33ème Olympiade Internationale de Chimie (2001) – Bombay (India)

Épreuve théorique de présélection française

Durée : 4 heures

Cette épreuve se compose de **3 problèmes** totalement indépendants les uns des autres. Il est vivement conseillé de tous les aborder. De nombreuses questions sont indépendantes au sein de chaque problème.

Une table de données IR (vibrations d'élongation des principales liaisons) et RMN (déplacements chimiques et constantes de couplage) est fournie en annexe.

L'énoncé comporte **19 pages**. Il est délibérément long pour que chacun « ait du grain à moudre ». La longueur de chaque problème reflète son poids dans le barème global, qui sera bien entendu adapté (il est hors de question de tout traiter dans les 4 heures imparties !).

Quelques questions sont destinées à tester la culture générale des candidats et ne sont pas indispensables à la résolution des problèmes. ***Aussi est-il recommandé de ne pas abandonner un problème trop rapidement en cas de méconnaissance d'un sujet ou d'une question, mais de lire soigneusement toutes les questions afin de répondre au maximum d'entre elles.***

Une attention toute particulière sera portée à la **présentation des résultats** et, en particulier, au respect du nombre de chiffres significatifs. Des points de bonification hors barème sont prévus et récompenseront **la clarté** et **la précision** des raisonnements ainsi que **la culture générale**.

Toutes les justifications et explications devront cependant être **rédigées de manière succincte**. Pour les questions nécessitant réflexion, il est conseillé d'étudier la solution au brouillon, puis de n'indiquer que les principales étapes du raisonnement.

Toutes les réponses seront données sur les feuilles-réponse fournies (**33 pages**). Le document comporte les emplacements prévus pour les solutions et les limitations de place indiquées doivent être respectées. **Aucune feuille de brouillon ne sera acceptée ; aucun texte écrit au verso des feuilles-réponse ne sera pris en compte, ni aucun texte écrit au crayon.**

> ***ATTENTION !*** En outre, **l'encre utilisée doit être noire** pour apparaître très lisiblement après photocopie.

Toutes ces feuilles, même vierges, doivent être rendues. Elles doivent **au minimum** comporter :

- ***Sur la première page pour chaque problème*** : les nom, prénom et centre de préparation du candidat,
- ***Sur les pages suivantes*** : le nom du candidat.

Sur la page de garde, tous les renseignements demandés doivent être indiqués, en particulier le numéro de téléphone où vous pourrez être joint pour vous avertir si vous êtes sélectionné.

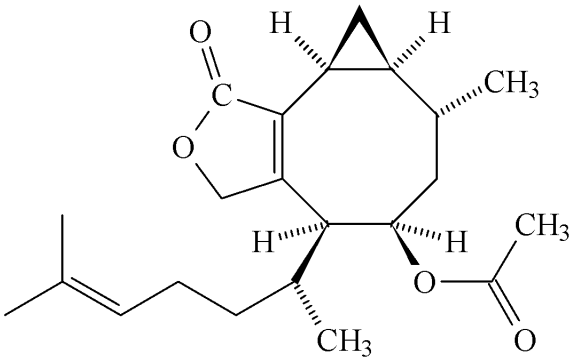
Félicitations pour votre persévérance et bon courage à tous.

Julien Lalande, Bernd Schöllhorn.

NB les fichiers correspondants (énoncé et, rapidement…, corrigé) sont disponibles sur le site Internet :
www.olympiades-de-chimie.org

Problème 1 : synthèse de l'acétoxycrénulide

Le (+)−acétoxycrénulide est un membre important d'une série de diterpènes dont la structure est peu commune. Extrait en 1983 d'algues marines de la famille des *Dictyoaceae* par les équipes de Fenical et Sims, sa synthèse a fait l'objet de nombreuses études, à la fois pour la difficulté que représente l'obtention d'un composé avec autant de fonctionnalités et d'atomes de carbone asymétriques que pour l'intérêt biologique de cette substance, hautement toxique pour les organismes vivants à de très faibles concentrations, inférieures à 10 µg/mL.



(+)-acétoxycrénulide

L'exercice proposé décrit quelques étapes d'une synthèse énantiosélective totale de ce composé, réalisée par l'équipe de Leo A. Paquette de l'Ohio State University, Columbus, Ohio, publiée en 1996 dans le *Journal of American Chemical Society* (**1996**, *118*, 1309-1318).

NOTE IMPORTANTE : de nombreuses questions sont indépendantes. Les indications de l'énoncé peuvent être utilisées sans démonstration pour avancer dans la résolution des questions. Ne pas se laisser effrayer par la taille des molécules !

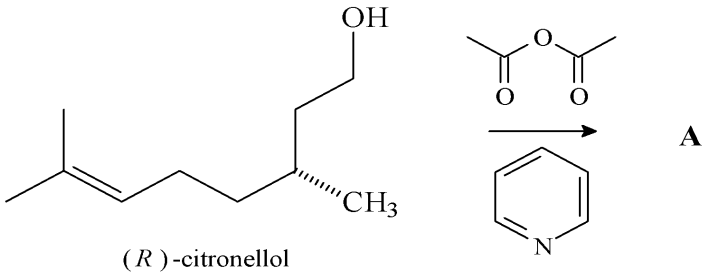
Remarque : Les spectres RMN ^{1}H sont enregistrés, sauf indication contraire, en solution dans le trichlorodeutérorométhane $DCCl_3$ et à une fréquence de 300 MHz.

1. L'acétoxycrénulide est-il chiral ? Justifier la réponse. Que signifie le préfixe (+) ?

2. Indiquer le nombre de stéréoisomères de configuration de la molécule. Justifier avec soin la réponse.

3. Le composé de départ est le (*R*)-citronellol dont la pureté énantiomérique est estimée à 96,3 %. Quelle(s) méthode(s) proposez-vous pour déterminer la pureté énantiomérique d'un composé chiral ? La réponse doit être précise…

Une solution de 5,0 g (0,030 mol) de (*R*)-citronellol dans 150 mL de dichlorométhane est refroidie à 0 °C. À celle-ci sont ajoutés successivement 0,13 mol de pyridine C_5H_4N, 390 mg de 4-(*N*,*N*-diméthyl-amino)pyridine (DMAP, catalyseur) et 0,10 mol d'anhydride éthanoïque (anhydride acétique). Après 45 minutes d'agitation à 0 °C, le mélange réactionnel est dilué dans du dichlorométhane, lavé avec une solution aqueuse de chlorure d'hydrogène (acide chlorhydrique molaire), puis avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium et enfin de l'eau. La phase organique est séparée, puis séchée sur sulfate de magnésium anhydre et le solvant est évaporé. Une huile jaune est recueillie après distillation sous pression réduite, avec un rendement quasi quantitatif, constituée du produit **A**.



(*R*)-citronellol

Le spectre IR de **A** fait apparaître une bande fine vers $\sigma = 1745\ \text{cm}^{-1}$. Le spectre RMN ^1H fait apparaître outre une série de multiplets entre $\delta = 5{,}09\ \text{ppm}$ et $\delta = 1{,}12\ \text{ppm}$ (intégration totale 10 H), un singulet à $\delta = 2{,}04\ \text{ppm}$ (intégration 3H), deux singulets à $\delta = 1{,}68\ \text{ppm}$ et $\delta = 1{,}60\ \text{ppm}$ (chacun d'intégration 3H) et un doublet à $\delta = 0{,}92\ \text{ppm}$ (intégration 3H, constante de couplage $J = 6{,}4\ \text{Hz}$).

4. Qu'est il possible de déduire de la donnée IR, concernant la structure de **A** ?

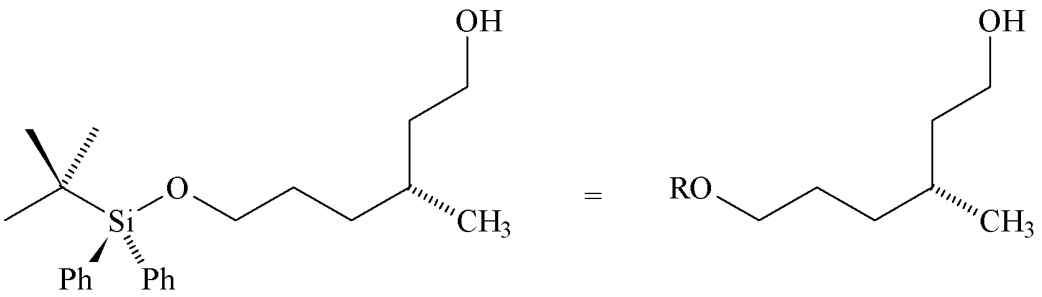
5. Donner la formule semi-développée de **A**. Attribuer les signaux RMN (autres que les multiplets) aux protons de la molécule. Interpréter la multiplicité des signaux.

6. Proposer un mécanisme pour la réaction de formation de **A**. Justifier le rôle de la pyridine (il est rappelé que le $\text{p}K_\text{A}$ du couple (pyridinium/pyridine) a une valeur voisine de 5. On ne justifiera pas le rôle catalytique de la DMAP.

7. Justifier les différentes étapes du processus d'isolement de **A**. Quels sont en particulier les rôles du lavage de la phase organique avec l'acide chlorhydrique et la solution d'hydrogénocarbonate de sodium ?

Le composé **A** est transformé en **B** par une séquence réactionnelle qui n'est pas étudiée ici : ozonation de la double liaison C=C, suivie de réduction de l'ozonide obtenu en alcool, ce dernier étant enfin traité par du chlorure de *tert*-butyldiphénylsilyle pour donner **B**. Le groupe hydroxy est ainsi protégé sous forme notée OR pour les réactions ultérieures. Cette opération est indispensable car la double liaison C=C présente dans **A** et dans l'acétoxycrénulide est plus réactive que la double liaison précurseur du cycle cyclopropanique qui sera introduite au cours de la synthèse, ce qui pose des problèmes insolubles. Le groupe $(H_3C)_2C=$ sera réintroduit en fin de synthèse.

Le composé **B** est transformé en **C** (représenté ci-dessous) par saponification dans un mélange eau-méthanol.



C

Le composé **C** est oxydé (en deux étapes successives) en **D**. Le spectre IR de **D** présente notamment deux bandes d'absorption vers 3550 cm^{-1} (très large) et 1720 cm^{-1} (fine). Le composé **D** est insoluble dans l'eau, mais soluble dans une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium.

8. En déduire la formule semi-développée de **D**.

Le composé **D** est traité, en solution dans l'éthoxyéthane (éther diéthylique) par une solution éthérée de diazométhane en excès. Un dégagement gazeux est observé. Après agitation à température ambiante pendant 1 heure, l'excès de diazométhane est détruit par de l'acide acétique (à nouveau, un dégagement gazeux est observé). La phase organique est lavée par une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium, puis séchée sur sulfate de magnésium. Après évaporation du solvant et purification par chromatographie sur colonne de silice, le composé **E** est obtenu avec un rendement de 56 % par rapport à **C**. Le spectre IR de **E** ne présente plus de bande au delà de 3100 cm^{-1} mais il est noté une bande vers 1730 cm^{-1} (fine).

Le spectre de RMN ^1H de **E** présente les signaux suivants :

$\delta = 7{,}72 - 7{,}63$ ppm , multiplet, 4H

$\delta = 7{,}48 - 7{,}34$ ppm , multiplet, 6H

$\delta = 3{,}67$ ppm , triplet, 2 H, $J = 5{,}9$ Hz

$\delta = 3{,}66$ ppm , singulet, 3 H

$\delta = 2{,}32$ ppm , doublet de doublets, 1 H, $J_1 = 6{,}0$ Hz , $J_2 = 14{,}5$ Hz

$\delta = 2{,}12$ ppm , doublet de doublets, 1 H, $J_1 = 8$ Hz , $J_2 = 14{,}5$ Hz

$\delta = 1{,}97$ ppm , multiplet, 1 H

$\delta = 1{,}65 - 1{,}07$ ppm , série de multiplets, 4 H

$\delta = 1{,}05$ ppm , singulet, 9H

$\delta = 0{,}94$ ppm , doublet, 3H, $J = 6{,}5$ Hz

9. À l'aide du spectre IR de **E**, donner la formule semi-développée de **E**.

10. Le diazométhane a pour formule semi-développée H_2CN_2 (l'enchaînement des atomes est respecté dans cette écriture). Proposer une structure de Lewis pour ce composé.

11. La première réaction entre **D** et le diazométhane est une réaction acide-base. Écrire l'équation de réaction.

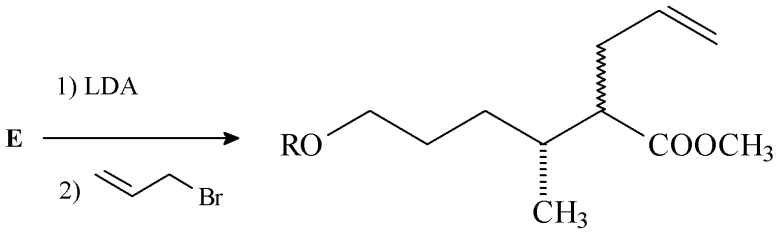
12. Donner en le justifiant le mécanisme de la réaction conduisant ensuite à **E**. Quelle est la nature du dégagement gazeux ? Justifier la facilité cinétique de la réaction.

13. Quels sont les avantages de cette méthode de passage de **D** à **E** par rapport à d'autres que vous pourriez connaître ?

14. Attribuer autant que faire se peut les signaux RMN aux atomes d'hydrogène de **E**. Pour la réponse, dessiner la molécule en faisant apparaître les atomes d'hydrogène et indiquer la valeur du déplacement chimique correspondant au voisinage des atomes correspondants. Quelle particularité stéréochimique de la structure permet d'expliquer la présence (qui *pourrait* paraître étonnante de prime abord…) des deux doublets de doublets ?

À une solution de diisopropylamidure de lithium (LDA) dans le THF est additionnée lentement une solution de **E** dans le THF. Après agitation pendant 70 minutes, une solution de 3-bromoprop-1-ène dans le HMPA (hexaméthylphosphotriamide, solvant polaire non protogène) est ajoutée. Le mélange est

agité durant 2 heures à $\theta = -78°C$. Après retour à température ambiante, une solution aqueuse de chlorure d'ammonium est ajoutée et le milieu est extrait à l'éthoxyéthane. Après traitement et purification le composé **F** représenté ci-après est isolé.



F

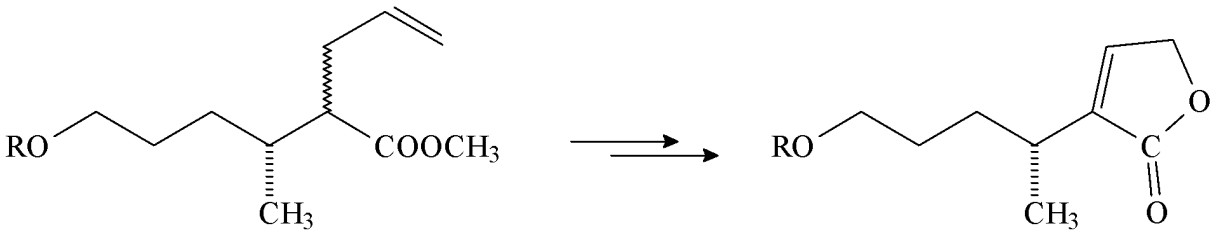
NB : la liaison ∿∿∿ indique que la configuration de l'atome de carbone asymétrique n'est pas précisée (**F** est un mélange équimolaire de stéréoisomères de configuration, d'après le spectre RMN).

15. Proposer une méthode de préparation de la solution de diisopropylamidure de lithium dans le THF. Quel est l'intérêt de ce composé ?

16. Justifier l'acidité relative d'un atome d'hydrogène du composé **E**. Quel est l'ordre de grandeur du pK_A du couple acide-base mis en jeu ?

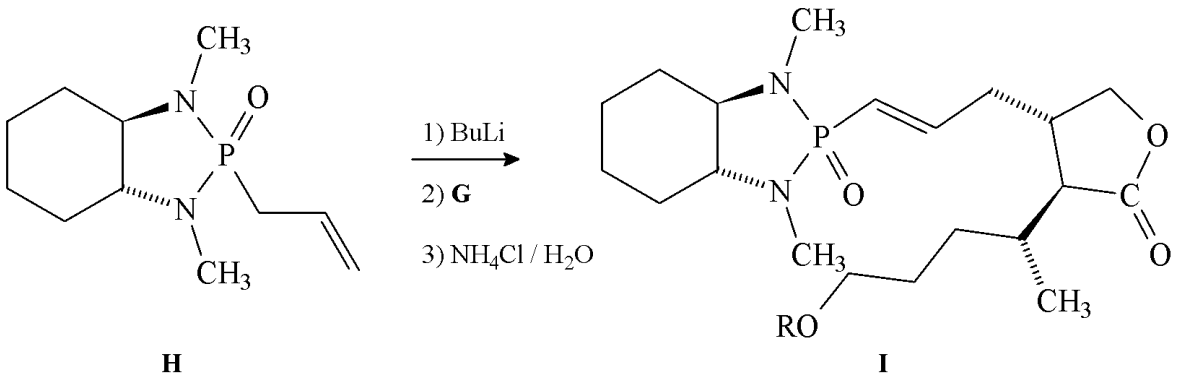
17. Proposer alors une suite d'étapes élémentaires permettant l'obtention de **F**. On pourra limiter les schémas des molécules aux groupes caractéristiques concernés.

Le composé **F** est transformé par une suite de réactions qui n'est pas étudiée ici, en composé **G** :



F **G**

La transformation suivante est ensuite réalisée :



H **I**

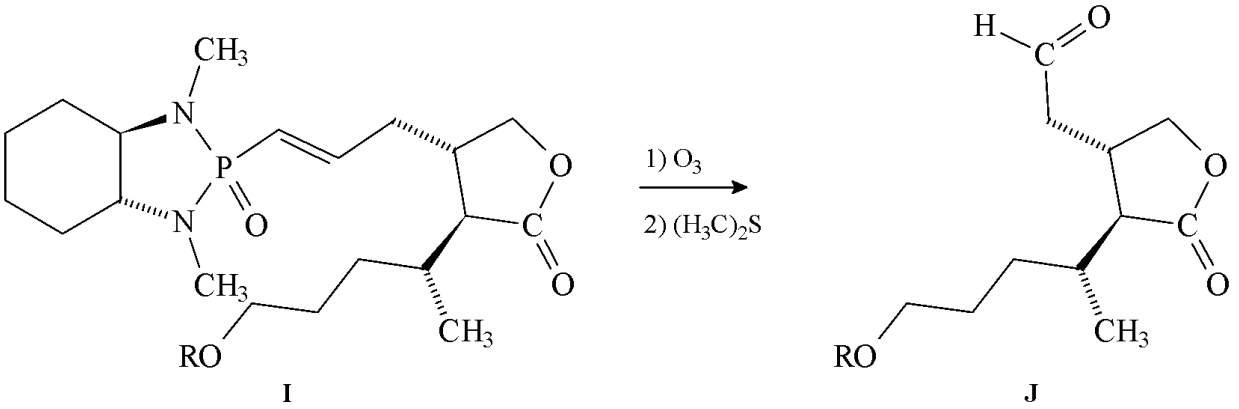
Le composé **I** est obtenu avec une pureté diastéréoisomérique supérieure à 99 %, avec un taux de transformation calculé par rapport à **G** de 81 %. Les questions suivantes ont pour but de comprendre le principe de cette transformation.

18. En écrivant des formules mésomères de **G**, montrer que celui-ci possède deux sites électrophiles. Raisonner par analogie avec les α-énones.

19. Le composé **H** possède un atome d'hydrogène acide en position α de l'atome de phosphore, sur la chaîne latérale. Justifier cette observation en écrivant la structure de l'ion obtenu par déprotonation de **H**.

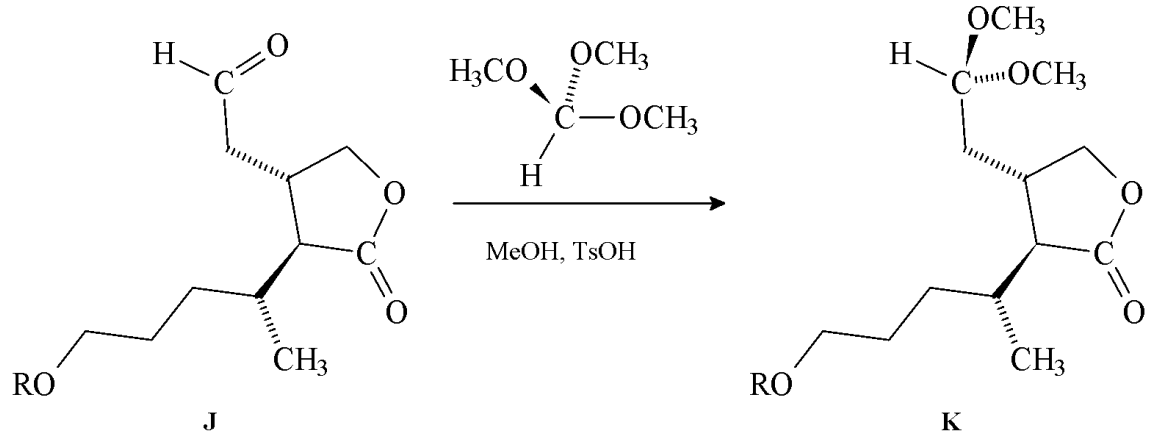
20. Proposer alors une suite d'actes élémentaires permettant de comprendre la formation de **I**. Ne pas chercher à justifier la configuration absolue des centres asymétriques nouvellement créés, liée à la structure du composé **H** (permettant une organisation particulière des atomes lors de la création de la première liaison) mais interpréter simplement la position relative (trans) des groupes substituants sur le cycle lactonique.

Le composé **I** est traité par l'ozone à $\theta = -78°C$ puis l'ozonide obtenu, non isolé, est immédiatement réduit par le méthylsulfanylméthane (ou diméthylsulfure, sent pas bon…) pour donner l'aldéhyde **J** (rendement 80 %), représenté ci-après.



I **J**

Ce dernier est ensuite traité par le triméthoxyméthane en solution dans le méthanol, en présence d'acide 4-méthylbenzènesulfonique (APTS, noté TsOH, acide fort soluble dans le milieu), pendant 10 minutes à température ambiante. Après traitement le composé **K** est isolé avec un rendement de 90 % par rapport à **J**.

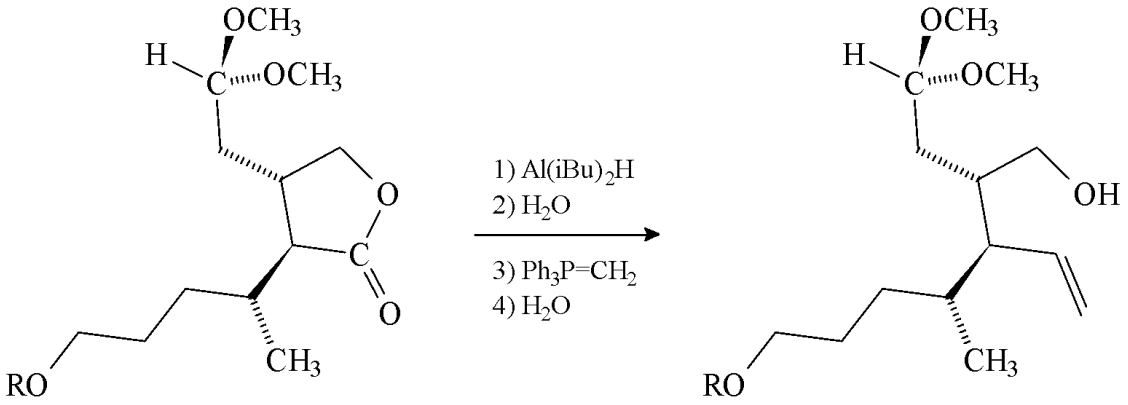


J **K**

21. Quelles sont les conditions expérimentales usuelles pour transformer un aldéhyde R-CHO en acétal $RCH(OCH_3)_2$? Justifier la réponse en écrivant l'équation de la réaction. Quel est le rôle de l'APTS ? Quels sont les risques pour le composé **J** si ces conditions sont utilisées ?

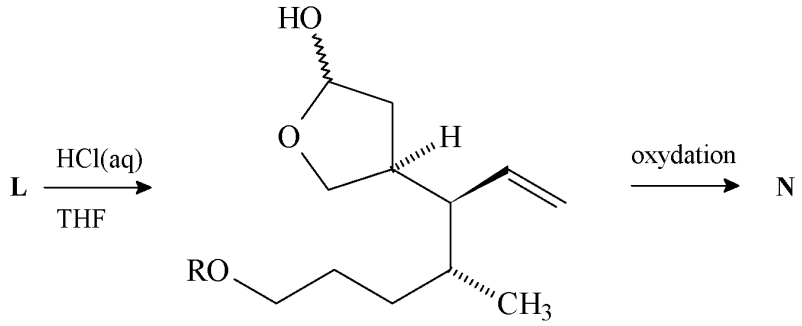
22. Dans les conditions expérimentales mises en œuvre, il se forme du méthanoate de méthyle. Écrire l'équation de réaction. En déduire une justification du protocole opératoire choisi.

Par une suite de réactions non étudiées ici – réduction de la lactone en hémiacétal cyclique, puis traitement du composé obtenu selon une réaction de Wittig – le composé **L** est obtenu.



K **L**

Le traitement d'une solution de **L** dans le THF par une solution de chlorure d'hydrogène (acide chlorhydrique, concentration molaire voisine de 2 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) conduit à **M** qui est oxydé en **N**.

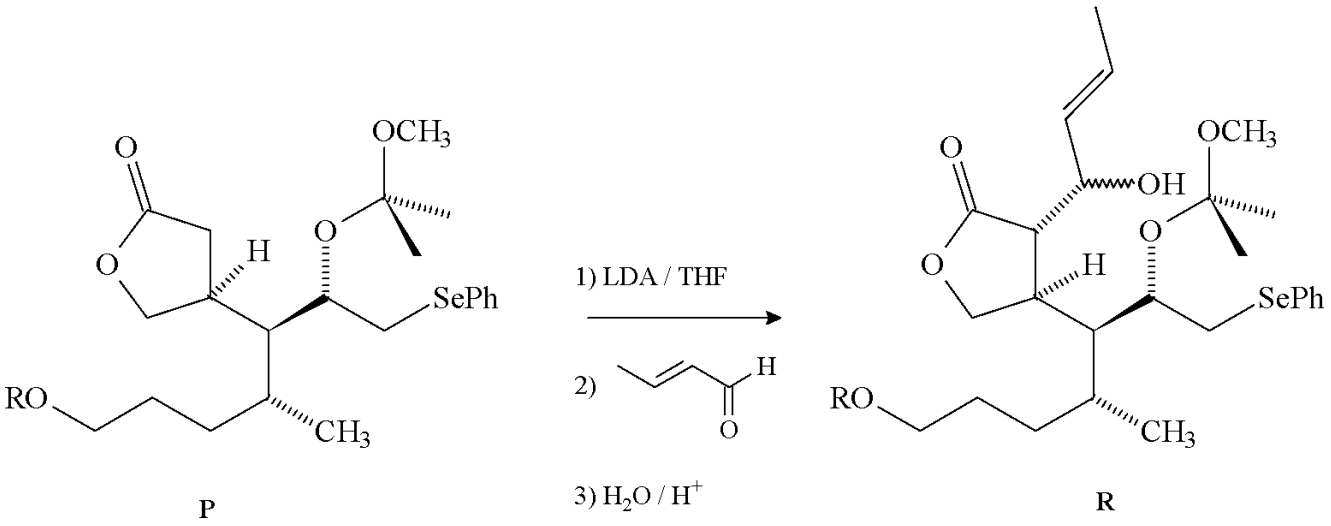


M

23. Proposer un mécanisme permettant de rendre compte de la transformation de **L** en **M**. Utiliser des notations simplifiées ne faisant apparaître que les groupes caractéristiques utiles.

24. Le spectre IR de **N** fait apparaître une bande fine à 1785 cm^{-1}. En déduire la structure de **N**.

Le composé **N** est transformé en 3 étapes en **P** (rendement 70 %). Une solution de **P** dans le THF est ajoutée à une solution de LDA en léger excès, puis une solution de **Q** (but-2-énal) dans le THF est ajoutée au milieu réactionnel. Après hydrolyse le composé **R** est isolé sous forme d'un mélange de diastéréoisomères en quantités équimolaires.



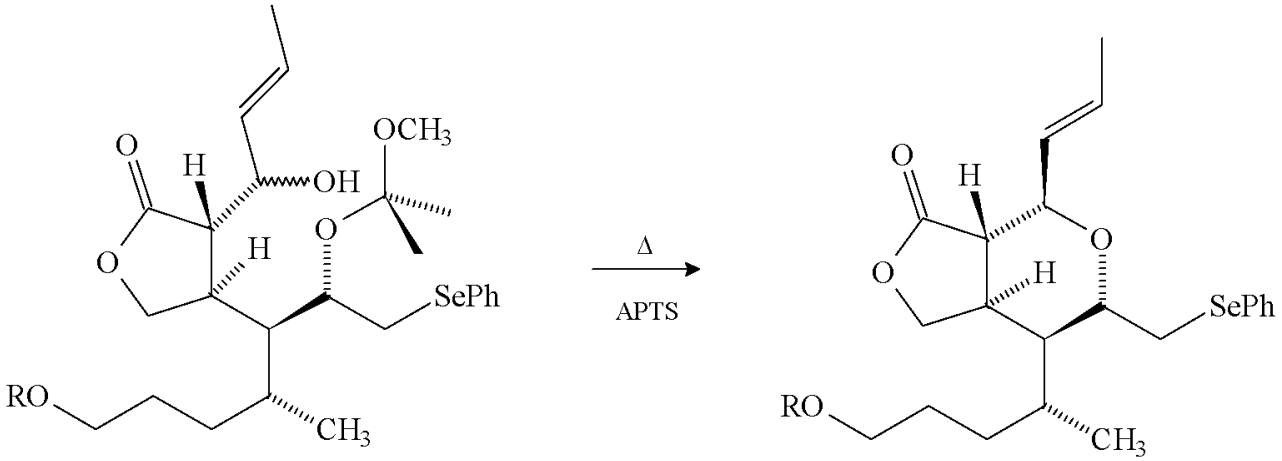
P **R**

25. Interpréter la formation de **R**. Justifier la stéréochimie trans des substituants du cycle lactonique.

Le composé **R**, en solution dans le benzène, est transformé en **S** (voir schéma page suivante) par chauffage en présence d'APTS, dans un appareillage de Dean-Stark. **S** est obtenu en compagnie d'un stéréoisomère **S'** minoritaire, sous contrôle thermodynamique de l'évolution du système.

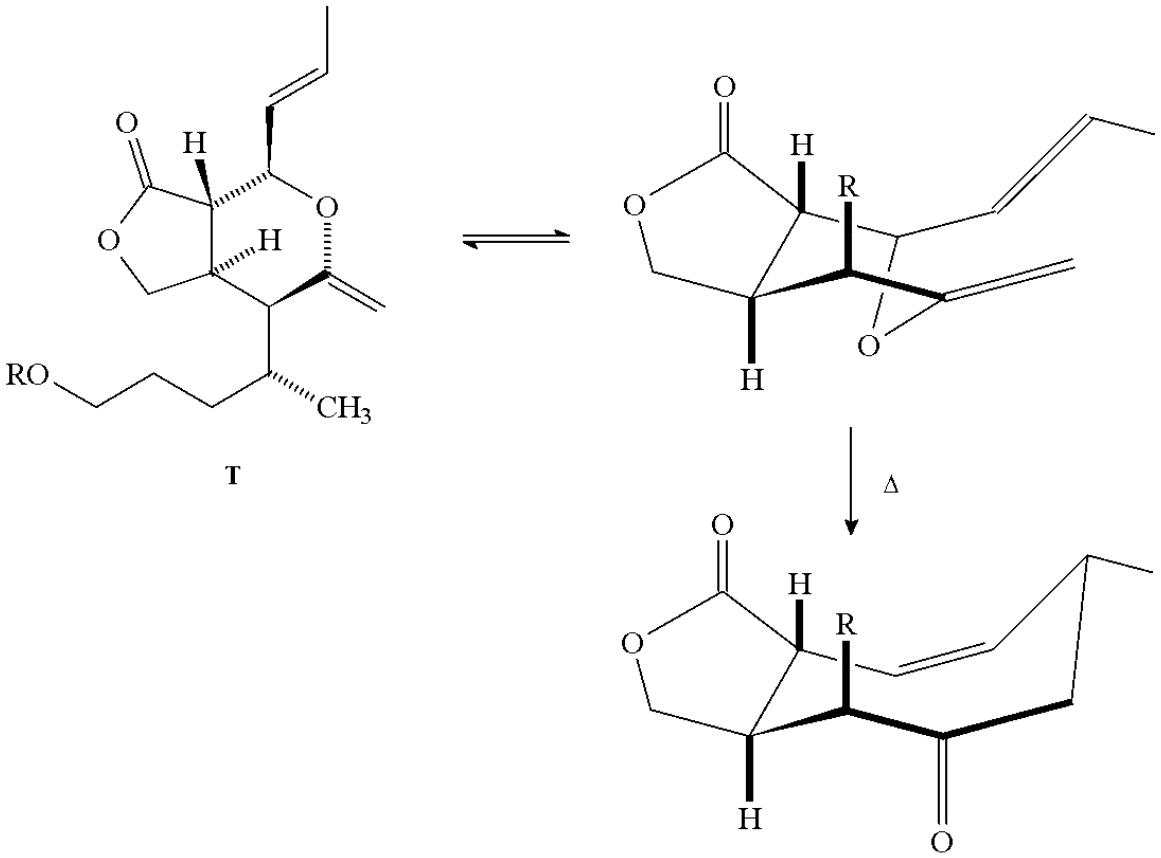
26. Interpréter la formation de **S**. Quel est le rôle de l'APTS dans cette réaction ?

27. Que signifie l'expression « contrôle thermodynamique de l'évolution d'un système » ? Comment est-il possible de vérifier sans ambiguïté qu'un système évolue sous contrôle thermodynamique ?



R **S**

Après oxydation au niveau de l'atome de sélénium, le composé obtenu est chauffé en présence de triéthylamine. Il se forme in situ le composé **T** qui évolue selon une transposition de Claisen en **U**, qui comporte le cycle cyclooctanique désiré.



28. Le composé **T** est représenté ci-dessus dans la conformation qui permet la réaction. Indiquer par des flèches les transferts électroniques permettant de passer dans un acte élémentaire de **T** à **U**. Justifier le choix de la conformation représentée.

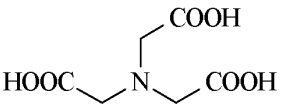
La fin de la synthèse ne pose pratiquement pas de problèmes… La double liaison est transformée en cycle cyclopropanique, le groupe carbonyle est réduit et la chaîne latérale est traitée pour régénérer la chaîne présente dans l'acétoxycrénulide.

Problème 2 : complexation des ions calcium

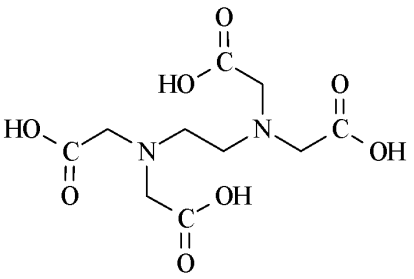
NOTE IMPORTANTE : Les différentes parties de ce problème sont totalement indépendantes. Au sein de chacune d'elles, de nombreuses questions sont indépendantes. Les indications de l'énoncé peuvent être utilisées sans démonstration pour avancer dans la résolution des questions.

L'importance des ions calcium Ca^{2+} est reconnue depuis des années par les biologistes dans le fonctionnement de nombreux systèmes comme la contraction musculaire. Les concentrations cytoplas-miques mises en jeu sont très faibles, de l'ordre de la micromole par litre. Pour réaliser leurs études, les scientifiques doivent disposer de méthodes de dosage des ions calcium dans le milieu cellulaire, ainsi que de systèmes chimiques permettant le maintien de concentrations constantes aussi faibles. La méthode doit être fiable, rapide et ne doit pas trop perturber le fonctionnement des systèmes biologiques. L'une des méthodes repose sur l'utilisation de complexants sélectifs des ions calcium, introduits en quantité telle que la concentration résiduelle en ions calcium soit celle requise et, en outre, facile à mesurer.

Le chimiste dispose de tels complexants : l'acide nitrilotriacétique (NTA) ou l'acide éthylènediami-netétraacétique, plus connu sous l'acronyme EDTA.



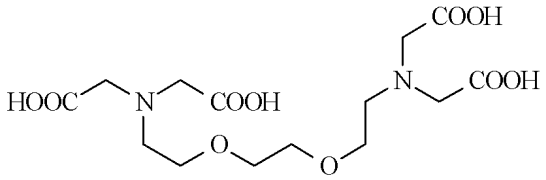
NTA



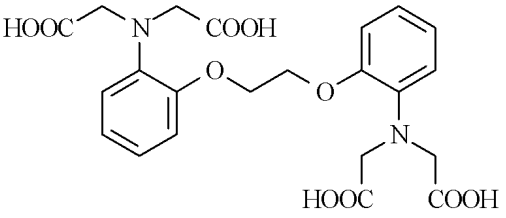
EDTA

Malheureusement, l'EDTA n'est pas sélectif des ions calcium (il complexe tous les cations métalliques, notamment les ions Mg^{2+}, ce qui est très gênant pour les biochimistes) et les propriétés acide-base sont telles qu'il peut difficilement être utilisé dans les milieux cellulaires, dont le pH est voisin de 7. Par ailleurs, les mesures directes ou indirectes des concentrations sont très délicates et ne peuvent être mises en œuvre dans les systèmes biologiques.

Les biochimistes ont donc mis au point des analogues structuraux de l'EDTA comme l'EGTA ou le BAPTA, dont les structures sont représentées ci-après.



EGTA



BAPTA

Ce problème envisage successivement :

l'étude de dosages des ions calcium en solution aqueuse,

la synthèse d'un dérivé du BAPTA,

l'étude spectroscopique du système calcium/BAPTA

l'étude cinétique de la réaction de complexation

la détermination de la valeur d'une constante de complexation.

Ce problème utilise notamment les publications de R.Y. Tsien (*Biochemistry*, **1980**, *19*, 2396-2404) et de H. Harafuji et Y. Ogawa (*J. Biochem.* **87**, 1305-1312 (1980)). Les conditions expérimentales des dosages du calcium sont extraites de l'ouvrage « Vogel's Textbook of quantitative inorganic analysis ».

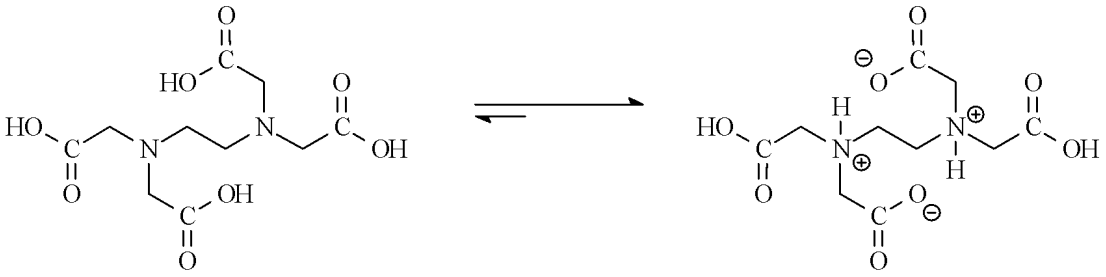
I. Dosages des ions calcium par l'EDTA ou l'EGTA

L'EDTA est représenté ci-dessous. C'est un tétraacide noté H_4Y dont les pK_A successifs ont pour valeurs respectives : 2,0 ; 2,7 ; 6,4 ; 10,2.

En milieu aqueux très fortement acide, l'EDTA est majoritairement sous la forme (1) représentée ci-après.

1. Connaissant les valeurs générales des pK_A des couples acide-base suivants, justifier cette observation.

RNH_3^+/RNH_2 : 9-10 $RCOOH/RCOO^-$: 4-5



(1)

2. L'espèce complexante est l'ion Y^{4-}. Il est observé que les ions métalliques donnent tous avec ce ligand hexadente (ou en franglais, hexadentate…) un complexe de stœchiométrie 1/1, les sites de coordination occupant les sommets d'un octaèdre. Identifier les sites de coordination et représenter dans l'espace l'ion complexe MY.

3. L'espèce H_4Y étant pratiquement insoluble dans l'eau, la solution titrante (S) (de concentration $c_T = 0{,}0200\ mol \cdot L^{-1}$) est obtenue par dissolution dans l'eau du sel Na_2H_2Y, totalement dissocié en ions Na^+ et H_2Y^{2-}. Écrire la structure de l'ion H_2Y^{2-} et montrer que ce dernier est l'espèce majoritaire dans la solution ainsi préparée.

Le dosage des ions calcium par l'EDTA peut se réaliser dans diverses conditions plus ou moins acrobatiques, en fonction de la présence ou de l'absence d'ions magnésium. L'une des méthodes est la suivante : elle consiste à doser par la solution (S) une solution d'ions calcium dont le pH est maintenu à une valeur voisine de 12,5. L'équivalence est repérée par le changement de coloration de la solution, grâce à la présence d'un indicateur coloré (réactif de Patton et Reeder ou Calcon).

4. Considérons une solution d'ions calcium de concentration molaire $c_1 \approx 0{,}01\ mol \cdot L^{-1}$. Un volume $V_1 = 25{,}0\ mL$ de cette solution est introduit dans un erlenmeyer. Le pH de la solution est amené à une valeur voisine de 12,5 par addition de *N*-éthyléthanamine. Le volume global de la solution est amené à $V_0 \approx 50\ mL$. Vérifier que l'hydroxyde de calcium ne précipite pas.

On donne la valeur du « produit de solubilité » de $Ca(OH)_2$: $pK_s = 5{,}2$

5. Quelle est l'espèce majoritaire de l'EDTA non complexée dans ces conditions de pH ?

En considérant, ce qui est raisonnable au vu des quantités mises en jeu, que le pH de la solution ne varie pas au cours du titrage, on peut alors admettre, pour simplifier le raisonnement, que l'équation bilan de réaction est simplement :

$$Ca^{2+} + Y^{4-} = CaY^{2-}$$

6. La constante de formation du complexe CaY^{2-} est $\beta_{Ca}^{Y} = 10^{10,7}$. Qu'est-il possible d'en déduire ?

7. À la solution contenue dans l'erlenmeyer, 50 mg de dispersion solide de l'indicateur coloré sont ajoutés. La solution est de couleur rose. La solution d'EDTA est lentement ajoutée, jusqu'à virage net du rose au bleu. Le virage est observé pour un volume de titrant $V_E = 11{,}2 \text{ mL}$. En déduire la valeur de la concentration c_1 .

L'indicateur noté J^- est lui-même un ligand des ions calcium. Le complexe CaJ^+ et l'ion libre J^- doivent avoir des couleurs suffisamment différentes dans la solution titrée, elles-mêmes différentes de celle du complexe CaY^{2-} (ce dernier est heureusement incolore).

8. À quelles espèces sont dues respectivement les colorations rose et bleue ?

9. La constante de formation de l'ion CaJ^+ doit-elle être supérieure ou inférieure à celle de l'ion CaY^{2-} ? Justifier la réponse en écrivant l'équation bilan qui traduit le changement de coloration de la solution.

10. Considérons maintenant une solution contenant des ions calcium et des ions magnésium, chacun —pour simplifier — à la concentration c_1 . Le protocole suivi à la question 4 est reproduit. Montrer que l'hydroxyde de magnésium précipite et calculer la concentration résiduelle en ions magnésium dans la solution. Le dosage sélectif des ions calcium est-il alors possible ?

On donne la valeur du « produit de solubilité » de l'hydroxyde de magnésium : $pK'_s = 10{,}8$

La constante de formation du complexe MgY^{2-} est $\beta_{Mg}^{Y} = 10^{8,6}$

11. Dans les dosages de ce type, il est souvent recommandé d'ajouter quelques mg de cyanure de potassium solide à la solution à titrer. Quel peut être le rôle de cette opération ?

La méthode précédente ne peut être réellement appliquée si les concentrations en ions calcium et magnésium sont voisines. Dès que la concentration en ions magnésium excède 10 % de celle en ions calcium, il y a en effet co-précipitation des deux hydroxydes. Il faut donc recourir à une autre méthode, utilisant un complexant plus sélectif comme l'EGTA. En effet, les constantes de formation des complexes Ca-EDTA et Mg-EDTA sont dans un rapport voisin de 10^2 alors que celles des complexes Ca-EGTA et Mg-EGTA sont dans un rapport de $10^{5,7}$! L'inconvénient est que l'EGTA est trois fois plus coûteux que l'EDTA…

L'indicateur de fin de titrage est le « zincon » ou, si vous préférez : 1-(2-hydroxy-5-sulfonylphényl)-3-phényl-(2-carboxyphényl)formazane… dont la formule ne sera pas demandée… et qui sera noté HIn^{3-} sous sa forme libre dans les conditions de pH utilisées ($pH \approx 10$). La forme complexante des ions métalliques est In^{4-} . Une solution de HIn^{3-} dans ces conditions de pH présente une couleur orange.

Se pose néanmoins une difficulté : le complexe $CaIn^{2-}$ est incolore… Il faut donc travailler en présence d'un peu d'ions Zn^{2+} qui donnent un complexe $ZnIn^{2-}$ de couleur bleue.

On donne (avec des notations évidentes) : $\beta_{Zn}^{EGTA} < \beta_{Ca}^{EGTA}$

Le protocole opératoire est alors le suivant :

— Dans un erlenmeyer de 250 mL, introduire un volume $V_1 = 25{,}0\ \text{mL}$ de solution d'ions calcium à titrer, contenant éventuellement des ions magnésium.

— Ajouter un volume $V_1 = 25\ \text{mL}$ de solution tampon à $\text{pH} \approx 10$

— Ajouter environ 2 mL d'une solution de complexe Zn-EGTA de concentration voisine de $1\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, puis 2 gouttes de solution de zincon.

— Titrer lentement par une solution d'EGTA jusqu'à ce que la coloration passe du bleu à l'orange.

12. En écrivant une équation bilan, justifier la coloration bleue de la solution initiale.

13. Écrire l'équation bilan traduisant le changement de coloration de la solution et justifier la méthode de détection de l'équivalence.

14. Écrire la structure de la forme complexante de l'EGTA. Quels sont les sites de coordination ?

15. Le numéro atomique du magnésium est $Z = 12$, celui du calcium $Z = 20$. Comment est-il possible de rendre compte simplement de la différence importante entre les constantes de complexation de l'EGTA pour les ions magnésium et les ions calcium ?

II. Synthèse d'un dérivé du BAPTA

L'EGTA noté H_4Z possède donc l'avantage sur l'EDTA de complexer sélectivement les ions calcium. Néanmoins, compte tenu des valeurs des deux $\text{p}K_\text{A}$ les plus élevées, l'EGTA existe majoritairement, aux pH des milieux physiologiques, sous forme H_2Z^{2-}, ce qui rend la complexation cinétiquement trop lente pour répondre aux impératifs des biologistes. Par ailleurs, ni l'espèce libre ni l'espèce complexée n'absorbent la lumière et aucune détection non destructive ne peut être envisagée.

C'est pourquoi de nouvelles espèces ont été mises au point, possédant à la fois des propriétés acide-base compatibles avec les exigences des biologistes et des caractéristiques spectrophotométriques intéressantes. Nous nous intéressons donc dans cette partie à la synthèse d'un dérivé dibromé du BAPTA, dont les propriétés seront envisagées dans les parties suivantes.

Dans un premier temps, une solution dans 50 mL de *N*,*N*-diméthylméthanamide (ou DMF, solvant polaire non protogène) de 0,22 mol de 2-nitrophénolate de sodium et 0,12 mol de 1,2-dibromoéthane est chauffée à reflux du solvant pendant 2 heures. Après refroidissement, un composé **A** précipite et il est isolé par filtration sous pression réduite (rendement 56 %). La formule brute de **A** est $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6$.

16. Identifier **A** et proposer, en le justifiant, un mécanisme pour sa formation.

17. Quel est le rôle du DMF ?

Par hydrogénation catalytique, **A** est transformé en **B** de formule $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$. Le spectre RMN ^1H de **B** fait apparaître un multiplet entre 7 et 8 ppm (intégration 8 H), un singulet vers 4,2 ppm (intégration 4 H) et un singulet élargi (intégration 4 H), disparaissant lorsque le spectre RMN est enregistré en présence d'une goutte de D_2O. Le spectre IR fait notamment apparaître deux bandes fines vers 3300 cm^{-1}.

18. En déduire la formule semi-développée de **B**.

En présence d'une amine tertiaire R_3N (120 mmol), 12,5 mmol de B sont mélangés avec 72 mmol de 2-bromoacétate d'éthyle $Br-CH_2COOC_2H_5$ et 3,5 mmol d'iodure de sodium. Le tout est dissous dans 15 mL d'acétonitrile (solvant polaire non protogène) et chauffé à reflux du solvant pendant 20 heures. Après refroidissement et dilution avec du toluène, les produits insolubles (sels de bromure et d'iodure) sont éliminés par filtration sous pression réduite. Après traitement de la phase organique résiduelle, le composé **C** (formule brute $C_{30}H_{40}N_2O_{10}$) est isolé avec un rendement de 71 %. Le spectre RMN de **C**, enregistré en solution dans $CDCl_3$ à une fréquence de 60 MHz, se présente de la façon suivante :

$\delta = 6{,}81$ ppm , singulet, 8 H $\quad$ $\delta = 4{,}29$ ppm , singulet, 4 H

$\delta = 4{,}19$ ppm , singulet, 8 H $\quad$ $\delta = 4{,}05$ ppm , quadruplet, 8 H, $J = 7$ Hz

$\delta = 1{,}16$ ppm , triplet, 12 H, $J = 7$ Hz

19. En déduire la structure de **C**. Attribuer les massifs aux différents atomes d'hydrogène de la molécule et justifier les multiplicités observées (sauf pour le signal le plus déblindé).

20. Proposer un mécanisme détaillé pour la formation de **C**, ne faisant pas intervenir dans un premier temps les ions iodure. Justifier la réponse.

21. Les ions iodure jouent un rôle catalytique. Justifier cette observation en précisant le mécanisme précédemment écrit.

Le composé **C** (0,52 mmol) est dissous dans 5 mL de trichlorométhane, en présence de 1,44 mmol de pyridine. Après refroidissement, 1,0 mmol de dibrome dissous dans du trichlorométhane sont ajoutés. Après retour à la température ambiante, la phase organique est traitée par une solution aqueuse de chlorure d'hydrogène (acide chlorhydrique) puis par une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium, puis le solvant est évaporé. Après recristallisation, on isole 180 mg de **D**. La formule brute de **D** est $C_{30}H_{38}N_2O_{10}Br_2$. Le spectre RMN enregistré en solution dans CD_2Cl_2 à une fréquence de 100 MHz, se présente comme suit :

$\delta = 7{,}31 - 6{,}90$ ppm , multiplet, 4 H $\quad$ $\delta = 6{,}68$ ppm , doublet, 2 H, $J = 9$ Hz

$\delta = 4{,}26$ ppm , singulet, 4 H $\quad$ $\delta = 4{,}08$ ppm , singulet, 8 H

$\delta = 4{,}06$ ppm , quadruplet, 8 H, $J = 7$ Hz $\quad$ $\delta = 1{,}21$ ppm , triplet, 12 H, $J = 7$ Hz

22. Montrer que ces données sont compatibles avec la fixation d'un atome de brome sur chaque cycle aromatique, en position 4 par rapport à l'atome d'azote.

23. Sur l'exemple de la *N*,*N*-diméthylaniline (ou *N*,*N*-diméthylbenzénamine), préciser le mécanisme de la réaction et justifier la régiosélectivité de la réaction.

24. Quel peut-être le rôle de la pyridine dans le protocole opératoire proposé ?

III. Étude spectroscopique du système calcium-bapta

Les spectres d'absorption UV-visible, correspondant aux transitions énergétiques entre niveaux électroniques, sont différents pour le BAPTA et pour le complexe Ca-BAPTA. Ainsi la détection spectroscopique indirecte de la concentration en ions calcium libres devient possible.

Par ailleurs, les deux pK_A les plus élevés du BAPTA (sous forme tétraacide) sont égaux à 6,4 et 5,5. Les deux premières valeurs, inférieures à 4, n'ont pu être mesurées par suite de l'insolubilité dans l'eau de la molécule sous forme tétraacide.

Le spectre du BAPTA libre, enregistré en milieu tamponné de $pH = 7{,}29$ présente deux maxima d'absorption aux longueurs d'onde $\lambda_1 = 254$ nm (absorption maximale) et $\lambda_2 = 287$ nm. Le spectre de l'ion complexe Ca-BAPTA présente un maximum d'absorption pour $\lambda_3 = 274$ nm et $\lambda_4 = 203$ nm (absorption maximale). Le premier spectre ressemble tout à fait à celui de la 2-méthoxy-*N*,*N*-diméthylaniline alors que le second ressemble à celui du méthoxybenzène.

On rappelle que dans une molécule, plus la délocalisation électronique est étendue, plus l'absorption des radiations électromagnétiques est décalée vers les grandes longueurs d'onde (effet bathochrome).

De même, on observe sur le spectre du BAPTA enregistré en milieu acide ($pH < 5$) les mêmes effets que ceux observés en présence d'ions calcium.

25. Comment peut-on rendre compte simplement de l'effet bathochrome quand on passe du méthoxybenzène à la 2-méthoxy-*N*,*N*-diméthylaniline ?

26. Expliquer de même l'effet observé sur le spectre du BAPTA en milieu acide (effet hypsochrome, décalage vers les faibles longueurs d'onde).

27. Qu'est-il possible d'en conclure sur la nature des sites de coordination du BAPTA ? Comment est-il possible de rendre compte de l'effet hypsochrome en présence d'ions calcium ?

28. On constate sur différents spectres d'absorption, enregistrés avec une concentration totale en BAPTA constante, mais des concentrations en ions calcium libres variables, que toutes les courbes passent par un point commun. Comment s'appelle ce point ? Qu'est-il possible de déduire de l'existence de ce point ?

IV. Détermination de la constante de formation d'un complexe

Pour déterminer la constante de formation (ou de dissociation) d'un complexe, les biochimistes utilisent la méthode de Scatchard.

Considérons le dosage d'une solution d'EGTA, tamponnée à $pH = 6{,}8$, par une solution d'ions calcium suffisamment concentrée pour que la dilution de la solution titrée puisse être négligée au cours du titrage. On définit la constante apparente de complexation

$$K_{app} = \frac{c(Ca-EGTA)\cdot c^\circ}{c(Ca)\cdot c(EGTA)}$$

où $c(Ca-EGTA)$ représente la concentration de l'ion complexe, $c(Ca)$ la concentration de l'ion calcium libre et $c(EGTA)$ la somme des concentrations de toutes les formes non complexées de l'EGTA (à cette valeur de pH, l'EGTA n'est pas majoritairement sous sa forme complexante tétraionisée. Des corrections permettent de déterminer par la suite la valeur de la constante réelle de formation du complexe étudié).

NB : c° représente la concentration standard, dont la valeur est exactement égale à $1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Elle est introduite pour des raisons d'homogénéité liées à l'expression des activités en solution aqueuse.

On ne cherchera donc pas à préciser sous quelle(s) forme(s) se trouve l'EGTA dans le milieu.

29. Montrer que la courbe $\frac{c(Ca-EGTA)}{c(Ca)} = f(c(Ca-EGTA))$ est une droite dont le coefficient directeur permet d'accéder à la valeur de la constante K_{app}.

30. Les courbes suivantes sont obtenues lors du titrage de deux solutions d'EGTA de concentrations molaires respectives $c_1 = 0{,}100\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ et $c_2 = 0{,}200\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. En déduire la valeur de la constante K_{app} de formation du complexe dans les conditions données.

V. Cinétique de formation du complexe Ca-EGTA

La vitesse de formation de ces complexes est très élevée et doit être étudiée par des méthodes de cinétique rapide, permettant des mélanges quasi instantanés (méthode de flux stoppé). L'étude est réalisée par spectrophotométrie, en présence de tétraméthylmurexide TM. La formation du complexe CaTM est instantanée et l'étude de l'absorbance du milieu permet d'accéder à la concentration instantanée des ions calcium par une méthode que nous n'étudions pas ici.

Deux solutions sont mélangées dans le dispositif, de façon à obtenir en une durée très courte un mélange homogène, tamponné, d'ions calcium, d'indicateur coloré TM et d'EGTA. Ce dernier est introduit en excès.

31. En supposant que la réaction de formation du complexe $Ca-EGTA$ est un acte élémentaire de constante de vitesse k_1, exprimer la vitesse de disparition des ions calcium en fonction des concentrations en EGTA et en ions Ca^{2+}.

32. La concentration initiale en EGTA notée c_G dans le mélange est environ 10 fois plus grande que la concentration initiale en ions calcium. En déduire l'expression de la concentration en ions calcium en fonction du temps.

33. La concentration en ions calcium est mesurée au bout du temps de demi-réaction noté τ. Écrire la relation liant τ, la concentration c_G et la constante de vitesse de la réaction.

34. En réalité, il faut tenir compte du « temps mort » noté t_d nécessaire au mélange des réactifs. Le temps de demi-réaction est en fait augmenté de cette valeur et la mesure réelle est $\tau' = \tau - t_d$. La courbe $\ln 2/c_G = f(\tau')$ est représentée ci-après. En déduire la valeur de la constante k_1, ainsi que la valeur de t_d.

35. On a en fait négligé la vitesse de destruction du complexe en ses éléments constitutifs. Compte tenu de la valeur de K_{app} déterminée dans la partie précédente, et en supposant que la décomplexation est aussi une étape élémentaire, donner une estimation de la constante de vitesse de décomplexation k_{-1}. L'approximation faite était-elle raisonnable ?

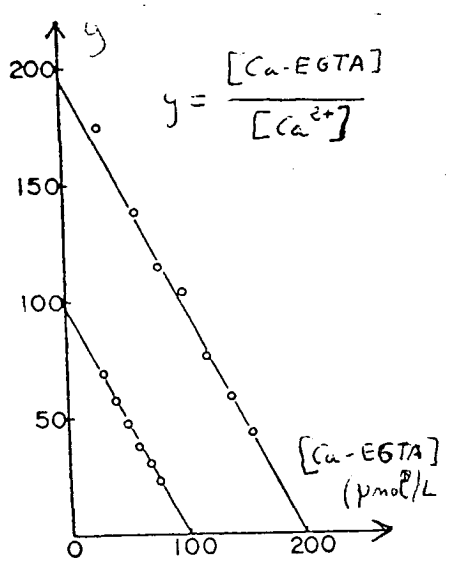


fig 1

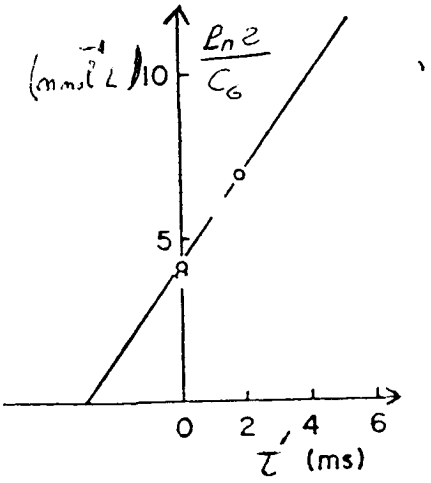
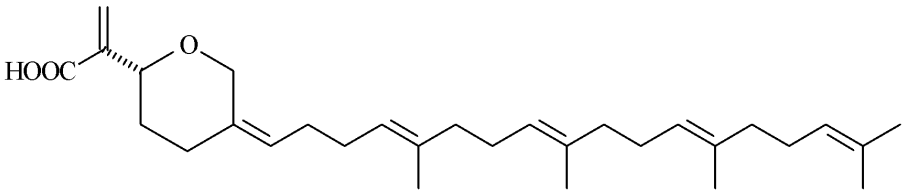


fig 2

Problème 3 : synthèse énantiosélective de l'acide hippospongique

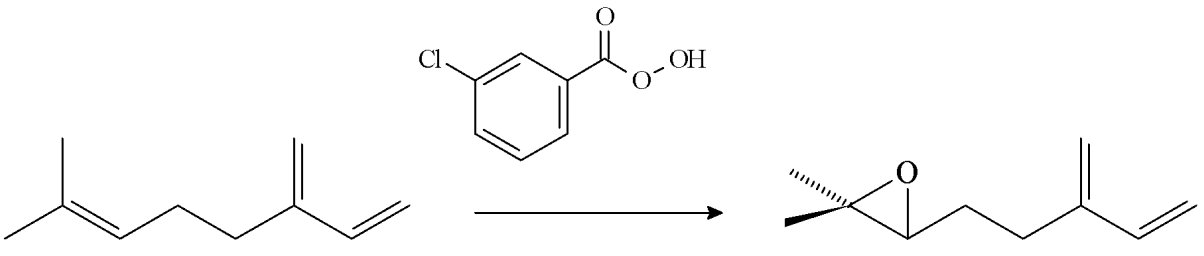
Isolé d'une éponge marine, *Hipponspongia sp.*, l'acide hippospongique (**1**) est un inhibiteur de la gastrulation des embryons de poissons. Un regain d'intérêt pour cette molécule a été observé récemment depuis que des analogues de **1** semblent montrer une activité anti-tumorale contre certaines lignées malignes humaines.



1

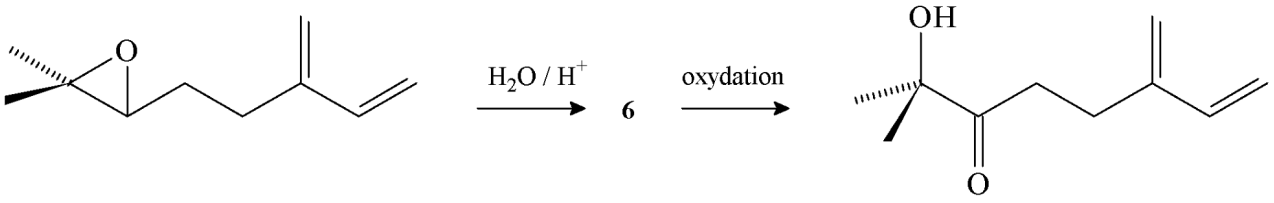
1. Préciser la configuration absolue (*R* ou *S*) du centre asymétrique de l'acide hippospongique (**1**). Combien de stéréo-isomères de configuration ce composé possède-t-il ?

Une synthèse totale a récemment été décrite par Kodama et collaborateurs en partant du myrcène **2**. Le traitement de **2** par l'acide métachloroperbenzoïque conduit à l'époxyde **5**.



2 **5**

Ensuite **5** est traité en milieu acide aqueux pour donner **6** qui est ensuite oxydé en présence de diméthylsulfoxyde et de chlorure d'oxalyle à -78°C, suivi d'un traitement avec de la triéthylamine — méthode de Swern, permettant une oxydation très douce — fournissant ainsi le composé **7** représenté ci-dessous :



5 **6** **7**

2. Donner la structure de **6** et proposer un mécanisme pour sa formation. Quels sous-produits peut-on observer si le traitement acide est prolongé ?

3. Commenter la sélectivité de l'oxydation de **6**.

En présence de levure de boulanger, le composé **7** fournit le produit **8** de formule $C_{10}H_{18}O_2$. Pour déterminer la configuration absolue de l'atome de carbone stéréogène de **8**, nous proposons l'étude de la levure de boulanger dans la réaction de transformation des composés **9a-d** :

4. De quel grand type de réaction s'agit-il ?

5. Quelles sont les configurations absolues des carbones stéréogènes (C2 et C3) des composés **10** et **11** ?

6. Le tableau 1 donne les résultats concernant la transformation de **9a-d**. Dans le cas du composé **9a**, donner la structure de tous les composés obtenus en précisant celui qui est majoritaire.

TABLEAU 1 : Réduction par la levure de boulanger

substrat	rapport 10 / 11	e.e. (%)	rendement[a] (%)
9a	94 / 6	> 93[b]	44
9b	97 / 3	> 92[c]	50
9c	85 / 15	> 93	35
9d	98 / 2	54	25

a : rendement isolé des diastéréoisomères majoritaires

b : mesuré par RMN ^{1}H de l'ester de Mosher

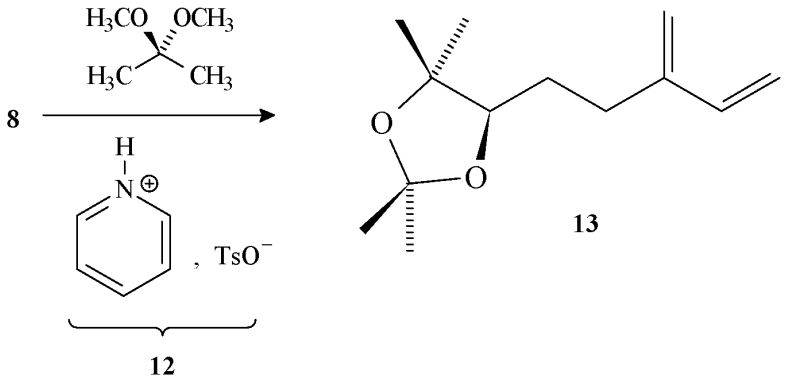
c : mesuré par RMN ^{1}H en présence de $Eu(hfc)_3$

e.e. désigne l'excès énantiomérique, défini comme le rapport de la différence des quantités des deux énantiomères divisé par la somme des quantités correspondantes.

7. En supposant identique le mécanisme d'action de la levure de boulanger sur les composés **7** et **9** et par analogie avec l'étude précédente, donner la structure de **8** et la configuration absolue de l'atome de carbone stéréogène.

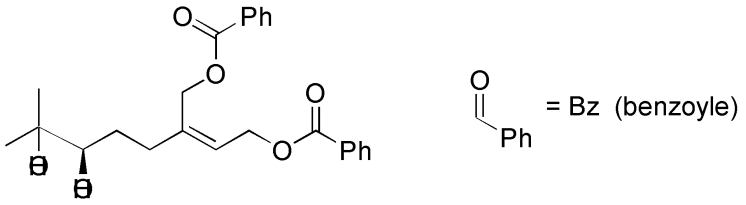
8. Proposer une explication brève de l'origine de la pureté énantiomérique de **8**.

8 est protégé en présence de 2,2-diméthoxypropane et de para-toluènesulfonate (TsO^-) de pyridinium **12**, pour donner **13** selon le schéma suivant :

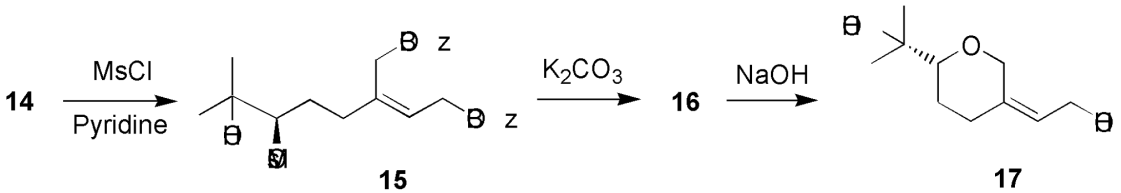


9. Écrire l'équation bilan de cette transformation. Préciser le mécanisme de la réaction. Pourquoi l'emploi du 2,2-diméthoxypropane est-il un atout, comparativement à celui de l'acétone ?

Le composé **13** est transformé en **14** selon une suite de réactions que l'on n'explicitera pas ici :



14 est ensuite soumis aux trois réactions suivantes :



Cl-SO_2-CH_3 = MsCl

On indique que le groupe $H_3C-SO_2^-$ est un excellent groupe partant.

10. Sachant que **16** est un époxyde, préciser la structure de **16**, ainsi que la configuration absolue de son atome de carbone asymétrique.

11. Proposer un mécanisme détaillé pour les étapes **15** □ **16** et **16** □ **17**.

12. Justifier la sélectivité de l'activation **14** □ **15** ainsi que la régiosélectivité de la cyclisation **16** □ **17**.

Le dérivé **17** est ensuite protégé sélectivement en présence d'un équivalent molaire de chlorure de benzoyle et de triéthylamine pour donner **18** qui, traité par le chlorure de méthanesulfonyle ($Cl\text{-}SO_2\text{-}CH_3$) en présence de *N*,*N*-diméthyl-4-aminopyridine donne **19** de formule $C_{17}H_{20}O_3$.

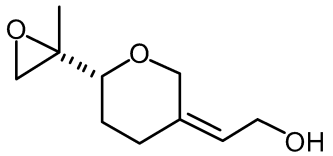
13. Préciser les structures de **18** et **19**.

14. Proposer un mécanisme pour la transformation **18** □ **19**.

19 est ensuite traité par l'acide métachloroperbenzoïque pour donner l'époxyde **20** sous forme d'un mélange de diastéréoisomères.

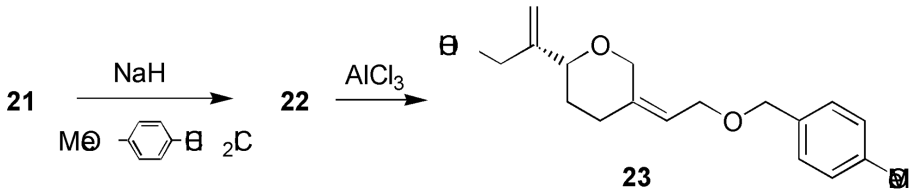
15. Représenter les stéréoisomères de **20** obtenus dans cette réaction. Sachant que le spectre RMN ^1H de **19** contient trois signaux caractéristiques avec des déplacements chimiques de 4,96, 5,01 et 5,65 ppm et que **20** ne présente plus qu'un signal à 5,65 ppm, discuter la régiosélectivité de la réaction **19** □ **20**.

20 est traité par une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium pour donner le composé **21** :



21

21 est protégé par traitement avec un équivalent molaire d'hydrure de sodium suivi de l'action du chlorure de paraméthoxybenzyle. On obtient **22** qui, traité par un acide de Lewis, donne le composé **23** :

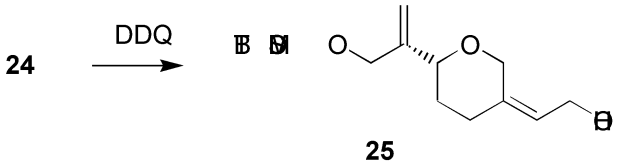


23

16. Proposer un mécanisme pour la transformation **22** □ **23**.

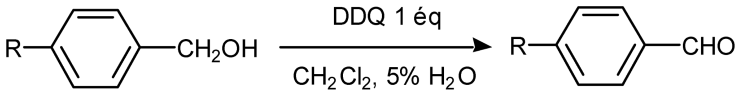
17. Pourquoi n'était-il pas nécessaire de séparer les diastéréoisomères de **20** ?

Le composé **23** est protégé par réaction avec le chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle (TBDMS-Cl) pour donner **24**. Le traitement de **24** par la 2,3-dichloro-5,6-dicyanoquinone (DDQ, voir formule ci-après) permet d'obtenir l'alcool **25** selon une réaction qui va être examinée dans les questions suivantes.



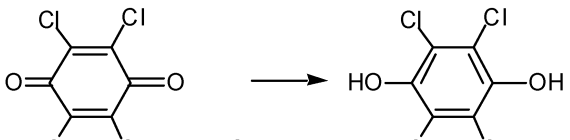
25

La DDQ est capable de transformer certains alcools benzyliques en aldéhydes à température ambiante :



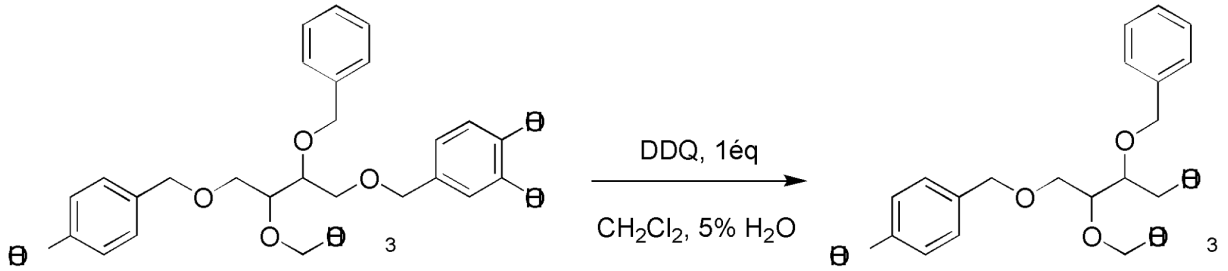
La réaction est complète (rendement 93%) en 16 heures, quand R = Me, il faut deux jours pour l'alcool benzylique ordinaire (R = H), et seulement 40 minutes quand R = p-MeO. Dans le cas où R = $PhSO_2$ le rendement en aldéhyde n'est que de 14% après 5 semaines.

Parallèlement, la DDQ est transformé en $DDQH_2$.



18. À quelle grande classe de réaction la transformation ci-dessus appartient-elle ? Commenter de **façon qualitative** l'ordre de réactivité observé en fonction du substituant R.

19. Le traitement, dans les mêmes conditions, du dérivé **A** ci-dessous fournit l'alcool **B** très proprement :

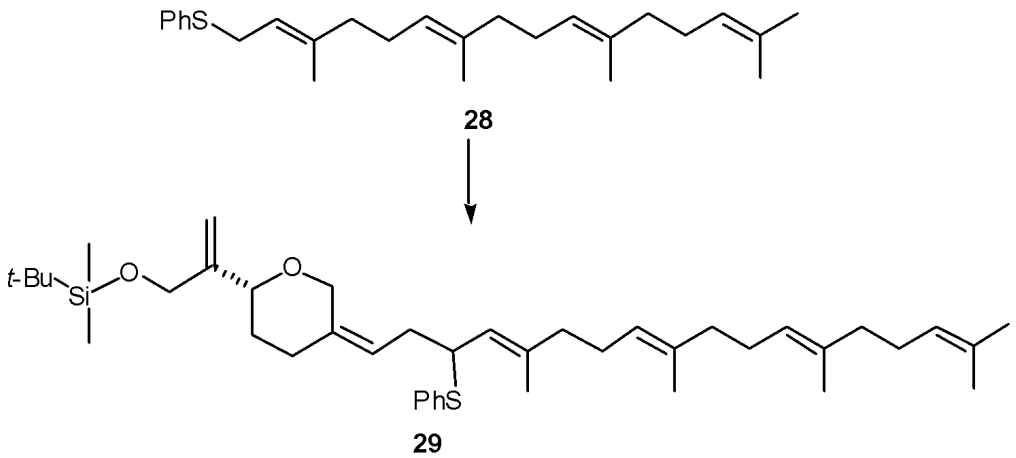


A B

Montrer, à partir de cet exemple, l'intérêt de l'utilisation de la DDQ dans une stratégie de synthèse de molécule complexe, en particulier polyhydroxylée.

À titre indicatif (pas de question sur cette partie), la synthèse est finalisée comme suit:

25 est transformé en dérivé chloré **26** correspondant à l'aide de diméthylsulfure et de *N*-chlorosuccinimide. Le sulfure **28** suivant est déprotoné sélectivement avec du butyllithium puis couplé au dérivé chloré **26** pour donner **29**.



28 **29**

Le dérivé **29** peut être transformé en acide hippospongique (**1**) en réduisant au nickel de Raney puis, après déprotection en oxydant en acide carboxylique.