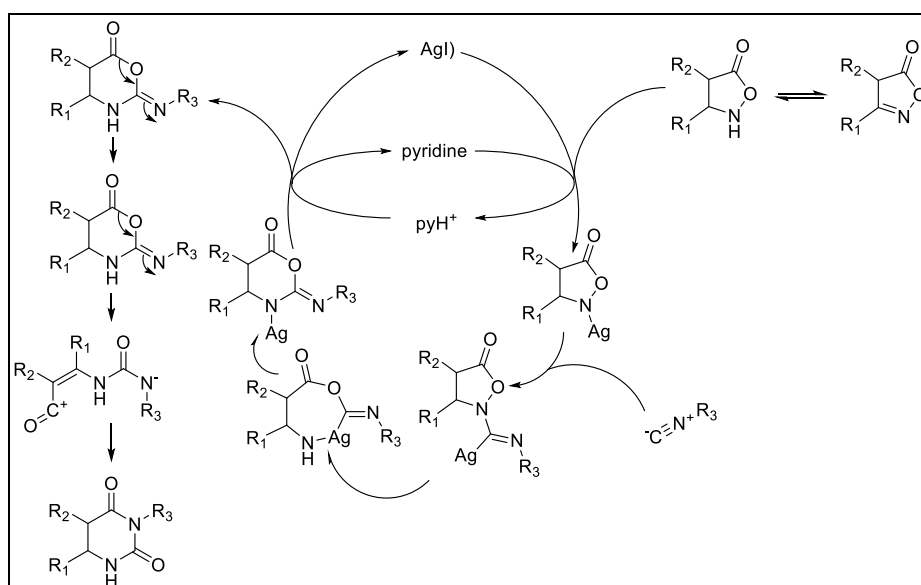
- identifier les effets secondaires tardifs ou rares sur certaines personnes
- évaluer l'efficacité du vaccin

ANNEXE 4 : Mécanismes

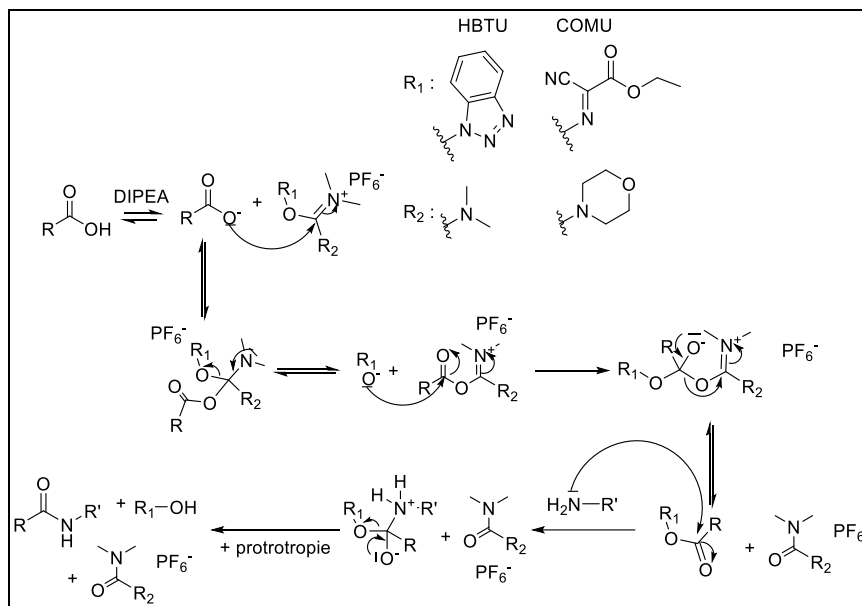
Mécanismes pour l'obtention des dérivés de type 1-(2-pyridinyl)urée²³⁸ :



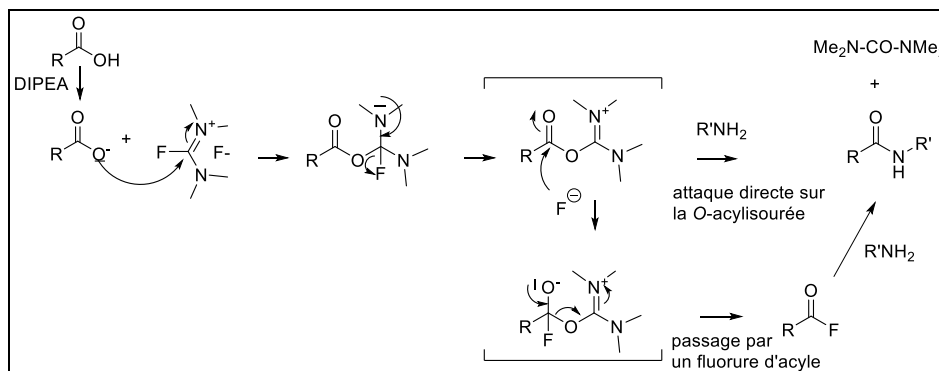
Conception d'uracile via insertion/réarrangement de Mumm²³⁹ :



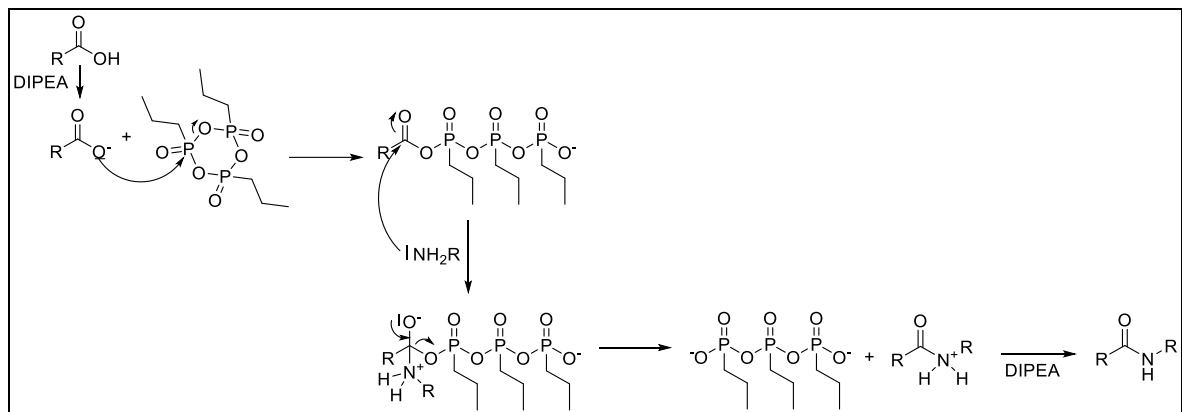
Mécanisme de couplage peptidique avec HBTU et COMU :



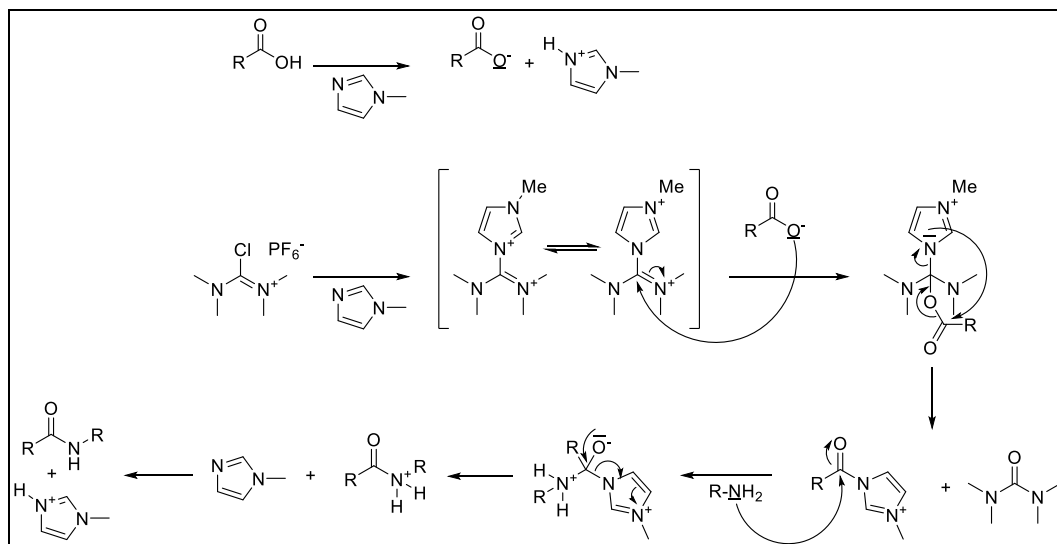
Mécanisme de couplage peptidique avec des sels de fluoroformamidinium (TFFH ou BTFFH) : 315,316



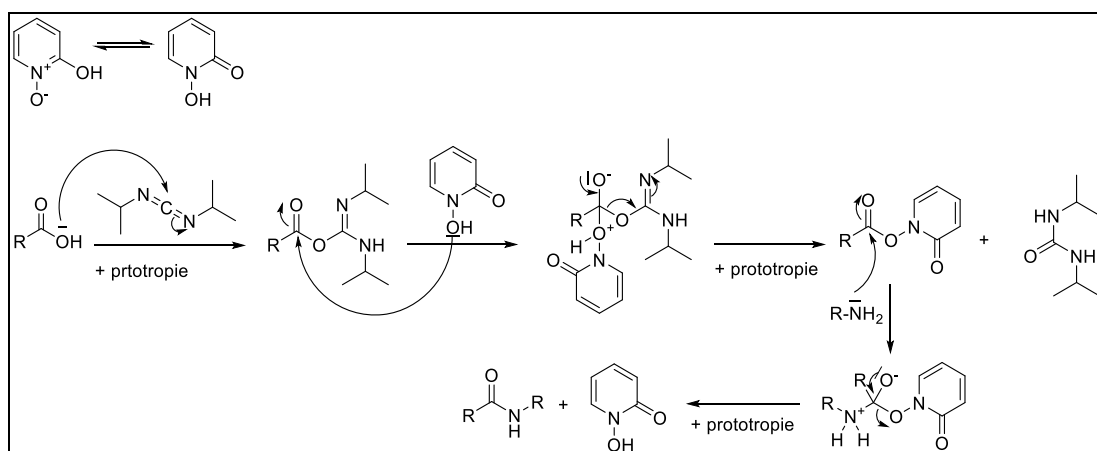
Mécanisme de couplage peptidique avec T3P :



Mécanisme de couplage peptidique avec TCFH/NMI³¹⁷ :



Mécanisme de couplage peptidique avec DIC/HOPO³¹⁸ :



GLOSSAIRE

Antigène :

Un antigène est une substance étrangère à l'organisme reconnue par le système de défense de l'organisme (système immunitaire).

Immunité stérilisante :

L'immunité stérilisante empêche totalement l'infection de l'hôte par un agent infectieux donné.

Prophylaxie :

Processus ayant pour but de prévenir l'apparition, la propagation ou l'aggravation d'une maladie.

Antimétabolite :

Un antimétabolite est une substance chimique, ayant une structure proche d'un métabolite, qui va ainsi entraver la voie métabolique ciblée.

Pharmacogénétique :

La pharmacogénétique est une branche de la génétique qui étudie les mécanismes d'origine génétique intervenant dans la réponse aux médicaments. L'étude a pour objectif de vérifier et d'optimiser l'efficacité et sa sécurité d'emploi.

Criblages phénotypiques :

Le criblage phénotypique est une stratégie visant à identifier des molécules ayant des effets biologiques lors d'essais *in vivo* ou *in cellulo*.

Par exemple le criblage phénotypique à haut-débit consiste à tester de grandes bibliothèques de composés chimiques. Ces tests sont des tests cellulaires automatisés qui mesurent les effets sur des caractéristiques telles que la prolifération cellulaire.

Toxicophore :

Un toxicophore est une structure chimique, ou une partie d'une structure, qui est liée aux propriétés toxiques d'un produit chimique. Les toxicophores peuvent agir directement, ou peuvent nécessiter une activation métabolique. Dans le premier cas le produit chimique est toxique, dans l'autre cas c'est son métabolite qui est toxique.

Isoformes des cytochromes P450 :

Des isoformes sont des molécules de la même famille qui possèdent des structures très proches et ont des fonctions voisines. En fait, les cytochromes P450 notés CYPs, font partie d'une vaste famille de métalloenzymes. Ils sont répartis dans trois familles (CYP1, CYP2 et CYP3) et il existe des sous familles. Chaque type de cytochrome a une fonction différente.

Relations structures/activités (SAR) :

Les relations structure/activité (SAR) constituent la relation existant entre une structure chimique et une activité pharmacologique pour une série de molécules. En effet, étudier les relations SAR revient à synthétiser diverses molécules de la même série en modulant certaines parties de leurs structures, puis de tester leurs activités pharmacologiques. Cette modulation va permettre de savoir quelles parties de la structure vont impacter l'activité pharmacologique.

Relations structures/propriétés (SPR) :

Les relations structure/activité (SPR) constituent la relation existant entre une structure chimique et les propriétés physico-chimiques et ADME-PK pour une série de molécules. En effet, étudier les relations SPR revient à synthétiser diverses molécules de la même série en modulant certaines parties de leurs structures puis de tester leurs propriétés physico-chimiques.

Différentes propriétés physico-chimiques ou ADME-PK peuvent être testées comme : solubilité, pKa, perméabilité membranaire, taux de liaison aux protéines plasmatiques/ou cérébrales, stabilité métabolique, clairance, temps de demi-vie, biodisponibilité...

ADME-PK est l'abréviation de la pharmacocinétique et de la pharmacologie pour "l'Absorption, la Distribution, le Métabolisme et l'Excrétion". Les propriétés concernant l'absorption sont importantes pour connaître le mode d'administration du médicament. La distribution est définie comme le transfert du médicament d'une région du corps à une autre, elle est importante car certaines molécules bioactives éprouvent des difficultés à passer certaines barrières physiologiques. Le métabolisme est important car certaines molécules bioactives peuvent être métabolisées et leurs métabolites peuvent ne pas être bio-actifs. L'excrétion est également importante car le médicament et ses métabolites doivent être éliminés pour ne pas affecter le métabolisme normal.

Méthémoglobinémie :

La méthémoglobine est de l'hémoglobine dans laquelle le fer oxydé passe de l'état ferreux (Fe^{2+}) à l'état ferrique (Fe^{3+}) empêchant le transport de l'oxygène dans le sang. La méthémoglobinémie est une maladie qui se produit lorsqu'il y a un taux de méthémoglobine trop important dans le sang pouvant être induit par divers phénomènes.

Aire de la surface polaire topologique TPSA :

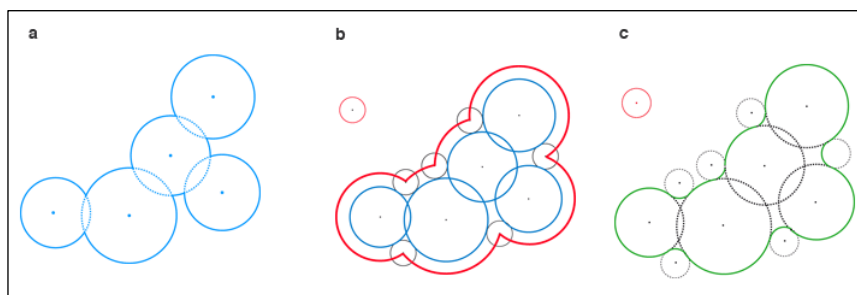
L'aire de la surface polaire (PSA) (ou l'aire de la surface polaire topologique (TPSA) d'une molécule) est définie comme la somme de la surface de tous les atomes ou molécules polaires, principalement l'oxygène et l'azote, y compris leurs atomes d'hydrogène attachés. La TPSA est obtenue par un calcul basé sur la topologie de la molécule.

Calcul de « Connolly Accessible Area » :

Plusieurs définitions de la surface des protéines ont été introduites, chacune ayant des caractéristiques différentes et divers degrés de détail. Les définitions de surface les plus couramment rencontrées sont : la surface de van der Waals (vdW) (Bash et al. 1983), la surface de Lee-Richards ou « Solvent-Accessible surface » (SAS) (B. Lee et al. 1971) et la surface Connolly ou « Solvent-Excluded surface » (SES) (Connolly 1983).

Le calcul de la surface de Connolly est réalisé selon la méthode suivante : une molécule (déterminée par une famille de boules de van der Waals, figure ci-dessous) interagit avec son environnement à travers sa surface moléculaire, dont on donne trois types de représentations. Le bord de l'union des boules de van der Waals, dénommée surface de van der Waals, sert surtout à visualiser la molécule. Pour étudier la solvation d'une molécule, on a besoin de connaître la surface accessible au solvant (SAS). On la déduit de la surface précédente en faisant rouler dessus une boule mimant une molécule d'eau : le centre de cette boule dessine une nouvelle surface, dénommée surface accessible au solvant.

On s'intéresse aussi à la manière dont la boule qui représente le solvant recouvre les creux de la surface de van der Waals : on obtient ainsi la surface de Connolly (SES), troisième type de représentation de la surface moléculaire (figure ci-dessous).



(a) : La surface d'une molécule représentée par des boules de van der Waals est constituée par la frontière de l'ensemble de ces boules, c'est la surface de van der Waals (en bleu). (b) : La surface accessible par le solvant (en rouge) est l'ensemble des positions possibles du centre d'une boule représentant le solvant, qui roulerait sur la surface de van der Waals (SAS). (c) : La surface de Connolly (en vert) prend en compte le recouvrement des creux par la boule représentant le solvant (SES).

RÉSUMÉ

1) Introduction

Le paludisme (ou malaria) est encore aujourd'hui une maladie infectieuse préoccupante et mortelle dans les régions tropicales et subtropicales d'Afrique, d'Asie et d'Amérique. En 2019, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a enregistré 229 millions de cas et 409 000 décès dus au paludisme.

Les enfants âgés de moins de cinq ans et les femmes enceintes en sont les principales victimes. Le paludisme est dû à des parasites du genre *Plasmodium* et est transmis d'une personne à l'autre par des piqûres de moustiques femelles du genre *Anopheles* (vecteurs). Cinq espèces de *Plasmodium* sont pathogènes chez l'Homme : *P. falciparum* (la plus virulente et la plus répandue), *P. malariae*, *P. ovale*, *P. vivax* et *P. knowlesi*. Depuis une dizaine d'années, la morbidité et la mortalité liées au paludisme ont nettement reculé, notamment grâce à un meilleur diagnostic, à l'utilisation croissante de moustiquaires et à un accès aux soins amélioré. Cependant, l'émergence de résistances aux insecticides et aux médicaments antipaludéens est une menace pour les efforts mondiaux de contrôle et d'élimination du paludisme.¹

Ainsi, il est urgent de trouver de nouvelles cibles et de développer de nouveaux agents antipaludiques agissant via des mécanismes originaux.

Selon les recommandations de l'OMS et de Medicines for Malaria Venture (MMV), ces agents antipaludéens de nouvelle génération doivent répondre à un cahier des charges très précis^{126,127} :

- 1) être à action rapide,
- 2) posséder une activité biologique contre plusieurs stades du cycle de vie du parasite,
- 3) éliminer la parasitémie du stade sanguin,
- 4) être actifs contre les hypnozoïtes (responsables de « rechutes »),
- 4) posséder une activité contre les schizontes hépatiques,
- 5) bloquer la transmission en ciblant les gamétocytes du parasite,
- 6) bloquer la transmission en ciblant le cycle sporogonique (phase dans l'anophèle).

Dans ce contexte, l'équipe « Chimie Médicinale et Phytopharmaceutique » du Laboratoire d'Innovation Moléculaire et Applications s'est intéressée à l'exploitation de la « Malaria Box » de MMV et a identifié un cluster prometteur de trois molécules basées sur un squelette de type quinazolinédione (figure I). Outre leur simplicité et rapidité de synthèse, ces molécules possèdent des propriétés pharmacologiques intéressantes contre plusieurs stades du cycle de vie du parasite du paludisme tout en ayant une faible toxicité envers des cellules humaines. Cependant, ces molécules souffrent d'un handicap majeur, eu égard à leur modeste profil pharmacocinétique avec notamment des problèmes de solubilité ou de stabilité métabolique.¹⁵⁷ Pour pallier ces défauts, nous avons alors entamé une phase d'optimisation de ces « hits » qui consiste à les modifier pour améliorer leurs propriétés pharmacologiques.

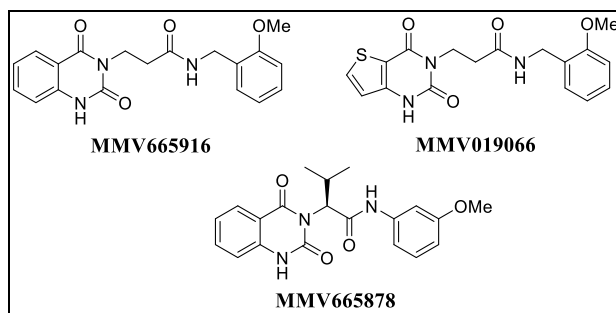


Figure I : Molécules d'intérêt basées sur un squelette de type quinazolinédione issues de la Malaria Box

Ce cluster de molécules a été divisé en deux séries :

- série 1 : MMV665916 et MMV019066 (molécules possédant le même espaceur entre le cœur quinazolinédione et la liaison amide ainsi qu'une position benzylique).
- série 2 : MMV665878 (structure proche de la série 1 possédant un espaceur de type amino acide et un anilide).

2) Résultats et discussions

- Les premiers résultats concernant la série 1 ont montré que l'étude des Relations Structure Activité (SAR) reste relativement « plate », aucun des 27 analogues préparés n'ayant conduit à une amélioration ou rétention de l'activité biologique. Récemment, d'après l'analyse du résistome de *P. falciparum*, Cowell *et al.* ont suggéré un possible mode d'action de cette série 1 de quinazolinédione via l'inhibition de l'enzyme farnésyltransférase (*PfFT*) zinc-dépendante (PF3D7_1147500)³¹⁹. Une étude de modélisation moléculaire, nous a permis de réviser le mode de liaison du ligand avec *PfFT* proposé jusqu'à ce jour.

- La série 2, quant à elle, montre des résultats plus prometteurs, une étude plus approfondie a donc été réalisée.

Trois zones ont été choisies pour l'étude SAR de cette série : A, B, C à partir des prédictions de dégradation métabolique réalisées grâce au modèle « XenoSite P450 Metabolism » du site web XenoSite¹⁶⁸ (figure II). Ce modèle permet de localiser des zones potentiellement oxydables par les différents isoformes de cytochromes P450. La représentation HLM (Human Liver Microsome) résume l'ensemble des sites d'oxydation possible par les microsomes de foie humain et permet de repérer rapidement les zones les plus sensibles sur un seul graphe.

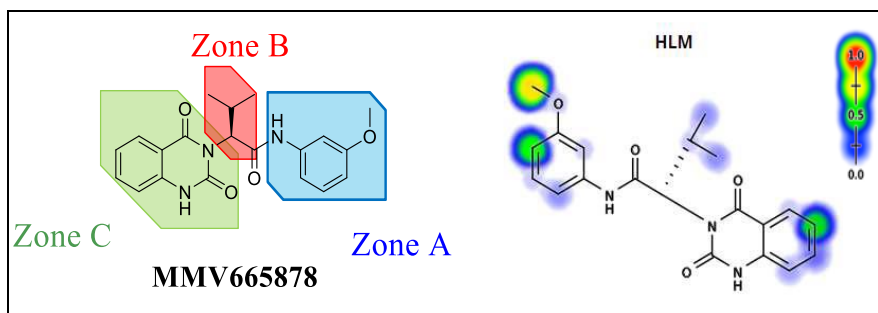


Figure II : MMV665878 et ces trois zones d'études, bleue : zone A, rouge : zone B, vert : zone C. Prédiction de dégradation métabolique de MMV665878 via XenoSite, représentation HLM (l'échelle indique que les zones en rouges sont les plus susceptibles d'être oxydées venant ensuite les zones en jaune, verte puis bleue).

Des synthèses simples et permettant un accès rapide aux molécules désirées ont été élaborées et ont conduit à l'obtention d'environ 80 analogues. Les deux voies de synthèses les plus utilisées sont représentées figures III et IV.

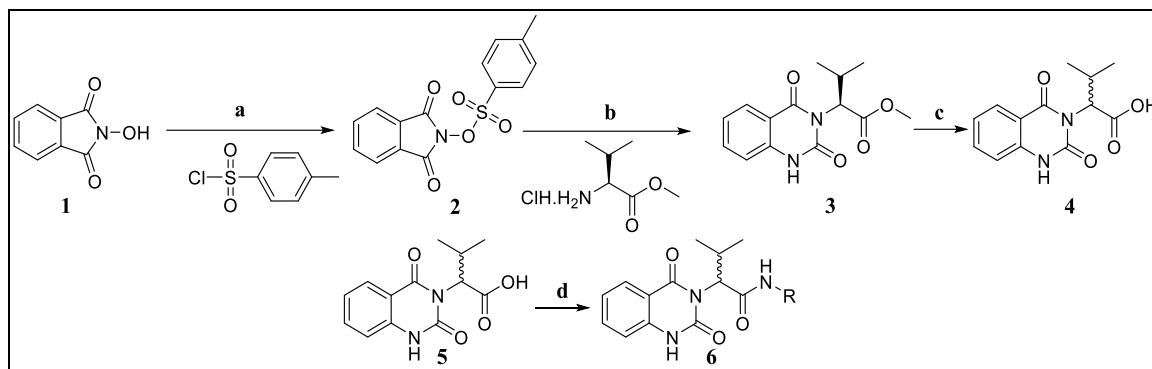


Figure III : Voie de synthèse n°1 en série racémique : a) pyridine, DCM, t.a, 1h30. b) pyridine, 120°C, 18h. c) NaOH, MeOH, 70°C, 18h. d) NH₂-R, DIPEA, DCM, T3P, t.a ou 80°C, 16-72h.

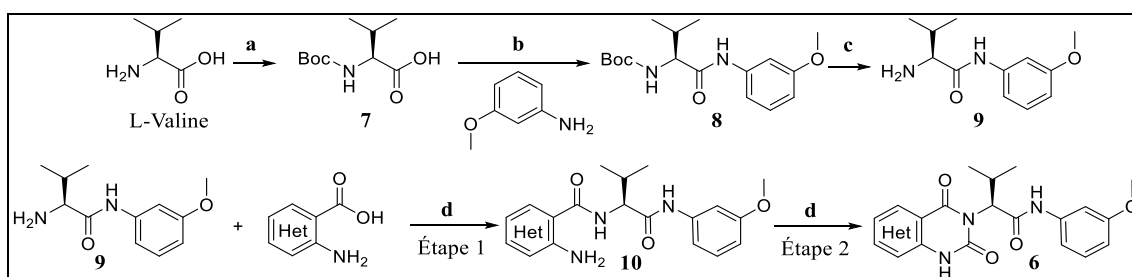


Figure IV : Voie de synthèse n°2 en série énantiopure : a) Boc₂O, NaOH, THF/H₂O, t.a, 16h. b) méthode A : DIPEA, T3P, DCM, t.a, 24h ; méthode B : TCFH/NMI, MeCN, t.a, 24h. c) TFA, DCM, t.a, 3h. d) méthode A : l'étape 1 et 2 sont réalisées en « one-pot, two steps » ; méthode B : l'étape 1 et 2 sont réalisées en séquentielles ; étape 1 méthode A : DIPEA, DCM, T3P, t.a, 16h ; étape 1 méthode B : DIC/HOPO, H₂O/MeCN, 80°C, 16h ; étape 2 : DIPEA, DCM, triphosgène, 0°C puis t.a, 5h.

La première voie de synthèse (figure III) fournit les produits souhaités en série racémique en 4 étapes. La première étape consiste en la tosylation de la *N*-hydroxyphthalimide **1** afin d'obtenir le précurseur **2**. Ce dernier est alors mis en réaction avec l'hydrochlorure de l'ester méthylique de la L-Valine (ou un autre acide aminé si on veut modifier la zone B) qui via un réarrangement de Lossen suivi d'une cyclisation conduit à la formation du squelette quinazolinedione **3**.³²⁰ L'acide carboxylique **4** est ensuite obtenu par saponification de l'ester **3** qui s'accompagne d'une racémisation du centre stéréogène. La dernière étape est une réaction de couplage peptidique de l'acide carboxylique **4** avec divers anilines en présence de T3P comme agent de couplage. Cette voie de synthèse est très pratique et judicieuse pour moduler la zone A.

La deuxième voie de synthèse (figure IV) est une synthèse qui permet d'obtenir des composés énantiopurs (vérifié par chromatographie en phase supercritique SFC sur colonne chirale, figure V). Cette approche est très pratique et judicieuse pour moduler la zone C car la formation du squelette quinazolinedione intervient lors de la dernière étape via une procédure « one-pot, two-step ». La synthèse débute par une protection de la fonction amine de la L-Valine par un groupement Boc, suivi d'un couplage avec la *m*-anisidine à l'aide de T3P ou du système TCFH/NMI²⁴⁹ afin d'obtenir le composé **8**. Une hydrolyse par du TFA et un traitement aqueux basique permet d'obtenir l'amine libre **9**. Les dernières étapes de la synthèse se déroulent selon une procédure « one-pot, two-step » : divers acides anthraniliques sont mis en réaction avec l'amine **9** pour donner dans un premier temps les intermédiaires de type benzamide **10**, puis dans un second temps une réaction de cyclisation en présence de triphosgène conduit au squelette quinazolinedione **6**. Certains acides anthraniliques ont posé des problèmes de solubilité dans CH₂Cl₂ et/ou de réactivité lors de cette séquence réactionnelle. De nouvelles conditions de couplage utilisant le système DIC/HOPO dans un mélange eau/MeCN ont dues être mise au point, conditions malheureusement incompatibles avec la procédure en « one-pot, two-step ».

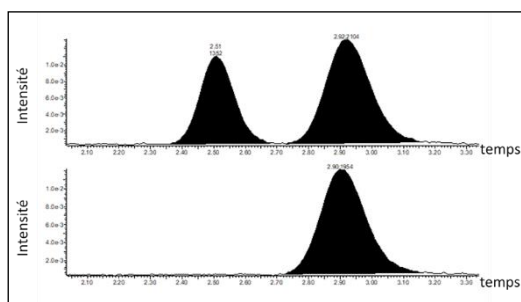


Figure V : Chromatogrammes obtenus par chromatographie SFC : mélange racémique vs composé énantiopur MMV665878 (colonne chirale Trefoil AMY, 2,5 μ m, 2,1 \times 150 mm ; isocratique 20 % MeOH, 0,1 % FA).

Les résultats de la SAR (figure 6A) montrent que cette série semble très prometteuse. Certains analogues ont été sélectionnés afin de déterminer des propriétés physico-chimiques supplémentaires dont notamment la solubilité aqueuse (figure VI B).

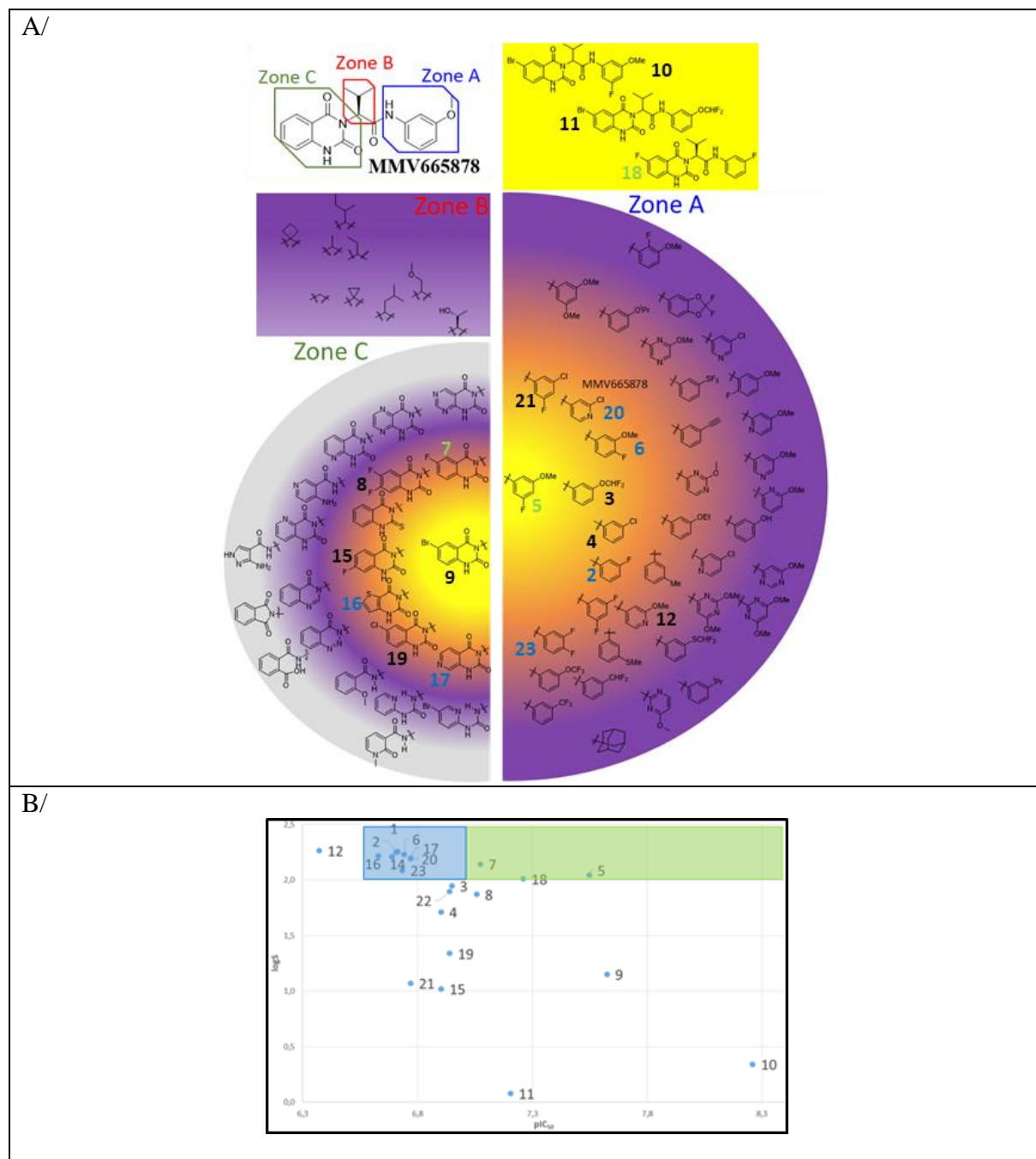


Figure VI : A/ IC₅₀ (FcB1, souche résistante à la chloroquine) des différents analogues synthétisés : jaune < 50 nM ; 50 nM < orange < 500 nM ; 500 nM < violet < 100 μM ; 100 μM > gris. B/ Solubilité cinétique dans le tampon PBS à pH 7,4 vs activité inhibitrice, abscisse : log S (S en μM), ordonnée : pIC₅₀ = -log (IC₅₀ (M))

La molécule **10** la plus active ne possède malheureusement pas une bonne solubilité (figure VI et VII). Néanmoins, comme l'on ne cherche pas à avoir la meilleure activité, mais plutôt un bon équilibre activité/propriétés, certaines molécules plus intéressantes ont été sélectionnées pour évaluer leur stabilité métabolique, autre propriété importante.

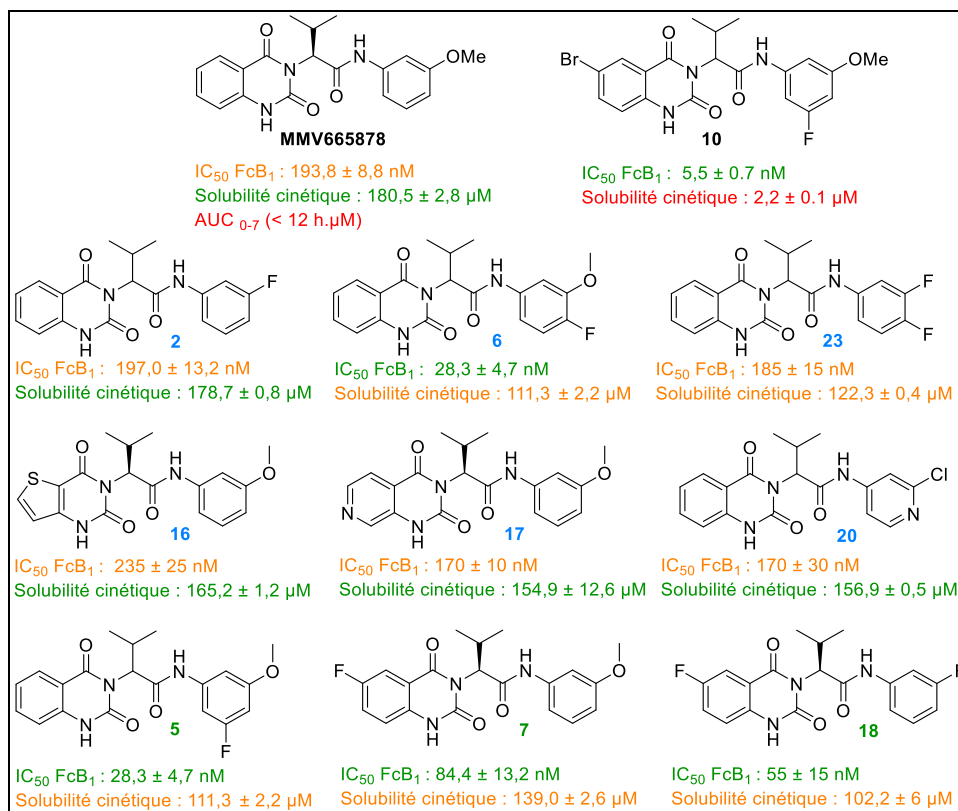


Figure VII : comparaison du profil de MMV665878 et des analogues les plus prometteurs.

Pour pallier ces problèmes de solubilité, probablement causés par le squelette quinazolinedione, une étude de « scaffold hopping » a été réalisée^{321, 322} en considérant des pseudo-cycles à 6 chaînons formés par liaison hydrogène intramoléculaire ou des dérivés d'uracile et aza-uracile (figure VIII). Malheureusement les résultats concernant les analogues formant un pseudo-cycle n'ont pas été concluant puisque les analogues synthétisés (figure VI A) possèdent une activité bien moins bonne que MMV665878 (>500nM).

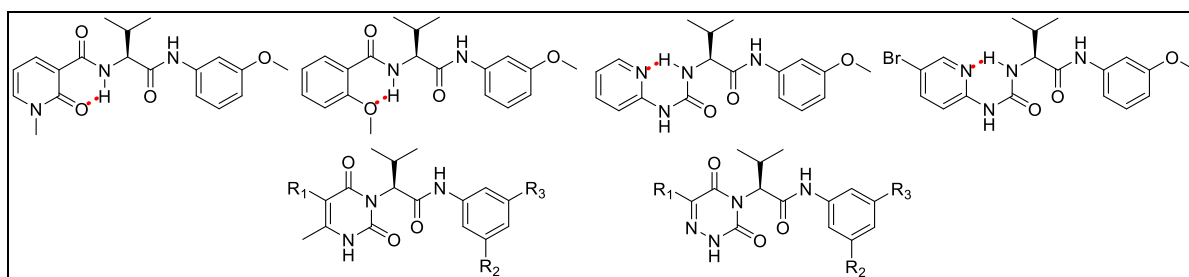


Figure VIII : Approche de « scaffold hopping ». Structures des pseudo-cycles synthétisés, et, des dérivés d'uracile et aza-uracile envisagés. Les pointillés rouges représentent des liaisons hydrogène intramoléculaire.

3) Conclusion et perspectives

De nombreuses perspectives sont à explorer, dont notamment des pharmacomodulations autour des squelettes thiénoypyrimidinone ou pyridopyrimidinone de la série MMV665878. Le défi principal réside dans la résolution des problèmes de solubilité et l'optimisation de la stabilité métabolique. Nos recherches nous ont également conduit vers des dérivés d'uracile et d'aza-uracile dont la mise au point des voies de synthèse est en cours.

Le mode d'action de MMV665878 reste à élucider. Des études récentes suggèrent que MMV665878 inhibe une ATPase, *PfATP4*, une pompe à efflux de Na⁺.^{323, 324} Les activités de nos analogues synthétisés seront prochainement testées sur cette ATPase. Pour approfondir davantage le mode d'action de MMV665878, nous prévoyons d'explorer et de combiner deux approches complémentaires: une approche chémoprotéomique avec le design de sondes dites "activity-based probes" ainsi qu'une approche via une étude génomiques et protéomiques différentielles.

Bibliographie

- (1) Paludisme <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/malaria> (accessed 2020 -03 -12).
- (2) Paludisme : définition <https://www.docteurclic.com/encyclopedie/paludisme-generalites.aspx> (accessed 2020 -03 -12).
- (3) Prevention, C.-C. for D. C. and. CDC - Malaria - About Malaria - Biology <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html> (accessed 2020 -03 -12).
- (4) Sinka, M. E.; Bangs, M. J.; Manguin, S.; Rubio-Palis, Y.; Chareonviriyaphap, T.; Coetzee, M.; Mbogo, C. M.; Hemingway, J.; Patil, A. P.; Temperley, W. H.; Gething, P. W.; Kabaria, C. W.; Burkot, T. R.; Harbach, R. E.; Hay, S. I. A Global Map of Dominant Malaria Vectors. *Parasites & Vectors* **2012**, *5* (1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-69>.
- (5) Doolan, D. L.; Dobaño, C.; Baird, J. K. Acquired Immunity to Malaria. *Clinical Microbiology Reviews* **2009**, *22* (1), 13–36. <https://doi.org/10.1128/CMR.00025-08>.
- (6) Barry, A.; Hansen, D. Naturally Acquired Immunity to Malaria. *Parasitology* **2016**, *143* (2), 125–128. <https://doi.org/10.1017/S0031182015001778>.
- (7) Artavanis-Tsakonas, K.; Tongren, J. E.; Riley, E. M. The War between the Malaria Parasite and the Immune System: Immunity, Immunoregulation and Immunopathology. *Clinical and Experimental Immunology* **2003**, *133* (2), 145–152. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.2003.02174.x>.
- (8) Loiseau, C.; Cooper, M. M.; Doolan, D. L. Deciphering Host Immunity to Malaria Using Systems Immunology. *Immunological Reviews* **2020**, *293* (1), 115–143. <https://doi.org/10.1111/imr.12814>.
- (9) Suds en ligne : Systématique des Plasmodium (1) http://www.suds-en-ligne.ird.fr/paludisme/systemes/syst_plasmodium01.html (accessed 2020 -03 -18).
- (10) Prevention, C.-C. for D. C. and. CDC - Malaria - About Malaria - Disease <https://www.cdc.gov/malaria/about/disease.html> (accessed 2020 -03 -18).
- (11) Prevention, C.-C. for D. C. and. CDC - Malaria - About Malaria - Biology <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html> (accessed 2020 -03 -19).
- (12) White, N. J.; Pukrittayakamee, S.; Hien, T. T.; Faiz, M. A.; Mokuolu, O. A.; Dondorp, A. M. Malaria. *The Lancet* **2014**, *383* (9918), 723–735. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60024-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60024-0).
- (13) Popovici, J.; Ménard, D. Challenges in Antimalarial Drug Treatment for Vivax Malaria Control. *Trends in Molecular Medicine* **2015**, *21* (12), 776–788. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2015.10.004>.
- (14) Frischknecht, F.; Matuschewski, K. *Plasmodium* Sporozoite Biology. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* **2017**, *7* (5), a025478. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025478>.
- (15) Vogel, G. The “Do Unto Others” Malaria Vaccine. *Science* **2010**, *328* (5980), 847–848. <https://doi.org/10.1126/science.328.5980.847>.
- (16) Biochemistry of Plasmodium <https://www.tulane.edu/~wiser/malaria/fv.html> (accessed 2020 -03 -19).
- (17) <https://www.bioscience.org/2012/v4s/af/344/fulltext.htm> (accessed 2020 -03 -24).
- (18) Goldberg, D. E.; Sigala, P. A. Plasmodium Heme Biosynthesis: To Be or Not to Be Essential? *PLoS Pathog* **2017**, *13* (9), e1006511. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006511>.

- (19) Nagaraj, V. A.; Padmanaban, G. Insights on Heme Synthesis in the Malaria Parasite. *Trends in Parasitology* **2017**, *33* (8), 583–586. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.04.005>.
- (20) Jamjoom, G. A. Evidence for a Role of Hemozoin in Metabolism and Gametocytogenesis. **2017**, *8* (10), 6.
- (21) Pagola, S.; Stephens, P. W.; Bohle, D. S.; Kosar, A. D.; Madsen, S. K. The Structure of Malaria Pigment β -Haematin. *Nature* **2000**, *404* (6775), 307–310. <https://doi.org/10.1038/35005132>.
- (22) Hempelmann, E. Hemozoin Biocrystallization in Plasmodium Falciparum and the Antimalarial Activity of Crystallization Inhibitors. *Parasitol Res* **2007**, *100* (4), 671–676. <https://doi.org/10.1007/s00436-006-0313-x>.
- (23) Egan, T. J. Haemozoin Formation. *Molecular and Biochemical Parasitology* **2008**, *157* (2), 127–136. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2007.11.005>.
- (24) Jaramillo, M.; Plante, I.; Ouellet, N.; Vandal, K.; Tessier, P. A.; Olivier, M. Hemozoin-Inducible Proinflammatory Events In Vivo: Potential Role in Malaria Infection. *The Journal of Immunology* **2004**, *172* (5), 3101–3110. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.172.5.3101>.
- (25) Ayimba, E.; Hegewald, J.; Ségbéna, A. Y.; Gantin, R. G.; Lechner, C. J.; Agossou, A.; Banla, M.; Soboslay, P. T. Proinflammatory and Regulatory Cytokines and Chemokines in Infants with Uncomplicated and Severe Plasmodium Falciparum Malaria. *Clin Exp Immunol* **2011**, *166* (2), 218–226. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2011.04474.x>.
- (26) Beeson, J. G.; Brown, G. V. Pathogenesis of Plasmodium Falciparum Malaria: The Roles of Parasite Adhesion and Antigenic Variation. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.* **2002**, *59* (2), 258–271. <https://doi.org/10.1007/s00018-002-8421-y>.
- (27) Wahlgren, M.; Goel, S.; Akhouri, R. R. Variant Surface Antigens of Plasmodium Falciparum and Their Roles in Severe Malaria. *Nat Rev Microbiol* **2017**, *15* (8), 479–491. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.47>.
- (28) Pasternak, N. D.; Dzikowski, R. PfEMP1: An Antigen That Plays a Key Role in the Pathogenicity and Immune Evasion of the Malaria Parasite Plasmodium Falciparum. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **2009**, *41* (7), 1463–1466. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2008.12.012>.
- (29) Silamut, K.; Phu, N. H.; Whitty, C.; Turner, G. D. H.; Louwrier, K.; Mai, N. T. H.; Simpson, J. A.; Hien, T. T.; White, N. J. A Quantitative Analysis of the Microvascular Sequestration of Malaria Parasites in the Human Brain. *The American Journal of Pathology* **1999**, *155* (2), 395–410. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65136-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65136-X).
- (30) Looareesuwan, S.; Ho, M.; Wattanagoon, Y.; White, N. J.; Warrell, D. A.; Bunnag, D.; Harinasuta, T.; Wyler, D. J. Dynamic Alteration in Splenic Function during Acute Falciparum Malaria. *N Engl J Med* **1987**, *317* (11), 675–679. <https://doi.org/10.1056/NEJM198709103171105>.
- (31) Buffet, P. A.; Safeukui, I.; Deplaine, G.; Brousse, V.; Prendki, V.; Thellier, M.; Turner, G. D.; Mercereau-Puijalon, O. The Pathogenesis of Plasmodium Falciparum Malaria in Humans: Insights from Splenic Physiology. *Blood* **2011**, *117* (2), 381–392. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-04-202911>.
- (32) Buffet, P.; Scherf, A. Pathogénie du paludisme gestationnel. *médecine/sciences* **2001**, *17* (10), 1017. <https://doi.org/10.4267/10608/1815>.
- (33) L’OMS recommande le déploiement massif du premier vaccin antipaludique chez les enfants vivant dans les zones à risque. *Le Monde.fr*. October 6, 2021.
- (34) WHO recommends groundbreaking malaria vaccine for children at risk <https://www.who.int/news/item/06-10-2021-who-recommends-groundbreaking-malaria-vaccine-for-children-at-risk> (accessed 2021 -10 -11).

- (35) Laurens, M. B. The Promise of a Malaria Vaccine—Are We Closer? *Annu. Rev. Microbiol.* **2018**, *72* (1), 273–292. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090817-062427>.
- (36) WHO | Tables of malaria vaccine projects globally http://www.who.int/immunization/research/development/Rainbow_tables/en/ (accessed 2020 -04 -15).
- (37) Lancement d'un projet pilote de vaccination antipaludique au Malawi <https://www.who.int/fr/news-room/detail/23-04-2019-malaria-vaccine-pilot-launched-in-malawi> (accessed 2019 -07 -23).
- (38) Laurens, M. B. RTS,S/AS01 Vaccine (Mosquirix™): An Overview. *Human Vaccines & Immunotherapeutics* **2019**, 1–10. <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1669415>.
- (39) Chêne, A.; Houard, S.; Nielsen, M. A.; Hundt, S.; D'Alessio, F.; Sirima, S. B.; Luty, A. J. F.; Duffy, P.; Leroy, O.; Gamain, B.; Viebig, N. K. Clinical Development of Placental Malaria Vaccines and Immunoassays Harmonization: A Workshop Report. *Malaria Journal* **2016**, *15* (1). <https://doi.org/10.1186/s12936-016-1527-8>.
- (40) Bélard, S.; Issifou, S.; Hounkpatin, A. B.; Schaumburg, F.; Ngoa, U. A.; Esen, M.; Fendel, R.; de Salazar, P. M.; Mürbeth, R. E.; Milligan, P.; Imbault, N.; Imoukhuede, E. B.; Theisen, M.; Jepsen, S.; Noor, R. A.; Okech, B.; Kremsner, P. G.; Mordmüller, B. A Randomized Controlled Phase Ib Trial of the Malaria Vaccine Candidate GMZ2 in African Children. *PLoS ONE* **2011**, *6* (7), e22525. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022525>.
- (41) Mordmüller, B.; Szywon, K.; Greutelaers, B.; Esen, M.; Mewono, L.; Treut, C.; Mürbeth, R. E.; Chilengi, R.; Noor, R.; Kilama, W. L.; Imoukhuede, E. B.; Imbault, N.; Leroy, O.; Theisen, M.; Jepsen, S.; Milligan, P.; Fendel, R.; Kremsner, P. G.; Issifou, S. Safety and Immunogenicity of the Malaria Vaccine Candidate GMZ2 in Malaria-Exposed, Adult Individuals from Lambaréné, Gabon. *Vaccine* **2010**, *28* (41), 6698–6703. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.07.085>.
- (42) Hoffman, S. L.; Goh, L. M. L.; Luke, T. C.; Schneider, I.; Le, T. P.; Doolan, D. L.; Sacci, J.; de la Vega, P.; Dowler, M.; Paul, C.; Gordon, D. M.; Stoute, J. A.; Church, L. W. P.; Sedegah, M.; Heppner, D. G.; Ballou, W. R.; Richie, T. L. Protection of Humans against Malaria by Immunization with Radiation-Attenuated *Plasmodium Falciparum* Sporozoites. *The Journal of Infectious Diseases* **2002**, *185* (8), 1155–1164. <https://doi.org/10.1086/339409>.
- (35) Kappe Stefan,HI.; Matushewki, Kai-Uwe,C.; Mueller Ann-Kristin Live genetically attenuated malaria vaccine , WO 2005/063991 A2, **2005**
- (44) Seder, R. A.; Chang, L.-J.; Enama, M. E.; Zephir, K. L.; Sarwar, U. N.; Gordon, I. J.; Holman, L. A.; James, E. R.; Billingsley, P. F.; Gunasekera, A.; Richman, A.; Chakravarty, S.; Manoj, A.; Velmurugan, S.; Li, M.; Ruben, A. J.; Li, T.; Eappen, A. G.; Stafford, R. E.; Plummer, S. H.; Hendel, C. S.; Novik, L.; Costner, P. J. M.; Mendoza, F. H.; Saunders, J. G.; Nason, M. C.; Richardson, J. H.; Murphy, J.; Davidson, S. A.; Richie, T. L.; Sedegah, M.; Sutamihardja, A.; Fahle, G. A.; Lyke, K. E.; Laurens, M. B.; Roederer, M.; Tewari, K.; Epstein, J. E.; Sim, B. K. L.; Ledgerwood, J. E.; Graham, B. S.; Hoffman, S. L.; the VRC 312 Study Team; DiGiovanni, C.; Williams, P.; Luongo, N.; Mitchell, J.; Florez, M. B.; Larkin, B.; Berkowitz, N.; Wilson, B.; Clarke, T.; Vasilenko, O.; Yamshchikov, G.; Sitar, S.; Stanford, L.; Pittman, I.; Bailer, R. T.; Casazza, J.; Decederfelt, H.; Starling, J.; Williams, E. C.; Lau, A.; Antonara, S.; Brocious, J.; Kemp, M.; Inglese, J.; Dranchak, P.; Abot, E. N.; Reyes, S.; Ganeshan, H.; Belmonte, M.; Huang, J.; Belmonte, A.; Komisar, J.; Abebe, Y.; Getachew, Y.; Patil, A.; Matheny, S.; Nelson, K.; Overby, J.; Pich, V.; Wen, Y.; Fan, R.; Fomumbod, E.; Awe, A.; Chakiath, C.; King, M.; Orozco, M. S.; Murshedkar, T.;

- Padilla, D.; Jiang, B.; Gao, L.; Kc, N.; Xu, R.; Adams, M.; Plowe, C.; Loblein, H.; Renehan, P. Z.; Kunchai, M.; Diep, L. Protection Against Malaria by Intravenous Immunization with a Nonreplicating Sporozoite Vaccine. *Science* **2013**, *341* (6152), 1359–1365. <https://doi.org/10.1126/science.1241800>.
- (45) Greenwood, B. Progress with the PfSPZ Vaccine for Malaria. *The Lancet Infectious Diseases* **2017**, *17* (5), 463–464. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30105-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30105-6).
- (46) Sanaria PfSPZ Challenge With Pyrimethamine Chemoprophylaxis (PfSPZ-CVac Approach): Trial to Determine Safety and Development of Protective Efficacy After Exposure to Only Pre-erythrocytic Stages of Plasmodium Falciparum - Full Text View - ClinicalTrials.gov <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03083847> (accessed 2019 -07 -23).
- (47) Sissoko, M. S.; Healy, S. A.; Katile, A.; Omaswa, F.; Zaidi, I.; Gabriel, E. E.; Kamate, B.; Samake, Y.; Guindo, M. A.; Dolo, A.; Niangaly, A.; Niaré, K.; Zeguime, A.; Sissoko, K.; Diallo, H.; Thera, I.; Ding, K.; Fay, M. P.; O’Connell, E. M.; Nutman, T. B.; Wong-Madden, S.; Murshedkar, T.; Ruben, A. J.; Li, M.; Abebe, Y.; Manoj, A.; Gunasekera, A.; Chakravarty, S.; Sim, B. K. L.; Billingsley, P. F.; James, E. R.; Walther, M.; Richie, T. L.; Hoffman, S. L.; Doumbo, O.; Duffy, P. E. Safety and Efficacy of PfSPZ Vaccine against Plasmodium Falciparum via Direct Venous Inoculation in Healthy Malaria-Exposed Adults in Mali: A Randomised, Double-Blind Phase 1 Trial. *The Lancet Infectious Diseases* **2017**, *17* (5), 498–509. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30104-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30104-4).
- (48) OMS | Méthodes de lutte antivectorielle de base http://www.who.int/malaria/areas/vector_control/core_methods/fr/ (accessed 2019 -07 -23).
- (49) Ngwej, L. M.; Hattingh, I.; Mlambo, G.; Mashat, E. M.; Kashala, J.-C. K.; Malonga, F. K.; Bangs, M. J. Indoor Residual Spray Bio-Efficacy and Residual Activity of a Clothianidin-Based Formulation (SumiShield® 50WG) Provides Long Persistence on Various Wall Surfaces for Malaria Control in the Democratic Republic of the Congo. *Malar J* **2019**, *18* (1), 72. <https://doi.org/10.1186/s12936-019-2710-5>.
- (50) Fuseini, G.; Phiri, W. P.; von Fricken, M. E.; Smith, J.; Garcia, G. A. Evaluation of the Residual Effectiveness of Fludora™ Fusion WP-SB, a Combination of Clothianidin and Deltamethrin, for the Control of Pyrethroid-Resistant Malaria Vectors on Bioko Island, Equatorial Guinea. *Acta Tropica* **2019**, *196*, 42–47. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.05.006>.
- (51) WHO | Fludora Fusion <http://www.who.int/pq-vector-control/prequalified-lists/FludoraFusion/en/> (accessed 2020 -04 -08).
- (30) WHO Recommended Insecticides for Indoor Residual Spraying against Malaria Vectors https://www.who.int/neglected_diseases/vector_ecology/vector-control/Insecticides_IRS_22_September_2018.pdf?ua=1
- (53) Rubert, A.; Guillon-Grammatico, L.; Chandénier, J.; Dimier-Poisson, I.; Desoubreux, G. Insecticide Resistance in Anopheles Mosquitoes : Additional Obstacles in the Battle against Malaria. *Médecine et Santé Tropicales* **2016**, *26* (4), 423–431. <https://doi.org/10.1684/mst.2016.0634>.
- (54) Vangapandu, S.; Jain, M.; Kaur, K.; Patil, P.; Patel, S. R.; Jain, R. Recent Advances in Antimalarial Drug Development. *Med. Res. Rev.* **2007**, *27* (1), 65–107. <https://doi.org/10.1002/med.20062>.
- (55) WHO Model Prescribing Information: Drugs Used in Parasitic Diseases - Second Edition: Protozoa: Malaria: Tetracycline <https://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Jh2922e/2.5.7.html> (accessed 2020 -03 -31).
- (56) Weltgesundheitsorganisation. *Guidelines for the Treatment of Malaria*; 2015.

- (57) Prevention, C.-C. for D. C. and. CDC - Malaria - Malaria Worldwide - How Can Malaria Cases and Deaths Be Reduced? - Diagnosis and Treatment https://www.cdc.gov/malaria/malaria_worldwide/reduction/dx_tx.html (accessed 2020 -04 -23).
- (58) WHO | Drug policies in all WHO Regions http://www.who.int/malaria/areas/treatment/drug_policies/en/ (accessed 2020 -04 -23).
- (59) OMS | Traitement du paludisme - tour d'horizon <http://www.who.int/malaria/areas/treatment/overview/fr/> (accessed 2020 -04 -23).
- (60) Schlagenhauf, P.; Wilson, M. E.; Petersen, E.; McCarthy, A.; Chen, L. H. Malaria Chemoprophylaxis. In *Travel Medicine*; Elsevier, 2019; pp 145–167. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-54696-6.00015-X>.
- (61) Delaigue, S.; Signolet, I.; Consigny, P. H.; de Gentile, L.; D'Ortenzio, E.; Gautret, P.; Sorge, F.; Strady, C.; Bouchaud, O. New Guidelines for the Prevention of Imported Malaria in France. *Médecine et Maladies Infectieuses* **2020**, *50* (2), 113–126. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2019.07.004>.
- (62) Fernando, D.; Rodrigo, C.; Rajapakse, S. Primaquine in Vivax Malaria: An Update and Review on Management Issues. *Malaria Journal* **2011**, *10* (1). <https://doi.org/10.1186/1475-2875-10-351>.
- (63) Baird, J. K.; Rieckmann, K. H. Can Primaquine Therapy for Vivax Malaria Be Improved? *Trends in Parasitology* **2003**, *19* (3), 115–120. [https://doi.org/10.1016/S1471-4922\(03\)00005-9](https://doi.org/10.1016/S1471-4922(03)00005-9).
- (64) Llanos-Cuentas, A.; Lacerda, M. V. G.; Hien, T. T.; Vélez, I. D.; Namaik-larp, C.; Chu, C. S.; Villegas, M. F.; Val, F.; Monteiro, W. M.; Brito, M. A. M.; Costa, M. R. F.; Chuquiyauri, R.; Casapía, M.; Nguyen, C. H.; Aruachan, S.; Papwijitsil, R.; Nosten, F. H.; Bancone, G.; Angus, B.; Duparc, S.; Craig, G.; Rousell, V. M.; Jones, S. W.; Hardaker, E.; Clover, D. D.; Kendall, L.; Mohamed, K.; Koh, G. C. K. W.; Wilches, V. M.; Breton, J. J.; Green, J. A. Tafenoquine versus Primaquine to Prevent Relapse of *Plasmodium Vivax* Malaria. *New England Journal of Medicine* **2019**, *380* (3), 229–241. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1802537>.
- (65) Hounkpatin, A. B.; Kreidenweiss, A.; Held, J. Clinical Utility of Tafenoquine in the Prevention of Relapse of *Plasmodium Vivax* Malaria: A Review on the Mode of Action and Emerging Trial Data. *Infection and Drug Resistance* **2019**, *Volume 12*, 553–570. <https://doi.org/10.2147/IDR.S151031>.
- (66) Tibon, N. S.; Ng, C. H.; Cheong, S. L. Current Progress in Antimalarial Pharmacotherapy and Multi-Target Drug Discovery. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2020**, *188*, 111983. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111983>.
- (67) Chong, C. R.; Sullivan, D. J. Inhibition of Heme Crystal Growth by Antimalarials and Other Compounds: Implications for Drug Discovery. *Biochemical Pharmacology* **2003**, *66* (11), 2201–2212. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2003.08.009>.
- (68) Sullivan, D. J.; Matile, H.; Ridley, R. G.; Goldberg, D. E. A Common Mechanism for Blockade of Heme Polymerization by Antimalarial Quinolines. *Journal of Biological Chemistry* **1998**, *273* (47), 31103–31107. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.47.31103>.
- (69) Nzila, A. The Past, Present and Future of Antifolates in the Treatment of *Plasmodium Falciparum* Infection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **2006**, *57* (6), 1043–1054. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl104>.
- (70) Nzila, A. Inhibitors of de Novo Folate Enzymes in *Plasmodium Falciparum*. *Drug Discovery Today* **2006**, *11* (19–20), 939–944. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2006.08.003>.
- (71) Yuthavong, Y.; Tarnchompoo, B.; Vilaivan, T.; Chitnumsub, P.; Kamchonwongpaisan, S.; Charman, S. A.; McLennan, D. N.; White, K. L.; Vivas, L.; Bongard, E.;

- Thongphanchang, C.; Taweechai, S.; Vanichtanankul, J.; Rattanajak, R.; Arwon, U.; Fantauzzi, P.; Yuvaniyama, J.; Charman, W. N.; Matthews, D. Malarial Dihydrofolate Reductase as a Paradigm for Drug Development against a Resistance-Compromised Target. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2012**, *109* (42), 16823–16828. <https://doi.org/10.1073/pnas.1204556109>.
- (72) Bilisland, E.; van Vliet, L.; Williams, K.; Feltham, J.; Carrasco, M. P.; Fotoran, W. L.; Cubillos, E. F. G.; Wunderlich, G.; Grøtli, M.; Hollfelder, F.; Jackson, V.; King, R. D.; Oliver, S. G. Plasmodium Dihydrofolate Reductase Is a Second Enzyme Target for the Antimalarial Action of Triclosan. *Scientific Reports* **2018**, *8* (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19549-x>.
- (73) Kümpornsin, K.; Kotanan, N.; Chobson, P.; Kochakarn, T.; Jirawatcharadech, P.; Jaru-ampornpan, P.; Yuthavong, Y.; Chookajorn, T. Biochemical and Functional Characterization of Plasmodium Falciparum GTP Cyclohydrolase I. *Malar J* **2014**, *13* (1), 150. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-150>.
- (74) Yuthavong, Y. Basis for Antifolate Action and Resistance in Malaria. *Microbes and Infection* **2002**, *4* (2), 175–182. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(01\)01525-8](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(01)01525-8).
- (75) Fry, M.; Pudney, M. Site of Action of the Antimalarial Hydroxynaphthoquinone, 2-[Trans-4-(4'-Chlorophenyl) Cyclohexyl]-3- Hydroxy-1,4-Naphthoquinone (566C80). *Biochemical Pharmacology* **1992**, *43* (7), 1545–1553. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(92\)90213-3](https://doi.org/10.1016/0006-2952(92)90213-3).
- (76) Baggish, A. L.; Hill, D. R. Antiparasitic Agent Atovaquone. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2002**, *46* (5), 1163–1173. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.5.1163-1173.2002>.
- (77) Guo, Z. Artemisinin Anti-Malarial Drugs in China. *Acta Pharmaceutica Sinica B* **2016**, *6* (2), 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2016.01.008>.
- (78) Suresh, N.; Haldar, K. Mechanisms of Artemisinin Resistance in Plasmodium Falciparum Malaria. *Current Opinion in Pharmacology* **2018**, *42*, 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2018.06.003>.
- (79) Suresh, N.; Haldar, K. Mechanisms of Artemisinin Resistance in Plasmodium Falciparum Malaria. *Current Opinion in Pharmacology* **2018**, *42*, 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2018.06.003>.
- (80) Guo, Z. Artemisinin Anti-Malarial Drugs in China. *Acta Pharmaceutica Sinica B* **2016**, *6* (2), 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2016.01.008>.
- (81) Klonis, N.; Creek, D. J.; Tilley, L. Iron and Heme Metabolism in Plasmodium Falciparum and the Mechanism of Action of Artemisinins. *Current Opinion in Microbiology* **2013**, *16* (6), 722–727. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.07.005>.
- (82) Klonis, N.; Crespo-Ortiz, M. P.; Bottova, I.; Abu-Bakar, N.; Kenny, S.; Rosenthal, P. J.; Tilley, L. Artemisinin Activity against Plasmodium Falciparum Requires Hemoglobin Uptake and Digestion. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2011**, *108* (28), 11405–11410. <https://doi.org/10.1073/pnas.1104063108>.
- (83) Meshnick, S. R.; Yang, Y. Z.; Lima, V.; Kuypers, F.; Kamchonwongpaisan, S.; Yuthavong, Y. Iron-Dependent Free Radical Generation from the Antimalarial Agent Artemisinin (Qinghaosu). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1993**, *37* (5), 1108–1114. <https://doi.org/10.1128/AAC.37.5.1108>.
- (84) Stocks, P. A.; Bray, P. G.; Barton, V. E.; Al-Helal, M.; Jones, M.; Araujo, N. C.; Gibbons, P.; Ward, S. A.; Hughes, R. H.; Biagini, G. A.; Davies, J.; Amewu, R.; Mercer, A. E.; Ellis, G.; O'Neill, P. M. Evidence for a Common Non-Heme Chelatable-Iron-Dependent Activation Mechanism for Semisynthetic and Synthetic Endoperoxide Antimalarial Drugs. *Angewandte Chemie* **2007**, *119* (33), 6394–6399. <https://doi.org/10.1002/ange.200604697>.

- (85) Sun, C.; Zhou, B. The Molecular and Cellular Action Properties of Artemisinins: What Has Yeast Told Us? *Microbial Cell* **2016**, *3* (5), 196–205. <https://doi.org/10.15698/mic2016.05.498>.
- (86) Ding, X. C.; Beck, H.-P.; Raso, G. Plasmodium Sensitivity to Artemisinins: Magic Bullets Hit Elusive Targets. *Trends in Parasitology* **2011**, *27* (2), 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.11.006>.
- (87) Haynes, R. K.; Chan, W. C.; Lung, C.-M.; Uhlemann, A.-C.; Eckstein, U.; Taramelli, D.; Parapini, S.; Monti, D.; Krishna, S. The Fe²⁺-Mediated Decomposition, PfATP6 Binding, and Antimalarial Activities of Artemisone and Other Artemisinins: The Unlikelihood of C-Centered Radicals as Bioactive Intermediates. *ChemMedChem* **2007**, *2* (10), 1480–1497. <https://doi.org/10.1002/cmdc.200700108>.
- (88) Shandilya, A.; Chacko, S.; Jayaram, B.; Ghosh, I. A Plausible Mechanism for the Antimalarial Activity of Artemisinin: A Computational Approach. *Scientific Reports* **2013**, *3* (1). <https://doi.org/10.1038/srep02513>.
- (89) Pradines, B.; Rogier, C.; Fusai, T.; Mosnier, J.; Daries, W.; Barret, E.; Parzy, D. In Vitro Activities of Antibiotics Against Plasmodium Falciparum Are Inhibited by Iron. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2001**, *45* (6), 1746–1750. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.6.1746-1750.2001>.
- (90) Gaillard, T.; Madamet, M.; Pradines, B. Tetracyclines in Malaria. *Malar J* **2015**, *14* (1), 445. <https://doi.org/10.1186/s12936-015-0980-0>.
- (91) Lell, B.; Kremsner, P. G. Clindamycin as an Antimalarial Drug: Review of Clinical Trials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2002**, *46* (8), 2315–2320. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.8.2315-2320.2002>.
- (92) Coleman, M.; Hemingway, J.; Gleave, K. A.; Wiebe, A.; Gething, P. W.; Moyes, C. L. Developing Global Maps of Insecticide Resistance Risk to Improve Vector Control. *Malaria Journal* **2017**, *16* (1). <https://doi.org/10.1186/s12936-017-1733-z>.
- (93) Global Report on Insecticide Resistance in Malaria Vectors: 2010–2016. 72.
- (94) Catteruccia, F. Malaria-Carrying Mosquitoes Get a Leg up on Insecticides. *Nature* **2020**, *577* (7790), 319–320. <https://doi.org/10.1038/d41586-019-03728-5>.
- (95) Ingham, V. A.; Wagstaff, S.; Ranson, H. Transcriptomic Meta-Signatures Identified in Anopheles Gambiae Populations Reveal Previously Undetected Insecticide Resistance Mechanisms. *Nat Commun* **2018**, *9* (1), 5282. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07615-x>.
- (96) Collaboration pour le suivi de la résistance à l'artémisinine (TRAC) II <https://www.wwarn.org/fr/collaboration-pour-le-suivi-de-la-resistance-lartemisinine-trac-ii> (accessed 2020 -04 -17).
- (97) WWARN Explorer <http://www.wwarn.org/explorer/app/#filter=1&Date=1977-2017&Drug=SX&TreatmentType=all;mapset=1&zoom=3>; (accessed 2021 -07 -28).
- (98) Nelson, M. L.; Levy, S. B. The History of the Tetracyclines: The History of the Tetracyclines. *Annals of the New York Academy of Sciences* **2011**, *1241* (1), 17–32. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06354.x>.
- (99) Smieja, M. Current Indications for the Use of Clindamycin: A Critical Review. *Canadian Journal of Infectious Diseases* **1998**, *9* (1), 22–28. <https://doi.org/10.1155/1998/538090>.
- (100) Srivastava, I. K.; Vaidya, A. B. A Mechanism for the Synergistic Antimalarial Action of Atovaquone and Proguanil. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1999**, *43* (6), 1334–1339. <https://doi.org/10.1128/AAC.43.6.1334>.
- (101) Tu, Y. Artemisinin-A Gift from Traditional Chinese Medicine to the World (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie International Edition* **2016**, *55* (35), 10210–10226. <https://doi.org/10.1002/anie.201601967>.

- (102) Tu, Y. The Discovery of Artemisinin (Qinghaosu) and Gifts from Chinese Medicine. *Nature Medicine* **2011**, *17* (10), 1217–1220. <https://doi.org/10.1038/nm.2471>.
- (103) MMV-supported projects | Medicines for Malaria Venture <https://www.mmv.org/research-development/mmv-supported-projects> (accessed 2020 -04 -01).
- (104) Tafenoquine | Medicines for Malaria Venture <https://www.mmv.org/related-story-type/tafenoquine> (accessed 2020 -04 -01).
- (105) Lang, T.; Greenwood, B. The Development of Lapdap, an Affordable New Treatment for Malaria. *The Lancet Infectious Diseases* **2003**, *3* (3), 162–168. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(03\)00547-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(03)00547-4).
- (106) Lang, T.; Greenwood, B. The Development of Lapdap, an Affordable New Treatment for Malaria. *The Lancet Infectious Diseases* **2003**, *3* (3), 162–168. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(03\)00547-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(03)00547-4).
- (107) Pradines, B.; Dormoi, J.; Briolant, S.; Bogreau, H.; Rogier, C. La résistance aux antipaludiques. *Revue Francophone des Laboratoires* **2010**, *2010* (422), 51–62. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(10\)70510-4](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(10)70510-4).
- (108) Le Bras, J.; Musset, L.; Clain, J. Les résistances aux médicaments antipaludiques. *Médecine et Maladies Infectieuses* **2006**, *36* (8), 401–405. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2006.05.005>.
- (109) White, N. J. Antimalarial Drug Resistance. *Journal of Clinical Investigation* **2004**, *113* (8), 1084–1092. <https://doi.org/10.1172/JCI200421682>.
- (110) White, N. J.; Pongtavornpinyo, W. The *de Novo* Selection of Drug-Resistant Malaria Parasites. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **2003**, *270* (1514), 545–554. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2241>.
- (111) Menard, D.; Dondorp, A. Antimalarial Drug Resistance: A Threat to Malaria Elimination. *Cold Spring Harb Perspect Med* **2017**, *25*. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025619>.
- (112) Haldar, K.; Bhattacharjee, S.; Safeukui, I. Drug Resistance in Plasmodium. *Nature Reviews Microbiology* **2018**, *16* (3), 156–170. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.161>.
- (113) Kim, J.; Tan, Y. Z.; Wicht, K. J.; Erramilli, S. K.; Dhingra, S. K.; Okombo, J.; Vendome, J.; Hagenah, L. M.; Giacometti, S. I.; Warren, A. L.; Nosol, K.; Roepe, P. D.; Potter, C. S.; Carragher, B.; Kossiakoff, A. A.; Quick, M.; Fidock, D. A.; Mancia, F. Structure and Drug Resistance of the Plasmodium Falciparum Transporter PfCRT. *Nature* **2019**, *576* (7786), 315–320. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1795-x>.
- (114) Duraisingh, M. T.; Cowman, A. F. Contribution of the Pfmdr1 Gene to Antimalarial Drug-Resistance. *Acta Tropica* **2005**, *94* (3), 181–190. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2005.04.008>.
- (115) Witkowski, B.; Duru, V.; Khim, N.; Ross, L. S.; Saintpierre, B.; Beghain, J.; Chy, S.; Kim, S.; Ke, S.; Kloeung, N.; Eam, R.; Khean, C.; Ken, M.; Loch, K.; Bouillon, A.; Domergue, A.; Ma, L.; Bouchier, C.; Leang, R.; Huy, R.; Nuel, G.; Barale, J.-C.; Legrand, E.; Ringwald, P.; Fidock, D. A.; Mercereau-Puijalon, O.; Ariey, F.; Ménard, D. A Surrogate Marker of Piperaquine-Resistant Plasmodium Falciparum Malaria: A Phenotype-Genotype Association Study. *The Lancet Infectious Diseases* **2017**, *17* (2), 174–183. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30415-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30415-7).
- (116) Gupta, B.; Xu, S.; Wang, Z.; Sun, L.; Miao, J.; Cui, L.; Yang, Z. Plasmodium Falciparum Multidrug Resistance Protein 1 (Pfmrp1) Gene and Its Association with in Vitro Drug Susceptibility of Parasite Isolates from North-East Myanmar. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **2014**, *69* (8), 2110–2117. <https://doi.org/10.1093/jac/dku125>.

- (117) Naidoo, I.; Roper, C. Drug Resistance Maps to Guide Intermittent Preventive Treatment of Malaria in African Infants. *Parasitology* **2011**, *138* (12), 1469–1479. <https://doi.org/10.1017/S0031182011000746>.
- (118) Korsinczky, M.; Chen, N.; Kotecka, B.; Saul, A.; Rieckmann, K.; Cheng, Q. Mutations in Plasmodium Falciparum Cytochrome b That Are Associated with Atovaquone Resistance Are Located at a Putative Drug-Binding Site. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2000**, *44* (8), 2100–2108. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.8.2100-2108.2000>.
- (119) Nkrumah, L. J.; Riegelhaupt, P. M.; Moura, P.; Johnson, D. J.; Patel, J.; Hayton, K.; Ferdig, M. T.; Wellems, T. E.; Akabas, M. H.; Fidock, D. A. Probing the Multifactorial Basis of Plasmodium Falciparum Quinine Resistance: Evidence for a Strain-Specific Contribution of the Sodium-Proton Exchanger PfNHE. *Molecular and Biochemical Parasitology* **2009**, *165* (2), 122–131. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2009.01.011>.
- (120) Siddiqui, F. A.; Boonhok, R.; Cabrera, M.; Mbenda, H. G. N.; Wang, M.; Min, H.; Liang, X.; Qin, J.; Zhu, X.; Miao, J.; Cao, Y.; Cui, L. Role of Plasmodium Falciparum Kelch 13 Protein Mutations in P. Falciparum Populations from Northeastern Myanmar in Mediating Artemisinin Resistance. *mBio* **2020**, *11* (1). <https://doi.org/10.1128/mBio.01134-19>.
- (121) WWARN K13 Genotype-Phenotype Study Group. Association of Mutations in the Plasmodium Falciparum Kelch13 Gene (Pf3D7_1343700) with Parasite Clearance Rates after Artemisinin-Based Treatments—a WWARN Individual Patient Data Meta-Analysis. *BMC Med* **2019**, *17* (1), 1. <https://doi.org/10.1186/s12916-018-1207-3>.
- (122) Mbengue, A.; Bhattacharjee, S.; Pandharkar, T.; Liu, H.; Estiu, G.; Stahelin, R. V.; Rizk, S. S.; Njimoh, D. L.; Ryan, Y.; Chotivanich, K.; Nguon, C.; Ghorbal, M.; Lopez-Rubio, J.-J.; Pfrender, M.; Emrich, S.; Mohandas, N.; Dondorp, A. M.; Wiest, O.; Haldar, K. A Molecular Mechanism of Artemisinin Resistance in Plasmodium Falciparum Malaria. *Nature* **2015**, *520* (7549), 683–687. <https://doi.org/10.1038/nature14412>.
- (123) Artemisinin Molecular Surveyor <http://www.wwarn.org/molecular/surveyor/k13/index.html?t=201608031200#0> (accessed 2020 -04 -29).
- (124) Medicines for Malaria Venture | Developing antimalarials to save lives <https://www.mmv.org/> (accessed 2021 -05 -10).
- (125) Spangenberg, T.; Burrows, J. N.; Kowalczyk, P.; McDonald, S.; Wells, T. N. C.; Willis, P. The Open Access Malaria Box: A Drug Discovery Catalyst for Neglected Diseases. *PLoS ONE* **2013**, *8* (6), e62906. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062906>.
- (126) Target Product Profiles & Target Candidate Profiles | Medicines for Malaria Venture <https://www.mmv.org/research-development/information-scientists/target-product-profiles-target-candidate-profiles> (accessed 2020 -03 -30).
- (127) Burrows, J. N.; Duparc, S.; Gutteridge, W. E.; Hooft van Huijsduijnen, R.; Kaszubska, W.; Macintyre, F.; Mazzuri, S.; Möhrle, J. J.; Wells, T. N. C. New Developments in Anti-Malarial Target Candidate and Product Profiles. *Malar J* **2017**, *16* (1), 26. <https://doi.org/10.1186/s12936-016-1675-x>.
- (128) Tse, E. G.; Korsik, M.; Todd, M. H. The Past, Present and Future of Anti-Malarial Medicines. *Malaria Journal* **2019**, *18* (1). <https://doi.org/10.1186/s12936-019-2724-z>.
- (129) Pascual, A.; Henry, M.; Briolant, S.; Charras, S.; Baret, E.; Amalvict, R.; Huyghues des Etages, E.; Feraud, M.; Rogier, C.; Pradines, B. *In Vitro* Activity of Proveblue (Methylene Blue) on Plasmodium Falciparum Strains Resistant to Standard

- Antimalarial Drugs. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, *55* (5), 2472–2474. <https://doi.org/10.1128/AAC.01466-10>.
- (130) Wiesner, J.; Borrmann, S.; Jomaa, H. Fosmidomycin for the Treatment of Malaria. *Parasitology Research* **2003**, *90* (0), S71–S76. <https://doi.org/10.1007/s00436-002-0770-9>.
- (131) Varo, R.; Crowley, V. M.; Siteo, A.; Madrid, L.; Serghides, L.; Bila, R.; Mucavele, H.; Mayor, A.; Bassat, Q.; Kain, K. C. Safety and Tolerability of Adjunctive Rosiglitazone Treatment for Children with Uncomplicated Malaria. *Malar J* **2017**, *16* (1), 215. <https://doi.org/10.1186/s12936-017-1858-0>.
- (132) Nurex S.r.l. *Triple Antimalarial Combination (Imatinib-DHA-PPQ) to Accelerate the Parasite Clearance and to Prevent the Selection of Resistant Parasites*; Clinical trial registration NCT03697668; clinicaltrials.gov, 2018.
- (133) Modus Therapeutics AB. *A Phase I/II, Randomized, Open Label, Active Control, Parallel Assignment, Safety/Efficacy Study of Sevuparin/DF02, as an Adjunctive Therapy in Subjects Affected With Uncomplicated Falciparum Malaria*; Clinical trial registration NCT01442168; clinicaltrials.gov, 2014.
- (134) Bellini, V.; Swale, C.; Brenier-Pinchart, M.-P.; Pezier, T.; Georgeault, S.; Laurent, F.; Hakimi, M.-A.; Bougdour, A. Target Identification of an Antimalarial Oxaborole Identifies AN13762 as an Alternative Chemotype for Targeting CPSF3 in Apicomplexan Parasites. *iScience* **2020**, *23* (12), 101871. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101871>.
- (135) Alam, A. Plasmodium Proteases as Therapeutic Targets Against Malaria. In *Proteases in Human Diseases*; Chakraborti, S., Chakraborti, T., Dhalla, N. S., Eds.; Springer Singapore: Singapore, 2017; pp 69–90. https://doi.org/10.1007/978-981-10-3162-5_4.
- (136) Aminake, M. N.; Arndt, H.-D.; Pradel, G. The Proteasome of Malaria Parasites: A Multi-Stage Drug Target for Chemotherapeutic Intervention? *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* **2012**, *2*, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2011.12.001>.
- (137) Ward, P.; Equinet, L.; Packer, J.; Doerig, C. Protein Kinases of the Human Malaria Parasite Plasmodium Falciparum: The Kinome of a Divergent Eukaryote. *BMC Genomics* **2004**, *5* (1). <https://doi.org/10.1186/1471-2164-5-79>.
- (138) M. Zhang, V.; Chavchich, M.; C. Waters, N. Targeting Protein Kinases in the Malaria Parasite: Update of an Antimalarial Drug Target. *CTMC* **2012**, *12* (5), 456–472. <https://doi.org/10.2174/156802612799362922>.
- (139) Valenciano, A. L.; Fernández-Murga, M. L.; Merino, E. F.; Holderman, N. R.; Butschek, G. J.; Shaffer, K. J.; Tyler, P. C.; Cassera, M. B. Metabolic Dependency of Chorismate in Plasmodium Falciparum Suggests an Alternative Source for the Ubiquinone Biosynthesis Precursor. *Scientific Reports* **2019**, *9* (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50319-5>.
- (140) Heiny, S. R.; Pautz, S.; Recker, M.; Przyborski, J. M. Protein Traffic to the Plasmodium Falciparum Apicoplast: Evidence for a Sorting Branch Point at the Golgi. *Traffic* **2014**, *15* (12), 1290–1304. <https://doi.org/10.1111/tra.12226>.
- (141) Uddin, T.; McFadden, G. I.; Goodman, C. D. Validation of Putative Apicoplast-Targeting Drugs Using a Chemical Supplementation Assay in Cultured Human Malaria Parasites. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2017**, *62* (1). <https://doi.org/10.1128/AAC.01161-17>.
- (142) Staines, H.; Ellory, J.; Chibale, K. The New Permeability Pathways: Targets and Selective Routes for the Development of New Antimalarial Agents. *CCHTS* **2005**, *8* (1), 81–88. <https://doi.org/10.2174/1386207053328138>.

- (143) Ortiz, D.; Guiguemde, W. A.; Johnson, A.; Elya, C.; Anderson, J.; Clark, J.; Connelly, M.; Yang, L.; Min, J.; Sato, Y.; Guy, R. K.; Landfear, S. M. Identification of Selective Inhibitors of the Plasmodium Falciparum Hexose Transporter PfHT by Screening Focused Libraries of Anti-Malarial Compounds. *PLoS ONE* **2015**, *10* (4), e0123598. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123598>.
- (144) Spillman, N. J.; Kirk, K. The Malaria Parasite Cation ATPase PfATP4 and Its Role in the Mechanism of Action of a New Arsenal of Antimalarial Drugs. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* **2015**, *5* (3), 149–162. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2015.07.001>.
- (145) Flannery, E. L.; McNamara, C. W.; Kim, S. W.; Kato, T. S.; Li, F.; Teng, C. H.; Gagaring, K.; Manary, M. J.; Barboa, R.; Meister, S.; Kuhlen, K.; Vinetz, J. M.; Chatterjee, A. K.; Winzeler, E. A. Mutations in the P-Type Cation-Transporter ATPase 4, PfATP4, Mediate Resistance to Both Aminopyrazole and Spiroindolone Antimalarials. *ACS Chemical Biology* **2015**, *10* (2), 413–420. <https://doi.org/10.1021/cb500616x>.
- (146) Frame, I. J.; Deniskin, R.; Arora, A.; Akabas, M. H. Purine Import into Malaria Parasites as a Target for Antimalarial Drug Development: Purine Import as an Antimalarial Drug Target. *Annals of the New York Academy of Sciences* **2015**, *1342* (1), 19–28. <https://doi.org/10.1111/nyas.12568>.
- (147) A. Phillips, M.; K. Rathod, P. Plasmodium Dihydroorotate Dehydrogenase: A Promising Target for Novel Anti-Malarial Chemotherapy. *Infectious Disorders - Drug Targets* **2010**, *10* (3), 226–239. <https://doi.org/10.2174/187152610791163336>.
- (148) Hoelz, L. V.; Calil, F. A.; Nonato, M. C.; Pinheiro, L. C.; Boechat, N. Plasmodium Falciparum Dihydroorotate Dehydrogenase: A Drug Target against Malaria. *Future Medicinal Chemistry* **2018**, *10* (15), 1853–1874. <https://doi.org/10.4155/fmc-2017-0250>.
- (149) Pavadai, E.; El Mazouni, F.; Wittlin, S.; de Kock, C.; Phillips, M. A.; Chibale, K. Identification of New Human Malaria Parasite Plasmodium Falciparum Dihydroorotate Dehydrogenase Inhibitors by Pharmacophore and Structure-Based Virtual Screening. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2016**, *56* (3), 548–562. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.5b00680>.
- (150) Edwards, R. L.; Brothers, R. C.; Wang, X.; Maron, M. I.; Ziniel, P. D.; Tsang, P. S.; Kraft, T. E.; Hruz, P. W.; Williamson, K. C.; Dowd, C. S.; John, A. R. O. MEPicides: Potent Antimalarial Prodrugs Targeting Isoprenoid Biosynthesis. *Scientific Reports* **2017**, *7* (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07159-y>.
- (151) Saggu, G. S.; Pala, Z. R.; Garg, S.; Saxena, V. New Insight into Isoprenoids Biosynthesis Process and Future Prospects for Drug Designing in Plasmodium. *Frontiers in Microbiology* **2016**, *7*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01421>.
- (152) Spielmann, T.; Montagna, G. N.; Hecht, L.; Matuschewski, K. Molecular Make-up of the Plasmodium Parasitophorous Vacuolar Membrane. *International Journal of Medical Microbiology* **2012**, *302* (4–5), 179–186. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2012.07.011>.
- (153) Kilian, N.; Choi, J.-Y.; Voelker, D. R.; Ben Mamoun, C. Role of Phospholipid Synthesis in the Development and Differentiation of Malaria Parasites in the Blood. *Journal of Biological Chemistry* **2018**, *293* (45), 17308–17316. <https://doi.org/10.1074/jbc.R118.003213>.
- (154) Agarwal, D.; Gupta, R. D.; Awasthi, S. K. Are Antimalarial Hybrid Molecules a Close Reality or a Distant Dream? *Antimicrob Agents Chemother* **2017**, *61* (5). <https://doi.org/10.1128/AAC.00249-17>.

- (155) Walsh, J.; Bell, A. Hybrid Drugs for Malaria. *Current Pharmaceutical Design* **2009**, *15* (25), 2970–2985. <https://doi.org/10.2174/138161209789058183>.
- (156) Lombard, M. C.; N'Da, D. D.; Breytenbach, J. C.; Kolesnikova, N. I.; Tran Van Ba, C.; Wein, S.; Norman, J.; Denti, P.; Vial, H.; Wiesner, L. Antimalarial and Anticancer Activities of Artemisinin–Quinoline Hybrid-Dimers and Pharmacokinetic Properties in Mice. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2012**, *47* (5), 834–841. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2012.09.019>.
- (157) Van Voorhis, W. C.; Adams, J. H.; Adelfio, R.; Ah Yong, V.; Akabas, M. H.; Alano, P.; Alday, A.; Alemán Resto, Y.; Alsibae, A.; Alzualde, A.; Andrews, K. T.; Avery, S. V.; Avery, V. M.; Ayong, L.; Baker, M.; Baker, S.; Ben Mamoun, C.; Bhatia, S.; Bickle, Q.; Bounaadja, L.; Bowling, T.; Bosch, J.; Boucher, L. E.; Boyom, F. F.; Brea, J.; Brennan, M.; Burton, A.; Caffrey, C. R.; Camarda, G.; Carrasquilla, M.; Carter, D.; Belen Cassera, M.; Chih-Chien Cheng, K.; Chindaudomsate, W.; Chubb, A.; Colon, B. L.; Colón-López, D. D.; Corbett, Y.; Crowther, G. J.; Cowan, N.; D'Alessandro, S.; Le Dang, N.; Delves, M.; DeRisi, J. L.; Du, A. Y.; Duffy, S.; Abd El-Salam El-Sayed, S.; Ferdig, M. T.; Fernández Robledo, J. A.; Fidock, D. A.; Florent, I.; Fokou, P. V. T.; Galstian, A.; Gamo, F. J.; Gokool, S.; Gold, B.; Golub, T.; Goldgof, G. M.; Guha, R.; Guiguemde, W. A.; Gural, N.; Guy, R. K.; Hansen, M. A. E.; Hanson, K. K.; Hemphill, A.; Hooft van Huijsduijnen, R.; Horii, T.; Horrocks, P.; Hughes, T. B.; Huston, C.; Igarashi, I.; Ingram-Sieber, K.; Itoe, M. A.; Jadhav, A.; Naranuntarat Jensen, A.; Jensen, L. T.; Jiang, R. H. Y.; Kaiser, A.; Keiser, J.; Ketas, T.; Kicka, S.; Kim, S.; Kirk, K.; Kumar, V. P.; Kyle, D. E.; Lafuente, M. J.; Landfear, S.; Lee, N.; Lee, S.; Lehane, A. M.; Li, F.; Little, D.; Liu, L.; Llinás, M.; Loza, M. I.; Lubar, A.; Lucantoni, L.; Lucet, I.; Maes, L.; Mancama, D.; Mansour, N. R.; March, S.; McGowan, S.; Medina Vera, I.; Meister, S.; Mercer, L.; Mestres, J.; Mfopa, A. N.; Misra, R. N.; Moon, S.; Moore, J. P.; Morais Rodrigues da Costa, F.; Müller, J.; Muriana, A.; Nakazawa Hewitt, S.; Nare, B.; Nathan, C.; Narraidoo, N.; Nawaratna, S.; Ojo, K. K.; Ortiz, D.; Panic, G.; Papadatos, G.; Parapini, S.; Patra, K.; Pham, N.; Prats, S.; Plouffe, D. M.; Poulsen, S.-A.; Pradhan, A.; Quevedo, C.; Quinn, R. J.; Rice, C. A.; Abdo Rizk, M.; Ruecker, A.; St. Onge, R.; Salgado Ferreira, R.; Samra, J.; Robinett, N. G.; Schlecht, U.; Schmitt, M.; Silva Villela, F.; Silvestrini, F.; Sinden, R.; Smith, D. A.; Soldati, T.; Spitzmüller, A.; Stamm, S. M.; Sullivan, D. J.; Sullivan, W.; Suresh, S.; Suzuki, B. M.; Suzuki, Y.; Swamidass, S. J.; Taramelli, D.; Tchokouaha, L. R. Y.; Theron, A.; Thomas, D.; Tonissen, K. F.; Townson, S.; Tripathi, A. K.; Trofimov, V.; Udenze, K. O.; Ullah, I.; Vallieres, C.; Vigil, E.; Vinetz, J. M.; Voong Vinh, P.; Vu, H.; Watanabe, N.; Weatherby, K.; White, P. M.; Wilks, A. F.; Winzeler, E. A.; Wojcik, E.; Wree, M.; Wu, W.; Yokoyama, N.; Zollo, P. H. A.; Abia, N.; Blasco, B.; Burrows, J.; Laleu, B.; Leroy, D.; Spangenberg, T.; Wells, T.; Willis, P. A. Open Source Drug Discovery with the Malaria Box Compound Collection for Neglected Diseases and Beyond. *PLOS Pathogens* **2016**, *12* (7), e1005763. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005763>.
- (158) Lucantoni, L.; Duffy, S.; Adjalley, S. H.; Fidock, D. A.; Avery, V. M. Identification of MMV Malaria Box Inhibitors of Plasmodium Falciparum Early-Stage Gametocytes Using a Luciferase-Based High-Throughput Assay. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2013**, *57* (12), 6050–6062. <https://doi.org/10.1128/AAC.00870-13>.
- (159) Lucantoni, L.; Fidock, D. A.; Avery, V. M. Luciferase-Based, High-Throughput Assay for Screening and Profiling Transmission-Blocking Compounds against Plasmodium Falciparum Gametocytes. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2016**, *60* (4), 2097–2107. <https://doi.org/10.1128/AAC.01949-15>.

- (160) Lucantoni, L.; Avery, V. Whole-Cell *in Vitro* Screening for Gametocytocidal Compounds. *Future Medicinal Chemistry* **2012**, *4* (18), 2337–2360. <https://doi.org/10.4155/fmc.12.188>.
- (161) Duffy, S.; Avery, V. M. Identification of Inhibitors of Plasmodium Falciparum Gametocyte Development. *Malar J* **2013**, *12* (1), 408. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-12-408>.
- (162) Plouffe, D. M.; Wree, M.; Du, A. Y.; Meister, S.; Li, F.; Patra, K.; Lubar, A.; Okitsu, S. L.; Flannery, E. L.; Kato, N.; Tanaseichuk, O.; Comer, E.; Zhou, B.; Kuhlen, K.; Zhou, Y.; Leroy, D.; Schreiber, S. L.; Scherer, C. A.; Vinetz, J.; Winzeler, E. A. High-Throughput Assay and Discovery of Small Molecules That Interrupt Malaria Transmission. *Cell Host & Microbe* **2016**, *19* (1), 114–126. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.12.001>.
- (163) Swann, J.; Corey, V.; Scherer, C. A.; Kato, N.; Comer, E.; Maetani, M.; Antonova-Koch, Y.; Reimer, C.; Gagaring, K.; Ibanez, M.; Plouffe, D.; Zeeman, A.-M.; Kocken, C. H. M.; McNamara, C. W.; Schreiber, S. L.; Campo, B.; Winzeler, E. A.; Meister, S. High-Throughput Luciferase-Based Assay for the Discovery of Therapeutics That Prevent Malaria. *ACS Infectious Diseases* **2016**, *2* (4), 281–293. <https://doi.org/10.1021/acscinfecdis.5b00143>.
- (164) Ruecker, A.; Mathias, D. K.; Straschil, U.; Churcher, T. S.; Dinglasan, R. R.; Leroy, D.; Sinden, R. E.; Delves, M. J. A Male and Female Gametocyte Functional Viability Assay To Identify Biologically Relevant Malaria Transmission-Blocking Drugs. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2014**, *58* (12), 7292–7302. <https://doi.org/10.1128/AAC.03666-14>.
- (165) Creek, D. J.; Chua, H. H.; Cobbold, S. A.; Nijagal, B.; MacRae, J. I.; Dickerman, B. K.; Gilson, P. R.; Ralph, S. A.; McConville, M. J. Metabolomics-Based Screening of the Malaria Box Reveals Both Novel and Established Mechanisms of Action. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2016**, *60* (11), 6650–6663. <https://doi.org/10.1128/AAC.01226-16>.
- (166) Almela, M. J.; Lozano, S.; Lelièvre, J.; Colmenarejo, G.; Coterón, J. M.; Rodrigues, J.; Gonzalez, C.; Herreros, E. A New Set of Chemical Starting Points with Plasmodium Falciparum Transmission-Blocking Potential for Antimalarial Drug Discovery. *PLOS ONE* **2015**, *10* (8), e0135139. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135139>.
- (167) Fabbri, C.; Trindade, A. O.; Andrade, F. S.; Souza, M. F. de; Ríos-Velásquez, C. M.; Lacerda, M. V. G. de; Monteiro, W. M.; Costa, F. T. M.; Amino, R.; Lopes, S. C. P. Transmission-Blocking Compound Candidates against Plasmodium Vivax Using P. Berghei as an Initial Screening. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2021**, *116*, e200513. <https://doi.org/10.1590/0074-02760200513>.
- (168) Hughes, T. B.; Dang, N. L.; Miller, G. P.; Swamidass, S. J. Modeling Reactivity to Biological Macromolecules with a Deep Multitask Network. *ACS Cent. Sci.* **2016**, *2* (8), 529–537. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.6b00162>.
- (169) Meanwell, N. A. Synopsis of Some Recent Tactical Application of Bioisosteres in Drug Design. *Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *54* (8), 2529–2591. <https://doi.org/10.1021/jm1013693>.
- (170) Bachl, J.; Mayr, J.; Sayago, F. J.; Cativiela, C.; Díaz, D. D. Amide–Triazole Isosteric Substitution for Tuning Self-Assembly and Incorporating New Functions into Soft Supramolecular Materials. *Chem. Commun.* **2015**, *51* (25), 5294–5297. <https://doi.org/10.1039/C4CC08593K>.
- (171) Gennari, C.; Gude, M.; Potenza, D.; Piarulli, U. Hydrogen-Bonding Donor/Acceptor Scales in β -Sulfonamidopeptides. *Chemistry – A European Journal* **1998**, *4* (10), 1924–

1931. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3765\(19981002\)4:10<1924::AID-CHEM1924>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3765(19981002)4:10<1924::AID-CHEM1924>3.0.CO;2-P).
- (172) Sati, G. C.; Crich, D. Facile Synthesis of 3- *N*-Alkyl Pyrimidin-2,4-Diones from *N*-Sulfonyloxy Maleimides and Amines. *Organic Letters* **2015**, *17* (16), 4122–4124. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.5b02079>.
- (173) Rao, Y. J.; Srinivas, A. Synthesis of New Hybrid Heterocyclic Compounds Having 1,2,3-Triazole and Isoxazole via Click Chemistry. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2014**, *51* (6), 1675–1678. <https://doi.org/10.1002/jhet.1798>.
- (174) Meanwell, N. A. Fluorine and Fluorinated Motifs in the Design and Application of Bioisosteres for Drug Design. *J. Med. Chem.* **2018**. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01788>.
- (175) Van Der Waals Radius - an overview (pdf) | ScienceDirect Topics <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/van-der-waals-radius/pdf> (accessed 2021 -07 -13).
- (176) Lazzara, P. R.; Moore, T. W. Scaffold-Hopping as a Strategy to Address Metabolic Liabilities of Aromatic Compounds. *RSC Med. Chem.* **2020**, *11* (1), 18–29. <https://doi.org/10.1039/C9MD00396G>.
- (177) Bachl, J.; Mayr, J.; Sayago, F. J.; Cativiela, C.; Díaz Díaz, D. Amide–Triazole Isosteric Substitution for Tuning Self-Assembly and Incorporating New Functions into Soft Supramolecular Materials. *Chem. Commun.* **2015**, *51* (25), 5294–5297. <https://doi.org/10.1039/C4CC08593K>.
- (178) Vijayadas, K. N.; Davis, H. C.; Kotmale, A. S.; Gawade, R. L.; Puranik, V. G.; Rajamohanam, P. R.; Sanjayan, G. J. An Unusual Conformational Similarity of Two Peptide Folds Featuring Sulfonamide and Carboxamide on the Backbone. *Chem. Commun.* **2012**, *48* (78), 9747. <https://doi.org/10.1039/c2cc34533a>.
- (179) Cowell, A. N.; Istvan, E. S.; Lukens, A. K.; Gomez-Lorenzo, M. G.; Vanaerschot, M.; Sakata-Kato, T.; Flannery, E. L.; Magistrado, P.; Owen, E.; Abraham, M.; LaMonte, G.; Painter, H. J.; Williams, R. M.; Franco, V.; Linares, M.; Arriaga, I.; Bopp, S.; Corey, V. C.; Gnädig, N. F.; Coburn-Flynn, O.; Reimer, C.; Gupta, P.; Murithi, J. M.; Moura, P. A.; Fuchs, O.; Sasaki, E.; Kim, S. W.; Teng, C. H.; Wang, L. T.; Akidil, A.; Adjalley, S.; Willis, P. A.; Siegel, D.; Tanaseichuk, O.; Zhong, Y.; Zhou, Y.; Llinás, M.; Otilie, S.; Gamo, F.-J.; Lee, M. C. S.; Goldberg, D. E.; Fidock, D. A.; Wirth, D. F.; Winzeler, E. A. Mapping the Malaria Parasite Druggable Genome by Using in Vitro Evolution and Chemogenomics. *Science* **2018**, *359* (6372), 191–199. <https://doi.org/10.1126/science.aan4472>.
- (180) Guggisberg, A. M.; Amthor, R. E.; Odom, A. R. Isoprenoid Biosynthesis in *Plasmodium falciparum*. *Eukaryotic Cell* **2014**, *13* (11), 12.
- (181) Glenn, M. P.; Chang, S.-Y.; Hornéy, C.; Rivas, K.; Yokoyama, K.; Pusateri, E. E.; Fletcher, S.; Cummings, C. G.; Buckner, F. S.; Pendyala, P. R.; Chakrabarti, D.; Sebti, S. M.; Gelb, M.; Van Voorhis, W. C.; Hamilton, A. D. Structurally Simple, Potent, *Plasmodium* Selective Farnesyltransferase Inhibitors That Arrest the Growth of Malaria Parasites. *J. Med. Chem.* **2006**, *49* (19), 5710–5727. <https://doi.org/10.1021/jm060081v>.
- (182) Sinensky, M. Recent Advances in the Study of Prenylated Proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* **2000**, *1484* (2), 93–106. [https://doi.org/10.1016/S1388-1981\(00\)00009-3](https://doi.org/10.1016/S1388-1981(00)00009-3).
- (183) Reid, T. S.; Beese, L. S. Crystal Structures of the Anticancer Clinical Candidates R115777 (Tipifarnib) and BMS-214662 Complexed with Protein Farnesyltransferase Suggest a Mechanism of FTI Selectivity. *Biochemistry* **2004**, *43* (22), 6877–6884. <https://doi.org/10.1021/bi049723b>.

- (184) Hast, M. A.; Fletcher, S.; Cummings, C. G.; Pusateri, E. E.; Blaskovich, M. A.; Rivas, K.; Gelb, M. H.; Van Voorhis, W. C.; Sebti, S. M.; Hamilton, A. D.; Beese, L. S. Structural Basis for Binding and Selectivity of Antimalarial and Anticancer Ethylenediamine Inhibitors to Protein Farnesyltransferase. *Chemistry & Biology* **2009**, *16* (2), 181–192. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2009.01.014>.
- (185) Zaretski, J.; Matlock, M.; Swamidass, S. J. XenoSite: Accurately Predicting CYP-Mediated Sites of Metabolism with Neural Networks. *J. Chem. Inf. Model.* **2013**, *53* (12), 3373–3383. <https://doi.org/10.1021/ci400518g>.
- (186) XenoSite Metabolism and Reactivity Prediction Web Server <http://swami.wustl.edu/xenosite> (accessed 2017 -11 -27).
- (187) m-Anisidine (536-90-3) | Chemical Effects in Biological Systems https://cebs.niehs.nih.gov/cebs/test_article/536-90-3 (accessed 2021 -08 -13).
- (188) Shamovsky, I.; Ripa, L.; Narjes, F.; Bonn, B.; Schiesser, S.; Terstiege, I.; Tyrchan, C. Mechanism-Based Insights into Removing the Mutagenicity of Aromatic Amines by Small Structural Alterations. *J. Med. Chem.* **2021**, *acs.jmedchem.1c00514*. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00514>.
- (189) Bomhard, E. M.; Herbold, B. A. Genotoxic Activities of Aniline and Its Metabolites and Their Relationship to the Carcinogenicity of Aniline in the Spleen of Rats. *Critical Reviews in Toxicology* **2005**, *35* (10), 783–835. <https://doi.org/10.1080/10408440500442384>.
- (190) Bentzien, J.; Hickey, E. R.; Kemper, R. A.; Brewer, M. L.; Dyekjær, J. D.; East, S. P.; Whittaker, M. An in Silico Method for Predicting Ames Activities of Primary Aromatic Amines by Calculating the Stabilities of Nitrenium Ions. *J. Chem. Inf. Model.* **2010**, *50* (2), 274–297. <https://doi.org/10.1021/ci900378x>.
- (191) Turesky, R. J.; Le Marchand, L. Metabolism and Biomarkers of Heterocyclic Aromatic Amines in Molecular Epidemiology Studies: Lessons Learned from Aromatic Amines. *Chem. Res. Toxicol.* **2011**, *24* (8), 1169–1214. <https://doi.org/10.1021/tx200135s>.
- (192) Desjardins, R. E.; Canfield, C. J.; Haynes, J. D.; Chulay, J. D. Quantitative Assessment of Antimalarial Activity in Vitro by a Semiautomated Microdilution Technique. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1979**, *16* (6), 710–718. <https://doi.org/10.1128/AAC.16.6.710>.
- (193) ChEMBL Database <https://www.ebi.ac.uk/chembl/> (accessed 2021 -08 -14).
- (194) O'Hagan, D. Understanding Organofluorine Chemistry. An Introduction to the C–F Bond. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37* (2), 308–319. <https://doi.org/10.1039/B711844A>.
- (195) Hunter, L. The C–F Bond as a Conformational Tool in Organic and Biological Chemistry. *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, *6* (1), 38. <https://doi.org/10.3762/bjoc.6.38>.
- (196) Gillis, E. P.; Eastman, K. J.; Hill, M. D.; Donnelly, D. J.; Meanwell, N. A. Applications of Fluorine in Medicinal Chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, *58* (21), 8315–8359. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00258>.
- (197) Müller, K.; Faeh, C.; Diederich, F. Fluorine in Pharmaceuticals: Looking Beyond Intuition. *Science* **2007**, *317* (5846), 1881–1886. <https://doi.org/10.1126/science.1131943>.
- (198) Inoue, M.; Sumii, Y.; Shibata, N. Contribution of Organofluorine Compounds to Pharmaceuticals. *ACS Omega* **2020**, *5* (19), 10633–10640. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00830>.
- (199) Paulini, R.; Müller, K.; Diederich, F. Orthogonal Multipolar Interactions in Structural Chemistry and Biology. *Angewandte Chemie International Edition* **2005**, *44* (12), 1788–1805. <https://doi.org/10.1002/anie.200462213>.

- (200) Dalvit, C.; Invernizzi, C.; Vulpetti, A. Fluorine as a Hydrogen-Bond Acceptor: Experimental Evidence and Computational Calculations. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20* (35), 11058–11068. <https://doi.org/10.1002/chem.201402858>.
- (201) I. Sap, J. B.; F. Meyer, C.; W. Straathof, N. J.; Iwumene, N.; Ende, C. W. am; A. Trabanco, A.; Gouverneur, V. Late-Stage Difluoromethylation: Concepts, Developments and Perspective. *Chemical Society Reviews* **2021**, *50* (14), 8214–8247. <https://doi.org/10.1039/D1CS00360G>.
- (202) Xing, L.; Blakemore, D. C.; Narayanan, A.; Unwalla, R.; Lovering, F.; Denny, R. A.; Zhou, H.; Bunnage, M. E. Fluorine in Drug Design: A Case Study with Fluoroanisoles. *ChemMedChem* **2015**, *10* (4), 715–726. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201402555>.
- (203) Huchet, Q. A.; Trapp, N.; Kuhn, B.; Wagner, B.; Fischer, H.; Kratochwil, N. A.; Carreira, E. M.; Müller, K. Partially Fluorinated Alkoxy Groups – Conformational Adaptors to Changing Environments. *Journal of Fluorine Chemistry* **2017**, *198*, 34–46. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2017.02.003>.
- (204) Müller, K. Simple Vector Considerations to Assess the Polarity of Partially Fluorinated Alkyl and Alkoxy Groups. *CHIMIA* **2014**, *68* (6), 356–362. <https://doi.org/10.2533/chimia.2014.356>.
- (205) Zafrani, Y.; Yeffet, D.; Sod-Moriah, G.; Berliner, A.; Amir, D.; Marciano, D.; Gershonov, E.; Saphier, S. Difluoromethyl Bioisostere: Examining the “Lipophilic Hydrogen Bond Donor” Concept. *J. Med. Chem.* **2017**, *60* (2), 797–804. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01691>.
- (206) Zafrani, Y.; Sod-Moriah, G.; Yeffet, D.; Berliner, A.; Amir, D.; Marciano, D.; Elias, S.; Katalan, S.; Ashkenazi, N.; Madmon, M.; Gershonov, E.; Saphier, S. CF₂H, a Functional Group-Dependent Hydrogen-Bond Donor: Is It a More or Less Lipophilic Bioisostere of OH, SH, and CH₃? *J. Med. Chem.* **2019**, *62* (11), 5628–5637. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00604>.
- (207) Dalvit, C.; Vulpetti, A. Intermolecular and Intramolecular Hydrogen Bonds Involving Fluorine Atoms: Implications for Recognition, Selectivity, and Chemical Properties. *ChemMedChem* **2012**, *7* (2), 262–272. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201100483>.
- (208) Laurence, C.; Brameld, K. A.; Graton, J.; Le Questel, J.-Y.; Renault, E. The PKBHX Database: Toward a Better Understanding of Hydrogen-Bond Basicity for Medicinal Chemists. *J. Med. Chem.* **2009**, *52* (14), 4073–4086. <https://doi.org/10.1021/jm801331y>.
- (209) Novikov, V. P.; Vilkov, L. V.; Oberhammer, H. Conformational Properties of 2-Fluoroanisole in the Gas Phase. *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107* (6), 908–913. <https://doi.org/10.1021/jp022235y>.
- (210) Isozaki, T.; Sakeda, K.; Suzuki, T.; Ichimura, T.; Tsuji, K.; Shibuya, K. Evidence for a Non-Planar Conformer and Conformational Isomerization of o-Fluoroanisole in a Low-Temperature Ar Matrix. *Chemical Physics Letters* **2005**, *409* (1), 93–97. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2005.04.086>.
- (211) Borosky, G. L. Quantum-Chemical Studies on Mutagenicity of Aromatic and Heteroaromatic Amines. *Front Biosci* **2013**, *S5* (2), 600–610. <https://doi.org/10.2741/S393>.
- (212) Meanwell, N. A. A Synopsis of the Properties and Applications of Heteroaromatic Rings in Medicinal Chemistry. In *Advances in Heterocyclic Chemistry*; Elsevier, 2017; Vol. 123, pp 245–361. <https://doi.org/10.1016/bs.aihch.2016.11.002>.
- (213) Cheng, W.; Zheng, Y.; Feng, G.; Grabow, J.-U.; Gou, Q. Conformation and Bonding of 2-Methoxypyridine and Its Monohydrate from Rotational Spectra. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2020**, *239*, 118434. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118434>.

- (214) Chein, R.-J.; Corey, E. J. Strong Conformational Preferences of Heteroaromatic Ethers and Electron Pair Repulsion. *Org. Lett.* **2010**, *12* (1), 132–135. <https://doi.org/10.1021/ol9025364>.
- (215) Brameld, K. A.; Kuhn, B.; Reuter, D. C.; Stahl, M. Small Molecule Conformational Preferences Derived from Crystal Structure Data. A Medicinal Chemistry Focused Analysis. *J. Chem. Inf. Model.* **2008**, *48* (1), 1–24. <https://doi.org/10.1021/ci7002494>.
- (216) Bootsma, A. N.; Wheeler, S. E. Stacking Interactions of Heterocyclic Drug Fragments with Protein Amide Backbones. *ChemMedChem* **2018**, *13* (8), 835–841. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201700721>.
- (217) Harder, M.; Kuhn, B.; Diederich, F. Efficient Stacking on Protein Amide Fragments. *ChemMedChem* **2013**, *8* (3), 397–404. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201200512>.
- (218) Molinspiration Cheminformatics <https://www.molinspiration.com/> (accessed 2021 -09 -16).
- (219) Beno, B. R.; Yeung, K.-S.; Bartberger, M. D.; Pennington, L. D.; Meanwell, N. A. A Survey of the Role of Noncovalent Sulfur Interactions in Drug Design. *J. Med. Chem.* **2015**, *58* (11), 4383–4438. <https://doi.org/10.1021/jm501853m>.
- (220) Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. SwissADME: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Drug-Likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules. *Sci Rep* **2017**, *7* (1), 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>.
- (221) Pascoe, D. J.; Ling, K. B.; Cockroft, S. L. The Origin of Chalcogen-Bonding Interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139* (42), 15160–15167. <https://doi.org/10.1021/jacs.7b08511>.
- (222) Koebel, M. R.; Cooper, A.; Schmadeke, G.; Jeon, S.; Narayan, M.; Sirimulla, S. S···O and S···N Sulfur Bonding Interactions in Protein–Ligand Complexes: Empirical Considerations and Scoring Function. *J. Chem. Inf. Model.* **2016**, *56* (12), 2298–2309. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.6b00236>.
- (223) Meanwell, N. A. A Synopsis of the Properties and Applications of Heteroaromatic Rings in Medicinal Chemistry. In *Advances in Heterocyclic Chemistry*; Elsevier, 2017; Vol. 123, pp 245–361. <https://doi.org/10.1016/bs.aihch.2016.11.002>.
- (224) Huber, R. G.; Margreiter, M. A.; Fuchs, J. E.; von Grafenstein, S.; Tautermann, C. S.; Liedl, K. R.; Fox, T. Heteroaromatic π -Stacking Energy Landscapes. *J. Chem. Inf. Model.* **2014**, *54* (5), 1371–1379. <https://doi.org/10.1021/ci500183u>.
- (225) Wermuth, C. G. Analog Design. In *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*; American Cancer Society, 2010; pp 167–180. <https://doi.org/10.1002/0471266949.bmc031.pub2>.
- (226) Kuhn, B.; Mohr, P.; Stahl, M. Intramolecular Hydrogen Bonding in Medicinal Chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *53* (6), 2601–2611. <https://doi.org/10.1021/jm100087s>.
- (227) Giordanetto, F.; Tyrchan, C.; Ulander, J. Intramolecular Hydrogen Bond Expectations in Medicinal Chemistry. *ACS Med. Chem. Lett.* **2017**, *8* (2), 139–142. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.7b00002>.
- (228) Caron, G.; Kihlberg, J.; Ermondi, G. Intramolecular Hydrogen Bonding: An Opportunity for Improved Design in Medicinal Chemistry. *Med Res Rev* **2019**, *39* (5), 1707–1729. <https://doi.org/10.1002/med.21562>.
- (229) Le, W.-J.; Lu, H.-F.; Zhou, J.-T.; Cheng, H.-L.; Gao, Y.-H. Synthesis of a New Urea Derivative: A Dual-Functional Organocatalyst for Knoevenagel Condensation in Water. *Tetrahedron Letters* **2013**, *54* (39), 5370–5373. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.07.116>.
- (230) Liu, C. T.; Tomsho, J. W.; Benkovic, S. J. The Unique Chemistry of Benzoxaboroles: Current and Emerging Applications in Biotechnology and Therapeutic Treatments.

- Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2014**, *22* (16), 4462–4473. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2014.04.065>.
- (231) Fernandes, G. F. S.; Denny, W. A.; Dos Santos, J. L. Boron in Drug Design: Recent Advances in the Development of New Therapeutic Agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, *179*, 791–804. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.092>.
- (232) Adamczyk-Woźniak, A.; Borys, K. M.; Sporzyński, A. Recent Developments in the Chemistry and Biological Applications of Benzoxaboroles. *Chem. Rev.* **2015**, *115* (11), 5224–5247. <https://doi.org/10.1021/cr500642d>.
- (233) Lopez, J.-M. C.; Velando, E. P. F.; FERNANDEZ-MOLINA, J.; LEON-DIAZ, M. L.; Wilson, D. M. Compound (S) and (R)-N-(2-Fluoropyridin-4-Yl)-3-Methyl-2-(5-Methyl-2,4-Dioxo-1,2-Dihydropyrido[3,4-d]Pyrimidin-3(4H)-Yl)Butanamide and Use. US20160311821A1, October 27, 2016.
- (234) WO2016169908A1 - Uracil Derivatives for the Treatment of Malaria - Google Patents.
- (235) Burt, T.; Young, G.; Lee, W.; Kusuhara, H.; Langer, O.; Rowland, M.; Sugiyama, Y. Phase 0/Microdosing Approaches: Time for Mainstream Application in Drug Development? *Nat Rev Drug Discov* **2020**, *19* (11), 801–818. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-0080-x>.
- (236) Okour, M.; Derimanov, G.; Barnett, R.; Fernandez, E.; Ferrer, S.; Gresham, S.; Hossain, M.; Gamo, F.-J.; Koh, G.; Pereira, A.; Rolfe, K.; Wong, D.; Young, G.; Rami, H.; Haselden, J. A Human Microdose Study of the Antimalarial Drug GSK3191607 in Healthy Volunteers. *British Journal of Clinical Pharmacology* **2018**, *84* (3), 482–489. <https://doi.org/10.1111/bcp.13476>.
- (237) Fernández, E.; Castellote, M. I.; Chaparro, M. J.; Díaz, B.; Fernández, J.; Gordo, M.; de las Heras, L.; León, M. L.; Rueda, L.; Calderón, F. A Decade of Malaria Phenotypic Screenings: Key Lessons on the Discovery and Development of New Antimalarial Drugs. In *Annual Reports in Medicinal Chemistry*; Elsevier, 2019; Vol. 53, pp 1–23. <https://doi.org/10.1016/bs.armc.2019.07.001>.
- (238) Saroj; Patel, O. P. S.; Rangan, K.; Kumar, A. Metal-Free Synthesis of Pyridin-2-Yl Ureas from 2-Aminopyridinium Salts. *Tetrahedron Letters* **2019**, *60* (33), 150939. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2019.07.030>.
- (239) Liang, H.-W.; Yang, Z.; Jiang, K.; Ye, Y.; Wei, Y. Atom-Economic Silver-Catalyzed Difunctionalization of the Isocyano Group with Cyclic Oximes: Towards Pyrimidinediones. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57* (20), 5720–5724. <https://doi.org/10.1002/anie.201801363>.
- (240) Faure, S.; Hjelmggaard, T.; Roche, S. P.; Aitken, D. J. Passerini Reaction–Amine Deprotection– Acyl Migration (PADAM) Peptide Assembly: Efficient Formal Synthesis of Cyclotheonamide C. 25.
- (241) De Luca, L.; Porcheddu, A.; Giacomelli, G.; Murgia, I. Microwave-Assisted Synthesis of N-Monosubstituted Urea Derivatives. *Synlett* **2010**, *2010* (16), 2439–2442. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1258553>.
- (242) Burgula, L. N.; Radhakrishnan, K.; Kundu, L. M. Synthesis of Modified Uracil and Cytosine Nucleobases Using a Microwave-Assisted Method. *Tetrahedron Letters* **2012**, *53* (21), 2639–2642. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2012.03.056>.
- (243) Panda, N.; Mothkuri, R. Stereoselective Synthesis of Enamides by Pd-Catalyzed Hydroamidation of Electron Deficient Terminal Alkynes. *J. Org. Chem.* **2012**, *77* (20), 9407–9412. <https://doi.org/10.1021/jo301772f>.
- (244) BANDI PARTHASARADHI REDDY ; KURA RATHNAKAR REDDY ; ADULLA PANDURANGA REDDY; KASIREDDY BHASKAR REDDY, NOVEL TRITERPENE DERIVATIVES AS HIV INHIBITORS, WO/2020/165741, 2020.

- (245) Umemoto, T.; Singh, R. P.; Xu, Y.; Saito, N. Discovery of 4- *Tert* -Butyl-2,6-Dimethylphenylsulfur Trifluoride as a Deoxofluorinating Agent with High Thermal Stability as Well as Unusual Resistance to Aqueous Hydrolysis, and Its Diverse Fluorination Capabilities Including Deoxofluoro-Arylsulfonylation with High Stereoselectivity. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (51), 18199–18205. <https://doi.org/10.1021/ja106343h>.
- (246) El-Faham, A.; Albericio, F. COMU: A Third Generation of Uronium-Type Coupling Reagents. *J. Pept. Sci.* **2010**, *16* (1), 6–9. <https://doi.org/10.1002/psc.1204>.
- (247) Due-Hansen, M. E.; Pandey, S. K.; Christiansen, E.; Andersen, R.; Hansen, S. V. F.; Ulven, T. A Protocol for Amide Bond Formation with Electron Deficient Amines and Sterically Hindered Substrates. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14* (2), 430–433. <https://doi.org/10.1039/C5OB02129D>.
- (248) Satterfield Andrew and al., Du Pont De Nemours, Substitued Cyclic Amides and Their Use as Herbicides , WO2016/196593, 2016.
- (249) Beutner, G. L.; Young, I. S.; Davies, M. L.; Hickey, M. R.; Park, H.; Stevens, J. M.; Ye, Q. TCFH–NMI: Direct Access to *N* -Acyl Imidazoliums for Challenging Amide Bond Formations. *Organic Letters* **2018**, *20* (14), 4218–4222. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.8b01591>.
- (250) Badland, M.; Crook, R.; Delayre, B.; Fussell, S. J.; Gladwell, I.; Hawksworth, M.; Howard, R. M.; Walton, R.; Weisenburger, G. A. A Comparative Study of Amide-Bond Forming Reagents in Aqueous Media – Substrate Scope and Reagent Compatibility. *Tetrahedron Letters* **2017**, *58* (46), 4391–4394. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.10.014>.
- (251) Lazaar, J.; Rebstock, A.-S.; Mongin, F.; Godard, A.; Trecourt, F.; Marsais, F.; Queguiner, G. Directed Lithiation of Unprotected Pyridinecarboxylic Acids: Syntheses of Halo Derivatives. **2002**, *6*.
- (252) Zhou, Z.-L.; Navratil, J. M.; Cai, S. X.; Whittemore, E. R.; Espitia, S. A.; Hawkinson, J. E.; Tran, M.; Woodward, R. M.; Weber, E.; Keana, J. F. W. Synthesis and SAR of 5-, 6-, 7- and 8-Aza Analogues of 3-Aryl-4-Hydroxyquinolin-2(1H)-One as NMDA/Glycine Site Antagonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2001**, *9* (8), 2061–2071. [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(01\)00115-8](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(01)00115-8).
- (253) Schäfer, G.; Bode, J. W. Synthesis of Sterically Hindered *N* -Acylated Amino Acids from *N* -Carboxyanhydrides. *Org. Lett.* **2014**, *16* (5), 1526–1529. <https://doi.org/10.1021/ol500523n>.
- (254) Muchowski, J. M.; Venuti, M. C. Ortho Functionalization of *N*-(*Tert*-Butoxycarbonyl)Aniline. *J. Org. Chem.* **1980**, *45* (23), 4798–4801. <https://doi.org/10.1021/jo01311a059>.
- (255) Turner, J. A. Regiospecific Electrophilic Substitution of Aminopyridines: Ortho Lithiation of 2-, 3-, and 4-(Pivaloylamino)Pyridines. *J. Org. Chem.* **1983**, *48* (20), 3401–3408. <https://doi.org/10.1021/jo00168a007>.
- (256) Schuemacher, A. C.; Hoffmann, R. W. Condensation Between Isocyanates and Carboxylic Acids in the Presence of 4-Dimethylaminopyridine (DMAP), a Mild and Efficient Synthesis of Amides. *Synthesis* **2001**, *2001* (02), 0243–0246. <https://doi.org/10.1055/s-2001-10813>.
- (257) Wang, K.; Kim, D.; Dömling, A. Cyanoacetamide MCR (III): Three-Component Gewald Reactions Revisited. *J. Comb. Chem.* **2010**, *12* (1), 111–118. <https://doi.org/10.1021/cc9001586>.
- (258) Vincent-Rocan, J.-F.; Ivanovich, R. A.; Clavette, C.; Leckett, K.; Bejjani, J.; Beauchemin, A. M. Cascade Reactions of Nitrogen-Substituted Isocyanates: A New

- Tool in Heterocyclic Chemistry. *Chem. Sci.* **2016**, *7* (1), 315–328. <https://doi.org/10.1039/C5SC03197D>.
- (259) Das, D. K.; Pampana, V. K. K.; Hwang, K. C. Copper Catalyzed Photoredox Synthesis of α -Keto Esters, Quinoxaline, and Naphthoquinone: Controlled Oxidation of Terminal Alkynes to Glyoxals. *Chem. Sci.* **2018**, *9* (37), 7318–7326. <https://doi.org/10.1039/C8SC03447H>.
- (260) Lehane, A. M.; Ridgway, M. C.; Baker, E.; Kirk, K. Diverse Chemotypes Disrupt Ion Homeostasis in the Malaria Parasite. *Molecular Microbiology* **2014**, *94* (2), 327–339. <https://doi.org/10.1111/mmi.12765>.
- (261) Rosling, J. E. O.; Ridgway, M. C.; Summers, R. L.; Kirk, K.; Lehane, A. M. Biochemical Characterization and Chemical Inhibition of PfATP4-Associated Na^+ -ATPase Activity in *Plasmodium Falciparum* Membranes. *Journal of Biological Chemistry* **2018**, jbc.RA118.003640. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.003640>.
- (262) Bhatnagar, S.; Nicklas, S.; Morrissey, J. M.; Goldberg, D. E.; Vaidya, A. B. Diverse Chemical Compounds Target *Plasmodium Falciparum* Plasma Membrane Lipid Homeostasis. *ACS Infect. Dis.* **2019**, *5* (4), 550–558. <https://doi.org/10.1021/acscinfecdis.8b00277>.
- (263) Dennis, A. S. M.; Rosling, J. E. O.; Lehane, A. M.; Kirk, K. Diverse Antimalarials from Whole-Cell Phenotypic Screens Disrupt Malaria Parasite Ion and Volume Homeostasis. *Scientific Reports* **2018**, *8* (1), 8795. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26819-1>.
- (264) Spillman, N. J.; Kirk, K. The Malaria Parasite Cation ATPase PfATP4 and Its Role in the Mechanism of Action of a New Arsenal of Antimalarial Drugs. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* **2015**, *5* (3), 149–162. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2015.07.001>.
- (265) Spillman, N. J.; Allen, R. J. W.; McNamara, C. W.; Yeung, B. K. S.; Winzeler, E. A.; Diagona, T. T.; Kirk, K. Na^+ Regulation in the Malaria Parasite *Plasmodium Falciparum* Involves the Cation ATPase PfATP4 and Is a Target of the Spiroindolone Antimalarials. *Cell Host & Microbe* **2013**, *13* (2), 227–237. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2012.12.006>.
- (266) Spillman, N. J.; Kirk, K. The Malaria Parasite Cation ATPase PfATP4 and Its Role in the Mechanism of Action of a New Arsenal of Antimalarial Drugs. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* **2015**, *5* (3), 149–162. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2015.07.001>.
- (267) Rottmann, M.; McNamara, C.; Yeung, B. K. S.; Lee, M. C. S.; Zou, B.; Russell, B.; Seitz, P.; Plouffe, D. M.; Dharia, N. V.; Tan, J.; Cohen, S. B.; Spencer, K. R.; Gonzalez-Paez, G. E.; Lakshminarayana, S. B.; Goh, A.; Suwanarusk, R.; Jegla, T.; Schmitt, E. K.; Beck, H.-P.; Brun, R.; Nosten, F.; Renia, L.; Dartois, V.; Keller, T. H.; Fidock, D. A.; Winzeler, E. A.; Diagona, T. T. Spiroindolones, a Potent Compound Class for the Treatment of Malaria. *Science* **2010**, *329* (5996), 1175–1180. <https://doi.org/10.1126/science.1193225>.
- (268) Flannery, E. L.; McNamara, C. W.; Kim, S. W.; Kato, T. S.; Li, F.; Teng, C. H.; Gagaring, K.; Manary, M. J.; Barboa, R.; Meister, S.; Kuhlen, K.; Vinetz, J. M.; Chatterjee, A. K.; Winzeler, E. A. Mutations in the P-Type Cation-Transporter ATPase 4, PfATP4, Mediate Resistance to Both Aminopyrazole and Spiroindolone Antimalarials. *ACS Chem. Biol.* **2015**, *10* (2), 413–420. <https://doi.org/10.1021/cb500616x>.
- (269) Turner, H. Spiroindolone NITD609 Is a Novel Antimalarial Drug That Targets the P-Type ATPase PfATP4. *Future Medicinal Chemistry* **2016**, *8* (2), 227–238. <https://doi.org/10.4155/fmc.15.177>.

- (270) Bouwman, S. AM.; Zoleko-Manego, R.; Renner, K. C.; Schmitt, E. K.; Mombongoma, G.; Grobusch, M. P. The Early Preclinical and Clinical Development of Cipargamin (KAE609), a Novel Antimalarial Compound. *Travel Medicine and Infectious Disease* **2020**, *36*, 101765. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101765>.
- (271) Schmitt, E. K.; Ndayisaba, G.; Yeka, A.; Asante, K. P.; Grobusch, M. P.; Karita, E.; Mugerwa, H.; Asiimwe, S.; Oduro, A.; Fofana, B.; Doumbia, S.; Su, G.; Csermak Renner, K.; Venishetty, V. K.; Sayyed, S.; Straimer, J.; Demin, I.; Barsainya, S.; Boulton, C.; Gandhi, P. Efficacy of Cipargamin (KAE609) in a Randomized, Phase II Dose-Escalation Study in Adults in Sub-Saharan Africa with Uncomplicated Plasmodium Falciparum Malaria. *Clinical Infectious Diseases* **2021**, No. ciab716. <https://doi.org/10.1093/cid/ciab716>.
- (272) Jiménez-Díaz, M. B.; Ebert, D.; Salinas, Y.; Pradhan, A.; Lehane, A. M.; Myrand-Lapierre, M.-E.; O'Loughlin, K. G.; Shackelford, D. M.; Almeida, M. J. de; Carrillo, A. K.; Clark, J. A.; Dennis, A. S. M.; Diep, J.; Deng, X.; Duffy, S.; Endsley, A. N.; Fedewa, G.; Guiguemde, W. A.; Gómez, M. G.; Holbrook, G.; Horst, J.; Kim, C. C.; Liu, J.; Lee, M. C. S.; Matheny, A.; Martínez, M. S.; Miller, G.; Rodríguez-Alejandre, A.; Sanz, L.; Sigal, M.; Spillman, N. J.; Stein, P. D.; Wang, Z.; Zhu, F.; Waterson, D.; Knapp, S.; Shelat, A.; Avery, V. M.; Fidock, D. A.; Gamo, F.-J.; Charman, S. A.; Mirsalis, J. C.; Ma, H.; Ferrer, S.; Kirk, K.; Angulo-Barturen, I.; Kyle, D. E.; DeRisi, J. L.; Floyd, D. M.; Guy, R. K. (+)-SJ733, a Clinical Candidate for Malaria That Acts through ATP4 to Induce Rapid Host-Mediated Clearance of Plasmodium. *PNAS* **2014**, *111* (50), E5455–E5462. <https://doi.org/10.1073/pnas.1414221111>.
- (273) Ashton, T. D.; Devine, S. M.; Möhrle, J. J.; Laleu, B.; Burrows, J. N.; Charman, S. A.; Creek, D. J.; Sleebs, B. E. The Development Process for Discovery and Clinical Advancement of Modern Antimalarials. *J. Med. Chem.* **2019**, *62* (23), 10526–10562. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00761>.
- (274) Plouffe, D.; Brinker, A.; McNamara, C.; Henson, K.; Kato, N.; Kuhlen, K.; Nagle, A.; Adrián, F.; Matzen, J. T.; Anderson, P.; Nam, T.; Gray, N. S.; Chatterjee, A.; Janes, J.; Yan, S. F.; Trager, R.; Caldwell, J. S.; Schultz, P. G.; Zhou, Y.; Winzeler, E. A. In Silico Activity Profiling Reveals the Mechanism of Action of Antimalarials Discovered in a High-Throughput Screen. *PNAS* **2008**, *105* (26), 9059–9064. <https://doi.org/10.1073/pnas.0802982105>.
- (275) Chen, Y.; Zhu, F.; Hammill, J.; Holbrook, G.; Yang, L.; Freeman, B.; White, K. L.; Shackelford, D. M.; O'Loughlin, K. G.; Charman, S. A.; Mirsalis, J. C.; Guy, R. K. Selecting an Anti-Malarial Clinical Candidate from Two Potent Dihydroisoquinolones. *Malaria Journal* **2021**, *20* (1), 107. <https://doi.org/10.1186/s12936-021-03617-1>.
- (276) Voorhis, W. C. V.; Adams, J. H.; Adelfio, R.; Ahyong, V.; Akabas, M. H.; Alano, P.; Alday, A.; Resto, Y. A.; Alsibae, A.; Alzualde, A.; Andrews, K. T.; Avery, S. V.; Avery, V. M.; Ayong, L.; Baker, M.; Baker, S.; Mamoun, C. B.; Bhatia, S.; Bickle, Q.; Bounaadja, L.; Bowling, T.; Bosch, J.; Boucher, L. E.; Boyom, F. F.; Brea, J.; Brennan, M.; Burton, A.; Caffrey, C. R.; Camarda, G.; Carrasquilla, M.; Carter, D.; Cassera, M. B.; Cheng, K. C.-C.; Chindaudomsate, W.; Chubb, A.; Colon, B. L.; Colón-López, D. D.; Corbett, Y.; Crowther, G. J.; Cowan, N.; D'Alessandro, S.; Dang, N. L.; Delves, M.; DeRisi, J. L.; Du, A. Y.; Duffy, S.; El-Sayed, S. A. E.-S.; Ferdig, M. T.; Robledo, J. A. F.; Fidock, D. A.; Florent, I.; Fokou, P. V. T.; Galstian, A.; Gamo, F. J.; Gokool, S.; Gold, B.; Golub, T.; Goldgof, G. M.; Guha, R.; Guiguemde, W. A.; Gural, N.; Guy, R. K.; Hansen, M. A. E.; Hanson, K. K.; Hemphill, A.; Huijsduijnen, R. H. van; Horii, T.; Horrocks, P.; Hughes, T. B.; Huston, C.; Igarashi, I.; Ingram-Sieber, K.; Itoe, M. A.; Jadhav, A.; Jensen, A. N.; Jensen, L. T.; Jiang, R. H. Y.; Kaiser, A.; Keiser, J.; Ketas, T.; Kicka, S.; Kim, S.; Kirk, K.; Kumar, V. P.; Kyle, D. E.; Lafuente, M. J.; Landfear,

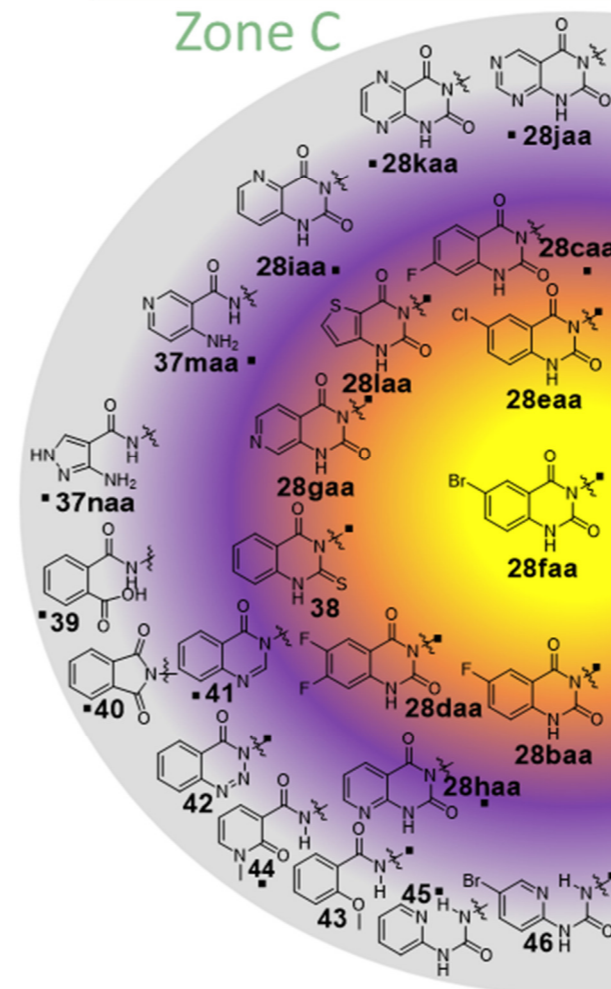
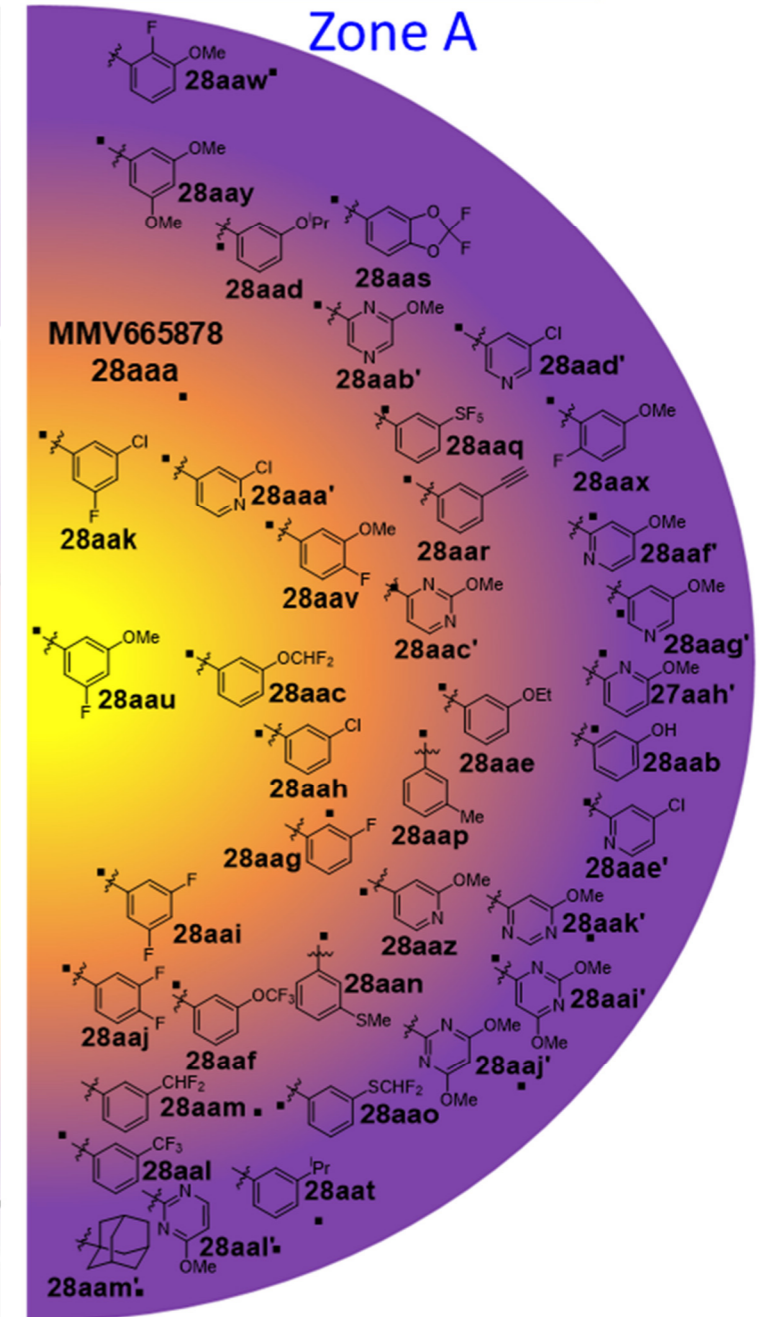
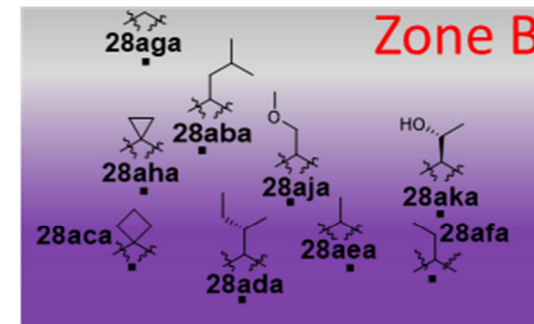
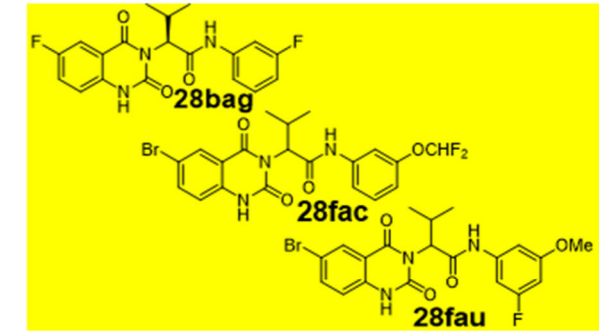
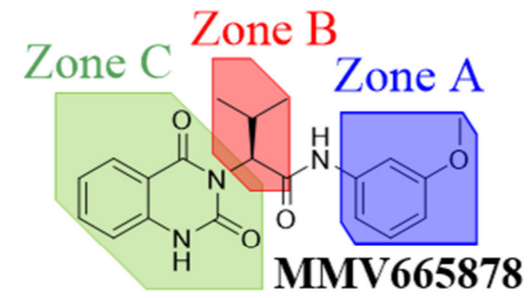
- S.; Lee, N.; Lee, S.; Lehane, A. M.; Li, F.; Little, D.; Liu, L.; Llinás, M.; Loza, M. I.; Lubar, A.; Lucantoni, L.; Lucet, I.; Maes, L.; Mancama, D.; Mansour, N. R.; March, S.; McGowan, S.; Vera, I. M.; Meister, S.; Mercer, L.; Mestres, J.; Mfopa, A. N.; Misra, R. N.; Moon, S.; Moore, J. P.; Costa, F. M. R. da; Müller, J.; Muriana, A.; Hewitt, S. N.; Nare, B.; Nathan, C.; Narraido, N.; Nawaratna, S.; Ojo, K. K.; Ortiz, D.; Panic, G.; Papadatos, G.; Parapini, S.; Patra, K.; Pham, N.; Prats, S.; Plouffe, D. M.; Poulsen, S.-A.; Pradhan, A.; Quevedo, C.; Quinn, R. J.; Rice, C. A.; Rizk, M. A.; Ruecker, A.; Onge, R. S.; Ferreira, R. S.; Samra, J.; Robinett, N. G.; Schlecht, U.; Schmitt, M.; Villela, F. S.; Silvestrini, F.; Sinden, R.; Smith, D. A.; Soldati, T.; Spitzmüller, A.; Stamm, S. M.; Sullivan, D. J.; Sullivan, W.; Suresh, S.; Suzuki, B. M.; Suzuki, Y.; Swamidass, S. J.; Taramelli, D.; Tchokouaha, L. R. Y.; Theron, A.; Thomas, D.; Tonissen, K. F.; Townson, S.; Tripathi, A. K.; Trofimov, V.; Udenze, K. O.; Ullah, I.; Vallieres, C.; Vigil, E.; Vinetz, J. M.; Vinh, P. V.; Vu, H.; Watanabe, N.; Weatherby, K.; White, P. M.; Wilks, A. F.; Winzeler, E. A.; Wojcik, E.; Wree, M.; Wu, W.; Yokoyama, N.; Zollo, P. H. A.; Abla, N.; Blasco, B.; Burrows, J.; Laleu, B.; Leroy, D.; Spangenberg, T.; Wells, T.; Willis, P. A. Open Source Drug Discovery with the Malaria Box Compound Collection for Neglected Diseases and Beyond. *PLoS Pathogens* **2016**, *12* (7), e1005763. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005763>.
- (277) Cheruvallath, Z.; Feng, J.; Guntupalli, P.; Gwaltney, S.; Kaldor, S.; Miura, J.; Sabat, M.; Tang, M.; Wolgast, B. Glucokinase Activators. US20070213349A1, September 13, 2007.
- (278) Cheruvallath, Z. S.; Gwaltney II, S. L.; Sabat, M.; Tang, M.; Feng, J.; Wang, H.; Miura, J.; Guntupalli, P.; Jennings, A.; Hosfield, D.; Lee, B.; Wu, Y. Design, Synthesis and SAR of Novel Glucokinase Activators. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2013**, *23* (7), 2166–2171. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.01.093>.
- (279) McDonald, A.; Bergnes, G.; Morgans, D. J. Compounds, Compositions and Methods. US2004053948 (A1), March 18, 2004.
- (280) Milic, B.; Chakraborty, A.; Han, K.; Bassik, M. C.; Block, S. M. KIF15 Nanomechanics and Kinesin Inhibitors, with Implications for Cancer Chemotherapeutics. *PNAS* **2018**, *115* (20), E4613–E4622. <https://doi.org/10.1073/pnas.1801242115>.
- (281) Dumas, M. E.; Chen, G.-Y.; Kendrick, N. D.; Xu, G.; Larsen, S. D.; Jana, S.; Waterson, A. G.; Bauer, J. A.; Hancock, W.; Sulikowski, G. A.; Ohi, R. Dual Inhibition of Kif15 by Oxindole and Quinazolinone Chemical Probes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2019**, *29* (2), 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.12.008>.
- (282) Alam, A.; Neyaz, M. K.; Ikramul Hasan, S. Exploiting Unique Structural and Functional Properties of Malarial Glycolytic Enzymes for Antimalarial Drug Development. *Malaria Research and Treatment* **2014**, *2014*, e451065. <https://doi.org/10.1155/2014/451065>.
- (283) Preuss, J.; Jortzik, E.; Becker, K. Glucose-6-Phosphate Metabolism in Plasmodium Falciparum. *IUBMB Life* **2012**, *64* (7), 603–611. <https://doi.org/10.1002/iub.1047>.
- (284) Vaidya, A. B.; Mather, M. W. Mitochondrial Evolution and Functions in Malaria Parasites. *Annu. Rev. Microbiol.* **2009**, *63* (1), 249–267. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073424>.
- (285) Atamna, H.; Pascarmona, G.; Ginsburg, H. Hexose-Monophosphate Shunt Activity in Intact Plasmodium Falciparum-Infected Erythrocytes and in Free Parasites. *Molecular and Biochemical Parasitology* **1994**, *67* (1), 79–89. [https://doi.org/10.1016/0166-6851\(94\)90098-1](https://doi.org/10.1016/0166-6851(94)90098-1).
- (286) Becker, K.; Tilley, L.; Vennerstrom, J. L.; Roberts, D.; Rogerson, S.; Ginsburg, H. Oxidative Stress in Malaria Parasite-Infected Erythrocytes: Host–Parasite Interactions.

- International Journal for Parasitology* **2004**, *34* (2), 163–189. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2003.09.011>.
- (287) Müller, S. Redox and Antioxidant Systems of the Malaria Parasite *Plasmodium Falciparum*. *Molecular Microbiology* **2004**, *53* (5), 1291–1305. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04257.x>.
- (288) Buster, D. W.; Baird, D. H.; Yu, W.; Solowska, J. M.; Chauvière, M.; Mazurek, A.; Kress, M.; Baas, P. W. Expression of the Mitotic Kinesin Kif15 in Postmitotic Neurons: Implications for Neuronal Migration and Development. *J Neurocytol* **2003**, *32* (1), 79–96. <https://doi.org/10.1023/A:1027332432740>.
- (289) Liu, M.; Nadar, V. C.; Kozielski, F.; Kozłowska, M.; Yu, W.; Baas, P. W. Kinesin-12, a Mitotic Microtubule-Associated Motor Protein, Impacts Axonal Growth, Navigation, and Branching. *J. Neurosci.* **2010**, *30* (44), 14896–14906. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3739-10.2010>.
- (290) Vanneste, D.; Takagi, M.; Imamoto, N.; Vernos, I. The Role of Hklp2 in the Stabilization and Maintenance of Spindle Bipolarity. *Current Biology* **2009**, *19* (20), 1712–1717. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.09.019>.
- (291) Zeeshan, M.; Brady, D.; Stanway, R. R.; Moores, C. A.; Holder, A. A.; Tewari, R. *Plasmodium Berghei* Kinesin-5 Associates With the Spindle Apparatus During Cell Division and Is Important for Efficient Production of Infectious Sporozoites. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* **2020**, *10*, 638. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.583812>.
- (292) Zeeshan, M.; Ferguson, D. J.; Abel, S.; Burrell, A.; Rea, E.; Brady, D.; Daniel, E.; Delves, M.; Vaughan, S.; Holder, A. A.; Roch, K. G. L.; Moores, C. A.; Tewari, R. Kinesin-8B Controls Basal Body Function and Flagellum Formation and Is Key to Malaria Transmission. *Life Science Alliance* **2019**, *2* (4). <https://doi.org/10.26508/lsa.201900488>.
- (293) Zeeshan, M.; Shilliday, F.; Liu, T.; Abel, S.; Mourier, T.; Ferguson, D. J. P.; Rea, E.; Stanway, R. R.; Roques, M.; Williams, D.; Daniel, E.; Brady, D.; Roberts, A. J.; Holder, A. A.; Pain, A.; Roch, K. G. L.; Moores, C. A.; Tewari, R. *Plasmodium* Kinesin-8X Associates with Mitotic Spindles and Is Essential for Oocyst Development during Parasite Proliferation and Transmission. *PLOS Pathogens* **2019**, *15* (10), e1008048. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008048>.
- (294) Zeeshan, M.; Rashpa, R.; Ferguson, D. J.; Abel, S.; Chahine, Z.; Brady, D.; Moores, C. A.; Roch, K. G. L.; Brochet, M.; Holder, A. A.; Tewari, R. *Location and Function of All Plasmodium Kinesins: Key Roles in Parasite Proliferation, Polarity and Transmission*; 2021; p 2021.05.26.445751. <https://doi.org/10.1101/2021.05.26.445751>.
- (295) Garcia, C. H. S.; Depoix, D.; Carvalho, P. C.; Bastos, I. M. D.; Ricart, C. A. O.; de Sousa, M. V.; Ferguson, D. J. P.; Santana, J. M.; Grellier, P.; Charneau, S. Comparative Proteomic Analysis of Kinesin-8B Deficient *Plasmodium Berghei* during Gametogenesis. *Journal of Proteomics* **2021**, *236*, 104118. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2021.104118>.
- (296) Flannery, E. L.; Fidock, D. A.; Winzeler, E. A. Using Genetic Methods To Define the Targets of Compounds with Antimalarial Activity: Miniperspectives Series on Phenotypic Screening for Antiinfective Targets. *J. Med. Chem.* **2013**, *56* (20), 7761–7771. <https://doi.org/10.1021/jm400325j>.
- (297) Bennis, H. J.; Wincott, C. J.; Tate, E. W.; Child, M. A. Activity- and Reactivity-Based Proteomics: Recent Technological Advances and Applications in Drug Discovery. *Current Opinion in Chemical Biology* **2021**, *60*, 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2020.06.011>.

- (298) Lu, K.-Y.; Mansfield, C. R.; Fitzgerald, M. C.; Derbyshire, E. R. Chemoproteomics for Plasmodium Parasite Drug Target Discovery. *ChemBioChem* **2021**, *22* (16), 2591–2599. <https://doi.org/10.1002/cbic.202100155>.
- (299) Ziegler, S.; Pries, V.; Hedberg, C.; Waldmann, H. Target Identification for Small Bioactive Molecules: Finding the Needle in the Haystack. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52* (10), 2744–2792. <https://doi.org/10.1002/anie.201208749>.
- (300) Schmidt, A.; Kellermann, J.; Lottspeich, F. A Novel Strategy for Quantitative Proteomics Using Isotope-Coded Protein Labels. *Proteomics* **2005**, *5* (1), 4–15. <https://doi.org/10.1002/pmic.200400873>.
- (301) Tomohiro, T.; Morimoto, S.; Shima, T.; Chiba, J.; Hatanaka, Y. An Isotope-Coded Fluorogenic Cross-Linker for High-Performance Target Identification Based on Photoaffinity Labeling. *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53* (49), 13502–13505. <https://doi.org/10.1002/anie.201408580>.
- (302) Hatherley, R.; Brown, D. K.; Glenister, M.; Tastan Bishop, Ö. PRIMO: An Interactive Homology Modeling Pipeline. *PLoS ONE* **2016**, *11* (11), e0166698. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166698>.
- (303) Trott, O.; Olson, A. J. AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *J. Comput. Chem.* **2009**, NA-NA. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>.
- (304) Morris, G. M.; Huey, R.; Lindstrom, W.; Sanner, M. F.; Belew, R. K.; Goodsell, D. S.; Olson, A. J. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *J. Comput. Chem.* **2009**, *30* (16), 2785–2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>.
- (305) Lee, J.; Cheng, X.; Swails, J. M.; Yeom, M. S.; Eastman, P. K.; Lemkul, J. A.; Wei, S.; Buckner, J.; Jeong, J. C.; Qi, Y.; Jo, S.; Pande, V. S.; Case, D. A.; Brooks, C. L.; MacKerell, A. D.; Klauda, J. B.; Im, W. CHARMM-GUI Input Generator for NAMD, GROMACS, AMBER, OpenMM, and CHARMM/OpenMM Simulations Using the CHARMM36 Additive Force Field. *J. Chem. Theory Comput.* **2016**, *12* (1), 405–413. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00935>.
- (306) Brooks, B. R.; Iii, C. L. B.; Mackerell, A. D.; Nilsson, L.; Petrella, R. J.; Roux, B.; Won, Y.; Archontis, G.; Bartels, C.; Boresch, S.; Caflisch, A.; Caves, L.; Cui, Q.; Dinner, A. R.; Feig, M.; Fischer, S.; Gao, J.; Hodoseck, M.; Im, W.; Kuczera, K.; Lazaridis, T.; Ma, J.; Ovchinnikov, V.; Paci, E.; Pastor, R. W.; Post, C. B.; Pu, J. Z.; Schaefer, M.; Tidor, B.; Venable, R. M.; Woodcock, H. L.; Wu, X.; Yang, W.; York, D. M.; Karplus, M. CHARMM: The Biomolecular Simulation Program. *Journal of Computational Chemistry* *30* (10), 70.
- (307) Eastman, P.; Swails, J.; Chodera, J. D.; McGibbon, R. T.; Zhao, Y.; Beauchamp, K. A.; Wang, L.-P.; Simmonett, A. C.; Harrigan, M. P.; Stern, C. D.; Wiewiora, R. P.; Brooks, B. R.; Pande, V. S. OpenMM 7: Rapid Development of High Performance Algorithms for Molecular Dynamics. 17.
- (308) Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K. VMD: Visual Molecular Dynamics. *Journal of Molecular Graphics* **1996**, *14* (1), 33–38. [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5).
- (309) Trager, W.; Jensen, J. Human Malaria Parasites in Continuous Culture. *Science* **1976**, *193* (4254), 673–675. <https://doi.org/10.1126/science.781840>.
- (310) Desjardins, R. E.; Canfield, C. J.; Haynes, J. D.; Chulay, J. D. Quantitative Assessment of Antimalarial Activity in Vitro by a Semiautomated Microdilution Technique. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1979**, *16* (6), 710–718. <https://doi.org/10.1128/AAC.16.6.710>.

- (311) Reiling, S. J.; Krohne, G.; Friedrich, O.; Geary, T. G.; Rohrbach, P. Chloroquine Exposure Triggers Distinct Cellular Responses in Sensitive versus Resistant *Plasmodium Falciparum* Parasites. *Sci Rep* **2018**, *8* (1), 11137. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29422-6>.
- (312) van Schalkwyk, D. A.; Burrow, R.; Henriques, G.; Gadalla, N. B.; Beshir, K. B.; Hasford, C.; Wright, S. G.; Ding, X. C.; Chiodini, P. L.; Sutherland, C. J. Culture-Adapted *Plasmodium Falciparum* Isolates from UK Travellers: In Vitro Drug Sensitivity, Clonality and Drug Resistance Markers. *Malar J* **2013**, *12* (1), 320. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-12-320>.
- (313) Kidgell, C.; Volkman, S. K.; Daily, J.; Borevitz, J. O.; Plouffe, D.; Zhou, Y.; Johnson, J. R.; Roch, K. G. L.; Sarr, O.; Ndir, O.; Mboup, S.; Batalov, S.; Wirth, D. F.; Winzeler, E. A. A Systematic Map of Genetic Variation in *Plasmodium Falciparum*. *PLOS Pathogens* **2006**, *2* (6), e57. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0020057>.
- (314) Walliker, D.; Quakyi, I. A.; Wellems, T. E.; McCutchan, T. F.; Szarfman, A.; London, W. T.; Corcoran, L. M.; Burkot, T. R.; Carter, R. Genetic Analysis of the Human Malaria Parasite *Plasmodium Falciparum*. *Science* **1987**, *236* (4809), 1661–1666. <https://doi.org/10.1126/science.3299700>.
- (315) El-Faham, A.; Albericio, F. Peptide Coupling Reagents, More than a Letter Soup. *Chem. Rev.* **2011**, *111* (11), 6557–6602. <https://doi.org/10.1021/cr100048w>.
- (316) Due-Hansen, M. E.; Pandey, S. K.; Christiansen, E.; Andersen, R.; Hansen, S. V. F.; Ulven, T. A Protocol for Amide Bond Formation with Electron Deficient Amines and Sterically Hindered Substrates. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14* (2), 430–433. <https://doi.org/10.1039/C5OB02129D>.
- (317) Beutner, G. L.; Young, I. S.; Davies, M. L.; Hickey, M. R.; Park, H.; Stevens, J. M.; Ye, Q. TCFH–NMI: Direct Access to *N*-Acyl Imidazoliums for Challenging Amide Bond Formations. *Org. Lett.* **2018**, *20* (14), 4218–4222. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.8b01591>.
- (318) Badland, M.; Crook, R.; Delayre, B.; Fussell, S. J.; Gladwell, I.; Hawksworth, M.; Howard, R. M.; Walton, R.; Weisenburger, G. A. A Comparative Study of Amide-Bond Forming Reagents in Aqueous Media – Substrate Scope and Reagent Compatibility. *Tetrahedron Letters* **2017**, *58* (46), 4391–4394. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.10.014>.
- (319) Cowell, A. N.; Istvan, E. S.; Lukens, A. K.; Gomez-Lorenzo, M. G.; Vanaerschot, M.; Sakata-Kato, T.; Flannery, E. L.; Magistrado, P.; Owen, E.; Abraham, M.; LaMonte, G.; Painter, H. J.; Williams, R. M.; Franco, V.; Linares, M.; Arriaga, I.; Bopp, S.; Corey, V. C.; Gnädig, N. F.; Coburn-Flynn, O.; Reimer, C.; Gupta, P.; Murithi, J. M.; Moura, P. A.; Fuchs, O.; Sasaki, E.; Kim, S. W.; Teng, C. H.; Wang, L. T.; Akidil, A.; Adjalley, S.; Willis, P. A.; Siegel, D.; Tanaseichuk, O.; Zhong, Y.; Zhou, Y.; Llinás, M.; Otilie, S.; Gamo, F.-J.; Lee, M. C. S.; Goldberg, D. E.; Fidock, D. A.; Wirth, D. F.; Winzeler, E. A. Mapping the Malaria Parasite Druggable Genome by Using in Vitro Evolution and Chemogenomics. *Science* **2018**, *359* (6372), 191–199. <https://doi.org/10.1126/science.aan4472>.
- (320) Sati, G. C.; Crich, D. Facile Synthesis of 3-*N*-Alkyl Pyrimidin-2,4-Diones from *N*-Sulfonyloxy Maleimides and Amines. *Organic Letters* **2015**, *17* (16), 4122–4124. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.5b02079>.
- (321) Korb, O.; Kuhn, B.; Hert, J.; Taylor, N.; Cole, J.; Groom, C.; Stahl, M. Interactive and Versatile Navigation of Structural Databases. *J. Med. Chem.* **2016**, *59* (9), 4257–4266. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01756>.

- (322) Kuhn, B.; Mohr, P.; Stahl, M. Intramolecular Hydrogen Bonding in Medicinal Chemistry. *J. Med. Chem.* **2010**, *53* (6), 2601–2611. <https://doi.org/10.1021/jm100087s>.
- (323) Lehane, A. M.; Ridgway, M. C.; Baker, E.; Kirk, K. Diverse Chemotypes Disrupt Ion Homeostasis in the Malaria Parasite: Diverse Chemotypes Disrupt Plasmodium Ion Regulation. *Molecular Microbiology* **2014**, *94* (2), 327–339. <https://doi.org/10.1111/mmi.12765>.
- (324) Rosling, J. E. O.; Ridgway, M. C.; Summers, R. L.; Kirk, K.; Lehane, A. M. Biochemical Characterization and Chemical Inhibition of PfATP4-Associated Na⁺-ATPase Activity in Plasmodium Falciparum Membranes. *Journal of Biological Chemistry* **2018**, *293* (34), 13327–13337. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.003640>.



- IC₅₀ (FcB1) :**
- jaune < 50 nM
 - 50 nM < orange < 500 nM
 - 500 nM < violet < 100 μM
 - 100 μM > gris