Quelques aspects de la chimie médicale.

On étudie dans ce sujet quelques aspects de la chimie médicale. La première partie est dédiée à l'étude d'une technique d'imagerie médicale : l'IRM. Dans la deuxième partie on étudie la synthèse totale d'une molécule antifongique et antibiotique.

Pour l'ensemble de ce sujet l'utilisation des calculatrices est interdit.

Problème 1 : Les agents de contraste en IRM

L'IRM est une technique de diagnostic médical qui fournit des images des organes du corps humain. Les premières images chez l'homme ont été réalisées en 1979. Cet outil médical est fondé sur le principe de la RMN du proton des molécules d'eau de l'organisme.

En IRM, l'intensité du signal est souvent insuffisante pour observer une différence entre tissus sains et tissus malades. Afin de rendre le diagnostic plus aisé, on administre au patient des agents de contraste.

Les agents de contraste utilisés sont des complexes de gadolinium. Le gadolinium est un lanthanide et son numéro atomique vaut Z=64. Les premiers agents de contraste ont été introduits aux Etats-Unis et en France en 1988. Il s'agit du :

- Gadopentétate de diméglumine $[Gd(DTPA)(H_2O)]^{2-}$ (*Magnevist@*, Allemagne)
- Gadotérate de méglumine $[Gd(DOTA)(H_2O)]^{-}$ (*Dotarem@*, France)

Les ligands DTPA et DOPA sont des polyamines linéaires et macrocycliques. La figure 1 représente la forme sous laquelle ces ligands sont complexés au gadolinium. Ces deux ligands sont octadentates.

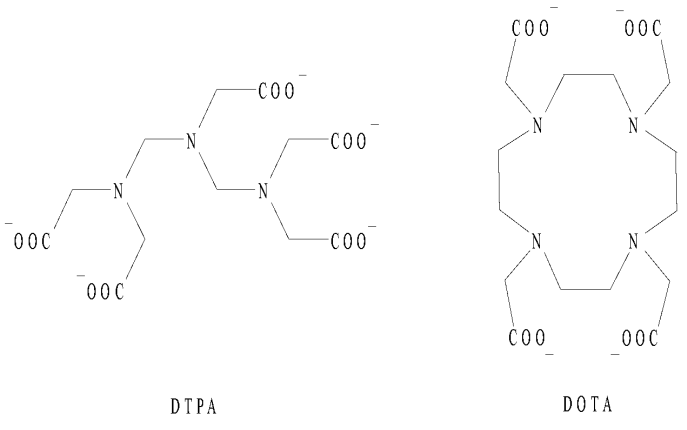


Figure 1 : Structure des ligands DTPA et DOPA.

Dans ce problème on propose d'étudier les agents de contraste au gadolinium en s'intéressant plus particulièrement à leur conception, leur stabilité dans l'organisme, et enfin leur mode d'action sur le signal de RMN (ou IRM).

PARTIE A : Conception d'un agent de contraste

A.1. Choix du métal

La configuration électronique du gadolinium à l'état atomique est : [Xe] $6s^2 4f^7 5d^1$. Les tableaux 1 et 2 de l'annexe 1 consignent respectivement les énergies des orbitales de valence du gadolinium, et les énergies d'ionisation successives de cet élément.

A.1.a) Le degré d'oxydation stable du gadolinium est le degré +III. A l'aide du tableau 1, donner, en justifiant, la configuration électronique des ions Gd^{3+}.

A.1.b) Interpréter les valeurs du tableau 2, et justifier la stabilité du degré +III d'oxydation du gadolinium.

A.1.c) Pour qu'un agent de contraste d'IRM soit efficace, il est important qu'il soit porteur d'un spin élevé. Donner la valeur du spin total des ions Gd^{3+}, puis montrer que le gadolinium est le meilleur choix de métal pour fabriquer un agent de contraste d'IRM.

A.2. Choix du ligand

Le gadolinium libre est toxique pour l'homme. Pour « masquer » sa toxicité, on complexe le gadolinium par des ligands polydentates (DTPA) ou macrocycliques (DOPA). Ce type de ligands permet la formation de complexes plus stables que leurs homologues formés à partir de ligands monodentates.

A.2.a) Etude de l'effet chélate.

Un complexe avec un ligand chélatant (polydentate) est plus stable qu'un complexe avec des ligands monodentates. Pour comprendre cette affirmation, on étudie les réactions de complexation dans l'eau du nickel II avec plusieurs ligands. Afin de tirer des conclusions, on comparera entre elles les réactions offrant la même sphère de coordination au métal. On précise qu'en solution aqueuse, les ions nickel II « libres » sont en fait présents sous la forme $Ni(H_2O)_6^{2+}$. Le tableau 3 de l'annexe 1 présente les grandeurs thermodynamiques associées aux réactions de complexation présentées dans l'annexe 2.

(i) Ecrire l'équation-bilan des réactions de complexation **5** et **6** en prenant comme réactif le nickel II sous la forme $Ni(H_2O)_6^{2+}$.

(ii) En comparant deux à deux les réactions pertinentes, déterminer quelle est la principale contribution à l'effet chélate.

(iii) Fournir une interprétation moléculaire à cette contribution principale.

(iv) Interpréter l'évolution de l'enthalpie standard de réaction pour **2**, **4** et **6.**

(v) Proposer une explication à la différence d'entropie standard pour les réactions **2** et **6.**

A.2.b) Etude de l'effet macrocycle.

Un complexe formé à partir d'un ligand macrocyclique est plus stable que son homologue formé à partir d'un ligand acyclique. C'est l'effet macrocycle. Afin de comprendre cet effet, on étudie les réactions de complexation du nickel II (sous forme $Ni(H_2O)_6^{2+}$) avec les deux ligands de la figure 2.

La formation du complexe peut être décrite, de manière très schématique, par la succession d'étapes suivantes :

- Etape 1 : réorganisation du ligand autour du métal.
- Etape 2 : réaction de complexation entre le métal et le ligand réorganisé.

Les données thermodynamiques liées à ces réactions sont présentées dans le tableau 4 de l'annexe 1.

(i) La réorganisation du ligand **A** autour du métal est défavorable enthalpiquement. Proposer une interprétation.

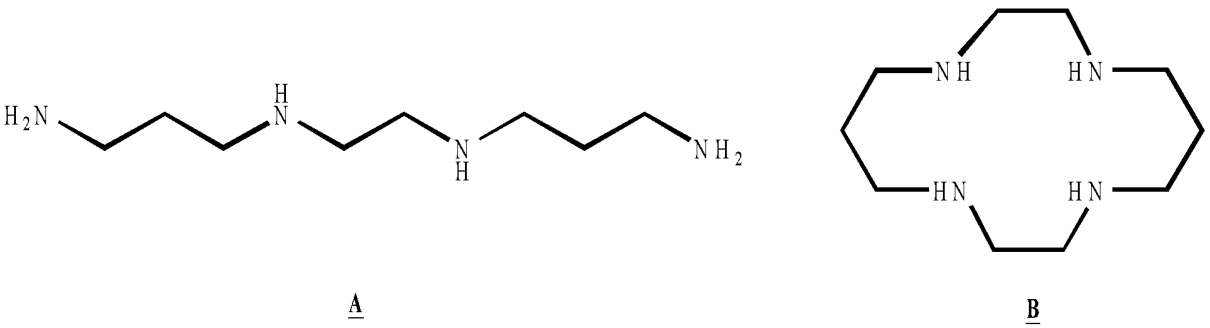
(ii) Déterminer le signe de l'entropie standard de réorganisation pour le ligand **A**.

(iii) Evaluer l'entropie standard et l'enthalpie standard de réorganisation pour le ligand **B**.

(iv) Les données thermodynamiques associées à l'étape 2 peuvent être considérées comme identiques pour les deux ligands. Justifier cette hypothèse, puis évaluer le signe des contributions enthalpiques et entropiques associées à cette étape.

(v) Interpréter le signe des contributions enthalpiques et entropiques à l'enthalpie libre standard pour la réaction de complexation entre le nickel II et le ligand **A**.

(vi) Expliquer les différences entre les valeurs des enthalpie et entropie standards pour les ligands **A** et **B**, puis conclure quant à la nature de l'effet macrocycle.

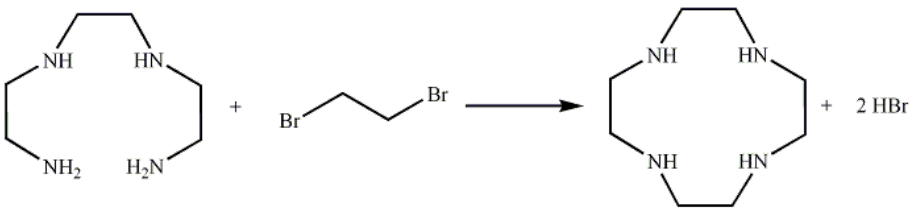


A **B**

Figure 2 : Ligands **A** et **B** pour l'étude de l'effet macrocycle.

A.3. **Synthèse d'un ligand macrocyclique**.

La synthèse du ligand DOTA passe par la synthèse du 1,4,7,10-tétraazacyclododécane qui est ensuite fonctionnalisé pour donner le DOTA. La synthèse de ce macrocycle est effectuée en faisant agir le 1,4,7,10-tétraazadécane avec le 1,2-dibromoéthane. Cette réaction de cyclisation est lente et des réactions parasites, cinétiquement plus favorables, peuvent alors entrer en compétition. Afin de favoriser la cyclisation, on conduit la réaction dans un milieu hautement dilué, et en présence de sels de nickel II.



1,4,7,10-tétraazadécane 1,4,7,10-tétraazacyclododécane

Figure 3 : synthèse du 1,4,7,10-tétraazacyclododécane.

La synthèse du macrocycle se fait par la succession d'une SN_2 et d'une substitution nucléophile interne cinétiquement déterminante assurant la fermeture du cycle.

A.3.a) Quelle réaction parasite peut entrer en compétition avec la réaction de cyclisation ?

A.3.b) Ecrire une loi de vitesse pour la réaction de cyclisation, puis proposer une loi de vitesse pour la réaction parasite. En déduire pourquoi la haute dilution favorise cinétiquement la cyclisation.

A.3.c) Expliquer en quoi la présence de sels de nickel accélère la réaction de cyclisation.

A.3.d) Ce mode opératoire, consistant à travailler en milieu dilué et en présence de sels métalliques, est-il utilisable en industrie pour synthétiser de grandes quantités de ligand pur ? Expliquer.

La fonctionnalisation du 1,4,7,10-tétraazacyclododécane pour conduire à la DOTA se fait en utilisant un α-bromo-ester (RO-C(O)-CH_2-Br).

A.3.e) Proposer une voie de synthèse pour transformer le 1,4,7,10-tétraazacyclododécane en DOTA.

PARTIE B : Les agents de contraste dans l'organisme

Les ligands DTPA et DOPA assurent en théorie une stabilité suffisante aux complexes de gadolinium en milieu aqueux pour ne pas être nocifs pour l'homme. Le milieu physiologique est différent de l'eau pure, et il est indispensable de s'assurer que le complexe reste stable dans ce milieu.

B.I. Détermination de la structure des complexes de gadolinium.

Afin de s'assurer que la structure de l'agent de contraste en solution est conforme aux attentes théoriques on détermine par fluorescence le nombre de molécules d'eau complexées au gadolinium. Par une lumière dans l'ultraviolet le complexe est amené dans son état excité. Son retour à l'état fondamental peut se faire en émettant de la lumière (fluorescence) ou en dissipant l'énergie par l'activation de ses modes normaux de vibration. Ces processus sont modélisés par l'ensemble des actes élémentaires suivants :

$C^* \rightarrow C$ désexcitation radiative (émission de lumière) : constante de vitesse k_1.

$C^* \rightarrow C$ désexcitation non radiative (vibration) : constante de vitesse k_2.

C désigne le complexe dans son état fondamental et C* le complexe dans son premier état excité.

En réalisant cette expérience dans l'eau puis dans l'eau lourde (ou eau deutérée D_2O), on peut déterminer le nombre de molécules d'eau complexées au gadolinium grâce à la formule

empirique :

$$\Delta k_{obs} = k_{obs}(H_2O) - k_{obs}(D_2O) = \alpha \cdot n$$

où α est une constante et *n* désigne le nombre de molécules d'eau complexées. Pour le complexe à base de DTPA on aboutit à *n* = 1,1.
On précise enfin que dans l'eau lourde, le ligand H_2O est remplacé par D_2O.

B.I.1) Sachant que l'intensité lumineuse émise I est proportionnelle à la concentration en C*, établir son expression en fonction du temps et des constantes de vitesse k_1 et k_2. Définir alors une constante de vitesse apparente k_{obs}.

B.I.2) Une liaison chimique est modélisable par un petit ressort de constante de raideur K. En considérant deux éléments A et B et en introduisant la masse réduite μ, exprimer la fréquence de vibration de la liaison A-B.

On précise que : $\frac{1}{\mu} = \frac{1}{m_A} + \frac{1}{m_B}$ avec m_i masse de l'atome i.

B.I.3) Pour modéliser les liaisons O-H et O-D, on utilise la même valeur de K. Justifier par un argument chimique cette approximation.

La désexcitation de la molécule par ses modes normaux de vibration est d'autant plus efficace que la fréquence de vibration de ces modes normaux est grande.

B.I.4) Déterminer en le justifiant le signe de α.
B.I.5) La précision de cette méthode est de l'ordre de 15%. La valeur expérimentale de n peut ainsi conduire à deux interprétations quant à la structure du complexe en solution. Lesquelles ?
B.I.6) Quelle différence observerait-on sur le spectre IR de l'agent de contraste avec le ligand H_2O et avec le ligand D_2O.

B.II. <u>Stabilité thermodynamique de l'agent de contraste dans le milieu physiologique</u>.

Le milieu physiologique présente un pH de 7,4 et plusieurs ions métalliques dissous tels que des ions Ca^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}. Les conditions de pH, ainsi que la présence d'ions métalliques peuvent influer sur la stabilité de l'agent de contraste et ainsi provoquer le relargage d'ions gadolinium toxiques pour l'homme.

Le ligand DTPA présente dans l'eau cinq acidités. Les valeurs des pKa de ces acidités sont présentées sur la figure 4.

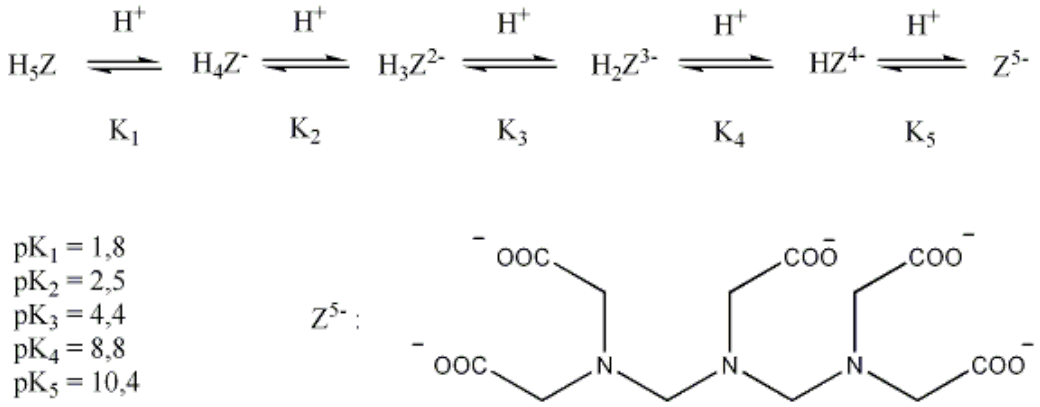


figure 4 : équilibres acido-basiques associés au ligand DTPA.

On précise enfin que la constante de formation du complexe $Gd(Z)^{2-}$ est telle que :

$$\log \beta_{Gd} = 22{,}4.$$

B.II.1) Effet du pH sur la stabilité.

On néglige dans un premier temps la présence d'autres cations métalliques dans le milieu et on ne s'intéresse qu'à l'effet du pH sur la stabilité de l'agent de contraste. L'ensemble des équilibres aboutissant au relargage des ions Gd^{3+} est le suivant :

$$Gd(Z)^{2-} = Gd^{3+} + Z^{5-} \qquad Q_0$$
$$Gd(Z)^{2-} + H_3O^+ = Gd^{3+} + HZ^{4-} + H_2O \qquad Q_A$$
$$Gd(Z)^{2-} + 2H_3O^+ = Gd^{3+} + H_2Z^{3-} + 2H_2O \qquad Q_B$$
$$Gd(Z)^{2-} + 3H_3O^+ = Gd^{3+} + H_3Z^{2-} + 3H_2O \qquad Q_C$$
$$Gd(Z)^{2-} + 4H_3O^+ = Gd^{3+} + H_4Z^{-} + 4H_2O \qquad Q_D$$
$$Gd(Z)^{2-} + 5H_3O^+ = Gd^{3+} + H_5Z + 5H_2O \qquad Q_E$$

B.I.1.a) Exprimer Q_i la constante thermodynamique de la réaction i en fonction de β et des constantes d'acidité.

B.I.1.b) Montrer que l'on peut écrire que :

$$[Gd^{3+}]^2_{Relargé} = \frac{[Gd(Z)^{2-}]}{\beta}\left[1 + \sum_{i=1}^{5}\left(\frac{[H_3O^+]^i}{\prod_{j=0}^{i-1} K_{5-i}}\right)\right]$$

B.I.1.c) En déduire, moyennant une approximation que l'on justifiera, que :

$$[Gd^{3+}]_{Relargé} = \sqrt{C_0 K_{app}}$$

avec C_0 la concentration initiale en agent de contraste mis dans l'organisme, et K_{app} une constante de dissociation apparente dépendant du pH dont on donnera

l'expression.

On définit $\beta_{app} = \frac{1}{K_{app}}$ la constante de stabilité apparente du complexe à un pH donné.

B.I.1.d) En moyennant des approximations numériques que l'on justifiera, déterminer la valeur de β_{app} pour l'agent de contraste à base de DTPA. Cet agent de contraste est-il stable dans des conditions de pH physiologique ?

B.II.2) Effet des cations métalliques dissous sur la stabilité.

Soit M^{n+} un cation métallique dissous dans le milieu. La constante de formation du complexe $M(Z)^{p+}$ vaut β_M.

En tenant compte à la fois du pH et de la présence de cations métalliques dissous, montrer que :

$$[Gd^{3+}]_{Relargé} = \sqrt{\frac{C_0}{\beta_{physio}}}$$

Donner une expression de β_{physio} la constante de stabilité apparente de l'agent de contraste dans le milieu physiologique en fonction des constantes d'équilibre du problème, de la concentration en ions H_3O^+, et de la concentration en cations métalliques dissous.

B.II.3) Application à la détermination des doses à administrer au patient.

Chez la souris, la concentration létale d'ions Gd^{3+} libres vaut 10 µmol.L^{-1}. On définit la concentration létale comme la concentration maximale de produit que peut supporter l'animal. On définit de même la dose létale en mol.kg^{-1}, la dose maximale que peut supporter l'animal avant son décès. Une souris pèse en moyenne 40 g et possède 70 mL de sang par kilogrammes. Pour l'agent de contraste $[Gd(DTPA)(H_2O)]^{2-}$, on a : $\beta_{physio} = 7{,}0$.

B.II.3.a) Déterminer la dose létale (en mol.kg^{-1}) de cet agent de contraste chez la souris.

B.II.3.b) En réalité, la dose létale de cet agent de contraste chez la souris vaut 5,0 mmol.kg^{-1}. Proposer une interprétation à l'écart entre valeur calculée issue de considérations purement thermodynamiques et valeur expérimentale.

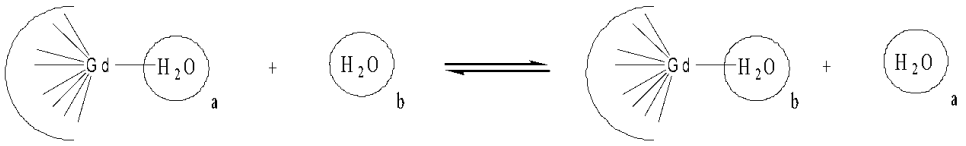
La dose létale chez l'homme est comparable à celle de la souris. Afin d'éviter tout risque, les normes imposent que la quantité d'agent de contraste injectée soit environ 50 fois inférieure à la dose létale. Les solutions d'agent de contraste sont préparées à la concentration de 0,5 mol.L^{-1}.

B.II.3.c) Un homme de 70 kg possède environ 5 litres de sang. Estimer l'ordre de grandeur du volume d'agent de contraste qu'il faut injecter au patient pour respecter les normes.

PARTIE C : Effet de l'agent de contraste sur l'image IRM

Le principe de base de l'IRM est le même que celui de la RMN. La conversion du signal enregistré en image dépasse largement le cadre de cette étude.
Les agents de contraste à base de gadolinium influent sur le signal enregistré. En effet, la molécule d'eau coordinée au gadolinium subit un échange rapide avec les molécules d'eau du reste de la cellule suivant la réaction de la figure 5. On note k_{eau} la constante de vitesse de cette réaction d'échange. On peut montrer que l'intensité du signal est inversement proportionnelle à cette constante k_{eau}.

schéma :



correspondant à la réaction :

$$[Gd(DTPA)(H_2O)_{(a)}]^{2-} + H_2O_{(b)} \rightleftharpoons [Gd(DTPA)(H_2O)_{(b)}]^{2-} + H_2O_{(a)}$$

ou

$$[Gd(DOTA)(H_2O)_{(a)}]^{-} + H_2O_{(b)} \rightleftharpoons [Gd(DOTA)(H_2O)_{(b)}]^{-} + H_2O_{(a)}$$

figure 5 : schéma de la réaction d'échange de molécules d'eau sur le complexe.

Pour cette réaction d'échange, trois types de mécanismes peuvent être envisagés. Un mécanisme dissociatif analogue à une SN_1, un mécanisme concerté analogue à une SN_2 et un mécanisme associatif en deux actes élémentaires.

C.1) Pour chacun des mécanismes écrire une série d'actes élémentaires puis dessiner un diagramme d'énergie potentielle en fonction de la coordonnée réactionnelle.
C.2) En déduire une loi de vitesse pour la réaction d'échange pour chacun des mécanismes.
C.3) Expliquer pourquoi une étude des ordres partiels de réaction ne permet pas de trancher entre un mécanisme associatif ou dissociatif.

Pour déterminer le type de mécanisme il est donc nécessaire d'avoir recours à l'étude des paramètres d'activation en utilisant la théorie de l'état de transition.
On considère qu'une réaction chimique peut être modélisée par le schéma suivant :

$$A + B \underset{}{\overset{K^{\#}}{\rightleftharpoons}} [A\text{-}B]^{\#} \xrightarrow{k^{\#}} C$$

avec $[A\text{-}B]^{\#}$ représentant l'état de transition, $k^{\#}$ constante de vitesse de la transformation de l'état de transition en C. On a $k^{\#} = \nu$ avec ν fréquence de vibration de l'état de transition suivant la coordonnée de réaction conduisant à la formation de C.

C.4) Donner un expression de la constante de vitesse k en fonction de ν, $K^{\#}$ et des

coefficients d'activité γ_A, γ_B, $\gamma^{\#}$ associés respectivement à l'espèce A, B et au complexe activé. On définit le cœfficient d'activité γ tel que pour une espèce donnée, l'activité de cette espèce en solution s'écrive : $a = \gamma C$ avec C la concentration.

On a la relation suivante :

$$K^{\#} = \frac{1}{1 - \exp\left(\frac{h\nu}{k_B T}\right)} K$$

avec K constante d'équilibre thermodynamique entre les réactifs et le complexes activé, k_B constante de Boltzmann, h constante de Plank.

C.5) En supposant $h\nu << k_B T$, donner une nouvelle expression de k en fonction de γ_A, γ_B, $\gamma^{\#}$ et K.

C.6) Montrer que la constante de vitesse k de la réaction qui transforme A et B en C peut s'écrire, moyennant une approximation que l'on précisera, selon l'équation (1) :

$$k = \frac{k_B T}{h} \exp\left(\frac{-\Delta_r G^{0\#}}{RT}\right) \qquad (1)$$

avec k constante de vitesse ; R constante des gaz parfaits ; k_B constante de Boltzmann ; h constante de Plank et $\Delta_r G^{0\#}$ enthalpie libre standard d'activation.

On précise que l'enthalpie libre standard d'activation représente l'enthalpie libre standard de réaction de l'équilibre hypothétique entre les réactifs et l'état de transition.

C.7) Ecrire une relation simple entre $\Delta_r G^{0\#}$ et $\Delta_r V^{0\#}$ où $\Delta_r V^{0\#}$ représente le volume standard d'activation.

C.8) En déduire la formule suivante :

$$k = k_0 \exp\left(\frac{-\Delta_r V^{0\#} P}{RT}\right) \qquad (2)$$

où P représente la pression et k_0 est une constante.

Le tableau 6 de l'annexe 1consigne les valeurs des différents paramètres d'activation pour la réaction d'échange sur l'agent de contraste à base de DOTA et de DTPA. $\Delta_r H^{0\#}$ représente l'enthalpie standard d'activation et $\Delta_r S^{0\#}$ l'entropie standard d'activation.

C.9) En analysant les valeurs du tableau, déterminer, en le justifiant, le mécanisme qui sous-tend la réaction d'échange de molécule d'eau.

C.10) Proposer un argument chimique simple pour expliquer le signe de $\Delta_r H^{0\#}$.

C.11) Déterminer les signes et donner un ordre de grandeur des amplitudes du volume et de l'entropie d'activation que l'on aurait obtenus pour les deux autres mécanismes envisageables.

C.12) Proposer une méthode expérimentale pour déterminer $\Delta_r V^{0\#}$.

C.13) En linéarisant l'équation (1), expliquer comment l'on peut déterminer $\Delta_r H^{0\#}$ et $\Delta_r S^{0\#}$ expérimentalement.

C.14) **Application au contraste en IRM**.

Les cellules cancéreuses présentent une forte hydratation. En effet des réactions inflammatoires de l'organisme provoquent une forte irrigation de ces régions.
Sur l'image IRM, les zones envoyant un signal intense apparaissent en blanc alors que celles envoyant un signal plus modéré apparaissent en gris plus ou moins foncé.

Question :

A la lumière de l'étude précédente, déterminer comment les cellules cancéreuses apparaissent sur l'image IRM. On prendra soins de justifier chaque étape du raisonnement.

FIN DE LA PREMIERE PARTIE

Annexe 1 : Tableaux

Energie des orbitales de valence.

Orbitale	6s	4f	5d	6p
Energie (en eV)	-22	-59	-28	-17

tableau 1 : énergies des orbitales de valence du gadolinium en eV.

Energie d'ionisation

Energie (en kJ.mol^{-1})	1° ionisation (I_1)	2° ionisation (I_2)	3° ionisation (I_3)	4° ionisation (I_4)	$I_1 + I_2 + I_3$
Gd	593	1167	1990	4250	3750

tableau 2 : énergies d'ionisation du gadolinium en kJ.mol^{-1}.

Effet chélate

Réaction	log K	$\Delta_r G°$ (en kJ.mol^{-1})	$\Delta_r H°$ (en kJ.mol^{-1})	$T\Delta_r S°$ (en kJ.mol^{-1})
1	5,06	-28,8	-32,6	-3,77
2	7,35	-41,9	-37,7	4,18
3	8,09	-46,5	-65,3	-18,8
4	13,48	-77,4	-76,6	0,84
5	9,05	-51,7	-100	-48,3
6	17,64	-101,1	-117	-15,9

tableau 3 : grandeurs thermodynamiques de réactions de formations de quelques complexes de Ni^{2+} à 25°C présentées dans l'annexe 2.

Effet macrocycle

	Ligand **A**	Ligand **B**
log K°	11,2	15,3
$\Delta_r H°$ (en kJ.mol^{-1})	-44,4	-69,9
$\Delta_r S°$ (J.K^{-1}.mol^{-1})	66,5	85,8

tableau 4 : données thermodynamiques relatives à l'effet macrocycle à 25 °C.

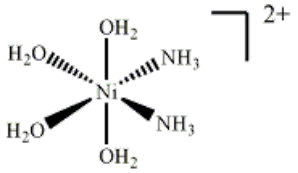
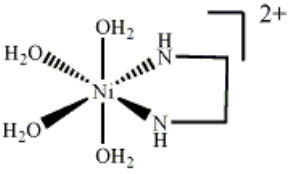
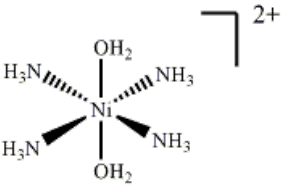
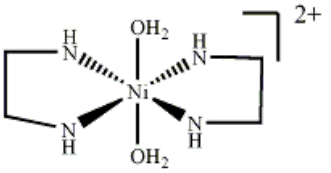
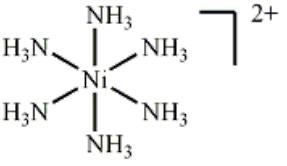
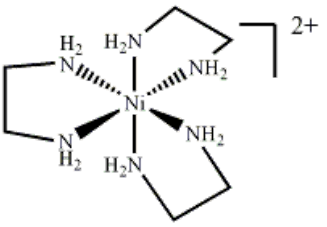
Paramètres d'activation

Complexe	$\Delta_r V^{0\#}$ (cm^3.mol-1)	$\Delta_r H^{0\#}$ (kJ.mol^{-1})	$\Delta_r S^{0\#}$ (J.K^{-1}.mol^{-1})	k (10^6 s^{-1}) à 25°C
$[Gd(DTPA)(H_2O)]^{2-}$	12,5	51,6	53	3,30
$[Gd(DOTA)(H_2O)]^{-}$	10,5	49,8	49	4,10

tableau 6 : paramètres d'activation de l'échange de molécules d'eau.

Annexe 2

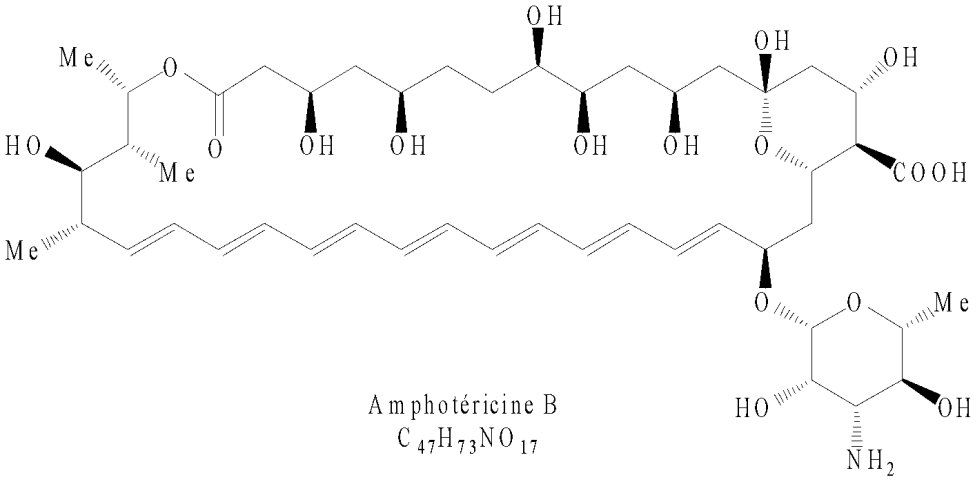
Quelques réactions de complexation du nickel II

Réaction de Complexation	Ligand	Complexe
1	NH_3	
2	$H_2N\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}NH_2$	
3	NH_3	
4	$H_2N\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}NH_2$	
5	NH_3	
6	$H_2N\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}NH_2$	

Quelques réactions de complexation du nickel II ($Ni(H_2O)_6^{2+}$).

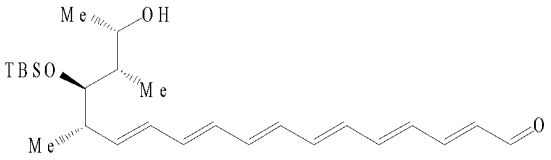
Problème 2 : Synthèse d'une molécule antibiotique.

L'amphotéricine B est un antibiotique antifongique. Cette molécule est utilisée pour traiter certaines mycoses profondes. A l'origine, cette molécule était extraite de la bactérie *Streptomyces nodosus*. En 1987, K. C. Nicolaou a proposé une synthèse totale de cette molécule.

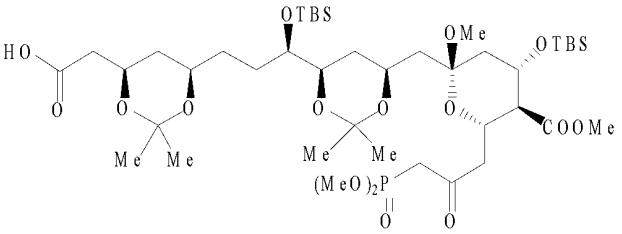


Amphotéricine B
$C_{47}H_{73}NO_{17}$

Pour obtenir ce macrocycle on couple les deux synthons **A** et **B** par des méthodes que l'on étudiera dans la dernière partie.



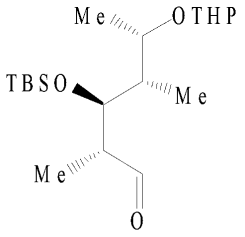
Synthon A



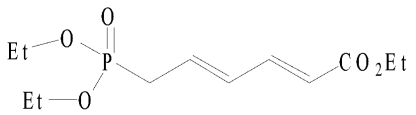
Synthon B

A. Synthèse du synthon A

L'analyse rétrosynthétique de **A** montre que l'on peut obtenir cette molécule à partir du synthon **C** et du composé **D** commercial.



C



D

A.I. Synthèse de **C**

La séquence réactionnelle de la synthèse de C est donnée en ***Annexe A***.

*A.I.1. Première séquence de la synthèse : passage de **0** à **5**.*

A.I.1.a) Donner, en justifiant, la configuration absolue des centres stéréogènes de **0**. Ce composé est-il chiral ? Justifier.

Le composé de départ **0** réagit avec l'orthoester $(EtO_3)CH$ pour donner **1**. Le composé **1** est ensuite dissous dans du THF (tétrahydrofurane) anhydre et mis en présence de $LiAlH_4$ pour conduire, après hydrolyse, au composé **2**.

A.I.1.b) Pourquoi fait-on agir un orthoester sur **0** avant de faire agir $LiAlH_4$? Identifier le produit **2** et justifier l'emploi de THF anhydre.

L'action de PCl_3 sur le composé **3** est une étape essentielle de cette séquence car elle induit la stéréochimie du produit final **5**.

A.I.1.c) Pourquoi réalise-t-on la transformation de **2** en **3** avant de faire agir PCl_3 ? Justifier la réponse. Donner la structure de **3**.

Le composé **4** est mis en présence de carbonate de potassium (K_2CO_3) dans le méthanol. Il se forme alors dans le milieu un intermédiaire réactionnel anionique qui évolue spontanément vers la formation du composé **5**.

A.I.1.d) Sachant que le sous-produit de formation de l'intermédiaire réactionnel est HCOOMe, proposer une structure pour l'intermédiaire réactionnel, puis un mécanisme pour sa formation faisant intervenir le solvant et une étape d'addition-élimination.

A.I.1.e) En analysant le mécanisme de la formation de **5** à partir de l'intermédiaire réactionnel, expliquer la stéréochimie de **5**, puis montrer en quoi l'action de PCl_5 induit la stéréochimie **5**.

A.I.2. *Deuxième séquence de la synthèse : passage de **5** à **C** :*

A.I.2.a) A l'aide d'une analyse du mécanisme de la réaction permettant le passage de **5** à **6**, déterminer, en justifiant, le nombre de stéréoisomères obtenus lors de cette réaction. Dessiner le(s) produit(s) de cette réaction.

A.I.2.b) Sachant que **8** possède un cycle à 5 chaînons, donner sa structure. Préciser le mécanisme de la réaction et le rôle de l'acide paratoluènesulfonique (APTS). Quelles autres structures de **8** sont envisageables ?

A.I.2.c) Passage de **8** à **9**.

Dans un ballon passé à l'étuve, 1,40 g de **8** est dissous dans 44 mL de dichlorométhane. On ajoute ensuite 1,5 g de tamis moléculaire dont la taille des pores est de 400 pm, et 3,76 g de PCC. On laisse la réaction se dérouler pendant 2h30 avant de réaliser des lavages à l'éther diéthylique anhydre pour isoler et purifier le produit **9** de la réaction.

(i) Donner la structure de **9**. Quelle est la nature de la réaction **8** → **9** ?
(ii) Pourquoi faut-il travailler avec des solvants anhydres et une verrerie passée à l'étuve. Quelle réaction parasite se produirait sinon ?
(iii) Quel est le rôle du tamis moléculaire ?
(iv) Quelles modifications spectrales en IR et RMN peut-on attendre lors du passage de **8** à **9** ?
(v) Proposer un réactif chimique permettant de caractériser **9**.

A.I.2.d) Passage de **10** à **12**.

On dissout 2,74 g du composé **10** dans du THF fraîchement distillé. Le montage est placé sous atmosphère inerte d'argon et refroidi à – 40 °C. On ajoute alors 0,336 g de $LiBH_4$ et on laisse la réaction se dérouler pendant 4 h. Après hydrolyse et purifications, on obtient le produit **11.** Pour caractériser ce produit, on réalise son spectre IR et on compare à celui du réactif **10**. Les bandes observées sont :

- Réactif **10** : 3470 ; 3060 ; 2900 ; 1780 ; 1695 en cm^{-1}
- Produit **11** : 3405 ; 2900 en cm^{-1}

(i) Attribuer les signaux du spectre IR de **10**. En déduire une structure pour **11**.
(ii) Quelle est la nature de la réaction **10** → **11** ? Pourquoi distille-t-on le THF et pourquoi se place-t-on sous argon ?
(iii) Proposer réactifs et conditions expérimentales précises offrant un excellent rendement à la réaction **11** → **12**. Proposer un mécanisme de formation de **12**.

A.I.2.e) Donner, en justifiant, les configurations absolues de centres stéréogènes de la molécule **C**. On ne tiendra pas compte du centre stéréogène introduit par la présence du groupement THP.

A.I.3. *Comprendre la stéréochimie relative de **A**.*

Le passage de **9** à **10** est une étape clé de la synthèse stéréocontrolée du synthon **A**. Il s'agit d'une étape d'aldolisation diastéréosélective qui permet d'obtenir l'isomère souhaité du composé **A** de manière largement majoritaire.

Pour comprendre la sélectivité de cette réaction, on utilise un modèle simple dont les données relatives à ce modèle sont dans l'Annexe B.

A.I.3.a) Formation de l'énolate :

Dans un ballon, on dissout 1,53 g du composé **S** dans 13 mL de dichlorométhane sous atmosphère d'argon. La solution est refroidie à 0 °C. On ajoute ensuite, goutte à goutte, un mélange de 1,05 équivalent de $(n\text{-}Bu)_2BOTf$ et 1,2 équivalent de $(i\text{-}Pr)_2NEt$. Le bore ayant une grande affinité pour l'oxygène, l'énolate formé **F** est présent sous la forme dessinée sur la figure 1 de l'Annexe B. La stéréochimie de la double liaison C=C formée conditionne la sélectivité de l'aldolisation. Les conditions opératoires favorisent la formation de l'énolate **F** de configuration *Z*.

(i) Quel est le rôle de l'amine dans la réaction de formation de **F** ? Proposer un mécanisme pour la formation **F**.

(ii) La même réaction, conduite à 25 °C, aurait abouti à la formation de l'énolate de configuration *E*. En déduire, en justifiant, sous quel type de contrôle se déroule la réaction de formation de l'énolate **F**.

(iii) Expliquer pourquoi ce type de contrôle est favorisé par l'ajout goutte à goutte du mélange de $(n\text{-}Bu)_2BOTf$ et $(i\text{-}Pr)_2NEt$.

A.I.3.b) Etude de l'aldolisation

Pour cette étude on considère la réaction modèle de la figure 2 de l'***Annexe B.*** Sur cette figure, on définit les aldols Syn et Anti. Cette définition impose l'écriture de la chaîne carbonée en « zig-zag » (voir figure 2 Annexe B).
Cette réaction d'aldolisation passe par un état de transition cyclique à 6 centres où le bore est complexé aux atomes d'oxygène de l'aldéhyde et de l'énolate. A l'instar du cyclohexane, cet état de transition adopte une conformation chaise. On notera que la géométrie *Z* de la double liaison C=C de l'énolate contraint le groupement R_2 à prendre une position axiale dans l'état de transition.
La formule plane de cet état de transition est présentée sur la figure 2 de l'Annexe B. Les liaisons en pointillés représentent les liaisons en cours de rupture ou de formation.

(i) Dessiner en perspective les états de transition envisageables avec un énolate *Z*. On considérera pour l'instant que l'aldéhyde ne réagit sur l'énolate que par une seule face.

(ii) Déterminer, en justifiant votre réponse, à quel produit, après hydrolyse, conduit chacun de ces états de transition.

(iii) Etudier la stabilité relative des aldols Syn et Anti.

(iv) Sur un diagramme d'énergie potentielle en fonction de la coordonnée réactionnelle, représenter les chemins réactionnels envisageables pour cette réaction d'aldolisation. On prendra soin de justifier l'ordre énergétique des différents états de transition considérés.

A.I.3.c) Application à la transformation de **9** en **10**.

(i) Une fois l'énolate *Z* formé, le milieu réactionnel est refroidi à -78 °C. Quel produit aurait-on obtenu si on avait travaillé à température ambiante et pourquoi ?

(ii) L'action du diisopropylamidure de lithium (LDA) sur le composé **S** aurait conduit majoritairement à un énolate de configuration *E*. Dessiner alors l'état de transition de la réaction d'aldolisation conduite à -78 °C avec cet énolate de configuration *E*. En déduire le produit que l'on aurait obtenu.

A.II. Obtention du synthon A

A est obtenu par l'action de deux équivalents de **D** sur le synthon **C** élaboré précédemment. On utilise pour cela la réaction de Horner-Wadsworth-Emmons. Cette réaction, analogue à

une réaction de Wittig, est *E*-sélective.

A.II. 1. Etude la réaction de Horner-Wadsworth-Emmons sur un exemple

La figure 1 présente un exemple de réaction de Horner-Wadsworth-Emmons.

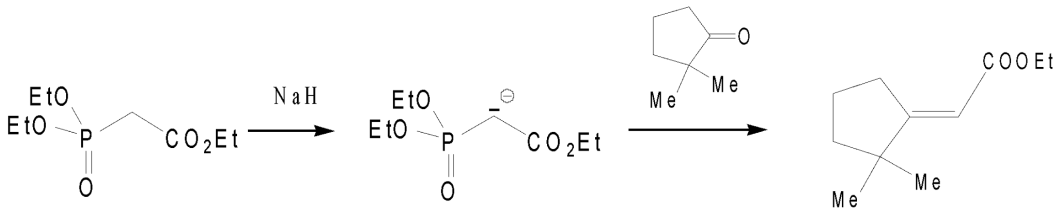


Figure 1 : exemple de réaction de Horner-Wadsworth-Emmons.

A.II.1.a) Le phosphonate $(EtO)_2P(O)CH_2CO_2Et$ est préparé à partir de $P(OEt)_3$ et du bromoacétate d'éthyle Br-CH_2COOEt. Sachant que :

- le mécanisme est séquentiel
- la première étape est une SN dans laquelle le phosphite d'éthyle $P(OEt)_3$ est le nucléophile
- le sous-produit de la réaction est le bromo-éthane

(i) Ecrire une formule de Lewis du phosphite d'éthyle.
(ii) Identifier les sites nucléophiles et électrophiles sur le phosphite d'éthyle et le bromoacétate d'éthyle.
(iii) Proposer un mécanisme pour la formation du phosphonate.

A.II.1.b) Quel est le rôle de NaH dans la réaction de Horner-Wadsworth-Emmons ? Quel est l'intérêt d'utiliser ce réactif ?

A.II. 2. *Application à la synthèse de A*

Le synthon **A** est obtenu par le couplage du synthon **C** avec **D**. Dans une première étape, on introduit dans le milieu les composés **C**, **D** et le LDA. On obtient alors le produit **13.** Le passage de **13** à **A** se fait par une série d'étapes parmi lesquelles on trouve l'action du deuxième équivalent de **D**.

A.II.2.a) La réaction entre le LDA est le phosphonate **D** est quantitative. Après avoir identifié le rôle du LDA dans cette réaction, expliquer cette observation, puis donner la structure du composé **13**.
A.II.2.b) Proposer une série de réactions permettant d'aboutir à **A**.

Précision : la déprotection d'une fonction alcool protégée par un groupement tétrahydropyrane (THP) se fait l'action du méthanol en présence d'un catalyseur acide.

B. Synthèse du synthon B

Le synthon **B** est obtenu par le couplage de 3 synthons : les molécules **E**, **F**, et **G** dont les

structures sont représentées sur la figure 2. Dans cette partie on ne s'intéresse pas à la synthèse de ces briques élémentaires mais à leur assemblage pour former **B**.

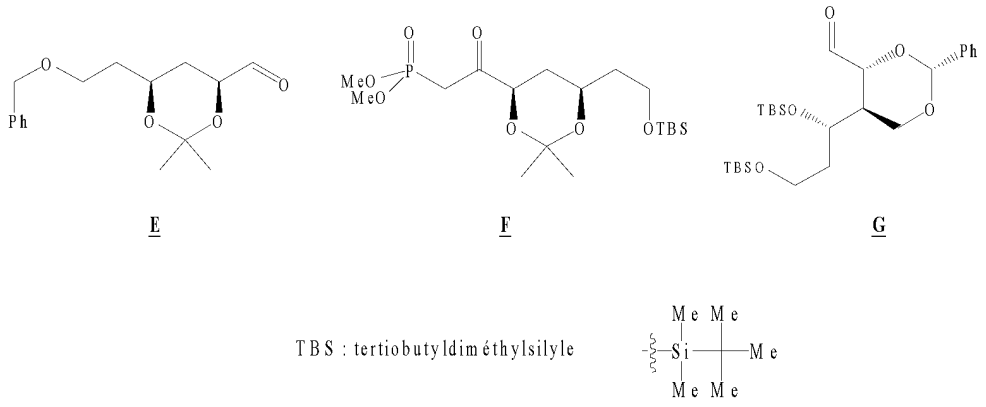


figure 2 : synthons pour la synthèse de **B**.

Dans la suite de cette partie, on rencontrera les groupements TBS et TPS. Ce sont des groupements protecteurs des fonctions alcools à base de dérivés silylés.

B.I. **Première séquence de la synthèse** :

La première séquence réactionnelle se fait suivant le schéma de la figure 3 :

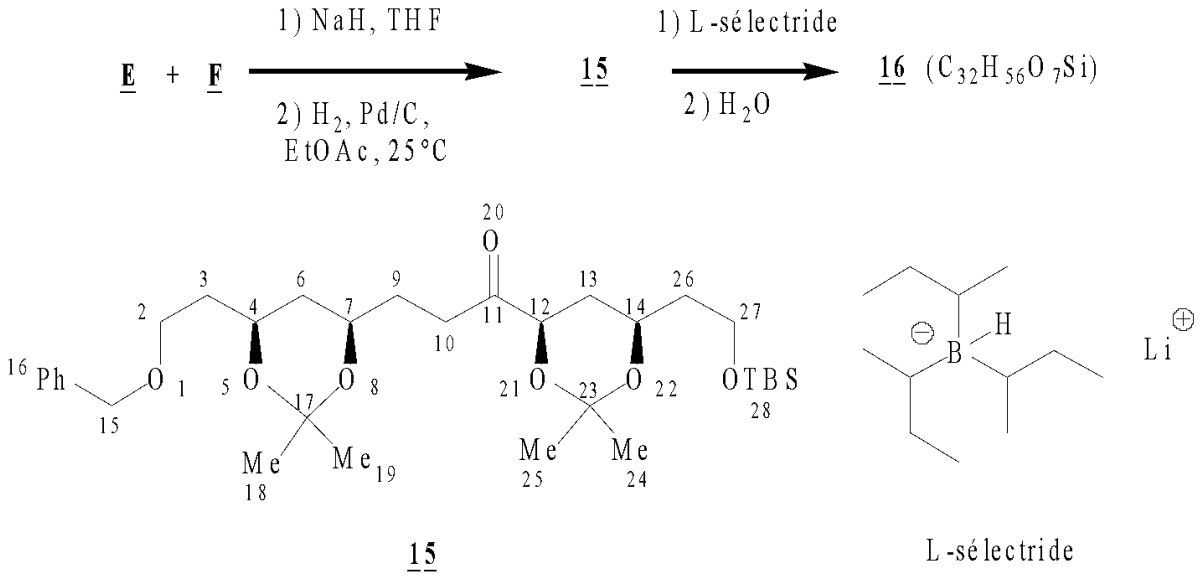
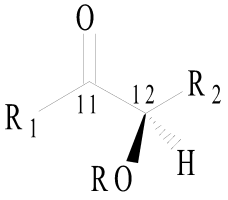


figure 3 : première séquence de la synthèse de **B**.

L'action du L-sélectride sur le composé **15** conduit, après hydrolyse à un seul diastéreoisomère. Cette sélectivité détermine la stéréochimie du synthon **B**.

B.I.1) Sachant que le L-sélectride se comporte comme un donneur d'hydrure, montrer que son action sur le composé **15** peut conduire *a priori*, après hydrolyse, à un mélange de deux diastéréoisomères que l'on dessinera.



On modélise la molécule **15** par la structure suivante :

B.I.2) Représenter la molécule modèle en projection de Newman suivant la liaison C_{11}-C_{12}.

Le groupement -OR est plus volumineux que le groupement -R_2. On se place en première approximation dans les hypothèses suivantes :

- l'énergie de répulsion entre -OR et l'oxygène du carbonyle est égale à l'énergie de répulsion entre -OR et -R_1. (H_1)
- les autres énergies de répulsion sont nulles. (H_2)

B.I.3) Dessiner un diagramme représentant l'énergie relative des conformères de la molécule modèle en fonction de l'angle dièdre entre la liaison C=O et la liaison C-OR. Représenter les conformères les plus stables.

L'approche la plus favorable d'un nucléophile sur un carbonyle se fait avec un angle de 105° par rapport à la double liaison C=O. Les orbitales moléculaires du groupement carbonyle sont représentées sur la figure 4 :

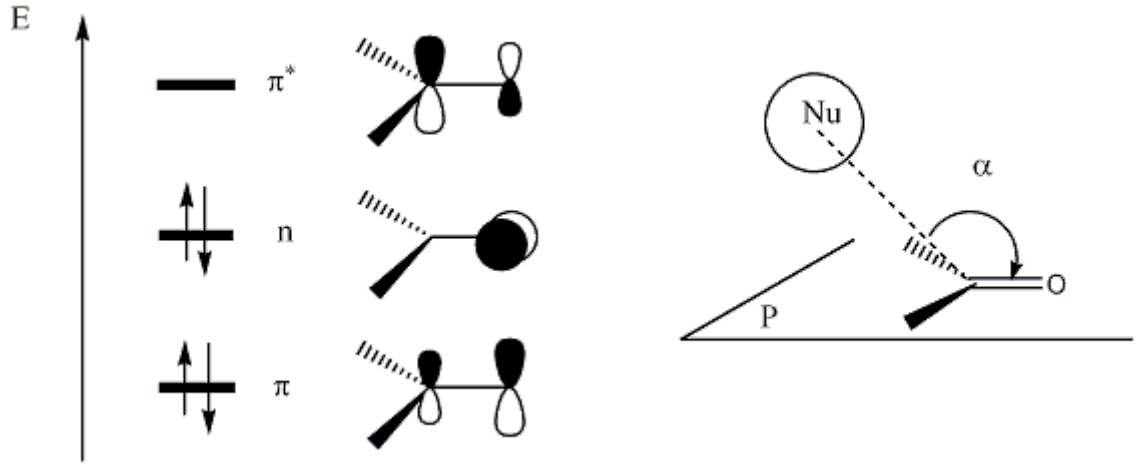


figure 4 : orbitales moléculaires du groupement carbonyle.

B.I.4) Expliquer la valeur de l'angle d'attaque d'un nucléophile sur le groupement carbonyle.

B.I.5) Sur les conformères les plus stables présentés précédemment, en vous appuyant sur une étude précise des différents angles impliqués, représenter l'attaque d'un nucléophile sur le carbonyle modèle.

Ces dessins constituent une représentation de l'état de transition de la réaction d'addition d'un nucléophile sur un carbonyle.

B.I.6) A partir des résultats déjà obtenus, déterminer le produit majoritaire,après hydrolyse, d'une attaque d'un nucléophile sur la molécule modèle réalisée sous contrôle cinétique.

B.I.7) Application à la transformation de **15** en **16** : on observe les résultats expérimentaux suivants pour l'action du L-sélectride sur **15**.

Conditions opératoires	Rapport (**16a** :**16b**)
THF, 0°C	3 : 1
THF, -78°C	5 : 1
THF, -110 °C	1 : 0

B.I.7.a) Identifier les produits **16a** et **16b**. Justifier votre réponse.
B.I.7.b) Interpréter l'évolution du rapport (**16a** :**16b**) avec la température. On conduit la réaction à -110 °C. Préciser la structure de **16** (avec stéréochimie).

B.II. Deuxième séquence de la synthèse :

La deuxième séquence de la synthèse de **B** est donnée en annexe C. Les réactions de protection et déprotection des alcools par des groupements silylés sont les suivantes :

Protection :

$$R-OH \quad + \quad TBS-X \quad \longrightarrow \quad RO-TBS \quad + \quad HX$$

avec *X* groupe partant

Déprotection :

$$RO-TBS \quad \xrightarrow{TBAF} \quad R-OH$$

TBAF : fluorure de tétrabutylammonium

Les réactions de protection et déprotection sont les mêmes pour le groupement TPS.

B.II.1) Passage de **16** à **18** :

Donner la structure de **17**. On pourra écrire la molécule en laissant l'abréviation TPS. Sachant que l'on ne met qu'un équivalent de TBAF et que ce dernier est plus réactif face au TBS qu'au TPS, donner la structure de **18**. A quoi sert cette séquence réactionnelle ?

B.II.2) Passage de **18** à **20** :

B.II.2.a) Proposer un mécanisme pour la formation de **19**. Pourquoi a-t-on rajouté de la triéthylamine (Et_3N) dans le milieu réactionnel ?
B.II.2.b) Après avoir proposé une structure pour **20**, justifier l'intérêt de l'emploi MsCl avant de faire agir NaI.

B.II.3) Passage de **21** à **23** :

Donner les structures des composés **22** et **23**.

B.II.4) Passage de **24** à **25** :

1,51 mmol de **24** est dissous dans 15 mL de THF à 0 °C. On y ajoute à 1,66 mL d'une solution aqueuse de LiOH à 1 $mol.L^{-1}$. Après 20 minutes de réaction, on ajoute 5mL d'une solution aqueuse NH_4Cl à la solution puis 75 mL d'éther diéthylique. Les caractérisations réalisées

montrent que le nombre d'atomes de carbone reste inchangé quand on passe de **24** à **25**.

B.II.4.a) Justifier le volume utilisé de la solution aqueuse de LiOH, puis proposer une structure pour **25**.
B.II.4.b) Pourquoi ajoute-on 5 mL de NH_4Cl après 20 minutes de réaction ?
B.II.4.c) A quoi sert l'ajout des 75 mL d'éther diéthylique ?

B.II.5) Passage de **25** à **26** :

L'action du diazométhane (CH_2N_2) sur un acide carboxylique conduit à la formation d'un ester méthylé de type R-COOMe et à la production de diazote.

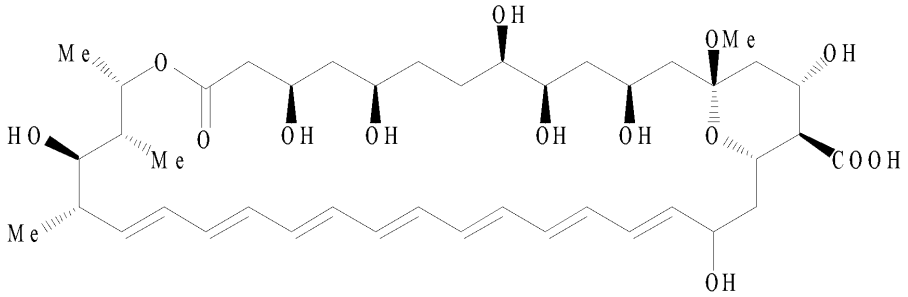
B.II.5.a) Ecrire une formule de Lewis pour CH_2N_2. Justifier la stabilité de ce composé.
B.II.5.b) Sachant que le diazométhane est une base forte, proposer un mécanisme pour la formation de **26**. Préciser sa structure.
B.II.5.c) Quelle est la force motrice de la réaction ?

B.II.8) Dernière étape :

B.II.8.a) Pourquoi utilise-t-on deux équivalents de $(OMe)_2P(O)CH_2Li$?
B.II.8.b) Quel(s) autre(s) site(s) aurai(en)t pu subir l'attaque de $(OMe)_2P(O)CH_2Li$ et pourquoi cela ne se produit pas ?

C. Fin de la synthèse de l'amphotéricine B

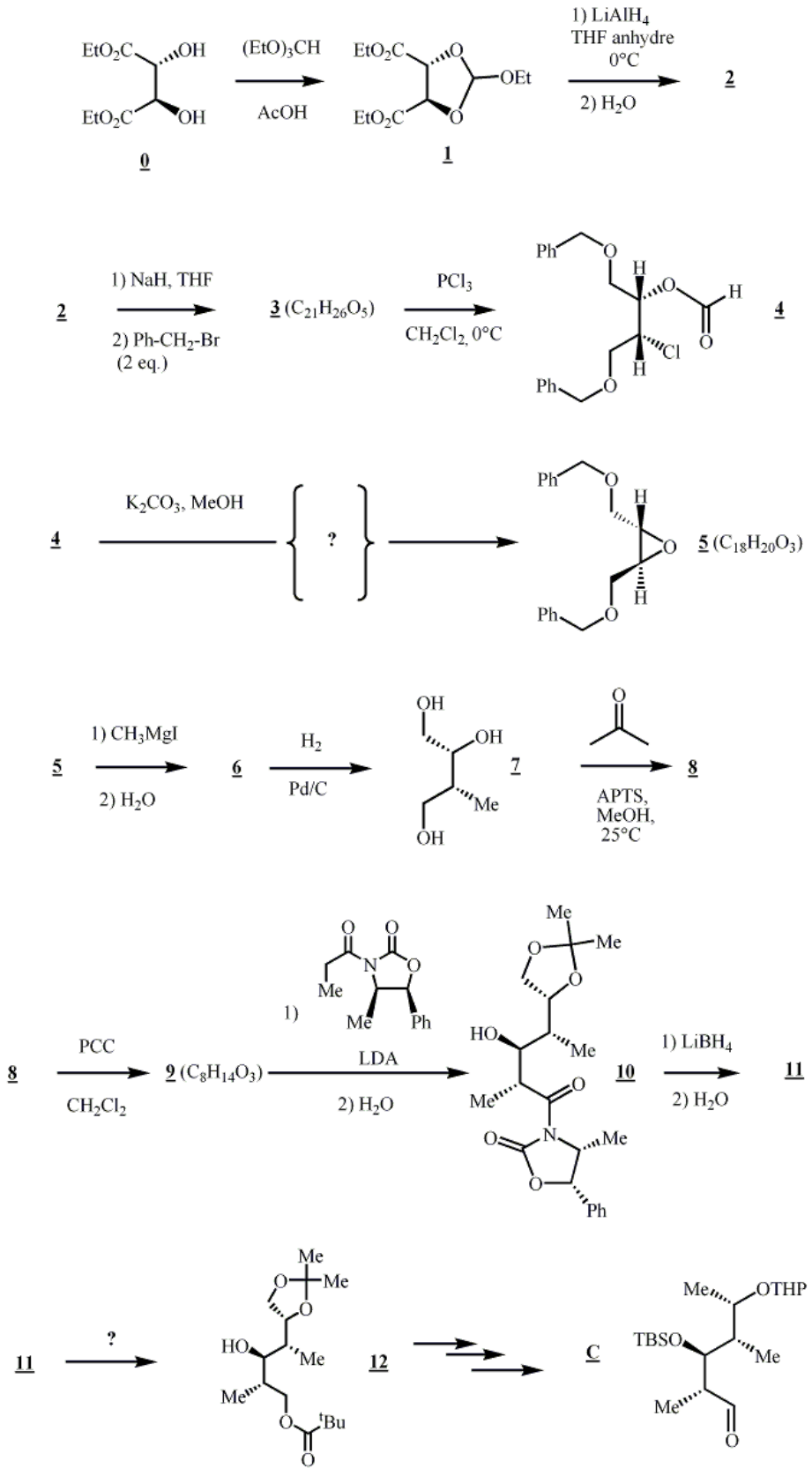
Le couplage des synthons **A** et **B** conduit à un précurseur de l'amphotéricine B. La structure de précurseur est donnée ci-dessous.
Une séquence de réactions conduit ensuite à l'amphotéricine B



Proposer une synthèse permettant de coupler les synthons **A** et **B** conduisant à ce précurseur.

FIN DE L'EPREUVE

Annexe A : Séquence réactionnelle pour la synthèse de C



Annexe B : Aldolisation diastéréosélective

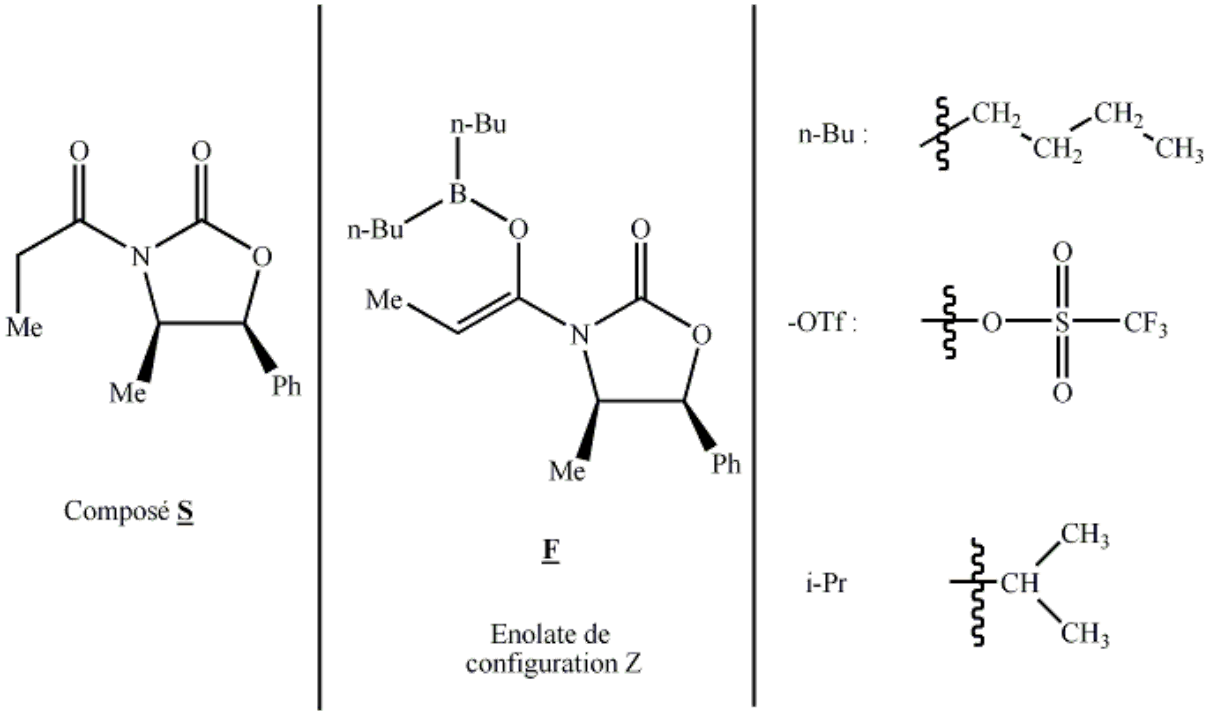


Figure 1 : Structure du composé S et de l'énolate F.

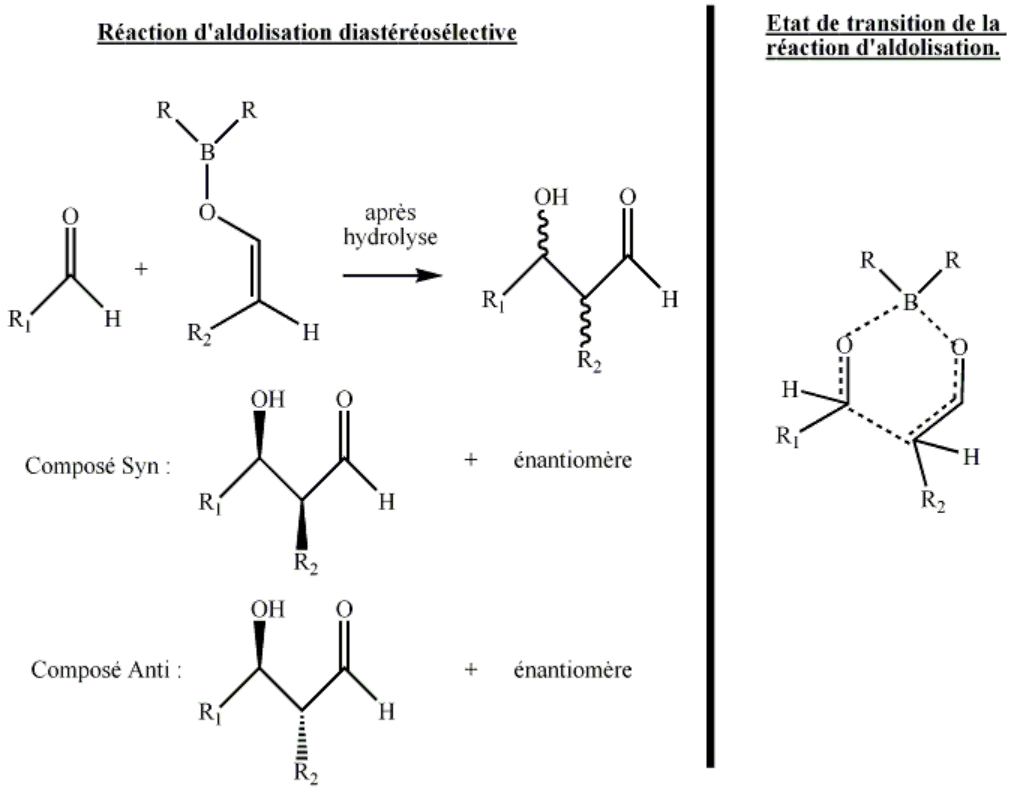
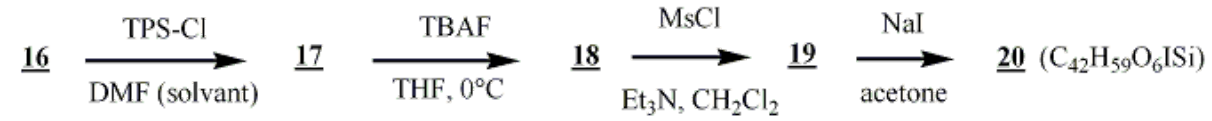
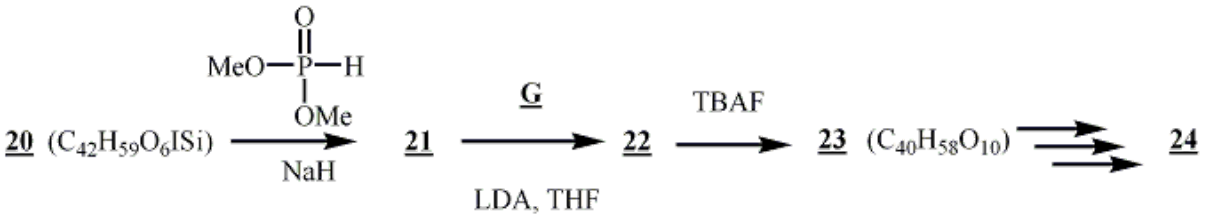
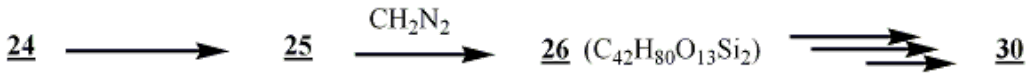


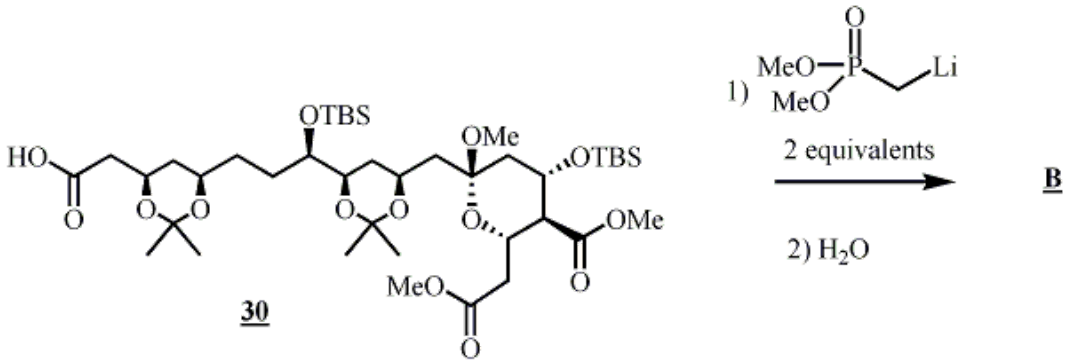
Figure 2 : réaction d'aldolisation.

Annexe C : Synthèse de B

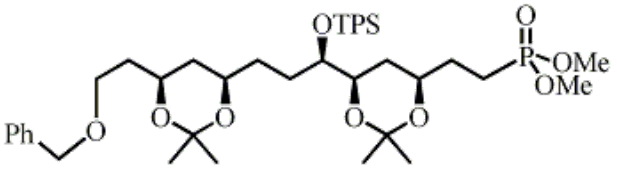




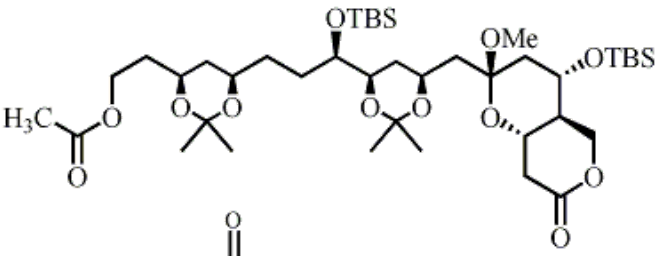




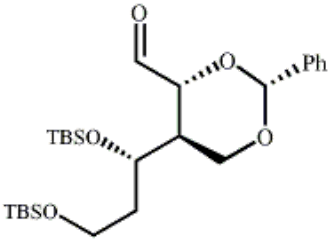
Structure du composé **21** :



Structure du composé **24** :



Structure du composé **G** :



Annexe D

Abréviations utilisées dans le problème :

Molécules			Groupements		
THF	tétrahydrofurane		THP	Groupement tétrahydropyrane	
AcOH	acide acétique ou acide éthanoïque	CH_3COOH	TBS	Groupement tertiobutyl-diméthylsilyle	
APTS	acide paratoluène sulfonique		TPS	Groupement tertiobutyl-diphenylsilyle	
PCC	chlorochromate de pyridinium		Ms	Groupement mésylate	
TBAF	Fluorure de tétrabutylammonium	$N(Bu)_4^+$; F^-			

Données de spectroscopie Infra-Rouge

Spectroscopie Infra-Rouge			Spectroscopie RMN	
Liaison	Fonction	Nombre d'onde en cm^{-1}	Type de proton	Deplacement chimique en ppm
C-H	Alcane	2810 – 3000	ROH (alcool)	0,7 – 5,5
C-H	Aromatique	3030 – 3080	ArOH (phenol)	4,5 – 7,1
C-H	Alcène	3000 – 3100	CO-NH (amide)	6,0 – 8,5
O-H	Alcool	3300 – 3600	RCOOH (acide carboxylique)	10,5 – 12,5
C=O	Aldéhyde et cétone	1650 – 1730	ArH (aromatique)	6,5 – 8,2
C=O	Ester	1700 – 1790	RCH=O (aldéhyde)	9,5 – 10,0
C=O	Amides	1650 – 1700	$R\text{-}CH_2\text{-}$	1,10 – 1,25
C=C	Aromatique	1450 – 1600	$R\text{-}CH_3$	0,80 – 0,90
C=C	Alcène	1625 – 1680		