



MINISTÈRE
DE L'ÉDUCATION
NATIONALE

EAE PHC 1

SESSION 2019

AGRÉGATION CONCOURS EXTERNE

Section : PHYSIQUE-CHIMIE
Option : CHIMIE

COMPOSITION DE CHIMIE

Durée : 5 heures

Calculatrice électronique de poche - y compris calculatrice programmable, alphanumérique ou à écran graphique – à fonctionnement autonome, non imprimante, autorisée conformément à la circulaire n° 99-186 du 16 novembre 1999.

L'usage de tout ouvrage de référence, de tout dictionnaire et de tout autre matériel électronique est rigoureusement interdit.

Si vous repérez ce qui vous semble être une erreur d'énoncé, vous devez le signaler très lisiblement sur votre copie, en proposer la correction et poursuivre l'épreuve en conséquence. De même, si cela vous conduit à formuler une ou plusieurs hypothèses, vous devez la (ou les) mentionner explicitement.

NB : Conformément au principe d'anonymat, votre copie ne doit comporter aucun signe distinctif, tel que nom, signature, origine, etc. Si le travail qui vous est demandé consiste notamment en la rédaction d'un projet ou d'une note, vous devrez impérativement vous abstenir de la signer ou de l'identifier.

Tournez la page S.V.P.

Etude chimique de quelques stratégies thérapeutiques dans le traitement des cancers

Les cancers sont des pathologies dont les principales origines sont des altérations de l'ADN, support de l'information génétique. Ces altérations sont dues à des facteurs internes (mutations, additions ou délétions au niveau de la séquence d'ADN, modifications épigénétiques) ou à des facteurs externes (virus, bactéries, agents chimiques ou radioactifs, radiations électromagnétiques). La plupart des modifications de l'ADN des cellules passent inaperçues car les systèmes de réparation de l'ADN peuvent en corriger les défauts. Mais, dans de rares cas, une mutation peut subsister et modifier l'expression de facteurs qui contrôlent la prolifération cellulaire. La chimiothérapie a pour but d'enrayer ou de ralentir l'évolution de la prolifération des cellules tumorales en agissant sur l'ADN, l'ARN, ou les protéines de ces cellules.

Le sujet porte sur l'étude de quelques stratégies thérapeutiques dans le traitement des cancers par chimiothérapie. La première partie aborde l'étude de la structure de quelques cibles biologiques présentes dans les cellules - ADN et ARN, protéines- visées par les chimiothérapies. La seconde partie étudie plus précisément la synthèse et le mode d'action de quelques molécules sur ces cibles.

Plan de l'étude

Partie I. Autour de la cellule

- A. Structure de l'ADN et de l'ARN
- B. Protéines

Partie II. Etudes de quelques cibles thérapeutiques dans la cellule

Action sur l'ADN et ou l'ARN

- A. Les agents alkylants

Action sur le fuseau mitotique de la cellule

- B. Les antimitotiques

Le candidat attachera une grande importance à la clarté, la précision et la concision des réponses qui devront toutes être justifiées avec soin. Lorsqu'il est demandé d'écrire la structure d'une espèce chimique, celle-ci devra comporter tous les substituants, sans omettre la stéréochimie lorsqu'elle est connue. L'écriture des mécanismes réactionnels sera réalisée avec la plus grande rigueur possible ; par souci de gain de temps, cette écriture pourra se faire avec des groupes génériques pour figurer les parties non réactives des espèces.

Partie I. Autour de la cellule

Au sein des cellules se trouve l'ensemble des gènes contenus dans une macromolécule en forme de double hélice, l'ADN. L'ADN contient toutes les informations permettant à un organisme de vivre et de se développer. En 1928, Phoebus Levene, puis Erwin Chargaff déterminent la structure chimique d'un brin de l'ADN avec sa composition en bases azotées puriques (adénine - A - et guanine - G) et pyrimidiques (thymine - T - et cytosine - C). L'ADN est une macromolécule constituée d'un grand nombre de nucléotides. Chaque nucléotide est composé d'un nucléoside lié à un groupe phosphate et chaque nucléoside est constitué d'un aldopentose, le D-déoxyribose, lié par son carbone anomère à l'atome d'azote (numéroté 1 et 9 sur la figure 1) d'une des quatre bases azotées. Les nucléotides sont reliés entre eux par des liaisons phosphodiester entre le groupe phosphate positionné en 5' sur l'un des nucléotides et l'hydroxyde en position 3' d'un autre nucléotide (figure 1).

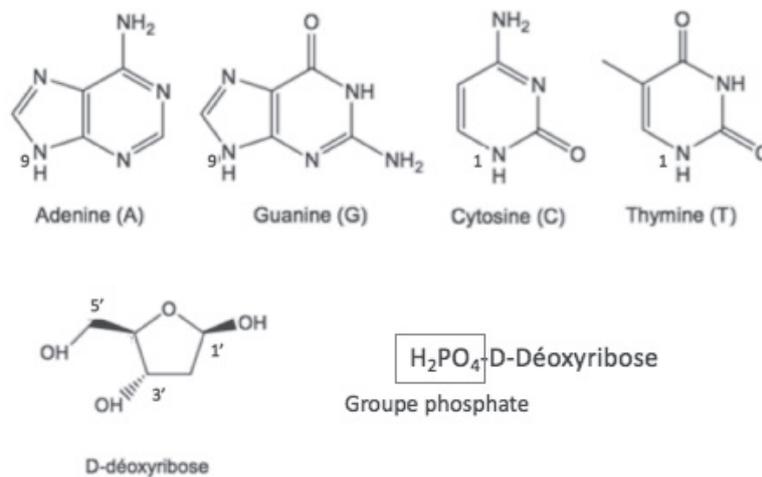


Figure 1 : composants des nucléosides et nucléotides

Dans l'ARN, la base azotée thymine est remplacée par l'uracile dont la structure est représentée sur la figure 2.

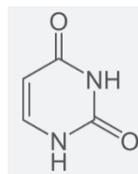


Figure 2 : formule de l'uracile

En 1952, James Watson et Francis Crick établissent la structure en double hélice de l'ADN qui leur vaut le prix Nobel de physiologie et de médecine en 1962. L'ADN est constitué de deux brins qui s'enroulent l'un autour de l'autre de manière très précise en une double hélice. Ils sont maintenus solidaires grâce à la formation de paires de bases : l'adénine se lie de manière réversible avec la thymine – et seulement avec elle – et la cytosine se lie avec la guanine – et seulement avec elle. La molécule d'ADN, à travers plusieurs étapes, conduit à la synthèse de protéines. Ces étapes sont les suivantes : une séquence d'ADN (un gène) est transcrite en un ARN messager, lequel est traduit en une protéine. Les protéines ainsi produites par l'organisme jouent des rôles physiologiques divers : rôle structural (membranes des cellules, etc.), rôle d'usine chimique (les enzymes) avec la biosynthèse de molécules indispensables à la vie (glucides, lipides, acides nucléiques), rôle de messagers (hormones), etc.

Cette partie porte sur l'étude de la structure de l'ADN puis celle des protéines.

A. Structure de l'ADN et de l'ARN

A.1. Autour des constituants de l'ADN

1. Préciser la signification des sigles ADN et ARN.

Le D-déoxyribose

2. Identifier les centres stéréogènes sur la molécule de D-déoxyribose cyclique et donner leur descripteur stéréochimique en justifiant votre démarche.
3. Représenter la forme ouverte du déoxyribose et donner son nom en nomenclature officielle sans tenir compte des descripteurs stéréochimiques.
4. Représenter la forme ouverte du D-déoxyribose en représentation de Fischer. Donner la signification de la lettre « D ». Représenter le L-déoxyribose. Indiquer la relation de stéréoisomérisie entre le L-déoxyribose et le D-déoxyribose.
5. Identifier le carbone anomère sur le D-déoxyribose et définir ce terme.
6. Expliquer, à l'aide d'un mécanisme réactionnel, comment passer de la forme ouverte du D-déoxyribose à deux formes cycliques, respectivement à cinq et six atomes, en solution aqueuse acide. Indiquer la forme la plus stable et proposer une interprétation pour rendre compte de cette stabilité.
7. Montrer que la forme cyclique à six atomes peut exister sous deux stéréoisomères au niveau du carbone anomère. Quel est le stéréoisomère majoritaire et comment expliquer sa prédominance ?

Les bases de l'ADN

8. Cytosine et thymine présentent-elles un caractère aromatique ?
9. Justifier la possibilité de réaliser des substitutions nucléophiles sur des pyrimidines. Détailler le mécanisme réactionnel associé à la réaction de la O-méthylhydroxylamine avec la cytosine. Ce type de réaction présente-t-il un intérêt au niveau de la chimie thérapeutique ?

Le groupe phosphate

10. Proposer une représentation de Lewis du groupe phosphate lié à la position 5' du D-déoxyribose et interpréter la géométrie autour de l'atome de phosphore.

A.2. L'ADN

Etude de la stabilité thermodynamique des acides nucléiques

11. Interpréter l'association réversible entre les paires de bases A/T et G/C au niveau du double brin de l'ADN. La réponse pourra s'appuyer sur des schémas. Préciser les caractéristiques de cette association et expliquer pourquoi l'adénine ne s'associe pas à la guanine.

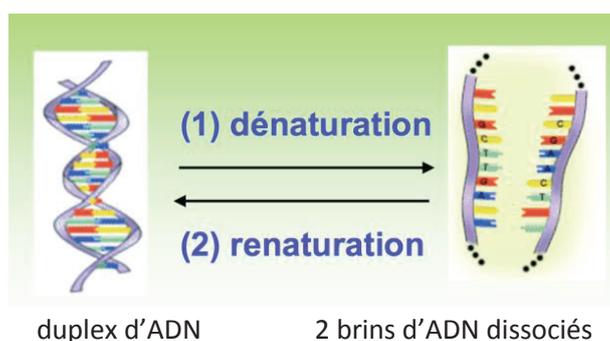


Figure 3 : schématisation de la réaction de dissociation des brins d'ADN

Dans l'ADN, les bases sont empilées (π -stacking) au sein de la double hélice, ce qui conduit à une diminution de leur absorption dans l'UV. Lorsque l'appariement des bases est rompu, par exemple lorsqu'on chauffe une solution d'ADN, les deux brins se séparent, les bases sont exposées au solvant aqueux (figure 3) et leur absorbance augmente de 20 à 40 % par rapport à l'état apparié en duplex. En suivant l'évolution de l'absorbance d'une solution d'ADN en fonction de la température, il est ainsi possible de déterminer une température de « fusion » de la double hélice notée T_m . Par définition, celle-ci correspond à la température pour laquelle la moitié de l'ADN est dénaturée.

12. Tracer qualitativement l'évolution attendue de l'absorbance dans l'UV d'un mélange de deux brins complémentaires d'un duplex d'ADN avec la température. Justifier l'allure proposée.

L'évolution observée permet en particulier de déterminer les paramètres thermodynamiques de la dissociation (dénaturation) des deux brins d'un duplex d'ADN modélisée par la réaction de la figure 3.

13. Etablir la relation entre l'absorbance d'un mélange équimolaire de deux brins complémentaires d'un duplex d'ADN et l'avancement d'une part et le degré d'avancement d'autre part de la dissociation du duplex d'ADN. On introduira la longueur du trajet optique l , les coefficients d'absorption molaire des états duplex et dissociés ϵ_{dup} et ϵ_{diss} des brins d'ADN, et la concentration totale C_{tot} en double brin d'ADN.

14. Etablir la relation donnant l'expression de la température de « fusion » T_m en fonction des enthalpie et entropie $\Delta_r H^\circ$ et $\Delta_r S^\circ$ de dissociation du duplex d'ADN et de la concentration totale C_{tot} en double brin d'ADN.

L'évolution, avec la température, du degré d'avancement de dissociation de duplex d'ADN pour des séquences variées est représentée figure 4.

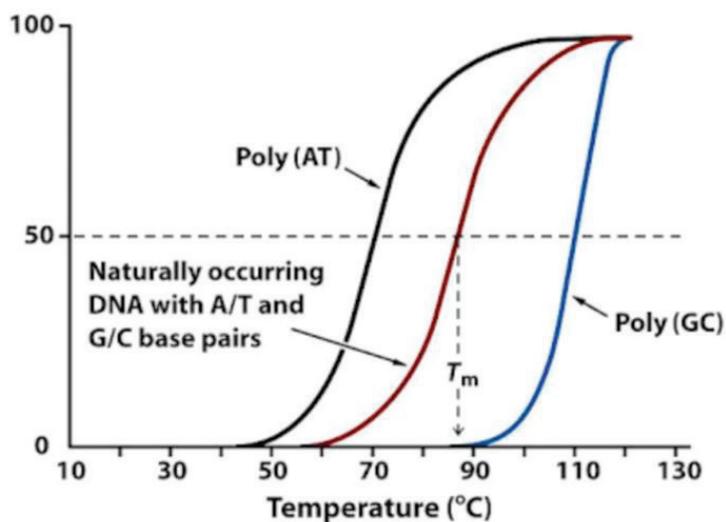


Figure 4 : Evolution du degré d'avancement de la dénaturation de doubles brins d'ADN de séquences variées avec la température

15. Analyser les évolutions du degré d'avancement.

16. Proposer une série d'expériences permettant d'extraire $\Delta_r H^\circ$ et $\Delta_r S^\circ$ à partir de la mesure de températures de fusion T_m .

B. Protéines

Les protéines sont des macromolécules constituées d'un assemblage d'acides α -aminés naturels de configuration L reliés entre eux par des liaisons peptidiques. La structure primaire d'une protéine est le fruit de la traduction de l'ARN messenger par le ribosome et correspond à l'enchaînement des acides aminés. Ces protéines présentent aussi des structures secondaires et tertiaires.

Acide α -aminé	pK_a
Glycine NH_2-CH_2-COOH	$pK_{a1} = 2,3$ $pK_{a2} = 9,6$
Lysine $NH_2-(CH_2)_4-CH(NH_2)-COOH$	$pK_{a1} = 2,2$ $pK_{a2} = 9,0$ (associé à la chaîne latérale) $pK_{a3} = 10,5$
Acide aspartique $HOOC-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	$pK_{a1} = 2,2$ $pK_{a2} = 3,9$ (chaîne latérale) $pK_{a3} = 9,8$
Acide glutamique $HOOC-(CH_2)_2-CH(NH_2)-COOH$	$pK_{a1} = 2,2$ $pK_{a2} = 4,3$ (chaîne latérale) $pK_{a3} = 10,5$

Figure 5 : Structure et pK_{ai} de quelques acides α -aminés constituant les protéines

- Combien d'acides α -aminés naturels différents trouve-t-on dans les protéines humaines ? Qu'est-ce qu'un acide α -aminé essentiel ?
- Définir le point (ou pH) isoélectrique d'un acide α -aminé. Illustrer le à partir de la glycine.
- Représenter un dipeptide Gly-Lys constitué d'un assemblage de glycine et de lysine (par convention le groupement amino est à gauche dans Gly-Lys) et justifier la planéité de la liaison peptidique.
- A quoi correspondent les structures secondaire et tertiaire d'une protéine ? Décrire ce qui gouverne la formation de ces structures.

Il existe de nombreuses techniques de séparation et d'identification des acides α -aminés constituant les protéines ; une méthode très utilisée est l'électrophorèse. Par hydrolyse acide d'un peptide, on obtient une solution aqueuse comportant un mélange de quatre acides α -aminés : la lysine, la glycine, l'acide aspartique et l'acide glutamique et on propose de rechercher les conditions expérimentales pour les séparer par électrophorèse.

- Expliquer, en vous appuyant sur un schéma, le principe de l'électrophorèse.
- Interpréter l'évolution des pK_a des groupes caractéristiques de la glycine vis-à-vis de ceux de l'acide propanoïque (pK_a 4,9) et de l'éthylamine (pK_a 10,7).
- Proposer un protocole et des conditions expérimentales pour réaliser la séparation par électrophorèse et l'identification des quatre acides α -aminés de la solution aqueuse.

Partie II. Etudes de quelques cibles thérapeutiques dans la cellule

Par définition, le cycle cellulaire est l'ensemble des étapes qui constituent et délimitent la vie d'une cellule eucaryote, depuis sa formation jusqu'à sa division en deux cellules filles. Les espèces chimiques utilisées en chimiothérapie dépendent de la cible thérapeutique visée et de la phase du cycle cellulaire ciblée.

Dans cette partie, nous étudierons deux types de molécules utilisées en chimiothérapie, les agents alkylants et les poisons du fuseau mitotique.

A. Les agents alkylants

Les agents alkylants forment des liaisons covalentes avec les bases de l'ADN, principalement au niveau des atomes d'azote des bases puriques et plus particulièrement au niveau des guanines et adénines de l'ADN. Ces liaisons empêchent la réplication cellulaire en induisant des défauts dans la structure de la double hélice. Si la cellule ne dispose pas de mécanismes de réparation de l'ADN, ces altérations entraînent la mort de la cellule. On qualifie l'ensemble de ces médicaments du terme générique « moutarde à l'azote ». La figure 6 présente quelques exemples d'agents alkylants.

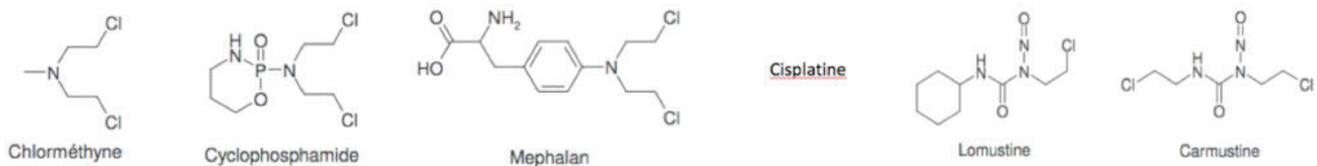


Figure 6 : quelques exemples d'agents alkylants

24. Quelle est la réactivité associée aux agents alkylants ?

En 1981, Pullman *et al.* ont établi une carte de potentiel électrostatique pour la guanine et l'adénine (figure 7) pour en analyser la réactivité vis à vis des agents alkylants.

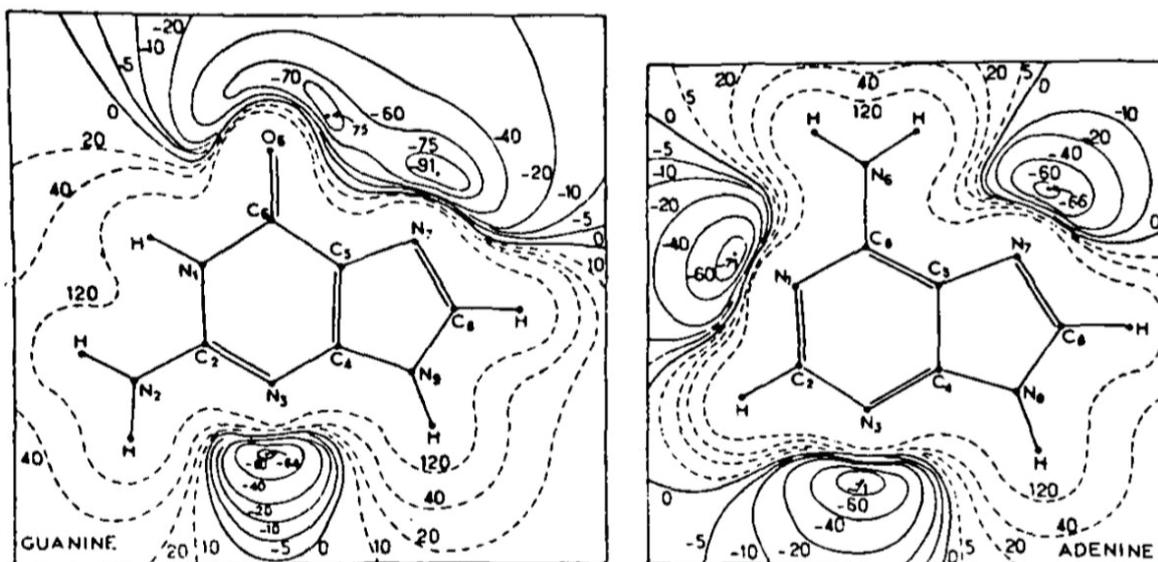


Figure 7: Electrostatic potential maps of the fundamental purine and pyrimidine bases of the nucleic acids in the plane of the bases. Isopotential curves in kcal/mol. Full lines, negative potentials ; dotted lines, positive potentials¹.

¹ D'après Pullman, A. and B. Pullman, *Molecular electrostatic potential of the nucleic acids*. *Q Rev Biophys*, 1981.14(3): p. 289-380.

25. Quels sont, dans cette modélisation moléculaire, les sites réactifs de ces deux bases puriques vis-à-vis des agents alkylants ?
26. Les résultats obtenus à la question 25 étaient-ils prévisibles en utilisant le cadre théorique de la mésomérie ?
27. Réaliser la même analyse en utilisant le modèle des orbitales frontalières (figure 8). Les deux modèles fournissent-ils des résultats concordants ?

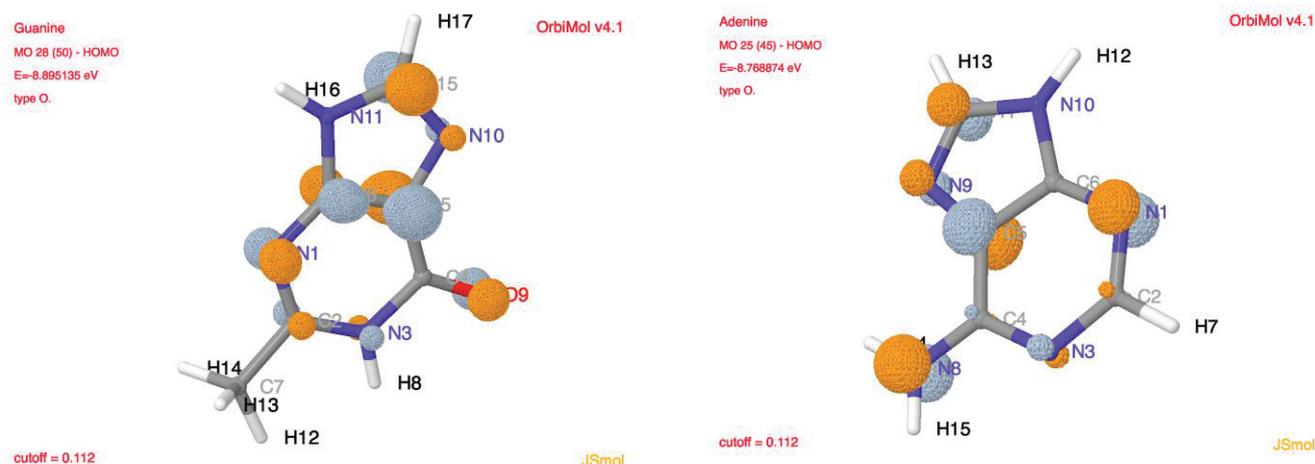


Figure 8 : HOMO de la guanine et de l'adénine, d'après OrbiMol v4.1

28. On observe une perte de réactivité des molécules de chlorméthyne, cyclophosphamide et de mephalan en remplaçant l'atome d'azote trisubstitué par un atome de carbone. Proposer une interprétation.
29. Proposer une analyse comparative de la réactivité du chlorméthyne, du cyclophosphamide et du mephalan.
30. Pourquoi utiliser des agents alkylants dihalogénés plutôt que monohalogénés ?
31. En prenant l'exemple de la chlorméthyne, formuler une hypothèse sur le mode d'action de cette molécule au niveau de l'ADN (on prendra comme base la guanine).
32. Quel intérêt voyez-vous à l'utilisation du mephalan à la place du chlorméthyne ?

Un autre exemple d'agent alkylant est le cisplatine. Un extrait d'article provenant du Journal of Chemical Education sur la synthèse et l'étude de ce complexe est fourni ci-dessous :

<p>Cisplatin is a molecule with an interesting history. It was first synthesized by Michel Peyrone in 1845 (15) and subsequently became the subject of fervent debate over its structure (16). Some 50 years later it played a vital role in the establishment of Alfred Werner's theory of coordination chemistry when he correctly proposed its square planar configuration and distinguished between the cis and trans isomers: cisplatin and transplatin {<i>trans</i>-[PtCl₂(NH₃)₂]} (16–18). Werner won the Nobel Prize for Chemistry for this work in 1913 (see http://www.nobel.se, accessed Jan 2006) (17).</p>	<p>of a saturated solution of KI. To this is added NH₃, forming the yellow compound, <i>cis</i>-[PtI₂(NH₃)₂], which is then collected and dried. Addition of an aqueous solution of AgNO₃ to <i>cis</i>-[PtI₂(NH₃)₂] causes the precipitation of insoluble AgI that is filtered off and discarded. The filtrate containing <i>cis</i>-[Pt(OH)₂(NH₃)₂]²⁺ is treated with KCl, resulting in the precipitation of the final product, <i>cis</i>-[PtCl₂(NH₃)₂], as a yellow powder (19).</p>
<p>The procedure for the synthesis of cisplatin has undergone several improvements. Early methods tended to be unreliable, often producing impure products, thus subsequent alterations aimed to improve upon the purity of the product, the overall yield of the reactions, and the reaction time. In 1970 Dhara reported on "A rapid method for the synthesis of <i>cis</i>-[PtCl₂(NH₃)₂]" (19). The majority of subsequent cisplatin syntheses are based upon this method. In this procedure (Scheme I) the starting material, K₂[PtCl₄], is converted to the tetraiodo analogue, K₂[PtI₄], by the addition</p>	<p>The success of this procedure is dependent upon the trans effect. The concept of the trans effect was introduced by Chernyaev in 1926 (20, 21) to explain the empirical observation that the rate of substitution of a ligand in a square planar or octahedral metal complex is dependent on the group opposite (or trans) to it (much more so than groups in cis positions). Studies have shown that the order of decreasing trans effect of ligands is approximately (22):</p> <p>CO, CN⁻, C₂H₄ > PR₃, H⁻ > CH₃⁻, SC(NH₂)₂ > C₆H₅⁻, NO₂⁻, I⁻, SCN⁻ > Br⁻, Cl⁻ > py, NH₃, OH⁻, H₂O</p>

Figure 9 : The discovery and development of Cisplatin²

² Journal of Chemical Education, vol 83, n°5, may 2006, pp. 728-734

De nombreuses études ont porté sur le mécanisme d'action du cisplatine comme agent alkylant. Il a tout d'abord été montré que le complexe reste dans son état neutre tant qu'il circule dans les voies sanguines ; la concentration en ions chlorure y étant relativement élevée (100 mmol.L^{-1}), elle empêche l'hydrolyse du complexe. Le cisplatine pénètre ensuite dans la cellule par diffusion passive à travers la membrane. La diminution de la concentration en ions chlorure (dans la cellule elle est de l'ordre de 1 mmol.L^{-1}) favorise alors l'hydrolyse du cisplatine pour former des complexes électrophiles très réactifs qui peuvent réagir avec divers nucléophiles cellulaires, comme l'ADN. L'établissement de ces liaisons avec l'ADN double brin donne lieu à différents adduits.

33. Donner une représentation schématique d'une membrane cellulaire. Quel en est le constituant principal ? Décrire succinctement sa structure.

On donne l'ordre de grandeur des constantes thermodynamiques d'équilibre à 37°C associées aux deux réactions d'hydrolyse du cisplatine : $K^\circ_1 = 10^{-3}$ et $K^\circ_2 = 10^{-5}$.

34. Ecrire les deux équations de réaction des étapes d'hydrolyse du cisplatine. Proposer une explication relative à sa diffusion passive à travers la membrane cellulaire, ainsi que sa rétention et son activation à l'intérieur des cellules.

35. Ecrire la suite de réactions décrites dans l'extrait de l'article pour synthétiser le complexe de cisplatine.

36. Proposer une interprétation de « l'effet trans » évoqué dans le texte.

37. La synthèse du cisplatine est stéréosélective. Définir ce terme et donner un autre exemple de réaction stéréosélective. Justifier la stéréosélectivité de la synthèse du cisplatine.

38. Proposer une stratégie de synthèse pour obtenir le transplatine à partir du même complexe de départ.

39. Kurnakow, en 1984, propose un test pour distinguer les deux complexes cis et trans du platine. La figure 10 résume la démarche. Proposer une explication rendant compte de l'obtention de deux complexes de compositions différentes à l'issue du test.

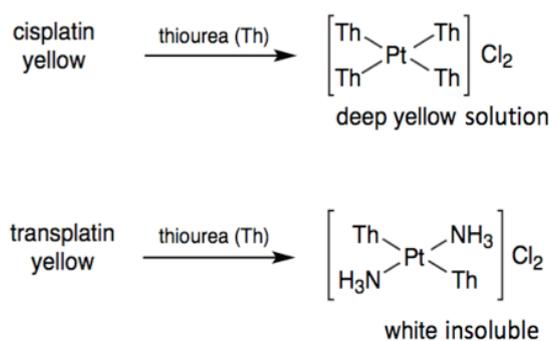


Figure 10 : test de Kurnakow

B. Les antimétopiques

Les antimétopiques sont des poisons du fuseau mitotique qui agissent pendant la mitose. Au cours de cette phase, un fuseau formé par des microtubules est constitué. Les chromosomes dédoublés migrent le long de ce fuseau vers chaque extrémité des microtubules. Les antimétopiques altèrent ces microtubules, forme polymérisée de la tubuline, ce qui bloque la prolifération cellulaire. Ils sont classés en deux catégories distinctes : les antipolymérisants qui empêchent la polymérisation de la tubuline en microtubules et les stabilisants qui inhibent la dépolymérisation de ces microtubules. Le pélorsuide, comme le Taxol® et la laulimalide, (figure 11) sont des molécules qui stabilisent le fuseau mitotique en interférant sur la dépolymérisation des microtubules à l'échelle du nanomolaire.



Figure 11 : exemples de molécules antimitotiques

L'écosystème des océans représente une source importante de molécules à fort intérêt biologique. En 2000, un spécimen d'éponges Mycales a fait l'objet d'une étude par *Northcote*. Un échantillon congelé (170 g) de cette éponge a permis l'extraction de trois composés aux caractéristiques structurales et aux propriétés biologiques très différentes : 11,7 mg de pateamine, 10,6 mg de mycalamide A (figure 12) et 3 mg de péloruside A.

Northcote porte son attention sur le péloruside A dont des tests ont révélé une activité cytotoxique puissante, sans pour autant établir son mécanisme d'action. Il s'est particulièrement intéressé à l'élucidation de sa structure.

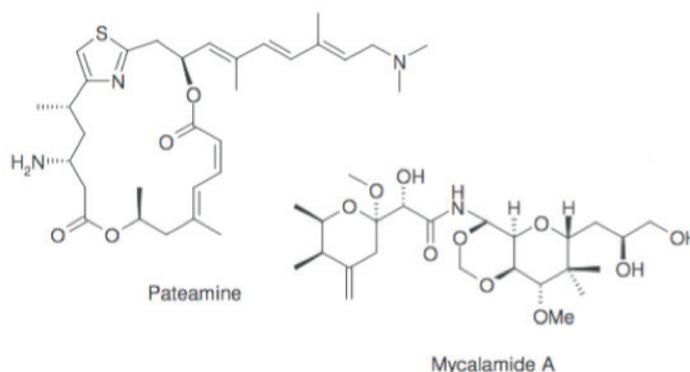


Figure 12 : quelques molécules isolées des éponges Mycales présentant un intérêt thérapeutique

Dans cette partie on se propose d'étudier tout d'abord la structure du péloruside A, puis dans un second temps, la stratégie de synthèse d'un analogue de cette molécule. Cette partie s'achève sur la synthèse historique du péloruside A proposée par *De Brabander*.

B.1. Etude de la structure du péloruside A

40. Le péloruside A a pour formule brute $C_{27}H_{48}O_{11}$. Proposer une technique expérimentale pour déterminer cette formule brute. Quelle(s) information(s) peut-on recueillir à partir de la formule brute de cette molécule ?

En 2003, *De Brabander* a décrit la première synthèse totale du péloruside A sur la base de la structure proposée par *Northcote* en 2000 et déterminé de façon non ambiguë les descripteurs stéréochimiques des centres stéréogènes du produit naturel (figure 13) ; les données spectroscopiques du composé synthétisé sont parfaitement identiques à celle de la molécule extraite de l'éponge, par contre leurs pouvoirs rotatoires sont inversés.

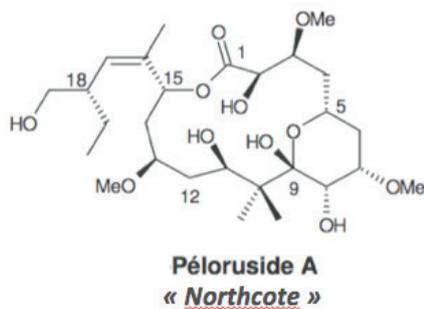


Figure 13 : structure du péloruside A proposée par Northcote

41. Décrire une méthode expérimentale permettant de déterminer un pouvoir rotatoire.
 42. Représenter la structure du péloruside A confirmée par les travaux de De Brabander.

Une étude RMN-modélisation a été décrite par Barbero en 2006. En solution aqueuse, le macrocycle du péloruside A existe sous la forme de deux conformères A et B, en équilibre en faveur du conformère B (figure 14). La situation inverse est observée dans le chloroforme avec la seule présence du conformère A.

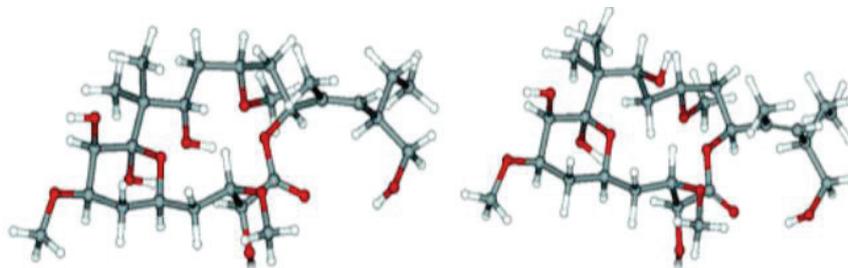


Figure 14 : conformère A conformère B

43. Quelle interprétation peut-on proposer pour rendre compte des proportions différentes des deux conformères en solution aqueuse et dans le chloroforme ?

B.2. Mode d'action du péloruside A

En 2002, Miller a effectué une étude comparative entre le péloruside A, sa forme réduite, et le Taxol[®], antimitotique de référence. A l'équilibre, le péloruside A existe sous deux formes ouverte et fermée du cycle pyrane. La réduction de ce cycle donne un alcool en C9 et conduit au péloruside A réduit (figure 15). Comme le Taxol[®], le péloruside A provoque la polymérisation de la tubuline soluble en microtubules. A partir d'une concentration de 100 nM et au bout de seulement quelques minutes, aucune forme soluble de tubuline n'est détectable en présence de ces deux composés. En revanche, quelle que soit sa concentration, le péloruside A réduit n'a aucun effet sur la tubuline.

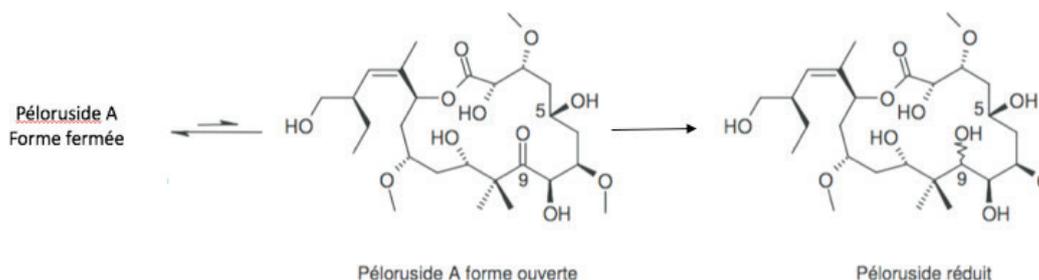
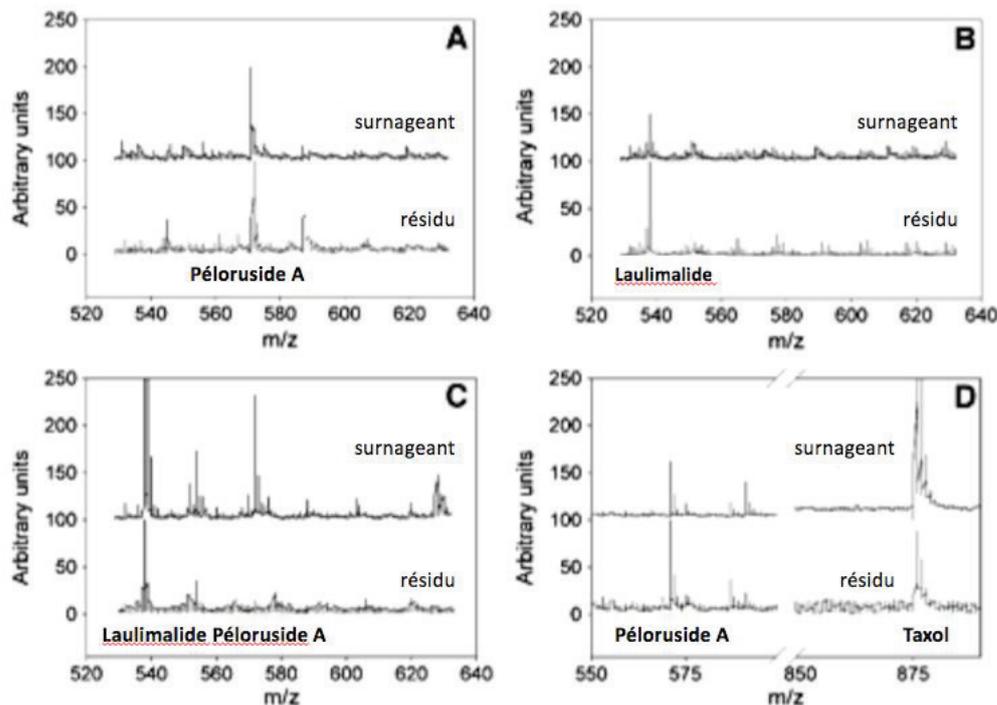


Figure 15 : réduction du péloruside A

44. Expliquer l'existence des formes fermée et ouverte du péloruside A.
45. Proposer un réactif et des conditions expérimentales pour effectuer la réduction du péloruside A (figure 15). Proposer un mécanisme réactionnel détaillé. Ce réactif doit-il être chimiosélectif ?

La fixation du péloruside A sur les microtubules a été étudiée par spectrométrie de masse (figure 16). Différents échantillons contenant des microtubules stabilisés ont été mis en présence de péloruside A, de laulimalide et de Taxol®. Après centrifugation, le surnageant et le résidu contenant les microtubules ont été analysés. Les deux premiers spectres (figure 16A et figure 16B) servent de témoins et les deux suivants résultent de l'analyse d'échantillons contenant du laulimalide et du péloruside d'une part ou du péloruside et du Taxol® d'autre part (figure 16C et 16D).



- A. 5 μM microtubules stabilisés + 5 μM péloruside C. 5 μM microtubules stabilisés + 5 μM péloruside et 50 μM laulimalide
 B. 5 μM microtubules stabilisés + 5 μM laulimalide D. 5 μM microtubules stabilisés + 5 μM péloruside et 50 μM Taxol®

Figure 16 : spectres de masse des quatre échantillons de microtubules et molécules cytotoxiques

46. Rappeler brièvement le principe de la spectrométrie de masse, l'allure d'un spectre de masse et les informations que l'on peut extraire de ce type de spectre.
47. Interpréter les spectres obtenus avec les témoins. Quel en est le rôle ?
48. Que peut-on conclure de cette étude ? Quel en est l'intérêt d'un point de vue thérapeutique ?

B.3. Etude partielle de la synthèse racémique de molécules analogues au péloruside A

Dans cette partie, on étudie une séquence de la stratégie de synthèse d'analogues macrocycliques du péloruside A. Les macrocycles cibles peuvent être considérés soit comme des analogues de péloruside A (macrocycle de même taille avec des modifications structurales dans et en dehors du cycle pyranique) soit comme des analogues d'épothilones (macrocycle de même taille avec introduction d'un cycle pyrane). En effet, le péloruside A possède une certaine analogie de structure avec les épothilones (figure 17), macrolides d'origine bactérienne, qui présentent des activités supérieures aux taxoïdes. Dans les deux cas, ce sont des macrocycles à seize chaînons ; les chaînes latérales sont des alcènes trisubstitués et on retrouve des enchaînements similaires C₉-C₁₁ du péloruside et C₃-C₅ des épothilones.

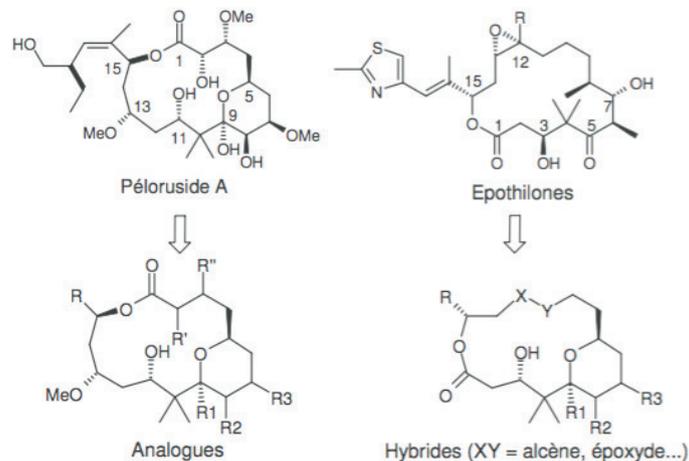
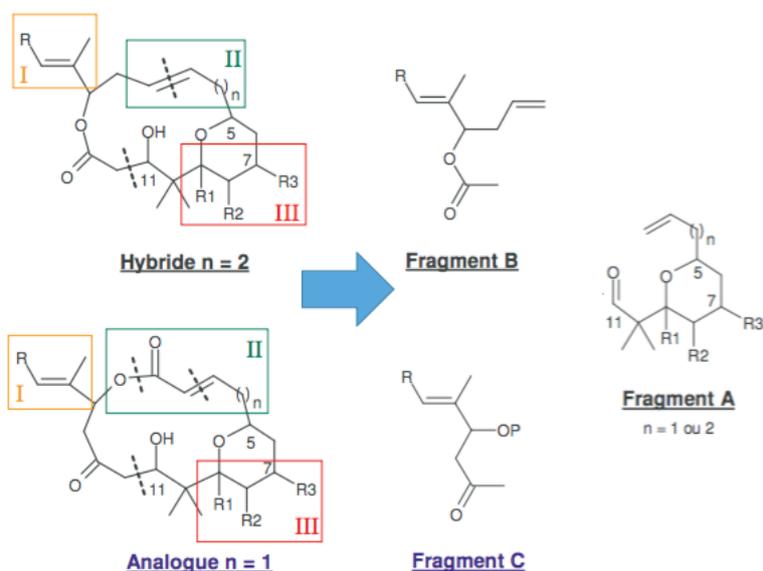


Figure 17 : structure de quelques macrocycles cibles

La stratégie de synthèse est la suivante :



La stratégie d'accès aux différents fragments A, B et C a été envisagée avec pour cahier des charges :

- une synthèse efficace et modulable pour l'élaboration d'hybrides et d'analogues
- la facilité de mise en œuvre et la faisabilité à l'échelle du gramme
- la possibilité de variation de la fonctionnalisation des parties I, II et III
- le contrôle ultérieur possible des différents centres stéréogènes

Le succès d'une telle approche repose donc en tout premier lieu sur la préparation des fragments A, B et C

L'analyse rétrosynthétique du fragment A est présentée sur la figure 18.

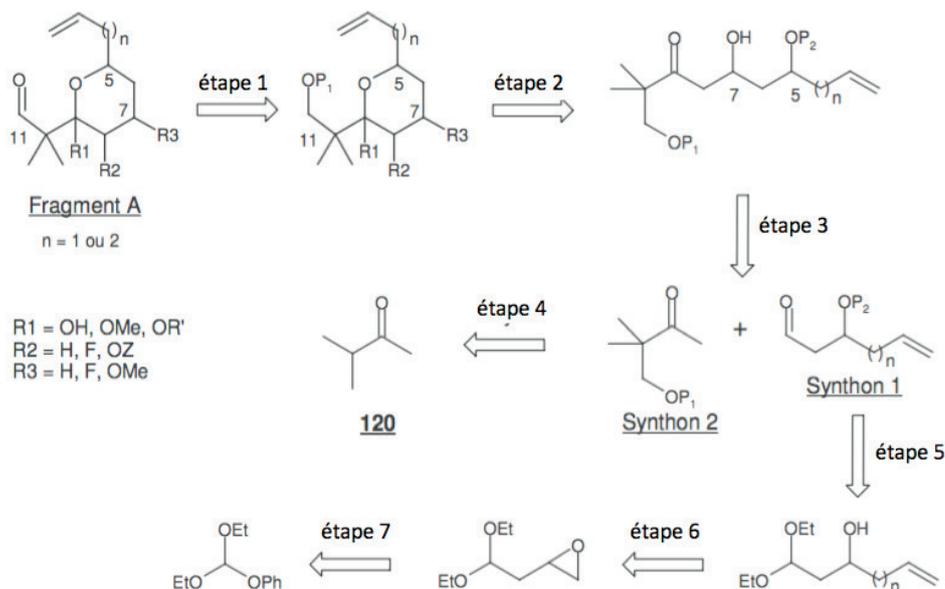
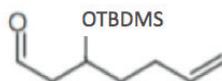


Figure 18 : analyse rétrosynthétique du fragment A

49. Indiquer le type de réaction mis en jeu dans chacune des étapes de rétrosynthèse

50. Quels sont les critères de choix des groupes protecteurs P₁ et P₂ ?

Synthèse du synthon 1



Les premières étapes de la préparation du synthon 1 sont rassemblées dans la figure 19. L'alcène intermédiaire est obtenu par la réaction entre un organomagnésien et un orthoformiate. Une purification par distillation sous pression réduite permet d'isoler l'alcène volatil avec un rendement de 87 %. Une réaction d'époxydation est ensuite effectuée. Plusieurs lavages basiques sont nécessaires pour éliminer toute trace d'acide. On isole alors l'époxyde sans autre purification avec un rendement de 97 %.

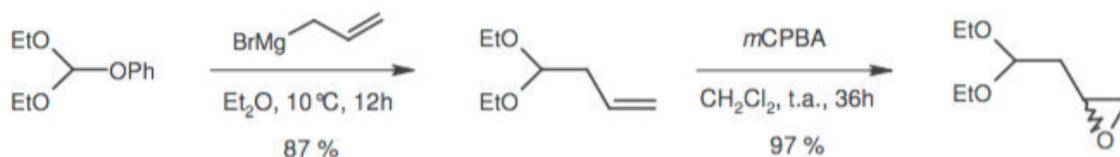


Figure 19 : premières étapes de la synthèse du synthon 1

51. Décrire des conditions expérimentales détaillées pour préparer le bromure d'allyle magnésium.

52. Proposer une technique expérimentale, en détaillant sa mise en œuvre, pour suivre le déroulement de ces deux premières étapes.

53. Schématiser le dispositif expérimental permettant de réaliser une distillation sous pression réduite et préciser les précautions à prendre en termes de sécurité.

54. Proposer un mécanisme réactionnel pour chacune des deux étapes décrites figure 19.

L'allylation de l'époxyde s'effectue en présence d'un organomagnésien et d'une quantité catalytique d'iodure de cuivre. Elle fournit un mélange de deux composés (figure 20).

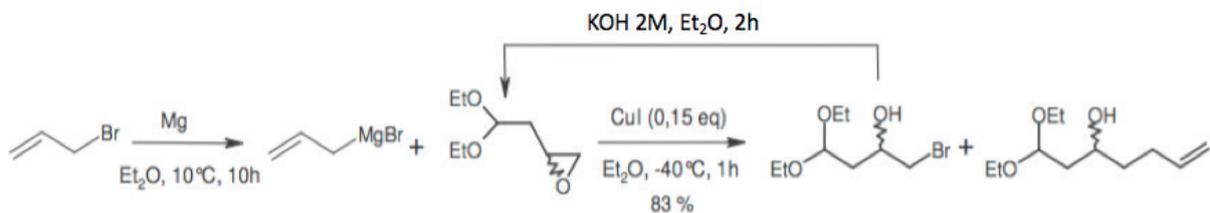


Figure 20 : suite des étapes de la synthèse du synthon 1

55. Pourquoi ajoute-t-on de l'iodure de cuivre I dans l'étape d'allylation de l'époxyde ?
 56. Comment expliquer la formation du composé bromé ?
 57. Le mélange des deux composés est isolé dans un rapport dix (composé bromé) pour un (composé éthylénique) avec un rendement de 83 %. Pour isoler le composé souhaité, on transforme l'alcool bromé en époxyde en présence de potasse. Proposer un mécanisme réactionnel pour cette transformation.
 58. En quoi cette transformation vous semble-t-elle pertinente pour isoler le composé souhaité et quelle méthode de séparation peut-elle être utilisée ? Quel autre intérêt peut-on envisager pour cette transformation ?
 59. Commenter le contrôle stéréochimique de cette séquence réactionnelle.

Le choix de la protection de l'alcool s'est porté sur un groupement silylé « TBDMS » (figure 21).

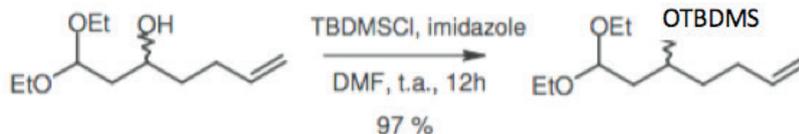


Figure 21 : protection de l'alcool par le groupement silylé « TBDMS »

60. Quelles sont les caractéristiques d'une protection par un groupement silylé « TBDMS = terbutyldiméthylsilyl » ? Proposer un mécanisme réactionnel détaillé pour la réaction de protection. Préciser le rôle de l'imidazole et du DMF.
 61. Proposer des conditions expérimentales pour réaliser la déprotection correspondante.

La fonction aldéhyde est régénérée à l'aide d'une solution aqueuse d'acide trifluoroacétique (TFA) selon le protocole décrit par Magnus (figure 22).

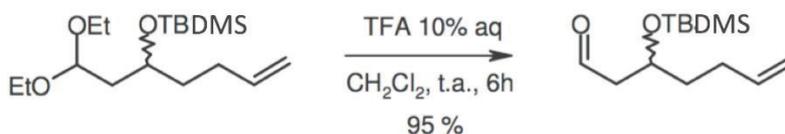


Figure 22 : régénération de la fonction aldéhyde

62. Proposer un éluant et un support de chromatographie couche mince pour effectuer le suivi de cette réaction jusqu'à la régénération totale de la fonction aldéhyde et une allure des chromatogrammes obtenus en cours de réaction et au bout de 6 h.
 63. Justifier que la protection de la fonction alcool résiste dans ces conditions expérimentales.
 64. Déterminer le rendement global pour obtenir le synthon 1.

Synthèse du synthon 2

La synthèse du synthon 2 a été réalisée en deux étapes à partir de la 3-méthylbutanone commerciale selon les travaux de *Boeykens* (figure 23).

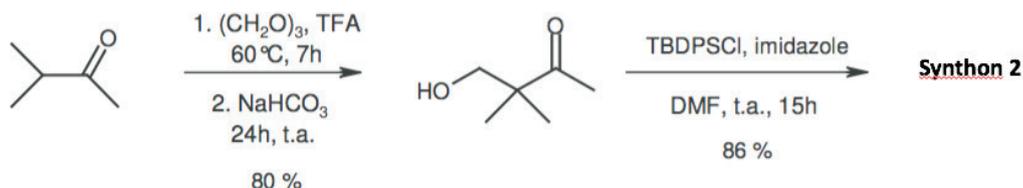


Figure 23 : étapes de la synthèse du synthon 2

Le protocole expérimental de la première étape de cette synthèse est le suivant : une solution de 3-méthylbutan-2-one (6,25 mL ; 58,1 mmol), de paraformaldéhyde (1,74 g ; 58,1 mmol) et d'acide trifluoroacétique (9 mL ; 116 mmol) est chauffée à 60°C pendant 7 heures. Le mélange est ensuite hydrolysé pendant 24 heures avec une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium à 15% massique (286 mmol dans 160 mL d'eau). Une huile jaune est obtenue après traitement avec un rendement de 89 % puis est analysée et utilisée sans autre purification.

65. Rédiger la partie du protocole expérimental correspondant au traitement et à la récupération du produit brut sous la forme d'une huile jaune en détaillant toutes les étapes du protocole, les produits présents et la verrerie utilisée.

Les résultats des différentes analyses effectuées sur le produit de la réaction obtenu sont regroupés ci-dessous :

$$M = 116,16 \text{ g.mol}^{-1}$$

$$\text{Rdt} = 89 \%$$

Aspect : liquide jaune

$$\text{RMN } ^1\text{H} (\delta \text{ en ppm, CDCl}_3) : 1,08 (\text{s}, 6\text{H}) ; 2,10 (\text{s}, 3\text{H}) ; 2,86 (\text{s}, 1\text{H}) ; 3,49 (\text{s}, 2\text{H})$$

$$\text{RMN } ^{13}\text{C} (\delta \text{ en ppm, CDCl}_3) : 21,4 ; 25,5 ; 49,2 ; 69,2 ; 215,1$$

$$\text{IR (KBr)} \nu_{\text{max}} : 3448 \text{ large} ; 2971, 2875 ; 1702 ; 1474, 1356 ; 1052$$

$$\text{SM-HR (IE)} : [\text{M-OH}]^+ \text{ Mthéorique} = 99,08099 \text{ g.mol}^{-1} \text{ Mobservée} = 99,0811 \text{ g.mol}^{-1}$$

66. Justifier la structure du composé obtenu à l'aide des résultats des différentes analyses.

Couplage des synthons 1 et 2

67. Proposer un réactif, un solvant et des conditions expérimentales pour coupler les synthons 1 et 2.

68. Quelle(s) méthode(s) d'analyse proposeriez-vous pour conclure quant à l'obtention du produit de couplage ?

69. Le produit de couplage est cyclisé en milieu acide pour obtenir un précurseur du fragment A. Proposer un mécanisme réactionnel pour cette réaction de cyclisation.

Le fragment A est obtenu en deux étapes (figure 24) :

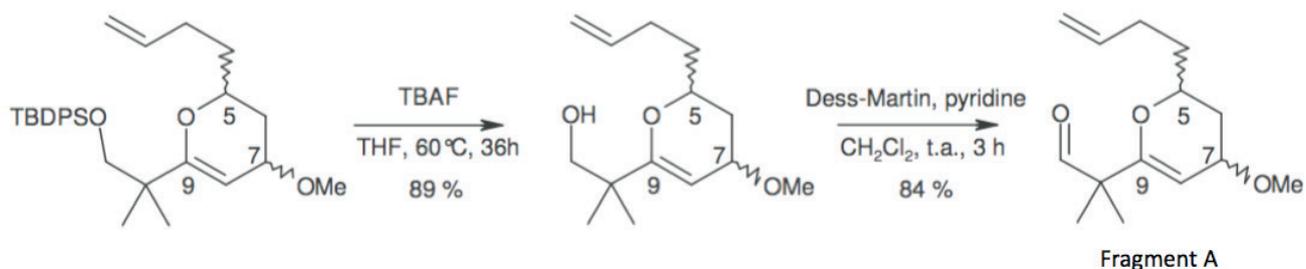
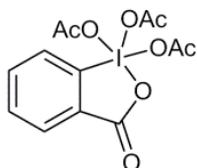


Figure 24 : obtention du fragment A à partir du précurseur

70. Ecrire le mécanisme réactionnel de l'étape impliquant le réactif de *Dess-Martin* dont la structure est fournie ci-dessous. Quel est l'intérêt d'utiliser ce réactif ? Quel rôle joue la pyridine ?



B.4. Synthèse totale du péloruside A proposée par De Brabander

Une première synthèse totale du péloruside A a été proposée par *De Brabander*, sur la base des travaux de *Northcote* ; elle comprend trente étapes et son rendement global est de 2,4 %. La stratégie de synthèse de *De Brabander* repose sur la liaison C13-C14 des fragments **1** et **2** et la fermeture du cycle (figure 25).

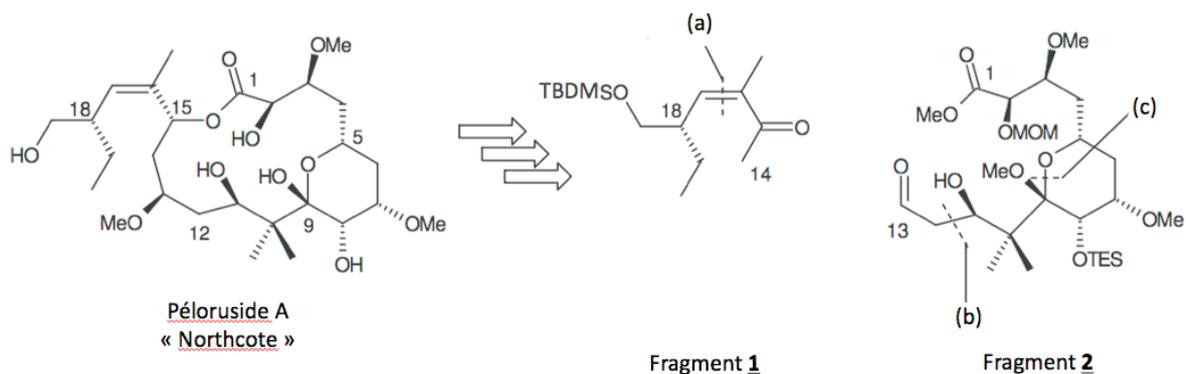


Figure 25 : stratégie de synthèse de *De Brabander*

71. Proposer une réaction pour lier les fragments **1** et **2**. Détailler le mécanisme réactionnel associé.

Le schéma de synthèse du fragment **1** est présenté ci-dessous (figure 26).

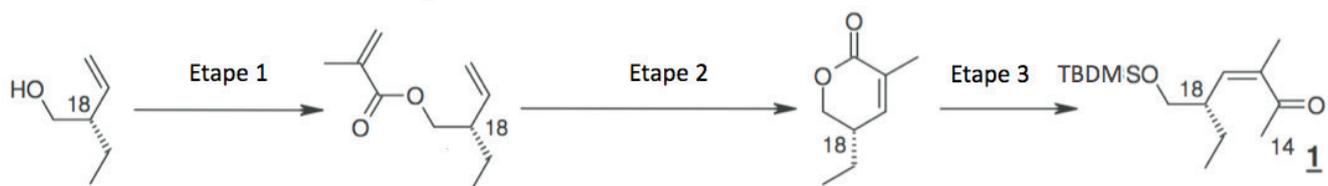


Figure 26 : schéma de synthèse du fragment 1

72. Proposer des réactifs pour chacune des trois étapes.

La synthèse du fragment **2** fait intervenir un alcool homoallylique **X1** dont le schéma de synthèse est présenté ci-dessous (figure 27).

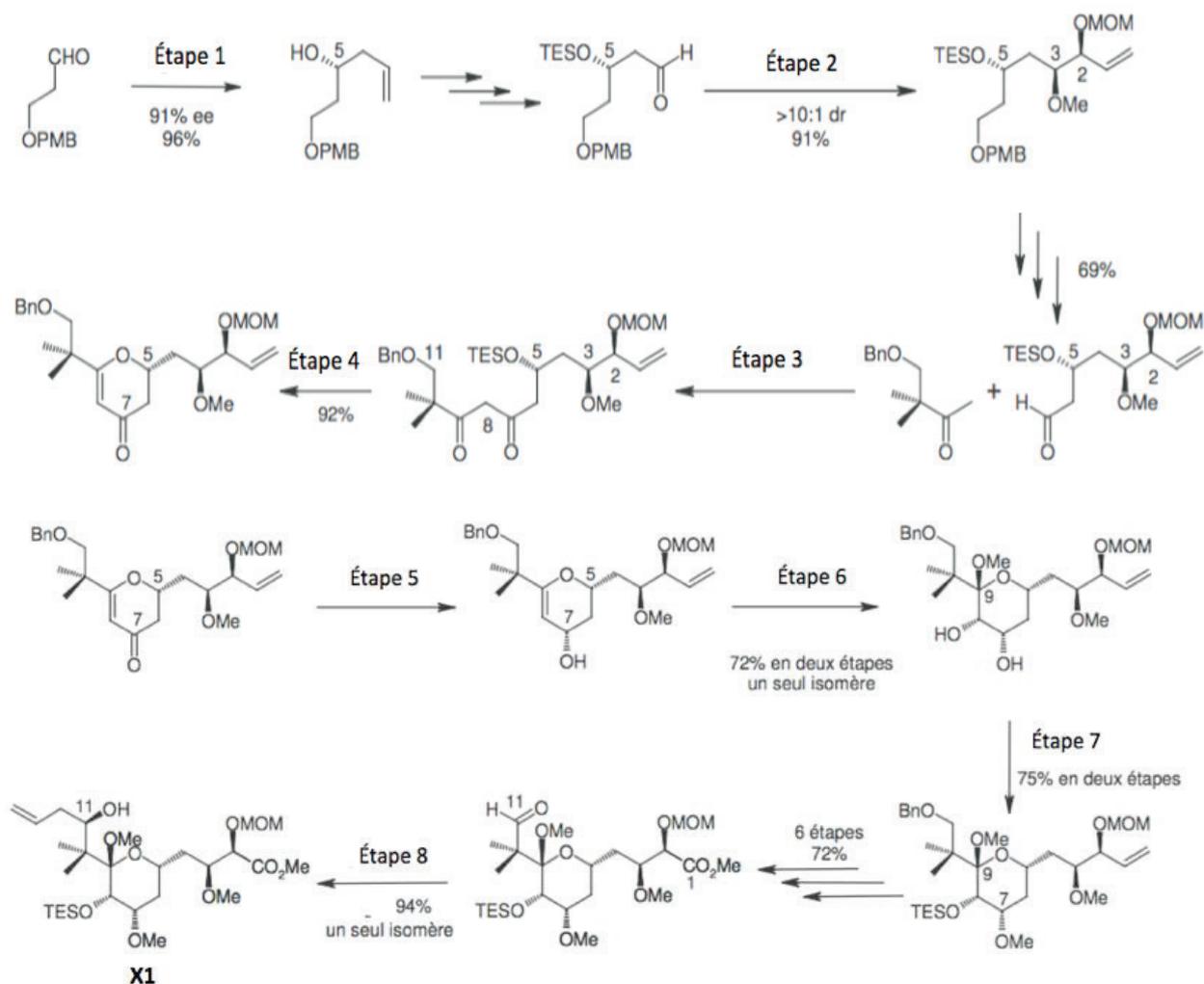
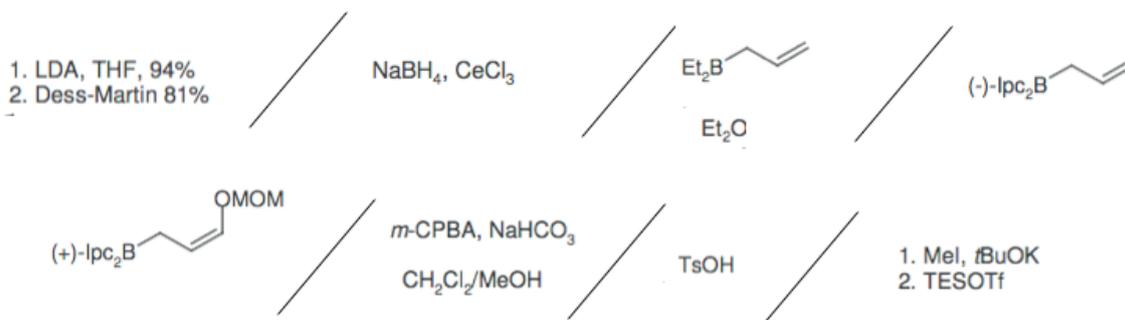


figure 27 : synthèse du fragment 2

73. Associer à chacune des étapes 1 à 8 leurs réactifs à choisir dans la liste ci-dessous. Justifier votre choix.



74. Quelle(s) étape(s) permet(tent)-elle(s) le contrôle de la stéréochimie de l'alcool homoallylique **X1** ?

75. Proposer un mécanisme réactionnel pour les étapes 4 et 6.

