

Des Glycorotaxanes Originaux dédiés au Ciblage Spécifique de Cellules Cancéreuses



Eric Busseron et Frédéric Coutrot

Equipe Glycochimie, Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM),
UMR 5247 CNRS-Universités Montpellier 2 et 1, France

www.glycorotaxane.fr



Introduction

Les architectures moléculaires entrelacées de type [2]rotaxanes sont des entités chimiques possédant un macrocycle, enfilé sur une molécule linéaire qui possède à chacune de ses extrémités des groupements suffisamment encombrant pour éviter le désassemblage de la structure. Ces composés sont doués de propriétés remarquables, notamment parce que la présence d'un anneau autour de la 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 en milieu physiologique, nous nous sommes intéressés à une voie d'accès rapide et efficace à de nouveaux glycorotaxanes.¹ Alors que la plupart des chimistes utilisent des ligands glucidiques « classiques » pour cibler les lectines, nous proposons la conception d'un ligand glucidique de type « caméléon » qui serait capable de changer d'affinité pour son récepteur en fonction de l'environnement (figure 1). En effet, la différence d'encombrement stérique apportée par le macrocycle lorsque ce dernier est à proximité ou plus éloigné de la partie glucidique devrait entraîner une différence d'affinité suffisamment conséquente. Sachant que le pH extracellulaire des cellules cancéreuses est légèrement plus acide que le pH physiologique, il est possible d'imaginer un glycorotaxane « caméléon » capable d'avoir une faible affinité pour son récepteur à proximité des cellules saines et une forte affinité au voisinage des cellules cancéreuses.

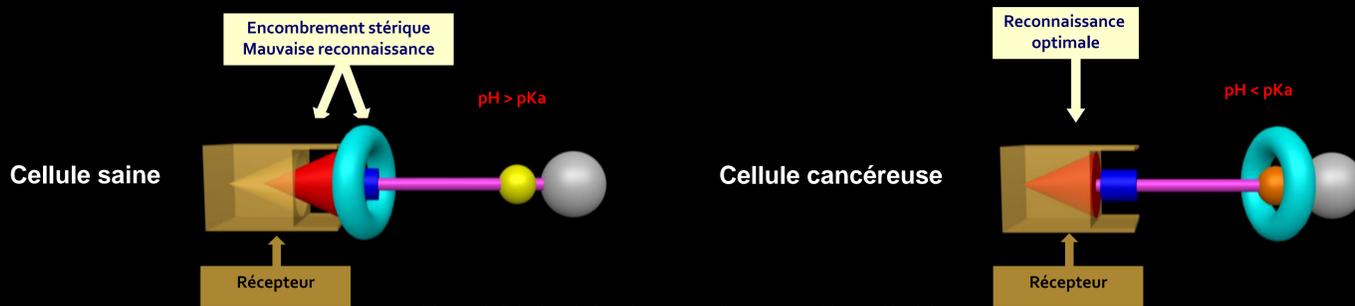


Figure 1: Principe de fonctionnement de notre machine moléculaire

Avec cet objectif, nous avons choisi comme première cible le rotaxane **3** (schéma 2) possédant une seule station moléculaire de type anilinium dont le pKa est proche du pH physiologique. Ce rotaxane est obtenu par complexation entre l'alcyne anilinium **2** et la DB24C8 (schéma 1), suivi du greffage de l'unité glucidique par une cycloaddition 1,3 dipolaire de Huisgen catalysée au cuivre (I). L'obtention de la machine moléculaire pH-sensible **4** a ensuite été rendue possible par l'introduction d'une deuxième station au niveau du triazole.

Etude de complexation de l'alcyne anilinium **2** par la DB24C8

La constante d'affinité du composé **2** pour la dibenzo-24-couronne-8 (DB24C8) a été mesurée par spectroscopie RMN ¹H dans CDCl₃ à 298 K. Des solutions de l'alcyne anilinium **2** à une concentration de 10 mM en présence de DB24C8 à des concentrations comprises entre 0 à 25 mM, ont été préparées puis analysées en RMN ¹H. Comme la longueur de la chaîne alkyle, séparant la fonction alcyne de la fonction anilinium, est suffisamment grande, alors le temps de désassemblage du pseudorotaxane est plus grand que le temps de mesure de la RMN. Il en résulte l'apparition de signaux correspondant d'une part, au composé **2** et à la DB24C8 non complexés, et d'autre part au pseudorotaxane pour lequel **2** est entouré par l'éther couronne. Par intégration des signaux issus de chaque famille, la constante d'association a pu être déterminée dans ces conditions: K_a (CDCl₃, 298K) = 206 ± 46 L/mol.

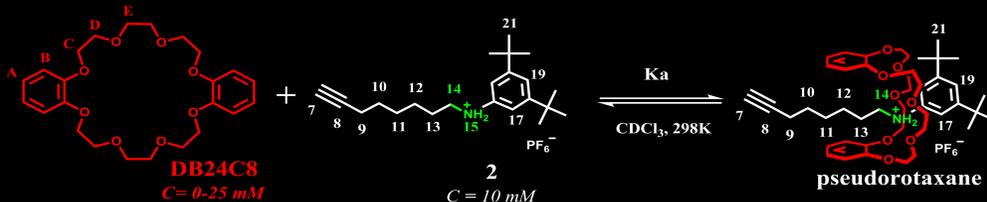


Schéma 1: Complexation de l'alcyne anilinium **2** par la DB24C8

Synthèse de la machine moléculaire pH-sensible²

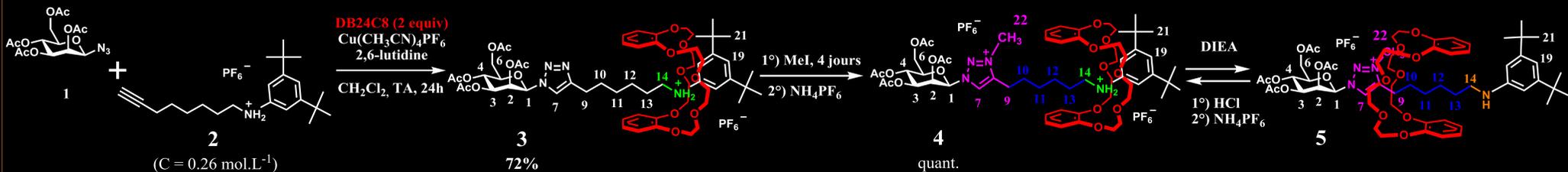
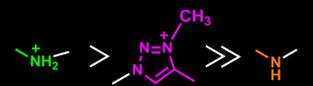


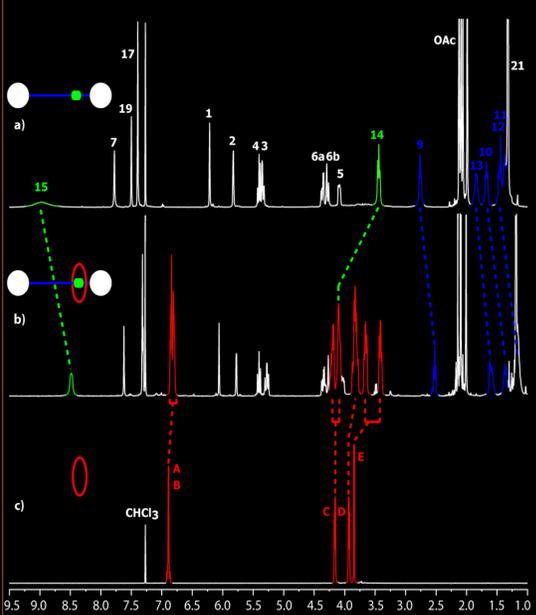
Schéma 2: Synthèse de la machine moléculaire

La machine moléculaire de type glycorotaxane a été obtenue en 2 étapes. Tout d'abord une cycloaddition 1,3 dipolaire de Huisgen de type « click chemistry » dans le dichlorométhane, en présence d'un catalyseur au cuivre (I) et d'une base (2,6-lutidine), permet l'obtention du rotaxane **3** (schéma 2, figure 2) avec un rendement de 72% après purification. Une fois le triazole formé, une alkylation régiosélective à l'aide du iodométhane a été effectuée et conduit, après un échange de contre ion, au rotaxane **4** de manière quantitative. Afin de vérifier le fonctionnement de la machine moléculaire pH-sensible par RMN ¹H, le rotaxane **4** a été déprotoné à l'aide de la diisopropyléthylamine (DIEA). La réversibilité du processus a ensuite été démontrée par la reprotonation du motif aniline en utilisant HCl, suivie d'un échange de contre ion (figure 3). Les analogues sans macrocycle des rotaxanes **3**, **4** et **5** respectivement notés **3u**, **4u** et **5u** ont été obtenus par la même stratégie de synthèse.

Affinité de la DB24C8



Confirmation de la structure entrelacée du rotaxane **3**



La nature entrelacée du composé **3** a pu être confirmée par RMN ¹H.

■ Comparaison du rotaxane **3** (spectre b) avec la DB24C8 libre (spectre c)

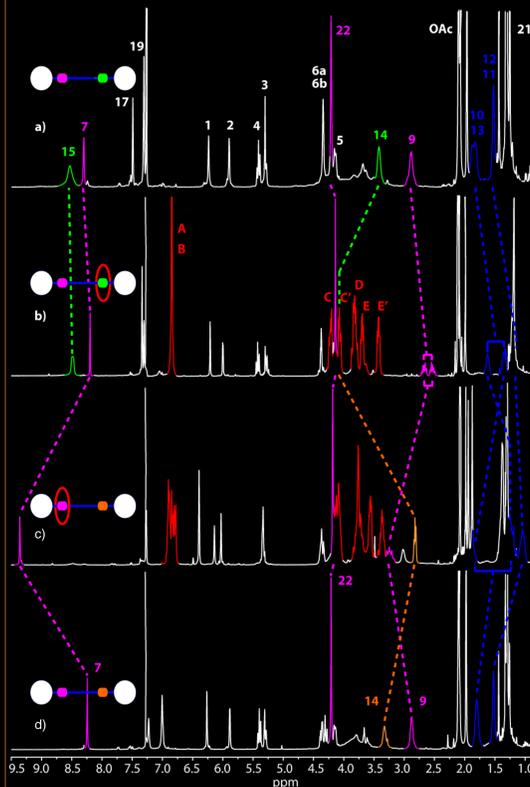
- dédoublement des protons **C** et **E** à cause de la différenciation des 2 faces de l'éther couronne.

■ Comparaison du rotaxane **3** (spectre b) avec son analogue sans macrocycle **3u** (spectre a)

- apparition des protons de l'éther couronne **A-E**
- protons **14** en alpha de l'anilinium: déplacement vers les champs faibles de 0.65 ppm dû à des liaisons hydrogène avec les oxygènes de la DB24C8.
- protons de la chaîne aliphatique **9, 10, 11, 12** et **13**: déplacement plus ou moins important vers les champs forts suggérant leur présence dans le cône de blindage des aromatiques de l'éther couronne.

Figure 2: Spectres RMN ¹H (CDCl₃, 298 K) (a) de l'analogue sans macrocycle **3u**, (b) du rotaxane **3**, (c) de la DB24C8 libre.

Fonctionnement de la machine moléculaire



Le fonctionnement de cette machine moléculaire a été visualisé par RMN ¹H.

■ Comparaison du rotaxane **4** (spectre b) avec son analogue sans macrocycle **4u** (spectre a)

- localisation du macrocycle autour de l'anilinium: pas de variation du proton **7** du triazolium et déplacement important des protons **14** en alpha de l'anilinium à cause de leur implication dans des liaisons hydrogène.

- protons **9, 10, 11, 12** et **13**: déplacement plus ou moins important vers les champs forts du fait de leur présence dans le cône de blindage des aromatiques.

■ Comparaison du rotaxane **4** (spectre b) avec le rotaxane **5** (spectre c)

- protons **7** et **9**: déplacement vers les champs faibles respectivement de 1.16 ppm et 0.62 ppm démontrant leurs interactions par liaisons hydrogène avec la DB24C8.

- protons **14** en alpha de l'aniline: déplacement vers les champs forts engendré par la déprotonation et le déplacement de l'éther couronne.

■ Comparaison du rotaxane **5** (spectre c) avec son analogue sans macrocycle **5u** (spectre d)

- localisation du macrocycle autour du triazolium: les protons **7** et **9** subissent un déplacement vers les champs faibles.

- protons **11, 12, 13** et **14**: déplacement vers les champs forts suggérant leur présence dans le cône de blindage des aromatiques.

Figure 3: Spectres RMN ¹H (CDCl₃, 298 K) (a) de l'analogue sans macrocycle **4u** (b) du rotaxane **4** (c) du rotaxane **5** (d) de l'analogue sans macrocycle **5u**

Conclusions et perspectives

Actuellement, la majorité des travaux reportés dans la littérature concernant les rotaxanes se limite aux domaines des nanotechnologies et des matériaux. Pourtant, l'accès à des glycorotaxanes paraît très séduisant à étudier, notamment pour la conception de machines moléculaires capables de fonctionner en milieu physiologique. Dans cette optique nous avons proposé une voie d'accès simple et efficace à des machines moléculaires de type glycorotaxanes

en utilisant une séquence en deux étapes, 1/ réaction de type « click chemistry », 2/ alkylation quantitative du triazole menant à une station moléculaire inédite pour la DB24C8. Le contrôle de la position du macrocycle de notre machine moléculaire pH-sensible a pu être vérifié par RMN ¹H. La DB24C8 s'est avérée avoir moins d'affinité pour la station triazolium que pour la station anilinium permettant ainsi de masquer ou de démasquer le motif glucidique par variation du pH. La machine moléculaire, possédant un motif glucidique déprotégé, fait actuellement l'objet d'une étude des relations de structure-activité et de reconnaissance en fonction de la position du macrocycle. Avec pour objectif l'étude des différences d'effets multivalents en fonction de l'environnement des récepteurs, une extension de cette stratégie à la synthèse de « muscles moléculaires » glucidiques a également été réalisée. Dans ce cas, la distance entre les deux motifs sucrés est contrôlée et dépend du pH.³

[1] A Very Efficient Synthesis of a Mannosyl Orthoester [2]Rotaxane and Mannosidic [2]Rotaxanes, Frédéric Coutrot, Eric Busseron, Jean-Louis Montero, *Org. Lett.* **2008**, 10, 5, 753-756.

[2] A New Glycorotaxane Molecular Machine Based on an Anilinium and a Triazolium station, Frédéric Coutrot, Eric Busseron, *Chem. Eur. J.* **2008**, 14, 16, 4784-4787.

[3] A New pH-Switchable Dimannosyl[2]Daisy Chain Molecular Machine, Frédéric Coutrot, Camille Romuald, Eric Busseron, *Org. Lett.* **2008**, 10, 17, 3741-3744.