

Les calculatrices sont interdites.

L'usage de tout ouvrage de référence et de tout document est strictement interdit.

Si, au cours de l'épreuve, un candidat repère ce qui lui semble être une erreur d'énoncé, il en fait mention dans sa copie et poursuit sa composition. Dans ce cas, il indique clairement la raison des initiatives qu'il est amené à prendre.

Les candidats doivent respecter les notations de l'énoncé et préciser, dans chaque cas, la numérotation de la question posée.

Une grande attention sera apportée à la clarté de la rédaction et à la présentation des différents schémas.

On admettra que toutes les solutions aqueuses utilisées sont idéales.

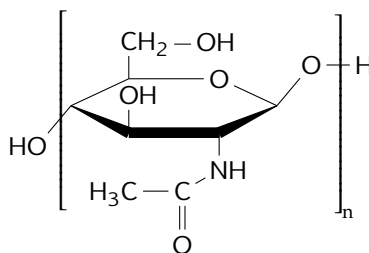
MICRO-CAPSULES, CHÉLATES ET AUTRES PIÈGES

Aussi bien pour le fonctionnement des organismes vivants que pour la réalisation de synthèses ou de dosages, la chimie met en place des systèmes permettant de piéger les molécules et les ions. La première partie s'intéresse à l'utilisation des polysaccharides pour l'obtention de micro-capsules utiles au transport de composés actifs. La deuxième partie présente une étude de la modification de phytostérols jouant un rôle dans l'inhibition du processus de transport des ions calcium depuis le réticulum sarcoplasmique. Enfin, un dosage des ions aluminium par formation d'un chélate avec l'EDTA est étudié.

1. POLYSACCHARIDES

Un article récent intitulé « Les polysaccharides amphiphiles auto-associatifs - De la chimie à l'encapsulation de principes actifs » (Leila N. Hassani, Frédéric Hendra et Kawthar Bouchemal, L'actualité chimique, octobre-novembre 2012, n° 367-368) présente l'utilisation des polysaccharides pour l'encapsulation. Nous en extrayons les paragraphes et tableaux donnés à l'annexe pages 6 à 8. Ces extraits donnent des informations utiles voire fondamentales pour les questions qui suivent.

1.1. La chitine a pour formule



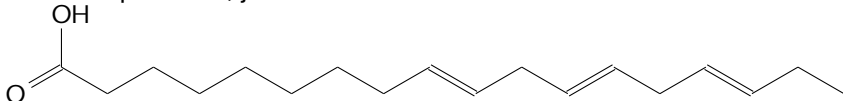
On étudie sa transformation en chitosane.

- 1.1.1. En écrivant la chitine sous la forme $\text{CH}_3\text{-CO-NH-R}$, écrire le mécanisme réactionnel de son hydrolyse en milieu acide.
- 1.1.2. En milieu acide, la fonction amide n'est pas la seule à être hydrolysée, écrire la formule, respectant la stéréochimie, de la molécule monocyclique obtenue par hydrolyse acide de la chitine.
- 1.1.3. En procédant à une hydrolyse en milieu basique, seule la fonction amide est hydrolysée, on obtient alors le chitosane dont le degré d'acétylation varie en fonction des conditions de l'hydrolyse. On peut déterminer le degré d'acétylation grâce au spectre de RMN du ^1H du chitosane. Pour cela, on attaque un échantillon de chitosane avec une solution diluée de DCl dans D_2O . D représente l'atome

de deutérium. Dans ces conditions, les fonctions amide non hydrolysées ne sont pas perturbées. On réalise un spectre de RMN du ^1H de l'échantillon.

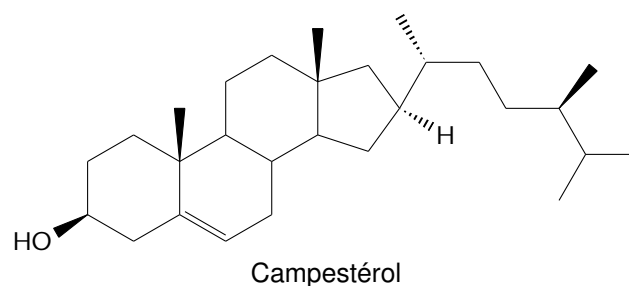
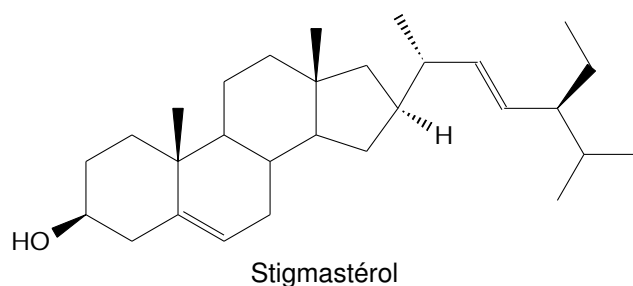
Les signaux observés sur le spectre sont, **entre autres**, les suivants :

Déplacement (ppm)	Multiplicité	Hauteur de la courbe d'intégration (unité arbitraire)
2,10	singulet	0,5
3,25	triplet	1,7
3,80	multiplet	4,0
3,95	multiplet	4,0

- 1.1.3.1. Expliquer pourquoi, les noyaux des atomes d'hydrogène portés par les atomes d'oxygène tout comme ceux du groupe $-\text{NH}_2$ ne sont pas visibles sur le spectre de RMN du ^1H du constituant en solution dans D_2O .
 - 1.1.3.2. Attribuer les signaux observés à 2,10 ppm et à 3,25 ppm et justifier leur multiplicité (des données spectrales sont fournies page 5).
 - 1.1.3.3. Déterminer le degré d'acétylation, correspondant au pourcentage de cycles pour lesquels la fonction amide n'est pas hydrolysée.
 - 1.1.3.4. Préciser à quels noyaux d'hydrogène on peut attribuer les signaux observés entre 3,8 et 4,1 ppm.
 - 1.2. Le chitosane peut être fonctionnalisé par réaction avec divers acides carboxyliques et dérivés pour donner des molécules pouvant s'associer pour former des édifices susceptibles d'encapsuler des molécules organiques.
 - 1.2.1. En s'appuyant sur la lecture des extraits de l'article donnés en annexe, donner les différentes fonctions organiques susceptibles de réagir avec le chitosane. Pour chaque fonction, donner la nature de la fonction chimique formée.
 - 1.2.2. Expliquer brièvement le principe du couplage entre une fonction amine et une fonction acide carboxylique par le 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDC). *Aucun mécanisme réactionnel n'est attendu !*
 - 1.2.3. Parmi les acides carboxyliques suivants : acide éthanoïque, acide hexanoïque, acide linoléique, choisir celui qui semble le plus adapté pour l'obtention de molécules amphiphiles susceptibles de s'auto-associer en micelles aptes à l'encapsulation, justifier brièvement.
- acide linoléique :
- 
- 1.2.4. Faire un schéma présentant l'encapsulation d'une molécule organique peu polaire.
 - 1.2.5. Expliquer pourquoi une réticulation des molécules constituant les micelles peut être intéressante pour améliorer l'encapsulation des principes actifs.
 - 1.3. Toujours en s'appuyant sur les extraits présentés à l'annexe et en particulier sur le tableau I, présenter de façon simple les possibilités de fonctionnalisation de l'acide hyaluronique et du dextrane pour l'obtention de molécules pouvant s'auto-associer pour *in fine* encapsuler des principes actifs.

2. STÉROLS

Le réticulum sarcoplasmique des cellules musculaires, squelettiques et cardiaques constitue une réserve d'ions calcium qui se déversent dans les cellules en réponse à la fixation de l'acétylcholine, un neurotransmetteur. Certains phytostérols semblent jouer un rôle d'inhibiteur de l'ATPase responsable du transport des ions calcium. Nous nous intéressons à l'obtention du β -sitostérol et du campestérol à partir du stigmastérol.



Les formules demandées dans les questions suivantes seront portées sur le document-réponse pages 9 et 10 à joindre à la copie sur lequel les squelettes sont déjà partiellement reproduits.

Les équations de réaction et les mécanismes demandés seront toujours donnés en utilisant des formules simplifiées (par exemple $R-OH$ pour un alcool).

2.1. Dans la première étape de la synthèse, on fait réagir l'anhydride éthanoïque et le stigmasterol pour obtenir **[A]**. Écrire la formule de **[A]** ainsi que l'équation de la réaction en jeu.

2.2. Lors de la deuxième étape, on fait réagir une masse de 0,308 g (0,66 mmol) de **[A]** avec une masse de 0,170 g (0,76 mmol) d'acide métachloroperoxybenzoïque ($C_6H_4Cl-CO_3H$) en solution dans 20 mL de dichlorométhane, pendant 4 heures, à 0°C. On ajoute alors au milieu réactionnel une solution saturée de carbonate de potassium.

On réalise une extraction avec 3 fois 50 mL de dichlorométhane. Les phases organiques réunies sont traitées par du sulfate de sodium anhydre, puis le solvant est éliminé sous pression réduite. Après purification par chromatographie sur colonne, on obtient un solide constitué de 2 stéréo-isomères d'un produit **[B]** de formule $C_{31}H_{50}O_3$. La masse obtenue est de 0,257 g, c'est-à-dire 0,55 mmol. Les analyses spectroscopiques effectuées montrent que la double liaison carbone-carbone extracyclique n'a pas été touchée lors de la réaction.

Données :
 • L'ion carbonate CO_3^{2-} est une dibase, les pK_A des couples sont 6,1 et 10,3.
 • Densité du dichlorométhane : $d = 1,33$

2.2.1. Représenter les deux stéréoisomères obtenus de **[B]** et donner la formule du sous-produit organique obtenu lors de la réaction.

2.2.2. Justifier le rôle de l'addition de la solution de carbonate de potassium et expliquer le dégagement gazeux observé lors de cette addition. Écrire l'équation de la réaction en jeu.

2.2.3. Indiquer la verrerie utilisée pour l'extraction avec 3 fois 50 mL de dichlorométhane et décrire brièvement les opérations à réaliser.

2.2.4. Préalablement à la purification par chromatographie sur colonne, on réalise une chromatographie sur couche mince.

Préciser sur quel principe repose la chromatographie sur couche mince. En décrire sa mise œuvre en s'appuyant sur un schéma explicite.

2.2.5. Calculer le rendement de cette synthèse.

2.3. **[B]** est ensuite dissous dans de l'éthanoate d'éthyle, on ajoute alors une suspension de palladium et de carbone. Le mélange est placé sous atmosphère de dihydrogène pendant 12 h. Après extraction, on recueille un solide **[C]**.

2.3.1. Écrire la formule de **[C]** (sans tenir compte de la stéréochimie).

2.3.2. Préciser le rôle du palladium dans cette synthèse. Proposer un autre constituant qui pourrait aussi être utilisé.

2.4. Lors de l'étape suivante, la double liaison carbone-carbone intracyclique initialement présente dans le stigmasterol est régénérée par une réaction non décrite ici pour donner **[D]**.

2.4.1. Donner la formule de **[D]** tenant compte de la stéréochimie.

2.4.2. Justifier la nécessité de la deuxième étape de la synthèse.

2.5. Le β -sitostérol est finalement obtenu en traitant **[D]** par une solution de carbonate de potassium (on aurait aussi pu faire agir de l'hydroxyde de sodium). Le produit purifié présente une température de fusion $T_{fus} = 134^\circ C$ et un pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]_D = -37,0 \text{ deg} \cdot \text{cm}^3 \cdot \text{dm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ lorsqu'il est en solution dans du chloroforme.

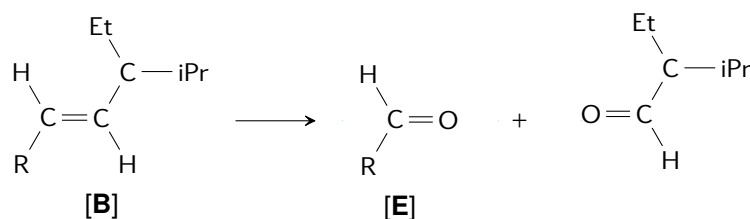
2.5.1. Donner la formule du β -sitostérol et la nature de la réaction réalisée.

2.5.2. Donner le mécanisme de la réaction entre un ester et une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium.

2.5.3. Nommer l'appareil utilisé pour la mesure de la température de fusion.

2.5.4. Indiquer ce que représente un pouvoir rotatoire, donner la loi dans laquelle il intervient. Préciser la nature lévogyre ou dextrogyre du β -sitostérol.

2.6. Pour obtenir le campestérol, on part de **[B]** et on coupe la double liaison carbone-carbone pour obtenir deux aldéhydes :

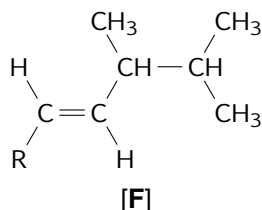


Et et iPr représentent les groupes éthyle et isopropyle.

Proposer une méthode permettant de réaliser en quelques étapes cette transformation si on considère R comme un groupe méthyle.

Comme R n'est pas un groupe méthyle, indiquer le problème qui se pose alors. *Une méthode non présentée ici est en fait mise en œuvre.*

- 2.7. Expliquer comment transformer [E] en [F] représenté ci-dessous en utilisant le 1-chloro-2,3-diméthylbutane et un composé phosphoré. Nommer la réaction en jeu ainsi que la famille de composés à laquelle appartient le réactif réagissant avec [E].

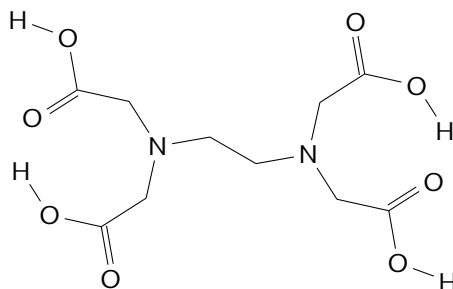


En fait pour des raisons stéréochimiques, on utilise un intermédiaire de synthèse soufré et non phosphoré.

Une hydrogénation, une régénération de la double liaison intracyclique puis une saponification de [F] permettent d'obtenir le campestérol.

3. DOSAGE COMPLEXOMÉTRIQUE D'UNE SOLUTION D'IONS ALUMINIUM

De nombreux cations forment des complexes avec la tétrabase (notée Y^{4-}) de l'acide éthylènediamine tétraacétique (H_4Y) représenté ci-dessous.



La complexation est facilitée par un effet chélate du ligand. On peut ainsi doser de nombreux cations, dès lors qu'on dispose d'un moyen de repérage de l'équivalence. Très souvent, on utilise un indicateur coloré qui donne lui aussi des complexes colorés moins stables avec le cation.

On propose ici un dosage des ions aluminium Al^{3+} par l'EDTA. EDTA désigne, dans ce qui suit, une des formes suivantes : H_4Y , H_3Y^- , H_2Y^{2-} , HY^{3-} ou Y^{4-} .

Comme la réaction de formation du complexe $[AlY]^-$ est lente, on réalise un dosage indirect utilisant les ions zinc.

Données :

- Constantes d'acidité de H_4Y : $K_{A1} = 10^{-2,0}$; $K_{A2} = 10^{-2,7}$; $K_{A3} = 10^{-6,2}$; $K_{A4} = 10^{-10,3}$
- Constantes de formation des complexes $[AlY]^-$: $\beta_{AlY} = 10^{16,1}$; $[ZnY]^{2-}$: $\beta_{ZnY} = 10^{15,9}$
- Al^{3+} , Zn^{2+} , $[AlY]^-$ et $[ZnY]^{2-}$ sont incolores en solution aqueuse.

3.1. Dosage de la solution d'EDTA par une solution titrée d'ions Zn^{2+}

- 3.1.1. Représenter le diagramme de prédominance des espèces de l'EDTA en fonction du pH.
- 3.1.2. L'indicateur coloré utilisé pour le repérage de l'équivalence est l'orangé de xylénol qui forme un complexe violet avec les ions Zn^{2+} .
- 3.1.2.1. L'orangé de xylénol est un polyacide. Dans le domaine de pH dans lequel les réactions se déroulent, seules 3 espèces peuvent intervenir : In^{4-} de couleur rouge, HIn^{3-} jaune et H_2In^{2-} jaune. Le complexe formé avec Zn^{2+} a pour formule $[ZnIn]^{2-}$, il est violet. On donne, figure 3 page 10 (à rendre

avec la copie), le diagramme de prédominance des espèces In^{4-} , HIn^{3-} , H_2In^{2-} et $[\text{ZnIn}]^{2-}$ en fonction du pH et de $\text{pZn} = -\log[\text{Zn}^{2+}]$. On considère qu'une espèce est prédominante dès lors que sa concentration est supérieure à celles des autres.

Terminer le diagramme en plaçant les frontières verticales manquantes et attribuer les 4 domaines aux différentes espèces, justifier brièvement.

3.1.2.2. Dédurre du diagramme la valeur de la constante d'acidité du couple $\text{HIn}^{3-} / \text{In}^{4-}$.

3.1.2.3. À l'aide du diagramme, retrouver la valeur de la constante de formation β_{ZnIn} du complexe $[\text{ZnIn}]^{2-}$.

3.1.2.4. Retrouver, par le calcul, la pente du segment compris entre $\text{pH} = 3,2$ et $\text{pH} = 6,4$.

3.1.3. Le protocole du dosage de la solution d'ions H_2Y^{2-} par une solution d'ion Zn^{2+} est le suivant.

- Introduire un volume $V_0 = 20,0 \text{ mL}$ de solution d'ions H_2Y^{2-} puis un volume d'eau distillée d'environ 110 mL et trois spatulées d'hexaméthylènetétramine (base notée B, le couple BH^+ / B a une constante d'acidité K_A telle que $\text{p}K_A = 5,1$).
- Ajuster le pH à une valeur comprise entre 5 et 6 à l'aide d'acide chlorhydrique ou d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium.
- Ajouter 5 gouttes de solution d'orangé de xylénol.
- Titrer par la solution d'ions Zn^{2+} de concentration $C_{\text{Zn}} = 1,00 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

Deux dosages ont conduit au relevé des volumes équivalents suivants : 20,1 mL et 20,0 mL.

3.1.3.1. Donner le matériel utilisé pour les divers prélèvements et ajouts de solutions.

3.1.3.2. Écrire l'équation de la réaction de dosage, en tenant compte du pH pour le choix des espèces. Calculer sa constante de réaction.

3.1.3.3. Avant l'équivalence, indiquer la couleur de la solution.

3.1.3.4. Écrire l'équation de la réaction induisant un changement de couleur de la solution à l'équivalence. Préciser la couleur de la solution après l'équivalence. Justifier pourquoi le pH est maintenu à la valeur de 5 lors du dosage. Indiquer s'il convient de relever le volume équivalent au début ou à la fin du virage.

3.1.3.5. Calculer la concentration de la solution d'EDTA, C_{EDTA} .

3.2. Dosage de la solution d'ions aluminium

Le protocole du dosage de la solution d'ions Al^{3+} notée **S**, de concentration C_{Al} , est le suivant.

- Dans un erlenmeyer, introduire successivement une prise d'essai de volume $V_S = 10,0 \text{ mL}$ de la solution **S**, un volume $V_0 = 20,0 \text{ mL}$ de solution d'ions H_2Y^{2-} de concentration C_{EDTA} déterminée précédemment, puis un volume d'eau distillée d'environ 100 mL et trois spatulées d'hexaméthylènetétramine.
- Ajuster le pH à une valeur comprise entre 5 et 6.
- Ajouter 5 gouttes de solution d'orangé de xylénol.
- Titrer par la solution d'ions Zn^{2+} de concentration $C_{\text{Zn}} = 1,00 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

On précise que l'orangé de xylénol ne forme pas de complexe avec les ions Al^{3+} .

Deux dosages ont conduit au relevé des volumes équivalents suivants : 13,4 mL et 13,6 mL.

3.2.1. Écrire l'équation de la réaction qui se produit avant le dosage, en tenant compte du pH pour le choix des espèces.

3.2.2. Écrire l'équation de la réaction de dosage. Dresser la liste des espèces présentes dans l'erlenmeyer avant puis après le virage de la solution.

3.2.3. Calculer la concentration C_{Al} de la solution **S**.

Déplacements chimiques en RMN du ^1H

	$\text{CH}_3\text{-C}$	$\text{CH}_3\text{-CO-N}$	$\text{-CH}_2\text{-C}$	$\text{-CH}_2\text{-O}$
δ / ppm	0,9	2,0 - 2,1	1,3	3,6
	-CH-C	-CH-C-O	-CH-O	-CH-N
δ / ppm	1,5	1,6 - 2,0	3,7 - 3,9	3,8 - 2,8

Annexe

Les extraits et tableaux suivants sont tirés de l'article « Les polysaccharides amphiphiles auto-associatifs - De la chimie à l'encapsulation de principes actifs » (Leila N. Hassani, Frédéric Hendra et Kawthar Bouchemal, L'actualité chimique, octobre-novembre 2012, n° 367-368)

Les polysaccharides amphiphiles auto-associatifs

Les polysaccharides sont des macromolécules glucidiques formées par l'enchaînement d'un grand nombre de sucres élémentaires hydrophiles. Sur les chaînes hydrophiles des polysaccharides, il existe plusieurs groupements de différentes masses molaires et compositions chimiques. La nature de ces groupements permet de différencier les polysaccharides d'un point de vue structural et entraîne une différence au niveau de leurs propriétés physico-chimiques et biologiques. Certains polysaccharides tels que le dextrane et les cyclodextrines ont une charge neutre ; d'autres tels que le chitosane sont chargés positivement grâce à la présence des fonctions amines facilement protonables. Enfin, des polysaccharides tels que l'alginate, l'héparine, l'acide hyaluronique et la pectine sont chargés négativement (tableau I page 10).

Le chitosane amphiphile et ses dérivés

Le chitosane est un hétéropolymère linéaire de N-acétyl-D-glucosamine et de D-glucosamine liés en $\beta(1-4)$. Il est biocompatible et peut être biodégradé par des enzymes : lysozymes, certaines lipases et protéases. Ce polysaccharide est obtenu par la désacétylation d'un polysaccharide naturel, la chitine. Aujourd'hui, la chitine est le deuxième polysaccharide le plus important et le plus abondant dans le monde après la cellulose. Elle est principalement extraite de la carapace de crustacés tels que le homard ou le crabe, mais elle est aussi présente dans les champignons et chez les insectes. Le degré d'acétylation (DA) est une caractéristique essentielle de la chitine et du chitosane. Il représente la fraction d'unités N-acétyl-D-glucosamine (voir tableau I) par rapport au nombre total d'unités sucrées. Selon la valeur du degré d'acétylation du composé, on parlera soit de la chitine ($DA > 50\%$), soit du chitosane ($DA < 50\%$). La présence de groupements hydroxyles (OH) et amines (NH_2) facilement fonctionnalisables permet de modifier les propriétés de la molécule et donc son comportement en solution. En effet, contrairement à la chitine qui est insoluble en milieu aqueux et dans de nombreux solvants organiques, le chitosane est hydrophile, soluble dans les solutions acides par protonation des fonctions amines présentes sur le polymère. La solubilité du chitosane est d'autant plus élevée que son DA et sa masse molaire sont faibles.

Le chitosane peut être modifié chimiquement par le greffage de groupements hydrophobes. Grâce à la présence de groupements hydroxyle et amine, il peut être fonctionnalisé afin d'obtenir des systèmes amphiphiles (voir figure 1 page 7) de structure et architecture diverses. Cependant, sa fonction amine étant plus réactive que les deux fonctions hydroxyles, tous les travaux qui décrivent la formation du chitosane amphiphile concernent le greffage de groupements hydrophobes sur la fonction amine par des réactions de N-acylation. Tout comme les autres polysaccharides, le greffage de groupements hydrophobes sur le chitosane lui confère de nouvelles propriétés physico-chimiques, notamment sa capacité à s'auto-associer spontanément en formant des structures et des formes variées (micelles par exemple, voir figure 1 page 7).

La N-acylation du chitosane a été réalisée dans le mélange pyridine/chloroforme, en présence de chlorure d'acyle décanoïque, hexanoïque ou laurique, en faisant varier les degrés de substitution et les longueurs des chaînes carbonées. Cependant, la N-acylation du chitosane par un acide a nécessité l'utilisation d'agents de couplage tels que les dérivés du carbodiimide (voir figure 2 page 7). Ainsi, le chitosane a pu être modifié par une réaction entre ses fonctions amine et le groupement carboxylique de l'acide linoléique, en présence d'EDC comme agent de couplage. Le chitosane modifié s'auto-associe sous forme de micelles polymères, qui peuvent être réticulées* pour former des nanoparticules utilisées pour l'encapsulation de différents principes actifs.

* Réticulation : opération qui consiste à former des liaisons entre des chaînes polymères.

FIGURE 1 – Molécule amphiphile et micelle

Molécule amphiphile : molécule présentant une partie hydrophile et une partie hydrophobe qu'on peut représenter schématiquement de la façon suivante : 

Les molécules amphiphiles s'associent en micelles :

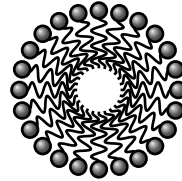


FIGURE 2 – Couplage entre un acide carboxylique et une amine en présence de 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDC)

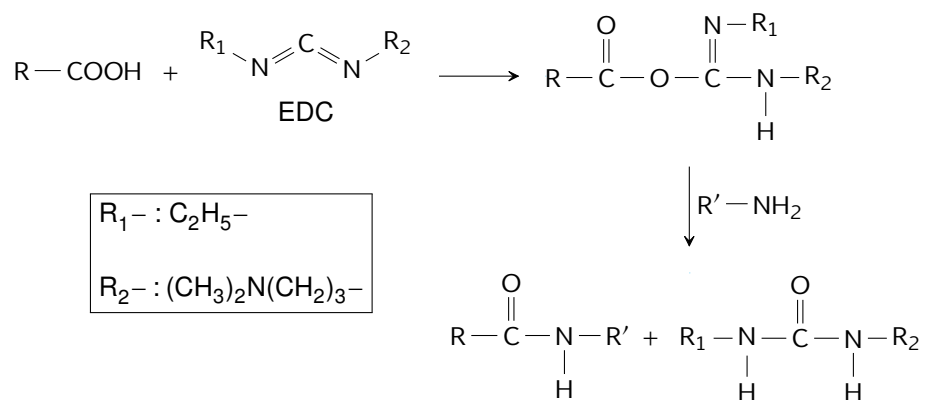
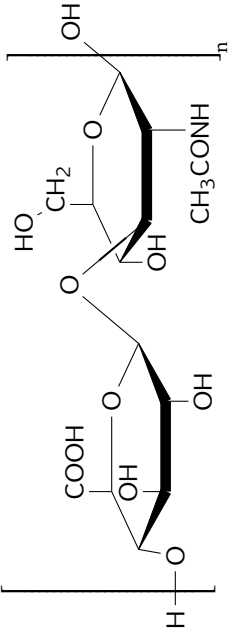
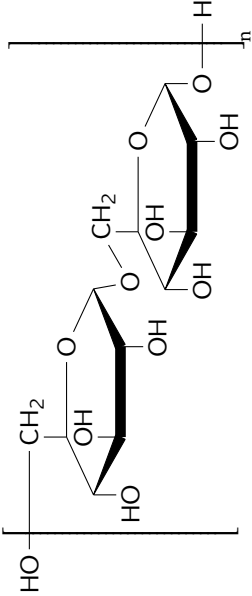
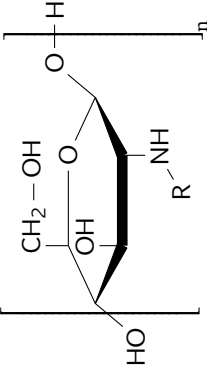
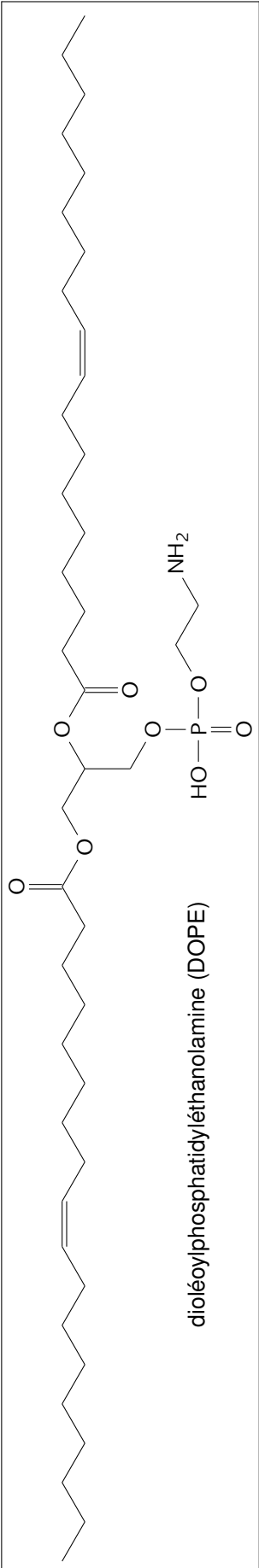


Tableau I - Structures des polysaccharides utilisés pour former des systèmes vecteurs, et molécules hydrophobes utilisées pour modifier ces polysaccharides.

Polysaccharides	Structures chimiques	Molécules hydrophobes	Particules formées
Acide hyaluronique		DOPE	Lipoplexes
Dextrane		Acide cholique Acide désoxycholique	Agrégats (130 nm)
Chitosane		Acide linoléique	Nanoparticules
R- représente CH ₃ -CO- (unité N-acétyle-D-glucosamine) ou H- (unité D-glucosamine)			

Les acides cholique, désoxycholique et linoléique sont des acides carboxyliques.



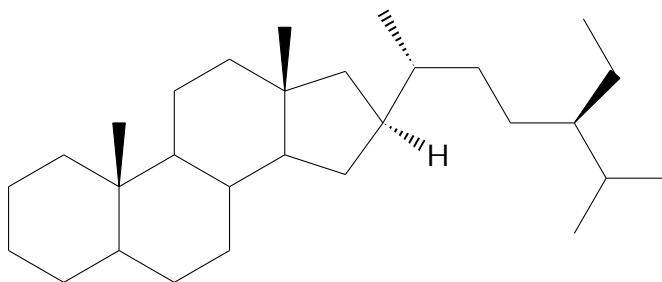
ANNEXE à rendre

Aucun nom ou numéro de candidat ne doit figurer sur la copie

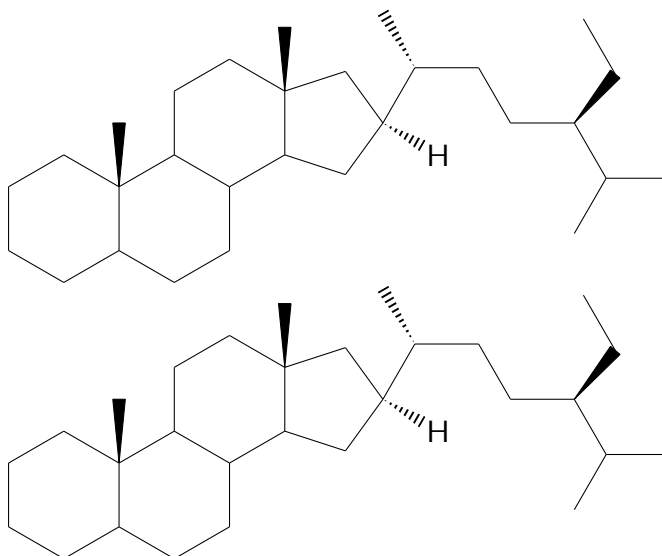
Numéro de table (lettre et chiffre uniquement) :

Squelettes des molécules demandées dans les questions 2.1 à 2.3.1

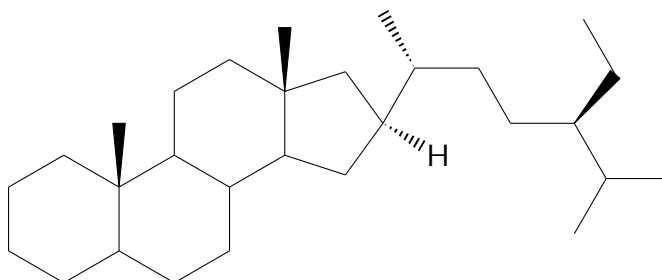
[A]



[B]

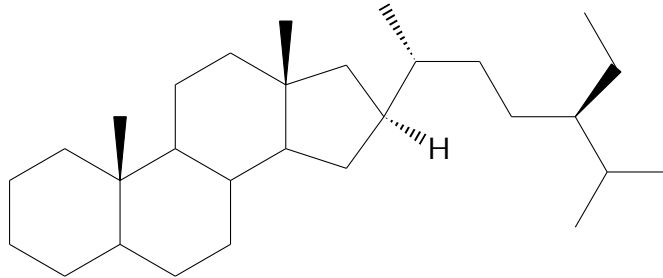


[C]



Squelettes des molécules demandées dans les questions 2.4.1 à 2.5.1

[D]



β -sitostérol

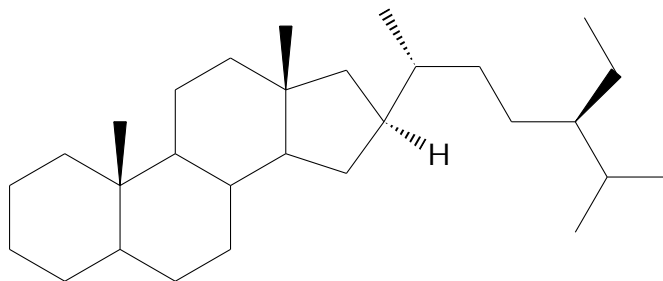


FIGURE 3 – Diagramme de prédominance pour 3 formes de l'orangé de xylénol et son complexe avec les ions Zn^{2+}

