



HAL
open science

Complexes cavitands biomimétiques pour la reconnaissance moléculaire et la catalyse : des milieux organiques vers l'eau

Solène Collin

► **To cite this version:**

Solène Collin. Complexes cavitands biomimétiques pour la reconnaissance moléculaire et la catalyse : des milieux organiques vers l'eau. Biochimie [q-bio.BM]. Université Sorbonne Paris Cité, 2018. Français. NNT : 2018USPCB088 . tel-03575495

HAL Id: tel-03575495

<https://theses.hal.science/tel-03575495>

Submitted on 15 Feb 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



UNIVERSITÉ
PARIS
DESCARTES

U-PC
Université Sorbonne
Paris Cité

Ecole Doctorale Médicaments Toxicologie Chimie Imagerie

Laboratoire de Chimie et Biochimie Pharmacologiques et Toxicologiques

Equipe de Chimie Bio-Inorganique Supramoléculaire

Complexes cavitands biomimétiques pour la reconnaissance moléculaire et la catalyse : des milieux organiques vers l'eau

Présentée par **Solène COLLIN**

Pour l'obtention du grade de docteur de l'Université Paris Descartes, spécialité : chimie

Dirigée par Pr. Olivia REINAUD

Présentée et soutenue publiquement le 6 novembre 2018

Devant un jury composé de :

Dr. Pascale DELANGLE	Rapporteur	CEA de Grenoble
Dr. David SEMERIL	Rapporteur	Institut de Chimie de Strasbourg
Pr Kristin BARTIK	Examineur	Université Libre de Bruxelles
Dr. Mickael MENAND	Examineur	Université Pierre et Marie Curie
Dr. Cyrille MONNEREAU	Examineur	ENS de Lyon
Pr Olivia REINAUD	Directrice de thèse	Université Paris Descartes

ABSTRACT

Metalloenzymes involve within their active site (at least) one metal ion that has a key role for catalysis. In particular, zinc enzymes are responsible for diverse reactions, mainly hydrolytic. One of the objectives of bio-inorganic chemistry is to develop models of these metalloenzymes in order to better understand their functioning and obtain efficient catalysts. Different degrees of biomimeticism can be achieved. The simplest structures only reproduce the first coordination sphere. More elaborate models involve second sphere effects, by addition of an intramolecular hydrogen bond donor for instance. According to literature, they allow to characterize intermediates involved in enzymatic mechanisms or to increase reactivity.

A more faithful and original biomimetic approach is used in our group. It consists in synthesizing a model incorporating first, second and third coordination sphere effects. The systems combine a hydrophobic resorcinarene cavity and four imidazole arms coordinating a metal ion. The organic Zn^{II} complex is a remarkable receptor for small molecules involving an acidic function, such as acetic acid, acetylacetone, and acetamide. These are selectively coordinated within the cavity thanks to the intramolecular basic assistance of an hemilabile imidazole arm that allows coordination in the anionic form. This ability was also used for reactivity. The study of acetonitrile hydration reveals the efficient and selective formation of acetamide thanks to the association of three parameters: the cavity recognizes the substrate, the metal ion activates it and the hemilabile arm allows coordination of a water molecule in *cis* position from acetonitrile and acts as a base assisting the nucleophilic attack.

The model is then adapted into water. Two strategies are considered: synthesis of a new water-soluble ligand (WRim₄) with charged hydrophilic groups and incorporation of the organic system into micelles (MRim₄). The properties of both systems towards zinc coordination and molecular recognition are similar despite different chemical environments. Both complexes are receptors for small anions, such as acetate, acetamide or acetylacetone, bound under deprotonated form, over a wide pH range. Especially, acetamide is coordinated at neutral pH, which indicates a significant pK_a decrease of 8 pH units. The water-soluble complex MRim₄Zn and WRim₄Zn are equally efficient receptors in water, which underlines the decisive role of the cavity for molecular recognition.

The recognition properties of WRim₄Zn are investigated in more detail. Monoalkylphosphates are of particular interest. Phosphates are indeed ubiquitous in nature, for which selective receptors are needed. Remarkable results were obtained: guests with long alkyl chains were included for the first time in this type of system with significant affinity in water. The system is selective for mono- over di- and trialkylphosphates and for linear alkyl chains below seven carbones. An NMR study suggests that chain folding is facilitated by a different coordination mode due to the double-charged and tetrahedral nature of the phosphate.

The resorcinarene cavity brings to WRim₄Zn recognition properties and a selectivity that remains largely unexplored. In particular, recognition of sulfur derivatives as well as modified peptides (acetylated or phosphorylated) should be investigated. Moreover, the reactivity of the systems is still mostly unknown. In organic medium, a wider range of substrates should be scrutinized in order to better understand the capacities of our systems. In water, enzymatic reactions could be considered, especially hydrolytic or hydration activity.

REMERCIEMENTS

Je tiens en premier lieu à remercier Olivia pour m'avoir encadrée et accompagnée tout au long de ces trois années ; j'ai énormément appris à votre contact et c'est une chance d'avoir pu travailler avec une scientifique telle que vous.

Merci également à Kristin Bartik pour m'avoir accueillie pendant deux mois au sein de son équipe à Bruxelles ; j'ai été très heureuse d'avoir cette occasion de bénéficier de vos conseils avisés et de voyager au cours de ma thèse. Et bien sûr grand merci à Gilles pour son aide, à Lionel pour sa patience et sa bonne humeur et à toute l'équipe pour son accueil, sans oublier Emilio sans qui cette aventure n'aurait peut-être jamais eu lieu.

Je voudrais aussi remercier Nicolas pour sa patience et sa gentillesse, et pour m'avoir laissé abuser de son temps. Je suis aussi vraiment reconnaissante à Cédric et Gildas de m'avoir apporté leur aide à chaque fois que j'en ai eu besoin (c'est-à-dire trop souvent), et à Nathalie pour son soutien en enseignement et modélisation.

Merci à nos collaborateurs croates Aleksander Visnjevac et Toni pour leur courage et les centaines de tentatives de cristallisation. Merci aussi à Assia pour son accueil et son soutien, à Sonia pour son énergie et Fabienne pour sa gentillesse.

Bien sûr je remercie chaleureusement tous les membres de l'équipe, présents ou passés ; c'est vous qui avez donné à ces trois années leur couleur. Diana tout d'abord pour son soutien inconditionnel (et pour m'avoir permis de faire de l'enseignement au top !), Benoît pour ses conseils avisés et sa compétence infailible ès-dessiccateur et Jean-No, le spécialiste de la tarte au citron meringuée et des anecdotes salées. Une pensée spéciale pour mes prédécesseurs « résorci » Olivia Bistri, Thanh, Amandine et surtout Arnaud je vous suis reconnaissante pour avoir toujours été prêts à apporter votre aide ! Merci également à Delphine pour sa bonne humeur (et félicitations !). Je remercie aussi sincèrement Sarah, notre maître zen et fournisseuse officielle de bonzaïs au nom douteux ainsi que Pamela, la gentillesse incarnée et respo escape games de l'équipe ; mes deux partenaires de tous les instants tout au long de cette aventure ou presque !

Un grand merci aux stagiaires que j'ai eu la chance d'encadrer chaque année et qui m'ont beaucoup apporté : Inès pour son sérieux et son grand cœur (bon courage pour la Suisse !), Amanda pour son efficacité et sa gentillesse (vive Nightwish au labo) et Ulysse pour les bons moments passés ensemble (et merde pour l'an prochain). Merci également à Issam, l'homme invisible, Gaël, Alex B., Séb et ses virées gastronomiques, Jean, Yujie, Chris, Ivan et Rémi pour avoir rendu le bureau si vivant !

Il me reste à exprimer toute ma gratitude envers tous ceux qui ont contribué à rendre ses années inoubliables. Je pense que vous vous reconnaîtrez, nous avons partagé tant de pauses midi et de discussions couloir ; sans oublier l'équipe d'enseignement et les thésards du labo avec qui on se soutient mutuellement : merci à vous !

Enfin, last but not least comme on dit, je tiens à remercier tous mes proches pour leur présence constante et leur soutien, en particulier Noé qui m'a supportée au jour le jour tout au long de ces trois années.

TABLE DES MATIERES

Abstract.....	3
Remerciements	5
Abréviations	11
Chapitre 1 : Métalloenzymes à zinc et biomimétisme – état de l’art	13
I. Les enzymes à zinc	13
1. <i>Les métaux en biologie</i>	<i>13</i>
2. <i>Diversité des métalloenzymes à zinc</i>	<i>15</i>
II. Modèles « classiques »	20
1. <i>Motivation</i>	<i>20</i>
2. <i>Modèles de la 1^{ère} sphère de coordination</i>	<i>21</i>
3. <i>Modèles avec effet de 2^{nde} sphère de coordination</i>	<i>26</i>
III. Approche supramoléculaire	29
1. <i>Systèmes cavitaires – 3^{ème} sphère de coordination</i>	<i>29</i>
2. <i>Systèmes résorcinarènes – Rim₃ et WRim₃.....</i>	<i>34</i>
IV. Bibliographie	40
Chapitre 2 : Systèmes organosolubles.....	45
I. Présentation	45
1. <i>Système Rim₄Zn.....</i>	<i>45</i>
2. <i>Propriétés hôte-invité de Rim₄Zn.....</i>	<i>48</i>
II. Inclusion de l’acétamide	49
1. <i>Récepteurs d’acétamide</i>	<i>49</i>
2. <i>Aspect thermodynamique.....</i>	<i>50</i>
3. <i>Aspect cinétique.....</i>	<i>52</i>
4. <i>Interprétation</i>	<i>54</i>
III. Réactivité comparée	61
1. <i>Hydratation de l’acétonitrile.....</i>	<i>61</i>

2.	<i>Réaction avec l'acétaldéhyde</i>	64
IV.	Vers d'autres métaux – Rim₄Co^{II}	78
1.	<i>Synthèse et caractérisation</i>	78
2.	<i>Propriétés hôte-invité</i>	80
V.	Bibliographie	84
Chapitre 3 : Etude comparée de deux systèmes hydrosolubles		87
I.	Elaboration des systèmes	87
1.	<i>Contexte et état de l'art</i>	87
2.	<i>Conception des systèmes</i>	89
3.	<i>Synthèse du ligand WRim₄</i>	90
4.	<i>Incorporation dans des micelles – système MRim₄</i>	92
5.	<i>Comparaison entre WRim₄ et MRim₄</i>	94
II.	Complexation avec Zn(II) et Cu(II)	96
1.	<i>Formation des complexes de zinc(II)</i>	96
2.	<i>Formation de WRim₄Cu^{II}</i>	99
III.	Etudes hôte-invité avec les complexes zinciques	103
1.	<i>Acétylacétone</i>	103
2.	<i>Carboxylates</i>	106
3.	<i>Acétamide</i>	111
IV.	Bibliographie	115
Chapitre 4 : WRim₄Zn : propriétés hôte-invité		117
I.	Sélectivité	117
1.	<i>Vis-à-vis d'anions</i>	117
2.	<i>Vis-à-vis de molécules neutres</i>	120
II.	Phosphates	123
1.	<i>Récepteurs de phosphate</i>	123
2.	<i>Monoalkylphosphates (C₀ – C₈)</i>	128
3.	<i>Monohexylphosphate</i>	133
4.	<i>Autres phosphates</i>	146
III.	Dérivés soufrés	150
IV.	Bibliographie	154
Conclusion et perspectives		157

Experimental section	161
I. Synthetic procedures – characterization.....	161
II. Titrations and kinetic studies	179
III. Modelisation	182
IV. Bibliography	186
Annexes.....	187
I. Spectres RMN entiers – chapitre 2.....	189
II. Spectres RMN entiers – chapitre 3.....	198
III. Spectres RMN entiers – chapitre 4.....	207
IV. Figures ITC – chapitre 3	212
V. Figures ITC – chapitre 4	213

ABBREVIATIONS

AcH : acétaldéhyde	HEPES : acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique
ACN : acétonitrile	ITC : titration calorimétrique isotherme
ADN : acide désoxyribonucléique	IR : infrarouge
ARN : acide ribonucléique	MES : acide 2-morpholin-4-yléthanesulfonique
AMP/ADP/ATP : adénosine mono/di/triphosphate	MeSN/PhSN : méthyl/phénylsulfonamide
BNPP : bis- <i>para</i> -nitrophénylphosphate	MNPP : mono- <i>para</i> -nitrophénylphosphate
n-BuLi : n-butyllithium	MOPS : acide 3-morpholino-1-propanesulfonique
CD : cyclodextrine	MsCl : chlorure de mésyle
CxP : monoalkylphosphate (chaîne à x carbones)	NAD(P)H : nicotinamide adénine dinucléotide (phosphate)
CxS : alkylsulfonate (longueur de chaîne x carbones)	NBS : N-bromosuccinimide
DBU : 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-5-ène	OTf : triflate
DCM : dichlorométhane	pH/pD : potentiel hydrogène/deutérium
DMA : diméthylacétamide	RMN : résonance magnétique nucléaire
DMF : diméthylformamide	RT : température ambiante
DMSO : diméthylsulfoxyde	TFA : acide trifluoroacétique
Dpa : dipicolylamine	THF : tétrahydrofurane
DPC : dodecylphosphocholine	TIPS : triisopropylsilyle
DRX : diffraction aux rayons X	

CHAPITRE 1 :

MÉTALLOENZYMES A ZINC ET BIOMIMÉTISME – ETAT DE L'ART

I. Les enzymes à zinc

1. Les métaux en biologie

L'ensemble des procédés chimiques qui permettent au vivant de fonctionner dans toute sa complexité ne peuvent être assurés par les éléments les plus fréquents qui le composent, à savoir l'hydrogène, le carbone, l'oxygène, l'azote, le phosphore ou encore le soufre. La raison en est simple : ces éléments n'ont aucune versatilité, leur chimie est caractérisée par leur nombre d'électrons de valence.

La nature a sélectionné les métaux de transition pour compléter ces éléments de base et rendre possible l'existence d'un organisme vivant dans les conditions de pression et température ambiantes. En particulier, les métaux les plus disponibles ont été utilisés, notamment le zinc, le fer et le cuivre. Ces éléments présentent en effet plusieurs propriétés qui permettent d'étendre les possibles en termes de chimie. Parmi les plus importantes, ils sont capables de former plus de quatre liaisons et ainsi de donner lieu à des complexes de géométries variées. De plus, ils peuvent présenter plusieurs degrés d'oxydation accessibles. Finalement, ils peuvent se lier à une variété de ligands qui permettent d'ajuster les potentiels standards sur une large fenêtre.

Grâce à ces propriétés, les métaux assument plusieurs rôles au sein des organismes. Ils peuvent notamment avoir un rôle structural, ou permettre des transferts d'électrons. Enfin ils sont les acteurs principaux des actes catalytiques, qu'ils impliquent des étapes redox ou non.¹ Parmi les fonctions les plus connues, ils participent à la photosynthèse, au transport de l'oxygène ou encore à la formation et à la rupture de l'ADN et l'ARN... Les exemples sont nombreux.

Les métaux sont capables d'assurer des fonctions aussi variées car ils sont très sensibles à leur environnement, qu'il soit immédiat (première sphère de coordination) ou plus éloigné (seconde et troisième sphères de coordination). Chaque fonctionnalité est donc associée à la fois à un métal et à un environnement précis que la nature pourvoit sous la forme de métalloenzymes. Ces structures protéiques (qui représentent environ un tiers de la totalité des enzymes) sont des catalyseurs hautement efficaces et sélectifs d'un processus en particulier qui impliquent un ou plusieurs ions métalliques en tant que cofacteur.

Les métalloenzymes sont diverses, elles comportent un ou plusieurs métaux et peuvent avoir des structures variées mais quelques caractéristiques structurales demeurent communes à toutes, qui

sont ici présentées au travers de l'exemple emblématique qu'est le cytochrome P450 (Figure 1). Cette famille de métalloenzymes à fer est responsable de l'oxydation de diverses molécules notamment pour faciliter leur élimination et est présente (sous différentes formes) dans la plupart des organismes. Plusieurs représentants de la famille ont été cristallisés, comme par exemple un de ceux présents chez *Pseudomonas sp.*²

La structure globale de l'enzyme est complexe mais plusieurs traits sont identifiables. D'une part, l'ion métallique et son environnement de coordination direct (appelé 1^{ère} sphère de coordination) constituent le site actif, où la réaction a lieu. D'autres acides aminés, qui ne sont pas coordonnés au métal mais participent à la réactivité, par exemple en jouant le rôle de relai de protons ou d'électrons, constituent la seconde sphère de coordination. Enfin, un accès est ouvert pour que les substrats puissent atteindre le métal au cœur de la structure et s'y lier au niveau d'une poche hydrophobe qui constitue la troisième sphère de coordination (*i.e.* les éléments qui participent à la fonction de l'enzyme *via* des interactions faibles).³

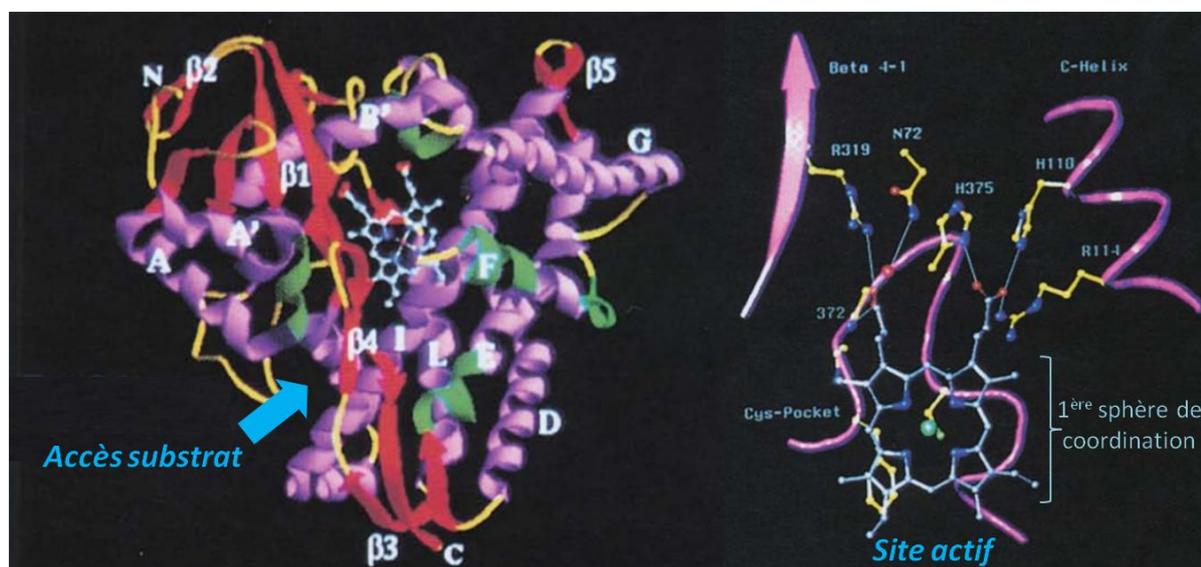


Figure 1 : Structure de cytochrome P450 (issu de la bactérie *Pseudomonas sp.*) cristallisée par Deisenhofer et al. en 1994 (à gauche enzyme entière, à droite site actif uniquement).^{2,4}

L'étude de ces systèmes alliant métaux et large structure organique au sein du vivant relève de la chimie bio-inorganique. Elle consiste à la fois à comprendre la réactivité et l'efficacité des métalloenzymes par le développement de systèmes modèles, ce qui constitue une approche biomimétique, et à élaborer des systèmes synthétiques catalytiques en conditions douces, ce qui relève plutôt de la bioinspiration.

Dans l'équipe de chimie bio-inorganique supramoléculaire, nous travaillons à réaliser des systèmes biomimétiques grâce à l'observation des métalloenzymes. Ces systèmes sont intégralement synthétisés en laboratoire et ne prétendent pas atteindre la complexité des structures naturelles. L'analyse de métalloenzymes, principalement à zinc, permet de nous guider dans leur élaboration.

2. Diversité des métalloenzymes à zinc

Le zinc est l'un des métaux les plus présents dans le vivant, il est indispensable à toute forme de vie. En effet, ses propriétés sont uniques parmi les métaux de transition. Ayant une couche électronique *d* saturée, il n'est pas sensible au potentiel du milieu et peut être entouré de ligands azotés, oxygénés aussi bien que soufrés labiles. Il peut générer des géométries variées en s'entourant de quatre à six ligands et est un excellent acide de Lewis capable d'activer un substrat. Enfin, il peut à pH neutre être sous forme aqua ou hydroxo selon son environnement.⁵ L'ensemble de ces caractéristiques font de Zn^{II} un métal polyvalent et idéal pour deux applications principales : un rôle structural ou catalytique (Figure 2).

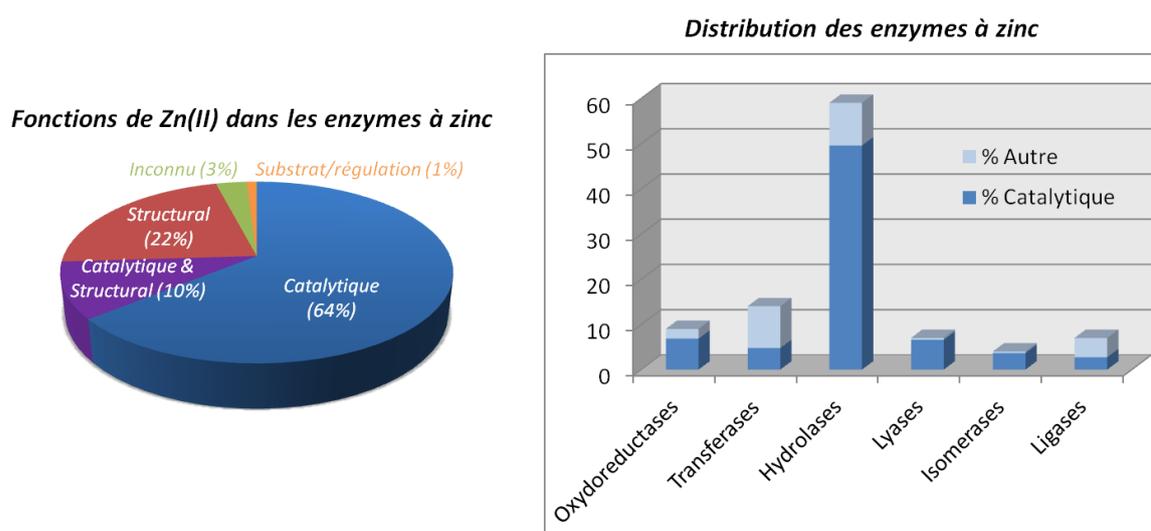


Figure 2 : Répartition des fonctions de Zn^{II} parmi les enzymes à zinc et des enzymes à zinc parmi les six classes d'enzymes.⁶

La polyvalence du métal engendre une grande diversité de métalloenzymes. Cela est illustré par leur présence dans les six familles d'enzymes, avec une majorité d'hydrolases (59%). C'est le seul métal dans ce cas. Au sein de chaque famille, plusieurs types de réactivités existent, nous allons développer les principales dans la suite (Figure 3).⁷⁻⁹

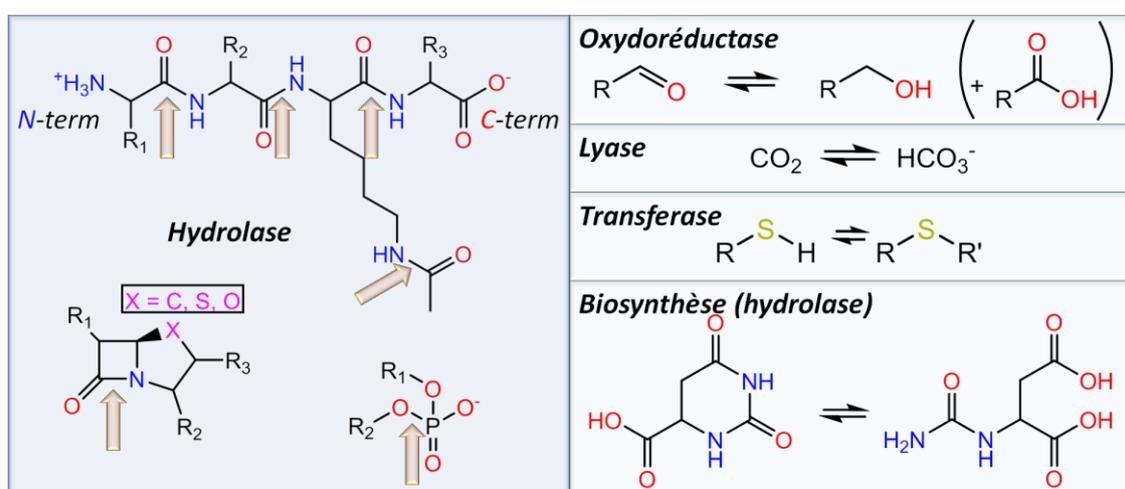


Figure 3 : Aperçu des différentes réactivités connues des enzymes à zinc(II).

Les hydrolases sont la classe la plus représentée et sont capables d'hydrolyser des liaisons peptiques sélectivement du côté N-terminal ou C-terminal d'un peptide (ce sont les exopeptidases) ou au sein de la chaîne (il s'agit alors d'endopeptidases). Certaines enzymes sont plus spécifiques, notamment les histones déacétylases qui hydrolysent sélectivement les lysines acétylées pour libérer un groupement acétate. Les lactamases sont également une famille spécialisée dans l'hydrolyse de lactames bicycliques qui interviennent dans diverses biosynthèses. Enfin, les enzymes à zinc sont aussi capables d'hydrolyser des phosphoesters, les nucléases en particulier ont un rôle prépondérant dans la transcription de l'ADN/ARN.

Il est particulièrement intéressant de noter que dans toutes ces enzymes l'environnement du cation métallique est similaire : le zinc(II) est en géométrie tétraédrique, entouré de trois acides aminés (le plus souvent deux histidines et un troisième parmi His/Glu/Asp) et d'une molécule d'eau.¹⁰ Cette première sphère de coordination apparaît clé pour la réactivité hydrolytique et donne lieu à un mécanisme généralement observé : l'espèce à hydrolyser se coordine en *cis* par rapport à la molécule d'eau déjà présente sur le cation métallique puis il y a attaque nucléophile de l'eau sur le carbonyle activé. Une élimination permet ensuite d'obtenir les deux produits. Les protons sont gérés par des résidus environnants en seconde sphère de coordination de type acide glutamique, aspartique ou histidine.⁸ La différence principale entre les différentes hydrolases à zinc(II) réside dans leur sélectivité car elle provient des seconde et troisième sphères de coordination qui peuvent être diverses.

En variant de manière minimale le site actif, par modification d'un ou deux résidus dans la première sphère de coordination, une palette de réactivités originales peut être obtenue. Les enzymes à zinc sont notamment impliquées dans la biosynthèse de molécules variées pour des réactions très spécifiques. A titre d'exemple, la conversion du dihydroorotate en *N*-carbamyl-S-aspartate présentée en Figure 3, qui intervient dans la synthèse des pyrimidines, est effectuée par la dihydroorotase, enzyme dimérique avec un zinc par unité.¹¹

La présence d'un cation Zn^{II} permet donc des réactions très diverses en termes de fonctions visées autant que de sélectivité. La famille d'enzymes à zinc la plus connue est celle des anhydrases carboniques (qui sont des lyases). Elles sont divisées en trois classes (α , β , γ) qui sont présentes dans différents organismes (animaux, plantes et bactéries respectivement). Les trois classes ont des structures très différentes, le principal point commun étant qu'il s'agit toujours d'enzymes à zinc(II). Les anhydrases carboniques de classe α (les seules présentes chez l'homme) sont les mieux connues, en particulier CA(II) (la deuxième à avoir été caractérisée).^{8,12}

La réaction catalysée par l'anhydrase carbonique est l'hydratation du dioxyde de carbone en hydrogénocarbonate (et inversement). Cette réaction est cruciale pour le bon fonctionnement de l'organisme. CA(II) est particulièrement présente dans les globules rouges où elle participe à la respiration mais a également souvent un rôle de régulateur de pH (dans l'estomac, les reins, la salive notamment) et intervient dans la biosynthèse de certaines molécules telles que la pyrimidine.⁸

La structure de CA(II) est connue et son mécanisme a été élucidé (Figure 4).¹²⁻¹⁵ Il s'agit d'une enzyme mononucléaire à zinc(II) où le cation métallique est coordonné par trois résidus histidine et une molécule d'eau (ou d'hydroxyde) en une géométrie tétraédrique. La présence de trois molécules

d'eau supplémentaires, non coordonnées, met en évidence l'existence d'un réseau de liaisons hydrogènes dense. Le site actif est donc très similaire à celui d'une hydrolase, cependant l'espèce active est cette fois un zinc-hydroxo et non plus aqua. Même s'il s'agit là aussi d'une réaction d'hydratation le mécanisme est de fait différent de ce qui est observé chez les hydrolases (Figure 5).

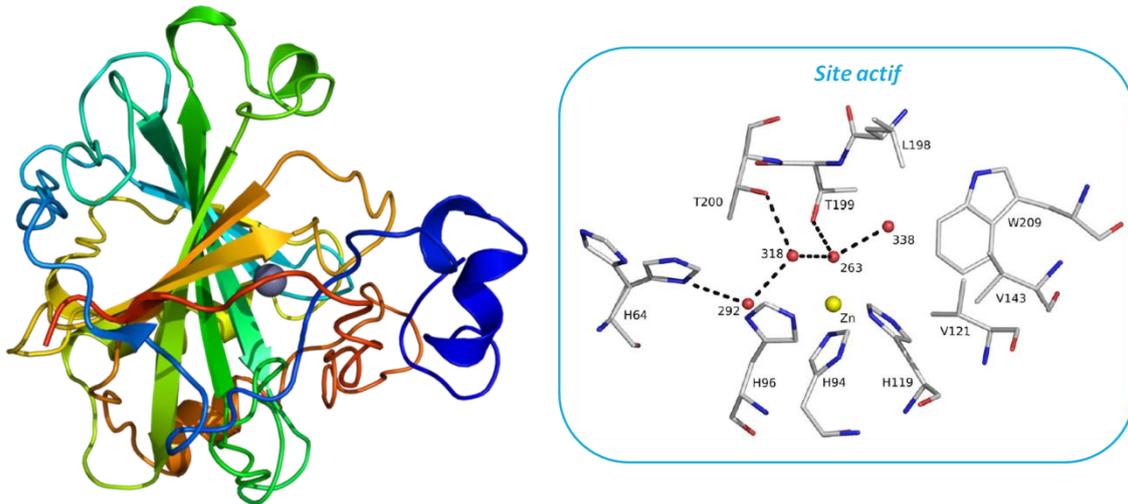


Figure 4 : Structure de l'anhydrase carbonique (CA(II)) cristallisée par Liljas et al. en 1988 et détail du site actif (H = histidine, W = tryptophane, V = valine, T = thréonine, L = leucine ; les numéros 292, 318, 263 et 338 correspondent à des molécules d'eau présentes au site actif).^{14,16}

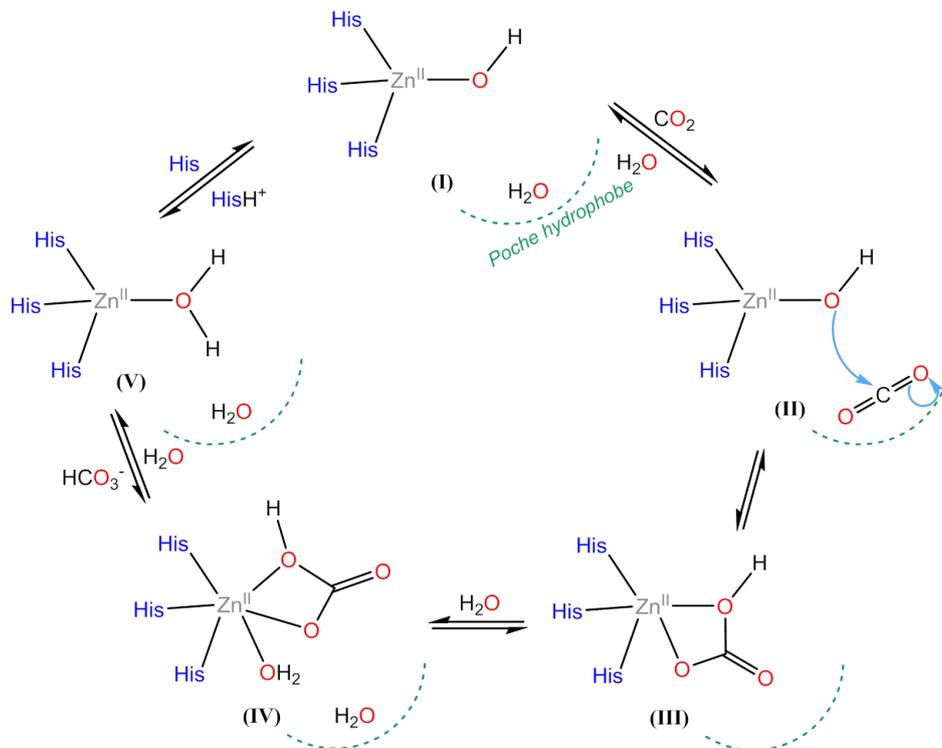


Figure 5 : Représentation schématique du mécanisme de l'anhydrase carbonique. Seule la première sphère de coordination du zinc(II) est représentée, les résidus intervenant par liaisons H ou prototropie sont sous-entendus.

Le mécanisme s'effectue en deux phases : la première est la formation du produit et la seconde permet la régénération du catalyseur. A l'état de repos, le complexe est un zinc(II) hydroxo. Plusieurs molécules d'eau sont présentes à proximité, dont une occupe un site de reconnaissance de molécules neutres. La première étape est la substitution de cette molécule d'eau par du dioxyde de carbone, qui est ensuite attaqué par l'espèce hydroxo nucléophile pour former de l'hydrogénocarbonate coordonné. Le produit est ensuite libéré par substitution par une molécule d'eau *via* un mécanisme associatif. Grâce à un réseau étendu de liaisons hydrogènes, le complexe hydroxo de départ est ensuite reformé et le proton libéré est capté par un résidu histidine distant puis cédé au milieu.^{12,15} Il est à noter que selon les conditions utilisées l'une ou l'autre de ces étapes peut être cinétiquement déterminante. En effet dans les conditions naturelles la régénération du catalyseur par le départ d'un proton assisté par la présence d'un résidu histidine est limitante. Cependant il est possible, dans des conditions de tampon concentrées, de faciliter cette étape, c'est alors la formation de l'hydrogénocarbonate qui devient cinétiquement limitante.¹⁵

Les propriétés de coordination du zinc(II) font qu'il est également capable de se lier à des ligands soufrés. Cela ouvre une porte vers la réactivité envers les thiols et thioethers, par des hydrolases d'une part mais également des transférases. Notamment, les protéines prenyltransferases catalysent l'alkylation de thiols par des chaînes longues lipidiques (Figure 3).¹⁷

Le zinc(II) se distingue de la plupart des autres métaux par son inertie rédox. Il existe cependant des oxydoréductases à zinc qui fonctionnent grâce à l'intervention d'un cofacteur, NADH ou NADPH en général. La famille emblématique de ce type de réactivité est celle des alcool déshydrogénases, dont la représentée la plus étudiée est HLADH (Horse Liver Alcohol DeHydrogenase). Ces enzymes catalysent la transformation d'alcools (primaires ou secondaires) en aldéhydes (ou cétones) réversiblement et sont également capables de catalyser la dismutation d'aldéhyde (en alcool et acide carboxylique).^{18,19} Elles ont notamment un rôle de détoxification et de régulation.

Cette section a donc mis en évidence la variété des réactivités rendues possibles par les enzymes à zinc. Cette diversité est remarquable car elle est associée à des environnements de coordination similaires dans tous les cas : le cation métallique est entouré de trois acides aminés, l'histidine étant le plus fréquent (Figure 6) et d'une molécule d'eau.^{6,10} La différence de réactivité et de sélectivité provient des seconde et troisième sphère de coordination, qui ont un rôle clé pour l'activité. De nombreuses enzymes comme l'anhydrase carbonique ont recours à des résidus non coordonnés pour gérer les protons voire plus : jouer le rôle de base générale. C'est le cas pour la famille des histones déacétylases, que nous allons présenter plus en détail.

Les histones déacétylases sont spécialisées dans la déacétylation de lysines, principalement sur les histones mais également sur d'autres protéines. Leur rôle est crucial car les modifications post-traductionnelles des histones permettent d'altérer leur repliement et cela résulte en une sur- ou sous-expression du gène concerné.²⁰

Le site actif de ces enzymes a été caractérisé. Le substrat y accède par un tunnel étroit constitué de résidus hydrophobes permettant à la chaîne alkyle d'une lysine acétylée de s'insérer pour accéder au cœur de l'enzyme où se trouve un zinc(II) entouré de deux aspartates, une histidine et une molécule d'eau.^{21,22} A proximité du cation métallique se trouvent également deux couples de résidus

histidine et aspartate connus pour leur fonction de relai de proton. Dans le mécanisme proposé, les histidines interviennent à chaque étape en catalyse acido-basique générale (Figure 7).²¹⁻²³

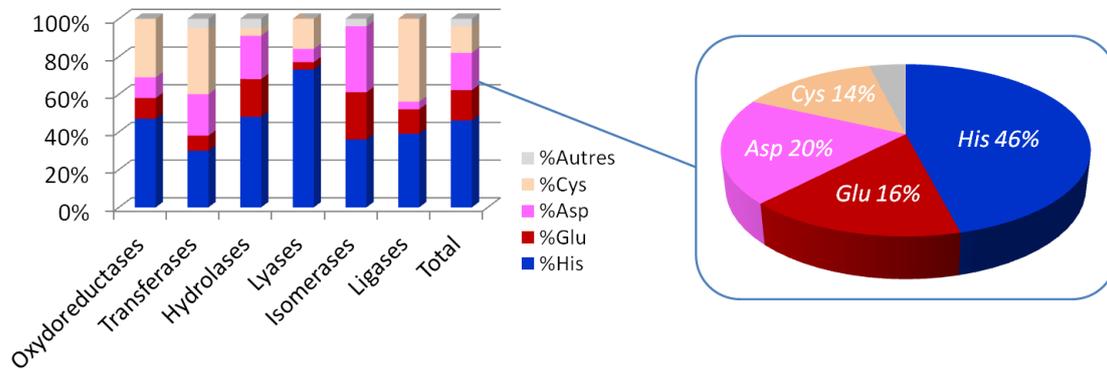


Figure 6 : Composition de la première sphère de coordination entourant le cation Zn^{II} dans les enzymes catalytiques à zinc selon la classe d'enzyme. A droite, statistique globale sur l'ensemble des enzymes connues.⁶

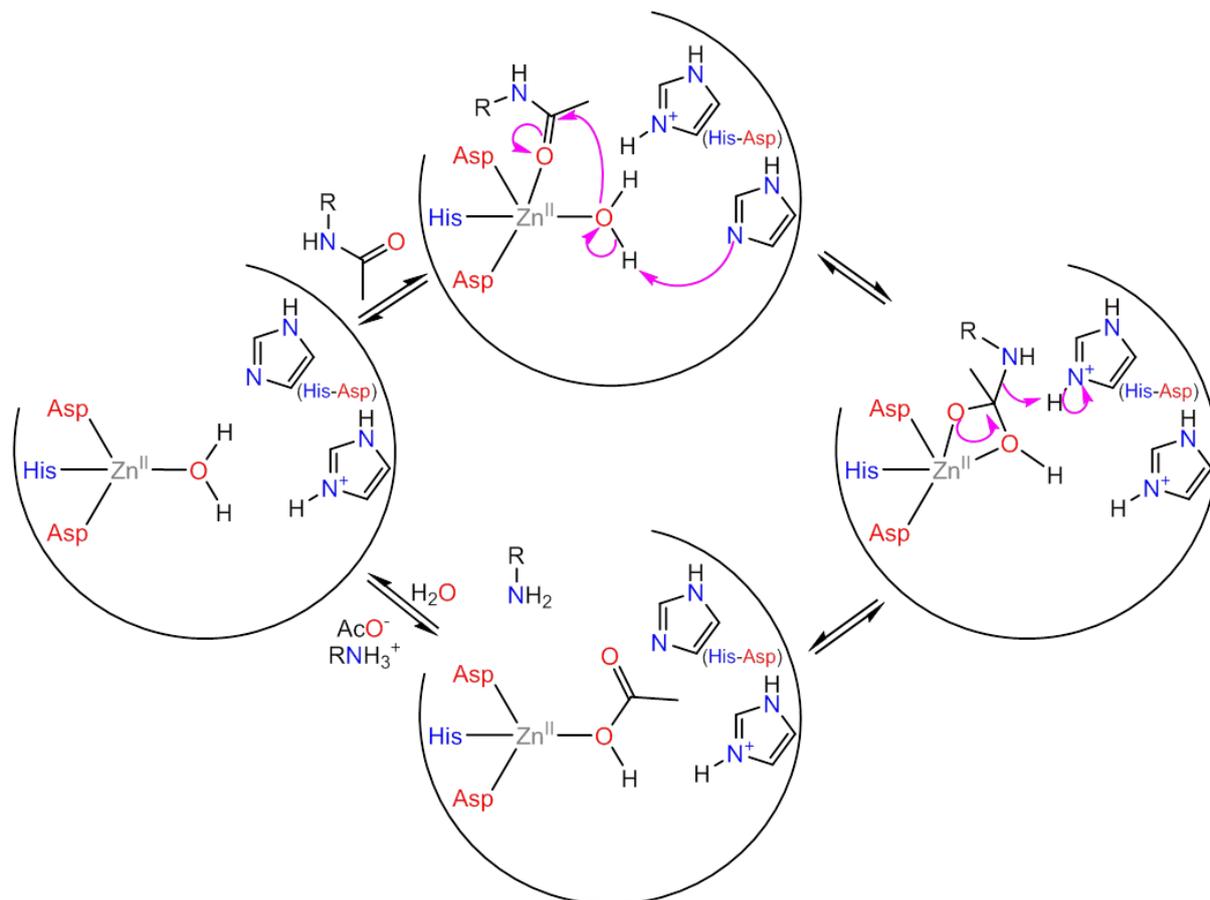


Figure 7 : Représentation schématisée du mécanisme d'une histone déacétylase, avec catalyse acido-basique générale par deux résidus histidine. Seul le site actif est représenté, et les acides aminés n'intervenant que par liaisons non covalentes sont sous-entendus.

L'espèce nucléophile est la molécule d'eau coordonnée sur le métal, qui réalise une addition-élimination sur l'amide avec l'assistance d'une histidine qui capte un proton lors de la première

étape et d'une deuxième qui cède un proton lors de l'élimination. Enfin, l'acide acétique formé est déplacé par une molécule d'eau et une prototropie entre les deux histidines intervient pour régénérer le site actif.

La famille des histone acétylases est un excellent exemple pour les chimistes bio-inorganiciens car elle illustre l'importance de la structure enzymatique à plusieurs niveaux : i) le cation métallique et sa première sphère de coordination qui permet la fixation des substrats, ii) la présence de résidus en seconde sphère de coordination qui ont un rôle clé en tant que base générale ainsi qu'en formant un réseau de liaisons hydrogènes et iii) la cavité, formée d'acides aminés hydrophobes, qui constituent la troisième sphère de coordination, assure la reconnaissance du substrat et la sélectivité de l'enzyme.

L'élaboration de modèles de métalloenzymes repose sur un compromis entre degré de complexité et biomimétisme. Certains modèles, parmi les premiers à avoir été développés, se limitent à reproduire l'environnement de coordination immédiat du métal quand d'autres, plus élaborés, cherchent à mimer également les effets de seconde voire troisième sphère de coordination.

II. Modèles « classiques »

1. Motivation

Les enzymes sont difficiles à étudier dans leur milieu naturel et leur extraction est complexe car elles sont fragiles et facilement dénaturées en dehors de leurs conditions d'existence naturelles. Afin de mieux les comprendre, les chimistes élaborent donc des modèles qui permettent d'étudier la réactivité dans des conditions moins strictes. Plusieurs stratégies sont possibles, avec divers degrés de simplification, dans l'eau ou en milieu organique. Dans cette partie, nous nous limiterons à l'étude de modèles mononucléaires d'enzymes à zinc(II).

Le but du développement d'un modèle est de parvenir grâce à une structure chimique simplifiée à étudier des phénomènes complexes du vivant. Le choix de la molécule de synthèse modèle doit alors répondre à plusieurs problématiques qui se posent lors de la simplification de structure. En effet, à l'état de repos le zinc(II) est présent dans la plupart des métalloenzymes sous forme tétraédrique, ce qui est un défi en soi à reproduire en solution où Zn^{II} adopte plus souvent des géométries à plus haut degré de coordination. Cette contrainte peut être satisfaite par l'utilisation de ligands chélates rigides de type tripodal cofacial qui astreignent le métal à une géométrie tétraédrique.

Au cours de la réaction enzymatique, le cation métallique peut passer par des intermédiaires penta- voire hexacoordinés. Le modèle doit être capable de les reproduire, donc conserver une certaine souplesse en termes de géométrie et degré de coordination ainsi qu'être accessible pour qu'un substrat puisse s'y coordiner. Ce dernier point impose un strict contrôle stérique sur la molécule modèle (Figure 8). En effet, dans le cas d'un complexe zincique obtenu avec un ligand tripode pour faciliter la formation de complexes tétraédriques, si l'encombrement autour du métal est faible la formation de complexes pentacoordinés sera facilitée mais il y aura formation de

dimères. Si à l'inverse l'encombrement est fort, le complexe monomérique sera stable mais les substrats ne pourront pas réagir. Il s'agit donc de trouver un compromis entre ces deux extrêmes.²⁴

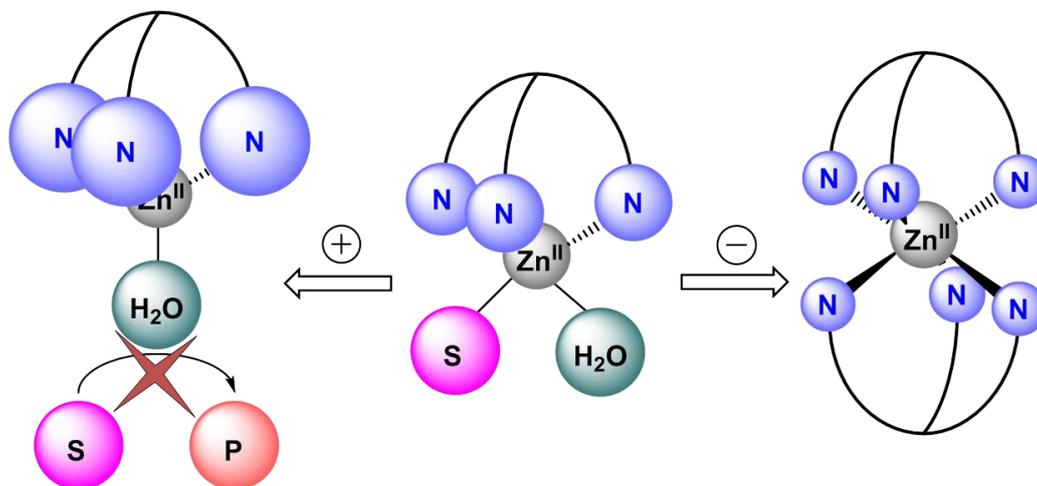


Figure 8 : Représentation schématique de la conception de modèles d'enzymes à zinc(II) basés sur des ligands tripodaux avec différents degrés d'encombrement. Si l'encombrement est trop faible, il y a dimérisation. S'il est trop important la réactivité est inhibée car le substrat (sphère rose) ne peut pas accéder au métal pour former le produit (sphère rouge).

Le contrôle de l'encombrement est délicat et crucial pour des modèles de type tripodes ; cependant les avantages de cette structure sont suffisants pour qu'ils aient donné lieu à de nombreuses études.

2. Modèles de la 1^{ère} sphère de coordination

Les métalloenzymes à zinc(II) sont capables de catalyser une grande variété de réactions très différentes, depuis l'hydrolyse jusqu'à l'oxydation. Les sites catalytiques sont cependant de structures proches : il s'agit dans la plupart des cas d'un zinc(II) tétraédrique coordonné à une molécule d'eau et à trois acides aminés azotés (le plus souvent), oxygénés ou soufrés. L'utilisation de ligands tridentes est donc bien adaptée à la modélisation de la première sphère de coordination de ces enzymes, et permet de bénéficier d'un effet chélate pour la coordination du métal.

Une stratégie, particulièrement développée par Parkin et al. et Vahrenkamp et al., est d'utiliser des ligands tripodes de type tris(pyrazolyl)borate (Figure 9). Cela présente plusieurs avantages. Outre l'effet chélate, la rigidité du ligand force une coordination faciale qui laisse libre un site de coordination permettant de former un complexe tétraédrique. L'environnement stérique est de plus adaptable et peut être choisi pour limiter la dimérisation tout en maintenant la possibilité de former des intermédiaires pentacoordinés. Il est cependant à noter que les conditions de synthèse de ces systèmes sont adaptées à la formation de systèmes peu polaires non solubles dans l'eau.^{9,24}

L'importante acidité de Lewis de Zn^{II} a permis d'obtenir et isoler le complexe **B1** sous forme hydroxo, avec un pK_a estimé à 7. L'hydroxyde formé est un excellent nucléophile, au point de provoquer la décomposition du complexe s'il est laissé en solution.²⁵ **B1** est néanmoins stable sur une durée suffisante pour étudier sa réactivité, en particulier vis-à-vis du dioxyde de carbone car

l'anhydrase carbonique est l'une des seules enzymes connues qui comporte un zinc hydroxo en son site actif. En présence de dioxyde de carbone gazeux, le complexe carbonato est formé réversiblement. Cependant malgré l'utilisation de substituants encombrés autour du zinc (ici des tert-butyles), il se forme un dimère ponté carbonato.

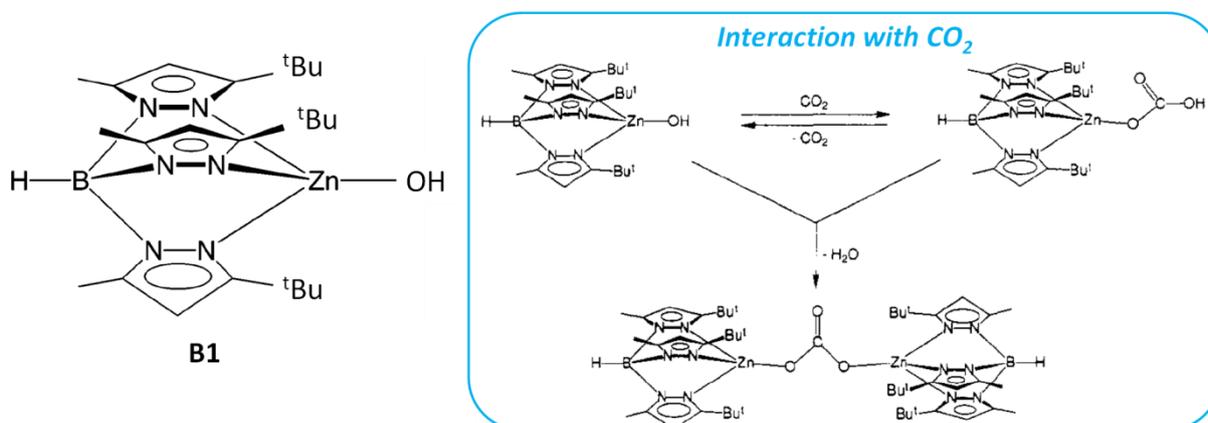


Figure 9 : Structure du premier complexe modèle zinc-hydroxo de type tris(pyrazolyl)borate, isolé par Vahrenkamp et al. en 1991 et représentation des espèces obtenues en présence de dioxyde de carbone.^{25,26}

Le mécanisme des anhydrases carboniques α étant connu, un des objectifs de l'élaboration de modèles est de pouvoir vérifier la faisabilité du mécanisme proposé par l'identification des intermédiaires supposés. Dans ce cas précis, il s'agit d'une part du complexe zinc-hydroxo initial, puis du complexe carbonato et enfin du complexe aqua final. Chacune de ces trois espèces a pu être isolée et caractérisée à partir de **B1**, ce qui montre son aptitude à modéliser l'anhydrase carbonique.^{24,26} La réactivité de complexes diversement encombrés envers des esters, phosphoesters et β -lactames a également été étudiée. Une activité hydrolytique est obtenue seulement envers les composés les plus réactifs, comportant par exemple un groupement *para*-nitrophényle, mais reste au mieux stœchiométrique.^{27,28}

Afin d'augmenter le degré du biomimétisme de ces systèmes, les générations suivantes ont été développées. D'une part, en introduisant des environnements de coordination plus variés (mixtes azotés, soufrés, oxygénés) afin de se rapprocher d'enzymes comportant des cystéines ou aspartates en leur site actif.^{9,24,29} D'autre part, en introduisant des groupements plus polaires afin de pouvoir travailler dans des mélanges de solvants incorporant de l'eau (Figure 10).^{29,30}

Il apparaît que les complexes soufrés présentent une réactivité moins importante que les équivalents azotés pour les substrats investigués.²⁴ Les complexes polaires **B2** et **B3** sont particulièrement intéressants. Ils ne sont pas solubles dans l'eau mais sont étudiés dans des mélanges de solvants de type DMSO/H₂O ou méthanol/CDCl₃/H₂O. La présence d'eau en tant que co-solvant permet de faciliter les réactivités hydrolytiques notamment en déplaçant l'équilibre de remplacement du produit à la fin d'un cycle. L'hydrolyse catalytique de phosphoesters (comportant un groupement *para*-nitrophényle) ainsi que d'esters activés est obtenue.³⁰ Cependant une fois encore les catalyseurs sont peu stables et se décomposent trop rapidement pour que des études cinétiques complètes aient pu être envisagées.

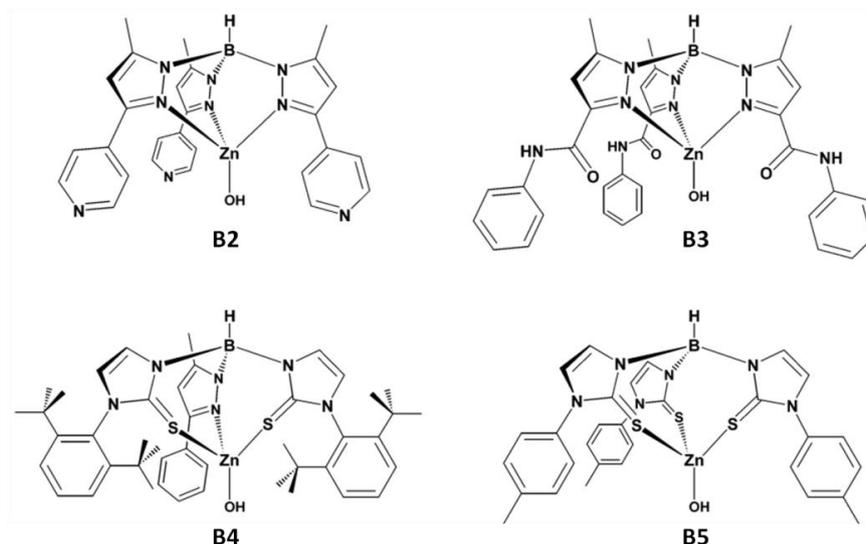


Figure 10 : Structures de complexes modèles tris(pyrazolyl)borate substitués pour une plus grande polarité ou un nouvel environnement de coordination.^{29,30}

Les ligands tris(pyrazolyl)borate présentent donc l'avantage de faciliter la formation de complexes tétraédriques de zinc(II) et de permettre l'obtention de complexes hydroxo, mais leur stabilité limitée ainsi que leur non-solubilité dans l'eau font que les résultats obtenus sont difficiles à comparer aux enzymes dont ces systèmes s'inspirent. Une autre stratégie pour pouvoir mener des études dans l'eau consiste à utiliser des ligands macrocycliques azotés. Cette approche a notamment été explorée par Woolley et al. puis étendue par Kimura et al. qui ont comparé plusieurs ligands possibles pour identifier le plus performant (Figure 11).^{31,32}

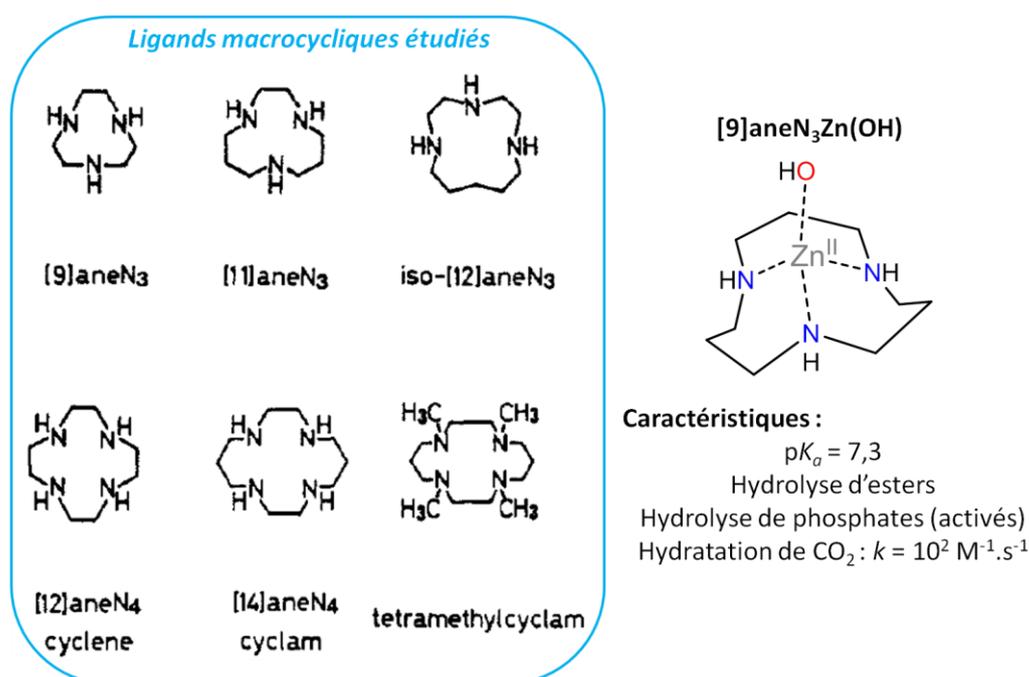


Figure 11 : Ligands macrocycliques pour l'élaboration de complexes biomimétiques d'enzymes à zinc(II). Le plus efficace, [9]aneN₃, est capable de catalyser une variété de réactions et notamment l'hydratation du dioxyde de carbone en hydrogénocarbonate.^{32,33}

Les structures ont été comparées selon plusieurs critères, en particulier la géométrie et le pK_a associé aux complexes de zinc(II)-aqua obtenus. Tous les macrocycles ont une bonne affinité pour un cation Zn^{II} dans l'eau. La présence de quatre groupements coordinants abaisse l'acidité de Lewis du cation métallique, les pK_a correspondant aux ligands tétradentes sont plus élevés que pour les tridentes. De plus un cycle plus grand est associé à une liberté conformationnelle plus importante, ce qui mène à la formation de plusieurs complexes. Le ligand sélectionné pour les études de réactivité est finalement [9]aneN₃, capable de former un complexe zinc-hydroxo avec un pK_a de 7,3 (valeur proche de ce qui est observé chez les anhydrases carboniques).

La réactivité de [9]aneN₃Zn(OH) envers des substrats variés est investiguée. Il apparaît que ce complexe est capable, dans l'eau et à pH neutre, de catalyser l'hydrolyse de phosphoesters (mono-, di- comme tri-) avec une accélération d'un facteur 10⁴ par rapport à leur hydrolyse en l'absence de catalyseur dans ces conditions.³⁴ Egalement, l'hydrolyse d'esters de méthyle ainsi que l'hydratation d'acétaldéhyde ont été mises en évidence.³² Enfin, [9]aneN₃Zn(OH) a montré une activité remarquable pour l'hydratation du dioxyde de carbone en hydrogénocarbonate avec une constante de vitesse de l'ordre de 10² M⁻¹.s⁻¹, soit une accélération de quatre ordres de grandeur inférieure à celle obtenue par les anhydrases carboniques.³³ L'explication proposée à cet écart est le faible degré de similarité entre le système et les enzymes, et notamment le manque d'une poche hydrophobe permettant d'accueillir les substrats et d'expulser les produits. L'ensemble de ces résultats montre que ce complexe comporte un excellent nucléophile HO⁻ mais est d'un biomimétisme limité étant donné la simplicité de la structure et le fait que la plupart des hydrolases font intervenir un complexe zinc-aqua dans leurs mécanismes. De plus, les substrats présentés sont particulièrement sensibles à l'hydrolyse car ils comportent de bons groupements partants. Notamment, l'hydrolyse de phosphates non activés n'a pas été reportée.

L'obtention de complexes zinc(II)-aqua dans l'eau à pH neutre nécessite un cation métallique moins acide de Lewis que dans les systèmes précédents, ou la présence d'effets de seconde sphère de coordination permettant la stabilisation d'une molécule d'eau polarisée. L'acidité de Zn^{II} est abaissée lorsqu'il est entouré de plus de ligands. Par ailleurs, il existe des métalloenzymes dans lesquelles le métal est pentacoordiné à l'état de repos et la plupart des enzymes pour lesquelles le zinc(II) est initialement tétraédrique impliquent des intermédiaires pentavalents voire hexavalents au cours du mécanisme. Le développement de modèles pentacoordinés est donc d'intérêt. Une stratégie pour reproduire la première sphère de coordination de ce type de complexe est d'utiliser un ligand tripode tétradente. Comme pour les systèmes présentés jusqu'ici, l'utilisation d'un tripode permet de complexer le métal efficacement par effet chélate et de contraindre l'environnement à une géométrie particulière, ici de type bipyramide trigonale. Le choix des substituants présents sur le ligand permet d'ajuster l'encombrement et la solubilité du complexe.

Quelques exemples de tels systèmes sont présentés ci-dessous (Figure 12). La réactivité n'a pas toujours été étudiée en détail, parfois le pK_a associé à la formation de l'espèce hydroxo est déterminé et utilisé comme étalon de la réactivité. C'est le cas d'une étude réalisée par Canary et al.,²⁰ dans laquelle quinze ligands tripodes tétradentes ont été comparés. Les pK_a des complexes zinc(II)-aqua dérivés révèlent la nucléophilicité de la molécule d'eau coordonnée et sont donc un indicateur d'activité des complexes.

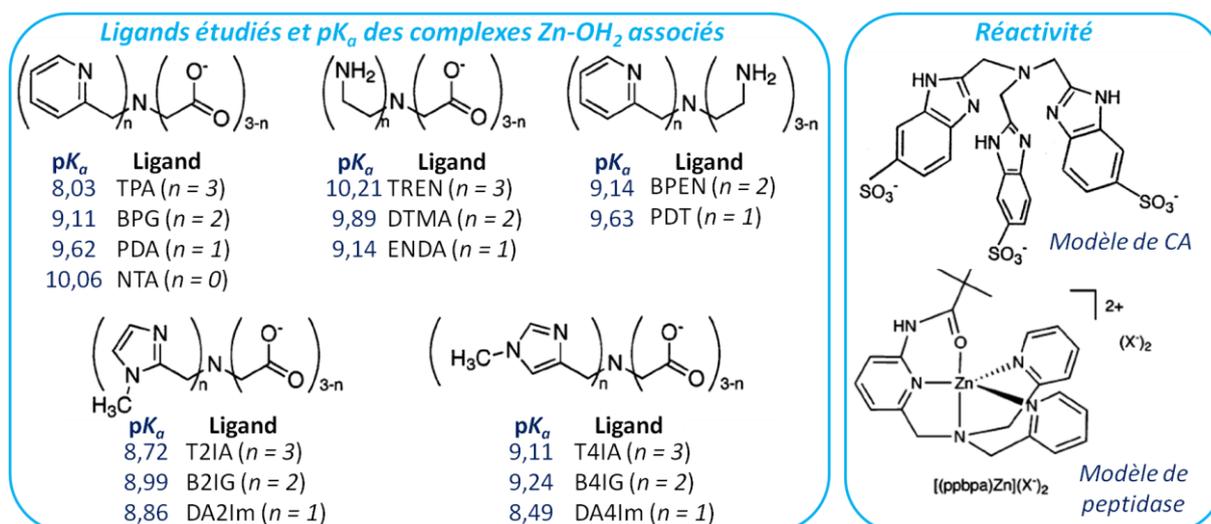


Figure 12 : Exemples de complexes zinciques tripodes tétradentes biomimétiques.³⁵⁻³⁸ A gauche, les pK_a associés aux couples LZn-OH₂/LZn-OH ont été déterminés. A droite, une réactivité particulière a été investiguée par complexe ($X = PF_6^-$ ou ClO_4^-).

Comme cela est attendu, les pK_a sont plus élevés pour ces complexes que pour les modèles tridentes décrits précédemment. Le complexe tris-2-pyridylamine (TPA) présente le pK_a le plus bas (8,03). L'évolution en fonction du complexe suit la basicité du ligand mais dépend peu de la charge de celui-ci.

Les modèles ne présentant qu'une reproduction de la première sphère de coordination du métal sont souvent peu spécifiques. Berreau et al. se sont intéressés à l'élaboration de systèmes pour une réactivité intramoléculaire plus précise, de type hydrolyse d'amide comme cela est observé dans les peptidases.^{36,37} Le complexe $[(ppbpa)Zn]^{2+}$ est basé sur un ligand tétraazoté tripode comportant une fonction amide. Le solvant utilisé est un mélange méthanol/acétonitrile (5:3).

L'étude montre qu'à l'addition d'un équivalent de base (hydroxyde de tétraméthylammonium), l'amide coordonnée est déprotonée pour donner un complexe pentacoordiné amidure stable. La méthanolyse est ensuite possible lorsque le milieu est chauffé. Une étude mécanistique et cinétique suggère que la méthanolyse fait intervenir une molécule de solvant coordonnée sous forme alcoolate, comme cela intervient dans le mécanisme des alcool déshydrogénases. Ce modèle ne présente donc pas une activité comparable à une métalloenzyme mais est intéressant car il a permis d'obtenir des intermédiaires proches de ce qui est connu des enzymes. Comme la plupart des systèmes présentés dans cette partie, il a le défaut de ne pas être soluble dans l'eau.

L'hydrosolubilité peut être améliorée par l'introduction de groupements chargés hydrophiles comme des sulfates. Cette stratégie a été employée par Ichikawa et al. sur un ligand tripode tétradente (Figure 12).^{39,40} Le complexe obtenu est capable de catalyser l'hydratation du dioxyde de carbone dans l'eau avec une accélération d'un facteur 10^4 par rapport à l'hydratation en l'absence de catalyseur. Cela reste deux ordres de grandeurs en-deçà de ce dont sont capables les anhydrases carboniques mais représente le meilleur modèle fonctionnel connu à ce jour pour ces enzymes. L'efficacité du complexe par rapport aux autres modèles reportés est attribuée à la structure aromatique du ligand qui génère localement un environnement hydrophobe autour du cation

métallique. Cela facilite la reconnaissance du réactif et l'expulsion du produit. De ce fait, la catalyse de la réaction inverse n'est pas observée.

Les modèles décrits dans cette section, basés sur une reproduction de la première sphère de coordination uniquement, présentent donc des structures similaires pour des réactivités en général peu sélectives. Il apparaît sur les derniers exemples présentés que la réactivité peut être améliorée ou rendue plus spécifique par l'utilisation de ligands comportant une fonction réactive pour une réaction intramoléculaire ou incluant des effets hydrophobes. En d'autres termes, en introduisant des effets de seconde ou troisième sphère de coordination.

3. Modèles avec effet de 2^{de} sphère de coordination

Au sein des sites actifs des métalloenzymes, des réseaux de liaisons hydrogènes existent. Ils ont plusieurs rôles nécessaires à la réactivité. D'une part, au niveau du métal, la présence liaisons H permet d'ajuster les pK_a des molécules coordonnées telles que de l'eau ou un alcoolate. D'autre part, les liaisons hydrogène agissent au niveau du substrat. Elles peuvent intervenir pour son orientation ou son activation, mais également au cours du cycle catalytique pour stabiliser un intermédiaire ou faciliter le départ du produit. Enfin, ce sont des liaisons faibles qui sont restaurées à la fin de l'acte catalytique.^{41,42}

L'importance des groupements donneurs ou accepteurs de liaisons hydrogène dans les modèles d'enzymes est soulignée par de nombreuses études. L'approche la plus simple utilisée pour quantifier l'influence de la présence ou non de tels groupements est la détermination du pK_a associé au couple Zn-OH₂/Zn-OH car cela donne une indication sur la nucléophilie de la molécule d'eau coordonnée et donc sur sa réactivité (Figure 13).^{43,44}

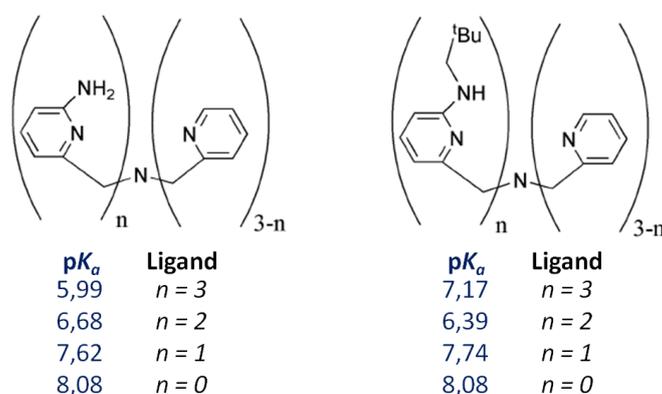


Figure 13 : pK_a associés au couple (Zn-aqua/Zn-hydroxo) déterminés avec plusieurs ligands tétradentes.^{43,44}

Mareque-Rivas et al. ont montré par la synthèse de complexes dérivés de ligands comprenant de zéro à trois groupements amine que la présence de donneurs de liaisons hydrogènes proches du cation métallique permet de stabiliser l'espèce zinc-hydroxo. En effet, avec trois groupements amine primaire un abaissement de pK_a jusqu'à deux unités est obtenu. Cet écart est plus important que lorsqu'une modification de la première sphère de coordination est effectuée, par exemple en remplaçant un ligand neutre azoté par un ligand anionique carboxylate !

La présence de liaisons H apparaît comme étant un facteur déterminant des propriétés de sélectivité et de réactivité des enzymes. Elles permettent de stabiliser des réactifs – la plupart des métalloenzymes à zinc(II) comportent un ligand aqua à l'état de repos – mais également des intermédiaires. En particulier, la famille des alcool déshydrogénases intrigue les chimistes car au cours du cycle catalytique intervient une espèce alcoolate coordonnée au zinc(II). Dans les conditions de fonctionnement de l'enzyme, cela représente un abaissement spectaculaire de presque dix unités de pK_a pour l'alcool. Berreau et al. se sont intéressés à modéliser ces intermédiaires alcoolates en utilisant des ligands tripodes tétradentes dotés de groupements donneurs de liaisons hydrogène (Figure 14).^{41,45,46}

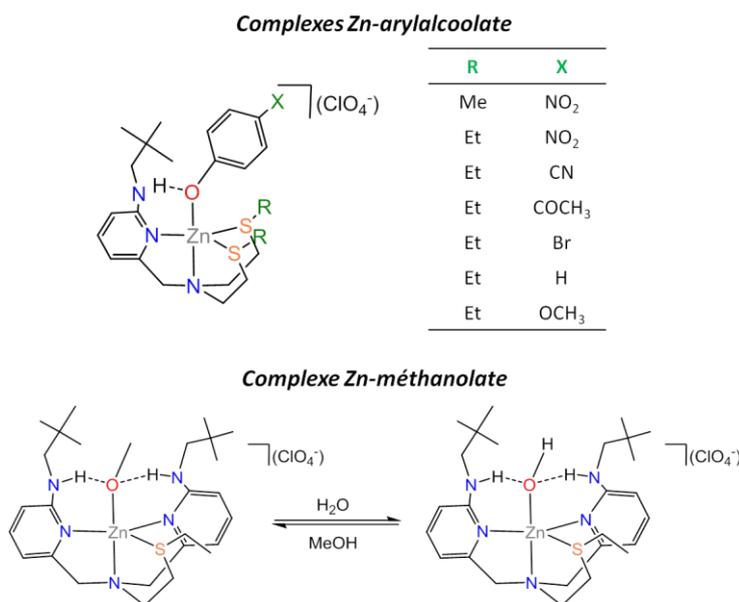


Figure 14 : Complexes biomimétiques zinc(II)-alcoolate isolés par Berreau et al.^{45,46}

Les complexes considérés ne sont pas solubles dans l'eau. Dans un premier temps des phénols, plus acides que leurs pendants aliphatiques, sont étudiés en milieu organique (acétonitrile/diéthylether). Une série de complexes Zn-alcoolate a ainsi été obtenue et cristallisée.⁴⁵ Cependant ce résultat est assez éloigné des alcool déshydrogénases, qui sont capables d'agir sur des alcools aliphatiques dans l'eau. Pour se rapprocher des conditions naturelles, la même stratégie a été déclinée à l'étude d'un alcool aliphatique : le méthanol.⁴⁶ Par addition de méthanol et de base (hydroxyde de tétraméthylammonium) au complexe dans l'acétonitrile, l'espèce Zn-alcoolate est obtenue en équilibre avec le complexe hydroxo correspondant. L'addition de méthanol ou d'eau permet de déplacer l'équilibre en faveur de l'un ou l'autre complexe. Le complexe synthétisé est donc un modèle convaincant d'alcool déshydrogénase, capable de stabiliser l'intermédiaire réactif qui intervient au cours du mécanisme.

Les exemples présentés ci-dessus ont montré que la présence d'effets de seconde sphère de coordination apporte aux modèles d'enzymes des propriétés nouvelles en stabilisant des espèces clé de l'acte catalytique. Certains modèles vont plus loin en étudiant la réactivité de complexes biomimétiques comportant des effets de seconde sphère ou non. En particulier, l'hydrolyse de phosphates a été très étudiée.

Deux stratégies sont employées pour améliorer la réactivité des systèmes modèles : d'une part, incorporer des groupements donneurs de liaisons H intramoléculaires pour stabiliser les intermédiaires de réaction et d'autre part ajouter à la structure un nucléophile intramoléculaire, activé par le cation métallique, qui favorise la réaction.^{30,47-51} Les travaux de Chin et al. en particulier permettent de mettre en évidence l'effet de ces deux approches (Figure 15).⁴⁸

Activité comparée pour l'hydrolyse du bis-*para*-nitrophénylphosphate :

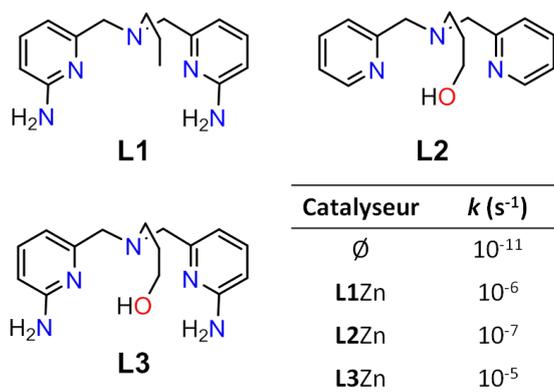


Figure 15 : Etude comparative de l'influence des effets de seconde sphère de coordination pour la réactivité catalytique vis-à-vis de l'hydrolyse du bis-*para*-nitrophénylphosphate par des complexes zinciques dérivés de trois ligands.⁴⁸

Trois complexes zinciques ont été préparés, qui dérivent du même ligand substitué ou non par des groupements amine et alcool. La réactivité hydrolytique de ces complexes vis-à-vis du bis-*para*-nitrophénylphosphate est investiguée. Il est précisé que le complexe équivalent sans aucun groupement amine ou alcool ne présente pas d'activité catalytique. L'ajout de deux fonctions amines ou d'une fonction alcool mène à un facteur d'accélération de cinq ou quatre ordres de grandeurs, respectivement. La combinaison des deux permet d'atteindre une constante de vitesse de réaction 10⁶ fois supérieure à ce qui est observé sans catalyseur.

Cette accélération remarquable souligne l'importance des effets de seconde sphère de coordination. L'étude des produits obtenus apporte une information supplémentaire. En effet, les fonctions alcool comme amine peuvent être à la fois donneurs de liaisons hydrogène et nucléophiles. Les résultats avec le complexe L1Zn contrastent avec ce qui est observé pour L2Zn et L3Zn. En effet une hydrolyse propre est obtenue avec L1Zn qui produit du *para*-nitrophénol et du mono(*para*-nitrophényl)phosphate. Ce n'est pas le cas avec les deux autres complexes, avec lesquels une dégradation partielle des ligands par transestérification est constatée. Cette observation souligne le rôle différent que jouent les groupements amine et alcool. Il apparaît en effet que l'alcool lorsqu'il est présent participe activement à la réactivité, il joue le rôle de nucléophile intramoléculaire. Les fonctions amines quant à elles sont plus spectatrices, et interviennent par l'intermédiaire de liaisons hydrogène.

L'estérification des complexes comportant une fonction nucléophile intramoléculaire à proximité du métal est un problème récurrent, qui limite la réactivité par décomposition du catalyseur. Williams et al. sont parvenus à le contourner en remarquant qu'avec un nucléophile non coordonné au métal cette difficulté ne se présentait plus (Figure 16).^{50,51} En effet, la comparaison entre les cinq

ligands considérés est claire : en l'absence de fonction alcool intramoléculaire aucune réactivité n'est observée. La présence d'une assistance nucléophile sur le ligand est donc nécessaire. Cependant sur les quatre complexes comportant des fonctions hydroxyles testés seul un présente une réactivité catalytique : **L'4Zn**. Il s'agit non pas d'un alcool mais d'un aldéhyde hydraté, utilisé sous forme de gem-diol.

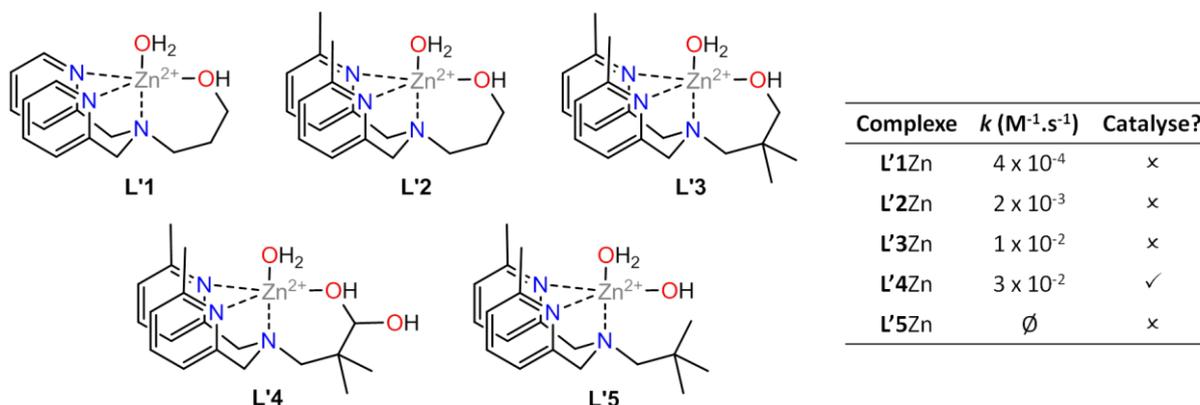


Figure 16 : Etude de l'influence sur la réactivité hydrolytique de la présence d'un nucléophile intramoléculaire.⁵⁰ La réaction étudiée est l'hydrolyse du bis(*para*-nitrophényl)phosphate à pH neutre dans l'eau à 25 °C.

Ce résultat est attribué à la structure de **L'4Zn** : il présente à l'état d'acétal non pas d'une mais de deux fonctions hydroxyle. L'une est coordonnée au métal, ce qui affaiblit sa nucléophilie, et l'autre non. Les auteurs proposent que ce soit le fait que l'alcool ne soit pas coordonné qui améliore sa réactivité et rend la réaction catalytique. De plus, l'intermédiaire formé en cas de transestérification n'est pas stable la décomposition du catalyseur de cette manière n'est donc pas obtenue contrairement à ce qui est observé avec des ligands comportant des fonctions alcool.

Cet exemple illustre le fait que si les effets de seconde sphère de coordination sont cruciaux pour l'activité des enzymes, c'est l'organisation spatiale de l'ensemble qui est clé pour le fonctionnement catalytique. Dans les enzymes, l'orientation des substrats est partiellement due au réseau de liaisons hydrogène qui est présent au site actif mais également et surtout à la présence de résidus hydrophobes qui forment une poche de reconnaissance pour le substrat. Ces résidus forment la troisième sphère de coordination, sans laquelle la sélectivité des enzymes serait inexistante.

III. Approche supramoléculaire

1. Systèmes cavitaires – 3^{ème} sphère de coordination

Les effets de troisième sphère de coordination sont dus à des liaisons faibles, de type hydrophobe, qui participent à l'orientation des substrats et produits. Une stratégie pour les modéliser est l'utilisation de cavitands. En effet, la cavité représente la poche hydrophobe de reconnaissance du substrat, et peut être fonctionnalisée. Un complexe peut ainsi être greffé avec un espaceur adéquat pour coordiner un substrat avec une affinité augmentée par sa stabilisation et son orientation favorables amenées par la cavité.

Les premiers systèmes cavitands développés furent des dérivés de cyclodextrine. En effet, ce macrocycle présente plusieurs avantages. Il est disponible et soluble dans l'eau. La présence de nombreux groupement hydroxyles à sa surface le rendent fonctionnalisable à l'envi et amènent des effets de seconde sphère de coordination.⁵²

Une première stratégie pour créer un modèle incorporant une cavité hydrophobe est de fonctionnaliser la cavité en y greffant un système modèle connu plus simple, tel qu'un macrocycle azoté ou un tripode de type tren.^{53,54} Un exemple représentatif de cette approche est reporté par Kim et al. (Figure 17).⁵⁴

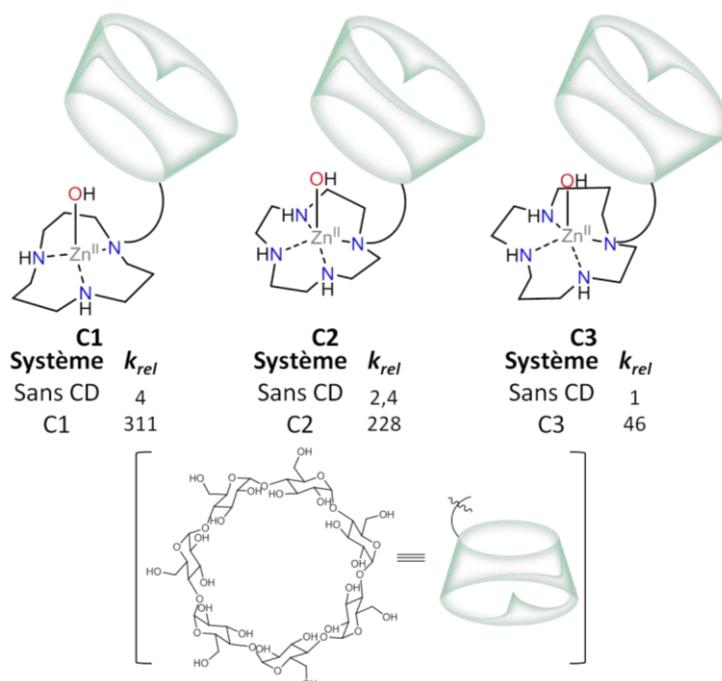


Figure 17 : Complexe macrocycliques greffés sur des cavités cyclodextrines obtenus par Kim et al.⁵⁴ Les constantes cinétiques relatives pour l'hydrolyse du *para*-nitrophénylacétate sont reportées.

Trois complexes de zinc(II) ont été greffés sur des cyclodextrines, basés sur des ligands macrocycliques tridentes ou tétradentes. Les complexes non greffés ont été précédemment étudiés par Kimura et al. en tant que modèles de l'anhydrase carbonique.³² L'activité comparée entre les complexes associés à une cyclodextrine ou non a été étudiée dans le cas de l'hydrolyse d'un ester dans l'eau : le *para*-nitrophénylacétate. La présence de la cavité permet d'augmenter les constantes de vitesse de réaction de deux ordres de grandeur (**C1** et **C2**). Cette accélération spectaculaire est attribuée à un effet double de la cyclodextrine : d'une part, un léger abaissement du pK_a permettant de former l'espèce hydroxo réactive et d'autre part une préassociation au substrat par effet hydrophobe du groupement *para*-nitrophényle, qui est à l'état de repos inclus dans la cavité.

Cet exemple permet de mettre en évidence l'importance des effets de troisième sphère de coordination, mais a une limitation majeure : la réactivité n'est pas catalytique. En effet les produits d'hydrolyse, acétate et *para*-nitrophénol, inhibent l'activité en restant coordonné au métal et inclus dans la cavité respectivement.

Une seconde approche consiste à utiliser les propriétés d'hydrosolubilité des cyclodextrines pour solubiliser un complexe de zinc(II) organique dans l'eau et d'y associer une deuxième cavité pour la reconnaissance de substrat. Cela présente plusieurs avantages : le système obtenu est soluble dans l'eau, l'inclusion du complexe de zinc(II) dans la première cavité permet de limiter la dimérisation et la présence d'une seconde cavité à proximité du métal permet de reconnaître un substrat et de l'orienter de manière à favoriser la réactivité. Ce type de complexe a été principalement étudié par Zhou et al. (Figure 18).⁵⁵

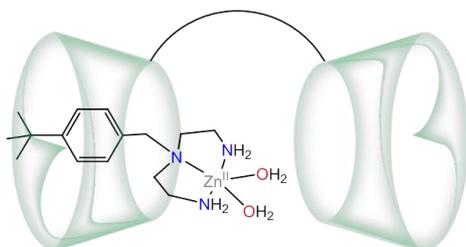


Figure 18 : Complexes bimacrocyliques étudiés pour Zhou et al. pour la catalyse d'hydrolyse d'ester.⁵⁵

Les résultats montrent que l'espèce active est une forme hydroxo, qui présente une réactivité remarquable vis-à-vis du *para*-nitrophénylacétate. L'explication avancée est que la présence d'une seconde cavité pour la reconnaissance du substrat rend le processus hydrolytique similaire à une réaction intramoléculaire. Cependant ce complexe, bien qu'efficace, est structurellement éloigné d'un site actif de métalloenzyme. D'autres modèles plus proches des systèmes naturels ont été développés.

En particulier, un modèle d'anhydrase carbonique a été reporté par Tabushi et al. en 1984 (Figure 19).⁵⁶ Il reproduit la première sphère de coordination de l'anhydrase carbonique CA(II), qui implique trois résidus histidine et une molécule d'eau/hydroxyde, grâce à deux imidazoles greffés sur la cavité et un excès d'imidazole dans le milieu, utilisé comme tampon. Le complexe obtenu hydrate le dioxyde de carbone en hydrogénocarbonate de manière catalytique avec une constante de vitesse de l'ordre de $10^{-3} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Cependant ce résultat est similaire en présence ou non de la cyclodextrine, ce qui remet en cause le rôle de la cavité dans le processus.

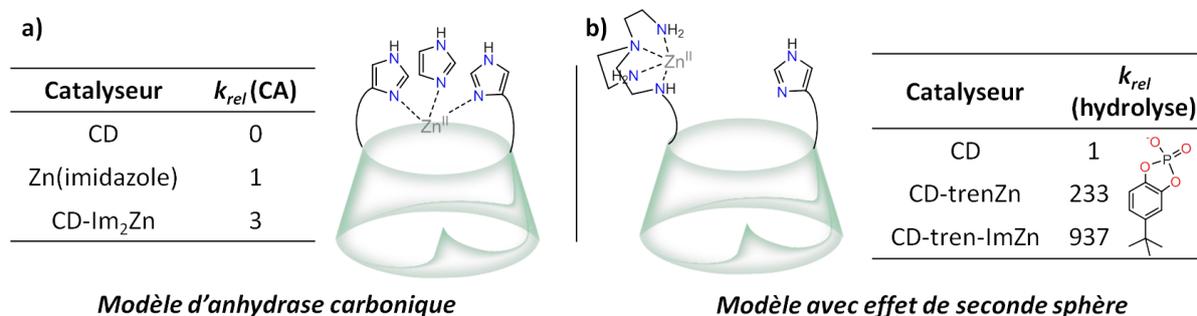


Figure 19 : Modèles biomimétiques basés sur des cyclodextrines. a) Avec deux bras imidazole en présence d'un excès d'imidazole, modèle d'anhydrase carbonique⁵⁶ ; b) Avec un bras imidazole reproduisant des effets de seconde sphère de coordination, modèle étudié pour l'hydrolyse de phosphates.⁵⁷

Une famille de catalyseurs modélisant des effets de première, seconde et troisième sphère de coordination a été reportée par Breslow et al.⁵⁷ Le cation métallique est lié à un ligand tétradente azoté de type tren greffé sur une cyclodextrine. Un bras imidazole a également été greffé régiosélectivement sur la cavité afin de reproduire des effets de seconde sphère. La capacité de ce complexe à catalyser l'hydrolyse de phosphate a été investiguée. L'étude montre que le système est un bon catalyseur, cependant l'apport du bras imidazole est limité : une accélération peu marquée, d'un facteur 4, est obtenue. Par ailleurs l'influence de la présence de la cavité n'est pas discutée.

L'ensemble de ces études montre que l'élaboration de systèmes biomimétiques incluant des effets de troisième sphère de coordination grâce à l'incorporation d'une cavité hydrophobe est délicate. En effet le modèle obtenu doit rester proche des systèmes naturels et la cavité doit être placée de manière à pouvoir interagir avec le substrat en même temps que le métal sans inhiber la réactivité. Le choix du macrocycle est évidemment crucial. Les cyclodextrines, malgré leur solubilité dans l'eau, présentent un certain nombre d'inconvénients pour cet usage. D'une part, leur utilisation passe par une fonctionnalisation régiosélective et complique la synthèse. De plus, leur flexibilité intrinsèque permet l'existence de plusieurs conformations et complexifie les interprétations. Enfin, les cyclodextrines sont connues pour leur réactivité même en l'absence de métal, elles peuvent participer activement au mécanisme des réactions étudiées ce qui est peu compatible avec le rôle de cavité réceptrice hydrophobe recherché.

Les cavités calixarènes ont été également étudiées dans le cadre du développement de modèles biomimétiques de métalloenzymes. En effet, leur conformation en forme de cône permet d'orienter un substrat vers le métal ce qui est le rôle prépondérant de la poche hydrophobe présente dans les systèmes naturels. De plus, la taille de la cavité permet d'exercer un contrôle stérique sur le substrat et induit une sélectivité particulière. Deux types de cavités ont été étudiées : les calix[4]arènes et les calix[6]arènes. Cependant les complexes dérivés de calix[4]arènes sont principalement polynucléaires et ne seront donc pas cités ici.

L'étude de systèmes biomimétiques calix[6]arènes est une spécialité de l'équipe d'Olivia Reinaud. Plusieurs générations de complexes ont été développées. Les premiers systèmes, organosolubles, comportent une cavité calixarène surmontée de trois bras imidazoles qui modélisent l'environnement tris-histidine présent dans de nombreuses métalloenzymes (Figure 20).⁵⁸ Ce ligand a permis d'obtenir un complexe tétraédrique zinc(II)-aqua **X1**, conforme à celui présent dans la plupart des enzymes hydrolytiques. **X1** est un récepteur de molécules neutres en milieu organique, grâce à une stabilisation des invités par la cavité démontrée par analyse de structures DRX.⁵⁹ La coordination d'invités en position *exo*, hors de « l'entonnoir » formé par la cavité a également été observée. La présence du calixarène permet donc d'orienter et favoriser la coordination de molécules neutres à travers la cavité mais n'exclut pas la reconnaissance d'invités hors cavité.

Afin d'exercer un meilleur contrôle sur la géométrie et l'environnement de coordination du métal, un ligand calixarène surmonté d'un fragment tren a été développé et le complexe de zinc(II) associé **X2** a été reporté (Figure 20).⁶⁰ Le système tren, organosoluble, présente des propriétés similaires à son parent imidazole : c'est également un récepteur de molécules neutres, avec une sélectivité comparable. Cependant il présente quelques particularités. L'environnement tren limite l'accès au cation métallique, et la coordination en position *exo* n'est plus possible. Cela permet donc

un meilleur contrôle des ligands entourant le zinc(II). De plus, les complexes formés sont très stables, en particulier en milieu basique ce qui n'était pas le cas avec le système précédent.

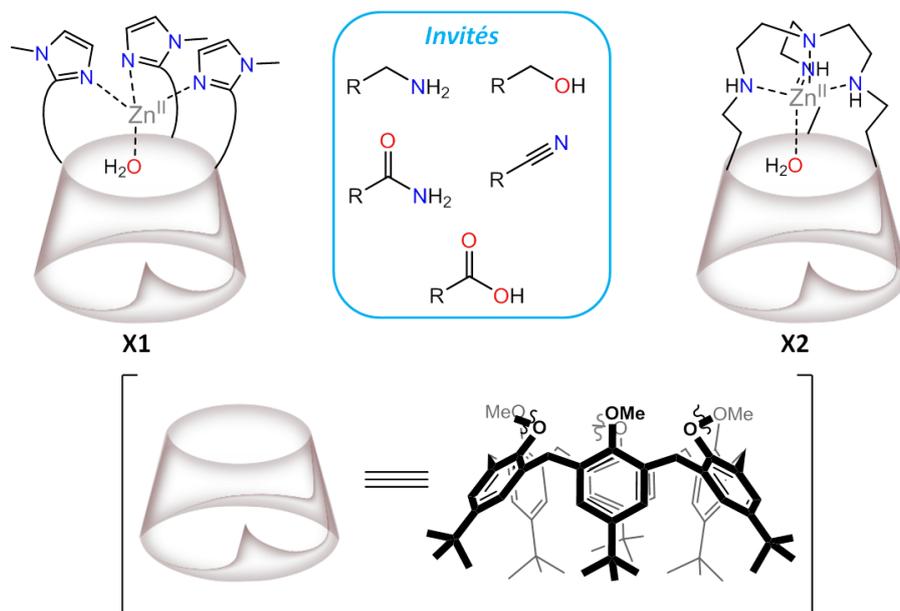


Figure 20 : Premiers systèmes calixarènes développés par Reinaud et al. Les deux complexes **X1** et **X2** sont des récepteurs de molécules neutres (présentées dans l'encadré) en milieu organique.⁵⁸⁻⁶¹

L'une des caractéristiques des métalloenzymes nécessaires à leur fonctionnement est leur gestion des protons, qui n'a pas été prise en compte jusqu'ici. Un système comportant un groupement protique de type phénol à proximité du cation métallique a été élaboré, image d'enzymes comportant un résidu tyrosine au site actif (Figure 21).⁶² Deux complexes zinciques ont été obtenus selon les conditions utilisées, l'un de type phénol et l'autre phénolate.

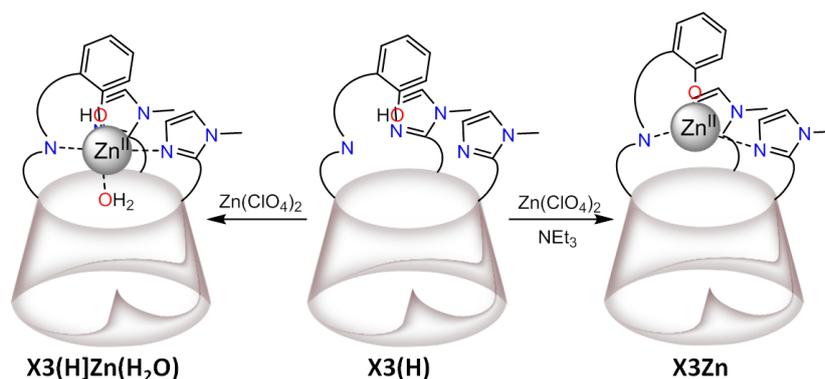


Figure 21 : Le ligand calixarène **X3(H)** présente un groupement phénol protique. Les complexes zinciques associés ont des propriétés de coordination différentes selon son degré de protonation.⁶²

Le degré de protonation du fragment phénol dans le complexe affecte radicalement la géométrie et les propriétés hôte-invité de celui-ci. Lorsqu'il est protoné, il se forme un complexe de type bipyramide trigonale avec un invité neutre en position *endo* comme cela a été obtenu avec les systèmes précédents. Lorsqu'il est anionique cependant le complexe prend une géométrie

tétraédrique et perd ses propriétés réceptrices (dans les conditions usuelles). La coordination du bras phénolate, qui a le potentiel de faciliter la coordination d'invités et les prototropies, inhibe donc les propriétés du système. Pour les études suivantes, cette stratégie n'a pas été reconduite.

Les modèles calixarènes, par rapport aux cyclodextrines, ne sont pas solubles dans l'eau. Cependant ils sont fonctionnalisables au grand et petit col ; sur le petit col sont greffés des ligands afin de pouvoir former un complexe. Le grand col cependant est disponible. Par introduction de groupement ammonium hydrophiles, un ligand hydrosoluble **X4** a été synthétisé (Figure 22).⁶³ Le complexe de zinc(II) associé n'est pas stable dans l'eau mais peut être formé par addition d'une amine primaire. Dans le complexe ternaire obtenu, l'amine est sous forme basique à pH neutre. Les constantes d'affinité associées sont de l'ordre de 10^3 M^{-1} , ce qui est considérable dans l'eau. Ce résultat est d'autant plus remarquable que les amines primaires sont les plus hydrophiles. La sélectivité est ici assurée par la présence de la cavité calixarène.

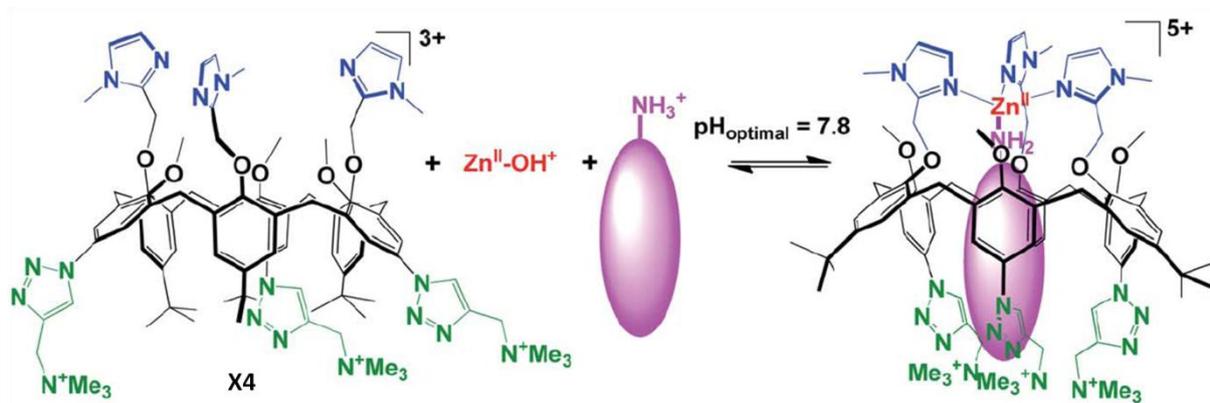


Figure 22 : Formation du complexe hydrosoluble **X4Zn(amine)** dans l'eau à pH neutre.⁶³

En résumé, les complexes cavitands calixarènes ont l'avantage d'être très stables et de contrôler de manière stricte l'accès au métal grâce à la cavité en forme « d'entonnoir » qui exerce une sélectivité en faveur des invités neutres. Cependant la rigueur de ce contrôle est également un inconvénient car elle limite la réactivité des complexes étudiés. De plus, les calixarènes présentent une flexibilité qui complique les interprétations de par l'existence de plusieurs conformères voire stéréoisomères. Ce type de cavité est donc adapté à l'étude de la formation d'intermédiaires au cours de réaction enzymatiques mais pas à la réactivité. Pour cette raison, un nouveau type de macrocycle a été employé plus récemment au sein de l'équipe : les résorcinarènes.

2. Systèmes résorcinarènes – *Rim₃* et *WRim₃*

Les résorcinarènes sont des macrocycles issus de la condensation du résorcinol avec un aldéhyde (Figure 23). Les résorcin[4]arènes sont de loin les plus utilisés car leur synthèse est plus simple que pour les autres oligomères. La cavité obtenue est plus rigide que celle des cyclodextrines ou des calixarènes, et peut être modifiée par l'introduction de ponts entre les fragments alcool pour donner une structure très rigide en forme de bol.

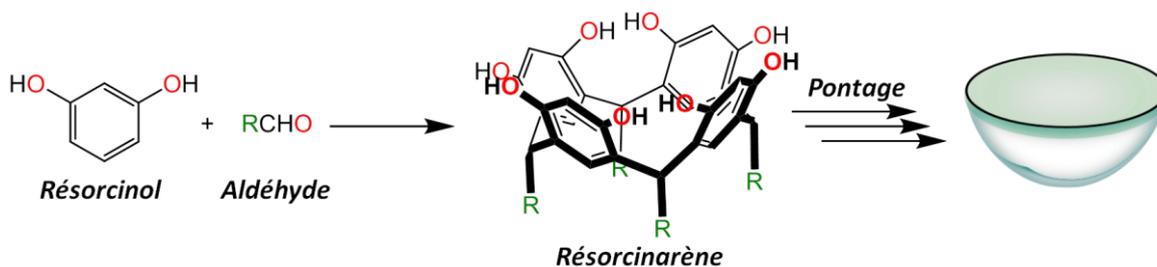


Figure 23 : Formation d'un macrocycle résorcine[4]arène (R est le plus souvent une chaîne alkyle).

Il est possible de fonctionnaliser le macrocycle obtenu au grand comme au petit col. Les modifications au niveau du grand col permettent d'ajuster les propriétés réceptrices et la réactivité du système : l'accès à la cavité (voire la cavité elle-même) est altéré. Le choix des substituants au petit col affecte les propriétés de solubilité du système. La rigidité de la cavité et sa versatilité selon la fonctionnalisation permettent d'obtenir des propriétés hôte-invité originales. Quelques travaux récents montrent la possibilité d'encapsuler des invités variés. En effet, de nombreux dérivés d'ammonium sont reconnus par les systèmes résorcinarènes, qu'ils soient cycliques, aromatiques, ou présents sur un acide aminé ou un peptide (Figure 24).⁶⁴⁻⁶⁷ Lorsque les substituants s'y prêtent, des anions peuvent également être encapsulés, notamment des dérivés de phosphate.^{68,69}

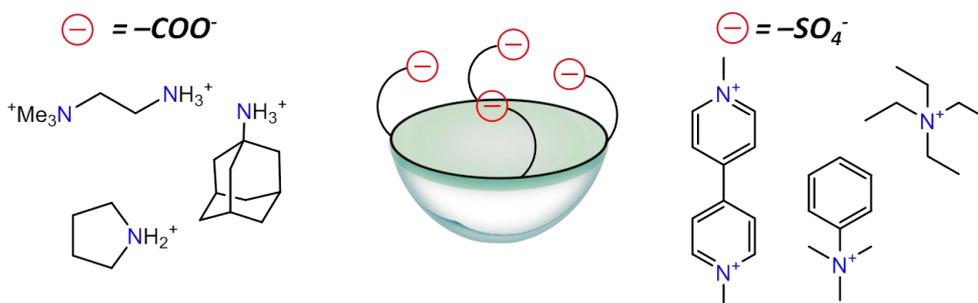


Figure 24 : Récepteurs d'ammoniums dans l'eau basés sur des résorcinarènes substitués par des bras anioniques (carboxylates ou sulfonates). Une sélection des invités possibles est indiquée pour chaque système.^{64,65}

Les molécules neutres ont également une affinité pour les systèmes résorcinarènes grâce à une stabilisation par effet hydrophobe. En particulier, le développement de résorcinarènes à « cavité profonde » par Rebek et al., qui comme leur nom l'indique possèdent des bras permettant d'augmenter le volume hydrophobe de la cavité, a permis l'encapsulation d'invités organiques dans l'eau où ils ne sont pas solubles (Figure 25).⁷⁰⁻⁷³ Des études RMN renforcées par des modélisations théoriques ont montré que lorsque la chaîne est suffisamment longue il y a un repliement à l'intérieur de la cavité, comme cela est schématisé sur la figure. Cette propriété est utilisée pour la reconnaissance de longues chaînes présentant un (ou deux) groupement(s) terminal(aux) polaire(s). La chaîne hydrophobe est dans ce cas repliée au sein de la cavité et les groupements polaires restent en-dehors. Les deux extrémités de la chaîne sont alors rapprochées à l'entrée de la cavité. Cette pré-organisation a été utilisée pour l'étude de réactions de cyclisation notamment.⁷³

Résorcinarène à « cavité profonde »

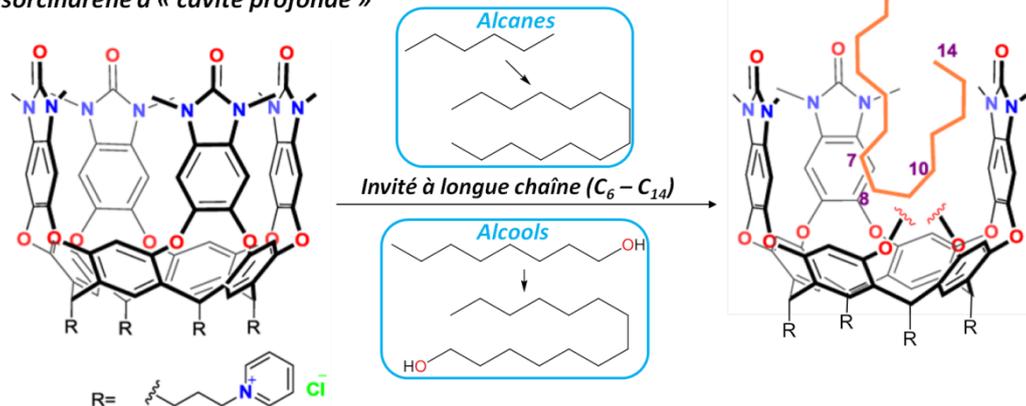


Figure 25 : Exemple de système à «cavité profonde» développé par Rebek et al.⁷¹ Cet hôte peut encapsuler des molécules organiques à chaîne longue dans l'eau.

Les capacités hôte-invité des cavités résorcinarènes sont multiples et très dépendantes de la fonctionnalisation du macrocycle. Des systèmes plus complexes ont également été construits par association de cette plateforme à un métal pour promouvoir une réactivité particulière contrôlée par la cavité. La plupart reposent sur l'utilisation de métaux nobles (palladium, platine, or) coordonnés par un bras phosphoré ou NHC.⁷⁴ Les complexes obtenus catalysent des réactions de couplage de type Suzuki-Miyaura ou Heck en milieu organique.

L'utilisation de résorcinarènes pour l'élaboration de complexes plus proches des systèmes naturels, basés sur des métaux bio-disponibles est rare. Le premier système de ce type comportant un cation Zn^{II} a été reporté par Rebek et al. en 2004.⁷⁵ Le ligand, de type salen N_2O_2 , est greffé sur un résorcinarène à « cavité profonde » (Figure 26). Le complexe fait ainsi face à la cavité. L'activité de ce système, comparée à celle d'un complexe simple $SalenZn$, a été étudiée vis-à-vis de l'hydrolyse d'un dérivé carbonate comportant un groupement *para*-nitrophényle. Les résultats sont cependant mitigés : le complexe $SalenZn$ a une meilleure activité que son pendant résorcinarène. Ceci est attribué à l'échange lent du substrat et du produit à l'intérieur et en-dehors de la cavité profonde.

Hormis cet exemple, une seule équipe à notre connaissance a développé des systèmes hybrides résorcinarène-zinc(II) : celle d'Olivia Reinaud. La conception de ces systèmes suit une approche biomimétique dans le but d'élaborer des modèles de métalloenzymes avec des propriétés nouvelles par rapport aux complexes calixarènes connus. Par rapport aux cavités cyclodextrines et calixarènes, les résorcinarènes offrent en effet plusieurs avantages. Tout d'abord, la cavité est très rigide et garantit une sélectivité stérique stricte des substrats. De plus, l'accès à la cavité en forme de bol se fait par le haut, alors qu'avec une cavité conique il n'est possible que par le bas. Le corollaire de cette propriété est que si deux sites de coordination sont ouverts sur le métal, avec un résorcinarène il est possible de coordonner deux molécules en position *cis* l'une par rapport à l'autre.⁷⁶ En d'autres termes, la forme de « bol » favorise la réactivité (Figure 27).

Le premier complexe reporté comporte un cation zinc(II) entouré de trois imidazoles, qui modélisent des histidines, afin de reproduire fidèlement la première sphère de coordination du métal. Les trois bras imidazoles sont greffés sur un résorcinarène situé à bonne distance pour permettre la coordination d'un invité qui soit inclus dans la cavité hydrophobe (Figure 28).⁷⁷ Le

ligand, dénommé Rim₃, permet d'obtenir le complexe [Rim₃ZnS](ClO₄)₂ (S est une molécule de solvant) dit Rim₃Zn. Ce dernier a été caractérisé et ses propriétés hôte-invité étudiées, révélant plusieurs spécificités par rapport à ce qui est observé avec les calixarènes.⁷⁶

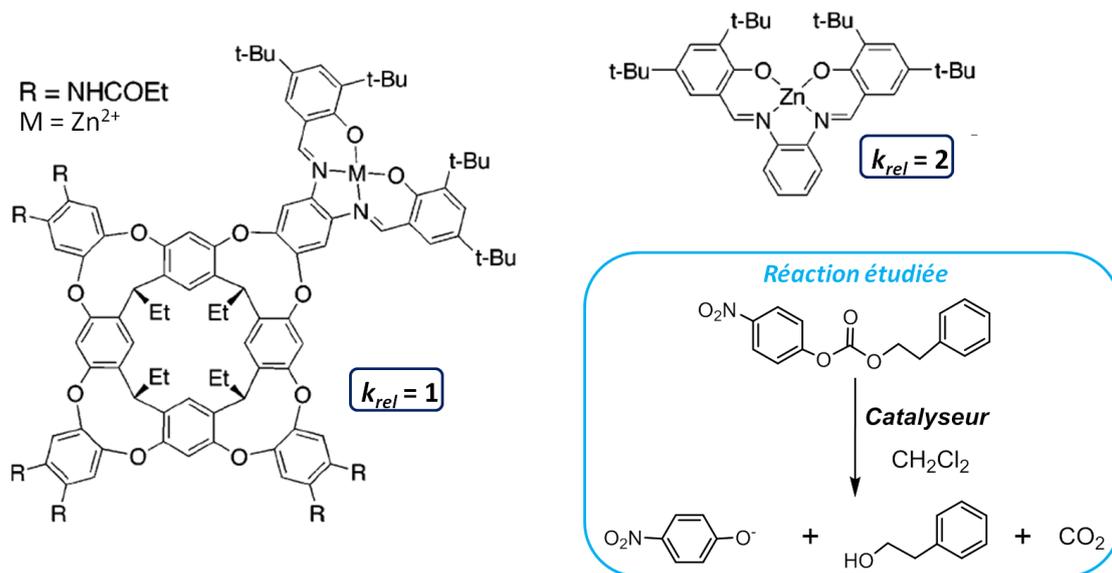


Figure 26 : Etude de la catalyse de l'hydrolyse d'un (*para*-nitrophényl)carbonate par un complexe salen-Zn^{II} greffé sur une cavité résorcinarène comparée au complexe salen-Zn^{II} sans cavité.⁷⁵

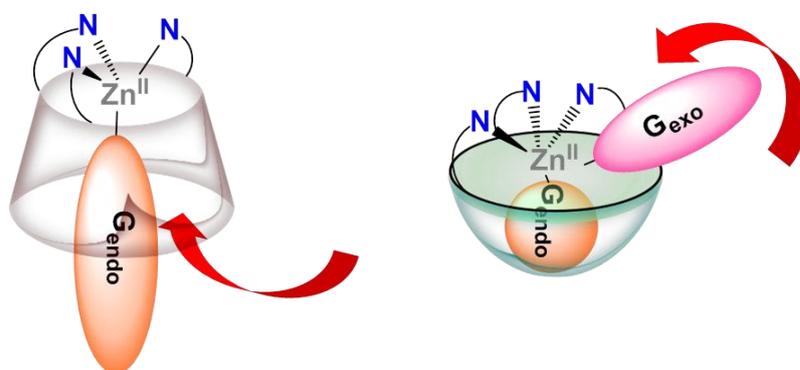


Figure 27 : Comparaison entre les cavités calix[6]arène et résorcine[4]arène. L'accès au substrat se fait dans un cas par-dessous via la cavité et dans l'autre par-dessus, avec possibilité de coordonner un second invité en position *exo*.

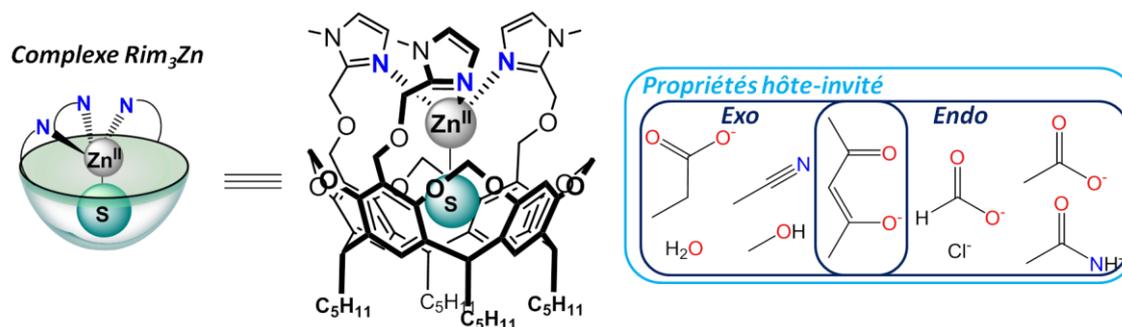


Figure 28 : Représentation schématique et structure du complexe biomimétique Rim₃Zn et présentation d'une sélection d'invités coordonnés en position *endo* et/ou *exo*.

Un suivi par spectroscopie RMN ^1H en présence de Rim_3Zn et d'un invité potentiel permet de déterminer s'il est coordonné et en quelle position (*endo* ou *exo*). Ainsi il apparaît que contrairement aux systèmes calixarènes, Rim_3Zn est capable de coordonner des invités anioniques (tels qu'un acétate ou un chlorure) aussi bien que neutres (par exemple l'acétonitrile ou l'eau). Il présente une préférence pour les invités anioniques. De plus, la cavité rigide du macrocycle exerce un contrôle stérique. Ainsi le formiate comme l'acétate sont reconnus en position *endo* mais les carboxylates à chaîne plus longue non. Enfin, le cas de l'acétylacétonate est particulièrement intéressant. En effet, il s'agit d'un ligand bidenté. Il n'est pas complexé par les systèmes calixarènes, car le petit col ne permet pas un accès bidenté au métal. Le complexe $[\text{Rim}_3\text{Zn}(\text{acétylacétonate})]^+$ a en revanche été obtenu. Cela confirme la possibilité de coordonner deux invités en position *cis*.

Les études menées sur le système Rim_3Zn permettent de dégager plusieurs caractéristiques :

- Il y a une synergie entre cation métallique et cavité qui permet la coordination d'invités au sein de celle-ci
- La cavité exerce un contrôle stérique fort sur l'espèce présente en position *endo*
- Il est possible de former des complexes pentacoordinés avec deux molécules exogènes en position *cis* l'une par rapport à l'autre
- Des invités neutres et anioniques peuvent être coordonnés

L'ensemble de ces propriétés indique que le complexe présente non seulement une structure biomimétique mais également les caractéristiques nécessaires à la réactivité, à savoir un environnement de coordination de valence variable, pouvant stabiliser des intermédiaires neutres ou anioniques, avec la possibilité d'avoir deux substrats coordonnés simultanément pour faciliter une attaque nucléophile.

Afin de se rapprocher encore des systèmes naturels, un dérivé du complexe Rim_3Zn soluble dans l'eau a été synthétisé : WRim_3Zn (Figure 29).⁷⁸ La stratégie suivie consiste à introduire des groupements chargés au niveau des chaînes en-dessous de la cavité. Ainsi l'environnement de coordination du complexe est conservé et le ligand devient soluble dans l'eau. Le choix des groupements hydrophiles a été le même que le système calixarène hydrosoluble **X4** : des triméthylammoniums. Le ligand WRim_3 a été synthétisé et le complexe zincique associé obtenu. Cela contraste avec le système **X4** pour lequel seul un complexe ternaire avec un invité a pu être caractérisé. L'explication avancée est que la structure résorcinarène, plus rigide, garantit un meilleur effet chélate qu'un calixarène. Le ligand présente trois fonctions imidazole basiques qui peuvent se protoner à pH acide, et à pH basique le zinc(II) précipité sous forme d'hydroxyde. Le domaine de stabilité de WRim_3Zn est entre 6,5 et 9,5, en particulier ce complexe est stable en conditions neutres.

Les propriétés réceptrices de WRim_3Zn ont été principalement étudiées vis-à-vis d'un invité ayant une grande affinité pour le complexe organosoluble Rim_3Zn : l'acétate. Une étude par variation de pH suivie par RMN ^1H montre que cet invité est effectivement reconnu, avec une affinité maximale à un pD de 7,4. Un dosage à ce pH donne une constante d'affinité de $(6 \pm 1) \times 10^2 \text{ M}^{-1}$. WRim_3Zn est donc un bon récepteur d'acétate dans l'eau, à pH neutre. Cela suggère que les propriétés hôte-invité ont été conservées entre les complexes dérivés de Rim_3 et WRim_3 . La réactivité du complexe n'a pas été reportée.

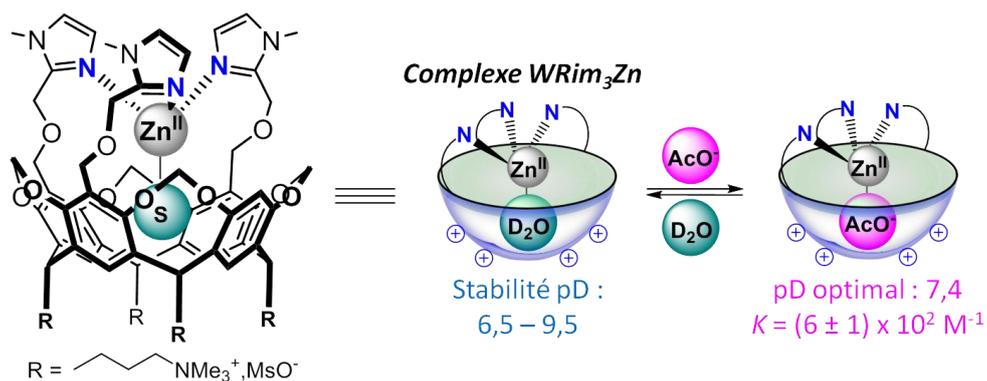


Figure 29 : Représentation schématique et structure du complexe biomimétique $WRim_3Zn$, récepteur d'acétate dans l'eau.

En résumé, les deux modèles Rim_3 et $WRim_3$ reproduisent la première sphère de coordination tris-histidine présente dans de nombreuses enzymes à zinc(II) et y associent des effets de troisième sphère de coordination grâce à une cavité hydrophobe qui oriente le substrat et contrôle la sélectivité des systèmes. Cependant ici les effets de seconde sphère ne sont pas pris en compte. Les rares modèles alliant une cavité hydrophobe (cyclodextrine ou calixarène) à un groupement basique proche du métal, présentés ci-dessus, n'ont pas donné de résultat concluant quant à l'intervention de la base dans les propriétés des complexes car celles-ci étaient soit peu modifiées soit inhibées.^{57,62} Cependant cette stratégie n'avait jamais été appliquée à un système résorcinarène jusqu'à très récemment.⁷⁹

Un nouveau système a en effet été élaboré, qui comme Rim_3 possède un environnement de coordination de type imidazole biomimétique et une cavité hydrophobe résorcinarène. Cependant au lieu de trois ce sont quatre bras imidazoles qui sont présents dans le système organosoluble Rim_4 , ce qui lui confère des propriétés complètement différentes, tant en termes de récepteur que de réactivité. Le premier objectif du travail décrit dans ce manuscrit a été de compléter l'étude du complexe Rim_4Zn , tout d'abord vis-à-vis d'invités choisis puis d'explorer sa réactivité en comparaison avec le système Rim_3Zn .

Cependant un modèle ne peut être complètement biomimétique s'il n'est pas utilisable dans l'eau. C'est pourquoi l'objectif principal de cette thèse a été l'élaboration d'un système dérivé de Rim_4 soluble dans l'eau. Deux stratégies ont été envisagées : i) incorporer le système existant dans des micelles et ii) synthétiser un nouveau ligand, $WRim_4$, soluble dans l'eau grâce à une voie de synthèse inspirée des travaux concernant $WRim_3$. Les propriétés des complexes de zinc(II) dérivés des deux ligands seront étudiées, en comparaison des aptitudes connues des systèmes Rim_3 et Rim_4 . En particulier les propriétés hôte-invité envers des invités hydrophiles tels que des carboxylates ou des phosphates seront investiguées.

IV. Bibliographie

- (1) Thorp, H. H.; Pecoraro, V. L. *Mechanistic Bioinorganic Chemistry*, Advances in Chemistry.; 1995; Vol. 246.
- (2) Hasemann, C. A.; Ravichandran, K. G.; Peterson, J. A.; Deisenhofer, J. Crystal Structure and Refinement of Cytochrome P450terp at 2.3 Å Resolution. *J. Mol. Biol.* **1994**, *236* (4), 1169–1185.
- (3) Rebilly, J.-N.; Colasson, B.; Bistri, O.; Over, D.; Reinaud, O. Biomimetic Cavity-Based Metal Complexes. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44* (2), 467–489.
- (4) Hasemann, C. A.; Kurumbail, R. G.; Boddupalli, S. S.; Peterson, J. A.; Deisenhofer, J. Structure and Function of Cytochromes P450: A Comparative Analysis of Three Crystal Structures. *Structure* **1995**, *3* (1), 41–62.
- (5) Bertini, I.; Sigel, A.; Sigel, H. *Handbook on Metalloproteins*, Marcel Dekker, Inc.; 2001.
- (6) Andreini, C.; Bertini, I. A Bioinformatics View of Zinc Enzymes. *J. Inorg. Biochem.* **2012**, *111*, 150–156.
- (7) Lipscomb, W. N.; Strater, N. Recent Advances in Zinc Enzymology. *Chem. Rev.* **1996**, *96* (7), 2375–2433.
- (8) Messerschmidt, A.; Bode, W.; Cygler, M. *Handbook of Metalloproteins*, Wiley.; 2004; Vol. 3.
- (9) Parkin, G. Synthetic Analogues Relevant to the Structure and Function of Zinc Enzymes. *Chem. Rev.* **2004**, *104* (2), 699–768.
- (10) Auld, D. S. Zinc Coordination Sphere in Biochemical Zinc Sites. *Biometals* **2001**, *14* (3–4), 271–313.
- (11) Washabaugh, M. W.; Collins, K. D. Dihydroorotase from Escherichia Coli. *J. Biol. Chem.* **1984**, *259* (5), 3293–3298.
- (12) Lindskog, S. Structure and Mechanism of Carbonic Anhydrase. *Pharmacol. Ther.* **1997**, *74* (1), 1–20.
- (13) Liljas, A.; Kannan, K. K.; Bergsten, P.-C.; Waara, I.; Fridborg, K.; Strandberg, B.; Carlbom, U.; Jarup, L.; Lovgren, S.; Petef, M. Crystal Structure of Human Carbonic Anhydrase C. *Nature. New Biol.* **1972**, *235* (57), 131–137.
- (14) Eriksson, A. E.; Jones, T. A.; Liljas, A. Refined Structure of Human Carbonic Anhydrase II at 2.0 Å Resolution. *Proteins Struct. Funct. Genet.* **1988**, *4* (4), 274–282.
- (15) Silverman, D. N.; Lindskog, S. The Catalytic Mechanism of Carbonic Anhydrase: Implications of a Rate-Limiting Protolysis of Water. *Acc. Chem. Res.* **1988**, *21* (1), 30–36.
- (16) Sjoblom, B.; Polentarutti, M.; DjinoVIC-Carugo, K. Structural Study of X-Ray Induced Activation of Carbonic Anhydrase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2009**, *106* (26), 10609–10613.
- (17) Casey, P. J.; Seabra, M. C. Protein Prenyltransferases. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271* (10), 5289–5292.
- (18) Abeles, R. H.; Howard, A. L. The Dismutation of Formaldehyde by Liveralcohol Dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* **1960**, *235* (5), 1499–1503.
- (19) Dalziel, K.; Dickinson, F. M. Aldehyde Mutase. *Nature* **1965**, *206* (4981), 255–257.
- (20) Ruijter, A. J. M. de; Gennip, A. H. van; Caron, H. N.; Kemp, S.; Kuilenburg, A. B. P. van. Histone Deacetylases (HDACs): Characterization of the Classical HDAC Family. *Biochem. J.* **2003**, *370* (3), 737–749.
- (21) Finnin, M. S.; Donigian, J. R.; Cohen, A.; Richon, V. M.; Rifkind, R. A.; Marks, P. A.; Breslow, R.; Pavletich, N. P. Structure of Histone Deacetylase Homologue Bound to the TSA and SAHA Inhibitors. *Nature* **1999**, *401* (6749), 188–193.
- (22) Somoza, J. R.; Skene, R. J.; Katz, B. A.; Mol, C.; Ho, J. D.; Jennings, A. J.; Luong, C.; Arvai, A.; Buggy, J. J.; Chi, E.; et al. Structural Snapshots of Human HDAC8 Provide Insights into the Class I Histone Deacetylases. *Structure* **2004**, *12* (7), 1325–1334.
- (23) Hernick, M.; Fierke, C. A. Zinc Hydrolases: The Mechanisms of Zinc-Dependent Deacetylases. *Arch. Biochem. Biophys.* **2005**, *433* (1), 71–84.

- (24) Parkin, G. The Bioinorganic Chemistry of Zinc: Synthetic Analogues of Zinc Enzymes That Feature Tripodal Ligands. *Chem. Commun.* **2000**, No. 20, 1971–1985.
- (25) Alsfasser, R.; Trofimenko, S.; Looney, A.; Parkin, G.; Vahrenkamp, H. A Mononuclear Zinc Hydroxide Complex Stabilized by a Highly Substituted Tris(Pyrazolyl)Hydroborato Ligand: Analogies with the Enzyme Carbonic Anhydrase. *Inorg. Chem.* **1991**, *30* (21), 4098–4100.
- (26) Looney, A.; Han, R.; McNeill, K.; Parkin, G. Tris(Pyrazolyl)Hydroboratozinc Hydroxide Complexes as Functional Models for Carbonic Anhydrase: On the Nature of the Bicarbonate Intermediate. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115* (11), 4690–4697.
- (27) Rombach, M.; Maurer, C.; Weis, K.; Keller, E.; Vahrenkamp, H. Evidence for a Trajectory of Hydrolytic Reactions Brought about by [L3Zn–OH] Species. *Chem. - Eur. J.* **1999**, *5* (3), 1013–1027.
- (28) Gross, F.; Vahrenkamp, H. Reactions of Pyrazolylborate–Zinc–Hydroxide Complexes Related to β -Lactamase Activity. *Inorg. Chem.* **2005**, *44* (12), 4433–4440.
- (29) Ibrahim, M. M.; Olmo, C. P.; Tekeste, T.; Seebacher, J.; He, G.; Maldonado Calvo, J. A.; Böhmerle, K.; Steinfeld, G.; Brombacher, H.; Vahrenkamp, H. Zn–OH₂ and Zn–OH Complexes with Hydroborate-Derived Tripod Ligands: A Comprehensive Study. *Inorg. Chem.* **2006**, *45* (18), 7493–7502.
- (30) Pérez Olmo, C.; Böhmerle, K.; Vahrenkamp, H. Zinc Enzyme Modelling with Zinc Complexes of Polar Pyrazolylborate Ligands. *Inorganica Chim. Acta* **2007**, *360* (5), 1510–1516.
- (31) Woolley, P. Models for Metal Function in Carbonic Anhydrase. *Nature* **1975**, *258* (5537), 677–682.
- (32) Kimura, E.; Shiota, T.; Koike, T.; Shiro, M.; Kodama, M. A Zinc(II) Complex of 1,5,9-Triazacyclododecane ([12]AneN₃) as a Model for Carbonic Anhydrase. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112* (15), 5805–5811.
- (33) Zhang, X.; van Eldik, R.; Koike, T.; Kimura, E. Kinetics and Mechanism of the Hydration of Carbon Dioxide and Dehydration of Bicarbonate Catalyzed by a Zinc (II) Complex of 1,5,9-Triazacyclododecane as a Model for Carbonic Anhydrase. *Inorg. Chem.* **1993**, *32* (25), 5749–5755.
- (34) Koike, T.; Kimura, E. Roles of Zinc(II) Ion in Phosphatases. A Model Study with Zinc(II)-Macrocyclic Polyamine Complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113* (23), 8935–8941.
- (35) Chiu, Y.-H.; Canary, J. W. Stability and Acidity Constants for Ternary Ligand-Zinc-Hydroxo Complexes of Tetradentate Tripodal Ligands. *Inorg. Chem.* **2003**, *42* (17), 5107–5116.
- (36) Szajna, E.; Makowska-Grzyska, M. M.; Wasden, C. C.; Arif, A. M.; Berreau, L. M. A Deprotonated Intermediate in the Amide Methanolysis Reaction of an N4O-Ligated Mononuclear Zinc Complex. *Inorg. Chem.* **2005**, *44* (21), 7595–7605.
- (37) Ingle, G. K.; Makowska-Grzyska, M. M.; Szajna-Fuller, E.; Sen, I.; Price, J. C.; Arif, A. M.; Berreau, L. M. Influence of the Chelate Ligand Structure on the Amide Methanolysis Reactivity of Mononuclear Zinc Complexes. *Inorg. Chem.* **2007**, *46* (4), 1471–1480.
- (38) Nakata, K.; Shimomura, N.; Shiina, N.; Izumi, M.; Ichikawa, K.; Shiro, M. Kinetic Study of Catalytic CO₂ Hydration by Water-Soluble Model Compound of Carbonic Anhydrase and Anion Inhibition Effect on CO₂ Hydration. *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *89* (3–4), 255–266.
- (39) Ibrahim, M. M.; Amin, M. A.; Ichikawa, K. Synthesis and Characterization of Benzimidazole-Based Zinc Complexes as Structural Carbonic Anhydrase Models and Their Applications towards CO₂ Hydration. *J. Mol. Struct.* **2011**, *985* (2–3), 191–201.
- (40) Ichikawa, K.; Tarnai, M.; Uddin, M. K.; Nakata, K.; Sato, S. Hydrolysis of Natural and Artificial Phosphoesters Using Zinc Model Compound with a Histidine-Containing Pseudopeptide. *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *91* (3), 437–450.
- (41) Berreau, L. M. Bioinorganic Chemistry of Group 12 Complexes Supported by Tetradentate Tripodal Ligands Having Internal Hydrogen-Bond Donors. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, *2006* (2), 273–283.
- (42) Zhao, M.; Wang, H.-B.; Ji, L.-N.; Mao, Z.-W. Insights into Metalloenzyme Microenvironments: Biomimetic Metal Complexes with a Functional Second Coordination Sphere. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42* (21), 8360.

- (43) Mareque-Rivas, J. C.; Prabakaran, R.; Parsons, S. Quantifying the Relative Contribution of Hydrogen Bonding and Hydrophobic Environments, and Coordinating Groups, in the Zinc(II)–Water Acidity by Synthetic Modelling Chemistry. *Dalton Trans* **2004**, No. 10, 1648–1655.
- (44) Mareque-Rivas, J. C.; Prabakaran, R.; Martín de Rosales, R. T. Relative Importance of Hydrogen Bonding and Coordinating Groups in Modulating the Zinc–Water Acidity. *Chem Commun* **2004**, No. 1, 76–77.
- (45) Garner, D. K.; Allred, R. A.; Tubbs, K. J.; Arif, A. M.; Berreau, L. M. Synthesis and Characterization of Mononuclear Zinc Aryloxy Complexes Supported by Nitrogen/Sulfur Ligands Possessing an Internal Hydrogen Bond Donor. *Inorg. Chem.* **2002**, *41* (13), 3533–3541.
- (46) Garner, D. K.; Fitch, S. B.; McAlexander, L. H.; Bezold, L. M.; Arif, A. M.; Berreau, L. M. Mononuclear Nitrogen/Sulfur-Ligated Zinc Methoxide and Hydroxide Complexes: Investigating Ligand Effects on the Hydrolytic Stability of Zinc Alkoxide Species. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (34), 9970–9971.
- (47) Kady, I. O.; Tan, B.; Ho, Z.; Scarborough, T. Hydrolysis of Phosphotriesters Promoted by a Zinc(II) Complex Bearing an Alcohol Pendant. *J Chem Soc Chem Commun* **1995**, No. 11, 1137–1138.
- (48) Livieri, M.; Mancin, F.; Tonellato, U.; Chin, J. Multiple Functional Group Cooperation in Phosphate Diester Cleavage Promoted by Zn(II) Complexes. *Chem. Commun.* **2004**, No. 24, 2862.
- (49) Desbouis, D.; Troitsky, I. P.; Belousoff, M. J.; Spiccia, L.; Graham, B. Copper(II), Zinc(II) and Nickel(II) Complexes as Nuclease Mimetics. *Coord. Chem. Rev.* **2012**, *256* (11–12), 897–937.
- (50) Tirel, E. Y.; Bellamy, Z.; Adams, H.; Lebrun, V.; Duarte, F.; Williams, N. H. Catalytic Zinc Complexes for Phosphate Diester Hydrolysis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53* (31), 8246–8250.
- (51) Tirel, E. Y.; Williams, N. H. Enhancing Phosphate Diester Cleavage by a Zinc Complex through Controlling Nucleophile Coordination. *Chem. - Eur. J.* **2015**, *21* (19), 7053–7056.
- (52) Breslow, R.; Dong, S. D. Biomimetic Reactions Catalyzed by Cyclodextrins and Their Derivatives. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (5), 1997–2012.
- (53) Matsumoto, Y.; Komiyama, M. Beta-Cyclodextrin Attached with Metal Complex as Catalyst for the Cleavage of Ribonucleoside Cyclic Phosphates and Ribonucleotide Dimers. *J. Mol. Catal.* **1990**, *61* (1), 129–136.
- (54) Kim, D. H.; Lee, S. S. Origin of Rate-Acceleration in Ester Hydrolysis with Metalloprotease Mimics. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8* (3), 647–652.
- (55) Zhou, Y.-H.; Zhao, M.; Sun, H.; Mao, Z.-W.; Ji, L.-N. Effect of Cyclodextrin Dimers with Bipyridyl and Biphenyl Linking Groups on Carboxyl Ester Hydrolysis Catalyzed by Zinc Complex. *J. Mol. Catal. Chem.* **2009**, *308* (1–2), 61–67.
- (56) Tabushi, I.; Kuroda, Y. Bis(Histamino)Cyclodextrin-Zinc-Imidazole Complex as an Artificial Carbonic Anhydrase. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106* (16), 4580–4584.
- (57) Dong, S. D.; Breslow, R. Bifunctional Cyclodextrin Metalloenzyme Mimics. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39* (51), 9343–9346.
- (58) Seneque, O. Calix[6]Arenes and Zinc: Biomimetic Receptors for Neutral Molecules. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122* (26), 6183–6189.
- (59) Sénèque, O.; Reinaud, O.; Giorgi, M. Hydrogen Bonding and CH/π Interactions for the Stabilization of Biomimetic Zinc Complexes: First Examples of X-Ray Characterized Alcohol and Amide Adducts to a Tetrahedral Dicationic Zn Center. *Chem. Commun.* **2001**, No. 11, 984–985.
- (60) Darbost, U.; Zeng, X.; Rager, M.-N.; Giorgi, M.; Jabin, I.; Reinaud, O. X-Ray and Solution Structures of the First Zn Funnel Complex Based on a Calix[6]Aza-Cryptand. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2004**, *2004* (22), 4371–4374.
- (61) Sénèque, O.; Giorgi, M.; Reinaud, O. Bio-Inspired Calix[6]Arene–Zinc Funnel Complexes. *Supramol. Chem.* **2003**, *15* (7–8), 573–580.
- (62) Sénèque, O.; Rager, M.-N.; Giorgi, M.; Prangé, T.; Tomas, A.; Reinaud, O. Biomimetic Zinc Funnel Complexes Based on Calix[6] N3ArO Ligands: An Acid–Base Switch for Guest Binding. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (42), 14833–14840.
- (63) Bistri, O.; Colasson, B.; Reinaud, O. Recognition of Primary Amines in Water by a Zinc Funnel Complex Based on Calix[6]Arene. *Chem Sci* **2012**, *3* (3), 811–818.

- (64) Biroš, S. M.; Ullrich, E. C.; Hof, F.; Trembleau, L.; Rebek, J. Kinetically Stable Complexes in Water: The Role of Hydration and Hydrophobicity. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (9), 2870–2876.
- (65) Hong, M.; Zhang, Y.-M.; Liu, Y. Selective Binding Affinity between Quaternary Ammonium Cations and Water-Soluble Calix[4]Resorcinarene. *J. Org. Chem.* **2015**, *80* (3), 1849–1855.
- (66) Pinalli, R.; Brancatelli, G.; Pedrini, A.; Menozzi, D.; Hernández, D.; Ballester, P.; Geremia, S.; Dalcanale, E. The Origin of Selectivity in the Complexation of *N*-Methyl Amino Acids by Tetrakisphosphate Cavitands. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138* (27), 8569–8580.
- (67) Beyeh, N. K.; Jo, H. H.; Kolesnichenko, I.; Pan, F.; Kalenius, E.; Anslyn, E. V.; Ras, R. H. A.; Rissanen, K. Recognition of Viologen Derivatives in Water by *N*-Alkyl Ammonium Resorcinarene Chlorides. *J. Org. Chem.* **2017**, *82* (10), 5198–5203.
- (68) Ajami, D.; Rebek, J. Chemical Approaches for Detection and Destruction of Nerve Agents. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11* (24), 3936–3942.
- (69) Beyeh, N. K.; Díez, I.; Taimoory, S. M.; Meister, D.; Feig, A. I.; Trant, J. F.; Ras, R. H. A.; Rissanen, K. High-Affinity and Selective Detection of Pyrophosphate in Water by a Resorcinarene Salt Receptor. *Chem. Sci.* **2018**, *9* (5), 1358–1367.
- (70) Hooley, R. J.; Biroš, S. M.; Rebek, Jr., J. Normal Hydrocarbons Tumble Rapidly in a Deep, Water-Soluble Cavitand. *Chem Commun* **2006**, No. 5, 509–510.
- (71) Zhang, K.-D.; Ajami, D.; Gavette, J. V.; Rebek, J. Alkyl Groups Fold to Fit within a Water-Soluble Cavitand. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136* (14), 5264–5266.
- (72) Zhang, K.-D.; Ajami, D.; Gavette, J. V.; Rebek, J. Complexation of Alkyl Groups and Ghrelin in a Deep, Water-Soluble Cavitand. *Chem Commun* **2014**, *50* (38), 4895–4897.
- (73) Wu, N.-W.; Rebek, J. Cavitands as Chaperones for Monofunctional and Ring-Forming Reactions in Water. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138* (24), 7512–7515.
- (74) Natarajan, N.; Brenner, E.; Sémeril, D.; Matt, D.; Harrowfield, J. The Use of Resorcinarene Cavitands in Metal-Based Catalysis: The Use of Resorcinarene Cavitands in Metal-Based Catalysis. *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, No. 41, 6100–6113.
- (75) Richeter, S.; Rebek. Catalysis by a Synthetic Receptor Sealed at One End and Functionalized at the Other. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (50), 16280–16281.
- (76) Gout, J.; Rat, S.; Bistri, O.; Reinaud, O. Supramolecular Control of Biomimetic Coordination - Zn^{II} Cavity Complexes Presenting Two Differentiated Labile Sites in *Cis* Positions: Supramolecular Control of Biomimetic Coordination. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2014**, No. 17, 2819–2828.
- (77) Višnjevac, A.; Gout, J.; Ingert, N.; Bistri, O.; Reinaud, O. First ZnII Bowl-Complexes Modeling the Tris(Histidine) Metallo-Site of Enzymes. *Org. Lett.* **2010**, *12* (9), 2044–2047.
- (78) Rat, S.; Gout, J.; Bistri, O.; Reinaud, O. The First Water-Soluble Bowl Complex: Molecular Recognition of Acetate by the Biomimetic Tris(Imidazole) Zn(II) System at PH 7.4. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13* (11), 3194–3197.
- (79) Parrot, A.; Collin, S.; Bruylants, G.; Reinaud, O. The 3rd Degree of Biomimetism: Associating the Cavity Effect, ZnII Coordination and Internal Base Assistance for Guest Binding and Activation. *Chem. Sci.* **2018**, *9* (24), 5479–5487.

CHAPITRE 2 :

SYSTEMES ORGANOSOLUBLES

I. Présentation

Deux systèmes biomimétiques organosolubles dérivés de résorcinarènes ont été précédemment développés au sein de l'équipe : Rim₃ et Rim₄. Les complexes de zinc(II), cuivre(I) et cuivre(II) correspondants ont été synthétisés et étudiés. Le travail de cette thèse est centré sur des systèmes comportant quatre bras imidazole, dont l'étude est principalement réalisée par spectroscopie RMN. Afin de familiariser le lecteur avec ces systèmes, le complexe Rim₄Zn ([Rim₄Zn(MeCN)]²⁺) est présenté plus en détail dans cette section.¹

1. Système Rim₄Zn

Le ligand Rim₄ ainsi que les complexes dérivés ont été élaborés au cours de travaux précédents, sur lesquels se basent les études réalisées au cours de cette thèse.² Le ligand est synthétisé en cinq étapes à l'échelle de la centaine de milligramme à partir de résorcinol et d'hexanal avec un rendement global de 11% (Figure 30) à partir de procédures reportées jusqu'à l'intermédiaire R6³⁻⁶ et selon une procédure mise au point au laboratoire pour la dernière étape.¹

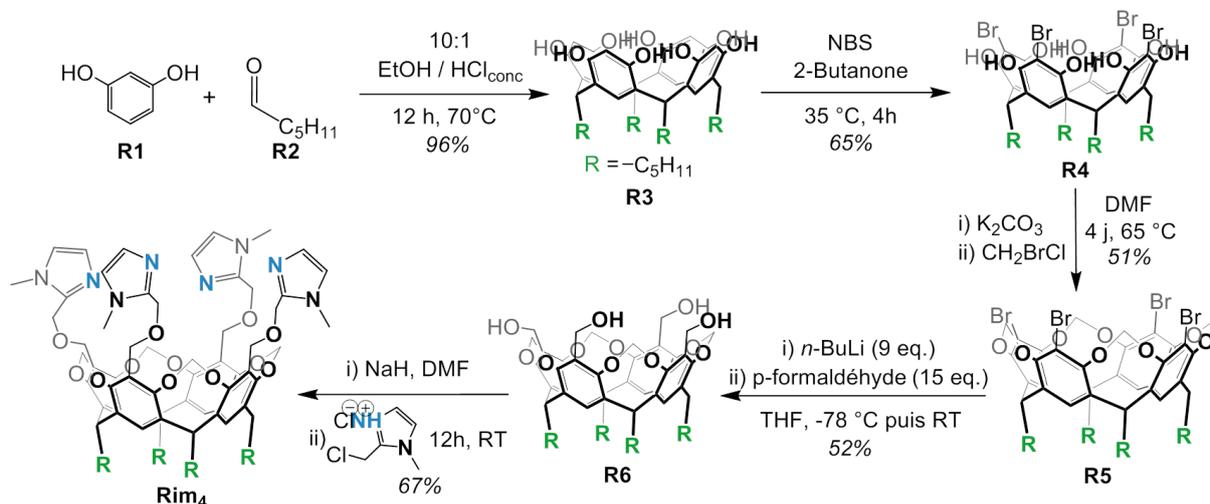


Figure 30 : Voie de synthèse du ligand Rim₄.

Le résorcine[4]arène est formé dès la première étape par condensation du résorcinol et de l'hexanal. Le macrocycle est ensuite bromé en présence de N-bromosuccinimide pour obtenir l'intermédiaire R4. La structure de la cavité est ensuite rigidifiée par formation de ponts méthylène pour obtenir le cavitant R5. Enfin, les bras coordinants sont introduits en deux étapes par alkylation de la position bromée puis substitution nucléophile des groupements hydroxyle formés par du 2-chlorométhyl-1-méthyl-1H-imidazole (synthétisé en deux étapes à partir de procédures reportées).⁷ Le ligand Rim₄ est purifié sur colonne puis par précipitation dans un mélange eau/éthanol 1:1.

Le complexe Rim_4Zn est ensuite obtenu par précipitation sous forme $[\text{Rim}_4\text{Zn}(\text{EtOH})](\text{ClO}_4)_2$ à partir du ligand Rim_4 et de perchlorate de zinc(II) dans l'éthanol. En effet, il présente des propriétés de solubilité très différentes du ligand. Alors que Rim_4 est soluble en milieu organique dans une variété de solvants (dichlorométhane, éthanol, acétonitrile notamment), le complexe zincique n'est soluble que dans l'acétonitrile.

Rim_4 présente une structure symétrique C_{4v} donc un spectre RMN relativement simple. La complexation s'accompagne d'une modification du spectre RMN de l'espèce (Figure 31). Rim_4Zn présente également une symétrie C_{4v} , et cinq signaux sont particulièrement affectés lors de la formation du complexe. Ces signaux correspondent à l'environnement immédiat du cation métallique et sont très caractéristiques d'une première sphère de coordination précise, ici quatre bras imidazole et une molécule de solvant (CD_3CN). Nous allons les détailler.

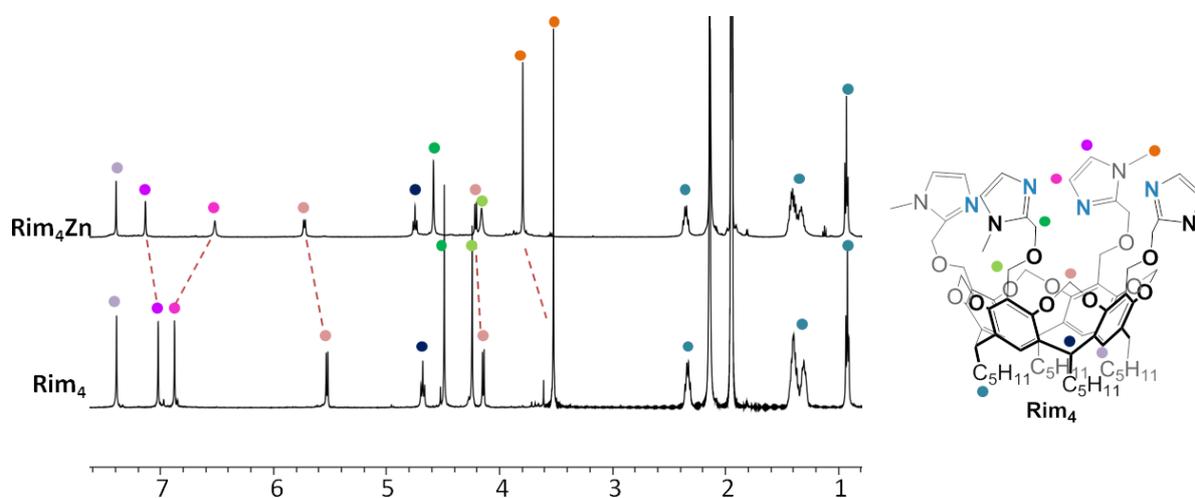


Figure 31 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz) de Rim_4 (bas) et Rim_4Zn (haut).

Les deux protons les plus affectés par la coordination sont ceux portés par les imidazoles, en position alpha et bêta par rapport à l'azote coordinant. Ils sont représentés en rose et violet sur la figure, et dénommés dans la suite $\text{H}_{\text{im},\alpha}$ et $\text{H}_{\text{im},\beta}$ respectivement. La formation du complexe s'accompagne d'un éclatement des pics de 6,88 et 7,02 ppm à 6,54 et 7,14 ppm. Il est à noter que ces protons sont également sensibles au degré de protonation des imidazoles. Le signal associé au méthyle porté par les imidazoles (indiqué en orange) se déplace de 3,52 à 3,79 ppm ; il est sensible à la protonation des bras comme à l'environnement de coordination.

Les deux autres signaux les plus affectés correspondent aux deux protons portés par les ponts méthylène du macrocycle (en rose clair). La rigidité de la cavité fait qu'ils ne peuvent pas s'échanger et son aromaticité induit qu'ils ne sont pas équivalents. Le proton plus dirigé vers l'intérieur de la cavité, dénommé H_{in} , ressent ainsi un effet de blindage : il est associé au doublet à 4,14 ppm (4,21 ppm pour Rim_4Zn) quand son homologue, H_{out} , apparaît à 5,52 ppm (5,72 ppm pour Rim_4Zn). Ces deux protons sont sensibles à l'environnement cavitaire et donc à l'invité inclus, ici le solvant acétonitrile.

Le reste du spectre RMN est peu modifié, donc dans toute la suite la fenêtre de 5 à 8 ppm sera en particulier considérée, elle rassemble les signaux caractéristiques des complexes (plus le signal

mauve à 7,39 ppm, dénommé $H_{ar,down}$). De plus, les invités coordonnés au zinc(II) et dirigés vers la cavité (en position *endo*) subissent un effet de blindage et apparaissent à haut champ (à des ppm négatifs), cette partie des spectres est donc également d'intérêt (ici l'invité est le solvant deutéré, son signal n'est pas observé).

Le système Rim_3Zn a démontré qu'il est possible de maintenir un cation métallique dans la structure avec seulement trois bras imidazole ; le quatrième bras porté par le complexe Rim_4Zn est plus faiblement coordonné et conserve des propriétés acido-basiques. Le comportement du complexe en fonction de l'acidité du milieu est étudié par addition d'acide picrique à Rim_4Zn (Figure 32).

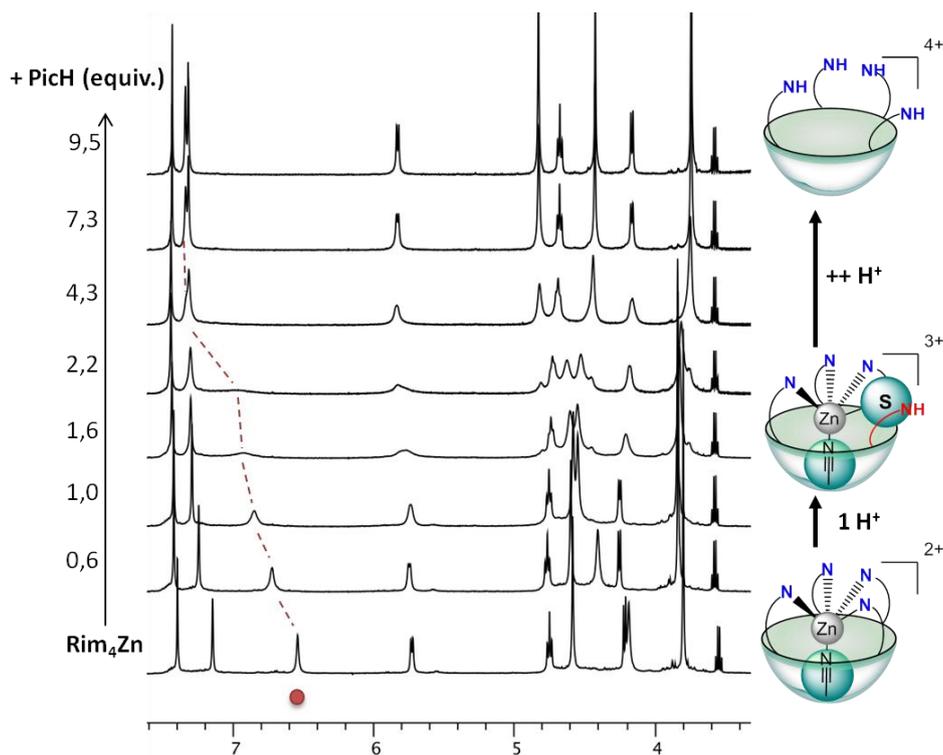


Figure 32 : Dosage par addition d'acide picrique (PicH) à Rim_4Zn (2 mM) suivi par RMN 1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz). S = $H_2O/CD_3CN/\emptyset$.

Le dosage, confirmé par une étude ITC, met en évidence deux phénomènes acido-basiques séparés, qui se manifestent en particulier au niveau du proton $H_{im,\alpha}$ (pointé en rouge) pour lequel un déblindage corrélé à son degré de protonation est observé (de 6,54 à 7,29 ppm). Dans un premier temps, un équivalent d'acide mène à la protonation d'un bras pour donner une espèce chargée trois fois positivement avec un nouveau site de coordination ouvert en position *exo*, occupé par une molécule de solvant. Il est intéressant de remarquer que le bras protoné est en échange rapide par rapport à l'échelle de temps RMN avec les trois autres, il y a donc toujours une symétrie C_{4v} apparente. Le pK_a associé à cette monoprotation a été déterminé par ITC, il s'élève à 16,7 dans l'acétonitrile. Cela est comparable à ce qui est attendu pour un imidazole libre dans ce même solvant (15,05),⁸ et confirme que l'un des bras est faiblement coordonné au métal. Lorsque l'addition d'acide est poursuivie les trois bras restants se protonent simultanément et libèrent le cation métallique pour régénérer le ligand sous forme tétraprotonée à partir de 4 équivalents de PicH.

L'un des quatre bras imidazole est donc hémilabile et peut capter un proton sans que le complexe ne se décompose. Ce bras va donner à Rim₄Zn des propriétés hôte-invité et de réactivité particulières et originales par rapport au complexe parent Rim₃Zn.

2. Propriétés hôte-invité de Rim₄Zn

Les propriétés de récepteur de Rim₄Zn sont ici présentées autour de l'exemple d'un seul invité, selon une étude effectuée au laboratoire.¹ L'invité sélectionné présente une haute affinité pour le système : il s'agit de l'acide acétique/acétate. Il est à noter que le complexe [Rim₃Zn(OAc)]⁺ est formé quantitativement à l'ajout de sel d'acétate à Rim₃Zn dans les conditions d'expérience RMN usuelles mais que l'addition d'acide acétique à ce même complexe ne mène à la formation d'une nouvelle espèce que si elle est suivie d'une addition de base. Le comportement de Rim₄Zn à l'ajout d'acide acétique est plus compliqué (Figure 33).

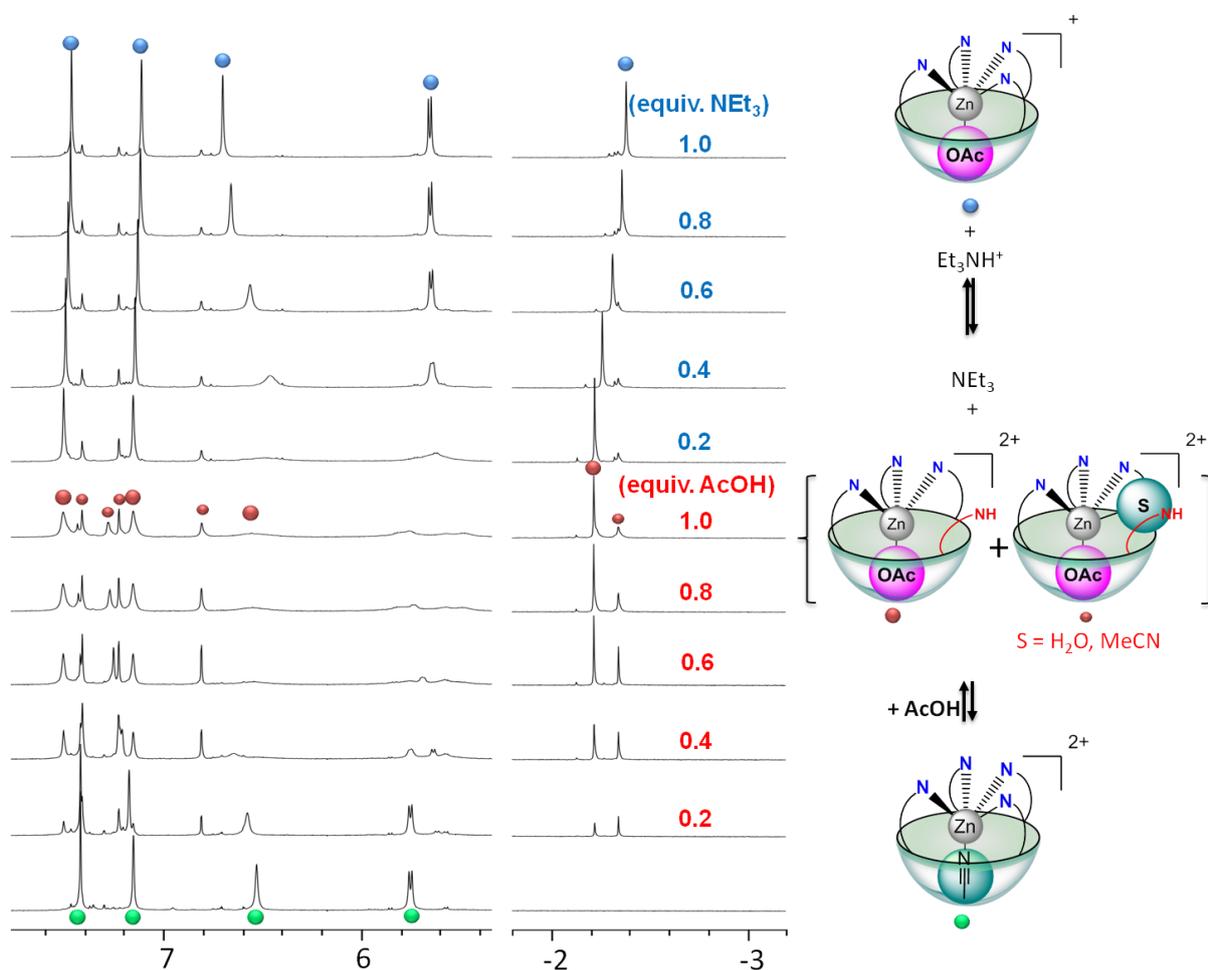


Figure 33 : Reconnaissance de l'acétate par Rim₄Zn par ajout d'acide acétique (jusqu'à 1 equiv.) puis de triéthylamine (jusqu'à 1 equiv.), RMN ¹H (CD₃CN, 300 K, 500 MHz).²

L'addition d'acide acétique à Rim₄Zn provoque la formation de trois espèces distinctes, chacune caractérisée par un signal à haut champ (correspondant au méthyle de l'acétate inclus) et trois pics aromatiques (H_{ar,downr}, H_{im,α} et H_{im,β}). Ces trois espèces sont indiquées par des points bleus et rouges de différentes tailles sur la figure. Les trois comprennent un acétate intracavité (signaux autour de -2,3 ppm). La différenciation des signaux, qui traduit un environnement de coordination distinct pour

chaque espèce, est donc due à un changement au niveau des imidazoles. En effet l'acide acétique est coordonné sous forme d'acétate, il a cédé un proton lors de la complexation. Trois espèces peuvent alors être obtenues : un complexe acétato avec un bras imidazole protoné, le second également protoné avec une molécule de solvant coordonnée en position *exo* (ces deux espèces sont indiquées en rouge sur la figure) et le dernier est le complexe acétato déprotoné (en bleu, qui peut être obtenu quantitativement et identifié par ajout de base).

Cette expérience met encore une fois en évidence l'hémilabilité d'un bras imidazole du complexe Rim_4Zn et son application possible à la reconnaissance d'invités protiques. Deux études hôte-invité supplémentaires permettent de mieux cerner le potentiel de ce système. D'une part, en utilisant des carboxylates de différentes tailles le propionate est le plus grand invité inclus dans la cavité, dans la suite des molécules de moins de trois carbones seront donc considérées. D'autre part, Rim_4Zn est capable de complexer des dicétones (acétylacétonate et benzoylacétonate). Cela confirme que deux sites de coordination sont accessibles en *cis* l'un par rapport à l'autre et que le contrôle stérique sur les invités exercé par la cavité n'est sensible qu'en position *endo*, la position *exo* restant ouverte à plus d'encombrement.

Les propriétés réceptrices du système vis-à-vis d'invités protiques neutres sont investiguées plus particulièrement sur l'exemple d'un invité peu basique : l'acétamide.

II. Inclusion de l'acétamide

1. Récepteurs d'acétamide

L'acétamide est une molécule neutre peu coordinante, qui devient sous forme déprotonée un excellent donneur. Cependant la forme anionique est très basique, avec un $\text{p}K_a$ qui s'élève à 25,5 dans le DMSO (non reporté dans l'acétonitrile).⁹ De fait, les exemples de récepteurs d'acétamide sont rares dans la littérature et forment un adduit avec l'amide sous forme neutre.

Le meilleur récepteur d'acétamide connu (Figure 34) présente une affinité modérée de 400 M^{-1} pour AcNH_2 en milieu organique (dichlorométhane). La reconnaissance est permise par l'effet combiné de groupements accepteurs de liaisons H et d'un métal.¹⁰ La complexation d'acétamide est également possible sous forme neutre en associant un cation métallique à une cavité hydrophobe. Plusieurs exemples de structures supramoléculaires capables de complexer l'acétamide ont ainsi été reportées, notamment basées sur des cavités calixarènes. L'un des premiers exemples de ce type de système a été reporté par Reinaud et al. en 2000 (Figure 34).¹¹ Cependant dans ce cas l'affinité du complexe pour l'acétamide n'a pas été quantifiée.

Il n'a pas été reporté à notre connaissance de récepteur plus efficace de l'acétamide, en milieu organique ou dans l'eau, que ceux présentés ici. Les systèmes Rim_3Zn et Rim_4Zn , qui allient une cavité hydrophobe et un cation métallique, présentent des caractéristiques similaires à ces récepteurs et pourraient permettre d'obtenir une meilleure reconnaissance que ce qui a été obtenu jusqu'ici.

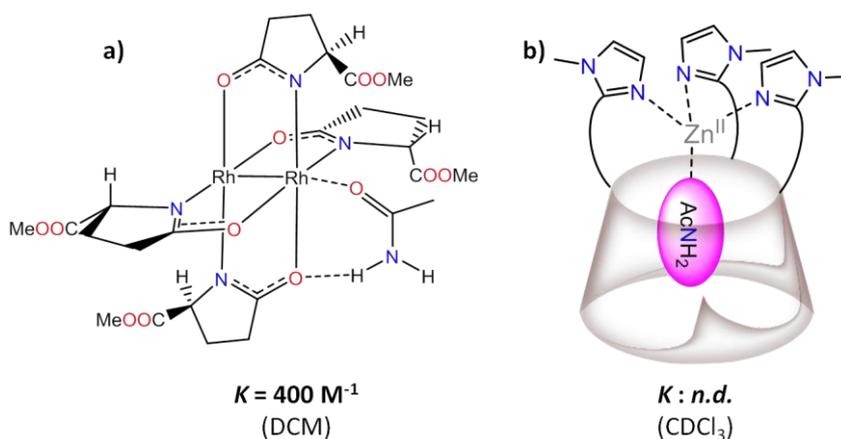


Figure 34 : Exemples de récepteurs d'acétamide en milieu organique. a) Comportant un métal associé à un accepteur de liaisons H¹⁰ ; b) Comportant un métal et une cavité hydrophobe.¹¹

2. Aspect thermodynamique

De manière similaire à ce qui est observé avec l'acide acétique, l'addition d'acétamide (AcNH_2) à Rim_3Zn n'entraîne aucune modification visible par spectroscopie RMN. Cependant l'addition de base (triéthylamine) mène à la formation du complexe $[\text{Rim}_3\text{Zn}(\text{AcNH})]^+$, caractérisé par l'émergence d'une résonance à haut champ correspondant au méthyle inclus de l'acétamide. La constante d'affinité associée n'a cependant pas été mesurée. Ce résultat contraste avec ce qui est observé en présence d'un quatrième bras hémilabile avec Rim_4Zn .

En effet, l'addition d'un équivalent d'acétamide à Rim_4Zn (en présence de 1% d'eau) conduit à un important changement des signaux observés en RMN (Figure 35). L'ensemble des signaux du complexe est affecté, donnant lieu à un spectre difficile à interpréter entre 4 et 8 ppm. Cependant l'inclusion d'une molécule d'acétamide en position *endo* est clairement visible à haut champ où le méthyle inclus apparaît à -2,41 ppm.

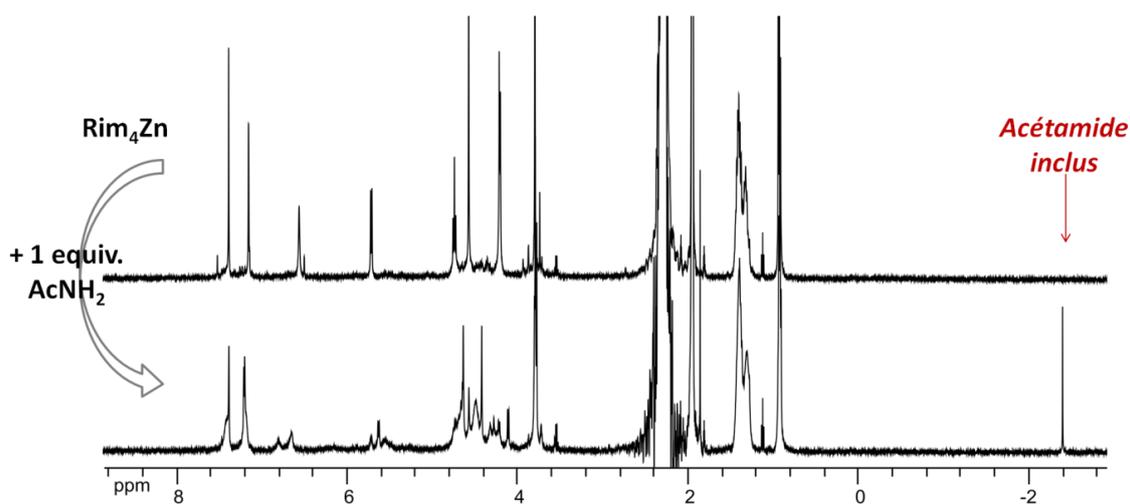


Figure 35 : Addition d'un équivalent d'acétamide à Rim_4Zn (2 mM) suivie par RMN ¹H (CD_3CN (1% H_2O), 300 K, 500 MHz).

L'intégration du pic à haut champ montre que la complexation n'est pas totale dans les conditions d'étude. De plus, il apparaît que l'inclusion est lente et que sa vitesse dépend de la quantité d'eau présente. Cet aspect sera étudié plus en détail dans la section suivante. Pour la suite de l'étude thermodynamique, un mélange acétonitrile/eau est utilisé pour éviter les erreurs d'interprétations dues à la lenteur des équilibres en présence.

Il est à noter que les deux hydrogènes portés de la fonction amide dans l'acétamide ne sont pas magnétiquement équivalents et produisent deux signaux distincts (à 5,50 et 6,06 ppm dans CD₃CN). Cependant une carte COSY de l'espèce obtenue par addition d'acétamide à Rim₄Zn met en évidence une corrélation entre le signal du méthyle inclus et un seul signal situé à 4,28 ppm (dans le massif entre 3 et 5 ppm, Figure 36). Cela indique la présence d'un seul proton sur la fonction amide coordonnée et montre que l'acétamide est inclus sous forme déprotonée.

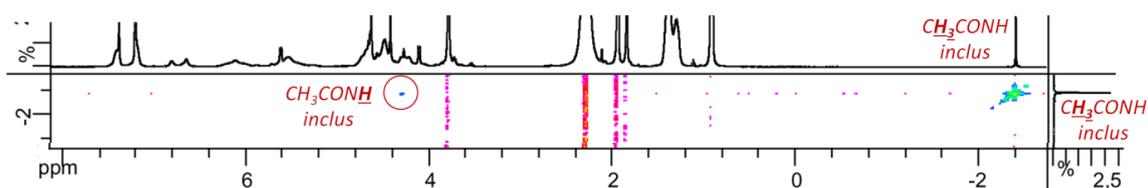


Figure 36 : Extrait de COSY (CD₃CN, 300 K, 500 MHz) de Rim₄Zn (4 mM) en présence de 3,3 équivalents d'acétamide.

Ce résultat est remarquable au vu des acidités relatives des couples impliqués. En effet, les p*K_a* de l'acétamide et du bras imidazole sont très différents. Les valeurs exactes ne se sont pas reportées dans l'acétonitrile, mais sont connues dans le DMSO. Ces deux solvants présentent des échelles de p*K_a* proches et sont comparables. Le p*K_a* du bras hémilabile dans l'acétonitrile est proche de celui d'un imidazole libre, avec dans le DMSO une valeur de p*K_a* autour de 18,6 (imidazolium/imidazole).⁹ L'acétamide a quant à lui un p*K_a* de 25,5 dans ce même solvant.⁹ Le fait que AcNH₂ est inclus sous forme déprotonée montre que le complexe Rim₄Zn est capable d'en abaisser la p*K_a* de presque 7 unités, grâce à l'effet combiné du cation métallique, de la cavité et de la présence d'une base intramoléculaire.

L'affinité du complexe pour l'acétamide est déterminée par dosage RMN, en présence de 5% d'eau deutérée afin de ne pas être limité par la cinétique lente (Figure 37). La constante d'association obtenue est de $K = (2,3 \pm 1,2) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$. C'est à notre connaissance la plus haute affinité reportée à ce jour pour la reconnaissance d'acétamide.

La présence de nombreux signaux entre 5 et 8 ppm suggère que l'addition d'acétamide à Rim₄Zn entraîne la formation soit de plusieurs espèces soit d'une espèce moins symétrique. Afin de pouvoir identifier les espèces obtenues à l'issue de la complexation dans les meilleures conditions, une étude cinétique est entreprise dans un premier temps.

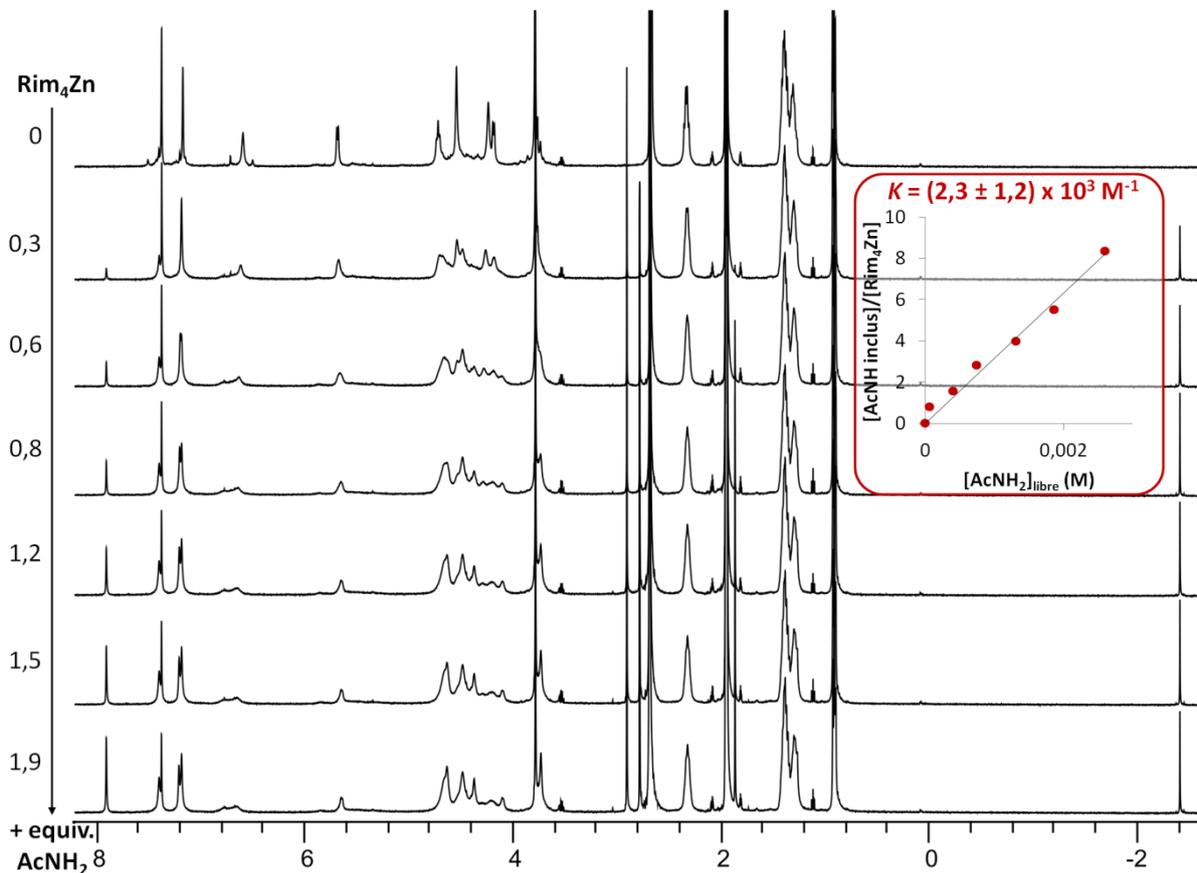


Figure 37 : Dosage de Rim₄Zn (2 mM) par l'acétamide et constante d'affinité obtenue par intégration. RMN ¹H (CD₃CN/D₂O 95:5, 300 K, 500 MHz).

3. Aspect cinétique

La cinétique d'inclusion de l'acétamide par Rim₄Zn dans l'acétonitrile est lente. Pour atteindre un maximum de complexation dans les conditions usuelles de concentration il faut compter plusieurs heures à température ambiante. Cependant en présence d'eau la complexation est nettement plus rapide, de l'ordre de la minute. Afin de mieux comprendre le rôle de l'eau, une étude cinétique est réalisée par spectroscopie RMN.

Un équivalent d'acétamide est ajouté à Rim₄Zn (2 mM) dans l'acétonitrile deutéré puis la complexation est suivie par intégration du signal à haut champ (-2,40 ppm) qui grandit, caractéristique de l'acétamide inclus (Figure 38). L'expérience est ensuite répétée avec différents pourcentages de H₂O (de 1 à 20%). Les courbes obtenues par intégration peuvent être modélisées en considérant une loi de vitesse correspondant à un pseudo-ordre global 2, soit un ordre partiel de 1 par rapport à Rim₄Zn et AcNH₂ en présence d'un excès d'eau : $v = k_{app}[\text{Rim}_4\text{Zn}][\text{AcNH}_2]$, où k_{app} est la constante apparente de vitesse qui peut être exprimée ainsi : $k_{app} = k[\text{H}_2\text{O}]^\alpha$, avec k la constante de vitesse d'inclusion de l'acétamide et α l'ordre partiel par rapport à l'eau.

Le tracé de l'inverse de la concentration en acétamide libre en fonction du temps donne une droite qui permet par régression linéaire d'obtenir pour chaque expérience la valeur du paramètre k_{app} . Un graphe logarithmique des valeurs obtenues à différents pourcentages d'eau permettent

ensuite de déduire que l'ordre partiel par rapport à l'eau α s'élève à 1, et que la constante de vitesse d'inclusion de l'acétamide est $k = 2,0 \times 10^2 \text{ min}^{-1}$ (Figure 38d) grâce à la formule suivante :

$$\log(k_{app}) = \alpha * \log([H_2O]) + \log(k).$$

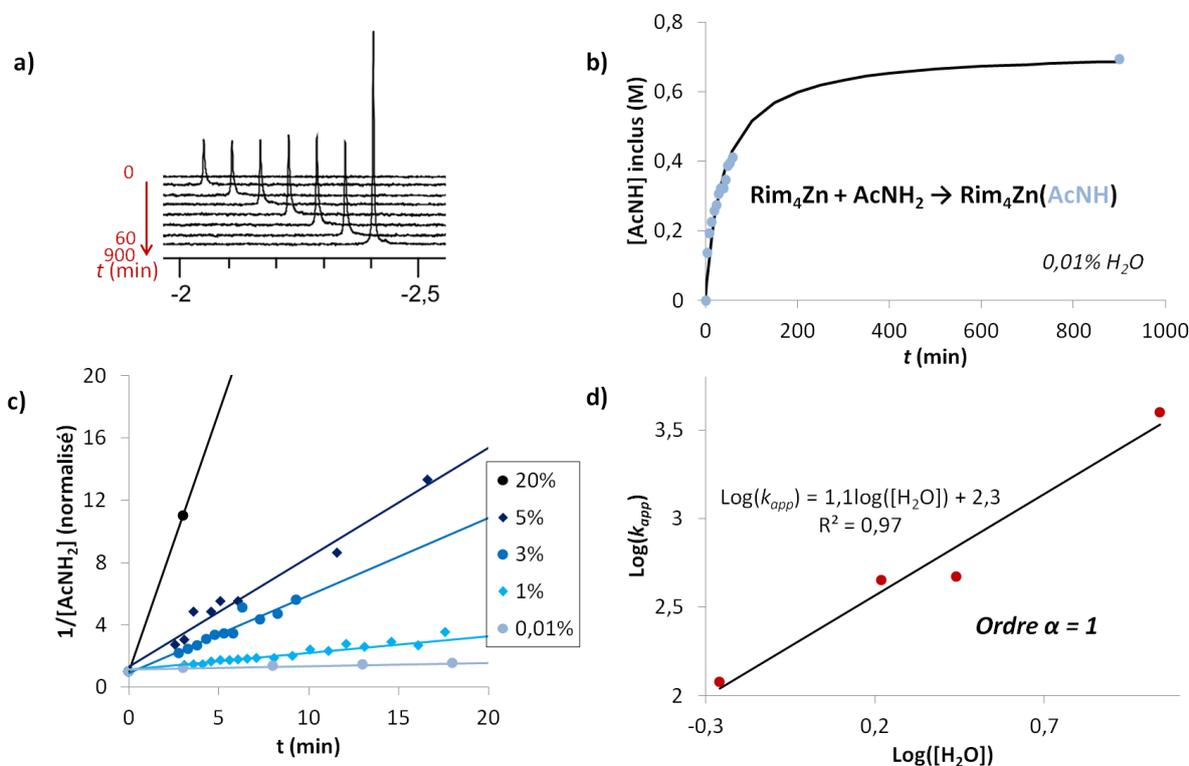


Figure 38 : Etude cinétique de la complexation de l'acétamide (2 mM) par Rim₄Zn (2 mM) par RMN ¹H (CD₃CN, 300 K, 500 MHz). a) Superposition des spectres obtenus avec 0,01% d'eau, zoom sur le pic intracavité (AcNH inclus) ; b) Suivi de l'inclusion d'acétamide en fonction du temps (avec 0,01% d'eau) ; c) Superposition des courbes obtenues avec différents pourcentages de H₂O ; d) Graphe reliant k_{app} à la concentration en H₂O présente caractéristique d'un ordre 1 par rapport à H₂O.

Le fait que l'eau intervienne dans la cinétique de complexation avec un ordre 1 suggère que le mécanisme d'inclusion est complexe. En particulier, l'effet catalytique de l'eau montre que des mouvements de protons entre plusieurs espèces sont impliqués (et facilités en présence d'eau). Ainsi le mécanisme ne consiste pas uniquement en une déprotonation intramoléculaire de l'acétamide par le bras hémilabile du complexe, tel que schématisé sur la Figure 39. Cela est également indiqué par l'allure du spectre RMN obtenu en présence de Rim₄Zn (2 mM) et d'un excès d'acétamide, qui montre un grand nombre de signaux dans la zone aromatique (Figure 35, entre 6 et 8 ppm), et un pic intracavité montrant par intégration une complexation qui n'est pas totale.

L'ensemble des résultats suggère la formation de plusieurs espèces lorsque de l'acétamide est ajouté à Rim₄Zn. Pour identifier ces espèces, une étude RMN plus poussée est effectuée en collaboration avec l'équipe de RMN de l'UMR 8601 de l'Université Paris Descartes.

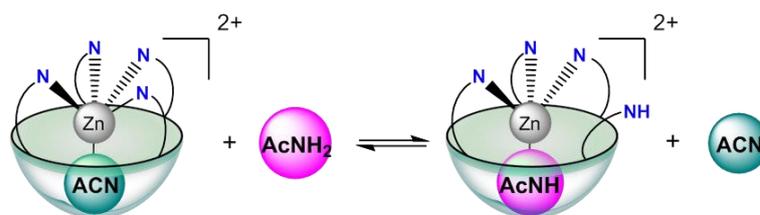


Figure 39 : Représentation schématique de la formation de $[Rim_4Zn(AcNH)H]^{2+}$. L'étude cinétique montre que ça ne correspond pas à ce qui est obtenu expérimentalement.

4. Interprétation

Le spectre RMN obtenu après addition d'acétamide à Rim_4Zn comporte de nombreuses résonances dont un certain nombre sont larges. Cela suggère que des phénomènes d'échange peuvent exister entre différents complexes. Afin de mieux identifier le nombre d'espèces présentes en solution ainsi que leur symétrie une étude par variation de température est réalisée dans l'acétonitrile en présence d'un excès d'acétamide (9,6 équivalents). En particulier, les signaux entre 5 et 8 ppm sont très affectés par la température (Figure 40).

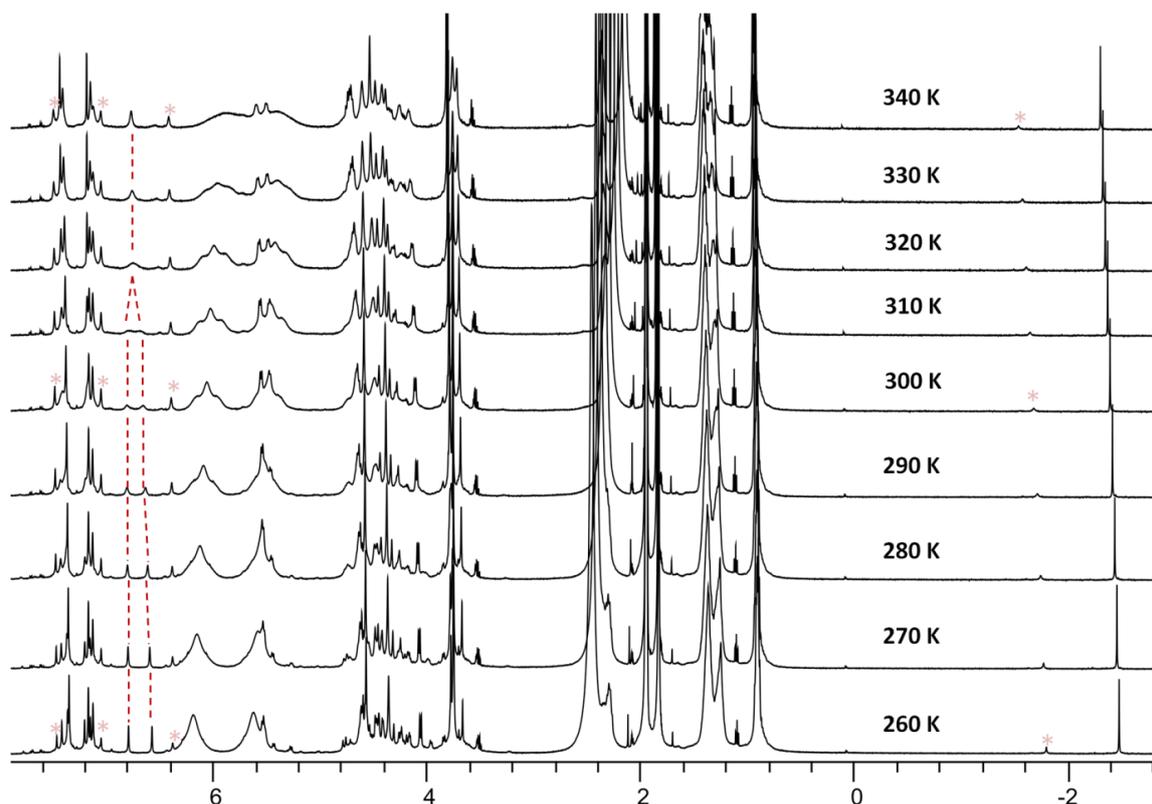


Figure 40 : Etude en température de Rim_4Zn (2 mM) en présence de 9,6 équivalents d'acétamide (les étoiles roses marquent les signaux d'une impureté présente à environ 5%).

Il apparaît que les signaux s'affinent et se rassemblent ou se divisent à haute et basse température, respectivement. Cet effet est particulièrement visible au niveau des signaux larges autour de 7 ppm (suivi par des pointillés rouges sur la figure). A température ambiante, deux signaux larges sont présents qui coalescent à 320 K puis s'affinent lorsque la température augmente. A

l'inverse, à plus basse température les deux signaux se séparent et s'affinent. Les signaux sont les mieux définis à 260 K, c'est donc cette température qui a été choisie pour la suite des études.

Par analogie avec ce qui a été obtenu avec l'acide acétique, la formation de plusieurs espèces est attendue à l'addition d'acétamide sur le complexe Rim_4Zn (Figure 41). En particulier, puisque cet invité est complexé sous forme déprotonée, l'espèce attendue comporte un bras protoné. Ce bras, décoordonné, libère un site de coordination en position *exo* qui peut être occupé par une molécule de solvant (acétonitrile ou eau). Trois espèces protonées distinctes peuvent donc être obtenues. Une partie des protons peut aussi être captée par l'eau résiduelle, pour donner le complexe déprotoné $[\text{Rim}_4\text{Zn}(\text{AcNH})]^+$. Dans ce cas également, il peut y avoir coordination d'une molécule de solvant en position *exo* (en particulier H_2O lors de l'utilisation de milieux mixtes eau/acétonitrile). Au total, ce sont donc six complexes acétamide qui peuvent être observés.

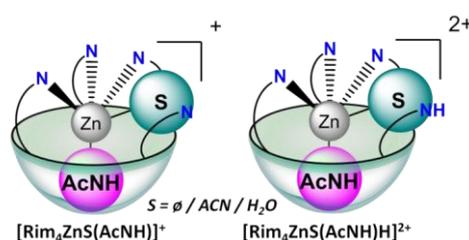


Figure 41 : Représentation schématique des espèces pouvant être formées par inclusion d'acétamide sous forme déprotonée dans Rim_4Zn .

Afin d'identifier chaque espèce présente, une étude par RMN à 2 dimensions est effectuée. Les spectres NOESY et COSY obtenus à basse température (265 K) permettent d'effectuer certaines attributions. En particulier, les signaux correspondants aux protons imidazoles et aux ponts méthylènes apportent beaucoup d'information et c'est sur eux que se centre l'interprétation. Les signaux associés à $\text{H}_{\text{im},\alpha}$ et $\text{H}_{\text{im},\beta}$ tout d'abord sont situés entre 6 et 8 ppm (Figure 42). Le spectre NOESY met en évidence qu'il existe un phénomène d'échange entre les signaux aromatiques deux à deux (7,42 et 7,37 ppm pour $\text{H}_{\text{Ar,down}}$, 7,21 et 7,16 ppm pour $\text{H}_{\text{im},\beta}$ et 6,80 et 6,59 ppm pour $\text{H}_{\text{im},\alpha}$). Les protons portés par les imidazoles sont voisins, une COSY permet donc d'associer les résonances observées deux à deux. L'ensemble de ces résultats montre l'existence d'une espèce dont la signature comporte deux jeux de signaux imidazoles de même intensité (à 6,59 et 7,16 ppm et à 6,80 et 7,21 ppm). Cependant, certains signaux visibles sur le spectre 1D dans cette région (autour de 7,20 et 7,36 ppm) ne donnent pas lieu à des tâches de corrélation en COSY ni en NOESY (ou sont trop rapprochés pour que ces tâches soient visibles). Cela suggère la présence d'un autre complexe dont les signaux restent à attribuer.

L'étude des signaux correspondant aux ponts méthylène permet de compléter l'analyse (Figure 43). Chaque pont comporte deux protons, l'un orienté vers l'intérieur de la cavité (H_{in}) et l'autre vers l'extérieur (H_{out}). Les signaux correspondant aux H_{in} sont blindés par effet de la cavité et apparaissent entre 4 et 4,5 ppm quand ceux des H_{out} sont attendus entre 5 et 6 ppm. Les corrélations COSY entre ces deux régions permettent d'identifier l'existence de quatre systèmes $\text{H}_{\text{in}}/\text{H}_{\text{out}}$ différents en solution (Figure 43b). La carte NOESY permet ensuite d'identifier s'il existe de l'échange entre ces systèmes (*i.e.* s'ils appartiennent à la même espèce ou non). Il apparaît que deux espèces sont présentes : l'une comportant un seul système $\text{H}_{\text{in}}/\text{H}_{\text{out}}$ et la seconde comportant les trois autres. Ces

observations, ajoutées à celles des signaux imidazoles, permet de conclure qu'il y a formation de deux espèces en solution.

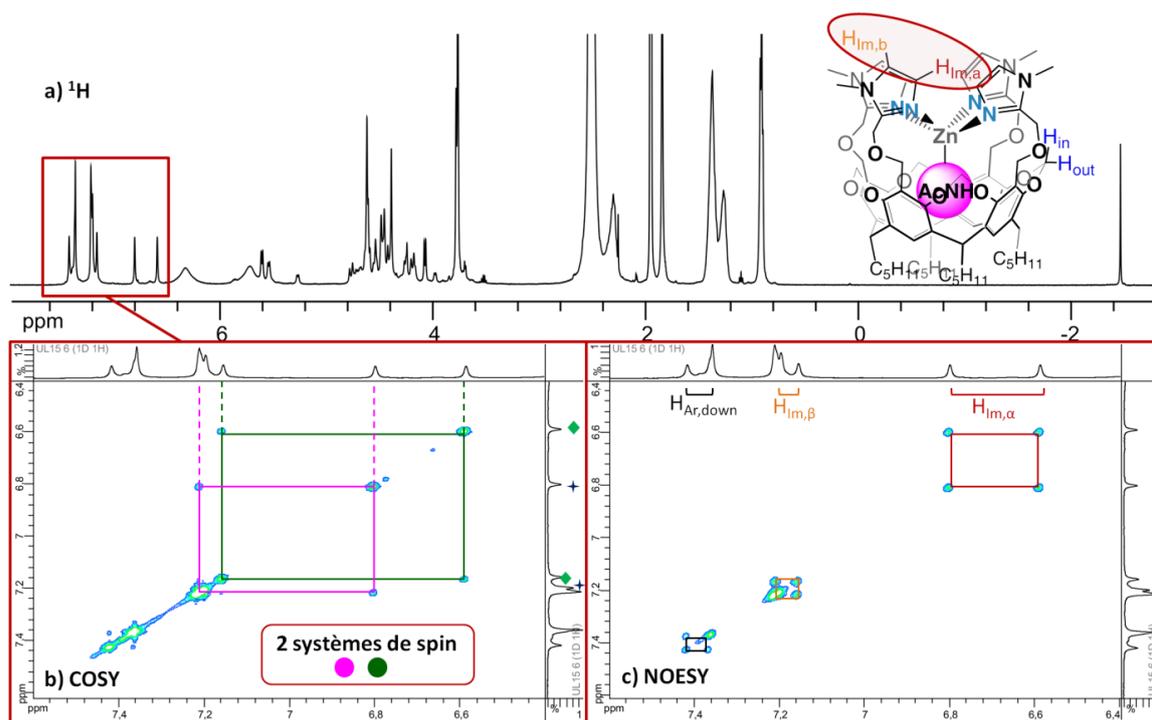


Figure 42 : Etude à basse température de Rim₄Zn (4 mM) en présence de 3,3 équivalents d'acétamide. Extrait de RMN ^1H (6,4 à 7,6 ppm, CD₃CN, 265 K, 500 MHz). a) Spectre proton ; b) Carte COSY ; c) Carte NOESY.

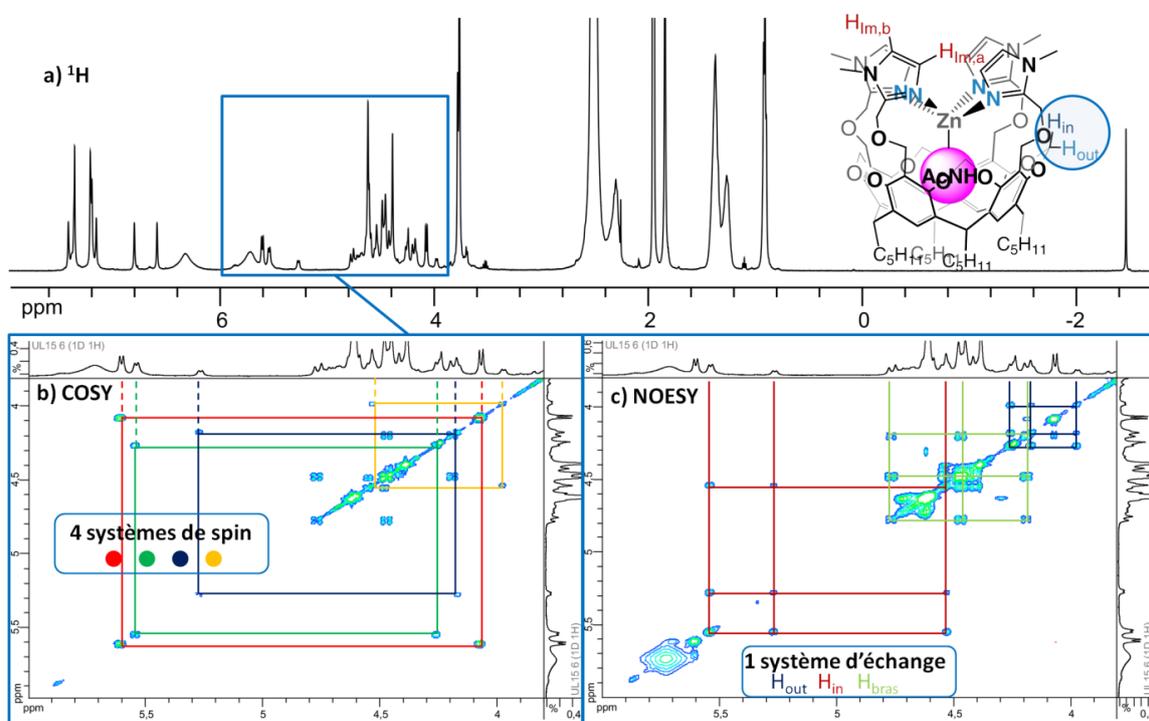


Figure 43 : Etude à basse température de Rim₄Zn (4 mM) en présence de 3,3 équivalents d'acétamide. Extrait de RMN ^1H (3,8 à 6 ppm, CD₃CN, 265 K, 500 MHz). a) Spectre proton ; b) Carte COSY ; c) Carte NOESY.

Chaque espèce présente une symétrie différente. Pour la première, chaque proton est associé à un seul signal. Cela correspond au plus haut degré de symétrie possible, il s'agit d'un complexe C_{4v} . Pour la seconde, deux signaux d'égale intensité sont observés pour chaque proton imidazole et trois signaux sont obtenus qui montrent la présence de trois ponts méthylènes magnétiquement non-équivalents. Cette séparation des signaux est caractéristique d'une symétrie planaire (Figure 44).

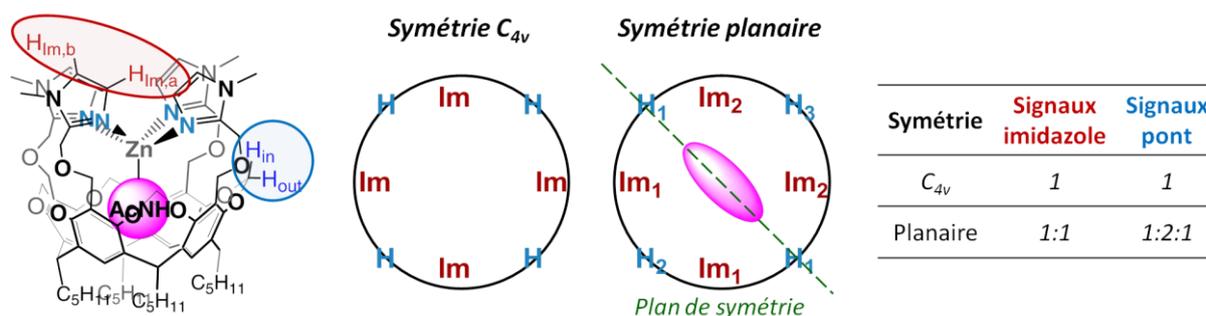


Figure 44 : Corrélation entre les multiplicités des signaux observés pour les protons $H_{Im,\alpha}$, $H_{Im,\beta}$, H_{in} et H_{out} en RMN et la symétrie du complexe associé.

Afin d'identifier ces deux espèces, de la base est ajoutée dans le milieu (Figure 41). En effet, l'addition de base doit modifier les signaux associés aux bras imidazole protonés et donc nous permettre de discriminer parmi les espèces présentes celles qui sont protonées de celles qui ne le sont pas. L'étude est menée à basse température pour pouvoir être comparée aux données précédentes (Figure 45).

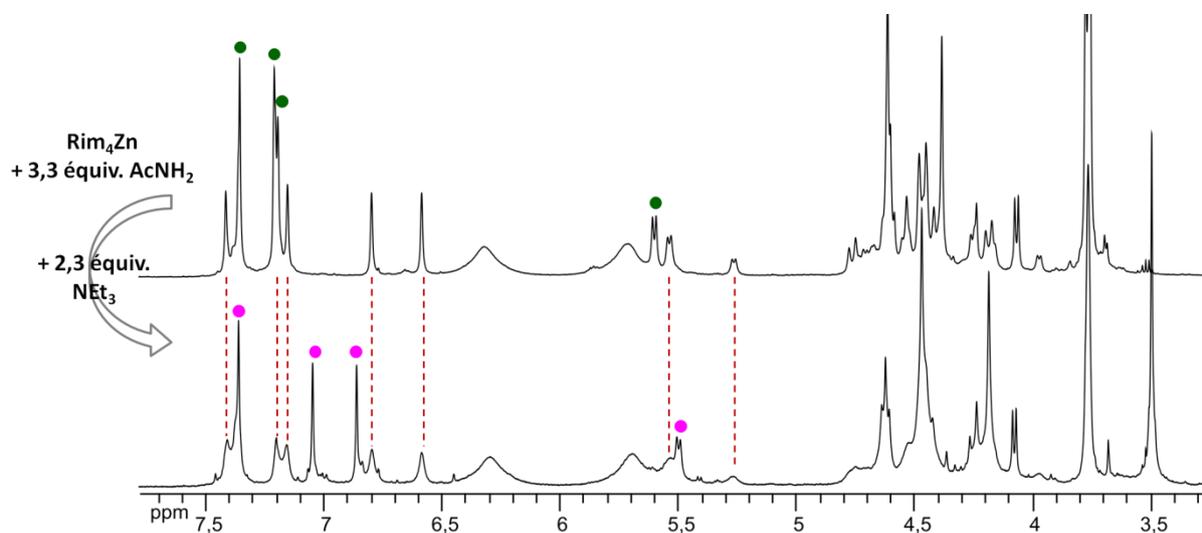


Figure 45 : Extrait des spectres RMN 1H (CD_3CN , 265 K, 500 MHz) comparés de Rim_4Zn (4 mM) avec 3,3 équivalents d'acétamide avant et après addition de 2,3 équivalents de triéthylamine. Les pointillés roses indiquent une espèce conservée. L'espèce verte disparaît au profit de la rose.

L'addition de base (2,3 équivalents de triéthylamine) n'a pas le même effet sur les deux espèces identifiées précédemment. Le complexe de symétrie planaire n'est pas modifié, les signaux sont élargis mais pas déplacés (pointillés roses sur la figure). Il ne s'agit donc pas d'une espèce protonée. La deuxième espèce cependant (en vert sur la figure), de symétrie C_{4v} , disparaît complètement à l'addition de base au profit de l'espèce indiquée en rose qui présente des signaux imidazoles plus

blindés (passage de 7,19 et 7,20 ppm à 6,86 et 7,05 ppm). Cela est caractéristique d'une déprotonation des imidazoles, l'espèce verte était donc protonée.

L'espèce indiquée en rose obtenue après déprotonation est connue : il s'agit du ligand Rim₄ non protoné (Figure 46). Il peut être obtenu quantitativement par addition de base forte (DBU), dans ce cas le signal intracavité disparaît complètement. L'espèce verte C_{4v} observée avant l'addition de base est donc une forme protonée du ligand libre Rim₄H_nⁿ⁺, les signaux associés correspondent à ceux obtenus après addition d'acide picrique sur Rim₄.¹

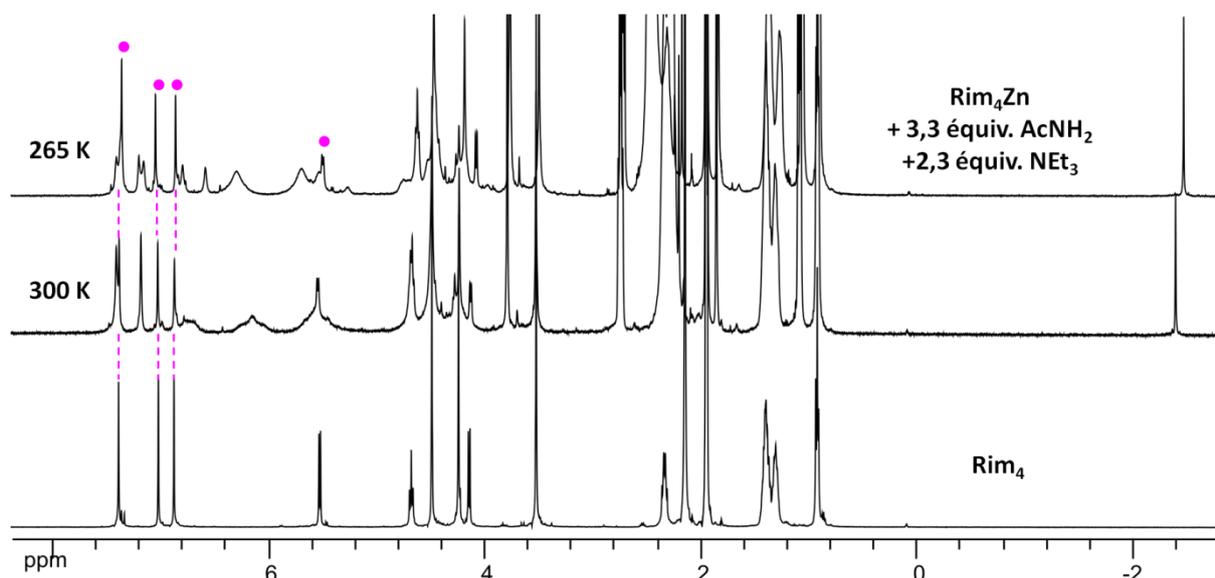


Figure 46 : Identification de la formation de ligand libre Rim₄ lors de l'addition d'acétamide à Rim₄Zn par comparaison RMN ¹H (CD₃CN, 500 MHz). De haut en bas : Rim₄Zn avec 3,3 équivalents d'acétamide et 2,3 équivalents de triéthylamine à 265 K ; idem à 300 K ; ligand Rim₄ seul (déprotoné) à 300 K.

La seconde espèce observée avec une symétrie planaire à basse température n'est pas affectée par l'addition de base et contient une molécule d'acétamide (déprotonée) à l'intérieur de la cavité (signal à -2,40 ppm). Il s'agit donc probablement du complexe [Rim₄Zn(AcNH)]⁺. La symétrie planaire observée peut être expliquée par une rotation lente de l'invité intracavité (en particulier à 265 K).

Ces résultats permettent de proposer que la formation du complexe acétamide passe par sa déprotonation intramoléculaire par le bras imidazole hémilabile puis le proton est transféré sur un complexe libre Rim₄Zn ; ce processus est répété ce qui amène à la décoordination du zinc(II) pour finalement former d'une part la complexe [Rim₄Zn(AcNH)]⁺ et d'autre part du ligand partiellement protoné, comme cela est représenté sur la Figure 47. L'intégration relative de la quantité de ligand et de complexe acétamido obtenue montre que le ligand est dans un état dicationique dans les conditions d'étude. Cette hypothèse explique que l'intégration du pic à haut champ ne correspond pas à une complexation quantitative de l'acétamide mais à la présence de plusieurs espèces dont une seule comporte de l'acétamide intracavité.

Le rôle de l'eau apparaît crucial dans le mécanisme de formation du complexe [Rim₄Zn(AcNH)]⁺. Afin de mieux le comprendre, des ajouts d'eau progressifs à Rim₄Zn (2 mM) en présence d'un excès (20 équivalents) d'acétamide sont effectués (Figure 48). Le suivi des résonances associées à chaque

espèce en fonction de la quantité d'eau présente révèle deux comportements différents. Les signaux attribués aux imidazoles ($H_{Im,\alpha}$ et $H_{Im,\beta}$) et au proton aromatique ($H_{Ar,down}$) du ligand libre Rim_4 sont indiqués en vert sur la figure. Il apparaît que le pic associé à $H_{Ar,down}$ n'est pas affecté par la quantité d'eau. En revanche, les deux signaux imidazoles sont de plus en plus blindés à mesure que la quantité d'eau augmente. Cette évolution indique la déprotonation partielle du ligand et peut être expliquée par un changement de pK_a en présence d'un cosolvant.

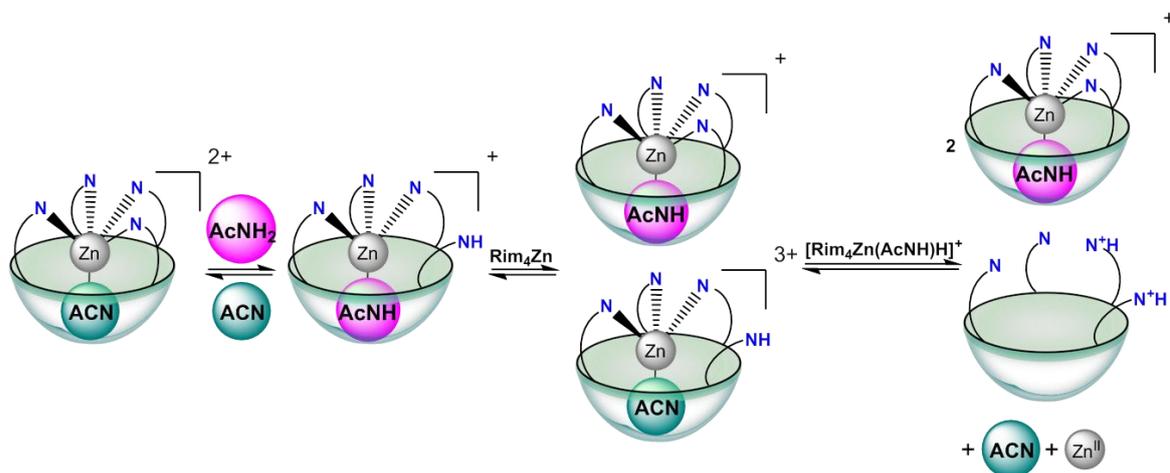


Figure 47 : Proposition pour le mécanisme d'inclusion de l'acétamide par Rim_4Zn .

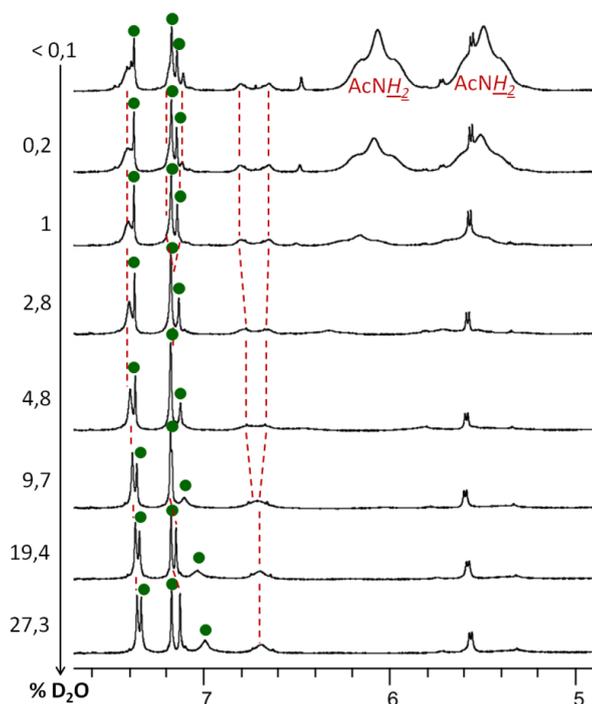


Figure 48 : Ajout progressif d'eau (D_2O) à une solution de Rim_4Zn (2 mM) et $AcNH_2$ (20 équivalents) dans CD_3CN . Extrait de RMN 1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz). L'évolution des signaux des deux espèces identifiées précédemment est marquée par des points verts et des pointillés rouges.

L'évolution des signaux associés au complexe planaire $[Rim_4Zn(AcNH)]^+$ est différente. En effet dans ce cas les résonances observées ne se déplacent que peu ou pas du tout. Cependant lorsque la

quantité d'eau augmente les signaux se rapprochent deux à deux jusqu'à coalescer puis s'affinent (ce phénomène est matérialisé par des pointillés rouges sur la Figure 48). L'eau permet donc d'accélérer un changement de conformation du complexe $[\text{Rim}_4\text{Zn}(\text{AcNH})]^+$ au point que les signaux RMN associés montrent une symétrie C_{4v} et non plus planaire. Afin de mieux caractériser ce phénomène, une variation de température est réalisée sur un échantillon contenant Rim_4Zn (2 mM), 1,3 équivalents d'acétamide et 5% de D_2O (Figure 49).

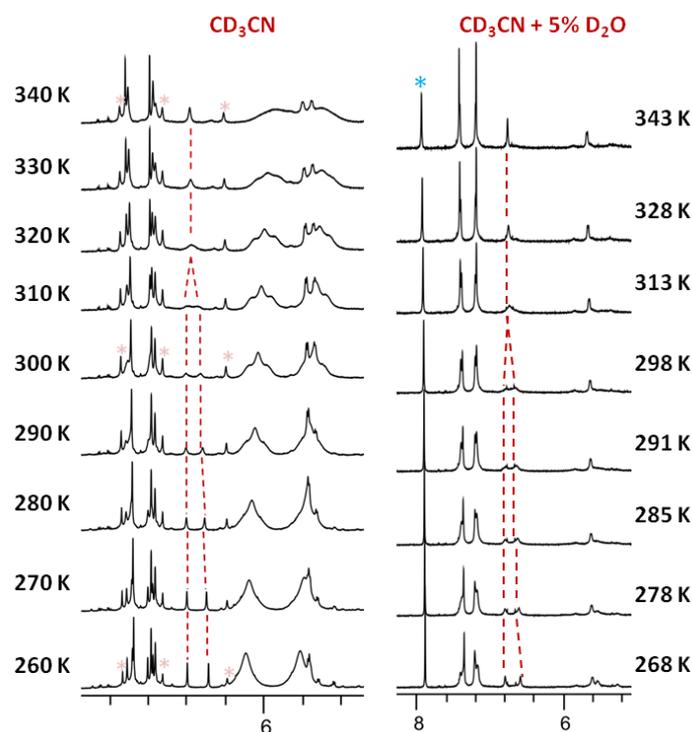


Figure 49 : Etude par variation de température suivie par RMN ^1H (500 MHz). A gauche, Rim_4Zn (2 mM) avec 9,6 equiv. AcNH_2 dans CD_3CN . A droite, Rim_4Zn (2 mM) avec 1,3 equiv. AcNH_2 dans CD_3CN et 5% D_2O . (Les étoiles roses à gauche indiquent la présence d'une impureté à hauteur de 5% ; l'étoile bleue à droite indique un signal de DMF présent en tant que référence d'intégration).

La comparaison entre le comportement du complexe $[\text{Rim}_4\text{Zn}(\text{AcNH})]^+$ en fonction de la température en présence ou non de 5% D_2O montre une fois encore que l'eau accélère la dynamique d'échange entre les différents signaux dédoublés caractéristiques d'une symétrie planaire. En effet sans ajout d'eau la température de coalescence pour les signaux à 6,6 et 6,8 ppm est autour de 320 K. En présence de 5% D_2O elle devient plus proche de 313 K.

L'explication avancée à ce phénomène est que la présence d'eau favorise la décooordination d'un bras imidazole au profit d'une molécule de solvant en position *exo*. La coordination-décooordination de cette molécule d'eau est rapide et permet de faciliter la rotation de l'acétamide inclus (Figure 50). Le mécanisme proposé est que la molécule d'eau en position *exo* peut aider le passage d'un mode de coordination bidente à une coordination monodente de l'acétamide par transfert de proton. L'échange entre les différentes conformations devient alors plus rapide que l'échelle de temps RMN et une symétrie C_{4v} est observée. Un mécanisme d'échange possible est proposé sur la Figure 50.

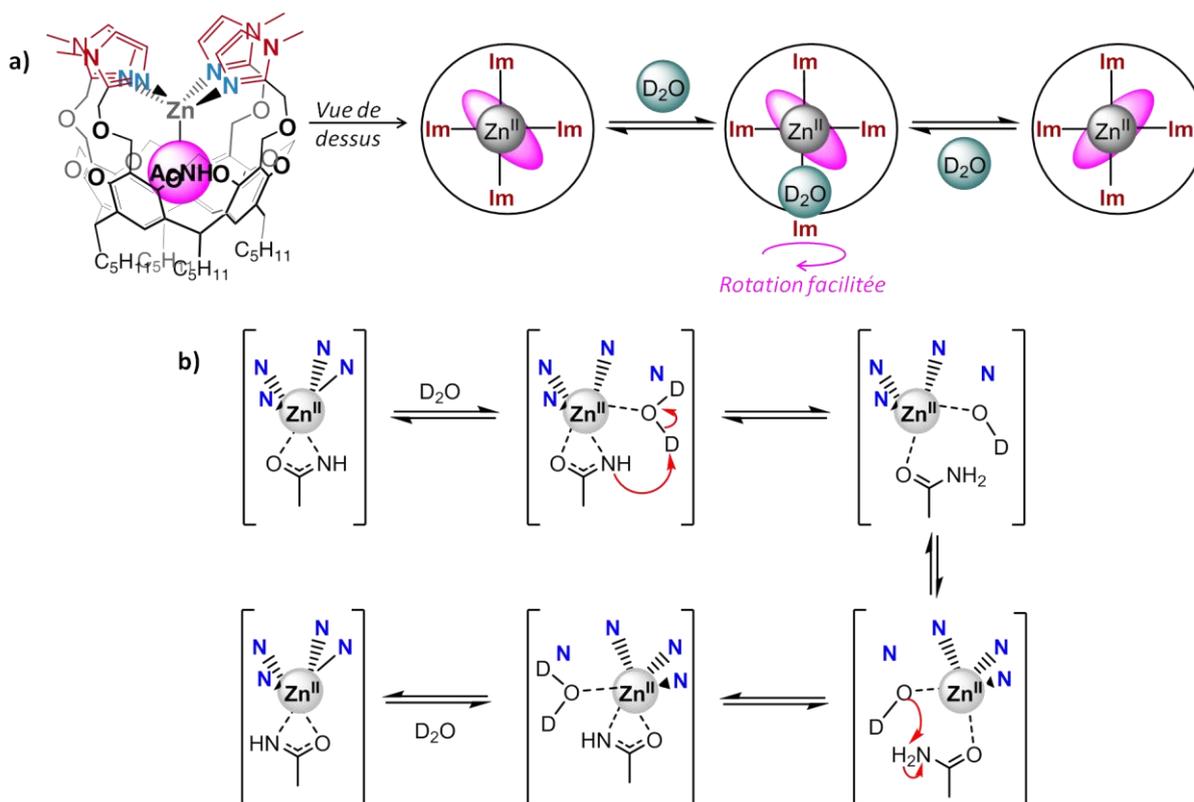


Figure 50 : En présence d'eau, la coordination d'une molécule de solvant en position exo permet d'accélérer la rotation de l'invité et de retrouver une signature C_{4v} . a) Vue schématique du dessus ; b) Proposition de mécanisme.

Plusieurs tentatives pour obtenir le complexe $[\text{Rim}_4\text{Zn}(\text{AcNH})]^+$ sans ligand libre ont été réalisées. Cependant même lorsque de la base est ajoutée simultanément à l'acétamide il y a décooordination partielle et le complexe acétamido pur n'a pas pu être isolé. Selon les conditions utilisées, les proportions de ligand libre par rapport au complexe acétamido obtenues varient ainsi que le degré de protonation du ligand mais au moins 30% de ligand Rim_4 est systématiquement observé.

Le complexe Rim_4Zn est donc un système versatile capable de complexer des invités protiques tels que l'acétate ou l'acétamide grâce à la présence d'un bras hémilabile qui joue le rôle de base intramoléculaire. Quelle est l'influence de ce bras sur la réactivité du système ?

III. Réactivité comparée

1. Hydratation de l'acétonitrile

Le complexe Rim_4Zn comporte deux sites de coordination accessibles en *cis* l'un par rapport à l'autre et un bras hémilabile basique, qui le rend meilleur candidat à la catalyse que le système parent Rim_3Zn . Il a ainsi été montré dans des travaux précédents que Rim_4Zn peut réagir catalytiquement avec l'acétonitrile pour former de l'acétamide quand Rim_3Zn reste inactif dans les mêmes conditions.¹ Cette réactivité est d'un intérêt double : d'une part la différence observée entre Rim_3 et Rim_4 montre l'importance du quatrième bras et d'autre part l'hydratation des nitriles en amides est une réaction délicate : beaucoup de catalyseurs amènent à la formation de l'acide carboxylique correspondant.

La synthèse d'amides est industriellement obtenue soit à partir de nitriles dans des conditions dures acides, soit à partir de dérivés carbonylés et amines. Cette dernière méthode entraîne une perte d'atomes conséquente, la catalyse à partir de nitriles a donc été particulièrement développée ces dernières années. Nous nous intéressons ici aux systèmes homogènes, même si de nombreux exemples de catalyse hétérogène ont été reportés.^{12,13}

Pour contrevenir au problème de la dureté des conditions nécessaires à l'hydratation, les industries utilisent des nitriles hydratases provenant de bactéries. Ces métalloenzymes comportent en leur site actif un ion Fe^{III} ou un Co^{III} présentant un environnement très particulier : trois résidus cystéine (dont deux modifiés), deux amides déprotonées provenant de la chaîne peptidique et une molécule d'eau. Le mécanisme est encore discuté, deux hypothèses ont été formulées quant au nucléophile qui pourrait être l'une des cystéines ou une molécule d'eau.^{14,15} Peu de modèles de ces enzymes ont été reportés, et ils sont principalement basés sur des complexes de cobalt(III). Cependant étant donné le peu de labilité de ce métal il est rare que la réactivité soit catalytique et les TOF et TON associés sont peu élevés.^{16,17} Les catalyseurs homogènes font donc en général appel à d'autres métaux, le plus souvent des métaux lourds tels que le ruthénium ou le platine.¹⁶ Le catalyseur le plus efficace connu à ce jour, avec un TOF trois ordres de grandeur au-dessus des autres systèmes, est un complexe de ruthénium étudié par Oshiki et al. en 2005 (Figure 51).¹⁸ Une étude mécanistique révèle que la partie azotée des ligands phosphine-pyridine utilisés est labile. L'hypothèse avancée pour expliquer l'efficacité de ce catalyseur est que la pyridine permet d'activer une molécule d'eau nucléophile. Cet effet vient s'ajouter à l'activation du nitrile par coordination avec le métal et permet d'obtenir un TOF de 20900 h^{-1} (quand les catalyseurs homogènes usuels sont plus proches de 20 h^{-1}). Son activité vis-à-vis de nitriles aliphatiques tels que l'acétonitrile n'a cependant pas été reportée.

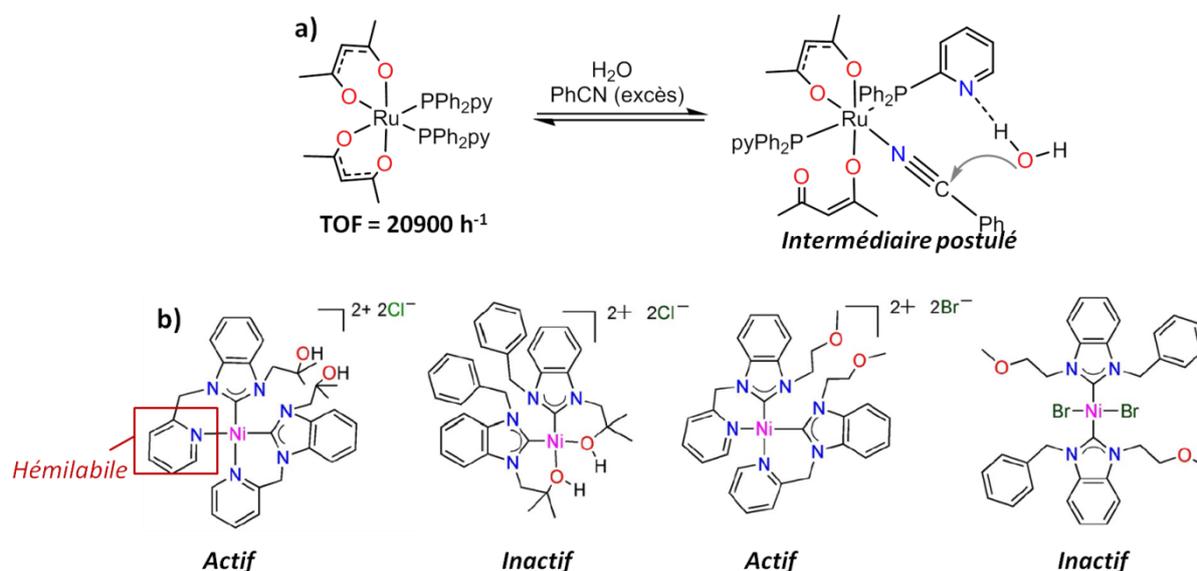


Figure 51 : a) Meilleur catalyseur pour l'hydratation du benzonitrile reporté à ce jour ; son efficacité est attribuée à la présence d'un ligand basique labile.¹⁸ b) Etude comparative des capacités hydrolytiques de plusieurs complexes de nickel(II) envers le benzonitrile ; l'activité est liée à la présence d'un fragment pyridyle hémilabile.¹⁹

Des catalyseurs efficaces moins polluants, comportant des métaux de la première période sont recherchés et ils sont rares dans la littérature. Le cas d'un complexe de nickel(II) reporté récemment est particulièrement intéressant (Figure 51).¹⁹ Il s'agit en effet d'un catalyseur bifonctionnel. Une étude comparative entre plusieurs complexes de nickel(II) montre que l'activité est maximale lorsque le cation métallique est associé à un ligand présentant une fonction pyridine basique. Cela est attribué à l'hémilabilité de ce fragment, qui a été mise en évidence à haute température par une étude en pH, qui permet d'activer la molécule d'eau qui joue le rôle de nucléophile. Une hydratation catalytique de nitriles, préférentiellement électrodéficients, est observée. Le catalyseur est cependant moins efficace sur des nitriles aliphatiques tels que le butyronitrile (l'acétonitrile en particulier n'est pas mentionné).

De manière générale, les études d'hydratation de nitriles sont peu axées sur des molécules aliphatiques car elles sont moins réactives. De plus, mis à part le complexe de ruthénium présenté ci-dessus les catalyseurs restent d'une efficacité modérée. Les deux exemples mentionnés ici montrent que la présence d'une fonction basique hémilabile est un facteur clé pour ce type de réactivité, ce qui se vérifie avec nos systèmes.

L'hydratation de l'acétonitrile par Rim_4Zn est lente à température ambiante, il faut plusieurs jours pour former un équivalent d'acétamide. Elle est donc étudiée à 70 °C. Le solvant utilisé est un mélange acétonitrile/eau (dans les limites de solubilité du complexe) avec 5 à 35% d'eau. Un suivi est effectué par RMN (en présence de 20% CD_3CN), dans un premier temps par intégration du pic d'acétamide qui grandit intracavité (à -2,40 ppm) puis par intégration des protons NH_2 de l'acétamide formé (entre 5 et 7 ppm, selon la quantité d'eau en présence). Cela permet de mettre en évidence une cinétique en deux phases. La première phase est rapide (20 min) et indépendante de la quantité d'eau ; une expérience avec D_2O montre qu'il n'y a également pas d'effet isotopique sensible sur cette phase. Après ces 20 minutes, un équivalent d'acétamide est formé. La réaction passe ensuite dans une seconde phase plus lente où l'acétamide est formé linéairement en fonction du temps et d'autant plus vite que le pourcentage d'eau est élevé (Figure 52a). Cette cinétique à deux temps est attribuée au fait que lorsqu'un équivalent d'acétamide est formé, il occupe la cavité et doit en sortir avant que le cycle ne puisse recommencer, ce qui, étant donné l'affinité du complexe pour l'acétamidure, devient cinétiquement déterminant.

Cette hypothèse est confirmée par le fait que les courbes obtenues par intégration des signaux peuvent être modélisées à l'aide d'une équation connue pour la cinétique dans le cas d'enzymes inhibées par le produit :²⁰

$$[\text{AcNH}_2](t) = v_2 t - \frac{(v_2 - v_1)(1 - e^{-kt})}{k}$$

Cette équation a pour paramètres : v_1 la vitesse de réaction caractéristique de la première phase (en mol/min), k la constante de vitesse associée (en min^{-1}), et v_2 la vitesse de réaction caractéristique de la deuxième phase (en mol/min). Les vitesses obtenues avec différents pourcentages d'eau sont rassemblées dans le tableau de la Figure 52c. Il apparaît que la première phase, où le premier équivalent est formé, n'est pas affectée par la quantité d'eau présente et est cent fois plus rapide que la seconde. Lors de la deuxième phase, la vitesse de réaction est

proportionnelle au pourcentage d'eau, avec un maximum mesuré à 35% d'eau de $(11 \pm 2) \mu\text{M}/\text{min}$ (correspondant à un TOF de $0,22 \text{ h}^{-1}$).

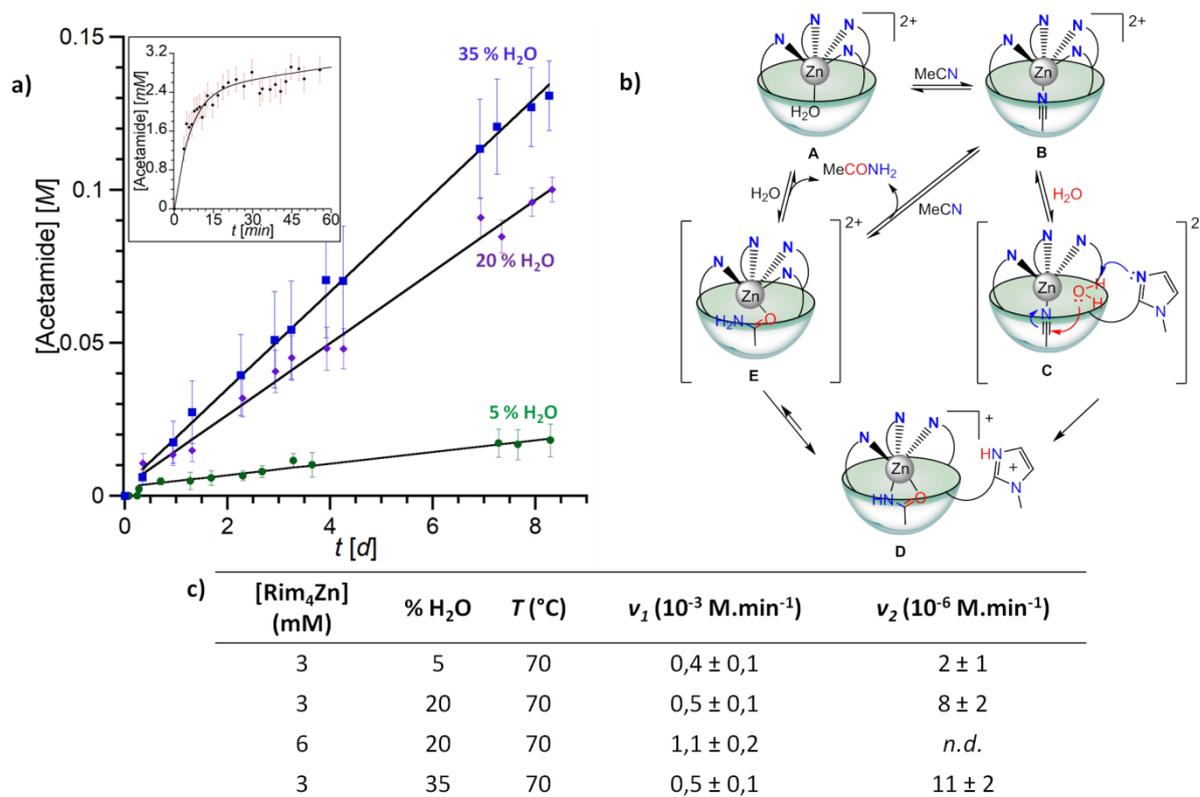


Figure 52 : a) Suivi par RMN ¹H (300 K, 500 MHz) de la formation d'acétamide. [Rim₄Zn] = 3 mM, solvant CD₃CN/CH₃CN 1:4 avec différents pourcentages d'eau. Insert : suivi initial avec 20% d'eau ; b) Mécanisme proposé pour l'hydratation de l'acétamide catalysée par Rim₄Zn ; c) Vitesses de réaction obtenues avec différents pourcentages d'eau pour chaque phase par modélisation.

A partir de ces résultats, un mécanisme est proposé pour l'hydratation (Figure 52b). Dans les conditions d'étude, le complexe aqua A ($[\text{Rim}_4\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$) prédomine initialement. La première étape est alors un échange eau-acétonitrile pour former B. Ce complexe peut ensuite coordiner une molécule d'eau en *exo* pour former C. Le bras hémilabile est nécessaire à la réaction, ce qui se manifeste au passage de l'espèce C à D où l'imidazole libre joue le rôle de catalyseur basique général pour faciliter l'attaque nucléophile de l'eau sur l'acétonitrile. Le complexe acétamide D est obtenu et observé par RMN. Une prototropie permet ensuite de former E à partir duquel A ou B peuvent être régénérés directement selon la quantité d'eau utilisée.

2. Réaction avec l'acétaldéhyde

La section précédente illustre la capacité de Rim₄Zn à activer des molécules par effet conjugué du métal et de la cavité ainsi que la différence essentielle que représente le quatrième bras imidazole par rapport à Rim₃Zn. L'analyse est étendue dans la suite à un second substrat : l'acétaldéhyde (AcH). Cet invité est à la fois stériquement adapté à la cavité, coordinant par sa fonction carbonyle et réactif grâce à ses propriétés réductrices et électrophiles.

C'est également une molécule très présente biologiquement puisqu'elle intervient notamment en tant qu'intermédiaire toxique dans le cycle de décomposition de l'alcool dans l'organisme. L'acétaldéhyde est également un substrat pour quelques enzymes à zinc (II). Deux exemples peuvent être cités : l'anhydrase carbonique, qui peut l'hydrater, ou les aldéhyde dismutases, qui forment à partir de deux molécules d'AcH de l'éthanol et de l'acide acétique.

Observations

L'addition d'acétaldéhyde suivie d'une base (triéthylamine) sur Rim₃Zn ou Rim₄Zn mène à des résultats très différents. Avec Rim₃Zn, l'ajout de 20 équivalents d'acétaldéhyde fait apparaître deux pics à haut champ (donc deux nouvelles espèces, à -2,29 et -2,35 ppm) de petite taille, peu significatives. L'une (à -2,35 ppm) correspond au complexe acétato [Rim₃Zn(OAc)]⁺, dont les signaux sont aussi reconnaissables dans la région aromatique, et l'autre est inconnue. Il est supposé que cette seconde espèce correspond à une faible coordination de l'acétaldéhyde. Une base (triéthylamine, 1 équivalent) est ensuite ajoutée. Les espèces présentes disparaissent pour former quantitativement le complexe acétato [Rim₃Zn(OAc)]⁺ (Figure 53). Il y a donc eu une oxydation stœchiométrique de l'acétaldéhyde en acétate.

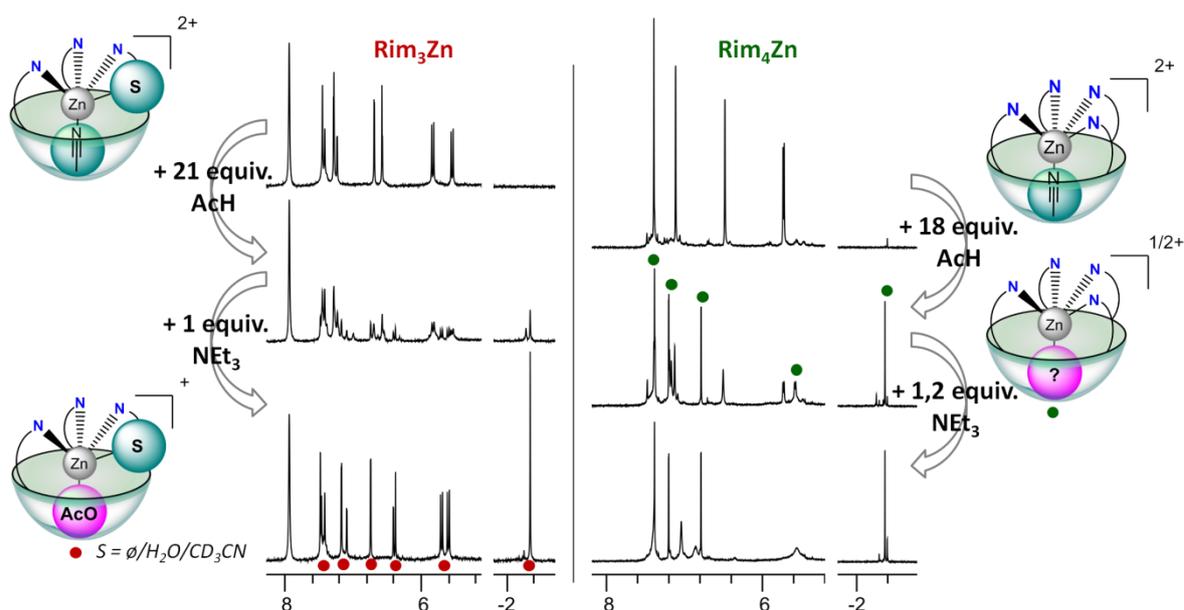


Figure 53 : Addition d'acétaldéhyde (AcH) puis de triéthylamine sur les complexes. A gauche : [Rim₃Zn] = 3,4 mM, 4 equiv. DMF (référence intégrations), RMN ¹H (CD₃CN, 300 K, 250 MHz) ; à droite : [Rim₄Zn] = 5 mM, RMN ¹H (CD₃CN, 300 K, 500 MHz).

L'addition de AcH (18 équivalents) sur Rim₄Zn génère un nouveau complexe (sans ajout de base). La signature de ce complexe ressemble à celle d'une des espèces obtenues après addition d'acide acétique avec un pic intracavité à -2,37 ppm et trois signaux aromatiques (à 6,79, 7,21 et 7,38 ppm). Cependant lorsque de la base (triéthylamine, 1,2 équivalents) est ajoutée cette signature ne change pas. Si cela avait été [Rim₄Zn(OAc)H]²⁺, sa transformation en [Rim₄Zn(OAc)]⁺ aurait été observée. Il s'agit donc d'une espèce différente issue de l'interaction entre acétaldéhyde et Rim₄Zn. Il n'y a dans ce cas pas formation d'acétate, encore une fois la présence du quatrième bras hémilabile modifie complètement les propriétés du complexe.

Un blanc effectué avec $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$ (4 mM) en présence de AcH (40 mM) et de triéthylamine (3 mM) dans l'acétonitrile deutéré montre qu'il n'y a pas formation d'acétate même après 48h dans ce cas et que l'oxydation est donc spécifique au système Rim_3Zn . De plus, l'expérience avec Rim_4Zn , effectuée dans les mêmes conditions que celle avec Rim_3Zn à partir d'acétaldéhyde distillé, montre que l'acétate observé a été bien formé et non pas ajouté en même temps que AcH sous forme d'acide acétique. En effet, comme cela a été mentionné en première partie, lorsque de l'acide acétique est ajouté Rim_4Zn il y a formation de deux signaux intracavité qui se muent en un seul en présence de base : le complexe acétate. Or ici le complexe $[\text{Rim}_4\text{Zn}(\text{OAc})]^+$ n'est pas obtenu, il n'y avait donc pas d'acide acétique dans l'acétaldéhyde ajouté. Afin de mieux comprendre la différence observée entre les deux systèmes, chacun va être étudié plus en détail en commençant par Rim_4Zn .

Réaction avec Rim_4Zn

Les résultats préliminaires présentés ci-dessus avec Rim_4Zn posent deux questions : i) quelle est l'espèce formée à l'addition de AcH ? et ii) quelle est la vitesse de la réaction ? Y a-t-il oxydation au bout d'un temps plus long ? Pour plus de clarté, l'espèce obtenue majoritairement à l'addition d'acétaldéhyde à Rim_4Zn sera notée dans la suite $\text{Rim}_4\text{Zn-AcH}$.

La réponse à la deuxième question est apportée par un suivi RMN de l'évolution sur plusieurs jours du système. Rim_4Zn est mis en présence d'un excès (58 equiv.) d'acétaldéhyde dans de l'acétonitrile deutéré. Immédiatement, l'espèce $\text{Rim}_4\text{Zn-AcH}$ est visible intracavité à -2,37 ppm. Il y a également deux autres signaux moins intenses à haut champ. L'un, à -2,40 ppm correspond à la présence d'environ 5% de complexe acétamido (qui n'intervient pas ici et était présent dans le complexe de départ) et l'autre, à -2,26 ppm, correspond à de l'acide acétique inclus qui provient de l'acétaldéhyde ajouté. En effet bien que distillé AcH tend à s'oxyder à l'air et peut contenir des traces d'AcOH. L'intégration des signaux correspondant à $\text{Rim}_4\text{Zn-AcH}$ et à $[\text{Rim}_4\text{Zn}(\text{AcO})\text{H}]^+$ permet de suivre la formation des deux complexes (Figure 54).

Deux phénomènes apparaissent, chacun associé à une échelle de temps. Dans les premières minutes suivant l'ajout et jusqu'à 1 h après environ le pic à -2,37 ppm grandit, ce qui révèle la formation lente de l'espèce $\text{Rim}_4\text{Zn-AcH}$. Sur ce temps court, la quantité de complexe acétate ne varie pas. Cependant sur une échelle de plusieurs jours on observe l'augmentation progressive de la quantité d'acide acétique inclus. Ce phénomène est suffisamment lent pour être attribué à une oxydation naturelle à l'air de l'excès de AcH présent plutôt qu'à une réaction favorisée par Rim_4Zn . Le complexe acétate est clairement identifié après une semaine par addition de 0,6 équivalents de triéthylamine. Deux espèces sont alors clairement visibles : d'une part $[\text{Rim}_4\text{Zn}(\text{OAc})]^+$ et de l'autre l'espèce $\text{Rim}_4\text{Zn-AcH}$, issue de l'interaction entre Rim_4Zn et AcH.

Le complexe Rim_4Zn ne semble donc pas capable d'oxyder AcH en acétate. La lenteur de la formation de l'espèce $\text{Rim}_4\text{Zn-AcH}$ suggère cependant que l'acétaldéhyde n'est pas coordonné en tant que tel et qu'il réagit au contact du complexe. Afin de mieux caractériser l'espèce formée, elle est isolée par précipitation. Pour cela un excès (60 équivalents) d'acétaldéhyde est ajouté à une solution concentrée (20 mM environ) de Rim_4Zn . L'addition de diéthyler fait précipiter une poudre blanche qui est recueillie par centrifugation. L'espèce obtenue est caractérisée par RMN et IR (Figure 55). Une caractérisation par spectrométrie de masse a également été tentée mais les conditions utilisées ont

mené à la décooordination du complexe et à l'observation du ligand Rim₄ libre. Le spectre RMN confirme que l'espèce isolée est le complexe que l'on cherche à identifier. Le spectre de l'espèce isolée, plus concentré, révèle en outre la présence d'un singulet large à 11,6 ppm caractéristique d'un proton labile. En spectroscopie infrarouge deux différences sont visibles par rapport au complexe initial [Rim₄Zn(CD₃CN)]²⁺. La bande à 623 cm⁻¹, qui correspond aux contreions perchlorate, est deux fois moins intense pour la nouvelle espèce. Le complexe formé est donc monocationique. De plus, une bande apparaît à 1570 cm⁻¹, caractéristique de l'inclusion d'un invité coordonné au zinc(II). Cette bande ne correspond pas à de l'acétaldéhyde coordonné (attendu au-dessus de 1600 cm⁻¹).²¹ Elle pourrait correspondre à de l'acétate coordonné de manière unidente au zinc(II)^{22,23} mais l'addition de base a montré par RMN qu'il ne s'agit pas du complexe acétato (Figure 54). Il peut s'agir de AcH coordonné sous forme d'acétal, cependant le manque de références infrarouge sur ce type de vibration ne permet pas de conclure.

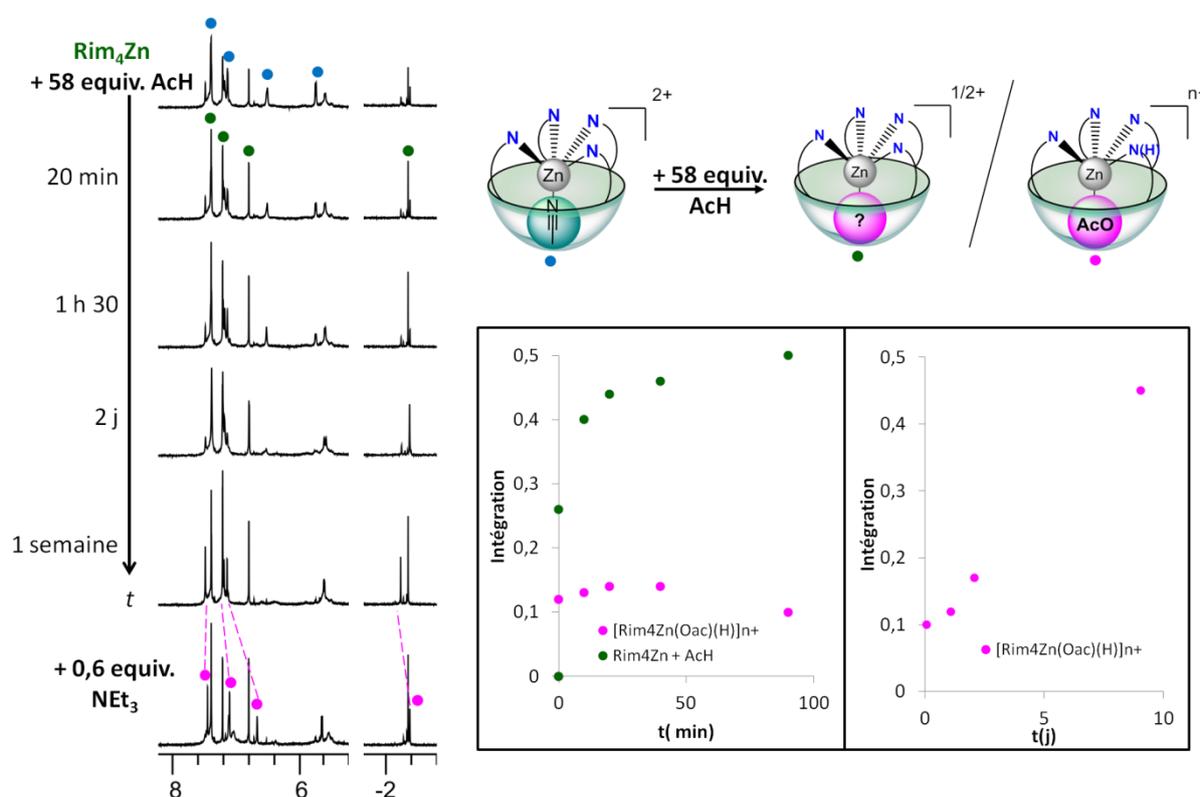


Figure 54 : Rim₄Zn (4 mM) avec 58 équivalents d'acétaldéhyde, suivi temporel par RMN ¹H (CD₃CN, 300 K, 250 et 500 MHz). Gauche : extrait des spectres RMN, avec addition finale de 0,6 équivalents de triéthylamine. Droite : courbes obtenues par intégration des signaux intracavité des deux espèces formées.

Par analogie avec la réactivité observée entre Rim₄Zn et le solvant acétonitrile l'hypothèse est faite que l'espèce formée après ajout d'acétaldéhyde est un complexe [Rim₄Zn(AcH.OH)]⁺ dont l'invité est l'acétaldéhyde hydraté (*i.e.* l'acétal dérivé sous forme monoanionique). En effet, le temps nécessaire à la formation du complexe suggère qu'une réaction chimique a lieu. De plus AcH est un aldéhyde naturellement en équilibre avec sa forme hydratée, bien que cette dernière soit minoritaire dans l'acétonitrile. Rim₄Zn a le potentiel de favoriser l'hydratation de l'acétaldéhyde en acétal ainsi que la déprotonation de l'acétal formé grâce à son bras hémilabile pour former un complexe stable.

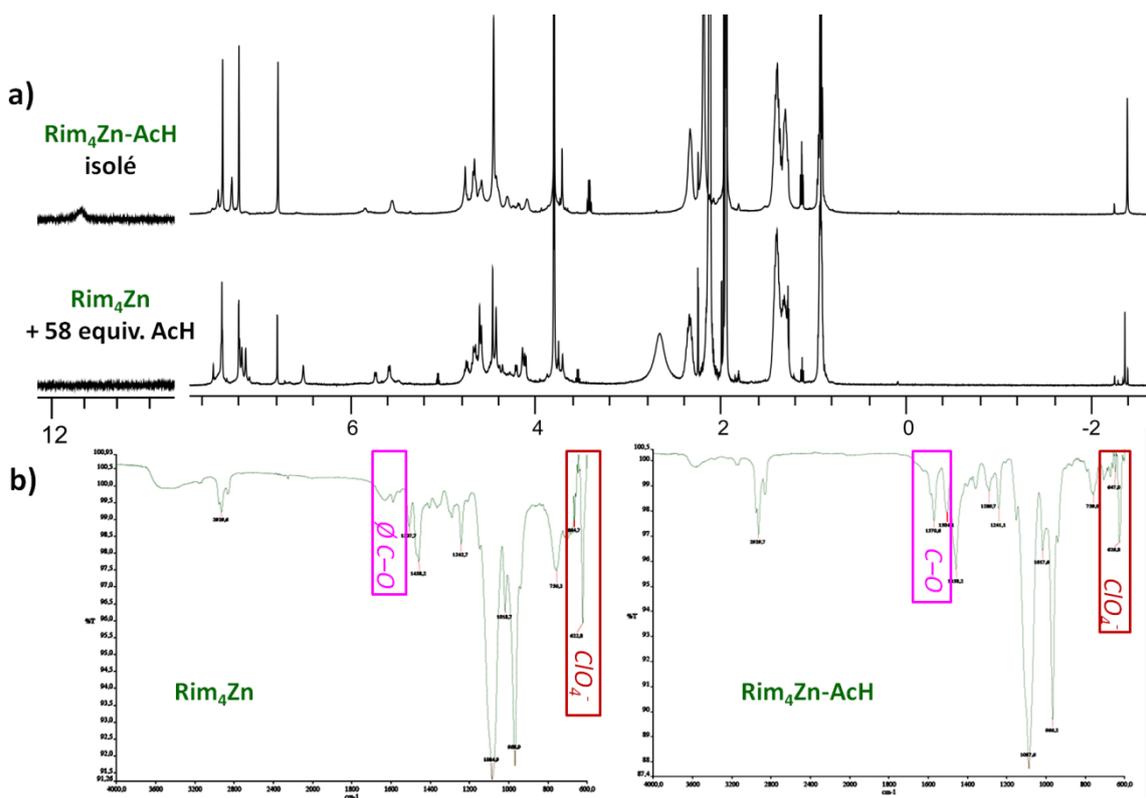


Figure 55 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz) et IR de l'espèce ($\text{Rim}_4\text{Zn-AcH}$) obtenue par précipitation (Et_2O) à partir de Rim_4Zn avec 60 equiv. AcH. a) Spectre RMN comparé à Rim_4Zn (4 mM) + 58 equiv. AcH dans CD_3CN (partie gauche zoom x5) ; b) Spectre IR comparé à $[\text{Rim}_4\text{Zn}(\text{CD}_3\text{CN})]^{2+}$.

Cette hypothèse est cohérente avec les observations faites à partir des signaux infrarouge de l'espèce isolée : il s'agit d'un complexe monocationique comportant un invité non-aldéhyde et non-carboxylate. L'acétal, dont la formation est peu favorable en milieu organique, est stabilisé par sa coordination à Rim_4Zn sous forme monoanionique (donc monoprotinée, le signal correspondant au proton résiduel peut correspondre à celui observé à 11,6 ppm, Figure 55). Si cette hypothèse est exacte, en forçant le départ de l'invité de la cavité par addition d'acide (jusqu'à décoordination) la réaction doit être réversible : AcH doit être régénéré. Cela est vérifié par addition d'acide trifluoroacétique (TFA) sur l'espèce $\text{Rim}_4\text{Zn-AcH}$ précédemment isolée (Figure 56). L'excès d'acide protone le ligand et provoque la libération du cation métallique et de l'invité en solution. Cela s'accompagne de l'émergence de deux signaux en RMN, à 2,09 et 8,04 ppm, qui correspondent à l'acétaldéhyde libre. Ces signaux sont peu intenses car AcH est très volatil et s'est en partie évaporé avant l'acquisition du spectre.

Le passage de AcH libre à l'acétal coordonné nécessite la réaction avec une molécule d'eau et le départ d'un proton. Ce proton peut être géré par le quatrième bras imidazole de Rim_4Zn comme cela a été vu avec d'autres invités tels que l'acétamide ou l'acide acétique mais plus difficilement par Rim_3Zn ce qui explique la différence de comportement entre les deux systèmes envers AcH. Cependant les signaux attribués au complexe $[\text{Rim}_4\text{Zn}(\text{AcH.OH})]^+$ en RMN ne sont pas affectés par l'addition de triéthylamine (cf Figure 54). Le bras hémilabile permet donc d'assister la déprotonation mais est lui-même déprotoné dans l'espèce formée. Le proton capté est alors transmis soit à l'eau

présente dans le milieu (ce qui est observé *via* le déblindage du signal associé) soit au complexe $[\text{Rim}_4\text{Zn}(\text{CD}_3\text{CN})]^{2+}$ toujours présent.

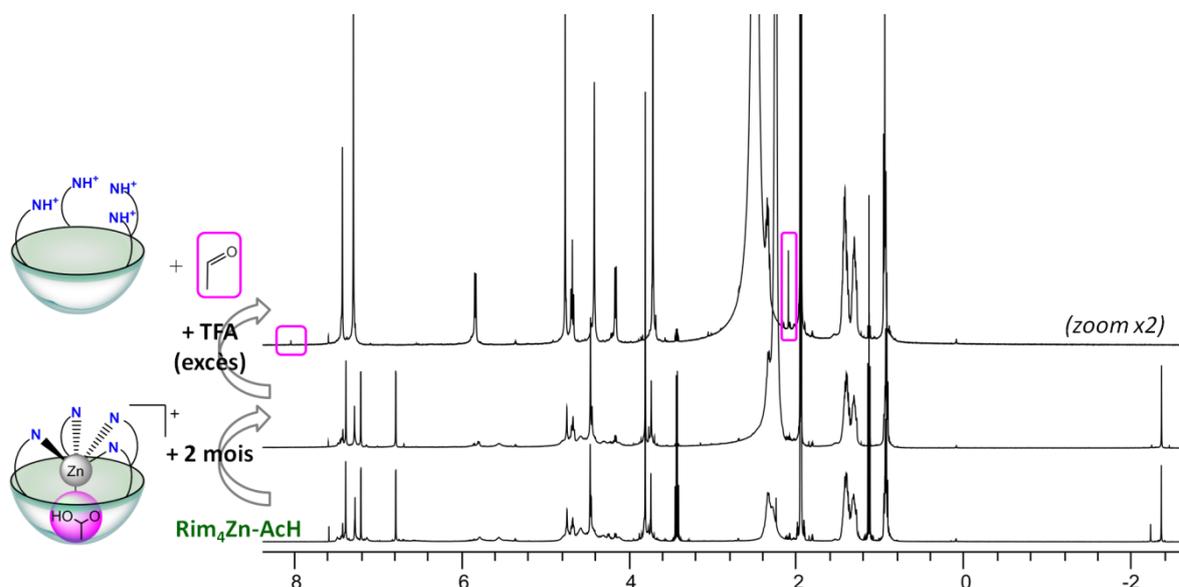


Figure 56 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz) de l'espèce ($\text{Rim}_4\text{Zn-AcH}$) isolée par précipitation à partir de Rim_4Zn avec 60 equiv. AcH. De bas en haut : i) juste après précipitation ; ii) après 2 mois dans CD_3CN ; iii) après addition d'un excès d'acide trifluoroacétique (TFA)(ce spectre est magnifié d'un facteur 2).

Un dernier argument contre la formation du complexe acétal est le fait que le signal blindé observé en RMN du méthyle inclus est un singulet quand un doublet est attendu par couplage avec le proton restant en alpha. Cela est dû aux conditions particulières de relaxation à l'intérieur de la cavité. En effet, les protons des invités inclus sont isolés du milieu environnant et par conséquent relaxent plus lentement. Les couplages sont alors moins bien définis voire disparaissent complètement pour donner un singulet comme c'est le cas ici.

En résumé, à l'addition d'acétaldéhyde le complexe Rim_4Zn est capable de déplacer l'équilibre d'hydratation vers l'acétal, d'une part en activant par coordination le substrat et l'eau nécessaires et de l'autre en captant l'acétal formé pour donner un complexe $[\text{Rim}_4\text{Zn}(\text{AcH.OH})]^+$ particulièrement stable (aucune altération observée sur une durée de plusieurs mois cf Figure 56). L'acétal a une affinité forte pour Rim_4Zn et n'est pas déplacé dans les conditions d'étude, ce qui fait que la réaction ne peut être catalytique contrairement à ce qui est observé avec l'acétonitrile. La stabilité du complexe formé inhibe également toute autre réactivité, comme l'oxydation qui est constatée en présence de Rim_3Zn .

Réaction avec Rim_3Zn

L'addition d'acétaldéhyde et de base sur Rim_3Zn mène à la formation quantitative du complexe $[\text{Rim}_3\text{Zn}(\text{OAc})]^+$. Il y a donc oxydation de AcH sans modification du complexe Rim_3Zn . Quel est alors l'oxydant ? Dans les conditions de l'expérience, les espèces présentes peuvent être recensées : Rim_3Zn , CD_3CN , AcH, ClO_4^- (contrion), H_2O , EtOH (1 équivalent présent dans le complexe à l'état solide), NEt_3 , O_2 , CO_2 . Dans la suite, chacune sera considérée jusqu'à identification formelle de l'oxydant.

Dioxygène - O₂

D'un point de vue thermodynamique, le dioxygène est un excellent oxydant. Cependant il existe une barrière cinétique qui empêche sa réduction et le rend relativement stable. Si le vivant a développé de nombreux systèmes à fer ou à cuivre pour contourner cette limitation, l'activation artificielle contrôlée de dioxygène reste un défi à l'heure actuelle. Une activation de dioxygène par un métal non-redox tel que du zinc(II) serait particulièrement remarquable.

L'acétonitrile utilisé pour les expériences n'étant pas dégazé, de l'oxygène y est présent sous forme dissoute. S'il est l'oxydant alors il y a formation au moins transitoirement en solution de peroxyde d'hydrogène H₂O₂. Une méthode spectrophotométrique de détection est ici appliquée pour vérifier la présence ou non de H₂O₂ lors de la formation d'acétate à partir d'acétaldéhyde.²⁴

Il s'agit d'une détection indirecte de l'eau oxygénée par réaction avec des ions iodure dans l'acétonitrile pour former du diiode. Cette espèce optiquement active est celle qui est véritablement détectée par UV/visible. Etant donné la faible solubilité du sel d'iodure utilisé (NaI) dans l'acétonitrile, une solution saturée est utilisée. Cependant la solution connaît un vieillissement rapide et un étalonnage est donc réalisé avant et après les mesures (Figure 57). Les deux étalonnages, réalisés le même jour, concordent parfaitement. La mesure est donc fiable. L'avantage de cette méthode est sa limite de détection de l'ordre du micromolaire, ce qui permet d'effectuer le suivi par prélèvement avec vérification par RMN des espèces en présence.

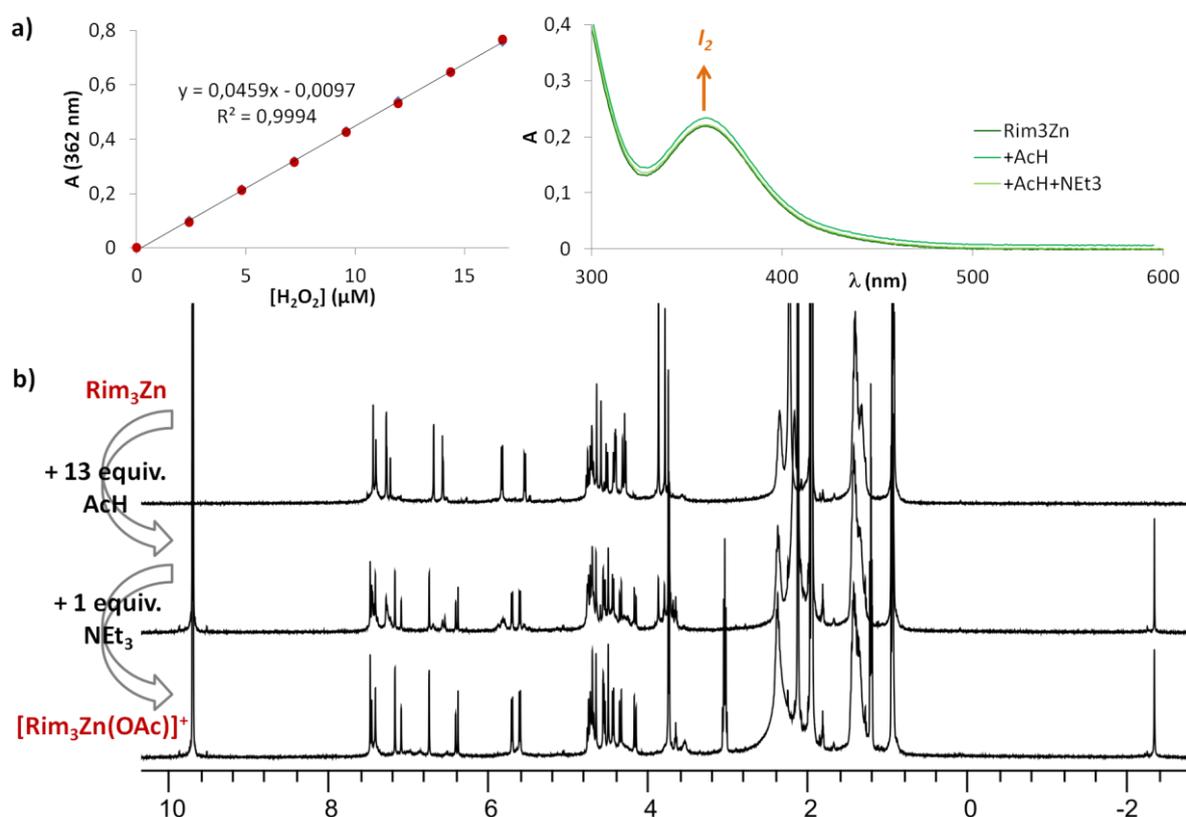


Figure 57 : Détection de la formation de H₂O₂ par dosage indirect. a) Etalonnage et spectres UV obtenus par prélèvement du tube RMN présenté en b) et dilution dans une solution saturée de NaI dans CH₃CN ; b) Suivi par RMN ¹H (CD₃CN, 300 K, 500 MHz) de la réaction. [Rim₃Zn] = 2,8 mM, addition de 13 equiv. acétaldéhyde puis de 1 equiv. NEt₃.

L'expérience est conduite en tube RMN, et après chaque addition un test de la présence de peroxyde d'hydrogène est fait. L'absorbance est suivie à 362 nm (maximum d'absorption du diode dans l'acétonitrile). Initialement, une bande d'absorption correspondant au diode est observée qui est due au vieillissement de la solution. Les spectres obtenus à partir des prélèvements de Rim_3Zn (2,8 mM) puis après addition d'acétaldéhyde et de triéthylamine sont superposables, il n'y a donc pas de formation de peroxyde d'hydrogène. Le suivi par RMN permet d'attester que pourtant la réaction a bien lieu, le complexe acétate est quantitativement obtenu en fin d'expérience.

L'absence d'eau oxygénée dans le milieu n'est cependant pas une preuve que le dioxygène n'a pas réagi. En effet, H_2O_2 est également oxydant et peut être réduit en H_2O . Plutôt que d'observer l'espèce réduite dans un second temps l'expérience est centrée sur l'oxydant. Deux manipulations sont effectuées en parallèle, l'une dans les conditions usuelles et la seconde en boîte à gants, avec des solutions dégazées et en tube de Young (Figure 58). L'addition de AcH suivi de triéthylamine à Rim_3Zn en boîte à gants conduit à la formation du complexe acétate tout comme c'est le cas pour les expériences ouvertes à l'air. Le bullage de O_2 gazeux n'amène aucune modification. Le dioxygène n'est donc pas l'oxydant recherché.

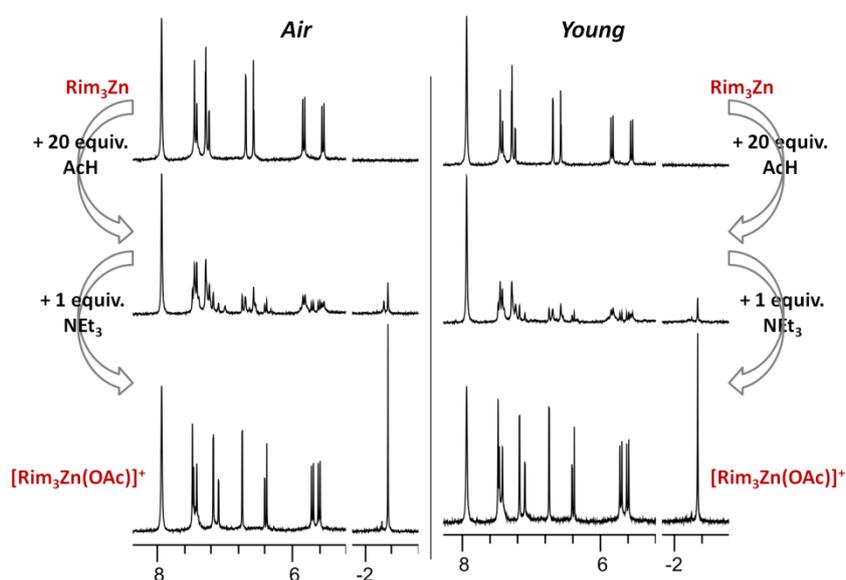


Figure 58 : Addition de AcH (20 équivalents) puis NEt_3 (1 équivalent) à Rim_3Zn (3 mM) comparée sur un tube ouvert à l'air (gauche) et un tube de Young réalisé en boîte à gants (droite). Suivi par RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 250 MHz).

Dioxyde de carbone – CO_2

Le fait que l'oxydation est aussi observée en boîte à gants permet également d'éliminer la possibilité que CO_2 soit un réactif (Figure 58). De plus, la forme réduite de CO_2 , l'acide formique (ou le formiate) est très reconnaissable en RMN. Libre, il forme un singulet à 8,02 ppm qui n'a jamais été observé en présence d'acétaldéhyde et triéthylamine ; le formiate a une affinité pour Rim_3Zn et le complexe $[\text{Rim}_3\text{Zn}(\text{HCOO})]^+$ présente un signal très caractéristique à 5,5 ppm qui n'apparaît pas dans les expériences d'oxydation. CO_2 n'est donc pas l'oxydant, de manière non surprenante.

Acétaldéhyde – AcH

L'acétaldéhyde lui-même est un bon oxydant et une réactivité de type Cannizzaro peut être envisagée : à partir de deux aldéhydes en milieu basique former le carboxylate et l'alcool correspondants. La réaction de Cannizzaro concerne cependant des aldéhydes aromatiques – sans hydrogène en alpha, ce qui n'est pas le cas de AcH.

L'acétaldéhyde présente une température d'ébullition très basse (20 °C) et est très volatil, il est difficile d'estimer la quantité consommée au cours de la réaction. La formation d'acétate est constatée par la formation du complexe associé, la présence d'éthanol est alors investiguée. Initialement un équivalent d'éthanol est présent (qui provient du complexe Rim_3Zn isolé sous forme de $[\text{Rim}_3\text{Zn}(\text{EtOH})](\text{ClO}_4)_2$ qui est libéré en solution à la dissolution du complexe $[\text{Rim}_3\text{Zn}(\text{CD}_3\text{CN})]^{2+}$ est formé immédiatement). Cette quantité n'évolue pas au cours de temps, il n'y a donc pas formation d'éthanol et l'acétaldéhyde n'est pas l'oxydant recherché.

Perchlorate – ClO_4^-

Les perchlorates sont utilisés comme contreions du complexe car ils ne sont que faiblement coordinants donc non interférents dans les études de complexation. Ce sont cependant de bons oxydants. Afin d'établir leur rôle dans la réaction le complexe $[\text{Rim}_3\text{Zn}(\text{EtOH})](\text{OTf})_2$ est synthétisé et l'expérience est réalisée en parallèle sur les deux complexes (Figure 59). Dans les deux cas il y a formation d'acétate, cependant la réaction est moins efficace avec le complexe triflate qu'avec le complexe perchlorate. L'acétate est ainsi obtenu quantitativement et à 50% avec ClO_4^- et OTf^- respectivement.

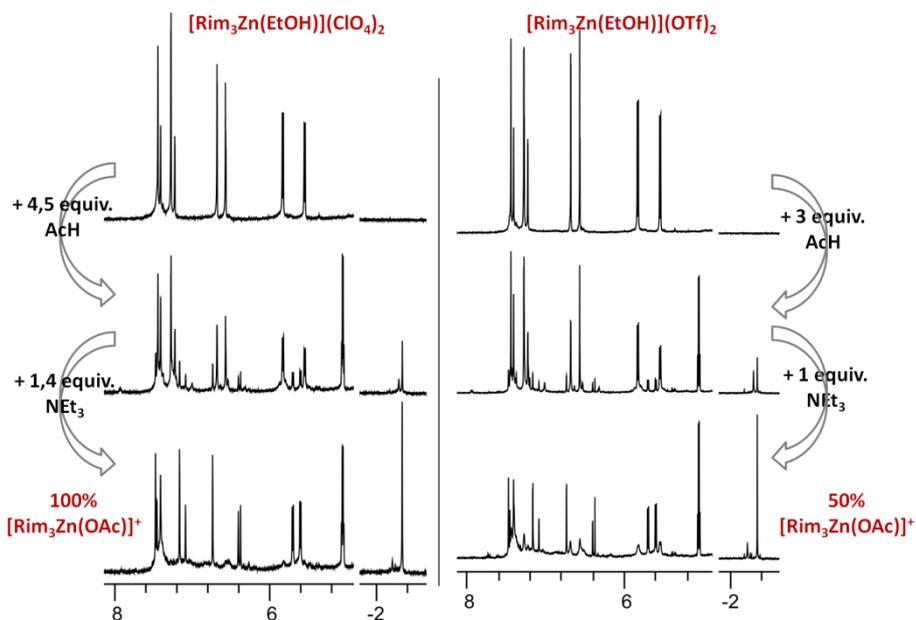


Figure 59 : Addition de AcH (4,5 et 3 équivalents) puis NEt_3 (1,4 et 1 équivalent) à Rim_3Zn (2,5 mM) comparée avec différents contreions : perchlorates (gauche) et triflates (droite) respectivement. Suivi par RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz).

Les ions perchlorate semblent donc avoir un rôle. Le fait que l'oxydation soit partiellement observée en présence de triflate peut être dû à plusieurs facteurs. D'une part, malgré le fait que AcH

soit systématiquement distillé avant usage n'empêche pas qu'il puisse rester des traces d'acide acétique après réoxydation à l'air. D'autre part, l'oxydation peut être provoquée par plusieurs effets coopératifs. En l'absence de l'un des acteurs – les perchlorates – elle est donc toujours possible mais moins efficace.

La comparaison entre $[\text{Rim}_3\text{Zn}(\text{EtOH})](\text{ClO}_4)_2$ et $[\text{Rim}_3\text{Zn}(\text{EtOH})](\text{ClO}_4)_2$ ne permet donc pas d'apporter une conclusion définitive et les autres espèces présentes restent à investiguer.

Autres espèces – CD_3CN , H_2O , EtOH , Rim_3Zn , NEt_3

Parmi la liste exhaustive des espèces présentes établies au début de cette section, cinq restent en lice. Ces espèces ne sont pas connues pour leurs propriétés oxydantes, en particulier H_2O et NEt_3 qui sont écartées de l'étude. Comme cela a été mentionné précédemment, la présence d'éthanol peut être suivie et quantifiée par intégration en RMN et est inchangée à l'addition de AcH et de base. EtOH n'est pas consommé, il ne réagit pas, comme cela est attendu. De même, l'espèce formée en fin de réaction est le complexe $[\text{Rim}_3\text{Zn}(\text{OAc})]^+$, le complexe initial Rim_3Zn n'est donc pas réduit.

Il reste le solvant acétonitrile. Le complexe Rim_4Zn a montré la potentialité des systèmes résorcinarènes à utiliser ce solvant comme substrat. Afin de vérifier son rôle l'expérience est faite en parallèle dans CD_3CN et CDCl_3 (Figure 60). Le complexe Rim_3Zn , dicationique, n'est pas soluble dans CDCl_3 . Cependant le complexe monocationique $[\text{Rim}_3\text{Zn}(\text{OAc})]^+$ l'est. Il est donc possible de visualiser la formation de complexe acétate dans le chloroforme.

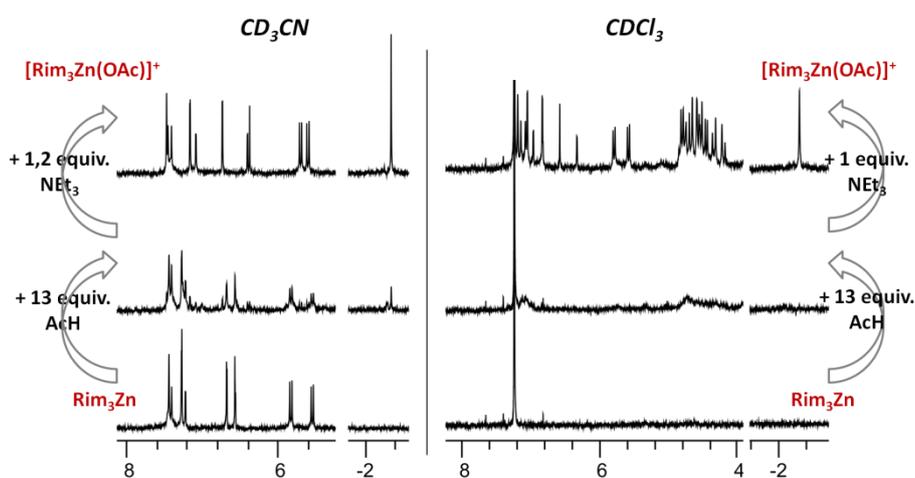


Figure 60 : Addition de AcH (13 équivalents) puis NEt_3 (1 équivalent) à Rim_3Zn (2 mM) comparée dans CD_3CN (gauche) et CDCl_3 (droite). Suivi par RMN ^1H (300 K, 250 MHz).

Comparé à ce qui est observé dans l'acétonitrile, le spectre initial de Rim_3Zn dans le chloroforme deutéré est plat, ce qui est attendu au vu de la faible solubilité. L'addition de 13 équivalents de AcH ne change pas le spectre obtenu (hormis les signaux intrinsèques à AcH : un quadruplet à 9,78 ppm et un doublet à 2,19 ppm apparaissent). L'ajout de 1 équivalent de triéthylamine permet de solubiliser une partie du complexe, avec un singulet intracavité à -2,31 ppm. Il s'agit du complexe $[\text{Rim}_3\text{Zn}(\text{OAc})]^+$. Il y a bien formation d'acétate dans ce cas. L'acétonitrile n'est donc pas nécessaire à la réactivité, même s'il la facilite en solubilisant toutes les espèces.

Contrairement à ce qui est observé avec son homologue à quatre bras, le complexe Rim₃Zn permet donc l'oxydation de l'acétaldéhyde en acétate. L'oxydant n'a pas pu être identifié. Les contrions perchlorates semblent être des candidats possibles. Des études supplémentaires sont cependant nécessaires pour lever toute ambiguïté. La différence de réactivité est frappante et l'hypothèse avancée pour l'expliquer est que la présence du quatrième imidazole hémilabile i) facilite la formation de l'acétal dérivé de AcH et du complexe stable [Rim₄Zn(AcH.OH)]⁺ qui en résulte et ii) génère autour du cation métallique un encombrement trop important pour que l'oxydation soit possible.

Autres substrats

D'autres substrats sont envisagés afin de mieux cerner la sélectivité des systèmes. Les résultats préliminaires de cette étude sont présentés dans cette section. Sont choisis des candidats comportant une fonction carbonyle à la fois coordinante et électrophile liée d'un côté à un méthyle ou à un hydrogène afin que l'inclusion en *endo* soit stériquement possible et diversement encombrés de l'autre côté. En particulier, divers groupements chimiques sont envisagés en position α du carbonyle. Ces substrats sont ajoutés à Rim₃Zn et Rim₄Zn dans les mêmes conditions que précédemment avec AcH (Figure 61) : température ambiante, solvant acétonitrile et ajout subséquent de base.

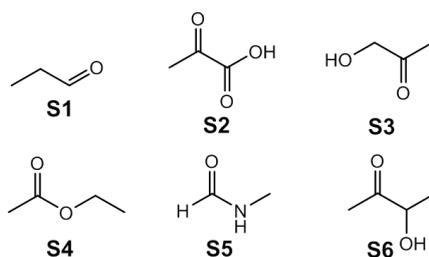


Figure 61 : Substrats sélectionnés.

Avec Rim₄Zn

L'interaction entre le complexe et les substrats est suivie par RMN dans l'acétonitrile deutéré. Après l'addition de chaque substrat un équivalent de base (triéthylamine) est ajouté. Parmi les molécules présentées, seules **S2**, **S3** et **S4** ont été testées avec Rim₄Zn (Figure 62).

L'addition de 15 équivalents d'acétate d'éthyle (**S4**) à Rim₄Zn (2 mM) n'entraîne aucune modification du signal RMN, pas plus qu'après ajout de 1 équivalent de triéthylamine. Cependant cela est observé à température ambiante sur une durée courte, une étude plus poussée quant aux capacités hydrolytiques de Rim₄Zn consisterait à se placer dans les mêmes conditions que pour l'étude de l'hydrolyse de l'acétonitrile : 70 °C, avec un suivi sur plusieurs jours.

L'acide pyruvique (**S2**) est ensuite étudié. Il s'agit d'un invité bidente. La présence du bras imidazole hémilabile de Rim₄Zn permet sa coordination même lorsqu'il est introduit sous forme acide dans le milieu, et on observe dès 5 équivalents ajoutés la formation quantitative du complexe [Rim₄Zn(pyruvate)H]⁺, caractérisé par un large singulet intracavité à -1,58 ppm. La largeur de ce signal, très similaire à ce qui est observé pour des invités bidentes tels que l'acétylacétone, suggère que l'invité est en échange entre les positions *endo* et *exo*. L'addition de un équivalent de base sur le

complexe entraîne la disparition du pic à haut champ et une modification des signaux aromatiques du complexe qui montre qu'il y a décooordination. Le ligand Rim₄ est régénéré, ce qui est probablement dû à la formation en solution d'un complexe zinc(pyruvate)₂.

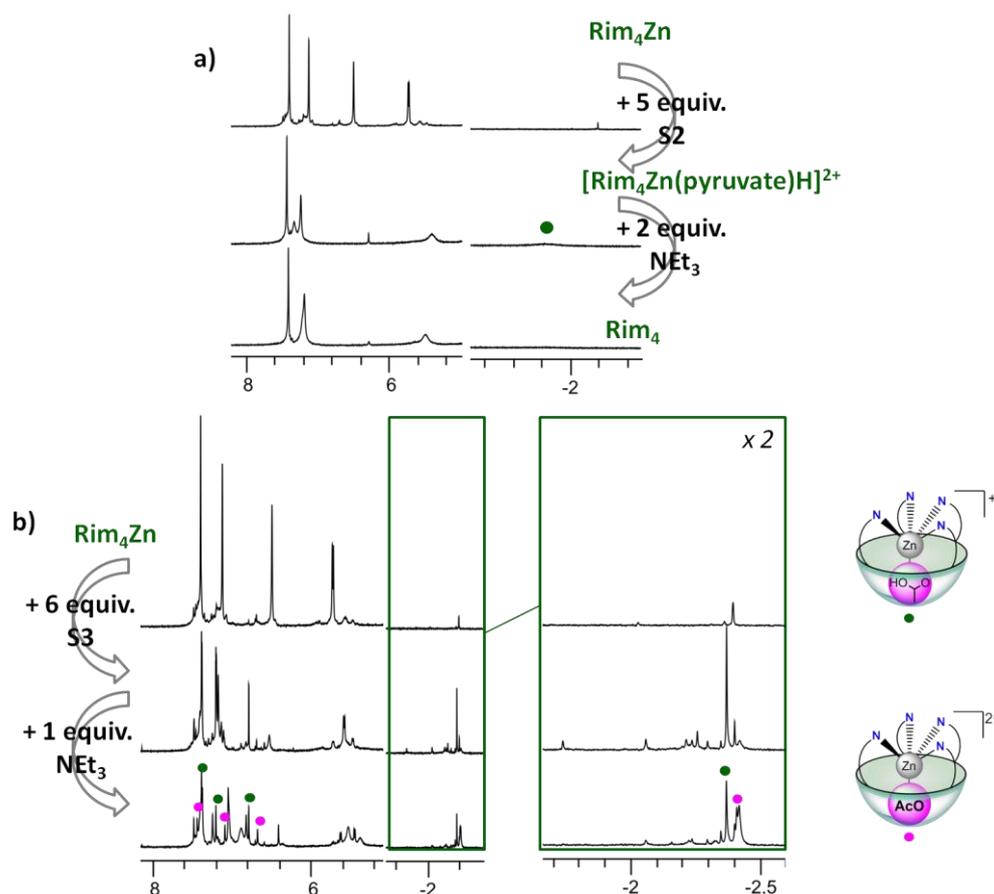


Figure 62 : Addition de différents substrats sur Rim₄Zn suivie par RMN ¹H (CD₃CN, 300 K, 500 MHz). a) A Rim₄Zn (4 mM) sont ajoutés successivement 5 equiv. d'acide pyruvique (S₂) et 2 equiv. de triéthylamine ; b) A Rim₄Zn (4 mM) sont ajoutés successivement 6 equiv. de 1-hydroxyacétone (S₃) et 1 equiv. de triéthylamine.

Le dernier substrat considéré est l'hydroxyacétone (S₃). L'addition de 6 équivalents de S₃ à Rim₄Zn (4 mM) donne lieu à un mélange complexe d'environ 10 espèces différentes, chacune associée à une série de signaux au niveau du résorcinarène et un pic à haut champ (cf zoom Figure 62). Le complexe Rim₄Zn de départ n'est plus présent. L'ajout de un équivalent de base ne simplifie pas le spectre, avec toujours beaucoup de signaux sur la plage allant de -2 à -2,5 ppm. Etant donné la complexité de ce qui est observé, aucune attribution n'est avancée. Cependant après ajout de substrat et de base il est à noter que les deux pics à haut champ majoritaires sont situés à -2,37 et -2,42 ppm, ce qui peut correspondre à deux espèces connues : [Rim₄Zn(AcH.OH)]⁺ et [Rim₄Zn(OAc)]⁺ (les signaux aromatiques associés sont également présents à 6,78, 7,20 et 7,38 ppm et 6,68, 7,08 et 7,44 ppm respectivement). La présence du complexe acétate après l'ajout suggère qu'en l'absence de fonction facilement hydratante Rim₄Zn se comporte comme Rim₃Zn et une réactivité de type oxydation peut être observée.

L'ensemble des résultats obtenus permet de raffiner le choix des substrats susceptibles de réagir avec le complexe Rim₄Zn. Tous les substrats considérés comportent une fonction carbonyle, la

sélection porte sur ce qui se situe en position α de celui-ci. S'il s'agit d'un groupement très donneur coordonnant, tel qu'un acétate dans le pyruvate (**S2**), il y a formation d'un complexe stable hôte-invité. Si en revanche il s'agit d'une fonction non coordinante (telle qu'une chaîne alkyle comme dans l'acétate d'éthyle (**S4**)) aucune interaction n'est observée. Pour agrandir la sélection de substrats possibles il faudrait donc considérer des molécules carbonylées comportant un groupement faiblement coordonnant et potentiellement nucléophile telles que l'hydroxyacétone (**S3**).

Avec Rim₃Zn

L'addition d'un aldéhyde à chaîne plus longue que AcH, le propionaldéhyde (22 équivalents), à Rim₃Zn n'amène aucune modification en RMN. Cela met en évidence le rôle clé de la cavité pour la réactivité. En effet le groupement propyle est trop encombré pour s'y insérer (comme cela a été vu avec le propionate) ce qui est suffisant pour empêcher l'oxydation.

L'addition d'acide pyruvique (**S2**, 4 équivalents) à Rim₃Zn conduit à la formation d'une nouvelle espèce (Figure 63). Aucun signal à haut champ n'apparaît, il n'y a donc pas de coordination en position *endo* et cet invité est complexé en *exo*. L'addition subséquente de un équivalent de base (triéthylamine) permet d'affiner les signaux obtenus mais le complexe formé est le même. Dans ce cas un comportement hôte-invité est observé, il n'y a pas de réactivité dans les conditions considérées.

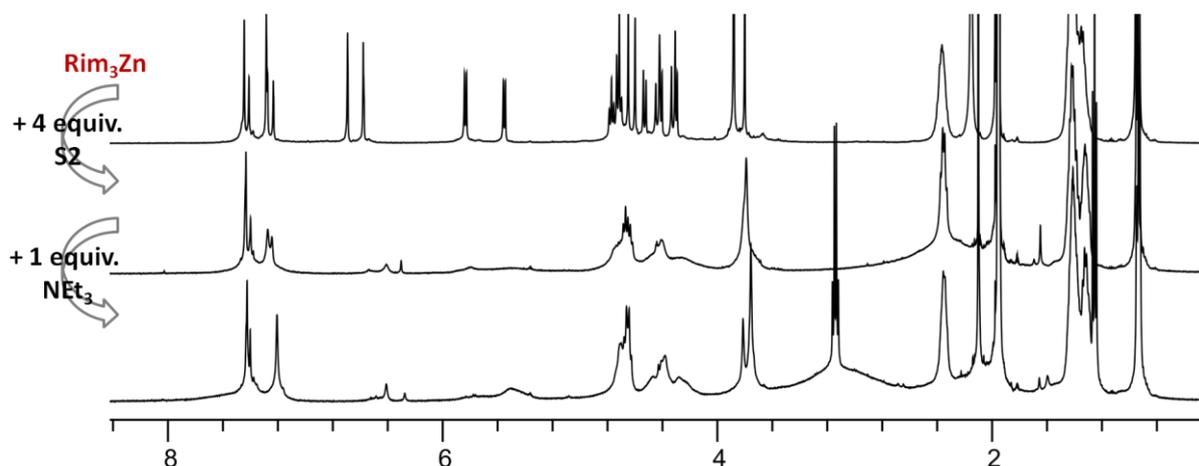


Figure 63 : Addition de **S2** (4 équivalents) à Rim₃Zn (4 mM) suivi de 1 équivalent de triéthylamine. RMN ¹H (CD₃CN, 300 K, 500 MHz).

L'hydroxyacétone (**S3**) est ensuite étudiée. L'addition de 6 équivalents de **S3** à Rim₃Zn entraîne l'apparition de plusieurs espèces minoritaires, qui deviennent majoritaires après ajout d'un équivalent de base (Figure 64). Deux complexes sont formés : [Rim₃Zn(OAc)]⁺ et [Rim₃Zn(HCOO)]⁺. Rim₃Zn permet donc de décomposer l'hydroxyacétone en acétate et formiate. Cette transformation est particulièrement intéressante car elle passe par la rupture oxydante d'une liaison C–C. La 3-hydroxybutan-2-one (**S6**) est utilisée pour tester les limites de cette réactivité. Comme avec le propionaldéhyde il apparaît que la taille du substrat est déterminante : l'addition de 15 équivalents de **S6** suivis de 1 équivalent de triéthylamine conduit à la même signature que Rim₃Zn avec 1 équivalent de triéthylamine, il n'y a pas de réaction dans ce cas.

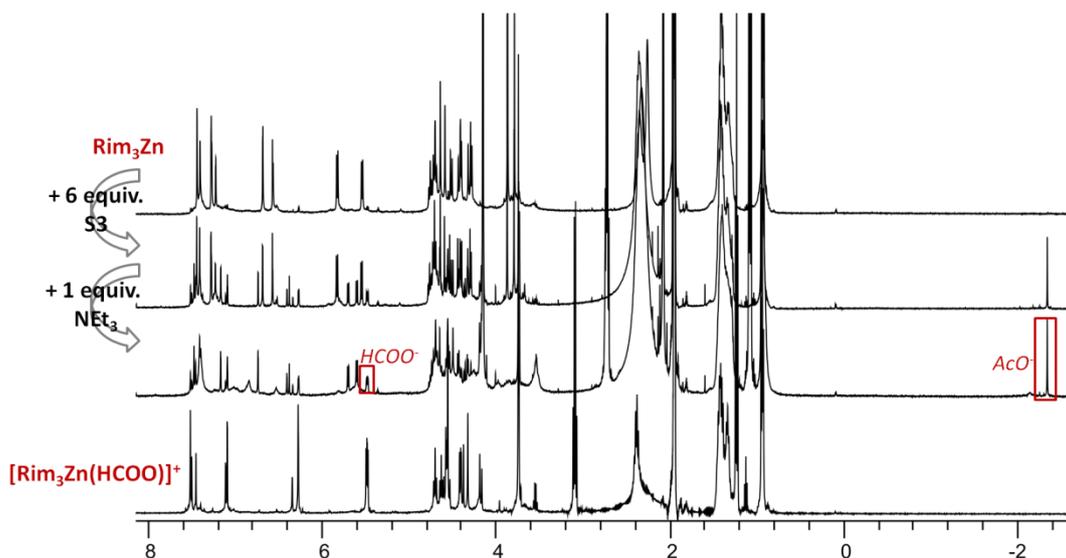


Figure 64 : Addition d'hydroxyacétone (**S3**) à Rim_3Zn suivie par RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz). De haut en bas : Rim_3Zn (5 mM) ; + 6 équivalents **S3** ; + 1 équivalent de triéthylamine ; spectre du complexe $[\text{Rim}_3\text{Zn}(\text{HCOO})]^+$ (Rim_3Zn (2 mM) avec 1,5 équivalents de HCOO.HNEt_3).

Les derniers substrats investigués sont des candidats à l'hydrolyse : acétate d'éthyle (**S4**) et N-méthylformamide (**S5**). Comme avec Rim_4Zn , l'addition de 14 équivalents d'acétate d'éthyle puis de 1 équivalent de base (NEt_3) au complexe Rim_3Zn laisse l'ester inchangé. Les résultats préliminaires avec le N-méthylformamide sont plus prometteurs. En effet après addition de 13 équivalents de substrat et 1 équivalent de base, plusieurs signaux d'intérêt émergent en RMN (Figure 65). En particulier, un doublet dédoublé à 5,48 ppm caractéristique de la formation du complexe $[\text{Rim}_3\text{Zn}(\text{HCOO})]^+$, il y a donc eu formation de formiate. Egalement, un doublet apparaît à 2,54 ppm correspondant à la formation de méthylamine. L'hydrolyse du N-méthylformamide en méthylamine et formiate est donc rendue possible par la présence de Rim_3Zn . Dans les conditions utilisées, la quantité de substrat hydrolysé est faible, mais une étude plus approfondie sur des temps plus longs et à une température plus élevée permettrait de mieux cerner les possibilités du complexe.

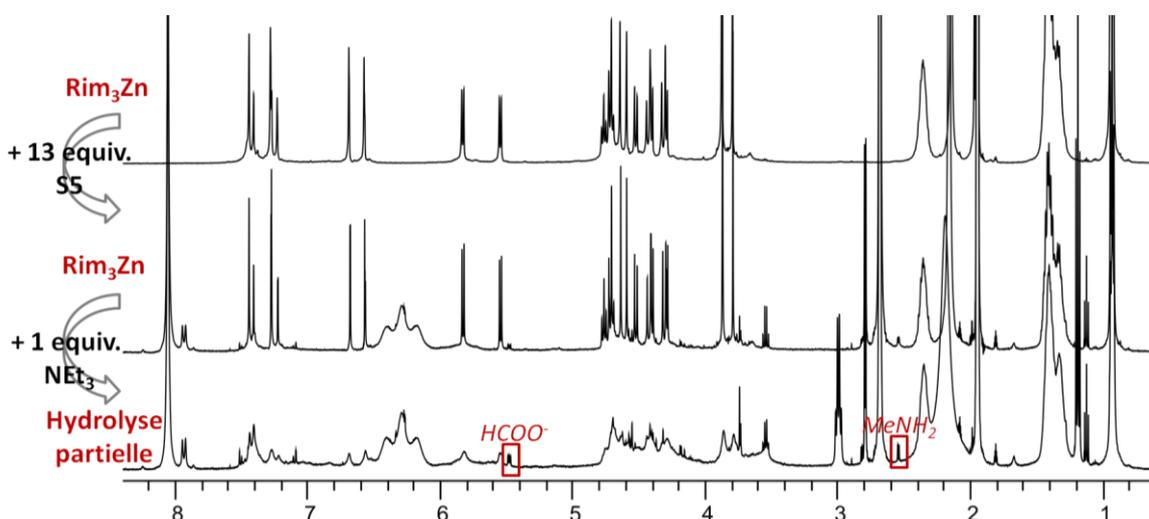


Figure 65 : Addition de N-méthylformamide (**S5**) à Rim_3Zn suivie par RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz). De haut en bas : Rim_3Zn (2 mM) ; + 13 équiv. **S5** ; + 1 équiv. NEt_3 .

La sélection de substrats utilisés permet d'illustrer la sélectivité du système grâce à un environnement cavitaire rigide pour des invités comportant des chaînes de deux carbones au maximum. Au-delà de cette sélectivité stérique stricte, Rim₃Zn présente une réactivité envers différentes fonctions, selon la même sélectivité que celle observée précédemment pour Rim₄Zn. Trois substrats ressortent de cette étude préliminaire : l'acétaldéhyde (ACH) et l'hydroxyacétone (**S3**) pour lesquels Rim₃Zn permet une oxydation mais également le N-méthylformamide, qui met en évidence un autre aspect du système : la réactivité hydrolytique.

IV. Vers d'autres métaux – Rim₄Co^{II}

Le complexe Rim₄Cu^{II} a été synthétisé et caractérisé dans des travaux précédents.² Par rapport au zinc(II), le cuivre(II) est aussi bon acide de Lewis et apporte la possibilité d'obtenir une réactivité redox. Cependant les études hôte-invité suggèrent que le cation Cu^{II} se lie plus fortement à Rim₄ que ne le fait Zn^{II}, et résulte en la perte de l'hémilabilité du quatrième bras imidazole. Comme les études hôte-invité et de réactivité menées avec Rim₄Zn ont montré que la présence du bras hémilabile est cruciale pour obtenir une réactivité catalytique, nous nous sommes tournés vers un autre métal.

Le cobalt est un métal à la fois peu répandu et indispensable dans tout organisme. En effet, il est présent dans la plupart des organismes dans la vitamine B12, ou cobalamine. Cette vitamine est indispensable pour le bon fonctionnement du système nerveux et intervient également dans la synthèse de l'ADN. La nature a sélectionné le cobalt pour ce rôle car il présente des propriétés particulières. Trois degrés d'oxydation peuvent être obtenus dans l'eau (Co^I, Co^{II} et Co^{III}), et ce qui le rend unique pour le vivant est sa capacité à former des liaisons organométalliques Co–C.²⁵

Le cobalt(II) est modérément acide de Lewis et est connu pour sa labilité importante et sa capacité à interagir avec le dioxygène. Il présente ainsi des caractéristiques très différentes du zinc(II) et du cuivre(II) et pourrait donner accès à une réactivité nouvelle : le complexe Rim₄Co^{II} allie un centre métallique redox-actif, une cavité hydrophobe, un bras imidazole potentiellement capable d'assistance basique intramoléculaire et la possibilité de coordonner deux substrats en position *cis* l'un par rapport à l'autre.

1. Synthèse et caractérisation

Le complexe Rim₄Co^{II} est synthétisé de manière analogue au complexe Rim₄Zn. Le ligand en solution dans l'éthanol est ajouté à un équivalent de perchlorate de cobalt(II) en solution dans l'éthanol également. Un précipité mauve se forme qui est récupéré par centrifugation. Rim₄Co^{II} précipite avec environ 10% de ligand libre avec un rendement de 67%. La formation d'un complexe 1:1 n'a pu être obtenue que par addition *in situ* (dans l'acétonitrile) de 0,2 équivalents de perchlorate de cobalt au solide isolé. Le complexe est soluble dans l'acétonitrile et a été caractérisé par RMN ¹H, IR et UV/visible (Figure 66 et partie expérimentale).

Il est à noter que le cobalt(II) est de configuration électronique 3d⁷ et est donc paramagnétique. Il est cependant possible d'obtenir une signature RMN ¹H d'un complexe de cobalt(II) haut spin en élargissant la fenêtre d'étude à environ 200 ppm.²⁶ En effet, les déplacements chimiques des signaux sont plus ou moins décalés selon la proximité spatiale du proton auquel ils sont associés au cation

paramagnétique. De plus, la présence d'un centre Co^{II} amène des temps de relaxation beaucoup plus courts que ce qui est attendu classiquement pour un proton. Le corollaire de cela est que la multiplicité des signaux correspondant aux protons les plus proches du cation métallique n'apparaît plus et qu'il n'est pas possible d'obtenir une corrélation en RMN 2D pour ces signaux. L'attribution en est de fait difficile.

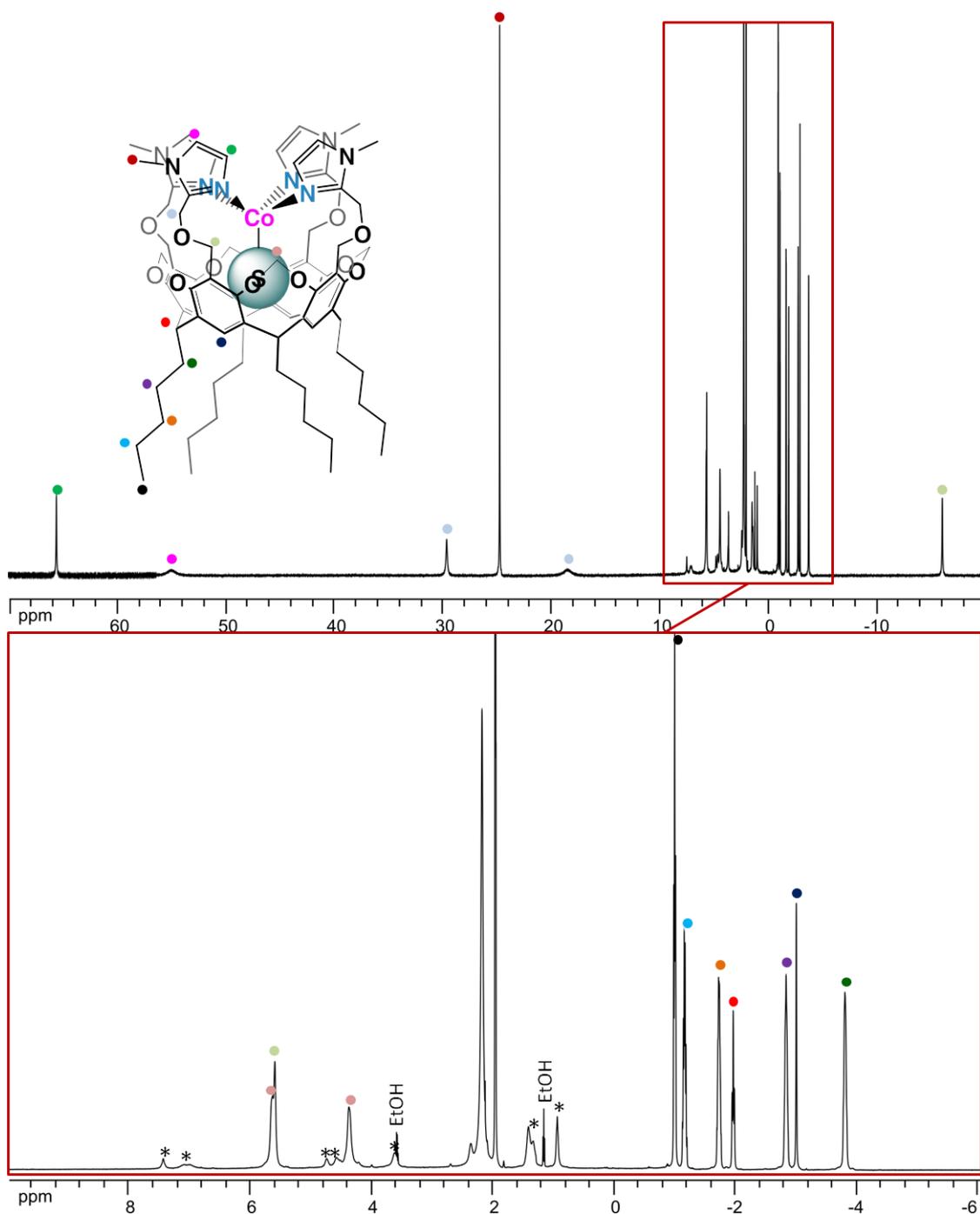


Figure 66 : Spectre RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz) du complexe Rim_4Co isolé par précipitation dans l'éthanol. Le complexe précipite avec environ 1,1 équivalent de ligand Rim_4 , donc l'excès est indiqué par des étoiles noires.

La Figure 66 montre la signature du complexe Rim_4Co tel qu'obtenu par précipitation. Les signaux s'étalent entre -20 et +80 ppm. Les signaux les plus affectés par le cobalt(II) apparaissent à -16 ppm

et entre 10 et 80 ppm. Pour les signaux entre -10 et 10 ppm une carte COSY a permis d'effectuer les attributions. Les attributions des signaux les plus blindés et déblindés sont faites par comparaison avec un complexe de cobalt(II) calixarène présentant une structure similaire avec trois bras imidazole coordinants.²⁷ La présence du centre paramagnétique est sensible jusqu'au bout de la chaîne alkyle des pattes de Rim₄, où le signal associé au méthyle passe de 0,92 à -1,02 ppm (soit un $\Delta\delta = 1,94$ ppm).

Le complexe Rim₄Co^{II} est stable sur plusieurs semaines et est donc peu sensible à l'oxydation à l'air.

2. Propriétés hôte-invité

Acide acétique

Les propriétés hôte-invité du complexe Rim₄Co^{II} sont étudiées en comparaison de ce qui est connu pour Rim₄Zn. Le complexe zincique est capable de complexer sous forme anionique un invité neutre grâce à une déprotonation intramoléculaire permise par un bras hémilabile basique. Un exemple illustrant cette propriété est l'acide acétique, qui est quantitativement complexé sous forme d'acétate dans les conditions d'étude.

L'addition progressive d'acide acétique (de 0,3 à 7 équivalents) à Rim₄Co (3,3 mM) n'amène aucune modification de la signature RMN de celui-ci (Figure 67). La formation d'acétate grâce à l'assistance basique du bras hémilabile n'a donc pas lieu dans ce cas. L'expérience est poursuivie par l'addition de triéthylamine à la solution. A l'ajout de 2 équivalents, un changement de couleur spectaculaire est observé de rose pâle à fushia intense. Le spectre RMN revient à une fenêtre classique de 0 à 10 ppm et les signaux se multiplient et s'élargissent.

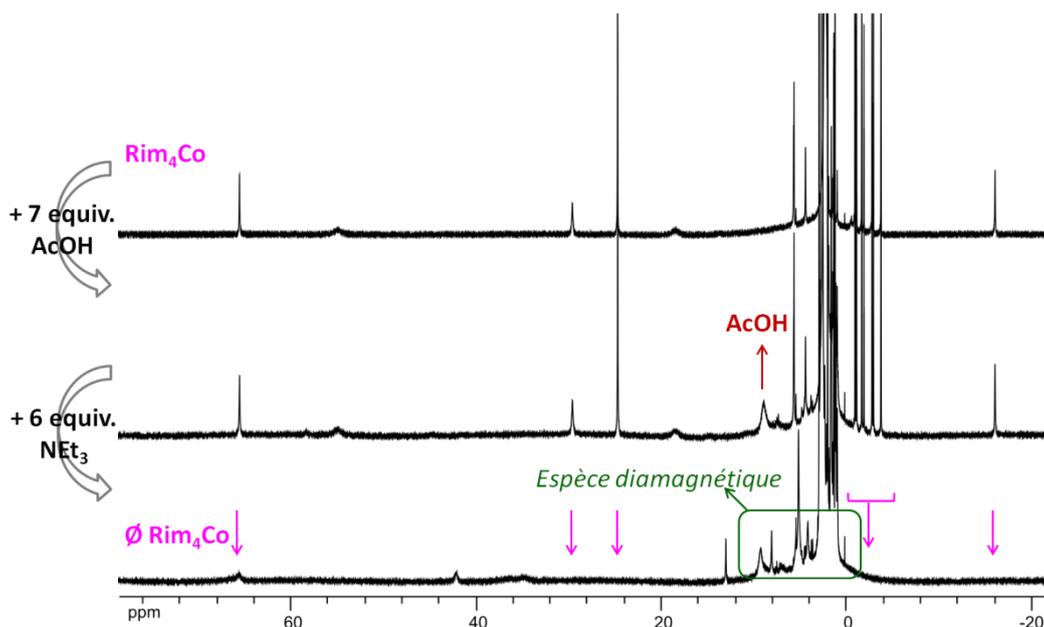


Figure 67 : Addition d'acide acétique (7 equiv.) puis de triéthylamine (6 equiv.) à Rim₄Co (3,3 mM). Suivi par RMN ¹H (CD₃CN, 300 K, 500 MHz).

Une expérience similaire est réalisée et suivie par spectroscopie UV/visible (Figure 68). Cette fois c'est la base qui est ajoutée en premier, progressivement (de 0,5 à 5 équivalents de triéthylamine). L'absorbance augmente légèrement mais l'allure du spectre n'est pas modifiée. A l'addition d'acide acétique cependant, et dès 1 équivalent, une augmentation considérable de l'absorbance est obtenue. Les coefficients d'extinction molaire associés aux transitions observées sont calculés. Avant l'ajout d'acide acétique, ils sont de l'ordre de 10. Cela correspond à ce qui est attendu pour une transition *d-d*. Après addition de AcOH, ϵ gagne un ordre de grandeur ce qui est caractéristique d'un changement de géométrie. La même expérience réalisée à partir de $\text{Co}(\text{ClO}_4)_2$ au lieu de Rim_4Co révèle que la présence du ligand est nécessaire à l'apparition de cette bande intense.

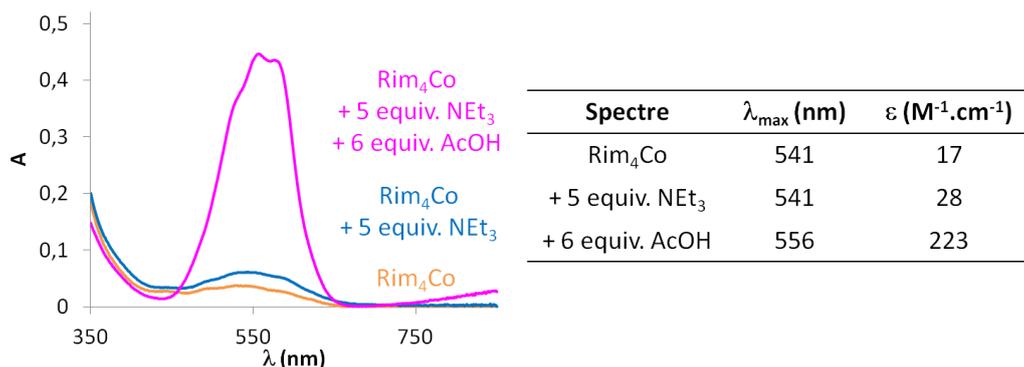


Figure 68 : Suivi de l'absorbance d'une solution de Rim_4Co (2,3 mM) dans l'acétonitrile avant et après addition de triéthylamine (5 équivalents) et d'acide acétique (6 équivalents).

Ces expériences montrent que l'addition d'acétate sur Rim_4Co conduit à la formation d'une espèce diamagnétique présentant une géométrie différente du complexe initial. Cela est cohérent avec la formation d'un dimère ponté par un ligand acétate. Cet invité n'est pas complexé en position *endo* car dans ce cas un signal RMN caractéristique serait obtenu à très bas champ (dans le cas d'espèce paramagnétique) ou à haut champ (pour une espèce diamagnétique) ce qui contraste avec le cas de Rim_4Zn pour lequel l'acétate est un invité de choix.

Dans la suite, un invité plus adapté à une reconnaissance à l'intérieur de la cavité est recherché. Par analogie avec les études menées avec le complexe Rim_4Zn , et toujours dans l'optique de vérifier si la déprotonation et coordination sans ajout de base d'un invité est possible avec Rim_4Co , un ligand protique non pontant est sélectionné : l'acétylacétone.

Acétylacétone

L'addition d'acétylacétone (jusqu'à 3,8 équivalents) à Rim_4Co (2 mM) est suivie par RMN ^1H (Figure 69). Les signaux correspondant aux protons portés par le ligand ne sont pas affectés lors de l'addition, cependant deux nouveaux pics apparaissent à bas champ (15,6 et 32,2 ppm) lors de l'ajout. Ces signaux ne peuvent être que de l'acétylacétone coordonnée au cobalt(II). Le pic le plus fin, à 15,6 ppm, est attribué à un complexe cobalt-acétylacétone dû à la présence d'un excès de cobalt(II) en solution.

Le signal apparaissant à 32 ppm est plus intéressant. Il est le premier à apparaître à l'addition d'acétylacétone et correspond à la formation d'un complexe $[\text{Rim}_4\text{Co}(\text{Acac})]^+$. Etant donné les

conditions de l'expérience, la constante d'association n'a pas pu être déterminée précisément mais son ordre de grandeur est estimé à 10^2 M^{-1} . L'inclusion de l'acétylacétone dans ces conditions permet de déduire plusieurs propriétés communes aux complexes Rim_4Zn et Rim_4Co (Figure 70) : i) deux sites de coordination sont accessibles en *cis* sur le métal et ii) un bras imidazole est hémilabile et peut jouer le rôle de base intramoléculaire, puisque la présence de base n'est pas nécessaire pour observer la coordination.

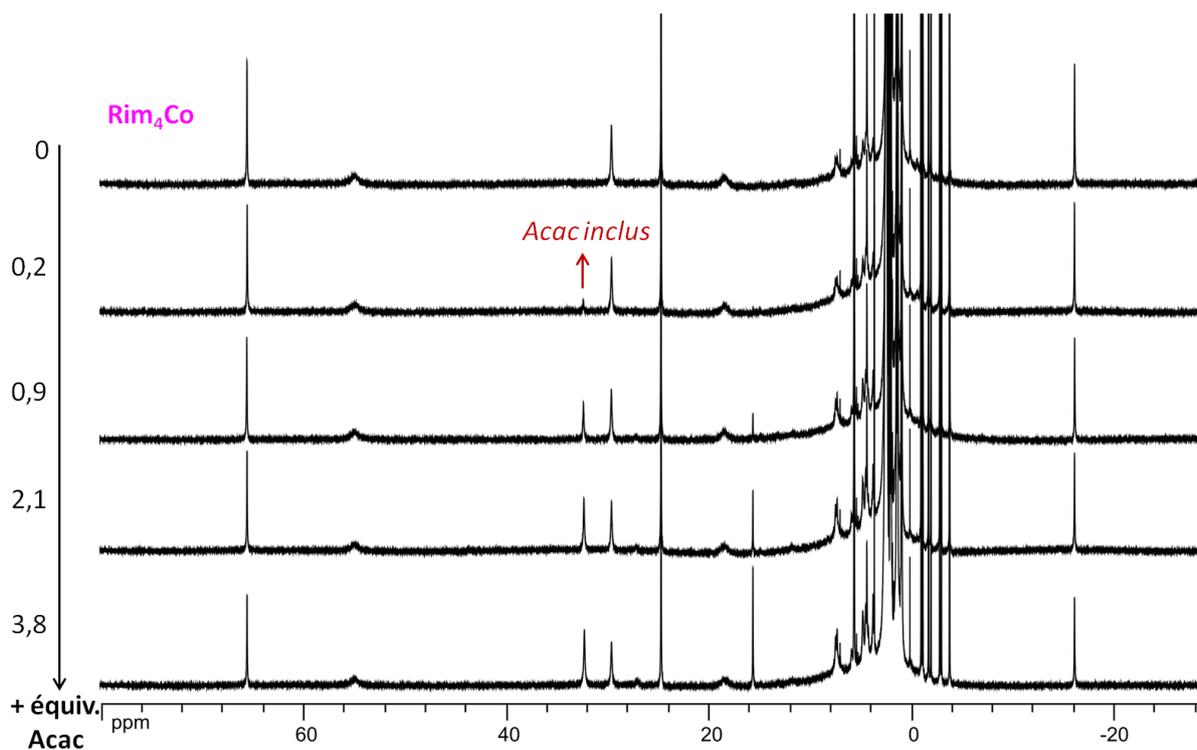


Figure 69 : Dosage de Rim_4Co (2 mM) en présence d'un excès de $\text{Co}(\text{ClO}_4)_2$ (0,6 mM) par de l'acétylacétone (jusqu'à 3,8 équivalents). RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz).

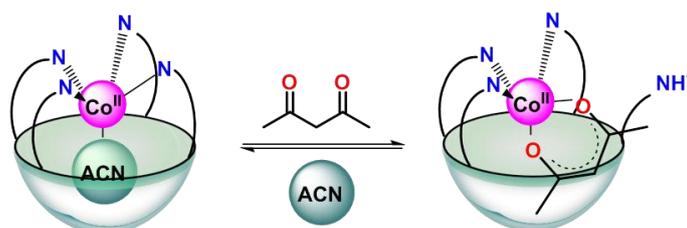


Figure 70 : Représentation schématique de la coordination de l'acétylacétone par $\text{Rim}_4\text{Co}^{\text{II}}$.

En résumé, l'étude préliminaire des propriétés hôte-invité du complexe $\text{Rim}_4\text{Co}^{\text{II}}$ révèle qu'il présente des propriétés réceptrices proches de Rim_4Zn , au travers de l'exemple de l'acétylacétone : l'inclusion d'un invité protique stériquement adapté à la cavité en position *endo* est possible sans ajout de base, avec une affinité modérée dans le cas de l'acétylacétone. La sélectivité apparaît cependant différente puisque le même phénomène n'est pas observé avec l'acétate. Une étude plus approfondie de la sélectivité de ce récepteur reste à réaliser avant de pouvoir explorer la réactivité de ce complexe.

Conclusion

Deux systèmes organosolubles ont été élaborés : Rim₃Zn et Rim₄Zn. Le premier comporte trois bras coordinants imidazole et le second en a quatre. Ce dernier bras est alors hémilabile et permet d'étendre les propriétés de reconnaissance à des invités protiques. En effet l'imidazole joue le rôle d'une base intramoléculaire qui promeut la coordination de l'invité sous sa forme déprotonée, anionique. Cette propriété est particulièrement illustrée par l'exemple de l'acide acétique. Avec l'acétamide, présentant un p*K_a* beaucoup plus élevé, l'inclusion sous forme anionique est également possible. Une analyse RMN montre que cependant que le complexe [Rim₄Zn(AcNH)]⁺ n'est pas obtenu pur mais en mélange avec du ligand libre Rim₄ protoné.

Les deux systèmes sont également très différents en termes de réactivité. En effet le bras hémilabile permet d'apporter une assistance basique tout en conservant deux positions de coordination ouvertes en *cis*. Le complexe Rim₄Zn est grâce à cela capable de catalyser l'hydratation de l'acétonitrile en acétamide quand son pendant Rim₃Zn est inactif dans les mêmes conditions. La différence est également mise en évidence avec l'acétaldéhyde. Le quatrième bras de Rim₄Zn facilite son hydratation et l'acétal ainsi formé est piégé sous la forme [Rim₄Zn(AcH.OH)]⁺, ce qui n'est pas observé avec Rim₃Zn. L'absence de bras hémilabile est dans ce cas compensée par l'ajout d'une base qui permet la formation quantitative du complexe acétate par oxydation de AcH, possiblement par les contre-ions perchlorate.

L'étude préliminaire pour étendre ces observations à d'autres substrats met en évidence que les deux systèmes sont actifs envers les mêmes composés, même s'ils présentent une réactivité différente. Rim₄Zn apparaît spécialisé pour l'hydratation de composés adaptés à la cavité tels que l'acétonitrile ou l'acétaldéhyde. Rim₃Zn présente une activité plus variée, d'oxydation ou d'hydrolyse selon les candidats investigués. Les plus remarquables des substrats, qui restent à étudier plus en détail, sont d'une part l'hydroxyacétone pour laquelle une rupture oxydante est observée au niveau d'une liaison carbone-carbone et le N-méthylformamide avec lequel une activité hydrolytique est possible.

La présence d'un bras hémilabile permet d'obtenir une réactivité d'hydratation catalytique vis-à-vis de l'acétonitrile. Afin de mieux cerner les capacités de Rim₄, un nouveau complexe a été obtenu : Rim₄Co. L'étude préliminaire de ses propriétés réceptrices montre qu'il est capable de complexer l'acétylacétone sans ajout de base, ce qui suggère qu'il possède un bras hémilabile. Rim₄Co est donc un système comportant un centre métallique redox, deux sites de coordination ouverts en *cis*, une cavité hydrophobe et un bras basique hémilabile. C'est un catalyseur prometteur, dont la sélectivité en tant que récepteur et la réactivité restent à explorer.

V. Bibliographie

- (1) Parrot, A.; Collin, S.; Bruylants, G.; Reinaud, O. The 3rd Degree of Biomimetism: Associating the Cavity Effect, ZnII Coordination and Internal Base Assistance for Guest Binding and Activation. *Chem. Sci.* **2018**, *9* (24), 5479–5487.
- (2) Parrot, A. Systèmes Supramoléculaires Biomimétiques : Les Complexes Bols, Synthèse, Propriétés et Réactivité, Université Paris Descartes, 2015.
- (3) Tunstad, L. M.; Tucker, J. A.; Dalcanale, E.; Weiser, J.; Bryant, J. A.; Sherman, J. C.; Helgeson, R. C.; Knobler, C. B.; Cram, D. J. Host-Guest Complexation. 48. Octol Building Blocks for Cavitands and Carcerands. *J. Org. Chem.* **1989**, *54* (6), 1305–1312.
- (4) Gibb, B. C.; Chapman, R. G.; Sherman, J. C. Synthesis of Hydroxyl-Footed Cavitands. *J. Org. Chem.* **1996**, *61* (4), 1505–1509.
- (5) Mori, M.; Tonogaki, K.; Kinoshita, A. Synthesis of 1,3-Dienes from Alkynes and Ethylene: Acetic Acid 2-Methylene-3-Phenethylbut-3-Enyl Ester. *Org. Synth.* **2005**, *81*, 1–13.
- (6) Moll, H. E.; Sémeril, D.; Matt, D.; Youinou, M.-T.; Toupet, L. Synthesis of a Resorcinarene-Based Tetrphosphine-Cavitand and Its Use in Heck Reactions. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7* (3), 495–501.
- (7) Reese, C. B.; Pei-Zhuo, Z. Phosphotriester Approach to the Synthesis of Oligonucleotides: A Reappraisal. *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1993**, No. 19, 2291–2301.
- (8) Lökov, M.; Tshepelevitsh, S.; Heering, A.; Plieger, P. G.; Vianello, R.; Leito, I. On the Basicity of Conjugated Nitrogen Heterocycles in Different Media. *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, *2017* (30), 4475–4489.
- (9) Bordwell, F. G. Equilibrium Acidities in Dimethyl Sulfoxide Solution. *Acc. Chem. Res.* **1988**, *21* (12), 456–463.
- (10) Xu, X.; Doyle, M. P. Enantiomer Recognition of Amides by Dirhodium(II) Tetrakis[Methyl 2-Oxopyrrolidine-5(*S*)-Carboxylate]. *Inorg. Chem.* **2011**, *50* (16), 7610–7617.
- (11) Seneque, O. Calix[6]Arenes and Zinc: Biomimetic Receptors for Neutral Molecules. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122* (26), 6183–6189.
- (12) Downs, E. L.; Tyler, D. R. Nanoparticle Catalysts for Nitrile Hydration. *Coord. Chem. Rev.* **2014**, *280*, 28–37.
- (13) García-Álvarez, R.; Francos, J.; Tomás-Mendivil, E.; Crochet, P.; Cadierno, V. Metal-Catalyzed Nitrile Hydration Reactions: The Specific Contribution of Ruthenium. *J. Organomet. Chem.* **2014**, *771*, 93–104.
- (14) Hashimoto, K.; Suzuki, H.; Taniguchi, K.; Noguchi, T.; Yohda, M.; Odaka, M. Catalytic Mechanism of Nitrile Hydratase Proposed by Time-Resolved X-Ray Crystallography Using a Novel Substrate, *Tert*-Butylisonitrile. *J. Biol. Chem.* **2008**, *283* (52), 36617–36623.
- (15) Nelp, M. T.; Song, Y.; Wysocki, V. H.; Bandarian, V. A Protein-Derived Oxygen Is the Source of the Amide Oxygen of Nitrile Hydratases. *J. Biol. Chem.* **2016**, *291* (15), 7822–7829.
- (16) Ahmed, T. J.; Knapp, S. M. M.; Tyler, D. R. Frontiers in Catalytic Nitrile Hydration: Nitrile and Cyanohydrin Hydration Catalyzed by Homogeneous Organometallic Complexes. *Coord. Chem. Rev.* **2011**, *255* (7–8), 949–974.
- (17) Chin, J.; Kim, J. H. Catalytic Hydration of Acrylonitrile to Acrylamide under Mild Conditions. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29* (5), 523–525.
- (18) Oshiki, T.; Yamashita, H.; Sawada, K.; Utsunomiya, M.; Takahashi, K.; Takai, K. Dramatic Rate Acceleration by a Diphenyl-2-Pyridylphosphine Ligand in the Hydration of Nitriles Catalyzed by Ru(Acac)₂ Complexes. *Organometallics* **2005**, *24* (26), 6287–6290.
- (19) Singh, K.; Sarbajna, A.; Dutta, I.; Pandey, P.; Bera, J. K. Hemilability-Driven Water Activation: A NiII Catalyst for Base-Free Hydration of Nitriles to Amides. *Chem. - Eur. J.* **2017**, *23* (32), 7761–7771.
- (20) Frieden, C. Kinetic Aspects of Regulation of Metabolic Processes. *J. Biol. Chem.* **1970**, *245* (21), 5788–5799.

- (21) Driessen, W. L.; Groeneveld, W. L. Complexes with Ligands Containing the Carbonyl Group. Part III: Metal (II) Acetaldehyde, Propionaldehyde and Benzaldehyde Solvates. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1971**, *90* (1), 87–96.
- (22) Deacon, G. Relationships between the Carbon-Oxygen Stretching Frequencies of Carboxylato Complexes and the Type of Carboxylate Coordination. *Coord. Chem. Rev.* **1980**, *33* (3), 227–250.
- (23) Nakamoto, K. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds (Part B)*, John Wiley & Sons.; 2009.
- (24) Lee, J. Y.; Peterson, R. L.; Ohkubo, K.; Garcia-Bosch, I.; Himes, R. A.; Woertink, J.; Moore, C. D.; Solomon, E. I.; Fukuzumi, S.; Karlin, K. D. Mechanistic Insights into the Oxidation of Substituted Phenols via Hydrogen Atom Abstraction by a Cupric–Superoxo Complex. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136* (28), 9925–9937.
- (25) Bertini, I.; Sigel, A.; Sigel, H. *Handbook on Metalloproteins*, Marcel Dekker, Inc.; 2001.
- (26) Drago, R. S. *Physical Methods for Chemists (2nd Ed.)*, W. B. Saunders Co. Ltd.; 1992.
- (27) Sénèque, O.; Campion, M.; Giorgi, M.; Le Mest, Y.; Reinaud, O. Funnel Complexes with Coll and Nill: New Probes into the Biomimetic Coordination Ability of the Calix[6]Arene-Based Tris(Imidazole) System. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2004**, *2004* (9), 1817–1826.

CHAPITRE 3 :

ETUDE COMPAREE DE DEUX SYSTEMES HYDROSOLUBLES

I. Elaboration des systèmes

1. Contexte et état de l'art

Dans un contexte biomimétique, le fait de pouvoir travailler dans l'eau et à pH physiologique est capital. Le développement de systèmes capables de reconnaissance moléculaire dans l'eau est un domaine crucial pour de nombreuses applications biologiques et environnementales mais complexe. En effet ce solvant est à la fois donneur de liaisons hydrogènes, polaire et coordinant ; un récepteur basé sur des interactions électrostatiques est difficilement efficace. Une stratégie pour parvenir à extraire des molécules hydrophiles de l'eau est d'utiliser un cation métallique afin de former un complexe. Là encore, l'eau est compétitrice par ses propriétés coordinantes.

L'utilisation de systèmes mixtes comportant un métal et une cavité pour augmenter la sélectivité permet de pallier à ce problème, et d'obtenir des récepteurs sélectifs de petites molécules organiques dans l'eau, typiquement des anions aliphatiques. Les systèmes cavitaires sont cependant par essence hydrophobes et peu solubles dans l'eau. Plusieurs méthodes sont possibles pour utiliser un complexe organique en milieu aqueux, dont deux seront développées ici.

La première, qui est la plus évidente mais demande un important travail de synthèse, est de greffer sur le complexe des groupements chargés hydrophiles qui facilitent l'hydrosolubilisation sans altérer les capacités réceptrices du système. Cette stratégie présente l'avantage de donner des complexes stables et bien identifiés. La seconde, plus originale et facile à mettre en œuvre, est d'incorporer le système organique tel quel au sein de micelles dispersées dans l'eau. Cette méthode est rapide mais ne peut fonctionner que si le récepteur n'interagit pas avec le lipide utilisé. De plus, les micelles ne sont généralement pas stables au-delà de quelques jours et doivent être fraîchement préparées avant utilisation.

Au-delà de ces considérations pratiques, les deux stratégies, basées sur un récepteur organique identique, mènent à deux systèmes très différents dans l'eau : l'un est entouré de solvant polaire protique dissociant et l'autre est inclus dans un environnement localement hydrophobe, comparable aux poches hydrophobes présentes au sein des enzymes pour la reconnaissance des substrats. La comparaison entre ces deux approches est d'un grand intérêt car elle permet de montrer l'influence de la différence de milieu sur les propriétés réceptrices des complexes.

Peu d'exemples de ce type de comparaison ont été reportés à notre connaissance, et tous mènent à la même conclusion : le système micellaire présente, pour des invités adaptés au récepteur étudié, une affinité jusqu'à deux ordres de grandeur supérieure par rapport au système hydrosoluble associé. Ce résultat spectaculaire a été obtenu avec des structures très différentes. La première étude reportée, basée sur un complexe de rhodium hydrosoluble, compare les propriétés entre ce composé seul ou en présence d'un lipide cationique (Figure 71).¹ Il apparaît que les micelles permettent d'augmenter d'un facteur 100 l'affinité du complexe pour les ions chlorure, avec une sélectivité conservée dans les deux cas par rapport à d'autres anions (tels que le nitrate, phosphate, sulfate, acétate, ...). La raison de cette augmentation n'est cependant pas discutée.

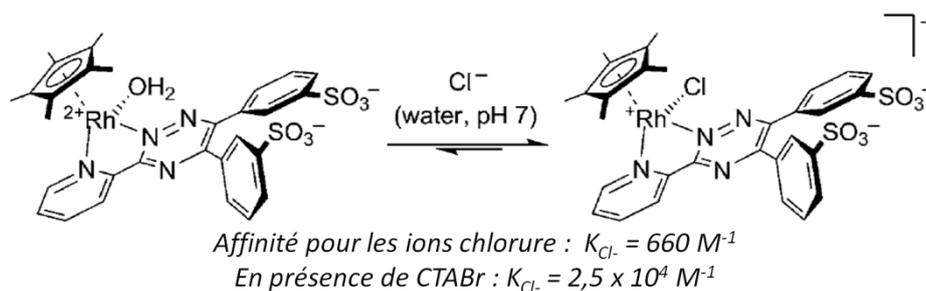


Figure 71 : Comparaison des propriétés réceptrices d'un complexe de rhodium envers les ions chlorures à pH neutre en présence ou non de CTABr (lipide, bromure de cetyltrimonium).¹

Une comparaison similaire entre un système hydrosoluble résorcinarène et le même système en présence de micelles reportée par Rebek et al. donne la même conclusion, vis-à-vis d'invités ammonium hydrophobes de taille adaptée à la cavité (Figure 72).² Dans ce cas une étude plus poussée de la position du récepteur dans la micelle est menée. Il apparaît que le cavitand est présent sous forme dimérique dans l'eau mais se monomérise lors de la complexation d'un invité. Au sein de la micelle, la cavité est occupée par la chaîne lipidique et le système est sous forme monomérique, plus favorable à la reconnaissance.

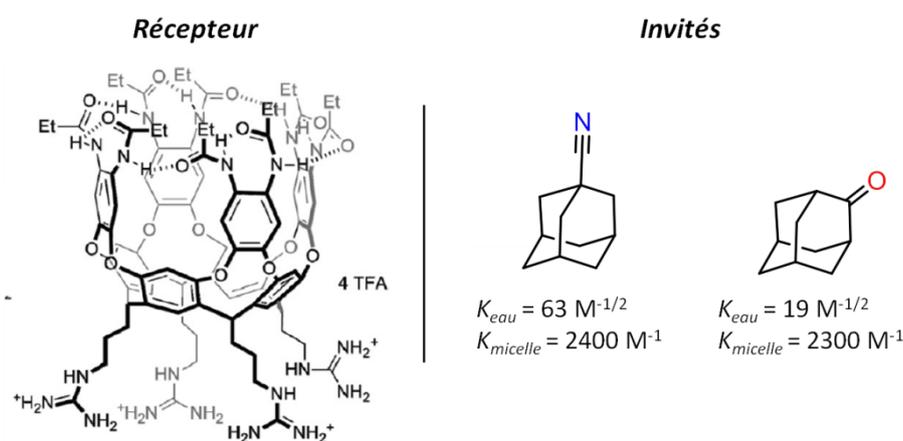


Figure 72 : Système résorcinarène hydrosoluble développé par Rebek et al. capable d'encapsuler des dérivés d'adamantane dans l'eau. Une sélection d'invités ainsi que les constantes d'association en présence ou non de micelles (de dodécylphosphocholine, DPC) sont présentés.²

Enfin, un exemple d'étude de complexe solubilisé par introduction de groupements hydrosolubles (de type glucose) ainsi que l'étude du complexe organosoluble introduit dans l'eau par la présence de micelle ont été reportés (Figure 73).³⁻⁵ Les propriétés des deux systèmes vis-à-vis de la reconnaissance de fluorures ont été investiguées, et plusieurs types de lipides ont été considérés. Il apparaît que si avec des micelles CTAX (halogénure de cetyltriméthylammonium) l'affinité pour les ions fluorure est de $10^4 M^{-1}$ (contre $10^2 M^{-1}$ pour le complexe hydrosoluble), avec d'autres types de lipides le complexe perd ses propriétés réceptrices. Des études RMN ont permis d'élucider la position des complexes au sein des micelles afin de rationaliser ce résultat. Le complexe utilisé, dans chaque cas, est en interaction avec la micelle. Selon la force de cette interaction les propriétés réceptrices sont augmentées ou inhibées, le choix de la composition des micelles est donc crucial.

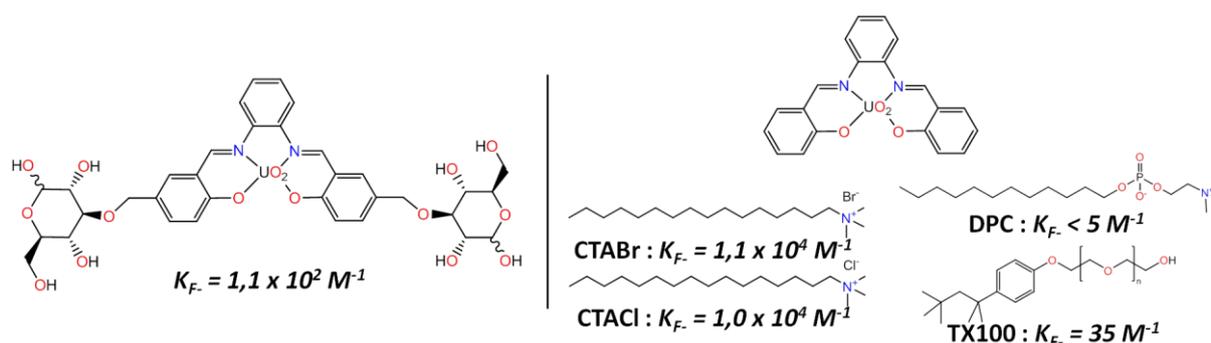


Figure 73 : Etude comparée de l'affinité de complexes uracyl-salophène pour les ions fluorures dans l'eau. A gauche, complexe hydrosoluble.⁴ A droite, complexe organosoluble encapsulé dans des micelles de différentes compositions.^{3,5}

Les systèmes reportés dans la littérature jusqu'à présent montrent donc que l'incorporation de récepteurs au sein de micelles est une approche qui permet, par effet de concentration locale, d'environnement hydrophobe et *via* diverses interactions avec les lipides, d'augmenter considérablement l'affinité du système envers divers invités, même extrêmement hydrophiles tels que des halogénures.

2. Conception des systèmes

L'étude des systèmes organosolubles Rim_3Zn et Rim_4Zn a montré que ces deux complexes sont de bons récepteurs d'anions dans l'acétonitrile. Ils présentent cependant des propriétés très différentes vis-à-vis des molécules neutres et de la réactivité. La présence d'un quatrième bras imidazole apparaît clé pour promouvoir la polyvalence du système c'est pourquoi dans la suite l'étude est centrée sur des systèmes comportant quatre bras.

Une étape cruciale pour augmenter le degré de biomimétisme des systèmes est de les transposer dans l'eau. Pour cela les deux stratégies développées dans la partie précédente sont envisagées. A savoir, en premier lieu, synthétiser un nouveau ligand comportant des unités pyridinium cationiques au lieu des chaînes pentyle utilisées jusqu'ici afin d'obtenir la solubilité dans l'eau tout en conservant l'environnement cavitaire et de coordination. Cette stratégie a déjà été employée avec succès avec Rim_3 afin de produire le système hydrosoluble $WRim_3$,⁶ il s'agit ici de la décliner au système Rim_4 pour obtenir le nouveau ligand $WRim_4$.

La seconde approche est d'introduire le système Rim₄ existant dans l'eau *via* son incorporation dans des micelles. Cette stratégie, réalisée dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe du Pr. Kristin Bartik à l'Université Libre de Bruxelles, s'inspire de travaux effectués sur des calixarènes dans ce même laboratoire et a été initiée lors de travaux de thèse précédents à l'Université Libre de Bruxelles.^{7,8}

De l'élaboration des systèmes à leur étude comparée, l'ensemble de ce chapitre traite de chimie dans l'eau, qui est fortement dépendante du pH. La RMN est en particulier utilisée comme outil d'analyse, la plupart des études a de fait été réalisée dans D₂O. Il est à noter qu'en termes de pH, H₂O et D₂O ne sont pas équivalents. Dans la suite deux notations sont utilisées : pH et pD qui correspondent aux valeurs mesurées avec une électrode de verre (calibrée de manière identique) dans H₂O et D₂O respectivement. Les valeurs de pD données tiennent compte de l'écart de 0,4 unités de pH à considérer entre les valeurs lues sur un pH-mètre et la valeur réelle, conformément à ce qui a été empiriquement reporté.^{9,10}

3. Synthèse du ligand WRim₄

La synthèse du ligand WRim₄ a été réalisée en 8 étapes selon des procédures reportées jusqu'à l'intermédiaire **W6** (Figure 74).^{6,11} Le macrocycle est formé dès la première étape par substitution électrophile aromatique du résorcinol **W1** par le 2,3-dihydrofurane **W2**. Le résorcin-[4]-arène **W3**, doté de chaînes propanol, est obtenu. La seconde étape permet de préparer la formation des bras par bromation des positions entre les phénols avec de la N-bromosuccinimide. Le dérivé tétrabromé **W4** obtenu est ensuite rigidifié par l'introduction de ponts méthylène entre les alcools. A partir de ce stade, la cavité en forme de « bol » est formée, comme reporté par *Gibb et al.*¹¹

Les alcools situés au niveau des pattes sont ensuite protégés avec du chlorure de triisopropylsilyle (TIPSCI), groupement protecteur résistant en conditions basiques et nucléophiles. Le cavitand silylé **W6** est obtenu, dernier intermédiaire commun avec la synthèse du premier système hydrosoluble WRim₃.⁶ Les quatre bras imidazole du ligand peuvent ensuite être incorporés en deux étapes, similaires à celles impliquées dans la synthèse du ligand organosoluble Rim₄. Tout d'abord, le dérivé tétrabromé est alkylé en présence de n-butyllithium avec du paraformaldéhyde pour former le tétraalcool **W7** avec un rendement de 45% puis le fragment imidazole est introduit par substitution nucléophile du dérivé chloré associé, le 2-chlorométhyl-1-méthyl-1H-imidazole, en présence d'hydrure de sodium. Le résorcinarène **W8** n'est pas purifié à ce stade mais engagé directement dans l'étape suivante.

Une fois les bras imidazole attachés, les fonctions alcool sont déprotégées en milieu acide, ici en utilisant de l'acide trifluoroacétique (TFA). Le brut réactionnel est mis en présence de résine échangeuse d'hydroxydes pour obtenir la forme basique et purifié sur colonne de silice, pour obtenir **W9** avec un rendement de 89% (sur deux étapes). Comportant quatre fonctions alcool, ce composé n'est plus soluble en milieu organique (tel que le dichlorométhane) mais n'est pas soluble dans l'eau pure sous sa forme neutre.¹²

Il est donc nécessaire d'introduire dans la structure des groupements plus hydrophiles. Des fragments chargés sont l'idéal, cependant il ne doit pas y avoir d'interférence entre ces fragments et

les propriétés réceptrices du système une fois complexé avec un cation métallique. Par cette raison, le choix a été porté sur des groupes cationiques de type pyridinium et l'étape finale de la synthèse a été adaptée des travaux de *Rebek et al.* sur l'étude de résorcinarènes à cavité profonde hydrosolubles ainsi que de la synthèse de WRim₃.^{6,13}

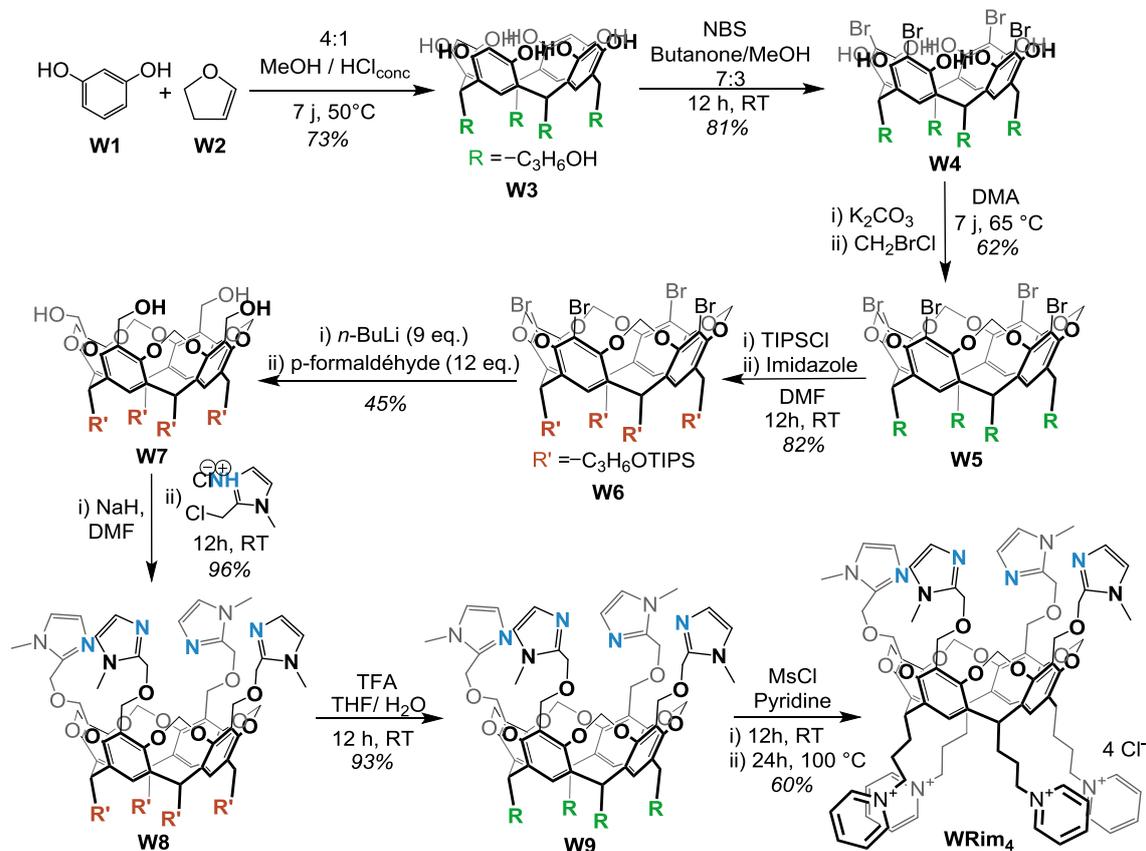


Figure 74 : Voie de synthèse du ligand hydrosoluble WRim₄.

Les fonctions alcool sont activées par substitution par du chlorure de mésyle dans la pyridine. Après une nuit à température ambiante, le milieu réactionnel est chauffé à 100 °C pour favoriser la substitution des groupes mésyles formés par la pyridine. Le ligand WRim₄, non soluble dans la pyridine, précipite et est obtenu par filtration sous forme de mésylate. Une résine échangeuse d'anions permet d'obtenir le ligand avec quatre ions chlorure. Cette étape est délicate car la substitution des groupements mésylates par des pyridines est en compétition avec la réaction de **W9** sur lui-même (les imidazoles sont nucléophiles) qui peut donner lieu à la formation d'agrégats difficilement séparables. Il importe donc de se placer dans des conditions de concentration suffisamment diluées pour éviter les produits de condensation et assez concentrées pour obtenir un rendement correct. Le ligand pur est obtenu avec un rendement de 60% sur cette étape, soit un rendement global de 8% sur les 8 étapes de synthèse. Le produit a été obtenu à l'échelle de la centaine de milligramme.

Le ligand WRim₄ est soluble dans les solvants de type alcool (méthanol, éthanol) et dans l'eau quelque soit le pH à des concentrations millimolaires. Il a été caractérisé par RMN, IR, UV-visible et spectrométrie de masse (Figure 75 et partie expérimentale). En collaboration avec le Dr. Aleksandar Visnjevac de l'Institut Ruder Boskovic à Zagreb en Croatie des études de cristallisation ont été

menées sur le ligand ainsi que le complexe zincique dérivé sur une large gamme de conditions de concentration et de pH, sans résultat. Tout comme le ligand organosoluble Rim₄ dont il est dérivé, WRim₄ est principalement étudié par RMN. Son spectre présente des pics fins et bien définis qui attestent de sa symétrie C_{4v}.

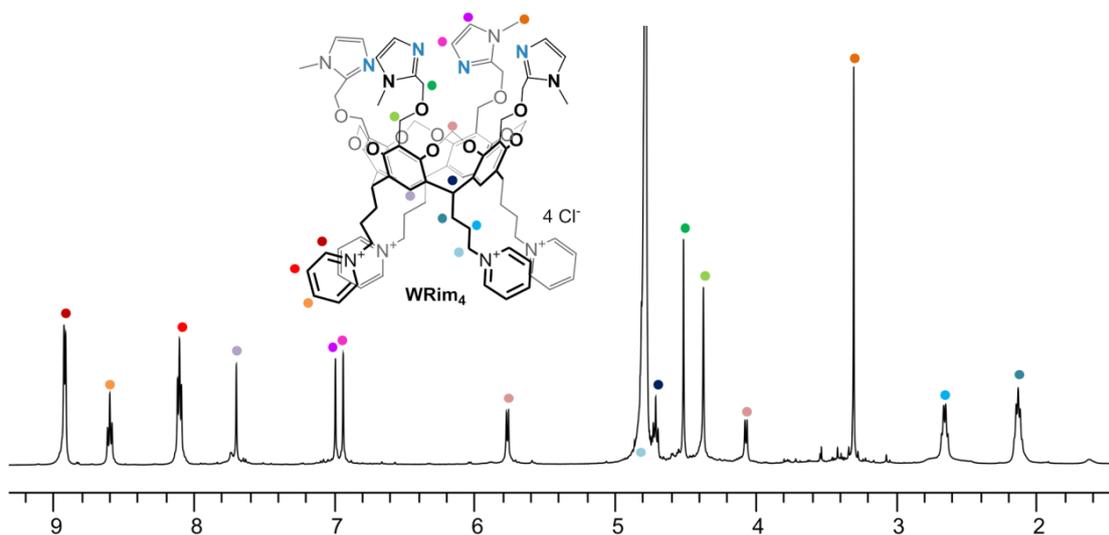


Figure 75 : Spectre RMN ¹H de WRim₄ (5 mM) à pD = 7 (500 MHz, 300 K, D₂O).

4. Incorporation dans des micelles – système MRim₄

Inspiration : complexe Zn-calix[6]arène

L'incorporation du système organosoluble Rim₄Zn dans des micelles est inspirée d'un travail effectué sur un ligand de type calix-[6]-arène (et le complexe de zinc associé) à l'Université Libre de Bruxelles (Figure 76).⁷ Des études RMN ont permis de montrer la stabilité des micelles formées sur une large gamme de pH ainsi que la position du récepteur vis-à-vis des lipides. Dans les conditions utilisées, le système calixarène est inclus dans le cœur hydrophobe des micelles avec un rapport calixarène/micelle de 1.

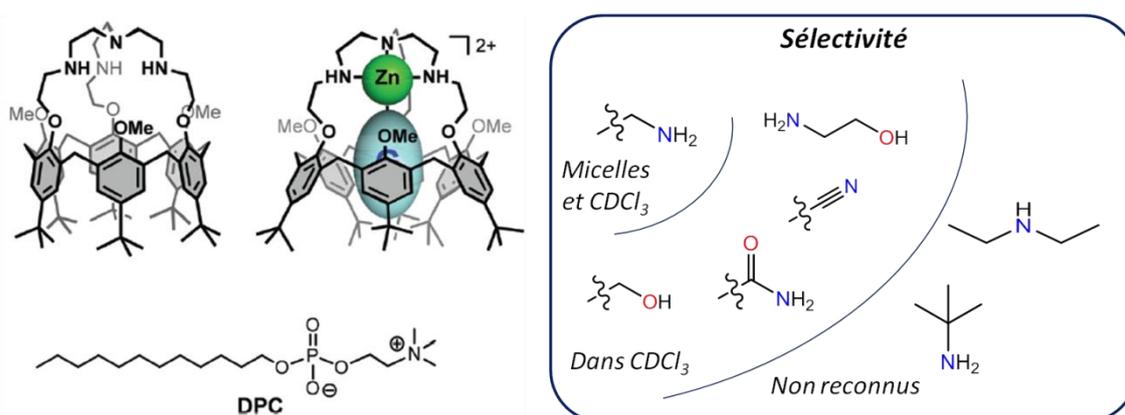


Figure 76 : Structure du calixarène et du complexe de zinc(II) associé qui ont été incorporés dans des micelles composées de dodécylphosphocholine (DPC), et différence de sélectivité entre le complexe micellaire ou non.

Il est à noter que l'inclusion ou non du ligand au sein de la micelle est corrélée au pH car le ligand présente une fonction tren basique. Il est avancé que l'incorporation est facilitée à pH acide car le ligand, sous forme protonée et chargée, entretient des interactions charge-charge favorables avec la fonction phosphate portée par le lipide utilisé, la dodécylphosphocholine (DPC). Le système Rim₄ comportant quant à lui quatre fonctions imidazole basiques, la question du pH d'inclusion est d'importance.

Les propriétés réceptrices du système micellaire obtenu ont été comparées à celle du système parent organosoluble (étudié dans le chloroforme, Figure 76).^{7,14} Le complexe de zinc(II) en milieu organique est un récepteur de molécules neutres comportant un groupement polaire coordonné au métal, typiquement des amines, alcools, amides ou nitriles. Dans l'eau, la sélectivité est altérée. Le complexe micellaire encapsule sélectivement les amines primaires dans l'eau, avec une affinité remarquable pour la propylamine de l'ordre de 10³ M⁻¹ et conserve ses propriétés réceptrices sur une large gamme de pH (de 3 à 11). Cette différence de sélectivité s'explique par le caractère hydrophile et peu coordinant des invités considérés, qui souffrent de la compétition avec l'eau.

Formation de MRim₄ et MRim₄Zn

L'élaboration du système Rim₄ inclus dans des micelles, dénommé MRim₄ (et du complexe zincique associé MRim₄Zn) a été effectuée en collaboration avec l'équipe EMNS (*Engineering of Molecular NanoSystems*) dirigée par le professeur Kristin Bartik à Bruxelles. Deux possibilités ont été envisagées : incorporer le ligand puis générer un complexe par addition de sel métallique *in situ* ou directement inclure le complexe Rim₄Zn dans des micelles (Figure 77). Dans les deux cas, le surfactant choisi est le DPC, qui possède un groupement phosphate et un ammonium ; il est donc globalement neutre et présente une concentration micellaire critique de 1,1 mM (indiquée par le fournisseur).

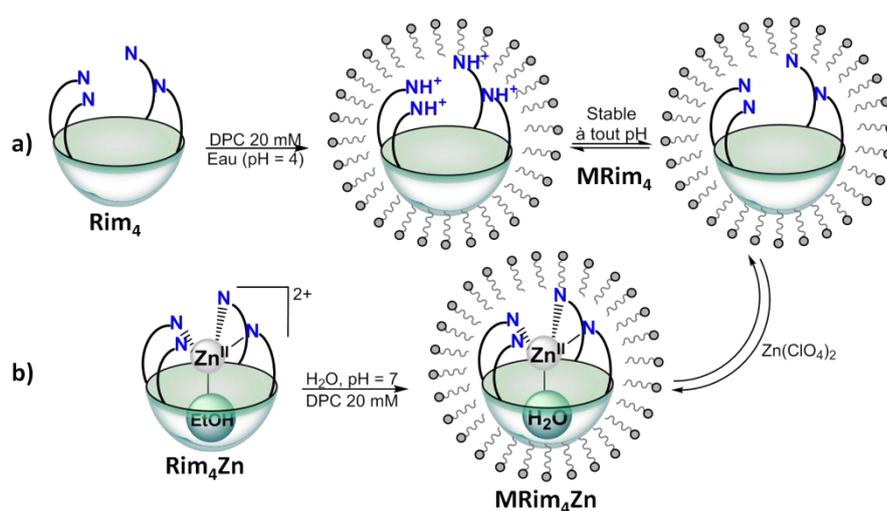


Figure 77 : Deux stratégies pour la formation de MRim₄Zn. a) Incorporation du ligand en milieu acide puis neutralisation et ajout de sel métallique ; b) Incorporation directe du complexe à pH = 7.

Le ligand Rim₄ est insoluble dans l'eau sous forme neutre et l'addition de DPC (20 mM) dans l'eau à une suspension de ligand ne conduit pas à la formation de MRim₄. Cependant, en se plaçant à pH

acide (4 ou inférieur), la suspension disparaît après quelques heures d'agitation à température ambiante. Un spectre RMN de la solution obtenue présente les signaux du résorcinarène, inclus dans les micelles (à hauteur de 0,5 mM). Une variation en pH de cette solution révèle qu'une fois qu'il y a eu incorporation, le système est stable sur toute la gamme de pH. Cela suggère que, tout comme c'était le cas pour le système calixarène, la tétraprotonation du ligand permet d'augmenter sa solubilité dans l'eau et facilite son entrée dans les micelles *via* des interactions stabilisantes avec les groupements phosphates anioniques des lipides qui les composent. Cependant, une fois le résorcinarène inclus, l'environnement hydrophobe offert par les chaînes dodécyle est suffisamment stabilisant pour que MRim₄ existe quel que soit l'état de protonation du ligand.

Le complexe Rim₄Zn(ClO₄)₂, étant doublement chargé, peut être directement incorporé à pH neutre dans les mêmes conditions de concentration (0,5 mM de complexe avec 20 mM de DPC) mais cela ne se fait pas à température ambiante ; il est nécessaire de chauffer à 50 °C pour former MRim₄Zn. De la même manière qu'avec MRim₄, une fois que l'incorporation a eu lieu elle est effective sur toute la gamme de pH.

5. Comparaison entre WRim₄ et MRim₄

Une première comparaison entre WRim₄ et MRim₄ peut être faite par observation des déplacements chimiques dans l'eau sur les spectres RMN proton (effectués dans les mêmes conditions de pH), comparés aux signaux observés pour le ligand Rim₄ en milieu organique (chloroforme)(Figure 78). Il y a dans tous les cas une symétrie C_{4v} des structures. Le spectre de MRim₄ présente des résonances plus larges dues à une dynamique différente au sein des micelles, mais dans l'ensemble reste similaire à celui de Rim₄ dans le chloroforme, ce qui montre l'hydrophobicité de l'environnement micellaire. Cet effet est particulièrement visible sur les signaux indiqués par des traits pointillés rouges sur la figure, vers 2 et 7 ppm qui correspondent respectivement à un CH₂ de la chaîne pentyle et à H_{Ar,down}. Cependant quelques signaux de MRim₄ sont plus proches de WRim₄, qui sont mis en évidence sur la figure par des points de couleur. Il est intéressant de constater que les protons correspondants sont ceux qui entourent la cavité et sont caractéristiques de l'environnement de coordination en présence de métal : les deux protons des imidazoles H_{Im,α} et H_{Im,β} (en fushia) vers 7 ppm et le pont méthylène (en rose pale) vers 5,7 ppm. Cette similarité peut être attribuée à la présence d'une molécule de solvant au sein de la cavité, dans les deux cas D₂O, par opposition à ce qui est observé pour le ligand Rim₄ en milieu organique.

Le système MRim₄ apparaît ici comme hybride entre Rim₄ et WRim₄, à pD = 7,4. Les deux ligands présentent quatre fonctions acido-basiques imidazoles, dans un second temps une étude comparative en fonction du pH est donc réalisée par RMN. La principale modification des spectres se situe au niveau des signaux des imidazoles H_{Im,α} et H_{Im,β}, qui se déplacent de 7,4 ppm à 6,8 ppm (Figure 79). Le déblindage observé à bas pH est caractéristique de la protonation des imidazoles. Un comportement similaire est observé pour les deux systèmes : les quatre imidazoles se protonent de manière non différenciée lors du passage de l'espèce tétraprotonée à l'espèce basique. Le suivi des déplacements chimiques, assimilé à la protonation d'une espèce simple, permet de calculer pour chaque système un pK_a moyen associé aux quatre résidus imidazole. Les valeurs obtenues sont de 5,74 pour WRim₄ et 6,34 pour MRim₄. Etant donné la différence d'environnement chimique, l'écart de 0,6 unités de pH est faible. Il est de plus surprenant que le pK_a moyen soit plus élevé dans les

micelles où l'environnement hydrophobe est *a priori* défavorable à la présence de charges et donc déstabilisant pour la forme acide. Ce résultat peut être expliqué par la présence de charges négatives sur le surfactant pouvant stabiliser l'espèce MRim₄ protonée ainsi que par le fait que WRim₄ est déjà intrinsèquement chargé quatre fois positivement ; la forme acide est chargée 8+.

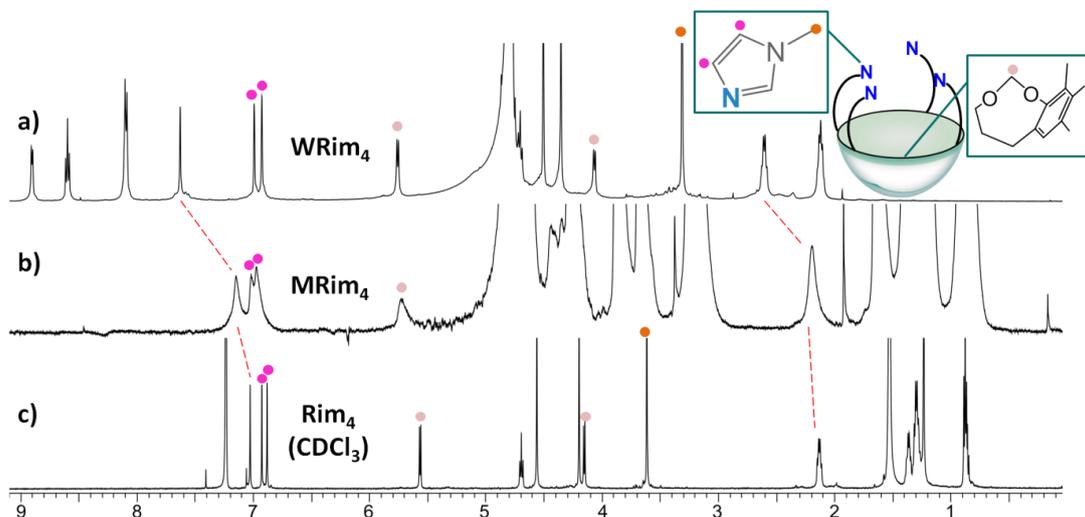


Figure 78 : Spectre RMN ¹H (a) 300 K, 500 MHz; b) et c) 298 K, 600 MHz). a) Ligand WRim₄ (4 mM), dans D₂O, pD = 7 ; b) MRim₄ (0,5 mM) dans D₂O, DPC 20 mM, pD = 7,4 ; c) Rim₄ dans CDCl₃.

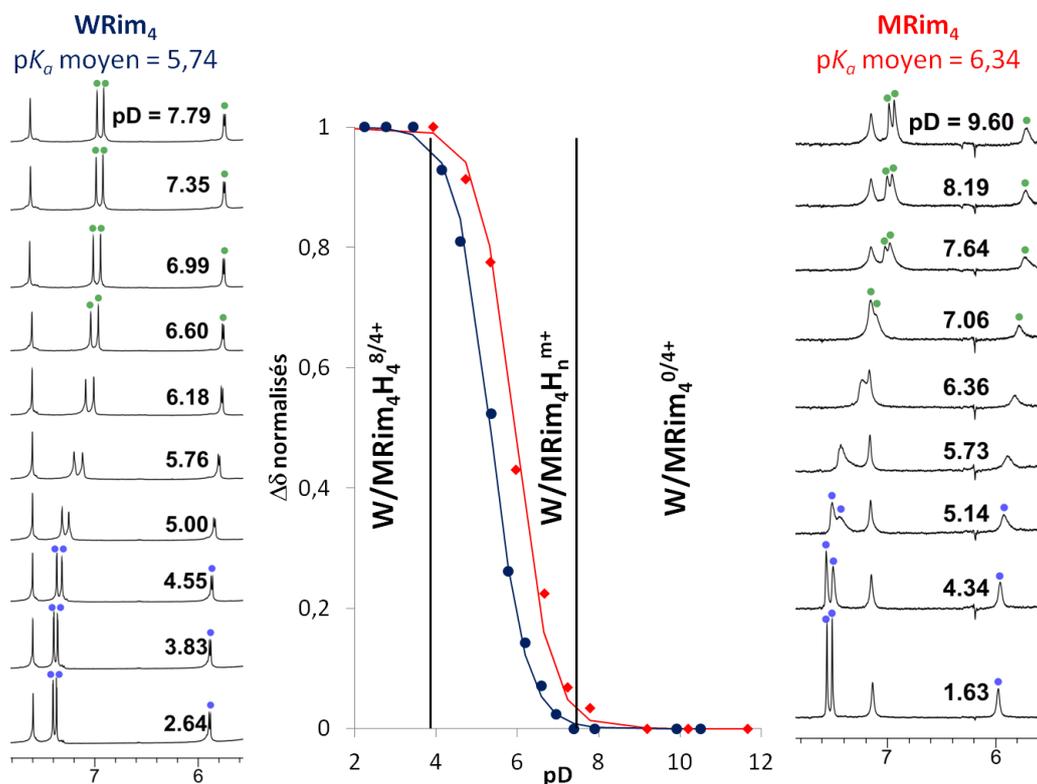


Figure 79 : RMN ¹H (D₂O) : étude par variation du pH de WRim₄ (4 mM) (à gauche, 300 K, 500 MHz) et MRim₄ (0,5 mM, DPC 20 mM) (à droite, 298 K, 600 MHz). Les résonances des protons imidazoles et du pont méthylène sont particulièrement affectées (points bleus : forme acide majoritaire ; points verts : forme basique majoritaire). Au centre, le suivi des

déplacements chimiques associés aux imidazoles (normalisés) en fonction du pD. Les frontières indiquées correspondent aux espèces bleue et verte majoritaires à 95%.

II. Complexation avec Zn(II) et Cu(II)

1. Formation des complexes de zinc(II)

Les ligands WRim₄ et MRim₄ ayant été obtenus, la question des propriétés de coordination se pose ensuite. Le système parent Rim₄ a principalement été développé avec du zinc(II), et c'est également ce métal qui a été sélectionné pour la comparaison des complexes Rim₄Zn, MRim₄Zn et WRim₄Zn.

Les données obtenues en milieu organique sont relatives au complexe [Rim₄ZnS](ClO₄)₂. MRim₄Zn a donc été élaboré en utilisant du perchlorate de zinc, soit par incorporation directe de [Rim₄ZnS](ClO₄)₂ dans du DPC soit par ajout d'un équivalent de Zn(ClO₄)₂ à MRim₄. Cependant, cela n'a pas été possible avec WRim₄ car à l'ajout de Zn(ClO₄)₂ une nouvelle espèce se forme immédiatement qui précipite dans l'eau. Il est probable que les ions perchlorates, associés au complexe WRim₄Zn, rigidifient la structure au point d'en limiter la solubilité dans tous les solvants testés (eau, méthanol, acétonitrile). Un sel de nitrate est donc utilisé en remplacement sans aucun problème de solubilité.

De plus, le ligand WRim₄ présente naturellement quatre fonctions pyridinium et est donc isolé sous forme de WRim₄Cl₄. Afin de vérifier que les ions chlorure présents ne sont pas interférents, un échantillon de WRim₄ est traité par une résine échangeuse de nitrates pour obtenir WRim₄(NO₃)₄. L'addition au ligand obtenu de nitrate de zinc a mené à un signal RMN rigoureusement identique à celui obtenu avec WRim₄Zn(NO₃)₂Cl₄, et ce quel que soit le pH considéré. Les ions chlorure ne sont donc pas coordonnés au zinc dans les conditions d'étude et dans toutes les études suivantes le complexe WRim₄Zn(NO₃)₂Cl₄ est utilisé, généré *in situ* par addition d'un équivalent de nitrate de zinc sur le ligand.

Pour les deux systèmes dans l'eau, la coordination affecte le spectre RMN de la même façon : comme en milieu organique, quatre signaux en particulier sont remarquables. Tout d'abord les deux pics correspondants aux protons portés par les imidazoles H_{Im,α} et H_{Im,β}, lieu de coordination du métal, sont éclatés. Ils se déplacent de 7,0 et 6,9 ppm à 7,2 et 6,7 ppm respectivement (indiqués en rose et violet, Figure 80). Le méthyle porté par les imidazoles est également affecté, il se déplace de 3,30 à 3,77 ppm lors de la formation de WRim₄Zn (en orange sur la figure). Ce signal est cependant masqué par les pics du DPC dans le cas de MRim₄ et n'est pas observé. Finalement, les deux doublets associés au pont méthylène (en rose pâle) sont aussi déplacés, de 0,1 ppm environ (5,7 à 5,6 ppm pour le plus déblindé). Les protons associés ne sont pas directement liés au cation métallique, leur déplacement s'explique par leur position par rapport à la cavité qui les rend particulièrement sensibles à la présence d'invités. Il est à noter que les signaux sont affectés de manière similaire par la complexation pour le système hydrosoluble et le système micellaire en termes de déplacement chimique et de décalage, ce qui suggère un environnement de coordination semblable dans les deux cas.

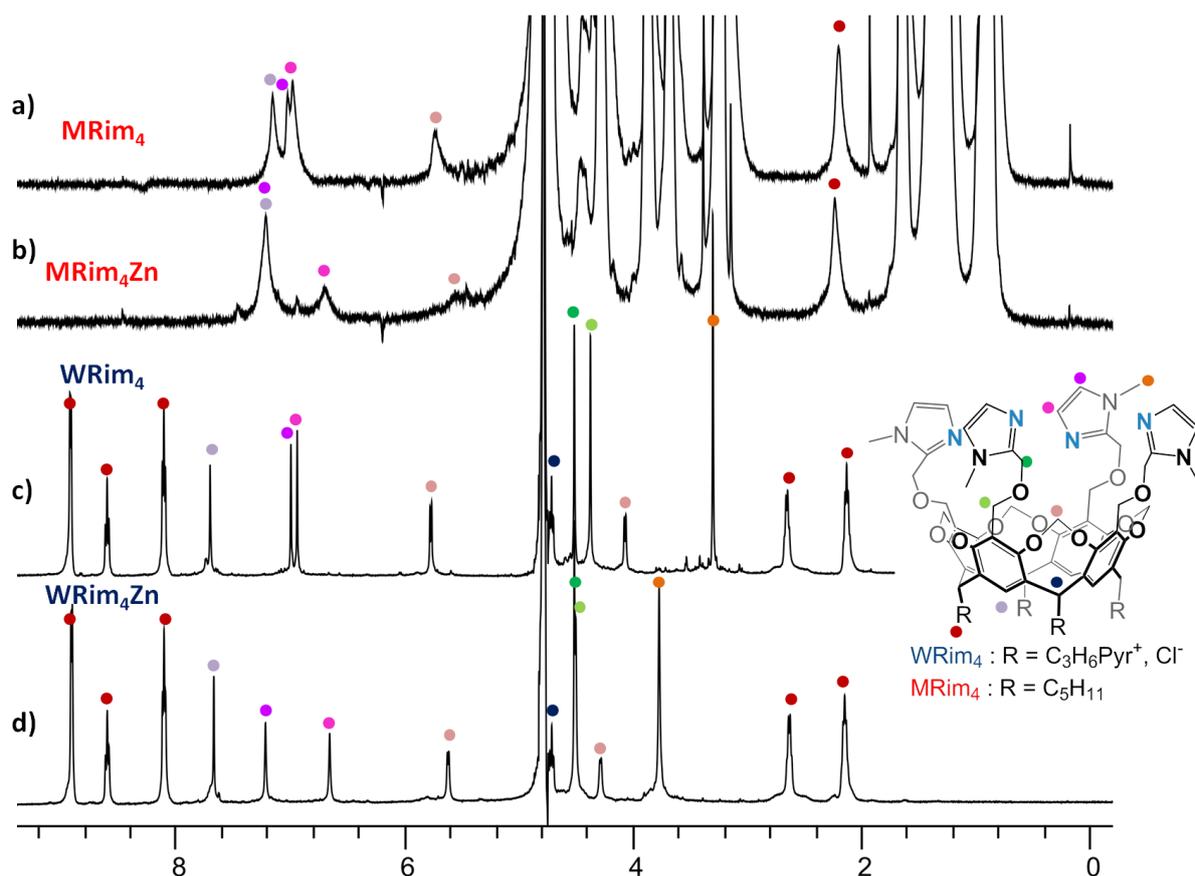


Figure 80 : Spectres RMN ^1H à pD = 7,4 dans D_2O . a) MRim_4 (0,5 mM, DPC 20 mM)(298 K, 600 MHz) ; b) MRim_4Zn (0,5 mM, DPC 20 mM)(298 K, 600 MHz) ; c) WRim_4 (3,5 mM) (300 K, 500 MHz) ; d) WRim_4Zn (3,5 mM) (300 K, 500 MHz).

Les deux complexes obtenus sont dans un premier temps étudiés par RMN afin de déterminer par une variation de pH leur domaine de stabilité (Figure 81). Le suivi des résonances associées aux imidazoles ($\text{H}_{\text{im},\alpha}$ et $\text{H}_{\text{im},\beta}$, désignées par des points), très sensibles à la fois à l'état de protonation et à la coordination, permet de visualiser les espèces en présence. Dans les deux cas la (dé)coordination se fait en échange lent part rapport à l'échelle de temps RMN. Le complexe de zinc(II) prédomine (> 50%) sur une plage de pH allant de 4,9 à 8,6 pour WRim_4 et de 5,6 à 9,8 pour MRim_4 , ce qui est cohérent avec l'écart de $\text{p}K_a$ constaté sur les deux ligands. En-dessous de ces limites, le ligand tétraprotoné se forme et libère Zn^{II} et au-dessus il y a formation d'hydroxyde de zinc(II) et le ligand est régénéré sous forme basique.

L'étude acido-basique de Rim_4 dans l'acétonitrile a permis de mettre en évidence l'hémilabilité d'un des bras et la possibilité qu'il agisse en tant que base intramoléculaire, comme illustré dans le chapitre 2. C'est donc ce qui est attendu également sur les systèmes dans l'eau. Le fait qu'il y ait un blindage des signaux à 7,3 et 6,6 ppm lorsque le pD varie de 5,30 à 7,20 dans le cas de WRim_4Zn suggère que le complexe peut exister sous deux états acido-basiques. Le même phénomène est visible avec MRim_4Zn sur les pics à 7,3 et 6,9 ppm qui sont blindés jusqu'à 7,1 et 6,7 ppm lorsque le pD varie de 5,72 à 7,59. Deux hypothèses peuvent expliquer cette variation. Soit, comme pour Rim_4Zn , le quatrième bras se protone de manière différenciée, mais avec un $\text{p}K_a$ trop proche de la fin de la zone de stabilité du complexe pour que cela soit visible. Soit les deux espèces sont issues de l'équilibre $\text{Zn}^{\text{II}}\text{-aqua}/\text{Zn}^{\text{II}}\text{-hydroxo}$. L'étude RMN seule ne permet pas de trancher entre ces deux

hypothèses. La différence entre les signaux des deux espèces est faible, pour plus de clarté dans la suite la notion de coordination au solvant sera utilisée qu'il s'agisse de complexe aqua ou hydroxo.

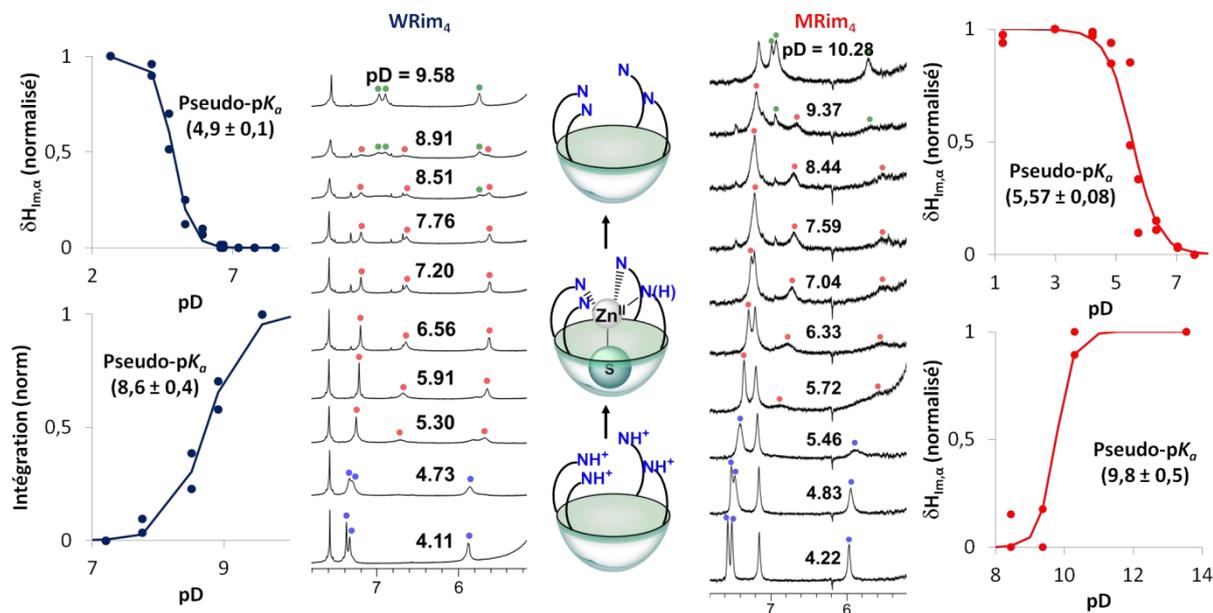


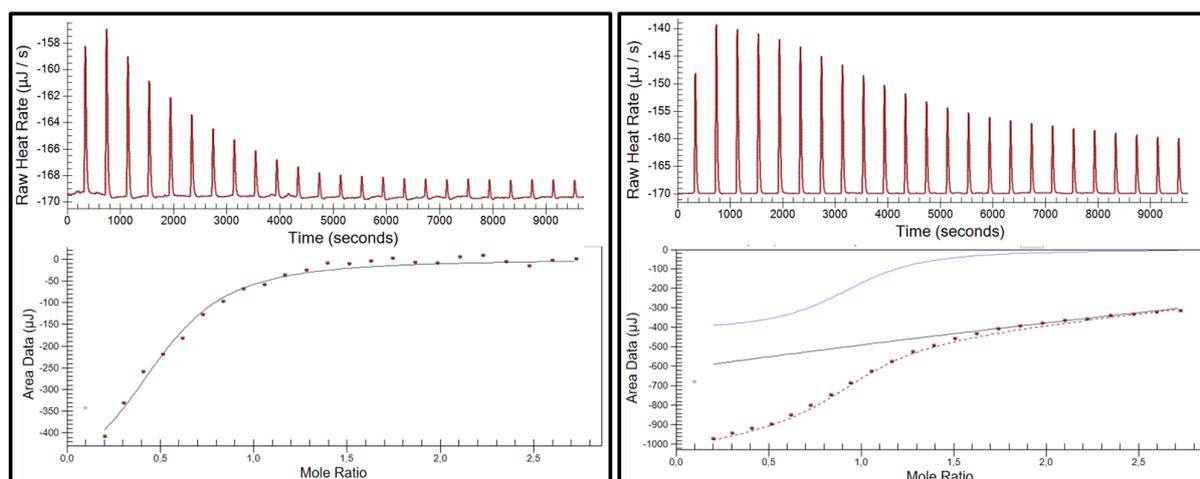
Figure 81 : RMN ^1H (D_2O) : étude par variation du pH de WRim_4Zn (2,5 mM, généré *in situ* par addition de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$) (à gauche, 300 K, 500 MHz) et MRim_4Zn (0,5 mM, DPC 20 mM) (à droite, 298 K, 600 MHz). Points bleus : ligand protoné ; points rouges : complexe ; points verts : ligand déprotoné.

Afin de pouvoir quantifier l'interaction métal/ligand, on utilise un tampon HEPES pour fixer le pH à 7, ce qui permet à la fois d'être dans le domaine de stabilité des deux complexes et de respecter l'aspect biomimétique des systèmes. L'étude de la complexation est faite par ITC. Les valeurs obtenues sont comparées à celles reportées pour Rim_4Zn dans l'acétonitrile (Figure 82).¹⁵ Les constantes de complexation sont dans l'eau de $2\text{-}3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, soit un ordre de grandeur de moins que dans l'acétonitrile pour Rim_4 ($K = 6 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$). Cela peut être expliqué par le fait que l'eau, meilleur ligand que l'acétonitrile, entre en compétition avec W/MRim₄.

En termes d'énergie, la composante enthalpique apparaît minoritaire dans l'eau (avec un écart d'environ 5 kJ/mol comparée à ΔS^0 à 298 K) et présente presque un ordre de grandeur de différence par rapport au complexe organique. Ceci est attribué à une solvataion plus importante dans l'eau des ligands et du cation métallique qui stabilise l'état décoordiné. L'écart entre les composantes entropiques mesurées est également considérable entre système organosoluble et aqueux : largement défavorable pour Rim_4Zn ($-100 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$), ce qui est attendu pour la formation d'un complexe, ΔS^0 est favorable pour les deux systèmes dans l'eau (environ $50 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$ dans les deux cas, soit environ 15 kJ/mol à 298 K). Une fois encore cela peut être expliqué par des effets de solvataion. En effet la coordination à W/MRim₄ libère les molécules d'eau liées au cation métallique ce qui est entropiquement favorable.

La comparaison entre les données thermodynamiques obtenues pour WRim_4 et MRim_4 est également frappante, car malgré un environnement d'une part polaire dissociant et d'autre part hydrophobe, les valeurs de K sont étonnamment proches. La contribution enthalpique est cependant

plus importante dans le cas de WRim₄ (-11 kJ/mol contre -8,5 kJ/mol pour MRim₄), ce qui peut être attribué à une stabilisation supplémentaire du ligand lorsqu'il se replie autour du cation métallique et multiplie les interactions hydrophobes en limitant le contact avec l'eau ; d'autre part la stabilisation entropique est un peu plus élevée dans les micelles (58 J.K⁻¹.mol⁻¹ contre 46 J.K⁻¹.mol⁻¹ pour WRim₄) ce qui indique une structuration interne par interaction entre le résorcinarène et les chaînes hydrophobes des lipides qui augmente la pré-organisation du système. Cependant ces effets sont peu importants et les valeurs mesurées montrent que les deux ligands ont une affinité et un comportement similaire envers le zinc(II), donnant lieu à des paramètres qui se recoupent en considérant les barres d'erreur.



Système	K (M ⁻¹)	ΔH^0 (kJ/mol)	ΔS^0 (J.K ⁻¹ .mol ⁻¹)	n	Solvant/contre-ion
Rim ₄	$(6 \pm 2) \times 10^5$	-70 ± 7	-100 ± 23	1,007	CH ₃ CN/ClO ₄ ⁻
MRim ₄	$(3 \pm 1) \times 10^4$	$-8,5 \pm 2$	58 ± 3	0,926	H ₂ O/ClO ₄ ⁻
WRim ₄	$(2 \pm 1) \times 10^4$	-11 ± 3	46 ± 12	0,968	H ₂ O/NO ₃ ⁻

Figure 82 : Détermination des constantes de complexation des systèmes étudiés à Zn^{II} par ITC. A gauche, dosage de WRim₄ (0,25 mM) par Zn(NO₃)₂ (5 mM) en milieu tamponné HEPES 100 mM pH = 6,92. A droite, dosage de MRim₄ (0,5 mM, DPC 20 mM) par Zn(ClO₄)₂ (5 mM) en milieu tamponné HEPES 50 mM pH = 6,99. Le tableau récapitule les données obtenues ainsi que celles reportées pour Rim₄Zn(ClO₄)₂ dans l'acétonitrile.¹⁵

2. Formation de WRim₄Cu^{II}

Caractérisation de WRim₄Cu^{II}

Dans le cadre de cette thèse, la formation de complexes de cuivre n'est étudiée qu'à partir du ligand hydrosoluble WRim₄ et, comme pour Zn^{II}, le complexe est généré *in situ* par addition d'un équivalent de sulfate de cuivre. Le complexe cuivrique a été caractérisé par UV-visible, RPE et ITC.

Le ligand présente en UV-visible une absorbance caractéristique due aux cycles aromatiques qui le composent. Cette signature est intense entre 200 et 350 nm avec des coefficients d'absorption molaire de plus de 10⁴ L.mol⁻¹.cm⁻¹ (Figure 83). Le spectre d'absorption ne varie pas selon le pH (de 1 à 12), ce qui suggère que la coordination ne l'affectera que peu. L'étude du complexe de cuivre(II) se concentre donc sur la bande issue de l'absorption *d-d* du métal, plus basse en énergie mais

également moins intense. Les conditions de concentration utilisées sont plus élevées que pour le ligand seul et la fenêtre d'observation est restreinte pour éviter la saturation.

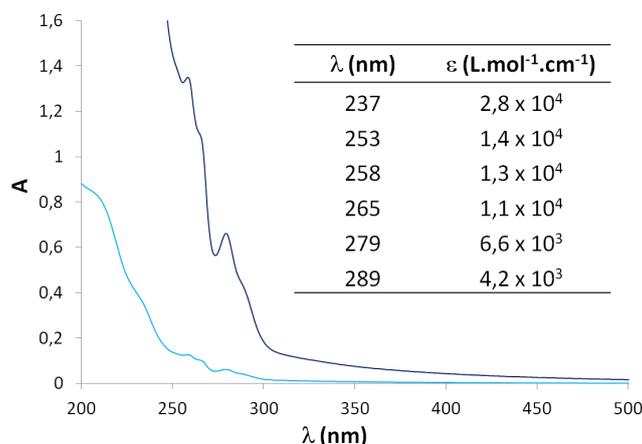


Figure 83 : Signature UV-visible de WRim₄ dans l'eau, à pH = 5. Bleu clair : 10 μM ; bleu foncé : 0,1 mM.

Le spectromètre utilisé ne permet pas de mesure au-delà de 800 nm, le complexe Cu(H₂O)₆²⁺, dont la bande d'absorption *d-d* est située autour de 850 nm, n'est donc pas observé. Cependant à l'addition d'un équivalent de sulfate de cuivre à WRim₄, une bande large apparaît entre 550 et 800 nm avec son maximum vers 650 nm, caractéristique de la formation du complexe WRim₄Cu. Cette bande disparaît à pH acide (en-dessous de 4,5). Au-delà de pH = 11, un précipité bleu se forme dans la cuvette indiquant la formation d'hydroxyde de cuivre et la régénération du ligand. Le complexe est donc stable sur une large gamme de pH : de 4,5 à 11 (Figure 84). Comme pour le complexe de zinc la protonation successive des quatre fonctions imidazoles n'est pas observée mais un seul phénomène apparaît. Le p*K_a* moyen correspondant est estimé à 6, ce qui est plus élevé que pour le complexe de zinc (p*K_a* moyen de 5,3) mais plus bas qu'un imidazole libre (p*K_a* = 7,0). Cela est cohérent avec l'acidité de Lewis relative des deux métaux. La courbe obtenue ne permet pas de déterminer si le changement d'absorbance provient seulement de la protonation des bras ou s'il y a formation d'un complexe hydroxo.

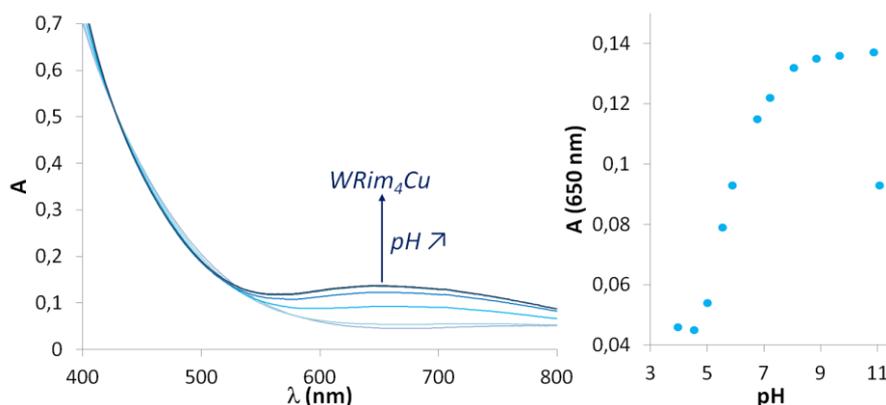


Figure 84 : Evolution du spectre UV-visible de WRim₄Cu (3 mM) en fonction du pH dans l'eau ; suivi de l'absorbance à 650 nm en fonction du pH.

Une caractérisation RPE du complexe à basse température est réalisée (Figure 85). Les paramètres obtenus sont similaires à ceux observés pour le système parent $[\text{Rim}_4\text{Cu}(\text{EtOH})](\text{ClO}_4)_2$ malgré la différence de milieu et suggèrent une organisation semblable autour de l'ion cuivre, pentacoordinée avec une géométrie pyramidale à base carrée.¹⁶ La première sphère de coordination est donc de type N_4O : quatre bras imidazole et une molécule de solvant, H_2O pour WRim_4Cu et dichlorométhane pour Rim_4Cu .

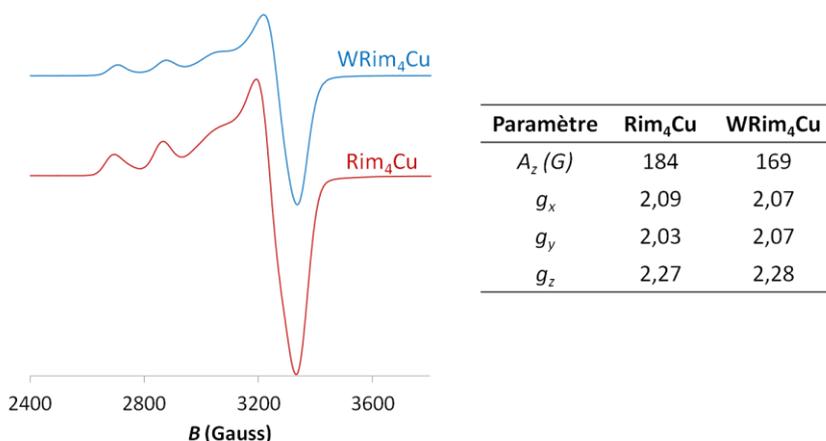


Figure 85 : RPE (bande X, 100 K, 9,5 GHz) de $[\text{WRim}_4\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_4\text{SO}_4$ (H_2O , pH = 6,3) et $[\text{Rim}_4\text{Cu}(\text{EtOH})](\text{ClO}_4)_2$ (solide dans DCM).¹²

L'affinité de WRim_4 pour le cuivre(II) est déterminée par ITC (Figure 86). La constante de complexation s'élève à $9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, soit presque un ordre de grandeur de plus qu'avec le zinc(II). Les contributions énergétiques sont très similaires à celles obtenues avec le zinc(II), avec une composante enthalpique plus marquée pour le cuivre (-15 kJ/mol contre -11 kJ/mol) qui dénote une interaction plus forte avec le ligand dans le cas du cuivre.

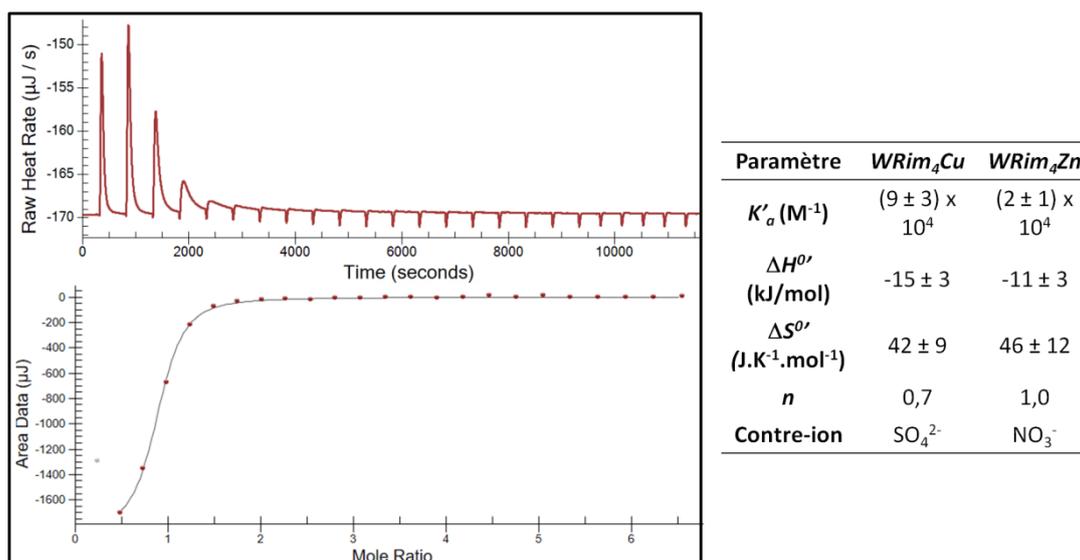


Figure 86 : Dosage par ITC de WRim_4 (0,6 mM) à CuSO_4 (12 mM) en milieu tamponné MES 100 mM pH = 5,97. Le tableau récapitule les données obtenues comparées au complexe WRim_4Zn précédemment étudié.

Etudes préliminaires hôte-invité

Le premier invité considéré est l'acétylacétone. En effet, sa complexation présente l'avantage de démontrer trois phénomènes distincts. D'une part, le fait que le complexe WRim₄Cu est un récepteur d'acétylacétone dans l'eau. De plus, cela illustre la présence de deux sites de coordination accessibles en *cis* car l'acétylacétone est bidente. Enfin, la coordination se faisant sous la forme acétylacétonate la formation d'un complexe [WRim₄Cu(acac)]⁵⁺ permet d'estimer l'abaissement de p*K*_a induit par l'effet conjoint du cation métallique et de la cavité.

La reconnaissance est suivie par RPE en fonction du pH (Figure 87). En-dessous de pH = 3,8, le ligand se protone et il y a décooordination partielle. Un mélange entre un complexe avec WRim₄ et le cuivre libre est observé. A l'opposé, au-delà de pH = 8,7 l'acétylacétone est présente sous forme déprotonée en solution (p*K*_a = 9) et la formation de Cu(acac)₂ est observée. Entre ces deux valeurs limites le signal RPE est constant et similaire au signal obtenu pour [WRim₄Cu(H₂O)]⁶⁺. Il semble donc qu'il n'y ait pas formation du complexe [WRim₄Cu(acac)]⁵⁺ dans l'eau. Cela suggère que le complexe formé avec WRim₄ est peu labile, chacun des quatre bras imidazole étant coordonné.

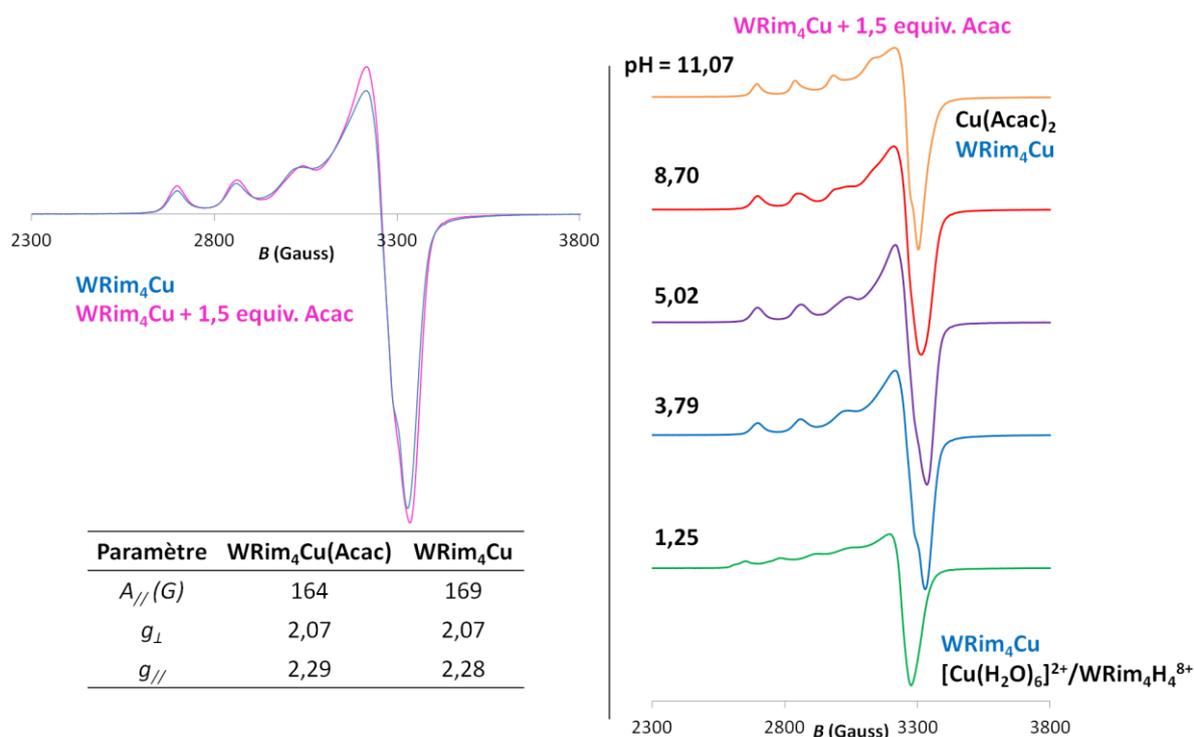


Figure 87 : Etude de WRim₄Cu (3 mM) avec 1,5 équivalents d'acétylacétone en fonction du pH (RPE, bande X, 100 K, 9,5 GHz). A gauche, comparaison (à pH = 5,95) avec WRim₄Cu (5 mM, pH = 5,44).

Un second type d'invités est considéré pour une étude par UV/visible. Le choix est porté sur une famille d'anions coordinants et omniprésents dans le vivant : les phosphates. Afin de favoriser les interactions avec le complexe WRim₄Cu les phosphates considérés sont des monoalkylphosphates à chaîne courte (Figure 88). Le résultat est le même pour les trois longueurs de chaîne utilisées (méthyle, éthyle et propyle). Lors de l'addition de phosphate, dès 0,2 équivalents, la bande correspondant à l'absorption *d-d* du cuivre(II) (λ_{\max} = 650 nm) diminue en intensité sans être

déplacée. De plus à partir de un équivalent ajouté il apparaît dans la cuvette un précipité indicateur de la formation de complexes Cu(phosphate). La présence de phosphates provoque donc la décooordination de WRim₄Cu.

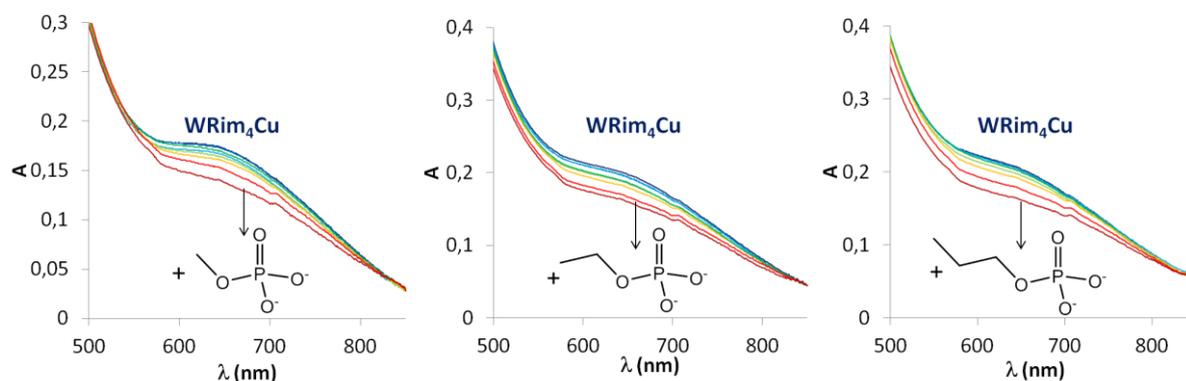


Figure 88 : Etude par UV/visible de l'interaction entre WRim₄Cu (3 mM) et, de gauche à droite, le monométhyl-, ethyl-, et propylphosphate de dicyclohexylammonium par addition de 0,2 à 20 équivalents du phosphate à pH = 7 dans l'eau (tampon MOPS 100 mM).

Le complexe Rim₄Cu ainsi que son dérivé WRim₄Cu présentent donc des caractéristiques semblables malgré la différence d'environnement. L'étude comparée de Rim₄Cu et Rim₄Zn a montré que leur sélectivité en tant que récepteur est semblable, cependant l'hémilabilité du quatrième bras imidazole n'a pas été mise en évidence dans le cas du complexe cuivrique.¹² Une étude préliminaire hôte-invité avec WRim₄Cu montre que dans l'eau les propriétés réceptrices du complexe sont originales par rapport à ce qui a été obtenu en milieu organique : malgré sa taille adaptée à la cavité, l'acétylacétone n'est pas reconnue. Cela est attribué à une coordination plus forte des imidazoles qui limite la disponibilité du site de coordination en *exo* par rapport au complexe zincique et empêche la coordination d'un invité bidenté tel que l'acétylacétone. Une analyse plus poussée permettrait de mieux comprendre les spécificités de WRim₄Cu par rapport à Rim₄Cu et au complexe zincique mais n'a pas été réalisée dans le cadre de cette thèse.

III. Etudes hôte-invité avec les complexes zinciques

1. Acétylacétone

Le premier invité considéré est l'acétylacétone. Ses groupements méthyle lui donnent une taille idéale pour être inclus dans la cavité, conformément à ce qui a été observé en milieu organique,¹⁵ et il s'agit d'un ligand bidenté qui permet de mettre en évidence les deux sites de coordination disponibles sur le zinc en *endo* et *exo*.

La complexation est étudiée dans un premier temps à pD 7,4. L'addition d'acétylacétone à MRim₄Zn (0,5 mM) comme WRim₄Zn (0,5 mM, 2 equiv. Zn^{II}) mène à la formation quantitative d'une nouvelle espèce dès 2 équivalents ajoutés (Figure 89). La nouvelle espèce est caractérisée par l'apparition d'un signal large blindé à -2,21 et -2,35 ppm (pour MRim₄Zn et WRim₄Zn respectivement)

et par un déplacement des signaux correspondants aux imidazoles et au pont méthylène (vers 7 et 5,5 ppm respectivement, indiqué en pointillés rouges sur la Figure 89). Ces changements sont caractéristiques de la coordination d'un invité inclus dans la cavité en échange lent par rapport à l'échelle de temps RMN et similaires à ceux observés en milieu organique lors de l'addition d'acétylacétone et de triéthylamine à Rim_4Zn . Il y a donc à pD = 7,4 déprotonation de l'acétylacétone par interaction avec Zn^{II} pour former un complexe 1:1 acétylacétonate@W/ MRim_4Zn , avec l'invité coordonné de manière bidente et un bras imidazole libre.

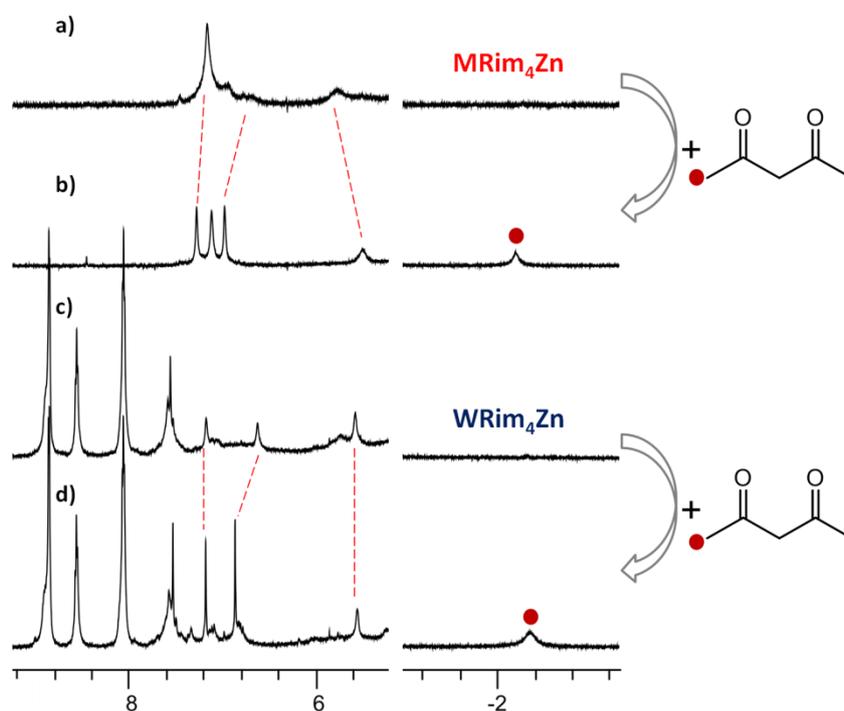


Figure 89 : Complexation de l'acétylacétonate dans D_2O (298 K, 600 MHz). a) MRim_4Zn (0,5 mM, DPC 20 mM) à pD = 7,4 (HEPES 50 mM) ; b) + 1,8 equiv. acétylacétone ; c) WRim_4Zn (0,5 mM, 2 equiv. Zn^{II}) à pD = 7,4 (HEPES 100 mM) ; d) + 5,4 equiv. acétylacétone.

La constante de complexation, supérieure à 10^4 M^{-1} pour les deux systèmes, n'a pas pu être déterminée par dosage RMN. Un dosage ITC a donc été réalisé dans les deux cas pour obtenir les valeurs des constantes d'affinité : $K = 3 \times 10^4$ et $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ à pH = 7 (pour MRim_4 et WRim_4 respectivement, Figure 90). La complexation est favorisée à la fois enthalpiquement et entropiquement, ce qui mène à une affinité considérable des systèmes pour cet invité dans l'eau. Les contributions énergétiques sont remarquablement proches pour les deux complexes malgré la différence d'environnement chimique.

Les deux systèmes sont donc capables de complexer l'acétylacétone dans l'eau à pD = 7,4 sous forme anionique, malgré un $\text{p}K_a$ de 9. Une étude de la stabilité des complexes formés en fonction du pH, estimée par intégration du signal associé à l'invité inclus vers -2,2 ppm, montre qu'ils sont stables sur une large gamme de pH (de 6 à 10) dans les conditions d'étude, avec un domaine de stabilité plus étendu de une unité pH dans le cas de micelles (Figure 91). A pD = 5,7, il n'y a plus que 50% de complexation. Cela peut être dû à la protonation de l'acétylacétonate ou à celle des bras imidazole

qui amène la décoordination du zinc. La complexation induit ici pour l'acétylacétone un ΔpK_a d'au moins 3 unités.

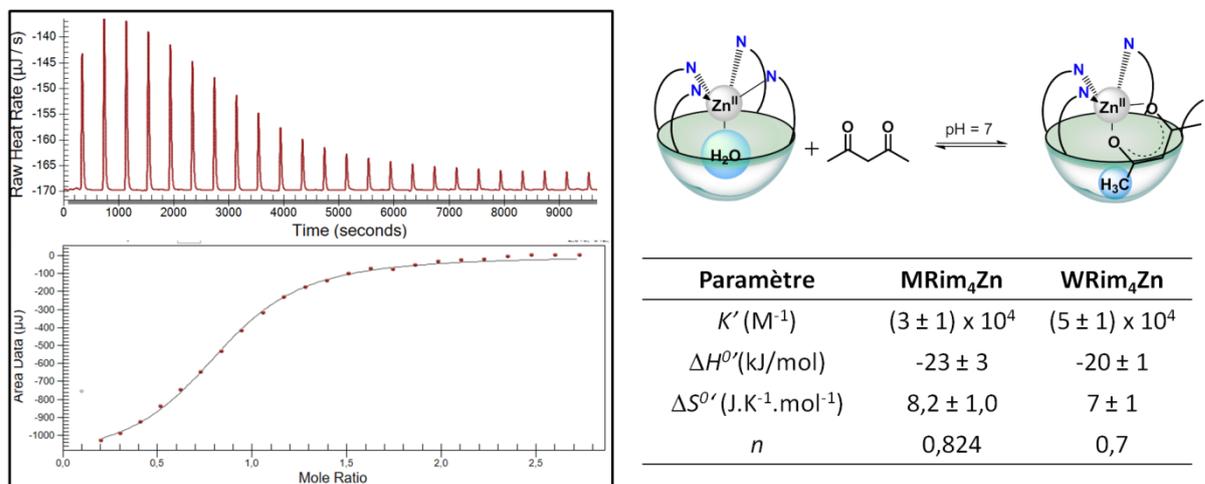


Figure 90 : Etude de la complexation de l'acétylacétone par les systèmes par ITC à pH = 7. A gauche, courbe obtenue par dosage d'acétylacétone (5 mM) par MRim₄Zn (0,5 mM, DPC 20 mM) à pH = 7 (tampon HEPES 50 mM).

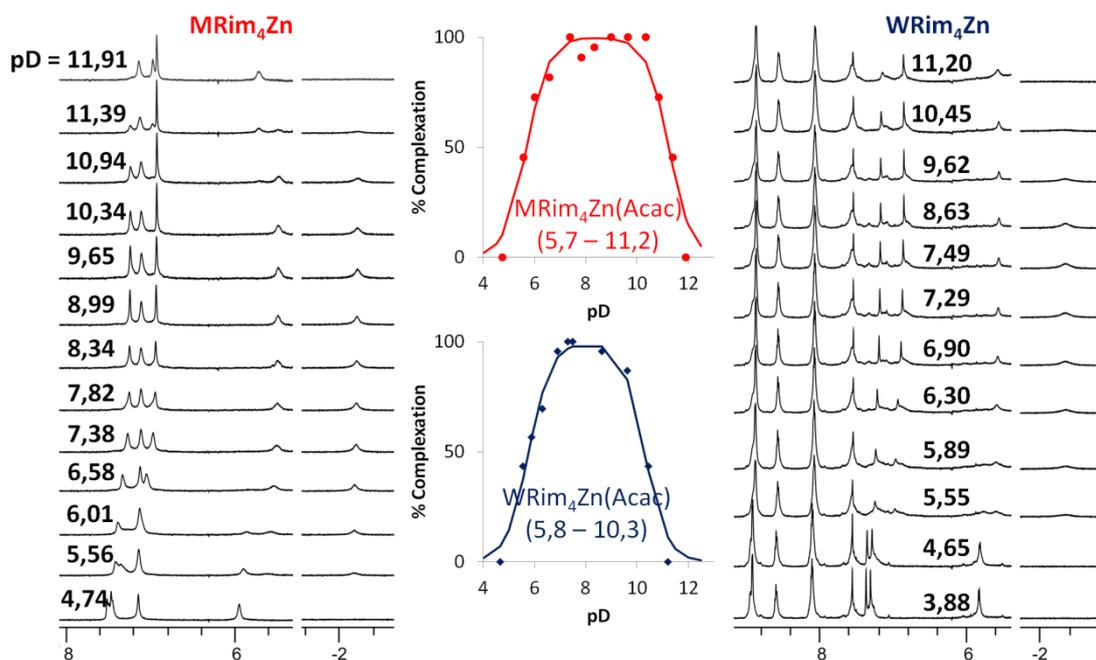


Figure 91 : Etude par RMN ¹H (D₂O, 298 K, 600 MHz) de la complexation de l'acétylacétone (1,5 équivalents) par MRim₄Zn (0,5 mM, DPC 20 mM, à gauche) et WRim₄Zn (0,5 mM, 2 equiv. Zn^{II}, à droite) en fonction du pH. Le taux de complexation (au centre) est obtenu par intégration des signaux à -2,2 ppm à chaque pH, et la plage de stabilité correspond à 50% de complexation.

Contrairement à ce qui est attendu au vu de la littérature, il y a donc une grande similarité entre WRim₄Zn et MRim₄Zn pour la reconnaissance de l'acétylacétone.

2. Carboxylates

Les deux systèmes organosolubles Rim₃Zn et Rim₄Zn ont une affinité particulière pour l'acétate, c'est donc un candidat de choix pour les dérivés hydrosolubles.^{12,17} L'utilisation de carboxylates avec différentes longueurs de chaînes permet d'apprécier la taille des molécules pouvant être admises à l'intérieur de la cavité. Le formiate, l'acétate et le propionate sont ici considérés à pH = 7.

L'addition de formiate (30 équivalents) ou de propionate (80 équivalents) à WRim₄Zn (0,5 mM) ne conduit à aucun changement de spectre RMN, et en particulier dans le cas du propionate aucun signal n'est observé à des ppm négatifs, ce qui montre qu'il n'y a pas d'inclusion en *endo*. Cela indique que la chaîne propyle est trop longue pour intégrer la cavité (comme cela a déjà été observé avec Rim₃Zn et WRim₃Zn) et que le formiate bénéficie dans l'eau d'un effet de solvatation qui limite son affinité pour le complexe. Si une interaction existe entre ces invités et le complexe WRim₄Zn elle est donc très faible ($K < 3 \text{ M}^{-1}$).

La situation est légèrement différente avec les micelles. En présence de propionate (52 équivalents), aucun signal intra-cavité n'est observé par RMN il n'y a donc, comme pour WRim₄Zn, pas d'inclusion en *endo* de ce carboxylate. Cependant les signaux correspondant au résorcinarène sont affectés, en particulier les imidazoles qui sont décalés jusqu'à 0,5 ppm et s'affinent (en rose, Figure 92) ce qui indique une interaction avec le complexe probablement en position *exo*, hors de la cavité.

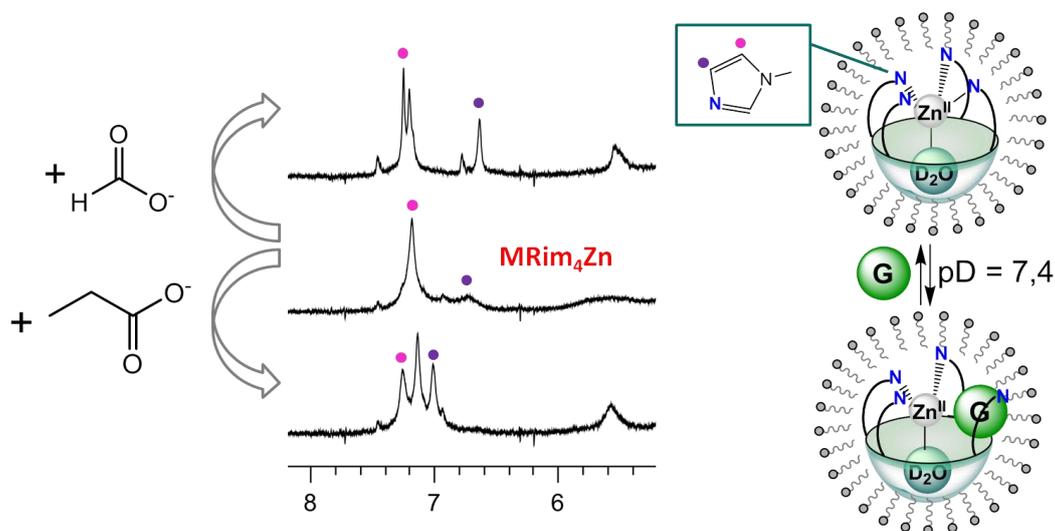


Figure 92 : Addition de carboxylates à MRim₄Zn (0,5 mM, DPC 20 mM, centre) à pD = 7,4 (tampon HEPES 50 mM) dans D₂O (298 K, 600 MHz). En haut : ajout de 65 equiv. formiate ; en bas : ajout de 52 equiv. propionate.

A l'addition de formiate (jusqu'à 65 équivalents), les signaux H_{Im, α} et H_{Im, β} sont également affectés ce qui montre la formation d'une nouvelle espèce. Il est difficile dans ce cas de vérifier la présence d'un pic intra-cavité en RMN car le tampon et le surfactant saturent cette partie du spectre mais la comparaison avec Rim₄Zn et la taille du formiate laissent à penser que l'interaction se fait avec MRim₄Zn également en position *endo*. Cette différence entre les deux systèmes peut s'expliquer par l'environnement auquel ils sont exposés. Dans les deux cas la reconnaissance en position *endo* est dirigée par la cavité qui est identique donc amène une sélectivité similaire. Cependant pour la

coordination en *exo* l'influence de l'environnement est plus importante ; pour WRim₄Zn la compétition avec l'eau est forte et la position *exo* est peu disponible. Dans le cas de MRim₄Zn cependant, le milieu hydrophobe de la micelle limite l'exposition au solvant et favorise la formation de complexes monocationiques ou neutres, la position *exo* est donc plus ouverte aux anions.

Le cas de l'acétate présente un intérêt supplémentaire car les études en milieu organiques ont montré qu'il a la taille adéquate pour la cavité. WRim₄Zn comme MRim₄Zn en sont de bons récepteurs à pD = 7,4 comme le confirme l'apparition de signaux blindés à -2,30 et -2,27 ppm (pour avec WRim₄Zn et MRim₄Zn respectivement) sur le spectre RMN à l'addition d'acétate sur les complexes. Cependant les spectres obtenus par addition successive d'acétate à chaque système montrent clairement qu'il n'y pas formation d'un seul complexe à l'addition d'acétate mais de deux, l'un étant caractérisé par des résonances fines au niveau des aromatiques ainsi qu'à haut champ (indiqué en violet) et l'autre présentant des signaux plus larges, en particulier intracavité (indiqué en rose)(Figure 93).

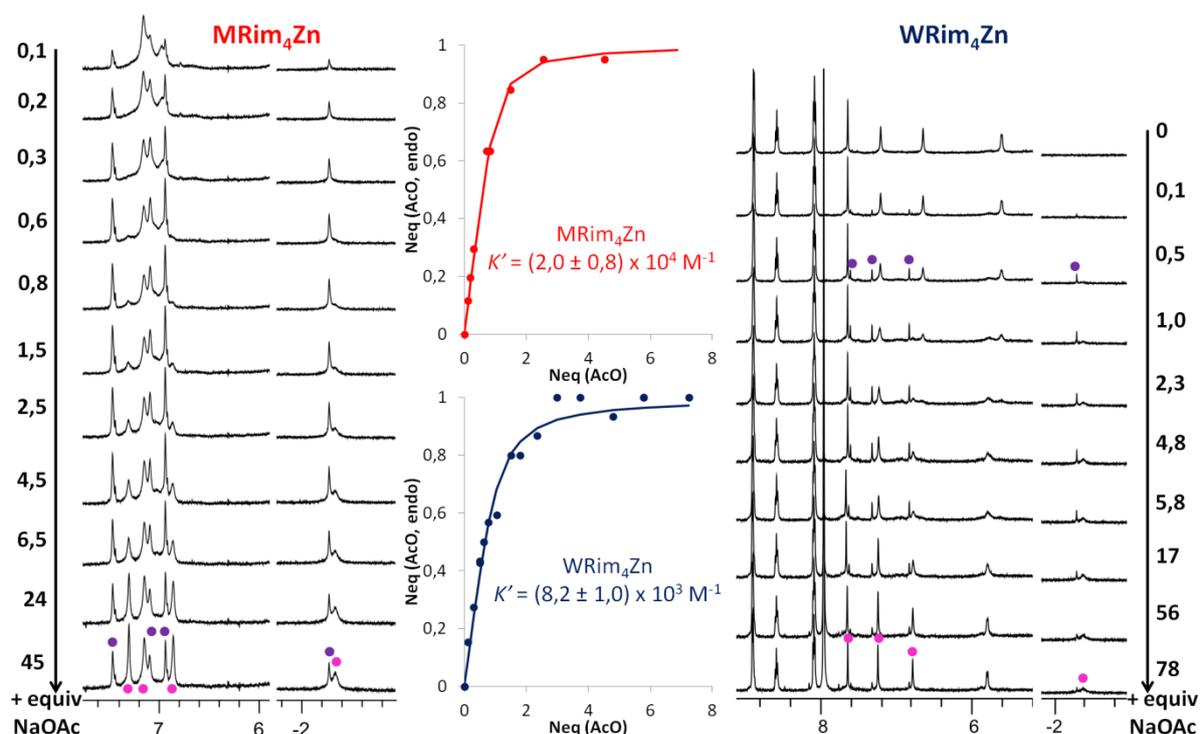


Figure 93: Dosage par RMN ¹H (D₂O) de détermination de l'affinité des deux systèmes pour l'acétate à pD = 7,4 (tampon HEPES 50 mM (micelles)/100 mM (WRim₄)). A gauche : dans les micelles (MRim₄Zn 0,5 mM, DPC 20 mM, 298 K, 600 MHz) ajout de 0,1 à 45 equiv. NaOAc. A droite : ajout de 0 à 78 equiv. de NaOAc à WRim₄Zn (0,7 mM, 300 K, 500 MHz). Deux espèces (rose et violette) sont formées au cours du dosage.

L'apparition de plusieurs espèces n'est pas inattendue car elle correspond à des phénomènes déjà connus avec Rim₃Zn et Rim₄Zn. En effet, en milieu organique lors de l'addition d'acétate sur Rim_{3/4}Zn le complexe monoacétate se forme en présence d'un excès de carboxylate le complexe bisacétate a également été observé. De plus, en présence de protons ou d'un excès d'eau d'autres espèces peuvent apparaître, comme lors de l'addition d'acide acétique sur Rim₄Zn dans l'acétonitrile. Dans ce cas deux signaux intracavité distincts sont obtenus (cf chapitre 2) qui correspondent à

plusieurs complexes acétate. Un proton est libéré lors de la complexation, qui peut être soit capté par le milieu soit retenu sur le bras hémilabile. Cela donne lieu à deux espèces liées par un équilibre acido-basique. De plus, lorsque le bras hémilabile n'est pas coordonné, un second site en *exo* est disponible, qui peut être occupé par une molécule de solvant (acétonitrile ou eau). La présence d'une molécule d'eau coordonnée en *exo* se caractérise en RMN par l'émergence de signaux différents de ceux de $[\text{Rim}_4\text{Zn}(\text{OAc})]^+$. En milieu aqueux, les mêmes phénomènes sont attendus à une différence près : l'acidité du milieu n'est plus déterminée par l'état de protonation de l'invité ajouté mais par le pH. Pour vérifier l'origine du dédoublement d'espèces, deux paramètres peuvent être variés : la quantité d'acétate en présence (ce qui est fait lors d'un dosage Figure 93) et l'acidité du milieu par un balayage en pH (Figure 95).

Il s'agit dans un premier temps d'identifier les complexes monoacétate $[\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{OAc})]^{5+}$ et $[\text{MRim}_4\text{Zn}(\text{OAc})]^+$. Pour éviter la présence d'espèces protonées le pD est fixé à 7,4. De plus, afin de limiter la formation de complexes bisacétate un excès de zinc(II) (3 équivalents) est utilisé. Dans les micelles comme avec WRim_4Zn , un seul complexe est obtenu dans ces conditions (Figure 94). Il correspond aux résonances précédemment indiquées en violet, qui sont donc associées aux complexes monocationiques $[\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{OAc})]^{5+}$ et $[\text{MRim}_4\text{Zn}(\text{OAc})]^+$.

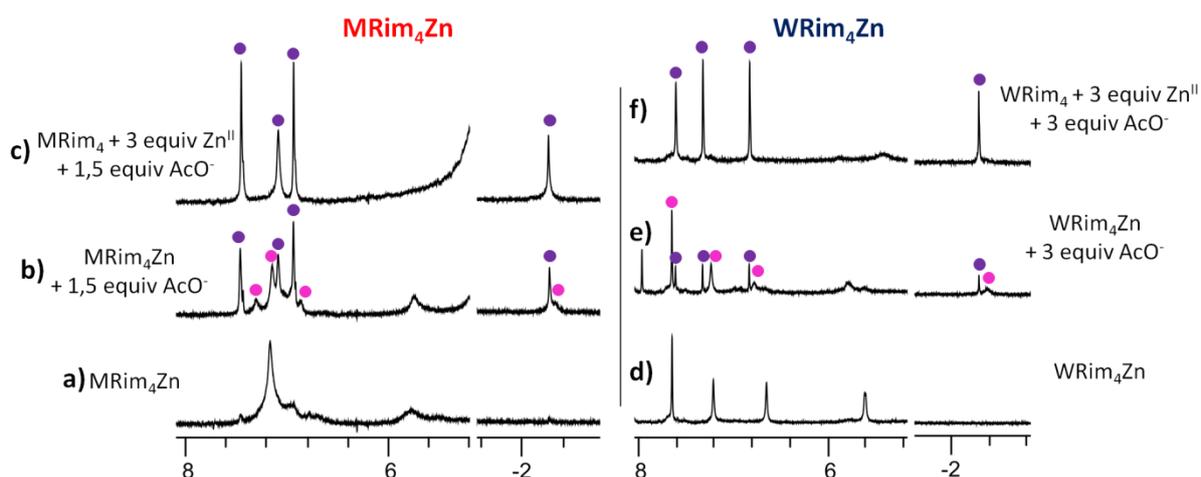


Figure 94 : Formation des complexes $[\text{MRim}_4\text{Zn}(\text{OAc})]^+$ et $[\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{OAc})]^{5+}$ dans l'eau autour de pD = 7,4 suivie par RMN ^1H (D_2O). a) MRim_4Zn (0,5 mM, DPC 20 mM) à pD = 7,4 (298 K, 600 MHz) ; b) MRim_4Zn (0,5 mM, DPC 20 mM) avec 1,5 equiv. NaOAc , pD = 7,0 (298 K, 600 MHz) ; c) MRim_4 (0,5 mM, DPC 20 mM) avec 3 equiv. de perchlorate de zinc et 1,5 equiv. de NaOAc , pD = 7,4 (298 K, 600 MHz) ; d) WRim_4Zn (1 mM) à pD = 7,2 (300 K, 500 MHz) ; e) WRim_4Zn (1 mM) avec 3 equiv. NaOAc à pD = 7,2 (300 K, 500 MHz) ; f) WRim_4 (1 mM) avec 3 equiv. NaOAc et 3 equiv. nitrate de zinc(II) à pD = 7,3 (300 K, 500 MHz).

La formation de complexes bisacétate est vérifiée par dosage par addition d'acétate suivi par RMN. Les résultats présentés sur la Figure 93 révèlent la formation de deux espèces distinctes (en violet et rose) lors de l'addition d'acétate sur les complexes. De plus, il est clair pour les deux systèmes que la quantité relative de ces deux espèces évolue au cours du dosage et ne correspond pas à un équilibre acido-basique car le pH est maintenu constant par un tampon. L'équilibre semble plutôt dépendre de la quantité de carboxylate en présence, avec formation majoritaire de l'espèce violette (complexe monoacétate) initialement qui est ensuite remplacée par l'espèce rose à mesure

que la quantité d'acétate augmente. Cette observation permet de supposer que l'espèce rose comme étant les complexes bis-acétate $[\text{MRim}_4\text{Zn}(\text{OAc})_2]$ et $[\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{OAc})_2]^{4+}$. L'intégration des signaux correspondants à chaque espèce ($\text{H}_{\text{Im},\alpha}$ ou $\text{H}_{\text{Im},\beta}$) permet d'obtenir les concentrations au cours du dosage. Cependant les données n'ont pas pu être analysées avec un modèle associé à la formation successive de complexe 1:1 puis 1:2. Cela montre que l'interprétation proposée était incomplète.

Une deuxième hypothèse est que plusieurs espèces correspondent aux signaux larges observés à haut champ (pointés en rose). Plus précisément, il pourrait s'agir d'espèces comportant un acétate en position *endo* et un ligand en position *exo* (acétate ou solvant). Cela expliquerait la difficulté à obtenir une modélisation des données sans tenir compte de tous complexes présents. Afin de quantifier l'affinité des deux systèmes pour l'acétate et pour des raisons de comparaison, c'est une constante de complexation apparente, K' , qui a été calculée. Cette constante correspond à l'affinité en considérant la position *endo* uniquement, c'est-à-dire par intégration de la totalité des signaux observés à haut champ en fonction de la quantité d'acétate en présence. Par dosage RMN, les valeurs obtenues sont $K' = (8,2 \pm 1,0) \times 10^3 / (2,0 \pm 0,8) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ à pD = 7,4 (pour $\text{WRim}_4/\text{MRim}_4$, Figure 93).

Ces valeurs sont proches. Le comportement des deux systèmes vis-à-vis de l'acétate est donc similaire, cela contraste avec les différences observées pour les autres carboxylates étudiés. L'importance de la cavité pour la sélectivité et l'affinité envers des invités est particulièrement mise en évidence grâce à cet exemple : l'acétate, stériquement adapté à la cavité, est ainsi reconnu presque indifféremment par MRim_4Zn et WRim_4Zn malgré un environnement hydrophobe d'une part et hydrophile de l'autre.

Reste à étudier l'influence du pH sur la reconnaissance. Les constantes d'affinité à pH autre que 7,4 n'ont pas été déterminées mais l'existence ou non d'espèces avec un bras hémilabile protoné est investiguée par variation du pH sur les complexes acétate (Figure 95). En particulier pour WRim_4Zn , le complexe est généré *in situ* par addition d'un excès (3 équivalents) de nitrate de zinc afin de limiter la formation de complexe bisacétate. Les deux systèmes montrent la même évolution, ici la discussion est menée pour WRim_4Zn mais est également valable pour MRim_4Zn . L'évolution est particulièrement visible à haut champ. A pH acide le ligand est totalement protoné et le zinc(II) est décoordiné. Lorsque le complexe zincique est formé, vers un pD de 5,5, un pic large à haut champ apparaît. A mesure que le pH augmente, un pic fin apparaît au même endroit, grandit et remplace le pic large initial. Enfin au-delà de pD = 10 il y a formation d'hydroxyde de zinc(II) et le ligand libre est obtenu. Chacune de ces espèces est également identifiée par une série de trois signaux aromatiques caractéristiques (correspondant aux protons $\text{H}_{\text{Im},\alpha}$, $\text{H}_{\text{Im},\beta}$ et $\text{H}_{\text{Ar,down}}$). Deux complexes acétate sont donc en équilibre acido-basique pour chaque système, représentés en orange (forme acide) et violet (forme basique) sur la figure.

L'intégration des signaux à haut champ permet de montrer que les deux systèmes sont des récepteurs d'acétate sur une large gamme de pD (Figure 96), avec une plage optimale (complexation à plus de 50%) entre 5,7 et 9,8 (5,5 et 10,5 pour MRim_4). Les espèces orange et violette sont soumis à un équilibre caractérisé par un $\text{p}K_a$ estimé à 6 (7 pour MRim_4) qui correspond à ce qui est attendu pour la protonation d'un imidazole hémilabile.

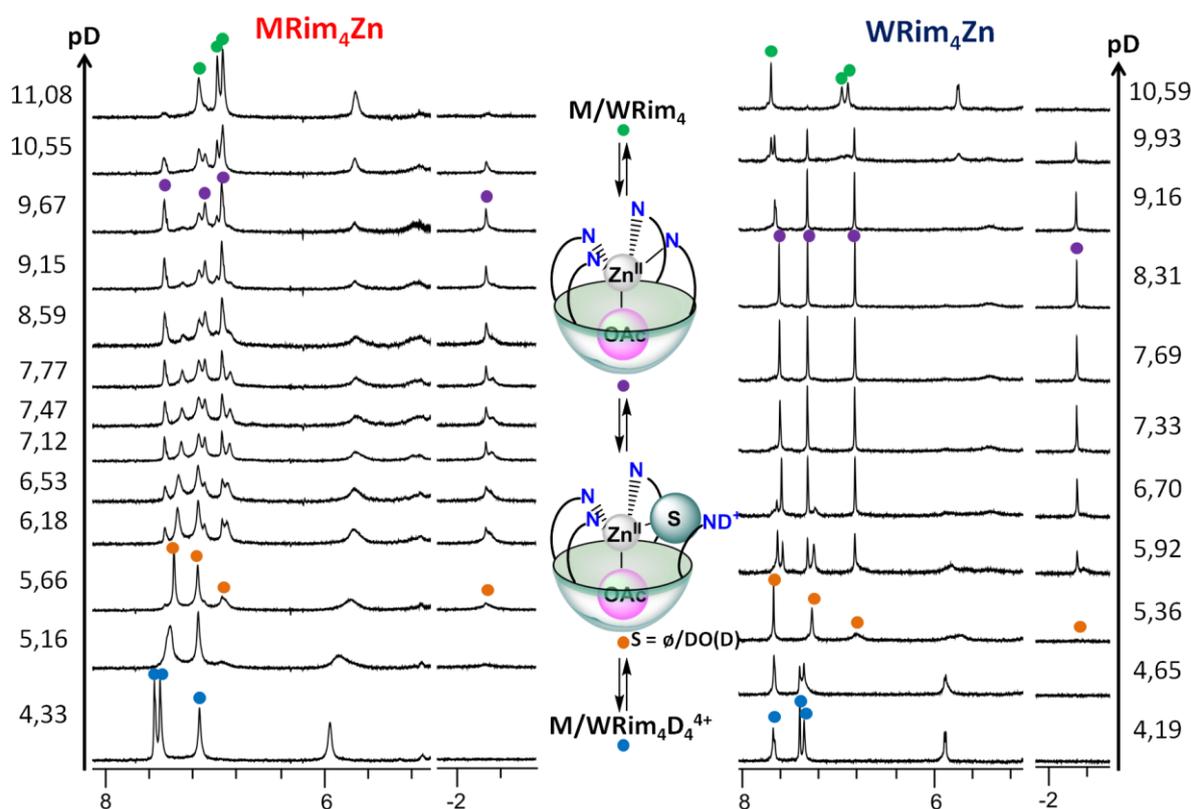


Figure 95 : Etude en fonction du pH des complexes acétate (RMN ^1H , D_2O). A gauche : MRim_4Zn (0,5 mM, DPC 20 mM) avec 5 equiv. NaOAc (298 K, 600 MHz). A droite, WRim_4 (1 mM) avec un excès de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ (3 mM) et 3 equiv NaOAc (300 K, 500 MHz). Le pH est adapté avec des solutions 0,1 M de NaOH et HNO_3 .

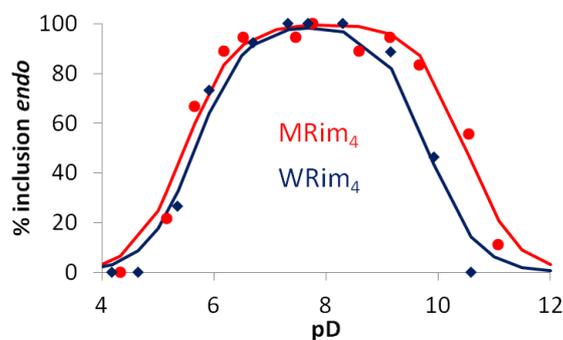


Figure 96 : Complexation (en position *endo*) de l'acétate par WRim_4Zn et MRim_4Zn en fonction de pD déterminée par intégration des signaux à haut champ (vers -2 ppm) obtenus lors de l'étude présentée en Figure 95.

Il est à noter que les vitesses d'échange entre le ligand libre et les différents complexes (aqua/hydroxo et acétate) sont différentes selon que le pH soit acide ou basique. L'espèce protonée $[\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{OAc})\text{H}]^{6+}$, lorsqu'elle est la seule forme de complexe acétate en solution, est associée à un pic large intracavité dont l'intégration montre qu'il reste du complexe zincique libre. La présence de trois signaux aromatiques seulement montre que ces deux complexes (indiqués en orange) sont en échange rapide par rapport à l'échelle de temps RMN. Cependant les différents complexes acétate et le ligand libre WRim_4 sont en échange plus lent, et la coexistence de ces espèces se manifeste par la présence d'un jeu de signaux pour chaque complexe en RMN (identifiés en orange, violet et vert).

En résumé, les deux systèmes sont d'excellents récepteurs d'acétate grâce à la cavité du macrocycle, avec une affinité de l'ordre de 10^4 M^{-1} , remarquable dans l'eau. La reconnaissance est possible sur une large gamme de pH (de 5,5 à 10), plus étendue dans le cas des micelles (de 5,5 à 10,5). L'inclusion peut être facilement suivie par RMN grâce à la présence d'un signal blindé dans la cavité. La modularité des systèmes fait que des équilibres existent qui donnent naissance à plusieurs complexes comportant un acétate en position *endo* (Figure 97). Comme pour l'acétylacétone, on constate une grande similarité entre les deux systèmes en termes d'affinité, de sélectivité, de stabilité et de comportement vis-à-vis du pH. Cependant cela est seulement vrai pour la coordination d'invités en *endo*. Celle-ci est associée à la cavité, qui est identique dans les deux systèmes. La position *exo* est en revanche plus dépendante de l'environnement. Ainsi le cas du propionate montre que la formation d'un complexe comportant le carboxylate en position *exo* n'est pas observée avec WRim₄Zn quand la formation d'une entité moins chargée est favorisée avec MRim₄Zn. La position *exo* est alors plus accessible, d'autant que la compétition avec le solvant est moins sensible dans les micelles.

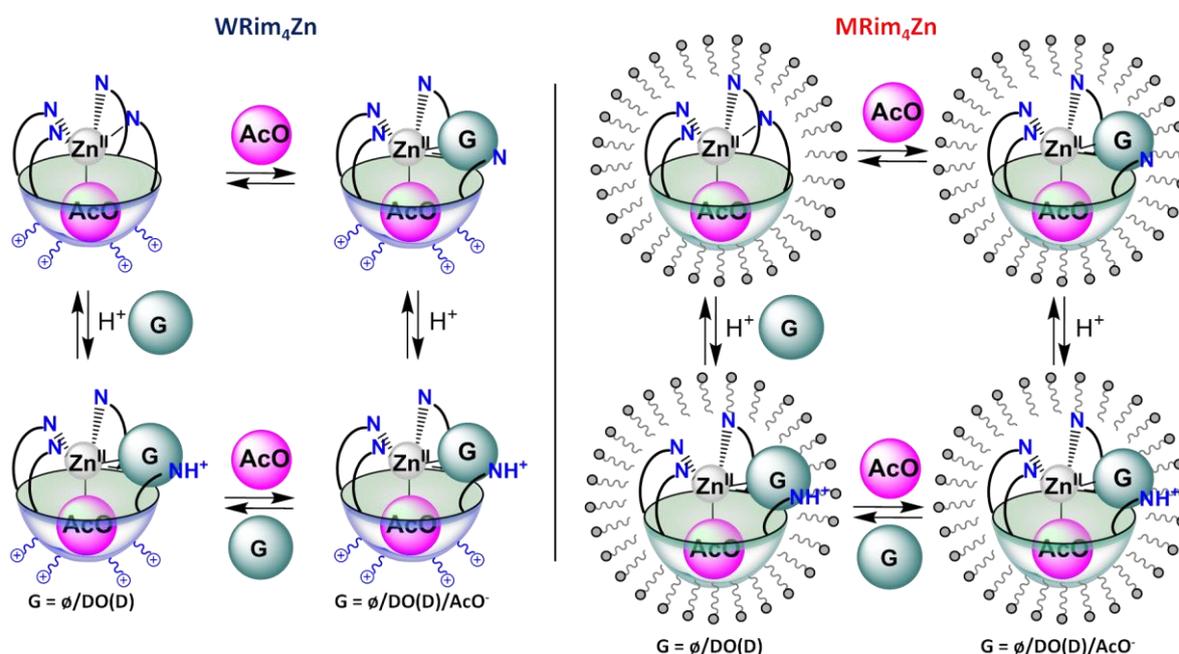


Figure 97 : Représentation schématique des équilibres et espèces pouvant se former en présence d'acétate, avec WRim₄Zn (à gauche) et MRim₄Zn (à droite).

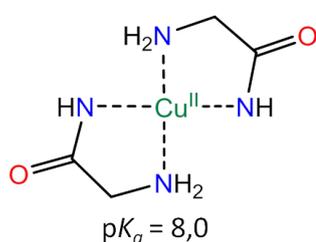
3. Acétamide

L'inclusion de l'acétylacétone par les deux systèmes a montré qu'ils sont capables de reconnaître une molécule neutre sous forme anionique à pH neutre malgré un pK_a de 9. Le dernier invité considéré permet de montrer qu'il est possible d'obtenir de la même manière une coordination pour un invité beaucoup moins basique : l'acétamide. En effet, le pK_a associé au couple $\text{AcNH}_2/\text{AcNH}^-$ est de 16 dans l'eau. Sous forme neutre c'est un mauvais ligand mais qui devient un excellent donneur lorsqu'il est déprotoné. La reconnaissance d'acétamide sous forme anionique est doublement intéressante. D'une part, elle marque une preuve de concept quant à la capacité d'une cavité alliée à un métal à amener une stabilisation semblable à celle obtenue par des effets chélates ou

intramoléculaires. D'autre part, elle permet d'accéder à de meilleures affinités que les systèmes reposant sur une reconnaissance sous forme neutre.

Les récepteurs d'acétamide sont rares en milieu organique, et ils sont associés à des affinités modérées de l'ordre de 10^2 M^{-1} , comme cela a été mentionné au chapitre 2.¹⁸⁻²⁰ A notre connaissance aucun n'a été reporté dans l'eau. Quelques exemples de complexes de cuivre(II) et zinc(II) capables de coordiner des amides dans l'eau à pH neutre existent cependant. Il s'agit d'amides dont la déprotonation est facilitée par une configuration moléculaire très particulière : la fonction amide est intramoléculaire ou l'amide utilisée possède une fonction amine permettant une coordination bidente, par exemple (Figure 98).^{21,22} Nos systèmes possèdent tous deux une cavité hydrophobe stériquement adaptée à l'acétamide à proximité d'un métal, ce qui présente toutes les dispositions pour une reconnaissance favorable.

Déprotonation assistée par effet chélate



Déprotonation intramoléculaire d'un amide

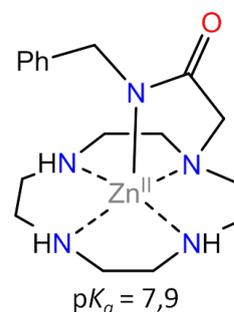


Figure 98 : Exemples de complexes capables de déprotoner un amide dans l'eau à pH neutre.^{21,22}

L'addition d'acétamide à $M/WRim_4Zn$ à $pD = 8,4$ mène à une modification des signaux observés en RMN, et notamment à l'apparition de pics à haut champ (à $-2,35$ et $-2,42$ ppm pour $MRim_4$ et $WRim_4$ respectivement). Cela indique l'inclusion de l'acétamide intracavité et la formation des complexes acétamido (Figure 99). Un dosage par RMN permet, par intégration du signal à haut champ caractéristique de l'inclusion, de déterminer les constantes associées. On obtient : $K = (7 \pm 1) \times 10^2 / (4 \pm 1) \times 10^2 \text{ M}^{-1}$ pour $MRim_4Zn/WRim_4Zn$. Ces valeurs sont très proches et quasiment à hauteur de ce qui est observé en milieu organique, où la constante la plus haute reportée à notre connaissance est de 10^3 M^{-1} (avec Rim_4Zn).

Le complexe hydrosoluble comme son équivalent micellaire permettent ainsi de coordiner l'acétamide dans l'eau à pH neutre. Cela n'est envisageable que si l'amide est déprotoné, la cavité en conjonction avec l'environnement métallique permet donc d'abaisser considérablement le pK_a de l'acétamide. Quelles sont les limites de ce phénomène ? Pour le savoir une étude en pH est faite (Figure 100). Le complexe acétamide (pointé en violet sur la figure) est en échange lent avec les autres espèces en présence (ligand, complexe $M/WRim_4Zn$) par rapport à l'échelle de temps de la RMN et sa présence est quantifiée par intégration du pic vers -2 ppm (Figure 101). La complexation est observée à partir de $pD = 6,5$ dans les deux cas et est maximale entre 8 et 9,7 (pour $WRim_4Zn$, non déterminé pour $MRim_4Zn$), ce qui suggère un pK_a de 7,5 pour l'acétamide inclus (7,9 avec $MRim_4Zn$). Cela représente un décalage considérable de 8 unités par rapport à l'acétamide libre.

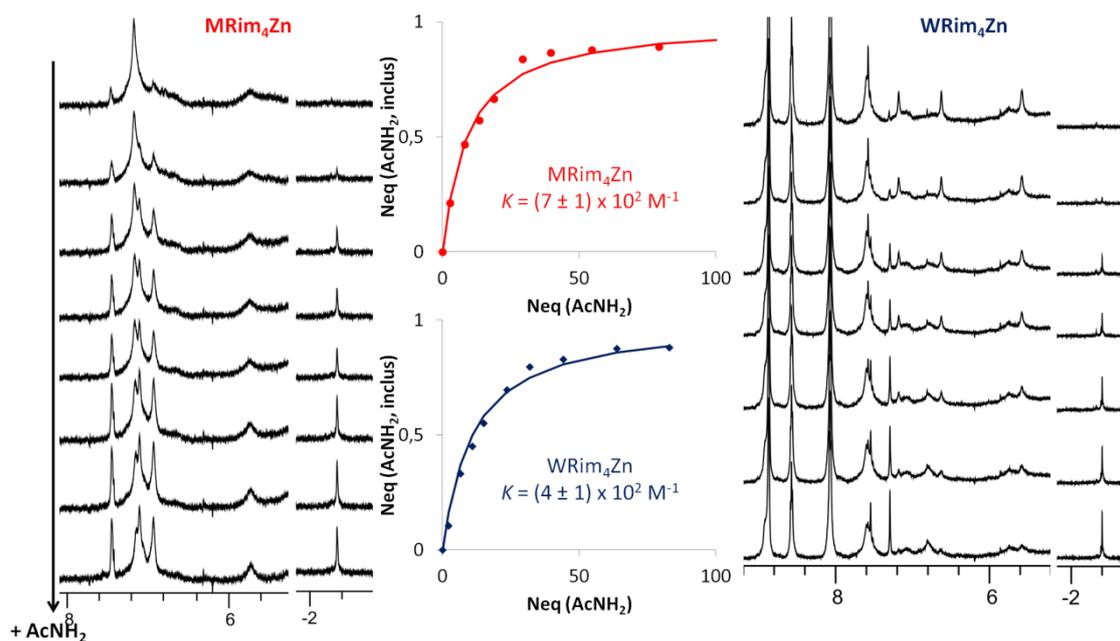


Figure 99 : Dosage par RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) pour la détermination de l'affinité des deux systèmes pour l'acétamide à pD = 8,4 (tampon HEPES 50 mM (micelles)/100 mM (WRim_4)). A gauche : dans les micelles (MRim_4Zn 0,5 mM, DPC 20 mM) ajout jusqu'à 61 equiv. AcNH_2 . A droite : ajout jusqu'à 41 equiv. de AcNH_2 à WRim_4Zn (0,5 mM, 2 equiv. Zn^{II}).

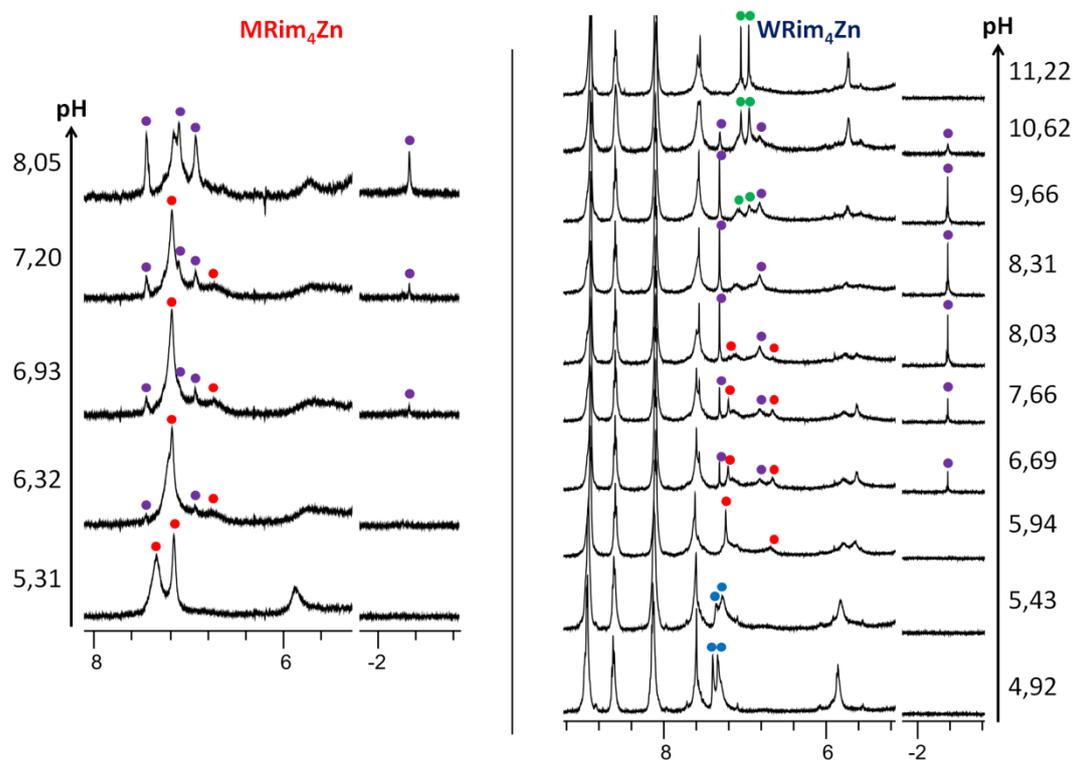


Figure 100 : Variation de pH des complexes en présence d'acétamide (RMN ^1H , D_2O). A gauche : MRim_4Zn (0,5 mM, DPC 20 mM) avec 21 equiv. AcNH_2 (298 K, 600 MHz). A droite, WRim_4Zn (1 mM, 2 equiv. Zn^{II}) avec 50 equiv. AcNH_2 (300 K, 500 MHz). Les points indiquent les différentes espèces présentes : en bleu et vert, $[\text{WRim}_4]^{4+}$ libre (protoné et déprotoné) ; en rouge $[\text{M}/\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{D}_2\text{O})(\text{H})]^{0/1-6/7+}$; en violet $[\text{M}/\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{AcNH})]^{+/5+}$.

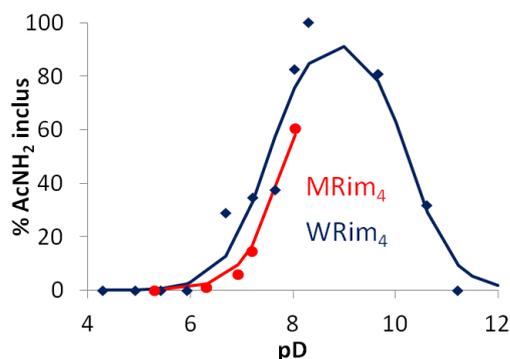


Figure 101 : Complexation (en position *endo*) de l'acétamide par WRim₄Zn et MRim₄Zn en fonction de pD déterminée par intégration des signaux à haut champ (vers -2 ppm) obtenus lors de l'étude présentée Figure 100.

Conclusion

Deux systèmes hydrosolubles ont été élaborés : WRim₄, nouveau ligand qui comporte des groupes cationiques pour sa solubilisation dans l'eau et MRim₄, par incorporation du ligand organosoluble Rim₄ dans des micelles. Les deux ligands ont une affinité proche et importante (de l'ordre de 10⁴ M⁻¹) pour Zn^{II} dans l'eau. Le complexe [WRim₄Cu(H₂O)]⁶⁺ a également été formé.

Les études hôte-invité montrent une grande similarité entre les deux récepteurs permise par une structure cavitaire identique. Tous deux ont une bonne affinité pour l'acétylacétone (10⁴ M⁻¹), l'acétate (10⁴ M⁻¹), et l'acétamide (10² M⁻¹) à pH neutre (pD = 8,4 pour l'acétamide). Ces trois invités sont reconnus en position *endo* comme le montrent les études RMN. Cela met en évidence le rôle déterminant de la cavité résorcinarène pour la reconnaissance. En particulier pour l'acétamide, il y a coordination sous forme anionique, ce qui révèle un ΔpK_a de 8 unités de pH par rapport à l'invité libre.

Les études par variation de pH ont montré que les deux systèmes sont de bons récepteurs sur une large gamme de pH, avec une reconnaissance optimale sur un domaine de pH s'étendant à environ 5 unités de pH, variable selon l'invité. Le système micellaire présente des domaines de reconnaissance plus étendus en milieu basique (d'environ 0,5 à 1 unité de pH). Cela peut être attribué à une stabilisation particulière des complexes monocationiques en milieu hydrophobe par rapport à des espèces plus chargées.

L'influence de l'environnement est plus sensible lors de la coordination d'invités en position *exo*. Cette position est en forte compétition avec le solvant pour WRim₄Zn, et la formation de complexes avec deux molécules exogènes n'a été observée que dans le cas de l'acétate. Dans les micelles cependant, l'hydrophobicité du milieu favorise la formation de complexes neutres ou faiblement chargés et facilite la coordination d'anions en position *exo*, ce qui a été mis en évidence avec des invités carboxylates de différentes tailles.

IV. Bibliographie

- (1) Riis-Johannessen, T.; Severin, K. A Micelle-Based Chemosensing Ensemble for the Fluorimetric Detection of Chloride in Water. *Chem. - Eur. J.* **2010**, *16* (28), 8291–8295.
- (2) Javor, S.; Rebek, J. Activation of a Water-Soluble Resorcinarene Cavitand at the Water–Phosphocholine Micelle Interface. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133* (43), 17473–17478.
- (3) Cametti, M.; Dalla Cort, A.; Bartik, K. Fluoride Binding in Water: A New Environment for a Known Receptor. *ChemPhysChem* **2008**, *9* (15), 2168–2171.
- (4) Dalla Cort, A.; Forte, G.; Schiaffino, L. Anion Recognition in Water with Use of a Neutral Uranyl-Salophen Receptor. *J. Org. Chem.* **2011**, *76* (18), 7569–7572.
- (5) Keymeulen, F.; De Bernardin, P.; Giannicchi, I.; Galantini, L.; Bartik, K.; Dalla Cort, A. Fluoride Binding in Water with the Use of Micellar Nanodevices Based on Salophen Complexes. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13* (8), 2437–2443.
- (6) Rat, S.; Gout, J.; Bistri, O.; Reinaud, O. The First Water-Soluble Bowl Complex: Molecular Recognition of Acetate by the Biomimetic Tris(Imidazole) Zn(II) System at PH 7.4. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13* (11), 3194–3197.
- (7) Brunetti, E.; Inthasot, A.; Keymeulen, F.; Reinaud, O.; Jabin, I.; Bartik, K. Primary Amine Recognition in Water by a Calix[6]Aza-Cryptand Incorporated in Dodecylphosphocholine Micelles. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13* (10), 2931–2938.
- (8) Brunetti, E. Development and Physicochemical Characterization of Calix[6]Arene-Based Chemical Recognition Systems, Université Libre de Bruxelles, 2016.
- (9) Glasoe, P. K.; Long, F. A. Use of Glass Electrodes to Measure Acidities in Deuterium Oxide. *J. Phys. Chem.* **1960**, *64* (1), 188–190.
- (10) Mikkelsen, K.; Nielsen, S. O. Acidity Measurements with the Glass Electrode in H₂O–D₂O Mixtures. *J. Phys. Chem.* **1960**, *64* (5), 632–637.
- (11) Gibb, B. C.; Chapman, R. G.; Sherman, J. C. Synthesis of Hydroxyl-Footed Cavitands. *J. Org. Chem.* **1996**, *61* (4), 1505–1509.
- (12) Parrot, A. Systèmes Supramoléculaires Biomimétiques : Les Complexes Bols, Synthèse, Propriétés et Réactivité, Université Paris Descartes, 2015.
- (13) Zhang, K.-D.; Ajami, D.; Rebek, J. Hydrogen-Bonded Capsules in Water. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135* (48), 18064–18066.
- (14) Darbost, U.; Rager, M.-N.; Petit, S.; Jabin, I.; Reinaud, O. Polarizing a Hydrophobic Cavity for the Efficient Binding of Organic Guests: The Case of Calix[6]Tren, a Highly Efficient and Versatile Receptor for Neutral or Cationic Species. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (23), 8517–8525.
- (15) Parrot, A.; Collin, S.; Bruylants, G.; Reinaud, O. The 3rd Degree of Biomimetism: Associating the Cavity Effect, ZnII Coordination and Internal Base Assistance for Guest Binding and Activation. *Chem. Sci.* **2018**, *9* (24), 5479–5487.
- (16) McLachlan, G. A.; Fallon, G. D.; Martin, R. L.; Spiccia, L. Synthesis, Structure and Properties of Five-Coordinate Copper(II) Complexes of Pentadentate Ligands with Pyridyl Pendant Arms. *Inorg. Chem.* **1995**, *34* (1), 254–261.
- (17) Višnjevac, A.; Gout, J.; Ingert, N.; Bistri, O.; Reinaud, O. First ZnII Bowl-Complexes Modeling the Tris(Histidine) Metallo-Site of Enzymes. *Org. Lett.* **2010**, *12* (9), 2044–2047.
- (18) van Doorn, A. R.; Schaafstra, R.; Bos, M.; Harkema, S.; van Eerden, J.; Verboom, W.; Reinhoudt, D. N. Molecular Recognition of Polar Neutral Molecules by Metallomacrocycles: Synthesis, 1H NMR Spectroscopy, X-Ray Structure, Electrochemistry, and Ab Initio Calculations. *J. Org. Chem.* **1991**, *56* (21), 6083–6094.
- (19) Xu, X.; Doyle, M. P. Enantiomer Recognition of Amides by Dirhodium(II) Tetrakis[Methyl 2-Oxopyrrolidine-5(S)-Carboxylate]. *Inorg. Chem.* **2011**, *50* (16), 7610–7617.
- (20) Lascaux, A.; Leener, G. D.; Fusaro, L.; Topić, F.; Rissanen, K.; Luhmer, M.; Jabin, I. Selective Recognition of Neutral Guests in an Aqueous Medium by a Biomimetic Calix[6]Cryptamide Receptor. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14* (2), 738–746.

- (21) Kroneck, P. M. H.; Vortisch, V.; Hemmerich, P. Model Studies on the Coordination of Copper in Biological Systems. The Deprotonated Peptide Nitrogen as a Potential Binding Site for Copper(II). *Eur. J. Biochem.* **1980**, *109* (2), 603–612.
- (22) Kimura, E.; Gotoh, T.; Aoki, S.; Shiro, M. Study of PH-Dependent Zinc(II)–Carboxamide Interactions by Zinc(II)–Carboxamide-Appended Cyclen Complexes (Cyclen = 1,4,7,10-Tetraazacyclododecane). *Inorg. Chem.* **2002**, *41* (12), 3239–3248.

CHAPITRE 4 :

WRIM₄ZN : PROPRIÉTÉS HÔTE-INVITÉ

I. Sélectivité

Dans le chapitre précédent, les propriétés hôte-invité de WRim₄Zn et MRim₄Zn ont été étudiées vis-à-vis d'une sélection d'invités, choisis d'après les performances connues des complexes organosolubles Rim₄Zn et Rim₃Zn en tant que récepteurs d'anions. Dans cette section, le système hydrosoluble WRim₄Zn est étudié plus en détail. La sélectivité du système est investiguée, en particulier autour de pH = 7.

Le premier critère de sélectivité attendu est dû à la taille de la cavité. Comme montré précédemment, l'étude de l'interaction avec des carboxylates de différentes longueurs a montré que le propionate n'est pas reconnu à pD = 7,4 alors que l'acétate a une affinité forte avec le complexe de zinc(II). Dans la suite l'accent est donc mis sur des molécules de petite taille, contenant des chaînes de trois atomes au plus. Dans un premier temps, des anions coordinants ont été testés.

1. *Vis-à-vis d'anions*

Halogénures

Le complexe WRim₄Zn étant chargé 6 fois positivement (sous forme aqua déprotonée), une affinité plus importante est attendue pour les anions que pour les molécules neutres. Les premiers invités investigués sont des anions parmi les plus simples : les halogénures. Dans cette série, les ions fluorure, chlorure et iodure sont considérés.

L'addition de fluorures (KF, 9 équivalents) comme de chlorures (NaCl, 17 équivalents) à WRim₄Zn (1 mM) est suivie par spectroscopie RMN à pD = 6,4. Aucun changement n'est détecté, ce qui dans les conditions d'étude révèle que si une interaction existe, elle est associée à une constante inférieure à 10 M⁻¹. Ce résultat contraste avec les propriétés réceptrices observées en milieu organique avec Rim₄Zn mais n'est pas surprenant au vu de la différence d'environnement entre acétonitrile et eau, qui est plus polaire et dissociante.

Cependant l'ajout d'ions iodure (NaI, 7 équivalents) amène une modification de spectre RMN (Figure 102). Les signaux correspondant aux protons aromatiques du macrocycle H_{Ar,down} (à 7,8 ppm), aux ponts méthylènes (à 4,4 ppm et 5,7 ppm) et à l'un des CH₂ des chaînes alkyle situées en-dessous de la cavité (à 2,7 ppm) sont déblindés de respectivement 0,07, 0,27 et 0,17 ppm. Les protons associés sont situés dans la partie basse du ligand, et ces observations sont cohérentes avec une interaction charge-charge au niveau des pyridinium plutôt qu'avec une coordination au niveau du zinc(II).

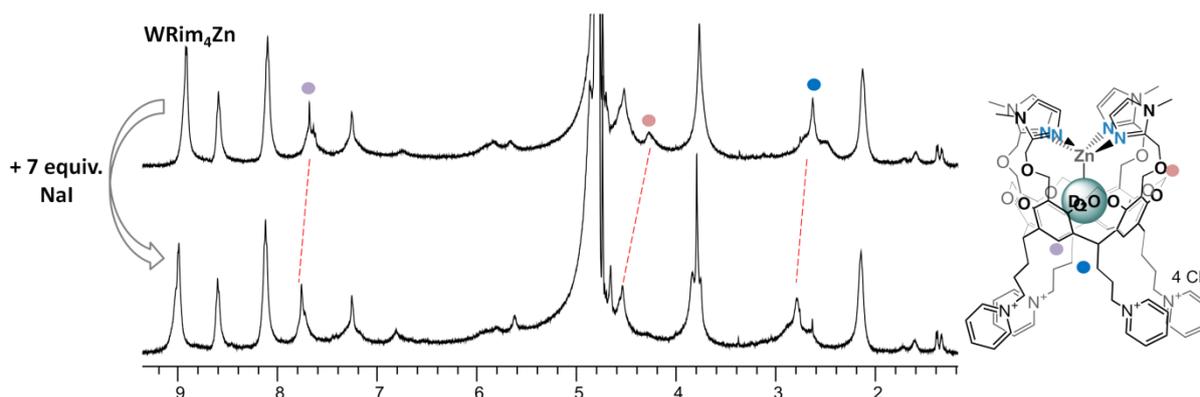


Figure 102 : Addition de iodure de sodium (7 equiv.) sur WRim₄Zn (1 mM) à pD = 5 suivie par RMN ¹H (D₂O, 300 K, 500 MHz).

Les halogénures ne sont donc pas reconnus par la cavité contrairement à ce qui a été observé pour les analogues organosolubles. Ceci peut être attribué à deux facteurs : l'eau est un meilleur ligand que l'acétonitrile, le milieu est donc plus compétitif pour WRim₄Zn que pour Rim₄Zn et les halogénures sont très hydrophiles et bénéficient d'une meilleure solvation dans l'eau qu'en milieu organique.

Hydrogénocarbonate et CO₂

Dans un contexte biomimétique, la question de la coordination de CO₂ ou de sa forme hydratée HCO₃⁻ est intéressante. Le système WRim₄Zn comporte en première sphère de coordination trois à quatre imidazoles, une molécule d'eau (ou d'hydroxyde) et un bras imidazole pouvant jouer le rôle de base intramoléculaire. Cet environnement est très similaire au site actif de l'anhydrase carbonique, constitué de trois histidines et une molécule d'eau autour d'un cation zinc(II). Pour étudier l'interaction deux procédés sont possibles : soit ajouter le dioxyde de carbone sous forme gazeuse à une solution contenant WRim₄Zn, méthode peu précise et qui n'offre pas de contrôle sur la quantité d'invité ajoutée, soit ajouter HCO₃⁻ en solution, avec une meilleure précision (Figure 103).

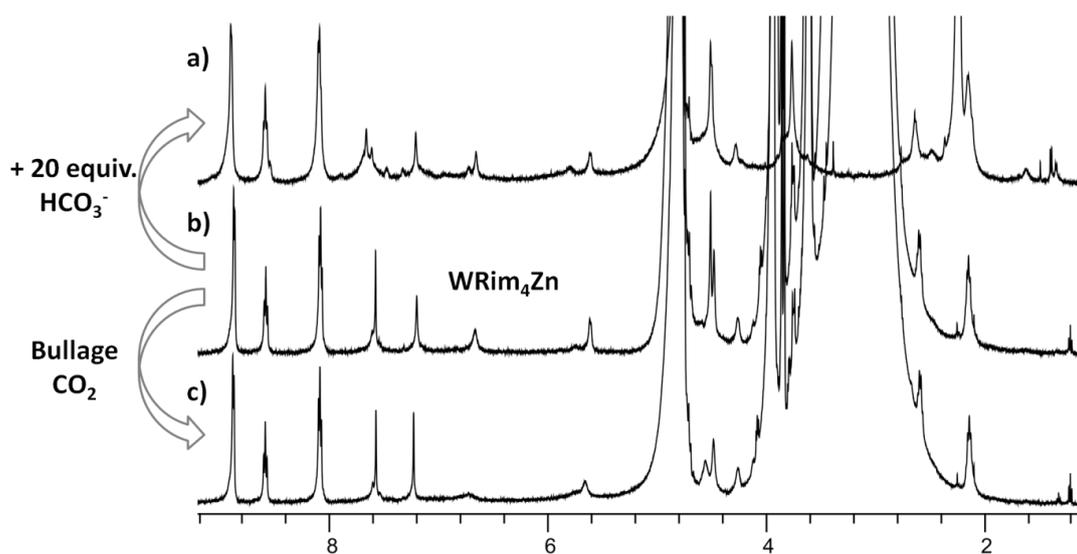


Figure 103 : Interaction de WRim₄Zn avec le dioxyde de carbone (RMN ¹H, D₂O, 300 K, 500 MHz). a) WRim₄Zn (1 mM) avec 20 equiv. NaHCO₃, pD = 7,7 ; b) WRim₄Zn (1,2 mM), pD = 7,3 (tampon HEPES 100 mM) ; c) Après bullage de CO₂(g) pendant 1 min (pD = 6,2).

Les deux approches sont réalisées et donnent le même résultat. La signature RMN du complexe $[\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{D}_2\text{O})]^{6+}$ n'est pas modifiée à l'ajout de HCO_3^- ou de CO_2 , seul un affinement ou élargissement de quelques signaux (associés aux imidazoles, à 6,9 et 7,2 ppm) est observé. $\text{H}_{\text{Im},\alpha}$ et $\text{H}_{\text{Im},\beta}$ étant très sensibles à l'acidité du milieu cela est imputable au léger changement de pH qui résulte de l'addition.

Le système WRim_4Zn n'a donc pas une affinité observable pour l'ion hydrogénocarbonate.

Invités bidentes

Il a été démontré dans le chapitre précédent que le complexe WRim_4Zn a une affinité remarquable ($K' = 5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) pour l'acétylacétone dans l'eau. Cela permet de tirer plusieurs conclusions quant au système. Tout d'abord, deux positions en *cis* sont ouvertes à la coordination sur le cation métallique. De plus, la coordination au zinc(II) permet d'abaisser le $\text{p}K_a$ de l'acétylacétone d'au moins 4 unités dans l'eau. L'utilisation d'un invité bidenté asymétrique permet d'obtenir une information supplémentaire sur l'encombrement des deux sites de coordination. En effet, il est attendu pour la partie de la molécule reconnue en *endo* une restriction stérique de par l'environnement cavitaire, qui ne concerne pas la partie proche du site en *exo*. La présence d'un groupement encombré ne devrait ainsi pas empêcher la reconnaissance.

L'invité asymétrique ici considéré est la benzoylacétone. Ce composé n'étant pas soluble dans l'eau il est ajouté (3 équivalents) dans un mélange eau-acétonitrile à WRim_4Zn (1 mM) (Figure 104). Un pic large à haut champ (-2,16 ppm) apparaît qui montre l'inclusion du méthyle de la benzoylacétone dans la cavité, donc la coordination de cet invité à WRim_4Zn . La constante associée, étant donné les conditions de mesure, n'a pas été déterminée précisément mais son ordre de grandeur est estimé à 10^3 M^{-1} .

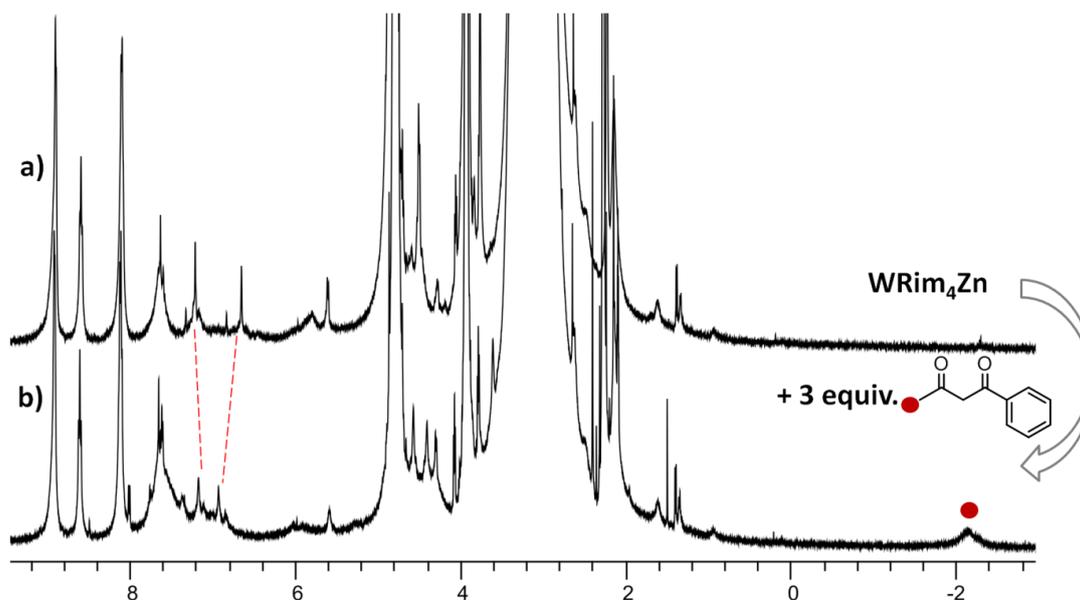


Figure 104 : Complexation de la benzoylacétone par WRim_4Zn à $\text{pD} = 7,3$ (tampon HEPES 100 mM, suivi par RMN ^1H (D_2O , 300 K, 500 MHz). a) WRim_4Zn (1 mM) ; b) après addition de 3 equiv. benzoylacétone (dans $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{CN}$ 2:1).

La benzoylacétone incluse est caractérisée par le signal du méthyle intracavité qui indique qu'une seule conformation est observée. Ceci confirme que la coordination en *endo* et *exo* ne sont pas équivalentes, l'une étant stériquement contrôlée par la cavité et l'autre non.

2. Vis-à-vis de molécules neutres

Amides et urées

L'acétamide est spectaculairement complexé par WRim₄Zn dans l'eau avec une constante de l'ordre de 10² M⁻¹ et un pK_a abaissé de 8 unités, comme cela a été vu au chapitre 3. Ce résultat peut-il être étendu à d'autres amides ? Ou à des urées ?

La sélectivité envers les amides est investiguée *via* trois invités : le propionamide dont la chaîne est légèrement plus longue que l'acétamide, l'isobutyramide qui est ramifié et enfin le N-méthylacétamide qui est monosubstitué au niveau de l'azote (Figure 105). Le même comportement est obtenu dans les trois cas. En effet, à l'addition d'amide (entre 5 et 18 équivalents) à WRim₄Zn (1 mM) à pD = 8,4 aucun signal blindé n'apparaît ce qui montre qu'il n'y a pas d'inclusion en *endo* contrairement à ce qui a été observé pour l'acétamide dans les mêmes conditions. De plus, les signaux du complexe WRim₄Zn ne sont pas affectés par l'addition de ces amides ce qui suggère qu'il n'y a pas non plus coordination en *exo*. Une variation du pH montre que l'inclusion n'est pas observée non plus à pH plus élevé (jusqu'à la limite de stabilité du complexe à pD = 9).

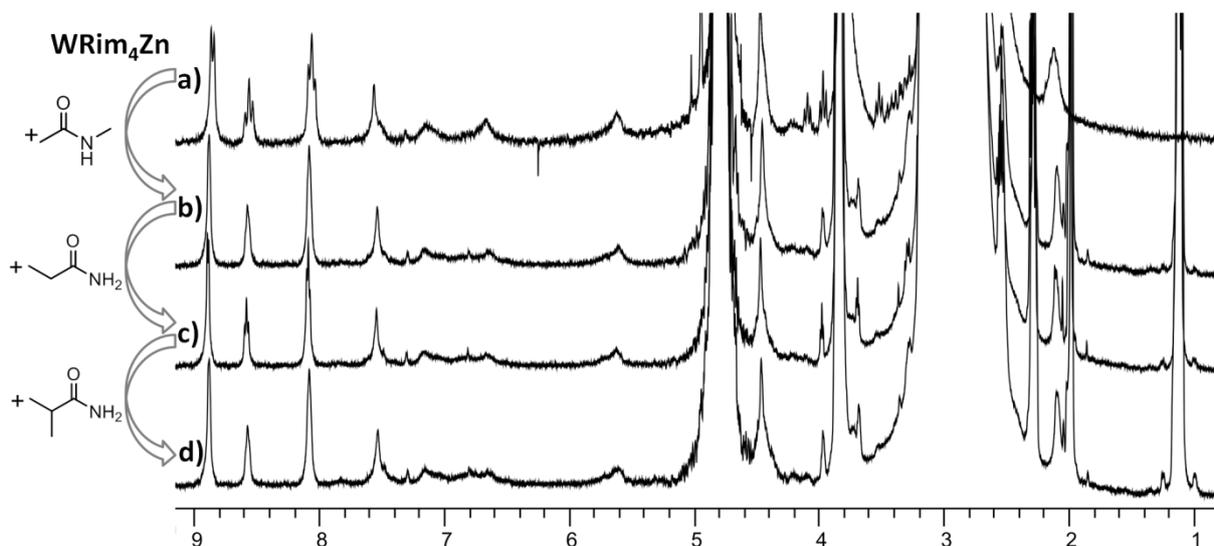


Figure 105 : Addition d'amides à WRim₄Zn (1 mM) à pD = 8,4 (tampon HEPES 100 mM, suivi par RMN ¹H (D₂O, 300 K)). a) WRim₄Zn, 1 mM (250 MHz) ; b) avec 18 equiv. de N-méthylacétamide, 5 equiv. propionamide et 5 equiv. isobutyramide (500 MHz) ; c) avec 14 equiv. propionamide (500 MHz) ; d) avec 14 equiv. isobutyramide (500 MHz).

Ce résultat n'est pas inattendu dans la mesure où déjà avec un anion carboxylate, qui est un bien meilleur ligand en milieu neutre, la reconnaissance ne s'étend pas au-delà de l'acétate. A fortiori avec des amides, il est remarquable que l'acétamide puisse être inclus par le système mais un amide plus grand, perdant l'effet stabilisant de la cavité, n'est pas reconnu.

Une autre famille chimique faiblement coordinante sous forme neutre mais donneuse sous forme déprotonée avec des pK_a alentour de 14 est les urées. Deux d'entre elles sont testées sur

WRim₄Zn : l'éthylurée et la diméthylurée, qui ont toutes deux des tailles compatibles avec la cavité réSORCINARÈNE (Figure 106). Cependant de nouveau à l'addition de l'une (14 équivalents) comme de l'autre (12 équivalents) à pD = 7,4 aucun changement n'est observé sur le spectre RMN de WRim₄Zn (1 mM), et en particulier aucun signal à haut champ n'est visible. Un balayage en pH montre que c'est la cas sur toute la plage de stabilité du complexe [WRim₄Zn(D₂O)]⁶⁺. Il n'y a donc pas d'interaction mesurable du complexe avec les urées considérées ; si une interaction existe la constante associée est inférieure à 5 M⁻¹.

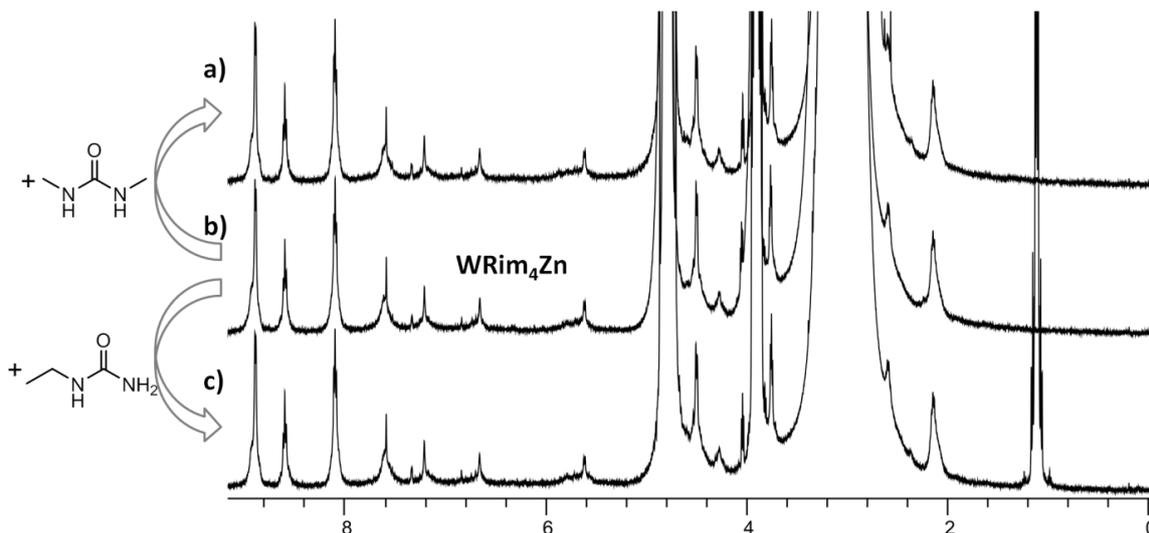


Figure 106 : Addition d'urées à WRim₄Zn (1 mM) à pD = 7,4 (tampon HEPES 100 mM, suivi par RMN ¹H (D₂O, 300 K, 500 MHz)). b) WRim₄Zn 1 mM ; a) WRim₄Zn (1 mM) + 12 equiv. diméthylurée ; c) WRim₄Zn (1 mM) + 14 equiv. éthylurée.

Autres invités

Les études de réactivité menées avec Rim₃Zn et Rim₄Zn en milieu organique ont mis en évidence une sélection de substrats dont l'étude est prolongée dans l'eau. Il s'agit de l'acétonitrile, l'acétaldéhyde, l'acide pyruvique et l'acétol (1-hydroxyacétone). L'acétonitrile tout d'abord n'interagit pas avec WRim₄Zn dans l'eau, même lorsqu'il est introduit à hauteur de 3%. Ce résultat n'est pas étonnant en milieu aqueux car il est connu que le système Rim₄Zn dans CH₃CN/H₂O 95:5 est majoritairement sous forme aqua. De même, l'addition d'acétaldéhyde (10 équivalents) à WRim₄Zn (0,5 mM) à pH neutre n'induit pas de changement et l'interaction si elle existe est donc faible (moins de 10 M⁻¹).

Les cas de l'acide pyruvique ainsi que de l'acétol sont traités ensemble (Figure 107). Après addition de 10 équivalents de pyruvate à WRim₄Zn (2 mM) à pD = 7,4, deux espèces apparaissent sur le spectre RMN. L'une, très large, est caractérisée par un pic à haut champ à -1,7 ppm (en rouge sur la figure). La largeur de ce pic suggère une dynamique d'échange différente des espèces fines habituellement observées et peut provenir d'une coordination bidente, comme c'est attendu pour le pyruvate.

La seconde espèce qui apparaît est quant à elle très fine et caractérisée par un double signal intracavité à -2,29 ppm et trois pics aromatiques fins à 6,83, 7,32 et 7,63 ppm. On reconnaît la signature de l'acétate inclus, le double pic à -2,29 ppm étant dû à la coexistence de complexes

acétate présentant un bras hémilabile protoné ou une molécule de solvant en position *exo* (cf chapitre 3). Aucun acétate n'a été ajouté il a donc été produit lors de l'addition de pyruvate. Cependant la décomposition naturelle du pyruvate en acétate dans l'eau est connue et ce phénomène est ici peu marqué (il touche moins de 5% du pyruvate introduit), le rôle du complexe WRim₄Zn est donc mineur dans cette transformation.

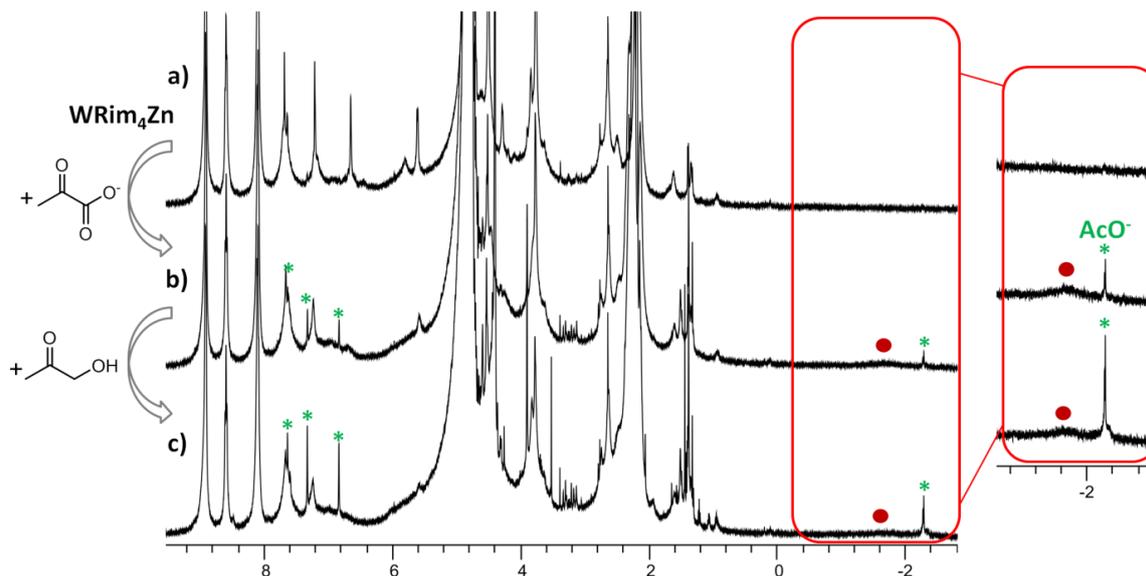


Figure 107 : Addition de pyruvate et d'acétol à WRim₄Zn, RMN ¹H (D₂O, 300 K, 500 MHz). a) WRim₄Zn (2 mM), pD = 6,9 ; b) + 10 equiv. pyruvate (pD = 7,4) ; c) + 20 equiv. acétol (pD = 7,3). Partie droite : zoom (x 3) de la région intracavité (-1/-3 ppm).

L'addition d'acétol (1-hydroxyacétone) sur le mélange obtenu a pour effet de diminuer la quantité de pyruvate inclus et d'augmenter la quantité de complexe acétato formé. Aucune nouvelle espèce, de type [WRim₄Zn(acétol)]⁶⁺, n'est observée cependant. La quantité d'acétate formée dans ce cas est cependant trop faible pour indiquer une réactivité oxydante du complexe vis-à-vis de l'acétol. En effet, en présence de 10 équivalents de pyruvate et 20 équivalents d'acétol à pD = 7,4, moins de 1 équivalent d'acétate est formé. Donc même si le complexe est effectivement impliqué dans cette réactivité, son effet est très limité par rapport à ce qui a été observé en milieu organique avec Rim₃Zn et Rim₄Zn.

Les études hôte-invité menées dans cette partie ont permis de mettre en évidence le fait que la cavité alliée au cation métallique donne un système très sélectif, en terme de taille d'abord (le plus grand invité observé jusqu'ici comporte 2 carbones) et de charge ensuite (l'eau est un milieu très compétitif, seuls des invités sous forme anionique sont coordonnés). Il apparaît également que l'eau est un milieu très particulier ; la sélectivité observée est très différente de ce qui est connu en milieu organique, notamment envers les halogénures et les molécules neutres (de type acétonitrile). Ce qui laisse présager de propriétés nouvelles en termes de réactivité également.

Le fait de travailler dans l'eau ouvre la porte à de nouveaux types d'invités non étudiés en milieu organique car trop hydrophiles. Dans la suite l'interaction du complexe de zinc(II) avec des dérivés de phosphate est étudiée.

II. Phosphates

1. Récepteurs de phosphate

Les phosphates sont omniprésents dans la nature. Ils assurent la cohésion de l'ADN et de l'ARN, permettent l'activation et désactivation d'enzymes *via* les réactions de (dé)phosphorylation et sont source d'énergie *via* l'adénosine-triphosphate (ATP) et ses dérivés ADP et AMP. Le développement de récepteurs de phosphates a fait l'objet de nombreux travaux. En effet les applications sont nombreuses, qu'elles soient d'ordre environnemental comme pour la dépollution des eaux ou d'ordre plus médical pour contrôler les taux de phosphates présents chez des patients présentant diverses pathologies affectant les reins, qui sont responsables de l'élimination de l'excès de phosphate au sein de l'organisme.¹

La source d'inspiration première des senseurs artificiels est la vie. La variété des récepteurs de phosphates sélectionnés par la nature est en effet étonnante au vu du peu de fonctions différentes visées (principalement reconnaissance ou (dé)phosphorylation). La plupart des protéines réceptrices de phosphates n'impliquent pas de métaux mais des enchaînements spécifiques d'acides aminés qui permettent d'obtenir un espace à la taille adaptée riche en fonctions amide où le substrat sera stabilisé par liaisons hydrogène mais aussi par interactions charge-charge (un résidu lysine ou arginine cationique est généralement présent).² Parmi les enzymes responsables de transfert de groupements phosphate, la phosphatase alcaline est bien connue. Cette enzyme, cristallisée en 1991, est une entité dimérique qui comporte en chaque site actif trois métaux, deux Zn^{II} et un Mg^{II}, avec un environnement de coordination riche en histidines et aspartate (Figure 108).^{3,4} Les rôles de ces trois métaux ont été étudiés, et le mécanisme élucidé. L'enzyme reste active lorsqu'un seul zinc(II) est présent mais est moins efficace, les deux cations ne sont donc pas nécessaires à la réactivité. Le Mg(II) quant à lui est coordonné à plusieurs molécules d'eau et, si son rôle est moins clair que celui des Zn(II), il semble participer à l'orientation et la forme du site et faciliter les transferts de proton.⁵

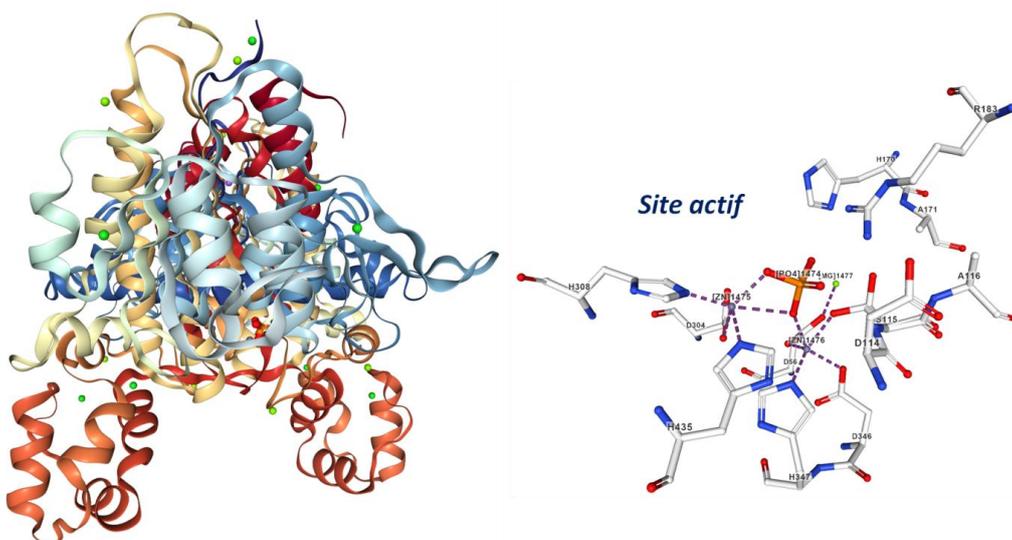


Figure 108 : Structure (dimérique) et site actif de l'alcaline phosphatase telle que cristallisée chez *H. salinarum*.⁴ Chaque site actif comprend trois cations métalliques : deux zinc(II) et un magnésium (II).

Les récepteurs artificiels de phosphates inspirés ou non de ces systèmes naturels sont nombreux. En particulier, la sélectivité vis-à-vis d'autres anions est recherchée et parmi les phosphates sont considérés principalement le phosphate inorganique, le pyrophosphate et quelques nucléotides (ATP, ADP et AMP le plus souvent). La quantité de récepteurs développés est considérable et a fait l'objet de plusieurs revues récentes.^{1,6-8} Nous nous limiterons ici aux systèmes étudiés dans l'eau pure, ce qui exclut les structures basées sur des fonctions amides, urées, thiourées et sur des macrocycles de type pyrrole, indole ou porphyrine. Plusieurs familles de senseurs peuvent être distinguées.

Historiquement, les premiers systèmes récepteurs de phosphate développés sont basés sur des fonctions ammonium.^{9,10} Un exemple parmi les meilleurs récepteurs connus est présenté sur la Figure 109.¹¹ Des constantes d'affinité très élevées sont obtenues vis-à-vis de phosphates, jusqu'à 10^{14} M^{-1} . Il apparaît que le système présente également une sélectivité : plus le phosphate est chargé négativement plus l'affinité est élevée. Cela s'explique par un plus grand nombre d'interactions charge-charge possibles lorsque le phosphate comporte une charge plus grande. La reconnaissance des di- et tri-phosphates est ainsi similaire, avec des affinités entre 2 et 6 ordres de grandeurs supérieures au monophosphate équivalent. Cependant ces systèmes macrocycliques présentent une limitation importante : ils ne sont efficaces que sur une gamme de pH réduite car la reconnaissance dépend du degré de protonation du macrocycle et du phosphate. Ainsi, le pK_a le bas du macrocycle étant 3,3, pour pouvoir observer une affinité optimale il faut rester dans des conditions de pH très acides.

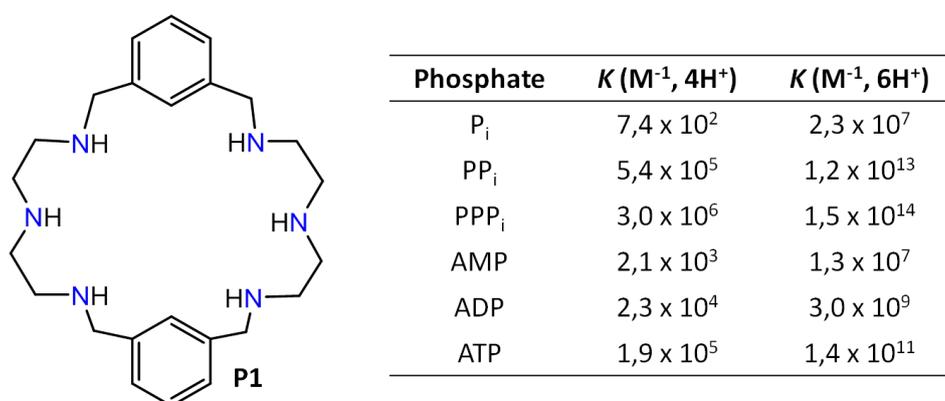


Figure 109 : Propriétés réceptrices d'un macrocycle polyazoté vis-à-vis de différents phosphates (P_i : phosphate inorganique ; PP_i : pyrophosphate ; PPP_i : triphosphate). Les constantes de complexation ont été obtenues à différents pH correspondant à différents degrés de protonation du macrocycle.¹¹

D'autres fonctions cationiques, plus proches de ce qui est présent dans les systèmes naturels, ont également été utilisées. Cependant les composés obtenus sont rarement hydrosolubles. D'une part, des systèmes basés sur des imidazoliums ont été élaborés qui présentent une meilleure sélectivité pour l'ATP par rapport à l'ADP (et l'AMP) que les macrocycles ammoniums (Figure 110).¹² D'autre part, des composés comportant des fonctions guanidiniums ont été réalisés. Etant donné que le pK_a de ces fonctions est autour de 13,5, la reconnaissance est peu dépendante du pH dans ce cas (Figure 110).^{13,14} Cependant dans un cas comme dans l'autre les constantes d'affinité mesurées sont très

inférieures à celles obtenues avec les systèmes ammonium dans l'eau, de l'ordre de 10^2 M^{-1} , avec une sélectivité peu marquée entre les phosphates.

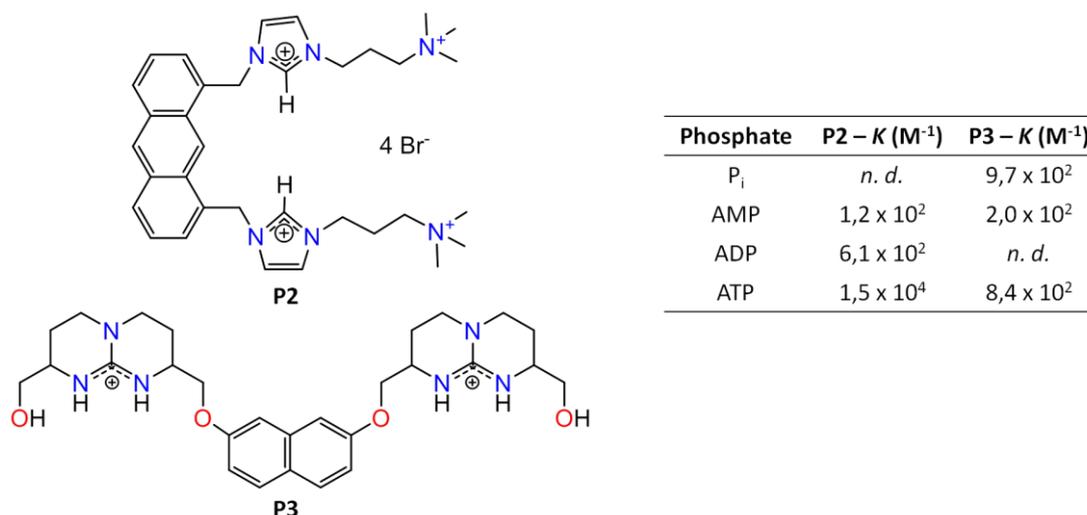


Figure 110 : Récepteurs de phosphates comportant des fonctions imidazolium (P2) ou guanidinium (P3).^{12,14}

Ces mêmes systèmes ont ensuite été déclinés en de nombreuses variantes permettant d'accéder à un panel de moyens de détection (colorimétrique, fluorescence, électrochimie).^{15–18} La détermination de constantes d'affinité et de sélectivité peut ainsi être obtenue par différentes méthodes spectroscopiques, et les résultats sont similaires à ce qui a été présenté plus haut.

Une deuxième famille de récepteurs repose plus particulièrement sur des interactions supramoléculaires. Plusieurs macrocycles ont été utilisés en tant que récepteurs de phosphates dans l'eau. En premier lieu les cyclodextrines, qui sont intrinsèquement hydrosolubles (Figure 111).¹⁹ La taille de la cavité permet d'obtenir une reconnaissance remarquable de l'ATP ($K = 3,6 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$) avec une sélectivité importante vis-à-vis de l'AMP, dont l'affinité est quatre ordres de grandeur inférieure pour le macrocycle. Les phosphates plus petits tels que P_i ou PP_i ne sont pas reconnus.

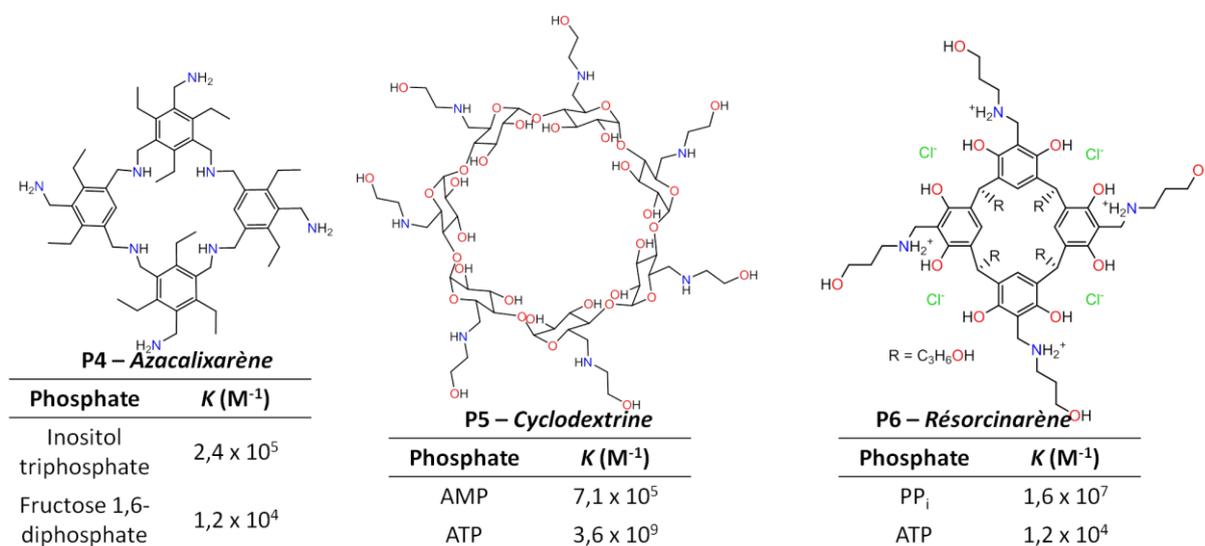


Figure 111 : Récepteurs de phosphates macrocycliques.^{19–21}

Les cavités calixarènes ont également été étudiées, bien que les exemples hydrosolubles en soient rares.²⁰ L'utilisation de cavités modifiées par introduction de groupements amine permet d'élargir la cavité, de la rendre soluble dans l'eau et d'obtenir une interaction avec des anions (Figure 111). La structure est adaptée à la reconnaissance de sucres phosphorylés, avec une affinité modérées (de l'ordre de 10^5 M^{-1} au maximum). Enfin, des structures résorcinarènes ont été étudiées plus récemment.²¹ La fonctionnalisation de la cavité par des groupements ammonium permet une reconnaissance efficace et sélective du pyrophosphate par ce système, avec une affinité de $1,6 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$, trois ordres de grandeur supérieure à ce qui est obtenu avec l'ATP.

Les systèmes macrocycliques peuvent donc également être d'excellents récepteurs de phosphates. Les constantes d'association obtenues sont moins élevées qu'avec la première famille de récepteurs mais la présence d'une cavité permet d'améliorer la sélectivité. Cependant les exemples de tels senseurs dans l'eau restent rares.

La troisième famille de récepteurs fait appel à des métaux. Cela présente l'avantage de faciliter la solubilisation dans l'eau. De nombreux métaux ont été utilisés, la plupart de manière marginale : cadmium, cobalt, étain, manganèse, molybdène, palladium, platine, ruthénium, uranium, zirconium... Cependant deux types de systèmes sont largement majoritaires : les complexes lanthanides qui présentent l'avantage d'être intrinsèquement fluorescents et d'ainsi permettent une détection optique,^{1,22} et les systèmes polynucléaires à zinc(II) (et plus rarement à cuivre(II)), à l'image de la phosphatase alcaline.²³⁻²⁷ Par exemple, l'association de deux ligands de type dpa (dipicolylamine) liés par une plateforme fluorescente permet une détection efficace des phosphates, avec une sélectivité pour les phosphates les plus chargés (ADP et ATP, Figure 112). L'utilisation d'un ligand plus élaboré permet à la fois d'améliorer cette sélectivité et d'augmenter l'affinité mesurée pour atteindre $1,5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ pour l'ADP (Figure 112). Cependant en dehors de cet exemple les systèmes basés sur des complexes métalliques mono- ou polynucléaires présentent les mêmes caractéristiques : une bonne affinité pour les phosphates permise par coordination de cette fonction mais peu de sélectivité entre les différents phosphates car aucune interaction avec les parties hydrophobes n'est présente pour amener une sélectivité.

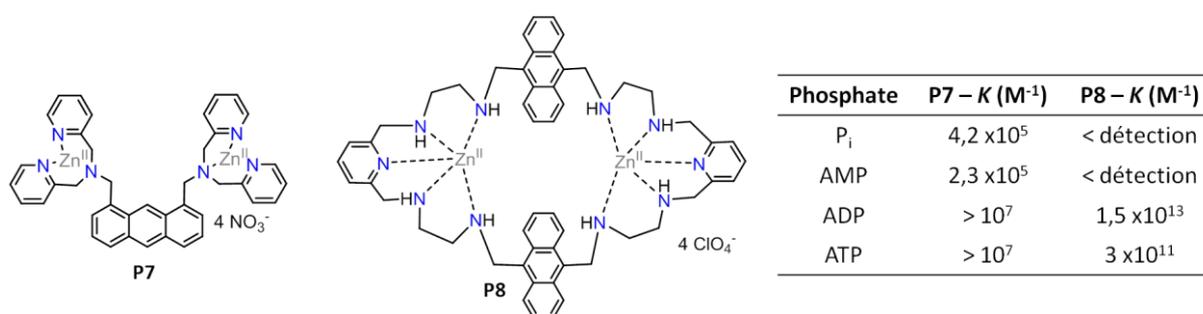


Figure 112 : Récepteurs de phosphates basés sur des liaisons de coordination.^{25,27} Les constantes d'association ont été mesurées à pH neutre (7,2 pour **P7** et 7,4 pour **P8**).

Chaque famille de récepteurs présente ses avantages et inconvénients. Afin d'obtenir de meilleurs résultats, une utilisation combinée des caractéristiques des différentes familles est possible. Cela a donné naissance à la plus récente des familles : les systèmes hétérotopiques. Il s'agit le plus souvent d'allier un cation métallique à un système préexistant qu'il soit de type cationique

(ammonium, guanidinium) ou supramoléculaire.^{11,28-30} La présence d'un cation métallique permet d'obtenir des affinités considérables. Par exemple, la complexation d'un ion cuivre(II) au récepteur **P1** amène une sélectivité en faveur de la reconnaissance du phosphate inorganique avec une augmentation de la constante d'affinité de $2,3 \times 10^7$ à $1,3 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ (Figure 113).¹¹ Cependant les constantes obtenues pour d'autres phosphates tels que l'ADP ou l'ATP sont alors plus faibles. Dans ce cas la présence du métal change complètement la sélectivité du système en faveur de P_i et PP_i , alors que **P1** seul était plutôt sélectif de l'ADP et de l'ATP.

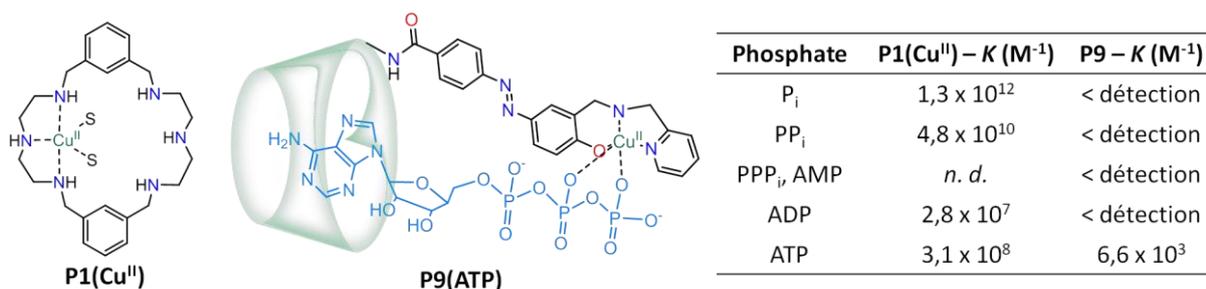


Figure 113 : Exemples de récepteurs hétérotopiques pour les phosphates. L'un allie des fonctions ammonium et un cation métallique (**P1(Cu^{II})**)¹¹ et l'autre une cavité cyclodextrine à un complexe Cu(dpa) (**P9**).³⁰

Un deuxième exemple est la fonctionnalisation d'un macrocycle cyclodextrine par un bras comportant un complexe $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{dpa})$ (Figure 113). Dans ce cas une affinité modérée pour l'ATP est observée, avec $K = 6,6 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$. Cependant ce système est intéressant car il présente une excellente sélectivité pour l'ATP ; aucun des autres phosphates reportés n'a donné lieu à une interaction quantifiable avec le récepteur **P9**. Cette sélectivité est apportée par la cavité et la longueur du bras qui sont stériquement adaptés à l'ATP.

La détection d'ions phosphates dans l'eau est donc un domaine qui est très étudié ; aujourd'hui des systèmes capables d'affinités remarquables sont connus, jusqu'à 10^{11} M^{-1} . Les meilleures affinités sont obtenues pour des systèmes ammonium, macrocycliques ou des complexes métalliques. Par ailleurs les systèmes sélectifs des phosphates sont nombreux mais la sélectivité parmi les phosphates est plus rare ; les meilleures sélectivités sont obtenues pour des systèmes hétérotopiques, mais au détriment de l'affinité. L'élaboration de récepteurs à la fois efficaces et sélectifs de phosphates reste donc un défi. L'utilisation de récepteurs hétérotopiques permet donc en particulier d'améliorer la sélectivité des systèmes.

La conception et l'étude de récepteurs de phosphates dans l'eau est un domaine très actif de la recherche. De nombreux récepteurs ont été élaborés, présentant de très hautes affinités pour leur cible, jusqu'à 10^{14} M^{-1} . Le défi à l'heure actuelle porte sur la sélectivité de ces récepteurs. En effet, de manière générale les systèmes développés reposent sur des interactions électrostatiques avec la tête des phosphates, plus ils sont chargés meilleure est la reconnaissance. Les senseurs les plus efficaces sont donc sélectifs de l'ATP par rapport à des phosphates moins chargés tels que l'AMP. Afin de cibler d'autres phosphates, il est important de choisir un récepteur qui présente à la fois un site de reconnaissance de la fonction phosphate mais également la possibilité de former des interactions avec la chaîne hydrophobe portée par celui-ci.

Le système WRim₄Zn présente une cavité hydrophobe résorcinarène qui induit une sélectivité stérique du récepteur comme cela a été vu aux chapitres précédents. Le macrocycle est allié à un cation zinc(II), fort acide de Lewis, qui permet de capter les anions pour les orienter vers la cavité. Le système présente donc des éléments de reconnaissance et de sélectivité indiqués à la détection sélective de phosphates. La cavité hydrophobe est connue pour stabiliser en particulier des chaînes alkyle, c'est pourquoi des invités de type monoalkylphosphate sont considérés dans un premier temps.

2. Monoalkylphosphates (C₀ - C₈)

Comme précédemment avec les carboxylates, la question de la sélectivité de WRim₄Zn vis-à-vis des phosphates se pose. Pour cela, une variété de monoalkylphosphates est synthétisée selon des procédures reportées.^{31,32} Les groupements alkyle utilisés sont des chaînes linéaires de longueur variée, depuis le phosphate inorganique (P_i) jusqu'au mono-octylphosphate (C8P). La principale différence entre ces invités est d'ordre stérique. En effet, les pK_a des monophosphates sont proches (autour de 2 et 7). Dans la suite les études de complexation sont faites à pD = 7,4.

L'addition de monophosphoesters à WRim₄Zn à pD = 7,4 est étudiée par RMN ¹H et ³¹P. Cependant aucun signal correspondant à un phosphate coordonné n'a été observé en RMN ³¹P, ce qui peut provenir du fait que l'échange est lent en phosphore, que la sensibilité est plus basse ou que les pics inclus sont trop larges pour être observés. La discussion se centre dans la suite sur les données proton.

Le système est capable de reconnaître une large gamme de longueurs de chaînes, de C1P à C7P (Figure 114). En effet des signaux à haut champ apparaissent correspondant aux chaînes incluses dans la cavité pour un à sept carbones. Si la chaîne est trop courte (P_i) ou trop longue (C8P), on constate que le ligand est libéré : le phosphate dans ce cas complexe le zinc(II) mais provoque sa décoordination de WRim₄Zn. La stabilisation offerte par la cavité est donc cruciale dans la reconnaissance des phosphates. Pour des longueurs de chaîne proches de ces valeurs limites (C1P, C2P, C7P) la formation de deux espèces est en compétition : [WRim₄Zn(CxP)]⁴⁺ et WRim₄⁴⁺ (issu de la complexation du phosphate au zinc(II) entraînant une décoordination du ligand). La décoordination est favorisée lorsque la quantité de phosphate en solution est élevée, l'espèce incluse ne peut alors être observée qu'à basse concentration en CxP.

Les longueurs de chaînes favorables à la complexation par WRim₄Zn sont donc de 3 à 6 carbones. A titre de comparaison, la complexation de carboxylates longs (propyl, butyl, heptyl et octyl) n'est pas observée, cette sélectivité est donc particulière aux phosphates. Pour les quatre monoalkylphosphates reconnus, l'inclusion est visible en RMN, tout d'abord dans la gamme des ppm négatifs (chaîne incluse) mais également au niveau des signaux aromatiques du résorcinarène qui se complexifient (entre 7 et 8 ppm). Il est à noter que le cas de C6P est particulier, car les signaux sont clairement définis (dans la zone aromatique) par rapport aux autres invités qui provoquent un élargissement et un dédoublement des pics. Pour C3P, C4P et C5P de nouveaux pics fins émergent entre 7 et 8 ppm qui rappellent l'espèce obtenue avec C6P. Cependant ils s'accompagnent de l'apparition de signaux larges pour les chaînes propyle à pentyle (particulièrement visibles intracavité dans le cas de C5P, entre -2,5 et -3,5 ppm par exemple). Il y a donc formation de deux espèces en

présence de phosphates, l'une particulièrement visible pour le cas de C6P et qui sera étudiée plus en détail dans la suite et l'autre caractérisée par des signaux larges.

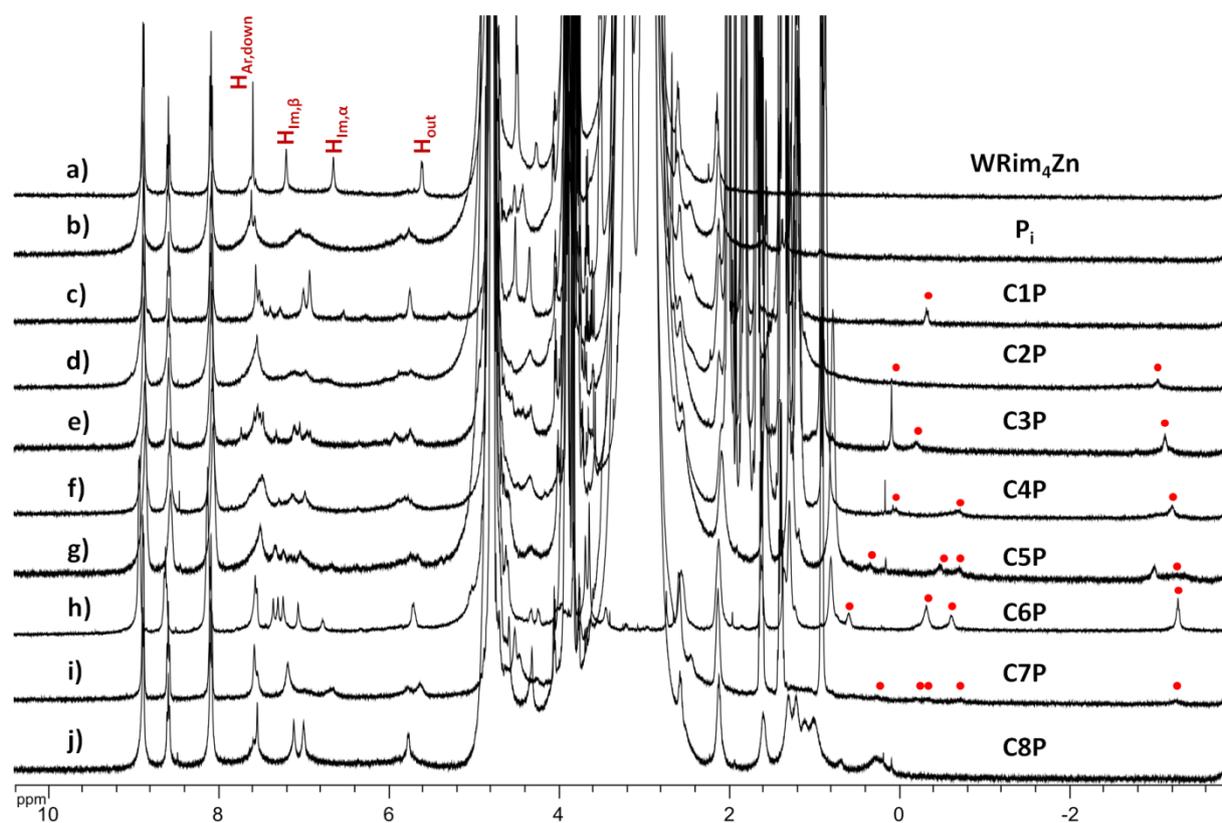


Figure 114 : Addition de monoalkylphosphates à WRim₄Zn (1 mM) à pD = 7,4 (tampon HEPES 100 mM) (RMN ¹H, D₂O, 300 K, 500 MHz). a) WRim₄Zn (1 mM); b) + 9.8 equiv. H₂PO₄; c) + 11.3 equiv. C1P; d) + 15.2 equiv. C2P; e) + 10.5 equiv. C3P; f) + 7.4 equiv. C4P ([WRim₄Zn] = 2 mM); g) + 6.8 equiv. C5P; h) + 2.5 equiv. C6P ([WRim₄Zn] = 3.5 mM, non tamponné, pD = 7,4); i) + 1.5 equiv. C7P; j) + 3 equiv. C8P. Les points rouges indiquent les signaux correspondant aux chaînes incluses dans la cavité du complexe.

Une étude en température en présence de C5P permet d'avancer une hypothèse quant à la nature de cette seconde espèce (Figure 115). Lorsque la température augmente, les signaux aromatiques correspondant à H_{Im,α} et H_{Im,β} (entre 7 et 7,5 ppm) se resserrent et les pics à haut champ disparaissent. Ces changements sont caractéristiques de la décoordination et la régénération de WRim₄ libre. Lorsque la température diminue en revanche, les signaux de l'espèce fine (en rouge) s'affinent. En d'autres termes, lorsque la température augmente, l'espèce large (en bleu) est favorisée par rapport à l'espèce fine qui prédomine plutôt à 5 °C. Ces observations, ajoutées au fait que les signaux bleus sont très larges, suggèrent que l'espèce fine est le complexe attendu [WRim₄Zn(C5P)]⁴⁺ et que l'espèce large est due à la formation partielle d'un agrégat.

L'inclusion des différents monophosphoesters peut donc donner lieu à la formation de plusieurs espèces. La reconnaissance est déterminée par la cavité : P_i et C8P ne sont pas stériquement adaptés et entraînent une décoordination du zinc(II) ; les phosphates C1P, C2P et C7P sont à la limite de ce que la cavité peut accepter. Au final seuls les phosphates C3P à C6P sont efficacement reconnus, mais existe-t-il une sélectivité entre eux ? Pour le savoir une étude ITC est menée (Figure 116).

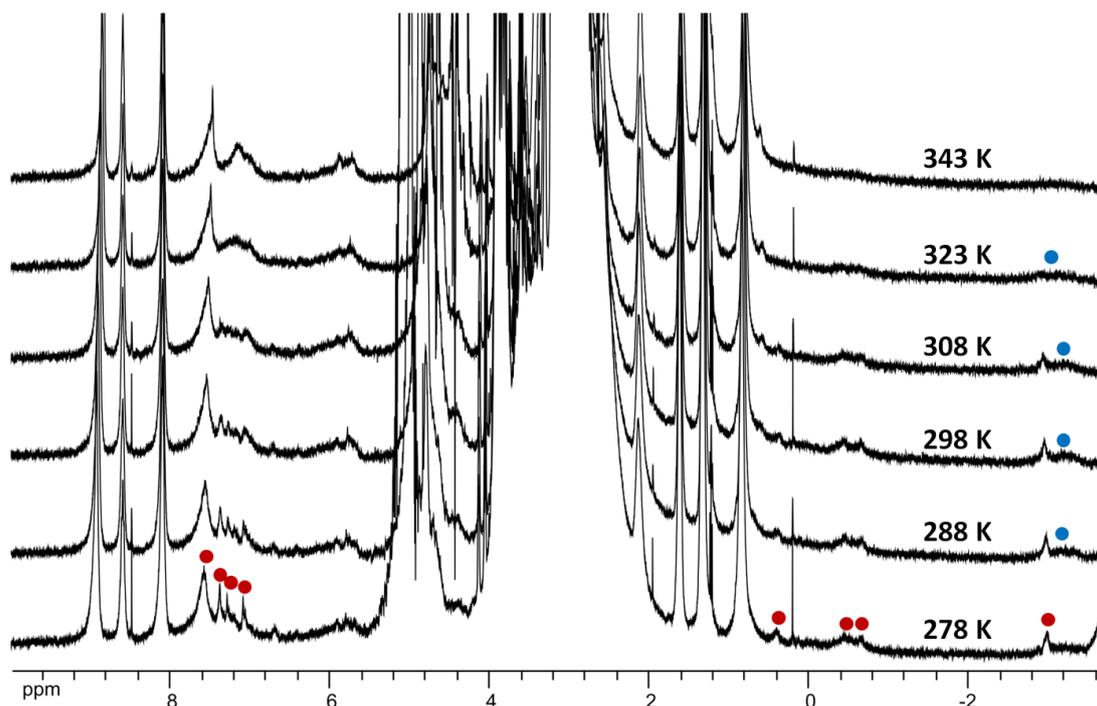


Figure 115 : Etude par variation de température du complexe $\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{C5P})$ à $\text{pD} = 7,4$ (RMN ^1H , D_2O , 500 MHz). Conditions : $[\text{WRim}_4\text{Zn}] = 1 \text{ mM}$, 7,2 equiv. C5P, HEPES 100 mM, triméthylphosphate 2,3 equiv. (pour référence RMN ^{31}P). Les points rouges et bleus indiquent les deux espèces formées à l'addition de C5P.

Pour chaque phosphate (de C3P à C7P), deux dosages par ITC sont effectués dans les mêmes conditions. Les résultats sont reproductibles et étonnants. Tout d'abord, avec C7P les données obtenues n'ont pas pu être modélisées avec une fonction correspondant à la formation d'un complexe 1:1. Cela est cohérent avec l'observation par RMN qui montre qu'il y a compétition entre la formation d'un complexe $\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{C7P})$ et la décoordination pour former un complexe zinc(II)–phosphate et régénérer le ligand WRim_4 . Etant donné qu'un résultat similaire est attendu avec C1P et C2P, les dosages avec ces deux phosphates n'ont pas été réalisés.

Les résultats obtenus avec les phosphates C3P à C6P sont plus intéressants. En effet, lorsque la chaîne s'allonge les paramètres thermodynamiques associés à l'interaction entre CxP et WRim_4Zn changent drastiquement. Tout d'abord, les données obtenues permettent de confirmer que l'interaction la plus forte est associée à C6P, avec une constante de complexation de $(3,6 \pm 0,1) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$. Pour des chaînes plus courtes (C3P et C4P), les K' sont un ordre de grandeur inférieurs à cette valeur. Il est à noter que dans tous les cas c'est le paramètre entropique qui est déterminant, et qu'il diminue lorsque la chaîne s'allonge. L'aspect enthalpique de la complexation est également remarquable. En effet, la formation du complexe $[\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{C6P})]^{4+}$ est exothermique et associée à un enthalpie standard de -6 kJ/mol alors que pour C3P et C4P c'est un phénomène endothermique qui est obtenu. Plus la longueur de chaîne augmente plus la complexation devient enthalpiquement favorable et moins elle est entropiquement favorable. Les données obtenues pour C5P n'ont pas pu être modélisées ce qui peut provenir du fait que cette longueur de chaîne correspond à une très faible interaction avec WRim_4Zn en termes d'enthalpie.

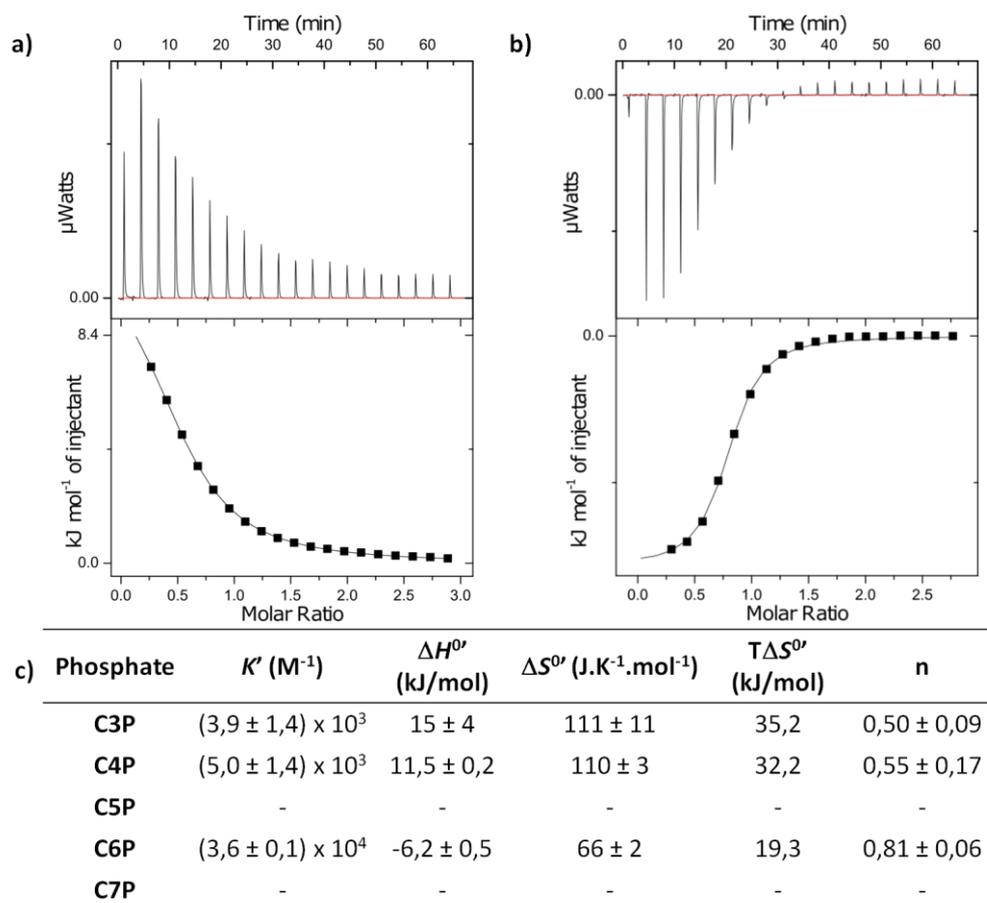


Figure 116 : Etude de la complexation de monoalkylphosphates par $WRim_4Zn$ par ITC (à 293 K) en milieu tamponné (HEPES 100 mM, pH = 7). Le complexe $WRim_4Zn$ (1 mM) est dosé par une solution de phosphate (15 mM ou 25 mM). a) Dosage de $WRim_4Zn$ (1 mM) par C3P (15 mM) ; b) Dosage de $WRim_4Zn$ (1 mM) par C6P (15 mM) ; c) Tableau récapitulatif des résultats obtenus.

Une interprétation basée sur l'observation du comportement en RMN des différents monoalkylphosphates mis en présence de $WRim_4Zn$ peut être proposée pour ces résultats. Le cas de C6P est le plus simple : un seul complexe est formé, $[WRim_4Zn(C6P)]^{4+}$. Il s'agit d'un procédé entropiquement et enthalpiquement favorable, avec une dominante entropique qui peut être expliquée par la désolvatation du phosphate et la libération d'une molécule d'eau coordonnée lors de la formation du complexe 1:1.

La situation est plus complexe dans le cas des phosphates C3P à C5P. Comme cela est observé par spectroscopie RMN (Figure 114), pour ces trois invités l'inclusion dans la cavité est visible par la présence de signaux à haut champ sous deux formes. La première, large, serait due à la formation d'agrégats. La deuxième, fine, est attribuée aux complexes $[WRim_4Zn(CxP)]^{4+}$. L'étude par ITC ne permet pas de distinguer la formation de ces deux espèces. Cependant les valeurs de n obtenues pour C3P et C4P, autour de 0,5, suggèrent que l'attribution proposée est exacte : en moyenne c'est une complexation 1:2 (CxP/ $WRim_4Zn$) qui est obtenue.

Une étude par compétition est réalisée et suivie par spectroscopie RMN : à une solution contenant $WRim_4Zn$ (1 mM) et environ 1,5 équivalents de C6P, un autre phosphate est ajouté

progressivement (Figure 117). Le pD est maintenu constant à 7,4 au cours de l'expérience grâce à un tampon (HEPES 100 mM). Par intégration des signaux à haut champ correspondant aux phosphates inclus, les quantités de chaque complexe ainsi que de chaque phosphate libre peuvent être déduites.

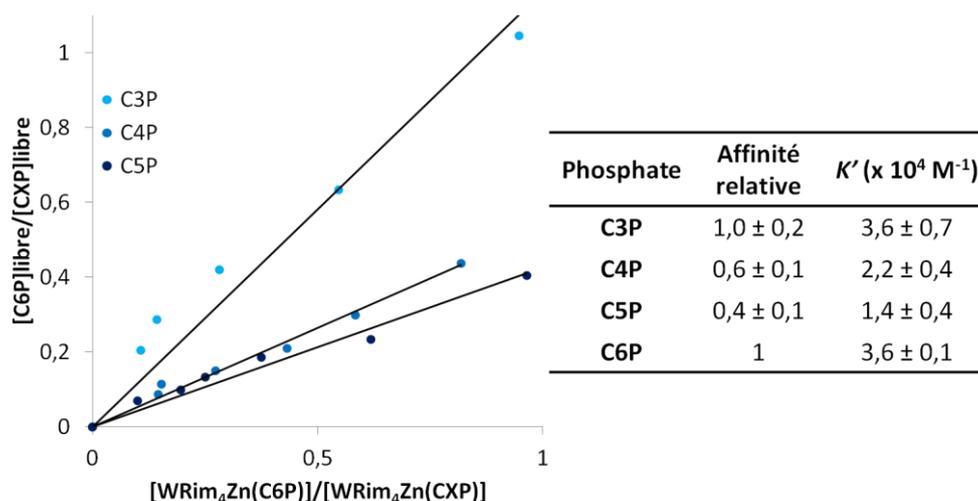


Figure 117 : Etude de la complexation de monoalkylphosphates par WRim₄Zn par dosage par compétition suivi par RMN ¹H (D₂O, 300 K, 500 MHz) à pD = 7,4 en milieu tamponné HEPES 100 mM. Le monoalkylphosphate étudié est ajouté à une solution de WRim₄Zn (1 mM) contenant environ 1,5 équivalent de C6P.

Les données obtenues par RMN (Figure 117) ont une allure sigmoïdale alors qu'une stœchiométrie 1:1 devrait donner des droites. De plus les valeurs des constantes d'affinité relatives K' extrapolées à partir des droites ne concordent pas avec les données obtenues par ITC. Les résultats obtenus par les deux techniques concordent cependant pour indiquer que le monoheptylphosphate C6P présente la meilleure affinité pour le complexe WRim₄Zn.

Pour chaque invité, les déplacements chimiques correspondants à la forme libre et complexée sont relevés et permettent de déduire le blindage induit par la formation des complexes, noté $\Delta\delta$ (Figure 118). Les $\Delta\delta$ proviennent de la proximité du macrocycle, un invité situé au plus profond de la cavité pouvant atteindre $\Delta\delta = 4$ ppm. Les valeurs comparées des $\Delta\delta$ obtenus sur chaque groupement méthylène de la chaîne permettent de visualiser indirectement le positionnement des chaînes alkyles par rapport à la cavité. Il apparaît que les déplacements dépendent peu de la longueur du monoalkylphosphate. Pour chacun, le méthyle terminal subit un blindage d'environ 4 ppm, ce qui correspond au maximum observé avec ce type de cavité et montre que tous les phosphates sont profondément enfouis dans la structure. Lorsque la chaîne s'allonge, les CH₂ les plus proches du groupement phosphate sont de moins en moins blindés car plus distants de la cavité. Cette évolution peut être expliquée par un changement de conformation non pas au niveau de la cavité lorsque la chaîne du phosphate s'allonge mais au niveau des bras. Les bras imidazoles, qui font partie de la première sphère de coordination du métal, peuvent se déplier pour permettre la complexation avec la tête du phosphate malgré différentes longueurs de chaîne. Une modélisation par le logiciel HyperChem (structure optimisée sans solvant) permet de visualiser le déploiement des bras et le repliement du phosphate lors du passage de la chaîne la plus courte reconnue (C3P) à la chaîne la plus longue (C6P) ; la modélisation propose un positionnement dans la cavité similaire pour les deux

espèces, en concordance avec les $\Delta\delta$ calculés (Figure 118). Les représentations HyperChem sont obtenues en considérant que le zinc(II) est entouré d'un phosphate et deux imidazoles, avec deux imidazoles libres selon les résultats présentés dans la section suivante.

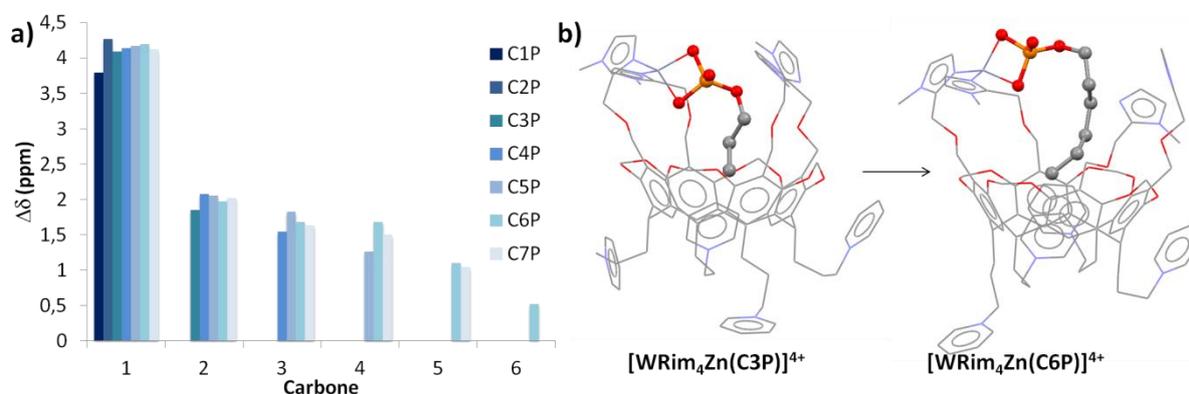


Figure 118 : a) Blindage (en ppm) induit par la complexation de chaque phosphate sur les signaux de la chaîne correspondante pour chaque carbone à pD = 7,4 (numérotation à partir du carbone terminal). b) Représentation (logiciel HyperChem, les hydrogènes sont omis pour plus de clarté) des complexes $[\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{C3P})]^{4+}$ et $[\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{C6P})]^{4+}$ (chaînes incluses la plus courte et la plus longue).

Parmi les monoalkylphosphates investigués, C6P présente la plus haute affinité ainsi que des signaux plus fins et mieux résolus que les autres complexes de phosphates. C'est remarquable pour une chaîne de six carbones plus un oxygène, et d'autant plus que le carboxylate correspondant, dérivé de l'acide heptanoïque, ne présente aucune interaction avec WRim_4Zn dans l'eau à pD = 7,4. La différence de reconnaissance peut provenir du fait d'une part que le phosphate est dianionique et d'autre part de la géométrie des anions, l'un étant trigonal plan rigide et l'autre tétraédrique, plus apte à faciliter l'orientation de la chaîne vers la cavité. Pour mieux comprendre comment la complexation d'un invité aussi long est possible, une étude RMN plus poussée a été effectuée avec C6P en collaboration avec l'équipe du professeur Nicolas Giraud de l'UMR 8601 à l'Université Paris Descartes.

3. Monoheptylphosphate

Cette partie s'intéresse à l'interaction entre le monoheptylphosphate (C6P) et d'une part le ligand WRim_4 , d'autre part le complexe WRim_4Zn . Il est à noter que C6P n'est pas commercial et est synthétisé sous la forme du diacide monoheptylphosphorique à partir d'une procédure reportée dans la littérature.³¹

L'addition de 1,2 équivalents de C6P au ligand WRim_4 ou au complexe WRim_4Zn dans les mêmes conditions (concentration 3,5 mM, pD = 7,4) conduit à un changement du spectre RMN des deux composés, indiquant une interaction dans les deux cas (Figure 119). Plus précisément, il y a relativement à C6P un blindage des signaux associés à la chaîne hexyle qui montrent qu'elle est incluse dans la cavité (points rouge sur la figure). Par ailleurs, les signaux correspondant au résorcinarène sont aussi affectés : il y a un déplacement des signaux de WRim_4 , et dans le cas de WRim_4Zn les pics sont non seulement déplacés mais également dédoublés, ce qui indique un changement de symétrie du système. Il se forme de nouvelles espèces résorcinarène-C6P. Dans le

cas du ligand WRim₄, l'espèce formée C6P@WRim₄ est en échange rapide avec le phosphate et le ligand libres par rapport à l'échelle de temps RMN. Avec WRim₄Zn cependant, comme avec tous les complexes observés jusqu'ici, c'est un échange lent qui est obtenu.

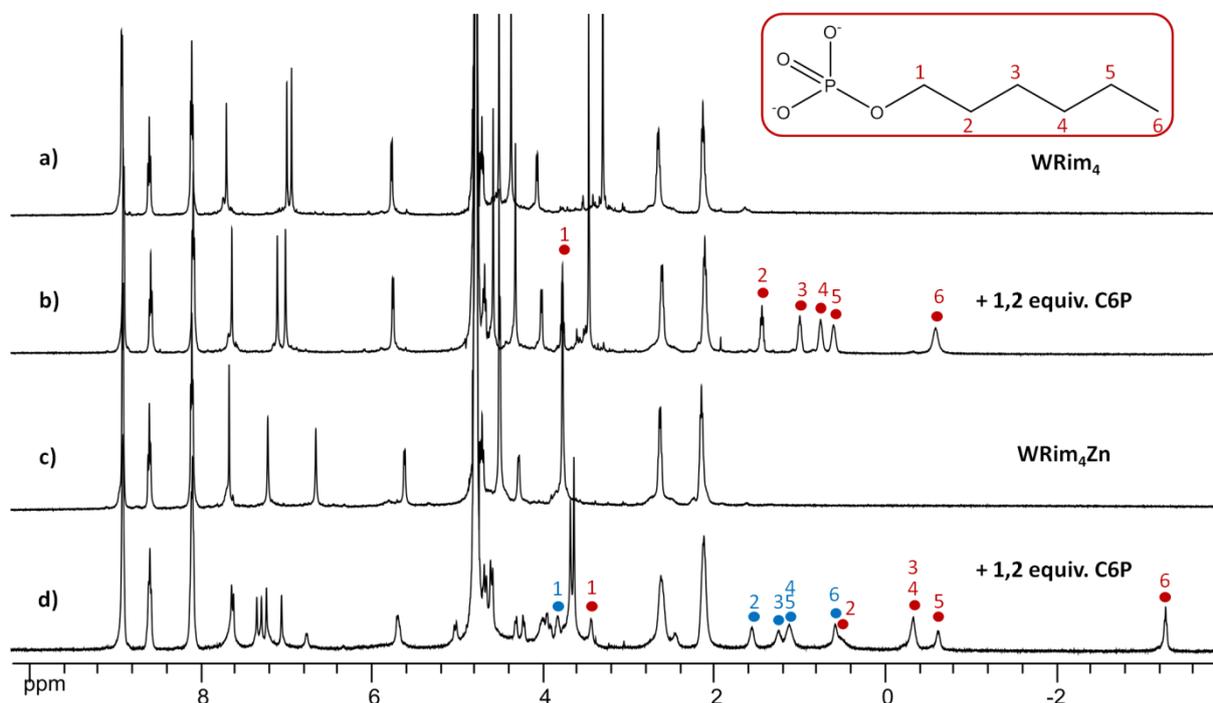


Figure 119 : RMN ¹H (D₂O, 300 K, 500 MHz) à pD = 7,4 de : a) WRim₄ (3,5 mM) ; b) WRim₄ (3,5 mM) + 1,2 equiv. C6P ; c) WRim₄Zn (3,5 mM) ; d) WRim₄Zn (3,5 mM) + 1,2 equiv. C6P. Les signaux associés à la chaîne hexyle sont indiqués par des points rouges (inclus) et bleus (libre).

Ces résultats sont remarquables à deux niveaux : i) c'est la plus longue chaîne qui ait été reconnue à ce jour par un de nos systèmes et ii) l'invité présente une affinité pour le ligand seul WRim₄, ce qui est inhabituel. Cette interaction est donc étudiée en détail dans la suite, tout d'abord vis-à-vis du ligand puis avec le complexe de zinc(II).

Interaction avec WRim₄

Les bras du ligand comportent quatre résidus imidazole basiques, et ses pattes quatre fonctions pyridinium. L'aptitude de systèmes ammonium à reconnaître les phosphates est connue,⁹⁻¹¹ et provient principalement d'interactions charge-charge stabilisantes avec les charges négatives portées par le phosphate. Dans le cas de WRim₄, l'addition de C6P provoque le déplacement de pics en RMN associés aux fonctions imidazoles (à 6,92 et 6,97 ppm) alors que les signaux correspondant aux pyridinium sont inchangés (à 8,10, 8,59 et 8,91 ppm). L'interaction se fait donc au niveau des bras, et probablement avec les imidazoles sous forme protonée. Une étude en fonction du pH du ligand (chapitre 3) a montré que les fonctions imidazole se protonent de manière indifférenciée avec un pK_a moyen de 5,74 et C6P a lui-même deux états de protonation (avec pour pK_a 1,8 et 7,0). Le choix du pH d'étude de la formation d'un adduit C6P@WRim₄ est donc crucial.

La formation de l'adduit se fait en échange rapide par rapport à l'échelle de temps RMN car aucun signal correspondant au phosphate libre n'est observé malgré sa présence en excès dans la

Figure 119. Les conditions utilisées permettent d'observer la dépendance en pH par RMN : WRim₄ (3,5 mM), 1,2 équivalents de C6P. Dans ce cas le ligand n'est pas saturé en phosphate et la force relative de l'interaction à différents pH peut être déduite de la variation de déplacement chimique observée au niveau des signaux de C6P. En effet lorsque le pH change un blindage des signaux correspondant à la chaîne incluse en échange rapide indique un pourcentage d'adduit plus élevé quand un déblindage indique la présence de plus de phosphate libre dans les mêmes conditions de concentration, donc une constante d'affinité moins importante (Figure 120 et Figure 121).

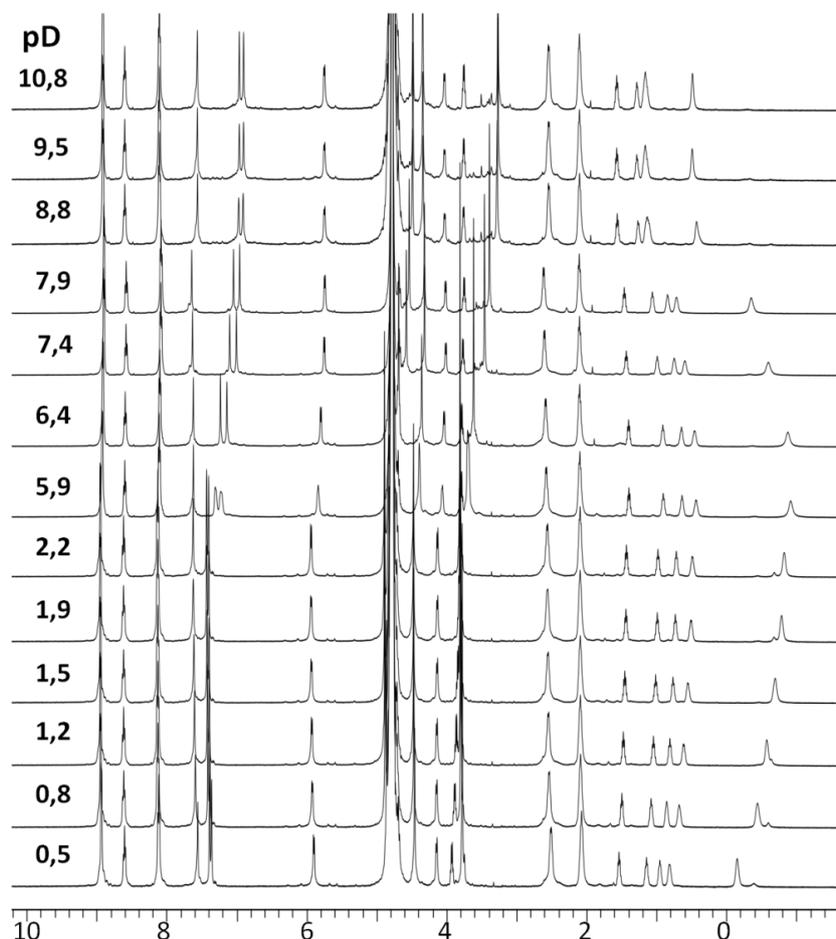


Figure 120 : WRim₄ (3,5 mM) avec 1,2 equiv. C6P, variation de pH suivie par RMN ¹H (D₂O, 300 K, 500 MHz).

Le signal le plus affecté par la variation de pH est le méthyle inclus (vers -1 ppm), c'est donc lui est suivi pour estimer la force de l'interaction. La formation de l'adduit est maximale sur une large gamme de pD, s'étendant de 2 à 6,5. A pH acide, la protonation du phosphate entraîne sa libération. A partir de pD = 6,4, la déprotonation des imidazoles a le même effet. Le suivi des déplacements chimiques associés aux protons portés par les imidazoles, H_{Im,α} et H_{Im,β} (entre 6,9 et 7,5 ppm selon le pD) permet d'estimer leur état de protonation par comparaison avec les signaux attendus pour le ligand libre WRim₄ (Figure 122). En présence de C6P les pK_a des quatre imidazoles sont indifférenciés et le suivi des déplacements chimiques obtenus en fonction du pD permet d'évaluer le pK_a moyen à (6,83 ± 0,08). Cela représente un décalage de plus d'une unité de pH par rapport au ligand libre (dont le pK_a moyen est (5,74 ± 0,04)). De plus, la protonation du ligand correspond à la libération de C6P en solution, l'interaction charge-charge phosphate-imidazolium est donc déterminante pour la

reconnaissance. Dans la suite le pD est fixé à 5,9. Dans ces conditions le ligand est partiellement protoné, l'interaction est optimale et le pH reste proche de la neutralité.

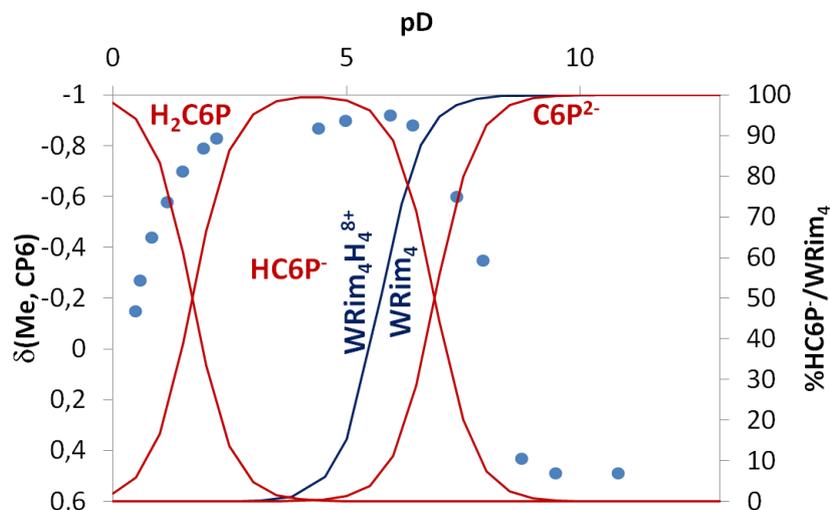


Figure 121 : WRim₄ (3,5 mM) avec 1,2 equiv. C6P, variation de pH suivie par RMN ¹H (D₂O, 300 K, 500 MHz). Suivi du déplacement chimique du phosphate inclus (vers -1 ppm) en fonction du pH superposé avec les diagrammes de prédominance de C6P (rouge) et WRim₄ (bleu foncé).

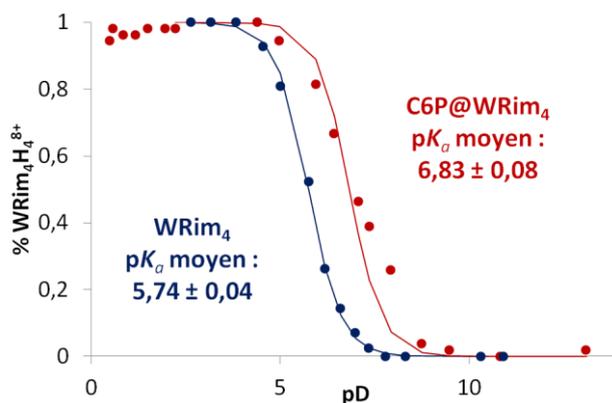


Figure 122 : Suivi des déplacements chimiques (normalisés) associés aux protons H_{Im,α} et H_{Im,β} selon le pD et modélisation pour obtenir les valeurs de pK_a moyens correspondants. En bleu, pour le ligand libre WRim₄ et en rouge en présence de 1,2 équivalents de C6P.

Un dosage RMN permet de déterminer la constante associée à la formation de C6P@WRim₄ (Figure 123) à pD = 5,9 : $K = (5,4 \pm 0,6) \times 10^2 \text{ M}^{-1}$, pour la formation d'un adduit 1:1. Cette valeur indique une reconnaissance modérée dans l'eau du monoalkylphosphate par WRim₄. Les spectres RMN montrent que les signaux les plus affectés par la formation de l'adduit sont, d'une part, associés aux protons de la chaîne du phosphate (cinq signaux en-dessous de 5 ppm), et d'autre part au niveau du résorcinarène correspondant aux protons portés par les imidazoles H_{Im,α} et H_{Im,β} (à 7,29 et 7,37 ppm) et au proton H_{Ar,down} aromatique de la cavité (à 7,58 ppm). Ceci indique que l'adduit se forme du fait de deux effets, l'un lié aux charges NH⁺/PO⁻ et l'autre provenant d'une stabilisation par effet hydrophobe de la chaîne hexyle par inclusion dans la cavité.

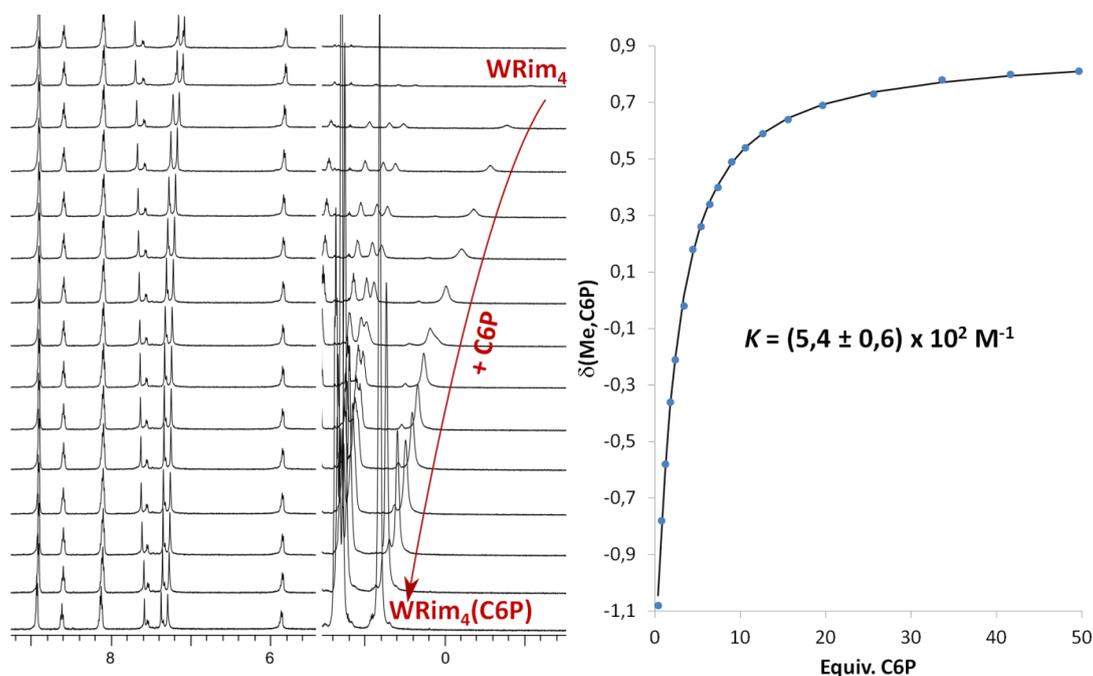


Figure 123 : Dosage par addition de C6P (jusqu'à 50 equiv.) à WRim₄ (1 mM) à pD = 5,9 (tampon MES 100 mM). RMN ¹H (D₂O, 300 K, 500 MHz).

Il est cependant surprenant de constater qu'une chaîne longue de six carbones puisse être acceptée par la même cavité qui ne reçoit pas le propionate. Pour mieux comprendre comment la chaîne peut se replier pour rendre cela possible une étude RMN plus poussée est réalisée en collaboration avec l'équipe du professeur Nicolas Giraud à l'Université Paris Descartes.

L'effet de blindage observé sur les signaux du fragment hexyle est dû au cône de blindage engendré par le macrocycle, et plus un proton est situé profondément dans la cavité plus le blindage est important. Or les spectres 1D de l'adduit C6P@WRim₄ montrent que parmi les pics du phosphate le plus affecté est celui du méthyle terminal, qui est observé jusqu'à -1,1 ppm malgré le régime d'échange rapide. Cette valeur, connaissant la constante d'association au pD d'étude, permet d'extrapoler le δ théorique du C6P dans l'adduit C6P@WRim₄, pour obtenir un $\Delta\delta$ de 2,3 ppm par rapport au phosphate libre. Cela indique que c'est bien le méthyle qui est situé au fond de la cavité, puis la reste de la chaîne s'enroule vers le haut.

Pour avoir une image de cet enroulement, d'une part les $\Delta\delta$ associés à tous les signaux de la chaîne (en RMN ¹H et ¹³C, Figure 124) sont mesurés et d'autre part une étude NOESY de l'adduit est réalisée (Figure 125). L'étude des $\Delta\delta$ mesurés sur les spectres proton permet d'avoir un aperçu de l'environnement de la chaîne, et montre que chaque CH₂ est plus haut que le précédent. Le méthyle terminal est seul au cœur de la cavité (carbone n°6), puis les carbones 2 à 5 s'élèvent progressivement jusqu'à carbone 1 qui est complètement hors de l'influence de la cavité. Cela suggère que le phosphate reste droit ; s'il y avait eu un enroulement des paliers de $\Delta\delta$ auraient été observés et non pas une diminution régulière. Les déplacements mesurés en RMN carbone sont moins réguliers. Comme en proton le carbone terminal est le plus affecté, mais ensuite dès le second carbone l'effet est beaucoup plus faible voire négligeable étant donné la différence de largeur spectrale entre proton et carbone.

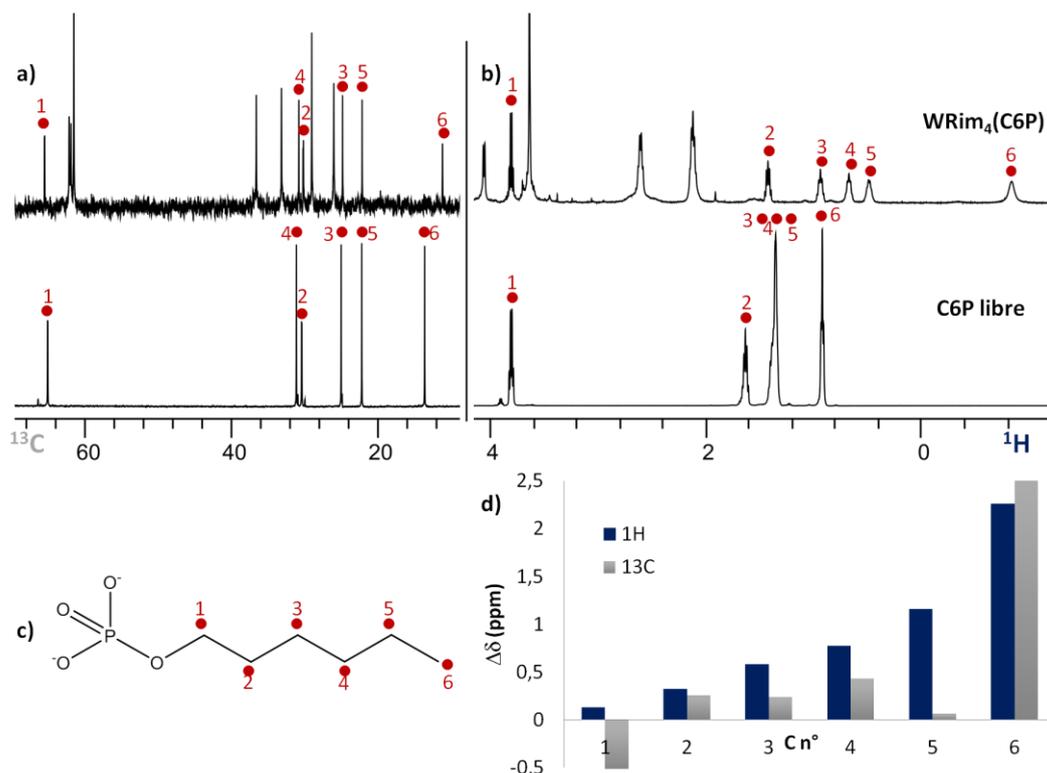


Figure 124 : Etude RMN du blindage des signaux de C6P dans l'adduit C6P@WRim₄. Conditions : WRim₄ (3,5 mM) avec 1,2 equiv. C6P à pD = 6,4 (haut) comparé à C6P seul (pD = 7,4, bas). a) RMN ¹³C (D₂O, 300 K, 125 MHz) ; b) RMN ¹H (D₂O, 300 K, 500 MHz) ; c) Schéma des attributions ; d) Déplacement en ppm entre C6P complexé (extrapolé pour 100% de complexation) et C6P libre pour chaque signal.

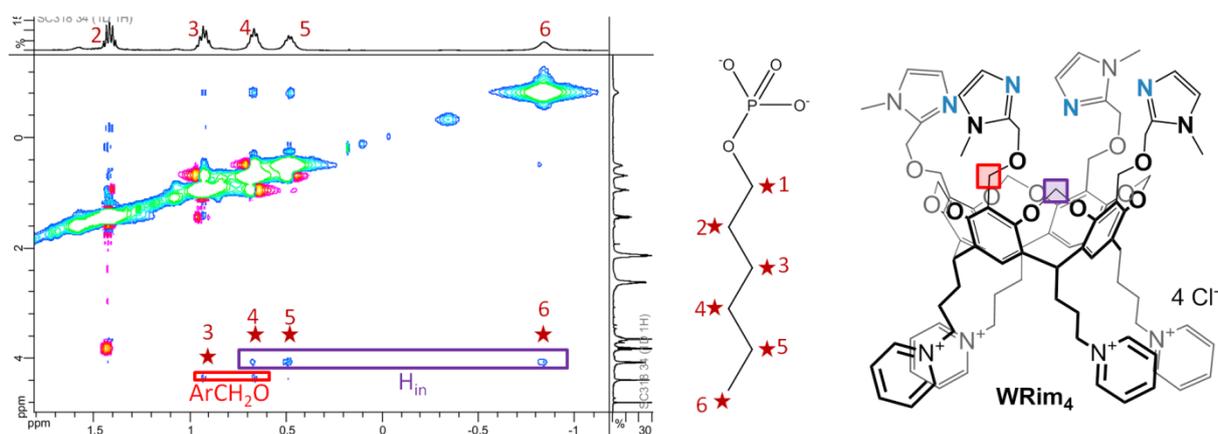


Figure 125 : Extrait de NOESY (D₂O, 300 K, 500 MHz) de WRim₄ (3,5 mM) avec 1,2 equiv. C6P, pD = 6,4.

Le spectre NOESY obtenu permet de mieux visualiser le positionnement de la chaîne hexyle au sein de la cavité. Des corrélations spatiales apparaissent en effet entre la partie terminale de la chaîne (carbones 4, 5 et 6) et le pont méthylène du ligand puis entre la partie médiane du phosphate (carbones 3 et 4) et la partie basse des bras imidazole. Ceci et l'étude des $\Delta\delta$ obtenus permettent de comprendre l'arrangement du phosphate dans l'adduit C6P@WRim₄ : le positionnement est guidé par la cavité. Tout d'abord le méthyle est profondément inclus, puis les carbones 5 et 4 se placent. Le carbone 4 est à la limite du bol, et les carbones suivants (1, 2, 3) se positionnent entre les bras. Ce qui

amène la tête chargée du phosphate à portée des imidazolium et favorise l'interaction. En l'absence de métal une chaîne de six carbones (plus un oxygène) est donc adaptée pour combiner la stabilisation due à l'hydrophobicité de la cavité à une interaction avec les groupements imidazole.

C6P peut donc former un adduit avec WRim₄ à un pH adapté. La présence d'un ion métallique, volumineux, réduit la taille effective de la cavité et limite la souplesse de la structure. Il est remarquable que WRim₄Zn(C6P) soit observé, et de plus que sa formation soit associée à une constante plus de deux ordres de grandeur supérieure à celle de l'adduit C6P@WRim₄. Comment le phosphate est-il positionné dans ce cas ?

Interaction avec WRim₄Zn

L'addition de C6P à WRim₄Zn à pD = 7,4 amène à la formation d'une nouvelle espèce en échange lent avec WRim₄Zn par rapport à l'échelle de temps RMN (Figure 119). Cette nouvelle espèce est caractérisée par une série de signaux à haut champ (entre 0 et -4 ppm) et un déplacement de signaux du complexe WRim₄Zn, en particulier ceux correspondant aux imidazoles (H_{Im,α}, H_{Im,β} et méthyle) et au pont méthylène. De plus une partie des signaux sont dédoublés ce qui montre l'existence soit de plusieurs espèces soit d'un changement de symétrie.

Dans un premier temps, une variation de pH est réalisée afin d'identifier les meilleures conditions d'étude et de déterminer le domaine de stabilité des espèces formées (Figure 126). A pH acide et basique le ligand décoordiné est obtenu. Le domaine d'existence de WRim₄Zn(C6P) se situe entre pD 5 et 10, avec une complexation optimale (déterminée par intégration des signaux intracavité correspondant à la proportion de phosphate inclus) entre 7 et 9,5.

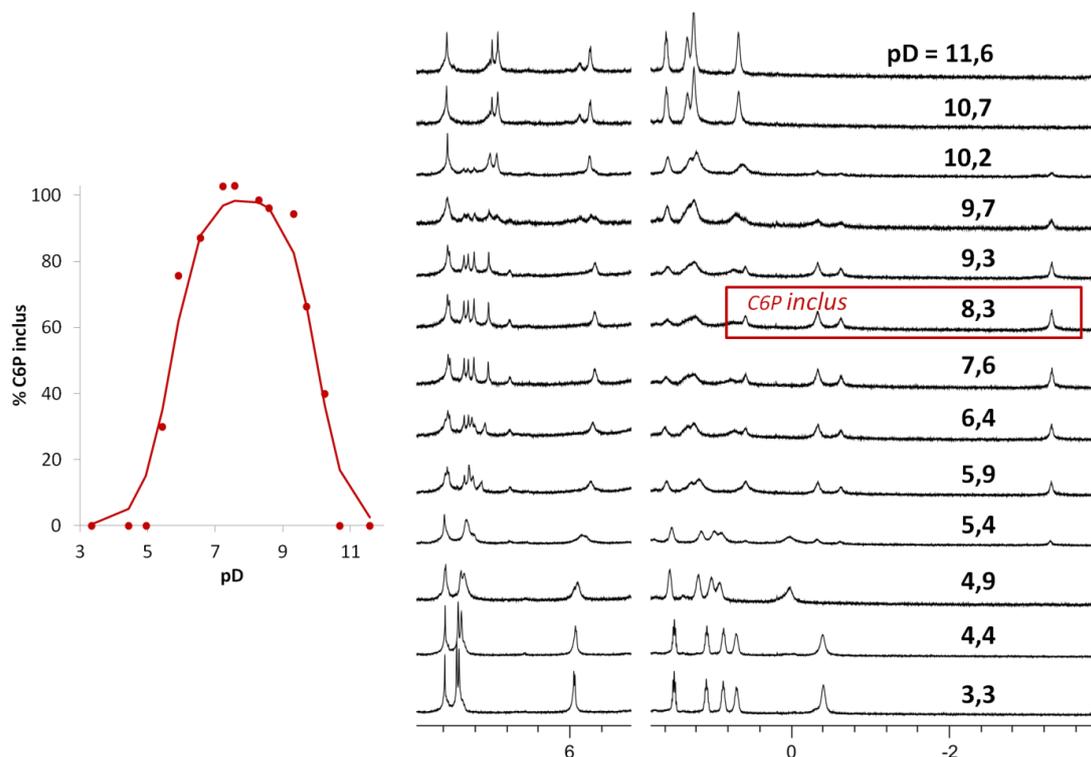


Figure 126 : Etude par variation de pH de WRim₄Zn (3,5 mM) avec 1,2 equiv. C6P. RMN ¹H (D₂O, 300 K, 500 MHz).

La présence de C6P permet donc d'étendre le domaine de stabilité du complexe zincique de deux unités de pH (il est de 5,5 à 8,5 pour $[\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{D}_2\text{O})]^{6+}$). La suite des études est réalisée à $\text{pD} = 7,4$, afin d'être à la fois dans la zone de reconnaissance optimale et également dans des conditions comparables aux études hôte-invité réalisées jusqu'ici.

La constante de formation de $\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{C6P})$, obtenue par ITC, est $K' = (7,2 \pm 0,4) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ à $\text{pH} = 7$. C'est la plus haute valeur observée avec ce récepteur à l'heure actuelle, et montre l'affinité particulière du système pour un invité de type phosphate comparé aux invités anioniques connus de $(\text{W})\text{Rim}_4\text{Zn}$ tels que les carboxylates. Afin de comprendre cette particularité une étude RMN plus approfondie est effectuée.

En premier lieu, une variation de température permet de déterminer les meilleures conditions d'étude (Figure 127). En balayant la température de 5 à 80 °C il apparaît que plus la température est basse plus les signaux s'affinent. A l'inverse, une augmentation de température induit une diminution jusqu'à disparition des signaux à haut champ ainsi qu'un rapprochement des deux pics correspondant aux imidazoles ($\text{H}_{\text{im},\alpha}$ et $\text{H}_{\text{im},\beta}$, entre 7 et 7,2 ppm). A 80 °C le spectre est semblable à celui du ligand libre et un précipité apparaît dans le tube RMN, ce qui indique qu'une augmentation de température favorise la formation d'un complexe zinc(II)–phosphate et la décooordination de WRim_4 . Les conditions optimales d'étude sont donc à basse température, cependant on observe peu de différence entre les spectres acquis à 5 et 27 °C, les conditions choisies pour la suite sont 300 K pour des raisons pratiques.

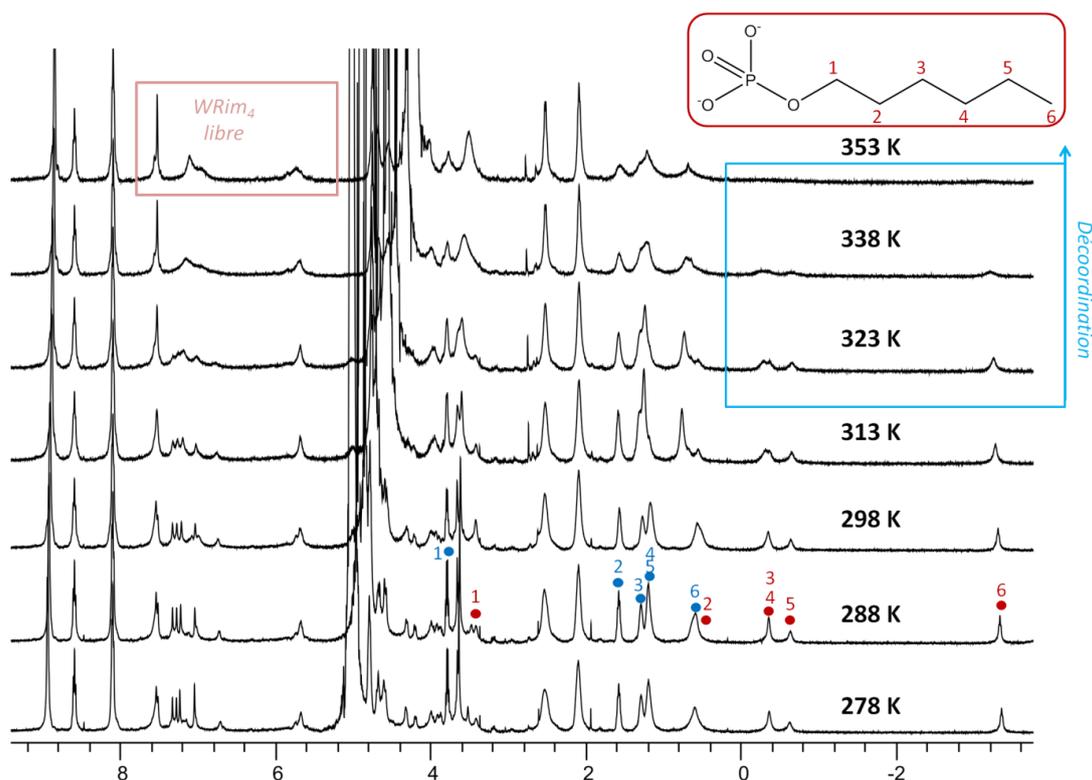


Figure 127 : Etude en température de $\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{C6P})$ à $\text{pD} = 7,4$, RMN ^1H (D_2O , 300 K, 500 MHz). Conditions : WRim_4Zn (3,5 mM), 1,9 equiv. C6P (en bleu, C6P libre ; en rouge, C6P inclus).

Comme avec l'adduit C6P@WRim₄, la mesure du blindage des signaux de la chaîne du phosphate permet d'avoir une première idée de la configuration spatiale du complexe. Les $\Delta\delta$ observés en RMN ¹H et ¹³C sont relevés (Figure 128). L'effet est similaire à ce qui est observé pour l'adduit C6P@WRim₄. Le méthyle terminal est profondément enfoui dans la cavité, avec un $\Delta\delta$ de 4 et 6 ppm en proton et carbone respectivement. Les autres carbones de la chaîne ne ressentent pas d'effet significatif de blindage (moins de 1 ppm), les signaux des protons sont plus révélateurs pour les CH₂. Depuis la position 5 jusqu'à 1 les $\Delta\delta$ diminuent jusqu'à être proches de 0 pour la position 1. Un palier est visible au niveau des carbones 3 et 4 qui suggère un enroulement de la chaîne à cet endroit.

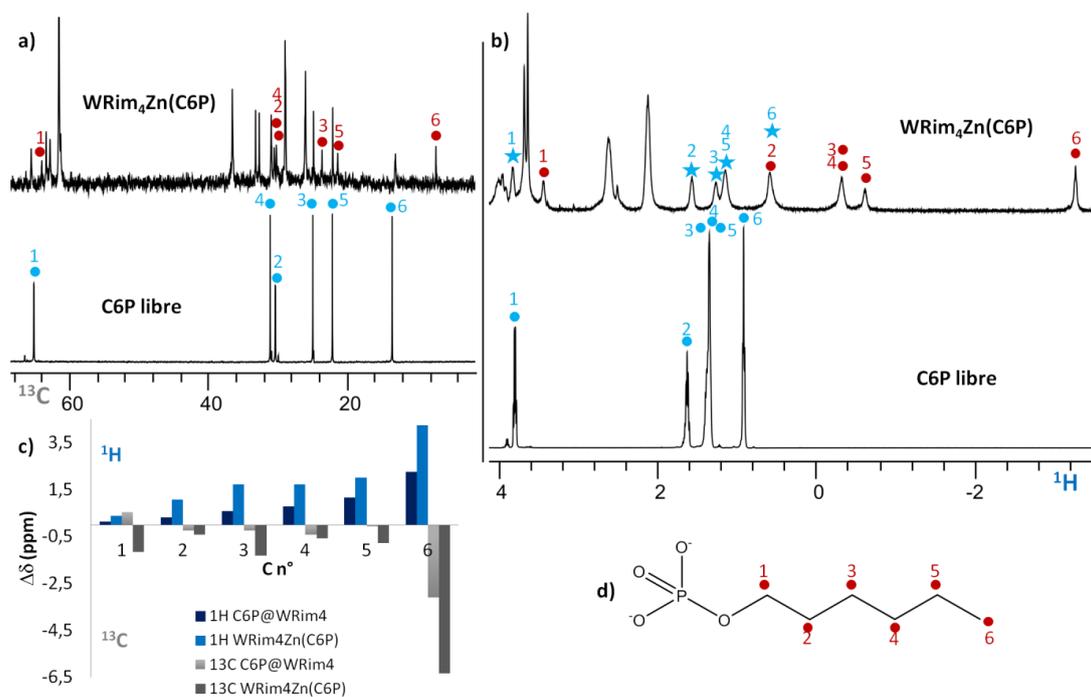


Figure 128 : Etude RMN du blindage des signaux de C6P dans le complexe WRim₄Zn(C6P). Conditions : WRim₄Zn (3,5 mM) avec 1,4 equiv. C6P (haut) comparé à C6P seul (bas) à pD = 7,4. a) RMN ¹³C (D₂O, 300 K, 150 MHz) ; b) RMN ¹H (D₂O, 300 K, 500 MHz) ; c) Déplacement en ppm comparé entre C6P complexé et C6P libre pour chaque signal et comparé à C6P@WRim₄ ; d) Schéma des attributions (en bleu, C6P libre et en rouge C6P lié).

Il est à noter que même s'il y a formation quantitative de WRim₄Zn(C6P), sans ligand ou complexe WRim₄Zn libre, les signaux correspondants à C6P libre (introduit en excès) visibles sur la Figure 128b) ne sont pas identifiables à ceux obtenus quand C6P est seul en solution mais apparaissent blindés (représenté par des étoiles bleues). Cela indique une interaction entre C6P et WRim₄Zn(C6P) et suggère que même lorsque le complexe d'inclusion est totalement formé une partie du ligand reste disponible pour se lier faiblement au C6P présent en solution à pD = 7,4. Comme les signaux associés aux pyridiniums ne sont pas affectés l'interaction a probablement lieu au niveau des bras imidazole.

Pour mieux comprendre la position du phosphate au sein du complexe, il faut élucider les dédoublements de signaux constatés en RMN ¹H à l'aide d'une étude RMN complète (COSY et NOESY). Après addition de 1,2 equiv. de C6P, l'espèce [WRim₄Zn(D₂O)]⁶⁺ initiale a complètement disparu. L'intégration des signaux intracavité montre qu'il y a un équivalent de phosphate inclus. De

plus le dosage précédemment effectué par ITC indique que la complexation correspond à une stœchiométrie 1:1 WRim₄Zn/C6P. L'étude en pH a montré que la signature du complexe n'était pas pH-dépendante, la présence de plusieurs espèces acide/base conjuguées n'est donc pas attendue. En conséquence tous les signaux observés doivent appartenir à un seul complexe de type WRim₄Zn(C6P), ayant perdu la symétrie C_{4v}.

Selon l'environnement de coordination autour du zinc(II) un nombre limité de symétries peuvent être observées. Les situations possibles sont recensées dans la Figure 129. Quatre possibilités sont envisagées. Le cas le plus simple est celui où les quatre bras imidazole ainsi que C6P sont coordonnés au cation métallique. Dans ce cas la symétrie C_{4v} est conservée. Les trois autres situations correspondent à un ou deux bras non coordonnés dans toutes les configurations possibles. Le cas où un seul bras imidazole et C6P forment la première sphère de coordination (complétée par des molécules de solvant D₂O) n'est pas envisagé car peu réaliste. Chaque mode de coordination est caractérisé par une symétrie particulière qui est observable par spectroscopie RMN sur certains signaux en particulier. En effet, toute la partie basse de ligand (chaîne propylpyridinium) est peu affectée par l'environnement de coordination du métal. En revanche, deux types de pics apportent plus d'information : d'une part, ceux correspondant aux protons portés par les imidazole H_{Im,α} et H_{Im,β} sont les plus affectés par l'environnement de Zn^{II}. D'autre part, les protons situés sur les ponts méthylène (H_{in} et H_{out}) sont à l'entrée de la cavité et caractéristiques de la coordination en *endo* d'invités. L'observation combinée du pattern de dédoublement de ces deux types de signaux permet de discriminer chacun des modes de coordination possibles.

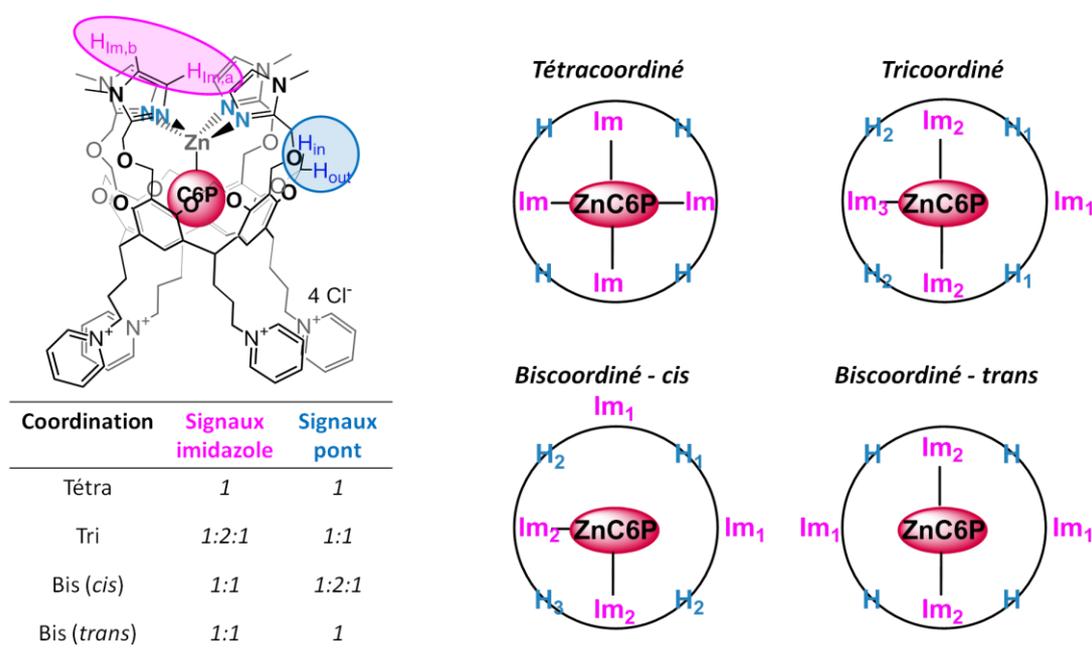


Figure 129 : Présentation schématique des différentes configurations possibles lors de la formation du complexe WRim₄Zn(C6P). En RMN ¹H, les signaux associés aux protons imidazoles (H_{Im,α/β}) ainsi qu'aux ponts méthylène (H_{in/out}) sont divisés selon les ratios présentés dans le tableau.

Etant donné la complexité du spectre obtenu à l'addition de 1,4 équivalents de C6P à WRim₄Zn (3,5 mM), une étude combinée COSY et NOESY est nécessaire pour réaliser l'attribution. La carte

NOESY permet d'identifier les signaux correspondant aux protons imidazoles et aux ponts (Figure 130). En effet les imidazoles sont attendus autour de 7 ppm, et les corrélations montrent clairement que dans cette zone quatre signaux sont liés, à 7,06, 7,24, 7,30 et 7,36 ppm.

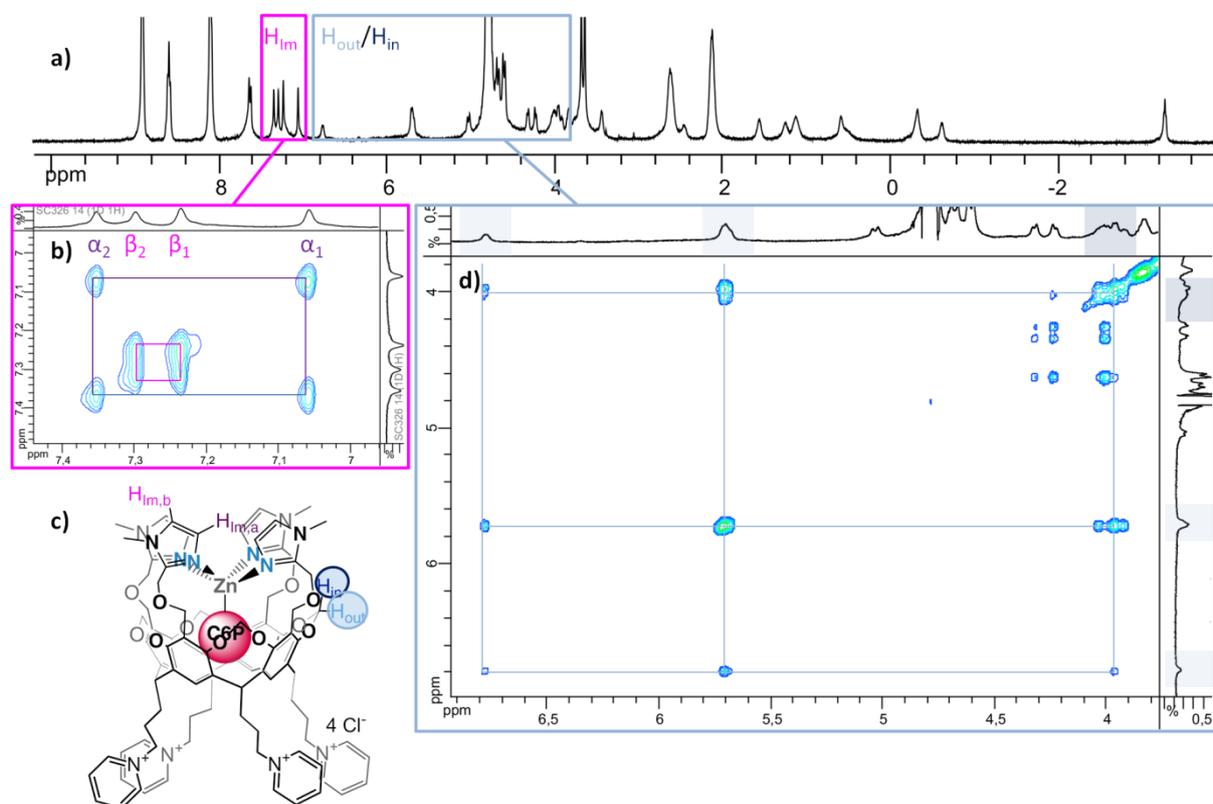


Figure 130 : Extraits de spectre NOESY de WRim_4Zn (3,5 mM) en présence de 1,4 equiv. C6P à pD = 7,4. RMN ^1H (D_2O , 300 K, 500 MHz). a) Spectre proton entier ; b) extrait de NOESY concernant les signaux $H_{\text{im},\alpha}$ et $H_{\text{im},\beta}$ (de 7 à 7,4 ppm) ; c) structure de $\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{C6P})$ (géométrie non réaliste) et protons d'intérêt ; d) extrait de NOESY concernant les signaux H_{in} et H_{out} (de 4 à 7 ppm).

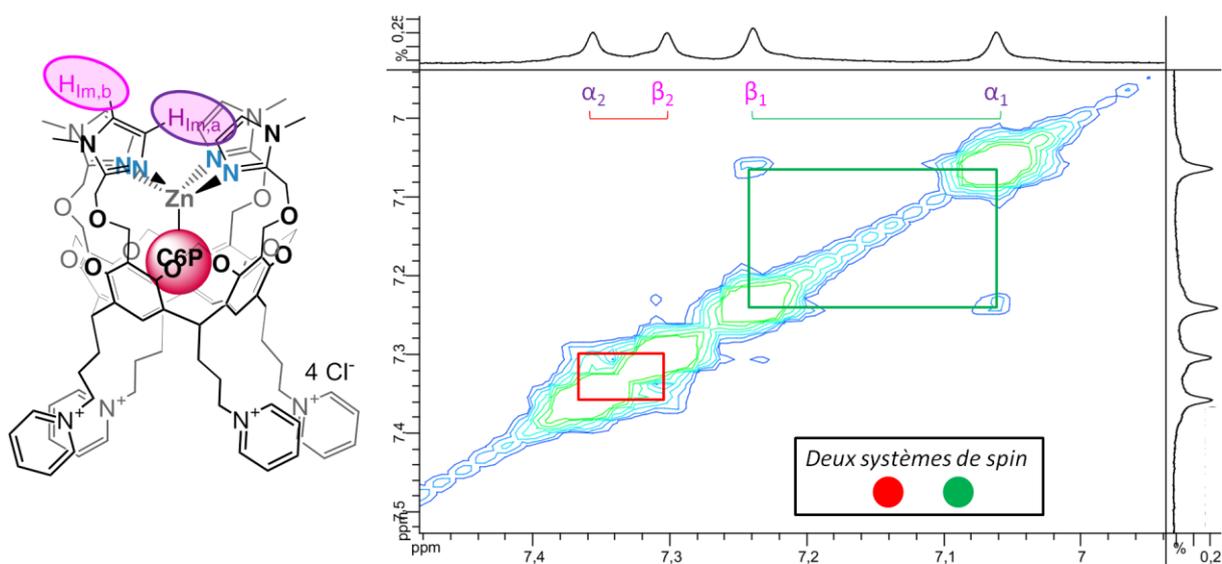


Figure 131 : Extrait de spectre COSY de WRim_4Zn (3,5 mM) en présence de 1,4 equiv. C6P à pD = 7,4. RMN ^1H (D_2O , 300 K, 500 MHz). Deux systèmes $H_{\text{im},\alpha/\beta}$ sont identifiés.

Les deux pics plus déblindés (à 7,63 et 7,65 ppm) ne présentent aucune corrélation avec ce massif, mais en revanche ils sont couplés aux chaînes propyle en bas de la cavité. Ils correspondent donc à des protons $H_{Ar,down}$. En particulier, des tâches d'échange apparaissent entre les signaux imidazoles deux à deux qui permettent de préciser les attributions : parmi les quatre signaux observés deux correspondant à de $H_{Im,\alpha}$ (à 7,06 et 7,36 ppm) et deux à des $H_{Im,\beta}$ (à 7,24 et 7,30 ppm).

Les pics correspondant aux ponts méthylènes sont plus étalés, sur une fenêtre allant de 4 à 7 ppm. L'un d'entre eux est clairement identifiable à 5,70 ppm car c'est le seul type de proton observé à cette fréquence et tous les autres sont déduits par contact NOE. Au final cinq signaux sont obtenus, trois plus blindés donc de type H_{in} (à 3,92, 3,96 et 4,03 ppm) et deux associés à des protons H_{out} (à 5,70 et 6,77 ppm). Une fois tous les signaux identifiés, la carte COSY permet de vérifier le nombre de systèmes de spin en présence. L'analyse est faite sur les deux mêmes fenêtres que pour la NOESY (Figure 131 et Figure 132).

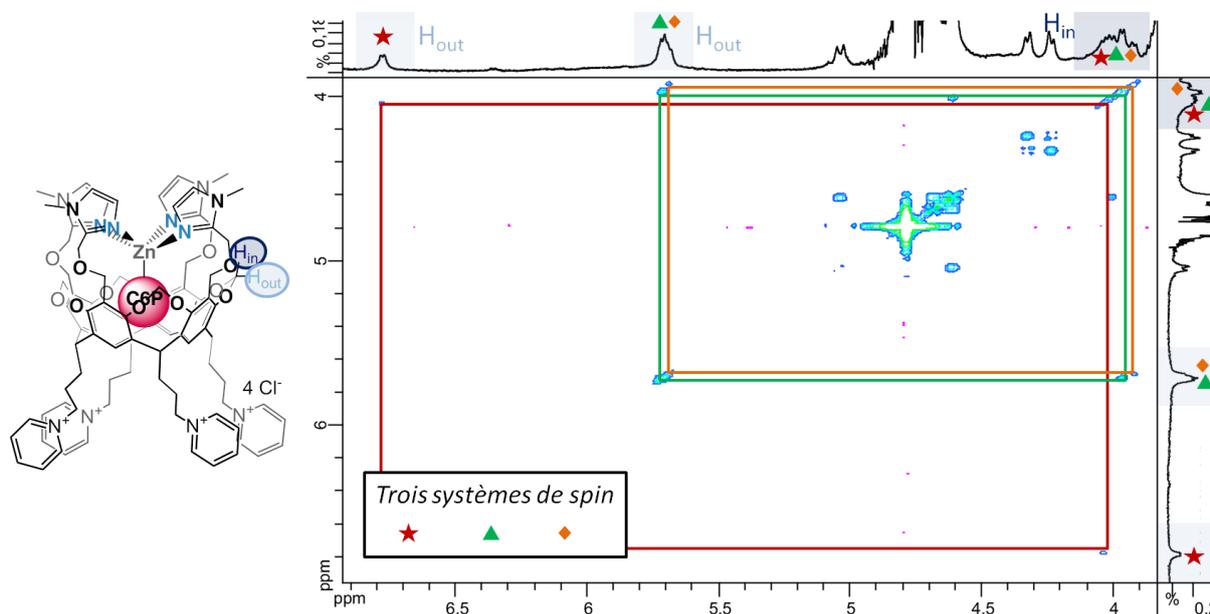


Figure 132 : Extrait de spectre COSY de $WRim_4Zn$ (3,5 mM) en présence de 1,4 equiv. C6P à pD = 7,4. RMN 1H (D_2O , 300 K, 500 MHz). Trois types de corrélations H_{in}/H_{out} apparaissent (étoiles/triangles/losanges).

Le spectre COSY montre la présence de corrélations entre les signaux imidazoles deux à deux. La RMN distingue donc deux types de bras imidazoles, l'un associé aux signaux à 7,06 et 7,24 ppm et l'autre aux signaux à 7,30 et 7,36 ppm. Ce second système présente deux pics écartés, attendus pour des imidazoles coordonnés au zinc(II), mais le premier système a deux pics rapprochés qui ressemblent au signal du ligand décoordiné. Les intégrations indiquent que chaque système est équireprésenté il y a donc deux bras coordonnés et deux non coordonnés. Les deux bras non coordonnés présentent des résonances déblindées qui correspondent à un état protoné, alors que l'étude est réalisée à pD = 7,4. Ce résultat suggère qu'une interaction imidazolium-phosphate existe en plus de la coordination qui contribue à la stabilisation du complexe. Cette interaction contribue à expliquer pourquoi un dédoublement des signaux est observé pour le complexe $WRim_4Zn(C6P)$ en particulier. En effet, l'interaction entre le phosphate et les deux bras protonés non coordonnés peut rigidifier la structure et rendre l'échange plus lent, donc générer des signaux divisés.

Afin d'apporter une preuve supplémentaire de l'état biscoordiné de WRim₄ et de discriminer s'il s'agit de coordination en *cis* ou *trans*, la fenêtre de 4 à 7 ppm du spectre COSY est étudiée plus en détail (Figure 132). L'analyse révèle que chacun des trois signaux de type H_{in} identifiés grâce à la NOESY est couplé à un et un seul autre signal de pont méthylène de type H_{out}, ce qui est représenté par des symboles et couleurs différents sur la figure (étoile rouge, triangle vert et losange orange). Cette observation est caractéristique d'une coordination par deux des bras en *cis*. En effet si la configuration avait été en *trans*, tous les ponts auraient été équivalents et un seul système H_{in}/H_{out} aurait été obtenu.

L'étude RMN permet donc d'obtenir suffisamment d'informations sur le positionnement de la chaîne dans la cavité via la mesure des $\Delta\delta$ ainsi que sur l'environnement de coordination du zinc(II) grâce aux spectre 2D pour proposer une interprétation graphique de la formation de WRim₄Zn(C6P). La modélisation est effectuée avec le logiciel HyperChem. Elle ne tient pas compte ni des effets de solvants ni de l'état de protonation des imidazoles libres mais permet de visualiser les contraintes stériques (Figure 133).

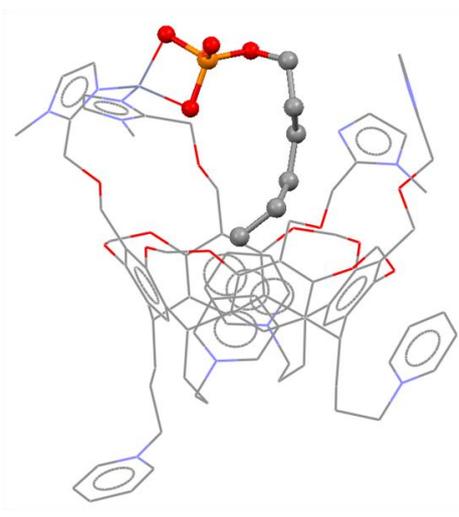


Figure 133 : Modélisation du complexe [WRim₄Zn(C6P)]⁴⁺ à l'aide du logiciel HyperChem (géométrie optimisée dans le vide).

Le choix est fait de représenter un complexe tétraédrique sans considérer la possible coordination d'une molécule de solvant. Il apparaît qu'avec deux bras non coordonnés la chaîne hexyle peut être profondément incluse à l'intérieur dans la cavité. L'inclusion est probablement facilitée par la tête tétraédrique du phosphate, qui permet la coordination au zinc(II) et le repliement de la chaîne. La modélisation aide à comprendre pourquoi le même phénomène n'a pas été observé avec des carboxylates : la structure trigonale plane est plus rigide et le fait que les carboxylates soient monochargés ne permet pas la décooordination de deux des bras.

Comparaison entre C6P@WRim₄ et WRim₄Zn(C6P)

Le monohexylphosphate est reconnu à la fois par WRim₄ et WRim₄Zn grâce à une stabilisation de la chaîne alkyle dans la cavité et une interaction charge-charge avec les imidazoles protonés et/ou le zinc(II). Leur interaction avec C6P est cependant différente.

D'une part, le ligand WRim₄ forme un adduit avec le phosphate sous forme protonée, donc sur une gamme de pH acide (de 2 à 6) et la longueur des bras est adaptée à une double interaction tête-queue de C6P avec WRim₄. Malgré cette double reconnaissance, l'affinité reste modérée (de l'ordre de 10² M⁻¹). D'autre part, WRim₄Zn coordine C6P avec une affinité deux ordres de grandeur supérieure, sur une large gamme de pH (de 6 à 10). Le complexe subit une déformation importante à l'inclusion de C6P (deux bras imidazoles sont libérés), ce qui montre qu'il est capable d'une certaine souplesse et suggère que d'autres invités à longue chaîne peuvent interagir.

L'étude comparée entre carboxylates et phosphates à chaîne longue montre que WRim₄Zn présente une nette sélectivité vis-à-vis des phosphates. Deux effets peuvent expliquer cette différence : la présence de deux charges négatives sur les phosphates et leur géométrie tétraédrique. La question de l'importance de la double charge est posée dans la suite sur une variété de dialkylphosphates. Seul WRim₄Zn est investigué car l'étude de l'interaction entre WRim₄ et C6P a montré que la présence du zinc(II) améliore les propriétés de reconnaissance du système.

4. Autres phosphates

Sélectivité

Le système WRim₄Zn a une affinité élevée pour la reconnaissance de monoalkylphosphates linéaires dans l'eau, avec une sélectivité en faveur des chaînes propyle à hexyle. Dans la suite l'étude de la sélectivité du système est étendue à des monophosphoesters aromatiques et des diphosphoesters, symétriques et asymétriques (Figure 134). Ces invités sont commerciaux à l'exception de deux (le dimethylphosphate (diC1P) et le méthyl-paranitrophénylphosphate (MeNPP)) qui sont synthétisés selon des protocoles adaptés de la littérature.³³

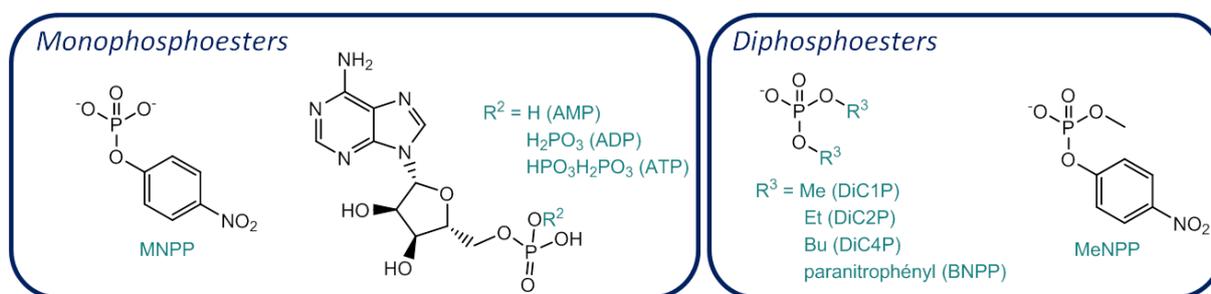


Figure 134 : Structure des invités considérés dans cette section.

Dans un premier temps un monophosphoester non linéaire de type aromatique (MNPP) est considéré. Aucun invité aromatique n'a été observé dans les systèmes Rim₃/Rim₄/WRim₄/MRim₄ jusqu'ici mais les propriétés de reconnaissance de WRim₄Zn envers C6P ont montré qu'un invité comportant six carbones peut être inclus dans la cavité. Cependant l'addition de MNPP (8 équivalents) à WRim₄Zn (1 mM) à pD = 6,9 mène à un résultat mitigé : comme pour les phosphates linéaires de taille non adaptée il y a une décooordination qui indique que la formation d'un complexe zinc(II)-phosphate entraînant la libération du ligand WRim₄ est favorisée. Les cycles aromatiques sont donc probablement trop encombrés pour être complexés par WRim₄Zn.

Trois nucléotides (AMP, ADP, ATP) sont également investigués à pD = 7,4. Pour les trois le résultat est encore une fois le même : le cation métallique est décoordiné après ajout de 12 équivalents de

phosphate et WRim₄ est libéré. Cependant le ligand régénéré après décooordination présente des signaux décalés par rapport à ce que l'on attend au pH d'étude ; il y a donc une interaction phosphate-ligand qui est étudiée plus précisément dans le cas de l'AMP.

Le pD est fixé à 5,9 car cela correspond au pH optimal d'interaction avec C6P ; les pK_a de C6P et de l'AMP étant proches on suppose que le comportement sera similaire en fonction du pH. L'addition d'AMP sur WRim₄ est suivie par RMN ¹H et ³¹P. La formation d'un adduit AMP@WRim₄ en échange rapide par rapport à l'échelle de temps RMN est visible sur les spectres proton et non visible en ³¹P. La nouvelle espèce est caractérisée par un déplacement de presque tous les pics, qu'ils correspondent au ligand ou au nucléotide (Figure 135).

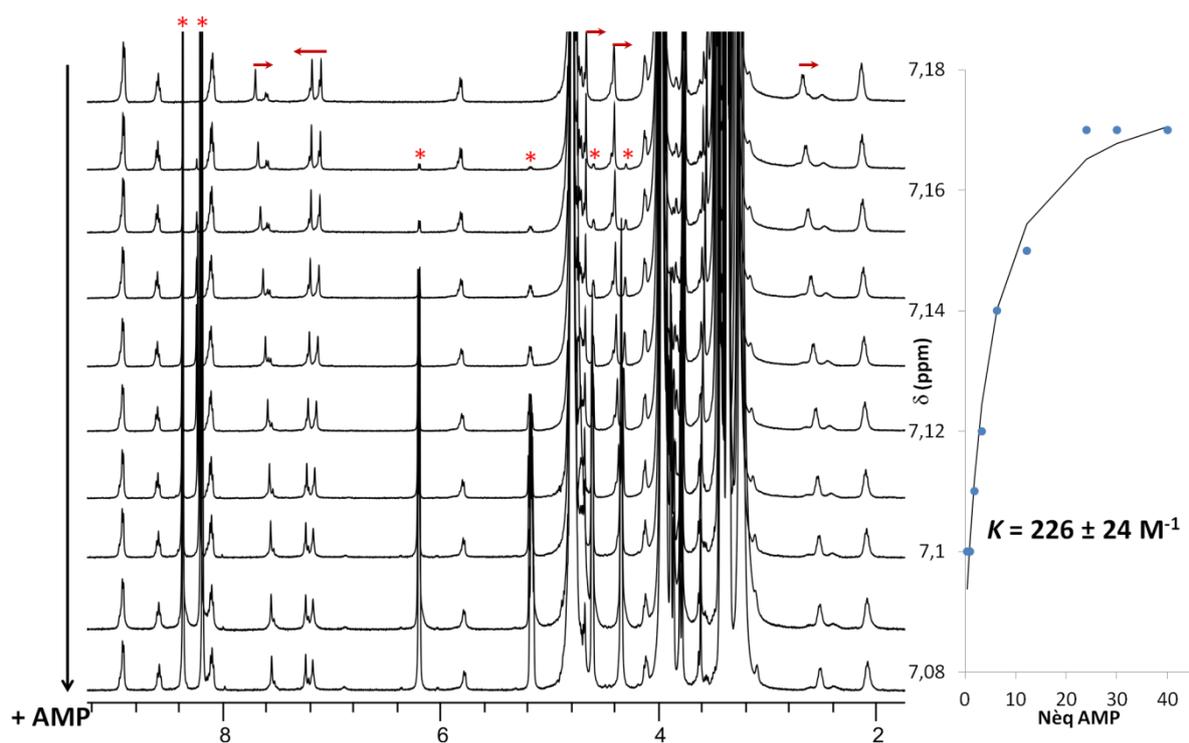


Figure 135 : Dosage par addition d'AMP (jusqu'à 40 equiv.) sur WRim₄ (1 mM) à pD = 5,9 (tampon MES 100 mM). RMN ¹H (D₂O, 300 K, 500 MHz). Les étoiles rouges pointent les pics de l'AMP et les flèches indiquent les déplacements des signaux du ligand. A droite, détermination de la constante associée à la formation de AMP@WRim₄ par suivi du déplacement des protons indiqués par les flèches (seul le suivi d'un proton imidazole (H_{im,α}) est ici représenté).

En particulier, les signaux correspondant aux deux protons sur les imidazoles (à 7,08 et 7,15 ppm) sont déblindés à 7,17 et 7,24 ppm en fin de dosage il y a donc bien une interaction à ce niveau entre WRim₄ et l'AMP. Les déplacements observés sont modélisés pour obtenir une constante d'affinité : $K = (2,3 \pm 0,3) \times 10^2 \text{ M}^{-1}$. Cette valeur est comparable à celle obtenue pour C6P ($5,4 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$). Cela atteste que l'interaction AMP-WRim₄ n'est pas seulement située au niveau des imidazoles mais qu'une stabilisation supplémentaire existe (le déplacement des signaux aromatiques relatifs à l'AMP lors du dosage RMN va également dans ce sens). Cette stabilisation n'implique cependant pas la cavité, un blindage des signaux associés aux protons inclus beaucoup plus important serait attendu dans ce cas.

WRim₄Zn est donc un récepteur sélectif des phosphates linéaires grâce à la présence de la cavité qui stabilise particulièrement les chaînes alkyle. Peut-il complexer des phosphates linéaires diesters ? Etant donné son affinité particulière pour les monoalkylphosphates les diesters considérés sont dans un premier temps symétriques, avec deux chaînes alkyle (méthyle, éthyle, butyle). Cependant l'addition des diphosphates (entre 4 et 32 équivalents) à WRim₄Zn (1 mM) n'amène aucune modification en RMN à pD = 7,4, ce qui montre que s'il existe une interaction elle est faible ($K < 5 \text{ M}^{-1}$). De plus, aucune décoordination n'est observée. Une étude avec des phosphates disymétriques (BNPP, MeNPP) révèle le même résultat. Un phosphate monochargé n'est donc pas suffisamment bon ligand pour interagir avec WRim₄Zn.

Réactivité

L'hydrolyse des phosphates est une réaction capitale dans le métabolisme qui est régie par une variété de phosphoesterases.^{34,35} Les structures et mécanismes à l'œuvre sont connus pour la plupart, la majorité comprenant des métaux tels que zinc et fer. L'hydrolyse de phosphoesters, thermodynamiquement favorisée mais cinétiquement très lente, est ainsi possible en conditions biologiques. Des modèles de ces enzymes et systèmes artificiels ont été élaborés qui permettent non seulement l'hydrolyse de monoesters mais également de di- et triesters, qui sont intrinsèquement moins réactifs.^{36,37}

Parmi les systèmes modèles qui ont été développés, les plus efficaces sont basés sur des complexes de zinc(II). C'est en effet un métal de choix pour cette application de par son acidité de Lewis importante, sa labilité et sa stabilité redox. Les études de réactivité sont en règle générale conduites sur des *para*-nitrophénylphosphates qui présentent le triple avantage d'être plus réactifs que les alkylphosphates, d'être de bons modèles des liaisons phosphates existant dans l'ADN et de générer après hydrolyse du *para*-nitrophénol, facilement détectable par spectroscopie UV/visible.

Aucun système artificiel à l'heure actuelle ne s'approche de l'efficacité des phosphatases, mais plusieurs stratégies ont été utilisées pour obtenir de meilleurs catalyseurs en s'inspirant de la nature (Figure 136). Des complexes de zinc(II) mono- ou polynucléaires ont été développés, basés sur des ligands tripodaux azotés.³⁸⁻⁴⁰ Ces systèmes simples sont de bons catalyseurs de l'hydrolyse de phosphomono- et diesters, et peuvent être améliorés par l'incorporation dans la structure, comme au sein des enzymes, de fonctions pouvant assister la réactivité tels qu'un nucléophile intramoléculaire (de type hydroxy) ou un donneur de liaison H (une amine par exemple) ; de nombreuses combinaisons peuvent ainsi être générées.⁴¹ En alliant tous ces facteurs, une accélération de la réaction d'environ huit ordres de grandeurs par rapport à la décomposition sans catalyseur a été obtenue par Livieri et al. grâce à une catalyse par un complexe de zinc(II) comportant à proximité du métal une fonction amine donneuse de liaison H et une fonction hydroxyde pouvant jouer le rôle de nucléophile intramoléculaire.⁴¹ Pour augmenter encore la vitesse de réaction, le dernier critère inspiré des enzymes est d'obtenir un environnement localement plus hydrophobe dans l'eau. Cet aspect a été moins étudié et la conclusion en est que les catalyseurs sont comparativement plus efficaces dans d'autres solvants que l'eau (DMSO, méthanol).³⁶

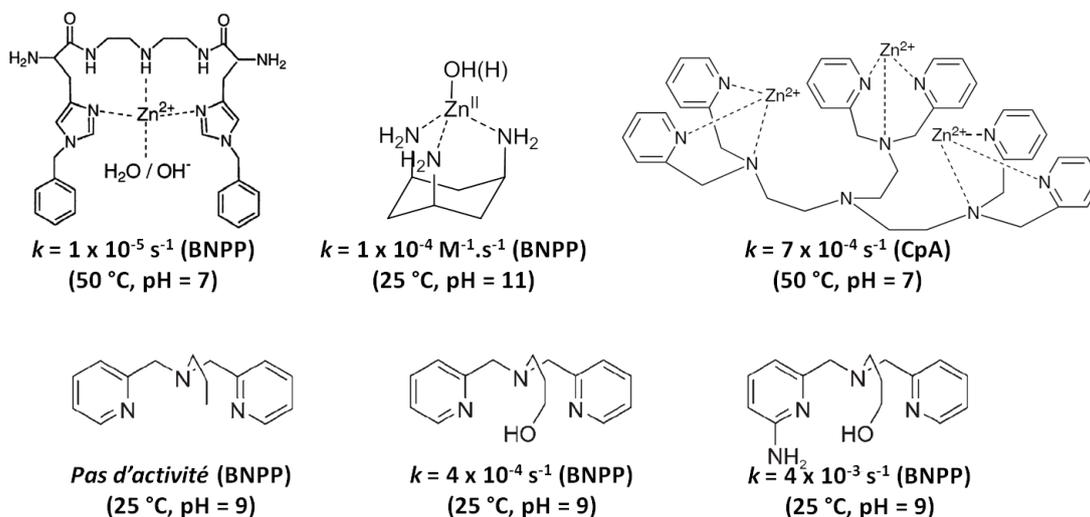


Figure 136 : Exemples de complexes de zinc(II) pour l'hydrolyse de phosphates (BNPP – bis-(*para*-nitrophényl)phosphate et CpA – diribonucléotide cytosine, adénine).³⁸⁻⁴¹

Le système WRim₄Zn présente un cation zinc(II) coordonné par trois ou quatre bras imidazole, le quatrième pouvant jouer un rôle stabilisant basique ou donneur de liaison hydrogènes. De plus, lorsqu'un invité est coordiné une deuxième position est également ouverte en *cis*, qui peut être occupée par une molécule d'eau (ou un d'hydroxyde selon le pH), il y a donc un nucléophile activé en *exo*. Enfin, la cavité garantit un environnement hydrophobe autour de l'invité. Tous les éléments sont donc assemblés pour faire du complexe hydrosoluble un excellent catalyseur de l'hydrolyse de phosphoesters.

La réactivité du complexe vis-à-vis de plusieurs phosphoesters est envisagée. En premier lieu, le méthyl-*para*-nitrophénylphosphate (MeNPP), dont le groupement méthyle permet de favoriser son inclusion et le *para*-nitrophényle est un bon groupe partant ; le produit attendu (C1P) est un invité connu du complexe bien qu'en trop haute concentration il provoque la décoordination. Ensuite, le diméthylphosphate (diC1P) et le diéthylphosphate (diC2P) sont considérés, ils sont plus inertes que MeNPP mais également moins encombrés donc sont plus susceptibles d'interagir avec le complexe.

L'étude hôte-invité de ces trois composés ainsi que des produits attendus après hydrolyse n'est pas très encourageante (cf partie précédente). En effet, ni les phosphates aromatiques ni les diesters ne sont reconnus par le complexe WRim₄Zn. Cela suggère que les réactifs envisagés entrent difficilement en contact avec le cation métallique en solution. De plus, les produits d'hydrolyse (C2P, C1P ou le phosphate inorganique) ont le potentiel de détruire le complexe par décoordination plus que d'être reconnus par inclusion.

Les conditions utilisées sont les mêmes que pour les études hôte-invité : [WRim₄Zn] = 1 mM dans un milieu tamponné HEPES 100 mM à pD = 7,3 et l'évolution est suivie par RMN ¹H et ³¹P. Du triméthylphosphate (3,6 mM) est utilisé en tant que référence pour les mesures en RMN ³¹P. En présence d'un excès de MeNPP (20 mM), la solution de WRim₄Zn est chauffée à 50 °C pendant trois semaines. MeNPP est stable dans ces conditions, par contre le triméthylphosphate s'hydrolyse peu à peu en diméthylphosphate (stable lui aussi). Cependant la réalisation d'un tube RMN blanc

comportant les mêmes espèces hormis WRim₄Zn permet d'affirmer qu'il s'agit de la décomposition spontanée du triméthylphosphate et que la présence du complexe n'accélère pas le processus.

Une seconde expérience similaire est réalisée dans les conditions suivantes : [WRim₄Zn] = 1,2 mM, tampon HEPES 100 mM et triméthylphosphate 4,8 mM pour référence ³¹P. Un mélange de diméthylphosphate et de diéthylphosphate en excès (39 et 18 mM respectivement) est introduit et le pD est abaissé par rapport à précédemment à 6. Les transferts de proton et le départ de l'alcool sont ainsi favorisés. Le milieu est chauffé à 50 °C pendant un mois et régulièrement suivi par RMN ¹H et ³¹P. La conclusion ne change pas, la seule réactivité observée provient de la décomposition naturelle du triméthylphosphate dans ces conditions.

En conclusion, WRim₄Zn est un récepteur de phosphoesters particulièrement sélectif des monoalkylphosphates linéaires dans l'eau. Cette sélectivité est dictée par la cavité qui impose également une longueur de chaîne entre 3 et 6 carbones pour une reconnaissance optimale. La coordination d'un invité phosphate s'accompagne d'un changement important de géométrie au niveau du zinc(II) qui est permis par la souplesse des bras imidazole et de la tête tétraédrique des phosphates. Les phosphodiesters, monochargés et encombrés, ne sont pas reconnus et les esters aromatiques non plus. La sélectivité de WRim₄Zn alliée à la forte affinité qu'il développe pour les phosphates CxP en fait donc un bon récepteur mais pas un catalyseur dans ce cas.

En contraste, les carboxylates longs ne présentent aucune affinité pour le système hydrosoluble. Cela suggère que la rigidité de cette fonction ne permet pas la coordination et l'accès à la cavité simultanés. Dans la suite la question de la reconnaissance d'autres anions de même symétrie tels que des dérivés soufrés est posée.

III. Dérivés soufrés

Parmi les dérivés soufrés l'accent est mis sur ceux qui présentent un centre tétraédrique et sont couramment utilisés : les sulfates, sulfonates et sulfonamides (Figure 137).

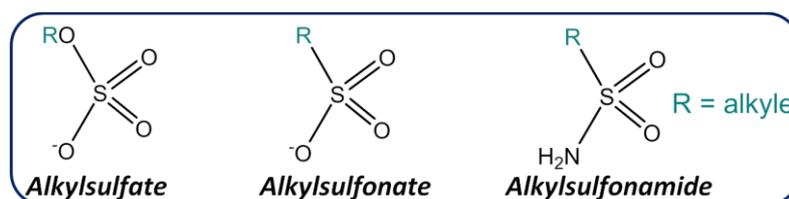


Figure 137 : Familles de dérivés soufrés d'intérêt pour les études hôte-invité.

L'étude de ces composés fait suite au travail mené sur les phosphoesters et n'est pour le moment qu'au stade préliminaire. L'analyse des propriétés hôte-invité s'est portée sur quatre composés appartenant à deux des familles susnommées.

Dans un premier temps l'interaction de sulfonates avec WRim₄Zn est investiguée, en particulier le méthylsulfonate (MeS) ainsi que l'heptylsulfonate (C7S, équivalent à C6P en taille). L'addition successive des deux composés est suivie par RMN ¹H à pD = 7,4 en présence de tampon HEPES 100 mM (Figure 138). Dans les deux cas aucun signal à haut champ n'est observé et les signaux du

sulfonate se déplacent progressivement. L'exemple le plus visuel de ce déplacement est celui des signaux associés aux protons des méthyles terminaux des sulfonates, qui sont blindés d'environ 0,2 ppm en présence de WRim₄Zn (de 0,90 à 0,69 ppm pour C7S et de 2,85 à 2,64 ppm pour MeS). Il y a bien une interaction avec le complexe mais pas au niveau de la cavité et en échange rapide par rapport à l'échelle de temps RMN. C'est inhabituel car la complexation avec WRim₄Zn jusqu'ici était toujours en échange lent. De plus, dans le cas de MeS les signaux du résorcinarène ne sont pas affectés par la présence de l'invité. L'hypothèse formulée est qu'il existe une interaction avec le complexe mais faible – et qui n'implique pas la cavité. Le suivi de pic correspondant au méthyle de MeS permet d'estimer la constante associée à cette interaction à $K = (3 \pm 1) \times 10^2 \text{ M}^{-1}$.

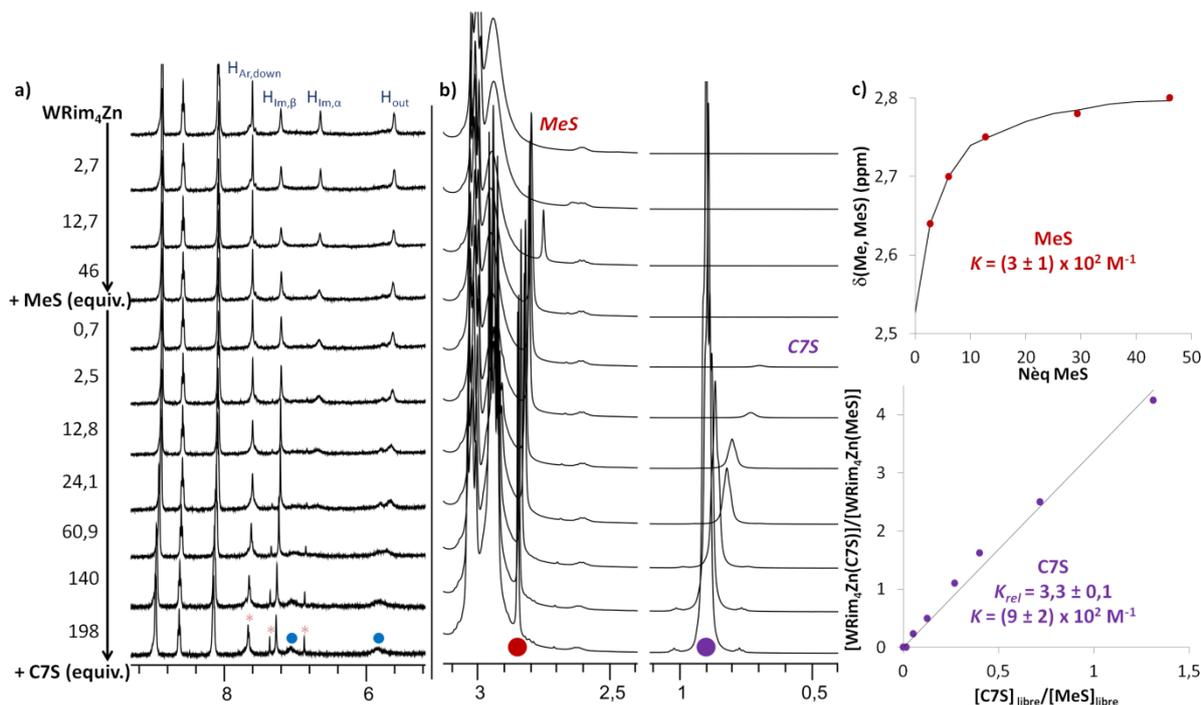


Figure 138 : Dosage par addition de méthanesulfonate (MeS) puis d'heptanesulfonate (C7S) à WRim₄Zn (1 mM) à pD = 7,4 (tampon HEPES 100 mM). Suivi par RMN ¹H (D₂O, 300 K, 500 MHz). a) Zoom (x 10) sur la région entre 5,5 et 9 ppm (étoiles roses : impureté acétate ; points bleus : nouvelle espèce) ; b) Suivi des signaux correspondant aux méthyles terminaux de MeS (rouge) et C7P (violet) ; c) Modélisations pour obtenir les deux constantes d'association.

Le dosage est poursuivi par une compétition avec de l'heptanesulfonate. Cette fois un changement est observé au niveau des signaux aromatiques correspondant au résorcinarène : une nouvelle espèce caractérisée par deux résonances larges à 5,84 et 7,07 ppm (points bleus sur la figure) apparaît. Il y a également formation d'une espèce fine due à la présence d'une impureté (acétate présent à l'état de traces dans la solution de C7S ajoutée). Une espèce de type [WRim₄Zn(C7S)]⁵⁺ est donc formée. Le suivi du déplacement du pic correspondant au méthyle de C7S au fur et à mesure de l'addition, en supposant que les δ observés au début et à la fin du dosage correspondent à C7S totalement complexé et à C7S libre respectivement, d'estimer les quantités de complexes en présence à chaque ajout. La constante de formation de [WRim₄Zn(C7S)]⁵⁺ relativement à MeS est ensuite facilement obtenue (Figure 138). Finalement, la constante absolue de complexation de C7S à WRim₄Zn à pD = 7,4 est $K = (9 \pm 2) \times 10^2 \text{ M}^{-1}$.

Le même effet cavitaire est donc retrouvé avec les sulfonates qu'avec les phosphates : une sélectivité pour C7S (et son équivalent C6P) par rapport à MeS (et son équivalent le phosphate inorganique). La constante observée pour la reconnaissance de C7S, proche de 10^3 M^{-1} , est considérable pour un sulfonate, anion monochargé peu coordinant par rapport à C6P.

Le deuxième type de composés investigués sont les sulfonamides. Deux invités de différentes tailles sont testés : le méthylsulfonamide (MeSN) et le benzènesulfonamide (PhSN). Les sulfonamides aromatiques sont en effet d'un intérêt particulier pour leurs propriétés thérapeutiques. Ce sont de plus des inhibiteurs bien connus de l'anhydrase carbonique. L'addition de méthanesulfonamide à WRim₄Zn à pD = 7,4 conduit à la formation d'une nouvelle espèce caractérisée par des signaux larges aromatiques à 6,65, 6,91, 7,25 et 7,65 ppm et deux signaux larges intracavité qui se superposent à -1,35 et -1,45 ppm (Figure 139).

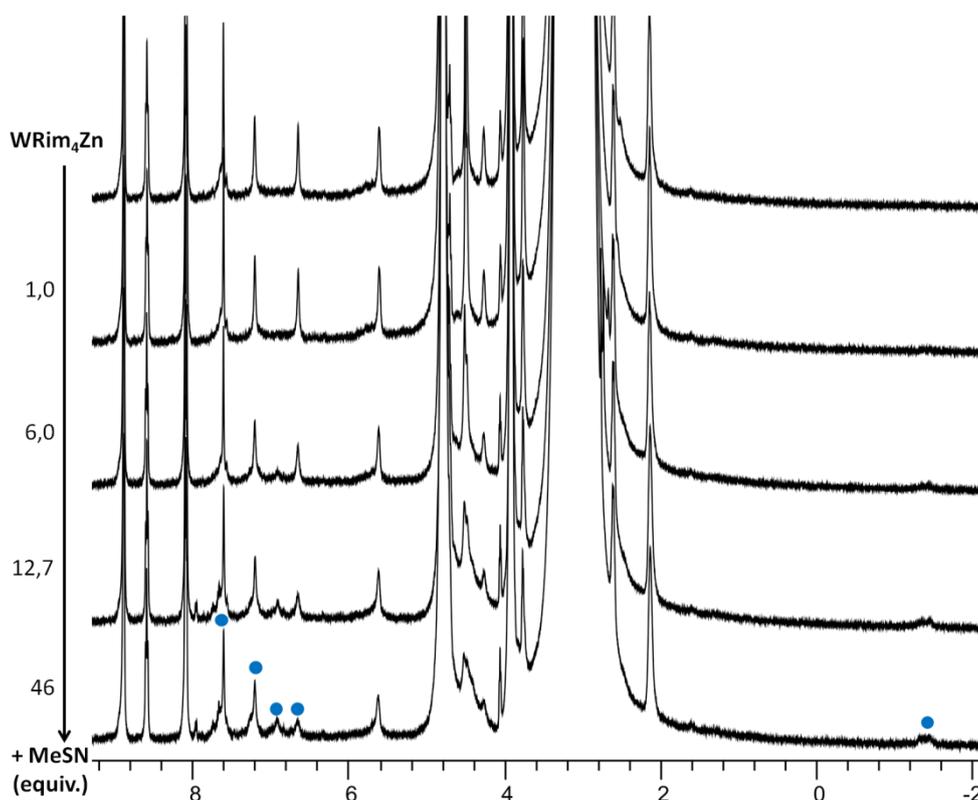


Figure 139 : Addition de méthanesulfonamide (MeSN) à WRim₄Zn (1 mM) à pD = 7,4 (HEPES 100 mM). L'espèce bleue est formée.

Le méthylsulfonamide présente naturellement un pK_a à 10,9, on peut donc supposer que les deux espèces observées correspondent au invité coordonné sous forme anionique avec un bras hémilabile protoné ou non (conformément à ce qui a été mis en évidence pour la coordination de l'acétate au chapitre 3). Une variation en pH permettrait de confirmer cette hypothèse mais n'a pas été réalisée dans le cadre de cette étude préliminaire. La largeur des signaux de l'espèce obtenue ne permet pas de déterminer la constante de formation du complexe par intégration, ici seul son ordre de grandeur peut être estimé à 10 M^{-1} . Cette valeur, relativement faible, reflète la faible acidité de MeSN ; ici à pD = 7,4 l'interaction est possible le pK_a est donc abaissé d'au moins 4 unités. Une étude à un pH plus élevé permettrait de caractériser ce système dans des conditions plus favorables.

L'addition de benzènesulfonamide (dont le pK_a est 10,1) au complexe formé n'entraîne aucune modification du spectre RMN (jusqu'à 10 équivalents). Ce résultat n'est pas étonnant dans la mesure où la cavité jusqu'ici n'a jamais montré d'affinité pour des substrats aromatiques, même de type phosphate. MeSN apparaît meilleur invité pour WRim₄Zn que le méthylsulfonate, la suite de l'étude porterait donc sur des sulfonamides à chaînes longues afin de vérifier quel type de sélectivité la cavité exerce sur ce type d'invité. Par ailleurs les sulfates n'ont pas été investigués et pourront également faire l'objet d'une étude.

Conclusion

Les propriétés hôte-invité du complexe WRim₄Zn ont été étudiées. Le système est très sélectif grâce à la présence de la cavité. En termes de groupement chimique, une variété d'invités est possible : amides, carboxylates, dicétones, phosphates, sulfonamides et sulfonates sont reconnus, avec une sélectivité en faveur des phosphates linéaires. En effet, les phosphates aromatiques ou comportant plusieurs chaînes ne sont pas reconnus par WRim₄Zn.

Parmi les monoalkylphosphates, il apparaît que la taille de chaîne optimale pour la cavité est entre trois et six carbones. Le complexe WRim₄Zn présente des affinités considérables dans l'eau pour ces quatre phosphates, et en particulier pour C6P, avec $K' = (3,6 \pm 0,1) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, soit l'une des plus hautes constantes obtenues à ce jour avec ce système. Une étude approfondie en présence de C6P montre que la complexation malgré sa taille est permise par plusieurs facteurs : i) c'est un dianion, qui permet d'obtenir la décooordination de deux bras imidazoles du zinc(II) ce qui a pour effet d'augmenter l'espace disponible pour accéder à la cavité, ii) la tête phosphate est tétraédrique, ce qui permet une orientation de la chaîne idéale pour son inclusion et iii) les bras du ligand WRim₄ sont souples et peuvent se tourner de manière à faciliter le repliement de la chaîne au sein de la cavité.

La réactivité hydrolytique de WRim₄Zn envers des phosphates activés (comportant un groupement *para*-nitrophényle) n'a pas pu être mise en évidence malgré des essais dans différentes conditions de pH et de température. Cela est probablement dû à la sélectivité du système qui ne reconnaît pas les phosphates aromatiques ; les dialkyl- et trialkylphosphates linéaires sont moins sensibles à l'hydrolyse et ne sont pas non plus des invités possibles pour WRim₄Zn.

Une étude préliminaire portant sur les dérivés soufrés montre que la sélectivité en termes stérique observée pour les phosphates est également valable pour les sulfonates : en effet le système présente une affinité trois fois supérieure pour C7S que pour MeS. Cet aspect reste cependant à approfondir par l'étude de différents composés soufrés avec des longueurs de chaînes plus variées.

IV. Bibliographie

- (1) Hargrove, A. E.; Nieto, S.; Zhang, T.; Sessler, J. L.; Anslyn, E. V. Artificial Receptors for the Recognition of Phosphorylated Molecules. *Chem. Rev.* **2011**, *111* (11), 6603–6782.
- (2) Hirsch, A. K. H.; Fischer, F. R.; Diederich, F. Phosphate Recognition in Structural Biology. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46* (3), 338–352.
- (3) Kim, E. E.; Wyckoff, H. W. Reaction Mechanism of Alkaline Phosphatase Based on Crystal Structures. *J. Mol. Biol.* **1991**, *218* (2), 449–464.
- (4) Wende, A.; Johansson, P.; Vollrath, R.; Dyll-Smith, M.; Oesterhelt, D.; Grininger, M. Structural and Biochemical Characterization of a Halophilic Archaeal Alkaline Phosphatase. *J. Mol. Biol.* **2010**, *400* (1), 52–62.
- (5) Gettins, P.; Coleman, J. E. ¹³Cd Nuclear Magnetic Resonance of Cd(II) Alkaline Phosphatases. *J. Biol. Chem.* **1983**, *258* (1), 396–407.
- (6) Katayev, E. A.; Ustynyuk, Y. A.; Sessler, J. L. Receptors for Tetrahedral Oxyanions. *Coord. Chem. Rev.* **2006**, *250* (23–24), 3004–3037.
- (7) Sakamoto, T.; Ojida, A.; Hamachi, I. Molecular Recognition, Fluorescence Sensing, and Biological Assay of Phosphate Anion Derivatives Using Artificial Zn(II)–Dpa Complexes. *Chem Commun* **2009**, No. 2, 141–152.
- (8) Busschaert, N.; Caltagirone, C.; Van Rossom, W.; Gale, P. A. Applications of Supramolecular Anion Recognition. *Chem. Rev.* **2015**, *115* (15), 8038–8155.
- (9) Hosseini, M. W.; Lehn, J.-M.; Mertes, M. P. Efficient Molecular Catalysis of ATP-Hydrolysis by Protonated Macrocyclic Polyamines. *Helv. Chim. Acta* **1983**, *66* (8), 2454–2466.
- (10) Kimura, E.; Kuramoto, Y.; Koike, T.; Fujioka, H.; Kodama, M. A Study of New Bis(Macrocyclic Polyamine) Ligands as Inorganic and Organic Anion Receptors. *J. Org. Chem.* **1990**, *55* (1), 42–46.
- (11) Martell, A. E.; Motekaitis, R. J.; Lu, Q.; Nation, D. A. Phosphate Anion Binding by Macrocyclic Dinucleating Ligands and Their Metal Complexes. *Polyhedron* **1999**, *18* (25), 3203–3218.
- (12) Kwon, J. Y.; Singh, N. J.; Kim, H. N.; Kim, S. K.; Kim, K. S.; Yoon, J. Fluorescent GTP-Sensing in Aqueous Solution of Physiological PH. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (29), 8892–8893.
- (13) Dietrich, B.; Fyles, T. M.; Lehn, J.-M.; Pease, L. G.; Fyles, D. L. Anion Receptor Molecules. Synthesis and Some Anion Binding Properties of Macrocyclic Guanidinium Salts. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1978**, No. 21, 934–936.
- (14) Schiessl, P.; Schmidtchen, F. P. Binding of Phosphates to Abiotic Hosts in Water. *J. Org. Chem.* **1994**, *59* (3), 509–511.
- (15) Zhu, J.-H.; Yu, C.; Chen, Y.; Shin, J.; Cao, Q.-Y.; Kim, J. S. A Self-Assembled Amphiphilic Imidazolium-Based ATP Probe. *Chem. Commun.* **2017**, *53* (31), 4342–4345.
- (16) Čudić, P.; Žinić, M.; Tomišić, V.; Simeon, V.; Vigneron, J.-P.; Lehn, J.-M. Binding of Nucleotides in Water by Phenanthridinium Bis(Intercaland) Receptor Molecules. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, No. 10, 1073–1075.
- (17) Beer, P. D.; Chen, Z.; Drew, M. G. B.; Kingston, J.; Ogden, M.; Spencer, P. New Polyaza and Polyammonium Ferrocene Macrocyclic Ligands That Complex and Electrochemically Recognise Transition Metal Cations and Phosphate Anions in Water. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, No. 13, 1046–1048.
- (18) Beer, P. D.; Cadman, J. Phosphate Anion Binding and Luminescent Sensing in Aqueous Solution by Ruthenium(II) Bipyridyl Polyaza Receptors. *New J. Chem.* **1999**, *23* (4), 347–350.
- (19) Schwinté, P.; Darcy, R.; O’Kee, F. Ditopic Binding of Nucleotides by Heptakis(6-Hydroxyethylamino- 6-Deoxy)-Beta-Cyclodextrin. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1998**, No. 4, 805–808.
- (20) Niikura, K.; Anslyn, E. V. Azacalixarene: Synthesis, Conformational Analysis, and Recognition Behavior toward Anions. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1999**, No. 12, 2769–2775.

- (21) Beyeh, N. K.; Díez, I.; Taimoory, S. M.; Meister, D.; Feig, A. I.; Trant, J. F.; Ras, R. H. A.; Rissanen, K. High-Affinity and Selective Detection of Pyrophosphate in Water by a Resorcinarene Salt Receptor. *Chem. Sci.* **2018**, *9* (5), 1358–1367.
- (22) Mameri, S.; Charbonnière, L. J.; Ziessel, R. F. Lanthanide/ATP Interaction in Water Mediated by Luminescent Hemispherical-Shaped Complexes. *Inorg. Chem.* **2004**, *43* (6), 1819–1821.
- (23) Kimura, E.; Aoki, S.; Koike, T.; Shiro, M. A Tris(ZnII–1,4,7,10-Tetraazacyclododecane) Complex as a New Receptor for Phosphate Dianions in Aqueous Solution. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119* (13), 3068–3076.
- (24) Han, M. S.; Kim, D. H. Naked-Eye Detection of Phosphate Ions in Water at Physiological PH: A Remarkably Selective and Easy-To-Assemble Colorimetric Phosphate-Sensing Probe. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41* (20), 3809–3811.
- (25) Ojida, A.; Mito-oka, Y.; Sada, K.; Hamachi, I. Molecular Recognition and Fluorescence Sensing of Monophosphorylated Peptides in Aqueous Solution by Bis(Zinc(II)–dipicolylamine)-Based Artificial Receptors. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (8), 2454–2463.
- (26) Lee, J. H.; Park, J.; Lah, M. S.; Chin, J.; Hong, J.-I. High-Affinity Pyrophosphate Receptor by a Synergistic Effect between Metal Coordination and Hydrogen Bonding in Water. *Org. Lett.* **2007**, *9* (19), 3729–3731.
- (27) Zhang, M.; Ma, W.-J.; He, C.-T.; Jiang, L.; Lu, T.-B. Highly Selective Recognition and Fluorescence Imaging of Adenosine Polyphosphates in Aqueous Solution. *Inorg. Chem.* **2013**, *52* (9), 4873–4879.
- (28) Tobey, S. L.; Jones, B. D.; Anslyn, E. V. C_{3v} Symmetric Receptors Show High Selectivity and High Affinity for Phosphate. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (14), 4026–4027.
- (29) Albelda, M. T.; García-España, E.; Jiménez, H. R.; Llinares, J. M.; Soriano, C.; Sornosa-Ten, A.; Verdejo, B. Cu(II) and AMP Complexation of Enlarged Tripodal Polyamines. *Dalton Trans* **2006**, No. 37, 4474–4481.
- (30) Fujita, K.; Fujiwara, S.; Yamada, T.; Tsuchido, Y.; Hashimoto, T.; Hayashita, T. Design and Function of Supramolecular Recognition Systems Based on Guest-Targeting Probe-Modified Cyclodextrin Receptors for ATP. *J. Org. Chem.* **2017**, *82* (2), 976–981.
- (31) Gao, X.; Liu, S.; Lu, H.; Gao, F.; Ma, H. Corrosion Inhibition of Iron in Acidic Solutions by Monoalkyl Phosphate Esters with Different Chain Lengths. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2015**, *54* (7), 1941–1952.
- (32) Dueymes, C.; Pirat, C.; Pascal, R. Facile Synthesis of Simple Mono-Alkyl Phosphates from Phosphoric Acid and Alcohols. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49* (36), 5300–5301.
- (33) Padovani, M.; Williams, N. H.; Wyman, P. Mononuclear Co(III)-Complex Promoted Phosphate Diester Hydrolysis: Dependence of Reactivity on the Leaving Group. *J. Phys. Org. Chem.* **2004**, *17* (67), 472–477.
- (34) Vincent, J. B.; Crowder, M. W.; Averill, B. A. Hydrolysis of Phosphate Monoesters: A Biological Problem with Multiple Chemical Solutions. *Trends Biochem. Sci.* **1992**, *17* (3), 105–110.
- (35) Messerschmidt, A.; Bode, W.; Cygler, M. *Handbook of Metalloproteins*, Wiley.; 2004; Vol. 3.
- (36) Desbouis, D.; Troitsky, I. P.; Belousoff, M. J.; Spiccia, L.; Graham, B. Copper(II), Zinc(II) and Nickel(II) Complexes as Nuclease Mimetics. *Coord. Chem. Rev.* **2012**, *256* (11–12), 897–937.
- (37) Yu, L.; Li, F.; Wu, J.; Xie, J.; Li, S. Development of the Aza-Crown Ether Metal Complexes as Artificial Hydrolase. *J. Inorg. Biochem.* **2016**, *154*, 89–102.
- (38) Ichikawa, K.; Tarnai, M.; Uddin, M. K.; Nakata, K.; Sato, S. Hydrolysis of Natural and Artificial Phosphoesters Using Zinc Model Compound with a Histidine-Containing Pseudopeptide. *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *91* (3), 437–450.
- (39) Bonfá, L.; Gatos, M.; Mancin, F.; Tecilla, P.; Tonellato, U. The Ligand Effect on the Hydrolytic Reactivity of Zn(II) Complexes toward Phosphate Diesters. *Inorg. Chem.* **2003**, *42* (12), 3943–3949.
- (40) Yashiro, M.; Ishikubo, A.; Komiyama, M. Efficient and Unique Cooperation of Three Zinc(II) Ions in the Hydrolysis of Diribonucleotides by a Trinuclear Zinc(II) Complex. *Chem. Commun.* **1997**, No. 1, 83–84.

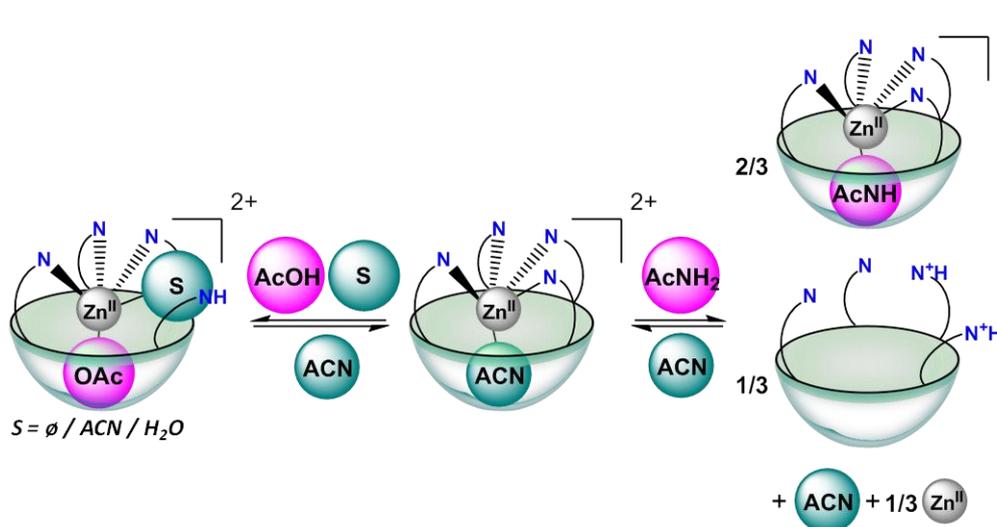
- (41) Livieri, M.; Mancin, F.; Saielli, G.; Chin, J.; Tonellato, U. Mimicking Enzymes: Cooperation between Organic Functional Groups and Metal Ions in the Cleavage of Phosphate Diesters. *Chem. - Eur. J.* **2007**, *13* (8), 2246–2256.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Systèmes Rim₃Zn et Rim₄Zn

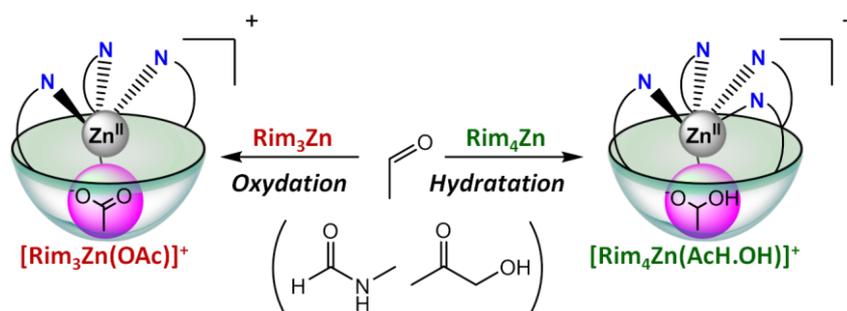
Des complexes cavitands biomimétiques comportant une première sphère de coordination semblable à celle trouvée dans de nombreuses enzymes hydrolytiques à zinc(II) ainsi qu'un bras imidazole hémilabile pouvant jouer le rôle d'une base intramoléculaire et une cavité résorcinarène hydrophobe ont été élaborés au laboratoire. Dans une première étude, c'est le rôle du bras hémilabile qui a été particulièrement étudié par comparaison entre deux systèmes organosolubles : Rim₃Zn et Rim₄Zn.

La présence de son quatrième bras confère à Rim₄Zn des propriétés réceptrices qui sont bien illustrées par le cas de l'acide acétique. En effet l'addition d'acide acétique à Rim₄Zn mène à la formation de complexes acétate comportant un bras imidazole protoné, ce qui indique que ce bras est hémilabile et peut jouer le rôle d'une base intramoléculaire pour promouvoir la coordination d'un invité acide sous forme anionique. Cela n'est pas observé avec Rim₃Zn. Il est remarquable de constater que l'inclusion est également possible pour des invités de pK_a élevé tels que l'acétamide, qui est complexé sous forme déprotonée. Le mécanisme d'inclusion reste à élucider. Les études cinétiques et en RMN 2D ont en effet permis de mettre en évidence et identifier la présence de plusieurs espèces à l'addition d'acétamide. Cela suggère que le mécanisme implique à la fois une déprotonation intramoléculaire pour permettre la coordination mais également des transferts de proton vers d'autres complexes pour obtenir le complexe acétamide déprotoné [Rim₄Zn(AcNH)]⁺. Rim₄Zn présente la même sélectivité, d'ordre stérique, envers des molécules de petite taille que Rim₃Zn.



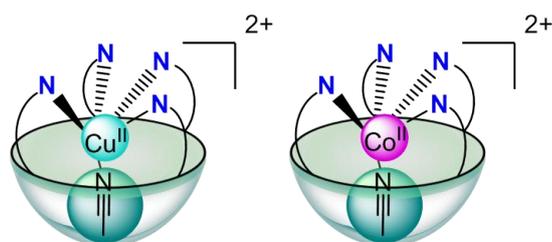
En termes de réactivité, les deux complexes présentent une fois encore des propriétés très différentes. Deux exemples sont particulièrement marquants. D'une part Rim₄Zn est capable de

catalyser l'hydratation de l'acétonitrile en acétamide alors que Rim₃Zn est inerte dans les mêmes conditions. D'autre part, lorsqu'ils sont mis en présence d'acétaldéhyde les deux systèmes ont des comportements dissemblables. Rim₄Zn forme un complexe avec l'acétal dérivé de l'acétaldéhyde, dont il déplace l'équilibre d'hydratation. Rim₃Zn quant à lui est capable de permettre l'oxydation de l'acétaldéhyde en acétate en présence de base pour former quantitativement le complexe [Rim₃Zn(OAc)]⁺. L'oxydant reste à identifier et peut être les contre-ions perchlorate. Une étude préliminaire envers une plus grande variété de substrats montre que l'oxydation peut être étendue à d'autres espèces. En particulier, une expérience avec l'hydroxyacétone met en évidence une réactivité de type rupture oxydante de liaison C-C.



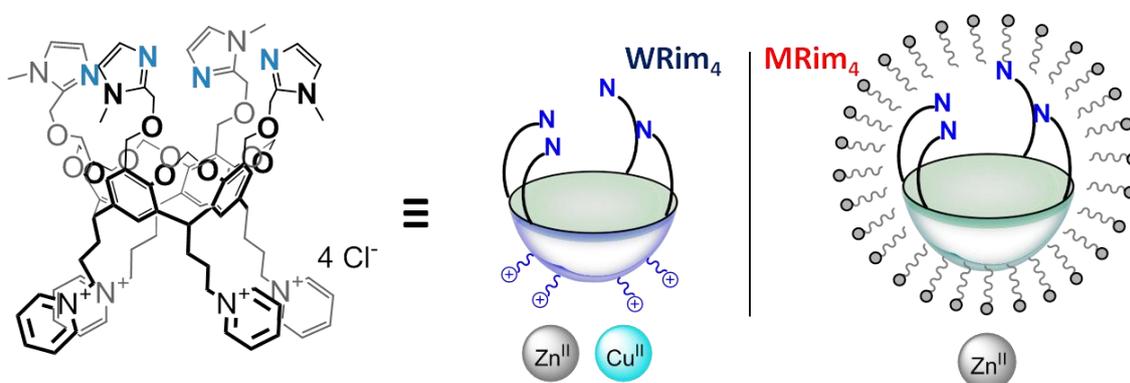
Afin de mieux cerner les possibilités de cette réactivité, un plus large panel de substrats devrait être investigué. Notamment, la plupart des candidats étudiés jusqu'ici étaient des cétones et aldéhydes. Il serait intéressant d'étudier d'autres fonctions coordinantes électrophiles telles que les nitriles (autres que l'acétonitrile), les esters ou les amides. Concernant les dérivés carbonyles, les exemples étudiés montrent que différentes réactivités peuvent être obtenues selon la fonction présente en α du carbonyle, une étude plus approfondie permettrait donc d'avoir une meilleure compréhension des capacités catalytiques ou non des complexes. En particulier, le cas du N-méthylformamide suggère qu'une réactivité hydrolytique peut être obtenue dans des conditions choisies avec Rim₃Zn, comme avec Rim₄Zn qui est capable d'hydrater l'acétonitrile.

L'étude de la réactivité vis-à-vis notamment de l'hydratation de Rim₄Zn pourrait également être faite avec d'autres métaux, en particulier Cu^{II} et Co^{II}. En effet le complexe Rim₄Cu a déjà été obtenu et caractérisé dans le laboratoire mais son activité n'a pas été étudiée. Les propriétés rédox de ce métal ouvrent de nouveaux horizons en termes de réactivité, en particulier vis-à-vis du dioxygène, qui pourront faire l'objet de prochains travaux. Enfin, une étude préliminaire a été menée concernant le complexe Rim₄Co^{II}. Le cobalt(II) est plus labile que le cuivre ou le zinc et moins acide de Lewis ; il présente plusieurs degrés d'oxydation accessibles et est capable de complexer l'acétylacétone sans ajout de base, ce qui indique que Rim₄Co^{II} allie i) un métal rédox, ii) deux sites de coordination ouverts en position *cis* l'un par rapport à l'autre, iii) une cavité hydrophobe qui exerce un contrôle stérique sur les invités en position *endo* et iv) un bras hémilabile pouvant jouer le rôle de base intramoléculaire. L'ensemble de ces facteurs font du complexe Rim₄Co^{II} un excellent candidat à la réactivité. Une étude plus étendue des propriétés réceptrices de ce système reste à effectuer ainsi que l'exploration de son activité envers différents substrats.



Hydrosolubilisation

L'étude du système Rim_4Zn a ensuite pu être étendue à l'eau. Deux stratégies ont été employées avec succès pour amener le ligand Rim_4 à se solubiliser dans l'eau : d'une part la synthèse d'un nouveau ligand comportant quatre fragments pyridinium, WRim_4 , et d'autre part l'incorporation du ligand Rim_4 dans des micelles, pour donner MRim_4 . Ces deux ligands ont une affinité semblable pour le zinc(II) dans l'eau (de l'ordre de 10^4 M^{-1}) et les complexes obtenus sont stables sur une large gamme de pH (entre 6 et 9 environ).



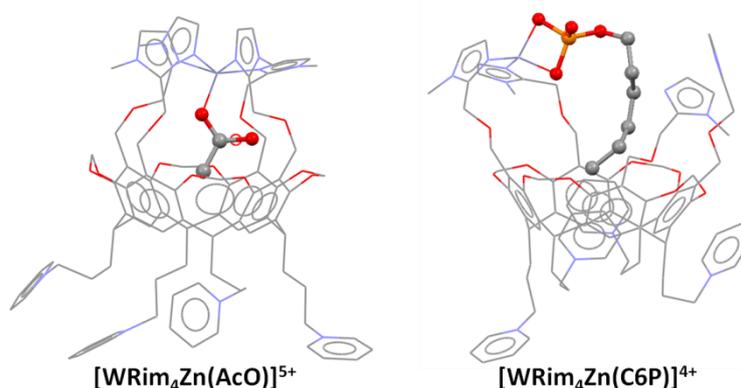
Les complexes MRim_4Zn et WRim_4Zn présentent des propriétés réceptrices très similaires, en contraste avec les études comparatives entre systèmes hydrosolubles et micelles reportées jusqu'ici. Tous deux sont de bons récepteurs de petits anions dans l'eau, tels que l'acétate, l'acétylacétone ou l'acétamide. En particulier, l'acétamide est complexé sous forme anionique à pH neutre ce qui montre un abaissement de $\text{p}K_a$ d'environ 8 unités ! Les deux complexes présentent une sélectivité similaire, probablement due à leur structure cavitaire commune, et des constantes d'affinité proches pour tous les invités étudiés. De plus, les complexes hôte-invité sont stables sur des domaines de pH étendus d'environ 5 unités de pH (voire 6 pour MRim_4Zn).

La réactivité comparée de ces deux systèmes n'a pas été étudiée au cours de cette thèse et reste à découvrir. En particulier, l'interaction des complexes avec l'acétonitrile pourrait être investiguée ainsi que leur potentiel vis-à-vis de réactions hydrolytiques telles que celles typiquement catalysées par les hydrolases à zinc(II).

Le complexe WRim_4Cu a également été obtenu et les études préliminaires hôte-invité montrent qu'il présente des caractéristiques très différentes de WRim_4Zn . En particulier, il n'y a pas formation d'un complexe $[\text{WRim}_4\text{Cu}(\text{Acac})]^+$ dans l'eau quel que soit le pH. La sélectivité de ce nouveau complexe est à explorer, la détermination de ses propriétés réceptrices ouvrira la voie vers des études de réactivité.

Propriétés hôte-invité de WRim₄Zn

Les propriétés de reconnaissance de WRim₄Zn ont ensuite été étudiées plus en détail, pour révéler une sélectivité non seulement en termes stérique mais aussi en termes de groupement chimique : phosphates > carboxylates, dicétones > amides, sulfonates. Une grande diversité de fonctions coordinantes peut donc être envisagée, cependant la cavité apporte un contrôle strict sur la nature des substituants pouvant être inclus. En effet, seules les chaînes alkyles ont pu être reconnues, courtes en général. Le cas particulier des phosphates à longue chaîne montre cependant que cette dernière règle n'est pas absolue. La longueur de chaîne pouvant être incluse dépend en effet du mode de coordination de l'invité au métal. Dans le cas des phosphates, une tête bisanionique tétraédrique permet une orientation de la chaîne qui facilite son repliement dans la cavité et la reconnaissance de chaînes propyle jusqu'à hexyle est favorisée.



Cette tendance se retrouve avec les sulfonates et les dérivés soufrés en général, qui n'ont été que superficiellement abordés dans cette thèse et dont l'étude reste à compléter, ce qui permettrait de mieux caractériser la sélectivité du système et comprendre son affinité particulière pour les monoalkylphosphates. Par ailleurs, le fait que WRim₄Zn soit un bon récepteur d'acétate et de phosphates dans l'eau laisse penser qu'il pourrait également interagir avec des peptides acétylés ou phosphorylés. L'acétylation, comme la phosphorylation et la méthylation, sont des marques épigénétiques connues dont les récepteurs sont très recherchés.

Enfin, l'activité de WRim₄Zn vis-à-vis de l'hydrolyse de phosphates a été étudiée, avec des résultats mitigés. WRim₄Zn est un récepteur sélectif des monoalkylphosphates avec lesquels il forme un complexe stable mais n'interagit pas avec les di- ou triphosphates considérés, même à plus haute température (50 °C). Cependant WRim₄Zn reste un modèle structural proche des métalloenzymes à zinc(II), et notamment des hydrolases. De nombreux substrats pourraient être investigués tels que des esters et dérivés carbonylés ou les nitriles, afin de mieux caractériser le potentiel de WRim₄Zn en termes d'activité.

EXPERIMENTAL SECTION

General

All solvents and reagents were commercially obtained from suppliers (Sigma-Aldrich, Acros Organics, Alfa-Aesar) and used as such. THF was dried over activated alumina with an Innovative Technology PS-micro solvent purification system. NMR spectra were recorded on four spectrometers: Bruker ARX250 MHz, Bruker Avance 500 MHz, Bruker UltraShield CryoProbe 500 MHz and Varian 600 MHz. The chemical shifts are given in ppm (parts per million) and referred to tetramethylsilyle. Isothermal Titration Calorimetry (ITC) experiments were conducted on a NanoITC TA Instruments calorimeter at 298 K or on a Microcal ITC200 Malvern Instruments calorimeter at 293 K. MS (ESI) analysis were performed on a ThermoFinnigen LCQ Advantage spectrometer using acetonitrile, methanol or water as solvents. Infrared spectra were collected with a Perkin-Elmer Spectrum on FTIR spectrometer equipped with a MIRacleTM single reflection horizontal ATR unit (germanium crystal). UV/visible spectra were obtained with a Shimadzu UV-2700 spectrometer. The EPR spectra were recorded with a Bruker Elexys spectrometer (X band). pD/pH measurements were performed with a Mettler-Toledo U402-M3-S7/200 long combination pH micro electrode.

Safety note. Although no problem was encountered, it is noted that perchlorate salts of metal complexes with organic ligands are potentially explosive and should be handled with appropriate precautions.

I. Synthetic procedures – characterization

2-chloromethyl-1-methyl-1H-imidazole

2-hydroxymethyl-1-methyl-1H-imidazole. Adapted from Reese et al.¹

1-methyl-1H-imidazole (30.0 g, 0.36 mol) and paraformaldehyde (30.0 g, 1.0 mol) were introduced in a round-bottom flask equipped with a condenser. The reagents were heated at 150 °C for 3 h under agitation. The crude product was recrystallized from methanol (40 mL) to yield a brown solid (26.0 g, 64%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 300 K) δ (ppm): 6.79 (H_{Im,β}, s, 1H), 6.75 (H_{Im,α}, s, 1H), 5.56 (OH, bs, 1H), 4.56 (CH₂, s, 2H), 3.67 (CH₃, s, 3H).

IR (cm⁻¹): 3137, 3116, 2828, 1601, 1468, 1361, 1287, 1248, 1194, 1146, 1020, 963, 786, 755, 746, 701, 652.

2-chloromethyl-1-methyl-1H-imidazole hydrochloride. Adapted from Reese et al.¹

Thionyl chloride (16 mL, 220 mmol) was added dropwise to 2-hydroxymethyl-1-methyl-1H-imidazole (8.08 g, 72 mmol) at 0 °C. The reaction medium was then heated at 50 °C for 30 min and at

RT for 1 h. The excess thionyl chloride is removed under reduced pressure. The yellow solid obtained was recrystallized from ethanol (20 mL) to yield a light orange solid (7.66 g, 64%).

^1H NMR (250 MHz, DMSO, 300 K) δ (ppm): 7.76 ($\text{H}_{\text{Im},\beta}$, d, 1H, $J = 3.5$ Hz), 7.70 ($\text{H}_{\text{Im},\alpha}$, d, 1H, $J = 3.5$ Hz), 5.17 (CH_2 , s, 2H), 3.87 (CH_3 , s, 3H).

IR (cm^{-1}): 3317, 2480, 1862, 1814, 1596, 1546, 1395, 1302, 1269, 1218, 1194, 1081, 941, 927, 881, 782, 756, 747, 666, 625.

Organosoluble complex Rim_3Zn

Zinc(II) complex $[\text{Rim}_3\text{Zn}(\text{EtOH})](\text{ClO}_4)_2/(\text{OTf})_2$. Adapted from *Visnjevac et al.*²

Ligand Rim_3 (48.0 mg, 40 μmol) was dissolved in degassed EtOH (1 mL) under argon and added dropwise to a solution of $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (14.8 mg, 40 μmol) in degassed EtOH (1 mL). A white solid precipitated during the addition and the resulting mixture was stirred for an additional hour under argon. After centrifugation, the white solid was separated, washed twice with EtOH (1 mL) and then dried under vacuum at 60 °C for 2 h, yielding a white solid (50 mg, 86%).

The same procedure was followed for the synthesis of $[\text{Rim}_3\text{Zn}(\text{EtOH})](\text{OTf})_2$, with $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ instead of $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$, to yield a white solid (11.4 mg, 58%).

^1H NMR (500 MHz, CD_3CN , 300 K) δ (ppm): 7.44 ($\text{H}_{\text{Ar},\text{down}}$, s, 2H), 7.41 ($\text{H}_{\text{Ar},\text{down}}$, s, 1H), 7.28 ($\text{H}_{\text{Im},\beta}$, d, 2H, $J = 1.5$ Hz), 7.27 ($\text{H}_{\text{Ar},\text{down}}$, s, 1H), 7.22 ($\text{H}_{\text{Im},\beta}$, d, 1H, $J = 1.5$ Hz), 6.68 ($\text{H}_{\text{Im},\alpha}$, d, 2H, $J = 1.5$ Hz), 6.57 ($\text{H}_{\text{Ar},\text{up}}$, s, 1H), 6.56 ($\text{H}_{\text{Im},\alpha}$, d, 1H, $J = 1.5$ Hz), 5.83 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$, d, 2H, $J = 8.0$ Hz), 5.54 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$, d, 2H, $J = 8.0$ Hz), 4.76 ($\text{CH}-\text{CH}_2$, t, 1H, $J = 8.0$ Hz), 4.71 ($\text{Ar}-\text{CH}_2-\text{O}$, d, 2H, $J = 10.0$ Hz), 4.70 ($\text{CH}-\text{CH}_2$, t, 3H, $J = 8.0$ Hz), 4.64 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{Im}$, s, 2H), 4.59 ($\text{Ar}-\text{CH}_2-\text{O}$, s, 2H), 4.52 ($\text{Ar}-\text{CH}_2-\text{O}$, d, 2H, $J = 10.0$ Hz), 4.42 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{Im}$, d, 2H, $J = 13.5$ Hz), 4.40 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$, d, 2H, $J = 8.0$ Hz), 4.31 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{Im}$, d, 2H, $J = 11.5$ Hz), 4.29 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$, d, 2H, $J = 8.0$ Hz), 3.87 ($\text{N}-\text{CH}_3$, s, 6H), 3.79 ($\text{N}-\text{CH}_3$, s, 3H), 2.35 ($\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$, m, 8H), 1.37 ($(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$, m, 24H), 0.92 (CH_2-CH_3 , t, 12H, $J = 7.0$ Hz).

IR (perchlorate, cm^{-1}): 2931, 2857, 1493, 1458, 1281, 1230, 1087, 1020, 969, 748, 668, 643, 626.

IR (triflate, cm^{-1}): 2931, 1458, 1258, 1158, 1084, 1030, 970, 757, 639.

Organosoluble ligand Rim_4

Macrocyclic formation (R3). Adapted from *Cram et al.*³

Resorcinol (13.2 g, 0.12 mol) is dissolved in ethanol (120 mL) and hexanal (14.5 mL, 0.12 mol) is added to the mixture under argon in one portion. At 0 °C, concentrated HCl (37%, 19 mL) is added dropwise to the solution and the reaction medium is heated at 70 °C overnight. Water (200 mL) is added to produce an orange-pink precipitate. The solution is filtered and the solid washed twice with hot water (100 mL) and freeze-dried to yield an orange powder (23.2 g, 96%).

^1H NMR (250 MHz, DMSO, 300 K) δ (ppm): 8.86 (ArOH, s, 8H), 7.14 (Ar- H_{up} , s, 4H), 6.13 (Ar- H_{down} , s, 4H), 4.20 ($-\text{CH}-$, t, 4H, $J = 7.7$ Hz), 2.00 ($\text{CH}-\text{CH}_2$, m, 8H), 1.20 ($(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$, m, 24H), 0.83 (CH_3 , t, 12H, $J = 6.7$ Hz).

IR (cm⁻¹): 3256, 2930, 1616, 1505, 1456, 1294, 1173, 1079, 836.

Bromination (R4). *Adapted from Sherman et al.*⁴

The resorcinarene **R3** (11.1 g, 14.5 mmol) was dissolved in 2-butanone (70 mL) under argon. The system was covered in tin foil and N-bromosuccinimide (15.4 g, 87 mmol) was added slowly. The reaction medium was heated to 35 °C for 4 hours then cooled to RT. The white suspension obtained was filtered and washed twice with cold butanone (10 mL). The resulting solid was dried under reduced pressure for 1 hour at 40 °C to yield a white powder (11.0 g, 65%).

¹H NMR (250 MHz, DMSO, 300 K) δ (ppm): 9.08 (ArOH, s, 8H), 7.35 (Ar-H_{down}, s, 4H), 4.35 (-CH-, t, 4H, *J* = 7.7 Hz), 2.17 (CH-CH₂, m, 8H), 1.24 ((CH₂)₃-CH₃, m, 24H), 0.84 (CH₃, t, 12H, *J* = 6.5 Hz).

IR (cm⁻¹): 3394, 2954, 2929, 2860, 1721, 1616, 1574, 1469, 1435, 1342, 1312, 1170, 1155, 1115, 1084, 924.

Tetrabromocavitand (R5). *Adapted from Matt et al.*⁵

Potassium carbonate (11.6 g, 83.6 mmol) and the brominated macrocycle **R4** (5.01 g, 4.62 mmol) were introduced in a round-bottom flask. Under argon, anhydrous DMF (80 mL) and bromochloromethane (4.5 mL, 69.3 mmol) were added in that order. The reaction medium was heated at 65 °C for 24 h and a second aliquot of bromochloromethane (0.60 mL, 9.24 mmol) was added. The solution was stirred at 65 °C for three more days. At 0 °C, HCl 5% was added slowly to the solution until the medium become neutral (and gas formation stopped). The obtained suspension was filtered and the solid washed with water (three times). The crude product is purified over silica (eluant DCM/cyclohexane 6:4 to 1:1) to yield a white powder (2.67 g, 51%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 300 K) δ (ppm): 7.02 (H_{down}, s, 4H), 5.94 (O-CH₂-O, d, 4H, *J* = 8.0 Hz), 4.83 (-CH-, t, 4H, *J* = 8.0 Hz), 4.37 (O-CH₂-O, d, 4H, *J* = 8.0 Hz), 2.18 (CH-CH₂, m, 8H), 1.37 ((CH₂)₃-CH₃, m, 24H), 0.90 (CH₃, t, 12H, *J* = 7.5 Hz).

IR (cm⁻¹): 2928, 2858, 1467, 1450, 1299, 1227, 1178, 1143, 1088, 1020, 981, 790, 734.

Tetraalcoholcavitand (R6). *Adapted from Mori et al.*⁶

Tetrabromocavitand **R5** (958 mg, 0.84 mmol) was dissolved in freshly distilled THF (4 mL). The solution was evaporated under vacuum at 80 °C for 1 h. This operation was repeated 3 times to ensure complete dryness. Under argon, the cavitand was then dissolved in dry THF (19 mL). At -78 °C, nBuLi (5.5 mL, 7.56 mmol) was added dropwise and the solution was stirred for 1 hour at -78 °C. Paraformaldehyde (379 mg, 12.6 mmol) was added in one portion. After 1 hour at -78 °C, the reaction medium was stirred overnight at RT. The solvent was then evaporated under reduced pressure and the yellow residue obtained was dissolved in ethyl acetate (30 mL). The organic layer was washed with a saturated ammonium chloride solution (30 mL), then three times with brine (20 mL). The organic layer was dried over Na₂SO₄ and evaporated to dryness. The crude product was separated over silica (eluant dichloromethane/EtOH 9:1 to 8:2) to yield a white powder (430 mg, 52%).

R_f (DCM/EtOH 8:2) = 0.43.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 300 K) δ (ppm): 7.10 ($\text{H}_{\text{Ar,down}}$, s, 4H), 5.89 (O-CH₂-O, d, 4H, J = 4.0 Hz), 4.77 (CH, t, 4H, J = 8.0 Hz), 4.53 (Ar-CH₂-O, s, 8H), 4.40 (O-CH₂-O, d, 4H, J = 4.0 Hz), 2.20 (CH-CH₂, m, 8H), 1.37 ((CH₂)₃-CH₃, m, 24H), 0.90 (CH₃, t, 12H, J = 7.0 Hz).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3 , 300 K) δ (ppm): 153.8 ($\text{C}_{\text{Ar-O}}$), 138.4 ($\text{C}_{\text{Ar-CH}}$), 120.5 ($\text{CH}_{\text{Ar,down}}$), 99.9 (O-CH₂-O), 55.8 (CH₂-OH), 37.1 (CH), 32.2 (CH₂-CH₃), 30.3 (CH₂-CH₂-CH), 27.8 (CH₂-CH), 22.9 (CH₂-CH₂-CH₃), 14.3 (CH₃).

IR (cm^{-1}): 3399, 2930, 1472, 1239, 1151, 1089, 1023, 964, 913, 744, 645.

Tetraimidazolecavitand **Rim**₄. Adapted from Reinaud et al.²

Tetra(alcohol)cavitand **R6** (420 mg, 0.45 mmol) was dissolved in freshly distilled THF (4 mL). The solution was evaporated under vacuum at 80 °C for 1 h in order to eliminate traces of water. This operation was repeated 3 times. Under argon at 0 °C, compound **R6** was then dissolved in dry DMF (8 mL) and added dropwise to a suspension of NaH (544 mg of a 60% dispersion washed with n-pentane, 14 mmol) in dry DMF (5 mL). The reaction medium was stirred for 30 min at 0 °C and two additional hours at room temperature. At 0 °C, 2-chloromethyl-1-methyl-1*H*-imidazole (606 mg, 3.6 mmol) was added in 4 portions into the mixture every 15 min. The resulting orange suspension was stirred overnight at room temperature. The mixture was hydrolyzed at 0 °C with water (60 mL). The resulting solid was filtered off, washed twice with water (20 mL), then ammonia 2% (20 mL) and water (20 mL). The resulting powder was dissolved in dichloromethane (10 mL), dried over Na₂SO₄, filtered and evaporated to yield an off-white solid (511 mg). This solid was purified over silica (DCM/MeOH 9:1 to 8:2 with 0.3 % NH₃). The solid obtained was dissolved in 3 mL chloroform and washed with NaOH 1 M (2 mL) and twice with water (2 mL). The organic layer was dried over Na₂SO₄ and evaporated. The obtained solid was recrystallized from EtOH/H₂O 1:1 (4 mL) to yield an off-white powder (389 mg, 64%).

R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1, 0.3% NH₃) = 0.44.

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3 , 300 K) δ (ppm): 7.03 ($\text{H}_{\text{Ar,down}}$, s, 4H), 6.93 ($\text{H}_{\text{Im},\alpha}$, s, 4H), 6.89 ($\text{H}_{\text{Im},\beta}$, s, 4H), 5.57 (O-CH₂-O, d, 4H, J = 7.2 Hz), 4.70 (CH-CH₂, t, 4H, J = 8.4 Hz), 4.56 (O-CH₂-Im, s, 8H), 4.20 (Ar-CH₂-O, s, 8H), 4.16 (O-CH₂-O, d, 4H, J = 7.2 Hz), 3.62 (NCH₃, s, 12H), 2.13 (CH-CH₂-CH₂, m, 8H), 1.34 ((CH₂)₃-CH₃, m, 24H), 0.88 ppm (CH₃, t, 12H, J = 7.2 Hz).

^{13}C NMR (150 MHz, CD₃CN, 300 K) δ (ppm): 154.8 ($\text{C}_{\text{Ar-O}}$), 145.6 (N-C=N), 139.4 ($\text{C}_{\text{Ar-CH}}$), 125.7 ($\text{CH}_{\text{Im},\alpha}$), 123.3 ($\text{CH}_{\text{Ar,down}}$), 122.8 ($\text{CH}_{\text{Im},\beta}$), 100.7 (O-CH₂-O), 65.1 (O-CH₂-Im), 62.2 (Ar-CH₂-O), 38.3 (CH), 33.2 (CH₂-CH₃), 32.8 (CH₃-N), 30.5 (CH₂-CH₂-CH), 28.4 (CH₂-CH), 23.3 (CH₂-CH₂-CH₃), 14.5 ppm (CH₃).

IR (cm^{-1}): 2926, 2856, 1654, 1590, 1499, 1458, 1400, 1348, 1284, 1241, 1149, 1067, 968, 747.

HR MS (ESI): m/z : [**Rim**₄ + H]⁺ calcd. C₇₆H₉₇N₈O₁₂ 1313.7226, found 1313.7207; [**Rim**₄ + 2H]²⁺ calcd. C₇₆H₉₈N₈O₁₂ 657.3652, found 657.3635.

Organosoluble complexes

Zinc(II) complex $[\text{Rim}_4\text{Zn}(\text{EtOH})](\text{ClO}_4)_2$. Adapted from Parrot et al.⁷

Ligand **Rim₄** (46 mg, 35 μmol) was dissolved in degassed EtOH (1 mL) under argon and added dropwise to a solution of $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (13 mg, 35 μmol) in degassed EtOH (1 mL). A white solid precipitated during the addition and the resulting mixture was stirred for an additional hour under argon. After centrifugation, the white solid was separated, washed twice with EtOH (1 mL) and then dried under vacuum at 60 °C for 2 h, yielding a white solid (48 mg, 85%).

¹H NMR (500 MHz, CD₃CN, 300 K) δ (ppm): 7.39 ($\text{H}_{\text{Ar,down}}$, s, 4H), 7.11 ($\text{H}_{\text{Im},\alpha}$, s, 4H), 6.48 ($\text{H}_{\text{Im},\beta}$, s, 4H), 5.71 (O–CH₂–O, d, 4H, $J = 7.2$ Hz), 4.74 (CH –CH₂, t, 4H, $J = 8.2$ Hz), 4.58 (O–CH₂–Im, s, 8H), 4.19 (O–CH₂–O, d, 4H, $J = 7.2$ Hz), 4.11 (Ar–CH₂–O, s, 8H), 3.78 (NCH₃, s, 12H), 2.33 (CH–CH₂–CH₂, m, 8H), 1.39 ((CH₂)₃–CH₃, m, 24H), 0.92 ppm (CH₃, t, 12H, $J = 6.9$ Hz).

¹³C NMR (150 MHz, CD₃CN, 300 K) δ (ppm): 154.7 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{--O}$), 146.7 (N=C=N), 139.8 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{--CH}$), 126.7 (CH_{Im, α}), 124.7 (CH_{Im, β}), 123.3 (CH_{Ar,down}), 100.8 (O–CH₂–O), 65.0 (O–CH₂–Im), 63.0 (Ar–CH₂–O), 38.4 (CH), 34.9 (CH₃–N), 32.9 (CH₂–CH₂–CH₃), 30.2 (CH₂–(CH₂)₃–CH₃), 28.4 (CH₂–(CH₂)₂–CH₃), 23.4 (CH₂–CH₃), 14.6 ppm (CH₃).

IR (cm⁻¹): 2929, 2861, 1634, 1592, 1506, 1457, 1288, 1242, 1151, 1087, 1020, 970, 755, 668, 624, 587.

HR-MS (ESI): m/z : [**Rim₄ZnCl**]⁺ calcd. 1411.6128, found 1411.6113; [**Rim₄Zn(HCOO)**]⁺ calcd. 1421.6416, found 1421.6372; [**Rim₄Zn(OAc)**]⁺ calcd. 1435.6572, found 1435.6541. Note: the anions bound to the detected Zn^{II} complex come from the electrospray apparatus.

Cobalt(II) complex $[\text{Rim}_4\text{Co}(\text{EtOH})](\text{ClO}_4)_2$. Adapted from Parrot et al.⁷

Ligand **Rim₄** (15.4 mg, 11.7 μmol) was dissolved in degassed EtOH (0.5 mL) under argon and added dropwise to a solution of $\text{Co}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (4.3 mg, 11.7 μmol) in degassed EtOH (0.5 mL). A purple solid precipitated during the addition and the resulting mixture was stirred for an additional hour under argon. After centrifugation, the purple solid was separated, washed twice with EtOH (1 mL) and then dried under vacuum at 60 °C for 2 h, yielding a purple solid (14.2 mg). NMR analysis revealed the presence of 10% residual ligand in this solid (yield 67%).

¹H NMR (500 MHz, CD₃CN, 300 K) δ (ppm): 65.6 ($\text{H}_{\text{Im},\alpha}$, s, 4H), 55.0 ($\text{H}_{\text{Im},\beta}$, bs, 4H), 29.6 (O–CH₂–Im, s, 4H), 24.7 (N–CH₃, s, 12H), 18.4 (O–CH₂–Im, bs, 4H), 5.63 (H_{out} , bs, 4H), 5.58 (Ar–CH₂–O, s, 4H), 4.36 (H_{in} , bs, 4H), -1.02 (CH₂–CH₃, t, 12H, $J = 8.0$ Hz), -1.18 (CH₂–CH₃, m, 8H), -1.75 (CH₂–CH₂–CH₃, m, 8H), -1.98 (CH–CH₂, t, 4H, $J = 10.0$ Hz), -2.86 (CH–CH₂–CH₂, m, 8H), -3.03 ($\text{H}_{\text{Ar,down}}$, s, 4H), -3.83 (CH–CH₂, m, 8H), -16.2 (Ar–CH₂–O, s, 4H).

¹³C NMR (150 MHz, CD₃CN, 300 K) δ (ppm): 142.2, 140.6, 139.5, 127.7, 127.4, 114.6, 110.3, 92.0, 62.5, 38.4, 32.9, 30.5, 29.6, 29.0, 28.5, 24.0, 23.7, 23.4, 20.8, 14.5, 12.4.

IR (cm⁻¹): 3525, 2955, 2931, 2871, 1655, 1503, 1458, 1288, 1243, 1151, 1091, 1076, 1022, 971, 760, 626.

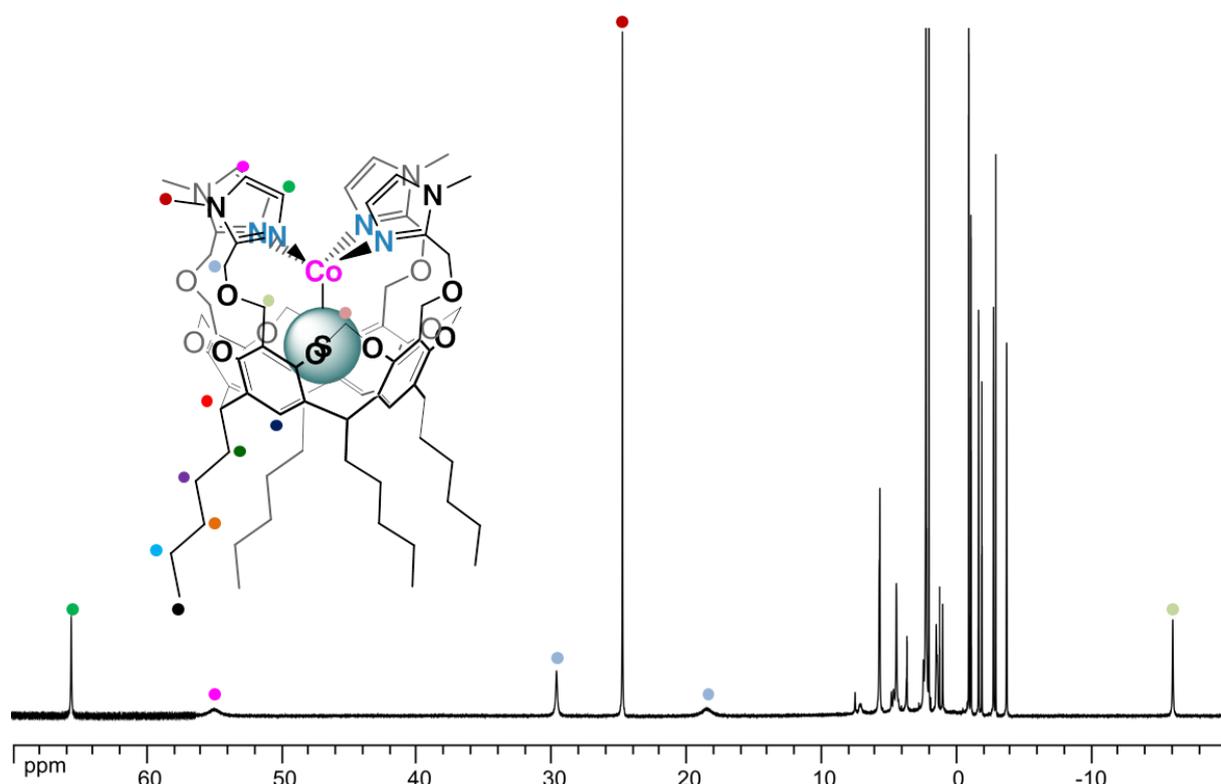


Figure 140 : ^1H NMR (500 MHz, CD_3CN , 300 K) of $\text{Rim}_4\text{Co}^{\text{II}}$ as isolated (with 10% free Rim_4).

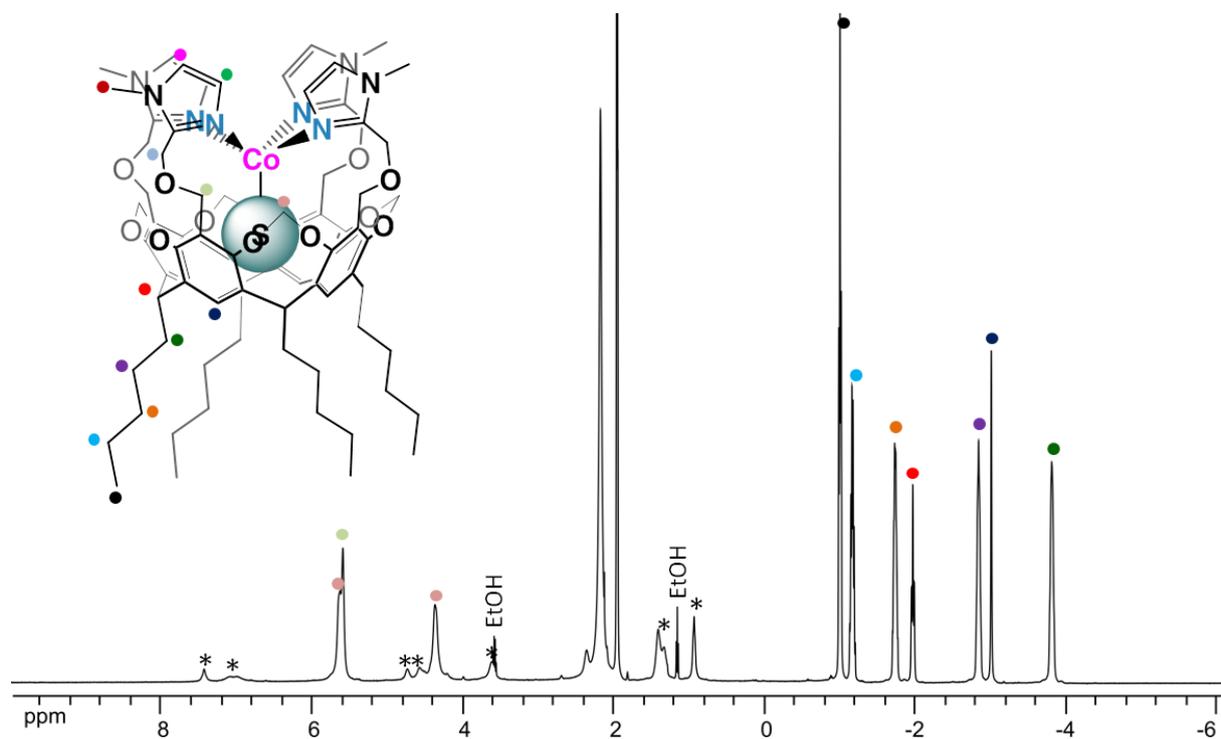


Figure 141 : Extract of ^1H NMR (500 MHz, CD_3CN , 300 K) of $\text{Rim}_4\text{Co}^{\text{II}}$ as isolated (with 10% free Rim_4 indicated by black stars).

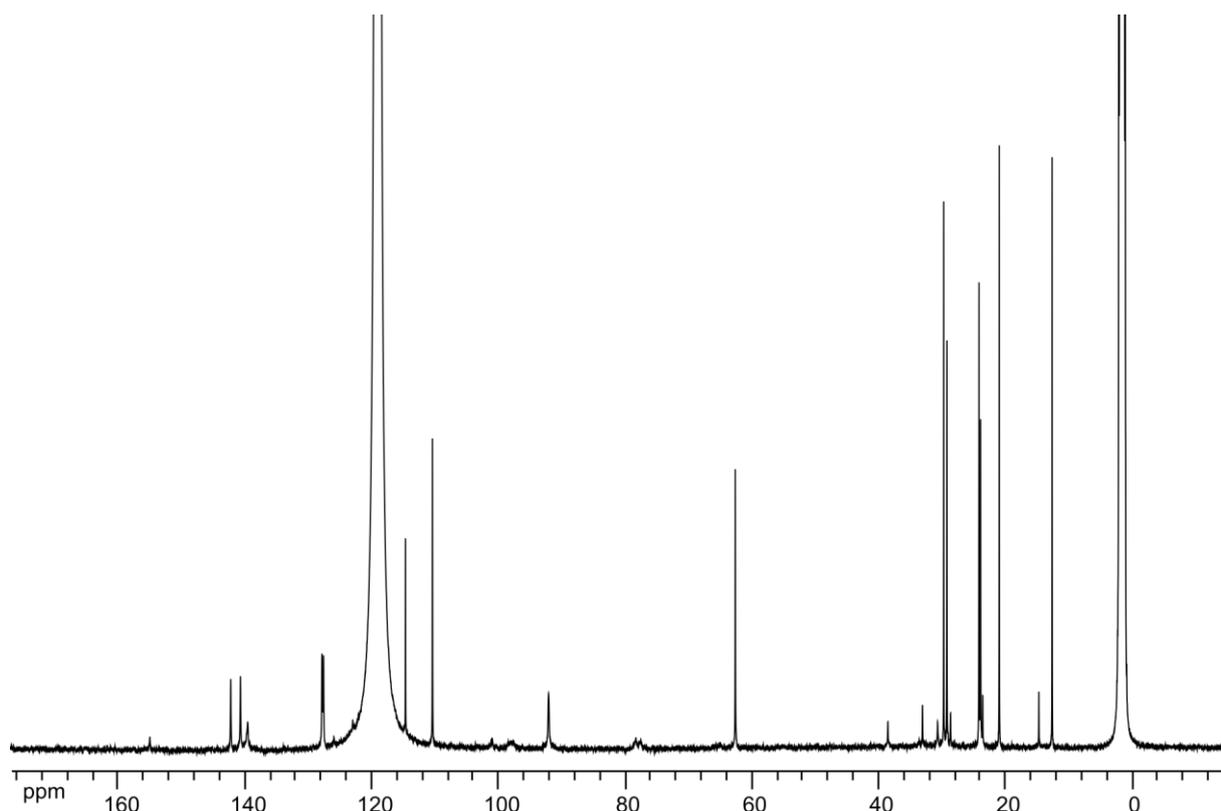


Figure 142 : ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3CN , 300 K) of $\text{Rim}_4\text{Co}^{\text{II}}$ as isolated.

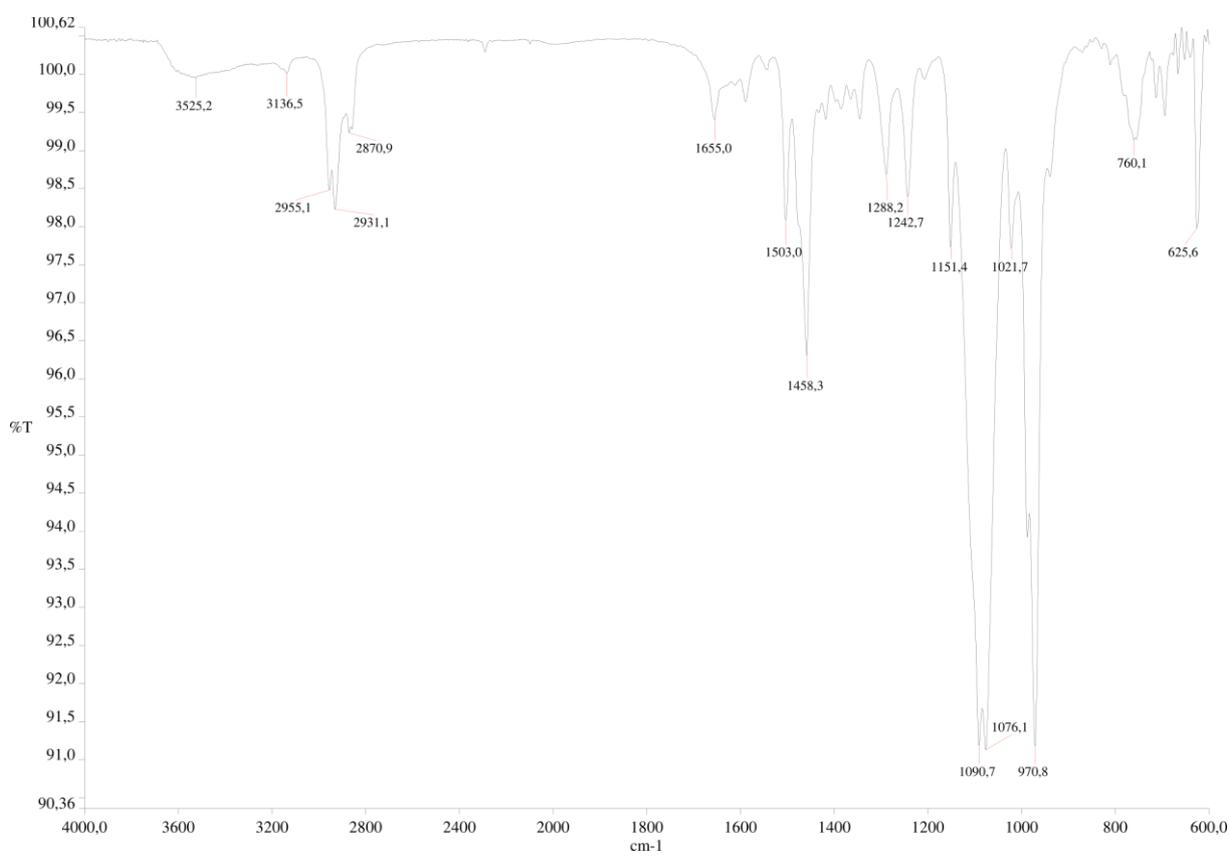


Figure 143 : IR spectrum of Rim_4Co (from acetonitrile).

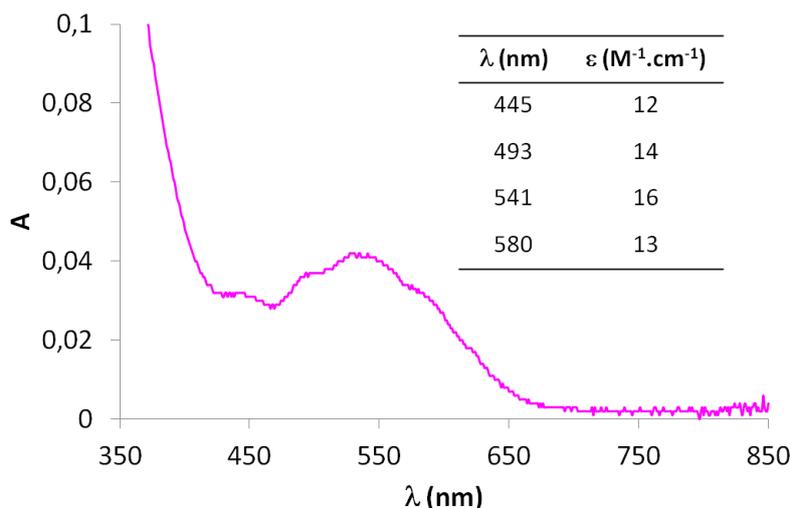


Figure 144 : UV/visible spectrum of Rim₄Co (2.3 mM) in acetonitrile.

Micelle systems MRim₄ and MRim₄Zn

Included ligand MRim₄. Adapted from Brunetti et al.⁸

The ligand Rim₄ (1.04 mg, 0.64 μ mol) was suspended in an acidic solution of DPC (10.7 mg, 20 mM, pD = 1.4) in D₂O (for NMR studies, H₂O for ITC studies). The suspension was stirred at RT for 3 hours, until a clear solution was obtained, and used as such for NMR or ITC studies.

The associated zinc(II) complex MRim₄Zn was generated by addition of a Zn(ClO₄)₂ solution in D₂O/H₂O (according to the micelle solution) with DPC (20 mM).

Included complex MRim₄Zn. Adapted from Brunetti et al.⁸

The complex [Rim₄Zn(EtOH)](ClO₄)₂ (1.2 mg, 0.7 μ mol) was suspended in an HEPES buffer (1.47 mL, 50 mM, pD = 7) containing DPC (10.3 mg, 20 mM), stirred at RT overnight then heated to 50 °C for 30 min. The limpid solution obtained was used as such for NMR studies.

Water-soluble ligand WRim₄

Macrocyclic formation (W3). Adapted from Sherman et al.⁴

Resorcinol (50 g, 0.45 mol) was dissolved in 370 mL methanol/HCl 37% (4:1). Under inert atmosphere, 2,3-dihydrofuran (34.4 mL, 0.45 mol) was added dropwise over 3 hours with strong stirring. The reaction medium was stirred for 4 more hours at RT, then 7 days at 50 °C. An abundant yellow solid is formed. After cooling at RT, the suspension was filtered and washed three times with 200 mL hot water. The wet solid obtained was freeze dried to yield a white powder (60.0 g, 69%).

¹H NMR (250 MHz, DMSO, 300 K) δ (ppm): 8.89 (ArOH, s, 8H), 7.22 (Ar-H_{up}, s, 4H), 6.14 (Ar-H_{down}, s, 4H), 4.32 (–CH–, t, 4H, J = 8.2 Hz), 4.19 (CH₂–OH, t, 4H, J = 5.2 Hz), 3.32 (CH₂–OH, m, 8H), 2.08 (CH–CH₂, m, 8H), 1.32 (CH₂–CH₂–OH, m, 8H).

IR (cm⁻¹): 3387, 2940, 1618, 1500, 1443, 1366, 1287, 1227, 1159, 1050, 987, 847, 755.

Bromination (W4). *Adapted from Sherman et al.*⁴

The macrocycle **W3** (25.6 g, 35.7 mmol) was dissolved in 600 mL methanol/butan-2-one (3:7) under argon. The flask was covered with tin foil and half of the N-bromosuccinimide (46.8 g, 263 mmol) was added. After 4 hours, the rest of N-bromosuccinimide was added and the reaction medium was stirred overnight at RT. A yellow suspension is obtained. The solid is filtered and washed with 50 mL cold butan-2-one, then dried under vacuum for 1 hour. A white powder is obtained (27.0 g, 73%).

¹H NMR (250 MHz, DMSO, 300 K) δ (ppm): 9.10 (ArOH, s, 8H), 7.39 (Ar-H_{down}, s, 4H), 4.33 (-CH-, t, 4H, $J = 7.5$ Hz), 3.43 (CH₂-OH, t, 4H, $J = 6.7$ Hz), 2.77 (CH₂-OH, m, 8H), 2.22 (CH-CH₂, m, 8H), 1.35 (CH₂-CH₂-OH, m, 8H).

IR (cm⁻¹): 3251, 1698, 1469, 1305, 1181, 1102, 1074, 1050, 1014, 962, 859, 777, 726.

Tetrabromocavitand (W5). *Adapted from Sherman et al.*⁴

K₂CO₃ (20.8 g, 150 mmol) and dimethylacetamide (300 mL) were introduced in a 500 mL round-bottom flask. Under argon, bromochloromethane (3.5 mL, 52.3 mmol) was added to the suspension. A solution of **W4** (11.9 g, 11.5 mmol) in dimethylacetamide (50 mL) was slowly added to the reaction medium over two days with a syringe-pusher. After one additional day at RT, a second aliquot of bromochloromethane (3.5 mL, 52.3 mmol) was added. The flask was then heated at 45 °C for 24 h. A third aliquot of bromochloromethane (3.5 mL, 52.3 mmol) was added and the reaction medium was heated at 65 °C for 3 days.

After cooling at RT, the solvent was evaporated to dryness and the obtained residue was suspended in 100 mL distilled water and neutralized by addition of HCl 2 M until the pH was neutral. The solution was filtered and washed twice with 100 mL water. The brown crude product was purified over silica (eluant chloroform/methanol 9:1 to 8:2) to yield a brown solid (15.5 g, 62%).

R_f (CHCl₃/MeOH 9:1) = 0.33.

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃, 300 K) δ (ppm): 7.39 (Ar-H_{down}, s, 4H), 5.94 (O-CH₂-O, d, 4H, $J = 7.5$ Hz), 4.84 (-CH-, t, 4H, $J = 8.5$ Hz), 4.39 (O-CH₂-O, d, 4H, $J = 7.5$ Hz), 3.80 (CH₂-OH, m, 8H), 2.49 (CH-CH₂, m, 8H), 1.65 (CH₂-CH₂-OH, m, 8H).

IR (cm⁻¹): 3366, 2938, 2877, 1628, 1469, 1451, 1418, 1300, 1235, 1184, 1140, 1096, 1045, 1018, 990, 962, 790, 758.

Protected tetrabromocavitand (W6). *Adapted from Liu et al.*⁹

Tetrabromocavitand **W5** (2.63 g, 2.42 mmol) was dissolved in anhydrous DMF (29 mL) under argon. Imidazole (2.46 g, 36.1 mmol) was added and the reaction medium was stirred for 10 min at RT. Triisopropylsilyle (7.0 mL, 32.7 mmol) was then added dropwise. After one night at RT, the solvent was removed under vacuum. The obtained residue was dissolved in 30 mL dichloromethane and 30 mL water. The organic layer was washed two more times with 30 mL water, dried over Na₂SO₄

and evaporated to dryness. The crude product was purified over silica (eluant dichloromethane/cyclohexane 3:2 to 1:1) to yield a white foaming solid (1.41 g, 41%).

R_f (DCM/cyclohexane 3:2) = 0.43.

^1H NMR (250 MHz, CDCl_3 , 300 K) δ (ppm): 7.04 ($\text{Ar-H}_{\text{down}}$, s, 4H), 5.93 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$, d, 4H, $J = 7.5$ Hz), 4.86 ($-\text{CH}-$, t, 4H, $J = 8.0$ Hz), 4.37 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$, d, 4H, $J = 7.5$ Hz), 3.75 ($\text{CH}_2\text{-OTIPS}$, t, 8H, $J = 5.0$ Hz), 2.26 (CH-CH_2 , m, 8H), 1.56 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OTIPS}$, m, 8H), 1.07 (TIPS, s, 84H).

IR (cm^{-1}): 2941, 2865, 1467, 1417, 1302, 1100, 995, 968, 882, 791, 726.

Tetraalcoholcavitand W7. Adapted from Mori et al.⁶

In order to remove water traces, the protected cavitand **W6** (2.52 g, 1.47 mmol) was dissolved in 10 mL distilled THF and dried for 1 hour under vacuum at 80 °C. This was repeated three times. Under argon, **W6** was then dissolved in distilled THF (25 mL). At -78 °C, butyllithium (11 mL (1.6 M in hexanes), 15.4 mmol) was added dropwise. The reaction medium was then stirred for 1 hour at -78 °C. Paraformaldehyde (520 mg, 17.3 mmol) was added in one portion, and the solution was stirred for 30 min at -78 °C, then overnight at RT. The solvent was removed under vacuum and the obtained residue was dissolved in 30 mL ethyl acetate and 20 mL saturated ammonium chloride solution. The organic layer was washed two more times with saturated ammonium chloride (20 mL), dried over sodium sulfate and evaporated to dryness. The crude product obtained was purified over silica (eluant dichloromethane/ethanol 95:5 to 85:15) to yield a white powder (1.0 g, 45%).

R_f (DCM/ethanol 9:1) = 0.16.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 300 K) δ (ppm): 7.13 ($\text{Ar-H}_{\text{down}}$, s, 4H), 5.90 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$, d, 4H, $J = 7.5$ Hz), 4.81 ($-\text{CH}-$, t, 4H, $J = 8.5$ Hz), 4.56 ($\text{Ar-CH}_2\text{-OH}$, s, 8H), 4.42 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$, d, 4H, $J = 7.5$ Hz), 3.76 ($\text{CH}_2\text{-OTIPS}$, t, 8H, $J = 7.0$ Hz), 2.29 (CH-CH_2 , m, 8H), 1.59 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OTIPS}$, m, 8H), 1.07 (TIPS, s, 84H).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3 , 300 K) δ (ppm): 153.8 ($\text{C}_{\text{Ar-O}}$); 138.3 ($\text{C}_{\text{Ar-CH}}$); 126.6 ($\text{C}_{\text{Ar-CH}_2\text{-OH}}$); 120.4 ($\text{C}_{\text{Ar,down}}$); 99.9 (C_{bridge}); 63.2 ($\text{CH}_2\text{-OTIPS}$); 55.8 ($\text{CH}_2\text{-OH}$); 36.6 (CHCH_2); 31.2 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 26.4 (CHCH_2); 18.3 ($\text{Si-CH-(CH}_3)_2$); 12.3 (Si-CH).

IR (cm^{-1}): 3365, 2942, 2865, 1461, 1245, 1107, 999, 963, 882, 726.

Protected tetraimidazolecavitand (W8). Adapted from Reinaud et al.¹⁰

Tetraalcoholcavitand **W7** (746 mg, 0.50 mmol) was dried three times by dissolution in distilled THF (4 mL) and evaporation under vacuum at 80 °C for 1 hour. It was then dissolved under argon in 8 mL anhydrous DMF and added dropwise at 0 °C to a suspension of NaH (613 mg (in 60% oil, washed with pentane), 15.5 mmol) in anhydrous DMF (7 mL). The reaction medium was stirred for 30 min at 0 °C then 2 h at RT. At 0 °C, 2-chloromethyl-1-methyl-1H-imidazole hydrochloride (669 mg, 4.0 mmol) was added in four portions with a 15 min interval. The solution was then stirred at RT overnight. The reaction was quenched with 80 mL water at 0 °C. An orange suspension is obtained, filtered and washed three times with water (20 mL) and dried. The orange solid obtained (1.02 g) was not further purified and used as such in the following step.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 300 K) δ (ppm): 7.05 ($\text{Ar-H}_{\text{down}}$, s, 4H), 6.93 ($\text{H}_{\text{Im},\beta}$, d, 4H, $J = 1.1$ Hz), 6.88 ($\text{H}_{\text{Im},\alpha}$, d, 4H, $J = 1.1$ Hz), 5.57 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$, d, 4H, $J = 7.0$ Hz), 4.73 ($-\text{CH}-$, t, 4H, $J = 8.5$ Hz), 4.56 ($\text{O-CH}_2\text{-Im}$, s, 8H), 4.20 ($\text{Ar-CH}_2\text{-O}$, s, 8H), 4.16 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$, d, 4H, $J = 7.0$ Hz), 3.72 ($\text{CH}_2\text{-OTIPS}$, t, 8H, $J = 6.5$ Hz), 3.61 (N-CH_3 , s, 12H), 2.22 (CH-CH_2 , m, 8H), 1.55 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OTIPS}$, m, 8H), 1.06 (TIPS, m, 84H).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3 , 300 K) δ (ppm): 154.0 ($\text{C}_{\text{Ar-O}}$), 144.4 ($\text{C}_{\text{Ar-N}}$), 137.8 ($\text{C}_{\text{Ar-CH}}$), 127.5 ($\text{CH}_{\text{Im},\beta}$), 123.6 ($\text{C}_{\text{Ar-CH}_2\text{-O}}$), 122.1 ($\text{CH}_{\text{Im},\alpha}$), 120.6 ($\text{CH}_{\text{Ar,down}}$), 99.4 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$), 64.7 ($\text{O-CH}_2\text{-Im}$), 63.0 ($\text{CH}_2\text{-OTIPS}$), 61.9 ($\text{Ar-CH}_2\text{-O}$), 36.5 (CH), 32.9 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OTIPS}$), 31.0 (N-CH_3), 26.2 (CH-CH_2), 18.1 (Si-C-CH_3), 12.1 (Si-C).

IR (cm^{-1}): 3357, 2942, 2866, 1592, 1500, 1464, 1389, 1285, 1245, 1149, 1106, 1067, 1016, 969, 882, 745, 681.

Tetraalcoholimidazolecavitand (W9). Adapted from Reinaud et al.¹⁰

The crude product **W8** (1.02 g) was dissolved in THF/ H_2O (1:1, 54 mL) under inert atmosphere. Trifluoroacetic acid (7 mL, excess) was added dropwise. The reaction medium was stirred overnight at RT. The solvent and TFA were then evaporated. Toluene (3 mL) was added and evaporated for better water elimination (three times). The obtained residue was then dissolved in methanol (10 mL) and treated with a DOWEX resin conditioned for HO^- exchange. After 1 h, the resin was filtered and washed with methanol. The filtrate was evaporated.

The yellowish solid obtained was purified over silica (eluant MeOH/DCM 1:9 to 2:8, 0.3 % NH_3) to yield a yellow oil (555 mg, 89% over two steps).

R_f (MeOH/DCM 15:85, 0.3 % NH_3) = 0.43.

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , 300 K) δ (ppm): 7.32 ($\text{H}_{\text{Ar,down}}$, s, 4H), 7.03 ($\text{H}_{\text{Im},\beta}$, s, 4H), 6.85 ($\text{H}_{\text{Im},\alpha}$, s, 4H), 5.46 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$, d, 4H, $J = 7.0$ Hz), 4.71 (CH, t, 4H, $J = 8.0$ Hz), 4.44 ($\text{O-CH}_2\text{-Im}$, s, 8H), 4.27 ($\text{Ar-CH}_2\text{-O}$, s, 8H), 4.13 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$, d, 4H, $J = 7.0$ Hz), 3.62 ($\text{CH}_2\text{-OH}$, t, 8H, $J = 6.5$ Hz), 3.51 (N-CH_3 , s, 12H), 2.33 (CH-CH_2 , m, 8H), 1.51 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$, m, 8H).

^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD , 300 K) δ (ppm): 155.7 ($\text{C}_{\text{Ar-O}}$); 145.6 ($\text{C}_{\text{Ar-N}}$); 139.4 ($\text{C}_{\text{Ar-CH}}$); 125.2 ($\text{C}_{\text{Ar-O}}$); 124.6 ($\text{C}_{\text{Im},\alpha}$); 123.4 ($\text{C}_{\text{Ar,down}}$); 121.5 ($\text{C}_{\text{Im},\beta}$); 101.4 (C_{bridge}); 64.3 ($\text{C}_{\text{Ar-CH}_2\text{-O}}$); 62.8 (OCH_2Im); 62.6 (CH_2OH); 38.3 (CHCH_2); 34.7 (NCH_3); 32.1 (CHCH_2); 27.4 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$).

IR (cm^{-1}): 3357, 2922, 1633, 1567, 1501, 1470, 1411, 1285, 1243, 1140, 1063, 1019, 987, 747.

HR MS (ESI): m/z : [cavitand-H] $^+$ calcd. 1265.5770, found 1265.5743; [cavitand-Na] $^+$ 1287.2; [cavitand-2H] $^{2+}$ 633.5.

Water-soluble ligand (WRim₄). Adapted from Reinaud et al. and Rebek et al.^{10,11}

Cavitand **W9** (121 mg, 96 μmol) was dried three times by dissolution in distilled THF (2 mL) and evaporation under vacuum at 80 $^\circ\text{C}$ for 1 hour. Under argon, the solid was dissolved in anhydrous pyridine (4.7 mL) and, at 0 $^\circ\text{C}$, mesylchloride (70 μL , 1.1 mmol) was added. The reaction medium was stirred overnight at RT, then heated at 100 $^\circ\text{C}$ for 24 h. A brown solid appeared. After cooling at RT,

diethylether (5 mL) was added. The solution was filtered and the solid washed twice with diethylether (5 mL). The crude product was dissolved in methanol (0.5 mL) and stirred for 1 hour at RT with an ion-exchange resin for chlorides (DOWEX). The resin was filtered out and washed with methanol. The filtrate was evaporated to dryness to yield a brown solid (95 mg, 60%).

^1H NMR (500 MHz, D_2O , pD = 7, 300 K) δ (ppm): 8.90 (Pyridine (*ortho*), d, 8H, J = 6.5 Hz), 8.59 (Pyridine (*para*), t, 4H, J = 8.0 Hz), 8.09 (Pyridine (*meta*), t, 8H, J = 7.5 Hz), 7.62 ($\text{H}_{\text{ar,down}}$, s, 4H), 6.99 ($\text{H}_{\text{lm},\beta}$, s, 4H), 6.92 ($\text{H}_{\text{lm},\alpha}$, s, 4H), 5.75 (O-CH₂-O, d, 4H, J = 7.5 Hz), 4.71 (CH₂-N⁺, m), 4.70 (CH, t, 4H, J = 8.0 Hz), 4.50 (O-CH₂-Im, s, 8H), 4.35 (Ar-CH₂-O, s, 8H), 4.06 (O-CH₂-O, d, 4H, J = 7.5 Hz), 3.30 (N-CH₃, s, 12H), 2.60 (CH₂-CH₂-CH₂, m, 8H), 2.11 (CH-CH₂, m, 8H).

^{13}C NMR (150 MHz, D_2O , pD = 7, 300 K) δ (ppm): 155.8 ($\text{C}_{\text{Ar-O}}$); 147.2 (pyridine); 146.3 (pyridine); 146.1 ($\text{C}_{\text{Ar-N}}$); 138.9 ($\text{C}_{\text{Ar-CH}}$); 129.8 (pyridine); 129.6 ($\text{C}_{\text{Ar-C}_{\text{Ar-O}}}$); 127.5 ($\text{C}_{\text{lm},\alpha}$); 124.2 ($\text{C}_{\text{Ar,down}}$); 124.0 ($\text{C}_{\text{lm},\beta}$); 101.4 (C_{bridge}); 64.8 (O-CH₂-C_{Ar-N}); 63.2 (CH₂N⁺, C_{Ar}-CH₂-O); 38.4 (CH); 33.4 (NCH₃); 30.9 (CH-CH₂); 28.1 (CH₂-CH₂-CH₂).

IR (cm^{-1}): 3393, 2946, 1635, 1390, 1476, 1405, 1323, 1246, 1150, 1064, 1017, 966, 774, 686.

HR MS (ESI): m/z : [cavitand]⁴⁺ calcd. 378.1818, found 378.1877.

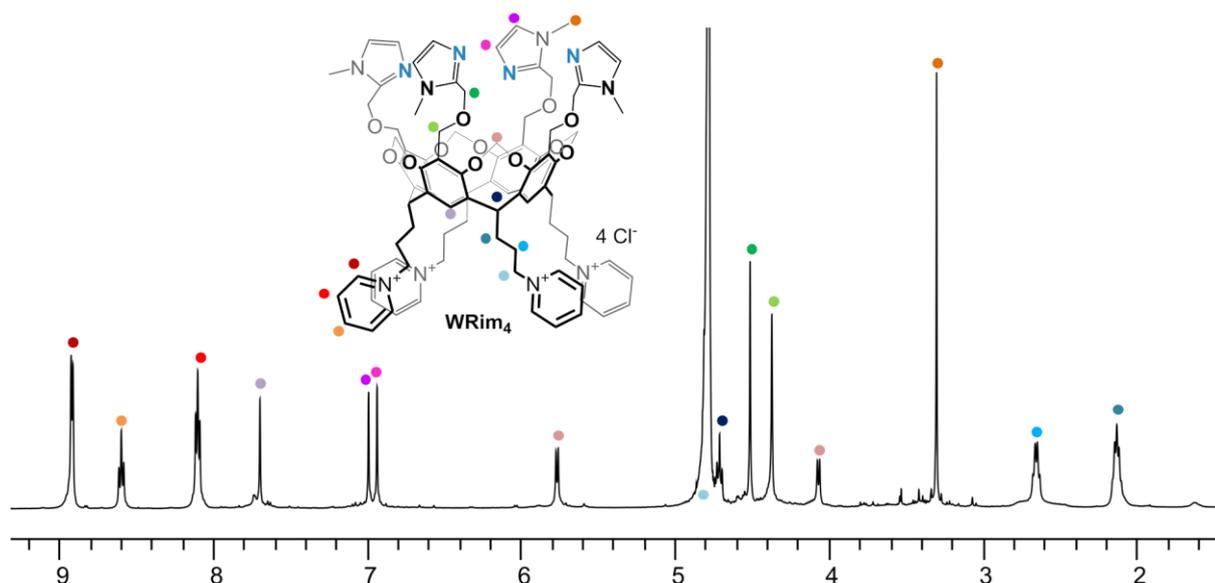


Figure 145 : RMN ^1H (500 MHz, D_2O , 300 K) of WRim₄ at pD = 7.4.

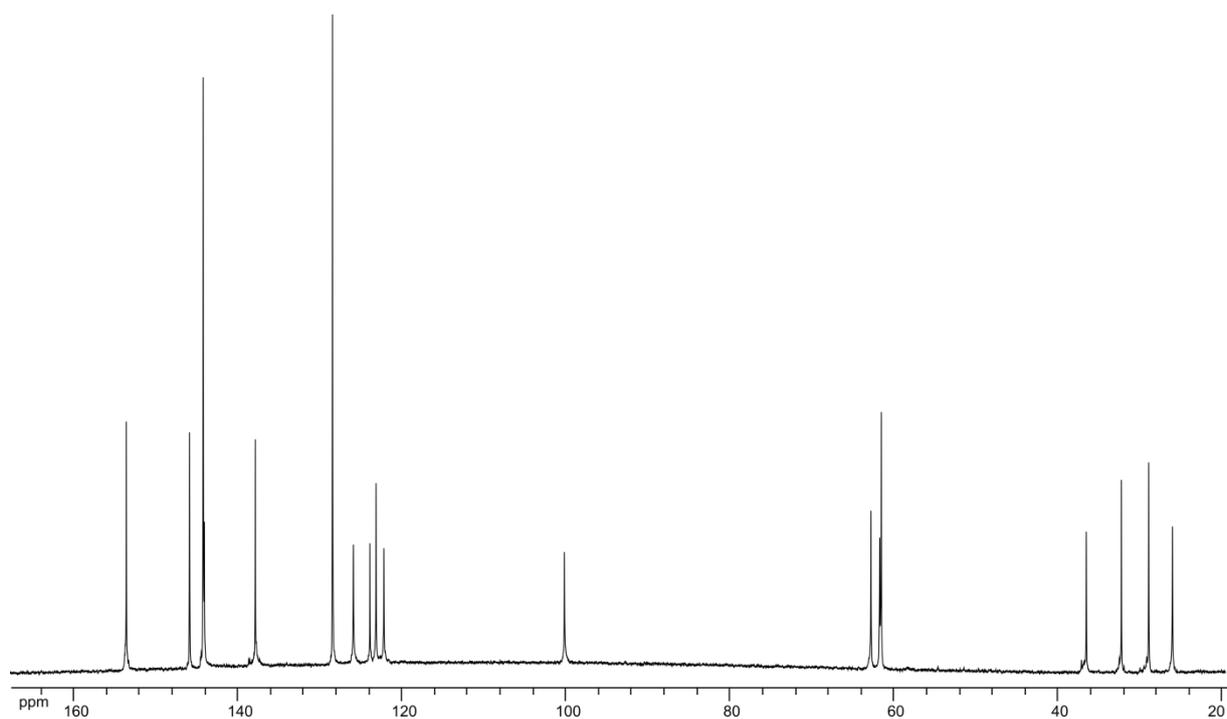


Figure 146 : RMN ^{13}C (150 MHz, D_2O , 300 K) of WRim_4 at pD = 7.4.

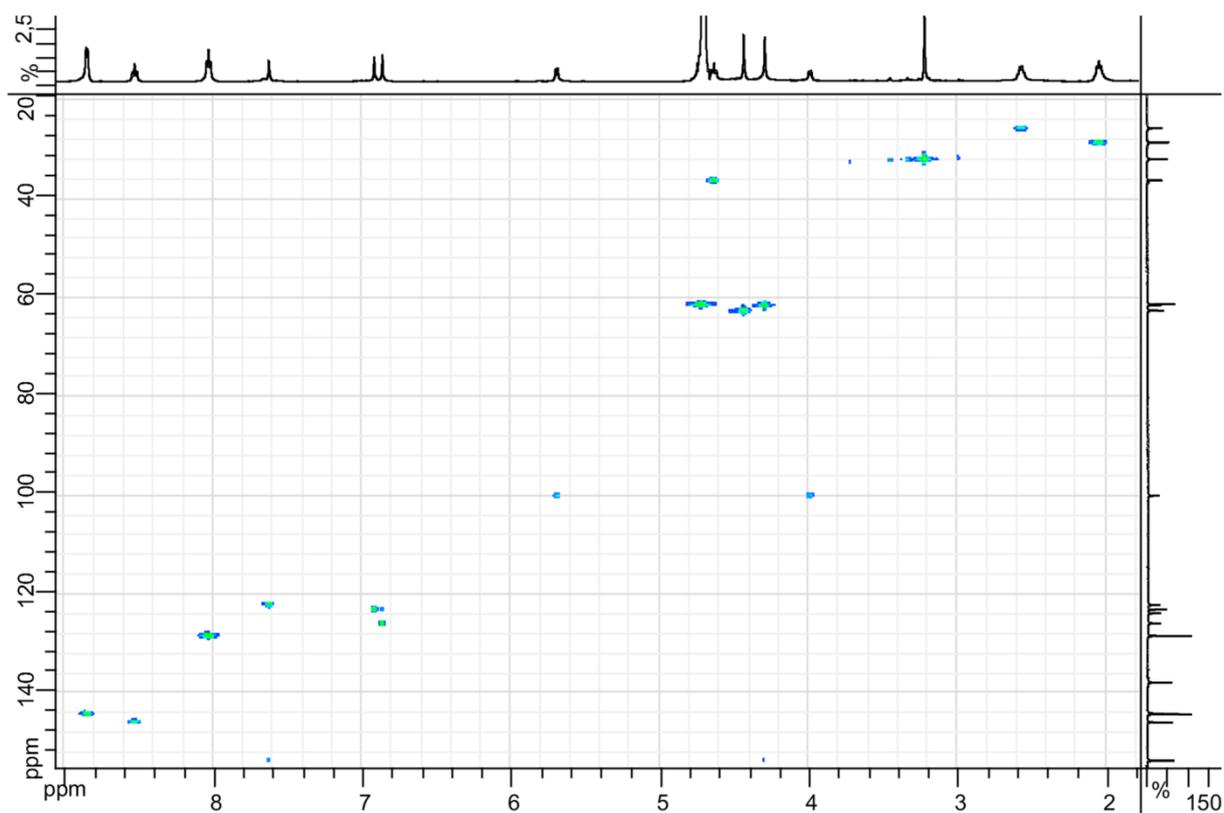


Figure 147 : RMN, HSQC (500 MHz, D_2O , 300 K) of WRim_4 at pD = 7.4.

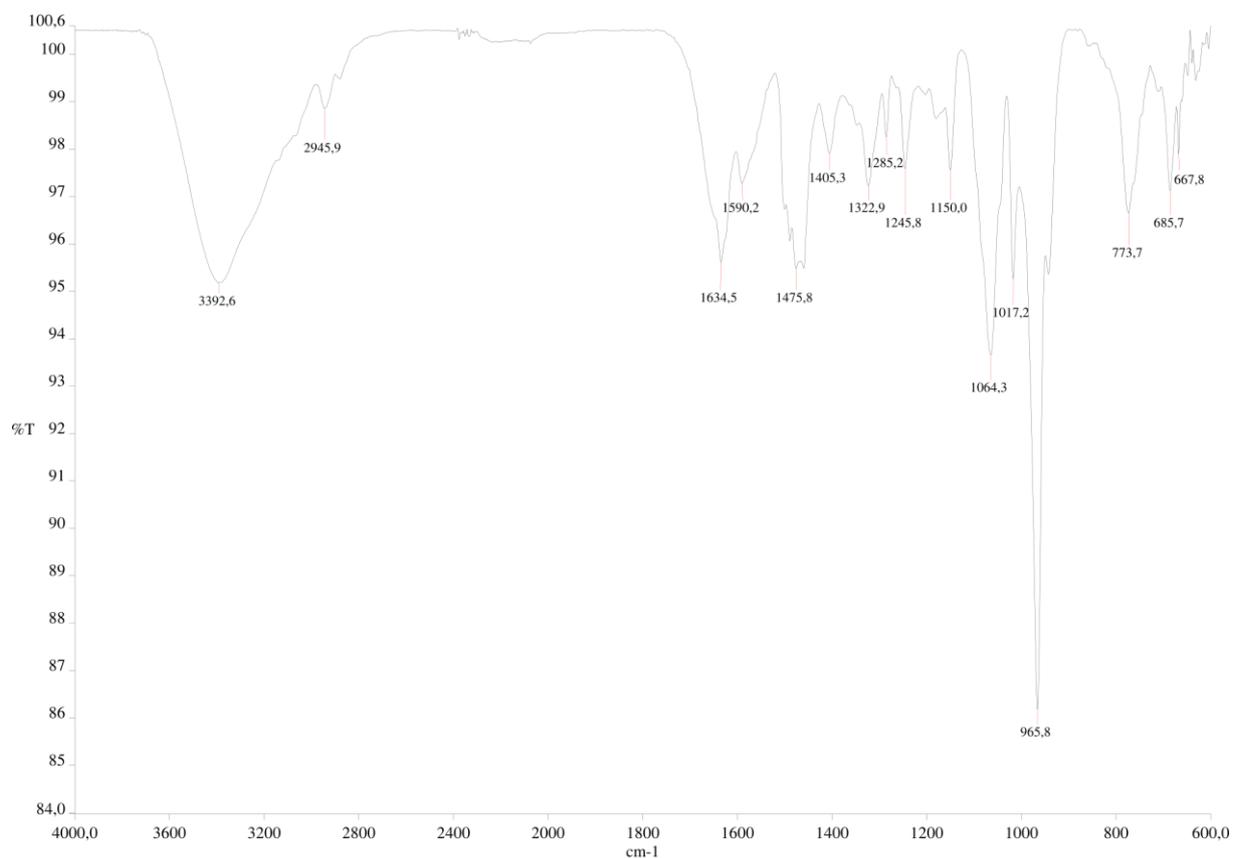


Figure 148 : IR spectrum of WRim₄ (from methanol).

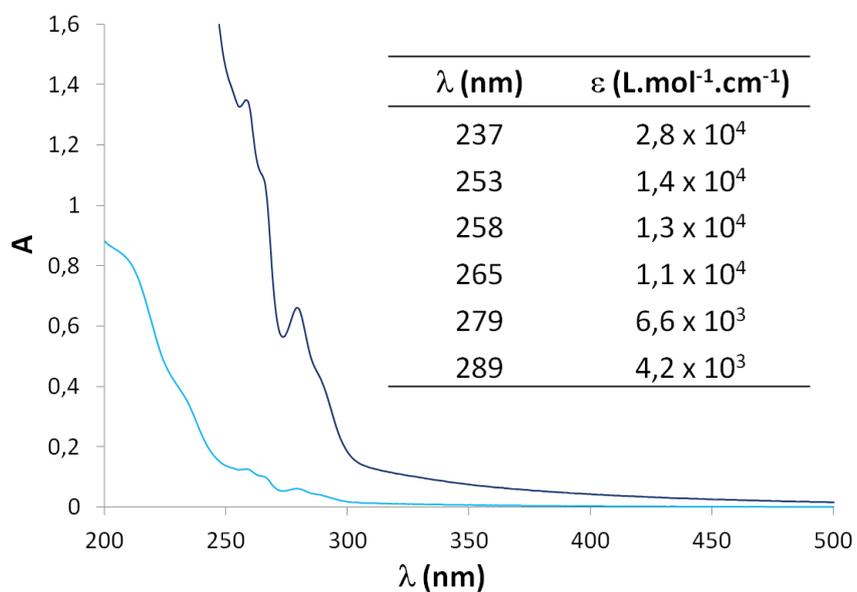


Figure 149 : UV/visible spectra of WRim₄ (10 μ M light blue, 100 μ M dark blue) at pH = 5 in H₂O.

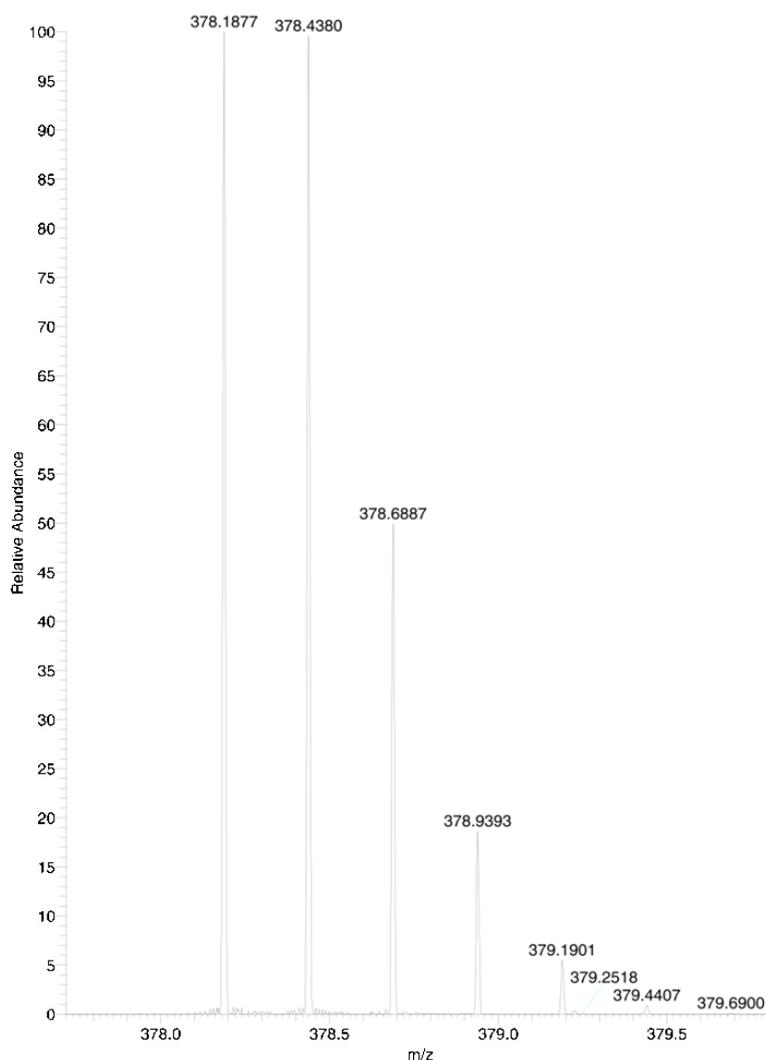


Figure 150 : Mass spectrum (HRMS esi+) of WRim₄ in water ([cavitand]⁴⁺ calcd. 378.1818, found 378.1877).

Zinc(II) complex WRim₄Zn.

The zinc complex was generated *in situ* by addition of 1 equivalent Zn(NO₃)₂·6H₂O to WRim₄ in water (H₂O or D₂O).

¹H NMR (500 MHz, D₂O, pD = 7, 300 K) δ (ppm): 8.91 (Pyridine (*ortho*), d, 8H, *J* = 6.5 Hz), 8.60 (Pyridine (*para*), t, 4H, *J* = 8.0 Hz), 8.10 (Pyridine (*meta*), t, 8H, *J* = 7.5 Hz), 7.67 (H_{ar,down}, s, 4H), 7.21 (H_{im,β}, s, 4H), 6.65 (H_{im,α}, s, 4H), 5.61 (O-CH₂-O, d, 4H, *J* = 6.7 Hz), 4.71 (CH, t, 4H, *J* = 9.0 Hz), 4.51 (O-CH₂-Im, s, 8H), 4.50 (Ar-CH₂-O, s, 8H), 4.28 (O-CH₂-O, d, 4H, *J* = 6.7 Hz), 3.77 (N-CH₃, s, 12H), 2.63 (CH₂-CH₂-CH₂, m, 8H), 2.14 (CH-CH₂, m, 8H).

¹³C NMR (150 MHz, D₂O, pD = 7, 300 K) δ (ppm): 153.6 (C_{Ar}-O); 145.8 (pyridine); 145.1 (C_{Ar}-N); 144.1 (pyridine); 137.0 (C_{Ar}-CH_{ar,down}); 128.4 (pyridine); 125.3 (C_{im,α}); 124.0 (C_{im,β}); 122.8 (C_{Ar}-C_{Ar}-O); 122.4 (CH_{Ar,down}); 100.0 (C_{bridge}); 62.5 (O-CH₂-Im); 61.7 (Ar-CH₂-O); 61.5 (CH₂N⁺); 36.3 (CH); 33.3 (NCH₃); 28.9 (CH-CH₂); 26.1 (CH-CH₂-CH₂).

IR (cm⁻¹): 3430; 2935; 1642; 1563; 1349; 1245; 1152; 1048; 1024; 994; 968; 829; 765.

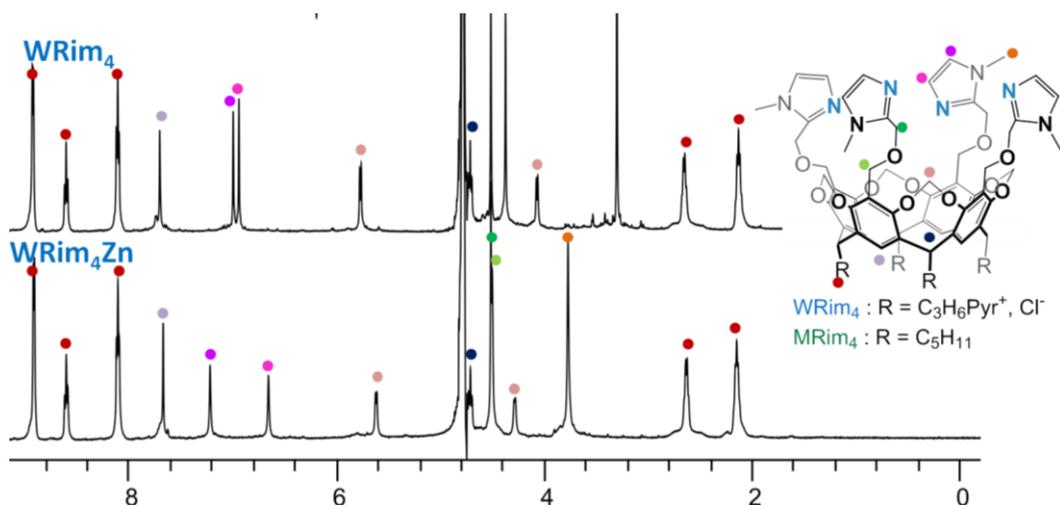


Figure 151 : Compared NMR ¹H (500 MHz, D₂O, pD = 7.4, 300 K) spectra of WRim₄ (3.5 mM) and WRim₄Zn (3.5 mM).

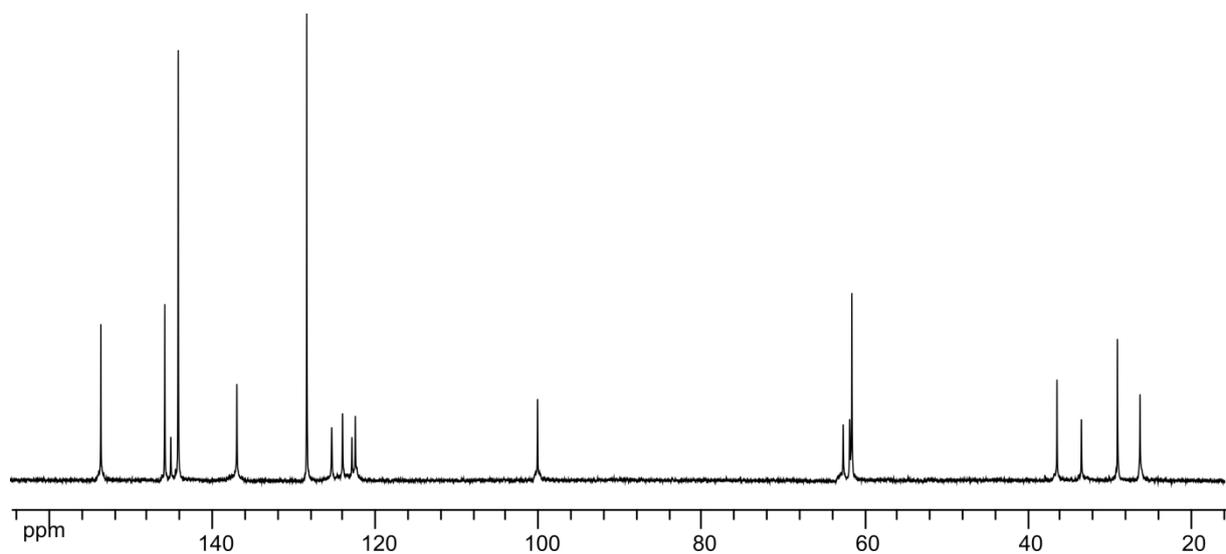


Figure 152 : ¹³C NMR (150 MHz, D₂O, pD = 7.4, 300 K) of WRim₄Zn (3.5 mM).

Phosphates

Monoalkylphosphates C1P to C4P. Adapted from Dueymes et al.¹²

Alcohol (methanol to butanol, 102 mmol) was added dropwise to a suspension of orthophosphoric acid (1.0 g, 10.2 mmol) in pyridine (4.2 mL, 51 mmol). Triethylamine (2.8 mL, 20.4 mmol) was then added slowly and the reaction medium was stirred at RT until a clear solution was obtained (around 20 min). Acetic anhydride (1.9 mL, 20.4 mmol) was added dropwise and the solution was heated at 90 °C for 2 hours then cooled at RT. Water (5 mL, excess) was added and the reaction medium was heated at 90 °C for an additional hour and cooled to RT. Water (12 mL) was added and the aqueous layer obtained was washed three times with diethylether (20 mL) and

evaporated to dryness to yield a colorless oil. The oil was dissolved in acetone/water 9:1 (20 mL) and cyclohexylamine (3.5 mL, 30.6 mmol) was added. A white solid appeared immediately. The suspension was kept in a refrigerator overnight, then filtered. The white solid obtained was heated to reflux in ethanol (50 mL) and filtered when warm to remove the by-products (polyalkylphosphates) and the filtrate was left in a refrigerator overnight. The white precipitate formed was filtered and dried under vacuum to yield a white powder (dicyclohexylammonium phosphate).

C1P. 837 mg, 26%.

^1H NMR (500 MHz, D_2O , 300 K) δ (ppm): 3.49 (POCH_3 , d, 3H, $J = 10.0$ Hz), 3.18 (CH-NH_3^+ , m, 2H), 2.00 (CH_2 *ortho*, m, 4H), 1.83 (CH_2 *ortho*, m, 4H), 1.68 (CH_2 *para*, m, 2H), 1.37 (CH_2 *meta*, m, 8H), 1.21 (CH_2 *para*, m, 2H).

IR (cm^{-1}): 2937, 2856, 2567, 2236, 1632, 1554, 1456, 1394, 1140, 1064, 980, 744.

C2P. 1.50 g, 42%

^1H NMR (500 MHz, D_2O , 300 K) δ (ppm): 3.83 (POCH_2 , *quintuplet*, 2H, $J = 6.5$ Hz), 3.17 (CH-NH_3^+ , m, 2H), 1.99 (CH_2 *ortho*, m, 4H), 1.82 (CH_2 *ortho*, m, 4H), 1.67 (CH_2 *para*, m, 2H), 1.36 (CH_2 *meta*, m, 8H), 1.22 (CH_3 , t, 3H, $J = 7.0$ Hz), 1.20 (CH_2 *para*, m, 2H).

IR (cm^{-1}): 2935, 2858, 2565, 2237, 1633, 1557, 1455, 1394, 1141, 1065, 979, 935, 767.

C3P. 1.07 g, 32%

^1H NMR (500 MHz, D_2O , 300 K) δ (ppm): 3.72 (POCH_2 , q, 2H, $J = 6.5$ Hz), 3.17 (CH-NH_3^+ , m, 2H), 2.00 (CH_2 *ortho*, m, 4H), 1.82 (CH_2 *ortho*, m, 4H), 1.67 (CH_2 *para*, m, 2H), 1.61 (CH_2CH_3 , hexuplet, 2H, $J = 7.0$ Hz), 1.36 (CH_2 *meta*, m, 8H), 1.19 (CH_2 *para*, m, 2H), 0.92 (CH_3 , t, 3H, $J = 7.5$ Hz).

IR (cm^{-1}): 2938, 2857, 2232, 1620, 1559, 1453, 1390, 1139, 1098, 1060, 1031, 979, 830, 740.

C4P. 998 mg, 26%

^1H NMR (500 MHz, D_2O , 300 K) δ (ppm): 3.77 (POCH_2 , q, 2H, $J = 6.5$ Hz), 3.18 (CH-NH_3^+ , m, 2H), 2.00 (CH_2 *ortho*, m, 4H), 1.83 (CH_2 *ortho*, m, 4H), 1.68 (CH_2 *para*, m, 2H), 1.59 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, hexuplet, 2H, $J = 7.5$ Hz), 1.37 (CH_2CH_3 et CH_2 *meta*, m, 10H), 1.20 (CH_2 *para*, m, 2H), 0.93 (CH_3 , t, 3H, $J = 7.5$ Hz).

IR (cm^{-1}): 2930, 1618, 1560, 1452, 1394, 1242, 1140, 1077, 1052, 1032, 988, 974, 881, 785, 725.

Monoalkylphosphates C5P to C8P. Adapted from Gao et al and Imokawa et al.^{13,14}

The alcohol (53 μmol) corresponding to the wanted phosphate was heated at 40 °C and P_2O_5 (2.68 g, 19 μmol) was added in three portions over 20 min. The resulting suspension was heated at 70 °C for 3 hours, then water (0.33 mL, 19 μmol) was added and the obtained solution was heated at 80 °C for 2 hours then cooled to RT. At 0 °C, the reaction medium was brought to basic pH by addition of a NaOH 5M solution (50 mL). The addition triggers a solidification of the solution and overnight stirring is required to homogenize the solution. The aqueous layer obtained was washed

twice with diethylether (30 mL) and acidified by addition of concentrated hydrochloric acid (25 mL) to pH = 1. The aqueous layer was extracted twice with diethylether (30 mL). The organic layer was dried over sodium sulfate and evaporated to dryness to yield a colorless oil (monoalkylphosphoric acid).

The disodium salt was obtained by dissolution of the acid in ethanol (50 mL) and addition of solid sodium hydroxide (730 mg, 19 μ mol). The resulting suspension was sonicated for 10 min then stirred overnight at RT. The suspension was heated to reflux, filtered warm and the filtrate was left to crystallize in a fridge overnight. The white solid formed was filtered and dried under vacuum to yield a white powder.

C5P (disodium salt). 2.87 g, 18%

^1H NMR (500 MHz, D_2O , 300 K) δ (ppm): 3.76 (POCH₂, m, 2H), 1.61 (CH₂CH₂CH₂CH₃, m, 2H), 1.35 (CH₂CH₂CH₃, m, 4H), 0.88 (CH₃, m, 3H).

IR (cm^{-1}): 2958, 2932, 2875, 2859, 1464, 1392, 1225, 1141, 1107, 1071, 996, 924, 792, 729.

C6P (acid). 2.43 g, 19%

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 300 K) δ (ppm): 5.61 (POH, bs, 2H), 4.04 (POCH₂, q, 2H, $J = 6.5$ Hz), 1.67 (CH₂(CH₂)₃CH₃, quintuplet, 2H, $J = 7.0$ Hz), 1.36 (CH₂(CH₂)₂CH₃, m, 2H), 1.29 (CH₂CH₂CH₃, m, 4H), 0.87 (CH₃, t, 3H, $J = 6.5$ Hz).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3 , 300 K) δ (ppm): 65.1, 31.0, 30.2, 24.8, 22.0, 13.4.

IR (cm^{-1}): 2960, 2931, 2860, 1468, 1152, 1020, 792, 724.

C7P (acid). 1.36 g, 19%

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 300 K) δ (ppm): 4.03 (POCH₂, m, 2H), 3.88 (POH, bs, 2H), 1.67 (CH₂(CH₂)₄CH₃, m, 2H), 1.31 ((CH₂)₄CH₃, m, 8H), 0.86 (CH₃, t, 3H, $J = 4.5$ Hz).

IR (cm^{-1}): 2957, 2928, 1468, 1195, 1018, 819, 770, 723.

C8P (acid). 122 mg, 2%

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 300 K) δ (ppm): 4.02 (POCH₂, m, 2H), 3.54 (POH, bs, 2H), 1.66 (CH₂(CH₂)₅CH₃, m, 2H), 1.29 ((CH₂)₅CH₃, m, 10H), 0.86 (CH₃, m, 3H).

IR (cm^{-1}): 2926, 2857, 1468, 1023, 744.

Dimethylphosphate. Adapted from Padovani et al.¹⁵

A solution of trimethylphosphate (509 mg, 3.7 mmol) in dry acetone (5 mL) was added dropwise to a suspension of lithium chloride (164 mg, 3.7 mmol) in dry acetone (25 mL). The reaction medium was heated to reflux for 30 min and stirred at RT overnight. The white suspension obtained was filtered, washed twice with acetone (5 mL) and dried under vacuum to yield a white solid (92 mg, 19%).

^1H NMR (250 MHz, CDCl_3 , 300 K) δ (ppm): 3.58 (POCH_3 , d, $J = 10.5$ Hz).

IR (cm^{-1}): 2946, 2851, 1449, 1222, 1194, 1102, 1042, 910, 769.

Methyl-*para*-nitrophenylphosphate. Adapted from Padovani et al.¹⁵

A solution of imidazole (267 mg, 3.8 mmol) in dry dichloromethane (5 mL) was added dropwise to a suspension of paranitrophenol (522 mg, 3.8 mmol) in dry dichloromethane (5 mL). Dimethylchlorophosphate (0.40 mL, 3.7 mmol) in dry dichloromethane (2 mL) was slowly added to the obtained yellow solution. The reaction medium was stirred at RT for 16 h and evaporated to dryness to yield an orange oil. The oil was dissolved in dry acetone (5 mL) and added dropwise to a suspension of lithium chloride (161 mg, 3.7 mmol) in dry acetone (25 mL). The resulting suspension was heated to reflux for 30 min then at RT overnight. The solution was filtered (if not limpid) and the filtrate evaporated to dryness under reduced pressure. The brown oil obtained is dissolved in diethylether (5 mL) and water (5 mL). The aqueous layer was acidified to pH = 1 with a HCl 1M solution, washed twice with diethylether (5 mL) and evaporated to dryness to yield a brown solid (1,2 g, yield not determined due to the presence of salts).

^1H NMR (500 MHz, D_2O , 300 K) δ (ppm): 8.29 (CH *meta*, d, 2H, $J = 9.0$ Hz), 7.37 (CH *ortho*, d, 2H, $J = 9.0$ Hz), 3.73 (CH_3 , d, 3H, $J = 11.0$ Hz).

II. Titrations and kinetic studies

NMR

Titration with WRim_4Zn .

Typically, WRim_4 (ca. 0.8 mg, 1 mM) was dissolved in 500 μL buffered D_2O . The buffer was HEPES 100 mM, brought to pD = 7.4 with a NaOH 1 M solution. 5 μL (1 equivalent) of a $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 0.1 M solution in D_2O were added. Aliquots (between 2 and 20 μL) of a solution of guest (0.05 M, 10 μL for 1 equivalent) in the same buffer were added progressively until saturation and ^1H NMR spectra were recorded after each addition. The final pD of the solution was measured to ensure it was constant during the whole experiment.

Titration with Rim_4Zn .

Typically, Rim_4Zn (ca. 1.6 mg, 2 mM) was dissolved in 500 μL CD_3CN by heating with a heatgun. Aliquots (between 2 and 20 μL) of a solution of guest (0.1 M, 10 μL for 1 equivalent) were added progressively until saturation was reached and ^1H NMR spectra were recorded after each addition.

Titration with MRim_4Zn .

Typically, Rim_4Zn (ca. 0.8 mg, 0.5 mM) was suspended in 1 mL buffered DPC (20 mM) solution in D_2O . The buffer was HEPES 50 mM, brought to pD = 7 with a NaOH 1 M solution. The suspension was stirred overnight at RT, and then heated to 50 $^\circ\text{C}$ for 30 min to yield a clear solution. 500 μL of this solution were introduced in an NMR tube. Aliquots (between 2 and 20 μL) of a solution of guest (25 mM, 10 μL for 1 equivalent) in the same buffer were added progressively until saturation and ^1H

NMR spectra were recorded after each addition. The final pD of the solution was measured to ensure it was constant during the whole experiment.

Competition titrations.

The initial complexes solutions were obtained as described above for WRim₄Zn, Rim₄Zn and MRim₄Zn. A solution of the first guest (5 μL for 1 equivalent) in the same solvent/buffer as the complex was added until saturation was reached, which was controlled by recording ¹H NMR spectra after each addition. Aliquots (between 2 and 20 μL) of a solution of the second guest (5 μL for 1 equivalent) in the same solvent/buffer were added progressively until saturation and ¹H NMR spectra were recorded after each addition.

pD variation studies with WRim₄.

WRim₄ (*ca.* 0.8 mg, 1 mM) was dissolved in 500 μL D₂O. 5 μL (1 equivalent) of a Zn(NO₃)₂ 0.1 M solution in D₂O were added for studies with WRim₄Zn. If needed, a solution of guest (0.05 M, 10 μL for 1 equivalent) was added until saturation. The pD of the solution was modified by addition of a NaOH 0.1 M solution and a HNO₃ 0.1 M solution from *ca.* 2 to *ca.* 13 and ¹H NMR spectra were recorded at each pD value obtained.

pD variation studies with MRim₄.

MRim₄ (0.5 mM, DPC 20 mM) or MRim₄Zn (0.5 mM, DPC 20 mM) solution was obtained as described in the synthesis section. 500 μL of this solution was introduced into an NMR tube. If needed, a solution of guest (*ca.* 0.05 M) was added until saturation. The pD of the solution was varied by addition of a NaOH 0.1 M solution and a HNO₃ 0.1 M solution from *ca.* 2 to *ca.* 13 and ¹H NMR spectra were recorded at each pD value obtained.

Kinetic studies for [Rim₄Zn(AcNH)H]²⁺ formation.

To a solution of Rim₄Zn (1.6 mg, 2 mM) in 500 μL CD₃CN/H₂O (0 to 20% added water) in an NMR tube was added 5 μL of a solution of acetamide in CD₃CN (1 equivalent). From the addition time, NMR spectra were recorded with a given time interval (30 s to 10 min) to monitor the inclusion of acetamide. The formation of the acetamido complex was quantified by integration of the peak corresponding to the included methyl of acetamide inside the cavity (at -2.43 ppm). The plots of the concentration of [Rim₄Zn(AcNH)H]²⁺ against time obtained at different water percentages were fitted with a pseudo-second order model (see modelisation section).

Kinetic studies of the catalytic hydration of acetonitrile to acetamide by Rim₄Zn.

Rim₄Zn (2.4 mg, 3 mM) was dissolved in 490 μL (CH₃CN/CD₃CN 8:2)/H₂O (with 5, 10 or 35% H₂O). 10 μL of a solution of DMF in the same solvent (*ca.* 2 equivalents) were added for an internal reference for integrations. The NMR tube obtained was immediately introduced into a 500 MHz NMR spectrometer set at 343 K (70 °C) and ¹H spectra were recorded every 30 s for 50 min. The tube was then heated to 70 °C for 8 additional days and ¹H spectra were recorded twice a day to follow acetamide formation. Acetamide formation was quantified by integration compared to DMF (singlet at 7.96 ppm) of 1) the included methyl peak at -2.43 ppm for the burst phase and 2) the free NH₂

peaks in the 5.7 to 7.7 ppm region. The obtained [Acetamide] against time curves were fitted with a previously reported two-phase kinetics model with inhibition by the bound product.¹⁶

ITC

General procedure with NanoITC (chapter III).

1 mL of host solution was introduced into the cell of the calorimeter. The titrant solution was added *via* a 250 μ L syringe in 24 injections of 10 μ L with a 400 s interval. A blank was recorded by replacing the solution in the cell by 1 mL solvent. The obtained data was processed with Nanoanalyze software.

Binding constant of Zn^{II} to WRim₄. A HEPES 100 mM buffer in degassed water at pH = 6.92 was used as solvent. The solution in the cell was WRim₄ (0.53 mg, 0.25 mM). This was titrated with a Zn(NO₃)₂ solution (5 mM).

Binding constant of Cu^{II} to WRim₄. A MES 100 mM buffer in degassed water at pH = 5.57 was used as solvent. The solution in the cell was WRim₄ (1.0 mg, 0.6 mM). This was titrated with a CuCl₂ solution (12 mM).

Binding constant of Zn^{II} to MRim₄. Rim₄ (1.20 mg, 0.91 μ mol) was suspended in 1.78 mL aqueous solution of DPC (20 mL) and HEPES (50 mM) at pH = 4.0. The resulting solution was stirred overnight at RT. The pH was then adjusted to 7.04 by addition of NaOH 1 M. 1 mL of the resulting solution was introduced into the cell. The solution in the syringe was Zn(ClO₄)₂ 5 mM in a HEPES 50 mM buffer (pH = 6.99) with DPC 20 mM.

Binding constant of acetylacetone to MRim₄Zn. A HEPES 50 mM buffer in degassed water at pH = 7.00 was used as solvent. The solution in the cell was MRim₄Zn (0.5 mM, DPC 20 mM). This was titrated with a 5 mM acetylacetone solution.

General procedure with Microcal ITC200 (chapter IV).

200 μ L of host solution (1 mM [WRim₄Zn]Cl₄(NO₃)₂, HEPES 100 mM, pH = 7) were introduced into the cell of the calorimeter. The titrant solution (15 or 25 mM monoalkylphosphate, HEPES 100 mM, pH = 7) was added *via* a 43 μ L syringe in 20 injections of 1.8 μ L with a 200 s interval. A blank was recorded by replacing the solution in the cell by 200 μ L buffer. The obtained data was processed with Origin software.

UV/visible

H₂O₂ detection. Adapted from Karlin *et al.*¹⁷

The method used was an indirect detection: hydrogen peroxide oxidized iodide to iodine and iodine formation was followed at 362 nm by UV/visible spectroscopy. The initial iodide solution was a saturated solution of sodium iodide in acetonitrile. A 3 mM H₂O₂ solution in acetonitrile was used for calibration before and after the experiment. A cuvette was initially filled with 2.5 mL of the saturated NaI solution, and a blank was recorded. The value of the initial absorbance at 362 nm was subtracted to all following measurements. 10 μ L of sample were added to the cuvette and the absorbance at

362 nm was measured again. 10 μL of a 3 mM H_2O_2 in CH_3CN were then added and the absorbance at 362 nm measured to control the calibration.

pH variation with WRim_4Cu .

A 1 mL cuvette was filled with a 3 mM WRim_4 solution (800 μL). 8 μL of a 30 mM copper sulfate (1 equivalent) were added. The pH of the solution was varied by addition of NaOH and HNO_3 0.3 M solutions and the absorbance was recorded between 200 and 800 nm for each pH value obtained.

Titrations of WRim_4Cu with monoalkylphosphates.

For each titration, a blank was realized in the same conditions except that WRim_4 was absent. All titrations were conducted using a MOPS 100 mM (pH = 7) buffer as solvent. The cuvette was initially filled with a 3 mM solution of WRim_4 and 1 equivalent CuSO_4 was added. Aliquots of a 24 mM solution of phosphate (C1P, C2P or C3P) were then added (from 0.2 to 20 equivalents) and the absorbance between 300 and 850 nm was recorded after each addition.

EPR

400 μL of a 3 mM solution of WRim_4Cu in water was obtained by addition of 1 equivalent a 9 mM CuSO_4 solution to WRim_4 . 100 μL of this solution were introduced in an EPR tube, frozen in liquid nitrogen and the EPR signal was recorded at 110 K. The tube was warmed up to RT, mixed with the remaining 300 μL of solution. The pH was varied by addition of NaOH 0.3 M or HNO_3 0.3 M and the EPR spectrum of 100 μL of the obtained solution was recorded for each pH value.

The same procedure was followed with a solution containing only CuSO_4 (3 mM) and a solution containing WRim_4Cu (3 mM) and acetylacetone (4.5 mM).

III. Modelisation

NMR titrations (1:1 stoichiometry, slow exchange).

Based on the spectra obtained by NMR titrations (cf NMR section), and since all species were in slow exchange relative to the NMR timescale, the concentrations of the various species present during the titrations were determined by integration. For a 1:1 complexation event, the species present are the host, noted H , the guest, noted G and the complex, noted HG . The constant associated to the binding event is noted K .

The equation used to fit the data was derived from the following equations:

$$(1)[G]_{tot} = [G] + [HG]$$

$$(2)[H]_{tot} = [H] + [HG]$$

$$(3)K = \frac{[HG]}{[H][G]}$$

The free guest and free host concentrations could thus be expressed by:

$$(1')[G] = [G]_{tot} - [HG]$$

$$(2') [H] = [H]_{tot} - [HG]$$

$$(3') K = \frac{[HG]}{([H]_{tot} - [HG])([G]_{tot} - [HG])}$$

After derivation of (3'), this second-degree equation was obtained:

$$[HG]^2 - \left([H]_{tot} + [G]_{tot} + \frac{1}{K}\right)[HG] + [H]_{tot}[G]_{tot} = 0$$

If we introduce $b = -\left([H]_{tot} + [G]_{tot} + \frac{1}{K}\right)$ and $c = [H]_{tot}[G]_{tot}$, the analytical expression for the complex concentration becomes:

$$[HG] = \frac{-b - \sqrt{b^2 - 4c}}{2}$$

This expression was used to fit the experimental data with Excel software, by minimization of the squared difference between experimental and theoretical $[HG]$ with optimization of two parameters: K and $[H]_{tot}$.

NMR titrations (1:2 stoichiometry, slow exchange).

Based on the spectra obtained by NMR titrations (cf NMR section), and since all species were in slow exchange relative to the NMR timescale, the concentrations of the various species present during the titrations were determined by integration. For a 1:2 complexation event, the species present are:

- the host, noted H
- the guest, noted G
- the 1:1 complex, noted HG
- and the 1:2 complex, noted HG_2

The constants associated to the binding events are noted K_1 and K_2 for the first and second binding respectively.

Both constants were obtained by linear fits of the following plots: $\frac{[HG]}{[H]} = f([G])$ and $\frac{[HG_2]}{[HG]} = f([G])$ (for K_1 and K_2 respectively).

NMR titrations (1:1 stoichiometry, fast exchange).

Based on the spectra obtained by NMR titrations (cf NMR section), the chemical shift of protons belonging to the host or the guest were noted for several host and guest concentrations. A plot of the chemical shifts observed as function of the number of equivalent of guest added was drawn and fitted using an online free software, www.supramolecular.org.

NMR titrations by competition.

The following equilibrium was considered: $HG_1 + G_2 = HG_2 + G_1$, with H being the host, G_1 the first guest and G_2 the second guest. The binding constants of H to G_1 and G_2 are noted K_1 and K_2 respectively, and can be expressed as such:

$$K_1 = \frac{[HG_1]}{[H][G_1]} \text{ and } K_2 = \frac{[HG_2]}{[H][G_2]}$$

The plot $\frac{[HG_1]}{[G_1]} = f\left(\frac{[HG_2]}{[G_2]}\right)$ is linear, with a slope equal to $\frac{K_1}{K_2}$. If one of the constants is known, the second can thus be easily calculated.

pK_a determination.

Based on NMR spectra obtained at different pD (cf NMR section), the chemical shifts of several protons affected by the medium acidity (typically imidazole protons of the ligand) were noted at different pD and normalized to yield values ranging from 0 to 1. These values, noted x_{acid} or x_{base} represent the fraction of acid or base in solution at a given pD. Henderson-Hasselbach equation was used to determine the associated pK_a:

$$\begin{aligned} pH &= pK_a + \log\left(\frac{[base]}{[acid]}\right) \\ \frac{[base]}{[acid]} &= 10^{pH-pK_a} \\ [base] &= [acid] * 10^{pH-pK_a} \\ x_{acid} &= \frac{[acid]}{[acid] + [base]} = \frac{1}{1 + 10^{pH-pK_a}} = \frac{1}{1 + K_a/[H_3O^+]} = \frac{[H_3O^+]}{[H_3O^+] + K_a} \end{aligned}$$

This expression was used to fit the experimental data with Excel software, by minimization of the squared difference between experimental and theoretical x_{acid} values with optimization of K_a as only variable parameter.

Acetamido complex [Rim₄Zn(AcNH)]⁺ formation.

The kinetics data obtained for [Rim₄Zn(AcNH)]⁺ formation from Rim₄Zn and AcNH₂ were fitted with a classical equation corresponding to a global order of two for Rim₄Zn and AcNH₂:

$$v = -\frac{d[AcNH_2]}{dt} = k[H_2O]^\alpha[Rim_4Zn][AcNH_2],$$

with k the reaction rate constant and α the partial order relative to H₂O.

In the experimental conditions used, water is a co-solvent. Its concentration variation during the inclusion is thus neglected, and the expression of the reaction rate becomes:

$$v = k_{app}[Rim_4Zn][AcNH_2], \text{ with } k_{app} = k[H_2O]^\alpha.$$

The same initial concentration of Rim₄Zn and AcNH₂ is used, which allows further simplification:

$$v = k_{app}[AcNH_2]^2 = -\frac{d[AcNH_2]}{dt}.$$

This equation can be derived to obtain the expression of acetamide concentration as a function of time:

$$\int_{[AcNH_2]_0}^{[AcNH_2](t)} -\frac{d[AcNH_2]}{[AcNH_2]^2} = \int_0^t k_{app} dt$$

$$\frac{1}{[AcNH_2](t)} - \frac{1}{[AcNH_2]_0} = k_{app} * t$$

$$\frac{1}{[AcNH_2](t)} = k_{app} * t + \frac{1}{[AcNH_2]_0}$$

Thus a linear regression of the plot of $\frac{1}{[AcNH_2](t)}$ versus t allows determining k_{app} for each water content used.

From the obtained k_{app} values, the partial order of water α and the reaction rate constant k can be deduced from a linear plot:

$$k_{app} = k[H_2O]^\alpha \text{ gives } \log(k_{app}) = \log(k) + \alpha * \log([H_2O]).$$

Molecular structures.

The molecular representations presented (when designed as such) were obtained by molecular optimization with *HyperChem Professional Release 7* software. The parameters considered were solvent free and Polak-Ribiere method was used for geometry optimization.

IV. Bibliography

- (1) Reese, C. B.; Pei-Zhuo, Z. Phosphotriester Approach to the Synthesis of Oligonucleotides: A Reappraisal. *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1993**, No. 19, 2291–2301.
- (2) Višnjevac, A.; Gout, J.; Ingert, N.; Bistri, O.; Reinaud, O. First ZnII Bowl-Complexes Modeling the Tris(Histidine) Metallo-Site of Enzymes. *Org. Lett.* **2010**, *12* (9), 2044–2047.
- (3) Tunstad, L. M.; Tucker, J. A.; Dalcanale, E.; Weiser, J.; Bryant, J. A.; Sherman, J. C.; Helgeson, R. C.; Knobler, C. B.; Cram, D. J. Host-Guest Complexation. 48. Octol Building Blocks for Cavitands and Carcerands. *J. Org. Chem.* **1989**, *54* (6), 1305–1312.
- (4) Gibb, B. C.; Chapman, R. G.; Sherman, J. C. Synthesis of Hydroxyl-Footed Cavitands. *J. Org. Chem.* **1996**, *61* (4), 1505–1509.
- (5) Moll, H. E.; Sémeril, D.; Matt, D.; Youinou, M.-T.; Toupet, L. Synthesis of a Resorcinarene-Based Tetraphosphine-Cavitand and Its Use in Heck Reactions. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7* (3), 495–501.
- (6) Mori, M.; Tonogaki, K.; Kinoshita, A. Synthesis of 1,3-Dienes from Alkynes and Ethylene: Acetic Acid 2-Methylene-3-Phenethylbut-3-Enyl Ester. *Org. Synth.* **2005**, *81*, 1–13.
- (7) Parrot, A.; Collin, S.; Bruylants, G.; Reinaud, O. The 3rd Degree of Biomimetism: Associating the Cavity Effect, ZnII Coordination and Internal Base Assistance for Guest Binding and Activation. *Chem. Sci.* **2018**, *9* (24), 5479–5487.
- (8) Brunetti, E.; Inthasot, A.; Keymeulen, F.; Reinaud, O.; Jabin, I.; Bartik, K. Primary Amine Recognition in Water by a Calix[6]Aza-Cryptand Incorporated in Dodecylphosphocholine Micelles. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13* (10), 2931–2938.
- (9) Liu, X.; Sun, J.; Warmuth, R. Water-Soluble Octahedral Polyammonium Nanocapsules: Synthesis and Encapsulation Studies. *Tetrahedron* **2009**, *65* (35), 7303–7310.
- (10) Rat, S.; Gout, J.; Bistri, O.; Reinaud, O. The First Water-Soluble Bowl Complex: Molecular Recognition of Acetate by the Biomimetic Tris(Imidazole) Zn(II) System at PH 7.4. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13* (11), 3194–3197.
- (11) Zhang, K.-D.; Ajami, D.; Rebek, J. Hydrogen-Bonded Capsules in Water. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135* (48), 18064–18066.
- (12) Dueymes, C.; Pirat, C.; Pascal, R. Facile Synthesis of Simple Mono-Alkyl Phosphates from Phosphoric Acid and Alcohols. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49* (36), 5300–5301.
- (13) Gao, X.; Liu, S.; Lu, H.; Gao, F.; Ma, H. Corrosion Inhibition of Iron in Acidic Solutions by Monoalkyl Phosphate Esters with Different Chain Lengths. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2015**, *54* (7), 1941–1952.
- (14) Imokawa, G.; Tsutsumi, H.; Kurosaki, T. Surface Activity and Cutaneous Effects of Monoalkyl Phosphate Surfactants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1978**, *55* (11), 839–843.
- (15) Padovani, M.; Williams, N. H.; Wyman, P. Mononuclear Co(III)-Complex Promoted Phosphate Diester Hydrolysis: Dependence of Reactivity on the Leaving Group. *J. Phys. Org. Chem.* **2004**, *17* (67), 472–477.
- (16) Frieden, C. Kinetic Aspects of Regulation of Metabolic Processes. *J. Biol. Chem.* **1970**, *245* (21), 5788–5799.
- (17) Lee, J. Y.; Peterson, R. L.; Ohkubo, K.; Garcia-Bosch, I.; Himes, R. A.; Woertink, J.; Moore, C. D.; Solomon, E. I.; Fukuzumi, S.; Karlin, K. D. Mechanistic Insights into the Oxidation of Substituted Phenols via Hydrogen Atom Abstraction by a Cupric-Superoxo Complex. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136* (28), 9925–9937.

ANNEXES

Dans cette section sont répertoriés les spectres RMN entiers correspondant aux extraits présentés dans les figures ainsi que les figures associées aux dosages ITC qui sont mentionnés mais pas montrés au cours de ce manuscrit.

Table des figures

Figure 1 : Spectres entiers de la Figure 33	189
Figure 2 : Spectre COSY de la Figure 36	190
Figure 3 : Spectre COSY des Figures 42 et 43	190
Figure 4 : Spectre NOESY des Figures 42 et 43	191
Figure 5 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 265 K, 500 MHz) entiers de la Figure 45.	191
Figure 6 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 48	192
Figure 7 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 500 MHz) entiers de la Figure 49	192
Figure 8 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 250 MHz) entiers de la Figure 53 (partie gauche).....	193
Figure 9 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 53 (partie droite).....	193
Figure 10 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 250 et 500 MHz) entiers de la Figure 54	194
Figure 11 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 250 MHz) entiers de la Figure 58 (partie gauche).....	194
Figure 12 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 250 MHz) entiers de la Figure 58 (partie droite).....	195
Figure 13 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 59 (partie gauche).....	195
Figure 14 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 59 (partie droite).....	196
Figure 15 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 250 MHz) entiers de la Figure 60 (partie gauche).....	196
Figure 16 : Spectres RMN ^1H (CDCl_3 , 300 K, 250 MHz) entiers de la Figure 60 (partie droite)	197
Figure 17 : Spectres RMN ^1H (CDCl_3 , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 62a).....	197
Figure 18 : Spectres RMN ^1H (CDCl_3 , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 62b).....	198
Figure 19 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 79 (partie gauche)	198
Figure 20 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 79 (partie droite).....	199
Figure 21 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 81 (partie gauche)	199
Figure 22 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 81 (partie droite).....	200
Figure 23 : Spectres RMN ^1H (D_2O , pD = 7,4, 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 89	200
Figure 24 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 91 (partie gauche).....	201
Figure 25 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 91 (partie droite).....	201
Figure 26 : Spectres RMN ^1H (D_2O , pD = 7,4, 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 92	202
Figure 27 : Spectres RMN ^1H (D_2O , pD = 7,4, 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 93 (partie gauche).....	202
Figure 28 : Spectres RMN ^1H (D_2O , pD = 7,4, 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 93 (partie droite).....	203
Figure 29 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 94 (partie gauche)	203
Figure 30 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 94 (partie droite).....	204
Figure 31 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 95 (partie gauche).....	204
Figure 32 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 95 (partie droite).....	205
Figure 33 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 99 (partie gauche).....	205
Figure 34 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 99 (partie droite).....	206
Figure 35 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 100 (partie gauche).....	206
Figure 36 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 100 (partie droite).....	207

Figure 37 : Spectres entiers de la Figure 124a).....	207
Figure 38 : Spectres RMN ¹ H (D ₂ O, 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 124b)	208
Figure 39 : Spectre NOESY (D ₂ O, 300 K, 500 MHz) de la Figure 125	208
Figure 40 : Spectres RMN ¹ H (D ₂ O, 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 126	209
Figure 41 : Spectres entiers de la Figure 128a)	209
Figure 42 : Spectres RMN ¹ H (D ₂ O, 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 128b)	210
Figure 43 : Spectre NOESY (D ₂ O, 300 K, 500 MHz) entier de la Figure 130.	210
Figure 44 : Spectre COSY (D ₂ O, 300 K, 500 MHz) entier des Figures 131 et 132	211
Figure 45 : Spectres RMN ¹ H (D ₂ O, 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 138	211
Figure 46 : Dosage ITC présenté sur la Figure 90.....	212
Figure 47 : Dosage ITC présenté sur la Figure 90.....	212
Figure 48 : Dosage ITC présenté sur la Figure 116.....	213
Figure 49 : Dosage ITC présenté sur la Figure 116.....	213
Figure 50 : Dosage ITC présenté sur la Figure 116.....	214

I. Spectres RMN entiers – chapitre 2

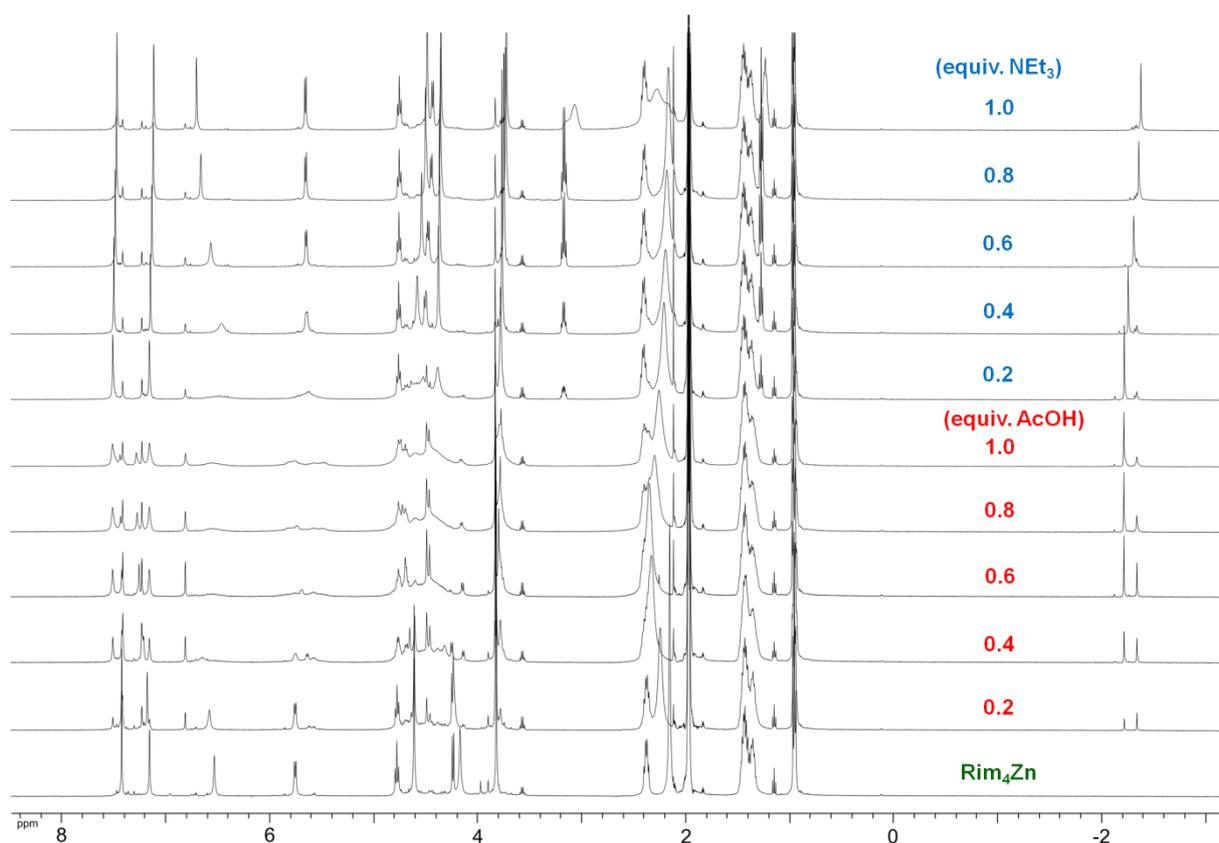


Figure 153 : Spectres entiers de la Figure 33. Reconnaissance de l'acétate par Rim₄Zn par ajout d'acide acétique (jusqu'à 1 equiv.) puis de triéthylamine (jusqu'à 1 equiv.), RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz).

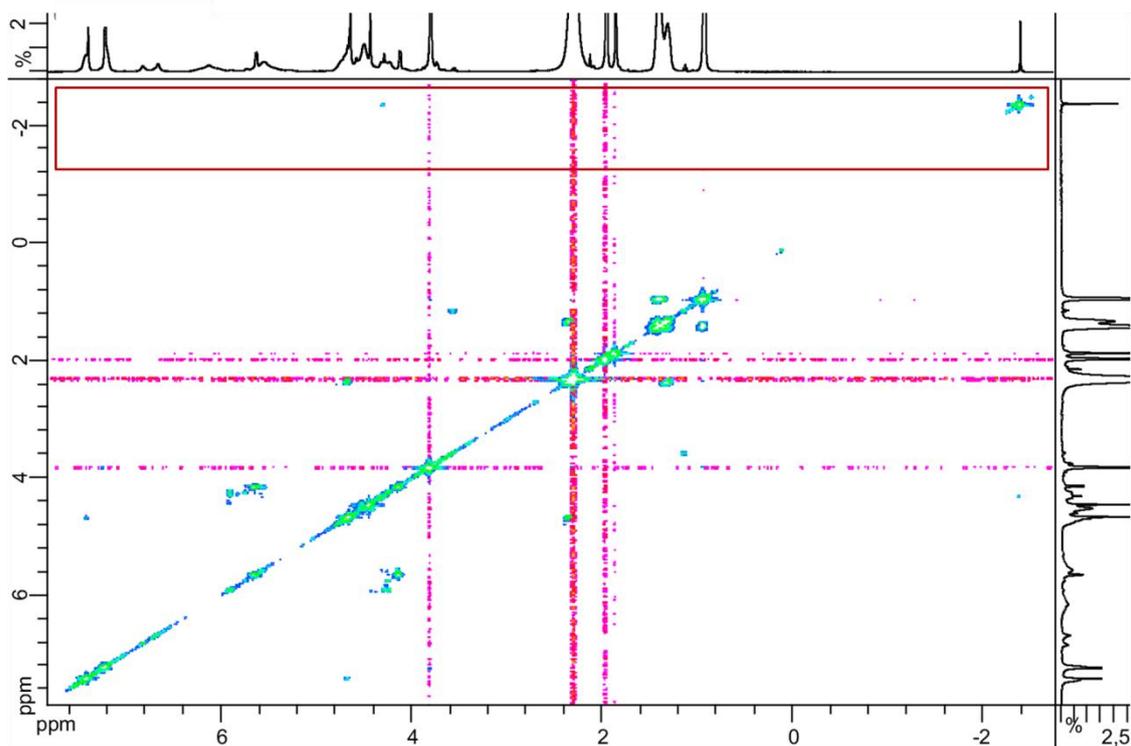


Figure 154 : Spectre COSY (CD_3CN , 300 K, 500 MHz) de Rim_4Zn (4 mM) en présence de 3,3 équivalents d'acétamide, Figure 36 (la figure montre la partie entourée en rouge).

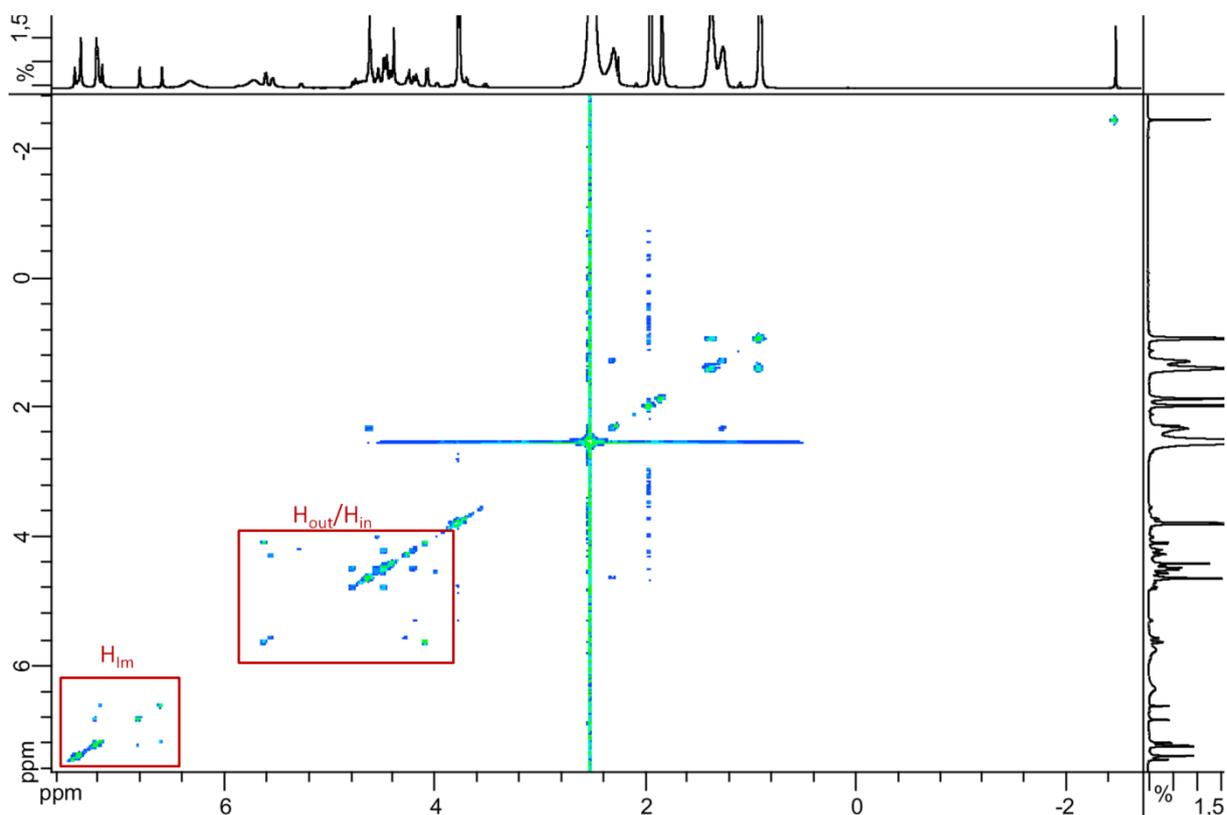


Figure 155 : Spectre COSY (CD_3CN , 265 K, 500 MHz) de Rim_4Zn (4 mM) en présence de 3,3 équivalents d'acétamide, Figure 42 et 43 (les figures montrent la partie entourée en rouge).

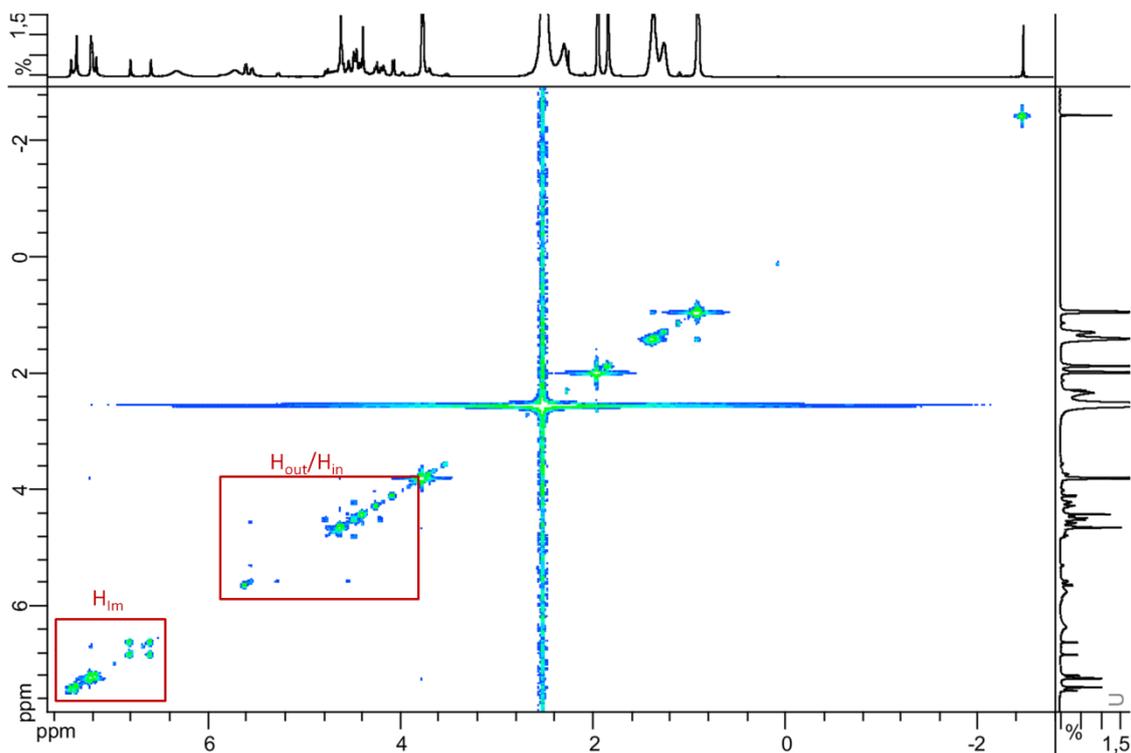


Figure 156 : Spectre NOESY (CD_3CN , 265 K, 500 MHz) de Rim_4Zn (4 mM) en présence de 3,3 équivalents d'acétamide, Figure 42 et 43 (les figures montrent la partie entourée en rouge).

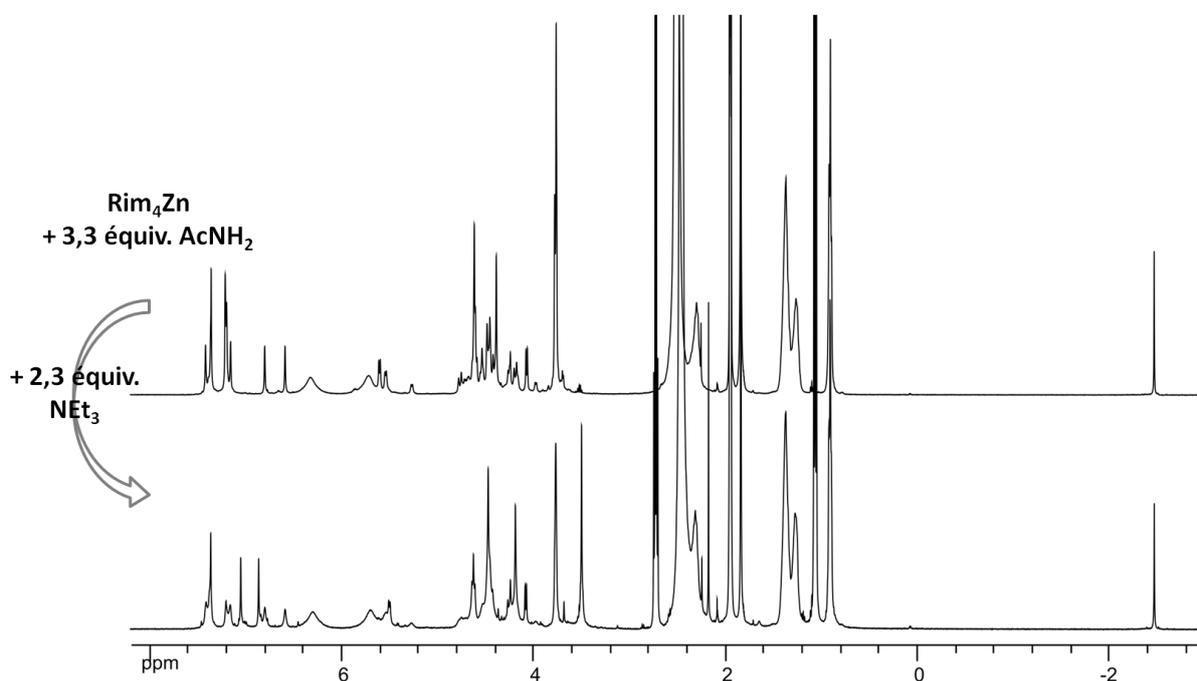


Figure 157 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 265 K, 500 MHz) entiers de la Figure 45. Spectres comparés de Rim_4Zn (4 mM) avec 3,3 équivalents d'acétamide avant et après addition de 2,3 équivalents de triéthylamine.

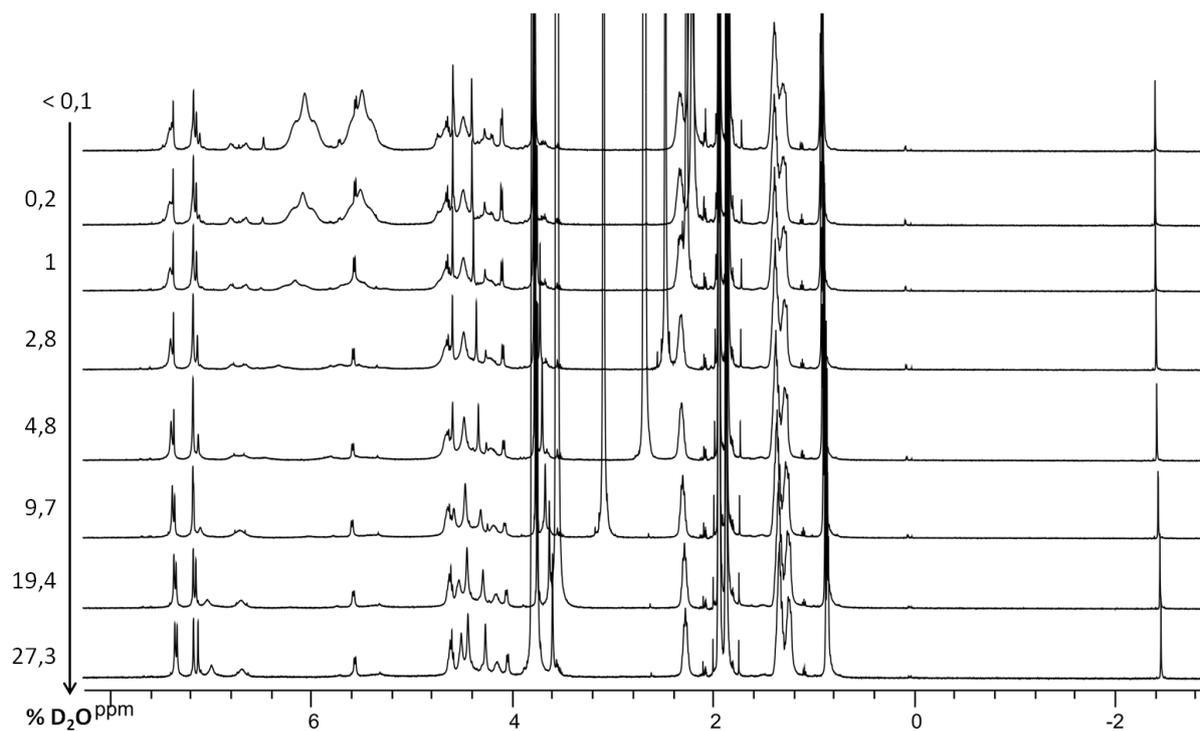


Figure 158 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 48. Ajout progressif d'eau (D_2O) à une solution de Rim_4Zn (2 mM) et AcNH_2 (20 équivalents) dans CD_3CN .

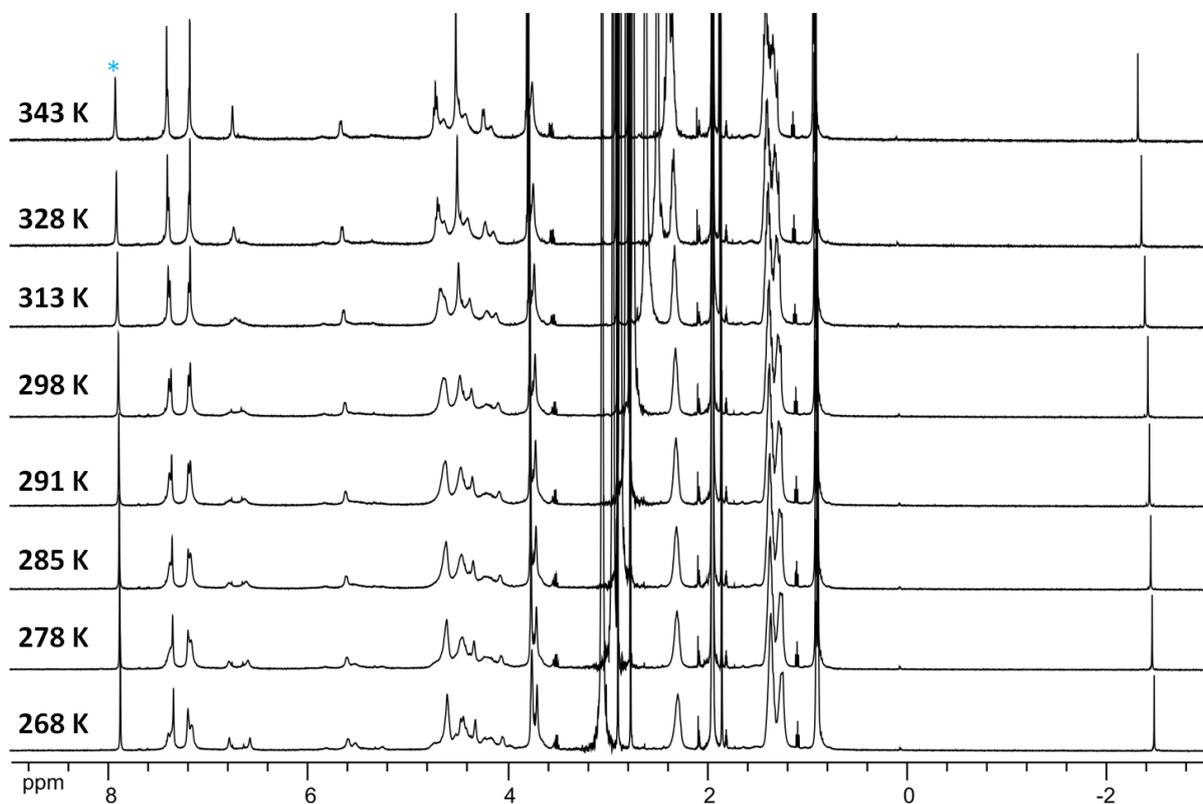


Figure 159 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 500 MHz) entiers de la Figure 49. Etude par variation de température de Rim_4Zn (2 mM) avec 1,3 equiv. AcNH_2 dans CD_3CN et 5% D_2O (l'étoile bleue indique un signal de DMF présent en tant que référence d'intégration).

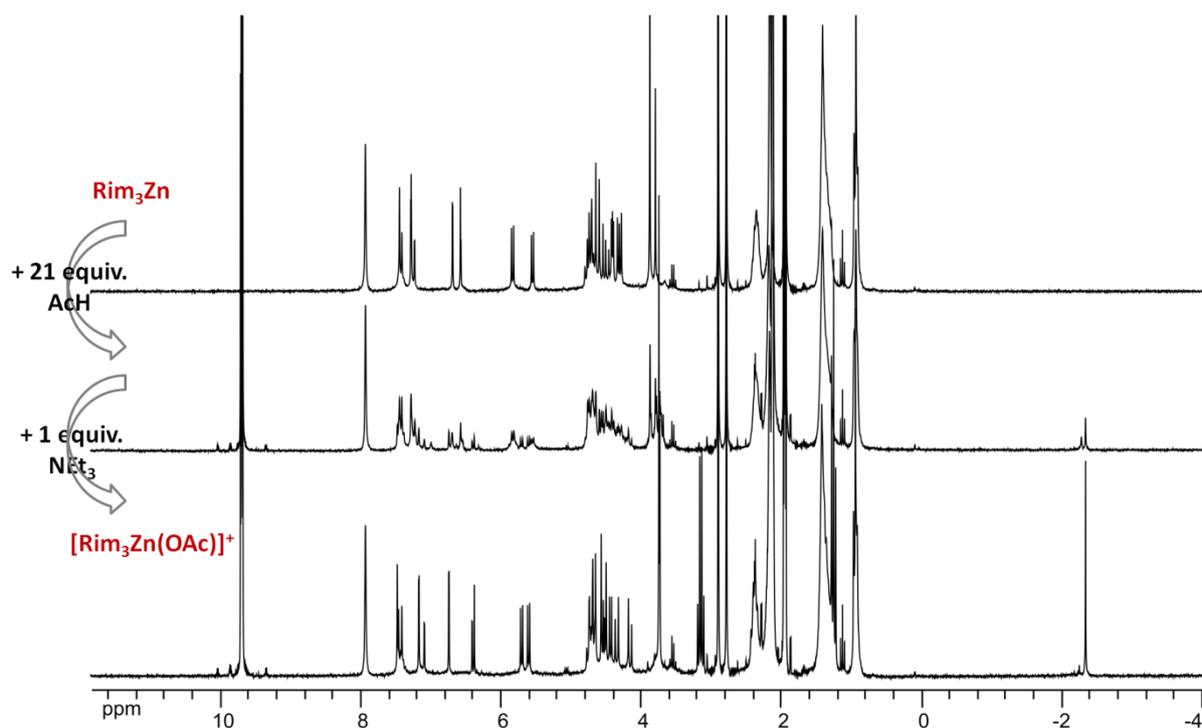


Figure 160 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 250 MHz) entiers de la Figure 53 (partie gauche). Addition d'acétaldéhyde (AcH) puis de triéthylamine à Rim_3Zn (3,4 mM) avec 4 equiv. DMF (référence intégrations).

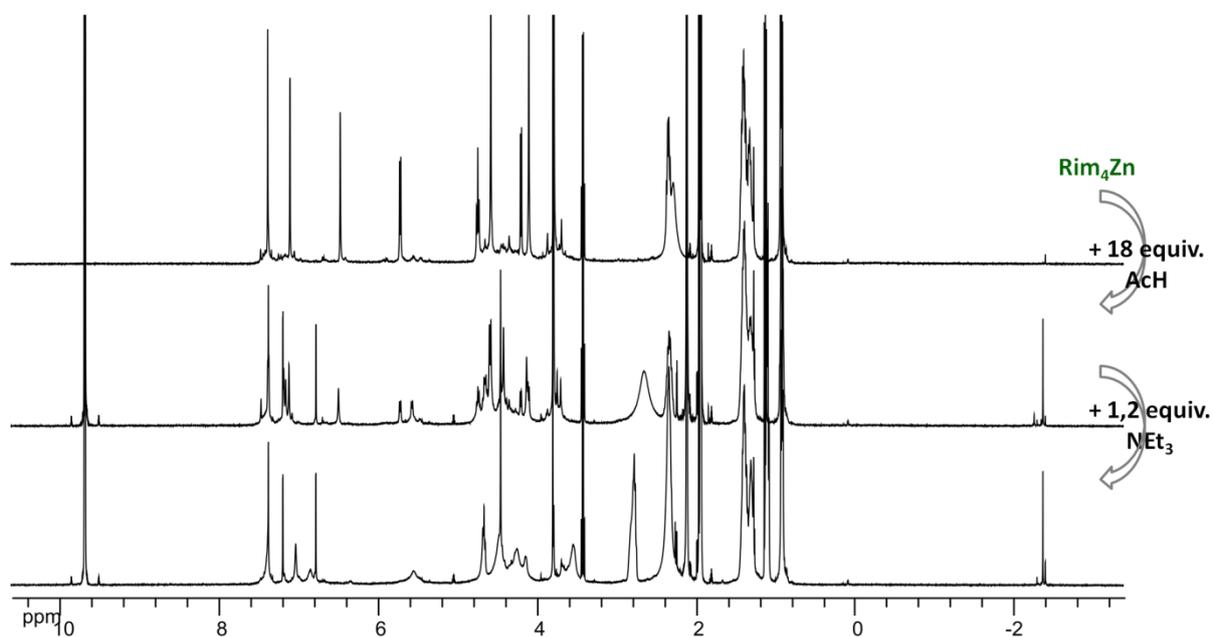


Figure 161 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 53 (partie droite). Addition d'acétaldéhyde (AcH) puis de triéthylamine à Rim_4Zn (5 mM).

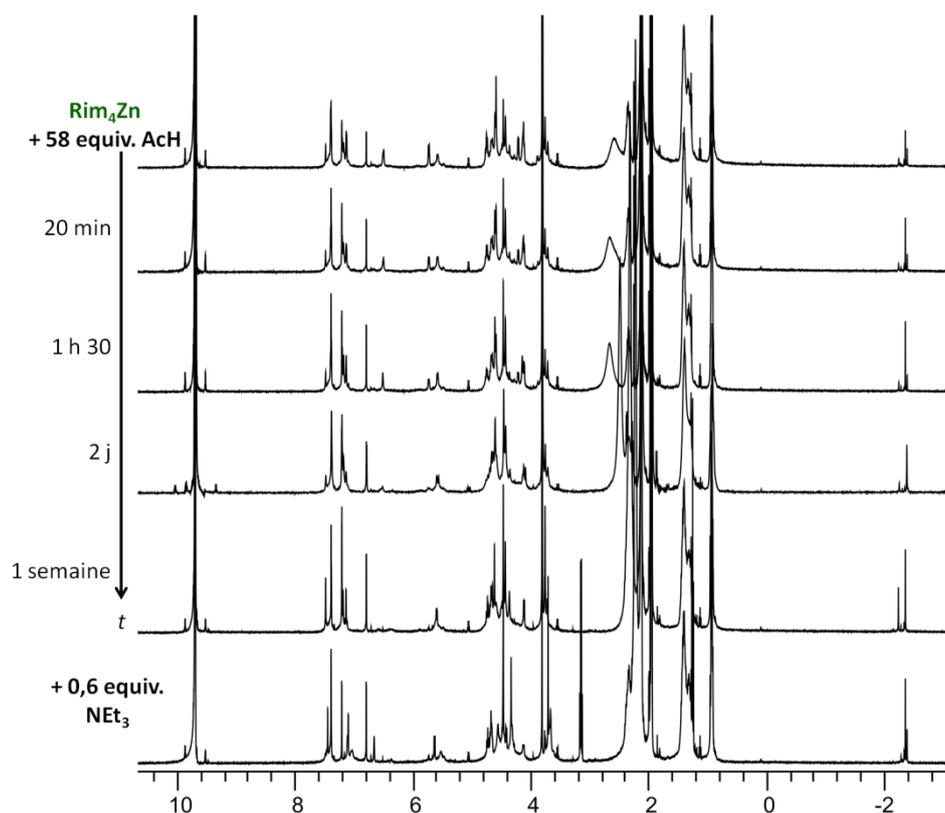


Figure 162 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 250 et 500 MHz) entiers de la Figure 54. Suivi temporel d'un tube contenant Rim_4Zn (4 mM) avec 58 équivalents d'acétaldéhyde, avec addition finale de 0,6 équivalents de triéthylamine.

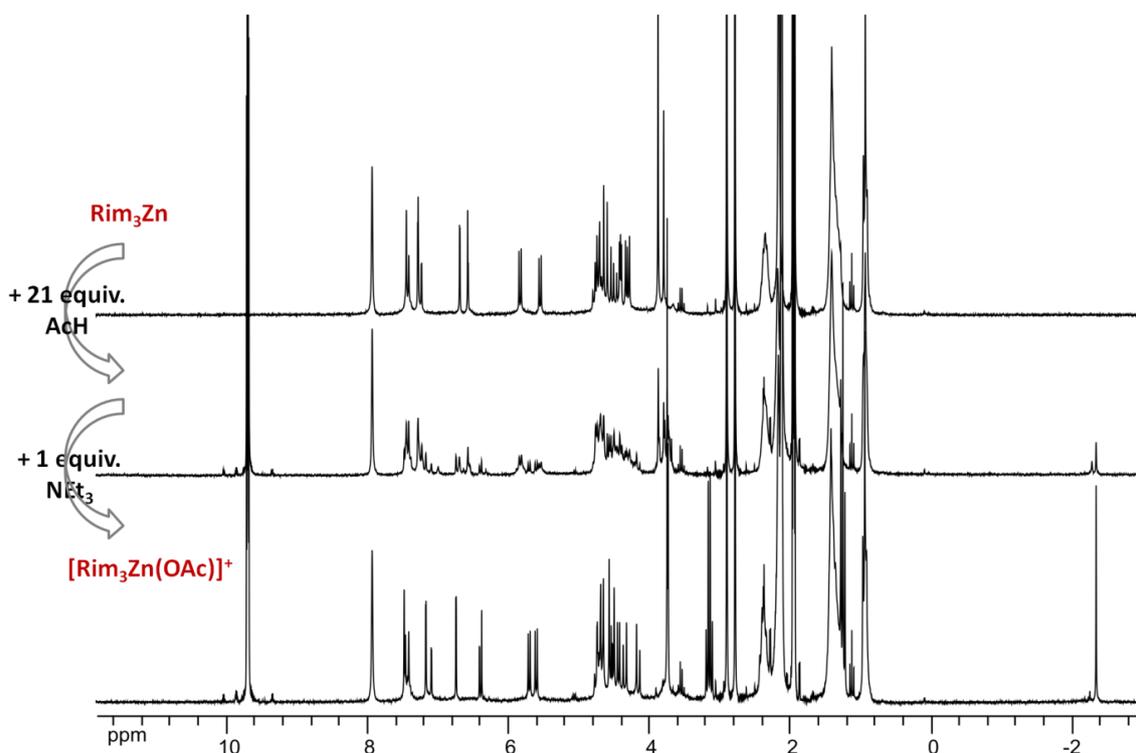


Figure 163 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 250 MHz) entiers de la Figure 58 (partie gauche). Addition de AcH (20 équivalents) puis NEt_3 (1 équivalent) à Rim_3Zn (3 mM) comparée sur un tube ouvert à l'air.

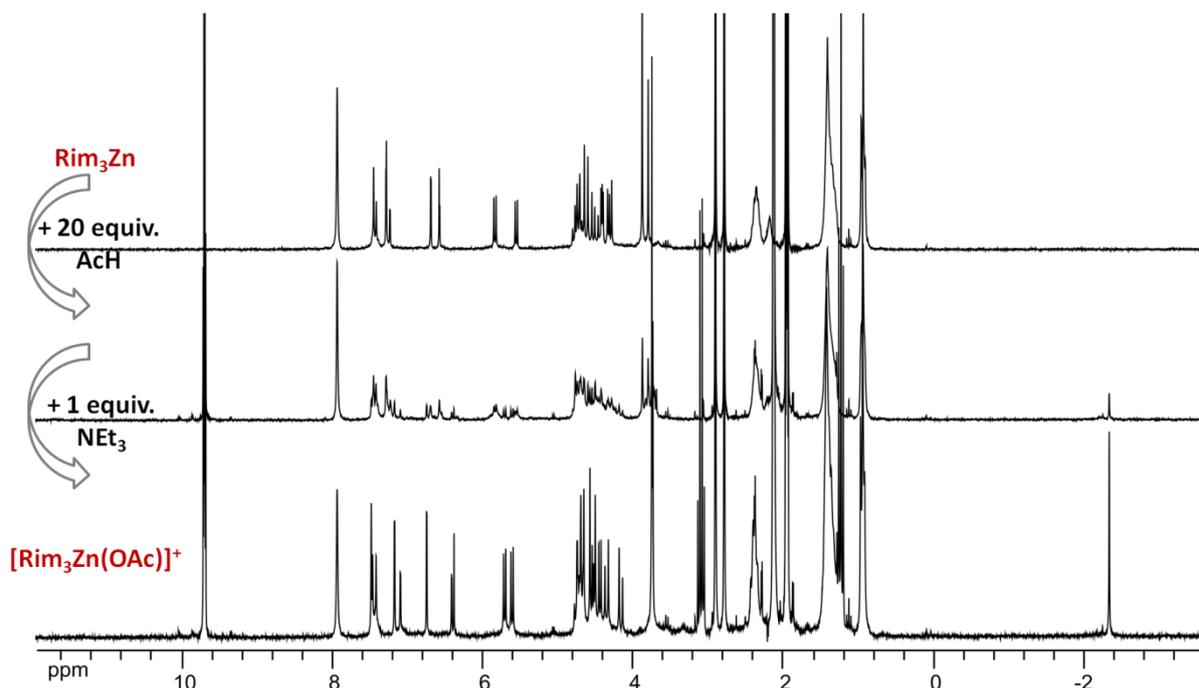


Figure 164 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 250 MHz) entiers de la Figure 58 (partie droite). Addition de AcH (20 équivalents) puis NEt_3 (1 équivalent) à Rim_3Zn (3 mM) comparée sur un tube de Young réalisé en boîte à gants.

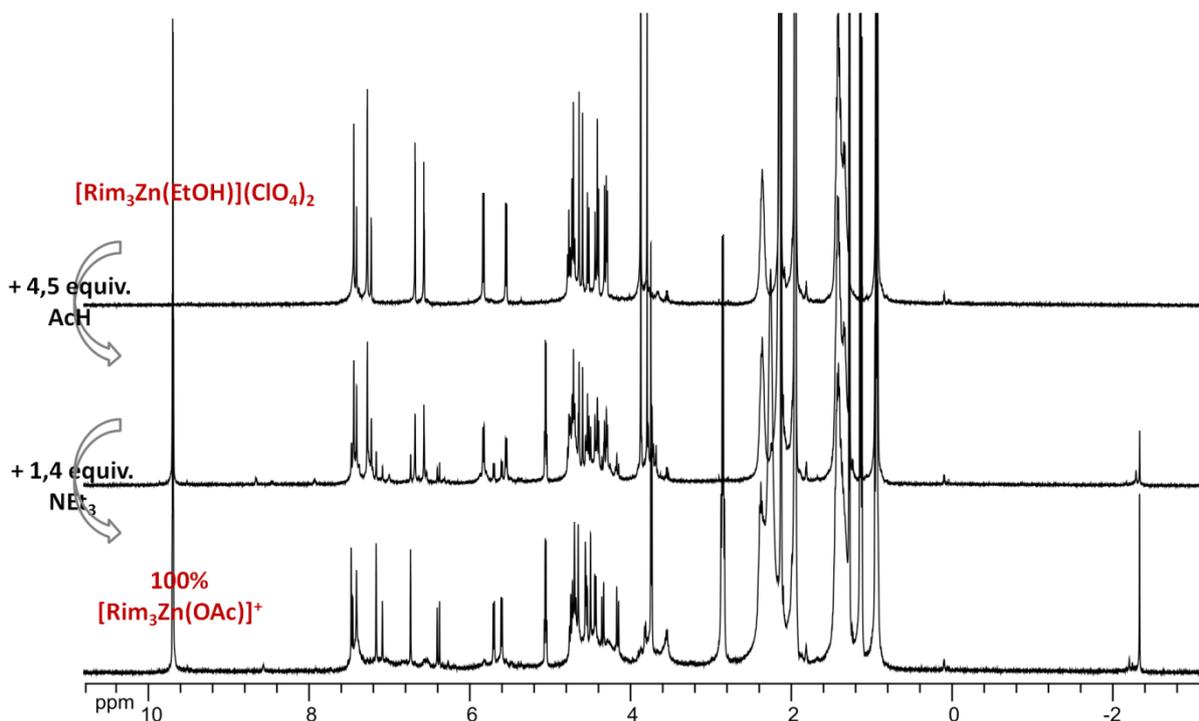


Figure 165 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 59 (partie gauche). Addition de AcH (4,5 équivalents) puis NEt_3 (1,4 équivalent) à $[\text{Rim}_3\text{ZnS}](\text{ClO}_4)_2$ (2,5 mM).

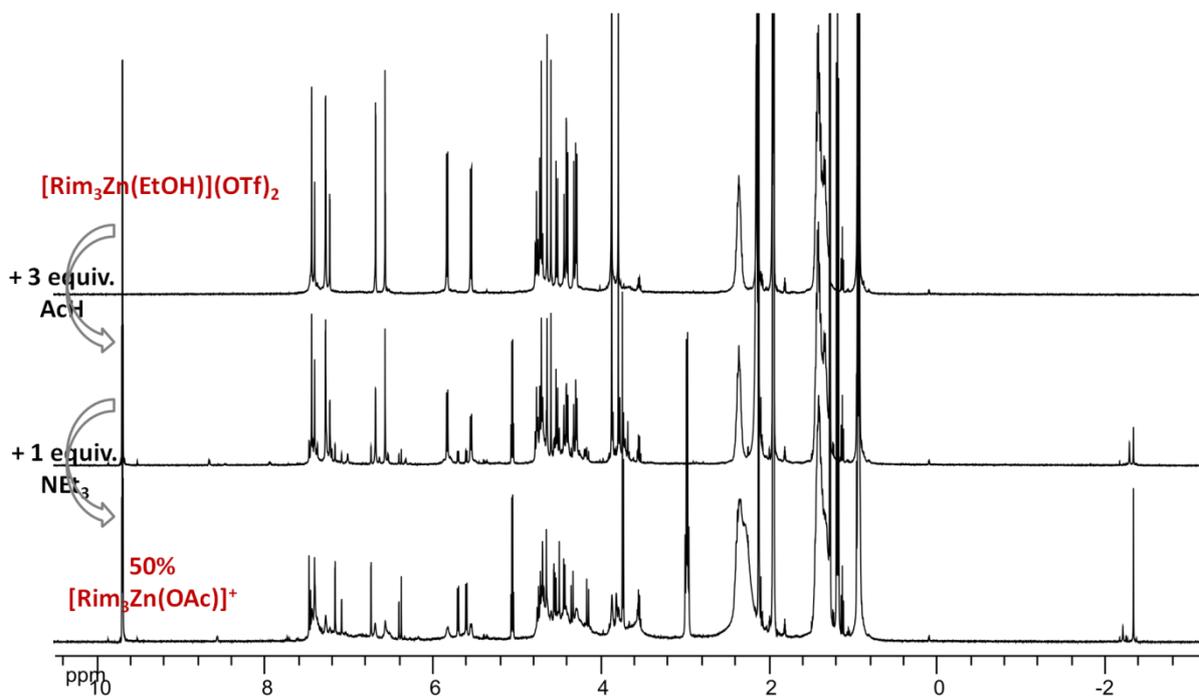


Figure 166 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 59 (partie droite). Addition de AcH (3 équivalents) puis NEt_3 (1 équivalent) à $[\text{Rim}_3\text{ZnS}](\text{OTf})_2$ (2,5 mM).

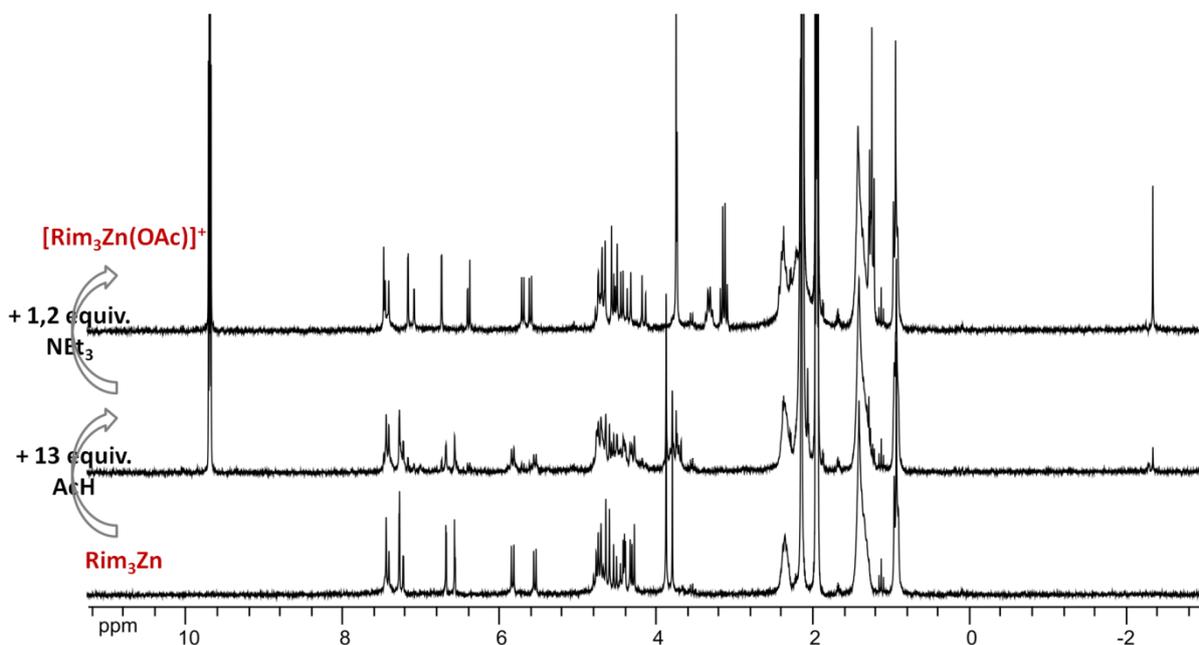


Figure 167 : Spectres RMN ^1H (CD_3CN , 300 K, 250 MHz) entiers de la Figure 60 (partie gauche). Addition de AcH (13 équivalents) puis NEt_3 (1 équivalent) à Rim_3Zn (2 mM).

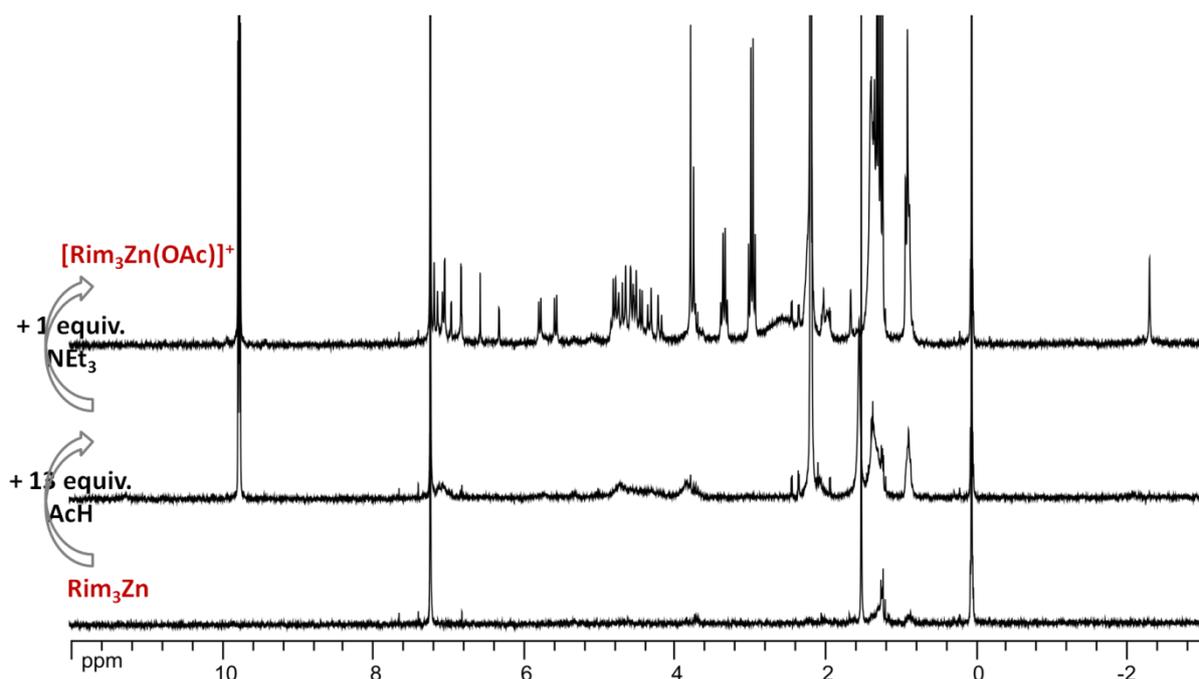


Figure 168 : Spectres RMN ^1H (CDCl_3 , 300 K, 250 MHz) entiers de la Figure 60 (partie droite). Addition de AcH (13 équivalents) puis NEt_3 (1 équivalent) à Rim_3Zn (2 mM).

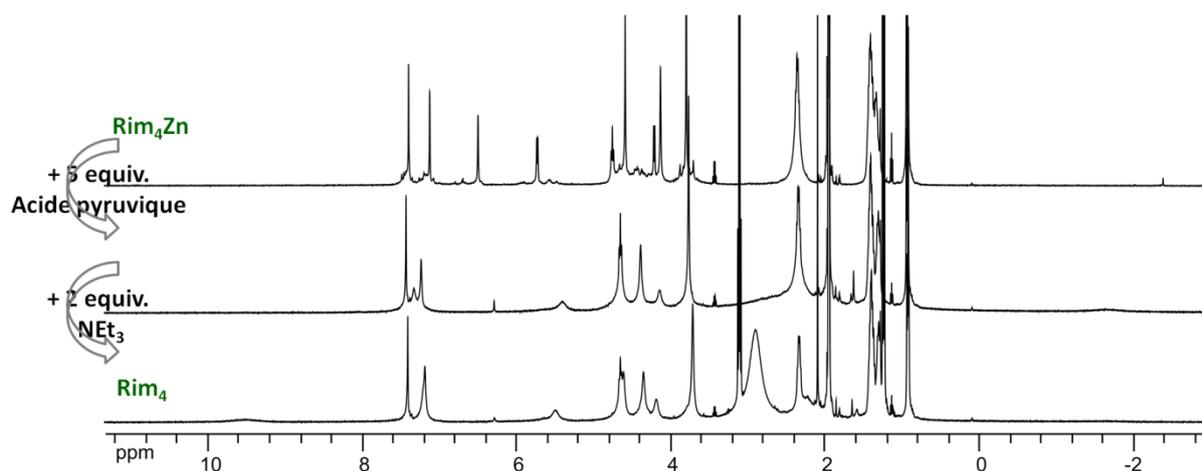


Figure 169 : Spectres RMN ^1H (CDCl_3 , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 62a). A Rim_4Zn (4 mM) sont ajoutés successivement 5 equiv. d'acide pyruvique (**S2**) et 2 equiv. de triéthylamine.

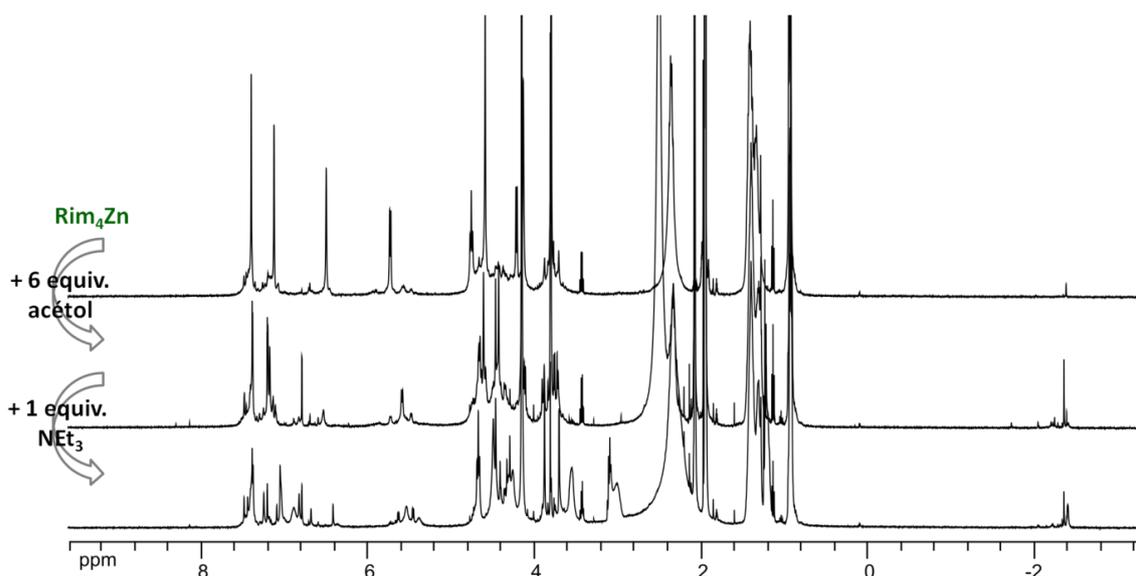


Figure 170 : Spectres RMN ^1H (CDCl_3 , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 62b). A Rim_4Zn (4 mM) sont ajoutés successivement 6 equiv. de 1-hydroxyacétone (**S3**) et 1 equiv. de triéthylamine.

II. Spectres RMN entiers – chapitre 3

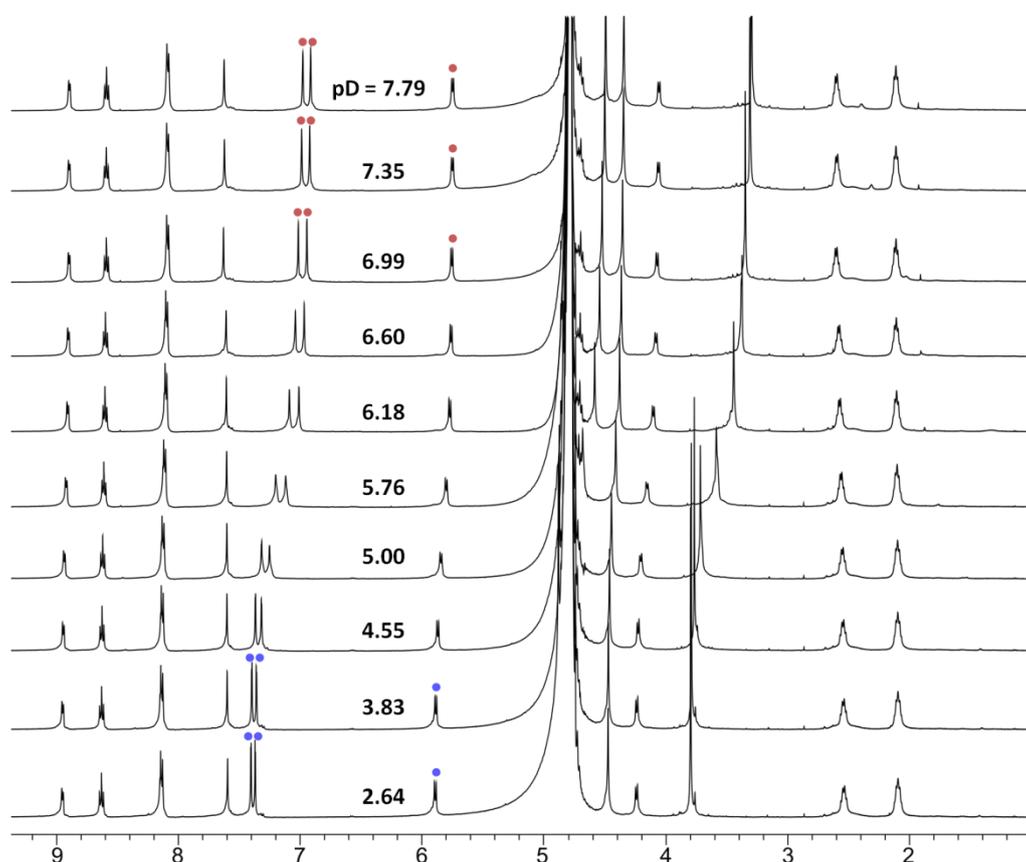


Figure 171 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 79 (partie gauche). Etude par variation du pH de WRim_4 (4 mM). Les résonances des protons portés par les imidazoles et le pont méthylène sont particulièrement affectées (points bleus : forme acide ; points rouges : forme basique).

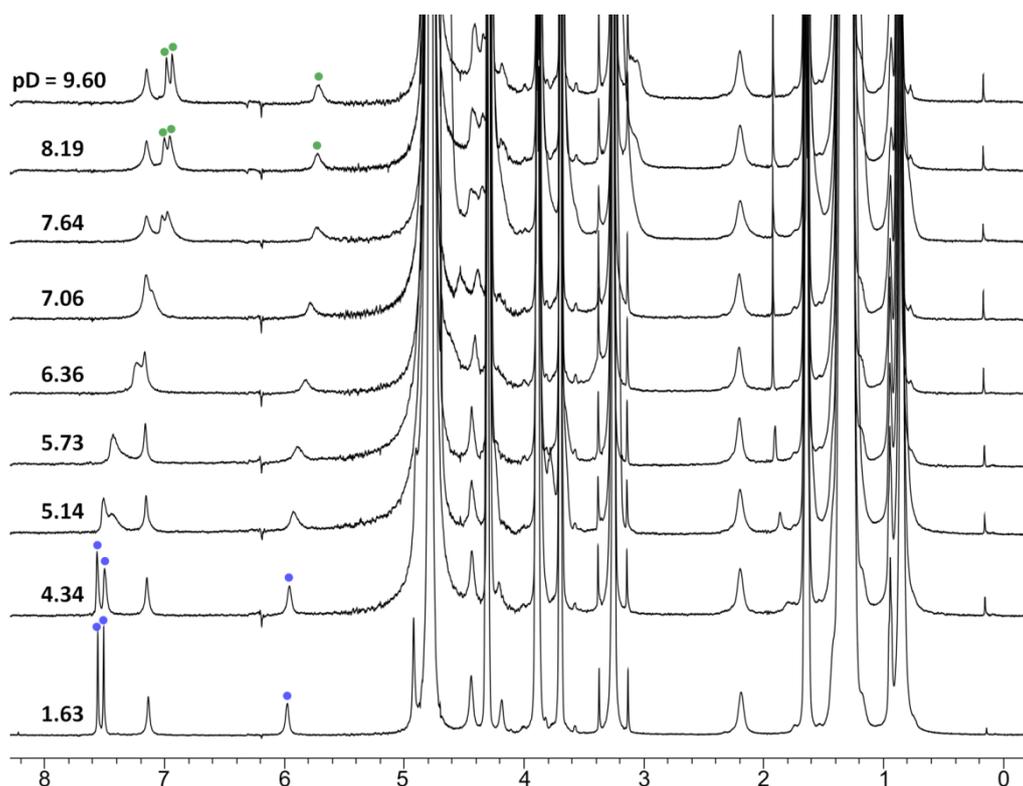


Figure 172 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 79 (partie droite). Etude par variation du pH de MRim $_4$ (0,5 mM, DPC 20 mM). Les résonances des protons portés par les imidazoles et le pont méthylène sont particulièrement affectées (points bleus : forme acide ; points verts : forme basique).

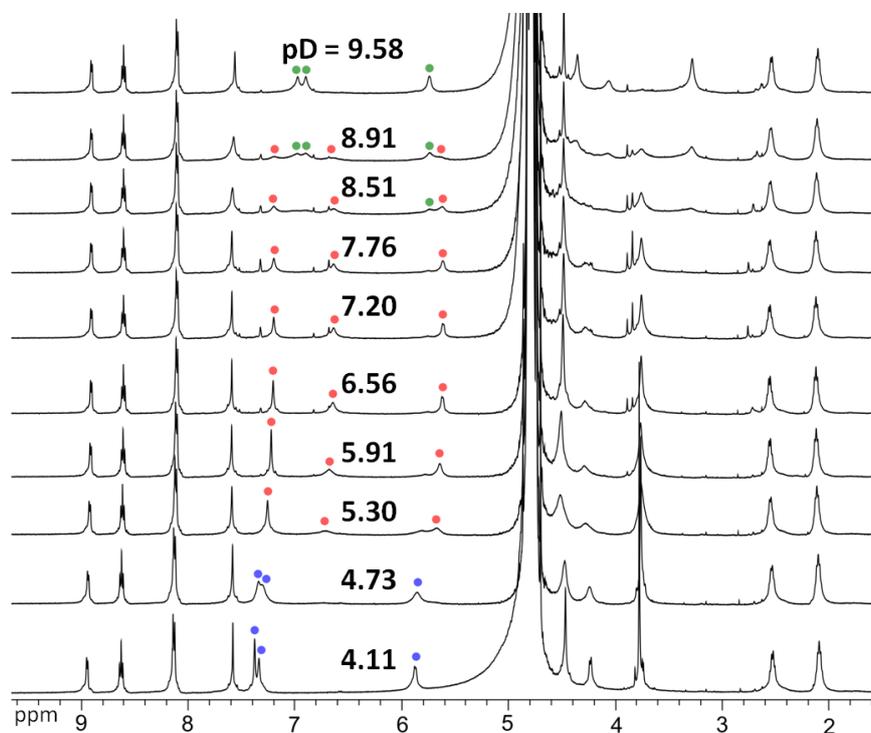


Figure 173 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 81 (partie gauche). Etude par variation du pH de WRim $_4\text{Zn}$ (2,5 mM, généré *in situ* par addition de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$). Points bleus : ligand protoné ; points rouges : complexe ; points verts : ligand déprotoné.

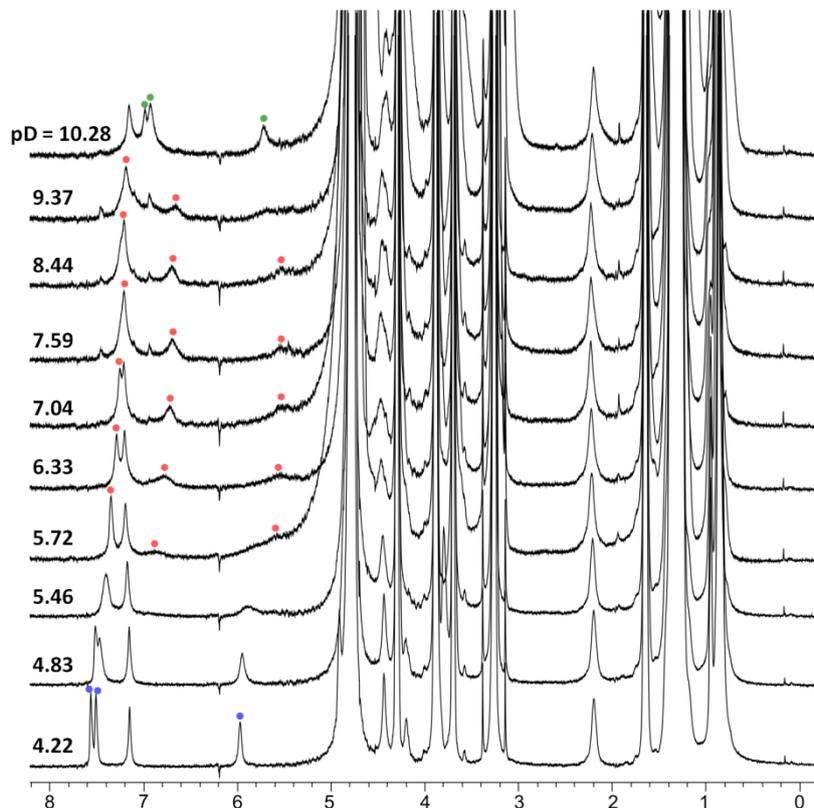


Figure 174 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 81 (partie droite). Etude par variation du pH de MRim_4Zn (0,5 mM, DPC 20 mM). Points bleus : ligand protoné ; points rouges : complexe ; points verts : ligand déprotoné.

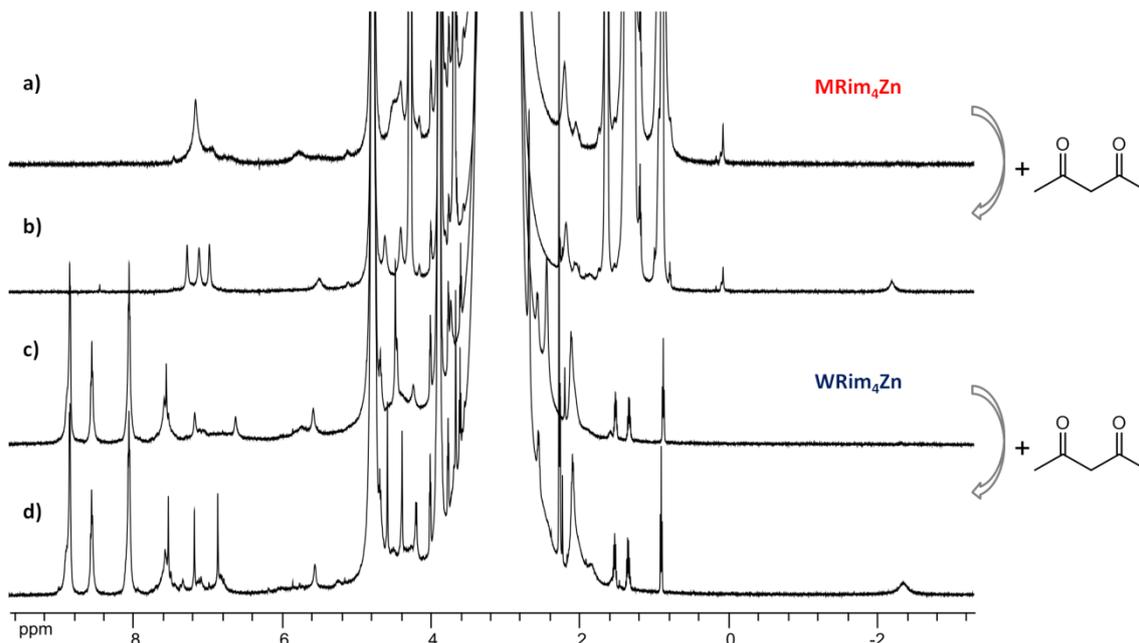


Figure 175 : Spectres RMN ^1H (D_2O , pH = 7,4, 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 89. Complexation de l'acétylacétonate dans D_2O . a) MRim_4Zn (0,5 mM, DPC 20 mM) à pH = 7,4 (HEPES 50 mM) ; b) + 1,8 equiv. acétylacétone ; c) WRim_4Zn (0,5 mM, 2 equiv. Zn^{II}) à pH = 7,4 (HEPES 100 mM) ; d) + 5,4 equiv. acétylacétone.

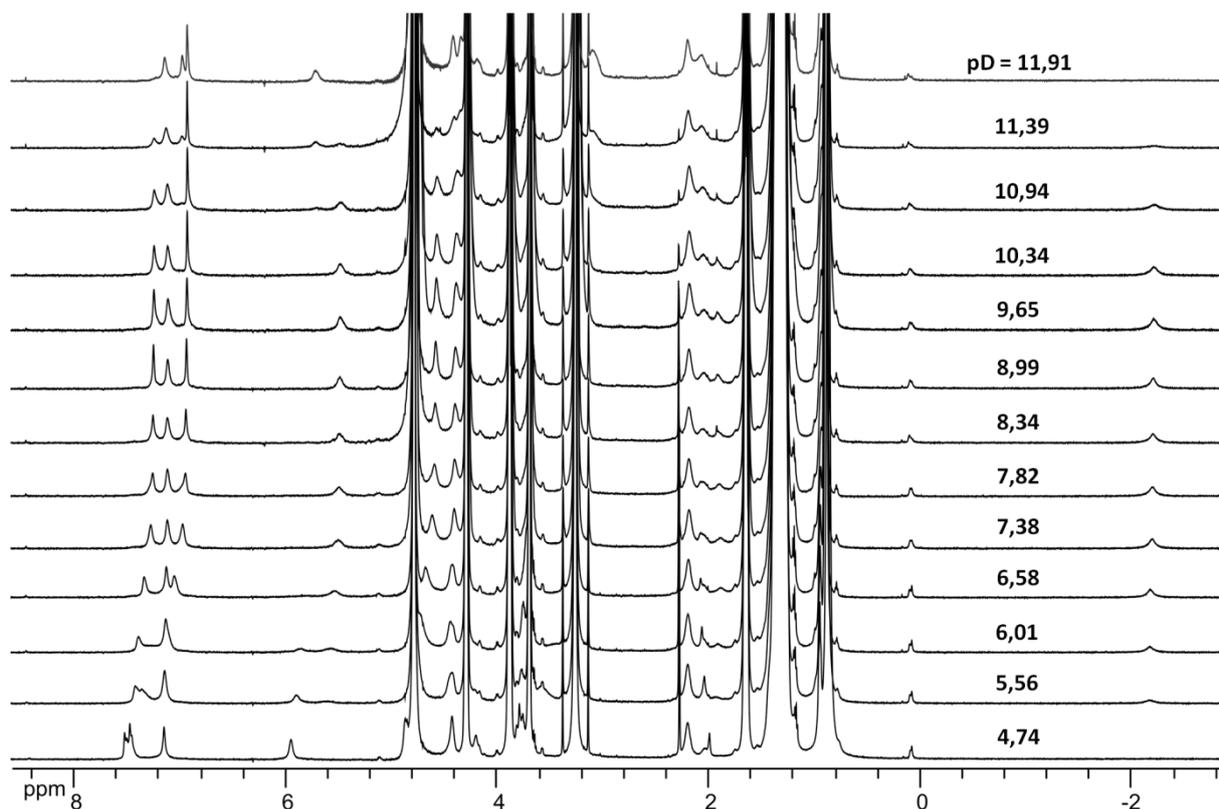


Figure 176 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 91 (partie gauche). Etude de la complexation de l'acétylacétone (1,5 équivalents) par MRim $_4$ Zn (0,5 mM, DPC 20 mM, à gauche) en fonction du pH.

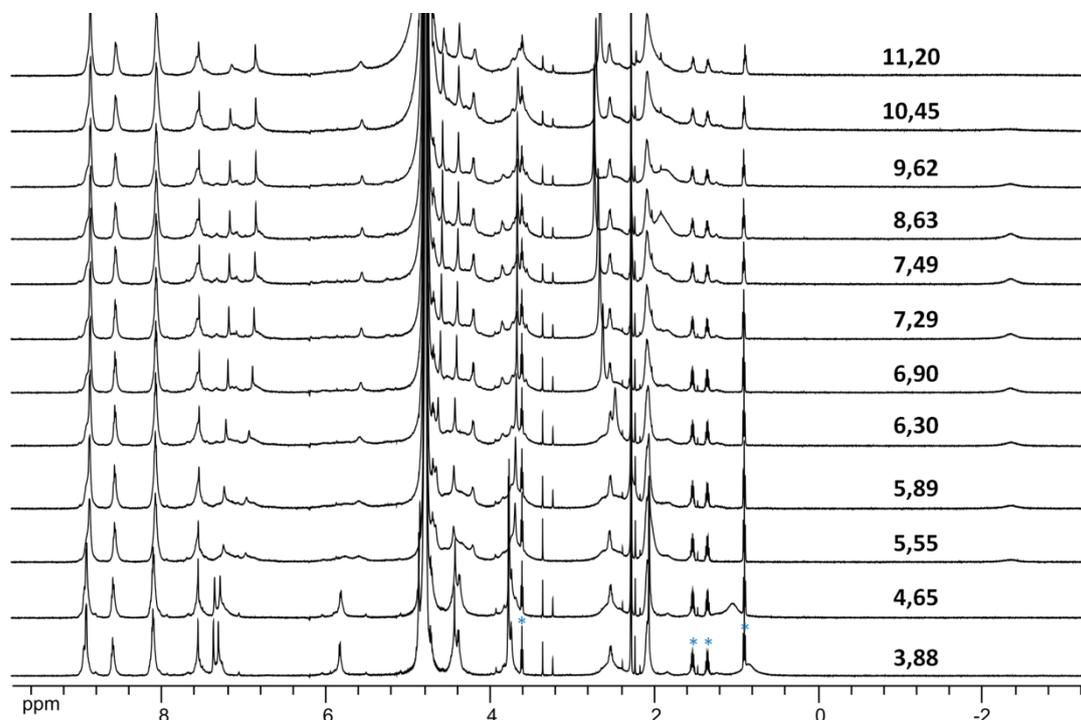


Figure 177 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 91 (partie droite). Etude de la complexation de l'acétylacétone (1,5 équivalents) par WRim $_4$ Zn (0,5 mM, 2 equiv. Zn^{II} , à droite) en fonction du pH. Les étoiles bleues indiquent la présence de butanol résiduel.

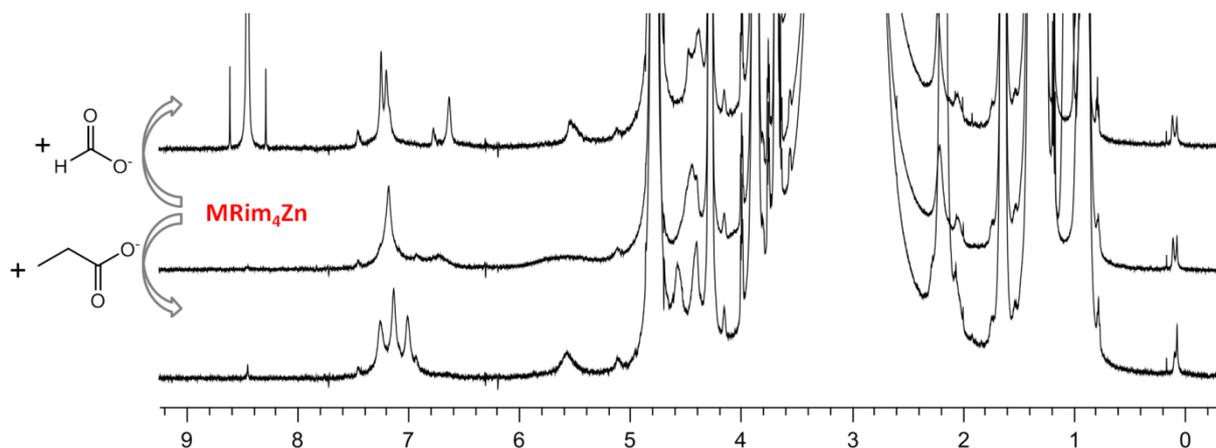


Figure 178 : Spectres RMN ^1H (D_2O , $\text{pD} = 7,4$, 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 92. Addition de carboxylates à MRim_4Zn (0,5 mM, DPC 20 mM, centre) à $\text{pD} = 7,4$ (tampon HEPES 50 mM) dans D_2O . En haut : ajout de 65 equiv. formiate ; en bas : ajout de 52 equiv. propionate.

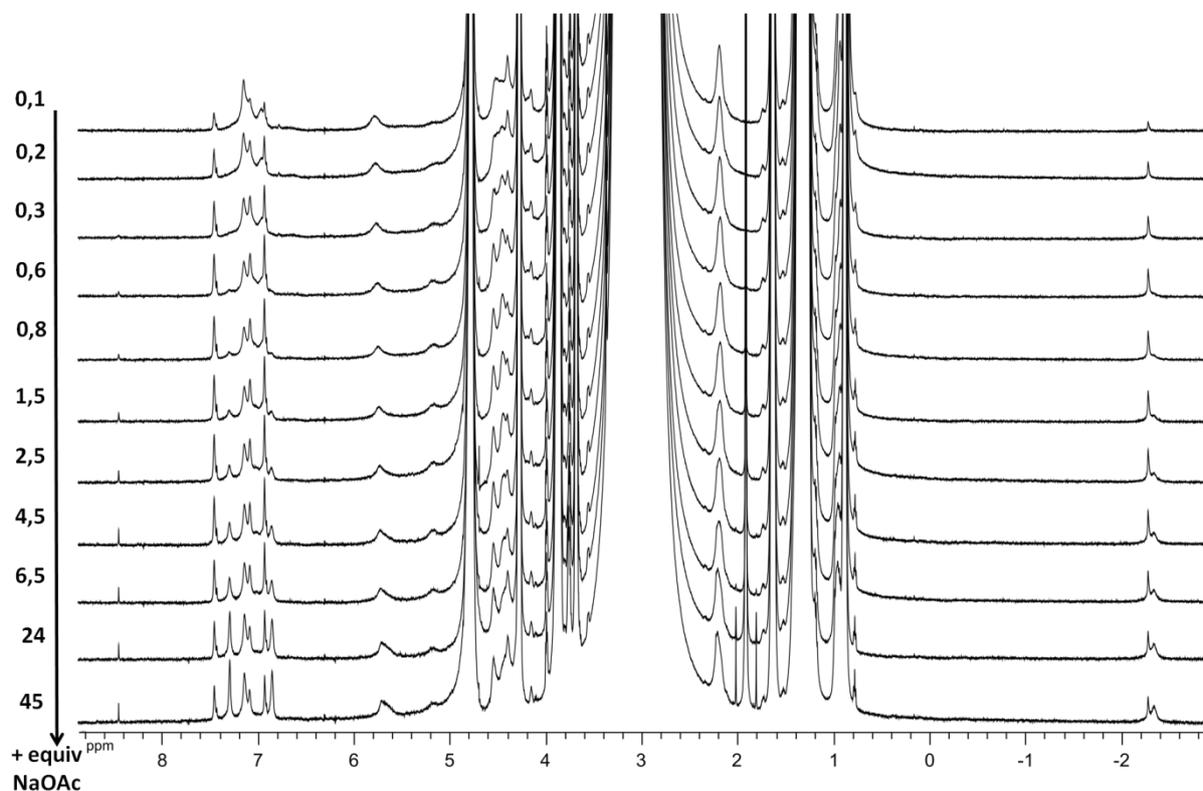


Figure 179 : Spectres RMN ^1H (D_2O , $\text{pD} = 7,4$, 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 93 (partie gauche). Dosage pour la détermination de l'affinité de MRim_4Zn (0,5 mM, DPC 20 mM) pour l'acétate (de 0,1 à 45 équivalents) à $\text{pD} = 7,4$ (tampon HEPES 50 mM).

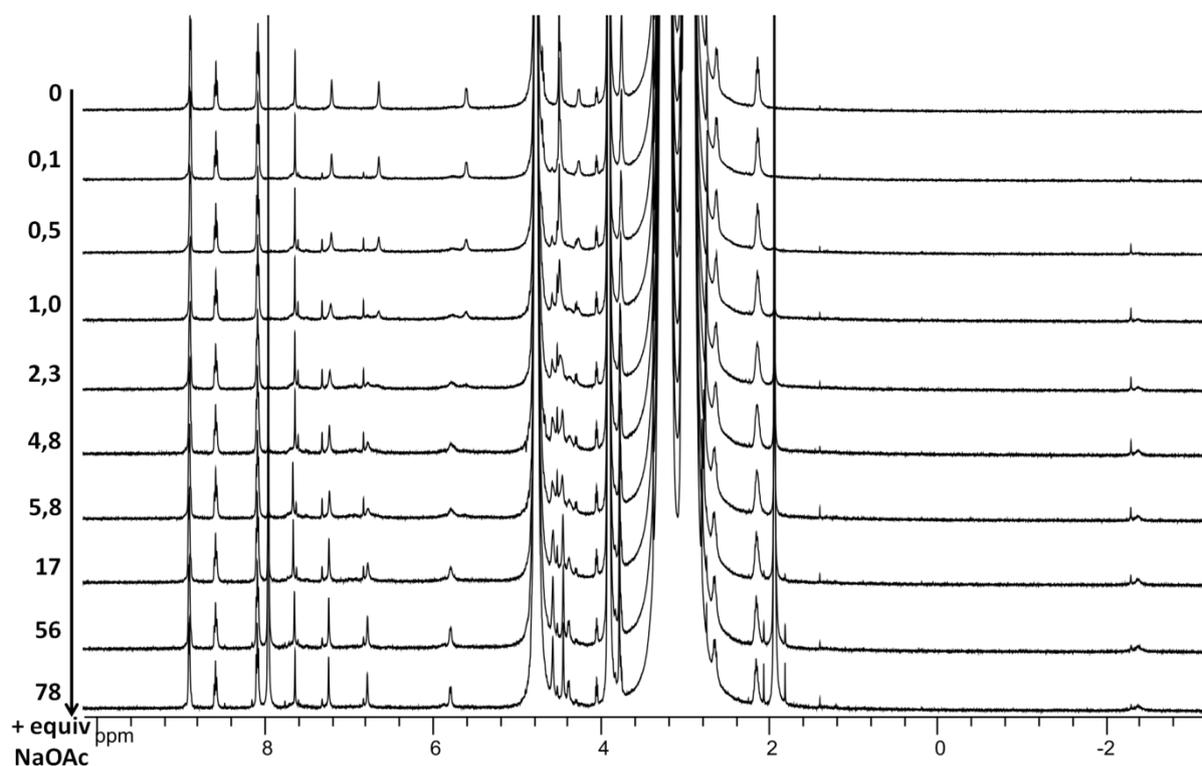


Figure 180 : Spectres RMN ^1H (D_2O , pD = 7,4, 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 93 (partie droite). Dosage pour la détermination de l'affinité de WRim_4Zn (0,7 mM) pour l'acétate (de 0 à 78 équiv.) à pD = 7,4 (tampon HEPES 100 mM).

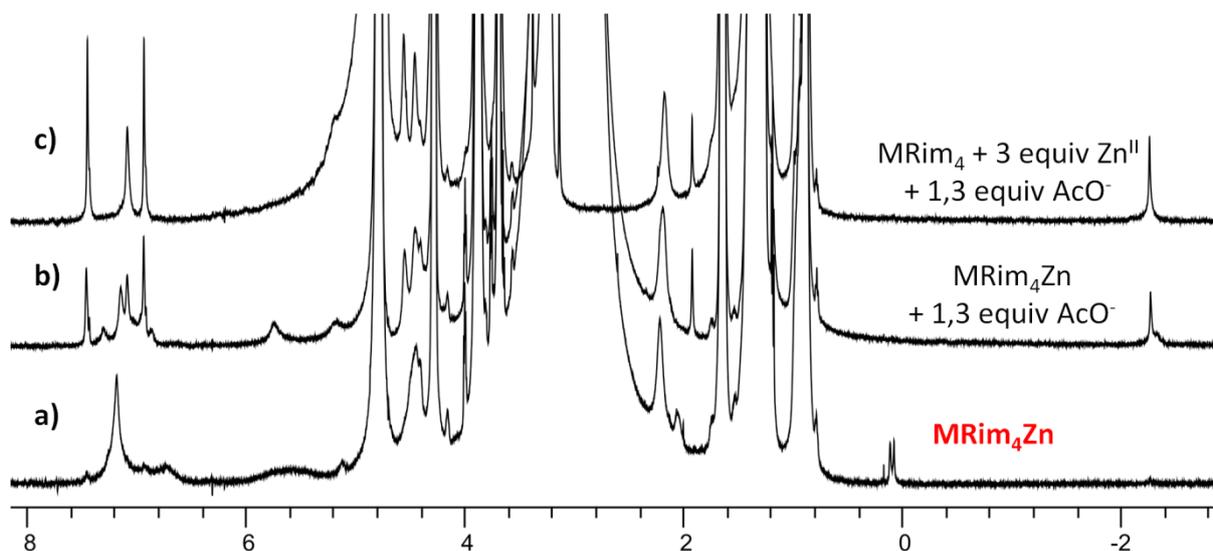


Figure 181 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 94 (partie gauche). Formation du complexe $[\text{MRim}_4\text{Zn}(\text{OAc})]^+$. a) MRim_4Zn (0,5 mM, DPC 20 mM) à pD = 7,4 ; b) MRim_4Zn (0,5 mM, DPC 20 mM) avec 1,5 equiv. NaOAc, pD = 7,0 ; c) MRim_4 (0,5 mM, DPC 20 mM) avec 3 equiv. de perchlorate de zinc et 1,5 equiv. de NaOAc, pD = 7,4.

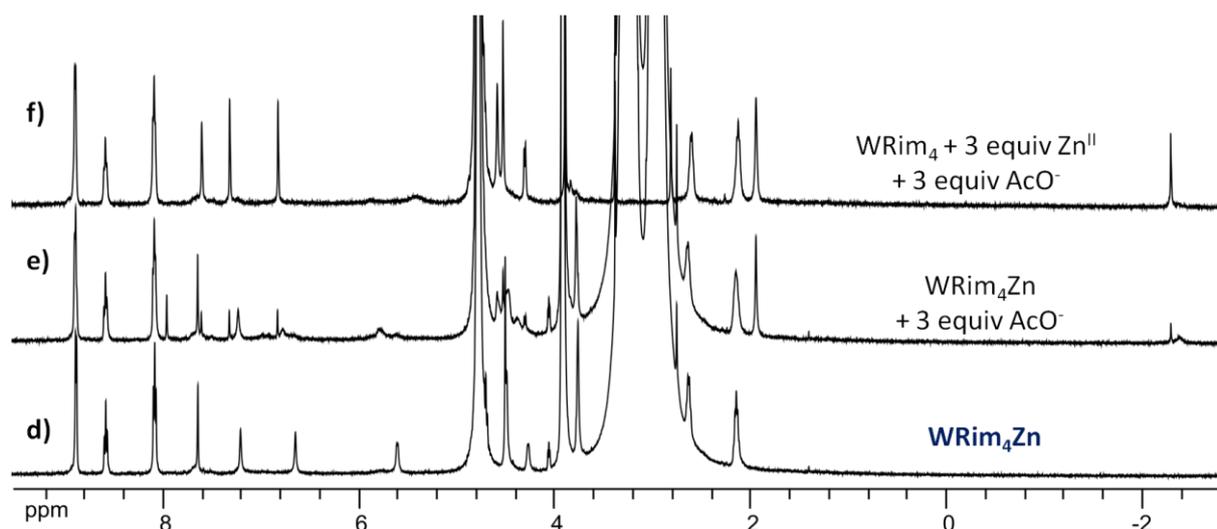


Figure 182 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 94 (partie droite). Formation du complexe $[\text{WRim}_4\text{Zn}(\text{OAc})]^{5+}$. d) WRim_4Zn (1 mM) à pD = 7,2 ; e) WRim_4Zn (1 mM) avec 3 equiv. NaOAc à pD = 7,2 ; e) WRim_4 (1 mM) avec 3 equiv. NaOAc et 3 equiv. nitrate de zinc(II) à pD = 7,3.

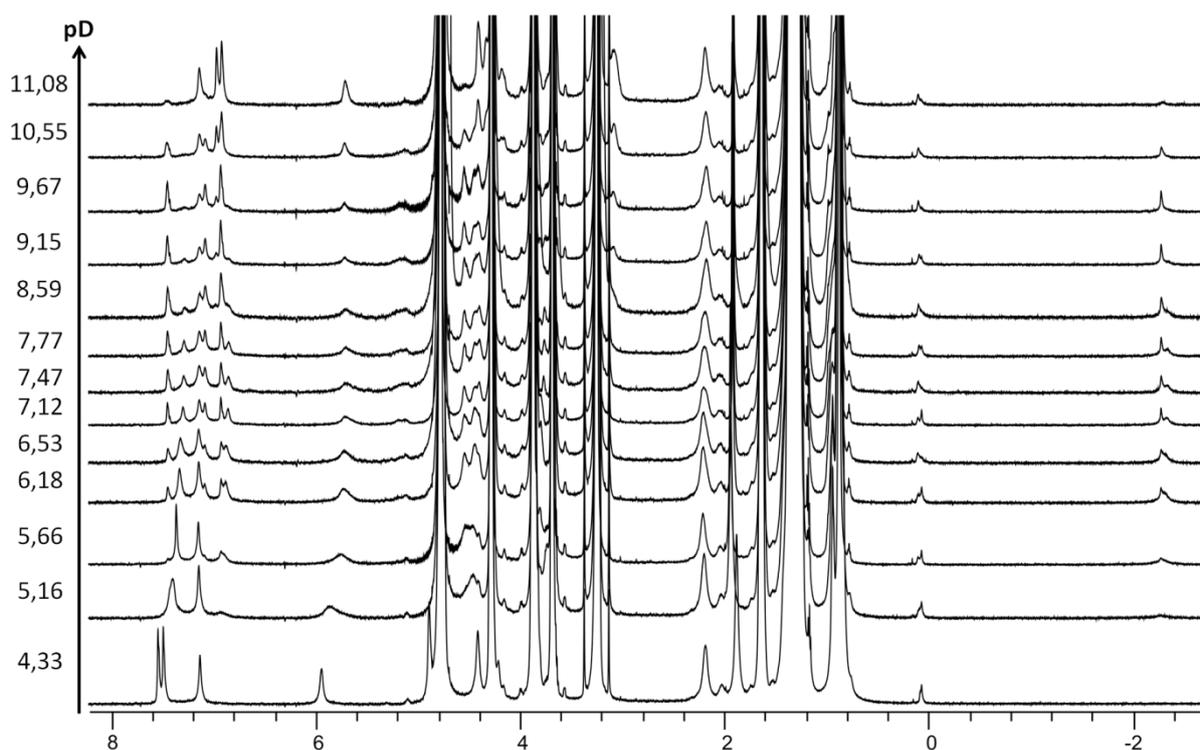


Figure 183 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 95 (partie gauche). Etude en fonction du pH de MRim_4Zn (0,5 mM, DPC 20 mM) avec 5 equiv. NaOAc . Le pH est adapté avec des solutions 0,1 M de NaOH et HNO_3 .

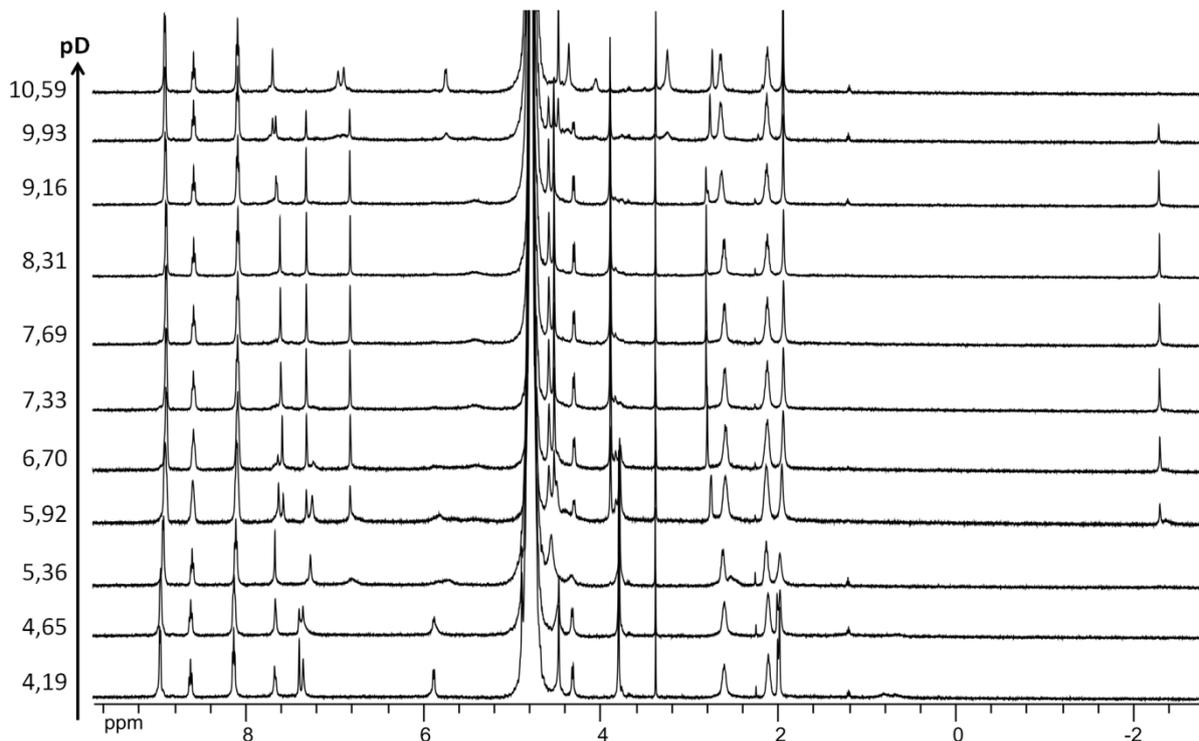


Figure 184 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 95 (partie droite). Etude en fonction du pH de WRim_4 (1 mM) avec un excès de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ (3 mM) et 3 equiv NaOAc . Le pH est adapté avec des solutions 0,1 M de NaOH et HNO_3 .

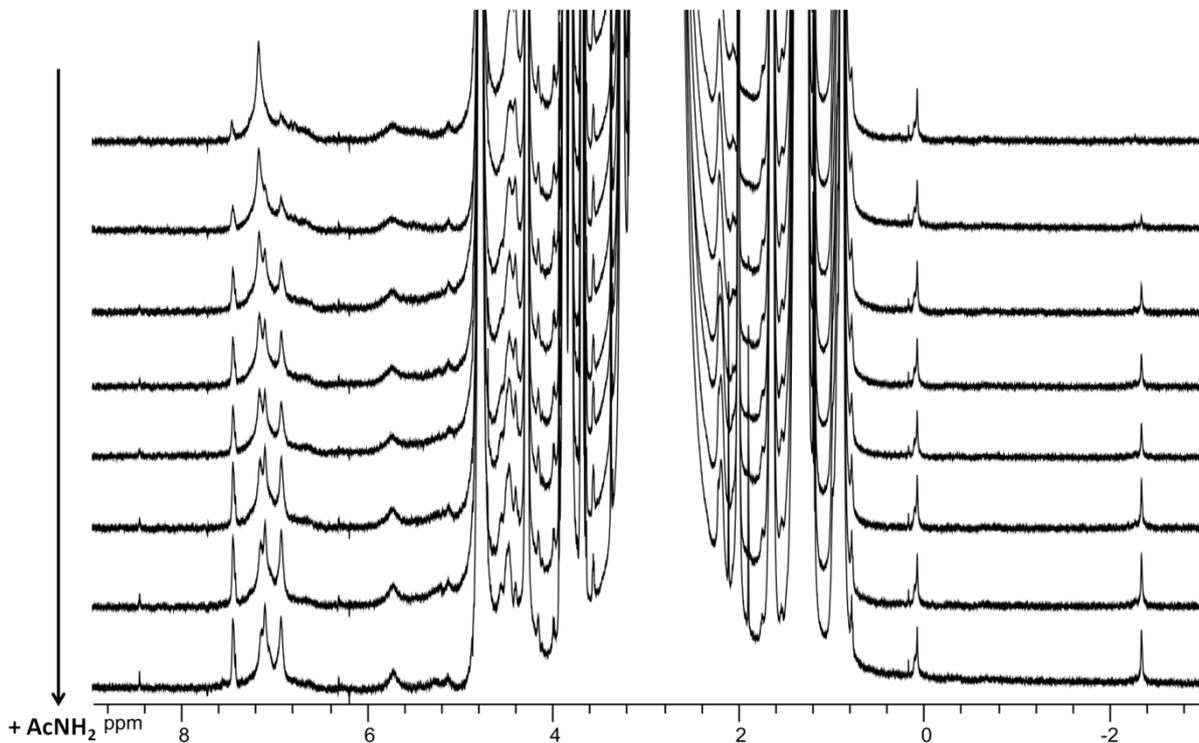


Figure 185 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 99 (partie gauche). Dosage pour la détermination de l'affinité de MRim_4Zn (0,5 mM, DPC 20 mM) pour l'acétamide (ajout jusqu'à 61 équivalents) à $\text{pD} = 8,4$ (tampon HEPES 50 mM).

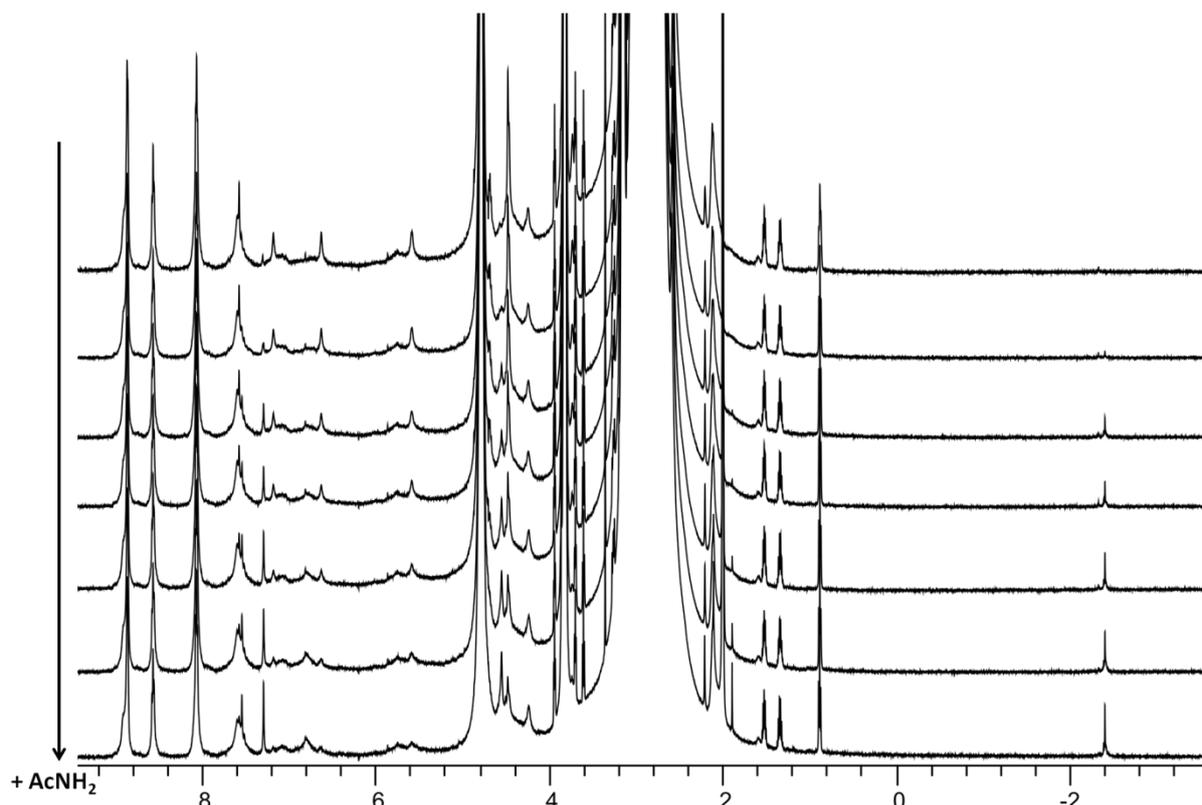


Figure 186 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 99 (partie droite). Dosage pour la détermination de l'affinité de WRim_4Zn (0,5 mM, 2 equiv. Zn^{II}) pour l'acétamide (ajout jusqu'à 41 équivalents) à pD = 8,4 (tampon HEPES 100 mM).

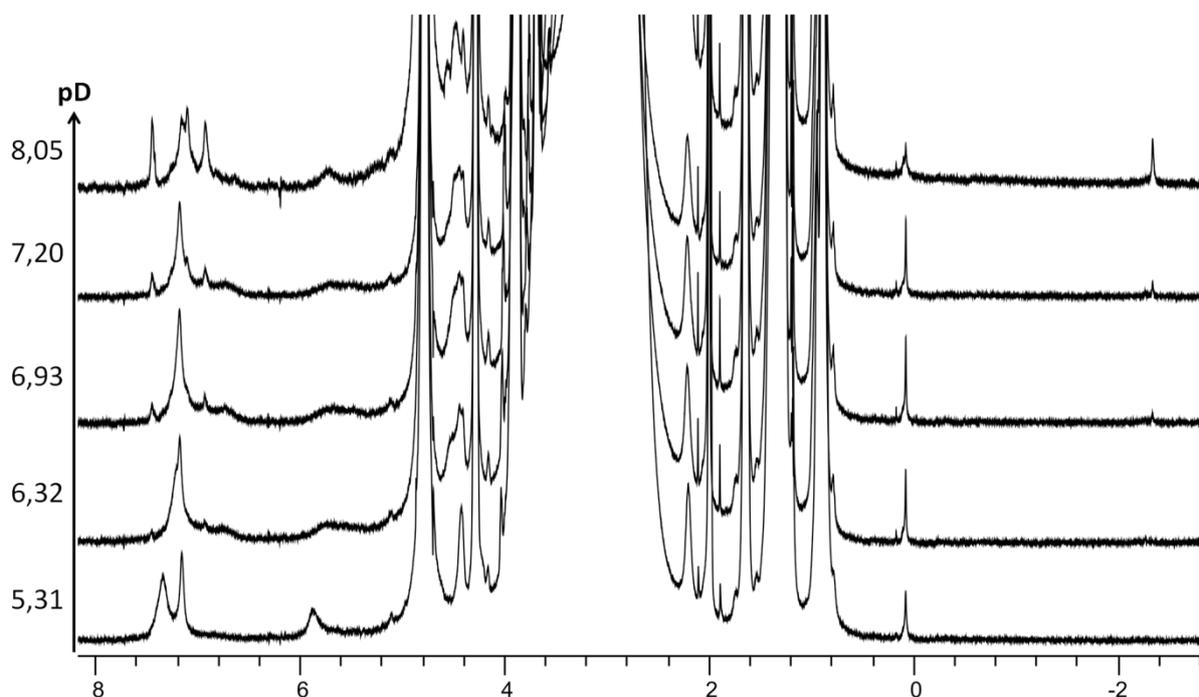


Figure 187 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 298 K, 600 MHz) entiers de la Figure 100 (partie gauche). Variation de pH de MRim_4Zn (0,5 mM, DPC 20 mM) en présence d'acétamide (21 équivalents).

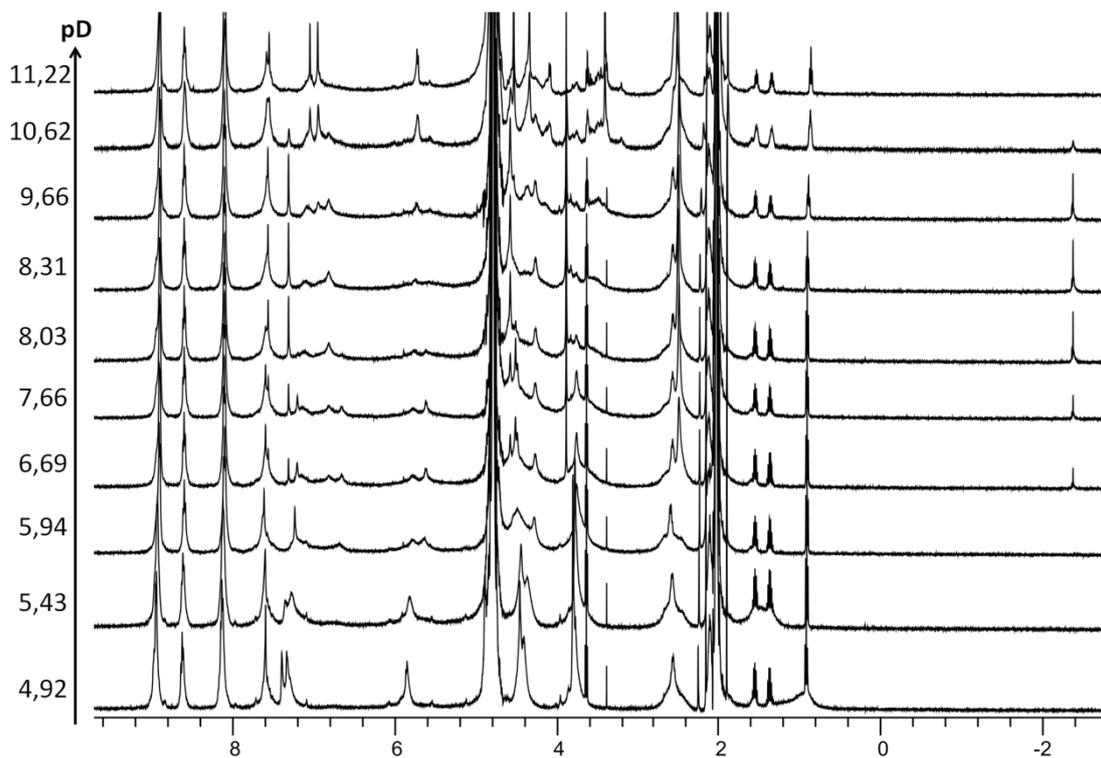


Figure 188 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 100 (partie droite). Variation de pH de WRim_4Zn (1 mM, 2 equiv. Zn^{II}) en présence d'acétamide (50 équivalents).

III. Spectres RMN entiers – chapitre 4

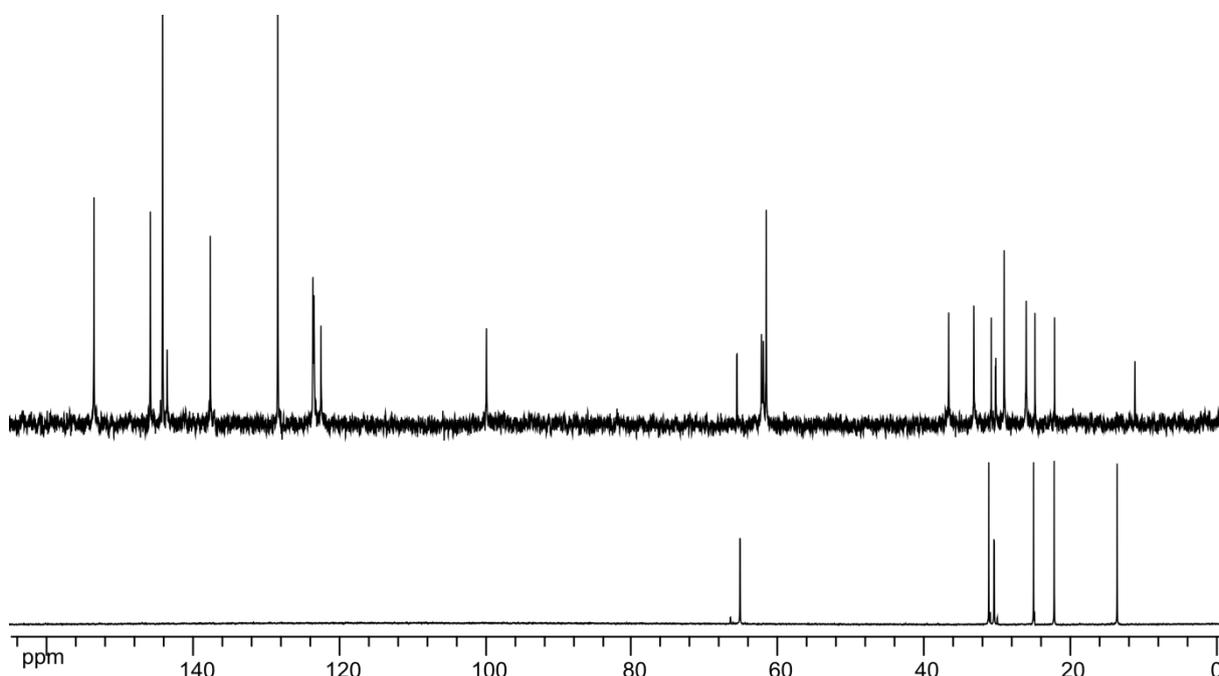


Figure 189 : Spectres entiers de la Figure 124a). WRim_4 (3,5 mM) avec 1,2 equiv. C6P à pD = 6,4 (haut) comparé à C6P seul (pD = 7,4, bas), RMN ^{13}C (D_2O , 300 K, 150 MHz).

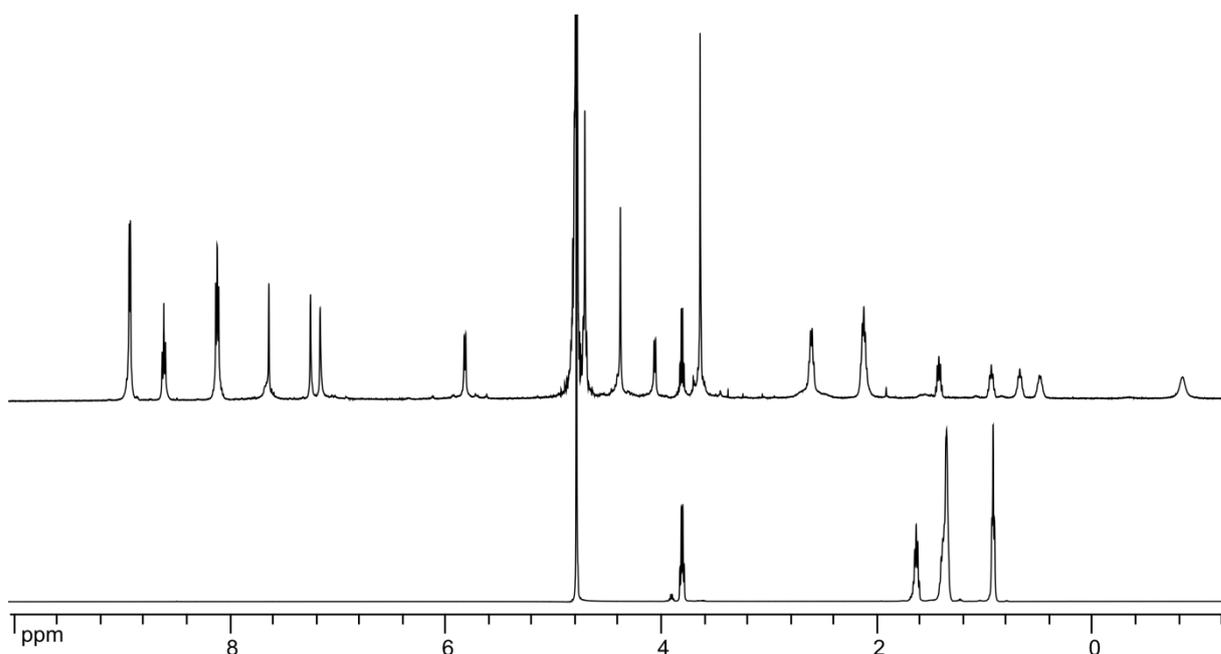


Figure 190 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 124b). WRim₄ (3,5 mM) avec 1,2 equiv. C6P à pD = 6,4 (haut) comparé à C6P seul (pD = 7,4, bas).

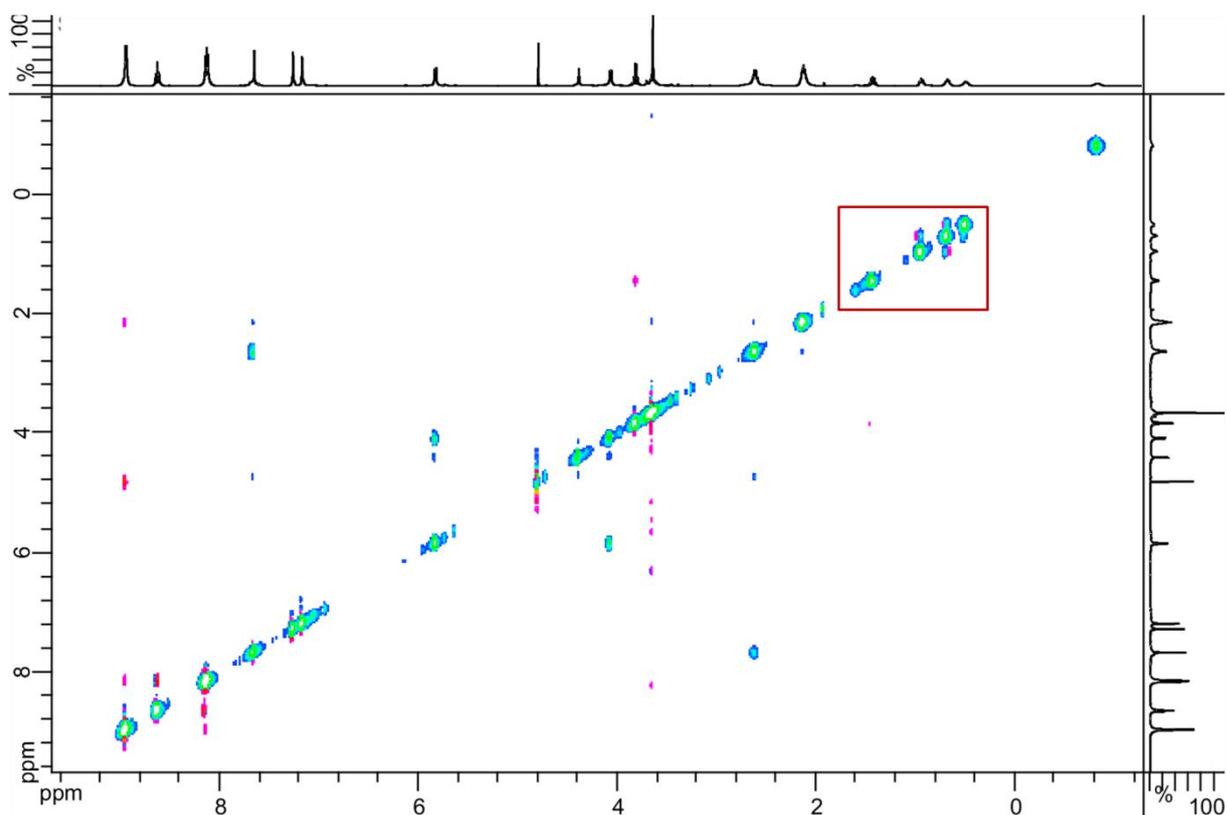


Figure 191 : Spectre NOESY (D_2O , 300 K, 500 MHz) de WRim₄ (3,5 mM) avec 1,2 equiv. C6P, pD = 6,4. La Figure 125 montre la zone encadrée en rouge de la carte.

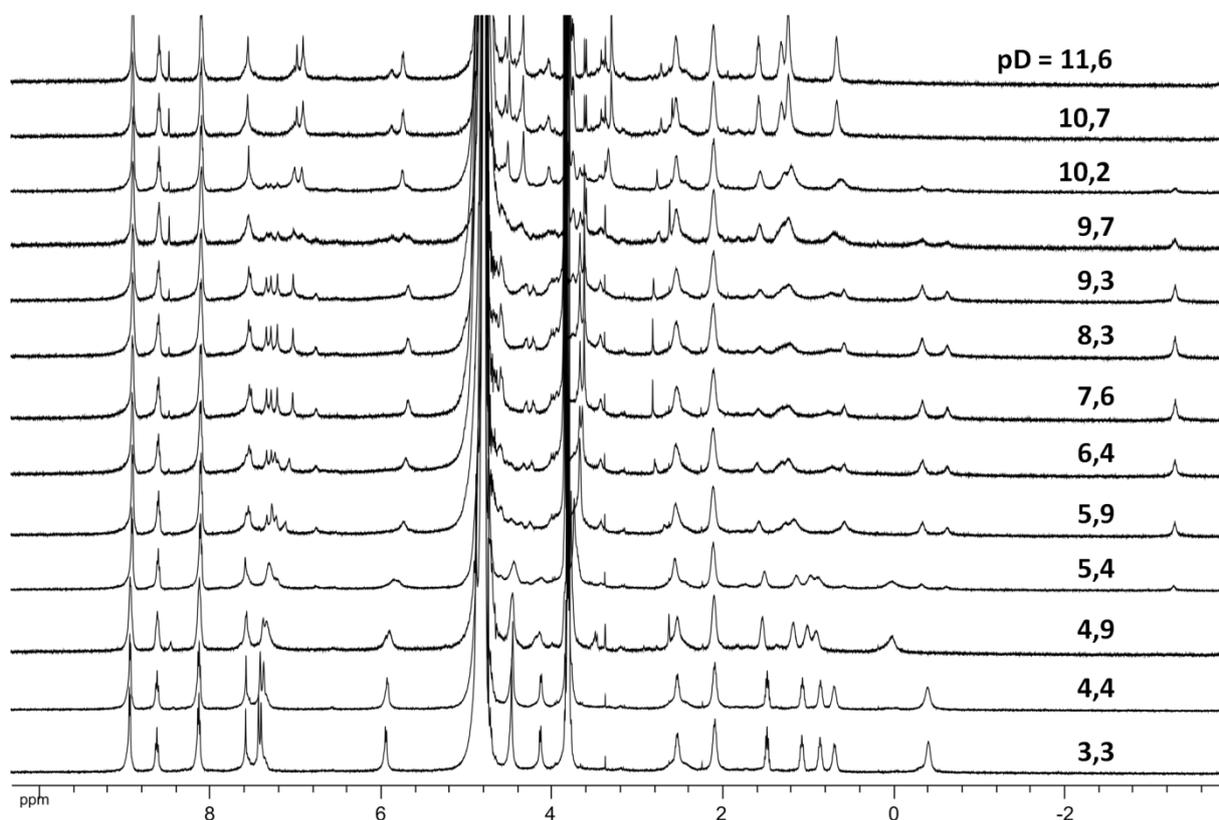


Figure 192 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 126. Etude par variation de pH de WRim_4Zn (3,5 mM) avec 1,2 equiv. C6P.

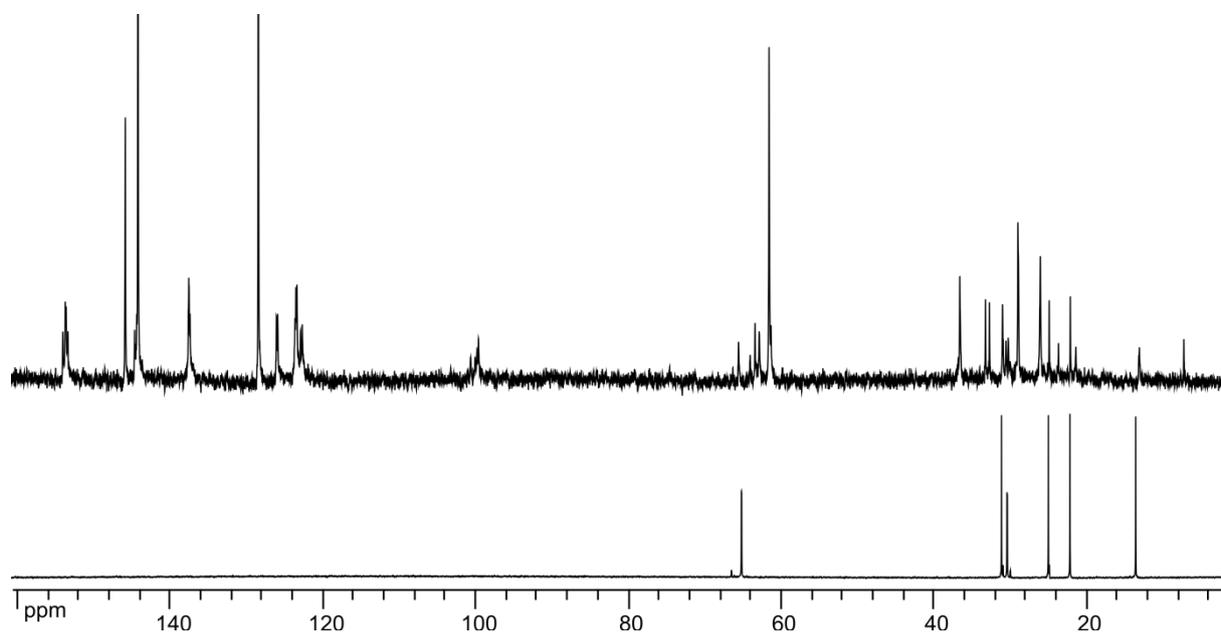


Figure 193 : Spectres entiers de la Figure 128a). WRim_4Zn (3,5 mM) avec 1,4 equiv. C6P (haut) comparé à C6P seul (bas) à $\text{pD} = 7,4$. RMN ^{13}C (D_2O , 300 K, 150 MHz).

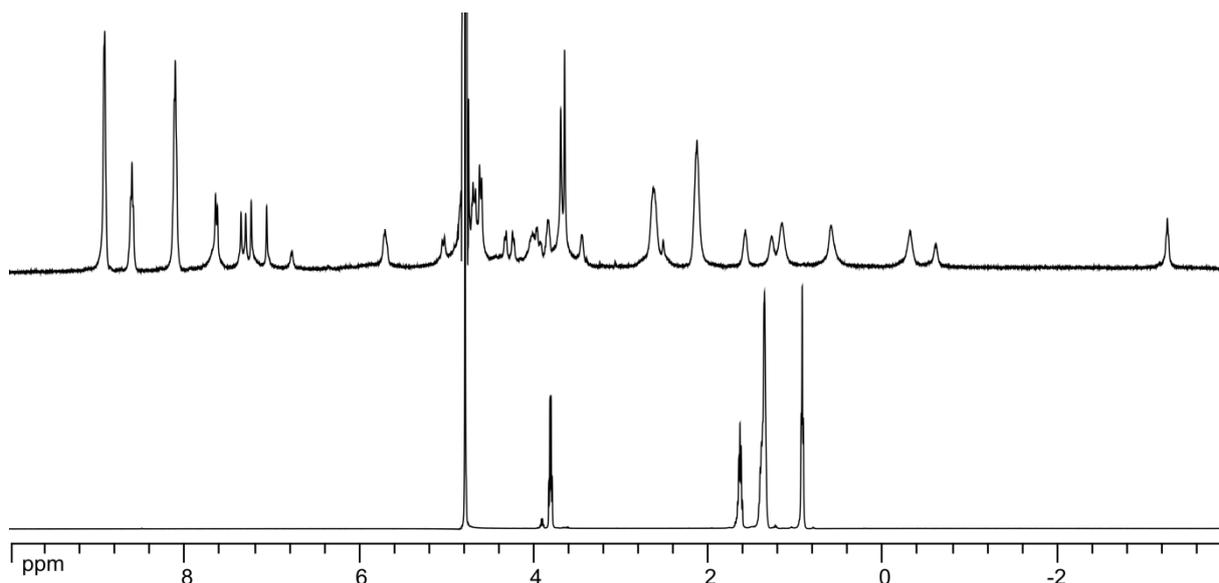


Figure 194 : Spectres RMN ^1H (D_2O , 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 128b). WRim_4Zn (3,5 mM) avec 1,4 equiv. C6P (haut) comparé à C6P seul (bas) à pD = 7,4.

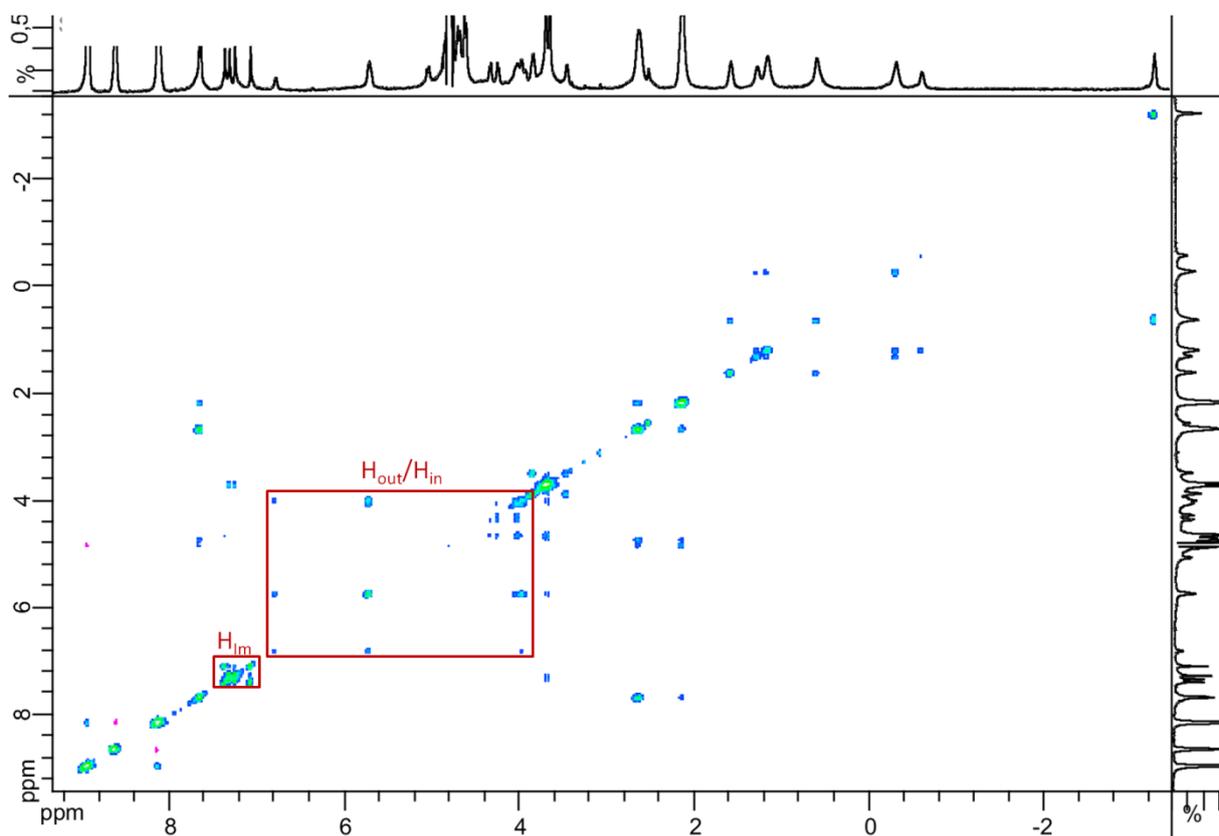


Figure 195 : Spectre NOESY (D_2O , 300 K, 500 MHz) entier de la Figure 130. WRim_4Zn (3,5 mM) en présence de 1,4 equiv. C6P à pD = 7,4. En rouge, les zone montrées sur la figure.

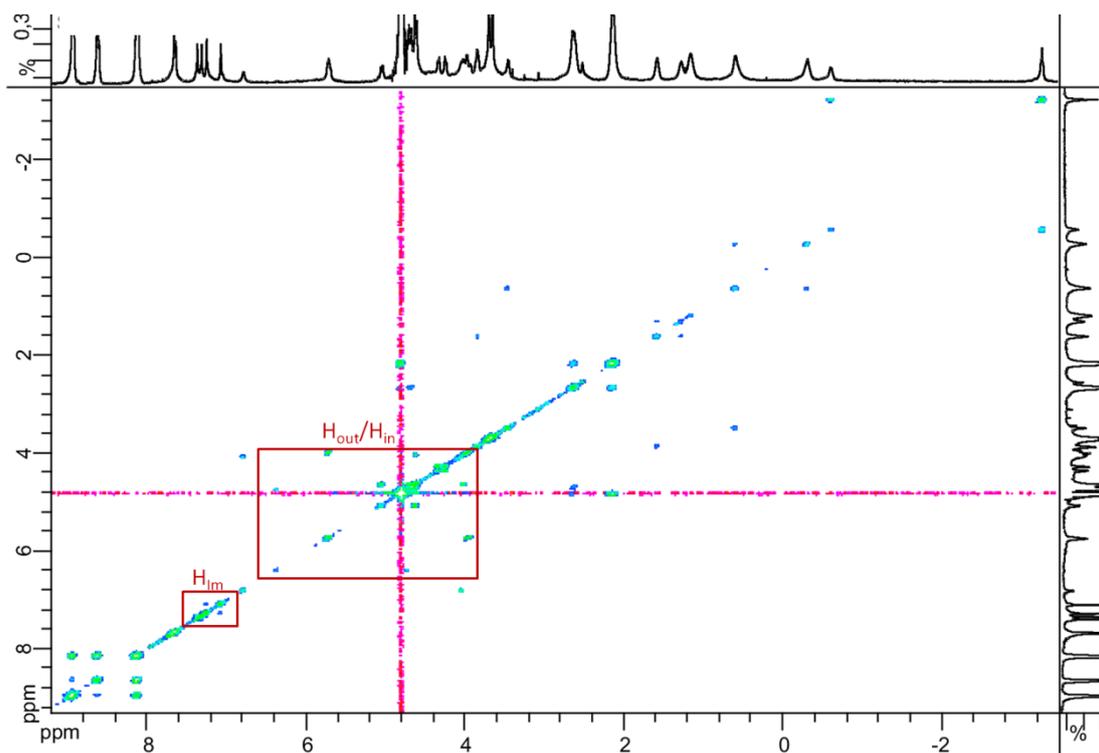


Figure 196 : Spectre COSY (D₂O, 300 K, 500 MHz) entier des Figures 131 et 132. WRim₄Zn (3,5 mM) en présence de 1,4 equiv. C6P à pD = 7,4.

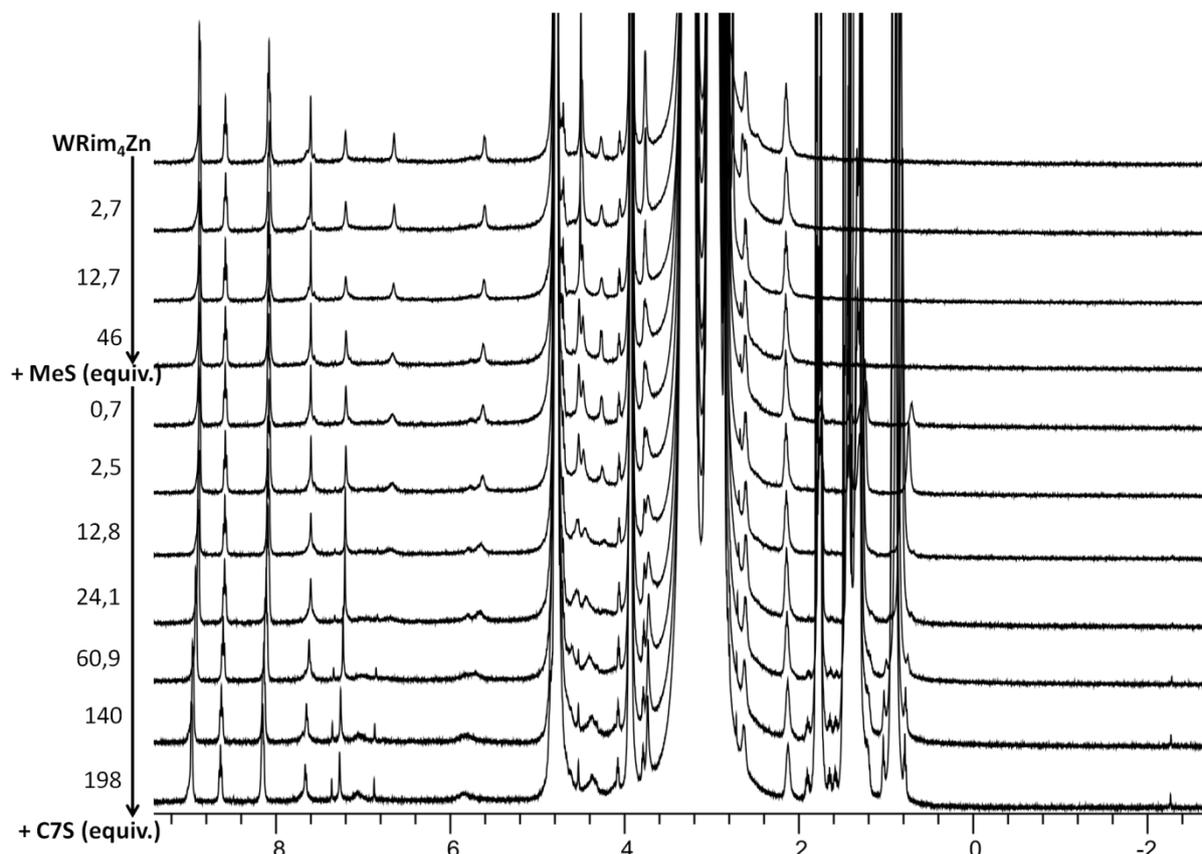


Figure 197 : Spectres RMN ¹H (D₂O, 300 K, 500 MHz) entiers de la Figure 138. Dosage par addition de méthanesulfonate (MeS) puis d'heptanesulfonate (C7S) à WRim₄Zn (1 mM) à pD = 7,4 (tampon HEPES 100 mM).

IV. Figures ITC – chapitre 3

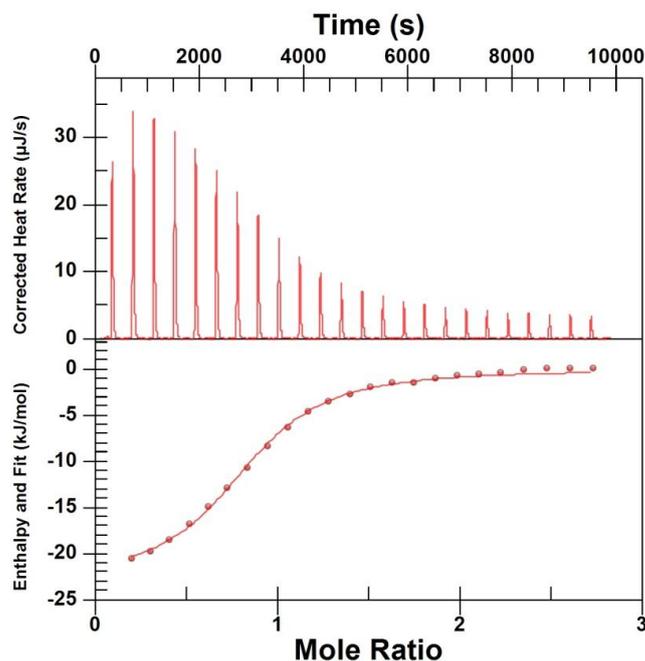


Figure 198 : Dosage ITC présenté sur la Figure 90. Etude de la complexation de l'acétylacétone (5 mM) par MRim₄Zn (0,5 mM, DPC 20 mM) à pH = 7 (tampon HEPES 50 mM) par ITC. Les paramètres thermodynamiques associés à la complexation sont : $K' = (3 \pm 1) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, $\Delta H^{0'} = -23 \pm 3 \text{ kJ/mol}$, $\Delta S^{0'} = 8,2 \pm 1,0 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$, $n = 0,8$.

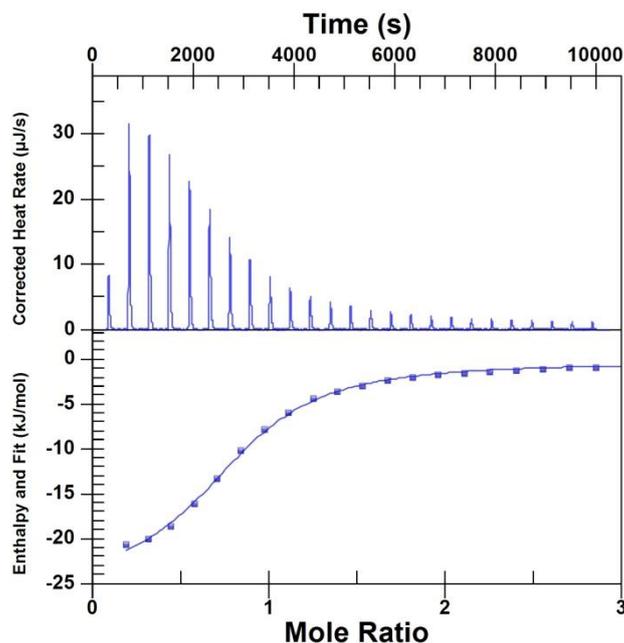


Figure 199 : Dosage ITC présenté sur la Figure 90. Etude de la complexation de l'acétylacétone (5 mM) par WRim₄Zn (0,5 mM) à pH = 7 (tampon HEPES 50 mM) par ITC. Les paramètres thermodynamiques associés à la complexation sont : $K' = (5 \pm 1) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, $\Delta H^{0'} = -20 \pm 1 \text{ kJ/mol}$, $\Delta S^{0'} = 7 \pm 1 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$, $n = 0,7$.

V. Figures ITC – chapitre 4

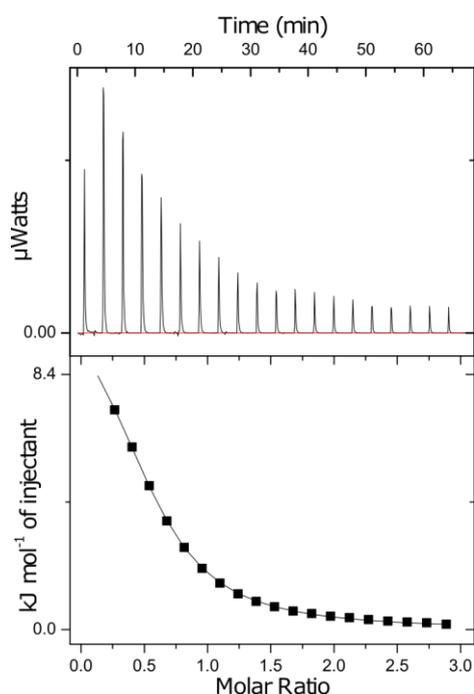


Figure 200 : Dosage ITC présenté sur la Figure 116. Etude de la complexation de C3P (15 mM) par WRim₄Zn (1 mM) par ITC (à 293 K) en milieu tamponné (HEPES 100 mM, pH = 7). Les paramètres thermodynamiques associés à la complexation sont : $K' = (3,9 \pm 1,4) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$, $\Delta H^{0'} = 15 \pm 4 \text{ kJ/mol}$, $\Delta S^{0'} = 111 \pm 11 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$, $n = 0,5$.

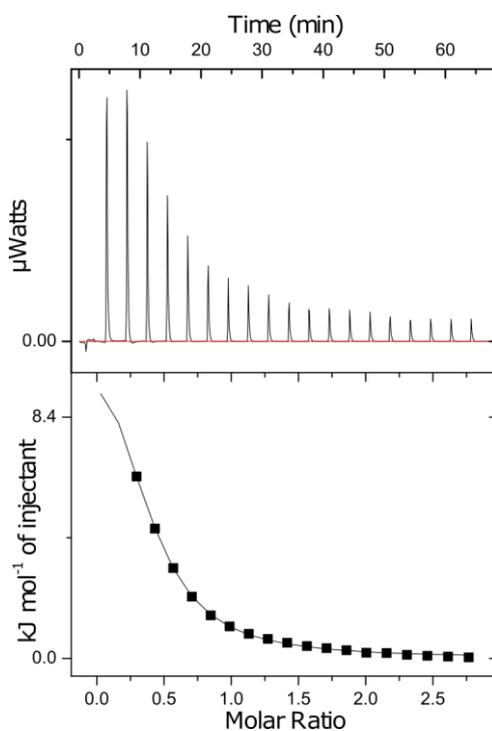


Figure 201 : Dosage ITC présenté sur la Figure 116. Etude de la complexation de C4P (15 mM) par WRim₄Zn (1 mM) par ITC (à 293 K) en milieu tamponné (HEPES 100 mM, pH = 7). Les paramètres thermodynamiques associés à la complexation sont : $K' = (5,0 \pm 1,4) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$, $\Delta H^{0'} = 11,5 \pm 0,2 \text{ kJ/mol}$, $\Delta S^{0'} = 110 \pm 3 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$, $n = 0,6$.

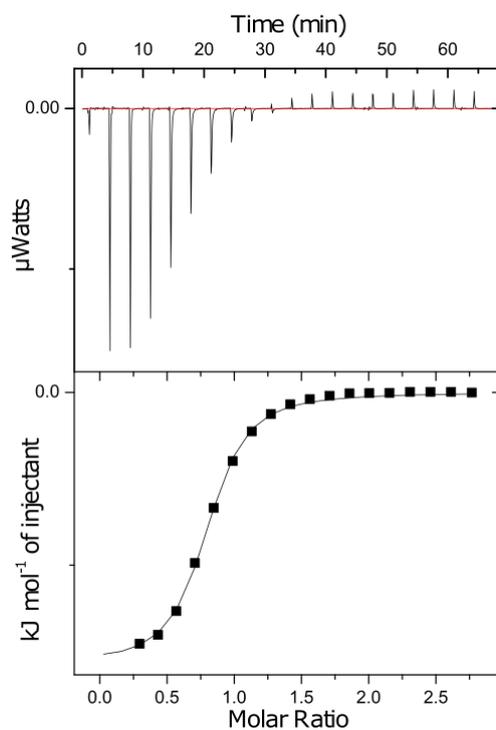


Figure 202 : Dosage ITC présenté sur la Figure 116. Etude de la complexation de C6P (15 mM) par WRim₄Zn (1 mM) par ITC (à 293 K) en milieu tamponné (HEPES 100 mM, pH = 7). Les paramètres thermodynamiques associés à la complexation sont : $K' = (3,6 \pm 0,1) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, $\Delta H^{0'} = -6,2 \pm 0,5 \text{ kJ/mol}$, $\Delta S^{0'} = 66 \pm 2 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$, $n = 0,8$.