

Une voie d'accès rapide et efficace à de nouveaux rotaxanes glucidiques Application au ciblage spécifique de cellules cancéreuses





Eric Busseron et Frédéric Coutrot

Institut des Biomolécules Max Mousseron, (IBMM) UMR 5247 CNRS-UM2, Bâtiment de Recherche Max Mousseron, Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier 8 Rue de l'Ecole Normale, 34296 Montpellier cedex 5, France

frederic.coutrot@univ-montp2.fr

Introduction

Les architectures moléculaires entrelacées de type [2]rotaxanes sont des entités chimiques possédant deux éléments qui ne sont pas liés entre eux par des liaisons covalentes. Ces composés sont doués de propriétés remarquables, notamment parce que la présence d'un anneau autour d'une molécule linéaire, ainsi que sa localisation, induisent une forte variation des propriétés physicochimiques de ces molécules (différences de fluorescence, de solubilité, de réactivité chimique, de biodisponibilité, de résistance vis-à-vis de la dégradation enzymatique, ...).

Dans le cadre d'un projet original concernant la préparation de machines moléculaires capables de fonctionner dans un milieu physiologique (figure 1), nous nous sommes intéressés à une voie d'accès rapide et efficace à de nouveaux rotaxanes glucidiques. La présence d'une ou plusieurs unités glucidiques dans un rotaxane permettrait une reconnaissance spécifique de lectines, à condition que le ligand soit suffisamment disponible pour son récepteur. En effet, les différences d'encombrement stérique apportées par le macrocycle lorsque ce dernier est à proximité ou plus éloigné de la partie glucidique devraient entraîner des différences d'affinités suffisamment conséquentes pour le ciblage spécifique de cellules cancéreuses.





L'affinité du composé 2 pour la dibenzo-24couronne-8 a été mesurée par spectroscopie RMN ¹H dans CDCl₃ à température ambiante. Le motif anilinium secondaire N-alkylé présent dans le composé 2 s'est avéré avoir une très bonne affinité pour la dibenzo-24-couronne-8. La longueur de la chaîne alkyle séparant les fonctions alcool anilinium est et suffisamment grande pour que la vitesse de désassemblage du semi-rotaxane soit plus longue que le temps de mesure de la RMN. Il résulte l'apparition signaux de en correspondant d'une part, au composé 2 et à la DB24C8 non complexés, d'autre part au semi-rotaxane pour lequel 2 et l'éther interagissent ensemble. couronne La formation du semi-rotaxane augmente avec la quantité d'éther couronne ajouté, et atteint un assez bon ratio de 78/22 quand 2 équivalents de DB24C8 sont ajoutés. Les déplacements chimiques des hydrogènes H₁₂ du semi-rotaxane sont déplacés vers les champs faibles ($\Delta\delta$ =0.55ppm), indiquant la présence d'une interaction de type liaison hydrogène avec les oxygènes de la DB24C8. Les déplacements chimiques des hydrogènes



Figure 1. Description de la machine moléculaire cible envisagé pour fonctionner en milieu physiologique

Avant d'envisager la synthèse de rotaxanes par réaction de glycosylation (schéma 1), une étude préalable de complexation par la dibenzo-24-couronne-8 de l'accepteur de glycoside **2** possédant un « template » de type *N*-alkylanilinium a été réalisée (figure 2). Le couple aniline/anilinium présente comme avantage d'avoir un pKa proche du pH physiologique, ce qui permettrait une translation du macrocycle au voisinage des cellules cancéreuses (celles-ci possèdent un pH extracellulaire légèrement inférieur à celui des cellules saines) et entraînerait ainsi une interaction optimale glucide-récepteur. Avec cet objectif, une nouvelle voie d'accès rapide et efficace à de nouveaux glycorotaxanes a ensuite été envisagée (schéma 1).

Figure 2. Spectres RMN ¹H (400 MHz, $CDCI_3$, 298K) de la formation du semi-rotaxane. Une concentration 10mM de 2 dans $CDCI_3$ est maintenue constante; la concentration de DB24C8 varie de 0 à 25 mM. La droite en pointillés rouges indique la disparition du signal de l'hydrogène H₁₂ du composé 2 non complexé. Les chiffres bleus correspondent aux hydrogènes du composé 2 complexé avec la DB24C8.

 H_8 , H_9 , H_{10} , et dans une moindre proportion H_7 et H_{11} , sont tous déplacés vers les champs forts ($\Delta \delta = -0.59 \text{ à} -0.24 \text{ ppm}$), indiquant la localisation de ces hydrogènes dans le cône de blindage des aromatiques de l'éther couronne. Il est à noter que très peu de variations de déplacements chimiques sont observés pour les hydrogènes aromatiques H_{14} et H_{15} entre le composé **2** et le semi-rotaxane. Cette observation peut être expliquée par une absence d'interactions de type empilement π - π entre les cycles aromatiques riches en électrons de la DB24C8 et le cycle aromatique pauvre en électrons du composé **2**. Enfin, en ce qui concerne la partie éther couronne, les signaux des hydrogènes H_c et H_E du semi-rotaxane apparaissent éclatés, à cause de leur orientation vers les deux terminaisons de l'axe non symétrique. Enfin H_E , et dans une moindre proportion H_D sont blindés dans le semi-rotaxane.



Une approche synthétique de [2]rotaxanes glucidiques par la réaction de glycosylation de Schmidt a été envisagée en série mannose. Le donneur de mannose est activé sous forme de trichloracétimidate, tandis que le groupement participant acétyle a été choisie pour protéger les hydroxyles du sucre. L'accepteur de glucide est l'alcool **2** possédant un motif anilinium, capable d'interagir avec un macrocycle de type éther couronne. Le promoteur acide de Lewis choisi est le triflate de triméthylsilyle TMSOTf. Les résultats de la réaction sont reportés dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1: synthèse des molécules 3a-c, 4 et des rotaxanes 5a-c, 6

En présence de 2.2 équivalents d'éther couronne, à une température de -30°C, la réaction est totale après seulement 1 minute! L'analyse du brut indique la formation de rotaxanes à 91%, dont 74% d'orthoester **6**.

En présence de seulement 1.1 équivalent de DB24C8 dans les mêmes conditions expérimentales, la réaction est fortement ralentie, et une moins bonne sélectivité orthoester 6/ *O*-mannoside 5a est observée. Le rôle de l'éther couronne dans les

Entry	Equiv. 2/DB24C8/1/ TMSOTf	Time (min)	T (°C)	3a (%)	4 (%)	5a (%)	6 (%)	Σ ₁ ^a (%)	Σ 2 ^b (%)
1	1.1/0/1/0.2	5	-15	40	30	-	-	70	-
2	1.1/0/1/0.2	5	0	31	13	-	-	60	-
3	1.1/2.2/1/0.2	1	0	-	-	11	-	11	40
4	1.1/2.2/1/0.2	1	-30	-	-	17	74	-	91
5	1.1/2.2/1/0.2	30	-30	-	-	18	70	-	88
6 ^c	1.1/2.2/1/0.2	5	-75	-	-	-	-	-	-
7 ^d	1.1/1.1/1/0.2	1	-30	4	12	12	20	16	32
8	1.1/1.1/1/0.2	5	-30	5	10	17	42	15	59
9	1.1/1.1/1/0.2	30	-30	3	10	17	40	13	57
10	1.1/1.1/1/0.2	1	-15	5	8	13	32	19	56
11e	1.1/1.1/1/0.2	5	-15	-	-	12	-	14	47
12	1.1/1.1/1/0.2	1	0	7	-	15	-	18	45
13	1.1/1.1/1/0.3	1	-30	4	11	16	33	15	53
14	1.1/1.1/1/0.5	1	-30	4	-	15	-	13	44
1.7	1 1/1 1/1/0 5	1.7	20	7		1.5		17	47

Spectres RMN ¹H des rotaxanes glucidiques

Les spectres RMN ¹H de la DB24C8 et des rotaxanes 5a et 6 confirment la structure entrelacée. Pour les deux rotaxanes, les déplacements chimiques des hydrogènes H_C et H_F de l'éther couronne complexé sont éclatés à cause de leur orientation vers les deux terminaisons de l'axe non symétrique. Les signaux des hydrogènes sont



réactions	de	glycosylation	est							
actuellement étudié.										

Tableau 1. Les rendements indiqués correspondent à des taux de conversion et ont été mesurés par RMN ¹H du brut réactionnel à 400MHz. (a) Σ 1 correspond à la somme des rendements en molécules linéaires (3a-c and 4). (b) Σ 2 correspond à la somme des rendements en rotaxanes (5a-c and 6). (c) seul le trichloracétimidate 1 est observé par RMN ¹H. (d) 42% de trichloroacetamidate 1 n'a pas réagi. (e) il est observé la formation du rotaxane 5b désacétylé en position 2 du squelette glucidique avec un rendement de 26% ainsi que la formation du rotaxane 5c silylé en position 2 du squelette glucidique avec un rendement de 9%.

Si le temps de réaction, la température, ou la quantité d'acide de Lewis est augmenté, le rotaxane orthoester 6 est isomérisé en rotaxane *0*-mannoside 5 avec un rendement d'environ 45% (entrées 11-12 et 14-15). Cette réaction d'isomérisation s'accompagne de dégradation et de la formation de deux autres rotaxanes mannosylés 5b et 5c (désacétylé et silylé en position 2 du squelette glucidique).



Conclusion et perspectives

Alors que le domaine des rotaxanes a été et reste très étudié depuis quelques années, la majorité des travaux reportés dans la littérature se limite aux domaines des nanotechnologies et des matériaux. Pourtant, l'accès à des rotaxanes glucidiques paraît très séduisant, notamment pour la conception de machines moléculaires capable de fonctionner en milieu physiologique. A ce jour, seul un très petits nombre de publications décrivent la préparation de rotaxanes glucidiques, et les quelques méthodes reportées s'avèrent médiocres, tant sur le plan du rendement que sur le plan de la vitesse de réaction. La voie d'accès que nous proposons constitue donc un accès très rapide et très efficace à de nouveaux rotaxanes glucidiques. Il est également à noter qu'à notre connaissance, aucune glycosylation de Schmidt n'avait été réalisée jusqu'à présent avec des alcools possédant une fonction ammonium, les stratégies connues étant d'utiliser des motifs aminés protégés ou des précurseurs de type azoture.

L'extension de la méthode à d'autres glucides et à d'autres protections des fonctions hydroxyles des glucides est actuellement étudiée. Les études de structure-activité et de reconnaissance des rotaxanes glucidiques en fonction de la position du macrocycle le long de la chaîne linéaire sont également en cours.