

# Chimie combinatoire et chimie supramoléculaire

Ivan Huc\* chargé de recherche, Jean-Marie Lehn\*\* professeur

## Summary : Combinatorial chemistry and supramolecular chemistry

The concept of dynamic combinatorial chemistry has developed from the consideration that self-assembly in a multicomponent system is a combinatorial process. Combinatorial libraries based on the covalent or non-covalent reversible assembly of initial building blocks allow a continuous variation of the proportions between library products in response to a particular assay. Such dynamic libraries have recently emerged as an efficient tool to detect and to evaluate molecular recognition between some library products and a target molecule.

**Mots clés :** Réversibilité, dynamique, auto-assemblage, reconnaissance moléculaire, combinatoire.

**Key-words :** Reversibility, dynamic, self-assembly, molecular recognition, combinatorial.

La chimie combinatoire repose sur la mise au point de méthodes de synthèse et de criblage de vastes mélanges construits par combinaison systématique d'unités de base. Cependant, si l'on définit une combinaison comme un « arrangement dans un certain ordre de divers éléments », force est de constater que la chimie est par essence une science combinatoire. Les molécules sont des combinaisons d'atomes, les (bio)polymères sont des combinaisons de monomères, les supermolécules sont des combinaisons de molécules, etc. L'outil du chimiste de synthèse est un ensemble hiérarchisé d'éléments à combiner : groupes fonctionnels, synthons, molécules complexes, macromolécules et supermolécules, et l'objet de la chimie structurale est précisément de définir dans quel ordre ces éléments sont arrangés au sein d'une combinaison. De la synthèse organique aux matériaux, en passant par la catalyse et les biomolécules, il est donc naturel que les développements récents du combinatoire trouvent échos et ramifications dans toutes les branches de la chimie. En chimie supramoléculaire, une mise en perspective de l'auto-assemblage

comme un processus combinatoire a abouti à l'idée de bibliothèques dynamiques, dans lesquelles des liaisons réversibles s'établissent entre les unités de bases [1]. Le principal avantage de tels systèmes est de permettre une variation continue des proportions entre les produits d'une bibliothèque en réponse à un changement des conditions, comme par exemple l'introduction d'un composé cible pouvant se lier à certains produits de la bibliothèque. Le criblage du mélange se fait simplement en analysant les modifications de la composition du mélange, notamment le changement des proportions entre les produits.

## L'auto-assemblage comme processus combinatoire

La formation dans des conditions thermodynamiques d'assemblages bien définis de molécules par association et agencement spontané est un outil puissant pour la préparation de complexes édifices moléculaires et supramoléculaires. Deux exemples sont représentés figure 1, illustrant d'une part l'auto-assemblage d'une grille supramoléculaire par liaisons non covalentes entre quatre ions  $\text{Ag}^+$  et quatre ligands pyridiniques [2] et, d'autre part, l'auto-assemblage d'un macrocycle par liai-

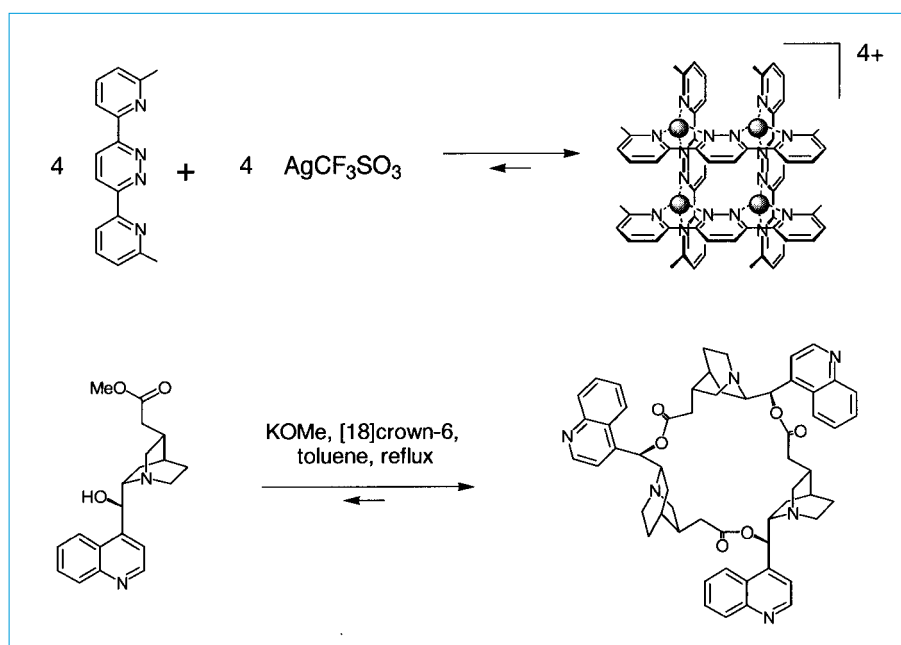


Figure 1 - Exemples d'auto-assemblages quantitatifs non covalents et covalents.

\* Institut Européen de Chimie et Biologie, ENSCPB, av. Pey Berland, 33402 Talence Cedex.  
Tél. : 05.57.96.22.29. Fax : 05.57.96.22.26.  
E-mail : ivan.huc@iecb-polytechnique.u-bordeaux.fr

\*\* Institut de Science et d'Ingénierie Supramoléculaires, 4, rue Blaise Pascal, 67000 Strasbourg.  
Tél. : 03.88.41.60.62. Fax : 03.88.41.10.20.  
E-mail : lehn@chimie.u-strasbg.fr

sons covalentes entre trois unités d'un hydroxy-ester dérivé de la cinchonidine [3]. Ces assemblages se produisent à l'équilibre thermodynamique de façon quantitative. Toutefois, les structures obtenues ne sont pas les seuls produits envisageables. L'hydroxy-ester aurait pu former d'autres oligomères cycliques ou linéaires, de même pour le système ligand pyridinique et ion  $Ag^+$ . Le caractère combinatoire de ces assemblages covalents ou non covalents apparaît donc lorsque l'on considère non pas seulement les produits formés, mais tous les produits potentiellement accessibles au système. Chacun d'entre eux représente une combinaison, c'est-à-dire une manière d'agencer les unités de base du système en nombre, en nature et en orientations relatives. L'ensemble de ces combinaisons définit la bibliothèque des produits potentiellement accessibles au système.

Les deux exemples de la *figure 1* constituent d'un certain point de vue des cas extrêmes dans lesquels une combinaison unique parmi toutes celles possibles est réellement exprimée. Mais il est facile d'imaginer des systèmes moins « efficaces », dans lesquels plusieurs structures, voire un mélange complexe de produits seraient formés en quantité significative. D'une façon générale, l'expression plus ou moins complète de la variété des structures accessibles est dirigée par les paramètres thermodynamiques et cinétiques associés aux composants et à leurs connexions : les réactivités intrinsèques des fonctions connectrices, les facteurs structuraux aboutissant éventuellement à une prédisposition ou une préorganisation (énergies des conformations et configurations), les termes de solvation des différentes structures, et les interactions non covalentes spécifiques attractives ou répulsives intra- et intermoléculaires.

Finalement l'auto-assemblage peut être envisagé de deux manières :

- dans une approche réciproque, l'expression préférentielle et inattendue d'assemblages à partir d'un mélange combinatoire de composants devrait permettre d'identifier des associations originales et les interactions non covalentes spécifiques mises en jeu dans leur formation (reconnaissance moléculaire).

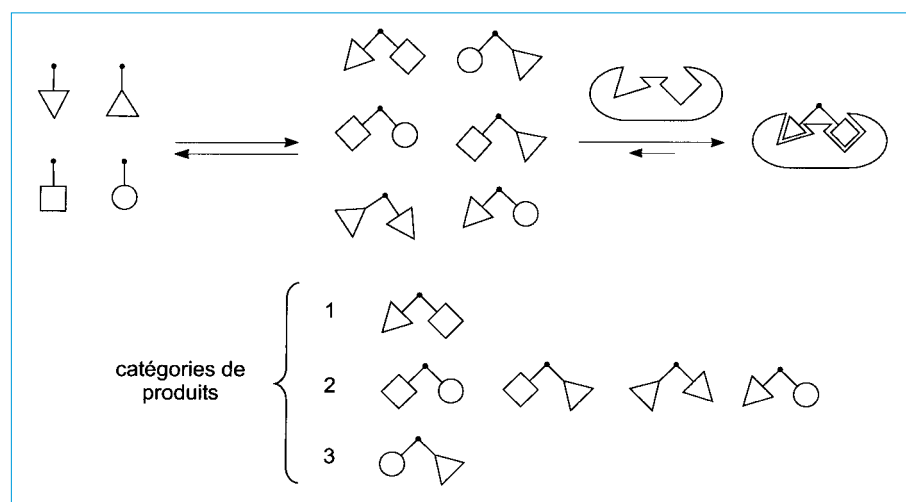
Alors que la première démarche est depuis longtemps établie, cette deuxième voie ne s'est vraiment développée que dans les cinq dernières années, amenant au concept de chimie combinatoire dynamique qui met en œuvre des bibliothèques dynamiques virtuelles [1, 4].

### La chimie combinatoire dynamique

Le principe fondamental d'une bibliothèque combinatoire dynamique est la réversibilité de l'assemblage des unités de base (*figure 2*). On peut envisager des liaisons réversibles covalentes comme par exemple des imines, des borates ou des disulfures, menant à des bibliothèques de molécules. On peut également utiliser des liaisons réversibles non covalentes comme des liaisons hydrogène, des liaisons ioniques, ou des liaisons de coordination à des métaux, menant à des bibliothèques de supermolécules. Les proportions entre produits de la bibliothèque reflètent ini-

tialement les paramètres cinétiques et thermodynamiques associés aux unités de bases et à leur connexions. Mais ces proportions peuvent varier sous l'effet d'un agent extérieur comme l'ajout d'un composé cible, une irradiation, ou l'application d'une contrainte mécanique, électrique ou magnétique. La variation des proportions renseigne sur l'effet de l'agent et ses interactions avec la bibliothèque. La formation préférentielle d'un produit (d'une combinaison) au détriment des autres s'apparente au criblage spontané du mélange. Une bibliothèque dynamique se distingue donc essentiellement d'une bibliothèque classique dans le fait que la composition du mélange n'est pas préétablie, et notamment que la proportion des produits recherchés peut être amplifiée au cours du criblage, effectué simultanément à la synthèse. En fait, il se peut fort bien que parmi tous les composants possibles d'une telle bibliothèque, seuls s'expriment ceux qui se lient à la cible, d'où la notion de bibliothèque combinatoire virtuelle [1, 4].

Dans les travaux décrits jusqu'à présent dans la littérature, l'agent externe est généralement un composé cible ajouté, dont la présence peut conduire à une augmentation de la fraction molaire (et à l'identification) des produits qui lui sont le mieux complémentaires (*figure 2*). Cette stabilisation spécifique de produits par le biais des forces de la reconnaissance moléculaire consiste en



**Figure 2** - La chimie combinatoire dynamique. Principe du coulage d'un substrat par un récepteur. Trois catégories de produits sont distinguées : 1- ceux qui lient fortement la cible (deux sites d'ancrage), 2- ceux qui lient faiblement la cible (un site d'ancrage), et 3- ceux qui ne lient pas la cible. Le coulage aboutit à une augmentation de la fraction molaire de produits de la première catégorie aux dépens des produits de la deuxième catégorie. La fraction des produits de la troisième catégorie peut également augmenter substantiellement. L'amplitude de la stabilisation par la cible de produits de la première catégorie est limitée par l'association des produits de la deuxième catégorie qui, bien que plus faible, devient significative si ces produits sont abondants.

un coulage par effet matrice d'un substrat par un récepteur (comme pour un bronze coulé dans un moule), ou réciproquement, en un moulage d'un récepteur sur un substrat. Au cours des cinq dernières années, de nombreux systèmes combinatoires dynamiques organiques, inorganiques, et biochimiques ont été décrits. Des articles de revues récents font l'inventaire de ces travaux [1], nous nous contenterons de citer quelques exemples représentatifs (figure 3).

Un certain nombre de bibliothèques dynamiques est basé sur des équilibres thermiques ou photochimiques entre isomères de configuration [5-6] ou de conformations [7]. Dans ces systèmes, la stabilisation d'un isomère par interaction avec le substrat s'apparente à l'adaptation conformationnelle du site actif des enzymes. De nombreux

exemples d'auto-assemblage de récepteurs supramoléculaires induits par la reconnaissance du substrat ont été traités [4]. De multiples unités de bases s'associant par liaisons hydrogène ou par coordination d'un métal peuvent être introduites dans ces systèmes avec le dessein d'augmenter le nombre de combinaisons [8-9]. Des bibliothèques de macrocycles ont été construites par connexion covalente réversible d'un nombre variable de différents monomères [10]. D'autres systèmes mettent en jeu la reconnaissance moléculaire de peptides [11], d'acides nucléiques [12], ou d'anticorps [13]. Plus proches d'applications d'intérêt pharmaceutique, des exemples de moulage de sites actifs d'enzymes par des petites bibliothèques dynamiques ont été décrits pour l'anhydrase carbonique [14] des lectines [15], ou la trypsine [16].

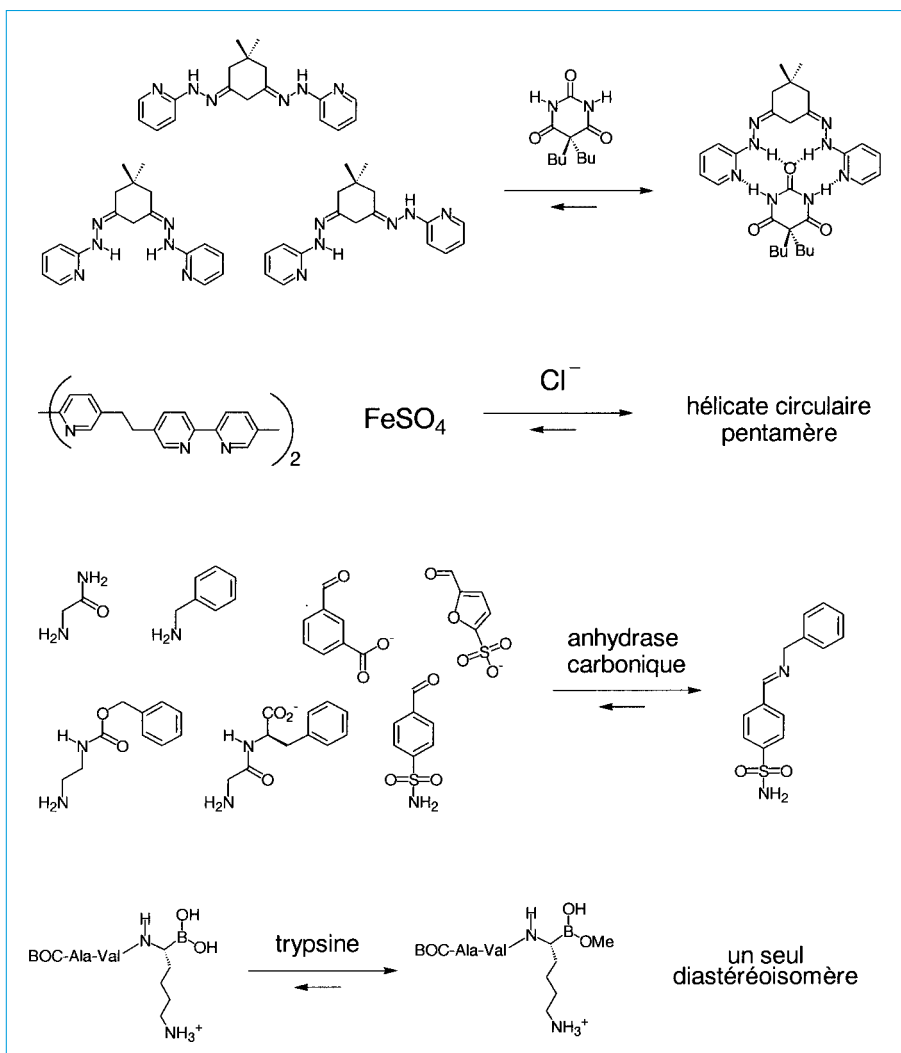


Figure 3 - Exemples d'effet matrice dans des systèmes combinatoires dynamiques tirés respectivement des références [6], [4], [14], et [16]. Les équilibres représentent schématiquement les unités de base, la molécule cible, et l'espèce la mieux complémentaire stabilisée

## Aspects pratiques

Un certain nombre d'aspects pratiques pour la mise en œuvre d'un système combinatoire dynamique méritent d'être discutés.

### Réactions

De multiples réactions permettent de former réversiblement des liaisons covalentes entre unités de bases : Diels-Alder, condensation aldoliques, etc. Ces réactions, souvent délaissées par les chimistes comme étant une source d'instabilité des produits, trouvent maintenant un champ d'application nouveau. Outre les réactions effectivement réversibles connues de la chimie organique et de la chimie de coordination, la catalyse enzymatique offre tout un arsenal de processus réversibles. Les liaisons peptidiques, par exemple, peuvent être formées et hydrolysées réversiblement en présence de protéases [13].

Une forte contrainte s'applique sur le choix des réactions réversibles dans le fait que la reconnaissance moléculaire du composé cible (le criblage) a généralement lieu dans le même milieu que la formation du mélange combinatoire. Même si des phénomènes de reconnaissance moléculaire ont été caractérisés dans l'éthylène glycol à reflux (196 °C) [4], les interactions non covalentes s'expriment en général dans des conditions douces. Pour des applications pharmacologiques, le nombre de réactions réversibles en milieu physiologique n'est pas très grand. Une solution consiste à effectuer la reconnaissance de la cible et l'équilibre dynamique dans deux chambres différentes entre lesquelles circulent les produits de la bibliothèque [5, 13].

### Réactivité

Dans un mélange combinatoire dynamique, toutes les unités de bases sont continuellement en compétition pour la formation des produits. Des réactivités trop différentes les unes des autres conduisent à une distribution initiale de produits très inégale. Ces déséquilibres sont indésirables dans une synthèse combinatoire classique et généralement minimisés par des méthodes

de séparation et recombinaison des produits. Dans un mélange dynamique, l'effet matrice du composé cible peut compenser de faibles réactivités et promouvoir une combinaison qui autrement serait quantitativement absente.

### Réversibilité

La réversibilité des processus est constitutive d'une bibliothèque dynamique, mais elle peut devenir un obstacle à l'identification ou l'utilisation des produits recherchés : que se passe-t-il si ceux-ci ne sont pas stables en absence de la cible ? Pour effectuer une analyse chromatographique d'un mélange sans que les produits ne se désassemblent, il peut être utile de bloquer les équilibres en refroidissant, en changeant le pH, ou par un traitement chimique, comme la réduction irréversible d'imines en amines [14]. De même, un produit sélectionné à partir d'un mélange dynamique ne sera pas considéré comme un candidat direct à une utilisation pharmaceutique, mais plutôt comme un point de départ (tête de série) pour concevoir des composés stables.

### Facteurs entropiques

Une grande part des bibliothèques combinatoires dynamiques décrites dans la littérature met en jeu un nombre relativement limité de combinaisons ( $< 10^2$ ). Dans quelques systèmes, la diversité accessible, sans pouvoir être réellement exprimée, est virtuellement infinie. De plus grands mélanges devraient en principe permettre d'augmenter la probabilité de trouver des composés satisfaisants aux critères de sélection. Cependant, comme dans toutes approches combinatoires, une augmentation inconsidérée de la taille des bibliothèques aboutit à des difficultés. Dans le cas de bibliothèques combinatoires dynamiques, le moulage de produits complémentaires par un composé cible est limité par des facteurs entropiques quand la taille du mélange augmente, du fait qu'un nombre croissant de composés pouvant lier faiblement la cible entrent en compétition pour l'association avec celle-ci (voir explication *figure 2*). D'un point de vue pratique, une grande bibliothèque pourra être envisagée quand une sélection forte et sélective est possible. Pour évaluer des différences d'énergies plus faibles, une bibliothèque petite et focalisée sera préférée. Comme tout mélange combinatoire, un mélange combinatoire dynamique devra être élaboré avec attention afin, en particulier, d'éviter toute redondance dans l'information structurale portée par les unités de base.

Le concept de chimie combinatoire dynamique a déjà été appliqué dans de multiples contextes organiques, inorganiques ou biochimiques, principalement pour identifier des phénomènes de reconnaissance moléculaire. Un développement attendu est le criblage de bibliothèques virtuelles pour d'autres fonctions que la reconnaissance,

comme les propriétés mécaniques, électriques, et magnétiques des produits, ou encore la catalyse. Il n'y a pas si longtemps, « un mélange d'espèces instables » était pour un chimiste un cul-de-sac dont on ne savait quoi faire. C'est maintenant un ensemble dynamique de produits utile à la découverte de structures ou de propriétés nouvelles.

### Références

- [1] Lehn J.-M., *Chem. Eur. J.*, **1999**, *5*, p. 2455 ; Eliseev A.V., Lehn J.-M., *Current Topics in Microbiology and Immunology*, **1999**, *243*, p. 159 ; Huc I., Nguyen R., *Combinatorial Chemistry & High Throughput screening*, sous presse.
- [2] Youinou M.-T., Rahmouni J., Fisher J., Osborn J.A., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1992**, *31*, p. 733.
- [3] Rowan S.J., Brady P.A., Sanders J.K.M., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1996**, *35*, p. 2143.
- [4] Hasenknopf B., Lehn J.-M., Kneisel B.O., Baum G., Fenske D., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1996**, *35*, p. 1838 ; Hasenknopf B., Lehn J.-M., Boumediene N., Dupont-Gervais A., Van Dorsselaer A., Kneisel B., Fenske D., *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, p. 10956.
- [5] Eliseev A.V., Nelen M.I., *Chem. Eur. J.*, **1998**, *4*, p. 825.
- [6] Berl V., Huc I., Lehn J.-M., DeCian A., Fischer J., *Eur. J. Org. Chem.*, **1999**, p. 3089.
- [7] Berl V., Krische M.J., Huc I., Lehn J.-M., Schmutz M., *Chem. Eur. J.*, **2000**, p. 1938.
- [8] Huc I., Krische M.J., Funeriu D.P., Lehn, J.-M., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **1999**, p. 1415.
- [9] Jolliffe K.A., Crego Calama M., Fokkens R., Nibbering N.M.M., Timmerman P., Reinhoudt D.T., *Ang. Chem. Int. Ed.*, **2000**, *39*, p. 755.
- [10] Cousins G.R.L., Poulsen S.-A., Sanders J.K.M., *Chem. Commun.*, **1999**, p. 2279.
- [11] Hioki H., Still W.C., *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, p. 904 ; Shibakami M., Inagaki M., Regen S.L., *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, p. 3758 ; Cha X., Ariga K., Onda M., Kunitake T., *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, p. 11833.
- [12] Klekota B., Miller B.L., *Tetrahedron*, **1999**, *55*, p. 11687.
- [13] Swann P.G., Casanova R.A., Desai A., Frauenhoff M.M., Urbancic M., Slomczynska U., Hopfinger A.J., Le Breton G.C., Venton D.L., *Biopolymers*, **1996**, *40*, p. 617.
- [14] Huc I., Lehn J.-M., *Proc. Natl. Acad. Sci. États-Unis*, **1997**, *94*, p. 2106.
- [15] Ramström O., Lehn J.-M., *ChemBioChem*, **2000**, *1*, sous presse.
- [16] Katz B.A., Finer-Moore J.S., Mortezaei R., Rich D.H., Stroud R.M., *Biochemistry*, **1995**, *34*, p. 8264.