

GRASSART Maximilien

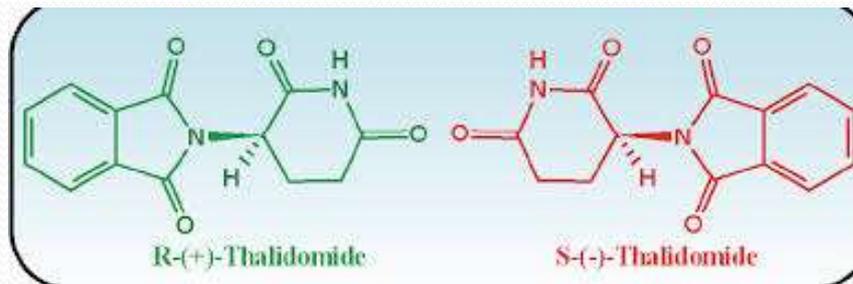
Candidat n°23280

Séparation énantiomérique  
par chromatographie

# La séparation énantiomérique

Introduction : Les enjeux de la pureté énantiomérique

- Qu'est ce que la séparation énantiomérique ?
- Quel est son intérêt ?



# Problématique

Quelle est l'efficacité d'un dédoublement cinétique d'un mélange racémique d'alcools en présence d'un auxiliaire chiral ?



# Plan

## I. De la bibliographie au projet

- 1) Etudes de documents
- 2) Le projet

## II. Mise en œuvre

- 1) Estérification énantiosélective
- 2) Contrôle : Chromatographie sur couche mince (CCM)
- 3) Séparation : Chromatographie colonne et contrôle par CCM
- 4) Préparation à l'analyse

## III. Analyses à l'issue de la première résolution

- 1) Soucis techniques
- 2) Traitement d'image
- 3) Mesure de l'activité optique chez Sanofi

## IV. Deuxième résolution

## V. Analyses à l'issue de la deuxième résolution

## VI. Conclusion

# I. De la bibliographie au projet

## 1) Etudes de documents

### Determination of Absolute Configuration of Secondary Alcohols Using Thin-Layer Chromatography

Alexander J. Wagner and Scott D. Rychnovsky\*

Department of Chemistry, 1101 Natural Sciences II, University of California—Irvine, Irvine, California 92697, United States

Supporting Information

**ABSTRACT:** A new implementation of the competing enantioselective conversion (CEC) method was developed to qualitatively determine the absolute configuration of non-enriched secondary alcohols using thin-layer chromatography. The entire process for the method requires approximately 60 min and utilizes measurable quantities of the secondary alcohol being tested. A number of synthetically relevant secondary alcohols are presented. Additionally,  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy was conducted on all samples to provide evidence of reaction conversion that supports the qualitative method presented herein.

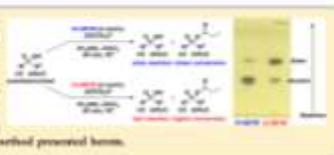


Figure 1. Reagent HBTM catalyst.<sup>20</sup> The *S* enantiomer is shown.

The determination of absolute configuration of enantiomerically enriched stereocenters is an important step in the process of characterizing isolated natural products and novel synthetic compounds.<sup>1–3</sup> There are a number of methods used to determine absolute configuration including the advanced Mosher method,<sup>4–6</sup> chiral derivatization reagents,<sup>7</sup> vibrational circular dichroism,<sup>8</sup> x-ray crystallography,<sup>9–11</sup> NMR spectroscopic chiral shift reagents,<sup>12–15</sup> ligand-catalyzed resolutions,<sup>16</sup> and X-ray crystallographic analysis.<sup>17</sup>

We recently reported the competing enantioselective conversion (CEC) method for determining absolute configuration which utilizes each enantiomer of a kinetic resolution reagent (enolfin or stannochlorin) in parallel reactions where the determination is guided by a difference in the rate between the parallel reactions.<sup>18–20</sup> A subsequent study confirmed the absolute configuration based on the fast reacting enantiomer of the kinetic resolution reagent. The method is a modern implementation of the Huzar method.<sup>21–23</sup> Our method has been reported for secondary alcohols as well as  $\alpha$ -methylamino, lactams, and thioamides where the parallel reactions were analyzed by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy to determine reaction conversion at a specified time. A similar strategy was developed for primary amines where the parallel reactions of proline and decursin chiral resolving reagents were analyzed by mass spectrometry.<sup>24</sup>

To decrease the versatility of the general method, we decided to investigate the use of thin-layer chromatography (TLC) as an additional characterization technique that could be utilized in assisting the analysis of the fast and slow parallel reactions to determine absolute configuration. Secondary alcohols are one of the most common functional groups incorporated in polyketide, terpenes, and nucleotide natural products and thus were chosen as test substrates. Our previous report for determining the absolute configuration of secondary alcohols used Breslow's homochiraltrimethylsilyl (HBTM) kinetic resolution catalyst (Figure 1),<sup>20</sup> which was also used

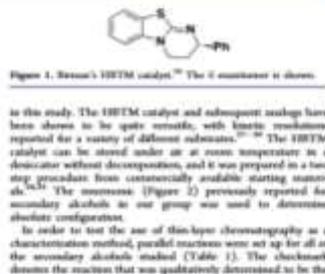


Figure 2. Predictive reagents used in determining the absolute configuration of secondary alcohols using each enantiomer of the HBTM catalyst.

Received: February 27, 2013

Published: April 17, 2013

ACS Publications

© 2013 American Chemical Society

DOI: 10.1021/acs.jchemeduc.3b00400

Alcool	Conversion (en % avec l'enzyme S)	Conversion (en % avec l'enzyme R)
R-1	85	50
S-1	49	91
R-2	84	43
S-2	46	79
R-3	89	47
S-3	46	87

Article d'Alexander J. Wagner et Scott D. Rychnovsky  
Determination of Absolute Configuration of Secondary Alcohols Using Thin-Layer Chromatography  
Journal of Chemical Education

# I. De la bibliographie au projet

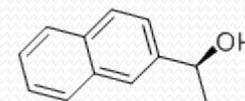
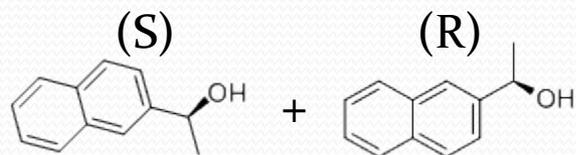
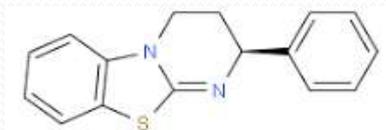
## 2) Le projet

<b>Alcool</b>	R-3	S-3
<b>Conversion (% avec Enzyme S)</b>	89	46

(Bibliographie)		(Bibliographie)		
Résidu d'alcool en mélange	Taux de résidu d'alcool	Mélange d'alcool en traitement	taux de conversion en ester	Mélange d'ester
R: 6 % S: 27 % 33 % m=0,0426g	11 % 54 %	m=0,129g R : 50 % S : 50 %	89 % 46 %	45 % : R 23 % : S 68 %
R: 2 % S: 45 % 47 % m=0,0200g	11 % 54 %	m=0,0426g R : 17 % S : 83 %	89 % 46 %	15 % : R 38 % : S 53 %
		m=0,0200g R : 4 % S : 96 %		

Mélange d'alcools final ( théorique )

(S)-HBMT



Mélange racémique alcool S et R  
1-(2-naphtyl) éthanol

Séparer alcool (S) pur

# II. Mise en œuvre

## 1) Estérification énantiosélective

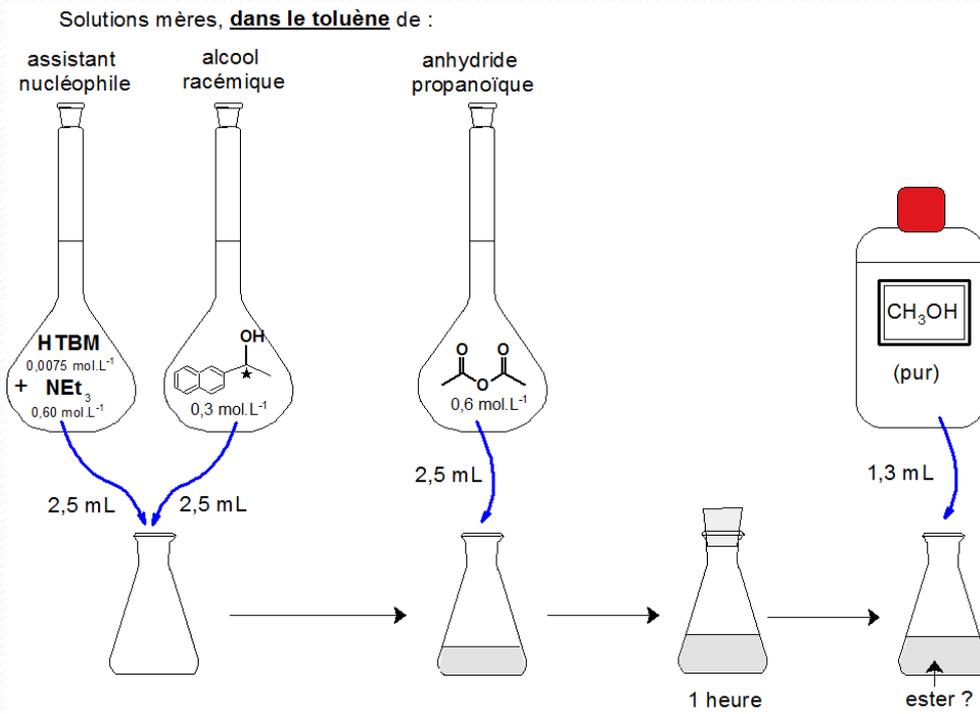
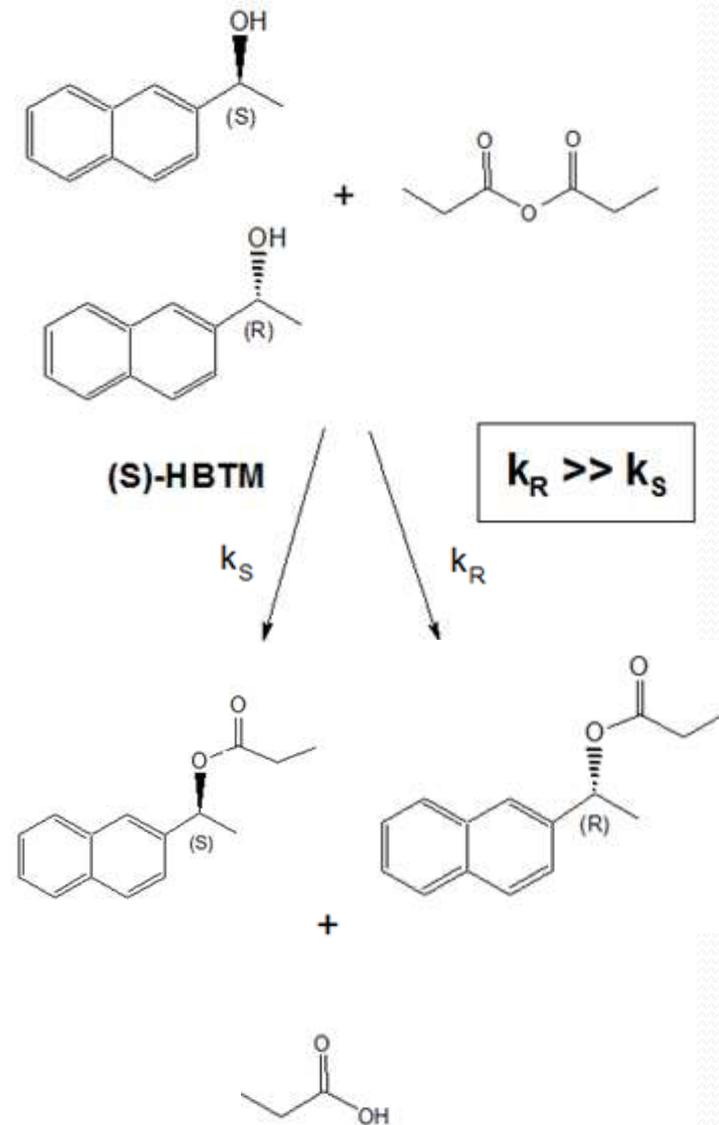


Schéma réactionnel :



## II. Mise en œuvre

2) Contrôle : Chromatographie sur couche mince (CCM)



→ Ester

→ Alcool

→ Acide carboxylique ?

A

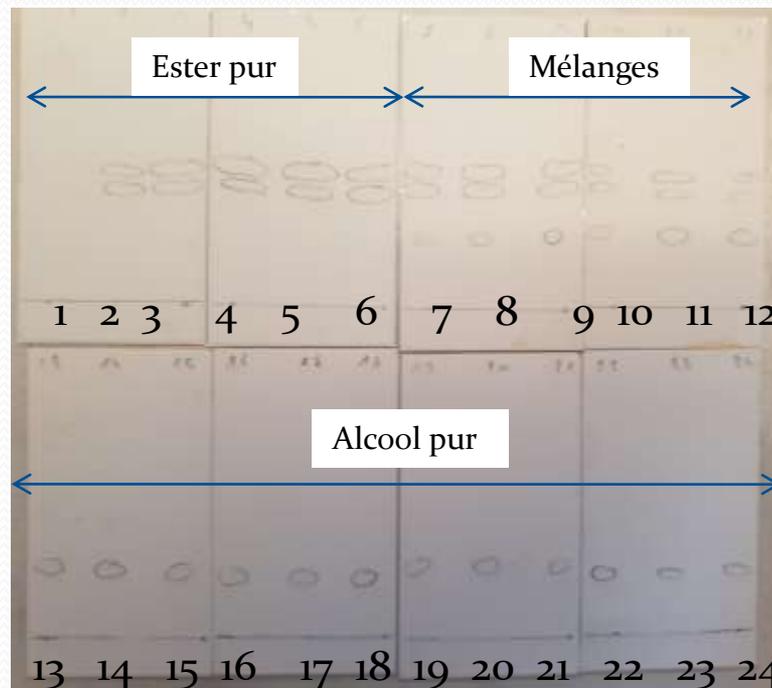
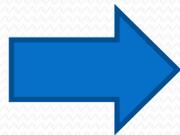
B

A : Produits après résolution

B : Mélange racémique initial

## II. Mise en œuvre

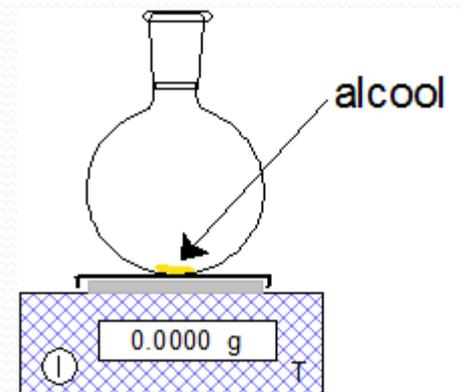
### 3) Séparation : Chromatographie colonne et contrôle par CCM



Eluant : mélange heptane/acétate d'éthyle 4/1

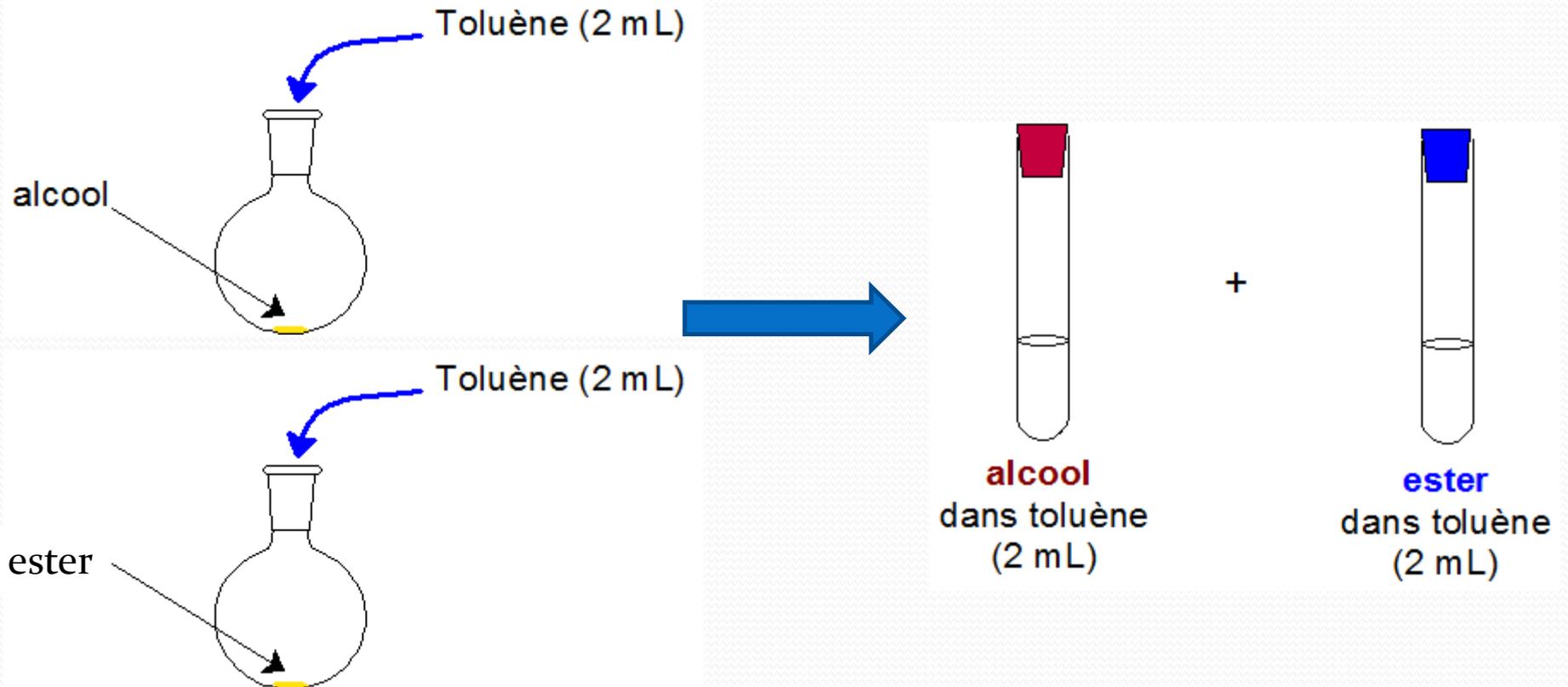
## II. Mise en œuvre

### 4) Préparation à l'analyse



## II. Mise en œuvre

### 4) Préparation à l'analyse



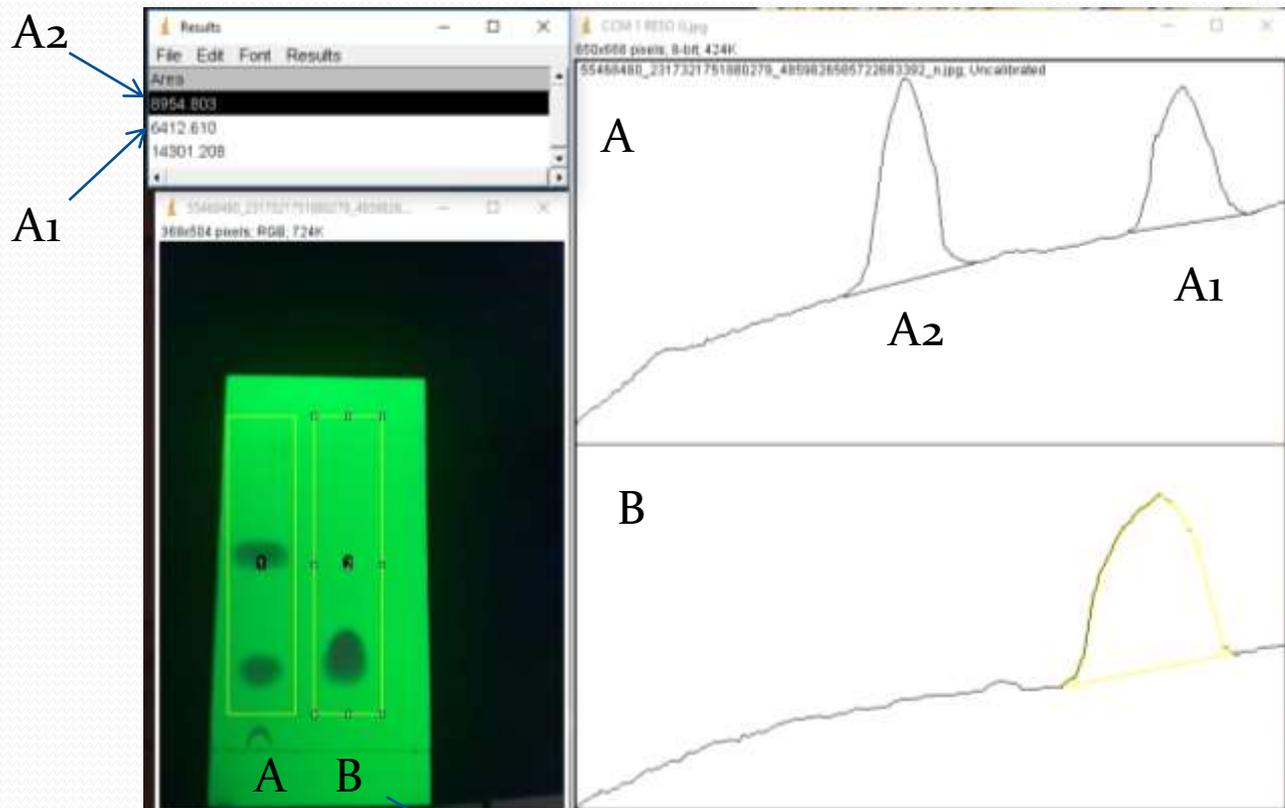
# III. Analyses à l'issue de la première résolution

## 1) Soucis techniques

- Masses résiduelles non fiables → Rendement impossible à calculer
- Beaucoup de perte d'alcool
- Très peu de solution; impossible de déterminer le pouvoir rotatoire avec le matériel du lycée → Contacter l'entreprise Sanofi

# III. Analyses à l'issue de la première résolution

## 2) Traitement d'image



Taux de conversion mesuré :  
58%

Taux de conversion théorique :  
68%

A : Produits après  
résolution

B : Mélange racémique  
initial

# III. Analyses à l'issue de la première résolution

## 3) Mesure de l'activité optique chez Sanofi

### Polarimètre MCP 200



Polarimètre lycée : V=20mL

Polarimètre MCP 200: V=0,7mL

### Polarimètre MCP200

Système Peltier Vol. 0,7ml

Loi de Biot (1812)

$$\alpha = \frac{[\alpha]_D^T \cdot l \cdot c}{100}$$

« Une substance active fait tourner le plan de polarisation d'un faisceau de lumière polarisée rectilignement. »

Soit  $\alpha$  la rotation optique observée,  $[\alpha]_D^T$  la rotation spécifique pour une température et une longueur d'ondes données,  $l$  la longueur de tube en mm,  $c$  la concentration en g/mL, et 100 un facteur de démultiplication.

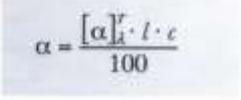
$\alpha$  exprimé en ° et  $[\alpha]_D^T$  exprimé en °.dm<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>.cm<sup>3</sup>

$\alpha = \alpha_1 + \alpha_2 + \dots$       $\frac{dm}{g/ml}$  (ou g/L/100g)

$\alpha = [^\circ \cdot dm^{-1} \cdot g^{-1} \cdot cm^3] \cdot mm/100 \cdot (g \cdot cm^{-3})$

Rapidité de mise en œuvre pour un suivi IPC

Visualisation des bulles d'air à éliminer



# III. Analyses à l'issue de la première résolution

## 3) Mesure de l'activité optique chez Sanofi

Bibliographie:  $-40^\circ$  pour  $C=5$  dans l'éthanol  
 $-40^\circ$  pour  $C=1$  dans le méthanol

Découverte: le pouvoir rotatoire dépend fortement  
de la nature du solvant

Pouvoir rotatoire du mélange racémique :  
 $\alpha(\text{racémique}) = +0,003^\circ$

Pouvoirs rotatoires expérimentaux (dans le toluène !) :

$$\alpha_{\text{exp}}(\text{alcool}) = -0,607^\circ$$

$$\alpha_{\text{exp}}(\text{ester}) = +2,393^\circ$$

Pouvoirs rotatoires théoriques pour 0,0426g d'alcool à 17% de R et 83% de S :

$$\text{Dans le méthanol : } \alpha_{\text{théo}}(\text{alcool}) = 0,0426 / 2 \times 40 \times (0,17 - 0,83) \times l = -0,562^\circ$$

$$\text{Dans l'éthanol : } \alpha_{\text{théo}}(\text{alcool}) = 0,0426 / 2 \times 8 \times (0,17 - 0,83) \times l = -0,112^\circ$$

## IV. Deuxième résolution

But : Améliorer la pureté de l'alcool

Masse théorique finale d'alcool = 0,020g

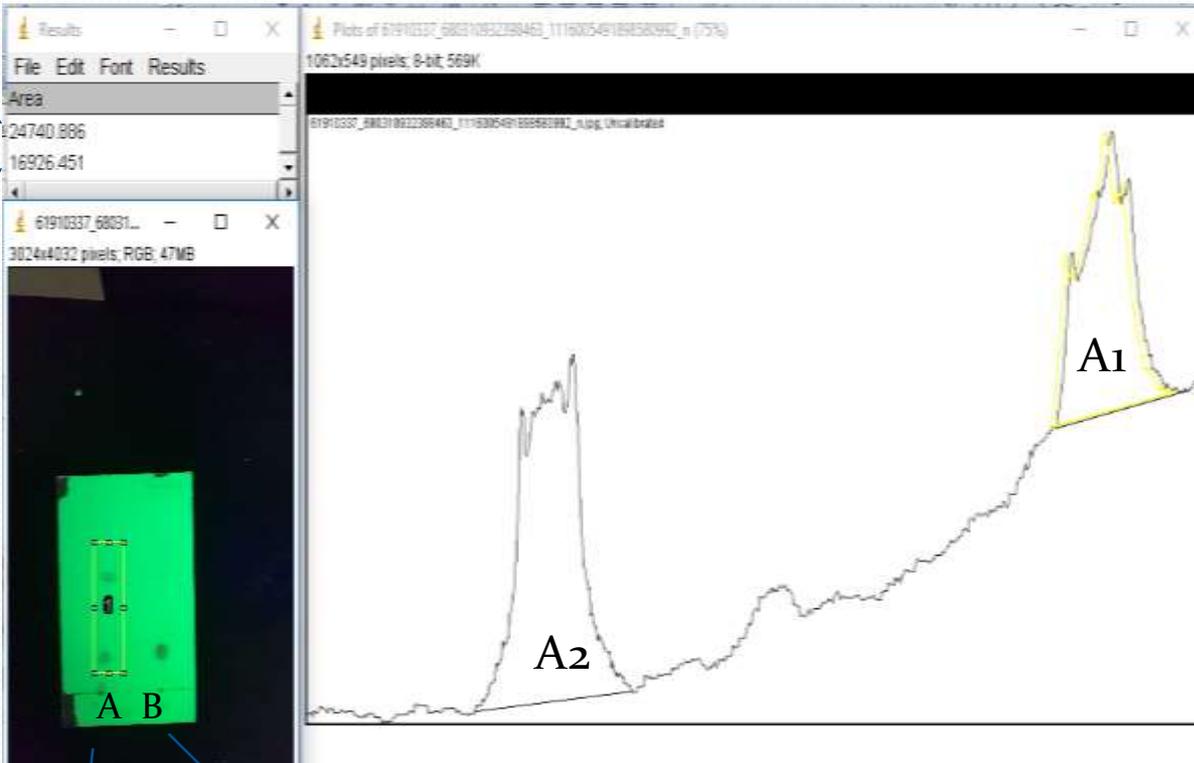
Pourcentage théorique final d'alcool (R): 4%

Pourcentage théorique final d'alcool (S): 96%

# V. Analyses à l'issue de la deuxième résolution

A2

A1



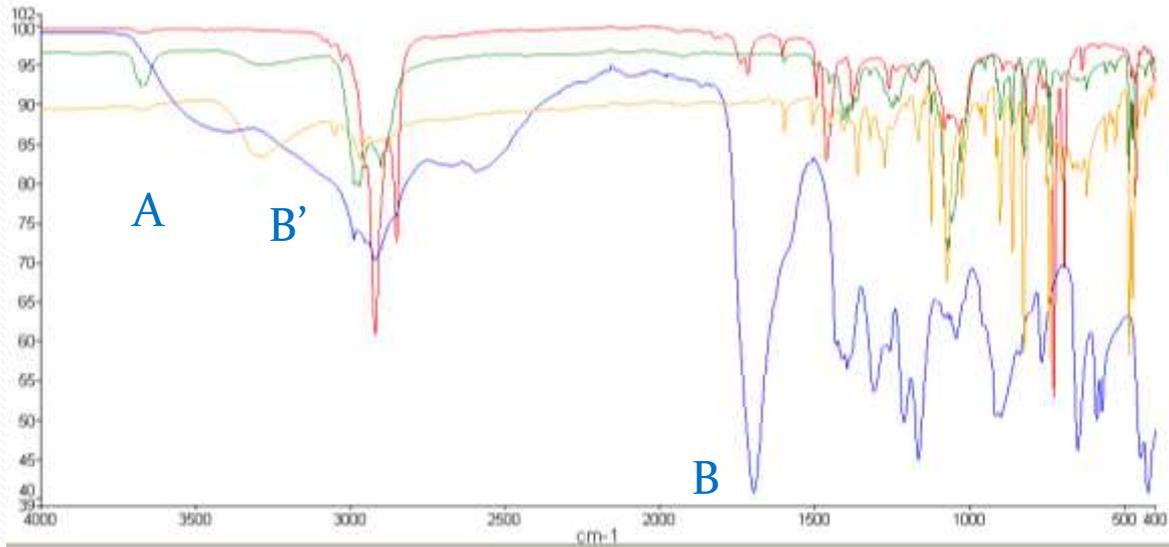
Taux de conversion mesuré:  
58%

Taux de conversion théorique:  
53%

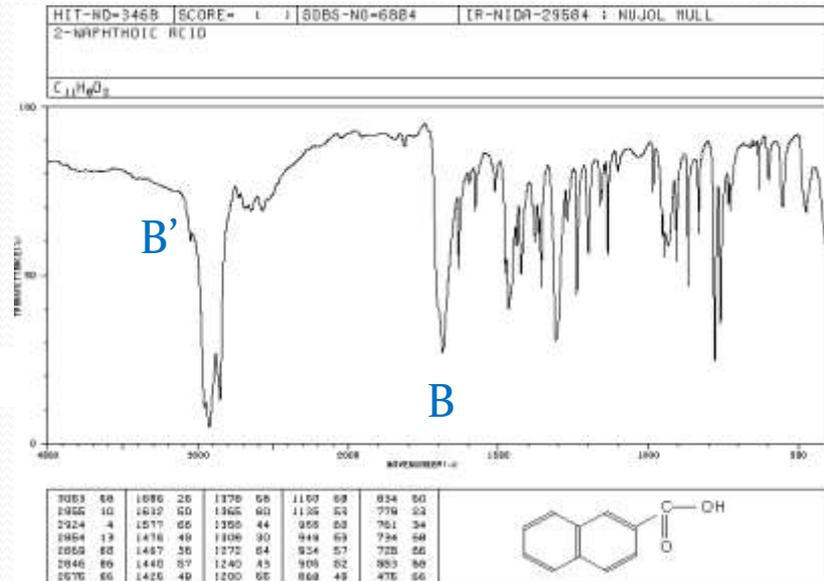
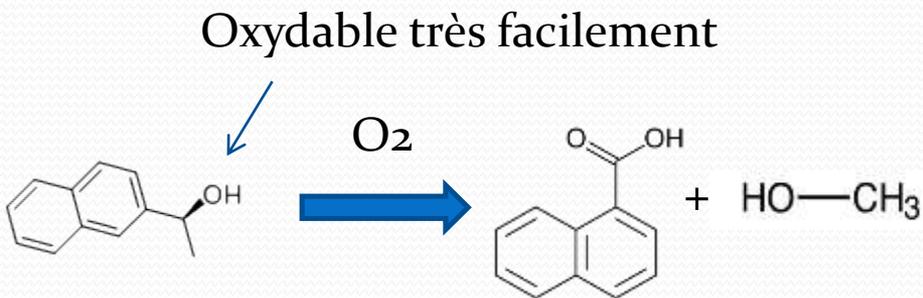
A : Produits après 2<sup>ème</sup>  
résolution

B : Alcool après 1<sup>ère</sup>  
résolution

# V. Analyses à l'issue de la deuxième résolution



- Ester
- Alcool final
- Alcool racémique
- Alcool racémique après 2h à l'air libre



# V. Analyses à l'issue de la deuxième résolution

Pouvoirs rotatoires expérimentaux (dans le toluène !) :

$$\alpha_{\text{exp}}(\text{alcool}) = -0,327^\circ$$

$$\alpha_{\text{exp}}(\text{ester}) = +0,018^\circ$$

Pouvoirs rotatoires théoriques pour 0,020g d'alcool à 4% de R et 96% de S:

$$\text{Dans le méthanol : } \alpha_{\text{théo}}(\text{alcool}) = 0,020 / 2 \times 40 \times (0,04 - 0,96) \times l = -0,368^\circ$$

$$\text{Dans l'éthanol : } \alpha_{\text{théo}}(\text{alcool}) = 0,020 / 2 \times 8 \times (0,04 - 0,96) \times l = -0,074^\circ$$

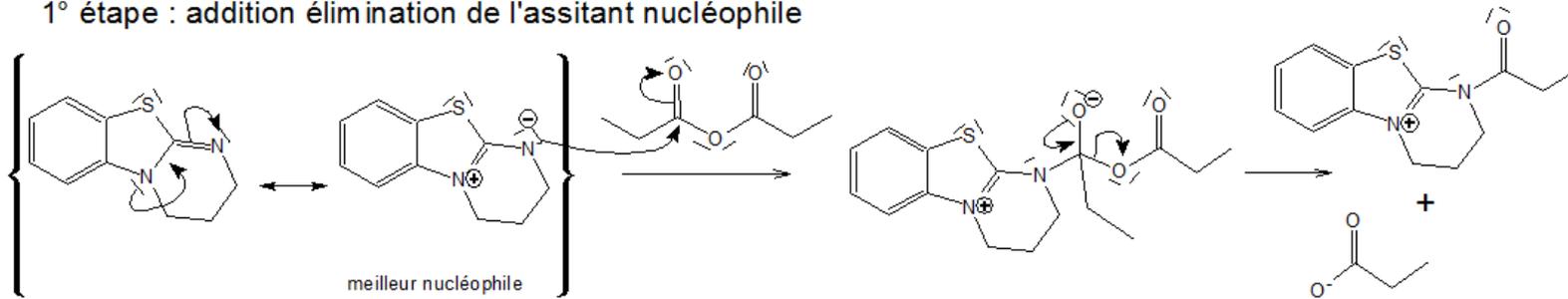
## VI. Conclusion

- Séparation effectuée mais présence d'impuretés (oxydation parasite)
- Rendement non calculable mais cohérent via pouvoirs rotatoires
- Technique de séparation très difficile, hors chimie durable mais efficace
- Autre technique de séparation : Co-cristallisation

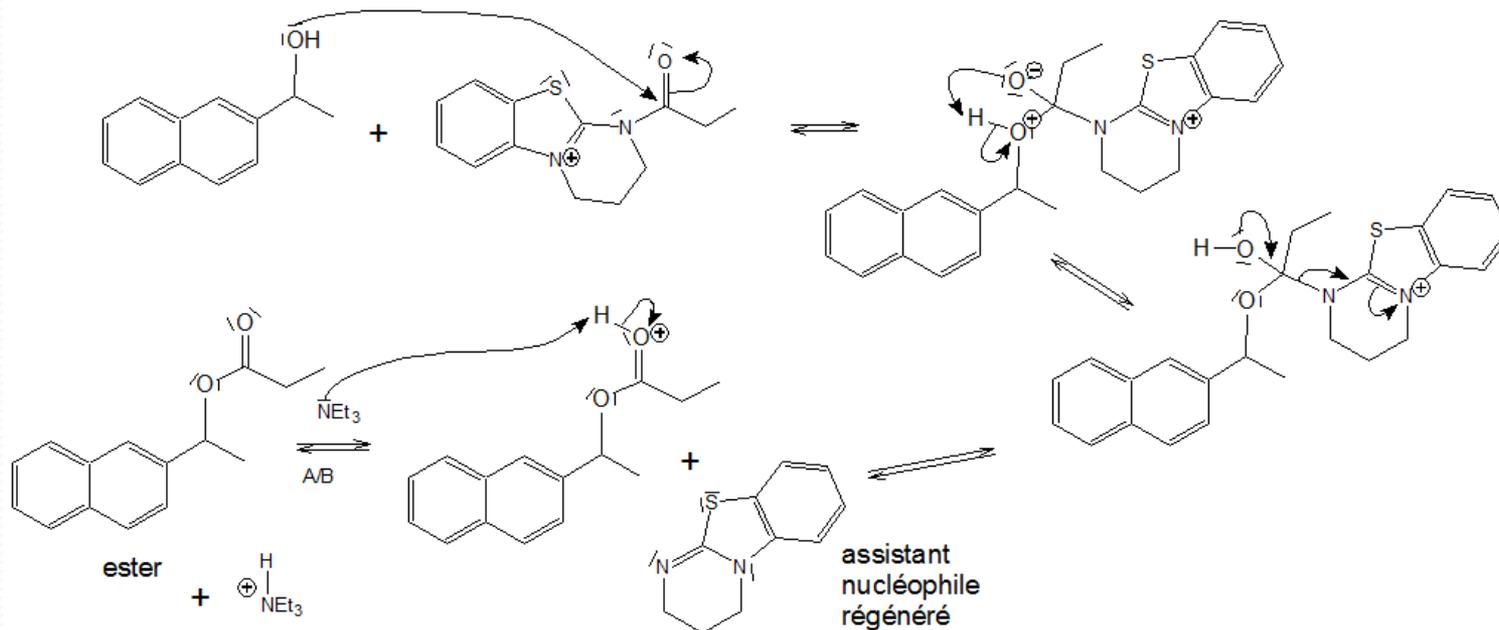
# Annexe 1

## Mécanisme de l'estérification assistée

1° étape : addition élimination de l'assistant nucléophile



2° étape **partiellement stéréosélective** : addition élimination de l'alcool

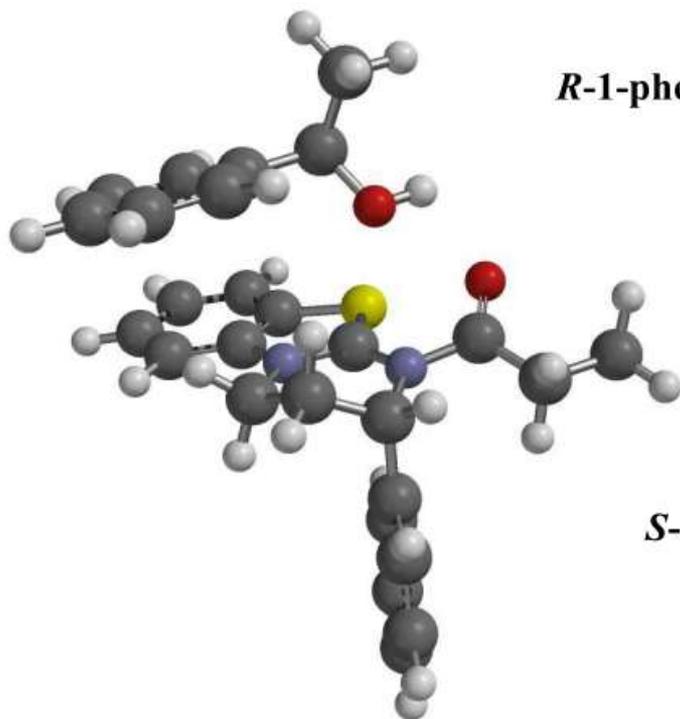


# Annexe 2

## Stéréosélectivité

### Interaction of *R*-1-phenylethanol with the Activated *S*-HBTM Intermediate

Spartan 3-D Image



Molecular Structure

*R*-1-phenylethanol

