# Conception de capsules moléculaires avec des foldamères

- **Résumé** Cet article traite de l'utilisation d'oligomères artificiels repliés communément nommés foldamères, inspirés des structures des biopolymères, pour la conception de capsules moléculaires hélicoïdales capables de reconnaitre sélectivement des molécules organiques polaires et chirales. Ces récepteurs sont construits à partir d'oligoamides aromatiques qui encapsulent la molécule invitée en l'entourant de toutes parts. Une stratégie innovante permettant de produire un récepteur sélectif d'une cible donnée est présentée. Cette stratégie exploite la modularité des séquences d'oligoamides aromatiques ainsi que leur propension à former des monocristaux convenant à une analyse structurale par cristallographie des rayons X. Certains aspects dynamiques de l'encapsulation sont également abordés.
- Mots-clés Foldamères, repliement, reconnaissance moléculaire, analyse structurale, cristallographie.

#### Abstract Molecular capsules design by oligomers folding

This article presents the use of folded artificial oligomers also termed foldamers, inspired from biopolymer structures, for the design of helical molecular capsules that can recognize chiral polar organic molecules. These receptors are constructed from aromatic oligoamides that encapsulate their guest by completely surrounding it. An innovative strategy for the design of artificial receptors highly selective for a given guest is presented. This strategy exploits the modularity of aromatic oligoamide sequences and the propensity to form single crystals suitable for X ray crystallographic structural analysis. Some dynamic aspects of guest encapsulation are also discussed.

Keywords Foldamers, folding, molecular recognition, structural analysis, crystallography.

# Prévoir les formes, prévoir les propriétés

Le repliement de brins moléculaires est la méthode que la nature a sélectionnée pour positionner des groupements chimiques dans l'espace avec une précision atomique et donner lieu aux extraordinaires fonctions des biopolymères que sont par exemple la catalyse enzymatique et le stockage d'information génétique dans l'ADN [1-2]. Au cours des vingt-cinq dernières années, les chimistes ont démontré que des squelettes variés, les foldamères, parfois très éloignés des peptides et nucléotides, ont aussi une propension au repliement [3-4]. Ces oligomères ou polymères synthétiques peuvent adopter des conformations repliées comme des hélices ou des feuillets. Ils ouvrent la perspective d'accéder à des fonctions originales, ce d'autant plus qu'ils seront distincts des biopolymères. Nos travaux s'inscrivent dans ce contexte et concernent des squelettes oligoamides comportant des noyaux aromatiques dans la chaine principale [5]. La rigidité apportée par les noyaux aromatiques réduit l'espace des conformations accessibles et permet une bonne prédiction des formes repliées. Ainsi qu'il est développé dans cet article, la prévision des formes amène un certain degré de prévision des propriétés, en particulier des propriétés de reconnaissance moléculaire.

La reconnaissance moléculaire repose sur la convergence d'un ensemble de fonctions chimiques vers une cavité où une molécule complémentaire peut être liée. Les premiers récepteurs artificiels se sont appuyés sur la pré-organisation de fonctions de reconnaissance dans des molécules relativement rigides comme les macro-polycycles [6]. L'auto-assemblage permet aussi de produire de grands conteneurs supramoléculaires possédant une cavité pouvant accueillir des molécules invitées [7]. Ces conteneurs issus de l'assemblage de briques moléculaires remarquablement simples présentent la plupart du temps une symétrie élevée. *A contrario*, les récepteurs



Figure 1 - Représentations schématiques des différents modes de reconnaissance moléculaire d'une molécule invitée (ovoïde bleu) par une hélice (tube rouge) : (a) repliement en hélice induit par le substrat ; (b) reconnaissance du substrat par la cavité d'une hélice auto-organisée ouverte aux deux extrémités ; (c) encapsulation d'un substrat dans la cavité d'une hélice auto-organisée close à chaque extrémité ; (d) dépliement et repliement d'une hélice auto-organisée autour d'un substrat en forme d'haltère.

naturels peptidiques (ou nucléotidiques) ont des conformations repliées complexes ayant peu ou pas de symétrie. De plus, peptides et nucléotides ont une modularité inhérente à leur nature oligomèrique. Chaque monomère peut être modifié afin d'ajuster la structure, la dynamique et les propriétés de la conformation repliée. Ce sont cette modularité et la richesse des formes obtenues par repliement qui sont exploitées dans le développement de récepteurs à base de foldamères. Les foldamères aromatiques en particulier peuvent se replier en une hélice possédant une cavité assez grande pour accueillir une molécule invitée. Selon les formes de l'hôte et de l'invité, différents types d'équilibres sont mis en jeu (*figure 1*).

#### Contrôle des formes repliées

Le principe du contrôle de la conformation repliée des oligoamides aromatiques est présenté en *figure 2b*. Il repose sur



Figure 2 - (a) Schéma de l'encapsulation d'une molécule invitée (ovoïde bleu) par une capsule moléculaire hélicoïdale (tube rouge). (b) Principe de repliement des foldamères aza-aromatiques. Conjugaison, liaisons hydrogène (pointillés) et répulsions électrostatiques (flèches) concourent à la stabilisation d'une conformation préférentielle de chaque liaison aryl-amide. La courbure qui en résulte donne naissance à une hélice. L'empilement des noyaux aromatiques au sein de l'hélice contribue aussi à la stabilisation, notamment par des effets solvophobes en milieu protique. (c) Formules de monomères diamine, diacide et amino-acide constituants des capsules hélicoïdales. Chaque monomère possède une abréviation et un code couleur. Les groupements « R » divergent des objets repliés et déterminent leur solubilité. Avec R = *i*Bu, les capsules ont une bonne solubilité en milieu organique.

des interactions attractives et répulsives entre chaque fonction amide et les noyaux aromatiques adjacents [8]. Les interactions stabilisent les orientations relatives et définissent une courbure locale qui dépend de la taille des unités aromatiques - de grandes unités codent pour un grand diamètre - et du positionnement des substituants sur le noyau aromatique - une substitution para n'induit pas de courbure. Ainsi, la forme de l'objet replié résulte simplement d'une combinaison linéaire des conformations préférentielles locales. En plaçant en bout de séquence des monomères qui codent pour une courbure forte (diamètre d'hélice réduit) et en milieu de séquence des monomères qui codent pour une courbure faible (grand diamètre d'hélice), on aboutit à une capsule hélicoïdale (figure 2a) pouvant complètement isoler du milieu environnant une molécule invitée complémentaire [9]. La capture et le relargage de la molécule invitée en solution reguièrent une déformation transitoire de l'hélice, ce qui de fait ralentit ces deux processus. Cet article porte plus particulièrement sur ce type d'architecture, le plus à même d'aboutir à une reconnaissance hautement sélective et affine. Les autres modes de reconnaissance montrés en figure 1 sont bien documentés dans la littérature.

La conception de capsules moléculaires à partir d'oligoamides aromatiques nous a amené à mettre au point tout un ensemble d'acides aminés, de diacides ou de diamines aromatiques hétérocycliques (*figure 2c*), les atomes d'azote au sein des cycles aromatiques étant essentiels à la stabilité des conformations (*figure 2b*). Ni la synthèse de ces unités, ni leur assemblage en séquences oligoamides ne sont présentés ici. Un aspect original de ces foldamères est que, contrairement aux peptides et nucléotides, ce sont ici des éléments de la chaine principale et non les chaines latérales qui varient le long des séquences.

# Premières capsules, prévisibilité de la reconnaissance moléculaire

La preuve de concept de la faisabilité d'une capsule hélicoïdale composée d'un brin oligoamide aromatique replié a été faite en 2005 [9]. La première capsule consistait en une séquence courte (sept unités aromatiques) combinant trois types de noyaux aromatiques :  $P^N$ ,  $P^C$  et Q (*figure 2c*) : la séquence **1** comporte au centre un trimère  $P^NP^CP^N$  flanqué de part et d'autre d'un dimère  $Q_2$ . Ces derniers servent de bouchons à la cavité polaire générée par le trimère  $P^NP^CP^N$  qui lie une molécule d'eau par des liaisons hydrogène, tant en solution qu'à l'état solide. La structure cristalline du complexe  $1 \supset H_2O$  montrée *figure 3b* confirme la séquestration de la molécule invitée. En augmentant le nombre de noyaux pyridines à sept (capsule **2**), la cavité est assez volumineuse pour accueillir deux molécules d'eau [10]. La structure cristalline du complexe **2** $\supset$ 2.H<sub>2</sub>O est montrée en *figure 3b*.

Par extension des prototypes **1** et **2**, une seconde génération de capsules hélicoïdales a été développée. La séquence **3** est composée à chaque extrémité d'un trimère de quinoline (Q<sub>3</sub>) qui sert de bouchon puis d'une clé polaire (P<sup>N</sup>P<sup>C</sup>P<sup>N</sup>) capable de lier un groupement polaire hydroxyle ou amino par liaisons hydrogène. Le segment central est composé de monomères



Figure 3 - (a) Séquence des capsules de première génération (**1** et **2**) et de deuxième génération (**3** et **4**). Les capsules **1**, **2** et **3** sont composées d'un brin unimoléculaire tandis que la séquence **4** s'auto-assemble en une double hélice antiparallèle. (b) Structures cristallines des complexes hôte-invité :  $1 \supset H_2 0$ ,  $2 \supset 2.H_2 0$ ,  $3 \supset 4$ -aminobutanol et (**4**)<sub>2</sub> $\supset 1,10$ -décanediol. Les capsules sont représentées par des tubes tandis que les molécules invitées apparaissent en modèle compact (CPK : « Corey, Pauling, Koltun »).

plus larges, Q<sup>F</sup> et A<sup>CF</sup>, qui forment un canal assez grand pour accueillir un n-alcane. In fine, les dix-sept unités de la séquence 3 se replient en une hélice unimoléculaire capable de lier sélectivement des molécules invitées complémentaires comme le 1,4-butanediol ou le 4-amino-1-butanol (figure 3b) avec des constantes d'associations ( $K_a$ ) de l'ordre de 10<sup>3</sup> L mol<sup>-1</sup> dans le chloroforme [11]. Le 1,5-pentanediol est trop long et pas du tout reconnu par 3, mais on pourrait concevoir un récepteur adapté en augmentant le nombre d'unités Q<sup>F</sup> au centre de la séquence. C'est ce principe qui est exploité dans la séquence 4 qui ne possède qu'un bouchon  $Q_3$  et dont le long segment  $(Q^F)_8$  a la capacité de s'assembler en une double hélice antiparallèle. La double hélice (4)<sub>2</sub> est donc munie de deux clés polaires et d'un segment central comportant 2 x 8 unités Q<sup>F</sup>. Elle reconnait de façon sélective le 1,10-décanediol (figure 3b) [12]. On voit ainsi que non seulement les formes des hélices mais aussi la reconnaissance d'invités simples peuvent être conçus avec un bon niveau de prévisibilité.

#### Nouveau design de capsules hélicoïdales

La génération suivante de capsules hélicoïdales a été conçue en vue de la reconnaissance de molécules organiques polaires et chirales avec l'idée d'exploiter la chiralité intrinsèque de l'hélice pour discriminer les énantiomères de la molécule invitée. Dans ce nouveau design, les unités Q<sup>F</sup> de la génération précédente ont été remplacées par des unités N afin de libérer le volume occupé par les atomes de fluor. Ce remplacement a aussi permis de dévoiler un motif aminopyridine favorable à la reconnaissance de fonctions acide carboxylique. La séquence 5 est ainsi composée de deux cônes hélicoïdaux Q<sub>3</sub>P<sup>N</sup>N<sub>2</sub> reliés par une unité diacide pyr-pyz-pyr codant pour un diamètre large (figure 4a). Cette séquence montre une grande affinité ( $K_a$  pouvant atteindre 10<sup>6</sup> L mol<sup>-1</sup>) et une grande sélectivité pour l'acide tartrique [13]. De plus, l'encapsulation s'est révélée totalement diastéréosélective, c'est-àdire que l'énantiomère D de l'acide tartrique est reconnu essentiellement par l'hélice droite (P) et l'énantiomère L par l'hélice gauche (M). Les hélices P et M pouvant s'interconvertir du fait de la nature dynamique de la conformation, l'équilibre est déplacé en faveur d'un sens d'hélicité ou de l'autre lorsqu'on ajoute l'un ou l'autre énantiomère de l'acide tartrique (figure 4b) [14].

À l'instar des designs antérieurs, nous avons anticipé que la délétion d'un bouchon Q<sub>3</sub> à une extrémité de la séquence **5** associée à l'allongement du segment naphtyridine aboutirait à la formation d'une capsule auto-assemblée en double hélice. Effectivement, la séquence **6** forme une double hélice (**6**)<sub>2</sub> dont la cavité s'est avérée capable d'accueillir une molécule d'acide citrique (structure cristalline en *figure 4c*) [15].

# Itération pour plus de sélectivité

Afin de viser des cibles plus complexes comme les saccharides – des molécules polyhydroxylées qui diffèrent peu les unes des autres (*figure 5c*) –, une stratégie innovante pour la conception de récepteurs artificiels s'est avérée nécessaire. Même si on peut avoir un certain degré de prévision des propriétés de reconnaissance moléculaire comme montré ci-dessus, il est notoire que la conception *ab initio* d'un récepteur moléculaire spécifique d'une molécule invitée complexe reste un objectif illusoire. Il est par contre possible de prévoir



Figure 4- (a) Séquence d'une capsule de troisième génération pour la reconnaissance de l'acide tartrique (haut). Vue latérale de la structure cristalline d'un complexe entre la capsule **5** et l'acide D-tartrique ; coupe transversale de la structure **5**—acide tartrique montrant les liaisons hydrogène entre l'hôte et l'invité en pointillés violets (bas). (b) Effet de l'ajout d'une concentration croissante d'acide D- ou L-tartrique (bleu clair et bleu foncé respectivement) sur la capsule **5** mesuré par dichroïsme circulaire. (c) Séquence de la double hélice antiparallèle **6** (haut) et structure cristalline du complexe **6**—acide citrique (bas).

le volume de la cavité d'un foldamère hélicoïdal, l'abondance d'accepteurs et de donneurs de liaisons hydrogène dans cette cavité, ainsi que sa nature chirale, afin de proposer une séquence **7** (*figure 5b*) pour la reconnaissance de monosaccharides, comme cela a été validé expérimentalement [16]. La stratégie que nous avons mise au point pour passer de cette première étape à un récepteur très sélectif d'un sucre particulier repose sur :

- la capacité à obtenir une information structurale précise grâce à la cristallographie et aux études en solution (*figure 5d*);
- la modularité inhérente d'une séquence oligomère, à l'instar des biopolymères;

- et le concept original de « design négatif » qui consiste, à partir d'un complexe de départ avec un saccharide donné, à ne pas chercher à améliorer ce complexe mais à modifier sa séquence de façon à exclure une association avec tout autre saccharide tout en préservant l'association de départ (figure 5a).

Cette approche a ainsi permis de faire évoluer en quelques itérations la séquence **7** en la séquence **12** qui possède une sélectivité inégalée et une complémentarité quasi parfaite à l'échelle atomique pour le  $\beta$ -D-fructopyranose en milieu organique (*figure 5e*) [16]. Cette stratégie a été validée une seconde



Figure 5 - (a) Évolution itérative dirigée par leur structure de séquences foldamériques par un « design négatif » qui vise à effectuer des mutations ou délétions de façon à exclure certaines associations tout en conservant l'association initiale avec une cible donnée notée « A ». (b) Alignement des séquences issues de l'évolution itérative effectuée en vue de la reconnaissance sélective du β-fructopyranose. (c) Formules des monosaccharides dont la structure cristalline du complexe avec un foldamère a pu être déterminée. (d) Vue détaillée des structures cristallines de la séquence 7 avec le β-fructopyranose, l'α-mannopyranose, le β-glucopyranose et l'α-xylopyranose. (e) Structure du complexe entre la séquence 12 et le β-fructopyranose déterminée par RMN.

fois en faisant évoluer une séquence spécifique de l'acide tartrique (*figure 4a*) en une séquence capable de reconnaitre l'acide malique sélectivement, ces deux molécules ne différant que par un simple atome d'oxygène [17].

## Jouer avec les vitesses de capture et de relargage

Les architectures des foldamères sont auto-organisées et donc de fait dynamiques. Cet aspect enrichit les comportements en solution et rend leur étude fascinante. La combinaison des processus d'encapsulation et des problématiques de reconnaissance chirale est particulièrement stimulante (*figure 6a*). Par exemple, il a été possible de mettre en évidence l'influence de la taille (*i.e.* longueur de la séquence oligoamide aromatique) d'une capsule sur la vitesse de capture et de relargage d'une molécule invitée chirale (l'acide tartrique) [14].

De même, nous avons démontré la possibilité de modifier « *in situ* » le squelette de capsules afin d'aboutir à un changement conformationnel induisant une variation non négligeable des paramètres thermodynamiques de la complexation (*i.e.* relargage du substrat). Plus précisément, la contraction de cycle de l'unité pyridazine centrale (*figure 4a*) en pyrrole a été réalisée en utilisant des méthodes électrochimiques ou chimiques (*figure 6b*) [18].

Enfin, pour conclure cette revue non exhaustive des aspects dynamiques des capsules, il a été démontré que l'utilisation de l'auto-assemblage dynamique permettait de moduler *a posteriori* le volume de la cavité d'un conteneur hélicoïdal sans en modifier la séquence initiale. Un brin hélicoïdal court



Figure 6 - (a) Encapsulation d'une molécule invitée énantiomériquement pure par un mélange racémique d'hélices (hélice *P* en bleu, hélice *M* en rouge. Les deux complexes obtenus sont des intermédiaires supramoléculaires diastéréoisomèriques, qui à l'équilibre, après l'inversion de l'hélicité *P* induite par le substrat, aboutissent à l'observation d'un seul complexe d'hélicité *M*. (b) Transformation chimique de la structure d'une cavité aboutissant au relargage du substrat. (c) Intercalation d'un brin unique d'une double hélice dans une hélice dont les diamètres sont réduits aux extrémités. Le résultat tient dans l'extension du brin vert aboutissant à l'augmentation du volume de la cavité du complexe bimoléculaire.

conçu spécialement pour s'intercaler spécifiquement dans le segment central d'une capsule unimoléculaire permet à cette dernière de s'étendre tel un ressort et ainsi d'augmenter son volume de manière conséquente (*figure 6c*) [19].

## Le champ des possibles est immense

Au fil des ans, nous avons pu affiner notre savoir-faire dans la synthèse des monomères et dans leur assemblage en séquences de plus en plus longues, ainsi que nos connaissances concernant les propriétés de reconnaissance moléculaire des capsules aromatiques oligoamides hélicoïdales. Les résultats présentés ici démontrent la viabilité d'une approche de conception *ab initio* de récepteurs abiotiques exploitant à la fois la modularité des séquences, leur accessibilité par la synthèse organique et, dans le cas des oligoamides aromatiques, leur propension à former des monocristaux convenant à une analyse structurale par diffraction des rayons X. Une extension souhaitée pour la conception de tels récepteurs est le développement d'outils de modélisation permettant d'obtenir des choix encore plus fiables lors de l'évolution par itérations des séquences.

Sur le plan de la synthèse chimique (non abordée ici), les approches en solution ont vocation à être remplacées par des synthèses sur support solide plus efficaces et qu'on peut envisager d'automatiser pour atteindre des séquences plus longues capables d'encapsuler des molécules invitées plus volumineuses et complexes. Des architectures autres que la capsule hélicoïdale sont envisageables ainsi que l'illustre la *figure 1*. Des hélices en forme de cône et non de capsule pourraient ainsi permettre de reconnaitre un élément d'une plus grande molécule, comme un saccharide lié par une liaison covalente à la surface d'une protéine.

Enfin, d'autres développements tiennent à l'utilisation que l'on peut faire de ces récepteurs sélectifs, par exemple comme transporteurs ou comme capteurs lorsque la reconnaissance moléculaire est couplée à l'émission d'un signal, par exemple la fluorescence. Les perspectives sont multiples.

[1] Anfinsen C.B., Principles that govern the folding of protein chains, *Science*, **1973**, *181*, p. 223.

[2] Watson J.D., Crick F.H., Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid, *Nature*, **1953**, *171*, p. 737.

[3] Gellman S.H., Foldamers: a manifesto, Acc. Chem. Res., **1998**, 31, p. 173.

[4] Guichard G., Huc I., Synthetic foldamers, Chem. Commun., 2011, 47, p. 5933.

[5] Zhang D.-W., Zhao X., Hou J.-L., Li Z.-T., Aromatic amide foldamers: structures, properties, and functions, *Chem. Rev.*, **2012**, *112*, p. 5271.

[6] Wipff G., Kollman P.A., Lehn J.-M., Macrocyclic receptor chemistry: experimental and theoretical studies on molecular recognition, *J. Mol. Struct.: Theochem.*, **1983**, *10*, p. 153.

[7] Lützen A., Self-assembled molecular capsules: even more than nano-sized reaction vessels, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, *44*, p. 1000.

[8] Huc I., Aromatic oligoamide foldamers, Eur. J. Org. Chem., 2004, p. 17.

[9] Garric J., Léger J.-M., Huc I., Molecular apple peels, Angew. Chem. Int. Ed., 2005, 44, p. 1954.

[10] Garric J., Léger J.-M., Huc I., Encapsulation of small polar guests in molecular apple peels, *Chem. Eur. J.*, **2007**, *13*, p. 8454.

[11] Bao C., Kauffmann B., Gan Q., Srinivas K., Jiang H., Huc I., Converting sequences of aromatic amino acid monomers into functional three-dimensional structures: second-generation helical capsules, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, *47*, p. 4153.

[12] Bao C., Gan Q., Kauffmann B., Jiang H., Huc I., A self-assembled foldamer capsule: combining single and double helical segments in one aromatic amide sequence, *Chem. Eur. J.*, **2009**, *15*, p. 11530.

[13] Ferrand Y., Kendhale A. M., Kauffmann B., Grélard A., Marie C., Blot V., Pipelier M., Dubreuil D., Huc I., Diastereoselective encapsulation of tartaric acid by a helical aromatic oligoamide, *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, p. 7858.

[14] Ferrand Y., Chandramouli N., Kendhale A.M., Aube C., Kauffmann B., Grélard A., Laguerre M., Dubreuil D., Huc I., Long-range effects on the capture and release of a chiral guest by a helical molecular capsule, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134*, p. 11282.

[15] Chandramouli N., Ferrand Y., Kauffmann B., Huc I., Citric acid encapsulation by a double helical foldamer in competitive solvents, *Chem. Commun.*, **2016**, *52*, p. 3939.

[16] Chandramouli N., Ferrand Y., Lautrette G., Kauffmann B., Mackereth C.D., Laguerre M., Dubreuil D., Huc I., Iterative design of a helically folded aromatic oligoamide sequence for the selective encapsulation of fructose, *Nature Chem.*, **2015**, *7*, p. 334.

[17] Lautrette G., Wicher B., Kauffmann B., Ferrand Y., Huc I., Iterative evolution of an abiotic foldamer sequence for the recognition of guest molecules with atomic precision, *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, *138*, p. 10314.

[18] Lautrette G., Aube C., Ferrand Y., Pipelier M., Blot V., Thobie C., Kauffmann B., Dubreuil D., Huc I., Tuning the guest-binding ability of a helically folded capsule by *in situ* modification of the aromatic oligoamide backbone, *Chem. Eur. J.*, **2014**, *20*, p. 1547.

[19] Singleton M.L., Pirotte G., Kauffmann B., Ferrand Y., Huc I., Increasing the size of an aromatic helical foldamer cavity by strand intercalation, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, *53*, p. 13140.

#### Yann FERRAND\*,

est chargé de recherche au CNRS à l'Institut de Chimie et Biologie des Membranes et Nano-Objets (CBMN, UMR 5248), CNRS, IPB et Université de Bordeaux, Équipe Chimie supramoléculaire bio-inspirée, Institut Européen de Chimie et Biologie, Pessac. **Ivan HUC\*\***,

est professeur à l'Université Ludwig-Maximilians de Munich en Allemagne (Department Pharmazie), en détachement d'un poste de directeur de recherche au CNRS.

Il a notamment reçu la Médaille d'argent du CNRS en 2012 et a été nommé Membre distingué Junior de la Société Chimique de France en 2013.

\* y.ferrand@iecb.u-bordeaux.fr

\*\* ivan.huc@cup.lmu.de

