

**ÉCOLES NORMALES SUPÉRIEURES
ÉCOLE NATIONALE DES PONTS ET CHAUSSÉES**

CONCOURS D'ADMISSION SESSION 2022

**FILIÈRE BCPST
COMPOSITION DE CHIMIE**

Épreuve commune aux ENS de Lyon, Paris, Paris-Saclay et à l'ENPC

Durée : 4 heures

L'utilisation des calculatrices n'est pas autorisée pour cette épreuve.

Le sujet comprend 18 pages numérotées de 1 à 18

Début de l'épreuve

Utilisation de nanoparticules superparamagnétiques d'oxyde de fer (SPION) pour l'imagerie multimodale

L'objectif de la théranostique (contraction de « thérapie » et « diagnostic ») est d'étudier le comportement spécifique d'une tumeur afin de choisir le traitement le plus adapté. Cette nouvelle approche utilise l'imagerie pour cartographier les cellules cancéreuses dans le corps et les traiter de manière ciblée. Dans ce cadre, des combinaisons de modalités d'imagerie sont à l'étude pour un effet synergique : on parle d'imagerie multimodale. La combinaison de la tomographie par émission de positrons / imagerie par résonance magnétique (TEP / IRM) a suscité de nombreuses attentes pour une imagerie très sensible et à haute résolution. Les nanoparticules superparamagnétiques se sont révélées très prometteuses car elles peuvent à la fois être utilisées pour l'IRM mais aussi permettre de fabriquer des nanoparticules multifonctionnelles. En effet, celles-ci peuvent servir de plateforme sur laquelle des molécules, protéines ou peptides peuvent être greffés. Parmi les différentes nanoparticules d'oxyde de fer (abrégé par l'acronyme SPION pour SuperParamagnetic Iron Oxide Nanoparticles), les particules de magnétite Fe_3O_4 ont été très étudiées pour les applications biomédicales en raison de leur excellente biocompatibilité et de leur facilité de synthèse. Ces particules sont recouvertes de polymères biocompatibles comme le sulfate de dextrane qui fournit une plateforme chimique pour la conjugaison d'agents thérapeutiques ou d'imagerie.

Ce sujet propose de s'intéresser à des nanoparticules superparamagnétiques d'oxyde de fer Fe_3O_4 greffées par une molécule chélatante de l'isotope ^{64}Cu du cuivre (II) radioactif ou du gadolinium. Un schéma de synthèse de ces particules que l'on notera N-SD-D est donné sur la Figure 1. La première partie du sujet (partie A) s'intéresse à la synthèse de ces nanoparticules alors que la deuxième partie (partie B) est, quant à elle, dédiée à leur utilisation en imagerie multimodale. La dernière partie (partie C) consiste à proposer, à partir des résultats et données des parties A et B sur les particules N-SD-D, une voie de synthèse de nanoparticules potentielle pour l'imagerie multimodale de tumeurs cérébrales.

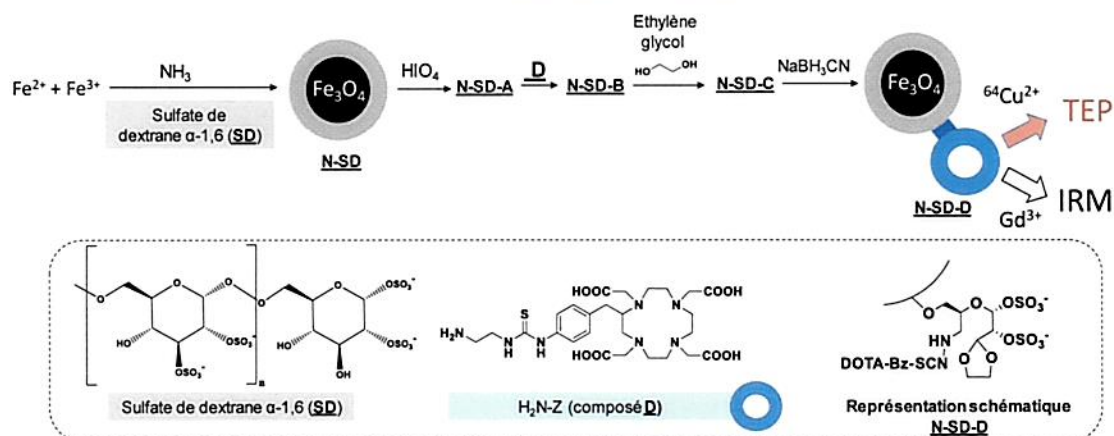


Figure 1 : Schéma de synthèse des nanoparticules N-SD-D pour l'imagerie multimodale (TEP / IRM).

Recommandations : un soin particulier est attendu dans l'écriture des mécanismes réactionnels ; les formules utilisées dans les réponses aux questions portant un astérisque (*) après le numéro devront obligatoirement être des représentations topologiques et faire apparaître les doublets non liants et les formes mésomères des intermédiaires réactionnels s'il y a lieu. Une représentation simplifiée des molécules peut être utilisée dans l'écriture des mécanismes réactionnels ou des équation-bilans mais doit être clairement explicitée. Si une même étape est répétée plusieurs fois lors d'un mécanisme, celle-ci peut n'être détaillée qu'une seule fois. Les questions précédées d'un (#) seront valorisées dans la notation car elles nécessitent plusieurs étapes de raisonnement et peuvent s'avérer plus longues à traiter. Des tables IR et RMN du proton sont données en annexe 1 et des données en annexe 2.

Partie A-Synthèse des nanoparticules superparamagnétiques multifonctionnelles N-SD-D

I. Synthèse des nanoparticules SPION-sulfate de dextrane (notées N-SD)

Document 1 : Protocole de synthèse de N-SD et diagramme E-pH du fer

Des sels de chlorure de fer hydratés ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ et $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) sont dissous dans un rapport molaire $\frac{n(\text{Fe}^{\text{III}})}{n(\text{Fe}^{\text{II}})}$ égal à 2 dans 50 mL d'une solution aqueuse de sulfate de dextrane à 5 % en masse. Si le rapport molaire s'éloigne trop de la valeur précédemment citée, la synthèse de Fe_3O_4 n'est plus concluante notamment à cause de la formation d'autres oxydes en compétition avec Fe_3O_4 .

On peut par exemple préparer séparément puis mélanger deux solutions de Fe (II) et Fe (III) préparées dans une solution d'acide chlorhydrique $\text{HCl}_{(\text{aq})}$ à $1,0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ et de sulfate de dextrane à 5 % en masse respectivement en dissolvant 4,0 g de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($M = 198,81 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) dans 10 mL de solution de $\text{HCl}_{(\text{aq})}$ et sulfate de dextrane à 5 % en masse et 10,8 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($M = 270,30 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) dans 40 mL de $\text{HCl}_{(\text{aq})}$ et de sulfate de dextrane. De l'argon ou du diazote est ensuite mis à barboter plusieurs minutes dans cette solution puis celle-ci est placée dans un bain à ultrasons thermostaté à 20°C pendant 10 minutes. Ensuite, 5 mL d'ammoniaque $\text{NH}_3_{(\text{aq})}$ à $5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ sont ajoutés goutte à goutte à l'air libre et la solution de nouveau placée dans un bain à ultrasons pendant 30 minutes supplémentaires. Enfin, les nanoparticules précipitées N-SD sont laissées à décanter à l'aide d'un aimant puis le liquide surnageant est enlevé. Des nanoparticules N-SD de tailles comprises entre 30 et 40 nm sont ainsi obtenues.

Le diagramme E-pH du fer pour une concentration de travail C_{travail} totale en espèces de $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ est donné sur la Figure 2. L'évolution du potentiel et du pH lors de l'ajout goutte à goutte de l'ammoniaque est également mentionné sur cette figure : point A ($t = 0 \text{ s}$), point B (formation de Fe_2O_3) puis C (formation de Fe_3O_4). On considère que lors de la synthèse le potentiel et le pH évoluent en suivant la frontière entre les espèces Fe^{2+} et Fe_2O_3 entre les points B et C. On négligera la dilution lors de la formation de Fe_3O_4 à partir de Fe_2O_3 .

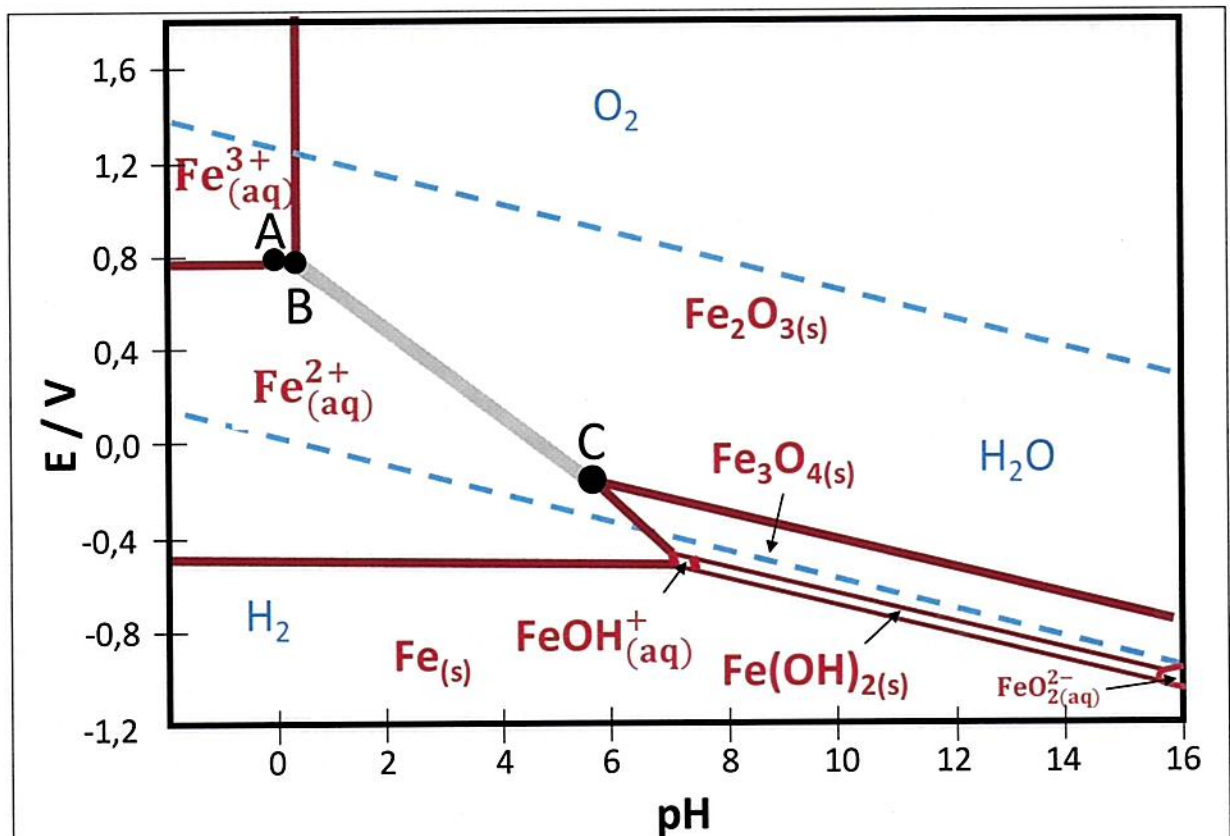


Figure 2 - Diagramme E-pH du fer pour $C_{\text{tracé}} = 1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. À la frontière entre deux espèces dissoutes (aq) : les concentrations des deux espèces sont égales et leur somme est égale à $C_{\text{tracé}}$. À la frontière entre une espèce dissoute et un solide, la concentration de l'espèce dissoute vaut $C_{\text{tracé}}$ ($T = 25^\circ\text{C}$).

1. Calculer le rapport molaire $\frac{n(\text{Fe}^{\text{III}})}{n(\text{Fe}^{\text{II}})}$ utilisé dans le Document 1 et montrer que celui-ci est en accord avec les recommandations du protocole pour former efficacement des particules de Fe_3O_4 .
2. Expliquer en quoi ce rapport est cohérent avec la formule de la magnétite Fe_3O_4 .
3. Justifier les coordonnées du point A (0 ; 0,79) représenté sur la Figure 2 correspondant à la solution juste après le mélange ($t = 0 \text{ s}$).
4. Proposer une équation de réaction expliquant la formation de Fe_2O_3 au niveau du point B.
5. Donner l'équation de la droite entre B et C en fonction de $E^\circ_{(\text{Fe}_2\text{O}_3 / \text{Fe}^{2+})}$ et du pH en utilisant les conditions de tracé de la Figure 2.
6. Indiquer à partir de quelles espèces est formé Fe_3O_4 . Proposer une équation de formation traduisant une telle transformation.
7. Dédire des questions précédentes l'équation globale de formation de Fe_3O_4 .

8. Expliquer en vous appuyant sur la Figure 2 et le Document 1, en quoi le barbotage au diazote ou à l'argon évoqué dans le protocole est important dans la formation de particules très majoritairement constituées de Fe_3O_4 .
9. Montrer, en vous appuyant sur la Figure 2, qu'en l'absence de sulfate de dextrane recouvrant les particules, la formation à la surface des particules d'un autre oxyde de fer que Fe_3O_4 peut avoir lieu dans les conditions proposées dans le protocole du Document 1. Proposer une équation de réaction de formation de celui-ci.
10. (#) Proposer deux arguments qui remettraient en cause les déplacements en potentiel et pH sur le diagramme au cours de la synthèse (passage des points A à C) dans le cadre du protocole du document 1.
11. Expliquer, en détaillant l'interaction se développant entre les nanoparticules, en quoi la présence du sulfate de dextrane à la surface de celles-ci permet également de limiter l'agrégation des nanoparticules.

II. Synthèse du composé D ($\text{H}_2\text{N-Z}$)

Nous proposons dans cette sous-partie d'étudier la synthèse du composé D qui est par la suite greffé à la surface des nanoparticules N-SD (Figure 1). Le composé D est obtenu par réaction entre le composé C (ou NCS-Bz-DOTA) et l'éthylènediamine (30 équivalents) dans une solution aqueuse tamponnée à pH 9,2 (tampon carbonate à 0,1 mol·L⁻¹). Le mélange ainsi obtenu est agité à température ambiante pendant 4 h. Deux produits sont obtenus dont la molécule D qui est isolée et purifiée (Figure 3). Le composé C est obtenu au préalable par une suite de réactions à partir de la réaction entre les composés A et B (Figure 3).

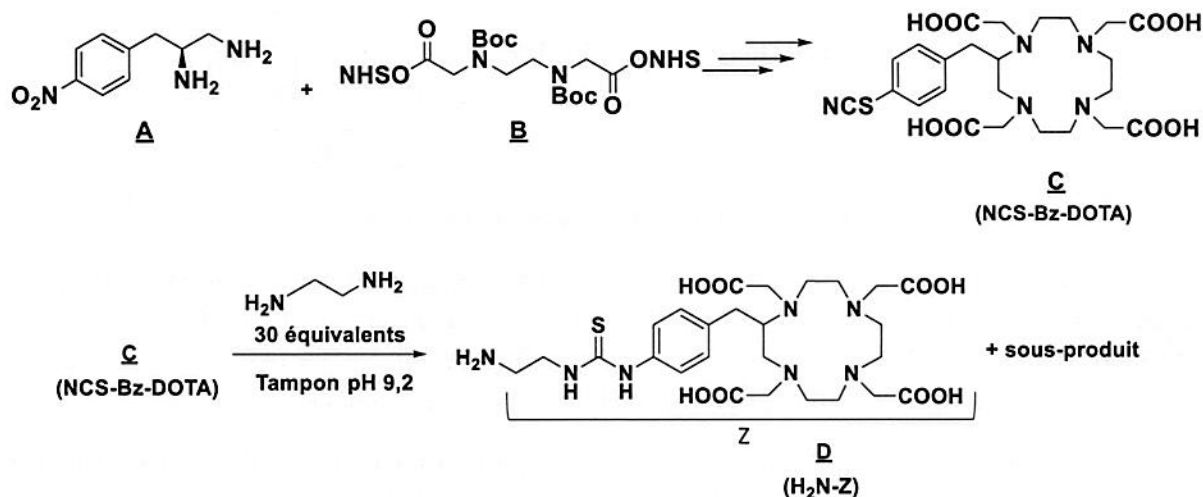


Figure 3 : Schéma de synthèse du composé D ($\text{H}_2\text{N-Z}$).

Le formulaire ci-dessous (Figure 4) est donné comme support pour l'ensemble de cette sous-partie II.

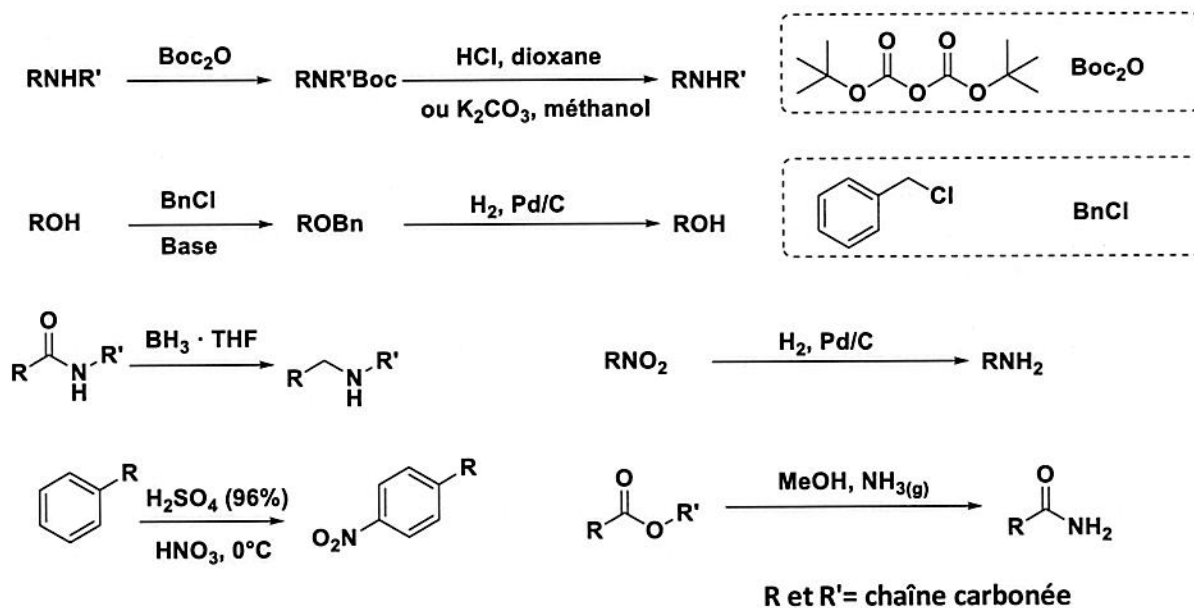


Figure 4 : Formulaire de chimie organique.

a. Synthèse du composé A

Le composé A est obtenu à partir de la phénylalanine par une suite de réactions détaillée sur la Figure 5.

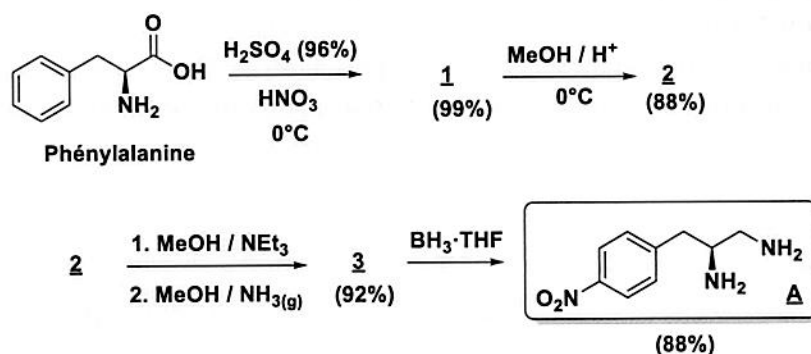


Figure 5 : Schéma de synthèse de la molécule A.

La RMN du proton ^1H (250 MHz, CDCl_3) du composé A est la suivante (δ en ppm (multiplicité, intégration, constantes de couplage J en Hz)) : 8,23 (d, 2H, $J = 8,0$), 7,64 (d, 2H, $J = 8,0$), 4,12 (m, 1H), 3,53 (dd, 1H, $J = 15,0 ; 7,20$), 3,46 (dd, 1H, $J = 15,0 ; 7,50$), 3,39 (dd, 1H, $J = 14,0 ; 7,20$), 3,26 (dd, 1H, $J = 14,0 ; 7,50$). Les signaux relatifs aux protons NH ne sont pas mentionnés ici.

12. Donner le diagramme de prédominance de la phénylalanine en spécifiant les structures des différentes formes prises par celle-ci en fonction du pH. En déduire une structure pour le composé 1.
13. Entourer le noyau aromatique présent dans la molécule de phénylalanine en justifiant son aromaticité.
14. (*) Donner la structure du composé 2 ainsi que le mécanisme de formation de celui-ci.

15. (*) Une autre voie de synthèse du composé 2 à partir de 1 pourrait consister à utiliser le diazométhane CH_2N_2 . Proposer un mécanisme pour cette réaction et indiquer la force motrice de la réaction.
16. Donner la structure du composé 3. Expliquer l'intérêt de la première étape lors de sa formation à partir du composé 2.
17. Le passage de la phénylalanine au composé A peut être suivi à chaque étape par spectroscopie IR. Expliquer en remplissant le tableau ci-dessous et en vous aidant de l'annexe 1.

Étape	Bande(s) à suivre en IR (zone en cm^{-1})	Évolution
Exemple : X	Liaison C-C (1000 - 1250 cm^{-1})	Disparition / Apparition / Déplacement
<u>1</u> → <u>2</u>		
<u>2</u> → <u>3</u>		
<u>3</u> → <u>4</u>		

18. Proposer une structure de Lewis du nitrobenzène $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$ et indiquer la géométrie autour de l'atome d'azote selon la méthode VSEPR.
19. Attribuer les signaux à 8,23, 7,64 et 4,12 ppm dans le spectre RMN du composé A à un (ou des) proton(s) présent(s) dans sa structure. Justifier soigneusement.
20. Justifier la multiplicité des signaux à 3,53, 3,46, 3,39 et 3,26 ppm dans le spectre RMN du composé A. Aucune attribution stricte des protons n'est exigée.

b. Synthèse des composé B et C

Le composé B peut être obtenu à partir de l'acide éthylènediaminediacétique (4) par une suite de réactions détaillée sur la Figure 6. Le Document 2 propose des informations sur la réaction d'amidification par EDC/NHS utilisée pour passer du composé 5 au composé 6.

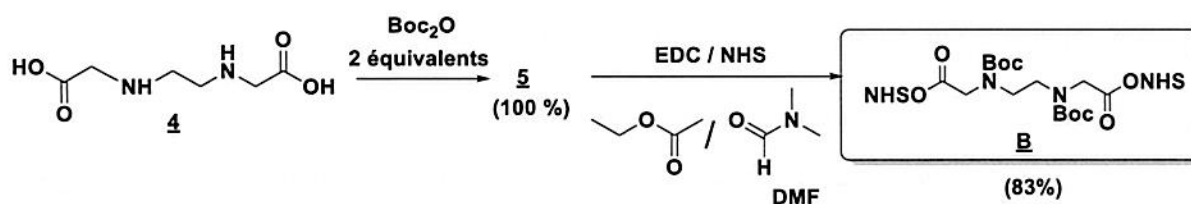
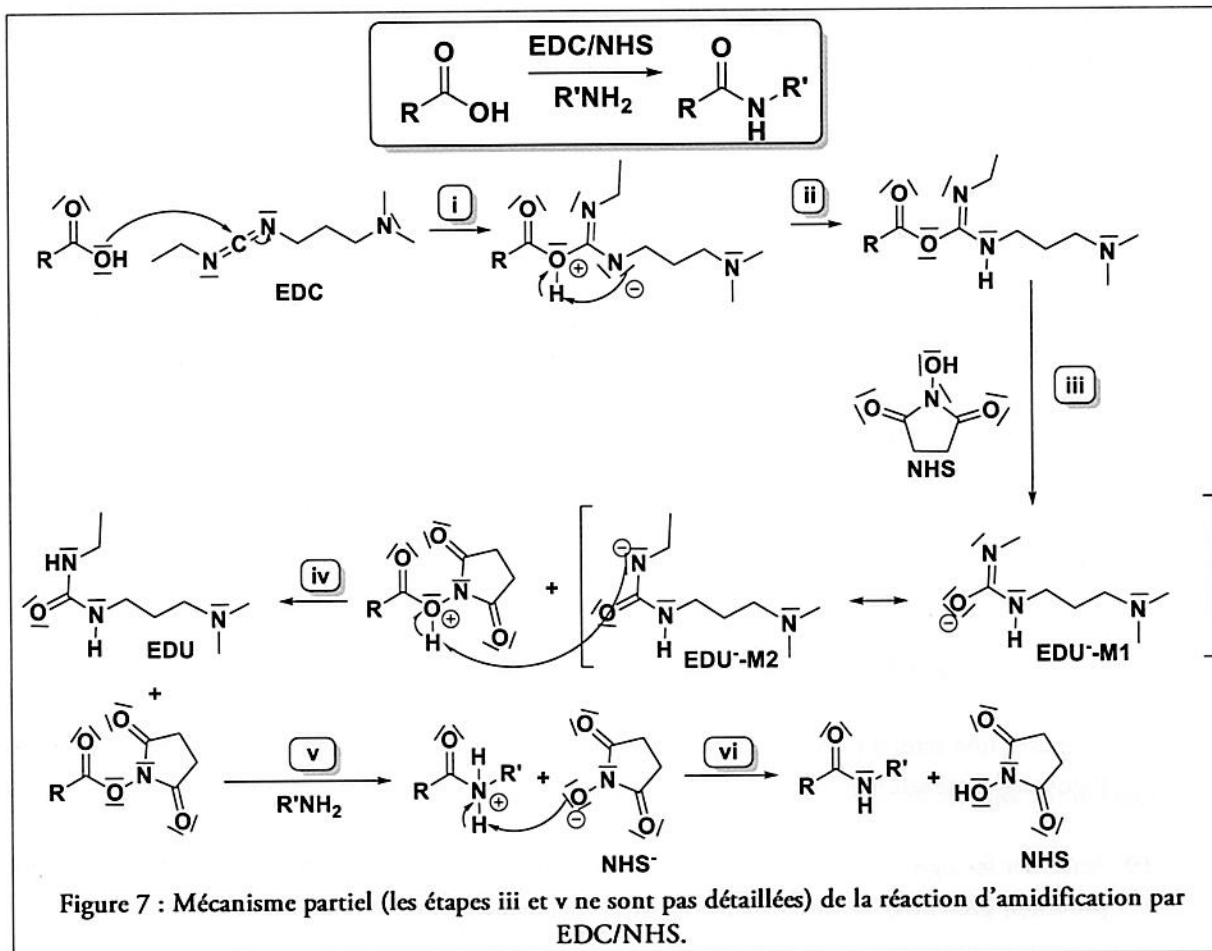


Figure 6 : Schéma de synthèse de la molécule B.

Document 2 : Réaction d'amidification par EDC/NHS

La réaction de formation d'un amide à partir d'un carboxyle et d'une amine peut s'effectuer dans des conditions relativement douces et en solution aqueuse grâce à l'utilisation couplée du 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide noté EDC et du N-hydroxysuccinimide noté NHS. Le mécanisme de cette réaction ainsi que son équation simplifiée sont donnés sur la Figure 7.



21. Donner la structure du composé 5.

22. Donner en utilisant le Document 2, l'équation-bilan de la réaction d'amidification par EDC/NHS. En déduire le rôle de NHS.

23. Analyser le mécanisme de couplage par EDC/NHS donné au Document 2 en donnant la nature des différentes étapes i à vi mises en jeu.

24. (*) Proposer un mécanisme pour l'étape iii de la Figure 7.

25. L'étape (vi) est quantitative. Justifier cette affirmation.

Le composé C est obtenu à partir des composés A et B par une suite de réactions détaillée sur la Figure 8.

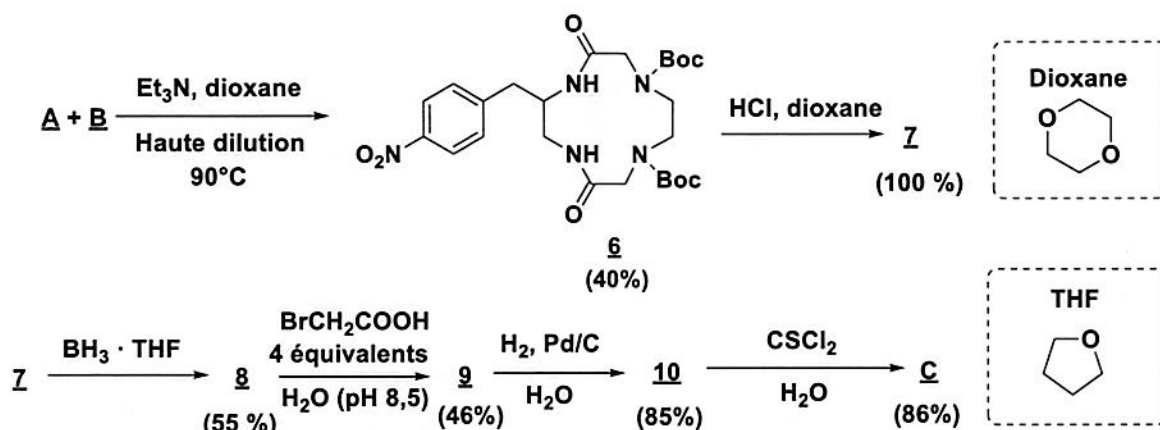


Figure 8 : Sch\u00e9ma de synth\u00e8se du compos\u00e9 C.

26. Expliquer en quoi il est n\u00e9cessaire de se placer \u00e0 haute dilution lors de la r\u00e9action de formation du compos\u00e9 6 \u00e0 partir des compos\u00e9s A et B. Indiquer le produit majoritaire obtenu si cette pr\u00e9caution n'\u00e9tait pas mise en \u0153uvre
27. Expliquer pourquoi il n'est pas possible de faire r\u00e9agir directement le compos\u00e9 5 et le compos\u00e9 A pour former le compos\u00e9 6.
28. Proposer la structure d'un compos\u00e9 B', diff\u00e9rent de B, susceptible de former 6 \u00e0 partir de A. Proposer une voie de synth\u00e8se de B' \u00e0 partir de 5.
29. Donner la structure des compos\u00e9s 7 \u00e0 10.
30. (*) Proposer un m\u00e9canisme de formation du compos\u00e9 9 \u00e0 partir du compos\u00e9 8 et donner le sous-produit de la r\u00e9action.
31. (#) Donner le nombre de st\u00e9roisom\u00e8res possibles pour la mol\u00e9cule C. Repr\u00e9senter celui (ceux) qui est (sont) obtenu(s) \u00e0 l'issue de la synth\u00e8se propos\u00e9e et pr\u00e9ciser en le justifiant le(s) descripteur(s) st\u00e9r\u00e9ochimique(s) du(des) centre(s) st\u00e9r\u00e9og\u00e8ne(s).

III. Fonctionnalisation des nanoparticules – greffage de la mol\u00e9cule D

Les particules N-SD obtenues au paragraphe I sont constitu\u00e9es en surface de plusieurs cha\u00eenes de dextrane pouvant r\u00e9agir \u00e0 leur extr\u00e9mit\u00e9. Une repr\u00e9sentation sch\u00e9matique des particules N-SD est donn\u00e9e sur la Figure 9A et sera utilis\u00e9e dans cette sous-partie afin de ne consid\u00e9rer qu'un seul groupement de surface. Pour que le groupe amine du compos\u00e9 D ($\text{H}_2\text{N-Z}$) puisse r\u00e9agir \u00e0 la surface (avec les extr\u00e9mit\u00e9s des cha\u00eenes dextrane) une quantit\u00e9 de mati\u00e8re n_{H} de solution \u00e0 1 % d'acide p\u00e9riodique HIO_4 est ajout\u00e9e \u00e0 une suspension de particules N-SD (quantit\u00e9 de mati\u00e8re n_{NSD}). La suspension est laiss\u00e9e \u00e0 agiter \u00e0 temp\u00e9rature ambiante pendant 4 h puis purifi\u00e9e. On forme ainsi une suspension de particules N-SD-A : particules de N-SD dont une partie des groupements de surface a r\u00e9agi avec HIO_4 . Ces groupements (et uniquement ceux-ci) r\u00e9agissent alors avec le compos\u00e9 D (quantit\u00e9 de mati\u00e8re n_{D}) qui est ajout\u00e9 \u00e0 temp\u00e9rature ambiante \u00e0 la suspension de N-SD-A. Le m\u00e9lange obtenu est agit\u00e9 pendant 1,5 h pour former une suspension de particules N-SD-B dont la repr\u00e9sentation sch\u00e9matique est donn\u00e9e sur la Figure 9B. La r\u00e9action de greffage des mol\u00e9cules de D est achev\u00e9e par l'ajout d'\u00e9thyl\u00e8ne glycol dans une premi\u00e8re \u00e9tape pour former N-SD-C puis de cyanoborohydrure de sodium NaBH_3CN solide dans une seconde \u00e9tape. L'\u00e9thyl\u00e8ne glycol (\u00e9thane-1,2-diol) permet de supprimer l'exc\u00e9dent de HIO_4 qui pourrait emp\u00eacher la complexation de cations m\u00e9talliques par la suite (voir partie B). Apr\u00e8s purification, une suspension de particules N-SD-D est obtenue (Figure 9).

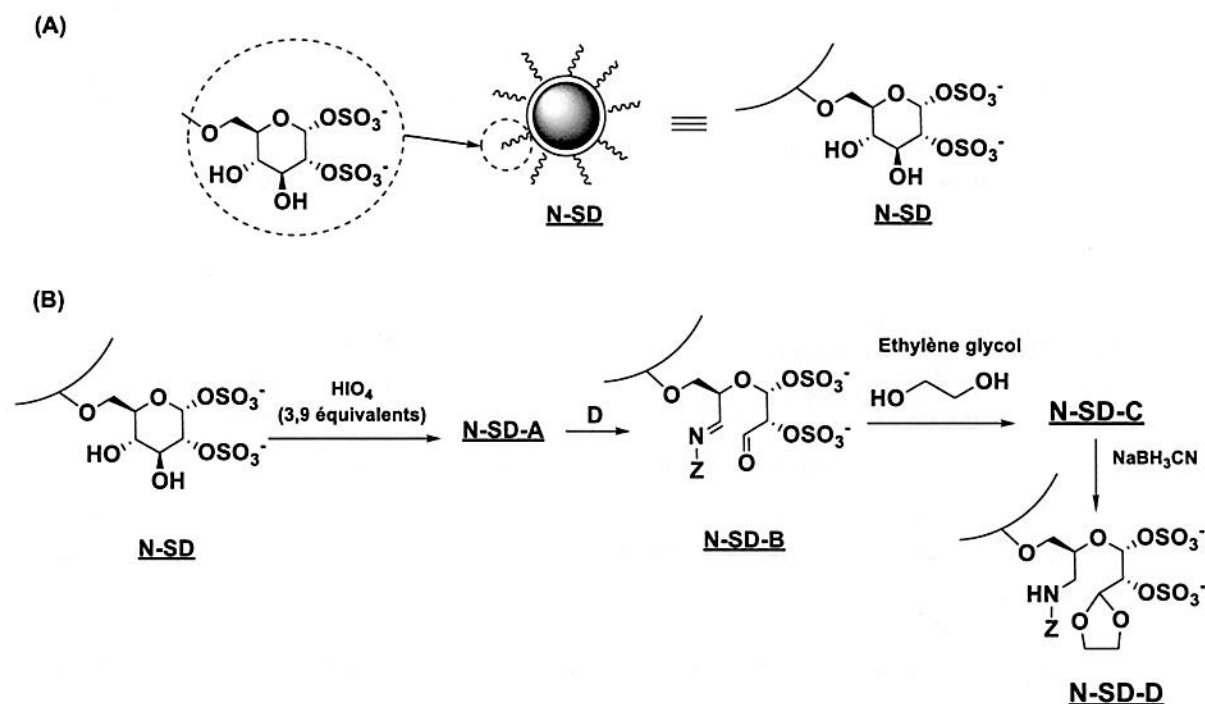


Figure 9 : (A) Représentation schématique de N-SD. (B) Schéma de l'étape de greffage à la surface de N-SD du composé D pour former N-SD-D (cas d'une seule chaîne de dextrane).

32. Proposer une représentation schématique pour N-SD-A et écrire le bilan de sa formation à partir de N-SD.
33. Proposer une représentation schématique de N-SD-C en considérant que le mélange est constitué uniquement de nanoparticules N-SD-B.
34. (*) Proposer un mécanisme de formation de N-SD-C à partir de N-SD-B.
35. Expliquer en quoi l'ajout d'éthylène glycol peut également permettre d'arrêter le processus de greffage D sur les particules.
36. Indiquer en le justifiant un rapport molaire mettant en jeu n_{NSD} , n_{D} ou n_{H} sur lequel l'expérimentateur peut jouer pour moduler la densité de greffage du composé D à la surface des particules.
37. (#) Expliquer pourquoi il est préférable de réaliser l'étape C \rightarrow D avant greffage à la surface plutôt que de rajouter l'éthylènediamine dans la suspension de N-SD-A puis greffer le composé C.
38. Indiquer le rôle du NaBH_3CN lors du passage de N-SD-C à N-SD-D.
39. Une autre voie de synthèse consiste à utiliser NaBH_3CN directement sur N-SD-B pour former une suspension de nanoparticules N-SD-D'. Sachant que NaBH_3CN possède une réactivité du même type que NaBH_4 proposer alors une représentation schématique de N-SD-D' en indiquant le double rôle de NaBH_3CN .

Partie B- Utilisation des nanoparticules N-SD-D en imagerie multimodale

I. Utilisation en tomographie à émission de positrons

Des ions cuivre 64 au degré d'oxydation II peuvent être complexés par N-SD-D pour former des suspensions de nanoparticules (N-SD-D-⁶⁴Cu) utilisables en tomographie à émission de positrons.

Document 3 : principe de la TEP (Tomographie à émission de positrons) selon wikipedia

La TEP repose sur le principe de la scintigraphie consistant à injecter un traceur dont on connaît le comportement et les propriétés biologiques pour obtenir une image du fonctionnement d'un organe. Ce traceur est marqué par un atome radioactif (carbone, fluor, azote, oxygène, cuivre ...) qui émet des positrons (antiparticule de l'électron) dont l'annihilation produit elle-même deux photons. La détection de la trajectoire de ces photons par la caméra TEP permet de localiser le lieu de leur émission et donc la concentration du traceur en chaque point de l'organe. C'est cette information quantitative que l'on représente sous la forme d'une image faisant apparaître en couleurs les zones de forte concentration du traceur.

a. Utilisation du cuivre 64 en tomographie à émission de positrons

L'isotope 64 du cuivre est radioactif. Ce noyau se désintègre spontanément notamment par émission β^+ et β^- . On note λ la constante cinétique globale de désintégration. Sa période radioactive (ou temps de demi-vie) est de 13 h. On définit l'activité radioactive d'une substance que l'on note A comme : $A = -\frac{dN}{dt}$ avec N le nombre de noyaux pères. Elle s'exprime en Becquerel noté Bq. Un Bq équivaut à une désintégration par seconde.

40. Donner la définition de deux noyaux isotopes.

41. Sachant que le cuivre Cu se situe à la 4^{ème} période du tableau périodique des éléments et dans la colonne n°11, déterminer le nombre de protons et de neutrons du noyau de cuivre 64.

42. Écrire les équations bilans des réactions de désintégration β^+ et β^- dans le cas du noyau ⁶⁴Cu sachant que le cuivre se situe dans la classification périodique entre le nickel Ni (10^{ème} colonne) et le zinc Zn (12^{ème} colonne). En déduire que le noyau de ⁶⁴Cu est un noyau adapté à la tomographie par émission de positrons (TEP).

b. Complexation du cuivre 64 – formation de N-SD-D-⁶⁴Cu

Document 4 : Protocoles d'incorporation du cuivre 64 dans N-SD-D

La suspension de N-DS-D obtenue en partie A est mélangée à température ambiante pendant 1 h à une solution aqueuse à pH 7 de ⁶⁴CuCl₂ dont l'activité A_0 est de $4,0 \cdot 10^7$ Bq. On forme ainsi N-DS-D-⁶⁴Cu après purification. Le pourcentage α de cuivre 64 incorporé au sein des nanoparticules est évalué à l'issue des étapes de synthèse et purification (temps total : 110 minutes) par la détermination de l'activité de l'échantillon A_{exp} .

43. Établir l'équation différentielle de l'évolution temporelle de N dans le cas du cuivre 64. En déduire la loi horaire (N en fonction du temps) pour un échantillon de cuivre 64 contenant initialement N_0 atomes.
44. En déduire la loi d'activité (A en fonction du temps) pour le ^{64}Cu pour un échantillon d'activité initiale A_0 atomes où on exprimera A_0 en fonction de N_0 et λ .
45. (#) Déterminer à l'aide du Document 4 et des réponses aux questions précédentes, le pourcentage α de ^{64}Cu complexé au sein de N-SD-D sachant que l'activité lors de l'analyse est de $0,72 \cdot 10^7$ Bq.
- c. Incorporation des nanoparticules *in vivo*

Document 5 : pH intracellulaire et extracellulaire

Le pH intracellulaire (pH_i) est connu pour être un régulateur important de nombreuses fonctions cellulaires. Dans les cellules normales, le pH intracellulaire est inférieur au pH extracellulaire (pH_e), les valeurs pH_i et pH_e se situant principalement dans la plage de 7,0–7,2 et 7,3–7,4 respectivement. Les cellules cancéreuses sont généralement associées à des valeurs plus élevées de $\text{pH}_{i,m}$ (7,12–7,65) et à des $\text{pH}_{e,m}$ plus bas (6,2–6,9).

Document 6 : DOTA et complexation au Cu^{2+}

La molécule de DOTA dont la structure est donnée sur la Figure 10A est un ligand commercial très utilisé pour complexer des cations métalliques (Cu^{2+} , Gd^{3+} , Ga^{2+} ...) très efficacement en solution aqueuse. Il s'agit d'un tétraacide dont les $\text{pK}_{a,1}$ à $\text{pK}_{a,4}$ sont respectivement 4,4 ; 4,5 ; 9,7 et 11,4 à 25°C. La forme la plus acide du DOTA est notée H_4L dans la suite. Les autres formes seront notées H_3L^- , H_2L^{2-} , HL^{3-} et L^{4-} . Le diagramme de distribution des différents complexes susceptibles de se former entre le Cu^{2+} et le ligand DOTA en fonction du pH est donné sur Figure 10B. On note β la constante de formation de CuL^{2-} à partir de Cu^{2+} et L^{4-} .

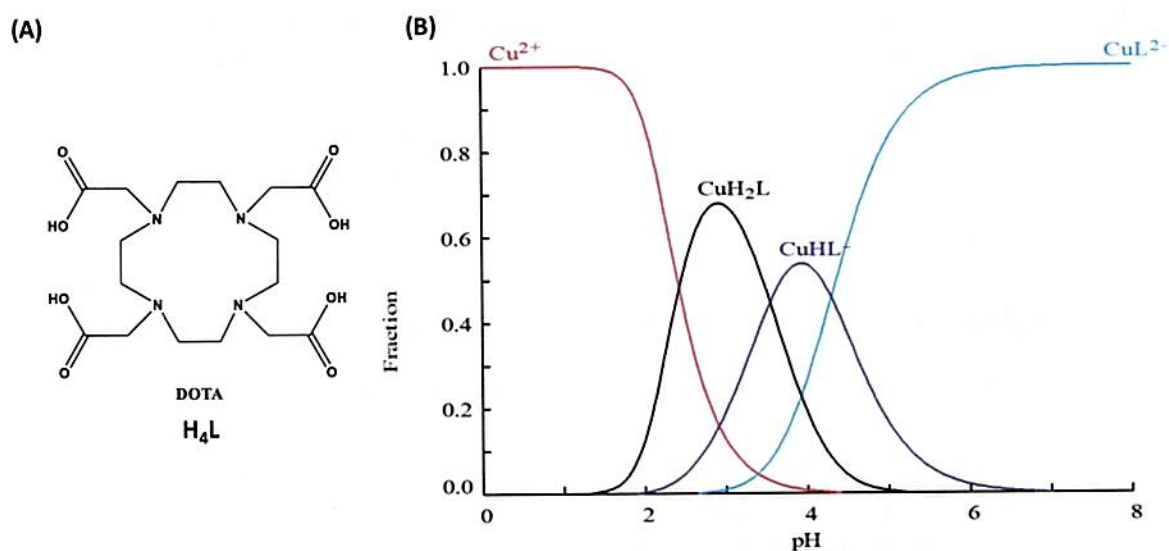


Figure 10 : (A) Structure du ligand DOTA et (B) Diagramme de distribution des différents complexes Cu^{2+} -DOTA en fonction du pH.

Lors de l'incorporation des N-SD-D-⁶⁴Cu dans l'organisme et la fixation de celles-ci aux cellules, il est important que le cuivre ⁶⁴ reste complexé au ligand en surface des nanoparticules pour l'analyse des images TEP. La complexation du cuivre ⁶⁴ aux particules s'effectue notamment grâce à une partie qui s'apparente au ligand DOTA. On se propose dans un premier temps d'étudier la complexation du Cu²⁺ par le ligand DOTA comme modèle puis ensuite la complexation du ⁶⁴Cu²⁺ dans le cadre de la synthèse de N-SD-D-⁶⁴Cu.

46. Expliquer en quoi la conservation du cuivre ⁶⁴ au sein des nanoparticules est primordiale dans le cadre de l'analyse des images TEP.
47. Expliquer pourquoi le complexe CuH₃L⁺ n'est pas indiqué sur la Figure 10B.
48. Identifier, grâce aux Document 5 et 6 et à la Figure 10, la forme du complexe Cu²⁺-DOTA majoritairement présente à pH_c dans le cas de cellules normales. Préciser l'équation de formation de cette forme à partir de Cu²⁺ et de la forme acido-basique pertinente du DOTA à pH_c.
49. (#) Montrer que la formation du complexe précédent est favorisée à pH_c sachant que logβ vaut 22,3.
50. Identifier, grâce aux Document 5 et 6 et la Figure 10, la nouvelle forme du complexe Cu²⁺-DOTA présente à pH_c dans le cas de cellules cancéreuses en comparaison des cellules normales. Préciser l'équation de formation de celle-ci à partir de la forme identifiée en question 48 et estimer la valeur de logK° (logarithme de la valeur de la constante d'équilibre associée) pour celle-ci grâce au diagramme de distribution donné sur la Figure 10B.
51. Montrer que la formation de cette nouvelle forme n'entraîne pas de libération de Cu²⁺ dans le milieu.
52. Lors des tests *in vivo*, on note une libération d'une faible partie des ions Cu²⁺ des nanoparticules N-SD-D-⁶⁴Cu sous forme libre en solution. Proposer deux explications.

II. Utilisation comme agent de contraste pour l'IRM

Document 7 : principe de l'IRM et des agents de contraste IRM (extrait de <http://culturesciences.chimie.ens.fr/> et <https://www.em-consulte.com/en/article/97756>)

La technique d'imagerie par résonance magnétique (IRM) est basée sur le phénomène de la résonance magnétique nucléaire des noyaux d'atomes d'hydrogène – les protons – présents dans les molécules d'eau. Ces protons sont munis d'un moment magnétique (le spin) qui peut occuper deux positions, et qui, en présence du champ magnétique d'un aimant, correspondent à des énergies distantes de ΔE. L'application d'une onde de radiofréquence d'énergie ΔE permet de modifier les états énergétiques des spins. Lors de la coupure de l'onde de radiofréquence, les spins retournent dans leur état fondamental en restituant de l'énergie sous la forme d'un signal IRM. Ce signal, dit de résonance magnétique nucléaire, dépend de la concentration locale en protons et des relaxations longitudinales et transverses T₁, T₂ des protons contenus dans les tissus imagés. L'IRM permet ainsi la lecture des images pondérées en T₁ ou T₂. On localise le signal dans l'espace en modifiant légèrement le champ magnétique à l'aide de gradients de champ. Le codage des images en T₁ implique que plus le temps de relaxation est court, plus l'image est claire (augmentation du

signal). Le codage des images en T2 implique que plus le temps de relaxation est court, plus l'image est sombre (diminution du signal). Dans le cas de l'eau et du milieu cellulaire (intra ou extra), les valeurs de T1 sont comprises entre 2,5 et 5,0 s et pour T2 comprises entre 1,0 et 3,5 s selon la valeur du champ magnétique.

Les agents de contraste IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) sont des espèces destinées à améliorer la qualité des diagnostics par imagerie médicale par résonance magnétique. Lors d'un examen par IRM, certaines régions sont difficiles à visualiser : on accentue alors les contrastes en utilisant des agents de contraste, qui interagissent aussi avec le champ magnétique. L'efficacité des agents de contraste en IRM repose sur la capacité des éléments magnétiques qu'ils contiennent à diminuer les temps de relaxation T1 et T2 de l'eau, et donc à améliorer les contrastes des images. C'est notamment le cas d'espèces paramagnétiques (possédant des électrons célibataires). L'effet sur T1 ou T2 dépend non seulement du type d'agent utilisé mais aussi de sa concentration dans le (ou les) tissu(s) étudié(s). Les temps de relaxation sont donnés en temps par unité de concentration en agent de contraste. On définit également le taux de relaxation R comme l'inverse du temps de relaxation T ($R_i = \frac{1}{T_i}$ avec $i = 1$ ou 2) et le taux de relaxation normalisé par rapport à la concentration en agent de contraste [agent] R' ($R'_i = \frac{1}{T_i \times [\text{agent}]}$) avec $i = 1$ ou 2).

Les SPION s'avèrent particulièrement intéressantes car elles sont superparamagnétiques et donc possèdent des propriétés magnétiques. Elles peuvent donc intrinsèquement être utilisées comme agent de contraste. Toutefois, pour améliorer celui-ci, des ions gadolinium au degré d'oxydation III (Gd^{3+}) peuvent être complexés par N-SD-D pour former des suspensions de nanoparticules (N-SD-D-Gd) permettant une analyse bimodale des images IRM. Des valeurs de taux de relaxation normalisés R'_1 et R'_2 dans le cas de plusieurs agents de contraste sont données dans le tableau ci-dessous. Aucune étude n'ayant encore été menée sur N-SD-D-Gd, les résultats IRM présents dans le tableau concernent un analogue N-Ch-DTPA-Gd dont la structure est donnée sur la Figure 11.

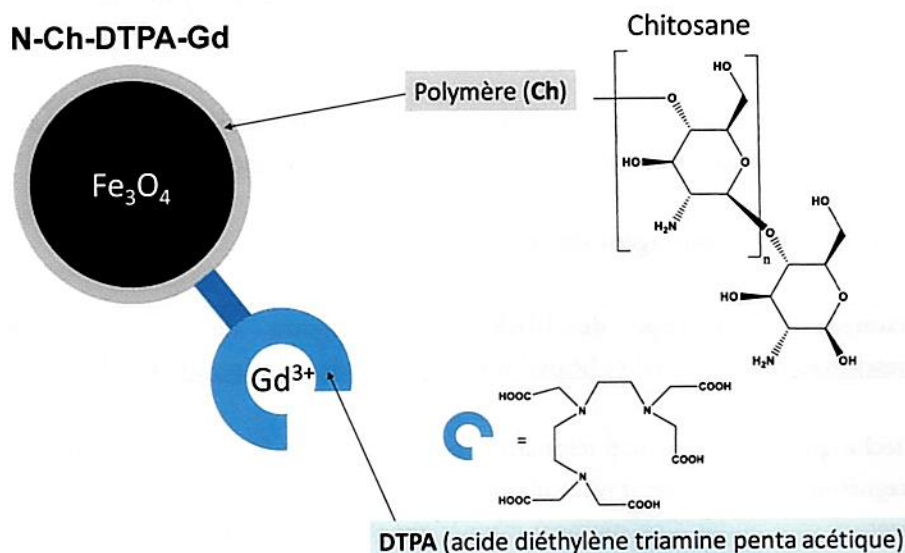


Figure 11 : Structure schématique des nanoparticules N-Ch-DTPA-Gd.

Agent de contraste	$R'_1 / (mmol \cdot L^{-1})^{-1} \cdot s^{-1}$	$R'_2 / (mmol \cdot L^{-1})^{-1} \cdot s^{-1}$
Complexes au Gd^{3+} analogues du GdL ($L = DOTA$)	3 – 7	4 – 9
<u>N-SD</u>	5 – 15	45 – 250 (selon la taille des particules)
<u>N-Ch-DTPA-Gd</u>	$36,0 \pm 0,9$	$361,4 \pm 4,3$

Tableau 1 : Valeur de taux de relaxation normalisé R'_1 et R'_2 dans le cas de plusieurs agents de contraste.

53. Expliquer pourquoi il est important de considérer les taux de relaxation R' et non R dans le Tableau 1.
54. Sachant que le gadolinium est de configuration simplifiée $[\text{Xe}] 4f^7 5d^1 6s^2$, donner la configuration électronique simplifiée de Gd^{3+} . Proposer alors une explication au fait que Gd^{3+} est particulièrement stable.
55. Donner, à l'aide d'une règle que l'on précisera explicitement, le nombre d'électrons célibataires dans le cas de Gd^{3+} et déterminer son spin total. Expliquer alors en quoi il est particulièrement intéressant en tant qu'agent de contraste en vous aidant du Document 7.
56. Expliquer, à l'aide du Document 7, pourquoi les complexes qui augmentent R_1 ou R_2 sont respectivement qualifiés de produit de contraste positif et négatif.
57. Indiquer alors si les SPION (comme N-SD par exemple) sont plutôt des produits de contraste positif ou négatif.
58. De même que précédemment, indiquer si les nanoparticules N-Ch-DTPA-Gd sont plutôt des produits de contraste positif ou négatif. En déduire alors pourquoi ces nanoparticules peuvent être utilisées en IRM bimodale.

Partie C- Synthèse de nanoparticules potentiellement intéressantes pour l'imagerie multimodale de tumeurs cérébrales

Document 8 : La protéine de choc thermique HSP 70

La protéine de choc thermique HSP 70 (Heat Shock Proteins en anglais) peut se fixer aux récepteurs CD 40 qui sont notamment présents sur les cellules cérébrales et surexprimées dans le cas de gliomes (tumeurs cérébrales). Sa structure schématique est donnée sur la Figure 12. Le suffixe « 70 » correspond au poids moléculaire de celle-ci (70 kilodaltons).

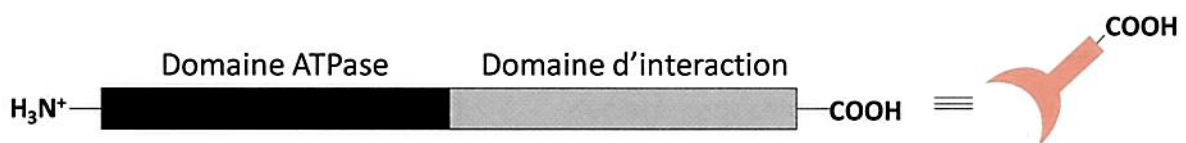


Figure 12 : Structure schématique de HSP 70.

On se propose dans cette dernière partie, d'imaginer la synthèse de nanoparticules SPION N-Ch-DOTA-HSP optimisées pour l'imagerie multimodale de tumeurs cérébrales selon le schéma donné sur la Figure 13.

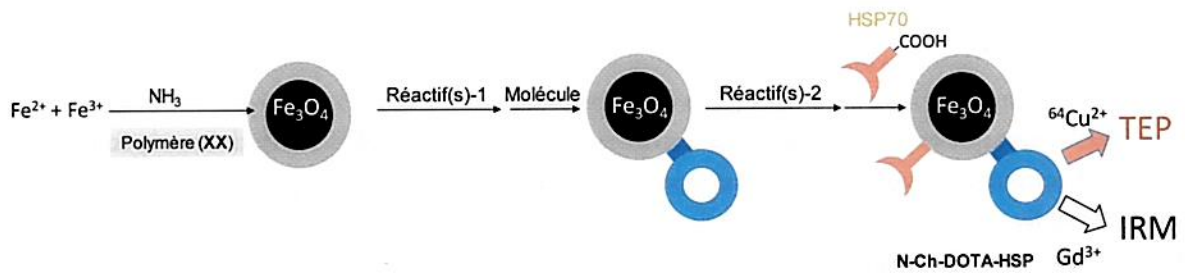


Figure 13 : Schéma de synthèse de nanoparticules SPION N-Ch-DOTA-HSP optimisées pour l'imagerie multimodale de tumeurs cérébrales.

59. (#) En vous inspirant du schéma de la synthèse des nanoparticules N-SD-D (Figure 1) et en vous appuyant sur l'ensemble des résultats, molécules, données et documents présents dans les parties A et B et le Document 8, compléter le schéma de la Figure 13 en proposant : un polymère (abrégé par XX), une molécule (notée Molécule) et un (des) réactif(s) pour deux étapes (1 et 2). On précise qu'une flèche correspond à une seule étape de synthèse mais peut impliquer plusieurs réactifs.
60. Expliquer en quoi les nanoparticules N-Ch-DOTA-HSP de la question précédente permettraient des améliorations par rapport aux N-SD-D en terme de synthèse.
61. Indiquer le bénéfice de l'ajout de HSP70 sur les nanoparticules.

Fin du sujet

Annexe 1 – Tables IR et RMN

Liaison	$\bar{\nu} / \text{cm}^{-1}$
O-H libre	3670 – 3580
OH lié	3400 – 3200
N-H amine	3500 – 3100
N-H amide	3500 – 3100
OH lié (acide carboxylique)	2500 – 3340
C-H aldéhyde	2750 – 2900
C=O Halogénure d'acyle	1750 – 1850
C=O anhydride	1700 – 1840
C=O acide carboxylique libre	1700 – 1730
C=O ester	1700 – 1750
C=O aldéhyde	1720 – 1740
C=O cétone	1650 – 1730
C=O acide carboxylique lié	1680 – 1710
C=O amide	1650 – 1700
C=C	1600 – 1700
C=N	1600 – 1680
C=C aromatique	1450 – 1600

Table IR en cm^{-1} .

Proton ^1H	Déplacement chimique (ppm)
Proton aromatique	6,5 – 8,0
–O– <u>CH</u> –	3,5 – 5,0
–N– <u>CH</u> –	2,5 – 4,5
–O <u>H</u> (hydroxyle)	déplacement chimique très variable signal généralement large
–N <u>H</u> –	
R ₃ <u>CH</u> (tertiaire)	1,4 – 1,8
R ₂ <u>CH</u> ₂ (secondaire)	1,0 – 1,3
R <u>CH</u> ₃ (primaire)	0,8 – 1,7

Table de déplacements chimiques en ppm en RMN du proton.

Annexe 2 – Données

- Données :
 - $\frac{RT \ln 10}{F} = 0,06 \text{ V à } 25^\circ\text{C}$
 - $E^\circ(\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}) = 0,77 \text{ V à } 25^\circ\text{C}$
 - $\text{Log}(2) = 0,30$

- Tableau de pK_a :

HBr/Br ⁻	Phénylalanine		RCOOH ₂ ⁺ /RCOOH	NH ₄ ⁺ /NH ₃
-9	2,6	9,2	≈-6,0	9,2
HNEt ₃ ⁺ /NEt ₃	NH ₃ /NH ₂ ⁻	NHS/NHS ⁻	RCONH ₂ ⁺ R'/RCONHR'	ROH/RO ⁻
11	38	> 14	< 0	16 - 18

- Fonctions logarithme népérien (ln) et exponentielle (exp)

