



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

<p>(51) Classification internationale des brevets⁴ : C07D 487/22, A61K 31/40 // (C07D 487:22, 257:00, 209:00 C07D 209:00, 209:00, 209:00)</p>	A1	<p>(11) Numéro de publication internationale: WO 89/12049 (43) Date de publication internationale: 14 décembre 1989 (14.12.89)</p>
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR89/00279 (22) Date de dépôt international: 2 juin 1989 (02.06.89) (30) Données relatives à la priorité: 88/07372 2 juin 1988 (02.06.88) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) [FR/FR]; 15, quai Anatole-France, F-75007 Paris (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): MEUNIER, Bernard [FR/FR]; Résidence les Ormes, Bâtiment C3, F-31320 Castanet (FR). ETEMAD-MOGHADAM, Guita [FR/FR]; 18, rue de Nîmes, Hall 4, F-31400 Toulouse (FR). DING, Li [CN/FR]; Appartement 99, 30, chemin des Maraichers, F-31100 Toulouse (FR). CROS, Suzy [FR/FR]; 7, rue du Coustet, F-31520 Ramonville-S.-Agne (FR).</p>		<p>(74) Mandataire: VARADY, Peter; Cabinet Lavoix, 2, place d'Estienne-d'Orves, F-75441 Paris Cédex 09 (FR). (81) Etats désignés: AU, JP, US. Publiée Avec rapport de recherche internationale.</p>
<p>(54) Title: DERIVATIVES OF METALLOPORPHYRINES, THEIR PREPARATION, APPLICATION FOR THERAPEUTICAL PURPOSES AND USE IN PREPARING HYBRID MOLECULES</p>		
<p>(54) Titre: DERIVES DE METALLOPORPHYRINES, LEUR PREPARATION, LEUR APPLICATION EN THERAPEUTIQUE ET LEUR UTILISATION POUR LA PREPARATION DE MOLECULES HYBRIDES</p>		
<div style="display: flex; align-items: center; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p>(I)</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>(α)</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>(β)</p> </div> </div>		
<p>(57) Abstract</p> <p>The new derivatives of metalloporphyrines in accordance with the invention are described in formula (I), in which A and B each represent (α) or (β) and Z⁺ represents N⁺-R₁ or C-N⁺R₁R₂R₃, R₁ being a straight aliphatic group or branched at C₁ to C₁₀, and R₂ and R₃ are each a hydrogen atom or a straight aliphatic group or branched at C₁ to C₁₀, R represents an NH₂, OH, COOH or -N(R₁)₃ group or a halogen atom, n and 0 or a whole number between 1 and 10, thereby the corresponding alkylene group may be straight or branched, M represents a transition metal, X⁻ represents the anion of a pharmaceutically acceptable carboxylic acid, m being a whole number between 1 and 5 and Y representing a -O-, -CO- or -CO-NH- bond or radical. Drugs, in particular for anti-tumoral and anti-viral purposes.</p>		
<p>(57) Abrégé</p> <p>Les nouveaux dérivés de métalloporphyrines selon l'invention répondent à la formule générale (I) dans laquelle A et B représentent chacun (α) ou (β) et Z⁺ représente N⁺-R₁ ou C-N⁺R₁R₂R₃, R₁ étant un groupe aliphatique droit ou ramifié en C₁ à C₁₀, et R₂ et R₃ étant chacun un atome d'hydrogène ou un groupe aliphatique droit ou ramifié en C₁ à C₁₀, R représente un groupe NH₂, OH, COOH ou -N(R₁)₃ ou un atome d'halogène, n et 0 ou un entier de 1 à 10, le groupe alkylène correspondant pouvant être droit ou ramifié, M représente un métal de transition, X⁻ représente l'anion d'un acide carboxylique pharmaceutiquement acceptable, m étant un entier de 1 à 5 et Y représente une liaison ou un radical -O-, -CO- ou -CO-NH-. Médicaments, notamment antitumoraux et antiviraux.</p>		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	FI	Finlande	ML	Mali
AU	Australie	FR	France	MR	Mauritanie
BB	Barbade	GA	Gabon	MW	Malawi
BE	Belgique	GB	Royaume-Uni	NL	Pays-Bas
BF	Burkina Fasso	HU	Hongrie	NO	Norvège
BG	Bulgarie	IT	Italie	RO	Roumanie
BJ	Bénin	JP	Japon	SD	Soudan
BR	Brésil	KP	République populaire démocratique de Corée	SE	Suède
CF	République Centrafricaine	KR	République de Corée	SN	Sénégal
CG	Congo	LI	Liechtenstein	SU	Union soviétique
CH	Suisse	LK	Sri Lanka	TD	Tchad
CM	Cameroun	LJ	Luxembourg	TG	Togo
DE	Allemagne, République fédérale d'	MC	Monaco	US	Etats-Unis d'Amérique
DK	Danemark	MG	Madagascar		
ES	Espagne				

DERIVES DE METALLOPORPHYRINES, LEUR PREPARATION,
LEUR APPLICATION EN THERAPEUTIQUE ET LEUR UTILISATION
POUR LA PREPARATION DE MOLECULES HYBRIDES

05 La présente invention a pour objet de nouveaux
dérivés de métalloporphyrines, leur préparation, leur
application en thérapeutique, et leur utilisation pour
la préparation de molécules hybrides à usage thérapeu-
tique.

10 L'utilisation de certains dérivés hématorporphy-
riniques dans le traitement des cancers par photothéra-
pie a été décrite par exemple par J. Moan (Photobiol.
Photochem. 43, 681 (1986)). Ces molécules présentent la
particularité de s'accumuler au niveau des tumeurs, ce
15 qui permet de les utiliser comme marqueurs biologiques
ou agents thérapeutiques. Toutefois, la préparation de
ces dérivés conduit souvent à un mélange de produits
pas toujours bien définis et de composition variable.
Cet état de fait justifie le développement de dérivés
20 porphyriniques obtenus par synthèse totale et pouvant
se substituer aux hématorporphyrines dans le traitement
de cancers par photothérapie.

Par ailleurs, des travaux récents ont montré
que des dérivés métallés de porphyrines synthétiques
25 sont capables de couper les acides nucléiques (ADN) in
vitro selon un processus d'oxydation (EP-A-118 913 ;
E. Fouquet, G. Pratviel, J. Bernadou et B. Meunier, J.
Chem. Soc., Chem. Commun., 1169 (1987)). Cette activité
nucléase de métalloporphyrines hydrosolubles est d'au-
30 tant plus intéressante qu'elle est observable pour des
concentrations très faibles de réactifs (de l'ordre de
 10^{-6} à 10^{-8} M), inférieures à celles de la bléomycine
(un antibiotique antitumoral possédant une forte acti-
35 vité nucléase en présence d'ions ferriques, d'oxygène
moléculaire et de réducteurs). Les nombreuses études

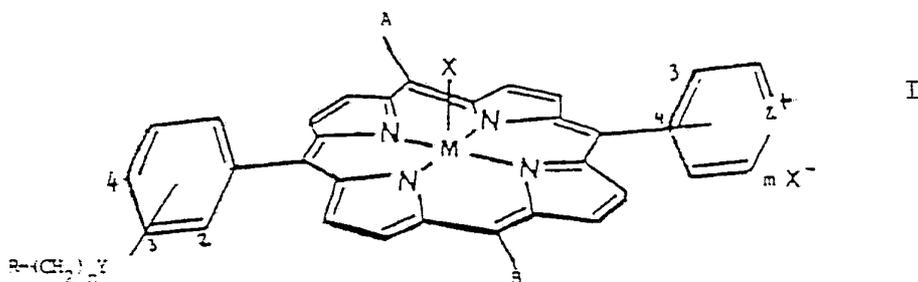
menées ces dernières années sur la pharmacologie moléculaire de ce médicament majeur de la chimiothérapie anticancéreuse indiquent que son activité cytotoxique et antitumorale peut être due à sa capacité à dégrader l'ADN de cellules tumorales.

Selon la présente invention on a effectué la synthèse de métalloporphyrines (dont la sphère de coordination autour d'ions fer ou manganèse modélise l'arrangement des ligands peptidiques de la bléomycine) ayant les deux propriétés suivantes :

- activité nucléase sur l'ADN in vitro, et
 - activité cytotoxique sur cellules entières,
- qui, à la connaissance des inventeurs, n'ont pas encore été décrites pour des métalloporphyrines. L'invention concerne donc de nouveaux dérivés porphyriniques possédant cette double propriété. Par ailleurs, on montre également que cette double propriété est conservée dans des molécules hybrides lorsque le squelette porphyrinique est relié à une entité possédant une affinité pour les acides nucléiques et capable aussi de moduler l'activité biologique de ces métalloporphyrines cytotoxiques (polyamines, polylysine, oligonucléotides, ...).

Les nouveaux dérivés de métalloporphyrines selon l'invention répondent à la formule générale :

25



30

dans laquelle A et B représentent chacun :

35



3

Z^+ représente N^+-R_1 ou $C-N^+R_1R_2R_3$; R_1 étant un groupe aliphatique droit ou ramifié en C_1 à C_{10} , et R_2 et R_3 étant chacun un atome d'hydrogène ou un groupe aliphatique droit ou ramifié en C_1 à C_{10} ,
 05 R représente un groupe NH_2 , OH , $COOH$ ou $-N(R_1)_3$, ou un atome d'halogène,
 n est 0 ou un entier de 1 à 10, le groupe alkylène correspondant pouvant être droit ou ramifié,
 M représente un métal de transition,
 10 X^- représente l'anion d'un acide carboxylique pharmaceutiquement acceptable, m étant un entier de 1 à 5, et Y représente une liaison, ou un radical $-O-$, $-CO-$ ou $-CONH-$.

De préférence, R_1 représente un groupe alkyle, en particulier méthyle ou éthyle, et R_2 et R_3 représentent chacun un atome d'hydrogène ou méthyle, M représente notamment Cr , Mn , Fe , Co , Ni , Cu , Zn ou Ru , de préférence Mn ou Fe .

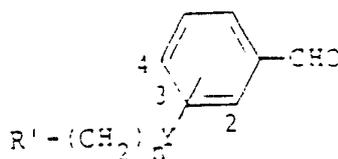
X^- est choisi notamment parmi les anions des acides carboxyliques solubles couramment utilisés en pharmacie, en particulier : acétate, propionate, butyrate, ascorbate, benzoate, cinnamate, citrate, fumarate, glycolate, malonate, tartrate, malate, maléate et mandélate.

De préférence encore Z^+ représente le groupe N^+-R_1 .

Les composés de formule I peuvent être préparés par :

(a) condensation d'un phényl-carboxaldéhyde de formule :

30

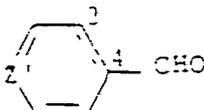


II

35

dans laquelle n et Y ont la même signification que dans la formule I et R' est le groupe R éventuellement protégé de la formule I, et d'un aldéhyde de formule

05

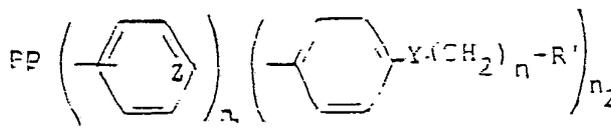


III

10

dans laquelle Z' représente N ou $\text{>C-NR}_2\text{R}_3$, R₂ et R₃ ont la même signification que dans la formule I, avec le pyrrole en milieu acide, de façon à obtenir une porphyrine (PP) tétrasubstituée en positions 5, 10, 15, 20 de formule générale

15



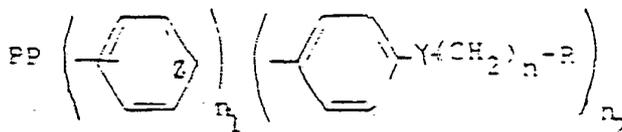
IV

20

dans laquelle R', n, Y et Z' ont les mêmes significations que dans les formules II et III respectivement, et n₁ et n₂ sont des entiers de 1 à 3, avec n₁+n₂=4,

b) le cas échéant le composé IV est soumis à une déprotection du radical R' pour obtenir une porphyrine tétrasubstituée en 5, 10, 15, 20 de formule générale

25



V

30

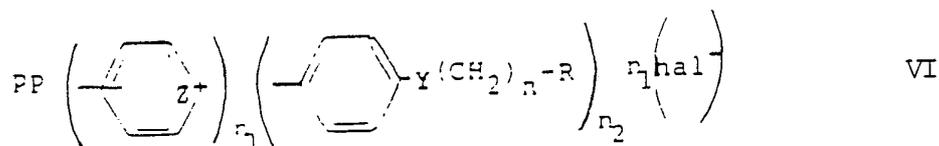
dans laquelle Z' a la même signification que dans la formule III, PP, n₁ et n₂ sont comme dans la formule IV et n, R, et Y ont la même signification que dans la formule I,

35

c) le composé de formule V, après protection éventuelle de la fonction R, est soumis à une réaction d'al-

kylation à l'aide d'un halogénure R₁-hal, R₁ ayant la même signification que dans la formule I et hal désignant le brome ou d'iode, de manière à obtenir une porphyrine tétrasubstituée en 5, 10, 15, 20 de formule générale

05



10 et

d) ce composé est métallée à l'aide d'un sel MX_p, M et X ayant la même signification que dans la formule I et p correspondant à la valence du métal M.

15 L'étape a) est effectuée en milieu acide, notamment l'acide propionique au reflux, en présence d'anhydride acétique.

20 Selon la signification du radical R, une protection peut être nécessaire. Si R = NH₂, on choisira R' = NO₂ et alors l'étape b) consistera à réduire NO₂ en NH₂, notamment par le chlorure stanneux en milieu acide fort. Si R = COOH, on choisira pour R' un ester d'alkyle correspondant et l'étape b) consistera à hydrolyser cet ester.

25 L'étape c) d'alkylation est effectuée de manière classique, dans un solvant polaire neutre tel que le diméthylformamide (DMF) au reflux.

L'étape d) de métallation, peut aussi être effectuée dans le DMF au reflux, notamment en présence de 2,4,6-collidine.

30 Selon une variante, les étapes c) et d) peuvent être inversées.

L'invention concerne aussi l'utilisation des composés (I) pour la préparation de molécules hybrides à usage thérapeutique, comprenant, par exemple une métalloporphyrine (I) reliée à un intercalant tel que la 9-mé-

35

thoxy-ellipticine, ce qui permet de disposer de molécules ayant l'activité biologique de chacun des deux composants.

Les exemples suivants illustrent l'invention.

Les spectres de résonance magnétique nucléaire ont été obtenus sur un appareil Bruker 250 WM FT. Les spectres de masse ont été obtenus soit sur un appareil Ribermag R1010 pour les spectres en DCI (NH_3), Varian Mat 311A en désorption de champ ou ZAB pour les spectres en FAB et les spectres UV-visible sur un appareil Varian-Cary 2300.

EXEMPLE 1

Pentaacétate de 5-(4-aminophényl)-10, 15, 20-tris(N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine de manganèse (III) et dérivés apparentés.

a) 5-(4-nitro-phényl)-10, 15, 20-tris(4-pyridyl)-porphyrine

Un mélange de 3 g (0,020 mole, 1,75 eq.) de nitro-4-phényl carboxaldéhyde dans 158 ml d'acide propionique et 8 ml d'anhydride acétique est chauffé à 110°C sous agitation. A cette solution, on ajoute lentement 3,2 ml (0,034 mole, 3 eq.) de pyridine-4-carboxaldéhyde puis 3,1 ml (0,045 mole, 4 eq.) de pyrrole et on porte le mélange au reflux pendant 1 h 30. Revenu à la température ambiante, le mélange est évaporé à sec neutralisé avec une solution aqueuse d'ammoniaque. Après filtration, le précipité est lavé plusieurs fois avec du dichlorométhane. La phase organique est ensuite concentrée puis purifiées sur une colonne de silice sèche (éluant : dichlorométhane puis dichlorométhane/éthanol : 95/5). Produit isolé = 0,526 g ; Rdt = 7,1 %.

CCM : Rf = 0,51 (éluant : $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$ 95/5).

UV-visible (CHCl_3) λ (ϵ) : 640 ($1,1 \times 10^3$) ; 586 ($2,0 \times 10^3$) ; 546 ($2,8 \times 10^3$) ; 512 ($6,7 \times 10^3$) ; 418 ($1,6 \times 10^5$) (bande de Soret).

RMN ^1H (CDCl_3) ; δ : 9,06 (d, 6H, J = 5,9 Hz, protons

7

2,6-pyridine) ; 8,87 (m, 6H, β -pyrrole ; 8,81 (d, 2H, J = 4,9 Hz, β -pyrrole) ; 8,66 (d, 2H, J = 8,60 Hz, protons 2,6-nitro-4-phényl) ; 8,38 (d, 2H, J = 8,60 Hz, protons 3,5-nitro-4-phényl) ; 8,15 (d, 6H, J = 5,9 HZ, protons 3,5-pyridine) ; 2,89 (s, 2H, NH pyrrole).

Analyse : (dans les calculs, on a considéré qu'il y avait une molécule d'eau de solvatation), $C_{41}H_{26}N_8O_2 \cdot H_2O$.

	C	H	N
10 Calculé %	72,34	4,15	16,46
Trouvé %	72,87	4,06	16,93

b) 5-(4-amino-phényl)-10, 15, 20-tris(4-pyridyl)-porphyrine

15 A 0,252 g (0,38 mmole) de la porphyrine (a) dans 18 ml d'acide chlorhydrique 6N, on ajoute 0,672 g (3 mmoles, 8 eq.) de chlorure stanneux dihydraté et on laisse le mélange sous agitation à température ambiante pendant 15 h. Le mélange est ensuite neutralisé avec de la soude 1 N puis extrait au dichlorométhane. La phase organique est lavée à l'eau puis séchée sur sulfate de magnésium. Le solvant est évaporé à sec. Le résidu repris dans du dichlorométhane est précipité par l'addition de l'hexane (CH_2Cl_2 /hexane : 1/10) puis filtré et séché sous vide.

Produit isolé = 0,21 g : Rdt = 87 %.

CCM : Rf = 0,23 (éluant : CH_2Cl_2 /EtOH 95/5)

UV-visible ($CHCl_3$) λ (ϵ) : 652 ($3,0 \times 10^3$) ; 590 ($3,2 \times 10^3$) ; 554 ($4,5 \times 10^3$) ; 516 ($7,8 \times 10^3$) ; 420 ($8,8 \times 10^4$) (bande de Soret).

Masse (DCI) : M^+ = 633 et (FD) : $M^+ - H$ = 632

RMN 1H (DMSO-d6 à 303 K) δ : 9,15 (d, 6H, J = 5,50 Hz, p-2,6 pyridine) ; 8,98 (m, 8H, β -pyrrole) ; 8,36 (d, 6H, J = 5,50, Hz, p-3,5-pyridine) ; 7,99 (d, 2H, J = 8,20 Hz, p-2,6-amino-4-phényl) ; 7,14 (d, 2H, J = 8,20 Hz,

8

p-3,5-amino-4-phényl) ; 5,87 (s, 2H, NH₂) ; -2,80 (s, 2H, NH pyrrole).

05 c) 5-(4-benzoyl-amino-phényl)-10, 15, 20-tris-(4-pyridyl)-porphyrine

0,010 ml (0,086 mmole, 1,8 eq.) de chlorure de benzoyle est ajouté goutte à goutte à une solution de 0,030 g (0,047 mmole) de la porphyrine (b) dans 3 ml de pyridine anhydre maintenue dans un bain de glace.
10 Le mélange est agité pendant 1 h à 0°C. Au bout de ce temps, le solvant est évaporé à sec et le résidu est repris dans du dichlorométhane. Cette solution est lavée à l'eau distillée, avec de la soude à 5 % puis à l'eau distillée. La phase organique est séchée sur
15 sulfate de magnésium puis évaporée à sec. Le résidu est séché sous vide.

Produit isolé = 0,025 g ; Rdt = 71 %.

20 RMN¹H (DMSO-d₆ à 297 K) δ 10,72 (s, 1H, NH) ; 8,96 (d, 6H, J = 5,3 Hz, protons 2,6 pyridine) ; 8,93 (d, 2H, J = 4,7 Hz, β - pyrrole) ; 8,83 (s, 4H, β - pyrrole) ;
8,82 (d, 2H, J = 4,7 Hz, β - pyrrole) ; 8,22 (m, 10H, protons 3,5 pyridine et phényl) ; 8,11 (d, 2H, J = 8,0 Hz, protons 2,6 amino-4-phényl) ; 7,65 (m, 3H, protons 3,5 amino-4-phényl et phényl-para) ; -2,85 (s, 2H, NH
25 pyrrole).

d) Pentaacétate de 5-(4-amino-phényl)-10, 15, 20-tris(N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine de manganèse (III).

30 A 0,030 g (0,05 mmole de porphyrine (c) dans 3 ml de DMF, on ajoute 0,062 ml (0,047 mmole, 10 eq.) de 2,4,6 collidine puis 0,047 mmole (10 eq.) de sel de manganèse, de fer, de zinc ou de nickel. Le mélange est porté au reflux pendant 3 heures puis on le laisse sous agitation à température ambiante pendant 15 heures.
35 Le solvant est évaporé à sec et le résidu est lavé à

l'eau puis, purifié sur une colonne sèche d'alumine neutre (éluant : dichlorométhane puis dichlorométhane/éthanol). A la métalloporphyrine ainsi obtenue dans 3 ml de DMF, on ajoute l'iodure de méthyle (10 eq.) et le mélange est agité à la température ambiante pendant 15 heures. Le mélange est ensuite évaporé à sec. La déprotection du groupement amine se fait par addition d'une solution d'ammoniaque 9 M. Le mélange est alors agité à 70°C pendant 3 h. puis 15 h. à température ambiante. Au bout de ce temps, le mélange est évaporé à sec puis traité à l'acide chlorhydrique 6M, évaporé à sec et repris dans du méthanol.

L'addition de résine essorée d'échangeurs d'ions de type Amberlite IRN 78 sous forme acétate (4 eq.) à cette solution suivie d'une agitation de 3 heures à la température ambiante permet, après filtration puis évaporation du solvant, d'obtenir l'acétate du titre. Le produit est ensuite purifié par trituration avec de l'éther.

Sa formule développée ($M = Mn$, $X = CH_3COO$) est représentée sur la figure annexée. On a obtenu de la même manière le dérivé de fer, de zinc et de nickel correspondant en remplaçant l'acétate de manganèse ($Mn(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$) respectivement par $FeCl_2 \cdot 4H_2O$; $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ ou $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ (10 eq. chaque fois). Rendements de 60 à 70 %.

Dérivé du manganèse : UV-visible (H_2O à $7,73 \times 10^{-6} M$) $\lambda (\epsilon)$ 596 ($3,9 \times 10^3$) ; 554 ($8,6 \times 10^3$) ; 464 ($7,5 \times 10^3$).

Dérivé du zinc : UV-visible (H_2O à $23,9 \times 10^{-6} M$) $\lambda (\epsilon)$ 606 ($2,5 \times 10^3$) 562 ($5,0 \times 10^3$) 432 ($5,8 \times 10^4$).

Dérivé du nickel : UV-visible (H_2O à $14,3 \times 10^{-6} M$) $\lambda (\epsilon)$ 568 ($4,9 \times 10^3$) 530 ($1,0 \times 10^4$) 417 ($1,1 \times 10^5$).

e) Variante de préparation du triacétate de 5-4-

amino-phényl)-10,15,20-tris(N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine par méthylation de la porphyrine (a) suivie d'une réduction de la fonction nitro

05 A 0,016 g (0,024 mmole) de porphyrine (a) dans 20 ml de DMF, on ajoute un large excès d'iodure de méthyle (1 ml). Le mélange est agité à 40°C pendant 2 h puis le solvant est évaporé à sec. Le résidu est repris dans 3 ml d'acide chlorhydrique 6N. Après addition du chlorure stanneux dihydraté, l'agitation est maintenue
10 à température ambiante pendant 15 h. Le solvant est ensuite évaporé à sec. Le résidu est repris dans du méthanol.

L'addition de résine essorée d'échangeurs d'ions de type Amberlite IRN 78, sous forme acétate (4 eq.) à
15 cette solution, suivie d'une agitation de 3 h à la température ambiante, permet, après filtration puis évaporation du solvant, d'obtenir l'acétate correspondant. Le résidu est repris dans de l'eau et après un passage sur une colonne LH20, la porphyrine est purifiée.

20 Rdt = 83 %.

RMN¹H(CD₃COOD) δ 9,51 (m, 6H, protons 2,6 pyridine) ; 9,04 (m large, 14H, β -pyrrole et protons 3,5 pyridine) ; 8,35 (m, 2H, protons 2,6 amino-4-phényl) ; 7,80 (m, 2H, protons 3,5 amino-4-phényl) ; 4,92 (m, 9H, N-méthyl-4-pyridyl).

f) Iodure de 5-(4-triméthyl-amino-phényl)-10,15,20-tris(N-méthyl-4-pyridyl) porphyrine

30 A 0,014 g (0,02 mmole) de porphyrine (b) dans 4 ml de DMF, on ajoute goutte à goutte 0,014 ml (0,2 mmole, 10 eq.) d'iodure de méthyle et on porte le mélange au reflux pendant 3 heures. La solution est ensuite agitée à la température ambiante pendant 15 heures, puis le solvant est évaporé à sec. Le résidu est trituré avec
35 du dichlorométhane, du méthanol, puis de l'acétone.

11

Après filtration, le produit est séché sous vide. Produit isolé = 0,019 g ; Rdt = 83 %.

UV-visible (MeOH/AcOH) : $\lambda(\epsilon)$: 655 ($1,3 \times 10^3$) ; 590 (4×10^3) ; 560 (4×10^3) ; 515 ($1,3 \times 10^4$) ; 421 ($7,0 \times 10^4$) (bande de Soret).

Masse (FD) : m/e = 660

RMN¹H (DMSO-d₆ à 303 K) δ : 9,60 (d, 6H, J = 5,9 Hz, p-2,6-pyridine) ; 9,27 (m, 8H, β -pyrrole) ; 9,13 (d, 6H, J = 5,9 Hz, p-3,5-pyridine) ; 8,18 (d, 2H, J = 8,6 Hz, p-2,6-amino-4-phényl) ; 7,34 (d, 2H, J = 8,6 Hz, p-3,5-amino-4-phényl) ; 4,86 (s large, 9H, N-méthyl-4-pyridyl), 3,46 (s large, 9H, N(CH₃)₃) ; -2,73 (s, NH pyrrole).

g) Pentaacétate de 5-(4-triméthyl-amino-phényl)-10, 15, 20-tris (N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine de manganèse (III)

A 0,053 g (0,05 mmole) de iodure de porphyrine (c) dans 4 ml de DMF, on ajoute 0,062 ml (0,047 mmole, 10 eq.) de 2,4,6-collidine puis 0,047 mmole (10 eq.) d'acétate de manganèse, Mn (CH₃COO)₂·4H₂O. Le mélange est porté au reflux pendant 3 heures, puis on le laisse sous agitation à température ambiante pendant 15 heures. Le solvant est évaporé à sec et le résidu est lavé à l'eau puis repris dans du méthanol. L'addition de résine essorée d'échangeurs d'ions de type Amberlite IRN 78 sous forme acétate (4 eq.) à cette solution suivie d'une agitation de 3 heures à la température ambiante permet, après filtration puis évaporation du solvant, d'obtenir l'acétate du titre. Le produit est ensuite purifié par précipitation dans un mélange méthanol/acétone. Rdt = 80 %. P.F. supérieure à 240°C.

La formule développée de ce composé est représentée à la dernière page de la description.

h) Variante de préparation par inversion des étapes

FEUILLE DE REMPLACEMENT

f) et g) précédentes.

A 0,030 g (0,05 mmole de porphyrine (c) déprotégée dans 3 ml de DMF, on ajoute 0,062 ml (0,047 mmole, 10 eq.) de 2,4,6 collidine puis 0,047 mmole (10 eq.) de sel de manganèse, $(\text{Mn CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, de fer ou de zinc. Le mélange est porté au reflux pendant 3 heures, puis on le laisse sous agitation à température ambiante pendant 15 heures. Le solvant est évaporé à sec et le résidu est lavé à l'eau puis, purifié sur une colonne sèche d'alumine neutre (éluant : dichlorométhane puis dichlorométhane/éthanol). A la métalloporphyrine ainsi obtenue dans 3 ml de DMF, on ajoute l'iodure de méthyle (10 eq.) et on porte le mélange au reflux pendant 4 heures puis, on le laisse agiter à la température ambiante pendant 15 heures. Le mélange est ensuite évaporé à sec puis repris dans du méthanol. L'addition de résine essorée d'échangeurs d'ions de type Amberlite IRN 78 sous forme acétate (4 eq.) à cette solution suivie d'une agitation de 3 heures à la température ambiante permet, après filtration puis évaporation du solvant, d'obtenir l'acétate du titre. Le produit est ensuite purifié par précipitation dans un mélange méthanol/acétone. Rdt = 82 %. Sa formule développée ($\text{M} = \text{Mn}$, $\text{X} = \text{CH}_3\text{COO}$) est représentée sur le dessin annexé. On a obtenu de la même manière le dérivé de fer et de zinc correspondant en remplaçant l'acétate de manganèse respectivement par $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ou $\text{Zn} (\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (10 eq. chaque fois).

EXEMPLE 2

Dérivés hydroxyphényliques de porphyrine.

i) 5-(4-hydroxyphényl)-10,15,20-tris(4-pyridyl)-porphyrine

Un mélange de 3,19 g (0,026 mole; 1,75 eq.) de hydroxy-4-phenylcarboxaldéhyde dans 205 ml d'acide propionique et 10 ml d'anhydride acétique est chauffé à

13

110°C sous agitation. A cette solution, on ajoute lentement 4,27 ml (0,045 mole ; 3 eq.) de pyridine-4-carboxaldéhyde, puis 4,13 ml (0,06 mole ; 4 eq.) de pyrrole et on porte le mélange au reflux pendant 1 h 30. Revenu à la température ambiante, le mélange est évaporé à sec et neutralisé avec une solution aqueuse d'ammoniaque. Après filtration, le précipité est lavé plusieurs fois avec du dichlorométhane. La phase organique est ensuite concentrée puis purifiée sur une colonne de silice sèche (éluant : dichlorométhane/éthanol 95/5). Produit isolé = 0,52 g ; Rdt = 5,5 % ; ccm : $R_f = 0,14$ (éluant : CH_2Cl_2 /éthanol, 95/5).

UV-visible (CHCl_3 à $7,2 \times 10^{-6}$ M) λ (ϵ) 642 ($3,2 \times 10^3$) ; 587 ($7,9 \times 10^3$) ; 545 ($9,4 \times 10^3$) ; 511 ($2,8 \times 10^4$) ; 416 ($5,1 \times 10^5$) (bande de Soret).

RMN¹H (CDCl_3 à 294 K) δ 9,04 (d, 6H, J = 5,2 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,95 (d, 2H, J = 4,8 Hz, β -pyrrole) ; 8,86 (m, 6H, β -pyrrole) ; 8,20 (d, 2H, J = 8,3 Hz, protons 2,6-phénoxy-4) ; 8,16 (d, 6H, J = 5,5 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 7,52 (d, 2H, J = 8,3 Hz, protons 3,5-phénoxy-4) ; 2,80 (q, 2H, J = 7,5 Hz, CH_2CH_3) ; 2,50 (m, 2H, OH) ; 1,42 (t, 3H, J = 7,5 Hz, CH_3CH_2) ; -2,89 (s, 2H, NH pyrrole).

Analyse : dans les calculs, on a considéré également une molécule d'éthanol de solvatation,

$\text{C}_{41}\text{H}_{27}\text{N}_7\text{O}, \text{EtOH}$.

Calculé % : C, 75,96 ; H, 4,97 ; N, 14,43 ;

Trouvé % : C, 76,08 ; H, 4,77 ; N, 13,09.

j) Cis-5,10-bis(4-hydroxy-phényl)-15,20-bis(4-pyridyl)-porphyrine

Lors de la purification sur colonne de silice sèche du mélange réactionnel du paragraphe précédent, nous obtenons également la cis-5,10-bis(4-hydroxy-phényl)-15,20-bis(4-pyridyl)-porphyrine (éluant : CH_2Cl_2 /

14

EtOH, 97,5/2,5) : produit isolé = 0,74 g ; Rdt = 7,7 % ; ccm : Rf = 0,21 (éluant : CH₂Cl₂/EtOH, 95/5).

UV-visible (dans CHCl₃ à 7,2 x 10⁻⁶M) λ (ϵ) 642 (2,1 x 10³) ; 586 (4,4 x 10³) ; 546 (5,8 x 10³) ; 512 (1,5 x 10⁴) ; 415 (3 x 10⁵) (bande de Soret).

05 RMN¹H (CDCl₃) δ 9,03 (d, 4H, J = 5,8 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,94 (d, 2H, J = 4,9 Hz, β -pyrrole) ; 8,91 (s, 2H, β -pyrrole) ; 8,84 (s, 2H, β -pyrrole) ; 8,81 (d, 2H, J = 4,9 Hz, β -pyrrole) ; 8,20 (d, 4H, J = 8,5 Hz, protons 2,6-phénoxy-4) ; 8,17 (d, 4H, J = 5,8 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 7,51 (d, 4H, J = 8,5 Hz, protons 3,5-phénoxy-4) ; 2,80 (q, 2H, J = 7,5 Hz, CH₂CH₃) ; 1,42 (t, 3H, J = 7,5 Hz, CH₃CH₂) ; -2,88 (s, 2H, NH pyrrole).

15 Analyse : dans les calculs, on a considéré qu'il y avait 1,75 molécules d'éthanol de solvation, C₄₂H₂₈N₆O₂, 1,75 EtOH.

Calculé % : C, 74,95 ; H, 5,28 ; N, 11,53.

Trouvé % : C, 74,33 ; H, 4,99 ; N, 11,23.

20 k) 5-(4-pyridil)-10,15,20-tris(4-hydroxy-phényl)-porphyrine

De la même manière que précédemment, nous obtenons la 5-(4-pyridyl)-10,15,20-tris(4-hydroxy-phényl)-porphyrine (éluant : dichlorométhane). Produit isolé = 0,62 g ; Rdt = 6,3 % ; ccm : R_f = 0,31 (éluant : CH₂Cl₂/EtOH 95/5).

UV-visible (dans CHCl₃ à 1,2 x 10⁻⁵M) λ (ϵ) 642 (2,6x10³) ; 587 (4,4 x 10³) ; 548 (5,5 x 10³) ; 512 (1,3 x 10⁴) ; 416 (3,3 x 10⁵) (bande de Soret).

30 RMN¹H(CDCl₃) δ 9,02 (d, 2H, J = 5,9 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,91 (d, 2H, J=4,9 Hz, β -pyrrole) ; 8,89 (s, 4H, β -pyrrole) ; 8,79 (d, 2H, J=4,9 Hz, β -pyrrole) ; 8,20 (d, 6H, J=8,4 Hz, protons 2,6-phénoxy-4) ; 8,16 (d, 2H, J=5,9 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 7,51 (d, 6H, J=8,4 Hz, protons 3,5-phénoxy-4) ; 2,79 (q, 2H, J = 7,5 Hz, CH₂CH₃) ;

15

1,58 (m, 6H, OH) ; 1,42 (t, 3H, J = 7,5 Hz, $\underline{\text{CH}_3\text{CH}_2}$) ; -2,86 (s, 2H, NH pyrrole).

Analyse : dans les calculs, on a considéré qu'il y avait deux molécules d'éthanol de solvatation,

05 $\text{C}_{43}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_3 \cdot 2\text{EtOH}$.

Calculé % : C, 74,67 ; H, 5,47 ; N, 9,27 ;

Trouvé % : C, 74,49 ; H, 5,06 ; N, 8,45.

1) Acétate de 5-(4-hydroxyphényl)-10,15,20-tris
10 (4-pyridyl)-porphyrine de manganèse.

La réaction de métallation s'effectue selon le même mode opératoire décrit pour la porphyrine (g) de l'exemple 1.

Masse (FAB⁺) : m/e 687 (M⁺).

15

m) Triacétate de 5-(4-hydroxyphényl)-10,15,20-tris(N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine.

La méthylation de la porphyrine de l'exemple (i) par l'iodure de méthyle dans du DMF suivie d'une
20 réaction d'échange d'ions iodure en acétate se fait selon la méthode décrite dans l'exemple (f).

(Rdt = 88 %).

25 RMN¹H (CD₃COOD) δ 9,46 (m, 6H, protons 2,6-pyridine) ; 9,35 (m, 2H, β -pyrrole) ; 9,14 (m, 4H, β -pyrrole) ; 8,99 (m, 6H, protons 3,5-pyridine) ; 8,71 (m, 2H, β -pyrrole) ; 8,15 (d, 2H, J = 7,6 Hz, protons 2,6-phénoxy-4) ; 7,56 (d, 2H, J = 7,6 Hz, protons 3,5-phénoxy-4) ; 4,91 (s large, 9H, N-Me).

30 n) Tétracétate de 5-(4-hydroxyphényl)-10,15,20-tris(N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine de manganèse (III).

La métallation de la porphyrine (i) avec de l'acétate de manganèse suivie d'une réaction de méthy-
35 lation par l'iodure de méthyle se font dans les mêmes

FEUILLE DE REMPLACEMENT

16

conditions que pour l'exemple 1 (h) et après l'échange des contre-ions iodure en acétate sur une résine échangeuse d'ions, on obtient le produit attendu.

Produit isolé = 0,018 g ; Rdt = 76 %.

05 UV-visible (dans H_2O à $6,1 \times 10^{-6} M$) $\lambda (\epsilon)$ 600
($2,9 \times 10^3$) ; 560 ($6,6 \times 10^3$) ; 464 ($7,3 \times 10^4$) (bande de Soret).

EXEMPLE 3

10 Dérivés amino-propyloxyphényliques de porphyrine.

o) 5-/4-(3-amino-propyloxy)-phényl/-10,15,20-tris
(4-pyridyl)-porphyrine.

A une solution de 0,051 g (0,8 mmole) de la porphyrine de l'exemple (i) dans 3 ml de DMF sont ajoutés à température ambiante 0,65 g (16,4 mmole ; 20,5 eq.) de soude pilée. La couleur de la solution passe de violet au vert et le mélange est agité pendant 15 minutes. 0,017 g (0,88 mmole ; 1,1 eq.) de bromohydrate de bromo-3-propylamine sont ajoutés à cette solution et l'agitation est maintenue pendant 3 h. L'avancement de la réaction est suivie par ccm (plaque de silice ; éluant : $CH_2Cl_2/EtOH$, 50/50). Au bout de ce temps, 0,017 g de bromohydrate de bromo-3-propylamine sont rajoutés et le mélange est encore agité pendant 2 h. On ajoute alors 2 ml de méthanol et 5 ml d'eau distillée au mélange réactionnel. La solution obtenue est extraite au dichlorométhane. La phase organique est lavée à l'eau distillée (2 fois), séchée sur sulfate de sodium et évaporée à sec. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne sèche d'alumine basique (éluant : méthanol/acide acétique 80/20) ; produit isolé = 0,095 g ; Rdt = 85 %.

30 ccm : $R_f = 0,29$ (éluant : $CH_2Cl_2/EtOH$, 80/20 avec 1 % de NH_4OH).

35 UV-visible (dans MeOH à $1,33 \times 10^{-5} M$) $\lambda (\epsilon)$

17

642 ($1,6 \times 10^3$) ; 583 ($3,1 \times 10^3$) ; 544 ($3,8 \times 10^3$) ;
510 ($9,8 \times 10^3$) ; 412 ($1,8 \times 10^5$) (bande de Soret).

RMN¹H (MeOHd₄ à 294K) δ 8,98 (d, 6H, J = 5,5 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,97 (m, 8H, β -pyrrole) ;
05 8,25 (d, 6H, J = 5,5 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 8,18 (d, 2H, J = 8,5 Hz, protons 2,6-phenoxy-4) ; 7,47 (d, 2H, J = 8,5 Hz, protons 3,5-phenoxy-4) ; 5,0 (m, 2H, NH₂) ; 4,53 (t, 2H, J = 5,6 Hz, OCH₂) ; 3,4 (m, 2H, CH₂N) ; 2,45 (quintuplet, 2H, J = 5,5 Hz, CH₂).
10 Masse (DCI/NH₃) : m/e = 692 (M⁺+H) ; fragments : 634 (M⁺-(CH₂)₃NH₂).

p) Cis-5,10-bis/4-(3-amino-propyloxy)-phényl/-
15 15,20-bis(4-pyridyl)-prophyrine.

En poursuivant le même mode opératoire que celui décrit dans l'exemple (o) mais à partir de la porphyrine (j), nous obtenons la porphyrine dipyridyle porteuse de 2 bras en position cis.

Produit isolé = 0,066 g ; Rdt = 79 % ; ccm : R_f = 0
20 (éluant : CH₂Cl₂/EtOH, 80/20).

UV-visible (dans MeOH/CHCl₃, 95/5 à $9,2 \times 10^{-6}$ M) λ (ϵ) 644 ($2,2 \times 10^3$) ; 588 ($3,3 \times 10^3$) ; 548 ($4,9 \times 10^3$) ; 512 ($9,2 \times 10^3$) ; 414 ($1,8 \times 10^7$) (bande de Soret).

RMN¹H (CDCl₃) δ 9,01 (d, 4H, J = 5,8 Hz, protons 2,6-pyridine) 8,92 (d, 2H, J = 4,9 Hz, β -pyrrole) ;
25 8,89 (s, 2H, β -pyrrole) ; 8,81 (s 2H, β -pyrrole) ; 8,77 (d, 2H, J = 4,9 Hz, β -pyrrole) ; 8,14 (d, 4H, J = 5,8 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 8,08 (d, 4H, J = 8,4 Hz, protons 2,6-phenoxy-4) ; 7,27 (d, 4H, J = 8,4 Hz, protons 3,5-phenoxy-4) ; 4,32 (t, 4H, J = 5,9 Hz, OCH₂) ; 3,08 (t, 4H, J = 6,0 Hz, CH₂N) ; 2,32 (m, 4H, CH₂) ; -2,84 (s, 2H, NH pyrrole).
30

Masse (DCI) : m/e 765 (M⁺+2) ; fragments à
35 707 et 649.

FEUILLE DE REMPLACEMENT

18

Analyse : dans les calculs, on a considéré qu'il y avait 3 molécules d'éthanol de solvatation, $C_{48}H_{42}N_8O_2 \cdot 2,5EtOH$.

Calculé % : C, 72,48 ; H, 6,55 ; N, 12,76.

05 Trouvé % : C, 72,00 ; H, 6,67 ; N, 12,44.

.q) Tétracétate de 5-/4-(N-triméthyl-3-aminopropoxy)phenyl/-10,15,20-tris(N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine.

10 La méthylation de la porphyrine (i) par la méthode déjà décrite dans l'exemple (lf) suivie d'un échange des contre-ions iodure en acétate conduit au produit correspondant ; Rdt = 85 %.

15 UV-visible (dans H_2O à $4,4 \times 10^{-6}M$) $\lambda(\epsilon)$ 640 ($1,8 \times 10^3$) ; 580 ($6,4 \times 10^3$) ; 556 ($6,6 \times 10^3$) ; 518 ($1,3 \times 10^4$) ; 422 ($1,9 \times 10^5$) (bande de Soret).

20 RMN¹H(CD₃COOD) δ 9,48 (d, 6H, J = 5,8 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 9,17 (s large, 6H, β -pyrrole) ; 9,08 (d, 2H, J = 4,8 Hz, β -pyrrole) ; 9,00 (d, 6H, J = 5,8 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 8,27 (d, 2H, J = 8,3 Hz, protons 2,6-phényl) ; 7,51 (d, 2H, J = 8,3 Hz, protons 3,5-phenyl) ; 4,91 (s large, 9H, N-Me-4-pyridyl) ; 4,53 (m, 2H, OCH₂) ; 3,87 (m, 2H, NCH₂²) ; 3,41 (s, 9H, -NMe₃) ; 2,63 (m, 2H, -CH₂-).

25 r) Pentaacétate de cis-5,10-bis/4-N-triméthyl-3-aminopropoxy)phenyl / - 15, 20-bis (N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine de manganèse (III).

30 En suivant le même mode opératoire que pour l'exemple (lh), nous obtenons à partir du composé (j) la porphyrine métallée avec le manganèse et méthylée sur les noyaux pyridiniques et portant deux bras 3-triméthyl-aminopropoxy- en para des noyaux phényle.

Produit isolé = 0,015 g ; Rdt = 65 %.

35 UV-visible (dans H_2O à $9,3 \times 10^{-6}M$) $\lambda(\epsilon)$ 600

19

($6,9 \times 10^3$) ; 564 ($1,1 \times 10^4$) ; 467 ($8,7 \times 10^4$) (bande de Soret).

EXEMPLE 4

05 Dérivés (amino-butyryl)aminophénylique de porphyrine.

s) 5-/4-(N-Boc-aminobutyryl)aminophenyl/-10,15, 20-tris-(4-pyridyl)-porphyrine.

Afin de synthétiser ce dérivé, un amino-acide du type N-Boc-(CH₂)_n-COOH est à préparer selon la méthode décrite dans le paragraphe suivant, ici n = 3.

Acide N-Boc-4-aminobutyrique :

A une suspension de 0,4 g (0,004 mole) d'acide 4-amino-butyrique, de 0,155 g (0,004 mole, 1 eq.) d'oxyde de magnésium et de 4 ml de soude 1M dans un mélange dioxane/eau (6/1), sont ajoutés lentement 0,96 g (0,0044 mole, 1,1 eq.) de dicarbonate de di-tert-butyle. Le mélange est agité pendant 20 h à température ambiante. Après filtration, le résidu est lavé à l'eau. Le filtrat est concentré, puis on ajoute l'eau. Après un lavage à l'éther, la phase aqueuse est acidifiée jusqu'à pH = 2-3 avec de l'acide acétique à 10 % puis extraite à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium et évaporée à sec. L'huile orange obtenue est triturée avec l'hexane puis séchée sous vide à 60°C. Le produit obtenu est sous forme de solide blanc.

Produit isolé = 0,716 g ; Rdt = 90 %.

IR (pastille KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 3343(NH et COOH) ; 1689 (large ; COOH et COOtBu).

30 Masse (DCI) : m/e = 204 (M⁺+1) ; 221 (M⁺+18).

RMN¹H(CDCl₃) δ 11,34 (m, 1H, COOH) ; 3,14 (t dédoublé, 2H, J = 6,75 Hz, CH₂N) ; 2,36 (t, 2H, J = 6,8 Hz, CH₂CO) ; 1,79 (quintuplet, 2H, J = 6,8 Hz, -CH₂-) ; 1,41 (s, 9H, tBu).

35

20

A l'aide de ce dérivé, la porphyrine (s) peut se préparer de la façon suivante.

A 0,063 g (0,31 mmole, 3,1 eq.) d'acide N-Boc-4-aminobutyrique dans 6 ml de dichlorométhane anhydre, maintenue dans un bain de glace, on ajoute 0,050 ml (0,36 mmole ; 4 eq.) de triéthylamine, puis 0,029 ml (0,3 mmole ; 3,3 eq.) de chloroformiate d'éthyle et on laisse le mélange agiter à 0°C pendant 30 mn. Le mélange est ensuite évaporé à sec, puis repris dans 6 ml de dichlorométhane sec et refroidi dans un bain de glace. On ajoute 0,050 ml (0,36 mmole) de triéthylamine, puis 0,066 g (0,1 mmole) de la porphyrine de l'exemple (1b).

Le mélange est agité à 0°C pendant 1 h, puis 2 h à température ambiante. Le solvant est ensuite évaporé à sec et le résidu est lavé abondamment à l'eau distillée.

Le résidu est repris dans du dichlorométhane. Cette solution est lavée avec du bicarbonate de sodium à 5 % (2 fois), puis à l'eau distillée (3 fois). La phase organique est séchée sur sulfate de sodium puis évaporée à sec. Le produit obtenu est presque pur, cependant, une purification sur une colonne sèche d'alumine permet l'obtention d'un produit très pur (éluant : CH₂Cl₂/EtOH, 99,5/0,5). Produit isolé = 0,066 g ; Rdt = 77 %.

Masse(FAB⁺) : m/e = 8,19 (M⁺+1) ; fragments : 763 (M-tBu) ; 719 (M-COOtBu) ; 633 (M-C(CH₂)₃NHCOOtBu).

UV-visible (dans CHCl₃ à 2,04 x 10⁻⁶M) λ (ϵ)
642 (2,9 x 10⁴) ; 586 (5,2 x 10⁴) ; 548 (6,8 x 10⁴) ;
512 (1,6 x 10⁵) ; 418 (1,6 x 10⁶) (bande de Soret).

IR (pastille KBr) ν (cm⁻¹) : 3319 (NH) ; 1689 (C=O) ; 1593 (Ar).

RMN¹H(CDCl₃) δ 9,04 (m, 6H, protons 2,6-pyridine) ; 8,97 (d, 2H, J = 4,9 Hz, β -pyrrole) ; 8,84 (s, 4H, β -pyrrole) ; 8,81 (d, 2H, J = 4,9 Hz, β -pyrrole) ; 8,16

21

(d, 6H, J = 5,9 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 8,08 (m, 4H, protons phenoxy) 4) ; 4,27 (m, 2H, CH₂N) ; 2,57 (t, 2H, J = 6,5 Hz, CH₂C=O) ; 2,02 (m, 2H, -CH₂-) ; 1,53 (s, 9H, tBu) ; -2,90 (s, 2H, NH pyrrole).

05

t) Acétate de 5-/4-(N-Boc-aminobutyryl)aminophenyl/-10,15 20-tris(4-pyridyl)-porphyrine de manganèse (III).

La métallation de la porphyrine de l'exemple (s) avec de l'acétate de manganèse dans du DMF selon la méthode déjà décrite dans l'exemple (lg) permet d'obtenir la porphyrine de manganèse attendue.

Produit isolé : m = 0,024 g ; Rdt = 70 %.

UV-visible (dans CHCl₃ à 2,15 x 10⁻⁶) λ (ε) 613 (6,7 x 10⁴) ; 578 (7,4 x 10⁴) ; 475 (8,9 x 10⁵) (bande de Soret).

15

u) 5-/4-(aminoburytyryl)aminophenyl/-10,15,20-tris(4-pyridyl)-porphyrine

Une solution de 0,027 g (0,03 mmole) de la porphyrine (s) dans 14 ml d'une solution à 25 % d'acide trifluoroacétique dans le dichlorométhane est agitée pendant 1 h à température ambiante. Le solvant est ensuite évaporé à sec. Au résidu obtenu est ajouté un large excès d'éther anhydre et une forte agitation est maintenue jusqu'à formation d'un précipité abondant. Après filtration, le précipité est dissous dans l'eau, puis neutralisé avec du bicarbonate de sodium à 5 %. La phase aqueuse ainsi obtenue est extraite au dichlorométhane (3 fois). Les phaes organiques sont rassemblées, séchées sur sulfate de magnésium, puis évaporées à sec. Le produit est purifié par une précipitation à l'aide d'un mélange dichlorométhane/hexane.

25

30

Produit isolé = 0,020 g ; Rdt = 84 % ;

UV-visible (dans CHCl₃ à 3,62 x 10⁻⁶M) λ (ε) 645 (1,1 x 10⁴) ; 588 (1,7 x 10⁴) ; 548 (2,2 x 10⁴) ; 513

35

22

($3,3 \times 10^4$) ; 419 ($6,5 \times 10^5$) (bande de Soret).

IR (lames CaF_2)_n (cm^{-1}) 3200 (NH large) ; 1629 (C=O large).

Masse (FAB⁺) : m/e 719 (M+1)⁺.

05 RMN¹H(CDCl₃) δ 9,3 (d, 6H, J = 5,1 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,83 (m, 8H, β -pyrrole) ; 8,15 (d, 6H, J=5,1 Hz protons 3,5-pyridine) ; 7,97 (d, 2H, J=8,1 Hz, protons 2,6-amino-4-phenyl) ; 7,08 (d, 2H, J=8,1 Hz, protons 3,5-amino-4-phenyl) ; 3,24 (m, 2H, CH₂N) ;
10 2,03 (m, 4H, CH₂C=O et -CH₂) ; -2,90 (m, 2H, NH pyrrole).

v) Pentaacétate de 5-/4-(triméthylaminobutyryl) aminophényl/-10,15,20-tris(N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine de manganèse (III).

15 La métallation de la porphyrine (u) avec de l'acétate de manganèse dans le DMF suivie d'une méthylation avec de l'iodure de méthyle dans le DMF (selon la méthode déjà décrite pour l'exemple (1h) conduit
20 après l'échange de contre-ions iodure en acétate à la métalloporphyrine correspondante.

Produit isolé : 0,021 g ; Rdt = 87 % ;

25 UV visible (dans H₂O à $3,76 \times 10^{-5}$ M) λ (ϵ) 596 ($1,3 \times 10^3$) ; 560 ($2,8 \times 10^3$) ; 462 ($2,8 \times 10^4$) (bande de Soret).

Masse (FAB⁺) : m/e 844.

EXEMPLE 5

30 Préparation d'une molécule hybride métalloporphyrine-intercalant.

a) Bromure de N²-(4-éthoxycarbonyl-butyl)-9-méthoxy-ellipticinium.

35 Un mélange de 9-méthoxy-ellipticine^x (0,102 g ; 0,37 mmole) et de 5-bromo-valérate d'éthyle (0,058 ml ;

FEUILLE DE REMPLACEMENT

0,37 mmole ; 1 eq.) dans 2 ml de DMF anhydre est chauffé à 120°C sous agitation pendant 4 heures. L'agitation est maintenue pendant la nuit à température ambiante puis, on ajoute de l'éther au mélange. Après filtration, la poudre orange obtenue est lavée à l'éther puis séchée sous vide. Produit isolé = 0,156 g ; Rdt = 87 %.

UV-visible (CHCl_3) λ (ϵ) : 406 ($3,9 \times 10^3$) ; 390 ($4,15 \times 10^3$) ; 348 ($3,4 \times 10^3$) ; 332 ($6,5 \times 10^3$).

RMN¹H (DMSO-d₆ à 303 K) δ : 10,11 (s, 1H, H₁) ; 8,57 (d, 1H, J = 7,1 Hz, H₃) ; 8,43 (d, 1H, J = 7,1 Hz, H₄) ; 7,82 (d, 1H, J = 1,9 Hz, H₁₀) ; 7,62 (d, 1H, J = 8,8 Hz, H₇) ; 7,33 (dd, 1H, J = 2,2 Hz, 8,7 Hz, H₈) ; 4,83 (t, 2H, J = 7,1 Hz, (CH₂)₁₂) ; 4,16 (q, 2H, J = 7,1 Hz, (CH₂)₁₇) ; 4,02 (s, 6H, CH₃O) ; 3,44 (s, 3H, (CH₃)₁₁) ; 2,84 (s, 3H, (CH₃)₅) ; 2,53 (t, 2H, J = 7,3 Hz, (CH₂)₁₅) ; 2,16 (m, 2H, (CH₂)₁₃) ; 1,73 (m, 2H, (CH₂)₁₄) ; 1,28 (t, 3H, J = 7,1 Hz, (CH₃)₁₈). Les atomes de carbone du bras ont été numérotés de 12 à 18 en partant de l'azote 2 de la 9-méthoxy-ellipticine (le méthyle de la partie ester ayant le numéro 18).

* Ce composé et son activité ont été notamment décrits dans J. Le Men et Coll., Rev. Europ. Etud. Clin. et Biol. 1970, XV, 534-538.

b) chlorure de N²-(4-carboxybutyl)-9-méthoxy-ellipticinium

0,148 g (0,3 mmole) d'ester (a) dans 14 ml d'acide chlorhydrique 1N sont chauffés au reflux sous agitation pendant 3 heures. L'agitation est maintenue pendant toute la nuit à la température ambiante. Le mélange est ensuite évaporé à sec ; le résidu est repris dans du méthanol et on fait précipiter le produit par l'éther sous forme d'une poudre orange. Après filtration, le produit est séché sous vide. Produit isolé = 0,125 g ; Rdt = 99 %. La présence d'ions chlorure a été vérifiée par un

FEUILLE DE REMPLACEMENT

test avec le nitrate d'argent.

UV-visible ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) $\lambda(\epsilon)$: 452 ($1,29 \times 10^3$) ;
386 ($2,5 \times 10^3$) ; 321 ($1,8 \times 10^4$).

Masse (DCI) = M^+ = 377 Déc. 210°C.

05 RMN¹H (DMSO-d₆ à 303 K) δ : 12,19 (1H, s, COOH) ;
10,22 (1H, s, H₁) ; 8,65 (d, 1H, J = 7,2 Hz, H₃) ; 8,59
(d, 1H, J = 7,2, Hz, H₄) ; 8,05 (d, 1H, J = 2,3 Hz, H₁₀) ;
7,73 (d, 1H, J = 8,7 Hz, H₇) ; 7,44 (dd, 1H, J = 8,7 Hz,
J = 2,3 Hz, H₈) ; 4,84 (t, 2H, J = 7,0 Hz, (CH₂)₁₂) ;
10 4,06 (s, 3H, CH₃O) ; 3,46 (s, 3H, (CH₃)₁₁) ; 3,43
(s, 1H, NH) ; 2,97 (s, 3H, (CH₃)₅) ; 2,45 (t, 2H, J =
7,4 Hz, (CH₂)₁₅) ; 2,16 (m, 2H, (CH₂)₁₃) ; 1,70 (m, 2H,
(CH₂)₁₄).

15 Le chlorure obtenu est dissous dans du méthanol.
L'addition de résine essorée d'échangeurs d'ions de ty-
pe Amberlite IRN 78 sous forme acétate (4 eq.) à cette
solution suivie d'une agitation de 3 heures à la tempé-
rature ambiante permet, après filtration puis évapora-
tion du solvant, d'obtenir l'acétate correspodant. Le
20 produit est ensuite purifié par précipitation dans un
mélange méthanol/éther.

IR (lames NaCl) : ν_{CO} = 1656 cm⁻¹.

UV-visible (CH_3OH) $\lambda(\epsilon)$: 385 ($5,7 \times 10^3$) ;
318 ($5,7 \times 10^4$).

25 En suivant les mêmes procédés de synthèse,
nous avons préparé les bromures de N²-(2-éthoxycarbo-
nyl-éthyl)-9-méthoxy-ellipticinium et de N²-(5-étho-
xycarbonyl-pentyl)-9-méthoxy-ellipticinium ainsi que
leurs homologues porteurs d'une fonction acide :

30

c) Chlorure de N²-(2-carboxyéthyl)-9-méthoxy-ellip-
ticinium

Produit isolé : 0,096 g ; Rdt = 98 %.

35 UV-visible (dans MeOH à $2,2 \times 10^{-5}$) $\lambda(\epsilon)$ 410
($5,3 \times 10^3$) ; 380 ($8,0 \times 10^3$) ; 305 ($6,2 \times 10^4$) ; 295

25

($6,5 \times 10^4$) ; 274 ($5,9 \times 10^4$).

RMN¹H (MeOH-d₄) δ 9,76 (s, 1H, H₁) ; 8,38 (d, 1H, J = 7,0 Hz, H₃) ; 8,31 (d, 1H, J = 7,0 Hz, H₄) ; 7,78 (d, 1H, J = 2,0 Hz, H₁₀) ; 7,54 (d, 1H, J = 8,8 Hz, H₇) ;
 05 7,28 (d, 1H, J = 8,8 Hz, J = 2,0 Hz, H₈) ; 4,98 (m, 1H, (CH₂)₁₂) ; 4,02 (s, 3H, MeO) ; 3,25 (s, 3H, Me₁₁) ; 2,84 (m, 2H, (CH₂)₁₃) ; 2,79 (s, 3H, Me₅).

d) Chlorure de N²-(5-carboxypentyl)-9-méthoxy-ellipticinium.
 10

Produit isolé = 0,170 g ; Rdt = 99 %.

UV-visible (dans MeOH à $3,3 \times 10^{-5}$ M) λ (ϵ) 440 ($2,4 \times 10^3$) ; 382 ($6,1 \times 10^3$) ; 3,13 ($5,5 \times 10^4$).

Masse (DCI) : M⁺ = 391.

15 RMN¹H(DMSO-d₆ à 294K) δ 2,24 (s, 1H, COOH) ; 10,20 (s, 1H, H₁) ; 8,62 (d, 1H, J = 7,0 Hz, H₃) ; 8,56 (d, 1H, J = 7,0 Hz, H₄) ; 8,02 (d, 1H, J = 2,2 Hz, H₁₀) ; 7,72 (d, 1H, J = 8,8 Hz, H₇) ; 7,42 (dd, 1H, J = 8,8 Hz, J = 2,2 Hz, H₈) ; 4,81 (t, 2H, J = 7,2 Hz, (CH₂)₁₂) ;
 20 4,05 (s, 3H, MeO) ; 3,44 (s, 3H, Me₁₁) ; 2,95 (s, 3H, Me₅) ; 2,36 (t, 2H, J = 7,0 Hz, (CH₂)₁₆) ; 2,13 (m, 2H, (CH₂)₁₃) ; 1,70 (m, 2H, (CH₂)₁₅) ; 1,47 (m, 2H, (CH₂)₁₄).

e) Chlorure de 5-/4-/5-(9-méthoxy N²-ellipticinium)-butyryl amino/-phényl/-10,15,20-tris-(4-pyridyl) porphyrine
 25

A 0,054 g (0,13 mmole ; 5,4 eq.) de (b) dans 2 ml de dichlorométhane anhydre, on ajoute 0,023 ml (0,16 mmole ; 6,7 eq.) de la triéthylamine puis 0,021
 30 ml (0,22 mmole ; 9,1 eq.) de chloroformiate d'éthyle et on laisse le mélange sous agitation à température ambiante pendant 30 mn. Le mélange est ensuite évaporé à sec puis repris dans 2 ml de dichlorométhane anhydre. On ajoute 0,023 ml (0,16 mmole) de la triéthylamine
 35 puis 0,015 g (0,024 mmole) de la porphyrine de l'exem-

ple 1 b) et on porte le mélange au reflux pendant 4 heures. L'avancement de la réaction est suivi par CCM. On laisse ensuite le mélange revenir à la température ambiante puis, le solvant est évaporé à sec. Le résidu repris par le dichlorométhane est purifié sur plaque de silice (éluant : EtOH/CH₂Cl₂ 20/80) à l'abri de la lumière. Le produit est repris par du méthanol et de l'acide acétique. Le filtrat est évaporé à sec, lavé à l'eau distillée puis séché sous vide. Produit isolé = 0,011 g ; Rdt = 45 %.

Masse (FD) : M⁺-H = 991.

UV-visible (CH₃OH/AcOH : 99/1) λ (ϵ) : 318 (7,6 x 10⁴) ; 414 (5,2 x 10⁴) ; 508 (3,7 x 10³).

RMN¹H (DMSO-d₆ à 303 K) δ : 10,32 (s, 1H, H₁) ; 9,16 (d, 6H, J = 5,3 Hz, p-2,6-pyridine) ; 9,01 (m, 8H, β -pyrrole) ; 8,73 (m, 1H, H₃) ; 8,67 (m, 1H, H₄) ; 8,38 (d, 6H, J = 5,3 Hz, p-3,5-pyridine) ; 8,21 (m, 4H, amino-4-phényl) ; 8,09 (s élargi, 1H, H₁₀) ; 7,76 (d, 1H, J = 8,7 Hz, H₇) ; 7,44 (d élargi, 1H, J = 8,7 Hz, H₈) ; 4,96 (m, 2H(CH₂)₁₂) ; 4,10 (m, 1H, NH) ; 4,02 (s, 3H, CH₃O) ; 3,53 (s, 3H, Me₁₁) ; 3,01 (s, 3H, Me₅) ; 2,34 (m, 2H, (CH₂)₁₅) ; 2,10 (m, 4H, (CH₂)₁₃ et 14) ; -2,90 (s, 2H, NH pyrrole).

25 f) tétraacétate de 5- $\left\{ \begin{array}{l} 4-/5-(9\text{-méthoxy-N}^2\text{-ellipti-} \\ \text{cinium)-butyrylamino/phényl} \end{array} \right\}$ -10,15,20-tris(N-méthyl-4-pyridyl)porphyrine

Le résidu de l'étape (e) précédente est repris dans 3 ml de DMF sec, 0,021 ml (0,34 mmole, 10 eq.) d'iodure de méthyle est ajouté puis, on porte le mélange au reflux pendant 3 heures. On laisse le mélange sous agitation à la température ambiante pendant 15 heures. Le solvant est ensuite évaporé à sec et le résidu est lavé à l'eau plusieurs fois. Après filtration, le précipité est trituré avec l'acétone puis filtré et

séché sous vide. Produit isolé = 0,041 g ; Rdt = 76 %.

UV-visible (MeOH) λ (ϵ) : 655 ($2,19 \times 10^3$) ;
592 ($3,4 \times 10^3$) ; 555 ($5,0 \times 10^3$) ; 519 ($8,4 \times 10^3$) ;
425 ($1,00 \times 10^5$), (bande de Soret) ; 318 ($5,9 \times 10^4$).

05 L'échange d'ions iodure en acétate s'effectue
avec de bons rendements à partir d'une solution méthano-
nolique de ce produit ajoutée à la résine essorée
d'échangeurs d'ions de type Amberlite IRN 78 sous forme
acétate. Après 2-3 heures d'agitation à la température
10 ambiante, le mélange est filtré et le solvant
éaporé à sec. Le résidu est trituré avec de l'acétone,
filtré et séché sous vide (Rdt = 80 %).

UV-visible (MeOH) λ (ϵ) : 652 ($1,7 \times 10^3$) ;
590 ($1,5 \times 10^3$) ; 545 ($2,3 \times 10^3$) ; 512 ($5,3 \times 10^3$) ;
15 415 ($7,7 \times 10^4$), (bande de Soret) ; 318 ($2,7 \times 10^4$).

Masse (FAB⁺ dans HCl) ; 1091.

RMN¹H (DMSO-d₆ à 296 K) δ : 10,32 (s, 1H, H₁) ;
9,16 (d, 6H, J = 5,1 Hz, p-2,6-pyridine) ; 9,00
(m, 8H, β -pyrrole) ; 8,73 (m, 1H, H₃) ; 8,61 (m, 1H,
20 H₄) ; 8,37 (d, 6H, J = 5,1 Hz, p-3,5-pyridine) ; 8,24
(s, 4H, amino-4-phényl) ; 8,03 (s, 1H, H₁₀) ; 7,73
(d, 1H, J = 8,70 Hz, H₇) ; 7,42 (dd, 1H, J = 8,70 Hz,
J = 2,4 Hz, H₈) ; 4,98 (m, 2H, (CH₂)₁₂) ; 4,01 (s, 3H,
OCH₃) ; 3,70 (s, 3H, Me₁₁) ; 3,48 (s, 9H, CH₃) ; 2,98
25 (s, 3H, Me₅) ; 2,33 (m, 2H, (CH₂)₁₅) ; 2,13 (m, 4H,
(CH₂)₁₃ et 14) ; 2,03 (s, 3H, CH₃COO⁻) ; -2,91 (s,
2H, NH pyrrole).

Cette molécule peut être métallée de la même
manière que la prophyrine correspondante selon l'exem-
30 ple lg). On préfère toutefois utiliser la méthode sui-
vante combinant les étapes e) et f) du présent exemple.

g) méthode générale de synthèse de métalloporphy-
rines hydrosolubles liées à une molécule d'intercalant
35 consistant en la 9-méthoxy-ellipticine.

FEUILLE DE REMPLACEMENT

A 0,070 g (0,17 mmole, 4,8 eq.) de (b) dans 3 ml de dichlorométhane anhydre (ceci est également applicable à (c) et (d)), on ajoute 0,037 ml (0,26 mmole ; 7,6 eq.) de triéthylamine, puis 0,035 ml (0,37 mmole ; 10,6 eq.) de chloroformiate d'éthyle et on laisse le mélange
05 agiter à la température ambiante pendant 30 mn. Le mélange est ensuite évaporé à sec, puis repris dans 3 ml de dichlorométhane sec. On ajoute 0,037 ml (0,26 mmole) de triéthylamine, puis 0,022 g (0,35 mmole) de la pro-
10 phyrine de l'exemple 1 b) et on porte le mélange au reflux pendant 4 h. Le mélange est ensuite évaporé à sec, puis repris dans 3 ml de DMF anhydre, 0,050 ml (0,38 mmole, 11 eq.) de 2,4,6-collidine, puis 0,39 mmole (11 eq.) de sel de manganèse, de fer ou de zinc ($Mn(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$; $FeCl_2 \cdot 4H_2O$; $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$) sont ajoutés à la
15 solution. Le mélange est chauffé à 140°C pendant 3 h, puis on le laisse agiter à la température ambiante pendant 15 h. Le solvant est ensuite évaporé à sec. Le résidu est lavé à l'eau distillée, puis purifié sur une
20 colonne sèche d'alumine neutre (éluant : CH_2Cl_2 puis $CH_2Cl_2/MeOH$).

La métalloporphyrine ainsi obtenue est reprise dans 3 ml de DMF anhydre. L'iodure de méthyle (10 eq.) est ajouté à la solution. On porte le mélange au reflux
25 pendant 3 h, puis on le laisse agiter pendant 15 h à la température ambiante. Le solvant est évaporé à sec et le résidu repris dans du méthanol. L'addition de résine essorée d'échangeurs d'ions de type Amberlite IRN 78, sous forme acétate (4 eq.) à cette solution, suivie
30 d'une agitation de 3 h à la température ambiante, permet, après filtration puis évaporation du solvant, d'obtenir l'acétate correspondant. Le résidu est ensuite lavé au dichlorométhane, puis recristallisé dans un mélange méthanol/acétone. Les rendements et les données physico-chimiques des différentes molécules hybrides sont
35

décrits ci-après.

- 05 Molécules hybrides "intercalant-métalloporphyrine" résultant du couplage entre la porphyrine de l'exemple (1b) et l'ellipticinium de l'exemple (5b) (longueur du bras reliant les deux entités est de 7 chaînons) Rdt = 60-80 %.
- 10 UV-visible (H_2O) λ (ϵ) pour les trois composés hybrides métallés, respectivement les dérivés :
- (Mn) : 565 ($4,8 \times 10^3$) ; 465 ($3,7 \times 10^4$), (bande de Soret) ; 316 ($4,7 \times 10^4$) ;
- (Fe) : 430 ($2,7 \times 10^4$), bande de Soret ; 315 ($2,4 \times 10^4$) ;
- 15 (Zn) : 615 ($5,01 \times 10^3$) ; 570 ($9,9 \times 10^3$) ; 442 ($9,5 \times 10^4$) , bande de Soret ; 3,15 ($6,1 \times 10^4$).
- Masse (FAB⁺) : pour (Mn) : 1182 et pour (Fe) : 1183.
- 20 Les métalloporphyrines Mn et Fe étant paramagnétiques, nous ne pouvons décrire que le spectre RMN¹H du composé (Zn) :
- RMN¹H (DMSO d₆ à 303 K) δ : 10,24 (s, 1H, H₁) ; 9,54 (d, 6H, J = 5,2 Hz, p-2,6-pyridine) ; 9,10 (s, 4H, amino-4-phényl) ; 9,00 (m, 8H, β -pyrrole) ; 8,62 (m, 25 2H, H₃ et H₄) ; 8,20 (m, 6H, p-3,5-pyridine) ; 8,09 (s élargi, 1H, H₁₀) ; 7,77 (d, 1H, J = 8,7 Hz, H₇) ; 7,45 (d, 1H, J = 8,7 Hz, H₈) ; 5,02 (m, 2H, (CH₂)₁₂) ; 4,83 (s large, 9H, N-Me) ; 4,04 (s, 3H, OCH₃) ; 3,55 (s, 3H, Me₁₁) ; 3,03 (s, 3H, Me₅) ; 2,34 (m, 2H, (CH₂)₁₅) ; 2,12 (m, 4H, (CH₂)₁₃₊₁₄) ; 2,02 (s, 3H, CH₃COO⁻).
- 30

*Molécules hybrides "intercalant-métalloporphyrine" résultant du couplage entre la porphyrine de l'exemple

30

(1b) et l'ellipticinium de l'exemple (5d). (longueur du bras reliant les deux entités est de 8 chaînons).

05 Pentaacétate de 5- { 4-/6-(9-méthoxy-N²-ellipticinium)-pentanoyl/amino-phényl } -10,15,20-tris-(N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine de manganèse (III).

Rdt = 79 %.

10 UV-visible (H₂O à 1,86 x 10⁻⁵M) λ (ϵ) 600 (4,3 x 10³) ; 564 (7,4 x 10³) ; 464 (1,6 x 10⁴) (bande de Soret) ; 314 (5,6 x 10⁴).

15 Tétracétate de 5- { 4-/6-(9-méthoxy-N²-ellipticinium)-pentanoyl/amino-phényl } amino-phényl -10,15,20-tris-(4-pyridyl)-porphyrine de zinc (II).

Rdt = 79 %.

UV-visible (dans MeOH à 3,0 x 10⁻⁶M) λ (ϵ) 594 (5,3 x 10³) ; 554 (1,6 x 10⁴) ; 420 (4,22 x 10⁵) (bande de Soret) ; 314 (6,3 x 10⁴).

20 La résolution en RMN étant meilleure, le dérivé non quaternarisé sur les pyridinium est décrit :

25 RMN¹H (DMSO-d₆ à 330 K) δ 10,30 (s, 1H, H₁) ; 9,12 (d, 6H, J = 5,00 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,94 (m, 8H, β -pyrrole) ; 8,72 (d, 1H, J = 7,10 Hz, H₃) ; 8,62 (d, 1H, J = 6,85 Hz, H₄) ; 8,32 (d, 6H, J = 5,0 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 8,17 (m, 4H, protons amino-4-phenyl) ; 8,07 (d, 1H, J = 2,10 Hz, H₁₀) ; 7,70 (d, 1H, J = 8,70 Hz, H₇) ; 7,39 (d, 1H, J = 8,70 Hz ; J = 2,20 Hz, H₈) ; 4,93 (m, 2H, (CH₂)₁₂) ; 3,98 (s, 3H, MeO) ; 3,52 (s, 3H, Me₁₁) ; 2,97 (s, 3H, Me₅) ; 2,29 (m, 2H, (CH₂)₁₆) ; 1,95 (m, 4H, (CH₂)₁₃ et 15) ; 1,65 (m, 2H, (CH₂)₁₄).

30

35 *Molécules hybrides "intercalant-métalloporphyrine" résultant du couplage entre la porphyrine de l'exemple 3 (o) et l'ellipticinium de l'exemple (5b) (longueur du

bras reliant les deux entités est de 11 chaînons).

- La métalloporphyrine de manganèse (III) (N-méthyl-4-pyridyl) correspondante :

Rdt = 65 %.

05 UV-visible (H_2O à $1,1 \times 10^{-5} M$) λ (ϵ) 596 ($1,9 \times 10^3$) ; 564 ($3,6 \times 10^3$) ; 464 ($3,5 \times 10^4$) (bande de Soret) ; 314 ($2,3 \times 10^4$).

- La métalloporphyrine de zinc (4-pyridyl) correspondante (la résolution en RMN étant meilleure, le dérivé non quaternarisé sur les pyridinium est décrit) :

Zn(PP)(py)₃: $-Ph-O-CH_2^{19}-CH_2^{18}-CH_2^{17}-NH(CO)-CH_2^{15}-CH_2^{14}-CH_2^{13}-CH_2^{12}-N^+-Ellip$

Rdt = 60 %.

15 UV-visible (dans MeOH à $1,6 \times 10^{-6} M$) λ (ϵ) 596 ($6,3 \times 10^3$) ; 554 ($2,2 \times 10^4$) ; 420 (5×10^5) (bande de Soret) ; 314 ($7,5 \times 10^4$).

Masse(FAB⁺) : m/e 1114(M⁺).

20 RMN¹H (DMSO-d₆ à 303 K) δ 10,26 (s, 1H, H₁) ; 9,11 (d, 6H, J = 4,65 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,93 (m, 8H, β -pyrrole) ; 8,66 (d, 1H, J = 6,75 Hz, H₃) ; 8,58 (d, 1H, J = 5,75 Hz, H₄) ; 8,32 (d, 6H, J = 4,65 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 8,15 (d, 2H, J = 8,45 Hz, protons 2,6-phénoxy-4) ; 8,01 (s élargi, 1H, H₁₀) ; 7,65 (d, 1H, J = 8,60 Hz, H₇) ; 7,43 (d, 2H, J = 8,45 Hz, protons 3,5-phénoxy-4) ; 7,35 (d, 1H, J = 8,8 Hz, H₈) ; 4,88 (m, 2H, (CH₂)₁₂) ; 4,39 (m, 2H, (CH₂)₁₉) ; 4,00 (s, 3H, MeO) ; 3,45 (s, 3H, Me₁₁) ; 2,91 (s, 3H, Me₅) ; 2,39 (m, 2H, (CH₂)₁₅) ; 2,17 (m, 4H, (CH₂)₁₃ et 18) ; 1,76 (m, 4H, (CH₂)₁₄ et 17).

30

* Molécules hybrides résultant du couplage entre la porphyrine de l'exemple 4 (u) et l'ellipticinium (5b) (longueur du bras reliant les deux entités est de 12 chaînons) :

35

32

- La métalloporphyrine de manganèse (III) (N-méthyl-4-pyridyl) correspondante :

Rdt = 47 %.

UV-visible (MeOH à $1,1 \times 10^{-5} M$) $\lambda(\epsilon)$ 598 ($3,6 \times 10^3$) ; 556 ($1,3 \times 10^4$) ; 421 ($2,8 \times 10^5$) ; 315 ($5,7 \times 10^4$).

La résolution en RMN étant meilleure, le dérivé zinc non quaternarisé sur les pyridinium est décrit :

Zn(PP) (py)₃ :

-O-NH(CO)-CH₂¹⁹-CH₂¹⁸-CH₂¹⁷-NH(CO)-CH₂¹⁵-CH₂¹⁴-CH₂¹³-
 CH₂¹²-N⁺-Ellip

RMN¹H (DMSO-d₆ à 303 K) δ 10,21 (s, 1H, H₁) ;
 9,10 (d, 6H, J = 5,60 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,98
 (d, 2H, J = 4,7 Hz, β -pyrrole) ; 8,93 (s, 4H, β -pyrrole) ;
 8,89 (d, 2H, J = 4,7 Hz, β -pyrrole) ; 8,63 (d, 1H, J =
 7,10 Hz, H₃) ; 8,52 (d, 1H, J = 7,10 Hz, H₄) ; 8,31 (d,
 6H, J = 5,60 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 8,19 (s élargi,
 4H, protons amino-4-phenyl) ; 7,96 (d, 1H, J = 2,10 Hz,
 H₁₀) ; 7,68 (d, 1H, J = 8,78 Hz, H₇) ; 8,38 (d, 1H, J =
 8,78 Hz, J = 2,2 Hz, H₈) ; 4,87 (t, 2H, J = 6,80 Hz,
 (CH₂)₁₂) ; 3,99 (s, 3H, MeO) ; 3,39 (s, 3H, Me₁₁) ; 2,90
 (s, 3H, Me₅) ; 2,39 (t, 2H, J = 6,90 Hz, (CH₂)₁₉) ; 2,18
 (m, 4H, (CH₂)₁₃ et 18) ; 1,99 (t, 2H, J = 6,90 Hz,
 (CH₂)₁₅) ; 1,76 (m, 4H, (CH₂)₁₄ et 17).

* Molécules hybrides résultant du couplage entre la métalloporphyrine de l'exemple 3(o) et de l'éllipticinium de l'exemple (5d) (longueur du bras reliant les deux entités est de 12 chaînons) :

- La métalloporphyrine de manganèse (III) (N-méthyl-4-pyridyl) :

Rdt = 44 %.

UV-visible (H₂O à $5,3 \times 10^{-6} M$) $\lambda(\epsilon)$ 620 ($5,2 \times 10^3$) ; 674 ($8,5 \times 10^3$) ; 466 ($7,4 \times 10^4$) (bande de Soret) ;
 315 ($7,5 \times 10^4$).

35

- La métalloporphyrine de zinc (4-pyridyl) :

Rdt = 41 %.

UV-visible (MeOH à $8,7 \times 10^{-6} \text{M}$) λ (ϵ) 600
 (3,7 x 10³) ; 558 (1,2 x 10⁴) ; 422 (2,4 x 10⁵) ;
 05 316 (7,6 x 10⁴).

La résolution en RMN étant meilleure, le dérivé zinc non quaternarisé sur les pyridinium est décrit :

Zn(PP)(py)₃ :

-Ph-O-CH₂²⁰-CH₂¹⁹-CH₂¹⁸-NH(CO)-CH₂¹⁶-CH₂¹⁵-CH₂¹⁴-CH₂¹³-
 10 CH₂¹²-N⁺-Ellip.

RMN¹H (DMSO-d₆ à 303 K) δ 10,09 (s élargi, 1H, H₁) ;
 9,10 (d, 6H, J = 4,30 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,97
 (d, 2H, J = 4,70 Hz, β -pyrrole) ; 8,91 (s, 4H, β -pyrrole) ;
 8,89 (d, 2H, J = 4,70 Hz, β -pyrrole) ; 8,56 (d, 1H, J =
 15 6,10 Hz, H₃) ; 8,43 (d, 1H, J = 6,10 Hz, H₄) ; 8,31 (d,
 6H, J = 4,30 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 8,19 (d, 2H, J =
 8,40 Hz, protons 2,6-phénoxy-4) ; 7,89 (s élargi, 1H,
 H₁₀) ; 7,67 (d, 1H, J = 8,50 Hz, H₇) ; 7,42 (d, 2H, J =
 8,40 Hz, protons 3,5-phénoxy-4) ; 7,37 (d, 1H, J = 8,50
 20 Hz, H₈) ; 4,79 (m, 2H, (CH₂)₁₂) ; 4,34 (m, 2H, (CH₂)₂₀) ;
 3,98 (s, 3H, MeO) ; 3,27 (s, 3H, Me₁₁) ; 3,01 (s, 3H, Me₅) ;
 2,31 (t, 2H, J = 6,60 Hz, (CH₂)₁₆) ; 2,13 (m, 4H, (CH₂)₁₃
 et 19) ; 1,78 (m, 4H, (CH₂)₁₅ et 18) ; 1,50 (m, 2H, (CH₂)₁₄).

25 Pour chacun de ces composés, on n'observe aucun point de fusion en-dessous de 240°C.

Activités biologiques des métalloporphyrines hydro-solubles selon l'invention.

L'activité cytotoxique a été déterminée sur des cellules leucémiques murines de type L1210 selon une méthode déjà décrite (par C. Paoletti, S. Cros et Coll., Chem. Bio. Interact., 25, 45 (1979)). L'effet sur la croissance cellulaire est exprimé en termes de dose inhibant 50 % de la croissance cellulaire (DI₅₀). Seules les valeurs des DI₅₀ inférieures à 2 μM peuvent être considérées comme significatives sur le plan biologique.
 35

FEUILLE DE REMPLACEMENT

Les résultats de cytotoxicité sont rassemblés dans le tableau 1. Seuls les composés porphyriniques ayant un métal central susceptible d'atteindre de hauts degrés d'oxydation ou capables de conduire à des espèces métal-oxo en présence d'oxygène ou de dérivés réduits de l'oxygène présentent une cytotoxicité appréciable : c'est le cas des complexes du manganèse. Les composés métallés avec le zinc n'ont pas de toxicité significatives (tableau 1). Le composé métallé avec le fer, possède une toxicité plus faible que le composé analogue avec le manganèse.

Les produits les plus intéressants de cette série sont les dérivés hydrosolubles du manganèse décrits dans les exemples, avec un, deux ou trois groupes pyridinium et un, deux ou trois groupes phényle portant une fonction amine ou alcool, permettant ainsi d'accrocher par l'intermédiaire d'un bras cette molécule à une autre entité ("vecteur") présentant une affinité pour les acides nucléiques. Ces dérivés métalloporphyriniques peuvent conduire à la synthèse de molécules hybrides cytotoxiques avec un vecteur (intercalant, oligonucléotides, oligopeptides, protéines ou fragments de protéines) adapté à la cible biologique (cellules tumorales, virus, ...). Nous avons décrit de tels exemples (intercalants) dans l'exemple 5.

Par ailleurs, ces molécules cytotoxiques présentent une activité nucléase sur de l'ADN in vitro. Cette activité a été mise en évidence en étudiant les coupures sur la forme superenroulée (forme I) - de l'ADN de bactériophage ϕ X 174 (voir tableau 2).

L'efficacité de coupure avec le composé (1h), possédant trois groupes pyridinium est très nette. En effet, il ne reste que 13 % de la forme I au bout de 2 mn en présence de 250 nM de métalloporphyrine et 5 μ M d'hydrogénéopersulfate de potassium, KHSO_5 . Il s'agit là de

coupures simples brins, puisque la forme II (ADN duplex circulaire avec une coupure) s'accumule avant de conduire à la forme III (ADN duplex linéaire). Les conditions expérimentales et les détails de la méthode d'analyse sont indiqués dans la référence Fouquet et Coll. (cf. page 1).

Activités biologiques des molécules hybrides

Nous avons choisi comme molécule hybride une métalloporphyrine (I) reliée à un intercalant de la série pyrido-carbazole comme vecteur, à savoir la 9-méthoxy-ellipticine.

La molécule hybride la plus cytotoxique est celle où le métal central est le manganèse (DI_{50} du composé (5f) = 0,58 μM , voir tableau 1). Le composé analogue avec le fer reste toujours cytotoxique (DI_{50} = 3,2 μM), par contre la toxicité devient beaucoup plus faible lorsque le métal est le zinc. Ceci confirme que le métal de la partie porphyrinique joue un rôle essentiel dans l'expression de la toxicité de ces molécules hybrides. Ce même effet du métal central a été observé pour les métalloporphyrines sans vecteur.

Il faut noter que la molécule de l'exemple 5 présente toujours une activité nucléase importante, bien que plus faible que l'exemple 1(h). La quasi-complète transformation de la forme I en forme II est obtenue à une concentration de 4 μM en composé (5f).

Les molécules hybrides selon l'invention peuvent être considérées comme les premiers modèles biologiquement actifs de la bléomycine, médicament antitumoral agissant par dégradation oxydante de l'ADN en présence de sels métalliques (Sausville et Coll., *Biochemistry*, 17, 2740 (1978)).

En conclusion, les métalloporphyrines hydrosolubles et portant une fonction pour l'accrochage de vecteurs

selon l'invention présentent à la fois une activité cyto-
toxique sur des cellules tumorales et une capacité à cou-
per les acides nucléiques in vitro.

Ces deux activités biologiques sont conservées
05 lorsque ces mêmes métalloporphyrines sont reliées par
l'intermédiaire d'un bras à un vecteur capable de moduler
l'affinité ou l'interaction de ces molécules cytotoxiques
vis-à-vis des acides nucléiques (les vecteurs peuvent
être des intercalants, cas décrits ci-dessus, des oligo-
10 nucléotides, oligo- ou polypeptides, ou des polyamines,
...).

Il s'agit là d'une nouvelle série originale de mo-
lécules cytotoxiques ayant pour cible les acides nucléiques.
La large gamme des vecteurs qui leur sont associables per-
15 met d'envisager une activité cytotoxiques sur des cellules
de type très différent : cellules tumorales, virus, ...

Les composés de l'invention sont donc utilisables
en thérapeutique, notamment comme antitumoraux, antileucé-
miques et antiviraux. L'invention a aussi pour objet les
20 compositions pharmaceutiques contenant ces composés ainsi
qu'un véhicule ou excipient pharmaceutiquement acceptable.

TABLEAU 1
EFFETS IN VITRO SUR DES CELLULES L1210 DE QUELQUES
COMPOSES SELON L'INVENTION

Composé de l'exemple	DI_{50} (μM)
1 h) (Mn)	0,54
1 h) (Fe)	2,1
1 h) (Zn)	10,9
30 2 n) (Mn)	0,68
5 b)	> 23
5 f) (Mn)	0,58
5 g) (Mn)	0,84
5 f) (Fe)	3,2
35 5 f) (Zn)	> 7,5

TABLEAU 2
OBSERVATION PAR ELECTROPHORESE SUR GEL D'AGAROSE
DES EFFETS ENDONUCLEASES

05	Composé	Conditions			
		1 μM en métalloprophyrine			
		5 μM en KHSO_5			
		temps de pré-incubation (ADN + métalloprophyrine): a) 20 mn, b)			
10		1 mn temps d'incubation (avec oxydant) : 2 mn			

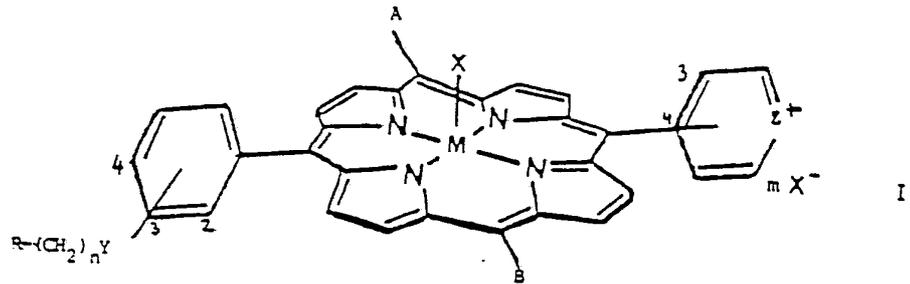
	Produit	Formes	I	II	III
15	(ADN témoin)		85 %	15 %	-
	1 h) (Mn) (250 nM) ^a		13 %	78 %	9 %
	1 h) (Mn) (250 nM) ^b		63 %	37 %	-
	1 h) (Fe) (250 nM) ^b		75 %	25 %	-
	1 h) (Zn) (250 nM) ^b		85 %	15 %	-
20	1 h) (Mn) (1 μM) ^a		-	59 %	41 %
	5 f) (Mn) (1 μM) ^a		32 %	65 %	3 %
	5 f) (Mn) (4 μM) ^a		-	71 %	10 %
	5 f) (Fe) (4 μM) ^a		58 %	31 %	-

REVENDICATIONS

1. Dérivés de métalloporphyrines selon l'invention répondant à la formule générale

05

10



dans laquelle A et B représentent chacun

15



et

Z^+ représente N^+-R_1 ou $C-N^+R_1R_2R_3$, R_1 étant un groupe aliphatique droit ou ramifié en C_1 à C_{10} , et

20 R_2 et R_3 étant chacun un atome d'hydrogène ou un groupe aliphatique droit ou ramifié en C_1 à C_{10} ,

R représente un groupe NH_2 , OH , $COOH$ ou $-N(R_1)_3$, ou un atome d'halogène,

n est 0 ou un entier de 1 à 10, le groupe alkylène correspondant pouvant être droit ou ramifié,

25

M représente un métal de transition,

X^- représente l'anion d'un acide carboxylique pharmaceutiquement acceptable, m étant un entier de 1 à 5, et

Y représente une liaison ou un radical $-O-$, $-CO-$ ou

30

2. Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce que R_1 représente un groupe méthyle ou éthyle.

3. Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce que R_2 et R_3 représentent chacun un atome

35

d'hydrogène.

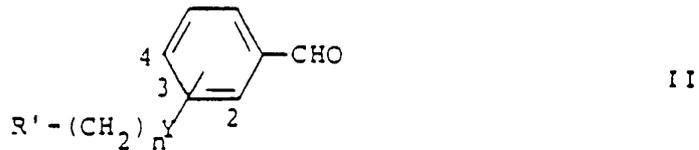
4. Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce que M représente Mn ou Fe.

5. Composés selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisés en ce que Z représente le groupe $N^+ R_1$.

6. Le Pentaacétate de 5-(4-aminophényl)-10,15,20-tris(N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine de manganèse (III).

7. Procédé de préparation des composés (I) selon la revendication 1, caractérisé par les étapes suivantes :

(a) condensation d'un phényl-carboxaldéhyde de formule



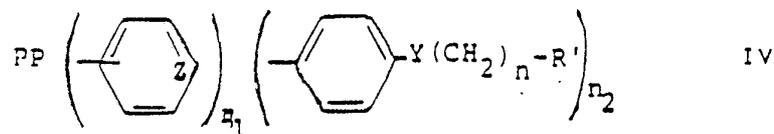
dans laquelle n et Y ont la même signification que dans la formule I et R' le groupe R éventuellement protégé de la formule I,

et d'un aldéhyde de formule



25 dans laquelle Z' représente N ou $\text{>C-NR}_2\text{R}_3$, R_2 et R_3 ayant la même signification que dans la formule I, avec le pyrrole en milieu acide, de façon à obtenir une porphyrine (PP) tétrasubstituée en position 5,10,15,20 de formule générale

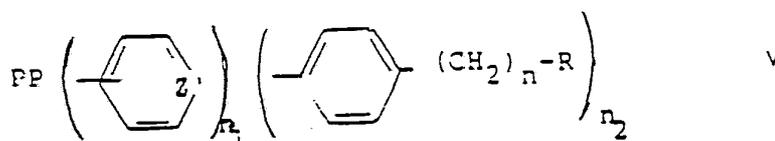
30



35

dans laquelle R', n, Y et Z' ont les mêmes significations que dans les formules II et III respectivement, et n_1 et n_2 sont des entiers de 1 à 3 avec $n_1+n_2=4$,

05 b) le cas échéant, le composé IV est soumis à une déprotection du radical R' pour obtenir une porphyrine tétrasubstituée en 5, 10, 15, 20 de formule générale

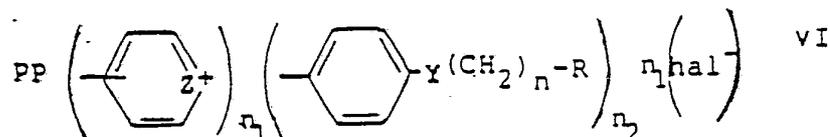


10

dans laquelle Z' a la même signification que dans la formule III, PP, n_1 et n_2 sont comme dans la formule IV et n, Y et R ont la même signification que dans la formule I,

15 c) le composé de formule V, après protection éventuelle de la fonction R, est soumis à une réaction d'alkylation à l'aide d'un halogénure $R_1\text{-hal}$, R_1 ayant la même signification que dans la formule I et hal désignant le brome ou d'iode, de manière à obtenir une porphyrine

20 tétrasubstituée en 5, 10, 15, 20 de formule générale



25

et

d) ce composé est métallé à l'aide d'un sel MX_p , M et X ayant la même signification que dans la formule I et p correspondant à la valence du métal M.

30 8. Procédé selon la revendication 4, caractérisé en ce que les étapes c) et d) sont inversées.

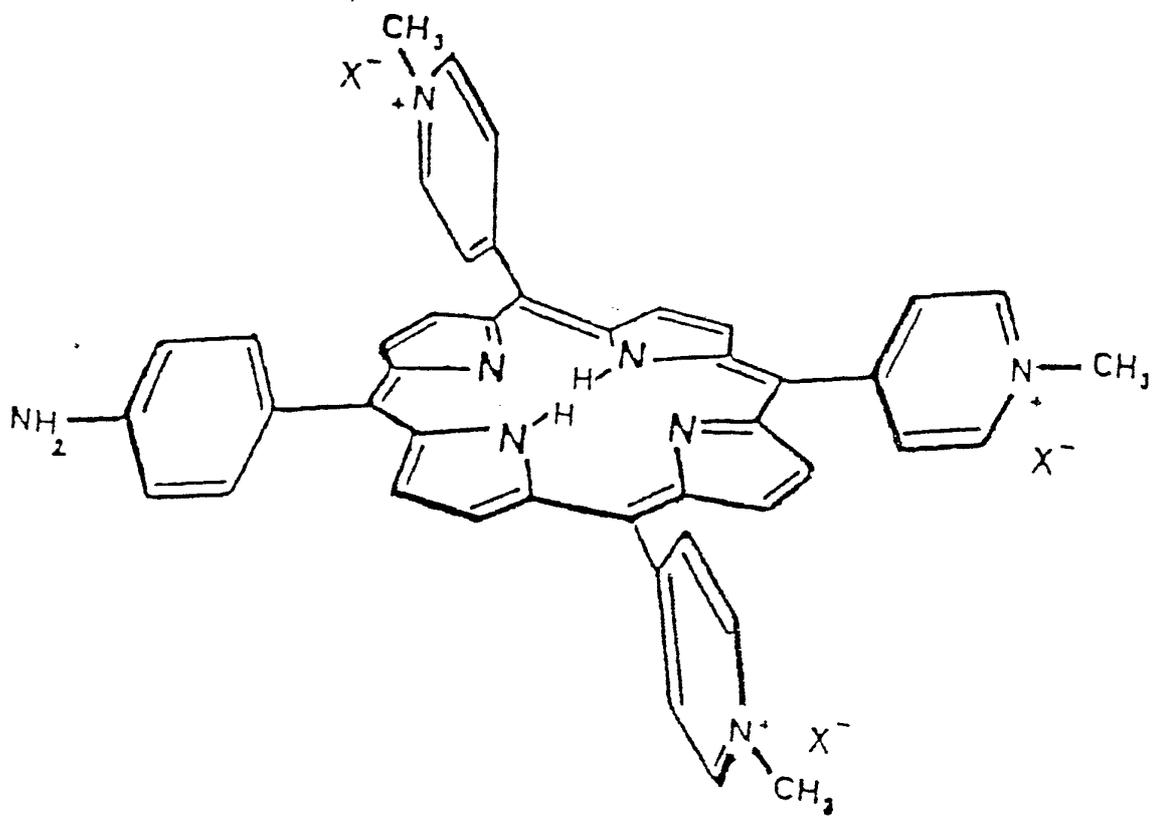
9. Composition pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle contient un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, et un véhicule ou excipient

35 pharmaceutiquement acceptable.

10. Utilisation des composés selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, pour la préparation de molécules hybrides à usage thérapeutique.

05 11. Utilisation selon la revendication 9, caractérisée en ce que la molécule hybride est obtenue avec la 9-méthoxy-ellipticine.

1/1



FEUILLE DE REMPLACEMENT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No. PCT/FR 89/00279

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all) ⁶		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC Int.Cl. ⁴ C 07 D 487/22, A 61 K 31/40, //(C 07 D 487/22, 257:00 209:00, 209:00, 209:00, 209:00)		
II. FIELDS SEARCHED		
Minimum Documentation Searched ⁷		
Classification System	Classification Symbols	
Int.Cl. ⁴	C 07 D 487/00, A 61 K 31/00	
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched ⁸		
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ⁹		
Category [*]	Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³
A	EP, A, 0186962 (EFAMOL) 9 July 1986, see claim 1 --	1,9
A	EP, A, 0118913 (SHUDO) 19 September 1984, see claim 1; page 1, lines 11-17 cited in the application --	1,9
A	US, A, 4386087 (CITY UNIVERSITY, NEW YORK) 31 May 1983, see claim -----	1,9
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>[*] Special categories of cited documents: ¹⁰</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&" document member of the same patent family</p> </div> </div>		
IV. CERTIFICATION		
Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report	
29 August 1989 (29.08.89)	22 September 1989 (22.09.89)	
International Searching Authority	Signature of Authorized Officer	
EUROPEAN PATENT OFFICE		

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.**

FR 8900279

SA 29384

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 15/09/89
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A- 0186962	09-07-86	AU-B- 578329	20-10-88
		AU-A- 5036785	05-06-86
		CA-A- 1257202	11-07-89
		JP-A- 61130220	18-06-86
		US-A- 4837221	06-06-89
EP-A- 0118913	19-09-84	JP-A- 60126291	05-07-85
		US-A- 4658023	14-04-87
US-A- 4386087	31-05-83	None	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale N° PCT/FR 89/00279

I. CLASSEMENT DE L'INVENTION (si plusieurs symboles de classification sont applicables, les indiquer tous) ⁷		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB CIB ⁴ : C 07 D 487/22, A 61 K 31/40, //(C 07 D 487/22, 257:00, 209:00, 209:00, 209:00, 209:00)		
II. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTÉ		
Documentation minimale consultée ⁸		
Système de classification	Symboles de classification	
CIB ⁴	C 07 D 487/00, A 61 K 31/00	
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où de tels documents font partie des domaines sur lesquels la recherche a porté ⁹		
III. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS ¹⁰		
Catégorie *	Identification des documents cités, ¹¹ avec indication, si nécessaire, des passages pertinents ¹²	N° des revendications visées ¹³
A	EP, A, 0186962 (EFAMOL) 9 juillet 1986, voir revendication 1 --	1,9
A	EP, A, 0118913 (SHUDO) 19 septembre 1984, voir revendication 1; page 1, lignes 11-17 cité dans la demande --	1,9
A	US, A, 4386087 (CITY UNIVERSITY, NEW YORK) 31 mai 1983, voir revendication -----	1,9
<p>* Catégories spéciales de documents cités: ¹¹</p> <p>« A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>« E » document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>« L » document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>« O » document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>« P » document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> <p>« T » document ultérieur publié postérieurement à la date de dépôt international ou à la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>« X » document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive</p> <p>« Y » document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.</p> <p>« & » document qui fait partie de la même famille de brevets</p>		
IV. CERTIFICATION		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale	
29 août 1989	22 SEP 1989	
Administration chargée de la recherche internationale	Signature du fonctionnaire autorisé	
OFFICE EUROPEEN DES BREVETS	T.K. WILLIS	

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE
RELATIF A LA DEMANDE INTERNATIONALE NO.**

FR 8900279
SA 29384

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche internationale visé ci-dessus.
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 15/09/89
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP-A- 0186962	09-07-86	AU-B- 578329	20-10-88
		AU-A- 5036785	05-06-86
		CA-A- 1257202	11-07-89
		JP-A- 61130220	18-06-86
		US-A- 4837221	06-06-89
EP-A- 0118913	19-09-84	JP-A- 60126291	05-07-85
		US-A- 4658023	14-04-87
US-A- 4386087	31-05-83	Aucun	

EPO FORM P0472