

## Les dérivés du benzothioxanthène imide : de l'industrie textile à la thérapie photodynamique

**Résumé** Le recyclage par le haut, « upcycling » ou encore surcyclage, consiste à modifier/transformer des produits ou matériaux, en particulier issus de la production industrielle de masse, afin d'en augmenter la valeur ajoutée. Dans un contexte de transition écologique et énergétique, cette pratique a été utilisée en surcyclant un colorant « jaune » historiquement synthétisé pour l'industrie textile et plastique, disponible à large échelle et faible coût. Grâce à de simples modifications chimiques, le benzothioxanthène imide a en effet été récemment utilisé pour la fabrication de cellules solaires, de dispositifs émissifs de type OLED, et même comme principe actif pour lutter contre le cancer.

**Mots-clés** Colorants, surcyclage chimique, chimie verte, optoélectronique, luminescence, photothérapie dynamique.

**Abstract** Benzothioxanthene imide derivatives: from textile industry to photodynamic therapy

"Upcycling", a new concept in green economy, consists in modifying/transforming products or materials, in particular from industrial mass production, to increase their added value. In a context of ecological and energetic transition, this practice has been transposed and used by upcycling a "yellow" dye, historically synthesized for the textile and plastic industry, available on a large scale and at low cost. Thanks to simple/accessible chemical modifications, benzothioxanthene imide has indeed recently been used for the preparation of solar cells, light emitting devices (OLEDs) and even as a promising therapeutic agent for cancer phototherapy.

**Keywords** Dyes, upcycling, green chemistry, optoelectronics, luminescence, photodynamic therapy.

### Le benzothioxanthène : un rapide tour d'horizon

Ces dernières décennies ont vu les colorants organiques émerger comme une classe importante de molécules pour de nombreuses applications dont l'électronique organique [1]. Parmi eux, les pérylènes et naphthalènes mono/diimides (*figure 1*) ont connu un essor considérable, notamment grâce à leur synthèse et fonctionnalisation aisées, leurs affinités électroniques, ainsi qu'à leur stabilité chimique, thermique et photochimique, conduisant à la publication de plusieurs dizaines de milliers d'articles [2].

En comparaison, le benzothioxanthène imide (BTI), proche cousin de par sa structure, fait figure de grand oublié. Avec seulement quelques dizaines d'articles trouvés dans la littérature, ce rylène synthétisé dans les années 1970, a principalement été employé comme colorant pour la teinture des fibres textiles [3-4]. De plus, et contrairement aux dérivés de pérylène et naphthalène précédemment cités pour lesquels un arsenal de modifications chimiques de leurs systèmes  $\pi$ -conjugués a été proposé, seule la fonctionnalisation de l'atome d'azote du BTI avait, jusqu'alors, été exploitée.

### Modifications de son système $\pi$ -conjugué et premières utilisations en optoélectronique

C'est en partant de ce constat qu'un travail fondamental visant à fonctionnaliser le cœur conjugué de ce dérivé afin d'en explorer le potentiel et pouvoir ainsi proposer des nouveaux blocs, molécules et matériaux fonctionnels a été amorcé, en 2017, à MOLTECH Anjou. Pour ce faire, le BTI a, dans un premier temps, été resynthétisé selon la procédure séminale décrite en 1974 afin de pouvoir pallier le manque cruel de caractérisations rapportées dans la littérature. Ainsi, outre des propriétés optiques remarquables, notamment avec un rendement quantique approchant l'unité en solution, des vagues d'oxydation et de réduction parfaitement réversibles, avec une différence de potentiel significative d'environ 3 V, ont été mises en exergue par voltamétrie cyclique, faisant de ce rylène une molécule dite « dual redox » de tout premier plan ! [5-6] (*figure 2*).

Indubitablement intéressantes, notamment pour l'électronique organique, les stratégies de fonctionnalisation du cœur  $\pi$ -conjugué des pérylènes diimides ont directement été



Figure 1 - Illustration des structures des pérylènes et naphthalènes mono/diimides (PMI/PDI et NMI/NDI) ainsi que celle du benzothioxanthène imide (BTI).

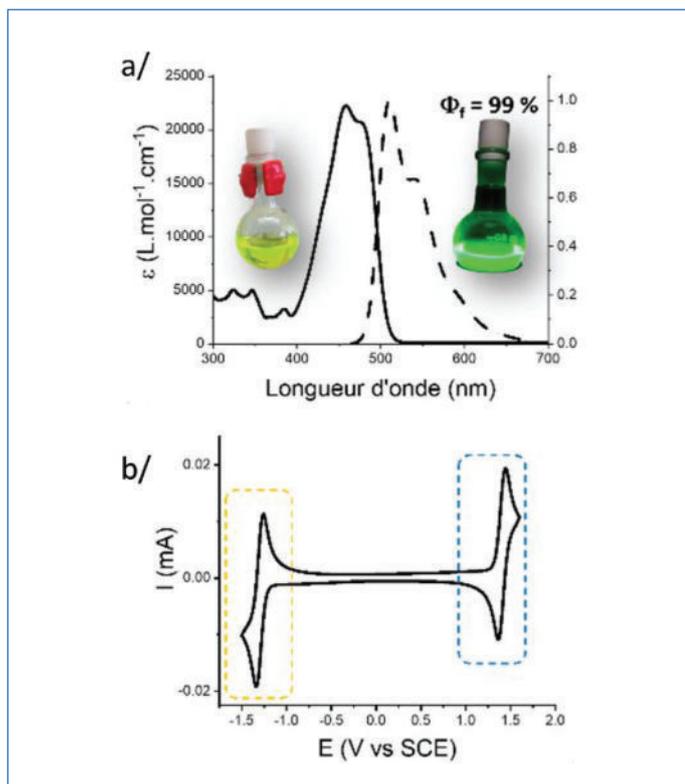


Figure 2 - a) Spectres d'absorption, d'émission (ainsi que les photos de solutions de BTI sous lumière naturelle et UVA) et b) voltamogramme du BTI enregistré dans le dichlorométhane, montrant la réversibilité totale des vagues de réduction (cadre en pointillés orange) et d'oxydation (cadre en pointillés bleu); les potentiels sont exprimés par rapport à l'électrode au calomel saturée.

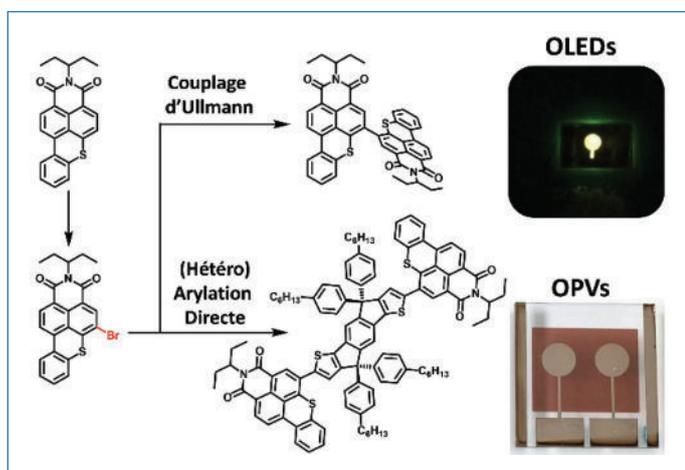


Figure 3 - Structure du BTI-Br et exemples de systèmes  $\pi$ -conjugués synthétisés et utilisés comme matériaux actifs pour la fabrication de dispositifs émissifs (OLED) [9] et de cellules solaires organiques (donneur moléculaire) [6].

transposées au BTI, en commençant par de simples tentatives d'halogénéation. Étonnamment, il s'est avéré que l'addition d'un seul équivalent de brome, mis en réaction à température ambiante et pendant seulement quelques minutes, conduisait à la formation sélective et quantitative d'un unique composé monobromé [6]. Une fois caractérisé, notamment par diffraction des rayons X, ce dernier a été engagé avec succès dans de nombreuses réactions métallo-catalysées aboutissant, *in fine*, à de nouveaux systèmes moléculaires  $\pi$ -étendus dont certains ont été intégrés comme matériaux actifs dans des cellules solaires organiques [6-8] et dispositifs émissifs de type OLED [9] (figure 3).

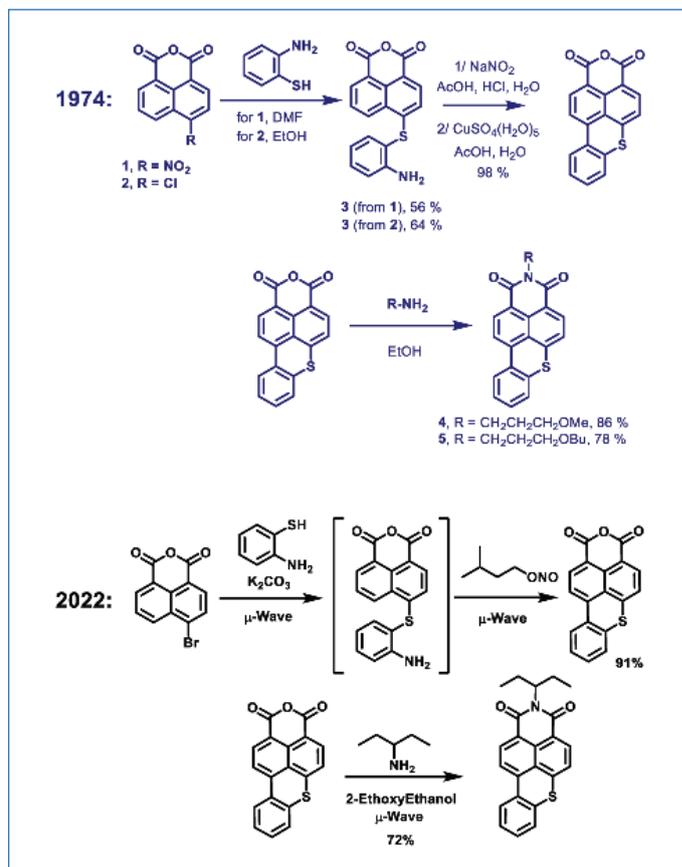


Figure 4 - Comparaison de la synthèse initiale (1974) et modernisée du BTI. Les deux étapes nécessaires à la préparation de l'anhydride ont ainsi été « condensées » en une seule par ajouts successifs des réactifs dans le réacteur micro-onde. De plus, l'utilisation du nitrite d'isoamyle a permis de s'affranchir des conditions acides et métallo-catalysées lors de la réaction de Pschorr.

Ces premiers résultats, démontrant de façon probante l'intérêt de ce colorant oublié pour des applications liées à l'électronique organique, ont servi de pierre angulaire à un projet de recherche à part entière visant à poursuivre et intensifier l'exploration de la réactivité chimique de ces dérivés. Toutefois, avant de poursuivre les efforts de fonctionnalisation, la voie de synthèse du BTI a tout d'abord été optimisée et modernisée afin de pouvoir générer des quantités suffisantes, nécessaires à ces travaux. Dorénavant accessible à l'échelle de plusieurs centaines de grammes (au laboratoire), le BTI se prépare en seulement deux étapes, à partir de blocs peu onéreux, dans des solvants dits écoresponsables et en quelques heures grâce aux activations micro-ondes, le tout sans purification par chromatographie sur gel de silice [10] (figure 4).

Par analogie avec la riche chimie développée ces trente dernières années sur les pérylènes diimides, nous avons ensuite eu pour objectif d'arriver à modifier chimiquement un des carbones dit en position « baie ». La fonctionnalisation de ces derniers ouvre en effet la porte à de nombreuses possibilités de modulation des propriétés opto-électroniques du colorant [11]. Ainsi, outre la démonstration de préparation de nouveaux dérivés hétéro/di-halogénés [12], une nitration régiosélective du cœur BTI a pu être réalisée avec succès [13]. Tout comme pour l'halogénéation, cette fonctionnalisation est thermodynamiquement favorisée en alpha du soufre. La nitration de la position « baie » opposée ne peut être obtenue que dans un second temps, en augmentant la concentration d'acide nitrique. Néanmoins, en réalisant dans un premier

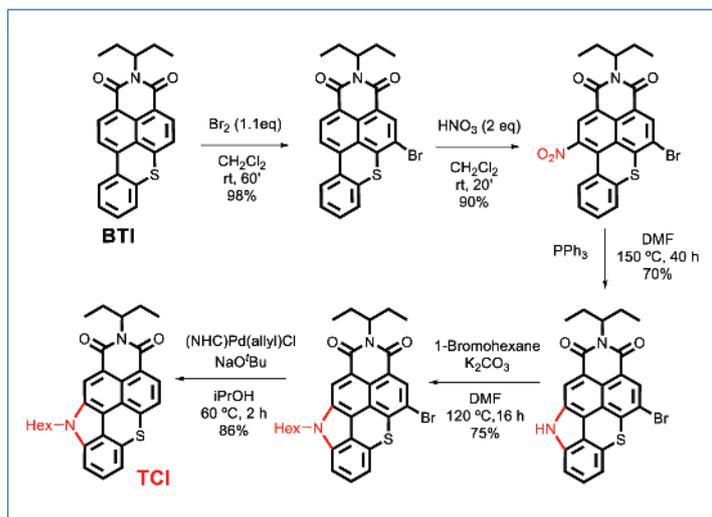


Figure 5 - Synthèse du thiochroménocarbazole imide (TCI). La monohalogénéation sélective de la position du BTI agit ici comme une protection, permettant d'effectuer une mononitration sur la position opposée. La réduction en présence de triphénylphosphine s'accompagne d'une réaction de cyclisation intramoléculaire de type Cadogan-Sundberg, pour aboutir au dérivé carbazole, dont l'alkylation conduit à un composé présentant une forte solubilité en solvant organique. La position x est finalement « déprotégée » par réduction palladocatalysée du bromure d'aryle.

temps une étape clé de « protection » du carbone par introduction d'un atome de brome en position alpha du soufre, le dérivé mononitré sur cette position « baie » est devenu accessible (figure 5).

### Vers une nouvelle classe de colorants : les thiochroménocarbazoles imides

Ce dernier, déjà intéressant par ses seules propriétés optiques, s'est avéré être un intermédiaire de choix dans l'élaboration de structures plus complexes. Il a en effet par la suite été engagé dans une réaction tandem de réduction et cyclisation intramoléculaire de type Cadogan-Sundberg [14] aboutissant, *in fine*, à une nouvelle structure *N*-annulée, de type TCI (thiochroménocarbazole imide) [15-16]. Dans sa version halogénée, ce dernier a permis la préparation d'un « dimère », grandement soluble dans le xylène, notamment grâce à sa structure non planaire (et donc peu propice aux phénomènes d'agrégation- $\pi$ ) mais également aux chaînes hydrocarbonées latérales. Cette caractéristique s'est avérée cruciale puisque ce solvant (le xylène) est notamment utilisé pour l'impression de couches actives dans le milieu industriel. Le dimère de TCI a ainsi pu être exploité par le groupe de Gregory Welch (Université de Calgary, Canada) en fabricant des OLED de grand format (160 mm<sup>2</sup>) par impression « slot die » sur substrats plastiques et flexibles, ouvrant ainsi la voie à la conception, par exemple, de dispositifs de signalisation ultra « low cost » [16] (figure 6).

### La photothérapie dynamique : une application clé des dérivés du BTI

C'est dans ce même cadre que les caractérisations photophysiques menées à l'ENS de Lyon ont révélé, dans le cas de certains dérivés, une propension non négligeable à sensibiliser l'oxygène singulet (à l'inverse du BTI « de base » qui, comme précédemment mentionné, est un fluorophore exclusif) [17-18]. La mise en exergue de cette propriété a ainsi ouvert la voie à l'utilisation de dérivés du BTI pour des applications

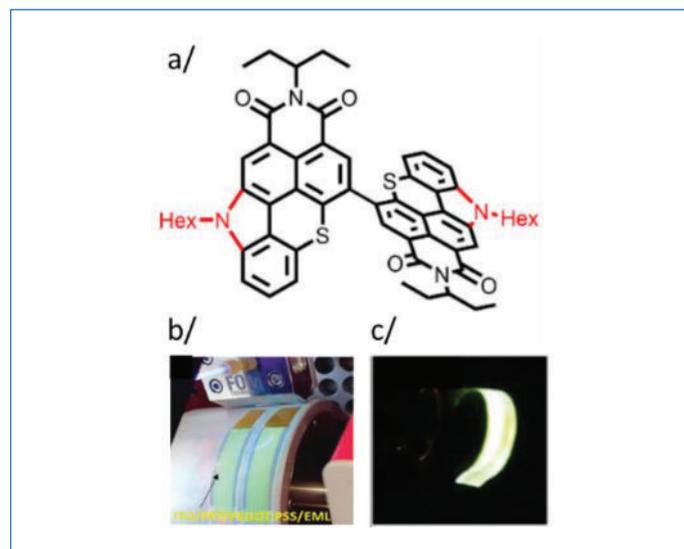


Figure 6 - a) Dimère de TCI et photographies b) de la préparation des OLED flexibles et de grand format par impression « slot dye » d'un substrat contenant ce même dimère et c) de l'OLED résultante en fonctionnement.

très éloignées des cibles initiales, notamment la thérapie photodynamique (PDT). Cliniquement utilisée pour le traitement de certains types de cancer ainsi que pour la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), ce protocole thérapeutique repose sur la soumission à une irradiation lumineuse, après injection au patient et accumulation sélective au sein du tissu à traiter. Sous l'effet de cette irradiation, le photosensibilisateur à son état excité va transférer son énergie à l'oxygène moléculaire présent dans le milieu biologique, entraînant soit la formation d'oxygène singulet, hautement cytotoxique (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>, ROS dit de type II), ou d'autres espèces oxygénées réactives (ROS) comme les peroxydes d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), des radicaux hydroxyles (OH.) ou même des superoxydes (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), induisant, dans la majorité des cas, la mort cellulaire (ROS de type I).

Compte tenu des enjeux sanitaires, économiques et sociétaux liés à l'utilisation de la PDT, de nombreuses molécules ont été à ce jour publiées dans la littérature. En raison d'effets secondaires parfois majeurs, peu ont passé l'étape d'évaluation préclinique, et la quasi-exclusivité des composés actuellement utilisés cliniquement sont des dérivés de macrocycles porphyriniques [19-20]. Par ailleurs, la grande majorité des principes actifs alternatifs s'appuie sur la fonctionnalisation de colorants existants par des atomes lourds (brome, iode, ruthénium, iridium, etc.), maximisant certes le croisement inter-système et donc la population d'états triplets réactifs, mais impactant, en contrepartie, leurs photostabilité et cytotoxicité, leur élimination des métabolites générés par l'organisme et leur accessibilité synthétique (multi-étapes), et donc leur prix (utilisation de métaux nobles). C'est dans ce contexte que le surcyclage du BTI s'avère particulièrement intéressant. Avec sa production à faible coût et à grande échelle, l'objectif était d'en modifier chimiquement la structure, en un minimum d'effort synthétique, afin de convertir ce fluorophore en photosensibilisateur. Ainsi, en se basant sur des résultats de la littérature, le BTI a, dans un premier temps, été mis en réaction avec le réactif de Lawesson. Les trois composés isolés, correspondant aux deux mono- et au bisthioné (figure 7), se sont révélés d'excellents photosensibilisateurs, caractérisés par des rendements quantiques de génération d'oxygène singulet impressionnants, atteignant presque l'unité (100 %). De fait, d'excellentes

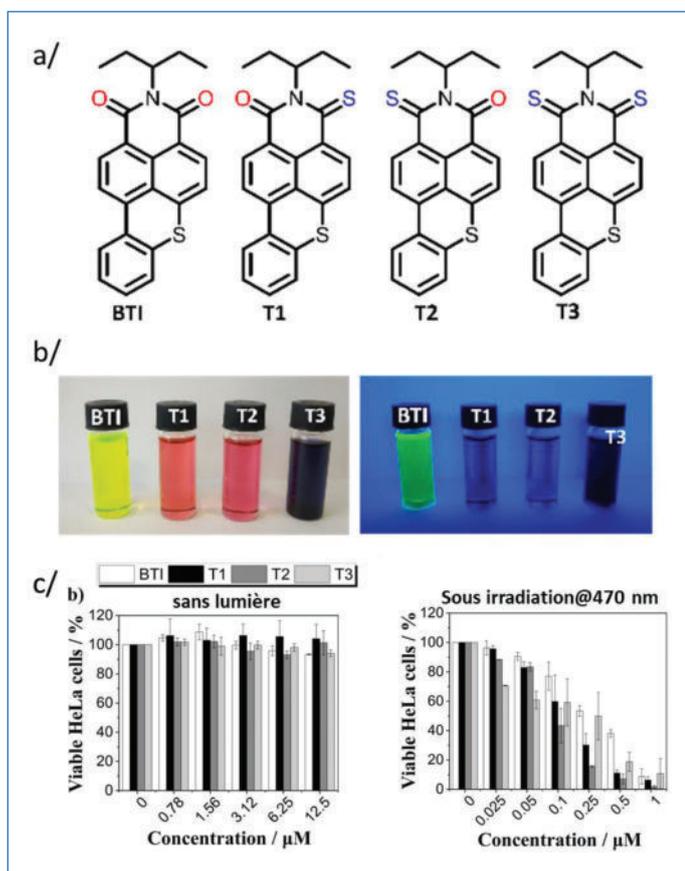


Figure 7 - a) Structures des composés de l'étude, BTI et ses dérivés thionés. B) Photos de solutions de ces composés dans le dichlorométhane à la lumière naturelle et sous lumière UVA, montrant l'absence de luminescence des composés thionés. C) Détermination de la concentration inhibitrice médiane ( $IC_{50}$ ) envers des cellules HeLa incubées en présence des différents photosensibilisateurs (PS). En l'absence de lumière, aucune toxicité cellulaire n'est mesurable ; la cytotoxicité est induite sous irradiation dans la bande d'absorption des PS.

cytotoxicités sous illumination ont également été démontrées sur des cellules HeLa (cancer de l'utérus) par l'équipe de Nasim Sabouri à l'Université d'Umeå (Suède) [21].

Toutefois, même si cette approche de post-fonctionnalisation est prometteuse et accessible, elle n'est malheureusement pas idéale car les composés obtenus sont non émissifs, limitant ainsi leur suivi *in situ* par fluorescence, et avant tout relativement peu photostables puisque la rétro-conversion des thiones en carbonyles a été observée dans les trois cas, sous illumination et en présence d'oxygène.

Par conséquent, une autre approche a été rapidement considérée, consistant à déformer le squelette  $\pi$ -conjugué (par torsion) afin d'induire un fort couplage spin-orbite pour, *in fine*, favoriser le croisement intersystème. Il est à noter que cette stratégie, majoritairement cantonnée aux hélicènes, dont la synthèse et les fonctionnalisations peuvent rapidement devenir complexes et chronophages, a très peu été explorée/exploitée dans la littérature [22]. Ainsi, compte tenu des nombreuses possibilités de fonctionnalisation du BTI récemment démontrées, un analogue  $\pi$ -étendu et fortement distordu a été conçu, préparé et caractérisé. Présentant un angle de torsion dièdre d'environ  $28^\circ$ , ce nouveau composé fluorescent (8 %), baptisé DBI, obtenu en seulement trois étapes à l'échelle du gramme – au laboratoire, via la saponification d'un composé commercial à bas coût, suivie des mêmes étapes que celles déjà optimisées pour le BTI, à savoir une substitution nucléophile aromatique, une cyclisation de Pschorr et la formation de l'imide –, s'est révélé extrêmement prometteur (figure 8).

Grâce à son excellent rendement de sensibilisation de l'oxygène singulet (90 %), le DBI s'est illustré par des photocytotoxicités parmi les plus élevées rapportées à ce jour contre des cellules cancéreuses et des organoïdes tumoraux ( $EC_{50}$  inférieure à 20 nM). Cette efficacité a pu être corrélée à une localisation exclusive (et inusitée) du DBI dans des vésicules intraluminales, précurseurs des exosomes par reconnaissance spécifique de structures ADN secondaires non canoniques de type G-quadruplexes (G-4). Sous irradiation, des dégâts irréversibles par oxydation de ces séquences d'ADN conduisent à une mort cellulaire extrêmement efficace [23] (figure 9).

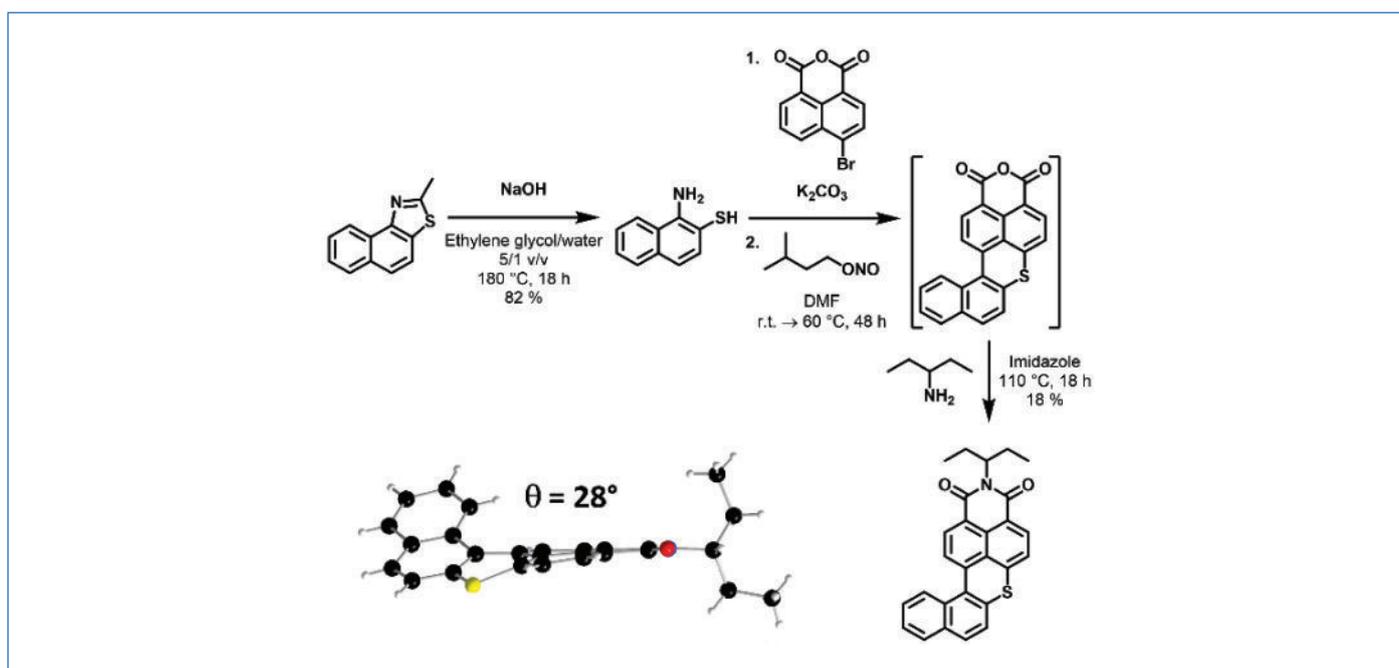


Figure 8 - Synthèse et structure du DBI obtenue par diffraction des rayons X. À noter que la source du dérivé aminothiophénol nécessaire à la préparation de ce dernier (dans des conditions opératoires analogues à celles du BTI) a été obtenue par simple « saponification » en milieu basique d'un précurseur benzothiazole, disponible commercialement.

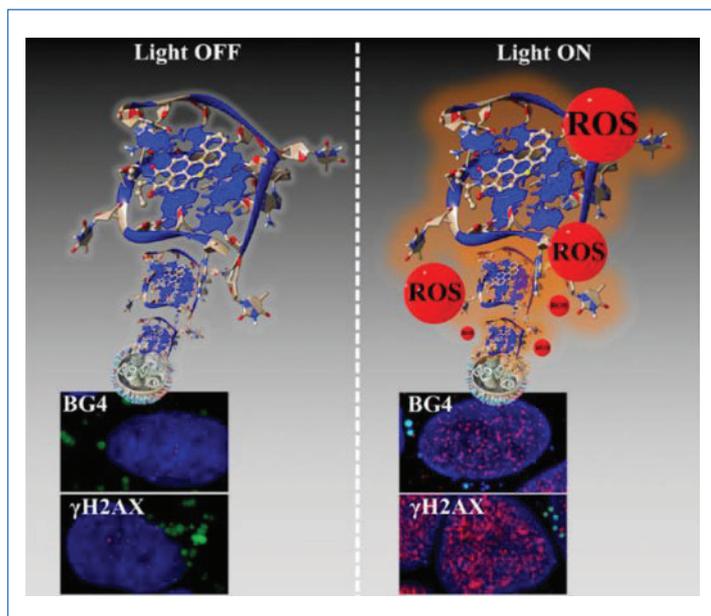


Figure 9 - Modélisation des complexes DBI/G-4 formés dans les exosomes et microscopie confocale de fluorescence de cellules cancéreuses HELA mises en présence du DBI (fluorescence verte) avant (gauche) et après irradiation (droite). Le noyau est marqué par un colorant bleu. L'introduction de marqueurs fluorescents spécifiques de la rupture de l'ADN double brin ( $\gamma$ H2AX) et de la formation de G-quadruplexe (BG4) – deux indicateurs des processus d'apoptose cellulaire – permet de visualiser une mort cellulaire (apparition de points rouges) uniquement pour les cellules irradiées, à droite. Ce processus fait suite à la formation d'espèces réactives oxygénées (ROS) caractéristiques du mécanisme de photothérapie dynamique.

Surexprimées dans les cellules cancéreuses, ces organelles, impliquées dans la communication intercellulaire, sont actuellement particulièrement étudiées car potentiellement liées aux processus de diffusion des cancers par métastase [23]. Bien que le chemin soit encore long, ces résultats préliminaires, qui ont donné lieu à une demande de brevet et font actuellement l'objet d'études complémentaires, notamment sur les processus biologiques impliqués, ouvrent indubitablement la voie à des avancées majeures dans le domaine du traitement et de la compréhension du cancer.

### Perspectives de développement : vers la photochimie

Partie d'une simple curiosité littéraire, l'étude du BTI et de ses dérivés n'a donc pas fini de surprendre. À l'image d'un iceberg dont seule la partie émergée est visible, ces premières découvertes sur la diversité des propriétés spectroscopiques (longueur d'onde et rendement quantique de luminescence) et de réactivité photoinduite (génération d'oxygène singulet) accessibles par des modifications chimiques contrôlées augurent de futures utilisations encore plus prometteuses. Initialement synthétisés exclusivement pour l'industrie des colorants et désormais utilisables comme photosensibilisateur pour le traitement de cellules cancéreuses, de nouveaux dérivés, actuellement en phase d'étude dans nos laboratoires, montrent en effet déjà des résultats prometteurs dans le domaine de l'organo-photocatalyse et du traitement photochimique des effluents industriels. Mais ceci est une autre histoire !

[1] J.-F. Morin, Recent advances in the chemistry of vat dyes for organic electronics, *J. Mater. Chem. C*, **2017**, *5*, p. 12298-307.

[2] J. Feng, W. Jiang, Z. Wang, Synthesis and application of rylene imide dyes as organic semiconducting materials, *Chem. Asian. J.*, **2018**, *13*, p. 20-30.

[3] P.H. Grayshan, A.M. Kadhim, A.T. Peters, Heterocyclic derivatives of naphthalene-1,8-dicarboxylic anhydride. Part II. Benzo[*K,L*]thioxanthene-3,4-dicarboximides, *J. Heterocycl. Chem.*, **1974**, *11*, p. 33-38.

[4] A.M. Kadhim, K.H. Mak, A.T. Peters, New dyes and intermediates for synthetic-polymer fibres. 7,7-dioxo-benzo[*K,L*]thioxanthene-3,4-dicarboxylic acid imides, *J. Soc. Dye. Colour.*, **1982**, *98*, p. 56-58.

[5] A.L. Dauphin *et al.*, Benzothioxanthene dicarboximide as a tuneable electrogenerated chemiluminescence dye, *ChemElectroChem*, **2022**, *9*, e202200967.

[6] P. Josse *et al.*, Bromination of the benzothioxanthene bloc: toward new  $\pi$ -conjugated systems for organic electronic applications, *J. Mater. Chem. C*, **2018**, *6*, p. 761-766.

[7] A.-J. Payne *et al.*, Donor or acceptor? How selection of the rylene imide end cap impacts the polarity of  $\pi$ -conjugated molecules for organic electronics, *ACS Appl. Energy Mater.*, **2018**, *1*, p. 4906-16.

[8] S.V. Dayneko, A.D. Hendsbee, J.R. Cann, C. Cabanetos, G.C. Welch, Ternary organic solar cells: using molecular donor or acceptor third components to increase open circuit voltage, *New J. Chem.*, **2019**, *43*, p. 10442-448.

[9] J.M. Andrés Castán *et al.*, Synthesis, characterization and use of benzothioxanthene imide based dimers, *Chem.Com.*, **2020**, *56*, p. 10131-134.

[10] P. Josse *et al.*, Revisiting the synthesis of the benzothioxanthene imide five decades later, *New J. Chem.*, **2022**, *46*, p. 8393-97.

[11] S.M. McAfee *et al.*, Toward a universally compatible non-fullerene acceptor: multi-gram synthesis, solvent vapor annealing optimization, and Bdt-based polymer screening, *Sol. RRL*, **2018**, *2*, 1800143.

[12] C. Dalinot *et al.*, Regioselective monohalogenation and homo/hetero dihalogenation of benzothioxanthene monoimide, *Eur. J. Org. Chem.*, **2020**, *2020*, p. 2140-45.

[13] J.M. Andrés Castán *et al.*, Nitration of benzothioxanthene: towards a new class of dyes with versatile photophysical properties, *New J. Chem.*, **2020**, *44*, p. 900-905.

[14] R.J. Sundberg, T. Yamazaki, Rearrangements and ring expansions during the deoxygenation of .beta.,.beta.-disubstituted O-nitrostyrenes, *J. Org. Chem.*, **1967**, *32*, p. 290-294.

[15] J.M. Andrés Castán *et al.*, N-annulation of the BTI rylene imide organic building block: impact on the optoelectronic properties of  $\pi$ -extended molecular structures, **2023**, *2*, p. 22-30.

[16] J.M. Andrés Castán *et al.*, Thiochromenocarbazole imide: a new organic dye with first utility in large area flexible electroluminescent devices, *Mater. Chem. Front.*, **2022**, *6*, p. 1912-19.

[17] L.A. Galán *et al.*, Theoretical and experimental investigation on the intersystem crossing kinetics in benzothioxanthene imide luminophores, and their dependence on substituent effects, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2020**, *22*, p. 12373-381.

[18] L.A. Galán *et al.*, Exploring the concept of dimerization-induced intersystem crossing: at the origins of spin-orbit coupling selection rules, *J. Phys. Chem. B*, **2021**, *125*, p. 8572-80.

[19] I.S. Mfouo-Tynga, L.D. Dias, N.M. Inada, C. Kurachi, Features of third generation photosensitizers used in anticancer photodynamic therapy: review, *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, **2021**, *34*, 102091.

[20] X. Zhao, J. Liu, J. Fan, H. Chao, X. Peng, Recent progress in photosensitizers for overcoming the challenges of photodynamic therapy: from molecular design to application, *Chem. Soc. Rev.*, **2021**, *50*, 4185-219.

[21] M. Deiana *et al.*, Site-selected thionated benzothioxanthene chromophores as heavy-atom-free small-molecule photosensitizers for photodynamic therapy, *Commun. Chem.*, **2022**, *5*, 142.

[22] V.-N. Nguyen, Y. Yan, J. Zhao, J. Yoon, Heavy-atom-free photosensitizers: from molecular design to applications in the photodynamic therapy of cancer, *Acc. Chem. Res.*, **2021**, *54*, p. 207-220.

[23] M. Deiana *et al.*, A new G-quadruplex-specific photosensitizer inducing genome instability in cancer cells by triggering oxidative DNA damage and impeding replication fork progression, *Nucleic Acids Res.*, **2023**, *51*, p. 6264-85.

**Clément CABANETOS**<sup>1,2</sup>, directeur de recherche au CNRS, et **Cyrille MONNEREAU**<sup>3</sup>, maître de conférences.

<sup>1</sup>Laboratoire MOLTECH-ANJOU, SFR MATRIX, CNRS, Université d'Angers.

<sup>2</sup>2BFUEL, IRL CNRS 2002, Yonsei University, Séoul (Corée du Sud).

<sup>3</sup>Laboratoire de Chimie (UMR 5182), ENS de Lyon, CNRS, Université de Lyon.

\* clement.cabanetos@cnrs.fr ; cyrille.monnerEAU@ens-lyon.fr