

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

⑫② Date de dépôt : 02.09.19.

⑫③ Priorité :

⑫④ Date de mise à la disposition du public de la demande : 05.03.21 Bulletin 21/09.

⑫⑤ Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du présent fascicule*

⑫⑥ Références à d'autres documents nationaux apparentés :

○ Demande(s) d'extension :

⑦① Demandeur(s) : *Centre National de la Recherche Scientifique Établissement public à caractère scientifique et technologique — FR et Université d'Aix-Marseille Établissement public à caractère scientifique et technologique — FR.*

⑦② Inventeur(s) : SIRI Olivier et CHEN Zhongrui.

⑦③ Titulaire(s) : Centre National de la Recherche Scientifique Établissement public à caractère scientifique et technologique, Université d'Aix-Marseille Établissement public à caractère scientifique et technologique.

⑦④ Mandataire(s) : LLR.

⑤④ Dérivé de phénazine et ses utilisations.

⑤⑦ L'invention concerne un composé de formule I suivant :

(I),

où,
R1, R2, R3 et R4 sont choisis parmi un alkyle, saturé ou non, ramifié ou non, cyclique ou non, ou une amide, ou un groupe fonctionnel,
ou un sel ou un solvate de celui-ci, ou une forme proto-

née de celui-ci
Figure pour l'abrégé : Pas de figure

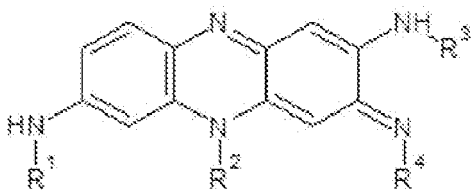


Description

Titre de l'invention : Dérivé de phénazine et ses utilisations

- [0001] L'invention concerne des dérivés de phénazine et leurs utilisations, notamment leurs utilisations thérapeutiques.
- [0002] Dans le contexte du traitement des pathologies et notamment des tumeurs, de nouvelles molécules et de nouvelles approches sont en permanence développées et testées.
- [0003] En particulier, ces dernières années, la thérapie photodynamique a connu un essor en particulier pour le traitement des pathologies cutanées. Toutefois, les composés sensibilisants connus à ce jour ne présentent pas les meilleurs effets, et les taux d'échec sont assez grands. En outre, les longueurs d'ondes des lasers utilisés peuvent générer des effets indésirables et induire des lésions profondes des tissus exposés.
- [0004] Aussi, existe-t-il un besoin de fournir de nouveaux composés qui seraient efficaces pour ce type de thérapie non invasive.
- [0005] Une approche est d'utiliser des composés fluorescents capables de cibler spécifiquement les cellules d'intérêt et présentant des propriétés thérapeutiques sous activation.
- [0006] Or de tels composés sont rares.
- [0007] Certains dérivés de phénazine sont déjà connus. Divers composés ayant une telle structure de phénazine ont déjà été décrits chez Laursen Et al (chem Rev, 2004, 104 :1663), Beifuss Et al (dessus. Curr. Chem, 2005,77), Terech Et al (J Of Coll. Et entre. Sc, 2006 :633), Llusar Et al (Zeit. Fuer Anorg. Und Allge, chem, 2005, 631 : 2215; J Of Mat. Chem, 2003, 13 : 2505), Pozzo et al (Mol. Les cristaux et les Cristaux liquides Sc Et Tech, 2000, 344 : 101; J Of Mat. Chem, 1998, 8 : 2575) et US 2004/065227. Toutefois, à la connaissance des inventeurs, ces composés n'ont jamais été proposés comme agents chimiothérapeutiques. En outre, la demande de brevet WO2011117830 décrit des composés dérivés de la phénazine, mais ici encore à la connaissance des inventeurs de tels composés n'ont pas de propriétés connues pour être utilisés en thérapie photodynamique.
- [0008] Aussi, il existe toujours un besoin de nouveaux composés, et l'invention vise à pallier ce manque.
- [0009] L'un des buts de l'invention est de fournir des composés utilisables en thérapie photodynamique qui soient efficaces, peu chers, faciles à produire.
- [0010] Un autre but de l'invention est de proposer diverses utilisations thérapeutiques et diagnostiques de ces nouveaux composés.
- [0011] L'invention concerne un composé de formule I suivant :
- [0012]

[Chem.1]



(I),

[0013] où,

[0014] indépendamment l'un de l'autre, R1 et R2 sont

[0015] - soit un alkyle en C1-C18, linéaire ou ramifié, saturé ou non, cyclique ou non, éventuellement substitué par un ou plusieurs groupe choisi parmi un groupe hydroxyl, un groupe amino, un groupe aminoalkyle, un groupe alkoxy en C1-C5, un alkyl en C1-C5, un peptide, un groupe pyridine, un groupe phosphine, un thiol, un C2 alcène, un groupe C2 alcyne et un halogène, ou un radical benzyle éventuellement substitué par un ou plusieurs radicaux choisi parmi un groupe hydroxyl, un groupe amino, un groupe aminoalkyl, un groupe C1-C5 alkoxy, un groupe C1- C5 alkyl, et un atome d'halogène,

[0016] - soit des groupes (hétéro)aryles, éventuellement substitué par un ou plusieurs groupe choisi parmi un groupe hydroxyl, un groupe amino, un groupe amino alkyle, un groupe alkoxy en C1-C5, un alkyl en C1-C5, un peptide, un groupe pyridine, un groupe phosphine, un thiol, un C2 alcène, un groupe C2 alcyne et un halogène, or un radical benzyl éventuellement substitué par un ou plusieurs radicaux choisi parmi un groupe hydroxyl, un groupe amino, un groupe aminoalkyl, un groupe C1-C5 alkoxy, un groupe C1- C5 alkyl, et un halogène,

[0017] notamment R2 pouvant être un atome d'hydrogène, et

[0018] indépendamment l'un de l'autre, R3 et R4 sont un atome d'hydrogène H ou correspondent à R1 ou R2 susmentionnés, ou encore R3 et R4 sont l'un ou l'autre, ou les deux, un groupe fonctionnel carbonyle formant des fonctions amides incluant des peptides ou non,

[0019] ou un sel ou un solvate de celui-ci, ou une forme protonée de celui-ci.

[0020] L'invention repose sur la constatation surprenante faite par les inventeurs que les dérivés de phénazine susmentionnés possèdent des propriétés fluorescentes variables selon le degré de protonation pour des études *in vitro* et *in vivo* dans un objectif d'imagerie. Ces molécules sont également utilisables dans le cadre de thérapie photo-dynamique (PDT), à un et deux photons.

[0021] Aussi, la présente invention décrit une famille de composés originaux, peu toxiques et particulièrement prometteuse pour l'imagerie à un et deux photons selon la cible visée. Leur synthèse est réalisée en peu d'étapes et à bas cout. L'intensité des marquages est remarquable, ce qui permet objectivement d'envisager une identification

plus précise des cibles cytoplasmiques. Les intenses foyers de fluorescence obtenus dans des régions perinucléaires pourraient notamment correspondre à la localisation de la sonde au niveau du réticulum endoplasmique. Ces composés permettent donc d'envisager une avancée cruciale dans le domaine de l'imagerie sélective, et de la thérapie photodynamique.

- [0022] Comme il sera démontré ci-après dans les exemples, ces composés ont permis de réaliser des études *in vitro* sur des cellules humaines cancéreuses connues pour être un bon modèle de xénogreffe, et il a été démontré que la thérapie photonique à un ou deux photons était efficace pour détruire de telles cellules.
- [0023] Selon la présente invention, les termes ci-dessous ont les significations suivantes : les termes mentionnés ici ayant des caractéristiques telles que par exemple C1-C18 peuvent également être utilisés avec des nombres inférieurs d'atomes de carbone tels que C1-C3 ou C1-C5. Si par exemple le terme C1-C5 est utilisé, il signifie que la chaîne hydrocarbonée correspondante peut comprendre de 1 à 5 atomes de carbone. Si par exemple le terme C3-C8 est utilisé, il signifie que la chaîne ou le cycle hydrocarboné correspondant peut comprendre de 3 à 8 atomes de carbone.
- [0024] Un alkyl en C1-C18 selon l'invention est un alkyl comprenant 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 ou 18 atomes de carbone.
- [0025] Par «alkyle», on entend un groupe aliphatique saturé, linéaire ou ramifié. On peut citer les exemples suivants : méthyle, éthyle, 1-propyle, 2-propyle, 1-butyle, 2-méthyl-1-propyle (également nommé i-Bu), 2-butyle (également nommé s-Bu), 2-méthyl-2-propyle (également nommé t-Bu), 1-pentyle (également nommé n-pentyle), 2-pentyle, 3-pentyle, 2-méthyl-2-butyle, 3-méthyl-2-butyle, 3-méthyl-1-butyle, 2-méthyl-1-butyle, 1-hexyl, 2-hexyl, 3-hexyl, 2-méthyl-2-pentyle, 3-méthyl-2-pentyle, 4-méthyl-2-pentyle, 3-méthyl-3-pentyle, 2-méthyl-3-pentyle, 2,3-diméthyl-2-butyle, 3,3-diméthyl-2-butyle, n-pentyle, n-hexyle, n-heptyle, H-octyle, n-nonyle, n-décyle, n-undécyle, n-dodécyle, n-tridécyle, n-tétradécyle, n-pentadécyle, n-hexadécyle, n-heptadécyle, n-octadécyle. L'alkyle préféré selon l'invention est le méthyle, l'éthyle, le 1-propyle, le 2-propyle, le 1-butyle, le 2-méthyl-1-propyle (également nommé i-Bu), 2-butyle (également nommé s-Bu), 2-méthyl-2-propyle (également nommé t-Bu), 1-pentyle (également nommé n-pentyle), 2-pentyle, 3-pentyle, le 2-méthyl-2-butyle, le 3-méthyl-2-butyle, le 3-méthyl-1-butyle, le 2-méthyl-1-butyle.
- [0026] Le terme « hydroxyl » correspond à un groupe alkyle-OH, le groupe alkyle étant tel que défini ci-dessus.
- [0027] Le terme « amino » correspond à une amine qui peut être, secondaire, tertiaire ou quaternaire. Par extension un « aminoalkyle » correspond à un alkyl substitué par une amine.
- [0028] Le terme « alcoxy » correspond à un groupe-O-alkyle, le groupe alkyle étant tel que

défini ci-dessus. Les exemples suivants peuvent être cités : méthoxy (i.e. C1 alcoxy), éthoxy (i.e. C2 alcoxy), propoxy (i.e. C3 alcoxy), isopropoxy (i.e. C4 alcoxy).

[0029] Le terme «atome d'halogène» correspond à un atome de fluor, de chlore, de brome ou d'iode. Le chlore est un atome d'halogène préféré dans le cadre de la présente invention.

[0030] Le terme «atome d'halogène» correspond à un atome de fluor, de chlore, de brome ou d'iode. Le chlore et le fluor sont des atomes d'halogènes préférés dans le cadre de la présente invention.

[0031] Le terme «aryle» utilisé ici signifie un groupe aromatique mono-ou poly-cyclique. Un exemple de groupe monocyclique peut être un phényle.

[0032] Les composés de formule (I) possèdent des insaturations et peuvent ainsi se présenter sous leur forme tautomère. La présente invention concerne donc également les composés de formule (I) sous leur forme tautomère.

[0033] Les composés de formule (I) peuvent se présenter sous la forme d'une base libre ou sous forme de sels d'addition avec des acides, qui font également partie de l'invention.

[0034] Ces sels peuvent être préparés avec des acides pharmaceutiquement acceptables, mais aussi des sels avec d'autres acides, utiles par exemple pour la purification ou pour l'isolement des composés de formule (I), font également partie de l'invention.

[0035] De manière avantageuse, l'invention concerne les composés susmentionnés où R1 et R2 sont, notamment indépendamment l'un de l'autre, des alkyles linéaires ou ramifiés saturés ou non, cyclique ou non, en C4-C10.

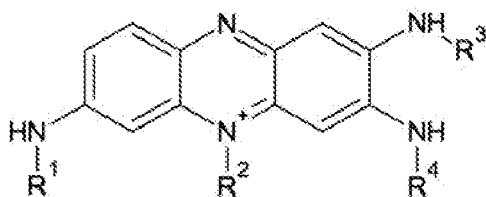
[0036] Des exemples d'alkyl linéaires saturés sont les groupes butyl, pentyl, hexyl, heptyl, octyl, nonyl et decyl.

[0037] Des exemples d'alkyl linéaires saturés ramifiés sont les groupes, isobutyle, *sec*-butyl, *tert*-butyl, isopentyl, néopentyl, *tert*-pentyl, 1-méthyl isobutyl, 2,3-diméthylpentane, 2-méthylpropane, 2-méthylbutane, 2-méthylpentane, 2-éthylbutane, 3-méthylpropane, 3-méthylbutane, 3-méthylpentane

[0038] De manière plus avantageuse, l'invention concerne le composé susmentionné, où la forme protonée du composé de formule I est choisie parmi les composés suivants :

[0039] - le composé de formule Ia :

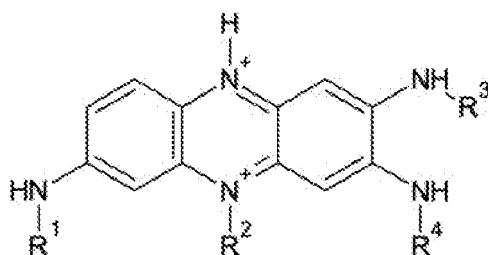
[0040] [Chem.2]



X⁻; (Ia),

[0041] - le composé de formule Ib :

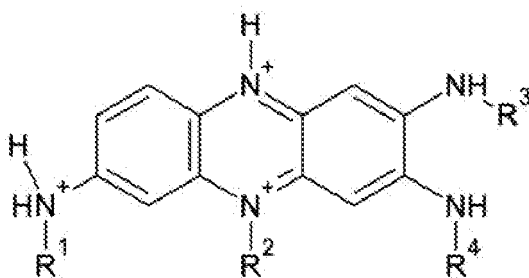
[0042] [Chem.3]



2X ; (Ib), et

[0043] - le composé de formule Ic :

[0044] [Chem.4]



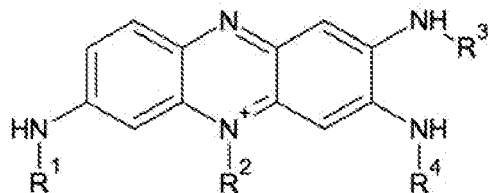
3X ; (Ic),

[0045] où X représente Cl, Br, OH, F, I, BF₄ ou PF₆ ou trifluorométhanesulfate (Otf).

[0046] Les composés de formule Ia sont les composés les plus avantageux selon l'invention.

[0047] Aussi, avantageusement l'invention concerne un composé de formule Ia suivant :

[0048] [Chem.2]



X ; (Ia),

[0049] où X représente Cl, Br, OH, F, I, BF₄ ou PF₆ ou trifluorométhanesulfate , et où

[0050] indépendamment l'un de l'autre, R1 et R2 sont

[0051] - soit un alkyle en C1-C18, linéaire ou ramifié, saturé ou non, cyclique ou non, éventuellement substitué par un ou plusieurs groupe choisi parmi un groupe hydroxyl, un groupe amino, un groupe aminoalkyle, un groupe alkoxy en C1-C5, un alkyl en C1-C5, un peptide, un groupe pyridine, un groupe phosphine, un thiol, un C2 alcène, un groupe C2 alcyne et un halogène, or un radical benzyle éventuellement substitué par un ou plusieurs radicaux choisi parmi un groupe hydroxyl, un groupe amino, un groupe aminoalkyl, un groupe C1-C5 alkoxy, un groupe C1- C5 alkyl, et un atome d'halogène,

[0052] - soit des groupes (hetero)aryles, éventuellement substitué par un ou plusieurs groupe

choisi parmi un groupe hydroxyl, un groupe amino, un groupe amino alkyle, un groupe alkoxy en C1-C5, un alkyl en C1-C5, un peptide, un groupe pyridine, un groupe phosphine, un thiol, un C2 alcène, un groupe C2 alcyne et un halogène, or un radical benzyl éventuellement substitué par un ou plusieurs radicaux choisis parmi un groupe hydroxyl, un groupe amino, un groupe aminoalkyl, un groupe C1-C5 alkoxy, un groupe C1- C5 alkyl, and un halogène,

[0053] éventuellement R2 est un atome d'hydrogène, et

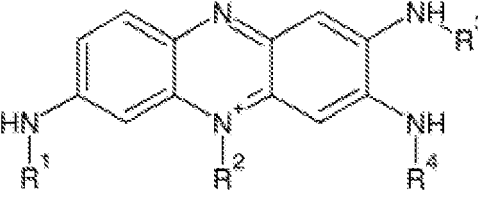
[0054] indépendamment l'un de l'autre, R3 et R4 sont un atome d'hydrogène H ou correspondent à R1 ou R2 susmentionnés, ou encore R3 et R4 sont l'un ou l'autre, ou les deux, un groupe fonctionnel carbonyle formant des fonctions amides incluant des peptides ou non,

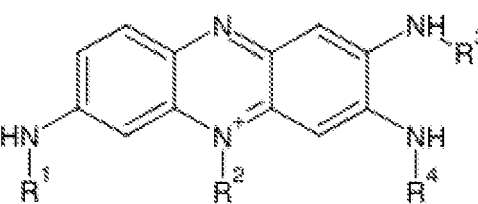
[0055] ou un sel ou un solvate de celui-ci, ou une forme protonée de celui-ci.

[0056] Des composés selon l'invention qui sont avantageux sont les suivants

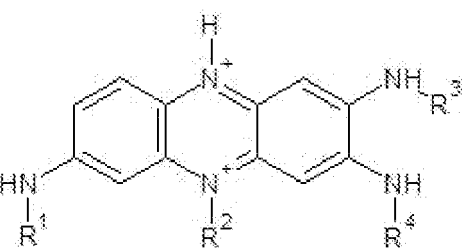
[0057]

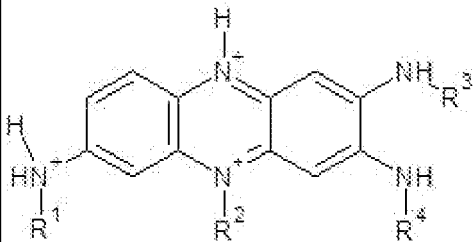
[Tableaux1]

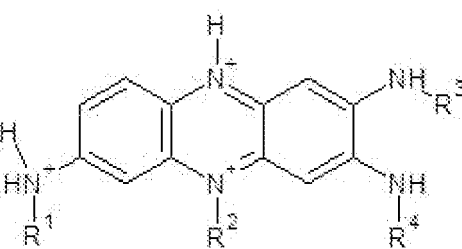
Composé de formule	Où R1 est	Où R2 est	Où R3 est	Où R4 est
[Chem 2] 	octyl	octyl	octyl	H
	octyl	octyl	H	H
	octyl	octyl	<i>tert</i> -butyl	H
	<i>tert</i> -butyl	<i>tert</i> -butyl	<i>tert</i> -butyl	H
	nonyl	nonyl	nonyl	H
	nonyl	nonyl	H	H
	nonyl	nonyl	<i>tert</i> -butyl	H
	decyl	decyl	décy	H
	decyl	decyl	H	H
	decyl	decyl	<i>tert</i> -butyl	H
	octyl	H	octyl	H
	octyl	H	H	H
	octyl	H	<i>tert</i> -butyl	H
	<i>tert</i> -butyl	H	<i>tert</i> -butyl	H
	nonyl	H	nonyl	H
	nonyl	H	H	H
	nonyl	H	<i>tert</i> -butyl	H
	decyl	H	décy	H
	decyl	H	H	H
	decyl	H	<i>tert</i> -butyl	H

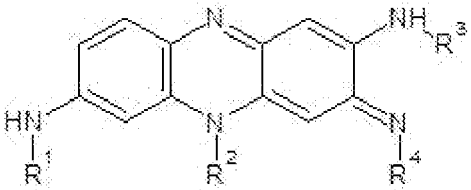
[Chem 2] 	octyl	octyl	octyl	C ₁ -C ₁₈
	octyl	octyl	H	C ₁ -C ₁₈
	octyl	octyl	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	<i>tert</i> -butyl	<i>tert</i> -butyl	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	nonyl	nonyl	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	nonyl	H	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	nonyl	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	decyl	decyl	décy	C ₁ -C ₁₈
	decyl	decyl	H	C ₁ -C ₁₈
	decyl	decyl	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	octyl	H	octyl	C ₁ -C ₁₈
	octyl	H	H	C ₁ -C ₁₈
	octyl	H	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	<i>tert</i> -butyl	H	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	H	nonyl	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	H	H	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	H	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	decyl	H	décy	C ₁ -C ₁₈
	decyl	H	H	C ₁ -C ₁₈
	decyl	H	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈

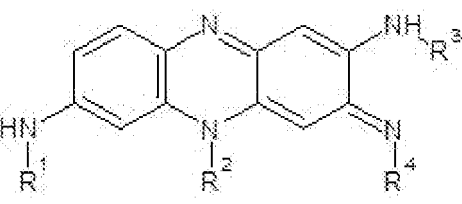
[Chem 3]	octyl	octyl	octyl	H
	octyl	octyl	H	H
	octyl	octyl	<i>tert</i> -butyl	H
	<i>tert</i> -butyl	<i>tert</i> -butyl	<i>tert</i> -butyl	H
	nonyl	nonyl	nonyl	H
	nonyl	nonyl	H	H
	nonyl	nonyl	<i>tert</i> -butyl	H
	decyl	decyl	décyl	H
	decyl	decyl	H	H
	decyl	decyl	<i>tert</i> -butyl	H
	octyl	H	octyl	H
	octyl	H	H	H
	octyl	H	<i>tert</i> -butyl	H
	<i>tert</i> -butyl	H	<i>tert</i> -butyl	H
	nonyl	H	nonyl	H
	nonyl	H	H	H
	nonyl	H	<i>tert</i> -butyl	H
	decyl	H	décyl	H
	decyl	H	H	H
	decyl	H	<i>tert</i> -butyl	H

[Chem 3] 	octyl	octyl	octyl	C ₁ -C ₁₈
	octyl	octyl	H	C ₁ -C ₁₈
	octyl	octyl	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	<i>tert</i> -butyl	<i>tert</i> -butyl	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	nonyl	nonyl	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	nonyl	H	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	nonyl	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	decyl	decyl	décy	C ₁ -C ₁₈
	decyl	decyl	H	C ₁ -C ₁₈
	decyl	decyl	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	octyl	H	octyl	C ₁ -C ₁₈
	octyl	H	H	C ₁ -C ₁₈
	octyl	H	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	<i>tert</i> -butyl	H	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	H	nonyl	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	H	H	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	H	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	decyl	H	décy	C ₁ -C ₁₈
	decyl	H	H	C ₁ -C ₁₈
	decyl	H	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈

[Chem 4] 	octyl	octyl	octyl	H
	octyl	octyl	H	H
	octyl	octyl	<i>tert</i> -butyl	H
	<i>tert</i> -butyl	<i>tert</i> -butyl	<i>tert</i> -butyl	H
	nonyl	nonyl	nonyl	H
	nonyl	nonyl	H	H
	nonyl	nonyl	<i>tert</i> -butyl	H
	decyl	decyl	décyl	H
	decyl	decyl	H	H
	decyl	decyl	<i>tert</i> -butyl	H
	octyl	H	octyl	H
	octyl	H	H	H
	octyl	H	<i>tert</i> -butyl	H
	<i>tert</i> -butyl	H	<i>tert</i> -butyl	H
	nonyl	H	nonyl	H
	nonyl	H	H	H
	nonyl	H	<i>tert</i> -butyl	H
	decyl	H	décyl	H
	decyl	H	H	H
	decyl	H	<i>tert</i> -butyl	H

[Chem 4] 	octyl	octyl	octyl	C ₁ -C ₁₈
	octyl	octyl	H	C ₁ -C ₁₈
	octyl	octyl	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	<i>tert</i> -butyl	<i>tert</i> -butyl	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	nonyl	nonyl	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	nonyl	H	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	nonyl	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	decyl	decyl	décyl	C ₁ -C ₁₈
	decyl	decyl	H	C ₁ -C ₁₈
	decyl	decyl	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	octyl	H	octyl	C ₁ -C ₁₈
	octyl	H	H	C ₁ -C ₁₈
	octyl	H	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	<i>tert</i> -butyl	H	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	H	nonyl	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	H	H	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	H	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	decyl	H	décyl	C ₁ -C ₁₈
	decyl	H	H	C ₁ -C ₁₈
	decyl	H	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈

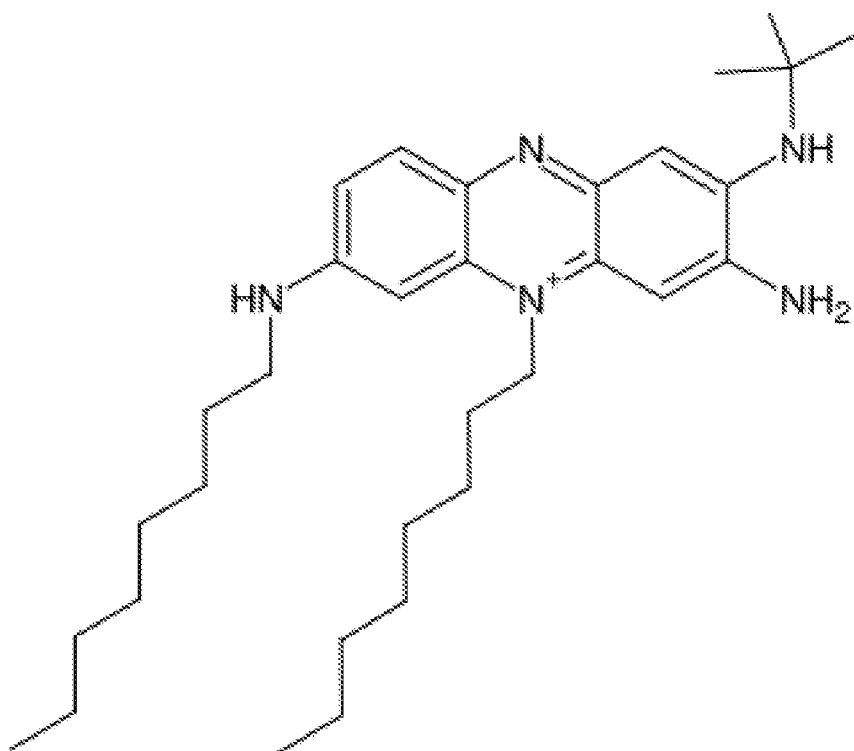
[Chem 1] 	octyl	octyl	octyl	H
	octyl	octyl	H	H
	octyl	octyl	<i>tert</i> -butyl	H
	<i>tert</i> -butyl	<i>tert</i> -butyl	<i>tert</i> -butyl	H
	nonyl	nonyl	nonyl	H
	nonyl	nonyl	H	H
	nonyl	nonyl	<i>tert</i> -butyl	H
	decyl	decyl	décyl	H
	decyl	decyl	H	H
	decyl	decyl	<i>tert</i> -butyl	H
	octyl	H	octyl	H
	octyl	H	H	H
	octyl	H	<i>tert</i> -butyl	H
	<i>tert</i> -butyl	H	<i>tert</i> -butyl	H
	nonyl	H	nonyl	H
	nonyl	H	H	H
	nonyl	H	<i>tert</i> -butyl	H
	decyl	H	décyl	H
	decyl	H	H	H
	decyl	H	<i>tert</i> -butyl	H

[Chem 1] 	octyl	octyl	octyl	C ₁ -C ₁₈
	octyl	octyl	H	C ₁ -C ₁₈
	octyl	octyl	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	<i>tert</i> -butyl	<i>tert</i> -butyl	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	nonyl	nonyl	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	nonyl	H	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	nonyl	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	decyl	decyl	décyl	C ₁ -C ₁₈
	decyl	decyl	H	C ₁ -C ₁₈
	decyl	decyl	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	octyl	H	octyl	C ₁ -C ₁₈
	octyl	H	H	C ₁ -C ₁₈
	octyl	H	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	<i>tert</i> -butyl	H	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	H	nonyl	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	H	H	C ₁ -C ₁₈
	nonyl	H	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈
	decyl	H	décyl	C ₁ -C ₁₈
	decyl	H	H	C ₁ -C ₁₈
	decyl	H	<i>tert</i> -butyl	C ₁ -C ₁₈

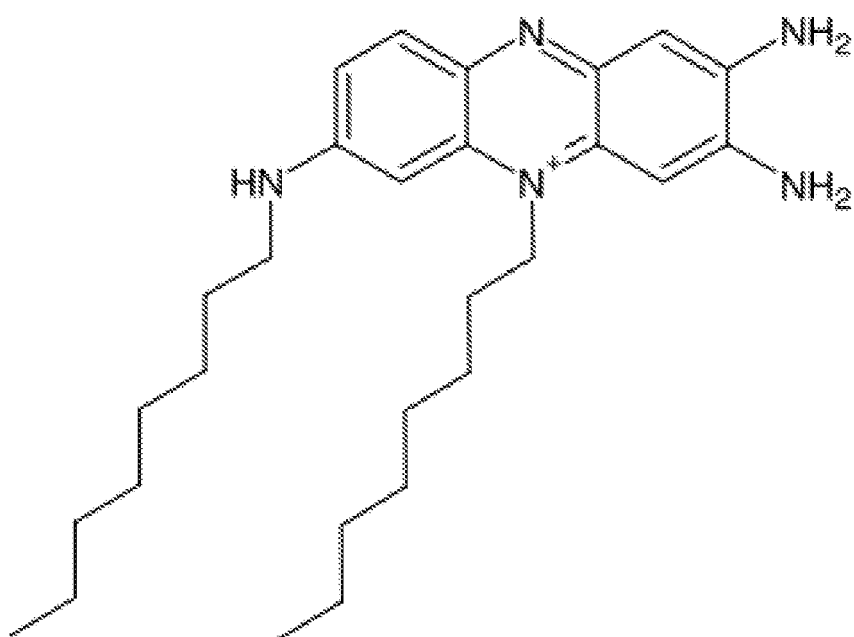
[0058] De manière plus avantageuse, l'invention concerne le composé susmentionné, ledit composé ayant la formule II, III ou IV suivante :

[0059]

[Chem.5]

; X⁻ (II),

[0060] [Chem.6]

; X⁻ (III),

[0061]

[0067] Par "véhicule pharmaceutiquement acceptable", tel que mentionné ci-dessus, on entend un ou plusieurs solvants, diluants, ou un autre véhicule liquide, des auxiliaires de dispersion ou de suspension, des agents tensioactifs, des agents isotoniques, des agents épaississants ou émulsifiants, des conservateurs, des liants solides, des lubrifiants et analogues, selon la forme posologique particulière souhaitée. Sauf dans la mesure où un support classique est incompatible avec les composés de l'invention, par exemple par la production d'un quelconque effet biologique indésirable ou d'une interaction différente d'une manière délétère avec n'importe quel(s) autre(s) composant(s)

de la composition pharmaceutique susmentionnée, l'utilisation de tout support connu est envisagée dans le cadre de la présente invention.

[0068] Certains exemples de matériaux qui peuvent servir de supports pharmaceutiquement acceptables sont, sans limitation, des sucres tels que le lactose, le glucose et le saccharose; les amidons tels que l'amidon de maïs et l'amidon de pomme de terre; la cellulose et ses dérivés tels que la carboxyméthylcellulose de sodium, la cellulose d'éthyle et l'acétate de cellulose; le tragacanthé en poudre; le malt; la gélatine; le talc; les excipients tels que le beurre de cacao et les cires de suppositoire; les huiles telles que l'huile d'arachide, l'huile de coton; l'huile de carthame; l'huile de sésame; l'huile d'olive; l'huile de maïs et l'huile de soja; les glycols; un tel propylène glycol; des esters tels que l'oléate d'éthyle et le laurate d'éthyle; de l'agar; des agents tampons tels que de l'hydroxyde de magnésium et de l'hydroxyde d'aluminium; de l'acide alginique; de l'eau exempte de pyrogène; une solution saline isotonique; une solution de Ringer; de l'alcool éthylique et des solutions tampons de phosphate, ainsi que d'autres lubrifiants compatibles non toxiques tels que le laurylsulfate de sodium et le stéarate de magnésium, ainsi que des agents colorants, des agents de libération, des agents de revêtement, des édulcorants, des agents aromatisants et parfumantes.

[0069] Des conservateurs et des antioxydants peuvent également être présents dans la composition, en fonction du jugement du formateur.

[0070] Un composé selon l'invention est de préférence formulé sous forme d'unité posologique pour faciliter l'administration et l'uniformité de dosage. On comprend toutefois que l'usage quotidien total des composés et des compositions de la présente invention sera décidé par le médecin traitant dans le cadre de l'évaluation médicale. Le niveau de dose thérapeutiquement efficace spécifique pour n'importe quel patient ou organisme particulier dépendra d'une variété de facteurs comprenant le trouble en cours de traitement et la gravité du trouble; l'activité du composé spécifique employé; la composition spécifique utilisée; l'âge, le poids corporel, la santé générale, le sexe et le régime du patient; le temps d'administration, la voie d'administration et la vitesse d'excrétion du composé spécifique employé; la durée du traitement; Des médicaments utilisés en combinaison ou en coïncidence avec le composé spécifique employé; et des facteurs similaires bien connus dans les arts médicaux.

[0071] En outre, après formulation avec un excipient ou véhicule pharmaceutiquement acceptable approprié dans un dosage souhaité, les compositions pharmaceutiques selon l'invention peuvent être administrées à des êtres humains et à d'autres animaux par voie orale, rectale, parentérale, intracisternale, intravaginale, par voie intrapéritonéale, par voie dermale (par exemple par des poudres, des pommades ou des gouttes), par voie buccale, sous la forme d'une pulvérisation orale ou nasale, ou similaire en fonction de la gravité de la maladie ou du cancer en cours de traitement.

- [0072] Les composés actifs selon l'invention peuvent également être sous forme microencapsulée, éventuellement avec un ou plusieurs excipients tels que notés ci-dessus.
- [0073] Il est également apprécié que les composés et les compositions pharmaceutiques de la présente invention puissent être utilisés dans des polythérapies, à savoir, les composés et les compositions pharmaceutiques peuvent être administrés simultanément avec, avant, ou après, un ou plusieurs autres agents thérapeutiques ou procédures médicales souhaités.
- [0074] De manière avantageuse, le composé selon l'invention possède des propriétés colorantes, et peut être utilisé en tant que colorant. De tels colorants sont notamment de couleur rouge, et sont capables de colorer (ou pigmenter) des fibres végétales ou animales.
- [0075] Du fait de leurs propriétés fluorescentes, les composés selon l'invention peuvent également être utilisés en tant que « colorants » fluorescents, notamment pour le marquage de molécules biologiques ou d'organites cellulaires.
- [0076] Dans un autre aspect, l'invention concerne un composé tel que défini précédemment, pour son utilisation dans le cadre du traitement de pathologies par thérapie photodynamique. En particulier, les pathologies pouvant être traitées par le composé selon l'invention, à l'aide d'une thérapie photodynamique, sont les tumeurs (solides ou hématopoïétiques) et les kératoses.
- [0077] Une fois un cancer diagnostiqué, différentes méthodes sont à la disposition des praticiens pour traiter la maladie. Ces différentes techniques peuvent être combinées et le choix du traitement dépend du type de cancer et du stade auquel il a été découvert :
- [0078] - la chirurgie est classiquement utilisée pour enlever la tumeur primaire et permet la guérison d'un grand nombre de cancers précoces. Elle est aujourd'hui la méthode la plus efficace pour les petits foyers tumoraux sans métastase. Cependant, l'élimination de l'intégralité des cellules cancéreuses et la prévention de leur dissémination lors de l'opération chirurgicale peuvent être difficiles.
- [0079] - la radiothérapie, basée sur l'action de rayonnements ionisants (X , α , β - ou γ), est utilisée pour traiter les tumeurs mais pose le problème de la toxicité des rayonnements ionisants sur les tissus sains environnants.
- [0080] - la chimiothérapie consiste à traiter le cancer au moyen de médicaments qui détruisent les cellules cancéreuses et les empêchent de se multiplier. Il existe de nombreux médicaments différents, le choix du traitement dépendant du type de cancer. Cependant, ils ne sont pas encore assez spécifiques puisqu'ils ne font pas encore la différence entre les cellules saines et les cellules cancéreuses, entraînant ainsi de nombreux effets secondaires.
- [0081] - la thérapie photodynamique (PDT) consiste à mettre en contact un tissu pathologique avec une molécule photo activable (nommée photo-sensibilisateur), puis à

photo-activer la molécule par la lumière de façon à produire de l'oxygène singlet, très toxiques, qui va localement détruire la lésion cancéreuse. L'avantage majeur de la PDT est sa sélectivité. En effet, la lumière utilisée, seule n'est pas nocive, le photo-sensibilisateur sans lumière n'est pas toxique. Pour induire la réaction, il faut une action conjointe de la lumière, du photo-sensibilisateur et de l'oxygène. Ainsi, en optimisant la concentration du photo-sensibilisateur et la dose de lumière (puissance du laser), il est possible de détruire sélectivement des cellules.

- [0082] Sur le plan thérapeutique, les traitements conventionnels ont une sélectivité imparfaite vis-à-vis des cellules tumorales. Une des raisons est que pendant longtemps les scientifiques ont privilégié la course à l'IC₅₀ (concentration de produit nécessaire pour tuer 50% d'une population de cellules) plutôt que la recherche de spécificité. Ils entraînent des effets secondaires, parfois sévères, qui limitent les doses auxquelles ils peuvent être administrés.
- [0083] La cancérologie clinique réclame donc le développement conjoint de nouvelles méthodes diagnostiques plus sensibles et plus performantes, ainsi que de nouvelles thérapeutiques plus efficaces, mieux tolérées mais aussi mieux comprises.
- [0084] Sur la base de ce besoin, les inventeurs ont mis à profit les propriétés peu toxiques des composés selon l'invention, et leur capacité à produire de l'oxygène singlet sous excitation lumineuse afin de proposer une thérapie photodynamique.
- [0085] Les inventeurs proposent ainsi une thérapie photodynamique utilisant les composés susmentionnés soit :
- [0086] - A un photon ($\lambda_{\text{irrad.}} = 514 \text{ nm}$), où les cibles visées sont les tumeurs de surface (le mélanome, la vessie, l'œsophage et des bronches) car la longueur d'onde d'excitation est dans le vert. Bien que l'excitation dans le rouge lointain (652 nm) ou le proche infrarouge (760 nm) soit privilégiée, des études ont démontré que pour des cas particuliers, l'excitation par une lumière verte était moins toxique et plus efficace que l'excitation par une lumière rouge. Par exemple, dans une étude réalisée avec le Photofrin, sur des xénogreffes de mésothéliome humain chez des souris *nude*, il a été démontré qu'une thérapie photodynamique réalisée avec une lumière de 514 nm pouvait induire des effets au niveau de la tumeur, similaires à ceux obtenus avec une excitation à 630 nm, avec une diminution des lésions des tissus normaux. La lumière verte prévient les lésions profondes des tissus, réduisant ainsi le risque de perforation. Depuis, de nombreuses études sur des cellules en culture ou bien sur des animaux de laboratoire l'ont confirmé.
- [0087] A deux photons ($\lambda_{\text{irrad.}} = 810 \text{ nm}$), les cibles visées sont les tumeurs plus profondes (cancer du sein, de la prostate, rétinoblastome) car l'excitation de la molécule avec un laser dans le rouge lointain ou le proche infra-rouge permet une pénétration plus profonde des tissus (zone de transparence biologique).

- [0088] De manière avantageuse, l'invention concerne une méthode de traitement de pathologies, notamment le traitement de tumeurs, par thérapie photodynamique, comprenant une étape d'administration à des individus dans le besoin une dose efficace de composé tel que défini ci-dessus, et une exposition à un faisceau lumineux ayant une longueur d'onde variant de 450 à 850 nm.
- [0089] De manière avantageuse, la méthode susmentionnée est une méthode de traitement de pathologies, notamment le traitement de tumeurs, par thérapie photodynamique à un photon, comprenant une étape d'administration à des individus dans le besoin une dose efficace de composé tel que défini ci-dessus, et une exposition à un faisceau lumineux ayant une longueur d'onde variant de 450 à 550 nm.
- [0090] Par « longueur d'onde variant de 450 à 550 nm » on entend dans l'invention une longueur d'onde de 450nm, 451nm, 452nm, 453nm, 454nm, 455nm, 456nm, 457nm, 458nm, 459nm, 460nm, 461nm, 462nm, 463nm, 464nm, 465nm, 466nm, 467nm, 468nm, 469nm, 470nm, 471nm, 472nm, 473nm, 474nm, 475nm, 476nm, 477nm, 478nm, 479nm, 480nm, 481nm, 482nm, 483nm, 484nm, 485nm, 486nm, 487nm, 488nm, 489nm, 490nm, 491nm, 492nm, 493nm, 494nm, 495nm, 496nm, 497nm, 498nm, 499nm, 500nm, 501nm, 502nm, 503nm, 504nm, 505nm, 506nm, 507nm, 508nm, 509nm, 510nm, 511nm, 512nm, 513nm, 514nm, 515nm, 516nm, 517nm, 518nm, 519nm, 520nm, 521nm, 522nm, 523nm, 524nm, 525nm, 526nm, 527nm, 528nm, 529nm, 530nm, 531nm, 532nm, 533nm, 534nm, 535nm, 536nm, 537nm, 538nm, 539nm, 540nm, 541nm, 542nm, 543nm, 544nm, 545nm, 546nm, 547nm, 548nm, 549nm ou 550nm.
- [0091] De manière avantageuse, la méthode susmentionnée est une méthode de traitement de pathologies, notamment le traitement de tumeurs, par thérapie photodynamique à deux photons, comprenant une étape d'administration à des individus dans le besoin une dose efficace de composé tel que défini ci-dessus, et une exposition à un faisceau lumineux ayant une longueur d'onde variant de 750 à 850 nm.
- [0092] Par « longueur d'onde variant de 750 à 850 nm » on entend dans l'invention une longueur d'onde de 750nm, 751nm, 752nm, 753nm, 754nm, 755nm, 756nm, 757nm, 758nm, 759nm, 760nm, 761nm, 762nm, 763nm, 764nm, 765nm, 766nm, 767nm, 768nm, 769nm, 770nm, 771nm, 772nm, 773nm, 774nm, 775nm, 776nm, 777nm, 778nm, 779nm, 780nm, 781nm, 782nm, 783nm, 784nm, 785nm, 786nm, 787nm, 788nm, 789nm, 790nm, 791nm, 792nm, 793nm, 794nm, 795nm, 796nm, 797nm, 798nm, 799nm, 500nm, 501nm, 502nm, 503nm, 504nm, 505nm, 506nm, 507nm, 508nm, 509nm, 510nm, 511nm, 512nm, 513nm, 514nm, 515nm, 516nm, 517nm, 518nm, 519nm, 520nm, 521nm, 522nm, 523nm, 524nm, 525nm, 526nm, 527nm, 528nm, 529nm, 530nm, 531nm, 532nm, 533nm, 534nm, 535nm, 536nm, 537nm, 538nm, 539nm, 540nm, 541nm, 542nm, 543nm, 544nm, 545nm, 546nm, 847nm,

848nm, 849nm ou 850nm.

- [0093] Dans l'une quelconque des méthodes susmentionnées, il est avantageux d'administrer un composé selon l'invention à une dose variant de 2 nmol.L⁻¹ (ou nM) à 1 µmol.L⁻¹ (ou 1000 nmol.L⁻¹), notamment de 2 nmol.L⁻¹ (ou nM) à 1 µmol.L⁻¹ par kg pour une administration *per os*. Ainsi pour un individu de 70 kg en moyenne, la dose administrée sera de 140 nM à 70 µM. Dans le cadre d'une administration ciblée, (par injection directement dans la tumeur par exemple), la dose sera directement celle décrite plus haut sans le coefficient multiplicateur de masse en kg.
- [0094] Dans l'invention, on entend par «une dose variant de 2 nmol.L⁻¹ à 1 µmol.L⁻¹» une dose de 2 nmol.L⁻¹, 3 nmol.L⁻¹, 4 nmol.L⁻¹, 5 nmol.L⁻¹, 6 nmol.L⁻¹, 7 nmol.L⁻¹, 8 nmol.L⁻¹, 9 nmol.L⁻¹, 10 nmol.L⁻¹, 15 nmol.L⁻¹, 20 nmol.L⁻¹, 25 nmol.L⁻¹, 30 nmol.L⁻¹, 35 nmol.L⁻¹, 40 nmol.L⁻¹, 45 nmol.L⁻¹, 50 nmol.L⁻¹, 55 nmol.L⁻¹, 60 nmol.L⁻¹, 65 nmol.L⁻¹, 70 nmol.L⁻¹, 75 nmol.L⁻¹, 80 nmol.L⁻¹, 85 nmol.L⁻¹, 90 nmol.L⁻¹, 95 nmol.L⁻¹, 100 nmol.L⁻¹, 105 nmol.L⁻¹, 110 nmol.L⁻¹, 115 nmol.L⁻¹, 120 nmol.L⁻¹, 125 nmol.L⁻¹, 130 nmol.L⁻¹, 135 nmol.L⁻¹, 140 nmol.L⁻¹, 145 nmol.L⁻¹, 150 nmol.L⁻¹, 155 nmol.L⁻¹, 160 nmol.L⁻¹, 165 nmol.L⁻¹, 170 nmol.L⁻¹, 175 nmol.L⁻¹, 180 nmol.L⁻¹, 185 nmol.L⁻¹, 190 nmol.L⁻¹, 195 nmol.L⁻¹, 200 nmol.L⁻¹, 205 nmol.L⁻¹, 210 nmol.L⁻¹, 215 nmol.L⁻¹, 220 nmol.L⁻¹, 225 nmol.L⁻¹, 230 nmol.L⁻¹, 235 nmol.L⁻¹, 240 nmol.L⁻¹, 245 nmol.L⁻¹, 250 nmol.L⁻¹, 255 nmol.L⁻¹, 260 nmol.L⁻¹, 265 nmol.L⁻¹, 270 nmol.L⁻¹, 275 nmol.L⁻¹, 280 nmol.L⁻¹, 285 nmol.L⁻¹, 290 nmol.L⁻¹, 295 nmol.L⁻¹, 300 nmol.L⁻¹, 305 nmol.L⁻¹, 310 nmol.L⁻¹, 315 nmol.L⁻¹, 320 nmol.L⁻¹, 325 nmol.L⁻¹, 330 nmol.L⁻¹, 335 nmol.L⁻¹, 340 nmol.L⁻¹, 345 nmol.L⁻¹, 350 nmol.L⁻¹, 355 nmol.L⁻¹, 360 nmol.L⁻¹, 365 nmol.L⁻¹, 370 nmol.L⁻¹, 375 nmol.L⁻¹, 380 nmol.L⁻¹, 385 nmol.L⁻¹, 390 nmol.L⁻¹, 395 nmol.L⁻¹, 400 nmol.L⁻¹, 405 nmol.L⁻¹, 410 nmol.L⁻¹, 415 nmol.L⁻¹, 420 nmol.L⁻¹, 425 nmol.L⁻¹, 430 nmol.L⁻¹, 435 nmol.L⁻¹, 440 nmol.L⁻¹, 445 nmol.L⁻¹, 450 nmol.L⁻¹, 455 nmol.L⁻¹, 460 nmol.L⁻¹, 465 nmol.L⁻¹, 470 nmol.L⁻¹, 475 nmol.L⁻¹, 480 nmol.L⁻¹, 485 nmol.L⁻¹, 490 nmol.L⁻¹, 495 nmol.L⁻¹, 500 nmol.L⁻¹, 525 nmol.L⁻¹, 550 nmol.L⁻¹, 575 nmol.L⁻¹, 600 nmol.L⁻¹, 625 nmol.L⁻¹, 650 nmol.L⁻¹, 675 nmol.L⁻¹, 700 nmol.L⁻¹, 725 nmol.L⁻¹, 750 nmol.L⁻¹, 775 nmol.L⁻¹, 800 nmol.L⁻¹, 825 nmol.L⁻¹, 850 nmol.L⁻¹, 875 nmol.L⁻¹, 900 nmol.L⁻¹, 925 nmol.L⁻¹, 950 nmol.L⁻¹, 975 nmol.L⁻¹ ou 1000 nmol.L⁻¹.
- [0095] La thérapie photodynamique (photodynamic therapy, PDT) est utilisée depuis de nombreuses années en dermatologie. Son principe théorique repose sur l'utilisation d'une molécule inoffensive, s'accumulant de manière préférentielle dans les cellules à traiter. Cette molécule est transformée en une molécule cytotoxique après excitation lumineuse. La spécificité du traitement vient d'une part de la pharmacocinétique de la molécule (diffusion, absorption et métabolisation cellulaire) et d'autre part, par la physique du flux lumineux.
- [0096] La thérapie photodynamique antitumorale est donc basée sur l'association de

molécules photosensibilisantes (Ps) capables de se concentrer dans les cellules tumorales, et d'une lumière focalisée de longueur d'onde appropriée (dépendante du Ps). Ce sera la combinaison de ces deux facteurs qui permettra de cibler spécifiquement les tissus tumoraux et de les détruire. Cette méthode présente tout de même un inconvénient de taille : seuls les cancers accessibles à la lumière peuvent être traités (la lumière rouge par exemple n'a qu'une pénétration d'environ 1 cm dans les tissus vivants).

- [0097] L'action de la lumière (à une longueur d'onde soigneusement sélectionnée) sur le sensibilisateur va entraîner la formation d'oxygène singulet $^1\text{O}_2$ (de courte durée de vie de l'ordre de 0,01 à 0,004 μs), molécule très réactive vis-à-vis des composants cellulaires et donc très toxique. Le photosensibilisateur est injecté par voie intraveineuse ; Celui-ci va se concentrer plus ou moins sélectivement dans le tissu tumoral dont l'irradiation par une lumière laser de longueur d'onde appropriée au colorant utilisé conduit à la nécrose ou l'apoptose des cellules cancéreuse.
- [0098] Les inventeurs ont fait la constatation surprenante que les composés selon l'invention, une fois activés à des longueurs d'onde spécifiques, sont capables de produire des espèces oxygénées réactives sous forme d'oxygène singulet avec un rendement quantique Φ_A de l'ordre de 0,1. Ce faible rendement est attendu – puisque la grande majorité des photons absorbés est convertie en lumière, 76%.
- [0099] Mais de manière surprenante, les inventeurs ont remarqué que ce rendement est largement suffisant pour conduire *in vitro* à la destruction de 98% des cellules tumorales à des concentrations très faibles de l'ordre de 100 nM.
- [0100] L'invention concerne en outre un composé tel que défini précédemment, pour son utilisation dans le cadre du diagnostic de pathologies, notamment de cancers.
- [0101] L'imagerie par fluorescence est l'une des techniques les plus puissantes pour observer les processus intracellulaires dynamiques dans les cellules vivantes. L'accès à de nouvelles sondes fluorescentes adaptables est d'une importance majeure car seules très peu de biomolécules peuvent actuellement être visualisées en raison de limitations inhérentes à la structure des sondes utilisées à ce jour.
- [0102] L'imagerie proposée, ou l'utilisation des composés selon l'invention, repose sur la fluorescence classique à 1 photon, ou à deux photons, comme exposé ci-dessus.
- [0103] L'invention concerne en outre une méthode d'imagerie par fluorescence *in vivo*, comprenant une étape d'administration à des individus dans le besoin une dose efficace de composé tel que défini ci-dessus, et une exposition à un faisceau lumineux ayant une longueur d'onde variant de 450 à 850 nm, et une étape de détection par des moyens appropriés des cellules, tissus ou organites cellules fluorescents.
- [0104] L'invention concerne en outre une méthode d'imagerie par fluorescence *in vivo*, comprenant une étape d'administration à des individus dans le besoin une dose efficace

de composé tel que défini ci-dessus, et une exposition à un faisceau lumineux ayant une longueur d'onde variant de 450 à 550 nm, et une étape de détection par des moyens appropriés de détection de fluorescence à 1 photon des cellules, tissus ou organites cellules fluorescents.

- [0105] L'invention concerne en outre une méthode d'imagerie par fluorescence *in vivo*, comprenant une étape d'administration à des individus dans le besoin une dose efficace de composé tel que défini ci-dessus, et une exposition à un faisceau lumineux ayant une longueur d'onde variant de 750 à 850 nm, et une étape de détection par des moyens appropriés de détection de fluorescence à 2 photons des cellules, tissus ou organites cellules fluorescents.
- [0106] L'invention concerne également l'utilisation d'un composé susmentionné, pour la visualisation, *in vitro* ou *ex vivo*, de cellules vivantes, d'organites du cytoplasme (mitochondrie, réticulum endoplasmique, appareil de Golgi, vésicules, noyau, etc...) ou de tissus, par microscopie à fluorescence à un ou deux photons, ledit composé étant notamment utilisé à une concentration variant de 2 à 500 nmol. L⁻¹.
- [0107] L'invention concerne par ailleurs une méthode, notamment *in vitro*, de visualisation de cellules vivantes, d'organites du cytoplasme (mitochondrie, réticulum endoplasmique, appareil de Golgi, vésicules, noyau, etc...) ou de tissus, par microscopie à fluorescence, comprenant :
- [0108] - une étape de mise en contact cellules vivantes, d'organites du cytoplasme ou de tissus, préalablement prélevés sur un individu ou un animal, avec un composé susmentionné, à une concentration de 2 à 500 nmol. L⁻¹.
- [0109] - une étape d'exposition à un faisceau lumineux ayant une longueur d'onde variant de 450 à 850 nm, et
- [0110] - une étape de détection par des moyens appropriés de détection de fluorescence à 1 ou 2 photons les cellules, les tissus ou les organites fluorescents.
- [0111] L'invention concerne par ailleurs une méthode, notamment *in vitro*, d'éradication de cellules comprenant une étape d'exposition, à l'aide d'une source lumineuse émettant un ou deux photons, de cellules traitées avec un composé selon la définition précédente, ledit composé étant utilisé à une concentration variant de 1 à 1000 nmol. L⁻¹.
- [0112] L'invention concerne par ailleurs l'utilisation d'un composé susmentionné, pour l'éradication notamment *in vitro* de cellules.
- [0113] Un autre aspect de l'invention concerne une méthode de diagnostic, notamment *in vitro*, d'une pathologie impliquant une dérégulation de l'expression ou de l'activité d'une ou plusieurs peptidases, amidases ou les deux, à partir d'un échantillon biologique issu d'individus atteint par ladite pathologie comprenant :
- [0114] – une étape de mise en contact dudit échantillon biologique avec un composé tel

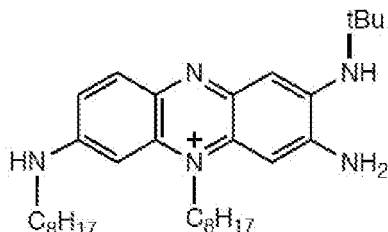
- que défini ci-dessus, ou R4 est un groupe fonctionnel inhibant les propriétés fluorescentes dudit composé,
- une étape de détection de la fluorescence après exposition à un faisceau lumineux ayant une longueur d'onde variant de 450 à 850 nm.
- [0115] Les inventeurs ont fait la constatation surprenante que certains groupes R4, notamment (Carbonyl de type C(O—alkyle ou C(O)-aryle) modifie de façon drastique les propriétés de fluorescence des composés selon l'invention. Par contre, une fois que ces groupes sont clivés, par la rupture de la fonction amide, les composés recouvrent leurs capacités de fluorescence initiale.
- [0116] Ainsi, les composés de l'invention où R4 est un groupe impactant fortement la fluorescence peuvent servir de sonde diagnostic pour détecter au sein de cellules une activité anormale de peptidase ou d'amidase, dérégulation qui est corrélée à une pathologie.
- [0117] Dès lors si la cellule est saine, aucune fluorescence ne sera émise après excitation, ou une fluorescence à un certain niveau F0 sera mesurable. Si par contre la cellule est une cellule ayant une activité peptidase/amidase augmentée par rapport à la cellule saine, ou simplement se met à exprimer la peptidase/amidase qui n'est pas exprimée dans la cellule saine, le groupe R4 sera clivé, ou sera plus clivé, et une différence de fluorescence sera observée.
- [0118] De la même manière, si la cellule pathologique à une diminution de l'activité peptidase/amidase par rapport à la cellule saine, la fluorescence dans les cellules pathologiques sera plus faible, voire disparaîtra.
- [0119] L'invention sera mieux comprise à la lumière des figures ci-après décrites et des exemples qui suivent.

Brève description des dessins

- [0120] [fig.1] La figure 1 Spectres RMN 1H de I dans le MeCN-d3 : sans ajout de NaOD (A), avec ajout de NaOD (B), (la fenêtre entre $\delta = 5,7$ ppm et 0 ppm a été omise pour des raisons de clarté). : Le tableau indique la forme protonée et la forme non protonée en présence de NaOD. L'axe x représente les valeurs en ppm.
- [0121] [fig.2] La figure 2 représente le spectre d'absorption ϵ (M-1cm-1) en fonction de la longueur d'onde λ (en nm) du composé représenté.
- [0122] [fig.3] La figure 3 représente le spectre d'absorption ϵ (M-1cm-1) en fonction de la longueur d'onde λ (en nm) du composé représenté.
- [0123] [fig.4] La figure 4 représente le spectre d'absorption ϵ (M-1cm-1) en fonction de la longueur d'onde λ (en nm) du composé représenté.
- [0124] [fig.5] La figure 5 représente le spectre d'absorption ϵ (M-1cm-1) en fonction de la longueur d'onde λ (en nm) du composé représenté.

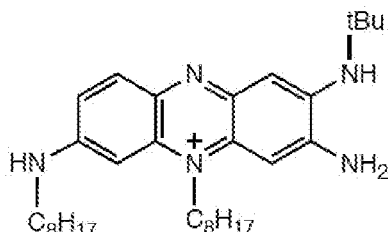
[0125] [fig.6] La figure 6 représente le spectre d'absorption (A) en fonction de la longueur d'onde λ (en nm) et d'émission (B) en fonction de la longueur d'onde λ (en nm) du composé suivant dans de l'acétonitrile :

[0126] [Chem.5]



[0127] [fig.7] La figure 7 représente le spectre d'émission en fonction de la longueur d'onde λ (en nm) composé suivant dans de l'acétonitrile :

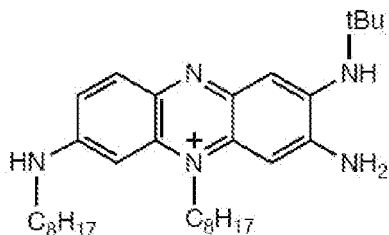
[0128] [Chem.5]



[0129] en présence de 0 équivalents de DBU (a), 0,1 équivalents de DBU (b), 0,2 équivalents de DBU (c), 0,4 équivalents de DBU (d), 0,6 équivalents de DBU (e), 0,8 équivalents de DBU (f), 1,0 équivalents de DBU (g), 1,2 équivalents de DBU (h), 1,4 équivalents de DBU (i), 1,6 équivalents de DBU (j), 1,8 équivalents de DBU (k), 2,5 équivalents de DBU (l).

[0130] [fig.8] La figure 8 représente la capture du composé de formule

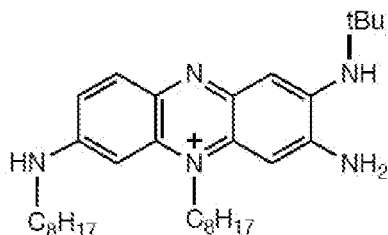
[0131]



[0132] Par des cellules humaines de cancer sein (MCF-7). Les cellules MCF-7 ont été incubées pendant 16 h avec le composé aux concentrations de 0 μ M (B), 0,1 μ M (E) ou 0,5 μ M (H). Les noyaux furent colorés au Hoechst 33342 (A, D et G). L'imagerie par fluorescence monophotonique a été réalisée sur des cellules vivantes à la longueur d'onde d'excitation de 514 nm avec un microscope Carl Zeiss. Les images C, F, et I représente la superposition des signaux des images A+B, D+E et G+H respectivement.

[0133] [fig.9] La figure 9 représente la capture du composé de formule

[0134] [Chem.5]



[0135] Par des cellules humaines de cancer sein (MCF-7). Les cellules MCF-7 ont été incubées pendant 16 h avec le composé aux concentrations de 0 μM (B), 0,5 μM à 790 nm (E) ou 0,5 μM à 810 nm (H). Les noyaux furent colorés au Hoechst 33342 (A, D et G). L'imagerie par fluorescence monophotonique a été réalisée sur des cellules vivantes aux longueurs d'onde d'excitation de 790 ou 810 nm avec un microscope Carl Zeiss. Les images C, F, et I représente la superposition des signaux des images A+B, D+E et G+H respectivement.

[0136] [fig.10] La figure 10 représente la cinétique d'incorporation du composé décrit à la figure 8 en utilisant un lecteur de plaque CLARIOstar afin de quantifier l'internalisation. Les données correspondent au pourcentage d'internalisation (fluorescence restante / fluorescence totale) en fonction du temps en heures. Les données correspondent aux moyennes de trois expériences $\pm$ l'écart type.

[0137] [fig.11] La figure 11 représente la survie des cellules MCF7 incubées pendant 5h avec le composé décrit à la figure 9 à une concentration de 0,5 μM , sans irradiation (A2), après irradiation à 790 nm (B2) ou 810 nm (C2). En contrôle, des cellules MCF7 non traitées sans irradiation (A1), après irradiation à 790 nm (B1) ou 810 nm (C1) sont présentées. L'axe de Y représente le pourcentage de cellules MCF-7 vivantes (les valeurs chiffrées sont indiquées au-dessus de chaque barre). Les données correspondent aux moyennes de trois expériences $\pm$ l'écart type.

[0138] [fig.12] La figure 12 représente un histogramme montrant l'efficacité de la thérapie photodynamique monophotonique à 540 nm. Les cellules MCF-7 ont été incubées avec le composé pendant 5 h à des doses de 0 nM (A), 1 nM (B), 10 nM (C) ou 100 nM (D) et irradiées (colonnes noires) ou non (colonnes grises) à 530 nm pendant 20 minutes. Deux jours plus tard, les cellules furent soumises à un test colorimétrique de viabilité cellulaire (MTT). L'expérience a été réalisée 3 fois. L'axe des Y représente le pourcentage des cellules MCF-7 vivantes.

[0139] [fig.13] La figure 13 représente une photo de la zone de jonction entre des cellules MCF-7 traitées avec le composé à 100 nM et irradiées à 540 nm (B) ou non (A). Les cellules vivantes sont visibles grâce au marquage violet suite au traitement MTT.

[0140] [fig.14] La figure 14 représente un graphique montrant le pourcentage de cellules

MCF-7 après traitement pendant 72h avec un composé selon l'invention à des doses indiquées. Les données correspondent aux moyennes de trois expériences $\pm$ l'écart type.

EXEMPLES

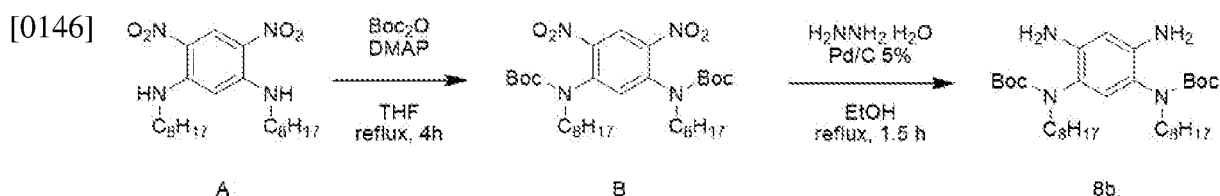
[0141] Les réactifs commerciaux de qualité analytique ont été obtenus à partir de fournisseurs et utilisés directement sans purification supplémentaire. Les spectres RMN ^1H et ^{13}C sont enregistrés dans du CDCl_3 , du CD_2Cl_2 , du CD_3CN , de l'acétone- d_6 et du DMSO-d_6 , déterminés avec un spectromètre Bruker AC250 fonctionnant à 250 MHz ou avec un spectromètre Jeol ECS400 fonctionnant à 400 MHz. Les décalages chimiques sont exprimés en ppm et les constantes de couplage (J) sont en hertz. Les motifs de séparation sont conçus sous la forme de s, singulet; br s, singulet large; d, doublet; dd, doublet doublet; t, triplet; td, doublet triplet; qt, quintet.

[0142] Les analyses élémentaires et MS (spectrométrie de masse) ont été réalisées par la Spectropole De Marseille. Des analyses spectrales de masse ESI sont enregistrées avec un spectromètre de masse 3200 QIRAP (Applied Biosystems SCIEX). Des analyses spectrales de masse haut-résolution sont enregistrées avec un spectromètre de masse SYNAPT G2 HDMS (Waters)

[0143] Les chromatographies de colonnes flash préparatives ont été réalisées à l'aide d'un gel de silice (Merck) G60 230-240 mesh.

[0144] **Exemple 1** – synthèses de composés selon l'invention

[0145] 1- Procédé de synthèse n°1 – composé de formule III (1a)



[0147] **Composé A:** A une solution de 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzène (DFNB) ($m = 500$ mg, 1,00 équiv.) dans de l'éthanol ($v = 50$ mL), ont été ajoutés du 1-Octylamine ($v = 830$ μL , 2,05 équiv.) et de la N, N-diisopropyléthylamine (DIPEA) ($v = 874$ μL , 2,05 équiv.). La solution a été chauffée jusqu'à reflux pendant 1,5 h. Après refroidissement à température ambiante, le solide résultant en suspension a été isolé par filtration, rincé avec de l'EtOH et séché sous vide pour obtenir le composé **A** ($m = 1.04$ g, rendement quantitatif) sous une forme cristalline orange.

[0148] **^1H NMR (250 MHz, CDCl_3):** δ 9.24 (s, 1H), 8.32 (br s, 2H), 5.65 (s, 1H), 3.27 (td, $J_t = 7.0$ Hz, $J_d = 5.3$ Hz, 4H), 1.82-1.71 (m, 4H), 1.54-1.29 (m, 20H), 0.89 (t, $J = 6.8$ Hz, 6H). **^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3):** δ 148.5, 129.5, 124.0, 90.0, 43.3, 31.7, 29.2, 29.1, 28.4, 27.1, 22.6, 14.0. **ESI-MS:** m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ 423.3 (100%), $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 445.3 (6%), $[\text{M}+\text{K}]^+$ 461.3 (4%); $[\text{M}-\text{H}]^-$ 421.3 (100%). **Analyse élémentaire** pour $\text{C}_{22}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_4$:

calculé. C 62.53, H 9.06, N 13.26, O 15.15; trouvé C 62.58, H 9.19, N 13.21

[0149] **Composé B**: A une solution de composé **A** ($m = 1,03$ g, 2,43 mmol, 1,0 équiv.) dans du THF (10 mL), du Boc_2O ($m = 1,94$ g, 8,89 mmol, 3,7 équiv.) et du 4-diméthylaminopyridine (DMAP) ($m = 50$ mg, 0,41 mmol, 17%mol) ont été ajoutés. La solution a été chauffée à reflux pendant 4 h. Le solvant a été éliminé sous vide. Le produit brut a été purifié par chromatographie flash (silice F60, DCM 100) pour obtenir le composé **B** ($m = 1.52$ g, 2.44 mmol, rendement quantitatif) sous la forme d'un solide jaune.

[0150] $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): δ 8.54 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 3.69 (m, 4H), 1.68-1.25 (m, 42H), 0.87 (t, $J = 6.5$ Hz, 6H). $^{13}\text{C NMR}$ (63 MHz, CDCl_3): 152.1, 142.5, 141.0, 127.8, 122.8, 82.9, 50.9, 31.7, 29.2, 29.2, 28.7, 27.9, 26.9, 22.6, 14.0. **MS: ESI-MS**: m/z $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ 640.4 (100%), $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 645.4 (12%), $[\text{M}+\text{K}]^+$ 661.3 (5%). **Analyse élémentaire** for $\text{C}_{32}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_8$: calculé. C 61.71, H 8.74, N 9.00, O 20.55; trouvé C 61.68, H 8.96, N 8.82.

[0151] **Composé 8b**: A une suspension de Pd sur du carbone carbon 5% ($m = 180$ mg, 0,085mmol, 1%mol) dans de l'EtOH (80 mL), du composé **B** ($m = 5,15$ g, 8,28 mmol, 1,0 équiv.) et de l'hydrazine monohydrate (2,3 mL, 47,1 mmol, 5,7 équiv.) ont été ajoutés. Le mélange a été chauffé à reflux pendant 1,5 h. Le Pd/C a été éliminé par filtration au travers de Celite 545, et la phase solide a été rincée avec du dichlorométhane (3 x 100 mL). La phase organique combinée a été lavée avec de l'eau (3 x 150 mL) et de la saumure (100 mL), séchée avec du MgSO_4 anhydre, filtrée, concentrée et séchée sous vide pour obtenir le composé **8b** ($m = 4,43$ g, 7,87 mmol, 96% de rendement) sous la forme d'un solide jaune.

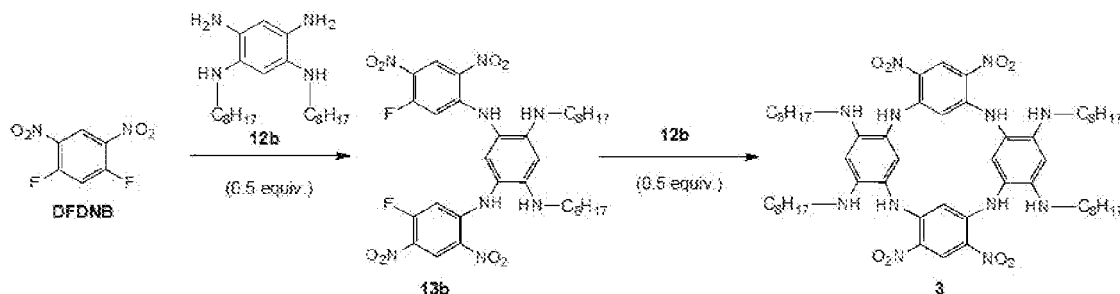
[0152] $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): δ 6.55 (br s, 1H), 6.09 (s, 1H), 3.58 (br s, 6H), 3.27 (m, 2H), 1.51-1.24 (m, 42H), 0.86 (t, $J = 6.5$ Hz, 6H). $^{13}\text{C NMR}$ (63 MHz, CDCl_3): 155.2, 142.7, 142.5, 129.5, 129.1, 118.9, 102.0, 79.2, 57.6, 48.4, 31.5, 29.1, 29.0, 28.0, 26.6, 22.3, 18.1, 13.8. **HRMS (ESI-TOF)**: m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ for $\text{C}_{32}\text{H}_{59}\text{N}_4\text{O}_4^+$ calculé. 563.4531, trouvé 563.4532, err. < 1 ppm; m/z $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ for $\text{C}_{32}\text{H}_{62}\text{N}_5\text{O}_4^+$ calculé. 580.4796, trouvé 580.4803, err. < 2 ppm.

[0153] **Composé 12b**: A une solution de composé **8b** ($m = 303$ mg, 0,538 mmol) dans du dichlorométhane ($v = 5$ mL), HCl (12N, $v = 2$ mL) a été ajouté du TFA à 0°C. Ce mélange a été agité sous argon toute la nuit. Le solide résultant en suspension a été collecté par filtration, rincé avec du CH_2Cl_2 ($v = 20$ mL), et séché sous vide pour obtenir le composé **12b** ($m = 196$ mg, 0,449 mmol, 84% de rendement) sous la forme d'un solide rose clair. Ce produit brut a été utilisé directement sans plus de purification.

[0154] $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 6.85 (br s, 1H), 6.44 (br s, 1H), 3.06 (t, $^3J_{HH} = 7.2$ Hz, 4H), 1.62 (m, 4H), 1.35-1.26 (m, 20H), 0.86 (t, $^3J_{HH} = 6.8$ Hz, 6H). No ^{13}C

NMR spectrum could be recorded owing to the poor stability in solution. **MALDI-TOF MS:** m/z M^+ for $C_{22}H_{42}N_4^+$ calculé. 362.3, trouvé 362.3 (100%).

[0155]



[0156] **Composé 13b** : A une solution de DFDNB ($m = 258$ mg, 1.27 mmol, 1.8 équiv.) dans du MeCN ($v = 25$ mL) a été ajouté du composé **12b** ($m = 306$ mg, 0.703 mmol, 1.0 équiv.). Le ballon a été fermé avec un septum et la solution a été refroidie dans un bain d'eau glacée et dégazée. Du $N(iPr)_2Et$ ($v = 735$ μ L, 4.22 mmol, 6.0 équiv.) a alors été ajouté goutte à goutte à l'aide d'une seringue sous argon. La solution a été agitée à 0 °C pendant 2 heures puis à température ambiante pendant deux heures additionnelles. La solution a été concentrée sous vide, et le résidu a été repris avec de l'EtOH ($v = 30$ mL) et du MeCN ($v = 10$ mL). Le solide obtenu en suspension a été récupéré par filtration, rincé avec de l'EtOH ($v = 100$ mL) et de l'Et₂O ($v = 20$ mL), et séché sous vide pour obtenir le composé **13b** sous la forme d'une poudre orange ($m = 365$ mg, 0.499 mmol, 79% de rendement).

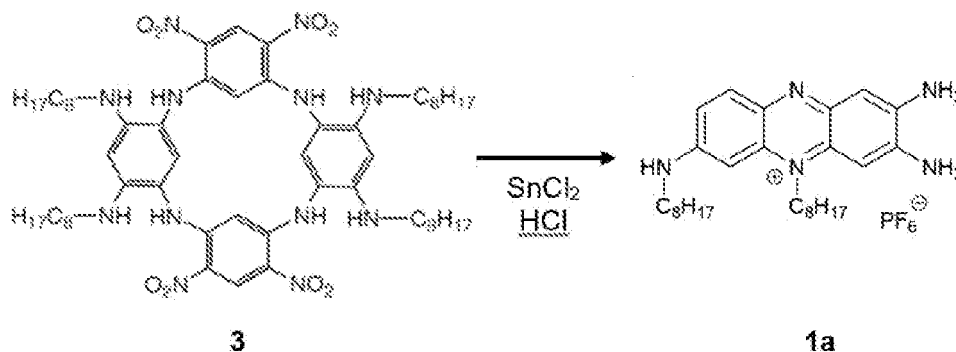
[0157] **¹H NMR(250 MHz, CDCl₃)**: δ 9.29 (br s, 2H), 9.15 (d, $^4J_{HF} = 7.8$ Hz, 2H), 6.84 (s, 1H), 6.52 (d, $^3J_{HF} = 13$ Hz, 2H), 6.07 (s, 1H), 3.97 (br s, 2H), 3.19 (t, $^3J_{HH} = 7.0$ Hz, 4H), 1.66-1.26 (m, 24H), 0.88 (t, $^3J_{HH} = 7.0$ Hz, 6H). **¹H NMR(250 MHz, Acetone-d₆)**: δ 9.60 (br s, 2H), 9.01 (d, $^4J_{HF} = 8.0$ Hz, 2H), 7.08 (s, 1H), 6.70 (d, $^3J_{HH} = 14.3$ Hz, 2H), 6.20 (s, 1H), 5.13 (br s, 2H), 3.24 (t, $^3J_{HH} = 7.0$ Hz, 4H), 1.66-1.55 (m, 4H), 1.29-1.26 (m, 20H), 0.87 (t, $^3J_{HH} = 7.0$ Hz, 6H). **¹³C NMR(63 MHz, CDCl₃)**: δ 159.9 (d, $^1J_{CF} = 267$ Hz), 150.0, 149.8, 146.1, 127.9, 127.6, 127.3 (d, $^2J_{CF} = 10.1$ Hz), 109.8, 103.7 (d, $^2J_{CF} = 27.7$ Hz), 93.4, 43.5, 31.7, 29.28, 29.23, 29.18, 27.1, 22.6, 14.0. **HRMS (ESI-TOF)**: m/z $[M+H]^+$ for $C_{34}H_{45}N_8O_8F_2^+$ calculé. 731.3323, trouvé 731.3323, err. < 1 ppm.

[0158] **Composé 3** : A une solution de composé **13b** ($m = 160$ mg, 0.219 mmol, 1.0 équiv.) dans du MeCN anhydre ($v = 30$ mL), du composé **12b** ($m = 115$ mg, 0.263 mmol, 1.2 équiv.) a été ajouté. Le ballon a été fermé, dégazé et du $N(iPr)_2Et$ a été ajouté goutte à goutte ($m = 370$ μ L, 2.12 mmol, 9.6 équiv.) à l'aide d'une seringue sous argon. Le mélange a été agité à température ambiante pendant 2 h sous agitation, puis chauffé à reflux toute la nuit. Après concentration du solvant sous vide, le résidu a été repris avec un mélange d'acétone ($v = 5$ mL) et d'éthanol ($v = 5$ mL). Le produit solide résultant a été isolé par filtration, lavé avec de l'EtOH, et séché sous vide pour obtenir

le composé **3** (m = 155,5 mg, 0,148 mmol, 68% de rendement) sous la forme d'une poudre orange.

- [0159] **¹H NMR (250 MHz, CDCl₃)**: δ 9.26 (s, 2H), 8.85 (br s, 4H), 6.58 (s, 2H), 5.82 (s, 2H), 5.49 (s, 2H), 3.91 (br t, ³J_{HH} = 5.4 Hz, 4H), 3.09-2.99 (m, 8H), 1.53-1.28 (m, 48H), 0.89 (t, ³J_{HH} = 6.8 Hz, 12H). **¹³C NMR (63 MHz, CDCl₃)**: δ 149.9, 146.4, 129.2, 129.0, 125.4, 110.6, 95.7, 92.6, 43.8, 31.8, 29.49, 29.46, 29.33, 27.3, 22.7, 14.1. **HRMS (ESI-TOF)**: m/z [M+H]⁺ for C₅₆H₈₅N₁₂O₈⁺ calculé. 1053.6608, trouvé 1053.6608, err. < 1 ppm.

[0160]

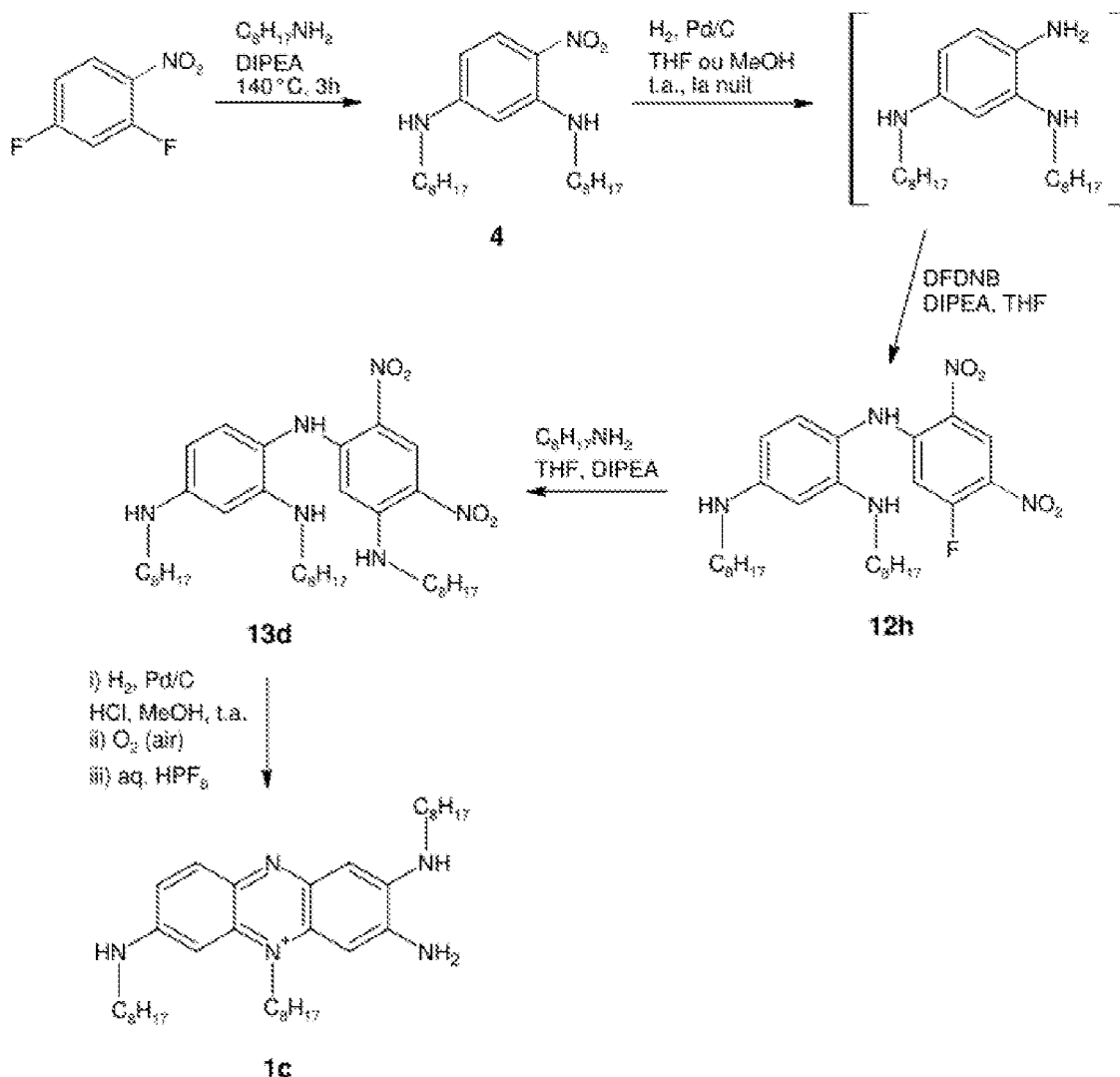


- [0161] **Composé 1a** : A une solution de macrocycle **3** (50 mg, 0,05 mmol, 1 équiv.) dans de l'éthanol absolu (50 mL), a été ajouté du SnCl₂•2H₂O (343 mg, 1,52 mmol, 32 équiv.) et du HCl (12M, 0,13 mL). Le mélange a été agité à reflux toute la nuit et neutralisé avec du NaHCO₃ avant d'ajouter de l'éthanol (30 mL) et de l'eau (20 mL). Après évaporation du solvant sous pression réduite, le résidu a été extrait avec un mélange dichlorométhane/éthanol (3/1, v/v). La couche organique rouge a été lavée avec une solution aqueuse de HPF₆ (1 poids.% dans de l'eau, 4 x 150 mL) et de la saumure (100 mL), séché avec du MgSO₄ et concentré sous vide pour obtenir le composé **1a** [PF₆] en tant que solide rouge foncé (35 mg, 62% rendement).

- [0162] **¹H NMR (400 MHz, CD₃CN)**: δ 7.82 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.23 (dd, *J* = 9.3 Hz, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.18 (s, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.55 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 6.33 (br t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 6.12 (br s, 2H), 4.84 (br s, 2H), 4.57 (t, *J* = 8.2 Hz, 2H), 3.37 (td, *J* = 6.9 Hz, *J* = 6.0 Hz, 2H), 1.72 (quint, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.61 (quint, *J* = 7.8 Hz, 2H), 1.47 – 1.27 (m, 20H), 0.91 – 0.87 (m, 6H). **HRMS (ESI-TOF)**: m/z [M+NH₄]⁺ for C₂₈H₄₄N₅⁺ calculé. 450.3591, trouvé 450.3592, err. < 1 ppm.

- [0163] 2- Procédé de synthèse n°2 – composé de formule IV (1c)

[0164]



[0165] **Composé 4** : Du 2,4-difluoronitrobenzène (6,5 mL, 0,059 mol, 1 équiv.), du 1-octylamine (40 mL, 0,243 mol, 4,1 équiv.) et du DIPEA (18 mL, 0,101 mol, 1,7 équiv.) ont été introduits dans une bombe à pression qui a été fermée avec un bouchon de Teflon seal. Le mélange a été chauffé jusqu'à 145°C pendant 3 h. Après refroidissement à température ambiante, 15 mL d'éthanol ont été ajoutés. Cette suspension a été triturée par ultrasons. Le produit solide résultant en suspension a été isolé par filtration, rincé à l'eau chaude, et séché sous vide pour obtenir le composé **4** sous la forme d'une poudre jaune (21,6 mg, 96% de rendement).

[0166] **^1H NMR (250 MHz, CDCl_3)** : δ 8.52 (br s, 1H), 7.99 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 5.89 (dd, $J = 9.3$ Hz, $J = 2.3$ Hz, 1H), 5.62 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 4.52 (br s, 1H), 3.23 – 3.14 (m, 4H), 1.75 – 1.62 (m, 4H), 1.42 – 1.28 (m, 20H), 0.91 – 0.85 (m, 6H). **^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3)** : 154.4, 148.6, 129.2, 123.6, 104.7, 89.8, 43.3, 42.9, 31.8, 31.7, 29.3, 29.2, 29.1, 28.8, 27.1, 27.0, 22.6, 14.0. MS: ESI-MS: m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ 378.3 (100%); $[\text{M}-\text{H}]^-$ 376.3 (100%), $[\text{M}+\text{CH}_3\text{COO}]^-$ 436.3 (48%). **Analyse élémentaire pour $\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot \frac{1}{5} \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$** : calculé. C 69.56, H 10.48, N 10.86, O 9.10; trouvé C 69.41, H

10.39, N 10.92.

[0167] **Composé 12h** : une solution de composé **4** (628 mg, 1,66 mmol, 1 équiv.) dans du THF (25 mL) a été hydrogénée (40 bars) toute la nuit en présence de Pd/C (5 poids.%, 36 mg, 0,02 mmol, 1 mol%). Après réduction de la pression, la solution a été dégazée sous sonication pendant 5 min. Du 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzene (320 mg, 1,58 mmol, 0,95 équiv.) a été ajouté à la solution sous agitation à 0 °C. La solution a été laissée à cette température pendant 10 min supplémentaires et l'achèvement de la réaction a été suivi par TLC. Alors du DIPEA (301 µL, 1,66 mmol, 1 équiv.) a été ajouté pour neutraliser la solution. Le Pd/C a été éliminé par filtration au travers de celite. Le produit brut a été purifié par chromatographie flash sur silicagel en utilisant un mélange dichlorométhane/cyclohexane (1/1) comme éluant pour obtenir le composé **12h** sous la forme d'un solide rouge (620 mg, 75% de rendement).

[0168] **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** : δ 9.31 (s, 1H), 9.15 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.83 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.53 (d, *J* = 13.4 Hz, 1H), 6.00 (dd, *J* = 8.4, 2.3 Hz, 1H), 5.95 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 3.77 (s, 1H), 3.67 (s, 1H), 3.11 (td, *J* = 14.1, 8.4 Hz, 4H), 1.65 (quintet, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.56 (quintet, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.36 (m, 20H), 0.89 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H), 0.87 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H). **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** : δ 159.9 (d, *J*_{C-F} = 270.7 Hz), 150.5, 150.3, 150.2, 145.1, 128.5, 127.7, 127.7, 127.6, 126.9 (d, *J*_{C-F} = 10.2 Hz), 110.7, 103.9 (d, *J*_{C-F} = 27.4 Hz), 101.6, 95.1, 43.9, 43.4, 31.8, 31.8, 31.8, 29.5, 29.4, 29.3, 29.3, 29.3, 29.3, 29.2, 29.2, 27.2, 27.1, 22.7, 22.6, 14.1, 14.1. **HRMS (ESI-TOF)**: *m/z* [M+H]⁺ pour C₂₈H₄₃FN₅O₄⁺ calculé. 532.3294, trouvé 532.3281, err. < 2 ppm.

[0169] **Composé 13d** : une solution de composé **4** (628 mg, 1,66 mmol, 1 équiv.) dans du THF (25 mL) a été hydrogénée (40 bars) toute la nuit en présence de Pd/C (5 poids.%, 36 mg, 1 mol%). Après diminution de la pression, la solution a été dégazée par sonication pendant 5 min, puis refroidie à 0°C dans un bac à glace, et du 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzene (320 mg, 1,58 mmol, 0,95 équiv.) a été ajouté dans la solution sous agitation. La réaction a été maintenue à 0 °C pendant 10 min. Alors du 1-octylamine (286 µL, 1,93 mmol, 1.1 équiv.) et du DIPEA (289 µL, 1,66 mmol, 1 équiv.) ont été ajoutés. Le mélange a été agité à température ambiante pendant 3 jours. Après filtration au travers de celite et concentration, le produit brut a été purifié par flash chromatographie sur silicagel en utilisant un mélange dichlorométhane/cyclohexane (50/50 à 55/45) en tant qu'éluant pour obtenir le composé **13d** sous la forme d'un solide rouge (498 mg, 49% de rendement).

[0170] **TLC**: R_f = 0.27 (SiO₂ F60, dichloromethane/cyclohexane, 7/3). **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** : δ 9.27 (s, 1H), 9.12 (br s, 1H), 8.21 (br t, *J* = 4.8 Hz, 1H), 6.87 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 6.00 (dd, *J* = 8.3, 2.2 Hz, 1H), 5.96 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 5.69 (s, 1H), 3.77 (br s, 1H), 3.68 (br s, 1H), 3.13 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.13 – 3.05 (m, 2H), 3.00 (q, *J* =

6.1 Hz, 2H), 1.68 – 1.52 (m, 6H), 1.45 – 1.23 (m, 30H), 0.90 – 0.84 (m, 9H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 149.5, 149.0, 148.4, 145.2, 129.4, 128.6, 124.8, 124.3, 112.0, 101.5, 95.2, 93.0, 44.1, 43.5, 43.1, 31.8, 31.8, 31.7, 29.6, 29.4, 29.4, 29.3, 29.2, 29.2, 29.2, 29.1, 28.2, 27.2, 27.1, 26.9, 22.6, 22.6, 22.6, 14.1, 14.1, 14.0. HRMS (ESI-TOF): m/z $[\text{M}+\text{I}]^-$ for $\text{C}_{36}\text{H}_{60}\text{N}_6\text{O}_4\text{F}$ calculé. 767.3726, trouvé 767.3725, err. < 2 ppm.

[0171] **Composé 1c** : Une solution de composé **13d** (200 mg, 0,31 mmol, 1 équiv.) dans du méthanol (40 mL) a été hydrogénée (40 bars) toute la nuit en présence de Pd/C (5 poids.%) et d'HCl (12M, 0.1 mL). Alors le mélange a été agité à l'air pendant 24h. Le Pd/C a été retiré par filtration au travers de celite. Après retrait du solvant sous pression réduite, le solide résultant a été repris avec du dichlorométhane (80 mL), lavé avec une solution de HPF_6 aqueux (1 poids.% dans de l'eau, 2 x 50 mL) puis de l'eau distillées (50 mL) et in fine concentré. Le résidu a été purifié par flash chromatographie sur alumina 90 standard en utilisant un mélange dichlorométhane/cyclohexane (100/0 à 99/1) en tant qu'éluant pour obtenir le composé **1c** $[\text{PF}_6^-]$ en tant que solide rouge (192 mg, 87% de rendement).

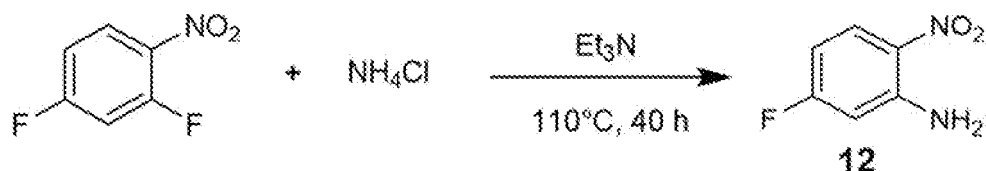
[0172] ^1H NMR (400 MHz, CD_3CN): δ 7.78 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.19 (dd, $J = 9.2$ Hz, 1.7 Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.52 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 6.24 (br t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 6.18 (br s, 2H), 4.78 (br s, 1H), 4.54 (t, $J = 8.1$ Hz, 2H), 3.34 (td, $J = 6.7$ Hz, 6.0 Hz, 2H), 3.28 (td, $J = 6.7$ Hz, 5.2 Hz, 2H), 1.79 – 1.67 (m, 4H), 1.64 – 1.56 (m, 2H), 1.51 – 1.30 (m, 30H), 0.91 – 0.88 (m, 9H). ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 152.6, 150.3, 138.7, 138.3, 134.9, 132.2, 131.3, 130.2, 102.5, 92.3, 47.1, 43.1, 42.5, 31.2, 31.2, 28.8, 28.8, 28.7, 28.6, 28.0, 27.6, 26.7, 26.6, 26.2, 26.0, 22.0, 13.9, 13.9. HRMS (ESI-TOF): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ for $\text{C}_{36}\text{H}_{60}\text{N}_5^+$ calculé. 562.4843, trouvé 562.4855, err. < 3 ppm.

[0173] Synthèse de composés où R2 est un hydrogène

[0174] Composé PR4

Composé 12: 5-fluoro-2-nitroaniline

[0175]

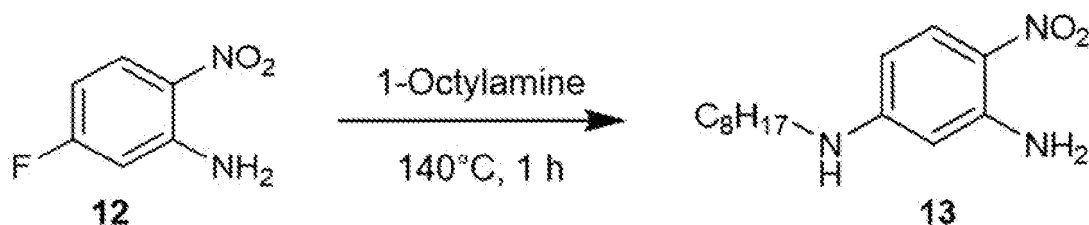


[0176] Du DFDNB (1,0 mL, 9,11 mmol, 1,0 eq), du NH_4Cl (975 mg, 18,2 mmol, 2,0 eq) et de la triéthylamine (9,0 mL) ont été introduits dans une bombe à pression. La bombe a été fermée avec un bouchon de Teflon. Le mélange a été laissé à chauffer jusqu'à 110°C pendant 40 hrs. Après refroidissement à température ambiante, le produit brut a été placé dans un mélange de DCM (150 mL) et d'eau (150 mL). Pendant l'agitation,

12N de HCl ont été ajoutés goutte à goutte jusqu'à ce que le pH de la phase aqueuse atteigne environ 1. La phase organique a été séparée et lavée avec de l'eau (150 mL), séchée par du MgSO_4 . De l'heptane additionnel (40 mL) a été ajouté à cette solution. Le solvant a été éliminé en baissant la pression. Les résidus ont été séchés sous vide pour obtenir le composé **12** (1,25 g, 8,01 mmol, 88% de rendement) sous la forme d'une poudre jaune. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8.184 (dd, $J = 9.6$ Hz, $J = 5.6$ Hz, 1H), 6.449-6.41 (m, 2H), 6.200 (br s, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 168.2 (d, $J = 260$ Hz), 146.7, 146.6, 129.4 (d, $J = 12$ Hz), 105.9 (d, $J = 25$ Hz), 103.8 (d, $J = 26$ Hz). MS: ESI-MS: m/z $[\text{M}+\text{Li}]^+$ 157.1 (26%), $[\text{M}+\text{Li}]^+$ 163.1 (100%); $[\text{M}-\text{H}]^-$ 154.9 (100%). Analyse élémentaire pour $\text{C}_6\text{H}_5\text{FN}_2\text{O}_2$: calculé. C 46.16, H 3.23, F 12.17, N 17.94, O 20.50; trouvé C 46.63, H 3.15, N 17.90.

Composé 13: 4-Nitro-N1-octylbenzene-1,3-diamine

[0177]

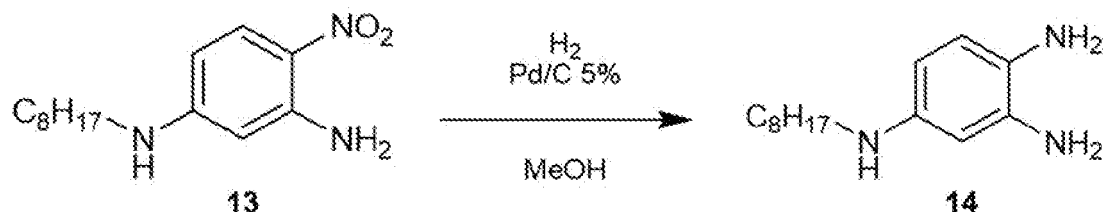


[0178] Du composé **12** (808 mg, 5,18 mmol, 1.0 eq) et du 1-octylamine (3,0 mL, 18,2 mmol, 3,5 eq) ont été introduits dans une bombe à pression. La bombe a été fermée avec un bouchon de Teflon. Le mélange a été agité à 140°C pendant 1 h. Après refroidissement à température ambiante, de l'heptane (10 mL) a été ajouté. Le solide résultant en suspension a été isolé par filtration, purifié par chromatographie (silice 60F, DCM, 100) pour obtenir le composé **13** (1,23 g, 4,64 mmol, 90% de rendement) sous la forme d'un solide jaune.

[0179] ^1H NMR (250 MHz, CDCl_3): δ 7.96 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 5.97 (dd, $J = 9.3$ Hz, $J = 2.5$ Hz, 1H), 5.71 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 3.15 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.67 (quint, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.40-1.28 (m, 10H), 0.90 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3): δ 153.9, 147.9, 128.4, 124.2, 106.2, 94.8, 43.4, 31.7, 29.2, 29.1, 29.0, 27.0, 22.6, 14.0. MS: ESI-MS: m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ 266.3 (100%), $[\text{M}+\text{Li}]^+$ 272.3 (19%), $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 288.3 (4%); $[\text{M}-\text{H}]^-$ 264.1 (100%). Analyse élémentaire pour $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_2$: calculé. C 63.37, H 8.74, N 15.84, O 12.06; trouvé C 63.65, H 8.83, N 15.66.

Composé 14: N4-octylbenzene-1,2,4-triamine

[0180]

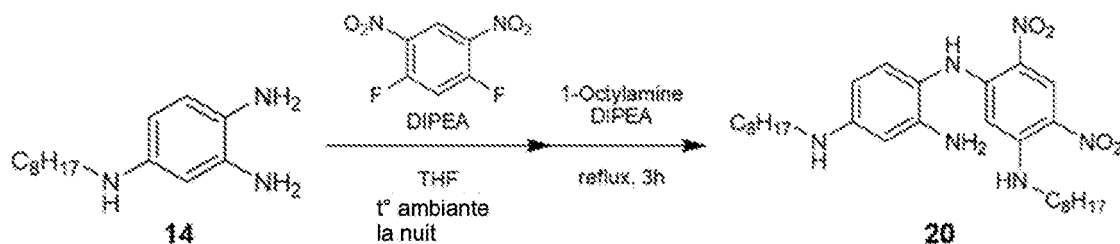


[0181] Une solution de composé **13** (975 mg, 3.67 mmol) dans du MeOH (75 mL) a été hydrogénée (40 bars) en présence de Pd/C (5%) toute la nuit. Le Pd/C a été alors retiré par filtration au travers de Celite. Après concentration sous pression réduite et séchage sous vide, le composé **14** a été obtenu sous la forme d'un solide vert profond (870 mg, 3.69 mmol, rendement quantitatif). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6.60 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 6.07 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.03 (dd, $J = 8$ Hz, $J = 2.4$ Hz, 1H), 3.11 (br s, 5H), 3.03 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.61 (quint, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.38-1.28 (m, 10H), 0.90 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H)

[0182] ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): 143.5, 137.4, 124.8, 119.4, 104.7, 102.1, 45.1, 31.8, 29.6, 29.4, 29.3, 27.2, 22.6, 14.1. Analyse élémentaire pour $\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{N}_3$: calculé. C 71.44, H 10.71, N 17.85; trouvé C 71.23, H 10.82, N 17.88.

[0183] **Composé 20:** *N*¹-(2,4-dinitro-5-(octylamino)phenyl)-*N*⁴-octylbenzene-1,2,4-triamine

[0184]

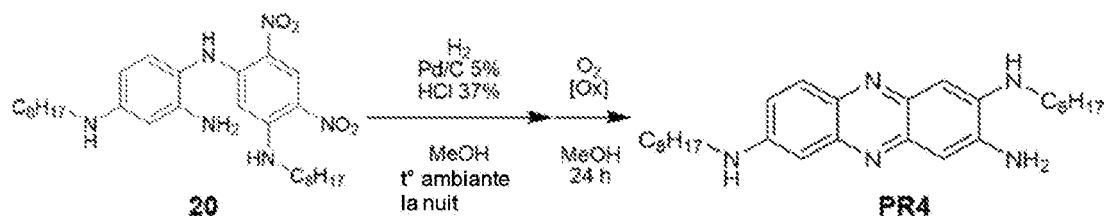


[0185] A une solution de composé **14** (860 mg, 3.65 mmol, 1.00 eq) dans du THF (40 mL), du DFDNB (671.5 mg, 3.29 mmol, 0.90 eq) a été ajouté. Le ballon a été scellé et dégazé par 3 cycles de pompe-argon. Du DIPEA dégazé (640 μL , 3.67 mmol, 1.00 eq) a été ajouté goutte à gouttes à l'aide d'une seringue sous argon. Le mélange a été agité à température ambiante toute la nuit. Du 1-octylamine (604 μL , 3.65 mmol, 1.00 eq) et du DIPEA additionnel (660 μL , 3.79 mmol, 1.04 eq) ont été ajoutés. La solution a été chauffée jusqu'au reflux pendant 3 h et refroidie à température ambiante. Après concentration du solvant sous vide, le produit solide résultant a été isolé par filtration avant l'ajout d'EtOH (40 mL), rincé avec de l'EtOH (6 x 10 mL) et séché sous vide pour obtenir le composé **20** (1.36 g, 2.57 mmol, 79% de rendement) sous la forme d'une poudre jaune. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 9.27 (s, 1H), 9.19 (br s, 1H), 8.23 (br t, $J = 4.8$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.11 (dd, $J = 8.4$ Hz, $J = 2$ Hz, 1H), 6.06 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 5.71 (s, 1H), 3.69 (br s, 1H), 3.65 (br s, 2H), 3.11 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.06 (td, $J = 6.8$ Hz, $J = 5.6$ Hz, 2H), 1.67-1.57 (m, 4H), 1.42-1.27 (m, 20H),

0.90-0.87 (m, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 149.3, 148.8, 148.5, 143.8, 129.5, 129.0, 124.9, 124.3, 112.3, 104.6, 99.0, 92.9, 44.0, 43.1, 31.8, 31.7, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 28.3, 27.2, 26.9, 22.6, 14.1. HRMS (ESI-TOF): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ for $\text{C}_{28}\text{H}_{45}\text{N}_6\text{O}_4$ + calculé. 529.3497, trouvé 529.3493, err. < 1 ppm.

[0186] **Composé PR4 selon l'invention : N^2,N^7 -dioctylphenazine-2,3,7-triamine**

[0187]

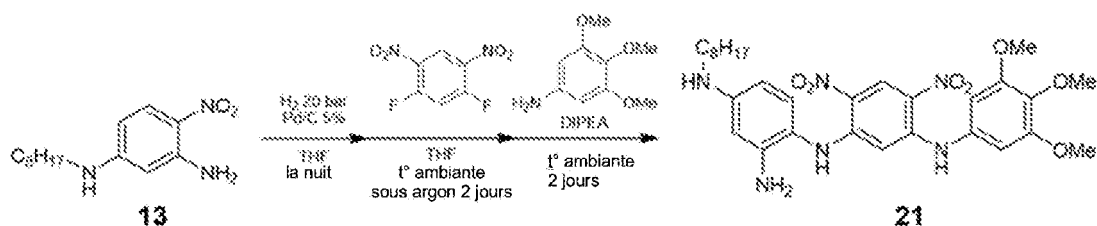


[0188] Une solution de composé **20** (302 mg, 0,571 mmol) dans du MeOH (30 mL) a été hydrogénée (20 bars) en présence de Pd/C (5%) et de HCl (12M, 0,5 mL) toute la nuit. Après ajout de MeOH (30 mL), la solution a été agitée sous air pendant 24 h. Le Pd/C a été retiré par filtration sous Celite, et la phase solide a été rincée avec du MeOH (400 mL). La solution a été neutralisée avec du NaHCO_3 jusqu'à pH 9 avant d'ajouter de l'eau (100 mL). Le solvant a été concentré jusqu'à environ 100 mL sous pression réduite. Après refroidissement à 5 °C toute la nuit, le solide résultant en suspension a été isolé par filtration et lavé avec de l'eau (2 x 30 mL), séché sous vide pour obtenir le composé **PR4** (238 mg, 0,529 mmol, 93% de rendement) sous la forme d'une poudre rouge. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7.59 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.11 (dd, $J = 9.2$ Hz, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.59 (s, 1H), 6.58 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.22 (br t, $J = 4.8$ Hz, 1H), 5.98 (br s, 2H), 5.65 (br t, $J = 4.4$ Hz, 2H), 3.22 (td, $J = 6.8$ Hz, $J = 5.2$ Hz, 2H), 3.13 (td, $J = 6.8$ Hz, $J = 5.6$ Hz, 2H), 1.73-1.60 (m, 4H), 1.43-1.27 (m, 20H), 0.57-0.56 (m, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 147.6, 143.0, 141.2, 140.2, 138.5, 135.5, 128.2, 121.1, 102.5, 99.9, 99.4, 43.2, 42.8, 31.2, 28.9, 28.2, 27.9, 26.8, 26.8, 22.1, 13.9. HRMS (ESI-TOF): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ for $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{N}_5^+$ calculé. 450.3591, trouvé 450.3590, err. < 1 ppm.

[0189] **Composé PR5**

[0190] **Composé 21 : N^1 -(2,4-dinitro-5-(3,4,5-trimethoxyphenylamino)phenyl)- N^4 -octylbenzene-1,2,4-triamine**

[0191]

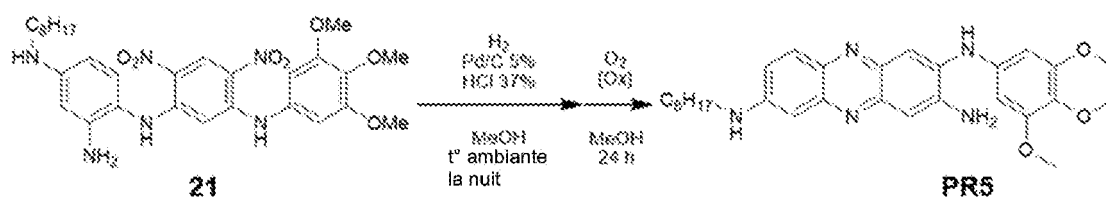


[0192] Une solution de composé **13** (1,50 mg, 5,83 mmol, 1,0 eq) dans du THF (50 mL) a été hydrogénée (20 bars) en présence de Pd/C 5% (124 mg, 0,058 mmol, 1 %mol)

toute la nuit. Puis le mélange a été dégazé par sonication pendant 5 min. Après ajout de DFDNB (1,10 g, 5,39 mmol, 0,92 eq), La réaction a été agitée à température ambiante sous argon pendant 2 jours. Puis du 3,4,5-trimethoxylaniline (2,20 g, 12, mmol, 2,23 eq) et du DIPEA (600 μ L, 3.44 mmol, 0,64 eq) ont été ajoutés à la réaction. Le mélange a été maintenu deux jours supplémentaires à température ambiante. Le Pd/C a été retiré par filtration au travers de Celite. Après concentration sous vide, le produit brut a été repris dans de l'EtOH. Le filtrat a été concentré et purifié par chromatographie sur colonne (silice 60F, AE/CH, 40/60) pour obtenir le composé **21** (1,34 g, 2,30 mmol, 43% de rendement) sous la forme d'un solide rouge. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 9.73 (br s, 1H), 9.31 (s, 1H), 9.15 (br s, 1H), 6.75 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.37 (s, 2H), 6.28 (s, 1H), 5.95 (dd, $J = 8.4, 2.5$ Hz, 1H), 5.90 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.76 (s, 6H), 3.61 (br s, 2H), 3.58 (br s, 1H), 3.00 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.58 (quintet, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.40-1.29 (m, 10H), 0.90 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 153.7, 149.4, 149.0, 146.7, 143.7, 136.3, 133.0, 129.3, 128.7, 125.23, 125.16, 111.8, 104.3, 101.7, 98.6, 95.4, 60.9, 56.1, 43.9, 31.8, 29.49, 29.39, 29.25, 27.2, 22.6, 14.1. HRMS (ESI-TOF): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ for $\text{C}_{29}\text{H}_{39}\text{N}_6\text{O}_7^+$ calculé. 583.2875, trouvé 583.2878, err. < 1 ppm.

[0193] **Composé PR5** : *N*⁷-octyl-*N*²-(3,4,5-trimethoxyphenyl)phenazine-2,3,7-triamine

[0194]

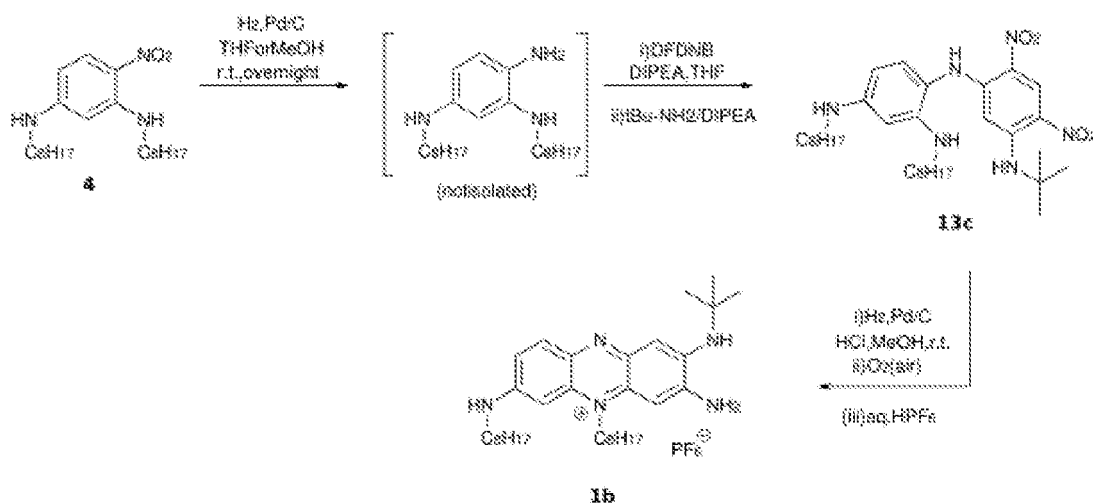


[0195] Une solution de composé **21** (150 mg, 0,257 mmol) dans du MeOH (75 mL) a été hydrogénée (20 bars) en présence de Pd/C (5%) et d'HCl (12M, 0,5 mL) toute la nuit. Après ajout de MeOH (30 mL), La solution a été agitée sous air pendant 24 h. Le Pd/C a été retiré par filtration sous Celite, et la phase solide a été rincée avec du MeOH (400 mL). La solution a été neutralisée avec du NaHCO_3 jusqu'à pH 9 avant d'ajouter de l'eau (100 mL). Le solvant a été concentré jusqu'à environ 100 mL sous pression réduite. Après refroidissement à 5 °C toute la nuit, le solide résultant en suspension a été isolé par filtration et lavé avec de l'eau (2 x 30 mL), séché sous vide pour obtenir le composé **PR5** (110 mg, 0,218 mmol, 85% de rendement) sous la forme d'une poudre rouge. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7.79 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.60 (br s, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.05 (dd, $J = 9.2, 2.5$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 6.38 (s, 2H), 5.56 (s, 1H), 4.28 (br s, 2H), 4.19 (br t, $J = 5.3$ Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.82 (s, 6H), 3.28 (td, $J = 6.9, 5.5$ Hz, 2H), 1.72 (quintet, 7.2 Hz, 2H), 1.48-1.25 (m, 10H), 0.89 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 153.3, 148.4, 144.30, 144.17, 142.1, 138.4, 137.0, 136.26, 136.06, 132.5, 128.7, 122.0, 108.2, 103.5, 98.7, 97.8, 60.1,

55.76, 55.59, 42.7, 31.2, 28.82, 28.68, 28.2, 26.7, 22.0, 13.9. HRMS (ESI-TOF): m/z $[M+H]^+$ for $C_{29}H_{38}N_5O_3^+$ calculé. 504.2969, trouvé 504.2972, err. < 1 ppm.

[0196] **3- Procédé de synthèse n°3 – composé de formule II (1b)**

[0197]



[0198] **Composé 13c** : Une solution de composé **4** (625 mg, 1,66 mmol, 1 équiv.) dans du THF (35 mL) a été hydrogénée (40 bars) toute la nuit en présence de Pd/C (5 poids.%, 36 mg, 1 mol%). Après diminution de la pression, la solution a été dégazée par sonication pendant 5 min, puis refroidie à 0°C dans un bac à glace, et du 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzene (320 mg, 1,57 mmol, 0.95 équiv.) a été ajouté à la solution sous agitation. Puis du *tert*-butylamine (736 µL, 6,98 mmol, 4,2 équiv.) et du DIPEA (602 µL, 3,46 mmol, 2,1 équiv.) ont été ajoutés. Le mélange a été agité à température ambiante pendant 4 jours. Après filtration au travers de celite *via du* dichlorométhane et évaporation de la solution, le produit brut a été purifié par flash chromatographie sur silicagel en utilisant du dichlorométhane/cyclohexane (1/1 à 6/4) en tant qu'éluant pour obtenir le composé **13c** sous la forme d'un solide rouge (575 mg, 63% de rendement).

[0199] **TLC**: R_f = 0.25 (SiO₂ F60, dichlorométhane/cyclohexane, 7/3). **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)**: δ 9.26 (s, 1H), 9.00 (br s, 1H), 8.40 (br s, 1H), 6.86 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 5.99 (dd, J = 8.3, 2.4 Hz, 1H), 5.95 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 5.90 (s, 1H), 3.81 (br s, 1H), 3.66 (br s, 1H), 3.12 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 3.07 – 3.03 (m, 2H), 1.66 – 1.59 (m, 2H), 1.56 – 1.50 (m, 2H), 1.44 – 1.22 (m, 29H), 0.89 (t, 6.9 Hz, 3H), 0.86 (t, 6.9 Hz, 3H). **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)**: δ 149.7, 148.4, 147.4, 145.4, 129.5, 129.0, 125.5, 124.0, 112.1, 101.5, 95.6, 95.1, 52.0, 44.1, 43.5, 31.8, 31.8, 29.5, 29.5, 29.4, 29.3, 29.3, 29.2, 29.0, 27.2, 27.1, 22.7, 22.6, 14.1, 14.1. **HRMS (ESI-TOF)**: m/z $[M+H]^+$ for $C_{32}H_{53}N_6O_4^+$ calculé. 585.4123, trouvé 585.4123, err. < 1 ppm.

[0200] **Composé 1b** : Une solution de composé 13c (1 g, 1,71 mmol, 1 équiv.) dans du méthanol (60 mL) a été hydrogénée (20 bars) en présence de Pd/C (5% en masse) et du HCl (12M, 0,5 mL) pendant 6h. Puis le mélange a été agité sous air pendant 16h. Le

Pd/C a été retiré par filtration au travers de celite (AW) qui avait été rincée plusieurs fois avec du méthanol et du dichlorométhane. Après retrait du solvant sous pression réduite, le solide résultant a été repris dans dichlorométhane, lavé avec une solution aqueuse de HPF_6 (5% en masse dans de l'eau, 2 x 60 mL) et de l'eau distillée (60 mL). La couche organique a été séchée avec du Na_2SO_4 , filtrée et évaporée sous pression réduite. Le résidu finalement obtenu a été précipité dans du pentane et filtré pour obtenir le produit **1b**[PF_6^-] sous la forme d'un solide rouge (1,05 g, 95% de rendement).

[0201] **^1H NMR (250 MHz, CD_3CN , dilué):** δ 7.85 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 7.24 – 7.20 (m, 2H), 6.99 (s, 1H), 6.57 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.28 – 6.20 (br m, 3H), 4.58 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 4.37 (br s, 1H), 3.37 (td, $J = 7.0$ Hz, $J = 6.2$ Hz, 2H), 1.75 – 1.55 (m, 4H), 1.52 (s, 9H), 1.46 – 1.31 (m, 20H), 0.92 – 0.87 (m, 6H). **^1H NMR (250 MHz, CD_3CN , concentré):** δ 7.76 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 7.20 – 7.15 (m, 2H), 6.96 (s, 1H), 6.49 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.34 – 6.29 (br m, 3H), 4.50 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 3.33 (m, 2H), 1.76 – 1.30 (m, 33H), 0.91 – 0.86 (m, 6H). **^{13}C NMR (63 MHz, CD_3CN , concentré):** 154.3, 152.4, 139.3, 137.8, 137.6, 134.1, 133.2, 131.3, 121.7, 109.6, 94.7, 90.3, 53.1, 48.8, 44.2, 32.5, 32.5, 30.0, 30.0, 29.9, 29.2, 29.1, 27.8, 27.5, 27.2, 23.3, 23.3, 14.3, 14.3. **HRMS (ESI-TOF):** m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ for $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{N}_5^+$ calculé. 506.4217, trouvé 506.4220, err. < 1 ppm.

[0202] **Exemple 2** – Propriétés physicochimiques des composés selon l'invention

[0203] Les inventeurs ont identifié les différentes propriétés suivantes des composés selon l'invention :

[0204] a. solubilité

[0205] La versatilité de la méthode de synthèse permet l'introduction de différents substituants à l'infini permettant de moduler les propriétés de solubilité. Selon la nature hydrophile / hydrophobe de R1, R2, R3 et R4, il est ainsi envisageable de solubiliser les composés de type II dans des solvants polaires, apolaires, protiques ou aprotiques.

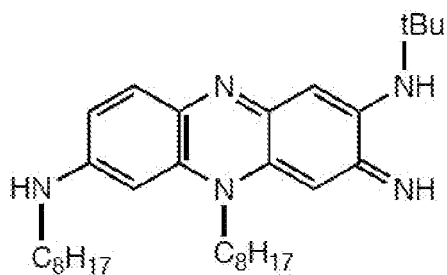
[0206] On constate que bien que les composés soient plus solubles dans les solvants organiques, ceux-ci présentent de propriété de solubilité dans l'eau, propriété d'un intérêt majeur pour une utilisation in vitro et in vivo sur des échantillons biologiques et cellulaires.

[0207] a. Caractérisation des formes protonées

[0208] Les inventeurs ont caractérisé les différentes formes protonées de composés de formule I ou R₁ et R₂ sont C_8H_{17} , R₃ est du *tert*-butyle et R₄ H, de formule suivante :

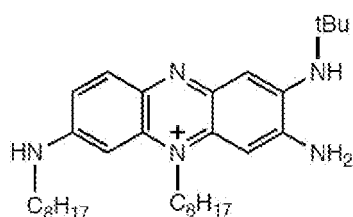
[0209]

[Chem.8]

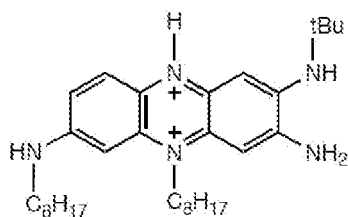


[0210] ainsi que les formes mono, di et tri protonées de formules respectives suivantes

[0211] [Chem.5]

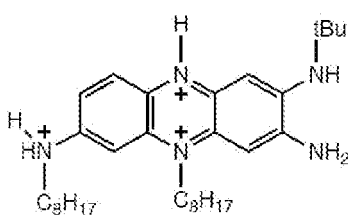


[0212] [Chem.9]



et

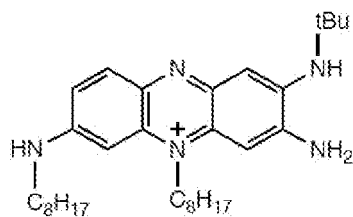
[0213] [Chem.10]



Les résultats sont présentés à la Figure 1.

[0214] Les spectres RMN ^1H du composé

[0215] [Chem.5]



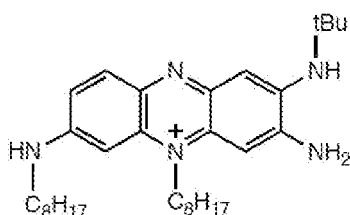
- [0216] ont confirmé cette hypothèse avec notamment la présence de trois protons, H_a , H_b et H_c , dans la région aromatique avec des constantes de couplage classiquement rencontrées au sein d'un benzène 1,2,4-trisubstitué. Les données RMN ^1H ont également montré la présence de deux chaînes octyles magnétiquement non équivalentes. L'ensemble de ces données suggère la formation d'un dérivé de type phénazinium
- [0217] En outre, les signaux des protons H_d et H_e – respectivement à $\delta = 7,17$ et $7,00$ ppm – subissent un effet de blindage très important ($\delta_{H_d} = 6,25$ ppm et ($\delta_{H_e} = 5,91$ ppm) après ajout de NaOD (40% w/w dans D_2O), effet inhabituellement observé au sein d'un système aromatique mais déjà vu au sein de certaines triaminophénazines ($\delta = 6,5-6,1$ ppm et $5,9-5,4$ ppm) décrites par Roy. Cette observation peut s'expliquer par une réaction de déprotonation induisant une rupture de l'aromaticité en faveur d'une structure de type quinoïdale
- [0218] a. Propriétés optiques
- [0219] Outre la caractérisation des formes protonnées les inventeurs ont également testé les propriétés d'absorption et d'émission des différents composés selon l'invention.
- [0220] i) Propriétés d'absorption
- [0221] Les inventeurs ont testé l'absorption des quatre composés plus ou moins protonnés susmentionnés et évalué ϵ ($M^{-1}cm^{-1}$) en fonction de la longueur d'onde λ (en nm).
- [0222] La Figure. 2 montre le spectre d'absorption de la molécule de type I. Le spectre d'absorption traduit la présence d'une espèce non chargée de type I pour laquelle le degré de délocalisation / conjugaison est plus faible (effet hypsochrome) que pour les espèces cationiques de type II.
- [0223] La Figure 3 montre le spectre d'absorption de la molécule de type II. Le spectre d'absorption traduit la présence d'une espèce mono chargée de type II pour laquelle le degré de délocalisation / conjugaison est plus important (effet bathochrome) que pour l'espèce neutre de type I.
- [0224] La Figure 4 montre le spectre d'absorption de la molécule de type C. Un « *super* » acide, l'acide triflique (HOTf) ($pK_{a(MeCN)} = 0,70$), a été utilisé pour protoner II dans la cellule UV ($C \approx 1,44 \cdot 10^{-5}$ M, dans MeCN). Lors de l'ajout d'acide (de 0,1 à 16 équiv.), l'intensité des bandes initiales situées à 267, 308, 465 et 552 nm diminuent au profit de l'apparition de nouvelles bandes à 274, 322, 507 et 686 nm. Cette évolution spectrale traduit la disparition du composé de départ **II** au profit de la formation d'une seule espèce de type C dont les bandes d'absorption sont de plus haute énergie. La première étape de protonation est terminée après l'ajout de 16 équiv. d'HOTf
- [0225] La Figure 5 montre le spectre d'absorption de la molécule de type D. Au-delà de l'ajout de 16 équiv. d'acide triflique, une nouvelle espèce apparaît (nouvelles bandes à 268, 287, 370, 475 et 506 nm) en même temps que disparaît le cation C. La double protonation de II est terminée après l'ajout de plus 2600 équiv. d'HOTf. La bande de C

à 686 nm a complètement disparu au profit du spectre d'un trication D possédant une bande étroite à 506 nm et muni d'un épaulement caractéristique d'une structure de type cyanine.

[0226] ii) Propriétés d'émission

[0227] Les inventeurs ont testé l'émission de fluorescence en fonction de la longueur d'onde λ (en nm) pour le composé suivant repris dans de l'acétonitrile

[0228] [Chem.5]



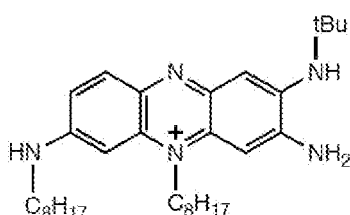
Les résultats sont présentés à la Figure 6.

[0229] Le spectre d'absorption UV-Vis de **II** a montré la présence de deux bandes principales situées à $\lambda_{\text{max}} = 265\text{nm}$ et 549 nm et avec des épaulements respectifs situés à $\lambda = 295\text{ nm}$ et 578 nm . La molécule **II** est également fluorescente et émet à $\lambda_{\text{em}} = 642\text{ nm}$ (excitation à $\lambda = 550\text{ nm}$). Cette émission est comparable à celle produite par le composé analogue cationique « *rouge neutre* » reporté dans la littérature ($\lambda_{\text{abs}} = 534\text{ nm}$ et $\lambda_{\text{em}} = 616\text{ nm}$)

[0230] iii) rendement de fluorescence et émission

[0231] Les inventeurs se sont ensuite attachés à mesurer la valeur Φ_f le rendement quantique de fluorescence le composé suivant repris dans de l'acétonitrile

[0232] [Chem.5]



[0233] Pour ce faire, les inventeurs ont mesuré l'absorbance (intensité relative) en fonction de la longueur d'onde (en nm) en présence de doses croissantes de 1,8-DiazaBicyclo[4.3.0]Undéc-7-ène (DBU - 0 à 2 équivalents).

Les résultats sont présentés en Figure 7.

[0234] Le phénazinium **II** et sa base conjuguée **II-H** sont fluorescents dans le MeCN à pH neutre ou basique. En revanche, aucune propriété de luminescence n'a été observée en milieu acide. La Fig. 7 présente l'évolution spectrale du phénazinium **II** lors de l'ajout de DBU (excitation à 483 nm). Cette évolution traduit clairement la disparition du

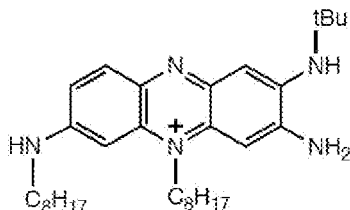
composé de départ (diminution de la bande à 637 nm) au profit de la formation d'une seule espèce **II-H** possédant une émission à plus haute énergie beaucoup plus faible que celle de **II** (augmentation de la bande à 550 nm). Les calculs de rendements quantiques montrent en effet que la forme déprotonée [**II-H**] produit moins de fluorescence ($\Phi_f = 0,08$ à 550 nm) que la forme de départ **II** ($\Phi_f = 0,76$ à 637 nm). La référence utilisée pour le calcul du rendement quantique de fluorescence est la tétraphénylporphyrine dans l'acétonitrile ($\Phi_f = 0,15$).

- [0235] Le maximum d'émission se situe à une longueur d'onde localisée dans le rouge lointain à 645 nm.
- [0236] Le coefficient Φ_f trouvé est de 0,76, ce qui témoigne d'un rendement de fluorescence très élevé, et une forte brillance d'environ 50000.
- [0237] La brillance (B) est proportionnelle à la quantité de lumière émise par fluorescence à une lumière d'excitation donnée selon la relation $B = \epsilon \times \Phi$ (avec ϵ = coefficient d'extinction molaire et Φ le rendement quantique d'émission).
- [0238] Le calcul de ϵ est effectué à l'aide spectrophotomètre mesurant l'absorbance A (grandeur sans unité) d'une solution diluée de concentration C connue dans une cuve d'épaisseur l.
- [0239] La relation fondamentale utilisée en spectrophotométrie est présentée sous la forme : $A = \epsilon \cdot l \cdot c$ (A étant l'absorbance ou densité optique)
- [0240] Calcul de Φ : Il est déterminé en mesurant l'intensité de l'émission d'une solution de concentration connue, la référence utilisée pour le calcul du rendement quantique de fluorescence est ici la tétraphénylporphyrine dans l'acétonitrile ($\phi_f = 0,15$).
- [0241] Le rendement quantique est défini par :
- [0242] $\Phi = \text{nombre de photons émis} / \text{nombre de photons absorbés}$
- [0243] iv) fluorescence *in vivo*
- [0244] Au préalable des tests de marquage fluorescents sur des lignées cellulaires, les inventeurs ont testé la toxicité des composés selon l'invention.
- [0245] Des lignées cancéreuses MCF-7 ont étéensemencées dans des plaques 96-puits à une concentration d'environ 5000 cellules/puits dans 200 μL de milieu de culture et laissées en culture pendant 24h. Ensuite, les cellules ont été incubées pendant 72 h, avec ou sans le composé à tester (de 1 nM à 1 μM). Après incubation avec les composés, un test MTT a été réalisé afin de tester la cytotoxicité des composés. Brièvement, les cellules ont été incubées en présence de 0.5 mg mL^{-1} de MTT pendant 4 h afin de mesurer l'activité mitochondriale. Puis, les précipités de MTT ont été dissouts dans 150 μL d'une solution de mélange d'éthanol/DMSO (1:1) et l'absorbance a été lue à 540 nm.
- [0246] Les inventeurs sont arrivés à la conclusion que la dose 100 nM n'affectait pas significativement la survie des cellules, comme en témoigne la **Figure 14**. On observe en

effet très nettement que la cytotoxicité dans le noir est faible à une concentration de 100 nM (Fig. 14)

[0247] Les inventeurs ont testé la fluorescence du composé de formule suivante

[0248] [Chem.5]



[0249] sur des cellules de cancer du sein MCF-7 en microscopie monophotonique (excitation à 514 nm) ou biphotonique (excitation à 790 ou 810 nm).

[0250] Imagerie à un ou deux photons

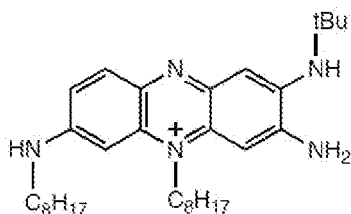
[0251] Les cellules de cancer du sein humain MCF-7 ont étéensemencées dans des boîtes de pétri (World Precision Instrument, Stevenage, UK) disposant d'une plaque de verre dans le fond, dans 2 mL de milieu de culture. Les cellules ont ensuite été incubées pendant 16 h avec le composé selon l'invention à une concentration de 0.1 μ M ou de 0.5 μ M. 15 minutes avant la fin de l'incubation, les cellules ont été incubées avec du Hoechst 33342 (Invitrogen, Cergy Pontoise, France) à une concentration finale de 5 μ g.mL⁻¹ afin de marquer les noyaux des cellules. Ensuite, les cellules ont été lavées deux fois avec du milieu de culture.

[0252] L'imagerie par fluorescence à un photon a été réalisée sur des cellules vivantes à une longueur d'onde 514 nm à l'aide d'un microscope Confocal Carl Zeiss (LSM780). L'imagerie par fluorescence à deux photons a été réalisée à des longueurs d'onde de 790 nm ou de 810 à l'aide du laser Chameleon disponible sur le même microscope. Toutes les images ont été réalisées avec le même objectif, au même grossissement (63×/1.4 OIL DIC Plan-Apo).

[0253] Les résultats obtenus en microscopie monophotonique sont présentés à la **Figure 8**, et en microscopie biphotonique à la **Figure 9**.

[0254] Ces composés ont montré des propriétés remarquables d'imagerie à un et deux photons (Fig. 3 et 4). Il apparaît clairement que les composés sont facilement identifiables et que leur localisation n'est que cytoplasmique (les co-localisations sont parfaitement concluantes). Il est intéressant de noter que les marquages les plus nets et les plus intenses sont obtenus avec les plus faibles concentrations. En effet, les marquages sont nettement plus fins et laissent apparaître des granules cytoplasmiques intenses, ce qui tend à montrer qu'une identification plus précise des cibles cytoplasmiques est possible dans ces conditions. Notamment, d'intenses foyers de fluorescence obtenus dans des régions périnucléaires peuvent correspondre au réticulum endoplasmique.

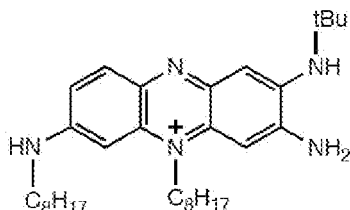
- [0255] Les inventeurs ont également testé l'internalisation des composés selon l'invention au cours du temps.
- [0256] La cinétique d'internalisation a été réalisée un lecteur CLARIOstar afin de quantifier l'internalisation du composé dans les cellules tumorales MCF-7. Les valeurs, correspondant au rapport de la fluorescence résiduelle / la fluorescence totale sont présentés sous la forme de moyennes de trois expériences, $\pm$ l'écart type.
- [0257] Il apparaît clairement (Fig. 10) que 10% du composé fluorescent (II) pénètre la cellule en moins de 24h, permettant d'observer des images de très grandes qualités.
- [0258] La cinétique d'incorporation par les cellules MCF-7 est montrée en **Figure 10**.
- [0259] a. Production $^1\text{O}_2$
- [0260] Les spectres d'absorption ont été mesurés avec un spectrophotomètre double faisceau UV-visible Perkin-Elmer (Lambda EZ 210). Le spectre de fluorescence a été mesuré avec un spectrofluorimètre Fluorolog FL3-222 (Horiba Jobin Yvon, Longjumeau, France) équipé d'une lampe à arc xénon de 450 W, d'un compartiment thermostaté (25°C), d'un photomultiplicateur UV-visible R928 (HAMAMATSU Japon) et d'un détecteur infrarouge InGaAs refroidi à l'azote liquide (DSS-16A020L Electro-Optical System Inc, Phoenixville, PA, USA). Le faisceau d'excitation est séparé par un monochromateur double réseaux SPEX (1200 traits/mm blasé à 330 nm). La fluorescence a été mesurée par le détecteur UV-Visible via le monochromateur d'émission double réseaux SPEX (1200 traits/mm blasé à 500 nm). La production d'oxygène singulet a été mesurée par le détecteur infrarouge via le monochromateur d'émission double réseaux SPEX (600 traits/mm blasé à 1 μm). Tous les spectres ont été mesurés en utilisant des cuves quartz à 4 faces. Les valeurs d'absorption à la longueur d'onde d'excitation des références et des échantillons ont été ajustées à environ 0,2.
- [0261] Par cette méthode, les inventeurs ont pu mesurer le rendement quantique Φ_Δ qui est de 0,11 pour le composé
- [0262] [Chem.5]



- [0263] Ce faible rendement est attendu, puisque la grande majorité des photons absorbés est convertie en lumière, environ 76% des photons.
- [0264] **Exemple 3** – Utilisation des composés selon l'invention en thérapie photodynamique *in vitro*
- [0265] Les inventeurs ont testé l'effet des composés selon l'invention en thérapie photo-

dynamique. Des cellules MCF7 ont été incubées avec le composé de formule

[0266] [Chem.5]



[0267] pendant 5 h et irradiées (ou non) à 530 nm pendant 20 minutes. Deux jours plus tard, les cellules furent soumises à un test colorimétrique de viabilité cellulaire (MTT).

[0268] Les résultats sont présentés aux **Figures 12 et 13**.

[0269] Les résultats obtenus sous irradiation à un photon ($\lambda_{\text{irrad.}} = 514 \text{ nm}$) sont exceptionnels puisque 98% des cellules tumorales sont tuées à des concentrations très faibles ($C=100 \text{ nM}$).

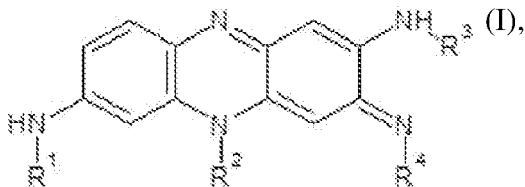
[0270] Comme on le constate sur la figure 13, à la concentration de 100 nM, deux zones sont facilement distinguées grâce aux cristaux violets du MTT qui ne colorent que les cellules vivantes (non irradiées).

[0271] La thérapie photodynamique biphotonique ($\lambda_{\text{irrad.}} = 810 \text{ nm}$) a montré des résultats très encourageants puisque près de 50% des cellules tumorales sont tuées, sans optimisation (irradiation pendant seulement 5 secondes à une concentration très faible de 100 nM de composé selon l'invention).

Revendications

[Revendication 1]

Composé de formule I suivant :



où,

indépendamment l'un de l'autre, R1 et R2 sont

- soit un alkyle en C1-C18, linéaire ou ramifié, saturé ou non, cyclique ou non, éventuellement substitué par un ou plusieurs groupe choisi parmi un groupe hydroxyl, un groupe amino, un groupe aminoalkyle, un groupe alkoxy en C1-C5, un alkyl en C1-C5, un peptide, un groupe pyridine, un groupe phosphine, un thiol, un C2 alcène, un groupe C2 alcyne et un halogène, or un radical benzyle éventuellement substitué par un ou plusieurs radicaux choisi parmi un groupe hydroxyl, un groupe amino, un groupe aminoalkyl, un groupe C1-C5 alkoxy, un groupe C1- C5 alkyl, and un halogène,

- soit des groupes (hétéro)aryles, éventuellement substitué par un ou plusieurs groupe choisi parmi un groupe hydroxyl, un groupe amino, un groupe aminoalkyle, un groupe alkoxy en C1-C5, un alkyl en C1-C5, un peptide, un groupe pyridine, un groupe phosphine, un thiol, un C2 alcène, un groupe C2 alcyne et un halogène, or un radical benzyl éventuellement substitué par un ou plusieurs radicaux choisi parmi un groupe hydroxyl, un groupe amino, un groupe aminoalkyl, un groupe C1-C5 alkoxy, un groupe C1- C5 alkyl, and un halogène, et

R2 pouvant notamment être un atome d'hydrogène, et

indépendamment l'un de l'autre, R3 et R4 sont H ou R1 ou R2, ou encore R3 et R4 sont l'un ou l'autre, ou les deux, un groupe fonctionnel carbonyle formant des fonctions amines incluant des peptides ou non. ou un sel ou un solvate de celui-ci, ou une forme protonée de celui-ci.

[Revendication 2]

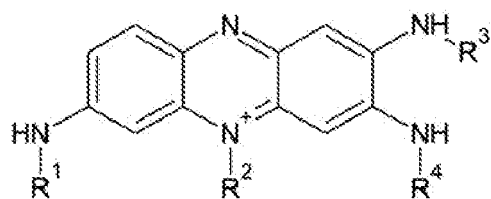
Composé selon la revendication 1 dans lequel R1 et R2, indépendamment l'un de l'autre, sont des alkyles linéaires ou ramifiés saturés ou non, cyclique ou non, en C4-C10.

[Revendication 3]

Composé selon la revendication 1 ou 2, où la forme protonée du composé de formule 1 est choisie parmi les composés suivants :

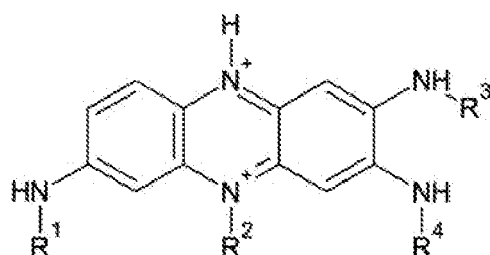
- le composé de formule Ia :

[Chem.2]

X⁻; (Ia),

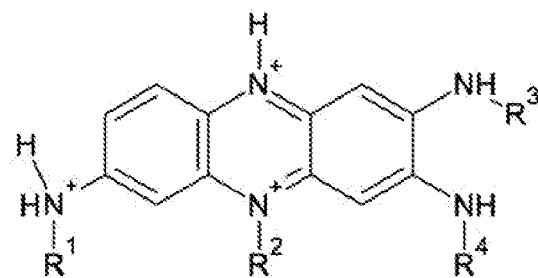
- le composé de formule Ib :

[Chem.3]

2X⁻; (Ib), et

- le composé de formule Ic :

[Chem.4]

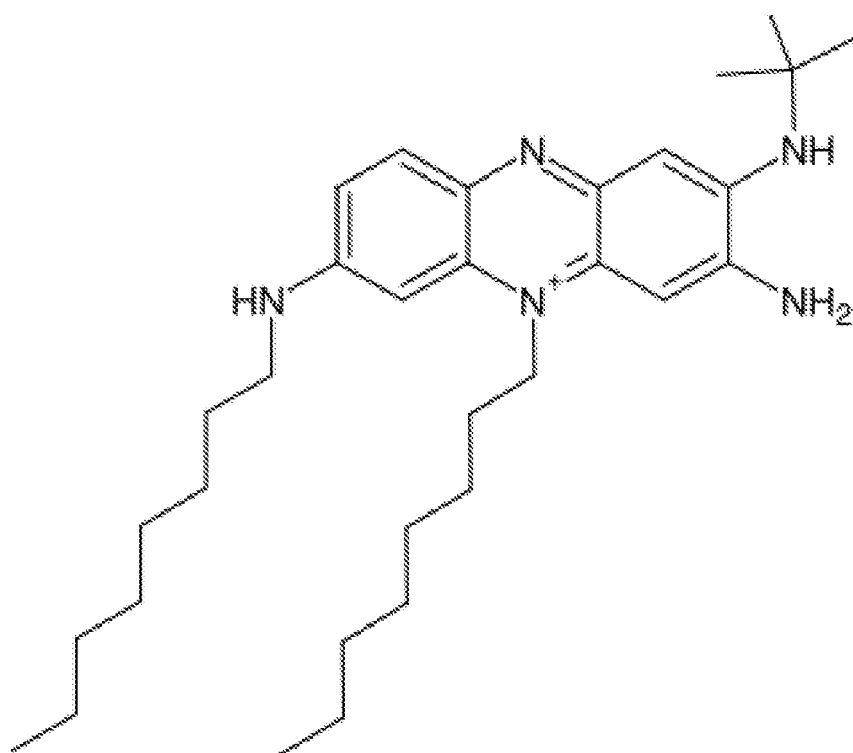
3X⁻; (Ic),

où X représente Cl, Br, OH, F, I, BF₄ ou PF₆ ou trifluorométhanesulfate (Otf).

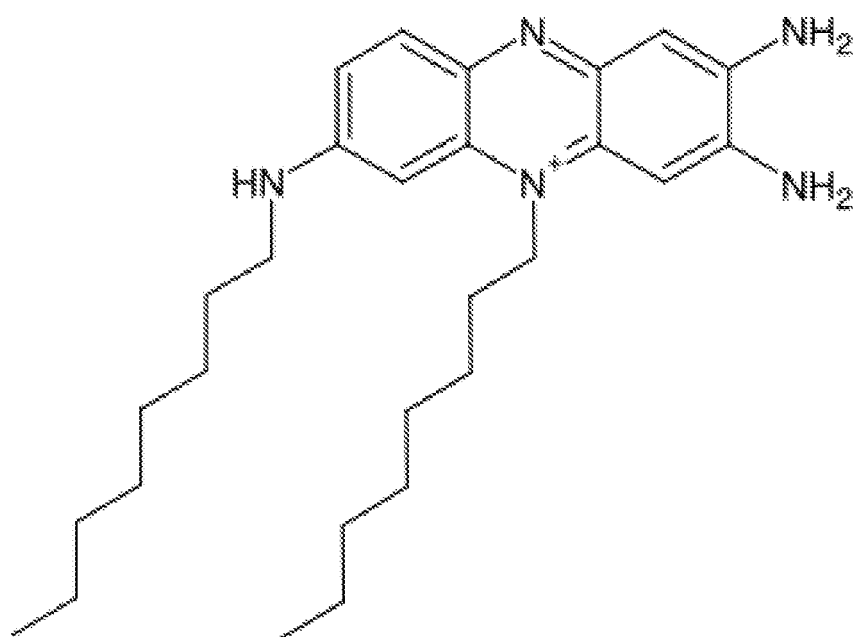
[Revendication 4]

Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, le dit composé ayant la formule II ou III suivante :

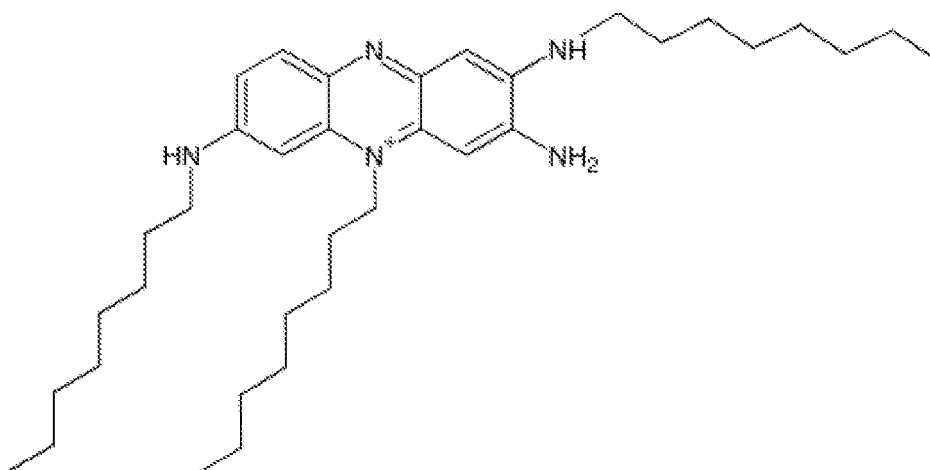
[Chem.5]

; X⁻ (II),

[Chem.6]

; X⁻ (III),

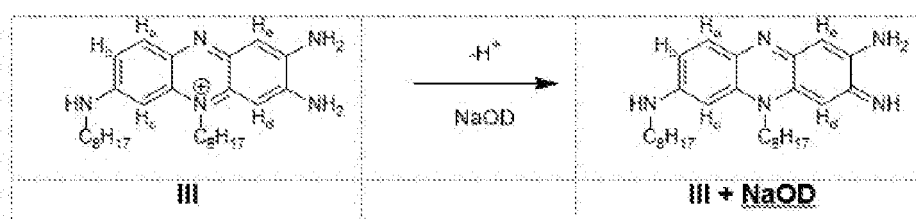
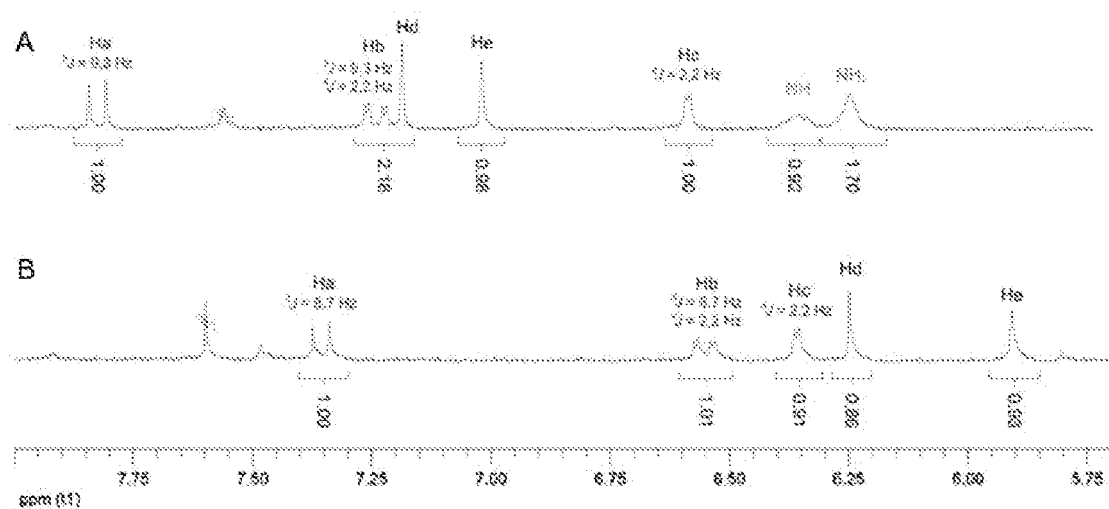
[Chem.7]

; X⁻ (IV),

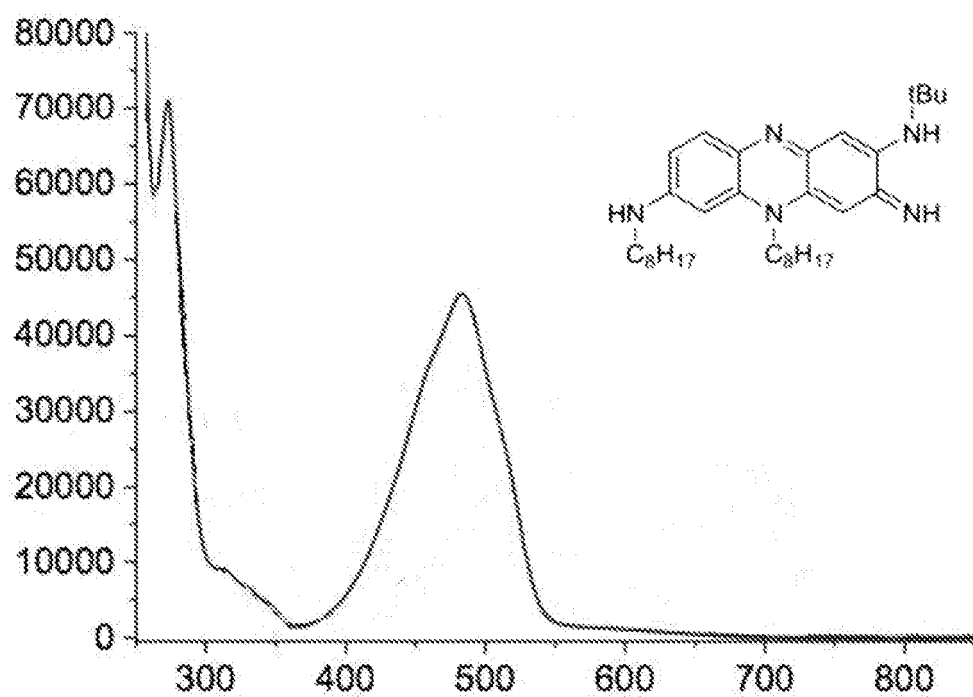
où X représente Cl, Br, OH, F ou I.

- [Revendication 5] Composition pharmaceutique comprenant, à titre de substance active, un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.
- [Revendication 6] Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, pour son utilisation en tant que médicament.
- [Revendication 7] Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, pour le traitement de pathologies, notamment le traitement de tumeurs, par thérapie photodynamique.
- [Revendication 8] Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, pour son utilisation dans le cadre du diagnostic de pathologies, notamment de cancers.
- [Revendication 9] Utilisation d'un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, pour la visualisation, in vitro ou ex vivo, de cellules vivantes, d'organites du cytoplasme ou de tissus, par microscopie à fluorescence à un ou deux photons, ledit composé étant notamment utilisé à une concentration variant de 2 à 500 nmol. L⁻¹.
- [Revendication 10] Méthode in vitro d'éradication de cellules comprenant une étape d'exposition, à l'aide d'une source lumineuse émettant un ou deux photons, de cellules traitées avec un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, ledit composé étant utilisé à une concentration variant de 1 à 1000 nmol. L⁻¹.

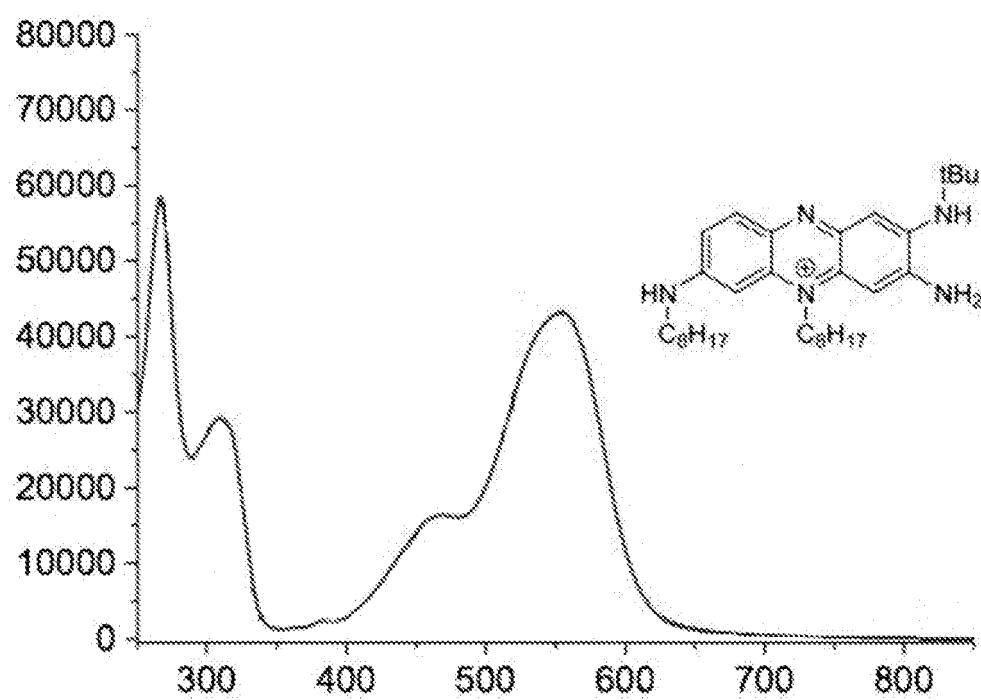
[Fig. 1]



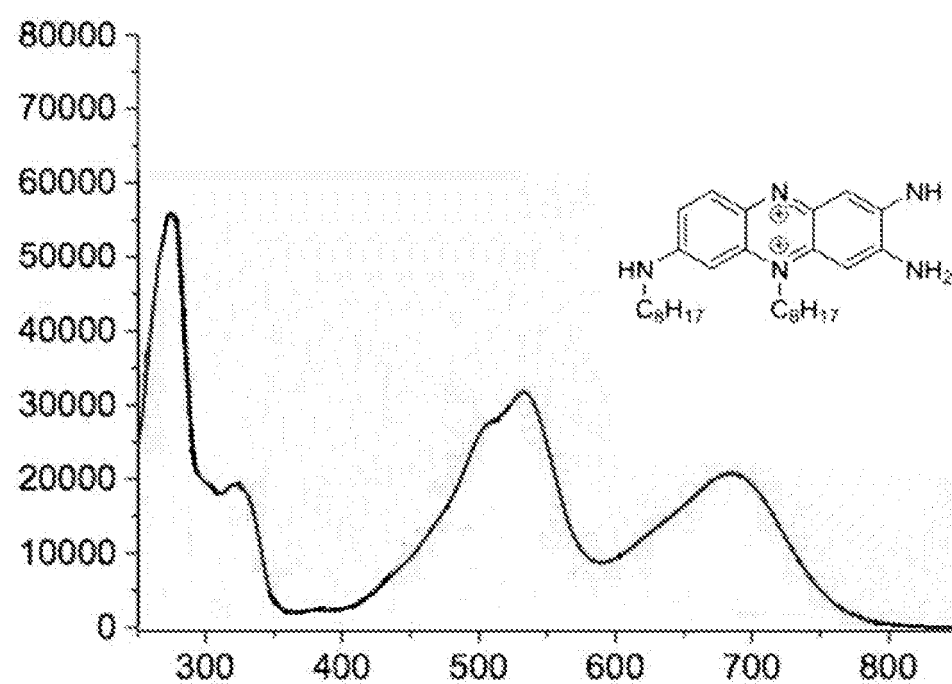
[Fig. 2]



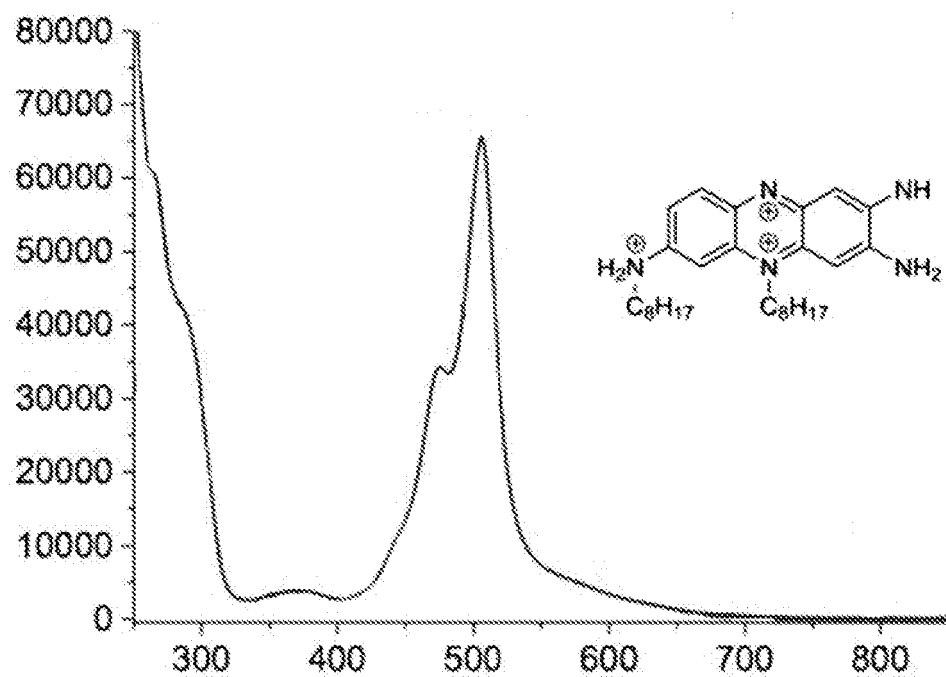
[Fig. 3]



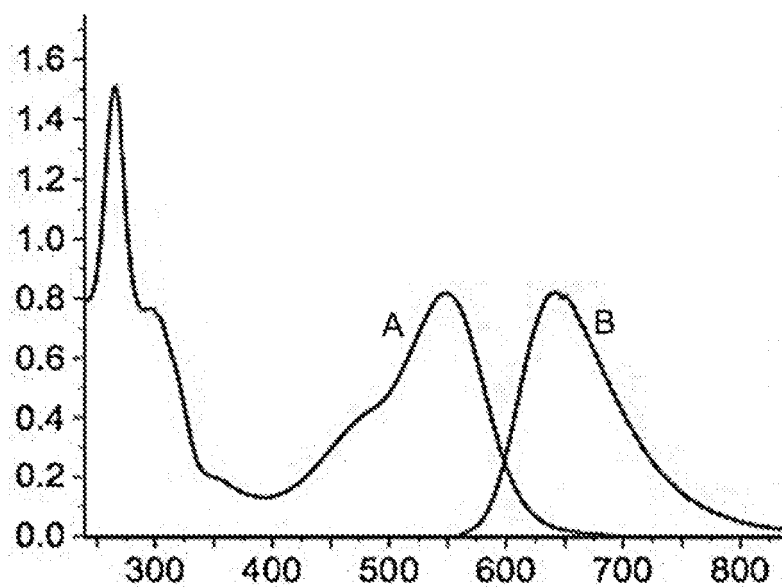
[Fig. 4]



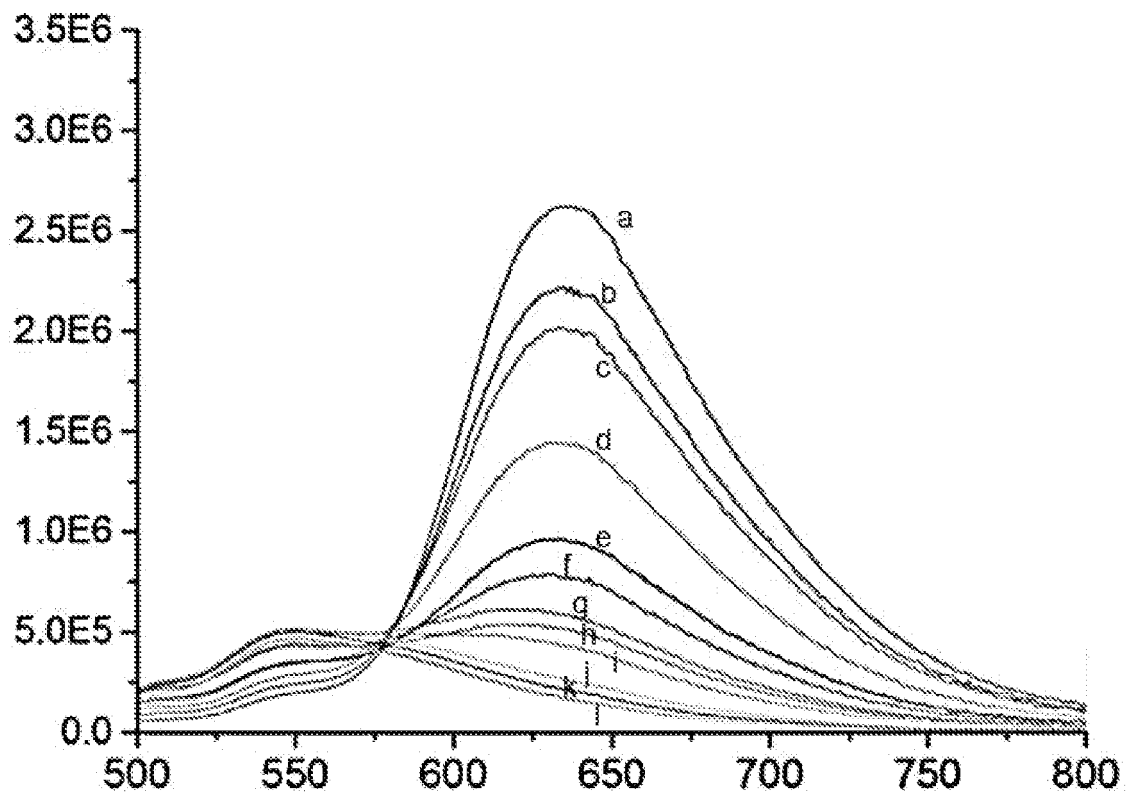
[Fig. 5]



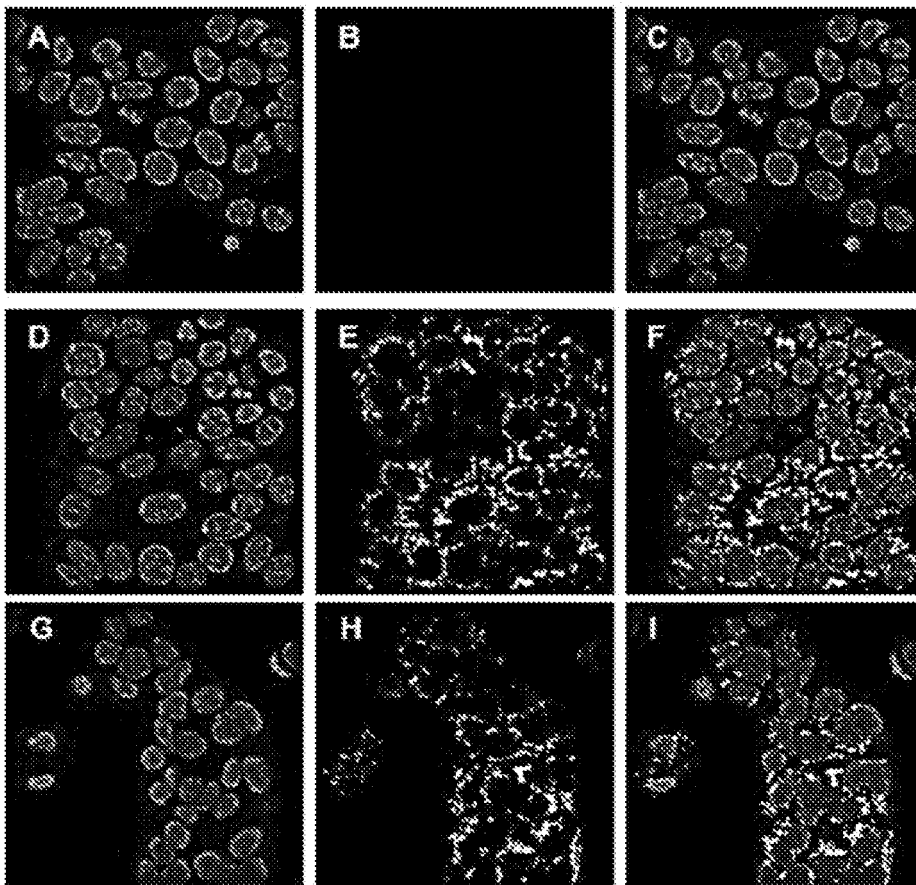
[Fig. 6]



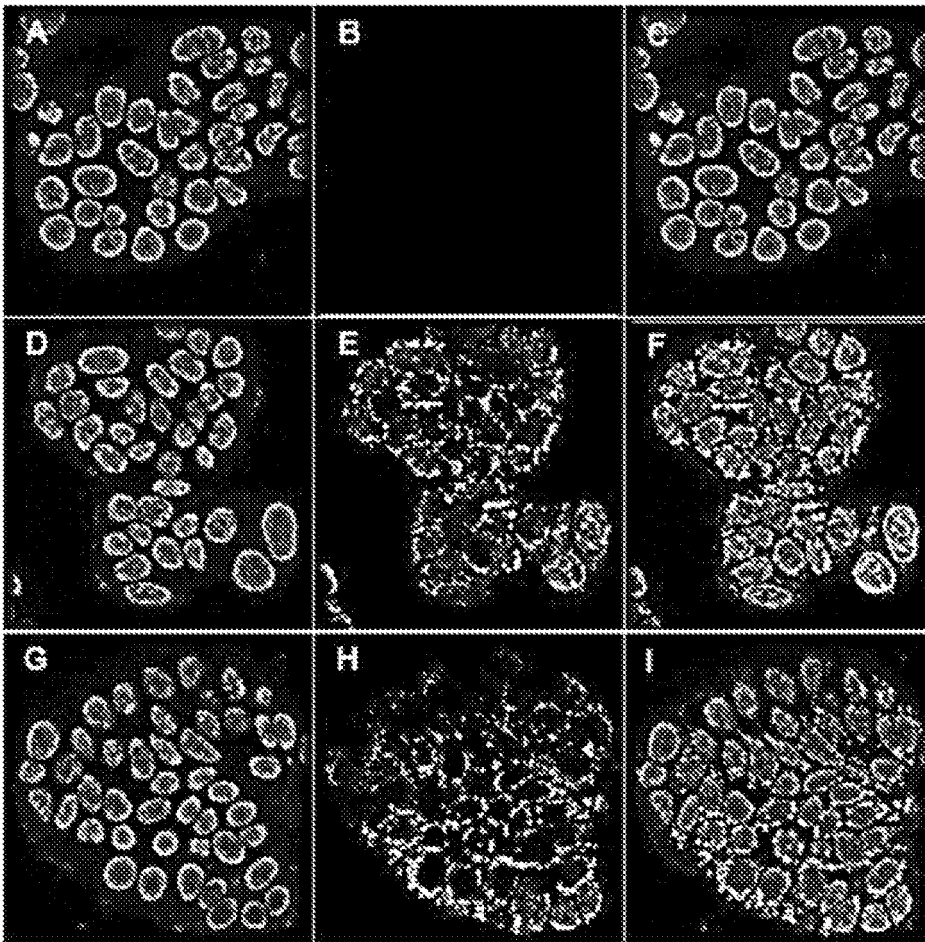
[Fig. 7]



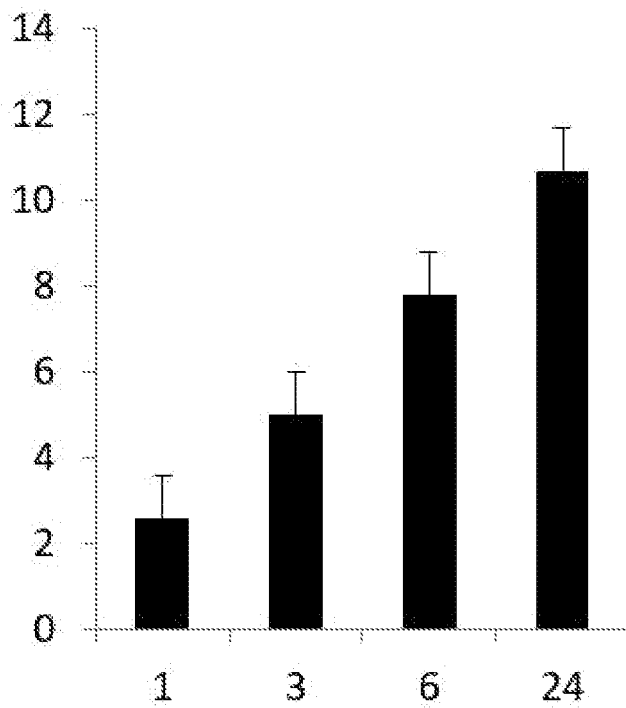
[Fig. 8]



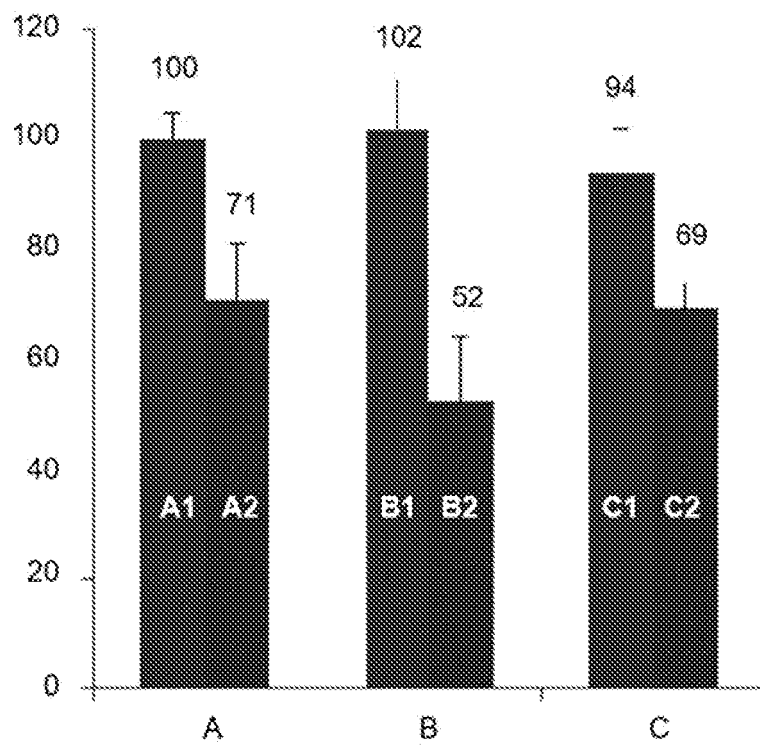
[Fig. 9]



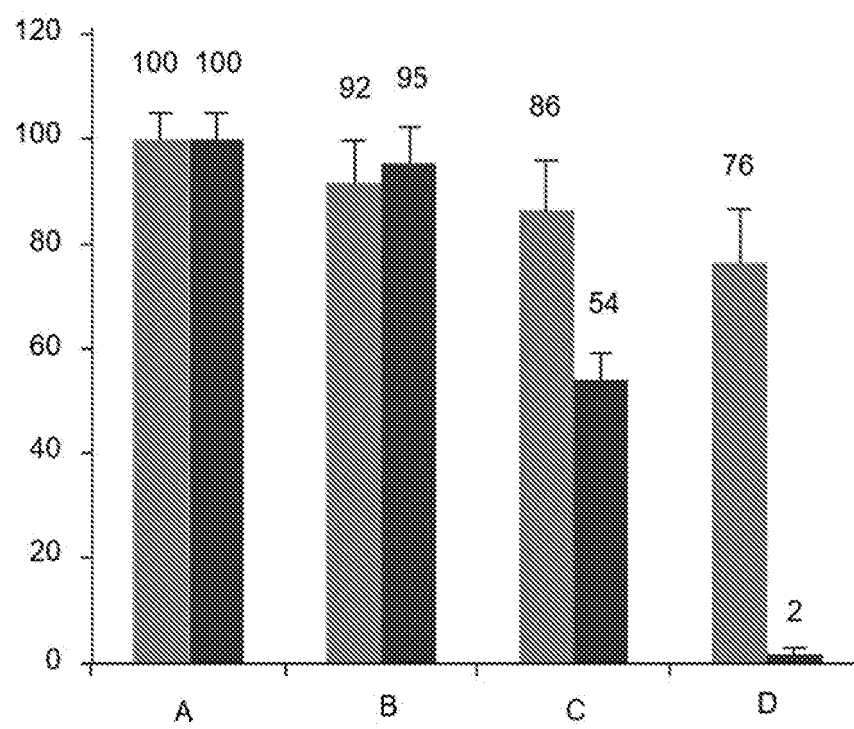
[Fig. 10]



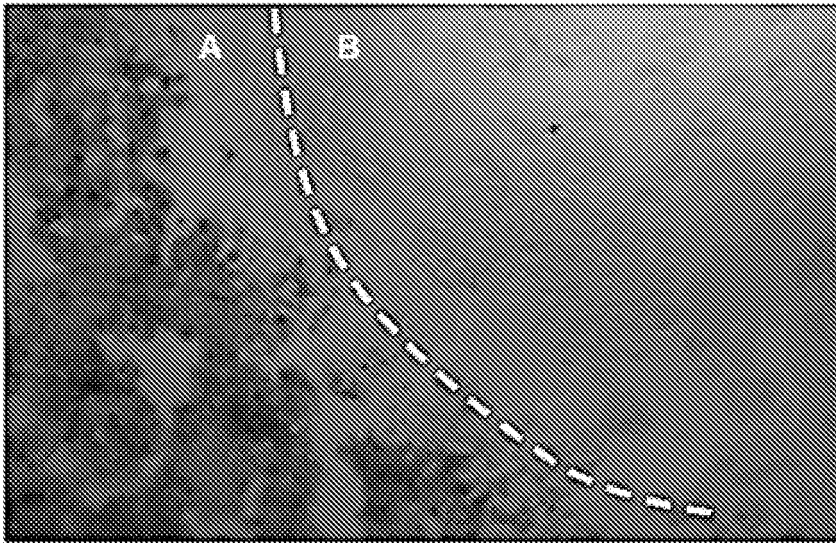
[Fig. 11]



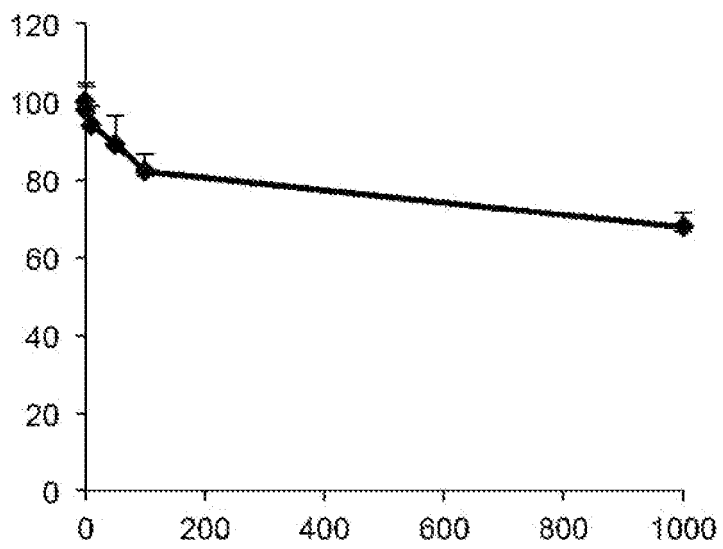
[Fig. 12]



[Fig. 13]



[Fig. 14]



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 871075
FR 1909642

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
Y	EP 2 368 885 A1 (UNIV AIX MARSEILLE II [FR]; CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]) 28 septembre 2011 (2011-09-28) * revendications 1-2,4, 6-7, 13-14 * * page 2, alinéas 1,9,10 * * tableau 1; composé 10 * * page 13, alinéa 66 * -----	1-10	C07D241/46 A61K31/498 A61P35/00 G01N33/50 A61K49/00
Y	WO 2010/129340 A2 (CERAMOPTEC IND INC [US]; FARMER GERARD [CH] ET AL.) 11 novembre 2010 (2010-11-11) * Figure 1, "Phenazine" * * page 1, ligne 10 - ligne 13 * * page 4, ligne 6 - ligne 24 * * page 4, ligne 10 - ligne 12 * * revendications 1-3 * -----	1-10	
A	WO 2007/016762 A1 (QUEST PHARMATECH INC [CA]; SHARMA SANJAY K [CA] ET AL.) 15 février 2007 (2007-02-15) * revendications 1-12 * * page 1, ligne 4 - ligne 8 * -----	1-10	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) A61P A61K C07D
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
23 avril 2020		Marzi, Elena	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1909642 FA 871075

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.
 Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **23-04-2020**
 Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 2368885 A1	28-09-2011	EP 2368885 A1	28-09-2011
		WO 2011117830 A1	29-09-2011

WO 2010129340 A2	11-11-2010	CN 102695509 A	26-09-2012
		EP 2424536 A2	07-03-2012
		JP 5802198 B2	28-10-2015
		JP 2012525411 A	22-10-2012
		US 2012101427 A1	26-04-2012
		WO 2010129340 A2	11-11-2010

WO 2007016762 A1	15-02-2007	AU 2006279189 A1	15-02-2007
		CA 2615510 A1	15-02-2007
		CA 2820233 A1	15-02-2007
		GB 2442915 A	16-04-2008
		JP 5205264 B2	05-06-2013
		JP 2009505968 A	12-02-2009
		US 2010047178 A1	25-02-2010
		US 2013304089 A1	14-11-2013
		US 2014072512 A1	13-03-2014
		WO 2007016762 A1	15-02-2007
