



UNIVERSITE SULTAN MOULAY SLIMANE
FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES
BÉNI MELLAL



THESE DE DOCTORAT NATIONAL

CED : Sciences et Techniques

Spécialité : Chimie Bio-organique

Présentée par

NAJAT ABBASSI

**SYNTHESE ET EVALUATION PHARMACOLOGIQUE DE
NOUVEAUX DERIVES INDAZOLIQUES A VISEE
ANTICANCEREUSE POTENTIELLE**

Soutenue publiquement le 22 Mars 2014, devant le Jury composé de :

E. M. ESSASSI	PES	Faculté des Sciences Rabat	Président
M. AKSSIRA	PES	Faculté des Sciences et Techniques Mohammédia	Rapporteur
M. TAOURIRTE	PES	Faculté des Sciences et Techniques Marrakech	Rapporteur
K. BOUGRIN	PES	Faculté des Sciences Rabat	Rapporteur
M. BENCHIDMI	PES	Faculté des Sciences Rabat	Examineur
Y. KANDRI RODI	PES	Faculté des Sciences et Techniques Fès	Examineur
E.M. RAKIB	PES	Faculté des Sciences et Techniques Béni-Mellal	Directeur de thèse
A. HANNIOUI	PH	Faculté des Sciences et Techniques Béni-Mellal	Co-directeur de thèse

AVANT-PROPOS

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

Le présent travail a fait l'objet de **douze publications** et **dix communications** nationales et internationales.

A- Liste des publications :

- 1) **N. Abbassi**, E. M. Rakib, H. Chicha, L. Bouissane, A. Hannioui, C. Aiello, R. Gangemi, P. Castagnola, C. Rosano, M. Viale. Synthesis and antitumor activity of some substituted indazole derivatives. *Archive Der Pharmazie*, **2013**, in press
- 2) **N. Abbassi**, B. Oulemda, E. M. Rakib, M. Saadi, L. El Ammari. 5,11-Ditosyl-5H,11H-dibenzo[b,f][1,5]diazocine-6,12-dione acetic acid hemisolvate. *Acta Cryst Section E*, **2013**, E69, 614.
- 3) H. Chicha, **N. Abbassi**, E. M. Rakib, M. Khouili, L. El Ammari, D. Spinelli. Reduction of 3-nitrophthalic anhydride by SnCl₂ in different alcohols: a simple synthesis of alkyl 3-oxo-1,3-dihydro-2,1-benzoxazole-4-carboxylates. *Tetrahedron Letters*, **2013**, 54, 1569–1571
- 4) **N. Abbassi**, E. M. Rakib, A. Hannioui, M. Saadi, L. El Ammari. Ethyl 3-[6-(4-methoxy benzenesulfonamido)-2H-indazol-2-yl]propanoate monohydrate. *Acta Cryst Section E*, **2013**, E69, o190.
- 5) **N. Abbassi**, H. Chicha, E. M. Rakib, A. Hannioui, M. Alaoui, A. Hajjaji, D. Geffken, C. Aiello, R. Gangemi, C. Rosano, M. Viale. Synthesis, antiproliferative and apoptotic activities of N-(6(4)-indazolyl)-benzenesulfonamide derivatives as potential anticancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2012**, 57, 240-249.
- 6) **N. Abbassi**, B. Oulemda, E. M. Rakib, D. Geffken, H. Zouihri. Ethyl 3-[7-ethoxy-6-(4-methoxybenzene sulfonamido)-2H-indazol-2-yl]propanoate. *Acta Cryst Section E*, **2012**, E68, 931.
- 7) **N. Abbassi**, E. M. Rakib, A. Hannioui, H. Zouihri. N-(2-formylphenyl)-4-methoxy-N-[(4-methoxyphenyl)sulfonyl]benzenesulfonamide. *Acta Cryst. Section E*, **2011**, E67, 3304.

- 8) **N. Abbassi**, E. M. Rakib, A. Hannioui, H. Zouihri. N-[7-Ethoxy-2-(prop-2-en-1-yl)-2H-indazol-6-yl]-4-methylbenzenesulfonamide. *Acta Cryst. Section E*, **2011**, E67, 3211.
- 9) **N. Abbassi**, E. M. Rakib, A. Hannioui, M. Alaoui, M. Benchidmi, E. M. Essassi, D. Geffken. Alkylation and reduction of *N*-alkyl-4-nitroindazoles with anhydrous SnCl₂ in ethanol: Synthesis of novel 7-ethoxy-*N*-alkylindazole derivatives. *Heterocycles*, **2011**, 83 (4), 891-900.
- 10) **N. Abbassi**, E. M. Rakib, H. Zouihri. *N*-[7-Ethoxy-1-(prop-2-en-1-yl)-1*H*-indazol-4-yl]-4-methylbenzenesulfonamide. *Acta Cryst. Section E*, **2011**, E67, 1561.
- 11) **N. Abbassi**, E. M. Rakib, L. Bouissane, A. Hannioui, M. Khouili, A. El Malki, M. Benchidmi, E.M. Essassi. Studies on the Reduction of the Nitro group in 4-Nitroindazole by anhydrous SnCl₂ in Different alcohols. *Synthetic Communication*, **2011**, 41(7), 999-1005.
- 12) **N. Abbassi**, E. M. Rakib, H. Zouihri. N-(7-Ethoxy-1*H*-indazol-4-yl)-4-methylbenzene sulfonamide. *Acta Cryst. Section E*, **2011**, E67, 1354.

B- Liste des communications

- 1) **N. Abbassi**, E. M. Rakib, H Chicha, A. Hannioui, C. Aiello, R. Gangemi, M. Viale. Synthesis and antitumor activity of some *N*-[6-indazolyl]arylsulfonamides. **Communication-Poster** au Colloque Transméditerranéen de chimie Hétérocyclique (TRAMECH VII), **27-30** novembre **2013**, Faculté des sciences Rabat, Maroc.
- 2) **N. Abbassi**, E.M. Rakib, H. Chicha, A. Hannioui, M. Alaoui, A. El Malki, D. Geffken, C. Aiello, M. Viale. Synthesis, Antiproliferative and Apoptotic Activities of New *N*-(Ethoxy-1*H*-Indazol-4(6)-yl)-Arylsulfonamide Derivatives. **Communication-Poster** au 1^{ère} Edition Internationale de Chimie Médicinale au Maroc, **24-25** Mai **2012**, Faculté des Sciences et Techniques, Béni-Mellal, Maroc.
- 3) **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-Indazolyl)Benzenesulfonamide Derivatives As Potent Cell Cycle Inhibitors, **Communication-Poster** au 1^{ère} Edition Internationale de Chimie Médicinale au Maroc, **24-25** Mai **2012**, Faculté des Sciences et Techniques, Béni-Mellal, Maroc.
- 4) **N. Abbassi**, E. M. Rakib, B. Oulemda, A. Hannioui, A. El Malki, C. Aiello, M. Viale, D. Geffken. Synthesis, Antiproliferative and Apoptosis Inducing Effects of New

Alkoxyindazolylbenzenesulfonamide Derivatives. **Communication-Orale** au 1^{ère} Edition Internationale de Chimie Médicinale au Maroc, **24-25 Mai 2012**, Faculté des Sciences et Techniques, Béni-Mellal, Maroc.

- 5) **N. Abbassi**, E. M. Rakib, A. Hannioui, M. Viale, M. Benchidmi, E. M. Essassi, D. Geffken. Synthesis and antitumor evaluation of new alkoxy-N-indazolylbenzenesulfonamide derivatives. **Communication-Poster** au Symposium International sur la Chimie Hétérocyclique, 26-29 Octobre **2011**, Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fès, Maroc.
- 6) **N. Abbassi**, B.Oulemda, E. M. Rakib, A. Hannioui, studies on the reduction of nitroaryl and nitroheteroaryl with stannous chloride in ethanol. **Communication-Poster** au symposium International sur la Chimie Hétérocyclique, 26-29 Octobre **2011**, Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fès, Maroc.
- 7) **N. Abbassi**, B. Oulemda, E. M. Rakib, L. Bouissane, A. Hafid, A. Hannioui, M. Khouili. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Polyfunctionalised Indazoles as Anticancer Agents. **Communication Orale** au Congrès International de Cancérologie, FST Béni-Mellal, 6-7 Mai **2011**.
- 8) **N. Abbassi**, E. M. Rakib, O. Bassou, A. Hannioui, E M. Essassi, M. Benchidmi, D. Geffken. Alkylation of 4-Nitroindazole and Reduction of Alkyl-nitro-derivatives with anhydrous SnCl₂ in Ethanol: Synthesis of Novel 7-ethoxy-N-alkylated Indazoles. **Communication-Poster** au 4^{ème} Rencontre International de Chimie et Développement, Université Cadi ayyad, Marrakech, Maroc, 24-27 Novembre **2010**.
- 9) **N. Abbassi**, E. M. Rakib, L. Bouissane, A. Hannioui, A. El Malki, M. Khouili, E. M. Essassi, M. Benchidmi. A Novel and Efficient Synthesis of Alkoxyindazole Derivatives via SnCl₂-Mediated Reduction of Nitroindazoles in Different Alcohols. **Communication-Orale** au 4^{ème} Rencontre International de Chimie et Développement, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc, 24-27 Novembre **2010**
- 10) E. M. Rakib, **N. Abbassi**, L. Bouissane, A. Hannioui, B. Oulemda, M. Khouili, A. Hafid, A. El Malki. Studies on the Reduction of the Nitro group in 7-Nitro and 4-Nitroindazole by SnCl₂ in Different Alcohols. **Communication Orale** au 7^{ème} Rencontre National sur la Chimie Hétérocyclique, 12-13 Mars **2009**, Faculté des Sciences et Techniques, Béni-Mellal, Maroc.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَالَّذِينَ هُمْ عَنْ آلِهِمْ
وَبَنَاتِهِمْ كَانُوا
يَتَّقُونَ

التوبة (105)

*A l'âme de mon père, symbole de sagesse et incarnation de paix,
A ma mère, ce soleil illuminant mes jours et cette lune de mes nuit,
A mes frères, cette source de force qui, depuis toujours m'entourait,
A mes sœurs, ces miroirs reflétant mon image dans un avenir qui luit,
A tous ceux qui me sont chers...*

Remerciements

Ce travail n'aurait pas vu le jour sans la confiance, la patience, la grande disponibilité et le soutien de mon directeur de thèse, Professeur Monsieur **EI Mostapha RAKIB**, je ne saurais pas trouver les mots pour le remercier comme il se doit pour sa rigueur scientifique, pour m'avoir inculqué une partie de ses qualités scientifiques et le temps des orientations qu'il m'a accordés tout au long de ces années de recherche jusqu'à la rédaction. Je voudrais le remercier aussi d'avoir cru en mes capacités et de m'avoir fourni d'excellentes conditions de recherche.

J'adresse également mon remerciement au professeur Monsieur **A. HANNIOUI** pour son implication dès mon initiation à la recherche jusqu'à la correction de ce manuscrit, pour ses qualités humaines, son enthousiasme et son soutien moral permanent tout au long de cette thèse.

Mes remerciements vont aussi au professeur **B. MERNARI** Président de l'Université Sultan Moulay Slimane, Béni-Mellal et au professeur **A. ZEGHAL** Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques, pour leur soutien financier sans cesse à la réalisation de ce travail de thèse.

Je tiens à remercier Monsieur **M. Viale** professeur à l'Institut National de Cancérologie et d'Immunologie à Genova en Italie pour la réalisation des tests biologiques et pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

J'adresse mes vifs remerciements à Monsieur **E.M. ESSASSI** professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, d'avoir accepté de me faire l'honneur d'évaluer ce travail et présider le jury.

Mes plus vifs remerciements s'adressent à Monsieur **M. AKSSIRA** professeur à l'Université Hassan II, FST Mohammedia, à Monsieur **K. BOUGRIN** professeur à l'Université Mohammed V, F.S. de Rabat et à Monsieur **M. TAOURIRTE** professeur à la Faculté des Sciences et Techniques Marrakech, 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.

Je remercie Monsieur **M. BENCHIDMI** professeur à l'Université Mohammed V, FS de Rabat et Monsieur **Y. KANDRI RODI** professeur à l'Université Fès Saïs, FST de Fès, pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail de thèse et de participer au jury.

J'adresse mes remerciements au professeur **A. EL HARTI** Directeur du Centre des Etudes Doctorales à la FST, Béni Mellal, pour son collaboration au bon

déroulement de la procédure administrative aboutissant à la soutenance de ma thèse.

Mes remerciements vont également aux professeurs: Monsieur **E. M. Khouili**, Monsieur **A. Hafid**, Monsieur **A. Alaoui**, et à tous les professeurs du département de la chimie à la Faculté des Sciences et Techniques de Beni Mellal. Qu'ils trouvent ici l'expression de mon profond respect.

Mes remerciements sont adressés aux membres du Centre National de la Recherche Scientifique et Technique à Rabat, pour la réalisation des analyses spectroscopiques RMN, RX, IR et Analyse élémentaire.

Mes remerciements vont également au Professeur **L. El Ammari** qui m'a permis de confirmer certaines structures par radiocristallographie.

Je remercie vivement tous mes collègues de CED et particulièrement mes collègues du laboratoire pour leur gentillesse infinie, leur collaboration, leur humour et la bonne ambiance qui a toujours régné à la paillasse.

Un vif remerciement est dû aussi à mes collègues à la cour d'appel de Béni Mellal et particulièrement les collègues du bureau qu'ils ne cessent d'exprimer leur bonheur de voir ce travail de thèse arrive à son terme.

Je voudrais adresser un remerciement particulier à toutes mes amies et amis, cette potion de vie contre l'ennui. Qu'elles trouvent ici l'expression de ma sincère amitié.

Tous mes plus grands remerciements et ma profonde reconnaissance vont à ma très chère famille pour leur soutien inconditionnel, et pour leurs encouragements quotidiens.

Enfin, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

NOTE PRELIMINAIRE

Dans le but d'alléger la lecture de ce manuscrit, certains composés ou appareillage ne seront pas désignés par leurs noms chimiques systématiques ou complets mais uniquement par leurs formules ou abréviations.

Principales abréviations :

<u>A</u>	ADN :	Acide désoxyribonucléique
	Akt :	Protéine kinase
	Ar. :	Aromatique
<u>C</u>	CCM :	Chromatographie sur couche mince
	CDCl_3 :	Chloroforme deutérié
	Chk1 :	Check point kinases 1
	Coll. :	Collaborateurs
<u>D</u>	d :	Doublet
	δ :	Déplacement chimique
	DCM :	Dichlorométhane
	dd :	Doublet de doublet
	DMF :	Diméthylformamide
	DMPBAC :	Chlorure de diméthyl phényl benzyl ammonium
	DMSO- d_6 :	Diméthylsulfoxyde deutérié
<u>E</u>	Et :	Ethyle
<u>I</u>	IC_{50} :	Concentration inhibitrice de 50 % de la prolifération
<u>M</u>	m :	Multiplet
	MCP-1 :	Monocyte chemoattractant protein 1
	Me :	Méthyle
	MM :	Masse molaire
	MS :	Spectroscopie de masse
<u>N</u>	NBS :	N-bromosuccinimide
<u>P</u>	Pd-C :	Paladium sur charbon
	PEG600 :	Polyéthylène glycol 600
	PF :	Point de fusion
	ppm :	Partie par million
	Pr :	Propyle
<u>Q</u>	q :	Quadruplet
<u>R</u>	Rdt :	Rendement

	RMN :	Résonance Magnétique Nucléaire
	Rx :	Rayons X
<u>S</u>	s :	Singulet
<u>I</u>	t :	Triplet
	TBAC :	Chlorure de tetrabutyl ammonium
	t-BuOK :	Tertiobutylates de potassium
	TENAB:	Bromure de triéthylnonyl ammonium
	THF :	Tétrahydrofurane
	TMAB:	Bromure de tetraméthyl ammonium
	TMS :	Tétraméthylsilane
	TRPV1 :	Récepteur vanilloïde 1
<u>U</u>	UV :	Ultra-violet
<u>V</u>	VIH :	Virus de l'immunodéficience humaine

TABLE DES MATIERES

Introduction générale : Rappel bibliographique sur les propriétés biologiques des dérivés de l'indazole	1
Chapitre I : Réaction d'alkylation des 4-, 6-nitroindazoles: Synthèse des 1-alkyl-nitroindazoles et 2-alkyl-nitroindazoles.....	16
I. Etude bibliographique sur les réactions d'alkylation de l'indazole	17
II. Alkylation des 4-, 6-nitroindazoles.....	23
1. Synthèse des 4-, 6-nitroindazoles.....	23
2. Synthèse et réactivité des dérivés N-alkylés de l'indazole	24
1.1. Etude de la réactivité de l'alkylation du 4-nitroindazole	24
2.1. Etude de la réactivité de l'alkylation du 6-nitroindazole	26
III. Conclusion	34
Partie expérimentale.....	35
Références bibliographiques	47
Chapitre II : Etude de la réduction des 4-nitroindazoles avec SnCl₂ dans différents alcools : Synthèse de nouveaux alkoxyindazoles.....	48
I. Rappels bibliographiques sur les réactions de réduction des dérivés nitrés	49
II. Etude de la réduction des 4-nitroindazoles et ses dérivés N-alkylés par SnCl ₂ /ROH	57
1. Effet de l'atome d'halogène sur la réaction de réduction du 4-nitroindazole.....	63
1.1. Synthèse des 3-halogéno-4-nitroindazoles.....	63
2.1. Réaction de réduction des 3-halogéno-4-nitro-1H-indazoles	63
2. Effet de l'agent alkylant en position 1 et/ou 2 de l'indazole sur la réaction de réduction de 4-nitroindazole.....	64
III. Conclusion	70
Partie expérimentale.....	72
Références bibliographiques	89
Chapitre III : Réduction des 6-nitroindazoles et des nitrohétéroaryles par SnCl₂ dans différents alcools : Synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques ...	91

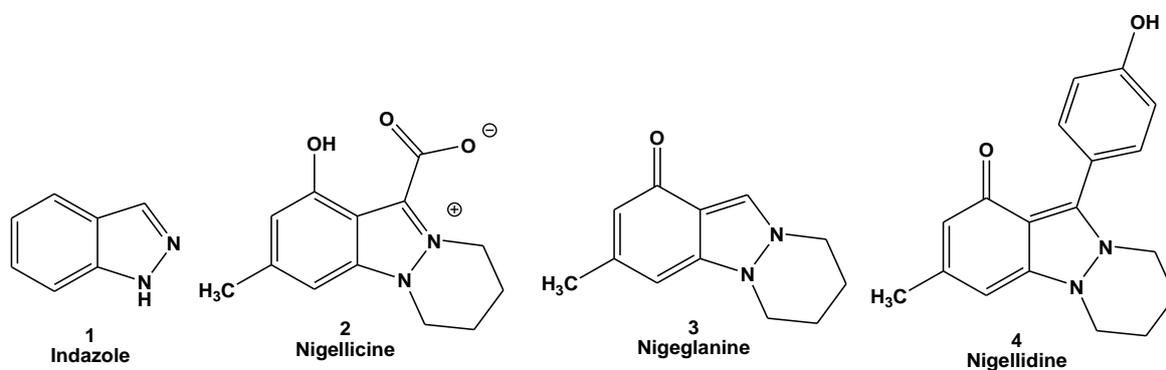
I. Réduction des 6-nitroindazoles avec SnCl₂/ROH.....	92
1. Réduction des 3-halogéno-6-nitroindazoles.....	92
2. Réduction des 1-alkyl-6-nitroindazoles	93
3. Réduction des 2-alkyl-6-nitroindazoles	94
II. Réduction des nitrohétéroaryles avec SnCl₂ dans l'éthanol.....	103
1. Réduction des nitroindoles.....	103
2. Réduction de 4-nitrobenzothiadiazole.....	107
3. Réduction de 2-nitro-benzaldéhyde	107
4. Réduction de 2-méthyl-5-nitroimidazole	111
5. Réduction de l'anhydride 3-nitroptalique	112
III. Conclusion	117
Partie expérimentale.....	119
Références bibliographiques	137
Chapitre IV : Evaluation anticancéreuse de nouvelle famille de N-(4(6)-indazolyl)-arylsulfonamide	138
I. Rappels bibliographiques	139
II. Evaluation pharmacologique des N-(4(6) et (7)-indazolyl)benzène sulfonamides 1-15.	147
1. Activités antiproliférative et apoptotique des composés 1-15.	149
2. Analyse "Western-blot" ou les transferts de western pour l'identification des marqueurs de l'apoptose : p53 et bax	153
3. Analyse du cycle cellulaire	155
4. Analyse "Docking" moléculaire.....	156
III. Evaluation pharmacologique des N-(6-indazolyl)arylsulfonamides 16-23	158
1. L'analyse de l'inhibition de la prolifération cellulaire et du déclenchement de l'apoptose.....	159
2. Analyse du cycle cellulaire traité par les composés 16 et 23.....	161
3. Microscopie à immunofluorescence	162

4. Docking moléculaire	164
IV. Conclusion	166
Partie expérimentale.....	167
1. Protocole expérimentale de l'évaluation pharmacologique de la première série de molécules 1-15.....	167
1.1. Test de bromure de 3-(2,5-diméthyl-2-thiazolyl)-2,5-diphényl-2H-tetrazolium (MTT).....	167
2.1. Visualisation des cellules apoptotiques par coloration par 4'-6-diamidino-2-phénylindole (DAPI).	167
3.1. Analyse de Western blot	168
4.1. L'analyse du cycle cellulaire	168
5.1. L'analyse Docking moléculaire	169
2. Protocole expérimentale de l'évaluation pharmacologique de la deuxième série de molécules 16-23.....	169
1.2. Evaluation de l'activité anti-proliférative (test au MTT).	169
2.2. Evaluation de l'apoptose par coloration d'annexine V/PI	170
3.2. L'analyse du cycle cellulaire.....	170
4.2. Microscopie à immunofluorescence.	170
5.2. Docking moléculaire	171
Références bibliographiques :	172
Conclusion.....	175
RESUME	179

**Introduction générale : Rappel
bibliographique sur les propriétés
biologiques des dérivés de l'indazole**

Dans la dernière décennie, les études approfondies effectuées sur les propriétés pharmacologiques des petites molécules organiques ont permis d'identifier de nombreuses molécules privilégiées. L'indazole fait partie de ces précurseurs bioactifs importants ; il joue un rôle clé dans le développement des nouvelles structures biologiquement actives.

L'indazole **1** est un composé bicyclique azoté, analogue à l'indole, ayant un noyau benzénique condensé à un cycle pyrazole; appelé également 2-aza-indole, benzopyrazole ou isoindazone. Les indazoles sont rares dans la nature ¹. Jusqu'à ce jour, seulement trois produits naturels possédant le noyau indazole ont été isolés: Nigellicine **2**, Nigeglanine **3** et Nigellidine **4**.

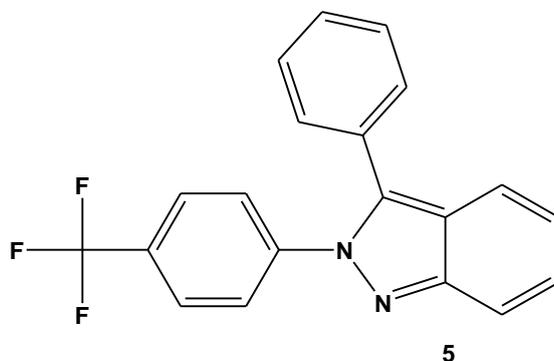


Les travaux de recherche sur l'indazole sont largement multipliés aussi bien à travers des études purement chimiques sur sa synthèse et sa réactivité ainsi qu'avec le développement de nombreux dérivés à visées thérapeutiques diverses en tant que anti-inflammatoire, anti-microbien, anti-HIV, anticancéreux, hypoglycémique, anti-protozoaire, anti-hypertenseur, et d'autres activités. Nous citerons quelques exemples des propriétés biologiques et/ou thérapeutiques récents des dérivés indazoliques.

Indazoles en tant qu'agents anti-inflammatoires :

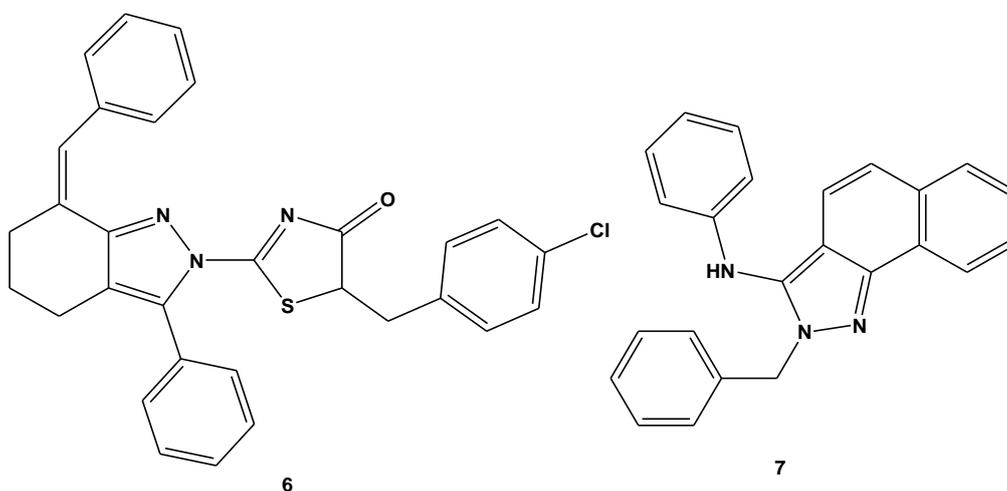
La réaction inflammatoire est un processus de défense et de protection qui, le plus souvent, se déroule en plusieurs phases chronologiquement différentes. On peut distinguer dans cette réaction des phases d'initiation, d'amplification, de stabilisation et de résolution. Chacune d'entre elles met en jeu de façon plus ou moins sélective des médiateurs qui vont engendrer et contrôler les principales conséquences pathologiques. Ces médiateurs constituent une cible thérapeutique prometteuse dans la recherche de médicaments anti-inflammatoires. Dans le cadre d'améliorer les propriétés pharmaceutiques des anti-inflammatoires, quelques

nouveaux dérivés tétrahydro-2H-indazoles disubstitués² testés *in-vivo*, ont démontré une activité anti-inflammatoire potentielle dans deux différents modèles expérimentaux (l'arthrite induite par l'adjuvant Freud et l'œdème induite par la carragénine). Le 3-phényl-2-[4-(trifluorométhyl)-phényl]-2H-indazole **5** possède une activité anti-inflammatoire importante et pratiquement dépourvu d'activité ulcérogène.

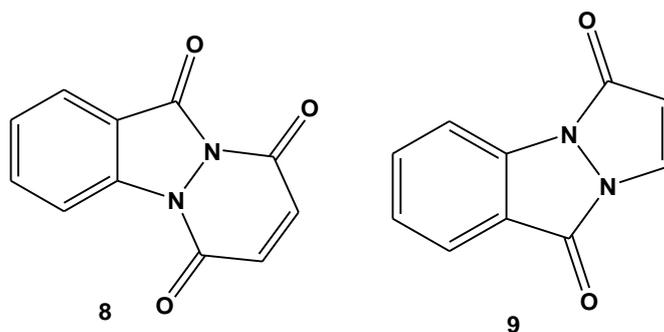


Nasr et coll.³ ont synthétisé une nouvelle série de 2-(7-benzylidène-3-phényl-3,3a,4,5,6,7-hexahydroindazol-2-yl)-5-(4-chloro-benzyl)thiazol-4-ones **6**. Ces composés ont montré une activité anti-inflammatoire potentielle.

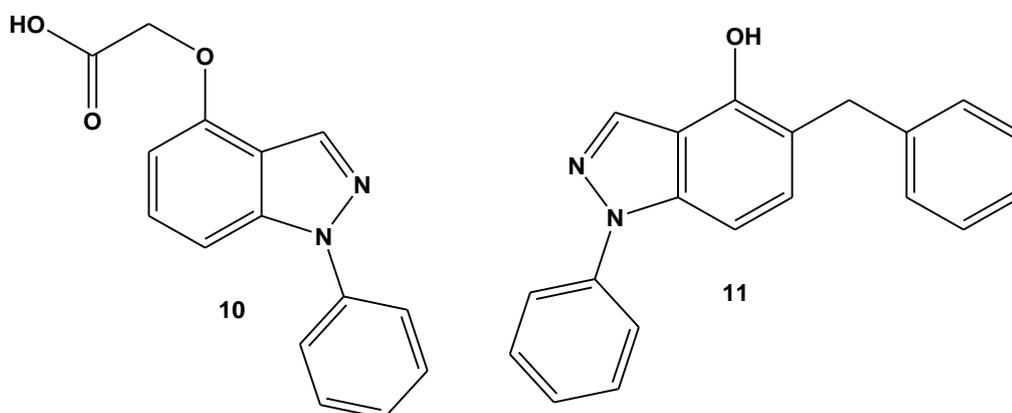
Schenone et coll.⁴ ont synthétisé et évalué l'activité anti-inflammatoire d'une série de l'indazole disubstitué en position 2 et 3. Le 2-benzyl-3-phénylamino-4,5-dihydro-2Hbenz[g]indazole **7** a montré une bonne activité anti-nociceptive.



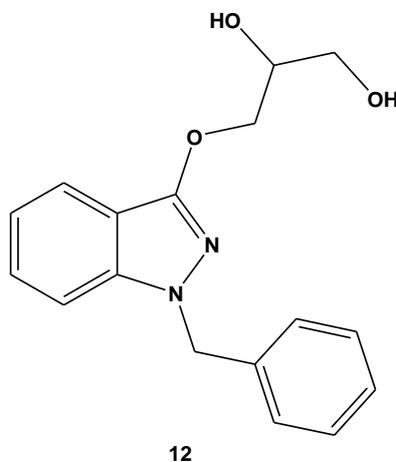
De leur côté, Abouزيد et coll.⁵ ont étudié l'effet anti-inflammatoire des dérivés de l'indazolone condensés avec la pyridazine et le pyrazole. Ils ont montré que les dérivés tels que: pyridazino-[1,2-a]-indazole-6,9,11-trione **8** et 3,9-dioxo-3H,9H-pyrazolo-[1,2-a]-indazole **9** présentent une activité anti-inflammatoire importante.



Les [(1-phényl-1H-indazol-4-yl)oxy]acétique **10** et 5-benzyl-1-phényl-1H-indazol-4-ol **11**⁶ synthétisés à partir de la 1,5,6,7-tétrahydro-1-phényl-4H-indazol-4-one, ont été testés *in vivo* et ils ont montré une bonne activité anti-inflammatoire chez le rat, et une activité analgésique chez les souris semblable à celle de l'indométhacine.

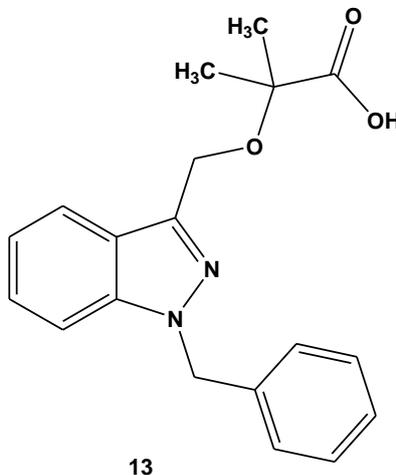


Le 1-benzyl-3-(2,3-dihydroxypropoxy)indazole **12**,⁷ a démontré une activité anti-inflammatoire similaire à celle de la phénylbutazone et supérieure à celle de benzydamine.



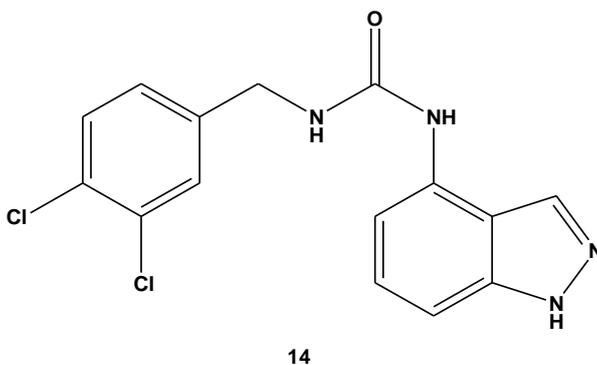
Les chimiokines constituent une famille de médiateurs jouant un rôle déterminant dans l'accumulation des leucocytes au niveau du site inflammatoire. Ils

sont soupçonnés de jouer un rôle central dans la pathogenèse de la pancréatite aiguë. Bhatia et coll.⁸ ont synthétisé et montré l'effet thérapeutique de la 2-méthyl-2-[[1-(phénylméthyl)-1H-indazol-3-yl] méthoxy]propanoïque **13** en réduisant le niveau de MCP-1 dans le pancréas.

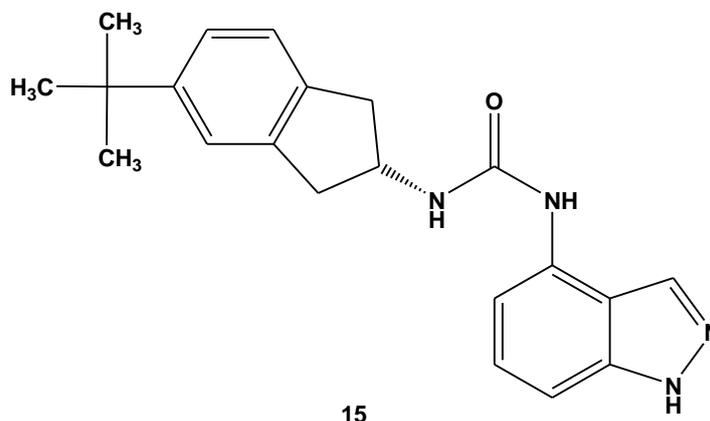


Indazole en tant qu'agents antagonistes de TRPV1:

Le récepteur TRPV1 (aussi appelé récepteur vanilloïde, VR1), est un canal de cation non spécifique. Il est sensible à la fois à la capsaïcine (le composé responsable de la saveur piquante du piment) au pH bas et à la chaleur élevée. Il s'agit donc d'un véritable intégrateur de stimulation chimique et physique qui pourrait aussi être activé par différentes protéines kinases. D'où la sensation de la douleur. Dans le cadre d'identifier des nouvelles molécules ayant TRPV1 comme cible, Drizin et coll.⁹ ont préparé une série des dérivés d'un complexe hétéro-aromatique urée-indazole comme antagonistes des TRPV1. Les tests *in vivo* et *in vitro* montrent que la meilleure activité est atteinte lorsque le groupement urée est attaché à la position 4 de l'indazole. Ainsi, le composé antagoniste le plus puissant de toute la série est : 1-(3,4-dichlorobenzyl)-3-(1H-indazol-4-yl) urée-chlorhydrate **14**.

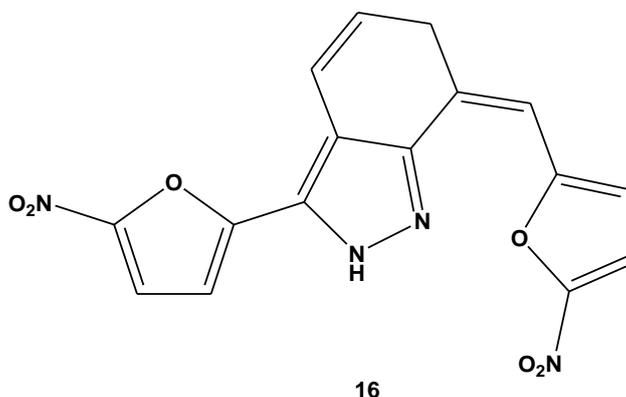


Pour améliorer les propriétés pharmacocinétiques des molécules de la série précédente, Gomtsyan et coll.¹⁰ ont remplacé le groupement benzyle substitué par un groupement indane rigide. L'évaluation approfondie des propriétés pharmacologiques, pharmacocinétiques et toxicologiques des analogues synthésisés aboutit à l'identification de la (R)-1-(5-tert-butyl-2,3-dihydro-1H-indén-1-yl)-3-(1H-indazol-4-yl) urée **15** comme agent antagoniste qui possède la meilleure activité.

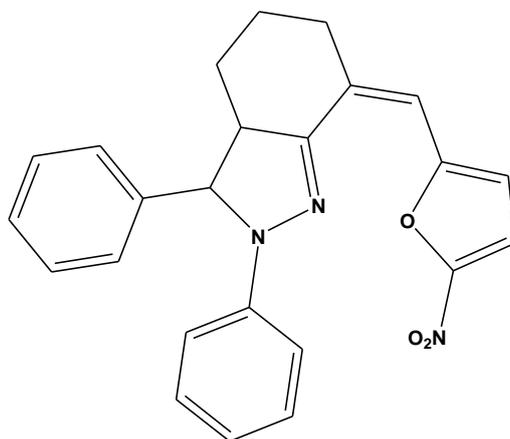


Indazoles en tant qu'agents antimicrobiens :

Les agents antimicrobiens, comme les antibiotiques, sont des substances utilisées pour tuer des micro-organismes (bactéricides) ou pour arrêter leur développement et leur multiplication (bactériostatiques). Ils sont couramment utilisés dans des médicaments à usage humain et vétérinaire pour traiter une grande variété de maladies infectieuses. Dans les dernières années, la recherche de nouveaux agents antimicrobiens est basée principalement sur les indazoles. L'activité chimiothérapeutique de 3-(5-nitrofuryl)-7-(5-nitrofurfurylidene)-3,3 a,4,5,6,7-hexahydro-2H-indazole **16** a été étudiée sur des souris albinos avec une infection à staphylocoque expérimentale.¹¹ Il a été constaté que le composé **16** possède une forte activité antimicrobienne.

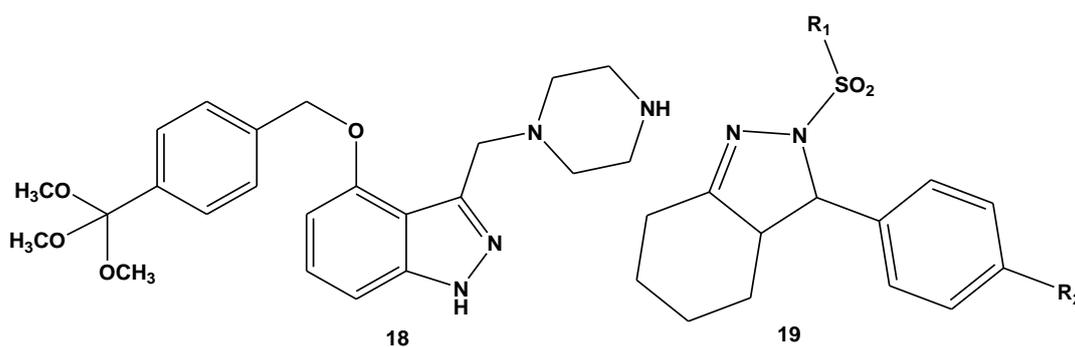


Schenone et coll.¹² ont étudié les activités antimicrobiennes des 2-arylidène-6-furfurylidène cyclohexanones et hexahydroindazoles. Ils ont constaté que la majorité des composés synthétisés possèdent une forte activité contre les cultures d'essai de staphylococcies spp, pseudomonas aeruginosa, proteus spp. et escherichia coli. Le 2,3-diphényl-7-(5-nitrofurfurylidene)-3,3a,4,5,6,7-hexahydroindazole **17** présente une forte activité anti-staphylococcique.

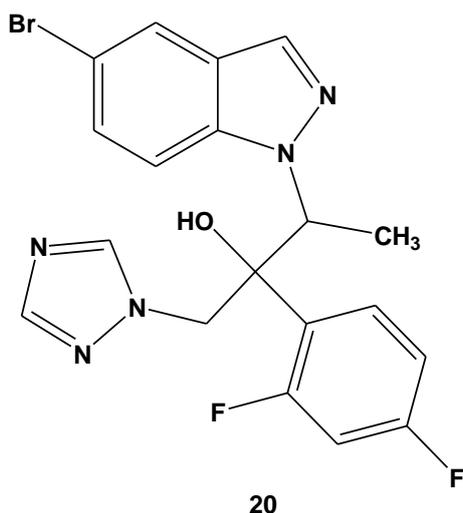


17

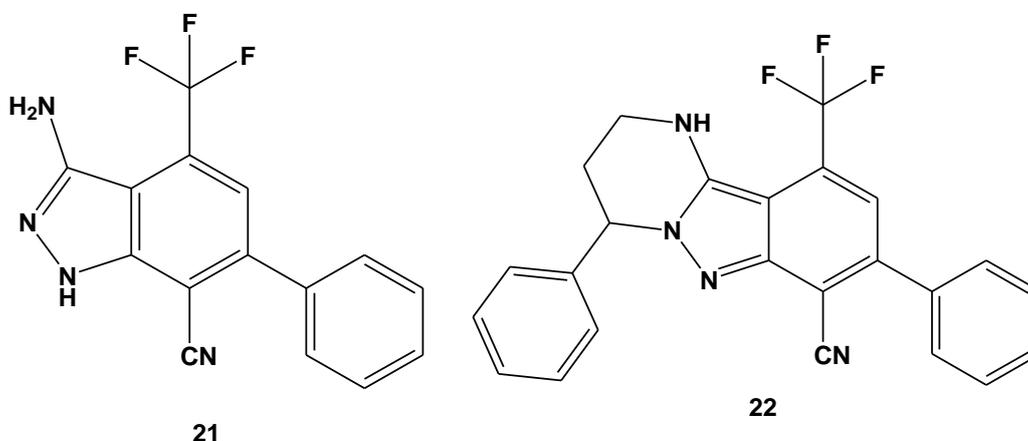
Par ailleurs, l'équipe de Rafea¹³, a montré que le 3-pipérazin-1-yl-méthyl-4-(4-triméthoxyméthyl-benzyloxy)-1H-indazole **18** présente une bonne activité antibactérienne contre les staphylocoques et les entérocoques, contenant des multi-souches résistantes aux médicaments. Minu et coll.¹⁴ ont rapporté l'activité antimicrobienne des 2,3-3,3a,4,5,6,7-hexahydro-2H-indazoles **19** disubstitués contre différentes espèces bactériennes et fongiques.



Une série de (2R, 3R)-2-(2,4-difluorophényl)-3-(substitué indazol-1-yl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol a été synthétisée et évaluée pour son activité antifongique. En particulier, le 3-(5-bromo-indazol-1-yl)-2-(2,4-difluoro-phényl)-1-[1,2,4]-triazol-1-yl-butan-2-ol **20** présente une activité antifongique significative contre une variété de cultures fongiques, par exemple, Candida spp. et Aspergillus spp.¹⁵

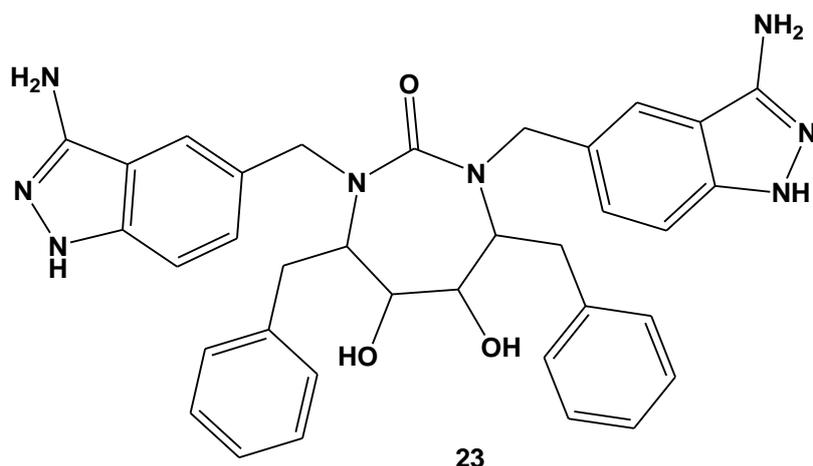


Les travaux menés par l'équipe de Yakaiah¹⁶ ont abouti à une série des dérivés de pyrimidine condensée avec l'indazole qui ont été testés *in vitro* à Gram positif, aux bactéries Gram négatif et aux espèces fongiques tels que les levures et les champignons filamenteux. Le composé **21** a montré une activité puissante par rapport à la référence (la pénicilline et la streptomycine). Le composé 4,8-diphényl-10-trifluorométhyl-1,2,3,4-tétrahydropyrimido[1,2-b]indazole-7-carbonitrile **22** a montré une activité prometteuse contre les levures et les champignons filamenteux.



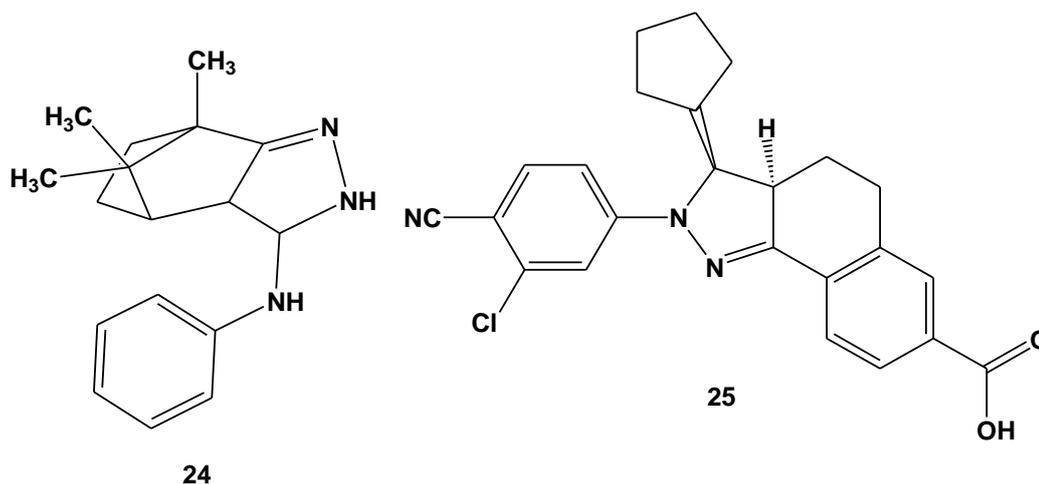
Indazoles en tant qu'inhibiteurs de la protéase du VIH

Dans la recherche des nouveaux inhibiteurs de la protéase du VIH, Rodgers et coll.¹⁷ ont préparé et étudié les dérivés de l'urée cyclique substitué par 3-aminoindazole et ils ont trouvé que le 1,3-bis-(3-amino-1H-indazol-5-ylméthyl)-4,7-dibenzyl-5,6-dihydroxy-[1,3] diazépam-2-one **23** est l'inhibiteur de la protéase du VIH le plus actif.



Indazoles en tant qu'agents anti-hypertenseurs

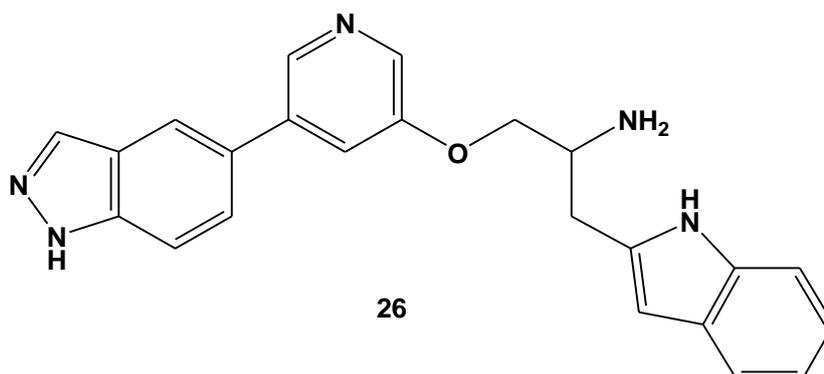
Les antihypertenseurs sont utilisés pour rétablir une tension artérielle (TA) normale en cas d'hypertension. Cette classe de médicaments regroupe un très grand nombre de substances aux modes d'action variés. Ranise et coll.¹⁸ ont étudié et montré que les dérivés de 4,5,6,7-tétrahydro-7,8,8-triméthyl-3-phénylamino-4,7-méthano-2H-indazole **24** présentent des activités hypotensive et hypoglycémique. De leur côté, Meyers et coll.¹⁹ ont identifié le composé (3S,3aR)-2-(3-chloro-4-cyanophényl)-3-cyclopentyl-3,3bis,4,5-tétrahydro-2H-benzo[g]indazole-7carboxylique **25** comme un antagoniste efficace du récepteur des minéralocorticoïdes (MR) par voie orale, et aussi antagoniste dans la thérapie de l'hypertension et la néphropathie.



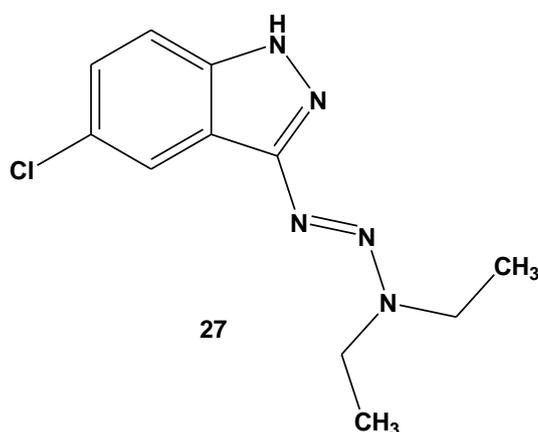
Indazoles en tant qu'agents anticancéreux

Généralement les cibles des médicaments anticancéreux sont les acides nucléiques, certaines protéines impliquées dans la transcription (et/ou la réplication) de l'ADN voire 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 moléculaire dans certains cancers (leucémie, cancer du côlon) en inhibant la tyrosine kinase. Ko et coll.²⁰ ont étudié une série des dérivés de 1H-indazol-2-[5-(1H-indazol-5-yl)pyridin-3-yloxy]-1-(1H-indol-2-yl-méthyl)-éthylamine **26** 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 l'Akt1 pour la lignée cellulaire tumorale PC-3.

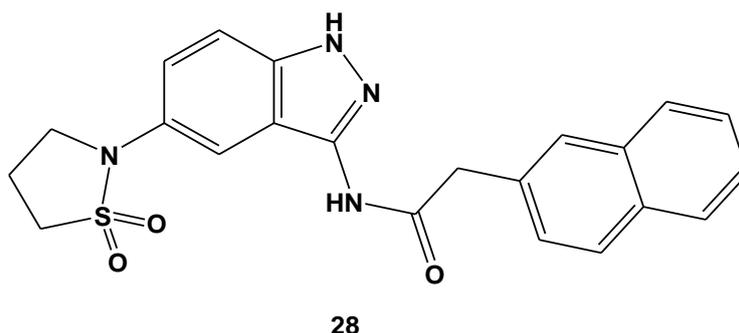


De leur côté, Daidone et coll.²¹ ont préparé et testé une série de triazenoindazole pour leur activité antiproliférative contre les lignées cellulaires suivantes: K562, HL60, L1210 et MCF7. Le composé 3-(3,3-diéthyltriazeno)-5-chloroindazole **27** a montré une meilleure activité antiproliférative.

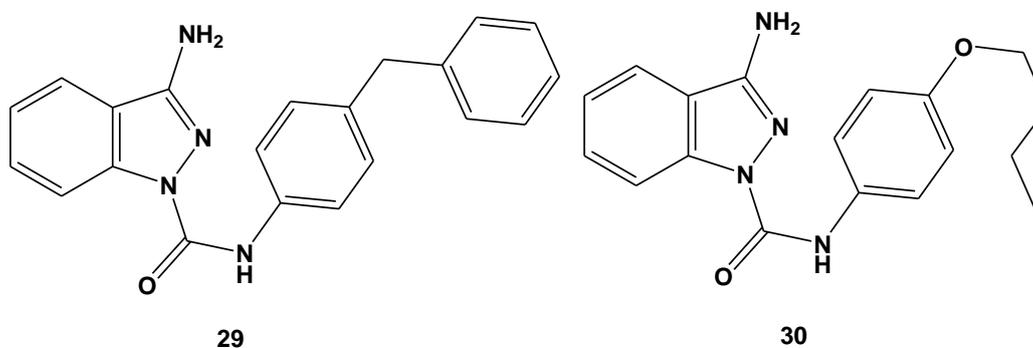


Récemment, Lee et coll.²² ont synthétisé et évalué l'activité anticancéreuse d'une série de 3,5-diaminoindazole en tant qu'inhibiteurs efficaces des CDK (Cyclin-dependent kinases) qui sont responsables de la prolifération des cellules eucaryotes. Les activités antiprolifératives de ces composés ont été 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 **28**

est le plus actif de toute la série. Il présente une activité inhibitrice importante ($IC_{50}=0.036\mu M$).

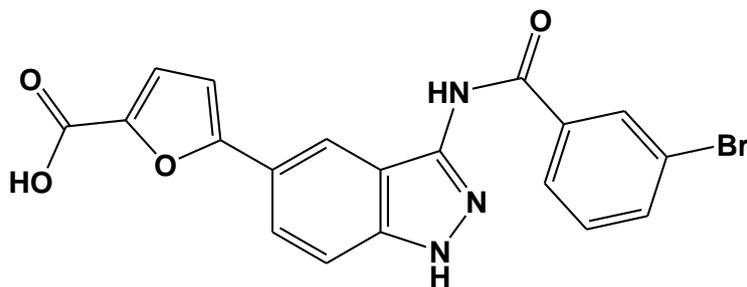


De leur côté, Raffa et coll.²³ ont synthétisé et évalué une série de nouveaux dérivés de 3-amino-*N*-phenyl-1H-indazole-1-carboxamides pour leur activité antitumorale contre 60 lignées cellulaires cancéreuses humaines. Les résultats des tests révèlent que ces composés sont doués d'une activité anti-proliférative intéressante, surtout le 3-amino-*N*-(4-benzylphényl)-1H-indazole-1-carboxamide **29** et le 3-amino-*N*-(4-butoxyphényl)-1H-indazole-1-carboxamide **30** qui présentent une activité inhibitrice contre la croissance des cellules de nombreuses lignées cellulaires néoplasiques à des concentrations inférieures à $1\mu M$ en provoquant un bloc dans la phase G_0 - G_1 du cycle cellulaire.



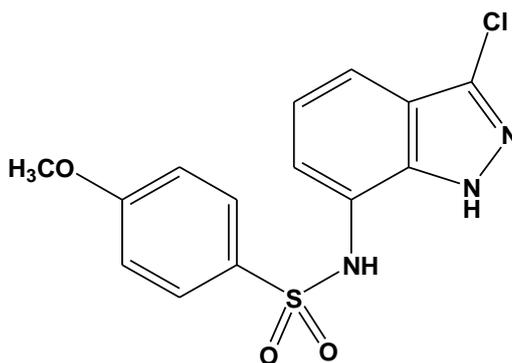
Chk1 et Chk2 sont des protéines kinases clés dans la régulation du point de contrôle en G2 après lésions de l'ADN. Les études montrent que l'inhibition de Chk1 permet d'inactiver le point de contrôle en G2/M malgré les lésions de l'ADN générées par radiation ionisante. Des inhibiteurs de la Chk1, en association avec des agents endommageant l'ADN conduisent sélectivement les cellules cancéreuses vers une mitose précoce et létale. Ce qui confirme que l'inhibition de la Chk1 et Chk2 est une approche spécifique pour le traitement du cancer. A la lumière de ce qui précède, Klein et coll.²⁴ ont développé des dérivés hétéroaryles à partir de l'indazole tel que

l'acide 5-[3-(3-bromobenzoylamino)-1H-indazol-5-yl]-furanne-2-carboxylique **31** qui présente une activité inhibitrice importante des kinases Chk1 et Chk2.



31

Dans notre laboratoire, Rakib et coll.²⁵ ont synthétisé et évalué l'activité anticancéreuse des dérivés de *N*-(7-indazolyl)-benzènesulfonamide. Ils ont montré que le sulfonamide possédant la meilleure activité cytotoxique est le 4-méthoxy-*N*-méthyl-*N*-(3-chloro-7-indazolyl)-benzène sulfonamide **32**. Il présente une activité antitumorale importante contre la lignée cellulaire L1200 (IC₅₀ = 0.44 μM).



32

L'étude des données rapportées par la littérature montre que les indazoles fonctionnalisés dans différentes positions sont doués des propriétés pharmacologiques et biologiques très diverses. L'utilisation de ce squelette hétérocyclique paraît également pertinente d'un point de vue méthodologie de synthèse. De part sa structure, il permet d'envisager un grand nombre de réactions chimiques, permettant de le fonctionnaliser en diverses positions. C'est dans ce cadre global que s'inscrit l'essentiel de mon travail de thèse, avec comme cible principale la synthèse et l'évaluation pharmacologique d'une nouvelle chimiothèque d'indazoles diversement fonctionnalisés à potentialités thérapeutiques.

Les résultats que nous avons obtenus lors de cette étude seront exposés en quatre chapitres:

Dans le premier chapitre, nous présenterons après un aperçu bibliographique résumant les différentes voies de synthèse des dérivés *N*-alkylés de l'indazole, la stratégie de synthèse développée au sein de notre laboratoire pour préparer les nitroindazoles alkylés en position 1 et 2 à partir de la réaction d'alkylation des 4-, 6-nitroindazoles.

Le deuxième chapitre sera consacré à la synthèse de nouvelles *N*-(7-alkoxy-4-indazolyl)-arylsulfonamides et ce, via la réaction de réduction des 3-halogéno-4-nitroindazoles par le chlorure stanneux dans différents alcools suivi de couplage des amines correspondantes par le chlorure d'aryl-sulfonyle. Plusieurs facteurs qui orientent la réaction de réduction des nitroindazoles pour la synthèse des dérivés alkoxy seront discutés dans ce chapitre.

Dans le troisième chapitre, nous étudierons la réaction de réduction des 6-nitroindazoles et des nitrohétéroaryles par le chlorure stanneux dans différents alcools. Nous décrirons l'effet de la nature de la structure sur la réduction des nitrohétéroaryles par le chlorure stanneux dans différents alcools.

Dans le dernier chapitre, nous présenterons brièvement un aperçu bibliographique des travaux antérieurs de notre laboratoire résumant l'importance pharmacologique des sulfonamides indazoliques en tant qu'agents anticancéreux, et nous exposerons les résultats expérimentaux de l'évaluation anticancéreuse de la nouvelle série de *N*-(4(6)-indazolyl)-arylsulfonamide.

Références bibliographiques

1. Zulfiqar, A., Daneel, F., Paulo, C., Mitchell, A. A., Ikhlas, A. K., *J. Nat. Prod.* **2008**, 71, 1111–1112.
2. Rosati, O., Curini, M., Marcotullio, MC., Macchiarulo, A., Perfumi, M., Mattioli, L., Rismondo, F., Cravotto, G. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 3463–3473.
3. Nasr, M. N., Said, S. A. *Arch. Pharm.* **2003**, 336, 551–559.
4. Schenone, S., Bruno, O., Ranise, A., Brullo, C., Bondavalli, F., Capuano, A. *Farmaco* **2003**, 58, 845–849.
5. Abouzid, K. A., El-Abahr, H. S. *Arch. Pharm. Res.* **2003**, 26, 1–8.
6. (a) Mosti, L., Menozzi, G., Schenone, P., Tortora, G., DiMouro, G., Lama, M., Marmo, E. *Farmaco* **1987**, 42, 259–266. (b) Mosti, L., Menozzi, G., Schenone, P., Molinaro, L., Conte, F., Montanario, C., Marmoe, E. *Farmaco* **1988**, 43, 763–774. (c) Mosti, L., Menozzi, G., Fossa, P., Schenone, P., Lampa, E., Parrillo, C., D'Amisco, M., Rossi, F. *Farmaco* **1992**, 47, 567–584
7. Propker, M., Pongracz, M. J., Szabo, J. L. *Arzneimittel-Forschung* **1976**, 26:1393–1397.
8. Bhatia, M., Ramnath, R. D., Chevali, L., Guglielmotti, A. *Am Physiol Gastrointest Liver Physiol* **2005**, 288:1259–1265.
9. Drizin, I., Gomtsyan, A., Bayburt, E. K., Schmidt, R. G., Zheng, G. Z., Perner, R. J., DiDomenico, S., Koenig, J. R., Turner, S. C., Jinkerson, T. K., Brown, B. S., Keddy, R. G., McDonald, H. A., Honore, P., Wismer, C. T., Marsh, K. C., Wetter, J. M., Polakowski, J. S., Segreti, J. A., Jarvis, M. F., Faltynek, C. R., Lee, C. H. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 15, 4740–4749.
10. Gomtsyan, A., Bayburt, E. K., Schmidt, R. G., Surowy, C. S., Honore, P., Marsh, K. C., Hannick, S. M., McDonald, H. A., Wetter, J. M., Sullivan, J. P., Jarvis, M. F., Faltynek, C. R., Lee, C. H. *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 392–395.
11. Raikova, S. V., Shub, G. M., Golikov, A. G., Krivenko, A. P. *AntibiotKhimioter* **2004**, 49, 21–24.
12. Schenone, S., Bruno, O., Ranise, A., Brullo, C., Bondavalli, F., Capuano, A. *Farmaco* **2003**, 58, 845–849.

13. Raffa, D., Daidone, G., Plescia, F., Schillaci, D., Maggio, B., Torta, L. *Farmaco* **2002**, 57:183–187.
14. Minu, M., Thangadurai, A., Wakode, S. R., Agrawal, S. S., Narasimhan, B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 2960–2964.
15. Park, J. S., Yu, K. A., Kang, T. H., Kim, S., Suh, Y. G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 3486–3490.
16. Yakaiah, T., Lingaiah, B. P. V., Naraiah, B., Kumar, K. P., Murthy, U. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43, 341–447.
17. Rodgers, J. D., Johnson, B. L., Wang, H., Erickson-Viitanen, S., Klabe, R. M., Bacheler, L., Cordova, B. C., Chang, C. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 715–720.
18. Ranise, A., Bondavalli, F., Schenone, P., Lampa, E., Greco, R., Scafuro, M., Marmo, E. *Farmaco* **1984**, 39, 200–207.
19. Meyers, M. J., Arhancet, G. B., Hockerman, S. L., Chen, X., Long, S. A., Mahoney, M. W., Rico, J. R., Garland, D. J., Blinn, J. R., Collins, J. T., Yang, S., Huang, H., McGee, K. F., Wendling, J. M., Dietz, J. D., Payne, M. A., Homer, B. L., Heron, M. I., Reitz, D. B., Hu, X. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 5979–6002.
20. 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.
21. Daidone, G., Raffa, D., Maggio, B., Valeria, R. M., Plescia, F., Schillaci, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, 39, 219–224.
22. 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.
23. Raffa, D., Maggio, B., Cascioferro, S., Raimondi, M. V., Schillaci, D., Gallo, G., Daidone, G., Plescia, S., Meneghetti, F., Bombieri, G., Cristina, A. D., Pipitone, R. M., Grimaudo, S., Tolomeo, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44, 165–178.
24. Klein, M., Gericke, R., Mederski, W., Beier, N., Lang, F. *US Pat. US* **2011**, 7, 884, 126 B2.
25. Bouissane, L., El Kazzouli, S., Leonce, S., Pfeiffer, B., Rakib, E. M., Khouilli, M., Guillaumet, G. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 1078–1088.

CHAPITRE I

**Réaction d'alkylation des 4-, 6-
nitroindazoles : Synthèse des 1-alkyl-
nitroindazoles et 2-alkyl-nitroindazoles**

I. Etude bibliographique sur les réactions d'alkylation de l'indazole

Le noyau indazolique a deux atomes d'azote et présente une tautomérie en ce qui concerne la position de l'atome d'hydrogène du groupe NH (schéma 1). En raison de la différence d'énergie entre les tautomères, la forme 1H-indazole **1** prédomine fortement en phase gazeuse, en solution et en phase solide, et ses dérivés sont généralement thermodynamiquement plus stables que la forme 2H-indazole **2**.^{1,2}

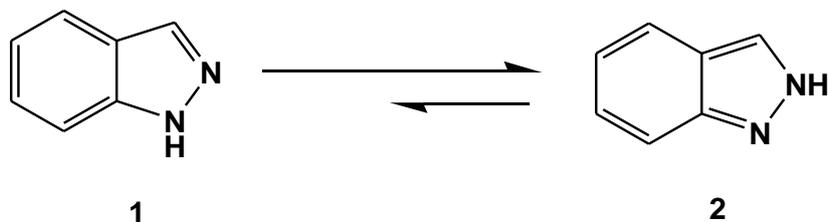


Schéma 1

Les structures 1H-indazole et 2H-indazole peuvent exister séparément lorsque R est un substituant différent de H. Plusieurs méthodes ont été développées pour accéder aux dérivés N-substitués de l'indazole. La réaction d'alkylation est une des méthodes utilisées pour préparer les dérivés indazoliques substitués en position 1 et 2. Plusieurs études concernant l'alkylation de 1H-indazole montrent que l'acidité ou la basicité du milieu, l'utilisation de solvants protiques ou aprotiques, ainsi que les effets électroniques et stériques affectent tous la proportion des isomères N-1 et N-2 alkylés formés. Généralement, les isomères N-1 sont thermodynamiquement plus stables, cependant les isomères N-2 sont cinétiquement favorisés.³ La littérature rapporte quelques travaux de la réaction d'alkylation des dérivés de l'indazole. Ainsi, Shumeiko et coll.⁴ ont étudié la benzylation de l'indazole dans les conditions de la Catalyse par Transfert de Phase (C.T.P.). Cette méthode conduit à la formation de deux isomères 3 et 4 (Schéma 2) dont le rapport dépend essentiellement des conditions de la catalyse de transfert de phase liquide-liquide ou liquide-solide (Tableau 1). Cette étude porte sur les effets de la nature de l'agent de transfert de phase, du solvant, et de la température.

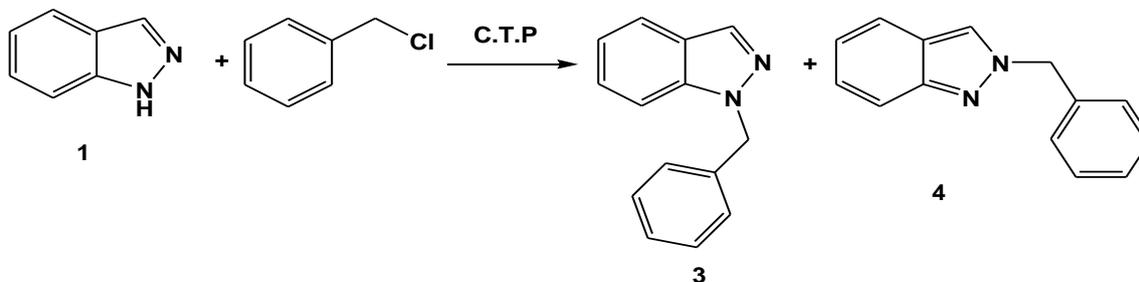


Schéma 2

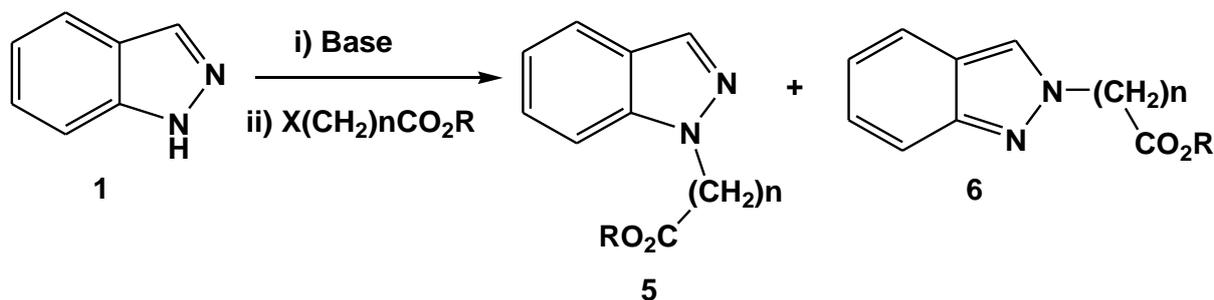
Le tableau 1 montre que le rapport des isomères est considérablement affecté par l'effet de la température de la réaction: à basse température la formation de l'isomère **4** est favorisée (cf. 11-13), à température moyenne le rapport des isomères est affecté par la nature du solvant (cf. 3 et 5). La nature du catalyseur demeure le facteur le plus intéressant. Par exemple, plus le catalyseur est hydrophobe, c'est à dire lorsqu'on passe de PEG aux sels d'ammonium (6 et 8), on observe une inversion au niveau la proportion des isomères **3** et **4**. Par ailleurs, la réalisation de la benzylation en système liquide-liquide dans le benzène a donné des proportions quasi-équivalentes des deux isomères. Mais, dans le tétrachlorure de carbone, le remplacement du sel d'ammonium par l'éther couronne aboutit à la diminution de la fraction de l'isomère **3** (12 et 13). Ainsi, la réaction de catalyse par transfert de phase permet de procéder à une alkylation régio-sélective des azoles de l'indazole et obtenir l'isomère cible avec un bon rendement.

Tableau 1. Benzyltion de l'indazole dans les conditions de la catalyse par transfert de phase

Condition	Solvant	Catalyseur	T °C	t (h)	% 3 : 4
1	o-dichlorobenzène ^a	TBAC	180	16	72.2 : 27.8
2	Xylène ^a	TBAC	160	16	60.5 : 39.5
3	Acétonitrile ^a	TBAC	80	16	59.2 : 40.8
4	Toluène ^a	TBAC	110	16	55.3 : 44.7
5	Benzène ^a	TBAC	80	16	53.6 : 46.4
6	Toluène ^a	PEG600	110	16	41.5 : 58.5
7	Toluène ^a	18-Crown-6	110	16	49.9 : 58.1
8	Toluène ^a	TENAB	110	16	59.1 : 40.9
9	Toluène ^a	TMAB	110	16	63.8 : 36.2
10	Toluène ^a	DMPBAC	110	16	66.8 : 33.2
11	Benzène ^b	TBAC	25	6	49.9 : 50.1
12	Tetrachlorure de carbone ^b	TBAC	25	6	40.9 : 59.1
13	Tetrachlorure de carbone ^b	18-Crown-6	25	6	38.7 : 61.3

^a : système liquide-solide ^b : système liquide-liquide

Teixeira et coll.⁵ ont synthétisé les dérivés d'esters d'indazole **5** et **6** avec des rendements et des proportions différents à partir de l'indazole **1** par des réactions d'alkylation des esters halogénés correspondants avec différentes longueurs de chaînes hydrocarbonées (Schéma 3).

**Schéma 3**

Le tableau 2, présente les différentes conditions utilisées (base, solvant et l'agent alkylant) pour préparer les dérivés N-alkylés **5** et **6**. Dans tous les cas, on remarque que l'isomère **5** est le produit majoritaire par rapport à l'isomère **6**. La réaction de l'indazole **1** avec ClCO_2Me en présence de $t\text{-BuOK}$, à température ambiante, a donné seulement l'isomère **5** avec un excellent rendement (99%). Ces

réactions d'alkylation montrent bien que la nature de la base et le solvant sont des facteurs déterminants pour la régiosélectivité de l'alkylation de l'indazole.

Tableau 2. Synthèse des dérivés N-alkylés de l'indazole 5 et 6

Condition	n	Base (solvant)	X(CH ₂) _n CO ₂ R		Rdt : 5	Rdt: 6	Rdt: 5+6
			X	R			
A	0	<i>t</i> BuOK (THF)	Cl	Me	99	-	99
B	1	<i>t</i> BuOK (THF)	Br	Et	55	13	68
		K ₂ CO ₃ (DMF)	Br	Et	67	22	89
C	2	NaH (THF)	Br	Et	47	39	86
		K ₂ CO ₃ (DMF)	Br	Et	49	46	95
D	3	<i>t</i> BuOK (DMSO)	Br	Et	49	12	61
		K ₂ CO ₃ (DMF)	Br	Et	59	37	96
E	4	K ₂ CO ₃ (DMF)	Br	Et	59	31	90
F	5	K ₂ CO ₃ (DMF)	Br	Et	62	34	96
G	6	K ₂ CO ₃ (DMF)	Br	Et	61	36	97
H	7	K ₂ CO ₃ (DMF)	Br	Me	63	34	97

Chakrabarty et coll.⁶ ont décrit la réaction d'alkylation des iodures d'alkyles sur les 5-, 6-nitroindazoles **7** et **8** dans THF en présence de l'hydroxyde de sodium et Bu₄NHSO₄ comme catalyseur de la réaction. Ces conditions ont conduit à la formation de deux isomères N-1 et N-2 alkylés avec des rendements proportionnels (Schéma 4).

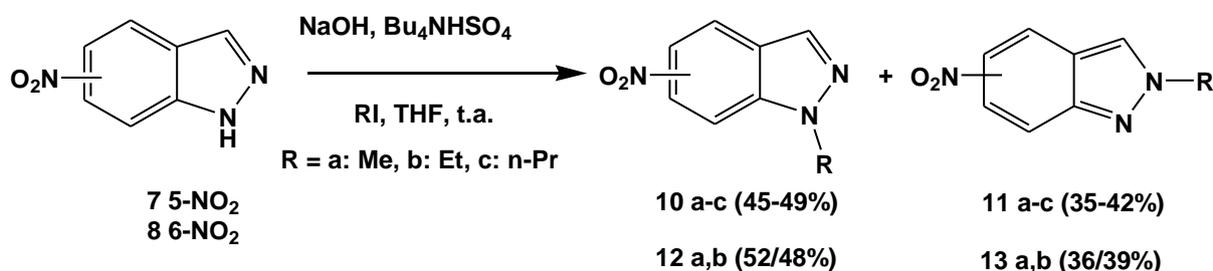


Schéma 4

Dans la même série de l'alkylation des nitroindazoles, Marminon et ses collaborateurs⁷ ont étudié la réaction de benzylation du 7-nitroindazole **14** (schéma 5). La première tentative de benzylation du 7-nitroindazole **14** donne un mélange d'isomères **15** et **16**, avec une sélectivité très importante en faveur du composé **16**

(Tableau 3, condition 1). Ensuite, les auteurs ont étudié les différentes conditions d'alkylation pour améliorer le rendement de l'isomère **15**. La température de réaction semble avoir un effet faible (condition 2), tandis que la substitution du THF par le DMF comme solvant conduit à une augmentation importante de la proportion de l'isomère **15** (condition 3). Par contre ni les variations du temps de formation de l'anion (conditions 4 et 5) ni la quantité de la base (condition 6) ne permettent l'amélioration des proportions. Enfin, l'utilisation de KOH (condition 7) au lieu de NaH conduit à un résultat plus intéressant, avec une sélectivité en faveur de l'isomère **15** et un rendement global quantitatif.

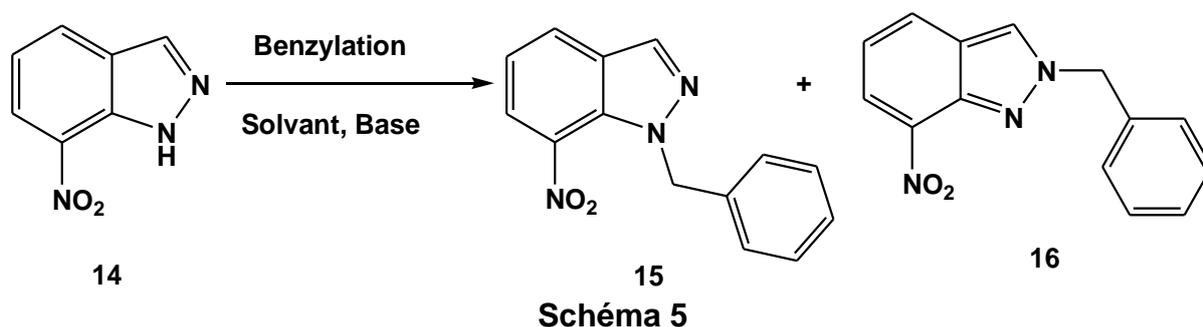


Tableau 3. Benzoylation du 7-nitroindazole

Condition	Base (éq)	Solvant	t (min)	T (°C)	Proportion 15/16	Rdt global
1	NaH (1,2)	THF	20	20	2/98	85
2	NaH (1,2)	THF	20	0	6/94	71
3	NaH (1,2)	DMF	20	20	40/60	98
4	NaH (1,2)	DMF	20	20	39/61	85
5	NaH (1,2)	DMF	60	20	39/61	67
6	NaH (2)	DMF	60	20	43/57	100
7	KOH (1,2)	DMF	60	20	52/48	99

Une autre méthode de synthèse sélective de 1-alkyl-1H-indazole a été décrite par Hunt et coll.⁸. La réaction consiste à faire réagir le 6-nitroindazole **8** avec le bromoacétate de méthyle dans le DMF en présence du carbonate de césium comme base de la réaction d'alkylation (Schéma 6). Le méthyl 2-(6-nitro-1H-indazol-1-yl) acétate **17** est obtenu avec un rendement de 87%.

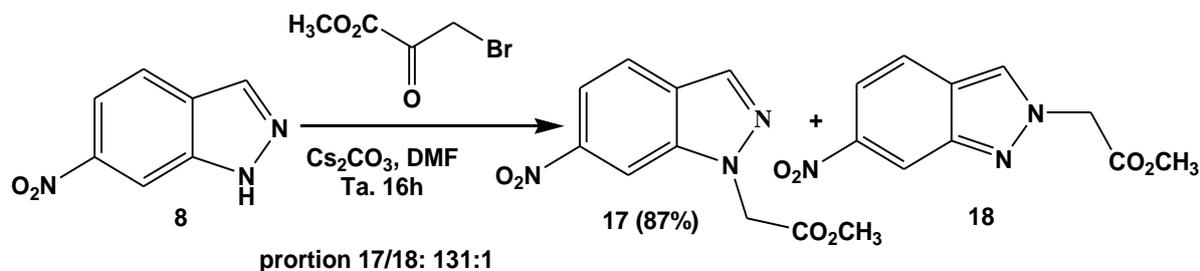


Schéma 6

Les mêmes auteurs ont étudié aussi l'effet de la base et de l'agent alkylant sur la sélectivité de la réaction. Ils ont montré que l'agent alkylant qui porte un groupe attracteur, en présence du carbonate de césium comme base donne une sélectivité meilleure en faveur du composé N-1 alkylé (schéma 7 et tableau 4).

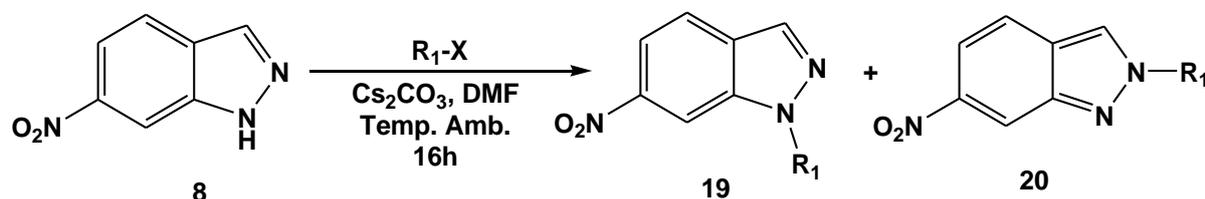


Schéma 7

Tableau 4. Effet de la nature de l'agent alkylant sur la réaction d'alkylation du 6-nitroindazole

Entrée	R-X	Proportion 19/20	Rendement 19
1	PhCH ₂ Br	1.2/1	53%
2	CH ₃ OCH ₂ CH ₂ Br	1.3/1	58%
3	NCCH ₂ Br	27/1	65%
4	EtCO ₂ CH ₂ Br	125/1	84%
5	MeCO ₂ CH ₂ Br	131/1	87%

Récemment, Bandichhor⁹ a développé une méthode d'alkylation régiosélective de la synthèse du 2-méthyl-2H-indazole en utilisant le méthyle de 2,2,2-trichlorométhylacetimidate comme réactif de méthylation et en présence de l'acide trifluorométhanesulfonique comme catalyseur de la réaction (Schéma 8).

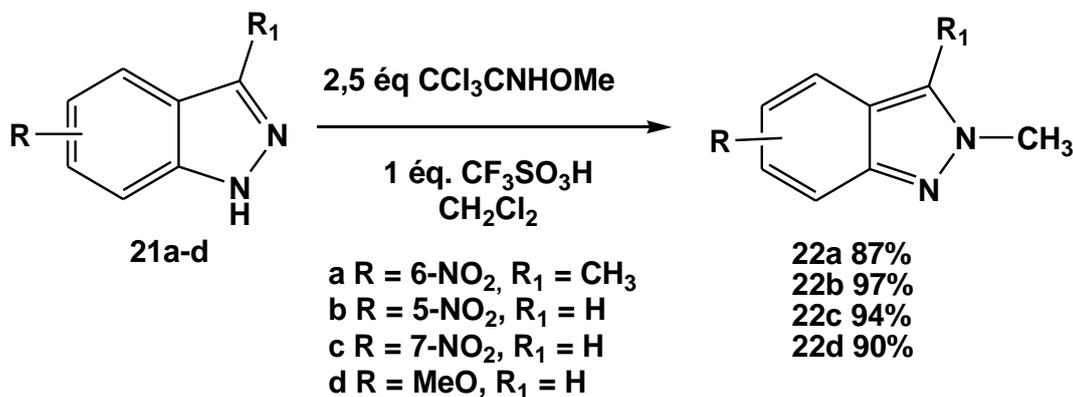


Schéma 8

Ces données bibliographiques montrent que la réaction d'alkylation de l'indazole est très sensible aux conditions opératoires utilisées (température, solvant, base et agent alkylant). Plusieurs méthodes ont été élaborées pour orienter la réaction d'alkylation de l'indazole de manière régiosélective soit vers la position N-1 ou N-2.

Suite à ces travaux, dans le présent travail nous nous sommes intéressés à l'étude de la réaction d'alkylation des 4-, 6-nitroindazoles avec des réactifs alkylants dans différentes conditions opératoires. Nous avons étudié essentiellement l'effet de l'agent alkylant, de la nature de la base et du solvant sur la réaction d'alkylation des 4-, 6-nitroindazoles.

II. Alkylation des 4-, 6-nitroindazoles

1. Synthèse des 4-, 6-nitroindazoles

La préparation des 4-, 6-nitroindazoles **25** et **8** a été réalisée selon le mode opératoire décrit par Noelting.¹⁰ L'action du nitrite de sodium sur 3(5)-nitro-2-méthylaniline **23-24** dans l'acide acétique sous agitation à température ambiante conduit aux 4-, 6-nitroindazoles **25**, **8** avec de bons rendements (Schéma 9).

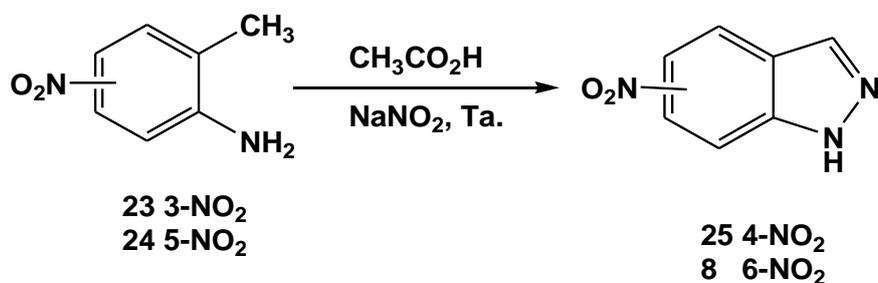


Schéma 9

Les structures des composés **25** et **8** ont été établies sur la base des données spectrales RMN¹H et RMN¹³C.

Dans le spectre RMN¹H, on note en particulier la présence du signal à 8,32-8,46 ppm dû au proton pyrazolique et un signal à 13,98-14,12 correspondant au proton du groupe NH.

2. Synthèse et réactivité des dérivés N-alkylés de l'indazole

La protection de l'indazole en position 1 ou 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 l'alkylation de l'indazole dans la synthèse des molécules biologiquement actives, nous avons réalisé l'alkylation avec plusieurs halogénures d'alkyle afin de pouvoir comparer l'influence de différents substituants sur l'activité pharmacologique de nos molécules.

1.1. Etude de la réactivité de l'alkylation du 4-nitroindazole

Pour l'alkylation du 4-nitroindazole **25**, nous avons utilisé plusieurs agents alkylants dans différentes conditions opératoires (base, solvant et température). Dans tous les cas nous obtenons un mélange de 1- et 2-alkylindazoles **26a-c** et **27a-c** (Schéma 10). Nous rapportons sur le tableau 5 les conditions opératoires utilisées pour chaque réactif alkylant ainsi que les rendements des dérivés N-alkylés de 4-nitroindazole.

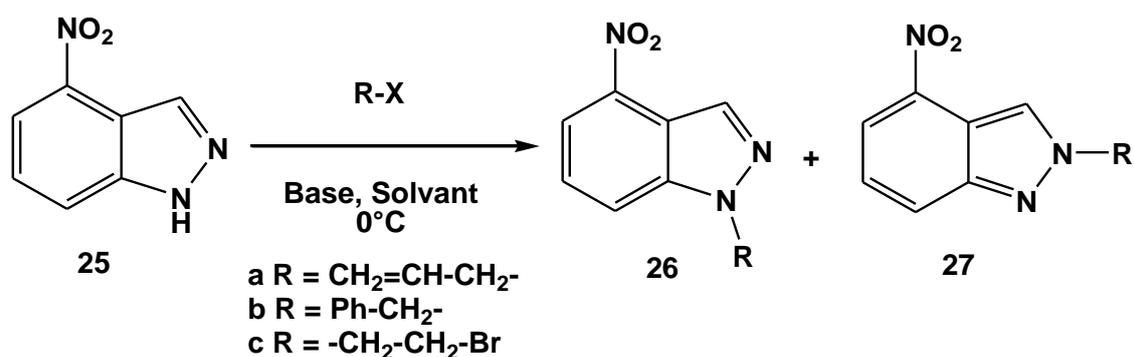


Schéma 10

Les structures des dérivés alkylés de la 4-nitroindazole ont été identifiées grâce à la RMN¹H, RMN¹³C et DEPT.

Les structures des deux isomères **26a-c** et **27a-c** pourront être différenciées par le dépouillement du déplacement chimique du carbone tertiaire CH-3 de l'indazole. Dans le spectre RMN¹³C (DEPT) des composés 1-alkyl-4-nitroindazoles **26a-c**, les déplacements chimiques des CH-3 apparaissent à δ 132.8-133.7 ppm

alors que les déplacements chimiques de CH-3 pour 2-alkyl-4-nitroindazoles **27a-c** apparaissent à δ 124,2-125,5 ppm.

Tableau 5. Etude de l'effet de solvant et la base sur l'alkylation du 4-nitroindzole

Agent alkylant	Base	Solvant	T °C	Rdt 26 ^a		Rdt 26+27
				N-1	N-2	
Iodométhane	K ₂ CO ₃	THF	0°C	62%	34%	96%
Bromure d'allyle	K ₂ CO ₃	THF	0°C	54%	30%	84%
	KOH	Acétone		49%	24%	73%
	<i>t</i> -BuOK	THF		57%	15%	72%
Chlorure de benzyle	KOH	Acétone	0°C	52%	31%	83%
	<i>t</i> -BuOK	THF		78%	00%	78%
1,2-dibromoéthane	KOH	Acétone	0°C	33%	25%	58%
	<i>t</i> -BuOK	THF		45%	29%	74%

^a Rendements des isomères alkylés sont déterminés après séparation par chromatographie

Les résultats du tableau 5, montrent une sélectivité modérée en faveur du composé **26**. L'utilisation de *t*-BuOK dans le THF à la place de KOH dans l'acétone conduit aux résultats plus intéressants, une bonne sélectivité a été observée en faveur de l'isomère N-1. La benzylation de 4-nitroindazole, en présence de *t*-BuOK dans THF a donné seulement l'isomère N-1 avec un bon rendement 78%.

Pour étudier l'influence de la température sur la régio-sélectivité de l'alkylation, nous avons réalisé la réaction d'alkylation de 4-nitroindazole avec le bromure d'allyle dans THF en présence de *t*-BuOK à reflux. L'isomère **26a** est obtenu avec un bon rendement 78% (Tableau 6).

Tableau 6. Effet de la température sur la réaction d'alkylation de 4-nitroindazole

Agent alkylant	Base	Solvant	T °C	Rdt.26 ^a		Rdt. 26+27
				N-1	N-2	
Bromure d'allyle	<i>t</i> -BuOK	THF	0°C	57%	15%	72%
	<i>t</i> -BuOK	THF	reflux	78%	18%	96%

^a Rendements des isomères alkylés sont déterminés après séparation sur chromatographie

On observe une sélectivité meilleure en faveur de l'isomère N-1 lorsque la température est élevée à 80°C.

Pour élargir cette étude, nous avons envisagé aussi l'alkylation du 4-nitroindazole avec d'autres agents alkylants (iodométhane, 3-bromopropionate d'éthyle) dans l'acétone en présence de K₂CO₃ à reflux. Les 1-alkyl-4-nitroindazoles **28a,b** sont obtenus avec de bons rendements (Schéma 11). Une meilleure sélectivité est observée aussi en faveur de l'isomère N-1 alkylé.

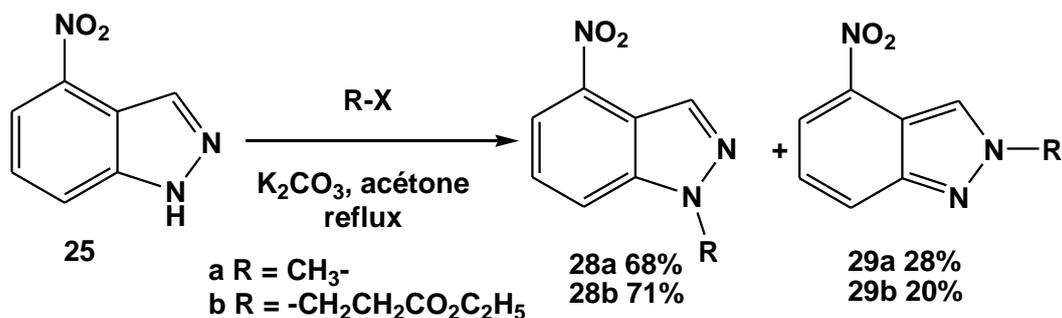


Schéma 11

Les structures des dérivés *N*-alkylés sont confirmées par des données spectrales RMN ¹H, RMN¹³C et DEPT.

2.1. Etude de la réactivité de l'alkylation du 6-nitroindazole

En série 6-nitroindazole, l'alkylation par différents agents alkylants (bromure d'allyle, 3-bromopropionate d'éthyle et chloro 4-méthylbenzyle) dans l'acétone en présence de carbonate de potassium à reflux conduit à un mélange de deux isomères **30a-c** et **31a-c** (Schéma 12). Les deux produits *N*-alkylés sont obtenus avec des proportions presque égales, une légère sélectivité a été observée en faveur de l'isomère N-2 alkylé **31**. Le rendement global des deux isomères est excellent (tableau 7).

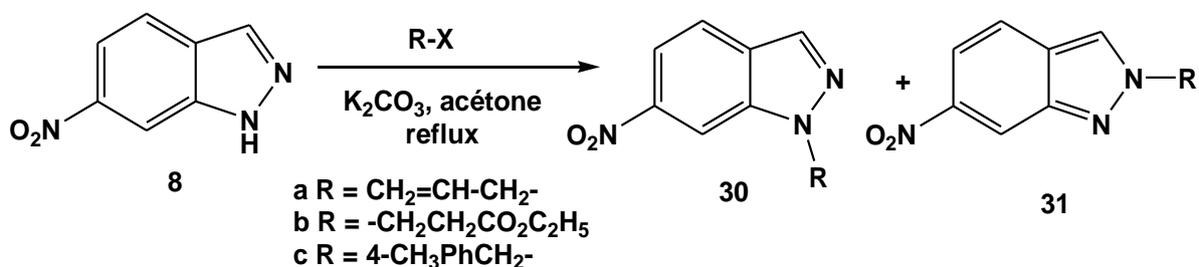


Schéma 12

Les structures des dérivés N-alkylés **30a-c** et **31a-c** du 6-nitroindazole sont confirmées par des données spectrales RMN ¹H, ¹³C. Nous rapportons dans les figures 1 et 2, les spectres RMN¹H, RMN¹³C et DEPT des composés **30b** et **31b**.

Tableau 7. Etude de la réaction d'alkylation du 6-nitroindazole

Agent alkylant	Rdt. 30	Rdt. 31	Rdt. 30 +31
a CH ₂ =CH-CH ₂ -Br	43%	49%	92%
b Br-CH ₂ CH ₂ CO ₂ C ₂ H ₅	35%	59%	94%
c 4-CH ₃ PhCH ₂ -Cl	44%	56%	100%

Condition : Acétone/K₂CO₃, 80°C

Ces résultats montrent que la position du groupement nitro joue un rôle important au niveau de l'orientation de l'alkylation des nitro-indazoles. Avec le 4-nitroindazole, on observe une meilleure sélectivité en faveur de l'isomère N-alkylé en position 1, par contre avec le 6-nitroindazole, une légère sélectivité est notée en faveur de l'isomère N-2.

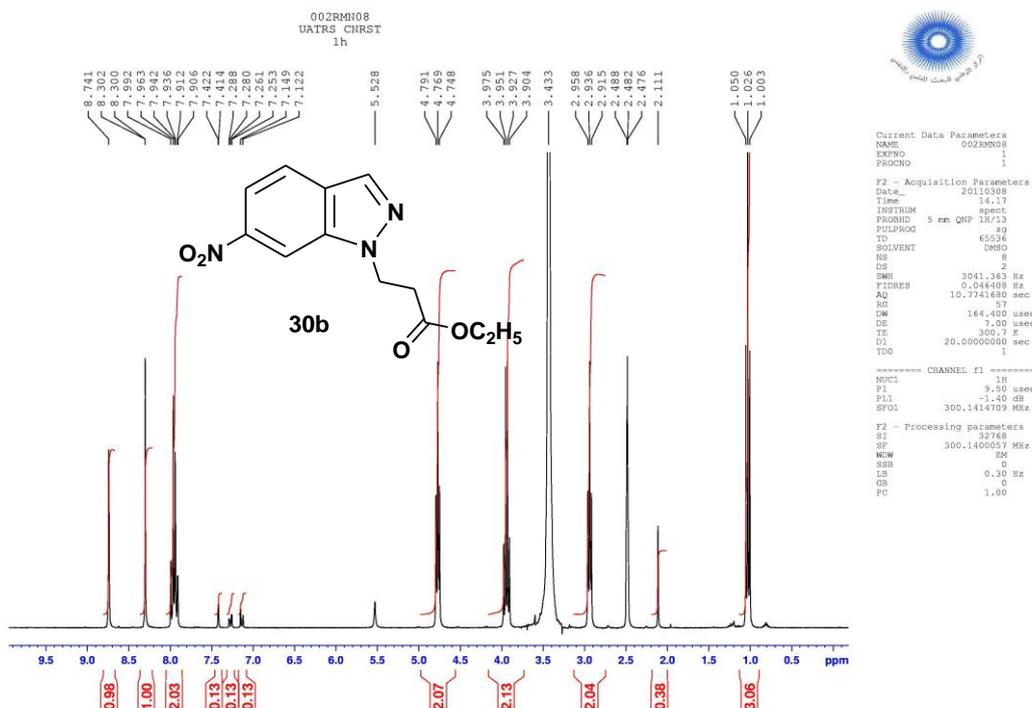


Figure 1. Spectre RMN1H (300MHz, DMSO-d6) du composé **30b**

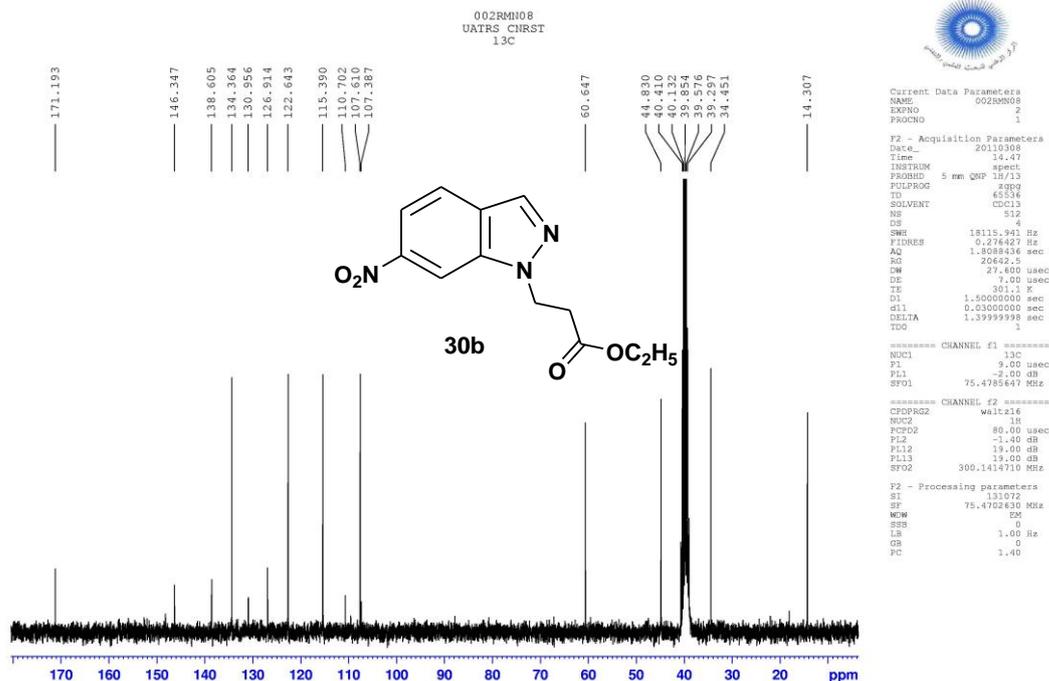


Figure 1. Spectre RMN13C (75MHz, DMSO-d6) du composé 30b

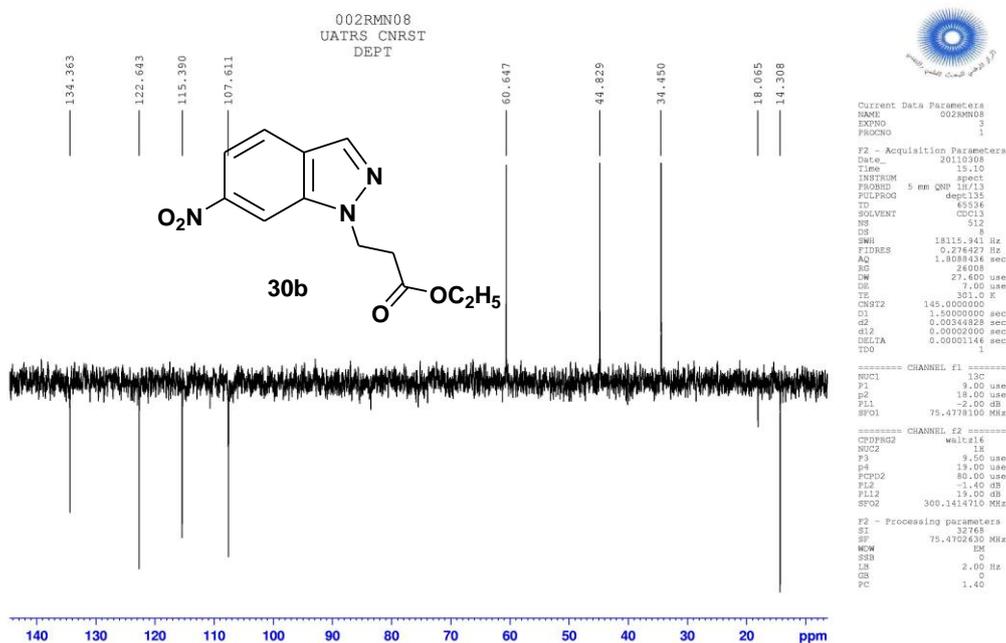


Figure 1. Spectre RMN13C (DEPT) du composé 30b

OA288RM11
UATRS CNRST
1h

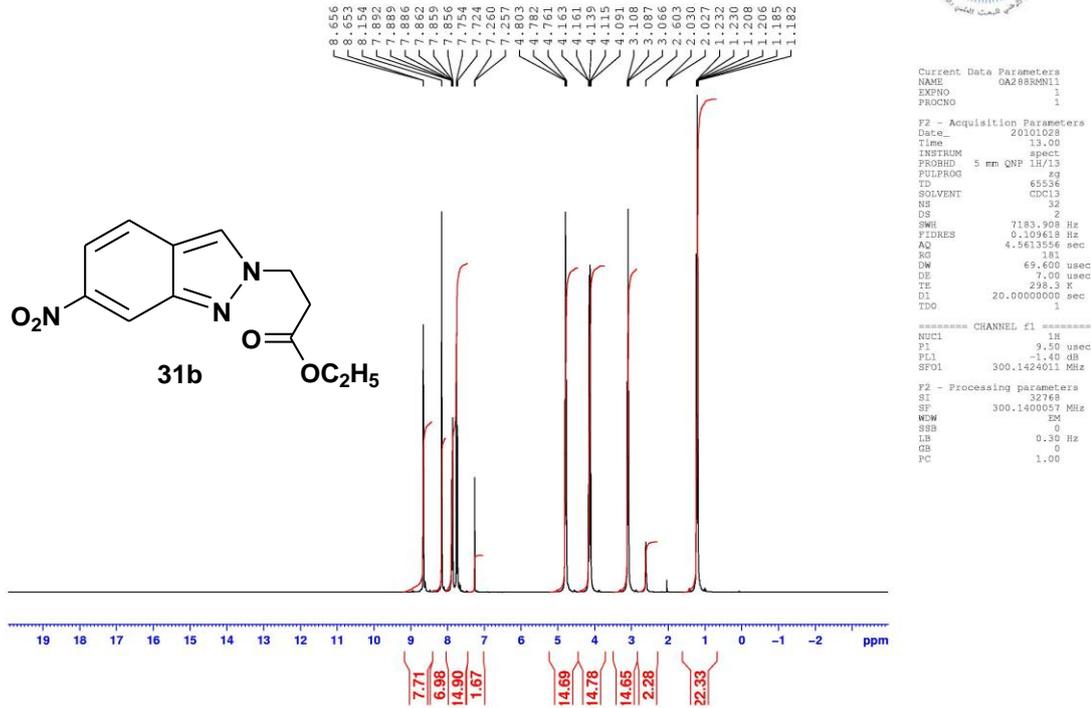


Figure 2. Spectre RMN¹H (300MHz, CDCl₃) du composé 31b

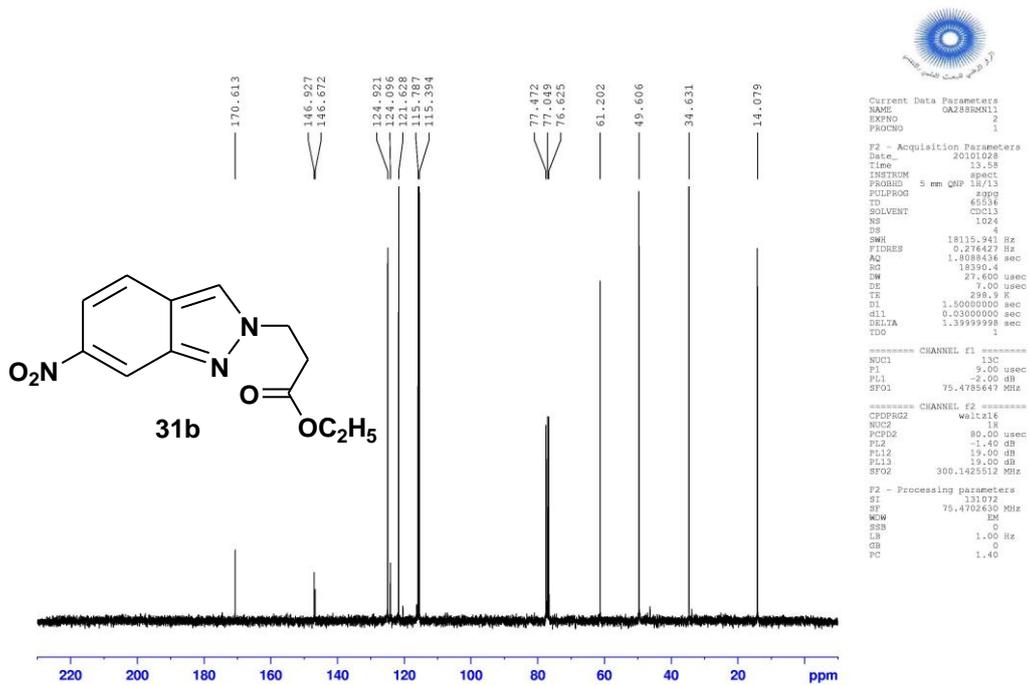


Figure 2. Spectre RMN¹³C (75MHz, CDCl₃) du composé 31b

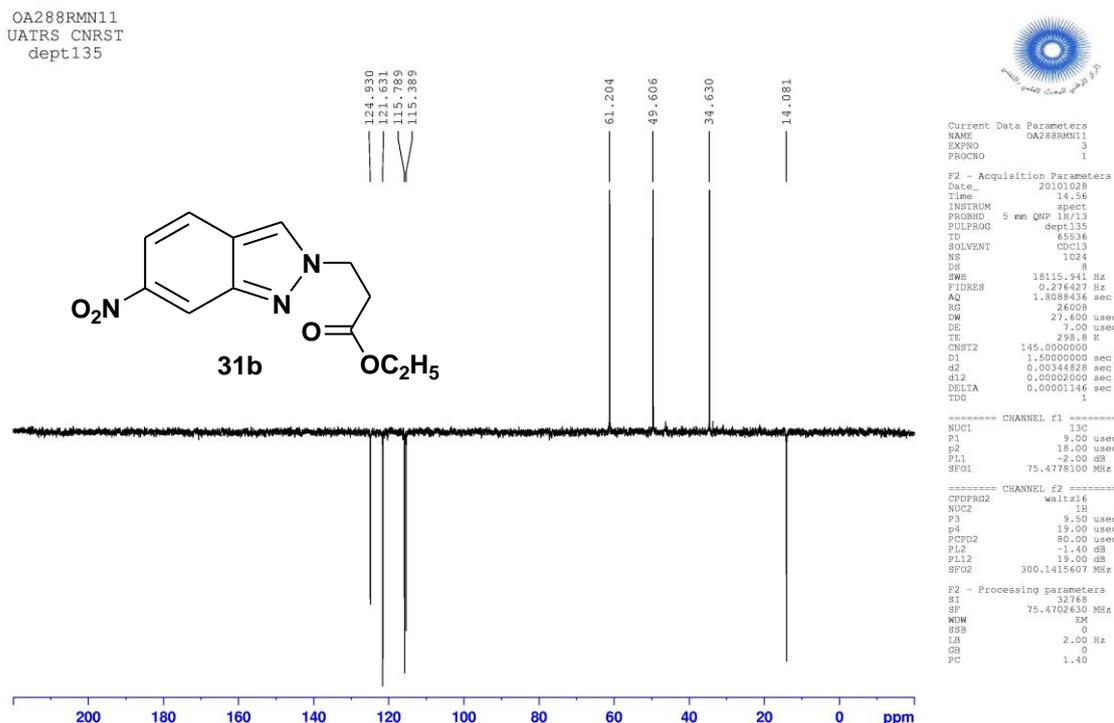
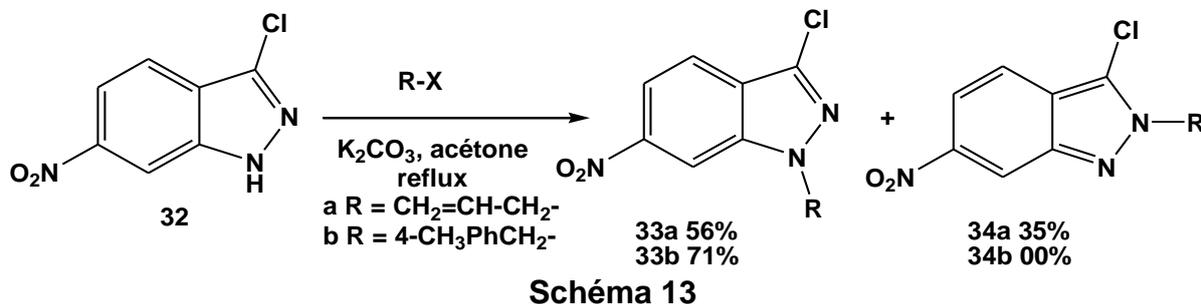


Figure 2. Spectre RMN¹³C (DEPT) du composé **31b**

Nous avons étudié aussi la réaction d'alkylation de 3-chloro-6-nitroindazole en utilisant le carbonate de potassium comme base dans l'acétone. Les 1-alkyl-3-chloro-6-nitroindazoles sont obtenus avec de bons rendements (Schéma 13). Dans le cas de bromure 4-méthylbenzyle, seul le composé N-1 alkylé a été identifié avec un bon rendement. Le composé **32** est préparé par chloration du 6-nitroindazole **8** avec le N-chlorosuccinimide à reflux de l'acétonitrile.



Les structures des dérivés N-alkylés de 3-chloro-6-nitroindazole **33a,b** et **34a** ont été identifiées grâce à la RMN¹H, RMN¹³C et DEPT.

Nous représentons sur les figures suivantes les spectres RMN¹H, RMN¹³C et DEPT des produits alkylés **33a** et **34a**.

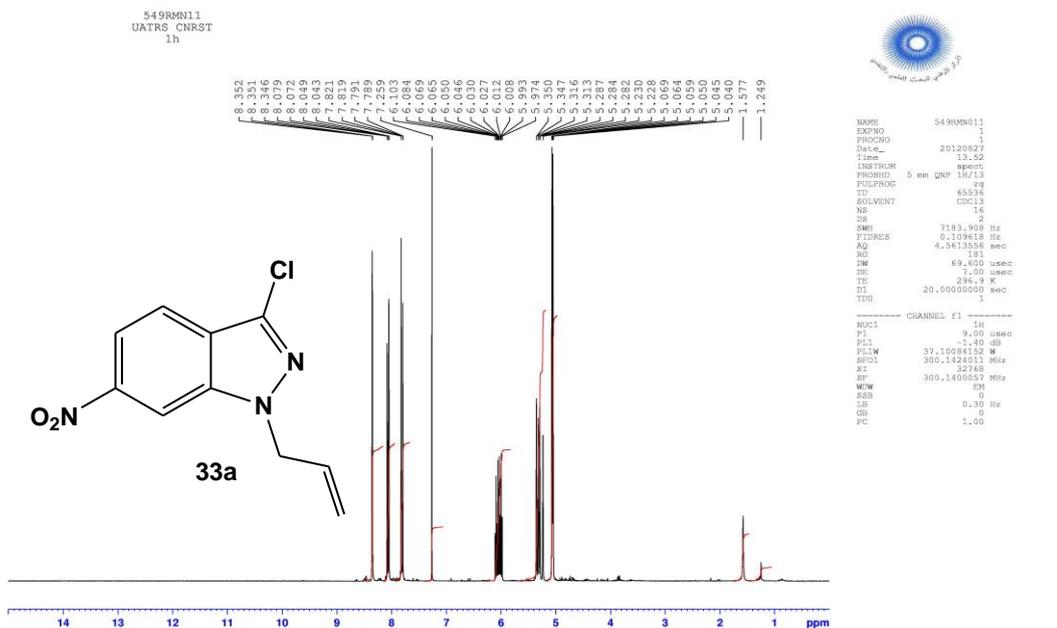


Figure 3. Spectre RMN1H (300MHz, CDCl₃) du composé 33a

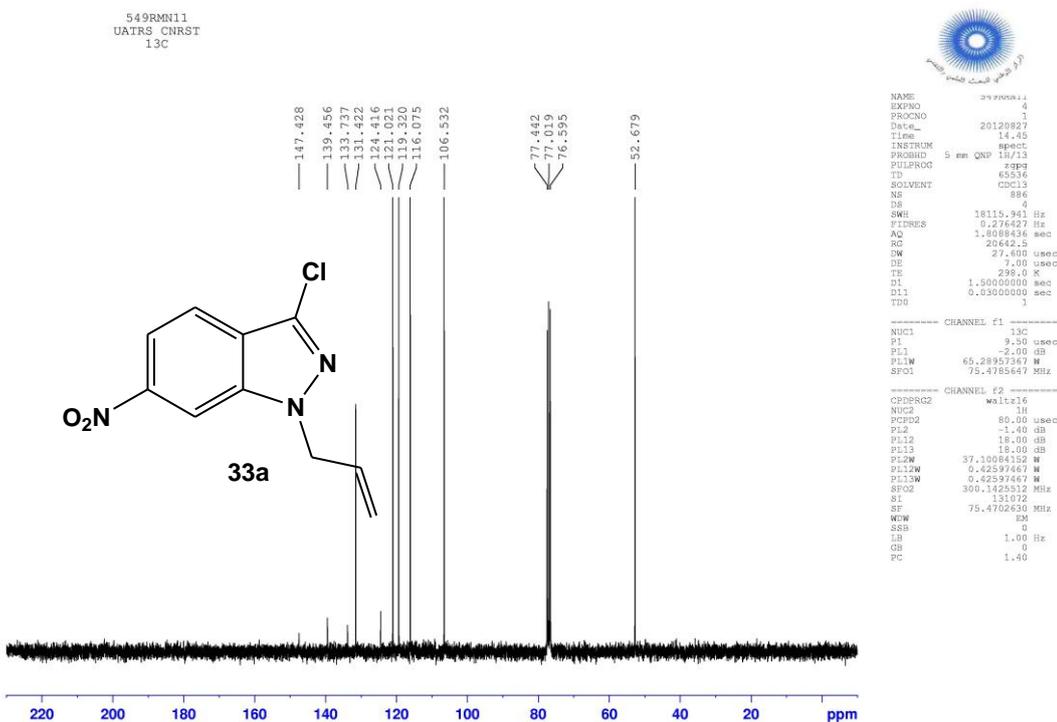


Figure 3. Spectre RMN13C (75MHz, CDCl₃) du composé 33a

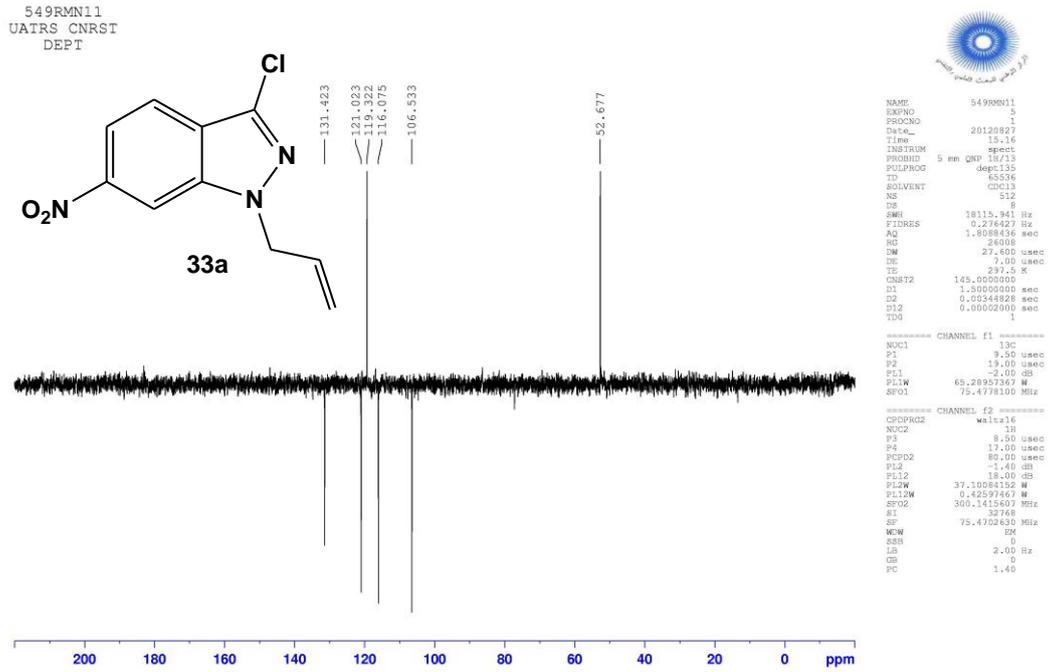


Figure 3. Spectre RMN13C (DEPT) du composé 33a

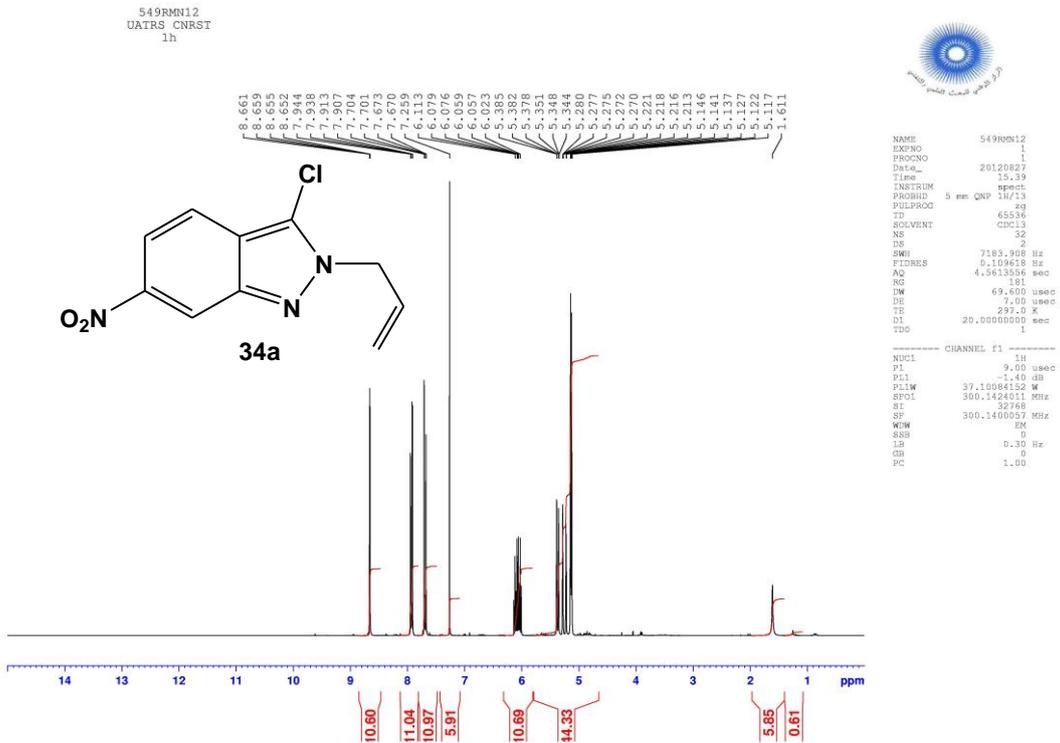


Figure 4. Spectre RMN1H (300MHz, CDCl3) du composé 34a

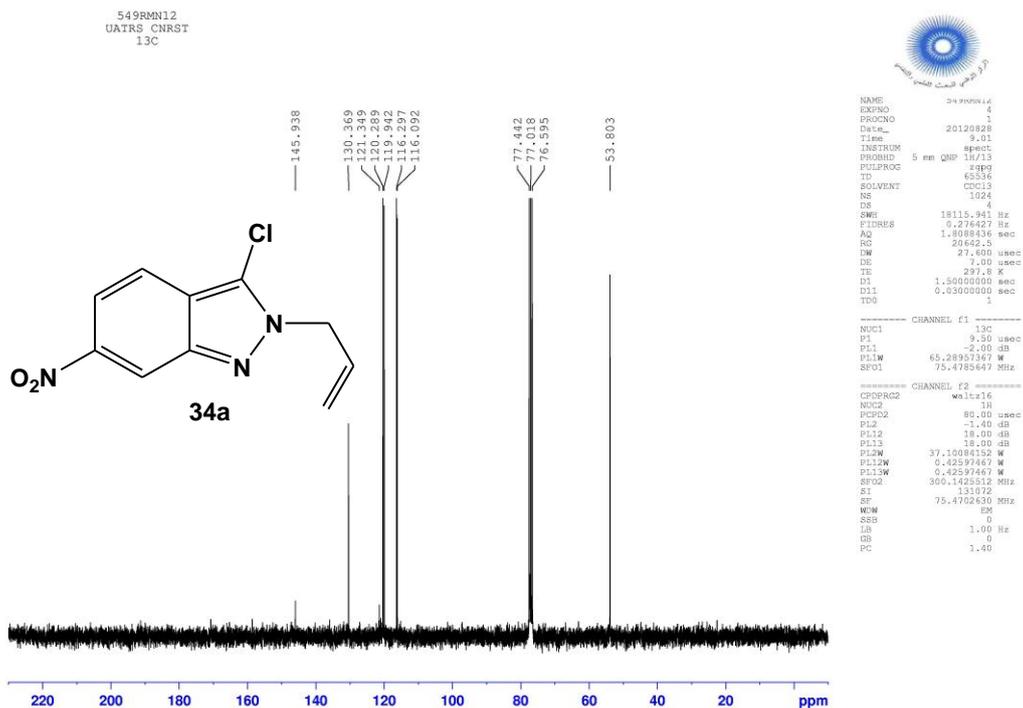


Figure 4. Spectre RMN13C (75MHz, CDCl₃) du composé 34a



Figure 4. Spectre RMN13C (DEPT) du composé 34a

III. Conclusion

La réaction d'alkylation du 4-nitroindazole et du 6-nitroindazole est sensible aux conditions opératoires utilisées. A basse température, on observe une sélectivité modérée en faveur du 4-nitroindazole alkylé en position 1. Cette sélectivité est meilleure lorsqu'on travaille dans le THF en présence de tertiobutanolate de potassium comme base.

On observe une sélectivité meilleure en faveur de l'isomère N-1 de 4-nitroindazole lorsque la température est élevée (reflux). Dans le cas de 6-nitroindazole, les rendements des deux produits N-alkylés sont proportionnels avec une légère sélectivité en faveur de l'isomère alkylé en position 2. En présence de l'atome de chlore en position 3 de 6-nitroindazole, le rendement est meilleur pour les dérivés N-1 alkylés. Ces résultats montrent que la position du groupement nitro joue aussi un rôle important au niveau de l'orientation de l'alkylation des nitro-indazoles.

On remarque que la nature du solvant, le choix de la base, la nature de l'agent alkylant ainsi que la température et la position du groupe nitro de l'indazole sont des facteurs déterminants pour orienter la réaction d'alkylation vers la synthèse de l'indazole alkylé en position 1 ou en position 2.

Les dérivés issus de l'alkylation du 4- et du 6-nitroindazole seront utilisés comme précurseurs de départ dans le chapitre de la réduction des nitroindazoles.

Partie expérimentale

Caractéristiques physico-chimiques et spectrales des composés synthétisés

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 ont été affectés par la mise en valeur sans distorsion par transfert des expériences de polarisation (DEPT).

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

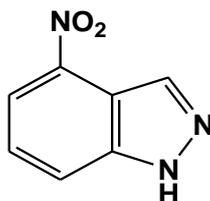
La chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée sur des feuilles d'aluminium recouvertes de silice E.Merck 60 F254 (épaisseur 0,063-0.2 mm). La révélation des taches se fait sous une lampe UV. Les séparations chromatographiques flash sont effectuées sur gel de silice.

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

Mode opératoire général de la synthèse des 4-nitro et 6-nitroindazoles

On dissout 10g de 3(5)-nitro-2-méthylaniline dans 500 ml d'acide acétique. On ajoute 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 dissout. Après refroidissement la solution est filtrée, le précipité formé est recristallisé dans l'éthanol.

4-Nitro-1H-indazole 25



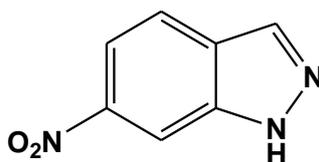
Rdt : 85%

PF : 198-200°C

RMN¹H (DMSO-*d*₆): δ 7,54 (t, 1H, *J* = 7.9 Hz); 7,87 (d, 1H, *J* = 7,5 Hz); 7,94 (d, 1H, *J* = 7,9 Hz); 8,46 (s, 1H), 13,98 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆): δ 110,6 (C); 118,1 (CH); 119,3(CH); 125,9 (CH); 127,1 (CH); 141,4 (C); 143,4 (C).

6-Nitro-1H-indazole 8



Rdt : 88%

PF : 180-182°C

RMN ¹H (CDCl₃): 7.91 (dd, 1H; H-5, *J*_{ortho} = 8.8Hz, *J*_{met} = 1.8Hz), 8.00 (d, 1H, H-4, *J*_{ortho}= 8.8Hz), 8.32 (s, 1H, H-3), 8.44 (d, 1H, H-7, *J*_{met}= 1.8Hz) , 14.12 (s, 1H, NH).

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

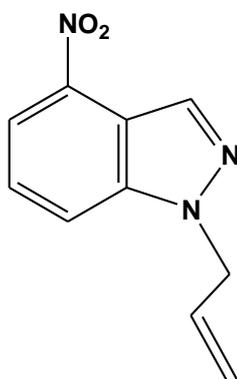
Mode opératoire général de la synthèse des N-alkyl-4-nitroindazoles 26a-c et 27a-c

Méthode A : 6,13 mmole de 4-nitroindazole sont dissouts dans 30 ml de THF et refroidis à 0 °C, 9,2 mmole de tertiobutylate de potassium sont ajoutées. Après 15 min d'agitation à 0 °C, 6,13 mmole de RX est ajouté goutte à goutte. Après disparition de la matière première, comme indiqué par CCM, le mélange réactionnel est évaporé sous pression réduite. Le précipité brut obtenu est dissous dans 50 ml d'acétate d'éthyle, lavé avec de l'eau puis séché sur sulfate de magnésium. Le solvant est évaporé au rotavapeur. Les deux isomères obtenus sont séparés par chromatographie sur colonne (Acétate d'éthyle / Hexane 3/7).

Méthode B : 6,13 mmole de 4-nitroindazole sont dissouts dans 15 ml d'acétone et refroidis à 0 °C, 9,2 mmole d'hydroxyde de potassium sont ajoutés. Après 15 min d'agitation à 0 °C, 6,13 mmole de RX sont ajoutés goutte à goutte. Après disparition de la matière première, comme indiqué par CCM, le mélange réactionnel est évaporé sous pression réduite. Le précipité brut obtenu est dissous dans 50 ml d'acétate d'éthyle, lavé avec de l'eau puis séchée par le sulfate de magnésium. Le solvant est

éaporé au rotavapeur. Les deux isomères obtenus sont séparés par chromatographie sur colonne (Acétate d'éthyle / Hexane 3/7).

1-Allyl-4-nitro-1H-indazole 26a



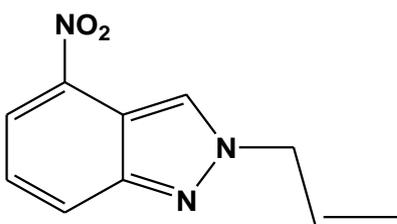
PF: 63-65°C

RMN ¹H (CDCl₃): δ 5,07-5,10 (m, 2H, NCH₂), 5,15-5,26 (m, 2H, =CH₂), 5,95-6,08 (m, 1H, =CH), 7,44 (t, 1H, J=7,8 Hz), 7,75 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 8,04 (d, 1H, J = 7,8 Hz), 8,51 (s, 1H).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 52,2 (NCH₂), 116,5 (CH-5), 117,1 (C-3a), 118,2 (CH-7), 118,5 (=CH₂), 125,4 (CH-6), 132,0 (=CH), 132,8 (CH-3), 140,6; 141,0 (C-4, C-7a).

Anal. Calculé pour C₁₀H₉N₃O₂: C, 59,11; H, 4,46; N, 20,68. Trouvé: C, 59,03; H, 4,52; N, 20,56.

2-Allyl-4-nitro-2H-indazole 27a



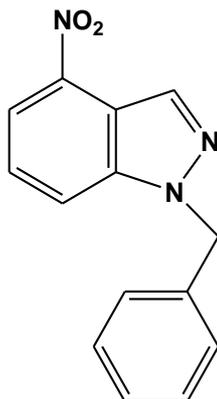
PF: 68-70°C

RMN ¹H (CDCl₃): δ 5,10-5,13 (m, 2H, NCH₂), 5,35-5,42 (m, 2H, =CH₂), 6,09-6,22 (m, 1H, =CH), 7,37 (t, 1H, J=7.8 Hz), 8,07 (d, 1H, J = 8.4 Hz), 8,15 (d, 1H, J = 7.8 Hz), 8,56 (s, 1H).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 56,7 (NCH₂), 115,0 (C-3a), 120,4 (=CH₂), 120,6 (CH-5), 124,2 (CH-3), 124,4 (CH-7), 126,0 (CH-6), 131,4 (=CH), 140,6 (C-4), 149,9 (C-7a).

Anal. Calculé pour C₁₀H₉N₃O₂: C, 59,11; H, 4,46; N, 20,68. Trouvé: C, 58,96 ; H, 4,50; N, 20,59.

1-Benzyl-4-nitro-1H-indazole 26b



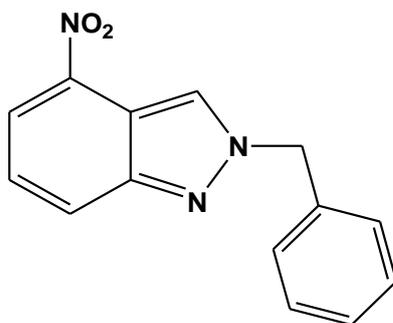
PF: 75-77°C

RMN ¹H (CDCl₃): δ 5,69 (s, 2H, NCH₂), 7,20-7,24 (m, 2H, ArH), 7,28-7,36 (m, 3H, ArH), 7,43 (t, 1H, *J* = 7,8 Hz), 7,72 (d, 1H, *J* = 7,8 Hz), 8,11 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz), 8,66 (s, 1H).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 53,6 (NCH₂), 116,5 (CH-5), 117,4 (C-3a), 118,3 (CH-7), 125,6 (CH-6), 127,2 (2CH), 128,2 (CH), 129,0 (2CH), 133,0 (CH-3), 135,9 (C), 140,7; 141,1 (C-4, C-7a).

Anal. Calculé pour C₁₄H₁₁N₃O₂: C, 66,40; H, 4,38; N, 16,59. Trouvé: C, 66,56; H, 4,27; N, 16,52.

2-Benzyl-4-nitro-2H-indazole 27b



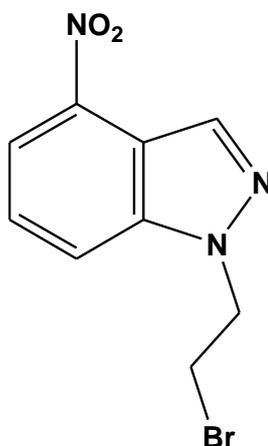
PF: 106-108°C

RMN ¹H (CDCl₃): δ 5,69 (s, 2H, NCH₂), 7,35-5,41 (m, 6H, ArH), 8,10 (d, 1H, *J* = 8,5 Hz), 8,17 (d, 1H, *J* = 7,8 Hz), 8,57 (s, 1H).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 58,2 (NCH₂), 115,2 (C-3a), 120,7 (CH-5), 124,3 (CH-7), 124,6 (CH-3), 126,2 (CH-6), 128,2 (2CH), 128,8 (CH), 129,2 (2CH), 134,9 (C), 140,7 (C-4), 150,0 (C-7a).

Anal. Calculé pour $C_{14}H_{11}N_3O_2$: C, 66,40; H, 4,38; N, 16,59. Trouvé: C, 66,62; H, 4,30; N, 16,48.

1-(2-Bromoéthyl)-4-nitro-1H-indazole 26c



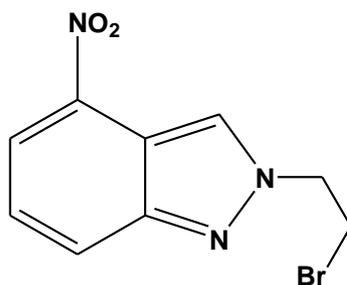
PF: 78-80°C

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 3,85 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz, $BrCH_2$), 3,93 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz, NCH_2), 7,51 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz), 7,85 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 8,10 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz), 8,62 (s, 1H).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 29,9 ($BrCH_2$), 50,6 (NCH_2), 116,3 (CH-5), 116,9 (C-3a), 118,5 (CH-7), 125,8 (CH-6), 133,7 (CH-3), 140,6, 141,7 (C-4, C-7a).

Anal. Calculé pour $C_9H_8BrN_3O_2$: C, 40,02; H, 2,99; N, 15,56. Trouvé: C, 40,24; H, 3,14; N, 15,45.

2-(2-Bromoéthyl)-4-nitro-2H-indazole 27c



PF: 108-110°C

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 3,93 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz, $BrCH_2$), 4,88 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz, NCH_2), 7,38 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz), 8,04 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 8,13 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz), 8,61 (s, 1H).

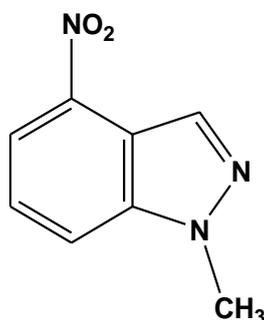
RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 29,7 ($BrCH_2$), 55,5 (NCH_2), 114,6 (C-3a), 120,3 (CH-5), 125,5 (CH-3), 125,8 (CH-7), 126,1 (CH-6), 141,7 (C-4), 150,2 (C-7a).

Anal. Calculé pour $C_9H_8BrN_3O_2$: C, 40,02; H, 2,99; N, 15,56. Trouvé: C, 40,26; H, 3,22; N, 15,48.

Mode opératoire général de la synthèse des N-alkyl-4-nitroindazoles 28a,b et 29a,b

6,13 mmole de 4-nitroindazole sont dissouts dans 15 ml de l'acétone, 9,2 mmole de carbonate de potassium sont ajoutés. Après 15 min d'agitation, 6,13 mmole de RX sont ajoutés goutte à goutte. Le mélange est agité à reflux pendant 4h. Après évaporation du solvant sous pression réduite, les deux isomères obtenus sont séparés par chromatographie sur colonne (Acétate d'éthyle / Hexane 2/8).

1-Méthyl-4-nitro-1H-indazole 28a

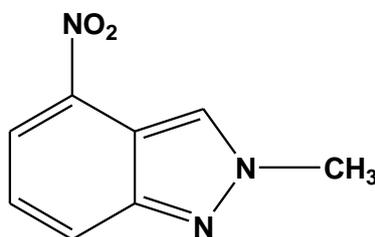


PF: 123-125°C

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 4,17 (s, 3H, NCH_3), 7,50 (t, 1H, $J = 8.0$ Hz), 7,76 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz), 8,13 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 8,58 (s, 1H).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 36,1 (NCH_3), 116,1 (CH-5), 117,0 (C-3a), 118,2 (CH-7), 125,4 (CH-6), 132,6 (CH-3), 140,5, 141,5 (C-4, C-7a).

2-Méthyl-4-nitro-2H-indazole 29a

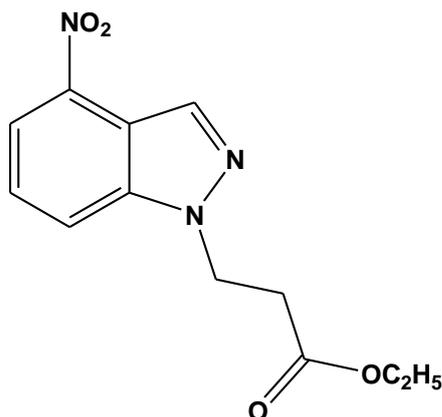


PF: 75-77°C

RMN 1H ($CDCl_3$): 4,31 (s, 3H, NCH_3), 7,40 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 8,06 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 8,16 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 8,54 (s, 1H).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): 40,9 (NCH_3), 120,6 (CH-5), 115,1 (C-3a), 124,4 (CH-7), 125,3, 125,8 (CH-6, CH-3), 140,5 (C-4), 149,9 (C-7a).

Ethyl 3-(4-nitro-1H-indazol-1-yl)propanoate 28b

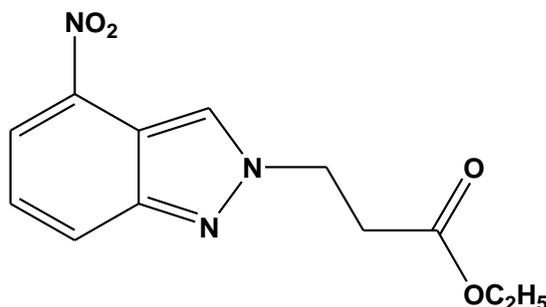


PF: 38-40°C.

RMN¹H (DMSO-d₆): δ 1,02 (t, 3H, CH₃, *J* = 7,2 Hz), 2,96 (t, 2H, CH₂, *J* = 6,4 Hz), 3,93 (q, 2H, CH₂O, *J* = 7,2 Hz), 4,72 (t, 2H, NCH₂, *J* = 6,4 Hz), 7,43 (t, 1H, *J* = 8,4 Hz), 8,09 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz), 8,13 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz), 8,45 (s, 1H).

RMN¹³C (DMSO-d₆): δ 14,3 (CH₃), 34,2 (CH₂), 44,8 (NCH₂), 60,6 (CH₂O), 118,9 (CH), 116,2 (C), 120,2 (CH), 125,7 (CH), 132,4 (CH), 140,3 (C), 141,5 (C), 171,1 (CO).

Ethyl 3-(4-nitro-2H-indazol-2-yl)propanoate 29b



PF: 46-48°C.

RMN¹H (DMSO-d₆): δ 1,09 (t, 3H, CH₃, *J* = 7,2 Hz), 3,07 (t, 2H, CH₂, *J* = 6,9 Hz), 4,01 (q, 2H, CH₂O, *J* = 7,2 Hz), 4,77 (t, 2H, NCH₂, *J* = 6,9 Hz), 7,60 (t, 1H, *J* = 8,4 Hz), 8,11 (d, 1H, *J* = 7,8 Hz), 8,25 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz), 8,84 (s, 1H).

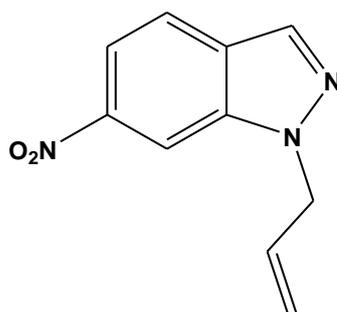
RMN¹³C (DMSO-d₆): δ 14,4 (CH₃), 34,5 (CH₂), 49,4 (NCH₂), 60,7 (CH₂O), 118,7 (CH), 114,1 (C), 124,9 (CH), 126,1 (CH), 126,6 (CH), 140,4 (C), 149,5 (C), 170,8 (CO).

Mode opératoire général de la synthèse des N-alkyl-6-nitroindazoles 30a-c et 31a-c

6,13 mmole de 6-nitroindazole sont dissouts dans 30 ml de THF, 9,2 mmole de carbonate de potassium sont ajoutés. Après 15 min d'agitation à température ambiante, 6,13 mmole de RX sont ajoutés goutte à goutte. Le mélange est agité à

reflux pendant 16h. 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 chromatographie sur colonne (Acétate d'éthyle / Hexane 3/7).

1-Allyl-6-nitro-1H-indazole 30a



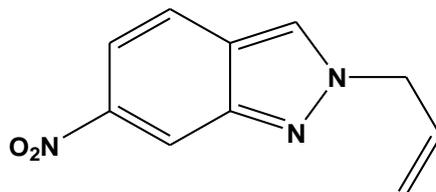
PF: 56-58 °C.

RMN¹H (CDCl₃): δ 5,10-5,13 (m, 2H, NCH₂), 5,16-5,30 (m, 2H, =CH₂), 6,01-6,10 (m, 1H, =CH), 7,84 (d, 1H, *J* = 9,1 Hz), 8,01 (dd, 1H, *J* = 9,1 Hz, 1,8 Hz), 8,13 (s, 1H), 8,37 (d, 1H, *J* = 1,6 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 52,3 (NCH₂), 106,1 (CH), 115,5 (CH), 118,7 (=CH₂), 121,9 (CH), 127,3 (C-3a), 131,9; 133,6 (CH-3, =CH), 138,2 (C), 146,5 (C).

Anal. Calculé pour C₁₀H₉N₃O₂: C, 59.11; H, 4.46; N, 20.68. Trouvé: C, 59.23; H, 4.58; N, 20.61.

2-Allyl-6-nitro-2H-indazole 31a



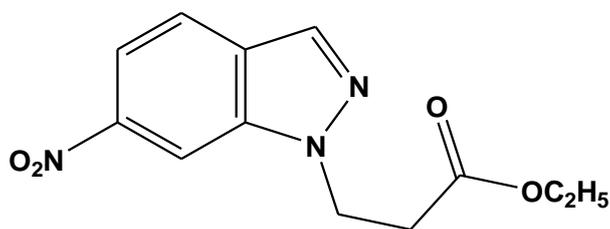
PF: 48-50 °C.

RMN¹H (CDCl₃): δ 5,10-5,12 (m, 2H, NCH₂), 5,34-5,43 (m, 2H, =CH₂), 6,13-6,18 (m, 1H, =CH), 7,75 (d, 1H, *J* = 9,3 Hz), 7,88 (dd, 1H, *J* = 9,3 Hz, 2,1 Hz), 8,08 (s, 1H), 8,68 (d, 1H, *J* = 1,8 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 56,8 (NCH₂), 115,5 (CH), 115,9 (CH), 120,7 (=CH₂), 121,5 (CH), 123,7 (CH-3), 124,4 (C), 131,2 (=CH), 146,6 (C), 146,8 (C).

Anal. Calculé pour C₁₀H₉N₃O₂: C, 59,11; H, 4,46; N, 20,68. Trouvé: C, 59,18; H, 4,50; N, 20,57.

Ethyl 3-(6-nitro-1H-indazol-1-yl)propanoate 30b



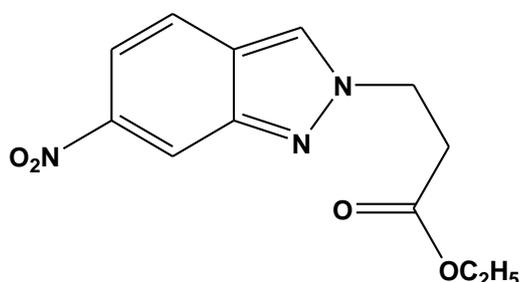
PF: 42-44°C.

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).

Anal. Calculé pour C₁₂H₁₃N₃O₄: C, 54,75; H, 4,98; N, 15,96. Trouvé: C, 54,64; H, 5,08; N, 15,84.

Ethyl 3-(6-nitro-2H-indazol-2-yl)propanoate 31b



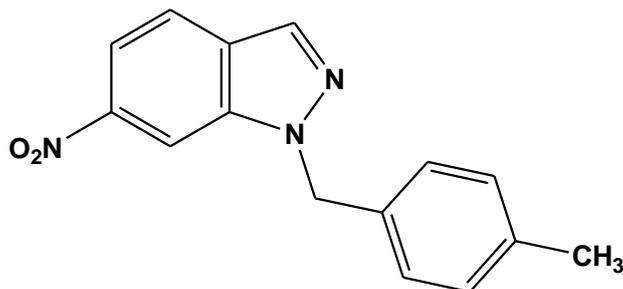
PF: 54-56 °C.

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).

Anal. Calculé pour C₁₂H₁₃N₃O₄: C, 54,75; H, 4,98; N, 15,96. Trouvé: C, 54,61; H, 5,12; N, 15,88.

1-(4-Méthyl-benzyl)-6-nitro-1H-indazole 30c



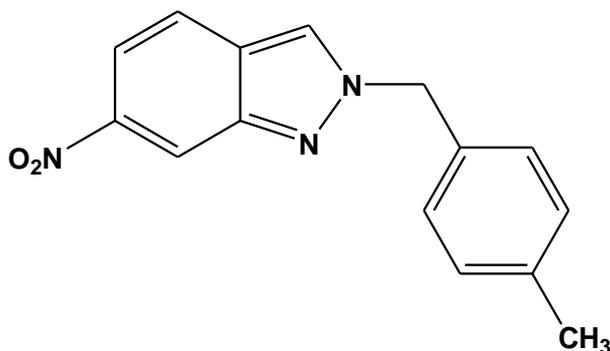
PF: 96-98 °C

RMN¹H (CDCl₃): δ 2,31 (s, 3H, CH₃), 5,63 (s, 2H, NCH₂), 7,14 (m, 4H, H-Ar), 7,82 (d, 1H, *J* = 8,7 Hz), 7,99 (dd, 1H, *J* = 8,7 Hz, 1,5 Hz), 8,15 (s, 1H), 8,31 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 21,1 (CH₃), 53,5 (NCH₂), 106,1 (CH), 115,5 (CH), 121,9 (CH), 127,1 (C), 127,3 (2CH), 129,7 (2CH), 132,7 (C), 133,6 (CH-3), 138,1 (C), 146,5 (C).

Anal. Calculé pour C₁₅H₁₃N₃O₂: C, 67,41; H, 4,90; N, 15,72. Trouvé: C, 67,58; H, 4,78; N, 15,85.

2-(4-Méthyl-benzyl)-6-nitro-2H-indazole 31c



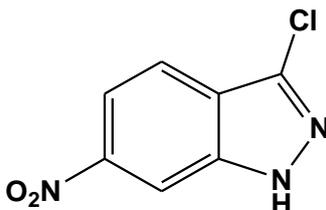
PF: 84-86 °C

RMN¹H(CDCl₃): δ 2,34 (s, 3H, CH₃), 5,61 (s, 2H, NCH₂), 7,21 (m, 4H, H-Ar), 7,70 (d, 1H, *J* = 9,0 Hz), 7,87 (dd, 1H, *J* = 8,7 Hz, 1,8 Hz), 7,97 (s, 1H), 8,71 (d, 1H, *J* = 1,8 Hz).

RMN¹³C(CDCl₃): δ 21,2 (CH₃), 58,1 (NCH₂), 115,6 (CH), 115,8 (CH), 121,5 (CH), 123,6 (CH-3), 124,5 (C), 128,4 (2CH), 129,8 (2CH), 131,6 (C), 138,9 (C), 146,6 (C), 146,8 (C). Anal. Calculé pour C₁₅H₁₃N₃O₂: C, 67,41; H, 4,90; N, 15,72. Trouvé: C, 67,49; H, 4,84; N, 15,81.

Synthèse de 3-chloro-6-nitroindazole 32

On dissout 1g de 6-nitroindazole (6,13 mmol) dans 25 ml d'acétonitrile et on ajoute 1,2 g (6,74 mmol) de N-chlorosuccinimide. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 6h. Après refroidissement, le solvant est évaporé et le résidu est dissout dans 50 ml de l'acétate d'éthyle et lavé plusieurs fois avec l'eau. Le solvant est évaporé et le produit formé est recristallisé dans le méthanol.

3-Chloro-6-nitroindazole 32

Rdt : 74%

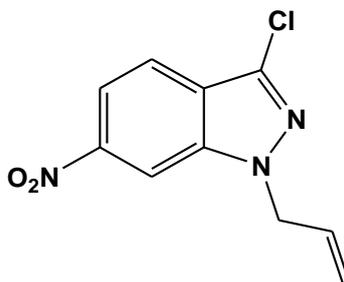
PF : 206-208°C

RMN¹H (CDCl₃): δ 7,85 (d, 1H, *J* = 9,0 Hz); 8,10 (dd, 1H, *J* = 9,0 Hz, 1,6 Hz); 8,45 (d, 1H, *J* = 1,6 Hz); 10,55 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 107,0 (CH); 110,6 (C); 116,6 (CH); 120,8 (CH); 124,3 (C); 139,4 (C); 143,6 (C).

Synthèse des N-alkyl-3-chloro-6-nitroindazoles 33a,b et 34a

6,13 mmole de 3-chloro-6-nitroindazole sont dissouts dans 30 ml de l'acétone, 9,2 mmole de carbonate de potassium sont ajoutés. Après 15 min d'agitation à température ambiante, 6,13 mmole de RX sont ajoutés goutte à goutte. Le mélange est agité à température ambiante pendant 6h. 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 chromatographie sur colonne (Acétate d'éthyle / Hexane 3/7).

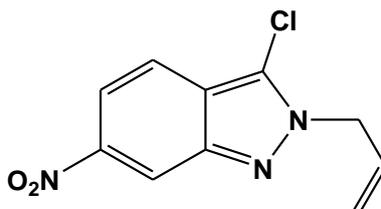
1-Allyl-3-chloro-6-nitro-1H-indazole 33a

PF: 80-82°C (lit¹¹. 78°C)

RMN¹H (CDCl₃): δ 5,04-5,07 (m, 2H, NCH₂), 5,22-5,35 (m, 2H, =CH₂), 5,97-6,10 (m, 1H, =CH), 7,80 (d, 1H, *J* = 9,0 Hz), 8,05 (dd, 1H, *J* = 9,0 Hz, 1,8 Hz), 8,35 (d, 1H, *J* = 1,8 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 52,7 (NCH₂), 106,5 (CH), 116,1 (CH), 119,3 (=CH₂), 121,0 (CH), 124,4 (C), 131,4 (CH), 133,7 (C), 139,4 (C), 147,4 (C).

2-Allyl-3-chloro-6-nitro-2H-indazole 34a

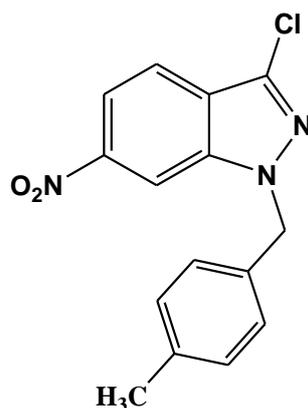


PF: 72-74°C.

RMN¹H (CDCl₃): δ 5,11-5,14 (m, 2H, NCH₂), 5,21-5,38 (m, 2H, =CH₂), 6,02-6,11 (m, 1H, =CH), 7,68 (d, 1H, *J* = 9,3 Hz), 7,92 (dd, 1H, *J* = 9,3 Hz, 1,8 Hz), 8,65 (d, 1H, *J* = 1,8 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 53,8 (NCH₂), 116,1 (CH), 116,3 (CH), 119,9 (CH), 120,3 (=CH₂), 121,3 (C), 123,4 (C), 130,4 (=CH), 145,9 (C).

1-(4-Méthyl-benzyl)-3-chloro-6-nitro-1H-indazole 33b



PF: 104-106°C

RMN¹H (CDCl₃): δ 2,32 (s, 3H, CH₃), 5,56 (s, 2H, NCH₂), 7,13-7,19 (m, 4H, H-Ar), 7,78 (d, 1H, *J* = 9,0 Hz), 8,03 (dd, 1H, *J* = 9,0 Hz, 2,0 Hz), 8,27 (d, 1H, *J* = 1,8 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 21,1 (CH₃), 53,9 (NCH₂), 106,6 (CH), 116,0 (CH), 121,0 (CH), 124,6 (C), 127,5 (2CH), 129,7 (2CH), 132,1 (C), 133,7 (C), 138,5 (C), 139,3 (C), 147,4 (C).

Références bibliographiques

1. Catalán, J.; Valle, J. C.; Claramunt, R. M.; Boyer, G.; Laynez, J.; Gómez, J.; Jiménez, P.; Tomás, F.; Elguero, J. *J. Phys. Chem.* **1994**, *41*, 10606-10612.
2. (a) Escande, A.; Lapasset, J.; Faure, R.; Vicenta, E.-J.; Elguero, J. *Tetrahedron* **1974**, *30*, 2903-2909; (b) Faure, R.; Vicent, E. J.; Elguero, J. *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**, *3*, 121-126.
3. (a) Black, P. J.; Heffernan, M. L. *Aust. J. Chem.* **1963**, *14*, 1051-1055; (b) Jaffari, G. A.; Nunn, A. J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1973**, 2371-2374; (c) Palmer, M. H.; Findlay, R. H.; Kennedy, S. M. F.; McIntyre, P. S. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1975**, 1695-1700; (d) Brown, F. J.; Yee, Y. K.; Cronk, L. A.; Hebbel, K. C.; Krell, R. D.; Snyder, D. W. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1771-1781.
4. Shumeiko, A.E., Afon'kin, A.A., Pazumova, N.G., Kostrikin, M.L. *Russ. J. Org. Chem.*, **2006**, *42*, 294-295
5. Teixeira, F.C., Ramos, H., Antunes, I.F., M. João M. Curto, M.J.M., Duarte, M.T., Bento, I. *Molecules* **2006**, *11*, 867-889.
6. Chakrabarty, M., Kundu, T., Arima, S., Harigaya, Y. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 6711–6723
7. Marminon, C., Gentili, J., Barret, R., Nebois, P. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 735–739.
8. Hunt, K. W., Moreno, D. A., Suiter, N., Clark, C. T., Kim, G. *Org. Lett.*, **2009**, *11*(21), 5054-5057
9. Baddam, S.R., Kumar, N. U., Reddy, A. P., Bandichhor, R. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 1661–1663
10. Noelting, E. *Ber.* **1904**, *37*, 2556.
11. El Brahmi, N., Benchidmi, M., Essassi, E. M., Zouihri, H., Ng, S. W. *Act. Cryst.* **2009**, *E65*, 2320.

CHAPITRE II

Etude de la réduction des 4-nitroindazoles avec SnCl_2 dans différents alcools: Synthèse de nouveaux alkoxyindazoles

I. Rappels bibliographiques sur les réactions de réduction des dérivés nitrés

La réduction des dérivés nitrés est l'une des réactions les plus étudiées en chimie organique, s'effectue généralement au moyen d'une hydrogénation catalytique ou réduction chimique avec des agents réducteurs dont ceux contenant des métaux comme Zn, Sn ou Pd, étant parmi les plus fréquemment utilisés.

La conversion d'un dérivé nitro en amine est passée généralement par différentes étapes comme représenté dans le schéma 1.

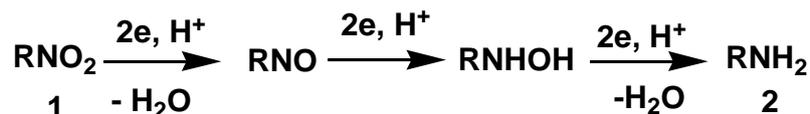


Schéma 1

Nombreuses voies de synthèse ont été développées afin d'obtenir le produit réduit à l'étape désirée, la plus importante étant la réduction totale en amines aromatiques en raison de l'importance de ces composés comme intermédiaires dans le développement des produits à visée thérapeutique.

La réduction des groupements nitro des cycles aromatiques en amines est d'une importance capitale en chimie organique. En effet, le groupe nitro a un effet désactivant sur le noyau aromatique et réduit sa capacité à effectuer des substitutions électrophiles. La raison de cette désactivation est due à l'attraction des électrons du noyau aromatique vers le groupe nitro, ce qui cause une déficience électronique en position para et ortho; la position méta est dès lors favorisée. En revanche, les amines offrent une réactivité plus avancée permettant une polyfonctionnalisation des molécules.

Dans le cas de l'hydrogénation catalytique, plusieurs méthodes ont été développées pour accéder à l'amine aromatique correspondante. La plus ancienne méthode est la réduction catalytique des groupements nitro par l'hydrogène en présence de Pd, Ni ou Pt (schéma 2).¹

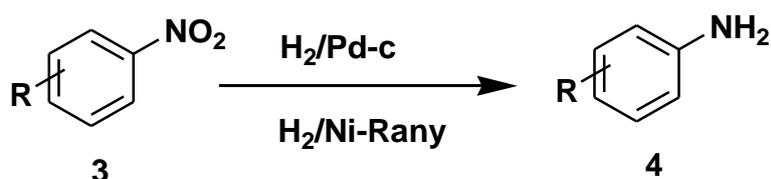


Schéma 2

Cette méthode de l'hydrogénation catalytique a été adoptée par notre groupe de recherche sur la réduction des 7-nitroindazoles en présence de palladium sur charbon comme catalyseur de la réaction (schéma 3). Les 7-aminoindazoles sont obtenus avec d'excellents rendements 95%.

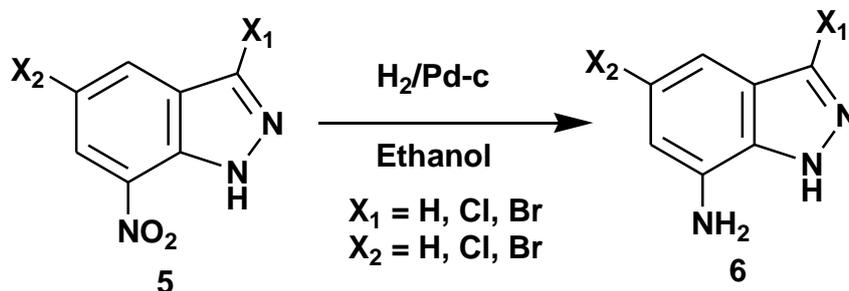


Schéma 3

Récemment, d'autres méthodes de réduction catalytique par l'hydrogène qui tiennent compte de la nature du catalyseur ainsi que la sélectivité de la réduction ont été signalé dans la littérature.

Ainsi, Evangelisti et coll.² ont étudié l'hydrogénation catalytique du parachloronitrobenzène en présence de différents catalyseurs (schéma 4). Ils ont montré que en présence de $\text{Pt}/\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ seul le produit **8** est isolé avec un excellent rendement (100%), par contre la réduction du composé **7** en présence de $\text{Pt}/\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ conduit à un mélange de deux produits: l'amine correspondante **8** avec un rendement de 96% et l'amine aromatique déhalogénée **9** avec un rendement 4%.

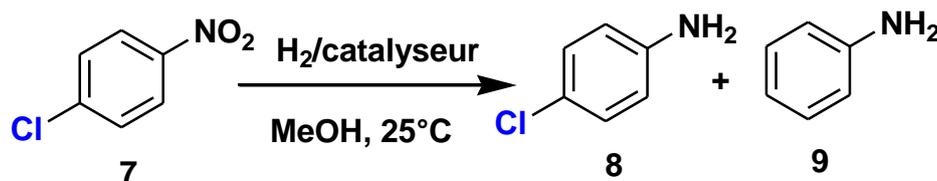


Schéma 4

Cette régio-sélectivité de la réduction catalytique par l'hydrogène a été observée aussi par l'équipe de Kasparian³ lors de la réduction du 1-Chloro-6-méthyl-5-nitroisoquinoline **10** (schéma 5). En présence de platine dopé par le soufre $\text{Pt}(\text{S})/\text{C}$, seul l'amine correspondante **11** est isolé, par contre en présence de Pd/C deux produits ont été identifiés: le 5-amino-1-chloro-6-méthyl isoquinoline et le produit réduit déhalogéné 5-amino-6-méthyl isoquinoline

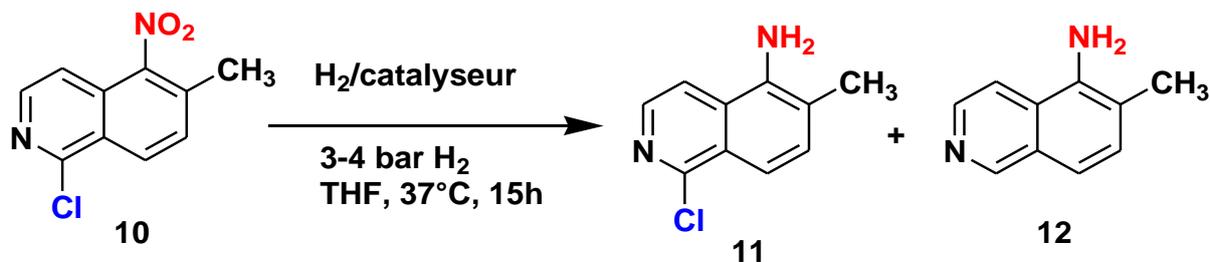


Schéma 5

Le 2-cyano-2-(2-nitrophényl) acétate **13** a été utilisé comme intermédiaire clé dans la synthèse des dérivés de l'indole (schéma 6). L'hydrogénation catalytique du composé **13** dans l'acétate d'éthyle en présence de palladium sur charbon conduit à l'amine correspondante qui réagit via une cyclisation intramoléculaire pour donner l'indole-3-carboxylate **14**.⁴

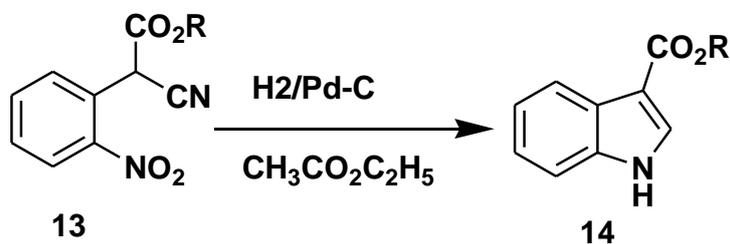


Schéma 6

Pour la réduction catalytique chimique, plusieurs stratégies de synthèse utilisant différents métaux comme catalyseurs de la réduction des groupements nitro ont été largement détaillées dans la littérature. Le chlorure stanneux SnCl_2 est un des réactifs utilisés pour la réduction chimique du groupement nitro en amine correspondante. L'usage du chlorure stanneux permet la réduction et présente l'avantage d'être un catalyseur intermédiaire pour plusieurs transformations observées dans les systèmes hétérocycliques.

Ainsi, Kurth et coll.⁵ ont synthétisé une série de 2,3-dihydro-1H-quinazoline-4-ones **16** à partir de 2-nitro-N-arylbenzamides **15** par action du chlorure d'étain en solution de 0,02M de HCl dans l'alcool sous atmosphère d'oxygène. Le chlorure d'étain en solution provoque une oxydation de l'alcool en aldéhyde qui intervient après la réduction du groupement nitro dans la réaction de synthèse des quinazolines **16** (schéma7).

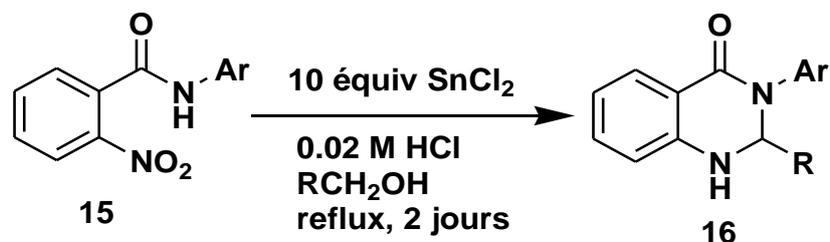


Schéma 7

Les produits cyclisés issus de transformation et/ou de réarrangement suite à la réduction du groupement nitro par SnCl_2 sont obtenus avec d'excellents rendements. Ainsi, le 4-méthyl-2-(2-nitrobenzyl)-2H-1,4-benzothiazin-3(4H)-one **17** traité avec SnCl_2 dans l'éthanol n'a pas donné lieu au dérivé d'aniline **18** attendu, mais au 6-méthyl-11a,12-dihydro-6H-quinolo[3,2-b][1,4]benzothiazine **19** avec un excellent rendement, issu de la réduction du produit de départ suivi d'une cyclisation intramoléculaire (schéma 8).⁶

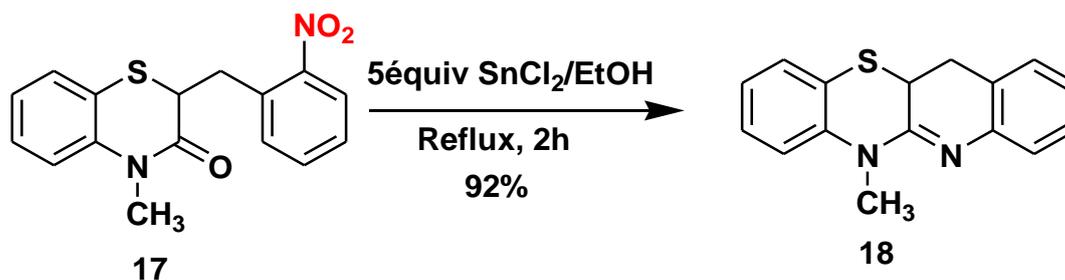


Schéma 8

Les mêmes conditions de réduction⁶ appliquées au 2-(2-nitrophényl)-thiochroman-4-one **20** conduit à la formation d'éthyl-5,11-dihydrodibenzo[*b,e*][1,4]thiazepin-11-yl-acétate **21** avec un excellent rendement issu d'un réarrangement intramoléculaire suite à la réduction du groupement nitro du produit de départ (schéma 9).

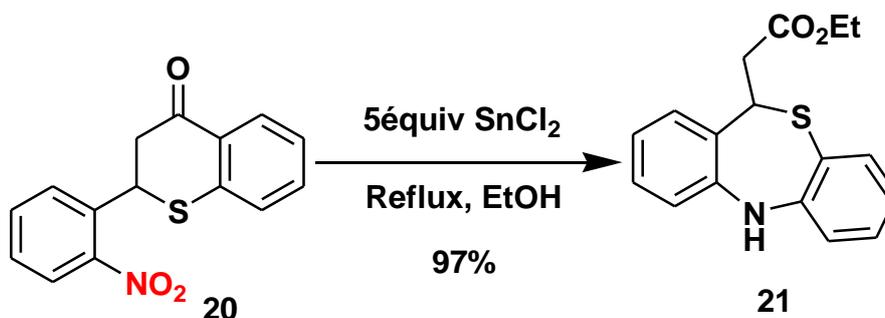


Schéma 9

Récemment, Fletcher et coll.⁷ ont synthétisé 2,1-benzisoxazoles **23** via la réduction catalytique chimique de 2-nitroacylbenzènes **22** par SnCl_2 dans un mélange équimolaire méthanol/acétate d'éthyle (schéma 10). La réduction du produit de départ est suivie par une hétérocyclisation intramoléculaire pour aboutir au composé **23**.

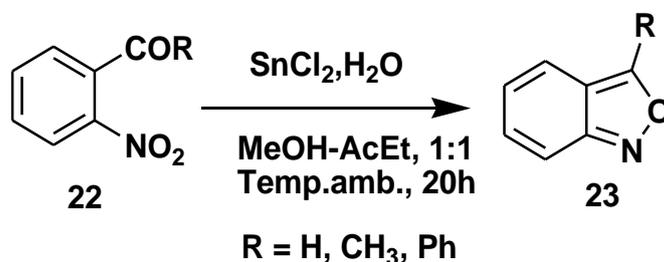


Schéma 10

De leur côté, Jiang et coll.⁸ ont étudié la réduction de 2-(3-chlorophényl)-4-nitroquinoline **24** par l'étain en présence d'un mélange de l'acide chlorhydrique et de l'éthanol à une température de 70°C. Ils ont obtenu le 2-(3-chlorophényl)-quinoline **25** non substitué en position 4 avec un bon rendement (schéma 11). Le 2-(3-chlorophényl)-4-aminoquinoline **26** issu de la réduction du composé **24** avec Sn en solution dans l'acide chlorhydrique et éthanol n'a pas été isolé.

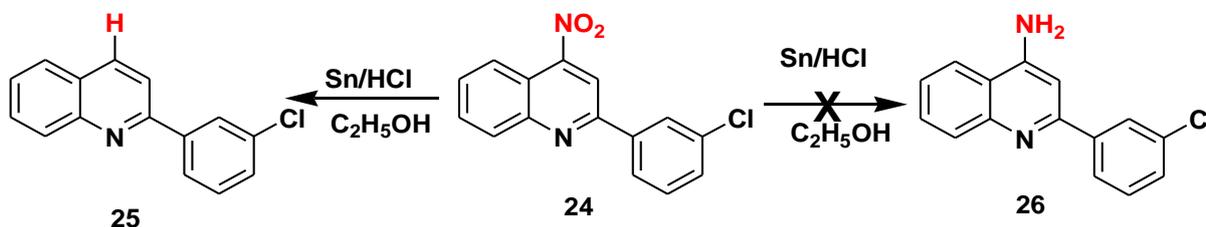


Schéma 11

Dans la série des nitroindazoles, Yager et coll.⁹ ont synthétisé les 5-aminoindazoles **28** à partir de la réduction des 5-nitroindazoles **27** par le chlorure d'étain en présence de l'éthanol (schéma 12).

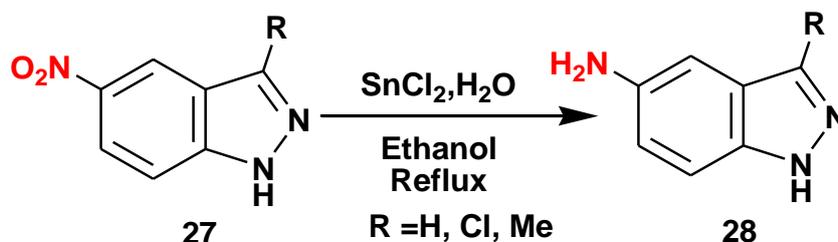


Schéma 12

Dans notre laboratoire, l'équipe de Rakib¹⁰ a examiné la réduction du 7-nitroindazole **29** avec le chlorure d'étain anhydre dans l'éthanol, suivie du couplage de l'amine correspondante par le chlorure de 4-méthoxybenzène sulfonamide. Cette réaction de réduction conduit à un mélange de deux produits: le sulfonamide attendu **30** et le sulfonamide indazolique **31** substitué par un groupement éthoxy en position 4 de l'indazole observé pour la première fois dans cette série de réduction de 7-nitroindazole par SnCl₂ dans l'éthanol (schéma 13). Les composés **30** et **31** sont obtenus avec des rendements proportionnels.

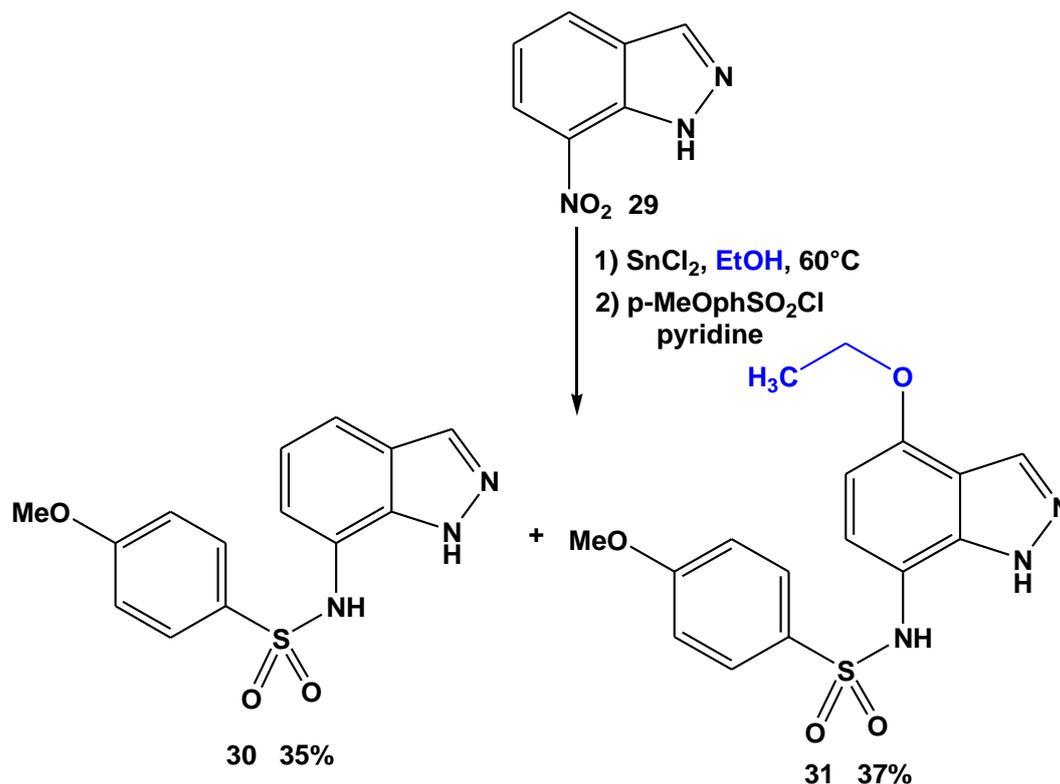


Schéma 13

Dans le but d'orienter la réaction de réduction des 7-nitroindazoles vers la synthèse des sulfonamides substitués en position 4 par un groupement alkoxy, deux facteurs ont été étudiés.

Facteur 1 : Effet de l'atome d'halogène en position 3 du 7-nitroindazole sur la synthèse des dérivés 4-éthoxy.

La réaction de réduction des 3-halogéno-7-nitroindazoles **29b-d** avec SnCl₂ dans l'éthanol, suivie de la protection de l'amine correspondante avec le chlorure de 4-méthoxybenzènesulfonyl, conduit à un mélange de *N*-(4-éthoxy-3-halogéno-7-indazolyl)-4-méthoxybenzènesulfonamides **32b-d** et *N*-(3-halogéno-7-indazolyl)-4-méthoxybenzène sulfonamides **33b-d**. Dans le cas du 7-nitroindazole **29d** (X = I), la

réduction avec SnCl_2 dans l'éthanol, suivie du couplage de l'amine correspondante, a permis d'isoler uniquement le sulfonamide substitué **32d** avec un bon rendement 76% (schéma 14). Ce résultat montre bien que l'atome d'halogène (cas $X = \text{I}$) est un facteur important pour orienter la réaction vers la synthèse des dérivés 4-éthoxy de l'indazole.

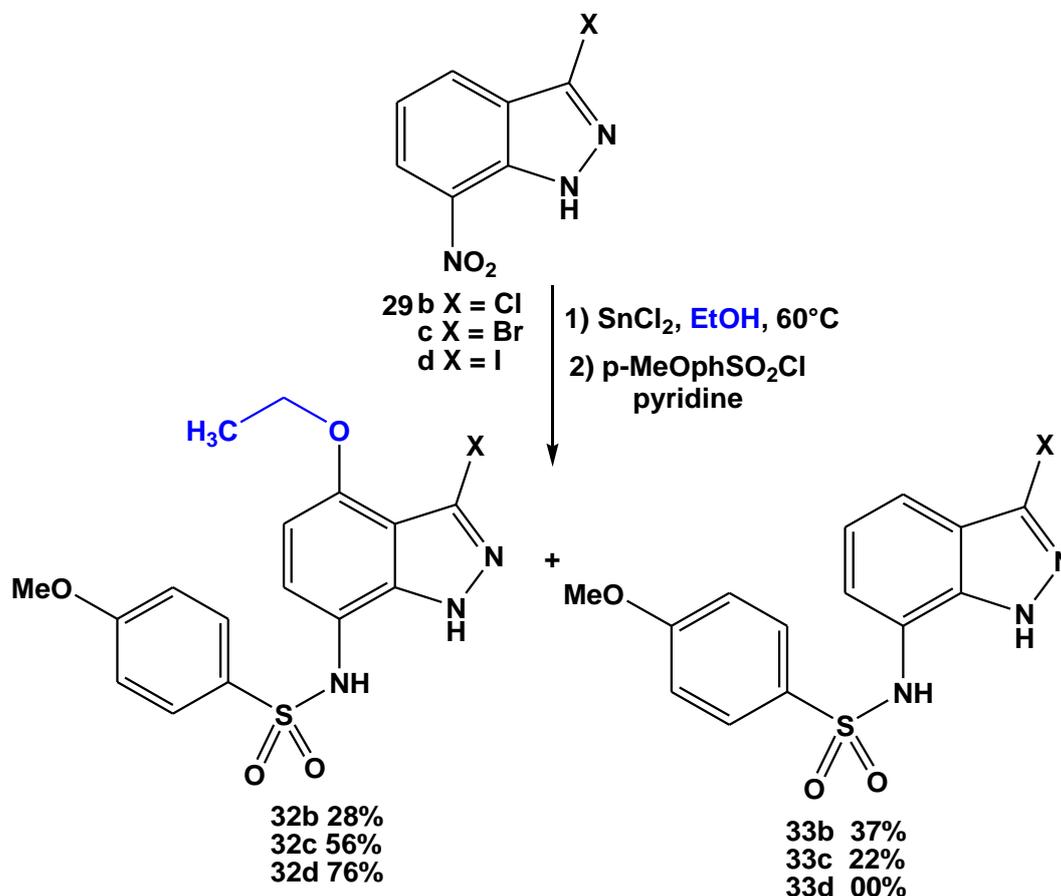


Schéma 14

Facteur 2 : Effet de l'atome d'halogène et le groupement protecteur de la fonction NH en position 1 du 7-nitroindazole sur la préparation des dérivés 4-éthoxy.

Dans le but d'orienter la réaction de réduction vers la synthèse des sulfonamides fonctionnalisés en position 4 par un groupement éthoxy, les mêmes conditions citées précédemment sont appliquées sur les 3-halogéno-7-nitroindazoles *N*-méthylés **34b-d**. La réaction de réduction des composés nitrés **34b-d**, suivie du couplage de l'amine correspondante par le chlorure de 4-méthoxybenzènesulfonyle, a permis d'isoler uniquement les sulfonamides **35b-d** fonctionnalisés par un groupe éthoxy en position 4 avec de bons rendements (schéma 15). Ces résultats montrent que la présence d'un atome d'halogène en position 3 de l'indazole et la protection de

l'azote pyrazolique jouent un rôle fondamental dans la synthèse des sulfonamides indazoliques substitués en position 4 par un groupement éthoxy.

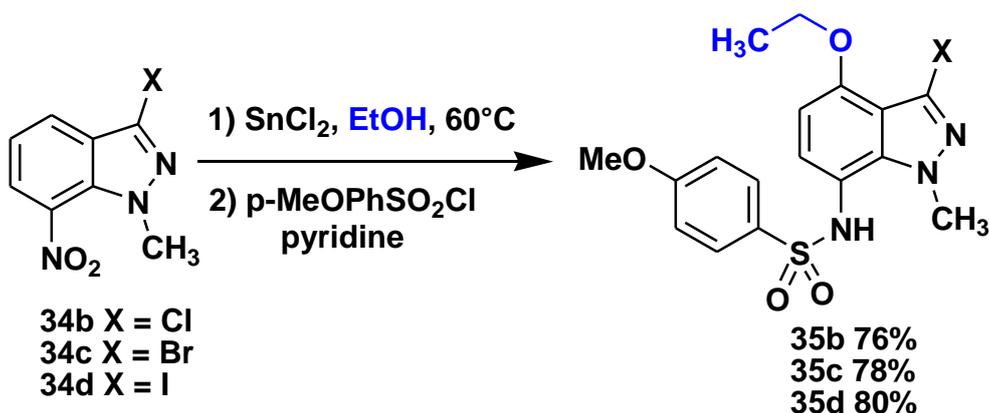


Schéma 15

Pour généraliser les résultats obtenus, les auteurs ont étudié la réduction de 3-iodo-1-méthyl-7-nitroindazole **34d** avec le chlorure d'étain SnCl_2 dans différents alcools (schéma 16). Seuls les *N*-(4-alkoxy-3-iodo-1-méthyl-7-indazolyl)-4-méthoxybenzènesulfonamides **36a-c** ont été obtenus avec de bons rendements.

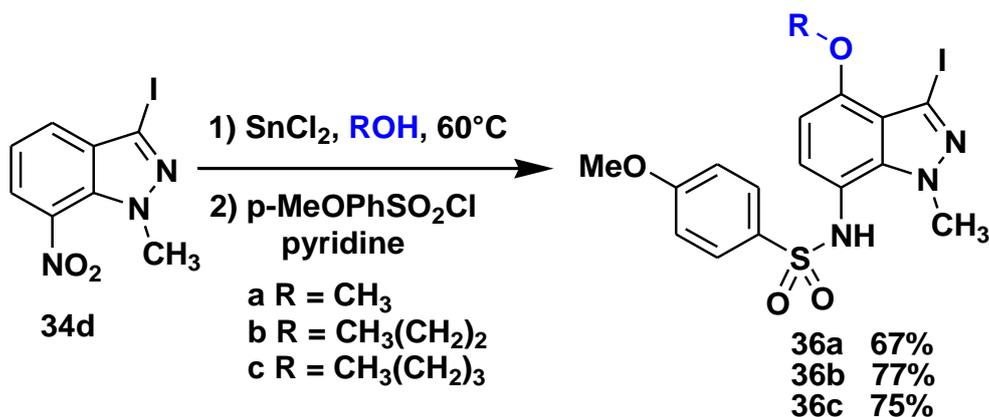


Schéma 16

Ces données de la littérature montrent que les réactions de réduction des groupements nitro constituent une stratégie de synthèse importante pour la préparation de nouveaux systèmes hétérocycliques difficiles à obtenir par d'autres voies de synthèse. Plusieurs transformations ont été observées lors de la réduction des nitrohétéroaryles par le chlorure d'étain. Suite aux travaux réalisés par notre groupe de recherche dans l'étude de la réaction de réduction des 7-nitroindazoles, nous nous sommes intéressés dans le présent travail à développer l'étude de la réduction des 4-nitroindazoles et ses dérivés *N*-alkylés par le chlorure d'étain dans différents alcools. Nous étudierons éventuellement l'effet de l'atome d'halogène et de

l'agent protecteur en position 2 ou 1 de l'indazole sur la réaction de réduction des 4-nitroindazoles. Ces réactions de réduction seront suivies immédiatement par le couplage de l'amine correspondante avec le chlorure d'arylsulfonyle. Nous avons opté pour le couplage des amines indazoliques issues de la réduction par les arylsulfonyles pour deux raisons :

- Eviter les dégradations de l'amine indazolique
- Synthétiser de nouvelles sulfonamides indazoliques qui pourraient augmenter le spectre d'activité biologique de ce type de structure.

Dans un travail antérieur publié en 2006 par notre équipe de recherche¹¹, nous avons synthétisé une nouvelle série des *N*-(7-indazolyl)-arylsulfonamides à partir du 7-nitroindazole. La majorité des sulfonamides obtenus ont été testés sur des cellules tumorales de la lignée cellulaire L1210 et des lignées cellulaires humaines DU145, HCT116 et HT29 pour évaluer leur propriété pharmacologique. Les résultats des tests ont montré des activités antitumorales très intéressantes. Le composé le plus actif dans la série des sulfonamides synthétisés est le *N*-(3-Chloro-1H-7-indazolyl)-4-méthoxy-benzènesulfonamide A. La concentration inhibitrice de cette molécule envers les cellules tumorales L1210, DU145, HCT116 et HT29 est de faible dose en micromolaire (0,38-0,91 μM) (figure 1).

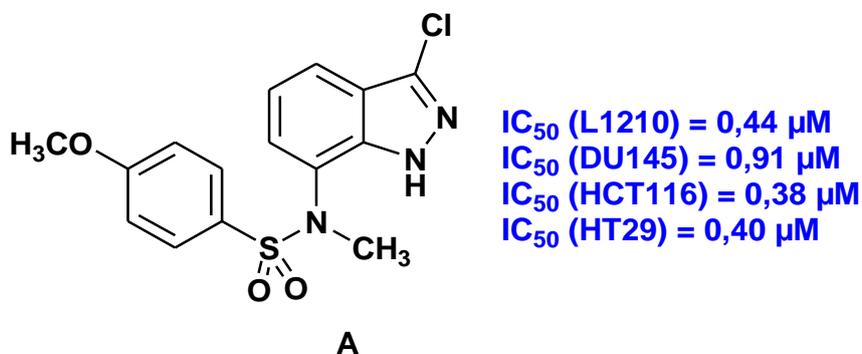
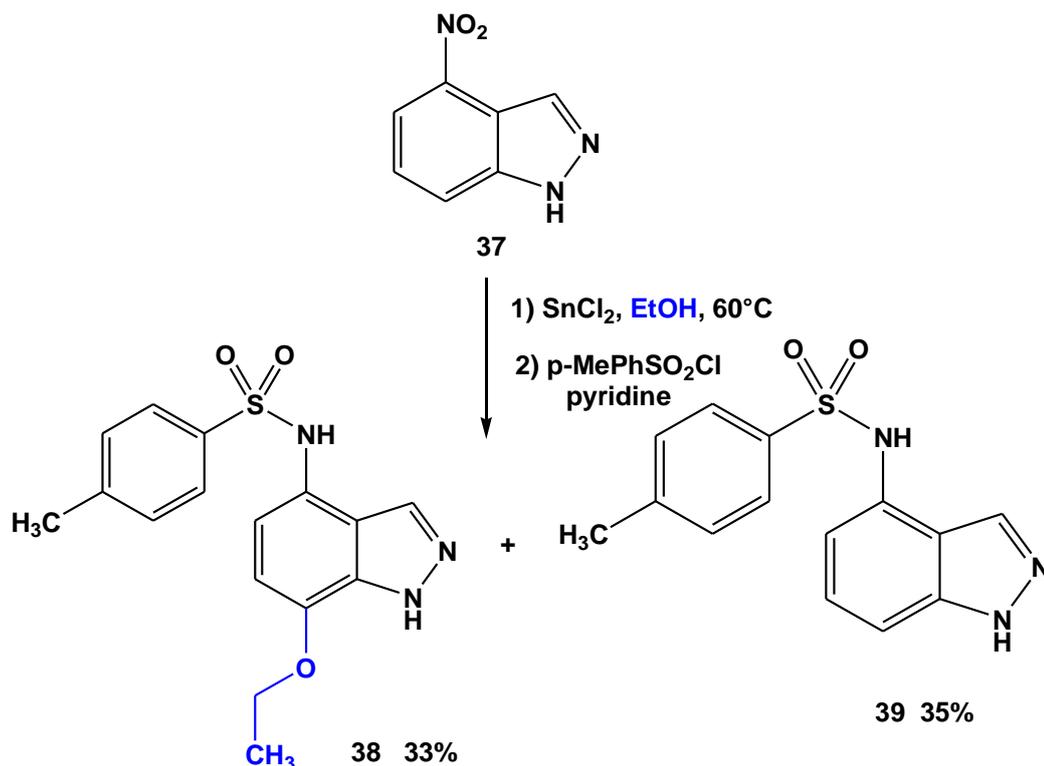


Figure 1. Activité anticancéreuse du sulfonamide indazolique A

II. Etude de la réduction des 4-nitroindazoles et ses dérivés N-alkylés par SnCl₂/ROH

Le traitement de 4-nitroindazole **37** par SnCl₂ dans l'éthanol, suivi du couplage de l'amine correspondante par le chlorure de tosyloyle, nous a permis d'isoler un mélange de deux produits: le sulfonamide indazolique substitué en position 7 par un groupe éthoxy **38** et le sulfonamide attendu non substitué **39** (schéma 17) . Les

rendements des deux produits **38** et **39** sont proportionnels. Ils sont obtenus, après séparation par chromatographie sur gel de silice.



Les structures des sulfonamides indazoliques **38** et **39** ont été identifiées grâce à la RMN¹H, RMN¹³C et la spectroscopie de masse.

La structure du composé **38** a été confirmée par une étude cristallographique qui a mis en évidence la présence d'un groupe éthoxy en position 7 de l'indazole (Figure 2).¹²

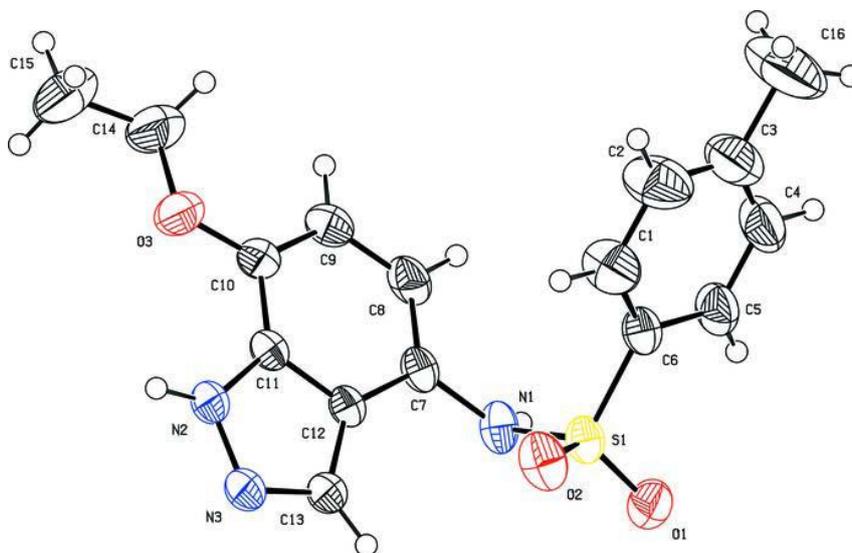


Figure 2. ORTEP de *N*-(7-Ethoxy-1H-4-indazolyl)-4-méthylbenzènesulfonamide **38**

Afin d'expliquer la fixation du groupement éthoxy en position 7 de l'indazole, nous avons proposé le mécanisme suivant (schéma 18): l'étape initiale de la réaction correspond à la formation de l'intermédiaire 4-hydroxylamineindazole, suivie de l'attaque nucléophile de l'éthanol présent dans le mélange de réaction via le doublet libre de l'oxygène en position 7 de l'indazole, ce site d'attaque nucléophile de l'indazole est activé par l'effet attracteur du groupement hydroxylamine. L'aromatization de l'homocycle benzénique de l'intermédiaire **A** conduit au 4-amino-7-éthoxyindazole. Le couplage de l'amine correspondant par le chlorure paraméthylbenzène sulfonyle conduit au sulfonamide escompté **38**.

Il est à noter que la réduction des composés aromatiques nitrés avec SnCl_2 dans des solvants protiques comme les alcools, passe généralement par les intermédiaires nitroso et hydroxylamine avant la formation de l'amine correspondante.^{7, 13-15}

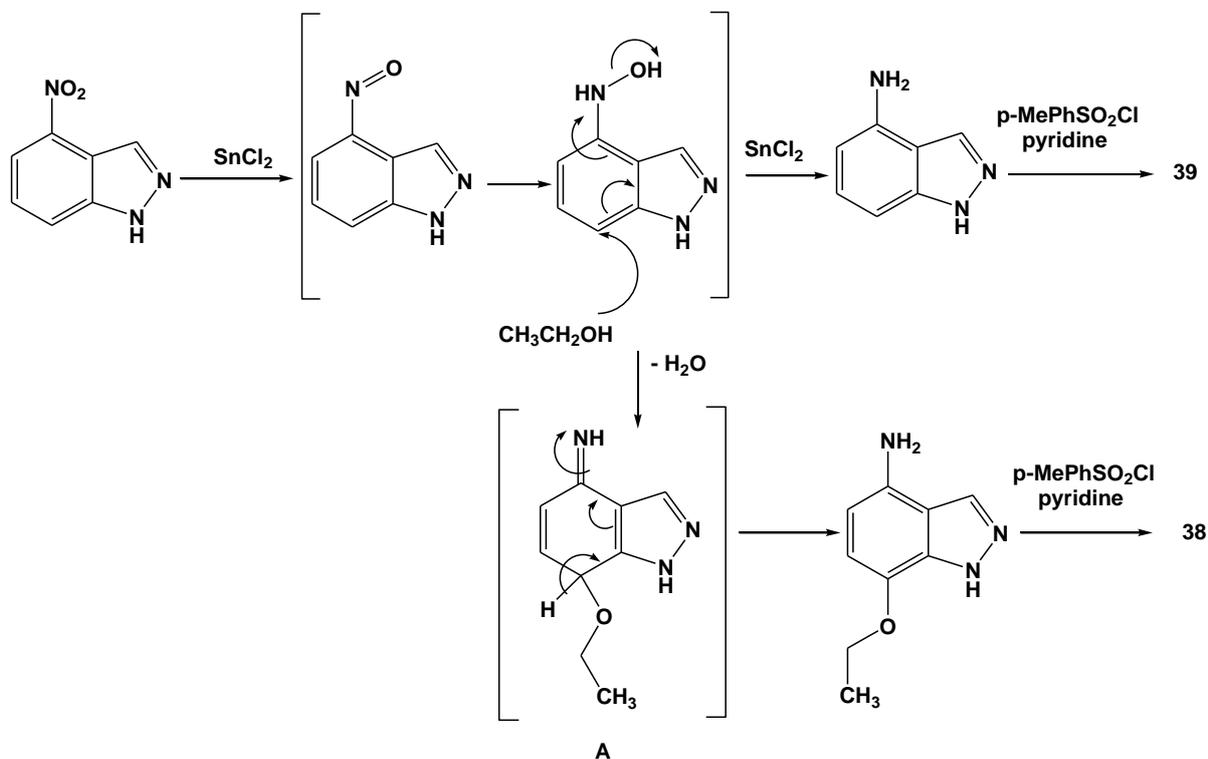


Schéma 18

Pour synthétiser de nouveaux sulfonamides fonctionnalisés en position 7 par d'autres groupements alkoxy, nous avons étudié la réaction de réduction du 4-nitro-1H-indazole **37** dans différents alcools suivie de couplage de l'amine correspondante par le chlorure de tosylate. Deux produits ont été identifiés: les sulfonamides indazoliques **40** substitués en position 7 par des groupements alkoxy et le sulfonamide non substitué **39** (schéma 19).

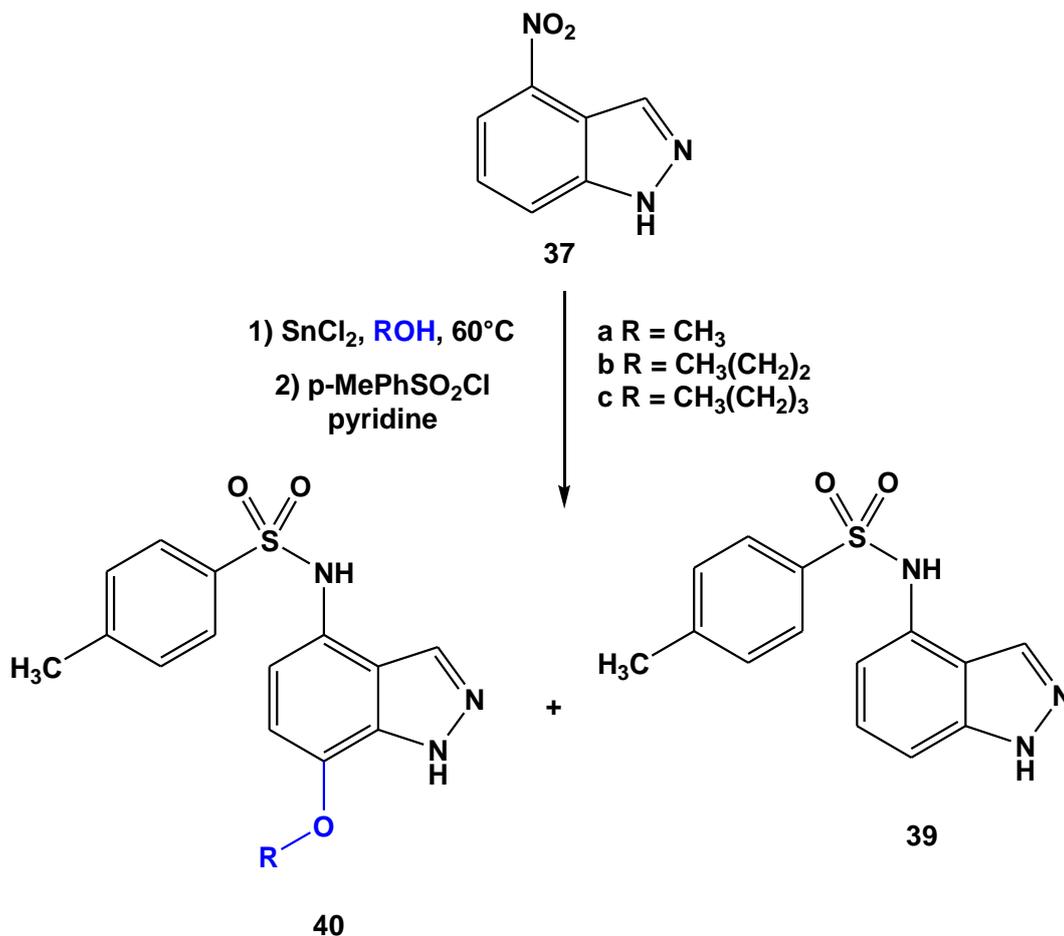


Schéma 19

Les rendements des composés **40a-c** et **39** sont répertoriés dans le tableau 1.

Tableau 1. Réduction de 4-nitroindazole par SnCl₂ dans différents alcools

R	Temps de la réduction	Rdt de 40a-c	Rdt de 39	Rdt Global (%)
CH ₃	1h30	40a (35%)	28%	63%
CH ₃ (CH ₂) ₂	1h30	40b (37%)	34%	71%
CH ₃ (CH ₂) ₃	3h	40c (38%)	34%	72%

Les structures des composés **40a-c** et **39** ont été établies sur la base des données spectrales RMN¹H, RMN¹³C et masse.

La figure suivante présente les spectres RMN¹H, RMN¹³C et DEPT du composé **40c** :

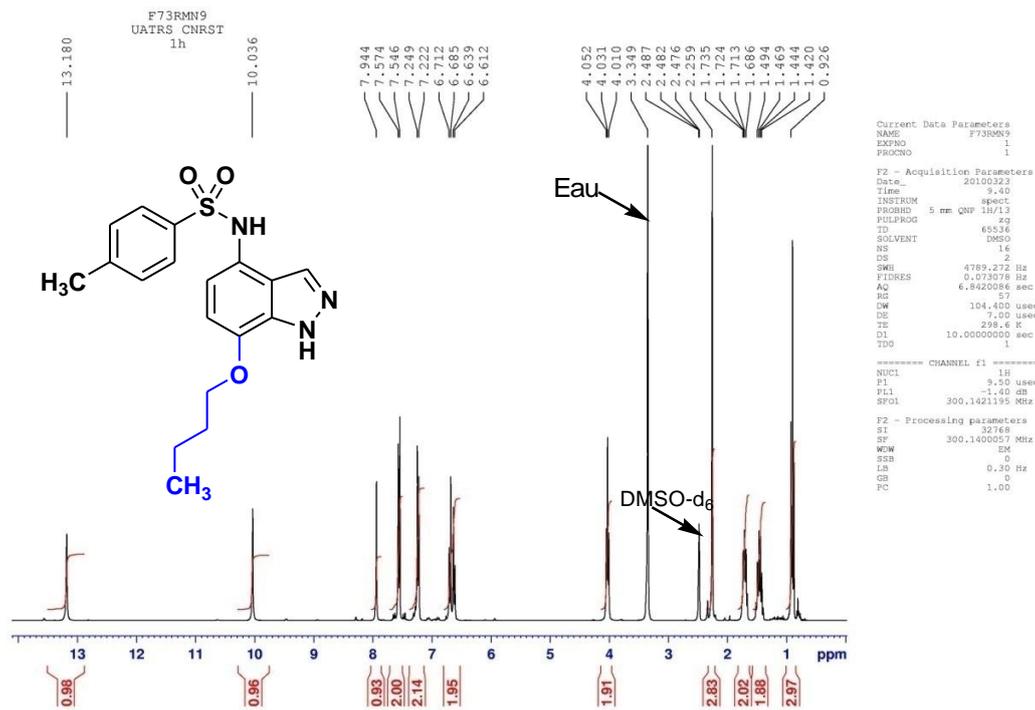


Figure 3. Spectre RMN¹H du composé 40c

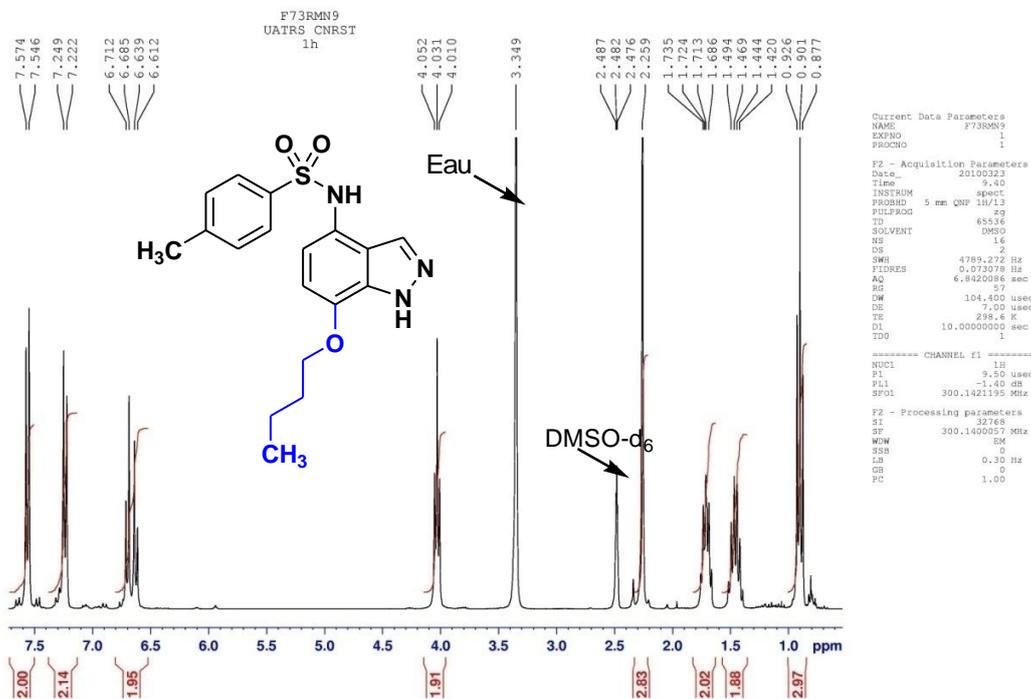


Figure 3. Spectre RMN¹H étalé du composé 40c

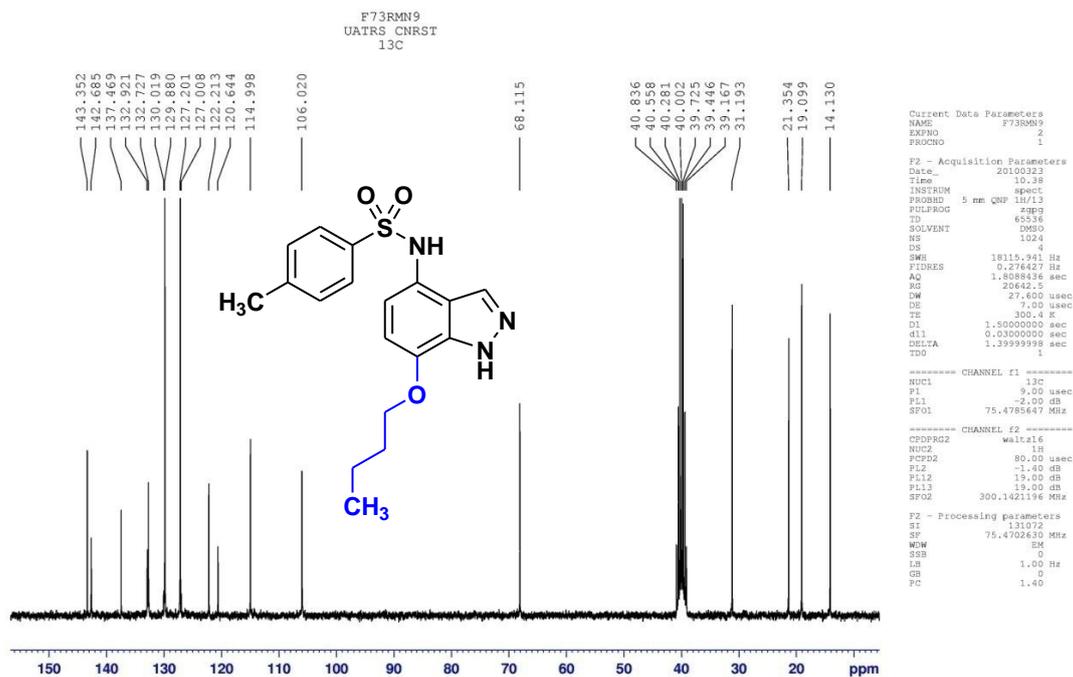


Figure 3. Spectre RMN13C du composé 40c

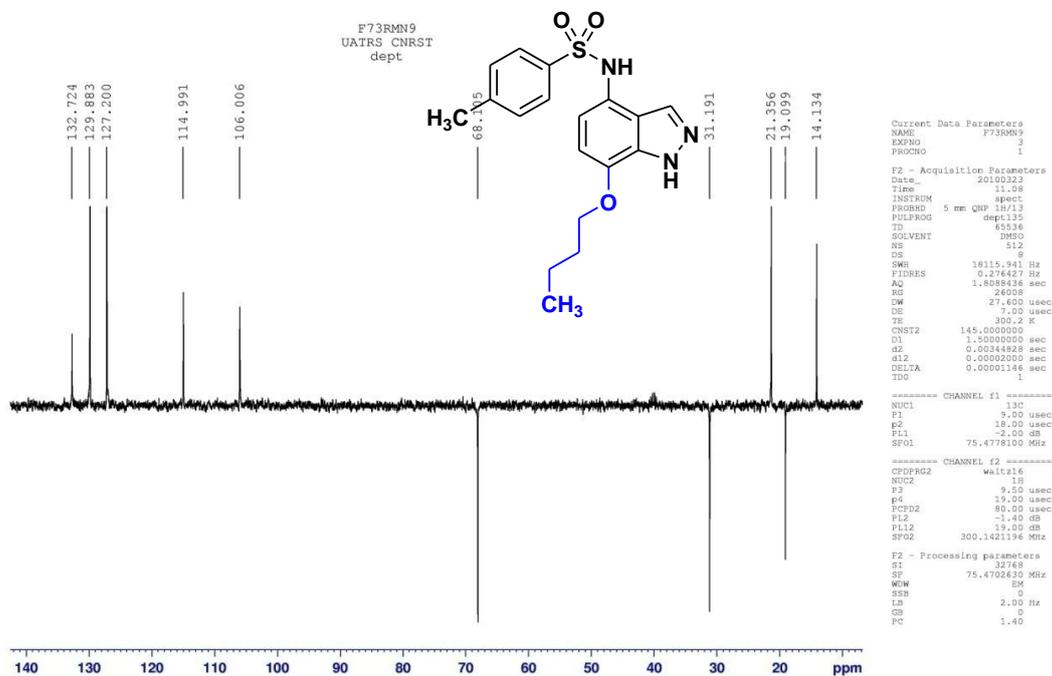


Figure 3. Spectre DEPT du composé 40c

Dans le but d'orienter la réaction de réduction des 4-nitroindazoles vers la synthèse des sulfonamides substitués en position 7 par un groupement alkoxy, deux facteurs ont été étudiés :

- Effet de l'atome d'halogène en position 3 de l'indazole
- Effet de l'agent alkylant en position 1 ou 2 de l'indazole

1. Effet de l'atome d'halogène sur la réaction de réduction du 4-nitroindazole.

1.1. Synthèse des 3-halogéno-4-nitroindazoles

L'action du *N*-halogénosuccinimide sur le 4-nitroindazole **37** porté à reflux de l'acétonitrile conduit aux 3-halogéno-4-nitroindazoles avec de bons rendements (schéma 20).

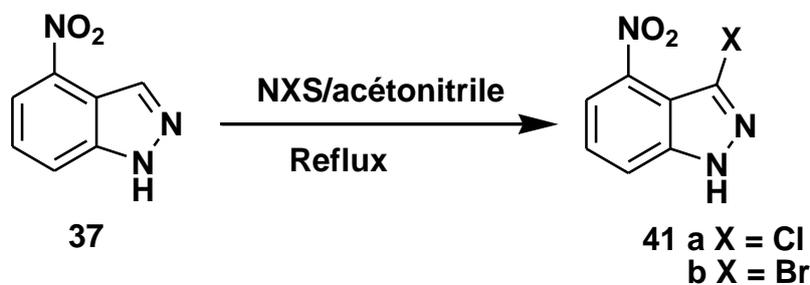


Schéma 20

Dans le spectre RMN¹H des composés **41a,b**, on note en particulier l'absence du pic dû au proton pyrazolique de l'indazole.

2.1. Réaction de réduction des 3-halogéno-4-nitro-1H-indazoles

La réaction de réduction de 3-halogéno-4-nitro-1H-indazole **41** avec SnCl_2 dans l'éthanol, suivie du couplage de l'amine correspondante avec le chlorure d'arylsulfonyle, donne un mélange de *N*-(7-éthoxy-3-halogéno-4-indazolyl)-arylsulfonamide **42** et *N*-(3-halogéno-4-indazolyl)-arylsulfonamide **43** (schéma 21). En présence de l'atome d'halogène en position 3, on observe une sélectivité meilleure en faveur du sulfonamide **42** substitué en position 7 par un groupement éthoxy.

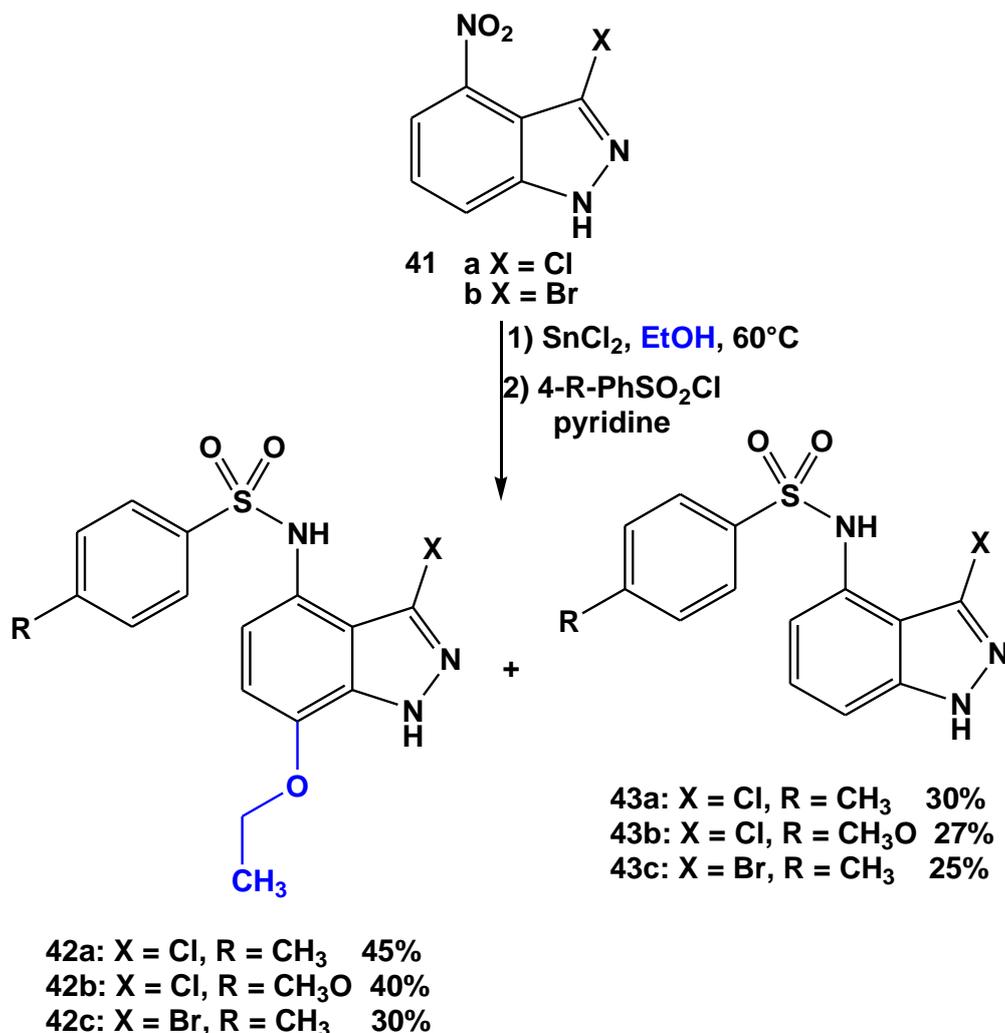


Schéma 21

Les structures des composés **42a-c** et **43a-c** ont été établies sur la base des données spectrales RMN¹H, RMN¹³C et masse.

2. Effet de l'agent alkylant en position 1 et/ou 2 de l'indazole sur la réaction de réduction de 4-nitroindazole

Pour étudier l'effet que peut avoir la protection de N1 et/ou N2 de l'indazole sur l'orientation de la réaction de réduction vers l'obtention des produits substitués par le groupement éthoxy, dans un premier temps, nous avons appliqué les mêmes conditions opératoires mise au point précédemment aux dérivés alkylés en position N1 du 4-nitro-indazole **44a,b** obtenus à partir des réactions d'alkylation réalisées dans le premier chapitre de notre mémoire. Deux produits ont été identifiés : le sulfonamide substitué par le groupement éthoxy **45** et le sulfonamide non substitué **46** (schéma 22). Une sélectivité importante a été observée en faveur du sulfonamide non substitué. Ces résultats montrent bien que la protection de la position N1 de

l'indazole joue un rôle fondamental dans l'orientation de la réaction de réduction vers la synthèse des sulfonamides indazoliques non substitués.

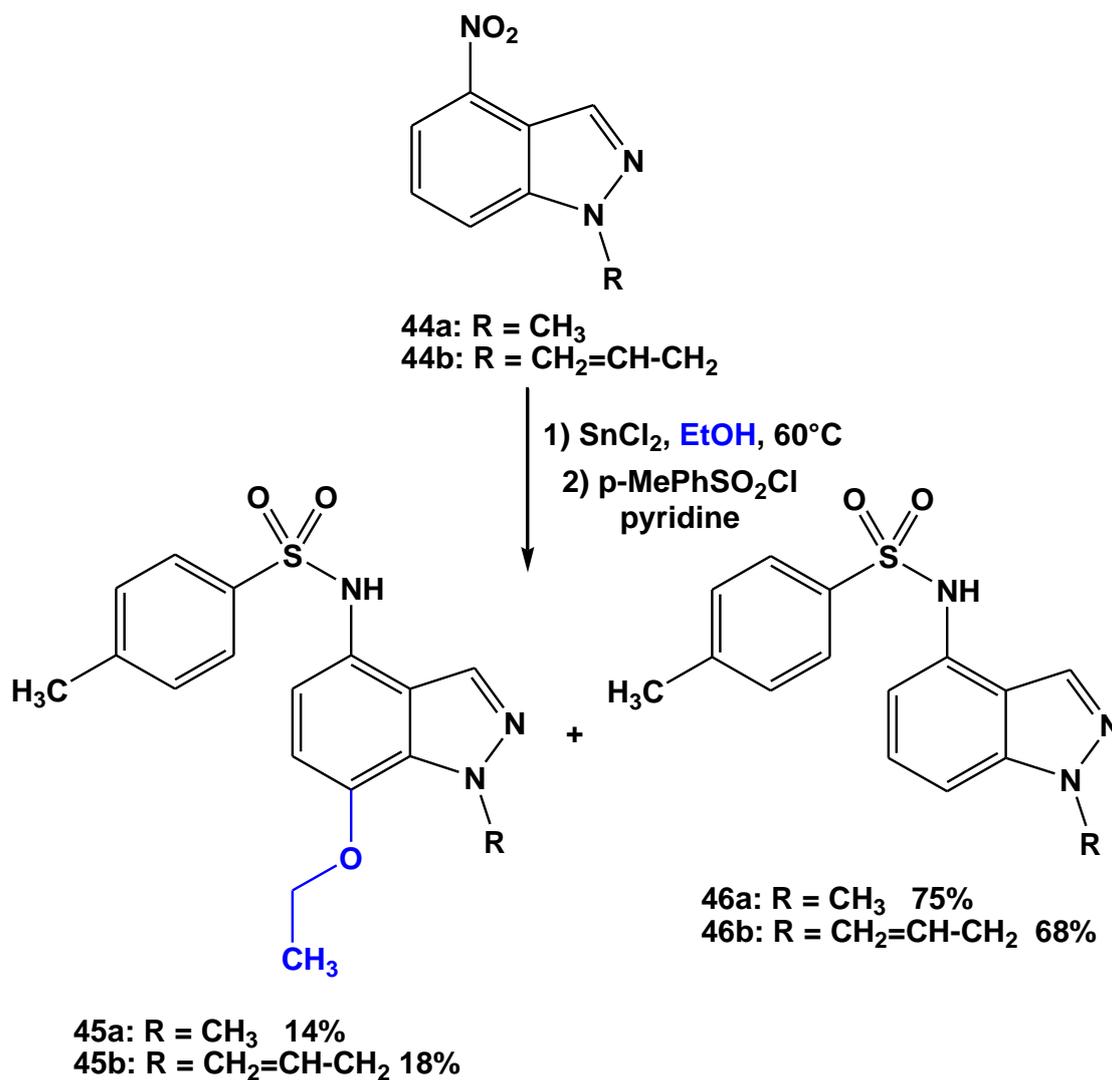


Schéma 22

Les structures des composés **45a,b** et **46a,b** ont été établies sur la base des données spectrales RMN¹H, RMN¹³C et masse. La structure de *N*-[7-Ethoxy-1-(prop-2-èn-1-yl)-1H-indazol-4-yl]-4-méthylbenzènesulfonamide **45b** a été confirmée par rayons X (Figure 4).¹⁶

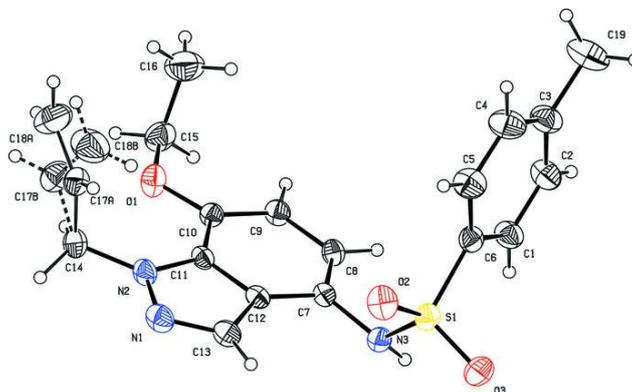


Figure 4. ORTEP de *N*-[7-Ethoxy-1-(prop-2-èn-1-yl)-1H-indazol-4-yl]-4-méthylbenzène sulfonamide **45b**

Contrairement à ce qui a été observé pour les dérivés N-alkylés en position 1 ou la réduction favorise la formation du sulfonamide non substitué, la réaction de réduction de 4-nitroindazole alkylé en position N2 **47** favorise la synthèse de sulfonamide substitué par un groupe éthoxy. Dans le cas du 4-nitroindazole alkylé en position 2 par le méthyle **47a**, seul le sulfonamide substitué en position 7 par un groupe éthoxy **48a** a été identifié avec un bon rendement. Pour les dérivés N-2-alkylés par le chlore de benzyle et le bromure d'allyle **47b** et **47c** respectivement, la réaction de réduction de 4-nitroindazole conduit à un mélange de deux produits avec une légère sélectivité en faveur du sulfonamide indazolique substitué par le groupe éthoxy **48b** et **48c** (schéma 23). Ces résultats montrent que la nature de la protection de la position 2 de l'indazole a un effet notable sur l'orientation de la réaction de réduction vers la synthèse des dérivés indazoliques substitués par un groupement éthoxy en position 7.

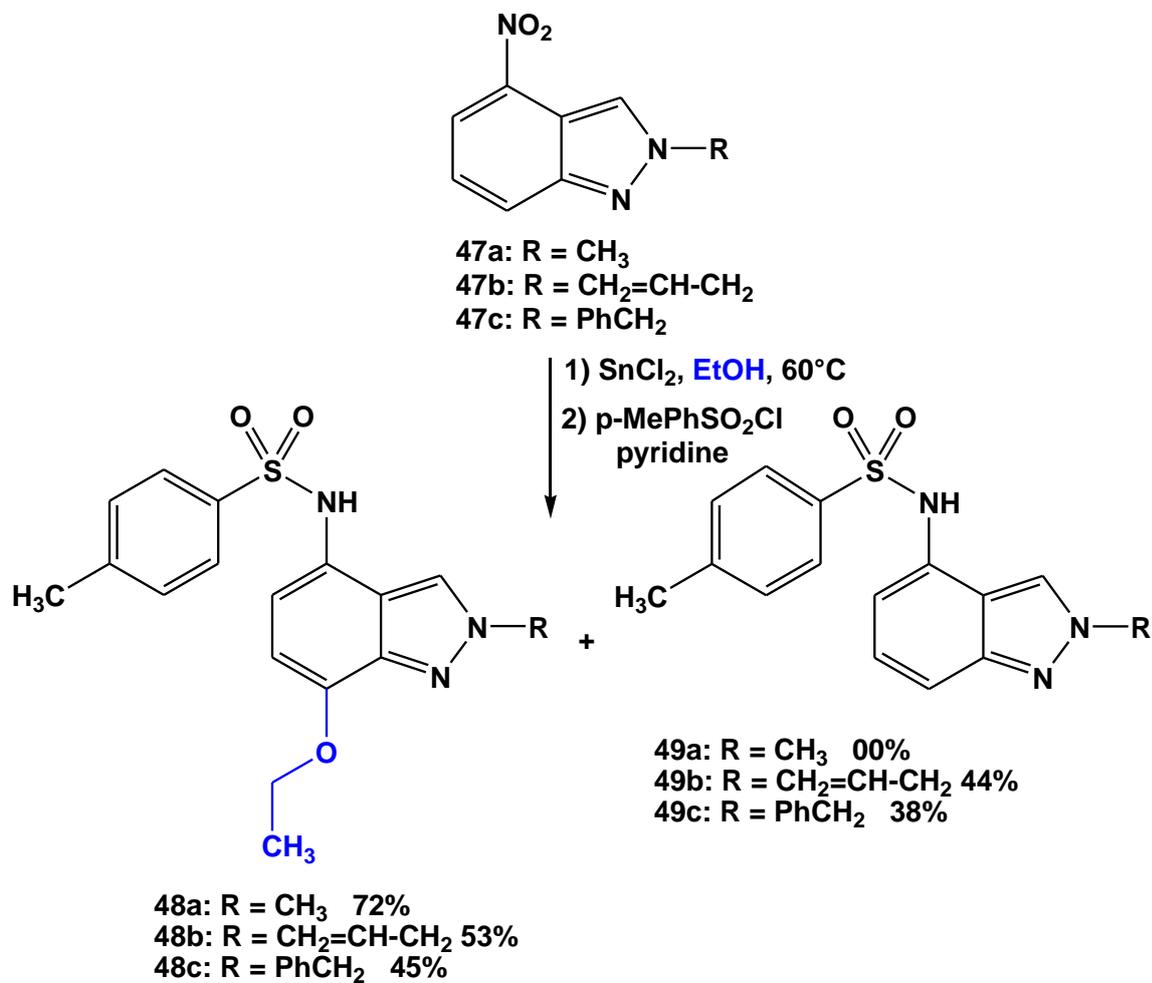


Schéma 23

Les structures des composés **48a-c** et **49a-c** ont été établies sur la base des données spectrales RMN^1H , RMN^{13}C et masse.

Dans la figure ci-dessous, nous présentons un exemple de spectres RMN^1H , RMN^{13}C et DEPT du composé **48b**.

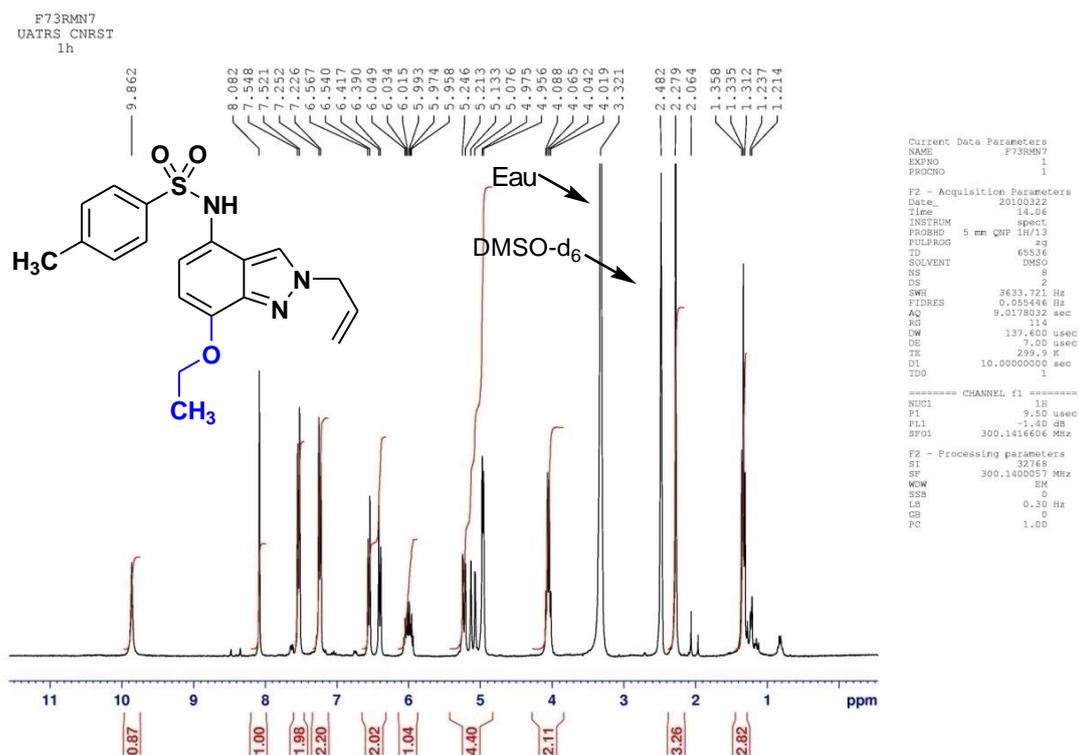


Figure 5. Spectre RMN1H du composé 48b

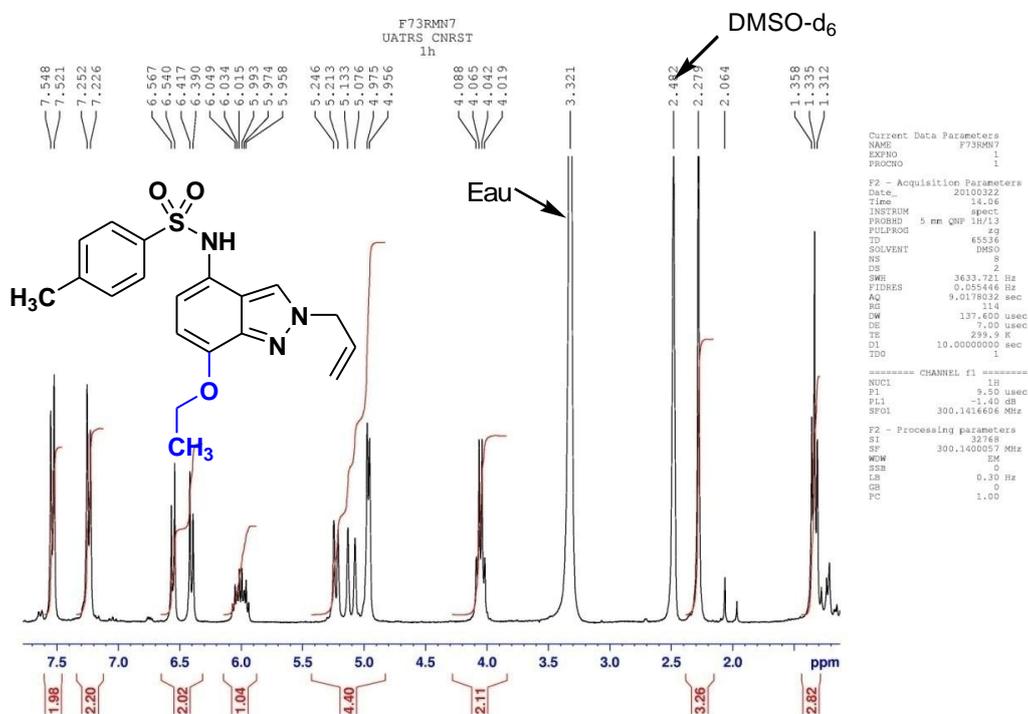


Figure 5. Spectre RMN1H étalé du composé 48b

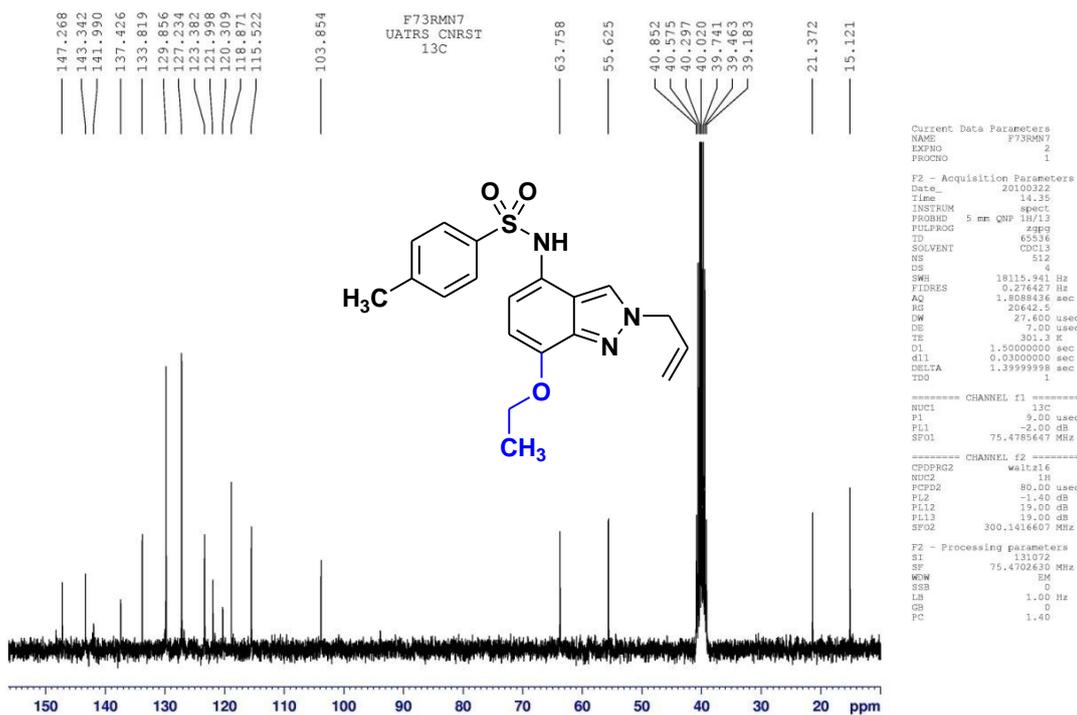


Figure 5. Spectre RMN13C du composé 48b

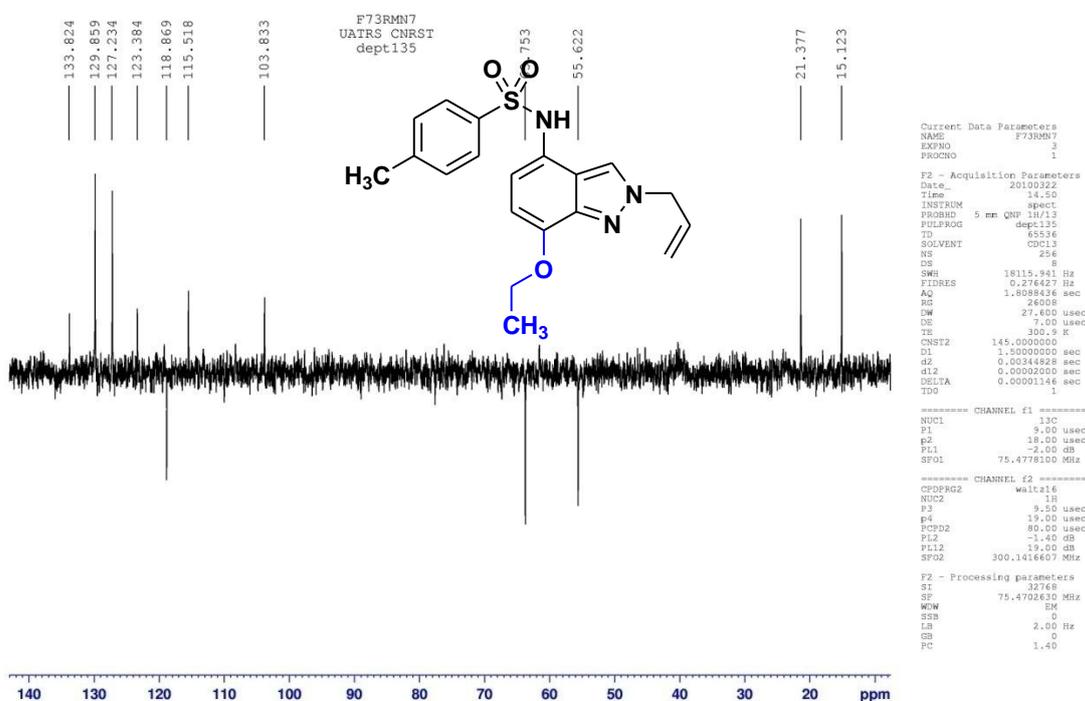


Figure 5. Spectre DEPT du composé 48b

III. Conclusion

La réaction de réduction de 4-nitroindazole suivi du couplage de l'amine correspondante par le chlorure d'arylsulfonyle nous a permis d'isoler à côté du sulfonamide indazolique attendu, un autre composé 4-indazolylarylsulfonamide fonctionnalisé en position 7 par un groupement alkoxy. Un mécanisme a été proposé pour expliquer la formation du produit substitué en position 7 par un groupe alkoxy. Les rendements obtenus pour les sulfonamides substitués et non substitués sont presque proportionnels sauf dans le cas du 4-nitroindazole alkylé en position 2 par le méthyle **47a** où on obtient exclusivement **48a**.

Pour étudier l'influence que peut avoir l'effet de l'insertion des substituants (halogène, agent alkylant) dans différentes positions de l'indazole sur la réaction de réduction de 4-nitroindazole, nous avons envisagé deux facteurs principaux :

- Effet de l'atome d'halogène en position 3 de l'indazole
- Effet de l'agent alkylant en position 1 et/ou 2 de l'indazole

Ainsi, en présence de l'atome d'halogène en position 3, nous avons observé une sélectivité meilleure en faveur du sulfonamide substitué en position 7 par un groupement éthoxy.

Pour les 4-nitroindazoles alkylés, nos résultats montrent que la protection de la position N1 de l'indazole joue un rôle fondamental dans l'orientation de la réaction de réduction vers la synthèse des sulfonamides indazoliques non substitués. Par contre, la protection de l'azote indazolique en position 2 favorise la synthèse du dérivé indazolique substitué par un groupe éthoxy en position 7. Ces résultats montrent aussi que la nature de l'agent alkylant en position 2 de l'indazole a un effet notable sur l'orientation de la réaction de réduction vers la synthèse des dérivés indazoliques substitué par un groupe éthoxy en position 7. Dans le cas du 4-nitroindazole alkylé en position 2 par le méthyle, nous n'avons isolé que le sulfonamide substitué en position 7 par un groupe éthoxy avec un bon rendement.

Cette voie de synthèse originale nous a permis de localiser le site réactif vis-à-vis du mélange SnCl_2/ROH et de synthétiser une nouvelle série de 4-indazolylarylsulfonamides fonctionnalisés en position 7 par un groupement alkoxy. La présence des substituants de natures différentes dans le squelette de l'indazole tels que le groupement 7-alkoxy, le sulfonamide en position 4 et les groupements fonctionnels en position 1, 2 et 3, pourrait augmenter le spectre d'activité biologique

de ce type de structure. Ces nouveaux sulfonamides ont été testés en tant qu'agents anticancéreux. Les résultats des tests pharmacologiques sont très intéressants (Cf: Chapitre IV).

Pour examiner l'effet de la position du groupement nitro de l'indazole et l'effet de la nature de la structure sur l'évolution de la réaction de réduction des dérivés nitrés par SnCl_2 dans ROH, nous étudierons dans le chapitre 3 la réduction du 6-nitroindazole et d'autres dérivés nitrohétéroaryles par le chlorure d'étain dans différents alcools.

Partie expérimentale

Caractéristiques physico-chimiques et spectrales des composés synthétisés

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 ¹³C ont été enregistrés dans CDCl₃, DMSO-d₆ et solution (sauf indication contraire) avec TMS comme référence interne en utilisant un appareil Bruker AC 300 (1H) ou 75MHz instruments (¹³C). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS) pris comme référence interne. La multiplicité des ressources de RMN ¹³C ont été affectés par la mise en valeur sans distorsion par transfert des expériences de polarisation (DEPT).

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

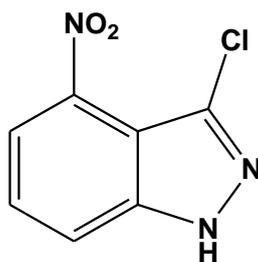
La chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée sur des feuilles d'aluminium recouvertes de silice E.Merck 60 F254 (épaisseur 0,063-0.2 mm). La révélation des taches se fait sous une lampe UV. Les séparations chromatographiques flash sont effectuées sur gel de silice.

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

Mode opératoire de la synthèse des 3-halogéno-4-nitroindazoles 41a,b

On dissout 1g de 4-nitroindazole (6,13 mmol) dans 25 ml d'acétonitrile et on ajoute 1,2 g (6,74 mmol) de N-halogénosuccinimide. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 2h. Après refroidissement, le solvant est évaporé et le résidu est dissout dans 50 ml de l'acétate d'éthyle et lavé plusieurs fois avec l'eau. Le solvant est évaporé et le produit formé est recristallisé dans le méthanol.

3-Chloro-4-nitro-1H-indazole 41a



Rdt : 80%

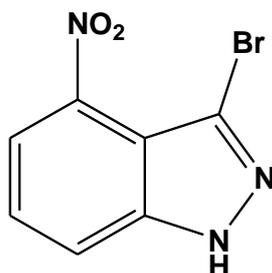
PF : 214-216°C

RMN¹H (DMSO-*d*₆): δ 7,61 (t, 1H, *J* = 8,4 Hz); 7,97 (d, 1H, *J* = 7,5 Hz); 8,05 (d, 1H, *J* = 7,7 Hz); 14,12 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆): δ 118,2; 119,4 et 127,4 (3CH), 110,7; 118,9; 141,6 et 143,5 (4C).

IR (KBr, cm⁻¹): 3200 (NH), 1615 (CN), 1515, 1320 (NO₂)

3-Bromo-4-1H-nitroindazole 41b



Rdt : 84%

PF : 200-202°C

RMN¹H (DMSO-*d*₆): δ 7,57 (t, 1H, *J* = 7,7 Hz); 7,88 (d, 1H, *J* = 7,5 Hz); 7,98 (d, 1H, *J* = 7,7 Hz); 14,23 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆): δ 117,7; 119,0 et 127,1 (3CH), 112,7; 117,7; 141,7 et 143,2 (4C).

IR (KBr, cm⁻¹): 3130 (NH), 1630 (CN), 1520, 1330 (NO₂)

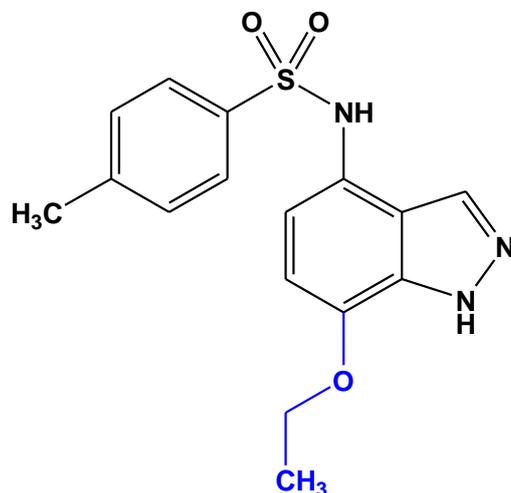
SM *m/z* = 242 (⁷⁹Br) [M + 1]⁺, 244 (⁸¹Br) [M + 3]⁺.

Mode opératoire générale de la synthèse des 4-indazolyl-4-méthylbenzène sulfonamides 38 et 39

1,22 mmol de 4-nitro-1H-indazole et 1,1g (6.1mmol) de SnCl₂ anhydre sont mis en suspension dans 25 ml de l'alcool absolu. Ce mélange est chauffé à 60 °C pendant 6h30, puis le milieu réactionnel est ramené à température ambiante et hydrolysé avec une solution aqueuse de bicarbonate de potassium 5 % jusqu'à pH 7-8. La phase aqueuse est extraite plusieurs fois à l'acétate d'éthyle et les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. L'amine obtenue est dissoute immédiatement dans 5 ml de pyridine. On y ajoute 260 mg (1,25 mmol) de

chlorure de 4-méthylbenzènesulfonyle et le milieu réactionnel est abandonné sous agitation à température ambiante pendant 24h. Après évaporation de la pyridine, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange acétate d'éthyle/héxane (4/6).

***N*-(7-éthoxy-1*H*-4-indazolyl)-4-méthyl-benzènesulfonamide 38**



Rdt : 33%

PF : 210-212°C

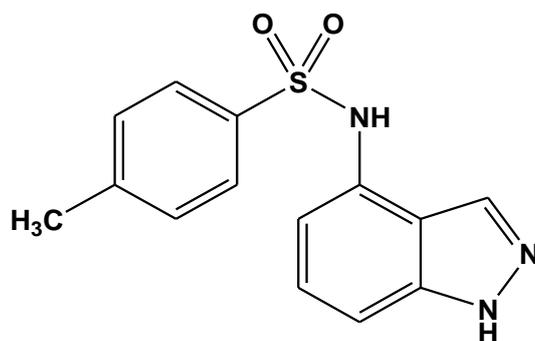
RMN¹H (DMSO-*d*₆) : δ 1,37 (t, 3H, CH₃, $J = 6,9$ Hz) ; 2,28 (s, 3H, CH₃) ; 4,12 (q, 2H, OCH₂, $J = 6,9$ Hz) ; 6,64 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz) ; 6,72 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz) ; 7,25 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz) ; 7,58 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz) ; 7,97 (s, 1H) ; 10,06 (s, 1H, NH) ; 13,21 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆) : δ 15,1 (CH₃) ; 21,3 (CH₃) ; 64,2 (CH₂O) ; 106,1 ; 114,9 ; 127,2 ; 129,9 et 132,7 (5 CH) ; 120,6 ; 122,3 ; 132,9 ; 137,4 ; 142,4 et 143,4 (6 C).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3340, 3220 (NH), 1585 (CN), 1338, 1165 (SO₂)

SM $m/z = 332$ [M + 1]⁺.

***N*-(1*H*-4-indazolyl)-4-méthyl-benzènesulfonamide 39**



Rdt : 35%

PF : 170-172°C

RMN¹H (DMSO-*d*₆) : δ 2,27 (s, 3H, CH₃) ; 6,92 (dd, 1H, *J* = 2,1Hz et 6,1Hz) ; 7,16 (d, 2H, *J* = 6,2Hz) ; 7,28 (d, 2H, *J* = 8,3Hz) ; 7,68 (d, 2H, *J* = 8,3 Hz) ; 8,22 (s, 1H) ; 10,51 (s, 1H, NH) ; 13,05 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆) : δ 21,3 (CH₃) ; 106,7; 111,0; 126,9; 127,2; 130,1 et 132,4 (6 CH) ; 117,3; 130,5; 137,3; 141,4 et 143,7 (5C).

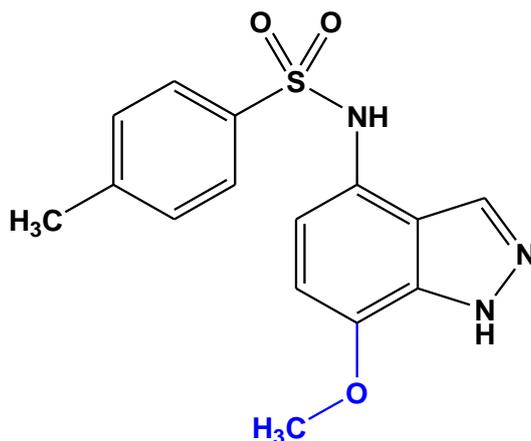
IR (KBr, cm⁻¹): 3340, 3235 (NH), 1595 (CN), 1335, 1160 (SO₂)

SM m/z = 288 [M + 1]⁺.

Synthèse des sulfonamides 40a-c

Ces composés sont préparés à partir de la réaction de réduction de 4-nitroindazole dans différents alcools selon le mode opératoire décrit précédemment.

N-(7-Méthoxy-1*H*-4-indazolyl)-4-méthyl-benzènesulfonamide 40a



Ce composé est obtenu à partir de la réaction de réduction de 4-nitroindazole **37** dans le **méthanol** comme solvant.

Rdt: 35%.

PF: 230–232 °C.

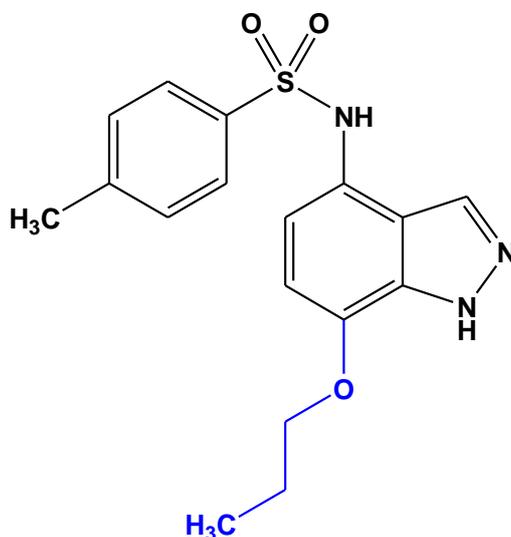
RMN¹H (DMSO-*d*₆): δ 2,27 (s, 3H, CH₃); 3,84 (s, 3H, OCH₃); 6,68 (d, 1H, *J* = 6.9 Hz); 6,87 (d, 1H, *J* = 6.9 Hz); 7,24 (d, 2H, *J* = 7.9 Hz); 7,55 (d, 2H, *J* = 7.9 Hz); 7,94 (s, 1H); 10,05 (s, 1H, NH); 13,24 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆): δ 21,4 (CH₃); 55,9 (CH₃O); 105,3; 114,8; 127,2; 129,9; 132,4 (5 CH); 120,5; 122,4; 132,7; 137,3; 141,4; 143,4 (6 C).

IR (KBr, cm^{-1}): 3320, 3200 (NH), 1590 (CN), 1340, 1158 (SO_2).

SM: $m/z=318$ $[\text{M}+1]^+$.

N-(7-propoxy-1H-4-indazolyl)-4-méthyl-benzenesulfonamide 40b.



Ce composé est obtenu à partir de la réduction de 4-nitroindazole **37** dans le **propanol** comme solvant.

Rdt: 37%.

PF: 135–137 °C.

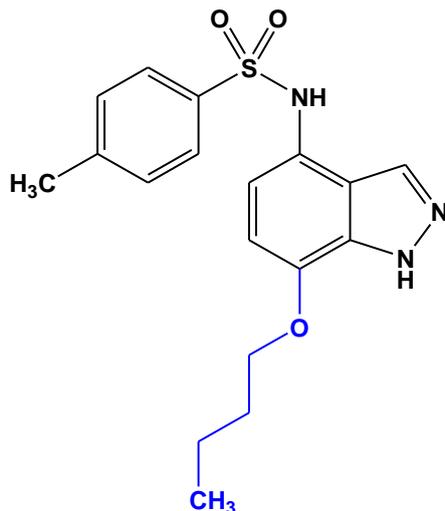
RMN¹H (DMSO-d₆): δ 1,00 (t, 3H, CH_3 , $J = 7,4$ Hz), 1,74 (m, 2H, CH_2), 2,26 (s, 3H, CH_3), 3,99 (t, 2H, OCH_2 , $J = 6,8$ Hz), 6,63 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 6,69 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,24 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz), 7,53 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz), 7,93 (s, 1H), 10,02 (s, 1H, NH), 13,20 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-d₆): δ 11,0 (CH_3), 21,4 (CH_3), 22,5 (CH_2), 69,9 (CH_2O), 105,9; 114,9; 127,2; 129,9; 132,7 (5 CH); 120,6; 122,2; 132,9; 137,4; 142,7; 143,4 (6 C).

IR (KBr, cm^{-1}): 3350, 3260 (NH), 1585 (CN), 1328, 1155 (SO_2)

SM: $m/z = 346$ $[\text{M}+1]^+$.

***N*-(7-butoxy-1*H*-4-indazolyl)-4-méthyl-benzenesulfonamide 40c.**



Ce composé est obtenu à partir de la réduction de 4-nitroindazole **37** dans le **butanol** comme solvant.

Rdt: 38%.

PF: 135–137 °C.

RMN¹H (DMSO-d₆): δ 0,90 (t, 3H, CH₃, J = 7,2 Hz), 1,45 (m, 2H, CH₂), 1,71 (m, 2H, CH₂), 2,26 (s, 3H, CH₃), 4,03 (t, 2H, OCH₂, J = 6,4 Hz), 6,62 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 6,69 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 7,23 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 7,55 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 7,94 (s, 1H), 10,03 (s, 1H, NH), 13,18 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-d₆): δ 14,1 (CH₃), 19,1 (CH₂), 21,4 (CH₃), 31,2 (CH₂), 68,1 (CH₂O), 106,0 (CH), 114,9 (CH), 120,6 (C), 122,2 (C), 127,2 (2CH), 129,9 (2CH), 132,7 (CH), 132,9 (C), 137,5 (C), 142,7(C), 143,3 (C).

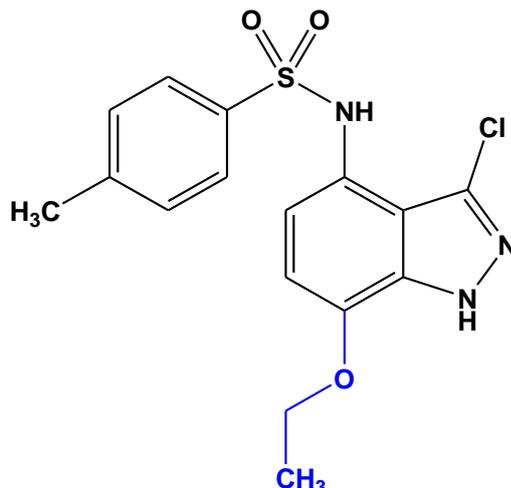
IR (KBr, cm⁻¹): 3320, 3230 (NH), 1600 (CN), 1335, 1160 (SO₂).

SM: m/z = 361 [M+1]⁺.

Synthèse des sulfonamides 42a-c et 43a-c

Ces composés sont préparés à partir de la réaction de réduction des 3-halogéno-4-nitroindazole **41a,b** dans l'éthanol selon le mode opératoire décrit précédemment.

N-(3-Chloro-7-éthoxy-1H-4-indazolyl)-4-méthyl-benzènesulfonamide 42a



Rdt: 45%

PF: 84-86°C.

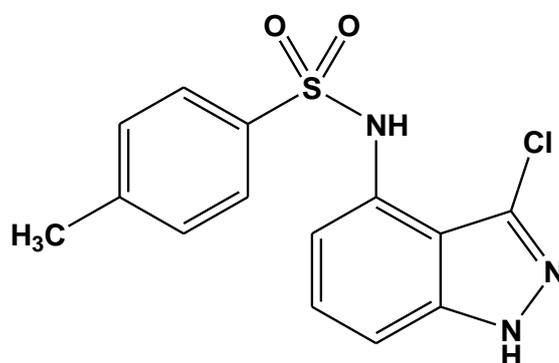
RMN¹H (CDCl₃): δ 1,47 (t, 3H, CH₃, J= 7,0 Hz), 2,33 (s, 3H, CH₃), 4.16 (q, 2H, OCH₂, J=7,0 Hz), 6.66 (d, 1H, J= 8.1 Hz), 7.14 (d, 1H, J= 8.1 Hz), 7,59 (d, 2H, J= 8,4 Hz), 7,70 (d, 2H, J= 8,4 Hz), 7,36 (s, 1H, NH), 10,35 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 14,7 (CH₃), 21,5 (CH₃), 64.3 (CH₂O), 106.7 (CH), 111.3 (C), 112.1 (CH), 121.3 (C), 127.3 (2CH), 129.7 (2CH), 133.0 (C), 134,3 (C), 135.9 (C), 142.2 (C), 143.9 (C).

IR (KBr, cm⁻¹): 3320, 3235 (NH), 1590 (CN), 1350, 1160 (SO₂).

SM m/z = 366 (³⁵Cl) [M + 1]⁺, 368 (³⁷Cl) [M + 3]⁺.

N-(3-Chloro-1H-4-indazolyl)-4-méthyl-benzènesulfonamide 43a



Rdt: 30%

PF: 60-62°C

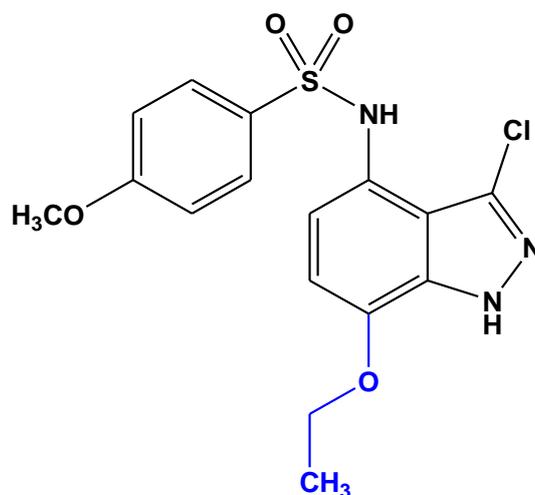
RMN¹H (CDCl₃) : δ 2,34 (s, 3H, CH₃) ; 7,16 (d, 1H, 8,0Hz) ; 7,31 (d, 1H, J= 8,4Hz) ; 7,46 (d, 1H, J= 8,1Hz) ; 7,62 (d, 2H, J = 8,1Hz) ; 7,84 (d, 2H, J = 8,1 Hz) ; 8,33 (s, 1H, NH) ; 10,05 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (CDCl₃) : δ 21,5 (CH₃) ; 109,6; 115,2; 127,8; 129,6; 131,1 (5 CH) ; 115,2; 128,0; 129,5; 130,2; 144,6 et 146,2 (6C).

IR (KBr, cm⁻¹): 3345, 3240 (NH), 1595 (CN), 1330, 1160 (SO₂).

SM m/z = 322 (³⁵Cl) [M + 1]⁺, 324 (³⁷Cl) [M + 3]⁺.

***N*-(3- Chloro-7-éthoxy-1H-4-indazolyl)-4-méthoxy-benzènesulfonamide 42b**



Rdt: 40%.

PF: 68–70 °C.

RMN¹H (CDCl₃): δ 1,47 (t, 3H, CH₃, J= 7,0 Hz), 3,77 (s, 3H, CH₃O), 4,16 (q, 2H, OCH₂, J= 7,0 Hz), 6,66 (d, 1H, J= 8,1 Hz), 6,79 (d, 2H, J= 8,6 Hz), 7,22 (d, 1H, J= 8,1 Hz), 7,64 (d, 2H, J= 8,6 Hz), 9,85 (s, 1H, NH), 13,1 (s, 1H, NH).

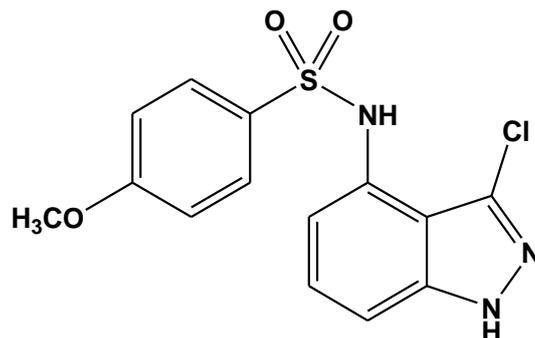
RMN¹³C (CDCl₃): δ 14,7 (CH₃), 55,5 (CH₃O), 64,3 (CH₂O), 106,5 (C), 107,2 (CH), 112,1 (C), 114,0 (2CH), 116,5 (CH), 121,4 (C), 129,4 (2CH), 130,5 (C), 134,2 (C), 142,2 (C), 163,1 (C).

IR (KBr, cm⁻¹): 3338, 3260 (NH), 1580 (CN), 1345, 1150 (SO₂).

SM m/z = 382 (³⁵Cl) [M + 1]⁺, 384 (³⁷Cl) [M + 3]⁺

Anal. Calculé pour C₁₆H₁₆ClN₃O₄S: C, 50.33; H, 4.22; N, 11.00. Trouvé: C, 50.48; H, 4.11; N, 11.07.

N-(3-Chloro-1H-4-indazolyl)-4-méthoxy-benzènesulfonamide 43b



Rdt: 27%.

PF: 56–58°C

RMN¹H (CDCl₃): δ 3,77 (s, 3H, CH₃O), 6,78 (d, 1H, J = 7,8 Hz), 7,14 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 6,72 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 7,42 (d, 1H, J = 7,8 Hz), 7,60 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 10,09 (s, 1H, NH), 13,25 (s, 1H, NH).

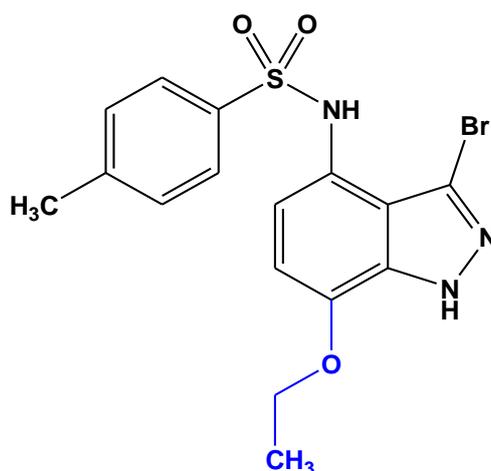
RMN¹³C (CDCl₃): δ 55,5 (CH₃O), 105,8 (CH), 110,2 (CH), 112,1 (C), 114,0 (2CH), 126,7 (CH), 129,4 (2CH), 130,4 (C), 131,6 (C), 135,4 (C), 142,6 (C), 163,4 (C).

IR (KBr, cm⁻¹): 3340, 3250 (NH), 1590 (CN), 1325, 1162 (SO₂)

MS m/z = 338 (⁷⁹Cl) [M + 1]⁺, 339 (³⁷Cl) [M + 3]⁺

Anal. calculé. pour C₁₄H₁₂ClN₃O₃S: C, 49.78; H, 3.58; N, 12.44. Trouvé: C, 49.92; H, 3.49; N, 12.57.

N-(3-Bromo-7-éthoxy-1H-4-indazolyl)-4-méthyl-benzènesulfonamide 42c



Rdt : 30%

PF : 118-120°C

RMN¹H (DMSO-d₆): δ 1,39 (t, 3H, CH₃, J= 7,0 Hz), 2,36 (s, 3H, CH₃), 4,15 (q, 2H, OCH₂, J= 7,0 Hz), 6,24 (d, 1H, J= 8,1 Hz), 6,38 (d, 1H, J= 8,1 Hz), 7,35 (d, 2H, J= 8,0 Hz), 7,57 (d, 2H, J= 8,0 Hz), 9,49 (s, 1H, NH), 13,69 (s, 1H, NH).

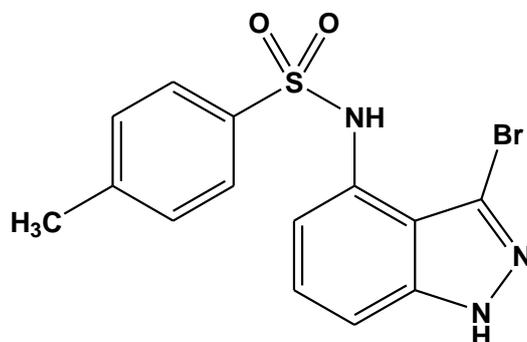
RMN¹³C (DMSO-d₆): δ 15,0 (CH₃), 21,4 (CH₃), 64,5 (CH₂O), 106,6 (CH), 118,0 (C), 119,2 (C), 120,8 (C), 121,0 (CH), 127,4 (2CH), 130,0 (2CH), 134,4 (C), 138,4 (C), 142,1 (C), 143,5 (C).

IR (KBr, cm⁻¹): 3345, 3231 (NH), 1600 (CN), 1338, 1162 (SO₂)

MS m/z = 411 (⁷⁹Br) [M + 1]⁺, 413 (⁸¹Br) [M + 3]⁺

Anal. calculé. pour C₁₆H₁₆BrN₃O₃S: C, 46.84; H, 3.93; N, 10.24. Trouvé: C, 46.96; H, 3.82; N, 10.37.

***N*-(3-Bromo-1H-4-indazolyl)-4-méthyl-benzenesulfonamide 43c**



Rdt : 25%

PF : 150-152%

RMN¹H (DMSO-d₆): δ 2,36 (s, 3H, CH₃), 6,57 (d, 1H, J = 7,4 Hz), 7,25 (t, 1H, J = 7,4 Hz), 7,35 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 7,41 (d, 1H, J = 7,3 Hz), 7,63 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 9,69 (s, 1H, NH), 13,50 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-d₆): δ 21,4 (CH₃), 109,8 (CH), 117,9 (C), 118,3 (CH), 118,7 (C), 127,4 (2CH), 127,9 (CH), 129,3 (C), 130,0 (2CH), 138,1(C), 142,8 (C), 143,5 (C).

IR (KBr, cm⁻¹): 3335, 3225 (NH), 1595 (CN), 1340, 1156 (SO₂)

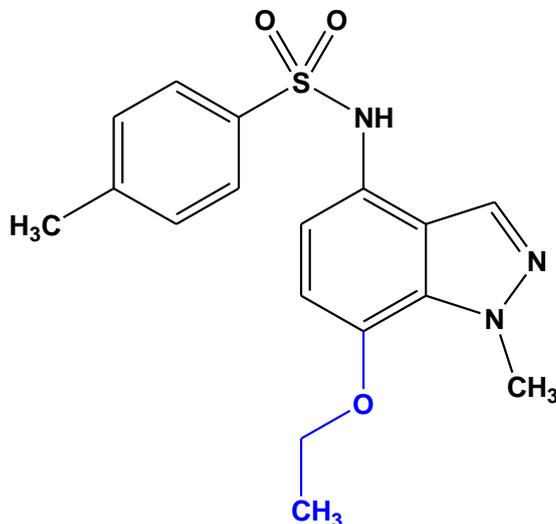
SM m/z = 367 (⁷⁹Br) [M + 1]⁺, 369 (⁸¹Br) [M + 3]⁺

Anal. calculé. pour C₁₄H₁₂BrN₃O₂S: C, 45.91; H, 3.30; N, 11.47. Trouvé: C, 45.78; H, 3.44; N, 11.32.

Synthèse des sulfonamides 45a,b et 46a,b

Ces composés sont préparés à partir de la réaction de réduction des 1-alkyl-4-nitroindazoles **44a,b** dans l'éthanol selon le mode opératoire décrit précédemment.

N-(1-Méthyl-7-éthoxy-2H-indazol-4-yl)-4-méthylbenzènesulfonamide **45a**



Rdt: 14%.

PF: 190-192°C.

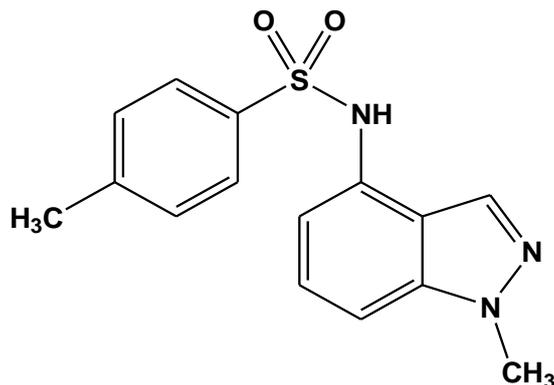
RMN¹H (DMSO-d₆): δ 1,33 (t, 3H, CH₃, *J* = 7,2 Hz), 2,21 (s, 3H, CH₃), 3,90 (s, 3H, NCH₃), 4,10 (q, 2H, CH₂O, *J* = 7,2 Hz), 6,45 (d, 1H, H-6, *J* = 8,0 Hz), 6,60 (d, 1H, H-5, *J* = 8,0 Hz), 7,15 (d, 2H, ArH, *J* = 7,8 Hz), 7,45 (d, 2H, ArH, *J* = 7,8 Hz), 8,14 (s, 1H, H-3), 10,34 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-d₆): δ 15,1 (CH₃), 21,5 (CH₃), 36,1 (NCH₃), 63,0 (CH₂O), 104,5 (CH), 116,8 (CH), 117,4 (C), 127,2 (2CH), 129,8 (2CH), 130,6 (C), 132,0 (CH), 136,9 (C), 142,5 (C), 143,1 (C), 148,2 (C).

SM: *m/z* 346 [M + 1]⁺

Anal. calculé. pour C₁₇H₁₉N₃O₃S: C, 59.11; H, 5.54; N, 12.16. Trouvé: C, 59.24; H, 5.40; N, 12.25.

***N*-(1-Méthyl-2*H*-indazol-4-yl)-4-méthylbenzènesulfonamide 46a**



Rdt: 75%.

PF: 204-206 °C.

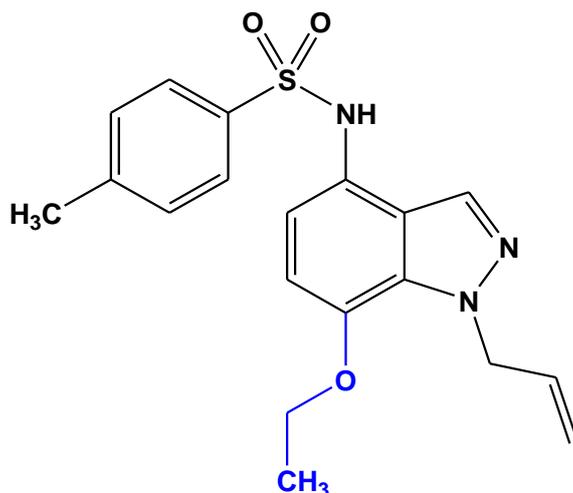
RMN¹H (DMSO-d₆): δ 2,26 (s, 3H, CH₃), 3,92 (s, 3H, NCH₃), 6,90 (d, 1H, *J* = 7,2 Hz), 7,20-7,28 (m, 4H), 7,65 (d, 2H, *J* = 7,4 Hz), 8,15 (s, 1H, H-3), 10,52 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-d₆): δ 21,4 (CH₃), 35,9 (NCH₃), 106,2 (CH), 110,9 (CH), 117,7 (C), 127,0 (CH), 127,2 (2CH), 130,1 (2CH), 130,6 (C), 131,2 (CH), 137,2 (C), 141,0 (C), 143,8 (C).

SM: *m/z* 302 [M + 1]⁺.

Anal. calculé. pour C₁₅H₁₅N₃O₂S: C, 59.78; H, 5.02; N, 13.94. Trouvé: C, 59.92; H, 5.14; N, 13.81.

***N*-(1-Allyl-7-éthoxy-2*H*-indazol-4-yl)-4-méthylbenzènesulfonamide 45b.**



Rdt: 18%,

PF: 133-135 °C.

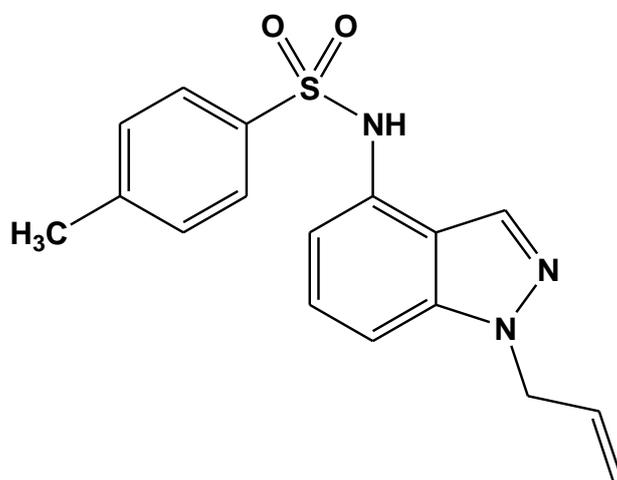
RMN¹H (CDCl₃): δ 1,47 (t, 3H, CH₃, *J* = 7,0 Hz), 2,33 (s, 3H, CH₃), 4,11 (q, 2H, CH₂O, *J* = 7,0 Hz), 4,94-5,10 (m, 2H, NCH₂), 5,18-5,23 (m, 2H, =CH₂), 5,94-6,05 (m, 1H, =CH), 6,54 (d, 1H, H-6, *J* = 8,1 Hz), 6,84 (d, 1H, H-5, *J* = 8,1 Hz), 7,14 (d, 2H, *J* = 7,8 Hz), 7,61 (d, 2H, *J* = 7,8 Hz), 7,78 (s, 1H, H-3), 8,84 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 14,7 (CH₃), 21,5 (CH₃), 53,8 (NCH₂), 64,2 (CH₂O), 106,3 (CH), 117,0 (=CH₂), 117,5 (CH), 121,1 (C), 122,3 (C), 127,3 (2CH), 129,5 (2CH), 130,6 (CH), 131,4 (C), 134,1 (CH), 136,2 (C), 143,7 (C), 144,2 (C).

SM: *m/z* 372 [M + 1]⁺.

Anal. calculé. pour C₁₉H₂₁N₃O₃S: C, 61.44; H, 5.70; N, 11.31. Trouvé: C, 61.56; H, 5.52; N, 11.46.

***N*-(1-Allyl-2H-indazol-4-yl)-4-méthylbenzènesulfonamide 46b**



Rdt: 68%

PF: 124-126 °C.

RMN¹H (CDCl₃): δ 2,34 (s, 3H, CH₃), 4,86-4,92 (m, 2H, NCH₂), 5,30-5,33 (m, 2H, =CH₂), 5,97-6,07 (m, 1H, =CH), 6,97 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz), 7,18-7,21 (m, 3H), 7,43 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz), 7,55 (d, 2H, *J* = 8,4 Hz), 7,99 (s, 1H, H-3), 8,38 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 21,5 (CH₃), 53,2 (NCH₂), 113,5 (CH), 117,1 (=CH₂), 121,0 (C), 127,1 (CH), 127,4 (2CH), 128,0 (CH), 128,3 (C), 129,7 (2CH), 130,9 (CH), 133,8 (CH), 135,8 (C), 136,4 (C), 144,3 (C)

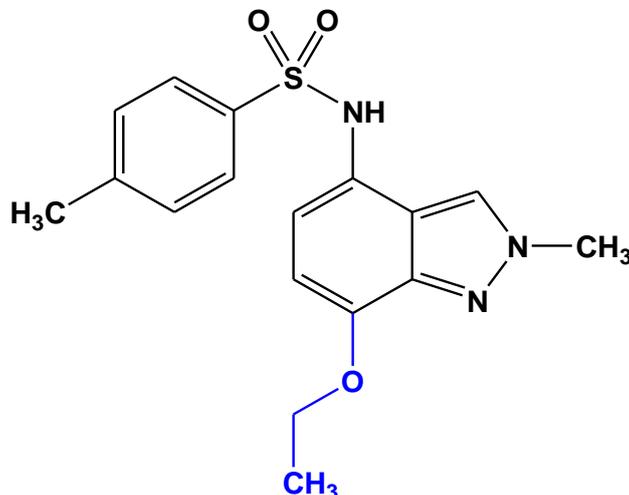
SM: *m/z* 328 [M + 1]⁺

Anal. calculé. pour C₁₇H₁₇N₃O₂S: C, 62.37; H, 5.23; N, 12.83. Trouvé: C, 62.48; H, 5.30; N, 12.72.

Synthèse des sulfonamides 48a-c et 49a-c

Ces composés sont préparés à partir de la réaction de réduction des 2-alkyl-4-nitroindazoles **47a-c** dans l'éthanol selon le mode opératoire décrit précédemment.

N-(2-Méthyl-7-éthoxy-2H-indazol-4-yl)-4-méthylbenzènesulfonamide **48a**



Rdt: 72 %,

PF: 66-68°C.

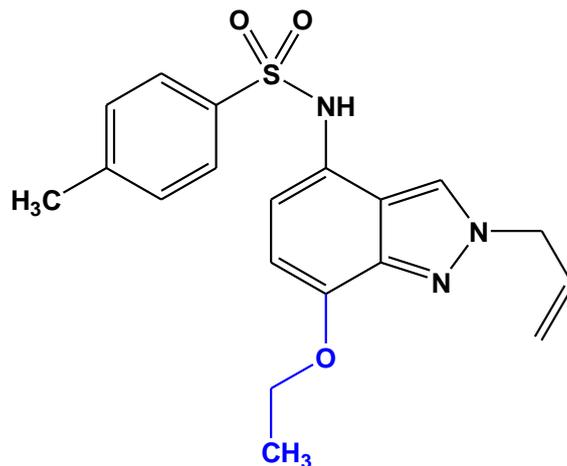
RMN¹H (CDCl₃): δ 1,45 (t, 3H, CH₃, $J = 7,2$ Hz), 2,32 (s, 3H, CH₃), 4,00 (s, 3H, NCH₃), 4,15 (q, 2H, CH₂O, $J = 7,2$ Hz), 6,34 (d, 1H, H-6, $J = 8,0$ Hz), 6,56 (d, 1H, H-5, $J = 8,0$ Hz), 7,12 (d, 2H, $J = 7,8$ Hz), 7,58 (d, 2H, $J = 7,8$ Hz), 8,38 (s, 1H, H-3), 10,14 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 14,6 (CH₃), 21,3 (CH₃), 40,4 (NCH₃), 63,9 (CH₂O), 103,1 (CH), 117,8 (CH), 120,3 (C), 124,1 (CH), 127,3 (2CH), 129,5 (2CH), 130,6 (C), 135,6 (C), 142,2 (C), 143,7 (C), 147,9 (C).

MS: m/z 346 [M + 1]⁺.

Anal. calculé pour C₁₇H₁₉N₃O₃S: C, 59.11; H, 5.54; N, 12.16. Trouvé: C, 59.01; H, 5.65; N, 12.20.

N-(2-Allyl-7-éthoxy-2H-indazol-4-yl)-4-méthylbenzènesulfonamide 48b



Rdt: 53%.

PF: 143-145 °C.

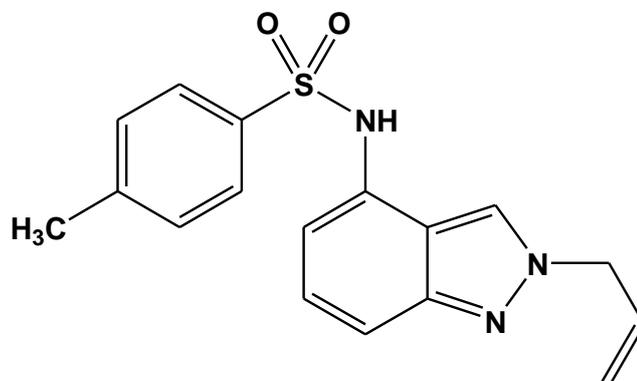
RMN¹H (DMSO-d₆): δ 1,33 (t, 3H, CH₃, J = 7,0 Hz), 2,28 (s, 3H, CH₃), 4,05 (q, 2H, CH₂O, J = 7,0 Hz), 4,95-4,98 (m, 2H, NCH₂), 5,08-5,24 (m, 2H, =CH₂), 5,95-6,05 (m, 1H, =CH), 6,40 (d, 1H, H-6, J = 8,1 Hz), 6,55 (d, 1H, H-5, J = 8,1 Hz), 7,24 (d, 2H, ArH, J = 7,8 Hz), 7,53 (d, 2H, ArH, J = 7,8 Hz), 8,08 (s, 1H, H-3), 9,86 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-d₆): δ 15,1 (CH₃), 21,4 (CH₃), 55,6 (NCH₂), 63,7 (CH₂O), 103,8 (CH), 115,5 (CH), 118,9 (=CH₂), 120,3 (C), 122,0 (C), 123,4 (CH-3), 127,2(2CH), 129,8 (2CH), 133,8 (=CH), 137,4 (C), 142,0 (C), 143,3 (C), 147,3 (C).

SM: m/z 372 (M + 1)⁺.

Anal. calculé pour C₁₉H₂₁N₃O₃S: C, 61,44; H, 5,70; N, 11,31. Trouvé: C, 61,70; H, 5,54; N, 11,51.

N-(2-Allyl-2H-indazol-4-yl)-4-méthylbenzènesulfonamide 49b



Rdt: 44%.

PF: 150-152 °C.

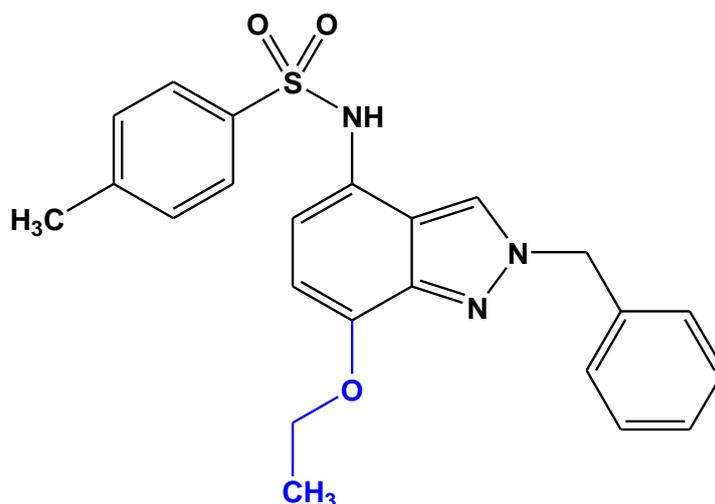
RMN¹H (DMSO-d₆): δ 2,25 (s, 3H, CH₃), 4,96-5,01 (m, 2H, NCH₂), 5,13-5,23 (m, 2H, =CH₂), 5,96-6,06 (m, 1H, =CH), 6,77 (d, 1H, J = 7,2 Hz), 7,04 (t, 1H, J = 7,3 Hz), 7,23 (d, 1H, J = 7,2 Hz), 7,55 (d, 2H, ArH, J = 7,4 Hz), 7,65 (d, 2H, ArH, J = 7,4 Hz), 8,37 (s, 1H, H-3), 10,34 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-d₆): δ 21,3 (CH₃), 55,7 (NCH₂), 111,0 (CH) 113,6 (CH), 119,1 (=CH₂), 120,3 (C), 122,0 (C), 123,2 (CH-3), 126,1 (CH), 127,2 (2CH), 129,8 (2CH), 133,8 (=CH), 137,3 (C), 142,0 (C), 149,4 (C).

SM: m/z 328 (M + 1)⁺.

Anal.calculé pour C₁₇H₁₇N₃O₂S: C, 62,37; H, 5,23; N, 12,83. Trouvé: C, 62,52; H, 5,08; N, 12,95.

***N*-(2-Benzyl-7-éthoxy-2H-indazol-4-yl)-4-méthylbenzènesulfonamide 48c**



Rdt: 45%

PF: 156-158 °C.

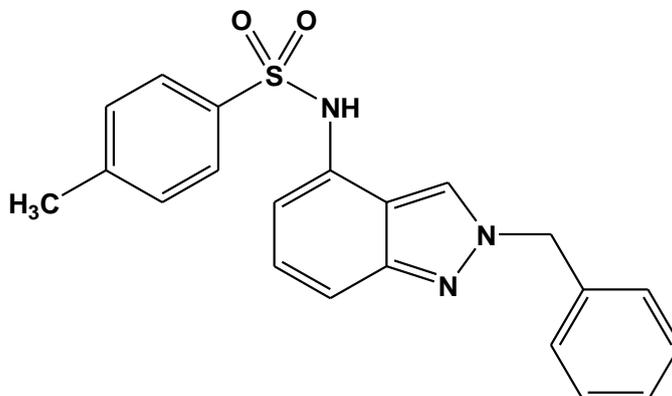
RMN¹H (CDCl₃): δ 1,47 (t, 3H, CH₃, J = 7,1 Hz), 2,32 (s, 3H, CH₃), 4,15 (q, 2H, CH₂O, J = 7,1 Hz), 5,54 (s, 2H, NCH₂), 6,33 (d, 1H, H-6, J = 7,9 Hz), 6,56 (d, 1H, H-5, J = 7,9 Hz), 7,10 (d, 2H, ArH, J = 7,7 Hz), 7,23-7,35 (m, 5H, ArH), 7,53 (d, 2H, ArH, J = 7,7 Hz), 7,82 (s, 1H, H-3), 8,96 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 14,6 (CH₃), 21,5 (CH₃), 57,5 (NCH₂), 64,0 (CH₂O), 103,3 (CH), 118,4 (CH), 120,3 (C), 121,2 (C), 122,9 (CH-3), 127,4 (2CH), 128,2 (2CH), 128,5 (CH), 128,9 (2CH), 129,4 (2CH), 135,2 (C), 136,0 (C), 142,0 (C), 143,6 (C), 148,2 (C).

MS: m/z 422 (M + 1)⁺.

Anal. calculé pour C₂₃H₂₃N₃O₃S: C, 65,54; H, 5,50; N, 9,97. Trouvé: C, 65,68; H, 5,42; N, 10,11.

***N*-(2-Benzyl-2*H*-indazol-4-yl)-4-méthylbenzènesulfonamide 49c**



Rdt: 38%.

PF: 180-182 °C

RMN¹H (CDCl₃): δ 2,31 (s, 3H, CH₃), 5,60 (s, 2H, NCH₂), 6,84 (d, 1H, *J* = 7,8 Hz), 7,13 (d, 2H, ArH, *J* = 7,8 Hz), 7,28-7,41 (m, 7H, ArH), 7,66 (d, 2H, ArH, *J* = 7,8 Hz), 7,82 (s, 1H, H-3), 8,85 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 21,5 (CH₃), 57,3 (NCH₂), 113,0 (CH), 114,1 (CH), 117,3 (C), 124,7 (CH-3), 126,4 (CH), 127,3 (2CH), 128,4 (2CH), 128,8 (CH), 129,0 (2CH), 129,6 (2CH), 129,7 (C), 134,2 (C), 135,8 (C), 144,0 (C), 147,1 (C).

SM: m/z 378 (M + 1)⁺.

Anal. calculé pour C₂₁H₁₉N₃O₂S: C, 66,82; H, 5,07; N, 11,13. Trouvé: C, 66,69; H, 5,12; N, 10,98.

Références bibliographiques

1. (a) March, J. *Advanced Organic Chemistry*; John Wiley & Sons: New York, **1985**;
(b) Rylander, P. N. *Catalytic Hydrogenation over Platinum Metals*; Academic Press: New York, **1967**. pp 168–202; (c) Rylander, P. N. *Hydrogenation Methods*; Academic Press: New York, **1985**; (d) Siegel, S. In *Comprehensive Organic Synthesis*; Trost, B. M., Fleming, I., Eds.; Pergamon Press: Oxford, **1991**; Vol. 8, pp 418–442; (e) Hudlicky, M. *Reductions in Organic Chemistry*; Ellis Horwood Ltd: Chichester, **1984**. pp 1–13; (f) Smith, G. V.; Nothessiz, F. *Heterogeneous Catalysis in Organic Chemistry*; Academic Press: New York, 1999. pp 71–79.
2. Evangelisti, C., Aronica, L. A., Botavina, M., Martra, G., Battocchio, C., Polzonetti, G. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2013**, *366*, 288–293
3. Kasparian, A. J., Savarin, C., Allgeier, A. M., Walker, S. D. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 9841–9844.
4. Belley, M., Sauer, E., Beaudoin, D., Duspara, P., Trimble, L. A., Dube, P. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 159–162.
5. Yoo, C. L., Fettinger, J. C., Kurth, M. J. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 6941–6943
6. Bates, D. K., Li, K. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 8662–8665
7. Chauhan, J., Fletcher, S. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 4951–4954
8. Zhou, Y., Li, J., Liu, H., Zhao, L., Jiang, H. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 8511–8514
9. Li, X., Chu, S., Feher, V. A., Khalili, M., Nie, Z., Margosiak, S., Nikulin, V., Levin, J., Sprankle, K. G., Tedder, M. E., Almassy, R., Appelt, K., Yager, K. M. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5663–5673.
10. Bouissane, L.; El Kazzouli, S.; Leger, J-M.; Jarry, C.; Rakib, E.M.; Khouili, M.; Guillaumet, G. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 8218–8225.
11. Bouissane, L.; El Kazzouli, S.; Léonce, S.; Pfeiffer, B.; Rakib, E.M.; Khouili, M.; Guillaumet, G. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 1078–1088.
12. Abbassi, N., Rakib, E. M., Zouihri, H. *Acta Cryst.* **2011**, *E67*, 1354.
13. Uchuskin, M. G., Molodtsova, N. V., Abaev, V. T., Trushkov, I. V., Butin, A. V. *Tetrahedron* **2012**, *68*, 4252–4258.
14. Xing, W.-K., Ogata, Y. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 2515–2520

15. McAllister, L. A., Bechle, B. M., Dounay, A. B., Evrard, E., Gan, X., Ghosh, S., Kim, J-Y., Parikh, V. D., Tuttle, J. B., Verhoest, P. R. *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 3484-3497.

16. Abbassi, N., Rakib, E. M., Zouihri, H. *Acta Cryst.* **2011**, E67, 156

CHAPITRE III

**Réduction des 6-nitroindazoles et des
nitrohétéroaryles par SnCl_2 dans différents
alcools : Synthèse de nouveaux systèmes
hétérocycliques**

La voie de synthèse originale de la réduction des 4-, 7-nitroindazoles, nous a permis de localiser le site réactif vis-à-vis du mélange SnCl₂/ROH de point de vue substitution nucléophile de l'alcool. Dans le cas de 4-nitroindazole, la réduction suivi de couplage de l'amine correspondante a permis de préparer une nouvelle série de 4-indazolylarylsulfonamides fonctionnalisés en position 7 par un groupement alkoxy. Dans le cas de 7-nitroindazole,¹ la réduction suivie du couplage de l'amine correspondant a conduit à la synthèse de nouvelle série de 7-indazolylarylsulfonamides fonctionnalisés en position 4 par un groupement alkoxy. Plusieurs facteurs ont été examinés pour orienter la réaction de réduction vers la synthèse des composés substitués par un groupement alkoxy avec un bon rendement.

Afin de généraliser les conditions mises au point, et pour examiner l'effet de la position du groupement nitro de l'indazole et l'effet de la nature de la structure sur l'évolution de la réaction de réduction des dérivés nitrés par SnCl₂ dans ROH, nous nous sommes intéressés dans ce chapitre à la réduction des dérivés de 6-nitroindazole et d'autres dérivés nitrohétéroaryles par le chlorure stanneux dans différents alcools.

I. Réduction des 6-nitroindazoles avec SnCl₂/ROH

1. Réduction des 3-halogéno-6-nitroindazoles

La réaction de réduction des 3-halogéno-6-nitroindazoles **1a,b** avec le chlorure stanneux dans l'éthanol suivi du couplage de l'amine correspondante par le chlorure de tosyle n'a permis d'obtenir que les indazoles mono-substitués **2a,b** et di-substitués **3a,b** (schéma 1). Dans ce cas, nous n'avons pas pu isoler le sulfonamide substitué par un groupement éthoxy. Ce résultat est différent de celui observé pour la réduction des 4-, 7-nitrohalogénoindazoles ; la réaction de réduction a conduit à côté du sulfonamide non substitué au sulfonamide substitué par un groupement éthoxy.

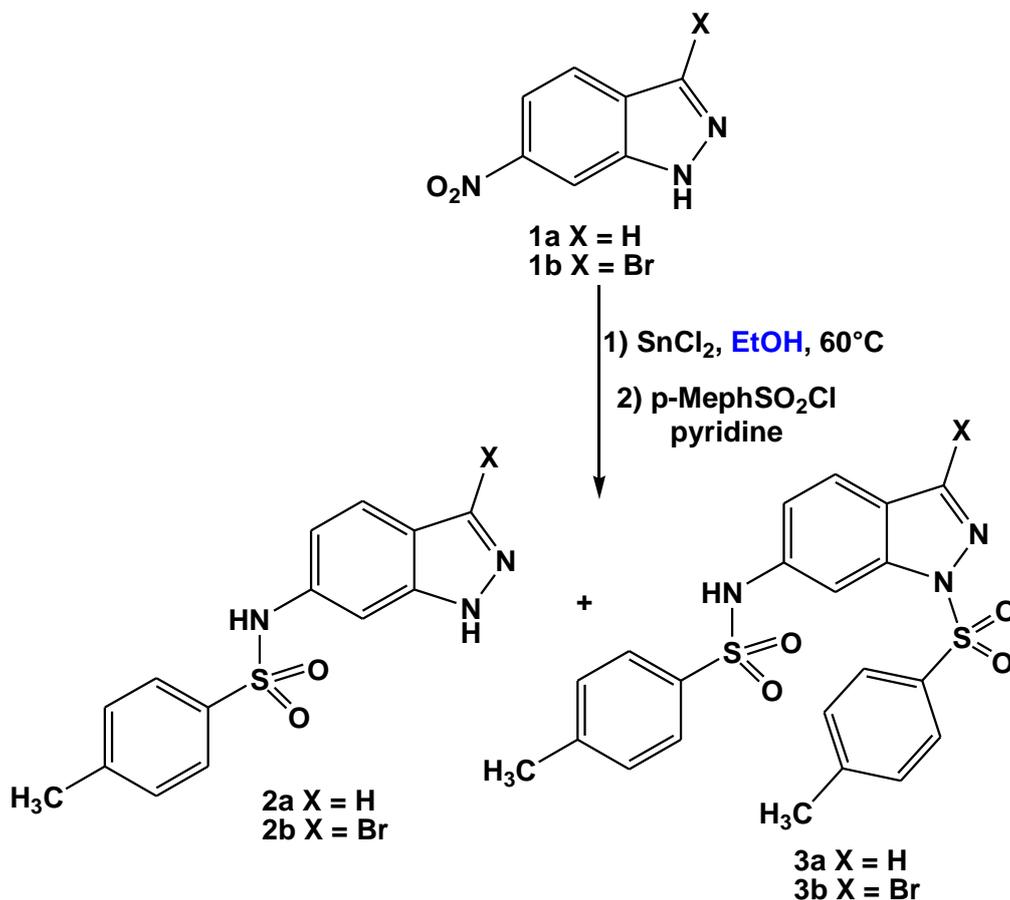


Schéma 1

Les structures des composés **2a,b** et **3a,b** ont été établies sur la base des données spectrales RMN¹H, RMN¹³C et spectrométrie de masse.

Dans le but d'orienter la réaction de réduction du 6-nitroindazole vers la synthèse des sulfonamides substitués par un groupement alkoxy, nous avons étudié l'effet de l'agent alkylant en position 1 et/ou 2 de 6-nitroindazole.

2. Réduction des 1-alkyl-6-nitroindazoles

Dans les mêmes conditions opératoires citées précédemment, la réduction des 1-alkyl-6-nitroindazoles **4a,b** par $\text{SnCl}_2/\text{EtOH}$ suivi du couplage de l'amine correspondante par le chlorure d'arylsulfonyle n'a permis d'isoler que les sulfonamides indazoliques non substitués **5a,b** avec des rendements respectifs de 69% et 74%. Ce résultat montre que la protection de l'azote en position 1 de l'indazole n'a pas d'effet pour orienter la réaction vers la synthèse de l'indazole substitué par un groupement éthoxy.

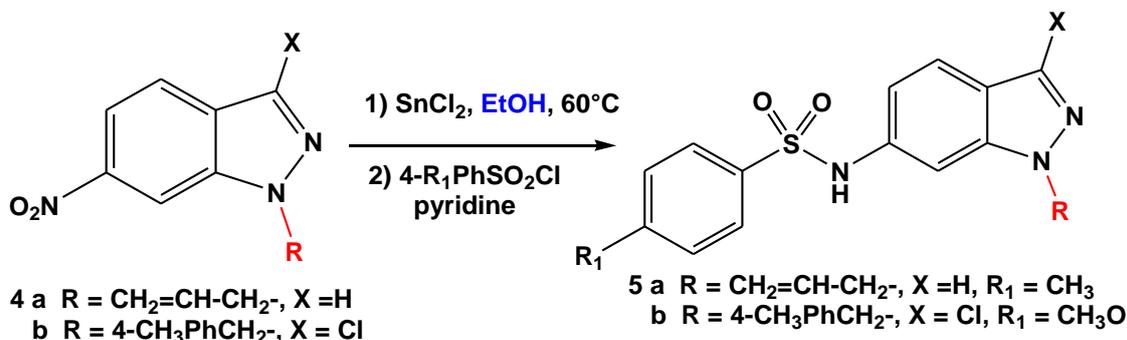


Schéma 2

Les structures des sulfonamides **5a,b** ont été établies sur la base des données spectrales RMN^1H , RMN^{13}C et DEPT.

3. Réduction des 2-alkyl-6-nitroindazoles

Nous avons ensuite envisagé l'effet de la protection de la position 2 de l'indazole par différents groupements alkyles sur la réduction du 6-nitroindazole. Dans ces conditions, la réaction de réduction des dérivés alkylés en position N-2 par SnCl_2 dans l'éthanol suivi de couplage de l'amine correspondante par le chlorure de tosylate a donné un mélange de deux produits: le sulfonamide escompté **7a,b** et le sulfonamide substitué en position 7 de l'indazole par un groupement éthoxy **8a,b** avec des rendements proportionnels (schéma 3). Ce résultat montre l'intérêt de l'agent protecteur en position 2 pour accéder aux 7-éthoxy-indazoles.

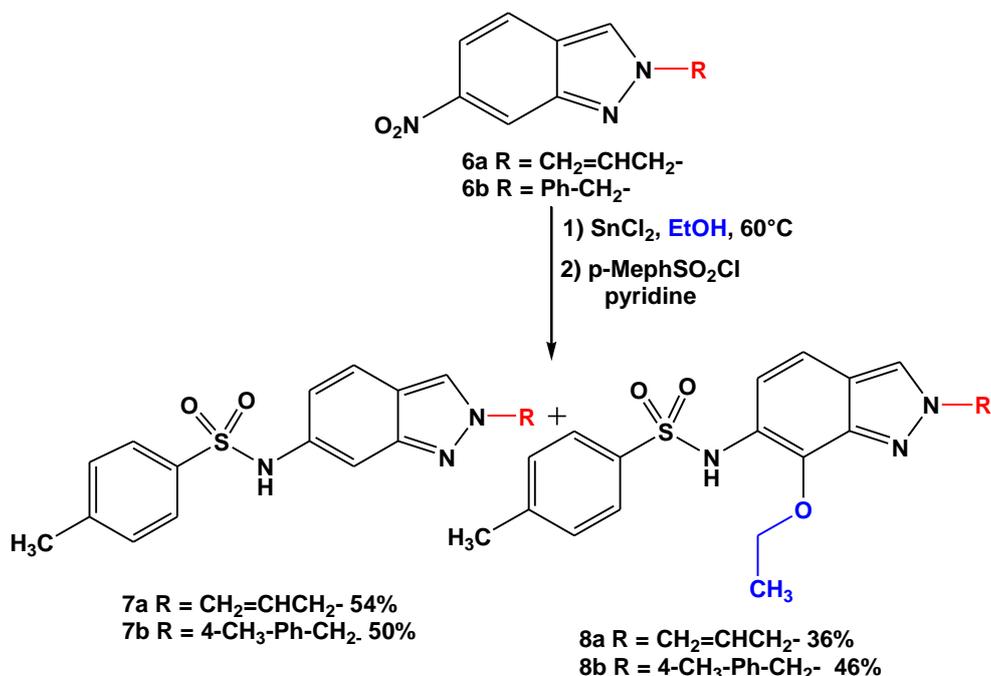


Schéma 3

Les structures des composés 7a,b et 8a,b ont été établies sur la base des données spectrales RMN¹H, RMN¹³C, spectrométrie de masse et analyse élémentaire.

La fixation du groupement éthyloxy en position 7 de l'indazole a été confirmée par l'analyse cristallographique du composé 8a (Figure 1).¹

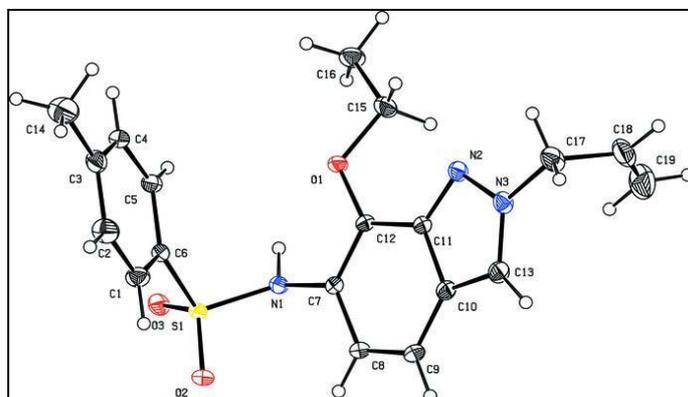


Figure 1. ORTEP de *N*-(2-allyl-7-éthoxy-2H-indazol-6-yl)-4-méthylbenzène-sulfonamide **8a**

Les mêmes conditions citées précédemment appliquées sur la réduction de l'éthyl 3-(6-nitro-2H-indazol-2-yl)propanoate **9** suivie du couplage de l'amine correspondante par le chlorure 4-méthoxysulfonyl ont conduit à l'obtention de deux produits: 3-[7-éthoxy-6-(4-méthoxy-benzènesulfonylamino)-indazol-2-yl]-propanoate **11** et 3-[6-(4-méthoxy-benzènesulfonylamino)-indazol-2-yl]propanoate **10** (schéma 4).

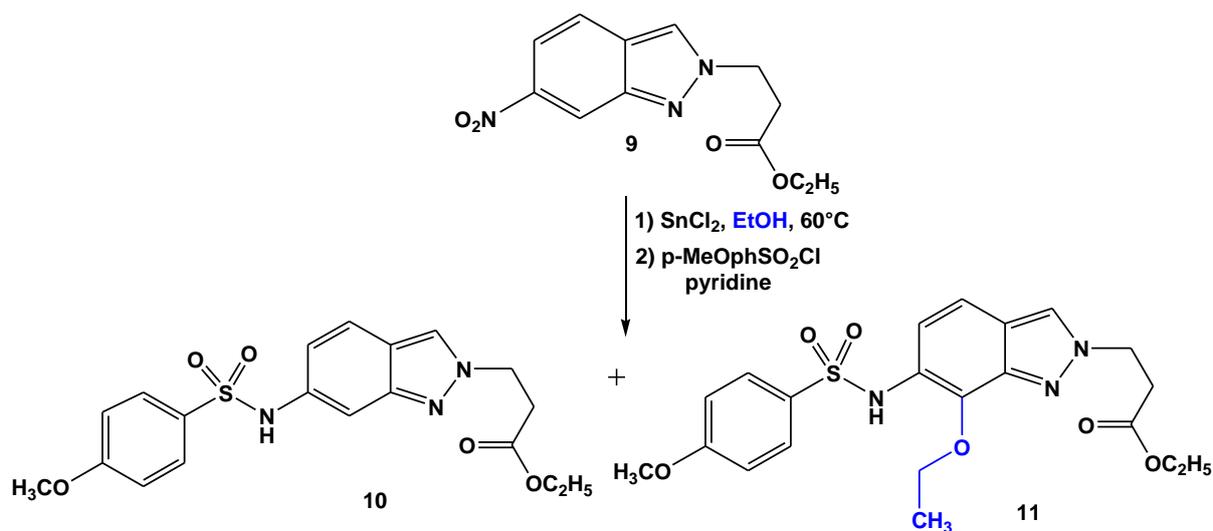


Schéma 4

Les structures des sulfonamides **10** et **11** ont été établies sur la base des données spectrales RMN¹H, RMN¹³C, spectrométrie de masse et analyse élémentaire.

Outre l'analyse spectroscopique, les structures des composés **10** et **11** ont été confirmées par analyse cristallographique.

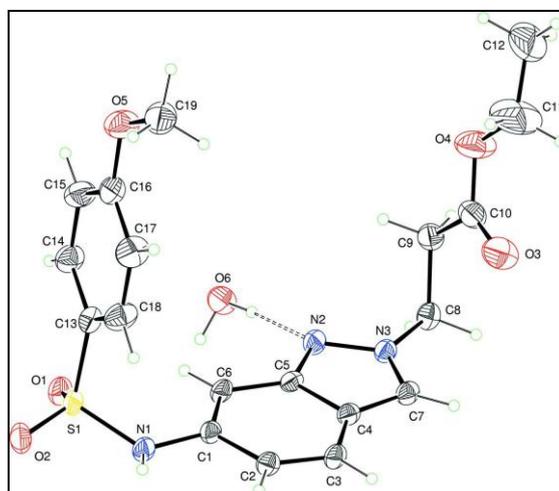


Figure 2. ORTEP de 3-[6-(4-méthoxy-benzènesulfonylamino)-indazol-2-yl]-propanoate **10**²

La représentation ORTEP du composé **11** nous indique clairement que la fixation du groupement éthoxy a été réalisée en position 7 de l'indazole (Figure 3).³

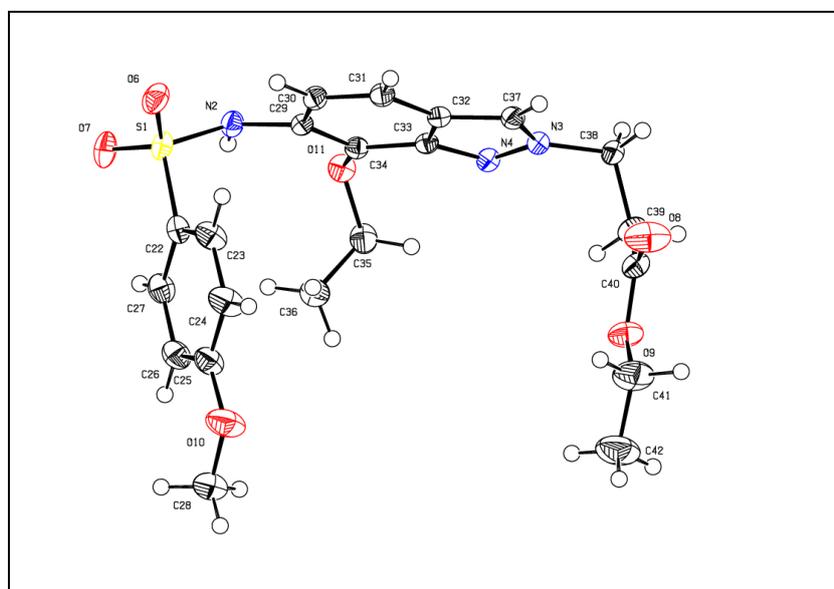


Figure 3. ORTEP du 3-[7-éthoxy-6-(4-méthoxy-benzènesulfonylamino)-indazol-2-yl]-propanoate **11**

Pour préparer de nouveaux dérivés de l'indazole substitué en position 7 par d'autres groupements alkoxy autres que le groupe éthoxy, nous avons étudié la réaction de réduction du 2-allyl-6-nitroindazole **6a** avec le chlorure stanneux dans

différents alcools suivie du couplage de l'amine correspondante par le chlorure de 4-méthoxybenzène sulfonyle. Dans tous les cas, on obtient un mélange de deux produits: le (2-allyl-6-indazolyl)-arylsulfonamide **12** et le (2-allyl-7-alkoxy-6-indazolyl)-arylsulfonamide **13** (schéma 5).

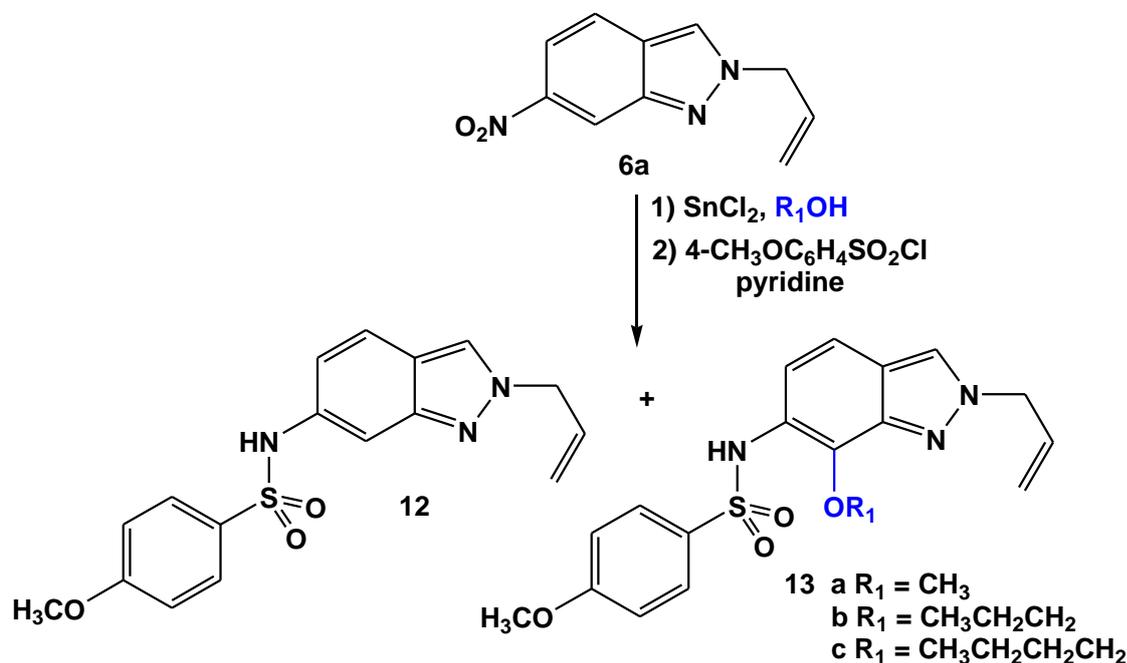


Schéma 5

Les rendements des composés **13a-c** et **12** sont répertoriés dans le tableau 1. On remarque que les rendements obtenus sont presque proportionnels entre les sulfonamides substitués **13** et les sulfonamides non substitués **12**.

Tableau 1. Réduction de 2-allyl-6-nitroindazole par SnCl₂ dans différents alcools

R	Temps de la réduction	Rdt de 13a-c	Rdt de 12	Rdt global (%)
CH ₃	2h30	13a (42%)	46%	88%
CH ₃ (CH ₂) ₂	2h	13b (32%)	50%	82%
CH ₃ (CH ₂) ₃	3h	13c (45%)	45%	90%

Les structures des composés **12** et **13a-c** ont été établies sur la base des données spectrales RMN¹H, RMN¹³C, DEPT et Masse. Dans les figures 4 et 5 nous rapportons les spectres RMN¹H, RMN¹³C et DEPT des composé **13a,b**.

La formation des composés **13a-c** est envisagée selon le mécanisme présenté dans le schéma 6. Par analogie avec des systèmes similaires de la littérature,⁴⁻⁷ nous pensons que la réaction procède d'abord par une réduction partielle du groupe nitro pour former l'hydroxylamine. Par la suite, l'attaque nucléophile de l'alcool en position ortho de l'hydroxylamine indazolique aboutit à l'intermédiaire **[A]**. L'aromatisation de l'homocycle benzénique de l'indazole suivie du couplage de l'amine correspondante par le chlorure de 4-méthoxybenzènesulfonyle conduit aux produits **13a-c** (schéma 6).

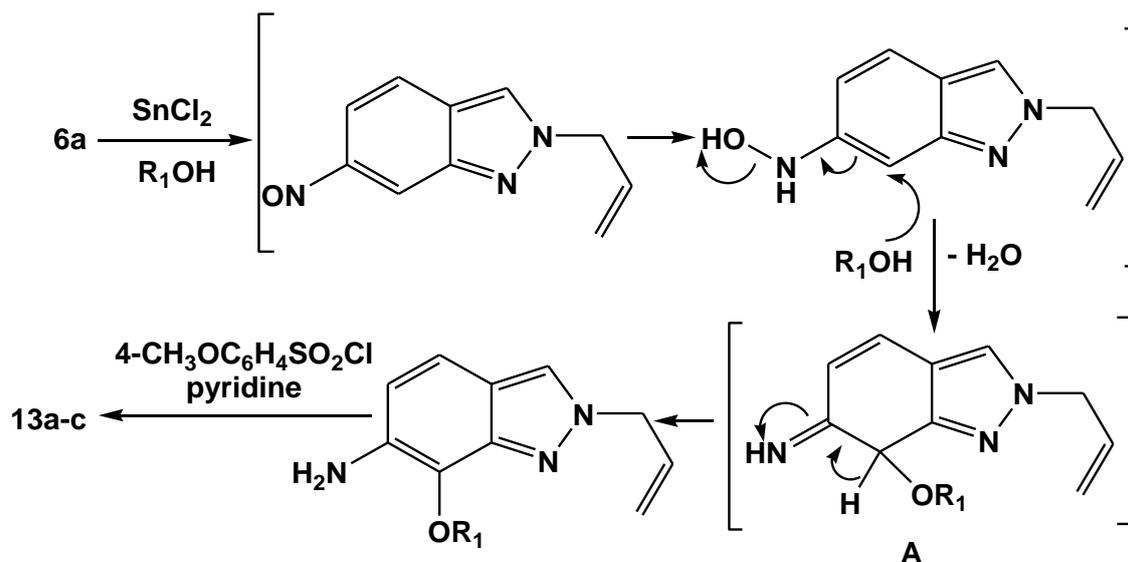


Schéma 6

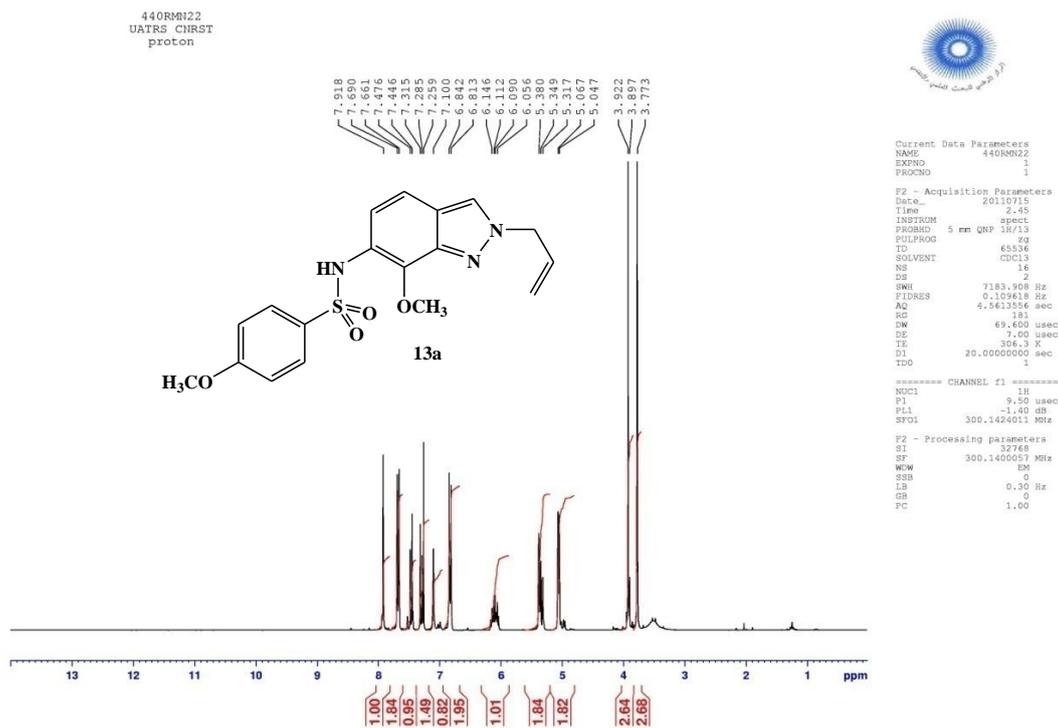


Figure 4. Spectre RMN1H (300MHz, CDCl₃) du composé 13a

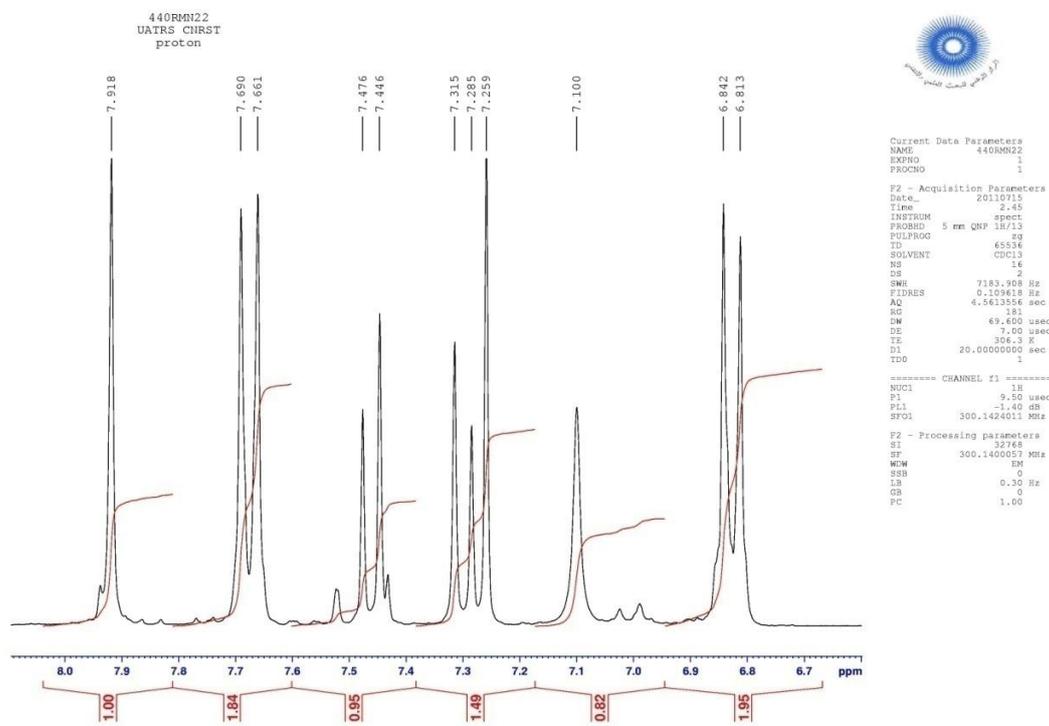


Figure 4. Spectre RMN1H étalé de la zone aromatique du composé 13a

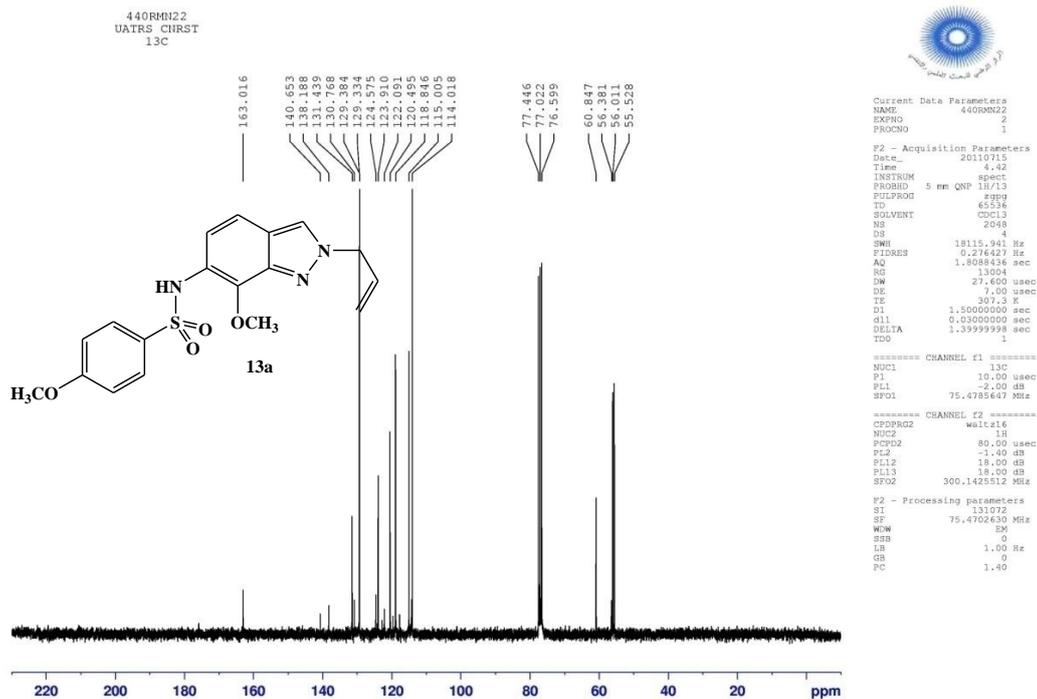


Figure 4. Spectre RMN13C (75 MHz, CDCl₃) du composé 13a

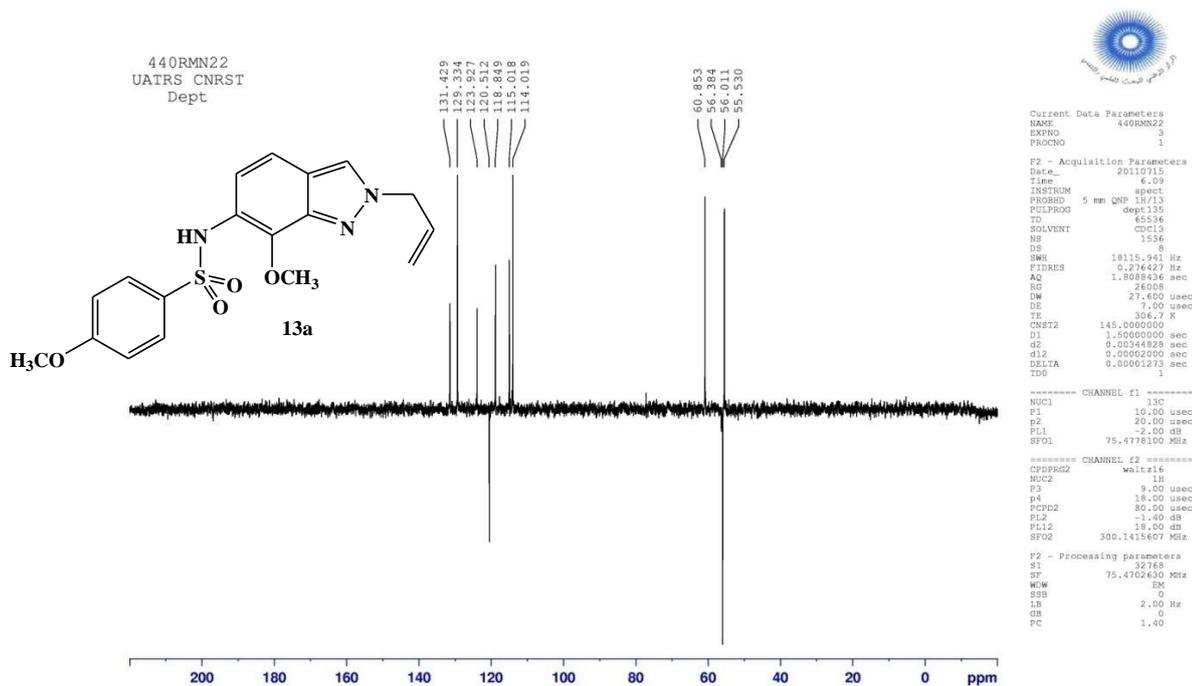


Figure 4. Spectre DEPT du composé 13a

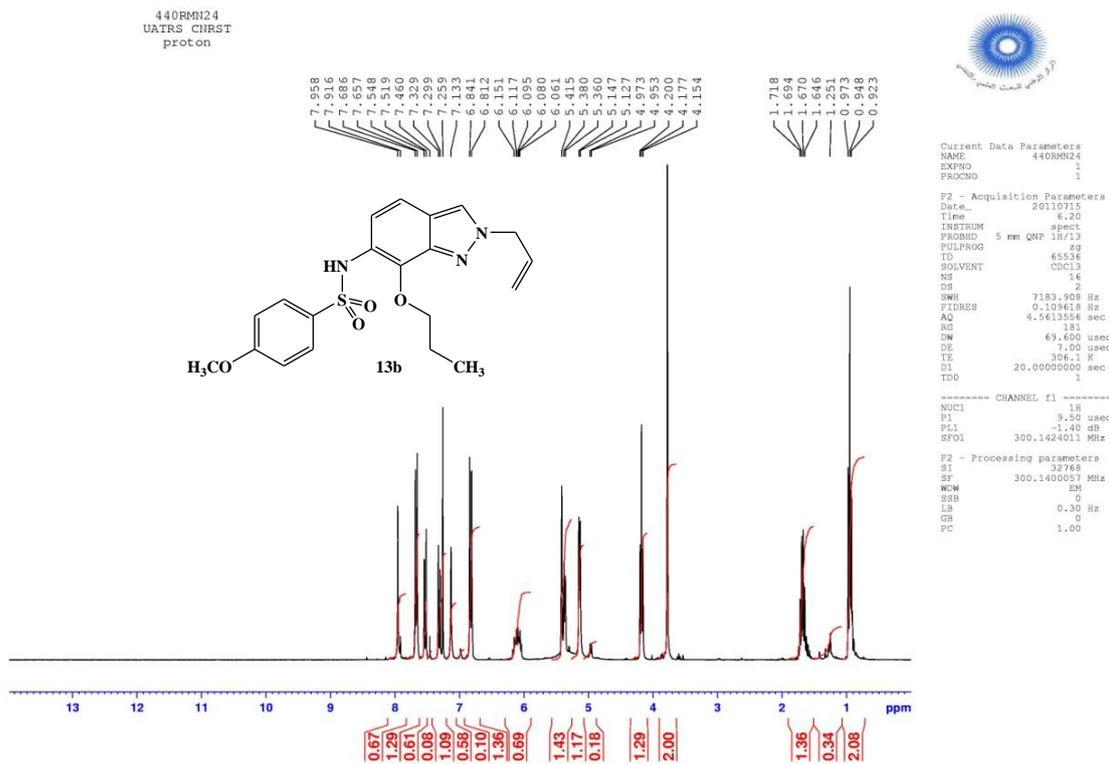


Figure 5. Spectre RMN1H (300MHz, CDCl₃) du composé **13b**

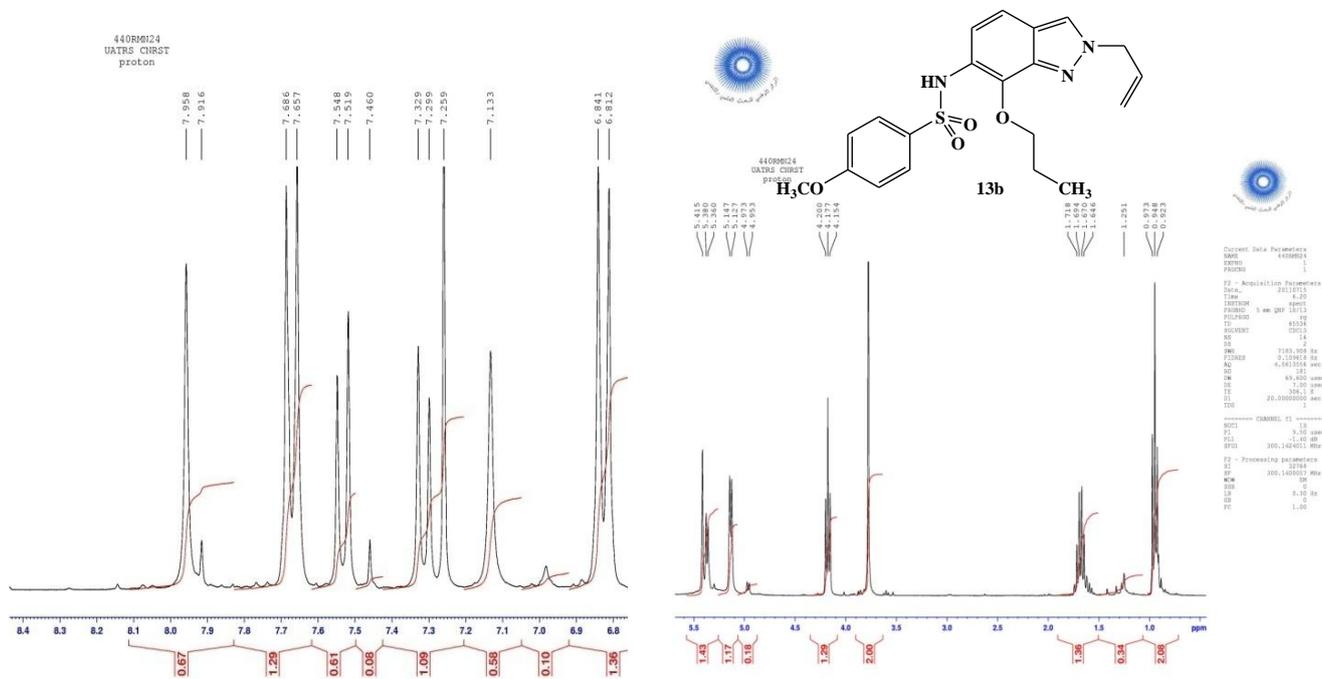


Figure 5. Spectre RMN1H étalé du composé **13b**

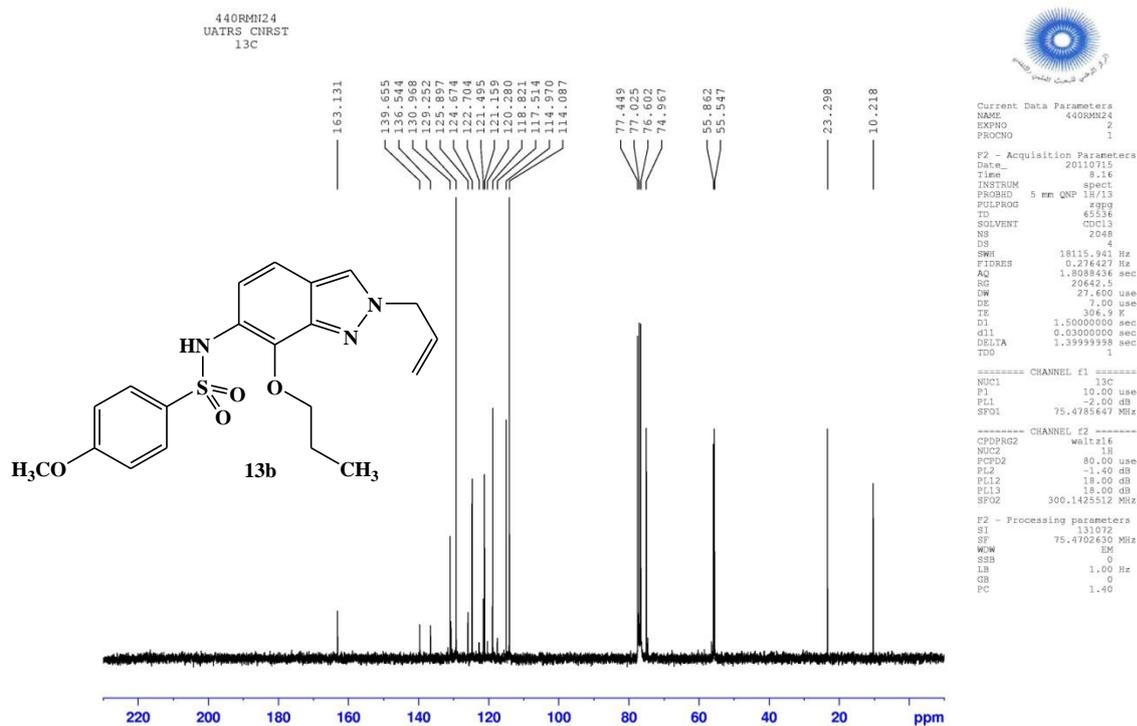


Figure 5. Spectre RMN13C (75 MHz, CDCl₃) du composé 13b

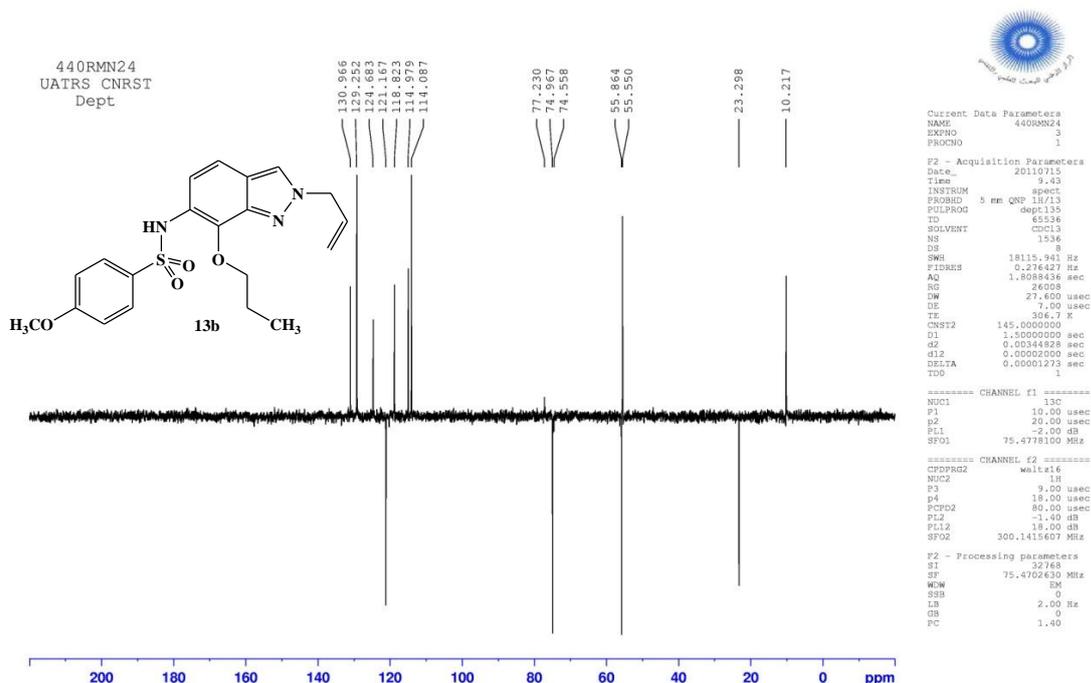


Figure 5. Spectre DEPT du composé 13b

Pour examiner l'effet de la nature de la structure sur la réaction de réduction et élargir notre étude à d'autres nitrohétéroaryles, nous développons dans le paragraphe II, l'étude de la réduction des nitrohétéroaryles de type nitroindoles, nitrobenzothiadiazoles, nitroaldéhyde et l'anhydride 3-nitroptalique par le chlorure stanneux suivie de couplage de l'amine correspondante par le chlorure d'aryle sulfonyle.

II. Réduction des nitrohétéroaryles avec SnCl_2 dans l'éthanol

1. Réduction des nitroindoles

Pour généraliser les résultats obtenus dans la série des 4- et 6-nitroindazoles à d'autres types de structures nitrohétéroaryles, nous avons appliqué les mêmes conditions de réduction citées précédemment au 2-méthyl-4-nitroindole **15**, préparé par réaction de 3-nitroaniline **14** avec l'acétone dans le diméthylsulfoxyde en présence de tertibutanolate de potassium selon la procédure décrite dans la littérature.⁸ La réaction de réduction du 2-méthyl-4-nitroindole **15** n'a permis d'isoler que le 4-amino-2-méthylindole avec un rendement de 74%. Aucune trace de l'aminoindeole substitué par un groupement éthoxy **18** n'a été identifié (schéma 7).

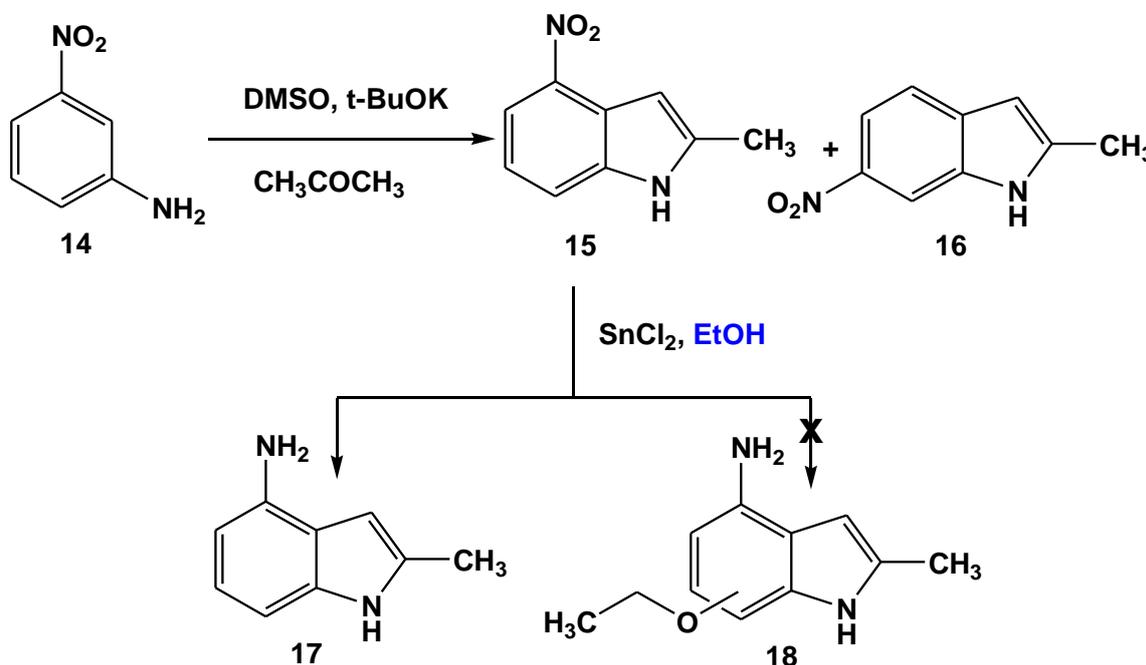


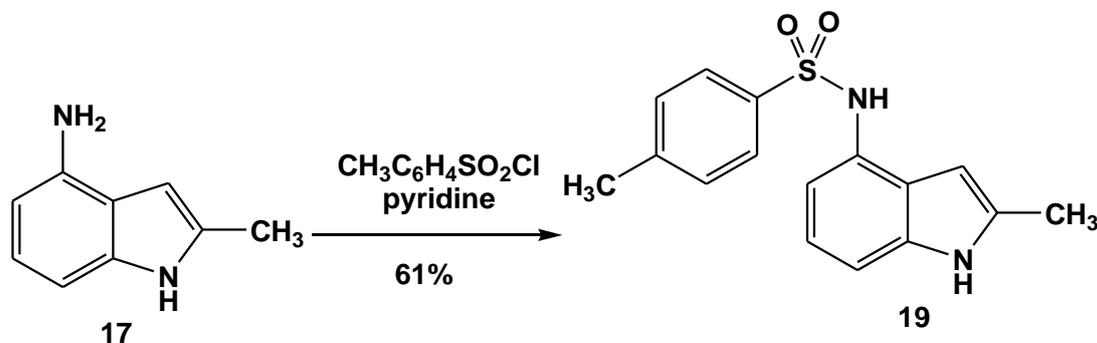
Schéma 7

La structure du composé **17** a été établie sur la base des données spectrales RM^1H , ^{13}C et DEPT.

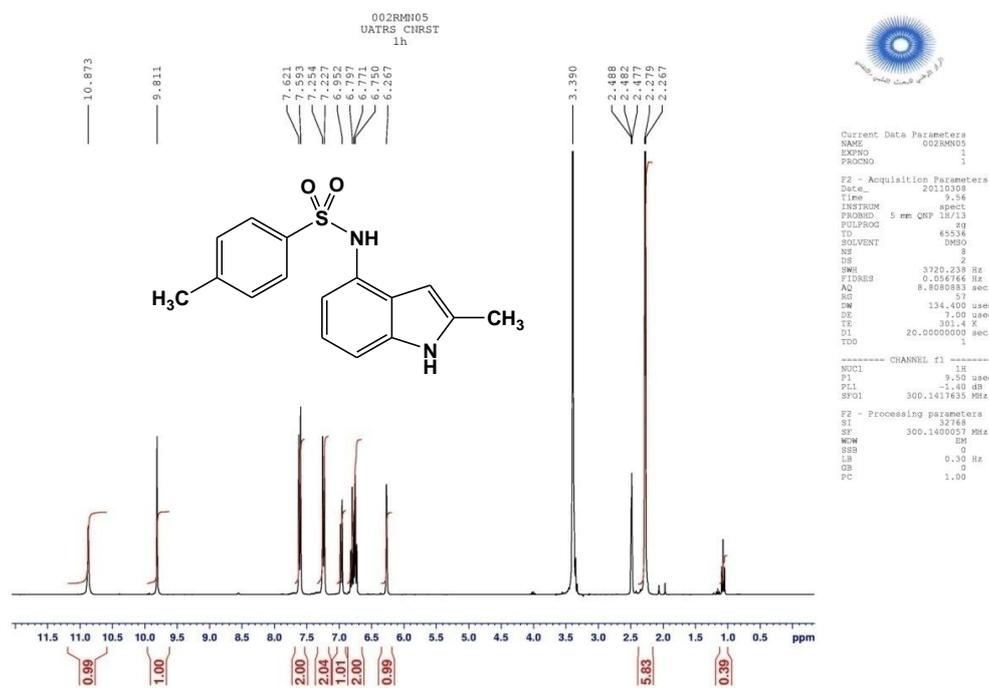
Dans le spectre de RMN^1H , on note en particulier, la présence d'un signal à 4,01 ppm, attribuable aux protons du groupement amine NH_2 , et trois signaux vers

6,58 ppm, 6,88 ppm et 7,70 ppm correspondants aux trois protons de l'homocycle benzénique de l'indole, ce qui exclue exclusivement la présence de la structure **18**.

Le couplage de l'amine correspondante **17** par le chlorure de 4-méthylbenzène sulfonyle dans la pyridine conduit au sulfonamide **19** avec un rendement de 61% (schéma 8).



La structure du composé **19** a été établie sur la base des données spectrales RMN¹H, RMN¹³C et DEPT. Dans la figure ci-dessous, nous rapportons les données RMN¹H, RMN¹³C et DEPT du composé **19**.



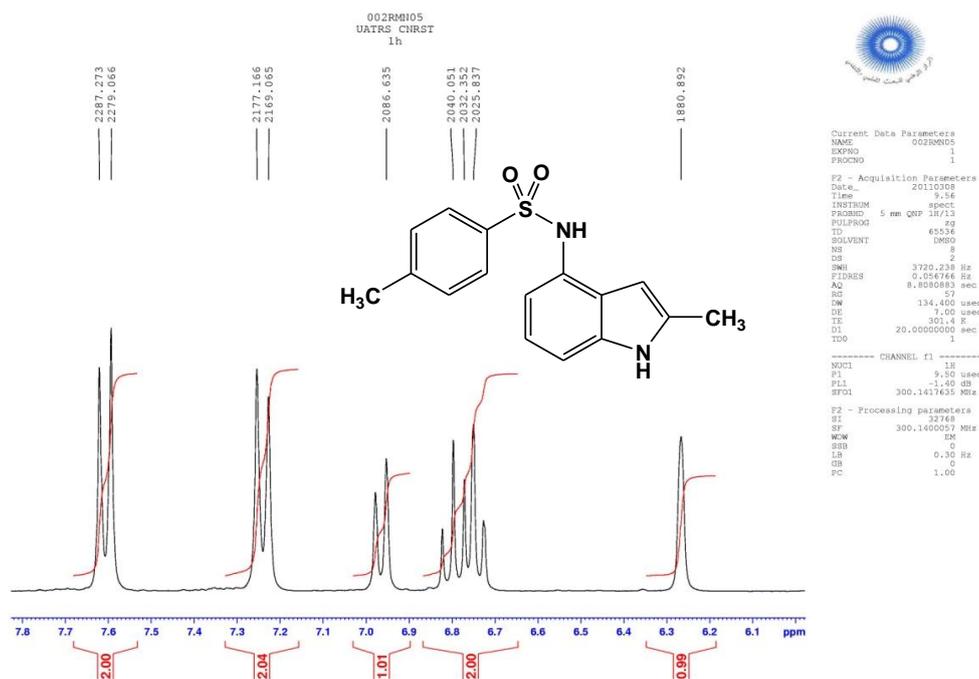


Figure 6. Spectre RMN1H (300MHz, DMSO-d₆) étalé du composé 19

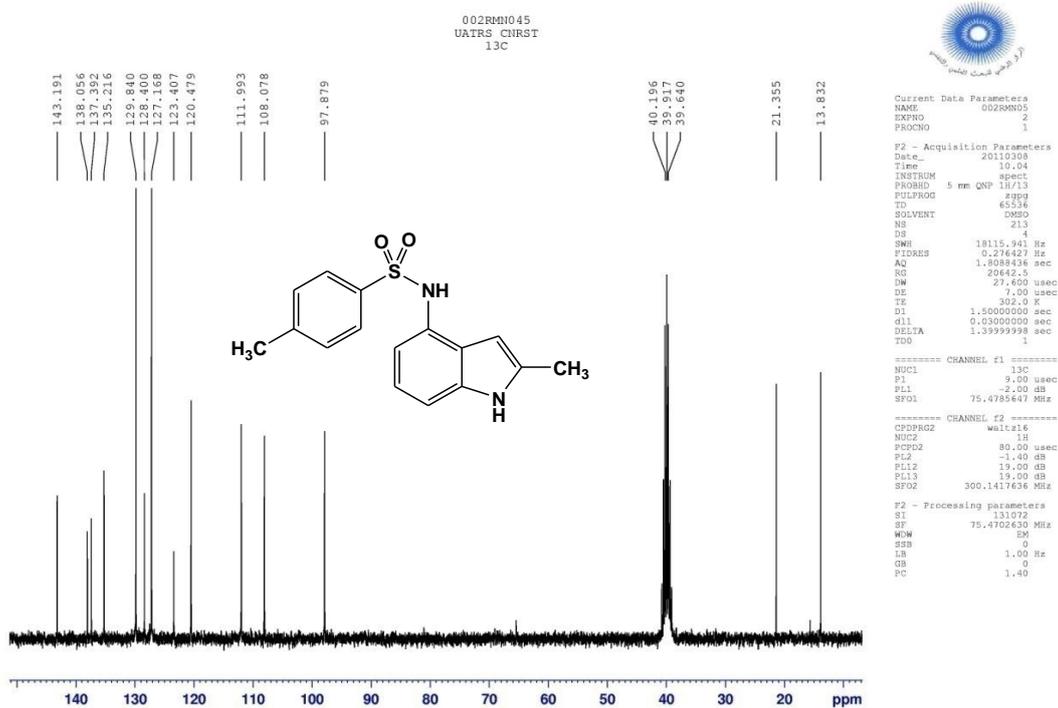


Figure 6. Spectre RMN13C (75 MHz, DMSO-d₆) du composé 19

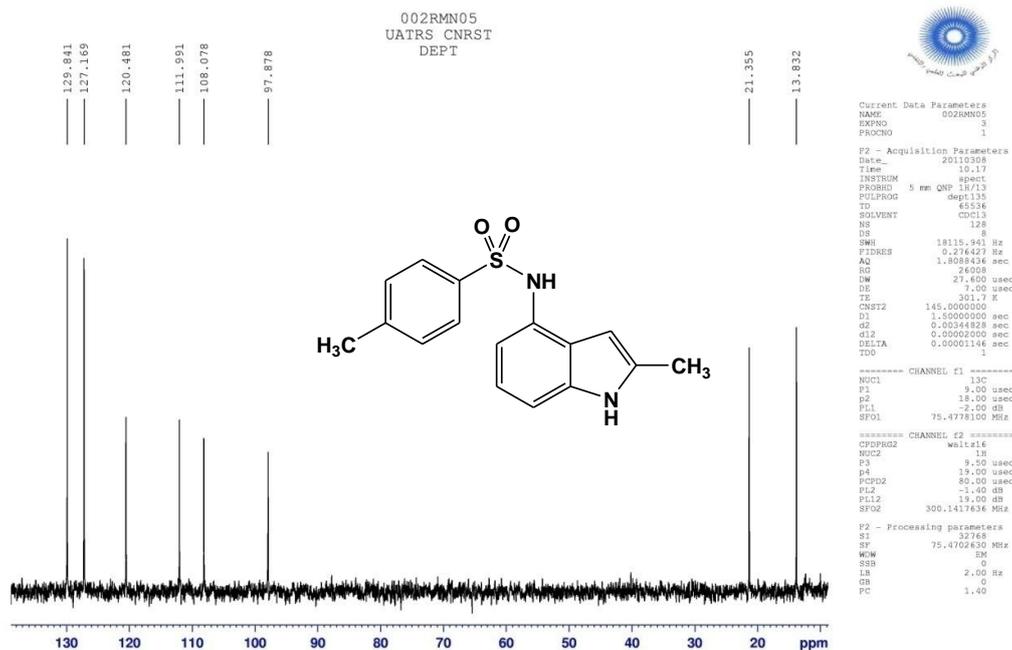


Figure 6. Spectre RMN13C (DEPT) du composé 19

Le même résultat a été observé par notre équipe de recherche⁹ lors de la réduction du 3-iodo-1-méthyl-7-nitroindole **22** préparé par iodation suivie de l'alkylation du produit 7-nitroindole commercialisé **20**. Après réduction du 7-nitroindole **22** suivie du couplage de l'amine correspondante par le chlorure de 4-méthoxybenzenesulfonyle, seul le 4-méthoxy-*N*-(1-méthyl-7-indolyl)-arylsulfonamide **23** non substitué a été identifié (schéma 9).

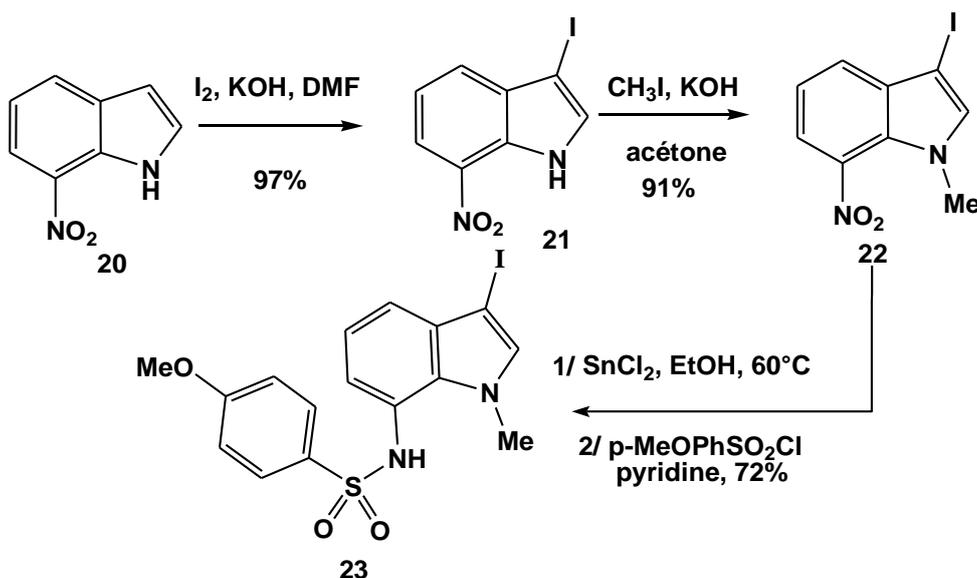


Schéma 9

Ce résultat montre que la nature de la structure joue un rôle fondamental pour l'obtention des dérivés alkoxy suite à la réduction des dérivés nitrés avec le chlorure stanneux.

2. Réduction de 4-nitrobenzothiadiazole

La réduction de 4-nitrobenzothiadiazole **24** par SnCl₂ dans l'éthanol suivi du couplage de l'amine correspondante par le chlorure para-méthylbenzène sulfonyle donne accès au *N*-benzo[1,2,5]thiadiazol-4-yl-méthyl-benzènesulfonamide **25** avec un rendement de 74% (schéma 10). Dans cette réaction le *N*-(7-éthoxybenzo[1,2,5]thiadiazol-4-yl)-méthyl-benzènesulfonamide **26** n'a pas été identifié.

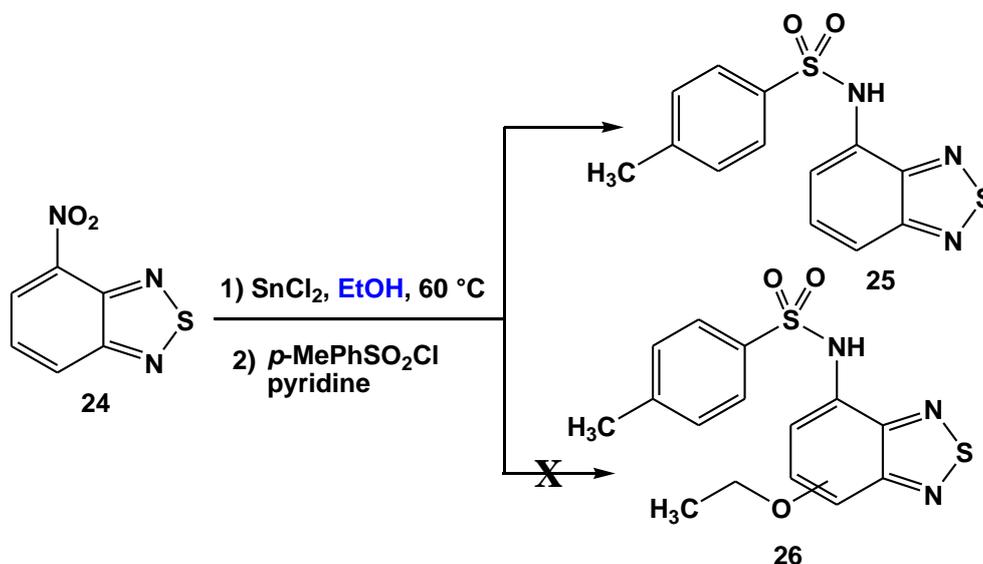


Schéma 10

La structure du composé **25** a été confirmée par les données spectrales de RMN¹H, RMN¹³C et DEPT.

Dans le spectre RMN¹H, on note en particulier la présence des trois signaux dus aux protons de l'homocycle benzénique de benzothiadiazole.

Ce résultat montre bien que la position de NO₂ et la nature de la structure jouent un rôle fondamental pour la synthèse des dérivés alkoxy.

3. Réduction de 2-nitro-benzaldéhyde

La réaction de réduction de 2-nitro-benzaldéhyde **27** avec SnCl₂ dans l'éthanol, suivie de la protection de l'amine correspondante avec le chlorure d'aryle sulfonyle, conduit à un mélange de *N*-(2-formylphényl)-4-méthoxy-*N*-(arylsulfonyl)benzènesulfonamide **28** et 5,11-bis-(arylsulfonyl)-5H,11H-dibenzo[*b,f*][1,5]diazocine-6,12-dione **29** (schéma 11).

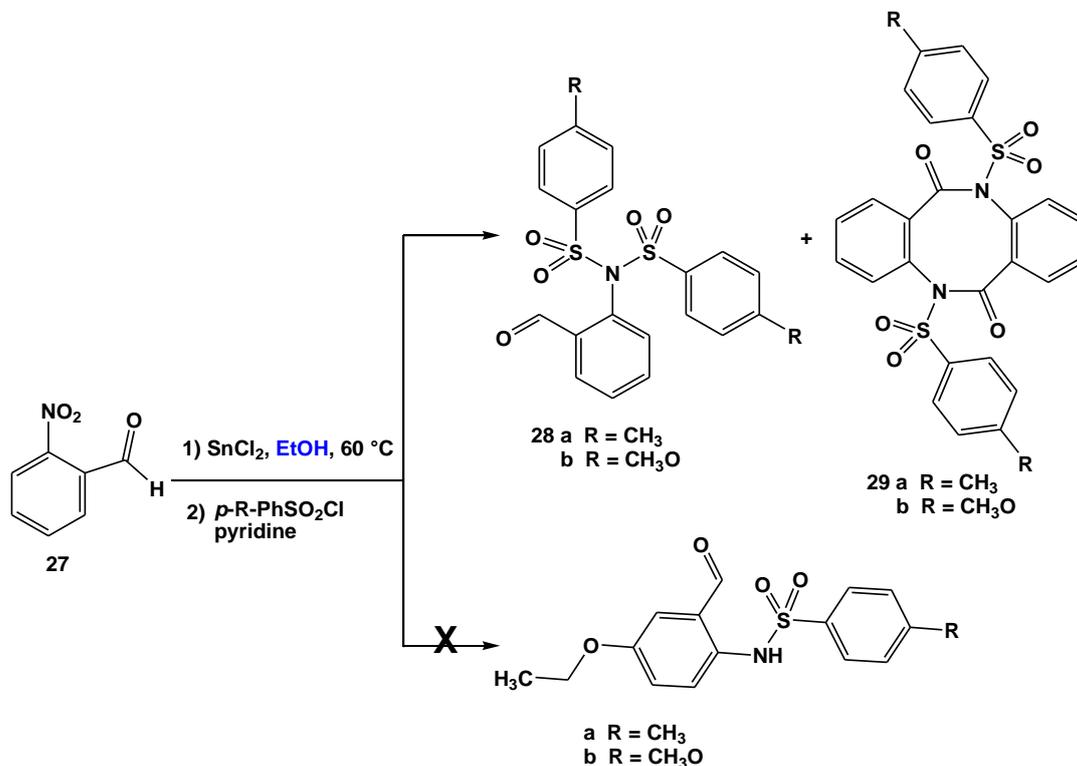


Schéma 11

Les structures des sulfonamides **28** et **29** ont été identifiées grâce à la RMN¹H, RMN¹³C et DEPT. Nous rapportons dans la figure 7 les spectres RMN¹H, RMN¹³C et DEPT du composé **28a**.

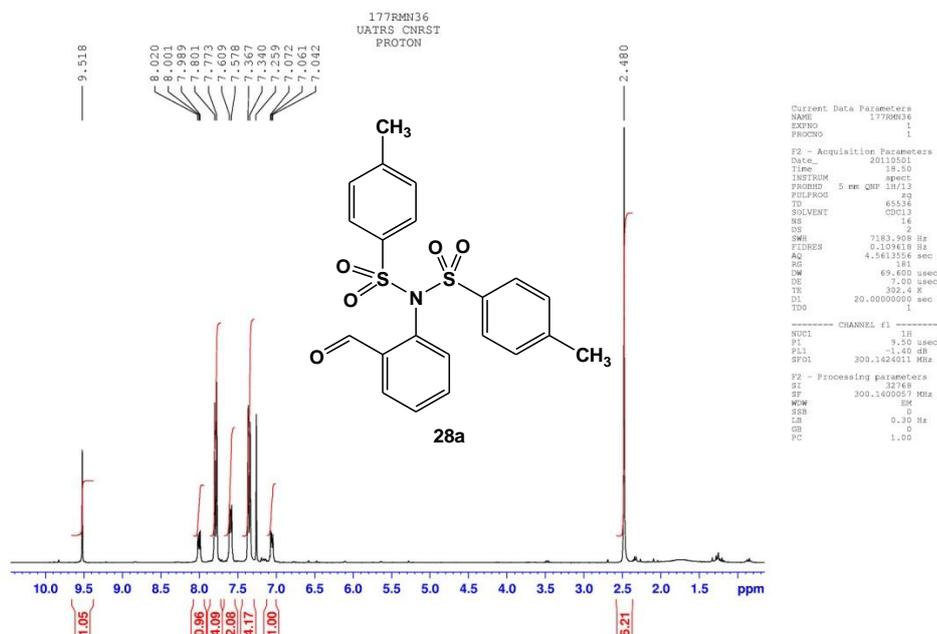


Figure 7. Spectre RMN¹H (300MHz, CDCl₃) du composé **28a**

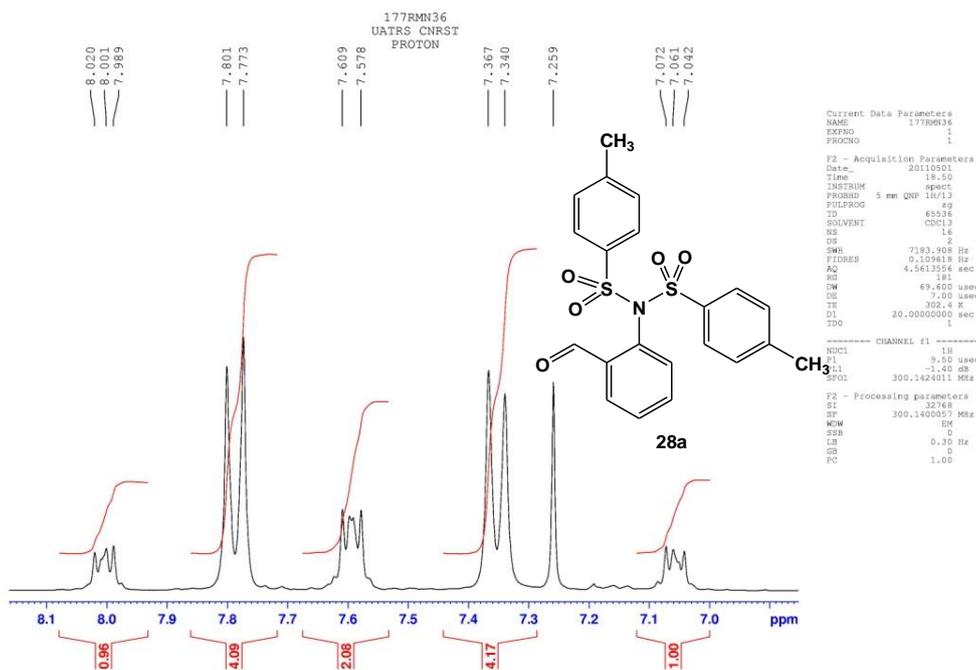


Figure 7. Spectre RMN1H (300MHz, CDCl₃) étalé du composé 28a

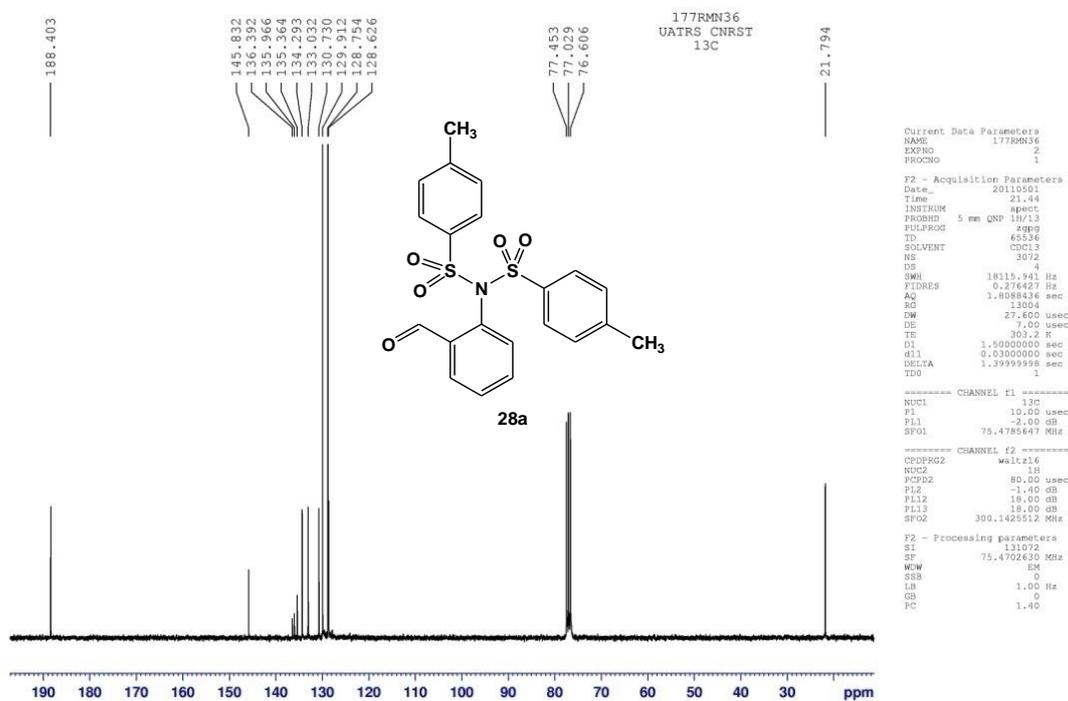


Figure 7. Spectre RMN13C (75MHz, CDCl₃) du composé 28a

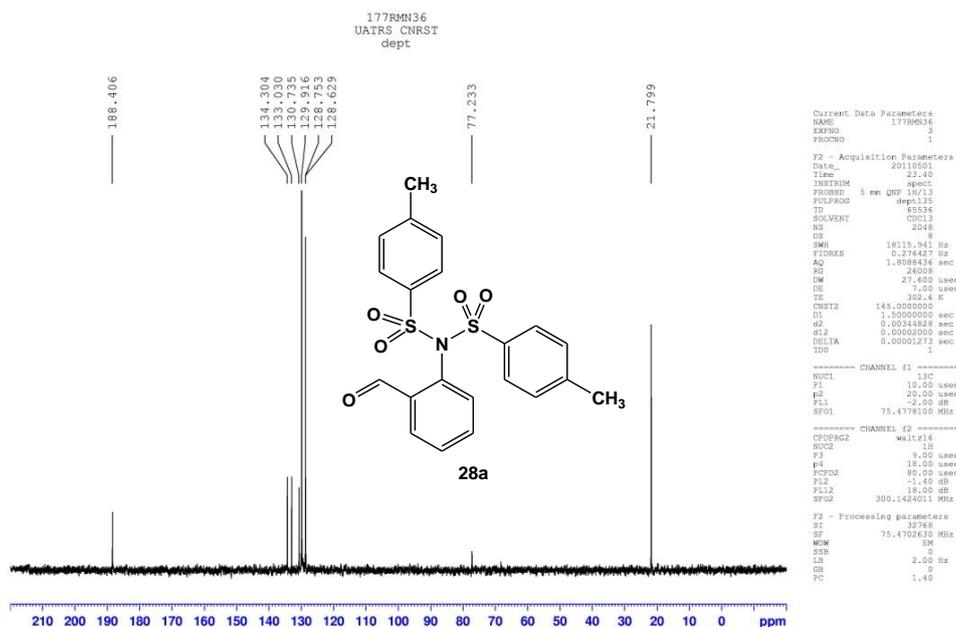


Figure 7. Spectre RMN¹³C (DEPT) du composé **28a**

Outre l'analyse spectroscopique de RMN, une étude de diffraction aux rayons-X a confirmé les structures attribuées aux composés **28b** (Figure 8) et **29a** (Figure 9).^{10,11}

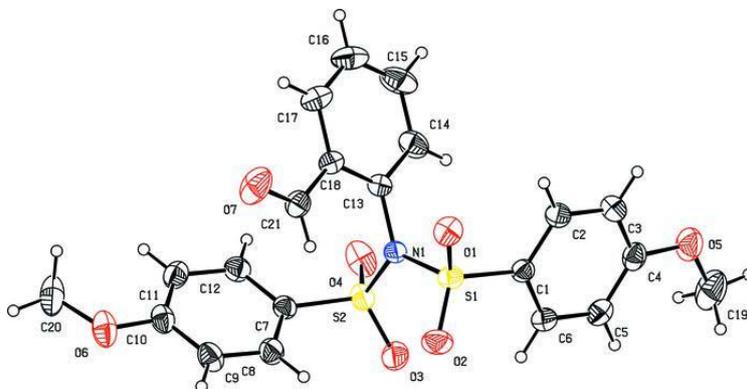


Figure 8. ORTEP de *N*-(2-formylphényl)-4-méthoxy-*N*-(4-méthoxyphénylsulfonyl) - benzènesulfonamide **28b**

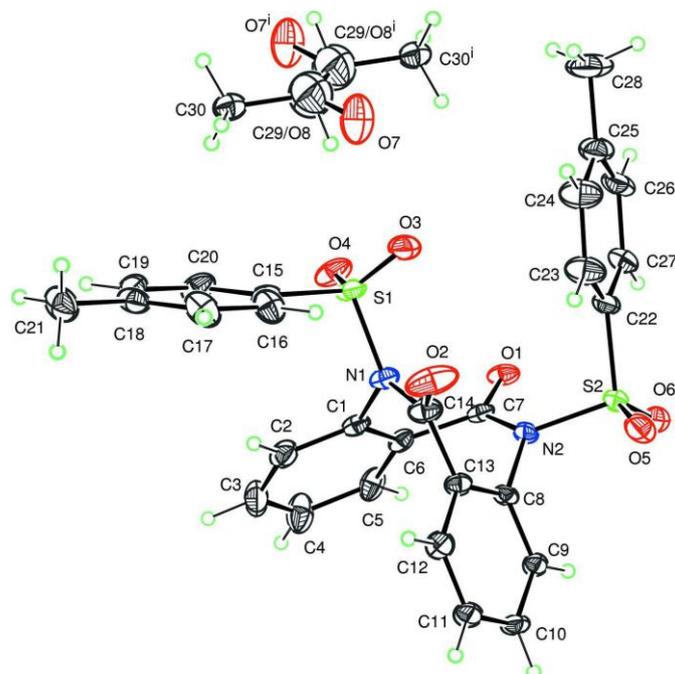


Figure 9. ORTEP de 5,11-ditosyl-5*H*,11*H*-dibenzo[*b,f*][1,5]diazocine-6,12-dione **29a**

Les ORTEPS des deux structures **28b** et **29a** confirment bien l'absence du groupement éthoxy dans le cycle benzénique.

4. Réduction de 2-méthyl-5-nitroimidazole

La réduction du 2-méthyl-5-nitroimidazole **30** avec le chlorure stanneux anhydre dans l'éthanol, suivie du couplage de l'amine correspondante par le chlorure de 4-méthylbenzène sulfonyle, conduit à un mélange de deux produits: le 4-méthyl-*N*-(2-méthyl-3*H*-imidazol-4-yl)-benzènesulfonamide **31** et le *N*-(4-éthoxy-2-méthyl-3*H*-imidazol-4-yl)-4-méthyl-benzènesulfonamide **32** (schéma 12).

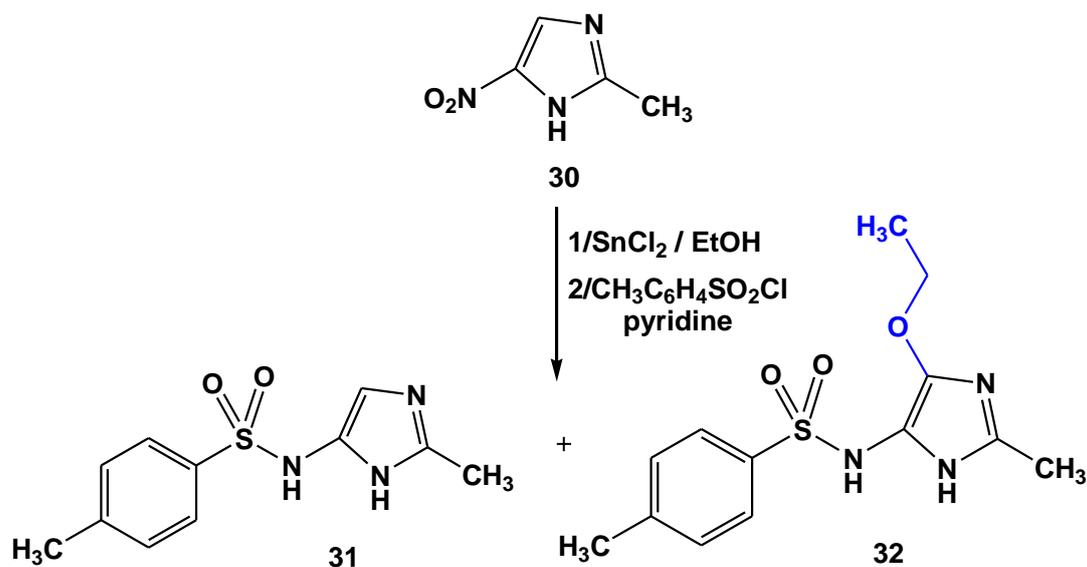


Schéma 12

Les deux composés **31** et **32** inséparables sont obtenus avec des proportions de 56:44 via l'analyse spectrale RMN^1H du mélange. Cette étude sera largement détaillée au sein de notre laboratoire pour examiner les différents facteurs qui orientent la réaction vers la synthèse des dérivés alkoxy de l'imidazole.

5. Réduction de l'anhydride 3-nitroptalique

Pour élargir notre étude à d'autres hétérocycles nitrés, nous avons examiné la réaction de réduction de l'anhydride 3-nitroptalique en adoptant les mêmes conditions citées précédemment. Ainsi, l'action de SnCl_2 sur l'anhydride 3-nitroptalique **33** dans l'éthanol, suivie de couplage de l'amine correspondante par le chlorure para-méthoxybenzène sulfonyle a conduit à la synthèse de deux composés. Le sulfonamide attendu **35** et le produit inattendu l'éthyl 3-oxo-1,3-dihydro-1-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-2,1-benzoxazole-4-carboxylate **34**, obtenu avec un rendement 48% (schéma 13). Aucune trace du sulfonamide **36** substitué par un groupement éthoxy n'a été identifiée.

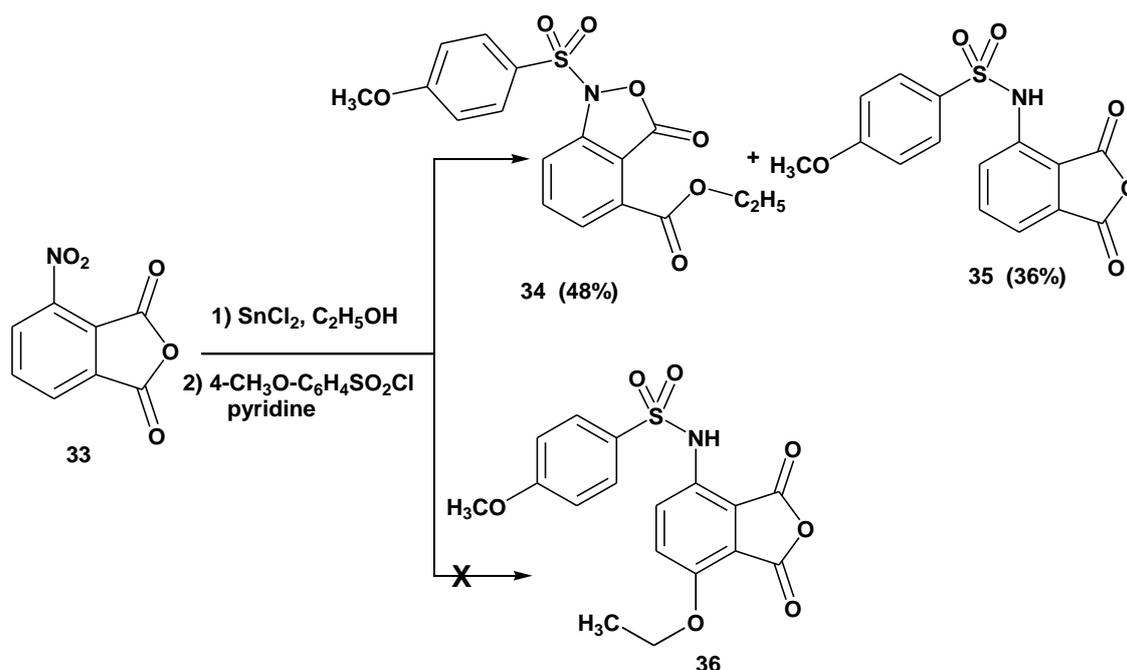


Schéma 13

Les structures des composés **34** et **35** ont été établies sur la base des données spectrales RMN^1H , RMN^{13}C , DEPT et spectrométrie de Masse. Sur les figures 11 et 12, nous représentons les spectres RMN^1H , RMN^{13}C et DEPT des produits **34** et **35**.

Outre l'analyse spectroscopique de RMN, une étude de diffraction aux rayons-X a confirmé la structure attribuée au composé **34** (Figure 10).¹²

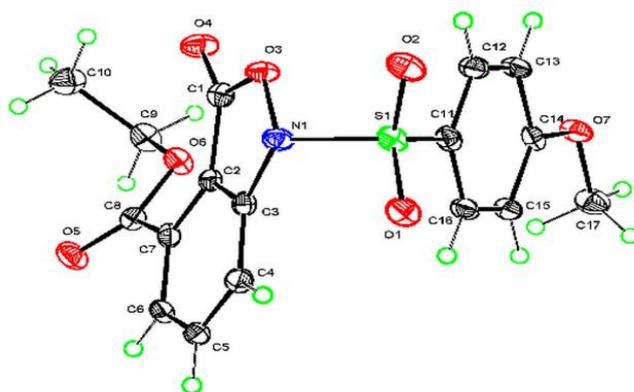


Figure 10. ORTEP de l'éthyl 3-oxo-1,3-dihydro-1-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-2,1-benzoxazole-4-carboxylate **34**

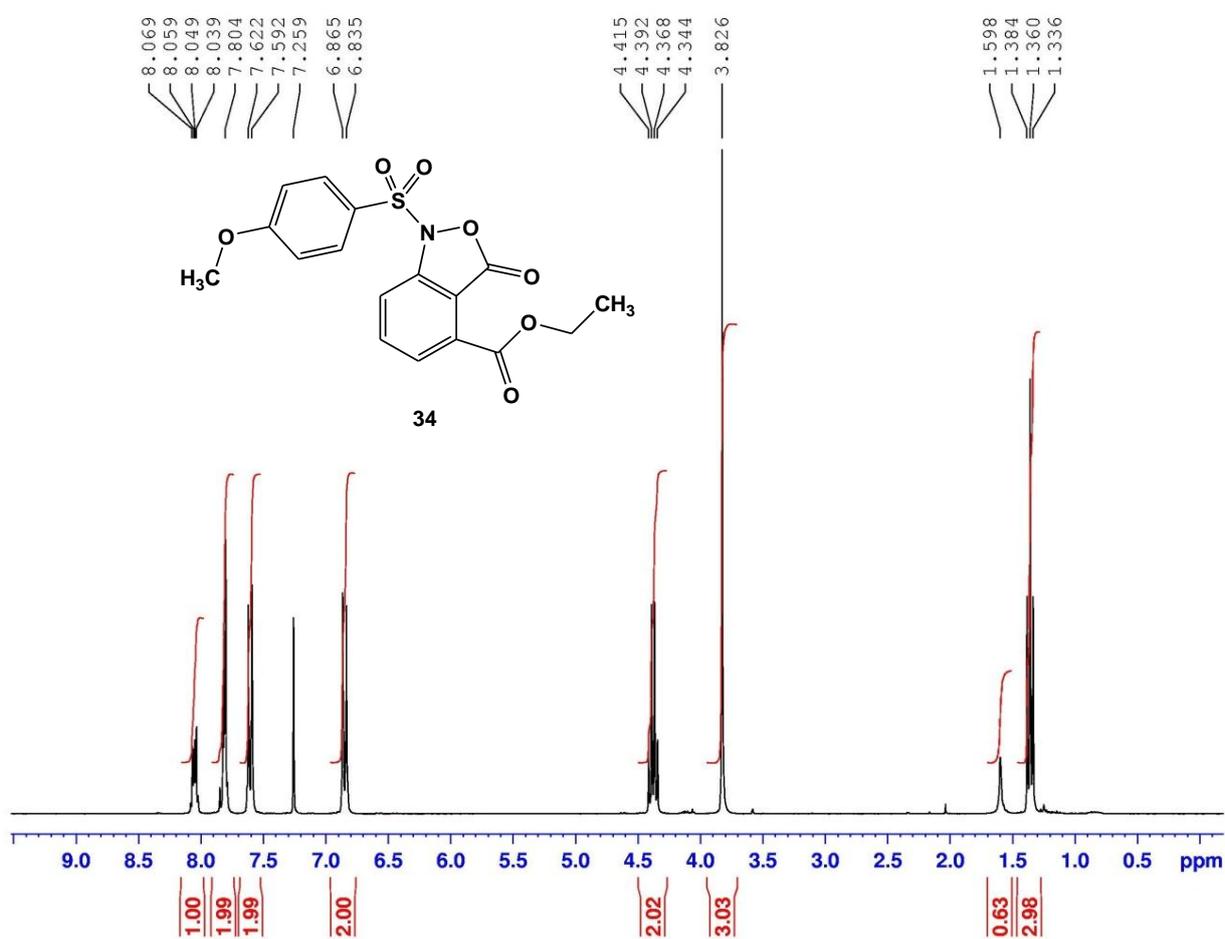


Figure 11. Spectre RMN1H (300MHz, CDCl₃) du composé **34**

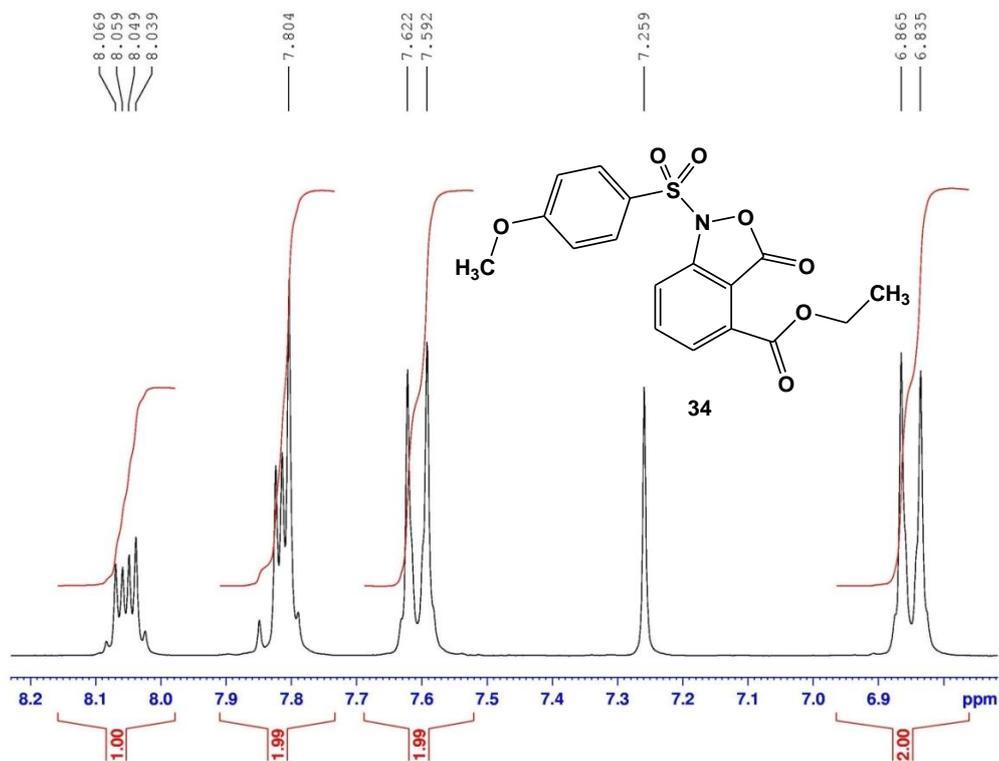


Figure 11. Spectre RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) étalé du composé 34

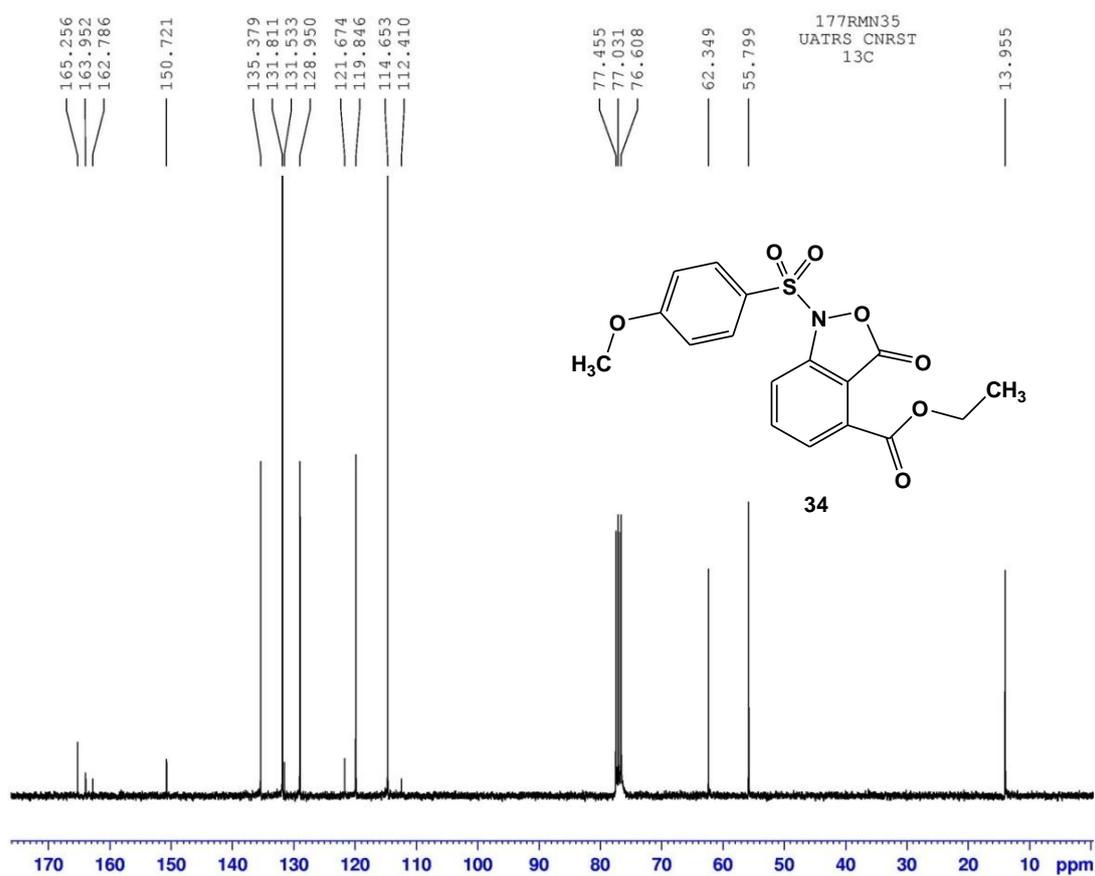


Figure 11. Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé 34

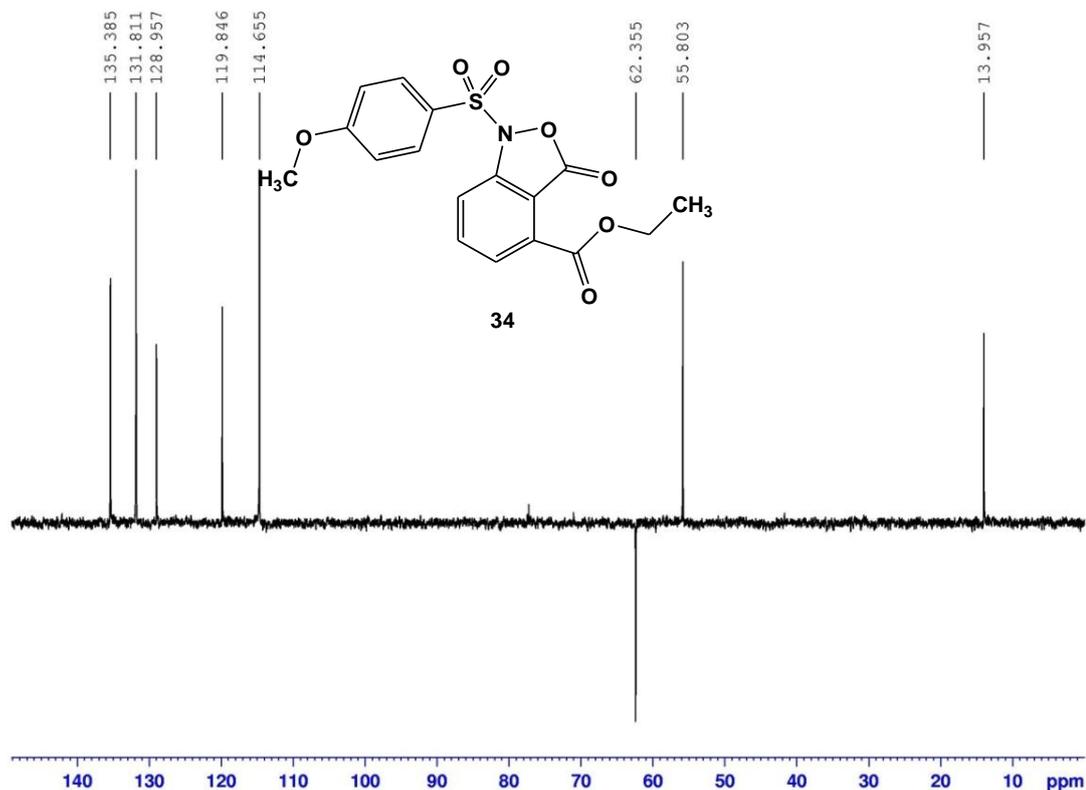


Figure 11. Spectre RMN ^{13}C (DEPT) du composé 34

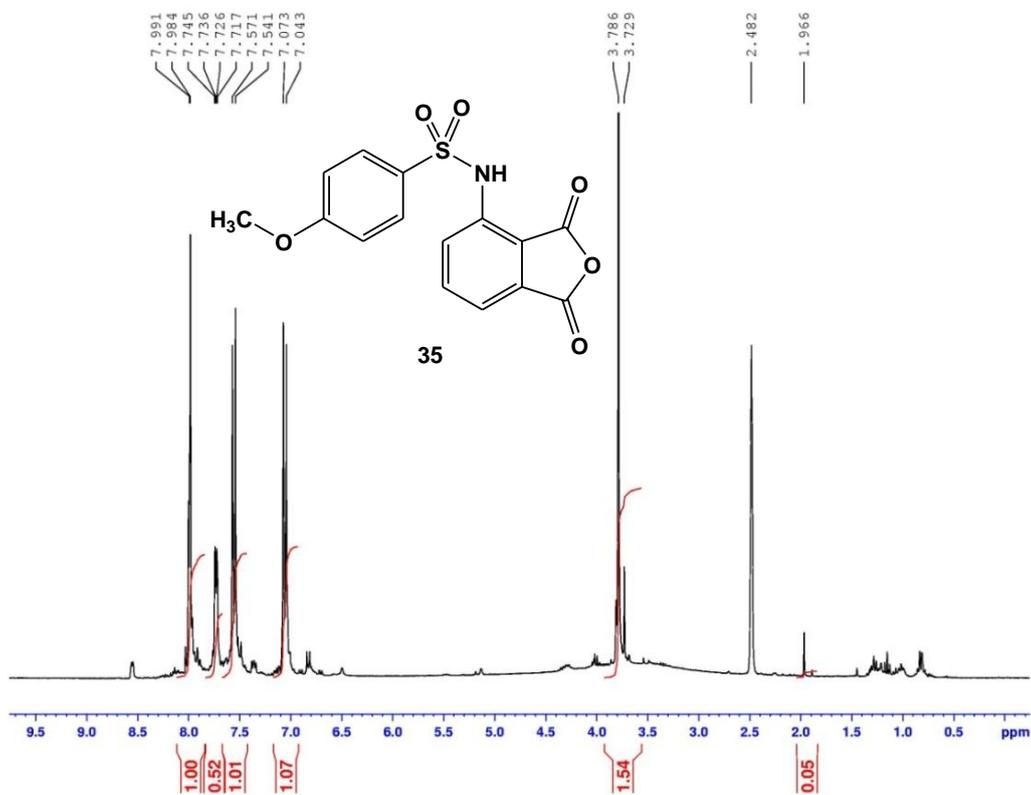


Figure 12. Spectre RMN ^1H (300MHz, DMSO- d_6) du composé 35

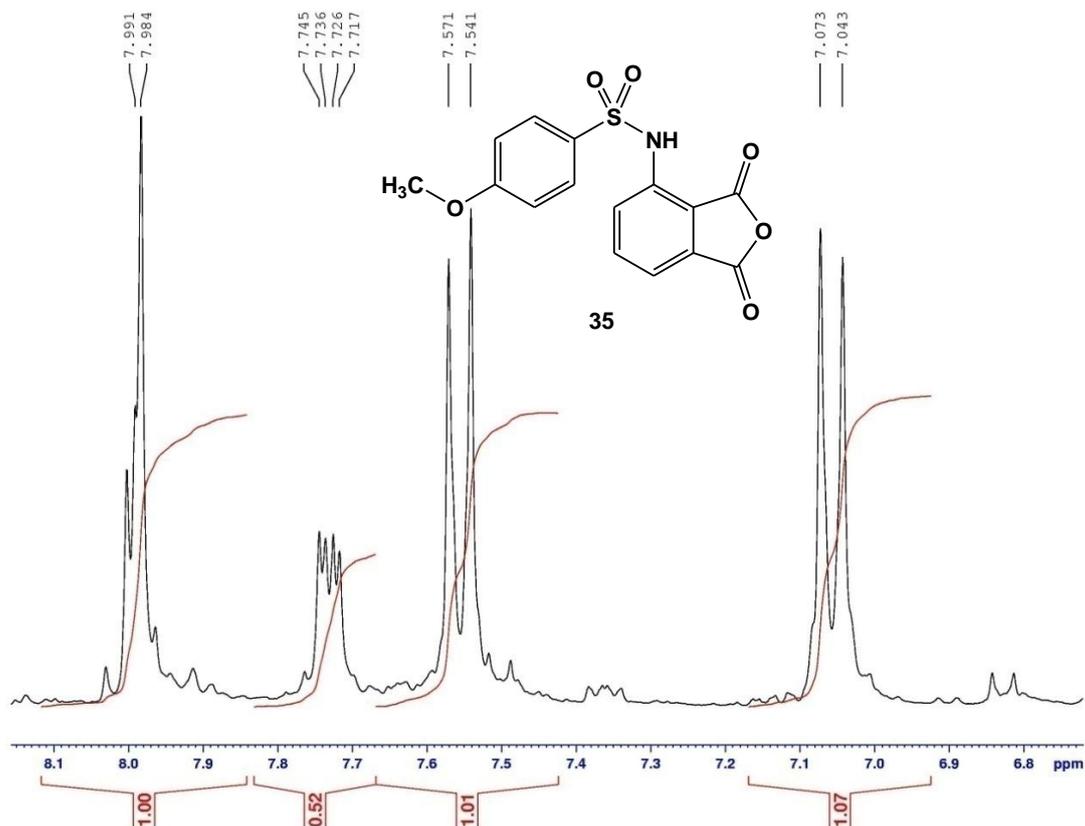


Figure 12. Spectre RMN¹H (300MHz, DMSO-d₆) étalé du composé 35

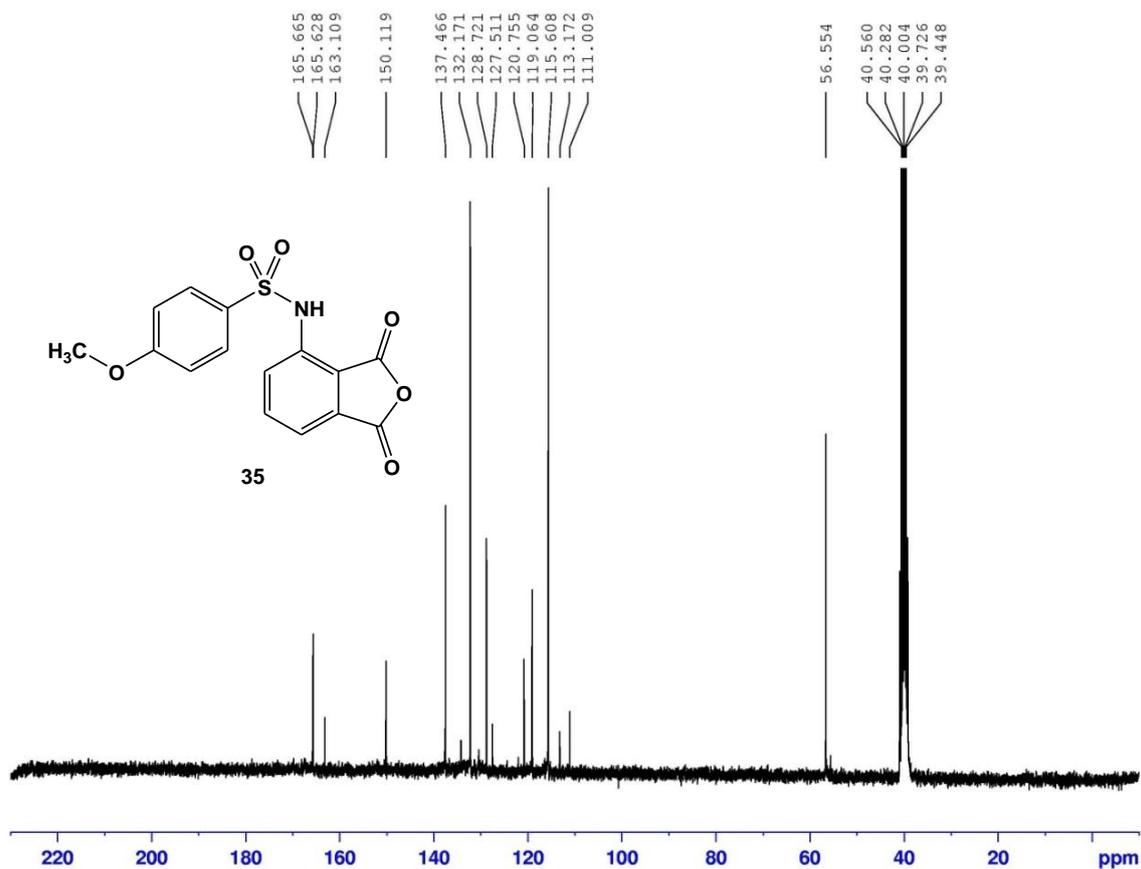


Figure 12. Spectre RMN¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) du composé 35

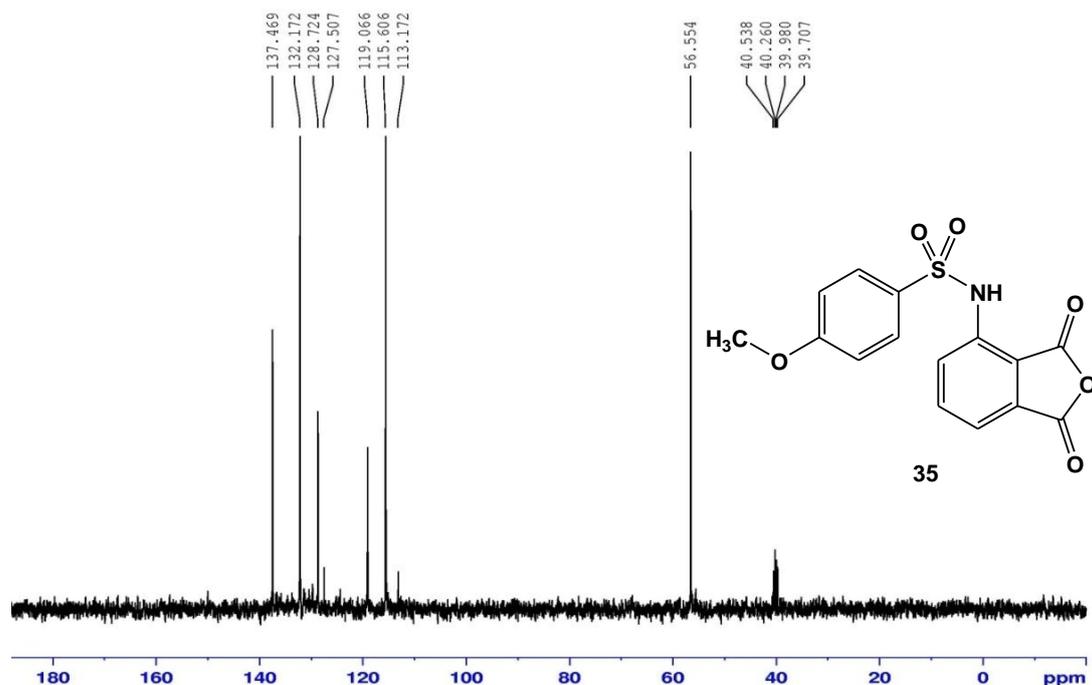


Figure 12. Spectre RMN¹³C (DEPT) du composé 35

Récemment, ce travail a été largement détaillé par l'étudiante Hakima Chicha au sein de notre laboratoire en examinant les différentes conditions qui permettent d'orienter la réaction de réduction de l'anhydride 3-nitroptalique vers la synthèse des alkyl 1,3-dihydro-3-oxo-2,1-benzisoxazole-4-carboxylates.¹²

III. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons préparé une nouvelle série des sulfonamides poly-fonctionnalisés à partir du 6-nitroindazole via la réduction par le chlorure stanneux dans différents alcools. Nous avons montré que la protection de l'azote pyrazolique de l'indazole joue un rôle fondamental dans l'orientation de la réaction de réduction de 6-nitroindazole vers la synthèse des 7-alkoxyindazoles. L'alkylation de la position N-1 n'a permis d'obtenir que l'amine non substituée, par contre l'alkylation de l'indazole en position N-2 par différents agents alkylants a permis d'accéder aux dérivés 7-alkoxyindazoles avec de bon rendements.

Dans la série des nitrohétéroaryles, la réduction des 4-, 7-nitroindoles, 4-nitrobenzothiadiazole et 2-nitrobenzaldéhyde par SnCl_2 dans l'éthanol n'a permis d'obtenir que les amines correspondantes. Les dérivés alkoxy n'ont pas été identifiés. Seul dans le cas de 5-nitroimidazole où la réduction conduit à un mélange de deux produits : le 4-méthyl-*N*-(2-méthyl-3H-imidazol-4-yl)-benzènesulfonamide et le *N*-(5-éthoxy-2-méthyl-3H-imidazol-4-yl)-4-méthyl-benzènesulfonamide. Ce

résultat montre que la nature du squelette de la structure joue un rôle fondamental pour l'obtention des dérivés alkoxy.

La réduction de l'anhydride 3-nitrophtalique par SnCl₂ dans l'éthanol, nous a permis d'identifier pour la première fois la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques de type : éthyl 3-oxo-1,3-dihydro-1-(4-méthoxy-benzenesulfonyl)-2,1-benzoxazole-4-carboxylate. La présence de plusieurs centres réactifs confère à ce produit une grande réactivité vis à vis des systèmes binucléophiles pour accéder à la synthèse de nouvelles molécules biologiquement actives.

Partie expérimentale

Caractéristiques physico-chimiques et spectrales des composés synthétisés

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 ¹³C ont été enregistrés dans CDCl₃, DMSO-d₆ et solution (sauf indication contraire) avec TMS comme référence interne en utilisant un appareil Bruker AC 300 (1H) ou 75MHz instruments (¹³C). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS) pris comme référence interne. La multiplicité des ressources de RMN ¹³C ont été affectés par la mise en valeur sans distorsion par transfert des expériences de polarisation (DEPT).

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

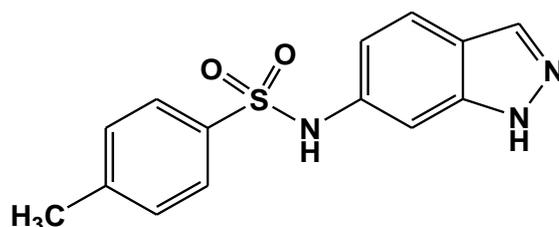
La chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée sur des feuilles d'aluminiums recouverts de silice E.Merck 60 F254 (épaisseur 0,063-0.2 mm). La révélation des taches se fait sous une lampe UV. Les séparations chromatographiques flash sont effectuées sur gel de silice.

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

Mode opératoire générale de la synthèse des sulfonamides (2a, 2b) et (3a, 3b)

1,22 mmol de 3-halogéno-6-nitroindazole et 1,1g (6.1mmol) de SnCl₂ anhydre sont mis en suspension dans 25 ml de l'alcool absolu. Ce mélange est chauffé à 60 °C pendant 6h, puis le milieu réactionnel est ramené à température ambiante et hydrolysé avec une solution aqueuse de bicarbonate de potassium 5 % jusqu'à pH 7-8. La phase aqueuse est extraite plusieurs fois à l'acétate d'éthyle et les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. L'amine obtenue est dissoute immédiatement dans 5 ml de pyridine. On y ajoute 260 mg (1,25 mmol) de chlorure de 4-méthylbenzènesulfonyle et le milieu réactionnel est abandonné sous agitation à température ambiante pendant 24h. Après évaporation de la pyridine, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange acétate d'éthyle/héxane (2/8).

N-(1H-Indazol-6-yl)-4-méthyl-benzènesulfonamide (2a).



Rdt: 60 %.

PF: 166-168°C.

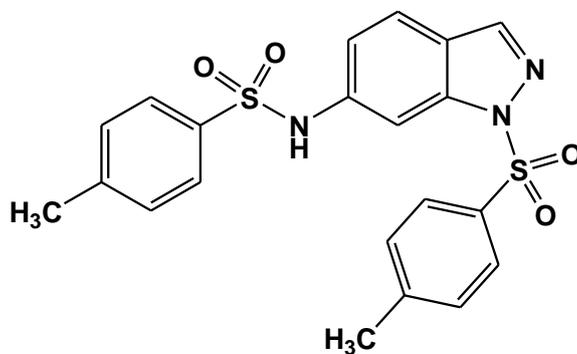
RMN¹H (CDCl₃): δ 2,27 (s, 3H, CH₃), 6,90 (dd, 1H, J = 8,6 Hz, 1,4 Hz), 7,24 (t, 1H, J = 8,6 Hz), 7,29 (d, 2H, J = 8,0 Hz), 7,58 (dd, 1H, J = 8,6 Hz, 1,4 Hz), 7,65 (d, 2H, J = 8,0 Hz), 7,93 (s, 1H, H-3), 10,37 (s, 1H, NH), 12,87 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 21,4 (CH₃), 100,2 (CH), 115,2 (CH), 120,2 (C), 121,7 (CH), 127,1 (2CH), 130,1 (2CH), 133,8 (CH), 136,5 (C), 137,0 (C), 140,6 (C), 143,7 (C).

SM: m/z 288 [M + 1]⁺.

Anal. Calculé pour C₁₄H₁₃N₃O₂S: C, 58,52; H, 4,56; N, 14,62. Trouvé: C, 58,71; H, 4,42; N, 14,68.

4-Méthyl-N-[1-(toluene-4-sulfonyl)-1H-indazol-6-yl]-benzenesulfonamide (3a)



Rdt: 27 %.

PF: 140-142 °C.

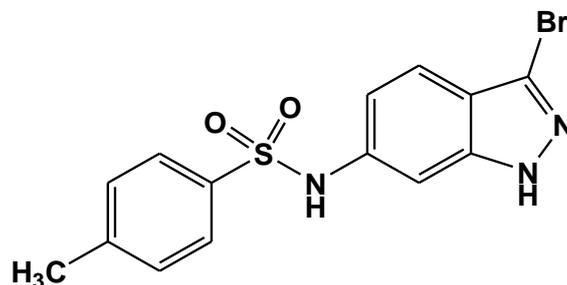
RMN¹H (CDCl₃): δ 2,36 (s, 3H, CH₃), 2,38 (s, 3H, CH₃), 7,20-7,28 (m, 4H), 7,49-7,68 (m, 2H), 7,79-7,86 (m, 3H), 8,05 (d, 2H), 8,41 (s, 1H, H-3), 9,03 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 21,6 (CH₃), 21,7 (CH₃), 103,3 (CH), 117,8 (CH), 122,2 (CH), 122,5 (C), 127,2 (2CH), 127,6 (2CH), 129,8 (2CH), 129,9 (2CH), 134,3 (C), 135,9 (C), 138,5 (C), 140,7 (C), 141,0 (CH), 144,2 (C), 145,5 (C).

SM: m/z 442 [M + 1]⁺

Anal. Calculé pour $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2$: C, 57,13; H, 4,34; N, 9,52. Trouvé: C, 57,21; H, 3,20; N, 9,68.

***N*-(3-Bromo-1*H*-indazol-6-yl)-4-méthyl-benzènesulfonamide (2b)**



Rdt: 32 %.

PF: 218-220 °C.

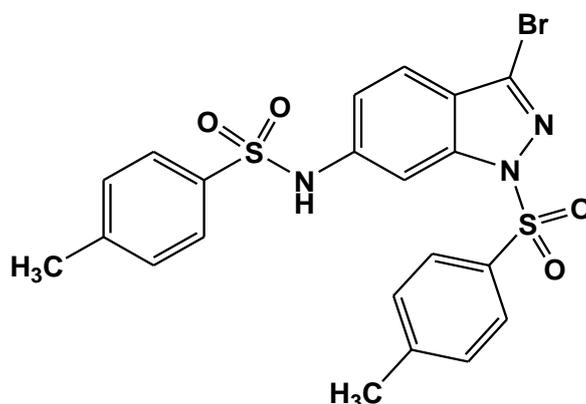
RMN¹H (DMSO-*d*₆): δ 2,27 (s, 3H, CH₃), 6,97 (d, 1H, J = 8,7 Hz), 7,25 (t, 1H, J = 8,7 Hz), 7,36 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 7,40 (d, 1H, J = 8,7 Hz), 7,63 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 10,46 (s, 1H, NH), 13,14 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆): δ 21,4 (CH₃), 100,2 (CH), 116,1 (CH), 119,4 (C), 120,6 (CH), 120,8 (C), 127,1 (2CH), 130,2 (2CH), 136,9 (C), 138,1 (C), 141,8 (C), 143,9 (C).

SM: $m/z = 367$ (⁷⁹Br) [M + 1]⁺, 369 (⁸¹Br) [M + 3]⁺.

Anal. Calculé pour $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{BrN}_3\text{O}_2\text{S}$: C, 45,91; H, 3,30; N, 11,47. Trouvé: C, 45,82; H, 3,38; N, 11,38.

***N*-(4-méthyl-3-(4-méthylphénylsulfonyl)phényl)-3-bromo-1*H*-indazol-6-yl]-benzènesulfonamide (3b)**



Rdt: 40 %

PF: 180-182 °C.

RMN¹H (DMSO-d₆): δ 2,32 (s, 3H, CH₃), 2,33 (s, 3H, CH₃), 7,21 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,35 (t, 1H, J = 8,4 Hz), 7,50 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,61 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 7,73 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 10,85 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-d₆): δ 21,4 (CH₃), 21,6 (CH₃), 101,9 (CH), 118,6 (CH), 121,8 (C), 122,4 (CH), 127,3 (2CH), 127,4 (2CH), 130,3 (2CH), 130,8 (2CH), 131,6 (C), 133,4 (C), 136,8 (C), 141,5 (C), 141,8 (C), 144,3 (C), 146,8 (C).

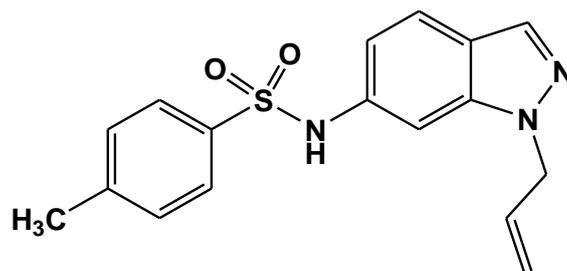
SM: m/z 521(⁷⁹Br) [M + 1]⁺, 523(⁸¹Br) [M + 3]⁺

Anal. Calculé pour C₂₁H₁₈BrN₃O₄S₂: C, 48,47; H, 3,49; N, 8,07. Trouvé: C, 48,64; H, 3,34; N, 8,18.

Synthèse des sulfonamides 5a et 5b

Ces composés sont préparés à partir de la réaction de réduction des 1-alkyl-6-nitroindazoles **4a** et **4b** dans l'éthanol selon le mode opératoire décrit précédemment.

N-(1-Allyl-1H-indazol-6-yl)-4-méthylbenzènesulfonamide (5a)



Rdt: 69 %

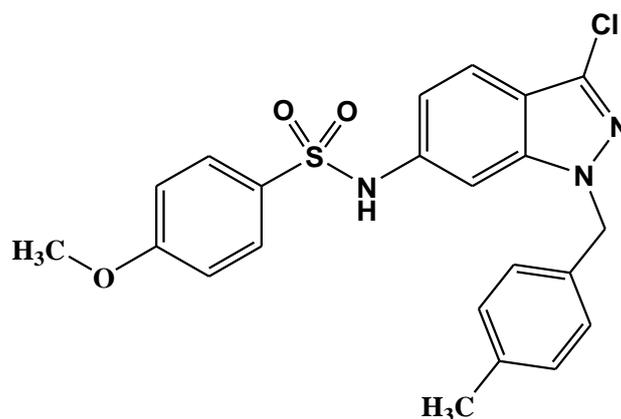
PF: 95-97 °C.

RMN¹H (CDCl₃): δ 2,34 (s, 3H, CH₃), 4,97-5,00 (m, 2H, NCH₂), 5,06-5,22 (m, 2H, =CH₂), 5,91-5,97 (m, 1H, =CH), 6,82 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,18 (d, 2H, ArH, J = 7,8 Hz), 7,28 (s, 1H), 7,55 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,64 (s, 1H, NH); 7,70 (d, 2H, ArH, J = 7,8 Hz), 8,00 (s, 1H, H-3). **RMN¹³C (CDCl₃):** δ 21,1 (CH₃), 51,7 (NCH₂), 100,7 (CH), 116,3 (CH), 118,2 (=CH₂), 121,3 (C), 122,3 (CH), 127,4 (2CH), 129,7 (2CH), 132,1 (CH), 132,7 (CH), 135,8 (C), 136,0 (C), 139,7 (C), 144,1 (C).

SM: m/z 328 (M + 1)⁺

Anal. Calculé pour C₁₇H₁₇N₃O₂S: C, 62,37; H, 5,23; N, 12,83. Trouvé: C, 62,48; H, 5,12; N, 13,01.

***N*-[3-Chloro-1-(4-méthyl-benzyl)-1*H*-indazol-6-yl]-4-méthoxybenzène
sulfonamide (5b)**



Rdt: 74 %

PF: 114-116°C.

RMN¹H (CDCl₃): δ 2,32 (s, 3H, CH₃), 3,79 (s, 3H, CH₃O), 5,39 (s, 2H, NCH₂), 6,71 (dd, 1H, *J* = 9,5 Hz et 1,8 Hz), 6,77 (d, 2H, ArH, *J* = 8,5 Hz), 7,06 (s, 1H, NH), 7,11 (m, 4H, ArH), 7,24 (d, 1H, *J* = 1,8 Hz), 7,45 (d, 1H, *J* = 9,3 Hz), 7,59 (d, 2H, ArH, *J* = 8,5 Hz).

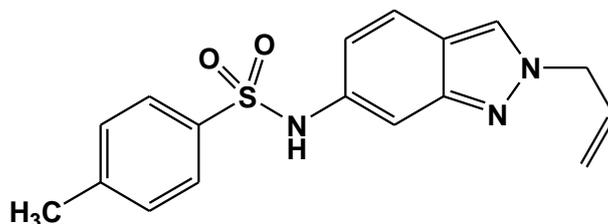
RMN¹³C (CDCl₃): δ 21,1 (CH₃), 53,2 (NCH₂), 21,1 (CH₃O), 100,5 (CH), 114,2 (2CH), 116,0 (CH), 119,1 (C), 120,9 (CH), 126,7 (C), 127,5 (2CH), 129,4 (2CH), 129,6 (2CH), 130,1 (C), 133,0 (C), 136,5 (C), 137,8 (C), 140,9 (C), 163,3 (C).

SM: *m/z* 442 (M + 1)⁺

Synthèse des sulfonamides (7a, 8a) et (8a, 8b)

Ces composés sont préparés à partir de la réaction de réduction des 2-alkyl-6-nitroindazoles **6a**, **6b** dans l'éthanol selon le mode opératoire décrit précédemment.

***N*-(2-Allyl-2*H*-indazol-6-yl)-4-méthylbenzènesulfonamide (7a).**



Rdt: 54%.

PF: 138-140 °C.

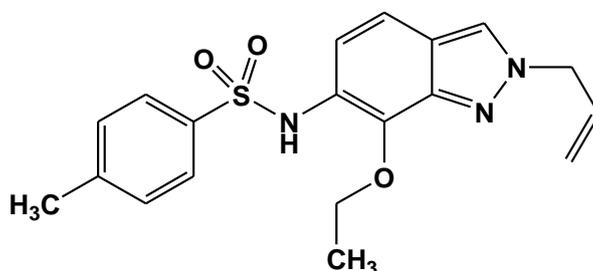
RMN¹H (CDCl₃): δ 2,28 (s, 3H, CH₃), 4,94-4,98 (m, 2H, NCH₂), 5,13-5,21 (m, 2H, =CH₂), 5,99-6,08 (m, 1H, =CH), 6,82 (t, 1H, J = 8,0 Hz), 7,18 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 7,29 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 5,54 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 7,63 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 8,21 (s, 1H, H-3), 10,19 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 21,4 (CH₃), 55,5 (NCH₂), 105,8 (CH), 117,3 (CH), 118,9 (=CH₂), 119,1 (C), 122,0 (CH), 124,3 (CH), 127,2 (2CH), 130,1 (2CH), 135,9 (C), 137,1 (C), 143,6 (C), 148,4 (C).

SM: m/z 328 [M + 1]⁺.

Anal. Calculé pour C₁₇H₁₇N₃O₂S: C, 62,37; H, 5,23; N, 12,83. Trouvé: C, 62,50; H, 5,20; N, 12,68.

***N*-(2-Allyl-7-éthoxy-2H-indazol-6-yl)-4-méthylbenzènesulfonamide (8a).**



Rdt: 36 %.

PF: 108-110 °C.

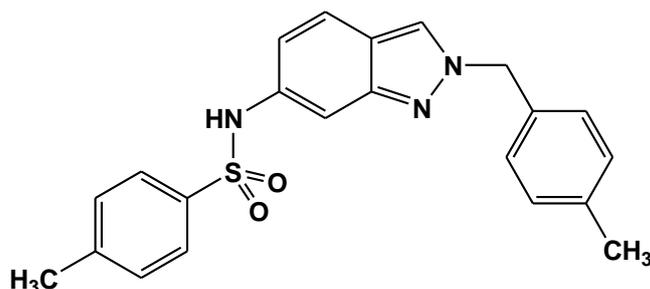
RMN¹H (CDCl₃): δ 1,22 (t, 3H, CH₃, J = 7,0 Hz), 2,31 (s, 3H, CH₃), 4,26 (q, 2H, CH₂O, J = 7,0 Hz), 4,98-5,06 (m, 2H, NCH₂), 5,30-5,35 (m, 2H, =CH₂), 6,04-6,13 (m, 1H, =CH), 7,11 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 7,27 (d, 1H, H-6, J = 8,1 Hz), 7,45 (d, 1H, H-5, J = 8,1 Hz), 7,61 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 7,88 (s, 1H, H-3), 9,05 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 15,5 (CH₃), 21,5 (CH₃), 56,1 (NCH₂), 68,6 (CH₂O), 114,6 (CH), 118,5 (CH), 120,2 (=CH₂), 122,2 (C), 123,5 (CH), 124,0 (C), 127,1 (2CH), 129,4 (2CH), 131,7 (CH), 136,1 (C), 137,4 (C), 141,3 (C), 143,7 (C).

SM: m/z 372 [M + 1]⁺

Anal. Calculé pour C₁₉H₂₁N₃O₃S: C, 61,44; H, 5,70; N, 11,31. Trouvé: C, 61,62; H, 5,60; N, 11,38.

4-Méthyl-N-[2-(4-méthyl-benzyl)-2H-indazol-6-yl]-benzènesulfonamide (7b).



Rdt: 50%.

PF: 124-126 °C.

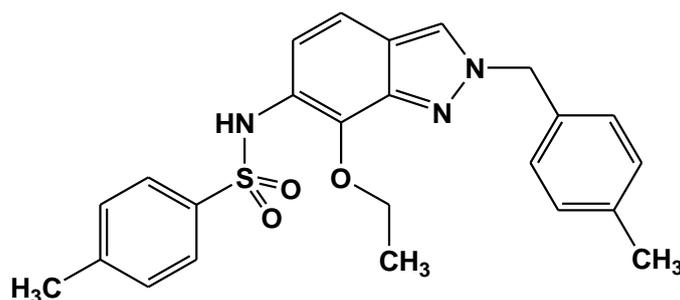
RMN¹H (DMSO-d₆): δ 2,23 (s, 3H, CH₃), 2,27 (s, 3H, CH₃), 5,45 (s, 2H, NCH₂), 6,80 (dd, 1H, J = 8,7 Hz, 1,8 Hz), 7,10-7,19 (m, 5H, H-Ar), 7,28 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,52 (d, 1H, J = 8,7 Hz), 7,63 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 8,30 (s, 1H), 10,16 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-d₆): δ 21,1 (CH₃), 21,4 (CH₃), 56,4 (NCH₂), 105,8 (CH), 117,3 (CH), 119,2 (C), 122,0 (CH), 124,5 (CH), 127,2 (2CH), 128,5 (2CH), 129,5 (2CH), 130,1 (2CH), 134,4 (C), 135,8 (C), 137,2 (C), 137,6 (C), 143,6 (C), 148,6 (C).

SM: m/z 392 [M + 1]⁺.

Anal. Calculé pour C₂₂H₂₁N₃O₂S: C, 67,50; H, 5,41; N, 10,73. Trouvé: C, 67,64; H, 5,30; N, 10,82.

N-[7-Ethoxy-2-(4-méthyl-benzyl)-2H-indazol-6-yl]-4-méthyl-benzènesulfonamide (8b).



Rdt: 46%.

PF: 135-137 °C.

RMN¹H (CDCl₃): δ 1,23 (t, 3H, CH₃, J = 7,2 Hz), 2,32 (s, 3H, CH₃), 2,34 (s, 3H, CH₃), 4,31 (q, 2H, CH₂O, J = 7,2 Hz), 5,55 (s, 2H, NCH₂), 7,14-7,24 (m, 8H, H-Ar), 7,45 (d, 1H, J = 9,0 Hz), 7,63 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,76 (s, 1H).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 15,5 (CH₃), 21,2 (CH₃), 21,5 (CH₃), 57,2 (NCH₂), 68,8 (CH₂O), 114,7 (CH), 118,5 (CH), 122,0 (C), 123,9 (CH), 124,6 (C), 127,1 (2CH), 128,5 (2CH),

129,4 (2CH), 129,7 (2CH), 131,7 (C), 136,2 (C), 136,9 (C), 138,7 (C), 140,7 (C), 143,7 (C).

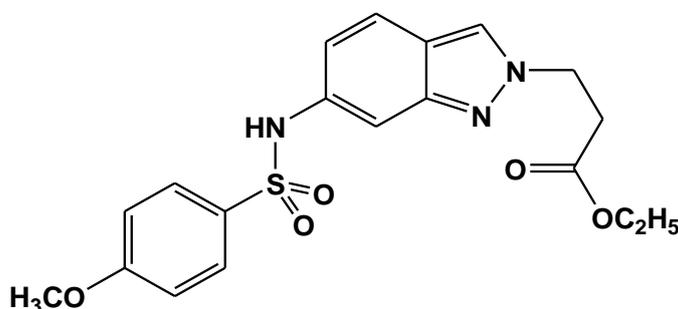
SM: m/z 436 [M + 1]⁺

Anal. Calculé pour C₂₄H₂₅N₃O₃S: C, 66,18; H, 5,79; N, 9,65. Trouvé: C, 66,31; H, 5,68; N, 9,75.

Synthèse des sulfonamides 10 et 11

Ces composés sont préparés à partir de la réaction de réduction de l'éthyl 3-(6-nitro-2H-indazol-2-yl)propanoate **9** dans l'éthanol selon le mode opératoire décrit précédemment

3-[6-(4-méthoxy-benzènesulfonylamino)-indazol-2-yl]-propanoate (**10**)



Rdt: 38%.

PF: 60-62 °C.

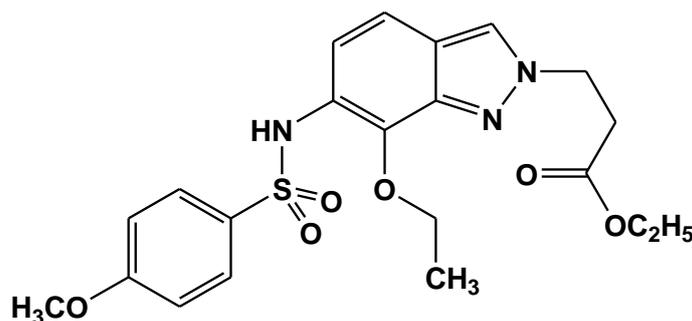
RMN¹H (CDCl₃): δ 1,18 (t, 3H, CH₃, J = 7,2 Hz), 3,10 (t, 2H, CH₂, J = 6,0 Hz), 3,76 (s, 3H, CH₃O), 4,09 (q, 2H, CH₂O, J = 7,2 Hz), 4,82 (t, 2H, NCH₂, J = 6,0 Hz), 6,83 (d, 2H, J = 9,0 Hz), 7,00 (dd, 1H, J = 8,7 et 1,2 Hz), 7,37 (s, 1H, H-Ar), 7,52 (d, 1H, J = 8,7 Hz), 7,77 (d, 2H, J = 9,0 Hz), 8,10 (s, 1H, H-3), 8,20 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 14,0 (CH₃), 34,4 (CH₂), 48,8 (NCH₂), 55,5 (CH₃O), 61,2 (CH₂O), 104,1 (CH), 114,3 (2CH), 118,9 (CH), 119,7 (C), 122,0 (CH), 126,9 (CH), 129,5 (2CH), 130,6 (C), 138,1 (C), 145,6 (C), 163,1 (C), 170,8 (C).

SM: m/z 404 [M + 1]⁺.

Anal. Calculé pour C₁₉H₂₁N₃O₅S: C, 56,56; H, 5,25; N, 10,41. Trouvé: C, 56,45; H, 5,12; N, 10,52.

3-[7-éthoxy-6-(4-méthoxy-benzènesulfonylamino)-indazol-2-yl]-propanoate (11)



Rdt: 45 %.

PF: 108-110 °C.

RMN¹H (CDCl₃): δ 1,19 (t, 3H, CH₃, J = 7,2 Hz), 1,23 (t, 3H, CH₃, J = 7,2 Hz), 3,10 (t, 2H, CH₂, J = 6,0 Hz), 3,77 (s, 3H, CH₃O), 4,10 (q, 2H, CH₂O, J = 7,2 Hz), 4,29 (q, 2H, CH₂O, J = 7,2 Hz), 4,82 (t, 2H, NCH₂, J = 6,0 Hz), 6,81 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 7,12 (s, 1H, NH), 7,27 (d, 1H, H-5, J = 9,0 Hz), 7,45 (d, 1H, H-4, J = 9,0 Hz), 7,67 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 7,98 (s, 1H, H-3).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 14,1 (CH₃), 15,6 (CH₃), 34,7 (CH₂), 48,8 (NCH₂), 55,5 (CH₃O), 61,1 (CH₂O), 68,7 (CH₂O), 114,0 (2CH), 114,8 (CH), 118,5 (CH), 121,6 (C), 124,8 (C), 125,2 (CH), 129,3 (2CH), 131,0 (C), 136,8 (C), 140,9 (C), 163,0 (C), 170,8 (C).

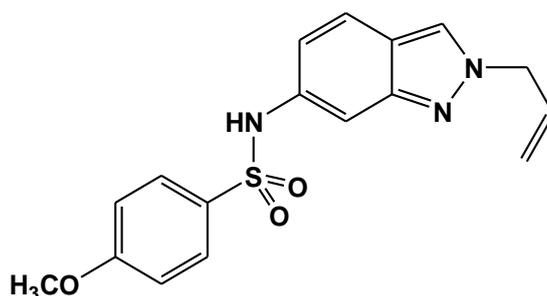
SM: m/z 448 [M + 1]⁺.

Anal. Calculé pour C₂₁H₂₅N₃O₆S: C, 56,36; H, 5,63; N, 9,39. Trouvé: C, 56,45; H, 5,52; N, 9,48.

Synthèse de N-(2-allyl-2H-indazol-6-yl)-4-méthoxybenzènesulfonamide (12) et des N-(2-allyl-7-alkoxy-2H-indazol-6-yl)-4-méthoxybenzènesulfonamides (13a-c)

Ces composés sont préparés à partir de la réaction de réduction de 2-allyl-6-nitroindazole **6a** dans différents alcools suivi du couplage de l'amine correspondant par le chlorure para-méthoxybenzène sulfonyle selon le mode opératoire décrit précédemment.

N-(2-Allyl-2H-indazol-6-yl)-4-méthoxybenzènesulfonamide (12)



PF: 168-170 °C.

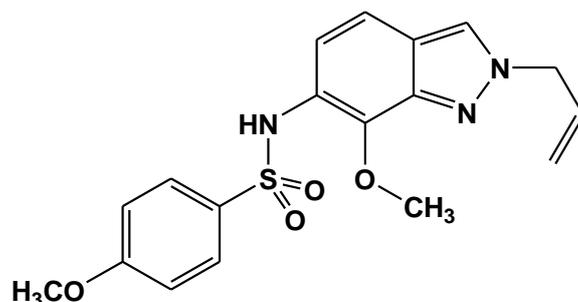
RMN¹H (DMSO-d₆): δ 3,75 (s, 3H, CH₃O), 4,94-4,97 (m, 2H, NCH₂), 5,13-5,21 (m, 2H, =CH₂), 5,99-6,08 (m, 1H, =CH), 6,82 (dd, 1H, J= 8,7 Hz), 7,00 (d, 2H, J = 9,0 Hz), 7,19 (s, 1H, H-Ar), 7,53 (d, 1H, J = 8,7 Hz), 7,68 (d, 2H, J = 9,0 Hz), 8,21 (s, 1H, H-3), 10,10 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-d₆): δ 55,5 (NCH₂), 56,0 (CH₃O), 105,8 (CH), 114,8 (2CH), 117,4 (CH), 118,9 (=CH₂), 119,1 (C), 121,9 (CH), 124,2 (CH), 129,4 (2CH), 131,6 (C), 133,9 (CH), 135,8 (C), 148,5 (C), 162,8 (C).

SM: m/z 344 [M + 1]⁺.

Anal. Calculé pour C₁₇H₁₇N₃O₃S: C, 59,46; H, 4,99; N, 12,24. Trouvé: C, 59,54; H, 4,91; N, 12,16.

***N*-(2-*Allyl*-7-*méthoxy*-2*H*-indazol-6-yl)-4-*méthoxy*benzènesulfonamide (13a)**



Rdt: 42 %.

PF: 110-112 °C.

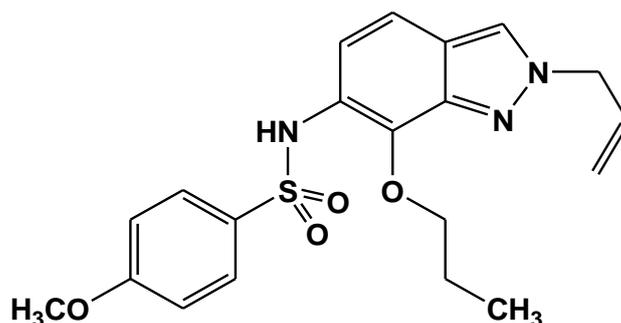
RMN¹H (CDCl₃): δ 3,77 (s, 3H, CH₃O), 3,92 (s, 3H, CH₃O), 5,04-5,07 (m, 2H, NCH₂), 5,32-5,38 (m, 2H, =CH₂), 6,05-6,14 (m, 1H, =CH), 6,82 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 7,10 (s, 1H, NH), 7,29 (d, 1H, H-5, J = 9,0 Hz), 7,45 (d, 1H, H-4, J = 9,0 Hz), 7,67 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 7,92 (s, 1H, H-3).

RMN¹³C(CDCl₃): δ 55,5 (CH₃O), 56,0 (NCH₂), 60,8 (CH₃O), 114,0 (2CH), 115,1 (CH), 118,8 (CH), 120,5 (=CH₂), 122,1 (C), 123,9 (CH), 124,6 (C), 129,3 (2CH), 130,8 (C), 131,4 (CH), 138,2 (C), 140,6 (C), 163,0 (C).

SM: m/z 374 [M + 1]⁺.

Anal. Calculé pour C₁₈H₁₉N₃O₄S: C, 57,90; H, 5,13; N, 11,25. Trouvé: C, 57,98; H, 5,02; N, 11,36.

***N*-(2-Allyl-7-propoxy-2H-indazol-6-yl)-4-méthoxybenzènesulfonamide (13b).**



Rdt: 32 %.

PF: 88-90 °C.

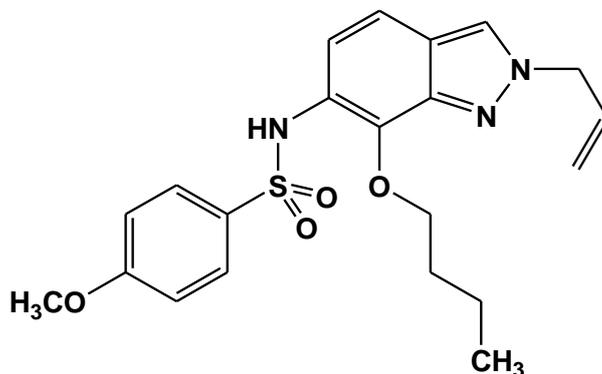
RMN¹H (CDCl₃): δ 0,95 (t, 3H, CH₃, $J = 7,25$ Hz), 1,66-1,69 (m, 2H, CH₂), 3,76 (s, 3H, CH₃O), 4,18 (t, 2H, CH₂O, $J = 6,9$ Hz), 4,98-5,14 (m, 2H, NCH₂), 5,36-5,41 (m, 2H, =CH₂), 6,05-6,14 (m, 1H, =CH), 6,82 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz), 7,13 (s, 1H, NH), 7,30 (d, 1H, H-5, $J = 9,0$ Hz), 7,52 (d, 1H, H-4, $J = 9,0$ Hz), 7,66 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz), 7,96 (s, 1H, H-3).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 10,2 (CH₃), 23,3 (CH₂), 55,5 (CH₃O), 55,8 (NCH₂), 74,9 (CH₂O), 114,1 (2CH), 115,0 (CH), 118,8 (CH), 121,2 (=CH₂), 122,7 (C), 124,7 (CH), 125,9 (C), 129,2 (2CH), 130,9 (C), 131,0 (CH), 136,5 (C), 139,6 (C), 163,1 (C).

SM: m/z 402 [M + 1]⁺.

Anal. Calculé pour C₂₀H₂₃N₃O₄S: C, 59,83; H, 5,77; N, 10,47. Trouvé: C, 59,95; H, 5,62; N, 10,58.

***N*-(2-Allyl-7-butoxy-2H-indazol-6-yl)-4-méthoxybenzènesulfonamide (13c).**



Rdt: 45 %.

PF: 75-77 °C

RMN¹H (CDCl₃): δ 0,94 (t, 3H, CH₃, $J = 7,5$ Hz), 1,34-1,42 (m, 2H, CH₂), 1,57-1,64 (m, 2H, CH₂), 3,77 (s, 3H, CH₃O), 4,26 (t, 2H, CH₂O, $J = 6,9$ Hz), 4,95-5,09 (m, 2H,

NCH₂), 5,33-5,39 (m, 2H, =CH₂), 6,05-6,11 (m, 1H, =CH), 6,81 (d, 2H, *J* = 9,0 Hz), 7,10 (s, 1H, NH), 7,28 (d, 1H, H-5, *J* = 9,0 Hz), 7,50 (d, 1H, H-4, *J* = 9,0 Hz), 7,66 (d, 2H, *J* = 9,0 Hz), 7,92 (s, 1H, H-3).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 13,9 (CH₃), 19,0 (CH₂), 32,1 (CH₂), 55,5 (CH₃O), 55,9 (NCH₂), 73,1 (CH₂O), 114,0 (CH), 114,7 (2CH), 118,7 (CH), 120,7 (=CH₂), 122,6 (C), 124,1 (CH), 125,0 (C), 129,2 (2CH), 130,8 (C), 131,3 (CH), 136,9 (C), 140,3 (C), 163,0 (C).

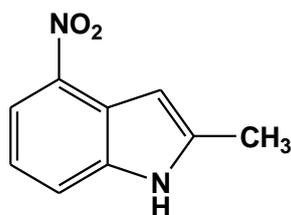
SM: *m/z* 416 [M + 1]⁺.

Anal. Calculé pour C₂₁H₂₅N₃O₄S: C, 60,70; H, 6,06; N, 10,11. Trouvé: C, 60,82; H, 6,14; N, 10,01.

Synthèse des nitroindoles 15 et 16

A une solution agitée de (5 mmol) de *m*-nitro-aniline et de (7 mmol) de la cétone dans 15 ml de DMSO à une température de 15 à 20°C, 12 mmol de tert-butanolate de potassium sont ajoutés en une portion. Après 2 heures d'agitation, le milieu réactionnel est, ensuite, traité par une solution aqueuse de NH₄Cl (60ml) puis extrait avec l'acétate d'éthyle (3 x 50 ml). Les phases organiques sont regroupées, séchées sur MgSO₄, filtrées puis concentrées sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant, acétate d'éthyle/éther de pétrole, 1/9).

2-Méthyl-4-nitro-1H-indole (15)



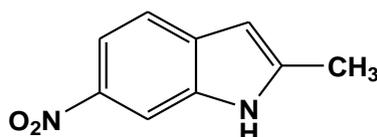
Rdt : .51.%

PF : 204-206°C

RMN¹H (DMSO-*d*₆): δ 2,46 (s, 3H, CH₃), 6,78 (s, 1H), 7,17 (t, 1H, *J* = 8.1 Hz); 7,72 (d, 1H, *J* = 7,8 Hz); 7,96 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz); 11,84 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆): δ 12,9 (CH₃); 100,3 (CH); 117,0 (CH); 118,5 (CH); 119,7 (CH); 123,1 (C); 138,5 (C); 138,9 (C); 142,8 (C).

2-Méthyl-6-nitro-1H-indole (16)



Rdt : 24%

PF : 112-114°C

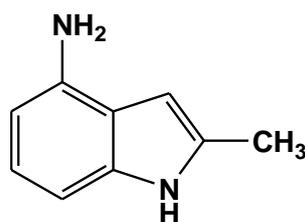
RMN¹H (DMSO-*d*₆): δ 2,61 (s, 3H, CH₃), 6,58 (s, 1H), 7,46 (d, 1H, J = 8.4 Hz), 8,08 (dd, J = 8.4, 1.2 Hz, 1H), 8,34 (d, 1H, J = 1,6 Hz), 10.45 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆): δ 13,5 (CH₃); 100,4 (CH); 115,3 (CH); 119,2 (CH); 120,4 (CH); 122,5 (C); 136,3 (C); 137,2 (C); 141,7 (C).

Synthèse de 4-amino-2-méthyl-1H-indole 17

1,22 mmol de 2-méthyl-4-nitroindole 15 et 1,1g (6.1mmol) de SnCl₂ anhydre sont mis en suspension dans 25 ml de l'alcool absolu. Ce mélange est chauffé à 60 °C pendant 4h, puis le milieu réactionnel est ramené à température ambiante et hydrolysé avec une solution aqueuse de bicarbonate de potassium 5 % jusqu'à pH 7-8. La phase aqueuse est extraite avec l'acétate d'éthyle et les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Après évaporation du solvant, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange acétate d'éthyle/hexane (3/7).

4-Amino-2-méthyl-1H-indole (17)



Rdt : .74%

PF : 192-194°C

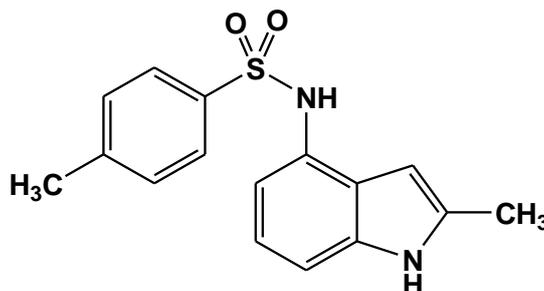
RMN¹H (DMSO-*d*₆): δ 2,35 (s, 3H, CH₃), 4,01 (s, 2H, NH₂), 6,21 (s, 1H, H-3), 6,58 (d, 1H, J = 7,4 Hz), 6,88 (t, 1H, J = 7,4 Hz), 7,70 (d, 1H, J = 7.4 Hz), 11,00 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆): δ 13,8 (CH₃), 96,9 (CH), 106,7 (CH), 108,8 (CH), 116,1 (C), 121,0 (CH), 129,6 (C), 135,4 (C), 137,5 (C).

Synthèse du sulfonamide indolique 19

1 mmol de 4-amino-2-méthylindole 17 est dissoute dans 5 ml de pyridine. On y ajoute 260 mg (1,25 mmol) de chlorure de 4-méthylbenzènesulfonyl et le milieu réactionnel est abandonné sous agitation à température ambiante pendant 24h. Après évaporation de la pyridine, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange acétate d'éthyle/héxane (2/8).

4-Méthyl-N-(2-méthyl-1H-indol-4-yl)-benzènesulfonamide (19)



Rdt: 61 %.

PF: 194-196°C.

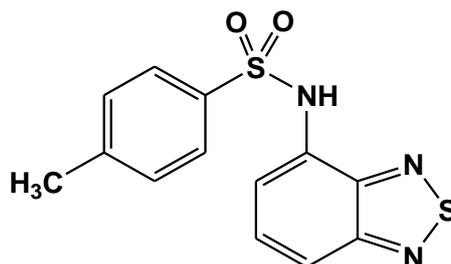
RMN¹H (DMSO-*d*₆): δ 2,26 (s, 3H, CH₃), 2,28 (s, 3H, CH₃), 6,27 (s, 1H, H-3), 6,75-6,80 (m, 1H), 6,95 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 7,23 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 7,60 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 9,81 (s, 1H, NH), 10,87 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆): δ 13,8 (CH₃), 21,3 (CH₃), 97,9 (CH), 108,1 (CH), 112,0 (CH), 120,5 (CH), 123,4 (C), 127,1 (2CH), 128,4 (C), 129,8 (2CH), 135,2 (C), 137,4 (C), 138,1 (C), 143,2 (C).

Synthèse du sulfonamide 25

Ce composé est préparé à partir de la réaction de réduction de 4-nitrobenzothiadiazole 24 dans l'éthanol suivi du couplage de l'amine correspondant par le chlorure para-méthylbenzène sulfonyl selon le mode opératoire décrit précédemment

N-Benzo[1,2,5]thiadiazol-4-yl-4-méthyl-benzènesulfonamide (25)



Rdt: 74%.

PF: 142-144°C.

RMN¹H (DMSO-d₆): δ 2,28 (s, 3H, CH₃), 7,29 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,38 (dd, 1H, J = 7,5 et 1,2 Hz), 7,58 (t, 1H, J = 7,5 Hz), 7,72 (dd, 1H, J = 7,5 et 1,2 Hz), 7,76 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 10,92 (s, 1H, NH).

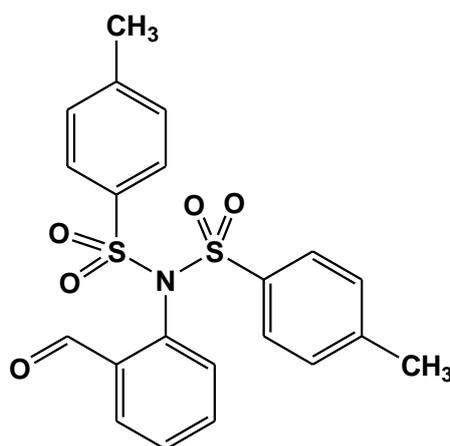
RMN¹³C (DMSO-d₆): δ 21,4 (CH₃), 117,1 (CH), 117,6 (CH), 127,3 (2CH), 130,1 (2CH), 130,9 (CH), 137,4 (C), 143,9 (C), 149,1 (C), 155,3 (C).

Synthèse des sulfonamides 28 et 29

Ces composés sont préparés à partir de la réaction de réduction de 2-nitrobenzaldéhyde **27** dans l'éthanol suivi du couplage de l'amine correspondant par le chlorure d'aryle sulfonyle selon le mode opératoire décrit précédemment.

N-(2-formylphényl)-4-méthyl-*N*-(4-méthylphénylsulfonyl)-benzènesulfonamide

28a



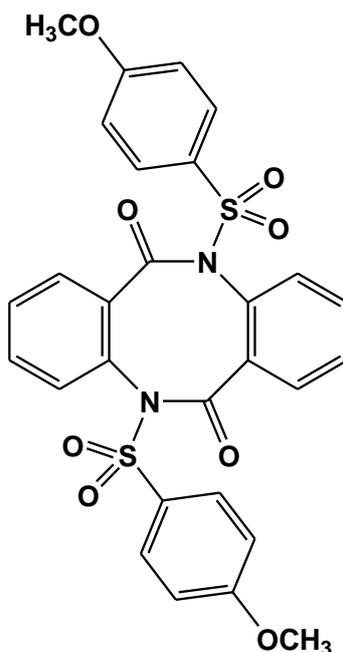
Rdt: 46 %.

PF: 88-90°C.

RMN¹H (CDCl₃): δ 2,48 (s, 6H, 2CH₃), 7,04-7,07 (m, 1H), 7,35 (d, 4H, J = 7,2 Hz), 7,58-7,61 (m, 1H), 7,78 (d, 4H, J = 7,2 Hz), 7,98-8,02 (m, 1H), 9,51 (s, 1H).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 21,8 (CH₃), 128,6 (CH), 128,8 (4CH), 129,9 (4CH), 130,7 (CH), 133,0 (CH), 134,3 (CH), 135,4 (2C), 136,0 (2C), 136,4 (C), 145,8 (C), 188,4 (CH).

5,11-Diméthoxybenzène-5H,11H-dibenzo[b,f][1,5]diazocine-6,12-dione 29b



Rdt: 16 %.

PF: 136-138°C.

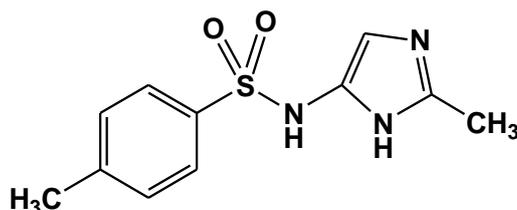
RMN¹H (CDCl₃): δ 3,75 (s, 6H, 2CH₃O), 6,72 (d, 4H, J = 9,0 Hz), 6,85-6,94 (m, 4H), 7,06-7,12 (m, 4H), 7,73 (d, 4H, J = 9,0 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃): δ 55,4 (CH₃O), 113,4 (4CH), 123,5 (CH), 124,3 (CH), 124,6 (CH), 125,6 (CH), 126,8 (C), 127,7 (C), 130,2 (4CH), 133,5 (C), 140,1 (C), 144,2 (C), 163,2 (CO).

Synthèse des composés 31 et 32

Ces composés sont préparés à partir de la réaction de réduction de 2-méthyl-5-nitroimidazole **30** dans l'éthanol suivi du couplage de l'amine correspondant par le chlorure de 4-méthylbenzène sulfonyle selon le mode opératoire décrit précédemment.

4-Méthyl-N-(2-méthyl-3H-imidazol-4-yl)-benzènesulfonamide (31)

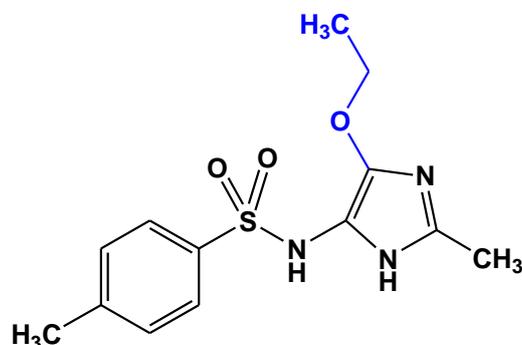


Rdt: 36 %.

RMN¹H (DMSO-*d*₆): δ 2,34 (s, 3H, CH₃), 6,52 (s, 1H), 7,27 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,67 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 8,61 (s, 1H, NH), 9,06 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆): δ 21,3 (CH₃), 116,1 (CH), 126,7 (2CH), 129,9 (2CH), 139,3 (C), 140,0 (C), 141,8 (C), 142,4 (C).

***N*-(5-Ethoxy-2-méthyl-3H-imidazol-4-yl)-4-méthyl-benzènesulfonamide (32)**



Rdt: 40%.

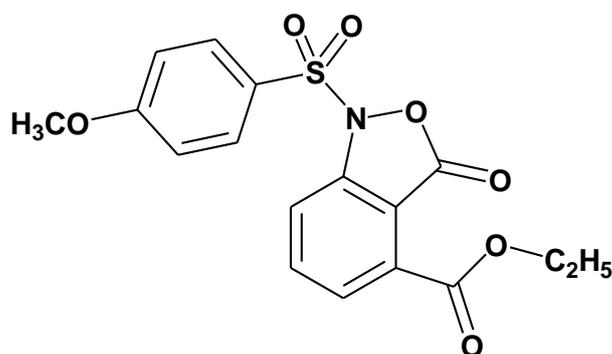
RMN¹H (DMSO-*d*₆): δ 1,23 (t, 3H, J = 7,0 Hz, CH₃), 2,35 (s, 3H, CH₃), 4,21 (q, 2H, J = 7,0 Hz, CH₂O), 7,27 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,67 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 8,61 (s, 1H, NH), 9,06 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆): δ 14,1 (CH₃), 21,4 (CH₃), 63,2 (CH₂O), 116,1 (CH), 126,7 (2CH), 129,9 (2CH), 139,3 (C), 140,0 (C), 141,8 (C), 142,4 (C), 143,5 (C).

Synthèse des sulfonamides 34 et 35

Ces composés sont préparés à partir de la réaction de réduction de l'anhydride 3-nitrophtalique **33** dans l'éthanol suivi du couplage de l'amine correspondant par le chlorure de 4-méthoxybenzène sulfonyle selon le mode opératoire décrit précédemment.

Ethyl 3-oxo-1,3-dihydro-1-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-2,1-benzoxazole-4-carboxylate (34)



Rdt: 48 %.

PF: 122-124°C

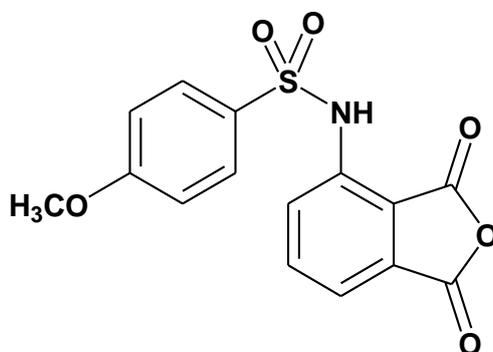
RMN¹H (CDCl₃): δ: 1,36 (t, 3H, *J* = 7,2 Hz, CH₃), 3,82 (s, 3H, CH₃O), 4,37 (q, 2H, *J* = 7,2 Hz, CH₂), 6,84 (d, 2H, HAr, *J* = 9 Hz), 7,60 (d, 2H, HAr, *J* = 9 Hz), 7,78-7,84 (m, 2H, HAr), 8,05 (dd, 1H, HAr, *J* = 3Hz et 6.8 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃): δ: 13,9 (CH₃), 55,8 (CH₃O), 62,3 (CH₂O), 112,4 (Cq), 114,6 (2CH), 119,8 (CH), 121,7 (Cq), 128,9 (CH), 131,5 (Cq), 131,8 (2CH), 135,4 (CH), 150,7 (Cq), 162,7 (Cq), 163,9 (CO), 165,2 (CO).

SM: m/z 378 [M + H]⁺.

Anal. Calculé pour C₁₇H₁₅NO₇S: C, 54,11; H, 4,01; N, 3,71. Trouvé: C, 54,25; H, 3,83; N, 3,65.

4-(4-Méthoxy-phénylsulfonylamino)isobenzofuran-1,3-dione (35)



Rdt: 36 %.

PF: 114-116°C

RMN¹H (DMSO-*d*₆): δ: 3,78 (s, 3H, CH₃O), 7,05 (d, 2H, HAr, *J* = 9 Hz), 7,56 (d, 2H, *J* = 9 Hz), 7,71-7,75 (m, 1H, HAr), 7,96-8,01 (m, 2H, HAr), 8,58 (s, 1H, NH).

RMN¹³C (DMSO-*d*₆): δ: 56,5 (CH₃O), 111,0 (Cq), 115,6 (2CH), 119,1 (CH), 120,7 (Cq), 128,7 (CH), 131,2 (Cq), 132,2 (2CH), 137,5 (CH), 150,1 (Cq), 163,1 (Cq), 165,6 (CO), 165,7 (CO).

SM: m/z 334 [M + H]⁺.

Anal. Calculé pour C₁₅H₁₁NO₆S: C, 54,05; H, 3,33; N, 4,20. Trouvé: C, 54,18; H, 3,42; N, 4,08.

Références bibliographiques

1. Abbassi, N., Rakib, E. M., Hannioui, A., Zouihri, H. *Acta Cryst. Section E*, **2011**, E67, 3211.
2. Abbassi, N., Rakib, E. M., Hannioui, A., Saadi, M., El Ammari, L. *Acta Cryst Section E*, **2013**, E69, 190
3. Abbassi, N., Oulemda, B., Rakib, E. M., Geffken, D., Zouihri, H. *Acta Cryst Section E*, **2012**, E68, 931.
4. Chauhan, J., Fletcher, S. *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 4951–4954.
5. Uchuskin, M.G., Molodtsova, N.V., Abaev, V.T., Trushkov, I.V., Butin, A.V. *Tetrahedron* **2012**, 68, 4252-4258.
6. Xing, W.–K., Ogata, Y., *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 2515-2520.
7. McAllister, L.A., Bechle, B.M., Dounay, A.B., Evrard, E., Gan, X., Ghosh, S., Kim, J-Y., Parikh, V.D., Tuttle, J.B., Verhoest, P.R. *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 3484-3497
8. Moskalev, N., Barbasiewicz, M., Makosza, M. *Tetrahedron*, 2004, 60, 347-358
9. Bouissane, L., El Kazzouli, S., Leger, J-M., Jarry, C., Rakib, E. M., Khouili, M., Guillaumet, G. *Tetrahedron*, **2005**, 61, 8218-8225
10. Abbassi, N., Rakib, E. M., Hannioui, A., Zouihri, H. *Acta Cryst. Section E*, **2011**, E67, 3304.
11. Abbassi, N., Oulemda, B., Rakib, E. M., Saadi, M., El Ammari, L. *Acta Cryst Section E*, **2013**, E69, 614.
12. Chicha, H., Abbassi, N., Rakib, E. M., Khouili, M., El Ammari, L., Spinelli, D. *Tetrahedron Lett.*, **2013**, 54, 1569–1571.

CHAPITRE IV

**Evaluation anticancéreuse de nouvelle
famille de N-(4(6)-indazolyl)-
arylsulfonamide**

I. Rappels bibliographiques

Il est bien connu aujourd'hui que le cancer est une des causes les plus fréquentes de morbidité et de mortalité. A l'échelle mondiale, on estime que le nombre de cas de cancer va doubler entre 2000 et 2020 et presque tripler à l'horizon 2030.

Le cancer est une prolifération anarchique, incontrôlée et incessante des cellules. D'origine de modification du code génétique de la cellule apparaît sous l'action d'agents inducteurs comme les produits chimiques, radiations, virus...

La chimiothérapie est l'un des traitements les plus intéressants et les plus utilisés, toutefois elle génère beaucoup d'effets secondaires vu la non sélectivité des molécules utilisées. Les recherches sont donc portées à trouver des molécules capables d'être efficaces et sélectives des cellules tumorales.

Dans ce but ultime, on comprend l'importance des recherches portant sur les mécanismes moléculaires qui régulent le cycle de la division cellulaire.

Le cycle cellulaire, décrit par toutes les cellules eucaryotes qui se divisent, est constitué de 4 phases (Figure 1): G1, S, G2 et M dont l'enchaînement est strictement régulé par l'activation ordonnée des kinases appelées kinases cyclines-dépendantes. Lorsque les cellules ne se divisent pas, elles sont en phase G0. Le cycle cellulaire est soumis à un système de surveillance qui veille à l'intégrité de la transmission de l'ADN de la cellule mère vers les cellules filles. A l'origine de ce système de surveillance, deux principaux points de contrôle :

Le premier intervient entre les phases G1 et S, il autorise ou non le passage en phase S. En cas d'anomalies de l'ADN, il y aura soit réparation de l'ADN, soit mort programmée de la cellule ou apoptose. Le régulateur majeur de ce point de contrôle est la protéine hyperphosphorylée p53 qui induit l'expression du gène bax impliqué dans l'apoptose. p53 peut aussi stimuler la transcription de gènes de réparation de l'ADN.

Le deuxième point de contrôle intervient entre les phases G2 et M. Il autorise ou non la division cellulaire. L'un de ses principaux régulateurs est la kinase Checkpoint 1 (Cdk1).

A la différence des cellules saines, la plupart des cellules tumorales sont incapables d'activer leur point de contrôle en G1 en raison d'une mutation du gène p53. Cette différence entre cellules saines et cellules cancéreuses permet

d'envisager et de choisir comme cible les points de surveillance du cycle cellulaire afin d'élaborer de nouveaux agents anti-tumoraux.

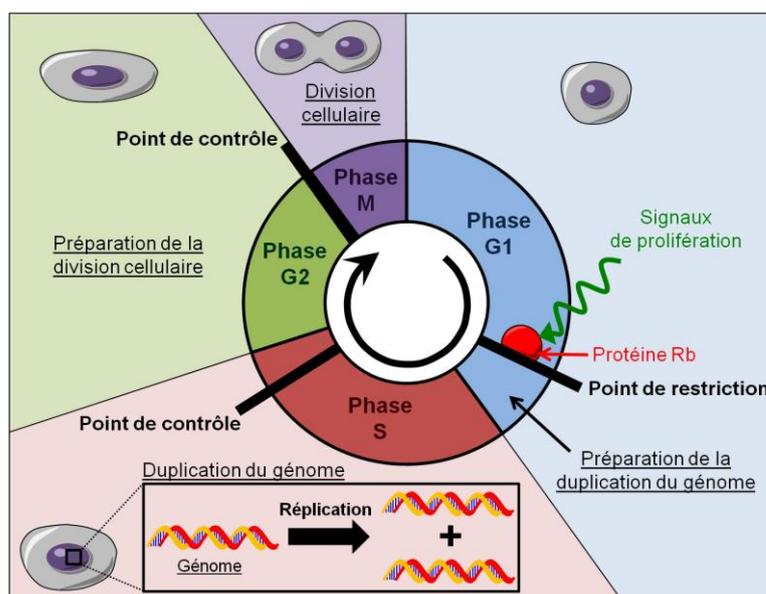


Figure 1. Etapes du cycle cellulaire et ses principaux points de contrôle.

Comme nous l'avons signalé précédemment, notre groupe de recherche¹ a dernièrement synthétisé une nouvelle série de N-(7-indazolyl)benzènesulfonamides de type A (schéma 1) pour évaluer leur potentialité pharmacologique. Les dérivés de N-(7-indazolyl)-arylsulfonamide ont été testés *in vitro* sur des cellules tumorales de la lignée cellulaire L1210 (leucémie murine) et les cellules tumorales humaines DU145 (prostate carcinome), HCT116 (carcinome du côlon) et HT29 (adénocarcinome du côlon). Ces composés ont montré des activités cytotoxiques prometteuses.

Deux paramètres ont été pris en considération : IC₅₀, dose qui inhibe de 50% la croissance des cellules tumorales (donnée significative de la cytotoxicité des produits testés), et la perturbation du cycle cellulaire qui permet de mieux comprendre le mode d'action des produits présentant une activité.

Chaque famille d'agents cytotoxiques agissant spécifiquement sur une phase déterminée du cycle cellulaire, la mise en évidence de la phase perturbée permet de définir à quelle classe appartient un agent antitumoral.

Ainsi les agents alkylants agissent sur les cellules en phase G₀ et G₁, les antimétabolites en phase S, les intercalants et antimitotiques en phase G₂ et M.

Le pourcentage des cellules dans une phase est exprimé par rapport au témoin et est ainsi noté G₂+M(+), G₂+M(++), G₂+M(+++) :

Témoin	20%
G ₂ +M (+)	30-50%
G ₂ +M (++)	50-70%
G ₂ +M (+++)	>70%

Les résultats des tests effectués sur la lignée cellulaire L1210 sont rapportés dans le tableau I.

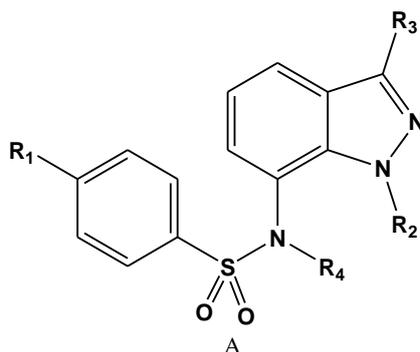


Schéma 1

Tableau 1. Effet des N-(7-indazolyl)-arylsulfonamides sur l'inhibition de la prolifération des cellules L1210.

Composés	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	IC ₅₀ (μ M)	Analyse du cycle cellulaire
1a	H	H	H	H	> 49.9	Non testé
1b	Me	H	H	H	1.43	93% G2M + 8N à 5 μ M
1c	OMe	H	H	H	0.98	93% G2M + 8N à 2.5 μ M
1d	Br	H	H	H	18.30	Non testé
1e	SO ₂ NH ₂	H	H	H	68.50	Non testé
1f	H	H	Cl	H	51.5	Non testé
1g	Me	H	Cl	H	2.52	92% G2M + 8N à 5 μ M
1h	OMe	H	Cl	H	0.923	27% G2M de 1 à 10 μ M
1k	Br	H	Cl	H	25.3	Non testé
1j	SO ₂ NH ₂	H	Cl	H	85.5	Non testé
1l	OMe	Me	H	H	1.16	86% G2M + 8N à 5 μ M
1m	OMe	Me	Cl	H	1.16	88% G2M + 8N à 5 μ M
1n	OMe	H	H	Me	1.18	93% G2M + 8N à 5 μ M
1o	OMe	H	Cl	Me	0.44	92% G2M + 8N à 1 μ M
1p	OMe	Me	Cl	Me	1.9	90% G2M + 8N à 10 μ M -
1q	OMe	H	PhOMe	H	14.2	Non testé
1r	OMe	Me	PhOMe	H	29.1	Non testé
1s	OMe	Me	PhOMe	Me	24.3	Non testé

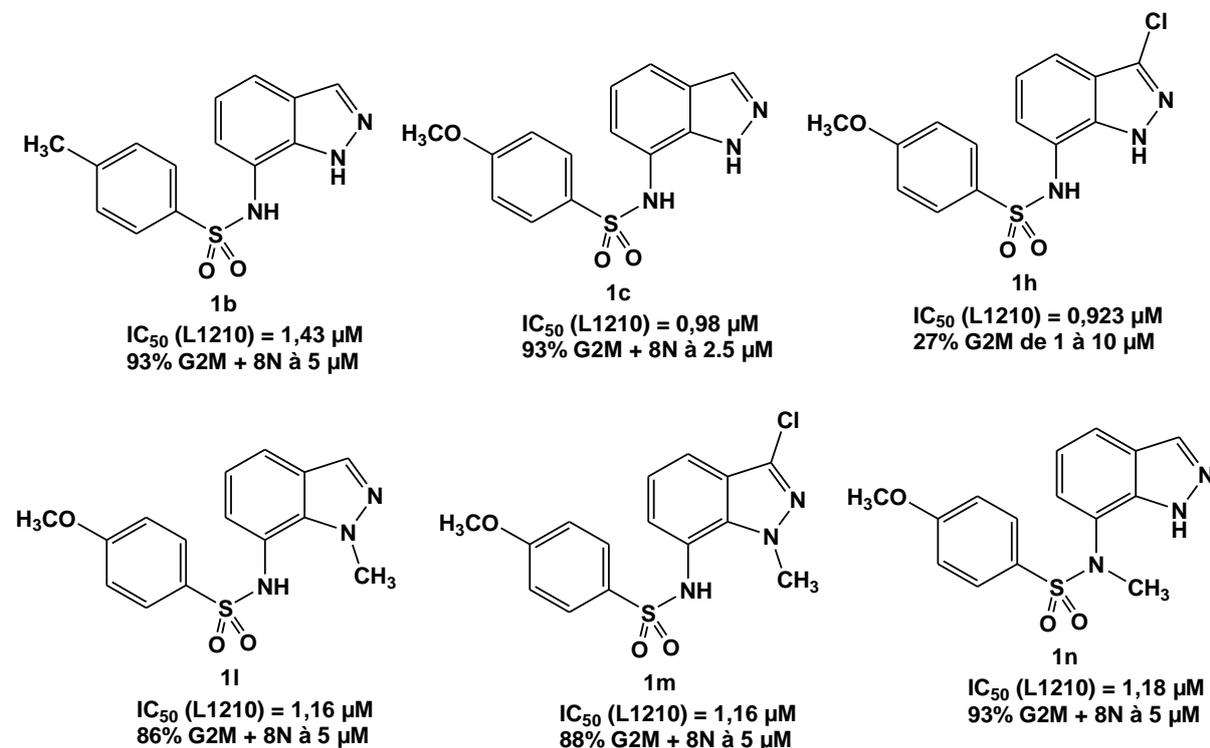
Parmi les N-(7-indazolyl)-arylsulfonamides testés, les structures **1b**, **1c** et **1(h-o)** possédaient des activités anticancéreuses prometteuses aussi bien en terme de cytotoxicité que de perturbation du cycle cellulaire (figure 2). Ces composés inhibent la prolifération des cellules L1210 avec une IC₅₀ variant de 0.44 à 1.43 μ M. Les meilleurs résultats sont obtenus avec les dérivés de l'indazole substitués en position 3 par l'atome de chlore et le groupement méthoxy de la position 4 du phényle du sulfonyle (R₁= OCH₃, voir tableau 1). Le composé **1o** substitué sur l'azote NH-7 est deux fois plus actif que son homologue **1h** non substitué. Par contre le sulfonamide **1m** monoalkylé en position NH-1 est moins actif que **1h**. Ce résultat montre que

l'azote NH joue un rôle important dans l'activité antiproliférative de ce type de structure.

La substitution envisagée sur la position 3 de l'indazole par un groupement aryle conduit à des produits peu actifs **1(q-s)** ce qui suggère que cette position est importante dans le mécanisme d'action de ce type de composés. Avec $R_3 = H, Cl$ les auteurs obtiennent une meilleure activité antitumorale.

Une analyse cytométrique a été effectuée aux composés synthétisés afin d'étudier leur effet sur le cycle cellulaire. A l'exception du composé **1h**, tous les composés ont causé une accumulation de 86 à 93% des cellules à la phase G2M à une concentration variant entre 1 et 10 μM . Le composé **1o**, le plus actif de cette série de sulfonamide ($IC_{50} = 0.44 \mu M$), provoque lui une accumulation de 92% des cellules à la phase G2M + 8N à une concentration de 1 μM .

Les groupements électro-donneurs CH_3O et CH_3 de la position 4 du phényle de sulfonyle ont un effet prédominant sur l'inhibition de la prolifération et l'activité mitotique des cellules L1210 comparés aux autres groupements.



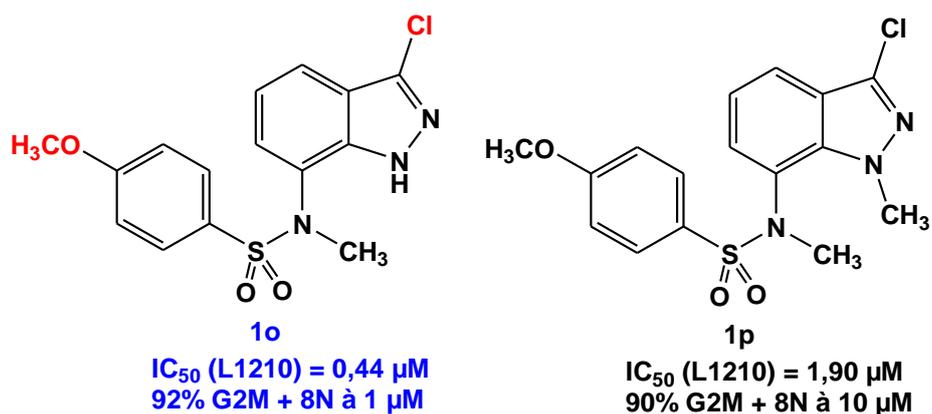


Figure 2. IC_{50} et perturbation du cycle cellulaire des molécules plus actives.

Pour élargir cette étude de test pharmacologique à d'autres cellules tumorales, l'équipe de Rakib et coll.¹ ont testé également les *N*-(7-indazolyl)-arylsulfonamides **1(a-s)** sur d'autres lignées cellulaires humaines DU145 (prostate carcinome), HCT116 (carcinome du côlon) et HT29 (adénocarcinome du côlon). Les résultats des tests effectués sur ces cellules sont regroupés dans le tableau 2.

Tableau 2. Effet des N-(7-indazolyl)-arylsulfonamides sur l'inhibition de la prolifération des cellules tumorales DU145, HCT116 et HT29 (IC₅₀ en µM).

Composés	DU145	HCT116	HT29
1a	Non testé	Non testé	Non testé
1b	2,39	1,20	1,20
1c	1,18	0,60	0,50
1d	Non testé	Non testé	Non testé
1e	88,25	37,2	78,80
1f	Non testé	Non testé	Non testé
1g	1,70	0,70	2,10
1h	0,96	0,60	0,90
1k	Non testé	Non testé	Non testé
1j	7,07	0,90	23,50
1l	1,98	0,70	0,80
1m	1,91	0,80	1,00
1n	3,53	1,20	1,00
1o	0,91	0,38	0,40
1p	3,20	2,10	2,10
1q	30,5	11,20	10,80
1r	38,4	31,20	32,50
1s	47,9	27,00	34,70

Les auteurs ont montré que les composés **1c**, **1h** et **1o** qui ont marqué une activité cytotoxique importante contre les cellules tumorales L1210, sont aussi très actifs pour les lignées cellulaires DU145, HCT116 et HT29. Les concentrations inhibitrices de ces molécules sont très faibles, IC₅₀ varie entre 0.38 et 1.18µM (figure 3).

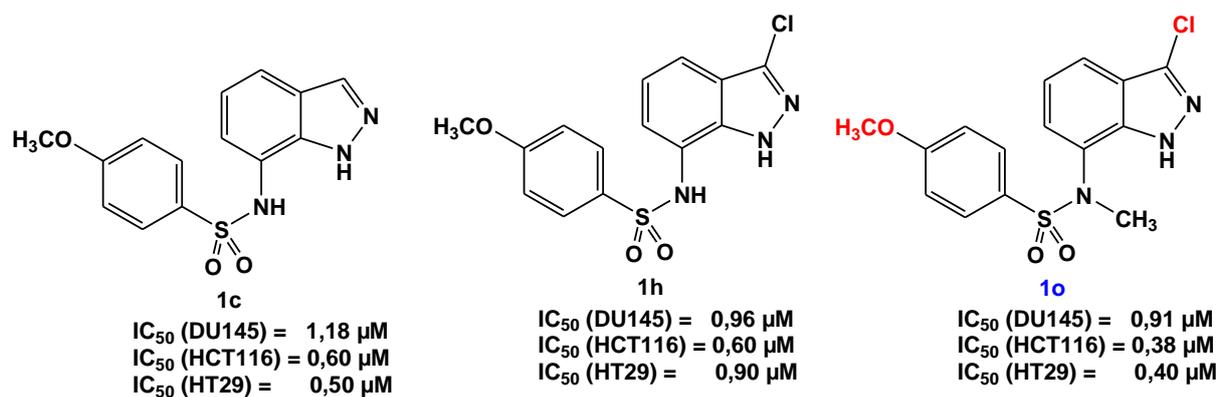


Figure 3. IC₅₀ des *N*-(7-indazolyl)-arylsulfonamides les plus actifs.

Suite à ces travaux antérieurs de notre laboratoire, qui ont montré que les composés à structure *N*-(7-indazolyl)-arylsulfonamide possédaient un niveau d'activité prometteur contre certaines lignées cellulaires tumorales, nous avons décidé en collaboration avec Professeur Maurizio Viale de l'institut de cancérologie de Genova, Italie de tester des molécules originales à structure *N*-(6(4)-indazolyl)benzènesulfonamides, dérivés des composés précédemment cités. La synthèse des dérivés *N*-(6(4)-indazolyl) benzènesulfonamides sont décrits dans les chapitres II et III.

Dans ce chapitre nous présentons les différents résultats pharmacologiques de nos molécules effectuées sur trois lignées cellulaires provenant du cancer de la leucémie (P388), du cancer du poumon (A549) et du cancer de l'ovaire (A2780).

Les tests pharmacologiques réalisés sur les *N*-(6(4)-indazolyl)benzènesulfonamides sont:

- Tests d'activités antiproliférative et apoptotique sur différentes lignées cellulaires cancéreuses murines et humaines.
- 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.

L'évaluation biologique a été réalisée sur deux séries de composés : une série qui regroupe un mélange de *N*-(4-indazolyl)benzènesulfonamides, *N*-(6-indazolyl)benzènesulfonamides et de *N*-(7-indazolyl)benzènesulfonamides synthétisées respectivement à partir de la réduction des 4-, 6-, 7-nitroindazoles suivie

de couplage de l'amine correspondante par le chlorure de méthoxy ou méthylbenzène sulfonyle (figure 57). L'objectif principal de cette étude, c'est étudier l'effet du sulfonamide en position 4, 6 et 7 sur la prolifération inhibitrice des cellules cancéreuses. La deuxième série est composé uniquement des dérivés de *N*-(6-indazolyl)benzènesulfonamides (figure 8).

II. Evaluation pharmacologique des N-(4(6) et (7)-indazolyl)benzène sulfonamides 1-15.

La première série est composée des molécules suivantes :

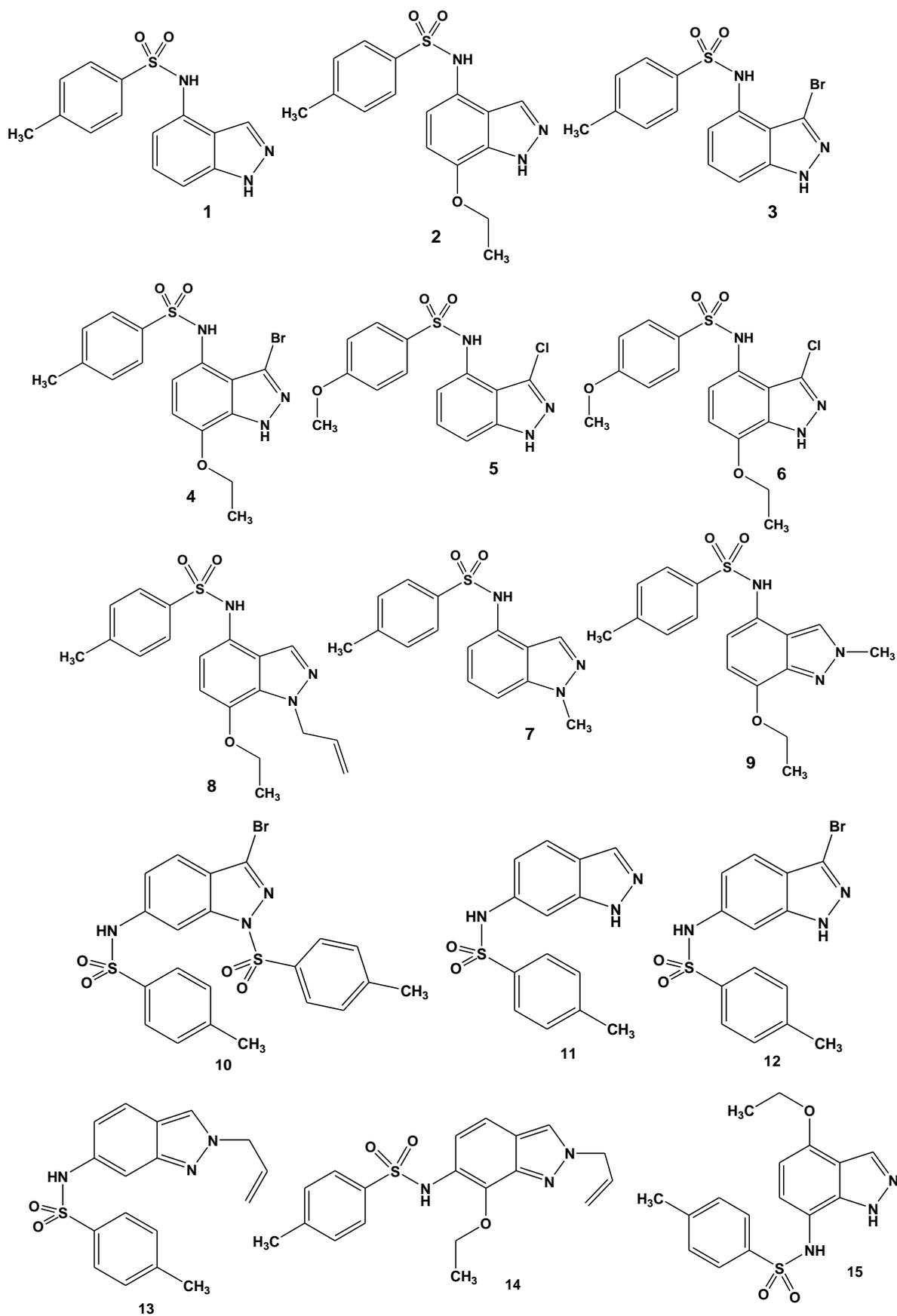


Figure 4. Première série de molécules testées contre les lignées cellulaires P388, A2780 et A549.

1. Activités antiproliférative et apoptotique des composés 1-15.

Les activités antiprolifératives sur la première série de molécules (figure 4) ont été évaluées *in vitro* sur trois lignées cellulaires tumorales: A2780, A549 et P388.

Les résultats sont exprimés en IC₅₀ qui présente la concentration de la molécule testée inhibant 50% de la prolifération des cellules. Les IC₅₀ sont données en μM pour les composés les plus actifs. On considère un composé actif lorsque son IC₅₀ est inférieure à 30 μM pour toutes les lignées cellulaires testées.

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

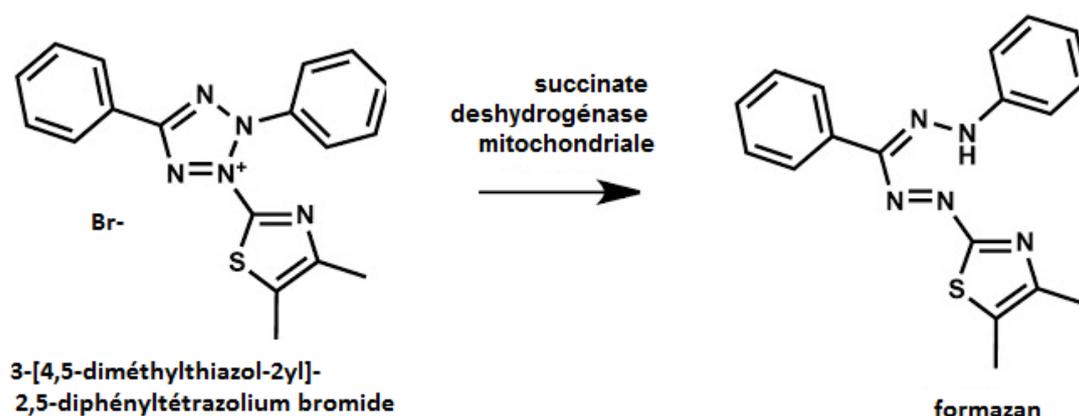


Figure 5. Principe de la méthode colorimétrique au MTT^{2,3}

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

Les trois lignées cellulaires utilisées dans cette étude ont été incubées pendant 6-8h dans des plaques de 96 puits avant le traitement avec nos composés testés. Après 72h d'incubation en présence de nos produits, le nombre des cellules vivantes est directement proportionnel à l'intensité de la coloration violette mesurée quantitativement par spectrophotométrie.

Tableau 3. Effet des dérivés N-(4(6)-indazolyl)-arylsulfonamides sur l'inhibition de la prolifération des cellules A2780, A549 et P388.

Composés	IC ₅₀ (µM)		
	A2780	A549	P388
1	>100 ^a	>100	85,5 ± 5,5
2	55,1 ± 2,8	58,5 ± 3,4	43,5 ± 5,1
3	70,9 ± 4,01	82,4 ± 19,5	53,9 ± 2,4
4	10,5 ± 2,12	17,5 ± 4,00	5,21 ± 1,40
5	0,86 ± 0,22	1,83 ± 0,52	0,50 ± 0,09
6	1,23 ± 0,36	5,83 ± 1,83	0,58 ± 0,17
7	6,62 ± 1,56	6,88 ± 2,1	3,40 ± 1,43
8	61,6 ± 1,8	100,4 ± 2,7	51,8 ± 2,1
9	8,34 ± 1,53	14,4 ± 3,4	4,19 ± 1,70
10	74,7 ± 12,8	103,6 ± 13,0	51,3 ± 1,2
11	86,6 ± 6,7	>100	71,3 ± 5,7
12	101,4 ± 3,9	>100	66,6 ± 4,9
13	4,89 ± 1,51	11,9 ± 0,5	4,41 ± 0,52
14	> 100	>100	68.9 ± 1.4
15	8,00 ± 1,86	25,5 ± 8,6	5,70 ± 0,29

a: la moyenne ± écart type (3-9 expériences).

Le diagramme suivant montre bien l'écart des valeurs de la concentration inhibitrice entre les composés les plus actifs par rapport à ceux qui ont une activité cytotoxique plus faible.

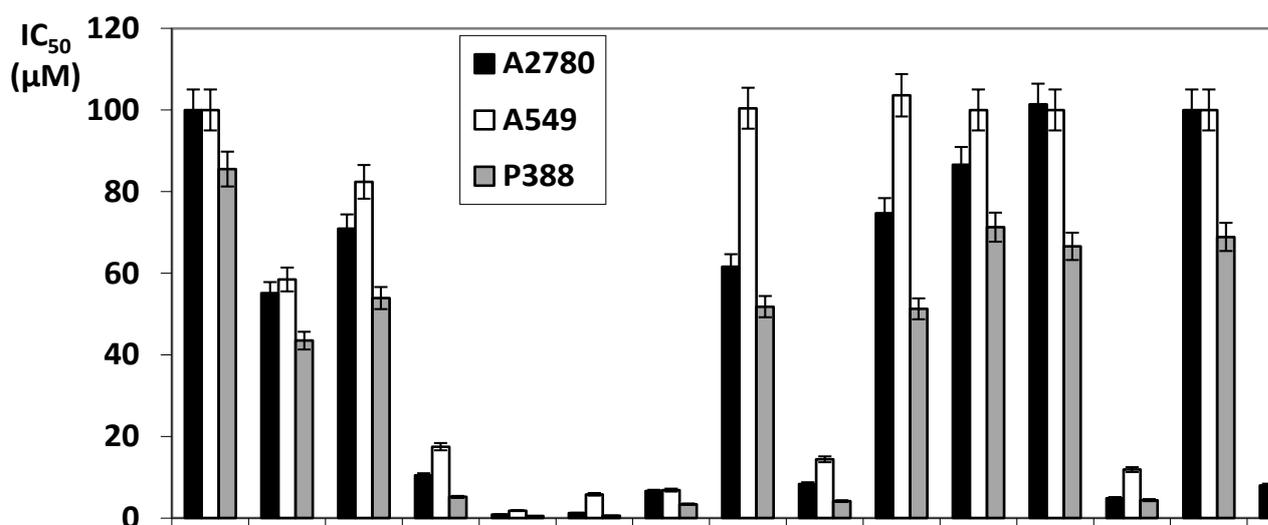
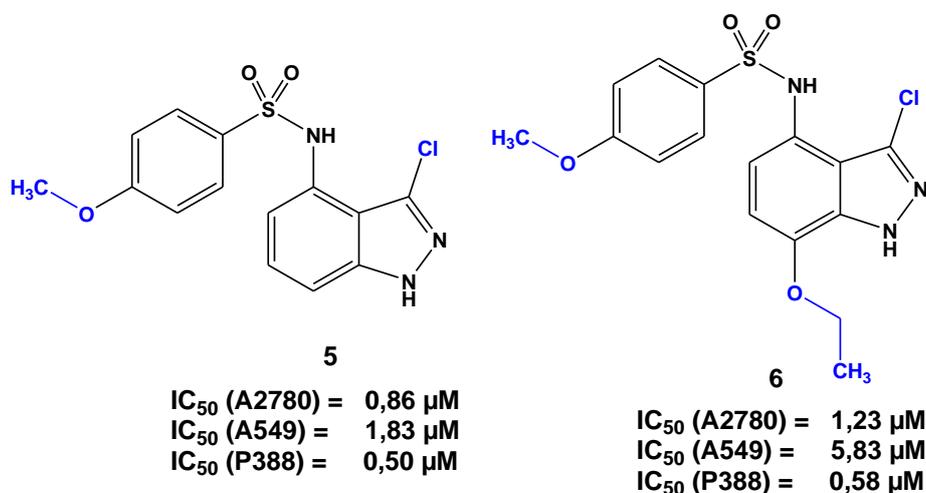


Diagramme 1. Activité antiproliférative des dérivés indazoliques sur les lignées cellulaires A2780, A549, P388

A la lumière des résultats (tableau 3), on peut s'apercevoir que les composés **4-7**, **13** et **15** ont une activité antiproliférative sur les lignées A2780, A549 et P388 très intéressante avec des valeurs allant de 0,50 μM à 8,00 μM . Au vu de l'ensemble de ces résultats, les composés **5** et **6** ont montré un pouvoir inhibiteur supérieur aux autres produits testés sur les trois lignées cellulaires cancéreuses. Les résultats montrent que les dérivés de l'indazole substitués en position 3 par un atome de chlore, en position 7 par un groupement éthoxy et un groupement méthoxy en position para de sulfonyle augmente fortement l'activité cytotoxique de nos structures (composés **5** et **6**). Ce qui concorde avec les résultats obtenus par Rakib et coll.⁴



D'autre part, l'analyse de déclenchement de l'apoptose a été réalisé au moyen de DAPI (ou 4',6-diamidino-2-phénylindole dihydrochlorate), qui est un marqueur bleu fluorescent des acides nucléiques. Il permet la mise en évidence de la segmentation du noyau cellulaire, qui est typique du processus de l'apoptose. Ce test concerne principalement les composés les plus actifs (**4-7**, **9**, **13** et **15**) dans l'inhibition de la prolifération des cellules tumorales car sont ceux qui présentent la meilleure activité en ce qui concerne l'induction de l'apoptose (tableau 4). Il est intéressant de noter que, la sensibilité de la lignée cellulaire humaine pulmonaire A549 à l'activité antiproliférative des composés actifs est inférieure à celle de la lignée tumorale de l'ovaire A2780 (tableau 3), cependant en terme d'induction de l'apoptose, et à des concentrations équitoxiques, ces cellules semblent être en général plus sensibles que les cellules A2780 ($p < 0,05$) (en particulier pour **5**, **6**, **13** et **7**; tableau 4).

Tableau 4. Activité apoptotique des produits actifs, évaluée par l'analyse morphologique nucléaire après coloration DAPI.

	Composés testés							
	4	13	5	6	7	15	9	
A2780	CTR	2,8±1,0 ^a	3,2±2	1,8 ± 1,3	2,2±1,2	1,5±1,4	1,8±1,6	3,0±1,0
	IC₉₀^b	34,3±3,4	66,5±15	46,6±10.1	36,8±5,9	24,0±6,6	27,0±6,2	51,5±10,8
	IC₅₀	12,8±3,5	19,3±6,5	23,6±4,4	23,3±5,3	7,3±2,5	12,5±2,1	33,5±6,5
A549	CTR	1,8±0,5	1,6±0,5	2,0±0,8	1,7±0,5	1,0±1,3	0,9±1,2	3,0±2,6
	IC₉₀^b	32,3±9,4	29,2±8,9	70,8±12,3	64,5±7,0	41,2±5,8	24,9±6,7	54,3±1,5
	IC₅₀	2,8±1,0	51,2±11,2	34,3±7,5	34,8±9,7	28,0±4,6	18,8±7,7	22,3±4,0
P388	CTR	2,5±1,9	1,5±0,5	2,5±2,0	1,5±1,0	1,5±0,6	1,8±1,0	1,5±1,3
	IC₉₀^b	87,5±6,4	68,7±9,4	74,0±12,5	98,0±1,1	91,3±3,9	56±12,2	94,3±4,9
	IC₅₀	9,8±3,5	30,0±12,3	11,5±5,6	47,3±10,5	37,3±11,8	19,0±6,7	10,3±3,4

^a : La moyenne ± écart-type, exprimant le pourcentage des cellules apoptotiques.

^b : IC₉₀ varie de 0,97 à 957 µM. Quand IC₉₀ est supérieure à 200 µM (A2780, **13**, **15**, **9**, **7**, A549, **13**, **9**, **7**), cette concentration a été utilisée pour traiter les cellules.

Les résultats du tableau 4 sont aussi présentés sous forme des diagrammes. Diagramme 2 indique les résultats obtenus de l'activité apoptotique des composés

après traitement par IC₅₀ et le diagramme 3 représente les résultats obtenus après traitement par IC₉₀.

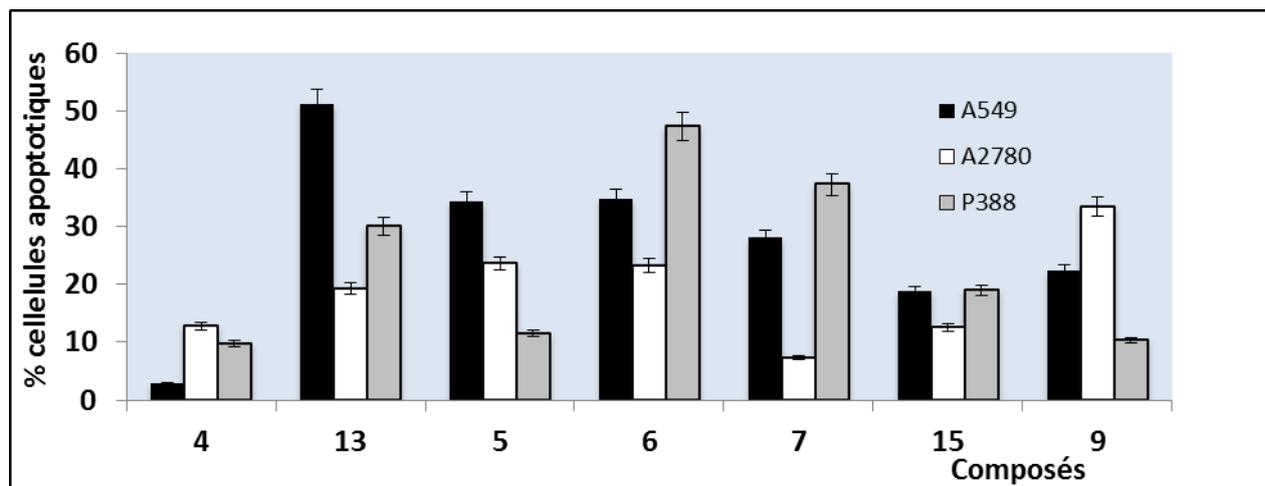


Diagramme 2. Activité apoptotique des produits actifs après traitement par IC₅₀.

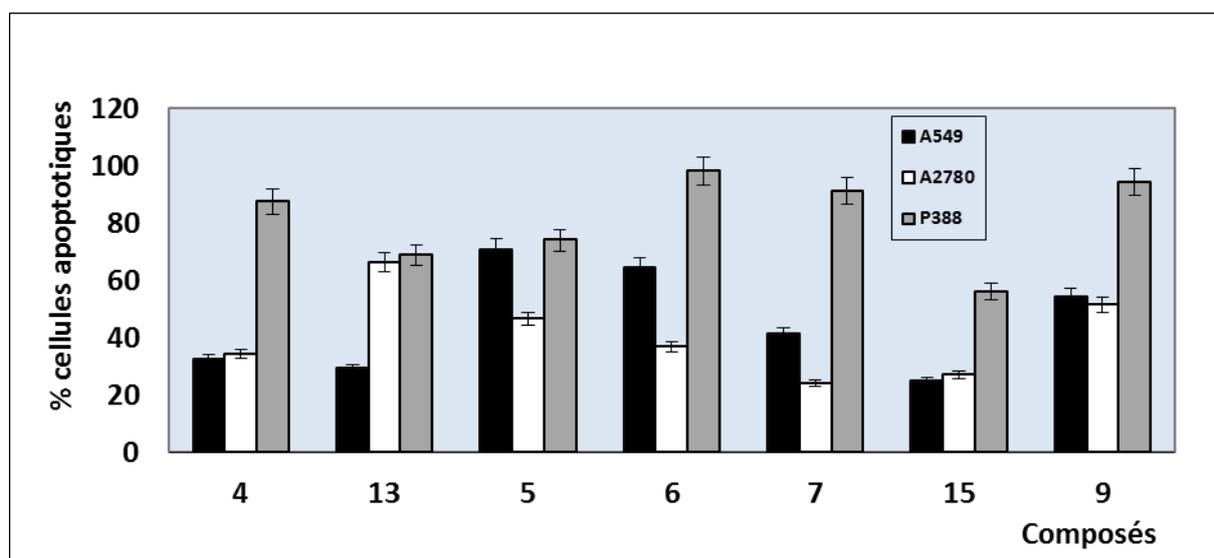


Diagramme 3. Activité apoptotique des produits actifs après traitement par IC₉₀.

2. Analyse "Western-blot" ou les transferts de western pour l'identification des marqueurs de l'apoptose : p53 et bax

Généralement, la technique Western Blot est utilisée pour identifier la présence de protéines spécifiques dans des échantillons séparés par électrophorèse.

Les composés 4-7, 13 et 15, sont tous capables d'induire l'apoptose, et sont également analysés par western blot pour étudier l'activation et la régulation positive de certains marqueurs de l'apoptose tels que p53 et bax. Dans cet objectif, nous

avons étudié les taux de ces marqueurs pour la lignée cellulaire A2780 après 24, 48 et 72 h d'incubation avec leur spécifiques IC₅₀.

Les résultats obtenus montrent que tous les composés testés sont capables de réguler les deux inducteurs de l'apoptose p53 et bax en même temps et par différentes manières. En fait, la protéine p53 était efficacement régulée après 24 h d'incubation par tous les composés actifs testés, tandis que le gène bax est activé généralement après 48 h d'incubation mais beaucoup moins évident que p53, ou absent dans le cas du composé 7. Néanmoins, il est avéré que le mécanisme apoptotique est directement contrôlé par p53 dont l'un de ses principaux rôles est d'activer l'expression du gène Bax (figure 6).

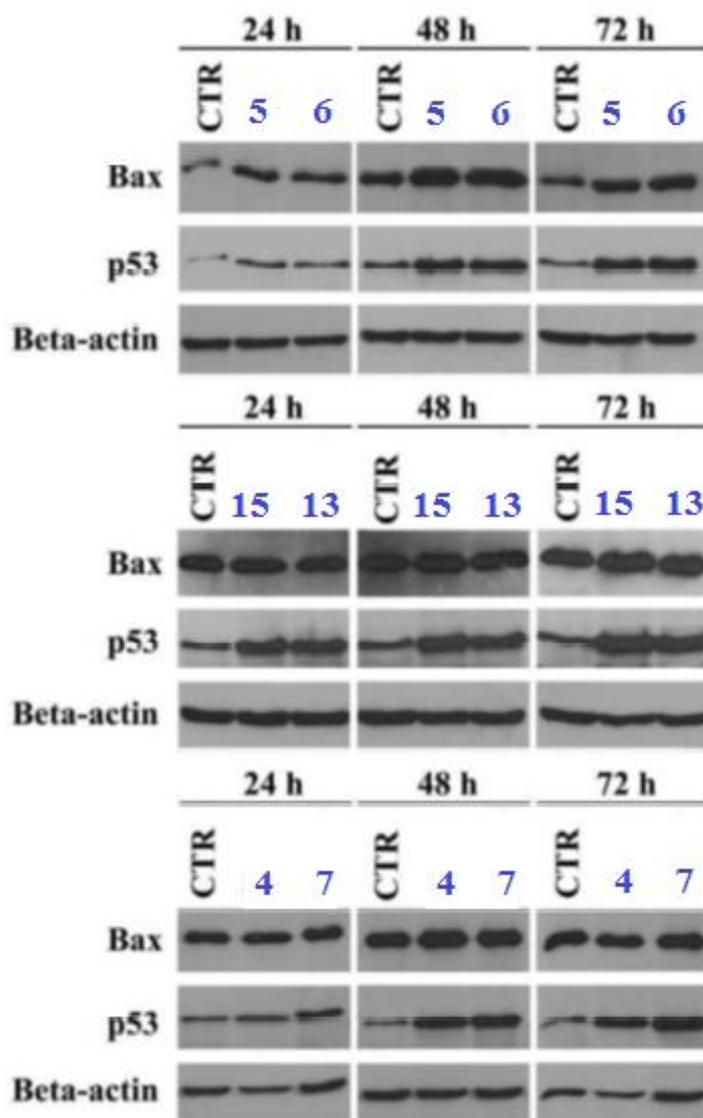


Figure 6. Analyse de l'expression de p53 et bax par Western blot, après exposition des cellules A2780 aux IC₅₀ des composés 4, 5, 6, 7, 13, et 15 pendant 24, 48 et 72 h.

3. Analyse du cycle cellulaire

Dans le but de mettre en évidence les perturbations provoquées par nos produits actifs dans chaque phase du cycle cellulaire des cellules tumorales A2780, nous avons fait appel à la coloration à l'iodure de propidium suivie de la cytométrie en flux. La cytométrie en flux permet l'analyse multiparamétrique de plusieurs milliers de cellules isolées. Des mesures simultanées de caractéristiques physiques et biologiques peuvent être réalisées pour chaque cellule.

Au vu de ces résultats (tableau 5), les composés 4, 6, 7 et 13 ont pu provoquer un blocage du cycle cellulaire dans la phase G0/G1 avec leurs IC₅₀, avec une diminution concomitante des cellules dans la phase S. Alors que nous n'avons pas observé la présence des cellules polyploïdes et aneuploïdes, un blocage partiel des cellules à la phase G2/M a eu lieu dans le cas des dérivés 9 et 15. On peut suggérer que le mécanisme d'action possible est dû à une interaction directe de ces composés avec les microtubules.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons refait ces expériences en utilisant les concentrations équi-toxiques IC₇₅ des composés. Il est à noter que, dans ces conditions de culture, tous les composés ont provoqué un blocage typique et sensible des cellules dans la phase G2/M du cycle cellulaire et une diminution simultanée des cellules dans les phases S et G0/G1. En outre, tous les composés ont généré des sous-populations cellulaires avec un nombre de chromosomes >4n (tableau 5).

Tableau 5. Pourcentage des cellules A2780 dans les différentes phases du cycle cellulaire après traitement pendant 72 h avec IC₅₀ et IC₇₅ des composés 4-7, 9, 13 et 15.

Phases du cycle cellulaire	IC ₅₀							
	CTR	4	5	6	15	7	13	9
G0/G1	51,0±6,2 ^a	61,5±3,3	56,1±4,1	62,7±0,7	53,7±1,9	65,0±4,2	66,0±3,8	43,5±2,9
S	25,9±4,7	14,2±2,9	18,0±3,7	10,4±4,6	12,6±2,6	11,3±5,3	9,8±0,9	27,3±5,0
G2/M	23,1±2,5	24,3±3,4	25,9±1,6	26,9±4,6	33,7±3,2	23,7±1,9	24,2±4,1	29,3±2,1
Phases du cycle cellulaire	IC ₇₅ ^b							
	CTR	4	5	6	15	7	13	9
G0/G1	51,0±6,2	10,2±1,1	9,4±0,4	10,8±1,8	8,9±0,5	9,1±1,0	10,8±1,7	9,9±2,3
S	25,9±4,7	10,3±1,0	7,8±0,8	8,4±6,9	8,2±3,5	15,0±2,1	5,5±0,4	13,7±3,1
G2/M	23,1±2,5	71,5±2,1	70,1±0,2	69,6±3,7	71,4±1,5	69,2±1,1	72,7±1,4	64,5±1,1
Cellules avec >4n	-	8,1±1	12,8±0,1	11,3±1,4	11,6±1,6	6,8±0,9	11,1±0,6	12,0±0,4

^a moyenne ± écart type (données de 3-4) exprime le pourcentage des cellules dans différentes phases du cycle cellulaire.

^b Les IC₇₅ varient de 6.8 µM à 102.3 µM.

4. Analyse "Docking" moléculaire

La procédure Docking décrite ci-dessous nous a permis d'identifier le site de la colchicine qui constitue une poche de fixation de nos molécules actives. En particulier, tous les ligands testés "in silico" adoptent une conformation similaire à celle de la colchicine, où le ligand est le plus souvent enfermé dans le domaine entre la sous-unité β, acculé par β-brins S8, S9, boucle T7 et α-hélice H7, H8. Les ligands testés interagissent aussi avec la boucle T5 de la sous-unité α voisine. On peut conclure que la colchicine bloque la tubuline dans sa conformation courbe, ce qui explique comment cette molécule dépolymérise les microtubules⁵.

Parmi les molécules testées in silico, le composé 4 a été identifié comme étant le meilleur ligand idéal de la tubuline affichant une $K_i = 7,1 \times 10^{-7} M$. La figure 7 représente la superposition de la molécule 4 positionné en fonction des résultats de la simulation de Docking, à la colchicine, tel que révélé par cristallographie aux rayons X. Le composé 5 peut être aussi considéré comme étant un ligand idéal vu sa

valeur K_i calculée qu'est légèrement inférieure à $3,2 \times 10^{-6} M$, les autres composés ont montré des résultats moins intéressants.

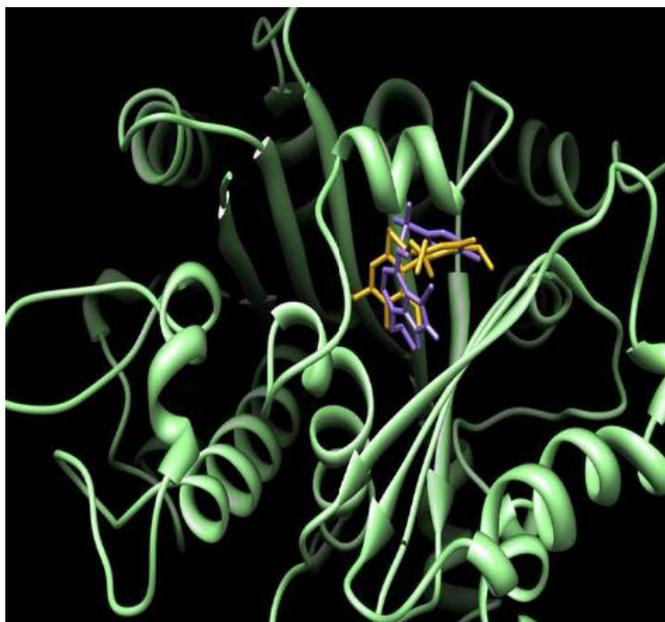


Figure 7. Représentation de l'interaction entre le composé 4 (couleur violet), la colchicine (couleur jaune) et la β -tubuline

Résumé des résultats biologiques de la série 1 : composés 1-15

Les sulfonamides **4-7**, **9**, **13** et **15** ont présenté une activité antiproliférative intéressante contre les lignées cellulaires tumorales étudiées. Les composés **5** et **6** ont été les plus actifs de toute la série testée avec IC_{50} inférieur à $1 \mu M$. Un résultat analogue a été observé également en ce qui concerne leurs activité apoptotique, en effet, les composés actifs sont tous capables de déclencher l'apoptose, en particulier les deux composés **5** et **6**, et régulent positivement les marqueurs p53 et bax, suggérant ainsi la voie mitochondriale pour l'activation de cet important mécanisme de mise à mort des cellules tumorales. L'activité antiproliférative et apoptotique est meilleure pour les composés **5** et **6** grâce à la présence d'un groupement méthoxy en position para du benzène de la partie sulfonamide et un atome de chlore en position 3 de l'indazole.

D'autre part, notre analyse Docking a montré que le composé **4** est le ligand idéal pour le site de la liaison de β -tubuline avec une K_i de $7.1 \times 10^{-7} M$, ce composé était le moins actif parmi ceux actifs. Il est fort probable que nos composés puissent se lier à d'autres cibles moléculaires possibles essentielles pour la survie de la cellule. Cela peut être dû au fait que le composé **4**, comme déjà mentionné, ne possède pas le groupement méthoxy et / ou l'atome de chlore qui semblent être liés

à l'activité élevée des composés **5** et **6**. Notre analyse Docking indique également que les dérivés indazoliques peuvent interagir, mais avec une différence importante, avec le site de liaison de la colchicine, un agent bien connue qui interagit avec la tubuline, en perturbant la courbure normale du complexe de la tubuline et compliquant la croissance physiologique des microtubules pendant la polymérisation ce qui provoque l'arrêt subséquent ou l'altération de la mitose.

Pour l'analyse du cycle cellulaire, les composés actifs ont causé un blocage dans la phase G2/M du cycle cellulaire, et généré des sous-populations ayant un nombre de chromosome $>4n$. Cet effet est apparu clairement lorsqu'on a utilisé une plus forte concentration (IC_{75}), et par analogie avec les dérivés N-(7-indazolyl)benzènesulfonamides, on suggère fortement une interaction de nos produits avec la tubuline ou avec d'autres macromolécules impliquées dans les étapes de la mitose telles que les kinases ou la γ -tubuline, dont l'inhibition bloque la progression normale des phases de la mitose avec un effet ultérieur de polyploïdisation ^{6,7}.

Un blocage dans la phase G2/M a également lieu même lorsqu'on a appliqué une concentration inférieure (IC_{50}) pour les deux composés **15** et **9**, et ils sont liés aussi à une diminution des cellules dans les phases G0/G1 ou S. Dans les mêmes conditions de culture, tous les autres composés ont montré un blocage typique dans la phase G0/G1 avec une diminution concomitante des cellules dans la phase suivante. Sachant que la progression du cycle cellulaire et l'apoptose résultent de l'interaction d'un grand nombre de facteurs biomoléculaires, dont l'étude est hors de nos objectifs actuels, leur définition dans nos conditions de culture pourrait aider à mieux comprendre le mode d'action de nos composés et améliorer leur efficacité *in vitro*.

Vue l'importance des résultats obtenus, nous avons tenté, dans la deuxième partie de ce chapitre d'étudier et évaluer l'activité antiproliférative et apoptotique d'une nouvelle série de N-(6-indazolyl)benzènesulfonamide sur deux lignées cellulaires: A2780 et A549.

III. Evaluation pharmacologique des N-(6-indazolyl)arylsulfonamides 16-23

La deuxième série testée est composé des molécules suivantes :

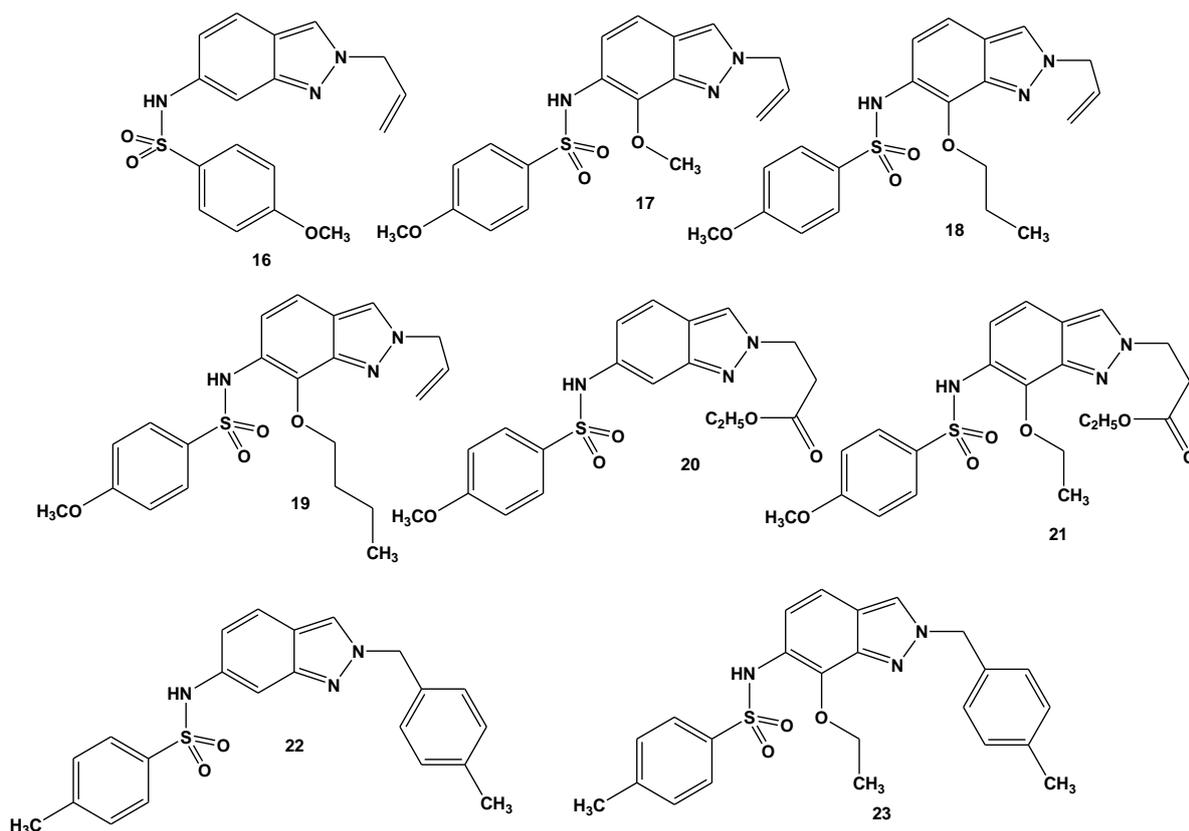
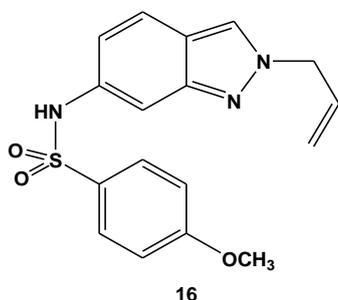


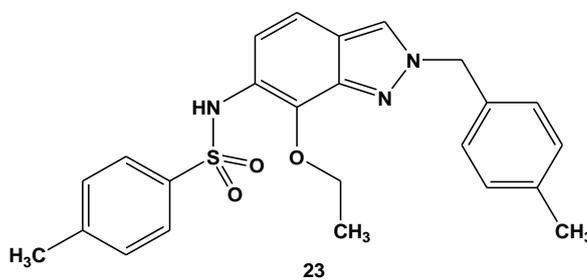
Figure 8. Deuxième série des molécules testées contre les lignées cellulaires A2780 et A549.

1. L'analyse de l'inhibition de la prolifération cellulaire et du déclenchement de l'apoptose

Parmi les molécules présentées sur le tableau 5, les composés **16**, **23** semblent être les plus intéressants. En effet, ces derniers inhibent la prolifération cellulaire des cellules tumorales A2780 et A549 à des concentrations de faibles doses (IC_{50} varie entre 4,21 μ M à 18,6 μ M).



IC_{50} (A2780) = 4,21 μ M
 IC_{50} (A549) = 18,6 μ M

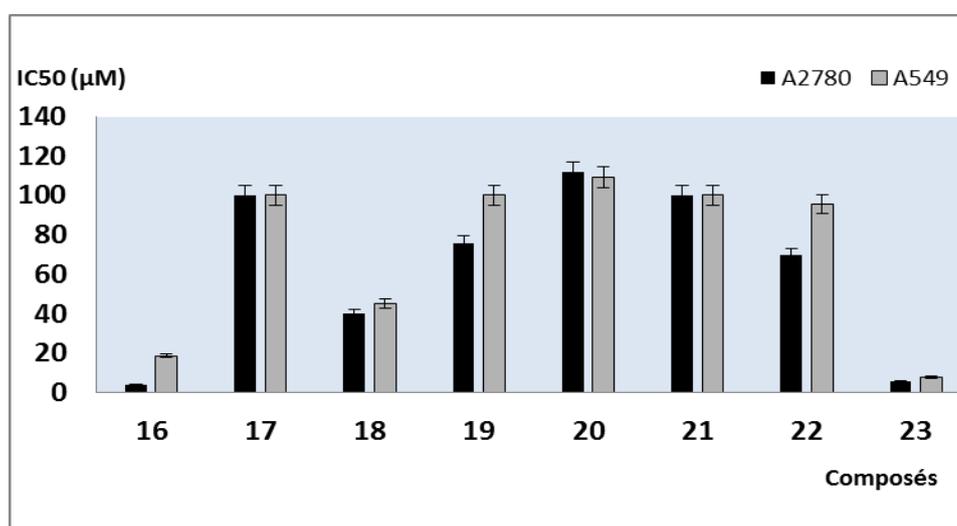


IC_{50} (A2780) = 5,47 μ M
 IC_{50} (A549) = 7,73 μ M

Tableau 6. Activité antiproliférative des nouveaux dérivés N-[6-indazolyl] arylsulfonamides contre les lignées des cellules tumorales A2780 et A549.

Composés	IC ₅₀ ±SD ^a	
	A2780	A549
16	4,21 ± 1,19	18,6 ± 3,5
17	>100	>100
18	40,2 ± 8,6	45,2 ± 14,5
19	75,6 ± 3,5	>100
20	111,6 ± 6,3	109,3 ± 3,7
21	>100	>100
22	69,7 ± 6,5	95,7 ± 8,9
23	5,47 ± 1,45	7,73 ± 1,66

^a SD : écart type (expérience 3-4).

**Diagramme 4.** L'effet antiprolifératif des dérivés N-[6-indazolyl]aryl sulfonamides sur les cellules A2780 et A549.

Outre l'activité antiproliférative, les composés **16** et **23** ont montré une activité apoptotique significative sur les deux lignées cellulaires A2780 et A549 traitées avec leurs spécifiques IC₅₀, IC₇₅, ou avec une concentration 100 µM. Cette activité apoptotique a été évaluée par le test de l'Annexine V. En particulier, le composé **16** est considéré très actif contre le carcinome pulmonaire A549, il atteint environ 36,0 ±

9,7% ($23,5 \pm 4,0\%$ annexine⁺/PI⁻ et $12,5 \pm 4,6\%$ annexine⁺/PI⁺) des cellules apoptotiques lorsqu'il est utilisé avec son IC₅₀ (tableau 7).

Tableau 7. Activité apoptotique des N-[6-indazolyl] arylsulfonamides 16 et 23

Composés	A2780		
	CTR ^a	IC ₅₀ ^b	IC ₇₅
16	4.7 ± 2.6^c	22.0 ± 7.6	38.8 ± 11.9
23		19.3 ± 7.1	32.2 ± 13.7
	A549		
	CTR	IC ₅₀	100µM
16	4.2 ± 1.7	36.0 ± 9.7	44.7 ± 6.3
23		13.3 ± 2.4	21.9 ± 4.4

^a CTRs : la moyenne \pm écart-type des cellules témoins traitées à la fois avec 0,6 % et 1,2 % de DMSO. Aucune différence significative n'a été observée en termes de la mort cellulaire par apoptose en utilisant deux différentes concentrations de DMSO.

^b les concentrations appliquées, sont déterminées par le test MTT.

^c la moyenne \pm écart-type (4-7) représente la somme des cellules apoptotiques au début et à la fin (annexine⁺/PI⁻ et annexine⁺/PI⁺ respectivement), tel que déterminée par la coloration de l'annexine V/PI.

2. Analyse du cycle cellulaire traité par les composés 16 et 23

Le tableau 8 montre que le composé **23** a causé une accumulation des cellules A2780 dans les phases S et G2/M du cycle cellulaire, lorsqu'il est utilisé avec son IC₅₀ et 100 µM. Cet effet a été accompagné d'une diminution des cellules dans la phase G0/G1. En comparaison avec le composé **23**, le composé **16** a également provoqué une augmentation moins évidente des cellules dans la phase G2/M avec une perte correspondante des cellules dans la phase G0/G1.

Autrement, lorsqu'on utilise 100 µM, le composé **16** provoque une grande accumulation des cellules dans la phase G2/M avec une génération supplémentaire des sous populations des cellules avec un nombre de chromosomes >4n et une perte correspondante des cellules dans la phase G0/G1. Dans le cas des cellules aneuploïdes A549,⁸ le composé **16** a causé une grande accumulation des cellules dans la phase G2/M avec diminution significative des cellules dans les phases S et G0/G1.

En revanche, le composé **23** a causé une accumulation importante des cellules A549 dans la phase G0/G1 du cycle cellulaire lorsqu'il est utilisé avec son IC₅₀. L'utilisation de 100 µM a généré une augmentation dans la phase G2/M avec une diminution correspondante des cellules surtout dans la phase G0/G1 du cycle cellulaire.

Tableau 8. Pourcentage des cellules A2780 et A549 dans différentes phases du cycle cellulaire après traitement avec les composés 16 et 23 pendant 72 h, utilisés avec leurs IC₅₀ et 100 µM.

Phases du cycle cellulaire	CTR ^a	Composés				
		16		23		
		IC ₅₀	100 µM ^b	IC ₅₀	100 µM ^b	
A2780	G0/G1	55,9 ± 1,9 ^c	50,5 ± 7,3	4,3 ± 1,5	40,0 ± 7,5	30,5 ± 9,4
	S	25,0 ± 2,0	24,5 ± 2,6	21,7 ± 3,6	33,6 ± 6,7	37,6 ± 11,2
	G2/M	19,2 ± 1,5	25,0 ± 7,3	46,6 ± 7,2	29,7 ± 6,7	31,9 ± 1,9
	Cellules avec >4n	-	-	27,4 ± 2,1	-	-
A549	G0/G1	46,7 ± 3,2	35,1 ± 7,0	13,4 ± 5,5	57,8 ± 2,2	36,0 ± 14,1
	S	34,9 ± 4,8	25,0 ± 3,4	31,5 ± 9,4	28,8 ± 3,9	31,2 ± 7,4
	G2/M	18,5 ± 6,0	39,9 ± 9,4	55,2 ± 14,4	23,4 ± 3,8	32,8 ± 13,5
	Cellules avec >4n	-	-	-	-	-

^a pourcentage des cellules de contrôle dans différentes phases du cycle cellulaire, en culture en présence de 0,6% ou 1,2% de DMSO, ont été statistiquement semblables. C'est la raison pour laquelle ils ont été mis en commun.

^b A 100 µM, le composé **16** a exprimé 86,9 ± 4,3% et 66,3 ± 2,6% d'inhibition de la prolifération cellulaire de A2780 et A549 aneuploïdes, respectivement. Le composé **23** a eu de 76,9 ± 0,7% et 53,5 ± 5,4% d'inhibition de la prolifération cellulaire contre les mêmes lignées cellulaires.

^c moyenne ± écart-type représente le pourcentage des cellules (n = 3-6) dans différentes phases du cycle cellulaire.

3. Microscopie à immunofluorescence

Afin de vérifier si l'arrêt à la phase G2/M du cycle cellulaire et la génération des cellules avec un nombre de chromosomes >4n pourrait dépendre de la liaison de nos dérivés N-[6-indazolyl]arylsulfonamides avec les microtubules, nous avons vérifié

l'effet de ces composés sur le réseau des microtubules des cellules A549 par microscopie d'immunofluorescence.

Les images de la figure 9, montrent que les deux composés **16** et **23** peuvent altérer la structure normale du réseau des microtubules de façon similaire à l'agent antimicrotubule vincristine, avec l'apparition des points représentant les micro-agrégats de la tubuline. Toutefois, ce comportement a été observé seulement dans un nombre relativement faible des cellules non apoptotiques traitées avec 100 μM des composés **16** et **23** ($10,7 \pm 0,9\%$, et de $4,3 \pm 0,9$, respectivement), tandis que les cellules non apoptotiques restantes ont montré une architecture des microtubules à peu près normale.

Dans des conditions de culture similaires, vincristine (75 μM) a causé $18,7 \pm 2,5\%$ de cellules présentant les mêmes anomalies des microtubules. Il faut souligner que les composés et les concentrations utilisés ont provoqué une inhibition similaire de la prolifération cellulaire, allant, en moyenne, de 54% à 66%). Nos résultats semblent répondre vers un mécanisme d'action analogue à celui de nos précédents dérivés N-(7(4)-indazolyl)-4-méthoxy-benzènesulfonamides,⁹ même si les concentrations appliquées sont beaucoup plus faibles pour obtenir une inhibition importante de la prolifération cellulaire (IC_{50}), ceci n'exclut pas la possibilité pour d'autres mécanismes d'action encore inconnus.

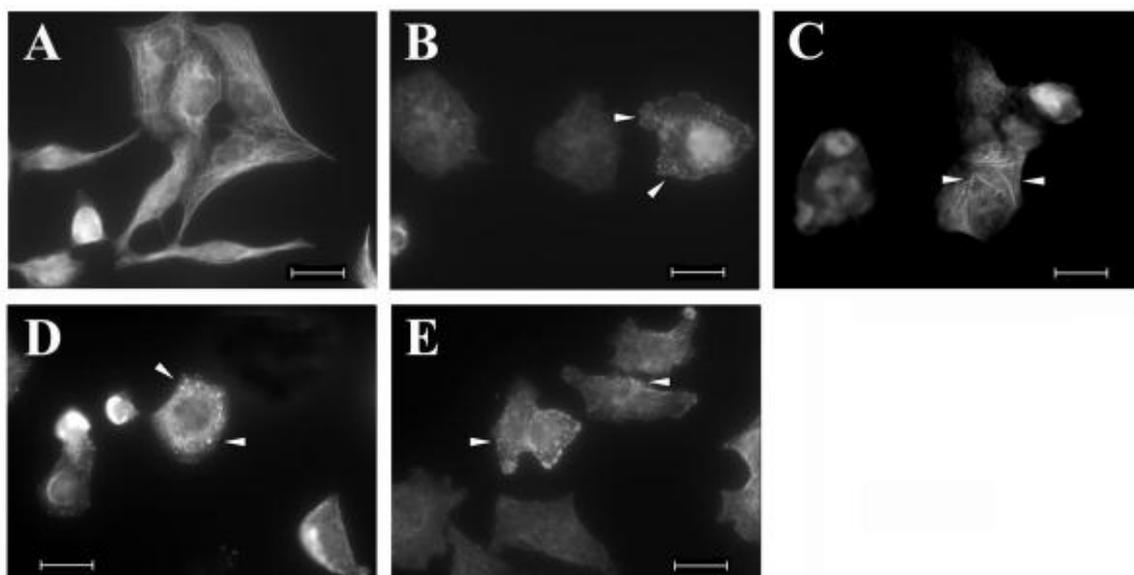


Figure 9. Panneau A: effet microtubulaire des composés **16** et **23** dans les cellules A549. Essais de contrôle des cellules A549 aneuploïdes. Les panneaux **B** et **C**: Les cellules traitées pendant 24 heures avec 75 μM et 100 μM de paclitaxel et vincristine, respectivement. Le traitement a provoqué la formation de nombreuses microstructures rondes et paquets, comme indiqué par les flèches dans les panneaux **B** et **C**, respectivement. Panneaux **D**, **E**: cellules A549 traitées pendant 24 heures avec 100 nM de **16** et **23**, respectivement. Notez la microstructure ronde dans certaines cellules interprétées comme agrégats de tubuline (pointes de flèche) similaires à ceux trouvés après le traitement avec la vincristine. Barre = 20 μm .

4. Docking moléculaire

La procédure Docking décrit ci-dessous nous a permis d'identifier le site de fixation du paclitaxel comme la poche de liaison pour le composé **23**. Malgré le résultat favorable pour le mode de liaison adopté, la molécule **23**, étant beaucoup plus plate que le paclitaxel, qui était prévu pour se lier profondément dans la fente de la protéine comme le montre la figure 10 (panneau A). Par conséquent, le composé **23** ne semble pas être capable de perturber la structure de la tubuline par stabilisation de la formation des microtubules comme dans le cas du paclitaxel. D'autre part, le composé **16** a été prévu pour se lier à un site de liaison non identifié précédemment sur l'interface des sous-unités α/β (figure 10, panneau B) différent du site de liaison de la colchicine déjà identifiée pour les dérivés *N*-(4-indazolyl)-benzènesulfonamide par analyse Docking. Toutefois, les constantes d'inhibition calculées pour les indazoles actifs par le programme AutoDock sont relativement faibles (K_i 1.4*10⁻⁶ et 3.4*10⁻⁶ pour les molécules **16** et **23** respectivement) ; par

conséquent, ni **16** ni **23** peuvent être considérés comme des ligands très efficaces, et ce résultat pourrait partiellement justifier l'effet faible observé par l'analyse de l'immunofluorescence au microscope.

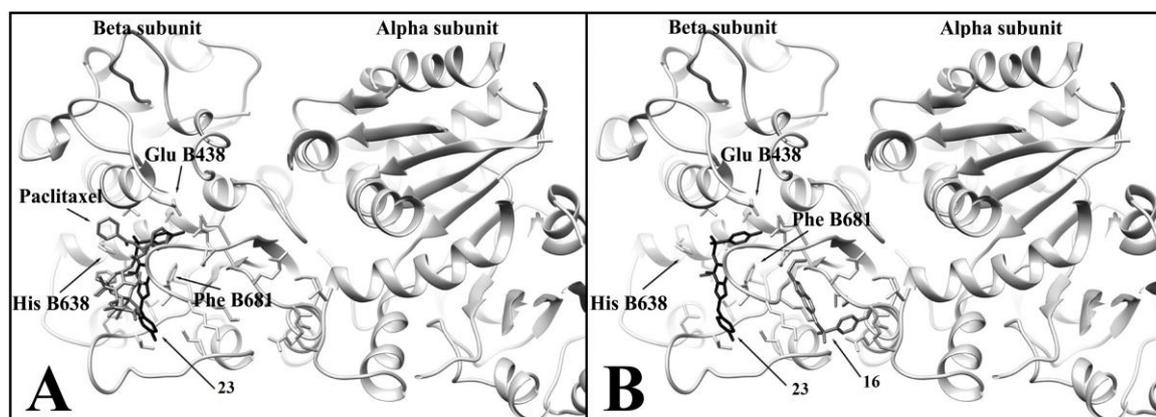


Figure 10. La figure présente les modes de liaison de ligand à la tubuline qui est représentée comme des rubans gris clair. Panneau **A** indique la structure cristallographique de la β -tubuline liée à un fragment de paclitaxel (bâtonnets gris). La molécule **23** est rapportée en noir. Comme représente la figure, les deux ligands partagent le même site de liaison avec le composé **23** qui est positionné plus profondément dans la fente de liaison. Panneau **B** rapporte comment le site de liaison du composé **16** (bâtonnets gris) est situé à l'interface entre les sous-unités α et β de la tubuline. Le composé **23** est lié à la fente de liaison du paclitaxel qui est également signalé comme référence.

En résumé de ces résultats biologiques de la série 2, les N-[6-indazolyl] arylsulfonamides **16** et **23** ont montré une activité anti-proliférative significative contre les lignées cellulaires tumorales testées. De plus, ces deux composés actifs sont également capables de déclencher l'apoptose d'une manière significative, notamment le composé **16** qui a provoqué une moyenne des cellules apoptotiques de 36% lorsqu'il est administré par son IC_{50} contre les cellules du carcinome du poumon A549. Sur la base de ces résultats, nous avons étudié ainsi l'effet de nos nouveaux composés **16** et **23** sur le cycle cellulaire. Comme était prévu, ces deux produits ont provoqué un arrêt typique dans la phase G2/M du cycle cellulaire, en particulier lorsqu'on utilise une concentration plus élevée (100 μ M), pourtant seulement le composé **16** qui a été capable de générer des cellules avec un nombre de chromosomes $>4n$. Bien que, ce résultat a renforcé la possibilité de l'interaction de nos produits avec les microtubules. Cette hypothèse a été partiellement confirmée par la microscopie à immunofluorescence. En fait, les deux composés ont été capables d'altérer le réseau microtubulaire en provoquant la condensation des

microtubules dans des points représentant des agrégats susceptibles être de la tubuline, de façon similaire à l'agent anticancéreux: vincristine.

L'analyse Docking moléculaire montre que le composé **16** se lie à un site de liaison à l'interface des sous-unités α/β qui sont séparées par le site de liaison de la colchicine qui est déjà identifié pour les dérivés du N-(6(4)-indazolyl) benzènesulfonamide. Néanmoins, cette liaison est assez faible, ce qui pourrait partiellement justifier le faible effet dépolymérisant les microtubules qui a été détecté par le microscope.

IV. Conclusion

Nous avons décrit, l'activité anti-proliférative et apoptotiques de nouveaux dérivés de N-(6 (4)-indazolyl)-benzènesulfonamides et N-(7-éthoxy-6 (4)-indazolyl)-benzène sulfonamides. Certains composés ont montré des activités anti-proliférative et apoptotique très intéressantes contre les lignées cellulaires A2780, A549 et P388.

Bien que avec des caractéristiques différentes, la majorité des composés ont induit un blocage de cellules dans la phase G2/M du cycle cellulaire et génèrent des cellules avec un nombre anormal de chromosomes, des phénomènes qui sont typiques, mais pas exclusivement de la tubuline agent interagissant. En se basant sur les résultats de l'analyse du cycle cellulaire et sur l'étude microscopique à immunofluorescence, nos nouvelles molécules semblent avoir une interaction différente avec les microtubules. Ce qui découvre la diversité de leur cible moléculaire.

Ces résultats biologiques suggèrent que nos indazoles peuvent constituer des composés principaux pour d'autres études visant la synthèse de nouveaux agents anticancéreux.

Partie expérimentale

Les tests pharmacologiques ont été réalisés à l'institut national de cancérologie et d'immunologie à Genova en Italie. Les dérivés de N-(6(4)-indazolyl)benzènesulfonamides ont été testés *in vitro* sur différentes lignées cellulaires tumorales murines et humaines : A2780 (carcinome humain de l'ovaire), A549 (adénocarcinome pulmonaire à petites cellules), P388 (leucémie murine). Les résultats sont exprimés en IC₅₀ (μM), qui présente la concentration de la drogue inhibant de 50% la prolifération des cellules.

En raison de la faible solubilité de nos composés dans l'eau, ils sont d'abord dissous dans 100% de diméthylsulfoxyde (DMSO) à une concentration de 100 mM, puis ils sont dilués dans le sérum fœtal de veau, les concentrations finales en DMSO sur les cellules étant de 0,6% pour **7** et **8** et 0,2% pour tous les autres composés.

1. Protocole expérimentale de l'évaluation pharmacologique de la première série de molécules 1-15.

1.1. Test de bromure de 3-(2,5-diméthyl-2-thiazolyl)-2,5-diphényl-2H-tetrazolium (MTT)

Les cellules des lignées A2780, A549, et P388 ont étéensemencées dans des plaques de 96 puits à un favorable rapport densité par puit (900 – 1800 cellules par puit), afin de maintenir une croissance exponentielle. Puis ils ont été centrifugées à 275 g pendant 2 minutes et maintenues pendant environ 6-8 heures avant le traitement. Les produits à tester ont été ajoutés au moins à cinq concentrations appropriées 10x (1:10 dilutions fois) pour atteindre un volume final de 200 μl. Les contrôles opportuns ont toujours fait. Le test MTT a été réalisée comme décrit par ailleurs^{2,3}. Les IC₅₀ ont été calculée par l'analyse de la courbe concentration-réponse. Chaque valeur finale moyenne ± écart-type a été calculée pour 3-9 expériences.

2.1. Visualisation des cellules apoptotiques par coloration par 4'-6-diamidino-2-phénylindole (DAPI).

Les cellules ont été étalées dans 1 ml à différentes densités par puit (fourchette: 5000 – 10000 cellule/puit) en microplaque de 24 puits pendant environ 6-8 h, puis toutes les composés actifs ont été ajoutés afin d'obtenir leur propre IC₅₀ et IC₉₀, tel que déterminé par le test MTT. Après 3 jours, les cellules flottantes et adhérentes ont été récoltées et lavées deux fois avec du PBS froid, fixées à 100 μl

d'éthanol à 70% dans du PBS et maintenues à 4°C jusqu'à l'analyse. 5 µl d'une solution aqueuse de DAPI (10 µg/ml) ont été ajoutés aux échantillons juste avant l'examen au microscope, pour évaluer le pourcentage noyau / cellule apoptotique segmentée colorée avec du colorant fluorescent.

3.1. Analyse de Western blot

L'analyse de p53, Bax, et β-actine par Western blot a été réalisée sur A2780 après le traitement par les IC₅₀ des composés actifs **4-7**, **13** et **15** tel que déterminé par le test MTT. Après 24, 48 et 72 h de culture aliquotes, les cellules traitées et non traitées ont été récoltées, lavées deux fois avec une solution saline normale et traitée à 4°C pendant 30 min avec un tampon de lyse contenant 1% de Triton X-100, 0,15 M de NaCl et 10 mM de Tris (pH 7,4), 2 mg/ml d'aprotinine et 50 mg/ml de fluorure de phényle méthylphosphonyle. La concentration en protéine a été déterminée par la méthode de Bradford (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA). 50 µg de protéines ont été séparés sur un gel de polyacrylamide à 12% (SDS-PAGE), puis transférés sur une membrane de nitrocellulose (Hybond C-Extra, AmershamItaliaSrl, Milan, Italie). La fixation des protéines a été vérifiée par la coloration de Ponceau S. La liaison non spécifique a été inhibée par l'incubation pendant une nuit à 4°C avec 2% d'albumine bovine (Sigma) dans une solution TBST contenant 0,15 M de NaCl, 10 mM Tris (pH 8,0), et 0,05% de Tween 20. Les transferts ont été examinés avec anti-p53 DO-1 1:2000, et anti-bax sc-20067 1:800 (Santa Cruz, CA, USA). Après incubation avec la peroxydase de raifort conjugué IgG anti-souris, les bandes ont été visualisées par détection chimiluminescente (ECLTM Western blot système d'analyse, Amersham Italia Srl), comme recommandé par les fournisseurs. Les marqueurs du poids moléculaire précolorés (New England Biolabs, Beverly, MA, USA) ont été utilisés comme référence. La normalisation densitométrique a été réalisée en utilisant le signal d'expression obtenue par l'anticorps monoclonal anti-β-actine (AC-74, 1:10000, Sigma).

4.1. L'analyse du cycle cellulaire

Les cellules A2780 ont été analysées pour l'effet des composés actifs **4-9**, **13**, et **15** sur les phases du cycle cellulaire. Les cellules (1x10⁴/ml dans 10 ml) ont été traitées avec leurs IC₅₀ dans un ballon pendant 72 h, puis les cellules flottantes et adhérentes ont été récoltées, lavées deux fois avec une solution saline normale et fixées dans 70% d'alcool éthylique à -20°C pendant la nuit. Après fixation, les

cellules ont été traitées comme ce qui a été décrit par Viale et coll.¹⁰ et analysées à l'aide d'un cytomètre de flux FAC Sort (Bioscences BD, Montagne. View, CA). Le logiciel ModFit LT a ensuite été utilisé pour évaluer la distribution des cellules dans les différentes phases du cycle cellulaire.

5.1. L'analyse Docking moléculaire

Les simulations de docking moléculaire ont été réalisées par les programmes AutoDock 4.2 et GOLD, en utilisant, en tant que cible, les coordonnées atomiques de β -tubuline [code PDB 1SA0]¹¹. Dans la première étape, pour chaque ligand, nous avons effectué un "docking aveugle" : l'amarrage des petites molécules à leurs objectifs a été fait sans connaissance a priori l'emplacement du site de liaison par le système. Chaque fraction a été attachée à la protéine en utilisant le programme Autodock avec la protéine considérée comme un corps rigide et les ligands étant flexibles. La grille de recherche a été étendue sur la protéine réceptrice entière. Les cartes d'affinité pour tous les types d'atomes présents, ainsi que la carte électrostatique, ont été calculées par un espacement de la grille de 0,375 Å. La recherche a été réalisée avec l'algorithme génétique Lamarckian: Les populations de 256 individus avec un taux de mutation de 0,02 ont été évoluées pendant 100 générations. L'évaluation des résultats a été effectuée en triant les différents complexes par rapport à l'énergie de liaison prédite. Une analyse typologique basée sur la racine de la moyenne des valeurs d'écart carré, en se référant à la géométrie de départ, a ensuite été effectuée et la conformation de l'énergie la plus basse de l'amas le plus peuplé était considéré comme le candidat bioactif le plus prometteur. Lorsque des groupes de molécules sont presque équi-peuplés, et leur distribution d'énergie se propage, la fraction correspondante n'a pas été considérée comme un bon ligand. Dans un deuxième temps, nous avons validé le positionnement correct des ligands au site actif de fente en utilisant un second programme d'amarrage, GOLD (CCDC Cambridge, Royaume-Uni). Les résultats obtenus par GOLD confirment ce qui a déjà réalisé avec Autodock.

2. Protocole expérimentale de l'évaluation pharmacologique de la deuxième série de molécules 16-23.

1.2. Evaluation de l'activité anti-proliférative (test au MTT).

Les lignées cellulaires humaines A549 (carcinome du poumon) et A2780 (l'adénocarcinome de l'ovaire) ont étéensemencées respectivement à $0,89 \times 10^5$ /ml,

et 10^5 /ml, dans 180 μ l d'un milieu complet RPMI 1640 dans des plaques de microtitration à fond plat. Après 6-8 heures, les cellules ont été traitées avec cinq concentrations (1:10 dilutions fois) des composés à tester (20 μ l) dilués dans du FCS contenant 6% (16, concentration finale de 0,6%) ou 12% (23, concentration finale 1,2%) de DMSO. Trois jours plus tard, les cellules ont été traitées avec l'addition de MTT (Sigma, St. Louis, MO) en solution (2 mg / ml dans du PBS), comme décrit précédemment^{2,3}. Les IC_{50} et IC_{75} ont été calculées sur la base des courbes de concentration-réponse, l'analyse de chaque courbe unique par le logiciel Cricket Graph III. Chaque expérience a été répétée 4-8 fois.

2.2. Evaluation de l'apoptose par coloration d'annexine V/PI.

L'apoptose a été évaluée pour les lignées cellulaires A2780 et A549 traitées pendant 72 heures par les dérivés N-[6-indazolyl]arylsulfonamides : composé **16** (IC_{50} et IC_{75}) et composé **23** (IC_{50} et 100 μ M). Après que les cellules traitées ont été récoltées, lavées avec du PBS froid contenant 2% de sérum de veau fœtal, le déclenchement de l'apoptose est évalué par double coloration avec FITC-annexine V/PI (Kit Annexine V/FITC rh, Bender MedsystemGmbH, Vienne, Autriche) et l'analyse cytofluorimétrique¹¹.

3.2. L'analyse du cycle cellulaire.

Les lignées cellulaires A549 et A2780 ont également été étudiées pour l'effet des composés **16** et **23** sur les phases du cycle cellulaire. Les cellules (1×10^4 /ml et 0.88×10^4 /ml dans 10 ml pour A2780 et A549 respectivement) ont été traitées pendant 72 h avec des concentrations IC_{50} et 100 μ M des deux composés **16** et **23**. Les cellules flottantes et adhérentes ont ensuite été récoltées, lavées avec du PBS et fixées pendant une nuit à -20 °C dans l'éthanol à 70%. Une fois fixées, les cellules ont été traitées comme décrites par ailleurs⁹, et analysées à l'aide d'un cytomètre en flux FACSsort (BD Biosciences, Mountain. View, CA). Le logiciel ModFit LT a été utilisé pour évaluer la distribution des cellules dans les différentes phases du cycle cellulaire.

4.2. Microscopie à immunofluorescence.

Dix à cinq cellules de la lignée A549 ont été cultivées dans des lames creusés et traitées 24 heures plus tard avec 100 μ M de substances actives sélectionnées et pendant 24 h ou avec 75 nM de vincristine pour le contrôle positif. Après 24 h, les cellules ont été lavées avec du PBS et fixées pendant 5 minutes

avec 3,7% de para-formaldéhyde dans du PBS plus 2% de saccharose (PBS-S) à température ambiante. Après un autre lavage avec du PBS-S froid dans la glace, les cellules ont été fixées avec du méthanol à nouveau pendant 5 min à 20 °C. Des lavages supplémentaires avec du PBS-S froid terminent la procédure de fixation. La procédure du marquage avec des anticorps monoclonaux anti- α -tubuline (T5168, Sigma) est décrite par ailleurs⁴. Les images ont été acquises avec un microscope Axiovert 200M (Carl Zeiss GmbH, Goettingen, Allemagne) et microphotographies rendus par le logiciel Photoshop 5.0.

5.2. Docking moléculaire

Les simulations d'amarrage moléculaire ont été réalisées en utilisant le programme GOLD (CCDC, Cambridge, UK) et, en tant que cible moléculaire, les coordonnées tridimensionnelles de α - et β -tubuline stabilisées par paclitaxel [REF1, le code APB 1JFF]. La grille de recherche a été étendue sur une sphère de rayon 20 Å centré sur l'atome de O de Asp357 de la chaîne β . La fonction de notation "Goldscore" a été adoptée telle que fournie par le programme.

Références bibliographiques :

1. Hussain, R. F., Nouri, A. M. E., Oliver, R. T. D. *J. Immunol. Methods* **1993**, 160, 89-96.
2. Dell'Erba, C., Chiavarina, B., Fenoglio, C., Petrillo, G., Cordazzo, C., Spinelli, D., Ognio, E., Aiello, C., Marigiò, M. A., Viale, M. *Pharmacol. Res.* **2005**, 52, 271-282.
3. Bouissane, L., El Kazzouli, S., Léonce, S., Pfeiffer, B., Rakib, E.M., Khouili, M., Guillaumet, G. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 1078-1088.
4. Stec-Martyna, E., Ponassi, M., Miele, M., Parodi, S., Felli, L., Rosano, C., *Struct. Curr.Cancer Drug Targets* **2012**, PMID: 22385515.
5. Pollard, J. R., Mortimore, M. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 2629-2651.
6. Wise, D.O., Krahe, R., Oakley, B. R. *Genomics* **2000**, 67, 164-170.
7. Isaka, T.; Nestor, A. L.; Takada, T.; Allison, D. C. *J. Histochem.Cytochem.* **2003**, 51, 1343–1353.
8. 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.
9. Viale, M., Petrillo, G., Aiello, C., Fenoglio, C., Cordazzo, C., Marigiò, M. A., Cassano, A., Prevosto, C., Ognio, E., Vaccarone, R., Spinelli, D., *Pharmacol. Res.* **2007**, 56, 318-328.
10. Ravelli, R. B., Gigant, B., Curmi, P.A., Jourdain, I., Lachkar, S., Sobel, A., Knossow, M. *Nature* **2004**, 428, 198-202.
11. Viale, M.; Cordazzo, C.; de Toterò, D.; Budriesi, R.; Rosano, C.;Leoni, A.; Ioan, P.; Aiello, C.; Croce, M.; Andreani, A.;Rambaldi, M.; Russo, P.; Chiarini, A.; Spinelli, D. *Invest. NewDrugs* **2011**, 29, 98-109.

Conclusion générale

Dans le cadre de notre travail de thèse, de nouveaux dérivés de l'indazole à visée anticancéreuse ont été préparés par des synthèses multi-étapes, via des réactions d'alkylation, de réduction catalytique par le chlorure stanneux et de réaction de couplage des amines hétérocycliques par le chlorure d'arylsulfonyle.

La partie introduction nous a permis de rappeler l'importance des dérivés de l'indazole en chimie médicinale, ces petites molécules fonctionnalisées dans différentes positions sont doués des propriétés pharmacologiques et biologiques très diverses et intéressantes.

Dans le premier chapitre, nous avons étudié la réaction d'alkylation des 4-, 6-nitroindazoles par différents groupements alkyles. Cette réaction nous a permis d'isoler dans tous les cas un mélange de deux produits: le 1-alkyl-nitroindazole et le 2-alkyl-nitroindazole avec des rendements influencés par les conditions opératoires utilisées. Plusieurs facteurs ont été envisagés pour orienter la réaction d'alkylation vers les positions 1 ou 2 de l'indazole. Nous avons remarqué que la nature du solvant, de l'agent alkylant, le choix de la base, ainsi que la température et la position du groupement nitro de l'indazole sont des facteurs déterminants pour orienter la réaction d'alkylation vers la synthèse de l'indazole alkylé en position 1 ou en position 2. Les molécules préparées à partir de l'alkylation du 4- et du 6-nitroindazole sont ensuite utilisées comme précurseurs pour la réduction des nitroindazoles par le chlorure stanneux dans différents alcools.

Dans le chapitre 2, nous avons examiné la réaction de réduction des 4-nitroindazoles suivi du couplage de l'amine correspondant par le chlorure d'arylsulfonyle. Cette nouvelle méthodologie de synthèse initiée au sein de notre laboratoire, nous a permis d'isoler à côté du sulfonamide indazolique attendu, un autre composé de type 4-indazolylarylsulfonamide fonctionnalisé en position 7 par un groupement alkoxy. Pour étudier l'influence que peut avoir l'effet de l'insertion des substituants (halogène, agent alkylant,) dans différents position de l'indazole sur la réaction de réduction de 4-nitroindazole, nous avons envisagé deux facteurs principaux: l'effet de l'atome d'halogène en position 3 de l'indazole et l'effet de l'agent alkylant en position 1 et/ou 2 de l'indazole

Ainsi, en présence de l'atome d'halogène en position 3, nous avons observé une sélectivité meilleure en faveur du sulfonamide substitué en position 7 par un groupement éthoxy.

Pour les 4-nitroindazoles alkylés, nos résultats montrent que la protection de la position N1 de l'indazole joue un rôle fondamental dans l'orientation de la réaction de réduction vers la synthèse des sulfonamides indazoliques non substitués. Par contre, la protection de l'azote indazolique en position 2 favorise la synthèse du dérivé indazolique substitué par un groupe éthoxy en position 7. Ces résultats montrent aussi que la nature de l'agent alkylant en position 2 de l'indazole a un effet notable sur l'orientation de la réaction de réduction vers la synthèse des dérivés indazoliques substitué par un groupement éthoxy en position 7. Dans le cas du 4-nitroindazole alkylé en position 2 par le méthyle, nous n'avons isolé que le sulfonamide substitué en position 7 par un groupe éthoxy avec un bon rendement.

Cette voie de synthèse originale nous a permis de localiser le site réactif vis-à-vis du mélange SnCl_2/ROH et de synthétiser une nouvelle famille de 4-indazolylarylsulfonamides fonctionnalisés en position 7 par un groupement alkoxy. La présence des substituants de natures différentes dans le squelette de l'indazole tels que le groupement 7-alkoxy, le sulfonamide en position 4 et les groupements fonctionnels en position 1, 2 et 3, pourrait augmenter le spectre d'activité biologique de ce type de structure. Ces nouvelles sulfonamides ont été testés en tant qu'agents anticancéreux. Les résultats des tests pharmacologiques sont très intéressants (Cf: Chapitre IV).

Pour examiner l'effet de la position du groupement nitro de l'indazole et l'effet de la nature de la structure sur l'évolution de la réaction de réduction des dérivés nitrés par SnCl_2 dans ROH, dans le chapitre 3 nous avons étudié la réaction de réduction des 6-nitroindazoles et d'autres dérivés nitrohétéroaryles par le chlorure stanneux dans différents alcools.

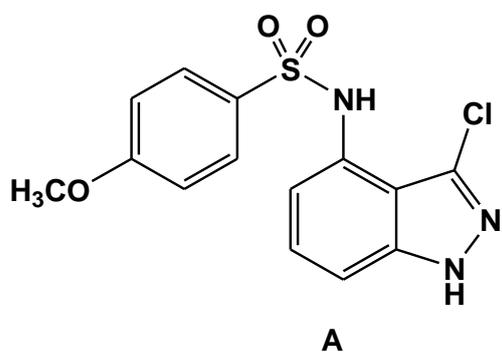
Dans ce chapitre, nous avons préparé une nouvelle série des sulfonamides poly-fonctionnalisés à partir de la réduction des *N*-alkyl-6-nitroindazoles via la réduction par le chlorure stanneux dans différents alcools. Nous avons montré que la protection de l'azote pyrazolique de l'indazole joue un rôle fondamental dans l'orientation de la réaction de réduction du 6-nitroindazole vers la synthèse des 7-alkoxyindazoles. L'alkylation de la position N-1 n'a permis d'obtenir que l'amine non substituée, par contre l'alkylation de l'indazole en position N-2 par différents agents alkylants a permis d'accéder aux dérivés 7-alkoxyindazoles avec de bon rendements.

Dans la série des nitrohétéroaryles, la réduction des 4-, 7-nitroindoles, 4-nitrobenzothiadiazole et 2-nitrobenzaldéhyde par SnCl_2 dans l'éthanol n'a permis d'obtenir que les amines correspondantes. Les dérivés alkoxy n'ont pas été

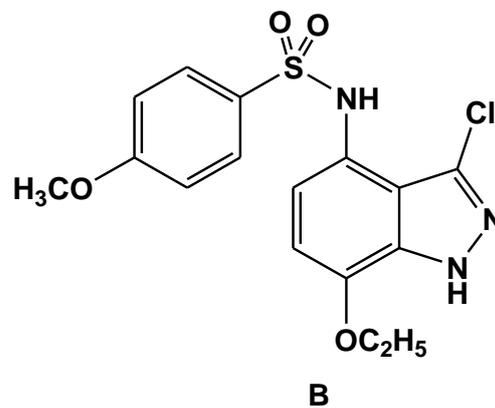
identifiés. Seul dans le cas de 5-nitroimidazole où la réduction conduit à un mélange de deux produits : le 4-méthyl-*N*-(2-méthyl-3H-imidazol-4-yl)-benzènesulfonamide et le *N*-(**5-éthoxy**-2-méthyl-3H-imidazol-4-yl)-4-méthyl-benzènesulfonamide. Ce résultat montre que la nature du squelette de la structure joue un rôle fondamental pour l'obtention des dérivés alkoxy.

La réduction de l'anhydride 3-nitrophtalique par SnCl₂ dans l'éthanol, nous a permis d'identifier pour la première fois la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques de type : éthyl 3-oxo-1,3-dihydro-1-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-2,1-benzoxazole-4-carboxylate. La présence de plusieurs centres réactifs confère à ce produit une grande réactivité vis à vis des systèmes binucléophiles pour accéder à la synthèse de nouvelles molécules biologiquement actives.

Au cours du Chapitre 4, nous avons pu effectuer l'évaluation pharmacologique de certains de nos composés synthétisés durant ce travail, dans le domaine de la cancérologie. Les tests pharmacologiques *in vitro*, réalisés sur trois lignées cellulaires : A2780 (cancer ovarien), A549 (cancer du poumon), P388 (cancer de leucémie) montrent que les *N*-(4(6)-indazolyl)-arylsulfonamides possèdent des activités anticancéreuses très importantes. Les meilleurs résultats sont obtenus avec les dérivés de l'indazole substitués en position 3 par l'atome de chlore et en position 7 par le groupement alkoxy, joint à un groupement méthoxy en position 4 du phényle lié au sulfonyle, en particulier le *N*-(7-éthoxy-1H-4-indazolyl)-4-méthoxy-benzènesulfonamide (figure) qui présente une très faible concentration inhibitrice envers les trois cellules tumorales (0,50-0,86 μM). De nombreuses modifications peuvent être envisagées, qui devraient permettre d'optimiser l'activité biologique recherchée.



CI_{50} (A2780) = 1,23 μ M
 CI_{50} (A549) = 5,83 μ M
 CI_{50} (P388) = 0,58 μ M



CI_{50} (A2780) = 0,86 μ M
 CI_{50} (A549) = 1,83 μ M
 CI_{50} (P388) = 0,50 μ M

Figure: Nouvelles molécules hétérocycliques comportant le motif indazolique en tant qu'agents anticancéreux. Les concentrations inhibitrices en vers les cellules tumorales sont de l'ordre de micromole avec de faible dose. P388 (Cancer de leucémie), A549 (Cancer du poumon), A2780 (Cancer de l'ovaire).

RESUME

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

Malgré la découverte de nouvelles molécules antitumorales et l'application de nouveaux traitements, le cancer reste une des principales causes de décès dans le monde. 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. Nous avons décidé de poursuivre nos études vers la synthèse d'une nouvelle classe de famille à structure 7-alkoxy-*N*-(4(6)-indazolyl)-arylsulfonamides. Pour accéder à ces molécules, une synthèse efficace a donc été mise au point, basée essentiellement sur la réduction des 4-, 6-nitroindazoles par le chlorure stanneux dans différents alcools suivi de couplage de l'amine correspondante par le chlorure d'aryle sulfonyle. Cette méthodologie nous a permis de faire varier les substituants alkyle de l'azote pyrazolique, la position du groupement alkoxy sur l'homocycle benzénique et la nature et la position du motif aryle sulfonyle sur le noyau indazolique. La synthèse de cette famille de dérivés indazoliques a enrichi les études de relation structure-activité, et nous ont permis d'obtenir une nouvelle classe d'anticancéreux très prometteuse.

Mots clés : Nitroindazoles, Nitrohétéroaryles, Chimie Médicinale, Agents anticancéreux, Alkylation directe, Réactions de réduction, Chlorure stanneux, 7-alkoxy-*N*-(4(6)-indazolyl)-arylsulfonamides