

(12) BREVET D'INVENTION

- (11) N° de publication : **MA 54773 B1**
- (51) Cl. internationale : **A61K 31/00; C07C 241/00;
C07C 311/46; A61K 31/397;
A61K 31/40; A61K 31/18**
- (43) Date de publication : **31.10.2023**
-
- (21) N° Dépôt : **54773**
- (22) Date de Dépôt : **29.10.2021**
- (71) Demandeur(s) : **Université Euro Méditerranéenne de Fès UEMF, ROND-POINT BENSOUDA, ROUTE DE MEKNES RN6, 30070 FES (MA)**
- (72) Inventeur(s) : **Zyad Abdelmajid ; El Brahmi Nabil ; El Abbouchi Abdelmoula ; Bousmina Mostapha ; Ait Mouse Hassan ; Saïd El Kazzouli ; Saghdani Nassima ; Idir Abderrazak ; Hmina Nabil**
- (74) Mandataire : **BOUNOU SALIM**
-
- (54) Titre : **Nouvelles familles de composés à base de sulfonamides pour le traitement du cancer du sein triple négatif**
- (57) Abrégé : La présente invention concerne de nouveaux dérivés des sulfonamides de formules (I) ou (II) leurs procédés de synthèse et leur utilisation en thérapeutique pour le traitement de pathologies proliférative notamment les cancers. Plus particulièrement, la présente invention porte sur la synthèse de nouvelles molécules présentant des propriétés biologiques en particulier pour le traitement des cancers et plus spécifiquement le cancer du sien triple négatif. Dans la présente invention de nouveaux composés de formules (I) ou (II) ont été synthétisés ensuite leurs activités cytotoxiques in vitro et in vivo ont été évaluées sur cancer du sein triple négatif MDA-MB-468.

Résultats

Les analyses statistiques.

Les données sont exprimées en moyenne \pm SD de trois expériences indépendantes. Les différences entre les groupes ont été analysées par une analyse de variance à un facteur (ANOVA). Dans tous les cas, les différences ont été considérées comme statistiquement significatives à $p < 0,05$. Toutes les analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel GraphPad Prism 8 (Tableau 3).

Les études *in vitro* montre que les composés P3, P4, P5 et P6 inhibent la prolifération des cellules cancéreuses de la lignée cellulaire humaine MDA-MB-468 du cancer du sein triple négatif avec des IC_{50} de l'ordre du micromolaire.

Les études *in vivo* montrent également une réduction importante de la taille des tumeurs traitées par les composés P3, P4, P5 et P6. Dans cette étude model de souris de type DBA2/P815 (H₂d) a été utilisé.

Descriptif

[–] Le cancer est parmi les maladies les plus répandues dans le monde. Il est provoqué par la multiplication et la propagation anarchique de cellules anormales et qui se développent au-delà de leurs limites habituelles. Cette maladie est considérée comme une cause majeure de décès dans le monde avec environ 10 millions de décès en 2020 [World Health Organization]. Les cancers les plus fréquents selon le nombre de cas détectés sont : les cancers du sein, du poumon, du colorectal, de la prostate, de la peau et de l'estomac [Lancet Glob. Heal. 2016, vol. 4, e609–e616].

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquemment diagnostiqué et le plus mortel chez la femme. Il résulte d'un dérèglement de certaines cellules qui se multiplient et forment le plus souvent une masse hétérogène appelée tumeur. En effet, des études sur l'expression génique ont permis d'identifier plusieurs sous-types majeurs de cancer du sein [Nature 2000, vol. 406, 747–52]. Les cancers triple négatifs constituent l'un de ces groupes. Ce type de cancer est caractérisé par l'absence de récepteurs hormonaux (progestérone et œstrogènes) et de la protéine HER2 à la surface de leurs cellules. Il se caractérise aussi par une prolifération puissante, un grade histopronostique élevé (architecture tumorale, la forme et la taille du noyau de la cellule et le nombre de cellules qui se divisent) ainsi par un risque d'apparition d'une métastase plus importante surtout au niveau du système nerveux central, poumons et foie [Int J Clin Exp Pathol. 2009, vol. 2, 444-455]

Étant donné que le cancer triple négatif est résistant à des thérapies ciblées HER2 telles que le trastuzumab et aux thérapies hormonales telles que le tamoxifène et les inhibiteurs de l'aromatase, la chimiothérapie reste la solution la plus adaptée du traitement de ce type de cancer [Eur. J. Cancer 2008, vol. 44, 2799-2805]. Au vu de contourner cette résistance, le développement de nouveaux agents spécifiques anticancéreux pour lutter contre cette maladie est nécessaire. De ce fait, une recherche massive de nouveaux agents anticancéreux a été principalement développée par la révélation de nouvelles cibles moléculaires sur lesquelles intervenir, suivie de la découverte de nouvelles classes de composés qui interagissent avec de telles cibles [Curr. Opin. Chem. Biol. (1999), 3, 500-509; Eur. J. Cancer 1996, vol. 6, 912-920; J. Natl. Cancer Inst. 2000, vol. 92, 898-902].

Les sulfamides constituent une classe importante de médicaments possédant des propriétés antibactériennes [Science 2000, vol. 287, 1960-1964], anti-anhydrase carbonique [Exp. Opin. Ther. Patents 2000, vol. 10, 575-600 ; Exp. Opin. Ther. Patents 2002, vol.12, 217-242], diurétiques [Exp. Opin. Ther. Patents 2000, vol. 10, 575-600 ; Med. Res. Rev. 2003, vol. 23, 146-189], hypoglycémiantes [Diabetes 1988, vol. 37, 847-850], antithyroïdienne [Chem. Soc.

Rev. 1979, vol. 8, 563-580], ou activité inhibitrice de la protéase entre autres. [Eds. Protease Inhibitors in AIDS Therapy. Marcel Dekker: New York, Basel, 2001; Med. Res. Rev. 2002, vol. 22, 329- 372 ; J. Med. Chem. 2000, vol. 43, 3677-3687]. Au cours des dernières années, un travail approfondi a été réalisé sur la synthèse, la relation structure-activité (SAR) et l'évaluation des activités anticancéreuses de composés contenant des groupements sulfamides [Eur. J. Med. Chem. 2018, vol. 155, 13–23 ; Comput. Biol. Chem. 2018, vol. 74, 294–303 ; J. Med. Chem. 1992, vol. 35, 2496–2497 ; J. Med. Chem. 1999, vol. 42, 3789-3799 ; Bioorg. Med. Chem. 2006, vol. 14, 1078-1088]. Un grand nombre de ces dérivés ont été rapportés comme molécules présentant une activité antitumorale substantielle *in vitro* et *in vivo* [J. Med. Chem. 1999, vol. 42, 3789-3799 ; Eur. J. Cancer 2001, vol. 37, 2275-2282 ; Invest. New Drugs 2001, vol. 19, 219-227 ; Mol. Cancer Ther. 2002, vol. 1, 275-286 ; J. Med. Chem. 2002, vol. 45, 4913-4922 ; Ann. Oncol. 2001, 12, 1289-1293]. Plusieurs mécanismes de leur action antitumorale ont été élucidés tels que l'inhibition de l'anhydrase carbonique, la perturbation du cycle cellulaire dans la phase G1, la perturbation de l'assemblage des microtubules, la suppression fonctionnelle de l'activateur transcriptionnel NF- κ B et l'inhibition de l'angiogenèse (matrice métalloprotéinase, MMP) entre autres.

Les composés naturels et synthétiques à base de carbonyle α,β -insaturés, y compris les chalcones, la curcumine et leurs analogues synthétiques, sont identifiés comme des produits présentant des activités antitumorales. L'unité carbonyle α,β -insaturée de ces composés présente un avantage extraordinaire dans le développement de composés biologiquement actifs et thérapeutiquement pertinents en chimie médicinale. Récemment, il a été rapporté qu'un certain nombre de dérivés contenant un groupe carbonyle α, β -insaturé présentent des activités biologiques polyvalentes telles que : des activités antitumorales, des effets antipaludiques et des activités antivirales.

Les activités cytotoxiques *in vitro* des nouveaux composés préparés ont été évaluées sur la lignée cancer du sein triple négatif MDA-MB-468.

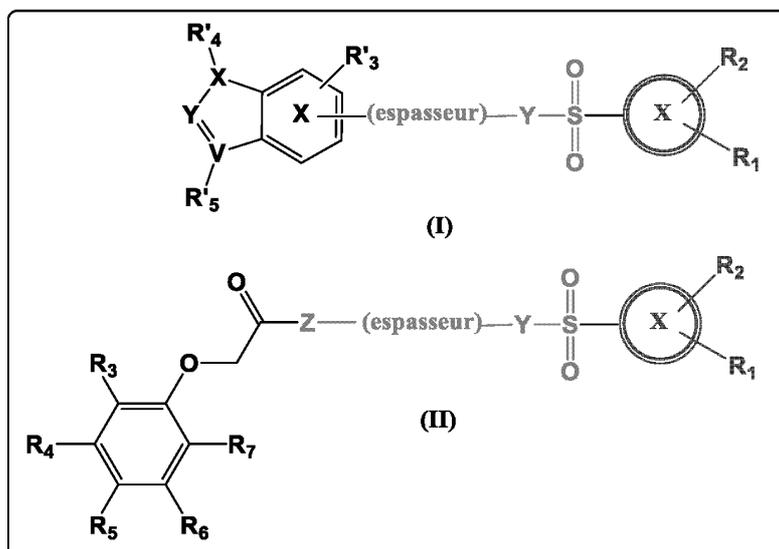
[-] Les inventeurs ont fait la conception et la préparation de nouveaux composés anticancéreux qui répondent mieux aux besoins de la pratique, notamment par la simplicité de leur préparation.

Ces composés sont potentiellement utilisables en thérapie humaine.

[-] Ce but est atteint par les composés de formule (I) ou (II) qui sont décrits ci-après et qui constituent le premier objet de l'invention, ces composés étant de puissants anticancéreux. En outre, les composés sont faciles à préparer, généralement en deux à trois étapes. L'ensemble

des composés de formules (I) ou (II) sont obtenus de manière très commode en utilisant des réactions chimiques très simples et bien connues dans la littérature.

[-] La présente invention a pour objectif de préparer les composés de formules (I) et (II) suivantes :



Dans lesquelles :

- X est un atome de carbone ou un ou plusieurs atomes d'azote qui remplacent les atomes de carbone du cycle aromatique à cinq et six chaînons, de préférence X est un atome de carbone ou un ou deux atomes d'azote.
- V et Y, identiques ou différents et indépendamment les uns aux autres, représentent un atome carbone, d'azote, d'oxygène ou de soufre, de préférence V est un atome d'azote et Y est un atome de carbone ou d'azote.
- Z est un hétéroatome, de préférence Z est un atome d'azote ou d'oxygène.
- Le cercle représenté par deux cercle bleus est un cycle de 5 ou de 6 chaînons saturé ou non saturé contenant un ou plusieurs hétéroatomes.
- R_1 et R_2 , identiques ou différents et indépendamment les uns aux autres, représentent un atome d'hydrogène, un atome d'halogène, un groupe d'hydroxy, un groupe d'alcoxy, un groupe d'alkyle, un groupe d'aryle, un groupe d'hétéroaryle, un groupe d'amine, un groupe de carbonitrile. Lesdits groupes alkyles, hydroxy, perfluoroalkyle, alkylthio, aminoalkyle et alcoxy pouvant comprendre de 1 à 10 atomes de carbone
- R'_3 , R_3 et R_4 , identiques ou différents et indépendamment les uns aux autres, représentent un atome d'hydrogène, d'halogène, d'hydroxy, d'alcoxy ou d'amine, de

préférence R[']₃, R₃ et R₄ sont un atome d'hydrogène, de chlore, de fluor, de brome, de méthoxy ou un hydroxy

- R[']₄ et R[']₅ identiques ou différents et indépendamment les uns aux autres, représentent un atome d'hydrogène, un groupe d'alkyle, un groupe d'aryle ou un groupe d'hétéroaryle.
- R₅, représentent un groupement α,β -insaturée, carbonyle α,β -insaturée, d'hydroxy, d'alkoxy, d'alkyle, d'aryle, d'hétéroaryle ou d'amine.
- R₆ et R₇, identiques ou différents et indépendamment les uns aux autres, représentent un atome d'hydrogène, d'halogène, d'hydroxy, d'alkoxy ou d'amine.
- Espaceur, représentent une chaîne alkyle pouvant comprendre de 0 à 10 atomes de carbone, de préférence de 1 à 3 atomes de carbone ou un cycle de 5 ou 6 chaînons saturé ou non saturé contenant un ou plusieurs hétéroatomes.

[-] Selon la présente invention :

- Alkyle : désigne un groupe hydrocarboné saturé ou non saturé, linéaire ou ramifié, ayant 1 à 10 carbones, de préférence de 1 à 2 atomes de carbone. Le terme « ramifié » signifie qu'au moins un groupe alkyle inférieur tel qu'un méthyle ou un éthyle est porté par une chaîne alkyle linéaire (alkyle supérieur). Le terme alkyle « inférieur » désigne un alkyle ayant 1 ou 2 atomes de carbone ; le terme alkyle « supérieur » désigne un groupe alkyle linéaire ou ramifié ayant de 3 à 10 atomes de carbone. A titre d'exemple de groupe alkyle, on peut citer les groupes méthyle, éthyle, n-propyle, isobutyle, tert-butyle, n-butyle et n-pentyle.
- Atome d'halogène : désigne un atome de brome, de chlore, d'iode et de fluor.
- Alcoxy : désigne un groupe O-alkyle dans lequel le groupe alkyle peut prendre la même signification que celle indiquée ci-dessus. A titre d'exemple de groupe alcoxy, on peut citer les groupes méthoxy, éthoxy, n-propoxy, iso-propoxy, n-butoxy et pentoxy ;
- Alkylthio : désigne un groupe alkyl-S dans lequel le groupe alkyle peut prendre la même signification que celle indiquée ci-dessus. A titre d'exemple de groupe alkylthio, on peut citer les groupes méthylthio, éthylthio, propylthio, isopropylthio, butylthio, pentylamino ;
- Aminoalkyle : désigne un groupe alkyle-N dans lequel le groupe alkyle peut prendre la même signification que celle indiquée ci-dessus. A titre d'exemples de groupe

aminoalkyl, on peut citer les groupes aminométhyl, aminoéthyl, iso-propylamino, butylamino et pentylamino ;

- Aryle : désigne un groupe aromatique hydrocarboné insaturé, cyclique, ayant 4 à 6 carbones, de préférence de 5 à 6 atomes de carbone.
- Hétéroaryle : désigne un aryle tel que défini ci-dessus dans lequel un ou plusieurs atomes de carbone ont été remplacés par des atomes d'azote, d'oxygène ou de soufre. A titre d'exemple de groupe hétéroaryle, on peut citer les groupes pyridine, pyrimidine, thiophène, furane, imidazole, pyrrole et triazole.

[-] Conformément à une forme de réalisation préférée de l'invention, les composés de formules (I) ou (II) sont choisis parmi ceux dans lesquels R_1 , R_2 et R'_3 représentent un hydrogène, un hétéroatome, un alkyle, un hydroxy, un alkoxy, un carbonitrile et un alkylamine, de préférence un hydrogène, un chlore, un méthyle, un méthoxy, un cyano et un hydroxy

[-] Conformément à une forme de réalisation préférée de l'invention, les composés de formules (I) ou (II) sont choisis parmi ceux dans lesquels R_3 et R_4 représentent un halogène et un alkoxy, de préférence un chlore, un méthoxy et un hydroxy.

[-] Conformément à une forme de réalisation préférée de l'invention, les composés de formules (I) ou (II) sont choisis parmi ceux dans lesquels R'_4 et R'_5 représentent un hydrogène, un groupe d'alkyle, un groupe d'aryle ou un groupe d'hétéroaryle, de préférence un hydrogène, un méthyl, un éthyl et un aryl.

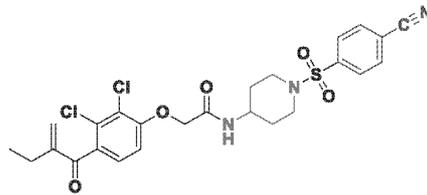
[-] Conformément à une forme de réalisation préférée de l'invention, les composés de formules (I) ou (II) sont choisis parmi ceux dans lequel R_5 , représentent un groupement α,β -insaturée, carbonyle α,β -insaturée, d'hydroxy, d'alkoxy, d'alkyle, d'aryle, d'hétéroaryle, d'amine, de préférence un carbonyle α,β -insaturée

[-] Conformément à une forme de réalisation préférée de l'invention, les composés de formules (I) ou (II) sont choisis parmi ceux dans lesquels R_6 et R_7 représentent un atome d'hydrogène, d'halogène, d'hydroxy, d'alkoxy ou d'amine, de préférence des atomes d'hydrogène

[-] Conformément à une forme de réalisation préférée de l'invention, les composés de formules (I) ou (II) sont choisis parmi ceux dans lesquels l'espaceur représentent un cycle de 5 ou 6 chaînons saturé ou insaturé contenant un ou plusieurs hétéroatomes, de préférence piperazine, 4-aminopiperidine, pyrrolidin-3-amine ou 4-(2-aminoethyl)aniline.

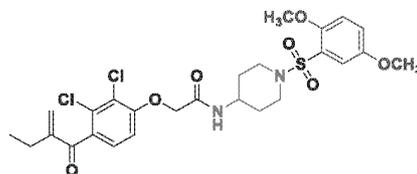
[-] A titre de composés de formule formules (I) ou (II) on peut citer :

N-(1-((4-cyanophényl)sulfonyl)piperidin-4-yl)-2-(2,3-dichloro-4-(2-méthylènebutanoyl)-phénoxy)acetamide P1 de formule suivante :



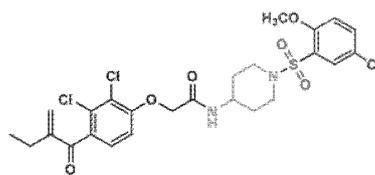
(Composé **P1**) ;

2-(2,3-dichloro-4-(2-méthylènebutanoyl)phénoxy)-*N*-(1-((2,5-diméthoxyphényl)sulfonyl)-piperidin-4-yl)acetamide P2 de formule suivante :



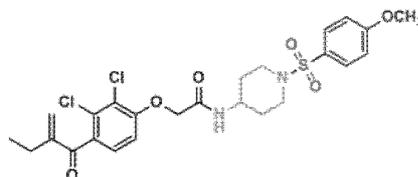
(Composé **P2**) ;

N-(1-((5-chloro-2-méthoxyphényl)sulfonyl)piperidin-4-yl)-2-(2,3-dichloro-4-(2-méthylènebutanoyl)phénoxy)acetamide P3 de formule suivante :



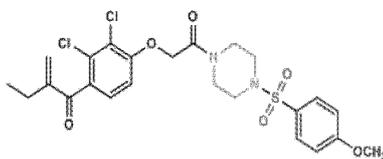
(Composé **P3**) ;

2-(2,3-dichloro-4-(2-méthylènebutanoyl)phénoxy)-*N*-(1-((4-méthoxyphényl)sulfonyl)-piperidin-4-yl)acetamide P4 de formule suivante :



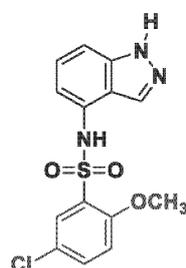
(Composé **P4**) ;

1-(2,3-dichloro-4-(2-(4-((4-méthoxyphényl)sulfonyl)piperazin-1-yl)-2-oxoéthoxy)phényl)-2-méthylènebutan-1-one P5 de formule suivante :



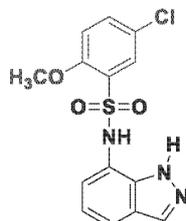
(Composé P5) ;

5-chloro-N-(1*H*-indazol-4-yl)-2-méthoxybenzenesulfonamide P6 de formule suivante :



(Composé P6) ;

5-chloro-N-(1*H*-indazol-7-yl)-2-méthoxybenzenesulfonamide P7 de formule suivante :



(Composé P7) ;

Protocoles de synthèse et caractérisation de différents composés selon l'invention

Les solvants ont été séchés selon des méthodes standards et distillés sous azote avant utilisation. Tous les réactifs sont utilisés sans purification préalable à partir des sources commerciales classiques. Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) du carbone ^{13}C et du proton ^1H ont été enregistrés sur un appareil JEOL AC600 (600 MHz). Les déplacements chimiques (δ) sont enregistrés en ppm par-rapport au pic résiduel de référence TMS. JNM-ECZ500R/S1 FT NMR SYSTEM (JEOL)

Protocole générale

Les espaceurs sulfonamides aminées utilisées sont préparées généralement en deux étapes selon les références de la littérature [Swarna et al., J. Med. Chem. 2002, 45, 3, 740-743 ; Down et

al., J. Med. Chem. 2015, 58, 18, 7381-7399 ; Usninn et al., Chem. Commun., 2012,48, 2680-2682].

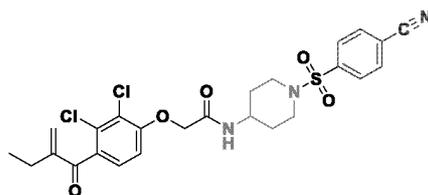
Les dérivés aminés de l'indazole sont traités avec différents espaceurs sulfonamides via une réaction de substitution nucléophile selon la procédure décrite dans le schéma 1. Cette séquence a eu lieu en présence de la 4-diméthylaminopyridine (DMAP) dans la pyridine à température ambiante. Les produits désirés sont obtenus avec des rendements satisfaisants après purification sur colonne de gel de silice.

L'acide éthacrynyque est traité avec différents espaceurs sulfonamides aminés *via* une réaction d'amidation menée selon la procédure décrite dans le schéma 1. Cette séquence a eu lieu en présence des agents d'activations tels que le *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC), d'hydroxybenzotriazole (HOBt) et de la 4-diméthylaminopyridine (DMAP) dans le DCM à température ambiante. Les produits désirés sont obtenus avec des rendements satisfaisants après purification sur colonne de gel de silice.

- La synthèse des composés P3, P4, P5 et P6, donnés à titre d'exemples, s'effectue selon le schéma 1 :

Les protocoles expérimentaux

Préparation de la *N*-(1-((4-cyanophényl)sulfonyl)piperidin-4-yl)-2-(2,3-dichloro-4-(2-méthylènebutanoyle)phénoxy)acetamide (P1) :



(Composé P1) ;

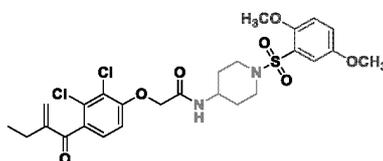
Etape 1

A une solution de tert-butyl piperidin-4-ylcarbamate (1 équiv.) dans le dichlorométhane (3 ml), la triéthylamine (3 équiv.) est ajoutée sous agitation. Une solution du chlorure de 4-cyanobenzènesulfonyl (1 équiv.) dans le dichlorométhane (4 ml) est ajoutée goutte à goutte. Le mélange est agité à température ambiante pendant 4 heures. Le milieu réactionnel est lavé avec 20 ml d'une solution aqueuse saturée de NaHCO₃. La phase organique est extraite trois fois avec le dichlorométhane, séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. L'intermédiaire obtenu est dissout dans le dioxane puis on ajoute du HCl dans le dioxane (2 ml) à température ambiante pendant une heure pour préparer l'amine déprotégée.

Etape 2

A une solution de DCC (1,1 équiv.), de HOBT (1,1 équiv.), de DMAP (0,005 équiv.) et d'acide éthacrynique (1 équiv.) dans le DCM (5 ml), l'amine 4-((4-aminopiperidin-1-yl)sulfonyl)benzonnitrile (1 équiv.) est ajoutée à 0 °C. Le mélange réactionnel est agité pendant 12 heures à température ambiante. Le mélange est extrait avec du dichlorométhane et les phases organiques combinées sont lavées avec du chlorure de sodium aqueux saturé, séchées sur du sulfate de magnésium puis concentrées sous pression. Le résidu brut est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice en éluant avec un mélange (Hex/EtOAc (6:4 (v/v))) pour obtenir le produit attendu **P1** sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 32%. RMN ¹H ((CD₃)₂CO, 600 MHz), ¹H RMN (600 MHz, Acétone-*d*₆) δ 8.08 – 8.03 (m, 2H), 7.99 – 7.95 (m, 2H), 7.28 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.12 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.02 (t, *J* = 1.4 Hz, 1H), 5.57 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H), 4.64 (s, 2H), 3.82 (dddd, *J* = 10.3, 7.8, 6.2, 4.0 Hz, 1H), 3.61 (dd, *J* = 12.2, 4.7 Hz, 2H), 2.68 (td, *J* = 12.1, 11.6, 2.9 Hz, 2H), 2.40 (qdd, *J* = 7.4, 1.5, 0.8 Hz, 2H), 1.97 – 1.91 (m, 2H), 1.62 (tdd, *J* = 10.7, 7.1, 5.3 Hz, 3H), 1.09 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H).

Préparation de la 2-(2,3-dichloro-4-(2-méthylènebutanoyl)phénoxy)-N-(1-((2,5-diméthoxyphényl)sulfonyl)piperidin-4-yl)acetamide (**P2**).



(Composé **P2**) ;

Etape 1

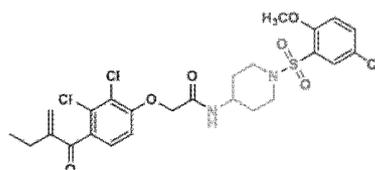
A une solution de tert-butyl piperidin-4-ylcarbamate (1 équiv.) dans le dichlorométhane (3ml), la triéthylamine (3 équiv.) est ajoutée sous agitation. Une solution du chlorure 2,5-diméthoxybenzenesulfonyl (1 équiv.) dans le dichlorométhane (4 ml) est ajoutée goutte à goutte. Le mélange est agité à température ambiante pendant 4 heures. Le milieu réactionnel est lavé avec 20 ml d'une solution aqueuse saturée de NaHCO₃. La phase organique est extraite trois fois avec le dichlorométhane, séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. L'intermédiaire obtenu ensuite se dissout en dioxane puis on ajoute HCl dans le dioxane (2 ml) à température ambiante pendant une heure pour préparer l'amine déprotégée.

Etape 2

A une solution de DCC (1,1 équiv.), de HOBT (1,1 équiv.), de DMAP (0,005 équiv.) et d'acide éthacrynique (1 équiv.) dans le DCM (5 ml), l'amine 1-((2,5-

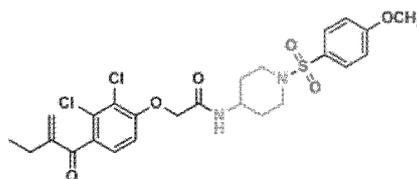
diméthoxyphényl)sulfonyl)piperidin-4-amine (1 équiv.) est ajoutée à 0 °C. Le mélange réactionnel est agité pendant 12 heures à température ambiante. Le mélange est extrait avec du dichlorométhane et les phases organiques combinées sont lavées avec du chlorure de sodium aqueux saturé, séchées sur du sulfate de magnésium puis concentrées sous pression. Le résidu brut est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice en éluant avec un mélange (Hex/EtOAc (8:2 (v/v))) pour obtenir le produit attendu **P2** sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 40%. RMN ¹H (600 MHz, Acétone-*d*₆) δ 7.32 (dd, *J* = 2.5, 1.1 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.16 – 7.11 (m, 3H), 6.02 (t, *J* = 1.5 Hz, 1H), 5.57 (s, 1H), 4.66 (s, 2H), 3.86 (s, 4H), 3.78 (s, 3H), 3.72 – 3.65 (m, 2H), 2.87 – 2.77 (m, 2H), 2.44 – 2.37 (m, 2H), 1.89 (dd, *J* = 13.0, 3.8 Hz, 2H), 1.57 – 1.49 (m, 2H), 1.09 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

Préparation de la *N*-(1-((5-chloro-2-méthoxyphényl)sulfonyl)piperidin-4-yl)-2-(2,3-dichloro-4-(2-méthylènebutanoyl)phenoxy)acetamide (P3).



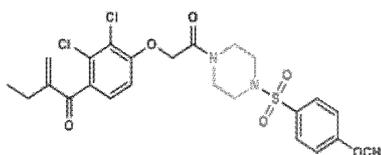
(Composé **P3**) ;

Préparation de la 2-(2,3-dichloro-4-(2-méthylènebutanoyl)phenoxy)-*N*-(1-((4-méthoxyphényl)sulfonyl)piperidin-4-yl)acetamide (P4)



(Composé **P4**) ;

Préparation du 1-(2,3-dichloro-4-(2-(4-((4-méthoxyphényl)sulfonyl)piperazin-1-yl)-2-oxoéthoxy)phényl)-2-méthylènebutan-1-one (P5)



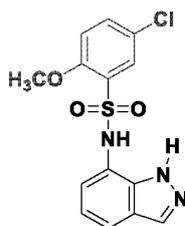
(Composé **P5**) ;

Préparation du 5-chloro-*N*-(1*H*-indazol-4-yl)-2-méthoxybenzenesulfonamide (P6)

(Composé **P6**) ;

A une solution agitée du 1*H*-indazol-4-amine (1 équiv.) dans de la pyridine (5 ml) a été ajouté du chlorure de 5-chloro-2-méthoxybenzenesulfonyle (2,76 équiv.) et du 4-(diméthylamino)pyridine (7,72 équiv.). Le mélange a été agité en continu à température ambiante pendant 24 à 48 h et la réaction a été surveillée par CCM. La solution a été diluée avec de l'eau glacée (30 ml). Les cristaux précipités sont filtrés, lavés à l'eau et séchés. Le produit brut était purifié par colonne chromatographique sur gel de silice en éluant avec un mélange (Hex/EtOAc (6:4 (v/v))) pour obtenir le produit attendu **P6** sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 38%. RMN ¹H (600 MHz, Acétone-*d*₆) δ 12.20 (s, 1H), 9.23 (s, 1H), 8.32 (d, *J* = 1.0 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.48 (dd, *J* = 8.9, 2.7 Hz, 1H), 7.26 (dt, *J* = 8.3, 0.9 Hz, 1H), 7.19 (dd, *J* = 8.3, 7.4 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.05 (dd, *J* = 7.5, 0.8 Hz, 1H), 3.98 (s, 3H).

Préparation du 5-chloro-N-(1*H*-indazol-7-yl)-2-méthoxybenzenesulfonamide (**P7**).

(Composé **P7**) ;

A une solution agitée du 1*H*-indazol-7-amine (1 équiv.) dans de la pyridine (5 ml) a été ajouté du chlorure de 5-chloro-2-méthoxybenzenesulfonyle (2,76 équiv.) et du 4-(diméthylamino)pyridine (7,72 équiv.). Le mélange a été agité en continu à température ambiante pendant 24 à 48 h et la réaction a été surveillée par CCM. La solution a été diluée avec de l'eau glacée (30 ml). Les cristaux précipités sont filtrés, lavés à l'eau et séchés. Le produit brut était purifié par colonne chromatographique sur gel de silice en éluant avec un mélange (Hex/EtOAc (6:4 (v/v))) pour obtenir le produit attendu **P7** sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 24%. RMN ¹H (600 MHz, Acétone-*d*₆) δ 12.06 (s, 1H), 9.04 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.61 (d, *J* = 2.7 Hz,

1H), 7.53 (ddd, $J = 8.1, 3.7, 1.8$ Hz, 2H), 7.22 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.03 (dd, $J = 7.4, 1.0$ Hz, 1H), 6.93 (dd, $J = 8.1, 7.4$ Hz, 1H), 3.97 (s, 3H).

Activités biologiques

La culture cellulaire

La lignée cellulaire humaine MDA-MB-468 du cancer du sein triple négatif a été cultivée dans le milieu de culture RPMI 1640, contenant 5 % de sérum bovin fœtal inactivé par la chaleur, 1 % de pénicilline G-streptomycine et 0,2 % de L-glutamine, dans un incubateur à 37°C sous atmosphère humidifiée contenant 5% de CO₂.

Test de cytotoxicité

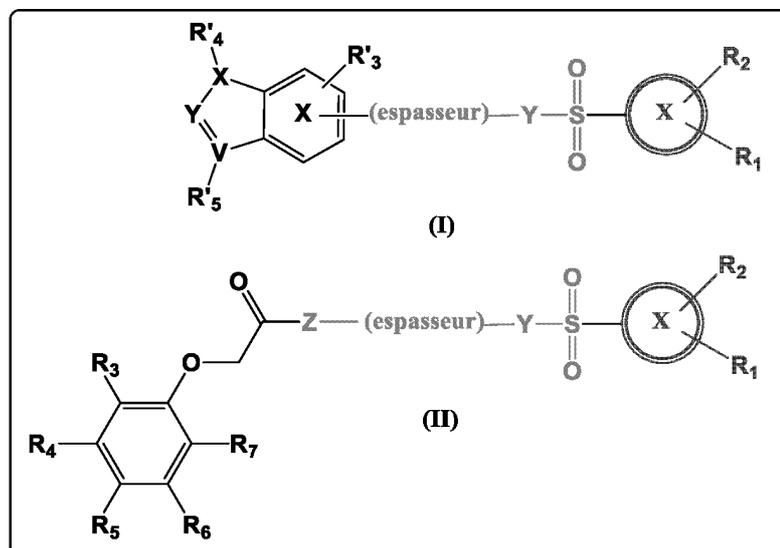
La viabilité cellulaire a été réalisée en utilisant le test MTT [Molécules 2019, vol. 24, 502]. Brièvement, les cellules ont été lavées deux fois avec du PBS etensemencées sur des plaques de microtitrage à 96 puits à une densité de 2×10^4 cellules/puits et laissées adhérer pendant une nuit avant la réalisation des tests de cytotoxicité. Ensuite, les cellules ont été traitées avec des concentrations croissantes (0,39-50µM) des composés (P3, P4, P5 et P6) dans 100 µL de milieu de culture pendant 48 h. Le DMSO et le Paclitaxel ont été utilisés comme témoins négatifs et positifs, respectivement. Cependant, la concentration finale de DMSO n'a jamais dépassé 1 %. Après 48 h d'incubation à 37°C sous atmosphère humidifiée à 5% CO₂, une solution de 20 µL de MTT (5 mg/ml en PBS) a été ajoutée dans chaque puit et incubée par la suite dans les mêmes conditions. Après 4 h, 150 µL du milieu ont été soigneusement retirés de chaque puit et remplacés par 150 µl d'acide-isopropanol (HCl 0,04 N dans l'isopropanol). La viabilité cellulaire a été mesurée par spectrophotomètre (appareil Multiskan EX (Labsystem)) à une longueur d'onde de 540 nm et exprimée en pourcentage de cellules témoins, selon la formule suivante (Tableau 1 et figure 1) :

$$\% \text{ de viabilité cellulaire} = 100 \times (A_i / A_0)$$

Avec A₀ et A_i sont respectivement la densité optique des cellules témoins et des cellules traitées. L'activité cytotoxique des composés a été comparée en calculant les valeurs des IC₅₀ (concentration conduisant à 50 % d'inhibition cellulaire) (Tableau 2)

Revendications

1- Composé caractérisé en ce qu'il répond aux formules (I) et (II) suivantes :

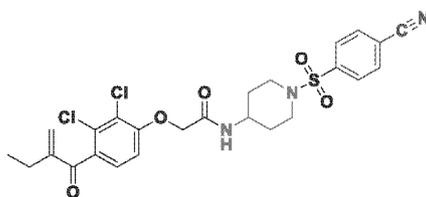


Dans lesquelles :

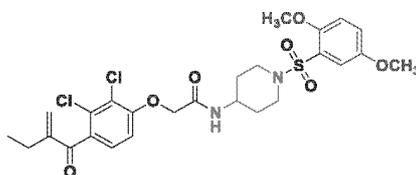
- X est un atome de carbone ou un ou plusieurs atomes d'azote qui remplacent les atomes de carbone du cycle aromatique à cinq et six chaînons, de préférence X est un atome de carbone ou un ou deux atomes d'azote.
- V et Y, identiques ou différents et indépendamment les uns aux autres, représentent un atome carbone, d'azote, d'oxygène ou de soufre, de préférence V est un atome d'azote et Y est un atome de carbone ou d'azote
- Z est un hétéroatome, de préférence Z est un atome d'azote ou d'oxygène.
- Le cercle représenté par deux cercle bleus est un cycle de 5 ou de 6 chaînons saturé ou non saturé contenant un ou plusieurs hétéroatomes.
- R_1 et R_2 , identiques ou différents et indépendamment les uns aux autres, représentent un atome d'hydrogène, un atome d'halogène, un groupe d'hydroxy, un groupe d'alcoxy, un groupe d'alkyle, un groupe d'aryle, un groupe d'hétéroaryle, un groupe d'amine, un groupe de carbonitrile. Lesdits groupes alkyles, hydroxy, perfluoroalkyle, alkylthio, aminoalkyle et alcoxy pouvant comprendre de 1 à 10 atomes de carbone
- R'_3 , R_3 et R_4 , identiques ou différents et indépendamment les uns aux autres, représentent un atome d'hydrogène, d'halogène, d'hydroxy, d'alcoxy ou d'amine, de préférence, R'_3 , R_3 et R_4 sont un atome d'hydrogène, de chlore, de fluor, de brome, de méthoxy ou un hydroxy

- R₄ et R₅ identiques ou différents et indépendamment les uns aux autres, représentent un atome d'hydrogène, un groupe d'alkyle, un groupe d'aryle ou un groupe d'hétéroaryle.
- R₅, représentent un groupement α,β -insaturée, carbonyle α,β -insaturée, d'hydroxy, d'alkoxy, d'alkyle, d'aryle, d'hétéroaryle ou d'amine.
- R₆ et R₇, identiques ou différents et indépendamment les uns aux autres, représentent un atome d'hydrogène, d'halogène, d'hydroxy, d'alkoxy ou d'amine.
- Espaceur, représentent une chaîne alkyle pouvant comprendre de 0 à 10 atomes de carbone, de préférence de 1 à 3 atomes de carbone ou un cycle de 5 ou 6 chaînons saturé ou non saturé contenant un ou plusieurs hétéroatomes

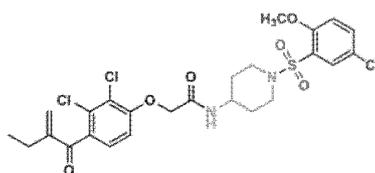
2. A titre de composés de formules (I) ou (II) on peut en particulier citer :



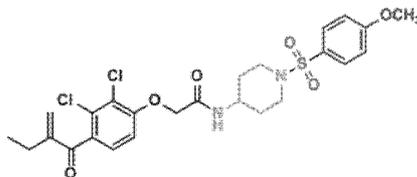
(Composé **P1**) ;



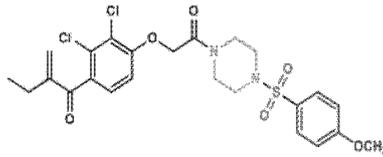
(Composé **P2**) ;



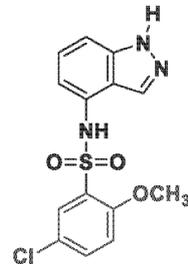
(Composé **P3**) ;



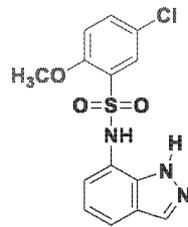
(Composé **P4**) ;



(Composé P5)



(Composé P6) ;



(Composé P7) ;

3. Composé de formules (I) ou (II) selon la revendication 1 ou la revendication 2, pour son application et tant que médicament.
4. Composé de formules (I) ou (II) selon la revendication 3, pour son application et tant que médicament pour le traitement de la maladie du cancer.
5. Composé de formules (I) ou (II) selon la revendication 3, pour son application et tant que médicament pour le traitement du cancer de sein triple négatif.
6. Composé de formules (I) ou (II) selon la revendication 3, pour son application et tant que traitement *in vitro* pour inhiber la prolifération des cellules du cancer du sein triple négatif.
7. Composé de formules (I) ou (II) selon la revendication 3, pour son application et tant que médicament *in vivo* pour du cancer du sein triple négatif.

8. Utilisation d'un composé de formules (I) ou (II) marqué selon la revendication 3 pour outil de recherche, notamment pour l'identification de molécules capables d'interagir avec le site actif impliqué dans le cancer du sein triple négatif.

9. Composé de formules (I) ou (II) selon les revendications 1, 2 et 3 pour son utilisation comme principe actif dans des compositions pharmaceutiques.

10- Composé de formules (I) ou (II) selon les revendications 1, 2 et 3 pour son utilisation en association avec d'autres médicaments dans des compositions pharmaceutiques.

Tableaux, Schémas et figures

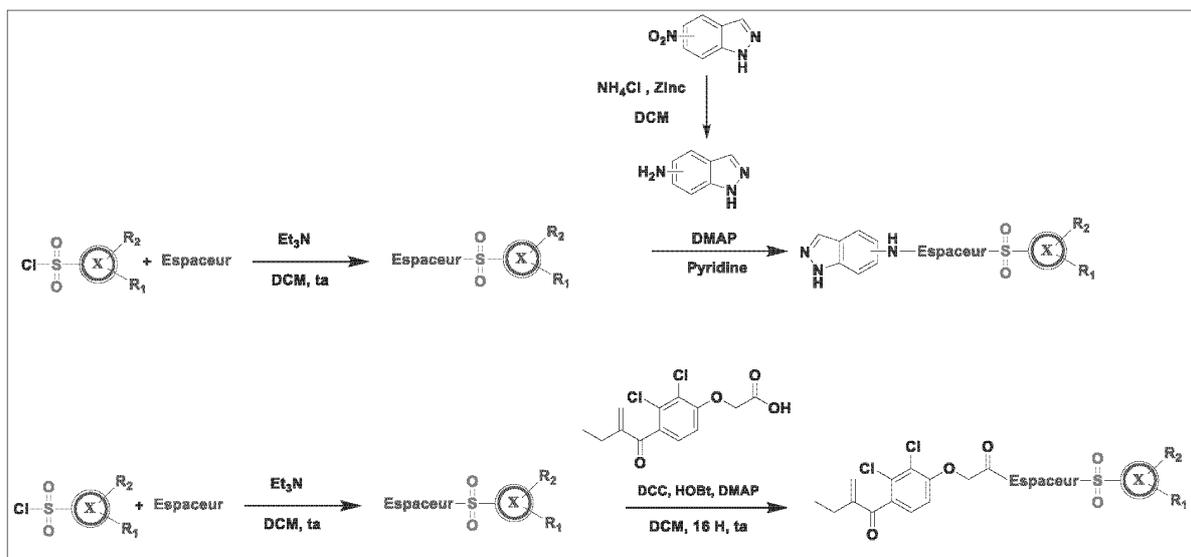


Schéma 1 . Schéma de synthèse des composés P3, P4, P5 et P6.

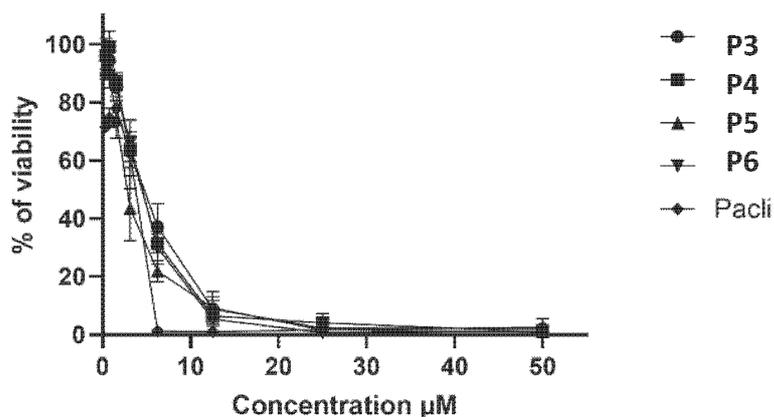
Figure 1 : Viabilité des cellules tumorales MDA-MB-468 après traitement avec différentes concentrations des dérivés de sulfonamides et par le Paclitaxel, évaluée par dosage MTT pendant 48h. Les données sont des moyennes \pm SD de trois expériences indépendantes.

Tableau 1 : Viabilité des cellules tumorales MDA-MB-468 après traitement avec différentes concentrations des dérivés sulfonamides pendant 48h

| Concentration µM | P3 | | P4 | | P5 | | P6 | | PACLITAXEL | |
|---------------------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|
| | % de viabilité | SD |
| 50 | 2.09 | 1.75 | 0.94 | 1.16 | 2.54 | 2.88 | 1.34 | 1.56 | 1.00 | 0.90 |
| 25 | 2.28 | 2.07 | 4.10 | 3.14 | 1.63 | 1.11 | 0.68 | 0.97 | 1.67 | 1.61 |
| 12.5 | 8.89 | 4.26 | 6.45 | 5.34 | 9.21 | 5.59 | 5.34 | 2.36 | 1.06 | 0.49 |
| 6.25 | 37.19 | 7.93 | 31.37 | 3.19 | 21.87 | 3.66 | 29.94 | 5.70 | 1.27 | 1.61 |

| | | | | | | | | | | |
|-------|-------|------|-------|------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| 3.125 | 63.41 | 3.87 | 63.67 | 6.13 | 43.45 | 11.09 | 65.94 | 2.38 | 62.10 | 11.88 |
| 1.56 | 85.15 | 2.06 | 87.15 | 3.03 | 74.06 | 6.46 | 85.32 | 1.40 | 77.90 | 4.16 |
| 0.78 | 94.44 | 4.76 | 99.08 | 5.46 | 89.82 | 4.76 | 92.93 | 0.94 | 74.62 | 3.35 |
| 0.39 | 95.66 | 4.26 | 96.00 | 5.91 | 91.15 | 3.18 | 95.32 | 0.37 | 71.51 | 1.62 |

Tableau 2 : Les concentrations inhibitrices IC₅₀ en μM de l'activité anti-proliférative des dérivés de sulfonamides et du Paclitaxel testés contre la lignée cellulaire tumorale MDA-MB-468

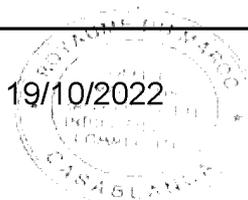
| IC ₅₀ μM | P3 | P4 | P5 | P6 | Paclitaxel |
|--------------------------------|-------|--------|-------|--------|------------|
| Moyenne | 4.327 | 3.838 | 2.832 | 4.086 | 2.805 |
| Std. Déviation | 0.627 | 0.8688 | 0.619 | 0.3268 | 0.5815 |

Tableau 3 : Analyse de variance à un facteur (ANOVA)

| Test de comparaisons multiples de Tukey | Diff. de moyenne | 95.00% CI de diff. | Signification | Valeur de P ajustée |
|---|------------------|--------------------|---------------|---------------------|
| P3 vs. P4 | 0.4887 | -1.200 to 2.178 | No | 0.8700 |
| P3 vs. P6 | 0.2403 | -1.449 to 1.929 | No | 0.9886 |
| P3 vs. PACLI | 1.522 | -0.1674 to 3.211 | No | 0.0828 |
| P3 vs. P5 | 1.495 | -0.1944 to 3.184 | No | 0.0897 |
| P4 vs. P6 | -0.2483 | -1.937 to 1.441 | No | 0.9872 |
| P4 vs. PACLI | 1.033 | -0.6561 to 2.722 | No | 0.3263 |
| P4 vs. P5 | 1.006 | -0.6831 to 2.695 | No | 0.3489 |

**RAPPORT DE RECHERCHE
AVEC OPINION SUR LA BREVETABILITE**
(Conformément aux articles 43 et 43.2 de la loi 17-97 relative à la
protection de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée
par la loi 23-13)

| | |
|---|--|
| Renseignements relatifs à la demande | |
| N° de la demande : 54773 | Date de dépôt : 29/10/2021 |
| Déposant : Université Euro Méditerranéenne de Fès UEMF | |
| Intitulé de l'invention : Nouvelles familles de composés à base de sulfonamides pour le traitement du cancer du sein triple négatif | |
| Le présent document est le rapport de recherche avec opinion sur la brevetabilité établi par l'OMPIC conformément aux articles 43 et 43.2, et notifié au déposant conformément à l'article 43.1 de la loi 17-97 relative à la protection de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée par la loi 23-13. | |
| Les documents brevets cités dans le rapport de recherche sont téléchargeables à partir du site http://worldwide.espacenet.com , et les documents non brevets sont joints au présent document, s'il y en a lieu. | |
| Le présent rapport contient des indications relatives aux éléments suivants : | |
| Partie 1 : Considérations générales | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Cadre 1 : Base du présent rapport <input type="checkbox"/> Cadre 2 : Priorité <input type="checkbox"/> Cadre 3 : Titre et/ou Abrégé tel qu'ils sont définitivement arrêtés | |
| Partie 2 : Rapport de recherche | |
| Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité | |
| <input type="checkbox"/> Cadre 4 : Remarques de forme et de clarté <input type="checkbox"/> Cadre 5 : Défaut d'unité d'invention <input type="checkbox"/> Cadre 6 : Observations à propos de certaines revendications exclues de la brevetabilité <input checked="" type="checkbox"/> Cadre 7 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle | |
| Examineur: BASMA SADIKI | Date d'établissement du rapport : 19/10/2022 |
| Téléphone: 212 5 22 58 64 14/00 | |



Partie 1 : Considérations générales**Cadre 1 : base du présent rapport**

Les pièces suivantes de la demande servent de base à l'établissement du présent rapport :

- Description
14 Pages
- Revendications
10
- Planches de dessin
2 Pages

Partie 2 : Rapport de recherche

Classement de l'objet de la demande :

CIB : A61K31/00, C07C311/46, C07C241/00

CPC : A61K31/18 ; A61K31/397 ; A61K31/40 ; A61K31/4453

Plateformes et bases de données électroniques de recherche :

EPOQUENET, WPI, ScienceDirect, IEEE, ORBIT

| Catégorie* | Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | N° des revendications visées |
|------------|---|------------------------------|
| A | EP2744330B1; UNIV UTAH RES FOUND [US], UNIV UTAH RES FOUND [US], UNIVERSITY OF UTAH RESEARCH FOUNDATION; 2020-07-15 | 1-10 |
| A | CN106397527A ; KUNMING INST ZOOLOGY CAS; UNIV FUZHOU ; 2017-02-15 | 1-10 |
| A | WO2021113605A1 ; UNIV SOUTHERN CALIFORNIA [US], LOUIE STAN G [US], PETASIS NICOS A [US] ; 2021-06-10 | 1-10 |
| A | WO2016054642A1 ; UNIV ARIZONA STATE [US] ; UNIV TEXAS [US] ; 2016-04-07 | 1-10 |

***Catégories spéciales de documents cités :**

-« X » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
-« Y » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
-« A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
-« P » documents intercalaires ; Les documents dont la date de publication est située entre la date de dépôt de la demande examinée et la date de priorité revendiquée ou la priorité la plus ancienne s'il y en a plusieurs
-« E » Éventuelles demandes de brevet interférentes. Tout document de brevet ayant une date de dépôt ou de priorité antérieure à la date de dépôt de la demande faisant l'objet de la recherche (et non à la date de priorité), mais publié postérieurement à cette date et dont le contenu constituerait un état de la technique pertinent pour la nouveauté

Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité**Cadre 7 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle**

| | | |
|--------------------------|-----------------------|-----|
| Nouveauté | Revendications 1-10 | Oui |
| | Revendications aucune | Non |
| Activité inventive | Revendications 1-10 | Oui |
| | Revendications aucune | Non |
| Application Industrielle | Revendications 1-10 | Oui |
| | Revendications aucune | Non |

Il est fait référence aux documents suivants. Les numéros d'ordre qui leur sont attribués ci-après seront utilisés dans toute la suite de la procédure

D1 : EP2744330B1

1. Nouveauté

Aucun des documents cités ci-dessus ne divulgue l'ensemble des caractéristiques techniques faisant l'objet des revendications 1-10. Par conséquent l'objet de celles-ci est nouveau au sens de l'article 26 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.

2. Activité inventive

Le document D1 est considéré comme étant l'état de la technique le plus proche à l'objet de la présente demande. Il divulgue des composés pharmaceutiques sulfonamides pour leur utilisation dans le traitement du cancer du sein négatif.

L'objet de la première revendication diffère de D1 par la structure des formules 1 et 2 revendiquées (l'espaceur, localisation de la fonction amide absence de Y).

Le problème technique lié à cette différence est alors considéré comme la fourniture des composés alternatifs pour leur utilisation dans le traitement des maladies prolifératives spécifiquement le cancer de sein triple négatif.

Sachant que la différence structurelle est assez importante et qu'il n'y a pas d'incitation dans l'état de l'art à inverser la fonction amide et à obtenir les modifications des composés revendiqués, l'homme du métier ne serait pas arriver à l'objet de la présente demande sans faire preuve d'esprit inventif.

Ainsi, la solution proposée pour résoudre le problème est considérée inventive et l'objet des revendications 1-10 implique une activité inventive au sens de l'article 28 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.

3. Application industrielle

L'objet de la présente invention est susceptible d'application industrielle au sens de l'article 29 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13, parce qu'il présente une utilité déterminée, probante et crédible.