

**THÈSE**

Présentée par

OULEMDA BASSOU

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR*Spécialité : Chimie**Option : Chimie Organique***RÉSUMÉ**

Notre Laboratoire s'intéresse depuis plusieurs années à la synthèse de nouvelles molécules de série de l'indazole à visée thérapeutique. Depuis sa création par le professeur **El Mostapha RAKIB** dans l'année 2005, l'équipe a pour thème majeur la synthèse des molécules anticancéreuses. Des travaux antérieurs développés au sein de notre laboratoire ont montré que des composés à structure *N*-(7-indazolyl)-arylsulfonamides possédaient des activités anticancéreuses prometteuses aussi bien en terme de cytotoxicité que de perturbation du cycle cellulaire, et dans le but de contribuer à la chimie de l'indazole Nous avons décidé de poursuivre nos études vers la synthèse d'une nouvelle classe de famille à structure 5-nitroindazole, 6-nitroindazole, 5,6-dinitroindazole, et 3, 5,6-trinitroindazole. Pour accéder à ces molécules, une synthèse efficace a donc été mise au point, basée essentiellement sur la nitration, la réduction, l'alkylation, l'halogénéation et la condensation de Mannich, Cette méthodologie nous a permis de faire varier les substituants alkyle de l'azote pyrazolique, la position du motif nitro sur le noyau indazolique. La synthèse de cette famille de dérivés d'indazole a enrichi les études de relation structure-activité, et nous ont permis d'obtenir une nouvelle classe d'anticancéreux très prometteuse.

Mots clés : *Nitroindazoles, Nitration, Agents anticancéreux, Alkylation, Réactions de réduction, Chlorure stanneux, Réaction de sulfonation, réaction de condensation de Mannich.*

Synthèse et Evaluation Pharmacologique de Nouveaux Dérivés Indazoliques à Visée Anticancéreuse Potentielle

Soutenu le Samedi 14 Novembre 2020 à 10h devant la commission d'examen:

Pr.Mustapha KHOULI	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Président
Pr.Abdellah HANNIOUI	Professeur, Université.....	Rapporteur
Pr.Mohamed CHIGR	Professeur, Université.....	Rapporteur
Pr.Youssef.KANDRI RODI	Professeur, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès	Rapporteur
Pr.Abdelouahid MEDAGHRI-ALAOUI	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Examineur
Pr.Said ABOURICHA	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T Béni-Mellal, Maroc	Examineur
Pr.El Mostapha RAKIB	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Encadrant



UNIVERSITE SULTAN MOULAY SLIMANE
Faculté des Sciences et Techniques
Béni Mellal



N° d'ordre : 288/20

UFR : Sciences et Génie des Matériaux

Formation Doctorale : Ressources Naturelles, Environnement ET Santé

THÈSE

Présentée par

OULEMDA BASSOU

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR

Spécialité : Chimie

Option : Chimie Organique

Synthèse et Evaluation Pharmacologique de Nouveaux Dérivés Indazoliques à Visée Anticancéreuse Potentielle

Soutenu le Samedi 14 Novembre 2020 à 10h devant la commission d'examen:

Pr.Mustapha KHOULI	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Président
Pr.Abdellah HANNIOUI	Professeur, Université.....	Rapporteur
Pr.Mohamed CHIGR	Professeur, Université.....	Rapporteur
Pr.Youssef.KANDRI RODI	Professeur, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès	Rapporteur
Pr.Abdelouahid MEDAGHRI-ALAOUI	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Examineur
Pr.Said ABOURICHA	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T Béni-Mellal, Maroc	Examineur
Pr.El Mostapha RAKIB	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Encadrant

Dédicaces

*Aux sacrifices de mes chers Parents, mes frères et sœurs
A ma famille, A mon Professeur Rakib El mostapaha
et à tous ceux qui me sont chers*

A mon Dieu, tout puissant, que la gloire et l'honneur vous soient rendus pour les grâces que vous m'accordez;

A vous cher papa OULEMDA Ali pour les efforts que vous ne cessez de ménager pour faire de vos enfants des hommes, pour votre souci de nous avoir formés, pour tant des privations, d'amour et des sacrifices, Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours;

A vous chère maman SAFIRI Aicha, mon grand regret est que vous soyez parti très tôt avant d'avoir bénéficié des fruits de vos efforts investis en nous, Maman toi qui nous a donné la vie nous voulons à notre tour te dire Merci De là-haut malgré la route qui nous sépare Tu seras toujours notre rayon d'espoir; Soyez fière de vous car vos efforts n'ont pas été vains. Vos enfants ont grandi et vous rendent un vibrant hommage par ce travail. Reposez en paix mère !

A ma chère épouse OUABOUDOU Najat aucune dédicace ne pourrait exprimer mon amour et mon attachement à toi. Depuis que je t'ai connu, tu n'as cessé de me soutenir. Tu as partagé avec moi les meilleurs moments de ma vie, aux moments les plus difficiles de ma vie, tu étais toujours à mes côtés, Je te remercie de ne m'avoir jamais déçu ;

A mes enfants adorés Amine et Bassim qui ont contribué énormément à la réalisation de cette thèse en acceptant de rester seuls au moment de mes recherches au laboratoire ou pendant que je m'enfermais à la maison, je crois enfin Que je vais reprendre la vie sociale entière avec eux.

A mes frères et sœurs Moha, Zaid, Youssef, Mbarek, Aymen Hadda , Aicha, cousins et cousines, neveux et nièces, amis et amies pour votre amour et estime à notre égard, que ceci vous serve d'exemple et que vous puissiez faire mieux ;

A mes oncles Benhaddou Ahmed, Benhaddou lahcen et ma tante Benhaddou Rabha pour leur affection;

A Ma défunte tante Benhaddou Fatima (Hdoch) pour ses précieux conseils, son immense amour, son affection intarissable;

A mes amis Pr Bounouader, Pr Hbib, Pr Mounir, Pr Ajaoui, Dr Chicha, Dr Moujahidi, Dr Amiri, Dr Ghozlan, Pr Azizi, Pr oubenali, Pr Ait omar, Pr Majidi, Ing Bouarafa, Ing belfakir Kamal, Pr Azal, Pr Balaadich, Pr Ouftou, Mr Ouchtiti Moha, Mr Fattah abdelilah, Mr Ouassat Moha, Mr Naada abderhman, A tous mes collègues de travail.

A tous ceux qui, de près et de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

Je dédie ce travail

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au sein de Laboratoire de Chimie Organique et Analytique de la Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane de Béni-Mellal sous la direction du Professeur **El-Mostapha RAKIB**.

Je remercie chaleureusement, Monsieur **El-Mostapha RAKIB**, directeur du Laboratoire de Chimie Organique et Analytique à la Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal, pour avoir encadré ce travail de thèse, ainsi que pour sa générosité et sa disponibilité. Je le remercie en particulier pour l'autonomie qu'il m'a permis d'acquérir, et la confiance dont il m'a fait preuve en me laissant libre de développer de ce travail.

Mes sincères remerciements et ma gratitude vont au Professeur **Dr. NABIL HMINA**, Président de l'Université Sultan Moulay Slimane, Béni-Mellal, pour son soutien à la recherche scientifique de notre université. Que vous soyez assuré de mon entière reconnaissance.

J'adresse mes remerciements au professeur **S. Meliani** Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques, au Professeur **A. Hafid** Vice Doyen chargé de la recherche scientifique et au **Professeur Mohammed Sajieddine** responsable d'Unité de Recherche et de Formation (UFR) à la FST de Béni Mellal, pour leurs collaborations au bon déroulement de la procédure administrative aboutissant à la soutenance de ma thèse.

J'adresse mes vifs remerciements au professeur **M. Khouili** d'avoir accepté de me faire l'honneur d'évaluer ce travail et présider le jury.

Je voudrais également remercier le Professeur **Y. Kandri Rodi**, de l'Université Université Sidi Mohamed Ben Abdellah pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'être parmi les membres de jury de ce mémoire.

Je remercie Professeur **A. Hannioui**, de l'Université Sultan Moulay Slimane, Professeur **M. Chigr**, de l'Université Sultan Moulay Slimane, qui en tant que rapporteurs ont accepté d'évaluer mon travail de thèse et ont consacré un temps précieux à l'étude de ce manuscrit ; vos remarques pertinents et vos conseils précieux m'ont aidé à améliorer la qualité de ce travail. Soyez assurés, chers professeurs, de mon estime et de ma profonde gratitude.

Je remercie également Professeur **M. Alaoui** et Professeur **S. Abouricha**, de l'Université Sultan Moulay Slimane pour l'honneur qu'il m'ont fait en acceptant d'être parmi les membres de jury de ce mémoire.

Mes remerciements vont également aux Professeurs du LCOA. Qu'ils trouvent ici l'expression de mon profond respect.

Mes remerciements sont adressés aux membres de la division UATRS du Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique Rabat pour la réalisation des analyses spectroscopiques RMN, DRX-Monocristal, IR.

Bien que la thèse soit un travail individuel, elle n'aurait pu être menée à bien sans une équipe qui contribue au bon fonctionnement du laboratoire, je remercie tous mes collègues et mes amies pour leurs aimables sympathies et leurs soutiens.

Marche avec des sandales jusqu'à ce que la sagesse te procure des souliers.

Avicenne

AVANT-PROPOS

Cette thèse a été effectuée au Laboratoire de Chimie Organique et Analytique de la Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal sous la direction du Professeur El-Mostapha RAKIB.

Le présent travail a fait l'objet de plusieurs publications et neuf (09) communications internationales.

A- Liste des Publications :

1. **Oulemda Bassou**; Hakima Chicha Afaf Allam; Massimiliano Monticone; Rosaria Gangemi Irena Maric; Maurizio Viale; El Mostapha Rakib : Synthèse et activité Antiproliférative de nouveaux dérivés d'indazole polysubstitués ; *Journal of Heterocyclic Chemistry*, **2019**; 56, 343.
2. **Oulemda Bassou**, Hakima Chicha, Latifa Bouissane, El Mostapha Rakib, Mohamed Saadi and Lahcen El Ammari : Ethyl (E)-2-(2,7-dimethyl-5-oxo-4H,5H-pyrano- [4,3-b]pyran-4-ylidene)acetate, *Journal of Acta Cryst* ; **2017**; 2, x170208
3. **Bassou Oulemda**, El Mostapha Rakib, Najat Abbassi, Mohamed Saadi, and Lahcen El Ammari : 1-(4-Methyl-phenyl-sulfon-yl)-5,6-dinitro-1H-indazole ; *Journal of Acta Cryst.* ; **2014** ; E70, o101
4. Najat Abbassi, **Oulemda Bassou**, El Mostapha Rakib, Mohamed Saadi, Lahcen El Ammari : 5,11-Ditosyl-5H,11H-dibenzo[b,f][1,5]diazocine-6,12-dione acetic acid hemisolvate 4-ylidene)acetate *Journal of Acta Cryst.* ; **2013** ; E69, o614-o615.
5. Hakima Chicha, **Bassou Oulemda**, El Mostapha Rakib, Mohamed Saadi and Lahcen El Ammari : 4-Methyl-N-(1-methyl-1H-indazol-5-yl)- benzenesulfonamide. *Journal Acta Cryst.* ; **2013** ; E 69, o1471
6. Najat Abbassi, **Bassou Oulemda**, El Mostapha Rakib, Detlef Geffken and Hafid Zouihri Ethyl 3-[7-ethoxy-6-(4-methoxybenzenesulfonamido)-2H-indazol-2-yl] propanoate ; *Journal Acta Cryst.* ; **2012**; E68, o931.
7. Rakib, El M.; **Oulemda, Bassou**; Abouricha, Said; Bouissane, Latifa; Ait Mouse; Hassan; Zyad, Abdelmajid In Vitro Cytotoxicity Evaluation of Some Substituted Indazole Derivatives . *Letters in Drug Design & Discovery*, Volume 4, Number 7, October **2007**, pp. 467-470(4)

B- Liste des Communications:

1. N. Abbassi, E. M. Rakib, **B. Oulemda**, A. Hannioui, El Malki, C. Aiello, M. Viale, D. Geffken Synthesis, antiproliferative and apoptosis inducing effects of new alkoxyindazolelylbenzenesulfonamide derivatives **Communication orale** au première Edition Internationale de chimie médicinale au Maroc, 24-25 Mai **2012**, Faculté des sciences et Techniques, Béni Mellal, Maroc
2. N. Abbassi, **B. Oulemda**, H. Chicha, E.M. Rakib, L. Bouissane, A. Hafid, A. Hannioui, A. Alaoui, M. Khouili, G. Guillaumet. Synthesis and Biological Evaluation of N-(7-nitroindazolyl) Benzenesulfonamide Derivatives as Potent cell Cycle Inhibitors. **Communication Poster** au première Edition Internationale de chimie médicinale au Maroc, 24-25 Mai **2012**, Faculté des sciences et Techniques, Béni Mellal, Maroc.
3. **B. Oulemda**, E.M. Rakib, A. Hannioui, M. Khouili, A. Hafid, H. Ait Mouse, A. Zyad, Abdelmajid : In Vitro Cytotoxicity Evaluation of Some Substituted Indazole Derivatives **Communication-Poster** Au première Edition Internationale de chimie médicinale au Maroc, 24-25 Mai **2012**, Faculté des sciences et Techniques, Béni Mellal.
4. N. Abbassi, **B. Oulemda**, E.M. Rakib, L. Bouissane, A. Hafid, A. Hannioui, M. Khouili Synthesis and Biological Evaluation of Novel polyfunctionalised Indazole as Anticancer Agents. **Communication Orale** au congrès International de cancérologie, FST Beni Mellal 6-7 Mai **2011**.
5. N. Abbassi **B. Oulemda**, E.M. Rakib, A. Hannioui, M. Benchidmi, E.M. Essassi, Detlef Geffken : Alkylation and réduction of alkyl-nitro-derivatives with anhydrous SnCl₂ in Ethanol: Synthesis of New 7-ethoxy-N-Alkylated indazoles **Communication Poster** au quatrième Rencontre Internationale de chimie et développement, Université Cadi Ayyad, Marrakech 24-26 Novembre **2010**.
6. E. M. Rakib, N. Abbassi, L. Bouissane, A. Hannioui, **B. Oulemda**, M. Khouili, A. Hafid, A. Elmalki Studie on the reduction of Nitro group in 7-Nitro and 4-Nitroindazole by SnCl₂ in Different Alcohols **Communication orale** au septième Rencontre Nationale sur la chimie Hétérocyclique 12-13 **2009** Faculté des sciences et Techniques, Béni Mellal, Maroc.
7. E.M. Rakib, L. Nibennaoune, **B. Oulemda**, S. Moujahidi, A. Hannioui, A. Alaoui- Synthesis and Alkylation Regioselective of new Pyrazolo[3,4-b]pyridine-3,6-diones **Communication-Poster** au septième Rencontre Nationale sur la chimie Hétérocyclique 12-13 **2009** Faculté des sciences et Techniques, Béni Mellal, Maroc.
8. Rakib, El M.; **B. Oulemda**; Abouricha, Said; Bouissane, Latifa; Mouse, Hassan Ait; Zyad, Abdelmajid In Vitro Cytotoxicity Evaluation of Some Substituted Indazole Derivatives **Communication Poster** au troisième Rencontre Internationale de chimie et développement, Université Cadi Ayyad, Marrakech 22-24 Novembre **2007**
9. E.M. Rakib, **B. Oulemda**, S. Abouricha, A. Hannioui, M. Benchidmi, E.M. Essassi, H. Ait Mouss, A. Zyad. Synthèse et propriétés biologiques de nouveaux dérivés de

6-nitroindazole. **Communication-Poster** au sixième Rencontre Nationale de la chimie Hétérocyclique, faculté des sciences Beni Sidi Othman, Casablanca, 25-26 Mai **2007**.

LISTE DES ABREVIATIONS UTILISEES

A2780	Lignée cellulaire de cancer ovarien humain
A549	Lignée cellulaire associée au cancer du poumon humain
ADN	Acide désoxyribonucléique
AcOEt	Acétate d'éthyle
Akt	Protéine kinase
Bax	Protéine pro-apoptotique
BSR	Adécarcinome rénal de hamster
CCM	Chromatographie sur couche mince
CDCl ₃	Chloroforme deutérié
CH ₃ CN	Acétonitrile
Chk1	Check point kinases 1
al.	Collaborateurs
DCM	Dichlorométhane
DMF	Diméthylformamide
DMPBAC	Chlorure de diméthyle phényle benzyle ammonium
DMSO-d ₆	Diméthylsulfoxyde deutérié
EtOH	Ethanol
Hep	Mastocytome murin
IC ₅₀	Concentration inhibitrice de 50 % de la prolifération
LMC	Leucémie Myéloïde Congénitale
K ₂ CO ₃	Carbonate de potassium
MCP-1	Monocyte chemoattractant protéine 1
MPF	Maturation Promoting Factor
MS	Spectroscopie de masse
NaOH	Hydroxide de Sodium
NBS	N-bromosuccinimide
ORTEP	Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot
RMN ¹ H	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
RMN ¹³ C	Résonance Magnétique Nucléaire du carbon
P815	Carcinome laryngé humain
Pd-C	Palladium sur charbon
NCS	N-Chlorosuccinimide
PF	Point de fusion

Pr	Propyle
TBAC	Chlorure de tetrabutyl ammonium
t-BuOK	Tertiobutylates de potassium
THF	Tétrahydrofurane
TMAB	Bromure de tetraméthyl ammonium
UV	Ultra-violet
TA	Température ambiante
P53	un facteur de transcription et Gène suppresseur de tumeur.

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I : Nitration de l'indazole.....	11
I. RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA NITRATION	12
I.1- Historique sur la réaction de nitration.....	12
I.2- Particularités de cette réaction	15
I.3- Mécanisme de la nitration.....	15
I.4- Orientation de la substitution	17
I.5- Agents de nitration.	20
II-Nitration de 6-nitroindazole	21
II.1- Synthèse de 6-nitro-1 <i>H</i> -indazole	22
II.2- Préparation de 2,6-dinitro2- <i>H</i> -indazole	22
II.3- Préparation de 5,6-dinitroindazole.....	23
II.4 - Préparation de 3,5,6-trinitro-1 <i>H</i> -indazole	23
CONCLUSION	24
Partie Expérimentale	25
CHAPITRE II : SYNTHÈSE DES N-ALKYL-INDAZOLES	31
I- Etude bibliographique sur l'alkylation de l'indazole.....	32
I.1-Introduction	32
I.2-Préparation de dérivés <i>N</i> -alkylés et <i>N</i> -arylés.....	33
I.3- L'alkylation de l'indazole	33
II- Alkylation des nitroindazoles	36
II.1- Alkylation de 6-nitroindazole.....	36
II. 2-Alkylation de 5,6-dinitroindazole	36
II.3- Alkylation de 3, 5,6-trinitroindazole.....	37
III : Halogénéation des nitroindazoles :	38
III.1- Préparation de 3-Bromo-6-nitro-1 <i>H</i> -indazole	38
III.2- Halogénéation de 5,6-dinitroindazole.	38
IV. condensation des nitroindazoles avec des aldehydes :	39
IV.1- Préparation de 1-(6-Nitro-1 <i>H</i> -indazol-1-yl)-éthanol.....	39
IV.2- Préparation de (5,6-dinitro-1 <i>H</i> -indazol-1-yl) méthanol.....	39

IV.3- Préparation de 1-(3, 5, 6-trinitro-1 <i>H</i> -indazol-1-yl) éthanol.....	40
V-CONCLUSION.....	40
VI-PRÉPARATION DES DÉRIVÉS DE MANNICH	41
VI.1-INTRODUCTION	41
VI.2-GENERALITES.....	41
VI.3-Les nouvelles méthodes de synthèse des bases de Mannich	42
VII -Préparation des dérivés de Mannich	45
VII.1- Préparation des dérivés de Mannich 22a-c	45
VII.2- Préparation des dérivés de Mannich 23 et 24	46
VII.3- Préparation de 1-(morpholinométhyl)-3,5,6-trinitro-1 <i>H</i> -indazole	46
VIII- Conclusion	47
PARTIE EXPERIMENTALE	48

CHAPITRE III : SYNTHÈSE DE NOUVEAUX SULFONAMIDES INDAZOLIQUES 72

INTRODUCTION.....	73
I- Synthèse de <i>N</i>-(indazolyl)-arylsulfonamides différemment substitués.....	76
I.1- Préparation des sulfonamides 26 et 27	76
I.2- Préparation des sulfonamides 5,6-dinitro-1-tosyl-1 <i>H</i> -indazole (28) et 1-((4-methoxyphenyl)sulfonyl)-5,6-dinitro-1 <i>H</i> -indazole (29).....	77
I.3- Réduction de 5,6 dinitro-1 <i>H</i> -indazole.....	79
I.4- Synthèse des <i>N</i> -(1-alkyl-3-chloro-1 <i>H</i> -indazol-5-yl)arylsulfonamides.....	79
CONCLUSION	94
Partie Expérimentale	95

CHAPITRE. IV : EVALUATION DE L'ACTIVITE CYTOTOXIQUE DE QUELQUES DERIVES INDAZOLIQUES115

INTRODUCTION.....	116
I-Détermination des activités antiprolifératives (Test MTT)	131
II- Culture des cellules tumorales.....	133
III-RESULTATS.....	133
III.1- L'activité cytotoxique de nouveaux dérivés 6-nitrindazole sur BSR et Hep.	135
III.2- Activité cytotoxique de quelques dérivés de 3, 5,6-trinitroindazole sur la lignée cellulaire P815.....	136
III.3-Evaluation pharmacologique de la série de <i>N</i> -(5-indazolyl)-arylsulfonamides.....	137
Conclusion.....	138

Liste des tableaux

Tableau 1 : Nitration des composés benzéniques monosubstitués-----	18
Tableau 2 : Effet de la température sur les proportions des <i>N</i> -alkylindazoles -----	34
Tableau 3 : Préparation des dérivés de Benzimidazole substitué en position 2 d'Ortho phénylène diamine-----	44
Tableau 4 : Les données du monocristal du composé 28 -----	78
Tableau 5 : Réaction d'alkylation de 3-chloro-5-nitroindazole (Condition RX/acétone/KOH,T.A):-----	80
Tableau 6 : Les données du monocristal du composé 32b. -----	81
Tableau 7 : Réaction de réduction du 1-alkyl-3-chloro-5-nitroindazole suivie du couplage de l'amine correspondante par le chlorure d'arylsulfonyle (Condition: a: EtOH/SnCl ₂ , 60°C; b: 4-R ₁ PhSO ₂ Cl/pyridine) -----	82
Tableau 8 : Les données du monocristal du composé 35c -----	83
Tableau 9 : Les données du monocristal du composé 35a -----	84
Tableau 10 : Les données du monocristal du composé 34b -----	85
Tableau 11 : Les données du monocristal du composé 34c -----	86
Tableau 12 : Les données du monocristal du composé 34d -----	87
Tableau 13 : Évaluation cytotoxique des dérivés de 6-nitroindazole sur BSR et Hep. -----	136
Tableau 14 : Evaluation cytotoxique de quelques molécules de 3,5,6-trinitroindazolesur sur la lignée cellulaire P815 -----	137
Tableau 15 : Troisième série de sulfonamides alkylés et chloré testés sur les cellules A2780 et A549 -----	138

Liste des figures

Figure 1 : Dérivés de l'indazole	1
Figure 2 : Dérivés avec le squelette indazolique.	2
Figure 3 : 1-((5-(1H-indazol-5-yl) pyridin-3-yl) oxy)-3-(1H-indol-2-yl) propan-2-amine	3
Figure 4 : 3-(3,3-diethyltriazeno)-5-chloroindazole	4
Figure 5: N-(5-(1,1-dioxidoisothiazolidin-2-yl)-1H-indazol-3-yl)-2-(naphthalen-2-yl) acétamide	4
Figure 6 : Dérivés avec le squelette indazolique	5
Figure 7 : Dérivés de l' indazole	6
Figure 8 : Dérivés de l' indazole	7
Figure 9 : Quelques exemples de molécules nitrés.	14
Figure 10 : Différentes formes mésomères qui peuvent être écrites pour un cation arénium.	16
Figure 11: Réactifs pour arylation de l'indazole	35
Figure 12 : cétone ayant deux hydrogènes en alpha.	45
Figure 13 : Sulfonamides avec différents squelettes.	74
Figure 14 : différents N-(7-indolyl)-arylsulfonamides.	74
Figure 15 : N-(7-indazolyl)-arylsulfonamides testés contre les lignées cellulaires DU145, HCT116 et HT29.	75
Figure 16 : Spectre RMN ¹ H du composé 34a	88
Figure 17 : Spectre RMN ¹³ C du composé 34a	88
Figure 18 : Spectre RMN ¹³ C (DEPT) du composé 34a	89
Figure 19 : Spectre RMN ¹ H du composé 35a	89
Figure 20 : Spectre RMN ¹³ C du composé 35a	90
Figure 21 : Spectre (75 MHz, CDCl ₃ , DEPT) du composé 35a	90
Figure 22 : Spectre RMN ¹ H du composé 34c	91
Figure 23 : Spectre RMN ¹³ C du composé 34c	91
Figure 24 : Spectre RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃ , DEPT) du composé 34c	92
Figure 25 : Spectre RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) du composé 35c	92
Figure 26 : Spectre RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) du composé 35c	93
Figure 27 : Spectre RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃ , DEPT) du composé 35c	93
Figure 28 : De la cellule eucaryote à l'ADN (d'après)	119
Figure 29 : Les différentes phases du cycle cellulaire (d'après)	120
Figure 30 : Variation de la quantité d'ADN au cours du cycle cellulaire	121
Figure 31 : Points de contrôle et régulation du cycle cellulaire	122
Figure 32 : 3-Amino-N-(4-benzylphenyl)-5-chloro-1H-indazole-1-carboxamide	124
Figure 33 : 6-(3,4-dimethoxybenzyl)-8-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-5a,6-dihydro-7H-isoxazolo[5,4-e]indazole	125
Figure 34 : Dérivés de l'indazole.	125
Figure 35 : 3-(6-([1,4'-bipiperidin]-1'-yl)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-5-(benzyloxy)-4-methoxy-3aH-indazole	126
Figure 36 : (5-(1-(argiométhyl)-1H-indazol-3-yl)furan-2-yl) méthanol	126
Figure 37 : (5-(1-(2,4-dichlorobenzyl)-1H-indazol-3-yl) furan-2-yl) méthanol	127
Figure 38 : N-(7-indazolyl)-arylsulfonamides:	128
Figure 39 : Activité des N-(7-indazolyl)-arylsulfonamides sur l'inhibition de la prolifération des cellules L1210.	129
Figure 40 : Dérivés N-(4-indazolyl)-arylsulfonamides	130
Figure 41 : N-(6-indazolyl)-arylsulfonamides	130
Figure 42 : SERIE I : Dérivés de 6-nitroindazole	134
Figure 43 : SERIE II : Dérivés de 3, 5,6-trinitroindazole	134
Figure 44 : SERIE III : dérivés de N-(5-indazolyl) arylsulfonamides	135

Liste des schémas

Schéma 1 : Nitration et polynitration de 6-Nitro-1 <i>H</i> -indazole	8
Schéma 2 : Alkylation des nitro-indazoles	9
Schéma 3 : Dérivés de Mannich avec les nitro-indazole	9
Schéma 4 : Des nitro-indazoles sulfonamides synthétisés.	10
Schéma 5 : Nitration de glycérene	12
Schéma 6 : Représentation schématique de la génération de l'ion nitronium	16
Schéma 7 : Nitration de l'indole.	19
Schéma 8 : Nitration des dérivés indoliques	20
Schéma 9 : Synthèse de 6-nitro-1 <i>H</i> -indazole	22
Schéma 10 : Synthèse de 2,6-dinitro-2 <i>H</i> -indazole	22
Schéma 11 : Synthèse de 5,6-dinitroindazole	23
Schéma 12 : Synthèse de 3,5,6-trinitro-1 <i>H</i> -indazole	23
Schéma 13 : formes tautomérique de l'indazole.	32
Schéma 14 : Alkylation de l'indazole	33
Schéma 15 : Alkylation de 6-Nitro-1 <i>H</i> -Indazole	36
Schéma 16 : Alkylation de 6-Nitro-1 <i>H</i> -Indazole	36
Schéma 17 : Alkylation de 5,6-dinitro-1 <i>H</i> -Indazole	37
Schéma 18 : Alkylation de 5,6-dinitro-1 <i>H</i> -Indazole	37
Schéma 19 : Alkylation de 3, 5,6-trinitroindazole	37
Schéma 20 : Bromation du 6-nitroindazole	38
Schéma 21 : Chloration du 5,6-dinitroindazole	38
Schéma 22 : Préparation de 1-(6-Nitro-1 <i>H</i> -indazol-1-yl)-éthanol	39
Schéma 23 : Préparation de (5,6-dinitro-1 <i>H</i> -indazol-1-yl) méthanol	39
Schéma 24 : Préparation de 1-(3, 5, 6-trinitro-1 <i>H</i> -indazol-1-yl) éthanol	40
Schéma 25 : Réaction de mannich	41
Schéma 26 : Réaction de mannich sur les imidazo[1,2-a]pyridine.	41
Schéma 27 : Mécanisme de réaction de Mannich.	42
Schéma 28 : Synthèse de 2-formylimidazo [1,2-a]pyridine	43
Schéma 29 : Réaction de Mannich avec les benzimidazoles	44
Schéma 30 : Préparation des dérivés de Mannich de 6-nitro-1 <i>H</i> -indazole 22a-c	45
Schéma 31 : Préparation des dérivés de Mannich de 5,6-dinitro-1 <i>H</i> -indazole 23-24	46
Schéma 32 : Préparation de dérivé de Mannich de 3,5,6-trinitro-1 <i>H</i> -indazole	46
Schéma 34 : Préparation des sulfonamides 5,6-dinitro-1 <i>H</i> -indazole	77
Schéma 35 : Réduction de 5,6 dinitroindazole	79
Schéma 36 : Synthèse des N-alkyl-3-chloro-5nitro-1 <i>H</i> -indazol	80
Schéma 37 : 5-indazolyl-arylsulfonamide	82
Schéma 38 : Principe de la méthode colorimétrique au MTT.	132
Schéma 39 : Composés polyhétérocycliques à base se l'indazole.	142

INTRODUCTION GENERALE

Ces dix dernières années, les travaux de recherche sur l'indazole ou 2-aza-indole se sont largement multipliés aussi bien à travers d'études purement chimiques sur sa synthèse et sa réactivité qu'avec le développement de nombreux dérivés à visées thérapeutiques diverses. Parmi ces composés qui présentent des propriétés pharmacologiques importantes on trouve par exemple Bendazac **L1**, agent anti-inflammatoire non stéroïdien, utilisé aussi comme médicament anti-cataracte,¹ et granisetron **L2**, un sérotonine 5-HT₃ antagoniste récepteur utilisé pour traiter et prévenir les nausées et les vomissements induits par la chimiothérapie anticancéreuse² sont deux exemples des molécules bioactives (Figure 1).

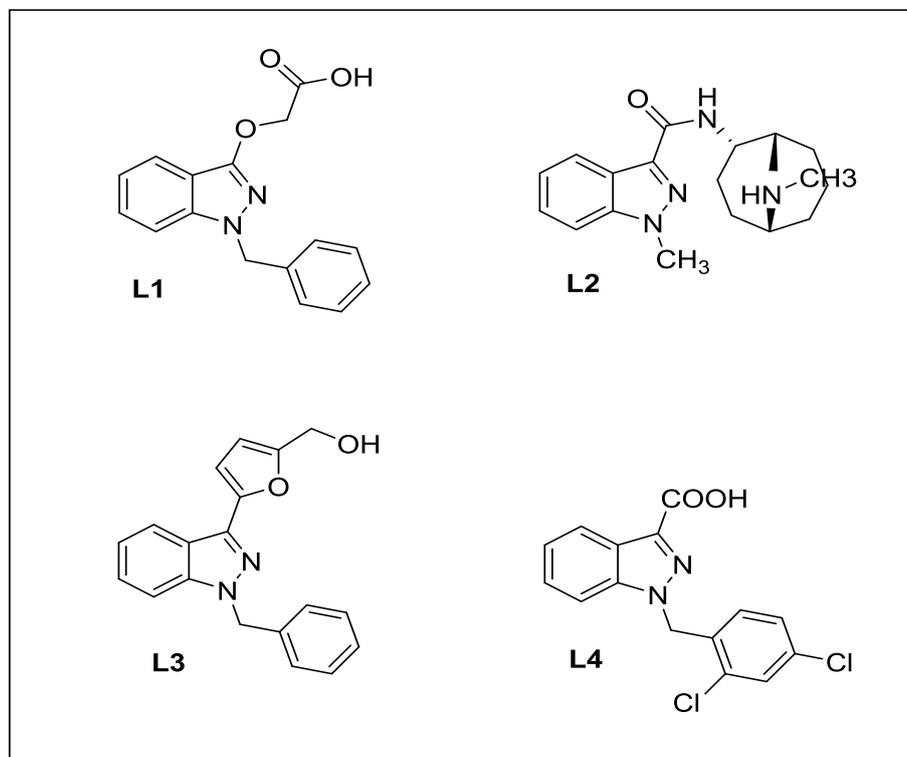


Figure 1 : Dérivés de l'indazole

¹ Silvestrini, B., Baiocchi, L., *ACRAFS.p.A., Italy :Aziende Chimiche Riunite Angelini Francesco*. 2006, GB 2110532, CA 99:93777

² Dudak, S. D., Lopez, A., Block, N. L., Lokeshwar, B. L. *Anticancer Res.* 1996, 16, 3665-3671

D'autres composés d'intérêt sont YC-1 ³ (un activateur de guanylyl cyclase) **L3**, utilisés pour le traitement de maladies cardiovasculaires ou des troubles de l'érection, et Ionidamine ⁴ **L4**, un médicament utilisé pour le traitement du cancer. En 2008, il a été rapporté que la combinaison de Ionidamine et témozolomide (un médicament dérivé de benzotriazine actuellement utilisé contre le cancer du cerveau agressif) a optimisé la radiothérapie des tumeurs ⁵ de cerveau.

En outre, l'antagoniste **L5** du récepteur de l'hormone concentrant la mélatonine est supposé d'avoir un nombre de fonctions biologiques, y compris dans la régulation de l'appétit, ⁶ (Figure 2).

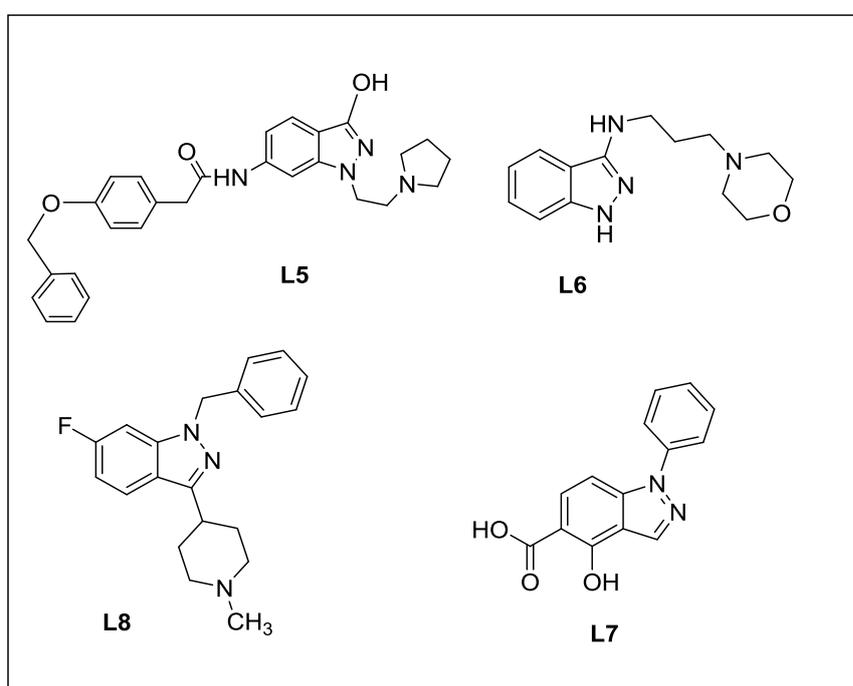


Figure 2 : Dérivés avec le squelette indazolique.

Les dérivés d'indazole **L6** ⁷ et **L7** ⁸ se sont révélés avoir des propriétés anti-inflammatoires importantes (figure 2). Locke, K.W et *al.* ⁹ ont synthétisés les dérivés de

³ Georg, G.I., Tash, J. S., Chakrasali, R., Jakkaraj, S. R., *University of Kansas, USA. 2006*, WO 2006023704, CA 144:274268

⁴ Forster, R., Campana, A., D'Onofrio, E., Henderson, L., Mosesso, P., Scorza Barcelona, P. *Carcinogenesis 1990, 11*, 1509-1515

⁵ Prabhakara, S., Kalia, V . K. *Indian J. Med. Res. 2008, 128*, 140-148

⁶ Souers, A. J., Collins, C. A., Gao, J., Judd, A. S., Kym, P. R., Mulhern, M. M., Sham, H. L., Wodka, D., *Abbott Laboratories, USA. 2005*, WO 2005277638, CA 144:51571.

pipéridine de l'indazole et le composé **L8** (1-benzyl-6-fluoro-3-(1-méthylpipéridin-4-yl)-1*H*-indazole) a été examiné comme un analgésique non narcotique et présente des propriétés antipsychotiques importantes (Figure 2).

Généralement les cibles des médicaments anticancéreux sont les acides nucléiques, certaines protéines impliquées dans la transcription (et/ou la réplication) de l'ADN voir certaines protéines du cytosquelette. On peut distinguer les agents alkylants, les antimétabolites, les alcaloïdes végétaux, les inhibiteurs des topoisomérases, et les antibiotiques antitumoraux.

De nouveaux médicaments n'ont pas d'action directe sur l'ADN. Ils ciblent directement une anomalie chromosomique moléculaire dans certains cancers (leucémie, cancer du côlon) en inhibant la tyrosine kinase. L'équipe de Ko et *al.*¹⁰ ont étudié une série des dérivés de 1*H*-indazole-2-[5-(1*H*-indazol-5-yl) pyridin-3-yloxy]-1-(1*H*-indol-2-yl) propane-2-amine **L9** (Figure 3) ayant une activité inhibitrice importante de la protéine kinase B/Akt. Ces composés peuvent exercer en même temps deux effets inhibiteurs de l'activité et de la phosphorylation de la protéine kinase B [Akt] pour la lignée cellulaire tumorale PC-3.

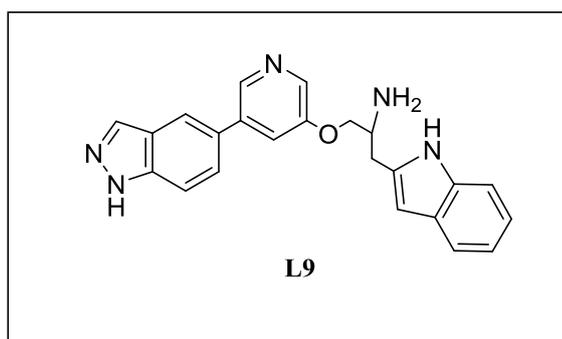


Figure 3 : 1-((5-(1*H*-indazol-5-yl) pyridin-3-yl) oxy)-3-(1*H*-indol-2-yl) propan-2-amine

⁷ Kawakubo, H., Sone, T., Wakigawa, K., Narita, T. *Yakugaki Zasshi: Journal of the pharmaceutical society of Japan*. **1987**, 107, 28-36.

⁸ Mosti, L., Sansebastiano, L., Fossa, P., Schenone, P., Mattioli, F. (1992) *Farmaco (Societa Chimica Italiana : 1989)*. **1992**, 47, 357-365

⁹ Locke, K.W., Dunn, R.W., Hubbard, J.W., Vanselous, C.L., Cornfeldt, M., Stuart, F., Strupczewski, J.T. *Drug Development Research*. **1990**, 19, 239-256.

¹⁰ Ko, J.H., Yeon, S.W., Ryu, J. S., Kim, T.Y., Song, E. H., You, H. J., Park, R.E., Ryu, C. K. *Bioorg. Med.Chem.Lett*. **2006**, 16, 6001-6005.

De leur côté, Daidone et *al.*¹¹ ont préparé et testé une série de triazenoindazole pour leur activité antiproliférative contre les lignées cellulaires suivantes: K562 (lignée cellulaire de leucémie myéloïde humaine), HL60 (lignée cellulaire sanguine de leucémie humaine), L1210 (lignée lymphoïde de souris) et MCF7 (lignée cellulaire tumorale mammaire). Le composé 3-(3,3-diethyltriazeno)-5-chloroindazole **L10** a montré une meilleure activité antiproliférative (Figure 4).

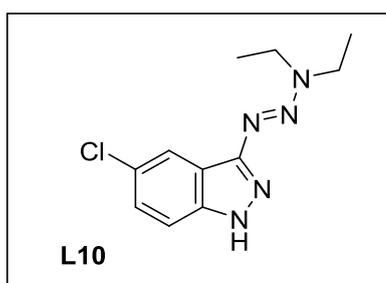


Figure 4 : 3-(3,3-diethyltriazeno)-5-chloroindazole

Récemment, Lee et *al.*¹² ont synthétisé et évalué l'activité anticancéreuse d'une série de 3,5-diaminoindazole en tant qu'inhibiteurs efficaces des CDK (Cyclin-dependent kinases) qui sont responsables de la prolifération des cellules eucaryotes. Les activités antiprolifératives de ces composés ont été évaluées en utilisant des lignées de cellulaires tumorales suivantes EJ, HCT116, SW620, et A549. La détermination de la concentration inhibitrice minimale a montré que le composé **L11** est le plus actif de toute la série. Il présente une activité inhibitrice importante ($IC_{50} = 0,036 \mu M$) (Figure 5).

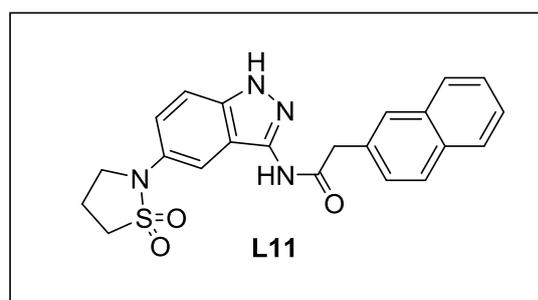


Figure 5: N-(5-(1,1-dioxidoisothiazolidin-2-yl)-1H-indazol-3-yl)-2-(naphthalen-2-yl)acétamide

¹¹ Daidone, G., Raffa, D., Maggio, B., Valeria, R. M., Plescia, F., Schillaci, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, 39, 219–224.

¹² Lee, J., Choi, H., Kim, K. H., Jeong, S., Park, J. W., Baek, C.S., Lee, S. H. *Bioorg.Med.Chem.Lett.* **2008**,18,2292– 2295.

Raffa et *al.*¹³ ont synthétisé et évalué une série de nouveaux dérivés de 3-amino-*N*-phenyl-1*H*-indazole-1-carboxamides pour leur activité anti tumorale contre soixante lignées cellulaires cancéreuses humaines. Les résultats des tests révèlent que ces composés sont doués d'une activité antiproliférative intéressante, surtout le 3-amino-*N*-(4-benzylphényl)-1*H*-indazole-1-carboxamide **L12** et le 3-amino-*N*-(4-butoxyphényl)-1*H*-indazole-1-carboxamide **L13** qui présentent une activité inhibitrice contre la croissance des cellules de nombreuses lignées cellulaires néoplasiques à des concentrations inférieures à 1µM en provoquant un blocage dans la phase G₀-G₁ du cycle cellulaire (Figure 6).

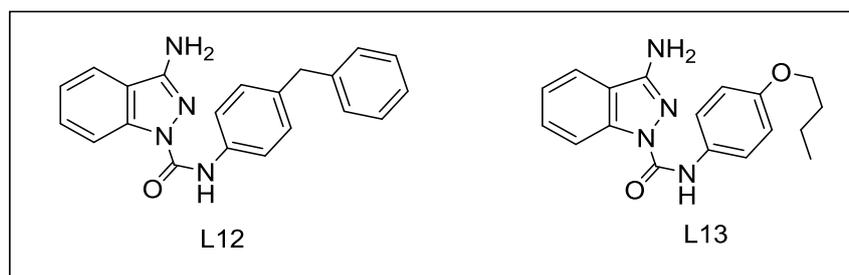


Figure 6 : Dérivés avec le squelette indazolique

Les efforts de notre laboratoire ont été orientés vers la diversification des dérivés des nitroindazoles dans l'objectif d'optimiser l'activité biologique de cette famille de composés.

A partir du 7-nitro-1*H*-indazole, E. M. Rakib et *al.*¹⁴ ont préparé une série des *N*-(7-indazolyl)-benzènesulfonamides. La majorité de ces composés ont été testés *in vitro* sur des cellules tumorales de la lignée cellulaire L1210 (Leucémie murine) pour évaluer leurs propriétés pharmacologiques. Les résultats des tests ont montré que les composés possédant un chlore ou un hydrogène sur la position 3 de l'indazole et un groupement méthoxy sur la position 4 du phényle du sulfonyle présentent une activité cytotoxique intéressante et une

¹³Raffa,D., Maggio,B., Cascioferro, S., Raimondi, M. V., Schillaci,D., Gallo,G., Daidone,G., Pleiscia,S., Meneghetti, F., Bombieri, G., Cristina,A.D., Pipitone, R.M., Grimaudo, S., Tolomeo, M. *European Journal of medicinal chemistry*. **2009**, 44, 165–178.

¹⁴Bouissane, L., El Kazzouli, S., Léger, J-Mi., Jarry, C., Rakib, E. M., Khouili, M., Guillaumet, G. *Tetrahedron*, **2005**, 61, 8218-8225.

bonne spécificité sur le cycle cellulaire ¹⁵ Parmi les composés les plus actifs de cette série, nous citons: (Figure 7)

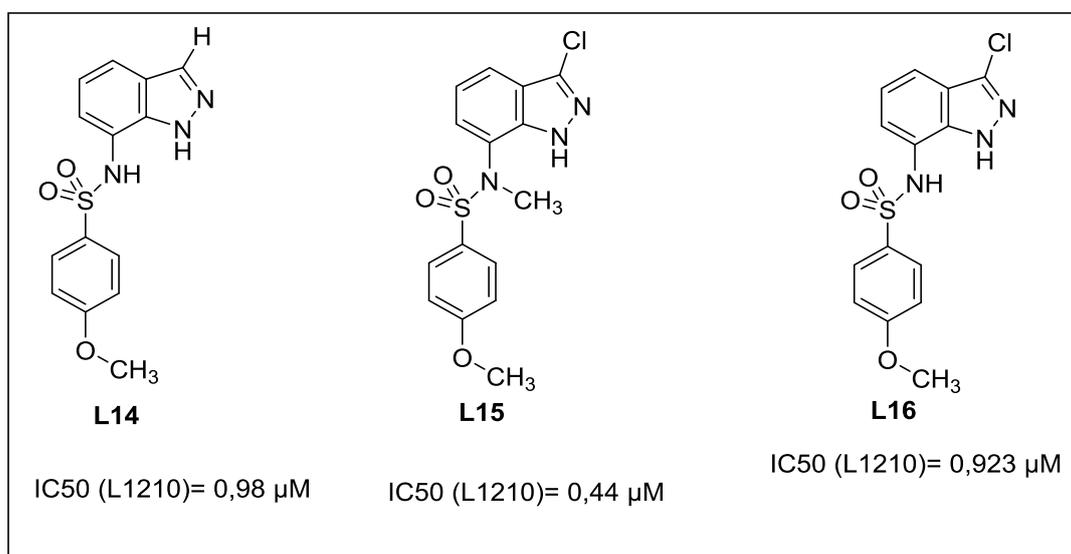


Figure 7 : Dérivés de l' indazole

Le composé *N*-(3-chloro-1*H*-indazol-7-yl)-4-méthoxy-*N*-methylbenzènesulfonamide **L15** substitué sur l'azote *NH*-7 est deux fois plus actif que son homologue *N*-(1*H*-indazol-7-yl) -4-méthoxy-*N*-methylbenzènesulfonamide **L14** non substitué. Dans une étude similaire, E. M. Rakib et *al.*^{16,17} ont synthétisé une autre série des dérivés de *N*-(2*H*-indazol-4-yl) benzènesulfonamide et *N*-(7-ethoxy-2*H*-indazol-4-yl) benzènesulfonamide à partir de la réduction des dérivés de 4-nitro-1*H*-indazole suivie du couplage de l'amine correspondante par le chlorure d'arylsulfonyle et les ont testé *in vitro* sur les lignées cellulaires tumorales A2780 (carcinome ovarien humain), A549 (carcinome pulmonaire humain) et P388 (leucémie murine). Les composés **L17** et **L18** chlorés en position 3 de l'indazole substitués en *NH*-4 et substitué par un groupement méthoxy en position para du sulfonyle présentent une activité antiproliférative notable.¹⁸ Les concentrations inhibitrices de ces composés contre les lignées

¹⁵ Bouissane, L., El Kazzouli, S., Leonce, S., Pfeiffer, B., Rakib, E. M., Khouili, M., Guillaumet, G. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 1078–1088

¹⁶ Abbassi, N., Rakib, E. M., Hannioui, A., Alaoui, M., Benchidmi, M., Essassi, E. M., Geffken, D. *Journal of Heterocycles*, **2011**, 83 (4), 891-900.

¹⁷ Abbassi, N., Rakib, E. M., Bouissane, L., Hannioui, A., Khouili, M., El Malki, A., Benchidmi, M., Essassi, E. M. *Synth. Commun.*, **2011**, 41: 7, 999 – 1005

¹⁸ Abbassi, N., Chicha, H., Rakib, E. M., Hannioui, A., Alaoui, M., Hajjaji, A., Geffken, D., Aiello, C., Gangemi, R., Rosano, C., Viale, M. *Eur. J. Med. Chem.*, **2012**, 57, 240-249.

cellulaires A2780, A549, P388 sont de très faibles doses IC_{50} (varie entre 0,50 et 5,83 μM) (Figure 8).

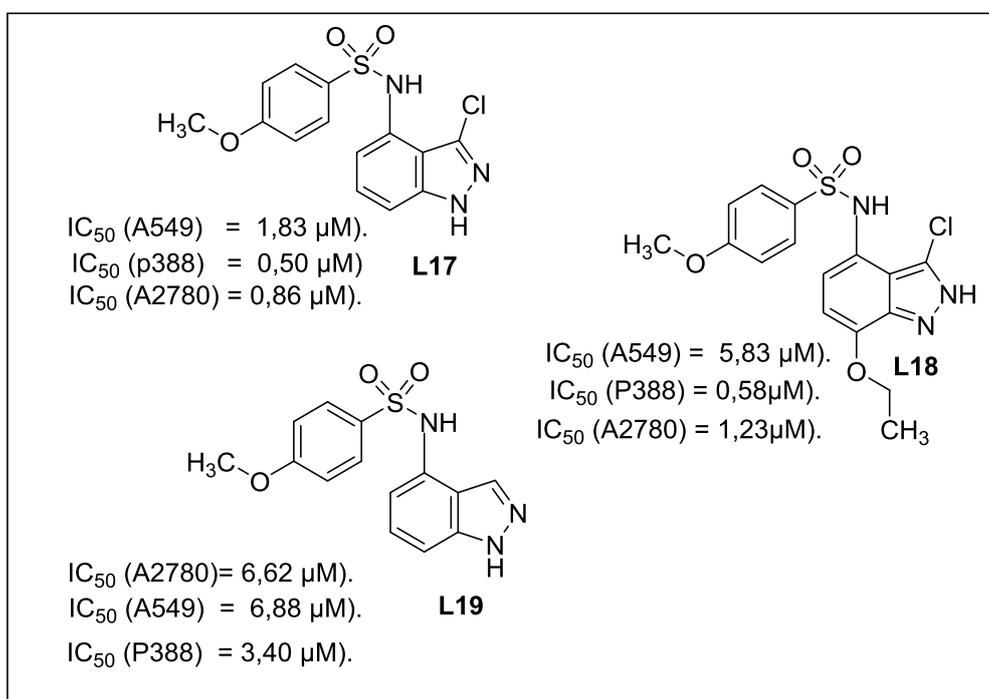


Figure 8 : Dérivés de l' indazole

En outre, ce type de dérivés indazoliques sont capables de déclencher l'apoptose par la régulation positive de l'apoptose typique marqueurs p53 et bax.

Ces études réalisées par notre équipe de recherche, montrent que les sulfonamides indazoliques synthétisés à partir du **7**, **4** et **6-nitro-1H**-indazoles sont doués des propriétés anticancéreuses très intéressantes. Cette découverte a donc encouragé notre laboratoire à développer cette nouvelle famille chimique en étudiant cette fois-ci une autre position du groupement nitro sur le cycle benzénique de l'indazole. Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à synthétiser de nouveaux dérivés indazoliques à partir du **6-nitro-1H**-indazole, 5-nitroindazole, 5,6-dinitroindazole et 3,5,6-trinitroindazole en appliquant différentes voies de synthèse à savoir les réactions d'alkylation, de nitration, de réduction, de sulfonation, d'halogénéation et la réaction de condensation de type Mannich.

Les molécules synthétisées seront testées *in vitro* afin d'évaluer leur potentielle antitumorale. Ces données de la littérature montrent que les dérivés indazoliques, préparés par différentes méthodes présentent des activités biologiques importantes. Compte tenu de ces activités pharmacologiques importantes que présentent ces hétérocycles et dans le but de

contribuer au développement de la chimie de l'indazole, nous nous sommes intéressés à la synthèse et l'évaluation cytotoxique de nouveaux dérivés de 6-nitroindazole, de 5-nitroindazole, de 5,6-dinitroindazole et de 3,5,6- trinitroindazole.

Notre sujet de recherche se situe dans ce contexte, et centré sur la nitration, l'alkylation et la synthèse de nouveaux sulfonamides comportant le motif indazole. Le travail proposé dans cette thèse sera divisé en quatre chapitres.

Le premier chapitre s'intéresse à la nitration de 6-nitroindazole, et nous allons traiter la nitration sélective et la polynitration selon l'agent de nitration que nous allons utiliser.

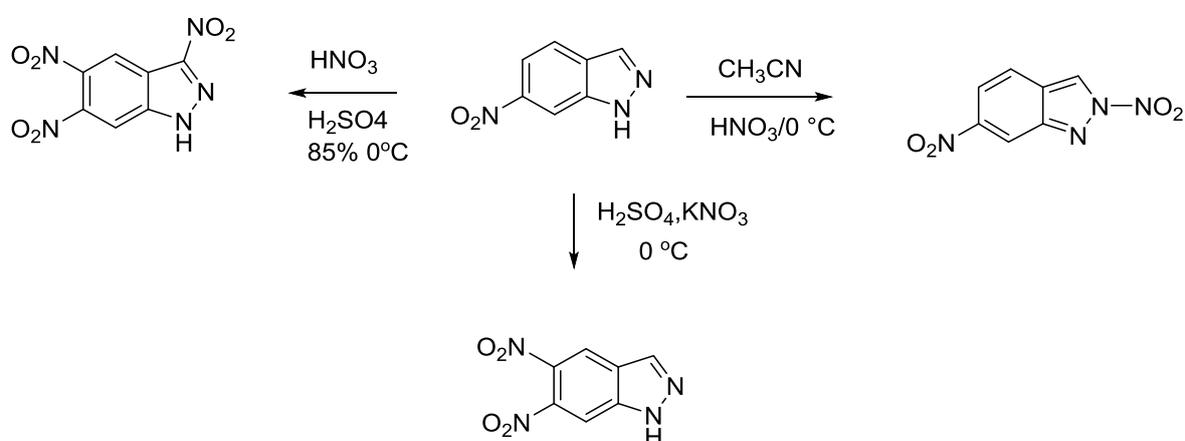


Schéma 1 : Nitration et polynitration de 6-Nitro-1H-indazole

Au cours du deuxième chapitre, nous développerons, dans un premier temps, l'alkylation des dérivés nitrés (Schéma 2). Dans un second temps, nous présenterons la synthèse de nouveaux dérivés indazoliques via la condensation de Mannich, en utilisant le formaldéhyde et une base azotée (Schéma 3).

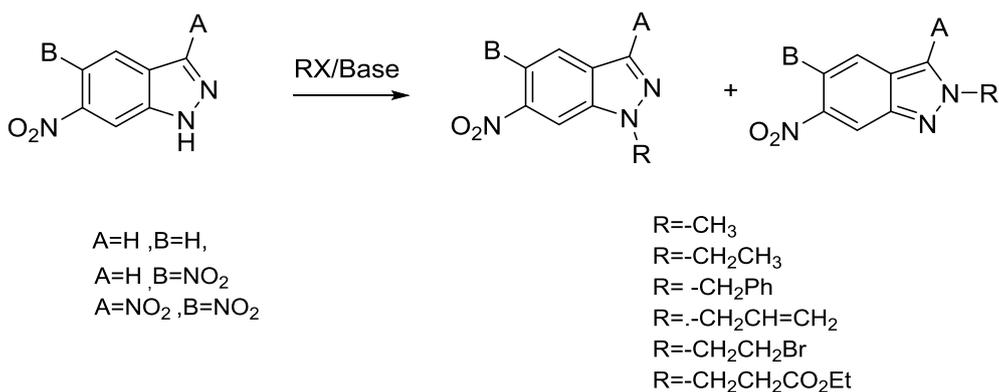


Schéma 2 : Alkylation des nitro-indazoles

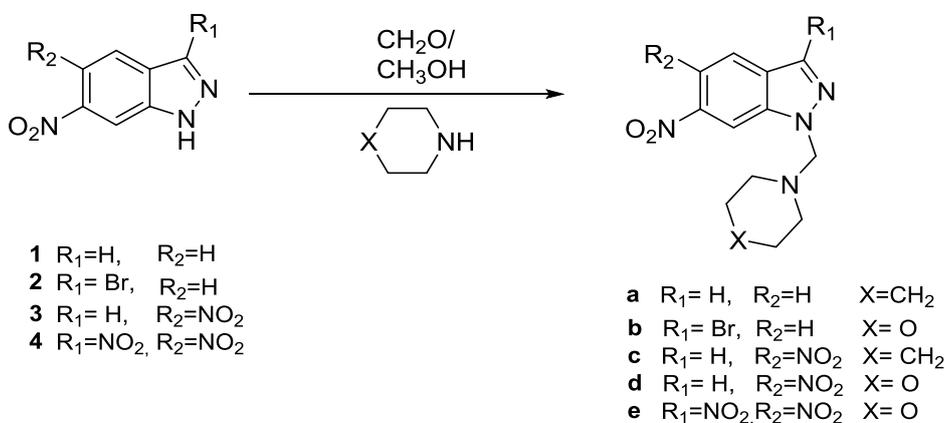


Schéma 3 : Dérivés de Mannich avec les nitro-indazole

Le troisième Chapitre sera réservé à la synthèse de composés à structure indazolique contenant la fonction sulfonamide à partir du **5-nitroindazole**, **6-nitroindazole** et **5,6-dinitroindazole** en appliquant différentes voies de synthèse à savoir les réactions de réduction, de sulfonation, d'halogénéation et d'alkylation, afin de les tester *in vitro* sur des cellules tumorales..

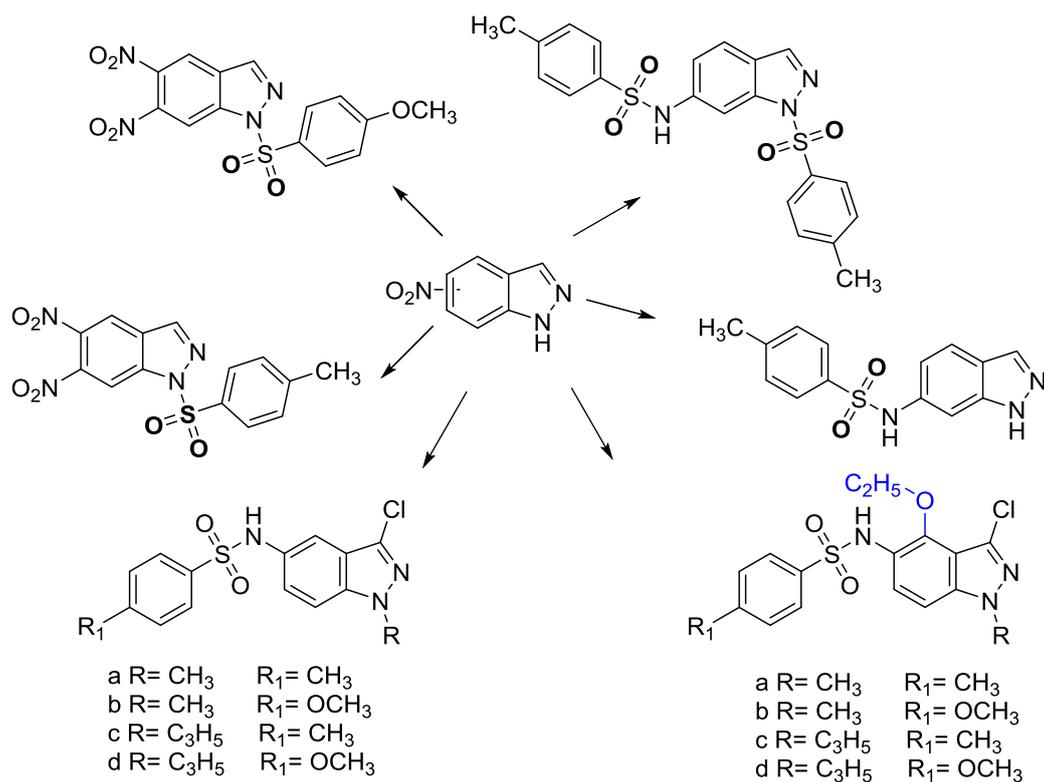


Schéma 4 : Des nitro-indazoles sulfonamides synthétisés.

Pour finaliser ce travail, le quatrième chapitre sera réservé à une évaluation pharmacologique de nouveaux indazoles polysubstitués en tant qu'agents anticancéreux. Nous montrerons que les indazoles fonctionnalisés à différentes positions possèdent des activités cytotoxiques importantes, puis conclusion générale et perspective.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE
CHAPITRE I : Nitration de l'indazole

I. RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA NITRATION

La nitration aromatique est la méthode industrielle la plus simple pour introduire un groupement azoté sur un hydrocarbure aromatique. Cette technique permet d'obtenir des composés nitroaromatiques, qui peuvent être intéressants sur le plan biologique, mais sont essentiellement des composés intermédiaires. De toutes ces utilisations consécutives possibles, la plus importante est sans conteste la réduction du groupement nitroaromatique en aniline, source d'une chimie extrêmement variée. On retrouve des produits issus de cette chimie dans tous les domaines : l'agrochimie (que ce soit des insecticides ou des herbicides), la pharmacie, les polymères polyuréthanes, les colorants, les stabilisants, les produits anti UV, etc.

I.1- Historique sur la réaction de nitration

À partir d'un point de vue historique, la nitration est intimement liée avec la chimie des explosifs et des propulseurs. Depuis la première description en Europe de la poudre noire, qui est un mélange de nitrate inorganique, du charbon et du soufre, par Roger Bacon.¹⁹ Beaucoup d'efforts ont été employés dans la recherche de matériaux plus efficaces pour l'utilisation à la fois dans le domaine militaire et dans les applications civiles. Ainsi nitroglycérine L21 a été le premier préparé en 1846 par le chimiste Italien Ascanio Sobrero,²⁰ qui avait traité de la glycérine L20 avec un mélange d'acides nitrique et sulfurique (Schéma 5). Mais c'était Alfred Nobel, qui a réussi à préparer une formulation sûr et pratique de ce matériau, qui est extrêmement sensible et dangereux. Il avait présenté la dynamite, un mélange de nitroglycérine et *KIESELGUHR* (roche sédimentaire ou bien poudre qui rend la nitroglycérine très sûr d'emploi) breveté en 1867.²⁰

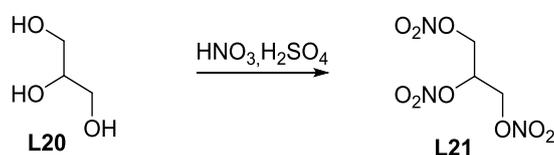


Schéma 5 : Nitration de glycérine

¹⁹ Bacon, R. In *Opus Majus*, University of Pennsylvania Press: Philadelphia P.A. **1928**, Vol. 2, pp. 629

²⁰ Davis, T. In *The Chemistry of Powder and Explosives*, John Wiley & Sons: New York, **1943**, Vol. 2, pp. 331

En 1867 CJ. Ohlsson et JH. Norrbin,²¹ deux chimistes suédois, peut-être moins bien connus, ont breveté dans ce contexte un explosif appelé *Ammoniakkrut* : il est constitué de nitrate d'ammonium. Ce dernier est considéré comme l'un des explosifs civils les plus utilisés pour les grandes applications dans le domaine du génie civil.

Au cours du siècle dernier, nous avons observé d'après la littérature une croissance considérable du nombre des inventions dans le domaine de la technologie des explosifs durant les deux guerres mondiales. En dehors de ces applications la nitration est devenu un outil très important dans d'autres domaines, tels que : la chimie médicinale, en raison de fait qu'un groupe fonctionnel nitro peut être transformé en fonction amine par réduction. Ce qui à son tour peut être converti en une gamme de groupes fonctionnels.

En revanche récemment une étude biochimique, a montré que l'oxyde nitrique qui est produit naturellement par le corps agit comme un signal qui stimule la dilatation des vaisseaux. Celle-ci permet, de diminuer la pression artérielle et d'améliorer les performances du cœur. Le premier indice apparut en 1977 lorsque Ferid Murad et ses collègues étudièrent différents composés vasodilatateurs, dont la nitroglycérine, prescrite aux patients souffrant d'angines de poitrine. Ces études ont montré que ces composés libèrent le monoxyde d'azote (NO) après métabolisation par l'organisme et entraîne alors une augmentation de l'activité d'une enzyme, appelée guanylate cyclase (GC)^{21,22} c'est le premier exemple de l'action de monoxyde d'azote (NO) dans le corps, mais produit de façon exogène.

Comme c'est signalé auparavant, pour réguler la pression artérielle, les cellules musculaires lisses des artères se relaxent, entraînant alors une augmentation du diamètre interne du vaisseau sanguin et une réduction de la pression.

L'équipe de Furchgott²³ a observé que ces cellules musculaires lisses ne se relaxaient jamais si les cellules endothéliales de l'artère étaient enlevées. Ils postulèrent alors l'existence d'un facteur de transmission, libéré par les cellules endothéliales et agissant sur les cellules musculaires lisses, baptisé EDRF (acronyme anglais pour Endothelium Derived Relaxing

²¹ Katsuki, S., Arnold, W., Mittal, C., Murad, F. *Journal Of Cyclic Nucleotide Research.* 1977, 3, 23-35.

²² Arnold, W., Mittal, C., Katsuki, S., Murad, F. *Proceedings Of the National Academy Of Sciences.* 1977, 74, 3203-32070

²³ Furchgott, R., Zawadzki, J. *Nature.* 1980, 288, 373-376.

Factor). La nature chimique de ce facteur de relaxation n'était cependant pas encore connue. Finalement, Louis Ignarro et son groupe ²⁴ montrèrent en 1986 que l'EDRF n'est autre que le monoxyde d'azote (NO), en comparant leurs réactivités chimiques. Cette découverte fut une grande surprise, car à l'époque le monoxyde d'azote (NO) était surtout connu comme un polluant atmosphérique, l'idée c'est que L'organisme puisse synthétiser et utiliser une petite molécule gazeuse pour transmettre des informations, était totalement nouvelle. Les travaux de Murad, Furchgott et Ignarro ²⁴ leurs valurent l'attribution du prix Nobel de physiologie et Médecine en 1998. Suite à ces premières découvertes, l'engouement de la communauté internationale et l'implication de nombreux groupes de recherche ont enrichi les connaissances concernant la production et les fonctions de monoxyde d'azote (NO) dans les organismes vivants.

La nitration des molécules organiques (Figure 9), et en particulier aromatiques était l'un des premiers procédés de synthèse les plus largement utilisés en chimie organique.

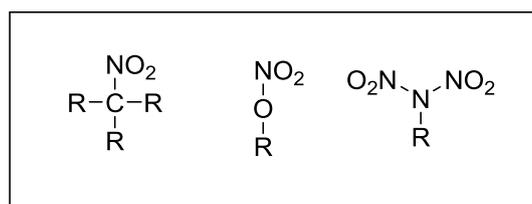


Figure 9 : Quelques exemples de molécules nitrés.

Aussi, la première nitration a été réalisée par Faraday en 1825 ²⁵ suite au traitement du benzène avec de l'acide nitrique, donnant un produit à odeur d'amande c'est le nitrobenzène. L'introduction du Nitrobenzène dans la préparation à l'échelle industrielle des parfums a été brevetée par Charles Mansfield en 1847, ²⁶ malheureusement son utilisation a causé des problèmes de santé.

²⁴ Ignarro, L., Buga, G., Wood, K., Byrns, R., Chaudhuri, G. *Proceedings Of the National Academy Of Sciences*. **1987**, 84, 9265-9269.

²⁵ Faraday., *In Faraday's Diary*, Martin, T. Ed.: London, 1932, Vol. 1, pp. 221

²⁶ For an account see Ward, E.R. *Chem. in Britian*, **1979**, 15, 297

I.2- Particularités de cette réaction

La réaction de nitration est exothermique. La chaleur de réaction est généralement de -30 kcal/mole (exo), à laquelle il faut ajouter la chaleur de dilution de l'acide en fonction de sa concentration (jusqu'à - 10 kcal/mole (exo) pour donner un ordre de grandeur). Les réactions de nitration sont des réactions sensibles et dangereuses car les dérivés nitrés sont des fonctions explosophores. Beaucoup d'explosifs comportent des fonctions nitrées comme le trinitrotoluène (TNT), un explosif bien connu. Les problèmes d'emballement thermique lors des réactions de nitration, l'inflammabilité de mélanges gazeux (car la nitration coproduit souvent des gaz comme NO₂, NO, CO...) sont des risques à maîtriser.

I.3- Mécanisme de la nitration

Il s'agit du mécanisme le plus courant notamment pour la nitration des composés aromatiques. Des mélanges d'acides contenant de l'acide nitrique et un acide fort tel l'acide sulfurique, l'acide fluorhydrique, l'acide perchlorique, le trifluorure de bore ou des résine échangeuses d'ions porteuses de groupes acide sulfonique, qui sont utilisés comme agents de nitration. Ces acides forts catalysent la formation d'ion nitronium (NO₂⁺) donnant suite à une réaction de substitution électrophile.^{27,28}

La formation de l'ion nitronium (NO₂⁺) passe par la protonation d'acide nitrique, c'est une réaction drastique, d'où la nécessité d'utiliser un acide très fort. Les agents de nitration sont à base d'acide nitrique, cet acide est de loin, le réactif nitrant le plus utilisé. L'espèce active est le plus souvent l'ion nitronium issu d'une déshydratation de l'acide nitrique. Souvent est utilisé un co-acide pour maintenir l'acidité et les propriétés déshydratantes du milieu.

Ainsi, le mélange le plus utilisé est le mélange acide nitrique acide sulfurique (Schéma 6). Mais il est aussi possible d'utiliser de l'acide nitrique seul en excès, ou alors en mélange avec l'acide ou l'anhydride acétique, ou l'acide phosphorique.^{29,30}

²⁷ Cheng, G., Duan, X., Qi, X., Lu, C., *Catalysis Communications*. **2008**, Vol. 10, pp. 201–204.

²⁸ Lochert, I.J., Dorsett, H.E. *Aeronautical and Maritime Research Laboratory*, Australie, **2001**

²⁹ Metivier, P., *Techniques de l'Ingénieur*, **1982**, J 5 720

Première étape : formation de l'électrophile



Schéma 6 : Représentation schématique de la génération de l'ion nitronium

- *Deuxième étape:* formation de l'intermédiaire

Une fois l'électrophile formé, il réagit par addition électrophile avec le composé aromatique pour conduire à un « complexe π », peu stable, mais dont l'existence a été mise en évidence à très basse température. Sa structure est peu différente des espèces qui ont conduit à sa formation, qui résulte d'une interaction entre l'orbitale vacante de l'électrophile et les électrons d'un doublet délocalisé de noyau aromatique. Si la température est suffisante, ce qui est en général le cas en synthèse organique, le complexe évolue et il se forme un ion arénium par fixation de l'électrophile sur l'un des atomes du cycle. C'est un composé en général instable, dont la solution est souvent colorée, qui a perdu l'aromaticité. Cet intermédiaire est appelé intermédiaire de Wheland ³¹ (Figure 10).

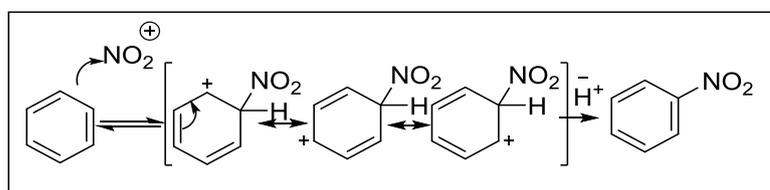


Figure 10 : Différentes formes mésomères qui peuvent être écrites pour un cation arénium.

- *Troisième étape :* L'ion arénium possède une déficience électronique, il va donc se stabiliser en complétant sa configuration électronique et, pour cela, il cherche à regagner un doublet. Nous pourrions penser qu'il va fixer un nucléophile, comme le ferait l'ion carbénium

³⁰ Tartakovskii, V.A., Gribov, B.G., I.A.Savost'yanova, Novikov S.S. *The Academy of Sciences of the USSR, Division of chemical science* . **1965**, Vol. 9, pp. 1644-1648.

³¹ Wheland, G.W. : université de Chicago. *Liebig's Ann. Chem*, **1928**, 461, 132.

issu de l'addition électrophile de bromure d'hydrogène sur un alcène, mais il n'en est rien. Le cation arénium va en fait perdre un proton pour donner un nouveau composé aromatique, en outre beaucoup plus stable que le cyclohexa-1,3-diène qui se formerait par addition d'un nucléophile. La formation de l'ion arénium et l'élimination du proton suivant sont très rapide en comparaison avec la formation d'ion nitronium, Cependant, la réaromatisation est établie pour donner le produit de substitution électrophile comme le nitrobenzène.

I.4- Orientation de la substitution

Lorsque le noyau porte des substituants, le ou les atomes de carbone attaqués préférentiellement dépendent de la nature de substituant. L'attaque électrophile est d'autant plus aisée que la densité électronique sur le carbone est plus élevée. Tout substituant sur le noyau influe sur l'orientation de la nitration: ³²

- un substituant à effet donneur, que ce soit par effet inducteur ou mésomère, active le noyau aromatique vis-à-vis de la nitration et oriente la substitution en ortho ou en para (alkyl, aryle, alcoxy, etc.) ;
- un substituant à effet attracteur, désactive globalement le noyau aromatique vis-à-vis de la nitration, mais oriente préférentiellement la nitration en méta. À titre d'exemple la répartition standard obtenue pour la nitration de benzènes monosubstitués est donnée au tableau [1].³³

³² SCHOFIELD, K.. *Aromatic Nitration*. Cambridge University Press, New York, **1980**, p. 104- 127

³³ HOLLEMAN. *Chem. Rev. (USA)*, **1925** p. 187. Cf I.b. 1 p. 63

Tableau 1 : Nitration des composés benzéniques monosubstitués

Groupement Présent	Répartition en (%) des différents isomères obtenus		
	Ortho	Méta	Para
F	12,4	Traces	87,2
Cl	37,6	Traces	87,2
Br	37,6	Traces	62,4
I	41,1	Traces	58,7
CH ₃	58,8	4,4	36,8
CH ₂ Cl	40,9	4,2	54,9
CCl ₃	6,8	64,5	28,7
C(CO) OC ₂ H ₅	28,3	68,4	3,3
COOH	18,5	80,2	1,3
NO ₂	6,4	93,2	0,25

- Dans le cas de systèmes polysubstitués, les mêmes règles générales s'appliquent, avec la combinaison des différents effets. La réaction de nitration standard conduit le plus souvent à un mélange d'isomères et elle est rarement sélective.

La nitration de l'indole dans l'acide nitrique dilué conduit au 3-nitroindole. Si le cation indolium se forme avant l'ajout de réactif de nitration, c'est la position 5 qui sera nitrée³⁴ Le mélange H₂SO₄/HNO₃ conduit à des mélanges complexes de dimères (Schéma 7).

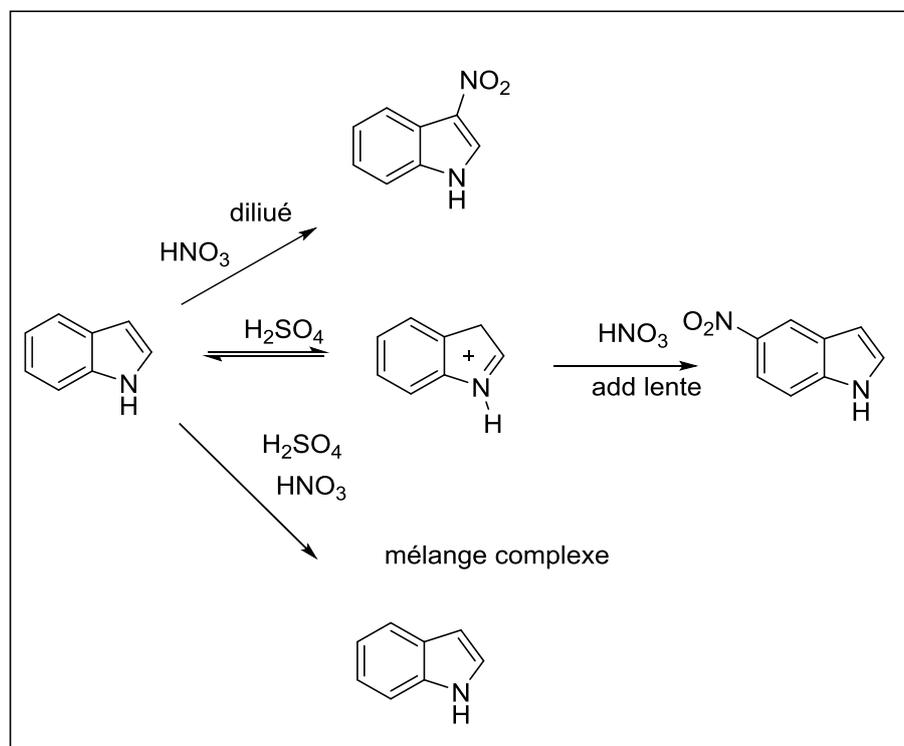


Schéma 7 : Nitration de l'indole.

Noland et al. ont largement étudié la nitration des dérivés indoliques. Ils ont montré que la nitration de l'indole-3-carboxaldéhyde³⁵, des dérivés 2-méthyl et 1,2diméthylindoles par l'acide nitrique est orientée en position 5 de l'hétérocycle³⁶

³⁴ Brown, K.; Katritzky, A. R. *Tetrahedron Lett.* **1964**, 14, 803-804.

³⁵ Noland, W. E.; Rieke, R. D. *J. Org. Chem.* **1962**, 27, 2250-2252.

³⁶ Noland, W. E.; Smith, L. R.; Johnson, D. C. *J. Org. Chem.* **1963**, 28, 2262-2266.

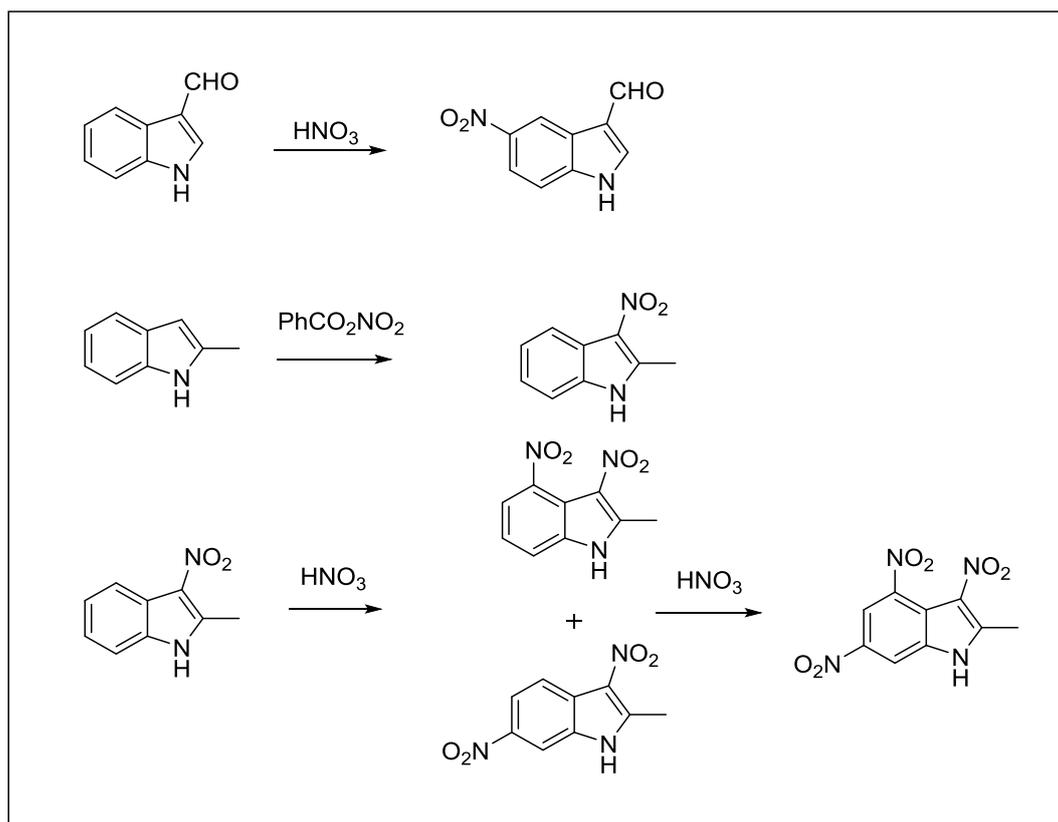


Schéma 8 : Nitration des dérivés indoliques

Si l'agent de nitration est le benzoate de nitronium, la nitration se fera en position 3. La polynitration de dérivés indoliques s'effectue en position 3, 6 et 4 principalement (Schéma8)³⁷.

I.5- Agents de nitration.

Parmi les réactifs usuels de nitration nous pouvons citer l'acide nitrique,³⁸ l'acide de nitrosyle sulfurique, nitrate de benzoyle le nitrate d'éthyle, l'acétone cyanhydrine nitrate, les nitrates inorganiques, sel de *N*-nitropyridinium, tétrafluoroborate de nitronium, le chlorure de nitrosyle, de l'azote oxyde,³⁹ nitrate de triméthylsilyle⁴⁰ et des mélanges de nitration telle sous forme d'acide nitrique et l'acide sulfurique (Schéma 6), l'acide nitrique et l'acide acétique,

³⁷ Noland, W. E.; Smith, L. R.; Rush, K. R. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 3457-3459.

³⁸ Wang, H., Peng, X., C. Shi, et al., *Res. Chem. Intermed.*, **2013**, 1-6.

³⁹ Ramana M.M.V., Malik S.S., Parihar J.A.. *Tetrahedron Lett.* **45**, **2004**, 8681-8683

⁴⁰ Kimura, M., Kajita, K., Onoda, N., Morosawa S. *Journal. Org. Chem.* **1990-vol 55** 4887-4892.

anhydride acétique nitrates métalliques le nitrate de potassium ou l'acide nitrique et le trifluorure de bore monohydraté ⁴¹ en tant que des agents de nitration. Bien que les réactifs ci-dessus donnent une certaine spécificité dans la nitration, de nouveaux réactifs de nitration sont encore nécessaires pour une nitration sélective de certains composés aromatiques.

Dans notre travail, nous allons traiter la nitration sélective et la polynitration de 6-nitro-1*H*-indazole. Tout en étudiant la réaction de la nitration et la réactivité des dérivés nitrés, afin d'élaborer de nouveaux hétérocycles azotés.

Le paragraphe suivant faisant suite à l'obtention des composés nitrés en différentes position de l'indazole.

II-Nitration de 6-nitroindazole

La présence du groupe nitro dans le composé de l'indazole joue un rôle fondamental pour certaines activités biologiques comme squelette de base des dérivés de l'indazole. Le 7-nitroindazole ^{42,43} a été découvert comme un puissant inhibiteur électif de NO Synthase Neuronale grâce à la présence du groupement nitro.

C'est dans ce contexte nous nous sommes intéressés à la synthèse, et à l'évaluation biologique de nouveaux dérivés de 6-nitroindazole, 5,6-dinitroindazole et 3,5,6-trinitroindazole. Pour accéder à ces molécules nous avons fait appel à la réaction de nitration à partir du 6-nitroindazole comme précurseur principal.

⁴¹ Olah, A., Wang, Q., Li, X.Y., Bucsi, I. *Synthetic methods and reactions. Part 173.*, *Synthesis*, **1992**, 1085–1086.

⁴² Catalán, J., Valle, J. C., Claramunt, R. M., Boyer, G., Laynez, J., Gómez, J., Jiménez, P., Tomás, F., Elguero, *Journal of Phys. Chem.* **1994**, *41*, 10606-10612.

⁴³ (a) Escande, A., Lapasset, J., Faure, R., Vicenta, E.-J., Elguero, *Journal of Tetrahedron* **1974**, *30*, 2903-2909;

(b) Faure, R., Vicent, E. J., Elguero, *Journal of Heterocycles*, **1983**, *20*, 1713-1716, (c) Catalán, J., Paz, J. L. G., Elguero, *J. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1996**, 57-60, (d) Foces-Foces, C., Hager, O., Jagerovic, N., Jimeno, M. L., Elguero, *J. Chem. Eur. J.*, **1997**.

II.1- Synthèse de 6-nitro-1H-indazole

Ce produit a été préparé selon le mode opératoire décrit par E.Noelting.⁴⁴ L'action du nitrite de sodium sur le 5-nitro-2-méthylaniline dans l'acide acétique sous agitation à température ambiante conduit au 6-nitro-1H-indazole avec un bon rendement (Schéma 9).

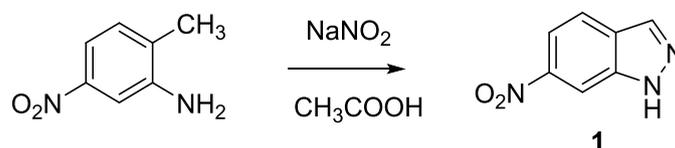


Schéma 9 : Synthèse de 6-nitro-1H-indazole

Le composé 1 6-nitro-1H-indazole présente les mêmes caractéristiques physico-chimiques décrites dans la littérature.

II.2- Préparation de 2,6-dinitro-2H-indazole

Le composé 2,6-dinitro-2H-indazole a été préparé selon le mode opératoire décrit par Bachmann et al.⁴⁵ En effet l'action de l'acide nitrique concentré ajouté goutte à goutte sur le 6-nitroindazole dissous dans l'acétonitrile, conduit à la formation de composé 2 (Schéma 10) avec un rendement de 40%.

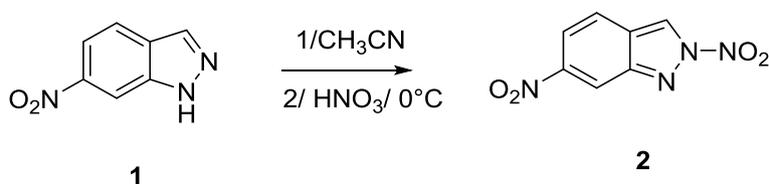


Schéma 10 : Synthèse de 2,6-dinitro-2H-indazole

Le 2,6-dinitro-2H-indazole 2 présente les mêmes caractéristiques physico-chimiques décrites dans la littérature.

⁴⁴ Noelting, E. *Veber* bildung von indazolen aus nitriten orthomethylirten aminen. *Ber.* **1904**, 37, 2556-2597.

⁴⁵ Bachmann, W. E., Deno, N. C. *J. Am. Chem. Soc.*, **1951**, **73**, 2777-2779.

II.3- Préparation de 5,6-dinitroindazole

Le composé **3** 5,6-dinitro-1*H*-indazole a été préparé selon le mode opératoire décrit par L.Gavara et al.⁴⁶ En effet, l'action de l'acide sulfurique mélangé avec le 6-nitroindazole sur le mélange de l'acide sulfurique et nitrate de potassium à 0°C, conduit à la formation de 5,6-dinitro-1*H*-indazole avec un bon rendement (Schéma 11).

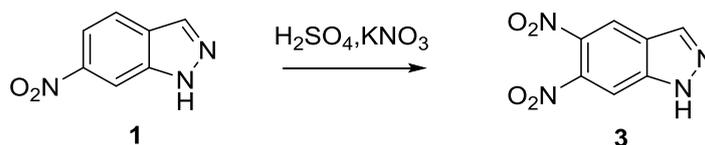


Schéma 11 : Synthèse de 5,6-dinitroindazole

Le composé **3** 5,6-dinitro-1*H*-indazole, présente les mêmes caractéristiques physico-chimiques décrites dans la littérature.⁴²

II.4 - Préparation de 3,5,6-trinitro-1*H*-indazole

Le composé 3,5,6-trinitro-1*H*-indazole a été préparé selon le mode opératoire décrit par J. Bergman et al.⁴⁷ Effectivement, l'action de l'acide nitrique dans l'acide sulfurique sur le 6-nitroindazole **1**, conduit à la formation de 3,5,6-trinitroindazole avec un bon rendement (Schéma 12).

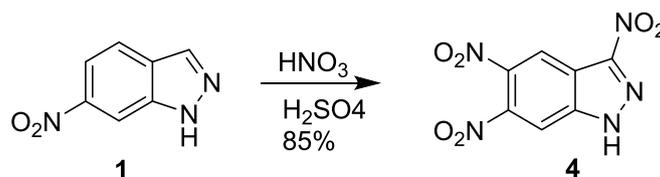


Schéma 12 : Synthèse de 3,5,6-trinitro-1*H*-indazole

Le spectre RMN¹H du composé 3,5,6-trinitro-1*H*-indazole pris dans le DMSO-d₆, présente deux signaux sous forme de doublet à 8,77 ppm et 8,88 ppm avec une faible constante de couplage $J = 1,2$ Hz. Ceci confirme que la nitration a été faite en position 3 et 5

⁴⁶ Gavara, L., Emmuelle, S., Fbrice, A., Pascal, M. *Tetraedre*, **2011**,67 (9), 1633-1639.

⁴⁷ Bergman, J., Bergman, S., Brimer, T., *Journal of Tetrahedron*, **1999**, 55, 10447

du 6-nitroindazole. La mono nitration en position 5 de l'indazole a été observée dans la littérature par R.R. Davies et K. Fries et *al.*⁴⁸ lors de la nitration du 6-nitroindazole.

Nous avons testé le composé **4**, in vitro contre la lignée cellulaire P815, pour évaluer son activité cytotoxique. Le résultat montre une activité en IC50 de l'ordre de 20,42 µg/ml. Afin d'améliorer cette activité biologique de ce composé nous nous sommes intéressés à greffer d'autres groupements fonctionnels en position 1 de trinitroindazole **4** en faisant cette fois-ci appel à des réactions d'acylation, d'alkylation et de condensation de type Mannich.

CONCLUSION

La nitration de 6-nitro-1*H*-indazole par des différents réactifs nous a amené à différents dérivés nitrés, en effet la première nitration a été faite sur l'azote en position 2 de 6-nitro-1*H*-indazole car nous avons utilisé un solvant polaire et aprotique ainsi que l'azote 2 est plus basique que l'azote 1.

Mais lorsque nous avons utilisé l'acide sulfurique H₂SO₄ et le nitrate de potassium, KNO₃, les deux azotes ont été protonés et on a réussi à faire une nitration sélective sur le carbone (5) de 6-nitro-1*H*-indazole. En fin, pour faire la polynitration nous avons utilisé par la suite l'acide nitrique (HNO₃) et l'acide sulfurique (H₂SO₄) à 85 %.

⁴⁸ Fries, K., Fabel, K., Eckhardt, U.K. *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1942**, 31, 55

Partie Expérimentale

METHODES GENERALES

Les points de fusion non corrigés ont été pris en tube capillaire sur l'appareil Buchi-Tottoli. Toutes les masses molaires (MM) qui sont indiquées dans la partie expérimentale sont exprimées en grammes par mole.

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrés dans CDCl_3 , DMSO-d_6 et solution (sauf indication contraire) avec TMS comme référence interne en utilisant un appareil Bruker AC 300 (1H) ou 75 MHz instruments (^{13}C). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS) pris comme référence interne. La multiplicité des ressources de RMN ^{13}C a été affectée par la mise en valeur sans distorsion par transfert des expériences de polarisation (DEPT).

La multiplicité est représentée de la manière suivante :

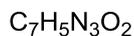
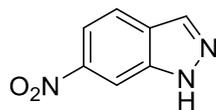
- s singlet
- d doublet
- dd doublet de doublet
- t triplet
- q quadruplet
- m multiplet

Les spectres de masse à faible résolution (MS) ont été enregistrés sur un spectromètre Sciex API 3000 Perkin-Elmer.

La chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée sur des feuilles d'aluminium recouvertes de silice E.Merck 60 F254 (épaisseur 0,063-0.2 mm). La révélation des taches se fait sous une lampe UV. Les séparations chromatographiques flash sont effectuées sur gel de silice.

Les réactifs du commerce ont été utilisés sans aucune purification, sauf mention contraire.

6-Nitro-1H-indazole (1)



MM: 163,14 g/mol

Mode opératoire

On dissout (10 g, 61 mmol) de la 5-nitro-2-méthylaniline dans 500 ml d'acide acétique. On ajoute goutte à goutte la quantité stœchiométrique du nitrite de sodium dissoute dans un minimum d'eau. Après 24 heures d'agitation à température ambiante, la solution acide est concentrée au 1/3 de son volume initial. On ajoute 500 ml d'eau bouillante et on chauffe jusqu'à ce que le précipité soit redissout. La solution est filtrée à chaud, le précipité formé est recristallisé dans l'éthanol. Après refroidissement un solide jaune est obtenu avec un rendement de 88%.

Aspect : solide jaune.

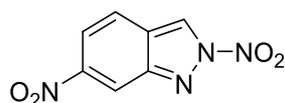
Rdt: 88%

PF: 180-182°C

RMN ¹H (CDCl₃): δ 7.91 (dd, 1H, H-5, $J_{ortho} = 8.8\text{Hz}$, $J_{met} = 1.8\text{Hz}$), 8.00 (d, 1H, H-4, $J_{ortho} = 8.8\text{Hz}$), 8.32 (s, 1H, H-3), 8.44 (d, 1H, H-7, $J_{met} = 1.8\text{Hz}$), 14.12 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 107.5 (CH-4), 115.1 (CH-5), 122.3 (CH-7), 134.5 (CH-3), 126.4, 138.9, 146.2 (3C).

2,6-dinitro-2*H*-indazole (2)



$C_7H_4N_4O_4$
MM: 208.13 g/mol

Mode opératoire

Dans un erlenmeyer on dissout (0.5 g, 3 mmol) de 6-nitroindazole dans 30ml de l'acétonitrile. Le mélange est agité à 0°C avec l'ajout de 2.3 ml de l'acide nitrique concentré goutte à goutte. Lorsque l'addition est terminée le mélange est abandonné sous agitation à température ambiante. Après 24h on ajoute encore 2.3 ml de l'acide nitrique. On laisse le mélange sous agitation à température ambiante pendant 48h. Le mélange est filtré. On concentre le filtrat puis on ajoute éther diéthylique. Le précipité formé est filtré. On concentre le filtrat, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice.

Eluant : AcOEt/hexane (2 /8)

Aspect : Solide jaune gris

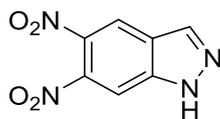
Rdt : 40%

PF : 115 °C.

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ 8.43 (dd, 1H, H-5, $J_{ortho} = 8.8Hz$, $J_{met} = 1.8Hz$), 8.20 (d, 1H, H-4, $J_{ortho} = 8.8Hz$), 8.42 (s, 1H, H-3), 8.83 (d, 1H, H-7, $J_{met} = 1.8Hz$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 122.5 (CH-4), 114.1 (CH-5), 117.3 (CH-7), 127.5 (CH-3), 116.4, 135.9, 147.2 (3C).

5,6-dinitro-1*H*-indazole (3)



$C_7H_4N_4O_4$
MM : 208,13 g/mol

Mode opératoire

Un mélange de 6-nitro-1*H*-indazole **1** (5g, 31 mmol) dans l'acide sulfurique concentré (70 ml) est refroidi à 0 °C puis ajouté lentement à une solution à 0°C et sous agitation de nitrate de potassium (3,44 g ; 34 mmol) dans H₂SO₄ concentré (30 ml). La solution est agitée pendant 16 h à température ambiante puis versée dans la glace (800 g). Le solide est filtré, lavé à l'eau puis recristallisé dans l'acide acétique glacial (50 ml) ce qui permet d'obtenir le composé **3** avec un bon rendement.

Aspect : Solide jaune paillette.

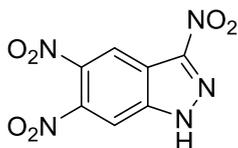
Rdt : 79%.

Pf: 230-232 °C.

RMN ¹H (DMSO-*d*₆): δ 8.45 (S, 1H, H-3), 8.56 (S, 1H, H -7), 8.84 (S, 1H, H-4), 13.01 (S, 1H, HN)

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆): δ 109.1, 121.3, 137.2 (CH), 122.2, 135.8, 138.4, 141.6 (C)

3,5,6-trinitroindazole (4)



$C_7H_3N_5O_6$
MM: 253,13 g/mol

Mode opératoire

Dans un bêcher, on mélange 5,5 ml de l'acide nitrique HNO_3 avec 25 ml de l'acide sulfurique H_2SO_4 . On ajoute avec de petites quantités (3,25 mg, 20 mmol) de 6-nitroindazole tout en maintenant la température de la solution entre 0 °C et 5 °C à l'aide d'un bain de glace. Lorsque l'addition est terminée le mélange est abandonné sous agitation à température ambiante pendant 2h puis chauffé à 100°C à l'aide d'un bain marie pendant 3h. Après refroidissement le mélange est agité à température ambiante pendant une nuit. On y ajoute 20 ml d'eau glace, le solide formé est filtré sous vide et lavé plusieurs fois à l'eau. Le produit obtenu est recristallisé par le mélange eau/éthanol.

Aspect : Solide blanc cassé

Rdt : 90%

PF : 246-248°C

RMN 1H (DMSO- d_6) : δ 8.77 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H-Ar-7), 8.88 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H-Ar-4), 9.48 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) : δ 106, 116.4 (2CH), 126.8, 135.1, 140.8, 149.4, 156.7 (5C).

CHAPITRE II : SYNTHÈSE DES *N*-ALKYL- INDAZOLES

I- Etude bibliographique sur l'alkylation de l'indazole

I.1-Introduction

L'indazole est un système hétérocyclique aromatique qui possède dix électrons π . Comme il contient deux atomes d'azotes, l'indazole ressemble à la fois à la pyridine et au pyrrole, c'est pour cela qu'il présente une double réactivité. Le noyau indazolique présente une tautomérie qui résulte de la délocalisation du proton entre les deux atomes d'azote de l'indazole (Schéma 13)

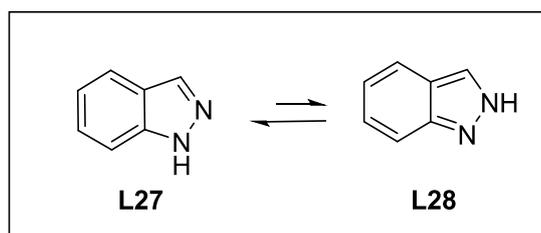


Schéma 13 : formes tautomériques de l'indazole.

Les équilibres tautomères entre 1*H*-indazole et 2*H*-indazole ont été examinées profondément par des techniques thermochimiques et photophysiques, ainsi que par des calculs théoriques. Selon ces études, le tautomère 1*H*-indazole est plus stable que le tautomère 2*H*-indazole et la différence d'énergie est la même à l'état fondamental qu'à l'état excité.⁴⁹ Les calculs théoriques ont montré que cette tendance n'a jamais été inversée par effet de solvants, comme l'eau ou l'acide formique. Les résultats théoriques et expérimentaux ont montré que le 1-méthylindazole est de 3,2 kcal mol⁻¹ plus stable que 2- méthylindazole. Ce qui permet de conclure que 1*H*-indazole devrait être le tautomère prédominant.⁵⁰

⁴⁹ Catalán, J., Valle, J. C., Claramunt, R. M., Boyer, G., Laynez, J., Gómez, J., Jiménez, P., Tomás, F., Elguero, J. *Journal of Phys. Chem.*, **1994**, *41*, 10606-10612

⁵⁰ (a) Escande, A., Lapasset, J., Faure, R., Vicenta, E.-J., Elguero, *Journal of Tetrahedron*, **1974**, *30*, 2903-2909,

(b) Faure, R., Vicent, E. J., Elguero, J. et al. *Journal of Org Magn Reson*, **1978**, *1* 1:617-627 781.

I.2-Préparation de dérivés *N*-alkylés et *N*-arylés

En 1924 Karl Van Auwer, a rapporté que l'alkylation de l'indazole peut donner les isomères *N1*- ou *N2*- ou le mélange des deux. Le déroulement de la réaction dépend à la fois des conditions expérimentales de la réaction et de la nature de l'agent alkylant. Une étude bibliographique a montré que les relations de tautomérisation sont très compliquées, et il n'est pas encore possible d'établir avec certitude des causes d'un tel résultat.^{51,52}

I.3- L'alkylation de l'indazole

La littérature rapporte un certain nombre de travaux concernant l'alkylation de l'indazole⁵³ Cette séquence permettant de conduire aux produits *N1*-alkylé et /ou *N2*-alkylé, (Schéma 14) il a été démontré que la réaction dépend tant des conditions expérimentales que la nature de l'halogénure d'alkyle utilisé.

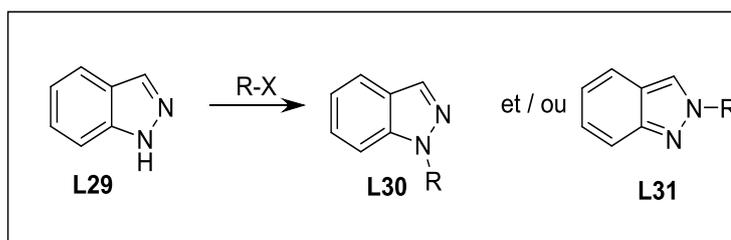


Schéma 14 : Alkylation de l'indazole

L'effet de la température sur le rapport des produits régioisomères n'est pas clair.

⁵¹ Catalán, J., Paz, J. L. G., Elguero, J. *Journal of Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1996**, 57-60.

⁵² Jaffari, G.A., Nunn, A.J. *Journal of Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1973**, 2371-2374.

⁵³ K. V. Auwers, F. V. Meyenburg. *Chem. Ber.* **1891**, 24, 2370.

L'équipe de Van Auwer⁵⁴ a indiqué que la réaction entre d'indazole et l'iodure d'éthyle conduit à un mélange de produits avec des fractions suivantes et à chaque température voir le **Tableau 2**. Lorsque la réaction a été effectuée en présence d'une base aqueuse, les deux régio-isomères se forment en proportions variables en fonction de l'halogénure d'alkyle utilisé. Il n'y avait pas un mécanisme qui peut interpréter ces observations.

Tableau 2 : Effet de la température sur les proportions des N-alkylindazoles

T (°C)	Proportion N1/ N2
37	94/6
50	76/24
100	50/50

Un groupe de chercheurs⁴⁷ a rapporté la méthylation de l'indazole en utilisant divers agents alkylants. La régiosélectivité était dépendante de la nature de l'agent alkylant. Un travail ultérieur décrit la méthylation de l'indazole en utilisant du sulfate de diméthyle en présence d'hydroxyde de potassium qui donne un mélange équitable des deux isomères.^{55,56} Une synthèse efficace et régiosélective de 2-méthyle et 2-éthyl-indazoles substitués est décrite par Stafford et al⁵⁷ l'utilisation de tétrafluoroborate de triméthylxonium [(CH₃)₃O+BF₄⁻] comme agent alkylant permet d'obtenir exclusivement l'isomère CH₃-2H-indazole avec un rendement de 93% à température ambiante. Cette approche s'est révélée être applicable pour

⁵⁴ a) A. Stafford, M. Cheung, A. Bloor. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 4093. b) S. Gamage, J. A. Spicer, G. W. Rewcastle, J. Milton, S. Sohal, W. Dangerfield, P. Mistry, N. Vicker, P. A. Charlton, W. A. Denny. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 740. c) A. Vasudevan, A. J. Souers, J. C. Freeman, M. K. Verzal, J. Gao, M. M. Mulhern, D. Wodka, J. K. Lynch, K. M. Engstrom, S. H. Wagaw, S. Brodjian, B. Dayton, D. H. Falls, E. Bush, M. Brune, R. D. Shapiro, K. C. Marsh, L. E. Hernandez, C. A. Collins, P. R. Kym, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 5293. d) H. C. Zhang, C. K. Derian, D. F. McComsey, K. B. White, H. Ye, L. R. Hecker, J. Li, M. F. Addo, D. Croll, A. J. Eckardt, C. E. Smith, Q. Li, W. M. Cheung, B. R. Conway, S. Emanuel, K. T. Demarest, P. Andrade-Gordon, B. P. Damiano, B. E. Maryanoff, *J. Med. Chem.* **2005**

⁵⁵ Morel, S., Boyer, G., Couillet, F., Galy, J.-P. *Journal of Synth. Commun.*, **1996** 26, 2443-2447.

⁵⁶ Boyer, G., Galy, J.P., Barbe, J., *Journal of Hétérocycles*, **1995**, 41, 487-496

⁵⁷ Cheung, M., Bloor, A., Staffiord, J.A., *Journal of Org. Chem.*, **2003**, 68, 4093-4095 40

les dérivés d'indazole qui portent des groupements attracteurs d'électrons et des groupements donateurs d'électrons.

L'arylation des indazoles est plus difficile en raison de la diminution de l'électrophilie du groupement aryle. Indépendamment de l'approche, le problème de la régiosélectivité s'applique à des réactions d'arylation aussi. L'utilisation de *p*-tolylle triacétate **L32** (Figure 11). En présence de diacétate de cuivre donne un mélange des deux isomères *1H*-tolylindazole et *2H*-tolylindazoles⁵⁸ avec des proportions 66% et 33% respectivement.

Tandis que le *p*-tolylboronique **L31** en présence de diacétate de cuivre et de pyridine aboutit à un mélange d'isomères dont les proportions sont 82%, 18% de *1H*-*2H*.⁵⁹ respectivement. Finet et al⁶⁰ ont rapporté la formation de *1H*-phenylindazoles et *2H*-phenylindazoles avec un rapport équitable dans le diacétate de triphénylbismuth en présence d'une quantité catalytique d'acétate de cuivre et de tétraméthylguanidine comme base (Figure11).

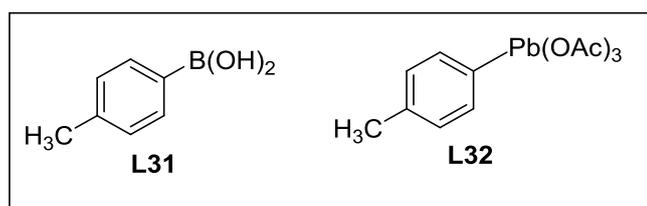


Figure 11: Réactifs pour arylation de l'indazole

Bien que divers modes d'arylation et d'alkylation de l'indazole sont rapportés dans la littérature, il y'a toujours un défi pour atteindre la synthèse régiosélective efficace de l'un des isomères par rapport à l'autre.

La protection de l'indazole en position *N*₁ ou *N*₂ par différents substituants confère à ce dernier des activités biologiques très intéressantes (Cf. Introduction). La réaction d'alkylation est une des méthodes qui permet la préparation de nouveaux dérivés de l'indazole substitués en position 1 et 2 par des groupements pharmacophores très importants. Vue l'importance de

⁵⁸ Lopez-Alvarado, P., Avendano, C., Menendez, J.C., *Journal of Org. Chem.*, **1993**, 60, 5678-5682

⁵⁹ Lam, P.Y.S., Clark, C.G., Saubern, S., Adams, J., Winters, M.P., Chan, D.M.T., Combs, A., *Journal of Tett. Lett.*, **1998**, 39, 2941-2944

⁶⁰ Federov, A.Y., Finet, J.-P., *Journal of Tett. Lett.*, **1999**, 40, 2747-2748

l'alkylation de l'indazole dans la synthèse des molécules biologiquement actives, nous avons réalisé cette alkylation avec plusieurs halogénures d'alkyle, afin de pouvoir comparer l'influence de différents substituants sur l'activité pharmacologique de nos molécules.

II- Alkylation des nitroindazoles

II.1- Alkylation de 6-nitroindazole

Les 6-nitroindazoles *N*-alkylés (**5-8**) ont été obtenus par simple réaction d'alkylation de composé **1** 6-nitro-1*H*-indazole avec 3-bromopropionate d'éthyle et dibromoéthane dans l'acétone à 0° C et en présence d'hydroxyde de potassium comme base (Schémas 15 et 16).

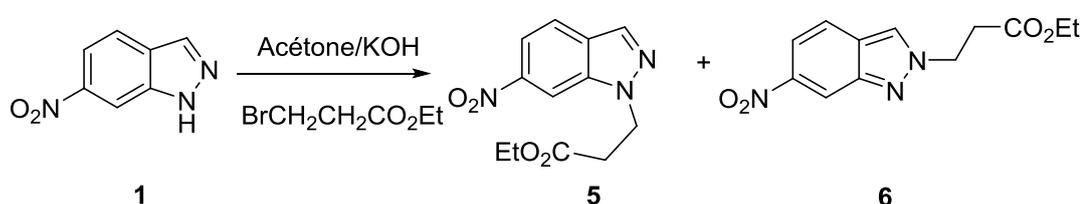


Schéma 15 : Alkylation de 6-Nitro-1*H*-Indazole

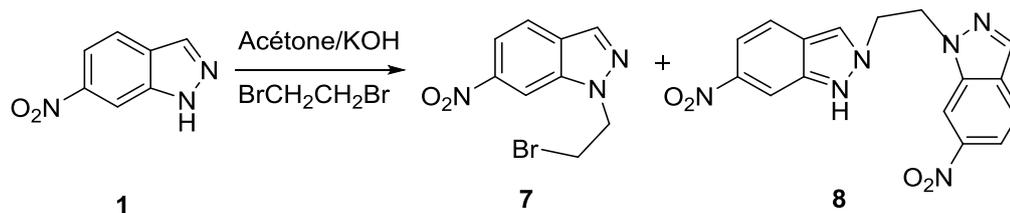


Schéma 16 : Alkylation de 6-Nitro-1*H*-Indazole

Les structures des dérivés *N*-alkylés (**5-8**) sont confirmées par des données spectrales RMN¹H et ¹³C.

II. 2-Alkylation de 5,6-dinitro-1*H*-indazole

II.2.1- Alkylation avec le bromure d'allyle

Pour favoriser la *NI*-alkylation de 5,6-dinitroindazole, nous avons travaillé dans les conditions de la catalyse par transfert de phase solide-liquide en utilisant le t-BuOK comme base et en refroidissant la solution à -10°C (Schéma17).

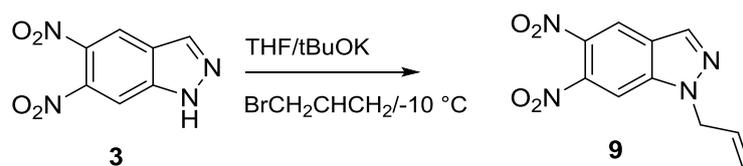


Schéma 17 : Alkylation de 5,6-dinitro-1H-Indazole

:

La structure du composé **9** (1-allyl-5,6-dinitro-1H-indazole) est identifiée sur la base des données spectrales RMN ^1H et ^{13}C .

II.2.2- Alkylation avec iodure de méthyle et chlorure de benzyle.

Les dérivés *N*-alkylés **10-13** sont obtenus par simple alkylation de 5,6-dinitroindazole **3** avec l'iodure de méthyle et le chlorure de benzyle dans l'acétone et en présence de carbonate de potassium comme base (Schéma 18).

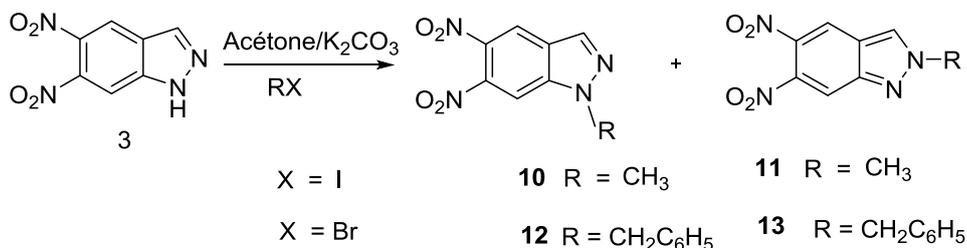


Schéma 18 : Alkylation de 5,6-dinitro-1H-Indazole

Les structures des dérivés *N*-alkylés sont justifiées par les données spectrales RMN ^1H et ^{13}C .

II.3- Alkylation de 3, 5,6-trinitroindazole

Les 3,5,6-trinitroindazoles *N*-alkylés (**14-16**) sont obtenus par simple alkylation de 3, 5,6-trinitroindazole **4** avec le bromure d'allyle, l'iodure d'éthyle et l'iodure de méthyle dans l'acétone et en présence de l'hydroxyde de potassium comme base (schéma 19).

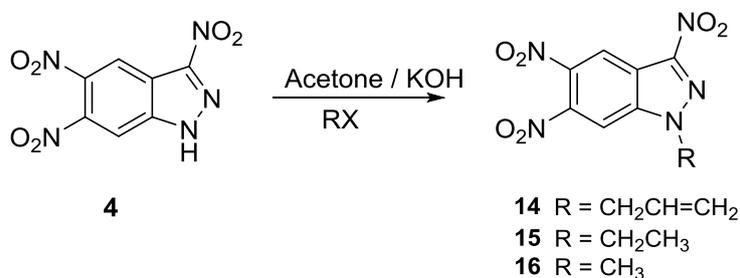


Schéma 19 : Alkylation de 3, 5,6-trinitroindazole

Les structures des dérivés *N*-alkylés (**14-16**) sont identifiées sur la base des données spectrales RMN¹H et ¹³C.

III : Halogénéation des nitroindazoles :

III.1- Préparation de 3-Bromo-6-nitro-1*H*-indazole

La réaction de bromation du 6-nitroindazole **1** a été réalisée au moyen de *N*-bromosuccinimide NBS à reflux dans l'acétonitrile CH₃CN pendant 1h30 pour générer le 3-bromo-6-nitroindazole **17** avec un bon rendement (Schéma 20).

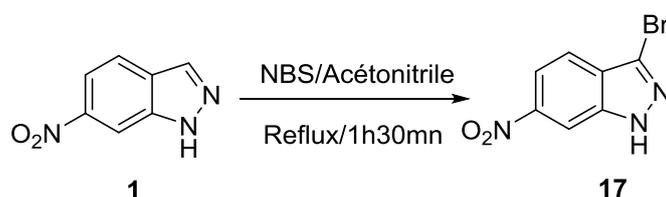


Schéma 20 : Bromation du 6-nitroindazole

Le spectre RMN¹H du composé **17**, pris dans le DMSO-d₆, montre l'absence du pic dû au proton pyrazolique, cela veut dire que l'halogénéation a été faite en position 3 de l'indazole.

III.2- Halogénéation de 5,6-dinitroindazole.

La réaction de chloration du 5,6-dinitroindazole **4** a été réalisée à l'aide de *N*-Chloro succinimide (NCS) à reflux dans l'acétonitrile pendant 3 heures pour accéder au 3-chloro-5,6-dinitro-1*H*-indazole **18** (Schéma 21).

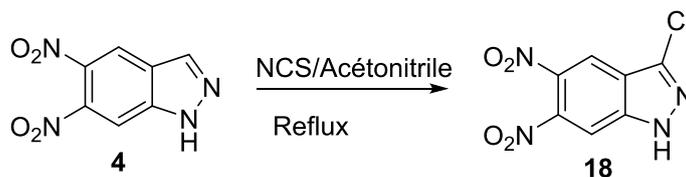


Schéma 21 : Chloration du 5,6-dinitroindazole

D'après le spectre RMN¹H du composé **18** (3-chloro-5,6-dinitro-1*H*-indazole) nous remarquons l'absence du pic attribuable au proton pyrazolique, ce qui montre bien que l'halogénéation a été accomplie en position 3 de l'indazole.

IV. condensation des nitroindazoles avec des aldehydes :

IV.1- Préparation de 1-(6-Nitro-1*H*-indazol-1-yl)-éthanol

La réaction de condensation du 6-nitroindazole **1** avec l'acétaldéhyde, dans le méthanol sous agitation à température ambiante, pendant 12h à conduit au composé **19** avec un rendement de 58% (Schéma 22).

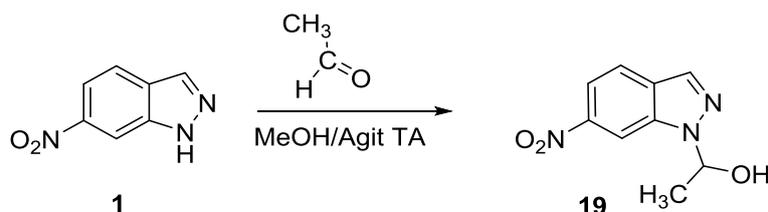


Schéma 22 : Préparation de 1-(6-Nitro-1*H*-indazol-1-yl)-éthanol

Suivant le spectre RMN ¹H du composé **19**, pris dans le CDCl₃, nous avons noté en outre les signaux dus aux protons indazolique, un doublet à 1,59 ppm qui correspond au groupe méthyle, un singulet à 3,70 ppm correspond au proton du groupe hydroxyle et un signal à 5,65 ppm attribuable aux protons du groupe méthylène N-CH-OH.

IV.2- Préparation de (5,6-dinitro-1*H*-indazol-1-yl) méthanol

La réaction de condensation de 5,6- dinitro-1*H*-indazole **3** avec le formaldéhyde, dans le THF sous agitation à température ambiante, pendant 48h conduit au composé **20** avec un rendement de 85% (Schéma 23).

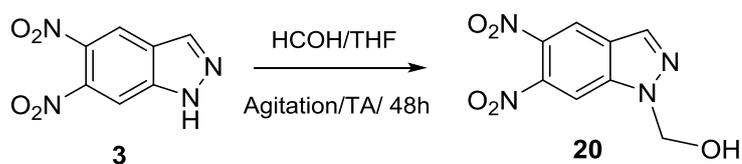


Schéma 23 : Préparation de (5,6-dinitro-1*H*-indazol-1-yl) méthanol

D'après le spectre RMN ¹H du composé **20** pris dans le DMSO-d₆, nous avons noté en particulier la présence d'un signal à 4,10 ppm imputable au proton du groupement hydroxyle (OH) et un signal à 5,85 ppm correspondant aux protons de méthylène N-CH₂-OH.

IV.3- Préparation de 1-(3, 5, 6-trinitro-1*H*-indazol-1-yl) éthanol

L'action de l'acétaldéhyde sur le 3,5,6-trinitroindazole **4** dans l'acétone sous agitation à température ambiante a conduit au 1-(3,5,6-trinitro-1*H*-indazol-1-yl) éthanol **21** avec un rendement de 68% (schéma 24).

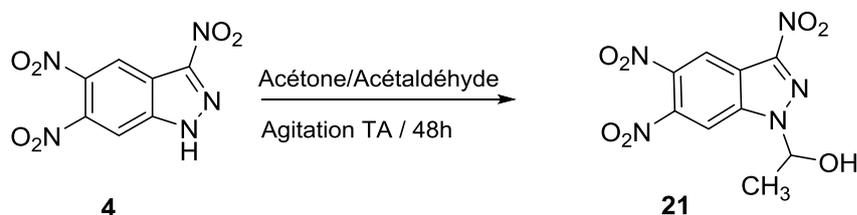


Schéma 24 : Préparation de 1-(3, 5, 6-trinitro-1*H*-indazol-1-yl) éthanol

Le spectre RMN¹H du composé **21** pris dans le DMSO-d₆ montre la présence d'un doublet à 1,75 ppm qui correspond aux protons du groupe méthyle, un quadruplet à 5,65 ppm attribuable aux protons du groupe méthylène et un signal à 3,70 ppm dû au proton du groupe hydroxyle.

V-CONCLUSION

Dans cette partie d'alkylation, nous avons remarqué que la *N*-alkylation de 6-nitro-1*H*-indazole et de 5,6-dinitro-1*H*-indazole se fait généralement sur les deux azotes *N*₁ et *N*₂ de l'indazole par contre pour le 3,5,6-trinitroindazole, l'alkylation a été faite sur *N*₁ et cela est dû à l'encombrement stérique de groupement Nitro (NO₂) en position 3 de l'indazole. Dans la dernière partie de ce chapitre nous avons synthétisé de nouveaux dérivés indazoliques contenant la fonction alcool dans le but d'augmenter l'activité pharmacologique et permettre après de réaliser d'autres substitutions sur la fonction alcool.

VI-PRÉPARATION DES DÉRIVÉS DE MANNICH

VI.1-INTRODUCTION

La réaction de Mannich est une méthode classique de préparation de β aminocétone (appelés bases de Mannich). Ces dernières sont obtenues à partir d'un composé carbonyle énolisable, en présence d'un aldéhyde et d'une amine. Elle est à ce titre une réaction fondamentale en chimie organique.

Néanmoins, sous sa forme originale, cette réaction présente beaucoup d'inconvénients. Cependant de nombreuses variantes ont ainsi été développées.⁶¹ Parallèlement, une large gamme de nucléophiles autres que les composés carbonylés comme les nitroalcanes, les alcynes vrais, les boranes vinyliques ou autre a été introduite.

Afin de mieux appréhender l'intérêt synthétique de notre travail, nous présenterons d'abord la réaction de Mannich en général, puis la réactivité des hydrazones en insistant particulièrement sur leur caractère nucléophile.

VI.2-GENERALITES

C'est Karl Mannich qui, au 19^{ème} siècle, a mis en évidence l'importance de la réaction d'aminométhylation de composés ayant un hydrogène labile (Schéma 25).

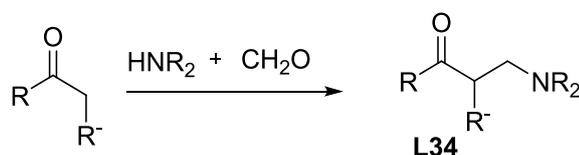


Schéma 25 : Réaction de mannich

En série imidazo [1,2-*a*]pyridine, la réaction de Mannich a été appliquée pour la première fois par Lambardino en 1965 (Schéma 26).⁶²

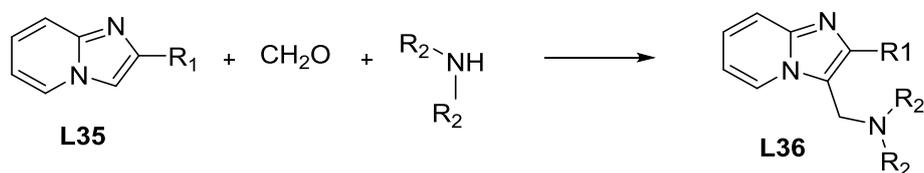


Schéma 26 : Réaction de mannich sur les imidazo [1,2-*a*]pyridine.

⁶¹ Arend, M., Westermann, B., Risch, N. *Angew. Chem. Int.*, **1998**, Ed. 37, 1044- 1070 ,

⁶² Joseph, G., Lambardino., *Med. Research laboratories*, Chas P. Fizer et ca, Inc, Groton, Connecticut. **1965**.

La réaction de Mannich implique plusieurs équilibres acido-basiques. Comme la condensation aldolique, le succès de la réaction de Mannich dépend des nucléophiles et des électrophiles, qui se forment dans le mélange réactionnel en même temps. Le schéma 25 montre le mécanisme de la réaction de condensation de la diméthylamine, de formaldéhyde et de l'acétone.⁶³

Le plus souvent, les nucléophiles utilisés sont des aldéhydes ou des cétones énolisables. Dans la version la plus répandue de la réaction, le composé carbonyle est chauffé en présence de formaldéhyde et d'amine, ceci est sous forme de son chlorure d'ammonium, dans un solvant protique. Ainsi les équilibres suivants sont mis en jeu (Schéma 27).

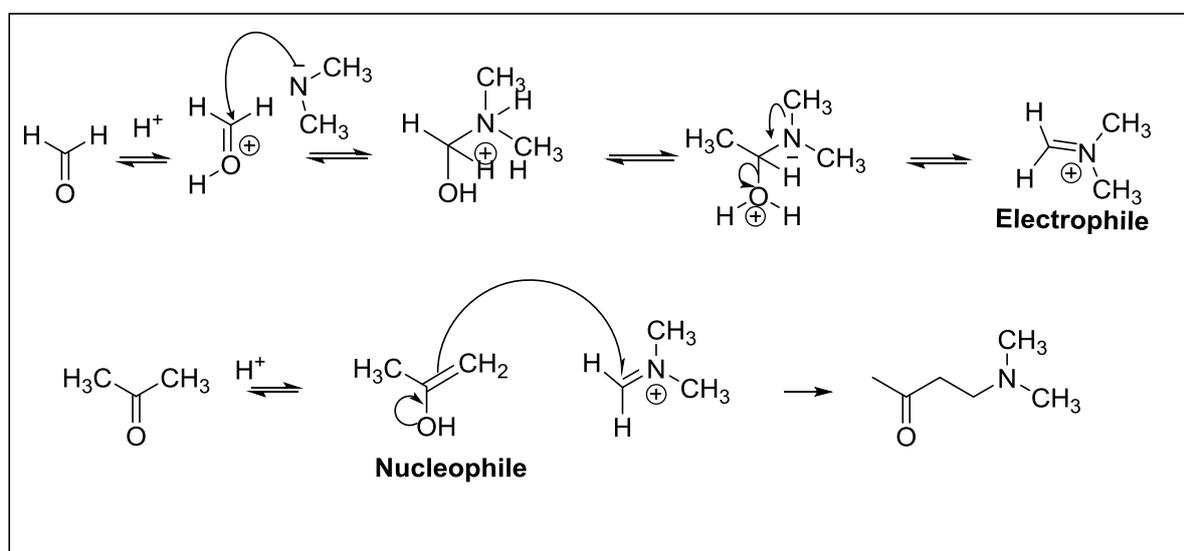


Schéma 27 : Mécanisme de réaction de Mannich.

VI.3-Les nouvelles méthodes de synthèse des bases de Mannich

De nombreuses variantes de la réaction de Mannich ont été développées. Elles sont essentiellement fondées sur l'utilisation d'électrophiles de sels d'iminiums ou d'imines, ou de nucléophiles : les énolates, les éthers d'énols, les énamines, qui sont plus réactifs. Ces

⁶³ Stankovicova H, Fabian W.M.F, Lacova M. *Molecules*, 1, 223-235, 1996

méthodes permettent, en principe, d'éviter la plupart des inconvénients de la réaction "one-pot" classique.⁵⁶

Leur intérêt est de permettre l'obtention des bases de Mannich, dans le milieu d'une plus grande concentration en électrophile, et donc de diminuer à la fois la température et le temps de réaction. Nous nous affranchissons ainsi d'une partie des inconvénients cités au paravant dans ce chapitre.

La réaction s'est révélée utile pour la préparation des aldéhydes à partir d'amines et des halogénures. Ainsi différents types d'hétérocycliques, des aldéhydes et des amines ont été préparés

Dans la littérature des auteurs ont fait réagir l'hexaméthylène tétramine sur le 2-chlorométhylimidazo[1,2-a]pyridine à reflux dans le chloroforme, suivi d'un hydrolyse du sel intermédiaire, pour obtenir la 2-formylimidazo[1,2-a]pyridine L39 avec un faible rendement (Schéma 28).⁶⁴

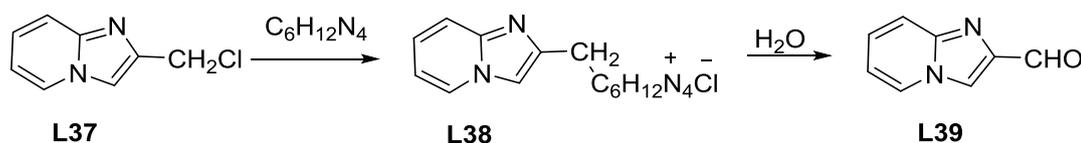


Schéma 28 : Synthèse de 2-formylimidazo [1,2-a]pyridine

Tandis que S. Vinoth Kumar et al.⁶⁵ ont synthétisé une série de bases Mannich dérivés du benzimidazole [5 (A-G) a, b], via La condensation de l'orthophénylènediamine (OPDA) et d'acides tels que l'acide formique, l'acide acétique, l'acide benzoïque, l'acide salicylique, l'acide sulfosalicylique, l'acide oxalique et l'acide phtalique avec les dérivés de benzimidazole 3 (A-G) avec de bons rendements (Schéma 29).

⁶⁴ Saleh. b., Synthèse et pyrrolisation de nouveaux hétérocycles dérivés de l'imidazo[1,2-a]pyridine *Thèse de magister de l'IAP.2001.*

⁶⁵ S. Vinoth Kumar et al. / *Journal of Young Pharmacists* 154-159. 5 (2013)

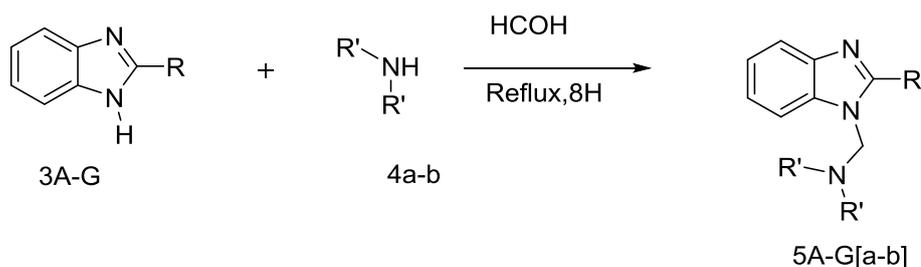


Schéma 29 : Réaction de Mannich avec les benzimidazoles

Tableau 3 : Préparation des dérivés de Benzimidazole substitué en position 2 d'Ortho phénylène diamine

Composés	R	R'
5A-a	H	CH ₃
5A-b	H	C ₂ H ₅
5B-a	CH ₃	CH ₃
5B-b	CH ₃	C ₂ H ₅
5C-a	C ₆ H ₅	CH ₃
5C-b	C ₆ H ₅	C ₂ H ₅
5D-a	C ₆ H ₄ [2-OH]	CH ₃
5D-b	C ₆ H ₄ [2-OH]	C ₂ H ₅
5E-a	C ₆ H ₃ [2-OH][SO ₂ OH]	CH ₃
5E-b	C ₆ H ₃ [2-OH][SO ₂ OH]	C ₂ H ₅
5F-a	COOH	CH ₃
5F-b	COOH	C ₂ H ₅
5G-a	C ₆ H ₄ [2-COOH]	CH ₃
5G-b	C ₆ H ₄ [2-COOH]	C ₂ H ₅

Cependant, nous l'avons signalé en introduction, que cette réaction rencontre de nombreuses limitations :

- Des temps de réaction prolongés conduisent à la formation de produits secondaires indésirables par élimination de l'amine suivie d'une attaque d'un second énol ;
- Dans le cas d'utilisation d'une amine primaire, il y a risque de poly-Aminométhylation ;
- Dans le cas des carbonyles possédant des hydrogènes en alpha, des polyadditions

peuvent survenir ;

- Pour les méthylènes cétones substitués (Figure 12), la régiosélectivité de la formation de l'énol dépend très fortement des conditions réactionnelles, elle est donc difficilement contrôlable;⁶⁶

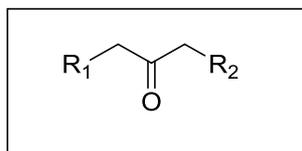


Figure 12 : cétone ayant deux hydrogènes en alpha.

- les aldéhydes et cétones sont réactifs, pas les acides carboxyliques ou leurs dérivés ;
- Enfin, dans la version 'multicomposants' (mélange d'une cétone, d'un aldéhyde et d'une amine) de la réaction il n'est souvent pas possible de réaliser des synthèses énantiosélectives : la plupart des adduits de Mannich utilisés comme principes actifs de médicaments sont donc des racémiques, ce qui n'est plus toléré.

Dans notre cas, nous allons utiliser les nitroindazoles comme des nucléophiles dissous dans le méthanol, en présence du formaldéhyde et de l'amine secondaire.

VII -Préparation des dérivés de Mannich

VII.1- Préparation des dérivés de Mannich 22a-c

L'action des bases **1** et **17** sur le formaldéhyde mélangé avec l'amine secondaire dans le méthanol sous agitation à température ambiante pendant 24h a permis d'obtenir les composés **22a-c** avec de bons rendements (Schéma 30).

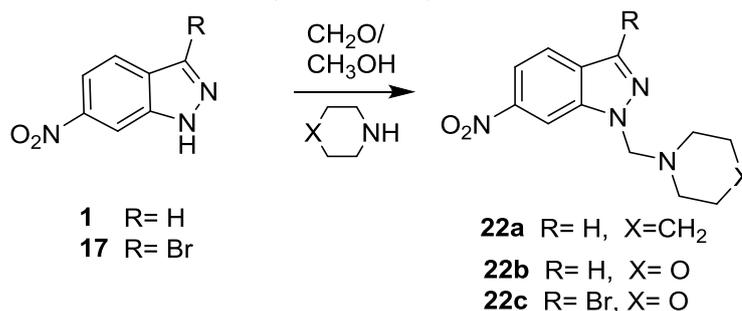


Schéma 30 : Préparation des dérivés de Mannich de 6-nitro-1H-indazolé 22a-c

⁶⁶Arend, M., Westermann, B., Risch, N. *Angew. Chem. Int. Ed.* 37, **1998**, 1044-1070.

Les structures des composés **22a-c** ont été établies à partir des données spectrales RMN ^1H et ^{13}C . Le spectre RMN ^1H des composés **22a-c**, pris dans CDCl_3 , présente outre les signaux dus aux protons indazolique, la présence des signaux caractéristiques des protons de la morpholine et/ou pipéridine et un signal à 5,20-5,29 ppm attribuable aux protons du groupe méthylène (NCH_2N).

VII.2- Préparation des dérivés de Mannich **23** et **24**

L'action du composé **3** sur le formaldéhyde, mélangé avec l'amine secondaire dans le THF sous agitation à température ambiante pendant deux jours a permis d'obtenir les composés **23** et **24** avec de bons rendements (Schéma 31).

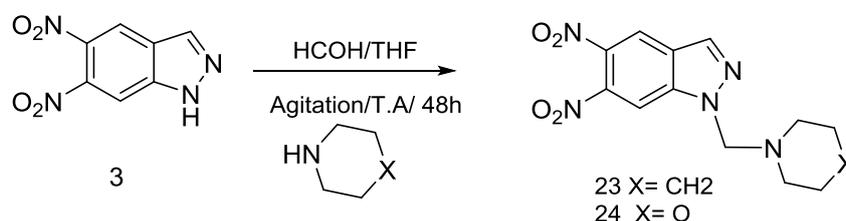


Schéma 31 : Préparation des dérivés de Mannich de 5,6-dinitro-1*H*-indazole 23-24

Les structures des composés **23** et **24** ont été établies à partir des données spectrales RMN ^1H et ^{13}C . Le spectre RMN ^1H des composés **23** et **24**, présente outre les signaux dus aux protons indazoliques, la présence des signaux caractéristiques des protons de la morpholine et/ou pipéridine et un signal attribuable aux protons du groupe méthylène ($\text{N-CH}_2\text{N}$).

VII.3- Préparation de 1-(morpholinométhyl)-3,5,6-trinitro-1*H*-indazole

La réaction de condensation du formaldéhyde du 3,5,6-trinitroindazole et du morpholine dans le méthanol à température ambiante nous a permis d'isoler le produit de Mannich **25** avec un rendement quantitatif (Schéma 32)

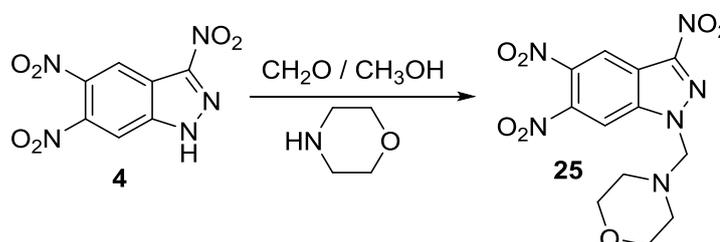


Schéma 32 : Préparation de dérivé de Mannich de 3,5,6-trinitro-1*H*-indazole

Le spectre RMN ^1H du composé **25** pris dans le DMSO-d_6 , présente outre les signaux caractéristiques des protons indazolique et des protons de la morpholine, un signal à 5,80 ppm dû aux protons du groupe méthylène ($\text{NH-CH}_2\text{-NH}$).

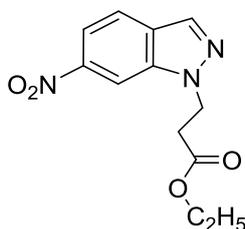
VIII- Conclusion

Nous avons synthétisé une nouvelle série de molécules dérivées de 6-nitroindazole. Ayant une liaison (N-**CH₂**-N) pour accéder à ces composés, nous avons mis au point différentes stratégies permettant la fonctionnalisation de différentes positions des motifs 6-nitroindazole. Ces stratégies font appel à des réactions d'halogénéation, et des réactions de condensation de type Mannich.

Partie Expérimentale

Mode opératoire général de la synthèse des *N*-alkyl-6-nitroindazoles

Ethyl 3-(6-nitro-1*H*-indazol-1-yl) propanoate (5)



C₁₂H₁₃N₃O₄
MM: 263,25

Mode opératoire

(1.6 g, 6.13 mmole) de 6-nitroindazole sont dissouts dans 15 ml de d'acétone, 9,2 mmole d'hydroxyde de potassium sont ajoutés. Après 15 min d'agitation à température ambiante, 6,13 mmole de l'agent alkylant sont ajoutés goutte à goutte. Le mélange est laissé sous agitation à la température ambiante pendant trois jours. Après évaporation du solvant sous pression réduite, le précipité brut obtenu est dissous dans 50 ml de l'acétate d'éthyle, lavé avec de l'eau puis séché par le sulfate de magnésium. Le solvant est évaporé sous pression réduite et les deux isomères obtenus sont séparés par chromatographi sur gel de silice.

Éluant : AcOEt/hexane (3/7).

Aspect : Solide jaune

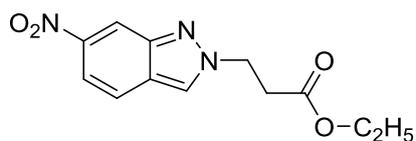
Rdt : 60 %

Pf : 54°C.

RMN¹H (CDCl₃): δ 1.20 (t, 3H, CH₃, *J* = 7.2 Hz), 3.05 (t, 2H, CH₂, *J* = 6.4 Hz), 4.11 (q, 2H, CH₂O, *J* = 7.2 Hz), 4.77 (t, 2H, NCH₂, *J* = 6.4 Hz), 7.83 (d, 1H, *J* = 8.7 Hz), 8.04 (dd, 1H, *J* = 8.7 Hz, 1.8 Hz), 8.15 (s, 1H), 8.51 (d, 1H, *J* = 1.8 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 14.3 (CH₃), 34.4 (CH₂), 44.8 (NCH₂), 60.6 (CH₂O), 107.6 (CH), 115.4 (CH), 122.6 (CH), 126.9 (C), 134.4 (CH-3), 138.6 (C), 146.3 (C), 171.2 (CO).

Ethyl 3-(6-nitro-2*H*-indazol-2-yl)propanoate (6)



$C_{12}H_{13}N_3O_4$

MM: 263,25

Mode opératoire

Le même mode opératoire appliqué au produit Éthyle 3-(6-nitro-2*H*-indazol-2-yl) propanoate (6) que celui de produit Éthyle 3-(6-nitro-1*H*-indazol-1-yl)propanoate (5).

Éluant : AcOEt/hexane (3/7).

Aspect : Solide jaune orange

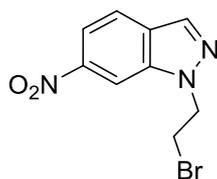
Rdt : 34%

PF : 69 °C.

RMN¹H(CDCl₃): δ 1.20 (t, 3H, CH₃, $J = 7.2$ Hz), 3.09 (t, 2H, CH₂, $J = 6.4$ Hz), 4.14 (q, 2H, CH₂O, $J = 7.2$ Hz), 4.78 (t, 2H, NCH₂, $J = 6.4$ Hz), 7.73 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz), 7.88 (dd, 1H, $J = 9.0$ Hz, 1.2 Hz), 8.15 (s, 1H), 8.65 (d, 1H, $J = 1.2$ Hz).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 14.1 (CH₃), 34.6 (CH₂), 49.6 (NCH₂), 61.2 (CH₂O), 115.4 (CH), 115.8 (CH), 121.6 (CH), 124.1 (C), 124.9 (CH-3), 146.7 (C), 146.9 (C), 170.6 (CO).

1-(2-Bromoethyl)-6-nitro-1*H*-indazole (7)



C₉H₈BrN₃O₂
MM : 270,09 g/mol

Mode opératoire

Le même mode opératoire appliqué au produit Éthyle 3-(6-nitro-2*H*-indazol-2-yl) propanoate (7) que celui de produit Éthyle 3-(6-nitro-1*H*-indazol-1-yl)propanoate (5).

Éluant : AcOEt/hexane (3/7).

Aspect : Solide jaune.

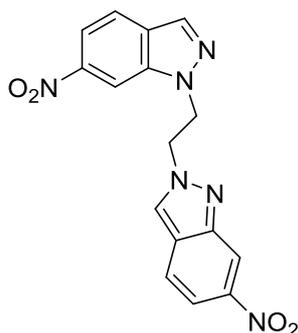
Rdt: 40%

PF: 217 °C.

RMN¹H (CDCl₃): δ 3.78 (t, 2H, CH₂Br, *J* = 7.1 Hz), 4.21 (t, 2H, CH₂N, *J* = 7.1 Hz), 8.18 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz), 8.13 (dd, 1H, *J* = 7.5 Hz), 8.15 (s, 1H), 8.53 (d, 1H, *J* = 1.2 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 58.1 (NCH₂), 29.8 (CH₂Br), 106.5 (CH), 115.5 (CH), 121.2 (CH), 132.8 (CH), 130.4 (C), 140.8 (C), 147.6 (C)

6-Nitro-2-(2-(6-nitro-1H-indazol-1-yl) éthyl)-2H-indazole (8)



C₁₆H₁₂N₆O₄
MW: 352,31 g/mol

Mode opératoire

Le même mode opératoire appliqué au produit Éthyle 3-(6-nitro-2H-indazol-2-yl) propanoate (8) que celui de produit Éthyle 3-(6-nitro-1H-indazol-1-yl)propanoate (5).

Éluant : AcOEt/hexane (2/8).

Aspect : Solide jaune.

Rdt: 70%

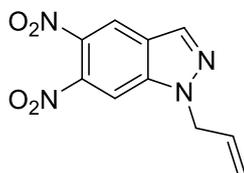
PF: 96°C.

RMN¹H (CDCl₃): δ 4.23 (t, 4H, CH₂N, *J* = 7.3, Hz), 8.15 (d, 1H, H-3 *J* = 2.5Hz), 8.03 (d, 1H, H-3, *J* = 2.5Hz), 8.18 (dd, 1H, H-4, *J* = 2.5, *J* = 8.5HZ), 8,13 (dd, 1H, H-5, *J* = 2.5, *J* = 8.5HZ) 8,53 (d, 1H,H-7 , *J* = 2.5 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 54.1 (NCH₂), 58.6 (CH₂N), 106.4(CH) 114.5 (CH), 115.5 (2CH), 119.6 (CH), 121.2 (2CH), 132.9 (CH), 128 (C), 130.5(C), 140.6(C), 150.4(C), 147. 6 (2C).

Préparation de 1-allyl-5,6-dinitro-1H-indazole

1-Allyl-5,6-dinitro-1H-indazole (9)



$C_{10}H_8N_4O_4$
MM: 248,20 g/mol

Mode opératoire

(2.38, 9.6 mmole) de 5,6-dinitroindazole sont dissoutes dans 30 ml de THF et refroidis à -10 °C, 10.56 mmole de tertio-butanolate de potassium sont ajoutées. Après 15 min d'agitation à -10 °C, 9.6 mmole de bromure d'allyle sont ajoutés goutte à goutte. Après 24h d'agitation sous la température ambiante, le mélange a été concentré et le solide obtenu a été lavé par de l'eau ensuite filtration sous vide, et purification par chromatographie sur gel de silice.

Éluant : AcOEt/hexane (4/6)

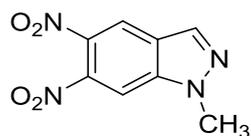
Rdt : 60%

Pf : 225 °C

RMN 1H (DMSO-*d*₆) : δ 8.52 (d, 1H, H-3, $J = 1.9$), 9.14 (d, 1H, H-5, $J = 1.9$ Hz), 8.49 (s, 1H, H-7) 4.45 (m, 2H, NCH₂), 6.00-6.10 (m, 1H, =CH), 5.16-5.28 (m, 2H, =CH₂).

RMN ^{13}C (DMSO-*d*₆): 108.5, 122.7, 133.4 (CH_{arom}), 129.2, 135.4, 140.4, 146.6 (C_{arom}) 61.3 (NCH₂), 132.00 (=CH), 118.50 (=CH₂).

.1-Methyl-5,6-dinitro-1H-indazole (10)



$C_8H_6N_4O_4$
MM: 222,16 g/mol

Mode opératoire général de la synthèse des N-alkyl-5,6-dinitroindazoles

(10 mmol, 2.08 g) de 5,6-dinitroindazole est dissout dans 20 ml de l'acétone pur ensuite on ajoute (15 ml, 2.07 g) de bicarbonate de potassium K_2CO_3 à $0C^\circ$ après un quart d'heure on ajoute (15 mmol) de l'agent alkylant, ensuite le mélange est laissé sous agitation sous à la température ambiante pendant 24heures. La solution est concentrée sous pression réduite et purifiée par chromatographie sur gel de silice pour obtenir les deux isomères.

Éluant : AcOEt/hexane (3,5/6,5)

Aspect : Solide jaune

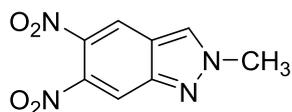
Pf: $200^\circ C$.

Rdt: 60%

RMN 1H (DMSO- d_6): δ 4.53 (s, 3H, NCH₃), 8.45 (1H, s), 8.56 (1H, s), 8.84 (1H, s),

RMN ^{13}C (DMSO- d_6): 109.1, 121.3, 137.2 (CHarom), 122.2, 135.8, 138.4, 141.6 (Carom)

2-Methyl-5,6-dinitro-2*H*-indazole (11)



$C_8H_6N_4O_4$
MM: 222,16 g/mol

Mode opératoire

Le même mode opératoire appliqué au produit 2-Methyl-5,6-dinitro-2*H*-indazole (11) que celui de produit Methyl-5,6-dinitro-1*H*-indazole (10).

Éluant : AcOEt/hexane (3,5/6,5).

Aspect : solide jaune

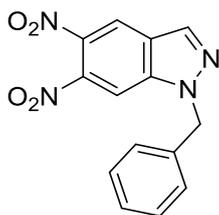
Pf : 220 °C.

Rdt : 53%

RMN ¹H (DMSO-d₆): δ 4.59 (s, 3H, NCH₃), 8.45 (1H, s), 8.56 (1H, s), 8.84 (1H, s),

RMN ¹³C (DMSO-d₆): δ 36.4 (NCH₃), 109.1, 121.3, 137.2 (CH_{arom}), 122.2, 135.8, 138.4, 141.6 (C_{arom})

1-Benzyl-5,6-dinitro-1*H*-indole (12)



$C_{14}H_{10}N_2O_4$
MM: 298,26 g/mol

Mode opératoire

Le même mode opératoire appliqué au produit 1-Benzyl-5,6-dinitro-1*H*-indole (12) que celui de produit 1-Méthyl-5,6-dinitro-1*H*-indazole (10).

Éluant : AcOEt/hexane (3/7).

Aspect : solide jaune

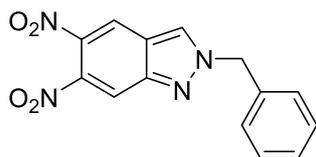
Rdt: 50 %

Pf: 160 °C.

RMN ¹H (DMSO-d₆): δ 5.49(s, 2H, NCH₂), 7.27 (dd, $J = 7.5$ Hz, 1H-phenyl) 7.37 (m, $J=7.5$ Hz 4H-phenyl, s) 8, 24 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 8.79 (1H, s), 9.04 (d.1H $J = 1.9$ Hz, s),

RMN ¹³C (DMSO-d₆): δ 57.6 CH₂N109.1, 121.3, 135.2 (CH_{arom}), 127.6[2CH] 128.6[2CH] 125.7 CH-aro, 122.2, 135.8, 128.4, 140.8, 146.6, 136.2(C_{arom})

2-Benzyl-5,6-dinitro-2*h*-indazole (13)



$C_{14}H_{10}N_4O_4$
MM: 298,26 g/mol

Mode opératoire

Le même mode opératoire appliqué au produit 2-Benzyl-5,6-dinitro-2*h*-indazole (13) que celui de produit 1-Méthyl-5,6-dinitro-1*H*-indazole (10).

Éluant : AcOEt/hexane (3/7).

Aspect : solide jaune

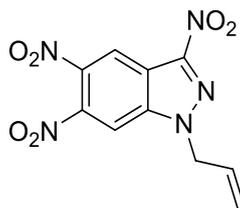
Rdt : 30 %

Pf : 170 °C.

RMN 1H (DMSO- d_6): δ 5.49(s, 2H, NCH₂), 7.27 (dd, $J = 7.5$ HZ, 1H-phenyl) 7.37 (m, $J = 7.5$ HZ 4H-phenyl, s) 8, 00 (d, $J = 1.9$ HZ, 1H), 8.79 (1H, s), 9.04 (d.1H $J = 1.9$ HZ, s),

RMN ^{13}C (DMSO- d_6): 59,6 CH₂N 108.1, 119.3, 122.2 (CH_{arom}), 127.6[2CH] 128.6[2CH] 125.7CH-aro 126.2, 135.8, 136.1, 141.4, 156.6 (C_{arom})

1-Allyl-3,5,6-trinitro-1H-indazole (14)



$C_{10}H_7N_5O_6$
MM: 293,20 g/mol

Mode opératoire

Dans un erlenmeyer le 3,5,6-trinitroindazole (0,5g, 2mmol) est dissout dans 20 ml de l'acétone pure, ensuite on le met dans un bain de glace et on ajoute du KOH broyé (2 mmol+10%, 0.113g) .après quelques minutes on a ajouté Bromure d'allyle (2 mmol+10%, 0.24g). Après 24h de l'agitation sous la température ambiante le mélange a été concentré et le solide obtenu a été lavé par de l'eau ensuite filtration sous vide, et purification par chromatographie sur gel de silice.

Éluant : AcOEt/hexane (4/6).

Aspect : solide blanc cassé.

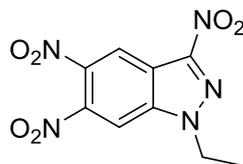
Rdt: 30%

PF: 180°C

RMN ¹H (CDCl₃): δ 5.25 (m, 1H, CH), 5.45(m, 1H, CH), 6.65 (m, 1H, CH), 8.16 (s, 1H,H-7, ArH), 8.93(s, 1H, H-4,ArH)

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 109 (CH₂=), 116.7 (CH=), 120.22, 120.61 (2CH), 121.86, 129.38, 139.52, 140.7, 143.1 (5C)

1-Ethyl-3,5,6-trinitro-1H-indazole (15)



$C_9H_7N_5O_6$
MM: 281,18 g/mol

Mode opératoire

Dans un erlenmeyer le 3,5,6-trinitroindazole (0.5g, 2mmol) est dissout dans 20 ml de l'acétone pure, ensuite on le met dans un bain de glace et on a ajouté du KOH broyé (2 mmol +10%, 0.113g). Après quelques minutes on a ajouté Iodure d'éthyle (2 mmol+10%, 0.315 g). Après 24h de l'agitation sous la température ambiante le mélange a été concentré et le solide obtenu a été lavé par de l'eau en suite filtration sous vide, et purification par chromatographie sur gel de silice .

Éluant : AcOEt/hexane (3/7).

Aspect : solide blanc cassé

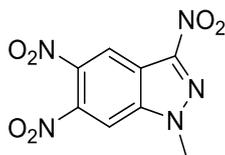
Rd: 40%

PF: 125°C

RMN 1H (dMSO- d_6): δ 1.53 (t, J = 6Hz, 3H, CH₃), 4.76 (q, J=6Hz, 2H, CH₂), 8.86 (s, 1H, H-7,ArH), 9.13(s, 1H, H-4, ArH),

RMN ^{13}C (dMSO- d_6): δ 13.5 (CH₃), 53.6 (CH₂), 106, 116.4 (2CH), 127.2, 135.1, 140.8, 146.5, 161.8 (5C).

1-Methyl-3,5,6-trinitro-1H-indazole (16)



$C_8H_5N_5O_6$
MM : 267,16 g/mol

Mode opératoire

Dans un erlenmeyer le 3,5,6-trinitroindazole (0.5g, 2mmol) est dissout dans 20 ml de l'acétone pure, ensuite on le met dans un bain de glace et on a ajouté du KOH broyé (2 mmol+10%, 0.113g). Après quelques minutes on a ajouté Iodure de méthyle (2 mmol+10%, 0.295 g). Après 12h de l'agitation sous la température ambiante le mélange a été concentré et le solide obtenu a été lavé par de l'eau en suite filtration sous vide, et purification par chromatographie sur gel de silice.

Éluant : AcOEt/hexane (4/6).

Aspect : solide blanc cassé

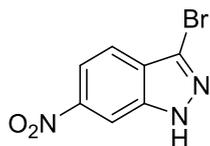
Rdt: 60%

Pf: 175 °C.

RMN 1H (dMSO- d_6): δ 4.53 (s, 3H, NCH $_3$), 8.86 (s, 1H,H-7, ArH), 9.13(s, 1H, H-4,ArH),

RMN ^{13}C (dMSO- d_6): δ 51.5 (CH $_3$), 106, 116.4 (2CH), 127.2, 135.1, 140.8, 146.5, 161.8 (5C).

3-Bromo-6-nitro-1H-indazole(17)



$C_7H_4BrN_3O_2$
M M: 242,03 g/mol

Mode opératoire

A (1g, 6.13 mmol) de 6-nitroindazole sont ajoutés 25 ml d'acétonitrile (CH_3CN) et (1.2 g, 6.74 mmol) de *N*-bromosuccinimide (NBS) Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 1h30. Après refroidissement, le solvant est évaporé et le résidu est lavé plusieurs fois à l'eau. Le produit formé est recristallisé dans le méthanol.

Aspect : solide jaune.

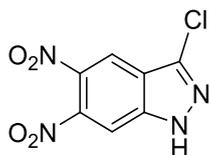
Rdt : 90% .

PF : 224-226 °C.

RMN 1H (DMSO- d_6): δ 7.91 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H); 7.99 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H); 8.50 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 14.12 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6): δ 108.1, 115.6, 122.4 (3CH), 101.1, 128.1, 138.3, 143.1 (4C).

3-Chloro-5, 6-dinitro-1H-indazole (18)



$C_7H_3ClN_4O_4$
MM: 242,58 g/mol

Mode opératoire

A (0,416g, 2mmol) de 5,6-dinitroindazole sont ajoutés 25 ml d'acétonitrile et 1.2g (2,25 mmol) de N-chlorosuccinimide (NCS) le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 3h. Après refroidissement, le solvant est évaporé et le résidu est lavé plusieurs fois à l'eau et purification par chromatographie sur colonne.

Eluant : AcOEt/H81exane (2/8)

Aspect : Solide jaune gris.

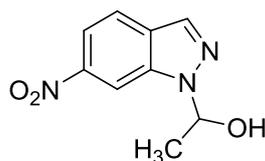
Rdt: 40%

Pf: 200C°

RMN 1H (DMSO- d_6): δ 8, 61 (1H, s), 8.9 (1H, s), 13.4 (1H, s, HN)

RMN ^{13}C (DMSO- d_6): δ 109.1, 121.3, (CH-arom), 122.2, 125.6, 135.8, 138.4, 141.6 (C-arom)

1-(6-Nitro-indazol-1-yl)-éthanol (19)



$C_9H_9N_3O_3$
MM: 207,19 g/mol

Mode opératoire

(1.27g, 6.13 mmol) de 6-nitroindazole est dissous dans 40 ml de méthanol, on ajoute 30 mmol de l'acétaldéhyde et on laisse le mélange sous agitation à température ambiante pendant 12h. Le solvant est évaporé au rotavapeur. Le résidu obtenu est mélangé avec le minimum du méthanol et agité dans un bain de glace pendant 30 mn. Le précipité formé est filtré sous vide.

Aspect : Solide jaune.

Rdt: 58 %.

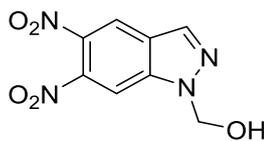
Pf: 148-150 °C.

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 1.59 (d, $J = 7.5$ Hz, 3H, CH_3), 3.70 (s, 1H, OH), 5.65 (q, $J = 7.5$ Hz, 1H, N-CH-OH), 7.85 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H-5, ArH), 8.12 (dd, $J = 8.9$ Hz, 1.8 Hz, 1H, H-4, ArH), 8.43 (s, 1H, H-pyr), 8.54 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, H-7, ArH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 17.9 (CH_3), 70.8 (OCH), 106.2, 116.7, 122.0, 134.8 (4CH), 127.2, 138.6, 145.8 (3C).

MS (EI): $m/z = 209$ (M^+).

(5,6-dinitro-1H-indazol-1-yl) methanol (20)



$C_8H_6N_4O_5$
MM: 238,16 g/mol

Mode opératoire

Dans un erlenmeyer le 5,6-trinitroindazole (0,416g, 2mmol) est dissout dans 10 ml de THF ensuite on a ajouté (4mmol, 1ml) de formaldéhyde. Le mélange a été abandonné sous l'agitation à la température ambiante pendant 48h. Après concentration du produit à sec, on a lavé les résidus jaunes avec de l'eau plusieurs fois ensuite filtration sous vide.

Aspect: Solide jaune.

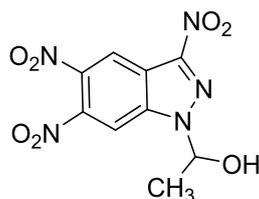
Rdt: 85 %.

Pf: 148-150 °C.

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 4.10 (s, 1H, OH), 5.85 (s, 2H, NCH_2O), 8.15 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H, H-3, H-Pyr), 8.82 (s, 1H, H-7, ArH), 9.13 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H, H-5, ArH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 72.8 (CH_2OH), 108.2, 119.7, 132.0 (3CH), 128.2, 135.6, 141.50, 147.10 (4C).

1-(3,5,6-trinitro-1H-indazol-1-yl)ethan-1-ol (21)



$C_9H_7N_5O_7$
MM : 297,18 g/mol

Mode opératoire

Dans un erlenmeyer le 3,5,6-trinitroindazole (0.5g, 2mmol) est dissout dans 10 ml de l'acétone pure ensuite on a ajouté (4mmol, 0.4 g) l'acétaldéhyde. Le mélange a été abandonné sous l'agitation à la température ambiante pendant 48h. Après concentration du produit à sec, on a lavé les résidus avec de l'eau plusieurs fois ensuite filtration sous vide

Aspect : solide blanc cassé

Rdt: 68%

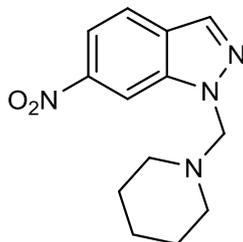
PF: 150-152°C.

RMN¹H (DMSO-d₆): δ 1.75 (d, $J = 7.5$ Hz, 3H, CH₃), 3.70 (s, 1H, OH), 5.65 (q, $J = 7.5$ Hz, 1H, OCH), 8.76 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, ArH), 9.07 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, ArH).

RMN¹³C(DMSO-d₆): δ 19 (CH₃), 82.7 (OCH), 111.6, 115.1 (2CH), 119.7, 139.1, 140.07, 141.9, 149.9 (5C).

METHODE GENERALE POUR LA SYNTHESE DES DERIVES DE MANNICH A PARTIR 6-NITRO-1H-INDAZOLE (22a-b-c)

6-Nitro-1-pipéridén-1-ylmethyl-1H-indazole (22a)



$C_{13}H_{16}N_4O_2$
MM: 260,30 g/mol

Mode opératoire

10 mmoles des composés **1-2** sont dissoutes dans le méthanol, ensuite (35% 1.5 ml) de formaldéhyde et 10 mmoles de l'amine secondaire sont ajoutés à la solution. Le mélange est laissé sous l'agitation à la température ambiante pendant 24h. Ensuite on a éliminé le solvant à l'aide de rotavapeur. Le résidu obtenu est lavé avec le minimum de méthanol pour aboutir au produit escompté.

Aspect : Solide jaune.

Rdt: 66%

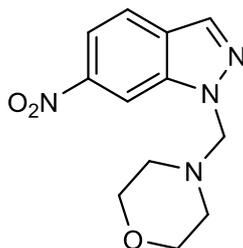
PF: 88-90°C

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 1.31 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H, CH_2), 1.52 (m, 2H, CH_2), 2.55 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H, NCH_2), 5.21 (s, 2H, CH_2), 7.78 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, ArH), 7.96 (dd, $J = 8.7$ Hz, 1.8 Hz, 1H, ArH), 8.09 (s, 1H, H-pyr), 8.46 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, ArH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 23.9 (CH_2), 26.0 ($2CH_2$), 52.0 (NCH_2), 71.9 (NCH_2N), 106.9, 115.7, 121.8, 133.6 (4CH), 127.3, 139.5, 146.7 (3C).

SM (IE): $m/z = 262$ (M^+)

1-Morpholin-4-ylméthyl-6-nitro-1*H*-indazole (22b)



$C_{12}H_{14}N_4O_3$
MM: 262,27 g/mol

Mode opératoire

Le même mode opératoire a été appliqué au produit 1-Morpholin-4-ylméthyl-6-nitro-1*H*-indazole (22b) que celui du produit 6-Nitro-1-pipéridén-1-ylméthyl-1*H*-indazole (22a).

Aspect : solide jaune

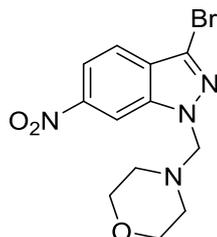
Rdt: 58%

PF: 134-136°C

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 2.59 (t, $J = 4.5$ Hz, 2H, NCH_2), 3.65 (t, $J = 4.5$ Hz, 2H, OCH_2), 5.20 (s, 2H, $N-CH_2-N$), 7.81 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, ArH), 7.97 (dd, $J = 8.9$ Hz, 1.8 Hz, 1H, ArH), 8.10 (s, 1H, H-pyr), 8.44 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, ArH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 50.9 (NCH_2), 66.8 (OCH_2), 71.1 (NCH_2N), 106.4, 115.7, 121.8, 133.8 (4CH), 127.5, 139.4, 146.9 (3C).

3-Bromo-1-morpholin-4-ylmethyl-6-nitro-1*H*-indazole (22c)



C₁₂H₁₃BrN₄O₃
MM: 341,17 g/mol

Mode opératoire

Le même mode opératoire a été appliqué au produit 3-Bromo-1-morpholin-4-ylmethyl-6-nitro-1*H*-indazole (**22C**) que celui du produit 6-Nitro-1-pipéridén-1-ylmethyl-1*H*-indazole (**22a**).

Aspect : solide jaune

Rdt: 64%

PF: 150-152 °C

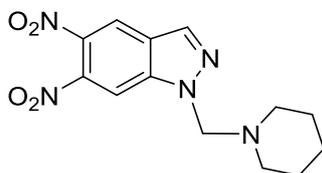
RMN ¹H (CDCl₃): δ 2.65 (t, *J* = 4.2 Hz, 2H, NCH₂), 3.70 (t, *J* = 4.2 Hz, 2H, OCH₂), 5.29 (s, 2H, CH₂), 7.74 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, ArH), 8.06 (dd, *J* = 8.7 Hz, 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.45 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, ArH).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 50.8 (NCH₂), 66.9 (OCH₂), 71.6 (NCH₂N), 107.0, 116.6, 121.8, (3CH), 121.9, 127.2, 140.5, 147.8 (4C).

MS (IE): *m/z* = 343 (M⁺), 345 (M+1)⁺.

Préparation des dérivés de Mannich à partir 5,6-dinitro-1*H*-indazole

5,6-dinitro-1-((piperidin-1-yl)méthyl)-1*H*-indazole (23)



$C_{13}H_{15}N_5O_4$
MM: 305,29 g/mol

Mode opératoire

Dans un erlenmeyer le 5,6-dinitroindazole (0.416g, 2mmol) est dissout dans 10 ml de THF ensuite on ajoute (2mmol+10% ,0.132g) de formaldéhyde puis (2mmol+10%) de opipéridine. Le mélange a été laissé sous agitation à la température ambiante pendant 2 jours. Après concentration du produit à sec, on a ajouté un petit volume de méthanol au résidu et on a posé le ballon dans un bain du glace en agitation .le précipité obtenu a été filtré.

Aspect : solide jaune orange.

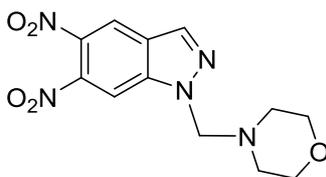
Pf: 223 °C

Rdt : 40%

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 1.30 (q, J = 7.3 Hz, 2H, CH_2), 1.52 (q, 7.3 Hz, 2H, CH_2), 2.56 (t, J = 7.2 Hz, 2H, CH_2), 6.21 (s, 2H, NCH_2), 8.19 (s, 1H, H-pyr), 8.76 (d, 1.8 Hz, 1H, ArH), , 9.04 (d, J = 1.8 Hz, 1H, ArH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 24.6 (CH_2), 25.6 ($2CH_2$), 54.0 (NCH_2), 77.8(NCH_2N), 107.9, 118.7, 132, ($3CH$), 128.3, 135.5, 140,146.7 ($4C$)

5,6-dinitro-1-((morpholin-1-yl)méthyl)-1*H*-indazole (24)



$C_{12}H_{13}N_5O_5$
MM: 307,27 g/mol

Mode opératoire

Le même mode opératoire a été appliqué au produit 5,6-dinitro-1-((morpholin-1-yl) méthyl)-1*H*-indazole (24) que celui du produit 5,6-dinitro-1-((piperidin-1-yl) méthyl)-1*H*-indazole (23).

Aspect : solide jaune orange.

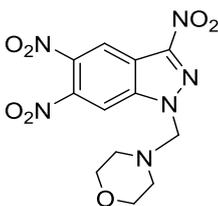
PF: 235 °C

Rdt : 35 %

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 2.53 (t, J = 6.5 Hz, 2H, NCH₂), 3.55 (t, J = 6.5 Hz, 2H, OCH₂), 6.20 (s, 2H, CH₂), 8.14 (s, 1H, H-pyr), 8.74 (d, J = 1.9 Hz, 1H, ArH), 9.17 (d, J = 1,9 Hz, 1H, ArH),

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 52.9 (NCH₂), 66.4 (OCH₂), 75.1 (NCH₂N), 107.4, 118.7, 133.2 (3CH), 128.5, 136.4, 140.2, 146.9 (4C).

1-(morpholinométhyl)-3,5,6-trinitro-1H-indazole (25)



$C_{12}H_{12}N_6O_7$
MM: 352,26 g/mol

Mode opératoire

Dans un erlenmeyer le 3,5,6-trinitroindazole(0,5g; 2mmol) est dissout dans 10 ml de THF ensuite on ajoute (2mmol+10% ,0.132g) de formaldéhyde puis(2mmol+10%) de morpholine . Le mélange a été abandonné sous l'agitation à la température ambiante pendant 48h. Après concentration du produit à sec, on a ajouté un petit volume de méthanol au résidu et on a posé le ballon dans un bain de glace en agitation. Le précipité obtenu a été filtré.

Aspect : Solide blanc gris.

Rdt: 95%

PF: 190°C.

RMN 1H (DMSO- d_6) : δ 2.37 (t, J = 12Hz, 2H, NCH₂), 3.67 (t, J = 12Hz, 2H, OCH₂) ,5.83 (s, 2H, CH₂), 8.9 (d, J = 9 Hz, 1H,H-7, ArH), 9.12(d, J, = 12 Hz, 1H,H-5, ArH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6): δ 47.93 (NCH₂), 49.86 (OCH₂), 66.43 (NCH₂N), 72.67, 112.62 (2CH) 116.46, 120.23, 120.63, 139.77, 142.25 (5C).

CHAPITRE III : SYNTHÈSE DE NOUVEAUX SULFONAMIDES INDAZOLIQUES

INTRODUCTION

Les sulfonamides constituent une grande famille de composés présentant des activités biologiques intéressantes. Plusieurs de ces molécules sont utilisées, certes, en chimiothérapie et dans le traitement des maladies infectieuses mais également comme hypoglycémifiants, diurétiques voire antihypertenseurs⁶⁷ Une nouvelle génération de sulfonamides, synthétisés montre des activités antitumorales importantes *in vivo*^{68,69} Ces dérivés présentent différents mécanismes d'action sur la cellule cancéreuse, tels que l'inhibition de la polymérisation de la tubuline, la perturbation du cycle cellulaire en phase G1, l'inhibition de l'anhydrase carbonique, la suppression fonctionnelle de l'activateur du facteur nucléaire-Y (NF-Y).⁷⁰

Parmi les sulfonamides choisis après criblage d'une bibliothèque de composés, nous pouvons citer le dérivé indolique **L33** [*N*-(3-chloro-7-indolyl)-1,4-benzene disulfonamide]^{71,72} qui présente une bonne activité antiproliférative *in vivo* contre des tumeurs humaines et des tumeurs murines tels que les carcinomes du côlon HCT116, LS174T, SW620, HCT15 et les carcinomes du poumon LX-1, PC 9 (Figure 13).

⁶⁷ Scozzafava, A., Owa T., Mastrolorenzo, A., Supuran, C. T., *Curr. Med. Chem.*, **2003**, *10*, 925.

⁶⁸(a) Supuran, C. T., Scozzafava, A., Casini, A., *Med. Res. Rev.*, **2003**, *23*, 146.(b) Casini, A., Scozzafava, A., Mastrolorenzo, A., Supuran, C. T., *Curr. Cancer Drug Targets*, **2002**, *2*, 55.(c) Owa, T., Nagasu, T., *Exp. Opin. Ther. Pat.*, **2000**, *10*, 1725.

⁶⁹(a) Supuran, C. T., Scozzafava A., *Exp. Opin. Ther. Pat.*, **2002**, *12*, 217.(b) Supuran, C. T., Scozzafava, A., *Curr. Med. Chem. Imm., Endoc. Metab. Agents*, **2001**, *1*, 61.

⁷⁰(a) Supuran, C. T., Scozzafava, A. *Exp. Opin. Ther. Pat.* **2000**, *10*, 575.(b) Owa, T., Yoshino, H., Okauchi, T., Yoshimatsu, K., Ozawa, Y., Sugi, N. H., Nagasu, T., Koyanagi N., Kitoh K., *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3789.

⁷¹(a) Owa T., Okauchi T., Yoshimatsu K., Sugi N. H., . Ozawa Y, Nagasu T., Koyanagi N., Okabe T., Kitoh K., Yoshino H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2000**, *10*, 1223.(b) Yoshino, H., Ueda, N., Nijima, J., Sugumi, H., Kotake, Y., Koyanagi, N., Yoshimatsu, K., Asada, M., Watanabe, T., Nagasu, T., Tsukahara, K., Iijima, A., Kitoh, K. *J. Med. Chem.*, **1992**,*35*, 2496.(c) Owa, T., Yoshino, H., Yoshimatsu, K., Nagasu, T., *Curr. Med. Chem.*, **2001**,*8*, 1487.(d) Watanabe, T., . Sugi, N., Ozawa, Y., Owa, T., Nagasu, T., yanagi, K N., Kitoh, K., Yoshimatsu, K. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res., Washington, DC*, **1996**, *37*, 391 (abstr.2667).

⁷²(a) Funahashi, Y., Sugi, N. H., Semba, T., Yamamoto, Y., Hamaoka, S., Tsukahara, T. N., Ozawa, Y., Tsuruoka, A., Nara, K., Takahashi, K., Okabe, Kamata, T., J. Owa T., Ueda N., Haneda, T., Yonaga, M., Yoshimatsu, K., Wakabayashi, T. *Cancer Res.* **2002**, *62*, 6116.(b) Ozawa, Y., Sugi, N. H., Nagasu, T., Owa, T., Watanabe, T., Koyanagi, N., Yoshino, H., Kitoh K., Yoshimatsu K. *Eur. J. Cancer*, **2001**, *37*, 2275 (c) Terret, C., Zanetta, S., Roché, H., Schellens, J. H. M., Faber, M. N., Wanders, J., Ravic, M., Droz, J. P., *Eur. J. Cancer*, **2003**, *39*, 1097.

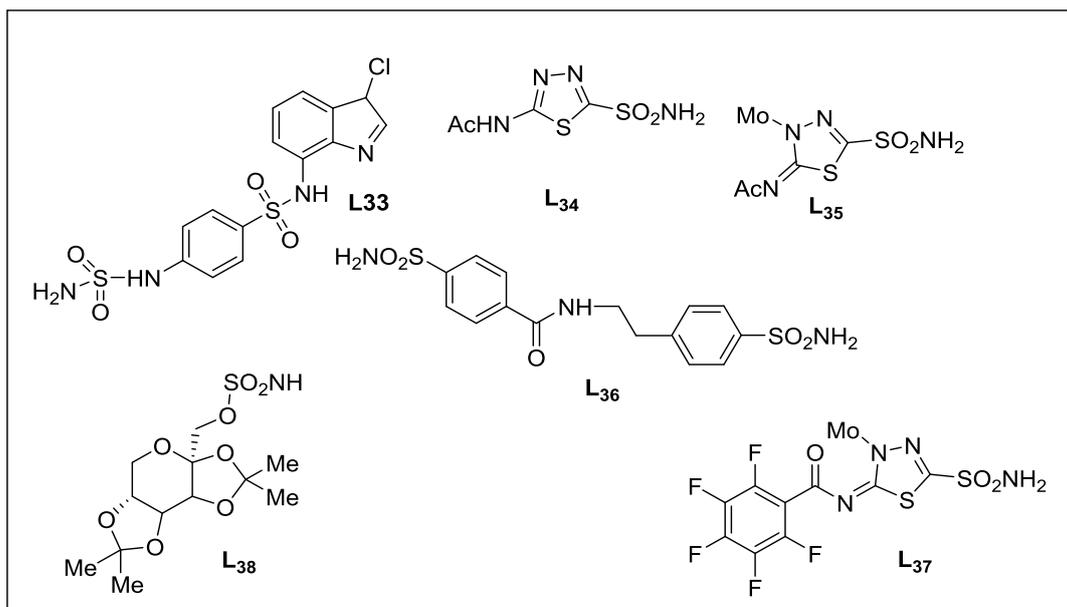


Figure 13 : Sulfonamides avec différents squelettes.

Cependant, dans le cas des hétérocycles possédant un noyau indolique comme squelette de base et substitué par un groupement sulfonamide en différentes positions de l'homocycle, les tests pharmacologiques effectués sur différents *N*-(7-indolyl)-arylsulfonamides ont montré que les composés possédant la meilleure activité cytotoxique sont ceux qui comportent un atome de chlore en position 3 de l'indole, et un groupement sulfonamide (SO_2NH_2) ou un substituant méthoxy en position 4 du motif benzènesulfonyl.⁷³ (Figure 14).

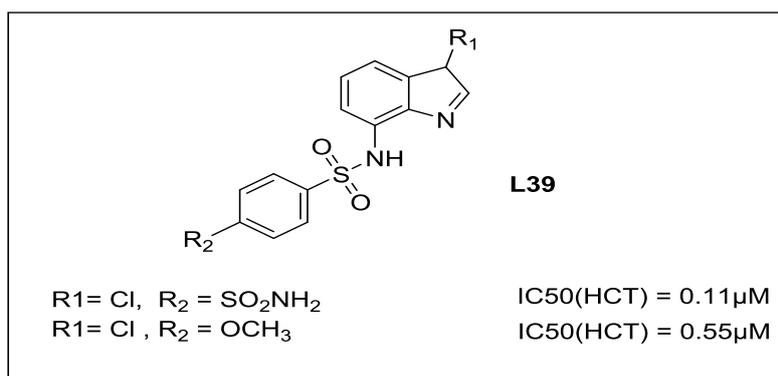


Figure 14 : différents *N*-(7-indolyl)-arylsulfonamides.

⁷³ Owa, T., Yoshino H., Okauchi T., Yoshimatsu K., Ozawa Y., Sugi N. H., Nagasu T., Koyanagi N., Kitoh K., *Journal of Med. Chem.* **1999**, 42, 3789

Vu ces résultats très intéressantes, notre équipe a décidé de préparer de nouvelles structures indazoliques contenant le motif sulfonamide, et ce, dans le but de les tester sur diverses lignées cellulaires cancéreuses.

Quelques années plus tard, notre équipe de recherche a testé une série de structure indazolique diversement substituées. Certaines d'entre elles exercent des activités pharmacologiques antiprolifératives et/ou apoptotiques intéressantes contre les lignées cellulaires humaines (DU145, HCT116, HT29, A2780 et A549) et murine (L1210 et P388).^{74,75} Ainsi, les *N*-(7-indazolyl)-arylsulfonamides testés contre la lignée cellulaire L1210 ont montré des activités antitumorales potentielles.

Parmi les composés testés, les structures L40a, L40b, et L40c ont montré les meilleures activités aussi bien en termes de cytotoxicité que de perturbation du cycle cellulaire. En effet, ces composés inhibent la prolifération avec une IC₅₀ comprise entre 0,38 et 1,18 μ M (Figure 15).

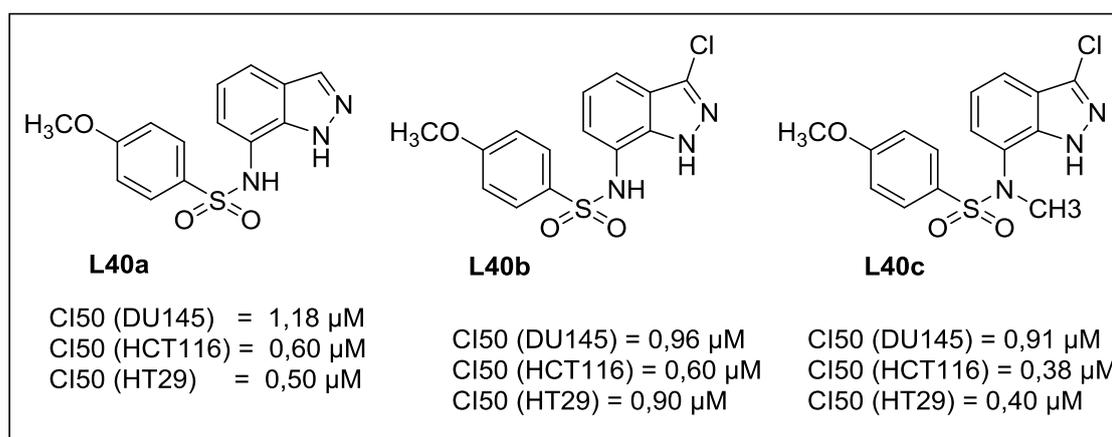


Figure 15 : *N*-(7-indazolyl)-arylsulfonamides testés contre les lignées cellulaires DU145, HCT116 et HT29.

⁷⁴(a)Abbassi, N., Rakib, E. M., Chicha, H., Bouissane, L., Hannioui, A., Aiello, C., Gangemi, R., Castagnola, P., Rosano, C., Viale, M. *Arch. Pharm. – Chem. Life Sci.* **2014**, 347, 423-431. (b) Abbassi, N., Chicha, H., Rakib, E. M., Hannioui, A., Alaoui, M., Hajjaji, A., Geffken, D., Aiello, C., Gangemi, R., Rosano, C., Viale, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 57, 240-249.

⁷⁵(a)Bouissane, L., El Kazzouli, S., Leonce, S., Pfeifer, P., Rakib, E. M., Khouili, M., Guillaumet, G. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 1078-1088. (b)Bouissane, L., El Kazzouli, S., Leger, J-M., Jarry, C., Rakib, E. M., Khouili, M., Guillaumet, G. *Tetrahedron*.**2005**, 61, 8218-8225

L'objet de ce chapitre est de synthétiser de nouveaux dérivés sulfonamides à partir de 5-nitroindazole, 6-nitroindazole et 5,6-dinitroindazole dans le but de les tester sur différentes lignées cellulaires.

I- Synthèse de *N*-(indazolyl)-arylsulfonamides différemment substitués

I.1- Préparation des sulfonamides **26** et **27**

Les sulfonamides **26** et **27** ont été synthétisés en deux étapes. La réduction catalytique du 6-nitroindazole dans le méthanol en présence du palladium sur charbon 10%, suivie de l'addition de chlorure de 4-méthylbenzènesulfonyl correspondant à l'amine réduite dans la pyridine (Schéma 33). Les *N*-(6-indazolyl)-arylsulfonamides **26** et **27** sont isolés respectivement avec des rendements de 38% et 44%.

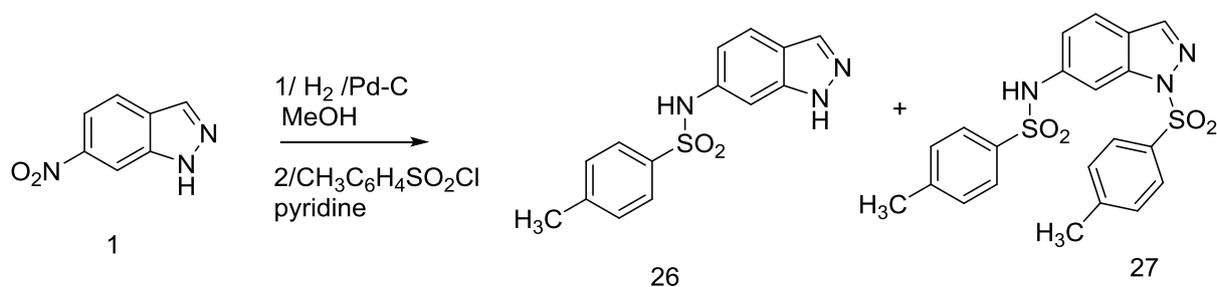


Schéma 33 : Préparation des sulfonamides **26** et **27**

Les structures des composés **26** et **27** ont été déterminées sur la base des données spectrales RMN¹H, ¹³C et spectrométrie de masse.

Dans le spectre RMN¹H du composé **26**, pris dans le CDCl₃, nous notons les signaux dus aux protons indazolique, aussi des signaux caractéristiques des protons de l'arylsulfonyl en position six de l'indazole. La présence d'un signal à 14,12 ppm du au proton du groupe *NH* du cycle pyrazolique confirme la monosulfonation du composé **26** en position 6 de l'indazole.

La disparition du signal attribuable au proton du groupe *NH* du cycle pyrazolique dans le spectre RMN¹H du composé **27** atteste son engagement dans la réaction de sulfonation.

I.2- Préparation des sulfonamides 5,6-dinitro-1-tosyl-1*H*-indazole (**28**) et 1-((4-méthoxyphényl)sulfonyl)-5,6-dinitro-1*H*-indazole (**29**).

Les deux composés **28** et **29** ont été synthétisés suivant la réaction du chlorure de 4-méthylbenzènesulfonyl et le chlorure de 4-méthoxybenzènesulfonyl sur le 5,6-dinitroindazole dissous dans la pyridine selon le schéma 34.

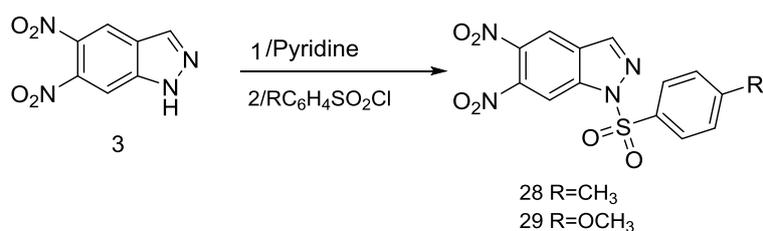


Schéma 34 : Préparation des sulfonamides 5,6-dinitro-1*H*-indazole

Les composés **28** et **29** sont confirmés via les données spectrales RMN ¹H et ¹³C. De plus, le composé **28** a été confirmé par une étude cristallographique ci-dessous.

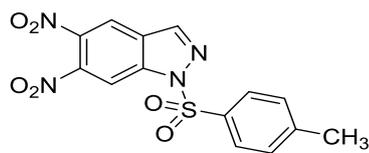
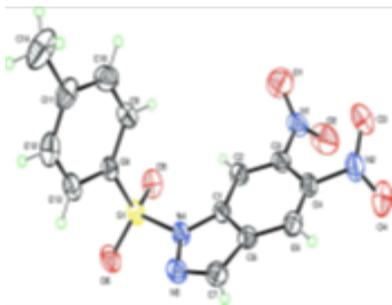


Tableau 4 : Les données du monocristal du composé 28

Données cristallographiques		Affinement
Formule chimique	$C_{14}H_{10}N_4O_6S$	$RF^2 > 2\sigma(F^2) = 0.042$ $wR(F^2) = 0.125$ $S = 1.07$ 3383 réflexions 227 paramètres $\Delta\rho_{\max} = 0.46 \text{ e } \text{\AA}^{-3}$ $\Delta\rho_{\min} = -0.32 \text{ e } \text{\AA}^{-3}$
Masse moléculaire	362.32 g/mol	
Système cristallin	TRICLINIC	
Groupe d'espace et Z	$P1 (Z = 2)$	
Paramètres de maille	$a = 7.4125 (3) \text{ \AA}$ $b = 8.5371 (3) \text{ \AA}$ $c = 13.0825 (5) \text{ \AA}$ $\beta = 91.794 (3)^\circ$	
Volume	$V = 766.66 (5) \text{ \AA}^3$	
Radiation	K_α du Mo	
μ	$= 0.25 \text{ mm}^{-1}$	
Température	$= 296 \text{ K}$	
Dimensions du monocristal	$0.42 \times 0.35 \times 0.28 \text{ mm}$	

I.3- Réduction de 5,6 dinitro-1*H*-indazole

Le 5,6-diaminoindazole **32** a été préparé selon le mode opératoire décrit par l'équipe de Davies et K. Fries et *al.*⁷⁶. La réduction de 5,6-dinitro-1*H*-indazole **3** se fait dans le méthanol à reflux en présence du palladium sur charbon (Pd/c, 10%) et de l'hydrazine (NH₂NH₂) avec un bon rendement (Schéma 35).

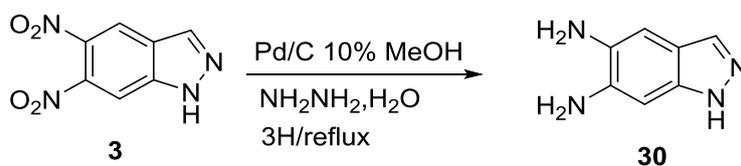


Schéma 35 : Réduction de 5,6 dinitro-1*H*-indazole

Les signaux apparaissant sur le spectre RMN ¹H de composé **30** en position 4,29 ppm et 4,80 ppm correspondent aux protons des deux groupements amine NH₂ en position 5 et 6 du noyau indazolique.

I.4- Synthèse des N-(1-alkyl-3-chloro-1*H*-indazol-5-yl)arylsulfonamides

Dans ce paragraphe nous avons envisagé l'effet de l'atome de chlore en position 3 de l'indazole, et l'effet de la protection de l'azote pyrazolique sur la réduction catalytique de *N*-alkyl-3-chloro-5-nitroindazole **31** par le chlorure d'étain SnCl₂ dans l'éthanol, suivie du couplage de l'amine formée par le chlorure de tosyle dans la pyridine. Les deux isomères *N*-alkylés de l'indazole **32a,b** et **33a,b** sont obtenus par la réaction d'alkylation du composé **31** avec l'iodure de méthyle (CH₃I) et/ou bromure d'allyle (C₃H₅Br) dans l'acétone en présence de l'hydroxyde de potassium comme base (Schéma 36).

⁷⁶ Fries, K., Fabel, K., Eckhardt, U.K. Justus Liebigs Ann. Chem., **1942**, 31, 55.

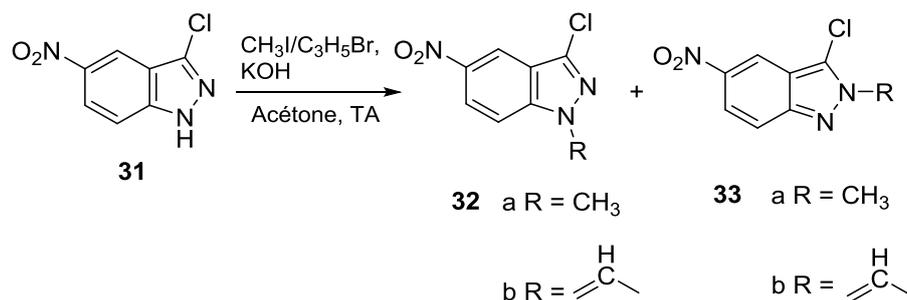


Schéma 36 : Synthèse des N-alkyl-3-chloro-5nitro-1H-indazol

Les rendements des dérivés *N*-1 alkylés de l'indazole **32a,b** sont meilleurs par rapport aux dérivés *N*-2 alkylés **33a,b** (Tableau 5).

Tableau 5 : Réaction d'alkylation de 3-chloro-5-nitroindazole (Condition RX/acétone/KOH,T.A):

Alkylant	Rdt de 32a-b	Rdt de 33a-b	Rdt global
CH ₃ I	32a (75%)	33a (20%)	95%
C ₃ H ₅ Br	32b (67 %)	33b (24%)	91%

Les structures des composés obtenus ont été établies sur la base des données spectrales RMN ¹H, RMN ¹³C et DEPT. En plus des données spectroscopiques, la structure du composé **32b** a été confirmée par diffraction des rayons X ci-dessous.

1-allyl-3-chloro-5-nitro-1H-indazole (32b)

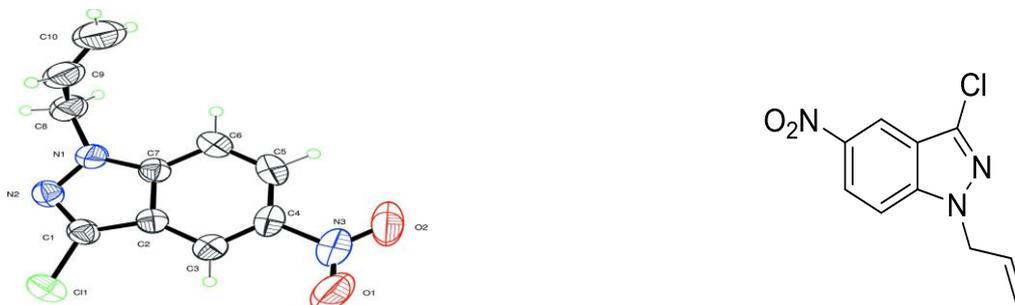


Tableau 6 : Les données du monocristal du composé 32b.

Données cristallographiques		Affinement
Formule chimique	C ₁₀ H ₈ ClN ₃ O ₂	$R [F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.047$ $wR(F^2) = 0.136$ $S = 1.02$ 3069 réflexions 145 paramètres $\Delta\rho_{\max} = 0.27 \text{ e } \text{Å}^{-3}$ $\Delta\rho_{\min} = -0.33 \text{ e } \text{Å}^{-3}$
Masse moléculaire	237,64 g/mol	
Système cristallin	Monoclinique	
Groupe d'espace et Z	$P2_1/c$ (Z = 4)	
Paramètres de maille	$a = 13.3025$ (6) Å $b = 11.2505$ (5) Å $c = 7.3092$ (3) Å $\beta = 91.343$ (2) °	
Volume	$V = 1093.59$ (8) Å ³	
Radiation	K α du Mo	
μ	$= 0.34 \text{ mm}^{-1}$	
Température	$= 296 \text{ K}$	
Dimensions du monocristal	0.41 × 0.34 × 0.22 mm	

Après avoir synthétisé les *N*-alkyl-3-chloro-5-nitroindazoles, nous avons ensuite appliqué les mêmes conditions de réduction et de couplage cités précédemment sur les 1-alkyl-3-chloro-5-nitroindazoles **32a,b**. Deux produits ont été identifiés: le 5-indazolyl-arylsulfonamide fonctionnalisé en position 4 par un groupement éthoxy **34a-d** et le 5-indazolyl-arylsulfonamide non substitué **35a-d** (Schéma 37).

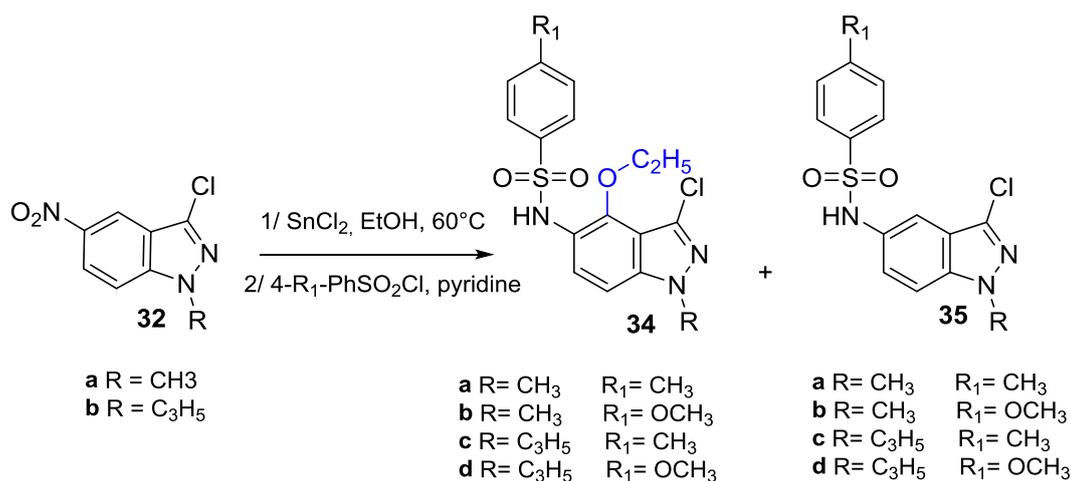


Schéma 37 : 5-indazolyl-arylsulfonamide

Les rendements des deux produits sont proportionnels avec une légère sélectivité en faveur du sulfonamide indazolique non substitué (Tableau 7). Le sulfonamide substitué par un atome de chlore en position 4 de l'indazole n'a pas été identifié.

Tableau 7 : Réaction de réduction du 1-alkyl-3-chloro-5-nitroindazole suivie du couplage de l'amine correspondante par le chlorure d'arylsulfonyle (Condition: a: EtOH/SnCl₂, 60°C; b: 4-R₁PhSO₂Cl/pyridine)

R ₁ et R	Rdt 34a-d	Rdt 35a-d	Rdt global
a -R ₁ = CH ₃ , R = CH ₃	34a (29%)	35a (56%)	85%
b -R ₁ = OCH ₃ , R = CH ₃	34b (40%)	35b (55%)	95%
c -R ₁ = CH ₃ , R = C ₃ H ₅	34c (37%)	35c (61%)	98%
d -R ₁ = OCH ₃ , R = C ₃ H ₅	34d (35%)	35d (63%)	98%

En plus des données spectroscopiques de la RMN, les structures des composés **34a-d** et **35a-d** ont été confirmées sans ambiguïté par diffraction des rayons X ci-dessous. Les diagrammes ORTEP des composés **34a-d** montrent bien la fixation du groupement éthoxy en position 4 de l'indazole.

N-(1-allyl-3-chloro-1*H*-indazol-5-yl)-4-methylbenzenesulfonamide (35c)

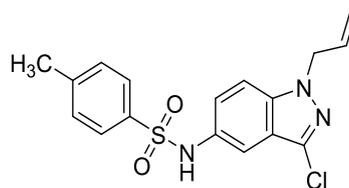
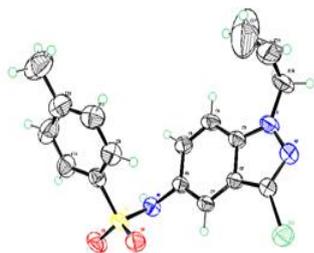


Tableau 8 : Les données du monocristal du composé 35c

Données cristallographiques		Affinement
Formule chimique	C ₁₇ H ₁₆ ClN ₃ O ₂ S	R [F ² > 2σ(F ²)] = 0.043 wR(F ²) = 0.123 S = 1.02 3621 réflexions 225 paramètres Δρ _{max} = 0.26 e Å ⁻³ Δρ _{min} = -0.26 e Å ⁻³
Masse moléculaire	361.84 g/mol	
Système cristallin	Orthorhombic	
Groupe d'espace et Z	P1 (Z=8)	
Paramètres de maille	a = 8.1736(12) Å b = 22.504 (4) Å c = 19.279(3) Å	
Volume	V = 3546.2 (10) Å ³	
Radiation	K _α du Mo	
μ	= 0.35 mm ⁻¹	
Température	T= 296 K	
Dimensions du monocristal	0.42 × 0.35 × 0.30 mm	

N-(3-chloro-1-methyl-1H-indazol-5-yl)-4-methylbenzenesulfonamide (35a)

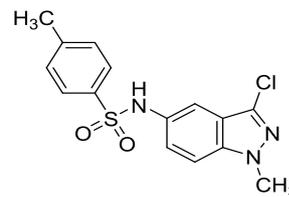
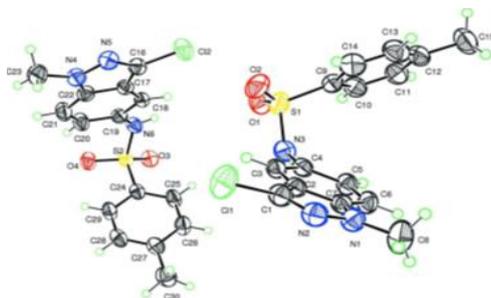


Tableau 9 : Les données du monocristal du composé 35a

Données cristallographiques		Affinement
Formule chimique	C ₁₅ H ₁₄ ClN ₃ O ₂ S	R [F ² > 2σ(F ²)] = 0.048 wR(F ²) = 0.137 S = 1.04 7548 réflexions 398 paramètres Δρ _{max} = 0.36 e Å ⁻³ Δρ _{min} = -0.31 e Å ⁻³
Masse moléculaire	335,81 g/mol	
Système cristallin	Monoclinique	
Groupe d'espace et Z	P2 ₁ /n (Z = 8)	
Paramètres de maille	a = 8.4580 (13) Å b = 34.920 (6) Å c = 10.8333 (17) Å β = 97.226 (7) °	
Volume	V = 3174.2 (9) Å ³	
Radiation	K _α du Mo	
μ	= 0.38 mm ⁻¹	
Température	= 296 K	
Dimensions du monocristal	0.43×0.34×0.29 mm	

***N*-(3-Chloro-4-éthoxy-1-méthyl-1H-indazol-5-yl)-4-méthoxybenzènesulfonamide (34b)**



Tableau 10 : Les données du monocristal du composé 34b

Données cristallographiques		Affinement
Formule chimique	C ₁₇ H ₁₈ ClN ₃ O ₄ S	R [F ² > 2σ(F ²)] = 0.044 wR(F ²) = 0.128 S = 1.04 4353 réflexions 235 paramètres Δρ _{max} = 0.51 e Å ⁻³ Δρ _{min} = - 0.62 e Å ⁻³
Masse moléculaire	395,86 g/mol	
Système cristallin	Triclinique	
Groupe d'espace et Z	P1 (Z=2)	
Paramètres de maille	a = 8.5296 (9) Å b = 8.6165 (9) Å c = 12.9821 (14) Å α = 91.810 (6) ° β = 102.566 (5) ° γ = 100.514 (5) °	
Volume	V = 913.10 (17) Å ³	
Radiation	K _α du Mo	
μ	= 0.35 mm ⁻¹	
Température	= 296 K	
Dimensions du monocristal	0.40 × 0.36 × 0.31 mm	

N-(1-allyl-3-chloro-4-ethoxy-1*H*-indazol-5-yl)-4-methylbenzenesulfonamide (34c)

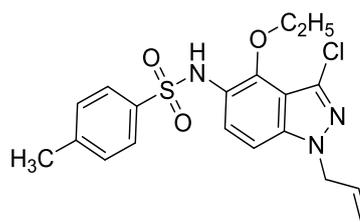
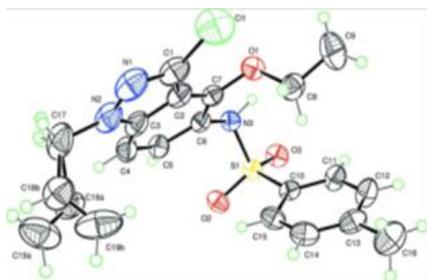


Tableau 11 : Les données du monocristal du composé 34c

Données cristallographiques		Affinement
Formule chimique	C ₁₉ H ₂₀ ClN ₃ O ₃ S	R [F ² > 2σ(F ²)] = 0.041 wR(F ²) = 0.126 S = 1.04 4792 réflexions 263 paramètres Δρ _{max} = 0.42 e Å ⁻³ Δρ _{min} = -0.35 e Å ⁻³
Masse moléculaire	405,90 g/mol	
Système cristallin	Triclinique	
Groupe d'espace et Z	P1 (Z=2)	
Paramètres de maille	a = 10.0345 (2) Å b = 10.5208 (2) Å c = 10.7237 (2) Å β = 69.601 (1) ° α = 71.561 (1) ° γ = 83.039 (1) °	
Volume	V = 1006.56 (3) Å ³	
Radiation	K _α du Mo	
μ	= 0.32 mm ⁻¹	
Température	= 296 K	
Dimensions du monocristal	0.42 × 0.35 × 0.30 mm	

N-(1-Allyl-3-chloro-4-éthoxy-1H-indazol-5-yl)-4-méthoxybenzènesulfonamide (34d)

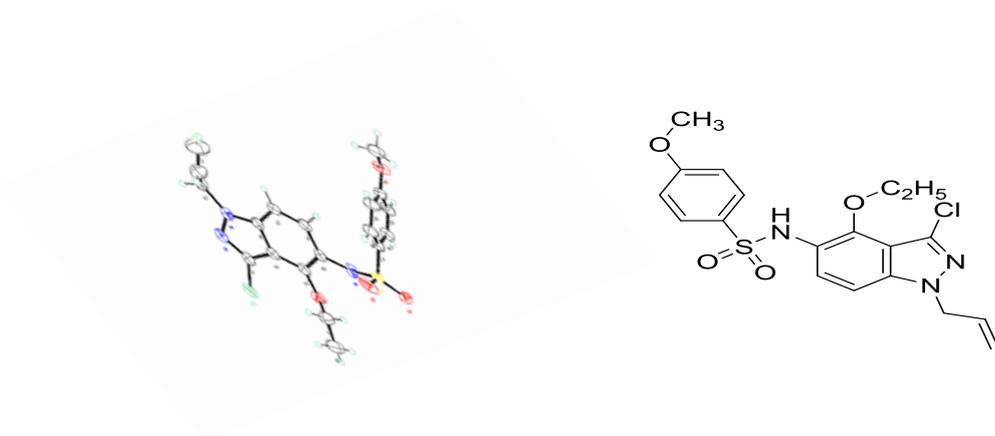


Tableau 12 : Les données du monocristal du composé 34d

Données cristallographiques		Affinement
Formule chimique	C ₁₉ H ₂₀ ClN ₃ O ₄ S	$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.035$ $wR(F^2) = 0.088$ $S = 1.03$ 5605 réflexions 253 paramètres $\Delta\rho_{\max} = 0.18 \text{ e } \text{Å}^{-3}$ $\Delta\rho_{\min} = -0.20 \text{ e } \text{Å}^{-3}$
Masse moléculaire	421,89 g/mol	
Système cristallin	Monoclinique	
Groupe d'espace et Z	P2 ₁ (Z=2)	
Paramètres de maille	$a = 8.2699 (7) \text{ \AA}$ $b = 13.1235 (12) \text{ \AA}$ $c = 10.0026 (9) \text{ \AA}$ $\beta = 110.379 (5)^\circ$	
Volume	$V = 1017.64 (16) \text{ \AA}^3$	
Radiation	K α du Mo	
μ	$= 0.32 \text{ mm}^{-1}$	
Température	$= 296 \text{ K}$	
Dimensions du monocristal	$0.42 \times 0.32 \times 0.28 \text{ mm}$	

Ci-dessous les spectres RMN¹H, RMN¹³C et DEPT des composés **34a**, **35a**, **34c** et **35c**

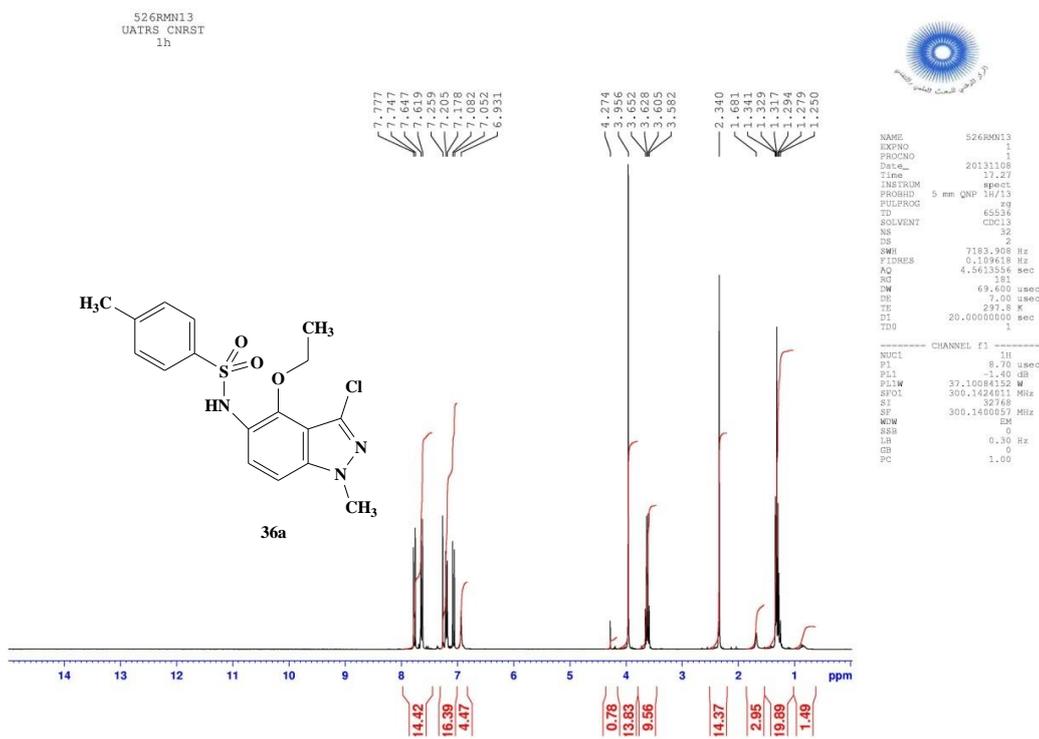


Figure 16 : Spectre RMN¹H du compose 34a

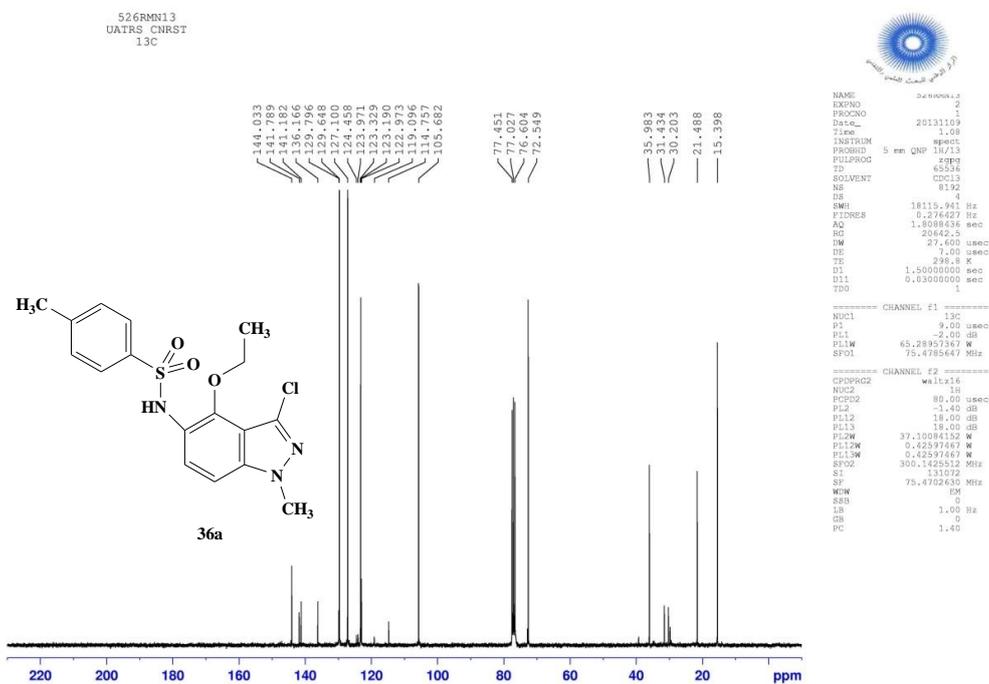


Figure 17 : Spectre RMN¹³C du compose 34a

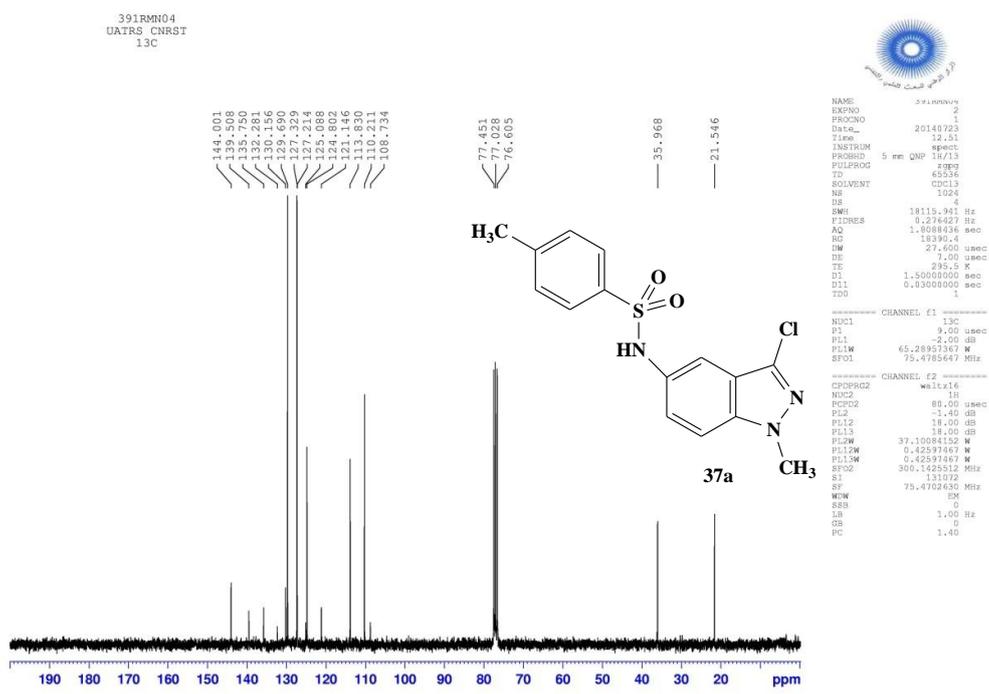


Figure 20 : Spectre RMN¹³C du composé 35a

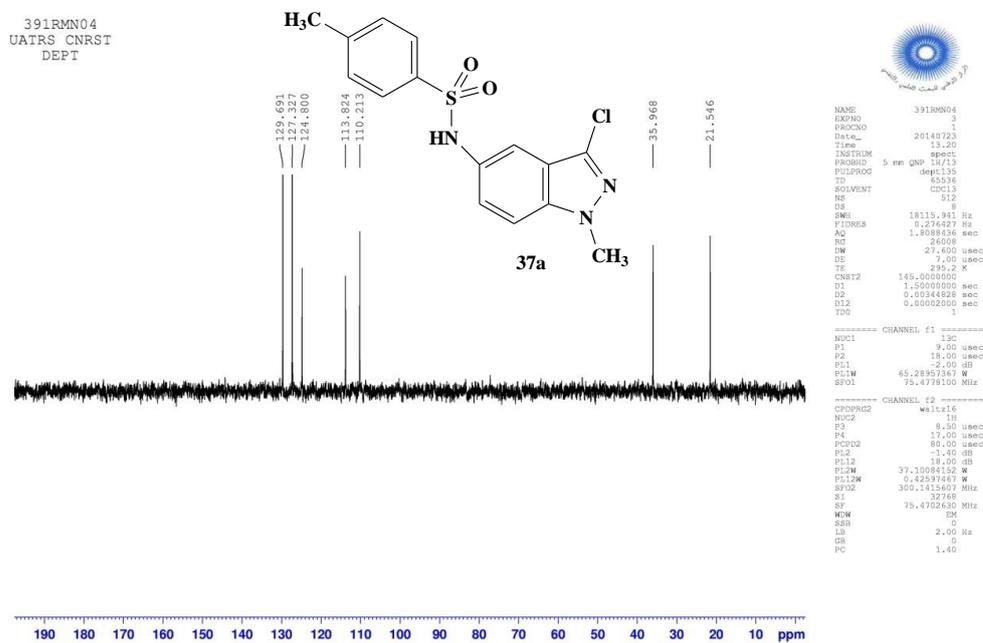


Figure 21 : Spectre (75 MHz, CDCl₃, DEPT) du composé 35a

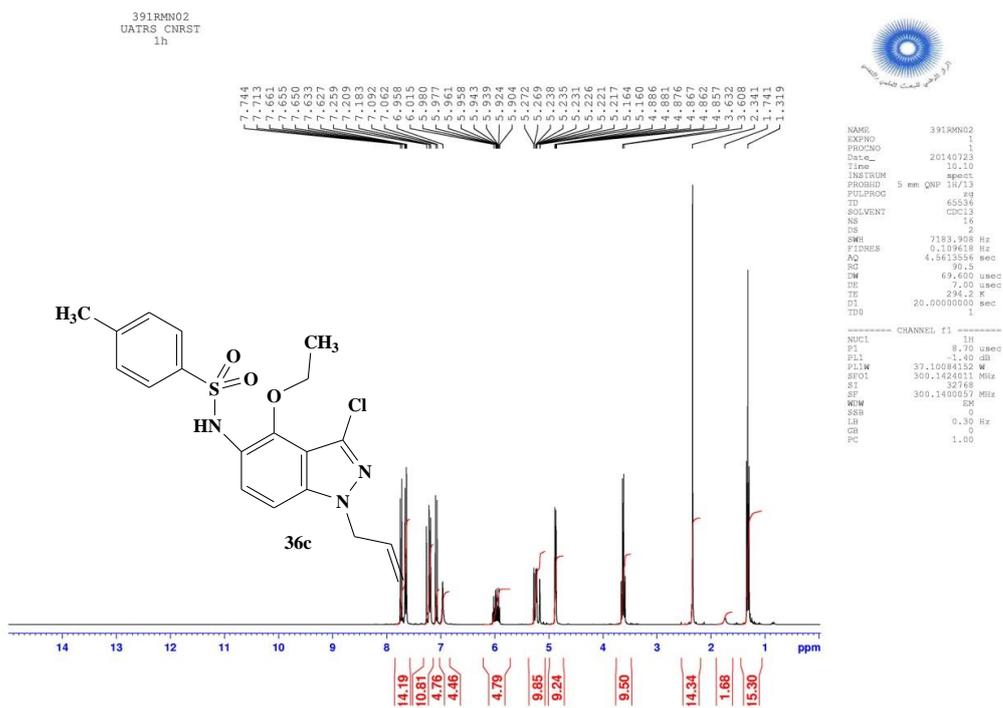


Figure 22 : Spectre RMN¹H du composé 34c

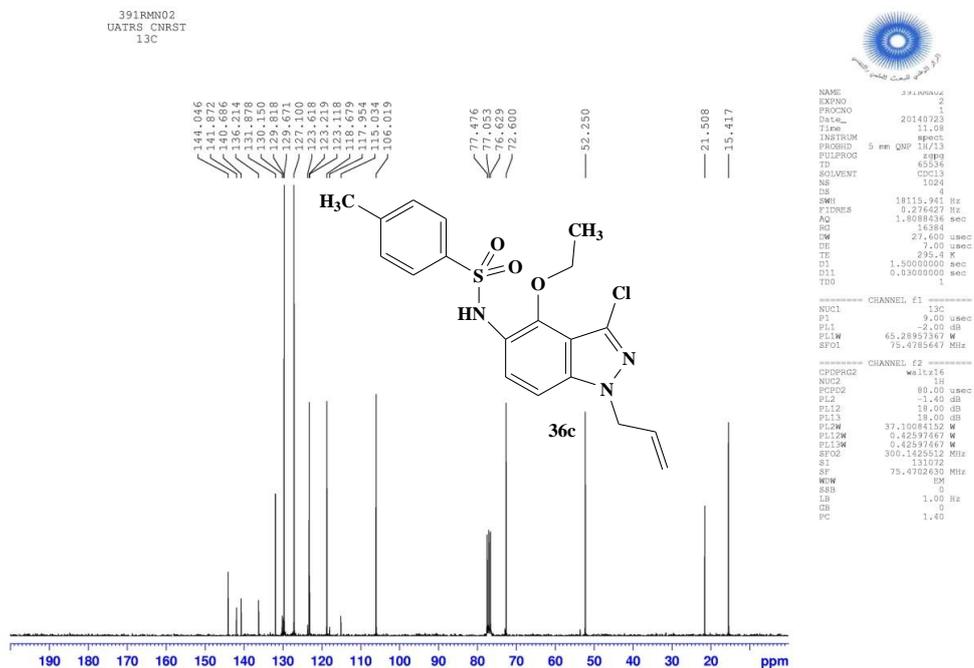


Figure 23 : Spectre RMN¹³C du composé 34c

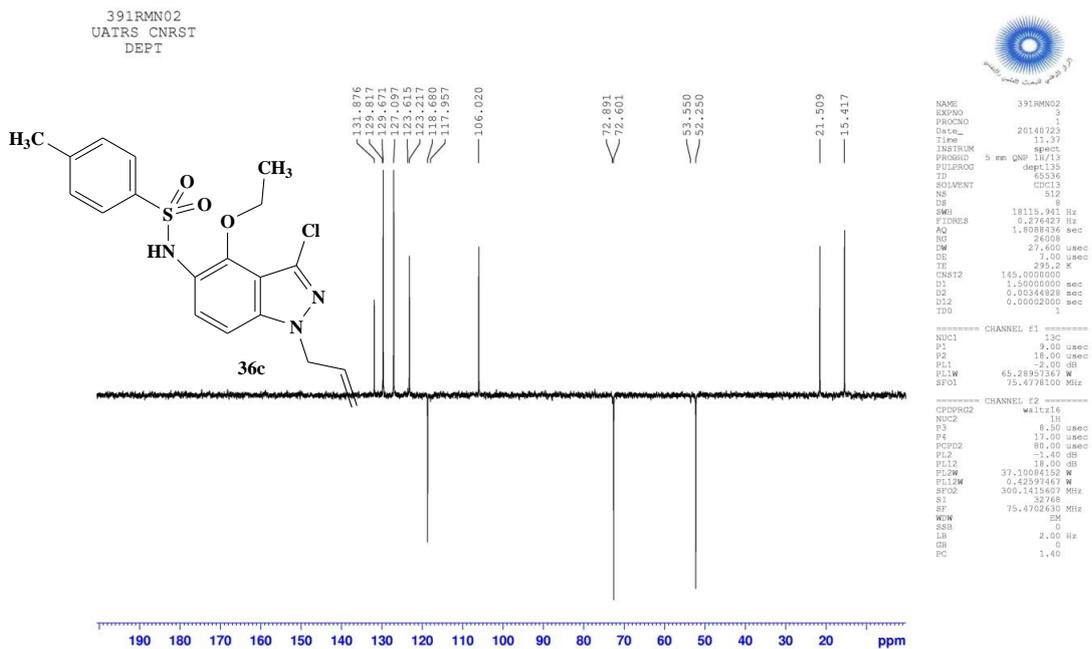


Figure 24 : Spectre RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃, DEPT) du composé 34c

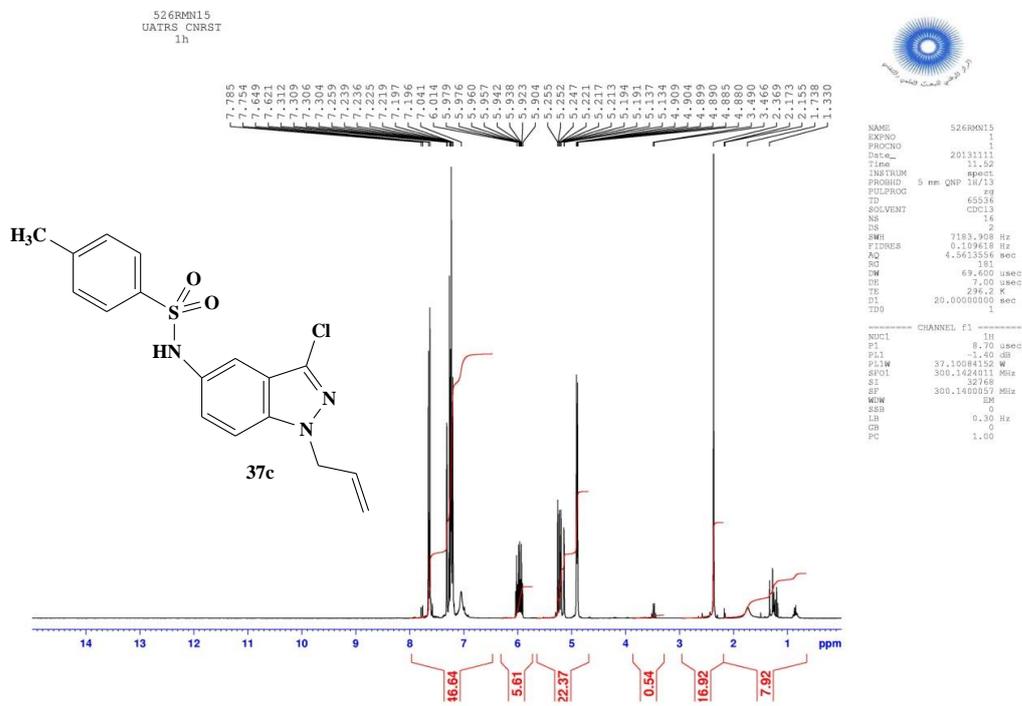


Figure 25 : Spectre RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) du composé 35c

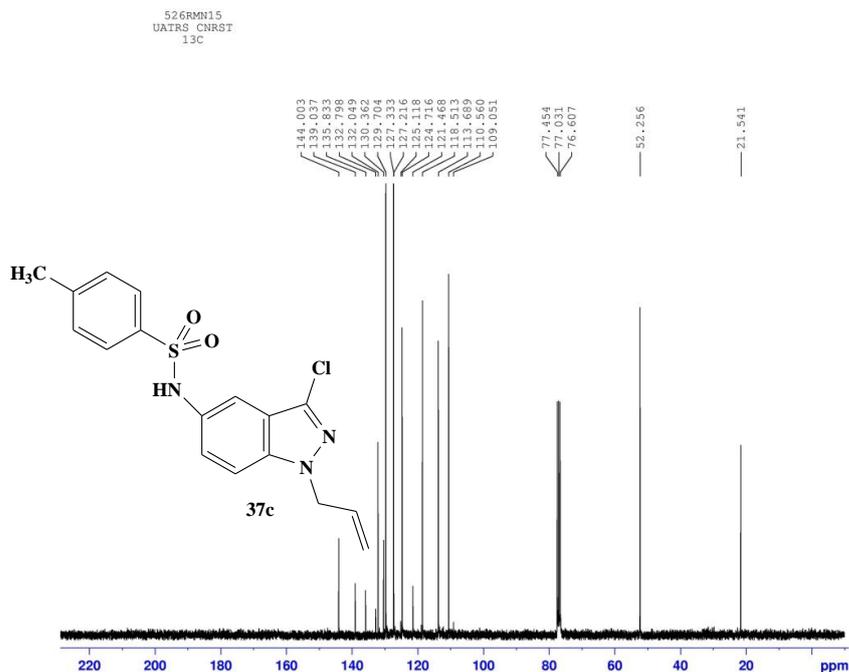


Figure 26 : Spectre RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃) du composé 35c

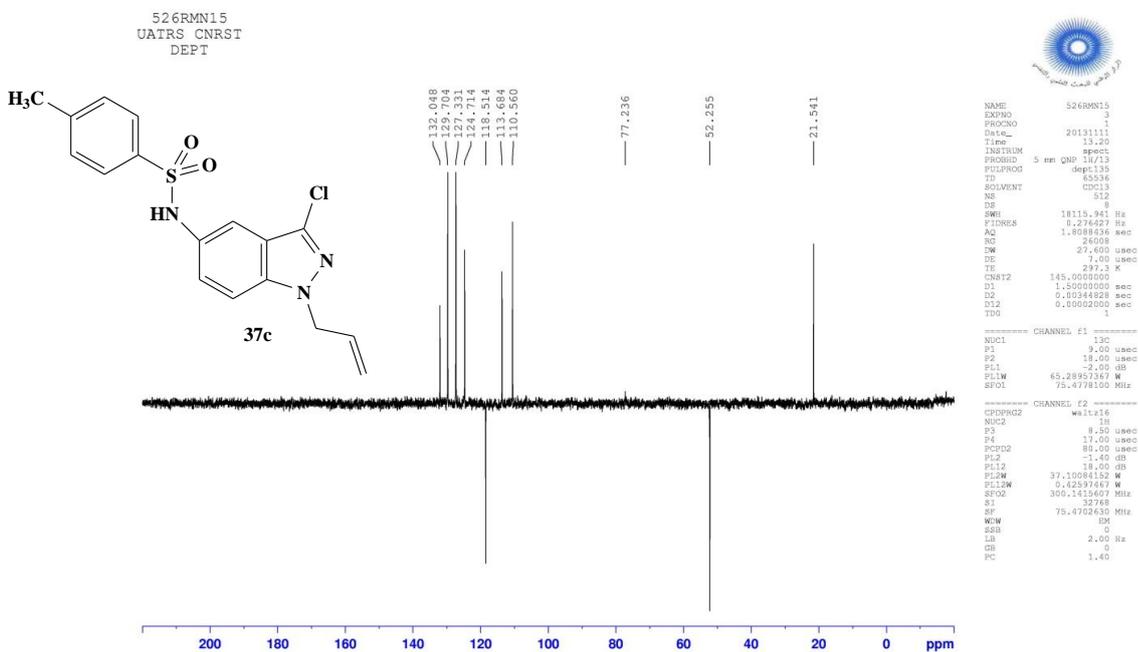


Figure 27 : Spectre RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃, DEPT) du composé 35c

CONCLUSION

Nous avons synthétisé une nouvelle série de *N*-(indazolyl)-arylsulfonamides à partir des nitroindazoles correspondants. Pour accéder à ces composés, nous avons mis au point différentes stratégies permettant la fonctionnalisation régiosélective en positions 1, 3 et 5 des nitroindazoles. Ces stratégies font appel à des réactions d'alkylation, d'halogénéation, de réduction catalytique et de sulfonation. Les composés synthétisés sont testés sur des lignées cellulaires tumorales murines (chapitre IV).

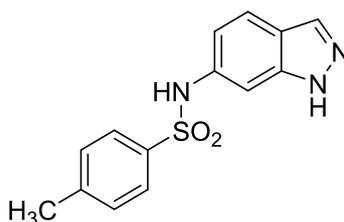
Partie Expérimentale

Synthèse des composés 26 et 27

Mode opératoire

(700 mg, 2.46 mmol) de 6-nitroindazole, dissous dans 40 ml de MeOH. A ce mélange sont ajouté 30 mg de palladium sur charbon actif 10% sont. Le ballon est purgé deux fois à l'hydrogène puis le milieu réactionnel est agité à température ambiante sous pression atmosphérique d'hydrogène pendant une nuit. Lorsque la réaction est terminée, la solution est filtrée sous vide et concentrée sous pression réduite. L'amine obtenue est dissoute dans 10 ml de pyridine. 2.75 mmol de chlorure 4-méthylbenzènesulfonyl sont ajouté au mélange réactionnel et laissé sous agitation à température ambiante pendant 24h. Après évaporation de la pyridine, le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant : acétate d'éthyle/hexane 20 :80).

N-(1*H*-Indazolyl-6-yl)-4-méthyl-benzènesulfonamide (26)



$C_{14}H_{13}N_3O_2S$
MM : 287,34 g/mol

Aspect : Solide jaune.

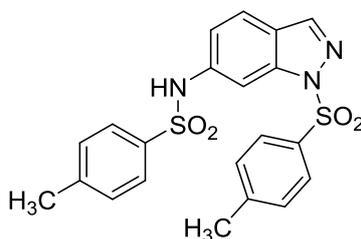
Rdt : 38 %.

PF: 218-220 °C.

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 2.27 (s, 3H, CH_3), 6.93 (dd, $J = 8.7$ Hz, 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.28 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 7.59 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, ArH), 7.66 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 6.68 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H, ArH), 7.93 (s, 1H, H-pyr), 10.37 (s, 1H, NH-SO₂), 14.12 (s, 1H, NH-pyr).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 21.8 (CH_3), 100.8, 115.7, 122.2, 127.7, 130.6, 134.4 (8CH), 120.7, 137.1, 137.5, 141.1, 144.2 (5C).

4-methyl-N-(1-tosyl-1*H*-indazol-6-yl)benzenesulfonamide (27)



$C_{21}H_{19}N_3O_4S_2$
MM : 441,52 g/mol

Aspect: Solide jaune.

Rdt : 44%

PF: 196-198 °C

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 2.29 (s, 3H, CH_3), 2.31 (s, 3H, CH_3), 7.10 (dd, $J = 8.4$ Hz, 1.3 Hz, 1H, ArH), 7.30 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 7.37 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 7.58 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 7.66 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.73 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 7.93 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H, ArH), 8.35 (s, 1H, H-pyr), 10.83 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 21.4, 21.5 (2 CH_3), 101.9, 117.8, 123.4, 127.2, 127.3, 130.3, 130.6, 142.9 (12CH), 122.4, 133.9, 136.8, 140.0, 143.0, 144.3, 146.4 (7C).

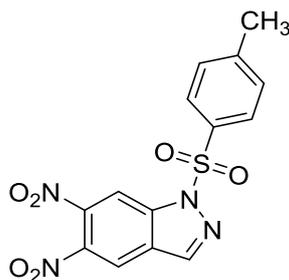
SM (IE): $m/z = 441$ (M^+).

Synthèse des composés 28 et 29

Mode opératoire

A une solution agitée de 5,6-dinitroindazole (0,5 g, 2,4 mmol) dans de la pyridine (25 ml), on a ajouté du chlorure de l'arylsulfonyle (0,45 g, 2,4 mmol) en 10 minutes. On a laissé le mélange réactionnel atteindre la température ambiante et on l'a agité pendant 24 h supplémentaires. Le mélange a été évaporé sous pression réduite et le résidu a été purifié par Chromatographie éclair sur colonne de gel de silice en éluant avec du dichlorométhane. Le composé obtenu a été recristallisé dans l'acétone.

5,6-dinitro-1-tosyl-1*H*-indazole (28)



$C_{14}H_{10}N_4O_6S$
MM: 362,32

Aspect : Solide jaune-gris

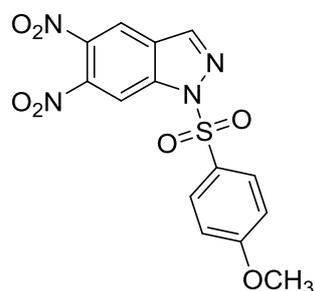
Rdt: 56%

Pf : 307-309 °C

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ 2.35 (s, 3H, CH_3), 7.14 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 7.7 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 8.11 (s, 1H, H-pyr), 9.10 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, ArH-5), 9.20 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, ArH-7),

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 21.3 (CH_3), 108.9, 119.10 (CH Ar). 128.4 (2CH Ar), 130 (2CH Ar), 143.3, (CH-pyr), 131.40, 132.90, 136.80, 140.0, 143.20, 148.3 (6C).

5,6-dinitro (4-methoxybenzène-1-sulfonyl) 1H-indazole (29)



$C_{14}H_{10}N_4O_7S$
MM: 378,32

Aspect : Solide jaune-gris

Rdt : 40%

Pf : 228 °C

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 3.79 (s, 3H, CH_3), 7.12 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 7.8 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 8.15 (s, 1H, H-pyr), 9.10 (d, $J = 1.9$ Hz, H,H-4, ArH), 9.3 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H,H-7 ArH),

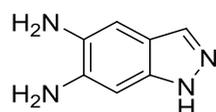
RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 55.6 (OCH_3), 108.9 (CH Ar), 115.5 (2CH Ar), 119.6 (CH Ar), 129.30 (2CH Ar), 143.3, (CH-Pyr), 128.4, 131.9, 136.8, 142.0, 147.3, 165.4 (6C).

Synthèse du composé 30

Mode opératoire

A un mélange de composé 5,6-dinitro-1*H*-indazole (1.6g, 5.5mmol) et Pd /C à 10% (850 mg, 0.80 mmol) dans le méthanol (25ml) à 0°C est ajouté l'hydrazine monohydrate (2.6 ml ,54 mmol) Le mélange est chauffé à reflux pendant 2 h puis le mélange est filtré pour récupérer le catalyseur. Le solide est lavé par le méthanol 30 ml puis le filtrat est évaporé sous pression réduite, ce qui permet d'obtenir le composé 1*H*-indazole-5,6-diamine avec un rendement de 85 %.

5,6-Diaminoindazole 30



Aspect: Solide gris.

Rdt: 85 %.

PF: 287 °C

RMN ¹H (DMSO-*d*₆): δ 4.29 (s, 2H, NH₂), 4.80(s, 2H, NH₂), 6.57 (1H, s), 6.7 (1H, s), 7.53 (s, 1H), 12,02 (s, 1H, NH).

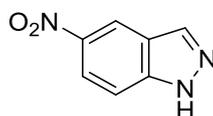
RMN ¹³C (DMSO-*d*₆): δ 91.6, 101.7, 131.3, (CH_{arom}), 115.8, 132.1, 136.3, 138.4 (4C).

Synthèse de 5-nitroindazole

Mode opératoire :

On dissout (10 g, 66 mmol) de 2-méthyl-4-nitroaniline dans 500 ml d'acide acétique. On ajoute goutte à goutte la quantité équivalente du nitrite de sodium dissoute dans un minimum d'eau. Après 8 heures d'agitation à température ambiante, la solution acide est concentrée au 1/3 de son volume initial. On ajoute 500 ml d'eau bouillante et on chauffe jusqu'à ce que le précipité soit dissout. La solution est filtrée à chaud, le précipité formé est recristallisé dans l'éthanol.

5-Nitroindazole



$C_7H_5N_3O_2$
MM163,14 g/mol

Aspect : Solide jaune.

Rendement: 84%

PF: 198-200 °C

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 8.30 (s, 1H, H-3), 8.78 (s, 1H, H-4), 8.32 (dd, 1H, H-6, $J_1 = 9.1$ Hz, $J_2 = 1.7$ Hz), 7.59 (d, 1H, H-7, $J = 9.1$ Hz), 10.39 (s, 1H, NH).

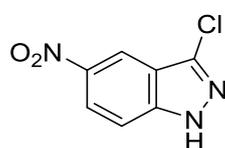
RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 110.0 (CH), 118.7 (CH), 122.1 (CH), 122.6 (C), 137.5 (CH), 141.8(C), 142.9 (C).

Mode opératoire de synthèse de 3-chloro-5-nitroindazole 31

Mode opératoire :

Dans un ballon de 100 ml, on place (0.2 g, 1mol) du 5-nitroindazole et (2.46 g ,3mol) de *N*-chlorosuccinimide dans 25 ml d'acétonitrile. Le mélange est porté au reflux pendant 2 heures. Après refroidissement, le solvant est évaporé et le résidu est lavé plusieurs fois à l'eau. Le produit est purifié par chromatographie sur gel de silice. Eluant : acétate d'éthyle/hexane 1/9.

3-Chloro-5-nitro-1*H*-indazole (31)



$C_7H_4ClN_3O_2$
MM: 197,58 g/mol

Aspect : solide jaune

Rdt : 87 %

PF : 208-210 °C

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 8.72 (d, 1H, H-4, $J= 1.6$ Hz), 8.36 (dd, 1H, H-6, $J_1= 9.2$ Hz, $J_2= 2.1$ Hz), 7.57 (d, 1H, H-7, $J= 9.2$ Hz), 10.19 (s, 1H, NH).

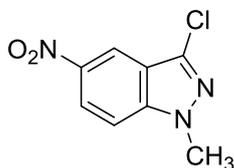
RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 110.7(CH), 117.6 (CH), 120.3(C), 123.2 (CH), 138.4 (C), 143.0 (C), 143.2(C).

Mode opératoire de synthèse des dérivés N-Alkylés 32a,b et 33a,b

Mode opératoire :

(1 g, 4.72 mmol) du 3-chloro-5-nitro-1*H*-indazole est dissout dans 15 ml de l'acétone, on ajoute (0.31 g, 1.1 mol) d'hydroxyde de potassium, puis on laisse le mélange sous l'agitation à 0°C pendant 15 min. Après on ajoute la quantité équivalente d'agent alkylant (Iodo-méthane et bromure d'allyle) avec un léger excès (10%). Après une heure d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé sous la pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice.

3-Chloro-1-methyl-5-nitro-1*H*-indazole (32a)



Eluant : acétate d'éthyle/hexane : 3/7

Aspect : Solide jaune.

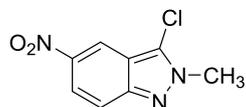
Rdt : 75 %

PF : 197-199 °C

RMN ¹H (CDCl₃): δ 4.10 (s, 3H, NCH₃), 7.44 (d, 1H, H-7, *J* = 9.3 Hz), 8.31 (dd, 1H, H-6, *J* = 9.3 Hz, 2.1 Hz), 8.66 (d, 1H-4, *J* = 2.1 Hz).

RMN ¹³C (CDCl₃) a: δ 36.4 (NCH₃), 109.8 (CH-7), 117.9 (CH-4), 120.5 (C-3a), 122.5 (CH-6), 135.8 (C-3), 142.2 (C-5), 142.7 (C-7a).

3-chloro-2-methyl-5-nitro-2H-indazole (33a)



$C_8H_6ClN_3O_2$

MW : 211,61 g/mol

Aspect: solide jaune

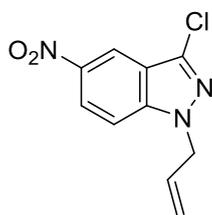
Rdt : 20 %

PF: 140-142 °C

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 4.21 (s, 3H, NCH_3), 7.67 (d, 1H, $J = 9.3$ Hz), 8.09 (dd, 1H, $J = 9.3$ Hz, 2.1 Hz), 8.61 (d, 1H, $J = 2.1$ Hz).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 38.2 (NCH_3), 117.9 (CH), 118.9 (CH), 121.1 (CH), 124.5 (C), 137.8 (C), 143.3 (C), 148.7 (C).

1-Allyl-3-chloro-5-nitro-1H-indazole (32b)



$C_{10}H_8ClN_3O_2$
MM = 237,64

Aspect : solide jaune pale

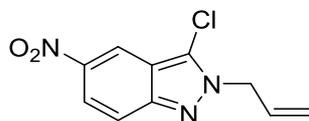
Rd : 67 %

PF : 44-46 °C

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 4.99-5.03 (m, 2H, =CH₂), 5.19-5.34 (m, 2H, NCH₂), 5.95-6.09 (m, H, =CH), 7.45 (d, 1H, H-7, J = 9.3 Hz), 8.29 (dd, 1H, H-6, J = 9.3 Hz, 2.1 Hz), 8.67 (d, 1H, H-4, J = 2.1 Hz).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 52.6 (NCH₂), 110.2 (CH), 117.9 (CH), 119.2 (=CH₂), 120.8 (C), 122.6 (CH), 131.3 (CH), 137.8 (C), 142.0 (C), 142.6 (C).

2-Allyl-3-chloro-5-nitro-2H-indazole (33b)



$C_{10}H_8ClN_3O_2$
MM: 237,64 g/mol

Aspect : solide jaune.

Rdt : 24 %

PF : 58-60 °C

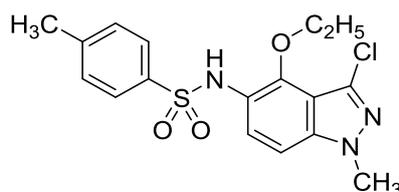
RMN 1H ($CDCl_3$): δ 5.09-5.12 (m, 2H, =CH₂), 5.22-5.39 (m, 2H, NCH₂), 5.99-6.06 (m, 1H, =CH), 7.71 (d, 1H, $J = 9.3$ Hz), 8.10 (dd, 1H, $J = 9.3$ Hz, 2.1 Hz), 8.64 (d, 1H, $J = 2.1$ Hz).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 53.6 (NCH₂), 117.8 (C), 118.0 (CH), 119.2 (CH), 120,0 (=CH₂), 121.2 (CH), 130.2 (CH), 137.8 (C), 143.4 (C), 148.9 (C).

Mode opératoire opératoire générale pour la Synthèse des N-(1-alkyl-3-chloro-1H-indazol-5-yl)-arylsulfonamides

0.66mmol de N-alkyl-3-chloro-5-nitro-1H-indazole et 3.3 mmol de SnCl₂ anhydre sont mis en suspension dans 25 ml d'éthanol absolu. Ce mélange est chauffé à 60 °C pendant 3-4h, puis le milieu réactionnel est ramené à température ambiante et hydrolysé avec une solution aqueuse de carbonate de potassium 5% jusqu'à pH 7-8. La phase aqueuse extraite trois fois à l'acétate d'éthyle et les phases organiques sont séchées sur Na₂SO₄ anhydre, filtrées et concentrées. L'amine obtenue est dissoute immédiatement dans 5 ml de pyridine. On y ajoute la quantité équivalente 0.72 mmol de chlorure d'aryle sulfonyle. la réaction est laissée sous agitation à température ambiante pendant 24 heures. Après l'évaporation de la pyridine, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice.

N-(3-Chloro-4-éthoxy-1-méthyl-1H-indazol-5-yl)-4-méthylbenzènesulfonamide (34a)



C₁₇H₁₈ClN₃O₃S

MW= 379,86 g/mol

Eluant : EtOAc/Hexane.

Aspect : solide marron

Rdt : 29 %

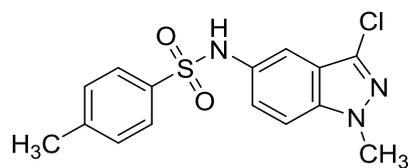
PF : 118-120 °C

RMN¹H (CDCl₃): δ 1.27 (t, 3H, CH₃, J = 7.2 Hz), 2.34 (s, 3H, CH₃), 3.62 (q, 2H, CH₂O, J = 7.2 Hz), 3.95 (s, 3H, NCH₃), 6.93 (s, 1H, NH), 7.06 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 7.18 (d, 2H, J = 8.4 Hz), 7.62 (d, 2H, J = 8.4 Hz), 7.75 (d, 1H, J = 9.0 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 15.4 (CH₃), 21.5 (CH₃), 36.0 (NCH₃), 72.5 (CH₂O), 105.7 (CH), 114.7 (C), 122.9 (C), 123.2 (CH), 124.4 (C), 127.1 (2CH), 129.7 (2CH), 136.2 (C), 141.2 (C), 141.8 (C), 144.0 (C).

EI-MS (m/z) = 380 (³⁵Cl) [M + 1]⁺, 382 (³⁷Cl) [M + 3]⁺ Anal. Calcd for C₁₇H₁₈ClN₃O₃S; C, 53.75; H, 4.78; N, 11.06. Found: C, 53.66; H, 4.68; N, 11.18

N-(3-chloro-1-methyl-1*H*-indazol-5-yl)-4-methylbenzènesulfonamide (35a)



$C_{15}H_{14}ClN_3O_2S$

MM= 335,81 g/mol

Eluant : EtOAc/Hexane

Aspect : solide marron

Rdt : 56 %

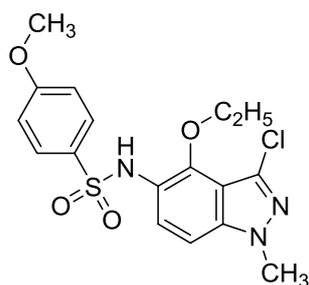
PF : 123-125 °C

NMR¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 2.37 (s, 3H, CH₃), 3.97 (s, 3H, NCH₃), 6.95 (s, 1H, NH), 7.18 (d, 2H, J = 8.4 Hz), 7.20–7.24 (m, 2H), 7.28 (d, 1H, J = 2.4 Hz), 7.61 (d, 2H, J = 8.4 Hz)

NMR¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 21.5 (CH₃), 36.0 (NCH₃), 108.7 (C), 110.2 (CH), 113.8 (CH), 121.1 (C), 124.8 (CH), 127.3 (2CH), 129.7 (2CH); 130.1 (C), 135.7 (C), 139.5 (C), 144.0 (C).

EI-MS (m/z) = 336 (35Cl) [M + 1]⁺, 338 (37Cl) [M + 3]⁺ Anal.

***N*-(3-Chloro-4-éthoxy-1-méthyl-1*H*-indazol-5-yl)-4-méthoxybenzènesulfonamide (34b)**



$C_{17}H_{18}ClN_3O_4S$

MM= 395,86 g/mol

Eluant : EtOAc/Hexane

Aspect : solide gris blanc

Rdt: 40 %

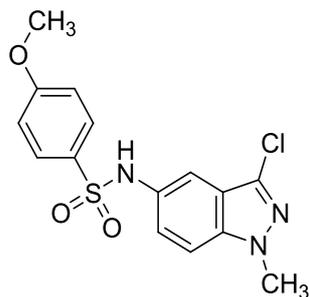
PF: 108-110 °C

NMR¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1.33 (t, 3H, CH₃, J = 7.2 Hz), 3.65 (q, 2H, CH₂O, J = 7.2 Hz), 3.78 (s, 3H, CH₃O), 3.95 (s, 3H, NCH₃), 6.84 (d, 2H, J = 8.4 Hz), 6.91 (s, 1H, NH), 7.05 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 7.64 (d, 2H, J = 8.7 Hz), 7.77 (d, 1H, J = 9.0 Hz); 13C

NMR¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 15.4 (CH₃), 36.0 (NCH₃), 55.6 (CH₃O), 72.5 (CH₂O), 105.7 (CH), 114.2 (2CH), 123.0 (C), 123.2 (CH), 127.4 (C), 129.2 (2CH), 131.5(C), 140.2 (C), 141.6 (C), 163.2 (C), 163.4 (C).

EI-MS (m/z) = 396 (35Cl) [M + 1]⁺, 398 (37Cl) [M + 3]⁺ Anal. Calcd for C₁₇H₁₈ClN₃O₄S, C, 51.58, H, 4.58, N, 10.61. Found: C, 51.46, H, 4.50, N, 10.72.

***N*-(3-Chloro-1-méthyl-1*H*-indazol-5-yl)-4-méthoxybenzènesulfonamide (35b)**



$C_{15}H_{14}ClN_3O_3S$

MM= 351,81 g/mol

Eluant : EtOAc/Hexane

Aspect: Solide marron

Rdt: 45 %

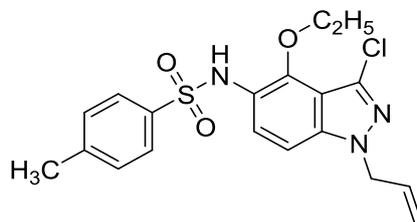
PF: 139-141 °C

RMN¹H (CDCl₃): δ 3.80 (s, 3H, CH₃O), 3.97 (s, 3H, NCH₃), 6.87 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz), 7.05 (s, 1H, NH), 7.21-7.31 (m, 3H), 7.64 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 35.9 (NCH₃), 55.6 (CH₃O), 110.2 (CH), 113.6 (CH), 114.2 (2CH), 121.1 (C), 124.7 (CH), 129.5 (2CH), 130.2 (C), 130.4 (C), 132.2 (C), 139.5 (C), 163.2 (C).

EI-MS (m/z) = 352 (³⁵Cl) [M + 1]⁺, 354 (³⁷Cl) [M + 3]⁺ Anal. Calcd for C₁₅H₁₄ClN₃O₃S; C, 51.21; H, 4.01; N, 11.94 Found: C, 51.36; H, 4.10; N, 11.84.

N-(1-allyl-3-chloro-4-ethoxy-1H-indazol-5-yl)-4-methylbenzènesulfonamide (34c)



$C_{19}H_{20}ClN_3O_3S$

MM= 405,90 g/mol

Eluant : EtOAc/Hexane

Aspect : Solide marron

PF : 99-101 °C

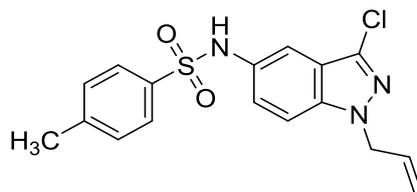
Rdt : 37 %

NMR¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1.32 (t, 3H, CH₃, $J = 7.2$ Hz), 2.34 (s, 3H, CH₃), 3.61 (q, 2H, CH₂O, $J = 7.2$ Hz), 4.85–4.89 (m, 2H, NCH₂), 5.16–5.27 (m, 2H, =CH₂), 5.90–6.01 (m, 1H, =CH), 6.95 (s, 1H, NH), 7.07 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz), 7.19 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz), 7.64 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz), 7.72 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz);

NMR¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 15.4 (CH₃), 21.5 (CH₃), 52.2 (NCH₂), 72.6 (CH₂O), 106.0 (CH), 115.0 (C), 118.7 (=CH₂), 123.1 (C), 123.2 (CH), 127.1 (2CH), 129.7 (2CH), 130.1 (C), 131.8 (CH), 136.2 (C), 140.7 (C), 141.8 (C), 144.0 (C).

EI-MS (m/z) = 306 (35Cl) [M + 1]⁺, 308 (37Cl) [M + 3]⁺ Anal. Calcd for C₁₉H₂₀ClN₃O₃S; C, 56.22, H, 4.97, N, 10.35. Found: C, 56.34, H, 5.10, N, 10.44.

N-(1-Allyl-3-chloro-1H-indazol-5-yl)-4-méthylbenzènesulfonamide (35c)



$C_{17}H_{16}ClN_3O_2S$

MM: 361,85 g/mol

Eluant: EtOAc/Hexane

Aspect: Solide marron

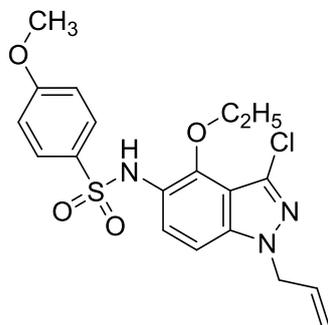
Rdt: 61 %

PF: 119-121 °C

RMN¹H (CDCl₃): δ 2.37 (s, 3H, CH₃), 4.88-4.91 (m, 2H, NCH₂), 5.13-5.25 (m, 2H, =CH₂), 5.90-9.01 (m, 1H, =CH), 7.04 (s, 1H, NH), 7.19-7.31 (m, 5H), 7.63 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 21.5 (CH₃), 52.2 (NCH₂), 110.5 (CH), 113.7 (CH), 118.5 (=CH₂), 121.5 (C), 124.7 (CH), 127.3 (2CH), 129.7 (2CH), 130.4 (C), 132.0 (CH), 132.8 (C), 135.8 (C), 139.0 (C), 144.0 (C).

***N*-(1-Allyl-3-chloro-4-éthoxy-1*H*-indazol-5-yl)-4-méthoxybenzènesulfonamide (34d)**



C₁₉H₂₀ClN₃O₄S

MW= 421,90 g/mol

Eluant : EtOAc/Hexane

Aspect : Solide marron.

Rdt : 35%

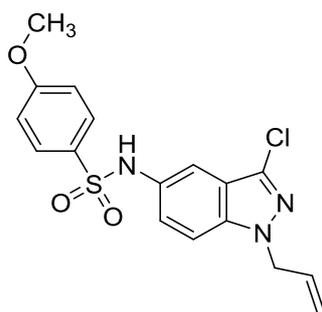
PF : 122-124 °C

NMR¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 1.24 (t, 3H, CH₃, J = 7.2 Hz), 3.75 (q, 2H, CH₂O, J = 7.2 Hz), 3.78 (s, 3H, CH₃O), 4.91–4.94 (m, 2H, NCH₂), 5.07–5.18 (m, 2H, =CH₂), 5.87–5.97 (m, 1H, =CH), 7.03 (d, 2H, J = 9.0 Hz), 7.17 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 7.30 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 7.64 (d, 2H, J = 9.0 Hz), 9.48 (s, 1H, NH);

NMR¹³C (75 MHz, DMSO-d₆): δ 15.6 (CH₃), 51.7 (NCH₂), 56.1 (CH₃O), 71.6 (CH₂O), 106.5 (CH), 114.7 (2CH), 115.1 (C), 118.5 (=CH₂), 122.3 (C), 127.9 (CH), 129.3 (2CH), 129.7 (C), 132.7 (C), 133.4 (CH), 141.3 (C), 146.0 (C), 162.8 (C).

EI-MS (m/z) = 422 (35Cl) [M + 1]⁺, 424 (37Cl) [M + 3]⁺ Anal. Calcd for C₁₉H₂₀ClN₃O₄S; C, 54.09; H, 4.78; N, 9.96. Found: C, 54.86; H, 4.71; N, 9.88.

***N*-(1-Allyl-3-chloro-1*H*-indazol-5-yl)-4-méthoxybenzènesulfonamide (35d)**



$C_{17}H_{16}ClN_3O_3S$

MM: 377,85 g/mol

Eluant : EtOAc/Hexane

Aspect : Solide marron

Rdt : 63 %

Pf : 112-114 °C

RMN¹H (CDCl₃): δ 3.81 (s, 3H, CH₃O), 4.88-4.91 (m, 2H, NCH₂), 5.13-5.25 (m, 2H, =CH₂), 5.92-5.98 (m, 1H, =CH), 6.87 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz), 6.98 (s, 1H, NH), 7.18-7.31 (m, 3H), 7.67 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 52.3 (NCH₂), 55.6 (CH₃O), 110.5 (CH), 113.7 (CH), 114.2 (2CH), 118.5 (=CH₂), 121.5 (C), 124.7 (CH), 129.5 (2CH), 130.3 (C), 130.5 (C), 132.0 (CH), 132.8 (C), 139.0 (C), 163.2 (C).

**CHAPITRE. IV : EVALUATION DE
L'ACTIVITE CYTOTOXIQUE DE
QUELQUES DERIVES INDAZOLIQUES**

INTRODUCTION

L'incidence du cancer dans le monde ne cesse d'augmenter (14,2 millions nouveaux cas en 2012). Plus de 60 % des nouveaux cas de cancer dans le monde sont répertoriés en Afrique, en Asie, en Amérique centrale et en Amérique du sud. 70 % des décès dus au cancer sont répertoriés dans ces zones précitées⁷⁷ Au Maroc, le cancer reste la deuxième cause de mortalité en 2011⁷⁸. La recherche de nouveaux agents anticancéreux, sélectifs et très actifs est une réelle nécessité

Histoire Et Définition

Le cancer est une maladie décrite depuis l'Antiquité. C'est le médecin grec, *Hippocrate*, qui compare, le premier, les tumeurs à un crabe et leur a donné les noms de « karkinos » et « karkinoma », en grec. La comparaison est due à la forme de certaines tumeurs arrondies entourées de prolongements en rayons semblables aux pattes du crustacé⁷⁹. Cette comparaison est reprise ultérieurement par Galien (131-201 après J-C) qui écrit un traité des tumeurs et décrit avec beaucoup de précision le cancer du sein :

"Maintes fois, nous avons vu aux mamelles une tumeur exactement semblable à un crabe. En effet, de même que chez cet animal il existe des pattes des deux côtés du corps, de même, dans cette affection, les veines étendues sur cette tumeur contre nature présentent une forme semblable à celle d'un crabe. Nous avons guéri souvent cette affection à son début. Quand elle a pris une étendue considérable, personne ne l'a guérie sans opération." (In Galien, "de la méthode thérapeutique, à Glaucon, livre II.").

Selon l'OMS, la maladie cancéreuse est une «prolifération rapide de cellules anormales qui, au-delà de leur délimitation habituelle, peuvent envahir des parties adjacentes de l'organisme, puis essaimer dans d'autres organes. On parle alors de métastases». Ces cellules

⁷⁷ Stewart BW, Wild CP, World cancer report, *IARC Nonserial Publication*, 2014, 16-69

⁷⁸ Direction de la planification et des ressources financières, division de la planification et des études, Service des études et de l'information sanitaire, Santé en chiffres. Ministère de la Santé, Maroc, 2013.

⁷⁹ *Institut national du cancer*. Qu'est-ce qu'un cancer? [Internet]. 2008 Juin. Disponible sur: e-cancer.fr

indifférenciées échappent au contrôle de l'organisme. Le mot «cancer» indique un groupe de maladies très différentes les unes des autres, «Pouvant toucher n'importe quelle partie de l'organisme»⁸⁰

Le corps humain est composé d'environ 60000 milliards de cellules⁸¹. Ces unités structurales ont un cycle de vie prédéterminé. La cellule normale apparaît, se multiplie et s'éteint de manière programmée. Dépendamment des besoins de son environnement, cette dernière peut se renouveler pendant quelques générations, et les divisions cellulaires ne se déclenchent qu'en fonction des besoins de l'organisme, dans le but de réparer les tissus endommagés⁸². Ainsi, à chaque instant, le nombre de cellules qui naissent compense le nombre de cellules qui meurent. Ce renouvellement cellulaire est assuré par des mécanismes de régulation qui veillent à ce que chacune des cellules manquantes soit remplacée par une nouvelle cellule ayant la même fonction et la même position dans le corps⁸¹. Ainsi, une cellule normale est constamment soumise à des molécules (facteurs de croissance, inhibiteurs, cytokines, chimiokines) qui dictent sa transformation. Inversement, la cellule normale sécrète à son tour des molécules qui influencent le devenir des cellules voisines.

Compte tenu du grand nombre de cellules qui se divisent chaque jour, l'apparition de cellules anormales peut survenir soit spontanément ou suite à une transformation induite par un agent cancérigène⁸³. Selon diverses études, de multiples facteurs peuvent induire le développement des cellules anormales chez l'homme; le tabagisme, l'alimentation, l'hérédité, les infections, les expositions professionnelles, l'alcool, l'obésité, l'exposition aux rayons UV, les drogues et la pollution en font partie^{84,85}. Ces éléments de stress agissent sur les cellules et représentent alors des causes possibles d'un cancer. Effectivement, face à ces perturbations,

⁸⁰ WHO/OMS. *Cancer - Aide-mémoire n°297*. mars 2017; Disponible sur:<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/fr/>

⁸¹ Tubiana, M «*Le cancer* », 5e éd., Presses Universitaires de France, Paris, France, 128 pp. . (2003)

⁸² Andrieu, I-M. *Traitements actuels des cancers* », Medsi, Paris, France, 555 pp. (1987) «

⁸³ Mandeville, R « *Le cancer du sein: le comprendre pour le prévenir et le guérir* », La Presse, Montréal, Canada, 312 pp. (1988)

⁸⁴ Béliveau, R, Gingras D. « *Les aliments contre le cancer: la prévention et le traitement du cancer par l'alimentation* », Trécaré, Outremont, Québec, Canada, 213 pp. (2005)

⁸⁵ Cabarrot, É., Lagrange I-L., Zucker, I-M. «*Cancérologie générale* », Masson, Paris, France, 216 pp. (2002)

certaines gènes peuvent être déréglés et une cellule peut subir des altérations ou des mutations quelconques. Normalement, une telle cellule, devenue fragile et peu viable, est naturellement reconnue et détruite par le système immunitaire⁸³. Cependant dans certains cas, des cellules anormales survivent en raison de leur agressivité. Ces dernières, qualifiées de cancéreuses, se multiplient de façon exagérée et non contrôlée, causant l'apparition d'une tumeur. Le point de départ de tout cancer est donc la cellule qui a changé et dont la division est devenue incontrôlable parce qu'elle échappe au contrôle de l'organisme. Ainsi, l'immortalité, l'autonomisation de la division cellulaire et la capacité d'infiltration sont les principales caractéristiques d'une cellule cancéreuse⁸¹.

La cellule est une véritable machine qui dispose de ses propres fonctions de fabrication, de stockage, de transport, ou de communication. Ces systèmes lui permettent de se développer, de se différencier mais aussi de se diviser et de mourir, le tout de façon programmée et contrôlée. La cellule est composée d'une membrane plasmique (ou plasmalemm) qui renferme le cytoplasme, dans lequel on retrouve le noyau. Le patrimoine génétique, plus imagé la carte d'identité de la cellule, est dans le noyau, stocké sous la forme de 23 paires de chromosomes.

Chaque chromosome est constitué de nombreuses protéines et d'une molécule d'ADN. L'ADN est constitué de deux brins enroulés l'un autour de l'autre pour former une double hélice. Les gènes sont inscrits sur l'ADN. Plus précisément, un gène est un élément particulier de l'ADN. Il contient une information précise qui permet le bon fonctionnement de chaque cellule et donc de l'organisme tout entier⁸⁶

⁸⁶ *Institut national du cancer. Qu'est-ce qu'un cancer? [Internet]. 2008 Juin. Disponible sur: e-cancer.fr*

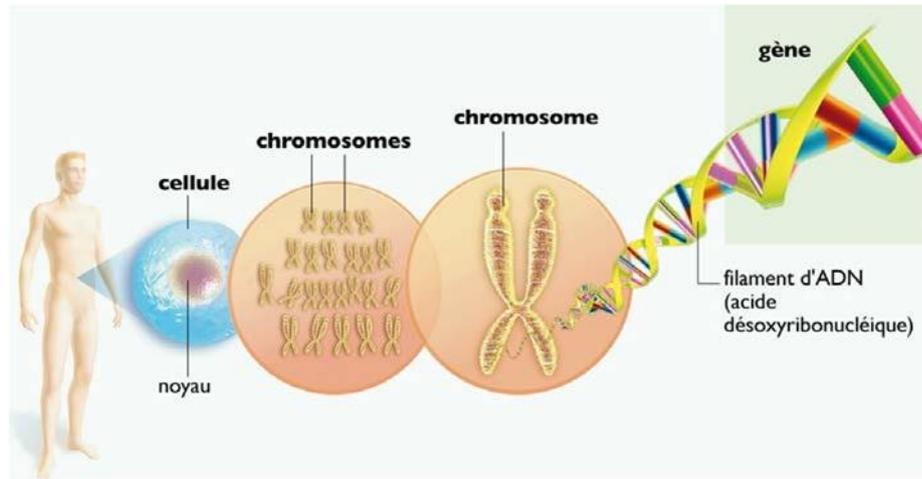


Figure 28 : De la cellule eucaryote à l'ADN (d'après⁸⁷)

La vie des cellules est délimitée par deux mécanismes : le cycle cellulaire, qui conduit à la fabrication des cellules et la mort cellulaire programmée, que l'on appelle le phénomène d'apoptose, qui conduit à la destruction des vieilles cellules ou abîmées⁸⁰

Le cycle cellulaire est composé d'une succession de phases de croissance, par lesquelles une cellule, nommée cellule mère, donne naissance à deux cellules, nommées cellules filles, identiques entre elles et à la cellule mère. Les cellules filles reproduiront ce cycle et ainsi de suite. Au cours du cycle intervient plusieurs points de contrôle et de régulation. Ce processus comporte 5 phases :

- une phase de repos, appelée phase G₀,
- une première phase de croissance, appelée phase G₁ (Growth 1),
- une phase de synthèse ou réplication de l'ADN, appelé phase S (Synthesis),
- une deuxième phase de croissance, appelée phase G₂ (Growth 2) et,
- une phase de division cellulaire, appelée phase M (Mitosis).

⁸⁷ Symbiose et évolution : à l'origine de la cellule eucaryote [Internet]. *Encyclopédie de l'environnement*. 2016. Disponible sur: <http://www.encyclopedieenvironnement.org/vivant/symbiose-evolution-lorigine-de-cellule-eucaryote/>

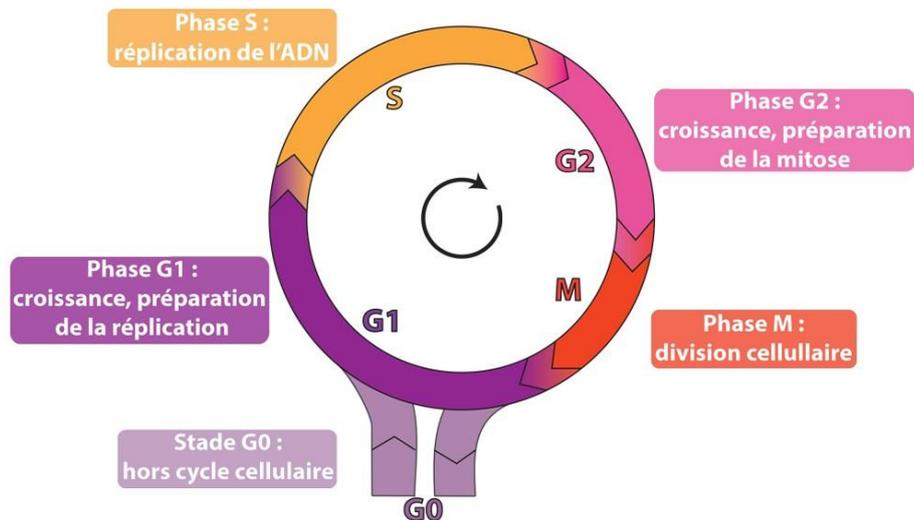


Figure 29 : Les différentes phases du cycle cellulaire (d'après⁸⁸)

Lors de la phase G0, aussi appelée phase de quiescence, la cellule est en état de repos, Elle arrête son activité de multiplication. C'est lorsque la cellule reçoit un signal de reproduction qu'elle entre dans la phase G1 du cycle cellulaire. Lors de la phase G1, la cellule croît en taille et commence à fabriquer des protéines cytoplasmiques et de l'ARN afin de se préparer à la division. C'est la phase du cycle la plus longue (de quelques heures à plusieurs années) et la plus variable selon le type cellulaire. Lors de la phase S, l'ADN de la cellule est copié grâce à une enzyme appelée ADN polymérase, qui déroule l'ADN et sépare les deux brins. Lors de la phase G2, la cellule continue de fabriquer des protéines et de l'ARN en préparation à la division. C'est aussi une phase de contrôle de la bonne transcription du matériel génétique, impliquant des gènes et des protéines importants pour le bon déroulement de la phase suivante, la mitose.

Enfin, a lieu la dernière phase, la phase M, celle de la mitose. La cellule se divise en deux nouvelles cellules. Une fois la phase mitotique achevée, la cellule peut soit repassé en phase G1 et recommencer le cycle de réplication, soit entré en phase G0, à l'état de repos jusqu'à sa réactivation⁸². La quantité d'ADN évolue au cours du cycle cellulaire. Lors de la

⁸⁸ Dr Marie-Claude Lebart - *Université Pierre et Marie Curie* - Paris VI. Larégulation du cycle cellulaire [Internet]. 2004. Disponible sur:<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/index.htm>

phase S, l'ADN présent dans le noyau de la cellule mère est répliqué, c'est-à-dire qu'il est reproduit à l'identique. La double hélice d'ADN de la cellule mère se sépare en 2 brins. Chacun de ses brins servira de support à la synthèse d'un second brin et ainsi reformer une double hélice.

Lors de la phase M, chaque double hélice nouvellement formée intégrera le noyau de chacune des 2 cellules filles. La quantité d'ADN redevient identique à celle du début du cycle cellulaire.

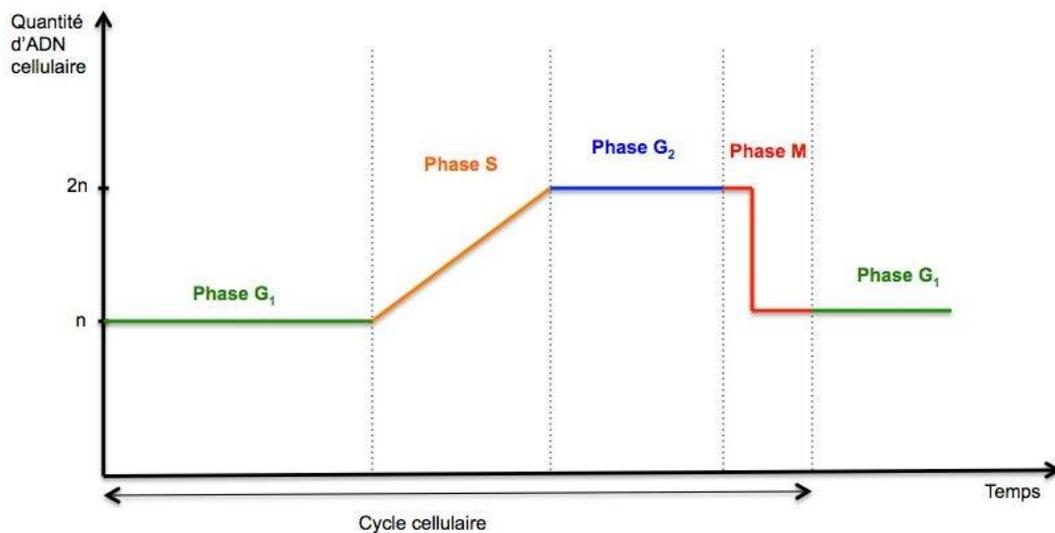


Figure 30 : Variation de la quantité d'ADN au cours du cycle cellulaire

-Dysfonctionnement de la cellule : apparition de la cellule cancéreuse

Des points de contrôle sont programmés lors des différentes phases du cycle cellulaire. Ainsi, les complexes Cyclines-CDK régulent la progression du cycle. L'objectif est de vérifier que la division cellulaire se déroule de façon normale.⁷⁹ En cas d'éventuelles anomalies identifiées dans le cycle, la cellule peut soit corriger ses erreurs soit s'autodétruire par phénomène d'apoptose.

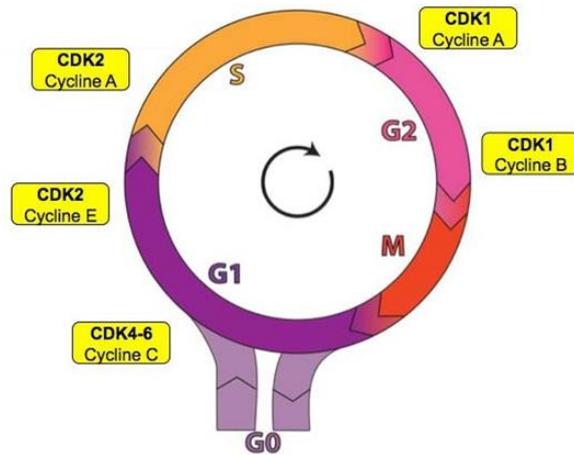


Figure 31 : Points de contrôle et régulation du cycle cellulaire

Si les erreurs ne sont pas réparées, elles s'accumulent. Au fur et à mesure des divisions, elles sont à l'origine du cancer. On considère qu'il faut environ une dizaine de mutations pour que le phénomène de cancérisation apparaisse. Lors de la division cellulaire, les anomalies qui se produisent sont appelées des mutations génétiques. Très souvent, elles surviennent sur l'ADN d'une cellule somatique. Les cellules somatiques sont l'ensemble des cellules de l'organisme qui ne sont pas impliquées dans la reproduction et la fécondation (ovules et spermatozoïdes). Ces mutations sont soit de cause inconnue, soit dues à l'exposition à un facteur de risque.

Différentes mutations sur des gènes peuvent avoir lieu comme des délétions (pertes), des duplications (doublements), des insertions (ajouts) et des translocations (échanges) de chromosome ou de parties de chromosome.⁷⁹ Par exemple, on retrouve, dans *les leucémies myéloïdes chroniques*, une translocation entre *les chromosomes 9 et 22* à l'origine du chromosome Philadelphie Ph 1 entraînant le développement du cancer ou dans *le lymphome de Burkitt*, une translocation entre *les chromosomes 8 et 14*.

La biologie moléculaire et la génétique ont permis d'établir que les altérations génétiques surviennent précisément sur les éléments de régulation de la différenciation, de la division et de la mort cellulaire. L'objectif aujourd'hui est donc de comprendre au mieux les mécanismes particuliers de prolifération des cellules cancéreuses pour permettre la découverte de nouveaux traitements plus spécifiques. L'efficacité de ces nouvelles stratégies n'est pas encore toujours totalement établie, mais il est clair qu'elle dépendra de la connaissance des différents niveaux de régulation cellulaire et de leurs interactions.

Présentement, les principales méthodes utilisées dans le traitement du cancer comprennent des associations de chirurgie, radiothérapie et chimiothérapie ⁸⁹.⁹⁰. Cependant, dans la majorité des cas, ces dernières demeurent inefficaces étant donné les caractères silencieux (diagnostiques tardifs) et récidiviste du cancer. Aussi, face à cette grande incidence mondiale, la nécessité de nouveaux agents anticancéreux plus sûrs, et efficaces dans le traitement ou la prévention de cette maladie devient cruciale.

Les médicaments utilisés en chimiothérapie sont appelés des agents antinéoplasiques. Parmi ceux-ci figurent les alkylants, les antibiotiques, les antimétabolites et les antimitotiques. Les agents alkylants provoquent une lésion biochimique dans l'ADN du noyau et altèrent ainsi la cellule cancéreuse. Les antibiotiques entravent également la multiplication cellulaire. Les antimétabolites, quant à eux, trompent la cellule en imitant des substances indispensables à la division et à la survie des cellules. Et finalement, les antimitotiques bloquent notamment la division de la cellule-mère en deux cellules-filles. Dans l'ensemble, ces composés antinéoplasiques sont administrés par voie orale ou intraveineuse. Une fois dans le corps, ceux-ci se propagent dans l'ensemble de l'organisme pour altérer les cellules les plus sensibles et à prolifération rapide telles les cellules cancéreuses.

L'indazole est un précurseur important pour le développement d'agents anticancéreux. Ce système bi-cyclique est connu pour être un pharmacophore très efficace en chimie médicinale.

En effet, la particularité structurale de l'indazole lui offre une large gamme d'activités biologiques^{91,92}. Cependant, l'élaboration de nouvelles structures indazolique pourvues d'activités pharmacologiques demeure un domaine de recherche laborieux.

Toutefois, certains agents anticancéreux à base d'indazole ont été décrits dans la littérature. A titre d'exemples, Benedetta et ses collaborateurs ⁹³ ont synthétisé des 3-amino-

⁸⁹ Sawyers, C. *Nature*. **2004**, 432, 294-297.

⁹⁰ DeVita, V. T., Lawrence, T. S., Rosenberg, S. A. *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. Lippincott Williams & Wilkins Publisher. **2001**, 1084-1126

⁹¹ (a) Cerecetto, H., Gerpe, A., Gonzalez, M., Aran, V. J., De Ocariz, C. O. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2005**, 5, 869- 878. (b) Gaikwad, D. D., Chapolikar, A. D., Devkate, C. G., Warad, K. D., Tayade, A. P., Pawar, R. P., Domb, A. J. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 90, 707-731.

⁹² Jennings, A., Tennant, M. *J. Chem. Info. Mod.* **2007**, 47, 1829-1838

N- phényl-1*H*-indazole-1-carboxamides doués d'activités antiprolifératives importantes contre des cellules cancéreuses humaines.

La détermination de la concentration inhibitrice minimale (CI_{50}) a montré que le composé L42 est le plus actif de toute la série (CI_{50} variant de 0.041-33.6 μ M) (Figure 32).

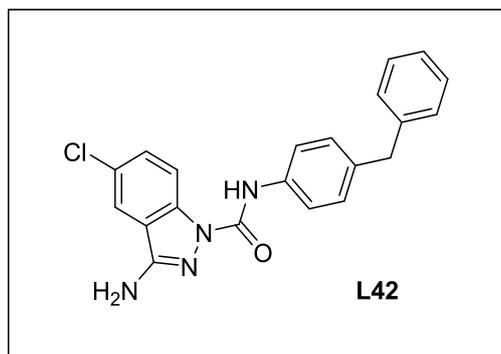
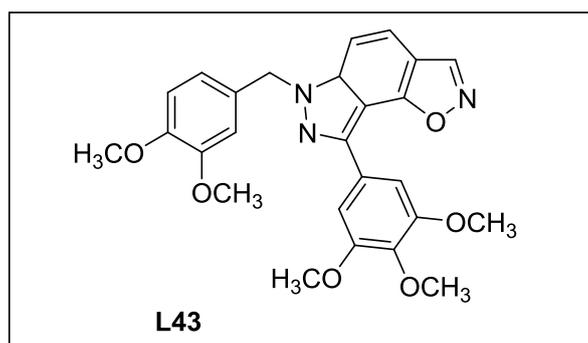


Figure 32 : 3-Amino-N-(4-benzylphenyl)-5-chloro-1H-indazole-1-carboxamide

Parallèlement, Paola Barraja et son équipe ⁹⁴ ont synthétisé et évalué *in vitro* l'activité antiproliférative d'une quarantaine d'oxazolo[5,4-*e*]indazoles contre des cellules tumorales d'origine humaines. La molécule L43 est la plus active de la série (Figure 33), avec des concentrations inhibitrices comprises entre 3,17-6,85 μ M et 3,02-7,28 μ M, respectivement pour le cancer du poumon et le cancer ovarien.



⁹³ Benedetta, M., Maria, V. R., Demetrio, R., Fabiana, P., Stella, C., Salvatore, P., Manlio, T., Antonietta, D. C., Rosaria, M. P., Stefania, G., *Eur. J. Med. Chem.* **2011**,46,1,168.

⁹⁴ Paola, B., Virginia, S., Daniele, G., Patrizia, D., Alessandra, M., Anna, C., Barbara, P., Girolamo, C. *Tetrahedron.* **2013**, 69, 6474-6477.

Figure 33 : 6-(3,4-dimethoxybenzyl)-8-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-5a,6-dihydro-7H-indazolo[5,4-e]indazole

De leur côté, Cui-rong Zhao et *al.*⁹⁵ ont synthétisé une nouvelle série d'indazoles à partir des diarylurées. Leur activité cytotoxique a été en outre évaluée contre les lignées cellulaires H460, A549, OS-RC-2, HT-29, Lovo, HepG2, Bel-7402, SGC-7901 et MDA-MB-231.

Il en ressort que certains de ses composés présentent une activité antiproliférative égale voir supérieure au Sorafenib **L45** le produit de référence. Par ailleurs, le produit L44 (Figure 34) s'est révélé être le plus actif de la série avec une CI50 comprise entre 1 μ M et 4 μ M.

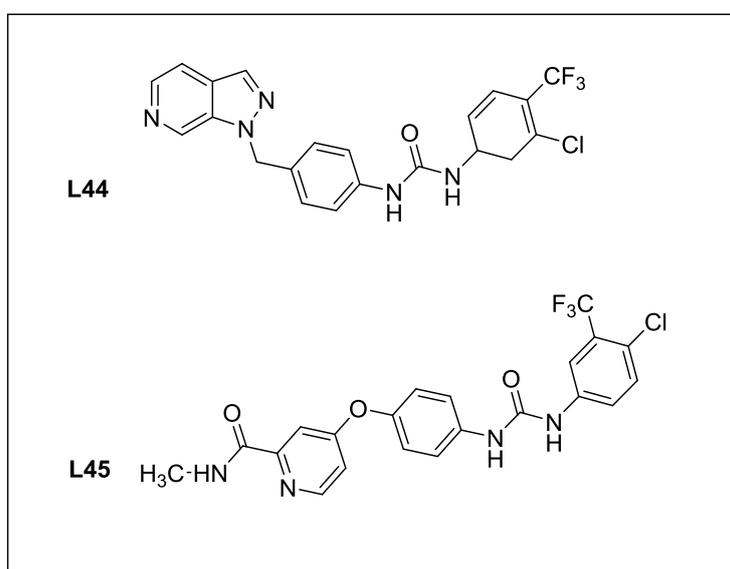


Figure 34 : Dérivés de l'indazole.

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une transformation maligne d'une cellule souche hématopoïétique, caractérisée par une anomalie génétique acquise : le chromosome Philadelphie (Ph), résultant de la translocation réciproque t(9,22) (q34, q11), et son équivalent moléculaire, l'oncogène BCR-ABL. La protéine BCR-ABL présente une activité tyrosine kinase constitutive qui agit sur les voies de survie et de prolifération.⁹⁶ Ce qui confirme que l'inhibition de la protéine BCR-ABL est une approche spécifique pour le traitement de la

⁹⁵ Cui-rong, Z., Rui-qi, W., Gang, L. b., Xiao-xia, X., Chang-jun, S., Xian-jun, Q., Wen-bao, L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23, 1989-1992.

⁹⁶ Sami, J. *Life Sciences [q-bio]. Université du Droit et de la Santé*, **2009**, Lille II, France.

leucémie myéloïde chronique. Ainsi à la lumière de ce qui précède, Christopher McBride et *al.*⁹⁷ ont synthétisé à partir de l'indazole, des dérivés 3-benzimidazol-2-yl-1*H*-indazoles présentant d'excellentes activités inhibitrices de la protéine kinase BCR-ABL. Le composé L46 (Figure 35) est le plus actif de cette série, avec une CI_{50} de 0.003 μ M.

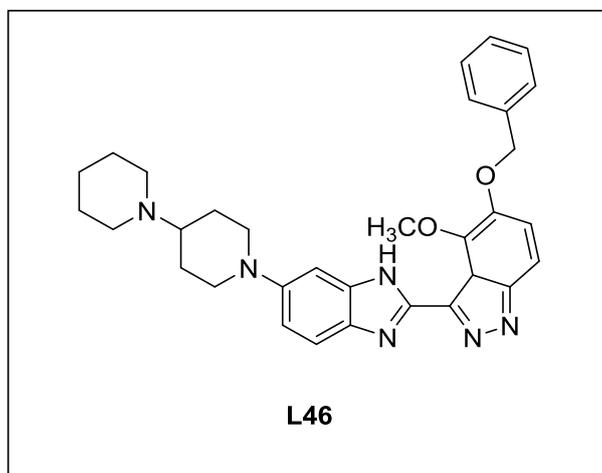


Figure 35 : 3-(6-([1,4'-bipiperidin]-1'-yl)-1*H*-benzo[d]imidazol-2-yl)-5-(benzyloxy)-4-methoxy-3*aH*-indazole

Takeuchi et son équipe⁹⁸ ont explicité l'activité antiproliférative des 1,3-diarylindazoles (YC-1) L47 (figure 36) sur certaines cellules cancéreuses humaines.

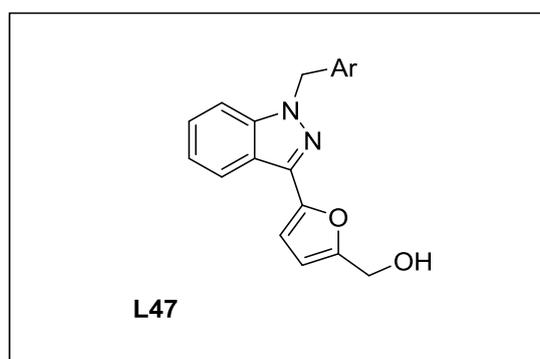


Figure 36 : (5-(1-(argiomethyl)-1*H*-indazol-3-yl)furan-2-yl) methanol

⁹⁷ Christopher, M. M., Paul, A. R., Thomas, G. G., Johanna, M. J., Julie, L., Sylvia, M., Yasheen, Z., Cynthia, M. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 3789-3792.

⁹⁸ Takeuchi, A., Hori, M., Sato, S., Ban, H. S., Kuchimaru, T., Kizaka-Kondoh, S., Yamori, T., Nakamura, H. *Med Chem Commun.*, **2012**, 3, 1455-1461.

Aux nombres de ses 1,3-diarylindazoles, lonidamine L48 a montré des propriétés anti-tumorales ⁹⁹ encourageantes lors des études en phase II et III dans le traitement des cancers avancés du sein, ovaire, et du poumon (Figure 37).

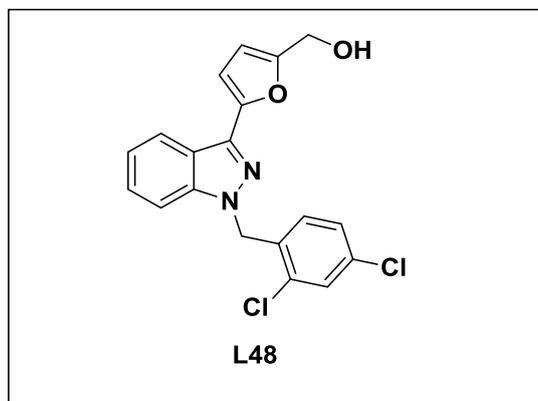


Figure 37 : (5-(1-(2,4-dichlorobenzyl)-1*H*-indazol-3-yl) furan-2-yl) methanol

Dans notre laboratoire, notre équipe de recherche a testé une série de structure indazolique diversement substituées. Certaines d'entre elles exercent des activités pharmacologiques antiprolifératives et/ou apoptotiques intéressantes contre les lignées cellulaires humaines (DU145, HCT116, HT29, A2780 et A549) et murine (L1210 et P388).^{100.101} Ainsi, les *N*-(7-indazolyl)-arylsulfonamides L49 testés contre la lignée cellulaire L1210 ont montré des activités antitumorales importantes (figure 38).

⁹⁹ Di Cosimo, S., Ferretti, G., Papaldo, P., Carlini, P., Fabi, A., Cognetti, F. *Drugs Today (Barc)*. **2003**, 39, 157-174.

¹⁰⁰ Bouissane, L., El Kazzouli, S., Leonce, S., Pfeifer, P., Rakib, E. M., Khouili, M., Guillaumet, G. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 1078-1088

¹⁰¹ Bouissane, L., El Kazzouli, S., Leger, J-M., Jarry, C., Rakib, E. M., Khouili, M., Gu *Tetrahedron*. **2005**, 61, 8218-8225.

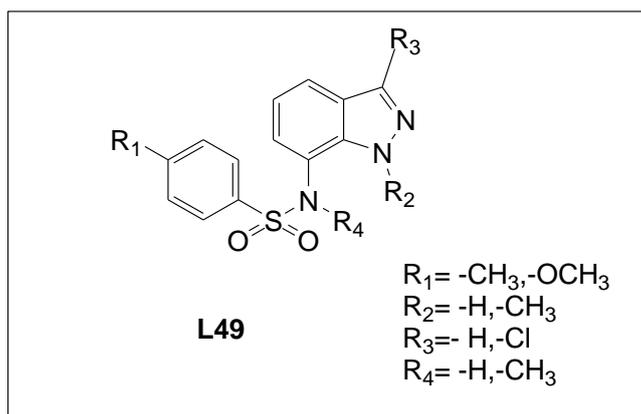


Figure 38 : *N*-(7-indazolyl)-arylsulfonamides:

Parmi les composés testés, les structures L49c, L49h, et L49o ont montré des activités prometteuses aussi bien en termes de cytotoxicité que de perturbation du cycle cellulaire. En effet, ces composés inhibent la prolifération des cellules L1210 avec une CI_{50} comprise entre 0.44 et 1.43 μM (Tableau 13).

Une étude plus approfondie de la relation structure/activité a montré que les dérivés 3-chloro de l'indazole possédant un groupement méthoxy en position 4 de l'arylsulfonyle ($R_1 = \text{OCH}_3$) possèdent les meilleures activités.¹⁰² Le composé L49o substitué sur l'azote NH-7 est deux fois plus actif que son homologue L49h non substitué. Par contre le sulfonamide L49m mono-alkylé en position NH-1 est moins actif que L49h

¹⁰² Bouissane, L. *Thèse de Doctorat National*, 2006, FST Béni-Mellal

Tableau 13 : Activité des *N*-(7-indazolyl)-arylsulfonamides sur l'inhibition de la prolifération des cellules L1210.

Composés	R1	R2	R3	R4	CI50	Analyse du cycle cellulaire
L49b	Me	H	H	H	1.43	93% G2M + 8N à 5 μ M
L49c	OMe	H	H	H	0.98	93% G2M + 8N à 2.5 μ M
L49g	Me	H	Cl	H	2.52	92% G2M + 8N à 5 μ M
L49h	OMe	H	Cl	H	0.923	27% G2M de 1 à 10 μ M
L49i	OMe	Me	H	H	1.16	86% G2M + 8N à 5 μ M
L49m	OMe	Me	Cl	H	1.16	88% G2M + 8N à 5 μ M
L49n	OMe	H	H	Me	1.18	93% G2M + 8N à 5 μ M
L49o	OMe	H	Cl	Me	0.44	92% G2M + 8N à 1 μ M
L49p	OMe	Me	Cl	Me	1.9	90% G2M + 8N à 10 μ M

. Ces résultats impliqueraient que l'azote NH-7, et la position 3 de l'indazole jouent un rôle important dans l'activité antiproliférative de ce type de structure.

Afin d'élargir cette étude pharmacologique, notre équipe a réalisés des travaux sur les dérivés *N*-(4-indazolyl)-arylsulfonamides,^{103,104} ils ont montré que ces dérivés présentent d'excellentes activités antiprolifératives et apoptotiques pour les composés L50a et L50b (Figure 39).

¹⁰³ (a) Abbassi, N., Rakib, E. M., Chicha, H., Bouissane, L., Hannioui, A., Aiello, C., Gangemi, R., Castagnola, P., Rosano, C., Viale, M. *Arch. Pharm. – Chem. Life Sci.* **2014**, 347, 423-431. (b) Abbassi, N., Chicha, H., Rakib, E. M., Hannioui, A., Alaoui, M., Hajjaji, A., Geffken, D., Aiello, C., Gangemi, R., Rosano, C., Viale, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 57, 240-249

¹⁰⁴ (a) Bouissane, L., El Kazzouli, S., Leonce, S., Pfeifer, P., Rakib, E. M., Khouili, M., Guillaumet, G. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 1078-1088. (b) Bouissane, L., El Kazzouli, S., Leger, J-M., Jarry, C., Rakib, E. M., Khouili, M., Gu *Tetrahedron.* **2005**, 61, 8218-8225

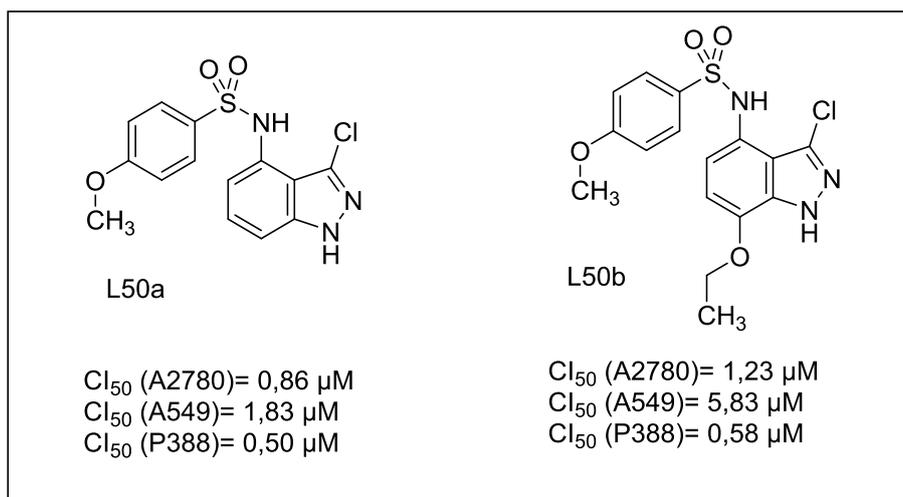


Figure 39 : Dérivés *N*-(4-indazolyl)-arylsulfonamides

Outre ces molécules, les composés **L51a** et **L51b** issus des *N*-(6-indazolyl)-arylsulfonamides (Figure 40) se sont révélés être de bons inhibiteurs de la prolifération cellulaire des souches tumorales A2780 (cancer ovarien) et A549 (carcinome du poumon) à des faibles doses (CI_{50} variant entre 4.21 μ M et 18.6 μ M).

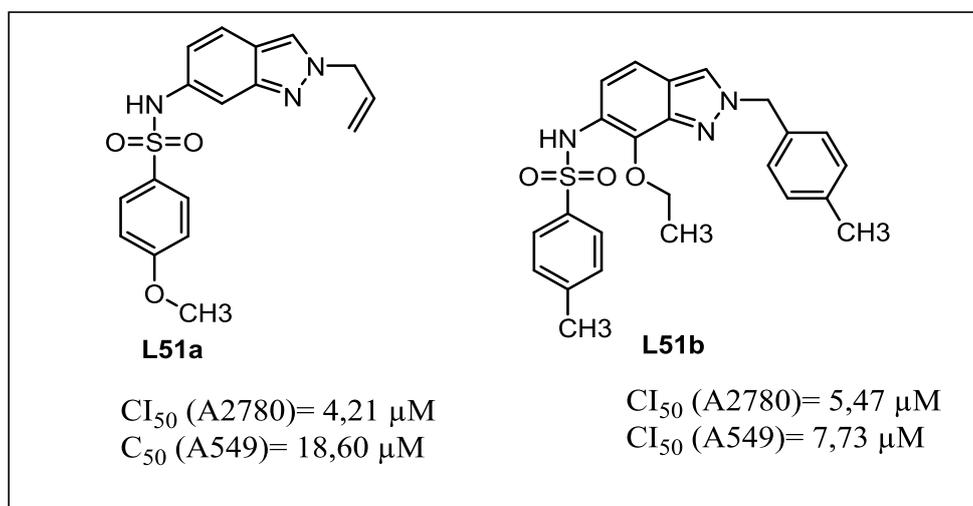


Figure 40 : *N*-(6-indazolyl)-arylsulfonamides

L'originalité et la pertinence de ces résultats a poussé notre équipe à s'approfondir son étude sur le mode d'action de nouveaux *N*-(4(6)-indazolyl)-arylsulfonamides à travers des tests beaucoup plus poussés :

- Test de "Western blot" des marqueurs de l'apoptose : p53 et bax
- Analyse du cycle cellulaire

- Analyse "Docking" moléculaire
- Analyse de la microscopie à Immunofluorescence

De façon succincte, il en ressort que bien qu'ayant des caractéristiques différentes, la majorité des *N*-(4(6)-indazolyl)-arylsulfonamides induisent un blocage des cellules dans la phase G2/M du cycle cellulaire et génèrent des cellules avec un nombre anormal de chromosome. Par ailleurs, les données obtenues via l'analyse par microscopie à immunofluorescence du cycle cellulaire ont révélé que ces molécules interagissent différemment avec les microtubules, et ce en fonction de leurs structures moléculaires.

Les résultats prometteurs obtenus dans ces différentes études nous ont incités à préparer une nouvelle série de l'indazole, et étudier en collaboration avec l'équipe du Professeur Maurizio Viale de l'institut de cancérologie de Gênes (Italie) leurs activités cytotoxiques.

L'évaluation a porté essentiellement sur des tests antiprolifératif, d'apoptose et d'analyse du cycle cellulaire. L'objectif principal de ces tests est d'étudier l'effet du substituant et la nature des structures moléculaires sur l'inhibition des cellules cancéreuses.

I-Détermination des activités antiprolifératives (Test MTT)

Les activités antiprolifératives de nos molécules ont été évaluées de deux manières différentes. Dans un premier temps, tous les composés ont été dilués dans le DMSO à une concentration de 100 mM, puis dilués dans le sérum de veau fœtal afin d'obtenir des concentrations finales en DMSO de 0.1% - 0.6%.(Méthode A).

Après sélection des composés les plus actifs, ces derniers ont été à nouveaux testés sur les lignées cellulaires A2780 (carcinome de l'ovaire), A549 (adénocarcinome pulmonaire à petites cellules). la dilution des composés fut réalisée à partir du DMSO, puis dilués dans une solution contenant 1% de cremophor/éthanol (1:1) et finalement dilués dans une solution saline normale pour atteindre une concentration finale en DMSO de 0.1% ou 0.2% (Méthode B).

Par ailleurs, les cellules utilisées dans cette étude ont été incubées pendant 6-8h dans des plaques de 96 puits avant d'être traitées par nos composés. Après 72h d'incubation en présence de nos produits, le test MTT a été réalisé au moyen de la procédure décrite par notre groupe de recherche.¹⁰⁵

Les résultats sont exprimés en IC_{50} qui représente la concentration (en μM) de la drogue inhibant 50% de la prolifération des cellules. Les IC_{50} ont été calculées à partir de l'analyse des courbes de relation dose-effet, chaque valeur finale étant la moyenne de 3-7 expérimentations. Il convient de noter qu'un composé est considéré comme actif lorsque son IC_{50} est inférieure à $30\mu M$.

La prolifération des cellules est évaluée par la mesure de l'activité enzymatique succinyl-déshydrogénase mitochondriale des cellules vivantes, laquelle est capable de cliver un sel de tétrazolium de couleur jaune (le bromure de 3-(4,5-diméthylthiazolyl)-2,5-diphényltétrazolium **L53** (ou MTT)) en un dérivé formazan **L54** de couleur bleu violet, insoluble dans l'eau (Schéma 38)

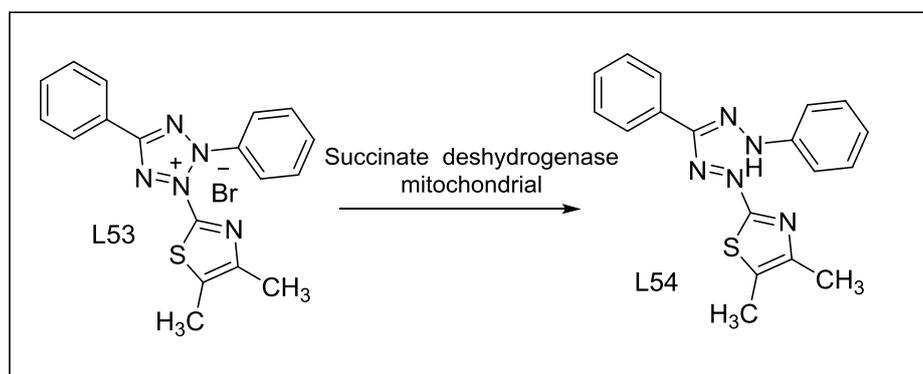


Schéma 38 : Principe de la méthode colorimétrique au MTT.

La prolifération cellulaire est marquée par l'augmentation de l'absorbance (Spectrophotométrie). En effet, plus il reste de cellules vivantes, plus il se forme de dérivés formazan de couleur bleu-violet

¹⁰⁵ Abbassi, N., Chicha, H., Rakib, E. M., Hannioui, A., Alaoui, M., Hajjaji, A., Geffken, D., Aiello, C., Gangemi, R., Rosano, C., Viale, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 57, 240-249.

II- Culture des cellules tumorales

Les cellules tumorales BSR, Hep et P815 sont cultivées de routine au laboratoire d'Immunologie Biochimie et Biologie Moléculaire de la FST Beni Mellal. Les cellules sont cultivées et entretenues en atmosphère humide à 37°C en présence de 5% de CO₂ sur milieu de culture complet DMEM additionné de 5% de sérum de veau fœtal, de 100 UI/ml de pénicilline et de 100 µg/ml de streptomycine.

Test de cytotoxicité *in vitro* :

- Les lignées cellulaires à tester sont récupérées à partir des cultures et lavées par centrifugation dans du PBS. Elles sont ensuite réparties dans des plaques de microtitration de 96 puits à fond plat à une densité de 7.5×10^4 cellules par puit contenant 100 µl de milieu de culture. Le nombre de cellules viables à cultiver est déterminé par comptage à l'hématimètre en présence du trypan bleu. Les plaques contenant les cellules sont incubées 24 heures à 37°C en présence de 5% de CO₂. Les cellules sont ensuite mises en présence de concentrations décroissantes des extraits à tester en commençant par la concentration de 1% v/v. L'adriamycine et le DMSO ont été utilisés respectivement comme contrôles positif et négatif. Après 48 heures d'incubation, la quantification de l'effet cytotoxique est faite par la technique du cristal violet ou MTT. Le même protocole expérimental est appliqué aux globules blancs (PBMC) après les avoir isolés du sang humain par centrifugation sur gradient de ficoll.

L'expression des résultats est sous forme de moyenne des absorbances (DO) relatives au contrôle négatif :

$$\text{Pourcentage de lyse} = 100 (1 - \text{DO} / \text{DO}_0)$$

Avec DO absorbance test et DO₀ absorbance contrôle négatif.

III-RESULTATS

Trois séries de molécules ont été testées *in vitro* sur différents lignées cellulaires BSR (adécarcinome rénal de hamster), Hep (mastocytome murin), P815 (carcinome laryngé humain), A2780 (carcinome ovarien humain) et A549 (carcinome pulmonaire humain).

Les molécules de la série I dérivés de 6-nitroindazole ont été testés *in vitro* contre les lignées cellulaires BSR et Hep.

Les molécules de la série II dérivés de 3,5,6-trinitroindazole ont été testés contre la lignée cellulaire P815.

Les molécules de la série III dérivés de sulfonamides alkylés et chloré ont été testées *in vitro* contre les lignées cellulaires A2780 et A549.

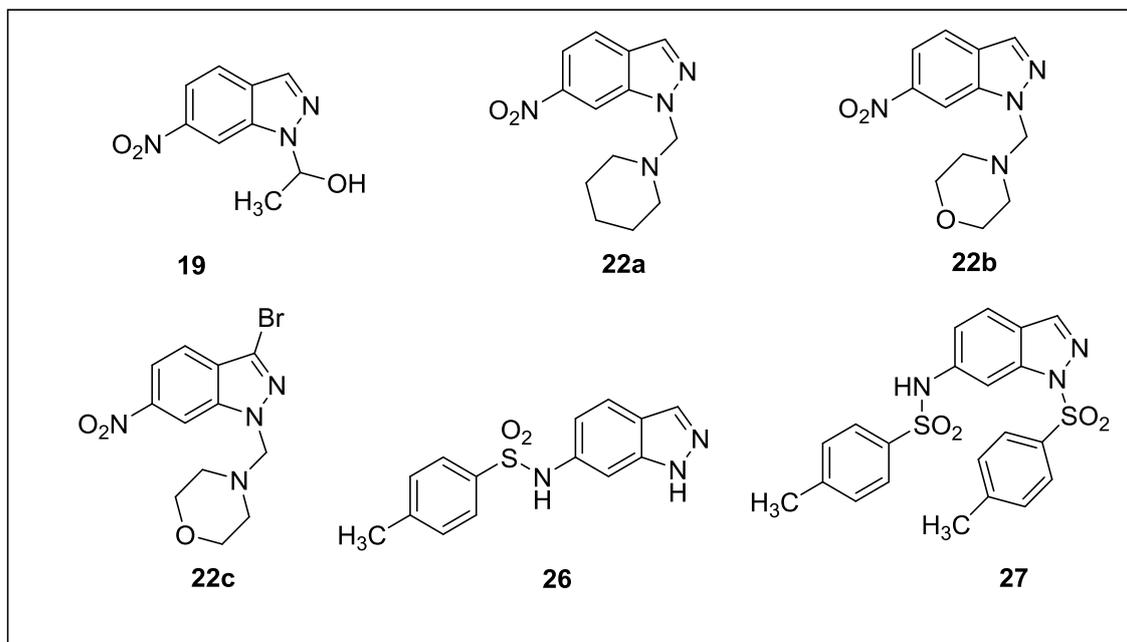


Figure 41 : SERIE I : Dérivés de 6-nitroindazole

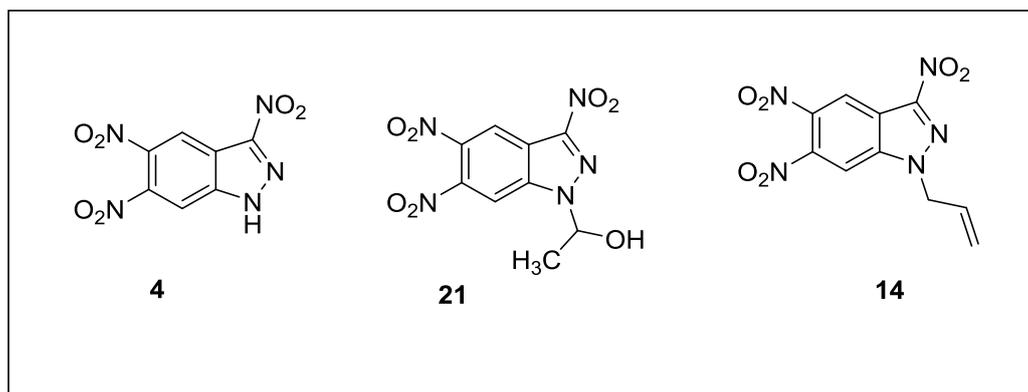


Figure 42 : SERIE II : Dérivés de 3, 5,6-trinitroindazole

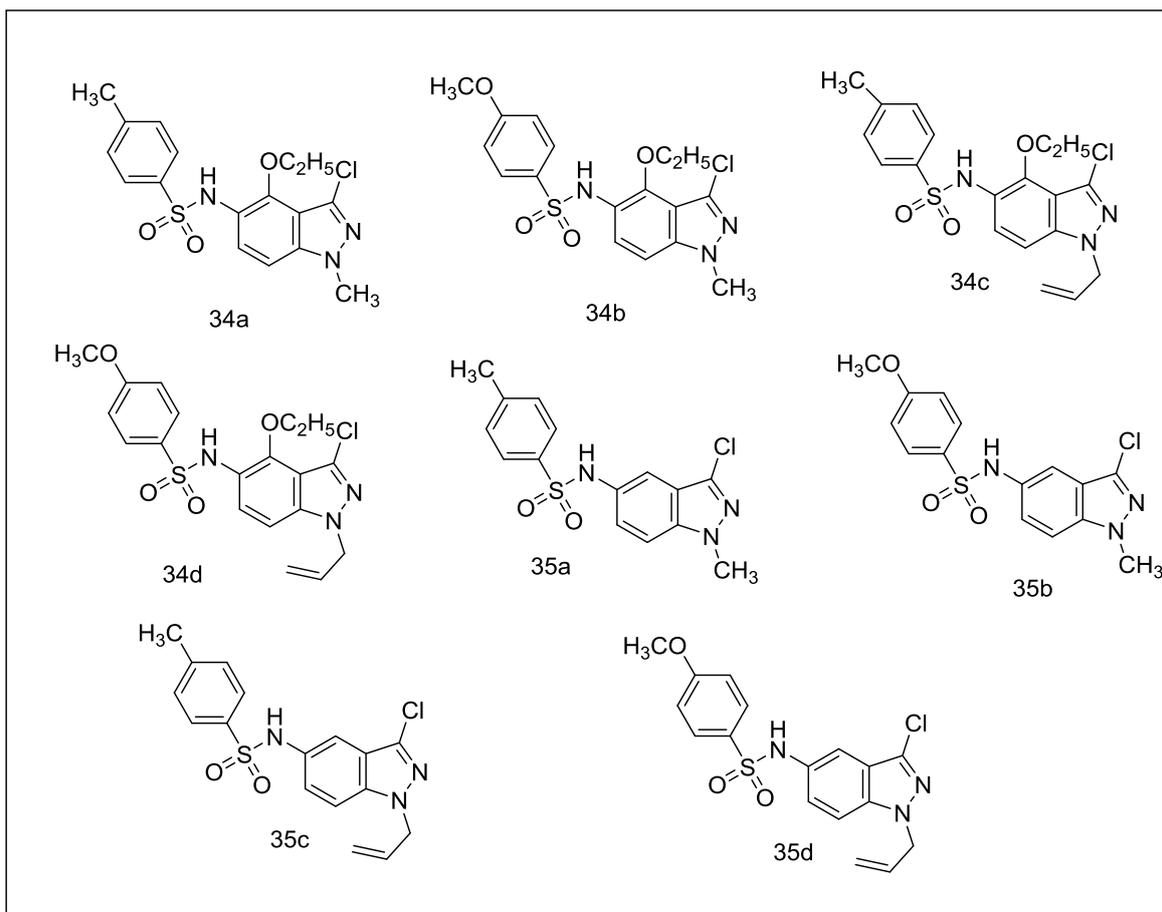


Figure 43 : SERIE III : dérivés de *N*-(5-indazolyl) arylsulfonamides

III.1- L'activité cytotoxique de nouveaux dérivés 6-nitrindazole sur BSR et Hep.

Les résultats de l'activité cytotoxique des composés synthétisés (**série I**) sur BSR et Hep sont regroupés dans le tableau 14.

Les Résultats indiquent que la toxicité des dérivés de 6-nitroindazole varie avec la modification structurale des groupes fonctionnels en position 1 de l'indazole. Le composé **3** avec un groupe éthyle de l'hydroxyle lié à l'azote en position 1 de l'indazole indique une cytotoxicité importante sur la lignée cellulaire (BSR) avec $IC_{50} = 61 \mu\text{g/ml}$. Quand le groupe hydroxyle d'éthyle du composé **19** est remplacé par les groupes morpholine et/ou pipéridine, l'activité est influencée d'une manière considérable (IC_{50} des composés **22a** et **22b** = 132 et 163 $\mu\text{g/ml}$, respectivement). Ces résultats montrent que la présence de la chaîne d'hydroxyle d'éthyle rend le composé **19** plus lipophile ce qui va augmenter sa perméabilité dans la membrane cellulaire.

Tableau 14 : Évaluation cytotoxique des dérivés de 6-nitroindazole sur BSR et Hep.

Cellules tumorales								
BSR				Hep				
Composé	Concentrations (µg/ml)			IC ₅₀ (µg/ml)	Concentrations (µg/ml)			IC ₅₀ (µg/m)
	62.5	250	500		62.5	250	500	
	%lyse cellulaire				%lyse cellulaire			
19	51.50±7.51	880.00±10.32	999.10±5.00	61.00	4.00±2.12	221.00±5.60	36.60±6.14	692.00
22a	15.00±3.14	72.70±6.26	98.50±3.61	132.00	13.25±3.21	67.60±7.17	90.40±8.63	169.00
22b	21.20±4.14	70.90±8.62	98.50±7.48	160.00	10.20±2.39	43.00±5.41	82.40±7.72	300.00
22c	44.80±5.70	84.90±9.00	95.90±5.23	73.00	7.80±3.25	68.50±6.80	91.10±7.12	169.00
26	37.80±5.57	64.50±6.84	85.60±8.80	100.00	8.20±4.00	14.30±4.51	27.40±6.31	800.00
27	45.88±6.18	64.30±7.23	92.50±8.00	75.00	4.60±3.12	15.00±5.10	30.00±7.50	725.00
ADR				0.31				0.97

La présence de l'atome du brome en position 3 de 6-nitroindazole **22c** a augmenté l'activité cytotoxique par rapport aux dérivés **22a** et **22b**. Dans une autre modification structurale, le composé **27** substitué par deux groupes de sulfonamide en position 1 et 6 de l'indazole a montré aussi une activité considérable contre les cellules tumorales BSR (IC₅₀ = 75 µg/ml). Quand la lignée cellulaire Hep a été utilisée comme cible, l'activité cytotoxique de ces produits était faible en général par rapport aux cellules BSR (Table 6). La sensibilité différentielle des cellules tumorales BSR et Hep vers nos composés peut être expliqué par la nature et les caractéristiques de chaque lignée cellulaire. Ces lignées cellulaires sont plus sensibles à adriamycine (ADR) utilisé comme contrôle positif (IC₅₀ : 0.97 ± 0.04 µg/ml et 0.31 ± 0.01 µg/ml pour les cellules Hep et BSR, respectivement).

III.2- Activité cytotoxique de quelques dérivés de 3, 5,6-trinitroindazole sur la lignée cellulaire P815

Les résultats préliminaires de l'activité cytotoxique des composés dérivés de 3,5,6-trinitroindazole (**série II**) sur la lignée cellulaire P815 sont regroupés dans le Tableau 15.

Tableau 15 : Evaluation cytotoxique de quelques molécules de 3,5,6-trinitroindazole sur la lignée cellulaire P815

Composé	IC50 (µg/ml)
4	20.42
21	59.00
14	2.55

Les résultats montrent que la toxicité des dérivés de 3,5,6-trinitroindazole varie aussi avec la modification structurale du substituant en position 1 de l'indazole. Le composé **14** : 1-allyl-3,5,6-trinitro-1*H*-indazole avec un groupe allyle lié à l'azote NH-1 de l'indazole présente une activité cytotoxique intéressante $IC_{50} = 2.55 \mu\text{g/ml}$.

Les tests pharmacologiques in vitro, réalisés sur quelques molécules de 6-nitroindazole et de 3, 5,6-trinitroindazole sont encourageants en terme de cytotoxicité. La modification structurale en position 1 de l'indazole joue un rôle fondamental au niveau de l'amélioration de l'activité biologique de nos molécules. Ces dernières peuvent être utilisées comme structure de base en vue de la préparation de nouveaux agents antitumoraux.

III.3-Evaluation pharmacologique de la série de *N*-(5-indazolyl)-arylsulfonamides.

Pour étudier l'effet que peut avoir la protection de l'azote pyrazolique de l'indazole par différents groupements alkyles et l'effet de la substitution de la position 3 ou 4 de l'indazole par un atome de chlore sur le spectre d'activité biologique des sulfonamides, nous avons testé une autre série de sulfonamides indazoliques alkylés et chlorés (Schéma 34) contre les deux lignées cellulaires tumorales A2780 et A549. Les résultats pharmacologiques sont répertoriés dans le tableau 16.

Tableau 16 : Troisième série de sulfonamides alkylés et chloré testés sur les cellules A2780 et A549

Composés	CI₅₀ (μM) A2780	CI₅₀ (μM) A549
34a	58.10±10.6	94.5±9.2
34b	45.1±13.4	100.0±5.8
34c	83.4±10.7	>100
34d	90.6±12.5	115.1±27.2
35a	65.3±7.8	>100
35b	69.3±11.4	54.8±11.4
35c	15.9±2.0	65.5±2.1
35d	5.47± 1.45	7.73± 1.66

Comme le montre le tableau 16, les composés 34a-d portant le groupe éthoxy à la position 4 de l'indazole étaient moins actifs que les dérivés de sulfonamide non insubstitués 35a-d. Parmi les composés testés, 35c et 35d ont montré une activité antiproliférative pharmacologiquement significative avec $IC_{50} < 30 \mu M$ sur les cellules A2780 et A549. Le Composé 5d est l'agent le plus puissant contre la lignée cellulaire A2780 ($IC_{50} = 5,47 \pm 1,45 \mu M$) et a montré une activité antiproliférative très intéressante contre la lignée cellulaire A549 (avec $IC_{50} = 7,73 \pm 1,66 \mu M$).

Les meilleurs résultats sont obtenus avec les dérivés de l'indazole substitués en position 3 par l'atome de chlore, l'azote pyrazolique substitué par un groupement allyle est le plus actif dans la série des molécules testées. Ces résultats, montrent que la nature des substituants de l'indazole joue un rôle important dans l'activité antiproliférative de ce type de structure.

Conclusion

La présence des substituants de natures différentes dans le squelette de l'indazole tels que le groupement 4-alkoxy-, le sulfonamide en position 5 ou 6 et les groupements fonctionnels en position 1, 2 et 3, pourrait augmenter le spectre d'activité biologique de ce type de structures. Pour valoriser les résultats obtenus de la synthèse hétérocyclique, nous avons décrit, l'activité antiproliférative de nouveaux dérivés de *N*-(5-indazolyl)-benzènesulfonamides. Certains composés ont montré des activités antiprolifératives intéressantes contre les lignées cellulaires A2780 et A549 surtout le Composé 5d qui est

l'agent le plus puissant contre la lignée cellulaire A2780 ($IC_{50} = 5,47 \pm 1,45 \mu M$) et a montré une activité antiproliférative très intéressante contre la lignée cellulaire A549 (avec $IC_{50} = 7,73 \pm 1,66 \mu M$).

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Au cours de ce travail nous avons mis à profit de nouvelles méthodes de synthèse permettant d'accéder à différents dérivés d'indazoles diversement fonctionnalisés et leur évaluation cytotoxique.

Après une introduction générale concernant les applications pharmacologiques de certains dérivés de l'indazole, nous avons consacré le premier chapitre de notre mémoire à la nitration de 6-nitro-1*H*-indazole, et dans ce chapitre on a réussi à réaliser la nitration sélective. La nitration de 6-nitro-1*H*-indazole par des différents réactifs nous a amené à différents dérivés nitrés. En effet la première nitration a été faite sur l'azote en position 2 de 6-nitro-1*H*-indazole car nous avons utilisé un solvant polaire et aprotique. Mais lorsque nous avons utilisé l'acide sulfurique H₂SO₄ et le nitrate de potassium, KNO₃, dans ce cas les deux azotes ont été protonés et on a réussi à faire une nitration sélective sur le carbone 5 de 6-nitro-1*H*-indazole. En fin, pour faire la polynitration nous avons utilisé par la suite l'acide nitrique HNO₃ et l'acide sulfurique H₂SO₄.

Dans le deuxième chapitre d'alkylation, nous avons remarqué que la *N*-alkylation de 6-nitro-1*H*-indazole et de 5,6-dinitro-1*H*-indazole se fait généralement sur les deux azotes N₁ et N₂ de l'indazole par contre le 3,5,6-trinitroindazole l'alkylation a été faite sur N₁ et cela est dû à l'encombrement stérique de groupement NO₂ en position 3 de l'indazole. Dans la dernière partie de ce chapitre nous avons synthétisé de nouveaux dérivés indazoliques contenant la fonction alcool en mélangeant les dérivés nitrés avec le formaldéhyde ou de l'acétaldéhyde, dans le THF laissé sous l'agitation à la température ambiante.

Dans le troisième chapitre, nous avons synthétisé une nouvelle série de *N*-(indazolyl)-arylsulfonamides à partir des nitroindazoles correspondants. Pour accéder à ces composés, nous avons mis au point différentes stratégies permettant la fonctionnalisation régiosélective en positions 1, 3 et 5 des nitroindazoles. Ces stratégies font appel à des réactions d'alkylation, d'halogénéation, de réduction catalytique et de sulfonation. Les composés synthétisés sont ensuite testés sur des lignées cellulaires tumorales murines.

Dans le quatrième chapitre, nous avons réalisé l'évaluation cytotoxique de quelques molécules de l'indazole sur cinq types de cellules tumorales BSR, Hep, P815, A2780 et A549. Les tests pharmacologiques *in vitro*, réalisés sur des dérivés de 6-nitroindazole, de 3,5,6-

trinitroindazole et des dérivés de *N*-(5-indazolyl)-benzènesulfonamides sont encourageants en termes de cytotoxicité. La modification structurale en position 1 de l'indazole joue un rôle fondamental au niveau de l'amélioration de l'activité biologique de nos molécules. La présence des substituants de natures différentes dans le squelette de l'indazole tels que le groupement allyle, en position 1, le sulfonamide (SO₂NH₂), en position 5 et les groupements fonctionnels en position 4, 2 et 3, augmentent le spectre d'activité biologique de ce type de structure.

Au niveau des perspectives, nous souhaiterons développer des travaux vers l'élaboration de nouveaux dérivés indazolique susceptibles de donner lieu à des cyclisations permettant ainsi d'accéder à des composés polyhétérocycliques (Schéma 39).

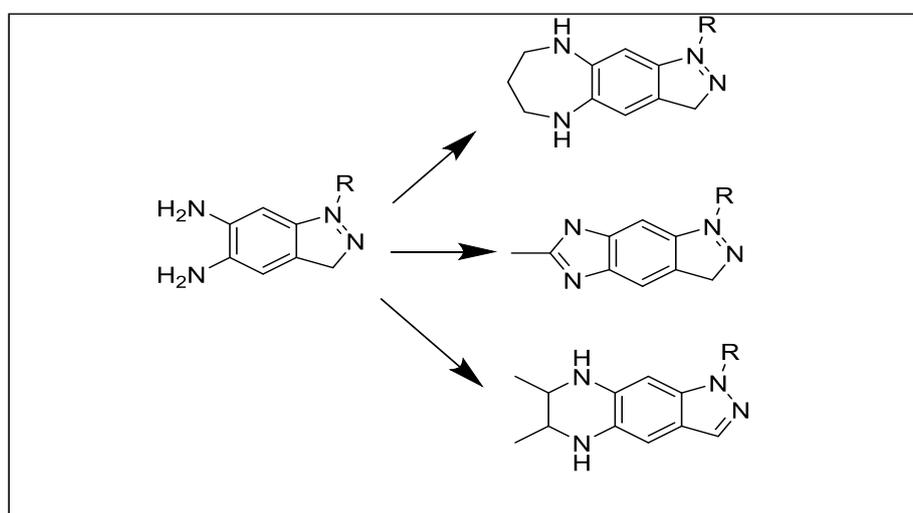
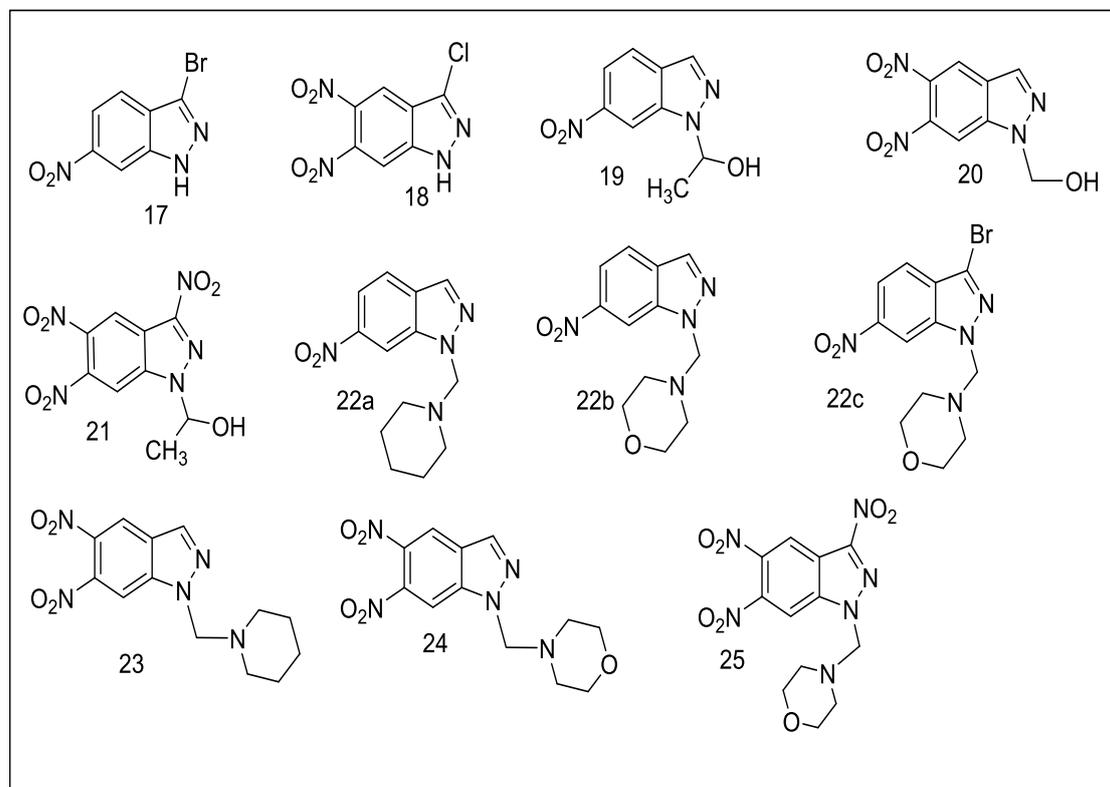
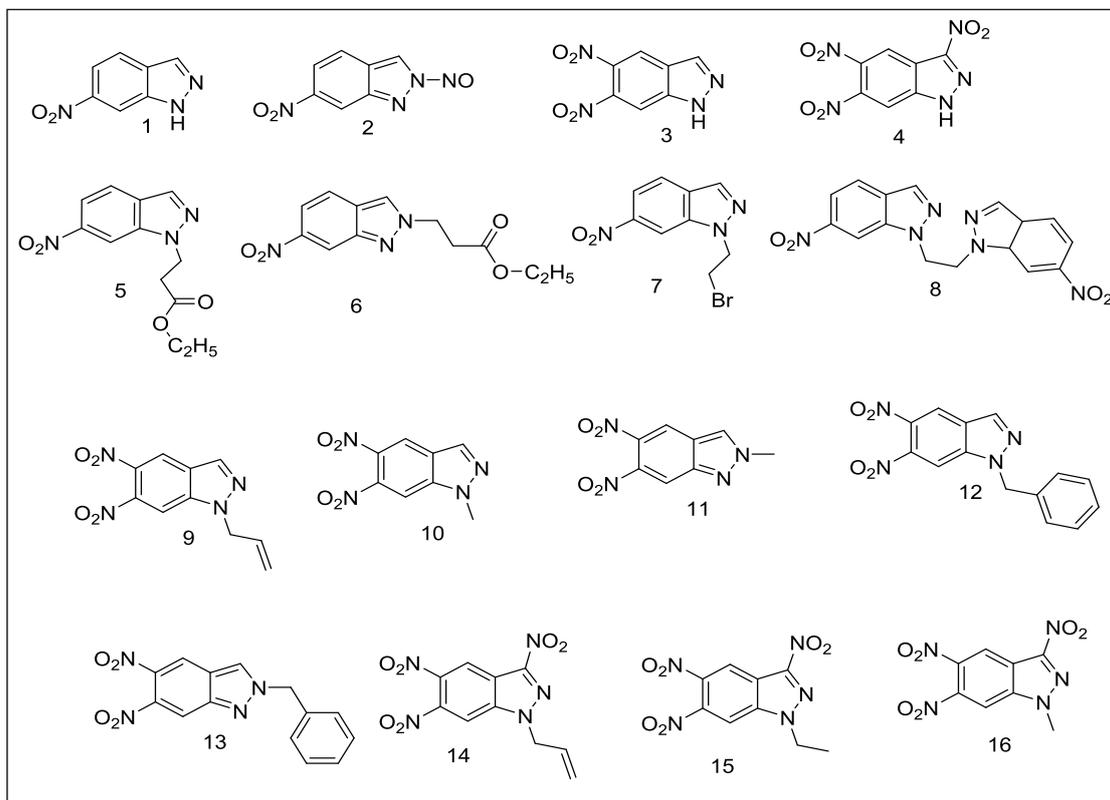
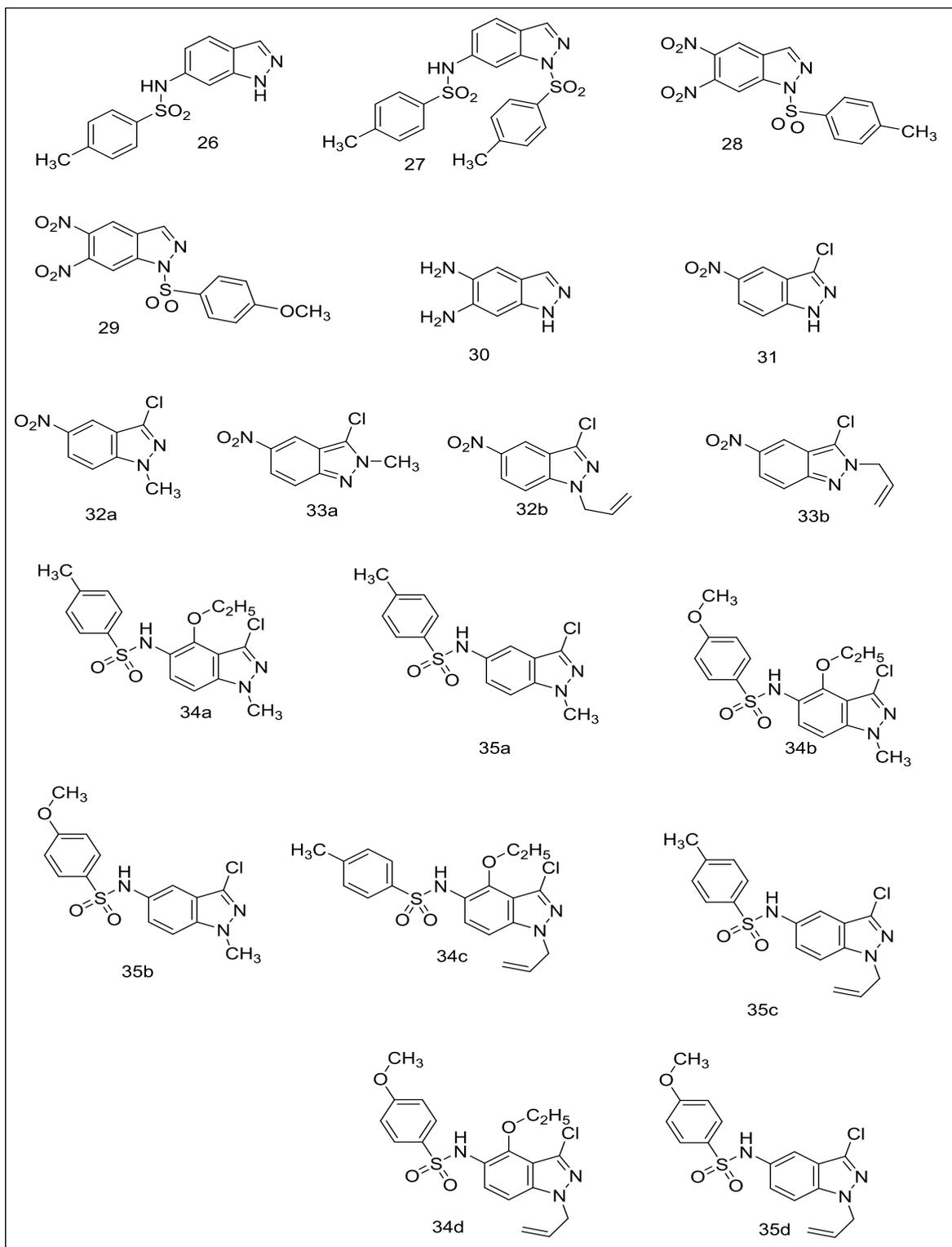


Schéma 39 : Composés polyhétérocycliques à base se l'indazole.

Tableaux récapitulatifs des produits synthétisés





Résumé : Synthèse et Evaluation Pharmacologique de Nouveaux Dérivés Indazoliques à Visée Anticancéreuse Potentielle

Notre Laboratoire s'intéresse depuis plusieurs années à la synthèse de nouvelles molécules de série de l'indazole à visée thérapeutique. Depuis sa création par le professeur **El Mostapha RAKIB** dans l'année 2005, l'équipe a pour thème majeur la synthèse des molécules anticancéreuses. Des travaux antérieurs développés au sein de notre laboratoire ont montré que des composés à structure *N*-(7-indazolyl)-arylsulfonamides possédaient des activités anticancéreuses prometteuses aussi bien en terme de cytotoxicité que de perturbation du cycle cellulaire, et dans le but de contribuer à la chimie de l'indazole Nous avons décidé de poursuivre nos études vers la synthèse d'une nouvelle classe de famille à structure 5-nitroindazole , 6-nitroindazole, 5,6-dinitroindazole, et 3, 5,6-trinitroindazole . Pour accéder à ces molécules, une synthèse efficace a donc été mise au point, basée essentiellement sur la nitration, la réduction, l'alkylation, l'halogénéation et la condensation de Mannich, Cette méthodologie nous a permis de faire varier les substituants alkyle de l'azote pyrazolique, la position du motif nitro sur le noyau indazolique. La synthèse de cette famille de dérivés d'indazole a enrichi les études de relation structure-activité, et nous ont permis d'obtenir une nouvelle classe d'anticancéreux très prometteuse.

Mots clés : *Nitroindazoles, Nitration, Agents anticancéreux, Alkylation, Réactions de réduction, Chlorure stanneux, Réaction de sulfonation, réaction de condensation de Mannich.*