



THÈSE

Préparée à l'

Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne

UMR CNRS 6302

École doctorale Carnot-Pasteur (n°533)

Présentée par

Elisa Chazeau

Pour l'obtention du titre de

Docteur de l'Université Bourgogne Franche-Comté

Discipline : Chimie

Développement de sondes fluorescentes azaBODIPYs multifonctionnelles pour l'imagerie *in vivo*

Thèse présentée et soutenue le 06 décembre 2024, devant la commission d'examen :

Pr. Éléna ISHOW	Professeure des Universités <i>Université de Nantes</i>	Rapporteuse
Dr. Mayeul COLLOT	Directeur de recherche <i>Université de Strasbourg</i>	Rapporteur
Pr. Benoit BUSSER	Professeur des Universités, Praticien Hospitalier <i>Université de Grenoble</i>	Examineur
Dr. Benjamin GIBERT	Chargé de recherche <i>CRCL, Université Claude Bernard Lyon 1</i>	Examineur
Pr. Franck DENAT	Professeur des Universités <i>Université Bourgogne Franche-Comté, Dijon</i>	Examineur
Dr. Christine GOZE	Maître de conférences <i>Université Bourgogne Franche-Comté, Dijon</i>	Directrice de thèse
Dr. Catherine PAUL	Directrice d'études <i>EPHE-PSL, Dijon</i>	Co-directrice de thèse

Développement de sondes fluorescentes azaBODIPYs multifonctionnelles pour l'imagerie *in vivo*

Mots clés : Imagerie moléculaire, azaBODIPY, bioconjugaison, temps de vie de fluorescence, NIR-II

La chirurgie joue toujours un rôle incontournable dans le traitement des cancers, et ce malgré l'émergence des thérapies ciblées. Cependant durant l'opération, il est parfois difficile pour le chirurgien de visualiser avec précision les marges tumorales ainsi que les petites lésions cancéreuses. La chirurgie assistée par fluorescence est alors une solution fiable pour une meilleure détection des tumeurs en temps réel. Néanmoins, l'utilisation *in vivo* de la fluorescence est encore aujourd'hui entravée par le manque de sondes performantes capables d'émettre dans le proche infrarouge (i.e. au-dessus de 700 nm). De plus, la spécificité insuffisante des traceurs fluorescents et la profondeur de pénétration restreinte au sein des tissus liée à cette modalité d'imagerie, limitent l'exploitation du potentiel de la fluorescence *in vivo*. Ces travaux de thèse ont eu pour but de lever une partie de ces verrous, que ce soit en utilisant des fluorophores avec une émission centrée dans le NIR-II (1000–1700 nm), en mesurant le temps de vie de fluorescence des composés ou

en développant des systèmes fluorescents activables. L'ensemble de ces travaux se sont concentrés sur une famille de fluorophores aux propriétés prometteuses, les azaBODIPYs. Dans un premier temps, la fonctionnalisation d'un cœur azaBODIPY hydrosoluble, possédant des propriétés de fluorescence NIR-II uniques, a été étudiée et souligne l'influence des groupements introduits sur les performances des agents d'imageries finaux. Ensuite, le fort potentiel en imagerie en temps de vie de fluorescence des azaBODIPYs a été mis en lumière en tirant parti de leurs temps de vie particulièrement longs *in vivo* (>1,5 ns). Une stratégie alternative a porté sur la construction de sondes fluorescentes azaBODIPYs pH activables qui ont donné des résultats *in vitro* préliminaires encourageants. Enfin, une approche combinant thérapie et imagerie a été investiguée avec la synthèse d'un ADC (antibody-drug conjugate) traçable dans le NIR-II, permettant de suivre sa localisation *in vivo* sans perturber son action thérapeutique.

Abstract

Development of multifunctional fluorescent azaBODIPYs probes for *in vivo* imaging

Key words: Molecular imaging, azaBODIPY, bioconjugation, fluorescence lifetime, NIR-II

Despite the advent of targeted therapies, surgery remains a crucial component in cancer treatment. However, surgeons often face challenges in precisely visualizing tumor margins and small cancerous lesions during surgical procedures. Fluorescence-guided surgery offers a reliable solution for real-time tumor detection. Yet, the use *in vivo* of fluorescence is still hampered by the lack of high-performance probes capable of emitting in the near infrared region (i.e. above 700 nm). In addition, the insufficient specificity of fluorescent tracers and the limited depth of penetration into tissues associated with this imaging modality further restrict the exploitation of the potential of fluorescence *in vivo*. The aim of this thesis work was to overcome some of these obstacles, whether by using fluorophores with emission centered in the NIR-II region (1000-1700 nm), by measuring the fluorescence lifetime of compounds, or by developing activable

fluorescent systems. This work focused on the use of azaBODIPYs as a promising family of fluorophores. Firstly, the functionalization of a water-soluble azaBODIPY core with unique NIR-II fluorescence properties was studied, emphasizing the influence of the groups introduced on the performance of the final imaging agents. Next, the strong potential of azaBODIPYs for fluorescence lifetime imaging was highlighted by taking advantage of their particularly long lifetimes *in vivo* (>1.5 ns). An alternative strategy, based on azaBODIPYs pH-activable fluorescent probes, showed encouraging preliminary results *in vitro*. Finally, an approach combining therapy and imaging was investigated with the synthesis of an NIR-II-trackable ADC, enabling the monitoring of its localization *in vivo* without disrupting its therapeutic action.