



HAL
open science

Dynamique moléculaire de canaux d'eau synthétiques auto-assemblés

Arthur Hardiagon

► **To cite this version:**

Arthur Hardiagon. Dynamique moléculaire de canaux d'eau synthétiques auto-assemblés. Chimie-Physique [physics.chem-ph]. Université Paris Cité, 2022. Français. NNT: 2022UNIP5257. tel-04294715

HAL Id: tel-04294715

<https://theses.hal.science/tel-04294715v1>

Submitted on 20 Nov 2023

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 Cité

ED Médicament, Toxicologie, Chimie, Imageries (563)

Institut de Biologie Physico-Chimique
Laboratoire de Biochimie Théorique (UPR 9080)

Dynamique moléculaire de canaux d'eau synthétiques auto-assemblés

Par Arthur HARDIAGON

Thèse de doctorat de chimie physique

Dirigée par Fabio Sterpone
Et par Marc Baaden

Présentée et soutenue publiquement le 6 décembre 2022

Devant un jury composé de :

Magali DUVAIL	DR	CEA	Rapporteur
Rachel SCHURHAMMER	PU	UNIVERSITÉ DE STRASBOURG	Rapporteur
Catherine ETCHEBEST	PU	UNIVERSITÉ PARIS CITÉ	Examinateur
Sophie MARBACH	CR	SORBONNE UNIVERSITÉ	Examinateur
Fabio STERPONE	DR	UNIVERSITÉ PARIS CITÉ	Directeur de thèse
Marc BAADEN	DR	UNIVERSITÉ PSL	Co-directeur de thèse
Mihail BARBOIU	DR	UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER	Invité
Samuel MURAIL	MCF	UNIVERSITÉ PARIS CITÉ	Invité



REMERCIEMENTS

J'aimerais remercier les membres de mon jury pour avoir si gentiment accepté d'évaluer mon travail : Magali Duvail, Catherine Schurhammer, Rachel Etchebest et Sophie Marbach. J'aimerais remercier particulièrement mes directeurs de recherche Fabio Sterpone et Marc Baaden. Ils m'ont accueilli dans un moment critique de ma vie où j'ai décidé de me consacrer à la recherche plus qu'à l'enseignement, sans trop savoir où j'allais. Toujours bienveillants, ils m'ont fait confiance depuis le début. Leurs approches étaient très complémentaires et cela fonctionnait très bien avec ma façon de travailler.

Je remercie Mihail Barboiu pour les précieux échanges ainsi que les membres de l'équipe et collaborateurs de l'IEM à Montpellier : Libo Huang, Dmytro Strilets, Romain Dupuis et Iuliana Andrei. C'était très enrichissant et très productif d'avoir autant de matière nouvelle sur laquelle travailler. Je remercie également Marco Maccarini pour m'avoir permis de participer aux séries d'expériences faites au synchrotron à Grenoble. Je remercie vivement Samuel Murail pour m'avoir transmis ses connaissances du domaine, ses données ainsi que ses codes d'analyse, ce qui m'a permis de rentrer rapidement dans le vif du sujet.

Merci aux membres de l'École Doctorales MTCI et aux représentants des doctorants pour m'avoir aidé dans les démarches administratives. Merci à Vincent Lacoste et Damien Laage de mon comité de suivi de thèse pour le temps qu'ils ont pu m'accorder, leur aimabilité et leur précieux retours.

Je remercie Victoria pour sa gentillesse, son côté humain et sa bonne humeur. Merci à Geoffrey, Yves, Benoist et Hubert de m'avoir aidé à résoudre les problèmes techniques rencontrés au cours de ces trois années. Je remercie tous les gens du LBT qui ont pu apporter un regard critique sur mon travail lors des séminaires du labo, ainsi que tous les étudiants qui m'ont accompagné lors de mon passage au LBT. Je pense notamment à Antoine Gage-
lin pour ses conseils d'expert en programmation et pour son esprit clair et pragmatique. Je remercie spécialement Sujith et Mario de m'avoir aidé dans les démarches administratives finales. Un grand merci à tous les étudiants et post-docs avec qui j'ai pu partagé des idées, scientifiques, politiques et culturelles en tout genre, lors des repas du midi et soirées passées dans la bonne humeur.

Un grand merci à ma famille et à mes amis qui m'apportent leur soutien sous toutes les formes. Merci à ma sœur Manon pour tes conseils. Merci à Gaëlle pour avoir su m'accompagner et me rassurer dans les moments difficiles. Merci au groupe Cabaret Gandaia et à tous ses membres : jouer la trompette avec vous me stimule et me fortifie l'esprit !

Enfin, je remercie la personne la plus chère à mon cœur, ma merveilleuse épouse Marina, qui sait tout sur moi, qui me rassure, me fait confiance et m'accompagne depuis toujours dans mes choix de vie. Je te dédie ce manuscrit avec plein d'amour, obrigado !

RÉSUMÉ

L'accès à une eau saine pour l'agriculture et l'alimentation est un des enjeux majeurs des prochaines décennies pour l'avenir de l'humanité. Afin d'utiliser à moindre coût l'eau de mer présente en grande quantité sur la planète, les membranes actuelles de désalinisation nécessitent des améliorations technologiques. La synthèse chimique apporte des solutions biomimétiques comme les canaux d'eau artificiels pour façonner les membranes de demain. Depuis une dizaine d'années, nos collaborateurs du laboratoire de l'Institut Européen des Membranes, M. Barboiu et al. ont développé une grande variété de systèmes chimiques, à la fois capable d'auto-assemblage dans les membranes lipidiques/polymériques et égalant, voire surpassant la perméabilité/sélectivité des aquaporines naturelles. Tandis que les avancées en ingénierie chimique se multiplient, les mécanismes sous-jacents de transport et de stabilité des assemblages à l'échelle nanométrique restent mal compris au niveau théorique. Dans cette thèse, nous avons utilisé des données de cristallographie et des simulations de dynamique moléculaire afin de déterminer le lien entre la structure et la perméabilité en eau d'assemblages de molécules amphiphiles. Nous avons étudié l'effet de certains paramètres de simulation comme le champ de force, la taille initiale des assemblages et l'échantillonnage des conditions initiales sur la stabilité et la perméabilité des canaux. Sous certaines conditions, nous avons observé la relaxation de la forme hypothétique cristalline vers une phase éponge plus désordonnée. Enfin, nous avons également caractérisé la structure des agrégats moléculaires dans les mélanges eau-éthanol afin d'explorer les mécanismes à l'origine de la dispersion des nanoparticules observée expérimentalement dans les membranes polymériques. Des prédictions sur la structure et la dynamique de ces composés pourront être vérifiées au travers d'expériences de caractérisation des matériaux.

Titre : Dynamique moléculaire de canaux d'eau synthétiques auto-assemblés

Mots-clés : dynamique moléculaire, canaux d'eau artificiels, perméabilité, membrane lipidique, agrégation

ABSTRACT

Access to clean water for agriculture and food is one of the major challenges for the future of humanity in the coming decades. In order to use at lower cost the sea water present in large quantities on the planet, the current desalination membranes require technological improvements. Chemical synthesis provides biomimetic solutions such as artificial water channels to shape the membranes of tomorrow. Over the past decade, our collaborators at the European Membrane Institute laboratory, M. Barboiu et al. have developed a wide variety of chemical systems, both capable of self-assembly in lipid/polymeric membranes and matching or exceeding the permeability/selectivity of natural aquaporins. While advances in chemical engineering are multiplying, the underlying mechanisms of transport and stability of nanoscale assemblies remain poorly understood at the theoretical level. In this thesis, we used crystallographic data and molecular dynamics simulations to determine the link between the structure and water permeability of amphiphilic molecular assemblies. We investigated the effect of certain simulation parameters such as the force field, the initial assembly size, and the sampling of initial conditions on the stability and the permeability of the channels. Under certain conditions, we observed the relaxation of the hypothetical crystalline form to a more disordered *sponge-like* form. Finally, we also characterized the structure of molecular aggregates in water-ethanol mixtures to explore the mechanisms behind the experimentally observed dispersion of these nanoparticles in polymeric membranes. Predictions on the structure and dynamics of these compounds can be verified through material characterization experiments.

Title : Molecular dynamics of self-assembled artificial water channels

Keywords : molecular dynamics, artificial water channels, permeability, lipid membrane, aggregation

TABLE DES MATIÈRES

Résumé	5
Abstract	7
Liste des figures	13
Liste des tableaux	15
Liste des abréviations	17
Liste des publications	21
1 Simulations Moléculaires de canaux artificiels : un état de l'art	23
1.1 Introduction	24
1.1.1 Filtration et localisation du problème	24
1.1.2 Considérations théoriques	25
1.1.3 Les canaux nanométriques	27
1.1.4 Caractérisation de la permselectivité des canaux	28
1.2 S'inspirer de la Nature	30
1.2.1 Les aquaporines	30
1.2.2 Fil d'eau et perméabilité	31
1.2.3 Mesure de la perméabilité osmotique des membranes in-silico	34
1.2.4 Application aux nanotubes de carbone	35
1.2.5 Les membranes hybrides	36
1.3 À la recherche de matériaux nouveaux pour le transport sub-nanométrique de l'eau	39
1.3.1 Stratégie globale	39
1.3.2 Les canaux d'eau artificiels	40
1.3.3 Bilan	49

2 Méthodes	55
2.1 Génération des données par Dynamique Moléculaire	56
2.1.1 Introduction	56
2.1.2 Champ de Force	56
2.1.3 Principe de la Dynamique Moléculaire	61
2.1.4 Contraintes et Sites virtuels	62
2.1.5 Contrôle de la température	62
2.1.6 Contrôle de la pression	64
2.1.7 Conditions aux limites périodiques	66
2.1.8 Protocole de travail	66
2.2 La méthode REST2	68
2.3 Analyse des données	70
2.3.1 Fonction de Distribution Radiale	70
2.3.2 RMSD	70
2.3.3 Clustering de structures	71
2.3.4 Clustering Spatial	72
2.3.5 Diamètre des canaux	74
2.3.6 Comptage des perméations	75
3 Canaux Bio-inspirés : Expériences et Simulations	79
3.1 Contexte Général	80
3.2 Approche biomimétique de canaux d'eau artificiels sélectifs par des dimères Pillar[5]arènes tubulaires.	82
3.2.1 Résumé	82
3.2.2 Article	83
3.2.3 Informations Supplémentaires	91
3.3 Utiliser des simulations numériques et la réalité virtuelle pour comprendre, concevoir et optimiser les canaux d'eau artificiels	94
3.3.1 Résumé	94
3.3.2 Article	94

3.4	Chemins d'eau adaptatifs et perméation désordonnée dans les <i>hydroxychannels</i>	118
3.4.1	Résumé	118
3.4.2	Article	118
3.4.3	Informations supplémentaires	130
3.5	Discussion	140
4	Effet de taille et dépendances aux modèles moléculaires	141
4.1	Contexte : L'hypothèse du cristal - Canaux <i>Imidazole</i>	142
4.2	Résultats	142
4.3	Stabilité et structure de canaux artificiels autoorganisés dans les bicouches lipidiques	144
4.4	Mécanismes microscopiques et statistiques de transport d'eau de canaux artificiels membranaires révélés par Dynamique Moléculaire	155
4.5	Discussion	173
5	Agrégation en solution	175
5.1	Contexte	176
5.2	Précurseurs et agrégats <i>sponge-like</i> dans les mélanges eau-éthanol	177
5.2.1	Résumé	177
5.2.2	Article	177
5.2.3	Informations Supplémentaires	187
5.3	Résultats et Discussion	202
6	Discussion et Conclusion	203
6.1	Structure des canaux auto-organisés	204
6.2	Auto-assemblage et stabilité	207
6.3	Validation des modèles théoriques	210
6.4	Structure des AWCs dans d'autres milieux	212
6.5	Conclusion générale	215
	Bibliographie	228

LISTE DES FIGURES

1.1	Technologies de désalinisation	24
1.2	Échelles de filtration	25
1.3	Osmose	26
1.4	Compromis perméabilité-sélectivité	27
1.5	Effets stérique/diffusif	28
1.6	Caractérisations expérimentales	29
1.7	Aquaporines naturelles et synthétiques	31
1.8	Perméation osmotique et liaisons hydrogène	33
1.9	Pression hydrostatique	34
1.10	Distribution asymétrique des ions	35
1.11	Technologies de membranes hybrides	37
1.12	Potentiel des membranes hybrides	39
1.13	Canaux PAP	41
1.14	Simulations de canaux PAP énantiomères	43
1.15	Canaux unimoléculaires PAH	44
1.16	Canaux <i>I-quartets</i>	45
1.17	Dynamique Moléculaire de canaux d' <i>I-quartets</i>	46
1.18	<i>Aquafoldamères</i>	47
1.19	<i>Peptide-diol</i>	48
1.20	Cages Poreuse POC	50
2.1	Énergie potentielle	57
2.2	Modèles explicites d'eau	60
2.3	Atomes Virtuels	62
2.4	Déformation de la boîte	65
2.5	Conditions aux limites périodiques	66
2.6	Protocole des simulations	67
2.7	Préparation d'un nanocristal dans une membrane lipidique.	67

2.8	Méthode REST2	69
2.9	Fonction de distribution radiale	71
2.10	Clustering Gromos	72
2.11	Clustering DBSCAN	73
2.12	Méthode de double numérotation	73
2.13	Méthodes et performances	74
2.14	Algorithme HOLE	75
2.15	Comptage des perméations	76
2.16	Nombre de perméations et durée d'échantillonnage	78
3.1	Résumé illustré : étude d'un composé PAD	81
3.2	Résumé illustré : étude d'un composé <i>hydroxychannel</i>	82
4.1	Résumé illustré : étude du champ de force	143
4.2	Résumé illustré : étude des effets de taille	144
6.1	Simulations dans les conditions d'osmose directe	206
6.2	Auto-assemblage et champ de force	208
6.3	Effets combinés de champs de force	209
6.4	Charges partielles, géométrie et stabilité	210
6.5	Hypothèses et vérifications expérimentales	212
6.6	Diffraction aux rayons X sur les membranes supportées	213
6.7	Procédé de polymérisation interfaciale	213
6.8	Performance d'une membrane AWCs-PA	214
6.9	Simulations de DM dans d'autres milieux	215

LISTE DES TABLEAUX

1.1	Prédictions de performance de membranes de nanotubes	36
1.2	Performance de membranes biomimétiques	38
1.3	Résultats expérimentaux et résultats de simulation de AWCs	52
1.4	Suite du tableau 1.3.	53
2.1	Facteurs d'échelles des interactions 1-4 utilisés dans les champs de force .	58
2.2	Paramétrisation et propriétés physiques de modèles moléculaires d'eau . .	61
6.1	Énergie libre d'hydratation de quelques molécules	211

LISTE DES ABRÉVIATIONS

- AAQP** Artificial AQuaPorin.
- ADN** Acide DesoxyriboNucléique.
- AFM** Atomic Force Microscopy.
- AMBER** Assisted Model Building with Energy Refinement.
- AQP** AQuaPorin.
- ASW** Aquaporin Sea Water.
- AWC** Artificial Water Channel.
- BCC** Bond Charge Correction.
- BCP** Block CoPolymer.
- BWRO** Brackish Water Reverse Osmosis.
- CGenFF** CHARMM General Force Field.
- CHARMM** Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics.
- CINES** Centre Informatique National de l'Enseignement Supérieur.
- CLR** Compound(Channel) to Lipid Ratio.
- CNT** Carbon NanoTube.
- CP** Concentration Polarization.
- CPU** Central Processing Unit.
- cryo-EM** Cryo-Electron Microscopy.
- cryo-TEM** Cryo-Transmission Electron Microscopy.
- CTA** 1,3,5-cyclohexanetricarboxamide.
- CTRW** Continuous-Time Randow Walk.
- DBSCAN** Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise.
- DFT** Density Functional Theory.
- DM** Dynamique Moléculaire.
- DOPC** 1,2-Dioleoyl-sn-Glycero-3-Phosphocholine.
- DSC** Differential Scanning Calorimetry.
- ERSF** European Synchrotron Radiation Facility.
- ESP** ElectroStatic Potential.
- FF** Force Field.
- FO** Forward Osmosis.
- FTIR** Fourier Transform InfraRed spectroscopy.
- gA** Grammicidine A.

GAFF General Amber Force Field.

GENCI Grand Équipement National de Calcul Intensif.

GI-SAXS Grazing Incidence Small Angle X-ray Scattering.

GO Graphene Oxyde.

GPU Graphical Processing Unit.

GROMACS GRoningen MACHine for Chemical Simulation.

GUI Graphical User Interface.

HF Hartree-Fock (theory).

IDRIS Institut du Développement et des Ressources en Informatique Scientifique.

IEM Institut Européen des Membranes.

IR InfraRed.

LJ Lennard-Jones (potential).

LMH Liter per Meter square per Hour.

LSBU London South Bank University.

MD Molecular Dynamics.

mLCR molar Lipid to Channel Ratio.

MMFF Merck Molecular Force Field.

MMS Mixed Matrix Substrate.

MPD m-phenylenediamine.

MPI Message Passing Interface.

NF NanoFiltration (technology).

OPLS Optimized Potentials for Liquid Simulations.

OPMF Outer Membrane Porin F.

PA PolyAmide.

PAD peralkyl-carboxylate-pillar[5]arenes.

PAH hydrazide-appended pillar[5]arene.

PAP peptide-appended pillar[5]arene.

PES PolyEtherSulfone.

PME Particle Mesh Ewald.

PMF Potential of Mean Force.

POC Porous Organic Cage.

POPC 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine.

PS 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phospho-L-serine.

QM Quantum Mechanics.

QQ electrostatic (rescaling factor).

RDF Radial Distribution Function.

REMD Replica Exchange Molecular Dynamics.

RESP Restraint ElectroStatic Potential.

REST Replica Exchange Solute Tempring.

RMSD Root Mean Square Deviation.

RO Reverse Osmosis.

SANS Small Angle Neutron Scattering.

SAXS Small Angle X-ray Scattering.

SLN Surface Located Nanocomposite.

SPC/E Extended Simple Point Charge (water model).

STD Steered Molecular Dynamics.

SWRO SeaWater Reverse Osmosis.

TFC Thin-Film Composite (membranes).

TFN Thin-Film Nanocomposite (membranes).

TGCC Très Grand Centre de Calcul du CEA.

TIP3P Transferable Intermolecular Potential with Three Points.

TMC TryMesoylChloride.

TraPPE Transferable Potentials for Phase Equilibria.

UF UltraFiltration (technology).

UV UltraViolet.

VDW Van Der Waals.

VIS Virtual Interaction Site.

VMD Visual Molecular Dynamics.

XRPD X-Ray Power Diffraction.

XRR X-Ray Reflectometry.

LISTE DES PUBLICATIONS

(1) HARDIAGON, A. ; BAADEN, M. ; STERPONE, F. Artificial Water Channels Form Precursors to Sponge-Like Aggregates in Water–Ethanol Mixtures. *The Journal of Physical Chemistry A* **2022**, *126*, 6628-6636, DOI : [10.1021/acs.jpca.2c04545](https://doi.org/10.1021/acs.jpca.2c04545)

(2) HARDIAGON, A. ; MURAIL, S. ; HUANG, L.-B. ; van der LEE, A. ; STERPONE, F. ; BARBOIU, M. ; BAADEN, M. Molecular dynamics simulations reveal statistics and microscopic mechanisms of water permeation in membrane-embedded artificial water channel nanoconstructs. *The Journal of Chemical Physics* **2021**, *154*, 184102, DOI : [10.1063/5.0044360](https://doi.org/10.1063/5.0044360)

(3) HUANG, L.-B. ; HARDIAGON, A. ; KOCSIS, I. ; JEGU, C.-A. ; DELEANU, M. ; GILLES, A. ; van der LEE, A. ; STERPONE, F. ; BAADEN, M. ; BARBOIU, M. Hydroxy Channels–Adaptive Pathways for Selective Water Cluster Permeation. *Journal of the American Chemical Society* **2021**, *143*, 4224-4233, DOI : [10.1021/jacs.0c11952](https://doi.org/10.1021/jacs.0c11952)

(4) STRILETS, D. ; FA, S. ; HARDIAGON, A. ; BAADEN, M. ; OGOSHI, T. ; BARBOIU, M. Biomimetic Approach for Highly Selective Artificial Water Channels Based on Tubular Pillar[5]arene Dimers. *Angewandte Chemie International Edition* **2020**, *59*, 23213-23219, DOI : <https://doi.org/10.1002/anie.202009219>

(5) HARDIAGON, A. ; MURAIL, S. ; HUANG, L. ; BARBOIU, M. ; STERPONE, F. ; BAADEN, M. in *New Trends in Macromolecular and Supramolecular Chemistry for Biological Applications*, J.M. ABADIE, M., PINTEALA, M., ROTARU, A., éd. ; Springer International Publishing : Cham, 2021, p. 51-63, DOI : [10.1007/978-3-030-57456-7_3](https://doi.org/10.1007/978-3-030-57456-7_3)

(6) MARTINEZ, X. ; HARDIAGON, A. ; SANTUZ, H. ; MURAIL, S. ; BARBOIU, M. ; STERPONE, F. ; BAADEN, M. in *Advances in Bionanomaterials II*, sous la dir. de PIOTTO, S. ; CONCILIO, S. ; SESSA, L. ; ROSSI, F., Springer International Publishing : Cham, 2020, p. 78-99, DOI : [10.1007/978-3-030-47705-9_8](https://doi.org/10.1007/978-3-030-47705-9_8)

SIMULATIONS MOLÉCULAIRES DE CANAUX ARTIFICIELS : UN ÉTAT DE L'ART

*Je me suis rarement endormi sans lire
quelque chose et, chaque jour qui passe,
je continue à apprendre, comme si
j'allais vivre encore mille ans.*

– Charles Aznavour

1.1	Introduction	24
1.1.1	Filtration et localisation du problème	24
1.1.2	Considérations théoriques	25
1.1.3	Les canaux nanométriques	27
1.1.4	Caractérisation de la permsélectivité des canaux	28
1.2	S'inspirer de la Nature	30
1.2.1	Les aquaporines	30
1.2.2	Fil d'eau et perméabilité	31
1.2.3	Mesure de la perméabilité osmotique des membranes in- silico	34
1.2.4	Application aux nanotubes de carbone	35
1.2.5	Les membranes hybrides	36
1.3	À la recherche de matériaux nouveaux pour le transport sub- nanométrique de l'eau	39
1.3.1	Stratégie globale	39
1.3.2	Les canaux d'eau artificiels	40
1.3.3	Bilan	49

1.1 Introduction

L'accès à une eau saine pour l'agriculture et l'alimentation est un des enjeux majeurs des prochaines décennies pour l'Homme. L'augmentation rapide de la population mondiale entraîne entre autres la raréfaction en eau exploitable des ressources hydriques actuelles [7]. En 2030, on estime que la demande en eau surpassera de 40% l'offre actuelle. 98% des réserves d'eau de la planète étant sous forme salée dans les océans, il est naturel de se tourner vers la désalinisation de l'eau de mer. Parmi les technologies actuelles de désalinisation, l'électrodialyse semble à la fois peu coûteuse et peut fournir une capacité importante d'eau filtrée, cependant c'est la technologie d'Osmose Inverse (RO) qui est la plus répandue (Figure 1.1). Avec une consommation énergétique pouvant atteindre $4,4 \text{ kWh/m}^3$, et des rejets de dioxyde de carbone liés à l'usage encore fréquent de combustibles fossiles, l'amélioration des performances des membranes utilisées dans les stations RO reste un des aspects majeurs pour légitimer son utilisation à grande échelle [8].

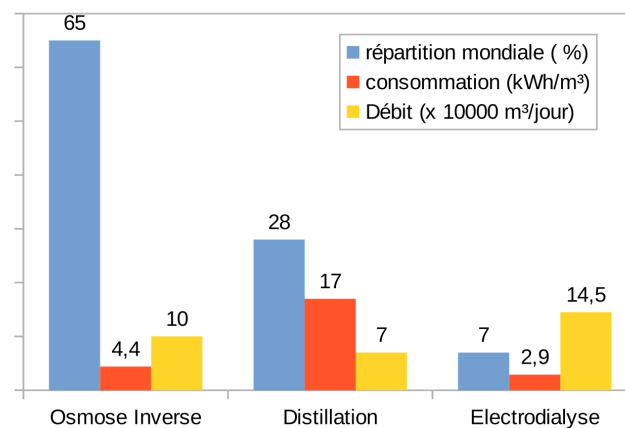


FIGURE 1.1 – Technologies actuelles de désalinisation, consommation énergétique et capacité de production. Données extraites d'estimations maximales issues de [9].

1.1.1 Filtration et localisation du problème

Le sujet qui nous intéresse dans cette thèse traite de la filtration de l'eau liquide par l'utilisation d'une membrane. Une membrane est composée de plusieurs couches poreuses qui s'interposent entre le liquide à filtrer (*Feed Solution/Raw water*) et un milieu où se trouve la solution filtrée (*Permeate*). Le principe de la filtration est assez simple : comme dans une passoire ou un filtre à café, le liquide filtré au travers d'une membrane commerciale sera dépourvu de particules de tailles supérieures à la taille des pores de la membrane. Dans le commerce, la plupart des membranes sont produites à base de matériaux polymères dont la taille des pores est facilement ajustable suivant le niveau de résistance mécanique et la porosité requise. Les procédés de filtration liquide peuvent ainsi être déclinés suivant l'échelle

de taille des particules-cibles en suspension dans l'eau (Figure 1.2). Les membranes sont principalement caractérisées par : le rejet de certaines substances, lié à ce qu'on désignera par la suite **sélectivité**, et la quantité d'eau obtenue par heure, lié à ce qu'on définira comme **perméabilité** de l'eau.

Dans le problème de la désalinisation qui nous intéresse plus particulièrement, le processus de filtration est sensiblement différent : les membranes ne sont plus considérées comme étant poreuses, et la diffusion d'espèces chimiques se fait par une modification locale de la matière, sous l'effet conjoint de champ externe (pression hydrostatique, pression osmotique, champ électrique) et de l'agitation thermique dominant non négligeable à ces échelles de taille. Dans la section suivante, nous détaillons les phénomènes de transport dans les membranes dites semi-perméables.

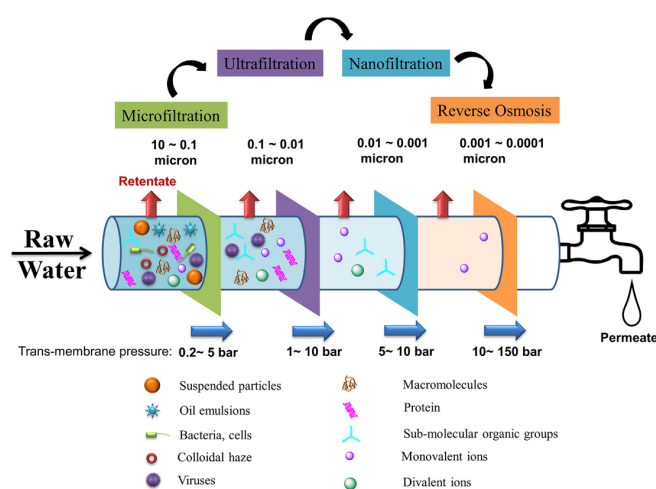


FIGURE 1.2 – Spectre des processus actuels de filtration en chimie et indiquant la taille des particules cibles. Figure reproduite à partir de [9].

1.1.2 Considérations théoriques

L'osmose

En été, en présence de fortes chaleurs, le sens commun veut qu'on s'hydrate rapidement à l'aide d'une boisson fraîche. Cependant boire un soda ou un verre d'eau n'aura pas le même effet sur l'hydratation des cellules de votre corps. Les mouvements d'eau à travers les membranes des cellules du corps humain sont reliés au phénomène plus général dit d'*osmose* (Figure 1.3a).

Prenons comme exemple théorique, deux compartiments d'eau dont l'un est peu salé ou peu sucré (compartiment de droite) et l'autre très salé ou très sucré (compartiment de gauche) et séparés par une membrane semi-perméable (Figure 1.3b). Cette dernière a la propriété de laisser passer les petites molécules d'eau et retient les molécules de sucre ou les ions, comme les ions sodium Na^+ et Cl^- hydratés.

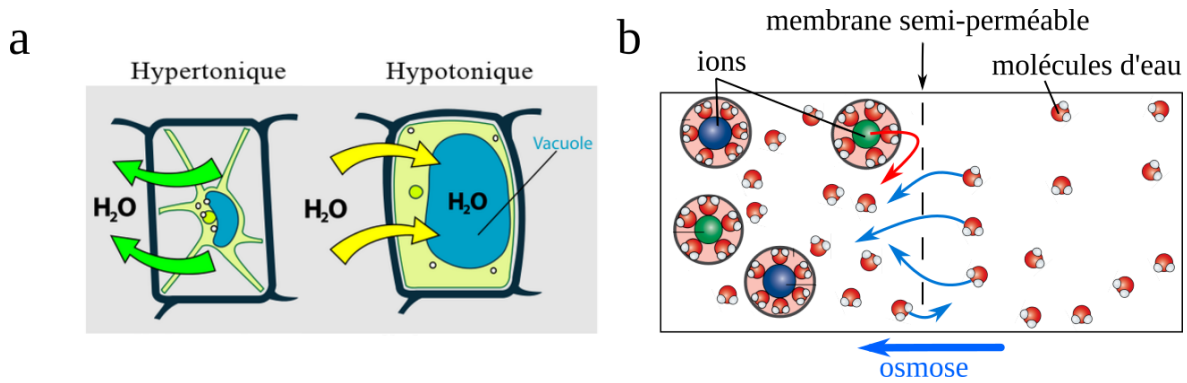


FIGURE 1.3 – L’osmose a) Effet d’osmose dans les cellules biologiques : une cellule se vide (resp. se gonfle) d’eau si le milieu extérieur est pauvre/hypertonique (resp. riche/hypotonique) en substances dissoutes. Source : Fondation. b) Illustration du phénomène d’osmose : l’eau se déplace du compartiment de droite (peu concentré en sel sous forme ionique) vers le compartiment de gauche (plus concentré en sel).

Dans ces conditions, le compartiment de droite se vide spontanément de son eau et le système évoluera vers un état d’équilibre. La pression qui agit sur les molécules d’eau et qui favorise le déplacement vers la gauche est appelée pression osmotique et son expression est donnée par la loi de Van’t Hoff :

$$\Delta\Pi = k_B T \Delta C \quad (1.1)$$

où $k_B T$ est l’énergie thermique à la température T du liquide et ΔC est la différence de concentration en chlorure de sodium entre les deux compartiments. Une interprétation thermodynamique courante est de penser les molécules de soluté (les ions) comme des particules sans interactions (solution diluée), elles exercent donc une pression négative sur les bords des compartiments équivalente à la pression d’un gaz parfait dans une enceinte, c’est-à-dire proportionnelle à la densité volumique de particules, conformément à l’équation d’état des gaz parfaits [10].

Si vous remplacez le sel par du sucre, vous retrouvez la situation qui s’apparente aux cellules de votre intestin lorsque vous buvez trop de soda. L’eau présente dans les cellules tapissant la paroi de l’intestin traversera les membranes des cellules pour se retrouver ensuite dans les selles, accélérant ainsi à la déshydratation du corps.

Notons que certaines membranes dites d’osmose directe (FO) sont commercialisées et peuvent être couplées aux membranes dont nous allons parler dans le prochain paragraphe.

L’osmose inverse

Maintenant, imaginons que dans la situation de la figure 1.3, on applique une certaine pression sur le compartiment de gauche, les molécules d’eau vont pouvoir se déplacer dans le compartiment de droite et les ions resteront bloqués par la membrane. C’est le principe de l’osmose inverse (RO) utilisées dans les membranes évoquées dans l’introduction.

En utilisant la théorie d'Onsager et en se plaçant dans l'approximation d'un écoulement fluide de particules, on peut exprimer le flux d'eau à travers la membrane [11, 12] selon :

$$J = L_p(\Delta P - \sigma \Delta \Pi) \quad (1.2)$$

où ΔP est la pression hydrostatique appliquée, $\Delta \Pi$ la pression osmotique de la loi de Van't Hoff, L_p la perméabilité de la membrane en absence de gradient de concentration, et σ est le coefficient de rejet caractérisant la sélectivité de la membrane (égal à 0 si la membrane est complètement perméable aux ions, et égal à 1 si elle est complètement imperméable aux ions). Des modèles existent permettant de relier théoriquement L_p et σ aux caractéristiques géométriques des pores et à leur distribution spatiale. Cette approche a été validée par des données expérimentales [13-15] et montre qu'il existe une barrière théorique limitant les valeurs de perméabilité et de sélectivité des filtres dans le cas de l'ultrafiltration, où les interactions hydrodynamiques gouvernent le transport du solvant et des solutés. Dans le cas des membranes RO, les technologies actuelles de membranes à couches fines sélectives de composés polymériques (TFC) permettent actuellement de surpasser la limite atteinte par les membranes traitées au chlore (Figure 1.4). Cependant, les membranes TFC devraient bientôt atteindre leur niveau d'optimisation maximale basée sur des techniques avancées de polymérisation, laissant la porte ouverte à de nouvelles percées technologiques.

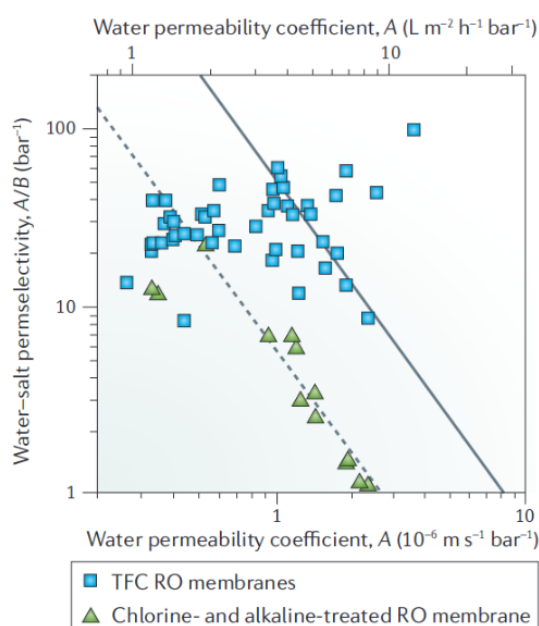


FIGURE 1.4 – Compromis perméabilité-sélectivité des membranes d'osmose inverse. A et B représentent les perméabilités en eau et en soluté (chlorure de sodium) dans les conditions de pression et de concentration en soluté utilisées en RO. Reproduite à partir de [16].

1.1.3 Les canaux nanométriques

Lorsqu'on s'intéresse à une échelle plus petite, où les dimensions des canaux sont du même ordre de grandeur que la taille des ions (ou du même ordre que la taille des ions

hydratés), il n'est plus possible de considérer la seule interaction stérique, car les effets de diffusion de l'eau dans ces milieux confinés prédominent. Pour dépasser les limites de perméabilité/sélectivité rencontrées dans la nanofiltration, il convient de trouver des systèmes à la fois très perméables à l'eau, et qui rejettent quasi-totalement les ions (voir Figure 1.5). Il convient tout d'abord de rappeler brièvement les techniques expérimentales utilisées dans le domaine pour caractériser ces matériaux.

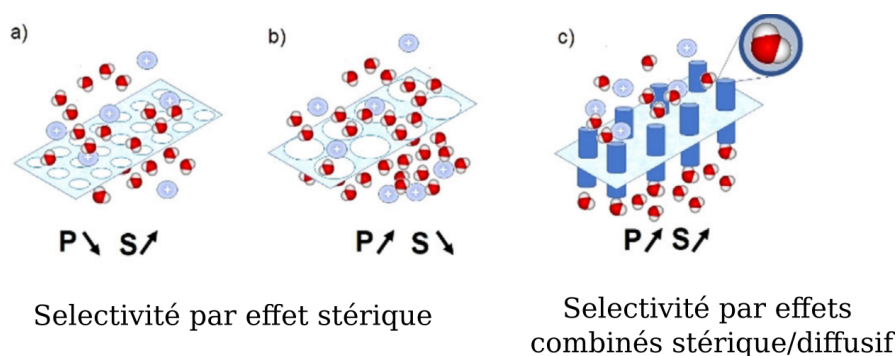


FIGURE 1.5 – Illustration des limites de la filtration stérique. Transport/rejet d'eau/ions à travers a,b) des membranes polymériques poreuses et c) des structures organisées en forme de canaux. Adaptée à partir de [17].

1.1.4 Caractérisation de la permsélectivité des canaux

Il existe une large gamme d'expériences permettant de caractériser par différentes approches la perméabilité et la sélectivité des matériaux synthésés. Les expériences portent sur plusieurs supports différents, les liposomes, les membranes lipidiques planes ou les membranes polymériques.

Les liposomes, vésicules de lipides de taille $\simeq 100nm$ obtenues en extrudant une suspension polydisperse d'un mélange lipide-composé constitue un environnement relativement facile à contrôler (Figure 1.6a). La perméabilité en eau par canal peut être déterminée en plusieurs étapes. Premièrement, on mesure la réponse du système à la diminution de la concentration ionique à l'extérieur du liposome (expériences dites de *stopped-flow*, voir Figure 1.6b). Le flux d'eau à travers la membrane du liposome générée par la pression osmotique se traduit par une augmentation du volume et de la taille des liposomes, mesurables par diffusion de la lumière. La quantité de canaux présents sur la surface d'un liposome n'est a priori pas connue. La détermination du nombre de canaux par vésicule est réalisable lorsque les molécules formant des canaux sont traçables en fluorescence. Les canaux sont dissous dans un détergent et le nombre de canaux moyen par vésicule est reliée au rapport entre les courbes d'auto-corrélation de fluorescence avant et après dissolution dans le détergent(Figure 1.6c).

Pour connaître la perméabilité des composés aux ions, il est possible également d'utiliser les expériences de *stopped-flow*. La pression osmotique peut être induite par une solution hypertonique dont le soluté ne peut pas être transporté à l'intérieur des liposomes (généralement une molécule plus grosse comme le sucre) ou par un changement du pH

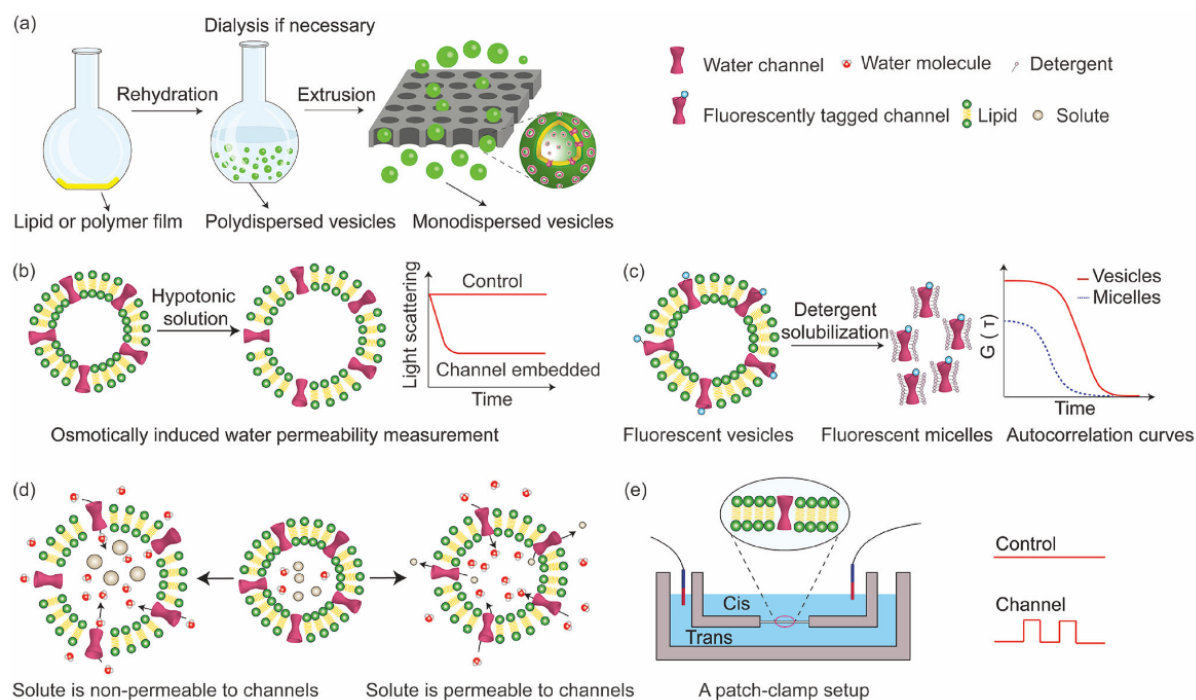


FIGURE 1.6 – Caractérisation expérimentale du transport de canaux biologiques ou synthétiques. (a) Obtention d'une solution de liposomes ou polymersomes monodisperses par rehydratation/extrusion d'un film initialement obtenu par un mélange en solution des constituants des canaux et de la membrane hôte. (b) Principe de mesure de la perméabilité en eau d'une liposome, par application d'un gradient de concentration ionique, puis diffusion de la lumière. (c) Principe de la détermination du taux d'insertion des canaux dans les liposomes par solubilisation des canaux dans un détergent et mesure de fluorescence. (d) Détermination indirecte du taux de rejet des ions dans les liposomes via la perméabilité en eau. Le passage des ions vers la solution hypotonique diminue la différence de pression osmotique entre les milieux intérieurs et extérieurs d'un liposome, moteur du transport d'eau. Si la membrane est perméable à un ion (situation de droite), la perméabilité en eau sera plus faible que dans le cas d'une membrane non perméable à un autre ion. Reproduite à partir de [18].

du milieu extérieur. La perméabilité des ions présents initialement dans les liposomes est alors obtenue indirectement en mesurant le débit d'eau à travers le liposome (Figure 1.6d). Pour mesurer les conductances ioniques par application d'un champ électrique, il est nécessaire d'utiliser un montage type *patch-Clamp* dans une configuration où la membrane est planaire (Figure 1.6e). Cette approche est particulièrement adaptée pour caractériser les protéines membranaires conduisant les ions et a été utilisée pour caractériser le rejet aux ions pour certains canaux artificiels [19].

1.2 S'inspirer de la Nature

Les avancées technologiques au cours des vingt dernières années dans le design de molécules synthétiques ont été inspirées par l'étude des systèmes naturels, comme les protéines membranaires. Le lien entre la structure moléculaire et les propriétés des protéines peut être explorée à l'aide de données de cristallographie et de modèles moléculaires. Avec l'augmentation de la puissance de calcul des cartes graphiques (GPU), la dynamique de ces systèmes peut être actuellement suivie à l'échelle atomique sur plusieurs microsecondes à l'aide de modèle de Dynamique moléculaire (DM). Nous démontrons dans cette thèse en quoi la modélisation est utile pour comprendre les propriétés de ces objets à l'échelle moléculaire. Le détail des modèles utilisés est donné dans la section 2.1.

1.2.1 Les aquaporines

Les systèmes de filtration d'eau à l'échelle moléculaire sont omniprésents dans les cellules des êtres vivants. Depuis la découverte des aquaporines (AQP) en 1991 par Peter Agre couronnée par le Prix Nobel de Chimie en 2003 [20], des avancées majeures pour la compréhension des mécanismes de transport ultra-rapide de l'eau à travers des canaux sub-nanométriques ont été réalisées. Les aquaporines constituent une famille de protéines membranaires dont la structure tertiaire au centre de la membrane est principalement constituée d'hélices α , et dont le pore central peut atteindre un diamètre de restriction de 2,8 Å. On sait désormais que la morphologie du canal en forme de sablier des aquaporines, résultat de l'évolution sur des milliards d'années, est particulièrement adaptée au transport rapide d'eau [21]. De plus, la structure complexe des canaux (présence de charges et de résidus hydrophiles et hydrophobes) leur confère des propriétés de transport uniques [22-24] :

- le diamètre de restriction de 2,8 Å est adapté au passage d'une seule molécule d'eau.
- les molécules d'eau aux abords du pore forment des filets d'eau unidimensionnels de longueur variable suivant les aquaporines, l'orientation des dipôles des molécules d'eau est inversée au centre du canal, jouant le rôle de repoussoir aux ions H^+ .
- les charges positives présentes à l'embouchure des canaux en contact avec les milieux intra- et extra-cellulaire diminuent la durée de vie des liaisons hydrogène entre molécules d'eau, augmentant le flux d'eau.
- la présence d'une arginine et d'un cycle aromatique vers la zone de restriction garantit le blocage des cations dont le diamètre est supérieur à 3 Å, notamment les ions

sodium Na^+ .

La conception en laboratoire de systèmes biomimétiques reproduisant les propriétés des aquaporines aura un impact important dans les systèmes futurs de filtration, ainsi qu'en médecine. Ainsi, le groupe de Hou et al. a montré récemment que l'insertion d'un système artificiel, l'aquaporine synthétique (AAQP), a permis la régénération d'un tissu malade par restauration du transport d'eau à travers les cellules d'un tissu [25]. Le système synthétique AAQP est basé sur une géométrie de pillarènes tubulaires, dont les extrémités sont chargées positivement, possédant un pore de restriction d'un diamètre dynamique de 1-2 Å et une forme en sablier garantissant une perméabilité élevée de l'eau et un rejet des ions usuels et des protons. Des simulations de DM montrent également un bon accord avec les performances mesurées expérimentalement dans les expériences de *stopped-flow* (Figure 1.7).

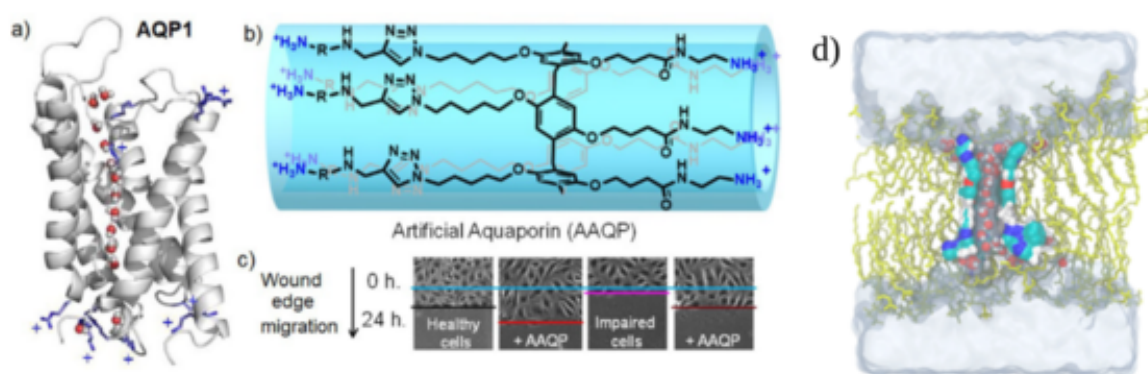


FIGURE 1.7 – Structure de a) la protéine Aquaporine AQP1 montrant la structure en filets d'eau du canal et les charges positives à l'entrée et aux abords de la zone de restriction du canal. b) Aquaporine artificielle (AAQP) constituée d'une couronne rigide en pillar[5]arène et de charges positives aux entrées du canal. c) Images représentant la régénération des cellules endommagées (ligne bleue, 0h) puis 24 heures après injection de AAQP dans le milieu (ligne bleue). d) Canal AAQP dans une membrane de lipides POPC modélisée en DM. Adaptée à partir de [3, 25].

1.2.2 Fil d'eau et perméabilité

Le modèle de diffusion collective

Dû au faible diamètre de restriction des canaux, les molécules d'eau présentes au centre des canaux biologiques comme les AQPs ou la porine Gramicidine A (gA) forment un fil d'eau unidimensionnel [26, 27]. Étonnamment, le flux d'eau à ces canaux membranaires est particulièrement élevé, de l'ordre de 10^9 molécules d'eau par canal par seconde. Historiquement, le transport rapide de l'eau à travers les canaux nanométriques a été attribué à la présence de groupes hydrophobes. En effet, dans un environnement hydrophobe, la molécule d'eau ne crée pas de liaisons hydrogène avec la surface du canal, facilitant ainsi son

transport. Une première approche théorique du problème a été d'étudier avec des modèles simples, comme les nanotubes de carbone, interagissant faiblement avec l'eau (forces de Van der Waals).

Le modèle de diffusion de marche aléatoire en temps continu (CTRW) de Berezhkovskii et Hummer a permis dans un premier temps de tenir compte du comportement collectif du transport d'eau à une dimension [28]. Des simulations de DM dans les nanotubes de carbone, canaux purement cylindriques et hydrophobes, ont pu confirmé l'efficacité du modèle CTRW à reproduire les caractéristiques du transport confiné, par sauts collectifs de molécules d'eau au travers du canal. Bien que ce modèle ait été testé sur les aquaporines à l'aide de simulations de DM [29], il ne permet pas de tenir compte de la complexité des phénomènes qui entrent en jeu dans les systèmes biologiques. Cependant, le modèle peut être utilisé pour exploiter des données de DM [23].

La perméabilité en eau

Les mesures de perméabilité d'eau sont parfois difficile à interpréter, notamment lorsqu'il s'agit de comparer les mesures expérimentales et les prédictions des simulations de DM. On peut définir deux types de perméabilité :

- **La perméabilité diffusive** p_d (en $H_2O/s/canal$) : elle correspond au nombre moyen de molécules d'eau qui traversent un canal par unité de temps dans une configuration où la membrane est à l'équilibre (pas de gradient de pression). Dans les simulations de DM, elle peut être simplement déterminée en comptant le nombre de molécules qui traversent de part et d'autre la membrane et dans les deux sens du canal (voir section 2.3.6). Expérimentalement, elle peut être mesurée en déposant un traceur comme l'eau lourde D_2O d'un côté d'une membrane planaire à l'équilibre osmotique et en détectant l'apparition du traceur de l'autre côté de la membrane [23].
- **La perméabilité osmotique** p_f (aussi appelée perméabilité unitaire, mesurée en cm^3/s) : elle correspond au transport net de molécules d'eau sous l'effet d'une pression osmotique générée par une différence de concentration en soluté de 1 M (mol/L). Cela correspond à une situation où la membrane est hors-équilibre. Dans les simulations de DM, p_f est calculée en comptant le transport net de molécules d'eau en imposant une différence de pression osmotique, une différence de pression hydrostatique ou une différence de potentiel électrostatique (voir section 1.2.3). Dans le cas où la géométrie des canaux d'eau est stationnaire, p_f peut être mesurée par la méthode de diffusion collective [29]. Expérimentalement, on utilise le montage *stopped-flow* présenté en section 1.1.4. ^a

La perméabilité osmotique est donc, par définition, reliée au flux d'eau j_w (mol/s) à

a. En réalité, les expériences permettent de mesurer la perméabilité nette (*net permeability* en $\mu m/s$) qui caractérise la perméation d'eau par unité de surface au travers d'un liposome après avoir enlever la contribution des lipides mesurée par l'expérience contrôle. En connaissant la taille du liposome, on remonte à la contribution des canaux sur l'ensemble de la surface du liposome. En connaissant le taux d'insertion des canaux dans les liposomes, on en déduit ainsi la perméabilité osmotique par canal (en $cm^3/s/canal$ ou en unité équivalente $H_2O/s/canal$).

travers un canal par :

$$j_w = p_f \Delta C \iff p_f = \frac{j_w}{\Delta C} H_2O/s/canal = \frac{j_w v_w}{\Delta C} cm^3/s \quad (1.3)$$

où v_w est le volume d'une molécule d'eau dans l'eau pure et ΔC est la différence d'osmolarité entre les deux compartiments séparés par la membrane (en mol/L ou M).

Dans le cadre du modèle CTRW, il a été proposé la prédiction $p_f/p_d = N$ où N est le nombre de molécules d'eau dans une configuration de filet d'eau à l'intérieur du canal unidimensionnel. Or cette prédiction s'avère fautive pour les canaux biologiques [23]. La seule connaissance de N ne suffit pas à prédire les différences de perméabilité entre différents canaux. Dans les systèmes plus complexes, la morphologie du canal, les barrières énergétiques à l'entrée des canaux, les défauts dans la structure du fil d'eau ou d'autres paramètres doivent être pris en compte dans la modélisation pour expliquer les résultats expérimentaux. Une comparaison précise des perméabilités mesurées expérimentalement dans l'ensemble de la famille des aquaporines et des canaux à ions ultra-perméables a permis d'identifier des critères liés à la structure et à la chimie des interactions le long des canaux [23]. La perméabilité osmotique des canaux p_f décroît exponentiellement avec le nombre de liaisons hydrogène N_H qui peuvent se former avec les molécules d'eau présentes à l'intérieur du canal (Figure 1.8).

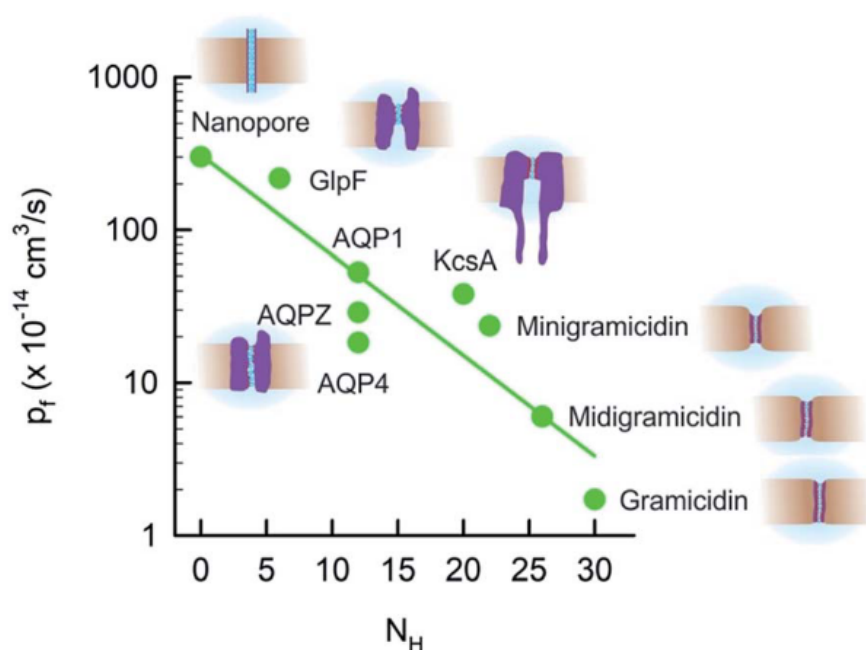


FIGURE 1.8 – Perméabilité osmotique mesurée expérimentalement de canaux naturels et de nanotubes de carbone en fonction du nombre N_H de donneurs et d'accepteurs de liaison hydrogène. Reproduite à partir de [23].

Dans nos travaux sur les canaux d'eau artificiels, nous pouvons accéder directement à la *perméabilité diffusive* p_d car nos simulations sont effectuées à l'équilibre. Il est important de noter qu'une comparaison directe des valeurs de *perméabilité diffusive* avec la perméabilité

osmotique p_f déterminée par les expériences de *stopped-flow* est délicate. Cependant, il est possible de comparer les performances de transport et la stabilité entre différents modèles sur la seule base de la *perméabilité diffusive*.

1.2.3 Mesure de la perméabilité osmotique des membranes in-silico

Dans ce paragraphe, nous précisons les méthodes de détermination de la perméabilité osmotique (en cm^3/s) qui sont généralement utilisées dans le domaine. La perméabilité osmotique peut ainsi être comparée aux valeurs de perméabilité expérimentale utilisant des gradients de pression osmotique, comme dans les expériences de *stopped-flow*.

Pression hydrostatique

Zhu et al. introduisit en 2002 une méthode pour imposer un courant net d'eau à travers une membrane, en utilisant une différence de pression hydrostatique entre les deux compartiments d'eau en contact avec la membrane [30]. L'idée est d'ajouter un champ de force constant s'appliquant à une couche d'eau située au centre du compartiment d'eau (Figure 1.9).

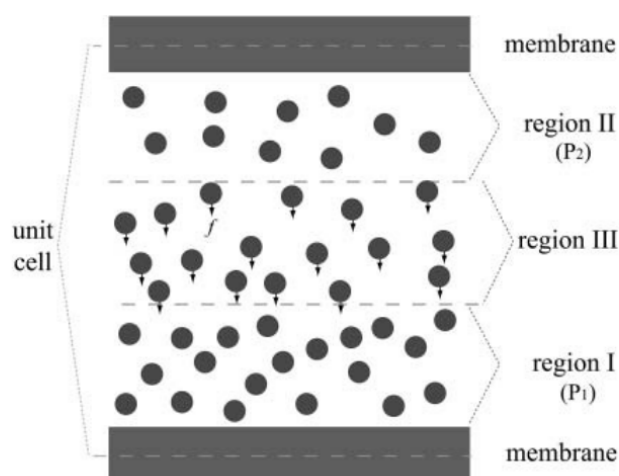


FIGURE 1.9 – Illustration de la méthode pour produire une différence de potentiel hydrostatique entre les deux côtés d'une membrane en Dynamique Moléculaire. Reproduite à partir de [29].

Un des avantages de cette méthode est que la pression générée est contrôlée facilement. L'application d'une différence de pression hydrostatique est équivalente à appliquer une différence de pression osmotique en présence de gradients de concentration en espèces ioniques [29]. Il faut toutefois noter que l'application de contraintes harmoniques sur certains atomes de la membrane est nécessaire pour compenser la force répartie sur l'ensemble de la membrane.

Distribution asymétrique des ions

Pour reproduire des conditions FO ou RO, il faut générer une différence de concentration en ions entre les deux côtés d'une membrane. Une limitation aux simulations de DM est l'usage de conditions aux limites périodiques. En effet, dans une simulation contenant une membrane, les deux compartiments d'eau situés de part et d'autre de la membrane permettent la diffusion libre des espèces ioniques présentes. Plusieurs montages permettent de s'affranchir de cette limitation.

Une des méthodes que nous avons utilisées est de dupliquer le système dans la direction perpendiculaire au plan de la membrane (Figure 1.10a). On génère ainsi deux compartiments d'eau séparés par deux membranes. La concentration des ions dans chaque compartiment déterminera ainsi la pression osmotique appliquée à chaque extrémité. En présence d'un canal membranaire, cette pression osmotique peut générer un flux d'eau qui peut aboutir à la réduction du volume de l'eau la moins salée [31]. Ce système permet le contrôle de la pression, contrairement au cas d'une barrière créée par du vide (Figure 1.10b-c).

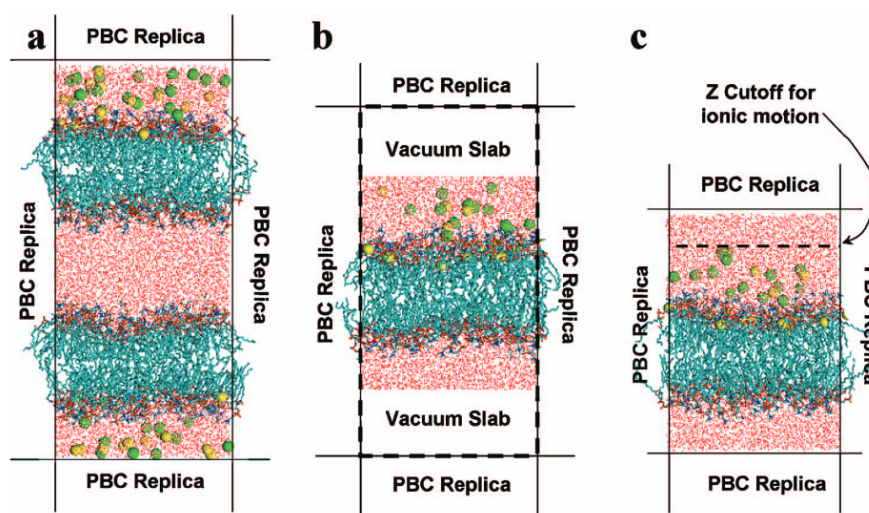


FIGURE 1.10 – Méthodes de construction d'une membrane lipidique avec une distribution asymétrique d'ions de part et d'autre de la membrane. a) Double membrane. b) Système délimité par du vide. c) Méthode restreignant la position des ions utilisée dans [32]. Reproduite à partir de [32].

1.2.4 Application aux nanotubes de carbone

Avec l'avènement des nanotubes de carbone dans les années 90, la recherche dans les technologies de filtration s'est tournée vers ces systèmes prometteurs. Les premières simulations de Dynamique Moléculaire d'un nanotube de diamètre 8,1 Å et de longueur 13,4 Å ((6,6)CNT) plongé dans une solution d'eau ont confirmé la présence d'eau dans des canaux hydrophobes [33]. Ainsi les auteurs de l'article ont estimé la perméabilité diffusionnelle $17.10^9 H_2O/s/canal$ ($51.10^{-14} cm^3 s^{-1}$) obtenue pour un nanotube de carbone à l'équilibre, comparable à la perméabilité osmotique de la protéine AQP1 mesurée expérimentalement

($11, 4 \cdot 10^{-14} \text{cm}^3/\text{s}$ [34]). Les simulations montraient que le confinement sous forme de filets d'eau unidimensionnel est entropiquement favorable au remplissage et à la conduction de l'eau dans le canal, bien que la molécule d'eau soit énergétiquement défavorisée en formant en moyenne seulement deux liaisons hydrogène avec ses voisins dans le nanotube comparé aux quatre liaisons hydrogène constituant le réseau tétraédrique de l'eau pure.

D'autres simulations ont vérifié le rejet des ions à travers un réseau hexagonal de nanotubes de carbone de même diamètre formant une membrane [35]. Le rejet des ions a été vérifié au moyen de calcul de *potentiel de force moyenne* (PMF). Ces mesures ont été complétées par des mesures de perméabilité osmotique de l'eau en comptant le nombre d'évènements de perméation nette en fonction de la différence de pression hydrostatique appliquée entre les deux compartiments d'eau. Le flux d'eau à travers les membranes de nanotubes de carbone est proportionnel à la pression hydrostatique appliquée. Dans cette même étude, l'ajout d'un champ hydrostatique fort ($\Delta P = 220 \text{MPa}$) ne modifie pas significativement les valeurs de PMF, et à fortiori les résultats concernant la sélectivité des nanotubes de carbone. Cependant, en ajoutant une distribution asymétrique d'ions (voir section 1.2.3), il a été montré que la valeur de la pression hydrostatique dans les simulations de DM affecte considérablement la perméation des ions également [36]. À partir des valeurs de perméabilité d'eau et de sélectivité, les auteurs ont conclu que les nanotubes dont le diamètre est inférieur à 11 Å seraient en théorie de bons candidats pour la désalinisation (voir Tableau 1.1).

TABLE 1.1 – Prédictions de performances de membranes RO de nanotubes. Les valeurs des performances des membranes composites de polymères (TFC) sont issues de [36]. Les performances des membranes de nanotubes sont estimées théoriquement à partir de simulations de DM [36] et en prenant en compte la densité maximale expérimentale d'insertion des nanotubes dans certaines membranes composites ($2, 5 \cdot 10^{11} \text{cm}^{-2}$ d'après [37]).

type de membrane	diamètre (Å)	sélectivité	Flux(LMH/bar) ^a
TFC	-	98%	$\simeq 1$
CNT (6,6)	8,1	100%	10,4
CNT (8,8)	10,9	95%	21,6
CNT (8,8)	14,0	58%	71,3

^a LMH/bar = $L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1} \cdot bar^{-1}$

1.2.5 Les membranes hybrides

Les membranes synthétiques biomimétiques

Durant les vingt dernières années, beaucoup d'efforts ont été investis dans le développement de membranes hybrides constituées de couches fines de polymères (TFC) et l'insertion de biomolécules comme les aquaporines [38-43] ou les canaux ioniques OPMF [44].

Parmi les différentes stratégies de conception de membranes hybrides, l'une d'elle consiste à insérer des canaux dans des liposomes (ou polymersomes) avant fixation dans une matrice

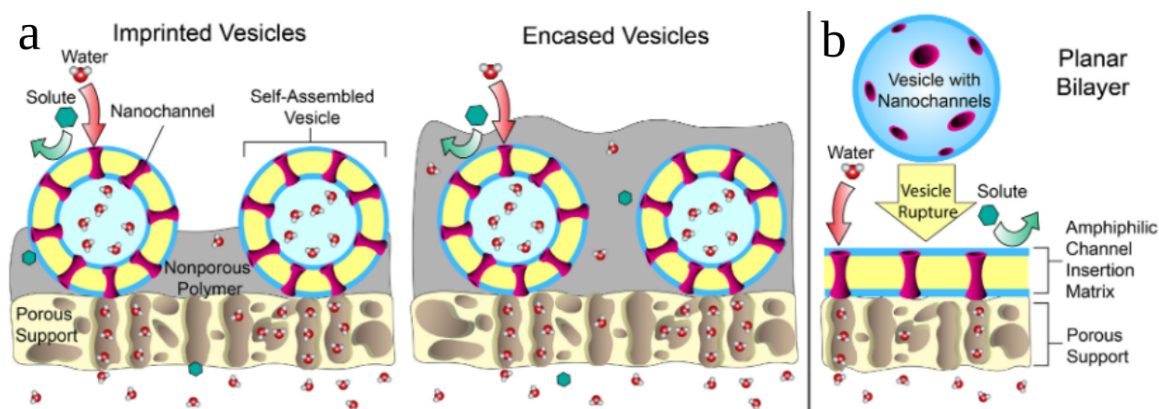


FIGURE 1.11 – Technologies de membrane hybrides. a) Encapsulation de vésicules contenant des canaux sur ou à l'intérieur d'une couche de polymères non poreuse. b) Bicouche incorporant des canaux par déposition à partir de la rupture de vésicules sur un support poreux de polymères. Reproduite à partir de [45].

polymérique plus ou moins sélective [42]. Dans les deux cas de ce type présentés dans la Figure 1.11, Porter et al. [45] ont souligné la faiblesse des améliorations obtenues, comparées aux membranes polymériques usuelles. D'une part, pour des taux d'insertion faible (environ 20% pour les prototypes actuels), le gain de sélectivité dû au blocage des ions à l'entrée des vésicules reste faible pour une application commerciale. D'autre part, améliorer le taux d'insertion des vésicules diminue la perméabilité en eau de la membrane (car le flux d'un canal en contact avec la couche inférieure est ramenée à la surface projetée d'une vésicule et non d'un seul canal).

Ainsi, la limite de perméabilité des membranes TFC commerciales a été légèrement dépassée par plusieurs prototypes de membranes hybrides [42] (Tableau 1.2). Cependant, à ce jour, un seul type de système de filtration contenant des aquaporines a été commercialisée [46]. Notons que ce produit fonctionne seulement dans des conditions de salinité basse (BWRO). Les principales difficultés que rencontrent le développement de membranes biomimétiques sont résumées ci-dessous :

- Bien que les membranes hybrides à base d'aquaporines ont montré une amélioration par rapport aux membranes TFC pures de contrôle dans les conditions NF, FO et RO [41, 43, 47], la perméabilité en eau de ces membranes restent toutefois proches des meilleures membranes TFC commerciales (voir Tableau 1.2).
- La production à grande échelle de biomolécules est coûteuse.
- Les aquaporines ont une perméabilité par canal très élevée ($10^9 H_2O/s/canal$). Cependant, le diamètre des pores est relativement faible (2.6 \AA) par rapport à la surface de la protéine ($9,0 nm$). Il en résulte une diminution conséquente de la surface relative liée au transport de l'eau et une perméabilité en eau plus faible, une fois insérée dans les membranes polymériques. Un des facteurs limitant des membranes AQP-PA reste donc la surface active faible des aquaporines.
- L'ajout de peptides stabilisant l'insertion des aquaporines permet d'augmenter la perméabilité des membranes hybrides [48]. Cependant l'ajout d'agent stabilisant favorise

la création de défauts dans la matrice polymérique rendant la membrane plus perméable aux ions (Tableau 1.2).

TABLE 1.2 – Performance de membranes biomimétiques. Données extraites de [41, 43, 46-49]

Membrane	Application	Pression (bar)	C_f (g/L) ^d	rejet du sel	Flux (LMH/bar)
TFC ^a commercial	BWRO	16	2,0	97%	2-8
ASW ^b (en 2015)	BWRO	5	0,5	97%	0,4
ASW + stabilisants (en 2018)	BWRO	13,8	1,0	95%	1,1
Clear TM 4440 ^c (en 2022)	BWRO	8,6	2,0	98,5 %	4,9
TFC commercial	SWRO	41	32	99,8%	1-2
ASW (en 2019)	SWRO	55	32	99%	0,38

^a TFC : membrane polymère commercialisée

^b ASW : prototype de membrane à base d'aquaporines

^c marque déposée de Aquarine Inside®

^d concentration de chlorure de sodium de la solution *feed* ($1g/L \simeq 1ppm$). eau de mer : 33 – 37g/L; eau saumâtre : 1 – 10g/L; eau potable : < 1g/L.

Une autre stratégie de membranes hybrides consiste à déposer une bicouche contenant des canaux sur le support de polymères poreux (Figure 1.11b). En théorie, Les membranes ainsi constituées peuvent être optimisées en augmentant la densité de canaux à la surface. Sur le plan expérimental, cette stratégie est plus difficile. Des défauts dus à l'épaisseur fine de la couche sont souvent mentionnées. De plus, cette configuration n'est pas stable dans le cas des aquaporines, notamment dans les conditions de pression élevées (SWRO).

Les membranes à base de canaux synthétiques

Dans le but de s'affranchir des difficultés rencontrées dans le développement des membranes biomimétiques, les matériaux synthétiques ont suscité un intérêt croissant. À travers les différentes approches de simulation de DM vus dans la section 1.2.4, nous avons vu en quoi les nanotubes de carbone pouvaient constituer une alternative. Cependant, l'insertion des CNTs dans les membranes hybrides reste un challenge technologique. Baek et al. [50] ont toutefois montrés qu'il était possible d'aligner les canaux dans la direction du transport. Les membranes résultantes destinées plutôt à l'UF sont ainsi trois fois plus perméables à l'eau que les membranes de contrôle. La fonctionnalisation des nanotubes de carbone a également permis d'améliorer l'insertion dans les matrices de polymères [51]. Les avancées technologiques en l'état en 2018 [42] sont illustrés dans la Figure 1.12.

Par rapport aux membranes industrielles utilisées en UF ou NF, les membranes de CNTs, en général, conduisent mieux l'eau et réduisent les risques de pollution des interstices par

des agents chimiques divers. Cependant, leur point faible reste leur faible sélectivité, malgré le potentiel prédit par les simulations de DM [36].

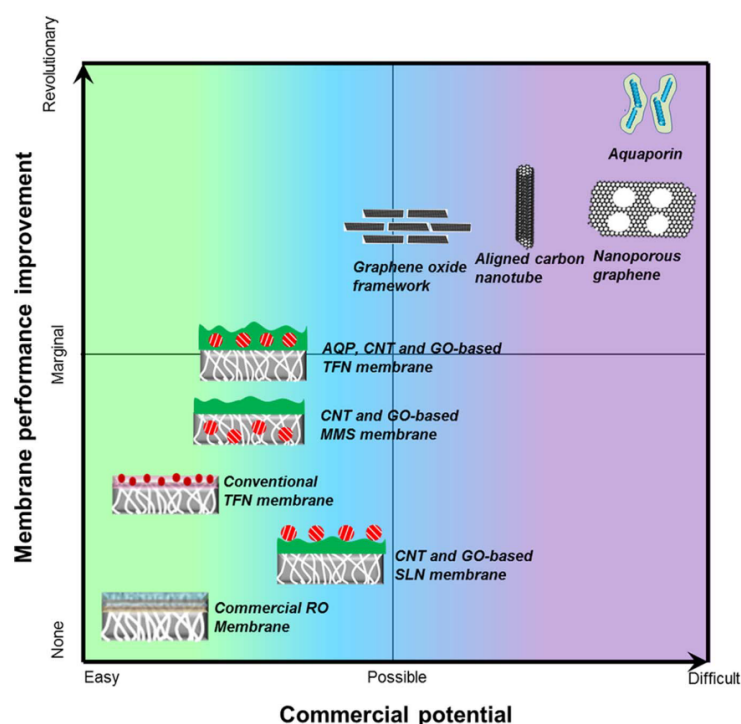


FIGURE 1.12 – Potentiel des membranes hybrides. Les systèmes intégrés dans les membranes sont AQP : aquaporines, GO : oxydes de graphène, CNT : nanotubes de carbone. Les trois méthodes d'insertion dans les matrices de polymères peuvent être résumées ainsi SLN : insertion des nanomatériaux sur la surface de la membrane polymérique, TFN : insertion dans la première couche de rejet, MMS : insertion dans la couche inférieure. Les méthodes les plus révolutionnaires (quart supérieur droite) sont des projections idéales de membranes pures. Reproduite à partir de [42].

1.3 À la recherche de matériaux nouveaux pour le transport sub-nanométrique de l'eau

1.3.1 Stratégie globale

La stratégie qui consiste à incorporer des matériaux synthétiques dans les membranes polymériques doit rassembler les conditions suivantes :

1. les canaux nanométriques doivent fortement rejeter les ions
2. les canaux nanométriques doivent faciliter le transport de l'eau à un flux suffisamment élevé
3. la densité des canaux dans les matrices polymériques doivent être optimisées

Bien que les matériaux prometteurs comme les nanotubes ou les aquaporines répondent généralement aux deux premières conditions, c'est souvent la troisième condition qui fait défaut. Les matériaux présentés dans la suite remplissent les deux premières conditions également et sont facilement modulables par la synthèse chimique pour remplir la troisième condition.

Il en résulte un schéma général d'étude pour le développement de nouvelles membranes hybrides :

1. Identifier une molécule, un matériau nouveau.
2. Caractériser ses propriétés de transport sur des petites surfaces, par des expériences à petite échelle, par des simulations de DM.
3. Tester différentes méthodes d'insertion dans les membranes hybrides et comparer aux membranes existantes (commerciales, autres membranes hybrides).

Nos travaux, en collaboration avec l'équipe de M. Barboiu, suivent ces trois étapes. Notre contribution spécifique consiste à interpréter les résultats expérimentaux en se basant sur une approche *in-silico*.

1.3.2 Les canaux d'eau artificiels

Les avancées en synthèse chimique ont permis de diversifier la nature des systèmes synthétiques susceptibles d'améliorer les dispositifs de filtration.

Dipeptides dentritiques

Les *dipetides dentritiques* constituent la première famille de canaux d'eau artificiels (AWC) découverts en 2004 [52]. Lorsqu'ils sont plongés dans un milieu hydrophobe (cyclohexane, lipides), les composés s'auto-assemblent en structures hélicoïdales. La partie interne présente des groupes méthyles de Ala et Boc formant un canal hydrophobe de diamètre 13 Å. Après un premier prototype transportant efficacement les protons, les mêmes auteurs ont également identifié un composé proche capable de s'assembler pour former des canaux de diamètre 14 Å permettant le transport de l'eau dans les liposomes [53].

Les canaux uni-moléculaires

Les pillar[5]arènes (PA[5]) ont été intensivement utilisées comme base élémentaire pour synthétiser des AWCs aux fonctions différentes. L'anneau central ayant un diamètre de restriction de 6,5 Å permet de restreindre le passage des ions et garantit une bonne sélectivité des matériaux obtenus. Ainsi, en 2011 est synthétisé un matériau dérivé de PA[5] capable de s'auto-assembler pour former des longs nanotubes [54]. Les mesures de cristallographie permettent de visualiser les filets unidimensionnels d'eau formés à l'intérieur des canaux. Les premiers prototypes conduisent uniquement les protons et ne conduisent pas l'eau. Le greffage de groupes fonctionnels fixés sur les PA[5] a permis de diversifier les propriétés

de transport de cette famille. Ainsi Hou et al. [55] synthétisent un dérivé de PA[5] comprenant des groupes hydrazide (PAH[5]). Les données de cristallographie de ces composés montrent que l'eau est présente sous forme de dimères et non en fil d'eau. Les expériences de *stopped-flow* indiquent que ces composés conduisent l'eau, bien qu'à un débit très faible de $40 H_2O/s/canal$ (10^6 fois plus faible que les aquaporines). La particularité des PAH[5] est de conduire les ions HO^- mais pas les ions H^+ .

Hou et al. [56] ont reporté ensuite une autre génération de dérivés de PA[5], les pillar[5]arènes fonctionnalisées par des chaînes de phénylalanine (PAP) permettant le transport sélectif d'acides aminés dans les membranes lipidiques. En utilisant la technique de *stopped-flow*, ils ont montré que ces canaux avaient une forte perméabilité en eau, de $3,5 \cdot 10^9 H_2O/s/canal$ [56], comparable à celle des aquaporines. Cependant, ces composés sont perméables aux ions et aux petites molécules ($M < 420$ Da). Des simulations de DM à l'équilibre ont été réalisées pour observer le type de transport dans les canaux (Figure 1.13b). Nous retiendrons que :

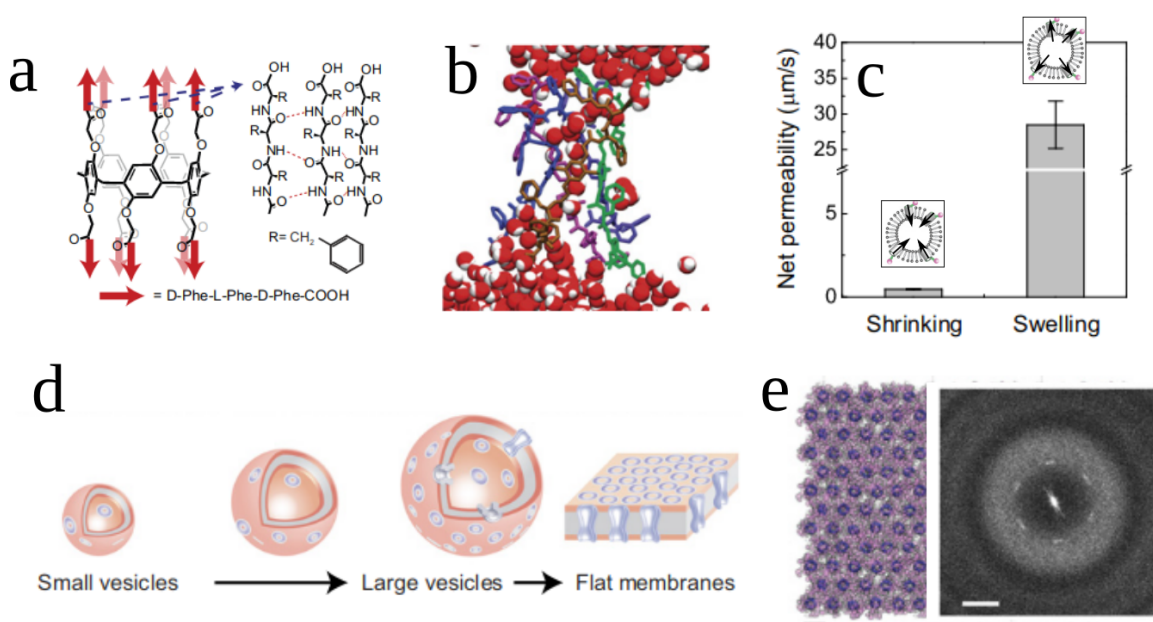


FIGURE 1.13 – Canaux PAP. a) Structure atomique. b) Modèle moléculaire du canal d'eau c) Perméabilité nette expérimentale des liposomes dans les conditions hypotonique (*shrinking*) et hypertoniques (*swelling*). d) Illustration du procédé expérimental de formation d'une couche 2D dense en canaux PAP par augmentation du ratio molaire canal/lipide mCLR. e) (gauche) Modèle moléculaire en vue de dessus d'un assemblage compact en réseau hexagonal de canaux PAP (droite) spectre de Fourier d'une image cryo-EM d'un film 2D (mCLR = 0.909) montrant une tâche de diffraction caractéristique d'un réseau hexagonal. Adaptée à partir de [56].

- La perméation de l'eau a lieu majoritairement à travers les conduits cylindriques en alternant des périodes où les canaux sont vides puis des périodes où les canaux hébergent des filets unidirectionnels d'eau reliant les deux parties de la membrane. D'autres canaux biologiques et synthétiques présentent ces oscillations entre états li-

quide et vapeur [33, 57, 58]. Cela est dû à la forte hydrophobicité de la partie centrale du canal.

- À forte teneur en canaux, les canaux ont tendance à s’agréger et compartimentent les zones où se trouvent les lipides. Des données de cryo-EM montrent que des mélanges PAP-lipide à haute teneur en canaux forment facilement un réseau 2D hexagonal de canaux (voir Figure 1.13d-e).
- La conductance en eau est estimée à $\simeq 1,5 \cdot 10^{-14} \text{ cm}^3/\text{s}$ (soit $5 \cdot 10^8 \text{ H}_2\text{O}/\text{s}/\text{canal}$) à partir du modèle de diffusion collective [30]. La valeur trouvée est une moyenne sur l’ensemble des 25 canaux, cependant certains canaux conduisent peu l’eau car ils sont bloqués par des molécules de lipides.
- Le transport de l’eau dans les expériences de *stopped-flow* est asymétrique suivant les conditions hypotonique et hypertonique (Figure 1.13c). Cela semble indiquer que la densité des lipides jouent un rôle dans le transport de l’eau. Cependant, des simulations de DM utilisant une densité plus élevée de lipides ne permettent pas d’observer une baisse de la perméation.

Kumar et al. [59] ont reporté des résultats expérimentaux et des simulations sur les mêmes systèmes (PAP) insérés dans des membranes de polymères par bloc (BCP). Ils établissent que le passage d’une membrane lipidique à une membrane de polymères par bloc s’accompagne d’une diminution de la perméabilité de l’eau à travers les canaux par un facteur 20. Les résultats sont validés par les mesures de perméabilité osmotique dans les simulations de DM à l’équilibre. D’autre part, les auteurs reportent le dépôt par couches de PAP-BCP sur des substrats en couches 2D sur un substrat de polyethersulfone (PES) utilisé en microfiltration. Les membranes biomimétiques obtenues sont très perméables à l’eau ($\sim 60 \text{ LMH}/\text{bar}$ soit 10 fois plus que les membranes commerciales) et ont une limite de perméation des petites molécules $\simeq 500 \text{ Da}$. Cette limite est en accord avec le diamètre du centre des pores ($\simeq 5 \text{ \AA}$). De plus, des simulations de Steered-MD (STD) sont utilisées pour calculer les barrières énergétiques de perméation de molécules de colorants employées dans les expériences. Le Méthyl Orange (328 Da) présente ainsi une barrière énergétique faible $100 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ comparée à celle du Rose Bengal (1018 Da) plus grosse ($1500 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$).

Wang et al. [43] ont modifié le squelette de PAP en ajoutant des groupes hydrophiles et ont synthétisé deux composés isomères dont l’un est très perméable à l’eau (pR-PH, $1,3 \cdot 10^9 \text{ H}_2\text{O}/\text{s}/\text{canal}$) tandis que l’autre (pS-RH) ne l’est pas. Des simulations de DM couplées à des analyses de paysage conformationnel montrent que le composé pS-RH a tendance à se déformer plus facilement dans la membrane que pR-RH (Figure 1.14). Les auteurs suggèrent que le blocage de chaînes de phénylalanine observées dans les simulations en présence du composé S peut expliquer la faible perméation de ce dernier. Notons que pour un même canal, plusieurs répliques de la même simulation présentent des régimes différents de perméation et augmentent fortement les fluctuations sur la mesure de la perméabilité par canal (tableau 1.3).

Vers des composés plus sélectifs

Afin d’optimiser le rejet des ions des AWCs, Hou et Kumar [19] ont utilisé récemment un autre squelette à partir d’un nouveau pillar-arène à quatre branches. L’avantage de ce

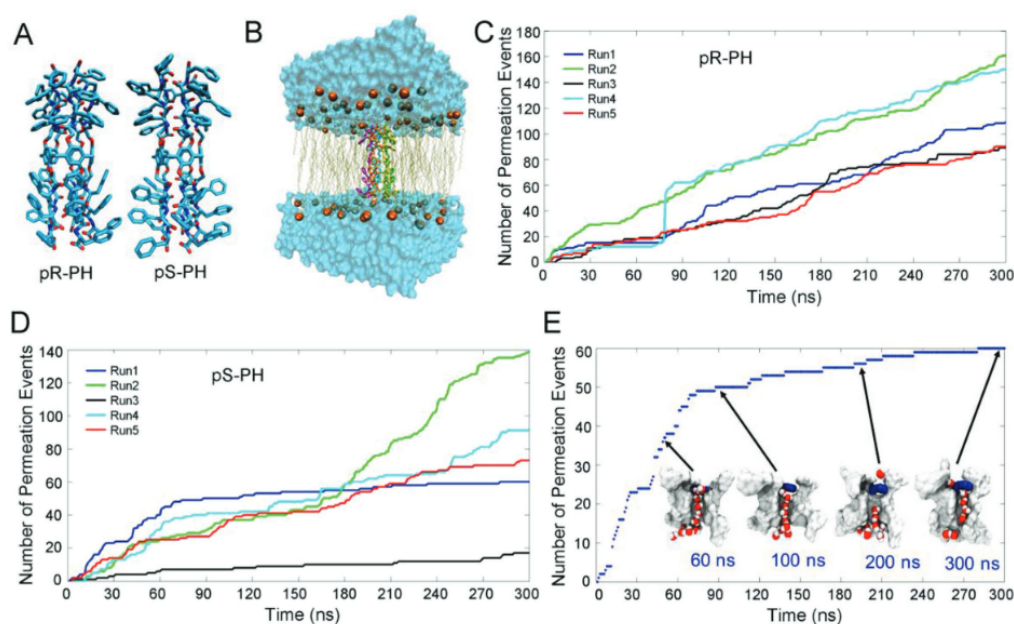


FIGURE 1.14 – Simulations de DM des canaux Ps-pH et pR-PH dans une membrane lipidique (POPC). A) structures initiales B) Configuration du système dans la membrane. C) Nombre cumulé d'événements de perméation en fonction du temps dans le système avec pR-PH/ D) Idem pour le système pS-PH. E) Illustration du blocage du canal de pS-PH par une chaîne latérale de phénylalanine. Reproduite à partir de [43].

système est qu'il présente un diamètre de restriction de $\simeq 3 \text{ \AA}$, plus petit que celui de son homologue PA[5]. En lui greffant des chaînes de peptides hydrophobes (D-L-D PheAla), le composé obtenu, le PAH[4] s'insère également facilement dans la membrane. Ainsi ils ont montré que la perméabilité osmotique en eau de ce composé dans les membranes pouvaient atteindre $3,7 \cdot 10^9 H_2O/s/canal$ tout en rejetant les ions Cl^- (perméabilité ionique $\simeq 10^{-10} Cl^-/s/canal$). Les auteurs assurent que les valeurs de perméabilité en eau mesurées sont au-dessus des valeurs imposées dans le cadre de la désalinisation, cependant les expériences sont faites uniquement dans un environnement lipidique. Le PAH[4] présente des cavités latérales énergétiquement plus favorables au passage de l'eau que la cavité centrale. Des simulations de dynamique moléculaire ont permis de comprendre les chemins possibles du trajet de l'eau à travers ces composés poreux. Il en résulte que le transport de l'eau est désordonné et ne se fait pas sous forme de filets d'eau stationnaires. Les molécules d'eau diffusent également sur la surface externe des canaux. Les simulations de DM incorporant plusieurs canaux montrent que leur agrégation dans la membrane favorise le passage de l'eau et augmente ainsi la perméabilité osmotique. Ces résultats sont en accord avec les mesures expérimentales (voir Figure 1.15) qui indique une transition entre un régime de faible perméabilité par canal ($\sim 10^6 H_2O/s/canal$) à faible densité ($< 300 \mu m^{-2}$) et un régime de forte perméabilité ($\sim 10^9 H_2O/s/canal$) par canal à haute densité ($> 300 \mu m^{-2}$).

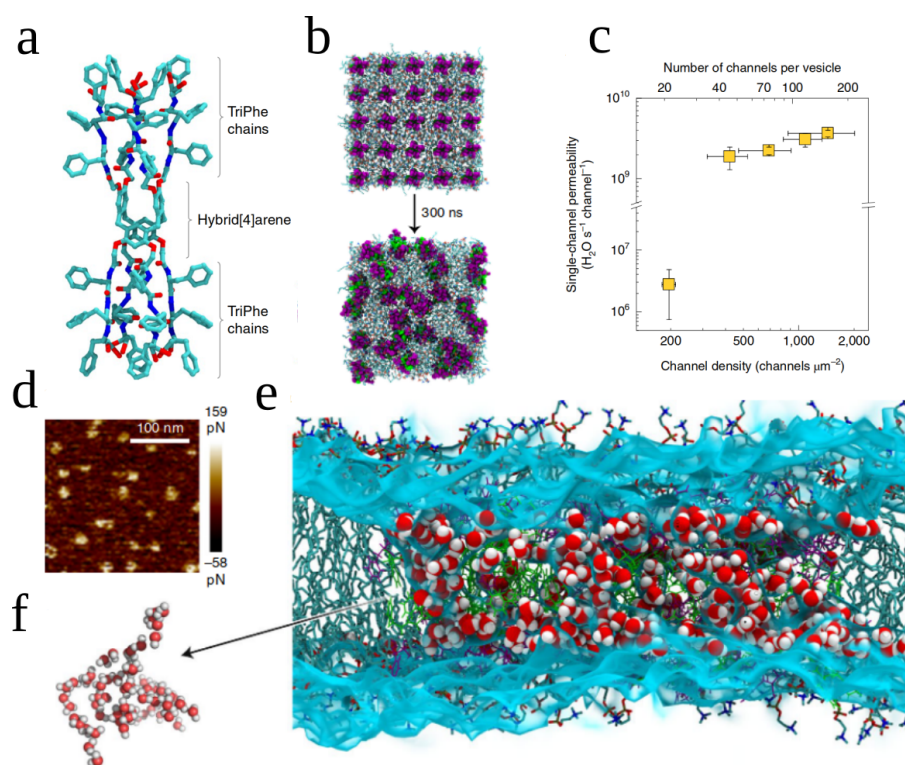


FIGURE 1.15 – Canaux unimoléculaires PAH[4]. a) Modèle moléculaire de PAH[4]. b) États initial et final de la simulation d’une membrane lipidique avec 25 molécules de PAH[4]. c) Perméabilité par canal en fonction du ratio canaux/lipides d) Images AFM montrant l’agrégation des PAH[4] dans les membranes. e) Section longitudinale de la simulation de DM montrant les chemins d’eau multiples à travers un agrégat de canaux PAH[4]. f) Zoom sur la structure en réseau de filets d’eau faisant la connexion entre différentes molécules de PAH[4].

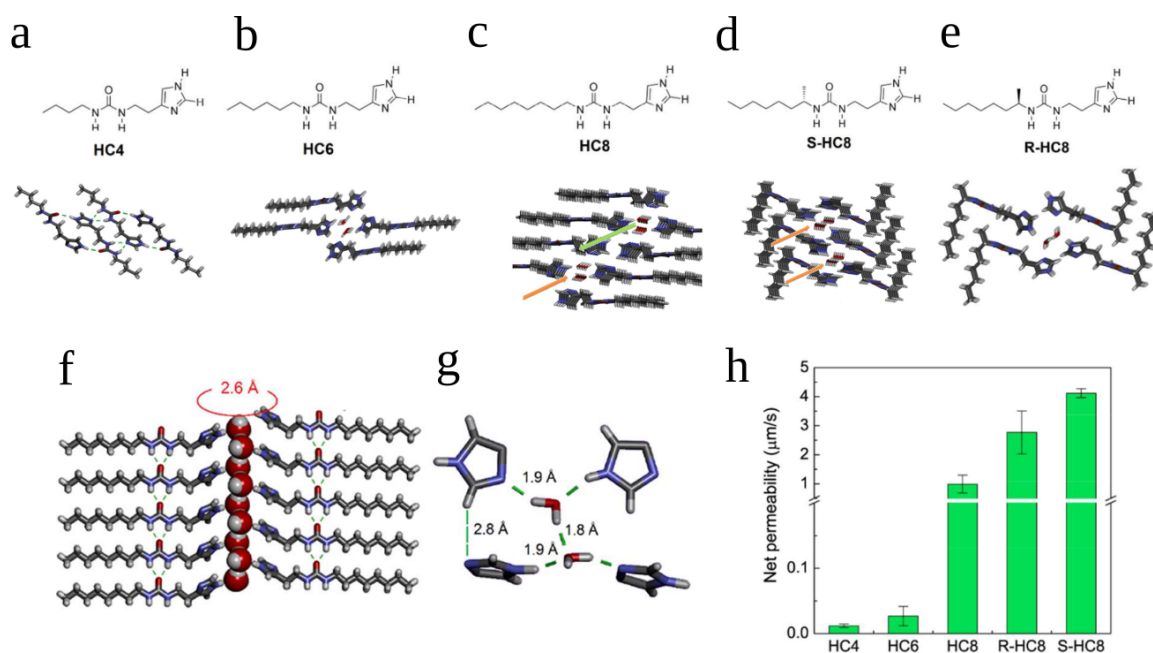


FIGURE 1.16 – Canaux artificiels *I-quartets*. Structure cristalline de a) HC4 b) HC6 c) HC8 d) S-HC8 e) R-HC8 . f) Vue latérale de l'empilement en feuillets de molécule d'imidazole via des liaisons hydrogène $-C=O \cdots HN-$ formant un canal d'eau de diamètre 2,6 Å. g) Interaction de l'eau à l'intérieur du canal formant des quartets. h) Perméabilité en eau des liposomes en présence de canaux imidazoles. Adaptée à partir de [62, 63]

Les canaux d'eau artificiels auto-assemblés

Une des stratégies pour améliorer la perméation en eau des membranes hybrides est d'augmenter le taux d'insertion des composés dans les membranes. Dans cette optique, l'équipe de nos collaborateurs M. Barboiu et al. [60] ont synthétisé une famille de composés, les *I-quartets* ayant des propriétés d'auto-assemblage. D'une part, des mesures de cristallographie ont indiqué que certains des composés formaient des cristaux emprisonnant de l'eau sous forme de filets d'eau (Figure 1.16a-g). D'autre part, la densité de canaux peut atteindre $3,3 \cdot 10^{17} \text{canaux/m}^2$ [61] (soit 3 fois supérieure à celle d'un cristal 2D d'AQP0 [56]). La perméabilité de ces structures mesurée à l'aide des expériences de *stopped-flow* dépend fortement du taux d'insertion des AWCs dans les liposomes. Ainsi, la perméabilité en eau des liposomes augmente avec la longueur des chaînes aliphatiques qui stabilisent l'insertion dans la membrane (voir Figure 1.16h). Ces structures sont parfaitement imperméables aux ions, ce qui en a fait de bons candidats pour la conception de nouvelles membranes hybrides.

La présence d'eau dans les structures cristallographiques suggère en effet une hypothèse sur le transport de l'eau en accord avec le rejet des ions : la molécule d'eau ayant à peu près la même étendue que le diamètre de la cavité (2,6 Å), la structure cristalline empêcherait le passage d'ions hydratés comme Cl^- ($r_{VDW} = 0.79 \text{Å}$) et Na^+ ($r_{VDW} = 1.90 \text{Å}$). Des simulations de DM faites à l'équilibre ont montré que le transport d'eau sous forme de filets d'eau

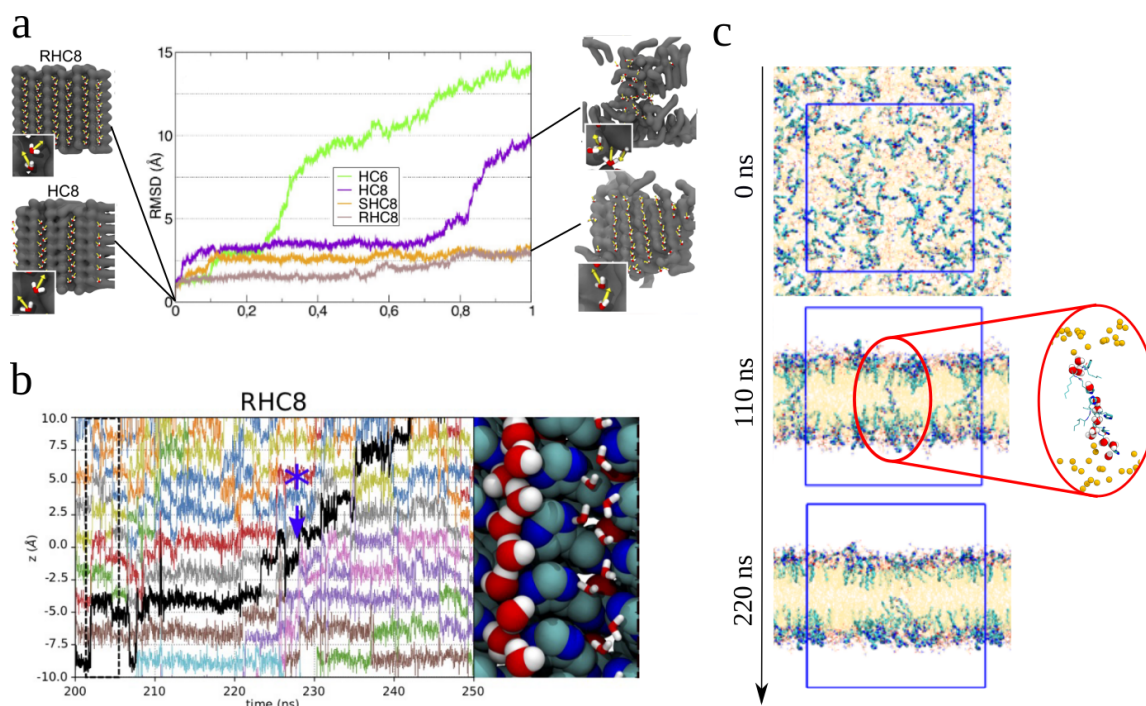


FIGURE 1.17 – Résultats des simulations de DM de composés *I-quartets* dans les lipides. a) RMSD d'un assemblage de *I-quartets* et morphologie des assemblages de dérivés d'Imidazole dans une membrane lipidique (non représentée). À la fin de la simulation, les canaux sont ordonnés (R-HC8) ou en forme d'*éponge* (HC8). b) Dynamique d'un filet d'eau et trajectoires individuelles des molécules d'eau d'un canal ordonné montrant la diffusion collective des molécules d'eau. c) Auto-assemblage de S-HC8 à partir d'un mélange d'eau, de lipides et de S-HC8. L'état final n'est pas ou peu perméable à l'eau. Aux temps intermédiaires, après formation de la bicouche, des filets d'eau connectant les deux extrémités de la membrane se forment cependant de façon intermittente autour de molécules agrégées de S-HC8. Adaptée à partir de [63]

est stable dans certains nanocristaux insérés dans les membranes lipidiques. Les simulations de DM moléculaire ont permis d'identifier un régime de perméation par diffusion collective par sauts, caractéristique des filets d'eau (Figure 1.17). Ces résultats seront discutés à la lumière de résultats de simulation plus récents faits sur ces mêmes systèmes (section 4.2). Ces études de DM ont permis également de mettre en évidence l'influence de l'environnement (les lipides) sur la perméation des nanocristaux. La stabilité dans les simulations des assemblages de molécules sous leur forme cristalline reflètent la tendance de la perméabilité nette dans les expériences de *stopped-flow* : $HC4 < HC6 < HC8 < R - CH8 < S - HC8$.

Les simulations de DM ont également mis en évidence une phase plus désordonnée des composés synthétiques dans les membranes, dit *éponge* (figure 1.17). Les composés les moins perméables expérimentalement sont ceux formant plus facilement cette phase. Dans la section 3.4, nous reportons une comparaison plus détaillée entre la perméabilité de la phase *éponge* et celle de la phase cristalline.

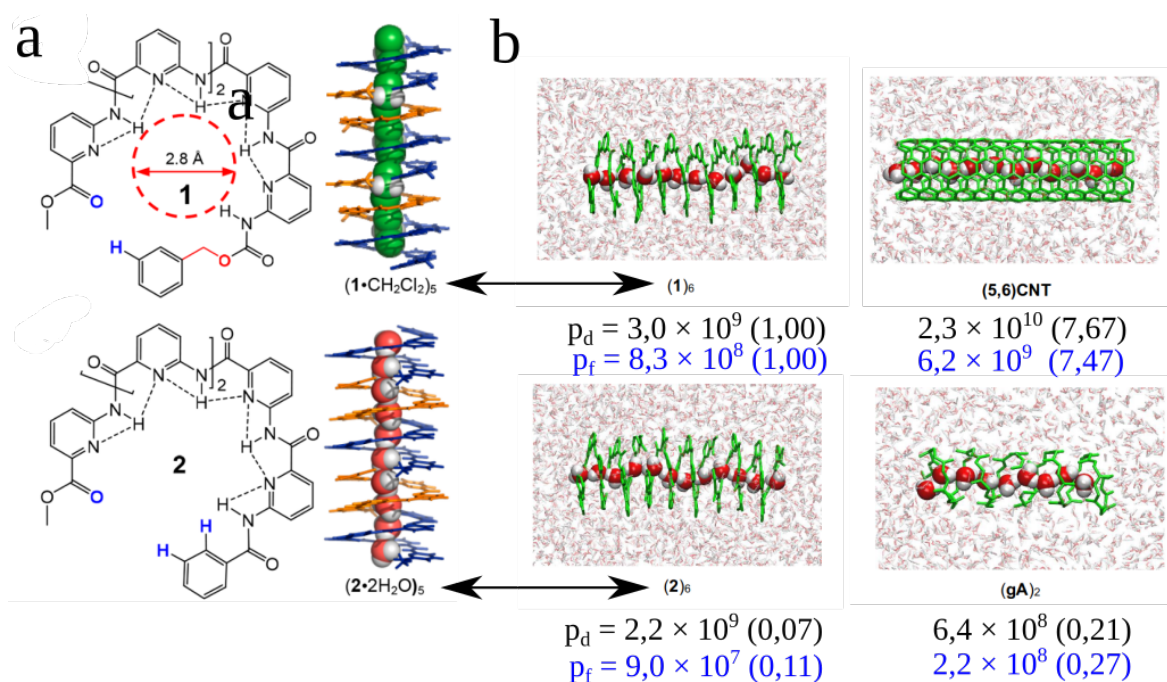


FIGURE 1.18 – a) Structure des *aquafoldamères* 1 : volume de cavité plus grande 2 : volume de cavité plus faible b) Configuration des simulations de DM à l'équilibre (sauf pour *gA* où des contraintes sont appliquées) pour mesurer la perméabilité diffusionnel p_d (en $H_2O/s/canal$) des canaux *aquafoldamères* $(1)_6$ et $(2)_6$ et des canaux $(gA)_2$ (Gramicidine A en configuration de dimère hélicoïdale) et $(5,6)CNT$. Les valeurs expérimentales de la perméabilité osmotique p_f des canaux est indiquée en bleu en $H_2O/s/canal$. Adapté de [64].

Les canaux d'eau développés par nos collaborateurs Barboiu et al. sont hydrophiles, les cavités formées offrent un grand nombre de liaisons hydrogène permettant l'insertion de l'eau à l'intérieur. Une autre équipe a reporté également l'existence de canaux artificiels d'eau hydrophiles, les *aquafoldamères* [64]. Ces AWCs sont formés de petits oligomères hélicoïdaux dont le squelette est fait de molécules aromatiques, s'assemblant par leurs extrémités par des liaisons hydrogène via une stratégie de *terminus collant* [65] formant un canal de taille $\approx 2,8\text{Å}$. Des mesures de type *stopped-flow* estiment à $3 \cdot 10^9 H_2O/s/canal$ la perméabilité du composé le plus performant. La conduction d'eau semble contredire les conclusions de Pohl et al. (voir section 1.2.2) car la mouillabilité des canaux, i.e. la possibilité des molécules d'eau de former des liaisons hydrogène, est très élevée pour les *aquafoldamères*, ce qui devrait être associé en théorie à une baisse du transport de l'eau par rapport à des canaux purement hydrophobes comme les nanotubes de carbone (voir section 1.2.4). Les auteurs suggèrent que les hautes valeurs de perméabilité peuvent être expliquées par des considérations géométriques comme le volume des cavités influant sur l'écart par rapport à la configuration énergétiquement favorable en fil d'eau et le degré de liberté des molécules d'eau dans les canaux.

Notons également que les *aquafoldamères* sont 1000 fois plus conducteur d'eau que les *imidazoles*, cependant ils possèdent une sélectivité aux ions similaires, en rejetant tous les

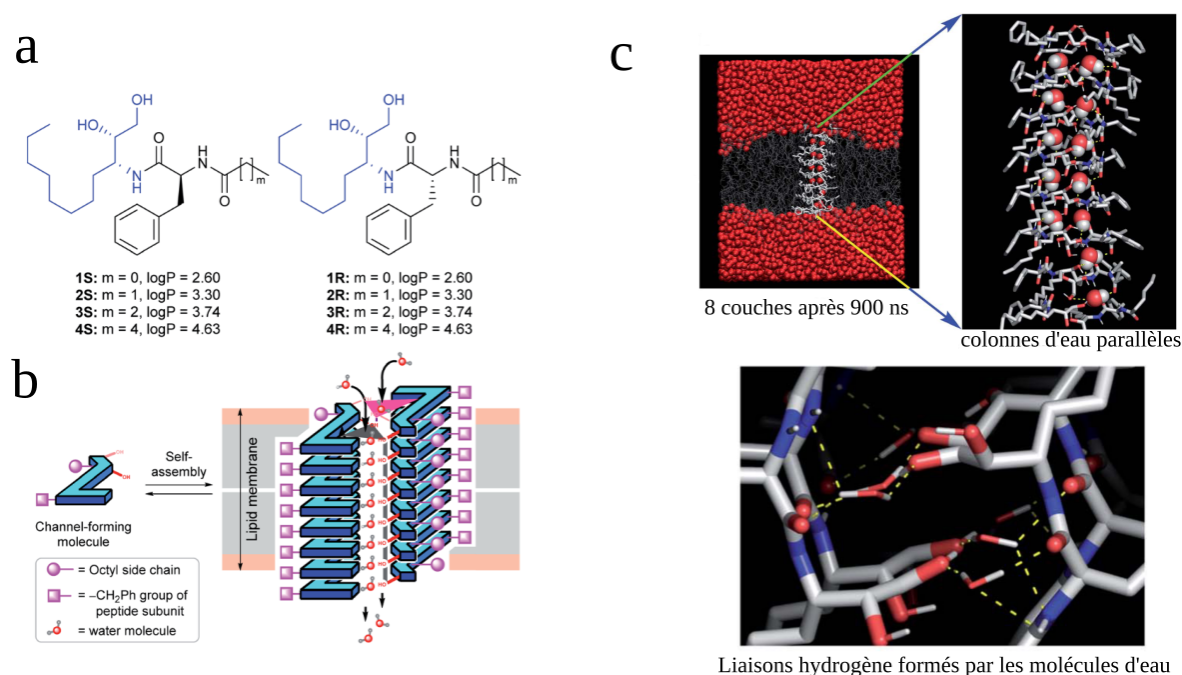


FIGURE 1.19 – a) Composé *Peptide-diol* et ses dérivés par extension de la longueur des chaînes latérales aliphatiques. b) Illustration de l'auto-assemblage dans la membrane lipidique. c) Simulation de DM du composé *Peptide-diol* après 900 ns de production. L'assemblage est stable dans la membrane lipidique et les molécules d'eau forment des colonnes parallèles dont chaque molécule d'eau est isolée et liée par liaisons hydrogènes avec les parties hydrophiles des canaux. Adapté de [66].

ions usuels sauf les protons. Dans cette étude, des simulations de DM sont utilisées pour comprendre la différence de transport entre plusieurs types de canaux, les *aquafoldamères 1* et *2* (possédant une fonction cétone en moins sur son squelette carboné), un canal de Gramicidine A et un nanotube (5,6)CNT de diamètre 4,7 Å. La configuration initiale est constituée d'un canal de six molécules auto-assemblées dont la structure a été résolue dans des expériences de cristallisation en présence d'eau, de méthanol et de chloroforme. La perméabilité est quantifiée à partir de la diffusion simple dans les canaux, en absence de pression osmotique ou hydrodynamique entre les deux extrémités du canal. Bien que les perméabilités mesurées rendent compte de conditions très différentes des expériences de *stopped-flow*, les auteurs soulignent la très bonne correspondance entre les rapports de perméabilité des différents canaux étudiés obtenus par les mesures expérimentales et les simulations (Figure 1.18).

De même que les canaux I-quartet *imidazoles*, les *aquafoldamères* conduisent les protons. Lorsque les protons sont transportés par un mouvement de diffusion de l'eau, le transfert transmembranaire est lent. Cependant, en présence de filets d'eau unidimensionnels, le transport d'ions H^+ peut s'avérer très efficace via le mécanisme décrit par Grothuss [67, 68]. Les aquaporines bloquent efficacement le transport des protons, grâce à la structure de leurs canaux qui rompt le réseau de liaisons hydrogène entre les molécules d'eau. En s'inspirant de ce mécanisme, l'équipe de Roy et al. et Shen et al. ont modifié la surface interne

des canaux *aquafoldamères* afin d'y ajouter des éléments hydrophobes [69, 70]. Plusieurs effets intéressants en résultent. Par rapport à leur homologue à cavité régulière, ces *aquafoldamères* ne conduisent pas les protons. Expérimentalement, ces systèmes ont montré des niveaux de conduction d'eau très élevés. L'augmentation du volume des cavités semble s'accompagner d'une augmentation de la perméabilité en eau et les irrégularités hydrophobes de la cavité semblent empêcher l'hydratation des ions à l'intérieur des canaux (voir Figure 1.3).

Récemment, Talukdar et al. ont synthétisé des canaux artificiels basés sur la stratégie d'auto-assemblage et bloquant le passage des protons : les canaux de peptides-diols [66]. Les données de cristallographie appuyées par des simulations de DM dans les lipides permettent de justifier la structure en *cages d'eau* dans laquelle les molécules d'eau sont isolées empêchant le transfert rapide de protons par le mécanisme de Grothuss (Figure 1.19). Bien que la structure supposée des canaux permet d'expliquer le blocage des ions et des protons, les simulations de DM ne permettent pourtant pas d'expliquer complètement le mécanisme de transport ultra-rapide d'eau ($\sim 10^8 H_2O/s/canal$) mesuré expérimentalement.

Les *cages poreuse* (POC) constituent une autre famille de canaux artificiels auto-assemblés dans lequel le transport d'eau s'effectue à travers des conduits délimités par des cavités tétraédriques internes et des cavités externes formées par la juxtaposition de monomères (Figure 1.20) [71-73]. Des simulations montrent que la morphologie des canaux influence sur le transport de l'eau suivant deux facteurs : la taille des cavités et l'interconnectivité entre les cavités. L'insertion des nanocristaux dans les liposomes a été vérifiée expérimentalement à l'aide de plusieurs techniques, les expériences de *stopped-flow*, des données de fluorescence confocale, de spectroscopie UV-vis et de photométrie IR par transformée de Fourier (FTIR) ainsi que des images de cryo-microscopie électronique (cryo-TEM) où des particules de taille $\simeq 5$ Å en forme de diamant ont pu être identifiées (Figure 1.20). La stabilité des POCs dans les membranes lipidiques a été également vérifiée par des simulations de DM reproduisant les conditions FO [71, 73]. La dépendance entre la perméabilité des structures et leur taille dans la membrane ainsi que l'influence des interactions aux interfaces lipides-POC ne sont toutefois pas clarifiés. Les auteurs reportent en effet des régimes où les filets d'eau sont très connectés favorisant un flux continu d'eau dans le cas des composés les plus hydrophiles et des régimes où des oscillations de mouillage diminuent le flux d'eau dans le cas des composés plus hydrophobes (Figure 1.20).

1.3.3 Bilan

Avec plus de 200 articles publiés depuis 20 ans, le domaine de l'étude des canaux d'eau artificiels est en plein essor [7]. Les techniques expérimentales et de simulations ont été affinées dans l'étude des canaux biologiques et des nanotubes de carbone facilitant la transposition au domaine des matériaux nouveaux. À ceci s'ajoutent les avantages de la synthèse chimique qui accélère la découverte de futurs candidats pour les technologies de désalinisation. Nous pouvons constater la diversité des résultats concernant la perméabilité et la sélectivité de cette classe de matériaux nouveaux (voir Tableau 1.3). Les simulations de DM ont pour but de comprendre les effets de la structure au niveau moléculaire sur les propriétés de transport à l'échelle d'un canal ou de réseau de canaux interconnectés. La diffusion de

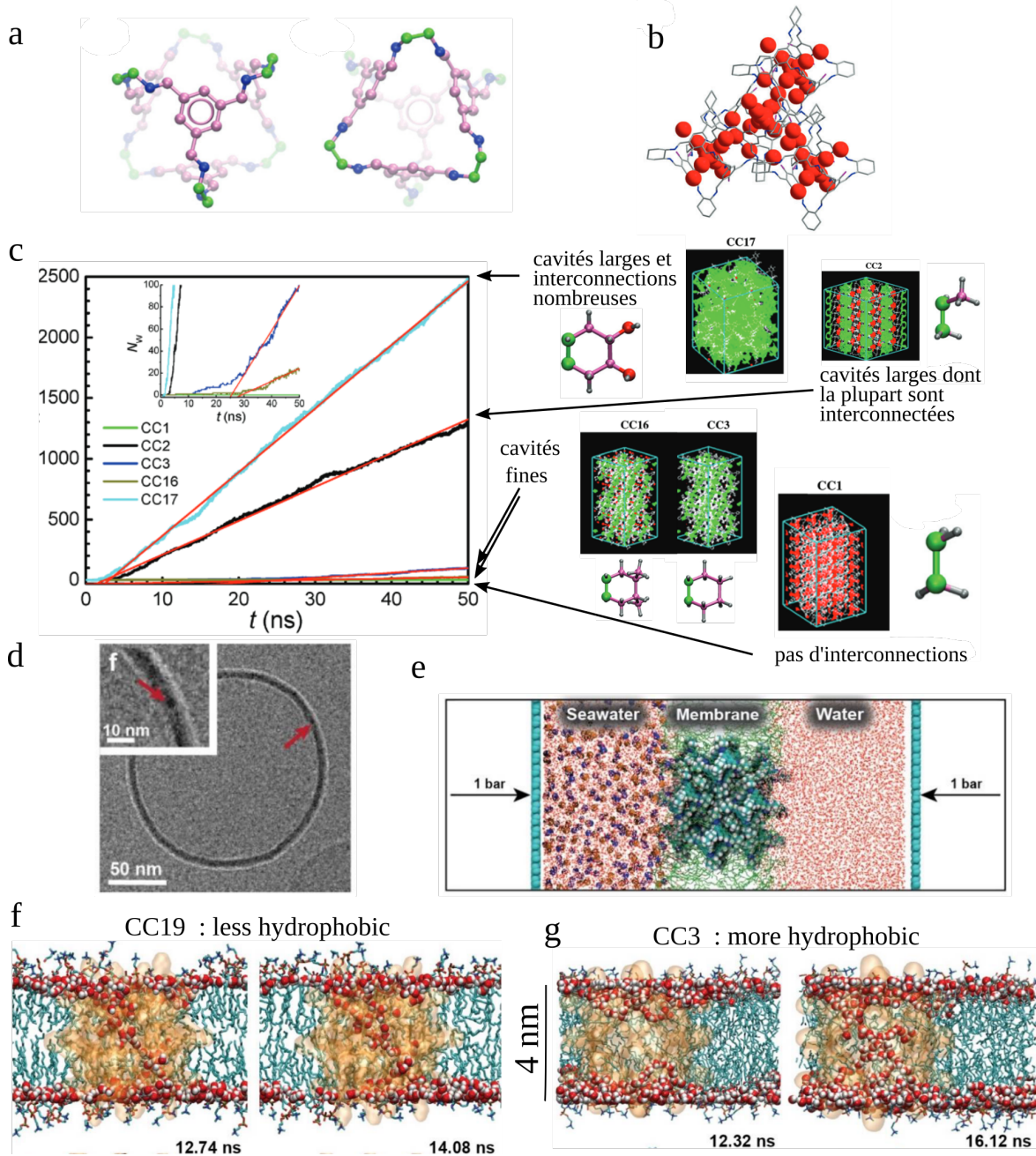


FIGURE 1.20 – Cages Poreuse POC. a) Structure du squelette des cages. b) Atomes d'oxygène(rouge) de l'eau lourde D_2O dans les cavités formés par un arrangement cristallin de CC19 détectés par diffraction de neutrons. c) Évolution des évènements de perméation nette dans des simulations RO de membranes pures de cages poreuses. À droite est indiquée le groupe chimique dont la liaison covalente en verte est commune au squelette des POCs (voir panneau a). Les structures cristallines montrent des zones d'interconnexion entre les cages (vert), et des zones non connectées (rouge). d) Images de Cryo-TEM montrant l'insertion de cristaux tétraédriques ($\approx 5\text{Å}$) dans un liposome (diamètre 100 Å). e) Montage FO en DM d'une membrane lipidique contenant 17-mères de POC CC3 ($4.73 \times 4.73 \times 4.73 \text{ nm}^3$) dans les conditions FO ($\Delta C = 2M$). f-g) Chemins d'eau dans CC19 : les canaux sont complètement hydratés et CC3 : le nombre de molécules d'eau dans la membrane varie considérablement. Adapté à partir de [71-73].

l'eau dans des environnements où les fluctuations thermiques sont non négligeables comme les canaux auto-assemblés ou les lipides est un sujet complexe qui reste encore très peu étudié au niveau théorique. Avec la puissance de calcul grandissante et l'amélioration continue des modèles moléculaires, la Dynamique Moléculaire reste une méthode de premier choix pour étudier ces phénomènes.

TABLE 1.3 – Résultats expérimentaux et résultats de simulation de dynamique moléculaire pour différents types de canaux d'eau artificiels.

AWC	Références	Taille du monomère	Taille des pores	Type de simulation	Transport de l'eau ($\times 10^9 H_2O/s/canal$)		Sélectivité		Remarques
					sim	exp	sim	exp	
dipeptides dentritiques	Percec2004	1800 Da	13 Å	Aucune	non reporté			rejet des ions sauf H^+	
PAP[5]	Shen2015	6000 Da	5 Å	DM à l'équilibre - réseau de canaux - lipides	0,5			pas de rejet des ions et molécules <420 Da	modèle diffusion collective -
PAP[5]	Shen2018	6000 Da	5 Å	Idem - lipides / copolymère à bloc	1,8 (POPC) – 0,83 (BP23)	3,3 (POPC) – 0,16 (BP23)		pas de rejet des ions et molécules <420 Da	modèle diffusion collective
pR-PH pS-PH	Li2019	6000 Da	5 Å	Idem – lipides	0,63(pR); 0,016 – 0,80 (pS)	1,3(pR) – = POPC pur (pS)		conduisent les ions alcalins $Cs^+ >$ $Rb^+ >$ $K^+ >$ $Na^+ \simeq Li^+$	même effets en rétrécissement ou en étirement des liposomes
PAH[4]	Song2020	6000 Da	3 Å	1. DM à l'équilibre + lipides 2. DM + différence de potentiel électrique	0,01 (monomère); 0,89 (22-mères)	3,7 (corrigé à 0,89)	conductivité ionique <1pS	sélectivité eau/sel 10^9	facteur 1,3-2,5 entre étirement et rétrécissement/ comptage des perméations : la perméabilité individuelle des PAH[4] est plus grande lorsqu'ils sont initialement agrégés

TABLE 1.4 – Suite du tableau 1.3.

AWC	Références	Taille du mono-mère	Taille des pores	Type de simulation	Transport de l'eau ($\times 10^9 H_2O/s/canal$)		Sélectivité		Remarques
					sim	exp	sim	exp	
Imidazole	Licsandru2016 – Murail 2018	200-300 Da	2,6 Å	DM à l'équilibre – lipides	0,003-0,079	0,00079-0,0015	non estimée	rejet total des ions, pas des protons	comptage des perméations
Aquafoldamères	Shen2020	700 Da	2,8 Å	DM à l'équilibre – sans lipides	0,0090 – 0,83	0,65 – 3,0	sélectivité eau-sel > 1323	rejet total Cl^- , Na^+ , K^+	comptage des perméations (contrôle avec nanotubes et gA) – sélectivité minimale en considérant le nombre d'évènement d'adsorption de molécules d'eau
Aquafoldamères et LA-Aq	Roy2021	700 Da	3,0 Å- 4,5 Å - 6,5 Å	DM à l'équilibre – avec lipides	0,08 (5-LA) < 1,9(4-LA) < 3,6(3-LA)	8,0(5-LA) < 16(3-LA) < 27(4-LA)	non estimée	$P_W/P_{Cl} = 1, 6.10^8$	comptage des perméations
Fuorofoldamères	Shen2022	700 Da	5,2 Å	DM à l'équilibre – avec lipides	3	14(non corrigée) – 7,8 (corrigée)	non estimée	$P_W/P_{Cl} = 2, 5.10^7$	comptage des perméations
Peptide-diol	Mondal2022	400 Da	2,5 Å	DM à l'équilibre – lipides	0,016	0,45 – 0,51	sélectivité eau/sel > 8649	rejet total du sel et des protons	comptage des perméations
Cages poreuses	Yuan2020	1200 Da	5,8 Å	DM + Montage FO ($\Delta C = 2M$)	CC3 : 9,4 - CC19 : 0,86	CC3 : 2,85 (1,1 corrigé) – CC19 : 1,27 (0,48 corrigé)	aucunes perméations d'ions	rejet total des ions	comptage des perméations

MÉTHODES

*Ainsi mon dessein n'est pas d'enseigner
la méthode que chacun doit suivre pour
bien conduire sa raison, mais de faire
voir en quelle sorte j'ai tâché de conduire
la mienne.*

– René Descartes

2.1	Génération des données par Dynamique Moléculaire	56
2.1.1	Introduction	56
2.1.2	Champ de Force	56
2.1.3	Principe de la Dynamique Moléculaire	61
2.1.4	Contraintes et Sites virtuels	62
2.1.5	Contrôle de la température	62
2.1.6	Contrôle de la pression	64
2.1.7	Conditions aux limites périodiques	66
2.1.8	Protocole de travail	66
2.2	La méthode REST2	68
2.3	Analyse des données	70
2.3.1	Fonction de Distribution Radiale	70
2.3.2	RMSD	70
2.3.3	Clustering de structures	71
2.3.4	Clustering Spatial	72
2.3.5	Diamètre des canaux	74
2.3.6	Comptage des perméations	75

2.1 Génération des données par Dynamique Moléculaire

2.1.1 Introduction

Dans ce projet, nous avons utilisé principalement l'approche computationnelle de Dynamique Moléculaire (DM). Cette technique permet d'étudier la dynamique des systèmes à l'échelle moléculaire dans des conditions de température et de pression données. Étant donné les petites tailles des pores des objets étudiés ($\simeq 3 \text{ \AA}$), nous avons utilisé des modèles tout-atome dans lequel les variables calculées sont les positions et les vitesses de tous les atomes des molécules mises en jeu. L'avantage de cette méthode est qu'elle permet de résoudre avec précision les contraintes spatiales dues notamment aux liaisons hydrogène entre atomes donneurs d'électrons (principalement O,N) et atomes accepteurs d'électrons (principalement -OH, -NH) entre les canaux et les molécules d'eau en leur sein. Le prix à payer pour ce genre de simulations est le temps de calcul. Les simulations réalisées dans ce projet ont un nombre d'atomes qui varie autour de $\simeq 70000$ atomes (typiquement une membrane lipidique hydratée par une couche d'eau explicite de 20 \AA). Nous avons eu recours à l'utilisation de centres de calcul nationaux (GENCI) pour lancer un grand nombre de simulations et exploiter le parallélisme. Afin d'exploiter les performances de calcul en DM, notamment à l'aide de cartes graphiques (GPU) performantes, nous avons choisi de travailler sur le logiciel libre GROMACS [74], largement utilisé dans la communauté. Ce logiciel possède de nombreux avantages, dont une certaine modularité dans les conditions appliquées dans les simulations, des outils simples pour préparer rapidement des configurations initiales, ainsi que des outils de post-traitement de données et d'analyses avancées. A titre d'exemple, en utilisant un ensemble de paramètres de DM *brute-force*, 2 GPUs haute performance et une vingtaine de CPUs, l'échelle de temps accessible par un système contenant 70000 atomes avec un pas de temps équivalent à 2 fs ($2 \cdot 10^{-15} \text{ s}$) est d'environ 100 ns par jour.

2.1.2 Champ de Force

Forme générale

Le champ de force est un ensemble de paramètres et d'équations qui définissent l'énergie potentielle du système. C'est une des composantes les plus importantes des modèles de DM car il définit la précision des interactions modélisées entre atomes et permet de prédire la structure des molécules, rend compte de la thermodynamique du système et joue un rôle également dans la cinétique des phénomènes observés en simulation. Les champs de force utilisés dans cette thèse sont empiriques, ils rendent compte des interactions entre atomes via des potentiels d'interaction par paires. Il existe différentes bibliothèques de paramètres suivant les équations du modèle utilisé. Les paramètres sont optimisés sur des systèmes simples à l'aide de données expérimentales ou de calculs théoriques de mécanique quantique, aussi appelés *ab-initio* (voir section 2.1.2).

Bien que légèrement différents suivant le champ de force, la forme de l'énergie poten-

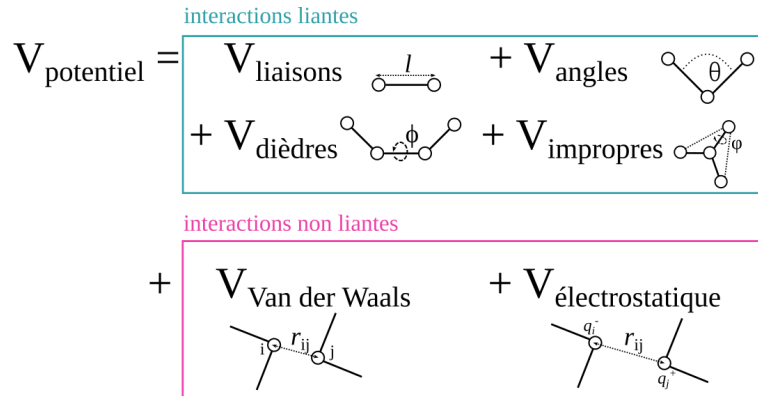


FIGURE 2.1 – Illustration de l'énergie potentielle et des paramètres de champs de force.

tielle du système à $3N$ variables est décomposable en interactions liantes et non liantes (voir Figure 2.1). Dans le champ de force CHARMM particulièrement utilisé dans cette thèse, la forme originale du potentiel s'écrit :

$$\begin{aligned}
 V_{\text{pot}} = & \sum_{\text{liaisons}} K_l (l - l_0)^2 + \sum_{\text{angles}} K_\theta (\theta - \theta_0)^2 \\
 & + \sum_{\text{dièdres}} K_\phi (1 + \cos(n\phi - \delta)) + \sum_{\text{impropres}} K_\psi (\psi - \psi_0)^2 \\
 & + \sum_{\text{non-liants}} \left(\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - 2 \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \right)
 \end{aligned} \tag{2.1}$$

où chaque terme additif est composé de contributions de type :

- liaisons : l et l_0 correspondent aux distances réelles et à l'équilibre entre deux atomes liés par une liaison covalente. K_l correspond à la constante de force d'étirement de la liaison.
- angles : θ et θ_0 correspondent aux angles réels et à l'équilibre entre deux liaisons covalentes. K_θ correspond à la constante de force de flexion.
- dièdres : n , ϕ_0 et δ correspondent à la multiplicité, l'angle dièdre réel et le déphasage du potentiel périodique paramétrant l'angle dièdre. K_ϕ correspond à la constante de force de torsion.
- impropres : ψ et ψ_0 correspondent aux angles impropres réels et à l'équilibre (voir Figure 2.1). K_ψ correspond à la constante du potentiel harmonique associé.
- Van der Waals (VdW) : ϵ_{ij} correspond à la profondeur du puits de potentiel des interactions de Van der Waals entre deux types d'atomes et représenté par un potentiel de Lennard-Jones. σ_{ij} est le rayon du puits de potentiel, et r_{ij} la distance entre une paire non liante d'atomes.
- Électrostatique : q_i et q_j sont les charges partielles des atomes et ϵ_0 la constante diélectrique.

Interactions à distance et cutoffs

Dans les modèles de DM, une attention particulière doit être portée sur le traitement des interactions non liantes inter- et intra-moléculaires. Les interactions à distance sont éteintes pour les atomes d'une même molécule séparés par un ou deux atomes. Pour les interactions 1-4, entre deux atomes de la même molécule séparés par deux atomes, les interactions à distance peuvent être paramétrisées pour s'ajuster aux angles dièdres associés, en utilisant un facteur d'échelle pouvant varier suivant les champs de force (voir Tableau 2.1).

TABLE 2.1 – Facteurs d'échelles des interactions 1-4 utilisés dans les champs de force utilisés dans Gromacs.

Champ de force	fudge LJ ^a	fudge QQ ^b
CHARMM	1,0	1,0
AMBER	0,5	0,833
OPLS-AA	0,5	0,5

^a facteur d'échelle pour les potentiels de Lennard-Jones

^b facteur d'échelle pour l'interaction électrostatique

En principe, le calcul des forces de Van der Waals se fait entre toutes les paires d'atomes du système. Cependant, les potentiels d'interaction décroissent rapidement avec la distance interatomique. On définit donc un cutoff pour calculer les interactions de courte portée. Ce cutoff est fixé à 12 Å dans nos simulations pour correspondre aux conditions standards d'optimisation des champs de force. Pour éviter les problèmes de discontinuité des forces, les potentiels d'interaction tendent continûment vers 0 entre 10 et 12 Å.

Les forces électrostatiques décroissent plus faiblement avec la distance interatomique, elles sont donc calculées en utilisant la méthode de sommation d'Ewald. Le calcul des interactions courte portée est calqué sur celui des interactions de Van der Waals en définissant des cutoffs similaires. La partie à longue portée est calculée en utilisant des sommes de forces dans l'espace de Fourier [75]. Notons que cette méthode de calcul est également optimisée à l'aide de cartes graphique (GPU).

Particularités des champs de force

L'utilisation de plusieurs types de molécules dans les simulations de DM augmentent sensiblement le nombre de paramètres de champ de force à fixer. En effet, chaque atome d'une simulation est associé à son type qui dépend de sa position dans une molécule. De plus, chaque molécule peut avoir une structure propre. Les calculs au niveau quantique (HF, MP, DFT) peuvent être utilisés pour obtenir une géométrie des molécules qui prend en compte des aspects fondamentaux liés à la position des électrons. Ainsi, le développement des champs de force est un domaine à part entière dans lequel le travail d'optimisation des paramètres décrit une méthode bien précise.

En règle générale, il n'existe pas de "meilleur" champ de force. Les champs de force

qui nous intéressent comme CHARMM [76] ou AMBER [77], ont été optimisés notamment pour reproduire la structure expérimentale de nombreuses biomolécules. Chaque champ de force peut présenter des avantages suivant la question posée ou le type d'application. Ainsi, des champs de force comme TraPPE ou CHARMM ont montrés leur efficacité pour prédire des transitions de phase dans les liquides [78], alors que AMBER permet par exemple de reproduire la structure de cristaux moléculaires [79]. La communauté de CHARMM a intensément contribué à l'optimisation des paramètres des lipides. Les paramètres des lipides sont par exemple optimisés afin de correspondre à des grandeurs expérimentales, comme la densité surfacique et les paramètres d'ordre des queues hydrophobes (liés au degré d'ordre de la phase liquide) [80].

Nous avons utilisé le serveur web CHARMM-GUI [81, 82] pour générer des configurations de membranes lipidiques en utilisant la version CHARMM36 du champ de force. A l'aide de l'outil *Membrane Builder* du serveur, nous avons inséré les canaux synthétiques au centre de la membrane. Nous avons également tester d'autres champs de force de lipides comme Slipids, compatible avec le champ de force AMBER pour les acides aminés. Ce champ de force a été récemment optimisé à l'aide de calculs quantiques DFT [83].

Pour paramétriser les petites molécules, nous avons principalement utilisé deux champs de force GAFF2 [77]^a et CGenFF [85, 86]. La construction de ces champs de forces reposent sur des analogies chimiques avec d'autres biomolécules (ADN, acides aminés, lipides, ...) et sur des optimisations de paramètres faites sur un ensemble test de petites molécules représentatives, suivant la méthode générale de l'optimisation des champs de force de biomolécules correspondantes [87]. En général les paramètres des potentiels de Lennard-Jones sont optimisés pour rendre compte de données expérimentales faites sur des composés purs (chaleur latente de vaporisation, masse volumique, ...). Les données expérimentales font cependant souvent défaut et implique de réaliser des simulations de DM classique en phase liquide. Ainsi, le recours aux simulations *ab-initio* est de plus en plus privilégié et largement utilisé pour fixer les autres paramètres (paramètres liés et charges partielles)^b. Des coefficients d'échelle sont appliqués pour reproduire les comportements des liquides purs, car les composés dans les calculs QM sont simulés dans la phase gazeuse.

Les paramétrisations de CGenFF et GAFF sont légèrement différentes. CGenFF utilisent des analogies pour assigner les paramètres et renvoie donc des paramètres déjà présents dans le champ de force, avec un score de pénalité qui donne un moyen de juger du degré d'approximation faite. Dans le cas de GAFF, les paramètres liés sont déterminés à l'aide de lois empiriques basées sur des valeurs tabulées déjà optimisés pour certaines molécules ou groupes chimiques. De plus, CGenFF et GAFF utilisent des méthodes d'assignation des charges partielles différentes. Dans le cas de CGenFF, l'attribution des charges partielles centrées sur les atomes se fait par analogie aux charges partielles des composés déjà optimisés lors de la constitution du champ de force. La puissance de cette méthode, malgré

a. GAFF et GAFF2 font partie de la distribution AmberTools16 [84]. Selon les auteurs de Amber, GAFF2 est un projet en cours ayant pour but d'améliorer la qualité des interactions et de reproduire les propriétés en phase liquide comme la densité, la chaleur de vaporisation et l'énergie libre d'hydratation.

b. Les niveaux de théorie quantique (MP, HF ou DFT) peuvent différencier suivant les champs de force, la méthode reste cohérente si, dans un même champ de force, les paramètres sont optimisés à partir des données de QM utilisant le même niveau de théorie.

son caractère empirique, est de pouvoir reproduire en grande partie les effets inductifs et mésomères dans les molécules, en incrémentant les charges initiales par ensemble de 2,3 et 4 atomes impliqués dans les liaisons, les angles et les dièdres de la molécule [86]. Plusieurs méthodes d'assignation des charges sont possibles en utilisant GAFF. La méthode adoptée dans notre travail est la méthode AM1-BCC [81]. Elle consiste à appliquer des corrections sur les charges déterminées empiriquement par la méthode de Mulliken, ces corrections sont initialement calibrées par type d'atomes pour ajuster les charges des molécules test du champ de force aux valeurs exactes établies pour ces composés à l'aide d'une méthode quantique (HF/6-31G* RESP).

Dans le cas de GAFF, la paramétrisation d'une molécule dont les coordonnées et la topologie se trouvent au format `.mol2` a été réalisé à l'aide du package `antechamber` de la suite `Ambertools19`. Dans le cas de CGenFF, la paramétrisation se fait à l'aide d'un service web [88] et la conversion dans un format lisible par Gromacs est fait à l'aide d'un programme en ligne de commande [89]. Notons que ces outils sont désormais intégrés dans les dernières versions de CHARMM-GUI.

Dans le chapitre 5, nous discutons les effets de ces modèles sur la précision des résultats obtenus.

Les modèles d'eau

Le modèle moléculaire de l'eau peut également affecté la stabilité et la perméabilité dans nos simulations (voir 4.3). Il convient de choisir le modèle d'eau suivant le type application (solubilité, interactions ligand-protéines, étude du diagramme de phase de l'eau, etc ...). Nous avons principalement utilisé deux modèles classiques d'eau rigides, TIP3P et SPC/E dans nos études. Ce sont des modèles à trois points dont les charges sont centrées sur les atomes avec des géométries légèrement différentes (voir Figure 2.2).

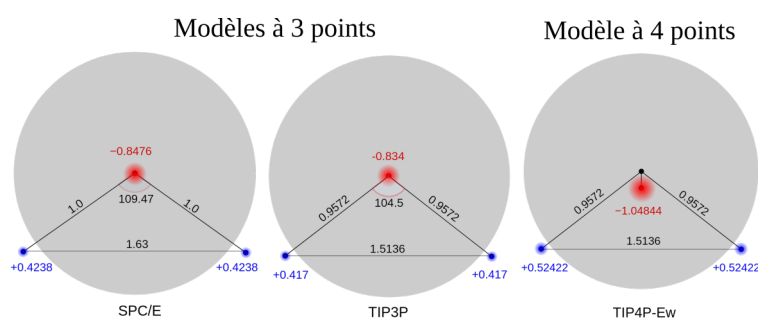


FIGURE 2.2 – Modèles explicites d'eau utilisés en Dynamique Moléculaire. Source : Computecanada [90].

Il existe des modèles d'eau plus sophistiqués comme TIP4P, modèle à 4 points qui reproduit plus fidèlement un ensemble de mesures expérimentales (voir Tableau 2.2). Cependant des parties du champ de force CHARMM sont co-paramétrisées avec TIP3P, ce qui justifie son utilisation dans cette thèse. Le cas d'AMBER est moins restrictif et peut être utilisé avec plusieurs modèles d'eau différents.

TABLE 2.2 – Paramétrisation et propriétés physiques de modèles moléculaires d'eau. Source : LSBU [91].

modèle	paramètres du modèle					Propriétés physiques ^e		
	σ (Å) ^a	ϵ (kJ/mol) ^a	d_{OH} (Å) ^b	d_{OM} (Å) ^c	θ (°) ^d	moment dipo- laire (D)	diffusion (10 ⁻⁵ cm ² /s)	constante diélec- trique
TIP3P	3,15061	0,6364	0,9572	0	104,52	2,35	5,19	82
SPC/E	3,166	0,65	1	0	109,47	2,35	2,49	71
TIP4P- Ew	3,15365	0,648	0,9572	0,15	104,52	2,32	2,4	62,9
exp						2,30	2,95	78,4

^a paramètres du potentiel de Lennard-Jones autour de l'atome d'oxygène (le potentiel autour des hydrogènes est nulle)

^b distance entre les atomes d'hydrogène et l'atome d'oxygène

^c distance entre l'atome l'atome d'oxygène et le centre de la charge

^d angle H-O-H

^e à T = 298K et P = 1 atm

2.1.3 Principe de la Dynamique Moléculaire

Une fois le champ de force choisi, l'énergie potentielle V_{pot} permet de calculer les forces qui s'appliquent à un instant donné sur chaque atome du système :

$$\vec{F}_i = -\frac{\partial V_{pot}(\vec{r}_i)}{\partial \vec{r}_i} \quad (2.2)$$

La position de chaque particule à l'instant suivant est obtenue à l'aide de l'équation de Newton :

$$\vec{F}_i = m_i \vec{a}_i \iff \frac{\partial^2 \vec{r}_i}{\partial t^2} = \frac{\vec{F}_i}{m_i} \quad (2.3)$$

Plusieurs algorithmes implémentés dans Gromacs permettent de calculer par intégrations successives la vitesse et la position des particules au cours du temps. Dans ce projet, nous avons utilisé l'algorithme *Leap-Frog* dont le principe est de calculer les positions et les vitesses à des temps décalées d'un demi pas de temps $\Delta t/2$. Cette méthode conserve relativement bien l'énergie totale du système et possède des propriétés mathématiques essentielles au couplage avec le thermostat (voir section 2.1.5). L'intégration des équations du mouvement se fait à l'aide du schéma suivant :

$$\begin{aligned} \vec{r}_i(t + \Delta t) &= \vec{r}_i(t) + \Delta t \cdot \vec{v}_i(\Delta t/2) \\ \vec{v}_i(t + \Delta t/2) &= \vec{v}_i(t - \Delta t/2) + \Delta t \cdot \vec{a}_i \end{aligned} \quad (2.4)$$

où \vec{r}_i , \vec{v}_i et \vec{a}_i correspondent respectivement aux positions, aux vitesses et aux accélérations des atomes.

2.1.4 Contraintes et Sites virtuels

Un des paramètres critiques des simulations de DM est le temps d'incrémentation Δt du champ de force. Pour que le calcul des forces soit stable, le choix du Δt doit tenir en compte des degrés de liberté les plus rapides dans le système, c'est-à-dire les vibrations des liaisons et des angles autour des atomes d'hydrogène. L'utilisation d'algorithmes de contraintes comme LINCS [92] permet de fixer les distances des liaisons avec les atomes d'hydrogène à leur valeur d'équilibre. Cela permet d'utiliser un pas de temps de 2 fs.

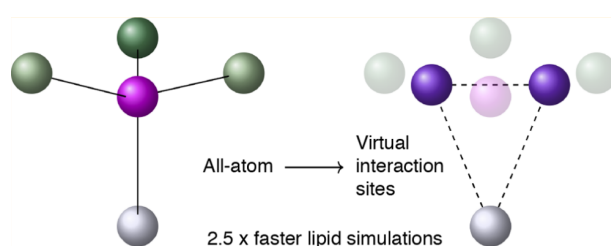


FIGURE 2.3 – Illustration du principe des atomes virtuels pour s'affranchir des vibrations rapides impliquant des atomes d'hydrogènes. Reproduite à partir de [93].

Pour augmenter le pas de temps, il existe également des méthodes utilisant des atomes virtuels (VIS) [94, 95]. Le principe est d'effacer complètement les degrés de liberté des atomes d'hydrogène, et de considérer des particules virtuelles avec une masse effective. L'intégration des lois de Newton se fait sur la position de ces atomes virtuels. Des lois géométriques permettent de relier la position d'atomes d'hydrogène et de carbone sans masses à celles des atomes virtuels (voir Figure 2.3). À la différence avec les champs de force unitaire qui exclue totalement la présence des atomes d'hydrogène dans les simulations, cette méthode permet de conserver en mémoire la position des atomes d'hydrogène pour calculer les forces non liantes. Certaines simulations préliminaires utilisant des sites virtuels [63] ont été analysées dans le cadre de cette thèse. Nous avons utilisé le programme `Mkvsites` [93] pour modéliser les groupes terminaux $-\text{CH}_3$ dans les lipides et les molécules de canaux synthétiques. Ceci permet d'étendre le pas de temps jusqu'à 5 fs. En comparant la stabilité et la perméabilité de systèmes identiques préparés avec et sans sites virtuels, nous n'avons pas observé d'effets notables de cette modification du champ de force.

2.1.5 Contrôle de la température

Afin de modéliser le mouvement des molécules dans un environnement réaliste, il faut pouvoir contrôler la température ainsi que la pression.

Les simulations de DM permettent d'étudier des systèmes hamiltoniens à N particules dont la forme de l'hamiltonien est donnée par l'énergie totale du système :

$$\begin{aligned}
H_{tot} &= K_{cin}(\{\vec{v}_i\}) + V_{pot}(\{\vec{r}_i\}) \\
H_{tot} &= \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} m_i v_i^2 + V_{pot}
\end{aligned} \tag{2.5}$$

où K_{cin} est l'énergie cinétique du système, \vec{v}_i la vitesse des atomes et V_{pot} l'énergie potentielle du système donnée par 2.1.

Sous de bonnes conditions (algorithmiques notamment), ce genre de système tend vers l'équilibre pour lequel les grandeurs thermodynamiques fluctue seulement autour d'une valeur moyenne. En supposant l'ergodicité du système, les grandeurs moyennées dans le temps donne une estimation des moyennes d'ensemble (moyennes faites sur un ensemble de configurations de même énergie totale).

Si aucune autre condition n'est imposée à l'évolution du système, l'ensemble statistique décrit est dit NVE, c'est-à-dire que le nombre de particules, le volume et l'énergie totale du système sont fixées. D'après le théorème d'équipartition de l'énergie qui s'applique à l'équilibre, il est possible de définir la température du système à tout instant par :

$$T(t) = \sum_{i=1, N} m_i \frac{v_i(t)^2}{k_B N_f} \tag{2.6}$$

où k_B est la constante de Boltzmann et $N_f = 3N - N_{con}$ est le nombre de degrés de liberté du système et N_f est le nombre de contraintes sur les variables du système. Par exemple, dans les simulations de ce projet, nous imposons le moment cinétique total du système à zéro en translatant les atomes par le mouvement du centre de masse du système. Nous utilisons également des algorithmes de contraintes pour contraindre la taille des liaisons (voir section 2.1.4).

Une approche simple qui permet de fixer la température du système est de calculer la température instantanée $T(t)$ du système à chaque pas de temps et de normaliser les vitesses par un facteur dépendant du ratio $T_0/T(t)$ entre la température voulue et la température actuelle du système. C'est la méthode de Berendsen [96] que nous utilisons lors de l'équilibration du système car elle permet d'atteindre rapidement la température voulue. Cependant, elle n'est pas appropriée pour l'étape de production, car elle n'échantillonne pas le système dans l'ensemble canonique, c'est-à-dire l'ensemble pour lequel les vitesses suivent la loi de probabilité de Maxwell-Boltzmann :

$$v_i \sim e^{-\frac{m_i v_i^2}{2k_B T}} \tag{2.7}$$

Pour ce faire, on adopte plutôt une autre approche, celle du thermostat de Nosé-Hoover [97]. Ce dernier consiste à considérer un ensemble étendue à $3N + 2$ degrés de libertés où la quantité conservée H_{Nose} est donnée par :

$$H_{Nose} = \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \frac{\vec{p}_i^2}{m_i} + V_{pot}(\{\vec{r}_i\}) + N_f k_B T \xi + \frac{p_\xi^2}{2Q} \quad (2.8)$$

où ξ et p_ξ sont les deux variables introduites par le thermostat, T est la température du système, Q une masse effective de contrôle et p_i les quantités de mouvement des particules ($\vec{p}_i = m_i \cdot \vec{v}_i$). Les équations du mouvement sont alors remplacées par :

$$\begin{aligned} \dot{\vec{r}}_i &= \vec{p}_i / m_i \\ \dot{\vec{p}}_i &= -\frac{\partial V_{pot}(\vec{r}_i)}{\partial \vec{r}_i} - \frac{p_\xi \cdot \vec{p}_i}{Q} \\ \dot{p}_\xi &= T - T_0 \end{aligned} \quad (2.9)$$

L'algorithme associé et décrit dans [98] est implémenté dans Gromacs comme une extension de l'intégrateur Leap-Frog (voir 2.1.3). Il est notamment possible de contrôler le temps caractéristique d'oscillation de l'énergie cinétique $\tau_T = \sqrt{\frac{4\pi Q}{T_0}}$ [74].

L'ensemble décrit par l'ajout d'un thermostat est NVT et est utilisé dans les étapes d'équilibration pour stabiliser le système à température constante.

2.1.6 Contrôle de la pression

Outre la température, nous nous intéressons également à reproduire les conditions de pression dans les simulations de DM. Le tenseur des contraintes généralisant la pression aux forces de cisaillement ([P]) est relié au volume V du système et se calcule à l'aide du théorème du Viriel :

$$\overline{\overline{P}} = \frac{1}{V} \sum_{i=1}^N m_i \vec{v}_i \otimes \vec{v}_i + \sum_{i < j} \vec{r}_{ij} \otimes \vec{F}_{ij} \quad (2.10)$$

où \otimes représente le produit tensoriel entre deux vecteurs, \vec{v}_i représentent les vitesses des particules et \vec{F}_{ij} la force appliquée par l'atome j sur l'atome i . Le premier terme dans 2.10 représente la contribution due à l'énergie cinétique des particules, et le deuxième terme la contribution due aux forces interatomiques. La pression est donc un tenseur 3x3 dont l'expression générale est :

$$\overline{\overline{P}} = \begin{bmatrix} P_{xx} & P_{yx} & P_{zx} \\ P_{xy} & P_{yy} & P_{zy} \\ P_{xz} & P_{yz} & P_{zz} \end{bmatrix} \quad (2.11)$$

De même que le thermostat, le barostat de Berendsen [96] permet de contrôler la pression du système en mettant à l'échelle les positions des atomes au cours de l'intégration des équations du mouvement par un facteur μ liée à l'écart entre la pression microscopique $Tr(\overline{P})/3$ et la pression de contrôle P_0 . Il est possible de prendre en compte l'anisotropie du système en découplant les dimensions de l'espace. Dans les simulations modélisant des membranes bicouches, la pression latérale et la pression normale sont ainsi découplées de manière à respecter la symétrie du système. De nouveau, ce barostat ne permet pas d'échantillonner correctement le système suivant l'ensemble NPT. Nous l'avons donc utilisé uniquement dans les phases d'équilibration pour atteindre rapidement la pression désirée. Lors de l'étape de production, le barostat de Parinello-Rahman [99] a été utilisé pour contourner ce problème. Dans le même formalisme que le thermostat de Nosé-Hoover, le principe est d'ajouter des variables dans l'hamiltonien du système en intégrant l'évolution temporelle des dimensions de la boîte. Cela revient à modifier les équations du mouvement en :

$$\begin{aligned}\ddot{\vec{s}}_i &= \overline{h}^{-1} \vec{F}_i/m_i - (\overline{G}^T)^{-1} \dot{\overline{G}} \vec{p}_i \\ \ddot{\overline{h}} &= V \overline{W}^{-1} (\overline{h}^T)^{-1} (\overline{P} - \overline{P}_0)\end{aligned}\quad (2.12)$$

où \overline{h} est le tenseur 3x3 définissant les dimensions de la boîte $\vec{r}_i = \overline{h} \cdot \vec{s}_i$, $\{s_i\}$ ($0 < s_i < 1$) les coordonnées des atomes relatives au référentiel de la boîte (voir Figure 2.4), $\{\vec{r}_i\}$ les coordonnées cartésiennes, $\overline{G} = \overline{h}^T \overline{h}$ le tenseur métrique et \overline{W} un tenseur de paramètres de contrôle reliés aux coefficients de compressibilités et aux temps caractéristiques du barostat [74]. Dans le système d'équation 2.12, la première ligne permet de calculer les coordonnées s_i relatives au référentiel tandis que la deuxième ligne régit la dynamique de la boîte qui s'ajuste suivant la pression imposée. Cette méthode peut être utilisée avec le thermostat de Nosé-Hoover vu précédemment (équivalent à ajouter les termes de 2.9 dans 2.12)

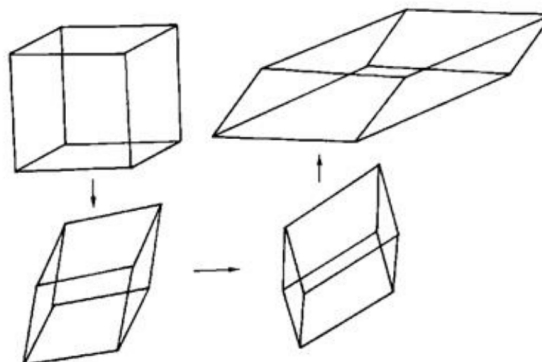


FIGURE 2.4 – Illustration de la déformation de la boîte périodique pour contrôler la pression. Source : Wikimedia Foundation.

2.1.7 Conditions aux limites périodiques

Les simulations de DM utilisent la périodicité aux limites du système (voir Figure 2.5) pour éviter des effets de taille finie. Dans ces conditions, les molécules évoluent dans un environnement mimant les conditions d'un milieu infini homogène. Dans l'étude des protéines et des lipides, on s'assure que la couche de solvatation soit suffisamment grande (plus de 20 Å) pour que les effets d'interaction d'une molécule sur elle-même soit négligeables. Dans le cas de l'étude de l'auto-assemblage en solution, cette méthode peut tout de même introduire des effets de bord non négligeables, comme nous le verrons dans le chapitre 5. Plusieurs formes de boîtes sont implémentées dans Gromacs, dont la boîte triclinique et la boîte octaédrique. Nous avons principalement utilisé des boîtes tricliniques dont les longueurs des côtés peuvent changer en fonction de la pression appliquée.

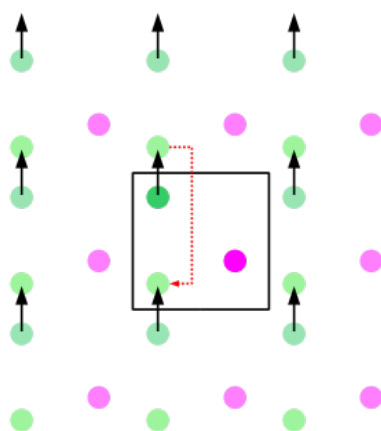


FIGURE 2.5 – Illustration des conditions aux limites périodiques. Source : Wikimedia Foundation.

2.1.8 Protocole de travail

Les simulations dans cette thèse ont été essentiellement préparé suivant le schéma global donné en Figure 2.6. Il convient d'abord de préparer la configuration initiale des molécules dans la boîte de simulation. Les hypothèses sur la morphologie des assemblages de canaux synthétiques proviennent de données de cristallographie, principale source expérimentale sur la structure des canaux.

Notre approche constitue en quelque sorte une étape intermédiaire entre la caractérisation d'un système dans des conditions très contrôlées (caractérisation du matériau, cristallographie aux rayons X) et son étude dans des milieux complexes comme les cellules biologiques (voir section 1.2.1).

Prenons l'exemple du composé d'*imidazole* S-HC8 étudié dans le chapitre 4, il est possible de cristalliser ce composé en présence d'eau, sa structure cristalline fait apparaître des canaux d'eau structurés orientés selon une seule direction de l'espace. De plus, chaque canal est entouré d'un réseau très dense de queues aliphatiques. Il semble raisonnable qu'un

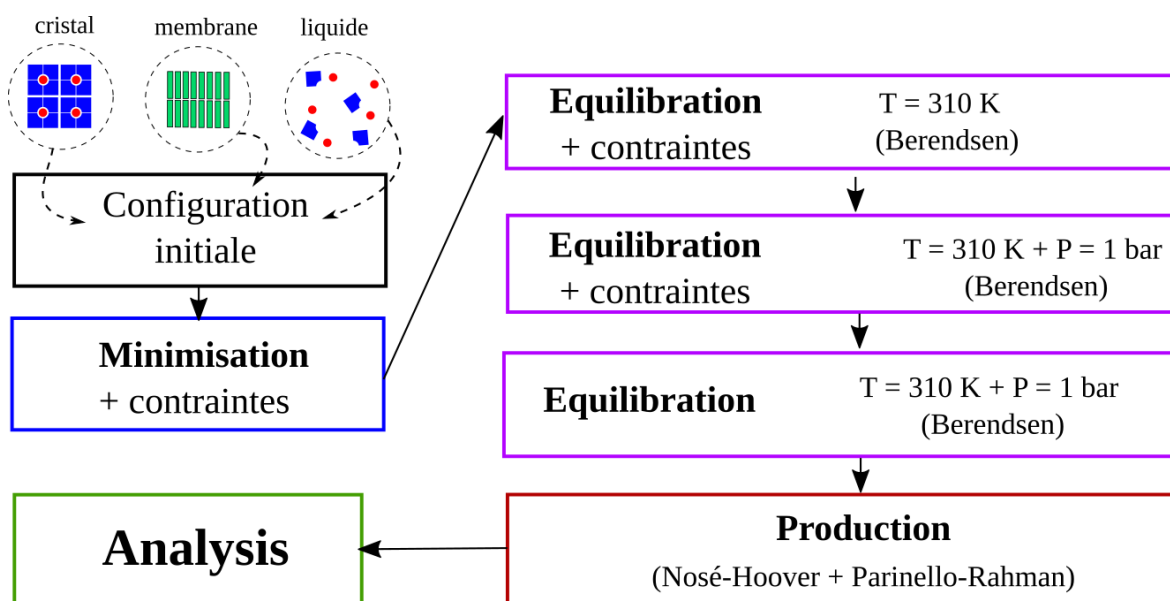


FIGURE 2.6 – Protocole des simulations de Dynamique Moléculaire pour l’analyse des canaux d’eau artificiels.

nanocristal soit inséré dans une membrane de lipides suivant la direction des canaux d’eau et que sa hauteur puisse couvrir une surface qui favorise les interactions hydrophobes avec la partie interne de la bicouche (voir Figure 2.7). Le cristal peut être facilement répliqué dans les trois directions de l’espace (e.g. avec l’outil `gmx genconf` de Gromacs). Cependant, la surface latérale du cristal dans les simulations reste un choix arbitraire, qu’il importe de prendre en considération dans l’étude de la stabilité et de la perméabilité de la membrane. Nous reviendrons sur ce point dans le chapitre 4.

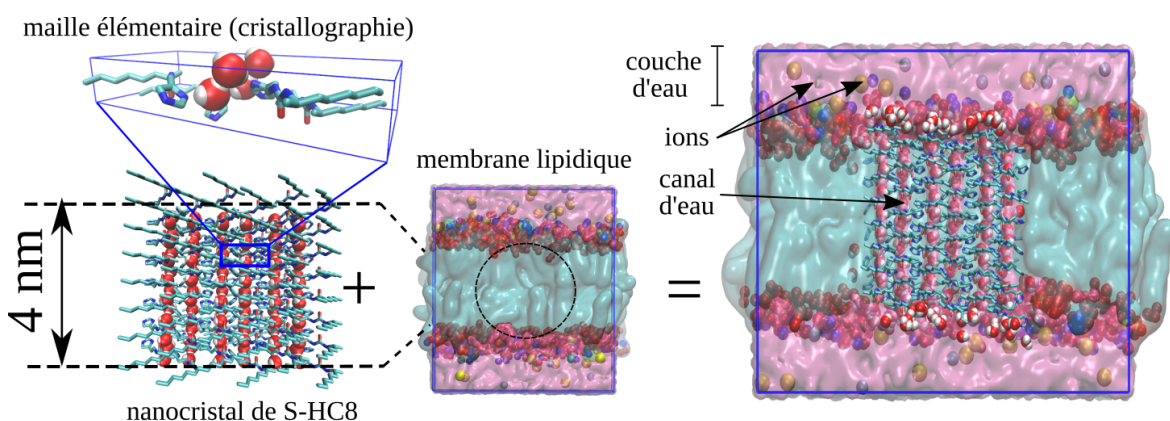


FIGURE 2.7 – Préparation d’un nanocristal dans une membrane lipidique.

L’insertion dans la membrane peut se faire manuellement en superposant les deux systèmes puis en supprimant les molécules dont les atomes qui se superposent (voir Figure 2.7), ou en utilisant l’outil d’insertion dans les membranes implémenté dans CHARMM-GUI [100]. Pour stabiliser la structure dans la membrane, on effectue tout d’abord une étape de minimisation. On applique alors une méthode de descente de gradient pour at-

teindre une situation de plus basse énergie potentielle. Cette étape est notamment cruciale pour éviter des collisions entre atomes trop rapprochés qui risqueraient de faire diverger le système à une étape ultérieure. Chaque molécule de lipides ou de canaux est également restreinte spatialement dans la minimisation puis dans les premières phases d'équilibration en appliquant un potentiel harmonique centré sur la position initiale d'un atome présent dans la partie hydrophobe des molécules. Plusieurs étapes d'équilibration peuvent être utilisées pendant lesquelles ces contraintes sont peu à peu relaxées. Par souci de simplicité, les étapes d'équilibration sont résumées en trois étapes dans la figure 2.6. Les thermostats et barostats de Berendsen sont introduits pour contrôler d'abord la température, puis la pression, en relâchant les contraintes progressivement. Dans la dernière étape d'équilibration, les contraintes sont complètement relaxées puis dans la phase de production, le thermostat de Nosé-Hoover et le barostat de Parinello-Rahman sont utilisés pour générer le bon ensemble NPT.

La phase de production des simulations requiert un temps de calcul conséquent. Nous avons eu recours à plusieurs centres nationaux dont les supercalculateurs Occigen (CINES), Jean-zay (IDRIS) et Joliot-Curie (TGCC-CEA). Nous avons également eu recours au cluster de calcul (Baal) de notre laboratoire. Plusieurs versions de Gromacs compilées sur ces plateformes ont été utilisées couvrant les versions 2018 aux versions 2020. Les simulations de DM *brute-force* ont été essentiellement réalisées sur un nœud possédant au moins un GPU. Gromacs peut utiliser deux interfaces de calcul OpenMP à mémoire partagée ou MPI à mémoire distribuée. Lorsque le matériel et l'implémentation de Gromacs le permet, l'utilisation hybride OpenMP/MPI peut être exploitée. Dans les tests de performances de Gromacs, on peut faire varier le nombre total de threads de parallélisation (MPI ou OpenMP) ainsi que choisir le mode de calcul (GPU, CPU) de plusieurs parties indépendantes du code (calculs des interactions non liantes courte portée, PME et interactions liées). En général, les valeurs estimées par le compilateur de Gromacs mdrun optimise assez bien la répartition des tâches.

2.2 La méthode REST2

Lorsque l'on traite des systèmes à un grand nombre de particules, les temps caractéristiques liés à des changements de conformation peuvent dépasser les temps accessibles en simulation *brute-force*. Ainsi, les systèmes semblent à l'équilibre, cependant, une partie de l'espace des phases n'est pas explorée. Sans changer l'échelle de description des systèmes, comme c'est le cas dans les simulations gros-grains, on peut avoir recours à des méthodes d'échantillonnage avancé. La méthode REST2 (Replica Exchange with Solute Tempering) est l'une de ces méthodes.

Le principe de la méthode consiste à simuler un système identique au système initial dit réplique en divisant par un facteur d'échelle les interactions avec un ensemble d'atomes. Cela permet d'abaisser les barrières d'énergie qui ralentissent la cinétique du système, autorisant ainsi d'éventuels changements conformationnels complexes (par exemple l'adsorption d'un ligand ou le dépliement d'une protéine, voir Figure 2.8). L'énergie potentielle de la réplique m peut s'écrire ainsi :

$$E_m = \frac{\beta_m}{\beta_0} E_{int}(X) + \sqrt{\frac{\beta_m}{\beta_0}} E_{ech}(X) + E_{ext}(X) \quad (2.13)$$

où $E_{int}, E_{ech}, E_{ext}$ correspondent respectivement à l'énergie interne liée aux molécules de canaux en interaction, l'énergie d'échange liée aux interactions entre les canaux et l'environnement et l'énergie externe liées aux interactions entre les molécules de l'environnement. X correspond à une configuration du système, $\beta_m = 1/k_B T$ et $\beta_0 = 1/k_B T_0$ avec T_m la température effective de la réplique et T_0 la température à laquelle on veut échantillonner le système. Les facteurs d'échelles sont rapportés à des températures mais les systèmes sont tous thermostatés à la température T_0 , seules certaines interactions sont mises à l'échelle. Cette correspondance entre facteur de diminution et température plus élevée provient de méthodes plus anciennes comme T-REMD où la température des répliques est effectivement changée.

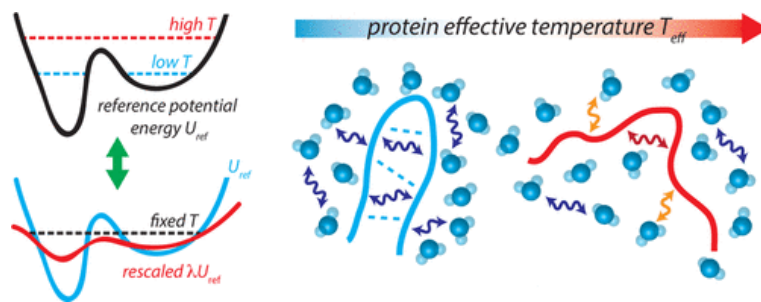


FIGURE 2.8 – Illustration de la méthode REST2 pour échantillonner correctement une transition entre deux conformations éloignées. Reproduite à partir de [101]

L'échange de configurations se fait entre deux répliques consécutives de proche énergie. Pour que l'ensemble des configurations obtenues suivent la distribution de Boltzmann, l'échange entre deux configurations X_n et X_m respecte le bilan détaillé lorsque la probabilité d'échange suit le critère :

$$p_{n \leftarrow m} = \min(1, e^{-\Delta_{mn}}) \quad (2.14)$$

À partir de 2.13, le taux d'acceptation s'écrit :

$$\Delta_{mn} = (\beta_m - \beta_n) [(E_{cc}(X_n) - E_{cc}(X_m)) + \frac{\sqrt{\beta_0}}{\sqrt{\beta_m} + \sqrt{\beta_n}} (E_{ech}(X_n) - E_{ech}(X_m))] \quad (2.15)$$

Puisqu'on doit simuler N répliques en même temps, la méthode est plus coûteuse en temps de calcul qu'une simulation de DM classique. Le nombre de répliques nécessaire pour couvrir une gamme de température augmente avec $\sqrt{N_c}$, où N_c est le nombre d'atomes de canaux à relaxer. Cette méthode s'avère nécessaire dans des cas où les méthodes d'échange

de températures (REST1, T-REMD) échouent ou sont trop coûteuse à cause du grand nombre d'atomes à réchauffer [101, 102].

Nous avons utilisé cette méthode pour rechercher de nouvelles configurations d'équilibre dans le cas des canaux d'imidazoles insérés dans des membranes lipidiques (section 4.4). L'implémentation a été faite à l'aide du plugin Plumed compatible avec Gromacs [103]. Les températures balayées couvrent la gamme 310 K - 400 K en utilisant 15 répliques. La probabilité de transition entre les répliques est environ de 15%.

2.3 Analyse des données

2.3.1 Fonction de Distribution Radiale

La Fonction de Distribution Radiale (RDF) permet de caractériser et comparer la structure locale de la matière à l'état liquide. La RDF compte le nombre moyen d'atomes voisins b situés dans un volume infinitésimal à une distance r d'un atome a (Figure 2.9). la fonction est normalisée de manière à tendre vers 1 à l'infini dans le cas d'un milieu homogène. La fonction RDF mesurée à une distance r se calcule via :

$$g_{ab}(r) = \frac{1}{N_a N_b} \sum_{i=1}^{N_a} \sum_{j=1}^{N_b} \langle \delta(|\vec{r}_i - \vec{r}_j| - r) \rangle \quad (2.16)$$

où la somme porte sur les paires d'atomes entre N_a atome de type a et N_b atomes de type b , $\{\vec{r}_i\}$ correspond aux coordonnées cartésiennes des particules et g est la fonction de Dirac.

Dans l'étude des agrégats des molécules de canaux, nous avons calculé les fonctions de distribution radiale (RDF) pour caractériser statistiquement la fréquence de contact entre différents groupes chimiques des canaux.

2.3.2 RMSD

Le RMSD (Root Mean Square Displacement) permet de comparer deux configurations d'un ensemble d'atomes. Pour deux configurations X et Y de n atomes, le RMSD entre ces configurations est donnée par :

$$RMSD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - Y_i)^2}{n}} \quad (2.17)$$

Le calcul du RMSD nécessite en réalité de superposer les deux structures. Dans le cas des canaux, l'alignement peut se faire sur l'ensemble des atomes lourds ou suivant les atomes

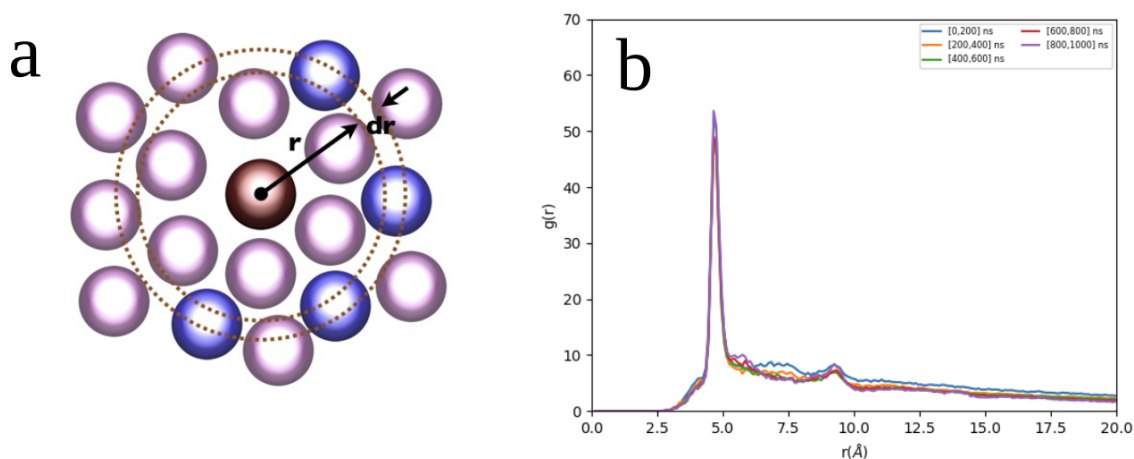


FIGURE 2.9 – RDF. a) En rouge l'atome de référence, en bleu la particule à une distance r de l'atome b . Source : Wikimedia Foundation. b) Exemple de RDF calculée pour les paires d'atomes d'oxygène dans la partie uréique des molécules d'*hydroxychannels* se déplaçant dans une membrane lipidique (voir section 3.4). Les deux pics sont associées à deux ou trois groupes uréiques alignés dans la direction de leur dipôle.

lourds présents sur la partie hydrophile de la molécule. Des outils d'alignement sont implémentés dans la librairie python MDAnalysis ou dans le logiciel VMD fonctionnant sur la recherche d'une matrice de transformation qui minimise le RMSD entre les deux structures superposées.

Cette mesure est adaptée pour l'étude de molécules différenciables. Lorsqu'on étudie des systèmes auto-organisés, l'aspect d'un agrégat formé par plusieurs molécules identiques reste inchangé lorsque deux molécules permutent alors que le RMSD n'est pas nulle. La mesure du RMSD n'est pas tout à fait appropriée dans ce cas. Dans le cas des nanocristaux dans les membranes étudiées dans les chapitres 3 et 4, nous avons considéré le RMSD pour caractériser la déformation des canaux centraux (élargissement, rétrécissement) car ces canaux restent stables et ne se désagrègent pas pendant la durée de la simulation.

2.3.3 Clustering de structures

Lorsqu'un même ensemble d'atomes peut prendre plusieurs configurations, il est possible de regrouper ces structures à l'aide d'un algorithme de clustering. La sous-routine `gmx cluster` de la suite Gromacs permet de réaliser le clustering sur l'ensemble des structures d'une trajectoire en utilisant un critère basé sur le calcul des RMSD. La méthode de clustering utilisée est la méthode *gromos* [104] avec un cutoff de 1,4 Å pour identifier les structures voisines (voir Figure 2.10). Il peut être également utile de représenter la distribution des RMSDs calculés entre les structures échantillonnées et la structure initiale. Les résultats de la méthode de clustering pour regrouper les structures similaires de canaux dans leur état cristallin est abordée dans la section 4.4.

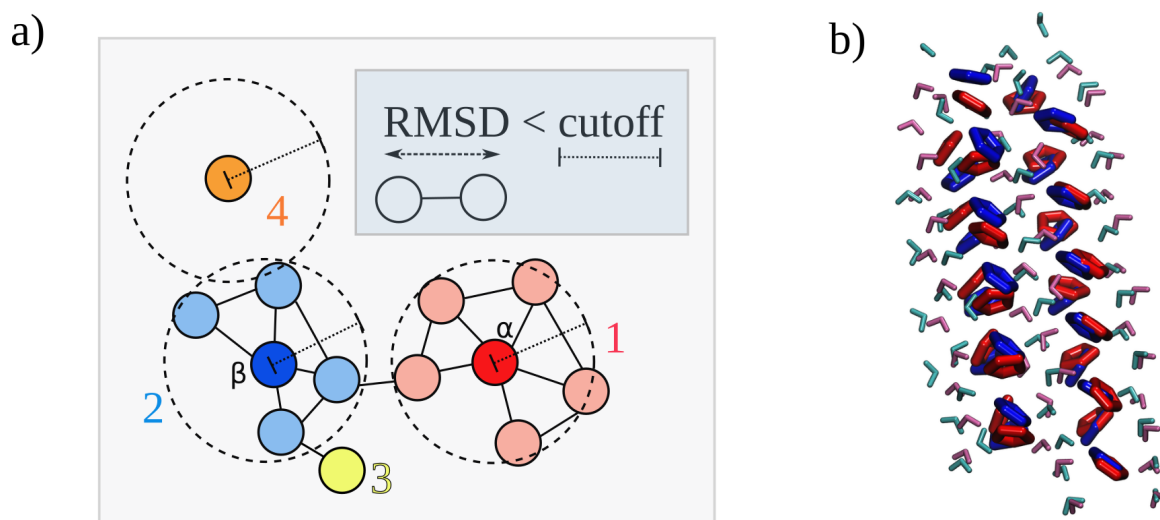


FIGURE 2.10 – a) Illustration de la méthode *gromos* pour différencier des structures. La première étape de la méthode consiste à calculer le RMSD entre toutes les structures. La structure (α) comptant le plus de voisins dans une sphère délimitée par un *cutoff* est assignée au premier cluster (1) avec tous ses voisins. On itère la même méthode sur les structures restantes pour déterminer tous les autres clusters (2,3,etc...). b) Superposition de deux structures différentes de canaux Imidazole S-HC8 (cycles hydrophiles bleus et rouges) identifiés par la méthode de clustering ci-contre. Les molécules à proximité des molécules de canaux sont représentée également. Le changement de conformation du canal est lié à la rotation collective des têtes d'imidazole d'une colonne.

2.3.4 Clustering Spatial

Nous avons utilisé un autre algorithme de clustering dans l'étude de l'agrégation en phase aqueuse du chapitre 5. On peut considérer qu'une molécule fait partie d'un cluster lorsque qu'un de ses atomes est en contact avec un atome d'un cluster déjà identifié. C'est le principe de l'algorithme à lien simple implémenté dans la subroutine `gmx clustsize` de Gromacs. On considère que deux atomes sont en contact si la distance qui les relie est inférieur au cutoff, en général pris autour de 3 Å. La subroutine de Gromacs nécessite un temps d'exécution faible, cependant seuls quelques informations sont accessibles à l'utilisateur (nombre de clusters, taille du plus grand cluster, distribution de taille des clusters). Afin d'extraire plus d'informations, nous avons implémenté un programme python en ligne de commande `cluster-tools-md`.¹⁰⁵ Le programme permet ainsi de récupérer l'indice des molécules dans chaque cluster pour réaliser d'autres analyses. L'importation de la trajectoire se fait à l'aide de la librairie python MDAnalysis [106]. L'algorithme de clustering utilisé, DBSCAN, a été choisi parce qu'il est simple à implémenter à l'aide de la librairie `scikit-learn` et donne des résultats très similaires à `gmx clustsize` (voir section 5.2.3).

L'algorithme DBSCAN (density-based spatial clustering) [107] permet de regrouper un ensemble de données en fonction de leur distance et en fonction de la densité spatiale des points (voir Figure 2.11).

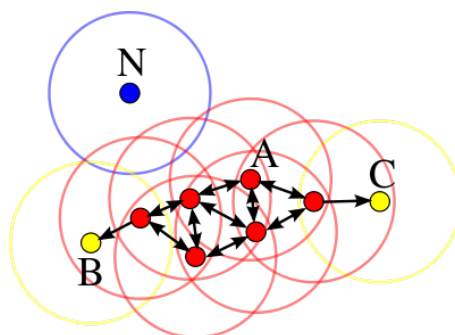


FIGURE 2.11 – Principe de l’algorithme DBSCAN : on propage le cluster à partir d’un point lorsque le nombre de voisins dans un rayon ϵ excède la valeur $minPts$ ($A \rightarrow B$, $A \rightarrow C$). Si l’on visite un point sans voisins dont le nombre de voisins est inférieurs à $minPts$, alors ce point est considéré comme du bruit (N). Source : Wikimedia Foundation.

La limitation de l’algorithme vient du fait de devoir calculer la matrice des distances. En effet, les distances doivent être également calculée en tenant compte de l’image périodique. L’algorithme n’est pas performant pour de grands systèmes, car l’allocation de mémoire pour les matrices est le facteur limitant. L’algorithme DBSCAN de `scikit-learn` est beaucoup plus performant si l’on donne comme entrées les simples positions des atomes, car il utilise des méthodes optimisées de calcul de plus proches voisins (K-D Tree et Ball-Tree) [108].

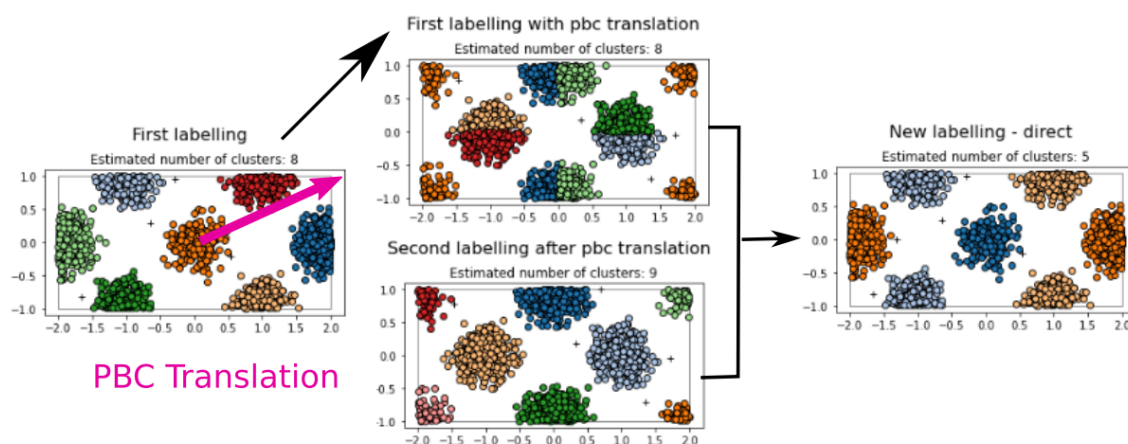


FIGURE 2.12 – Principe de l’algorithme de double numérotation.

Nous avons contourné cette méthode en utilisant l’algorithme DBSCAN sur deux ensembles de positions, dont l’un est donné par une translation d’une demi-diagonale de la boîte périodique. On obtient deux séries d’étiquettes indiquant l’appartenance à un cluster. Enfin, une étape finale est de déterminer la numérotation unique de chaque atome du système. La figure 2.12 illustre la méthode implémentée. Les deux méthodes sont implémentées dans `cluster-tools-md` :

- `with-distance-matrix` : génère la matrice de distance entre les atomes sélectionnés et utilise DBSCAN.

- `with-double-labelling` : combine deux séries de numérotation entre deux ensembles de points translattés d’une demi-diagonale de boîte périodique et numérotés par DBSCAN.

Nous avons vérifié que la deuxième option était plus performante que la première (voir Figure 2.13).

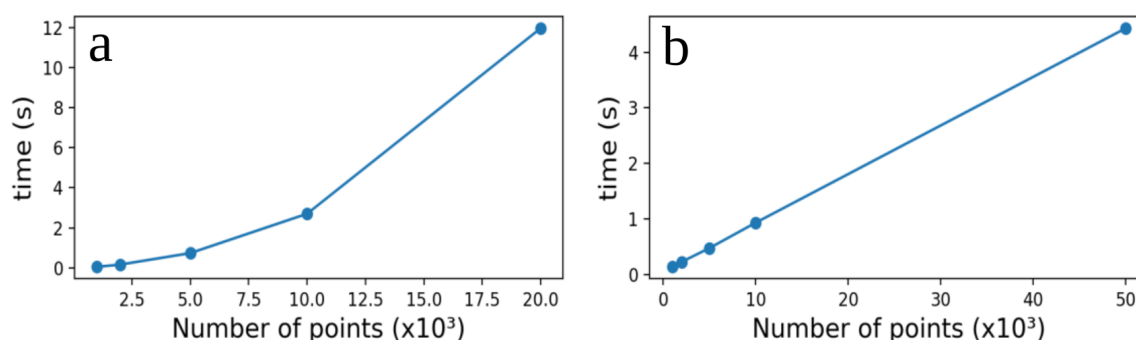


FIGURE 2.13 – Performances des algorithmes utilisant a) une matrices de distance et b) l’approche de double numérotation.

Dans la recherche de clusters, nous pouvons utiliser tous les atomes du système ou seulement les atomes lourds. En adaptant la valeur du cutoff, ces deux approches donnent sensiblement les mêmes résultats. Les atomes d’une molécule étant liés, en fixant $minPts = 3$ dans DBSCAN, tous les atomes sont assignés à un cluster. Dans le contexte des systèmes ternaires étudiés au chapitre 5, nous avons également vérifié que les résultats obtenus avec notre algorithme était très proches de ceux obtenus avec la subroutine `gmx clustersize`, en utilisant la même valeur de cutoff.

2.3.5 Diamètre des canaux

La taille et la morphologie des canaux jouent un rôle considérable dans les performances de transport. Pour estimer la taille des canaux le long de la direction du canal, nous avons utilisé le programme `HoLe`, initialement développé par Smart et al. [109, 110] pour étudier le canal ionique Gramidicine A. L’algorithme codé en Fortran permet de d’obtenir une série de points contigus parcourus par une sphère flexible dans le plan normal de la direction du canal prédéfini (voir Figure 2.14). Les extrémités des pores sont définis par les atomes environnants, en tenant compte du rayon de Van der Waals de chaque type d’atome. L’algorithme cherche la taille maximale d’une sphère dans un plan en effectuant une dynamique de Monte-Carlo en recuit simulé (Figure 2.14). Il faut préciser en entrée le point de départ (un point quelconque à l’intérieur du canal), la direction du canal et la précision désirée. En sortie, nous obtenons des profils de rayon de pore en fonction de la coordonnée suivant la direction du canal. Les profils des canaux permet ensuite de déduire l’évolution temporelle de la taille moyenne des canaux, les fluctuations de taille ou encore la taille minimale de restriction (Figure 2.14).

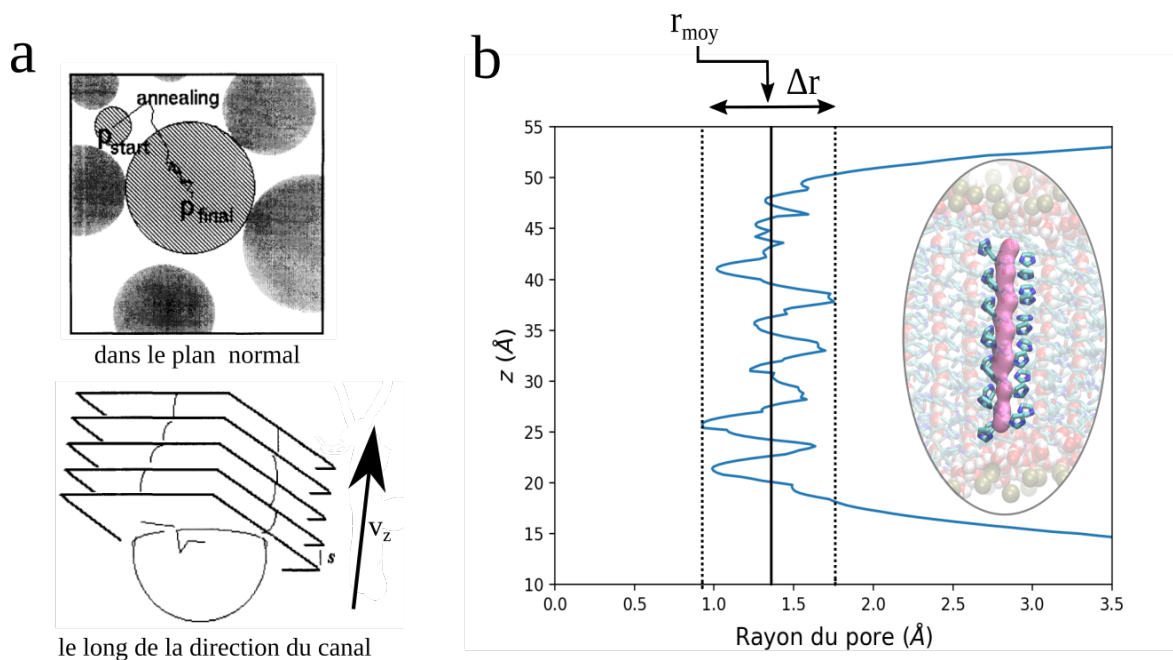


FIGURE 2.14 – a) Principe de l'algorithme Hole. Adaptée à partir de [109]. b) Profil d'un canal auto-assemblé de molécules de S-HC8 obtenu par Hole.

2.3.6 Comptage des perméations

Dans la section sur la perméabilité, nous avons évoqué la notion de *perméabilité diffusio-nnelle* par opposition à la *perméabilité osmotique*. Nous mentionnons dans ce paragraphe l'algorithme utilisé pour mesurer cette première grandeur.

Nous nous intéressons au cas de la perméation d'eau à travers une membrane lipidique. Les limites supérieure et inférieure de la membrane sont repérées par les atomes de phosphore des phospholipides utilisés. Nous pouvons définir ainsi trois zones notées A et B pour les compartiments en présence d'eau et d'ions et la zone M pour le compartiment de la membrane (Figure 2.15). Un événement de perméation correspond au passage d'une molécule d'eau d'un compartiment d'eau au compartiment opposé ($A \rightarrow M \rightarrow B$ ou $B \rightarrow M \rightarrow A$).

Le principe de l'algorithme est résumé dans l'encadré Algorithme 1. Les coordonnées des molécules d'eau sont réduites à $\{-1, 0, 1\}$ correspondant respectivement aux régions B, M, A. La trajectoire simplifiée doit tenir compte des déplacements des molécules d'eau à travers les bords aux conditions périodiques. Pour cela, on divise en deux le compartiment M en deux compartiments M_{inf} et M_{sup} , suivant la position relative au centre de la membrane. La différence Δz entre la position d'une molécule entre deux instants successifs doit être inférieure à une valeur maximale MAX, paramètre fixé à 20 Å (du même ordre que l'épaisseur de la membrane). Si ce n'est pas le cas, on considère que le passage à l'intérieur de la membrane se fait par la boîte périodique et le compartiment d'eau le plus proche du point d'arrivée. Par exemple, cela évite de compter des passages $A \rightarrow M$, alors qu'en réalité la molécule d'eau se déplace par diffusion à travers le compartiment B, ce qui sera comptabilisé comme un passage $B \rightarrow M$. En choisissant un intervalle de temps entre chaque configuration suffisamment faible, les artefacts précédents disparaissent. En utilisant cette

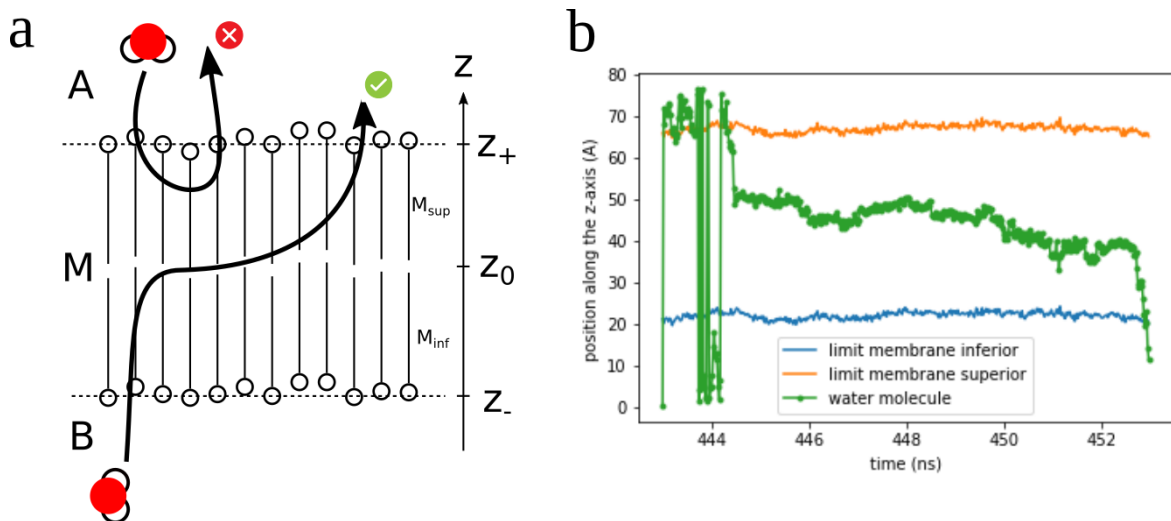


FIGURE 2.15 – a) Méthode de comptage des perméations. b) Trajectoire d'une molécule d'eau suivant la direction z normale à la membrane en fonction du temps couvrant la durée d'une perméation d'eau.

méthode de rectification du comptage, nous pouvons lancer des analyses rapides et exactes sur moins de fenêtres de temps. Cette méthode est implémentée dans le programme python en ligne de commande `perm-md-count` [111].

Dans la Figure 2.16, nous avons tracé le nombre cumulé de perméations de molécules d'eau dans le système où les canaux sont cristallins (6 canaux S-HC8) en faisant varier la durée d'échantillonnage (la durée entre deux configurations sauvegardées). L'échantillonnage tous les 100 ps semble un bon compromis entre temps de calcul raisonnable et précision de la mesure. Si l'on considère le trajet d'une molécule diffusant à travers l'eau pure et traversant les bords périodiques, le temps moyen nécessaire pour parcourir la distance entre les deux extrémités de la membrane dans l'eau pure (en moyenne dans nos simulations $l \simeq 2 \times 20 \text{ \AA}$) est donné par $t \simeq l^2/D \simeq 3\text{ns}$ où $D = 5,19 \cdot 10^{-5} \text{cm/s}$ est le coefficient d'auto-diffusion de l'eau (modèle TIP3P dans le Tableau 2.2). En prenant $\Delta t = 100 \text{ ps} \ll 3 \text{ ns}$, nous excluons la plupart des évènements rares de diffusion à travers l'eau pure. Les données de perméation mentionnées dans cette thèse ont été générées en utilisant cette durée d'échantillonnage.

Algorithm 1 Compute permeations events through a lipid membrane in DM simulations

```

for frame  $t$  do
  | Compute  $z_+, z_-[t]$  upper and lower boundaries of the bilayer
end for

for water id  $i$  do    ▷ Define a simplified trajectory  $pos$  from the original  $z$  coordinates
  | for frame  $t$  do
  |   | if  $z_+^i \leq z[t]$  then
  |   |   |  $pos[t] = 1$ 
  |   |   | else if  $z[t] \leq z_-^i$  then
  |   |   |   |  $pos[t] = -1$ 
  |   |   | else
  |   |   |   |  $pos[t] = 0$ 
  |   |   | end if
  |   |   | if  $|\Delta z| \geq MAX$  and  $z_- \leq z[t] \leq z_0$  then           ▷ Correct the jump artifacts
  |   |   |   |  $pos[t - 1] = -1$ 
  |   |   |   | else if  $|\Delta z| \geq MAX$  and  $z_0 \leq z[t] \leq z_+$  then
  |   |   |   |   |  $pos[t - 1] = 1$ 
  |   |   |   | end if
  |   | end for
  | end for

for water id  $i$  do           ▷ Detect the translocation events
  | Initialize  $p = 0$ ;  $hist$  (unsigned integer and array that store the history)
  | for frame  $t$  do
  |   |  $\Delta pos[t] = pos[t] - pos[t - 1]$            ▷ Store the type of move
  |   | if  $pos[t] = 0$  then
  |   |   |  $hist[t] = p + sign(p)$            ▷ Save the last bulk region visited and the time
  |   |   | duration
  |   |   |   |  $p = hist[t]$ 
  |   |   | else
  |   |   |   |  $hist[t] = pos[t]$ 
  |   |   | end if
  |   | end for
  |   | for frame  $t$  do           ▷ Use  $pos, \Delta pos$  and  $hist$  to identify the translocations
  |   |   | if  $pos = \Delta pos$  and  $hist * \Delta pos < 0$  and  $\Delta pos \neq 0$  then
  |   |   |   | Store water id :  $i$ 
  |   |   |   | Store translocation time :  $t$ 
  |   |   |   | Store translocation duration :  $|hist[t]|$ 
  |   |   |   | Store translocation direction :  $sign(hist[t])$ 
  |   |   | end if
  |   | end for
end for

```

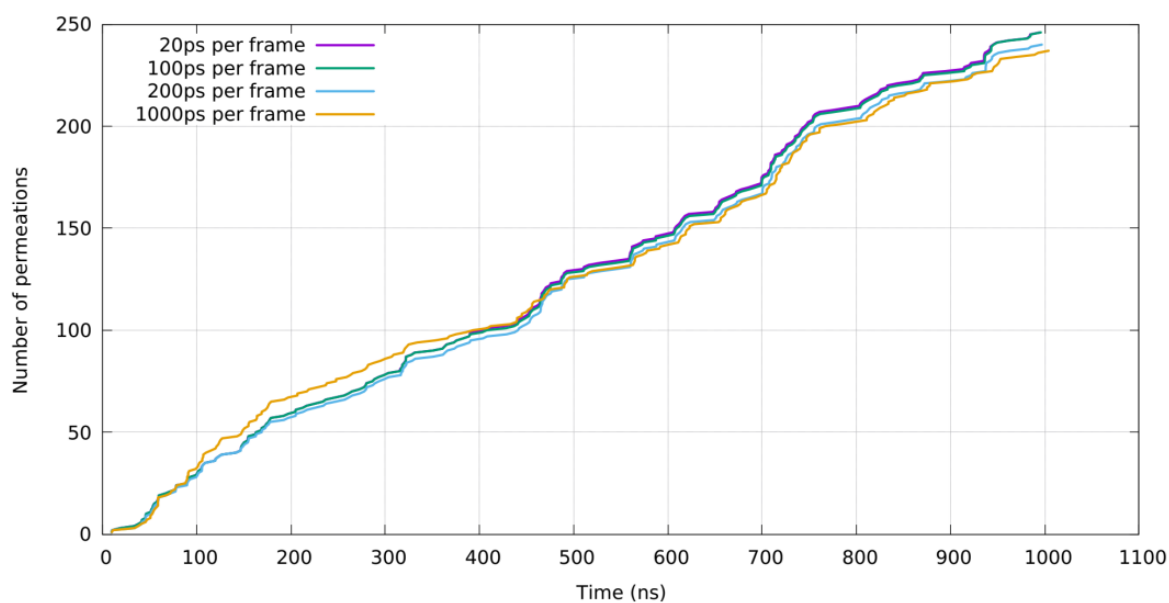


FIGURE 2.16 – Effet de la durée d'échantillonnage d'une trajectoire de DM sur la précision de l'algorithme de comptage des perméations à travers une membrane lipidique. Les traces à 20 ps et à 100 ps se superposent quasiment parfaitement, ce qui rend la trace à 20 ps (magenta) non perceptible.

CANAUX BIO-INSPIRÉS : EXPÉRIENCES ET SIMULATIONS

Contrairement à la révolution industrielle, la révolution biomimétique ouvre une ère qui ne repose pas sur ce que nous pouvons prendre dans la nature, mais sur la possibilité de changer notre façon de cultiver, de fabriquer des matériaux, de produire de l'énergie, de nous soigner, de stocker de l'information et de gérer nos entreprises, en allant chercher l'inspiration dans le vivant.

– J. M. Benyus

3.1	Contexte Général	80
3.2	Approche biomimétique de canaux d'eau artificiels sélectifs par des dimères Pillar[5]arènes tubulaires.	82
3.2.1	Résumé	82
3.2.2	Article	83
3.2.3	Informations Supplémentaires	91
3.3	Utiliser des simulations numériques et la réalité virtuelle pour comprendre, concevoir et optimiser les canaux d'eau artificiels	94
3.3.1	Résumé	94
3.3.2	Article	94
3.4	Chemins d'eau adaptatifs et perméation désordonnée dans les <i>hydroxychannels</i>	118
3.4.1	Résumé	118
3.4.2	Article	118
3.4.3	Informations supplémentaires	130
3.5	Discussion	140

3.1 Contexte Général

Cette thèse est née de la conjonction entre une approche expérimentale réalisée par l'équipe de collaborateurs de M.Barboiu à l'Institut Européen des Membranes (IEM) de Montpellier et notre approche théorique, basée sur des simulations moléculaires. Dans cette première partie, nous synthétisons les principaux ingrédients qui ont permis à nos deux équipes d'échanger, afin de pouvoir augmenter notre compréhension commune des composés nouveaux que sont les canaux d'eau artificiels auto-organisés.

Dans la famille des aquaporines, les propriétés de transport peuvent varier considérablement d'une molécule à l'autre [23]. Les propriétés de transport sont étroitement liées à la structure des réseaux de liaisons hydrogènes formés entre les résidus hydrophiles du canal et les molécules d'eau [112] (voir section 1.2.2). Tout l'intérêt de la synthèse chimique est d'apporter une diversité de structures moléculaires permettant de moduler les réseaux de liaisons hydrogènes au sein des canaux. Dans les articles présentés dans la suite, notre travail a été de supporter des hypothèses faites sur la structure de différents canaux artificiels, présentant des morphologies assez différentes.

Dans le premier chapitre, nous avons mentionnés les canaux imitant la structure cylindriques des aquaporines, les dimères de pillar[5]arènes. Partant du travail de [56], nos collaborateurs expérimentateurs ont conçu et synthétisé de nouvelles molécules en ajoutant des chaînes carboxyles permettant l'auto-assemblage en dimères, et restreignant le diamètre d'ouverture à 3 Å. Ces composés ont été incorporés dans des liposomes et présentent une perméabilité à l'eau de l'ordre de $10^7 H_2O/canal/s$. Les expériences ont également montré que ces composés rendent les membranes lipidiques imperméables aux ions K^+ et Na^+ , à la différence des canaux uni-moléculaires [56, 113, 114].

En se basant sur les résultats de cristallographie, deux arrangements des dimères Pillar[5]arène PAD4 ont été identifiés : un dimère lié par ses extrémités hydrophobes et un dimère lié ses extrémités polaires liées par des fonctions carboxyliques. Notre travail consistait à savoir lequel de ces arrangements était stable dans les membranes lipidiques (voir Figure 3.1). Nous avons donc proposé une série de simulations de DM permettant de répondre à cette question. Dans un premier temps, nous avons inséré un seul dimère dans une membrane de phosphatidylcholine pure (POPC) entièrement hydratée en présence d'eau et d'ions Na^+ et Cl^- , afin de reproduire les conditions expérimentales. Dans un deuxième temps, des structures auto-organisées en cire d'abeille ont également été proposées pour augmenter la stabilité dans la membrane. Enfin, nous avons mesuré l'évolution des événements de perméation des molécules d'eau à travers la bicouche en utilisant la méthode présentée en section 2.3.6.

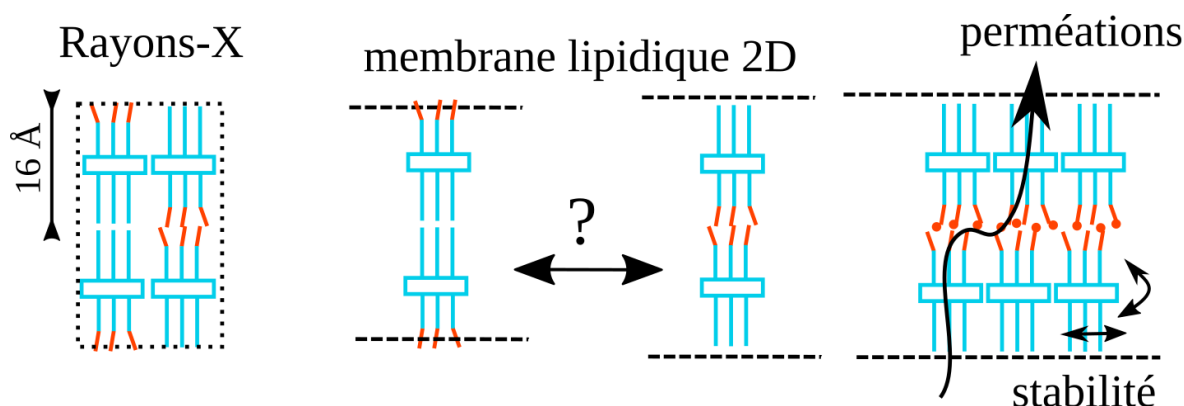


FIGURE 3.1 – Résumé illustré de l'étude computationnelle des composés PAD dans les membranes.

Une autre approche pour le design de canaux artificiels consiste à synthétiser des molécules de masse molaire plus faible qui s'autoassemblent pour former des canaux intermoléculaires perméables à l'eau dans les membranes lipidiques. Les fonctions hydrophiles nécessaires au passage de l'eau sont inspirées de la nature. Un motif de type *imidazole* a été utilisé pour former des quartets piégeant l'eau sous forme de filets d'eau, à l'image des résidus $(His^{37})_4$ du canal à protons M2 du virus de la grippe [60]. Dans le deuxième article exposé ci-dessous, nous présentons les enjeux liés à la visualisation des assemblages supramoléculaires de composés *imidazole* simulés en DM. Les méthodes de visualisation, utilisant UnityMol un logiciel de visualisation développé dans notre laboratoire, ainsi que la réalité virtuelle compatible avec ce logiciel, nous a permis d'observer en détail les zones clés agissant sur la stabilité et le transport des canaux : l'interface eau-canal ainsi que l'interface canal-lipides.

Le troisième article se focalise sur un autre type motif hydrophile. Une famille de lipides, les céramides, présente principalement dans les membranes externes des mitochondries, a été activement étudié les quarante dernières années pour ses propriétés particulières. La forte teneur en céramides et la formation de domaines lipidiques liés à la présence de plusieurs fonctions hydroxyles dans la tête polaire, joue un rôle crucial dans la structure mécanique des membranes, dans la différenciation cellulaire ou dans la mort des cellules [115, 116]. Ainsi, nos collaborateurs ont ainsi synthétisés une large gamme de composés, les *hydroxychannels* combinant les propriétés d'assemblage des composés *imidazoles*, tout en conférant un réseau de liaisons hydrogène similaires aux céramides.

L'analyse par cristallographie aux rayons X a permis d'identifier une phase solide lamellaire, similaire aux composés *imidazoles*. Cependant, la zone hydrophile à l'interface entre les monocouches ne présente pas de molécules d'eau dans la structure solide. Dans une première approche, nous avons supposé qu'il existait une phase lamellaire capable de conduire l'eau à travers la membrane et nous voulions connaître l'influence de la présence des lipides sur la phase cristalline. Dans une deuxième approche, nous avons construit un modèle de canaux cylindriques, par analogie aux canaux de céramides [117]. Nous nous sommes focalisé sur le lien entre la structure de ces canaux et la perméation en eau des canaux (voir Figure 3.2). Enfin, des simulations hors-équilibre ont été utilisées pour mesurer qualitativement la sélectivité des assemblages dans la membrane lipidique.

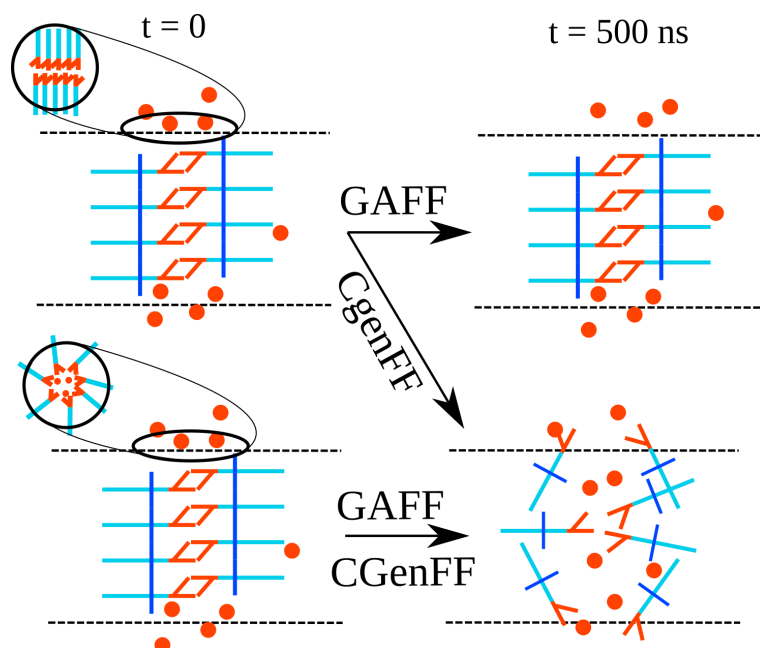


FIGURE 3.2 – Résumé illustré de l'étude computationnelle des composés *hydroxychannels* dans les membranes.

3.2 Approche biomimétique de canaux d'eau artificiels sélectifs par des dimères Pillar[5]arènes tubulaires.

3.2.1 Résumé

Les canaux d'eau artificiels mimant les protéines de la famille des *Aquaporines* (AQPs) ont de très bonnes performances de transport, à la fois très perméables à l'eau et sélectifs aux ions. Dans cette étude, nous caractérisons quantitativement les performances de transport des dimères de *peralky-carboxylate-pillar[5]arènes* dans les membranes lipidiques. Ils peuvent transporter $\simeq 10^7$ molécules d'eau par seconde par canal, soit un ordre de grandeur en dessous des valeurs reportées pour les taux de perméation des AQPs, et rejettent les cations Na^+ et K^+ . Les dimères ont une structure tubulaire formée d'une superposition d'un conduit de pillar[5]arène de diamètre 5 Å et d'un conduit de composés phénilés à tête carboxylique de diamètre 2,8 Å. Ce composé biomimétique, avec ses différentes zones de restriction, apporte une solution de synthèse semblable aux protéines. Les canaux résultants accommodent le passage de l'eau tout en bloquant le passage des ions dont le rayon est supérieur au diamètre du canal 2,8 Å. Des simulations de Dynamique Moléculaire montrent qu'un assemblage compacte en cire d'abeilles de dimères est stable dans la membrane, révélant des voies d'eau à travers la membrane. Au cours du temps, une rotation des couches supérieures de l'assemblage vers les couches plus basses indique un passage d'eau à travers un conduit torique intermoléculaire.

3.2.2 Article

Cette section est reproduite avec permission d'après (4) STRILETS, D. ; FA, S. ; HARDIAGON, A. ; BAADEN, M. ; OGOSHI, T. ; BARBOIU, M. Biomimetic Approach for Highly Selective Artificial Water Channels Based on Tubular Pillar[5]arene Dimers. *Angewandte Chemie International Edition* **2020**, 59, 23213-23219, DOI : <https://doi.org/10.1002/anie.202009219>.

Biomimetic Approach for Highly Selective Artificial Water Channels Based on Tubular Pillar[5]arene Dimers

Dmytro Strilets, Shixin Fa, Arthur Hardiagon, Marc Baaden, Tomoki Ogoshi, and Mihail Barboiu**

Abstract: Artificial water channels mimicking natural aquaporins (AQPs) can be used for selective and fast transport of water. Here, we quantify the transport performances of peralkyl-carboxylate-pillar[5]arenes dimers in bilayer membranes. They can transport $\approx 10^7$ water molecules/channel/second, within one order of magnitude of the transport rates of AQPs, rejecting Na^+ and K^+ cations. The dimers have a tubular structure, superposing pillar[5]arene pores of 5 Å diameter with twisted carboxy-phenyl pores of 2.8 Å diameter. This biomimetic platform, with variable pore dimensions within the same structure, offers size restriction reminiscent of natural proteins. It allows water molecules to selectively transit and prevents bigger hydrated cations from passing through the 2.8 Å pore. Molecular simulations prove that dimeric or multimeric honeycomb aggregates are stable in the membrane and form water pathways through the bilayer. Over time, a significant shift of the upper vs. lower layer occurs initiating new unexpected water permeation events through toroidal pores.

Natural channels allow ion/water translocation across biological membranes.^[1] The transport is regulated by proteins, converting the ion-water interactions into ion-selectivity filter ones.^[2] Because of the high significance of the related processes, the design of synthetic unimolecular or self-

assembled channels with water-ion^[3] or ion-ion^[4,5] selectivity have become areas of expanding interest. Very attractive strategies have been developed based on the self-assembly, towards supramolecular capsules presenting conductance states in bilayer membranes. Barboiu et al.,^[6] Fyles et al.,^[7] Kim et al.,^[8] Gokel et al.^[9] and Furukawa et al.^[10] demonstrated the efficiency of integrated capsules as selectivity ion filters across lipid bilayers.

The easily accessible Pillar[*n*]arenes-PA play an important role in supramolecular chemistry, towards the generation of light-harvesting or drug delivery systems, transmembrane channels, separation and storage materials, etc.^[11,12] Hou et al. firstly realized that PAs, with their unique hollow pillar-shape and tuneable size cavities with fine-tuneable rims, could be suitable platforms to construct artificial channels.^[13-24] Most of them, are positioning the PA scaffolding relay in the middle of the membrane, whereas functional groups attached to aromatic rings form unimolecular pillared channels. Significant progress has been obtained in a very short time, as the single-channel osmotic water permeability for peptide-PAPs,^[25,26] is close to natural aquaporins and superior to others synthetic water channel analogues.^[27] Their drawback it relates to their low ion-water selectivity.

Innovative design approaches for the construction of PA-boxes^[28] or PA-tubular dimers^[29] were proposed. We recently described the dimerization of rim-differentiated pillar[5]arene via hydrogen bonding (Figure 1), producing expanded length-controlled tubular superstructures,^[29] reminiscent to calixarene^[30] capsules.

Pursuing our endeavors to design original supramolecular channels with efficient and selective transport properties, we recently got interested in the possibility to make use of a directional structuring of such tubular PA platforms, towards the generation of directional channels within lipid bilayer membranes. We anticipated they are able to form supramolecular self-assembled pores inside lipid bilayer membranes. As observed for alkyl-pyrogallol-arenes, the pore formation is strongly depending on the nature of grafted alkyl chains and probably more than on type of aggregates form efficient ion channels.^[9]

We know that a pore with a diameter of ≈ 3 Å is a critical prerequisite to selectively accommodate and transport water-wires.^[27] Pillar[5]arene platform presents a hydrophobic cavity of 5 Å diameter, which in turn is much bigger to selectively accommodate single water-wires.^[12,29] Having an inner pore size of ≈ 5 Å, they allow the passage of cations according to their hydration energy.^[23-25]

[*] D. Strilets, Dr. M. Barboiu

Institut Europeen des Membranes, Adaptive Supramolecular Nano-systems Group, University of Montpellier, ENSCM-CNRS
Place E. Bataillon CC047, 34095 Montpellier (France)
E-mail: mihail-dumitru.barboiu@umontpellier.fr

Dr. S. Fa, Prof. T. Ogoshi
Department of Synthetic Chemistry and Biological Chemistry
Graduate School of Engineering, Kyoto University
Katsura, Nishikyo-ku, Kyoto 615-8510 (Japan)
E-mail: ogoshi@sbchem.kyoto-u.ac.jp

Prof. T. Ogoshi
WPI Nano Life Science Institute, Kanazawa University
Kakuma-machi, Kanazawa, 920-1192 (Japan) (Japan)

A. Hardiagon, Dr. M. Baaden
CNRS, Université de Paris, UPR 9080, Laboratoire de Biochimie
Théorique
13 rue Pierre et Marie Curie, F-75005, Paris (France)

A. Hardiagon, Dr. M. Baaden
Institut de Biologie Physico-Chimique-Fondation Edmond de Rothschild, PSL Research University
Paris (France)

Supporting information and the ORCID identification number(s) of the author(s) of this article can be found under:
<https://doi.org/10.1002/anie.202009219>.

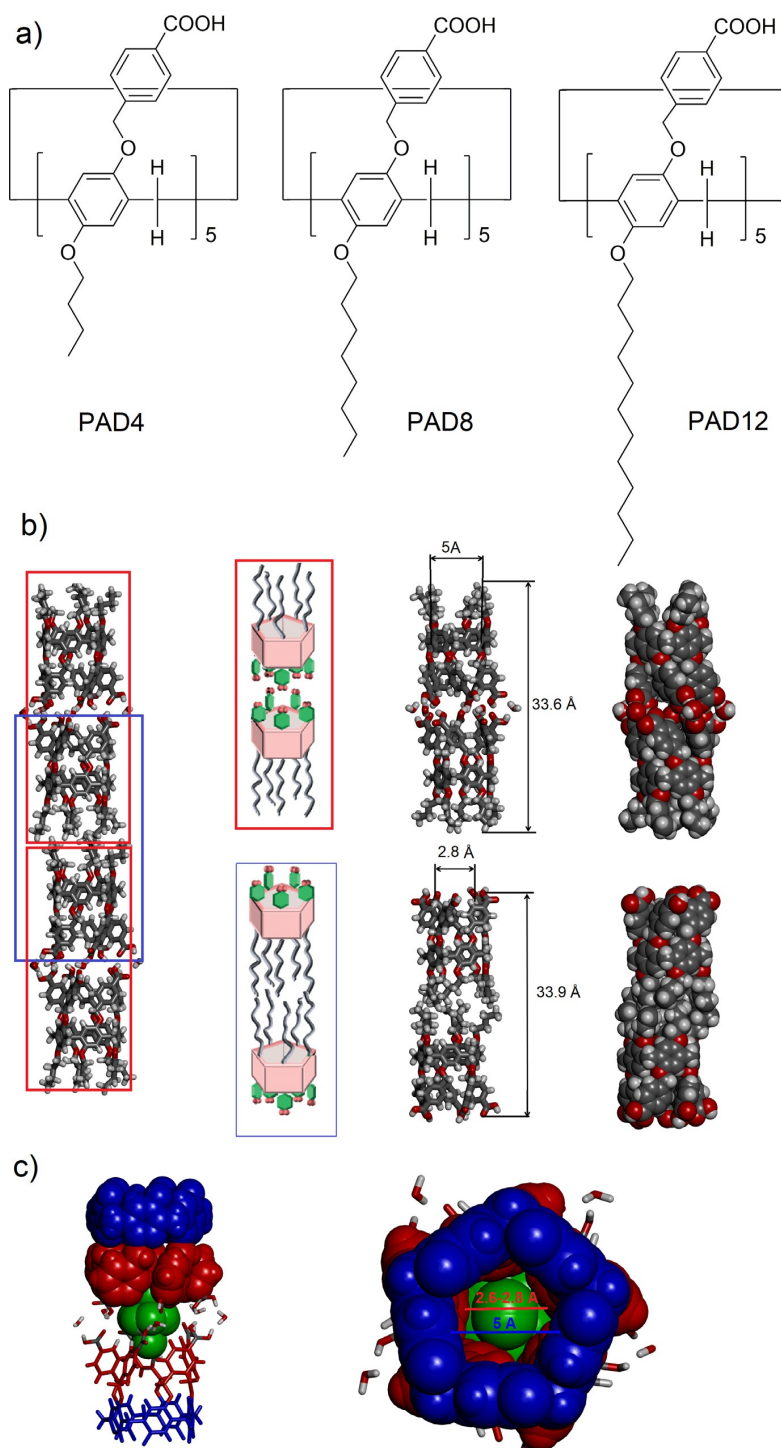


Figure 1. a) Structures of peralkylcarboxylate-pillar[5]arenes PAD4, PAD8 and PAD12 and b) X-ray single crystal structure of PAD4.^[29] Crystal packing along *c*-axis emphasizing self-assembled a) tubular carboxylate H-bonding (red) and b) bilayer hydrophobic (blue) dimers in stick and CPK representations Crystalline solid state structures show dimeric structures of 34 Å length and c) a variable pore geometry composed of Pillar[5]arene platform (blue) of 5 Å diameter and of narrowest twisted carboxy-phenyl pore of 2.8 Å diameter (red). Green CHCl₃ molecules in CPK representation are perfectly positioning a Cl atom fitting the narrowest carboxy-phenyl pore, while the other atoms are disordered in the larger junction formed via hydrogen bonding of the carboxylate groups.

Herein we concentrate our efforts on investigation of water/ion transport abilities of self-assembled discrete tubular dimers of rim-differentiated peralkyl-carboxylate-pillar-[5]arenes PAD4, PAD8 and PAD12 (Figure 1a) through bilayer lipid membrane. Interestingly, the analysis of *x*-ray single structure of PAD4 show that two dimeric tubular architectures. It results in the formation of tubular carboxylic dimers pS-pS and pR-pR and of bilayer dimers form via two different H-bonding vs. hydrophobic binding modes, respectively (Figure 1b, red). The 15 hydrogen bonds between the carboxyl groups and water molecules and adopts closely spaced carboxy-phenyl groups with a fivefold helical conformation,^[29] which in turn superpose the pillar[5]arene relay of 5 Å diameter with a narrowest twisted hydrophobic pore of 2.8 Å diameter (Figure 1c). This affords a size restricted control of translocation along tubular channels at narrowest selectivity filter level, offering size restriction. The biological KscA^[2a] or Aquaporin^[2b] channels, have hydrophobic conical pores with variable diameter with the selectivity filter in the middle of the channel, affording closely spaced binding sites for temporarily coordinating the partly dehydrated cations or water molecules, respectively. We anticipated, PAD4, PAD8 and PAD12 dimers, with a variable pore diameter would allow to control of the transport activity as for natural proteins, within the selectivity filter. A reverse bilayer dimer of PADs may form (Figure 1b, red), allowing phospholipid polar head-groups of the membrane to be in contact with the carboxylic rims in the polar region of the bilayer and of the butyl chains hydrophobic interactions inside the bilayer (Figure 1b, blue).

Longer alkyl chains in PAD12 might stabilize the bilayer conformation, while shorter alkyl chains in PAD4 should strongly stabilize the tubular dimers in the bilayer. It is important to note that the thickness of the insulating bilayer membrane (30–35 Å)^[1] is quite similar to the length of the dimeric PAD4 (Figure 1), while the hydrophobic interactions between the longer alkyl chains in PAD8 and PAD12 and the bilayer stabilize their positionings.

PAD4, PAD8 and PAD12 assemble into functional water-permeable channels in liposomes and increase the overall water permeability relative to the background lipid permeability.^[31] Their water transport rates are strongly dependent on the nature of hydrophobic alkyl tails grafted onto pillar-[5]arene platform. PAD4, PAD8 and PAD12 channels were reconstituted into phosphatidylcholine (PC) lipid vesicles (100 nm in diameter) with different molar ratios of compound to lipids (0.33 %, 0.66 %, 1.33 %, 2.26 % and 2.99 % mCLR) in which channels were added by simple addition of the dimethylsulfoxide (DMSO) solutions of the PADs derivatives to pre-formed vesicle suspensions. Then the vesicles were exposed to outwardly directed osmotic pressure gradients (shrinking mode of the vesicles). Under hypertonic conditions driven by outwardly 10 mM HEPES buffer solution 100, 200 mM KCl osmolate, the shrinkage of the liposomes under osmotic gradients of 100, 200 mOsm increased the light-scattering signal (Figure 2a). The net permeabilities increase when mCLR ratios increase and with increasing osmolarity. The permeabilities present a maximum of 9.00 $\mu\text{m s}^{-1}$ at high mCLR = 3.00 for PAD4 which is the most permeable toward water in the dimeric tubular configuration in the series,

whereas for PAD8, and PAD12, the maxima values are lower: 3.66 $\mu\text{m s}^{-1}$ and 2.23 $\mu\text{m s}^{-1}$, respectively and they can be detected at mCLR = 1.33 % (Figure 2b–d). We further estimated the single-channel permeability, P_s of each channel^[27] (see Supporting information for details). In the shrinking mode, PAD4, PAD8 and PAD12 show a tendency of P_s increasing with osmolarity as it was with net permeability. For example permeabilities of 1.54×10^7 , 5.21×10^7 and 7.95×10^6 water molecules⁻¹/channel, are obtained for PAD4 (mCLR = 1.33), PAD8, (mCLR = 0.33) and PAD12 (mCLR = 0.33) respectively, which are only one orders of magnitude lower than that of AQPs ($\approx 10^8$ – 10^9 water molecules⁻¹/channel).^[2b] It can be noticed that with increasing of mCLR the single channel permeability is decreasing, but remains on the same level of magnitude. Thus, the tendency for dropping of single channel permeability can be explained by progressive higher aggregation or lower solubility of PAD channels at high concentration, while using low concentration for incorporation into lipid bilayer prevents its aggregation. Water transport activities decrease substantially as the grafted alkyl chain length increases (PAD4 \gg PAD8 > PAD12), implying the formation variable architectures of permeable tubular dimers for PAD4 and less permeable bilayer configuration for PAD12, whereas PAD8 present an intermediate situation. An unfavorable hindering wrapping of the hydrophobic tails inside the selective pore of the PADs or around at the interface with the bilayers, can be presumed for longer chains. Indeed, the tail length seemed to be optimal for *butyl* chains while longer chains led to aggregation when mixed with lipids.

In order to have more precise structural support for the in-membrane contentions we further prepared the carboxylate Na⁺ or Li⁺ salts of PAD4.^[32] Oppositely to carboxyl functionalized PAD4, for the carboxylate salt of PAD4 the hydrogen-bonding driven dimerization would not be possible. PAD4Na or PAD4Li salts could dimerize only through the interdigitation of the alkyl chains, having the carboxylate groups interacting with the polar heads of the phospholipids. Their net and single channel permeabilities at 1.33 % mCLR are 13.00 $\mu\text{m s}^{-1}$ and 2.83×10^7 water molecules⁻¹/channel, respectively, which is almost double to that observed for PAD4 counterpart, providing clear evidence two distinguish both models. For the carboxylate appended bilayer dimers the average fraction of channels filled with water is increasing due the presence of hydrophilic carboxylate groups, remaining accessible to water from both sides of the membrane.

Ion (Na⁺ and K⁺) transport activities across the bilayer membranes incorporating PAD4, PAD8 and PAD12 channels reconstituted into phosphatidylcholine (PC) lipid vesicles (100 nm) at the same mCLR as used for water transport, were assessed using standard HPTS fluorescence assays.^[33] Indeed, when tested with NaCl or KCl on external buffer, the PAD4, PAD8 and PAD12 channels had an unexpected behaviour: after the compound injection at $t = 20$ s, the internal pH remains stable and only the creation of a pH gradient, applied at $t = 40$ s, induce an abrupt increase of the internal pH, reminiscent with a low H⁺ efflux ($A_{\text{max}} = 0.06$ for PAD4, 0.10 for PAD8 and 0.03 for PAD12 at 300 s) (Figure S7) and then the internal pH remains quasi-stable,

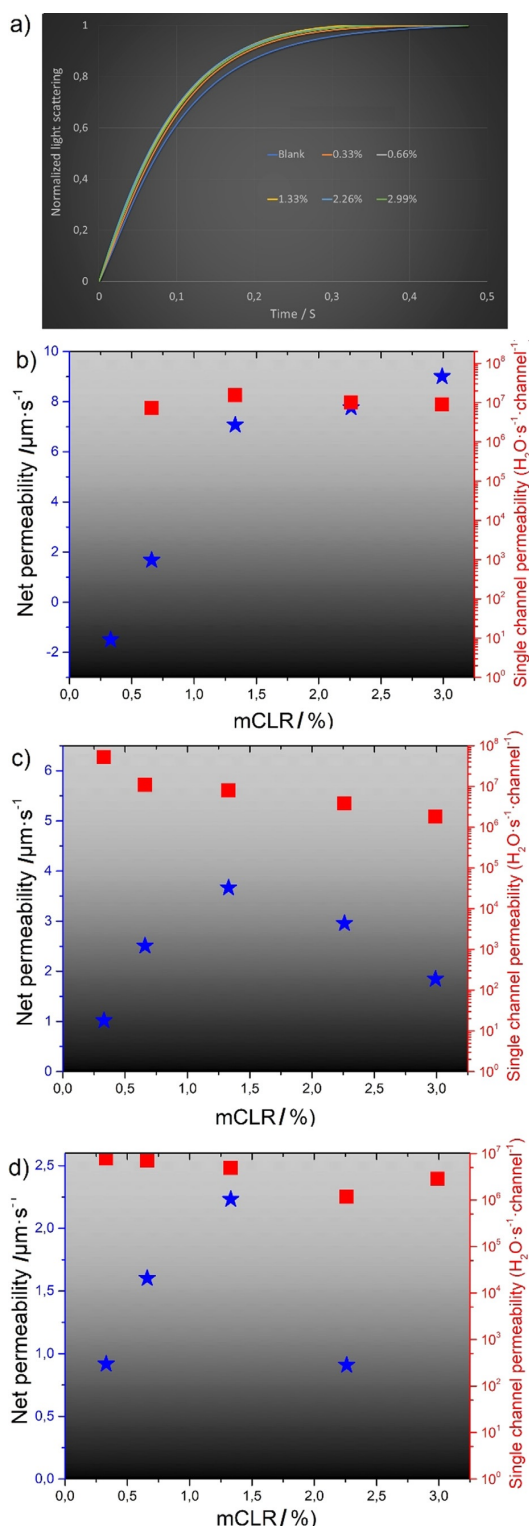


Figure 2. Water-transport activity in liposomes: a) Representative stopped-flow light-scattering experimental traces of liposome post-mix assays at different mCLR of PAD4 after abrupt exposure to a hypertonic solution of 200-mM KCl. The net and single water permeabilities of the liposomes containing b) PAD4, c) PAD8 and d) PAD12 channels at different mCLR, measured under hypertonic conditions abruptly exposed to a hypertonic solution of 100-mM KCl from the post-mix assays.

independent on the nature of the channel or transported cation. Accordingly, the addition of base in the extravascular solution induces a rapid deprotonation of carboxyl groups of the channel in the bilayer membrane, which synergistically induce HPTS deprotonation and generate the observed abrupt increase in fluorescence. After pH equilibration, dose-response experiments show the constant absorbance behaviors. It is noteworthy that, K^+ and Na^+ cations are not transported and channel structuration is not effective to induce Na^+ or K^+/H^+ antiport conductance states along the assembled channel.

Single channel planar lipid bilayer experiments confirm the complete inactivity for K^+ -transport under applied potential in range of 50–200 mV for tested solutions of PAD4 (Figure S8). The transport activity is rather impossible to initiate, both in terms of length of operating periods and the concentration of PAD4 in the membrane.

Overall, the PAD4, PAD8 and PAD12 dimers, obtained using simple chemistry, can be assembled into highly selective artificial water channels and remain stable in lipid membranes. Previously, the seminal discovery of pillar[5]arene PAP unimolecular channels by Hou et al.^[15] are at long last beginning to meet encouraging signs for high water permeability (10^6 – 10^8 water molecules/second/channel), while most of these channels present ionic transport activity, thus not yet selective. Natural AQP channels present an hourglass structure offering size SF restriction of ≈ 3 Å and selectivity against cations, reinforced through electrostatic repulsion in the region known as the aromatic arginine (ar/R) constriction.^[2b] In this study a simple serendipitous modification of rims of pillar[5]arene backbone of 5 Å diameter led to the construction of a supplementary narrowest hydrophobic pore of 2.6–2.8 Å diameter within the same structure, affording a size restriction control of translocation along tubular dimers at this selectivity filter level. The water permeability of PAD4, PAD8 and PAD12 channels ($\approx 10^7$ water molecules s^{-1} /channel) is only one orders of magnitude lower than that of AQPs, and more important they are rejecting alkali cations. Differently to previous selective I-quartets where water molecules are interacting along the whole structure of the channel of ≈ 2.8 Å, herein the narrowest pore structure of PAD4, PAD8 and PAD12 channels is precisely located at the two narrowest regions of the pore, which remains larger along the resting length of the pore. The narrowest diameter of the pore itself is large enough for the water molecules to pass having themselves a diameter of ≈ 2.8 Å, but restrictive enough to block the passage of hydrated Na^+ or K^+ cations.

We set up computer simulations to probe the behavior of PAD4 dimers in an explicit lipid bilayer environment. Simulation results are summarized in Figure 3. As a first test

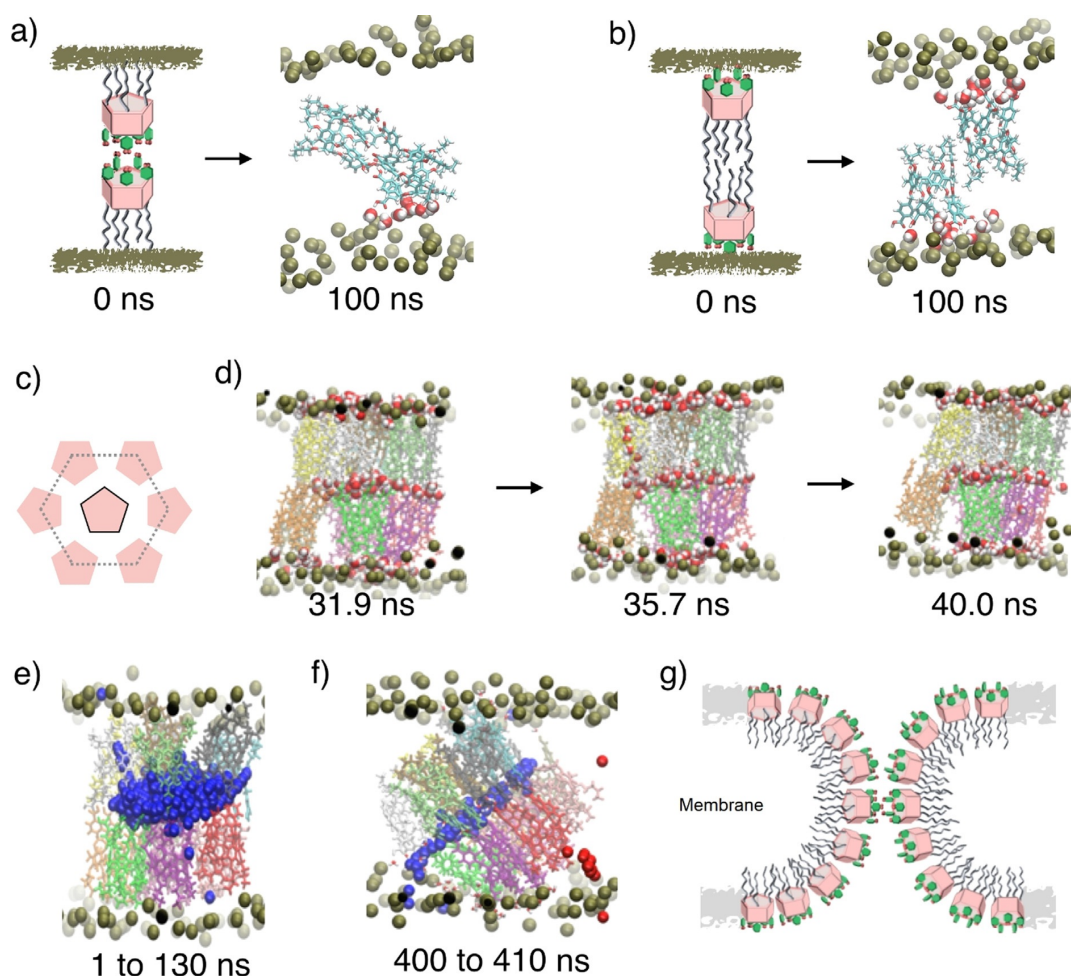


Figure 3. a) Carboxylic H-bonding dimer in a 100 ns molecular dynamics simulation in the lipid bilayer. b) Lipophilic bilayer dimer shifts side-to-side. c) Top view of honeycomb hexameric arrangement around a central dimer. d) Wetting–dewetting events in the first 50 ns of the carboxylic dimer. e) Water-wire pathway in the beginning 1 ns after releasing constraints on the system, through the carboxyl dimer channel (around 130 ns) in the central region and the exit in a lateral exposed lipid area. f) Two water pathways are shown around 400 ns after equilibration. The blue pathway accounts for a permeation event through the toroidal COOH pore (during around 10 ns) and the red pathway accounts for a permeation event in the lipid area. g) Ideal schematic representation of a toroidal pore in the bilayer membrane.

we inserted a single H-bonding carboxylate or hydrophobic butyl dimers. Neither isolated dimer was stable in the membrane, leading either to a tilted but stable membrane-embedded structure for carboxylate (Figure 3 a) or to a shifted side-by-side aggregated for butyl dimer losing its butyl connections (Figure 3 b). In the latter case we hypothesize the competition with the lipid molecules to weaken the hydrophobic interactions between the butyls. Next, we tested whether larger assemblies provide increased stabilization within the membrane environment, which was indeed the case. For this purpose, we built a honeycomb arrangement where a central dimer is surrounded by a hexagon of 6 others, as schematically depicted in Figure 3 c. Both dimer assemblies form water pathways through the bilayer. At the beginning of the simulation, the carboxylate dimer honeycomb shows water wetting-dewetting forming water wires through the

tubular dimers as selective pores (Figure 1 d). Over time, a significant shift of the upper vs. lower layer of monomers occurs, which brings water penetration and accumulation to a halt in the region of where the carboxylic groups are present. The carboxylate dimer honeycomb does experience a tilt that is not quite as pronounced as the one observed for the monomer, but most importantly initiates water permeation events. Initially these water paths are through the dimeric pathways (Figure 1 e), whereas later on alternative pathways, leading to the formation of a toroidal pore through the bilayer are observed as well (Figure 1 f). The permeation rate is at its maximum around 250 ns, when the tilted structure allows a continuous water pathway around carboxylate groups. The permeation time duration varies from 2 ns to 175 ns.

Artificial toroidal pores have been pioneered by Colombini^[34a,b] for the pores formed by natural ceramide and by our group^[34c] for the pores formed by artificial self-assembled crown-ethers. The inner walls of the pore would be lined with carboxylate groups and with the external butyl tails projecting into the lipid hydrocarbon region, maximizing favorable interactions with the environment for both polar and lipophilic moieties. The relatively large number of the polar carboxyl groups relative to the hydrocarbon tail would stabilize the positive curvature required on the inside of the torus (Figure 1 b). Based on their physico-chemical properties, one may hypothesize that a toroidal pore would stabilize clusters of water which probably is favored by more hydrophilic ones as proved by increased permeation rates of PADLi or PADNa. The honeycomb assembly we probed is likely not the optimal. Longer and different simulations setups will be required to investigate novel toroidal complex assemblies and are beyond the scope of the present contribution.

The present results show that, using a rationally designed pillar[5]arene platform and a simple restriction mechanism, it becomes possible to control the selectivity of water translocation in a manner reminiscent of that of proteins capable of selectively transport Å scale species. This is a very intriguing system. It is very tempting to equate the two types of structures in the solid state (hydrogen bonded and hydrophobic dimers) and the two types of channels in the bilayer membrane (dimeric H-bonded PA and a discrete large toroidal pore). The unifying assumption is that an H-bonding dimer would form preferentially and is stable in the membrane. Stacks of these dimers would lead to the dominant toroidal structure in a membrane environment providing hybrid pathways for water translocation through the dimeric water-wires and on alternative pathways encapsulating self-protective water clusters through a toroidal pore.

I-quartet-embedded water sponges were the first example in literature taking into account the formation of 3D water sponges/clusters displaying high water/ion selectivity.^[35] They make the intrinsic features of *water sponges*^[35] or *clusters*^[34] particularly self-protective against ions. The water translocation events lead to the change in shape of the channel conduits in bilayer membranes from a single water-wires to fully aggregated toroidal water clusters, which confer to these channels the self-adaptive behaviours.

The PAD channels showed no transport of Na⁺ and K⁺ cations, making them a viable option for desalination. The observed ionic-exclusion of these channels suggests that the channel-selectivity performance is of utmost importance in translating molecular transport properties to performant membranes optimized by using chemical engineering approaches. PAD channels described here, hold significant promise for the incipient development of the innovative materials based on artificial synthetic scaffolds mimicking the functions of natural water channels. On the other hand, precise-triggered shape changes of aggregated channels also amount to coupling and transduction between geometric water clusters and selective translocation events, a feature of much interest for supramolecular translocation of water in membranes used for desalination.

Acknowledgements

This work was supported by Agence Nationale de la Recherche ANR-18-CE06-0004-02, WATERCHANNELS, by Centre National de la Recherche Scientifique, Mission pour les initiatives transverses et interdisciplinaires (MITI), Défi Biomimetisme, the Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas: Soft Crystal (JP18H04510 and JP20H04670), and Kiban A (JP19H00909) from MEXT Japan, JST CREST (JPMJCR18R3), and the World Premier International Research Center Initiative (WPI), MEXT, Japan.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Keywords: aquaporins · artificial water channels · bilayer membranes · pillar[5]arene · supramolecular chemistry

- [1] B. Hille, *Ion Channels of Excitable Membranes*, 3rd ed., Sinauer Associates, Sunderland, MA, **2001**.
- [2] a) D. A. Doyle, J. Morais Cabral, R. A. Pfuetzner, A. Kuo, J. M. Gulbis, S. L. Cohen, B. T. Chait, R. MacKinnon, *Science* **1998**, *280*, 69–77; b) E. Tajkhorshid, P. Nollert, M. O. M. Jensen, L. J. W. Miercke, J. O'Connell, R. M. Stroud, K. Schulten, *Science* **2002**, *296*, 525–530.
- [3] a) Y. Le Duc, M. Michau, A. Gilles, V. Gence, Y.-M. Legrand, A. van der Lee, S. Tingry, M. Barboiu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 11366–11372; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 11568–11574; b) M. Barboiu, A. Gilles, *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 2814–2282; c) R. H. Tunuguntla, R. Y. Henley, Y. C. Yao, T. A. Pham, M. Wanunu, A. Noy, *Science* **2017**, *357*, 792–796; d) W. Song, H. Joshi, R. Chowdhury, J. S. Najem, Y. X. Shen, C. Lang, C. B. Henderson, Y. M. Tu, M. Farrell, M. E. Pitz, C. D. Maranas, P. S. Cremer, R. J. Hickey, S. A. Sarles, J. L. Hou, A. Aksimentiev, M. Kumar, *Nat. Nanotechnol.* **2020**, *15*, 73–79; J. Shen, R. J. Ye, A. Romanies, A. Roy, F. Chen, C. L. Ren, Z. Liu, H. Q. Zeng, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 10050–10058.
- [4] M. Barboiu, *Acc. Chem. Res.* **2018**, *51*, 2711–2718.
- [5] S.-P. Zheng, L.-B. Huang, Z. Sun, M. Barboiu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, <https://doi.org/10.1002/anie.201915287>; *Angew. Chem.* **2020**, <https://doi.org/10.1002/ange.201915287>.
- [6] E. Mahon, S. Garai, A. Müller, M. Barboiu, *Adv. Mater.* **2015**, *27*, 5165–5170.
- [7] T. M. Fyles, C. C. Tong, *New J. Chem.* **2007**, *31*, 655–661.
- [8] M. Jung, H. Kim, K. Baek, K. Kim, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5755–5757; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 5839–5841.
- [9] a) O. V. Kulikov, R. Li, G. W. Gokel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 375–377; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 381–383; S. Negin, M. M. Daschbach, O. V. Kulikov, N. Rath, G. W. Gokel, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 3234–3237; b) R. Li, O. V. Kulikov, G. W. Gokel, *Chem. Commun.* **2009**, 6092–6094; c) O. V. Kulikov, M. M. Daschbach, C. R. Yamnitz, N. Rath, G. W. Gokel, *Chem. Commun.* **2009**, 7497–7499.
- [10] R. Kawano, N. Horike, Y. Hijikata, M. Kondo, A. Carné-Sánchez, P. Larpent, S. Ikemura, T. Osaki, K. Kamiya, S. Kitagawa, S. Takeuchi, S. Furukawa, *Chem* **2017**, *2*, 393–403.
- [11] a) T. Ogoshi, S. Kanai, S. Fujinami, T.-A. Yamagishi, Y. Nakamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5022–5023; b) T. Ogoshi, T. Aoki, K. Kitajima, S. Fujinami, T.-A. Yamagishi, Y. Nakamoto, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 328–331.

- [12] T. Ogoshi, T. Kakuta, T. A. Yamagishi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 2197–2206; *Angew. Chem.* **2019**, *131*, 2219–2229.
- [13] W. Si, P. Xin, Z. T. Li, J.-L. Hou, *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 1612–1619.
- [14] W. Si, L. Chen, X.-B. Hu, G. Tang, Z. Chen, J.-L. Hou, Z.-T. Li, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 12564; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 12772.
- [15] X. B. Hu, Z. Chen, G. Tang, J.-L. Hou, Z. T. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 8384–8387.
- [16] L. Chen, W. Si, L. Zhang, G. Tang, Z. T. Li, J.-L. Hou, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 2152–2155.
- [17] W. Si, Z.-T. Li, J.-L. Hou, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 4578–4581; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 4666–4669.
- [18] Y. Zhou, Y. Chen, P. P. Zhu, W. Si, J.-L. Hou, Y. Liu, *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 3681–3684.
- [19] J.-Y. Chen, J.-L. Hou, *Org. Chem. Front.* **2018**, *5*, 1728–1736.
- [20] a) M. Zhang, P.-P. Zhu, P. Xin, W. Si, Z.-T. Li, J.-L. Hou, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 2999–3003; *Angew. Chem.* **2017**, *129*, 3045–3049; b) W.-W. Haoyang, M. Zhang, J.-L. Hou, *Chin. J. Chem.* **2019**, *37*, 25–29.
- [21] W. X. Feng, Z. Sun, M. Barboiu, *Isr. J. Chem.* **2018**, *58*, 1209–1218.
- [22] H. Behera, L. Yang, J. L. Hou, *Chin. J. Chem.* **2020**, *38*, 215–217.
- [23] W.-X. Feng, Z.-H. Sun, Y. Zhang, Y.-M. Legrand, E. Petit, C.-Y. Su, M. Barboiu, *Org. Lett.* **2017**, *19*, 1438–1441.
- [24] P. Xin, H. Kong, Y. Sun, L. Zhao, H. Fang, H. Zhu, T. Jiang, J. Guo, Q. Zhang, W. Dong, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 2779–2784; *Angew. Chem.* **2019**, *131*, 2805–2810.
- [25] Y.-X. Shen, W. Si, M. Erbakan, K. Decker, R. De Zorzi, P. O. Saboe, Y. J. Kang, S. Majd, P. J. Butler, T. Walz, A. Aksimentiev, J.-L. Hou, M. Kumar, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2015**, *112*, 9810–9815.
- [26] W. Song, H. Joshi, R. Chowdhury, J. S. Najem, Y. X. Shen, C. Lang, C. B. Henderson, Y. M. Tu, M. Farrell, M. E. Pitz, C. D. Maranas, P. S. Cremer, R. J. Hickey, S. A. Sarles, J.-L. Hou, A. Aksimentiev, M. Kumar, *Nat. Nanotechnol.* **2020**, *15*, 73–79.
- [27] a) E. Licsandru, I. Kocsis, Y.-x. Shen, S. Murail, Y.-M. Legrand, A. van der Lee, D. Tsai, M. Baaden, M. Kumar, M. Barboiu, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 5403–5409; b) M. Barboiu, *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 5657–5665.
- [28] a) D. Kaizerman-Kane, M. Hadar, N. Tal, R. Dobrovetsky, Y. Zafrani, Y. Cohen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 5302–5306; *Angew. Chem.* **2019**, *131*, 5356–5360; b) M. Hadar, D. Kaizerman-Kane, Y. Zafrani, Y. Cohen, *Chem. Eur. J.* **2020**, <https://doi.org/10.1002/chem.202000972>.
- [29] S. Fa, Y. Sakata, S. Akine, T. Ogoshi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 9309–9313; *Angew. Chem.* **2020**, *132*, 9395–9399.
- [30] O. Mogck, V. Böhmer, W. Vogt, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 8489–8496.
- [31] M. L. Zeidel, S. V. Ambudkar, B. L. Smith, P. Agre, *Biochemistry* **1992**, *31*, 7436–7440.
- [32] G. Yu, M. Xue, Z. Zhang, J. Li, C. Han, F. Huang, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 13248–13251.
- [33] S. Matile, N. Sakai in *Analytical Methods in Supramolecular Chemistry* (Ed.: C. A. Schalley), Wiley-VCH, Weinheim, **2007**, pp. 381–418.
- [34] a) L. J. Siskind, A. Davvoody, N. Lewin, S. Marshall, M. Colombini, *Biophys. J.* **2003**, *85*, 1560–1575; b) L. Yang, T. A. Haroon, T. M. Weiss, L. Ding, H. W. Huang, *Biophys. J.* **2001**, *81*, 1475–1485; c) A. Cazacu, C. Tong, A. van der Lee, T. M. Fyles, M. Barboiu, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 9541–9548.
- [35] S. Murail, T. Vasiliu, A. Neamtu, M. Barboiu, F. Sterpone, M. Baaden, *Faraday Discuss.* **2018**, *209*, 125–148.

Manuscript received: July 3, 2020

Revised manuscript received: August 17, 2020

Accepted manuscript online: September 9, 2020

Version of record online: October 15, 2020

3.2.3 Informations Supplémentaires

MD simulations

All molecular dynamics simulations were performed under periodic boundary conditions with constant pressure. The CHARMM-36 force field ^[S2] was used for lipid molecules and the TIP3P model was chosen for water. To represent **PAD4** molecules and generate their topologies, we used the CHARMM General Force Field ^[S3] together with the ParamChem web service. ^[S4] The GROMACS 2019.4 software was used to run the simulations with all atoms, with an integration time step of 2fs. All bonds were constrained using the LINear Constraint Solver algorithm. Particle mesh Ewald electrostatics was used with a 12 Å cutoff with the Verlet buffer scheme for nonbonded interactions; the neighbor list was updated every 20 steps. Three baths (compounds, lipids, and water and ions) were coupled to a temperature of 310 K using the Nosé-Hoover thermostat with a time constant $t = 1$ ps and a chain length of 4. Pressure in the x/y dimensions was scaled isotropically with Parrinello-Rahman barostat at 1 bar, and the z dimension was coupled independently to a reference pressure of 1 bar, $t = 5.0$ ps, and compressibility of $4.5 \cdot 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$. All systems were minimized for 5000 steps with a steepest descent algorithm and equilibrated for 3,5 ns, using decreasing position restraints of 1000, 400, 200, 100 and $40 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{-2}$ on heavy atoms, with the initial configuration as a reference. Production runs were finally computed for 500ns without any position restraints.

The molecular structures of dimers were extracted from X-ray single crystal structure data for **PAD4**. The initial configurations composed by seven dimers forming a hexagonal 2D packing were interactively assembled using the Unitymol software ^[S5] in virtual reality. The lipid composition is pure POPC and molecular ratio of compound to lipid was arbitrary set to mCLR=5 %, larger than the experimental value in order to limit the computational cost. All systems have been hydrated with a constant molar ratio of lipid : water equal to 28. Na^+ and Cl^- ions have been inserted using a Monte-Carlo scheme to neutralize the system and to obtain a concentration of solute equal to 0.15 M. All setups were assembled using the CHARMM-GUI web interface ^[S6] and format files were adapted to the Gromacs software using the online tool services ^[S7].

The molecular dynamics trajectories were visually inspected and analysed using the VMD software ^[S8]. Analysis of the trajectories and permeation calculations were performed using custom scripts for the MDAnalysis library ^[S9, S10]. Fast computation and accuracy were accessed both using 0.1 ns as a sampling time for the analysis of water permeations.

References

- S1. Fa, S.; Sakata, Y.; Akine, S.; Ogoshi, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 9309–9313.
- S2. Klauda JB, Venable RM, Freites JA, et al (2010) Update of the CHARMM All-Atom Additive Force Field for Lipids: Validation on Six Lipid Types. *J Phys Chem B* 114:7830–7843. <https://doi.org/10.1021/jp101759q>
- S3. Vanommeslaeghe K, MacKerell AD (2012) Automation of the CHARMM General Force Field (CGenFF) I: Bond Perception and Atom Typing. *J Chem Inf Model* 52:3144–3154. <https://doi.org/10.1021/ci300363c>
- S4. Vanommeslaeghe K, Raman EP, MacKerell AD (2012) Automation of the CHARMM General Force Field (CGenFF) II: Assignment of Bonded Parameters and Partial Atomic Charges. *J Chem Inf Model* 52:3155–3168. <https://doi.org/10.1021/ci3003649>
- S5. Martinez X, Hardiagon A, Santuz H, et al (2020) Using Computer Simulations and Virtual Reality to Understand, Design and Optimize Artificial Water Channels. In: Piotto S, Concilio S, Sessa L, Rossi F (eds) *Advances in Bionanomaterials II*. Springer International Publishing, Cham, pp 78–99
- S6. Jo S, Kim T, Iyer VG, Im W (2008) CHARMM-GUI: A web-based graphical user interface for CHARMM. *J Comput Chem* 29:1859–1865. <https://doi.org/10.1002/jcc.20945>
- S7. Lee J, Cheng X, Swails JM, et al (2016) CHARMM-GUI Input Generator for NAMD, GROMACS, AMBER, OpenMM, and CHARMM/OpenMM Simulations Using the CHARMM36 Additive Force Field. *J Chem Theory Comput* 12:405–413. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00935>
- S8. Humphrey W, Dalke A, Schulten K (1996) VMD: Visual molecular dynamics. *J Mol Graph* 14:33–38. [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5)
- S9. Gowers RJ, Linke M, Barnoud J, et al (2016) MDAnalysis: A Python Package for the Rapid Analysis of Molecular Dynamics Simulations. *Proc 15th Python Sci Conf* 98–105. <https://doi.org/10.25080/Majora-629e541a-00e>
- S10. Michaud-Agrawal N, Denning EJ, Woolf TB, Beckstein O (2011) MDAnalysis: A toolkit for the analysis of molecular dynamics simulations. *J Comput Chem* 32:2319–2327. <https://doi.org/10.1002/jcc.21787>.

3.3 Utiliser des simulations numériques et la réalité virtuelle pour comprendre, concevoir et optimiser les canaux d'eau artificiels

3.3.1 Résumé

En biologie, le transport de métabolites à travers les membranes cellulaires se fait par des canaux et des pores naturels. Les architectures de canaux ioniques artificiels imitent la conduction ionique naturelle. De nombreux systèmes de ce type ont été produits, conduisant à un ensemble remarquable de canaux ioniques artificiels alternatifs. Les avancées ont été beaucoup moins nombreuses dans le domaine des canaux d'eau biomimétiques synthétiques, même si elles permettraient d'améliorer notre compréhension de la fonction naturelle des canaux protéiques et fournir de nouvelles stratégies pour générer des systèmes avancés de purification d'eau hautement sélectifs. Dans la plupart des cas, les composants agissant sur la sélectivité des canaux protéiques naturels sont intégrés dans les systèmes artificiels. Ces biomolécules fournissent des éléments de base pour construire des architectures de transport d'eau hautement sélectives à travers la membrane. La simplification de ces composés, tout en préservant l'activité de transport élevée des macromolécules naturelles, a conduit à des canaux biomimétiques artificiels entièrement synthétiques. Ces systèmes simplifiés ouvrent la voie pour comprendre les comportements mécaniques et structuraux, fournissant des arguments pour concevoir de meilleurs canaux d'eau. Nous nous concentrons ici sur les simulations informatiques en tant qu'outil complémentaire à l'expérimentation pour comprendre les propriétés de ces systèmes, dans le but de rationaliser des concepts importants, de concevoir et d'optimiser de meilleurs composés. L'examen visuel dans les simulations de dynamique moléculaire est essentielle à une telle approche. Les nouvelles technologies telles que les casques de réalité virtuelle et les murs d'affichage stéréoscopiques à grande échelle offrent un point de vue immersif et collaboratif sur les mécanismes complexes qui sous-tendent la fonction des canaux d'eau artificiels.

3.3.2 Article

Cette section est reproduite avec permission d'après (6) MARTINEZ, X.; HARDIAGON, A.; SANTUZ, H.; MURAIL, S.; BARBOIU, M.; STERPONE, F.; BAADEN, M. in *Advances in Biomaterials II*, sous la dir. de PIOTTO, S.; CONCILIO, S.; SESSA, L.; ROSSI, F., Springer International Publishing : Cham, 2020, p. 78-99, DOI : [10.1007/978-3-030-47705-9_8](https://doi.org/10.1007/978-3-030-47705-9_8).

Using computer simulations and virtual reality to understand, design and optimize artificial water channels

X. Martinez^{1,2}, A. Hardiagon^{1,2}, H. Santuz^{1,2}, S. Murail³, M. Barboiu⁴, F. Sterpone^{1,2}, M. Baaden^{1,2}

1) CNRS, Université de Paris, UPR 9080, Laboratoire de Biochimie Théorique, 13 rue Pierre et Marie Curie, F-75005, Paris, France

2) Institut de Biologie Physico-Chimique-Fondation Edmond de Rothschild, PSL Research University, Paris, France

3) Université de Paris, CNRS, INSERM, Biologie Fonctionnelle et Adaptative UMR 8251, Computational Modeling of Protein Ligand Interactions U1133, F-75205 Paris, France.

4) Institut Europeen des Membranes, Adaptive Supramolecular Nanosystems Group, Université de Montpellier, ENSCM, CNRS, Place Eugene Bataillon CC047, Montpellier, F-34095, France

In biology, metabolite transport across cell membranes occurs through natural channels and pores. Artificial ion-channel architectures represent potential mimics of natural ionic conduction. Many such systems were produced leading to a remarkable set of alternative artificial ion-channels. Far less advances were achieved in the area of synthetic biomimetic water channels, even though they could improve our understanding of the natural function of protein channels and may provide new strategies to generate highly selective, advanced water purification systems. Most realizations have used the selectivity components of natural protein channels embedded in artificial systems. Such biomolecules provide building blocks to constitute highly selective membrane-spanning water transport architectures. The simplification of such compounds, while preserving the high conduction activity of natural macromolecules, lead to fully synthetic artificial biomimetic channels. These simplified systems offer a particular chance to understand mechanistic and structural behaviors, providing rationales to engineer better artificial water-channels. Here we focus on computer simulations as a tool to complement experiment in understanding the properties of such systems with the aim to rationalize important concepts, design and optimize better compounds. Molecular dynamics simulations combined with advanced visual scrutiny thereof are central to such an approach. Novel technologies such as virtual reality headsets and stereoscopic large-scale display walls offer immersive collaborative insight into the complex mechanisms underlying artificial water channel function.

Introduction

Origins and brief overview

Water is fundamental to life. It fulfills a variety of functions related to its complex dynamic properties at the supramolecular level [1]. Most physiological processes require selective traffic between a cell and its environment, where water is essential to enable molecular transport events [2]. Artificial ion-channels have been extensively studied with the expectation to mimic the ionic conduction along protein ion-channels through biological membranes [3–6]. Amazingly, until recently there has been almost no systematic progress in the area of water transport by Artificial Water Channels (AWCs) [7]. Before 2011, these artificial water pore systems, selectively transporting water against ions had not been described. We initiated this unexplored and highly innovative field with a series of studies described in [7–11]. Fig. 1 provides three examples of AWCs.

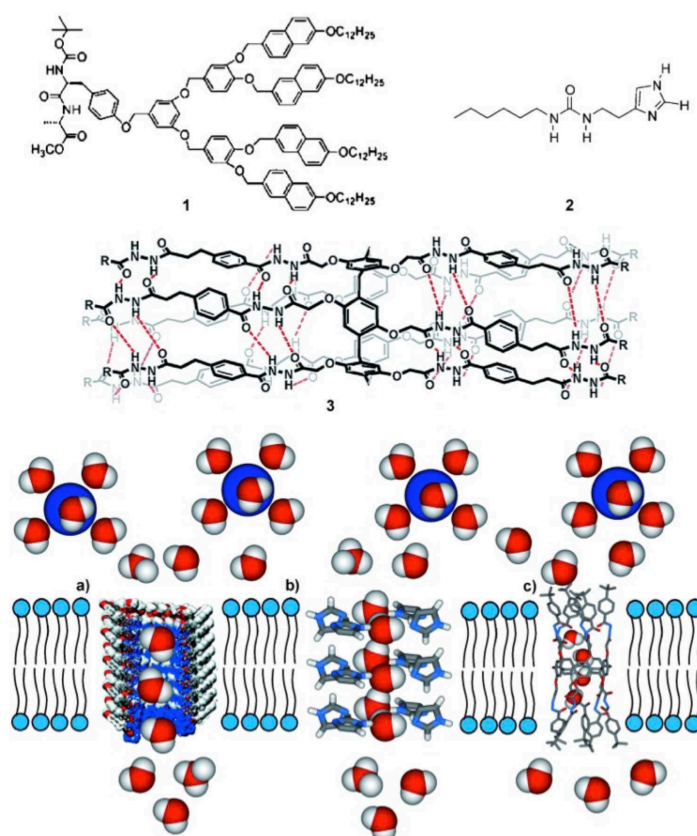


Fig. 1. Selection of artificial water channel systems: a) helical dendritic dipeptides, compound **1** ; [12, 13] b) oriented dipolar water wires within compound **2** chiral I-quartet assemblies [7–9] that selectively transport water and protons against ions; c) hydrazone-pillar[5]arene compound **3**, [14–17] as single channels. Neutral and protonated water molecules are depicted as red and white CPK models. Blue spheres symbolize hydrated cations, unable to penetrate the bilayer membrane. Figure reproduced with permission from [8].

Since then, many other groups joined this adventure and many works have been published including a feature paper highlighting the developments of the field during the last 5 years [18]. Important studies of AWCs including molecular dynamics (MD) simulations have been pioneered by several groups around the world, notably in the USA, China, Singapore, Hong-Kong, etc.

Molecular modeling approaches - in particular molecular dynamics in explicit solvent and membrane environments - constitute a pivotal tool to extend the methodology, providing insight at a molecular scale as described in [19–21]. Moving up in scales, the development of multi-scale approaches to describe hydrodynamics in molecular systems has the potential to provide new stimulus for water channel modeling [22, 23].

Artificial water channels are conceptually important

In contrast to isotropic spherical ions, dipolar water molecules shed light on multiple oriented interactions with biological environments. The overall orientation of assembled water dipoles is crucial for the regulation of the selective recognition, exchange and transport of charged biocomponents across biological barriers. For example, the electrochemical potential along the Aquaporin-Z Aqp-channel is governed by encapsulated single-file water wires of opposite dipolar orientation, selectively allowing rapid water diffusion, while protons and ions are excluded [24–28]. In comparison to classical polymeric systems, the water-permeability of AqpZ incorporated in polymeric vesicles is at least one order of magnitude larger [26]. One-dimensional water wires in particular have attracted broad interest with selective proton gating being the key function of the Influenza A M2 proton channel [12, 13]. Entrapped water clusters within complex structures are a key element intervening in a variety of fundamental processes such as water structuration related to water-water or water-host-matrix interactions under confined conditions [47], selective transport of small metabolites [52], and in context of dynamic diffusion phenomena [14–17] of water molecules across the channels [17, 48]. So far, only a few artificial hydrophobic [29], hydrophilic [7–9] or amphiphilic pores [30, 31] have been designed to selectively and efficiently transport water through bilayer membranes. The molecular-scale hydrodynamics of water through the channel will depend on channel-water as well as water-water interactions, and on the in-pore water electrostatic dipolar profile within the channel. These molecular determinants can be controlled based on rational insight into AWC properties at the atomic scale.

Major insights are gained from molecular simulations

In particular concerning molecular-scale processes, atomistic as well as simplified coarse-grained or meso-scale simulations have been pivotal to our understanding of key concepts of water transport in biological and synthetic systems. For instance, seminal work based on molecular dynamics simulations of Aquaporin channels has substantially contributed to understand molecular mechanisms responsible for their efficiency and selectivity [25, 28, 32]. General features of biological pores were studied by Beckstein and Sansom [33, 34], as well as others, in model systems of decorated simplified ion channel pores, providing rationales for designing improved channels. Another model system of great importance concerns the study of water transport in carbon nanotubes [35–37]. These few examples among many show that molecular-level insights are key to our understanding and can be achieved through molecular dynamics type simulations acting as a computational microscope. A few studies of artificial water channels including MD simulations have appeared recently and a Faraday Discussion documents the current status in the field [38–42]. The present discussion will firmly build on such simulation approaches to guide and optimize experimental design.

Now and tomorrow in this newborn field

Despite the tremendous imagination of synthetic chemists to produce sophisticated architectures confining water clusters, most strategies to transport water selectively have been inspired by the natural aquaporin scaffold as selectivity components, embedded in diverse arrays of bio-assisted artificial systems. The highly selective transport of water in natural systems is occurring along Aquaporin (AQP) channels known for their fast transport rates ($\sim 10^8$ - 10^9 water molecules/s/channel), and the perfect rejection of ions and protons. Aquaporin water channels are composed of an hourglass structure with a narrowest constriction of 2.8 Å. Each water molecule in AQP water channels forms one hydrogen-bond with the inner wall of the protein and one with an adjacent water molecule. It is of particular interest that the dipolar alignment of water molecules imposed by the water-pore and water-water interactions can control the water *vs.* proton transport selectivity of AQPs. These discoveries have inspired the incorporation of AQPs into artificial membranes for desalination and water-purification applications. These results on the combination of natural proteins with artificial lipid matrices, have demonstrated that natural biomolecules can be used as building blocks for the construction of membranes for water transport. However, their large scale application is not yet possible, because of the high costs of AQP production, their low stability and practical synthetic constraints of membrane fabrication processes.

A possible way forward is to replace AQPs with synthetic channels, a major motivation for our work on AWCs. Recent advancements have made it possible to syn-

thesize artificial water channels featuring efficient, yet selective transport of water based on size exclusion and molecular interactions, such as hydrogen-bonding. Given their completely artificial nature, these AWCs exhibit the following potential advantages:

- Synthetic AWCs that are easily tuneable and may be chemically optimized for desirable properties;
- AWCs can be prepared on a large scale at low cost;
- Engineering processing without bio-related steps becomes more simple and reproducible, and they can be easily immobilized in membrane-like supports in a scalable manner;
- AWCs should also be more robust and stable with a longer lifetime after incorporation into membranes for water separation and purification.

However, currently, the research on AWCs is focused mainly on the synthesis and characterization in terms of its water transport property and solute rejection. More focus should be turned on integrating the synthetic channels with a membrane for water separation and purification. Given the importance of developing a highly efficient membrane desalination technology, the potential of synthetic water channels and the knowledge gap for integration of synthetic water/ion channels into membranes, it is envisaged that development of synthetic channel-based biomimetic membranes with enhanced performance compared to current membranes is a challenging goal. It will require to provide answers to complicated biological scenarios related to water pores and to develop bio-inspired desalination processes that could use the non-existing all-made artificial synthetic materials that mimic the mechanisms of natural desalinators. Computational approaches can guide these endeavors.

From Aquaporin to I-quartet channels

Learning from biological water-channels as sources of inspiration

Potassium channel KcsA K^+ [43], Aquaporin-AQP, [24–28], Influenza A M2-M2IA, [12, 13] or Gramicidin-GA, [44] are well known, non-exclusive examples of proteins in which ions, water molecules and protons are envisioned to diffuse along water filled pores. It is worth to note that most protein channels share some recurrent structural aspects. For instance many are self-assembled from multiple subunits within the trans-membrane domains. These protein subunits are packed around a water filled pore, a crucial element in the functional conformation of these channels. The narrowest region of the pore usually determines the selectivity of these molecular channels, showing gating behaviors generated by the structural

motion of the external subunits in response to voltage, ligand, pH or other external stimuli. The interactions between the constitutive components of the pore with water (most often a one-dimensional water wire) or with ionic species will impose a specific net dipolar moment controlling the translocation within the narrow region of the pore. Despite a wealth of experimental data on structural details of protein channels, major issues still need to be resolved and understood at the atomic level. For example, in Aquaporins, once passing the center of the pore occupied by a water molecule, the water molecules undergo a flip-like opposite orientation in the AQP channel. This inversion causes the inversion of the net dipolar moment and hinders proton transport. Therefore, the structure and alignment of the water wires within the synthetic pores may be important in the design of artificial pores creating (pumping) or collapsing (gating) ionic gradients throughout the membrane. However there are many challenges to use the AQP scaffold as selective transporters related to their:

- Long term stability, which is unclear
- Unconventional processing requirements - use of detergent and specialized aqueous self-assembly
- Production - membrane proteins are challenging to mass produce

Other well-known natural ion-channels jointly transporting water and cations are of primordial inspiration for the design of the artificial channels. For example the dipolar structure of Gramicidin A-GA, helps to overcome the high energy barrier of water and ion translocations across the cell membrane, both being synergistically transported sharing one pathway [44]. Particularly interesting, the dipolar alignment of water molecules imposed by the pore structure can control the ionic conduction, including the translocation of protons via the inner-pore water wires. This oriented single-file water wire - as for the aquaporin pore - imposes a net dipole moment which is particularly influenced by the presence of the ions inside the channel. Depending on the position of the ion within the channel, two linear chains of water molecules of opposite orientation are determining the net dipole potential which is zero on average when the ion is in the middle of the channel. Similarly, the water molecules permeate through the KcsA K^+ channel, together with the K^+ ions in a concerted way [43]. Interestingly, a K^+ depleted KcsA K^+ channel is changing its initial conformation to allow water transport 20 times faster than one dimensional bulk diffusion of water [45]. On the same principle, the proton selectivity and low-pH gating properties are key functions of the M2 Influenza A - M2IA proton channel [12, 13]. Although there is some variability to set off the mechanisms, many structural features are related to the $(His^{37})_4$ selectivity filter [46].

The encapsulation of water clusters in artificial constructs enables the exploration of the collective behaviors of water in conditions very close to biological systems where the confined molecules may be at the limit between solid and liquid states [14–17, 47–51]. One-dimensional water-wires in particular have generated much interest. Their structural features similar to water-clusters present inside the pro-

tein channels were closely examined. Self-assembled tubular supramolecular architectures, mutually stabilized by strong non-covalent bonds and encapsulating inner water wires have provided excellent reasons to be considered as valuable models for biomimetic water/proton-channel systems [14–16, 49]. However, most of these structures are highly polar and it remains complicated to achieve their inclusion in hydrophobic bilayer membranes. All these non-exhaustive examples are relating specific features of the self-assembly behaviors of water clusters under confined conditions, toward systems of increasing functional complexity.

Understanding the molecular-scale dynamics of water clusters confined in such structurally simple artificial channels is of fundamental and crucial relevance for the next developments of functional AWCs. The mechanisms of water transport through aquapores are related to structural behaviors of water clusters entering the channels which lose or change part of the H-bonds connecting the water molecules, depending on the hydrophobic or hydrophilic nature of the channel [53]. Spontaneous and continuous diffusion of a one-dimensional ordered water chain in interaction or not with the surrounding aquapore is related to molecular interactions with the inner pore surface and diameter, dipolar water orientation.

With all these features in mind we can observe that natural water channels show a variety of sizes and different single-file water net dipole orientations that are directly connected to their specific function. They are selective toward other permeants (ions, protons, molecules) depending strongly on the channel structure and dimensionality, channel-water affinity, the average pore occupancy and the dynamics of the permeating water.

Biomimetic artificial water channels

Parallel to the investigations on natural water-channels the adventure of AWCs is just starting. Like in natural channels, the water transport will depend on key interactions, such as channel-water, water-water and electrostatics guided by the water in-pore electrostatic dipolar profile within the channel. Reproducing the complex interaction superstructures of proteins is an essential goal. A valid approach is to mimic key parts of active filters, as ingredients to provide chemical selectivity, in order to gain insight into the dynamics of orientating water dipoles. Particularly their role for ions/protons pumping along the channel has to be understood. Going from complex natural to simpler artificial water-channel constructs, we would have the chance to better comprehend mechanistic and structural behaviors of such interactions. Such knowledge may unlock the door to the novel interactive design of water-channels, paralleling that of biomolecular systems. Different synthetic building blocks have been reported until now to generate such systems: water was shown to transport through hydrophilic, hydrophobic or hybrid hydrophobic/hydrophilic channels as briefly summarized in Table 1.

Table 1. Compounds used as molecular building blocks to create artificial water channels [38]

Compound	Nature of the channel	Net Permeability/ Selectivity/ Single channel permeability
I-quartet Channels, 2 Alkylureidoimidazoles	Hydrophilic H-bonded imidazole channel (2.6 Å) and hydrophobic peripheral alkyl chains	1.0- 4.0 μm/s (shrinking mode) / high selectivity for water reject all ions except protons/ 1.5 x 10 ⁶ water molecules/s/channel
Aquaporins – AQP _s	Natural hourglass structure of the pore, with a narrowest constriction of 2.8 Å	High water selectivity. Perfect rejection of ions and protons / 4x10 ⁹ water molecules/s/channel
Aquafoldamers	Hydrophilic helical channel (2.8 Å) via π-π stacking of aromatic units	No permeability reported/ high selectivity for water, reject all ions except protons
Bola-amphiphile bis-triazole (TCT), T-channels	Self-assembled helical pores (~2.5-4 Å); double helical channels double net-dipolar orientation	No permeability reported for water / enhanced conduction states for alkali cations and for protons
Tubular pores formed via self-assembly of arylene-ethynylene macrocycle	Hydrophobic tubular channel (6.4 Å) via π-π stacking of aromatic units and H-bonding of peptide arms	51 μm/s/ no selectivity for water, high conduction for K ⁺ and protons / 4.9x10 ⁶ water molecules/s/channel
Peptide appended Pillar[5]arenes, PAPs	Hybrid hydrophobic/hydrophilic cylindrical (~5 Å) unimolecular systems.	30 μm/s (swelling mode, good conduction for alkali cations 3.5 10 ⁶ (swelling mode) and 3.7x10 ⁶ water /s/channel (shrinking)
Hydrazide appended Pillar[5]arenes, PAHs 3	Hybrid hydrophobic/ hydrophilic cylindrical (6.5 Å) unimolecular systems	8.6 × 10 ⁶ μm/s / no water selectivity, good alkali cation conduction, but not for protons / 40 water molecules/s/channel
Dendritic dipeptide, (4-3,4-3,5)-12G2-CH ₂ -Boc-L-Tyr-L-Ala-OMe, 1	Hydrophobic H-bonded central pore (14.5 Å); stacked dendritic periphery	No permeability reported / water against ions except protons
Carbon Nanotubes- CTNs	The estimated diameter of CTNs (12,12) is 16 Å	No ion rejection: stable and high permeability / 9x10 ⁶ water molecules/s/channel

Compounds are approximately ordered according to the channel diameter

The water diffusion and facilitated transport of protons excluding cationic and anionic transport through bilayer membranes incorporating all-artificial water channels have been reported for the first time by Percec *et al.* [29]. The dendritic dipeptides self-assemble via enhanced peripheral π-stacking to form stable cylindrical helical pores (14.5 Å in diameter), of reasonable thermal stability. Moreover they selectively transport water molecules against ions through self-assembled hydrophobic nanotubes stable in phospholipid membranes. The ion-exclusion phenomena are based on hydrophobic effects which appear to be very important. These pores are envisioned to be the first artificial “primitive aqua-

porins” which transport water but do not reject protons. Next, the significant contribution by Hu *et al.* [30, 31] shows that polydrazide-pillar[5]arenes tubular structures can be used as single-molecular water channels in bilayer membranes. The transport mechanism is strongly dependent on the length of the former components: the shortest pillar[5]arenes-tetraester, induce the formation of water wires within the stacked molecular cylinders and can successfully be used to translocate protons *via* bilayer membranes. The longer poly-hydrazide-pillar[5]arene compounds differently to shorter ones, present alternating hydrophobic/hydrophilic structural domains along their cylindrical structure which disrupt the formation of water wires within the inner channel core and thus block the proton flux along the discontinuous water phases. Differently to AQP, in which the control of the water/proton translocation is based on reverse-flip net-dipolar profiles within the channel [24], other channels may relate their selectivity to the structural disruption of water-wires.

Imidazole I-quartet channels

We reported [7–9] that imidazole I-quartet channels can be mutually stabilized by inner water-wires, reminiscent of the oriented water single-file columns observed for AQP and ion-charged GA natural pores. In addition, the I-quartet may be considered as the representative water-quartet superstructure, reminiscent of that of the most known Guanosine-G-quartet for cations (see Fig. 2 for a comparison). The I-quartet superstructures are stable in solid state and within bilayers leading to functional water-channels. These systems show total ion rejection and the ion-exclusion phenomena are based on dimensional steric effects whereas hydrophobic and hydrodynamic effects appear to be less important.

As observed in aquaporin channels, the confined water wires form one hydrogen bond with the inner wall of the assembled I-quartet scaffold and another one with an adjacent water molecule. Furthermore, the water molecules embrace a unique dipolar orientation thereby preserving the overall electrochemical dipolar potential along the channel. These findings strongly support the idea that water molecules and protons can permeate across the lipid bilayer through pores formed by I-quartet aggregates. These I-quartet constructs provide good reasons to consider that their supramolecular chirality and water induced polarization (unique dipolar orientation) within the channels may be strongly associated [20]. Chiral surfaces are determinant to a more extended scale in asymmetric tissue morphogenesis.

Water is an electrically dipolar molecule and an exceptional (bio)lubricant; it can simply read the spatial information of the asymmetric chiral superstructures to generate asymmetric dipolar-wires of dynamic behaviors. Within this context, chiral synthetic pores of 2.8 Å diameter (like the AQP natural ones!) orienting the dipolar water wires within the channels, give rise to novel strategies to mimic the protein-channel machinery. I-quartet channels offer an exciting opportunity to en-

capsulate water-clusters in confined chiral space and offer a chance to explore water behaviors very close to pore-confined biological water, exhibiting properties at the limits between solid and liquid states. Moreover all these unique features might deserve to confirm a number of structural descriptors explaining the structure-directed functions of natural channel proteins. The water-free I-quartet-“off form” superstructure described by our group is reminiscent of a closed proton gate conformation of the M2 Influenza A M2IA protein [12, 13]. Slight conformational changes lead to the water assisted opening of the I-quartets through which protons can diffuse along dipolar oriented water-wires in the open state pore-gate region. Our opinion is that the I-quartet system represents a fundamentally important biomimetic superstructure for water/proton transport that can be extensively developed based on new structural motifs.

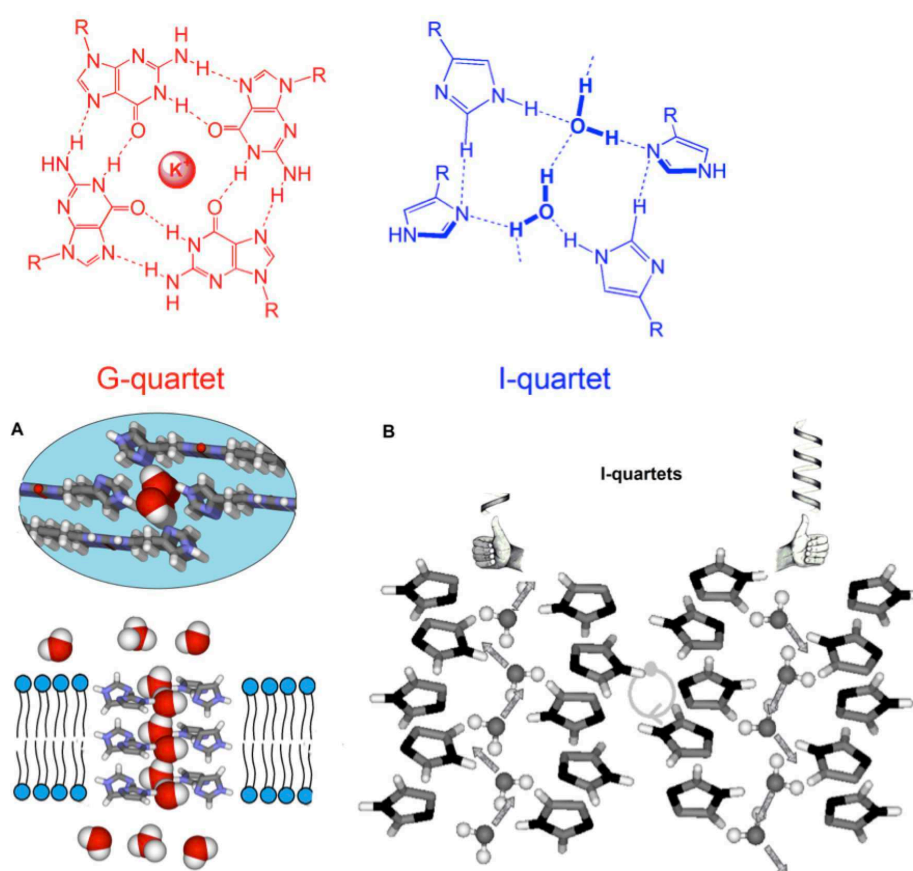


Fig. 2. Cross section and top views of Imidazole I-quartets generating water-channels in which the water molecules present a unique dipolar orientation. The I-quartets presenting supramolecular chirality, can accommodate dipolar water-wires along the length of the channel. Water molecules are shown either in van der Waals or in ball and stick representation.

First results may illustrate these ideas. Previous MD simulation studies of dynamic behaviors of the artificial I-quartet water channels and water molecules under confined conditions in a lipid bilayer environment were reported in [19–21]. An important aspect to bear in mind from these works is the quantitative correlation be-

tween the dipolar orientation of water-wires and their effects on their stability once inserted in the bilayer membranes. Water and proton translocation properties through AWCs are interlinked with the water-wire orientation as well. Two extreme cases are illustrated in Fig. 3, where water is either permeating in a random pathway or through highly ordered channels, depending on small modifications on the I-quartet building blocks. These studies provide detailed experimental data correlated with extensive theoretical simulations on water permeability with efficiency similar to that of natural biological systems. The theoretical stability and dynamics of the assembly have been tested first, probing different stoichiometries and box sizes. As next steps, the energetics of water transport will be assessed [54]. This knowledge will enable us to suggest modifications in the channel scaffold to modulate and improve water transport that can subsequently be correlated experimentally. Once a full characterization at an all-atom level has been achieved, we will be able to devise a simplified coarse-grained model in order to study larger assemblies and longer timescales.

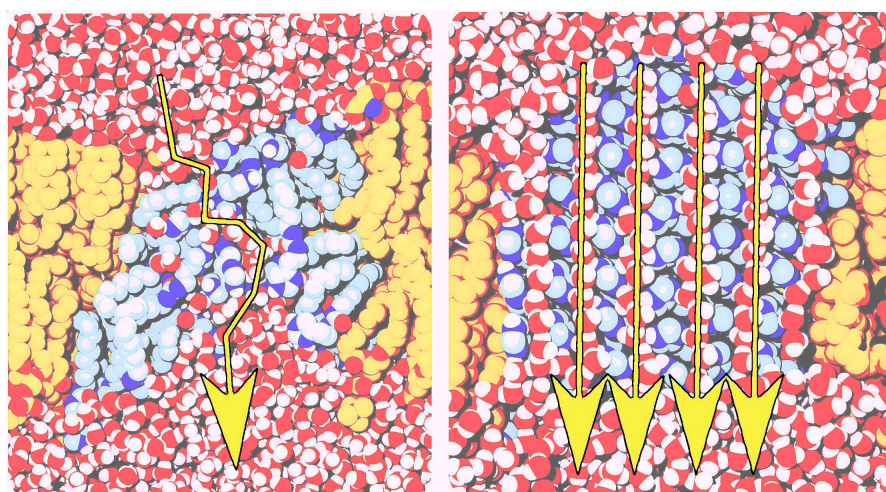


Fig. 3. Sponge-like and ordered water transport mechanisms observed in I-quartet channels [21].

Computational Design

A roadmap for improving our current understanding

Here we sketch a computationnally-focused approach exploring unpaved ways to design artificial systems for water transport in bilayer membranes closer to the natural ones with the goal to further improve AWC performance. Their resultant functionality can be dependent on the nature of the scaffold and added functionalities, as their multivalent interactions have been shown to be influenced by such factors as nature of the confining matrix, the stability and the orientation of the

channel, etc. In this context, computational studies, rational design and engineering of water in biological systems fulfils the following aims:

- Improve the understanding of the adaptive functional self-organization of molecular components into functional channel platforms by using a self-adaptive strategy and by exploring the synergistic influence of structural self-assembly/platform function and of the evolutive behaviours on the addition of different external stimuli.
- Accurately control functional responses through bilayer membrane platforms developed *via* tuned incorporation of components into channel superstructures
- Investigation of application avenues towards larger impact of developed bio- and environmental responsive materials for reverse osmosis (RO) and forward osmosis (FO) membranes.

Such an approach is challenging and ambitious but highly feasible since, although based on new supramolecular/constitutional/MD simulation concepts, it relies on substantial preliminary data, expertise, experience and facilities related in particular to the I-quartet channel family of compounds illustrated in Figs. 1b and 2. Molecular dynamics simulations strongly contribute to understand and improve the dynamic behaviors of water molecules under confined conditions. The key is to fine-tune the balance between attractive and repulsive elements. The formation of single-file columns of water confined along the internal pore surfaces is a critical element. It may impose a net-dipole alignment of water molecules. Such an alignment influences the conduction of fluids, envisioned to diffuse along the dipolar hydrophilic pathways. Synthetic architectures generating stable water/proton translocation pathways in bilayer membranes to mimick the natural protein functions can be characterized at high spatial- and time resolutions. The dynamic features of these objects confined in a lipid bilayer create new opportunities to further modify and engineer such systems.

Ideally, the supramolecular water-channels to be synthesized would require a nearly frictionless diffusional pathway of the water on the length scale of the pore trajectory. What is needed is an enhanced liquid flow mechanism at the location of artificial pores - one critical hallmark for mimicking protein channels - or doing better. The strong interactions of the water with the inner surface of the channels reduce the efficiency of water transport, when compared with the natural systems. However, understanding the fine details of the water transport mechanism at the microscopic level is essential to decipher how hydrogen-bond switch events can assist efficient in-pore diffusivity. Straightforward synthetic access to superstructures - artificial Aquaporins - allowing water wires give rise to novel strategies to constitutionally build up very selective water transport devices.

Despite the few advances that have been made in this very young field, one may say that the discovery of novel synthetic systems able to form water-channels is most of the time empirical. But even if the discovery is empirical, the natural proteins may serve us to tailor the functions of the synthetic systems and engineer optimized molecular constructs. This interdependence makes our next challenge still

more ambitious: understanding the natural systems transport mechanism is often one way to raise artificial systems to the level of natural functions or even beyond. Then, if we can imagine how the system is designed in our hands (minds) we could ask a number of questions. For this purpose it is particularly important to form structural models in our minds. Advanced visualization is a particularly powerful approach already extensively used to understand biological membrane objects [55]. We will get back to the strengths of novel technological approaches such as using virtual reality gear or high-resolution and large-scale display walls a little later in this discussion [56–60]. The aim of such a visual analysis is to bring novel concepts to the engineering of nanostructured functional systems, together with the understanding of the mechanisms underlying a rational use of water transport functions employed as the nanostructuring tools. Such an understanding would contribute both to fundamental and applicative research. For the former, leading to a better understanding of the natural function of protein channels and solving important biological scenarios of oriented water diffusion along channels. For the latter, learning from natural water purifying systems we might shed light on new strategies to generate highly selective materials/systems for advanced water purification.

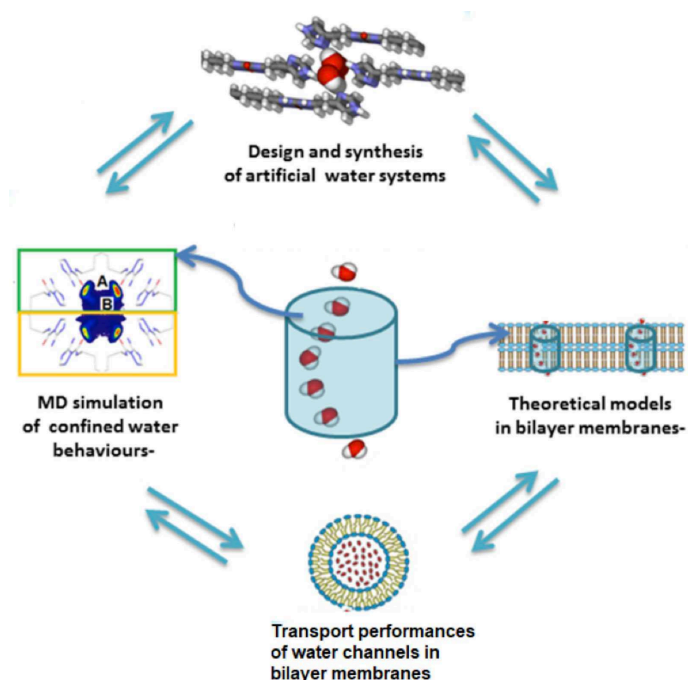


Fig. 4. illustrates the interplay of synthesis, experimental characterization and computational modeling. Water channel systems are synthetically engineered to enable platforms for the selective transport of water with active molecular control and motion. MD simulations and theoretical models of the channels embedded in realistic membrane systems guide the design of active systems through a mechanistic understanding of both the self-assembly process and the transport characterization offering experimental verification of the modeling predictions. Such an undertaking requires theoretical molecular models in realistic lipid bilayers and polymers, the design, synthesis and facilitated transport of water channel systems, and the structural characterization, stability studies of AWCs through bilayer membranes.

The proposed approach, fundamental in nature, should permit to develop not only new knowledge but also to gain a greater insight on Biomimetic Artificial Water Systems, which can serve to understand complicated biological scenarios or to imagine novel membrane systems for water purification.

Theoretical molecular models in realistic lipid bilayers and polymers

A computational pipeline permits to explore the molecular organization of the candidate molecules in the membrane, and elucidate the mechanism of water transport. The approach we envision is based on coarse-grained (CG) and atomistic simulations supported by enhanced sampling. For a given compound, MD simulations based on CG models will be carried out so to explore and to individuate via enhanced sampling the possible free energy minima of the aggregates in the membrane. Several initial conditions should be tested (crystal like arrangement, spontaneous early steps aggregation, human design) so to enlarge the exploration. The individuated most stable aggregated states are filtered according to different criteria (energetics, packing, percolation) and will be back-mapped to the atomistic resolution. Further MD will be performed to test their capability for water transport and ion rejection. For the first study-cases the enhanced sampling will be performed at atomistic resolution to control the possible biases of the CG preliminary screening. The workflow will be performed for several stoichiometries. For each compound the combined information from the theoretically deduced structural/functional response of the molecules and from experiments, will suggest molecular modifications to be submitted to the pipeline depicted in Fig. 4. The preliminary CG approach has the advantage to reduce the computational cost for the most time-consuming part of the pipeline, the sampling of self-assembled structures. Such an approach should answer the following main questions:

- what is the structure and stability of AWCs in a membrane (or polymer) environment?
- how do water transport and ion rejection happen at the molecular level?
- how can transport (and AWCs properties in general) be tuned and optimized?

To further understand the structure and stability in a membrane environment, we need to investigate how the channels (self)assemble. The self-aggregation process raises a number of questions. What is the size of the aggregates? Are all channels identical/homogeneous? How does chirality affect the process?

To address water-channel functionality in a saline condition, we need to describe how precisely transport happens. MD simulations may be used to systematically examine the transport through AWCs of novel materials and specific AWCs to elucidate the role of hydration and detailed molecular interaction during nanofiltration. What is the geometry, mechanism and energetics of the process? How are

ions rejected, and what happens to protons? These are essential characteristics that will enable to proceed to rational optimization of AWCs.

As briefly mentioned above, we performed MD simulations to understand the structure/activity relationships of the artificial water channels formed by I-quartets. We embedded small (ca. 3 nm wide) I-quartet channel patches based on the X-ray structures in a lipid bilayer environment with the same composition as that used in the experiments to begin each simulation. The MD results showed that I-quartets preferentially located within the bilayer membrane region and stabilized water channels in all simulations, although the degrees of water-occupancy, transport and structuring varied. We observed that the structural dynamics of I-quartet channels was dependent on the lateral pressure applied to the membrane, with higher pressure favoring the structuring of the water-wires and stabilizing the structure of the I-quartets. Very interestingly, different water permeation mechanisms were observed ranging from disordered cross-membrane pathways to strongly regular channel structures as depicted in Fig. 3.

Water transport and ion rejection characterization can be addressed even more quantitatively through Potential-of-Mean-Force type approaches or use of adapted collective variables to enhance the sampling. Osmotic gradients may be used to mimic experimental conditions. These techniques enable to determine quantitative energetics for transport of water, proton and ionic species. Statistical analysis can then provide the key features (geometry, mechanism) of transport. Large-(time&length)scale assessments may be required for selected systems, incorporating effects such as hydrodynamics within a simplified model.

Tuning of AWC properties to optimize transport and stability may be treated in an iterative fashion. First one may investigate a number of modifications such as decorating the transport channel walls. Such approaches were successfully used for understanding ion channel properties (work by Beckstein and Sansom, for instance [33, 34, 37, 61]) as well as e.g. water transport through carbon nanotubes (work by Hummer [35, 36]). We can draw on our own experience with ion channels and the fine characterization of water in biological systems [54]. Each modification should then be analyzed in terms of transport efficiency, ion rejection capability and stability.

Design, synthesis and facilitated transport of water channel systems

The key to the design of water channels is having stable pores wider than the critical diameter for selective binding to allow free flow of the water molecules. In general two main water translocation mechanisms were identified in selective filter channels working on a size restriction. They are related to:

- hydrophobic pores in which no H-bonding are occurring between the water and the channels and

- hydrophilic pores that specifically bind water through hydrogen-bonds, to the wall of the channel.

In the first case the design might be fairly straightforward; the size of the hydrophobic pore is needed to be $< 3 \text{ \AA}$ to block the passage of hydrated ions. This difficulty still lies in the synthetic routes for obtaining hydrophobic channels without H-bonding moieties that might induce the selective transport of water against the ions. Whilst the size restriction is necessary, water specific binding is needed for selectivity. We already find important structural details toward this goal, because of the recent discovery by our group of the artificial I-quartet channels introduced previously, having 100% selectivity against salts and very interesting water permeability of $\sim 1.5 \times 10^6$ water molecules/second/channel, approaching those of natural systems [7, 26]. To the best of our knowledge, the I-quartets are the only channels nowadays presenting total ion-exclusion, based on dimensional steric reasons, whereas water clustering effects appear to be also important [26]. The selective binding of water can be achieved through the synergetic combination of donor-acceptor H-bonding moieties. In both cases binding/transport of cations or anions are prohibited, as such processes would induce an energy penalty from the dehydration of the ions due to the simultaneous donor-acceptor interactions with the hydrogen-bonding channels, mainly leading to the selectivity of the water in competition with other ions.

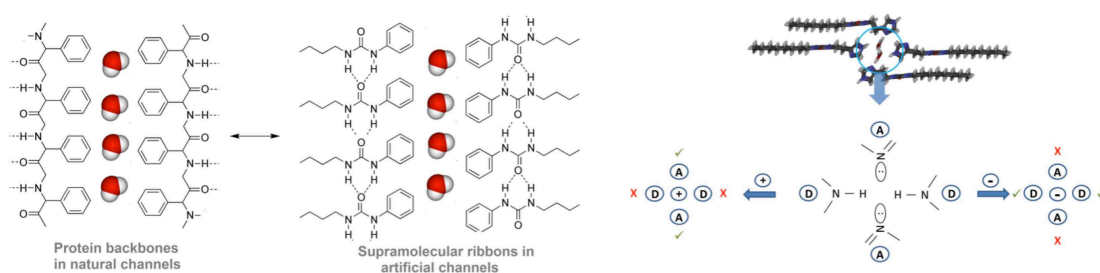


Fig. 5. Biomimetic artificial water channels (left) Natural protein versus artificial supramolecular ribbon self-assembly for water channel generation (right). Donor-acceptor-donor-acceptor H-bonding moieties in donor-acceptor based channels for water recognition incompatible with the binding of cations and anions.

We now intend to reach the next goal of making more competitive channels with controlled transport properties. This objective may require novel synthons combining a particularly broad range of features, decorating the functional polar head with various functionalities in order to enhance self-assembly and to control water binding properties of the polar head. The directional supramolecular guiding H-bonding interaction is reminiscent of the amide moiety's H-bonding in proteins and can be varied in order to modulate the dynamics of the ribbon's self-assembly. The hydrophobic tail provides another design opportunity.

Advanced visual exploration

Spatial complexities in visually understanding AWCs

Analyzing water channels through membrane-traversing pores on a 2D standard desktop is a complex task due to the lack of a true perspective view of the spatial structure. Such channels may form intricate three-dimensional ramifications within the membrane. The difficulty resides in identifying precisely and effectively which part of the I-quartet molecules interacts with the water and constitute transport channels. In the models we investigated, several close-by yet independent channels are present, hence one may easily misinterpret which water molecule belongs to which channel in a typical crowded 2D projection. More advanced and intrinsically three-dimensional display hardware solutions provide powerful alternatives with respect to 2D screens to address these issues. We have carried out first experiments with three different setups, comparing a 2D desktop environment, virtual reality headsets for truly immersive in-depth exploration of artificial water channels, as well as a large-scale high-resolution display wall. The VR approach is very powerful to immerse an individual into the molecular world, whereas the display wall is more naturally prone to collaborative exchanges around a complex 3D scene. We use our open-source UnityMol software [62–64] for all experiments described here. The software is available for download and operates in desktop (2D), display wall (3D) and virtual reality headset (immersive 3D with head-tracking) modes.

Navigating through AWCs in three dimensions

First experiments using 3D glasses on the display wall immediately showed the gain of adding a 3rd dimension to the visual exploration. With respect to the water channel visualization, the 3rd dimension adds depth of field enabling a scientist to more easily identify each channel and to highlight the water molecules present in the interior of a given pore. The large size of the display makes it easy to unite several collaborators with complementary expertise such as a domain scientist, an expert in visualization, a molecular modeling professional etc., such as to optimize the process and jointly achieve the best analysis and visual inspection of the system. In particular when using a surface representation of the channels and pores the 3D visualization provides a strong gain through improved perception of bumps and crevices. By (arbitrarily and geometrically) dividing the channels in two halves and displaying them as surfaces with different attributes, for instance in terms of color or transparency, the visualization is improved and the identification of differences in stabilization and permeation on each "side" is facilitated. Using a

cutting plane to expose the channel interior is another approach that works well. When using the virtual reality headset instead, such a visual system preparation becomes less important because one can easily move inside the molecule, finely control and change the point of view to adjust to a given channel of interest instead of moving the whole molecular system into focus. The visual experience is clearly enhanced and requires less preparation to be efficient when moving from a desktop to 3D display wall to VR headset context. In all three cases it has proven difficult to intuitively select interesting parts of the system without an advanced geometrical selection capability, as the pores do not follow a unique and easily identifiable direction in the coordinate system. A prior selection, for example based on relevant residue ids allows to work around this current limitation.

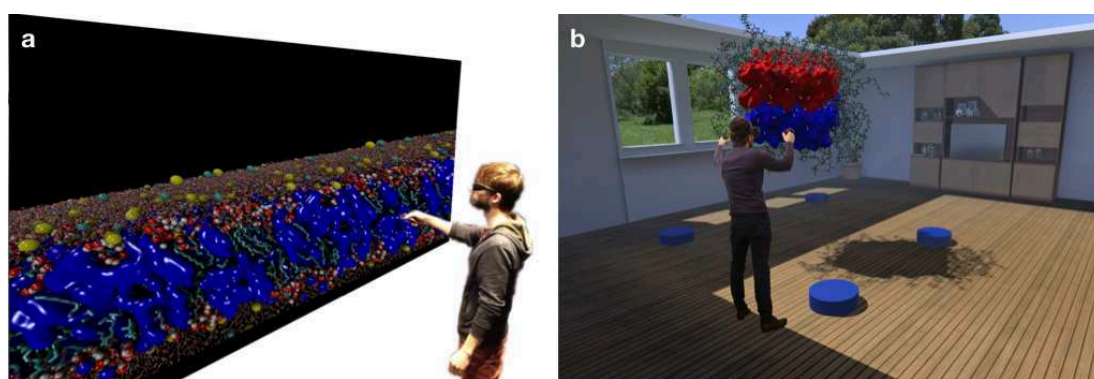


Fig. 6. Visual experiments exploring the properties of the I-quartet channel water conduction pathways on a 3D stereoscopic display wall (a) and in a fully immersive virtual reality environment using a headset (b). Both panels represent illustrative photomontages of such experiments.

First user feedback

Although the 3D display hardware capacities are clearly beneficial to the exploration, they are by no means sufficient to obtain insight into these complex molecular systems. It is as necessary to finetune the visual representations as it is to add the third dimension. We have collected the first user feedbacks on avenues for improving the visual repertoire for these systems.

The lipid bilayer is a useful visual cue, however it easily saturates the visual channel. An abstract and simplified representation, such as for instance depicting the phosphorus atoms representing the lipid headgroups as a cue for the bilayer provides a better experience. Similarly, representing parts of the system through transparency is required to depict the context without hiding the water channels and not overloading the scene. Highlighting hydrogen bonds in the system further helps to identify stabilizing elements holding the water channels together. By depicting the surface blobs of the water channels throughout trajectory playback, it is easily possible to follow leakage or possibly breakdown of the channels. Such ob-

servations naturally generate ideas about key parameters in the system and how to possibly quantify them. In the present case, for instance measuring the pore diameter during trajectory playback to quantify "openness". Some of these features still need to be implemented or refined in the UnityMol software before the next round of experiments can be carried out. Finetuning immersive visual analytic tools is a lengthy and iterative process of which we only have scratched the surface so far.

Conclusion

The field of artificial water-channels is still a very young field. High conduction activity obtained with natural compounds can be bio-mimicked using simpler compounds displaying constitutional functions like the natural ones in order to create all-made artificial biomimetic channels by using synthetic approaches. Improved synthetic biomimetic water-channels and pores bear great promise to enhance our insight into the natural function of macromolecular channels. Their development may lead to new strategies for the design of highly selective, advanced water purification systems. The membrane-assembled architectures, mimicking the natural protein functions and generating water/proton translocation pathways in bilayer membranes can be theoretically scrutinized to unravel underlying mechanisms. Because of the spatial complexities, advanced visualization approaches are particularly precious to achieve efficient visual analytics of these membrane-traversing objects.

Acknowledgments. This work was conducted within the ANR-15-CE29-0009 DYNAFUN (Mihail Barboiu) and ANR-18-CE06-0004 WATERCHANNELS (Fabio Sterpone) projects. The study was further supported by the "Initiative d'Excellence" program from the French State (Grant "DYNAMO", ANR-11-LABX-0011 and grant "CACISICE", ANR-11-EQPX-0008). X.M., A.H., H.S. and M.B. thank Sesame Ile-de-France for co-funding the display wall used in this study. Computational work was performed using HPC resources from GENCI-CINES (grant number 2016-072292) to Marc Baaden. X.M. and M.B. thank UCB Biopharma for support. This publication received support from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under Grant No. 667387 WIDESPREAD 2-2014 SupraChem Lab.

1. Ball P (2008) Water as an Active Constituent in Cell Biology. *Chem Rev* 108:74–108 . <https://doi.org/10.1021/cr068037a>
2. Bellissent-Funel M-C, Hassanali A, Havenith M, Henchman R, Pohl P, Sterpone F, van der Spoel D, Xu Y, Garcia AE (2016) Water Determines the Structure and Dynamics of Proteins. *Chem Rev* 116:7673–7697 . <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00664>
3. Gokel GW, Mukhopadhyay A (2001) Synthetic models of cation-conducting channels. *Chem Soc Rev* 30:274–286 . <https://doi.org/10.1039/b008667n>

4. Sakai N, Mareda J, Matile S (2005) Rigid-Rod Molecules in Biomembrane Models: From Hydrogen-Bonded Chains to Synthetic Multifunctional Pores. *Acc Chem Res* 38:79–87 . <https://doi.org/10.1021/ar0400802>
5. Cazacu A, Tong C, van der Lee A, Fyles TM, Barboiu M (2006) Columnar Self-Assembled Ureido Crown Ethers: An Example of Ion-Channel Organization in Lipid Bilayers. *J Am Chem Soc* 128:9541–9548 . <https://doi.org/10.1021/ja061861w>
6. Fyles TM (2007) Synthetic ion channels in bilayer membranes. *Chem Soc Rev* 36:335–347 . <https://doi.org/10.1039/B603256G>
7. Le Duc Y, Michau M, Gilles A, Gence V, Legrand Y-M, van der Lee A, Tingry S, Barboiu M (2011) Imidazole-Quartet Water and Proton Dipolar Channels. *Angew Chem Int Ed* 50:11366–11372 . <https://doi.org/10.1002/anie.201103312>
8. Barboiu M (2012) Artificial Water Channels. *Angew Chem Int Ed* 51:11674–11676 . <https://doi.org/10.1002/anie.201205819>
9. Barboiu M, Gilles A (2013) From Natural to Bioassisted and Biomimetic Artificial Water Channel Systems. *Acc Chem Res* 46:2814–2823 . <https://doi.org/10.1021/ar400025e>
10. Barboiu M, Le Duc Y, Gilles A, Cazade P-A, Michau M, Marie Legrand Y, van der Lee A, Coasne B, Parvizi P, Post J, Fyles T (2014) An artificial primitive mimic of the Gramicidin-A channel. *Nat Commun* 5:4142 . <https://doi.org/10.1038/ncomms5142>
11. Barboiu M, Cazade P-A, Le Duc Y, Legrand Y-M, van der Lee A, Coasne B (2015) Polarized Water Wires under Confinement in Chiral Channels. *J Phys Chem B* 119:8707–8717 . <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b03322>
12. Schnell JR, Chou JJ (2008) Structure and mechanism of the M2 proton channel of influenza A virus. *Nature* 451:591–595 . <https://doi.org/10.1038/nature06531>
13. Hu F, Luo W, Hong M (2010) Mechanisms of Proton Conduction and Gating in Influenza M2 Proton Channels from Solid-State NMR. *Science* 330:505–508 . <https://doi.org/10.1126/science.1191714>
14. Cheruzel LE, Pometun MS, Cecil MR, Mashuta MS, Wittebort RJ, Buchanan RM (2003) Structures and Solid-State Dynamics of One-Dimensional Water Chains Stabilized by Imidazole Channels. *Angew Chem Int Ed* 42:5452–5455 . <https://doi.org/10.1002/anie.200352157>
15. Fei Z, Zhao D, Geldbach TJ, Scopelliti R, Dyson PJ, Antonijevic S, Bodenhausen G (2005) A Synthetic Zwitterionic Water Channel: Characterization in the Solid State by X-ray Crystallography and NMR Spectroscopy. *Angew Chem Int Ed* 44:5720–5725 . <https://doi.org/10.1002/anie.200500207>
16. Legrand Y-M, Michau M, van der Lee A, Barboiu M (2008) Homomeric and heteromeric self-assembly of hybrid ureido–imidazole compounds. *CrystEngComm* 10:490 . <https://doi.org/10.1039/b717015g>
17. Legrand Y-M, van der Lee A, Masquelez N, Rabu P, Barboiu M (2007) Temperature Induced Single-Crystal-to-Single-Crystal Transformations and Structure Directed Effects on Magnetic Properties. *Inorg Chem* 46:9083–9089 . <https://doi.org/10.1021/ic700867b>
18. Barboiu M (2016) Artificial water channels – incipient innovative developments. *Chem Commun* 52:5657–5665 . <https://doi.org/10.1039/C6CC01724J>
19. Licsandru E, Kocsis I, Shen Y, Murail S, Legrand Y-M, van der Lee A, Tsai D, Baaden M, Kumar M, Barboiu M (2016) Salt-Excluding Artificial Water Channels Exhibiting Enhanced Dipolar Water and Proton Translocation. *J Am Chem Soc* 138:5403–5409 . <https://doi.org/10.1021/jacs.6b01811>
20. Kocsis I, Sorci M, Vanselous H, Murail S, Sanders SE, Licsandru E, Legrand Y-M, van der Lee A, Baaden M, Petersen PB, Belfort G, Barboiu M (2018) Oriented chiral water wires in artificial transmembrane channels. *Sci Adv* 4:eaao5603 . <https://doi.org/10.1126/sciadv.aao5603>
21. Murail S, Vasiliu T, Neamtu A, Barboiu M, Sterpone F, Baaden M (2018) Water permeation across artificial I-quartet membrane channels: from structure to disorder. *Faraday Discuss* 209:125–148 . <https://doi.org/10.1039/C8FD00046H>

22. Sterpone F, Derreumaux P, Melchionna S (2015) Protein Simulations in Fluids: Coupling the OPEP Coarse-Grained Force Field with Hydrodynamics. *J Chem Theory Comput* 11:1843–1853 . <https://doi.org/10.1021/ct501015h>
23. F. Brandner A, Timr S, Melchionna S, Derreumaux P, Baaden M, Sterpone F (2019) Modelling lipid systems in fluid with Lattice Boltzmann Molecular Dynamics simulations and hydrodynamics. *Sci Rep* 9:16450 . <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52760-y>
24. Agre P (2004) Aquaporin Water Channels (Nobel Lecture). *Angew Chem Int Ed* 43:4278–4290 . <https://doi.org/10.1002/anie.200460804>
25. Tajkhorshid E (2002) Control of the Selectivity of the Aquaporin Water Channel Family by Global Orientational Tuning. *Science* 296:525–530 . <https://doi.org/10.1126/science.1067778>
26. Kumar M, Grzelakowski M, Zilles J, Clark M, Meier W (2007) Highly permeable polymeric membranes based on the incorporation of the functional water channel protein Aquaporin Z. *Proc Natl Acad Sci* 104:20719–20724 . <https://doi.org/10.1073/pnas.0708762104>
27. Hinds BJ (2004) Aligned Multiwalled Carbon Nanotube Membranes. *Science* 303:62–65 . <https://doi.org/10.1126/science.1092048>
28. de Groot BL, Grubmüller H (2005) The dynamics and energetics of water permeation and proton exclusion in aquaporins. *Curr Opin Struct Biol* 15:176–183 . <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2005.02.003>
29. Kaucher MS, Peterca M, Dulcey AE, Kim AJ, Vinogradov SA, Hammer DA, Heiney PA, Percec V (2007) Selective Transport of Water Mediated by Porous Dendritic Dipeptides. *J Am Chem Soc* 129:11698–11699 . <https://doi.org/10.1021/ja076066c>
30. Hu X-B, Chen Z, Tang G, Hou J-L, Li Z-T (2012) Single-Molecular Artificial Transmembrane Water Channels. *J Am Chem Soc* 134:8384–8387 . <https://doi.org/10.1021/ja302292c>
31. Si W, Chen L, Hu X-B, Tang G, Chen Z, Hou J-L, Li Z-T (2011) Selective Artificial Transmembrane Channels for Protons by Formation of Water Wires. *Angew Chem Int Ed* 50:12564–12568 . <https://doi.org/10.1002/anie.201106857>
32. de Groot BL, Grubmüller H (2001) Water permeation across biological membranes: mechanism and dynamics of aquaporin-1 and GlpF. *Science* 294:2353–2357 . <https://doi.org/10.1126/science.1062459>
33. Beckstein O, Sansom MSP (2004) The influence of geometry, surface character, and flexibility on the permeation of ions and water through biological pores. *Phys Biol* 1:42–52 . <https://doi.org/10.1088/1478-3967/1/1/005>
34. Rao S, Lynch CI, Klesse G, Oakley GE, Stansfeld PJ, Tucker SJ, Sansom MSP (2018) Water and hydrophobic gates in ion channels and nanopores. *Faraday Discuss* 209:231–247 . <https://doi.org/10.1039/c8fd00013a>
35. Hummer G, Rasaiah JC, Noworyta JP (2001) Water conduction through the hydrophobic channel of a carbon nanotube. *Nature* 414:188–190 . <https://doi.org/10.1038/35102535>
36. Kalra A, Garde S, Hummer G (2003) Osmotic water transport through carbon nanotube membranes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:10175–10180 . <https://doi.org/10.1073/pnas.1633354100>
37. García-Fandiño R, Sansom MSP (2012) Designing biomimetic pores based on carbon nanotubes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:6939–6944 . <https://doi.org/10.1073/pnas.1119326109>
38. Barboiu M, Kumar M, Baaden M, Gale PA, Hinds BJ (2019) Highlights from the Faraday Discussion on Artificial Water Channels, Glasgow, UK. *Chem Commun Camb Engl* 55:3853–3858 . <https://doi.org/10.1039/c9cc90112d>
39. Baaden M, Barboiu M, Bill RM, Chen C-L, Davis J, Di Vincenzo M, Freger V, Fröba M, Gale PA, Gong B, Hélix-Nielsen C, Hickey R, Hinds B, Hou J-L, Hummer G, Kumar M, Legrand Y-M, Lokesh M, Mi B, Murail S, Pohl P, Sansom M, Song Q, Song W, Törnroth-

- Horsefield S, Vashisth H, Vögele M (2018) Biomimetic water channels: general discussion. *Faraday Discuss* 209:205–229 . <https://doi.org/10.1039/c8fd90020e>
40. Baaden M, Barboiu M, Borthakur MP, Chen C-L, Coalson R, Davis J, Freger V, Gong B, Hélix-Nielsen C, Hickey R, Hinds B, Hirunpinyopas W, Horner A, Hou J-L, Hummer G, Iamprasertkun P, Kazushi K, Kumar M, Legrand Y-M, Lokesh M, Mi B, Mitra S, Murail S, Noy A, Nunes S, Pohl P, Song Q, Song W, Tornroth-Horsefield S, Vashisth H (2018) Applications to water transport systems: general discussion. *Faraday Discuss* 209:389–414 . <https://doi.org/10.1039/c8fd90022a>
 41. Baaden M, Barboiu M, Bill RM, Casanova S, Chen C-L, Conner M, Freger V, Gong B, Góra A, Hinds B, Horner A, Hummer G, Kumar M, Lokesh M, Mitra S, Noy A, Pohl P, Sadet A, Sansom M, Törnroth-Horsefield S, Vashisth H (2018) Structure and function of natural proteins for water transport: general discussion. *Faraday Discuss* 209:83–95 . <https://doi.org/10.1039/c8fd90019a>
 42. Baaden M, Borthakur MP, Casanova S, Coalson R, Freger V, Gonzalez M, Góra A, Hinds B, Hirunpinyopas W, Hummer G, Kumar M, Lynch C, Murail S, Noy A, Sansom M, Song Q, Vashisth H, Vögele M (2018) The modelling and enhancement of water hydrodynamics: general discussion. *Faraday Discuss* 209:273–285 . <https://doi.org/10.1039/c8fd90021c>
 43. MacKinnon R (2004) Potassium Channels and the Atomic Basis of Selective Ion Conduction (Nobel Lecture). *Angew Chem Int Ed* 43:4265–4277 . <https://doi.org/10.1002/anie.200400662>
 44. Roux B (2002) Computational Studies of the Gramicidin Channel. *Acc Chem Res* 35:366–375 . <https://doi.org/10.1021/ar010028v>
 45. Saparov SM, Pohl P (2004) Beyond the diffusion limit: Water flow through the empty bacterial potassium channel. *Proc Natl Acad Sci* 101:4805–4809 . <https://doi.org/10.1073/pnas.0308309101>
 46. Tang CY, Zhao Y, Wang R, Hélix-Nielsen C, Fane AG (2013) Desalination by biomimetic aquaporin membranes: Review of status and prospects. *Desalination* 308:34–40 . <https://doi.org/10.1016/j.desal.2012.07.007>
 47. Barbour LJ, Orr GW, Atwood JL (1998) An intermolecular (H₂O)₁₀ cluster in a solid-state supramolecular complex. *Nature* 393:671–673 . <https://doi.org/10.1038/31441>
 48. Yoshizawa M, Kusukawa T, Kawano M, Ohhara T, Tanaka I, Kurihara K, Niimura N, Fujita M (2005) Endohedral Clusterization of Ten Water Molecules into a “Molecular Ice” within the Hydrophobic Pocket of a Self-Assembled Cage. *J Am Chem Soc* 127:2798–2799 . <https://doi.org/10.1021/ja043953w>
 49. Görbitz CH (2007) Microporous Organic Materials from Hydrophobic Dipeptides. *Chem - Eur J* 13:1022–1031 . <https://doi.org/10.1002/chem.200601427>
 50. Müller A, Bögge H, Diemann E (2003) Structure of a cavity-encapsulated nanodrop of water. *Inorg Chem Commun* 6:52–53 . [https://doi.org/10.1016/S1387-7003\(02\)00679-2](https://doi.org/10.1016/S1387-7003(02)00679-2)
 51. Mitra T, Miró P, Tomsa A-R, Merca A, Bögge H, Ávalos JB, Poblet JM, Bo C, Müller A (2009) Gated and Differently Functionalized (New) Porous Capsules Directly Encapsulate Structures: Higher and Lower Density Water. *Chem - Eur J* 15:1844–1852 . <https://doi.org/10.1002/chem.200801602>
 52. Esque J, Sansom MSP, Baaden M, Oguey C (2018) Analyzing protein topology based on Laguerre tessellation of a pore-traversing water network. *Sci Rep* 8:13540 . <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31422-5>
 53. Horner A, Pohl P (2018) Single-file transport of water through membrane channels. *Faraday Discuss* 209:9–33 . <https://doi.org/10.1039/c8fd00122g>
 54. Sauguet L, Poitevin F, Murail S, Van Renterghem C, Moraga-Cid G, Malherbe L, Thompson AW, Koehl P, Corringer P-J, Baaden M, Delarue M (2013) Structural basis for ion permeation mechanism in pentameric ligand-gated ion channels. *EMBO J* 32:728–741 . <https://doi.org/10.1038/emboj.2013.17>

55. Baaden M (2019) Visualizing Biological Membrane Organization and Dynamics. *J Mol Biol* 431:1889–1919 . <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.02.018>
56. Hirst JD, Glowacki DR, Baaden M (2014) Molecular simulations and visualization: introduction and overview. *Faraday Discuss* 169:9–22 . <https://doi.org/10.1039/c4fd90024c>
57. Sommer B, Baaden M, Krone M, Woods A (2018) From Virtual Reality to Immersive Analytics in Bioinformatics. *J Integr Bioinforma* 15: . <https://doi.org/10.1515/jib-2018-0043>
58. Hirst, Johnson, Zheng, Rozmanov, Zoppè, Hall, O’Donoghue, Proctor, Glowacki, Delalande, Brancale, Baaden, Stone, Brooks, Olson, Chavent, Haag, Krone, Kouyoumdjian, Levieux, Reiher, Fowler, Raffin, Baaden, Montes, Dreher (2014) Virtual and augmented reality immersive molecular simulations: general discussion. *Faraday Discuss* 169:143–166 . <https://doi.org/10.1039/c4fd90019g>
59. Proctor, Ertl, Petrov, O’Donoghue, Brooks, Hirst, Stone, Krone, Zoppè, Hall, Baaden, Reiher, Sommer, Fowler, Rozmanov, Glowacki (2014) Advanced visualization and visual analytics: general discussion. *Faraday Discuss* 169:245–264 . <https://doi.org/10.1039/c4fd90020k>
60. Maes A, Martinez X, Druart K, Laurent B, Guégan S, Marchand CH, Lemaire SD, Baaden M (2018) MinOmics, an Integrative and Immersive Tool for Multi-Omics Analysis. *J Integr Bioinforma* 15: . <https://doi.org/10.1515/jib-2018-0006>
61. Beckstein O, Tai K, Sansom MSP (2004) Not ions alone: barriers to ion permeation in nanopores and channels. *J Am Chem Soc* 126:14694–14695 . <https://doi.org/10.1021/ja045271e>
62. Lv Z, Tek A, Da Silva F, Empereur-mot C, Chavent M, Baaden M (2013) Game On, Science - How Video Game Technology May Help Biologists Tackle Visualization Challenges. *PLoS ONE* 8:e57990 . <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057990>
63. Doutreligne S, Cragolini T, Pasquali S, Derreumaux P, Baaden M (2014) UnityMol: Interactive scientific visualization for integrative biology. In: 2014 IEEE 4th Symposium on Large Data Analysis and Visualization (LDAV). IEEE, France, pp 109–110
64. Laureanti J, Brandi J, Offor E, Engel D, Rallo R, Ginovska B, Martinez X, Baaden M, Baker NA (2020) Visualizing biomolecular electrostatics in virtual reality with UnityMol-APBS. *Protein Sci Publ Protein Soc* 29:237–246 . <https://doi.org/10.1002/pro.3773>

3.4 Chemins d'eau adaptatifs et perméation désordonnée dans les *hydroxychannels*

3.4.1 Résumé

Les canaux d'eau artificiels (AWCs) sont connus pour transporter sélectivement l'eau, en bloquant le passage des ions. À l'image des porines naturelles, les AWCs piègent des fils ou des clusters d'eau, offrant des liaisons hydrogène continues et intermittentes jouant un rôle vital dans leur stabilité. Nous présentons ici des AWCs d'octyl-ureido-polyol capables de s'auto-assembler en canaux hydrophiles. Des variantes d'éthanol, de propane-2-ol et de tri-méthanol sont utilisées comme groupes hydrophiles pour moduler les perméabilités au transport de l'eau, avec un rejet complet des ions. Les canaux hydroxylés atteignent une perméabilité par canal de $2,33 \cdot 10^8$ molécules d'eau par seconde, du même ordre de grandeur que le transport de l'eau des aquaporines. En fonction de leur concentration dans la membrane, des structures adaptatives de canaux sont caractérisées dans la membrane. Lorsque la concentration en AWC augmente, un changement significatif se produit, initiant une perméabilité à l'eau plus élevée et inattendue. Les simulations moléculaires montrent que des agrégats cylindriques ou en forme d'éponge peuvent se former pour générer des voies d'eau transitoires à travers la bicouche. Plus généralement, l'auto-assemblage dynamique est une caractéristique clé qui influence l'efficacité des canaux et peut être considérée comme une étape importante contribuant à la découverte systématique de canaux artificiels pour le dessalement de l'eau.

3.4.2 Article

Cette section est reproduite avec permission d'après (3) HUANG, L.-B.; HARDIAGON, A.; KOC SIS, I.; JEGU, C.-A.; DELEANU, M.; GILLES, A.; van der LEE, A.; STERPONE, F.; BAADEN, M.; BARBOIU, M. Hydroxy Channels–Adaptive Pathways for Selective Water Cluster Permeation. *Journal of the American Chemical Society* **2021**, *143*, 4224-4233, DOI : [10.1021/jacs.0c11952](https://doi.org/10.1021/jacs.0c11952).

Hydroxy-channels – adaptive pathways for highly selective water cluster permeation

Li-Bo Huang,^{†,‡} Arthur Hardiagon,^{#,§} Istvan Kocsis,^{‡,¶} Cristina-Alexandra Jegu,[‡] Mihai Deleanu,[‡] Arnaud Gilles,[‡] Arie van der Lee,[‡] Fabio Sterpone,^{#,§} Marc Baaden,^{#,§} and Mihail Barboiu^{*,†,‡}

[†]Lehn Institute of Functional Materials, School of Chemistry, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, China

[‡]Institut Européen des Membranes, Adaptive Supramolecular Nanosystems Group, University of Montpellier, ENSCM-CNRS, UMR5635, Place E. Bataillon CC047, 34095 Montpellier, France

[#]CNRS, Université de Paris, UPR 9080, Laboratoire de Biochimie Théorique, 13 rue Pierre et Marie Curie, F-75005, Paris, France

[§]Institut de Biologie Physico-Chimique-Fondation Edmond de Rothschild, PSL Research University, Paris, France

ABSTRACT: Artificial water channels-AWCs are known to selectively transport water, with ion exclusion. Similar to natural porins, AWCs encapsulate water wires or clusters, offering continuous and iterative H-bonding that play a vital role in their stabilization. Herein, we report octyl-ureido-polyol AWCs capable of self-assembly into hydrophilic hydroxy-channels. Variants of ethanol, propanediol and trimethanol are used as headgroups to modulate water transport permeabilities, with complete rejection of ions. The hydroxy-channels achieve a single-channel permeability of 2.33×10^8 water molecules per second, which is within the same order of magnitude as the transport rates for Aquaporins. Depending on their concentration in the membrane, adaptive channels are observed in the membrane. Over increased concentrations, a significant shift occurs initiating unexpected higher water permeation. Molecular simulations probe that sponge-like or cylindrical aggregates can form to generate transient cluster water pathways through the bilayer. Altogether, the adaptive self-assembly is a key feature influencing channel efficiency. The adaptive channels described here may be considered as an important milestone contributing to the systematic discovery of artificial water channels for water desalination.

INTRODUCTION

One of the most ambitious goals in separation sciences today, is to accomplish the reconstruction of natural carriers or channels through synthetic design. Proteins have evolved for millennia to adopt their current functional structures. Although they are remarkable in functional efficacy, their structural complexity and environmental sensibility undermine their reproducibility and further applications for “out of the membrane cell” use.¹

A key step in achieving this goal is the replacement of natural transporters with simpler synthetic analogues. Synthetic biomimetic approaches, offer us the possibility to build artificial unimolecular or supramolecular constructs that can mimic biological functionality, while featuring procedural and structural simplicity.² The functions of carriers, ion-channels and porins have been successfully replicated using small building blocks. There are several advantages for using artificial mimics; most notable are the possible lower costs, tunability, improved stability and compatibility with the membrane host matrices.

After a decade of their discovery,³⁻⁷ Artificial water channels – AWCs come very close to the performance of the natural counterparts, the Aquaporins. Carbon Nanotube Porins-CNTPs (Figure 1a,b),^{8,9} Pillar[5]arene-PAP5 (Figure 1c)^{10,11} Pillar[4] arene-PAH[4] clusters (Figure 1d),¹² Aquafoldamers (Figure 1e),¹³ Porous organic cages-POC (Figure 1f),¹⁴ Pillar[5]arene Hydrazones-PAH5⁷ and Pillar[5]arene-AQPs¹⁵ are able to close- or even out-perform AQPs, when it comes to

water permeability and/or selectivity.¹ In all artificial setups, transport of water occurs either through a single water file, as seen in the case of AQPs, or through the water cluster structures inside or outside the cavity of the channels.¹⁶

Increasing water-salt permselectivity or improving the salt rejection is the actual challenge to boost the efficiency of AWCs.¹⁶ Most artificial channels lack the complex mechanism involved in selective water transport, including wetting-dewetting events, intermolecular water-water or channel-water H-bonding, all these translated to water translocation through the channels. Only a few synthetic channels (I-quartet, PAH[4], POC, Aquafoldamers, Pillar[5]arene -AQPs) are capable of selective rejection of ions. In these examples, the water transport takes places *via* water wires or clusters.^{1,16}

Structural issues with channels, dimensionally adapting the formation of wires or clusters, depending on their interior pore diameter, can enhance/reduce the water permeability that can significantly impede/exceed the channel selectivity. Weak interactions of water molecules with the hydrophobic walls of channels contribute to its nearly frictionless transport, while selectivity is sterically controlled. Structural design represents a formidable challenge in synthetic chemistry of AWCs. Within this context our pioneering work on I-quartet^{4,17} (Figure 1i) or I-quartet sponges¹⁸ (Figure 1j) highlights the tremendous importance of controlling the water superstructures *via* channel-water H-bonding events between communicating water molecules in the channel cavity, exerting the prohibition of ion insertion/translocation events. Obtaining absolute water selectivity resides in designing a channel, at least in its selectivity

filter/region, with an environment that is favorable for the selective recognition/self-assembly of water *via* synergetic donor-acceptor H-bonding.

Basically, one molecule of water is able to form four hydrogen bonds, simultaneously acting as donor and acceptor through two bonds for each. We previously observed near perfect single water-wire formation within I-quartet channels,^{4,17} where the inner walls of the channels interact with a water molecule through one donor and one acceptor hydrogen bond, leaving the two other H-bonds to be used to interconnect the water wires throughout the channel. Using the same principles, highly specific unimolecular water channels have been achieved using Aquafoldamers¹³ or Pillar[5]arene-AQPs¹⁵ in which water wires are stabilized *via* channel donor-acceptor H-bonding, while having a lower performance than the AQPs and CNTP.^{2,3}

Increasing the water-water H-bonding results in the formation of clusters, that become highly selective in interactions with other species that are mostly rejected as they perturb the stability of water superstructures. Within this context, the concept of engineering cluster/sponge-type AWCs is clearly evolving, as it considerably expands the range of possibilities for the design of macroscopic biomimetic membrane materials embedding AWCs for reverse osmosis desalination.¹⁹

Combined with our previous experience in constructing self-assembled AWCs,^{17,18} herein we report a new class of AWCs based on octyl-ureido-polyols **H1-H6** (Scheme 1) bearing hydrophilic hydroxyl groups, that form adaptive channels in lipid bilayers. Accommodating single water-wires or water-clusters, the channels are able to selectively transport water across a lipid membrane. We argue that such selective transport occurs through a selective water channel or water-pore assisted diffusion mechanism, controlled by donor-acceptor hydroxyl bonding groups substantially influencing their permselectivity.

This scheme underlines the functional versatility of the artificial OH-channels, containing the polar hydroxyl heads reminiscent to ceramide phospholipids that are now well-known for more than 40 years to be involved in cell regulation (apoptosis of cancer cells, differentiation...).^{20,21} Beside their cell regulation properties, ceramides are also known, when mixed with phospholipids, to generate two main effects: they increase the molecular order and they give rise to lateral phase and domain formation. Indeed, increase of the membrane permeability has been studied by Colombini et al. that have demonstrated the formation of pores.²² To the best of our knowledge, ceramides are the only class of non-proteogenic natural compounds able to form supramolecular assemblies that span the membrane bilayer, to generate pores for facilitated translocation.

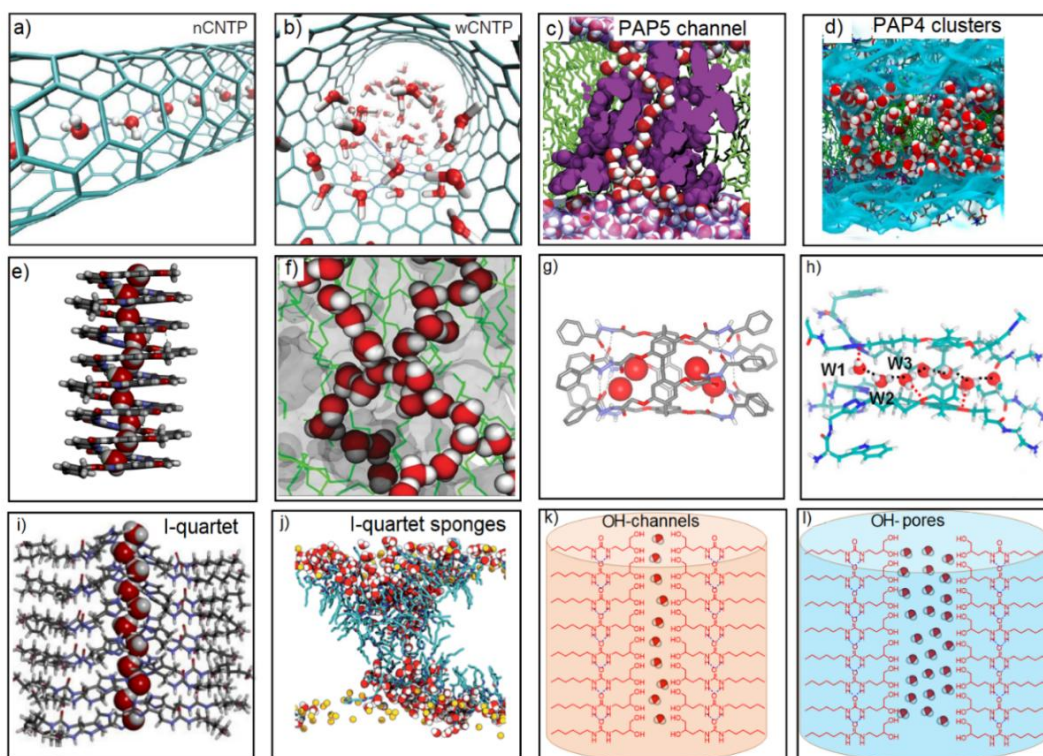


Figure 1. Artificial water channels. a) Narrow *n*CNTPs and b) wider *w*CNTPs Carbon Nanotubes Porins encapsulating single water-wires and water clusters;⁸ c) Pillar[5]arene-PAP5 channels for water-wires transport;¹¹ d) water permeation through PAH[4] clusters in bilayer membrane;¹² e) single water-wire permeation through highly selective Aquafoldamers;¹³ f) water chains/clusters within POC nano-aggregates embedded in bilayer membrane;¹⁴ g) encapsulated water dimers within Pillar[5]arene Hydrzones-PAH5;⁷ h) Molecular struc-

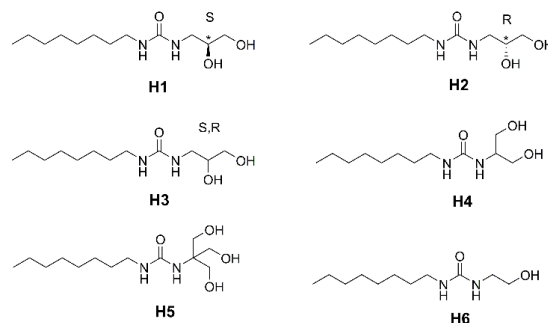
ture of Pillar[5]arene-AQPs¹⁵ and its interaction with the single water-wire file; i) I quartet water channels and their interaction with single water wires;¹⁷ j) water clusters within I-quartet sponges embedded in bilayer membranes;¹⁸ adaptive k) narrow OH-channels and l) wider OH-pores described in this work, presenting hydroxylic decorated pathways for water-wires and water cluster translocation, through directional O- channels or OH-pores in bilayer membranes.

RESULTS AND DISCUSSION

Design Strategy. Herein, we focused on using simple octyl-ureido-polyols building blocks **H1-H6** (Scheme 1), that would be capable of combining alkyl ureido groups of the I-quartet and polyhydroxyl heads of natural ceramide channels. Therefore, we synthesized a series of compounds containing water/ion hydroxylic interacting heads and bearing an octyl chain in order to introduce optimal lipophilicity.¹⁷ The connection between these two elements is one urea group, known to form directional ribbon-type superstructures.¹⁸ Hydroxyl, as the simplest organic group for forming both donor and acceptor hydrogen bonds, has a natural affinity with water molecules. Ethanol, propanediol and trimethanol were employed as the hydrophilic binding motif for obtaining selective AWCs. Similar to the imidazole groups in I-quartet^{17,18} the “amphoteric” hydroxyl groups can selectively bind the water molecules through the donor-acceptor H-bonds.

Six compounds were synthesized for the studies presented here (Scheme 1). They were obtained through a one-step reaction between octyl-isocyanate and different amino-alkyl-polyols in a mixture of solvents. The ¹H-, ¹³C-NMR and ESI-MS spectra agree with the proposed formulas (Figure S1-S18). The potential to form OH-channel superstructures was assessed initially by crystallization of compounds **H1-H6**. X-ray single-crystal structures give a good indication of the self-

assembly preferences of the compounds in solution and their possible self-organization in bilayer membranes. However, these assumptions may be treated with caution, as the solid-state single-crystal structures are representing only snapshots of possible arrangements of functional channels or pore forming aggregates in the bilayer membrane.



Scheme 1. Compounds **H1-H6**, as components for self-assembled hydroxy OH-Channels.

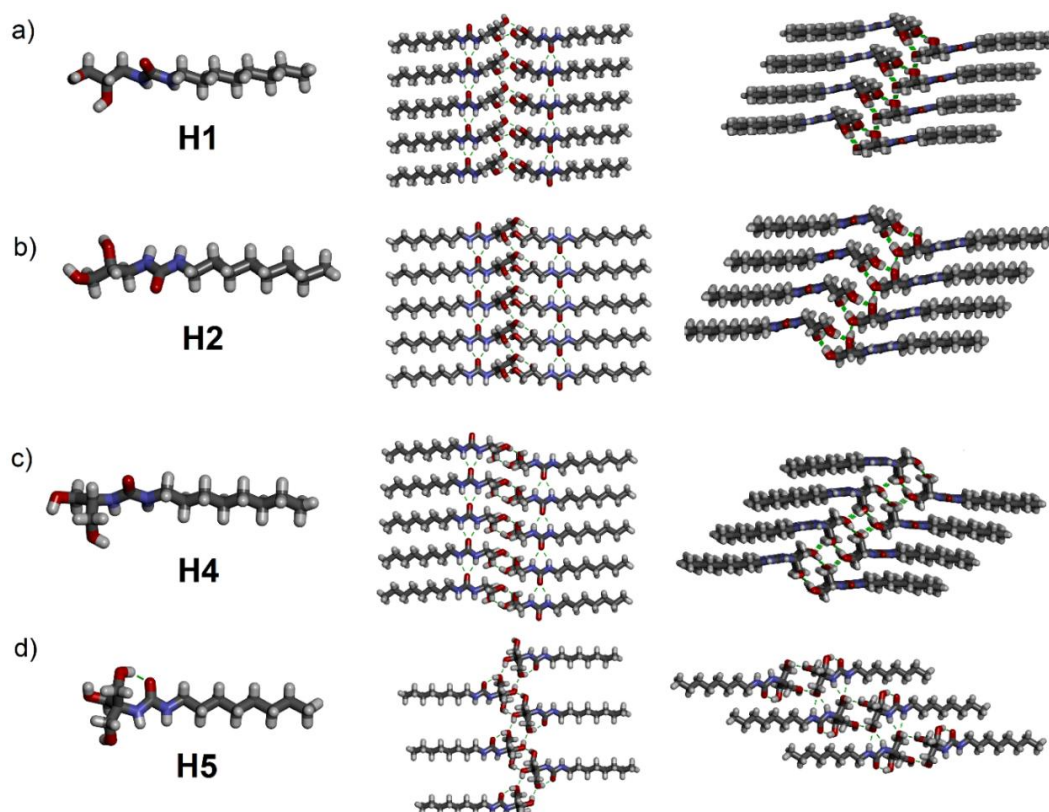


Figure 2. Crystal structures in stick representation of: a) **H1**, b) **H2**, c) **H4** and d) **H5** (N, blue; C, gray; O, red; H, white) showing (left) the monomeric molecules together with the lateral packing of H-bonded hydroxyl tetrads (middle) and their perpendicular packing *via* urea-urea and urea-hydroxyl H-bonding ribbons (right).

Single-crystals of good quality for X-ray structure determination were obtained for 1,2 diols **H1** and **H2**, 1,3 diol **H4** and 1,3,5 triol **H5** (Table S1). Their solid-state structures reveal the formation of networks of $(\text{OH}\cdots\text{O})_4$ H-bonding quartets, with the participation of two (**H1**, **H2** and **H5**) and four (**H4**) different molecules each involving two or one hydroxyl arms, respectively. They form almost perfect rectangular assemblies with the sides of ~ 2.7 Å. This OH tetrameric motif, then repeats both perpendicularly, as quartet component molecules are stacking through the urea moiety in crystal structures of **H1**, **H2**, and **H4**, as well as laterally, the second arm of the compounds participating in the formation of another adjacent OH-quartet. The distance between laterally repeating units is ~ 3.5 Å (Figure 2a-c). Further MD simulation show that OH-quartets are key motifs for the strong stabilization of the low impermeable water channels but they are not important for water translocation, while the losing the structural crystallinity of the channels in the membranes is an essential step of making these channels highly permeable, as previously observed with I-quartet sponges.¹⁸ The double H-bonding between the third HO-group and adjacent HNCONH urea groups disrupts the formation of urea ribbons, but preserves a strong perpendicular H-bonding between interconnected OH-quartets in the crystal structure of **H5** (Figure 2d). Figures S19-S22 in Supporting information present structural details and CCDC

2015548-2015551 contains the supplementary crystallographic data for this paper.

Bilayer membrane transport experiments. In order to determine the transport permeability and selectivity, the OH-channels **H1-H6** were tested for water and ion transport experiments. Water transport was quantified through a scattering modulation method of a vesicle suspension using a stopped-flow setup,¹⁷ registering the shrinkage rate of vesicles under osmotic pressure to determine the induced osmotic water permeability of the OH-channels, in the presence of D(+)-sucrose or NaCl, as competitive osmolytes (Figure 2). To determine if the compounds are also inducing ion transport, we conducted pH sensitive HPTS fluorometric experiments for different cations (Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ and Cs^+) and anions (Br^- , I^- , HCO_3^- , CO_3^{2-} , NO_3^- and SO_4^{2-}) and following the flow of species through the OH-channels. By using control FCCP and Valinomycin as an assisting H^+ and K^+ carrier, respectively, we were able to check the specificity of the OH-channels to transport ions and to determine the intrinsic selectivity of the channels, based on deconvoluted transport rates for cations and anions separately, rather focusing on their proton transport behaviors that could kinetically influence the translocation process. The transmembrane experiments offered all the prerequisites to assume that the compounds **H1-H6** assemble into

functional and highly selective water-permeable OH-channels in liposomes.

Water-Transport Experiments. The OH-channels were reconstituted into phosphatidylcholine (PC) / phosphatidylserine (PS) / Cholesterol (Chl), PC/PS/Chl mixture with a molar ratio of 4/1/5 lipid vesicles (100 nm in diameter). The channel-forming compounds were added by simple addition of the dimethyl sulfoxide DMSO solutions of **H1-H6** to pre-formed vesicle suspensions using different compound to lipid molar ratios-mCLRs (see Supporting information for details). Then, the vesicles were exposed to outwardly directed osmotic pressure gradients. Under hypertonic conditions driven by outwardly 10 mM PBS buffer solution (pH= 7.4) of 115 or 200 mM NaCl or 200 mM D(+)-Sucrose osmolytes (Figure 3, S24, S25), the shrinkage of the liposomes increased the light-scattering signal (Figure 2a). The water transport rates are strongly dependent on the concentration of the hydroxy-channels, that increase the overall water permeability relative to the background lipid permeability in the bilayer membrane. The net permeabilities show a continual increase when mCLRs increase. A large range of permeabilities from 9.36 $\mu\text{m/s}$ to 19.63 $\mu\text{m/s}$ can be obtained at mCLR < 1.48 for **H1-H6**. Interestingly for **H2**, **H3**, and **H4** we observe an abrupt 10-fold increase in water permeability values (160 to 560 $\mu\text{m/s}$) for mCLR > 1.48 (Figure S24, S25), reminiscent with the formation of larger channels/pores within the membrane. This unique adaptive behavior is probably related to an important concentration dependent morphology change of more permeable channels presenting different self-assembly behaviors within the membrane. To confirm this hypothesis the water transport measurements (Figure 3) were performed under different hypertonic solutions containing competitive osmolytes D(+)-sucrose (Figure S24) or NaCl (Figure S25) covering low and high channel concentrations domains.

It can be noticed that with 200 mM D(+)-sucrose or 115 mM NaCl ($\Delta_{\text{osm}} = 212$ mOsmol/kg) the net channel permeabilities remain on the same level of magnitude for all channels and all concentrations and show a tendency of decreasing for **H5** and **H6** with NaCl osmolarity compared with D(+)-sucrose osmolarity (Figure S25). Increasing the osmotic pressure to $\Delta_{\text{osm}} = 372$ mOsmol/kg (200 mM NaCl), the net permeability increase, showing high water permselectivity with salt concentration increase. Compared with D(+)-sucrose osmolarity it is strongly increase for the high selective channels **H2** and **H4**, while decreasing for low selective **H3**, **H5** and **H6** for the high concentrations (Figure S26). The channel-selection of D(+)-sucrose *via* size exclusion, may water selectively flux through the for **H3**, **H5** and **H6** channels, while the presence of NaCl osmolyte as the competitive salt transport agent might

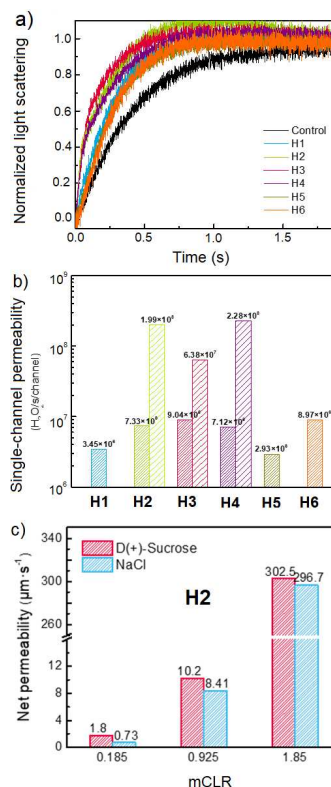


Figure 3. Measurements of water permeability through OH-channels. a) Stopped-flow light scattering traces of liposomes containing channels at different mCLR = 1.85, 1.67, 1.85, 1.67, 1.85 and 1.67, respectively; b) Single channel permeability calculated from the light scattering traces at different concentration in the membrane; c) The comparison of net permeability values for channels **H2**, determined by stopped-flow light scattering experiments with 200 mM D(+)-Sucrose (pink) and 115 mM NaCl (blue) as osmolytes ($\Delta_{\text{osm}} = 212$ mOsmol/kg).

hinder the hydrophilic hydroxyl groups to remain accessible to water. The situation is completely opposite for **H2** and **H4** showing higher water to salt selectivity at high concentration

We then performed carboxyfluorescein (CF) leakage experiments²³ to monitor channel formation at low and high concentration of **H1-H6** (Figure S27). The magnitude of CF release is clearly different and the activity is increased in the following order: **H4**>**H3**>**H6**>**H1**> **H2**=**H5**. According to these CF leakage experiments, it is possible to say that, at a high concentration for **H4**, **H3** and unexpectedly for **H6**, there is the formation of large pores that allow efflux of CF, while no activity was observed for **H1**, **H2**, **H5**. Colombini et al.²² observed the same behavior with ceramide, showing experimentally that the average channel size increased with the increase of ceramide content in the membrane.

Table 1. Single-channel Permeability, P_s of **H1-H6** channels

OH-Channel	P_s , water molecules/s
H1	3.54×10^6
H2	2.03×10^8
H3	6.84×10^7
H4	2.33×10^8
H5	4.89×10^6
H6	4.75×10^6

We further estimated the single-channel permeability, P_s of **H1-H6**, based on the OH-channel insertion, lipid concentration and channel configuration in lipids (Table 1)¹⁸ In order to determine the single-channel permeabilities, we used two rational assumptions: i) spontaneous total insertion of the compounds into the lipid bilayer. The total partitioning coefficients of **H1-H6** in the bilayer membrane are confirmed as at maximal concentration of 80 mM solutions are perfectly clear in the presence of lipid vesicles, while precipitate turbidity is formed when the compounds are added to aqueous solutions, reminiscent with almost total partition of **H1-H6** in the bilayer membrane (please note that lower partition coefficients would lead to higher single channel permeabilities than those considered for total partition and ii) number of molecules needed to form a channel that spans the bilayer equal to the number of molecules found in the single crystal structure that correspond to 8 stacks of **H1-H6** and 64 molecules per assembly within a transmembrane length of 5 nm. Accordingly, the single channel permeability values varied obviously, covering the range of 3.5×10^6 - 2.4×10^8 water/s/channel at CLR 0.026, which are only one orders of magnitude lower than that of AQPs ($\sim 10^8$ - 10^9 water /s/channel^{1,2}) (Figure 3, Table 1). Water transport activities increase substantially at higher concentrations of **H2-H4**, implying the formation of highly permeable channels. Indeed, the hydrophilic diol heads seemed to be more optimized for permeation than monol and triol heads, leading to higher water permeation when mixed with lipids. The tendency for increase of net and single channel permeability at high concentration can be explained by progressive higher cluster-type aggregation of OH-channels, promoting the increased water transport via sponge like structures as we previously observed for I-quartet channels.¹⁸ Differently, a low concentration of OH-channels prevents the aggregation and allows only reduced water-wires translocation.

Cation and Anion Transport Experiments. Cation (M^+ = Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ and Cs^+) transport activities across the bilayer

membranes incorporating **H1-H6** OH-channels, reconstituted into phosphatidylcholine (PC) lipid vesicles (100 nm), at the same mCLRs as used for the water transport, were assessed using standard HPTS fluorescence assays (Figure S28, S29).^{24,25} Indeed, when tested with MCl on external buffer, the **H1-H6** channels do not present a dose-response-type activity, showing constant near to zero activity behaviors, independently of low (10 mM, Figure S28) or high (80 mM, Figure S29) concentration of active channels in the membrane. It is very clear that M^+/H^+ antiport conductance states of the assembled channels are not observed for the all studied concentrations.

We were then interested in supplementary evidence on the anion translocation mechanisms through the H-bonded hydroxylic networks, already used as channel recognition motifs for anion/proton co-transport.^{26,27} In order to check the anion transport activity resulting from anion/chloride antiport or anion/ H^+ co-transport, we conducted the HPTS assays. Different sodium salts (Br^- , I^- , HCO_3^- , CO_3^{2-} , NO_3^- , SO_4^{2-}) were used to determine the anion transport activity of **H1-H6** OH-channels. On this basis, the resulting transport profiles showed rather weak near to zero transport rates for the different NaX salts in the presence of 10 mM (Figure S30) and 80 mM (Figure S31) of **H1-H6** OH-channels, indicating that the transport of the hydrated anions is not governed by the solvation free energy of the anions. (Figure S31). Compounds **H1** and **H6**, showing low water transport activities, present very low (<5%) transport activity; most probably related to a Cl^-/X^- ($X^- = Br^-, I^-, NO_3^-, SO_4^{2-}$) antiport. In order to verify if the H^+ transport is the rate-limiting step for M^+/H^+ antiport activity, we conducted HPTS assays with compounds **H1-H6** in the presence of carbonyl cyanide-4-(trifluoromethoxy)-phenylhydrazone, FCCP as a H^+ carrier (Figure S29).²⁵ These experiments have not shown a difference with the previous results. All tested OH-channels are totally inactive for cation transport in the presence or the absence of FCCP proton carrier. Moreover, we were interested in further testing the compounds specificity by testing them for proton transport. We thus used a classical HPTS assay and control valinomycin (K^+ cations) and FCCP (proton) transporters, known to generate a strong K^+/H^+ electrogenic antiport (Figure 4c, d). Potential proton transport acceleration is unlikely given in the case of coupling of valinomycin with **H1-H6**, suggesting very low proton transport rates through OH channels.

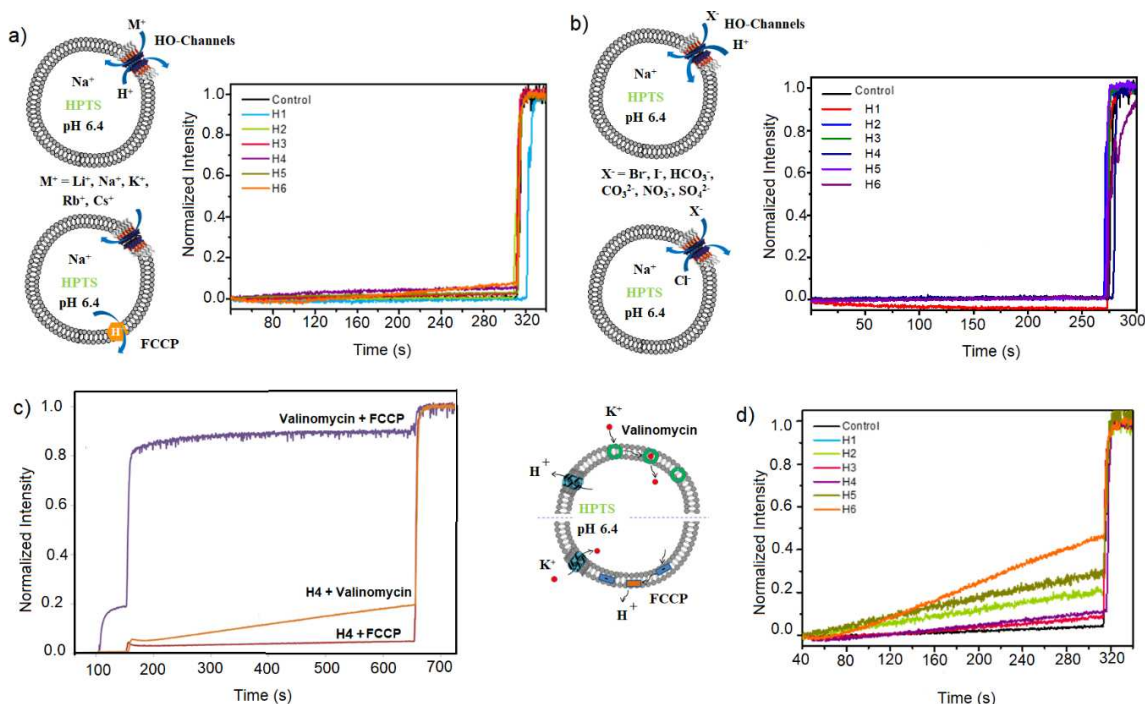


Figure 4. a) Comparison of Na^+ transport activity expressed as normalized fluorescence intensity of 10 mM channels in the extravesicular media containing 100 mM NaCl (in the absence of FCCP) together with schematic representation of antiport M^+/H^+ mechanisms in the absence or with the presence of FCCP as H^+ carrier. b) Comparison of Br^- transport activity expressed as normalized fluorescence intensity of 10 mM H1-H6 channels in the extravesicular media containing 100 mM NaBr, together with schematic representation of anion/ H^+ symport and Cl^-/X^- antiport mechanisms. c) Transport experiments coupling H4 channels with valinomycin and FCCP as K^+ and H^+ carriers. d) Coupled transport between valinomycin K^+ carrier (50 μM) and H1-H6 channels (80 mM) - 100 mM K_2SO_4 in the extravesicular media.

Molecular dynamics simulations of H1 aggregates in a fully hydrated lipid bilayer environment. Molecular dynamics simulations carried out in a membrane environment, allow us to observe a range of permeation scenarios, ranging from an almost completely sealed membrane with only minimal transport at the compound/lipid boundaries, through a previously described sponge-resembling regime,¹⁸ when trying to build putative permeant channels to water-filled channel transport when stabilizing ceramide-pore-inspired hypothetical constructs through a biasing potential (Figure 5).

First, we tested crystal patches in the membrane. Depending on the simulation setup, we observed either dissolution of the crystal structure aggregate to the lipid-water interface or an impenetrable stable membrane-inserted assembly. The strong inter-molecular hydrogen bonding pattern observed in the crystal structure precluded the formation of any water wires or water clusters within the structure, suggesting that a significant re-arrangement of the compounds is required to enable water permeation. Only residual water leakage at the boundary between the crystal patch and the lipids was observed. The crystal structure is stable and displays low permeability as shown in the plot on the bottom. Fitting a line (Figure 5a, red line) to the central part of the curve leads to an estimated permeability of $4 \cdot 10^6 \text{ H}_2\text{O}/\text{channel}/\text{s}$ (see supplementary information for details on simulation *crys_gaff*).

Next, we attempted the activation of the crystal patch using extensive enhanced sampling simulations to favor internal rearrangements. None of these simulations gave rise to water transport. In addition to these membrane simulations, we attempted to soak crystal patches in aqueous solution in order to assess how they might accommodate water. Despite an initial separation of the H1 layers by ca. 2 Å, the crystal patches resisted to any significant water penetration.

Further molecular simulations allowed us to assess whether the water-free crystal superstructures may adaptively re-assemble within the membrane to accommodate any water translocation. These simulation results taken together suggest that the permeant membrane-embedded channel structures are substantially differing from the crystal arrangement. At some stage the compounds may re-arrange into a sponge like form, possibly a stable channel-like form, to give rise to a steady water flow. Three permeation regimes can be distinguished by fitting green, red and orange lines (Figure 5b), with respectively $3 \cdot 10^7$, $8 \cdot 10^8$ and $1 \cdot 10^7 \text{ H}_2\text{O}/\text{channel}/\text{s}$ permeability (see supplementary information for details on simulation *crys_cgen*). These regimes account for the crystal-like, the sponge-like and the dissolved form of the channels, which are probably most present at low concentration of channels in the membrane.

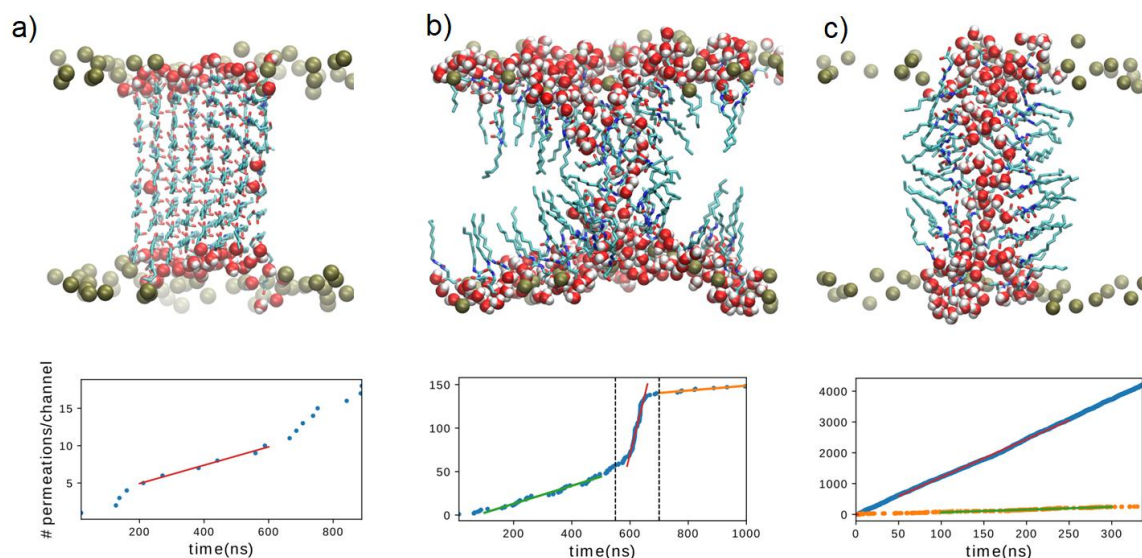


Figure 5. Molecular dynamics simulation results for **H1** hydroxy channels in a fully hydrated lipid bilayer environment. The top row shows snapshots for three transport regimes that were observed: a) a crystal-like patch arrangement after $t = 475$ ns. b) sponge-like structure after $t = 635$ ns c) cylinder-like single membrane-spanning channel in an artificially restrained simulation with a constant force of 1000 kJ/mol (blue, simulation harm1000) and 10 kJ/mol (orange, simulation harm10) at $t = 337$ ns. Channel molecules are drawn in licorice representation. For clarity, lipid and water molecules in the bulk have been omitted. Water molecules within the lipid bilayer or close to the headgroups in contact with **H1** are shown in van der Waals representation.

These observations may likely echo the experimental measurements, indicating a first occurrence of water permeation at low concentrations, a minimal transport regime, originating in the perturbation of the membrane arrangement induced by the presence of the OH-channels in the lipid membrane. It is important to note that the dynamics of different channel-like forms vary significantly, as our hypothetical constructs require artificial stabilization to remain intact within the membrane.

Finally, we constructed a cylindrical pore of **H1** OH-channels resembling the ceramides.²² Our tentative cylindrical channel pore was artificially stabilized in the simulations using harmonic restraints. The corresponding geometry is described in the supplementary information. With such a stabilized cylindrical channel, water transport is indeed observed and can be tuned by increasing the bias from 4×10^8 H₂O/channel/s (weaker force shown in orange in Figure 5c) up to ca. 6×10^9 waters per channel per second (strong force shown in blue in Figure 5c). These observations point to the very subtle balance of interactions that needs to be achieved between the inter-compound and compound-lipid/compound-water interactions to generate high permeable channels as observed at high concentrations of **H1-H6** in the bilayer membrane.

This ensemble of molecular dynamics simulations was further used to check for ion permeation events. Interestingly, in none of the simulations in a bilayer environment did we observe ion permeation during the average 500 ns duration. The limiting case of a simulation with a channel that is forced to stay wide open through strong biasing forces of 1000 kJ/mol lead to some ion permeation. As soon as this restraint force was lowered and the structure gained flexibility, ion permeation stopped.

From a structural point of view, to better understand the membrane modifications operated by this series of compounds, complementary computer simulations are required. These calculations should aim to extend our initial tests with cylindrical pores. The goal is to design and test new constructs of the OH-channel compounds with the challenge to render their architectures sufficiently stable in the membrane environment competing for interactions. So far, we were able to test some artificially stabilized constructs of cylindrical shape, which did feature permeation. However, by releasing the stabilizing bias, they were torn apart by the favorable lipid interactions in the membrane environment. Our working hypothesis for future tests is to start from the ureic core to assemble the OH-channel compounds, in a similar fashion as has been observed for ceramide-like aggregates of cylindrical shapes²²

Discussion

We show that systematic design of the octyl-ureido-polyols, lead to highly effective and selective Artificial water channels. Simple use of the variable number and sterically different hydroxyl binding sites led to unexpected increased water-transport activities at high concentration of the channels within membranes. The formation of OH-decorated pores are probably the only common structural behaviors with ceramides that form hydrophilic pores with variable geometries. They are related to adaptive changes in the structure of the channels, reminiscent with the formation of larger pores for translocation, showing a 10-fold increase, as observed for natural ceramide transporters.

From a mechanistic point of view, the H-bonding network offered by the hydroxyl OH tetrads can act itself as a recogni-

tion-based barrier within highly selective channels for water translocation. The energy penalty for binding either cations or anions would be too high, as either one of the ions can bind either the O or the H at one instance. But on the other hand, an H-bonding water molecule can intervene with both donor and acceptor H-bonds, satisfying the full number of hydrogen bonds within the networks, making possible its facilitated translocation through the gate. The hydroxyl rich cavity of the channels can offer complete amphoteric donor-acceptor hydrogen bonding for the water, while the molecules retain a bulk like bonding environment under confined conditions of the channels. The OH channel architectures are very intriguing systems. It is very tempting to equate that impermeable crystalline phases or medium permeable sponge like or high permeable cylindrical constructs are stabilized in the bilayer membrane. The unifying assumption is that dynamic H-bonding and hydrophobic interactions would lead to the dominant structures in a membrane environment depending on concentration of the channels and providing pathways for water translocation through the transient water clusters. The water cluster stabilization *via* H-bonding to hydroxyls, confer to these channels self-adaptive behaviors, that make the intrinsic features of water sponges or clusters, particularly self-protective against ions. Having all H bonds saturated via the formation of water wires or water clusters, the cation/anion insertion will impede and interrupt the communication between adjacent water and OH-channels/ pores, explaining the very low ion permeation events. I-quartet single water wires¹⁷ or sponge channels,¹⁸ PAH[4] channels¹² or porous organic cages (POCs)¹⁴ are featuring this rather unique enhanced permeability of water clustering conduction systems. This strategy recently described by us, predicts almost two order of magnitude higher permeability of water clusters than of water wires channels.¹⁸

Conclusions

We have demonstrated here that self-assembled adaptive OH-channels can be obtained from simple octyl-ureido-polyol building blocks that present enhanced selective water permeability with almost total ion-rejection across a lipid bilayer. Slight modifications to the number and disposition of hydroxyl-OH functional groups surrounding the hydrophilic cavity of the channels or the increase of the concentration of the compounds in the membrane can drastically change the water permeability. Even with the highest margins of errors, these channels are capable of transporting water at a rate that is one order of magnitude below the natural AQP. More importantly, salt rejection and the extremely low proton permeability of the OH-channels, offer the closest functional mimic of the natural AQP through a synthetic scaffold (Figure 6).

The present studies are of tremendous importance showing adaptive behaviors of waters inside the channels depending on the dimension of channels determining the water-conduction behaviors as a function of concentration of OH-channels within membranes.

It is very well known that binding energies define the flux of solutes through an artificial channel. Multiple interactions of molecules with the walls of a channel will impede permeation and result in a reduced flow rate. It was demonstrated that high water permeability values of CNTP, PAP5, PAH[4], POCs are attributed to the no-slip translocation mechanism,

which is in direct correlation with the weakness of interactions of the water molecules with the walls of the nanotube.

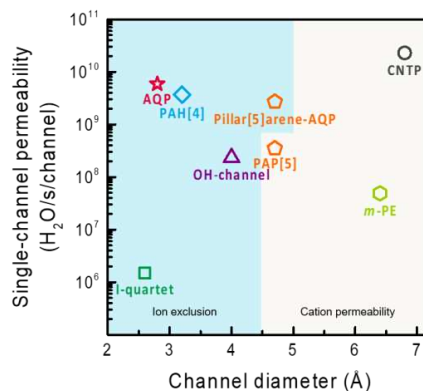


Figure 6. Comparison of single-channel permeabilities vs diameter of AQPs, CNTP and artificial water channels (OH-channel (represented as mean value 4 ± 2.5 Å), I-quartet, Pillar[5]arene-AQP, PAH[4], PAP5, *m*-PE).

This phenomenon gives hydrophobic channels an increase in performance from the point of view of mass transfer. On the other hand, the advantage of hydrophilic channels comes from the very interactive nature of the channel cavity. Having a variety of binding moieties to interact with the transported water, specific binding motifs can be designed. This feature can be exploited, making it possible to design permselectivity filters or tailor the transport mechanism of the channels. They can adapt transient water wires and sponges which are ion selective and water permeable. Within this context this discovery of OH-channels reported here opens up new directions and perspectives in AWCs research,¹⁶ towards the construction of selective membranes for desalination channels,²⁸ biomimicking the functions of natural channels.¹

ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information: Materials and methods, NMR and ESI MS spectra and thermogravimetric analysis of studied compounds, X-ray crystal data, transmembrane transport experimental details, molecular dynamics simulations details. The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*mihail-dumitru.barboiu@umontpellier.fr

Notes

The authors declare no competing financial interest.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by Agence Nationale de la Recherche ANR-18-CE06-0004-02, WATERCHANNELS. L.-B. H. wishes to thank the China Scholarship Council for the financial support. We thank Pierre Fertey for help with the data collection for H2 carried out at the CRISTAL beamline of the SOLEIL synchrotron

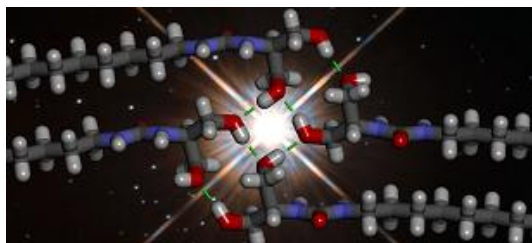
in Saint-Aubin, France, under the RECIPROCS BAG proposal no. 20180913. We thank Dan Dumitrescu for the data collection for H4 performed on the XRD1 beamline of the Elettra synchrotron, Basovizza, Italy. The study was further supported by the "Initiative d'Excellence" program from the French State (Grant "DYNAMO", ANR-11-LABX-0011 and grant "CACISCE", ANR-11-EQPX-0008). A.H. and M.B. thank Sesame Ile-de-France for co-funding a display wall used for data analysis. Computational work was performed using HPC resources from GENCI (grant number A0070701714) and from LBT-HPC thanks to support from Geoffrey Letessier.

REFERENCES

- (1) Barboiu, M.; Gilles, A. From natural to bio-assisted and biomimetic artificial water channel systems *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 2814–2823;
- (2) Kocsis, I.; Sun, Z.; Legrand, Y. M.; Barboiu, M. Artificial water channels—deconvolution of natural Aquaporins through synthetic design. *npj Clean Water* **2018**, *1*, 13.
- (3) Artificial Water Channels: *Faraday Discuss.* 209, The Royal Society Of Chemistry, **2019**.
- (4) Leduc, Y.; Michau, M.; Gilles, A.; Gence, V.; Legrand, Y. M. van der Lee, A.; Tingry, S.; Barboiu, M. Imidazole-Quartet Water and Proton Dipolar Channels. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 11366–11372.
- (5) Barboiu, M. Artificial water channels. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 11674–11676.
- (7) Hu, X. B.; Chen, Z.; Tang, G.; Hou, J. L.; Li, Z. T. Single-Molecular Artificial Transmembrane Water Channels. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 8384–8387.
- (8) Tunuguntla, R. H.; Henley, R. Y.; Yao, Y. C.; Pham, T. A.; Wanunu, M.; Noy, A. Enhanced water permeability and tunable ion selectivity in subnanometer carbon nanotube porins. *Science* **2017**, *357*, 792–796.
- (9) Li, Y.H.; Li, Z.-W.; Aydin, F.; Quan, J.; Chen, X.; Yao, Y.-C.; Zhan, C.; Chen, Y.; Pham, T. A.; Noy, A. Water-ion permselectivity of narrow-diameter carbon nanotubes. *Sci. Adv.* **2020**, *6*, eaba9966.
- (10) Chen, L.; Si, W.; Zhang, L.; Tang, G. Li, Z.-T. Hou, J.-L. Chiral selective transmembrane transport of amino acids through artificial channels. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 2152–2155.
- (11) Shen, Y. X.; Si, W.; Erbakan, M.; Decker, K.; De Zorzi, R.; Saboe, P. O.; Kang, Y. J.; Majid, S.; Butler, P. J.; Walz, T.; Aksimentiev, A.; Hou, J. L.; Kumar, M. Highly permeable artificial water channels that can self-assemble into two-dimensional arrays *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2015**, *112*, 9810–9815;
- (12) Song, W.; H. Joshi, R. Chowdhury, J. S. Najem, Y. X. Shen, C. Lang, C. B. Henderson, Y. M. Tu, M. Farell, M. E. Pitz, C. D. Maranas, P. S. Cremer, R. J. Hickey, S. A. Sarles, J. L. Hou, A. Aksimentiev, M. Kumar, Artificial water channels enable fast and selective water permeation through water-wire networks. *Nat. Nanotechnol.* **2020**, *15*, 73–79.
- (13) Shen, J.; Ye, R.J.; Romanies, A.; Roy, A.; Chen, F.; Ren, C.L.; Liu, Z.; Zeng, H. Q. Aquafoldmer-Based Aquaporin-like Synthetic Water Channel. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 10050–10058
- (14) Yuan, Y. D. Dong, J.-Q.; Liu, J.; Zhao, D.; Wu, H.; Zhou, W.; Gan, H. X.; Tong, Y. W.; Jiang, J.; Zhao, D. Porous organic cages as synthetic water channels. *Nat Commun.* **2020**, *11*, 4927.
- (15) Yan, Z.-J.; Wang, D.D.; Ye, Z.; Fan, T.; Wu, G.; Deng, L.; Yang, L.; Li, B.-X. Liu, J.; Ma, T.; Dong, C.; Li, Z.-T.; Xiao, L.; Wang, Y. F.; Wang, W.; Hou, J. L. Artificial Aquaporin That Restores Wound Healing of Impaired Cells. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 15638–15643.
- (16) Huang, L.-B.; Di Vincenzo; M.; Li, Y.; Barboiu M. Artificial Water Channels-towards Biomimetic Membranes for Desalination. *Chem. Eur. J.*, **2020**, <http://dx.doi.org/10.1002/chem.202003470>
- (17) Licsandru, E.; Kocsis, I.; Shen, Y. X.; Murail, S.; Legrand, Y. M.; van der Lee, A.; Tsai, D.; Baaden, M.; Kumar, M.; Barboiu, M. Salt-Excluding Artificial Water Channels Exhibiting Enhanced Dipolar Water and Proton Translocation. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 5403–5409.
- (18) Murail, S.; Vasiliu, T.; Neamtu, A.; Barboiu, M.; Sterpone F.; Baaden, M. Water permeation across artificial I-quartet membrane channels: from structure to chaos. *Faraday Discuss.*, **2018**, *209*, 125–148.
- (19) Di Vincenzo, M.; Tiraferri, A.; Musteata, V.-E.; Chisca, S.; Sougrat, R.; Huang, L.B. Nunes, S. P.; Barboiu, M. Biomimetic artificial water channels membranes for enhanced desalination. *Nature Nanotech.* **2020**, DOI:10.1038/s41565-020-00796-x.
- (20) Wiegandt, H.; Glycosphingolipids, in *Advances in Lipid Research*, R. Paoletti, D. Kritchevsky (Eds.), Academic Press, New York, **1971**, pp. 249–289.
- (21) Kanfer, J. N.; Sphingolipid Metabolism, in: *Sphingolipid Biochemistry*, Kanfer, J. N.; Hakomori S. (Eds.), Plenum Press, New York, **1983**, pp. 167–247
- (22) Siskind L. J.; Colombini, M.; The Lipids C2- and C16-Ceramide Form Large Stable Channels. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 38640–38644.
- (23) Ferdanic, R.; Lib, R.; Pajewskic, R.; Pajewskac, J.; Wintera, R. K.; Gokel G. W. Transport of chloride and carboxyfluorescein through phospholipid vesicle membranes by heptapeptide amphiphiles. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 2423–2432.
- (24) Matile, S.; Sakai, N. in *Analytical Methods in Supramolecular Chemistry*, Schalley, C. A., Ed. Wiley -VCH: Weinheim, pp 381–418, **2007**.
- (25) Li, Y.-H.; Zheng, S.-P.; Legrand, Y.-M.; Gilles, A.; Van der Lee A.; Barboiu M. Structure-driven selection of adaptive transmembrane Na⁺ carriers or K⁺ channels. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 10520 – 10524
- (26) Saha, T.; Dasari, S.; Tewari, D.; Prathap, A.; Sureshan, K. M.; Bera, A. K.; Mukherjee, A.; Talukdar, P. Hopping-Mediated Anion Transport through a Mannitol-Based Rosette Ion Channel. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 14128–14135.
- (27) Saha, T.; Gautam, A.; Mukherjee, A.; Lahiri, M.; Talukdar, P. Chloride Transport through Supramolecular Barrel-Rosette Ion Channels: Lipophilic Control and Apoptosis-Inducing Activity. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 16443–16451.
- (28) Di Vincenzo, M.; Tiraferri, A.; Musteata, V.-E.; Chisca, S.; Sougrat, R.; Huang, L.-B.; Nunes, S. P.; Barboiu, M. Biomimetic artificial water channels membranes for enhanced desalination. *Nat. Nanotechnol.* **2020**, DOI: 10.1038/s41565-020-00796-x.

Graphical abstract

Networks of $(\text{OH}\cdots\text{O})_4$ H-bonding quartets for the construction of adaptive water channels



3.4.3 Informations supplémentaires

5. Molecular Dynamics Simulations

We performed four sets of simulations in order to gain some insights into the stability of the H1 compound within the lipid membrane. In particular, the water and ion permeation activity of the membrane-embedded H1-hydroxychannels was to be explored. The first set of simulations (referred to with the acronyms *crys**) is related to the hypothesis that self-assemblies may remain close to the experimentally resolved crystal structure. The second set (*solv**) was aimed to investigate the wetting and in particular the possible presence of water clusters, inside the crystal packing framework and was performed by soaking a modified crystal patch in a pure water solvent without lipids. The third set (*cyl1**) is motivated by the plausible analogy of hydroxyl-channels with respect to natural toroidal ceramide channels because of their similarity in chemical structure. In the fourth set of simulations (*harm**), we adopted a reverse methodology where we hypothesize the structure of the channels and tune the level of fluctuations to measure the water flow response of the sponge-like hydroxychannel structure.

All molecular dynamics simulations (*crys**, *solv**, *cyl1** and *harm**), were performed under periodic boundary conditions with constant pressure. The CHARMM-36 force field [1] was used for lipid molecules and the TIP3P force field was chosen [2] for water. To represent H1 molecules and generate their topologies, we used the CHARMM General Force Field (CgenFF) [3] together with the ParamChem web service [4] or alternatively the General Amber Force Field (GAFF) together with the antechamber program [5,6]. The comparison of the two force fields allowed us to assess the role of relative stability and packing on permeation events. The GROMACS 2018.7 and 2019.2 software packages were used to run the simulations with all atoms, with an integration time step of 2fs. Hydrogen bonds were constrained using the LINear Constraint Solver (LINCS) algorithm. Particle mesh Ewald electrostatics was used with a 12 Å cutoff with the Verlet buffer scheme for nonbonded interactions; the neighbor list was updated every 20 steps.

Three baths (hydroxychannels, lipids, and water plus ions) were coupled to a temperature of 310 K. In the case of all unrestrained simulations, we used a Nosé-Hoover thermostat with a time constant $t = 1$ ps and a chain length of 4. Pressure in the x/y dimensions was scaled isotropically with a Parrinello-Rahman barostat at 1 bar, and the z dimension was coupled independently to a reference pressure of 1 bar, with $t = 5.0$ ps, and compressibility of $4.5 \cdot 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$. In the restrained simulations, we used a Berendsen thermostat and Berendsen barostat with the same reference values.

In the case of *crys**, *solv** and *Rest2* simulations [7,8], initial configurations of the channels were based on the X-ray data. The crystal patch was shaped with rectangular geometry with 8 slices along the z-axis to be inserted in a lipid membrane of ~5nm thickness with 7 pairs of molecules, each pair

interacting through hydrogen bonds. The systems result in a crystal patch formed by 112 molecules. In the case of the *cyl** and *harm** simulations, we assembled the monomers in such a way as to create a cylindrical channel to mimic the natural ceramide channels. Using custom scripts, we built a circular slice of 8 H1 molecules with hydrophilic heads pointing towards the z-axis of the membrane and with ureic cores that form hydrogen bonds with adjacent slices along the z-axis (see Figure S38). We multiplied the structure in the z direction in order to fit with the lipid bilayer thickness. After inserting water molecules in the inner part of the cylinder, minimization and equilibration were performed in vacuum using periodic boundary conditions to maintain water inside the cylinder. The final system consisted of 64 molecules embedded in the lipid membrane (Figure S38). All membrane systems were assembled and solvated using the CHARMM-GUI web interface [9] with the addition of a concentration of roughly 50 mM NaCl to the solvent, as well as an excess of Na⁺ ions to neutralize the system charge induced by the negatively charged PS lipids.

The composition of lipids follows the one used experimentally with a respective molar ratio 5:4:1 for Chl:PC:PS. The molar ratio between compounds and lipids (mCLR) have been set similar to experimental values. A few simulations with larger molar ratio (mCLR=1 or 2) using a few rows of cylinders have been tested and showed similar results than in the *cyl** set with a unique cylinder-like channel. For this reason, we assume that unbalanced interactions between hydrophilic heads lead to a quick disaggregation of the self-assembly in the membrane. This imbalance has shown to be persistent in larger systems with higher mCLR.

All systems were minimized for 5000 steps with a steepest descent algorithm and equilibrated for 2 ns, using decreasing position restraints of 1000, 400, 200, 100, 40 kJ mol⁻¹ nm⁻² on heavy atoms, with the crystal structure as a reference or the cylinder-like construct. In the case of restrained simulations, harmonic restraints were applied during both the equilibration and production phases, and acted on a single atom per molecule (C13, located between the ureic core and the hydrophilic part of H1, see Figure S38). In all other simulations, in the production phase, no restraints were maintained. Simulation time length and starting configurations for all simulation systems are summarized in Table S3.

Enhanced sampling simulations using REST2 (solute tempering [7,8]) methods have been used to investigate and favor conformational changes away from the crystal form. We use 30 replicas and the Hamiltonian terms for H1 molecules were scaled resulting in an effective temperature ranging from 310K to 430K [8]. The exchange frequencies between replicas were set to 1 ps. Exchange probabilities are around 50% between almost all adjacent replicas.

The molecular dynamics trajectories were visually inspected and analyzed using the VMD software [10]. Analysis of the trajectories for RMSD and permeation calculations were performed using

customized scripts for the MD Analysis library [11,12]. Varying the sampling time allowed us to assess the accuracy of the analysis. Fast computation maintaining an acceptable accuracy was achieved using 0.1 ns as sampling time for the analysis of water permeations. The analysis of pore radius was performed using the HOLE software [13].

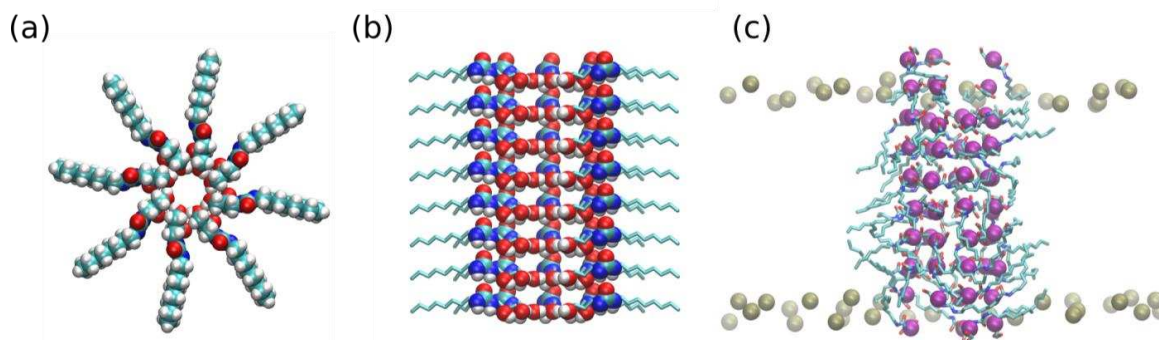


Figure S38. Design of a cylinder-like channel structure. (a) top view of the initial construct; (b) lateral view of the initial construct, ureic core and hydroxyl groups are highlighted in van der Waals representation ; (c) Reference structure for restrained simulations. Only positions of C13 atoms (purple) are harmonically restrained during the production step.

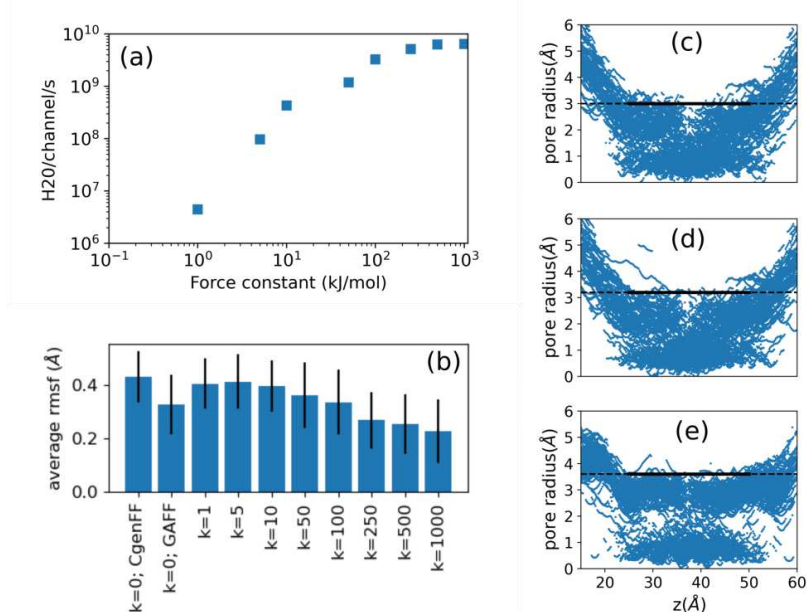


Figure S39. (a) Water conductance of one cylinder/sponge channel with respect to the constant force of harmonic potential applied on the C13 atom of H1 molecules. (b) Average of Root Mean Square Fluctuations over all atoms of the channels on a 20ns time window. (c)(d)(e) Cumulated pore profile data points during the last 200 ns of simulations *harm10*, *harm100* and *harm1000*, respectively. Pore sizes are distributed between 0 and a maximal value in the central part of the channel (black line) which corresponds to respectively 3,0Å, 3,2Å and 3,6Å. The large distribution of pore sizes reflects the porous material and the transient appearance of water clusters inside the channel.

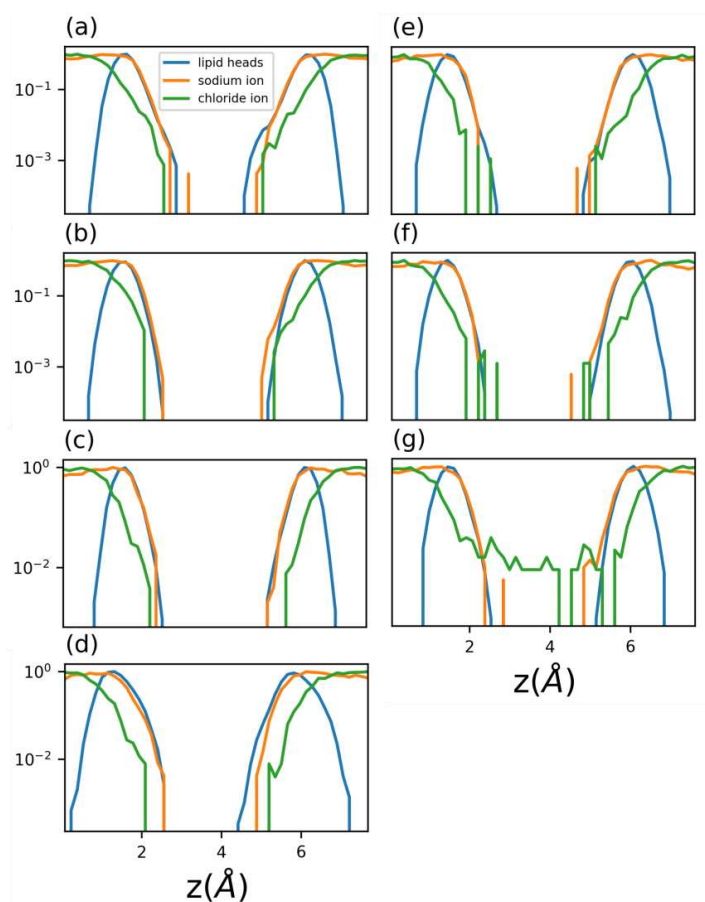


Figure S40. Normalized density of phosphorus atoms from lipid heads (blue), sodium ions (orange) and chloride ions (green) along an axis perpendicular to the membrane plane in all MD simulations. (a) *crys_cgen* (b) *crys_gaff* (c) *cyl1_cgen* (d) *cyl1_gaff* (e) *harm10* (f) *harm100* (g) *harm1000*

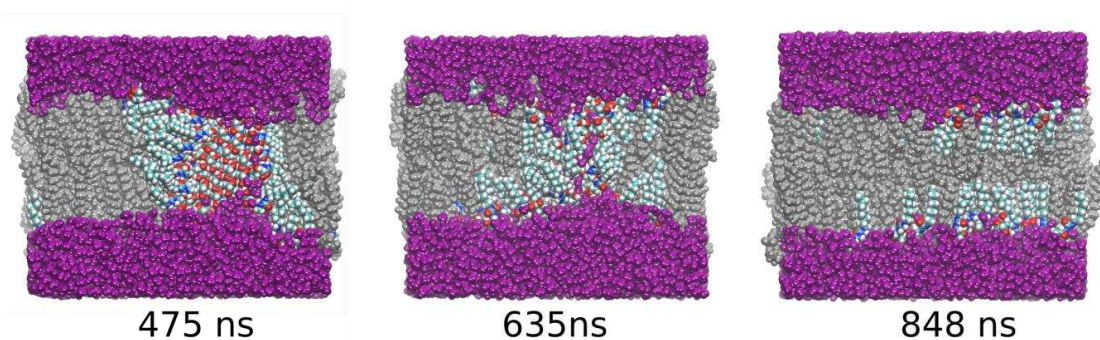
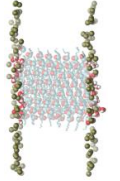
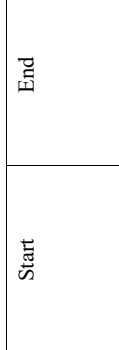

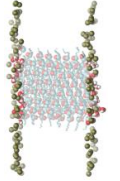
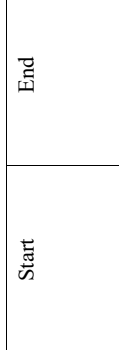
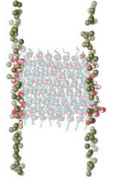
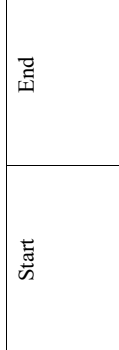
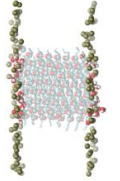
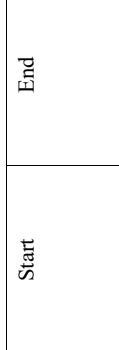
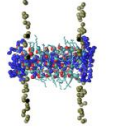
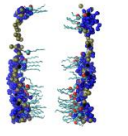
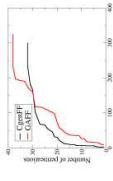
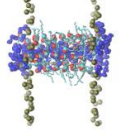

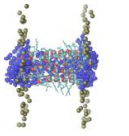
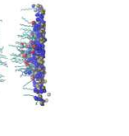
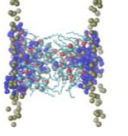
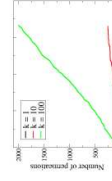
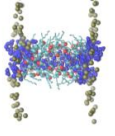


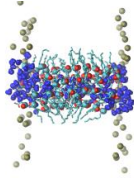
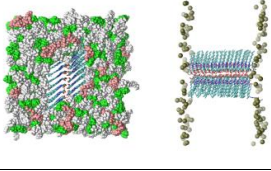
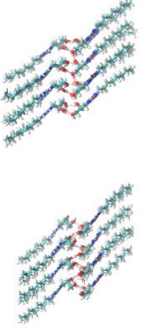
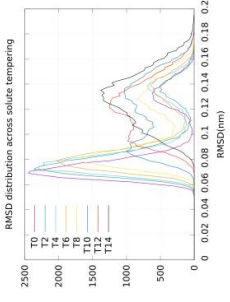
Figure S41. Snapshot of the simulation *crys_cgen* at three times during the simulation. An atom-type coloured representation was kept for H1 molecules, whereas unique coloring was applied for water molecules (purple) and lipids (silver).

Indeed, applying an electric field across the membrane can be used to probe to what extent ion permeation can be forced. Several methods exist to apply electric fields in molecular dynamics simulations, each with specific advantages and problems. Such simulations are quite delicate. We have in the past obtained the most satisfying results by using a method where two compartments are created in a simulation box, with two explicit membrane bilayers [14]. In the present case this means duplicating the size of the simulation system. We conducted six exploratory simulations on the timescale of hundreds of nanoseconds along these lines, yet a full and detailed study is clearly beyond the scope of the present work. The six simulations use a charge imbalance of 4, 4, 4, 4, 8 and 12 electrons, covering a range of channel structures to account for possible scenarios of water permeation. All these setups correspond to potential differences larger than 500mV across the membrane. [15] Please note that this value is more than 5 times higher than physiological cross-membrane potential differences, rather between 40 and 90 mV. In order to probe the situation with a 4e difference more thoroughly, we used different forcefields in these simulations. Unsurprisingly, when the applied electric field is strong enough, ions are able to pass the membrane barrier. Interestingly, chloride ions are the first to permeate, whereas sodium permeation only starts with the highest applied voltage. At the lowest 4e charge imbalance, however, for both forcefields, no ion permeation was observed - other than at the very beginning, when switching on the field -, confirming an intrinsically significantly higher activation barrier than for water permeation. Future works could use methodologies such as the Computational Electrophysiology approach by Kutzner et al. [16], maintaining a constant ion imbalance, thereby enabling a more quantitative measure of ion flux and selectivity or the use of an external electric field [17].

Table S3 : Molecular simulations

Simulation name	Descriptors (initial guess, force field, restraints, ...)	mCLR (compound d/lipid ratio)	Number of lipid molecules	Time length (ns)	Stability	Water permeation	Ion permeation	Start	End	Permeation evolution
crys_egen	Crystal & CgenFF	0,37	300	1000	disaggregate in the membrane	Drops considerably with disaggregation after 600ns	No			
crys_gaff	Crystal & GAFF	0,37	300	900	Stable in the membrane	Constant permeations located to the lateral interface	No			-
solv_egen	Crystal & CgenFF & translation of 2Å of one part of the patch	-	No lipids	100	Micelle formation	-	-			-
solv_gaff	Crystal & GAFF & translation of 2Å of one part of the patch	-	No lipids	433	Part of the patch stay in the crystal form	-	-			-

Simulation name	Descriptors (initial guess, force field, restraints, ...)	mCLR (compound d/lipid ratio)	Number of lipid molecules	Time length (ns)	Stability	Water permeation	Ion permeation	Start	End	Permeation evolution
cyll_egen	Cylinder-like & CgenFF	0,29	220	300	disaggregate in the membrane	Drops considerably with disaggregation	No			
cyll_gaff	Cylinder-like & GAFF	0,29	220	294	disaggregate in the membrane	Drops considerably with disaggregation	No			
harm1	Cylinder-like & CgenFF k=1 kJ/mol	0,29	220	461	disaggregate in the membrane	low	No			
harm10	Cylinder-like & CgenFF k=10kJ/mol	0,29	220	339	Stable	Enhanced in the channels area	No			
harm100	Cylinder-like & CgenFF k=100 kJ/mol	0,29	220	333	Stable	Enhanced in the channels area	No			

Simulation name	Descriptors (initial guess, force field, restraints, ...)	mCLR (compound d/lipid ratio)	Number of lipid molecules	Time length (ns)	Stability	Water permeation	Ion permeation	Start	End	Permeation evolution
harm1000	Cylinder-like & CgenFF k=1000 kJ/mol	0,29	220	337	Stable	Enhanced in the channels area	Chloride ion presence in the first 200 ns of the simulation			
rest2	REST2 simulation GAFF 30 replicas energy scaling with effective temperature ranging from 310K to 440K	0,37	300	90	No significant structural changes for the "cold" replica - "Hot" replicas evolves towards dissolved compound	No presence of water inside the crystal patch, for the two clusters at low effective temperature, clustering analysis have been performed based on RMSD on the solute	-		Two mean structures at low effective temperature 	

Movies .

- movie1.mpg** : simulation *crys_gaff* between 600 and 800ns.
movie2.mpg : simulation *harm10* between 200 and 300ns.
movie3.mpg : simulation *harm1000* between 200 and 300ns.

- [1] J. B. Klauda, R. M. Venable, J. A. Freites, J. W. O'Connor, D. J. Tobias, C. Mondragon-Ramirez, I. Vorobyov, A. D. MacKerell, R. W. Pastor, *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 7830–7843.
- [2] W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, M. L. Klein, *J. Chem. Phys.* **1983**, *79*, 926–935.
- [3] K. Vanommeslaeghe, A. D. MacKerell, *J. Chem. Inf. Model.* **2012**, *52*, 3144–3154.
- [4] K. Vanommeslaeghe, E. P. Raman, A. D. MacKerell, *J. Chem. Inf. Model.* **2012**, *52*, 3155–3168.
- [5] J. Wang, R. M. Wolf, J. W. Caldwell, P. A. Kollman, D. A. Case, *J. Comput. Chem.* **2004**, *25*, 1157–1174.
- [6] J. Wang, W. Wang, P. A. Kollman, D. A. Case, *J. Mol. Graph. Modell.* **2005**, *25*, 247–260.
- [7] L. Wang, R. A. Friesner, B. J. Berne, *J. Phys. Chem. B* **2011**, *115*, 9431–9438.
- [8] G. Stirnemann, F. Sterpone, *J. Chem. Theory Comput.* **2015**, *11*, 5573–5577.
- [9] S. Jo, T. Kim, V. G. Iyer, W. Im, *J. Comput. Chem.* **2008**, *29*, 1859–1865.
- [10] W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten, *J. Mol. Graph.* **1996**, *14*, 33–38.
- [11] N. Michaud-Agrawal, E. J. Denning, T. B. Woolf, O. Beckstein, *J. Comput. Chem.* **2011**, *32*, 2319–2327.
- [12] R. J. Gowers, M. Linke, J. Barnoud, T. J. E. Reddy, M. N. Melo, S. L. Seyler, J. Domański, D. L. Dotson, S. Buchoux, I. M. Kenney, O. Beckstein, *Proc. 15th Python Sci. Conf.* **2016**, 98–105.
- [13] O. S. Smart, J. G. Neduveilil, X. Wang, B. A. Wallace, M. S. P. Sansom, *J. Mol. Graph.* **1996**, *14*, 354–360.
- [14] Laurent, B., Murail, S., Da Silva, F., Corringer, P. J., & Baaden, M. (2012). *Pure and Applied Chemistry*, 85(1), 1-13. <https://doi.org/10.1351/PAC-CON-12-04-10>
- [15] Gurtovenko, A. A.; Vattulainen, I. *J. Chem. Phys.* 2009, 130 (21), 215107. <https://doi.org/10.1063/1.3148885>.
- [16] Kutzner, C.; Grubmüller, H.; de Groot, B. L.; Zachariae, U. *Computational Electrophysiology: Biophys J* 2011, 101 (4), 809–817. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2011.06.010>.
- [17] Gumbart, J.; Khalili-Araghi, F.; Sotomayor, M.; Roux, B. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 2012, 1818 (2), 294–302. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.09.030>.

3.5 Discussion

L'exemple des dimères de Pillar-[5]arènes permet d'illustrer l'influence de l'agrégation des canaux artificiels sur la stabilité dans les membranes et la perméabilité en eau dans les simulations de DM. Cependant l'extension de la durée des simulations et l'échantillonnage des conditions initiales est nécessaire pour reporter des valeurs de perméabilité dans la membrane comparables aux données expérimentales, ou à d'autres AWCs. La stabilité des composés sous forme d'agrégats dans les simulations suggèrent un mécanisme collectif de perméation. De nouvelles hypothèses ont été proposées pour échantillonner les conditions initiales de ces systèmes. Cependant, d'autres mesures expérimentales non accessibles à ce jour comme la densité et la dispersion des agrégats dans les membranes lipidiques seraient nécessaires pour valider le modèle d'agrégat.

Dans le cas des *hydroxychannels*, les simulations à l'équilibre ne convergent pas vers une structure de canaux stables dans les membranes. Cependant, la structure transitoire dite en forme d'*éponge* peut être rapprochée à son homologue déjà observée dans les systèmes *imidazoles* [63]. La stabilité de ces canaux doit être l'objet d'études plus approfondies, nous y reviendrons dans le chapitre 6. En effet, nous avons émis l'hypothèse qu'une excitation hors-équilibre (champ électrique, pression osmotique, pression hydrostatique) favoriserait l'agrégation des canaux autour de fils d'eau, permettant le passage de l'eau, tout en bloquant les ions. L'assemblage *éponge* observé dans nos travaux consisterait une phase transitoire de relaxation vers l'état d'équilibre imposée par les conditions de simulation.

Par ailleurs, notre connaissance sur la structure des AWCs est encore limitée à la phase cristalline des échantillons, qui peut dépendre des conditions de cristallisation. Or, les données thermodynamiques suggèrent l'existence de différentes phases à plus hautes températures [17] associées à des transitions de phase solide-solide. Notons que dans le cas des alcools solides à longue chaîne, aussi caractérisés par des réseaux denses de liaisons hydrogène, des simulations de DM couplés à des données de spectroscopie IR ont permis de montrer que l'hydratation des têtes polaires varie d'une phase lamellaire à une autre [118]. Dans le cas des *hydroxychannels*, une seule phase lamellaire par composé a été obtenue expérimentalement, ce qui limite les comparaisons structurales, liés éventuellement au niveau d'hydratation des composés. Ces dernières années ont vu de grandes avancées dans l'étude de transitions de phase par DM de certains cristaux moléculaires simples [79]. Il est toutefois nécessaire d'utiliser les méthodes adéquates pour s'affranchir des barrières cinétiques [119] et de garantir la paramétrisation correcte des champs de force lorsqu'il s'agit de traiter de composés plus complexes [120] (voir également section 6.2).

EFFET DE TAILLE ET DÉPENDANCES AUX MO- DÈLES MOLÉCULAIRES

N'admettez rien a priori si vous pouvez le vérifier.

– Rudyard Kipling

4.1	Contexte : L'hypothèse du cristal - Canaux <i>Imidazole</i>	142
4.2	Résultats	142
4.3	Stabilité et structure de canaux artificiels autoorganisés dans les bicouches lipidiques	144
4.4	Mécanismes microscopiques et statistiques de transport d'eau de canaux artificiels membranaires révélés par Dynamique Moléculaire	155
4.5	Discussion	173

4.1 Contexte : L'hypothèse du cristal - Canaux *Imidazole*

Un défi technologique majeur dans le développement des membranes à canaux artificiels est l'optimisation de la densité des canaux. Dans le chapitre précédent, nous avons modélisé en DM un cas de canaux artificiels en utilisant plusieurs hypothèses sur la densité locale des canaux dans les membranes lipidiques. Pour obtenir des informations plus quantitatives reliant densité et perméabilité des canaux, il est nécessaire de pouvoir échantillonner correctement le système à l'équilibre. Afin d'étudier l'influence de l'environnement et la taille des agrégats de canaux sur la perméabilité en eau, nous nous sommes focalisés sur les canaux *s* [60, 61, 63].

Les briques élémentaires des canaux *imidazoles* sont composés de petites molécules amphiphiles de masse molaire variant de 210 à 266 g/mol, suivant la longueur des chaînes hydrophobes. Ces molécules sont composées d'une partie hydrophobe, assurant l'insertion dans la membrane, d'une partie uréique centrale, jouant un rôle dans l'alignement de la phase solide, et d'une partie hydrophile, jouant le rôle de transporteur d'eau.

La cristallisation des échantillons des composés *imidazoles* a permis d'identifier une structure possible qui garantirait théoriquement la perméation en eau, la conduction des ions H^+ et le blocage des ions plus lourds (Na^+ , Cl^- , OH^-). En effet, la conformation lamellaire présente des filets unidimensionnels de molécules d'eau dont les dipôles électriques sont orientés dans la même direction.

Une première hypothèse forte consiste à supposer la stabilité de ces structures cristallines dans les membranes lipidiques. Les simulations précédentes en DM ont permis de montrer que les structures cristallines étaient stables dans le cas des composés chiraux R-HC8 et S-HC8 [61], bien que la modélisation de composés à chaîne aliphatique plus courte aboutissait à une structure plus désordonnée en *éponge* (*sponge-like*). Une autre étude expérimentale utilisant des données de spectroscopie vibrationnelle sur des membranes lipidiques supportées semble toutefois confirmer l'organisation en filets d'eau [62].

Dans l'hypothèse de canaux cristallins, nous avons poursuivi les travaux précédents en se focalisant sur les paramètres des simulations influençant la perméation des membranes. Les problématiques abordées sont les suivantes :

- La perméation en eau des canaux sous forme cristalline est-elle limitée par la taille et la forme des assemblages ?
- Quel est l'influence du champ de force sur la stabilité et la perméation des canaux ?
- Comment peut-on améliorer l'échantillonnage des régimes de perméation ?

4.2 Résultats

Dans le premier article, nous détaillons la méthode utilisée pour mesurer la perméation à travers la membrane sur les canaux *imidazoles* S-HC8. Puis, nous comparons les résultats obtenus en utilisant plusieurs champs de force pour l'eau et les canaux (voir Figure 4.1).

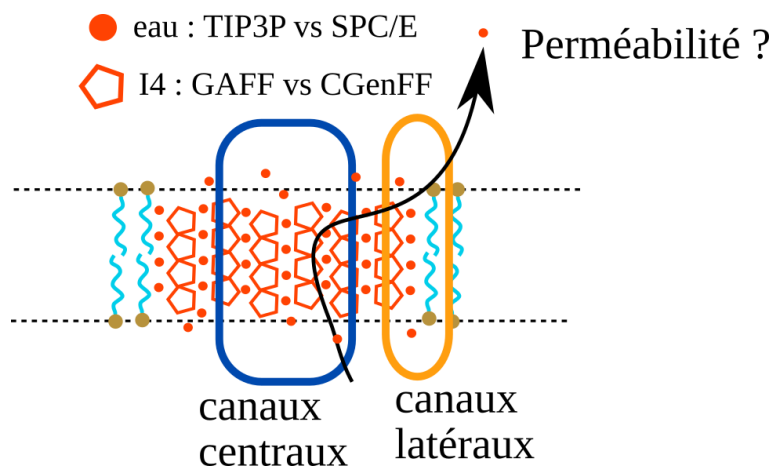


FIGURE 4.1 – Résumé illustré de l'étude portée sur l'influence du champ de force sur les ordres de grandeur de perméabilité dans les canaux I-quartet *imidazoles* (I4).

Nous avons montré que la structure cristalline des canaux *imidazoles* S-HC8 reste stable sur des durées variant de 1 à 2 μ s, pour les deux champs de force utilisés, CgenFF et GAFF. Sur ces échelles de temps, l'équilibre de la membrane est atteint lorsque la conductance en eau devient constante. La membrane contenant les canaux est trois fois plus perméable à l'eau dans le cas du champ de force GAFF, par rapport au champ de force CgenFF. Les valeurs de perméabilité en eau sont fortement dépendantes du modèle d'eau utilisée. Le ratio entre la valeur de la perméabilité en eau du modèle TIP3P et celle du modèle SPC/E est de 2,1, ce qui est cohérent avec le ratio entre les coefficients de diffusion de l'eau non confinée des deux modèles.

Étant donné le caractère arbitraire du choix de la taille du nanocristal inséré dans la membrane modèle, nous avons, dans le deuxième article, présenté des résultats plus détaillés concernant l'effet de taille des nanocristaux sur la perméation en eau des membranes hôtes. L'étude montre que la perméation totale des assemblages cristallins de canaux *imidazoles* S-HC8 évolue linéairement avec le nombre de canaux, correspondant à des dimensions latérales de nanocristaux comprises entre 5 et 13 nm. Cependant, tous les canaux ne contribuent pas de manière équivalente à la perméation totale de la membrane. Les études précédentes avaient déjà reportés des niveaux de perméation plus élevés pour les canaux latéraux - canaux partageant des molécules *imidazoles* en contact avec des molécules de lipides -. Cependant, cette étude rend également compte de canaux très perméables à l'eau dans les parties internes des nanocristaux (voir Figure 4.2).

Afin d'augmenter l'échantillonnage des états de perméation, nous avons eu également recours à une méthode d'échantillonnage avancée, REST2, combinée avec une méthode de *RMSD clustering*, pour identifier les états de perméation représentatifs et diminuer le biais lié aux conditions initiales (voir section 2.3.3). Une description détaillée de la taille des canaux, ainsi que du nombre moyen de liaisons hydrogène formé par l'eau dans les zones de confinement a permis d'identifier trois régimes de perméation associés à des perméabilités en eau respectivement de 1.10^6 , 20.10^6 et 30.10^6 H_2O /canal/s.

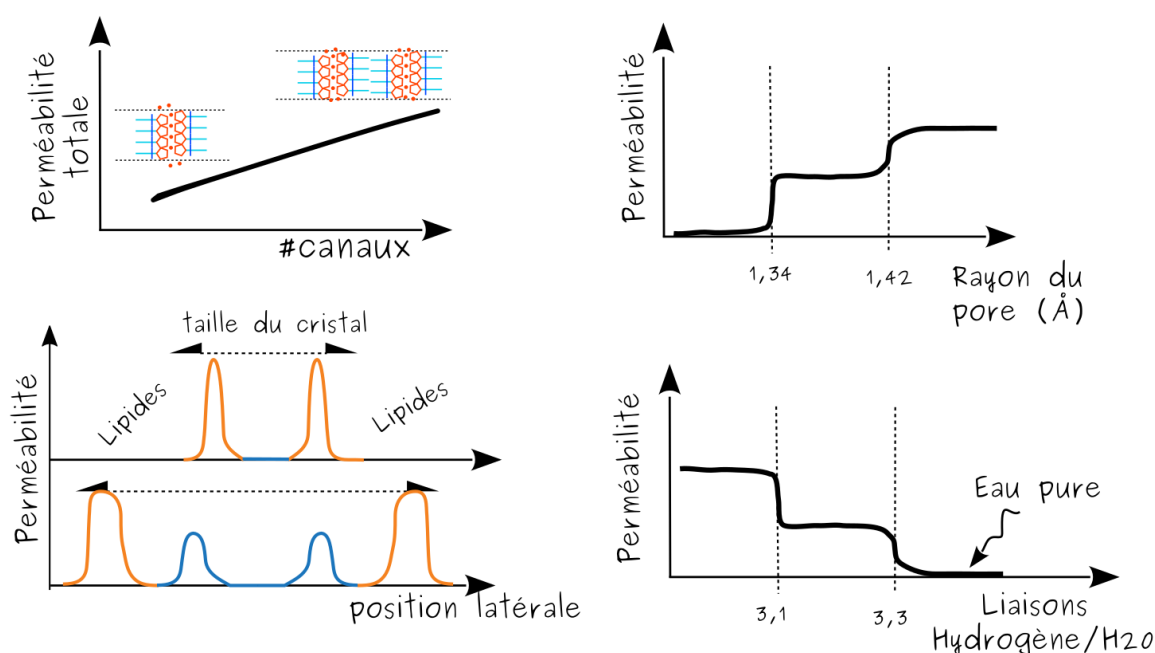


FIGURE 4.2 – Résumé illustré de l'étude computationnelle des effets de taille des assemblages cristallins dans les membranes.

4.3 Stabilité et structure de canaux artificiels autoorganisés dans les bicouches lipidiques

Résumé

Des nanopores transportant l'eau efficacement et sélectivement ont été étudiés à l'échelle nanométrique. L'un des principaux défis consiste à relier l'échelle nanométrique aux propriétés macroscopiques du composé, qui sont difficilement accessibles à plus petite échelle. Dans cet article, nous étudions numériquement l'influence de la variation des dimensions d'un assemblage d'I-quartet *imidazoles* (I_4) dans une bicouche lipidique sur les propriétés de perméation d'eau des canaux préformés. L'étude quantitative du transport d'eau révèle que les voies d'eau dans l'assemblage cristallin de I_4 ne sont pas affectées par de petits facteurs d'échelle, malgré des contributions non uniformes entre les canaux centraux protégés de la bicouche et les canaux latéraux exposés. Le taux de perméation calculé dans les simulations surestime la valeur expérimentale d'un ordre de grandeur. Cependant, il est montré que ces propriétés *in silico* sont très dépendantes des paramètres du champ de force. La diversité des chemins parcourus par les molécules d'eau observée dans une expérience *in silico* à si petite échelle invite à repenser la conception à l'échelle moléculaire afin d'améliorer considérablement le transport de l'eau dans les membranes produites à grande échelle.

Article

Cette section est reproduite avec permission d'après (5) HARDIAGON, A. ; MURAIL, S. ; HUANG, L. ; BARBOIU, M. ; STERPONE, F. ; BAADEN, M. in *New Trends in Macromolecular and Supramolecular Chemistry for Biological Applications*, J.M. ABADIE, M., PINTEALA, M., ROTARU, A., éd. ; Springer International Publishing : Cham, 2021, p. 51-63, DOI : [10.1007/978-3-030-57456-7_3](https://doi.org/10.1007/978-3-030-57456-7_3).

Stability and structure of adaptive self-organized supramolecular artificial water channels in lipid bilayers

A. Hardiagon^{1,2}, S. Murail³, L. Huang⁴, M. Barboiu⁴, F. Sterpone^{1,2,#}, M. Baaden^{1,2,#}

1) CNRS, Université de Paris, UPR 9080, Laboratoire de Biochimie Théorique, 13 rue Pierre et Marie Curie, F-75005, Paris, France

2) Institut de Biologie Physico-Chimique-Fondation Edmond de Rothschild, PSL Research University, Paris, France

3) Université de Paris, CNRS, INSERM, Biologie Fonctionnelle et Adaptative UMR 8251, Computational Modeling of Protein Ligand Interactions U1133, F-75205 Paris, France.

4) Institut Européen des Membranes, Adaptive Supramolecular Nanosystems Group, Université de Montpellier, ENSCM, CNRS, Place Eugene Bataillon CC047, Montpellier, F-34095, France

co-corresponding authors

Abstract

Nanopores that efficiently and selectively transport water have been intensively studied at the nanoscale level. A key challenge relates to linking the nanoscale to the compound's macroscopic properties, which are hardly accessible at the smaller scale. Here we numerically investigate the influence of varying the dimensions of a self-assembled Imidazole I₄ aggregate in lipid bilayers on the water permeation properties of these highly packed water channels. Quantitative transport studies reveal that water pathways in I₄ crystal-like packing are not affected by small scaling factors, despite non-uniform contributions between central channels shielded from the bilayer and lateral, exposed channels. The permeation rate computed in simulations overestimates the experimental value by an order of magnitude, yet these *in silico* properties are very dependent on the force field parameters. The diversity of observed water pathways in such a small-scale *in silico* experiment yields some insights into modifying the current molecular designs in order to considerably improve water transport in scalable membranes.

KEYWORDS : Artificial water channels, self-assembly, molecular dynamics simulations

Introduction

The quality and purity of available water resources is one of the biggest challenges of our current societies. The increasing water demand has stimulated the development of new technologies such as ultra-purification of water for medical usage or water desalination reverse osmosis. Inspired by recent work on biological systems, new expectations in terms of feasibility and functionality brought researchers towards artificial waterchannel (AWC) systems. Indeed AWCs have the advantage to present a diversity of properties due to their chemical synthesis and they are easily encapsulated in lipids and polymer membranes [1]. Following suggestions about size scaling effects in carbon nanotubes [2, 3] and recent studies on monomeric superstructures of AWCs [4], we propose to study the dimensional scalability and the robustness of empirical models using an artificial multimeric channel aggregate.

Imidazole I₄-quartets (I₄) form a class of artificial waterchannels that experimentally show high selectivity and water conductance [5]. Previous studies have simulated the nanoscopic water transport and the packing of water in similar systems [5, 6]. We have previously shown that, depending on the morphology of the synthesized compound [7, 8], self-assembled structures in crystalline and amorphous phases account for single water-wire and associated water transport properties.

Experimental evidence mainly comes from stopped-flow experiments in which compounds are assembled in lipid mixtures into monodisperse liposomes of ~100 nm diameter. This technique employs the use of osmotic gradients to shrink or inflate liposomes. The permeability of the channels embedded in lipids are extracted from the inflation rate probed by light-scattering analysis.

In order to bridge the gap between experimental measurements occurring at the macroscopic scale and the atomistic description, we propose to study the eventual finite-size effects generated by the boundary conditions chosen for molecular dynamics (MD) simulations of these objects, a method of choice to investigate nano-scale membrane aggregates. We have submitted the selected systems to a series of tests by varying force field parameters to determine their relevance.

We show that growing structures up to 10 nm long does not lead to pronounced variability in terms of permeation per channel, despite the increase in surface-to-volume ratio. Accordingly, we observe that simulations of larger systems enable us to explore rare permeation events occurring in regions shielded from lipid interactions thanks to an increase in sampling statistics. Furthermore such an approach paves the way to further investigate spatial correlations between adjacent channels in these highly packed structures.

The influence of a range of parameters in the model, such as water molecule representation and force fields for the I4 compounds demonstrate the sensitivity of these models and the complex diversity of water transport mechanisms that arise at such a small spatial scale.

Materials and methods

All molecular dynamics simulations were performed under periodic boundary conditions with constant pressure. The CHARMM-36 force field [9] was used for lipid molecules and the TIP3P and SPC/E models were chosen [10] for water. To represent S-HC8 molecules and generate their topologies, we used the CHARMM General Force Field [11] together with the ParamChem web service [12]. The GROMACS 2018.7 and 2019.2 softwares were used to run the simulations with all atoms, with an integration time step of 2fs. All bonds were constrained using the LINear Constraint Solver algorithm. Particle mesh Ewald electrostatics was used with a 12 Å cutoff with the Verlet buffer scheme for nonbonded interactions; the neighbor list was updated every 20 steps. Three baths (imidazoles, lipids, and water and ions) were coupled to a temperature of 310 K using the Nosé-Hoover thermostat with a time constant $t = 1$ ps

and a chain length of 4. Pressure in the x/y dimensions was scaled isotropically with Parrinello-Rahman barostat at 1 bar, and the z dimension was coupled independently to a reference pressure of 1 bar, $t = 5.0$ ps, and compressibility of $4.5 \cdot 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$. All systems were minimized for 5000 steps with a steepest descent algorithm and equilibrated for 2 ns, using decreasing position restraints of 1000,400,200,100,40 $\text{kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{-2}$ on heavy atoms, with the crystal structure as a reference. Production runs were finally computed for 1000 to 2000 ns without any position restraints.

The previous results we compared to were obtained using initial I-quartet channel patches of 3 nm width inserted [7]. The packing of the initial patch was based on X-ray structures and the composition of lipids follows the one used experimentally. This composition of the lipid mixture is the same as before with a respective molar ratio 5:4:1 for Chl:PC:PS. The molar ratio between compounds and lipids was previously based on an estimation of the insertion efficiency and initial concentrations inserted [5]. In this new series of simulations, we varied the size of the patch along the two directions of the crystal parallel to the bilayer membrane. The size effect was only investigated in the case of the S-HC8 compound since this structure was the most stable structure of the crystal form observed in previous results. The molar ratio of lipid:compound was multiplied by a factor 2 in simulation sim5, with the same initial patch of circa 3 nm width. The height of the crystal patch was kept constant and is assumed to be close to the thickness of the lipid bilayer.

All systems have been hydrated with a constant molar ratio of lipid:water equal to 28. We checked in additional simulations that no other long-range effects on the z axis and through periodic boundary conditions occur, by changing this latter molar ratio to 54. Na^+ and Cl^- ions have been inserted using a Monte-Carlo scheme to neutralize the system and to obtain a concentration of solute equal to 0.15M. All setups were assembled using the CHARMM-GUI web interface [13] and format files were adapted to the

Gromacs software using the online tool services [14].

The molecular dynamics trajectories were visually inspected and analyzed using the VMD software [15]. Analysis of the trajectories for RMSD and permeation calculations were performed using custom scripts for the MDAnalysis library [16, 17]. The accuracy of the analysis was first tested by varying the sampling time. Fast computation and accuracy were accessed both using 0.1 ns as a sampling time for the analysis of water permeations. The analysis of pore radius was performed using the HOLE software [18]. Due to large fluctuations of channel components on the lateral sides of the patch, mean pore radius values were relevant only for central channels.

Water Conductance and dimensional scaling

For our simulations, we computed the average number of permeation events in one direction or

membrane [19]. We will further discuss the implications of this specific choice of permeation measurement.

We observed that all systems are stable in the bilayer during 1000 ns simulation, based on their low root mean square deviation from the starting point. There is no major rearrangement of compounds in the membrane, except for very few compounds that move freely within the membrane. A crystal structure arrangement is dominant; we observed very similar water pathways as in previous studies of similar patch configurations (sim1) [7]. In Fig.2 we reported the evolution of water permeation events during the time of each simulation (from 1000 to 2000 ns). We observed that an equilibrium regime is reached on a range of time between 500 and 1000 ns depending on the simulation.

All simulations were performed under equilibrium conditions, therefore we expect that the net flow through the channels is null on average after a certain time. Indeed, we observed that the net flow cancellation coincides with the convergence of

Simulation acronym	System description	Force Field	Water Model	Permeation regime	Conductance			
					$\times 10^6$ H ₂ O/s/channel		lateral	central
					q_0	std		
	AQP1	-	-	-	$\sim 10^3$	-	-	-
	S-HC8 - Exp (7)	-	-	osmotic	1,4	0,1	-	-
sim1	S-HC8 – 6 channels - no defects	CgenFF	TIP3P	diffusive	19.5	0.2	99 %	1 %
sim2	S-HC8 – 6 channels - with defects	CgenFF	TIP3P	diffusive	22.2	0.2	99 %	1 %
sim3	S-HC8 – 2x6 channels	CgenFF	TIP3P	diffusive	22.5	0.1	82 %	18 %
sim4	SHC8 – 12 channels	CgenFF	TIP3P	diffusive	20.8	0.1	72 %	28 %
sim5	S-HC8 - 6 channels - large membrane	CgenFF	TIP3P	diffusive	20.5	0.1	98 %	2 %
sim6	S-HC8 – 6 channels	CgenFF	SPC/E	diffusive	10.1	0.1	76 %	14 %
sim7	S-HC8 – 6 channels	GAFF	TIP3P	diffusive	65.0	0.3	78 %	28 %

Table 1 : Water conductance values reported for the whole set of simulations. Some results from previous studies and from previous experimental measurements are mentioned for comparison. Water conductance values are computed using number of permeation events in a time window normalized by the number of effective channels in the pre-formed crystal patch. The last two columns account for the distribution of events between lateral and central channel as defined in the article text.

water conductance q_0 (see Table 1). This number is related to the diffusional permeability p_d which quantifies the number of water molecules that exited a channel on one side of the membrane once they entered through the opposite side of the

permeation rates to a constant value. Regarding these observations, we extracted water conduction using water molecule trajectories taken above a time offset considered as equilibration period. We combine linear regression and a bootstrap method

to compute estimates of water conductance and their confidence intervals [20]. We computed conductance values reported in Table 1 using the following relation :

$$q_0 = \frac{N_{perm}}{2N_c}$$

where N_{perm} relates to the number of permeation events per second (in both directions), N_c relates to the effective number of channels. We consider a “permeation event” as a complete transport of a

channels defined by exactly four imidazole molecules and one patch with exposed lateral channels defined by three imidazole molecules, see Fig.1 a)b), the latter setup was already used in previous studies [7]. Both configurations remain stable during 1000ns and we notice higher thermal fluctuations for the imidazole column in the first setup, resulting in only one lateral-exposed channel and a reduced number of effective channels, see Fig. 1.

Interestingly, in the second regime we observed that the normalized number of permeation events grows with a similar rate

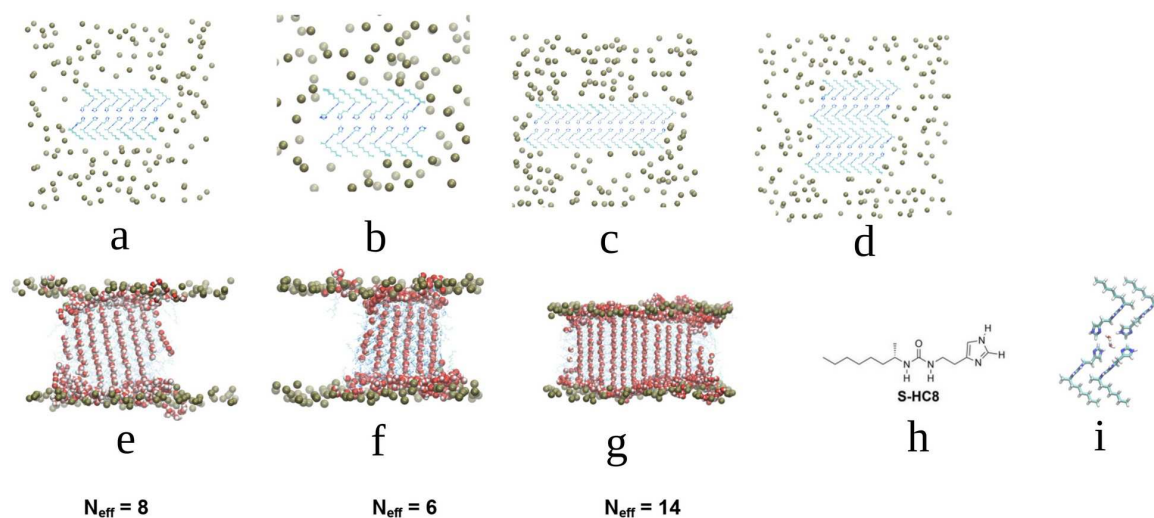


Figure 1: Initial aggregation setups of the S-HC8 compound (see panels h and i) used for molecular dynamics simulations. Top view (a)sim1 (b)sim2 (c)sim3 (d)sim4 . Lateral view (e)sim1 (f)sim2 (g)sim3 . Only molecules of the I4 compounds and the phosphorus atoms of the lipids are represented in the upper panels; water molecules close to polar heads of the imidazole compound are added in the bottom panels. All other molecules are omitted in the pictures for clarity. Below each bottom panel, the estimated number of effective water channels is shown.

water molecule through the channel delimited by the mean position of phosphorus atoms in the lipid bilayer in both leaflets. The number of effective channels in our simulations was estimated by visual examination. Thereby we defined an effective channel as an I4- (or lipid-)bounded area within which water wires are located; the “effective” attribute characterizing channels delimited by both compound molecules and hydrophobic tails of lipid molecules that allow water to cross the membrane. Despite basing the structure of the central channel on X-ray data, the behavior of the channels exposed to lipids was first unclear to us. As most of the permeation events occur in these regions, we tested two different setups : one patch with the lateral, exposed

independently of the size of either the membrane or the patch. In the next section, we further discuss different considerations about the water pathways in order to better understand these results.

In previous results, simulations were performed using a larger lateral pressure in x/y directions (10atm) compared to normal pressure (1atm). Our motivation for this choice was to compensate for the relatively small size of the aggregates. Indeed, it has been shown that small compounds tend to remain in crystal form under higher lateral pressure. In the present simulations, we did not need to increase lateral pressure since the crystal form was already stable at 1atm. Some preliminary simulations have been performed at

higher lateral pressure (10 atm) but no significant changes in both stability and permeations were observed. One of the simulation outcomes (sim5) with a larger lipid membrane indicates that the number of lipids does not play a role in the overall stability since permeation pathways are very similar to observations in sim1. We believe that the coupling between chiral crystal and induced chiral water single-wire is enforcing the stability of this

jumping laterally from one channel to another in this region. Note that the average duration of permeation events, despite a broad range of deviations is always bigger in central channels (10-500ns) than in lateral channels (1-50 ns). These values are reported qualitatively here, despite the lack of statistics on these timescales to distinguish water permeation mechanisms between central and lateral channels.

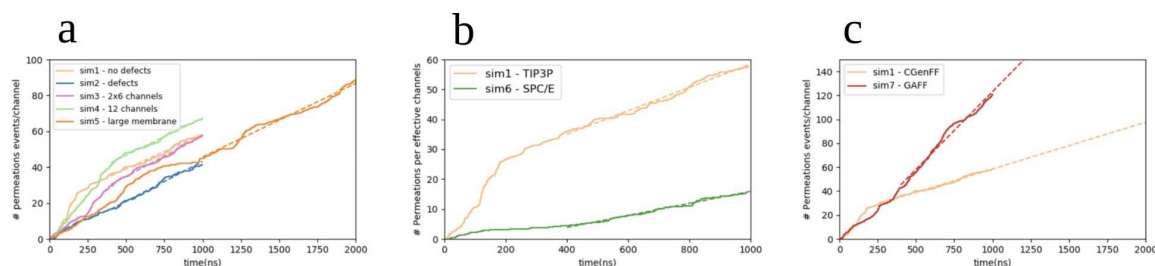


Figure 2: Time series of number of permeation events normalized over the total number of pre-formed imidazole I4 channels in the membrane. The permeation rates are grouped together with respect to several varying factors: size of the patch and lipid/compound ratio (a), water model (b) and force field parameters (c). Achieving a constant permeation rate after an initial time offset provides a simple measure that the system reaches a converged transport state. Water conductance values associated to each simulation are reported in Table 1.

chiral structure [6], resulting in the observed robustness of the permeation mechanism. At this stage, we plan to perform a more detailed analysis of the contribution of each Van der Waals and Coulomb interaction between compound/compound, compound/lipid and compound/water pairs. This breakdown will allow us to understand the key mechanism for stability and permeation in these structures.

Permeation pathways : lateral versus central

In all simulations we observed a much larger number of permeations in lateral channels compared to central channels. Due to the multimeric nature of the patch, channels were identified based on geometrical aspects given the position of each water molecule permeating in the half-time of its course through the membrane. Considering the array-like alignment of channels in one direction in the membrane plane, we considered as “lateral channel” either an exposed channel with walls sharing lipid atoms and compound atoms, or the first channel with walls made by compound molecules. This choice was motivated by observations of water molecules

Following the last two columns of Table 1, we noticed that systems with bigger size patches display more central permeation events. Interestingly, the permeation in central channels is not equally distributed among the central channels and only a few of them are activated (see Fig. 3). An analysis of the pore radius was performed on a trajectory obtained from sim4 and was correlated with the permeation events. Over 10 central channels, only two pairs of adjacent channels remain active in the second part of the simulation (channels 3,4 and 7,8). For these channels, the mean pore radius is $1.36 \pm 0.1 \text{ \AA}$ and for inactive channels the mean pore radius is $1.31 \pm 0.1 \text{ \AA}$ (see Fig.3). Thus, central permeation events are correlated to fluctuations of the pore size.

In several simulations not reported here, we observed an increase of central channel radius up to 1.5 \AA which is accompanied by a much faster transport of water with a change of conformation of the water packing inside a channel. These results suggest that the patch could undergo some structural transitions at room temperature. However, we want to warn the reader that further investigation of these dynamical processes is still to be investigated. Indeed the statistics of central permeation events at these timescales remain too

low to ensure the system to be in a stationary state, and therefore compute a stationary permeation rate.

consider simulation sim4 (see Figure 1), the setup has the same number of lateral channels as in sim1, but with almost the double number of central

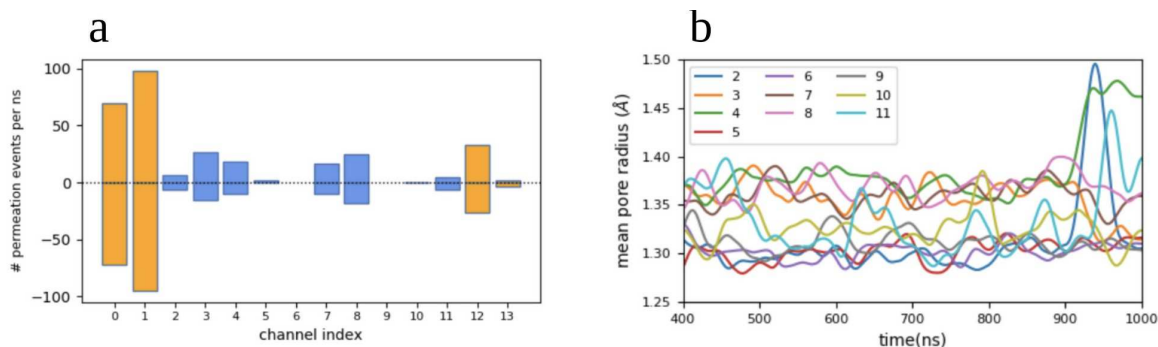


Figure 2: (a) water conduction per channel (12 aligned channels) during the time window 400-1000ns. Channel indices follow the spatial order, the channels 0 and 13 are effective channels delimited by both lipids and S-HC8 molecules. Lateral channels are colored in orange and central channels are colored in blue. Positive values account for water molecules entering the lower leaflet and exiting the channel on the upper leaflet, and negative values are defined accordingly. (b) Time series of mean pore radius for each labeled central channel. Lateral mean pore radius for lateral channels was not represented, indeed higher fluctuations of channel walls reduces considerably the accuracy of this measure. Only the time window corresponding to a constant water flow is considered. For convenience, data is averaged on a time window of 50 ns.

In order to characterize the permeation pathways, we also computed the unidirectional flow for both directions along the z axis on the time window where the absolute flow is constant. We observed the water flow to be almost symmetric for all lateral channels. Moreover we noticed that central channels in large systems could maintain a positive net flow in the active channel during more than 400 ns (see Fig. 3). Still, there is no evidence that water flow in one direction could be energetically favored in this equilibrium-MD simulation. To confirm this hypothesis, it could be interesting to extend the simulations considering its limitations due to the small amount of statistics for central channels in the current study.

Discussion on the model

We showed that for the scales investigated the overall water conduction scales linearly with the size of the patch. At first sight, if we suppose that all channels of the patch contribute independently to the overall water flow, these results seem natural. However a detailed analysis of individual channel permeation has revealed that lateral channels contribute significantly more permeation events than central channels. If we

channels. First, we were expecting that the water conduction will scale with the number of lateral channels, but simulations show that it scales with the total number of channels. One hypothesis to understand these results is to suggest that permeation in these crystal-like structures is a collective phenomenon between adjacent channels. This vision is supported by the comparison between simulations sim1 and sim2 where the local change of the lateral channel conformation does not seem to disturb overall water conduction. So, in order to understand the mechanism of water flow at larger scales, one has to consider the spatial correlations of such crystal-like molecular assemblies.

As shown in Fig.1, the choice of the water model has a significant impact on the permeation rate. Water conduction is twice stronger using the TIP3P water model compared to the SPC/E model given all other setup features being equal. It is well-known that water transport in confined geometries is strongly dependent on hydrogen bonds that water molecules form within their close environment [21, 22]. Yet the number of hydrogen-bonds in S-HC8 channels is very close to the number of hydrogen bonds in the bulk. Hence we expect that the diffusion in the channels at equilibrium will be affected correspondingly to the bulk diffusion. Indeed, as shown in Table 2, the

ratio between self-diffusion coefficients between TIP3P and SPC/E model is 2.1 which is consistent with our results. Moreover, as the SPC/E water model is more faithful to real data concerning transport properties, we keep in mind that almost all simulations performed here with the TIP3P model would overestimate transport properties.

Table 2 : Self-diffusion of water in the bulk calculated for two water models and experimental reference value (22)

Water Model	Self-diffusion (10^{-5} cm ² /s)
experimental	2.30
TIP3P	5.19
SPC/E	2.49

In order to test the sensitivity of the model coefficients, we compared the water conductance in two similar setups varying force field parameters for the imidazole compounds using either CGenFF [23] or GAFF [24]. Results in Fig.1 show that permeability is more than three times larger when using the GAFF force field. Using GAFF parameters, we noticed the crystal patch to be less flexible under thermal fluctuations; almost no imidazole molecules are moving freely in the lipid bilayer. We expect that GAFF parameters reinforce long-range electrostatics interactions resulting in even more stable crystal-like patches embedded in the lipid bilayer. This freezing effect of the surrounding architecture could contribute to increase water conductance both in lateral and central channels. However, further considerations about energetics and experimental data is under investigation to validate and study the influence of both LJ coefficients and partial charges of these two models.

Furthermore, experimental data is required to assess the validity of the modeled aggregates. Despite the estimation from experimental results of the molar ratio between lipids and compound molecules, the average size of these membrane-embedded objects actually remains unknown. Two scenarios arise at this stage, one assuming the existence of small patches with large surface-to-volume-ratio effect and therefore a particular role of the interaction between lipids and the compound patch on permeation rate, the other scenario

assuming the presence of large crystal patches where surface-to-volume-ratio effects are negligible. In order to validate the second scenario, we would need above-mentioned experimental data. Furthermore a coarse-grain approach could be adopted to simulate larger systems, however the forcefield issue then becomes even more stringent as all relevant physico-chemical properties of the imidazole compounds will have to be captured in the simplified representation. Somehow we would have to find a compromise between the loss of atomistic description for water dynamics and the gain in the amount of statistics.

Although the size of the embedded system does not seem to play a significant role in the permeation rate in our simulations, we keep in mind that it essentially concerns the hypothesis based on crystal configuration at small timescale. The major difficulty in reproducing the experimental conditions relates to the unknown average size and distribution of compound assemblies embedded in the liposomes, the radius of which is distributed around 100 nm. In our simulations, the patch size does not exceed 10 nm and timescales accessible to all-atoms descriptions are bounded to a few microseconds. Given the small values of the scaling factor we used in this study, we do not exclude some important surface-to-volume effects when we scale the system up to experimental ones. For the time being, we cannot resolve the question of long-term events such as the rearrangement of the structure inside the membrane without validating a proper force field. We already know from previous results related to other compounds [7] that disordered aggregates may also display high water conductance and ion selectivity but these structures have shown limited robustness under application of the current force field. This observation emphasizes the difficulty to validate the force field choice at these small timescales.

Regarding the test series we performed on the S-HC8 compound, we can minimize the actual mismatch between experimental results in stopped-flow experiments and our simulations where we found a water conductance of one to two orders of magnitude larger than the experimental value.

Indeed, the choice of the model needs to be understood in order to correctly reproduce tendencies of the experiments. Moreover, the current studies were only tackling the stability and permeation mechanisms at equilibrium. Yet structural changes of such systems composed by a large number of interacting molecules has to be challenged under non-equilibrium conditions such as osmotic gradients or hydrostatic pressure [25, 26]. Such considerations as a comparison between diffusional and osmotic single-channel permeabilities need to be clarified on these systems, in order to enlighten experimental observations in real systems. Although these dynamical aspects have been intensively studied in carbon nanotubes and biological channels [21], a long road to understand stability and water permeation mechanisms in molecular self-assemblies remains.

Conclusion and perspectives

By varying the size of the patch of crystal-like assemblies of I_4 channels using MD simulations, we found that permeation rate scales with the total of number of channels. Large surface-to-volume-ratio in these *in silico* model systems could induce an overestimation of the permeation rate in contrast to experiments on liposome substrates. Surprisingly, finite-size effects do not seem to be ruled out by the particular morphology of the more active channels. These findings suggest that collective effects that imply long-range interactions between compounds and lipid/compound interfacial energies have to be carefully investigated. Indeed, the scaling of these seed structures to a larger scale remains a challenge given the number of uncertainties related to the phase state of large self-assemblies in lipid bilayers. Although X-ray data provide a crystalline structure that displays permeation properties, we showed that the force field parameters that describe interactions between I_4 compounds is determinant to allow stability within the lipid bilayer and therefore control the permeation rate. Flexibility and mutual effects between hydrophobic and hydrophilic regions in these packed channels have shown to be a major asset to increase single-channel permeability. Simulations

will play an important role in elaborating future designs of self-assembled compounds with improved properties. Previous and present studies rely on a static approach, therefore out-of-equilibrium simulations will confirm and complete the current scenario. Furthermore, Van der Waals interactions and electrostatic interactions will be investigated to calibrate the force field with respect to experimental data. At last, larger scales will be assessed by coarse-grained approaches [27, 28] in order to study the feasibility of scalable membrane constructs linking to the macro-scale [29, 30].

References

1. Tan Z, Chen S, Peng X, et al (2018) Polyamide membranes with nanoscale Turing structures for water purification. *Science* 360:518–521. <https://doi.org/10.1126/science.aar6308>
2. Garate J-A, English NJ, MacElroy JMD (2009) Static and alternating electric field and distance-dependent effects on carbon nanotube-assisted water self-diffusion across lipid membranes. *J Chem Phys* 131:114508. <https://doi.org/10.1063/1.3227042>
3. Köfinger J, Hummer G, Dellago C (2008) Macroscopically ordered water in nanopores. *Proc Natl Acad Sci* 105:13218–13222. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801448105>
4. Noy A, Wanunu M (2020) A new type of artificial water channels. *Nat Nanotechnol* 15:9–10. <https://doi.org/10.1038/s41565-019-0617-5>
5. Licsandru E, Kocsis I, Shen Y, et al (2016) Salt-Excluding Artificial Water Channels Exhibiting Enhanced Dipolar Water and Proton Translocation. *J Am Chem Soc* 138:5403–5409. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b01811>
6. Kocsis I, Sorci M, Vanselous H, et al (2018) Oriented chiral water wires in artificial transmembrane channels. *Sci Adv* 4:eaao5603. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aao5603>
7. Murail S, Vasiliu T, Neamtu A, et al (2018) Water permeation across artificial I-quartet membrane channels: from structure to disorder. *Faraday Discuss* 209:125–148. <https://doi.org/10.1039/C8FD00046H>
8. Sun Z, Kocsis I, Li Y, et al (2018) Imidazole derivatives as artificial water channel building-blocks: structural design influence on water permeability. *Faraday Discuss* 209:113–124. <https://doi.org/10.1039/C8FD00024G>
9. Klauda JB, Venable RM, Freites JA, et al (2010) Update of the CHARMM All-Atom Additive Force Field for Lipids: Validation on Six Lipid Types. *J Phys Chem B* 114:7830–7843. <https://doi.org/10.1021/jp101759q>

10. Jorgensen WL, Chandrasekhar J, Madura JD, et al (1983) Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J Chem Phys* 79:926–935. <https://doi.org/10.1063/1.445869>
11. Vanommeslaeghe K, MacKerell AD (2012) Automation of the CHARMM General Force Field (CGenFF) I: Bond Perception and Atom Typing. *J Chem Inf Model* 52:3144–3154. <https://doi.org/10.1021/ci300363c>
12. Vanommeslaeghe K, Raman EP, MacKerell AD (2012) Automation of the CHARMM General Force Field (CGenFF) II: Assignment of Bonded Parameters and Partial Atomic Charges. *J Chem Inf Model* 52:3155–3168. <https://doi.org/10.1021/ci3003649>
13. Jo S, Kim T, Iyer VG, Im W (2008) CHARMM-GUI: A web-based graphical user interface for CHARMM. *J Comput Chem* 29:1859–1865. <https://doi.org/10.1002/jcc.20945>
14. Lee J, Cheng X, Swails JM, et al (2016) CHARMM-GUI Input Generator for NAMD, GROMACS, AMBER, OpenMM, and CHARMM/OpenMM Simulations Using the CHARMM36 Additive Force Field. *J Chem Theory Comput* 12:405–413. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00935>
15. Humphrey W, Dalke A, Schulten K (1996) VMD: Visual molecular dynamics. *J Mol Graph* 14:33–38. [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5)
16. Gowers RJ, Linke M, Barnoud J, et al (2016) MDAnalysis: A Python Package for the Rapid Analysis of Molecular Dynamics Simulations. *Proc 15th Python Sci Conf* 98–105. <https://doi.org/10.25080/Majora-629e541a-00e>
17. Michaud-Agrawal N, Denning EJ, Woolf TB, Beckstein O (2011) MDAnalysis: A toolkit for the analysis of molecular dynamics simulations. *J Comput Chem* 32:2319–2327. <https://doi.org/10.1002/jcc.21787>
18. Smart OS, Neduvelil JG, Wang X, et al (1996) HOLE: A program for the analysis of the pore dimensions of ion channel structural models. *J Mol Graph* 14:354–360. [https://doi.org/10.1016/S0263-7855\(97\)00009-X](https://doi.org/10.1016/S0263-7855(97)00009-X)
19. Zhu F, Tajkhorshid E, Schulten K (2004) Theory and simulation of water permeation in aquaporin-1. *Biophys J* 86:50–57. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(04\)74082-5](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(04)74082-5)
20. Haslwanter T (2016) Linear Regression Models. In: Haslwanter T (ed) *An Introduction to Statistics with Python: With Applications in the Life Sciences*. Springer International Publishing, Cham, pp 183–220
21. Horner A, Zocher F, Preiner J, et al (2015) The mobility of single-file water molecules is governed by the number of H-bonds they may form with channel-lining residues. *Sci Adv* 1:e1400083. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1400083>
22. Alexiadis A, Kassinos S (2008) Self-diffusivity, hydrogen bonding and density of different water models in carbon nanotubes. *Mol Simul* 34:671–678. <https://doi.org/10.1080/08927020802073057>
23. Caleman C, van Maaren PJ, Hong M, et al (2012) Force Field Benchmark of Organic Liquids: Density, Enthalpy of Vaporization, Heat Capacities, Surface Tension, Isothermal Compressibility, Volumetric Expansion Coefficient, and Dielectric Constant. *J Chem Theory Comput* 8:61–74. <https://doi.org/10.1021/ct200731v>
24. Wang J, Wolf RM, Caldwell JW, et al (2004) Development and testing of a general amber force field. *J Comput Chem* 25:1157–1174. <https://doi.org/10.1002/jcc.20035>
25. Kalra A, Garde S, Hummer G (2003) Osmotic water transport through carbon nanotube membranes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:10175–80. <https://doi.org/10.1073/pnas.1633354100>
26. Yoshida H, Marbach S, Bocquet L (2017) Osmotic and diffusio-osmotic flow generation at high solute concentration. II. Molecular dynamics simulations. *J Chem Phys* 146:194702. <https://doi.org/10.1063/1.4981794>
27. Chan H, Král P (2018) Nanoparticles Self-Assembly within Lipid Bilayers. *ACS Omega* 3:10631–10637. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b01445>
28. F. Brandner A, Timr S, Melchionna S, et al (2019) Modelling lipid systems in fluid with Lattice Boltzmann Molecular Dynamics simulations and hydrodynamics. *Sci Rep* 9:16450. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52760-y>
29. Kumar M, Habel JEO, Shen Y, et al (2012) High-Density Reconstitution of Functional Water Channels into Vesicular and Planar Block Copolymer Membranes. *J Am Chem Soc* 134:18631–18637. <https://doi.org/10.1021/ja304721r>
30. Shen Y, Song W, Barden DR, et al (2018) Achieving high permeability and enhanced selectivity for Angstrom-scale separations using artificial water channel membranes. *Nat Commun* 9:1–11. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04604-y>

4.4 Mécanismes microscopiques et statistiques de transport d'eau de canaux artificiels membranaires révélés par Dynamique Moléculaire

Résumé

Comprendre les mécanismes de transport de l'eau à l'échelle nanométrique reste un défi dans le domaine de la chimie physique théorique. Des avancées majeures en synthèse chimique nous ont permis de découvrir de nouveaux canaux d'eau artificiels, rivalisant, voire dépassant, la conductivité et la sélectivité de l'eau des canaux protéiques naturels. Afin d'interpréter les observations expérimentales et de comprendre les déterminants microscopiques jouant sur les performances de ces matériaux, des approches numériques basées sur des simulations tout-atome de dynamique moléculaire et des méthodes d'échantillonnage avancé ont été proposées. Dans cette étude, nous quantifions l'influence d'observables microscopiques tels que le rayon du canal et la connectivité des liaisons hydrogène, et mésoscopiques, comme la taille des blocs d'auto-assemblage, sur le taux de perméation du nanocrystal. Bien que la vitesse de perméation absolue extrapolée à partir de ces simulations soit surestimée d'un ordre de grandeur par rapport à la mesure expérimentale, l'analyse détaillée de plusieurs motifs conducteurs observés dans de grands assemblages ouvre de nouvelles voies de design vers des membranes adaptatives et hyper-conductives.

Article

Cette section est reproduite avec permission d'après (2) HARDIAGON, A.; MURAIL, S.; HUANG, L.-B.; van der LEE, A.; STERPONE, F.; BARBOIU, M.; BAADEN, M. Molecular dynamics simulations reveal statistics and microscopic mechanisms of water permeation in membrane-embedded artificial water channel nanoconstructs. *The Journal of Chemical Physics* **2021**, *154*, 184102, DOI : [10.1063/5.0044360](https://doi.org/10.1063/5.0044360).

Molecular dynamics simulations reveal statistics and microscopic mechanisms of water permeation in membrane-embedded artificial water channel nanoconstructs

Cite as: *J. Chem. Phys.* **154**, 1 841 02 (2021); doi: 10.1063/5.0044360

Submitted: 15 January 2021 • Accepted: 23 April 2021 •

Published Online: 10 May 2021



Arthur Hardiagon,¹ Samuel Murail,² Li-Bo Huang,³ Arie van der Lee,³ Fabio Sterpone,^{1,4,a)} Mihail Barboiu,^{3,a)} and Marc Baaden^{1,4,a)}

AFFILIATIONS

¹CNRS, Université de Paris, UPR 9080, Laboratoire de Biochimie Théorique, 13 rue Pierre et Marie Curie, F-75005 Paris, France

²Université de Paris, CNRS UMR 8251, INSERM ERL U1133, Paris, France

³Institut Européen des Membranes, Adaptive Supramolecular Nanosystems Group, University of Montpellier, ENSCM, CNRS, Place Eugène Bataillon, CC 047, F-34095 Montpellier, France

⁴Institut de Biologie Physico-Chimique-Fondation Edmond de Rothschild, PSL Research University, Paris, France

Note: This paper is part of the JCP Special Topic on Fluids in Nanopores.

a) Authors to whom correspondence should be addressed: fabio.sterpone@ibpc.fr, mihail-dumitru.barboiu@umontpellier.fr, and baaden@smplinux.de

ABSTRACT

Understanding water transport mechanisms at the nanoscale level remains a challenge for theoretical chemical physics. Major advances in chemical synthesis have allowed us to discover new artificial water channels, rivaling with or even surpassing water conductance and selectivity of natural protein channels. In order to interpret experimental features and understand microscopic determinants for performance improvements, numerical approaches based on all-atom molecular dynamics simulations and enhanced sampling methods have been proposed. In this study, we quantify the influence of microscopic observables, such as channel radius and hydrogen bond connectivity, and of meso-scale features, such as the size of self-assembly blocks, on the permeation rate of a self-assembled nanocrystal-like artificial water channel. Although the absolute permeation rate extrapolated from these simulations is overestimated by one order of magnitude compared to the experimental measurement, the detailed analysis of several observed conductive patterns in large assemblies opens new pathways to scalable membranes with enhanced water conductance for the future design.

Published under license by AIP Publishing. <https://doi.org/10.1063/5.0044360>

I. INTRODUCTION

Artificial water channels (AWCs) are synthetic conduits consisting of unimolecular or self-assembled architectures, presenting a central hydrophilic or hydrophobic pore and an outer hydrophobic exterior matching the lipid bilayer or polymeric membrane environments where they are inserted. These constructs ensure the selective water translocation by rejecting ions or other molecules. The development of AWCs has been extensively described during

the last decade, toward the highly selective translocation of water-wires/clusters under confined conditions. Most studies on AWCs are devoted to their synthesis, the experimental and theoretical modeling studies on their self-assembly, and their transport performances in lipid bilayer membranes.¹⁻⁷ Since the structural features of AWCs can be tuned to control specific water recognition, self-assembly, and translocation in a biomimetic fashion, most of these endeavors are oriented toward the development of highly selective membranes for water desalination. The single-channel permeability is

2–3 orders of magnitude lower, similar or even better than for the natural biological reference Aquaporins. However, most AWCs have an important drawback related to their low ion selectivity.⁸ The next important step would be mostly related to scale-up issues, by maintaining the single-channel activity observed at the molecular level with single channels in lipid bilayer membranes, toward the fabrication of biomimetic industrial macroscopic ($<m^2$) membranes. The major challenge of these works relates to the strategy employed to obtain functional high-density distributions of AWCs in a polymeric matrix.

Molecular dynamics (MD) is a powerful tool for understanding phenomena at the nano-scales. Very subtle changes in the geometry or chemical structure can produce a drastic increase in the water flow in a nanopore, even up to several orders of magnitude.⁹ Studying self-assembly in a lipid environment is a challenging task since a variety of structural and dynamical transitions may arise at different characteristic timescales. Experiments measure water or ion flows under out-of-equilibrium conditions at comparatively large timescales (seconds), while most all-atoms molecular dynamics simulations access equilibrium states at much shorter timescales (several microseconds). Therefore, understanding the water transport mechanisms at the atom-level scale through molecular dynamics simulations plays a double role to assist the future design of new chemical materials for a specific target property and to test the current ability of classical models to reproduce water transport in the steady state.

In the present paper, we extend the study of a previously reported artificial self-assembled water channel.^{5,10,11} Qualitative features of the hydrogen bond network structure, lifetime, relaxation times, and rotational dynamics of water were already described in detail. Here, we now quantitatively address the characterization of important additional microscopic aspects of distinct water transport regimes under equilibrium conditions. Namely, we studied the structural and dynamic behavior of water-wires in variable crystalline patches of the highly permeable artificial water channel, S-octan-2-yl-ureidoimidazole S-HC8.¹⁰

The main achievement of this study is to clarify the influence of the size and geometry of these structures on the permeation rate. The findings improve our understanding of the ability of self-assembly to form conductive pathways with correlated changes in the pore size (around 2.8 Å) and the number of hydrogen bonds that water can form in hydrophilic channels. In order to explore the variability of such observables across simulations, we use a combination of REST2 enhanced sampling computations and brute force MD simulations.

II. METHODS

A. X-ray structures

The single-crystal x-ray data [Fig. 1(a)] reveal a bent molecular geometry of chiral compound S-HC8. Accordingly, columnar layers of S-HC8, orthogonally H-bonded via planar urea-urea ribbons ($d_{\text{NH}\cdots\text{O}=\text{C}} = 1.9$ Å), are generated in the solid state. Terminal imidazoles are positioned at one end interacting with two water molecules, while interactions between the alkyl chains stabilize the layers on the other side of each ribbon [Fig. 1(e)]. Analysis of the crystal structure reveals C—H \cdots N interactions ($d_{\text{N}\cdots\text{HC}} = 2.7$ –2.8 Å) between two

imidazoles, resulting in the formation of orthogonal dimers [Fig. 1(a)], while the waters are simultaneously H-bonded to both imidazole N–H ($d_{\text{O}\cdots\text{H}} = 1.9$ Å) and the vicinal waters ($d_{\text{O}\cdots\text{H}} = 1.8$ Å). The relative asymmetric disposition of the dimers in S-HC8 determines a unique dipolar orientation of the central water molecules, comprising a crystallographic 100% occupancy of both water H-atoms. The overall structure of chiral S-HC8 shows a unique dipolar orientation for all water-filled S-HC8 I-quartet channels [Fig. 1(f)]. The I-quartet S-HC8 water channels of rhomboidal shape (22.4×14.9 Å²) determine a pore-gap in the channel of 2.6 Å, enabling the formation of unique dipolar oriented water channels. We assemble blocks of crystal patches into aggregates to probe the influence of overall size.

B. Systems setup

In order to study the scaling effect of the membrane-embedded imidazole-patch on the water conductance, we performed a series of MD simulations for a range of geometries and sizes of the water channel aggregates.

The packing of the initial patch was based on x-ray single-crystal structures, and the composition of lipids follows the one used experimentally,¹⁰ i.e., a lipid mixture with a respective molar ratio 5:4:1 for Cholesterol:POPC:POPS. The ensemble of simulations reported corresponds to variations of the number of S-HC8 molecules in a pre-formed crystal phase. Two design strategies have been adopted to extend the size of an initial patch of these objects. The first strategy is to extend the number of pre-formed adjacent channels along its longest dimension in the membrane plane, referred to as the x-direction (see Fig. 1), from 5 to 13 nm. Alternatively, several blocks, also referred to as rows in the text, have been designed, resulting in an extension of the system within the membrane plane along the perpendicular lateral y-direction from 3 to 9 nm. In the latter case, the aggregation between different rows is guaranteed by the direction of hydrophobic tails in the membrane plane. The systems are designated as follows: *axbch*, where *a* is the number of rows forming the patch and *b* is the number of channels per row. If *a* is equal to 1, *ax* is omitted.

C. Molecular dynamics

All molecular dynamics simulations were performed under periodic boundary conditions with constant pressure. We have restricted ourselves to the use of the CHARMM-36 force field¹² for lipid molecules, TIP3P¹³ for water, and the CHARMM General Force Field¹⁴ (CgenFF) for S-HC8 molecules. Topologies and parameters for all components and assembling of the whole system were obtained using the CHARMM-GUI web interface and readers' tools.^{15,16} During the solvation step, a concentration of 0.15 M Na⁺ Cl⁻ has been added to the solvent, as well as an excess of Na⁺ ions to neutralize the system charge induced by the negatively charged POPs lipids.

The GROMACS 2018.7 and 2019.2 softwares were used to run the simulations with all atoms, with an integration time step of 2 fs. Bonds involving hydrogen atoms were constrained using the LINear Constraint Solver algorithm.¹⁷ Particle mesh Ewald electrostatics was used with a 12 Å cutoff with the Verlet buffer scheme for non-bonded interactions; the neighbor list was updated every 20 steps.

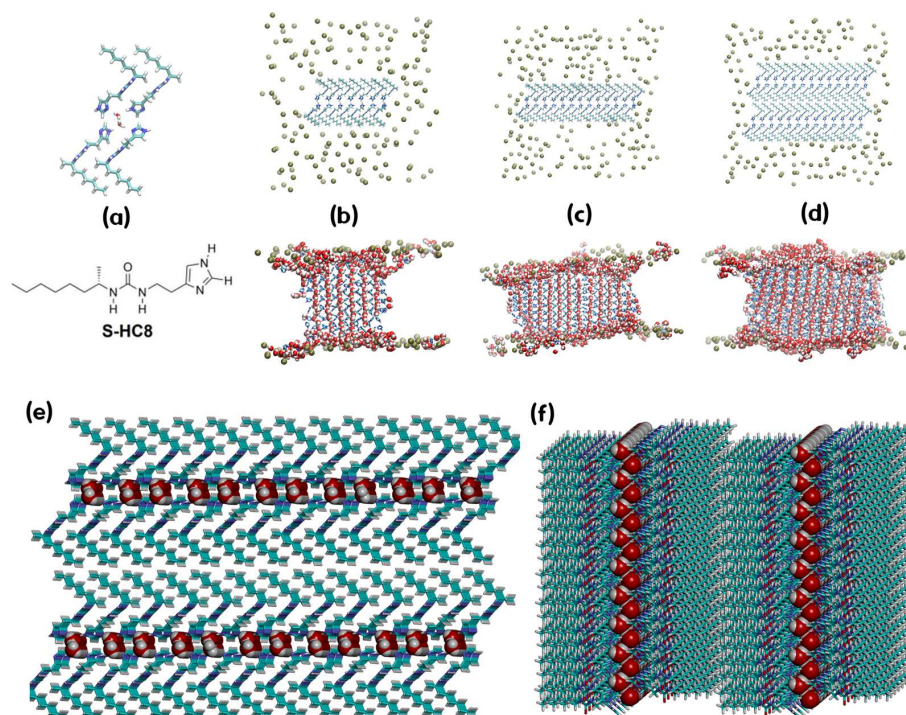


FIG. 1. Initial aggregation setups for molecular dynamics simulations. (a) Top view in stick representation (N: blue, C: cyan, O: red, and H: white) of the water confined I-quartet x-ray single-crystal structures of S-HC8. [(b)–(d)] Views of the initial frame (top) and lateral view of the final frame (bottom) of molecular dynamics simulations built with, respectively, 6, 12, and 2×12 pre-formed channels. Only the molecules of the S-HC8 compound and the phosphorus atoms of the lipids are represented in the upper panels; water molecules close to S-HC8 compounds, imidazole polar heads, and the phosphorus atoms of the lipid headgroups are shown in the bottom panels. Hydrophobic tails of the S-HC8 compound and all lipids are omitted in these pictures for clarity. (e) Top and (f) lateral view crystal packing chiral non-centrosymmetric S-HC8 confining oriented water-wires with a unique dipolar orientation for total water-filled I-quartet channels.

Three baths (S-HC8, lipids, and water and ions) were coupled to a temperature of 310 K using the Nosé–Hoover thermostat¹⁸ with a time constant $\tau = 1$ ps and a chain length of 4. Pressure in the x/y dimensions was scaled isotropically with a Parrinello–Rahman barostat¹⁹ at 1 bar, and the z dimension was coupled independently to a reference pressure of 1 bar, $\tau = 5.0$ ps, and a compressibility of $4.5 \cdot 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$. All systems were minimized for 5000 steps with the steepest descent algorithm and equilibrated for 2 ns, using decreasing position restraints of 1000, 400, 200, 100, and $40 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{-2}$ on heavy atoms, with the crystal structure as a reference. Production runs were finally computed without any position restraints during 2000 ns. The choice to extend the simulation time up to 3000 ns for larger systems (see Table S1) was motivated by the slow convergence of root-mean-square deviation (RMSD) and the permeation rate (see the [supplementary material](#), Figs. S1 and S2).

D. Enhanced sampling of conformational sub-states

Enhanced sampling simulations using REST2 (solute tempering^{20,21}) methods have been used to improve the quality of the

sampling. This method has only been applied to the 12ch simulation. Indeed, subtle changes in the RMSD of central channels observed in prior simulations suggested that conformational transitions may arise in such a large system (see the [supplementary material](#), Fig. S2), possibly leading to channel and conductance sub-states. We used 12 replicas and scaled the Hamiltonian terms for S-HC8 molecules, resulting in an effective temperature ranging from 310 to 400 K. The exchange frequency between replicas was set to 4 ps. Exchange probabilities are around 15% between almost all adjacent replicas, except for the last four replicas where exchange probabilities drop to 0 due to the dislocation of the whole patch.

E. Analysis

Locally written Python scripts using the MDAnalysis²² library were used to count the permeation events and assess structural features of the patch deformation. Local Tcl scripts and the Hbonds plugin from the VMD²³ software were used to compute RMSD values and the mean number of hydrogen bonds (HBs). The images were produced with VMD. RMSD calculations are relative to the

x-ray structure coordinates used as a reference, unless otherwise stated. Radius profiles were computed using Hole²⁴ with AMBER united atom radii.²⁵ A trajectory clustering analysis based on the GROMOS method²⁶ was performed with the Gromacs toolbox on the set of configurations sampled by the REST2 simulations. In the clustering method, RMSD is computed with respect to the first frame of the REST2 simulation. This reference structure corresponds to the last frame of the 12ch simulation.

To locate permeation events with respect to the S-HC8 channels, we tracked each water molecule’s trajectory, computing its distance to the channel center of mass (COM) in the membrane plane. The time of a permeation event is defined by the interval of the water molecule crossing the boundary of the channel region delimited by the average position of phosphorus atoms from lipids along the membrane-normal z axis. In central channels, the channel profile is spatially fluctuating between wide and narrow pores along the z axis. Therefore, the mean pore radius was obtained by averaging the radius profile over 60% of the central part of the total height of the channel. Variance of the radius along the z axis provides an additional clue about the local size of the pores lining the channel. To be able to accurately distinguish channel conformations, all radius data were averaged over an evenly weighted window of 10 ns. For the cross analysis of the mean pore radius, mean number of hydrogen bonds, and permeation rate, we considered the average permeation rate of each channel using a Hanning time window of 200 ns applied before the permeation time. We verified that changing the position and duration of the time window average has no significant effect on the results. This particular choice improves the distinction between active and inactive channels. For hydrogen bond calculations, we aligned the system using the imidazole headgroup coordinates lining the channel of interest and we considered the number of water molecules in a cylinder of height 28 Å and radius 5 Å centered in the channel center of mass (COM). Because of the high stability of central channels, this approach guarantees that no water molecules from the upper and lower mouths of the channel and from adjacent channels are counted. We counted the hydrogen bond interactions between water molecules themselves ($\text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{O}$), between water and amine nitrogen acceptors from imidazoles lining the channel ($\text{H}_2\text{O} \leftarrow \text{Imid}$), between water and protonated nitrogen donors from imidazoles lining the channel ($\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Imid}$), and between water and lipid molecules ($\text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{lip}$).

III. RESULTS

A. Effect of size and geometry of the channel patches on water conductance

In this first section, we quantify the average water conductance in the simulated artificial channel systems normalized with respect to the number of effective channels, including the peripheral pores at the edge in direct contact with the lipid membrane. The water permeation dynamics is reported in Fig. 2 for each system as a function of time. After a transient fast increase, the permeation reaches a steady regime well described by a linear behavior. It is worth noting that for all but one of the systems, the steady behavior is reached after 700 ns [see the supplementary material, Figs. S1(c) and S1(d)], while the largest one ($2 \times 12\text{ch}$) shows a clear change in conductance after 2 μs . The time evolution of the conductance regime is characterized

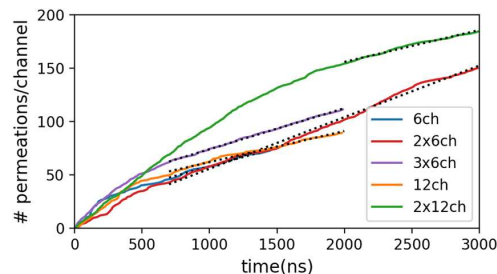


FIG. 2. Time series of the number of permeation events normalized over the total number of pre-formed S-HC8 channels in the membrane. Achieving a constant permeation rate after an initial time offset provides a simple measure that the system reaches a converged transport state. Water conductance values associated with each simulation are reported in Table I.

by block analysis and reported in the supplementary material, Fig. S1(d).

It is important to point out that the simulations start from *ad hoc* designed patches built from a crystal template and inserted in the membrane. Both lipid rearrangement and S-HC8 molecule reorientation (see the supplementary material, Figs. S1 and S2) take place in the transient phase. Once the structure is stabilized, an average conductance per channel can be extracted from the slope measured in the linear regime (see Table I), which is within the range of $15\text{--}23 \times 10^6 \text{ H}_2\text{O}/\text{s}/\text{channel}$. It should be noted that the actual calculated conductance rate overestimates over one order of magnitude the experimentally observed value. One reason for this discrepancy may be the relative importance of lateral over central channels because of the relatively small system size simulated. Patches in the experimental systems—for which no size measurements currently exist—may well be significantly larger, with a major fraction of “central” channels, thereby reducing the discrepancy between computationally predicted and experimentally measured permeation rates. Furthermore, we previously underlined the strong dependence of the

TABLE I. Water conductance values along one direction reported for the set of plain MD simulations. Results from previous experimental measurements are provided for comparison. Water conductance values are computed using the number of permeation events in a time window normalized by the number of effective channels in the pre-formed crystal patch and divided by a factor of 2 to account for unidirectional flow.

Simulation	No. of effective channels	Conductance ($\times 10^6 \text{ H}_2\text{O}/\text{s}/\text{channel}$)
6ch	8	19
$2 \times 6\text{ch}$	14	24
$3 \times 6\text{ch}$	24	19
12ch	14	14
$2 \times 12\text{ch}$	28	15 ^a
exp ⁵	...	1.4

^aConductance computed in the interval (2–3 μs); during the equilibration interval (1–2 μs), the conductance is higher: $31.10^6 \text{ H}_2\text{O}/\text{s}/\text{channel}$.

quantitative measurements of such simulations on the force field and the water model.²⁷ Note that the conductance of lateral channels is consistent with previous studies, with small differences due to the lack of statistics at this that¹¹ (see the [supplementary material](#), Table S2). For central channels, discrepancies with previous studies arise as we detected a new pattern of increased conduction we were not observing in smaller systems. Visual inspection suggests that new conformational sub-states may be responsible for the higher permeation regime of the central channels. We will investigate this conformational parameter separately from the crystal patch size parameter influence. It should, however, be noted that these putative sub-states were only observed for the larger aggregates, which might condition the occurrence of these states.

As we reported in previous studies,^{11,27} permeation events mainly occur through lateral and exposed channels in contact with lipids. Nevertheless, some distinct patterns of central permeation appear in the larger systems. All central channels found in the crystal structures remain hydrated during the whole simulation time, but only a few ones stay in an active conducting regime characterized by a permeability comparable to that of the lateral channels. In some cases, central channels undergo a series of transitions from an active to an inactive conformation with a broad distribution of conducting times between 100 and 1800 ns (see the [supplementary material](#), Fig. S3). Furthermore, the overall permeation of the central and lateral channels reaches the steady regime at different times (see the [supplementary material](#), Fig. S1).

These results indicate that the channel assisted water transport across the membrane involves multiple timescales, each associated with different molecular relaxation and stabilization mechanisms.

B. Patterns of permeation

We now turn our attention more specifically to the pattern of water transport. In [Fig. 3](#), we report water permeation for individual channels and its spatial localization with respect to the membrane surface for the representative systems 6ch, 12ch, and 2×12 ch.

The permeation along the channels at the edge of the patch involves a broad spread in the locations in the x - y plane. This variability results from the higher mobility and relative rotation of the external molecules, forming the patch within the upper and lower membrane leaflets.

Second, it is worth noting that the flux of water is balanced along both directions, confirming that the diffusion process is operating under equilibrium. While the low level of permeation in the central channels for the small system 6ch has already been reported,¹¹ we present here for the first time the emergence of conduction patterns in the central core of the larger assemblies. For systems 12ch and 2×12 ch, the water transport is localized at specific locations, presenting an almost regular alternation among individual or a pair of conducting channels with non-conducting ones. The patterns are well represented by the water transport magnitude shown in the bottom panels of [Fig. 3](#). The level of water conduction reported in the central part of the large 12ch and 2×12 ch systems matches that quantified *in silico* for another artificial channel-forming molecule studied in the past, R-HC8.¹¹

C. Enhanced sampling for central channel activation

We observed a long relaxation time for the 12ch setup system until the steady regime for conductance was attained. To address this

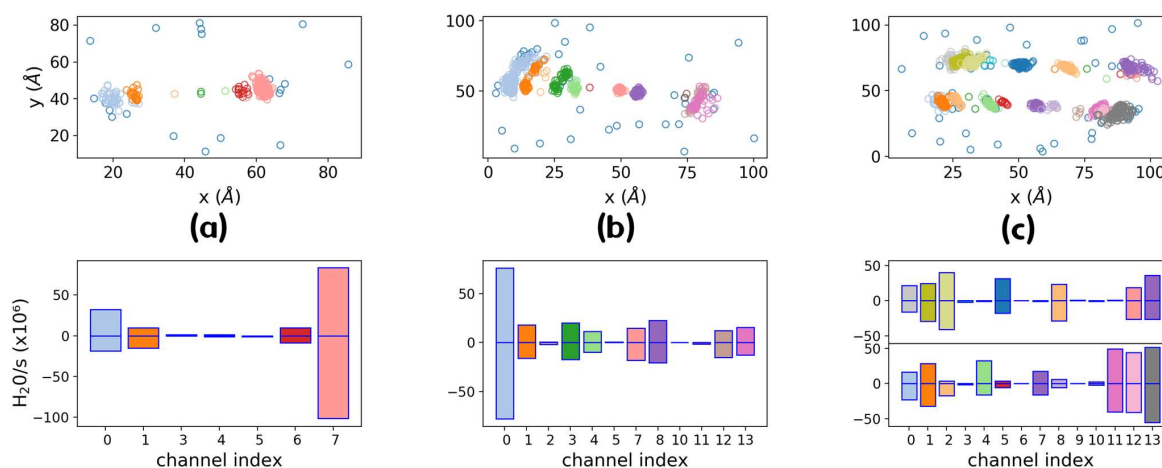


FIG. 3. Water permeation event distribution normalized over the time window on which total water conductance is considered as constant in time; see [Fig. 2](#). Permeation event distribution in the plane of the membrane (top panels) and water conductance per channel (lower panels; looking down on the membrane plane with channels horizontally aligned) for systems 6ch (a), 12ch (b), and 2×12 ch (c). Data collection has been initiated after the same threshold as used for the calculation of the total conductance; see [Fig. 1](#). Positive and negative values account for permeation events that take place in both directions across the membrane. Figuratively speaking, this would correspond to water molecules coming out of or going into this sheet of paper in the top row pictorial representation. Channel indices follow the spatial arrangement from left to right; the channels at the ends of each row are effective channels delimited by both lipid and S-HC8 molecules (e.g., channel ID 0 and 7 for simulation 6ch). A unique color is associated with each channel ID, for consistent labeling and identification of the channel in both upper and lower panels.

issue, we resorted to enhanced sampling simulations. This strategy allowed us to explore how the average conduction and the emerging pattern for central channel activation depend on the initial configuration of the patch, independently of the block size effect. For this purpose, we performed REST2 simulations as detailed in Sec. II. From the generated trajectories at effective temperatures ranging from 310 to 348 K, we quantified the deformation of the patch by computing the root-mean-square displacement of the atoms forming the central channel (index 7) with respect to the initial configuration. The resulting distribution is plotted in Fig. 4(a). For the lowest effective temperature, the RMSD distribution shows two main peaks at around 0.7 and 1 Å with a third state appearing at 1.6 Å. Raising the temperature enables sampling of more distorted configurations as visible by the increased populations of states at higher RMSD values. By performing a clustering procedure based on the RMSD metric, we extracted three representative states of the patch's conformational landscape [star symbols in Fig. 4(a)]. Starting new simulations for each of these configurations, we performed brute force MD

and quantified individual channel conductance. The final results are reported in Fig. 4(a), showing that different water transport patterns exist depending on the initial conformational state. In system 12ch^a similarly to what was observed starting from the x-ray configuration, both central channels allow for permeation, while for systems 12ch^{b,c}, only one of the central channels is activated for water conduction that can be as high as that measured in lateral channels (see 12ch^b). The overall average per channel conductance computed over the whole system varies between 5.8 and 12 × 10⁶ H₂O/s/channel; see the [supplementary material](#), Table S2. Finally, we observe that the activation of the water transport depends on the size of the channel. This is evident by following in parallel the time evolution of the pore radius and of water transport. This correlation is presented in Fig. 4(c) for the 12ch^{a,b,c} systems. The plotted timelines seem to indicate the existence of a threshold. For pore sizes larger than 1.4 Å, the channel is activated for water transport, while for smaller pore radii, it is not. This correlation will be discussed in detail in Sec. III D.

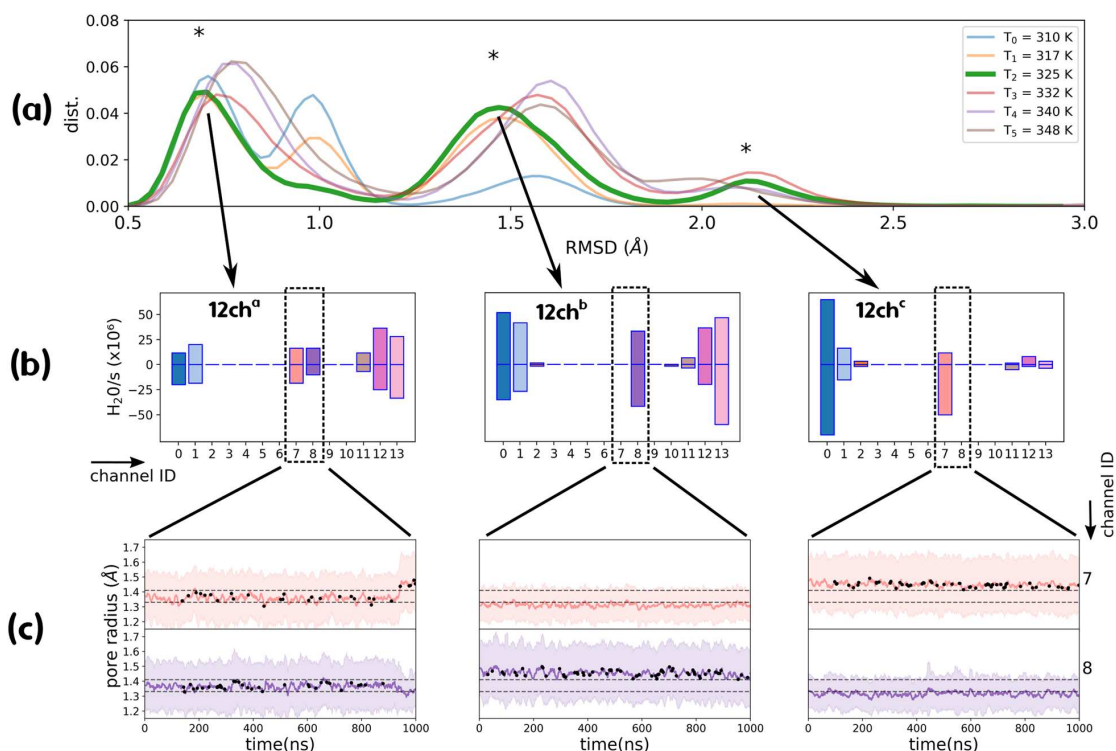


FIG. 4. (a) RMSD distribution of the imidazole headgroup structure of channel ID 7 in the 12ch simulation during a 90 ns-long REST2 simulation. Each line accounts for a different replica with lowered energy barriers or equivalent high temperature for atoms belonging to the channel. The third replica simulation at $T_2 = 325$ K (thick green line) was used as seed for three independent simulations. Starting structures were obtained after RMSD clustering and are indicated by an * symbol, (a)]. Left, middle, and right panels correspond to each of the three independent MD simulations (^a, ^b, ^c) starting from three initial structures (see the [supplementary material](#), Fig. S4) with respective RMSDs of 0.7, 1.4, and 2.1 Å. (c) Timelines of the mean pore radius (pink and mauve lines) and spatial fluctuations of the pore profile (pink and mauve colored backgrounds) in selected central channels (ID 7 and 8) of the three MD simulations mentioned above and shown in (b). Superimposed black dots indicate permeation events in the corresponding channel.

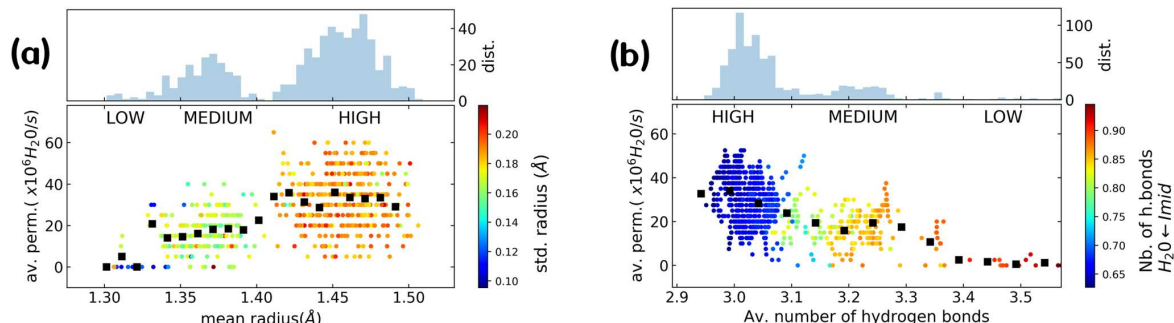


FIG. 5. Averaged water conductance over a constant time window of 200 ns prior to each permeation event accounted for in central channels with respect to its mean pore radius [(a), lower panel] and the mean number of hydrogen bonds of water molecules [(b), lower panel] and their corresponding distribution in the dataset (upper panels). Statistical data have been collected over all simulations reported in the [supplementary material](#), Table S1. The reported observables have been first computed at each nanosecond frame of the simulation, and the point values reported result from a Hanning window averaging during 200 ns. In (a), as the pore profile may vary along the z axis, the mean pore radius is a spatial mean value. Spatial fluctuations are also encoded in standard deviation of pore radius (colored scale). In (b), the mean number of hydrogen bonds is computed from all the hydrogen bonds that water can form in a central channel, namely, with imidazole donors and acceptors, water molecules, and lipids (eventually zero). The coloring map refers to particular cases of imidazole donor–water hydrogen bonds that play a role in the transport activity.

D. Correlation among permeation event, pore size and hydrogen bond connectivity

In this final section, we explore the correlation among permeation events, water molecular packing, and hydrogen bond connectivity inside the pores. We use the whole set of simulations to gather an extended body of statistical data. The results of our investigation are shown in [Fig. 5](#). In [Fig. 5\(a\)](#), each permeation event is associated with the average pore radius experienced by the diffusing water and shown in a scatter plot where the color of each event indicates the pore radius variance estimated during the time window of the permeation. The data reveal the existence of three distinct permeation regimes.

A low permeation regime accounts for rare translocation events through narrow channels with water molecules mainly organized in a single-file wire. In these structures, as well as in non-conducting channels, each water molecule forms on average 3.46 ± 0.24 hydrogen bonds with the imidazole groups and with other waters ($\text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{O}$: 1.62 ± 0.18 , $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Imid}$: 0.93 ± 0.09 , and $\text{H}_2\text{O} \leftarrow \text{Imid}$: 0.90 ± 0.10) (see the [supplementary material](#), [Fig. S5](#)), thus experiencing a connectivity similar to a water molecule in bulk solution. In our previous study,¹¹ we already identified such slow processes, which can be due to rare permutations between two molecules in an almost perfect single-file conformation. The statistics of these rare events, however, remain very poor and insufficient to quantify precisely the single-channel permeability on this regime.

The medium and high permeation regimes share similar features. They occur when the pore radius exceeds a threshold value of ~ 1.34 Å. The high conductance regime is associated with larger pore sizes, with the pore radius averaging around 1.45 Å and experiencing larger fluctuations. The large fluctuations of the pore radius along the channel axis are accompanied by the local breaking of the water single-file wire. The associate fluctuations of the water dipolar orientation enable some water molecules to create exclusive contacts with the channel molecules at the expense of the

contact with water molecules, leading to an increase in the number of water molecules in the channel, with decreasing HB connectivity, and therefore resulting in single-channel permeability on the order of 30×10^6 $\text{H}_2\text{O}/\text{s}/\text{channel}$.

In this regime, the diffusing water molecules experience the weakest HB connectivity, with the average number of formed HB of 3.07 ± 0.10 ($\text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{O}$: 1.33 ± 0.06 , $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Imid}$: 1.04 ± 0.04 , and $\text{H}_2\text{O} \leftarrow \text{Imid}$: 0.70 ± 0.08).

By visual inspection, we saw that high permeation rates were triggered by a quick reorientation of both concerted water molecules in the channel and imidazole hydrophilic heads. Furthermore, the transition from the “medium” to “high” state of permeation arises when one of the two channels stops conducting, while the other one becomes highly permeable (see the [supplementary material](#), [Fig. S6](#)). This observation suggests a strong coupling between the transport activity of two adjacent channels (in a given row), and the larger dimension of one pore that allows for high permeability constrains the dimension of the neighboring one, forcing it to lower transport activity. We did not witness a similar effect in the perpendicular direction between adjacent rows. A detailed molecular representation of the permeation process is reported in the [supplementary material](#), [Fig. S7](#).

IV. CONCLUSION

During the last two decades, the water structure in confined environments has been extensively studied in the framework of nanotubes,^{28,29} hydrophobic pores,³⁰ and artificial hydrophobic channels.² The low friction in hydrophobic pores results in a high water permeability, comparable to Aquaporin channels found in nature (10^9 $\text{H}_2\text{O}/\text{s}/\text{channel}$). To our knowledge, no significant improvement has been achieved in numerical studies of hydrophilic pores. In such confined hydrophilic environments, the water structure is ordered in single-file wires and high friction due to hydrogen bond connectivity with molecules of the pore walls results in

a much smaller water conductance (10^6 H₂O/*s/channel*). Yet, we reported in the actual study a possible enhanced transport of water through subnanometric hydrophilic pores with a conductance of 30×10^6 H₂O/*s/channel*. Using molecular dynamics simulations and an enhanced sampling approach, we were able to characterize several permeation regimes. High conduction regimes are associated with an increase in the pore radius up to 1.45 Å. This widening coincides with a local perturbation of single-file wires and a smaller number of hydrogen bonds compared to the bulk or inactive channels. The number of hydrogen bonds that water molecules can form in biological channels such as Aquaporins is a major determinant for the osmotic single-channel permeability for single-water wires.^{9,31}

Interestingly, we noticed that the value of per channel water permeation strongly varies along the patch, with very high values generally observed at the extremities. At the extremities, the conductance is much higher than the experimentally reported one, whereas it is quite comparable in central channels. For now, we do not exactly know the size of the aggregates inserted in the membrane, but we can expect that for large nanoscopic structures, the dominating contribution to the overall permeability will be given by central regions, as expected by comparing the value of conductance.

Although we restricted ourselves to equilibrium conditions, we observed a similar effect in the case of AWCs based on self-assembled systems in which highly ordered channels can undergo conformational changes with a favored state with a low number of hydrogen bonds. However, these structural changes in water have to be challenged under non-equilibrium conditions such as electrical fields and osmotic and hydrostatic pressure.^{32–34} A coarse-grained approach^{35,36} applied to the specific treatment of synthetic materials would be necessary to access significantly longer timescales and to probe scalability for the future applications in inverse osmosis and ultrafiltration devices.^{37,38}

SUPPLEMENTARY MATERIAL

See the [supplementary material](#) for the summary of data performed, water conductance values, number of permeations per channel, stability of the membranes and their lifetimes, and statistics of H-bonding.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Fabio Sterpone, Mihail Barboiu, and Marc Baaden contributed equally to this work.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Agence Nationale de la Recherche under Grant Nos. ANR-18-CE06-0004-02, WATER-CHANNELS. Computational work was performed using HPC resources from GENCI (Grant No. A0070701714) and from LBT-HPC, thanks to the support from Geoffrey Letessier. This work was supported by the "Initiative d'Excellence" program from the French state (Grant Nos. "DYNAMO," ANR-11-LABX-0011, "CACSI," ANR-11-EQPX-0008). Ma.B. thanks Sesame Ile-de-France for co-funding the display wall used for data analysis.

DATA AVAILABILITY

The data that support the findings of this study are available within the article and its [supplementary material](#).

REFERENCES

- F. Fornasiero, H. G. Park, J. K. Holt, M. Stadermann, C. P. Grigoropoulos, A. Noy, and O. Bakajin, "Ion exclusion by sub-2-nm carbon nanotube pores," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 17250–17255 (2008).
- Y.-x. Shen, W. Si, M. Erbakan, K. Decker, R. De Zorzi, P. O. Saboe, Y. J. Kang, S. Majd, P. J. Butler, T. Walz, A. Aksimentiev, J.-I. Hou, and M. Kumar, "Highly permeable artificial water channels that can self-assemble into two-dimensional arrays," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **112**, 9810–9815 (2015).
- X.-B. Hu, Z. Chen, G. Tang, J.-L. Hou, and Z.-T. Li, "Single-molecular Artificial transmembrane water channels," *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 8384–8387 (2012).
- X. Zhou, G. Liu, K. Yamato, Y. Shen, R. Cheng, X. Wei, W. Bai, Y. Gao, H. Li, Y. Liu, F. Liu, D. M. Czajkowsky, J. Wang, M. J. Dabney, Z. Cai, J. Hu, F. V. Bright, L. He, X. C. Zeng, Z. Shao, and B. Gong, "Self-assembling subnanometer pores with unusual mass-transport properties," *Nat. Commun.* **3**, 949 (2012).
- E. Licsandru, I. Kocsis, Y.-x. Shen, S. Murail, Y.-M. Legrand, A. van der Lee, D. Tsai, M. Baaden, M. Kumar, and M. Barboiu, "Salt-excluding artificial water channels exhibiting enhanced dipolar water and proton translocation," *J. Am. Chem. Soc.* **138**, 5403–5409 (2016).
- Y. D. Yuan, J. Dong, J. Liu, D. Zhao, H. Wu, W. Zhou, H. X. Gan, Y. W. Tong, J. Jiang, and D. Zhao, "Porous organic cages as synthetic water channels," *Nat. Commun.* **11**, 4927 (2020).
- J. Shen, R. Ye, A. Romanies, A. Roy, F. Chen, C. Ren, Z. Liu, and H. Zeng, "Aquafoldmer-based aquaporin-like synthetic water channel," *J. Am. Chem. Soc.* **142**, 10050–10058 (2020).
- L. B. Huang, M. Di Vincenzo, Y. Li, and M. Barboiu, "Artificial water channels: Towards biomimetic membranes for desalination," *Chemistry* **27**, 2224 (2020).
- A. Horner and P. Pohl, "Single-file transport of water through membrane channels," *Faraday Discuss.* **209**, 9–33 (2018).
- I. Kocsis, M. Sorci, H. Vanselous, S. Murail, S. E. Sanders, E. Licsandru, Y.-M. Legrand, A. van der Lee, M. Baaden, P. B. Petersen, G. Belfort, and M. Barboiu, "Oriented chiral water wires in artificial transmembrane channels," *Sci. Adv.* **4**, eaao5603 (2018).
- S. Murail, T. Vasiliu, A. Neamtu, M. Barboiu, F. Sterpone, and M. Baaden, "Water permeation across artificial I-quartet membrane channels: From structure to disorder," *Faraday Discuss.* **209**, 125–148 (2018).
- J. B. Klauda, R. M. Venable, J. A. Freites, J. W. O'Connor, D. J. Tobias, C. Mondragon-Ramirez, I. Vorobyov, A. D. MacKerell, and R. W. Pastor, "Update of the CHARMM all-atom additive force field for lipids: Validation on six lipid types," *J. Phys. Chem. B* **114**, 7830–7843 (2010).
- W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, and M. L. Klein, "Comparison of simple potential functions for simulating liquid water," *J. Chem. Phys.* **79**, 926–935 (1983).
- K. Vanommeslaeghe and A. D. MacKerell, "Automation of the CHARMM general force field (CGenFF) I: Bond perception and atom typing," *J. Chem. Inf. Model.* **52**, 3144–3154 (2012).
- S. Jo, T. Kim, V. G. Iyer, and W. Im, "CHARMM-GUI: A web-based graphical user interface for CHARMM," *J. Comput. Chem.* **29**, 1859–1865 (2008).
- S. Kim, J. Lee, S. Jo, C. L. Brooks, H. S. Lee, and W. Im, "CHARMM-GUI ligand reader and modeler for CHARMM force field generation of small molecules," *J. Comput. Chem.* **38**, 1879–1886 (2017).
- B. Hess, H. Bekker, H. J. C. Berendsen, and J. G. E. M. Fraaije, "LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations," *J. Comput. Chem.* **18**, 1463–1472 (1997).
- S. D. Bond, B. J. Leimkuhler, and B. B. Laird, "The Nosé-Poincaré method for constant temperature molecular dynamics," *J. Comput. Phys.* **151**, 114–134 (1999).
- M. Parrinello and A. Rahman, "Crystal structure and pair potentials: A molecular-dynamics study," *Phys. Rev. Lett.* **45**, 1196–1199 (1980).

- ²⁰L. Wang, R. A. Friesner, and B. J. Berne, "Replica exchange with solute scaling: A more efficient version of replica exchange with solute tempering (REST₂)," *J. Phys. Chem. B* **115**, 9431–9438 (2011).
- ²¹G. Stirnemann and F. Sterpone, "Recovering protein thermal stability using all-atom Hamiltonian replica-exchange simulations in explicit solvent," *J. Chem. Theory Comput.* **11**, 5573–5577 (2015).
- ²²N. Michaud-Agrawal, E. J. Denning, T. B. Woolf, and O. Beckstein, "MDAnalysis: A toolkit for the analysis of molecular dynamics simulations," *J. Comput. Chem.* **32**, 2319–2327 (2011).
- ²³W. Humphrey, A. Dalke, and K. Schulten, "VMD: Visual molecular dynamics," *J. Mol. Graphics* **14**, 33–38 (1996).
- ²⁴O. S. Smart, J. G. Neduveilil, X. Wang, B. A. Wallace, and M. S. P. Sansom, "HOLE: A program for the analysis of the pore dimensions of ion channel structural models," *J. Mol. Graphics* **14**, 354–360 (1996).
- ²⁵S. J. Weiner, P. A. Kollman, D. A. Case, U. C. Singh, C. Ghio, G. Alagona, S. Profeta, and P. Weiner, "A new force field for molecular mechanical simulation of nucleic acids and proteins," *J. Am. Chem. Soc.* **106**, 765–784 (1984).
- ²⁶X. Daura, K. Gademann, B. Jaun, D. Seebach, W. F. van Gunsteren, and A. E. Mark, "Peptide folding: When simulation meets experiment," *Angew. Chem., Int. Ed.* **38**, 236–240 (1999).
- ²⁷A. Hardiagon, S. Murail, L. Huang, M. Barboiu, F. Sterpone, and M. Baaden, "Stability and structure of adaptive self-organized supramolecular artificial water channels in lipid bilayers," in *New Trends in Macromolecular and Supramolecular Chemistry for Biological Applications* (Springer, 2020).
- ²⁸F. Zhu and K. Schulten, "Water and proton conduction through carbon nanotubes as models for biological channels," *Biophys. J.* **85**, 236–244 (2003).
- ²⁹A. Alexiadis and S. Kassinos, "Molecular simulation of water in carbon nanotubes," *Chem. Rev.* **108**, 5014 (2008).
- ³⁰O. Beckstein, P. C. Biggin, and M. S. P. Sansom, "A hydrophobic gating mechanism for nanopores," *J. Phys. Chem. B* **105**, 12902–12905 (2001).
- ³¹A. Horner, F. Zocher, J. Preiner, N. Ollinger, C. Siligan, S. A. Akimov, and P. Pohl, "The mobility of single-file water molecules is governed by the number of H-bonds they may form with channel-lining residues," *Sci. Adv.* **1**, e1400083 (2015).
- ³²A. Kalra, S. Garde, and G. Hummer, "Osmotic water transport through carbon nanotube membranes," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **100**, 10175–10180 (2003).
- ³³H. Yoshida, S. Marbach, and L. Bocquet, "Osmotic and diffusio-osmotic flow generation at high solute concentration. II. Molecular dynamics simulations," *J. Chem. Phys.* **146**, 194702 (2017); [arXiv: 1703.02759](https://arxiv.org/abs/1703.02759).
- ³⁴J. Dzubiella, R. J. Allen, and J.-P. Hansen, "Electric field-controlled water permeation coupled to ion transport through a nanopore," *J. Chem. Phys.* **120**, 5001–5004 (2004).
- ³⁵C. I. Lynch, S. Rao, and M. S. P. Sansom, "Water in nanopores and biological channels: A molecular simulation perspective," *Chem. Rev.* **120**, 10298–10335 (2020).
- ³⁶H. Chan and P. Král, "Nanoparticles self-assembly within lipid bilayers," *ACS Omega* **3**, 10631–10637 (2018).
- ³⁷M. Kumar, J. E. O. Habel, Y.-x. Shen, W. P. Meier, and T. Walz, "High-density reconstitution of functional water channels into vesicular and planar block copolymer membranes," *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 18631–18637 (2012).
- ³⁸Y.-x. Shen, W. Song, D. R. Barden, T. Ren, C. Lang, H. Feroz, C. B. Henderson, P. O. Saboe, D. Tsai, H. Yan, P. J. Butler, G. C. Bazan, W. A. Phillip, R. J. Hickey, P. S. Cremer, H. Vashisth, and M. Kumar, "Achieving high permeability and enhanced selectivity for Angstrom-scale separations using artificial water channel membranes," *Nat. Commun.* **9**, 2294 (2018).

Informations Supplémentaires

Supporting Information for

Molecular dynamics simulations reveal statistics and microscopic mechanisms of water permeation in a membrane-embedded artificial water channel nanoconstructs.

Arthur Hardiagon¹, Samuel Murail², Li-Bo Huang³, Arie van der Lee³, Fabio Sterpone^{1,4,5}, Mihail Barboiu and Marc Baaden^{1,4,5}

Simulation name	Dimensions of initial patch (ÅxÅ)	Number of compound molecules	Number of lipid molecules	compound/lipid ratio	Time length (ns)
6ch	54x29	300	300	0.37	1000
2x6ch	58x58	360	360	0.62	2000
3x6ch	61x85	260	260	1.29	2000
12ch	93x29	208	360	0.58	2000
2x12ch	96x57	304	344	0.88	3000
18ch	131x28	416	320	1.3	2000
12ch ^a	93x29	208	360	0.58	2000
12ch ^b	93x29	208	360	0.58	2000
12ch ^c	93x29	208	360	0.58	2000
REST2 (12 simulations)	93x29	208	360	0.58	90

Table S1. Summary of simulations performed.

Simulation	Conductance					
	all channels		lateral		central	
	N _{eff}	Cond . (x10 ⁶ H ₂ O/s/ch)	N _{eff}	Cond. (10 ⁶ H ₂ O/s/ch)	N _{eff}	Cond . (10 ⁶ H ₂ O/s/ch)
6ch	8	19.6	6	71.2	2	1.7
2x6ch	16	21.5	12	74.1	4	8.8
3x6ch	24	18.9	18	59.1	6	11.5
12ch	14	15.1	6	15.4	8	8.7
2x12ch	28	16.4	12	20.6	16	6.6
18ch	20	10.2	6	0.3	14	6.4
12ch ^a	14	12.1	6	13.8	8	5.2
12ch ^b	14	10.4	6	11.6	8	3.8
12ch ^c	14	5.8	6	4.7	8	3.3

Table S2. Water conductance values reported for the whole set of plain MD simulations. Water conductance values are computed using number of permeation events in a time window normalized by the number of effective channels (N_{eff}) in the pre-formed crystal patch. One should be noted that water flow in the central region of the patch where most of channels are non conductive is one order of magnitude lower than in lateral conductance. Nevertheless the above values do not reflect directly the fact that conductance of some of the central channels are comparable with the one in the lateral channels as it has been underlined in Results section of the paper (see also the particular case of 12ch^a in additional Fig. S6).

- 1 CNRS, Université de Paris, UPR 9080, Laboratoire de Biochimie Théorique, 13 rue Pierre et Marie Curie, F-75005, Paris, France.
- 2 Université de Paris, CNRS UMR 8251, INSERM ERL U1133, Paris, France
- 3 Institut Européen des Membranes, Adaptive Supramolecular Nanosystems Group, University of Montpellier, ENSCM, CNRS, Place Eugène Bataillon, CC 047, F-34095, Montpellier, France. Email: mihail-dumitru.barboiu@umontpellier.fr
- 4 Institut de Biologie Physico-Chimique-Fondation Edmond de Rothschild, PSL Research University, Paris, France.
- 5 co-corresponding authors

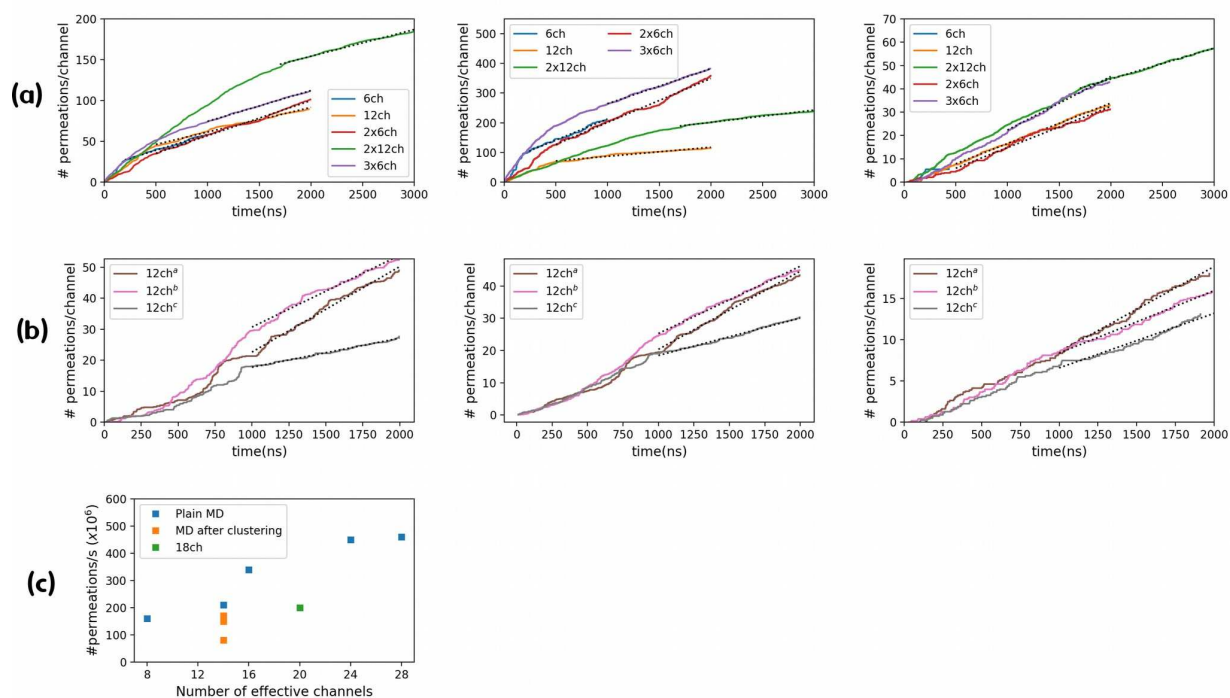


Figure S1. Number of permeations by channel in (a) simulations starting from X-ray structure, also referred as *plain MD simulations*, (b) simulations starting from structures extracted from enhanced sampling procedure, also referred as *plain MD after clustering* (b). Analysis is carrying on the whole set of channels (left), the lateral channels (middle) and the central channels (right). (c) Total conductance of all channels for each simulation system with respect to the number of effective channels. A recent result in the large system 18ch have been reported. It should be pointed out that this latter system undergo strong conformational changes due to dislocation effects during all the simulation time probed (2000ns), therefore its relatively low single-channel permeability is mostly explained by an overestimation of the number of channels based on the X-ray structures.

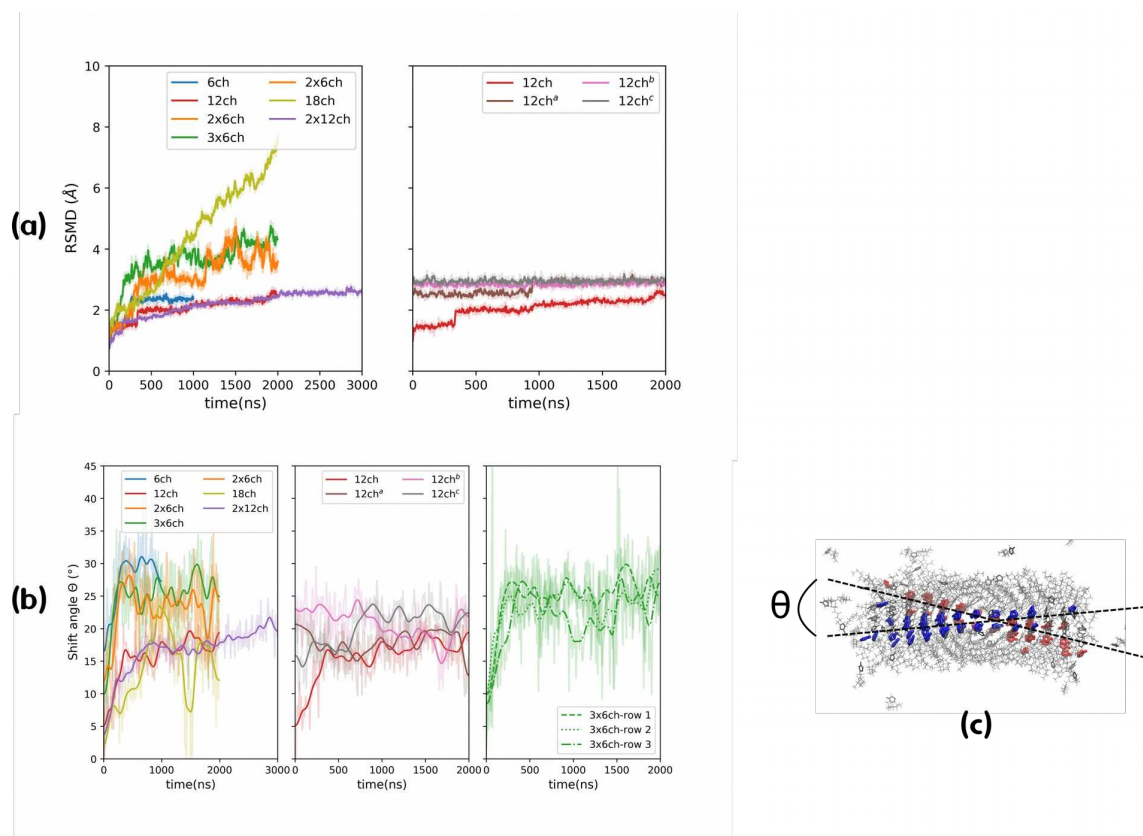


Figure S2. Stability of the membrane-inserted S-HC8 channels. (a) RMSD of I-quartet heavy atoms compared to the starting crystal structure, RMSD has been computed only on the most stable half of the S-HC8 molecules. Large fluctuations of RMSD for 2x6ch and 3x6ch simulations are identified as relative translation between each row of channel in the membrane plane. (b) Rotation angle between upper and lower slices of molecules of the patch. (c) top view of the patch structure in the last frame of simulation 12ch and definition of the rotation angle; blue and red atoms refer to respectively upper and lower slices of the headgroup atoms of the imidazole patch. In both panels a and b, background trace refers to the computation of the observables at each nanosecond when the bolded line refers to an averaging over 20 ns using a hanning window. To be noted that RMSD calculation (panel a) is carried on half of the imidazole molecules while the shift angle (panel b) is computed by linear regression of center of mass of each headgroup atoms in the upper and lower leaflets with no restriction to the half of the most stable molecules. This could explain why we observe large fluctuations in the measure of the shift angle. One should precise that data from a large system (18ch) have been added in the analysis of RMSD and rotation angle. In this system, the stability probed by RMSD measure is not achieved. Indeed we observed that the cohesion of the lateral sides of the patch was strongly affected by the dislocation of several channels into the membrane. Therefore we chose not to include this system in the cross statistics of average conductance, mean pore radius and HB connectivity.

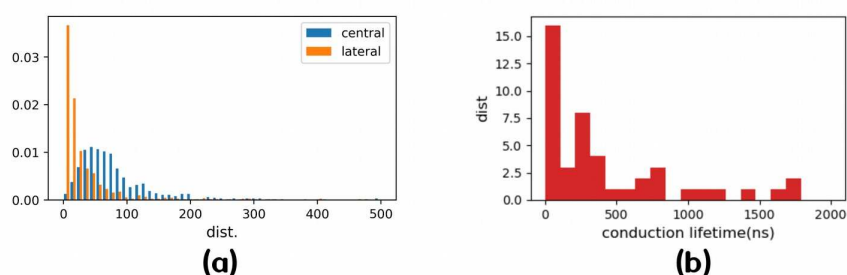


Figure S3. (a) Distribution of lifetimes of water channel that translocates through a channel. The lateral channels are composed by exposed channels to lipids and the first two pre-formed channel in each row. In exposed channels, water molecules do not structure in single-file but form transient clusters which explain the fast diffusion through the membrane and the distribution shape of lateral channel at small timescale. In other channels that keep the same shape than in the crystal form, water molecules form single-file wires, with a wider pore radius in the case of high conduction regime. (b) Distribution of lifetimes of central channel conformations associated with a high permeation rate (with mean pore radius larger than 1.42 Å) among the whole set of simulations. Statistics concerning the number of active channel with intermediate permeation rate is not sufficiently relevant. Two major examples in 12ch and 12ch^a contribute largely to the statistics of such permeation regime with respective lifetime of 2000 ns and 900 ns.

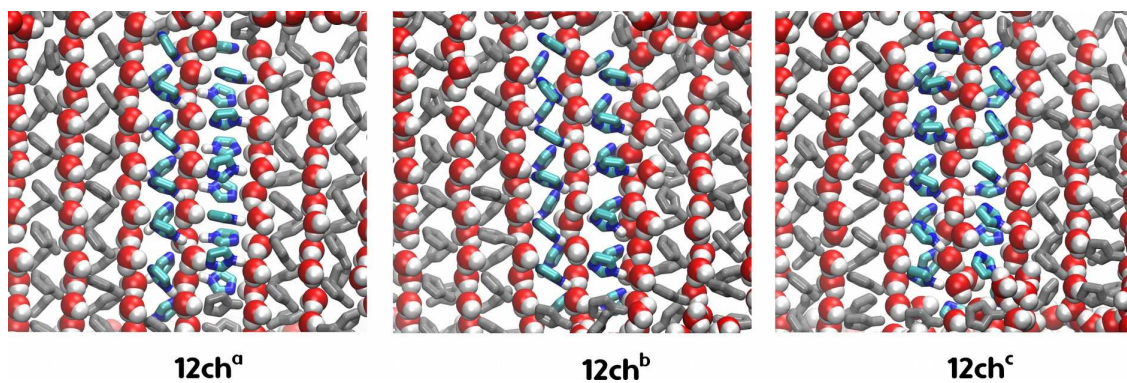


Figure S4. Initial structure based on a RMSD clustering pre-treatment of REST2 simulation. The unique channel considered here is highlighted in blue and correspond to most stable imidazole heads lining a central channel (7th in simulations 12ch^a, 12ch^b, 12ch^c). Water in the channels are in red and white, imidazole heads of the adjacent channels are colored in gray. Licorice representation is suitable to distinguish differences in the orientation of each column of imidazole heads.

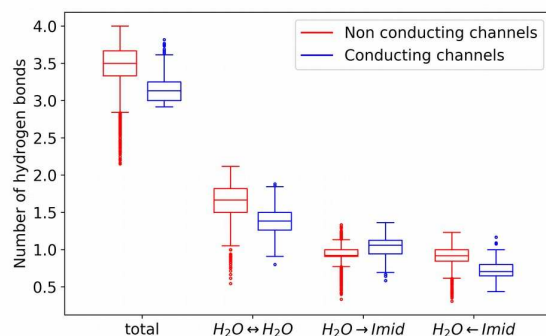


Figure S5. Statistics of mean number of hydrogen bonds in central channels. The analysis is carried during the time where the total permeation rate is constant. The values for conducting channels have been collected for times values where a permeation event is reported. The values for non conducting channels have been collected over all times separated by at least 200ns from a permeation event occurring in a central channel. This procedure avoid overlaps between time windows of conducting and non conducting activity. The size of the final dataset is respectively 63380 and 822 for conducting and non conducting channel.

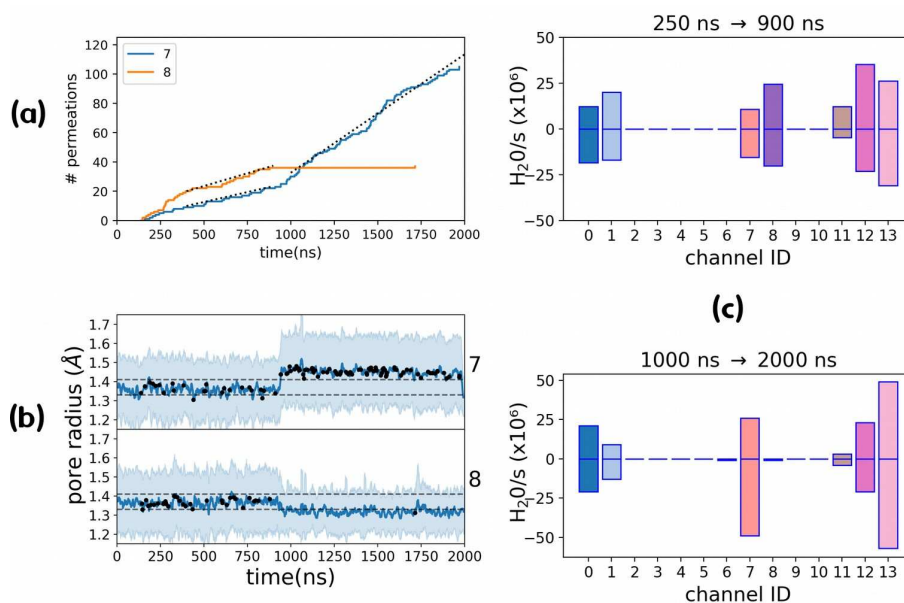


Figure S6. Transition between “medium” and “high state in channel ID 7-8 in simulation 12ch^a. (a) Timelines of the number of permeation events in both channel (a). Conductance in channel ID 7 vary from $13 \cdot 10^6$ H₂O/s/channel in the interval 250-900ns to $40 \cdot 10^6$ H₂O/s/channel in the interval 1000-2000 ns when the conductance in channel ID 8 varies from $17 \cdot 10^6$ H₂O/s/channel in the interval 250-900ns to almost 0 from 1000 ns (obtained from the linear regression in dashed line). (b) Permeation distribution of the corresponding simulation between both interval of time where permeation rate is constant. (c) Mean pore radius and variance during the simulation 12ch^a. Each black dot indicates a water permeation.

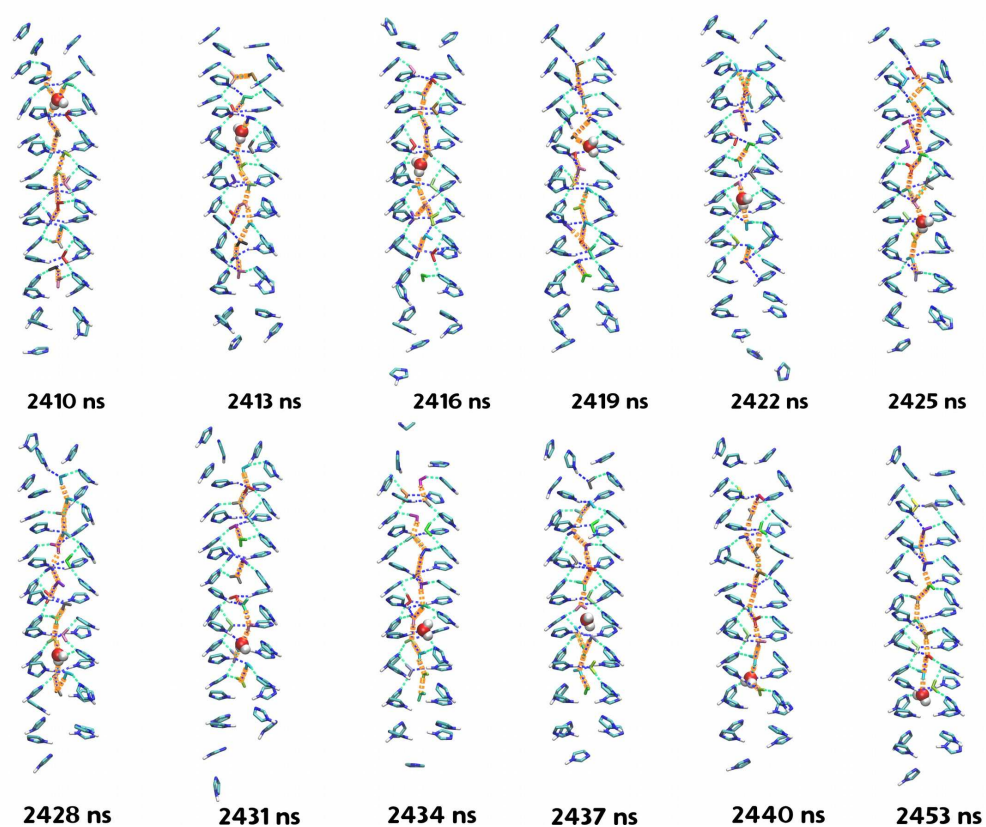


Figure S7. Snapshots of a permeation event in a central channel. The water molecule that cross the channel is shown in VDW representation. For convenience, a short translocation event (42 ns) have been chosen. Other water from the channels are colored with respect to the index of the molecule with a smaller representation for the sake of clarity. Hydrogen bonds between different donors and acceptors are distinguished using the same color codes as in Figure S4, i.e hydrogen bonds between water molecules in the channel with a thick orange dashed lines, between imidazole donor and water acceptor in blue and between imidazole acceptor and water donor in green.

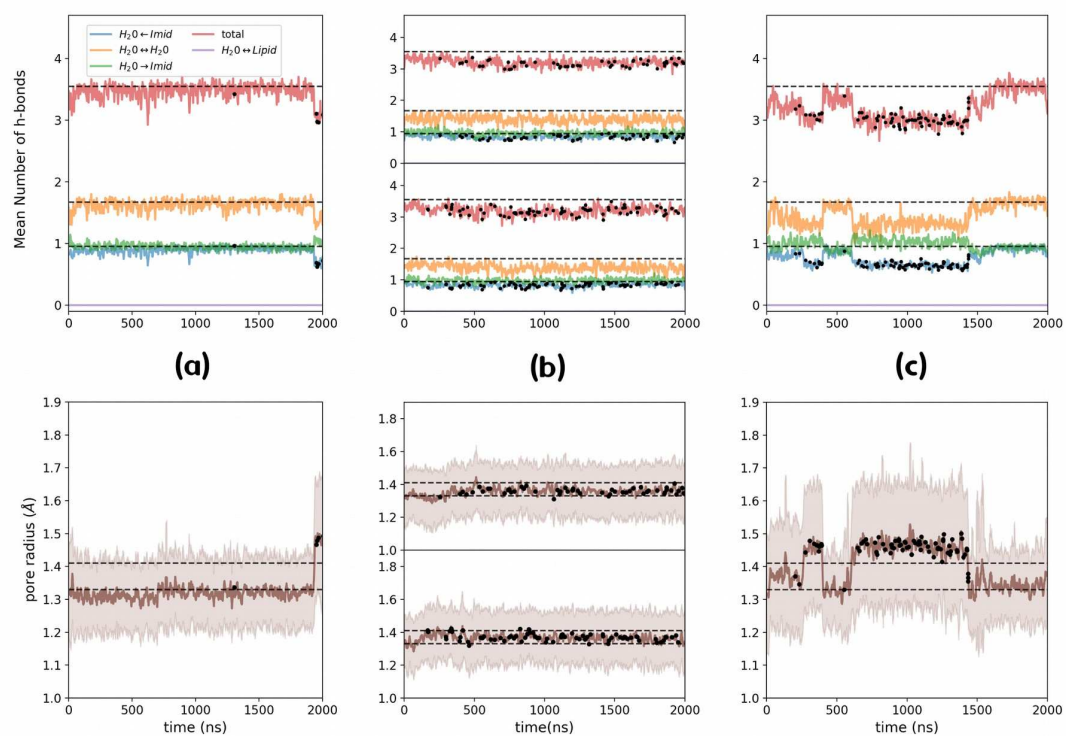


Figure S8. Timelines showing hydrogen bonds connectivity (upper panel) and mean pore radius (lower panel) in several central channels (a) “low/inactive” regime in 3x6ch – POR_004 (b) “medium” regime in 2x12ch – POR_007-POR_008 (c) “high” regime in 2x12ch – POR_008. Black dots indicates permeation events in the given channel. Dashed lines in upper panel relate to values of hydrogen bonds in inactive channels. Dashed lines in the lower channel refer to threshold values to distinguish low, medium and high regimes.

4.5 Discussion

Revenons tout d'abord sur les problématiques posées dans cette partie. Les études précédentes [61, 63] avaient montré comment la morphologie des canaux pouvaient influencer leur stabilité, en faisant varier la taille et la stéréochimie des composés *imidazoles*. Un point particulier avait été soulevé : dans les assemblages cristallins insérés dans la membrane lipidique, la zone à l'interface entre les molécules de lipides et les molécules des canaux forme des canaux latéraux d'eau dont la structure s'écarte des filets d'eau observés dans les couches internes du nanocristal. Les canaux latéraux contribuaient alors majoritairement à la perméabilité totale des assemblages. Une question naturelle se posait alors : la perméation a-t-elle lieu principalement dans les zones latérales ? Ainsi nous avons eu l'idée de mesurer la perméabilité totale des assemblages en fonction de la taille des assemblages, en réalisant une série de simulations décrites dans les études présentées dans cette partie. Le recours aux simulations est nécessaire dans ce cas, étant donné l'absence de données expérimentales sur la distribution de taille des nanoparticules dans les liposomes utilisées pour les expériences *stopped-flow*. Les études nous indiquent que la perméation des canaux centraux est toutefois observée dans des assemblages plus grands que ceux testés initialement. C'est très intéressant, car cela montre que des transitions fines peuvent avoir lieu au niveau local dans le nanocristal, et ainsi engendrer une hausse de la perméation. Nous avons rapproché les valeurs de conductance par canal en eau déterminée par notre méthode dans les simulations aux valeurs expérimentales dans les liposomes. Il se trouve que les simulations utilisant le champ de force CGenFF surestime d'un ordre de grandeur la valeur expérimentale. Tout d'abord, il est essentiel de rappeler que la mesure de la perméation dans les simulations est essentiellement statique et ne permet pas de modéliser le transport généré par une différence de pression osmotique. De plus, les simulations apportent des informations permettant de comparer la perméation de différentes structures, à condition de préciser le champ de force choisi. En effet, l'utilisation de paramètres GAFF pour les molécules de canaux a montré que ce champ de force a tendance à stabiliser la structure cristalline initiale, dont les canaux centraux sont très perméables. Dans le cas du champ de force CGenFF, les molécules des canaux sont plus sensibles aux fluctuations des composants de la membrane. Les canaux centraux sont plus fins et accueillent des filets d'eau très resserrés, empêchant le mouvement rapide de molécules de part et d'autre de la membrane.

Les transitions entre régime de perméation sont des événements rares dans ces structures gardant un ordre à longue distance. L'utilisation d'une méthode d'échantillonnage avancée REST2 a permis de parcourir l'espace des configurations de façon plus systématique. Nous avons ainsi pu utiliser la méthode de *clustering* par RMSD, originalement destinée à la caractérisation des conformations de protéines, pour regrouper des structures perméables générées par l'échantillonnage avancé.

Il est important de noter que l'hypothèse faite au début de cette partie est très forte : celle de l'existence de structures cristallines, à opposer à une structure *éponge*. D'un point de vue expérimental, la conductance d'un canal unique dans les liposomes est 1000 fois plus faible que celles des aquaporines ou d'autres canaux artificiels étudiés par nous et d'autres équipes. Nous pensons que ces valeurs relativement faibles sont principalement dues à la force du réseau de liaisons hydrogène dans les structures cristallines des nanocristaux *imi-*

dazoles, s'opposant à la mobilité des molécules d'eau.

Comme cela apparaît dans nos simulations, les zones à l'interface entre lipides et nanocristaux pourraient avoir un rôle important dans le processus d'auto-assemblage dans les liposomes. Des simulations en gros grain seraient envisageables pour comprendre la morphologie des canaux à l'échelle du liposome ($\sim 100\text{nm}$).

Un des points non abordés dans cette partie est la question de la sélectivité de la membrane. Expérimentalement, les résultats montrent que les assemblages *imidazoles* sont extrêmement peu perméables aux ions usuels, ainsi qu'aux ions H^+ . Dans toutes nos simulations, la membrane lipidique est préparée pour dans les conditions physiologiques de stabilité, avec une concentration de 0.15M en ions $\text{Na}^+ \text{Cl}^-$. Nous n'avons pas observé d'évènements de perméation d'ions. Cependant, pour tester la perméabilité des membranes aux ions, les systèmes doivent être préparés différemment. Ces aspects ont évoqué dans la précédente partie dans le cas des *hydroxychannels*.

Récemment, ces matériaux ont été également insérés dans des membranes polyamide [121], montrant la voie vers la synthèse de nouvelles membranes RO à performances accrues. Dans les membranes polyamide, les simulations de dynamique moléculaire semblent suggérer que la structure *éponge* est également perméables à l'eau, tout en garantissant la sélectivité ionique [122].

AGRÉGATION EN SOLUTION

La complexité ne surgit pas forcément de la complication, mais au contraire, elle émerge souvent de la combinaison d'interactions simples.

– Hervé P.Zwirn

5.1	Contexte	176
5.2	Précurseurs et agrégats <i>sponge-like</i> dans les mélanges eau-éthanol	177
5.2.1	Résumé	177
5.2.2	Article	177
5.2.3	Informations Supplémentaires	187
5.3	Résultats et Discussion	202

5.1 Contexte

Dans les parties précédentes, nous avons caractérisé la structure et les propriétés de transport de canaux artificiels d'eau en utilisant un modèle de bicouche lipidique. Ce modèle a pour but d'interpréter les résultats expérimentaux portés sur les liposomes. Dans une approche complémentaire, nous voulions également modéliser la structure des assemblages de AWCs en solution, à la base du processus de fabrication des membranes hybrides polyamide-AWCs (PA-AWCs).

Nos collaborateurs ont reporté un protocole de fabrication de membranes PA-AWCs à partir de la polymérisation d'un polyamide utilisé dans les technologies actuelles de désalinisation sur une surface préalablement traitée à l'aide d'une suspension colloïdale d'AWC dans une solution éthanolique [121-123]. Les propriétés d'agrégation pour former ensuite des gouttellettes en suspension dans un mélange de solvant a suscité notre curiosité. Notre objectif a été de prédire la structure nanoscopique des assemblages de AWCs lors de cette étape de solubilisation, en utilisant des simulations de DM. De manière plus générale, nous nous sommes focalisés sur les questions suivantes :

- Quel est la structure des agrégats d'AWCs lors de l'auto-assemblage en solution en présence de co-solvants ?
- Quel est le rôle joué par le mélange de solvant dans l'agrégation ?
- Comment mettre en parallèle les études effectuées dans les lipides et les études faites en solution ?

La solubilisation d'une phase organique par une phase aqueuse est un procédé connu dans l'industrie sous le nom de phénomène d'*Ouzo* - nom de la boisson alcoolique grecque qui blanchit lorsqu'on la dilue avec de l'eau-. Nous nous sommes donc inspiré de la méthodologie des travaux faits sur les mélanges ternaires présentant des propriétés de phase similaires [124-127] : dans un premier temps, nous avons lancé une série de simulations d'un mélange ternaire d'eau, d'éthanol et de molécules d'AWC afin d'identifier les différentes phases dans le diagramme ternaire. Chaque point du diagramme est relié à la composition d'un système ternaire modélisable à l'échelle nanoscopique en DM. Pour des raisons de temps de calcul, nous nous sommes limités à deux chemins dans le diagramme : le chemin I, à concentration en AWC fixe et à fraction molaire d'eau variable ; le chemin II, à fraction d'eau fixe et à concentration en AWC variable. Dans un second temps, nous avons élaboré une série d'analyses statistiques afin de caractériser les différentes phases observées dans les simulations.

5.2 Précurseurs et agrégats *sponge-like* dans les mélanges eau-éthanol

5.2.1 Résumé

Les canaux d'eau artificiels (AWC) auto-assemblés redéfinissent les technologies actuelles de dessalement de l'eau. Récemment, les améliorations obtenues en incorporant des composés hydrophiles dans les membranes en polyamide (PA) ont été confirmées expérimentalement. Cependant, la détermination des structures à l'échelle nanométrique des AWC reste incertaine. Une étape importante dans la préparation des membranes PA est la solubilisation d'une suspension colloïdale de la phase solide dans un mélange eau-éthanol. Nous effectuons des simulations de dynamique moléculaire pour étudier la structure à l'échelle nanométrique des agrégats d'AWC. Nous caractérisons la taille et la forme des agrégats à plusieurs endroits clés du diagramme de phase ternaire. Le rôle de l'éthanol dans la formation de l'interface entre le solvant et la phase soluté est souligné. Nous avons constaté que la structure des agrégats formés dans la solution ternaire ressemblait aux structures désordonnées de type *éponge* observées lorsque ces systèmes étaient insérés dans des membranes lipidiques. Ces architectures moléculaires permettent le passage de l'eau malgré leur organisation non cristalline et ont été reliées aux propriétés de perméation des AWCs dans des environnements membranaires.

5.2.2 Article

Cette section est reproduite avec permission à partir de (1) HARDIAGON, A. ; BAADEN, M. ; STERPONE, F. Artificial Water Channels Form Precursors to Sponge-Like Aggregates in Water–Ethanol Mixtures. *The Journal of Physical Chemistry A* **2022**, *126*, 6628-6636, DOI : [10.1021/acs.jpca.2c04545](https://doi.org/10.1021/acs.jpca.2c04545).

Artificial Water Channels Form Precursors to Sponge-Like Aggregates in Water–Ethanol Mixtures

Published as part of *The Journal of Physical Chemistry virtual special issue “Vincenzo Barone Festschrift”*.

Arthur Hardiagon, Marc Baaden, and Fabio Sterpone*



Cite This: <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.2c04545>



Read Online

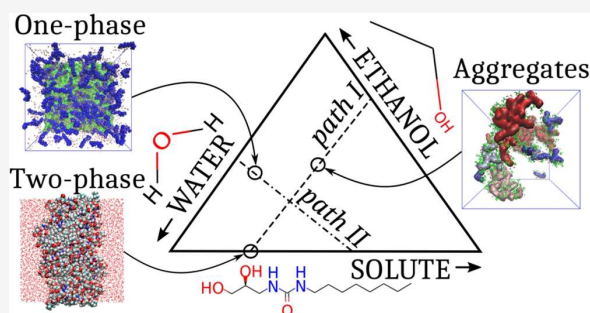
ACCESS |

Metrics & More

Article Recommendations

Supporting Information

ABSTRACT: Self-assembled artificial water channels (AWCs) are reshaping current water desalination technologies. Recently, the improvements achieved by incorporating hydrophilic compounds into polyamide membranes (PA) at the interface were confirmed experimentally. However, the determination of the nanoscale structures of AWCs remains unclear. An important step in the preparation of PA membranes is the solubilization of a colloidal suspension of the solid phase in a water–ethanol mixture. We perform molecular dynamics simulations to study the nanoscale structures of AWC aggregates. We characterize the size and shape of the aggregates at several key locations in the ternary phase diagram. The role of ethanol in the formation of the interface between the solvent and the solute phase is highlighted. We found that the structure of the aggregates formed in the ternary solution resembled the disordered sponge-like structures observed when AWCs were inserted into lipid membranes. Such permeable sponge architectures allow the passage of water despite their noncrystalline organization and were previously shown to be consistent with AWC permeation measurements in membrane environments.



INTRODUCTION

Designing optimal desalination technologies is a challenge for the coming years. Currently available technologies are still too energy consuming for widespread and practical application. Artificial water channels (AWC), which are based on introducing self-assembling molecules into membranes, represent a promising solution for increasing the reverse osmosis capabilities of the filtering membranes. Recent advances have been made to improve their performance in terms of ion blockage and water permeability.^{1–3}

The transport properties of synthetic self-assembled channels have been characterized in liposome vesicles and polyamide membranes (PA).³ The preparation of PA membranes involves two steps. The first step is to dissolve the self-assembling molecules in the form of powder in an ethanolic solution. The second step is the polymerization of the components of PA into a phase containing the AWCs for the highly selective transport of water. The best results for AWC formation and its incorporation into the PA phase were obtained by maximally solubilizing large droplets of the elemental AWC-forming molecules in the ethanolic solution.² Diluting the binary mixture with water leads to the formation of a stable colloidal solution. Using dynamic light scattering (DLS), the researchers found that the size of the droplets

increased with the volume ratio of water to ethanol until precipitation occurred.³

At this stage, we lack a microscopic view of the aggregation process that leads to the formation of AWCs in PA membranes. In our previous work, we used molecular dynamics (MD) simulations to study the behavior of AWCs in lipid membranes by assuming their crystallographic X-ray structures^{4–6} as the initial states for the AWCs. Investigation of the aggregation process can provide additional insight into the structures of functional AWCs in membranes without relying on information from the separate X-ray structure. To this end, in the present work we model ternary mixtures consisting of AWCs that form molecular aggregates with water and ethanol.

The phenomenon of spontaneous emulsification induced by the rapid dilution of an ethanolic solution is known as the “Ouzo effect”.⁷ It applies to many ternary mixtures containing an insoluble species in water and a mixture of water and a so-

Received: June 29, 2022

Revised: September 1, 2022

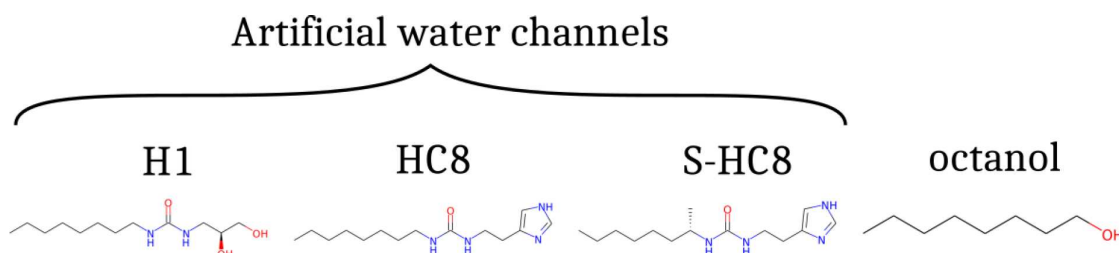


Figure 1. Compounds used in this study. H1 is part of the hydroxychannel family, HC8 and S-HC8 are imidazole-based compounds, and octanol, a long-chain alcohol, is used here as a control compound. These compounds were previously studied using MD simulations in refs 4, 5, and 11.

called “hydrotropic” solvent such as ethanol, i.e., a species that mixes well with both water and the solute. The formation of a colloidal solution with droplets with sizes of 100–500 nm and its long-term metastability are beyond the scope of this study, as the characteristic size and time scales of the process are beyond the current capabilities of all-atom molecular simulations. Nevertheless, it is possible to study the homogeneous liquid phase with MD simulations. In particular, one can characterize the phase diagram of the ternary systems and predict the aggregation patterns, which could be experimentally validated.^{8,9}

In this work, we performed MD simulations to study the aggregation of small amphiphilic molecules forming AWCs in a ternary mixture of water, ethanol, and solute. We address the following questions: (i) the effect of the concentration and the water–ethanol ratio on the stability and aggregation mechanism, (ii) the interplay between the solute and solvents in the aggregates, and (iii) the similarity between the aggregate structures in the ternary solution and the relaxed structures of AWCs in lipid membranes.

■ SIMULATION METHODS

Chemical Compounds. We have studied the behavior of four different compounds, which share a hydrophobic tail with eight carbons. As shown in Figure 1, we consider one molecule from the hydroxy channels and two molecules from the imidazole family. We previously reported the filtering properties of AWCs formed by these compounds in bilayer lipid membranes. For comparison, we have also studied the behavior of the 1-octanol compound known to form Ouzo emulsions and pre-Ouzo structures in the single-phase system.¹⁰

Molecular Dynamics Simulation Setup. All simulations were performed using GROMACS 2020.3 software.¹² For each compound, one simulation targets one point in the phase diagram. To do so, we fixed the initial number of solute molecules (from 100 to 463 molecules) and the size of the cubic simulation box (6 and 10 nm). The solute concentration is controlled by these two parameters. After the solute molecule was inserted at a random position using Packmol software,¹³ the system was solvated in a pre-equilibrated solvent mixture with a given fraction of water in ethanol.

We used the force field parameters already tested in previous studies of AWCs in lipid bilayers.^{4,6} We used the CHARMM general force field (CgenFF)^{14,15} automatic procedure to assign the nonbonded parameters and partial charges of the ethanol molecule. In coherence with the force field for the solutes and ethanol, we used the TIP3P model for water.¹⁶ Note that the refinement of the interactions between water and

ethanol, as proposed for the study of phase transitions,¹⁷ is beyond the scope of this work.

All molecular simulations were performed under periodic boundary conditions with constant pressure and an integration time step of 2 fs using the Leap-Frog integrator. Bonds involving hydrogen atoms were constrained using the LINear Constraint Solver algorithm.¹⁸ The Particle Mesh Ewald method was used to treat Coulomb interactions, with a real space cutoff of 12 Å. For the LJ interactions, a force switching function was applied over the 10–12 Å range, and a long-range correction was used to account for the LJ interactions beyond the cutoff distance. The Nosé–Hoover thermostat and Parinello–Rahman barostat were used to maintain temperature and pressure at $T = 310$ K and $P = 1$ bar, respectively. All systems were minimized for 400 000 steps using position restraints of 1000 kJ·mol⁻¹ for the water molecules. Production runs were extended by 500 ns without any restraints.

Simulation and Data Analysis. The detection of the aggregates was based on a clustering algorithm, namely, DBSCAN (density-based spatial clustering of applications with noise).¹⁹ We chose this method because it was easy to implement via the library scikit-learn. It detects clusters based on the maximum distance between two neighbors in the same cluster, taking into account the minimum-image convention. The accuracy of the clustering method depends mainly on the cutoff parameter, which we set to 3 Å. A more detailed description of the clustering method can be found in the Supporting Information. We computed the number of clusters, the size of the maximum cluster, and the size distribution of the clusters. Note that the time evolutions of the number of clusters and the size of the maximal cluster provide a good indication of the convergence of the state of the mixtures. We verified that the number of clusters remained constant after a few nanoseconds of simulation without any constraints (see Figure S1).

To investigate the structures of the micelles, we calculated the eccentricity e of the aggregate, as described in ref 20. When e tends to zero, the aggregate has a spherical shape. When e tends to one, the aggregate has a dominant dimension like a 1D object. This analysis was performed using the MDAnalysis,²¹ Numpy, and Numba libraries. For more details, see the Supporting Information.

We can characterize each water molecule as a function of its immediate environment. For each water molecule, we calculated the distribution $\phi(n_s, n_w, n_e)$ of the number of nearest neighbors in a coordination shell for solute (n_s), water (n_w), or ethanol (n_e) molecules. In this way, one can detect the water molecule in the bulk ($n_s = 0$), the water molecule at the interface (medium n_s values), and the water molecules trapped in the aggregates (large n_s values).

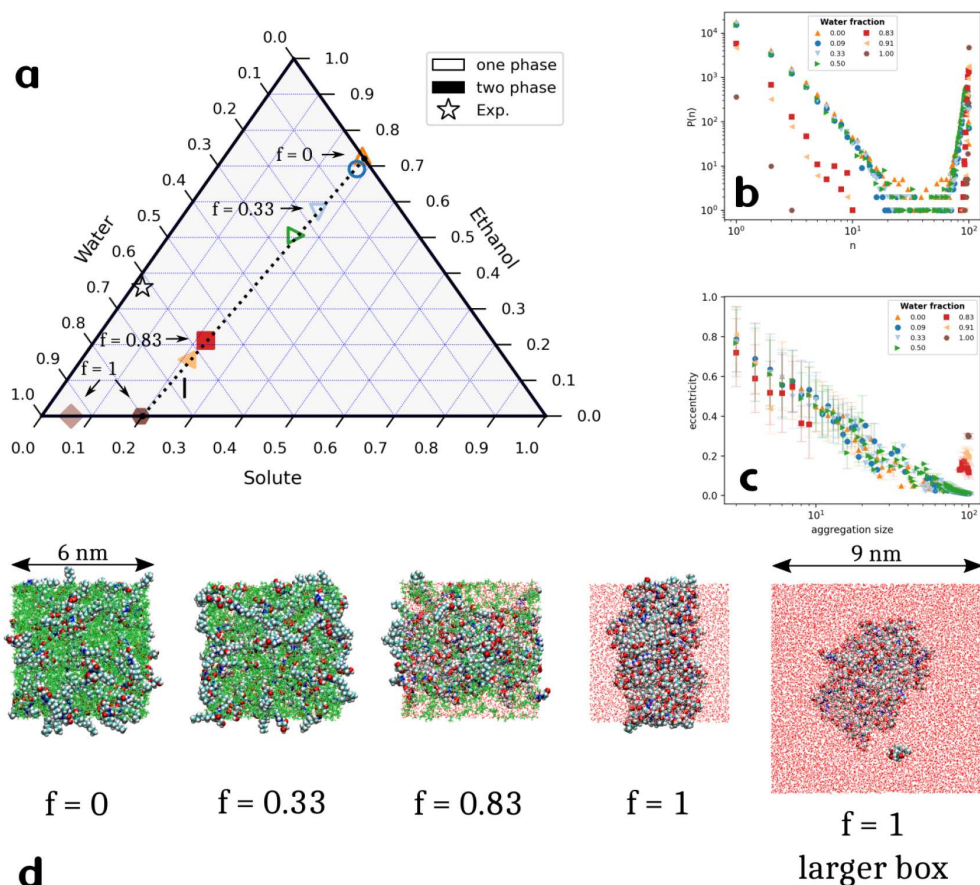


Figure 2. (a) Phase diagram of a ternary solution. The system along path I was studied in molecular dynamics simulations. (b) Distribution of aggregate sizes on a log–log scale and (c) eccentricity of aggregates over the time interval of 50–500 ns for a composition range along path I. The aggregate size, n , is the number of molecules in the same cluster. (d) Final snapshots of the simulations at different water–ethanol molar ratios f . The solute molecules are represented by van der Waals spheres in the color associated with the atom type, and the solvent molecules are represented by red (green) sticks for water (ethanol). The far right panel corresponds to a lower solute concentration (brown diamond in the phase diagram) due to a larger solvation box.

In addition, we studied the penetration of the solvent into the aggregate phase. For this purpose, we used statistics of a few hundred recorded configurations for a selected aggregate of a given size. We calculated the number of molecules of each component of the ternary mixture (solute, water, and ethanol) in concentric spheres around the center of mass of the aggregate.

We also investigate the structural features of the aggregates by measuring the radial distribution functions (RDF) between different chemical groups common to all compounds. For this purpose, we use customized scripts adapted from the MDAnalysis library.

All molecular visualizations shown in figures were produced using VMD.²²

RESULTS AND DISCUSSION

Phase Separation in Ternary AWC–Ethanol–Water Mixtures. The aggregation of hydroxy channel molecules was studied for different water–ethanol molar ratios at the fixed solute concentration $C = 769 \text{ mmol L}^{-1}$, see pathway I in Figure 2a. The initial size of the box was fixed at 6 nm, and the total number of solute molecules in the box was $N = 100$.

When the water fraction is small ($f < 0.83$), the system consists of a single liquid phase and the solute is dissolved by the solvent mixture (see Figure 2d). When the water fraction increases at a fixed solute concentration, a phase transition occurs in the system. At larger water fractions ($f > 0.83$), the system separates into a solute-rich phase and a solute-poor phase. The size distribution of the aggregates and their eccentricity are shown in Figure 2b and c, respectively. When the size distribution peaks at $N = 100$ molecules, the system reaches the percolation limit, with all molecules belonging to the same cluster. It is worth noting that the single-phase system has a tendency to form large clusters. Nevertheless, the eccentricity of these aggregates is zero due to the uniform distribution of the solute in the box rather than a spherical shape. This is mainly due to the high solute concentration in the box ($C = 769 \text{ mmol L}^{-1}$) and the cutoff used in the clustering algorithm. Therefore, the broad peak at $n \approx N$ is understood to be a homogeneous and dense liquid phase that approximates a bicontinuous phase (see also the log–linear plot in Figure S2).

As shown in Figure 2c and d, the large aggregates have higher eccentricity when the water content is high. However, the formation of a cylindrical structure connecting the opposite

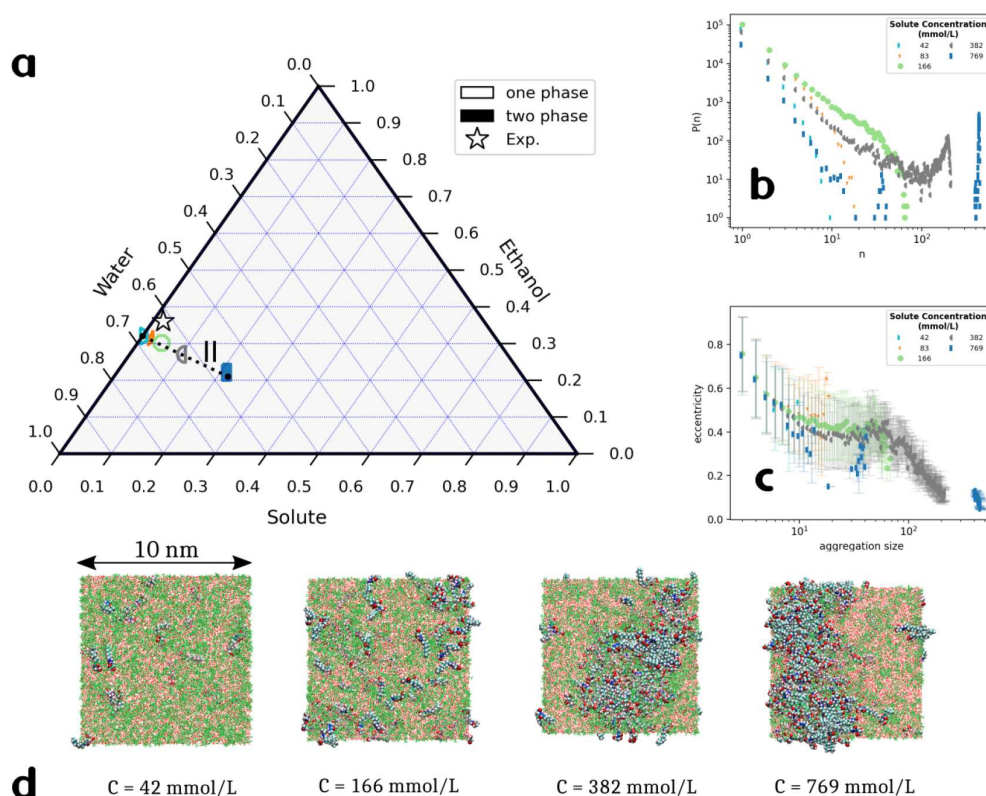


Figure 3. (a) Phase diagram and path II explored in molecular dynamics simulations, with coordinates related to the weight percentage of the three components. (b) Distribution of aggregate sizes on a log–log scale and (c) eccentricity of aggregates over the time interval of 50–500 ns for a composition range following path II. (d) The final snapshots of a selection of simulations with increasing solute concentration C . The molecular representations are depicted in the same way as in Figure 2d).

sides of the simulation box in the extreme case $f = 1$ is an artifact caused by the periodic boundary conditions. Using the cylindrical structure as the initial solute configuration and a larger solvation box, we performed an additional simulation with a lower solute concentration. The final configuration we obtained after 500 ns is shown in Figure 2d. The largest aggregate relaxes to an ellipsoidal shape with a lower eccentricity (see Figure S3). Note that this system corresponds to a different region of the phase diagram with a lower solute concentration. Interestingly, the largest aggregate is stable and includes the total number of solute molecules. Moreover, the shape of the formed micelle is flat, and one can distinguish the hydrophobic core, two opposite sides enriched with hydrophilic regions, and a lateral less-hydrophobic region exposed to the solvent. For more microscopic views, see Figure S3.

We extended the analysis of pathway I to the other compounds mentioned in Figure 1, i.e., HC8, S-HC8, and 1-octanol. The detailed results are shown in Figure S4. We show that all the compounds that form AWCs have similar phase diagrams. In contrast, the 1-octanol molecule shows a different behavior. We observed a difference in the phase state at the lower molar water–ethanol fraction: the octanol was completely solvated by the solvent mixture, and the cluster analysis did not indicate large coherent clusters. This is somehow related to the low hydrophilicity of the octanol compound, which has only one hydroxyl group that is insufficient for the formation of a large hydrogen-bonded network.

The structure of the observed large aggregates could be related to the inner cores of the droplets of the experimentally observed emulsion, although a further characterization of the local density of the individual components of the emulsion is lacking at this stage.

Mesoscale Aggregate Formation and Ouzo Effects.

Colloidal emulsions usually consist of two phases, a high-concentration solute and a low-concentration solute. The latter could also be related to the early stage of AWC–ethanolic solutions before dilution. Moreover, the experimental observations of the colloidal phase³ were made in a region of the phase diagram corresponding to a lower concentration of the AWC solute (see Figure 2a). In order to study the low-concentration solute phase, we considered an additional path in the diagram. This choice allows us to study aggregates of medium size (<10 nm) and to characterize their structures.

In Figure 3, we show the results along the path II for a range of solute concentrations at a fixed molar water–ethanol ratio $f = 0.83$. We examine the size distribution and shape of the hydroxychannel solute. For this set of simulations, the box length was fixed at 10 nm to provide a better sampling of aggregate sizes. In Figure 3a, we distinguish three regimes. The first regime corresponds to a single liquid phase and occurs at low solute concentrations ($C = 42, 83$ mmol L⁻¹). It is characterized by a monotonic decay of the distribution of size aggregates. In contrast, the regime of phase separation is achieved at the highest concentration, $C = 769$ mmol L⁻¹.

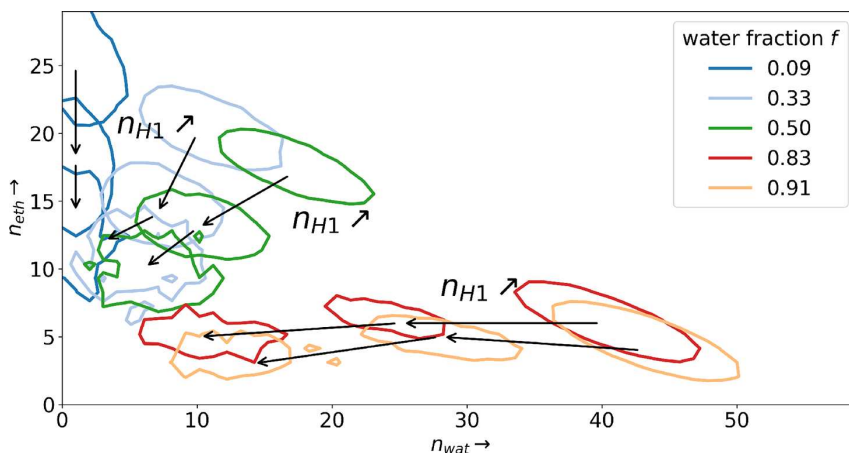


Figure 4. Distributions of the number of neighbors of water molecules $\phi(n_{H1}, n_{wat}$ and $n_{eth})$ in a coordination shell for the simulations of path I. Only the contours delimiting the region around the maximum of the distribution are shown. The arrows connect the maxima of the distributions for increasing number of solute neighbors n_{H1} . Three values for n_{H1} are shown, namely 0, 4, and 8. See also Figure S7 for a complete plot of the distributions of the number of neighbors. Note that in this representation the center of the contour does not necessarily match the maximum of the distribution.

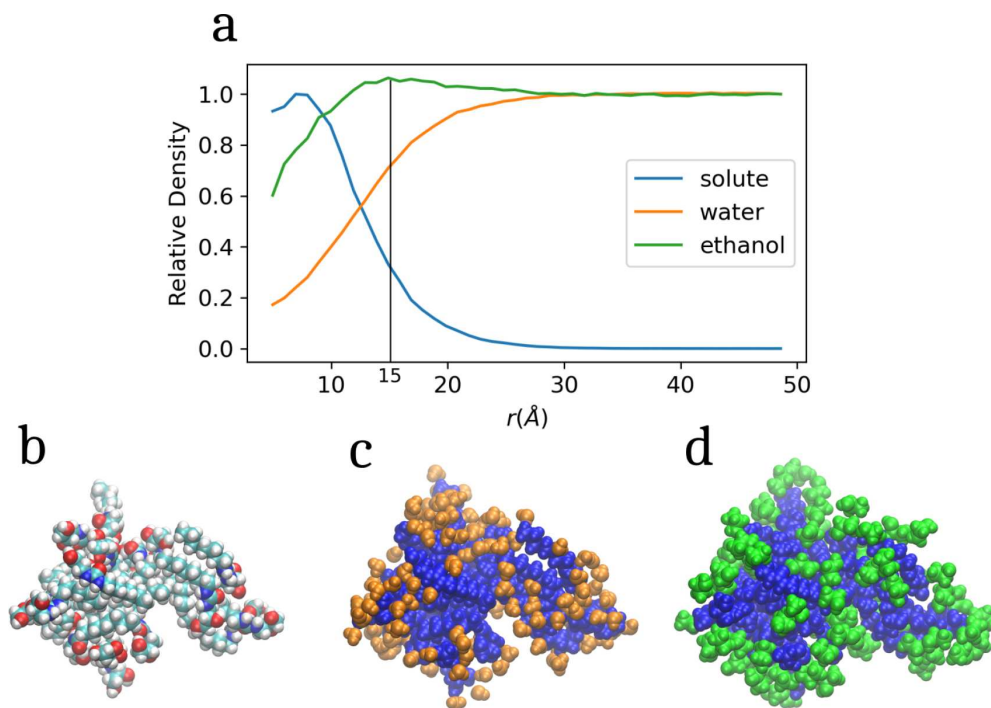


Figure 5. (a) Radial density around the center of mass of aggregates with 20 hydroxyl channel molecules in the absence of large-scale phase separation ($C = 166 \text{ mmol/L}$, $f = 0.83$). Snapshots of an aggregate with (b) solute molecules, (c) solute (blue) and water (orange) molecules, and (d) solute (blue) and ethanol (green) molecules.

Specifically, in this regime, a large cluster is formed that permeates all molecules of the system (463 molecules).

An intermediate state was observed at the other concentrations. For example, at the concentrations $C = 166$ and 382 mmol L^{-1} , we observed deviations from the monotonic decay of the aggregate size distribution, indicating the high probability for the formation of aggregates with large sizes, i.e., ~ 20 – 80 molecules for $C = 166 \text{ mmol L}^{-1}$. At $C = 382 \text{ mmol L}^{-1}$, a positive deviation of the decay at $n > 10$ was

observed along with an additional peak around $n = 200$ molecules, which was close to the total number of molecules for this simulation. This latter peak is of the same type as those observed in the pathway I simulations at a small water–ethanol ratios and is related to the percolation of solute molecules induced by the finite size. Over the size range of $20 < n < 80$, the eccentricity of the clusters is constant (about 0.4). This is consistent with a visual inspection of the mesoscale aggregates,

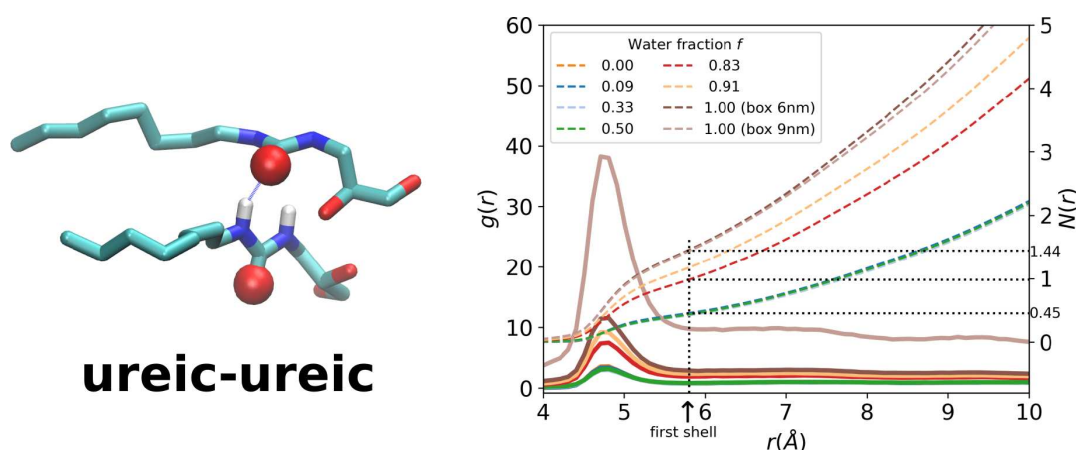


Figure 6. Radial distribution function $g(r)$ (plain line) and coordination number $N(r)$ (dashed line) calculated for all pairs of oxygen atoms in the urea-containing part of hydroxy channel molecules at different water fractions (path I).

which shows nonspherical objects with a very irregular surfaces exposed to the solvent mixture.

We report here the occurrence of mesoscale aggregates in MD simulations over a broad size spectrum rather than specific stabilized sizes over the time scale of the simulation. Local peaks in the size distribution have been referred to as pre-Ouzo regimes in other surfactant-free microemulsions (SFME) such as ethanol/water/1-octanol systems.¹¹ It should be noted that a broader size distribution for aggregation has been reported for the same system in the presence of ions.²³

At this stage, we show that aggregation at the mesoscale is possible near the miscibility gap. The micelle-like mixture is highly polydisperse near the transition.

Molecular Insights and Determinants of Aggregate Formation. To understand the relative stabilities of the intermediate and large aggregates, we now focus on the structure of the solvent around the hydroxy channel aggregates as well as the local ordering of H1 aggregates within the large aggregates.

The Role of Ethanol. We characterized the mutual presence of water and ethanol at the interface of an aggregate. To do so, we considered all water molecules in the system and characterized their local environments by counting the number of surrounding neighbors.

In Figure 4, we show the 3D distribution of the number of neighbors around all water molecules. To perform this analysis, we consider only the heavy atoms (CNO atoms). A whole molecule is considered a neighbor if at least one of its heavy atoms has a distance less than $d = 6.2$ Å from the oxygen atom of the water molecule. This distance corresponds to the first minimum observed in the RDFs of heavy atom pairs between solute and water molecules (see Figure S6).

Figure 4 illustrates the maximum area of the distribution of the number of neighbors of water molecules for different water fractions. In the presence of a single homogeneous phase (for a water fraction $f \leq 0.50$), the number of ethanol neighbors (y -axis) decreases as the number of solute neighbors increases. On the contrary, for $f \geq 0.83$ we observe that the number of ethanol neighbors is slightly higher for an average number of solute neighbors ($n_{H1} = 4$, mean contour) than that in the case of bulk ($n_{H1} = 0$) or an isolated water in the core of the aggregate ($n_{H1} = 8$). The intermediate values of n_{H1} correspond to the interface between the aggregate and the

bulk. Thus, when a large dominant cluster forms along pathway I, the hydration of the interface regions appears to be accompanied by ethanol enrichment.

We performed a standard analysis by isolating an aggregate and considering the environment as a function of distance from the center of mass of the aggregate.^{11,20} For this purpose, we focused on aggregates much smaller than the simulation box to avoid artifacts of finite size. We isolated an aggregate from a simulation of path II ($C = 166$ mmol L⁻¹, $f = 0.83$) that had a relevant population of intermediate aggregate sizes (see Figure 3). In Figure 5, we give the radial density of all three components around an aggregate of 20 molecules. This shows that water and ethanol are present near the center of the aggregate. Additionally, we observed that the ethanol distribution had a maximum around 15 Å. We made sure that other clusters of different intermediate sizes behaved similarly (Figure S8).

Eccentricity measurements and the visual inspection of the isolated clusters, as shown in Figure 5, indicate that the structure of the mesoscale aggregates is disaggregated, with disordered interfaces and solvent molecules penetrating the inner core of the aggregate.

Intermolecular Solute Contacts Drive Aggregation. In this section, we focus on the influence of water to induce intermolecular contacts between solute molecules.

In Figure 6, we show the evolution of RDF functions and the coordination number between oxygen atoms of the solute along path I. The first peak of $g(r)$ at $r = 4.7$ Å is associated with hydrogen bonding between either a donor and an acceptor or the oxygen atom and the hydrogen atoms of the urea-containing part of the molecule.

We used the oxygen atoms to compare with the well-defined X-ray structure. As in the crystalline arrangement, in the case of urea–urea association, a second peak should occur at twice the distance of the first peak if the aggregates have long-range order.

The RDF curves of the homogeneous single-phase systems ($f \geq 0.50$) were superimposed. We observed a significant increase in the amplitude of the first peak of the ureic–ureic RDF function when the phase transition occurred ($f \geq 0.83$) along with an increase in the coordination number, i.e., the average number of ureic neighbors in the first shell. The second peak of the pair–pair correlation function $g(r)$ around

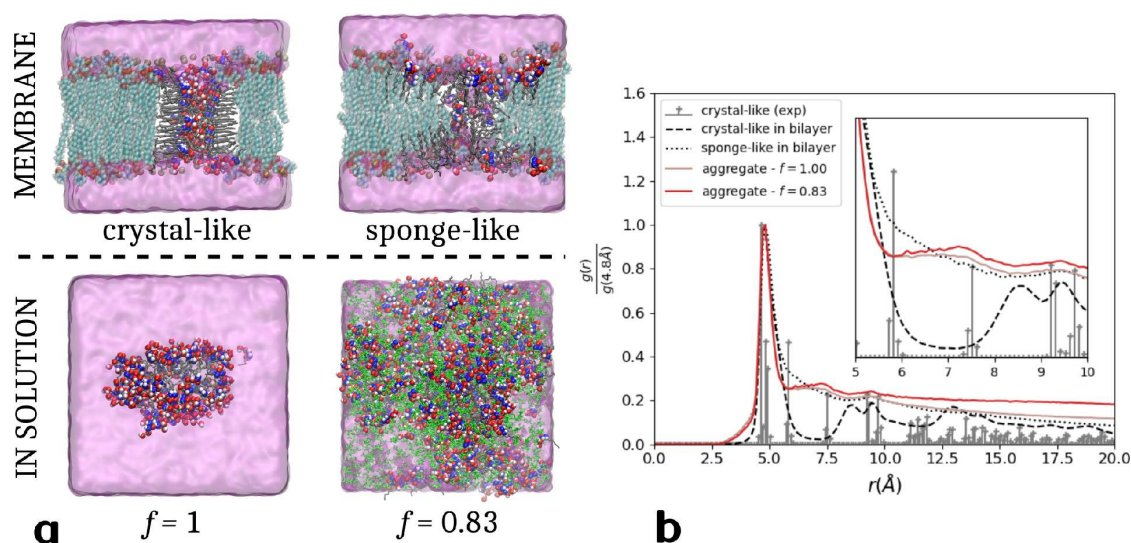


Figure 7. (a) Aggregation in different environments studied with molecular dynamics. The snapshots of the crystal-like and sponge-like systems are taken from our previous work.⁵ The aggregation in solution refers to this study. The snapshots were extracted from simulations in either a pure water solvent ($f = 1$) or a solvent mixture with a water–ethanol ratio of $f = 0.83$. (b) Comparison of the RDF between the urea-containing parts in the AWC structures shown in panel a. The inset shows a zoomed-in view of the 5–10 Å region. RDF functions were scaled by the height of the first peak for clarity.

7 Å is much broader. The absence of a clear peak around 9 Å seems to indicate that the interureic interactions are not favored, even at a high water fraction. Other pairs of atoms in the ureic part and in the hydrophilic head were considered (see Figure S9); the first peak in the RDFs between the ureic part and the other alcoholic functions does not vary much. This observation indicates that the intermolecular contacts between the alcohol and ureic parts are independent of the degree of hydration of the aggregate interface.

We also verified that the ureic–ureic contacts were maintained when the cylindrical shape was relaxed to the flat micelle in the binary mixture water solution ($f = 1.0$; box 9 nm in Figure 6). Both the cylindrical ($f = 1.0$; box 6 nm) and flat micelles ($f = 1.0$, box 9 nm) are characterized by the same ureic coordination number in the first shell, about 1.44, which is larger than that in the other systems with ethanol present. This suggests that hydration of the aggregate interface favors interureic contacts.

At this stage, we have not discussed the positions of the RDF maxima. These peaks are related to the degree of disorder of the solute phase. In the next section, we compare the structures of the aggregates obtained in this study with those observed in previous simulations in a lipid membrane environment; that is, we determine whether the aggregates in water–ethanol mixtures can be precursors for functional water-permeable aggregates in a lipid bilayer.

Comparison with Previous Studies in Lipid Environments. In Figure 7, we compare the RDF functions of four different structures: the crystallographic one, the crystal structure relaxed in a lipid membrane obtained from the MD simulation, the sponge-like structure embedded in the membrane structure also observed in our previous simulation, and the flat micelle structure obtained in the ternary mixture in the current study.⁵ The second peak of the crystal-like bilayer structure in the membrane is not present in the bulk aggregate (see dashed and red lines in Figure 7). This peak is related to the lateral spacing between ureic cores when the molecules are

aligned along their hydrophobic tails. See Figure S10 for more details on the nature of the peaks in the RDFs of the crystal-like structure. The third peak of the crystal structure in the bilayer membrane is less pronounced but still present in the aggregate structure. This is related to the formation of a hydrogen-bonded chain from three adjacent ureic patterns.

We observed a great similarity between the RDF curve of the aggregate structure in pure water as the solvent and that of the sponge-like structure. This result is not surprising when comparing the orientation of the solute molecules in an aggregate. Indeed, the hydrophobic tails tend to align with the membrane in the sponge-like aggregate, and the latter geometry is then close to the flat micelle geometry, where alcoholic functions are aligned outward toward the interface in contact with water. Therefore, interureic contacts are more likely to occur in this geometry than in a spherical geometry. As can be seen in the inset of Figure 7, the aggregates and the sponge-like structure differ mainly in the region between 6 and 8 Å. A peak at $r = 7.2$ Å is present only for the flat micelle structure. We verified that this peak corresponds to a stable arrangement of two water molecules bridging two adjacent solute molecules via hydrogen bonds with their urea-containing cores (see Figure S10c).

It should be noted that the sponge-like structure is difficult to sample using the same force field parameters as those in this study due to the unsealing of the patch in the membrane after 1 μ s of simulation.⁵ As long as the water manages to flow through the system, the sponge-like patch in the membrane remains dense and non-negligible interureic interactions occur along the plane of the membrane.

Overall, the preparation of the AWC sample in water–ethanol mixtures may indeed favor the formation of precursors of sponge-like aggregates, which subsequently mature to fully membrane-permeating sponge networks when inserted in a bilayer environment.

CONCLUSION AND PERSPECTIVES

AWCs can be dispersed in ethanolic solutions to facilitate their incorporation into PA membranes. In this study, we used molecular dynamics to investigate the size, shape, and local structures of AWC aggregates in a water–ethanol mixture. As reported for other surfactant-free microemulsions,^{10,11} the formation of stable aggregates is related to specific solvation effects. The solvation layers at the interfaces and the penetration of the solvent components into the aggregate phase are the key features of these new materials. If ethanol plays the role of a surfactant by preventing phase separation and favoring the solubilization of the mesoscale aggregates, water favors the alignment of the small solute molecules along their ureic cores. Moreover, comparing between the aggregates in the water–ethanol mixture and the previously studied aggregates in bilayer membranes^{4,5,24} shows that the sponge-like structure is formed at the preliminary stage of bulk aggregation. This suggests a pathway for the formation of loose aggregates of small hydrophilic molecules that exhibit enhanced water transport once inserted into a membrane matrix.^{1,3} Our numerical approach makes several quantitative predictions about the structural states of self-assembling AWCs in solution, and these hypotheses could be tested experimentally in the future.⁹

ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge at <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jpca.2c04545>.

Analysis code, clustering algorithm, chemical details, list of compounds and their chemical properties, largest cluster and number of clusters, linear representation of cluster size and cluster eccentricities, finite-size effects, cluster sizes of different compounds, effect of the distance cutoff, RDF plots, distribution maps of water neighbors, radial density around the cluster COM at several cluster sizes, and structural features (PDF)

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

Fabio Sterpone – *Laboratoire de Biochimie Théorique, Université Paris Cité, CNRS, Paris F-75005, France;*
 ● orcid.org/0000-0003-0894-8069; Email: sterpone@ibpc.fr

Authors

Arthur Hardiagon – *Laboratoire de Biochimie Théorique, Université Paris Cité, CNRS, Paris F-75005, France*
 Marc Baaden – *Laboratoire de Biochimie Théorique, Université Paris Cité, CNRS, Paris F-75005, France;*
 ● orcid.org/0000-0001-6472-0486

Complete contact information is available at:
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jpca.2c04545>

Notes

The authors declare no competing financial interest.

ACKNOWLEDGMENTS

We gratefully acknowledge support from ANR Grant ANR-18-CE06-0004 (WaterChannels) and the "Initiative d'Excellence" program of the French government (Grant "DYNAMO", ANR-11-LABX-0011-01). This work was carried out with the

HPC resources of GENCI and LBT. We thank Geoffrey Letessier for technical support at LBT. We are grateful to Mihail Barboiu and Libo Huang for their stimulating discussions.

REFERENCES

- (1) Di Vincenzo, M.; Tiraferri, A.; Musteata, V.-E.; Chisca, S.; Sougrat, R.; Huang, L.-B.; Nunes, S. P.; Barboiu, M. Biomimetic Artificial Water Channel Membranes for Enhanced Desalination. *Nat. Nanotechnol.* **2021**, *16*, 190–196.
- (2) Di Vincenzo, M.; Tiraferri, A.; Musteata, V.-E.; Chisca, S.; Deleanu, M.; Ricceri, F.; Cot, D.; Nunes, S. P.; Barboiu, M. Tunable Membranes Incorporating Artificial Water Channels for High-Performance Brackish/Low-Salinity Water Reverse Osmosis Desalination. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2021**, *118*, No. e2022200118.
- (3) Huang, L.-B.; Di Vincenzo, M.; Ahunbay, M. G.; van der Lee, A.; Cot, D.; Cerneaux, S.; Maurin, G.; Barboiu, M. Bilayer Versus Polymeric Artificial Water Channel Membranes: Structural Determinants for Enhanced Filtration Performances. *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 14386–14393.
- (4) Licsandru, E.; Kocsis, I.; Shen, Y.-x.; Murail, S.; Legrand, Y.-M.; van der Lee, A.; Tsai, D.; Baaden, M.; Kumar, M.; Barboiu, M. Salt-Excluding Artificial Water Channels Exhibiting Enhanced Dipolar Water and Proton Translocation. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 5403–5409.
- (5) Huang, L.-B.; Hardiagon, A.; Kocsis, I.; Jegu, C.-A.; Deleanu, M.; Gilles, A.; van der Lee, A.; Sterpone, F.; Baaden, M.; Barboiu, M. Hydroxy Channels—Adaptive Pathways for Selective Water Cluster Permeation. *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 4224–4233.
- (6) Hardiagon, A.; Murail, S.; Huang, L.-B.; van der Lee, A.; Sterpone, F.; Barboiu, M.; Baaden, M. Molecular Dynamics Simulations Reveal Statistics and Microscopic Mechanisms of Water Permeation in Membrane-Embedded Artificial Water Channel Nanoconstructs. *J. Chem. Phys.* **2021**, *154*, 184102.
- (7) Vitale, S. A.; Katz, J. L. Liquid Droplet Dispersions Formed by Homogeneous Liquid-Liquid Nucleation: "The Ouzo Effect". *Langmuir* **2003**, *19*, 4105–4110.
- (8) Schöttl, S.; Lopian, T.; Prévost, S.; Touraud, D.; Grillo, I.; Diat, O.; Zemb, T.; Horinek, D. Combined Molecular Dynamics (MD) and Small Angle Scattering (SAS) Analysis of Organization on a Nanometer-Scale in Ternary Solvent Solutions Containing a Hydro-trope. *J. Colloid Interface Sci.* **2019**, *540*, 623–633.
- (9) Prévost, S.; Krickl, S.; Marčelja, S.; Kunz, W.; Zemb, T.; Grillo, I. Spontaneous Ouzo Emulsions Coexist with Pre-Ouzo Ultraflexible Microemulsions. *Langmuir* **2021**, *37*, 3817–3827.
- (10) Zemb, T. N.; Klossek, M.; Lopian, T.; Marcus, J.; Schöttl, S.; Horinek, D.; Prevost, S. F.; Touraud, D.; Diat, O.; Marčelja, S.; et al. How to Explain Microemulsions Formed by Solvent Mixtures without Conventional Surfactants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2016**, *113*, 4260–4265.
- (11) Schöttl, S.; Marcus, J.; Diat, O.; Touraud, D.; Kunz, W.; Zemb, T.; Horinek, D. Emergence of Surfactant-Free Micelles from Ternary Solutions. *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 2949–2954.
- (12) Páll, S.; Zhmurov, A.; Bauer, P.; Abraham, M.; Lundborg, M.; Gray, A.; Hess, B.; Lindahl, E. Heterogeneous Parallelization and Acceleration of Molecular Dynamics Simulations in GROMACS. *J. Chem. Phys.* **2020**, *153*, 134110.
- (13) Martínez, L.; Andrade, R.; Birgin, E. G.; Martínez, J. M. PACKMOL: A Package for Building Initial Configurations for Molecular Dynamics Simulations. *J. Comput. Chem.* **2009**, *30*, 2157–2164.
- (14) Vanommeslaeghe, K.; MacKerell, A. D. Automation of the CHARMM General Force Field (CGenFF) I: Bond Perception and Atom Typing. *J. Chem. Inf. Model.* **2012**, *52*, 3144–3154.
- (15) Vanommeslaeghe, K.; Raman, E. P.; MacKerell, A. D. Automation of the CHARMM General Force Field (CGenFF) II: Assignment of Bonded Parameters and Partial Atomic Charges. *J. Chem. Inf. Model.* **2012**, *52*, 3155–3168.

(16) Vanommeslaeghe, K.; Hatcher, E.; Acharya, C.; Kundu, S.; Zhong, S.; Shim, J.; Darian, E.; Guvench, O.; Lopes, P.; Vorobyov, I.; et al. CHARMM General Force Field: A Force Field for Drug-Like Molecules Compatible with the CHARMM All-Atom Additive Biological Force Fields. *J. Comput. Chem.* **2010**, *31* (4), 671–690.

(17) Chen, B.; Potoff, J. J.; Siepmann, J. I. Monte Carlo Calculations for Alcohols and Their Mixtures with Alkanes. Transferable Potentials for Phase Equilibria. 5. United-Atom Description of Primary, Secondary, and Tertiary Alcohols. *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 3093–3104.

(18) Hess, B.; Bekker, H.; Berendsen, H. J. C.; Fraaije, J. G. E. M. LINCS: A Linear Constraint Solver for Molecular Simulations. *J. Comput. Chem.* **1997**, *18*, 1463–1472.

(19) Ester, M.; Kriegel, H.-P.; Sander, J.; Xu, X. A Density-Based Algorithm for Discovering Clusters in Large Spatial Databases with Noise. In *KKD'96: Proceedings of the Second International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining*, Portland, Oregon, August 1996; Simoudis, E., Han, J., Fayyad, U., Eds.; Association for the Advancement of Artificial Intelligence: Menlo Park, CA, 1996; pp 226–231.

(20) Luft, C. M.; Munusamy, E.; Pemberton, J. E.; Schwartz, S. D. A Classical Molecular Dynamics Simulation Study of Interfacial and Bulk Solution Aggregation Properties of Dirhamnolipids. *J. Phys. Chem. B* **2020**, *124*, 814–827.

(21) Gowers, R. J.; Linke, M.; Barnoud, J.; Reddy, T. J. E.; Melo, M. N.; Seyler, S. L.; Domański, J.; Dotson, D. L.; Buchoux, S.; Beckstein, O. MDAnalysis: A Python Package for the Rapid Analysis of Molecular Dynamics Simulations. In *Proceedings of the 15th Python in Science Conference*, Austin, Texas, July 11–17, 2016; Benthall, S., Rostrup, S., Eds.; SciPy, 2016; pp 98 – 105.

(22) Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K. VMD: Visual Molecular Dynamics. *J. Mol. Graphics* **1996**, *14*, 33–38.

(23) Schöttl, S.; Horinek, D. Salt Effects in Surfactant-Free Microemulsions. *J. Chem. Phys.* **2018**, *148*, 222818.

(24) Murail, S.; Vasiliu, T.; Neamtu, A.; Barboiu, M.; Sterpone, F.; Baaden, M. Water Permeation Across Artificial I-Quartet Membrane Channels: from Structure to Disorder. *Faraday Discuss.* **2018**, *209*, 125–148.

5.2.3 Informations Supplémentaires

Supporting Information:
Artificial Water Channels form Precursors to
Sponge-Like Aggregates in Water-Ethanol
Mixtures

Arthur Hardiagon, Marc Baaden, and Fabio Sterpone*

*Université Paris Cité, CNRS, Laboratoire de Biochimie Théorique, 13 rue Pierre et Marie
Curie, F-75005, Paris, France.*

E-mail: sterpone@ibpc.fr

Supplementary Text

Analysis code

The computational tools to perform the following analysis on MD trajectories are available on https://github.com/ahardiag/cluster_tools_md :

- Clustering Algorithm using a distance criteria
- Radial Distribution Functions analysis
- Radial Density around cluster centers
- Eccentricity of molecular clusters

Clustering algorithm

Implementation

When using the euclidean distance and without periodic boundary conditions, the clustering algorithm scales with the number of solute atoms. The most natural approach to use the algorithm is to pass a distance matrix to the **scikit-learn** release of DSBSCAN. However, the creation of a large matrix might be time-consuming. In order to get around this problem, we added a second independent step of clustering on a copy of the system translated by half-box distance in each direction. By comparing the two set of clusters obtained using simple euclidean distance, the algorithm finds quickly the minimal cluster description. We have shown that the results are consistent with the slow but exact procedure considering the whole distance matrix taking into account the minimum image convention.

Influence of the cutoff

The results presented in the paper have been obtained using a cutoff of 3 Å and considering all atoms of the solute. When we extended the procedure to the other compounds (see Figure

S4), we also used a larger cutoff $\epsilon = 0.51$ and a subset of atoms composed by all heavy atoms. The reduction of the clustering ensemble do not change the interpretation of the results. We also verified that the value of the clustering cutoff have a small impact on the detection of most of the clusters, as mentioned in reference.^{S1} As shown in the Figure S5a and Figure S5b, the separation of phase is less visible for a larger value of the cutoff. However, for the case of the diluted solute in the one-phase state, the size distribution remains similar for high values of the clustering cutoff, see Figure S5c and S5d. The detection of the clusters is mostly affected when the composition of the system is closed to the bicontinuous phase.

Aggregation Size

The clustering procedure allows to assign to each atom of the clustering set a label associated to a cluster. By extension, the atoms of the same molecule not used in the clustering procedure (hydrogen) are also labeled. The aggregation size n is defined by the number of molecules having the same label.

Chemicals

We compared the aggregation process of the compounds that self-assembled in membrane environments to form artificial water clusters (AWCs)- which display an ureic core from another molecule already studied in the literature - to the 1-octanol. One should be noted that AWCs forming molecules display a lamellar structure in the X-ray crystallographic data stabilized by urea H-bonded ribbons.^{S2,S3} The hydrophilic head is composed by two hydroxyl groups for H1 whereas it is an imidazole ring in the HC8 and S-HC8 cases. Note that HC8 and S-HC8 are isomers with respectively a linear geometry or an angled hydrophobic tail.

Table S1: List of compounds used in this study and related chemical properties.

Moecule ID	name	molar mass (g/mol)	Number of hydrogen bond sites	aliphatic carbons
OC9	octanol	114.2	2	8
H1	hydroxychannels	246.4	7	8
S-HC8	chiral imidazole	266.4	5	8
HC8	achiral imidazole	266.2	5	8

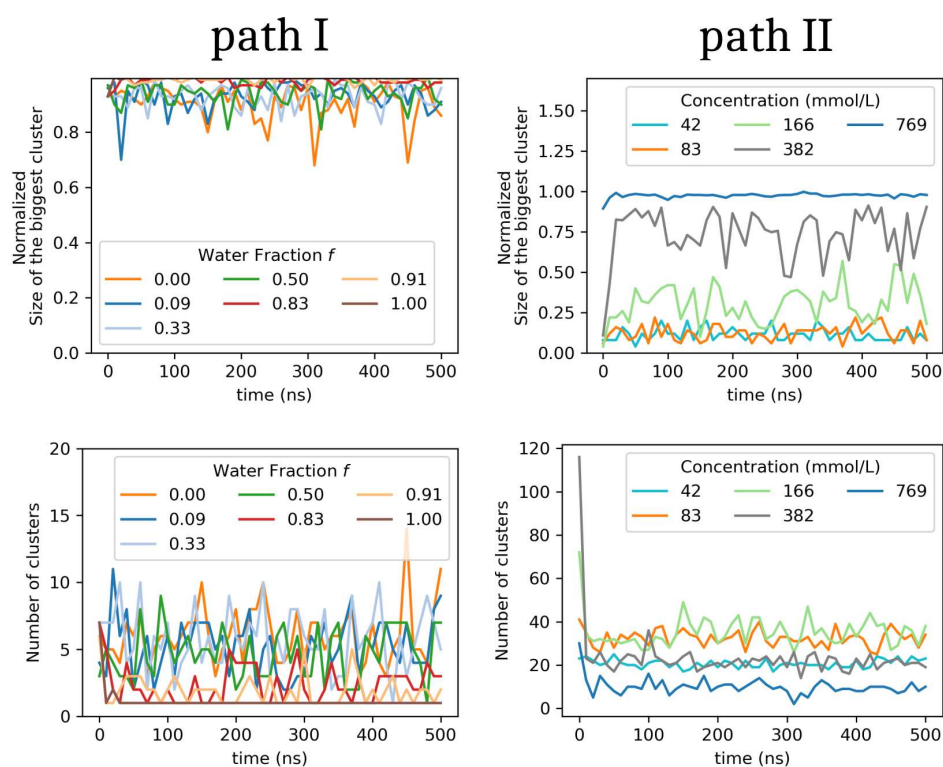


Figure S1: Biggest cluster and number of clusters timeseries. Normalized size of the biggest cluster (first row) and Number of Clusters (second row) of H1 solute in ternary systems for the set of simulations following the path I (left column) and the path II (right column).

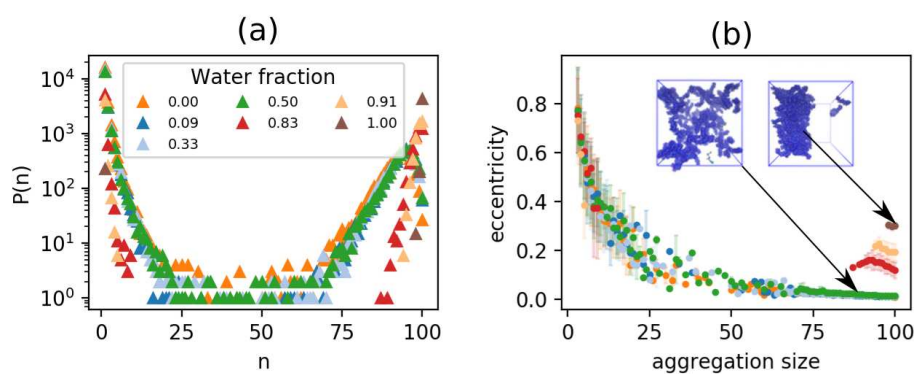


Figure S2: Cluster size and cluster eccentricities in linear representation. (a) Distributions of aggregation size in log-linear scale for the path I of the ternary systems H1-water-ethanol. (b) Eccentricity distribution. Inset : representative clusters detected by the clustering algorithm using a distance cutoff of 3 Å. The broad peak in the size distribution for $f > 0.83$ is a homogeneous phase close to the bicontinuous phase, with eccentricity close to 0.

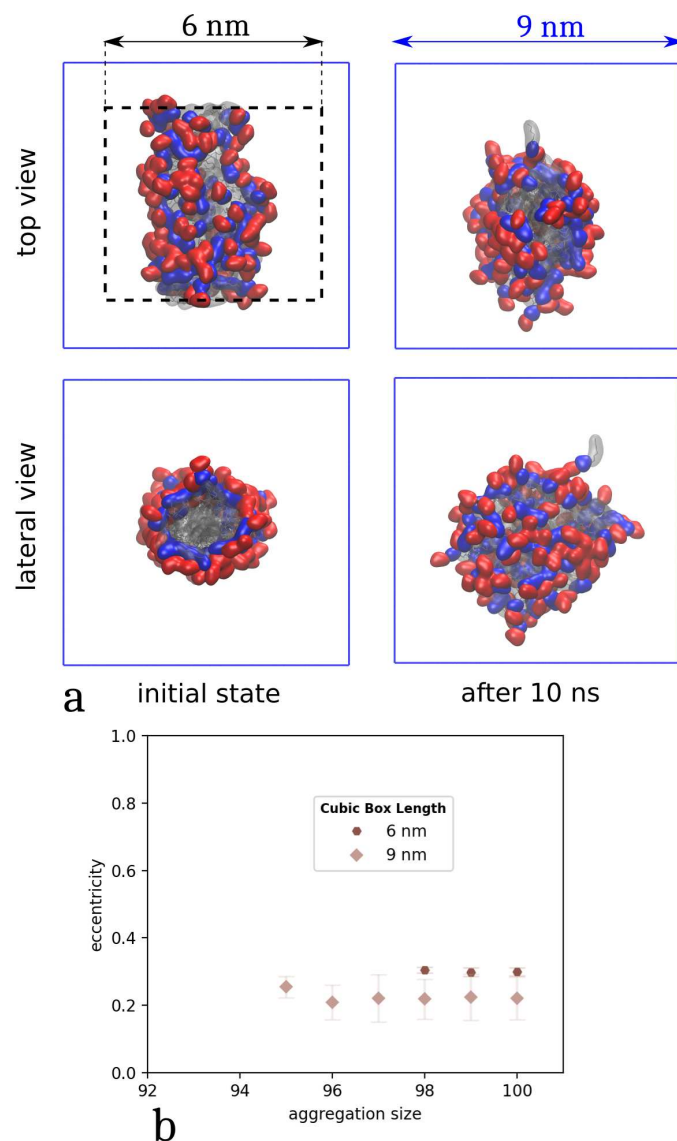


Figure S3: Finite-size effects. (a) Left panels : Snapshots of the final frame of the simulation with H1 compound and parameters $C = 769 \text{ mmol/l}; f = 1$. Right panels : Snapshots after 10 ns of production of the simulation of path I, with initial configuration shown in left panels, and a larger solvation box, resulting in a concentration $C = 228 \text{ mmol/L}$. The water fraction is unchanged ($f = 1$). The water around the solute is omitted for clarity. The red, blue and grey colors refer to the hydrophilic head, the ureic part and the hydrophobic tail of the solute molecules, respectively. (b) Eccentricity of the aggregates for the two different solvation box sizes. The visual inspection of the aggregation with cubic box length 6 nm (resp. 9 nm) shows a cylinder-like shape (resp. ellipsoidal shape).

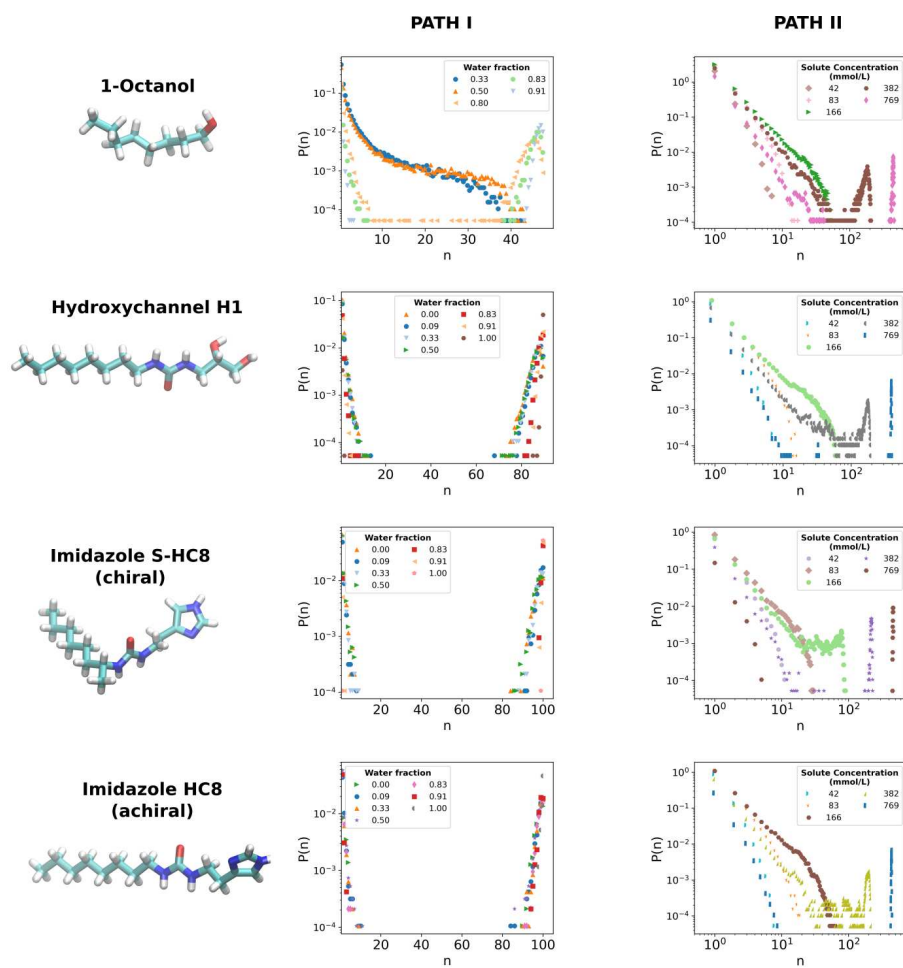


Figure S4: Cluster sizes for different compounds. Distributions of aggregation size in log-log for the path I (middle column) and the path II (right column) detected by the clustering method, for aggregates of each compound in Table S1.

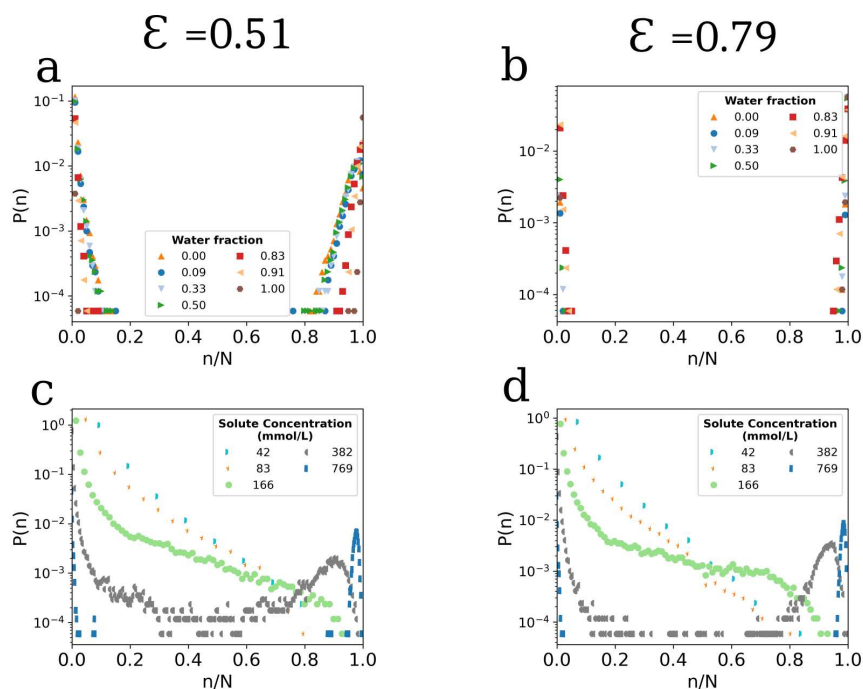


Figure S5: Effect of the distance cutoff. Size distribution of clusters in log-linear representation for the H1 solute in a ternary system with water and ethanol. The first row refers to the simulations along the path I, while the second to path II in the phase diagram. The first and the second columns compare two different cutoffs ϵ of the clustering algorithm. The clustering have been performed only considering the heavy atoms (C,N,O) of the solute phase.

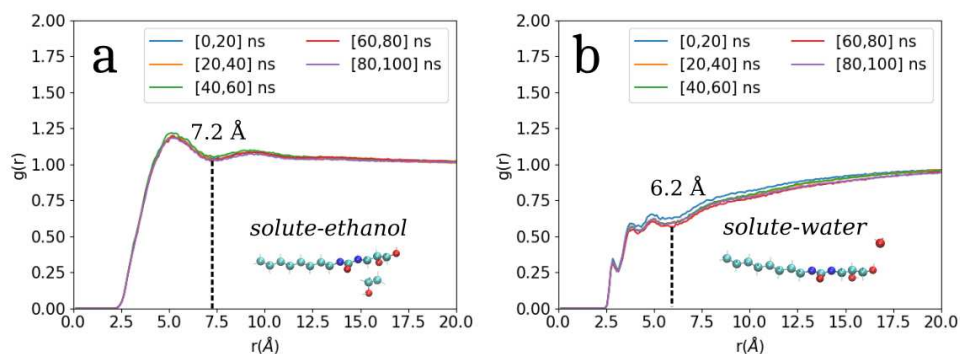


Figure S6: RDF plots and solvation shell of the solute. Radial Distribution Functions of atom pairs between all heavy atoms of a) H1 solute and ethanol b) H1 solute and water in the one-phase simulation ($C = 166 \text{ mmol/L}$, $f = 0.83$). The dashed line indicates the first minimum of the RDF curve, lining the first solvation shell of the solute.

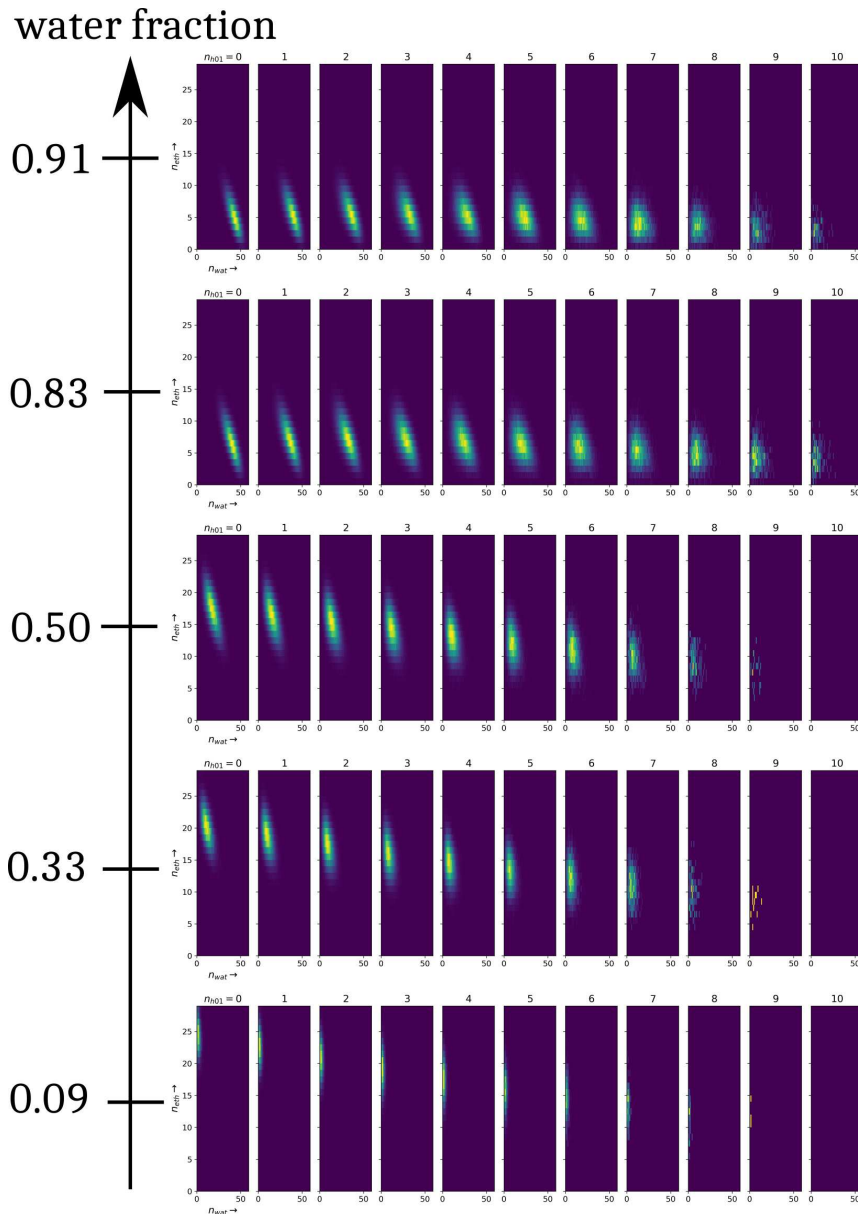
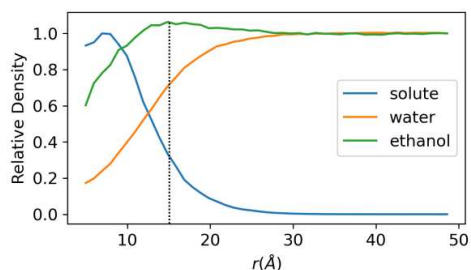


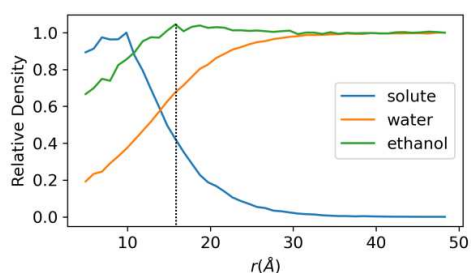
Figure S7: Distribution maps of water neighbors. Statistics of number of neighbors of water molecules in the H1-water-ethanol ternary systems. Each row refers to a simulation along the path I, parameterized by the water-to-ethanol molar fraction f . The distribution on the 3D space $\phi(n_{h01}, n_{wat}, n_{eth})$ is plotted as the following: the x-axis denotes the number of water neighbors, the y-axis the number of ethanol neighbors. The columns represent the third dimension, i.e. the number of solute neighbors.

Aggregation Size

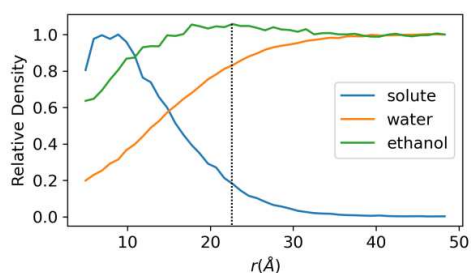
↓
20



30



40



50

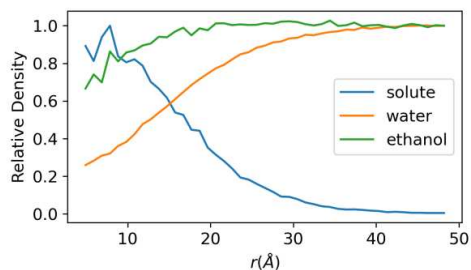


Figure S8: Radial density around cluster COM at several cluster size. Radial densities of H1, water and ethanol around the center of mass of aggregates with 20, 30, 40, and 50 hydroxychannel molecules for a simulation in absence of phase separation at large scale ($C = 166 \text{ mmol/L}$; $f = 0.83$). The maximum of the ethanol density is shown in dotted line for the first three cases. For aggregate sizes larger than 40, the maximum of the density vanishes. It is probably due to large volumes of solvent present in the vicinity of the center of a few large loosed aggregates.

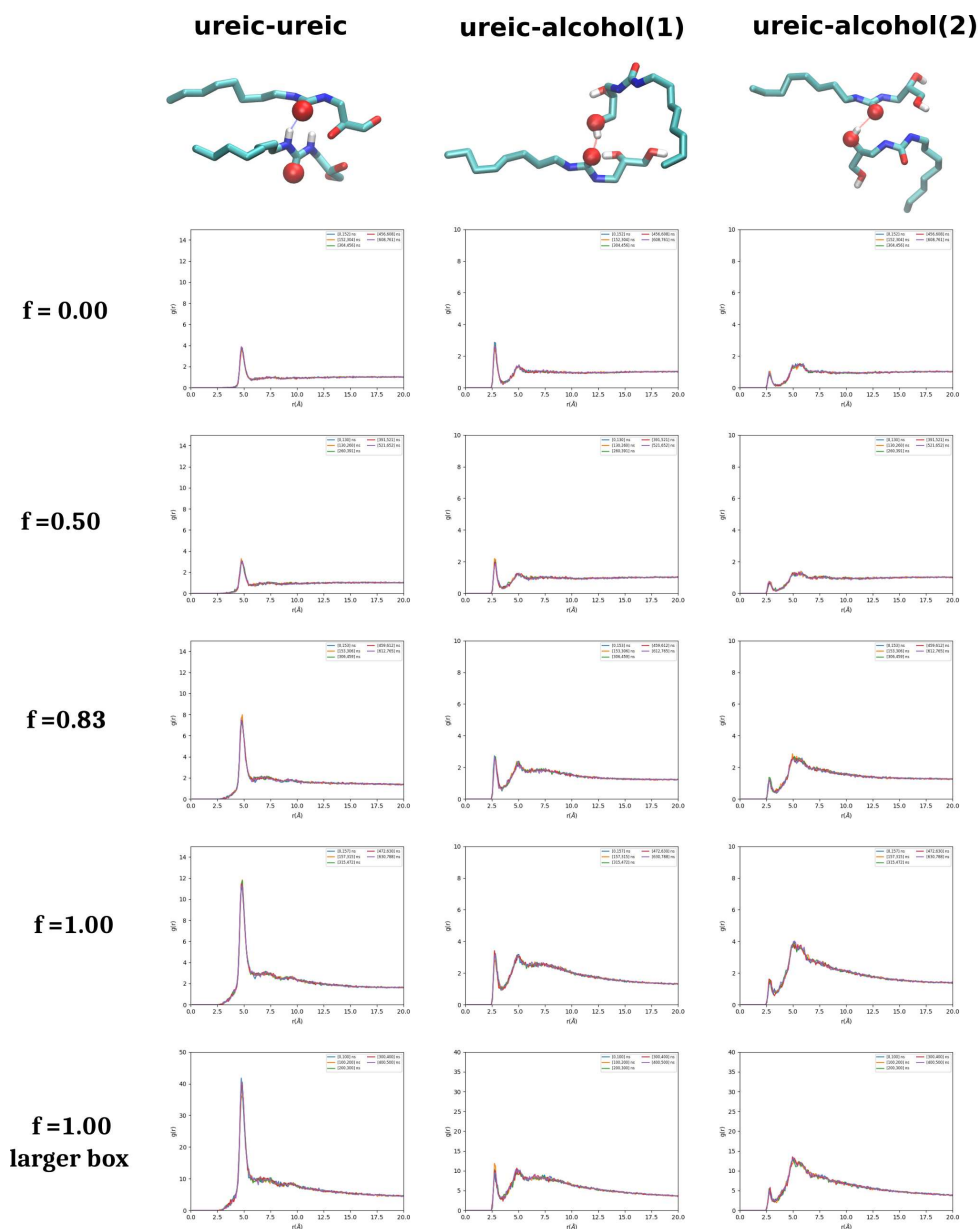


Figure S9: RDF plots between polar groups of the solute. RDF functions between three intermolecular pairs of oxygen atoms of the hydroxychannel solute. Each row represents a particular composition along the composition range along the path I. In the last row, we report the same analysis for the system corresponding to the larger box with binary water-solute system (see brown diamond in Figure 2). Note that the y-scale is not the same for the last row series of graphs.

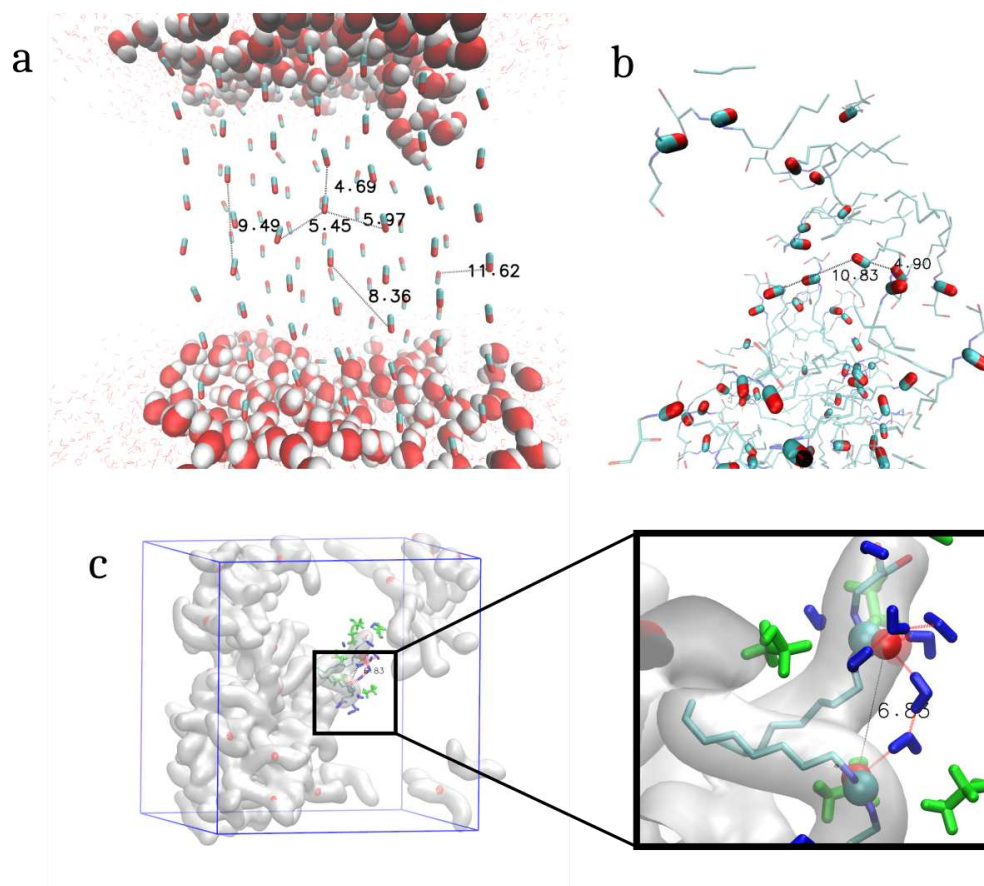


Figure S10: Structural features in ordered and disordered aggregates. (a) H1 hydroxychannel crystal after equilibration in a lipid bilayer from the initial X-ray data.^{S3} For convenience, only the ureic dipoles are depicted using a stick representation. The water molecules closed to the entrance of the channels are shown as VdW spheres and the water molecules in the bulk are shown as lines. The smallest distances^a between ureic oxygen atoms are highlighted and corresponds to the broad peaks of the corresponding RDF trace in the crystal-like structure in bilayer, and plotted in Figure 7b. Alignment of the ureic dipoles of H1 molecules forming a large aggregate in water-ethanol mixture ($C = 769\text{mmol/L}$; $f = 1.0$). For sake of clarity, water and ethanol are omitted in this representation. (c) Zoom-in on the irregular interface between solute and solvent. For clarity, only water (blue) and ethanol (green) molecules in the vicinity of a few H1 molecules are represented. The red lines show hydrogen bonds formed between water molecules or with the ureic part of the H1 molecule. The indicated distance is associated to the peak around 7.2 \AA observed in the aggregate RDF trace in Figure 7.

^a the distances should be read to one decimal place for accuracy, even though the default non-changeable format in VMD is two decimal places.

References

- (S1) Schöttl, S.; Marcus, J.; Diat, O.; Touraud, D.; Kunz, W.; Zemb, T.; Horinek, D. Emergence of Surfactant-Free Micelles from Ternary Solutions. *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 2949–2954.
- (S2) Licsandru, E.; Kocsis, I.; Shen, Y.-x.; Murail, S.; Legrand, Y.-M.; van der Lee, A.; Tsai, D.; Baaden, M.; Kumar, M.; Barboiu, M. Salt-Excluding Artificial Water Channels Exhibiting Enhanced Dipolar Water and Proton Translocation. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 5403–5409.
- (S3) Huang, L.-B.; Hardiagon, A.; Kocsis, I.; Jegu, C.-A.; Deleanu, M.; Gilles, A.; van der Lee, A.; Sterpone, F.; Baaden, M.; Barboiu, M. Hydroxy Channels–Adaptive Pathways for Selective Water Cluster Permeation. *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 4224–4233.

5.3 Résultats et Discussion

En utilisant un algorithme de *clustering*, nous avons détecté les agrégats moléculaires de AWCs au cours du temps. Cela a permis de suivre l'évolution de la taille et du nombre d'agrégats. L'équilibre étant atteint après quelques nanosecondes, la durée totale des simulations, 500ns, permet ainsi de récolter des statistiques suffisantes pour caractériser l'état du système. La séparation de phase a lieu pour une fraction en eau $0.5 < f < 0.83$ dans le cas d'une concentration en AWC fixe (769mmol/L - chemin I). Expérimentalement, pour des fractions molaires d'eau similaires, les agrégats forment une émulsion monodisperse (en équilibre dynamique) de gouttelettes de taille $\sim 100\text{nm}$. La séparation de phase observée dans nos simulations de taille de boîte $< 10\text{nm}$ est un cas particulier de séparation de phase à taille finie et n'apporte qu'une information locale sur la structure des interfaces entre agrégat et solvant. Ainsi, nous avons établi que l'éthanol pouvait se trouver en plus grande quantité aux abords des interfaces solvant-soluté dans les systèmes où la séparation de phase est observée. D'autres conditions de solvation des composés AWC ont pu être explorés à travers le chemin II. En abaissant la concentration en canaux, à fraction molaire en eau élevée, la distribution de taille des agrégats s'écarte du régime linéaire (en échelle log-log), c'est-à-dire que des agrégats de taille intermédiaires sont formés dans les mélanges AWC-eau-éthanol tout en étant dispersés dans le solvant. L'analyse des densités radiales des constituants du système autour des agrégats a également montré que l'éthanol joue un rôle important dans la stabilisation des agrégats nanoscopiques. Enfin, nous avons caractérisé l'ordre de ces structures via le calcul des fonctions de distributions radiales des différentes parties hydrophiles des molécules. Il en résulte que les briques moléculaires des AWCs s'assemblent préférentiellement en micelle asymétrique, favorisant le contact entre les parties uréiques des molécules. Pour les gros agrégats, des clusters d'eau sont dynamiquement présents à l'intérieur des agrégats, loin des interfaces avec le solvant. Cela suggère que le mélange eau-éthanol permette de disperser des agrégats d'AWCs en solution tout en gardant une structure désordonnée avec des interfaces mélangeant des contacts hydrophiles et hydrophobes.

Nous pensons notamment que cette structure permet aux agrégats de s'adapter dynamiquement lors de l'encapsulation dans un milieu désordonné, comme les polymères utilisés pour la conception de membranes hybrides. Cette structure couplée avec un choix judicieux des proportions de réactifs de la polymérisation interfaciale permet ainsi de garantir à la fois la perméabilité en eau de ces structures ainsi qu'une réduction des défauts structurels dans la matrice de PA, et par conséquent la bonne sélectivité de la membrane AWC-PA.

DISCUSSION ET CONCLUSION

La connaissance s'acquiert par l'expérience, tout le reste n'est que de l'information.

– Albert Einstein

6.1	Structure des canaux auto-organisés	204
6.2	Auto-assemblage et stabilité	207
6.3	Validation des modèles théoriques	210
6.4	Structure des AWCs dans d'autres milieux	212
6.5	Conclusion générale	215

6.1 Structure des canaux auto-organisés

L'hypothèse des structures cristallines

Dans les chapitres précédents, l'étude de plusieurs AWCs a permis de montrer la diversité de structures perméables à l'eau. Une première hypothèse était de considérer la structure cristallographique comme la structure la plus plausible pour expliquer les résultats expérimentaux. Rappelons que, d'après les expériences de *stopped-flow*, les AWCs étudiés dans cette thèse sont sélectifs à l'eau et ne conduisent pas les gros ions (Na^+ , Cl^-). Par exemple, la structure cristallographique des composés d'*imidazole* forment des canaux de diamètre minimal 2,6 Å, proche de celui des aquaporines. Ainsi une structure rigide cristalline dont les pores limitent le passage stérique des ions hydratés semblait au premier abord plausible pour expliquer les caractéristiques uniques de sélectivité des *imidazoles*, des *hydroxychannels* ou des *pillar-arènes*. Pour juger de la qualité d'un modèle, nous nous sommes focalisés principalement sur la perméabilité en eau des structures. Cependant, dans toutes les simulations réalisées, nous n'avons pas repéré de passage d'ions à travers les membranes contenant des AWCs, ce qui ne contredit pas la sélectivité attendue.

L'étude de la perméabilité des structures cristallines a été approfondie dans la section 4.4. Rappelons que dans les modèles cristallins stables, l'interface entre lipides et molécules contribue considérablement au nombre de perméations total du nanocristal. Les canaux dit latéraux ne sont pas stationnaires et les filets d'eau se déforment considérablement. Un régime similaire a été observé dans certains canaux centraux et est associé à un élargissement du diamètre du canal et une baisse du nombre moyen de liaisons hydrogène par molécule d'eau dans le canal. La perméabilité totale d'un nanocristal ramené au nombre de canaux est peu sensible au ratio surface (latérale) sur volume de l'assemblage, dans la plage de taille étudiée. Nous pensons que cet effet est dû à une compensation entre les contributions des canaux centraux et latéraux dans les systèmes plus larges.

La forme éponge

Dans le cas des AWCs auto-organisés constituées de molécules de faible masse molaire (*imidazoles*, *hydroxychannels*), plusieurs arguments laissent à penser que les structures plus désordonnées dites *éponges* sont plausibles pour expliquer l'augmentation de la perméabilité des liposomes.

D'une part, la structure en *éponge* se forme dans d'autres environnements comme lors de l'agrégation spontanée d'AWCs en solution éthanolique, en dessous du seuil de précipitation (voir chapitre 5). La structure en *éponge* permet de rendre compte également de niveaux de perméabilité très élevée, comme dans le cas des *hydroxychannels* vus en section 3.4. De plus, en utilisant un déséquilibre de charge initial, nous avons pu constater que ces canaux ne conduisaient pas les ions (voir section 3.4.3). La sélectivité est un critère pour juger de la qualité des modèles théoriques qu'il convient de prendre en compte dans l'élaboration des protocoles futurs pour modéliser les AWCs. Une approche plus rigoureuse de la perméation des ions impliquent l'utilisation de méthodes de mesure d'évènements rares

et sort du cadre de cette thèse [100].

Rappelons que les perméabilités mesurées en DM sont des perméabilités diffusives (voir section 1.2.2) tandis que les conditions expérimentales relèvent de situations hors-équilibre (osmose directe dans les liposomes et osmose inverse dans les tests de membranes hybrides). Dans un premier temps, nous avons supposé que les structures n'étaient pas déformées par l'action d'une pression osmotique et nous nous sommes intéressés à l'influence de la longueur des chaînes aliphatiques et de la morphologie des monomères d'*imidazole* sur la stabilité et la perméabilité à l'équilibre [61, 63]. Récemment, nous avons reproduit dans les simulations des conditions d'osmose directe, en utilisant le montage abordé en section 1.2.3. Les résultats sont présentés dans la Figure 6.1. Ces conditions permettent d'observer un flux net d'eau dans la phase *éponge*. Dans le cas des canaux *imidazoles*, la perméabilité osmotique expérimentale est relativement faible par rapport à d'autres AWCs donc l'utilisation de fortes concentrations en ions est nécessaire pour obtenir un échantillon statistique satisfaisant. Notons que la méthode de la pression hydrostatique mentionnée en section 1.2.3 peut être une alternative à l'utilisation d'une concentration trop forte en ions qui pourraient altérer la stabilité de la membrane lipidique.

Perméabilités expérimentale et théorique

Dans la section 1.2.3, nous avons rappelé les différentes grandeurs reliées à la perméabilité des AWCs qu'il convient de distinguer. Dans la section 1.3.2, nous avons également rappelé les résultats relatifs à la perméabilité d'autres systèmes naturels et synthétiques. Plusieurs sources d'erreur semblent récurrentes dans de nombreuses études, et rendent difficiles l'interprétation et la comparaison des résultats expérimentaux et de simulations.

Dans les simulations, les valeurs de perméabilité dépendent des conditions utilisées (équilibre, osmose directe, osmose inverse). La comparaison avec les valeurs expérimentales (*stopped-flow*) est valable dans le cas de l'osmose directe. Il est aussi possible d'utiliser le modèle de diffusion collective pour calculer la perméabilité osmotique à partir de simulations faites à l'équilibre, à condition de vérifier que les canaux s'écartent peu de leur configuration d'équilibre. Dans le cas des canaux *éponge*, la structure des canaux n'est pas stationnaire, donc la perméabilité osmotique doit être calculée dans un montage adéquate (voir Figure 6.1).

Expérimentalement, les expériences de *stopped-flow* ont été interprétées à l'aide d'une équation largement utilisée dans le domaine de la biophysique où la perméabilité des liposomes est inversement proportionnelle à la différence de concentrations ($\Delta C = C_{out} - C_{in}$) entre le milieu extérieur (C_{out}) et le milieu intérieur du liposome (C_{in}). Cependant, deux méthodes sont jugées désormais plus appropriées [45] : la résolution par intégration des équations différentielles du modèle de solution-diffusion et l'utilisation d'une expression analytique approchée où la perméabilité est inversement proportionnelle à C_{out}^2 . Par exemple, dans le cas des *imidazoles* HC8, R-HC8, et S-HC8, les perméabilités par canal ont été réestimées depuis à respectivement à 0,60, 0,33 et 0,64 $10^6 H_2O/s/canal$ (contre 1,6, 0,9 et 1,8 $10^6 H_2O/s/canal$). Une bonne pratique pour l'exploitation des données expérimentales de *stopped-flow* est de comparer les valeurs de perméabilité obtenues pour différentes valeurs de C_{in} , C_{out} et ΔC et ainsi vérifier que la perméabilité ne dépend pas de ces paramètres.

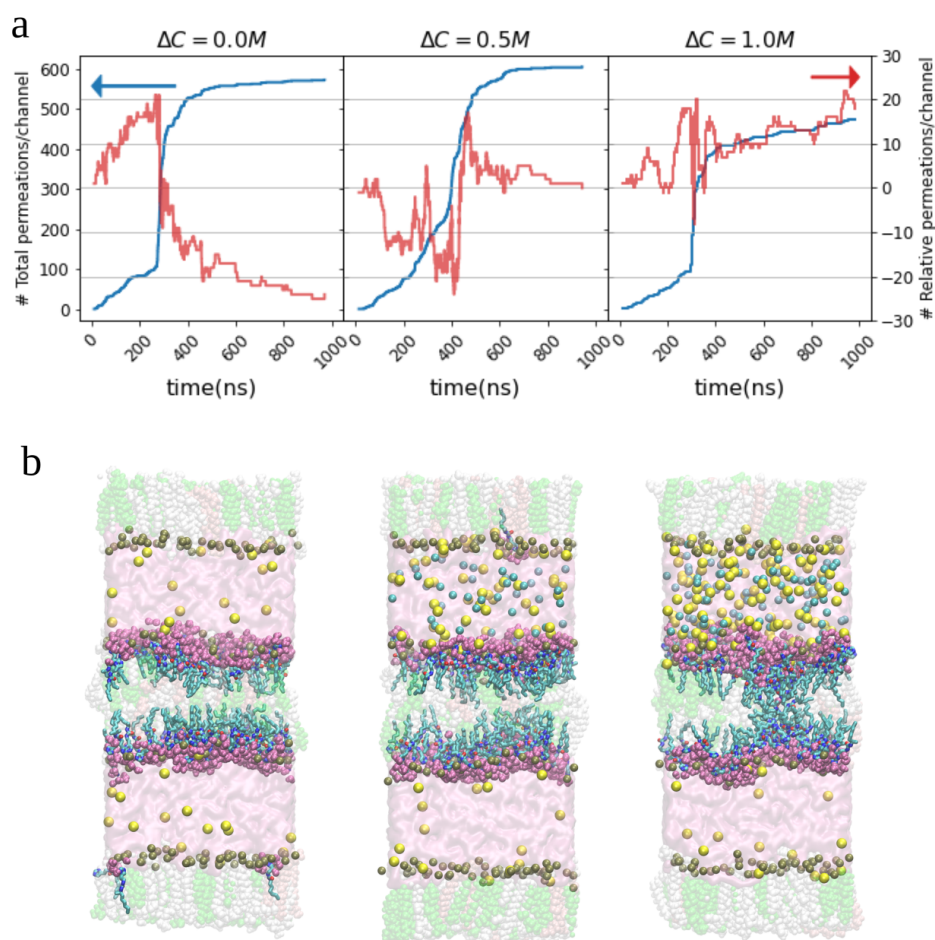


FIGURE 6.1 – Simulations dans les conditions d’osmose directe d’un assemblage de S-HC8 dans un montage en double membrane. a) Nombre total (bleu) et net (rouge) de perméations d’eau cumulées dans un assemblage de S-HC8 initialement sous forme cristalline soumis à une différence de pression osmotique créée par un gradient de concentration (ΔC) entre les deux compartiments entourant la membrane. La forte augmentation du flux d’eau vers 300 ns est reliée à la relaxation de la structure cristalline vers la structure *éponge*. Dans le cas $\Delta C = 1.0M$, le nombre de perméations nettes et le nombre total de perméations croît linéairement après 300 ns. b) Configuration finale après 1000 ns de simulation. Les molécules de S-HC8 présentes dans une seule des deux membranes (au centre) et les molécules d’eau situées à moins de 3 Å sont représentées respectivement en bleu et rose. Les ions sont représentés par des sphères de van der Waals. La concentration des ions dans le compartiment inférieur est de 0.15 M et les concentrations du compartiment supérieur sont respectivement 0.15, 0.65 et 1.15 M (de gauche à droite).

Pour comparer la perméabilité des liposomes dans les expériences avec la perméabilité des structures en simulation de DM, il faut se ramener à une grandeur commune, la perméabilité par canal. Contrairement au cas des canaux unimoléculaires, le nombre de canaux formés par auto-assemblage de monomères de AWCs n'est pas connu a priori. Ainsi, les expérimentateurs se basent sur la structure cristalline pour estimer approximativement le nombre de molécules que forment un canal^a. Dans le cas de l'hypothèse de canaux *éponges*, les canaux ne sont pas discrets et cette méthode de comparaison n'est pas adaptée. Nous proposons par exemple de normaliser la perméabilité par le ratio mCLR, c'est-à-dire le ratio entre le nombre de molécules d'AWCs et le nombre de molécules de lipides. Expérimentalement, il existe des méthodes pour déterminer le taux d'insertion des AWCs dans les liposomes (voir 1.1.4). Cependant, cette méthode ne fonctionne que dans certains cas et l'insertion est supposée maximale. Cela peut conduire à une deuxième surestimation des valeurs expérimentales. De même, une meilleure connaissance du partitionnement et de la densité moyenne des canaux dans les membranes est un facteur d'erreur dans la modélisation.

6.2 Auto-assemblage et stabilité

Données expérimentales

Nous avons constaté que peu d'études sur les AWCs s'attardent sur le lien entre concentration des canaux et perméabilité unitaire par canal. Par exemple, dans le cas du *canal-T*, un canal à ion homologue du canal naturel Gramicidine A, la perméabilité des liposomes est directement proportionnelle à la concentration en composés dissous dans le mélange initial [128]. De même, les canaux PAP présentent une perméabilité d'eau proportionnelle à la concentration en canaux [56]. Par ailleurs, d'autres études reportent un changement brutal de perméabilité d'eau à haute concentration en canaux. Dans le cas des PAH[4] [19], la non-linéarité est associée aux changements structuraux des chemins de perméation de l'eau lorsque les canaux PAP[4] s'agrègent, tandis que, dans le cas des *hydroxychannels*, la brutale hausse de la perméabilité d'eau est associée à un changement structural important, comme la formation de canaux plus larges (voir section 3.4). Dans le cas des *aquafoldamères* [19], la perméabilité en eau (par canal) augmente avec la concentration en canaux puis diminue à une concentration plus élevée ($mCLR(DOPC/canal) < 4000$).

Dans le développement de futures membranes biomimétiques, il est important de se concentrer sur l'importance des phénomènes d'auto-assemblage dans les milieux complexes comme les lipides puis dans les polymères. En effet, la densité de canaux dans leur forme perméable doit être optimisée pour dépasser les niveaux faibles d'insertion observés actuellement dans le cas des aquaporines et des nanotubes de carbone.

a. e.g. dans le cas des canaux cristallins de S-HC8, nous avons estimée que 112 molécules formaient 6 canaux, de manière à former un assemblage stable perméable à l'eau et recouvrant l'épaisseur de la membrane ($\simeq 4nm$).

Le choix du champ de force

Pour reproduire in-silico les propriétés d'assemblage complexes (dans les lipides et les polymères), les champs de force classiques nécessitent d'être subtilement calibrés (voir Figure 6.2).

Dans les études présentées précédemment, les modèles choisis ont été restreints aux cas de GAFF (Amber) et CGenFF (Charmm). Notons que GAFF et CGenFF sont des champs de force dont la plupart des géométries et des groupes chimiques reportés ont été optimisés dans un ensemble initial de molécules caractéristiques. Ces champs de force ont été initialement développés pour accéder à une paramétrisation rapide de petits composés chimiques, souvent dans le cadre de la recherche pharmaceutique. Ainsi, les données expérimentales utilisées dans la validation des champs de force (énergie libre de solvation, densité des liquides pures, données structurales de vibration électronique) sont adaptées pour l'étude de solubilité des composés, ou de l'association de ligands avec des molécules biologiques. La paramétrisation des petites molécules n'est donc pas spécifiquement optimisée pour étudier l'agrégation d'une phase dans une autre. Notamment les interactions à longue portée (VDW au delà du *cutoff* et interaction coulombienne) peuvent être surestimées, comme dans le cas de GAFF, par le choix en dernier lieu des charges partielles des composés, ou sous-estimées, dans le cas de CgenFF, favorisant une substance amorphe.

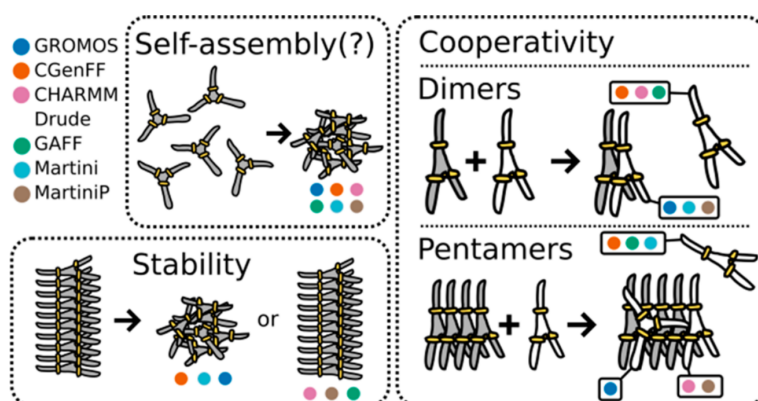


FIGURE 6.2 – Illustration de l'effet du champ de force sur l'agrégation de monomères CTA. Ces composés ont tendance à former de longues fibres dans de nombreuses conditions expérimentales. Par exemple, le champ de force GAFF a tendance à stabiliser la structure ordonnée mais ne permet pas de suivre la dynamique d'agrégation des fibres. Reproduite à partir de [129].

Les résultats obtenus avec deux paramétrisations différentes ont permis toutefois de proposer deux scénarios opposés. Afin d'estimer les effets de la paramétrisation sur les propriétés des AWCs, nous avons comparé plusieurs protocoles de simulation dont les résultats sont donnés dans la Figure 6.3. Il en résulte que le choix des charges partielles dans les champs de force classique joue un rôle primordial dans la cohésion de la phase ordonnée.

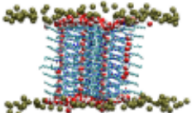
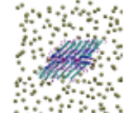
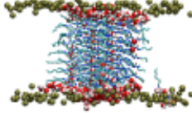
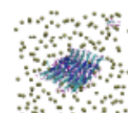
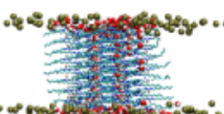
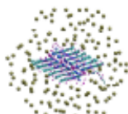
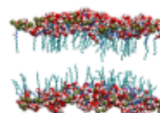
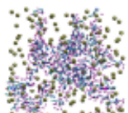
Simula- -tion	Champ de force				Durée (ns)	Configuration finale	
	Lipides	LJ	charges	Interac- Tions 1-4		vue latérale	vue de dessus
<i>sim1</i>	Slipids	GAFF	GAFF	Amber	2480		
<i>sim2</i>	Charmm36	CGenFF	HF/6-31G + RESP	Charmm	1230		
<i>sim3</i>	Charmm36	GAFF	GAFF	Charmm	1960		
<i>sim4</i>	Charmm36	CGenFF	CGenFF	Charmm	1000		

FIGURE 6.3 – Influence du champ de force sur la stabilité des cristaux de HC8 dans la membrane lipidique : les choix du modèle de lipides, du traitement correct des interactions 1-4 et des potentiels de Lennard-Jones n’ont pas d’effets notables sur la stabilité. Cependant, l’utilisation de charges de type AM1-BCC (GAFF) ou recalculée à partir d’un calcul quantique (HF/6-31G + RESP) avec une molécule dans son état gazeux garantit la stabilité de l’assemblage cristallin. Les ensembles de charges partielles générées dans la méthode AM1-BCC et en utilisant un calcul quantique donne des résultats proches. Ce résultat n’est pas étonnant, car les charges AM1-BCC utilisent des corrections pré-calculées à partir d’un niveau de théorie quantique proche

La solubilité des composés dans les lipides augmente avec la longueur des chaînes aliphatiques, ce qui est corroborée à l’aide des mesures de perméabilité dans les liposomes [3]. Cependant, un simple changement de géométrie de la phase ordonnée peut avoir également un effet très important sur la stabilité (voir Figure 6.4).

Nous pensons qu’une meilleure prise en compte des interactions à longue portée dont les effets de polarisabilité pourraient améliorer les modèles. Les champs de force polarisables remplissent ce critère de précision. Une autre possibilité est d’optimiser les charges partielles dans les calculs quantiques (HF, MP2 ou DFT) en utilisant plusieurs monomères en interaction (dimères, quartets, colonnes d’imidazoles). De nouvelles approches tirant profit du *Machine Learning* ont été récemment développées pour améliorer la description des interactions moléculaires dans les systèmes de grande taille [130-132]. Dans la mesure où le

domaine des champs de force est en constante évolution, il serait pertinent, dans les années à venir, d'affiner les modèles existants d'AWCs en utilisant ces nouvelles approches.

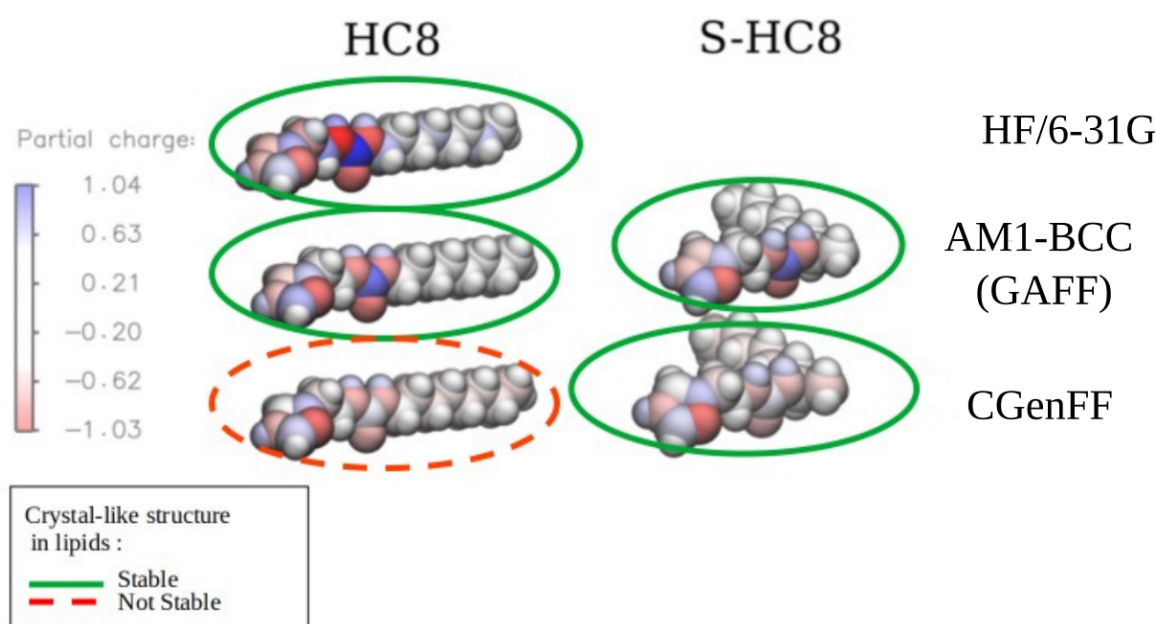


FIGURE 6.4 – Charges partielles, géométrie et stabilité. Les atomes sont colorés suivant la valeur de leur charge partielle. La stabilité des assemblages dans les lipides est repérée visuellement après 1-2 μ s de simulation. La géométrie des molécules est représentée comme étant dans la phase cristalline des canaux. Bien que les charges partielles des molécules isomères S-HC8 et HC8 soient identiques, la simple géométrie coudée impactant la forme du nanocristal de S-HC8 rend l'assemblage stable alors que son isomère HC8 ne l'est pas. Nous avons pu vérifier sur plusieurs simulations, dont des simulations plus anciennes que ces résultats restaient valables [63].

6.3 Validation des modèles théoriques

Énergie libre de solvatation

Afin de pouvoir valider les modèles adoptés, nous avons besoin de davantage de données expérimentales à comparer avec des grandeurs accessibles dans les simulations. Pour cela, nous avons utilisé des simulations alchimiques [133] pour calculer l'énergie libre d'hydratation de petites molécules dans l'eau dont certaines molécules de AWCs. Cette méthode a été utilisée pour valider le champ de force GAFF sur des bases de données de petites molécules [134]. Dans le tableau 6.1, nous présentons brièvement des résultats préliminaires sur trois molécules, l'éthanol, l'octanol et H1 (*hydroxychannel*). Expérimentalement, il n'est pas toujours aisé d'obtenir des valeurs d'énergie libre d'hydratation. Une autre grandeur, le coefficient de partage d'un soluté entre deux phases ($\log(P)$) est toutefois plus accessible et peut être comparé également à des calculs faits en DM [135-137].

TABLE 6.1 – Énergie libre d’hydratation de quelques composés étudiés dans cette thèse et comparaison entre modèles et valeurs expérimentales.

	CgenFF (notre travail)		GAFF (notre travail)		GAFF (Autre source) ^a		Expérimental ^b	
	ΔG (kJ/mol)	erreur	ΔG (kJ/mol)	erreur	ΔG (kcal/J)	erreur	dG (kcal/J)	erreur
ethanol	-19.51	0.38	-14.33	0.13	-14,98	0,09	-20,92	2,51
octan-1-ol	20.07	1.11	-11.27	0.60	-11,88	0,13	-17,11	0,13
H1	-21.16	7.44	-68.79	2.47	-	-	-	-

^a Nous pouvons voir que nos résultats dans le cas de GAFF reproduisent bien les valeurs trouvées par un autre groupe [133]. Cependant, nous reportons une valeur positive très élevée pour l’octanol dans le cas de l’utilisation du champ de force CGenFF^b. Les résultats pour la molécule H1 (*hydroxychannels*) montrent que les deux champs de force aboutissent à des valeurs très différentes d’énergie libre d’hydratation. Il en résulte que l’affinement des paramètres du champ de force pour les composés AWCs doit s’accompagner d’une validation par des données expérimentales comme les énergies de solvatation ou les coefficients de partition, plus facilement accessibles expérimentalement [137].

^b données calculées avec la même méthode par un autre groupe [133].

^c données expérimentales extraites de [138].

Changement d’état

La phase des composés étudiés varie suivant le champ de force étudié. Or, les températures de transition de phase peuvent être utilisées pour valider certains modèles de DM à partir de calculs quantiques [139]. Nous avons accès à des données de DSC (Differential Scanning Calorimetry) qui indiquent des transitions de phase dans les échantillons solides. Les transitions de phase identifiées sont endothermiques, donc nous pensons qu’elles sont associées à des transitions entre la phase (supposée cristalline à basse température) et des phases amorphes à haute température. Cependant, il est difficile d’interpréter quantitativement ces courbes. Tout d’abord le niveau de cristallinité des échantillons n’est pas connue et nécessite des mesures complémentaires de diffraction de poudre [140]. D’autre part, les échantillons sont dégradés à haute température, ce qui ne permet pas d’observer de transitions de phase autres que solide-solide. Enfin, il nous semble que l’exploitation des températures de transitions vitreuses des matériaux ne semble pas adaptée à la calibration de grandeurs thermodynamiques à cause d’effets cinétiques importants.

Détermination de la taille des structures perméables à l’eau

Les modèles construits dans les chapitres 3-5 comportent des hypothèses fortes sur la taille des structures formées par auto-assemblage. Dans la section 3.2, les simulations de DM ont montré que les composés PAD étaient plus stables lorsqu’ils sont insérés sous forme d’agrégats. De plus, ces agrégats ont tendance à pivoter et former des conduits d’eau connectant les deux extrémités de la membrane. Dans la section 4.4, nous avons fait varier la taille latérale d’un assemblage cristallin de composés *imidazole* sur la gamme de taille 4-10nm, ce qui nous a permis d’observer des régimes de conduction non échantillonnés dans les simulations précédentes. Par ailleurs, les molécules d’eau ne forment pas de fils d’eau stationnaires dans les pores désordonnés. Dans les expériences, les liposomes incorporant des AWCs ont un diamètre $\simeq 100$ nm, limitant la taille maximale des assemblages d’AWCs. À ce stade, plusieurs hypothèses sur la taille des canaux peuvent être formulées suivant le degré d’ordre des canaux (voir Figure 6.5).

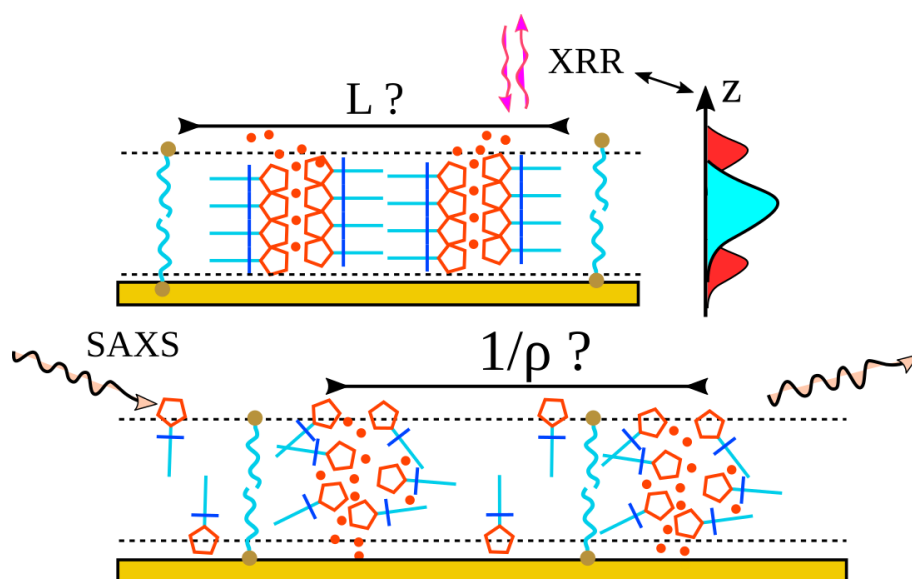


FIGURE 6.5 – Hypothèses sur la taille et la distribution des canaux dans les bicouches lipidiques et lien avec les expériences de diffraction sur les bicouches lipidiques supportées.

Afin de valider ces hypothèses sur la structure des AWCs dans les membranes lipidiques, nous avons programmé une série d'expériences en collaboration avec l'équipe de M. Barboiu (IEM) et l'équipe de M. Maccarini (ERSF). Ces expériences utilisent des données de diffraction sur des bicouches de lipides supportées sur des substrats de silicone. La réflectométrie de rayons X (XRR) est utilisée pour déterminer la distribution des atomes le long de la direction normale à la membrane tandis que la diffraction de rayons X en incidence rasante (GI-SAXS) permet de déterminer les corrélations spatiales entre différents composants d'une membrane suivant le plan de la membrane (voir Figure 6.5). Les premiers essais permettent de confirmer la présence des AWCs dans la bicouche supportée (voir Figure 6.6). L'extension à d'autres molécules d'AWCs et l'utilisation d'une composition de membrane plus proche de celle utilisée dans les expériences de transport seront effectués prochainement dans une seconde série de mesures. De plus, l'utilisation de rayons X de plus haute énergie permettra de révéler la distribution des agrégats selon le plan de la membrane.

6.4 Structure des AWCs dans d'autres milieux

Les composés *imidazoles* et les composés PAD ont été insérés avec succès dans les membranes en polyamide [122, 141]. La technique expérimentale est basée sur la polymérisation interfaciale entre les réactifs du polymères (MPD + TMC) sur un substrat poreux de polysulfonates (PSf) préalablement traité en surface par une solution éthanolique dans laquelle sont dispersés les agrégats d'AWCs (voir Figure 6.7).

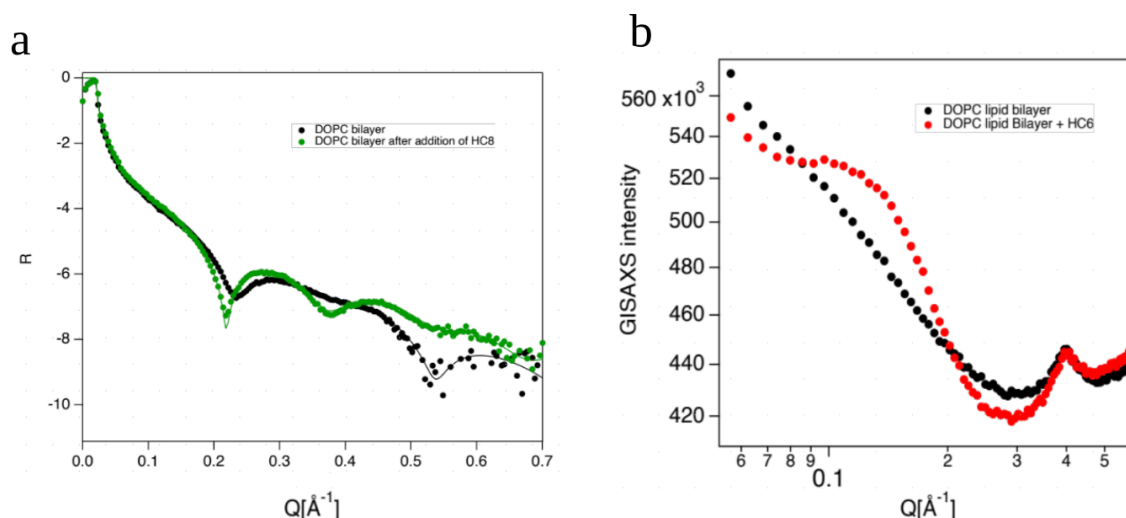


FIGURE 6.6 – a) Profile de réflectométrie XRR d'une membrane DOPC supportée avec et sans I-quartets HC8. Les traces continues proviennent d'un modèle permettant de déterminer les caractéristiques de la bicouche (épaisseur, rugosité) indiquant que les canaux d'I-quartet pénètrent bien dans la membrane de DOPC sans rompre la structure globale de la bicouche supportée. L'analyse des données pourra être revisitée à l'aide de modèles incluant la présence des AWCs dans la bicouche. b) Intensité du signal GI-SAXS d'une membrane DOPC supportée avec et sans I-quartets HC6. Nous pouvons détecter une hausse du signal dans la zone $0.1-0.2 \text{\AA}^{-1}$ associée à une longueur de 3-6 nm, probablement reliée à l'étendue des agrégats.

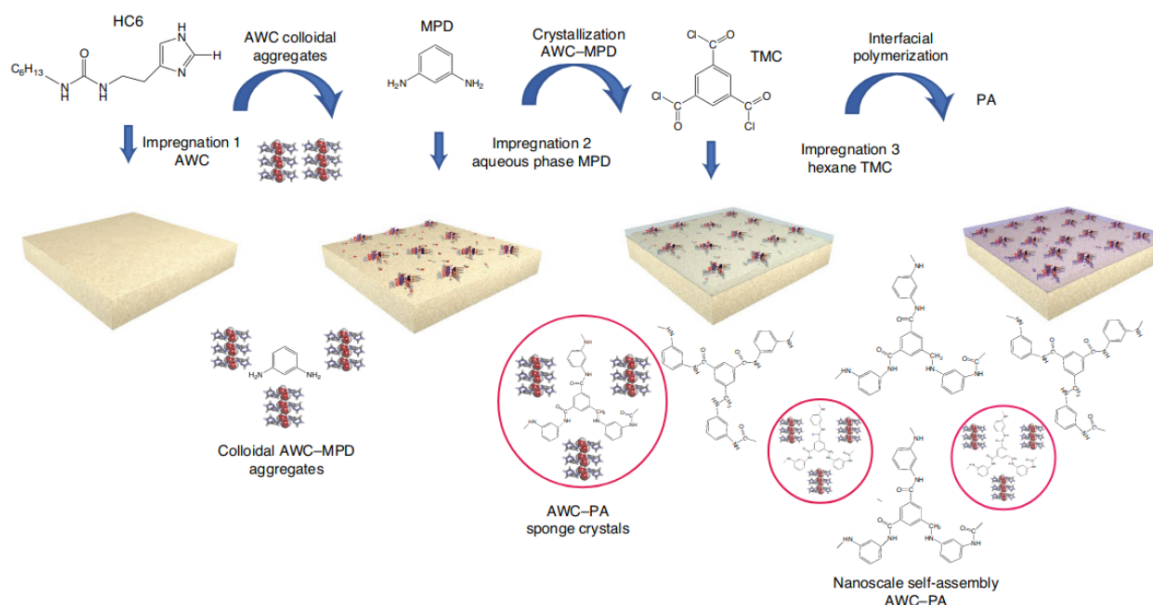


FIGURE 6.7 – a) Illustration du procédé de fabrication de membranes hybrides HC6-PA par polymérisation interfaciale. Reproduite à partir de [121].

En optimisant les proportions entre les différents constituants, les membranes hybrides

ont des performances qui surpassent celles des membranes de contrôle dans les conditions de salinité faible (BWRO), mais également dans les conditions de forte salinité (SWRO, voir Figure 6.8) [4, 121, 122].

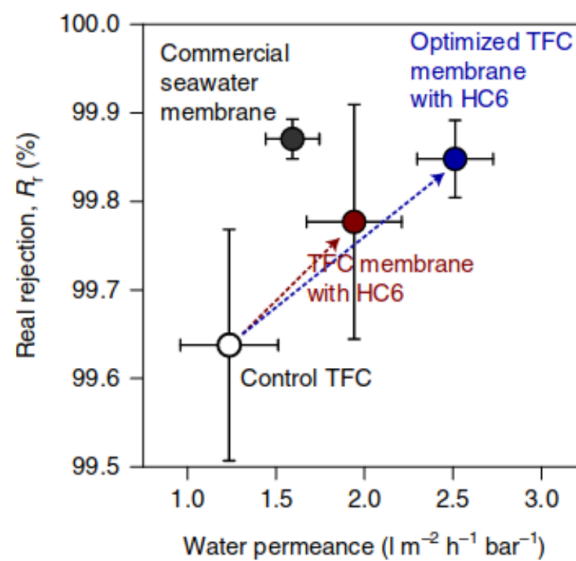


FIGURE 6.8 – Performance d’une membrane AWCs-PA. Taux de rejet de NaCl en fonction de la conductance en eau des membranes HC6-PA. Des tests de cellules RO ont été réalisés dans des conditions réelles proches des installations présentes dans les stations de dessalement et montrent que les prototypes produits permettent un gain de 12% en terme de consommation énergétique. Reproduite à partir de [121].

Des simulations de DM ont été réalisées par un autre groupe pour visualiser la structure possible des agrégats dans les solutions éthanoliques et dans les polyamides. Dans les deux cas, la structure des canaux cristallins subit une réorganisation importante vers une structure de type *éponge*, similaire à la structure observée dans les simulations avec des lipides [63] (voir Figure 6.9).

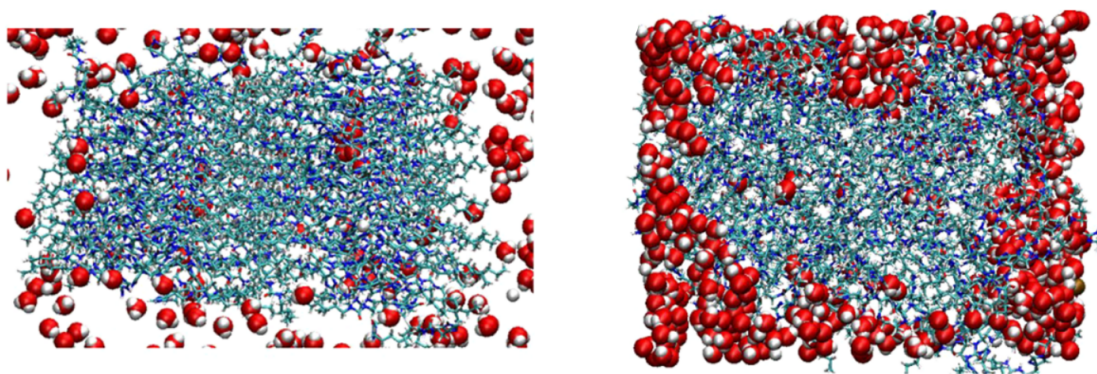


FIGURE 6.9 – Simulations de dynamique moléculaire d’un assemblage de 2x4 colonnes de molécules de HC6 formant un nanocristal de dimensions 5.5 nm x 3 nm x 4.8 nm a) après 60 ns dans un mélange eau-éthanol. b) après 200 ns dans une matrice de PA. Seules les molécules de HC6 (licorice) et les molécules d’eau sont représentés (sphères de van der Waals). Les structures initiales sont issues des données de cristallographie. Les paramètres de champ de force pour ces simulations sont extraites de GAFF (HC8,TMC,MPD et de TraPPE (éthanol) et les charges partielles des atomes d’AWCs ont été obtenus par une procédure de DFT-ESP à partir d’un dimère MPD-TMC et d’un quartet de molécules dans le cas de HC8 [142]. La matrice de polyamide est construite à partir d’une procédure de polymérisation *in-silico* permettant de lier les monomères de MPD et de TMC pour atteindre la densité voulue [143]. Reproduite à partir de [122].

Nous avons également proposé dans le chapitre 5 une approche de modélisation en solution éthanolique, permettant de faire des prédictions sur la structure des agrégats d’AWCs à partir de mélanges ternaires homogènes. La modélisation du milieu environnant (mélanges eau-éthanol et polymères) ajoute de nouvelles inconnues au problème. Les modèles doivent à la fois traiter correctement les interactions hydrophobes et les liaisons hydrogène entre plusieurs espèces chimiques différentes. Des données expérimentales en diffraction de neutrons sur la structure des mélanges obtenus dans ces milieux pourraient également permettre de valider les prédictions de DM [126, 127].

6.5 Conclusion générale

En résumé, j’ai présenté une approche de rationalisation à l’échelle nanoscopique basée sur la technique de Dynamique Moléculaire des phénomènes de perméabilité d’eau dans plusieurs familles de canaux d’eau artificiels. Ces composés synthétiques issus de récentes avancées en synthèse organique ont des propriétés remarquables de perméabilité d’eau et de sélectivité ionique. À la différence d’autres familles de composés dont les avancées sont rappelées, les canaux artificiels auto-assemblés forment facilement des agrégats dans différents environnements (lipides et polymères). L’utilisation de ces composés dans la fabrication de membranes hybrides pourrait révolutionner le domaine des technologies d’osmose inverse. Au travers de simulations de DM, j’ai montré en quoi la modélisation de tels sys-

tèmes reste un défi au niveau théorique. Malgré des efforts pour caractériser expérimentalement les propriétés de transport de ces matériaux, leur structure reste néanmoins mal comprise. Plusieurs modèles de champ de force ont été utilisés pour reproduire finement les interactions entre les différentes parties hydrophiles et hydrophobes de ces composés, en particulier dans des modèles de lipides et dans des solutions d'eau et d'éthanol. L'approche de Dynamique Moléculaire a permis d'identifier les conditions nécessaires pour observer deux modes d'agrégation, en cristal ordonné et en *éponge* désordonnée. Il est encore difficile de pouvoir affirmer qu'un des modes d'agrégation prévaut sur l'autre. De nouvelles données expérimentales comme la caractérisation des agrégats dans les membranes supportées utilisant la diffraction aux rayons X devraient nous apporter des réponses nouvelles.

Du point de vue de la modélisation moléculaire, le sujet était très ambitieux tout en étant passionnant. Pour modéliser les AWCs dans les membranes, nous avons dû faire de nombreux choix comme la taille, l'orientation, la morphologie initiale des assemblages, le champ de force et les conditions de simulation (équilibre, hors équilibre). Les simulations contiennent beaucoup de molécules différentes (plusieurs types de lipides, AWCs, ions, eau) ce qui augmentent les risques d'imprécisions sur les interactions mixtes. Nous pensions initialement pouvoir facilement comparer les différents composés en se basant sur les structures cristallographiques. Cependant, les modèles étaient très sensibles aux conditions des simulations et il était difficile de comparer deux systèmes sur la simple base de la perméabilité en eau, car un autre facteur entrainait en jeu : la stabilité des agrégats.

Je pense que les étapes de paramétrisation du champ de force et de sa validation sont essentielles, ce qui constitue un autre sujet de thèse à part entière. En principe, il faudrait reprendre le travail fait pour la paramétrisation des petits composés pharmaceutiques et l'étendre à une classe de petites molécules ayant des propriétés d'agrégation similaires aux AWCs. Cela demande également une réflexion en amont pour définir les grandeurs expérimentales accessibles par des expériences pouvant être directement calculées en DM pour valider le champ de force. Je pense par exemple aux énergies de solvation, aux coefficients de partition dans les solvants, ou encore à des facteurs de structure calculables dans les expériences de diffraction de rayons X ou de neutrons sur des échantillons liquides. Je regrette de n'avoir pas étudié plus en profondeur les conditions hors équilibre. Ce n'est qu'en augmentant considérablement la pression osmotique que j'ai pu finalement observer des structures *éponges* stables et perméables à l'eau. L'influence des lipides et leur rôle dans la solubilisation des composés ont également peu été étudiés et pourraient faire l'objet de vérifications expérimentales (propriétés mécaniques des membranes, coefficients de diffusion des lipides). Concernant la mesure *in-silico* de la perméabilité de l'eau des AWCs, je suggère de bien vérifier l'échantillonnage de la trajectoire avec des méthodes d'échantillonnage avancée. Enfin, l'étude du transport (ou du non-transport) des ions pourrait être approfondie en changeant les conditions de simulation.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) HARDIAGON, A. ; BAADEN, M. ; STERPONE, F. Artificial Water Channels Form Precursors to Sponge-Like Aggregates in Water–Ethanol Mixtures. *The Journal of Physical Chemistry A* **2022**, *126*, 6628-6636, DOI : [10.1021/acs.jpca.2c04545](https://doi.org/10.1021/acs.jpca.2c04545).
- (2) HARDIAGON, A. ; MURAIL, S. ; HUANG, L.-B. ; van der LEE, A. ; STERPONE, F. ; BARBOIU, M. ; BAADEN, M. Molecular dynamics simulations reveal statistics and microscopic mechanisms of water permeation in membrane-embedded artificial water channel nanoconstructs. *The Journal of Chemical Physics* **2021**, *154*, 184102, DOI : [10.1063/5.0044360](https://doi.org/10.1063/5.0044360).
- (3) HUANG, L.-B. ; HARDIAGON, A. ; KOCSIS, I. ; JEGU, C.-A. ; DELEANU, M. ; GILLES, A. ; van der LEE, A. ; STERPONE, F. ; BAADEN, M. ; BARBOIU, M. Hydroxy Channels–Adaptive Pathways for Selective Water Cluster Permeation. *Journal of the American Chemical Society* **2021**, *143*, 4224-4233, DOI : [10.1021/jacs.0c11952](https://doi.org/10.1021/jacs.0c11952).
- (4) STRILETS, D. ; FA, S. ; HARDIAGON, A. ; BAADEN, M. ; OGOSHI, T. ; BARBOIU, M. Biomimetic Approach for Highly Selective Artificial Water Channels Based on Tubular Pillar[5]arene Dimers. *Angewandte Chemie International Edition* **2020**, *59*, 23213-23219, DOI : <https://doi.org/10.1002/anie.202009219>.
- (5) HARDIAGON, A. ; MURAIL, S. ; HUANG, L. ; BARBOIU, M. ; STERPONE, F. ; BAADEN, M. in *New Trends in Macromolecular and Supramolecular Chemistry for Biological Applications*, J.M. ABADIE, M., PINTEALA, M., ROTARU, A., éd. ; Springer International Publishing : Cham, 2021, p. 51-63, DOI : [10.1007/978-3-030-57456-7_3](https://doi.org/10.1007/978-3-030-57456-7_3).
- (6) MARTINEZ, X. ; HARDIAGON, A. ; SANTUZ, H. ; MURAIL, S. ; BARBOIU, M. ; STERPONE, F. ; BAADEN, M. in *Advances in Bionanomaterials II*, sous la dir. de PIOTTO, S. ; CONCILIO, S. ; SESSA, L. ; ROSSI, F., Springer International Publishing : Cham, 2020, p. 78-99, DOI : [10.1007/978-3-030-47705-9_8](https://doi.org/10.1007/978-3-030-47705-9_8).
- (7) GOEL, G. ; HÉLIX-NIELSEN, C. ; UPADHYAYA, H. M. ; GOEL, S. A bibliometric study on biomimetic and bioinspired membranes for water filtration. *npj Clean Water* **2021**, *4*, 1-12, DOI : [10.1038/s41545-021-00131-4](https://doi.org/10.1038/s41545-021-00131-4).
- (8) ANTONYAN, M. Energy Footprint of Water Desalination., mém. de mast., University of Twente, 2019.
- (9) LEE, A. ; ELAM, J. W. ; DARLING, S. B. Membrane materials for water purification: design, development, and application. *Environmental Science: Water Research & Technology* **2016**, *2*, 17-42, DOI : [10.1039/C5EW00159E](https://doi.org/10.1039/C5EW00159E).
- (10) DIU BERNARD, *Éléments de physique statistique / Bernard Diu, Claudine Guthmann, Danielle Lederer... [et al.]* Collection Enseignement des sciences ; Hermann : Paris, 1989.

- (11) KEDEM, O.; KATCHALSKY, A. A physical interpretation of the phenomenological coefficients of membrane permeability. *The Journal of General Physiology* **1961**, *45*, 143-179, DOI : [10.1085/jgp.45.1.143](https://doi.org/10.1085/jgp.45.1.143).
- (12) KEDEM, O.; KATCHALSKY, A. Permeability of composite membranes. Part 1.—Electric current, volume flow and flow of solute through membranes. *Transactions of the Faraday Society* **1963**, *59*, 1918-1930, DOI : [10.1039/TF9635901918](https://doi.org/10.1039/TF9635901918).
- (13) ROBESON, L. M. Correlation of separation factor versus permeability for polymeric membranes. *Journal of Membrane Science* **1991**, *62*, 165-185, DOI : [10.1016/0376-7388\(91\)80060-J](https://doi.org/10.1016/0376-7388(91)80060-J).
- (14) ROBESON, L. M. The upper bound revisited. *Journal of Membrane Science* **2008**, *320*, 390-400, DOI : [10.1016/j.memsci.2008.04.030](https://doi.org/10.1016/j.memsci.2008.04.030).
- (15) MEHTA, A.; ZYDNEY, A. L. Permeability and selectivity analysis for ultrafiltration membranes. *Journal of Membrane Science* **2005**, *249*, 245-249, DOI : [10.1016/j.memsci.2004.09.040](https://doi.org/10.1016/j.memsci.2004.09.040).
- (16) WERBER, J. R.; OSUJI, C. O.; ELIMELECH, M. Materials for next-generation desalination and water purification membranes. *Nature Reviews Materials* **2016**, *1*, 1-15, DOI : [10.1038/natrevmats.2016.18](https://doi.org/10.1038/natrevmats.2016.18).
- (17) HUANG, L.-B.; DI VINCENZO, M.; LI, Y.; BARBOIU, M. Artificial Water Channels: Towards Biomimetic Membranes for Desalination. *Chemistry – A European Journal* **2021**, *27*, 2224-2239, DOI : [10.1002/chem.202003470](https://doi.org/10.1002/chem.202003470).
- (18) ABAIE, E.; XU, L.; SHEN, Y.-X. Bioinspired and biomimetic membranes for water purification and chemical separation: A review. *Frontiers of Environmental Science & Engineering* **2021**, *15*, 124, DOI : [10.1007/s11783-021-1412-8](https://doi.org/10.1007/s11783-021-1412-8).
- (19) SONG, W. et al. Artificial water channels enable fast and selective water permeation through water-wire networks. *Nature Nanotechnology* **2020**, *15*, 73-79, DOI : [10.1038/s41565-019-0586-8](https://doi.org/10.1038/s41565-019-0586-8).
- (20) AGRE, P. Aquaporin water channels (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie (International Ed. in English)* **2004**, *43*, 4278-4290, DOI : [10.1002/anie.200460804](https://doi.org/10.1002/anie.200460804).
- (21) GRAVELLE, S.; JOLY, L.; DETCHEVERRY, F.; YBERT, C.; COTTIN-BIZONNE, C.; BOUQUET, L. Optimizing water permeability through the hourglass shape of aquaporins. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2013**, *110*, 16367-16372, DOI : [10.1073/pnas.1306447110](https://doi.org/10.1073/pnas.1306447110).
- (22) TAJKHORSHID, E.; NOLLERT, P.; JENSEN, M. O.; MIERCKE, L. J. W.; O'CONNELL, J.; STROUD, R. M.; SCHULTEN, K. Control of the Selectivity of the Aquaporin Water Channel Family by Global Orientational Tuning. *Science* **2002**, *296*, 525-530.
- (23) HORNER, A.; POHL, P. Single-file transport of water through membrane channels. *Faraday Discussions* **2018**, *209*, 9-33, DOI : [10.1039/C8FD00122G](https://doi.org/10.1039/C8FD00122G).

-
- (24) LYNCH, C. I. ; RAO, S. ; SANSOM, M. S. P. Water in Nanopores and Biological Channels: A Molecular Simulation Perspective. *Chemical Reviews* **2020**, *120*, 10298-10335, DOI : [10.1021/acs.chemrev.9b00830](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00830).
- (25) YAN, Z.-J. et al. Artificial Aquaporin That Restores Wound Healing of Impaired Cells. *Journal of the American Chemical Society* **2020**, *142*, 15638-15643, DOI : [10.1021/jacs.0c00601](https://doi.org/10.1021/jacs.0c00601).
- (26) FINKELSTEIN, A. ; ANDERSEN, O. S. The gramicidin a channel: A review of its permeability characteristics with special reference to the single-file aspect of transport. *The Journal of Membrane Biology* **1981**, *59*, 155-171, DOI : [10.1007/BF01875422](https://doi.org/10.1007/BF01875422).
- (27) ROUX, B. Computational Studies of the Gramicidin Channel. *Accounts of Chemical Research* **2002**, *35*, 366-375, DOI : [10.1021/ar010028v](https://doi.org/10.1021/ar010028v).
- (28) BEREZHKOVSII, A. ; HUMMER, G. Single-File Transport of Water Molecules through a Carbon Nanotube. *Physical Review Letters* **2002**, *89*, 064503, DOI : [10.1103/PhysRevLett.89.064503](https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.89.064503).
- (29) ZHU, F. ; TAJKHORSHID, E. ; SCHULTEN, K. Theory and simulation of water permeation in aquaporin-1. *Biophysical Journal* **2004**, *86*, 50-57, DOI : [10.1016/S0006-3495\(04\)74082-5](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(04)74082-5).
- (30) ZHU, F. ; TAJKHORSHID, E. ; SCHULTEN, K. Pressure-Induced Water Transport in Membrane Channels Studied by Molecular Dynamics. *Biophysical Journal* **2002**, *83*, 154-160, DOI : [10.1016/S0006-3495\(02\)75157-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(02)75157-6).
- (31) KALRA, A. ; GARDE, S. ; HUMMER, G. Osmotic water transport through carbon nanotube membranes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2003**, *100*, 10175-80, DOI : [10.1073/pnas.1633354100](https://doi.org/10.1073/pnas.1633354100).
- (32) HERRERA, F. E. ; PANTANO, S. Salt induced asymmetry in membrane simulations by partial restriction of ionic motion. *The Journal of Chemical Physics* **2009**, *130*, 195105, DOI : [10.1063/1.3132705](https://doi.org/10.1063/1.3132705).
- (33) HUMMER, G. ; RASAIHAH, J. ; NOWORYTA, J. Water conduction through the hydrophobic channel of a carbon nanotube. *Nature* **2001**, *414*, 188, DOI : [10.1038/35102535](https://doi.org/10.1038/35102535).
- (34) ZEIDEL, M. L. ; AMBUDKAR, S. V. ; SMITH, B. L. ; AGRE, P. Reconstitution of functional water channels in liposomes containing purified red cell CHIP28 protein. *Biochemistry* **1992**, *31*, 7436-7440, DOI : [10.1021/bi00148a002](https://doi.org/10.1021/bi00148a002).
- (35) CORRY, B. Designing Carbon Nanotube Membranes for Efficient Water Desalination. *The Journal of Physical Chemistry B* **2008**, *112*, 1427-1434, DOI : [10.1021/jp709845u](https://doi.org/10.1021/jp709845u).
- (36) THOMAS, M. ; CORRY, B. A computational assessment of the permeability and salt rejection of carbon nanotube membranes and their application to water desalination. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* **2016**, *374*, 20150020, DOI : [10.1098/rsta.2015.0020](https://doi.org/10.1098/rsta.2015.0020).

- (37) HOLT, J. K. ; PARK, H. G. ; WANG, Y. ; STADERMANN, M. ; ARTYUKHIN, A. B. ; GRIGORPOULOS, C. P. ; NOY, A. ; BAKAJIN, O. Fast Mass Transport Through Sub-2-Nanometer Carbon Nanotubes. *Science* **2006**, *312*, 1034-1037, DOI : [10.1126/science.1126298](https://doi.org/10.1126/science.1126298).
- (38) KUMAR, M. ; GRZELAKOWSKI, M. ; ZILLES, J. ; CLARK, M. ; MEIER, W. Highly permeable polymeric membranes based on the incorporation of the functional water channel protein Aquaporin Z. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2007**, *104*, 20719-20724, DOI : [10.1073/pnas.0708762104](https://doi.org/10.1073/pnas.0708762104).
- (39) ZHAO, Y. ; QIU, C. ; LI, X. ; VARARATTANAVECH, A. ; SHEN, W. ; TORRES, J. ; HÉLIX-NIELSEN, C. ; WANG, R. ; HU, X. ; FANE, A. G. ; TANG, C. Y. Synthesis of robust and high-performance aquaporin-based biomimetic membranes by interfacial polymerization-membrane preparation and RO performance characterization. *Journal of Membrane Science* **2012**, *423-424*, 422-428, DOI : [10.1016/j.memsci.2012.08.039](https://doi.org/10.1016/j.memsci.2012.08.039).
- (40) TANG, C. Y. ; ZHAO, Y. ; WANG, R. ; HÉLIX-NIELSEN, C. ; FANE, A. G. Desalination by biomimetic aquaporin membranes: Review of status and prospects. *Desalination* **2013**, *308*, 34-40, DOI : [10.1016/j.desal.2012.07.007](https://doi.org/10.1016/j.desal.2012.07.007).
- (41) LI, X. ; CHOU, S. ; WANG, R. ; SHI, L. ; FANG, W. ; CHAITRA, G. ; TANG, C. Y. ; TORRES, J. ; HU, X. ; FANE, A. G. Nature gives the best solution for desalination: Aquaporin-based hollow fiber composite membrane with superior performance. *Journal of Membrane Science* **2015**, *494*, 68-77, DOI : [10.1016/j.memsci.2015.07.040](https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.07.040).
- (42) YANG, Z. ; MA, X.-H. ; TANG, C. Y. Recent development of novel membranes for desalination. *Desalination* **2018**, *434*, 37-59, DOI : [10.1016/j.desal.2017.11.046](https://doi.org/10.1016/j.desal.2017.11.046).
- (43) LI, Q. ; LI, X. ; NING, L. ; TAN, C.-H. ; MU, Y. ; WANG, R. Hyperfast Water Transport through Biomimetic Nanochannels from Peptide-Attached (pR)-pillar[5]arene. *Small* **2019**, *15*, 1804678, DOI : [10.1002/smll.201804678](https://doi.org/10.1002/smll.201804678).
- (44) HERNÁNDEZ, S. ; PORTER, C. ; ZHANG, X. ; WEI, Y. ; BHATTACHARYYA, D. Layer-by-layer Assembled Membranes with Immobilized Porins. *RSC advances* **2017**, *7*, 56123-56136, DOI : [10.1039/c7ra08737c](https://doi.org/10.1039/c7ra08737c).
- (45) PORTER, C. J. ; WERBER, J. R. ; ZHONG, M. ; WILSON, C. J. ; ELIMELECH, M. Pathways and Challenges for Biomimetic Desalination Membranes with Sub-Nanometer Channels. *ACS Nano* **2020**, *14*, 10894-10916, DOI : [10.1021/acsnano.0c05753](https://doi.org/10.1021/acsnano.0c05753).
- (46) Aquaporin - Water made by Nature., Aquaporin <https://aquaporin.com/> (visité le 29/09/2022).
- (47) LI, Z. ; VALLADARES LINARES, R. ; BUCS, S. ; FORTUNATO, L. ; HÉLIX-NIELSEN, C. ; VROUWENVELDER, J. S. ; GHAFFOUR, N. ; LEIKNES, T. ; AMY, G. Aquaporin based biomimetic membrane in forward osmosis: Chemical cleaning resistance and practical operation. *Desalination* **2017**, *420*, 208-215, DOI : [10.1016/j.desal.2017.07.015](https://doi.org/10.1016/j.desal.2017.07.015).

- (48) HE, Y.; HOI, H.; ABRAHAM, S.; MONTEMAGNO, C. D. Highly permeable biomimetic reverse osmosis membrane with amphiphilic peptide stabilized aquaporin as water filtering agent. *Journal of Applied Polymer Science* **2018**, *135*, 46169, DOI : [10.1002/app.46169](https://doi.org/10.1002/app.46169).
- (49) GEISE, G. M.; PARK, H. B.; SAGLE, A. C.; FREEMAN, B. D.; MCGRATH, J. E. Water permeability and water/salt selectivity tradeoff in polymers for desalination. *Journal of Membrane Science* **2011**, *369*, 130-138, DOI : [10.1016/j.memsci.2010.11.054](https://doi.org/10.1016/j.memsci.2010.11.054).
- (50) BAEK, Y.; KIM, C.; SEO, D. K.; KIM, T.; LEE, J. S.; KIM, Y. H.; AHN, K. H.; BAE, S. S.; LEE, S. C.; LIM, J.; LEE, K.; YOON, J. High performance and antifouling vertically aligned carbon nanotube membrane for water purification. *Journal of Membrane Science* **2014**, *460*, 171-177, DOI : [10.1016/j.memsci.2014.02.042](https://doi.org/10.1016/j.memsci.2014.02.042).
- (51) XUE, S.-M.; XU, Z.-L.; TANG, Y.-J.; JI, C.-H. Polypiperazine-amide Nanofiltration Membrane Modified by Different Functionalized Multiwalled Carbon Nanotubes (MWCNTs). *ACS Applied Materials & Interfaces* **2016**, *8*, 19135-19144, DOI : [10.1021/acsami.6b05545](https://doi.org/10.1021/acsami.6b05545).
- (52) PERCEC, V.; DULCEY, A. E.; BALAGURUSAMY, V. S. K.; MIURA, Y.; SMIDRKAL, J.; PETERCA, M.; NUMMELIN, S.; EDLUND, U.; HUDSON, S. D.; HEINEY, P. A.; DUAN, H.; MAGONOV, S. N.; VINOGRADOV, S. A. Self-assembly of amphiphilic dendritic dipeptides into helical pores. *Nature* **2004**, *430*, 764-768, DOI : [10.1038/nature02770](https://doi.org/10.1038/nature02770).
- (53) KAUCHER, M. S.; PETERCA, M.; DULCEY, A. E.; KIM, A. J.; VINOGRADOV, S. A.; HAMMER, D. A.; HEINEY, P. A.; PERCEC, V. Selective Transport of Water Mediated by Porous Dendritic Dipeptides. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 11698-11699, DOI : [10.1021/ja076066c](https://doi.org/10.1021/ja076066c).
- (54) SI, W.; HU, X.-B.; LIU, X.-H.; FAN, R.; CHEN, Z.; WENG, L.; HOU, J.-L. Self-assembly and proton conductance of organic nanotubes from pillar[5]arenes. *Tetrahedron Letters* **2011**, *52*, 2484-2487, DOI : [10.1016/j.tetlet.2011.03.019](https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2011.03.019).
- (55) HU, X.-B.; CHEN, Z.; TANG, G.; HOU, J.-L.; LI, Z.-T. Single-Molecular Artificial Transmembrane Water Channels. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *134*, 8384-8387, DOI : [10.1021/ja302292c](https://doi.org/10.1021/ja302292c).
- (56) SHEN, Y.-x.; SI, W.; ERBAKAN, M.; DECKER, K.; ZORZI, R. D.; SABOE, P. O.; KANG, Y. J.; MAJD, S.; BUTLER, P. J.; WALZ, T.; AKSIMENTIEV, A.; HOU, J.-l.; KUMAR, M. Highly permeable artificial water channels that can self-assemble into two-dimensional arrays. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2015**, *112*, 9810-9815, DOI : [10.1073/pnas.1508575112](https://doi.org/10.1073/pnas.1508575112).
- (57) BECKSTEIN, O.; SANSOM, M. S. P. Liquid-vapor oscillations of water in hydrophobic nanopores. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2003**, *100*, 7063-7068, DOI : [10.1073/pnas.1136844100](https://doi.org/10.1073/pnas.1136844100).
- (58) SOTOMAYOR, M.; SCHULTEN, K. Molecular Dynamics Study of Gating in the Mechanosensitive Channel of Small Conductance MscS. *Biophysical Journal* **2004**, *87*, 3050-3065, DOI : [10.1529/biophysj.104.046045](https://doi.org/10.1529/biophysj.104.046045).

- (59) SHEN, Y.-x. et al. Achieving high permeability and enhanced selectivity for Angstrom-scale separations using artificial water channel membranes. *Nature Communications* **2018**, *9*, 2294, DOI : [10.1038/s41467-018-04604-y](https://doi.org/10.1038/s41467-018-04604-y).
- (60) LE DUC, Y.; MICHAU, M.; GILLES, A.; GENGE, V.; LEGRAND, Y.-M.; van der LEE, A.; TINGRY, S.; BARBOIU, M. Imidazole-Quartet Water and Proton Dipolar Channels. *Angewandte Chemie International Edition* **2011**, *50*, 11366-11372, DOI : [10.1002/anie.201103312](https://doi.org/10.1002/anie.201103312).
- (61) LICSANDRU, E.; KOCSIS, I.; SHEN, Y.-x.; MURAIL, S.; LEGRAND, Y.-M.; van der LEE, A.; TSAI, D.; BAADEN, M.; KUMAR, M.; BARBOIU, M. Salt-Excluding Artificial Water Channels Exhibiting Enhanced Dipolar Water and Proton Translocation. *Journal of the American Chemical Society* **2016**, *138*, 5403-5409, DOI : [10.1021/jacs.6b01811](https://doi.org/10.1021/jacs.6b01811).
- (62) KOCSIS, I.; SORCI, M.; VANSELOUS, H.; MURAIL, S.; SANDERS, S. E.; LICSANDRU, E.; LEGRAND, Y.-M.; LEE, A. v. d.; BAADEN, M.; PETERSEN, P. B.; BELFORT, G.; BARBOIU, M. Oriented chiral water wires in artificial transmembrane channels. *Science Advances* **2018**, *4*, eaao5603, DOI : [10.1126/sciadv.aao5603](https://doi.org/10.1126/sciadv.aao5603).
- (63) MURAIL, S.; VASILIU, T.; NEAMTU, A.; BARBOIU, M.; STERPONE, F.; BAADEN, M. Water permeation across artificial I-quartet membrane channels: from structure to disorder. *Faraday Discussions* **2018**, *209*, 125-148, DOI : [10.1039/C8FD00046H](https://doi.org/10.1039/C8FD00046H).
- (64) SHEN, J.; YE, R.; ROMANIES, A.; ROY, A.; CHEN, F.; REN, C.; LIU, Z.; ZENG, H. Aquafoldmer-Based Aquaporin-like Synthetic Water Channel. *Journal of the American Chemical Society* **2020**, *142*, 10050-10058, DOI : [10.1021/jacs.0c02013](https://doi.org/10.1021/jacs.0c02013).
- (65) ZHOU, X. et al. Self-assembling subnanometer pores with unusual mass-transport properties. *Nature Communications* **2012**, *3*, 949, DOI : [10.1038/ncomms1949](https://doi.org/10.1038/ncomms1949).
- (66) MONDAL, D.; DANDEKAR, B. R.; AHMAD, M.; MONDAL, A.; MONDAL, J.; TALUKDAR, P. Selective and rapid water transportation across a self-assembled peptide-diol channel via the formation of a dual water array. *Chemical Science* **2022**, *13*, 9614-9623, DOI : [10.1039/D2SC01737G](https://doi.org/10.1039/D2SC01737G).
- (67) CUKIERMAN, S. Et tu, Grotthuss! and other unfinished stories. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **2006**, *1757*, 876-885, DOI : [10.1016/j.bbabi.2005.12.001](https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2005.12.001).
- (68) TUNUGUNTLA, R. H.; ALLEN, F. I.; KIM, K.; BELLIVEAU, A.; NOY, A. Ultrafast proton transport in sub-1-nm diameter carbon nanotube porins. *Nature Nanotechnology* **2016**, *11*, 639-644, DOI : [10.1038/nnano.2016.43](https://doi.org/10.1038/nnano.2016.43).
- (69) ROY, A.; SHEN, J.; JOSHI, H.; SONG, W.; TU, Y.-M.; CHOWDHURY, R.; YE, R.; LI, N.; REN, C.; KUMAR, M.; AKSIMENTIEV, A.; ZENG, H. Foldamer-based ultrapermeable and highly selective artificial water channels that exclude protons. *Nature Nanotechnology* **2021**, 1-7, DOI : [10.1038/s41565-021-00915-2](https://doi.org/10.1038/s41565-021-00915-2).

- (70) SHEN, J.; ROY, A.; JOSHI, H.; SAMINENI, L.; YE, R.; TU, Y.-M.; SONG, W.; SKILES, M.; KUMAR, M.; AKSIMENTIEV, A.; ZENG, H. Fluorofoldamer-Based Salt- and Proton-Rejecting Artificial Water Channels for Ultrafast Water Transport. *Nano Letters* **2022**, *22*, 4831-4838, DOI : [10.1021/acs.nanolett.2c01137](https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.2c01137).
- (71) KONG, X.; JIANG, J. Porous organic cage membranes for water desalination: a simulation exploration. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2017**, *19*, 18178-18185, DOI : [10.1039/C7CP02670F](https://doi.org/10.1039/C7CP02670F).
- (72) ZHAO, D.; LIU, J.; JIANG, J. Porous organic cages embedded in a lipid membrane for water desalination: A molecular simulation study. *Journal of Membrane Science* **2019**, *573*, 177-183, DOI : [10.1016/j.memsci.2018.11.053](https://doi.org/10.1016/j.memsci.2018.11.053).
- (73) YUAN, Y. D.; DONG, J.; LIU, J.; ZHAO, D.; WU, H.; ZHOU, W.; GAN, H. X.; TONG, Y. W.; JIANG, J.; ZHAO, D. Porous organic cages as synthetic water channels. *Nature Communications* **2020**, *11*, 4927, DOI : [10.1038/s41467-020-18639-7](https://doi.org/10.1038/s41467-020-18639-7).
- (74) Welcome to the GROMACS documentation! – GROMACS documentation. <https://manual.gromacs.org/> (visité le 29/09/2022).
- (75) DARDEN, T.; YORK, D.; PEDERSEN, L. Particle mesh Ewald: An N.log(N) method for Ewald sums in large systems. *The Journal of Chemical Physics* **1993**, *98*, 10089-10092, DOI : [10.1063/1.464397](https://doi.org/10.1063/1.464397).
- (76) BROOKS, B. et al. CHARMM: The Biomolecular Simulation Program. *Journal of computational chemistry* **2009**, *30*, 1545-1614, DOI : [10.1002/jcc.21287](https://doi.org/10.1002/jcc.21287).
- (77) WANG, J.; WOLF, R. M.; CALDWELL, J. W.; KOLLMAN, P. A.; CASE, D. A. Development and testing of a general amber force field. *Journal of Computational Chemistry* **2004**, *25*, 1157-1174, DOI : [10.1002/jcc.20035](https://doi.org/10.1002/jcc.20035).
- (78) MARTIN, M. G. Comparison of the AMBER, CHARMM, COMPASS, GROMOS, OPLS, TraPPE and UFF force fields for prediction of vapor–liquid coexistence curves and liquid densities. *Fluid Phase Equilibria* **2006**, *248*, 50-55, DOI : [10.1016/j.fluid.2006.07.014](https://doi.org/10.1016/j.fluid.2006.07.014).
- (79) SALVALAGLIO, M.; PEREGO, C.; GIBERTI, F.; MAZZOTTI, M.; PARRINELLO, M. Molecular-dynamics simulations of urea nucleation from aqueous solution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2015**, *112*, E6-E14, DOI : [10.1073/pnas.1421192111](https://doi.org/10.1073/pnas.1421192111).
- (80) KLAUDA, J. B. Considerations of Recent All-Atom Lipid Force Field Development. *The Journal of Physical Chemistry B* **2021**, *125*, 5676-5682, DOI : [10.1021/acs.jpcc.1c02417](https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.1c02417).
- (81) LEE, J. et al. CHARMM-GUI Input Generator for NAMD, GROMACS, AMBER, OpenMM, and CHARMM/OpenMM Simulations Using the CHARMM36 Additive Force Field. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2016**, *12*, 405-413, DOI : [10.1021/acs.jctc.5b00935](https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00935).
- (82) CHARMM-GUI. <https://www.charmm-gui.org/> (visité le 29/09/2022).

- (83) GROTE, F.; LYUBARTSEV, A. P. Optimization of Slipids Force Field Parameters Describing Headgroups of Phospholipids. *The Journal of Physical Chemistry B* **2020**, *124*, 8784-8793, DOI : [10.1021/acs.jpcc.0c06386](https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c06386).
- (84) The Amber Molecular Dynamics Package. <http://ambermd.org/> (visité le 29/09/2022).
- (85) VANOMMESLAEGHE, K.; MACKERELL, A. D. Automation of the CHARMM General Force Field (CGenFF) I: Bond Perception and Atom Typing. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2012**, *52*, 3144-3154, DOI : [10.1021/ci300363c](https://doi.org/10.1021/ci300363c).
- (86) VANOMMESLAEGHE, K.; RAMAN, E. P.; MACKERELL, A. D. Automation of the CHARMM General Force Field (CGenFF) II: Assignment of Bonded Parameters and Partial Atomic Charges. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2012**, *52*, 3155-3168, DOI : [10.1021/ci3003649](https://doi.org/10.1021/ci3003649).
- (87) VANOMMESLAEGHE, K.; HATCHER, E.; ACHARYA, C.; KUNDU, S.; ZHONG, S.; SHIM, J.; DARIAN, E.; GUVENCH, O.; LOPES, P.; VOROBYOV, I.; MACKERELL JR., A. D. CHARMM general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields. *Journal of Computational Chemistry* **2010**, *31*, 671-690, DOI : [10.1002/jcc.21367](https://doi.org/10.1002/jcc.21367).
- (88) CGenFF Home. <https://cgenff.umaryland.edu/> (visité le 29/09/2022).
- (89) CHARMM Force Fields Files. http://mackerell.umaryland.edu/charmm_ff.shtml (visité le 29/09/2022).
- (90) Practical considerations for Molecular Dynamics. <https://computecanada.github.io/molmodsim-md-theory-lesson-novice/> (visité le 29/09/2022).
- (91) Water models. https://water.lsbu.ac.uk/water/water_models.html (visité le 29/09/2022).
- (92) HESS, B.; BEKKER, H.; BERENDSEN, H. J. C.; FRAAIJE, J. G.E. M. LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations. *Journal of Computational Chemistry* **1997**, *18*, 1463-1472, DOI : [10.1002/\(SICI\)1096-987X\(199709\)18:12<1463::AID-JCC4>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(199709)18:12<1463::AID-JCC4>3.0.CO;2-H).
- (93) LARSSON, P.; KNEISZL, R. C.; MARKLUND, E. G. MkVsites: A tool for creating GRO-MACS virtual sites parameters to increase performance in all-atom molecular dynamics simulations. *Journal of Computational Chemistry* **2020**, *41*, 1564-1569, DOI : <https://doi.org/10.1002/jcc.26198>.
- (94) LOUBET, B.; KOPEC, W.; KHANDELIA, H. Accelerating All-Atom MD Simulations of Lipids Using a Modified Virtual-Sites Technique. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2014**, *10*, 5690-5695, DOI : [10.1021/ct500100f](https://doi.org/10.1021/ct500100f).
- (95) OLESEN, K.; AWASTHI, N.; BRUHN, D. S.; PEZESHKIAN, W.; KHANDELIA, H. Faster Simulations with a 5 fs Time Step for Lipids in the CHARMM Force Field. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2018**, *14*, 3342-3350, DOI : [10.1021/acs.jctc.8b00267](https://doi.org/10.1021/acs.jctc.8b00267).
- (96) BERENDSEN, H. J. C.; POSTMA, J. P. M.; van GUNSTEREN, W. F.; DiNOLA, A.; HAAK, J. R. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *The Journal of Chemical Physics* **1984**, *81*, 3684-3690, DOI : [10.1063/1.448118](https://doi.org/10.1063/1.448118).

- (97) EVANS, D. J.; HOLIAN, B. L. The Nose–Hoover thermostat. *The Journal of Chemical Physics* **1985**, *83*, 4069-4074, DOI : [10.1063/1.449071](https://doi.org/10.1063/1.449071).
- (98) FRENKEL, D.; SMIT, B.; TOBOCHNIK, J.; MCKAY, S.; CHRISTIAN, W. Understanding Molecular Simulation. *Computers in Physics* **1997**, *11*, 351, DOI : [10.1063/1.4822570](https://doi.org/10.1063/1.4822570).
- (99) LI, Y.; LIU, J.; GUMBART, J. C. Preparing membrane proteins for simulation using CHARMM-GUI. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* **2021**, *2302*, 237-251, DOI : [10.1007/978-1-0716-1394-8_13](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1394-8_13).
- (100) LIN, Y.-C.; LUO, Y. L. Unifying Single-Channel Permeability From Rare-Event Sampling and Steady-State Flux. *Frontiers in Molecular Biosciences* **2022**, *9*, 860933, DOI : [10.3389/fmolb.2022.860933](https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.860933).
- (101) STIRNEMANN, G.; STERPONE, F. Recovering Protein Thermal Stability Using All-Atom Hamiltonian Replica-Exchange Simulations in Explicit Solvent. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2015**, *11*, 5573-5577, DOI : [10.1021/acs.jctc.5b00954](https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00954).
- (102) WANG, L.; FRIESNER, R. A.; BERNE, B. J. Replica Exchange with Solute Scaling: A More Efficient Version of Replica Exchange with Solute Tempering (REST2). *The Journal of Physical Chemistry B* **2011**, *115*, 9431-9438, DOI : [10.1021/jp204407d](https://doi.org/10.1021/jp204407d).
- (103) BUSSI, G. Hamiltonian replica-exchange in GROMACS: a flexible implementation. *Molecular Physics* **2014**, *112*, 379-384, DOI : [10.1080/00268976.2013.824126](https://doi.org/10.1080/00268976.2013.824126).
- (104) DAURA, X.; GADEMANN, K.; JAUN, B.; SEEBACH, D.; van GUNSTEREN, W. F.; MARK, A. E. Peptide Folding: When Simulation Meets Experiment. *Angewandte Chemie International Edition* **1999**, *38*, 236-240, DOI : [10.1002/\(SICI\)1521-3773\(19990115\)38:1/2<236::AID-ANIE236>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3773(19990115)38:1/2<236::AID-ANIE236>3.0.CO;2-M).
- (105) HARDIAGON, A. cluster-tools-md. <https://github.com/ahardiag/cluster-tools-md> (visité le 29/09/2022).
- (106) GOWERS, R. J.; LINKE, M.; BARNOUD, J.; REDDY, T. J. E.; MELO, M. N.; SEYLER, S. L.; DOMAŃSKI, J.; DOTSON, D. L.; BUCHOUX, S.; KENNEY, I. M.; BECKSTEIN, O. MDAnalysis: A Python Package for the Rapid Analysis of Molecular Dynamics Simulations. *Proceedings of the 15th Python in Science Conference* **2016**, 98-105, DOI : [10.25080/Majora-629e541a-00e](https://doi.org/10.25080/Majora-629e541a-00e).
- (107) ESTER, M.; KRIEGEL, H.-P.; SANDER, J.; XU, X. in *Proceedings of the Second International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining*, AAAI Press : Portland, Oregon, 1996, p. 226-231.
- (108) scikit-learn: machine learning in Python – scikit-learn 1.1.2 documentation. <https://scikit-learn.org/stable/> (visité le 29/09/2022).
- (109) SMART, O. S.; GOODFELLOW, J. M.; WALLACE, B. A. The pore dimensions of gramicidin A. *Biophysical Journal* **1993**, *65*, 2455-2460, DOI : [10.1016/S0006-3495\(93\)81293-1](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(93)81293-1).
- (110) SMART, O. S.; NEDUVELIL, J. G.; WANG, X.; WALLACE, B. A.; SANSOM, M. S. P. HOLE: A program for the analysis of the pore dimensions of ion channel structural models. *Journal of Molecular Graphics* **1996**, *14*, 354-360, DOI : [10.1016/S0263-7855\(97\)00009-X](https://doi.org/10.1016/S0263-7855(97)00009-X).

- (111) HARDIAGON, A. perm-md-count. <https://github.com/ahardiag/perm-md-count> (visité le 29/09/2022).
- (112) HORNER, A.; ZOCHER, F.; PREINER, J.; OLLINGER, N.; SILIGAN, C.; AKIMOV, S. A.; POHL, P. The mobility of single-file water molecules is governed by the number of H-bonds they may form with channel-lining residues. *Science Advances* **2015**, *1*, e1400083, DOI : [10.1126/sciadv.1400083](https://doi.org/10.1126/sciadv.1400083).
- (113) FENG, W.-X.; SUN, Z.; ZHANG, Y.; LEGRAND, Y.-M.; PETIT, E.; SU, C.-Y.; BARBOIU, M. Bis-15-crown-5-ether-pillar[5]arene K⁺-Responsive Channels. *Organic Letters* **2017**, *19*, 1438-1441, DOI : [10.1021/acs.orglett.7b00352](https://doi.org/10.1021/acs.orglett.7b00352).
- (114) XIN, P.; KONG, H.; SUN, Y.; ZHAO, L.; FANG, H.; ZHU, H.; JIANG, T.; GUO, J.; ZHANG, Q.; DONG, W.; CHEN, C.-P. Artificial K⁺ Channels Formed by Pillararene-Cyclodextrin Hybrid Molecules: Tuning Cation Selectivity and Generating Membrane Potential. *Angewandte Chemie* **2019**, *131*, 2805-2810, DOI : [10.1002/ange.201813797](https://doi.org/10.1002/ange.201813797).
- (115) PERERA, M. N.; GANESAN, V.; SISKIND, L. J.; SZULC, Z. M.; BIELAWSKI, J.; BIELAWSKA, A.; BITTMAN, R.; COLOMBINI, M. Ceramide channels: Influence of molecular structure on channel formation in membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **2012**, *1818*, 1291-1301, DOI : [10.1016/j.bbamem.2012.02.010](https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2012.02.010).
- (116) COLOMBINI, M. Ceramide channels and mitochondrial outer membrane permeability. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* **2017**, *49*, 57-64, DOI : [10.1007/s10863-016-9646-z](https://doi.org/10.1007/s10863-016-9646-z).
- (117) ANISHKIN, A.; SUKHAREV, S.; COLOMBINI, M. Searching for the Molecular Arrangement of Transmembrane Ceramide Channels. *Biophysical Journal* **2006**, *90*, 2414-2426, DOI : [10.1529/biophysj.105.071977](https://doi.org/10.1529/biophysj.105.071977).
- (118) ANDRUSHCHENKO, V.; POHLE, W. Influence of the hydrophobic domain on the self-assembly and hydrogen bonding of hydroxy-amphiphiles. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2019**, *21*, 11242-11258, DOI : [10.1039/C9CP01475F](https://doi.org/10.1039/C9CP01475F).
- (119) SOSSO, G. C.; CHEN, J.; COX, S. J.; FITZNER, M.; PEDEVILLA, P.; ZEN, A.; MICHAELIDES, A. Crystal Nucleation in Liquids: Open Questions and Future Challenges in Molecular Dynamics Simulations. *Chemical Reviews* **2016**, *116*, 7078-7116, DOI : [10.1021/acs.chemrev.5b00744](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00744).
- (120) ZANGI, R. Refinement of the OPLSAA Force-Field for Liquid Alcohols. *ACS Omega* **2018**, *3*, 18089-18099, DOI : [10.1021/acsomega.8b03132](https://doi.org/10.1021/acsomega.8b03132).
- (121) DI VINCENZO, M.; TIRAFERRI, A.; MUSTEATA, V.-E.; CHISCA, S.; SOUGRAT, R.; HUANG, L.-B.; NUNES, S. P.; BARBOIU, M. Biomimetic artificial water channel membranes for enhanced desalination. *Nature Nanotechnology* **2020**, 1-7, DOI : [10.1038/s41565-020-00796-x](https://doi.org/10.1038/s41565-020-00796-x).

- (122) HUANG, L.-B.; DI VINCENZO, M.; AHUNBAY, M. G.; van der LEE, A.; COT, D.; CERNEAUX, S.; MAURIN, G.; BARBOIU, M. Bilayer versus Polymeric Artificial Water Channel Membranes: Structural Determinants for Enhanced Filtration Performances. *Journal of the American Chemical Society* **2021**, *143*, 14386-14393, DOI : [10.1021/jacs.1c07425](https://doi.org/10.1021/jacs.1c07425).
- (123) DI VINCENZO, M.; TIRAFERRI, A.; MUSTEATA, V.-E.; CHISCA, S.; SOUGRAT, R.; HUANG, L.-B.; NUNES, S. P.; BARBOIU, M. Biomimetic artificial water channel membranes for enhanced desalination. *Nature Nanotechnology* **2021**, *16*, 190-196, DOI : [10.1038/s41565-020-00796-x](https://doi.org/10.1038/s41565-020-00796-x).
- (124) SCHÖTTL, S.; MARCUS, J.; DIAT, O.; TOURAUD, D.; KUNZ, W.; ZEMB, T.; HORINEK, D. Emergence of surfactant-free micelles from ternary solutions. *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 2949-2954, DOI : [10.1039/C4SC00153B](https://doi.org/10.1039/C4SC00153B).
- (125) SCHÖTTL, S.; HORINEK, D. Aggregation in detergent-free ternary mixtures with microemulsion-like properties. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2016**, *22*, 8-13, DOI : [10.1016/j.cocis.2016.02.003](https://doi.org/10.1016/j.cocis.2016.02.003).
- (126) SCHÖTTL, S.; LOPIAN, T.; PRÉVOST, S.; TOURAUD, D.; GRILLO, I.; DIAT, O.; ZEMB, T.; HORINEK, D. Combined molecular dynamics (MD) and small angle scattering (SAS) analysis of organization on a nanometer-scale in ternary solvent solutions containing a hydrotrope. *Journal of Colloid and Interface Science* **2019**, *540*, 623-633, DOI : [10.1016/j.jcis.2019.01.037](https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.01.037).
- (127) PRÉVOST, S.; KRICKL, S.; MARČELJA, S.; KUNZ, W.; ZEMB, T.; GRILLO, I. Spontaneous Ouzo Emulsions Coexist with Pre-Ouzo Ultraflexible Microemulsions. *Langmuir* **2021**, *37*, 3817-3827, DOI : [10.1021/acs.langmuir.0c02935](https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c02935).
- (128) BARBOIU, M.; LE DUC, Y.; GILLES, A.; CAZADE, P.-A.; MICHAU, M.; MARIE LEGRAND, Y.; van der LEE, A.; COASNE, B.; PARVIZI, P.; POST, J.; FYLES, T. An artificial primitive mimic of the Gramicidin-A channel. *Nature Communications* **2014**, *5*, 4142, DOI : [10.1038/ncomms5142](https://doi.org/10.1038/ncomms5142).
- (129) PISKORZ, T. K.; de VRIES, A. H.; van ESCH, J. H. How the Choice of Force-Field Affects the Stability and Self-Assembly Process of Supramolecular CTA Fibers. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2022**, *18*, 431-440, DOI : [10.1021/acs.jctc.1c00257](https://doi.org/10.1021/acs.jctc.1c00257).
- (130) BOTU, V.; BATRA, R.; CHAPMAN, J.; RAMPRASAD, R. Machine Learning Force Fields: Construction, Validation, and Outlook. *The Journal of Physical Chemistry C* **2017**, *121*, 511-522, DOI : [10.1021/acs.jpcc.6b10908](https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b10908).
- (131) BLEIZIFFER, P.; SCHALLER, K.; RINIKER, S. Machine Learning of Partial Charges Derived from High-Quality Quantum-Mechanical Calculations. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2018**, *58*, 579-590, DOI : [10.1021/acs.jcim.7b00663](https://doi.org/10.1021/acs.jcim.7b00663).
- (132) UNKE, O. T.; CHMIELA, S.; SAUCEDA, H. E.; GASTEGGER, M.; POLTAVSKY, I.; SCHÜTT, K. T.; TKATCHENKO, A.; MÜLLER, K.-R. Machine Learning Force Fields. *Chemical Reviews* **2021**, *121*, 10142-10186, DOI : [10.1021/acs.chemrev.0c01111](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c01111).

- (133) DUARTE RAMOS MATOS, G.; KYU, D. Y.; LOEFFLER, H. H.; CHODERA, J. D.; SHIRTS, M. R.; MOBLEY, D. L. Approaches for Calculating Solvation Free Energies and Enthalpies Demonstrated with an Update of the FreeSolv Database. *Journal of Chemical & Engineering Data* **2017**, *62*, 1559-1569, DOI : [10.1021/acs.jced.7b00104](https://doi.org/10.1021/acs.jced.7b00104).
- (134) MOBLEY, D. L.; GUTHRIE, J. P. FreeSolv: a database of experimental and calculated hydration free energies, with input files. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **2014**, *28*, 711-720, DOI : [10.1007/s10822-014-9747-x](https://doi.org/10.1007/s10822-014-9747-x).
- (135) GARRIDO, N. M.; QUEIMADA, A. J.; JORGE, M.; MACEDO, E. A.; ECONOMOU, I. G. 1-Octanol/Water Partition Coefficients of n-Alkanes from Molecular Simulations of Absolute Solvation Free Energies. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2009**, *5*, 2436-2446, DOI : [10.1021/ct900214y](https://doi.org/10.1021/ct900214y).
- (136) FAN, S.; IORGA, B. I.; BECKSTEIN, O. Prediction of octanol-water partition coefficients for the SAMPL6-[Formula: see text] molecules using molecular dynamics simulations with OPLS-AA, AMBER and CHARMM force fields. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **2020**, *34*, 543-560, DOI : [10.1007/s10822-019-00267-z](https://doi.org/10.1007/s10822-019-00267-z).
- (137) BANNAN, C. C.; CALABRÓ, G.; KYU, D. Y.; MOBLEY, D. L. Calculating Partition Coefficients of Small Molecules in Octanol/Water and Cyclohexane/Water. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2016**, *12*, 4015-4024, DOI : [10.1021/acs.jctc.6b00449](https://doi.org/10.1021/acs.jctc.6b00449).
- (138) RIZZO, R. C.; AYNECHI, T.; CASE, D. A.; KUNTZ, I. D. Estimation of Absolute Free Energies of Hydration Using Continuum Methods: Accuracy of Partial Charge Models and Optimization of Nonpolar Contributions. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2006**, *2*, 128-139, DOI : [10.1021/ct050097l](https://doi.org/10.1021/ct050097l).
- (139) JANE BOYD, N.; R. WILSON, M. Optimization of the GAFF force field to describe liquid crystal molecules: the path to a dramatic improvement in transition temperature predictions. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2015**, *17*, 24851-24865, DOI : [10.1039/C5CP03702F](https://doi.org/10.1039/C5CP03702F).
- (140) DEDROOG, S.; PAS, T.; VERGAUWEN, B.; HUYGENS, C.; Van den MOOTER, G. Solid-state analysis of amorphous solid dispersions: Why DSC and XRPD may not be regarded as stand-alone techniques. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2020**, *178*, 112937, DOI : [10.1016/j.jpba.2019.112937](https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.112937).
- (141) STRILETS, D.; CERNEAUX, S.; BARBOIU, M. Enhanced Desalination Polyamide Membranes Incorporating Pillar[5]arene through in-Situ Aggregation-Interfacial Polymerization-isAGRIP. *ChemPlusChem* **2021**, *86*, 1602-1607, DOI : [10.1002/cplu.202100473](https://doi.org/10.1002/cplu.202100473).
- (142) HEINZ, H.; SUTER, U. W. Atomic Charges for Classical Simulations of Polar Systems. *The Journal of Physical Chemistry B* **2004**, *108*, 18341-18352, DOI : [10.1021/jp048142t](https://doi.org/10.1021/jp048142t).
- (143) KOTELYANSKII, M. J.; WAGNER, N. J.; PAULAITIS, M. E. Atomistic simulation of water and salt transport in the reverse osmosis membrane FT-30. *Journal of Membrane Science* **1998**, *139*, 1-16, DOI : [10.1016/S0376-7388\(97\)00220-2](https://doi.org/10.1016/S0376-7388(97)00220-2).

