

NE NOUS ENFLAMMONS PAS !

ÉPREUVE PRATIQUE – SUJET

DOCUMENT D'ANNALE

Durée de l'épreuve : 3 h 30

Le document comporte 7 pages.

NOTES IMPORTANTES

- *Les candidats sont totalement responsables de la gestion du temps, de l'organisation de leur travail et de l'utilisation des données fournies dans le sujet, en particulier les données de sécurité.*
- *Les candidats respecteront l'ordre des parties proposé dans le document.*
- *Le compte-rendu sera rédigé sous la forme d'un « cahier de laboratoire ». Une notice précisant les attentes concernant celui-ci est fournie en ANNEXE.*
- *L'évaluation portera sur la compréhension des phénomènes, la qualité des gestes expérimentaux et des résultats obtenus, ainsi que sur la capacité du candidat à communiquer, aussi bien à l'écrit qu'à l'oral.*

IL EST ATTENDU DU CANDIDAT UN RESPECT DE L'ENSEMBLE DES RÈGLES DE SÉCURITÉ POUR LES PERSONNES ET LES BIENS.

Introduction :

Dans la pratique sportive, le risque de blessure ne doit pas être négligé et il donne lieu à des mesures de prévention importantes. Malgré tout, des accidents peuvent se produire et contraindre les athlètes au repos. Pour atténuer la douleur, apaiser l'inflammation et accélérer la récupération, les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (comme l'aspirine, l'ibuprofène ou le diclofénac) peuvent accompagner la guérison. Contrairement aux corticoïdes, ils ne sont pas considérés comme produits dopants. En vente libre pour certains, ils sont faciles d'accès et sont parfois même utilisés à titre préventif. Toutefois, comme tout médicament, leur usage régulier sans suivi médical n'est pas recommandé.

Pour améliorer les médicaments et diminuer leurs effets secondaires éventuels, la recherche pharmaceutique développe régulièrement de nouvelles solutions. L'une des stratégies consiste à modifier une molécule connue pour en améliorer les propriétés. Vient ensuite un long processus de tests rigoureux pour vérifier l'activité des nouveaux dérivés et leur innocuité. Une fois les principes actifs autorisés par les Autorités Sanitaires, ils sont mélangés à

différents additifs pour en contrôler la dose, les conditionner et en faciliter l'utilisation. On les trouve alors sous forme de crèmes, comprimés, suppositoires...

Le présent sujet se décompose en deux parties. Dans un premier temps, on s'intéressera à la synthèse de l'un des dérivés de la 4-aminoantipyrine puis, dans un second temps, on mettra en œuvre une méthode de dosage du diclofénac dans un comprimé commercial.

- **Partie A** : Synthèse d'un dérivé de la 4-aminoantipyrine

- **Partie B** : Dosage du diclofénac dans un comprimé

A. Synthèse d'un dérivé de la 4-aminoantipyrine

La 4-aminoantipyrine est un principe actif aux propriétés analgésiques et anti-inflammatoires mais son utilisation est déconseillée. En effet, un surdosage risquerait de causer une baisse sévère du taux de globules blancs. Des chercheurs indiens proposent de l'utiliser comme précurseur d'autres anti-inflammatoires, non encore commercialisés [Réf. 1]. Ils espèrent ainsi en améliorer l'efficacité tout en réduisant les effets secondaires.

L'objectif de cette partie est donc de réaliser la synthèse d'un des dérivés de la 4-aminoantipyrine, la **4-((3-nitrophényl)(8-hydroxyquinolinyl)méthylamino)-1,5-diméthyl-2-phénylpyrazol-3-one** par la réaction de Betti. Ainsi on envisage la réaction de la 4-aminoantipyrine avec le 3-nitrobenzaldéhyde et la 8-hydroxyquinoléine à température ambiante selon le schéma de synthèse suivant :

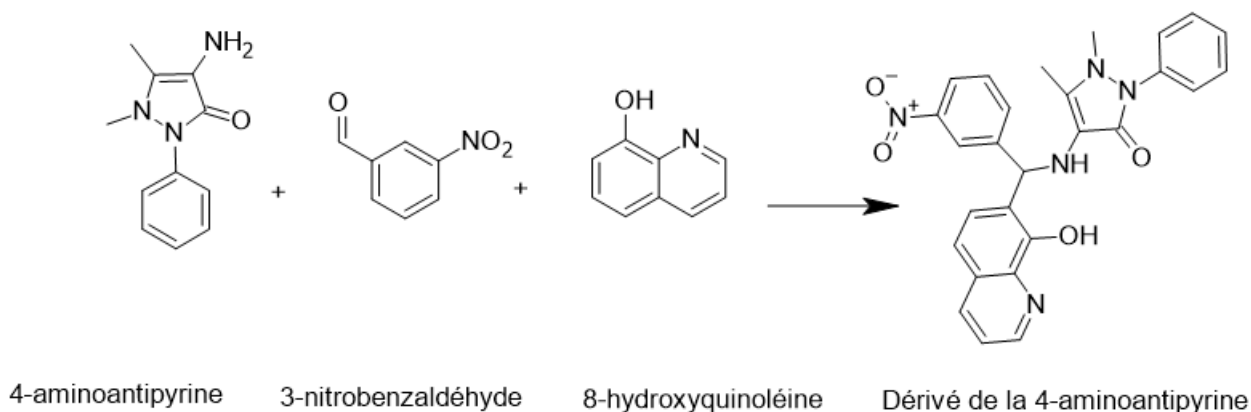


Fig. 1 : schéma de synthèse du dérivé de la 4-aminoantipyrine

- Dans un ballon de 100 mL contenant déjà 1,47 g de 8-hydroxyquinoléine, introduire :
 - une olive magnétique,
 - 1,51 g de 3-nitrobenzaldéhyde (masse prépesée),
 - 2,04 g de 4-aminoantipyrine (masse prépesée),
 - 10 mL d'éthanol.
- Adapter un réfrigérant à air puis placer sous agitation pendant 15 minutes.
- À l'issue du temps d'agitation, placer le ballon dans un bain {eau + glace} pendant 5 minutes environ.
- Introduire ensuite dans le ballon 60 mL d'eau glacée.
- Filtrer le solide sur Büchner et le laver à l'eau glacée.
- Essorer le solide sous vide.
- Mesurer la masse de produit brut humide obtenu.

Appel n°01 – Décrire un protocole permettant la purification par recristallisation du solide brut obtenu afin de récupérer un produit purifié et sec.

Protocole distribué au candidat à l'issue de l'appel n°01 :

- Introduire environ exactement 2 g de solide brut humide dans un erlenmeyer rodé de 250 mL ainsi qu'un barreau aimanté. Le reste du solide brut humide sera récupéré par le jury.
- Ajouter 100 mL de solvant de recristallisation.
- Adapter un réfrigérant à eau sur l'erlenmeyer et porter la solution à reflux.
- Par le haut du réfrigérant, ajouter le solvant de recristallisation par fractions de 10 mL en maintenant le reflux jusqu'à dissolution totale du solide.
- Lorsque le solide est dissous, laisser refroidir 5 minutes à l'air libre puis 5 minutes dans un bain d'eau et enfin 10 à 15 minutes dans un bain {eau + glace} jusqu'à recristallisation totale.
- Filtrer le solide sur Büchner et le laver avec un minimum de solvant de recristallisation préalablement refroidi.
- Essorer le solide sous vide.
- Placer le solide recristallisé dans une coupelle. Il sera récupéré par le jury en vue de son séchage à l'étuve.

Appel n°02 – A l'aide des données physico-chimiques fournies, proposer un solvant adéquat pour effectuer la recristallisation du produit brut obtenu.

- Réaliser la purification par recristallisation d'environ exactement 2 g de solide brut humide selon le protocole distribué.
- Réaliser une chromatographie sur couche mince dans les conditions suivantes pour vérifier que la purification a été efficace :
 - Éluant prêt à l'emploi : cyclohexane / éthanoate d'éthyle (35 / 65 en volume).
 - Dépôt du produit brut : dissoudre une pointe de spatule de produit brut dans 10 mL d'éthanoate d'éthyle.
 - Dépôt du produit purifié : dissoudre une pointe de spatule de produit purifié dans 10 mL d'éthanoate d'éthyle.
 - Dépôt du dérivé de la 4-aminoantipyrine pur : utiliser la solution dans l'éthanoate d'éthyle à disposition.
- Pendant l'élution, mesurer la température de fusion du produit recristallisé à l'aide d'un banc Köfler et conclure.

B. Dosage du diclofénac dans un comprimé « Voltarène® 75 mg LP »

Le diclofénac est une molécule anti-inflammatoire couramment utilisée sous sa forme sodique pour soulager les inflammations articulaires. Pour préparer différentes formulations (comprimés, crèmes, suppositoires...), ce principe actif est mélangé à d'autres molécules sans rôle thérapeutique appelées excipients (colorants, agents de texture, ...). Afin d'assurer l'efficacité du médicament et d'éviter tout surdosage, il est essentiel de contrôler la masse exacte de diclofénac contenue dans les comprimés. L'objectif de cette partie est de mettre en œuvre une nouvelle méthode de dosage, trouvée dans la littérature, et de vérifier que les résultats obtenus sont conformes.

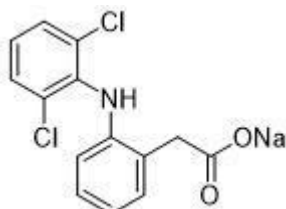


Fig. 2 : formule topologique du diclofénac sodique

Préparation de la solution S_C à doser :

On s'intéresse à des comprimés vendus contenant, d'après le fabricant, 75 mg de diclofénac. Afin de vérifier cette masse (prise comme valeur de référence), on décide de doser le diclofénac contenu dans un comprimé de Voltarène®. On commence par préparer une solution de diclofénac dissous dans l'éthanol à partir d'un comprimé commercial. Cette solution, appelée « S_C », d'une concentration en masse supposée égale à $C_C = 3,0 \times 10^{-2} \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, sera dosée par la suite.

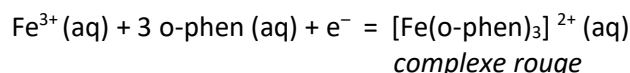
Appel n°03 - Sachant que certains excipients sont insolubles dans l'éthanol, proposer un protocole permettant de préparer la solution S_C avec une concentration en masse égale à $C_C = 3,0 \times 10^{-2} \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

.....

Protocole distribué au candidat à l'issue de l'appel n°03 :

- Dans un mortier, broyer un comprimé de Voltarène®.
 - Introduire la poudre obtenue dans un bécher de 100 mL et ajouter environ 50 mL d'éthanol.
 - Placer le bécher sous agitation magnétique pendant 5 minutes.
 - Réaliser une filtration simple du contenu du bécher au-dessus d'une fiole jaugée de 100 mL.
 - Rincer le solide avec 3 portions de 10 mL d'éthanol.
 - Compléter la fiole avec de l'éthanol.
 - À l'aide d'une pipette jaugée de 10 mL et d'une fiole jaugée de 250 mL, diluer 25 fois la solution obtenue précédemment avec de l'eau distillée.
-

Le dosage du principe actif dans un comprimé commercial de Voltarène® est réalisé par spectrophotométrie [Réf. 2 et 3]. En présence d'ions Fer (III), le diclofénac subit une transformation relativement lente, modélisée par une réaction d'oxydation, tandis que la transformation quantitative des ions Fer (III) est modélisée par une réduction en ions Fer (II). Pour pouvoir suivre l'évolution de cette transformation, elle est conduite en présence d'un excès d'orthophénanthroline (notée o-phen). Cette dernière forme un complexe rouge avec les ions Fer (II) dès leur apparition. Le processus global est modélisé par la demi-équation électronique suivante :



Les excipients contenus dans le comprimé sont susceptibles d'influencer le comportement spectrophotométrique. Ainsi, il est délicat de réaliser une gamme d'étalonnage classique avec le diclofénac pur sans tenir compte des autres constituants. Pour contourner ce problème, on utilise la méthode dite « des ajouts dosés » : on réalise une gamme en ajoutant des quantités connues de l'espèce à doser à la solution de concentration inconnue. Dans le cas étudié ici, on propose d'ajouter différents volumes d'une solution de diclofénac pur de concentration $C^* = 9 \times 10^{-2} \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ à la solution S_C à doser.

Solution	S_0	S_1	S_2	S_3	S_4	S_5
Volume de la solution S_C introduit (mL)	5	5	5	5	5	5
Volume ajouté de la solution de diclofénac pur « V_{ajout} » (mL)	0	1	2	3	4	5
Volume de solution d'ions fer (III) à $10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (mL)	9	9	9	9	9	9
Volume de solution d'orthophénanthroline à $2 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (mL)	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5
Volume de solution V_{total} (mL)	50	50	50	50	50	50
Absorbance A mesurée à 510 nm	0,033	0,062	0,092	0,114	0,152	0,183

Les solutions S_0 à S_5 ont été préparées en amont. Leur absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 510 nm. Préalablement le blanc du spectrophotomètre a été réalisé en utilisant une solution contenant 9 mL de solution d'ions fer (III) à $10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ et 17,5 mL de solution d'orthophénanthroline à $2 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Le graphique ci-dessous représente les variations de l'absorbance A en fonction de V_{ajout} .

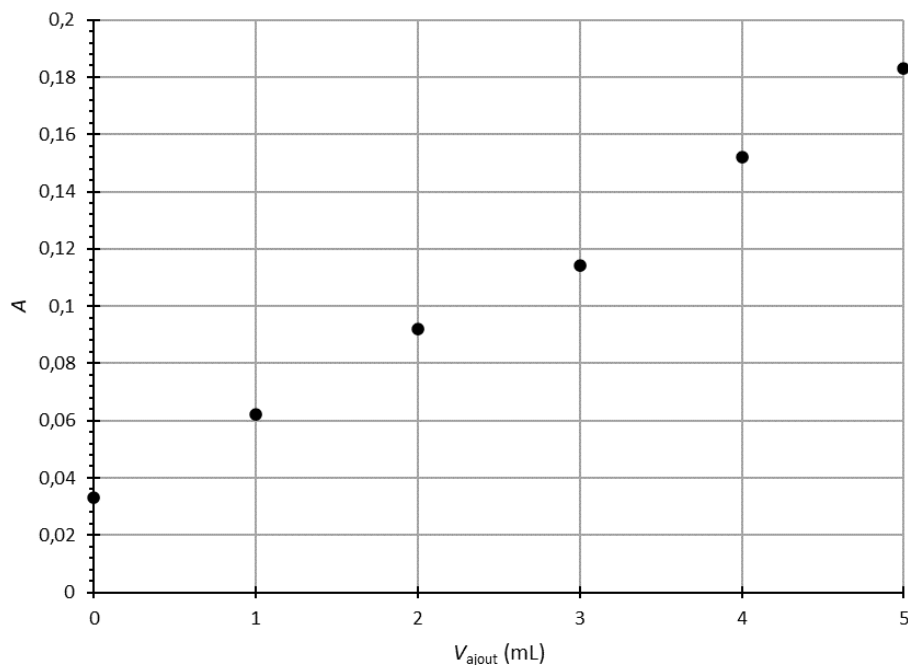


Fig.3 : absorbance à 510 nm des solutions S_0 à S_5 en fonction de « V_{ajout} »

Dans un premier temps, on souhaite vérifier la mesure d'une valeur d'absorbance d'une solution préparée dans les mêmes conditions que la solution S_5 .

Appel n°04 - Indiquer la nature de la verrerie à utiliser pour préparer la solution S_5 .

.....
Protocole distribué au candidat à l'issue de l'appel n°04 :

- Dans une fiole jaugée de 50 mL, introduire successivement :
 - 5 mL de la solution S_C , mesurés à la pipette jaugée,
 - 5 mL de la solution de diclofénac pur, mesurés à la pipette jaugée,
 - 17,5 mL de la solution d'orthophénanthroline, mesurés avec une éprouvette graduée,
 - 9 mL de la solution d'ions fer (III), mesurés à la pipette graduée.
- Compléter la fiole à l'eau distillée.
- Remplir à mi-hauteur un tube à essais avec une partie de cette solution.
- Boucher ce tube à essais et le mettre à chauffer au bain-marie à 60 °C pendant 25 minutes.
- À l'issue de ce temps de chauffage, ramener ce tube à température proche de l'ambiante à l'aide d'un bain {eau + glace}.

-
- Préparer la solution S_5 conformément au protocole distribué.
 - Mesurer la valeur de l'absorbance de cette solution S_5 à 510 nm.
 - Comparer le résultat obtenu à la valeur indiquée dans le tableau précédent, en admettant que l'incertitude-type associée à la mesure d'absorbance est : $u(A) = 2 \times 10^{-3}$.

On admettra qu'on peut valider le résultat si le quotient $\frac{|A - A_{\text{réf}}|}{u(A)}$ est inférieur ou égal à 2.

Exploitation des résultats expérimentaux

Selon la méthode des ajouts dosés, la courbe $A = f(V_{\text{ajout}})$ est une droite dont les paramètres donnent la concentration en masse C_0 du diclofénac dans la solution S_0 :

$$C_0 = \frac{b \times C^*}{a \times V_{\text{total}}}$$

où $\left\{ \begin{array}{l} \text{« a » désigne le coefficient directeur de la droite obtenue,} \\ \text{« b » désigne l'ordonnée à l'origine de la droite obtenue,} \\ \text{« } V_{\text{total}} \text{ » est exprimé en mL,} \\ \text{« } C_0 \text{ » et « } C^* \text{ » sont exprimées dans la même unité.} \end{array} \right.$

- Déterminer la valeur de la masse « m » de diclofénac dans le comprimé de Voltarène® étudié.
- Comparer le résultat obtenu à la valeur de référence en admettant que l'incertitude-type associée à la valeur expérimentale est égale à : $u(m) = 4 \text{ mg}$.

On admettra qu'on peut valider le résultat si le quotient $\frac{|m - m_{\text{réf}}|}{u(m)}$ est inférieur ou égal à 2.

Références bibliographiques

[Réf. 1] I. Mohanram, J. Meshram, International Scholarly Research Notices, vol. 2014, Article ID 639392.
<https://doi.org/10.1155/2014/639392>

[Réf. 2] A. M. ELDidamony & A. S. Amin (2004) Analytical Letters, 37:6, 1151-1162.
<http://dx.doi.org/10.1081/AL-120034060>

[Réf. 3] L. Solé-Violán, B. Devallez (2023), BUP n°1056, p. 619-623.
https://bupdoc.udppc.asso.fr/consultation/une_fiche.php?ID_fiche=23937

DONNÉES PHYSICO-CIMIQUES ET DONNÉES DE SÉCURITÉ

MASSES MOLAIRES MOLÉCULAIRES DES ESPÈCES MISES EN JEU

Espèce chimique	Masse molaire en g·mol ⁻¹
3-nitrobenzaldéhyde	151,12
4-aminoantipyrine	203,24
8-hydroxyquinoléine	145,16
Éthanol	46,07
4-((3-nitrophényl) (8-hydroxyquinolinyl)méthylamino) -1,5-diméthyl-2-phénylpyrazol-3-one	481,51
Diclofénac sodique	318,15



TEMPÉRATURES DE CHANGEMENT D'ÉTAT À PRESSION ATMOSPHÉRIQUE






Espèce chimique	Température de fusion	Température d'ébullition
3-nitrobenzaldéhyde	57 °C	164 °C
4-aminoantipyrine	108 °C	340 °C
8-hydroxyquinoléine	72 °C	267 °C
Éthanol	- 114 °C	79 °C
Chloroforme	- 64 °C	62 °C
4-((3-Nitrophényl) (8-hydroxyquinolinyl)méthylamino) -1,5-diméthyl-2-phénylpyrazol-3-one	220 °C	Sans objet
Éthanoate d'éthyle	- 84 °C	77 °C
Cyclohexane	6 °C	81 °C
Diclofénac	158 °C	412 °C




DONNÉES DE SOLUBILITÉ

Espèce chimique	Solubilité dans l'eau		Solubilité dans l'éthanol		Solubilité dans le chloroforme	
	à froid	à chaud	à froid	à chaud	à froid	à chaud
3-nitrobenzaldéhyde	Insoluble	Peu soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
4-aminoantipyrine	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
8-hydroxyquinoléine	Insoluble	Insoluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
4-((3-Nitrophenyl)(8-hydroxyquinolinyl)methylamino)-1,5-dimethyl-2-phenylpyrazol-3-one	Insoluble	Insoluble	Insoluble	Soluble	Insoluble	Soluble
Diclofénac sodique	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble

DONNÉES DE SÉCURITÉ (Source : INRS)

NOM	DANGER
3-nitrobenzaldéhyde 	<p>H411 - Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme</p> <p>H302 - Nocif en cas d'ingestion</p> <p>H319 - Provoque une sévère irritation des yeux</p> <p>H335 - Peut irriter les voies respiratoires</p> <p>H315 - Provoque une irritation cutanée</p> <p>P280 - Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage</p> <p>P261 - Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols</p> <p>P273 - Éviter le rejet dans l'environnement</p> <p>P301 + P312 - EN CAS D'INGESTION : appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise</p>
4-aminoantipyrine 	<p>H302 - Nocif en cas d'ingestion.</p> <p>P264 - Se laver la peau soigneusement après manipulation.</p> <p>P270 - Ne pas manger, boire ou fumer en manipulant ce produit.</p> <p>P301 + P312 - EN CAS D'INGESTION : Appeler un CENTRE ANTIPOISON/ un médecin en cas de malaise.</p> <p>P501 - Éliminer le contenu/ récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée.</p>

<p style="text-align: center;">8-hydroxyquinoléine</p> 	<p>H301 - Toxique en cas d'ingestion H317 - Peut provoquer une allergie cutanée H318 - Provoque de graves lésions des yeux H360 - Peut nuire à la fertilité ou au fœtus H410 - Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme P302 + P352 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : laver abondamment à l'eau et au savon P305 + P351 + P338 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer P310 - Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin P280 - Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage</p>
<p style="text-align: center;">4-((3-nitrophenyl)(8-hydroxyquinolinyl)methylamino)-1,5-dimethyl-2-phenylpyrazol-3-one</p>	<p>Pas de données disponibles à ce jour.</p>
<p style="text-align: center;">Éthanol</p> 	<p>H225 – Liquide et vapeurs très inflammables. P210 – Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.</p>
<p style="text-align: center;">Chloroforme</p> 	<p>H302 - Nocif en cas d'ingestion H315 - Provoque une irritation cutanée H319 - Provoque une sévère irritation des yeux H331 - Toxique par inhalation H351 - Susceptible de provoquer le cancer H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme P302 + P352 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : Laver abondamment à l'eau. P304 + P340 + P311 - EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler un CENTRE ANTIPOISON/ un médecin.</p>
<p style="text-align: center;">Cyclohexane</p> 	<p>H225 – Liquide et vapeurs très inflammables. H304 – Peut être mortel en cas d'ingestion et de pénétration dans les voies respiratoires. H315 – Provoque une irritation cutanée. H336 – Peut provoquer somnolence ou vertiges. H410 – Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P210 – Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer. P273 – Éviter le rejet dans l'environnement. P301 + P310 + P331 – EN CAS D'INGESTION : Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. NE PAS faire vomir.</p>
<p style="text-align: center;">Éthanoate d'éthyle</p> 	<p>H225 – Liquide et vapeurs très inflammables. H319 – Provoque une sévère irritation des yeux. H336 – Peut provoquer somnolence ou vertiges. EUH066 – L'exposition répétée peut provoquer dessèchement ou gerçures de la peau. P210 – Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.</p>

	<p>P305 + P351 + P338 – EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.</p>
<p>Solution éthanolique de diclofénac</p> 	<p>H225 – Liquide et vapeurs très inflammables.</p> <p>P210 – Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.</p>
<p>Solution d'orthophénanthroline</p> 	<p>H412- Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme</p> <p>P273 - Éviter le rejet dans l'environnement</p>
<p>Solution d'ions fer III</p> 	<p>H412- Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme</p> <p>P273 - Éviter le rejet dans l'environnement</p>