

Camille Romuald, Caroline Clavel, Karine Fournel-Marotte et Frédéric Coutrot

Supramolecular Machines and ARchitectures Team
 Institut des Biomolécules Max Mousseron, (IBMM) UMR 5247 CNRS-Universités Montpellier 2 et 1
 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 - http://www.glycorotaxane.fr



Introduction

De par leur nature entrelacée, les rotaxanes sont des molécules séduisantes puisque la présence, ainsi que la localisation du macrocyclo autour d'un axe moléculaire modifie considérablement les propriétés physicochimiques de la molécule (solubilité, biodisponibilité, fluorescence, ...). Comme le macrocyclo et l'axe encapsulé ne sont pas liés entre eux par des liaisons covalentes, différents mouvements contrôlés sont possibles entre ces composants, ce qui permet la machinerie moléculaire. La plupart des machines moléculaires dérivées des [2]rotaxanes concernent des mouvements de translation ou de rotation d'un macrocyclo, respectivement le long ou autour d'un axe encapsulé

(Figure 1). Depuis quelques années, nous nous intéressons au développement de nouveaux concepts de ciblage cellulaire impliquant des ligands originaux de type glycorotaxanes dont l'affinité pour leur récepteur serait modulable par machinerie moléculaire après application d'un stimulus externe (variation de pH, irradiation photochimique, ...). Nous présentons dans cette communication la synthèse et le comportement de deux machines moléculaires inédites qui ne diffèrent que par la mono- ou la disubstitution d'un motif amide et qui pourtant réagissent très différemment après un mouvement de translation d'un macrocyclo le long de l'axe glycosylé (Figure 2). [1][2]

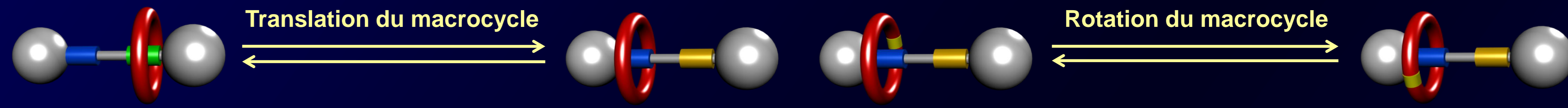


Figure 1. Les différents mouvements observés dans une machine moléculaire de type rotaxane

Synthèse

La synthèse des machines moléculaires a été réalisée efficacement par cycloaddition 1,3-dipolaire de type Huisgen catalysée par le Cuivre (I) entre les azotures **1a-b** et l'alcyne **2** en présence de dibenzo-24-couronne-8 (DB24C8) (schéma 1). Le motif anilinium, présent dans l'alcyne **2**, possède une très bonne affinité pour l'éther couronne et permet ainsi la formation d'un complexe entrelacé pseudo rotaxane. Aucune formation de [3]rotaxane (*i.e.* 2 macrocycles autour de l'axe moléculaire) n'a été observée, ce qui démontre la très faible affinité du motif pyridinium amide pour la DB24C8.



Schéma 1. Synthèse des machines moléculaires **3a-b**

Machinerie Moléculaire

La machinerie moléculaire pH-dépendante (schéma 2) a pu être étudiée par RMN ¹H. A pH acide, l'anilinium se révélant être une station moléculaire de meilleure affinité pour la DB24C8 que le pyridinium amide, le macrocyclo reste localisé autour de la station anilinium. En revanche, après déprotonation de l'anilinium (ajout de diisopropyléthylamine), le macrocyclo se déplace le long de l'axe moléculaire jusqu'à la station pyridinium amide. A ce stade, la position exacte du macrocyclo ne diffère que très légèrement en fonction de la substitution de la fonction amide, mais engendre deux conséquences très différentes.

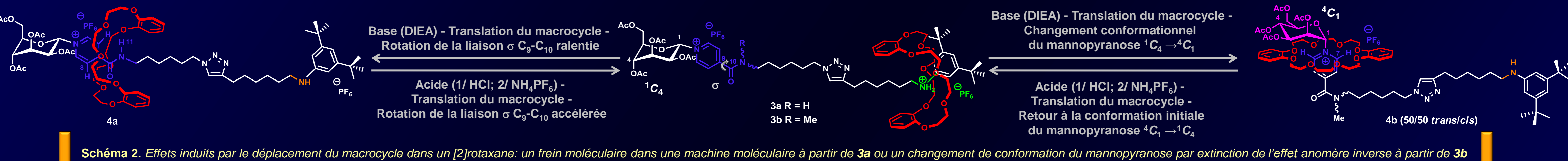
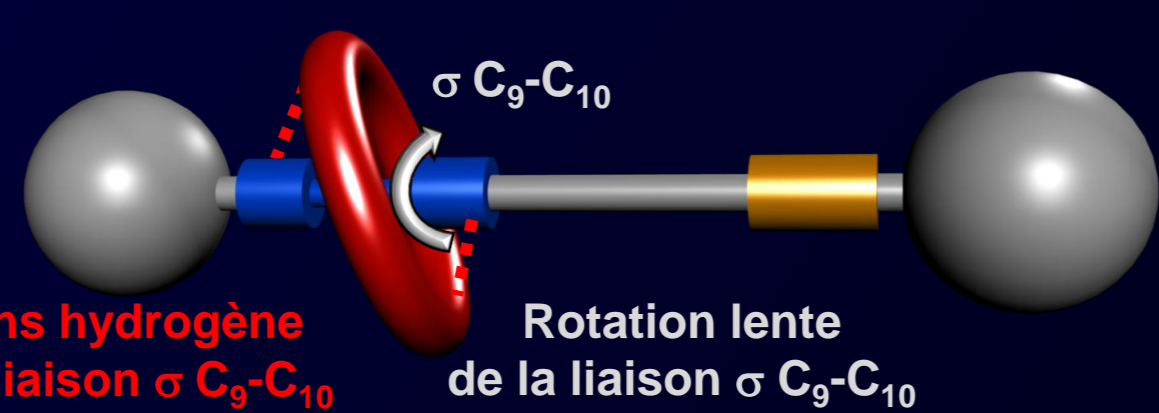


Schéma 2. Effets induits par le déplacement du macrocyclo dans un [2]rotaxane: un frein moléculaire dans une machine moléculaire à partir de **3a** ou un changement de conformation du mannopyranose par extinction de l'effet anomère inverse à partir de **3b**

ETUDE DU FREIN MOLECULAIRE

Etat déprotoné
Série pyridinium amide monosubstitué



En série pyridinium amide monosubstitué, à pH basique, (composé **4a**), la DB24C8 n'interagit pas avec les hydrogènes H₇, mais avec les hydrogènes H₈ et l'hydrogène du motif amide H₁₁. Dans ce cas, et en comparaison avec **4b**, aucune extinction de l'effet anomère inverse n'est constatée: le mannopyranose reste dans sa conformation initiale ¹C₄. En revanche, un effet conformationnel bien distinct résultant du déplacement du macrocyclo est observé. Il s'agit du ralentissement de la rotation de la liaison simple C₉-C₁₀ située entre le motif pyridinium et le motif amide. Ce ralentissement a pu être mis en évidence par des études RMN ¹H à basse température dans CD₂Cl₂ (Figure 3a) où les 2 rotamères **4a₁** et **4a₂** ont pu être caractérisés.

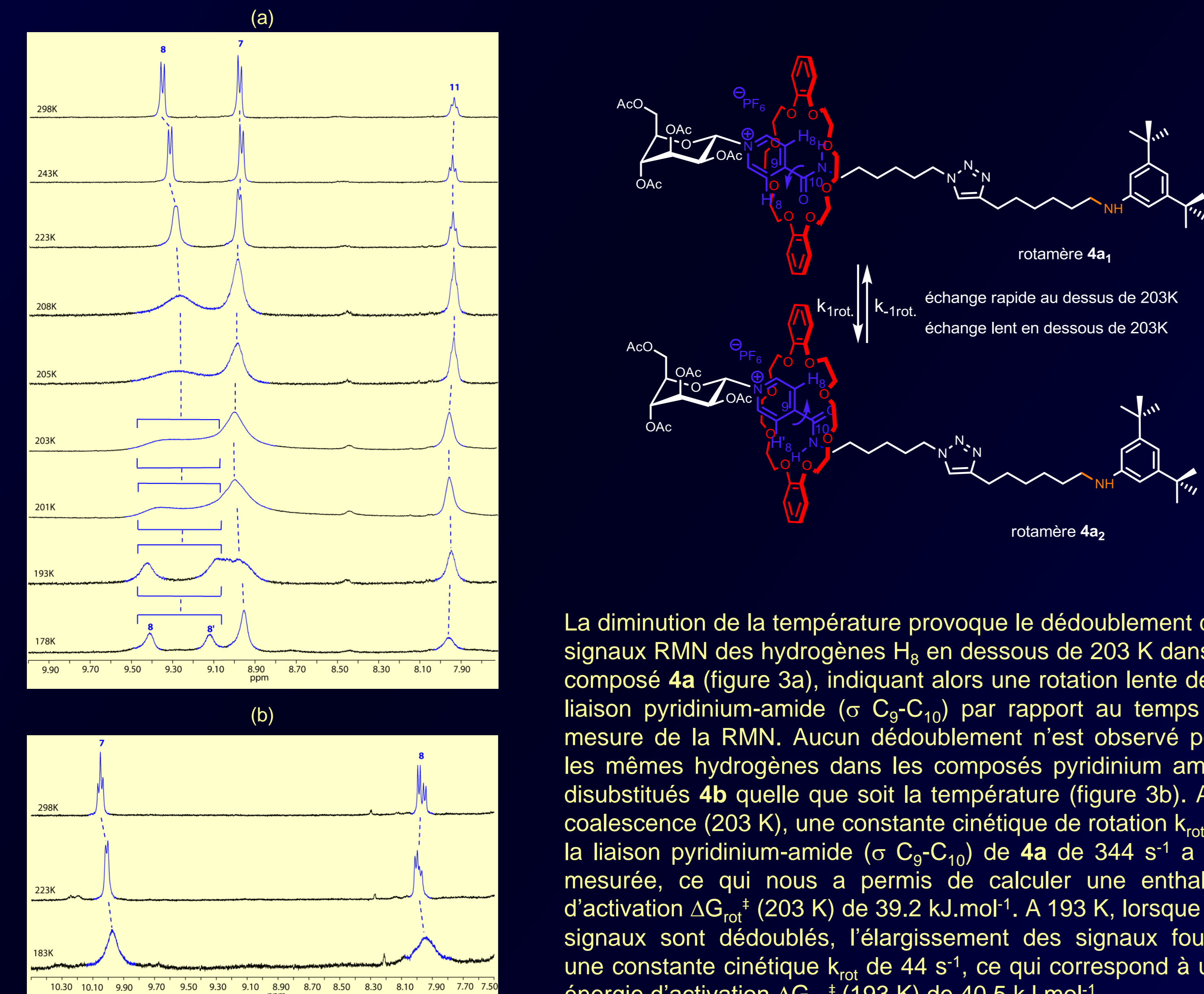
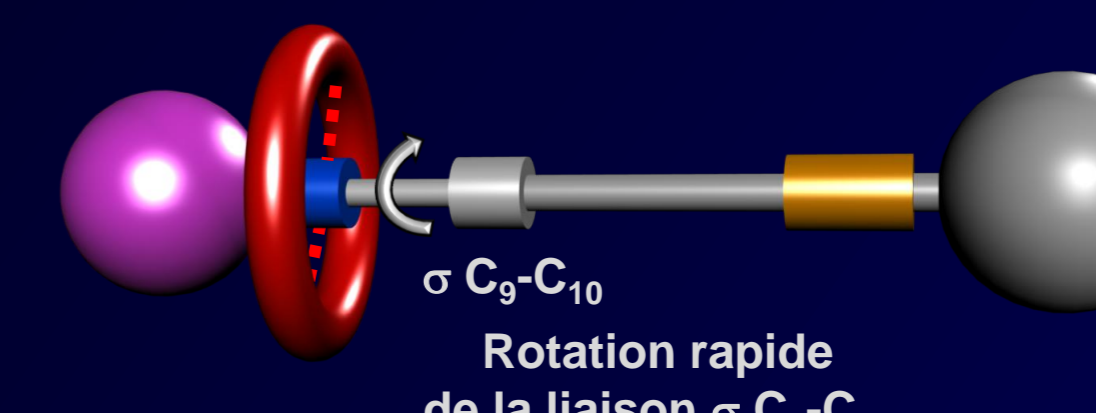


Figure 3. Spectres RMN ¹H partiels (400 MHz, CD₂Cl₂) à température variable. a) composé **4a**, b) composé **4b**

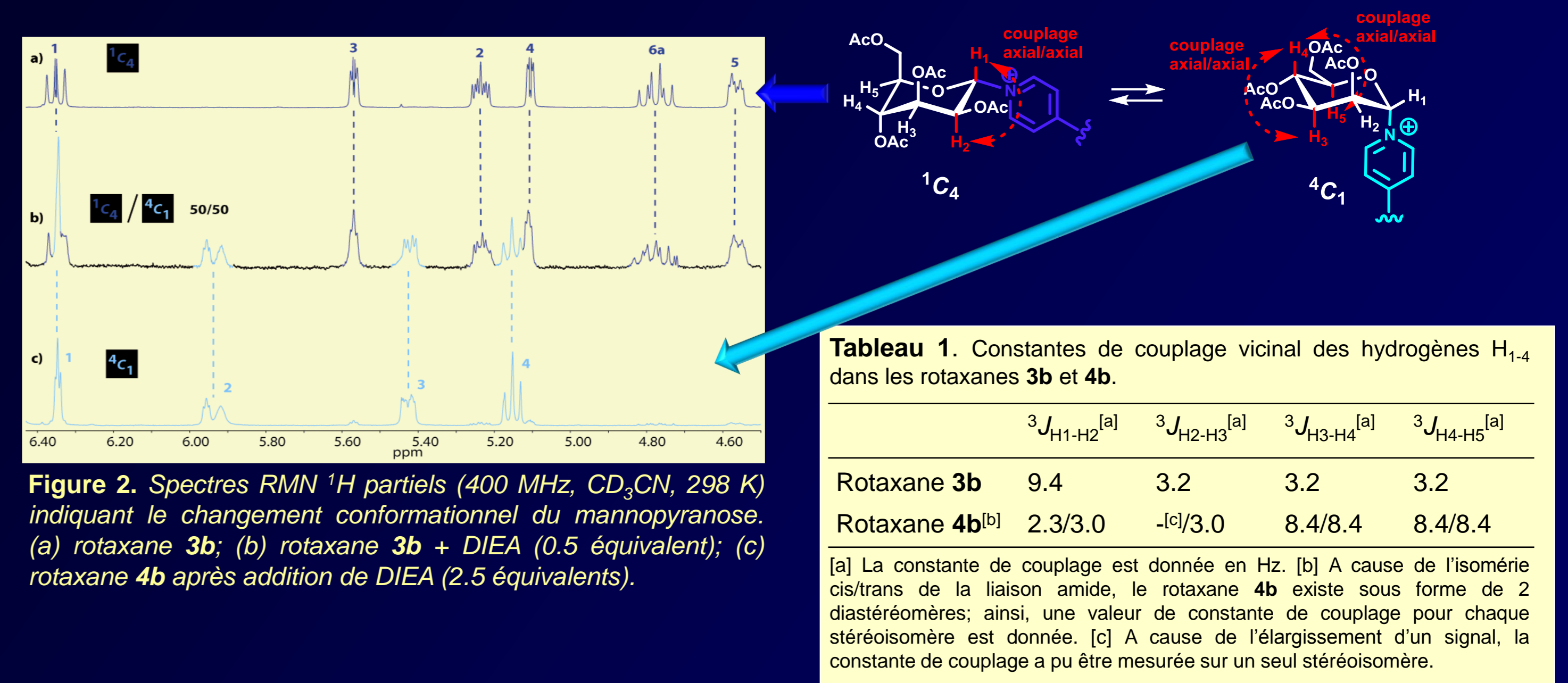
La diminution de la température provoque le dédoublement des signaux RMN des hydrogènes H₈ en dessous de 203 K dans le composé **4a** (figure 3a), indiquant alors une rotation lente de la liaison pyridinium-amide (σ C₉-C₁₀) par rapport au temps de mesure de la RMN. Aucun dédoublement n'est observé pour les mêmes hydrogènes dans les composés pyridinium amide disubstitués **4b** quelle que soit la température (figure 3b). A la coalescence (203 K), une constante cinétique de rotation *k*_{rot} de la liaison pyridinium-amide (σ C₉-C₁₀) de **4a** de 344 s⁻¹ a été mesurée, ce qui nous a permis de calculer une enthalpie d'activation Δ*G*_{rot}[‡] (203 K) de 39.2 kJ.mol⁻¹. A 193 K, lorsque les signaux sont dédoublés, l'élargissement des signaux fournit une constante cinétique *k*_{rot} de 44 s⁻¹, ce qui correspond à une énergie d'activation Δ*G*_{rot}[‡] (193 K) de 40.5 kJ.mol⁻¹.

ETUDE DU CHANGEMENT CONFORMATIONNEL

Etat déprotoné
Série pyridinium amide disubstitué



En série pyridinium amide disubstitué (composé **4b**), à pH basique, la DB24C8 n'interagit pas avec les hydrogènes H₈ mais avec les hydrogènes H₇ et la charge cationique, ce qui entraîne un basculement impressionnant de la conformation chaise du mannopyranose depuis la conformation ¹C₄ vers la conformation ⁴C₁ (dû à l'extinction de l'effet anomère inverse). Le changement des déplacements chimiques des hydrogènes du motif mannopyranose, associé à la variation importante de leurs constantes de couplage vicinal, indique sans ambiguïté le basculement du mannopyranose de la conformation ¹C₄ vers la conformation ⁴C₁ (Figure 2, Tableau 1).



Le contrôle de la conformation du mannopyranose, fonction de l'effet anomère inverse, est lié à la densité de charge positive sur le motif pyridinium, cette dernière étant modulée selon la localisation de la DB24C8 qui peut interagir *via* ses oxygènes.

Conclusion

Nous avons montré un accès à des nouvelles machines moléculaires à large amplitude possédant de nouvelles stations pour la DB24C8, et dont le déplacement du macrocyclo pouvait être contrôlé très précisément. Ce déplacement a montré qu'il pouvait engendrer divers effets conformationnels distincts. Un premier exemple méthodologique a montré que le macrocyclo pouvait jouer le rôle de frein moléculaire dans la rotation d'une liaison σ, s'il interagissait par liaisons hydrogène de part et d'autre de cette dernière. Le deuxième exemple d'effet domino, induit par le déplacement du macrocyclo au sein d'une même molécule, concerne le changement conformationnel d'un motif glucidique situé à une extrémité de l'axe encapsulé après déprotonation de l'autre extrémité, l'information de déprotonation étant véhiculée par le déplacement du macrocyclo (Schéma 2). Dans ce cas précis, nous avons montré, comment le macrocyclo pouvait influencer de manière très précise sur l'effet anomère inverse constaté sur un motif mannosyl pyridinium. Le contrôle très précis du changement conformationnel observé d'un glucide depuis la conformation ¹C₄ vers la conformation ⁴C₁ (par variation du pH), constitue une approche extrêmement séduisante pour le ciblage spécifique de certaines cellules à pH extracellulaire plus acide (*i.e.* cellules cancéreuses) et surexprimant des récepteurs lectiniques à leur surface.

Références

[1] Eric Busseron, Camille Romuald, Frédéric Coutrot, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 10062-10073; [2] Frédéric Coutrot, Eric Busseron, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 5186-5190.